(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년01월30일
(11) 등록번호 10-2493853
(24) 등록일자 2023년01월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) *A61K 31/407* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) *A61K 39/44* (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)
(52) CPC특허분류
C07D 487/04 (2022.08)
A61K 31/407 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7007464
(22) 출원일자(국제) 2017년08월18일
심사청구일자 2020년08월11일
(85) 번역문제출일자 2019년03월14일
(65) 공개번호 10-2019-0039570
(43) 공개일자 2019년04월12일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/047465
(87) 국제공개번호 WO 2018/035391
국제공개일자 2018년02월22일
(30) 우선권주장
62/377,052 2016년08월19일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
CN104220442 A
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 15 항

(73) 특허권자
브리스톨-마이어스 스퀴 컴퍼니
미국, 뉴저지 08543-4000, 프린스톤, 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
더 스크립스 리서치 인스티튜트
미국 캘리포니아주 92037 라 졸라 노스 토리 파인 로드 10550
(72) 발명자
양, 푸캉
미국 08543 뉴저지주 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스퀴 컴퍼니 내
장, 치안
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700 브리스톨-마이어스 스퀴 컴퍼니 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준

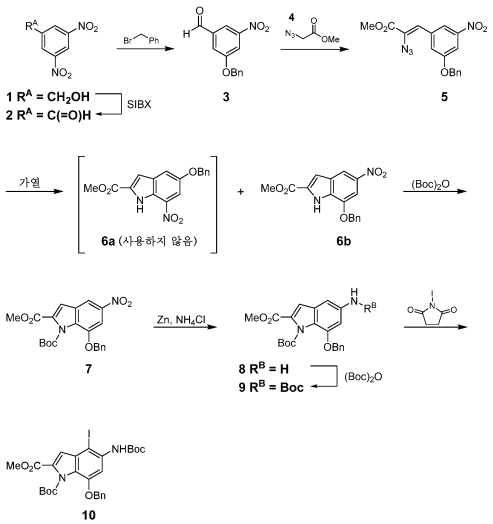
심사관 : 정승두

(54) 발명의 명칭 **세코-시클로프로파피롤로인돌 화합물, 그의 항체-약물 접합체, 및 제조 및 사용 방법**

(57) 요 약

화학식 (I) (여기서 Hal, R^1, R^2, 및 R^3은 본 출원에 정의된 바와 같음)의 세코-시클로프로파피롤로인돌 화합물은 항체-약물 접합체에 사용될 수 있는 강력한 항암제이다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
A61K 39/0011 (2021.08)
A61K 39/44 (2013.01)
A61K 47/6803 (2017.08)
A61K 47/6857 (2017.08)
A61K 47/6863 (2017.08)
A61K 47/6869 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07D 519/00 (2013.01)
C07K 16/30 (2013.01)

(72) 발명자
스나이더, 로렌스 비.
미국 06419 코네티컷주 킬링워스 로렐 리지 트레일 85
강과르, 산지브
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700 브리스톨-마이어스 스퀩 컴퍼니 내
보거, 데일 엘.
미국 92037 캘리포니아주 라 졸라 노스 토리 파인즈 로드 10550

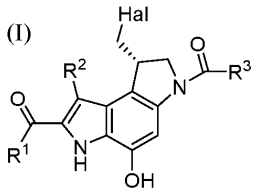
(56) 선행기술조사문헌
US20130030166 A1
WO2007103288 A2
US05091541 A
KR1020140036252 A

명 세 서

청구범위

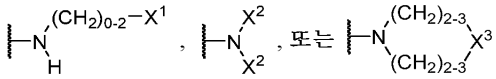
청구항 1

하기 화학식 (I)에 의해 나타내어지는 구조를 갖는 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.



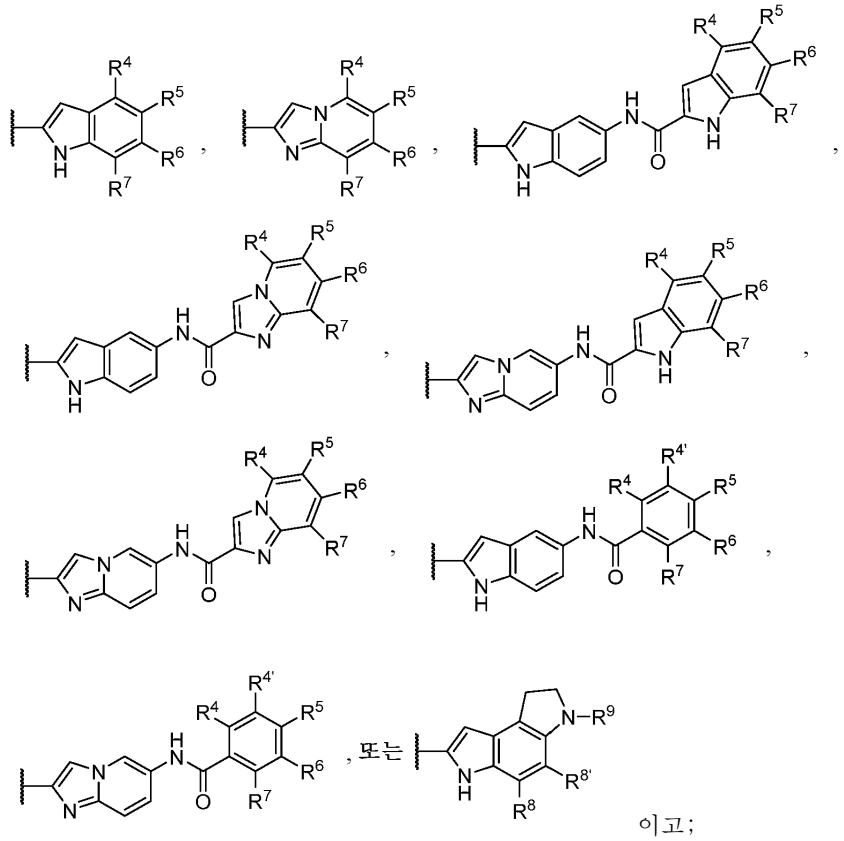
여기서,

Hal은 Cl 또는 Br이고;

R^1은  이고;

R^2는 H, C_1-C_3 알킬, CO_2H, CO_2(C_1-C_3 알킬), $C(=O)NH_2$, $C(=O)NH$(C_1-C_3 알킬), 또는 $C(=O)N$(C_1-C_3 알킬)$_2$이고;

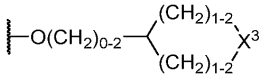
R^3은



이고;

R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 또는 R^7은 독립적으로 H, OMe, OH, 6-원 아릴 기, 5- 또는 6-원 헤테로아릴 기, NH_2, NHMe,

NMe_2, $NH(C_2-C_4$ 알킬), $N(C_2-C_4$ 알킬$)_2$, $NHC(=O)X^1$, $O(C_2-C_4$ 알킬), $O(CH_2)_{0-2}(C_3-C_6$ 시클로알킬), $O(CH_2)_{0-2}X^1$, 또는



이고;

여기서 C_2-C_4 알킬 기는 비치환되거나 또는 OCH_2CH_2OH, $OCH_2CH_2NH_2$, $NHCH_2CH_2OH$, $NHCH_2CH_2NH_2$, OH, 또는 NH_2로 치환될 수 있고, 아릴 또는 헤테로아릴 기는 C_1-C_2 알킬, OH, NH_2, $NH(C_1-C_2$ 알킬), $N(C_1-C_2$ 알킬$)_2$, F, Cl, Br, NO_2, 또는 CN으로 치환될 수 있고;

단 R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 및 R^7 중 적어도 1개는 H 이외의 것이고;

R^8 및 $R^{8'}$는 독립적으로 H, OH, $O(C_1-C_3$ 알킬), Cl, Br, F, $O(CH_2)_{2-4}NH_2$, 또는 $O(CH_2)_{2-4}OH$이고;

R^9는 H, $C(=O)(C_1-C_3$ 알킬), $C(=O)NH_2$, $C(=O)NH(C_1-C_3$ 알킬), $C(=O)(C_1-C_3$ 알킬$)_2$, $(CH_2)_{2-4}OH$, $(CH_2)_{2-4}O(C_1-C_3$ 알킬), $(CH_2)_{2-4}NH_2$, $(CH_2)_{2-4}NH(C_1-C_3$ 알킬), 또는 $(CH_2)_{2-4}N(C_1-C_3$ 알킬$)_2$이고;

각각의 X^1은 독립적으로 6-원 아릴 또는 5- 내지 6-원 헤테로아릴 기이며, 이는 비치환되거나 또는 C_1-C_3 알킬, OH, $O(C_1-C_3$ 알킬), NH_2, $NH(C_1-C_3$ 알킬), $N(C_1-C_3$ 알킬$)_2$, F, Cl, Br, NO_2, 또는 CN으로 치환되고;

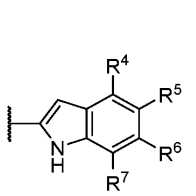
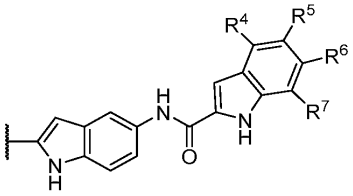
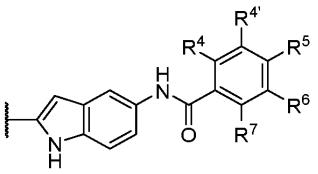
각각의 X^2는 독립적으로 H, Me, 또는 비치환되거나 또는 OCH_2CH_2OH, $OCH_2CH_2NH_2$, $NHCH_2CH_2OH$, $NHCH_2CH_2NH_2$, OH, 또는 NH_2로 치환될 수 있는 C_2-C_4 알킬 기이고;

각각의 X^3은 독립적으로 O, NH, $N(C_1-C_3$ 알킬), 또는 S이다.

청구항 2

제1항에 있어서, R^2가 H이고 Hal이 Cl인 화합물.

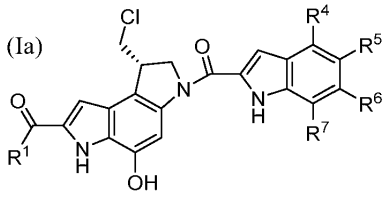
청구항 3

제1항에 있어서, R^3이  ,  , 또는 

인 화합물.

청구항 4

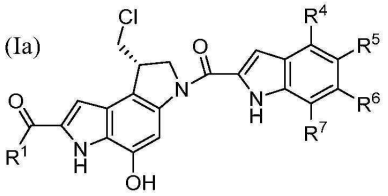
제1항에 있어서, 하기 화학식 (Ia)에 의해 나타내어지는 구조를 갖는 화합물.



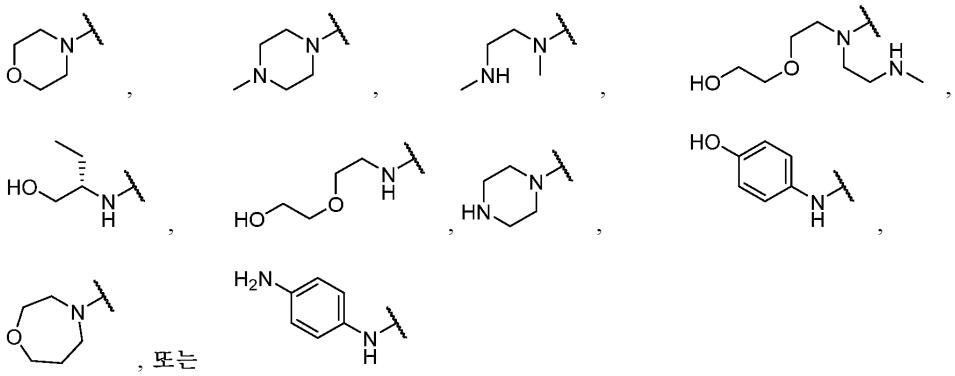
청구항 5

하기 화학식 (Ia)에 의해 나타내어지는 구조를 갖는 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

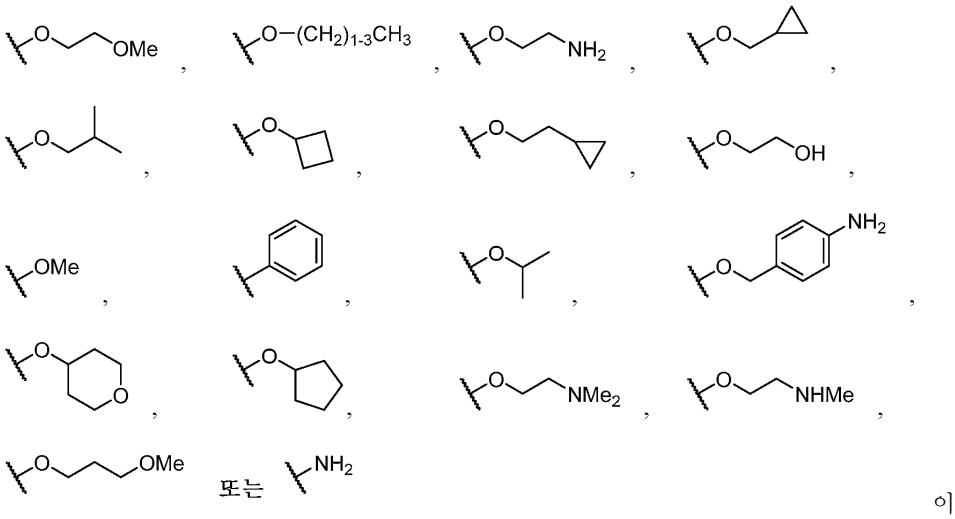
(Ia)



여기서 R^4, R^6, 및 R^7이 각각 H이고,



R^1이 , 또는 이고;

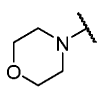


R^5가 또는 이다.

청구항 6

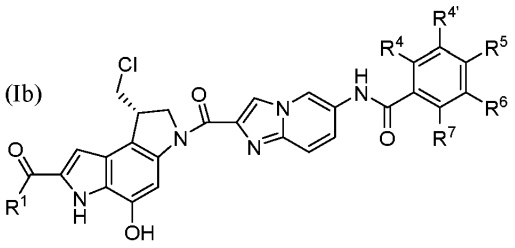
제1항에 있어서, R^1이 상응하는 화합물 R^1H가 0.300 미만의 CLogP 값을 갖는 기인 화합물.

청구항 7

제4항에 있어서, R^1이  인 화합물.

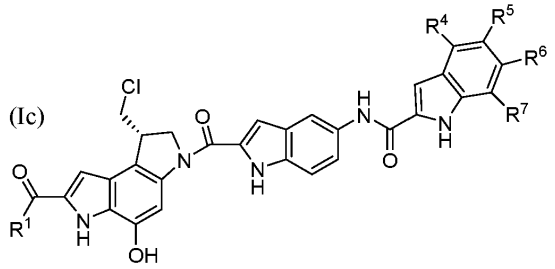
청구항 8

제1항에 있어서, 하기 화학식 (Ib)에 의해 나타내어지는 구조를 갖는 화합물.



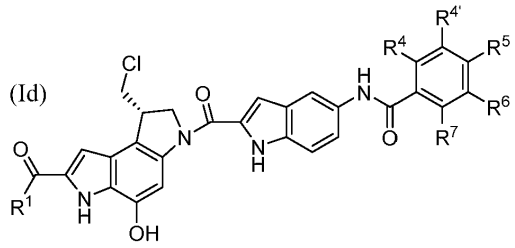
청구항 9

제1항에 있어서, 하기 화학식 (Ic)에 의해 나타내어지는 구조를 갖는 화합물.



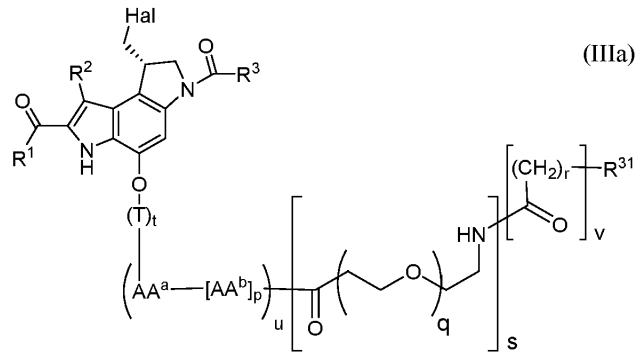
청구항 10

제1항에 있어서, 하기 화학식 (Id)에 의해 나타내어지는 구조를 갖는 화합물.



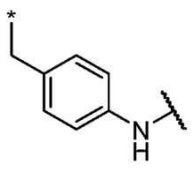
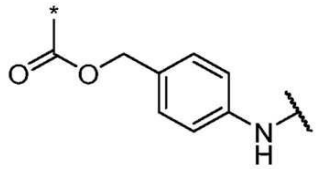
청구항 11

하기 화학식 (IIIa)에 따른 구조를 갖는 세코-CPI-링커 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.



여기서,

T는 하기 구조를 갖는 자기-희생 기이며:

또는

여기서 별표 (*)는 세코-CPI 화합물의 페놀계 산소에 결합된 말단을 나타내고, 파상선 (〰)은 폴리펩티드 $-AA^a-[AA^b]_p-$에 결합된 말단을 나타내고;

t는 0 또는 1이고;

AA^a 및 각각의 AA^b는 독립적으로 알라닌, β-알라닌, γ-아미노부티르산, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, γ-카르복시글루탐산, 시트룰린, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 노르류신, 노르발린, 오르니틴, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

u는 0 또는 1이고;

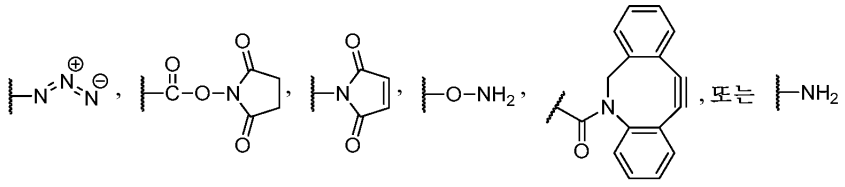
p는 1, 2, 3, 또는 4이고;

q는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12이고;

r은 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

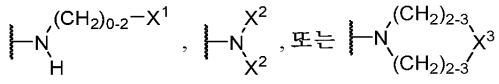
s는 0 또는 1이고;

v는 0 또는 1이고;

R^{31}은 H,  이고;

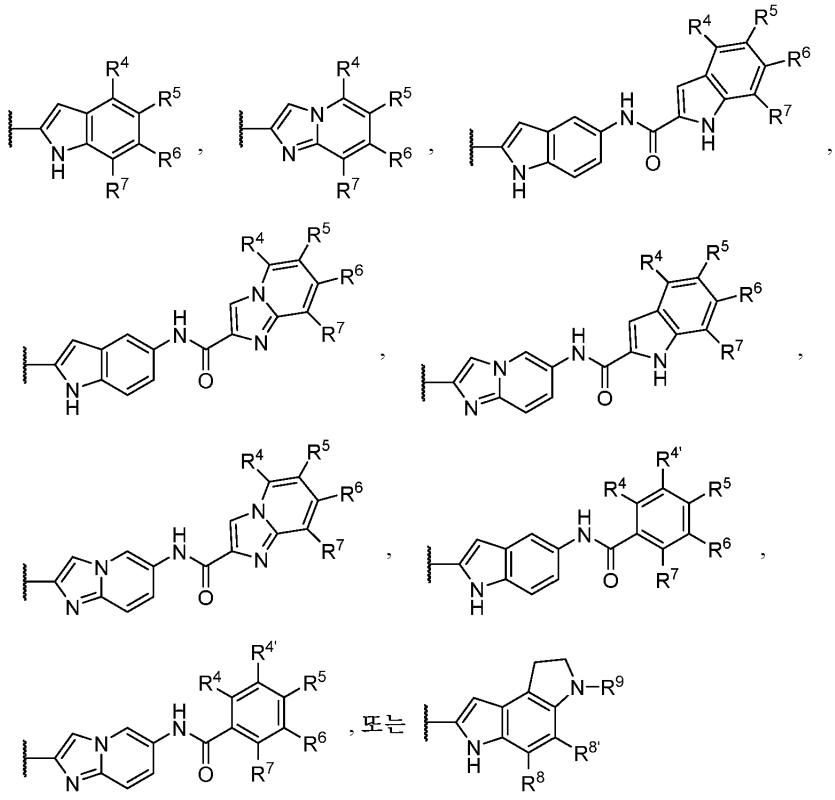
단 R^{31}은 s가 1이고 v가 0인 경우에만 H일 수 있고, v는 s가 1이고 R^{31}이 H인 경우에만 0일 수 있고;

Hal은 Cl 또는 Br이고;

R^1은  이고;

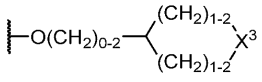
R^2는 H, C_1-C_3 알킬, CO_2H, $CO_2(C_1$-C_3 알킬), $C(=O)NH_2$, $C(=O)NH(C_1$-C_3 알킬), 또는 $C(=O)N(C_1$-C_3 알킬$)_2$이고;

R^3은



이고;

R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 또는 R^7은 독립적으로 H, OMe, OH, 6-원 아릴 기, 5- 또는 6-원 헤테로아릴 기, NH_2, NHMe, NMe_2, $NH(C_2-C_4$ 알킬), $N(C_2-C_4$ 알킬$)_2$, $NHC(=O)X^1$, $O(C_2-C_4$ 알킬), $O(CH_2)_{0-2}(C_3-C_6$ 시클로알킬), $O(CH_2)_{0-2}X^1$, 또는



이고;

여기서 C_2-C_4 알킬 기는 비치환되거나 또는 OCH_2CH_2OH, $OCH_2CH_2NH_2$, $NHCH_2CH_2OH$, $NHCH_2CH_2NH_2$, OH, 또는 NH_2로 치환될 수 있고, 아릴 또는 헤테로아릴 기는 C_1-C_2 알킬, OH, NH_2, $NH(C_1-C_2$ 알킬), $N(C_1-C_2$ 알킬$)_2$, F, Cl, Br, NO_2, 또는 CN으로 치환될 수 있고;

단 R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 및 R^7 중 적어도 1개는 H 이외의 것이고;

R^8 및 $R^{8'}$는 독립적으로 H, OH, $O(C_1-C_3$ 알킬), Cl, Br, F, $O(CH_2)_{2-4}NH_2$, 또는 $O(CH_2)_{2-4}OH$이고;

R^9는 H, $C(=O)(C_1-C_3$ 알킬), $C(=O)NH_2$, $C(=O)NH(C_1-C_3$ 알킬), $C(=O)(C_1-C_3$ 알킬$)_2$, $(CH_2)_{2-4}OH$, $(CH_2)_{2-4}O(C_1-C_3$ 알킬), $(CH_2)_{2-4}NH_2$, $(CH_2)_{2-4}NH(C_1-C_3$ 알킬), 또는 $(CH_2)_{2-4}N(C_1-C_3$ 알킬$)_2$이고;

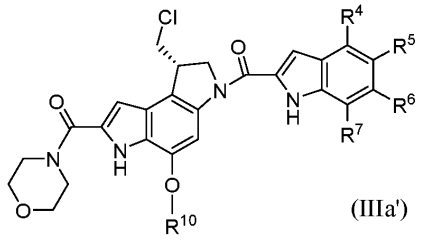
각각의 X^1은 독립적으로 6-원 아릴 또는 5- 내지 6-원 헤테로아릴 기이며, 이는 비치환되거나 또는 C_1-C_3 알킬, OH, $O(C_1-C_3$ 알킬), NH_2, $NH(C_1-C_3$ 알킬), $N(C_1-C_3$ 알킬$)_2$, F, Cl, Br, NO_2, 또는 CN으로 치환되고;

각각의 X^2는 독립적으로 H, Me, 또는 비치환되거나 또는 OCH_2CH_2OH, $OCH_2CH_2NH_2$, $NHCH_2CH_2OH$, $NHCH_2CH_2NH_2$, OH, 또는 NH_2로 치환될 수 있는 C_2-C_4 알킬 기이고;

각각의 X^3은 독립적으로 O, NH, $N(C_1-C_3$ 알킬), 또는 S이다.

청구항 12

하기 화학식 (IIIa')에 따른 구조를 갖는 세코-CPI-링커 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

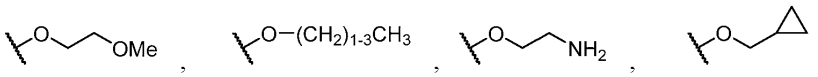


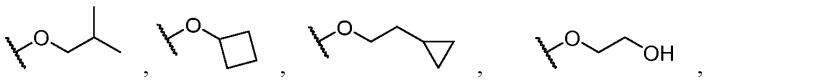
(IIIa')

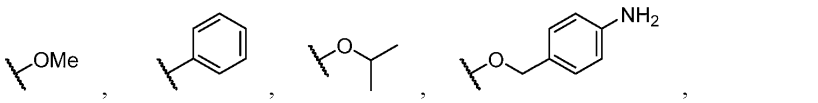
여기서,

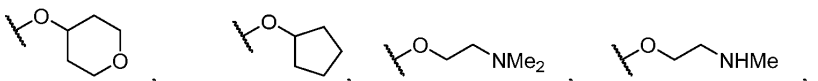
R^4, R^6, 및 R^7은 각각 H이고;

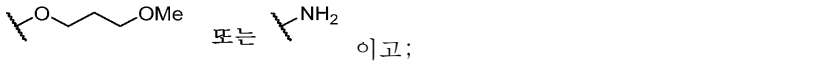
R^5는







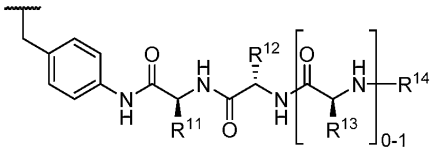




또는

이고;

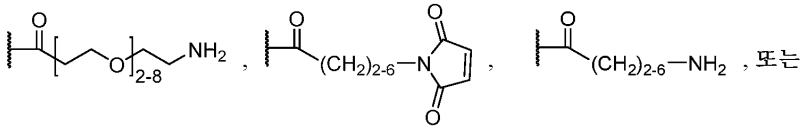
R^{10}은



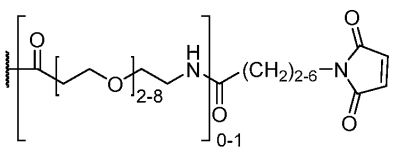
이고;

R^{11}, R^{12} 및 R^{13}은 독립적으로 H, CH_3, $CH(CH_3)_2$, CH_2CO_2H, $CH_2CH_2CO_2H$, $CH_2C(=O)NH_2$, $CH_2CH_2C(=O)NH_2$, $(CH_2)_4NH_2$, $(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 또는 $(CH_2)_3NHC(=O)NH_2$이고;

R^{14}는



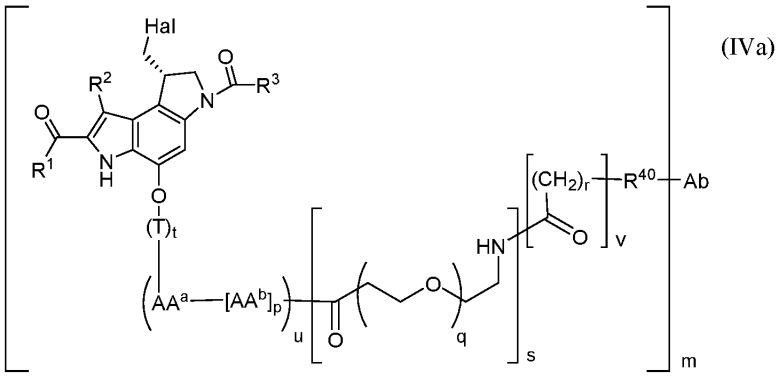
,또는



이다.

청구항 13

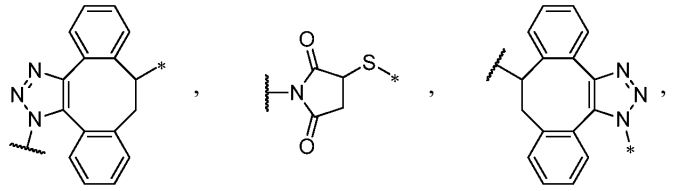
하기 화학식 (IVa)에 따른 구조를 갖는 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.



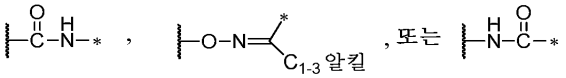
(IVa)

여기서,

Ab는 항체이고;



R^{40}은 결합,



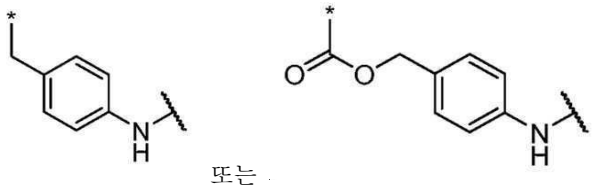
이고;

여기서, Ab에 결합된 R^{40}의 개방 원자가는 별표 (*)에 의해 표시되고, $(CH_2)_r$에 결합된 R^{40}의 개방 원자가는 파상선 (〰)에 의해 표시되고;

m은 1, 2, 3, 또는 4이고;

v는 0 또는 1이고, 단 v는 s가 1이고 R^{40}이 결합인 경우에만 0일 수 있고, R^{40}은 v가 0이고 s가 1인 경우에만 결합일 수 있고;

T는 하기 구조를 갖는 자기-희생 기이며:



여기서 별표 (*)는 세코-CPI 화합물의 페놀계 산소에 결합된 말단을 나타내고, 파상선 (〰)은 폴리펩티드 $-AA^a-[AA^b]_p-$에 결합된 말단을 나타내고;

t는 0 또는 1이고;

AA^a 및 각각의 AA^b는 독립적으로 알라닌, β-알라닌, γ-아미노부티르산, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, γ-카르복시글루탐산, 시트룰린, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 노르류신, 노르발린, 오르니틴, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로

이루어진 군으로부터 선택되고;

u는 0 또는 1이고;

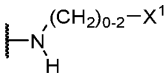
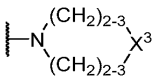
p는 1, 2, 3, 또는 4이고;

q는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12이고;

r은 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

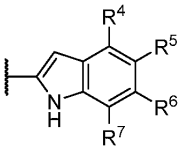
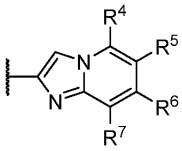
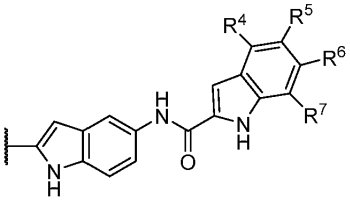
s는 0 또는 1이고;

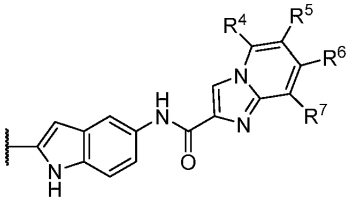
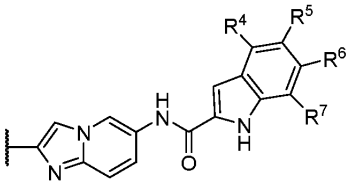
Hal은 Cl 또는 Br이고;

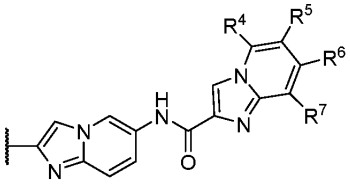
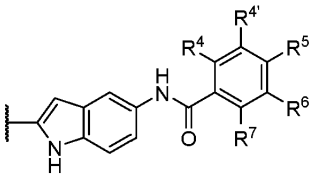
R^1은  , , 또는  이고;

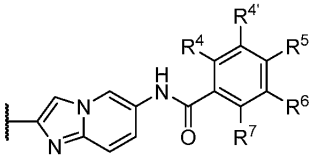
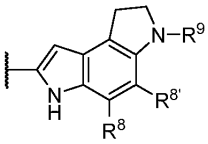
R^2는 H, C_1-C_3 알킬, CO_2H, CO_2(C_1-C_3 알킬), C(=O)NH_2, C(=O)NH(C_1-C_3 알킬), 또는 C(=O)N(C_1-C_3 알킬)$_2$이고;

R^3은

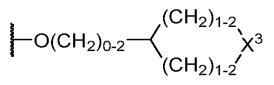
 ,  ,  ,

 ,  ,

 ,  ,

 , 또는  이고;

R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 또는 R^7은 독립적으로 H, OMe, OH, 6-원 아릴 기, 5- 또는 6-원 헤테로아릴 기, NH_2, NHMe, NMe_2, NH(C_2-C_4 알킬), N(C_2-C_4 알킬)$_2$, NHC(=O)X^1, O(C_2-C_4 알킬), O$(CH_2)_{0-2}$(C_3-C_6 시클로알킬), O$(CH_2)_{0-2}X^1$, 또는

 이고;

여기서 C_2-C_4 알킬 기는 비치환되거나 또는 OCH_2CH_2OH, $OCH_2CH_2NH_2$, $NHCH_2CH_2OH$, $NHCH_2CH_2NH_2$, OH, 또는 NH_2로 치환될 수 있고, 아릴 또는 헤테로아릴 기는 C_1-C_2 알킬, OH, NH_2, NH(C_1-C_2 알킬), N(C_1-C_2 알킬)$_2$, F, Cl, Br, NO_2, 또는 CN으로 치환될 수 있고;

단 R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 및 R^7 중 적어도 1개는 H 이외의 것이고;

R^8 및 $R^{8'}$는 독립적으로 H, OH, O(C_1-C_3 알킬), Cl, Br, F, O$(CH_2)_{2-4}NH_2$, 또는 O$(CH_2)_{2-4}$OH이고;

R^9는 H, C(=O)(C_1-C_3 알킬), $C(=O)NH_2$, C(=O)NH(C_1-C_3 알킬), C(=O)(C_1-C_3 알킬)$_2$, $(CH_2)_{2-4}$OH, $(CH_2)_{2-4}$O(C_1-C_3 알킬), $(CH_2)_{2-4}NH_2$, $(CH_2)_{2-4}$NH(C_1-C_3 알킬), 또는 $(CH_2)_{2-4}$N(C_1-C_3 알킬)$_2$이고;

각각의 X^1은 독립적으로 6-원 아릴 또는 5- 내지 6-원 헤테로아릴 기이며, 이는 비치환되거나 또는 C_1-C_3 알킬, OH, O(C_1-C_3 알킬), NH_2, NH(C_1-C_3 알킬), N(C_1-C_3 알킬)$_2$, F, Cl, Br, NO_2, 또는 CN으로 치환되고;

각각의 X^2는 독립적으로 H, Me, 또는 비치환되거나 또는 OCH_2CH_2OH, $OCH_2CH_2NH_2$, $NHCH_2CH_2OH$, $NHCH_2CH_2NH_2$, OH, 또는 NH_2로 치환될 수 있는 C_2-C_4 알킬 기이고;

각각의 X^3은 독립적으로 O, NH, N(C_1-C_3 알킬), 또는 S이다.

청구항 14

암을 앓고 있는 대상체에서 이러한 암을 치료하는 데 사용하기 위한, 제1항에 따른 화합물 또는 그의 항체와의 접합체를 포함하는 제약 조성물이며, 상기 암이 폐암, 위암, 난소암 또는 결장암인 제약 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 화합물이 항체에 접합된 것인 제약 조성물.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2016년 8월 19일에 출원된 미국 가출원 일련 번호 62/377,052의 35 U.S.C. §119(e) 하의 이익을 청구하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

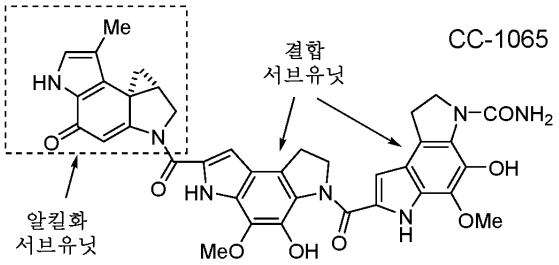
[0003] 발명의 배경

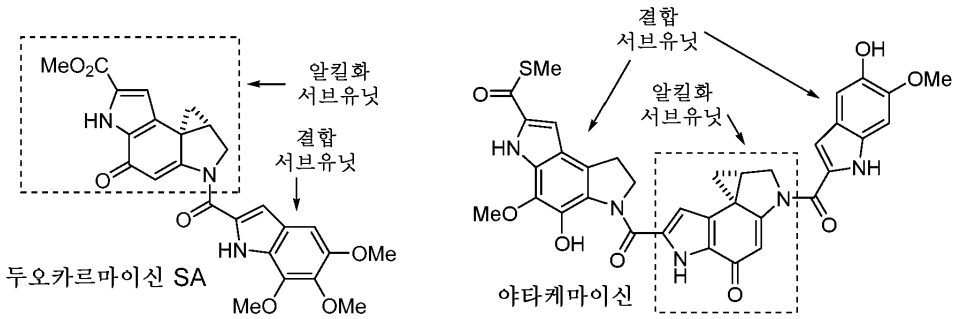
[0004] 본 발명은 세코-시클로프로파피롤로인돌 화합물, 그의 접합체, 및 이러한 화합물 및 접합체를 제조 및 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0005] 이중 나선형 DNA는 이발소 간판 기둥의 줄무늬와 매우 유사하게, 그의 외부를 따라 이어지는 2개의 종방향 나선형 홈을 갖는다. 2개의 홈은 동일하지 않은데, 큰 홈으로 불리는 하나가 작은 홈으로 불리는 다른 것보다 훨씬 더 넓다.

