



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0028073
(43) 공개일자 2014년03월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 417/12 (2006.01) A61K 31/427 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7033072
(22) 출원일자(국제) 2012년05월24일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2013년12월12일
(86) 국제출원번호 PCT/US2012/039472
(87) 국제공개번호 WO 2012/166560
국제공개일자 2012년12월06일
(30) 우선권주장
61/491,146 2011년05월27일 미국(US)

(71) 출원인
암브록스, 인코포레이티드
미국 캘리포니아주 92037 라호야 노스 터레이 파
인스 로드 10975 스위트 100
(72) 발명자
미아오 첸웨이
미국 92127 캘리포니아주 샌 디에고 서니필드 플
레이스 15887
앳킨슨 카일 씨.
미국 80401 콜로라도주 골든 골든 뷰 드라이브
2024
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김성기

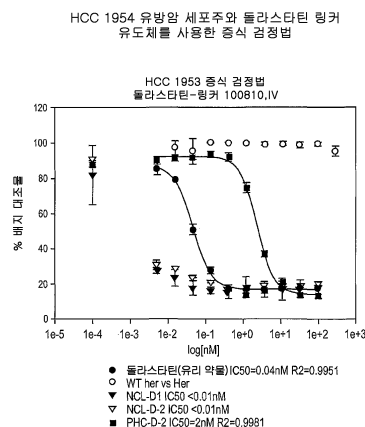
전체 청구항 수 : 총 57 항

(54) 발명의 명칭 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체를 함유하는 조성물, 이를 수반하는 방법, 및 용
도

(57) 요약

본 명세서에는 비-천연 아미노산과 적어도 1개의 비-천연 아미노산을 포함하는 돌라스타틴 유사체, 및 그러한 비-천연 아미노산과 폴리펩티드의 제조 방법이 개시되어 있다. 상기 돌라스타틴 유사체는 광범위하게 가능한 작용성을 포함할 수 있지만, 전형적으로 적어도 1개의 옥심, 카르보닐, 디카르보닐, 및/또는 히드록실아민기를 갖는다. 번역후 추가로 변형시킨 비-천연 아미노산 돌라스타틴 유사체, 그러한 번역을 수행하는 방법, 및 그러한 돌라스타틴 유사체의 정제 방법이 또한 본 명세서에 개시되어 있다. 전형적으로, 변형된 돌라스타틴 유사체는 적어도 1개의 옥심, 카르보닐, 디카르보닐, 및/또는 히드록실아민기를 포함한다. 추가로, 치료적, 진단적, 및 기타 생명기술 용도를 포함한, 그러한 비-천연 아미노산 돌라스타틴 유사체 및 변형된 비-천연 아미노산 돌라스타틴 유사체를 사용하는 방법이 개시되어 있다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

비록크 산드라

미국 94502 캘리포니아주 알라메다 카멜리아 드라이브 1036

부쓰 티모시

미국 92011 캘리포니아주 칼스배드 캐탈파 로드 1745

쿡 멜리사

미국 92020 캘리포니아주 엘카혼 에스. 몰리슨 애비뉴 976 아파트먼트 5

크라이노브 바딤

미국 92130 캘리포니아주 샌 디에고 화이트 오크 라인 5457

마스텐 로빈

미국 92119 캘리포니아주 샌 디에고 버드롱 레이크 애비뉴 6358

핑크스테프 제이슨

미국 92024 캘리포니아주 엔시니타스 완더링 로드 2095

스키드모어 릴리안

미국 92121 캘리포니아주 샌 디에고 캐년 블러프 코트 6232

순 잉

미국 92128 캘리포니아주 샌 디에고 어베니다 베누스토 #65 14972

지드릭 아그니즈카

미국 92110 캘리포니아주 샌 디에고 린드호를레안스 #283 3050

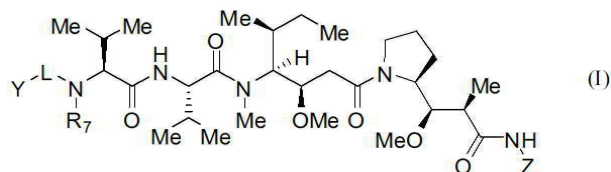
로페즈 데 발렌타 델리아 이아니나

미국 92064 캘리포니아주 포웨이 세바고 애비뉴 13442

특허청구의 범위

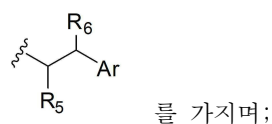
청구항 1

하기 화학식 (I)을 포함하는 화합물, 또는 이의 염:



상기 식에서,

Z는 하기 구조



R₅는 H, COR₈, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

R₈은 OH 또는 -NH-(알킬렌-O)_n-NH₂이며;

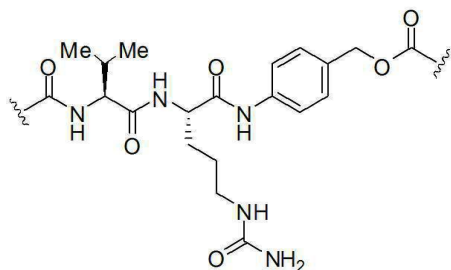
R₆은 OH 또는 H이고;

Ar는 페닐 또는 피리딘이며;

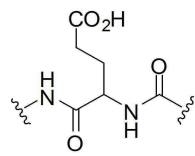
R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

Y 및 V는 각각 히드록실아민, 메틸, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아미딘, 이민, 디아민, 아지드, 케토-아민, 케토-알킨, 알킨, 사이클로알킨, 및 엔-디온으로 이루어진 군으로부터 선택되며;

L은 -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)-(CH₂)_n-NHC(O)-(CH₂)_n-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_n-NHC(O)-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, 및 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-으로 이루어진 군으로부터 선택되는 링 커이고;



W는 NC(=O)C의 구조를 가지며;



U는 $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H} \end{array}$ 의 구조를 가지거나; 또는

L이 부재하고, Y가 메틸이며, R₅가 COR₈이고, R₈이 -NH-(알킬렌-O)_n-NH₂이며;

각각의 n , n' , n'' , n''' 및 n'''' 은 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이다.

청구항 2

제1항에 있어서, R_5 가 티아졸인 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, R_6 가 H인 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서, Ar가 페닐인 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, R_7 이 메틸인 화합물.

청구항 6

제1항에 있어서, n 이 0 내지 20의 정수인 화합물.

청구항 7

제1항에 있어서, n 이 0 내지 10의 정수인 화합물.

청구항 8

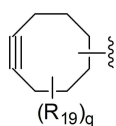
제1항에 있어서, n 이 0 내지 5의 정수인 화합물.

청구항 9

제1항에 있어서, Y가 사이클로옥틴인 화합물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 사이클로옥틴이 하기 구조를 갖는 것인 화합물:



상기 식에서,

각각의 R_{19} 는 C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, 에스테르, 에테르, 티오에테르, 아미노알킬, 할로젠, 알킬 에스테르, 아릴 에스테르, 아미드, 아릴 아미드, 알킬 할라이드, 알킬 아민, 알킬 술폰산, 알킬 니트로, 티오에스테르, 술폰일 에스테르, 할로술폰일, 니트릴, 알킬 니트릴, 및 니트로로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

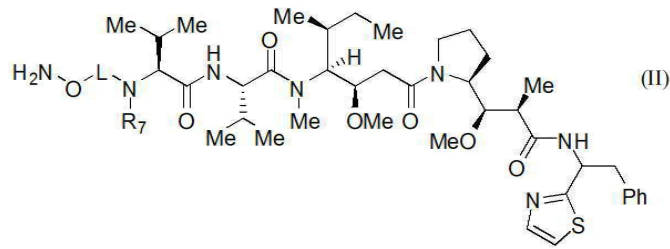
q 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11이다.

청구항 11

제1항에 있어서, Y가 아지드인 화합물.

청구항 12

제1항에 있어서, 하기 화학식 (II)를 포함하는 화합물:



청구항 13

제12항에 있어서, L이 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-인 화합물.

청구항 14

제13항에 있어서, 각각의 알킬렌이 -CH₂CH₂-이고, n이 3과 대등하며, R₇이 메틸인 화합물.

청구항 15

제12항에 있어서, L이 -알킬렌-인 화합물.

청구항 16

제15항에 있어서, 각각의 알킬렌이 -CH₂CH₂-이고, R₇이 메틸 또는 수소인 화합물.

청구항 17

제12항에 있어서, L이 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-인 화합물.

청구항 18

제17항에 있어서, 각각의 알킬렌이 -CH₂CH₂-이고, n이 4와 대등하며, R₇이 메틸인 화합물.

청구항 19

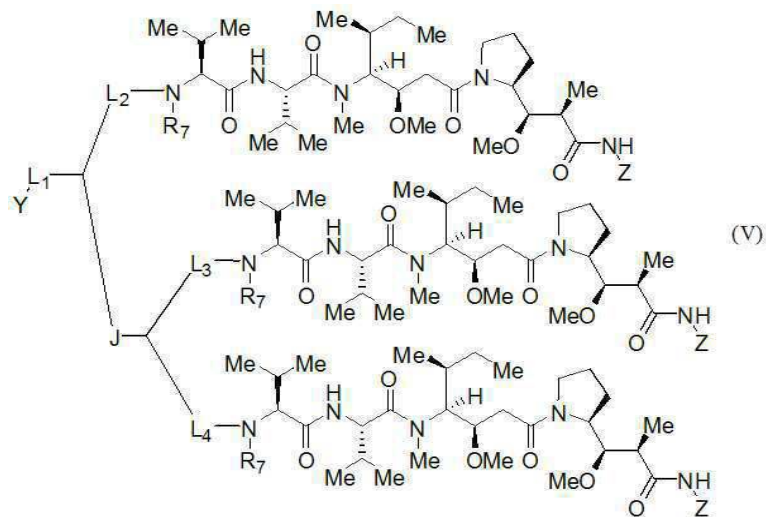
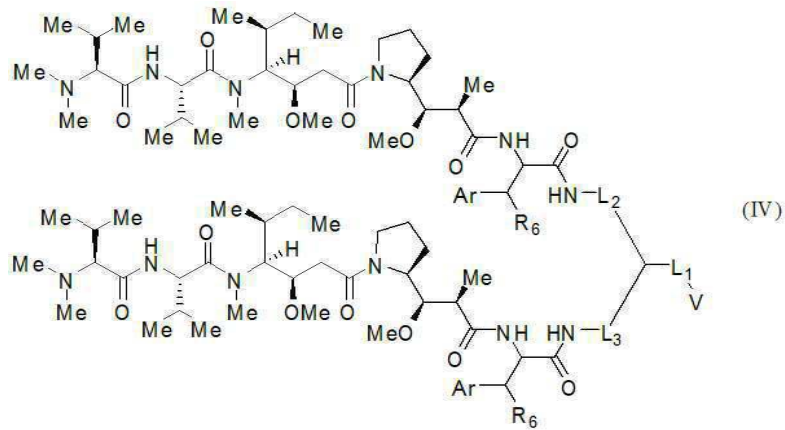
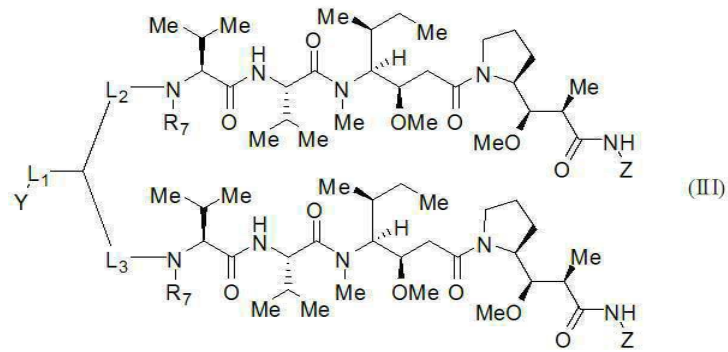
제12항에 있어서, L이 -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_{n'}-NHC(O)-(CH₂)_{n''}-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_{n'''}-NHC(O)-(알킬렌-O)_{n''''}-알킬렌-인 화합물.

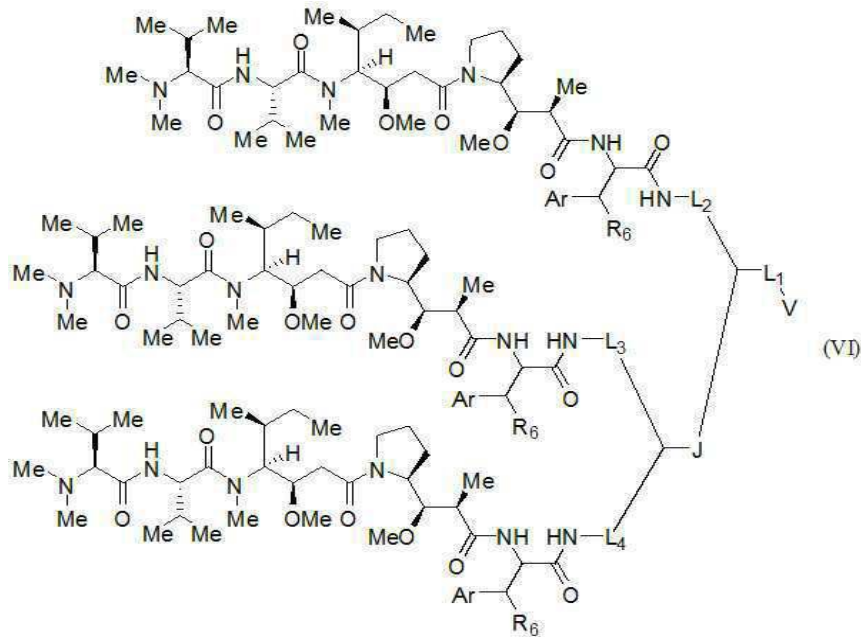
청구항 20

제19항에 있어서, 각각의 알킬렌이 -CH₂CH₂-이고, n이 1과 대등하며, n'가 2와 대응하고, n''가 1과 대등하며, n'''가 2와 대등하고, n''''가 4와 대등하며, R₇이 메틸인 화합물.