[0006] 작은 홈의 폭은 대략 벤젠 고리의 두께와 동등하다. 다수의 생물학적 활성 DNA 결합 분자는 아치형 풋프린트를 갖는 실질적으로 평면성인 폴리방향족 분자이며, 이러한 형상은 그들이 작은 홈에서 편안하게 미끄러질 수 있도록 한다. 이들 분자의 하나의 부류는 DNA에 결합할 뿐만 아니라 이를 알킬화시키고, DNA 작은 홈 결합제-알킬화제 ("MGBA")로서 지칭된다.

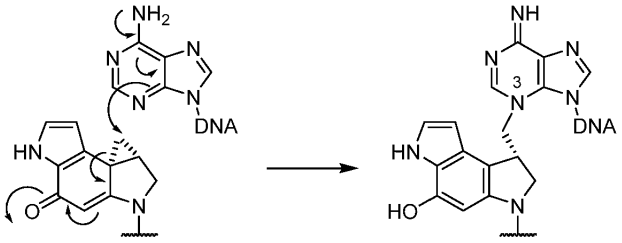
[0007] MGBA 하위부류는 천연 생성물 CC-1065, 두오카르마이신 SA 및 야타케마이신이 대표적이다 (Boger and Johnson 1995; Tichenor et al. 2007). (제1 저자 또는 발명자 및 연도에 의해 본원에 인용되는 문헌의 완전한 인용은 본 명세서의 말미에 열거됨). 그들은 알킬화 서브유닛 및 하나 이상의 결합 서브유닛을 포함하며, 결합 서브유닛은 DNA에의 결합에 기여하지만 DNA에 대해 화학적으로 비반응성이다. CC-1065 및 두오카르마이신 SA에서, 알킬화 서브유닛은 분자의 하나의 말단에 있고, 결합 서브유닛(들)은 다른 말단에 있다. 야타케마이신에서, 알킬화 서브유닛은 결합 서브유닛에 의해 플링킹된다. 전체 MGBA 아키텍처와 일치하게, 알킬화 및 결합 서브유닛 그들 자신은 폴리방향족이고 실질적으로 평면성이다. 알킬화 서브유닛이 시클로프로파피롤로인돌 ("CPI") 코어 구조를 갖기 때문에, 이 하위부류의 MGBA는 명시조적으로 CPI 화합물로 명명된다.





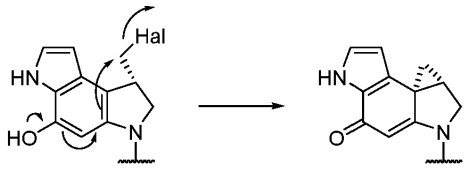
[0008]

[0009] DNA에 결합 시에, CPI 시클로프로필 고리는 활성화되고, 아데닌 N3 질소에서 DNA를 알킬화시킨다 (Hurley et al. 1984). 활성화를 설명하기 위해 제안된 하나의 이론은, 결합이 이미-변형된 시클로프로필 고리에 추가로 입체형태적 변형을 도입하여 그의 반응성을 증가시킨다는 것이다 (Boger 2001; Boger et al. 1997; Tichenor et al. 1997).



[0010]

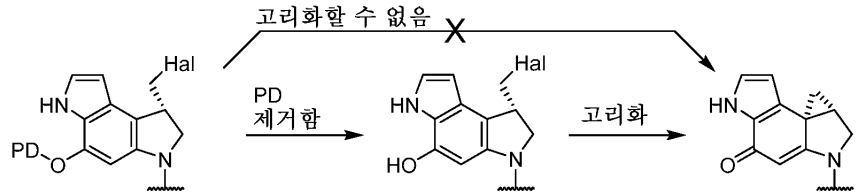
[0011] 세코-CPI 화합물은 시클로프로필 고리가 개방되고 할로메틸 기로 대체된 CPI 화합물의 변형체이다. 세코-CPI 화합물 그들 자신은 DNA를 알킬화시키지 않으면서, 시험관내 또는 생체내에서 CPI 화합물로 용이하게 전환가능하고, 그들의 생물학적 활성은 CPI 화합물의 것과 본질적으로 동일하다 (Li et al. 2012). 따라서, 세코-CPI 화합물은 CPI 화합물의 합성적으로 편리한 기능적 등가물로서 또는 그의 합성을 위한 중간체로서 관심 대상이다 (Boger et al. 2000).



세코-CPI (Hal = Cl, Br) CPI

[0012]

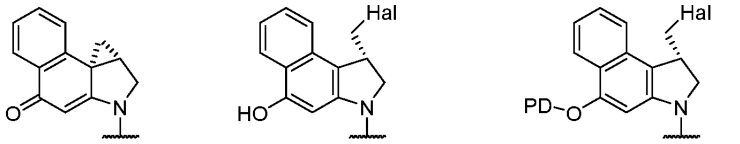
[0013] 세코-CPI 화합물의 이점은 그것이 전구약물화되어 CPI 형태로의 전환을 제어할 수 있다는 것이다. 페놀성 히드록실 기에 전구약물화 기 PD를 부착하는 것은 PD가 먼저 절단되지 않는 한 CPI 형태로의 전환을 방지한다. PD는 그것이 전신 독성의 위험을 감소시키도록 의도된 생물학적 작용 부위, 예컨대 종양에서 또는 그 근처에서 발견된 작용제에 의해 절단되도록 선택될 수 있다. PD는 바람직하게는 효소적으로 절단가능한 기, 예컨대 각각 카르복시에스테라제, 포스파타제, 글리코시다제 또는 글루쿠로니다제에 의해 절단가능한 카르바메이트, 포스페이트, 글리코시드 또는 글루쿠로니드이다. 예를 들어, 문헌 [Kobayashi et al. 1994; Lajiness et al. 2010; Sufi et al. 2013; Tietze et al. 2001; Zhang et al. 2014]을 참조한다.



전구약물화된 *세코*-CPI *세코*-CPI CPI

[0014]

[0015] CPI 화합물의 유사체에 대한 연구는 CPI 피롤 기가 벤젠 고리에 의해 대체된 또 다른 MGBA 하위부류의 개발을 이끌었다. 이러한 화합물은 알킬화 서브유닛의 시클로프로파벤즈인돌 ("CBI") 코어에 따라, CBI 화합물로 불린다. CPI 화합물과 유사하게, CBI 화합물은 세코 및 전구약물화된 세코 형태로 존재할 수 있다. 보다 단순한 CBI 구조는 합성적으로 보다 접근하기 쉽고, CBI 화합물은 안정적이면서 생물학적으로 강력한 것으로 밝혀졌다 (Lajiness et al. 2010; Boger et al. 1990 and 1999).



CBI *세코*-CBI 전구약물화된 *세코*-CBI

[0016]

[0017] CPI 및 CBI 화합물 둘 다는 그들을 항암제로서 매력적인 후보로 만드는 강력한 세포독소이다. 실질적인 연구 노력은 이러한 용도를 위해 이러한 화합물 및 그의 세코 변형체를 합성하고 평가하는 것에 전념했다. 예를 들어, 문헌 [Boger 2003; Kobayashi et al. 1994; Li et al. 1992; Nagamura and Saito 1998; Nagamura et al. 1996; Tichenor et al. 2007; Tietze et al. 2008]을 참조한다.

[0018] 강한 관심 대상이 되는 한 유형의 항암제는, 약물이 암 세포 상의 리간드에 결합하는 표적화제에 부착된 접합체이다. 따라서, 표적화제는 약물을 암 세포로 향하게 하며, 여기서 약물은 암 세포 상에 작용하는 여러 메카니즘 중 하나에 의해 방출된다.

[0019] 접합체의 통상적인 유형은 항체-약물 접합체 (ADC, 면역접합체로서 또한 지칭됨)이다. ADC에서 약물 (치료제, 세포독소, 페이로드 또는 워헤드로서 또한 지칭됨)은 그의 항원이 종양 연관 항원 - 즉, 암 세포에 의해 발현되는 항원인 항체에 공유 연결된다.

[0020] 항체 및 약물을 공유 연결하는 모이어티는 링커로서 지칭된다. 각 항체가 그에 부착된 하나의 약물을 갖는 경우에, ADC의 구조는 하기와 같이 나타낼 수 있다:

[0021] [항체] - [링커] - [약물]

[0022] 항체는 항원에 결합 시에 ADC를 암 부위에 전달한다. 거기서, 링커의 절단 또는 항체의 분해가 약물을 방출시킨다. 빈번하게, ADC는 세포내이입에 의해 표적 세포 내로 내재화되고, 그 내부에서 약물의 방출이 일어난다. ADC가 혈액에서 순환하는 동안, 약물은 항체에 대한 그의 연결로 인해 불활성으로 유지된다. 따라서, ADC 내의 약물은 그의 국부 방출이 전신 독성을 감소시키기 때문에 통상의 화학요법제보다 훨씬 더 강력할 (세포독성일) 수 있다. ADC에 대한 검토를 위해, 문헌 [Schrama et al. 2006]을 참조한다.

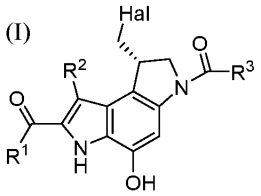
[0023] CPI 및 CBI 화합물, 및 그의 세코 대응물이 ADC 내의 약물로서 제안되었다. 예를 들어, 문헌 [Boyd et al. 2008; Chari et al. 1995; Chen et al. 2014; Ducry et al. 2010; Gangwar et al. 2011; Ng et al. 2006, 2009, and 2011; Sufi et al. 2013; Zhang et al. 2014; Zhao et al. 2010]을 참조한다.

발명의 내용

[0024] 발명의 간단한 개요

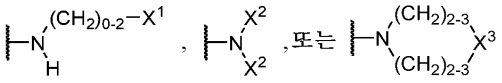
[0025] 본 발명은 ADC 또는 다른 접합체 내의 약물로서 사용하기에 적합한, 신규하고 고도로 강력한 세코-CPI 화합물을 제공한다. 이들 화합물은 세코-CPI 서브유닛의 피롤 기에 부착된 아미드 기 및 그의 다른 말단에 부착된 하나 이상의 결합 서브유닛을 갖는다.

[0026] 한 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (I)에 의해 나타내어지는 구조를 갖는 세코-CPI 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0027] 

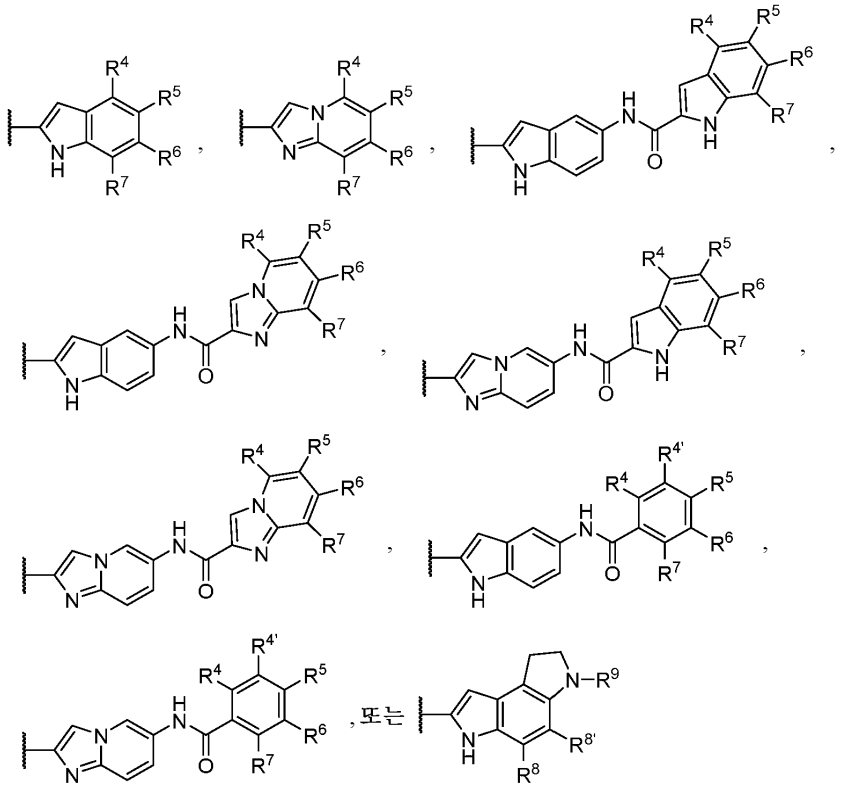
[0028] 여기서,

[0029] Hal은 Cl 또는 Br이고;

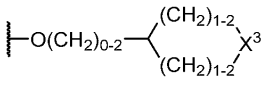
[0030] R^1은 

이고;

[0031] R^2는 H, C_1-C_3 알킬, CO_2H, $CO_2(C_1$-C_3 알킬), $C(=O)NH_2$, $C(=O)NH(C_1$-C_3 알킬), 또는 $C(=O)N(C_1$-C_3 알킬$)_2$이고;



[0032] R^3은 이고;

[0033] R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 또는 R^7은 독립적으로 H, OMe, OH, 6-원 아릴 (바람직하게는 페닐) 기, 5- 또는 6-원 헤테로아릴 기, NH_2, NHMe, NMe_2, $NH(C_2-C_4$ 알킬), $N(C_2-C_4$ 알킬$)_2$, $NHC(=O)X^1$, $O(C_2-C_4$ 알킬), $O(CH_2)_{0-2}(C_3-C_6$ 시클로알킬), $O(CH_2)_{0-2}X^1$, 또는  이고;

[0034] 여기서 C_2-C_4 알킬 기는 비치환되거나 또는 OCH_2CH_2OH, $OCH_2CH_2NH_2$, $NHCH_2CH_2OH$, $NHCH_2CH_2NH_2$, OH, 또는 NH_2로 치환될 수 있고, 아릴 또는 헤테로아릴 기는 C_1-C_2 알킬, OH, NH_2, $NH(C_1-C_2$ 알킬), $N(C_1-C_2$ 알킬$)_2$, F, Cl, Br, NO_2, 또는 CN으로 치환될 수 있고;

[0035] 단 R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 및 R^7 중 적어도 1개는 H 이외의 것이고;

[0036] R^8 및 $R^{8'}$는 독립적으로 H, OH, $O(C_1-C_3$ 알킬), Cl, Br, F, $O(CH_2)_{2-4}NH_2$, 또는 $O(CH_2)_{2-4}OH$이고;

[0037] R^9는 H, $C(=O)(C_1-C_3$ 알킬), $C(=O)NH_2$, $C(=O)NH(C_1-C_3$ 알킬), $C(=O)(C_1-C_3$ 알킬$)_2$, $(CH_2)_{2-4}OH$, $(CH_2)_{2-4}O(C_1-C_3$ 알킬), $(CH_2)_{2-4}NH_2$, $(CH_2)_{2-4}NH(C_1-C_3$ 알킬), 또는 $(CH_2)_{2-4}N(C_1-C_3$ 알킬$)_2$이고;

[0038] 각각의 X^1은 독립적으로 6-원 아릴 (바람직하게는 페닐) 또는 5- 내지 6-원 헤테로아릴 기이며, 이는 비치환되거나 또는 C_1-C_3 알킬, OH, $O(C_1-C_3$ 알킬), NH_2, $NH(C_1-C_3$ 알킬), $N(C_1-C_3$ 알킬$)_2$, F, Cl, Br, NO_2, 또는 CN으로 치환되고;

[0039] 각각의 X^2는 독립적으로 H, Me, 또는 비치환되거나 또는 OCH_2CH_2OH, $OCH_2CH_2NH_2$, $NHCH_2CH_2OH$, $NHCH_2CH_2NH_2$, OH, 또는 NH_2로 치환될 수 있는 C_2-C_4 알킬 기이고;

[0040] 각각의 X^3은 독립적으로 O, NH, $N(C_1-C_3$ 알킬), 또는 S이다.

[0041] 또 다른 측면에서, 본 발명은 표적화 모이어티, 특히 항체에의 접합에 적합한 링커에 부착된 본 발명의 세코-

CPI 화합물을 제공한다.

[0042] 또 다른 측면에서, 본 발명은 표적화 모이어티, 특히 항체에 링커를 통해 접합된 본 발명의 세코-CPI 화합물의 접합체를 제공한다.

[0043] 또 다른 측면에서, 본 발명은 치료 유효량의 본 발명에 따른 화합물, 또는 그의 항체와의 접합체를 암을 앓고 있는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 이러한 암을 치료하는 방법을 제공한다. 바람직한 실시양태에서, 치료되는 암은 폐암, 위암, 난소암 또는 결장암이다.

[0044] 또 다른 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 대상체를 치료하는 데 사용하기 위한 본 발명의 세코-CPI 화합물 또는 그의 항체와의 접합체를 제공한다. 암은 폐암, 위암, 난소암 또는 결장암일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도 1a 및 1b는 본 발명의 화합물을 제조하는 데 사용될 수 있는 세코-CPI 코어 구조의 합성에 대한 반응식을 보여준다.

도 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 및 12는 본 발명의 세코-CPI 화합물의 합성에 대한 예시적인 반응식을 보여준다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는, 일부 경우에, 반응식이 주로 화합물의 다양한 세그먼트가 조립되는 순서 또는 보호기가 제거되는 순서에서 상이하다는 점 및 이들 단계의 수행 순서는 개별 선호도의 문제일 수 있다는 점을 인지할 것이다.

도 3a, 3b 및 5는 본 발명의 세코-CPI 링커 화합물의 합성에 대한 예시적인 반응식을 보여준다. 다시, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 특정 단계의 수행 순서에서의 변경이 개별 선호도에 따를 수 있음을 인지할 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046] 정의

[0047] "항체"는 전체 항체 및 그의 임의의 항원 결합 단편 (즉 "항원-결합 부분") 또는 단일 쇄 변형체를 의미한다. 전체 항체는 디술피드 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 단백질이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (V_H), 및 3개의 도메인, C_{H1}, C_{H2} 및 C_{H3}을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (V_L 또는 V_k), 및 1개의 단일 도메인, C_L을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다. V_H 및 V_L 영역은 보다 보존된 프레임워크 영역 (FR)이 점재된, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 칭해지는 초가변성의 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L은 아미노-말단으로부터 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR을 포함한다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4. 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)을 포함한 숙주 조직 또는 인자에 대한 항체의 결합을 매개할 수 있다. 항체는 항체가 5 x 10^{-8} M 이하, 보다 바람직하게는 1 x 10^{-8} M 이하, 보다 바람직하게는 6 x 10^{-9} M 이하, 보다 바람직하게는 3 x 10^{-9} M 이하, 보다 더 바람직하게는 2 x 10^{-9} M 이하의 K_D로 항원 X에 결합하는 경우에, 항원 X에 "특이적으로 결합한다"고 한다. 항체는 키메라, 인간화, 또는 바람직하게는, 인간일 수 있다. 중쇄 불변 영역은 글리코실화 유형 또는 정도에 영향을 미치거나, 항체 반감기를 연장시키거나, 이펙터 세포 또는 보체계와의 상호작용을 증진 또는 감소시키거나, 또는 일부 다른 특성을 조정하기 위해 조작될 수 있다. 조작은 1개 이상의 아미노산의 대체, 부가, 또는 결실에 의해, 또는 도메인의 또 다른 이뮤노글로불린 유형으로부터의 도메인으로의 대체에 의해, 또는 상기의 조합에 의해 달성될 수 있다.

[0048] 항체의 "항원 결합 단편" 및 "항원 결합 부분" (또는 간단하게 "항체 부분" 또는 "항체 단편")은 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는, 항체의 1개 이상의 단편을 의미한다. 항체의 항원-결합 기능은 전장 항체의 단편, 예컨대 (i) V_L, V_H, C_L 및 C_{H1} 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디술피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 $F(ab')_2$ 단편; (iii) 본질적으로 힌지 영역의 일부를 갖는 Fab인 Fab' 단편 (예를 들어, 문헌 [Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 6th Ed., Saunders Elsevier 2007] 참조); (iv) V_H 및 C_{H1} 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (v) 항체의 단일 아암의 V_L 및 V_H 도메인으로 이루어진 Fv 단편, (vi) V_H 도메인으로 이루어진 dAb 단편 (Ward et al., (1989) Nature

341:544-546); (vii) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR); 및 (viii) 단일 가변 도메인 및 2개의 불변 도메인을 함유하는 중쇄 가변 영역인 나노바디에 의해 수행될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 바람직한 항원 결합 단편은 Fab, $F(ab')_2$, Fab', Fv 및 Fd 단편이다. 추가로, Fv 단편의 2개의 도메인, V_L 및 V_H는 개별 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 V_L 및 V_H 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성한 단일 단백질 쇄 (단일 쇄 Fv 또는 scFv로서 공지됨)로 제조될 수 있게 하는 합성 링커에 의해서 재조합 방법을 사용하여 연결될 수 있으며; 예를 들어, 문헌 [Bird et al. (1988) Science 242:423-426; 및 Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883)]을 참조한다. 이러한 단일 쇄 항체는 용어 항체의 "항원-결합 부분" 내에 또한 포괄된다.

[0049] "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 의미한다 (예를 들어, 항원 X에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 항원 X 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러나, 항원 X에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 종으로부터의 항원 X 분자와 같은 다른 항원에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 단리된 항체는 인간 항원 X에 특이적으로 결합하고, 다른 (비-인간) 항원 X 항원과는 교차-반응하지 않는다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0050] "모노클로날 항체" 또는 "모노클로날 항체 조성물"은 특정한 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타내는, 단일 분자 조성의 항체 분자의 제제를 의미한다.

[0051] "인간 항체"는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다 (및 존재하는 경우에 불변 영역)가 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 것인 가변 영역을 갖는 항체를 의미한다. 인간 항체는 천연 또는 합성 변형을 포함한 후기 변형을 포함할 수 있다. 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상으로 그라프트된 것인 항체는 포함하지 않는다.

[0052] "인간 모노클로날 항체"는 단일 결합 특이성을 나타내며, 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다가 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 것인 가변 영역을 갖는 항체를 의미한다. 한 실시양태에서, 인간 모노클로날 항체는 불멸화 세포에 융합된 인간 중쇄 트랜스진 및 경쇄 트랜스진을 포함하는 게놈을 갖는, 트랜스제닉 비인간 동물, 예를 들어 트랜스제닉 마우스로부터 수득된 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해 생산된다.

[0053] "지방족"은 명시된 수의 탄소 원자를 갖거나 (예를 들어, "C_3 지방족", "C_{1-5} 지방족", "C_1-C_5 지방족" 또는 "C_1 내지 C_5 지방족"에서와 같으며, 후자 3개의 어구는 1 내지 5개의 탄소 원자를 갖는 지방족 모이어티에 대한 동의어임) 또는 탄소 원자의 수가 명확하게 명시되지 않은 경우에는 1 내지 4개의 탄소 원자 (불포화 지방족 모이어티의 경우에는 2 내지 4개의 탄소)를 갖는 직쇄 또는 분지쇄, 포화 또는 불포화, 비-방향족 탄화수소 모이어티를 의미한다. 유사한 이해가 C_{2-4} 알켄, C_4-C_7 시클로지방족 등에서와 같은 다른 유형에서의 탄소의 수에 적용된다. 유사한 맥락에서, "$(CH_2)_{1-3}$"과 같은 용어는 이러한 용어가 CH_2, CH_2CH_2, 및 $CH_2CH_2CH_2$를 나타내도록, 아래 첨자가 1, 2, 또는 3인 것에 대한 약칭으로서 이해되어야 한다.

[0054] "알킬"은 포화 지방족 모이어티를 의미하며, 여기서 탄소 원자의 수의 지정에 대한 동일한 규정이 적용가능하다. 예시로서, C_1-C_4 알킬 모이어티는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 이소부틸, t-부틸, 1-부틸, 2-부틸 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. "알킬렌"은 알킬 기의 2가 대응물, 예컨대 CH_2CH_2, $CH_2CH_2CH_2$, 및 $CH_2CH_2CH_2CH_2$를 의미한다.

[0055] "알케닐"은 적어도 1개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 지방족 모이어티를 의미하며, 여기서 탄소 원자의 수의 지정에 대한 동일한 규정이 적용가능하다. 예시로서, C_2-C_4 알케닐 모이어티는 에테닐 (비닐), 2-프로페닐 (알릴 또는 프로프-2-에닐), 시스-1-프로페닐, 트랜스-1-프로페닐, E- (또는 Z-) 2-부테닐, 3-부테닐, 1,3-부타디에닐 (부트-1,3-디에닐) 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0056] "알키닐"은 적어도 1개의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 지방족 모이어티를 의미하며, 여기서 탄소 원자의 수의 지정에 대한 동일한 규정이 적용가능하다. 예시로서, C_2-C_4 알키닐 기는 에티닐 (아세틸레닐), 프로파르길 (프로프-2-이닐), 1-프로피닐, 부트-2-이닐 등을 포함한다.

[0057] "시클로지방족"은 1 내지 3개의 고리를 가지며, 각각의 고리가 3 내지 8개 (바람직하게는 3 내지 6개)의 탄소

원자를 갖는, 포화 또는 불포화, 비-방향족 탄화수소 모이어티를 의미한다. "시클로알킬"은 각각의 고리가 포화된 시클로지방족 모이어티를 의미한다. "시클로알케닐"은 적어도 1개의 고리가 적어도 1개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 시클로지방족 모이어티를 의미한다. "시클로알키닐"은 적어도 1개의 고리가 적어도 1개의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 시클로지방족 모이어티를 의미한다. 예시로서, 시클로지방족 모이어티는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로펜테닐, 시클로헥실, 시클로헥세닐, 시클로헵틸, 시클로옥틸, 및 아다만틸을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직한 시클로지방족 모이어티는 시클로알킬 모이어티, 특히 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 및 시클로헥실이다. "시클로알킬렌"은 시클로알킬 기의 2가 대응물을 의미한다.

[0058] "헤테로시클로지방족"은 그의 적어도 1개의 고리 내에서, 3개 이하 (바람직하게는 1 내지 2개)의 탄소가 N, O, 또는 S로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자로 대체된 것인 시클로지방족 모이어티를 의미하며, 여기서 N 및 S는 임의로 산화될 수 있고, N은 임의로 4급화될 수 있다. 바람직한 시클로지방족 모이어티는 크기에 있어서 5- 내지 6-원인 1개의 고리로 이루어진다. 유사하게, "헤테로시클로알킬", "헤테로시클로알케닐", 및 "헤테로시클로알키닐"은 그의 적어도 1개의 고리가 이렇게 하여 변형된, 각각 시클로알킬, 시클로알케닐, 또는 시클로알키닐 모이어티를 의미한다. 예시적인 헤테로시클로지방족 모이어티는 아지리디닐, 아제티디닐, 1,3-디옥사닐, 옥세타닐, 테트라히드로푸릴, 피롤리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 테트라히드로피라닐, 테트라히드로티오피라닐, 테트라히드로티오피라닐 술폰, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 티오모르폴리닐 술폭시드, 티오모르폴리닐 술폰, 1,3-디옥솔라닐, 테트라히드로-1,1-디옥소티에닐, 1,4-디옥사닐, 티에타닐 등을 포함한다. "헤테로시클로알킬렌"은 헤테로시클로알킬 기의 2가 대응물을 의미한다.

[0059] "알콕시", "아릴옥시", "알킬티오", 및 "아릴티오"는 각각 -O(알킬), -O(아릴), -S(알킬), 및 -S(아릴)을 의미한다. 예는 각각 메톡시, 페녹시, 메틸티오, 및 페닐티오이다.

[0060] 보다 좁은 의미가 지정되지 않는 한, "할로겐" 또는 "할로"는 플루오린, 염소, 브로민 또는 아이오딘을 의미한다.

[0061] "아릴"은 각각의 고리가 3 내지 7개의 탄소 원자를 갖고 적어도 1개의 고리가 방향족인 모노-, 비-, 또는 트리시클릭 고리계 (바람직하게는 모노시클릭)를 갖는 탄화수소 모이어티를 의미한다. 고리계 내의 고리는 서로 융합될 수 있거나 (나프틸에서와 같음) 또는 서로 결합될 수 있으며 (비페닐에서와 같음), 비-방향족 고리에 융합 또는 결합될 수 있다 (인다닐 또는 시클로헥실페닐에서와 같음). 추가 예시로서, 아릴 모이어티는 페닐, 나프틸, 테트라히드로나프틸, 인다닐, 비페닐, 페난트릴, 안트라세닐, 및 아세나프틸을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. "아릴렌"은 아릴 기의 2가 대응물, 예를 들어 1,2-페닐렌, 1,3-페닐렌, 또는 1,4-페닐렌을 의미한다.

[0062] "헤테로아릴"은 각각의 고리가 3 내지 7개의 탄소 원자를 갖고 적어도 1개의 고리가 N, O, 또는 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 방향족 고리인 모노-, 비-, 또는 트리시클릭 고리계 (바람직하게는 5 내지 7-원 모노시클릭)를 갖는 모이어티를 의미하며, 여기서 N 및 S는 임의로 산화될 수 있고, N은 임의로 4급화될 수 있다. 이러한 적어도 1개의 헤테로원자 함유 방향족 고리는 다른 유형의 고리에 융합될 수 있거나 (벤조푸라닐 또는 테트라히드로이소퀴놀릴에서와 같음) 또는 다른 유형의 고리에 직접 결합될 수 있다 (페닐피리딜 또는 2-시클로펜틸피리딜에서와 같음). 추가 예시로서, 헤테로아릴 모이어티는 피롤릴, 푸라닐, 티오페닐 (티에닐), 이미다졸릴, 피라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 피리딜, N-옥소피리딜, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 퀴노잘리닐, 나프티리디닐, 벤조푸라닐, 인돌릴, 벤조티오페닐, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 페노티아졸릴, 벤즈이미다졸릴, 벤조트리아졸릴, 디벤조푸라닐, 카르바졸릴, 디벤조티오페닐, 아크리디닐 등을 포함한다. "헤테로아릴렌"은 헤테로아릴 기의 2가 대응물을 의미한다.

[0063] "비치환되거나 또는 치환된 C_1-C_5 알킬" 또는 "임의로 치환된 헤테로아릴"에서와 같은 "비치환되거나 또는 치환된" 또는 "임의로 치환된" 어구의 사용에 의해서와 같이 모이어티가 치환될 수 있는 것으로 나타낸 경우에, 이러한 모이어티는 1개 이상의 독립적으로 선택된 치환기, 바람직하게는 수에 있어서 1 내지 5개, 보다 바람직하게는 수에 있어서 1 또는 2개를 가질 수 있다. 치환기 및 치환 패턴은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해, 치환기가 부착되는 모이어티를 고려하여, 화학적으로 안정하고 관련 기술분야에 공지된 기술뿐만 아니라 본원에 제시된 방법에 의해 합성될 수 있는 화합물을 제공하도록 선택될 수 있다. 모이어티가 "비치환되거나 또는 치환된" 또는 "임의로 치환된" 것으로 확인되는 경우에, 바람직한 실시양태에서 이러한 모이어티는 비치환된다.

[0064] "아릴알킬", "(헤테로시클로지방족)알킬", "아릴알케닐", "아릴알키닐", "비아릴알킬" 등은, 예를 들어 벤질, 페네틸, N-이미다조일에틸, N-모르폴리노에틸 등에서와 같이, 경우에 따라 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 모이어티

에서 개방 (비충족) 원자가를 갖는, 경우에 따라 아릴, 헤테로시클로지방족, 비아릴 등의 모이어티로 치환된 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 모이어티를 의미한다. 반대로, "알킬아릴", "알케닐시클로알킬" 등은, 경우에 따라 예를 들어 메틸페닐 (톨릴) 또는 알릴시클로헥실에서와 같이, 경우에 따라 알킬, 알케닐 등의 모이어티로 치환된 아릴, 시클로알킬 등의 모이어티를 의미한다. "히드록시알킬", "할로알킬", "알킬아릴", "시아노아릴" 등은, 경우에 따라 확인된 치환기 (경우에 따라 히드록실, 할로 등) 중 1개 이상으로 치환된 알킬, 아릴 등의 모이어티를 의미한다.

[0065] 예를 들어, 허용되는 치환기는 알킬 (특히 메틸 또는 에틸), 알케닐 (특히 알릴), 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 시클로지방족, 헤테로시클로지방족, 할로 (특히 플루오로), 할로알킬 (특히 트리플루오로메틸), 히드록실, 히드록시알킬 (특히 히드록시에틸), 시아노, 니트로, 알콕시, -O(히드록시알킬), -O(할로알킬) (특히 $-OCF_3$), -O(시클로알킬), -O(헤테로시클로알킬), -O(아릴), 알킬티오, 아릴티오, =O, =NH, =N(알킬), =NOH, =NO(알킬), -C(=O)(알킬), -C(=O)H, $-CO_2H$, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(알킬), -C(=O)O(히드록시알킬), $-C(=O)NH_2$, -C(=O)NH(알킬), $-C(=O)N(알킬)_2$, -OC(=O)(알킬), -OC(=O)(히드록시알킬), -OC(=O)O(알킬), -OC(=O)O(히드록시알킬), $-OC(=O)NH_2$, -OC(=O)NH(알킬), $-OC(=O)N(알킬)_2$, 아지도, $-NH_2$, -NH(알킬), $-N(알킬)_2$, -NH(아릴), -NH(히드록시알킬), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, $-NHC(=O)NH_2$, -NHC(=O)NH(알킬), $-NHC(=O)N(알킬)_2$, $-NHC(=NH)NH_2$, $-OSO_2(알킬)$, -SH, -S(알킬), -S(아릴), -S(시클로알킬), -S(=O)알킬, $-SO_2(알킬)$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH(알킬)$, $-SO_2N(알킬)_2$ 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0066] 치환될 모이어티가 지방족 모이어티인 경우에, 바람직한 치환기는 아릴, 헤테로아릴, 시클로지방족, 헤테로시클로지방족, 할로, 히드록실, 시아노, 니트로, 알콕시, -O(히드록시알킬), -O(할로알킬), -O(시클로알킬), -O(헤테로시클로알킬), -O(아릴), 알킬티오, 아릴티오, =O, =NH, =N(알킬), =NOH, =NO(알킬), $-CO_2H$, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(알킬), -C(=O)O(히드록시알킬), $-C(=O)NH_2$, -C(=O)NH(알킬), $-C(=O)N(알킬)_2$, -OC(=O)(알킬), -OC(=O)(히드록시알킬), -OC(=O)O(알킬), -OC(=O)O(히드록시알킬), $-OC(=O)NH_2$, -OC(=O)NH(알킬), $-OC(=O)N(알킬)_2$, 아지도, $-NH_2$, -NH(알킬), $-N(알킬)_2$, -NH(아릴), -NH(히드록시알킬), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, $-NHC(=O)NH_2$, -NHC(=O)NH(알킬), $-NHC(=O)N(알킬)_2$, $-NHC(=NH)NH_2$, $-OSO_2(알킬)$, -SH, -S(알킬), -S(아릴), -S(=O)알킬, -S(시클로알킬), $-SO_2(알킬)$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH(알킬)$, 및 $-SO_2N(알킬)_2$이다. 보다 바람직한 치환기는 할로, 히드록실, 시아노, 니트로, 알콕시, -O(아릴), =O, =NOH, =NO(알킬), -OC(=O)(알킬), -OC(=O)O(알킬), $-OC(=O)NH_2$, -OC(=O)NH(알킬), $-OC(=O)N(알킬)_2$, 아지도, $-NH_2$, -NH(알킬), $-N(알킬)_2$, -NH(아릴), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, $-NHC(=O)NH_2$, -NHC(=O)NH(알킬), $-NHC(=O)N(알킬)_2$, 및 $-NHC(=NH)NH_2$이다. 페닐, 시아노, 할로, 히드록실, 니트로, C_1-C_4알콕시, O(C_2-C_4 알킬렌)OH, 및 O(C_2-C_4 알킬렌)할로가 특히 바람직하다.