청구항 21

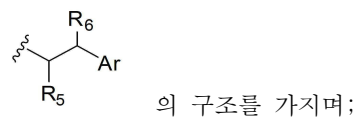
하기 화학식 (III), (IV), (V) 또는 (VI)를 포함하는 화합물 또는 이의 염:





상기 식에서,

Z는



R₅는 H, COR₈, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

R₈은 OH이며;

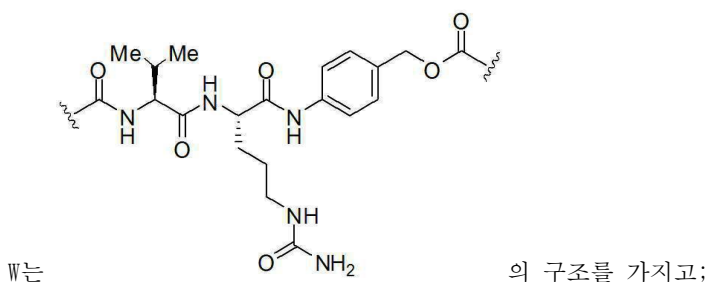
R₆는 OH 또는 H이고;

Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

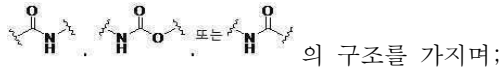
R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이며;

Y 및 V는 각각 히드록실아민, 메틸, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아미딘, 이민, 디아민, 아지드, 케토-아민, 케토-알킨, 알킨, 사이클로알킨, 및 엔-디온으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J', -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌', -W-, -알킬렌-W-, -알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"'-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;



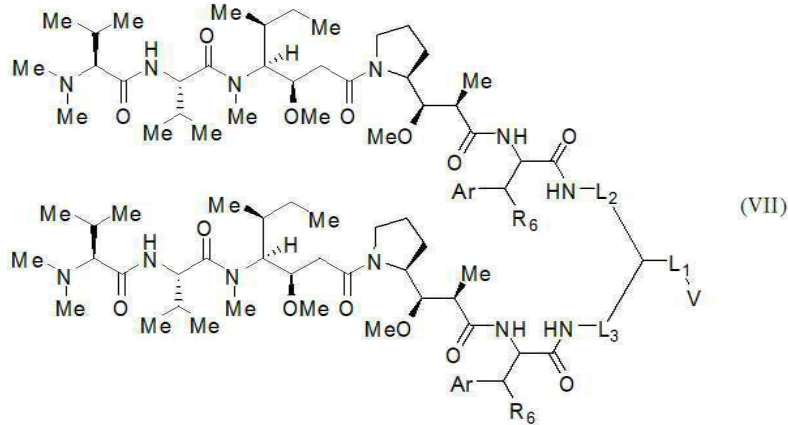
각각의 J 및 J'는 독립적으로



각각의 n 및 n'는 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이다.

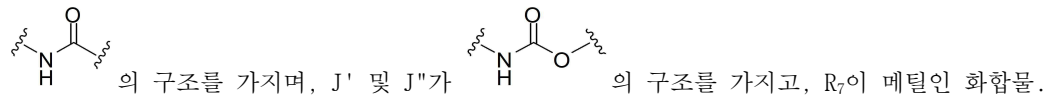
청구항 22

제21항에 있어서, 하기 화학식 (VII)를 포함하는 화합물:



청구항 23

제22항에 있어서, L₁이 -(알킬렌-0)_n-알킬렌-J-이고, L₂가 -알킬렌'-J'-(알킬렌-0)_{n'}-알킬렌-이며, L₃가 -J''-(알킬렌-0)_{n''}-알킬렌-이고, 알킬렌이 -CH₂CH₂-이며, 알킬렌'가 -(CH₂)₄-이고, n이 1이며, n' 및 n''가 3이고, J가



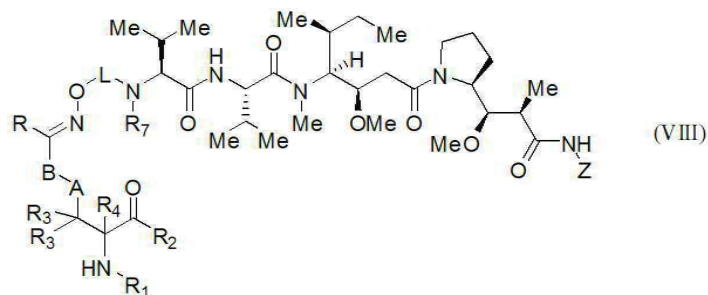
청구항 24

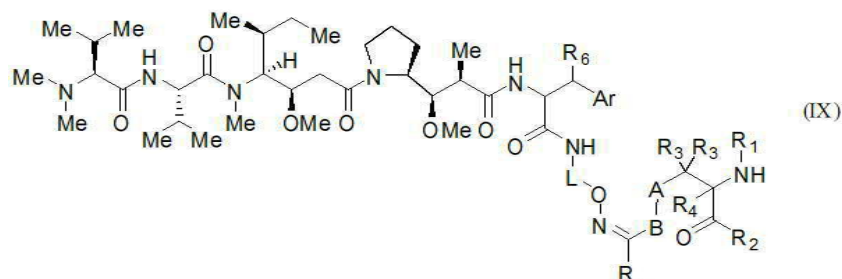
제22항에 있어서, L₁이 -J-(알킬렌-0)_n-알킬렌-이고, L₂가 -(알킬렌-0)_{n'}-알킬렌-J'-알킬렌'-이며, L₃가 -(알킬렌-0)_{n''}-알킬렌-J''-이고, 알킬렌이 -CH₂CH₂-이며, 알킬렌'가 -(CH₂)₄-이고, n이 1이며, n' 및 n''가 4이고, J, J'

및 J''가 의 구조를 갖는 화학식 (IV)를 포함하는 화합물.

청구항 25

하기 화학식 (VIII) 또는 (IX)를 포함하는 화합물 또는 이의 활성 대사물질, 또는 약학적으로 허용되는 프로드럭 또는 용매화물:





상기 식에서,

A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (여기서 k는 1, 2 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')=N-, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N-, -C(R')₂=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')- (여기서 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고;

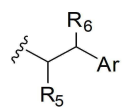
R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이며;

R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고;

Z는 하기의 구조



를 가지며;

R₅는 H, COR₈, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

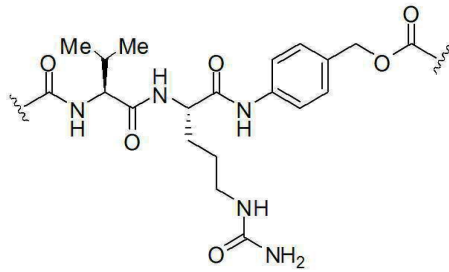
R₈은 OH이며;

R₆는 OH 또는 H이고;

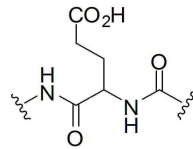
Ar는 페닐 또는 피리딘이며;

R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

L은 -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_n-NHC(O)-(CH₂)_n-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_n-NHC(O)-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, 및 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-으로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이며;



W는 의 구조를 가지고;



U는 의 구조를 가지며;

각각의 n , n' , n'' , n''' 및 n'''' 은 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이다.

청구항 26

제25항에 있어서, R_1 이 폴리펩티드인 화합물.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 항체인 화합물.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 항체가 헤르셉틴(herceptin)인 화합물.

청구항 29

제25항에 있어서, R_2 가 폴리펩티드인 화합물.

청구항 30

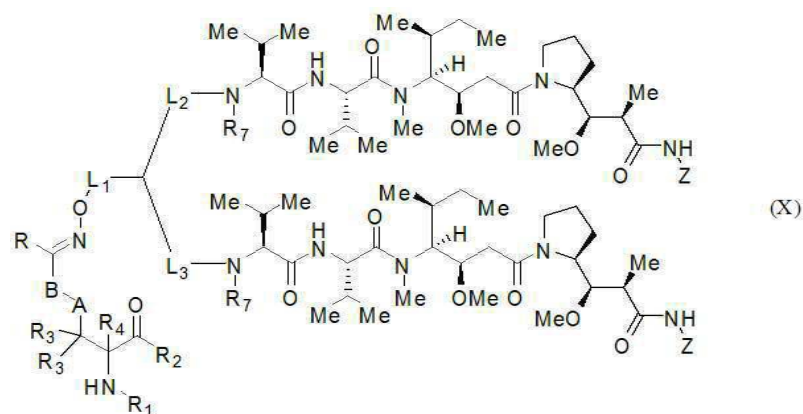
제29항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 항체인 화합물.

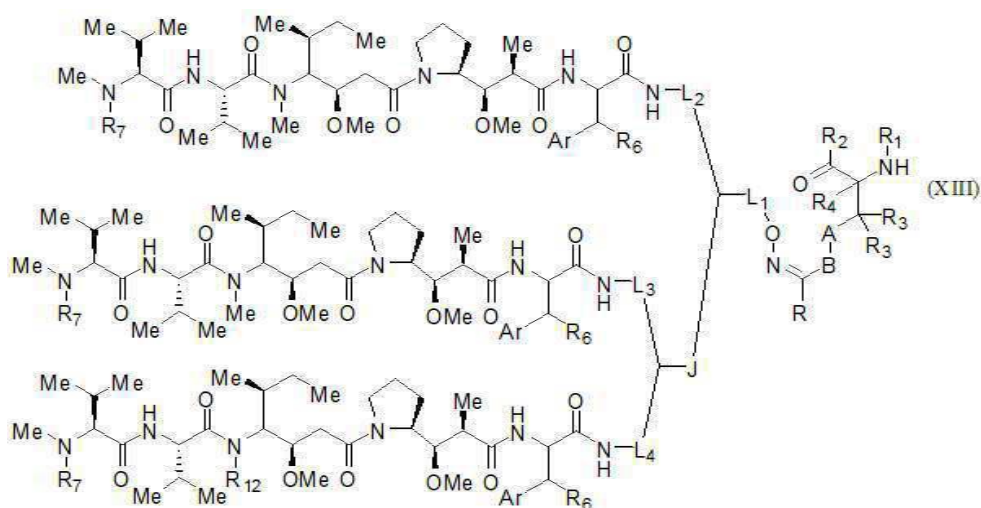
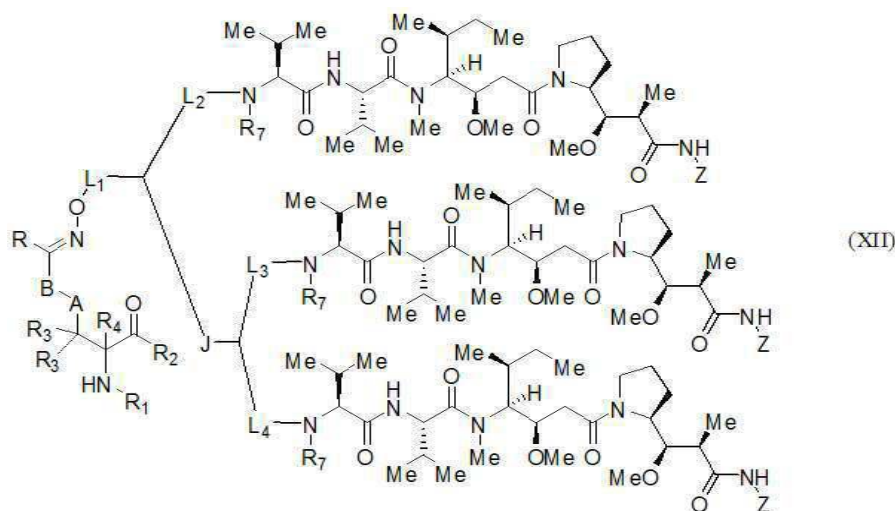
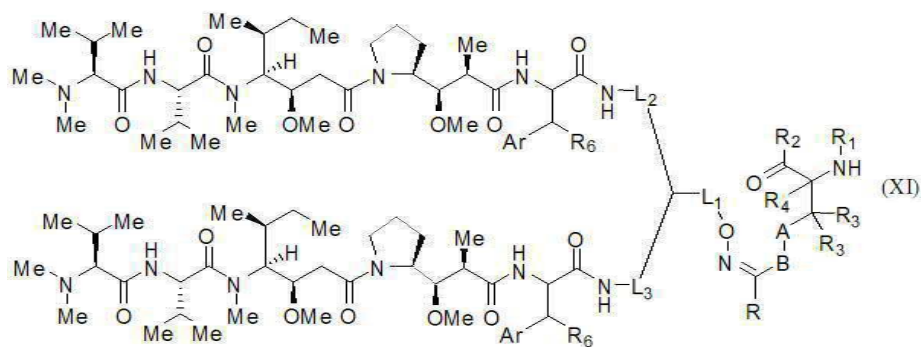
청구항 31

제30항에 있어서, 상기 항체가 헤르셉틴인 화합물.

청구항 32

하기 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)을 포함하는 화합물, 또는 이의 염:





상기 식에서,

A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (여기서 k는 1, 2 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-,

N(R')C(S)N(R')- , $\text{-N(R')S(O)}_k\text{N(R')-}$, -N(R')-N= , -C(R')=N- , -C(R')=N-N(R')- , -C(R')=N-N= , $\text{-C(R')}_2\text{-N=N-}$,
 및 $\text{-C(R')}_2\text{-N(R')-N(R')-}$ (여기서 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고;

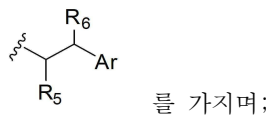
R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이며;

R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고;

Z는 하기의 구조



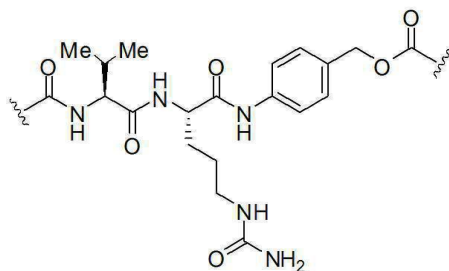
R₅는 H, CO₂H, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

R_6 는 OH 또는 H이며;

Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

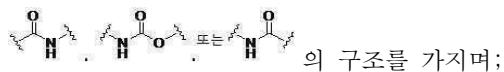
R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이며;

L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J'-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌'-, -W-, -알킬렌-W-, 알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌'-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌'''-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;



W는 $\text{O}=\text{NH}_2$ 의 구조를 가지고;

각각의 J 및 J' 는 독립적으로



각각의 n 및 n' 는 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이다.

청구항 33

제32항에 있어서, R₁이 폴리펩티드인 화합물.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 항체인 화합물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 항체가 헤르셉틴인 화합물.

청구항 36

제32항에 있어서, R_2 가 폴리펩티드인 화합물.

청구항 37

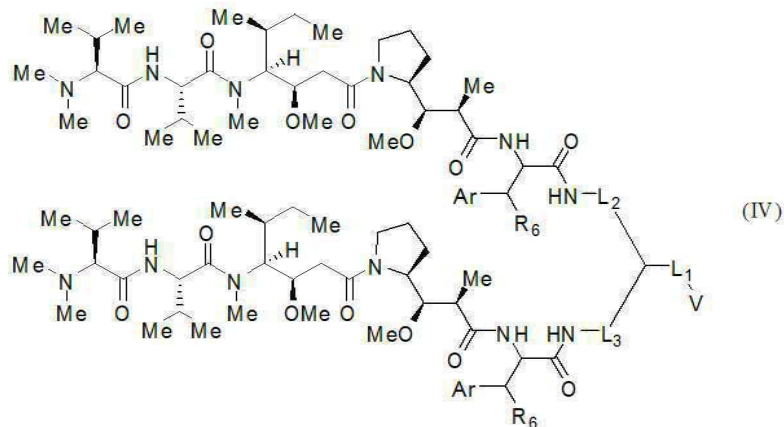
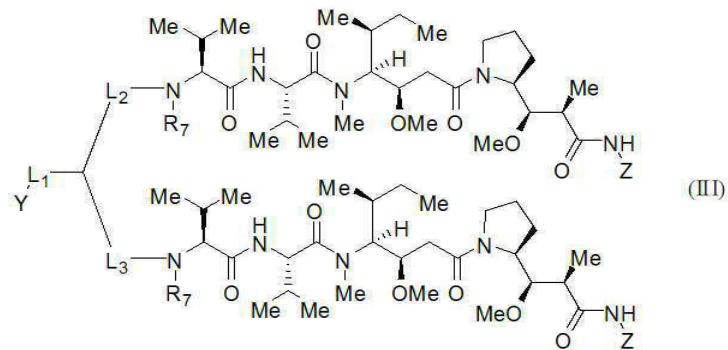
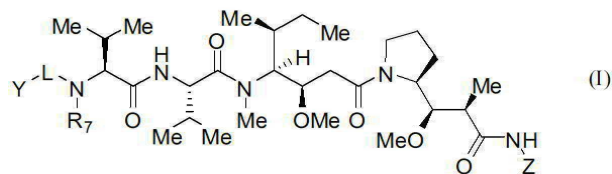
제36항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 항체인 화합물.

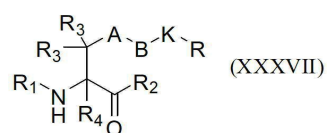
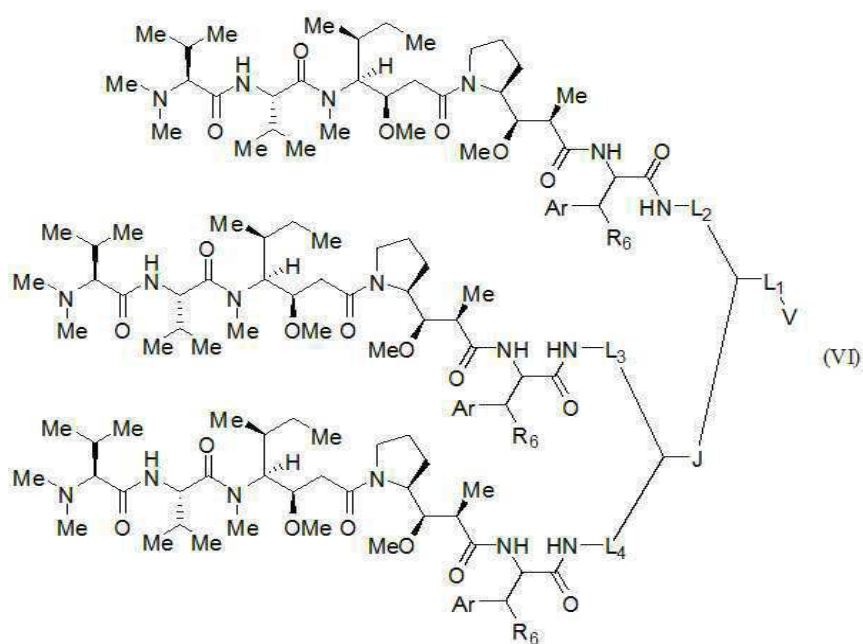
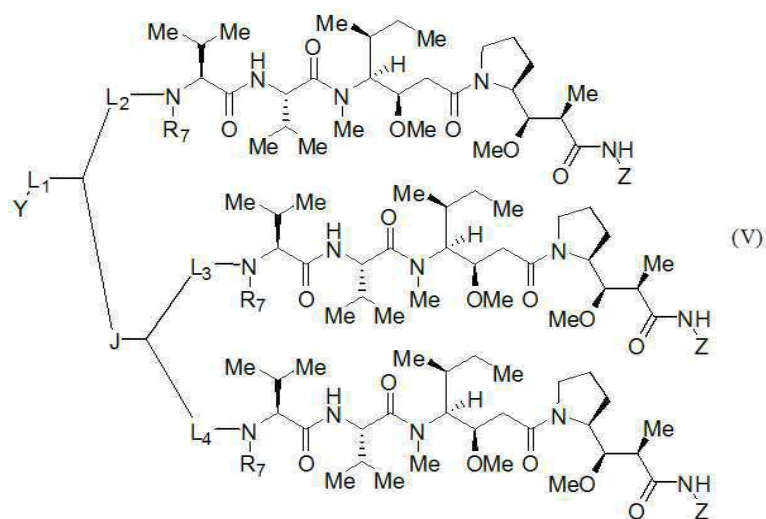
청구항 38

제37항에 있어서, 상기 항체가 헤르셉틴인 화합물.

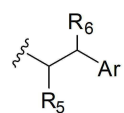
청구항 39

하기 화학식 (I), (III), (IV), (V), 또는 (VI)을 포함하는 돌라스타틴 유사체를 유도체화하는 방법으로서, 돌라스타틴 유사체를 하기 화학식 (XXXVII)의 시약과 접촉시키는 것을 포함하는 방법:





상기 화학식 (I), (III), (IV), (V), 또는 (VI)에서,
Z는 하기 구조



를 가지며;

R₅는 H, COR₈, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

R₈은 OH 또는 -NH-(알킬렌-O)_n-NH₂이며;

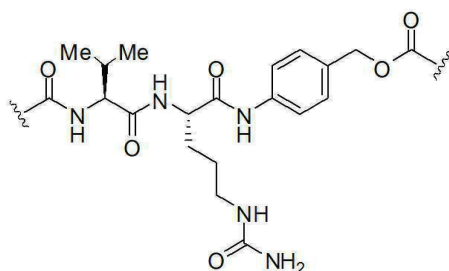
R₆은 OH 또는 H이고;

Ar는 페닐 또는 피리딘이며;

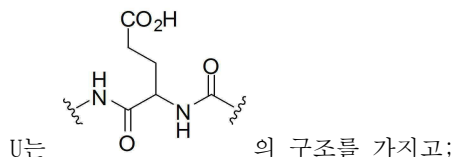
R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

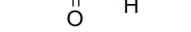
Y는 NH₂-O 또는 메틸이며;

L, L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_{n'}-NHC(O)-(CH₂)_{n''}-C(Me)₂-S-(CH₂)_{n'''}-NHC(O)-(알킬렌-O)_{n''''}-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌', -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J'-, -W-, -알킬렌-W-, 알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, 및 J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌; -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"'-W-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이며;

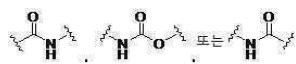


W는 의 구조를 가지고;



U는 의 구조를 가지고;

각각의 J 및 J'는 독립적으로



의 구조를 가지거나; 또는

L이 부재하거나, Y가 메틸이고, R₅가 COR₈이고, R₈이 -NH-(알킬렌-O)_n-NH₂이며;

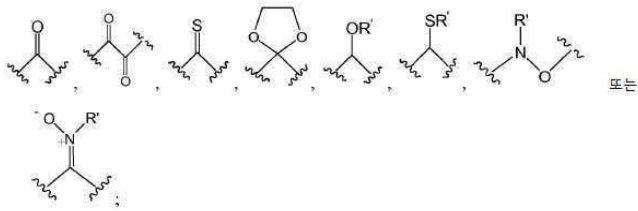
각각의 n, n', n'', n''' 및 n''''는 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이며;

상기 화학식 (XXXVII)에서,

A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (여기서, k는 1, 2, 또는 3 임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N-N=, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이고;



K는

이며;

R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

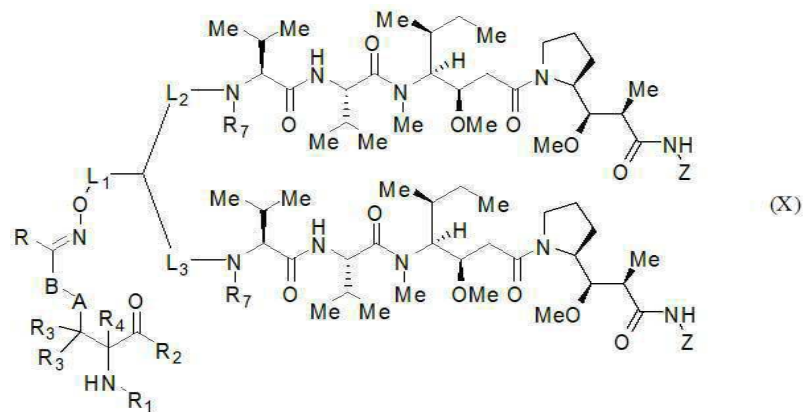
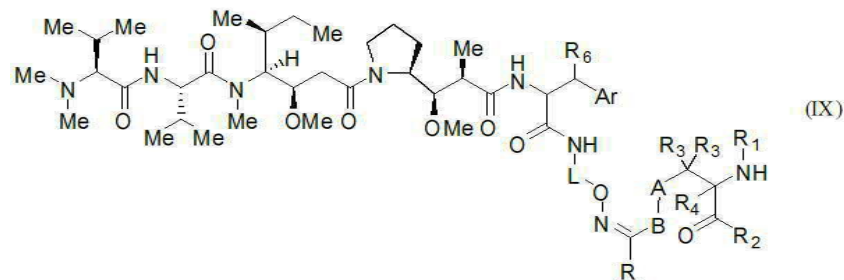
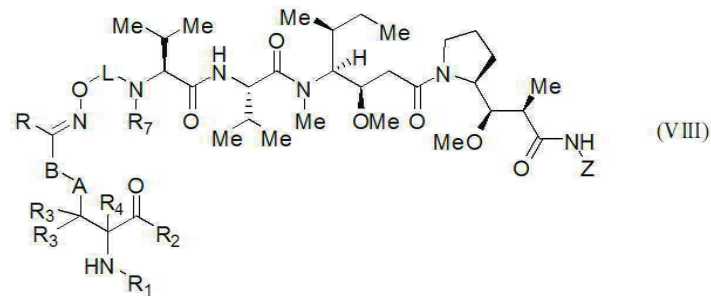
R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