[0067] 치환될 모이어티가 시클로지방족, 헤테로시클로지방족, 아릴, 또는 헤테로아릴 모이어티인 경우에, 바람직한 치환기는 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로, 할로알킬, 히드록실, 히드록시알킬, 시아노, 니트로, 알콕시, -O(히드록시알킬), -O(할로알킬), -O(아릴), -O(시클로알킬), -O(헤테로시클로알킬), 알킬티오, 아릴티오, -C(=O)(알킬), -C(=O)H, $-CO_2H$, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(알킬), -C(=O)O(히드록시알킬), $-C(=O)NH_2$, -C(=O)NH(알킬), $-C(=O)N(알킬)_2$, -OC(=O)(알킬), -OC(=O)(히드록시알킬), -OC(=O)O(알킬), -OC(=O)O(히드록시알킬), $-OC(=O)NH_2$, -OC(=O)NH(알킬), $-OC(=O)N(알킬)_2$, 아지도, $-NH_2$, -NH(알킬), $-N(알킬)_2$, -NH(아릴), -NH(히드록시알킬), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, $-NHC(=O)NH_2$, -NHC(=O)NH(알킬), $-NHC(=O)N(알킬)_2$, $-NHC(=NH)NH_2$, $-OSO_2(알킬)$, -SH, -S(알킬), -S(아릴), -S(시클로알킬), -S(=O)알킬, $-SO_2(알킬)$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH(알킬)$, 및 $-SO_2N(알킬)_2$이다. 보다 바람직한 치환기는 알킬, 알케닐, 할로, 할로알킬, 히드록실, 히드록시알킬, 시아노, 니트로, 알콕시, -O(히드록시알킬), -C(=O)(알킬), -C(=O)H, $-CO_2H$, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(알킬), -C(=O)O(히드록시알킬), $-C(=O)NH_2$, -C(=O)NH(알킬), $-C(=O)N(알킬)_2$, -OC(=O)(알킬), -OC(=O)(히드록시알킬), -OC(=O)O(알킬), -OC(=O)O(히드록시알킬), $-OC(=O)NH_2$, -OC(=O)NH(알킬), $-OC(=O)N(알킬)_2$, $-NH_2$, -NH(알킬), $-N(알킬)_2$, -NH(아릴), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, $-NHC(=O)NH_2$, -NHC(=O)NH(알킬), $-NHC(=O)N(알킬)_2$, 및 $-NHC(=NH)NH_2$이다. C_1-C_4 알킬, 시아노, 니트로, 할로, 및 C_1-C_4알콕시가 특히 바람직하다.

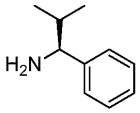
[0068] "C_1-C_5 알킬" 또는 "5 내지 10%"에서와 같이 범위가 언급된 경우에, 이러한 범위는 첫 번째 경우에서는 C_1 및 C_5 및 두 번째 경우에서는 5% 및 10%에서와 같은 범위의 종점을 포함한다.

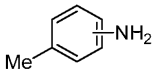
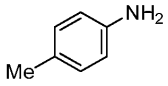
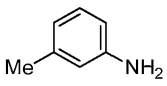
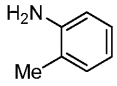
[0069] 특정한 입체이성질체가 구체적으로 (예를 들어, 구조 화학식에서의 관련 입체중심에서 굵은선 또는 파선 결합에 의해, 구조 화학식에서 E 또는 Z 배위를 갖는 것으로서의 이중 결합의 도시에 의해, 또는 입체화학-지정 명명법 사용에 의해) 나타내지 않는 한, 모든 입체이성질체는 순수한 화합물뿐만 아니라 그의 혼합물로서, 본 발명의 범주 내에 포함된다. 달리 나타내지 않는 한, 개별 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 기하 이성질체, 및 그의 조합 및 혼합물은 모두 본 발명에 의해 포괄된다.

[0070] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 화합물이 구조 화학식에 도시된 것들과 등가인 호변이성질체 형태 (예를 들어, 케토 및 엔올 형태), 공명 형태, 및 쯔비터이온 형태를 가질 수 있고, 구조 화학식이 이러한 호변이성질체, 공명, 또는 쯔비터이온 형태를 포괄한다는 것을 인지할 것이다.

[0071] "제약상 허용되는 에스테르"는 생체내에서 (예를 들어 인간 신체에서) 가수분해되어 모 화합물 또는 그의 염을 생산하거나, 또는 그 자체로 모 화합물의 것과 유사한 활성을 갖는 에스테르를 의미한다. 적합한 에스테르는 C_1-C_5 알킬, C_2-C_5 알케닐 또는 C_2-C_5 알키닐 에스테르, 특히 메틸, 에틸 또는 n-프로필을 포함한다.

[0072] "제약상 허용되는 염"은 제약 제제에 적합한 화합물의 염을 의미한다. 화합물이 1개 이상의 염기성 기를 갖는 경우에, 염은 산 부가염, 예컨대 술페이트, 히드로브로마이드, 타르트레이트, 메실레이트, 말레에이트, 시트레이트, 포스페이트, 아세테이트, 파모에이트 (엠보네이트), 히드로아이오다이드, 니트레이트, 히드로클로라이드, 락테이트, 메틸술페이트, 푸마레이트, 벤조에이트, 숙시네이트, 메실레이트, 락토비오네이트, 수베레이트, 토실레이트 등일 수 있다. 화합물이 1개 이상의 산성 기를 갖는 경우에, 염은 칼슘 염, 칼륨 염, 마그네슘 염, 메글루민 염, 암모늄 염, 아연 염, 피페라진 염, 트로메타민 염, 리튬 염, 콜린 염, 디에틸아민 염, 4-페닐시클로헥실아민 염, 벤자틴 염, 나트륨 염, 테트라메틸암모늄 염 등과 같은 염일 수 있다. 다형성 결정질 형태 및 용매화물은 본 발명의 범주 내에 또한 포괄된다.

[0073] 본 명세서의 화학식에서, 결합을 가로지르는 파상선 (〰) 또는 결합의 말단에서의 별표 (*)는 공유 부착 부위를 나타낸다. 예를 들어, 화학식 에서 R이 이거나 또는 R이 라는 언급은  를 의미한다.

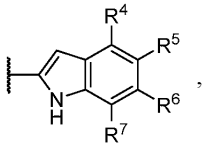
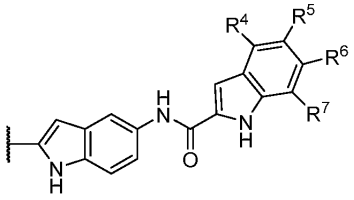
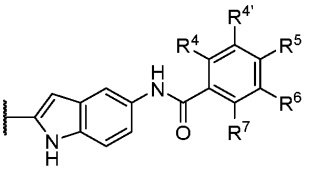
[0074] 본 명세서의 화학식에서, 방향족 고리를 그의 2개의 탄소 사이에서 가로지르는 결합은 결합에 부착된 기가 방향족 고리의 임의의 이용가능한 위치에 위치할 수 있음을 의미한다. 예시로서, 화학식  는  ,  , 또는  를 나타낸다.

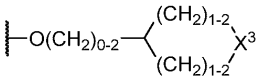
[0075] 세코-CPI 화합물

[0076] 이들 변수가 존재하는 화학식 (I) 및 다른 화학식에서, 하기 바람직한 실시양태는 문맥이 상이한 바람직한 실시양태를 나타내지 않는 한, 개별적으로 또는 다른 바람직한 실시양태와 조합하여 적용되거나 또는 바람직한 실시양태의 조합이 적용 가능하다:

[0077] (i) Hal은 Cl임.

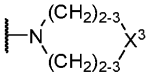
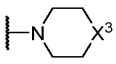
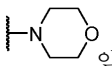
[0078] (ii) R^2는 H임.

[0079] (iii) R^3은  ,  , 또는  임.

[0080] (iv) R^5는 OMe, OH, 페닐, NH_2, NHMe, NMe_2, $NH(C_2-C_4$ 알킬), $N(C_2-C_4$ 알킬$)_2$, $NHC(=O)X^1$, $O(C_2-C_4$ 알킬), $O(CH_2)_{0-2}(C_3-C_6$ 시클로알킬), $O(CH_2)_{0-2}X^1$, 또는  이며;

[0081] 여기서 C_2-C_4 알킬 기는 비치환되거나 또는 OCH_2CH_2OH, $OCH_2CH_2NH_2$, $NHCH_2CH_2OH$, $NHCH_2CH_2NH_2$, OH, 또는 NH_2로 치환될 수 있고, 페닐 기는 C_1-C_2 알킬, OH, NH_2, $NH(C_1-C_2$ 알킬), $N(C_1-C_2$ 알킬$)_2$, F, Cl, Br, NO_2, 또는 CN으로 치환될 수 있음;

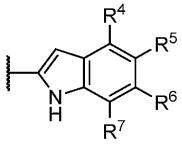
[0082] (즉, R^5는 H 이외의 것인 R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 또는 R^7 중 하나임).

[0083] (v) R^1은  이고, 보다 바람직하게는  이고, 가장 바람직하게는  임.

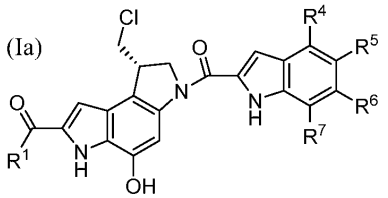
[0084] (vi) R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 및 R^7 중 3개 이하, 보다 바람직하게는 2개 이하는 H 이외의 것임.

[0085] (vii) X^1 내의 아릴 또는 헤테로아릴 기는 페닐, 피롤릴, 푸라닐, 티에닐, 이미다졸릴, 피라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 피리딜, 피리다지닐, 또는 피라지닐이고; 보다 바람직하게는 페닐, 특히 NH_2 또는 OH로 치환된 페닐임.

[0086] (viii) R^1이 인 경우에, 적어도 1개의 X^2는 H 이외의 것임.

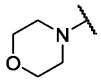
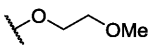
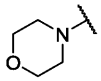
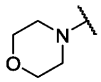
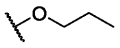
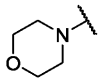
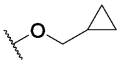
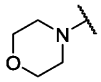
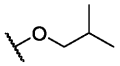
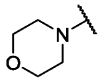
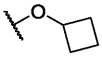
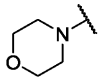
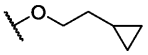
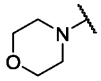
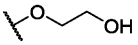
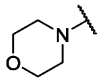
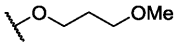
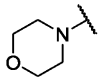
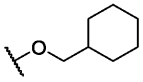
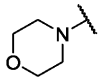
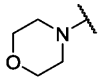
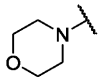
[0087] 상기 바람직한 것 (iii)에 대해, R^3은 보다 바람직하게는  이고, 보다 더 바람직하게는 여기서 각각의 R^4, R^6, 및 R^7은 H이다.

[0088] 본 발명의 바람직한 측면에서, 화학식 (I)에 따른 화합물은 하기 화학식 (Ia)에 의해 나타내어지는 구조를 갖고, 여기서 R^1, R^4, R^5, R^6, 및 R^7은 상기 발명의 간단한 개요 섹션에서 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같다.

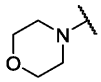
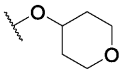
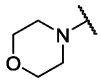
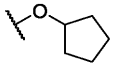
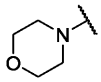
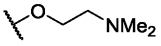
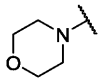
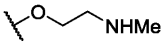
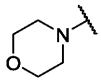
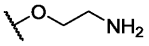
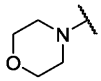
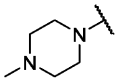
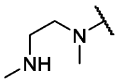
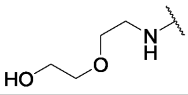
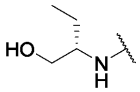
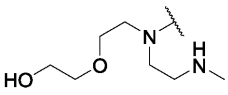
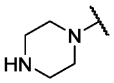
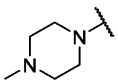
[0089] 

[0090] 화학식 (Ia)에 따른 화합물의 예는 표 I에 열거되어 있고, 여기서 달리 언급되지 않는 한, R^4, R^6, 및 R^7 각각은 H이다.

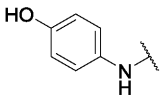
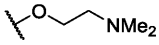
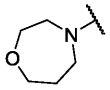
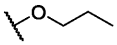
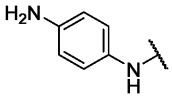
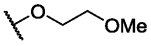
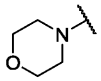
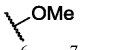
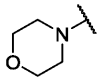
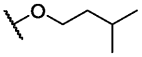
표 I - 화학식 (Ia)에 따른 화합물

화합물 번호	R^1	R^5
Ia-01		
Ia-02		
Ia-03		
Ia-04		
Ia-05		
Ia-06		
Ia-07		
Ia-08		
Ia-09		
Ia-10		
Ia-11		
Ia-12		
Ia-13		

[0091]

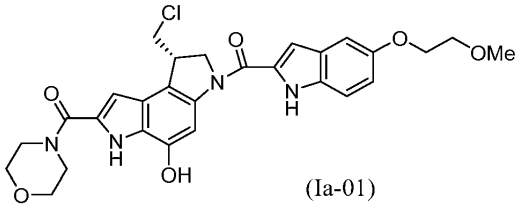
표 I - 화학식 (Ia)에 따른 화합물		
화합물 번호	R^1	R^5
Ia-14		
Ia-15		
Ia-16		
Ia-17		
Ia-18		
Ia-19		
Ia-20		
Ia-21		
Ia-22		
Ia-23		
Ia-24		
Ia-25		
Ia-26		

[0092]

표 I - 화학식 (Ia)에 따른 화합물		
화합물 번호	R^1	R^5
Ia-27		
Ia-28		
Ia-29		
Ia-30		 (R^4 = H, R^6 = R^7 = OMe)
Ia-31		

[0093]

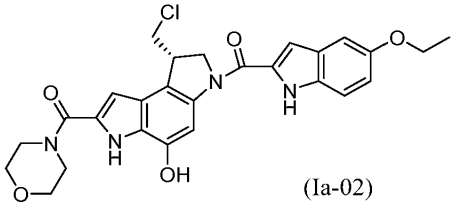
[0094] 바람직한 세코-CPI 화합물은 (Ia-01)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.



(Ia-01)

[0095]

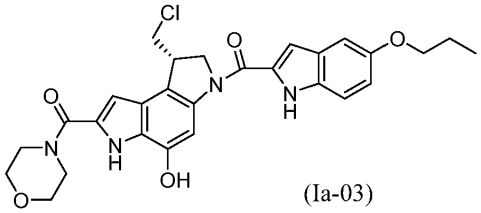
[0096] 바람직한 세코-CPI 화합물은 (Ia-02)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.



(Ia-02)

[0097]

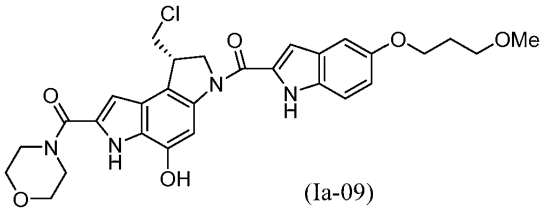
[0098] 바람직한 세코-CPI 화합물은 (Ia-03)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.



(Ia-03)

[0099]

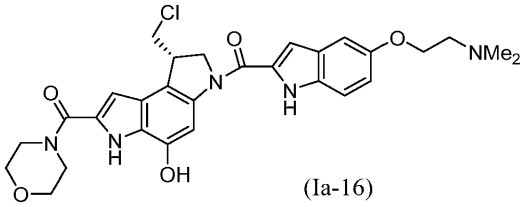
[0100] 바람직한 세코-CPI 화합물은 (Ia-09)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.



(Ia-09)

[0101]

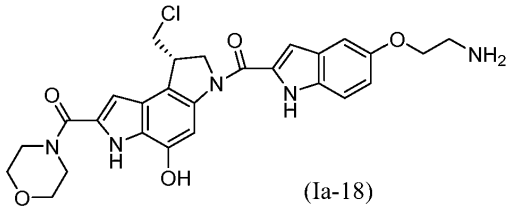
[0102] 바람직한 세코-CPI 화합물은 (Ia-16)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.



(Ia-16)

[0103]

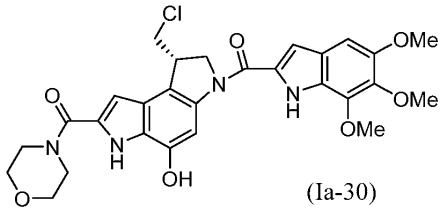
[0104] 바람직한 세코-CPI 화합물은 (Ia-18)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.



(Ia-18)

[0105]

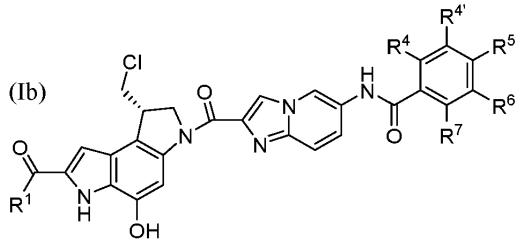
[0106] 바람직한 세코-CPI 화합물은 (Ia-30)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.



(Ia-30)

[0107]

[0108] 화학식 (I)에 따른 화합물의 또 다른 바람직한 실시양태는 하기 화학식 (Ib)에 의해 나타내어지는 구조를 갖고, 여기서 R^1, R^4, R^5, R^6, 및 R^7은 상기 발명의 간단한 개요 섹션에서 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같다.

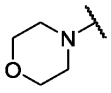
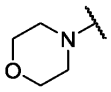
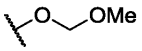


(Ib)

[0109]

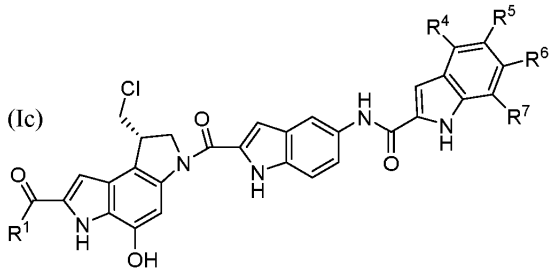
[0110] 화학식 (Ib)에 따른 화합물의 예는 표 II에 열거되어 있다 (R^4, $R^{4'}$, R^6, 및 R^7 각각은 H임).

표 II - 화학식 (Ib)에 따른 화합물

화합물 번호	R^1	R^5
Ib-01		
Ib-02		

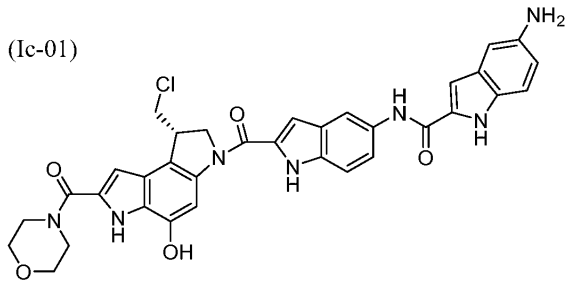
[0111]

[0112] 화학식 (I)에 따른 화합물의 또 다른 바람직한 실시양태는 하기 화학식 (Ic)에 의해 나타내어지는 구조를 갖고, 여기서 R^1, R^4, R^5, R^6, 및 R^7은 상기 발명의 간단한 개요 섹션에서 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같다.



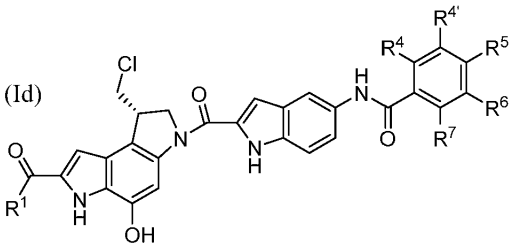
[0113]

[0114] 화합물 (Ic)의 예는 화합물 (Ic-01)이다.



[0115]

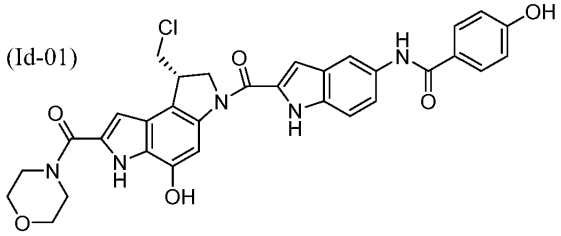
[0116] 화합물 (I)의 또 다른 실시양태는 하기 화학식 (Id)에 의해 나타내어지는 구조를 갖고, 여기서 R^1, R^4, $R^{4'}$, R^5, R^6, 및 R^7은 상기 발명의 간단한 개요 섹션에서 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같다.



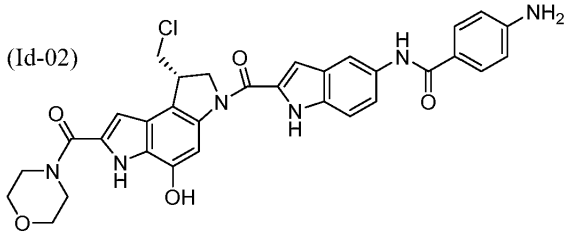
[0117]

[0118] 화합물 (Id)의 예는 (Id-01) 및 (Id-02)이다.

(Id-01)

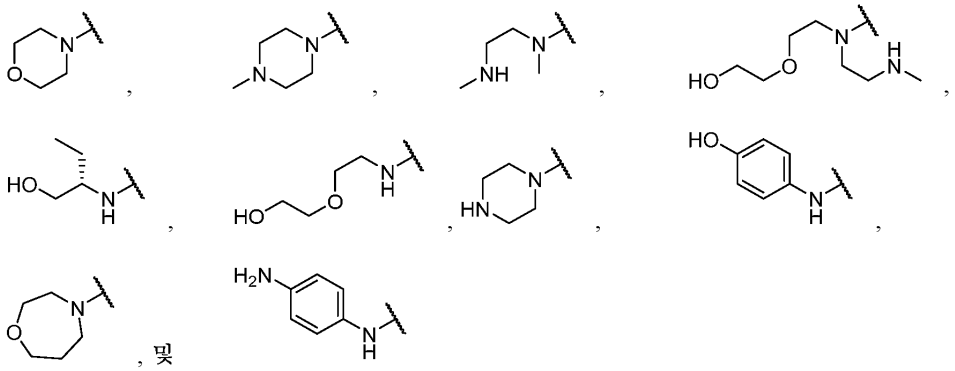


(Id-02)



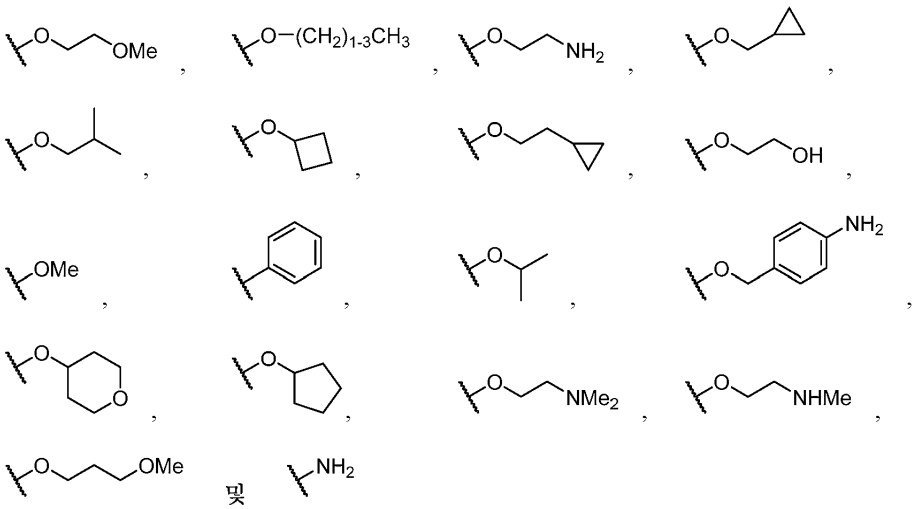
[0119]

[0120] R^1의 구체적인 바람직한 실시양태는



이고;

[0121] R^5의 구체적인 바람직한 실시양태는



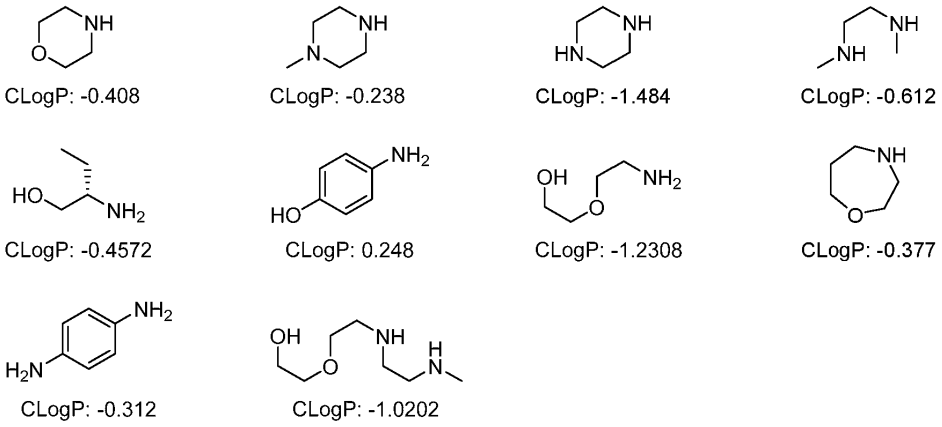
이다.

[0122] 이론에 얽매이지는 않지만, 본 발명의 R^1 기는 친수성이고 유리하게는 그의 특성을 개선시키는 것으로 여겨진다. 낮은 CLogP R^1 기를 갖는 것은 그것이 세코-CPI 화합물 및 그의 링커 구축물의 수용해도를 증가시키기 때문에 유리할 수 있다. 하기 실시예 1 및 2에 언급된 바와 같이, 항체에의 접합은 본질적으로 수성 매질에서 수행되고, 보다 가용성인 세코-CPI 화합물-링커 화합물이 보다 효율적으로 접합될 수 있다. 또한, 세코-CPI 화합물을 혈액으로 방출하는 ADC의 의도치 않은 조기 절단의 경우에, 증가된 친수성은 화합물이 세포 막을 통하여 투과하

고 오프-타겟 독성을 유발할 가능성을 감소시킨다. (세포로의 ADC의 진입은 상이한 과정: 항체의 그의 항원에의 결합에 의해 촉발되는 세포내이입에 의한 것이다).

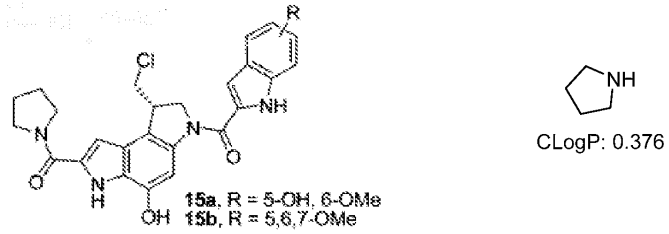
[0123] 각각의 기 R^1의 개방 원자가 - 예를 들어 표 I 참조 -는 질소에 있고, 이에 따라 그것은 세코-CPI 코어의 카르복실 기와 아미드 결합을 형성한다. 그의 친수성은 상응하는 아민 R^1H의 친수성을 통해 추정될 수 있다.

[0124] 화합물의 친수성 (또는 반대로 소수성)은 그의 구조로부터 계산할 수 있는 값인 그의 CLogP로부터 추정될 수 있다: 보다 낮은 값이 보다 소수성인 분자를 나타내는 반면, 보다 높은 값이 보다 친수성인 분자를 나타낸다. 표 I에서 R^1 기에 상응하는 아민 R^1H에 대한 CLogP 값은 하기 나타내어진다. CLogP 값은 모두 0.300 미만이며, -1.484 내지 0.248의 범위이다. (CLogP 값을 퍼킨엘머(PerkinElmer)로부터의 켐바이오드로우(CHEMBIODRAW)® 울트라 소프트웨어 (버전 14.0.0.126)를 사용하여 계산하였다. 동일한 소프트웨어를 사용하여 본 명세서에서 다른 곳에 언급된 CLogP 값을 계산하였다.)



[0125]

[0126] 비교를 위해, 문헌 [Tichenor et al. 2007]은 세코-CPI 코어에 부착된 피롤로디닐 아미드를 갖는 화합물 15a 및 15b를 개시하지만, 상응하는 아민 (피롤린)의 CLogP 값은 현저하게 더 높은, 0.376이다.



[0127]

[0128] 따라서, 한 실시양태에서, 기 R^1은 그의 상응하는 아민 R^1H가 상기 언급된 켐바이오드로우™ 소프트웨어를 사용하여 계산 시에 0.300 미만의 CLogP 값을 갖는 것이다.

[0129] 접합체

[0130] 일반사항

[0131] 본 발명의 세코-CPI 화합물은 그 자체로 치료제로서 사용될 수 있지만, 바람직하게는 접합체로 사용된다. 보다 바람직하게는, 접합체에서 표적화 모이어티는 항체 또는 그의 항원 결합 부분이고 그의 항원은 종양 연관 항원 즉, 암 세포에 의해 발현된 것이다. 바람직하게는, 종양 연관 항원은 정상 세포와 비교하여, 암 세포에 의해 고유하게 발현되거나 과다발현된 것이다. 종양 연관 항원은 암 세포의 표면에 위치하거나 또는 암 세포에 의해 그의 주위에 분비될 수 있다.

[0132] 따라서, 본 발명의 또 다른 실시양태는 하기 화학식 (II)에 의해 나타내어지는, 본 발명의 세코-CPI 화합물 및 리간드를 포함하는 접합체이다.

[0133] $[D(X^D)_a(C)_c(X^Z)_b]_mZ$ (II)

[0134] 여기서 Z는 표적화 모이어티이고, D는 본 발명의 세코-CPI 화합물이고, $-(X^D)_aC(X^Z)_b-$는 그들이 Z 및 D를 연결시키기 때문에 집합적으로 "링커 모이어티" 또는 "링커"로 지칭된다. 링커 내에서, C는 D의 의도된 생물학적 작용 부위에서 또는 그 근처에서 절단되도록 설계된 절단가능한 기이고; X^D 및 X^Z는 각각 D와 C 및 C와 Z를 이격시키는 스페이서 모이어티 (또는 "스페이서")이고; 아래첨자 a, b, 및 c는 독립적으로 0 또는 1이다 (즉, X^D, X^Z, 및 C의 존재는 임의적임). 아래첨자 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 (바람직하게는 1, 2, 3, 또는 4)이다. D, X^D, C, X^Z, 및 Z는 하기에 보다 완전히 기재되어 있다.

[0135] 항원 또는 수용체가 위치하는 표적 조직 또는 세포에 결합함으로써, Z는 그곳에서 접합체를 유도한다. 표적 조직 또는 세포에서의 기 C의 절단은 D를 방출시켜 그의 세포독성 효과를 국부로 표출한다. 일부 경우에, 접합체는 세포내이입에 의해 표적 세포에 내재화되고, 절단은 표적 세포 내에서 일어난다. 이러한 방식으로, D의 정밀한 전달이 의도된 작용 부위에서 달성되어, 필요한 투여량이 감소된다. 또한, D는 그의 접합된 상태에서 통상적으로 생물학적으로 불활성 (또는 유의하게 덜 활성)이고, 그에 의해 비-표적 조직 또는 세포에 대한 목적하지 않는 독성이 감소된다.

[0136] 아래첨자 m에 의해 반영되는 바와 같이, 각각의 Z는 접합에 이용가능한 부위 Z의 개수 및 사용되는 실험 조건에 따라 하나 초과의 D와 접합될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 각각의 개별 Z가 정수개의 D에 접합되며, 접합체의 제조가 통계적 평균을 반영하여 비-정수 비의 D 대 Z에 대해 분석될 수 있음을 인지할 것이다. 이 비는 치환 비 ("SR")로서, 또는 약물-항체 비 ("DAR")로서 지칭된다.

[0137] 표적화 모이어티 Z

[0138] 바람직하게는, 표적화 모이어티 Z는 항체이다. 편의성 및 간결성을 위해 및 비제한적으로, Z 및 그의 접합체에 대한 본 명세서의 상세한 논의는 그것이 항체와 관련하여 기록되어 있지만, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 필요한 변경을 가하여 다른 유형의 Z가 접합될 수 있음을 이해할 것이다. 예를 들어, 표적화 모이어티로서의 폴산과의 접합체는 그의 표면 상에 폴레이트 수용체를 갖는 세포를 표적화할 수 있다 (Leamon et al., Cancer Res. 2008, 68 (23), 9839). 동일한 이유로, 본 명세서의 상세한 논의는 주로 1:1 비의 Z 대 D (m = 1)의 관점에서 기록되어 있다.

[0139] 바람직하게는, Z는 암 세포의 선택적 표적화를 가능하게 하는, 종양 연관 항원에 대한 항체이다. 이러한 항원의 예는 메소텔린, 전립선 특이적 막 항원 (PSMA), CD19, CD22, CD30, CD70, B7H3, B7H4 (O8E로도 또한 공지됨), 단백질 티로신 키나제 7 (PTK7), 글리피칸-3, RG1, 푸코실-GM1, CTLA-4, 및 CD44를 포함한다. 항체는 동물 (예를 들어, 뮤린), 키메라, 인간화, 또는 바람직하게는, 인간일 수 있다. 항체는 바람직하게는 모노클로날, 특히 모노클로날 인간 항체이다. 상기 언급된 항원 중 일부에 대한 인간 모노클로날 항체의 제조는 문헌 [Korman et al., US 8,609,816 B2 (2013; B7H4, O8E로도 또한 공지됨; 특히 항체 2A7, 1G11, 및 2F9); Rao-Naik et al., 8,097,703 B2 (2012; CD19; 특히 항체 5G7, 13F1, 46E8, 21D4, 21D4a, 47G4, 27F3, 및 3C10); King et al., US 8,481,683 B2 (2013; CD22; 특히 항체 12C5, 19A3, 16F7, 및 23C6); Keler et al., US 7,387,776 B2 (2008; CD30; 특히 항체 5F11, 2H9, 및 17G1); Terrett et al., US 8,124,738 B2 (2012; CD70; 특히 항체 2H5, 10B4, 8B5, 18E7, 및 69A7); Korman et al., US 6,984,720 B1 (2006; CTLA-4; 특히 항체 10D1, 4B6, 및 1E2); Vistica et al., US 8,383,118 B2 (2013, 푸코실-GM1, 특히 항체 5B1, 5B1a, 7D4, 7E4, 13B8, 및 18D5); Korman et al., US 8,008,449 B2 (2011; PD-1; 특히 항체 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 4A11, 7D3, 및 5F4); Huang et al., US 2009/0297438 A1 (2009; PSMA. 특히 항체 1C3, 2A10, 2F5, 2C6); Cardarelli et al., US 7,875,278 B2 (2011; PSMA; 특히 항체 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5, 및 1C3); Terrett et al., US 8,222,375 B2 (2012; PTK7; 특히 항체 3G8, 4D5, 12C6, 12C6a, 및 7C8); Terrett et al., US 8,680,247 B2 (2014; 글리피칸-3; 특히 항체 4A6, 11E7, 및 16D10); Harkins et al., US 7,335,748 B2 (2008; RG1; 특히 항체 A, B, C, 및 D); Terrett et al., US 8,268,970 B2 (2012; 메소텔린; 특히 항체 3C10, 6A4, 및 7B1); Xu et al., US 2010/0092484 A1 (2010; CD44; 특히 항체 14G9.B8.B4, 2D1.A3.D12, 및 1A9.A6.B9); Deshpande et al., US 8,258,266 B2 (2012; IP10; 특히 항체 1D4, 1E1, 2G1, 3C4, 6A5, 6A8, 7C10, 8F6, 10A12, 10A12S, 및 13C4); Kuhne et al., US 8,450,464 B2 (2013; CXCR4; 특히 항체 F7, F9, D1, 및 E2); 및 Korman et al., US 7,943,743 B2 (2011; PD-L1; 특히 항체 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7, 및 13G4)]에 개시되어 있으며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0140] 항체인 것뿐만 아니라, Z는 또한 항체 단편 (예컨대 Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fd, 또는 Fv) 또는 항체 모방체, 예컨

대 아피바디, 도메인 항체 (dAb), 나노바디, 유니바디, DARPin, 안티칼린, 베르사바디, 듀오칼린, 리포칼린, 또는 아비머일 수 있다.

[0141] Z 상의 여러 상이한 반응성 기 중 임의의 1개는 리신 잔기 내의 ε-아미노 기, 펜던트 탄수화물 모이어티, 아스파르트산 또는 글루탐산 측쇄 상의 카르복실산 기, 시스테인-시스테인 디술피드 기, 및 시스테인 티올 기를 포함한 접합 부위일 수 있다. 접합에 적합한 항체 반응성 기에 대한 보고에 대해, 예를 들어 문헌 [Garnett, Adv. Drug Delivery Rev. 2001, 53, 171-216 및 Dubowchik and Walker, Pharmacology & Therapeutics 1999, 83, 67-123]을 참조하며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0142] 대부분의 항체는 다중 리신 잔기를 가지며, 이는 아미드, 우레아, 티오우레아, 또는 카르바메이트 결합을 통해 그의 ε-아미노 기를 통해 접합될 수 있다.

[0143] 또 다른 실시양태에서, 많은 항체가 글리코실화되는 것과 같이, Z는 탄수화물 측쇄를 통해 접합될 수 있다. 탄수화물 측쇄는 퍼아이오데이트를 사용하여 산화되어 알데히드 기를 생성시킬 수 있고, 이는 차례로 아민과 반응하여 세미카르바존, 옥심 또는 히드라존에서와 같이 이민 기를 형성할 수 있다. 원하는 경우에, 이민 기는 소듐 시아노보로히드라이드를 사용한 환원에 의해 보다 안정한 아민 기로 전환될 수 있다. 탄수화물 측쇄를 통한 접합에 관한 추가의 개시내용에 대해, 예를 들어 문헌 [Rodwell et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83, 2632-2636 (1986)]을 참조하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0144] 또 다른 실시양태에서, Z는 예를 들어 카르보히드라지드로의 전환에 의해 (이는 이어서 알데히드-보유 링커와 반응함), 아스파르트산 또는 글루탐산 측쇄 카르복실산을 통해 접합될 수 있다. 문헌 [Fisch et al., Bioconjugate Chemistry 1992, 3, 147-153]을 참조한다.

[0145] 시스테인의 측쇄 내의 티올 (-SH) 기는 여러 방법에 의해 접합체를 형성하는 데 사용될 수 있다. 그것을 사용하여 그것과 링커 상의 티올 기 사이에 디술피드 결합을 형성할 수 있다. 또 다른 방법은 링커 상의 말레이미드 기로의 그의 마이클(Michael) 첨가를 통한 것이다.

[0146] 전형적으로, 항체가 시스테인 잔기를 가지고 있을지라도, 항체는 모든 그의 시스테인이 쇄내 또는 쇄간 디술피드 결합에 관여되기 때문에 유리 티올 기가 결핍되어 있다. 유리 티올 기를 생성하기 위해, 천연 디술피드 기가 환원될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Packard et al., Biochemistry 1986, 25, 3548; King et al., Cancer Res. 1994, 54, 6176; 및 Doronina et al., Nature Biotechnol. 2003, 21, 778]을 참조한다. 대안적으로, 유리 -SH 기를 갖는 시스테인은 항체를 돌연변이시키거나, 시스테인을 또 다른 아미노산으로 대체하거나, 또는 하나를 폴리펩티드 쇄로 삽입시키는 것에 의해 도입될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Eigenbrot et al., US 7,521,541 B2 (2009); Chilkoti et al., Bioconjugate Chem. 1994, 5, 504; Urnovitz et al., US 4,698,420 (1987); Stimmel et al., J. Biol. Chem. 2000, 275, 30445; Bam et al., US 7,311,902 B2 (2007); Kuan et al., J. Biol. Chem. 1994, 269, 7610; Poon et al., J. Biol. Chem. 1995, 270, 8571; Junutula et al., Nature Biotechnology 2008, 26, 925 및 Rajpal et al., US 가출원 번호 62/270245 (2015년 12월 21일에 출원됨)]을 참조한다. 또 다른 접근법에서, 시스테인은 중쇄 또는 경쇄의 C-말단에 부가된다. 예를 들어, 문헌 [Liu et al., US 8,865,875 B2 (2014); Cumber et al., J. Immunol. 1992, 149, 120; King et al., Cancer Res. 1994, 54, 6176; Li et al., Bioconjugate Chem. 2002, 13, 985; Yang et al., Protein Engineering 2003, 16, 761; 및 Olafson et al., Protein Engineering Design & Selection 2004, 17, 21]을 참조한다. 본 단락에 인용된 문헌의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0147] 링커 및 그의 성분

[0148] 상기 기재된 바와 같이, 링커는 3개 이하의 성분: 절단가능한 기 C 및 임의적인 스페이서 X^Z 및 X^D를 포함한다.

[0149] 기 C는 생리학적 조건 하에 절단가능하다. 바람직하게는 그것은 접합체가 혈액에서 순환하는 동안 비교적 안정하지만, 접합체가 표적 세포 근처의, 그곳에 있는 또는 그 내부에 있는 그의 의도하는 작용 부위에 도달했을 때 용이하게 절단된다. 바람직하게는, 접합체는 표적 세포의 표면 상에 나타난 항원에의 항체 Z의 결합 시에 표적 세포에 의해 내재화된다. 후속적으로, C의 절단이 표적 세포의 소포체 (초기 엔도솜, 후기 엔도솜, 또는 특히 리소솜)에서 발생한다.

[0150] 한 실시양태에서, C는 pH 감수성 기이다. 혈장 내의 pH는 중성을 약간 초과하며, 리소솜 내부의 pH는 약 5인 산성이다. 따라서, 산-감수성 C는 혈액에서보다 리소솜 내부에서 여러 자릿수 더 빠른 속도로 절단될 것이다. 산-감수성 기의 예는 문헌 [Shen et al., US 4,631,190 (1986); Shen et al., US 5,144,011 (1992); Shen et

al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 1981, 102, 1048; 및 Yang et al., Proc. Natl Acad. Sci (USA) 1988, 85, 1189]에 기재된 바와 같은 시스-아코니틸 아미드 및 히드라존이며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0151] 또 다른 실시양태에서, C는 디술피드이다. 디술피드는 티올-디술피드 교환 메카니즘에 의해, 주위 티올 농도에 의존성인 속도로 절단될 수 있다. 글루타티온 및 다른 티올의 세포내 농도는 그의 혈청 농도보다 더 높기 때문에, 디술피드의 절단 속도는 세포내에서 보다 높을 것이다. 추가로, 티올-디술피드 교환의 속도는 디술피드의 입체 및 전자 특징의 조정 (예를 들어, 알킬-아릴 디술피드 대 알킬-알킬 디술피드; 아릴 고리 상에서의 치환 등)에 의해 조정될 수 있으며, 이는 증진된 혈청 안정성 또는 특정한 절단 속도를 갖는 디술피드 연결의 설계를 가능하게 한다. 예를 들어, 문헌 [Thorpe et al., Cancer Res. 2008, 48, 6396-6403; Santi et al., US 7,541,530 B2 (2009); Ng et al., US 6,989,452 B2 (2006); Ng et al., WO 2002/096910 A1; Boyd et al., US 7,691,962 B2 (2010); 및 Sufi et al., US 8,461,117 B2 (2013)]을 참조하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0152] 바람직한 기 C는, 혈청 내의 프로테아제에 의한 것과 대조적으로, 표적 세포 내부의 프로테아제에 의해 선택적으로 절단되는 펩티드이다. 전형적으로, 펩티드는 1 내지 20개의 아미노산, 바람직하게는 1 내지 6개의 아미노산, 보다 바람직하게는 2 내지 3개의 아미노산을 포함한다. 아미노산(들)은 천연 및/또는 비-천연 α-아미노산일 수 있다. 천연 아미노산은 유전자 코드에 의해 코딩되는 것들, 뿐만 아니라 그로부터 유래된 아미노산, 예를 들어 히드록시프롤린, γ-카르복시글루타메이트, 시트룰린, 및 O-포스포세린이다. 본 명세서에서, 용어 "아미노산"은 또한 아미노산 유사체 및 모방체를 포함한다. 유사체는 R 기가 천연 아미노산 중에서 발견되는 것이 아닌 것을 제외하고는, 천연 아미노산의 동일한 일반적 $H_2N(R)CHCO_2H$ 구조를 갖는 화합물이다. 유사체의 예는 호모세린, 노르류신, 메티오닌-술폭시드, 및 메티오닌 메틸 술포늄을 포함한다. 아미노산 모방체는 α-아미노산의 일반적 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만, 그와 유사한 방식으로 기능하는 화합물이다. 아미노산은 유전자 코딩된 아미노산의 "L" 입체화학, 뿐만 아니라 거울상이성질체 "D" 입체화학의 것일 수 있다.

[0153] 바람직하게는, C는 프로테아제에 대한 절단 인식 서열인 아미노산 서열을 함유한다. 많은 절단 인식 서열이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어 문헌 [Matayoshi et al. Science 247: 954 (1990); Dunn et al. Meth. Enzymol. 241: 254 (1994); Seidah et al. Meth. Enzymol. 244: 175 (1994); Thornberry, Meth. Enzymol. 244: 615 (1994); Weber et al. Meth. Enzymol. 244: 595 (1994); Smith et al. Meth. Enzymol. 244: 412 (1994); 및 Bouvier et al. Meth. Enzymol. 248: 614 (1995)]을 참조하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0154] 세포에 의해 내재화되도록 의도되지 않은 접합체의 경우, 기 C는 암의 부근에서 세포외 매트릭스에 존재하는 프로테아제, 예를 들어 근처의 사멸 중인 암 세포에 의해 방출되는 프로테아제 또는 암 세포에 의해 분비되는 종양-연관 프로테아제에 의해 절단되도록 선택될 수 있다. 예시적인 세포외 종양-연관 프로테아제는 플라스민, 매트릭스 메탈로프로테아제 (MMP), 티메트 올리고펩티다제 (TOP) 및 CD10이다. 예를 들어, 문헌 [Trouet et al., US 7,402,556 B2 (2008); Dubois et al., US 7,425,541 B2 (2008); 및 Bebbington et al., US 6,897,034 B2 (2005)]을 참조한다.

[0155] 세포에 의해 내재화되도록 설계된 접합체의 경우, C는 바람직하게는 엔도솜 또는 리소솜 프로테아제, 특히 후자에 의한 절단을 위해 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 이러한 프로테아제의 비제한적 예는 카텝신 B, C, D, H, L 및 S, 특히 카텝신 B를 포함한다. 예시적인 카텝신 B 절단가능한 펩티드는 Val-Ala, Val-Cit, Val-Lys, Lys-Val-Ala, Asp-Val-Ala, Val-Ala, Lys-Val-Cit, Ala-Val-Cit, Val-Gly, Val-Gln, 및 Asp-Val-Cit를 포함한다. (본원에서, 아미노산 서열은 문맥이 달리 명백하게 나타내지 않는 한, H_2N-AA^2-AA^1-CO_2H에서와 같이 N에서 C 방향으로 기록되어 있음.) 문헌 [Dubowchik et al., Biorg. Med. Chem. Lett. 1998, 8, 3341; Dubowchik et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 1998, 8, 3347; 및 Dubowchik et al., Bioconjugate Chem. 2002, 13, 855]을 참조하며; 그의 개시내용은 참조로 포함된다.

[0156] 펩티딜 링커를 절단하기 위해 이용될 수 있는 또 다른 효소는 Ala-Ala-Asn에서 우선적으로 절단하는 리소솜 시스테인 프로테아제인 레구마인이다.

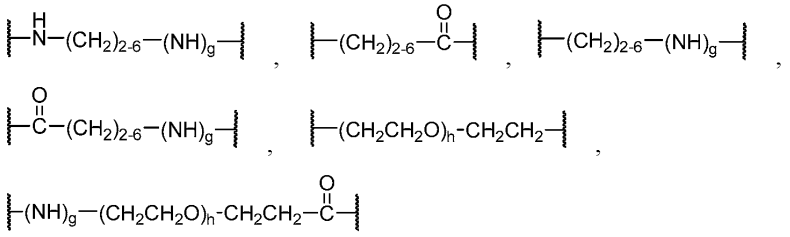
[0157] 한 실시양태에서, 기 C는 2개-아미노산 서열 -AA^2-AA^1- (여기서 AA^1은 리신, 아르기닌, 또는 시트룰린이고, AA^2는 페닐알라닌, 발린, 알라닌, 류신, 또는 이소류신임)을 포함하는 펩티드이다. 또 다른 실시양태에서, C는 Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Cit-Cit, Val-Lys, Ala-Ala-Asn, Lys,

Cit, Ser, 및 Glu로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 3개의 아미노산의 서열로 이루어진다. 보다 바람직하게는, 그것은 상기 군으로부터의 2 내지 3개의 아미노산 펩티드이다.

[0158] 단일 아미노산으로 이루어진 절단가능한 기 C의 제조 및 설계는 문헌 [Chen et al., US 8,664,407 B2 (2014)]에 개시되어 있으며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

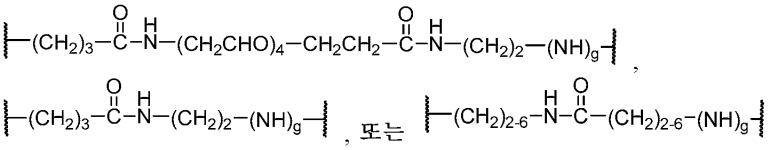
[0159] 기 C는 Z 또는 D에 직접 결합될 수 있으며; 즉, 스페이서 X^Z 및 X^D는, 경우에 따라, 부재할 수 있다.

[0160] 존재하는 경우에, 스페이서 X^Z는 C와 Z 사이의 공간적 분리를 제공하여, 전자가 후자에 의한 항원 결합을 입체적으로 방해하거나 또는 후자가 전자의 절단을 입체적으로 방해하지 않도록 한다. 추가로, 스페이서 X^Z는 상승된 용해도 또는 감소된 응집 특성을 접합체에 부여하는 데 사용될 수 있다. 스페이서 X^Z는 1개 이상의 모듈 세그먼트를 포함할 수 있으며, 이는 임의의 수의 조합으로 조립될 수 있다. 스페이서 X^Z에 대한 적합한 세그먼트의 예는



[0161] , 및 그의 조합이며,

[0162] 여기서 아래첨자 g는 0 또는 1이고, 아래첨자 h는 1 내지 24, 바람직하게는 2 내지 4이다. 이들 세그먼트는 하기 예시된 바와 같이 조합될 수 있다.



[0163] , 또는 .

[0164] 존재하는 경우에, 스페이서 X^D는 C와 D 사이의 공간적 분리를 제공하여, 후자가 전자의 절단을 입체적으로 또는 전자적으로 방해하지 않도록 한다. 스페이서 X^D는 또한 추가의 분자 질량 및 화학적 관능기를 접합체에 도입하도록 기능할 수 있다. 일반적으로, 추가의 질량 및 관능기는 접합체의 혈청 반감기 및 다른 특성에 영향을 미칠 것이다. 따라서, 스페이서 기의 신중한 선택을 통해, 접합체의 혈청 반감기는 조정될 수 있다. 스페이서 X^D는 또한 스페이서 X^Z에 대한 상기 기재와 유사하게, 모듈화된 세그먼트로부터 조립될 수 있다.

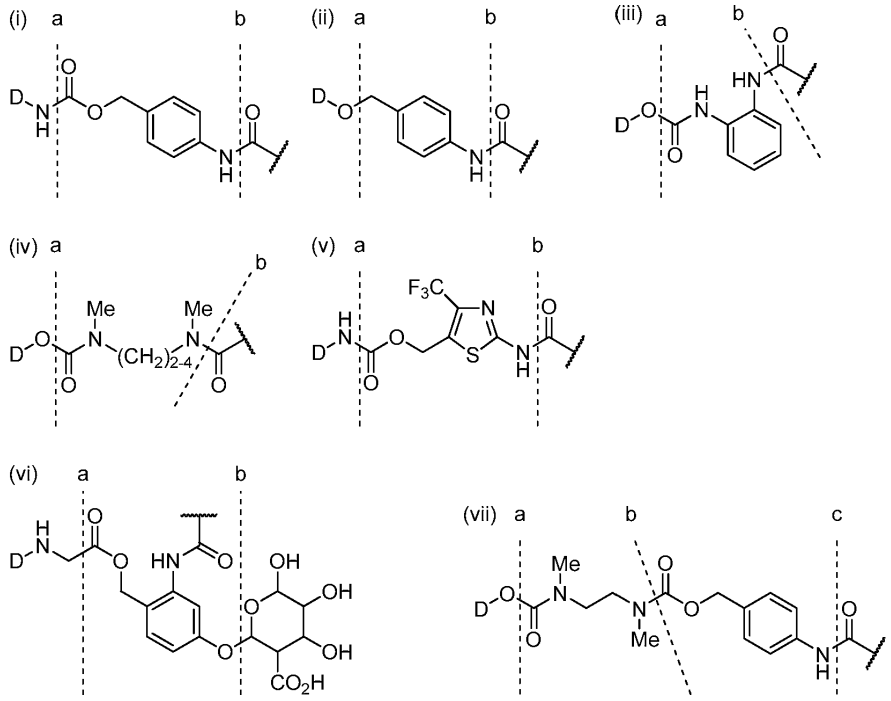
[0165] 존재하는 경우에, 스페이서 X^Z 및/또는 X^D는 바람직하게는 각각 Z와 C 또는 D와 C 사이에 4 내지 25개의 원자, 보다 바람직하게는 4 내지 20개의 원자의 선형 분리를 제공한다.

[0166] 링커는 항체 및 약물을 공유 연결시키는 것 이외에도 다른 기능을 수행할 수 있다. 예를 들어, 링커는 폴리(에틸렌 글리콜) ("PEG") 기를 함유할 수 있다. 접합 단계는 전형적으로 수성 매질에서 약물-링커를 항체에 커플링하는 것을 수반하기 때문에, PEG 기 다수는 약물-링커의 수용해도를 증진시킨다. 또한, PEG 기는 용해도를 증진시키거나 또는 생성된 ADC에서 응집을 감소시킬 수 있다. PEG 기가 존재하는 경우에, 이는 스페이서 X^Z 또는 X^D 중 어느 하나 또는 둘 다에 혼입될 수 있다. PEG 기 내의 반복 단위의 수는 2 내지 20개, 바람직하게는 4 내지 10개일 수 있다.

[0167] 스페이서 X^Z 또는 X^D 중 어느 하나 또는 둘 다는 자기-희생 모이어티를 포함할 수 있다. 자기-희생 모이어티는 (1) C 및 Z 또는 D에 결합되고, (2) 기 C로부터의 절단이 경우에 따라 Z 또는 D로부터의 자기-희생 모이어티 결합분리 그 자체를 생성시키는 반응 순서를 개시하도록 하는 구조를 갖는 모이어티이다. 다시 말해서, Z 또는 D로부터의 원위 부위에서의 반응 (기 C로부터의 절단)은 X^Z-Z 또는 X^D-D 결합이 또한 파열되도록 한다. 자기-희

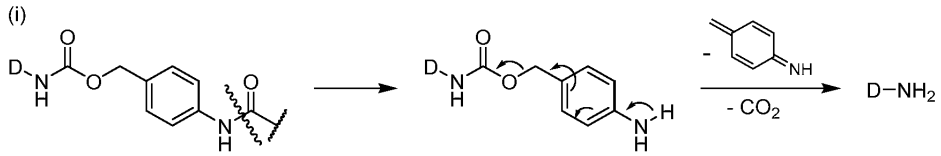
생 모이어티의 존재는 스페이서 X^D의 경우에 바람직하며, 이는 접합체의 절단 후, 스페이서 X^D 또는 그의 일부가 D에 부착된 채 유지되어야 하는 경우에, D의 생물학적 활성이 손상될 수 있기 때문이다. 자기-희생 모이어티의 사용은 절단가능한 기 C가 폴리펩티드인 경우에 특히 바람직하고, 이 경우에 자기-희생 모이어티는 전형적으로, D가 펩티드 절단을 입체적으로 또는 전자적으로 방해하는 것을 방지하기 위해, 그곳에 인접하여 위치한다.

[0168] D의 히드록실 또는 아미노 기에 결합된 예시적인 자기-희생 모이어티 (i)-(v)는 하기 제시되어 있다.

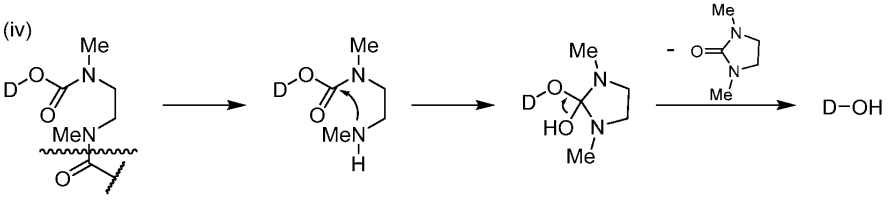


[0169]

[0170] 자기-희생 모이어티는 점선 a와 b (또는 점선 b와 c) 사이의 구조이며, 여기서 인접한 구조적 특색은 맥락을 제공하기 위해 제시되어 있다. 자기-희생 모이어티 (i) 및 (v)는 D-NH_2에 결합되며 (즉, 접합은 아미노 기를 통한 것임), 자기-희생 모이어티 (ii), (iii), 및 (iv)는 D-OH에 결합된다 (즉, 접합은 히드록실 또는 카르복실 기를 통한 것임). 효소 - 구조 (i)-(v)의 경우에 펩티다제 및 구조 (vi)의 경우에 β-글루쿠로니다제 -에 의한 점선 b에서의 결합의 절단은 점선 a에서의 결합의 절단 및 경우에 따라 D-OH 또는 D-NH_2의 결과적인 방출을 발생시키는 자기-희생 반응 순서를 개시한다. 예시로서, 구조 (i) 및 (iv)에 대한 자기-희생 메카니즘은 하기 제시된다.



[0171]



[0172]

[0173] 다시 말해서, 자기-희생 기의 일부분에서의 제1 화학 결합의 절단은 자기-희생 기의 상이한 부분에서 제2 화학 결합 - 자기-희생 기를 약물에 연결시킨 것 -의 절단을 발생시켜 그로 인해 약물을 방출시키는 단계의 순서를 개시한다.

[0174] 일부 경우에, 자기-희생 기는 구조 (vii)에 의해 제시된 바와 같이 탠덤으로 사용될 수 있다. 이러한 경우에,

점선 c에서의 절단은 1,6-제거 반응에 의한 점선 b와 c 사이의 모이어티의 자기-희생, 이어서 고리화-제거 반응에 의한 점선 a와 b 사이의 모이어티의 자기-희생을 촉발한다. 자기 희생 모이어티에 관한 추가의 개시내용에 대해, 문헌 [Carl et al., J. Med. Chem. 1981, 24, 479; Carl et al., WO 81/01145 (1981); Dubowchik et al., Pharmacology & Therapeutics 1999, 83, 67; Firestone et al., US 6,214,345 B1 (2001); Toki et al., J. Org. Chem. 2002, 67, 1866; Doronina et al., Nature Biotechnology 2003, 21, 778 (erratum, p. 941); Boyd et al., US 7,691,962 B2; Boyd et al., US 2008/0279868 A1; Sufi et al., WO 2008/083312 A2; Feng, US 7,375,078 B2; Jeffrey et al., US 8,039,273; 및 Senter et al., US 2003/0096743 A1]을 참조하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

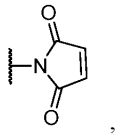
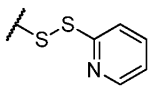
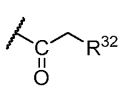
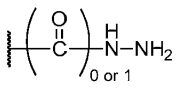
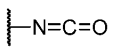
[0175] 또 다른 실시양태에서, Z와 D는 비-절단가능한 링커에 의해 연결되며, 즉, C는 부재한다. D의 대사는 결국 링커를 D의 생물학적 활성을 방해하지 않는 작은 첨부된 모이어티로 환원시킨다.

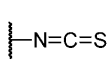
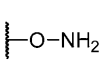
[0176] 접합 기술

[0177] 본 발명의 접합체는 바람직하게는 먼저 D를 포함하는 화합물 및 링커 $(X^D)_a(C)_c(X^Z)_b$ (여기서, X^D, C, X^Z, a, b, 및 c는 화학식 (II)에 대해 정의된 바와 같음)를 제조하여, 하기 화학식 (III)에 의해 나타내어지는 약물-링커 조성물을 형성함으로써 제조된다:

[0178] $D-(X^D)_a(C)_c(X^Z)_b-R^{31}$ (III)

[0179] 여기서 R^{31}은 Z 상의 상보적 관능기와 반응하여 접합체를 형성하기에 적합한 관능기이다. 적합한 기 R^{31}의 예는 아미노, 아지드, 티올, 시클로옥틴,


,

,

,

,

,

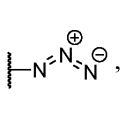
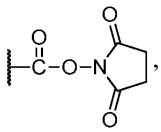
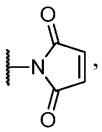
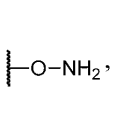
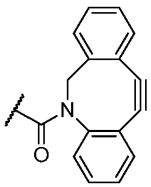
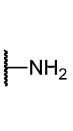

,

,

, 및

를 포함하고;

[0180] 여기서 R^{32}는 Cl, Br, F, 메실레이트, 또는 토실레이트이고, R^{33}은 Cl, Br, I, F, OH, -O-N-숙신이미딜, -O-(4-니트로페닐), -O-펜타플루오로페닐, 또는 -O-테트라플루오로페닐이다. 적합한 모이어티 $D-(X^D)_aC(X^Z)_b-R^{31}$의 제조에 일반적으로 사용가능한 화학반응은 문헌 [Ng et al., US 7,087,600 B2 (2006); Ng et al., US 6,989,452 B2 (2006); Ng et al., US 7,129,261 B2 (2006); Ng et al., WO 02/096910 A1; Boyd et al., US 7,691,962 B2; Chen et al., US 7,517,903 B2 (2009); Gangwar et al., US 7,714,016 B2 (2010); Boyd et al., US 2008/0279868 A1; Gangwar et al., US 7,847,105 B2 (2010); Gangwar et al., US 7,968,586 B2 (2011); Sufi et al., US 8,461,117 B2 (2013); 및 Chen et al., US 8,664,407 B2 (2014)]에 개시되어 있으며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0181] 바람직하게는 반응성 관능기 $-R^{31}$은 $-NH_2$, -OH, $-CO_2H$, -SH, 말레이미도, 시클로옥틴, 아지도 ($-N_3$), 히드록실아미노 ($-ONH_2$) 또는 N-히드록시숙신이미도이다. 특히 바람직한 관능기 $-R_{31}$은


,

,

,

,

, 또는


이다.

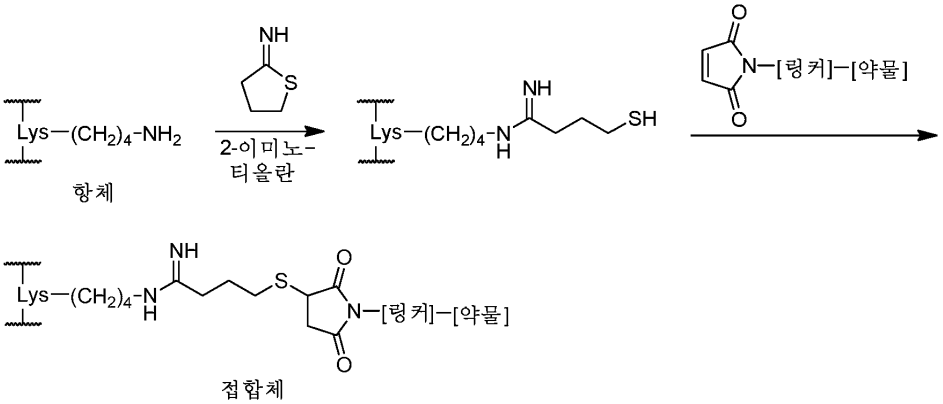
[0182] -OH 기는 항체 상의, 예를 들어 아스파르트산 또는 글루탐산 측쇄 상의 카르복시 기로 에스테르화될 수 있다.

[0183] $-CO_2H$ 기는 -OH 기로 에스테르화되거나 또는 항체 상의 (예를 들어 리신 측쇄 상의) 아미노 기로 아미드화될 수 있다.

[0184] N-히드록시숙신이미드 기는 기능적으로 활성화된 카르복실 기이고, (예를 들어, 리신으로부터의) 아미노 기와의 반응에 의해 편리하게 아미드화될 수 있다.

[0185] 말레이미드 기는 마이클 첨가 반응에서, (예를 들어, 시스테인으로부터의, 또는 술프히드릴 관능기를 도입하기 위한 항체의 화학적 변형으로부터의) 항체 상의 -SH 기와 접합될 수 있다.

[0186] 항체가 접합에 이용가능한 시스테인 -SH를 갖지 않은 경우에, 리신 잔기의 측쇄의 ε-아미노 기는 2-이미노티올란 또는 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트 ("SPDP")와 반응하여 유리 티올 (-SH) 기를 도입할 수 있고 - 말하자면 시스테인 대용물을 생성한다. 티올 기를 말레이미드 또는 다른 친핵체 수용자 기와 반응시켜 접합을 실시할 수 있다. 2-이미노티올란에 의한 메카니즘이 하기 예시된다.

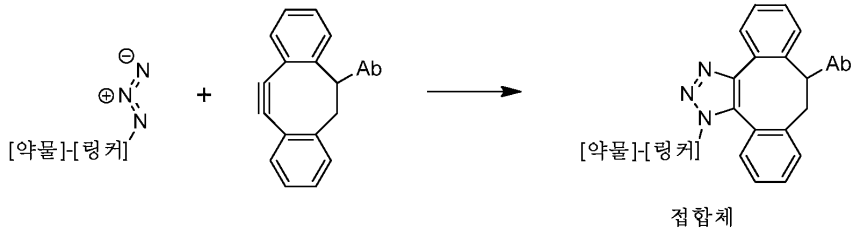


[0187]

[0188] 전형적으로, 항체당 2 내지 3개의 티올의 티올화 수준이 달성된다. 대표적 절차에 대해, 문헌 [Cong et al., US 8,980,824 B2 (2015)]을 참조하며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0189] 역배열에서, 항체 Z는 그곳에 말레이미드 기를 도입하기 위해 N-숙신이미딜 4-(말레이미도메틸)-시클로헥산카르복실레이트 ("SMCC") 또는 그의 황산화 변형체 술포-SMCC에 의해 변형될 수 있으며, 이들 둘 다는 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)로부터 입수가능하다. 이어서, 접합은 링커 상에 -SH 기를 갖는 약물-링커 화합물로 실시될 수 있다.

[0190] 대안적 접합 방법은 아지드 기를 변형된 시클로옥틴을 가로질러 부가하여 1,2,3-트리아졸 고리를 형성하는 구리-무함유 "클릭 화학"을 사용한다. 예를 들어, 문헌 [Agard et al., J. Amer. Chem. Soc. 2004, 126, 15046; Best, Biochemistry 2009, 48, 6571]을 참조하며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 아지드는 항체 상에 위치하고, 시클로옥틴은 약물-링커 모이어티 상에 위치할 수 있거나, 또는 그 반대의 경우일 수 있다. 바람직한 시클로옥틴 기는 디벤조시클로옥틴 (DIBO)이다. DIBO 기를 갖는 다양한 시약은 오레곤주 유진 소재의 인비트로젠(Invitrogen)/몰레큘라 프로브스(Molecular Probes)로부터 입수가능하다. 하기 반응은 DIBO 기가 항체 (Ab)에 부착된 경우에 대한 클릭 화학 접합을 예시한다.

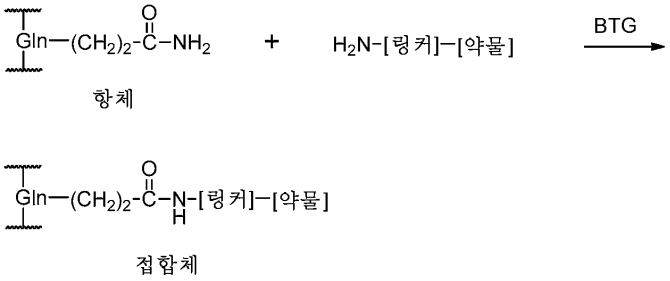


[0191]

[0192] 또 다른 접합 기술은 비-천연 아미노산을 항체에 도입하는 것을 수반하며, 여기서 비-천연 아미노산은 약물 모이어티 내의 반응성 관능기와의 접합을 위한 관능기를 제공한다. 예를 들어, 비천연 아미노산인 p-아세틸페닐알라닌을, 문헌 [Tian et al., WO 2008/030612 A2 (2008)]에 교시된 바와 같이 항체 또는 다른 폴리펩티드에 혼입시킬 수 있다. p-아세틸페닐알라닌 내의 케톤 기는 링커-약물 모이어티 상의 히드록실아미노 기와의 옥심의 형성을 통한 접합 부위일 수 있다. 대안적으로, 비-천연 아미노산 p-아지도페닐알라닌은 항체에 혼입되어 상기 논의된 바와 같은 클릭 화학을 통한 접합을 위해 아지드 관능기를 제공할 수 있다. 비-천연 아미노산은 또한, 문헌 [Goerke et al., US 2010/0093024 A1 (2010) 및 Goerke et al., Biotechnol. Bioeng. 2009, 102

(2), 400-416]에 교시된 바와 같이, 무세포 방법을 사용하여 항체 또는 다른 폴리펩티드에 혼입될 수 있다. 상기 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 약물과의 접합체를 제조하는 데 사용되는 항체는 바람직하게는 p-아세틸페닐알라닌 또는 p-아지도페닐알라닌, 보다 바람직하게는 p-아세틸페닐알라닌인 비-천연 아미노산에 의해 대체된 1개 이상의 아미노산을 갖는다.

[0193] 또 다른 접합 기술은 문헌 [Jeger et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 9995]에 따라, 효소 트랜스글루타미나제 (바람직하게는 스트렙토미세스 모바라엔시스(*Streptomyces mobaraensis*)로부터의 박테리아 트랜스글루타미나제 또는 BTG)를 사용한다. BTG는 글루타민의 측쇄 카르복스아미드 (아민 수용자)와, 예를 들어 리신의 ε-아미노 기 또는 5-아미노-n-펜틸 기일 수 있는 알킬렌아미노 기 (아민 공여자) 사이의 아미드 결합을 형성한다. 전형적 접합 반응에서, 하기 제시된 바와 같이, 글루타민 잔기는 항체 상에 위치하며, 알킬렌아미노 기는 링커-약물 모이어티 상에 위치한다.



[0194]

[0195] 폴리펩티드 쇄 상의 글루타민 잔기의 위치설정은 BTG 매개 아미드교환에 대한 그의 감수성에 대해 큰 효과를 갖는다. 항체 상의 어떠한 글루타민 잔기도 통상적으로 BTG 기질이 아니다. 그러나, 항체가 탈글리코실화된 경우 - 글리코실화 부위가 중쇄의 아스파라긴 297 (N297; 문헌 [Kabat et al., "Sequences of proteins of immunological interest, 5th ed., Pub. number 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991; 이하 "카바트"]에서 제시된 바와 같은 EU 인덱스에 따른 넘버링)인 경우 - 근처의 글루타민 295 (Q295)는 BTG를 감수성이 되도록 한다. 항체는 PNGase F (펩티드-N-글리코시다제 F)로의 처리에 의해 효소적으로 탈글리코실화될 수 있다. 대안적으로, 항체는 N297A 돌연변이를 불변 영역에 도입하여 N297 글리코실화 부위를 제거함으로써 글리코시드 무함유로 합성될 수 있다. 추가로, N297Q 치환은 글리코실화를 제거할 뿐만 아니라, 또한 아민 수용자인 제2 글루타민 잔기 (위치 297)를 도입하는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 약물에 접합되는 항체는 탈글리코실화된다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 N297Q 치환을 갖는다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 합성후 변형에 의한 또는 N297A 돌연변이를 도입하는 것에 의한 탈글리코실화가 항체당 2개의 BTG-반응성 글루타민 잔기 (위치 295에서, 중쇄당 1개)를 생성시키며, N297Q 치환을 갖는 항체가 4개의 BTG-반응성 글루타민 잔기 (위치 295 및 297에서, 중쇄당 2개)를 가질 것임을 인지할 것이다.