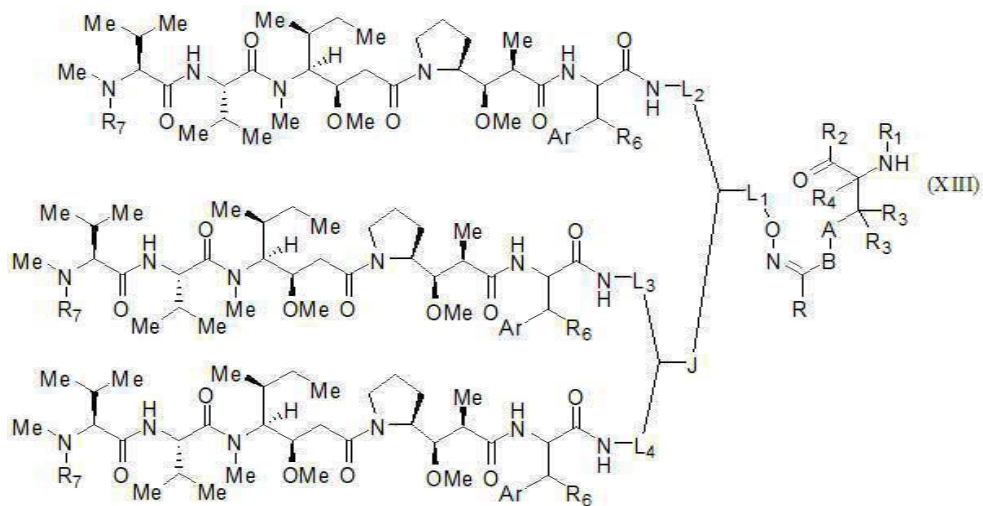
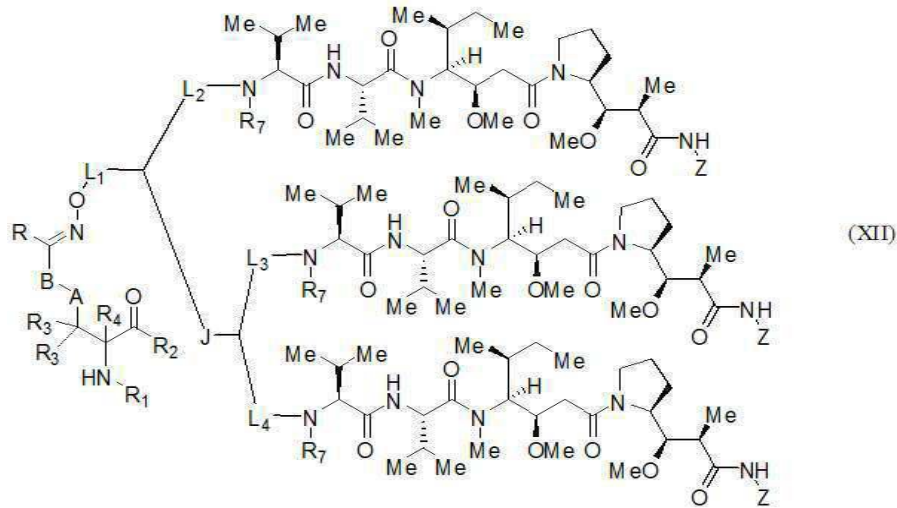
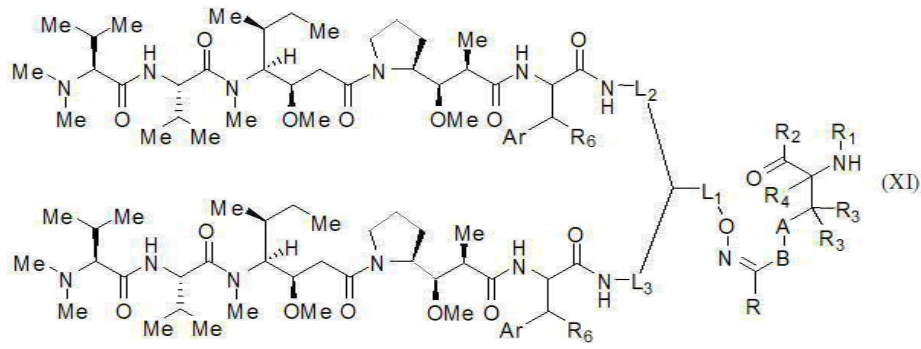
R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성한다.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 유도체화된 돌라스타틴 유사체가 하기 화학식 (VIII), (IX), (X), (XI), (XII), 또는 (XIII)의 구조를 갖는 아미노산을 함유하는 옥심을 1개 이상 포함하는 것인 방법:



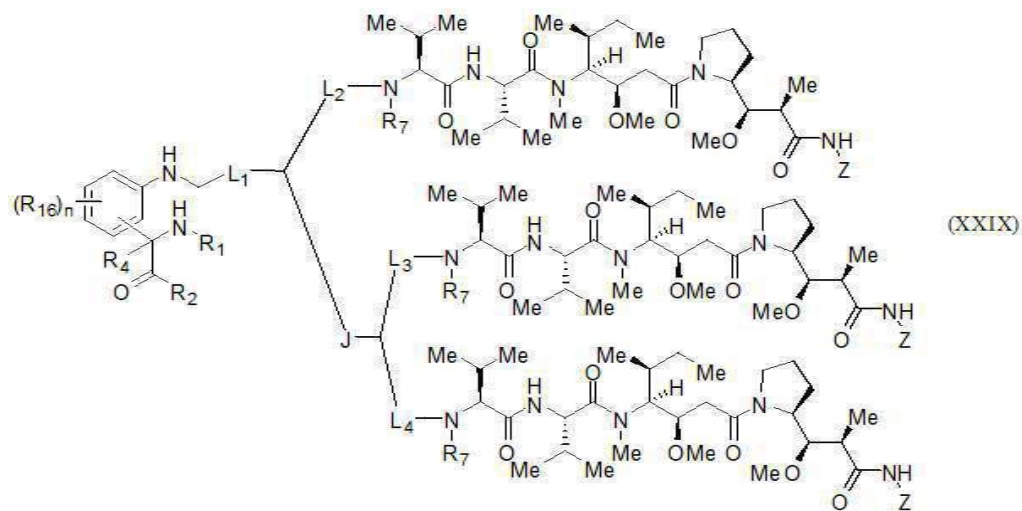
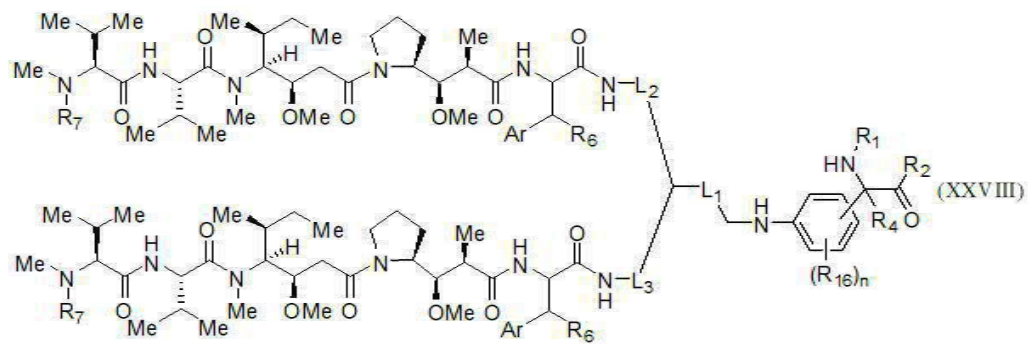
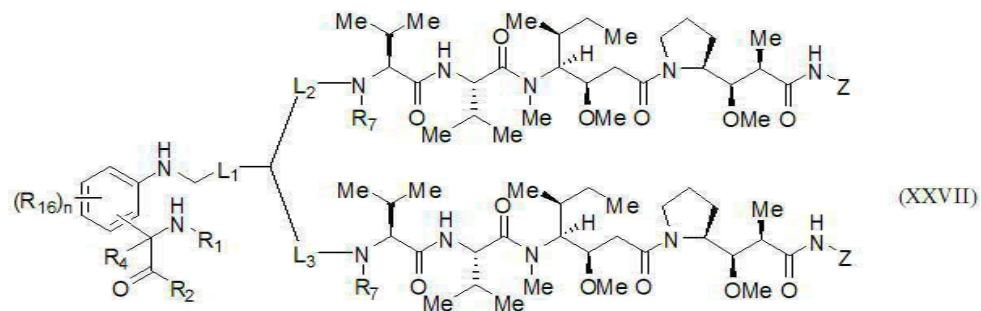
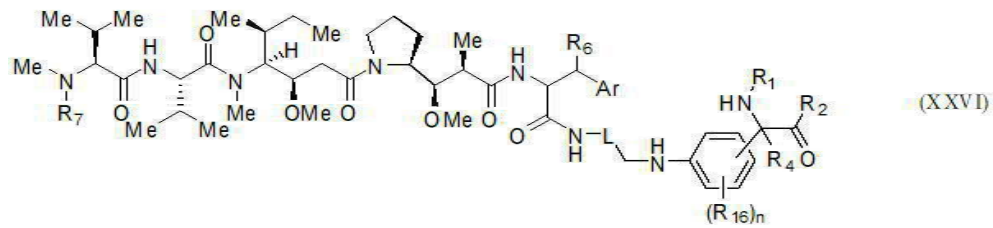
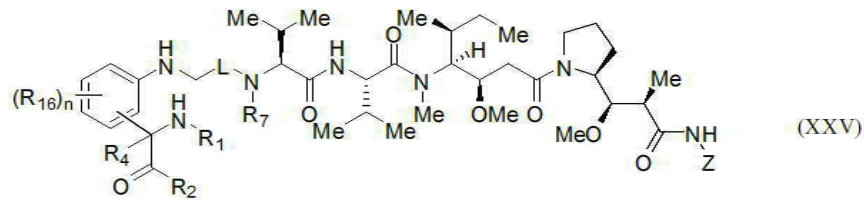


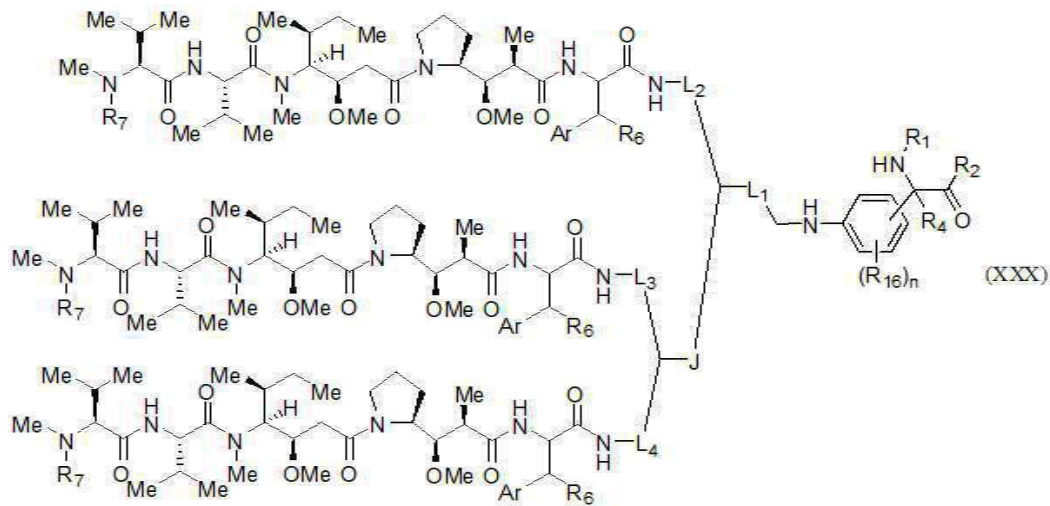
청구항 41

제39항에 있어서, 상기 돌라스타틴 유사체가 화학식 (XXXVII)의 시약과 약한 산성 조건하의 수용액에서 접촉되는 것인 방법.

청구항 42

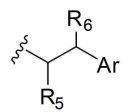
하기 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)를 포함하는 화합물:





상기 식에서,

Z는 하기 구조



를 가지며;

R₅는 H, CO₂H, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

R₆는 OH 또는 H이며;

Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

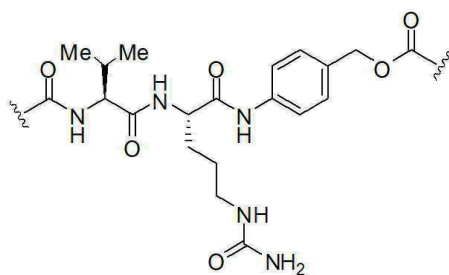
R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이며;

R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이고;

R₄는 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이며;

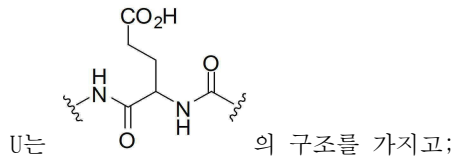
R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

L, L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -알킬렌-J-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-J-, -(알킬렌-O)_n-J-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_n-NHC(O)-(CH₂)_n-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_n-NHC(O)-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌', -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J', -W-, -알킬렌-W-, 알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌; -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"'-W-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이며;

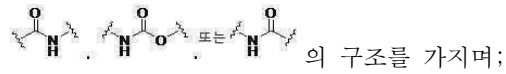


W는

의 구조를 가지고;



각각의 J 및 J'는 독립적으로



각각의 n 및 n'는 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이고;

각각의 R₁₆은 수소, 할로젠, 알킬, NO₂, CN, 및 치환된 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

청구항 43

제42항에 있어서, R₁이 폴리펩티드인 화합물.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 항체인 화합물.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 항체가 헤르셉틴인 화합물.

청구항 46

제42항에 있어서, R₂가 폴리펩티드인 화합물.

청구항 47

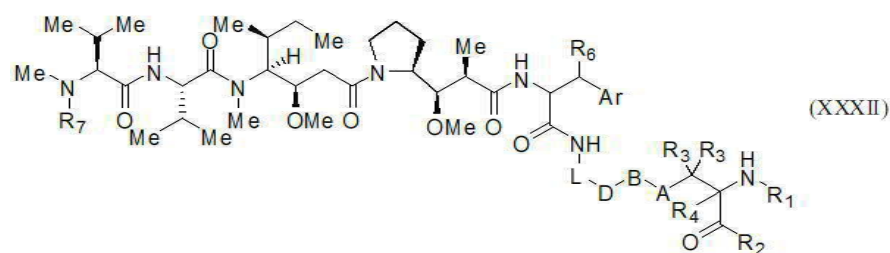
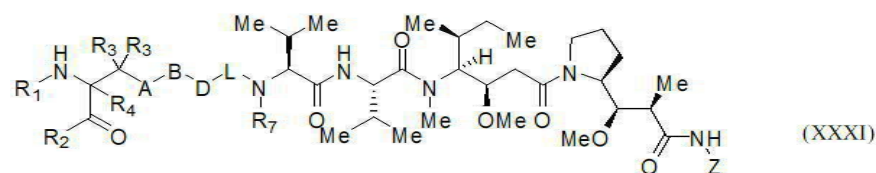
제46항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 항체인 화합물.

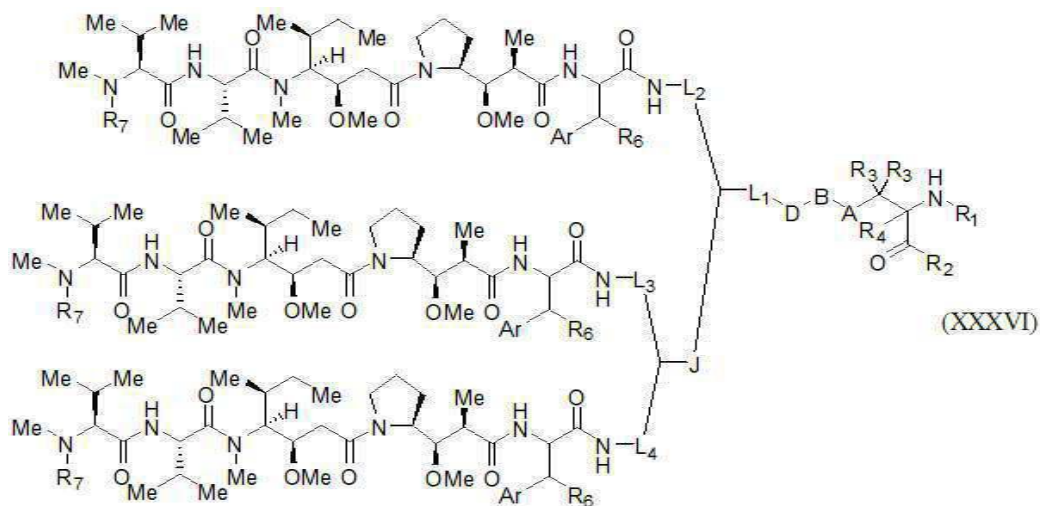
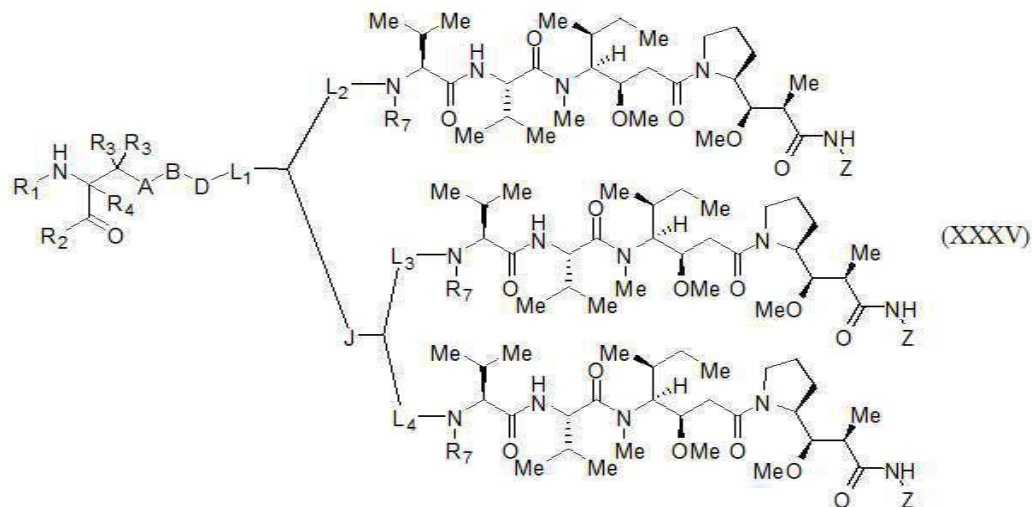
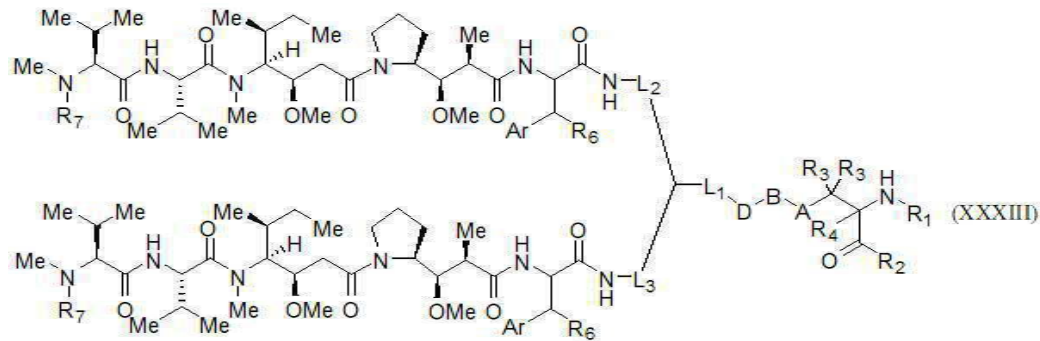
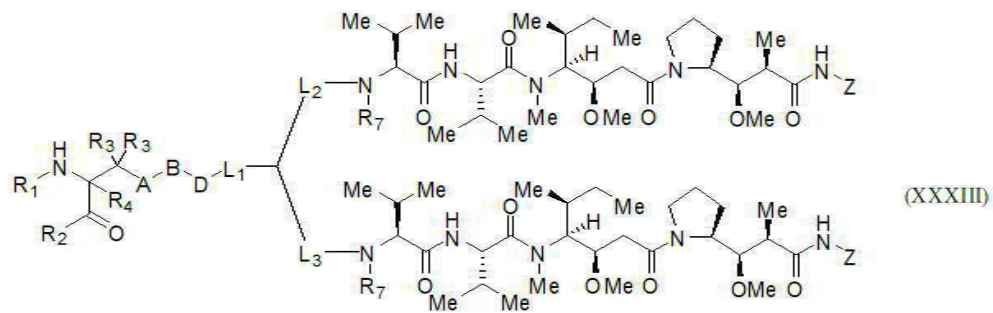
청구항 48

제47항에 있어서, 상기 항체가 헤르셉틴인 화합물.

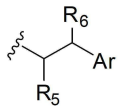
청구항 49

하기 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)를 포함하는 화합물:





상기 식에서,
Z는 하기 구조



를 가지며;

R_5 는 H, CO_2H , $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬, 또는 티아졸이고;

R_6 는 OH 또는 H이며;

Ar 는 페닐 또는 피리딘이고;

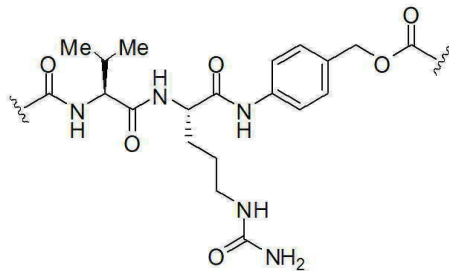
R_1 은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이며;

R_2 는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이고;

R_4 는 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이며;

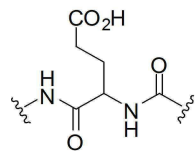
R_7 은 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 또는 수소이고;

L , L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 는 각각 결합, -알킬렌-, -알킬렌- $\text{C}(\text{O})$ -, -알킬렌- J -, -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌-, -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌- $\text{C}(\text{O})$ -, -(알킬렌- O) $_n$ - J -, -(알킬렌- O) $_n$ - J -알킬렌-, -(알킬렌- O) $_n$ -(CH_2) $_n$ - $\text{NHC}(\text{O})$ -(CH_2) $_n$ - $\text{C}(\text{Me})_2$ - S-S -(CH_2) $_n$ - $\text{NHC}(\text{O})$ -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌-, -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌- W -, -알킬렌- $\text{C}(\text{O})$ - W -, -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌- J -, -알킬렌'- J -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌-, -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌- J -알킬렌'-, - J -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌-, -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌- J -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌- J' -, - W -, -알킬렌- W -, 알킬렌'- J -(알킬렌- NMe) $_n$ -알킬렌- W -, - J -(알킬렌- NMe) $_n$ -알킬렌- W -, -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌- U -알킬렌- $\text{C}(\text{O})$ -, -(알킬렌- O) $_n$ -알킬렌- U -알킬렌-, - J -알킬렌- NMe -알킬렌'- NMe -알킬렌"- W -, 및 -알킬렌- J -알킬렌'- NMe -알킬렌"- NMe -알킬렌"- W -로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이며;



W 는

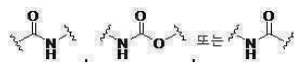
의 구조를 가지고;



U 는

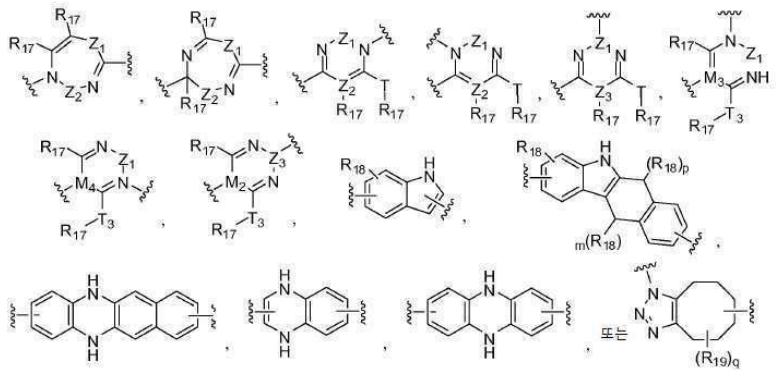
의 구조를 가지고;

각각의 J 및 J' 는 독립적으로



의 구조를 가지며;

각각의 n 및 n' 는 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이고;



각각의 R_{17} 은 H, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 알킬알콕시, 치환된 알킬알콕시, 폴리알킬렌 옥사이드, 치환된 폴리알킬렌 옥사이드, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 치환된 아르알킬, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-ON(R'')₂, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-C(O)SR'', -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-S-S-(아릴 또는 치환된 아릴), -C(O)R'', -C(O)₂R'', 또는 -C(O)N(R'')₂로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 각각의 R''는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 또는 치환된 아르알킬이며;

각각의 Z_1 은 결합, CR₁₇R₁₇, O, S, NR', CR₁₇C₁₇-CR₁₇R₁₇, CR₁₇C₁₇-O, O-CR₁₇C₁₇, CR₁₇C₁₇-S, S-CR₁₇C₁₇, CR₁₇C₁₇-NR', 또는 NR'-CR₁₇C₁₇이고;

각각의 R'는 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

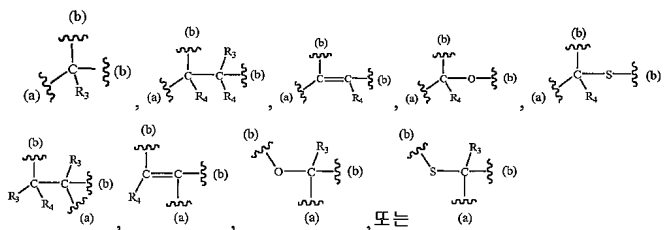
각각의 Z_2 는 결합, -C(O)-, -C(S)-, 임의로 치환된 C₁-C₃ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₃ 알케닐렌, 및 임의로 치환된 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

각각의 Z_3 은 결합, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알케닐렌, 임의로 치환된 헤테로알킬, -O-, -S-, -C(O)-, -C(S)-, 및 -N(R')-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며;

각각의 T_3 은 결합, C(R'')(R''), O, 또는 S이고; 단, T_3 이 O 또는 S일 때, R''는 할로젠일 수 없으며;

각각의 R''는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

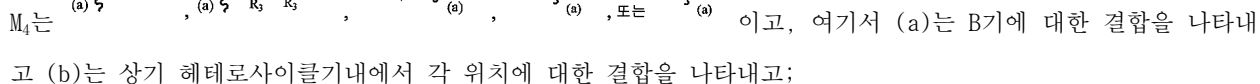
m 및 p는 0, 1, 2, 또는 3인데, 단, m 또는 p 중 적어도 하나는 0이 아니며;



고 (b)는 상기 헤테로사이클기내에서 각 위치에 대한 결합을 나타내며;

M₃은

이고, 여기서 (a)는 B기에 대한 결합을 나타내고 (b)는 상기 헤테로사이클기내에서 각 위치에 대한 결합을 나타내고;



q 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11이고;

각각의 R₁₆은 수소, 할로젠, 알킬, NO₂, CN, 및 치환된 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

제49항에 있어서, R₁이 폴리펩티드인 화합물.

제50항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 항체인 화합물.

제51항에 있어서, 상기 항체가 헤르셉틴인 화합물.

제49항에 있어서, R₂가 폴리펩티드인 화합물.

제53항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 항체인 화합물.

제54항에 있어서, 상기 항체가 헤르셉틴인 화합물.

제49항에 있어서, 하기 화학식 (XXXI-A)를 포함하는 화합물:



제1항 내지 38항, 제42항 내지 제56항 중 어느 한 항의 화합물과 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 또는 결합제를 포함하는 약학 조성물.

상호 참조

[0002] 본원은 2011년 5월 27일자로 출원된, "비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체를 함유하는 조성물, 이를 수반하는 방법, 및 용도(Composition Containing, Methods Involving, and Uses of Non-Natural Amino Acid Linked Dolastatin Derivatives)"란 표제하의, 미국 임시 출원 제61/491,146호에 대한 우선권을 주장하며, 이의 내용은 전문 참고로 포함된다.