[0196] 항체는 또한 예를 들어, 문헌 [Pons et al., US 2013/0230543 A1 (2013) 및 Rao-Naik et al., PCT 출원 번호 PCT/US2016/020192 (2016년 3월 1일에 출원됨)]에 교시된 바와 같이, 그것에 글루타민 함유 펩티드, 또는 "태그"를 도입함으로써 BTG-매개 접합에 대해 감수성이 되도록 할 수 있다.

[0197] 보완적 접근법에서, 문헌 [Rao-Naik et al., US 가출원 번호 62/236274 (2015년 10월 2일에 출원됨)]에 교시된 바와 같이, BTG의 기질 특이성을 그의 아미노산 서열을 변경함으로써 변경시켜서, 그것이 비변형된 항체에서 글루타민 295와 반응할 수 있도록 한다.

[0198] 마지막으로, 가장 통상적으로 이용가능한 박테리아 트랜스글루타미나제는 에스. 모바라엔시스로부터의 것이지만, 다소 상이한 기질 특이성을 갖는 다른 박테리아로부터의 트랜스글루타미나제, 예컨대 스트렙토베르티실리움 라다카눔(*Streptoverticillium ladakanum*)으로부터의 트랜스글루타미나제가 고려될 수 있다 (Hu et al., US 2009/0318349 A1 (2009), US 2010/0099610 A1 (2010), 및 US 2010/0087371 A1 (2010)).

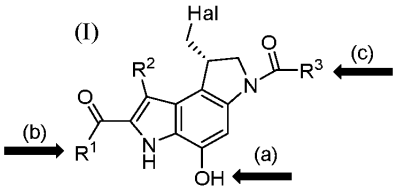
[0199] 또한, 접합은 문헌 [Levary et al., PLoS One 2011, 6(4), e18342; Proft, Biotechnol. Lett. 2010, 32, 1-10; Ploegh et al., WO 2010/087994 A2 (2010); 및 Mao et al., WO 2005/051976 A2 (2005)]에 교시된 바와 같이, 효소 소르타제 A를 사용하여 실시될 수 있다. 소르타제 A 인식 모티프 (전형적으로 LPXTG, 여기서 X는 임의의 천연 아미노산임)는 리간드 Z 상에 위치할 수 있고, 친핵성 수용자 모티프 (전형적으로 GGG)는 화학식

(III)에서의 기 R^{31}일 수 있거나, 또는 그 반대의 경우일 수 있다.

[0200] 세코-CPI-링커 화합물

[0201] 본 발명의 세코-CPI 화합물의 ADC는 세코-CPI 화합물 상의 관능기에 부착된 링커를 포함하며, 이러한 링커는 항체에 부착된다. 관련 기술분야에 공지된 접합 기술의 다양성을 반영하여, 본 발명의 세코-CPI 화합물은 항체에 대한 접합에 적합한 많은 상이한 세코-CPI 화합물-링커 화합물로 상술될 수 있다.

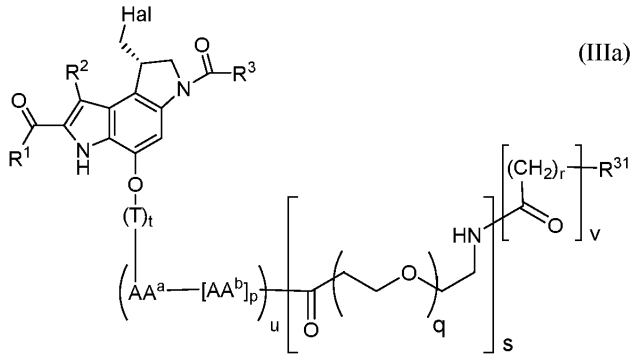
[0202] 일반적으로, 하기 예시된 바와 같이, 링커의 본 발명의 세코-CPI 화합물에의 3개의 상이한 부착 부위가 존재한다:



[0203]

[0204] 유형 (a) 세코-CPI-링커 화합물에서, 링커는 결합 서브유닛의 페놀계 히드록실에 부착되고, 부착되어있는 동안, CPI 구조로의 고리화를 방지하는 전구약물화 기로서 역할을 한다. 유형 (b) 세코-CPI-링커 화합물에서, 링커는 기 R^1 내의 적합한 관능기, 예컨대 아미노, 카르복시 또는 히드록실 기를 통해 부착된다. 유형 (c) 세코-CPI-링커 화합물에서, 링커는 기 R^3의 적합한 관능기, 예컨대 아미노, 카르복시 또는 히드록실 기를 통해 부착된다. 유형 (b) 및 (c)에서, 페놀성 히드록실 기는 임의로 상기 논의된 바와 같이, 전구약물화될 수 있다.

[0205] 한 실시양태에서, 유형 (a) 세코-CPI-링커 화합물은 화학식 (IIIa)에 의해 나타내어질 수 있다.



[0206]

[0207] 여기서,

[0208] T는 자기-희생 기이고;

[0209] t는 0 또는 1이고;

[0210] AA^a 및 각각의 AA^b는 독립적으로 알라닌, β-알라닌, γ-아미노부티르산, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, γ-카르복시글루탐산, 시트룰린, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 노르류신, 노르발린, 오르니틴, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0211] u는 0 또는 1이고;

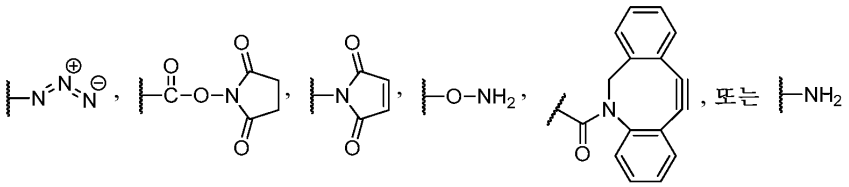
[0212] p는 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0213] q는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 (바람직하게는 2, 3, 4, 또는 8)이고;

[0214] r은 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0215] s는 0 또는 1이고;

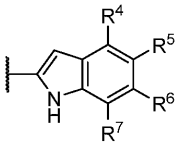
[0216] v는 0 또는 1이고;



[0217] R^{31}은 H, 이고;

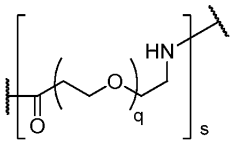
[0218] 단 R^{31}은 s가 1이고 v가 0인 경우에만 H일 수 있고, v는 s가 1이고 R^{31}이 H인 경우에만 0일 수 있고;

[0219] R^1, R^2 및 R^3은 상기 발명의 간단한 개요 섹션에서 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같다.

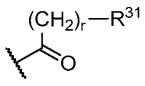
[0220] 화학식 (IIIa)에 따른 세코-CPI 링커의 한 실시양태에서, R^3은  이고, 특히 여기서 R^4, R^6, 및 R^7은 각각 H이다.

[0221] 한 실시양태에서, 화학식 (IIIa)에서 u는 1이다.

[0222] 모이어티 $-AA^a-[AA^b]_p-$는 그의 길이가 p의 값에 의해 결정되는 폴리펩티드를 나타낸다 (p가 1인 경우에 디펩티드, p가 3인 경우에 테트라펩티드 등). AA^a는 폴리펩티드의 카르복시 말단에 있으며, 그의 카르복실 기는 세코-CPI 화합물의 아민 질소와의 펩티드 (아미드) 결합을 형성한다. 반대로, 마지막 AA^b는 폴리펩티드의 아미노 말단에 있으며, 그의 α-아미노 기는 s가 각각 1 또는 0인지에 따라

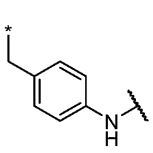


또는



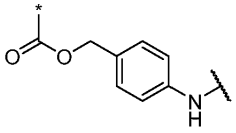
와 펩티드 결합을 형성한다. 바람직한 폴리펩티드 $-AA^a-[AA^b]_p-$는 Val-Ala, Val-Cit, Val-Lys, Lys-Val-Ala, Asp-Val-Ala, Val-Ala, Lys-Val-Cit, Ala-Val-Cit, Val-Gly, Val-Gln, 및 Asp-Val-Cit이고, H_2N-Val-Cit-CO_2H에서와 같이 통상적인 N에서 C 방향으로 기록되어 있다. 보다 바람직하게는, 폴리펩티드는 Val-Cit, Val-Lys, 또는 Val-Ala이다. 바람직하게는, 폴리펩티드 $-AA^a-[AA^b]_p-$는 표적 (암) 세포 내부에서 발견되는 효소, 예를 들어 카텝신 및 특히 카텝신 B에 의해 절단가능하다.

[0223] 0 또는 1인 아래첨자 t에 의해 나타내어진 바와 같이, 자기-희생 기 T는 임의로 존재한다. 바람직한 자기-희생 기 T는 하기 제시된 구조를 갖는 p-아미노벤질 알콜 (PABA) 기이며 (페놀계 산소는 제시되지 않음), 여기서 별표 (*)는 세코-CPI 화합물의 페놀계 산소에 결합된 말단을 나타내고, 파상선 (~~~)은 폴리펩티드 $-AA^a-[AA^b]_p-$에 결합된 말단을 나타낸다.

(PABA) 

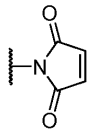
[0224]

[0225] 또 다른 바람직한 자기-희생 기 T는 하기 제시된 구조를 갖는 p-아미노벤질 옥시카르보닐 (PABC) 기이다.

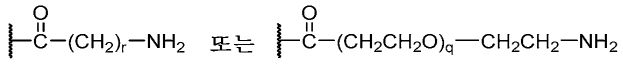
(PABC) 

[0226]

[0227] 일부 경우에 PABA 기는 보다 가수분해에 안정적이기 때문에, PABC 기보다 바람직할 수 있다.

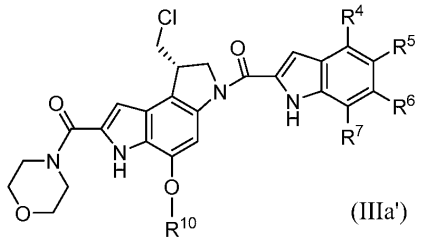
[0228] 바람직한 실시양태에서, 기 R^{31}은  이다.

[0229] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 기 R^{31}은 이거나,

[0230] 또는 R^{31}은 v가 0이고 s가 1인 경우에 H이다. 각각의 경우에, 결과는 아미노-말단 기를 갖는, 각각 구조  의 세코-CPI-링커 화합물이며,

[0231] 이는 트랜스글루타미나제-매개 접합을 위한 아민 공여자로서 적합하다.

[0232] 바람직한 유형 (a) 세코-CPI-링커 화합물은 화학식 (IIIa')에 따른 것이다.

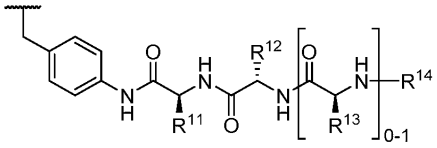


(IIIa')

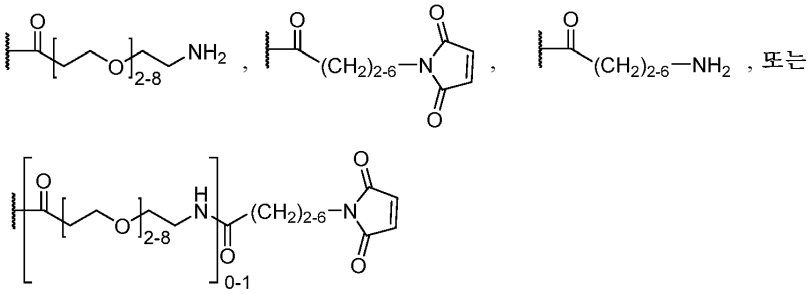
[0233]

[0234] 여기서,

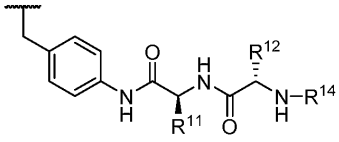
[0235] R^4, R^5, R^6, 및 R^7은 상기 발명의 간단한 개요 섹션에서 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고;

[0236] R^{10}은  이고;

[0237] R^{11}, R^{12} 및 R^{13}은 독립적으로 H, CH_3, $CH(CH_3)_2$, CH_2CO_2H, $CH_2CH_2CO_2H$, $CH_2C(=O)NH_2$, $CH_2CH_2C(=O)NH_2$, $(CH_2)_4NH_2$, $(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 또는 $(CH_2)_3NHC(=O)NH_2$이고 (즉, R^{11}, R^{12}, 및 R^{13}은 아미노산 글리신, 발린, 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민, 리신, 아르기닌, 및 시트룰린의 측쇄 잔기에 상응함);



[0238] R^{14}는 이다.



[0239] 바람직하게는, R^{10} 내의 펩티드는 화학식 에 상응하는 디펩티드 - 즉, 펩티드에서 아미노산 $HO_2CCH(R^{13})NH_2$와 연관된 접미어가 0임 -이다.

[0240] 화학식 (IIIa')에 따른 구체적 화합물은 표 III에 제시되어 있으며, 여기서 R^4, R^6, 및 R^7은 달리 나타내지 않는 한 H이고, R^{10}은 A 또는 B이다:

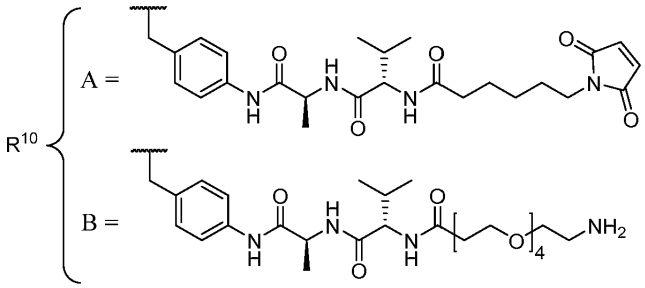
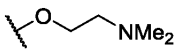
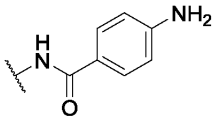
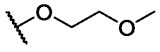
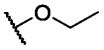
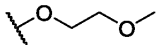
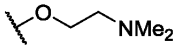
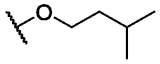
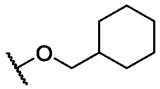
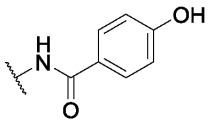
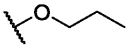
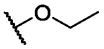
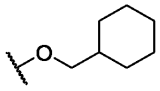
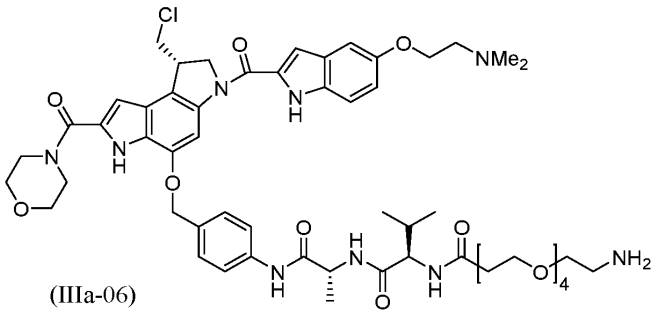
[0241] 

표 III - 세코-CPI-링커 화합물		
세코-CPI-링커	R^{10}	R^5
IIIa-01	A	
IIIa-02	A	
IIIa-03	A	
IIIa-04	A	
IIIa-05	B	
IIIa-06	B	
IIIa-07	B	
IIIa-08	B	
IIIa-09	B	(R^4 = H, R^6 = R^7 = OMe)
IIIa-10	B	
IIIa-11	B	
IIIa-12	B	
IIIa-13	A	

[0242]

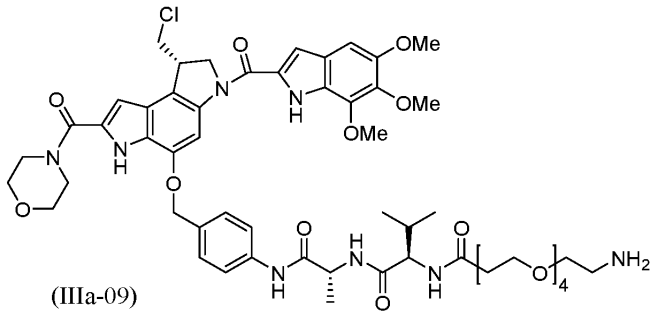
[0243] 바람직한 세코-CPI-링커 화합물은 (IIIa-06)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.



(IIIa-06)

[0244]

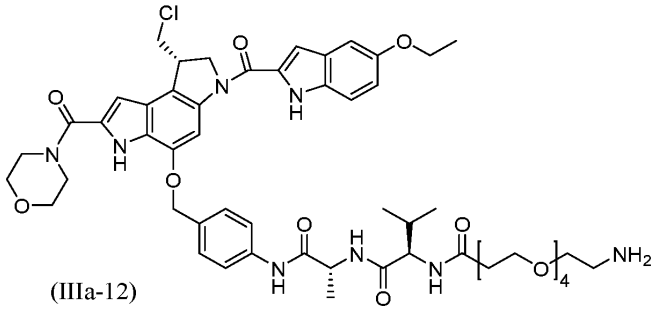
[0245] 바람직한 세코-CPI-링커 화합물은 (IIIa-09)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.



(IIIa-09)

[0246]

[0247] 바람직한 세코-CPI-링커 화합물은 (IIIa-12)이고, 그의 완전한 구조는 하기 나타내어진다.

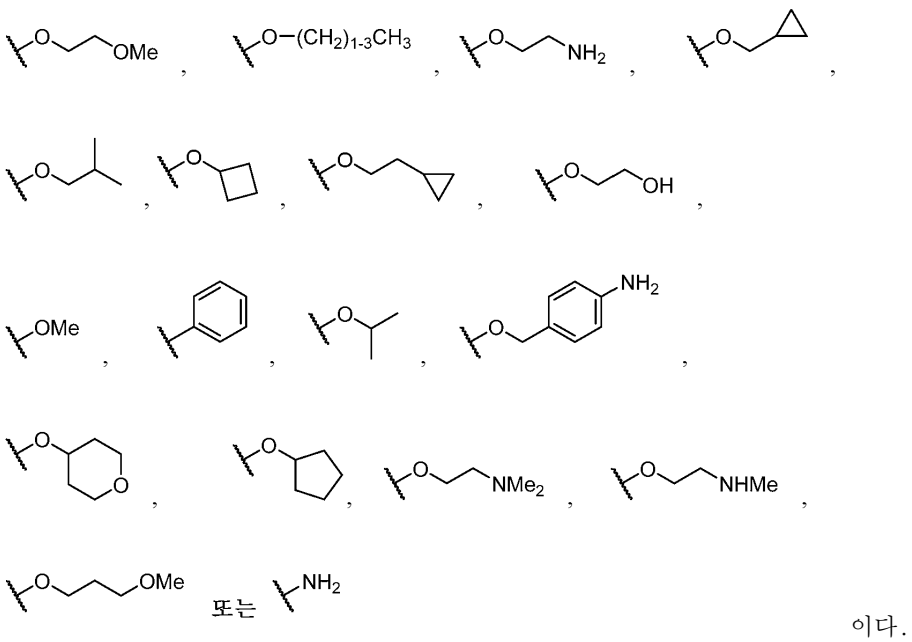


(IIIa-12)

[0248]

[0249] A-유형 링커를 갖는 세코-CPI-링커 화합물은 상기 논의된 바와 같이, 항체 상의 티올 기와의 마이클 첨가 반응을 통한 접합을 위해 설계된다. B-유형 링커를 갖는 것들은 다시 상기 논의된 바와 같이, 트랜스글루타미나제 매개 접합을 위해 설계된다.

[0250] 보다 바람직하게는, 화학식 (IIIa')에서 R^4, R^6, 및 R^7은 각각 H이고; R^5는

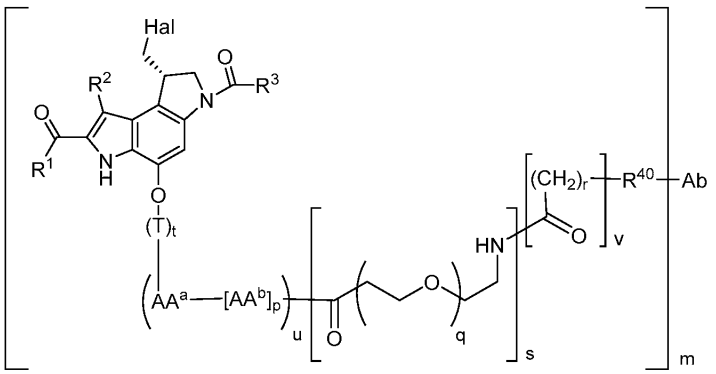


또는

이다.

[0251] 접합체

[0252] 한 실시양태에서, 본 발명의 접합체는 유형 (a) 세코-CPI-링커 화합물로부터 유도되고, 하기 화학식 (IVa)에 의해 나타내어질 수 있다.

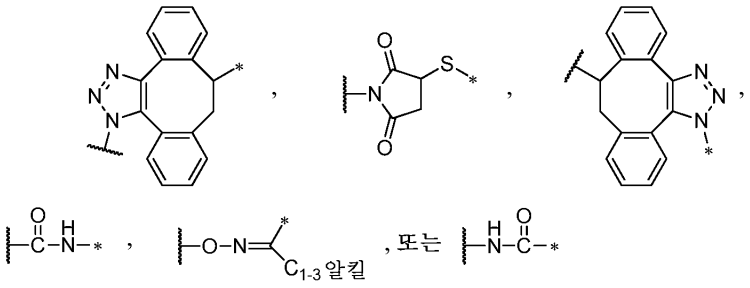


(IVa)

[0253]

[0254] 여기서,

[0255] Ab는 항체이고;



[0256] R^{40}은 결합, 이고;

[0257] 여기서 Ab에 결합된 R^{40}의 개방 원자가는 별표 (*)에 의해 표시되고, $(CH_2)_r$에 결합된 R^{40}의 개방 원자가는 파상선 (〰)에 의해 표시되고;

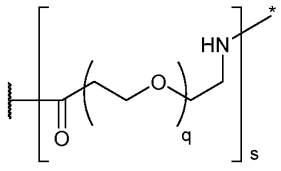
[0258] m은 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0259] v는 0 또는 1이고, 단, v는 s가 1이고 R^{40}이 결합인 경우에만 0일 수 있고, R^{40}은 v가 0이고 s가 1인 경우에만 결합일 수 있고;

[0260] T, t, AA^a, AA^b, u, p, q, s, r, 및 X^A는 화학식 (IIIa)에 대해 정의된 바와 같고;

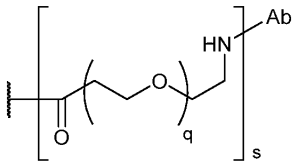
[0261] R^1, R^2, 및 R^3은 상기 발명의 간단한 개요 섹션에서 정의된 바와 같다.

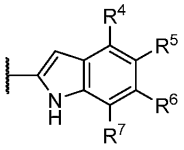
[0262] R^{40}이 결합인 경우에, 내의 질소는



[0263] 하기 화학식에 따라, 항체 Ab에 직접 결합된다.

[0264]



[0265] 화학식 (IVa)에 따른 접합체의 한 실시양태에서, R^3은  이고, 특히 여기서 R^4, R^6, 및 R^7은 각각 H이다.

[0266] 바람직한 실시양태에서, 화학식 (IVa)에서 u는 1이다.

[0267] 화학식 (IVa)에서, 아래첨자 t 및 u가 둘 다 0인 경우에, 링커는 비-절단가능한 유형의 것이고, 약물을 방출하기 위해 항체 Ab의 분해에 의존한다. 폴리에틸렌 글리콜 성분은 그의 존재가, 예를 들어 접합 동안 약물-링커 화합물의 용해도를 증가시킴으로써 유익하고, 약물의 생물학적 활성을 방해하지 않는 경우에, 임의로 존재할 수 있다 (즉, s는 1임).

[0268] 제약 조성물

[0269] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 제약상 허용되는 담체 또는 부형제와 함께 제제화된 본 발명의 화합물 또는 그의 접합체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 그것은 하나 이상의 추가의 제약 활성 성분, 예컨대 항체 또는 또 다른 약물을 임의로 함유할 수 있다. 제약 조성물은 또 다른 치료제, 특히 또 다른 항암제와의 조합 요법으로 투여될 수 있다.

[0270] 제약 조성물은 1종 이상의 부형제를 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 부형제는 담체, 표면 활성제, 증점제 또는 유화제, 고체 결합제, 분산 또는 현탁 보조제, 가용화제, 착색제, 향미제, 코팅, 붕해제, 윤활제, 감미제, 보존제, 등장화제, 및 그의 조합을 포함한다. 적합한 부형제의 선택 및 사용은 문헌 [Gennaro, ed., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 2003)]에 교시되어 있으며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0271] 바람직하게는, 제약 조성물은 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의한) 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척수 또는 표피 투여에 적합하다. 투여 경로에 따라, 활성 화합물은 이를 불활성화시킬 수 있는 산 및 다른 천연 조건의 작용으로부터 이를 보호하기 위한 물질로 코팅될 수 있다. 어구 "비경구 투여"는 통상적으로 주사에 의한, 경장 및 국소 투여 이외의 다른 투여 방식을 의미하며, 비제한적으로 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다. 대안적으로, 제약 조성물은 비-비경구 경로, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어 비강내로, 경구로, 질로, 직장으로, 설하로 또는 국소로 투여될 수 있다.

[0272] 제약 조성물은 멸균 수용액 또는 분산액 형태일 수 있다. 그들은 또한 마이크로에멀젼, 리포솜, 또는 높은 약물 농도를 달성하기에 적합한 다른 정렬된 구조로 제제화될 수 있다. 조성물은 또한 투여 전에 물 중 재구성을 위해, 동결건조물 형태로 제공될 수 있다.

[0273] 단일 투여 형태를 제조하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료될 대상체 및 특정한 투여 방식에 따라 달라질 것이며, 일반적으로 치료 효과를 생성시키는 조성물의 양일 것이다. 일반적으로 100%를 기준으로, 이 양은 제약상 허용되는 담체와 조합된 활성 성분의 약 0.01% 내지 약 99%, 바람직하게는 약 0.1% 내지 약 70%, 가장 바람직하게는 활성 성분의 약 1% 내지 약 30% 범위일 것이다.

[0274] 투여 요법은 치료 반응을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 단일 볼루스가 투여될 수 있거나, 여러 분할 용량이 시간 경과에 따라 투여될 수 있거나, 또는 용량이 상황의 위급성에 의해 지시된 바와 같이 비례적으로 감소 또는 증가될 수 있다. 비경구 조성물은 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. "투여 단위 형태"는 치료될 대상체에 대한 단일 투여량으로서 적합화된 물리적 이산 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 목적하는 치료 반응을 생성시키도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을, 필요한 제약 담체와 함께 함유한다.

[0275] 투여량은 숙주 체중의 약 0.0001 내지 100 mg/kg, 보다 통상적으로 0.01 내지 5 mg/kg 범위이다. 예를 들어 투여량은 0.3 mg/kg 체중, 1 mg/kg 체중, 3 mg/kg 체중, 5 mg/kg 체중 또는 10 mg/kg 체중 또는 1-10 mg/kg, 또는 대안적으로 0.1 내지 5 mg/kg 범위 내일 수 있다. 예시적인 치료 요법은 1주에 1회, 2주마다 1회, 3주마다 1회, 4주마다 1회, 1개월에 1회, 3개월마다 1회, 또는 3 내지 6개월마다 1회 투여이다. 바람직한 투여 요법은 하기 투여 스케줄 중 하나를 사용한, 정맥내 투여를 통한 1 mg/kg 체중 또는 3 mg/kg 체중을 포함한다: (i) 6회

투여량에 대해 4주 마다, 이어서 3개월 마다; (ii) 3주 마다; (iii) 3 mg/kg 체중 1회, 이어서 3주 마다 1 mg/kg 체중. 일부 방법에서, 투여량은 약 1-1000 μg/mL, 및 일부 방법에서는 약 25-300 μg/mL의 혈장 항체 농도가 달성되도록 조정된다.

[0276] "치료 유효량"의 본 발명의 화합물은 바람직하게는 질환 증상의 중증도에서의 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간에서의 증가, 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 예방을 생성시킨다. 예를 들어, 종양-보유 대상체의 치료를 위해, "치료 유효량"은 바람직하게는 종양 성장을 비치료 대상체에 비해 적어도 약 20%, 보다 바람직하게는 적어도 약 40%, 보다 더 바람직하게는 적어도 약 60%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 약 80% 억제한다. 치료 유효량의 치료 화합물은 전형적으로 인간이지만 또 다른 포유동물일 수 있는 대상체에서 종양 크기를 감소시키거나 또는 증상을 달리 호전시킬 수 있다.

[0277] 제약 조성물은 임플란트, 경피 패치, 및 마이크로캡슐화 전달 시스템을 포함한 제어 또는 지속 방출 제제일 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]을 참조한다.

[0278] 투여는 (1) 무바늘 피하 주사 장치 (예를 들어, 미국 5,399,163; 5,383,851; 5,312,335; 5,064,413; 4,941,880; 4,790,824 및 4,596,556); (2) 미세-주입 펌프 (미국 4,487,603); (3) 경피 장치 (미국 4,486,194); (4) 주입 장치 (미국 4,447,233 및 4,447,224); 및 (5) 삼투 장치 (미국 4,439,196 및 4,475,196)와 같은 의료 장치를 통한 것일 수 있으며; 이들의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0279] 특정 실시양태에서, 제약 조성물은 생체내에서 적절한 분포가 보장되도록 제제화될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 치료 화합물이 혈액-뇌 장벽을 가로지르는 것을 보장하기 위해, 이들은 리포솜 중에 제제화될 수 있으며, 이는 특이적 세포 또는 기관에 대한 선택적 수송을 증진하기 위한 표적화 모이어티를 추가적으로 포함할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [US 4,522,811; 5,374,548; 5,416,016; 및 5,399,331; Ranade, J. Clin. Pharmacol. 1989, 29, 685; Umezawa et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 1988, 153, 1038; Bloeman et al., FEBS Lett. 1995, 357, 140; Briscoe et al., Am. J. Physiol. 1995, 1233, 134; Schreier et al., J. Biol. Chem. 1994, 269, 9090; Keinanen and Laukkanen, FEBS Lett. 1994, 346, 123; 및 Killion and Fidler, Immunomethods 1994, 4, 273]을 참조한다.

[0280] 용도

[0281] 본 발명의 화합물 또는 그의 접합체는 비제한적으로 하기를 포함한 과다증식성 질환들과 같은 질환을 치료하는 데에 사용될 수 있다: 두부, 경부, 비강, 부비동, 비인두, 구강, 구인두, 후두, 하인두, 타액선 및 부신경절종의 종양을 포함한 두경부암; 간 및 담도계의 암, 특히 간세포성 암종; 장암, 특히 결장직장암; 난소암; 소세포 및 비소세포 폐암 (SCLC 및 NSCLC); 유방암 육종, 예컨대 섬유육종, 악성 섬유성 조직구종, 배아성 횡문근육종, 평활근육종, 신경섬유육종, 골육종, 활막 육종, 지방육종 및 폐포 연부 육종; 백혈병 예컨대 급성 전골수구성 백혈병 (APL), 급성 골수 백혈병 (AML), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 및 만성 골수 백혈병 (CML); 중추 신경계의 신생물, 특히 뇌암; 다발성 골수종 (MM), 림프종 예컨대 호지킨 림프종, 림프형질세포양 림프종, 여포성 림프종, 점막-연관 림프성 조직 림프종, 외투 세포 림프종, B-계통 대세포 림프종, 버킷 림프종 및 T-세포 역형성 대세포 림프종. 임상적으로, 본원에 기재된 방법의 실시 및 조성물의 사용은 암성 성장의 크기 또는 수를 감소시키고/거나 연관된 증상 (적용가능한 경우)을 감소시킬 것이다. 병리학적으로, 본원에 기재된 방법의 실시 및 조성물의 사용은 암 세포 증식의 억제, 암 또는 종양의 크기의 감소, 추가적 전이의 방지, 및 종양 혈관신생의 억제와 같은 병리학상 적절한 반응을 생성할 것이다. 이러한 질환의 치료 방법은 대상체에게 치료 유효량의 본 발명의 조합물을 투여하는 것을 포함한다. 방법은 필요에 따라 반복될 수 있다.

[0282] 본 발명의 화합물 또는 그의 접합체는 항체, 알킬화제, 혈관신생 억제제, 항대사물, DNA 절단제, DNA 가교제, DNA 삽입제, DNA 작은 홈 결합제, 에네디인, 열 쇼크 단백질 90 억제제, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 면역조정제, 미세관 안정화제, 뉴클레오시드 (퓨린 또는 피리미딘) 유사체, 핵 유출 억제제, 프로테아솜 억제제, 토포이소머라제 (I 또는 II) 억제제, 티로신 키나제 억제제, 및 세린/트레오닌 키나제 억제제를 포함한 다른 치료제와 조합되어 투여될 수 있다. 구체적 치료제는 아달리무맙, 안사미토신 P3, 아우리스타틴, 벤다무스틴, 베바시주맙, 비칼루타미드, 블레오마이신, 보르테조밉, 부술판, 칼리스타틴 A, 캄프토테신, 카페시타빈, 카르보플라틴, 카르무스틴, 세툭시맙, 시스플라틴, 클라드리빈, 시타라빈, 크립토피신, 다카르바진, 다사티닙, 다우노루비신, 도세탁셀, 독소루비신, 두오카르마이신, 디네마이신 A, 에포틸론, 에토포시드, 플록수리딘, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 게피티닙, 겜시타빈, 이필리무맙, 히드록시우레아, 이마티닙, 인플릭시맙, 인터페론, 인터류킨, β

-라파콘, 레날리도미드, 이리노테칸, 메이탄신, 메클로레타민, 멜팔란, 6-메르캅토퓨린, 메토트렉세이트, 미토마이신 C, 닐로티닙, 니볼루맙, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 프로카르바진, 수베로일아닐리드 히드록삼산(SAHA), 6-티오구아닌, 티오테파, 테니포시드, 토포테칸, 트라스투주맙, 트리코스타틴 A, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 및 빈데신을 포함한다.

[0283] 실시예

[0284] 본 발명의 실시는 추가로 하기 실시예를 참조하여 이해될 수 있고, 이는 제한이 아니라 예시로서 제공된다.

[0285] 실시예 1 - 마이클 첨가에 의한 접합

[0286] 이러한 일반적 절차는 리신 ε-아미노 기와 2-이미노티올란의 반응, 이어서 상기 기재된 바와 같은 말레이미드-함유 약물-링커 모이어티와의 반응에 의해 유리 티올 기를 항체에 도입하는 것을 기반으로 한다. 처음에, 항체를 50 mM NaCl 및 2 mM 디에틸렌 트리아민 펜타아세트산 (DTPA)을 함유하는 0.1 M 포스페이트 완충제 (pH 8.0)로 완충제 교환하고, 5-10 mg/mL로 농축시킨다. 티올화는 항체에 대한 2-이미노티올란의 첨가를 통해 달성된다. 첨가될 2-이미노티올란의 양은 예비 실험에 의해 결정될 수 있고, 항체마다 달라진다. 예비 실험에서, 증가하는 양의 2-이미노티올란의 적정액을 항체에 첨가하고, 실온 ("RT", 약 25℃)에서 1시간 동안 항체와 함께 인큐베이션한 후, 항체를 세파덱스(SEPHADEX)™ G-25 칼럼을 사용하여 50 mM HEPES, 5 mM 글리신, 2 mM DTPA, pH 5.5로 탈염시키고, 도입된 티올 기의 수를 디티오디피리딘 (DTDP)과의 반응에 의해 신속하게 결정한다. 티올 기와 DTDP의 반응은 티오피리딘의 유리를 생성시키며, 이를 324 nm에서 분광학적으로 모니터링할 수 있다. 단백질 농도 0.5-1.0 mg/mL의 샘플을 전형적으로 사용한다. 280 nm에서의 흡광도를 사용하여 샘플 중 단백질의 농도를 정확하게 결정할 수 있고, 이어서 각각의 샘플의 분취물 (0.9 mL)을 실온에서 10분 동안 0.1 mL DTDP (에탄올 중 5 mM 원액)와 함께 인큐베이션한다. 완충제 단독 플러스 DTDP의 블랭크 샘플을 또한 나란히 인큐베이션한다. 10분 후, 324 nm에서의 흡광도를 측정하고, 티올 기의 수를 19,800 M^{-1}의 티오피리딘에 대한 흡광 계수를 사용하여 정량화한다.