배경 기술

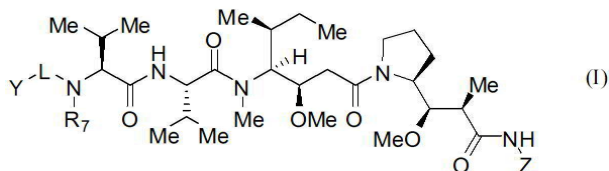
[0003] 비-유전적으로 암호화된 아미노산 (즉, "비-천연 아미노산")을 단백질중으로 혼입시킬 수 있는 능력은 천연 작용기에 대한 유용한 대체물, 예로서 리신의 엡실론 -NH₂, 시스테인의 술폰히드릴 -SH, 히스티딘의 이미노기 등을 제공할 수 있는 화학적 작용기를 도입시킬 수 있도록 한다. 특정의 화학적 작용기는 20개의 통상적이고, 유전자적으로-암호화된 아미노산에서 발견되는 작용기에 대해 불활성이지만 비-천연 아미노산에 혼입될 수 있는 작용기와는 깨끗하고 효율적으로 반응하여 안정한 연결기(linkages)를 형성시키는 것으로 알려져 있다.

[0004] 단백질에서 발견되지 않으며, 20개의 통상적이고, 유전자적으로 암호화된 아미노산에서 발견되는 모든 작용기에 대해 화학적으로 불활성이며 특정의 작용기를 포함하는 시약과 효율적이고 선택적으로 반응하여 안정한 공유결합 연결기를 형성시킬 수 있도록 사용할 수 있는 화학적 작용기를 선택적으로 도입시키기 위한 방법이 현재 이용가능하다.

발명의 내용

[0005] 본 발명에는 1개 이상의 링커(들)가 있는 독성 부위(toxic moieties), 비-천연 아미노산에 연결되어 있는 독성기, 및 그러한 비-천연 아미노산 및 폴리펩티드를 제조하는 방법이 개시된다.

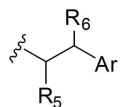
[0006] 본 발명의 일부 실시양태는 화학식 (I)을 포함하는 화합물, 또는 이의 염을 기재한다:



[0007]

[0008] 상기 식에서

[0009] Z는 하기 구조



[0010] 를 가지며;

[0011] R₅는 H, COR₈, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

[0012] R₈은 OH 또는 -NH-(알킬렌)_n-NH₂이며;

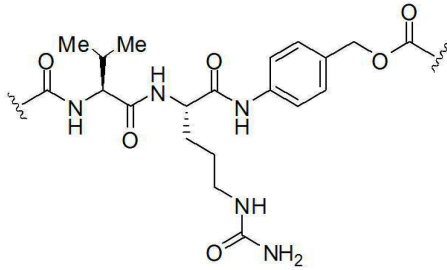
[0013] R₆은 OH 또는 H이고;

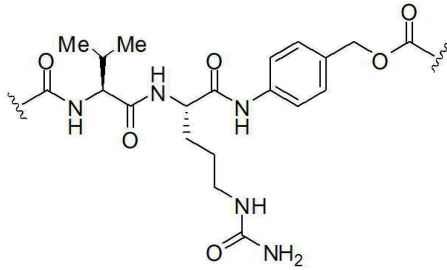
[0014] Ar는 페닐 또는 피리딘이며;

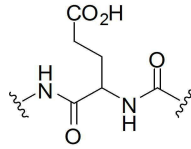
[0015] R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

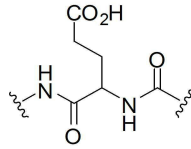
[0016] Y는 히드록실아민, 메틸, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아미드, 이민, 디아민, 아지드, 케토-아민, 케토-알킨, 알킨, 사이클로알킨, 및 엔-디온으로 이루어진 군으로부터 선택되며;

[0017] L은 -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -(알킬렌)_n-알킬렌-, -(알킬렌)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌)_n-(CH₂)_n-NHC(O)-(CH₂)_n-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_n-NHC(O)-(알킬렌)_n-알킬렌-, -(알킬렌)_n-알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, 및 -(알킬렌)_n-알킬렌-U-알킬렌-으로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고;



[0018] W는  의 구조를 가지며;



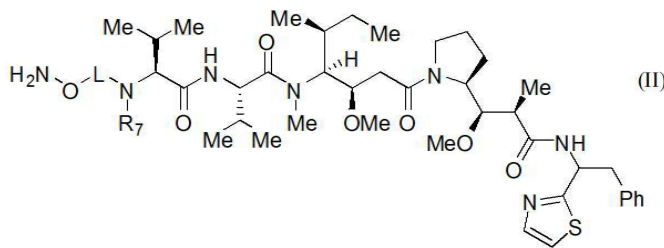
[0019] U는  의 구조를 가지거나;

[0020] L이 부재하고, Y가 메틸이며, R_5 가 COR_8 이고, R_8 이 $-NH-(알킬렌-O)_n-NH_2$ 이며;

[0021] 각각의 n , n' , n'' , n''' 및 n'''' 은 독립적으로 1과 크거나 대등한 정수이다.

[0022] 일부 실시양태로, R_5 가 티아졸이다. 다른 실시양태로, R_6 이 H이다. 특정의 실시양태로, Ar가 페닐이다. 다른 또는 추가의 실시양태로, R_7 이 메틸이다. 일부 실시양태로, n 이 0 내지 20, 0 내지 10 또는 0 내지 5로부터의 정수이다.

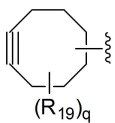
[0023] 일부 실시양태로, 화학식 (II)를 포함하는 화합물이 기재된다:



[0024]

[0025] 특정의 실시양태로, L이 $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-$ 이다. 구체적인 실시양태로, 각 알킬렌이 $-CH_2CH_2-$ 이고, n 이 3과 대등하며, R_7 이 메틸이다. 다른 실시양태로, L이 $-알킬렌-$ 이다. 구체적인 실시양태로, 각 알킬렌이 $-CH_2CH_2-$ 이고 R_7 이 메틸 또는 수소이다. 특정의 실시양태로, L이 $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-$ 이다. 특정의 구체적인 실시양태로, 각각의 알킬렌이 $-CH_2CH_2-$ 이고, n 이 4와 같으며, R_7 이 메틸이다. 추가의 또는 대안적 실시양태로, L이 $-(알킬렌-O)_n-(CH_2)_{n'}-NHC(O)-(CH_2)_{n''}-C(Me)_2-S-S-(CH_2)_{n'''}-NHC(O)-(알킬렌-O)_{n''''}-알킬렌-$ 이다. 구체적인 실시양태로, 각 알킬렌이 $-CH_2CH_2-$ 이고, n 이 1과 같으며, n' 가 2와 같고, n'' 는 1과 같으며, n''' 는 2와 같고, n'''' 은 4와 같으며, R_7 은 메틸이다.

[0026] 일부 실시양태로, Y가 아지드이다. 다른 실시양태로, Y가 사이클로옥틴이다. 구체적인 실시양태로, 상기 사이클로옥틴이 하기 구조를 갖는다:



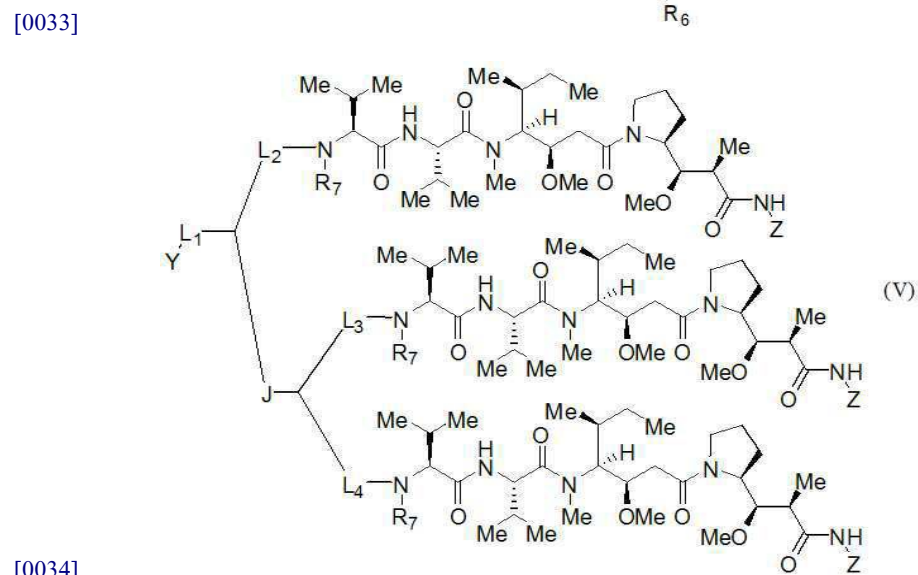
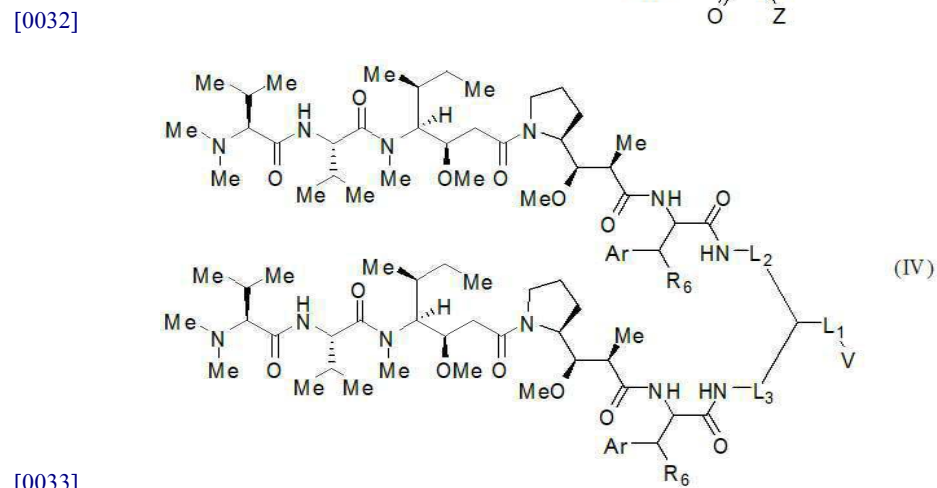
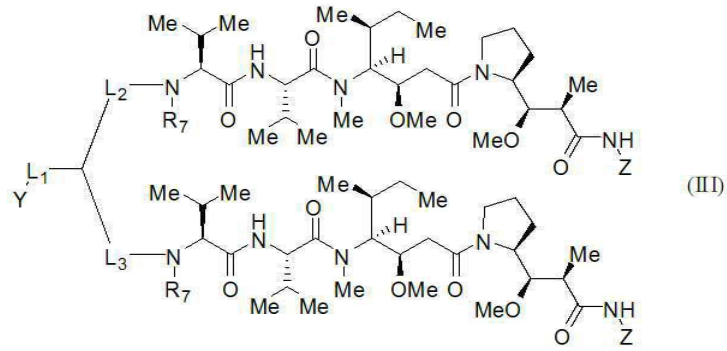
[0027]

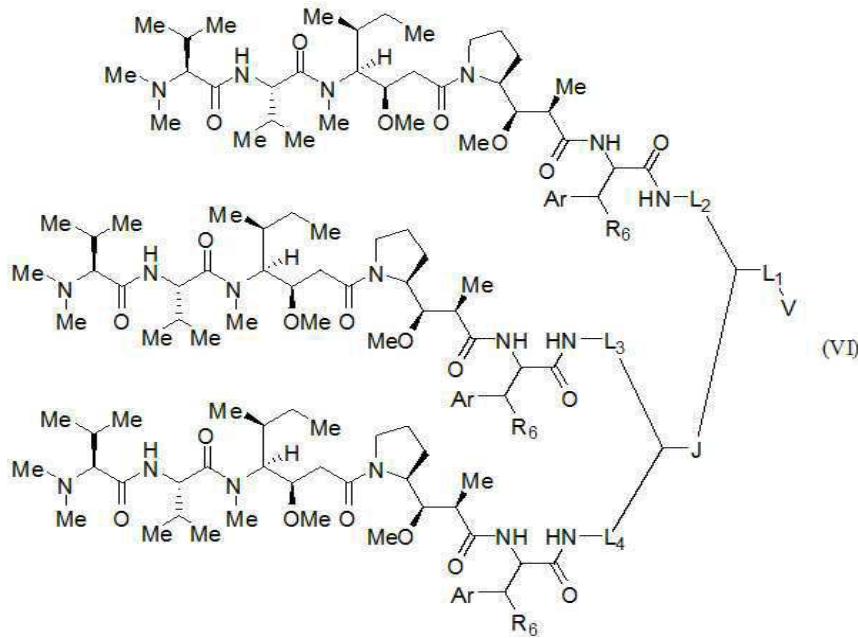
[0028] 상기 식에서,

[0029] R_{19} 는 C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, 에스테르, 에테르, 티오에테르, 아미노알킬, 할로젠, 알킬 에스테르, 아릴 에스테르, 아미드, 아릴 아미드, 알킬 할라이드, 알킬 아민, 알킬 술폰산, 알킬 니트로, 티오에스테르, 술폰일 에스테르, 할로술폰일, 니트릴, 알킬 니트릴, 및 니트로로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0030] q 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11이다.

[0031] 일부의 실시양태는 화학식 (III), (IV), (V) 또는 (VI)을 포함하는 화합물, 또는 이의 염을 기재한다:





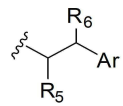
[0035]

[0036]

상기 식에서,

[0037]

Z는 하기의 구조



[0038]

를 가지며;

[0039]

R₅는 H, COR₈, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

[0040]

R₈은 OH이며;

[0041]

R₆는 OH 또는 H이며;

[0042]

Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

[0043]

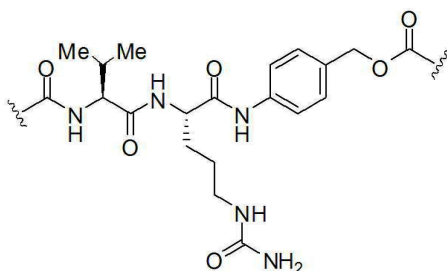
R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이며;

[0044]

Y 및 V는 각각 히드록실아민, 메틸, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아미드, 이민, 디아민, 아지드, 케토-아민, 케토-알킨, 알킨, 사이클로알킨, 및 엔-디온으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0045]

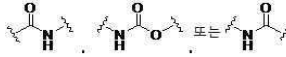
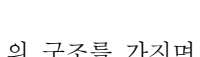
L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J'-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌'-, -W-, -알킬렌-W-, -알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"'-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;



[0046]

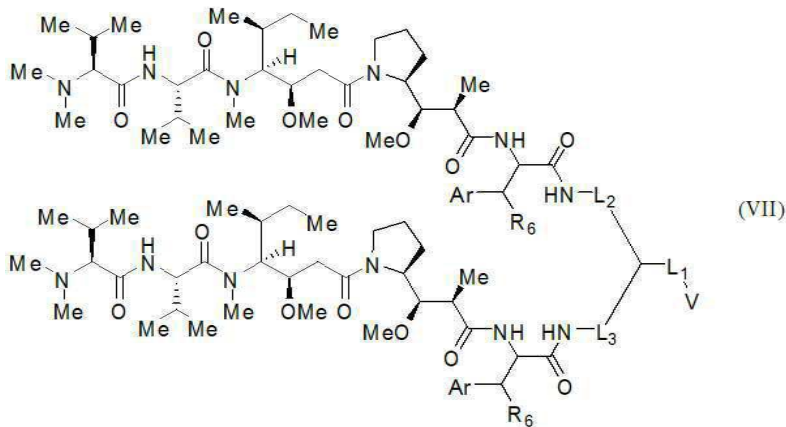
W는 의 구조를 가지고;

[0047] 각각의 J 및 J'는 서로 독립적으로

[0048]  또는 의 구조를 가지며;

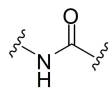
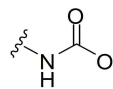
[0049] 각각의 n 및 n'는 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이다.

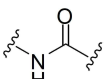
[0050] 특정의 실시양태로, 화학식 (VII)을 포함하는 화합물이 기재된다:



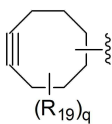
[0051]

[0052] 특정의 실시양태로, L₁이 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-이고, L₂가 -알킬렌'-J'-(알킬렌-O)_{n'}-알킬렌-이며, L₃가 -J''-(알킬렌-O)_{n''}-알킬렌-이고, 알킬렌이 -CH₂CH₂-이며, 알킬렌'가 -(CH₂)₄-이고, n이 1이며, n' 및 n''가 3이고, J가

의 구조를 가지며, J' 및 J''가 의 구조를 가지고, R₇이 메틸이다. 다른 실시양태로, L₁이 -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-이고, L₂가 -(알킬렌-O)_{n'}-알킬렌'-J'-알킬렌-이며, L₃가 -(알킬렌-O)_{n''}-알킬렌-J''-이고, 알킬렌이 -CH₂CH₂-이며, 알킬렌'가 -(CH₂)₄-이고, n이 1이며, n' 및 n''가 4이고,

J, J' 및 J''가 의 구조를 갖는다.

[0053] 일부의 실시양태로, Y가 아지드이다. 다른 실시양태로, Y가 사이클로옥틴이다. 구체적인 실시양태로, 상기 사이클로옥틴이 하기 구조를 갖는다:

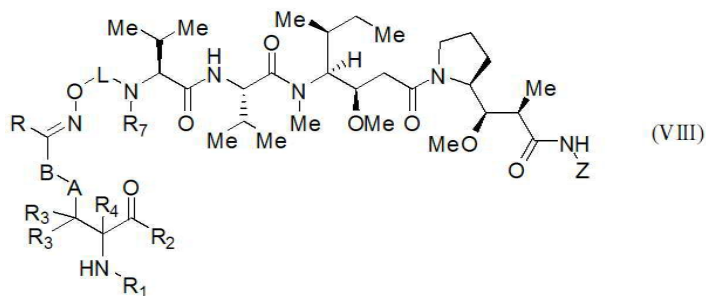


[0054]

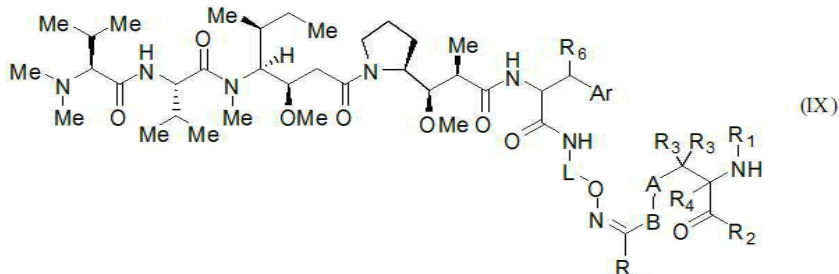
[0055] 여기에서, R₁₉는 C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, 에스테르, 에테르, 티오에테르, 아미노알킬, 할로젠, 알킬 에스테르, 아릴 에스테르, 아마이드, 아릴 아마이드, 알킬 할라이드, 알킬 아민, 알킬 술폰산, 알킬 니트로, 티오에스테르, 술폰 에스테르, 할로술폰, 니트릴, 알킬 니트릴, 및 니트로로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0056] q는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11이다.

[0057] 본 발명의 특정 실시양태는 화학식 (VIII) 또는 (IX)를 포함하는 화합물 또는 이의 활성 대사물질, 또는 약학적으로 허용되는 프로드럭 또는 용매화물을 기재한다:



[0058]



[0059]

[0060]

상기 식에서,

[0061]

A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0062]

B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (여기서, k는 1, 2 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N-, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')- (여기서, 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고;

[0063]

R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이며;

[0064]

R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0065]

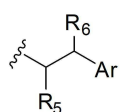
R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0066]

R₃ 및 R₄는 서로 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고;

[0067]

Z는 하기 구조



[0068]

를 가지며;

[0069]

R₅는 H, CO₂H, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

[0070]

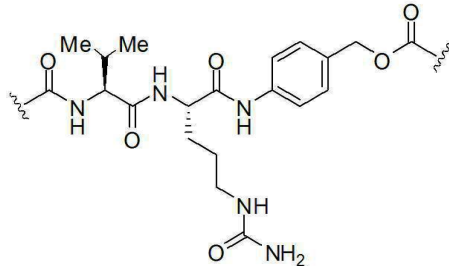
R₆는 OH 또는 H이며;

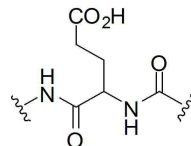
[0071]

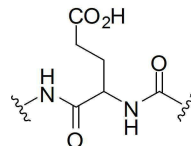
Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

[0072] R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이며;

[0073] L은 -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_n-NHC(O)-(CH₂)_n-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_n'-NHC(O)-(알킬렌-O)_n''-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, 및 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-으로 이루어진 군으로부터 선택되는 링 커이고;



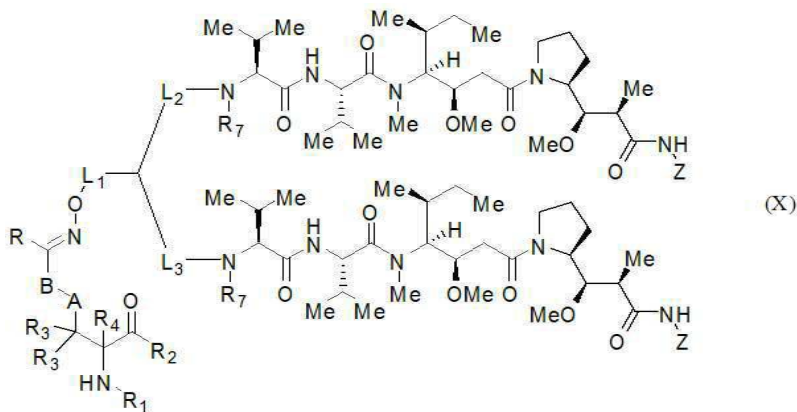
[0074] W는  의 구조를 가지며;

[0075] U는  의 구조를 가지고;

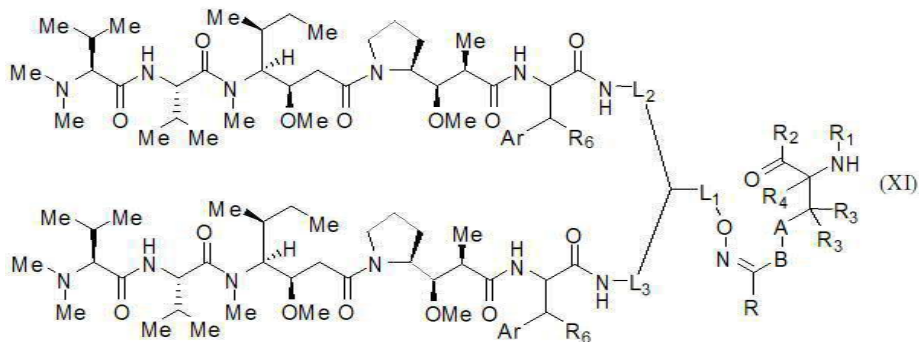
[0076] 각각의 n, n', n'', n''' 및 n''''는 서로 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이다.

[0077] 일부 실시양태로, R₁이 폴리펩티드이다. 구체적 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 특정의 구체적 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴(herceptin)이다. 다른 실시양태로, R₂가 폴리펩티드이다. 구체적 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 특정의 구체적 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다.

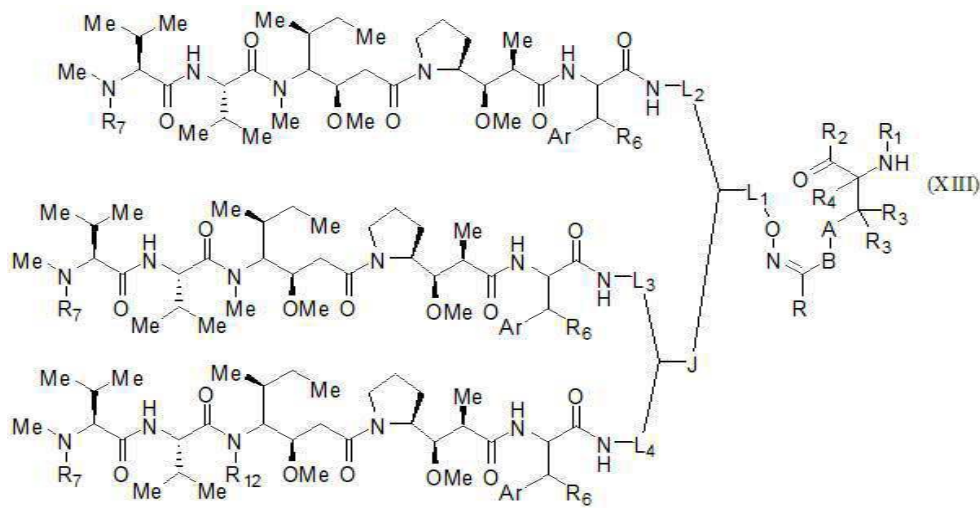
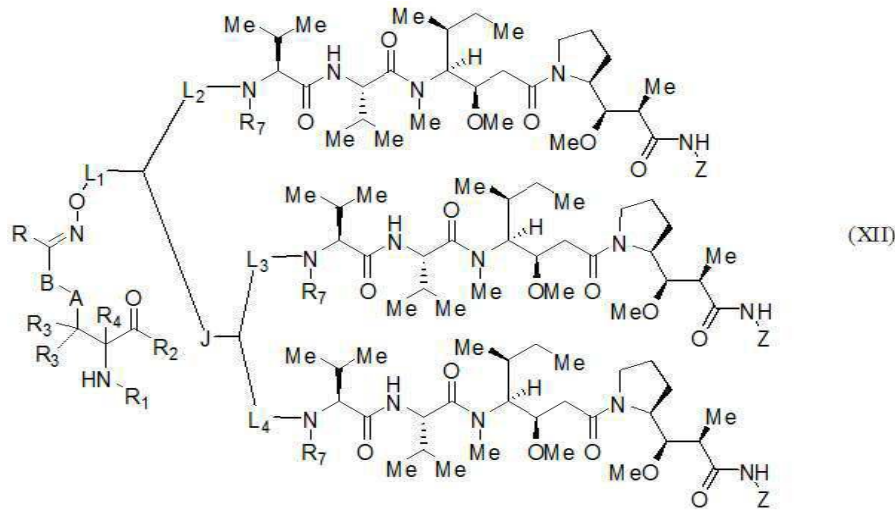
[0078] 일부 실시양태로, 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)을 포함하는 화합물, 또는 이의 염을 기재한다:



[0079]



[0080]



상기 식에서,
A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (여기서 k는 1, 2 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')=N-, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N-, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')- (여기서 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고;

R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이며;

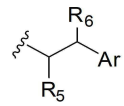
R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 적어도 1개의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 적어도 1개의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

R₃ 및 R₄는 서로 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는

임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고;

[0090] Z는 하기의 구조



[0091] 를 가지며;

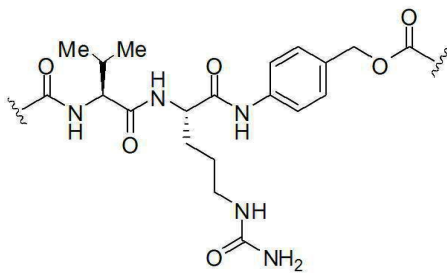
[0092] R₅는 H, CO₂H, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

[0093] R₆는 OH 또는 H이며;

[0094] Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

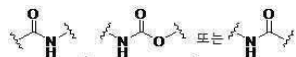
[0095] R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이며;

[0096] L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J'-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌'-, -W-, -알킬렌-W-, -알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;



[0097] W는 의 구조를 가지고;

[0098] 각각의 J 및 J'는 서로 독립적으로

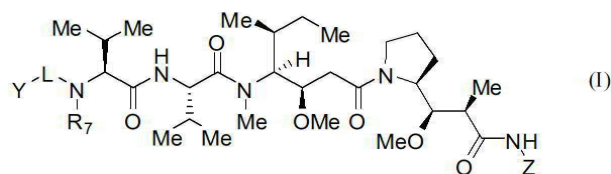


[0099] 의 구조를 가지며;

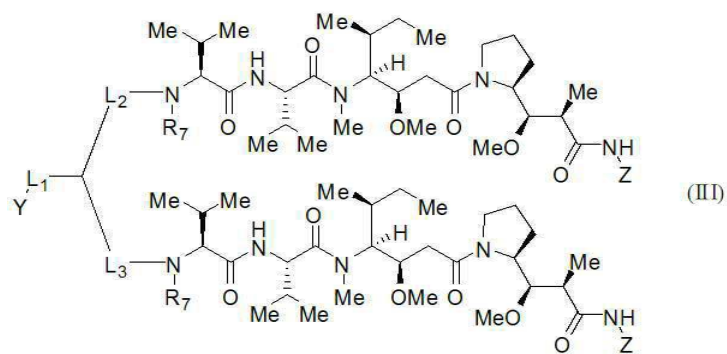
[0100] 각각의 n 및 n'는 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이다.