[0287] 전형적으로 항체당 약 2 내지 3개의 티올 기의 티올화 수준이 바람직하다. 예를 들어, 일부 항체 하에, 이는 15배 몰 과량의 2-이미노티올란을 첨가하고, 이어서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션함으로써 달성될 수 있다. 이어서, 항체를 목적 몰비의 2-이미노티올란과 함께 인큐베이션한 다음, 접합 완충제 (50 mM HEPES, 5 mM 글리신, 2 mM DTPA, pH 5.5)로 탈염시킨다. 티올화된 물질을 얼음 상에서 유지하면서, 도입된 티올의 수를 상기 기재된 바와 같이 정량화한다.

[0288] 도입된 티올의 수를 검증한 후, 세코-CPI-링커 모이어티를 티올당 2.5배 몰 과량으로 첨가한다. 접합 반응이 최종 농도 25% 프로필렌 글리콜 및 5% 트레할로스를 함유하는 접합 완충제 중에서 진행되도록 한다. 흔히, 약물-링커 원액을 100% DMSO 중에 용해시킨다. 원액을 티올화된 항체에 직접 첨가한다.

[0289] 접합 반응 혼합물을 완만하게 교반하면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션한다. 이어서, 10배 몰 과량의 N-에틸 말레이미드 (DMSO 중 100 mM 원액)를 접합 혼합물에 첨가하고, 추가로 1시간 동안 교반하여 임의의 미반응 티올을 차단한다. 이어서, 샘플을 0.2 μ 필터를 통해 여과한다. 물질을 TFF 비바플로우(VivaFlow) 50 사토리우스(Sartorius) 30 MWCO PES 막을 통해 10 mg/mL 글리신, 20 mg/mL 소르비톨, 15% 아세토니트릴 ("ACN") pH 5.0 (5X TFF 완충제 교환 부피)으로 완충제 교환하여 임의의 미반응 약물을 제거한다. 최종 제제화를 TFF에 의해 20 mg/mL 소르비톨, 10 mg/mL 글리신, pH 5.0으로 수행한다.

[0290] 실시예 2 -트랜스글루타미나제-매개 접합

[0291] 하기 절차는 세코-CPI-링커 화합물의 트랜스글루타미나제 매개 접합에 사용될 수 있으며, 여기서 링커는 아민 공여자로서 작용할 수 있는 아민 기를 갖는다. 항체는 트랜스글루타미나제-반응성 글루타민을 갖는 것, 예를 들어 N297A 또는 N297Q 치환을 갖는 것일 수 있다. 접합을 5:1의 항체:효소의 몰비를 갖는 재조합 박테리아 트랜스글루타미나제에 의해 수행한다. 접합을 50 mM 트리스 완충제, pH 8.0 중에서 표준 프로토콜을 사용하여 수행하고, 37℃에서 밤새 인큐베이션한다. 생성된 접합체를 50 mM 트리스, pH 8.0으로 예비 평형화된 단백질 A 칼럼 상에서 정제한다. 접합체를 0.1 M 시트르산나트륨 완충제, pH 3.5로 용리시킨다. 용리된 분획을 1M 트리스 pH 9.0으로 중화시킨다. 접합된 것을 20 mg/mL 소르비톨, 10 mg/mL 글리신, pH 5.0 중에 제제화할 수 있다.

[0292] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 이들 2가지 실시예에서의 조건 및 방법론이 예시적이고 비제한적이며, 접합을 위한 그의 변경 또는 다른 접근법이 관련 기술분야에 공지되어 있고 본 발명에 사용가능함을 이해할 것이다.

[0293] 실시예 3 - 세코-CPI 화합물의 특성

[0294] 표 IV는 다양한 인간 암 세포주에 대한 증식 억제 효능 및 CLogP를 포함한, 본 발명의 화합물의 특성을 보여준다. 증식 억제는 72시간 ATP 발광 검정을 사용하여 측정하였다 (Cheng et al., US 8,394,922 B2 (2013)).

[0295] 증식 억제를 (a) H226 (인간 중피종 (폐) 암 세포주); (b) N87 (인간 위 (위) 암 세포주); (c) OVCAR3 (인간 난소암 세포주); (d) HCT116 (인간 결장암 세포주); 및 (e) HCT116/VM46 (HCT116의 다중약물 및 파클리탁셀 저항성 서브라인)에 대해 측정하였다.

[0296]

표 IV - 세코-CPI 화합물의 특성

화합물 번호	암 세포의 증식 억제 (세포주 & EC_{50}, nM)					CLogP
	H226	N87	OVCAR3	HCT116	HCT116/ VM46	
Ia-01	0.014	0.007	-	-	-	1.81
Ia-02	0.042	0.097	0.048	0.045	0.045	2.45
Ia-03	0.038	0.048	0.026	0.034	0.034	2.97
Ia-04	0.11	0.15	0.11	0.12	0.12	2.89
Ia-05	0.18	0.21	0.076	0.17	0.17	3.37
Ia-06	0.47	0.56	0.32	0.36	0.36	2.83
Ia-07	0.72	0.81	0.41	0.67	0.67	3.41
Ia-08	3.4	1.3	2.1	-	-	1.04
Ia-09	0.055	0.016	0.025	-	-	2.19
Ia-10	0.25	0.15	-	-	-	4.57
Ia-11	1.0	1.2	0.52	0.58	0.92	1.92
Ia-12	0.53	1.3	0.54	0.40	0.29	3.68
Ia-13	0.32	0.48	0.12	0.18	0.24	2.75
Ia-14	0.43	0.36	0.10	0.26	0.77	1.55
Ia-15	0.28	0.32	0.21	0.22	0.26	3.39
Ia-16	0.40	0.50	-	-	-	2.01
Ia-17	1.6	36	18	19	25	1.42
Ia-18	32	48	12	25	19	1.12
Ia-19	4.2	3.1	1.1	3.2	3.5	0.78
Ia-20	6.5	3.5	1.5	1.9	2.6	2.36
Ia-21	0.99	2.2	1.2	0.85	0.50	1.81
Ia-22	5.1	1.9	1.1	1.2	1.2	1.65
Ia-23	7.5	2.6	1.1	0.9	1.9	2.42
Ia-24	250	-	250	250	250	1.60

표 IV - 세코-CPI 화합물의 특성

화합물 번호	암 세포의 증식 억제 (세포주 & EC_{50}, nM)					CLogP
	H226	N87	OVCAR3	HCT116	HCT116/ VM46	
Ia-25	23	38	22	13	24	0.78
Ia-26	9.5	-	2.7	4.1	12	1.34
Ia-27	1.4	3.5	-	-	-	3.37
Ia-28	0.30	0.066	0.058	0.079	0.090	2.85
Ia-29	0.63	0.26	-	-	-	2.60
Ia-30	0.018	0.045	0.032	0.033	0.097	1.11
Ia-31	0.24	0.43	0.53	0.62	0.86	3.90
Ib-01	2.39	3.6	2.8	3.2	3.5	1.92
Ib-02	1.0	0.96	0.53	0.64	1.9	1.83
Ic-01	0.91	1.5	0.89	0.43	0.75	1.93
Id-01	-	2.3	1.1	0.93	-	2.18
Id-02	1.2	1.4	-	-	-	1.60

[0297]

[0298] 실시예 4 - 화합물 10

[0299] 본 실시예 및 도 1a는 화합물 10의 합성에 관한 것이다.

[0300] EtOAc (160 mL) 중 3,5-디니트로벤질 알콜 1 (5 g, 25.2 mmol)의 용액을 2-아이오독시벤조산 ("SIBX", 시그마-알드리치로부터 입수가능함, 17.67 g, 63.1 mmol)에 첨가하였다. 반응 혼합물을 90℃에서 20시간 동안 환류시키고, 실온으로 냉각시키고, 여과하였다. 고체를 버리고, 여과물을 진공 하에 농축시켜 조 생성물 2를 황색 고체로서 수득하였으며, 이를 EtOAc 100 mL 중에 용해시키고, 포화 $NaHCO_3$ 용액에 이어서 물로 세척하였다. 이어서, 이것을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 용액을 진공 하에 농축시켜 3,5-디니트로벤즈알데히드 2 4.2 g (81%)을 황색 고체로서 수득하였다.

[0301] ^1H NMR (500MHz, DMSO-d_6) δ 10.24 (s, 1H), 9.08 - 9.06 (m, 1H), 9.04 (d, J=2.0 Hz, 2H); $C_7H_4N_2O_5$에 대한 분석 계산치: 196.01; 실측치 194.99 $[M-H]^+$.

[0302] N,N-디메틸포름아미드 ("DMF", 50 mL) 중 syn-벤즈알데히드 옥심 (6.18 g, 51.0 mmol)의 교반 용액을 K_2CO_3 (14.38 g, 102 mmol)으로 처리하고, 10분 동안 교반하였다. DMF (50 mL) 중 3,5-디니트로벤즈알데히드 2 (5 g, 25.5 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 90℃에서 2시간 동안 교반하고, 실온으로 냉각시켰다. (브로모메틸)벤젠 (7.12 mL, 58.6 mmol)을 반응 혼합물에 첨가하고, 이어서 이를 18시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 Et_2O (200 mL)로 희석하였다. 수성 HCl (1 N, 100 mL)을 교반하면서 천천히 첨가하였다. 에테르 층을 수집하고, 수성 층을 Et_2O (80 mL x 2) 및 EtOAc (80 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 $NaHCO_3$ 용액에 이어서 염수로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 갈색 오일 16 g을 수득하였으며, 이를 바이오타지(Biotage) (45에서 55% 디클로로메탄/헥산)로부터 330 g 칼럼 상에서 정제하여 3-(벤질옥시)-5-니트로벤즈알데히드 3 3.41 g (52.1%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0303] ^1H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 10.07 (s, 1H), 8.37 - 8.29 (m, 1H), 8.10 (t, J=2.2 Hz, 1H), 7.82 (dd, J=2.4, 1.2 Hz, 1H), 7.53 - 7.36 (m, 5H), 5.24 (s, 2H); $C_{14}H_{11}N_1O_4$에 대한 분석 계산치: 257.0; 실측치 279.3 $[M+Na]^+$.

[0304] 소듐 메탄올레이트 (25%) (1.313 mL, 5.91 mmol)를 테트라히드로푸란 ("THF", 3 mL) 및 MeOH (3 mL)의 혼합물 중 3-(벤질옥시)-5-니트로벤즈알데히드 3 (400 mg, 1.555 mmol) 및 메틸 2-아지도아세테이트 4 (시그마-알드리치로부터 입수가능함, 591 mg, 5.13 mmol)의 교반 용액에 -25℃에서 20분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 -20℃에서 64시간 동안, 이어서 0℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 얼음 및 물의 혼합물에 붓고, 디클로로메탄 ("DCM", 15 mL x 3)으로 추출하고, 물에 이어서 염수로 세척하였다. 유기 층을 $MgSO_4$ 상에서 건조시켜 조 생성물을 수득하였으며, 이를 바이오타지 (5%에서 9% EtOAc/Hex)로부터 330 g 칼럼 상에서 정제하여 화합물 5 323 mg (58.6%)을 수득하였다:

[0305] ^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 8.22 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.80 (t, J=2.1 Hz, 1H), 7.53 - 7.33 (m, 5H), 6.86 (s, 1H), 5.20 (s, 2H), 3.96 (s, 3H); ^{13}C NMR (126MHz, 클로로포름-d) δ 163.4, 159.1, 149.2, 135.6, 135.3, 128.8, 128.5, 128.2, 127.6, 122.8, 122.0, 118.0, 109.8, 70.9, 53.3; $C_{17}H_{14}N_4O_5$에 대한 분석 계산치: 354.09; 실측치 377.30 $[M+Na]^+$.

[0306] 화합물 5 (313 mg, 0.883 mmol)를 크실렌 (80 mL)에 첨가하고, 5분 동안 초음파처리하였다. 균질 용액이 형성되었으며, 이를 2회 탈기시켰다. 반응 혼합물을 20시간 동안 160℃에서 환류시키고, 실온으로 냉각시켰다. 크실렌을 진공 하에 증발시켜 황색 고체를 수득하였으며, 이를 바이오타지 (5%에서 15% EtOAc/헥산)로부터 24 g 칼럼 상에서 정제하여 화합물 6a 47.3 mg (16.41%) 및 화합물 6b 160.3 mg (55.6%)을 수득하였다.

[0307] 화합물 6a:

[0308] ^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 10.19 (br. s., 1H), 8.06 (d, J=2.2 Hz, 1H), 7.63 (d, J=1.9 Hz, 1H), 7.52 - 7.47 (m, 2H), 7.44 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.41 - 7.35 (m, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.01 (s, 3H); ^{13}C NMR (126MHz, 클로로포름-d) δ 161.2, 152.7, 136.2, 133.2, 131.2, 130.5, 128.8, 128.3, 127.6, 125.6, 115.2, 112.0, 108.9, 71.5, 52.4; $C_{17}H_{14}N_2O_5$에 대한 분석 계산치: 327.1; 실측치 327.3 [M+H] +.

[0309] 화합물 6b:

[0310] ^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 9.38 (br. s., 1H), 8.38 (s, 1H), 7.75 (d, J=1.3 Hz, 1H), 7.57 - 7.51 (m, 2H), 7.51 - 7.42 (m, 3H), 7.38 (d, J=2.0 Hz, 1H), 5.32 (s, 2H), 3.99 (s, 3H); ^{13}C NMR (126MHz, 클로로포름-d) δ 161.4, 145.2, 143.3, 135.3, 130.9, 129.7, 128.9, 128.8, 128.2, 126.7, 113.2, 111.0, 100.5, 71.1, 52.4; $C_{17}H_{14}N_2O_5$에 대한 분석 계산치: 327.1; 실측치 327.3 [M+H] +.

[0311] THF (4 mL) 중 화합물 6b (150 mg, 0.460 mmol)의 교반 용액에 Boc-무수물 (0.192 mL, 0.827 mmol) 및 4-디메틸아미노피리딘 ("DMAP", 11.23 mg, 0.092 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 염수 (5 mL) 및 EtOAc (5 mL)를 첨가하고, 교반을 5분 동안 계속하였다. 유기 층을 수집하였다. 수성 층을 EtOAc 10 mL로 추출하였다. 합한 유기 층을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 황색 고체를 수득하였으며, 이를 바이오타지 (5%에서 40% EtOAc/헥산)로부터 24 g 칼럼 상에서 정제하여 화합물 7 184.2 mg (94%)을 수득하였다.

[0312] ^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 8.29 (d, J=1.7 Hz, 1H), 7.70 (d, J=1.6 Hz, 1H), 7.50 (d, J=7.3 Hz, 2H), 7.45 - 7.39 (m, 2H), 7.39 - 7.33 (m, 2H), 5.35 (s, 2H), 3.97 (s, 3H), 1.50 (s, 9H); ^{13}C NMR (126MHz, 클로로포름-d) δ 160.4, 149.2, 145.5, 143.5, 135.1, 130.1, 130.0, 128.8, 128.6, 128.1, 126.3, 112.6, 112.4, 102.1, 86.4, 71.2, 52.4, 27.2; $C_{22}H_{22}N_2O_7$에 대한 분석 계산치: 426.1; 실측치 449.4 $[M+Na]^+$.

[0313] 아연 분말 (130 mg, 1.982 mmol) 및 NH_4Cl (212 mg, 3.96 mmol)을 아세톤 (4 mL)/물 (0.800 mL) 중 화합물 7 (169 mg, 0.396 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시켜 조 화합물 8 180 mg을 수득하였으며, 이를 EtOAc (8 mL) 중에 재용해시키고, 물 (8 mL)에 이어서 염수 (8 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시켰다. 그것을 진공 하에 농축시켜 조 화합물 8 (갈색) 160 mg을 수득하였으며, 이를 바이오타지 (15%에서 35% EtOAc/헥산)로부터 12 g 칼럼 상에서 정제하여 화합물 8 138.1 mg (88%)을 수득하였다.

[0314] ^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 7.46 (d, J=7.3 Hz, 2H), 7.39 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.35 - 7.30 (m, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.50 (d, J=1.4 Hz, 1H), 6.29 (d, J=1.4 Hz, 1H), 5.22 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.53 (br. s., 2H), 1.49 (s, 9H); $C_{22}H_{24}N_2O_5$에 대한 분석 계산치: 397.17; 실측치 397.13 $[M+H]^+$.

[0315] Boc-무수물 (0.112 mL, 0.484 mmol)을 THF (3.5 mL) 중 화합물 8 (128 mg, 0.323 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반하고, 진공 하에 농축시켜 갈색의 왁스상 조 화합물 9 178 mg을 수득하였으며, 이를 바이오타지 (5%에서 15% EtOAc/헥산)로부터 12 g 칼럼 상에서 정제하여 화합물 9 156 mg (97%)를 수득하였다.

[0316] ^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 7.48 (d, J=7.3 Hz, 2H), 7.39 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.36 - 7.30 (m, 2H), 7.13 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.41 (br. s., 1H), 5.24 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 1.54 (s, 9H), 1.47 (s, 9H); $C_{27}H_{32}N_2O_7$에 대한 분석 계산치: 496.2; 실측치 497.5 $[M+H]^+$.

[0317] N-아이오도숙신이미드 (127 mg, 0.564 mmol) 및 아세트산 (0.065 mL, 1.128 mmol)을 톨루엔 (8 mL) 중 화합물 9 (140 mg, 0.282 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 반응 플라스크를 알루미늄 호일로 덮고, 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포함하는 물 (20 mL)에 부었다. EtOAc (10 mL)를 첨가하고, 혼합물을 2분 동안 교반하였다. 유기 층을 수집하였다. 수성 층을 EtOAc (10 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 암자색 왁스를 수득하였으며, 이를 바이오타지 (5%에서 12% EtOAc/헥산)로부터 12 g 칼럼 상에서 정제하여 화합물 10 110.6 mg (63.0%)을 황색 왁스로서 수득하였다:

[0318] ^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 7.81 (br. s., 1H), 7.50 (d, J=7.1 Hz, 2H), 7.43 - 7.36 (m, 2H), 7.35 - 7.30 (m, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.79 (br. s., 1H), 5.27 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 1.56 (s, 9H), 1.43 (s, 9H); $C_{27}H_{31}IN_2O_7$에 대한 분석 계산치: 622.1; 실측치 623.4 $[M+H]^+$.

[0319] 실시예 5 - 에스테르 12

[0320] 본 실시예 및 도 3b는 에스테르 12의 제조에 관한 것이다.

[0321] NaH (7.71 mg, 0.193 mmol) 및 1,3-디클로로프로펜 (23.50 μl, 0.241 mmol)을 0℃에서 DMF 중 화합물 10 (100 mg, 0.161 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NH_4Cl (100 mL) 용액에 붓고, Et_2O (2 X 80 mL)로 추출하였다. 추출물을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 갈색 왁스를 수득하였으며, 이를 바이오타지 (5%에서 12% EtOAc/헥산)로부터 12 g 칼럼 상에서 정제하여 화합물 11 88.7 mg (79%)을 수득하였다:

[0322] ^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 7.47 - 7.31 (m, 5H), 7.21 (s, 1H), 6.53 (d, J=18.3 Hz, 1H), 6.03 - 5.83 (m, 3H), 5.34 - 5.21 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 4.57 - 3.70 (m, 2H), 1.58 (s, 9H), 1.30 (d, J=9.8 Hz, 9H); $C_{30}H_{34}ClIN_2O_7$에 대한 분석 계산치: 696.1; 실측치 719.5 $[M+Na]^+$.

[0323] 트리-n-부틸주석 히드라이드 (1.793 mL, 6.59 mmol) 및 2,2'-아조비스(2-메틸프로피오니트릴) ("AIBN", 0.085 g, 0.507 mmol)을 벤젠 (100 mL) 중 화합물 11 (3.5305 g, 5.07 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 1회 탈기시키고, 80℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 진공 하에 냉각시켜 갈색 왁스를 수득하였으며, 이를 바이오타지 (5%에서 10% EtOAc/헥산)로부터 120 g 칼럼 상에서 정제하여 화합물 12 및 12a의 혼합물 2.7552 g을 수득하였다. 혼합물을 SFC 키랄 분리 (키랄팩: AD-H 정제용 칼럼, 30 X 250 mm, 5 μm; 이동상: 130 bar에서 CO_2 중 35% MeOH; 온도: 35℃; 유량: 13분 동안 70.0 mL/분; 220 nm에서 UV 모니터링함)에 의해 분리하였다. 이 절차로 화합물 12 0.9562 g (33.1%) (^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 7.52 - 7.30 (m, 6H), 7.11 (s, 1H), 5.27 (s, 2H), 4.20 - 4.13 (m, 1H), 4.01 - 3.82 (m, 6H), 3.53 (t, J=9.9 Hz, 1H), 1.57 (s, 9H), 1.43 (br. s., 9H); $C_{30}H_{35}ClN_2O_7$에 대한 분석 계산치: 570.2; 실측치 571.5 $[M+H]^+$; $[\alpha]^{20}D$ -17.06 (c 2.45, $CHCl_3$)) 및 화합물 12b 0.9252 g (32.0%) (^{1}H NMR (500MHz, 클로로포름-d) δ 7.53 - 7.30 (m, 6H), 7.11 (s, 1H), 5.27 (s, 2H), 4.22 - 4.13 (m, 1H), 4.12 - 3.83 (m, 6H), 3.53 (t, J=10.1 Hz,

1H), 1.57 (s, 9H), 1.43 (br. s., 9H); $C_{30}H_{35}ClN_2O_7$에 대한 분석 계산치: 570.2; 실측치 571.5 $[M+H]^+$; $[\alpha]^{20}D$ +17.06 (c 2.45, $CHCl_3$))을 수득하였다.

[0324] 실시예 6 - 화합물 16

[0325] 본 실시예 및 도 2는 화합물 16의 제조에 관한 것이다.

[0326] ACN (알드리치, 40 mL) 중 에스테르 12 (1g, 1.751 mmol)의 용액을 제조하였다. 증류수 (10 mL) 중 LiOH (0.125 g, 5.22 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 50℃에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 6 N HCl을 사용하여 pH 4로 산성화시키고, 진공 하에 농축시켜 ACN을 제거하였다. 반응 혼합물을 EtOAc (2 x 50 mL)로 추출하였다. 유기 상을 물 및 염수로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고, 농축시키고, 고진공 하에 밤새 건조시켜 조 산 13 (0.98g)을 수득하였다.

[0327] ESI-LCMS (M+H): 557.0.

[0328] N,N-디이소프로필에틸아민 ("DIPEA", 알드리치, 0.612 mL, 3.50 mmol)을 무수 DMF (아크로스(Acros), 5 mL) 중 산 13 (0.98 g), 모르폴린 13a (알드리치, 0.458 g, 5.25 mmol) 및 N,N,N',N'-테트라메틸-O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)우로늄 헥사플루오로포스페이트 ("HATU", CAS 등록 번호 148893-10-1, 오크우드 케미칼(Oakwood Chemical), 0.999 g, 2.63 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 45분 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 EtOAc, 물 및 염수로 후처리하였다. 유기 상을 합하고, 실리카 겔 2 g으로 슬러리로 농축시켰다. 슬러리를 24 g 콤비플래쉬(COMBIFLASH)™ 칼럼 상에서 헥산 중 0-35% EtOAc 구배로 용리시키면서 정제하였다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 농축시키고, 고진공 하에 건조시켜 화합물 14 (0.872 g, 80% 수율, 두 단계에 걸침)를 고체로서 수득하였다.

[0329] ESI-LCMS (M+H): 626.1.

[0330] 무수 THF (아크로스, 5 mL) 중 화합물 14 (396 mg, 0.633 mmol)의 용액을 제조하였다. 증류수 (1 mL) 중 포름산암모늄 (알드리치, 1.104 g, 8.76 mmol)을 첨가하였다. 질소 기체를 반응 혼합물을 통해 5분 동안 버블링한 다음, 탄소 상 Pd (알드리치-시그마, 10%, 60 mg)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 0.5시간 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 EtOAc (50 mL)로 희석하고, 여과하였다. 여과물을 물 및 염수로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였으며, 이를 ACN 및 물로 동결건조시켜 화합물 15 (백색 고체, 225 mg, 66% 수율)를 수득하였다.

[0331] ESI-LCMS (M+H): 536.2.

[0332] 트리플루오로아세트산 ("TFA", 알드리치, 1 mL)을 무수 DCM (아크로스, 1 mL) 중 화합물 15 (78 mg, 0.146 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시키고, ACN 및 물로 동결건조시켜 화합물 16 (81 mg, 이중 TFA 염, 98%)을 녹색 고체로서 수득하였다.

[0333] ESI-LCMS (M+H): 336.0.

[0334] 실시예 7 - 화합물 18

[0335] 본 실시예는 도 2에 나타낸 바와 같은 화합물 18의 제조에 관한 것이다.

[0336] 무수 THF (아크로스 오가닉스(Acros Organics), 10 mL) 중 에틸 에스테르 17a (알파 에이사(Alfa Aesar), 300 mg, 1.46 mmol) 및 트리페닐포스핀 ("TPP", 알드리치-시그마, 767 mg, 2.92 mmol)의 용액을 제조하였다. 무수 THF (아크로스, 무수, 2 mL) 중 디-tert-부틸 아조디카르복실레이트 ("DBAD", 알드리치, 673 mg, 2.92 mmol)를 10분 걸쳐, 이어서 2-메톡시에탄올 17b (알드리치, 445 mg, 5.85 mmol)를 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 거의 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 EtOAc, 물, 및 염수로 후처리하였다. 유기 상을 합하고, 실리카 겔 (1 g)로 진공 하에 농축시켜 슬러리를 수득하였다. 슬러리를 24 g 콤비플래쉬™ 칼럼 상에서 헥산 중 0-30% EtOAc 구배로 용리시키면서 정제하였다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 농축시키고, 고진공 하에 건조시켜 화합물 17 (314 mg, 1.19 mmol, 82%)을 고체로서 수득하였다.

[0337] ESI-LCMS (M+H): 264.1.

[0338] 증류수 (1 mL) 중 LiOH (알드리치, 50 mg)을 ACN (아크로스, 10 mL) 중 화합물 17 (314 mg, 1.19 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 40℃에서 3시간 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 아세트산 (0.5 mL)을 사용하여 중화시키고, 진공 하에 2 mL로 농축시켰다. 생성된 혼합물을 콤비플래쉬™ AQ 골드(Gold) 50 g 칼럼 상에 로딩하고, 물 중 0-60% ACN 구배 (둘 다, 0.05% 포름산 함유, 50 mL/분)로 용리시켰다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 동결건조시켜 화합물 18 (226 g, 0.961 mmol, 81%)을 백색 분말로서 수득하였다.

[0339] ESI-LCMS (M+H): 236.0.

[0340] 실시예 8 - 세코-CPI 화합물 Ia-01

[0341] 본 실시예 및 도 2는 세코-CPI 화합물 Ia-01의 제조에 관한 것이다.

[0342] 무수 DMF (아크로스, 1 mL) 중 화합물 16 (5 mg, 0.015 mmol) 및 18 (7.0 mg, 0.030 mmol)의 용액을 제조하였다. N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보디이미드 히드로클로라이드 ("EDC", 알드리치, 5.71 mg, 0.030 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 정제용 HPLC에 의해 키네텍스(KINETEX)™ 5 μm EVO C18 150 x 21.2 mm 칼럼 상에서 물 중 45-60% ACN (0.1% TFA 함유, 20 mL/분)으로 용리시키면서 정제하였다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 동결건조시켜 Ia-01 (4.1 mg, 7.4 μmol, 50% 수율)을 회백색 고체로서 수득하였다.

[0343] ESI-LCMS (M+H): 553.1.

[0344] ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) 11.54 (1H, s), 11.29 (1H, s), 9.75 (1H, s), 7.75 (1H, s), 7.39 (1H, d), 7.15(1H, d), 7.02(1H, d), 6.91(2H, d), 4.74 (1H, t), 4.45 (1H, d), 4.14(4H, m), 3.89(2H, m), 3.40-3.80(12H, m).

[0345] 일반적으로 본 실시예의 절차 및 도 2에 따르되, 대안적 전구체 물질을 사용하여, 추가의 세코-CPI 화합물을 하기 표 V에 열거된 바와 같이 제조하였다.

표 V - 도 2에 따라 제조된 세코-CPI 화합물

화합물 번호	질량 스펙트럼	비고
Ia-02	$[M-H]^-$ = 521.2	에탄올을 화합물 17b 대신 사용함.
Ia-08	$[M+H]^+$ = 541.1	에탄-1,2-디올을 화합물 17b 대신 사용함.
Ia-09	$[M+H]^+$ = 567.1	3-메톡시-1-프로판올을 화합물 17b 대신 사용함.
Ia-10	$[M+H]^+$ = 591.1	시클로헥실메탄올을 화합물 17b 대신 사용함.
Ia-16	$[M+H]^+$ = 566.1	2-(디메틸아미노)에탄올을 화합물 17b 대신 사용함.
Ia-30	$[M+H]^+$ = 569	5,6,7-트리메톡시-1*H*-인돌-2-카르복실산 (CAS 등록 번호 128781-0707)을 화합물 18 대신 사용함.
Ia-31	$[M+H]^+$ = 565.0	3-메틸부탄-1-올을 화합물 17b 대신 사용함.

[0346]

[0347] 실시예 9 - 화합물 26

[0348] 본 실시예 및 도 3a는 화합물 26의 합성에 관한 것이다.

[0349] 무수 DCM (아크로스, 50 mL) 및 무수 메탄올 (아크로스, 50 mL) 중 화합물 19a (바켐(Bachem), 7.5 g, 24.09 mmol) 및 (4-아미노페닐)메탄올 19b (알드리치, 3.86 g, 31.3 mmol)의 용액을 제조하였다. 2-에톡시-1-에톡시카르보닐-1,2-디히드로퀴놀린 ("EEDQ", 바켐, 8.94 g, 36.1 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새

교반하였다. LCMS 분석은 반응이 거의 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 EtOAc (400 mL)로 희석하고, 생성된 용액을 물 및 염수로 세척하였다. 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 100 mL 부피를 수득하였다. 침전된 백색 고체를 여과에 의해 수집하고, 주말에 걸쳐 공기 건조시켜 화합물 20 (백색 고체, 8.9 g, 21.37 mmol, 89%)을 수득하였다.

[0350] ESI-LCMS (M+H): 417.1.

[0351] 피페리딘 (알드리치, 1 mL)을 DMF (아크로스, 무수, 10 mL) 중 화합물 20 (2.2 g, 5.28 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 ACN 및 물로 동결건조시켜 일부 Fmoc 잔류물 함유 조 화합물 21 (2.12 g)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0352] ESI-LCMS (M+H): 195.0.

[0353] DMF (아크로스, 무수, 10 mL) 중 화합물 21 (2.12 g, 조 물질) 및 화합물 22a (알드리치, 1.610 g, 5.28 mmol)의 용액을 제조하였다. DIPEA (알드리치)를 첨가하여 반응 혼합물의 pH을 8 초과로 조정하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 EtOAc, 물 및 염수로 후처리하였다. 유기 상을 합하고, 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 ACN (알드리치, 5 mL) 및 증류수 (10 mL)로 재용해시켰다. 현탁액을 여과하였다. 여과물을 130 g 콤비플래쉬™ AQ 골드 칼럼 상에 로딩하고 75 mL/분으로 25-40% ACN (0.05% 포름산 함유) 및 물 (또한 0.05% 포름산 함유)에 의해 용리시켰다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 동결건조시켜 화합물 22 (0.89 g, 2.262 mmol, 42.8%)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0354] ESI-LCMS (M+H): 394.1.

[0355] 무수 DCM (아크로스, 4 mL) 중 화합물 22 (147 mg, 0.374 mmol) 및 퍼브로모메탄 (알드리치, 217 mg, 0.653 mmol)의 용액을 제조하였다. TPP (알드리치, 171 mg, 0.653 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반시켰고, 그 후 투명한 용액이 형성되었다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 12 g 콤비플래쉬™ 골드 칼럼 상에 로딩하고, 헥산 중 50-100% EtOAc (25 mL/분)로 용리시켰다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 농축시키고, 고진공 하에 15분 동안 건조시켜 화합물 23 (92 mg, 54%)을 고체로서 수득하였다.

[0356] ESI-LCMS (M+H): 456.1.

[0357] 디에틸 에테르 중 메틸 리튬 (알드리치, 1.6 M, 0.233 mL, 0.373 mmol)을 무수 THF (아크로스, 1 mL) 중 화합물 15 (도 2, 100 mg, 0.187 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다. 화합물 23 (92 mg, 0.202 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 EtOAc, 물 및 염수로 후처리하였다. 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시키고, 고진공 하에 건조시켜 화합물 24 (153 mg, 조 물질)를 수득하였다.

[0358] ESI-LCMS (M+H): 911.2.

[0359] TFA (알드리치, 2 mL)를 무수 DCM (아크로스, 0.5 mL) 중 조 화합물 24 (153 mg)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 농축시키고, 콤비플래쉬™ AQ 골드 30 g 칼럼 상에서 35 mL/분으로 탈이온수 (0.05% 포름산 함유) 중 15-30% ACN (0.05% 포름산 함유)으로 용리시키면서 정제하였다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 동결건조시켜 화합물 25 (61 mg, 53.5%)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0360] ESI-LCMS (M+H): 611.2.

[0361] 무수 DMF (아크로스, 1 mL) 중 화합물 25 (61 mg, 0.100 mmol) 및 BOC-무수물 (오크우드, 0.030 mL, 0.130 mmol)의 용액을 제조하였다. DIPEA (알드리치, 0.060 mL, 0.348 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 정제용 HPLC에 의해 키네텍스™ C18 EVO 5 μ 150x22.1 mm 칼럼 상에서 물 중 30-50% ACN (0.1% TFA 함유, 20 mL/분)을 사용하여 정제하였다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 동결건조시켜 화합물 26 (60 mg, 84.4%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0362] ESI-LCMS (M+H): 711.2.

[0363] 실시예 10 - 세코-CPI-링커 화합물 IIIa-03

[0364] 본 실시예 및 도 3b는 화합물 IIIa-03의 제조에 관한 것이다.

[0365] DIPEA (알드리치, 0.074 mL, 0.422 mmol)를 무수 DMF (아크로스, 0.7 mL) 중 화합물 18 (도 2, 29.8 mg, 0.127 mmol) 및 HATU (오크우드, 48.1 mg, 0.127 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다. 화합물 26 (도 3b, 30 mg, 0.042 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 70% 완결되었음을 나타내었다. 반응물을 정제용 HPLC에 의해 키네텍스™ C18 EVO 5μ 150x22.1 mm 칼럼 상에서 물 중 50-65% ACN (0.1% TFA 함유, 20 mL/분)으로 용리시키면서 정제하였다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 동결건조시켜 화합물 27 (27 mg, 68.8%)을 분말로서 수득하였다.

[0366] ESI-LCMS (M+H): 928.3.

[0367] TFA (시그마, 1 mL)를 무수 DCM (아크로스, 1 mL) 중 화합물 27 (27 mg, 0.029 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응물을 정제용 HPLC에 의해 키네텍스™ C18 EVO 5μ 150x22.1 mm 칼럼 상에서 물 중 40-50% ACN (0.1% TFA 함유, 20 mL/분)으로 용리시키면서 정제하였다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 동결건조시켜 화합물 28 (20 mg, 83.0%)을 분말로서 수득하였다.

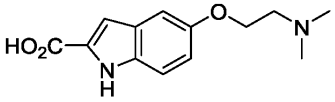
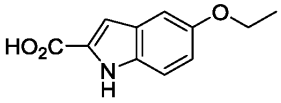
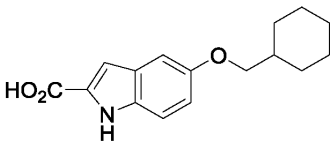
[0368] ESI-LCMS (M+H): 828.2.

[0369] DIPEA (시그마, 20 μL, 0.114 mmol)를 무수 DMF (아크로스, 0.7 mL) 중 화합물 28 (20 mg, 0.024 mmol) 및 6-말레이미도헥산산 N-히드록시숙신이미드 에스테르 29 (시그마-알드리치로부터 입수가능함, 11.17 mg, 0.036 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 정제용 HPLC에 의해 키네텍스™ C18 EVO 5μ 150x22.1 mm 칼럼 상에서 물 중 50-65% 아세토니트릴 (0.1% TFA 함유, 20 mL/분)로 용리시키면서 정제하였다. 생성물을 함유하는 것으로 기대되는 분획을 합하고, 동결건조시켜 세코-CPI-링커 화합물 IIIa-03 (12.8 mg, 51.9%)을 분말로서 수득하였다.

[0370] ESI-LCMS (M+H): 1021.5.

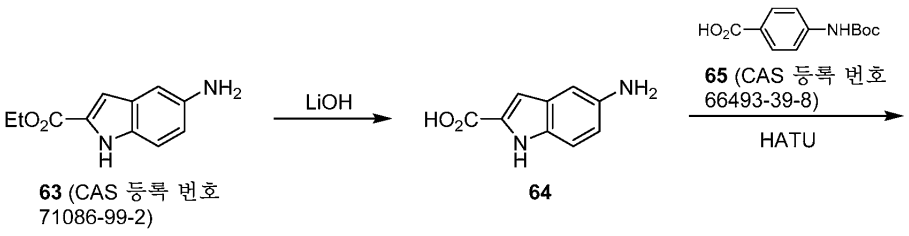
[0371] ^{1}H NMR (DMSO-d6): δ 11.98(s, 1H), 11.77(s, 1H), 9.79(s, 1H), 8.11(d, 1H, J = 6.9 Hz), 7.79(d, 1H, J = 8.6 Hz), 7.42(d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.29(d, 3H, J =8.3 Hz), 7.19(s, 1H), 6.98-7.03(m, 4H), 6.61(d, 1H, J = 7.19 Hz), 6.53(d, 2H, J =8.5 Hz), 5.05(t, 2H, J = 4.7 Hz), 4.45(d, 1H, J = 10.7 Hz), 4.34(d, 1H, J = 7.1 Hz), 4.11-4.17(m, 3H), 3.52-3.72(m, 10H), 3.09-3.38(m, 9H), 2.15(m, 2H), 1.95(m, 1H), 1.48(m, 4H), 1.27(m, 3H), 1.17(m, 2H), 0.84(m, 6H).

[0372] 일반적으로 본 실시예의 절차 및 도 3a-3b의 반응식에 따르되, 대안적 전구체 물질을 사용하여, 하기 표 VI에 열거된 바와 같은 추가의 세코-CPI-링커 화합물을 제조하였다.

표 VI - 도 3a-3b에 따라 제조된 세코-CPI-링커 화합물		
화합물 번호	질량 스펙트럼	비고
IIIa-01	$[M+H]^+$ = 1034.4	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 대신 사용함.
IIIa-02	$[M+H]^+$ = 1081.4	화합물 66을 화합물 18 대신 사용하며, Boc 보호기는 이후에 제거함. 화합물 66의 합성에 대한 반응식은 하기 나타내었음.
IIIa-04	$[M+H]^+$ = 991.4	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 대신 사용함.
IIIa-13	$[M+H]^+$ = 1059.4	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 대신 사용함.

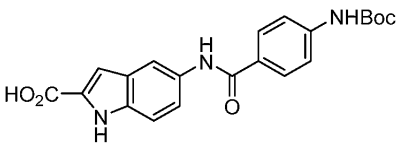
[0373]

[0374] 화합물 66의 제조



63 (CAS 등록 번호 71086-99-2)

64



66

[0375]

[0376] 실시예 11 - 세코-CPI 화합물 Ia-21

[0377] 본 실시예 및 도 4는 세코-CPI 화합물 Ia-21의 제조에 관한 것이다.

[0378] 디옥산 중 HCl (4 N, 15 mL)을 에스테르 12 (0.25 g, 0.4388 mmol)에 첨가하였다. 반응 혼합물을 50℃에서 5시간 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 질소 하에 블로우 건조시켜 암청색 잔류물을 조 산 30으로서 수득하였고, 이를 추가 정제 없이 후속 단계에서 사용하였다.

[0379] ESI-LCMS (M+H): 371.1.

[0380] N,N-디메틸아세트아미드 ("DMA", 5 mL)를 조 산 30 (히드로클로라이드 염, 178 mg, 0.437 mmol), 5-메톡시-1H-인돌-2-카르복실산 30a (CAS 등록 번호 4382-54-1, 시그마-알드리치로부터 입수가능함, 125 mg, 0.656 mmol), EDC (251 mg, 1.311 mmol), 1-히드록시벤조트리아졸 ("HOBT", 201 mg, 1.311 mmol), 및 $NaHCO_3$ (184 mg, 2.185 mmol)에 첨가하였다. 흑색 용액을 실온에서 4.5시간 동안 교반하였다. LCMS 분석은 생성물 피크의 출현을 나

타내었다. 반응 혼합물을 물 (15 mL)로 희석하고, 실온에서 15분 동안 교반하고, 여과하였다. 조 생성물을 갈색 고체로서 수집하고, DCM/메탄올 중에 재용해시켰다. 생성된 용액을 실리카 겔 (1.3 g)로 농축 건조시켜 슬러리를 형성하였다. 슬러리를 15 g 실리카 겔 칼럼 상에서 DCM 용리액 중 0-3% 에틸 아세테이트 구배로 정제하였다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 농축시키고, 진공 하에 건조시켜 조 생성물 (206 mg)을 수득하였다. 조 생성물을 클로로포름 중 20% 메탄올 중에 재용해시키고, 1.3 g 실리카 겔로 슬러리로 농축시켰다. 슬러리를 실리카 겔 칼럼 상에서 100% DCM 및 헥산 용리액 중 1-5% 에틸 아세테이트로 정제하였다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 농축시키고, 고진공 하에 건조시켜 약간 불순한 화합물 31 (0.108 g, 0.199 mmol, 45.4%)을 수득하였다.

[0381] ESI-LCMS (M+H): 544.4.

[0382] THF (3 mL), 물 (1.000 mL), 및 MeOH (2.000 mL)를 화합물 31 (104 mg, 0.191 mmol)에 첨가하고, 수산화리튬 수화물 (138 mg, 3.29 mmol)을 첨가하였다. 황색 불균질 혼합물을 밤새 교반하였다. LC/MS는 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 1 N HCl을 사용하여 산성화시킨 다음, 여과하였다. 고체를 수집하고, 건조시켜 조 화합물 32 (0.168 g, 88%)를 수득하였다.

[0383] ESI-LCMS (M+H): 529.9.

[0384] DMA (0.5 mL)를 화합물 32 (15 mg, 0.028 mmol), N,N'-디메틸에탄-1,2-디아민 32a (CAS 등록 번호 110-70-3, 시그마-알드리치로부터 입수가능함, 1.247 mg, 0.014 mmol), EDC (10.85mg, 0.057 mmol), HOBT (8.67 mg, 0.057 mmol), 및 $NaHCO_3$ (9.51 mg, 0.113mmol)에 첨가하였다. LC/MS는 반응이 50% 완결된 것을 나타내었다.

반응 혼합물을 MeOH로 희석하고, 정제용 LC에 의해 물 중 15-100% ACN (둘 다, 0.1% TFA 함유, 40 mL/분) 구배로 정제하였다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 동결건조시켜 화합물 33 (5.8 mg, 7.98 μmol, 28.2%)을 수득하였다.

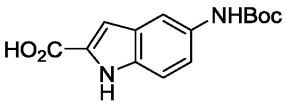
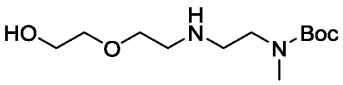
[0385] ESI-LCMS (M+H): 600.10.

[0386] MeOH (0.5mL)를 화합물 33 (TFA 염, 5.7 mg, 7.98 μmol), 포름산암모늄 (15.10 mg, 0.239 mmol), 및 Pd-C (1.699 mg, 1.596 μmol)에 첨가하였다. 반응 혼합물을 환류 하에 30초 동안 가열하였다. 10분 후, LC/MS는 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 여과하고, 여과물을 정제용 HPLC에 의해 워터스-YMC-OBD S5 20x100 mm 칼럼 상에서 물 중 0-75% ACN (둘 다, 0.1% TFA 함유, 25 ml/분)으로 정제하였다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 동결건조시켜 세코-CPI 화합물 Ia-21 (1.5 mg, 2.12 μmol, 26.5%)을 호박색 고체로서 수득하였다.

[0387] ESI-LCMS (M+H): 510.15.

[0388] ^{1}H NMR (MeOD, 500 MHz) 7.92 (1H, s), 7.41(1H, d, J = 5 Hz), 7.18(1H, d, J = 1 Hz), 7.14(1H, s), 7.07(1H, s), 6.96(1H, dd, J = 10 Hz), 4.76 (1H, t), 4.61 (1H, dd), 4.09 (2H, m), 3.86 (3H, s), 3.80(3H, m), 3.40(2H, t, J = 5 Hz), 3.03(6H, s).

[0389] 일반적으로 본 실시예의 절차 및 도 4에 따르되, 대안적 전구체 물질을 사용하여, 추가의 세코-CPI 화합물을 하기 표 VII에 열거된 바와 같이 제조하였다.

표 VII - 도 4에 따라 제조된 세코-CPI 화합물		
화합물 번호	질량 스펙트럼	비고
Ia-11	$[M+H]^+ = 509.3$	모르폴린을 화합물 32a 대신 사용함.
Ia-19	$[M+H]^+ = 494.1$	모르폴린을 화합물 32a 대신 사용하고,  을 화합물 30a 대신 사용하며, Boc 보호기는 이후에 제거함.
Ia-20	$[M+H]^+ = 522.2$	1-메틸피페라진을 화합물 32a 대신 사용함.
Ia-22	$[M+H]^+ = 527.2$	2-(2-아미노에톡시)에탄올을 화합물 32a 대신 사용함.
Ia-23	$[M+H]^+ = 511.2$	(*S*)-2-아미노부탄-1-올을 화합물 32a 대신 사용함.
Ia-24	$[M+H]^+ = 584.4$	 을 화합물 32a 대신 사용하고, Boc 보호기는 이후에 제거함.

[0390]

[0391] 실시예 12 - 세코-CPI-링커 화합물 IIIa-05

[0392] 본 실시예 및 도 5는 세코-CPI-링커 화합물 IIIa-05의 제조에 관한 것이다.

[0393] DIPEA (시그마, 0.052 mL, 0.299 mmol)를 DMF (아크로스, 무수, 1 mL) 중 화합물 25 (61 mg, 0.100 mmol) 및 히드록시숙신이미드 에스테르 25a (키안타바이오디자인(QuantaBiodesign), 76 mg, 0.130 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 60분 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 아세트산 (40 uL)을 사용하여 중화시키고, 30 g 콤비플래쉬™ AQ 골드 칼럼 상에 로딩하고, 물 중 50-75% ACN (둘 다, 0.05% 포름산 함유, 35mL/분)으로 정제하였다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 동결건조시켜 화합물 34 (52 mg, 0.048 mmol, 48.2% 수율)를 수득하였다.

[0394] ESI-LCMS (M+H): 1080.3.

[0395] DIPEA (시그마, 0.042 mL, 0.241 mmol)를 DMF (아크로스, 무수, 0.7 mL) 중 산 18 (34.0 mg, 0.144 mmol), 화합물 34 (52 mg, 0.048 mmol) 및 HATU (오크우드, 54.9 mg, 0.144 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 70% 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 정제용 HPLC에 의해 키네텍스™ 5μ C18 EVO 150x21.2 mm 칼럼 상에서 물 중 45-65% ACN (0.1% TFA 함유, 20 mL/분)으로 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 동결건조시켜 화합물 35 (31 mg, 49.8%)를 수득하였다.

[0396] ESI-LCMS (M+H): 1297.3.

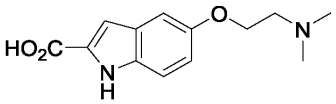
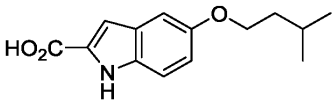
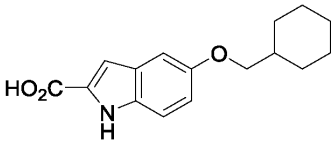
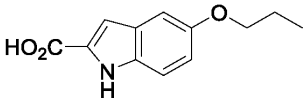
[0397] 피페리딘 (알드리치, 50 μL)을 DMF (아크로스, 무수, 0.5 mL) 중 화합물 35 (31 mg)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. LCMS 분석은 반응이 완결된 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 AcOH (50 μL)을 사용하여 중화시키고, 정제용 HPLC에 의해 키네텍스™ C18 5μ 150x21.2 mm 칼럼 상에서 물 중 30-40% ACN (0.1% TFA 함유, 20 mL/분) 구배로 정제하였다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 동결건조시켜 세코-CPI-링커 화합물 IIIa-05 (22 mg, 64.2%)를 TFA 염으로서 수득하였다.

[0398] ESI-LCMS (M+H): 1075.6.

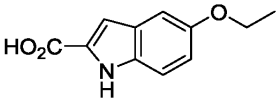
[0399] ^{1}H NMR(DMSO-d_6): δ 11.97(s, 1H), 11.77(s, 1H), 9.81(s, 1H), 8.15(d, 1H, J = 3.1 Hz), 7.88(d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.79(s, 3H), 7.42(d, 1H, J = 9.1 Hz), 7.30(d, 3H, J =8.6 Hz), 7.19(s, 1H), 6.96-7.02(m, 2H),

6.63(d, 1H, J = 1.9 Hz), 6.53(d, 2H, J =8.6 Hz), 5.06(t, 2H, J = 4.9 Hz), 4.45(d, 1H, J = 10.7 Hz), 4.34(d, 1H, J = 7.1 Hz), 4.21(m, 1H), 4.12(s, 2H), 2.96-3.72(m, 32H), 2.36-2.48(m, 4H), 1.97(m, 2H), 1.28(d, 3H, J = 7.1 Hz), 0.85(m, 6H).

[0400] 일반적으로 본 실시예의 절차 및 도 5의 반응식에 따르되, 대안적 전구체 물질을 사용하여, 추가의 세코-CPI-링커 화합물을 하기 표 VIII에 열거된 바와 같이 제조하였다.

표 VIII - 도 5에 따라 제조된 세코-CPI-링커 화합물		
화합물 번호	질량 스펙트럼	비고
IIIa-06	$[M+H]^+$ = 1088.4	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 대신 사용함.
IIIa-07	$[M+H]^+$ = 1087.3	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 대신 사용함.
IIIa-08	$[M+H]^+$ = 1113.4	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 대신 사용함.
IIIa-09	$[M+H]^+$ = 1091.3	5,6,7-트리메톡시-1*H*-인돌-2-카르복실산 (CAS 등록 번호 128781-0707)을 화합물 18 대신 사용함.
IIIa-10	$[M+H]^+$ = 1134.5	화합물 48a (도 9)를 화합물 18 대신 사용하며, 이어서 Boc 보호기를 제거하고, 4-히드록시벤조산과 HATU 매개 커플링함.
IIIa-11	$[M+H]^+$ = 1059.5	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 대신 사용함.

[0401]

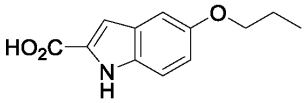
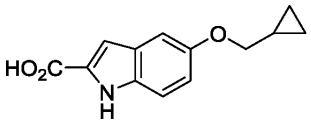
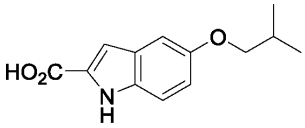
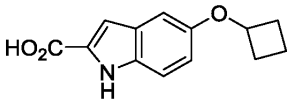
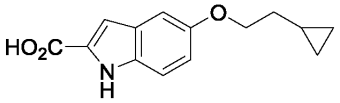
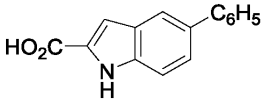
표 VIII - 도 5에 따라 제조된 세코-CPI-링커 화합물		
화합물 번호	질량 스펙트럼	비고
IIIa-12	$[M+H]^+$ = 1045.4	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 대신 사용함.

[0402]

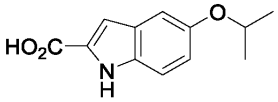
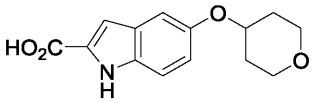
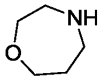
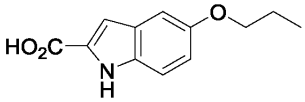
[0403] 실시예 13 - 세코-CPI 화합물 Ia-15

[0404] 도 6은 세코-CPI 화합물 Ia-15의 합성에 대한 반응식을 나타낸다. 사용된 시약, 및 그의 사용을 위한 조건은

관련 기술분야에 공지되어 있고/거나 이전 실시예에 예시되어 있다. 표 IX는 화합물 Ia-15 및 유사하게 제조된 다른 화합물에 대한 분석 데이터를 나타낸다.

표 IX - 도 6에 따라 제조된 세코-CPI 화합물		
화합물 번호	질량 스펙트럼	비고
Ia-03	$[M+H]^+ = 537.3$	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 화합물 38 대신 사용함
Ia-04	$[M+H]^+ = 549.1$	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 화합물 38 대신 사용함
Ia-05	$[M+H]^+ = 551.3$	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 화합물 38 대신 사용함
Ia-06	$[M+H]^+ = 549.2$	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 화합물 38 대신 사용함
Ia-07	$[M+H]^+ = 563.5$	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 화합물 38 대신 사용함
Ia-12	$[M+H]^+ = 555.3$	 (CAS 등록번호 66616-71-5)을 화합물 38 대신 사용함

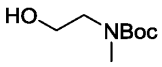
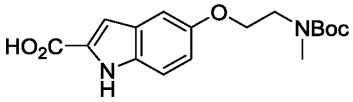
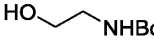
[0405]

표 IX - 도 6에 따라 제조된 세코-CPI 화합물		
화합물 번호	질량 스펙트럼	비고
Ia-13	$[M+H]^+$ = 537.3	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 화합물 38 대신 사용함
Ia-14	$[M+H]^+$ = 579.2	도 2의 화합물 18과 유사하게 제조된  을 화합물 38 대신 사용함
Ia-15	$[M+H]^+$ = 563.4	도시된 바와 같음
Ia-28	$[M+H]^+$ = 551.1	 을 모르폴린 대신 사용하여 도 2의 절차에 따라 화합물 14의 대응물을 제조하고,  을 화합물 38 대신 사용함

[0406]

[0407] 실시예 14 - 세코-CPI 화합물 Ia-18

[0408] 도 7은 세코-CPI 화합물 Ia-18의 합성에 대한 반응식을 나타낸다. 사용된 시약, 및 그의 사용을 위한 조건은 관련 기술분야에 공지되어 있고/거나 이전 실시예에 예시되어 있다. 표 X은 화합물 Ia-18 및 유사하게 제조된 또 다른 화합물에 대한 분석 데이터를 나타낸다.

표 X - 도 7에 따라 제조된 세코-CPI 화합물		
화합물 번호	질량 스펙트럼	비고
Ia-17	$[M+H]^+$ = 552.2	 을 사용하여 화합물 18 (도 2)과 유사하게 제조된  을 화합물 40 대신 사용함.
Ia-18	$[M+H]^+$ = 538.2	화합물 40을  을 사용하여 화합물 18 (도 2)과 유사하게 제조함.

[0409]

[0410] 실시예 15 - 세코-CPI 화합물 Ib-01 및 Ib-02

[0411] 도 8은 세코-CPI 화합물 Ib-01 및 Ib-02의 합성에 대한 반응식을 나타낸다. 사용된 시약, 및 그의 사용을 위한 조건은 관련 기술분야에 공지되어 있고/거나 이전 실시예에 예시되어 있다. Ib-01 $[M+H]^+$ = 615.0; Ib-02 $[M+H]^+$ = 659.4.

[0412] 실시예 16 - 세코-CPI 화합물 Id-02

[0413] 도 9는 세코-CPI 화합물 Id-02의 합성에 대한 반응식을 나타낸다. 사용된 시약, 및 그의 사용을 위한 조건은 관련 기술분야에 공지되어 있고/거나 이전 실시예에 예시되어 있다. 표 XI은 화합물 Id-02 및 유사하게 제조된 다른 화합물에 대한 분석 데이터를 나타낸다.

표 XI - 도 9에 따라 제조된 세코-CPI 화합물

화합물 번호	질량 스펙트럼	비고
Ic-01	$[M+H]^+ = 652.3$	화합물 48a를 화합물 50 대신 사용함.
Id-01	$[M+H]^+ = 614.1$	4-히드록시벤조산을 화합물 50 대신 사용함.
Id-02	$[M+H]^+ = 613.1$	도시된 바와 같음.

[0414]

[0415] 실시예 17 - 세코-CPI 화합물 Ia-25

[0416] 도 10은 세코-CPI 화합물 Ia-25의 합성에 대한 반응식을 나타낸다. 사용된 시약, 및 그의 사용을 위한 조건은 관련 기술분야에 공지되어 있고/거나 이전 실시예에 예시되어 있다.

[0417] 화합물 Ia-26은 1-Cbz-피페라진 대신 1-메틸피페라진을 사용하여 유사하게 제조하였다.

[0418] 2종의 화합물에 대한 질량 스펙트럼 데이터는 Ia-25 $[M+H]^+ = 493.2$; Ia-26 $[M+H]^+ = 507.3$이다.

[0419] 실시예 18 - 세코-CPI 화합물 Ia-27

[0420] 도 11은 세코-CPI 화합물 Ia-27의 합성에 대한 반응식을 나타낸다. 사용된 시약, 및 그의 사용을 위한 조건은 관련 기술분야에 공지되어 있고/거나 이전 실시예에 예시되어 있다. 화합물 Ia-27에 대한 질량 스펙트럼 데이터는 $[M+H]^+ = 588.1$이다.

[0421] 실시예 19 - 세코-CPI 화합물 Ia-29

[0422] 도 12는 세코-CPI 화합물 Ia-29의 합성에 대한 반응식을 나타낸다. 사용된 시약, 및 그의 사용을 위한 조건은 관련 기술분야에 공지되어 있고/거나 이전 실시예에 예시되어 있다. 화합물 Ia-29에 대한 질량 스펙트럼 데이터는 $[M+H]^+ = 574.1$이다.

[0423] 실시예 20 - 접합체의 생물학적 활성

[0424] 세코-CPI-링커 화합물 IIIa-01, IIIa-02, IIIa-03, 및 IIIa-04를 일반적으로 상기 실시예 1의 마이클 첨가 절차에 따라 항-메소텔린 항체 6A4 (Terrett et al., US 8,268,970 B2 (2012))에 접합시켰다. 생성된 항체-약물 접합체를 각각 6A4/IIIa-01 ADC, 6A4/IIIa-02 ADC, 6A4/IIIa-03 ADC, 및 6A4/IIIa-04 ADC로 지정하였다.

[0425] 추가로, 세코-CPI-링커 화합물 IIIa-06 및 IIIa-12를 일반적으로 실시예 2의 트랜스글루타미나제 매개 접합 절차에 따라, 중쇄에 N297A (카바트에서와 같은 EU) 치환을 갖도록 조작된 항-메소텔린 항체 6A4에 접합시켰다. N297A 치환은 항체의 글리코실화를 제거하고, 근처의 글루타민 295 (Q295)를 트랜스글루타민-촉매된 아미드교환 반응을 위한 아민 수용자로서 이용가능하게 한다 (Jeger et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 9995). 생성된 항체-약물 접합체를 각각 6A4(N297A)/IIIa-06 ADC 및 6A4(N297A)/IIIa-12 ADC로 지정하였다.

[0426] H226 및 N87 암 세포에 대한 이들 ADC의 활성 (이들 둘 다는 메소텔린을 발현시킴)을 ^3H 티미딘 혼입 검정을 사용하여 측정하였다 (Cheng et al., US 8,394,922 B2 (2013)). 결과는 표 XII에 나타내었다.

표 XII - 접합체의 생물학적 활성		
접합체	EC_{50} (nM)	
	H226 세포	N87 세포
6A4/IIIa-01 ADC	1.2, 0.45	256
6A4/IIIa-02 ADC	5.8	-
6A4/IIIa-03 ADC	0.3	3.5
6A4/IIIa-04 ADC	0.10	0.12
6A4(N297A)/IIIa-06 ADC	0.18	-
6a4(N297A)/IIIa-12 ADC	0.20	-

[0427]

[0428] 상기 발명의 상세한 설명은 본 발명의 특정한 부분 또는 측면과 주로 또는 배타적으로 관련된 구절을 포함한다. 이는 명확성 및 편의성을 위한 것이고, 특정한 특색은 단지 개시된 구절보다 더 많은 것과 관련될 수 있고, 본원의 개시내용은 상이한 구절에서 발견되는 정보의 모든 적절한 조합을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 유사하게, 본원의 다양한 도면 및 설명은 본 발명의 구체적 실시양태에 관한 것이지만, 구체적 특색이 특정한 도면 또는 실시양태와 관련하여 개시된 경우에, 이러한 특색은 또한 적절한 정도로, 또 다른 도면 또는 실시양태와 관련하여, 또 다른 특색과 조합되어, 또는 일반적으로 본 발명에 사용될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0429] 추가로, 본 발명은 특히 특정의 바람직한 실시양태의 관점에서 기재되어 있지만, 본 발명은 이러한 바람직한 실시양태에 제한되지는 않는다. 오히려, 본 발명의 범주는 첨부된 청구범위에 의해 정의된다.

[0430] 참고문헌

[0431] 본 명세서 이전에 제1 저자 (또는 발명자) 및 날짜에 의해 요약된 방식으로 인용된 하기 참고문헌에 대한 전체 인용이 하기 제공된다. 각각의 이들 참고문헌은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.

Boger, US 6,281,354 B1 (2001).

Boger, US 6,548,530 B1 (2003).

Boger and Johnson, *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* **1995**, 92, 3642.

Boger *et al.*, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 5823.

Boger *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 4987.

Boger *et al.*, *Synthesis* **1999**, SI, 1505.

Boger *et al.*, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 4101.

Boyd *et al.*, US 2008/0279868 A1 (2008).

Chari *et al.*, *Cancer Res.* **1995**, 55, 4079.

Chen *et al.*, US 8,664,407 B2 (2014).

Ducry *et al.*, *Bioconjug. Chem.* **2010**, 21, 5.

Gangwar *et al.*, US 7,968,586 B2 (2011).

Hurley *et al.*, *Science* **1984**, 226, 843.

Kobayashi *et al.*, *Cancer Res.* **1994**, 54, 2404.

Lajiness *et al.*, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 7731.

[0432]

Li *et al.*, *Cancer Res.* **1992**, 52, 4904.

Nagamura and Saito, *Chem. Heterocyclic Compounds* **1998**, 34 (12), 1386.

Nagamura *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, 44 (9), 1723.

Ng *et al.*, US 7,129,261 B2 (2006).

Ng *et al.*, US 7,507,420 B2 (2009).

Ng *et al.*, US 8,034,959 B2 (2011).

Schrama *et al.*, *Nature Rev. Drug Disc.* **2006**, 5, 147-159.

Sufi *et al.*, US 8461,117 B2 (2013).

Tichenor *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 10858.

Tietze *et al.*, *ChemBioChem* **2001**, 2, 758.

Tietze *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 6312.

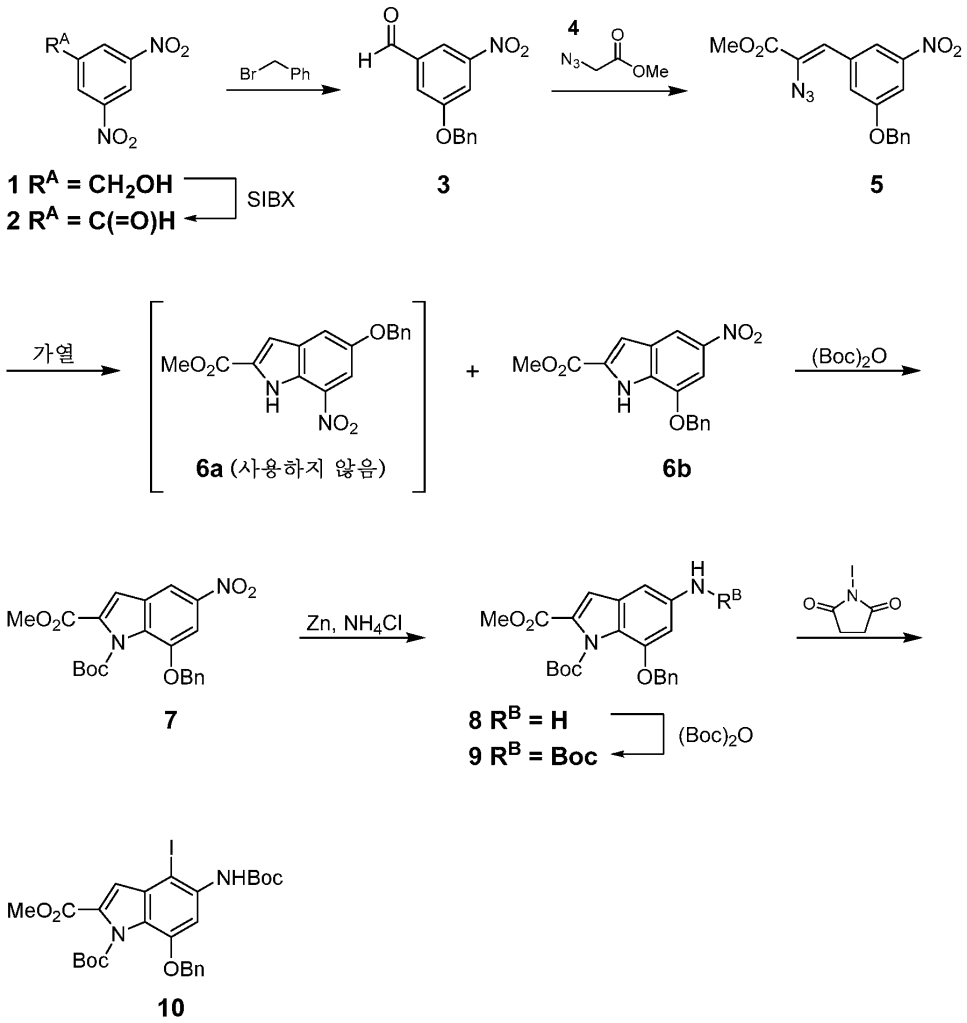
Zhang *et al.*, US 8,852,599 B2 (2014).

Zhao *et al.*, US 7,655,660 B2 (2010).

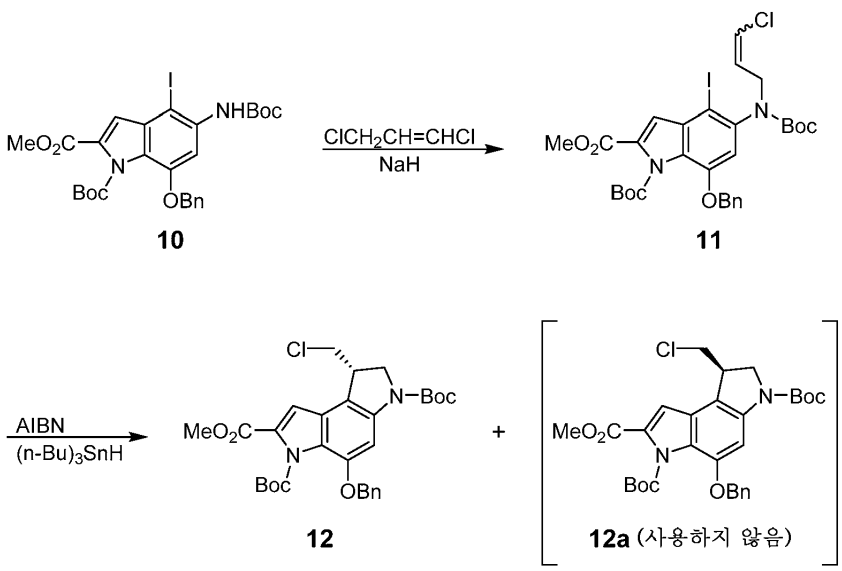
[0433]

도면

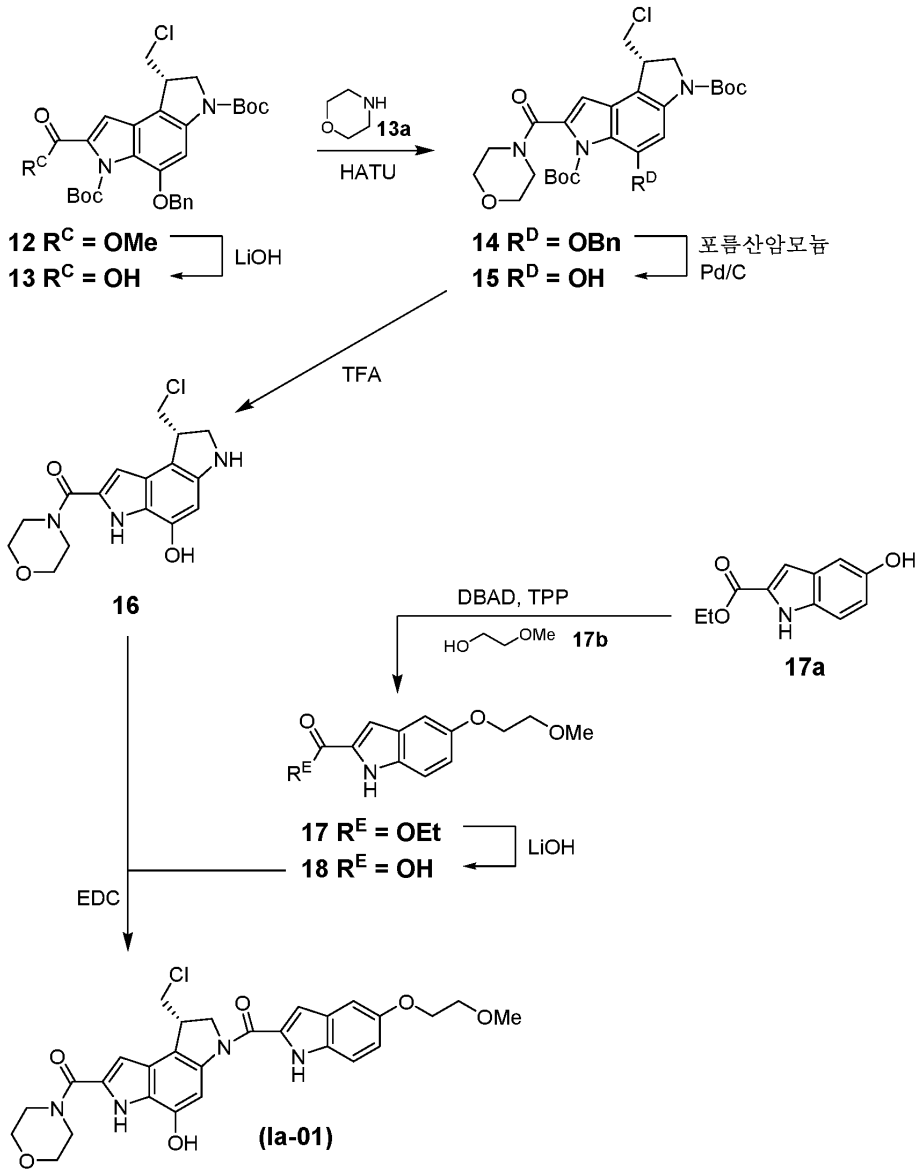
도면1a



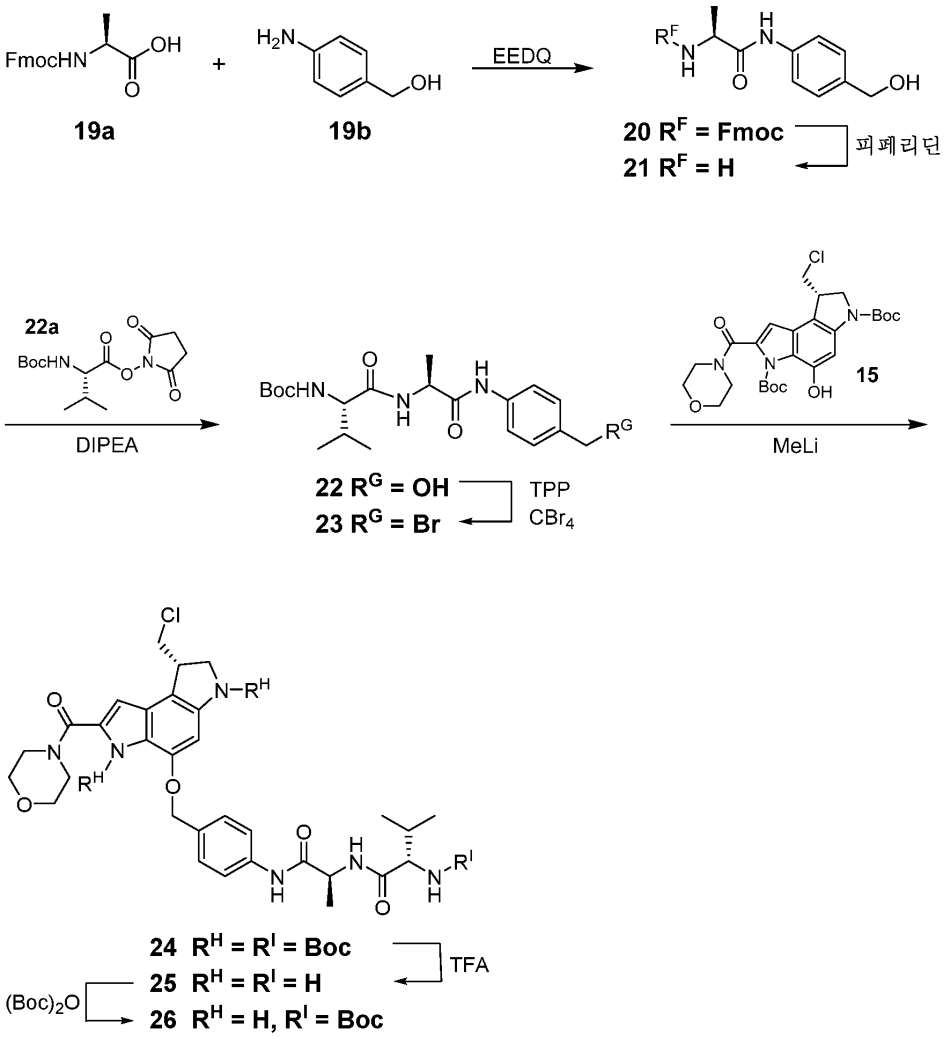
도면1b


I
NHBoc
MeO2C
N
Boc
OBn
10
ClCH2CH=CHCl
NaH
Cl
I
N
Boc
MeO2C
N
Boc
OBn
11
AIBN
(n-Bu)3SnH
Cl
N–Boc
MeO2C
N
Boc
OBn
12
+
Cl
N–Boc
MeO2C
N
Boc
OBn
12a (사용하지 않음)

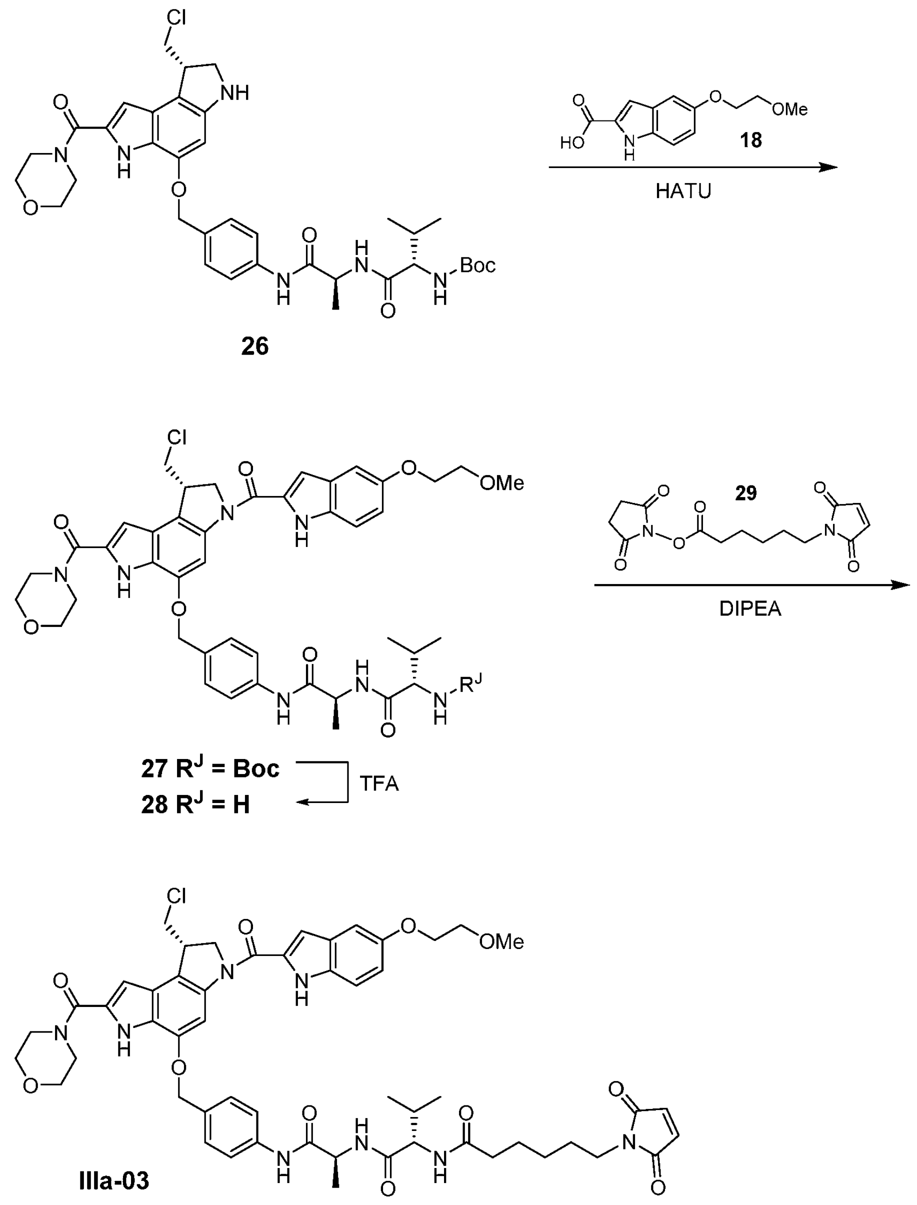
도면2


Cl
N–Boc
O
RC
N
Boc
OBn
12 RC = OMe
13 RC = OH
LiOH
NH
O
13a
HATU
Cl
N–Boc
O
N
N
Boc
O
RD
14 RD = OBn
15 RD = OH
포름산암모늄
Pd/C
TFA
Cl
NH
O
N
N
H
OH
16
DBAD, TPP
HO
OMe
17b
O
OH
EtO
N
H
17a
O
O
OMe
RE
N
H
17 RE = OEt
18 RE = OH
LiOH
EDC
Cl
O
O
OMe
N
H
N
H
OH
(Ia-01)

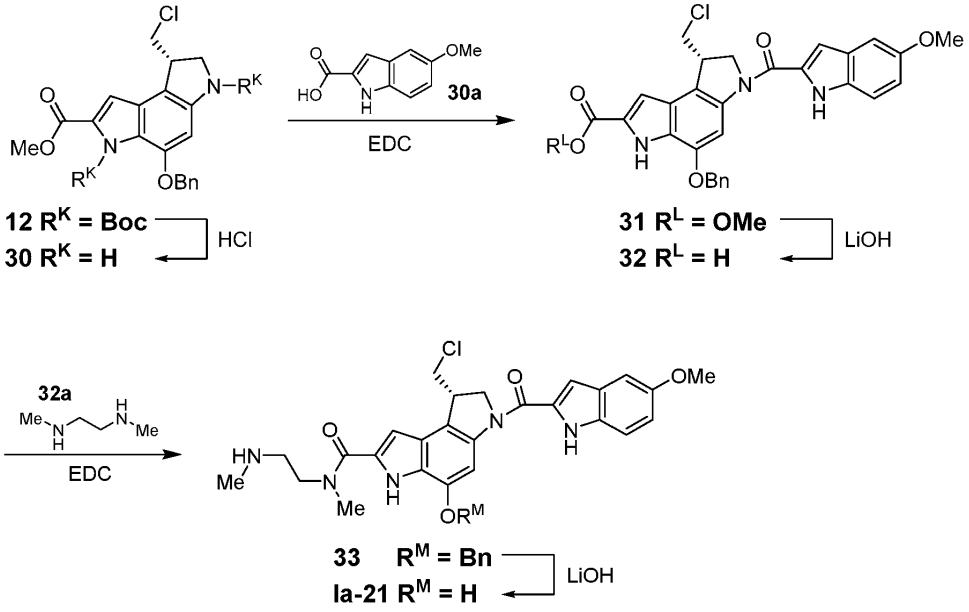
도면3a


FmocHN
OH
O
19a
+
H2N
OH
19b
EEDQ
RF
N
H
H
N
O
OH
20 RF = Fmoc
21 RF = H
피페리딘
22a
BocHN
O
O
N
O
O
DIPEA
BocHN
O
N
H
H
N
O
RG
22 RG = OH
23 RG = Br
TPP
CBr4
Cl
N−Boc
O
N
N
Boc
OH
O
15
MeLi
Cl
N−RH
O
N
N
RH
O
O
N
H
H
N
O
N
H
RI
24 RH = RI = Boc
25 RH = RI = H
26 RH = H, RI = Boc
TFA
(Boc)2O

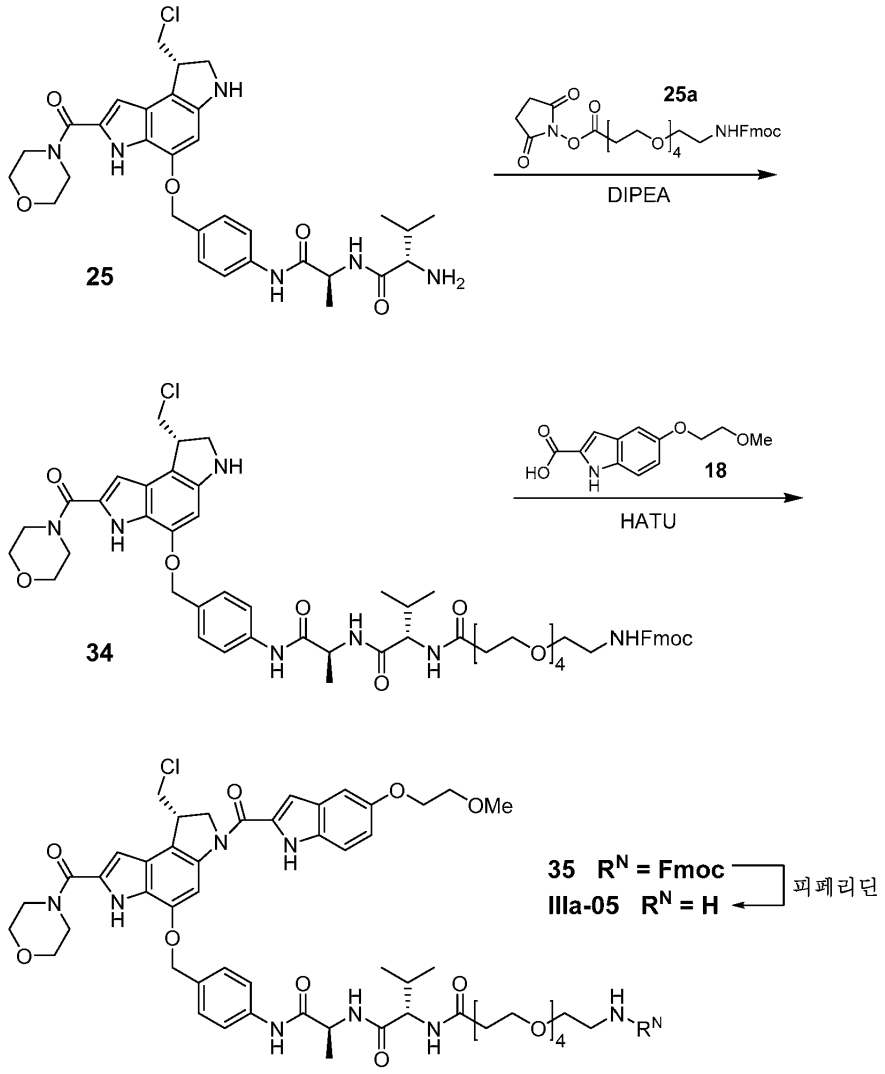
도면3b


Cl
NH
O
N
H
O
O
N
H
O
H
N
O
N
H
Boc
26
O
HO
N
H
O
OMe
18
HATU
Cl
O
N
N
H
O
OMe
27 R^J = Boc
28 R^J = H
TFA
29
N
O
O
DIPEA
IIIa-03

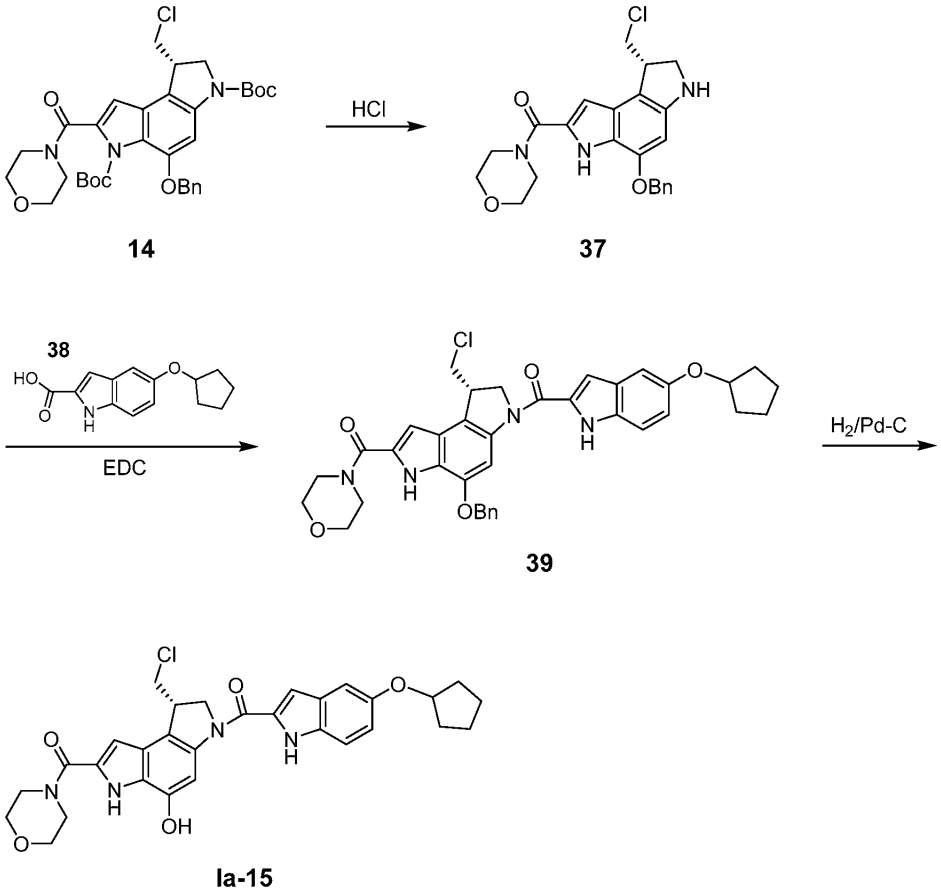
도면4


Cl
N–R^K
O
MeO
N
R^K
OBn
12 R^K = Boc
30 R^K = H
HCl
O
HO
N
H
OMe
30a
EDC
Cl
O
OMe
N
N
H
O
R^LO
N
H
OBn
31 R^L = OMe
32 R^L = H
LiOH
32a
Me
N
H
H
N
Me
EDC
Cl
O
OMe
N
N
H
O
HN
Me
N
Me
N
H
OR^M
33 R^M = Bn
Ia-21 R^M = H
LiOH

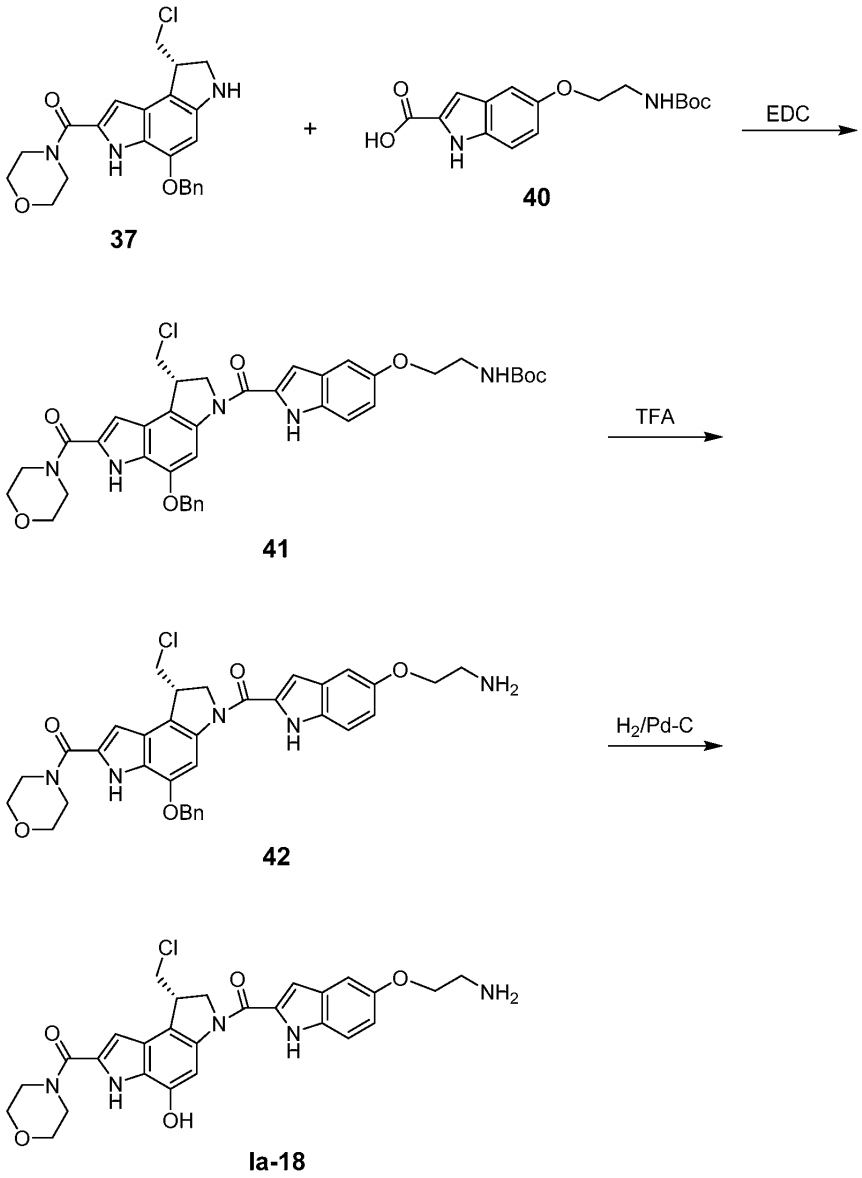
도면5



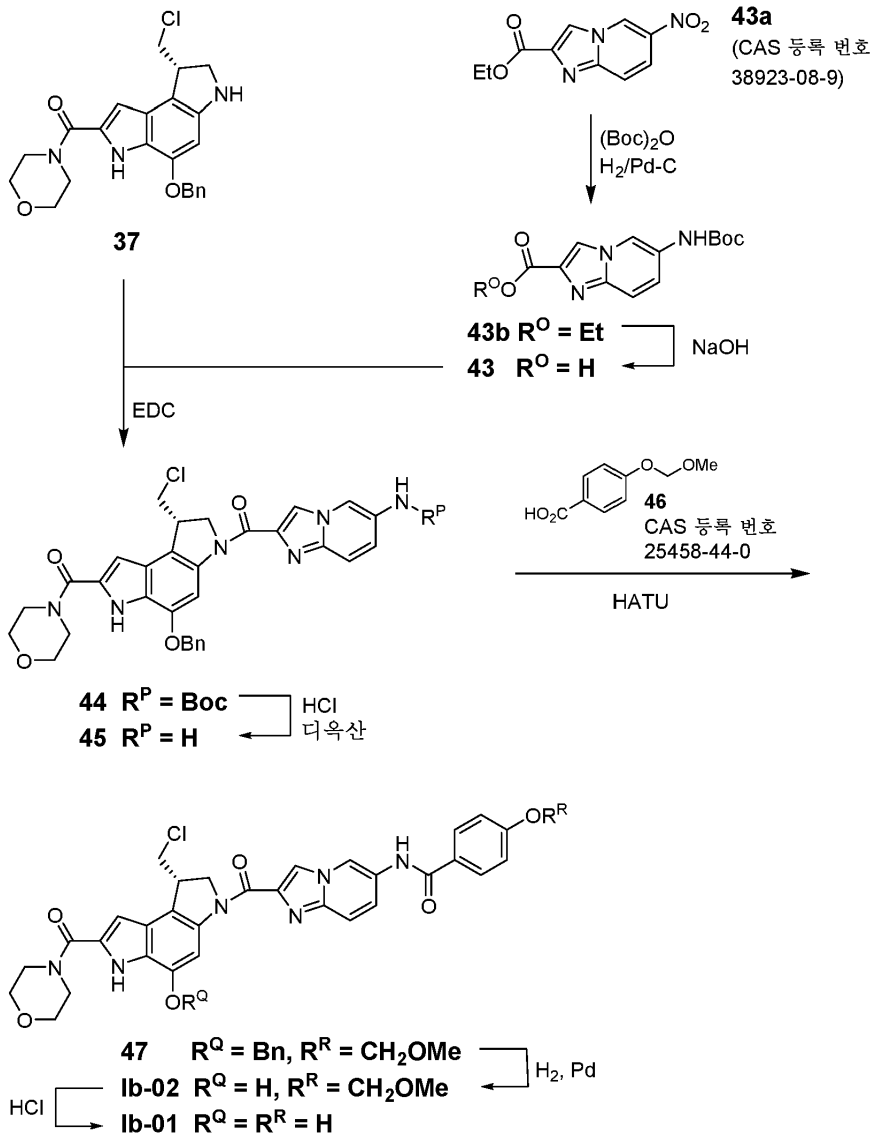
도면6



도면7

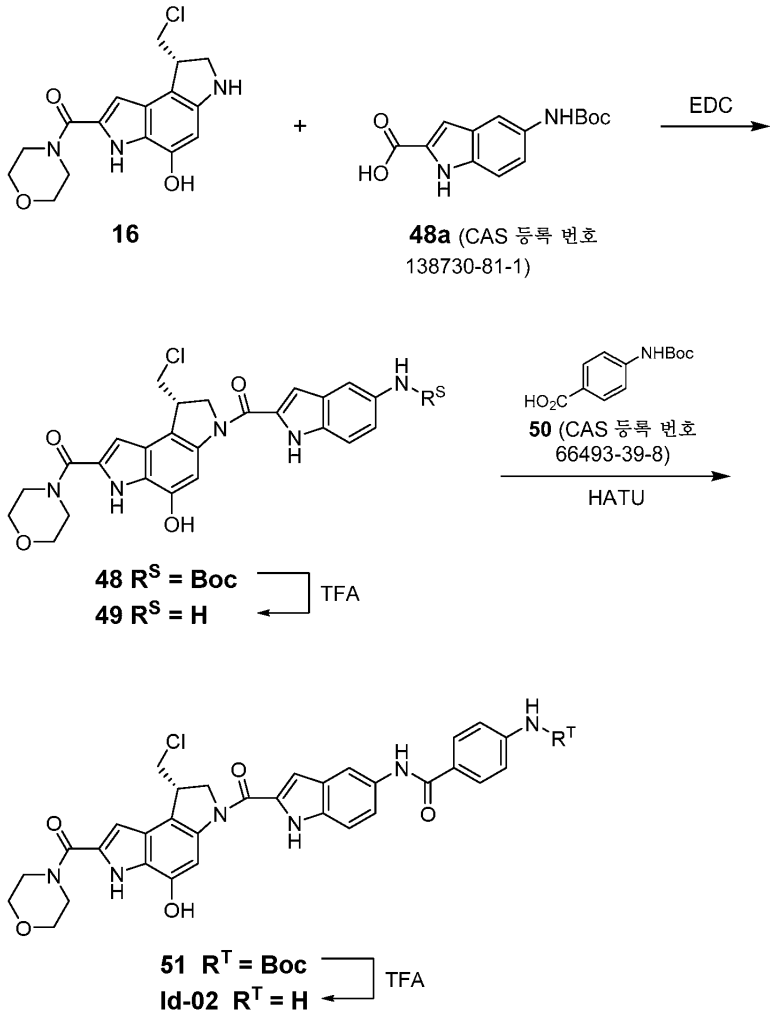

Cl
NH
O
N
H
OBn
37
+
HO
NHBoc
40
EDC
NHBoc
TFA
41
NH2
H2/Pd-C
42
OH
Ia-18

도면8

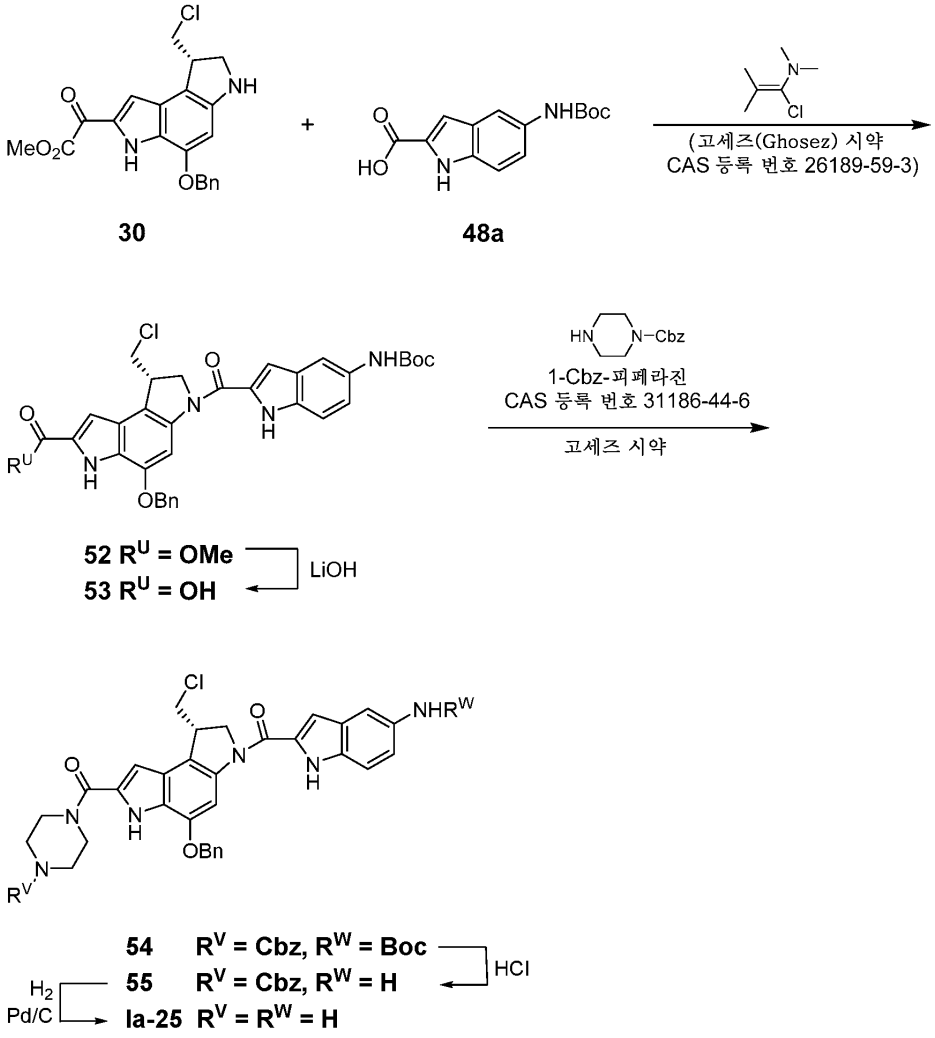

Cl
NH
O
N
H
OBn
37
EtO
NO2
43a
(CAS 등록 번호
38923-08-9)
(Boc)2O
H2/Pd-C
NHBoc
R^O O
43b R^O = Et
43 R^O = H
NaOH
EDC
HO2C
O
OMe
46
CAS 등록 번호
25458-44-0
HATU
R^P
44 R^P = Boc
45 R^P = H
HCl
디옥산

Cl
OR^R
OR^Q
47 R^Q = Bn, R^R = CH2OMe
Ib-02 R^Q = H, R^R = CH2OMe
Ib-01 R^Q = R^R = H
H2, Pd
HCl

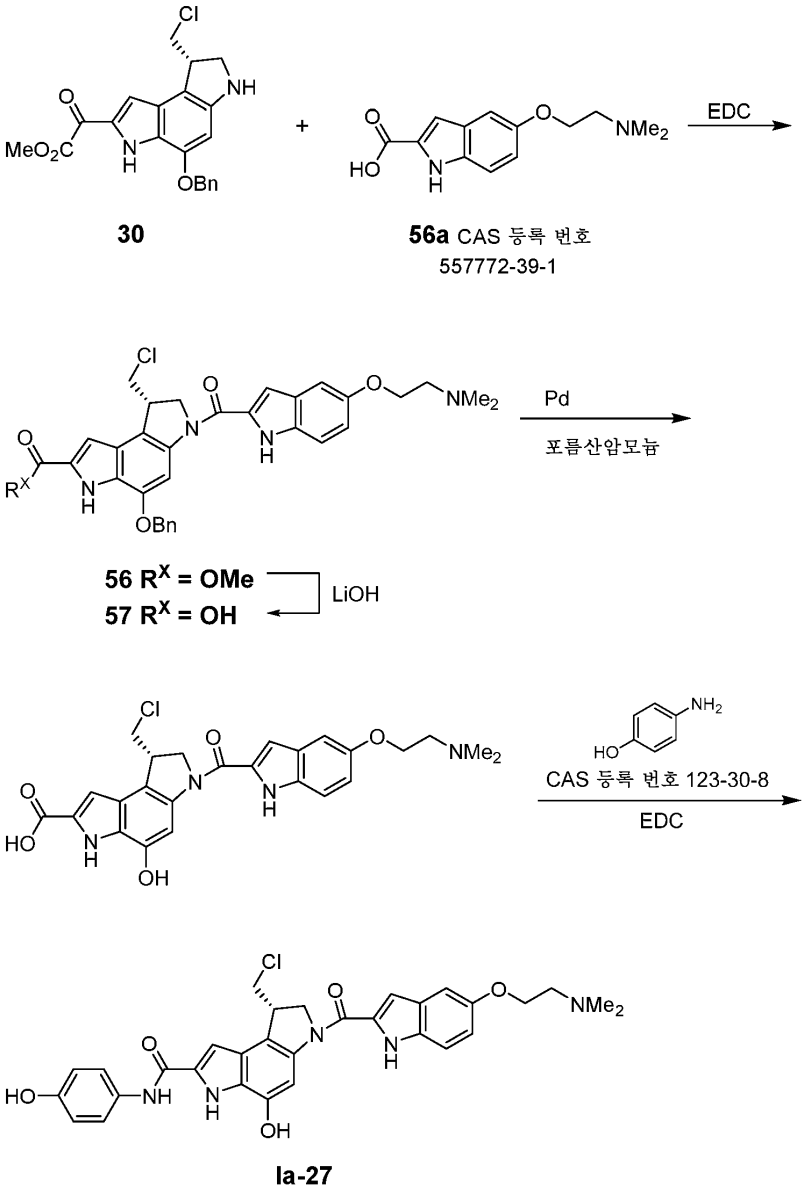
도면9


Cl
NH
O
N
H
OH
16
+
NHBoc
HO
48a (CAS 등록 번호 138730-81-1)
EDC
R^S
50 (CAS 등록 번호 66493-39-8)
HO_2C
HATU
48 R^S = Boc
49 R^S = H
TFA
R^T
51 R^T = Boc
Id-02 R^T = H
TFA

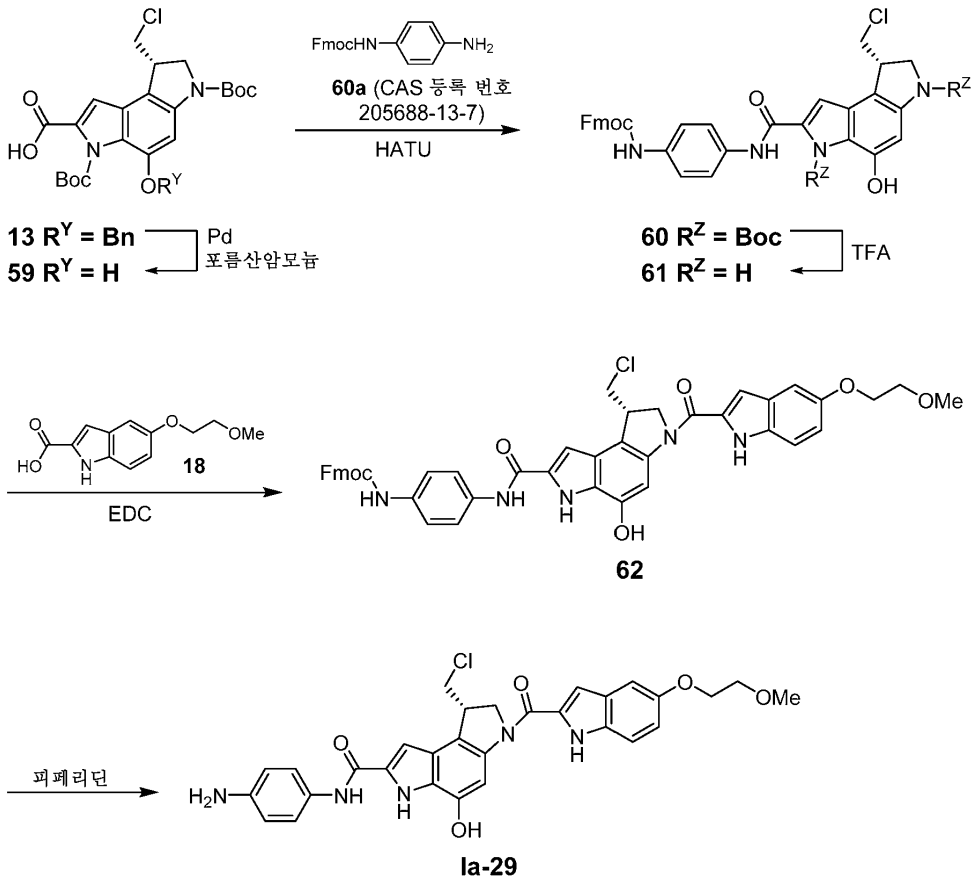
도면10


Cl
NH
O
MeO2C
N
H
OBn
30
+
NHBoc
HO
48a
(고세즈(Ghosez) 시약
CAS 등록 번호 26189-59-3)
HN
N–Cbz
1-Cbz-피페라진
CAS 등록 번호 31186-44-4
고세즈 시약
52 RU = OMe
53 RU = OH
LiOH
NHRW
54 RV = Cbz, RW = Boc
55 RV = Cbz, RW = H
Ia-25 RV = RW = H
HCl
H2
Pd/C

도면11


Cl
NH
O
MeO2C
N
H
OBn
+
HO
O
NMe2
EDC
30
56a CAS 등록 번호
557772-39-1
Pd
포름산암모늄
RX
56 RX = OMe
57 RX = OH
LiOH
NH2
CAS 등록 번호 123-30-8
EDC
OH
HO
NH
Ia-27

도면12


Cl
N–Boc
HO
O
N
Boc
OR^Y
FmocHN
NH2
60a (CAS 등록 번호 205688-13-7)
HATU
Fmoc
HN
NH
N–R^Z
R^Z
OH
13 R^Y = Bn
59 R^Y = H
Pd
포름산암모늄
60 R^Z = Boc
61 R^Z = H
TFA
HO
OMe
18
EDC
62
피페리딘
H2N
Ia-29