[0101] 일부 실시양태로, R₁이 폴리펩티드이다. 구체적 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 특정의 구체적 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다. 다른 실시양태로, R₂가 폴리펩티드이다. 구체적 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 특정의 구체적 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다.

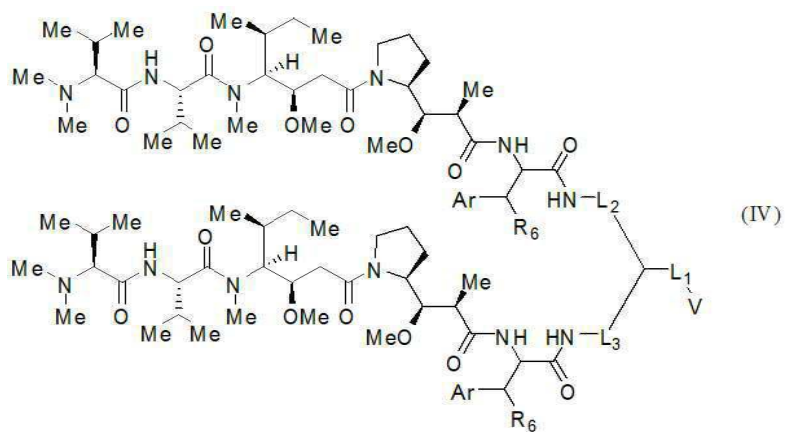
[0102] 일부 실시양태로, 본 발명에서 화학식 (I), (III), (IV), (V), 또는 (VI)을 포함하는 돌라스타틴 유사체의 유도 체화 방법으로서, 돌라스타틴 유사체를 하기 화학식 (XXXVII)의 시약과 접촉시키는 것을 포함하는 방법이 제공된다:



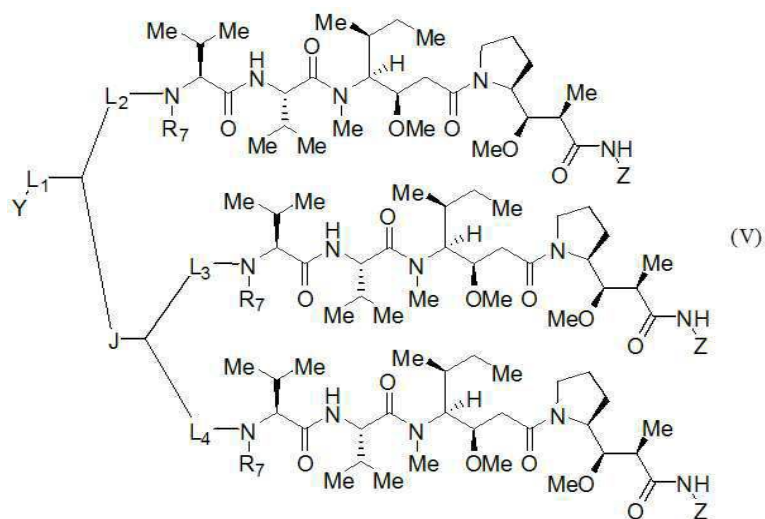
[0103]



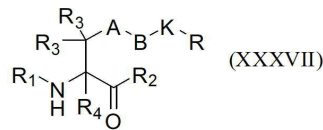
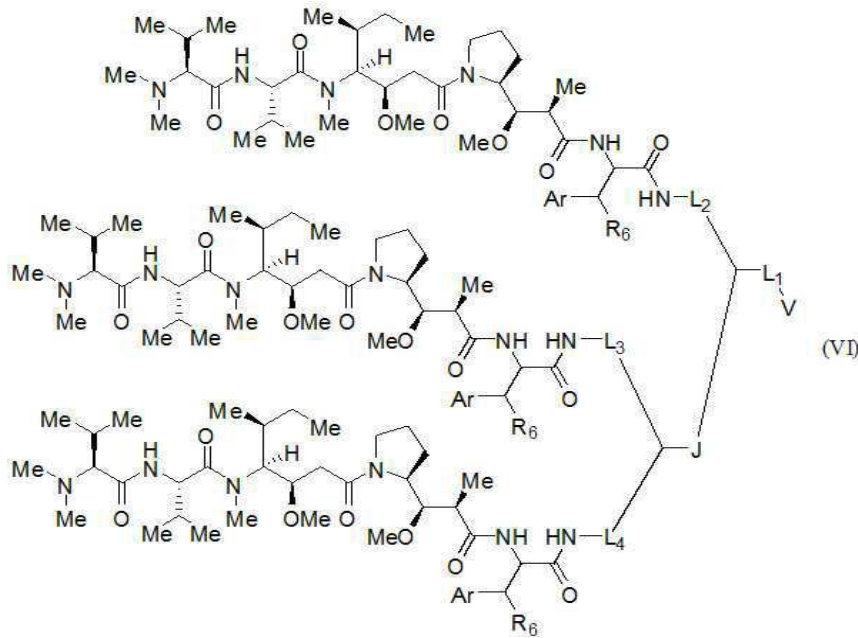
[0104]



[0105]

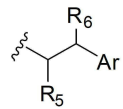


[0106]



상기 화학식 (I), (III), (IV), (V), 또는 (VI)에서,

Z는 하기 구조



를 가지며;

R₅는 H, COR₈, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

R₈은 OH 또는 -NH-(알킬렌-O)_n-NH₂이며;

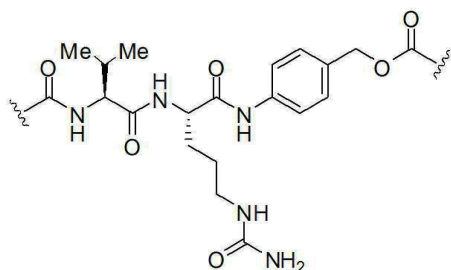
R₆은 OH 또는 H이고;

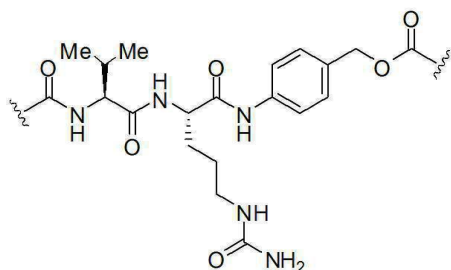
Ar는 페닐 또는 피리딘이며;

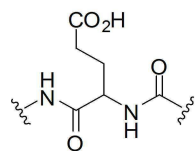
R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

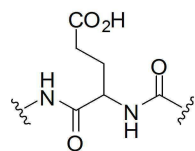
Y는 NH₂-O- 또는 메틸이며;

L, L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_{n'}-NHC(O)-(CH₂)_{n''}-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_{n'''}-NHC(O)-(알킬렌-O)_{n''''}-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌-', -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_{n'}-알킬렌-J'-, -W-, -알킬렌-W-, -알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, 및 -J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-, -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"'-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;

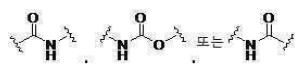


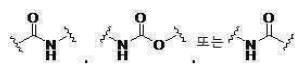
[0119] W는  의 구조를 가지고;



[0120] U는  의 구조를 가지고;

[0121] 각각의 J 및 J'는 서로 독립적으로



[0122]  의 구조를 가지거나; 또는

[0123] L이 부재하거나, Y가 메틸이고, R₅가 COR₈이고, R₈이 -NH-(알킬렌-O)_n-NH₂이며;

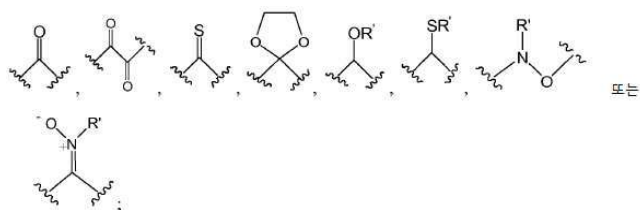
[0124] 각각의 n, n', n'', n''' 및 n''''는 서로 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이고;

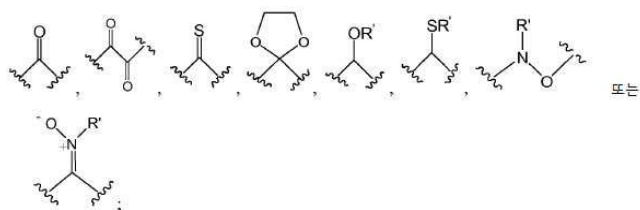
[0125] 상기 화학식 (XXXVII)에서,

[0126] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0127] B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N-N=, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0128] 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이고;



[0129] K는  이며;

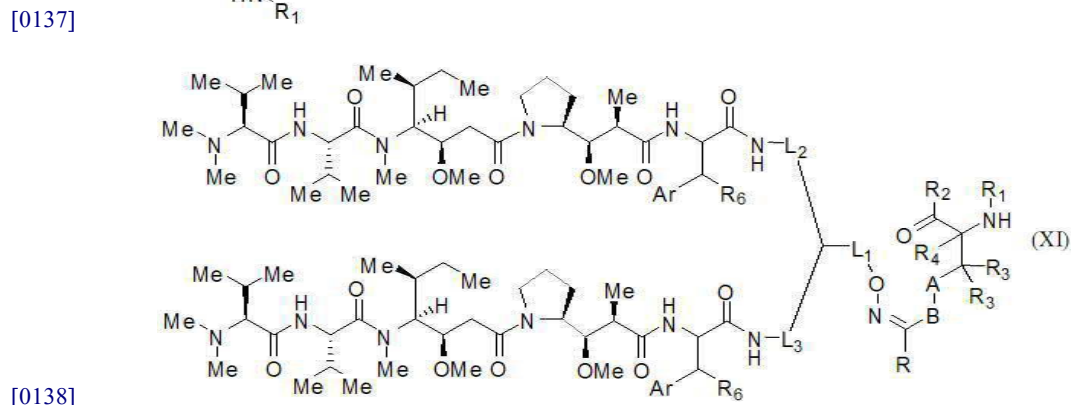
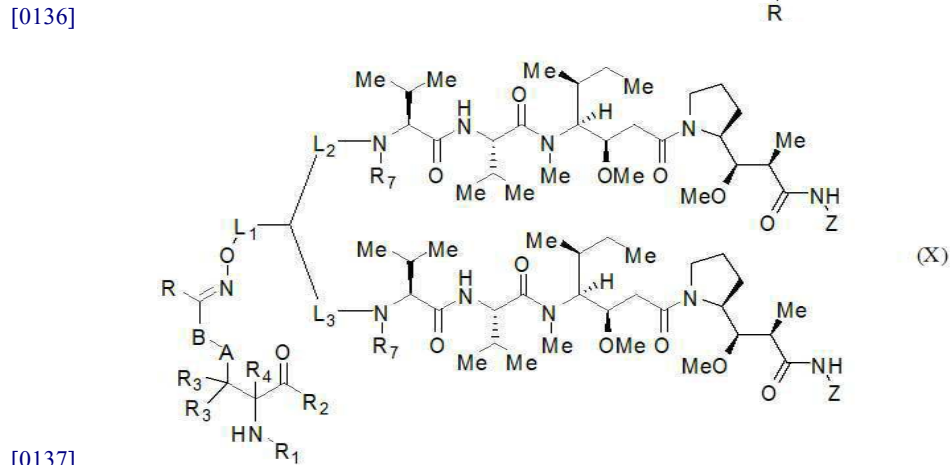
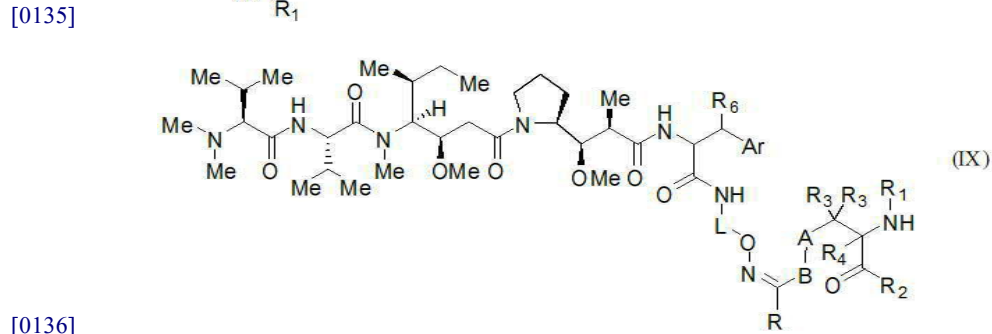
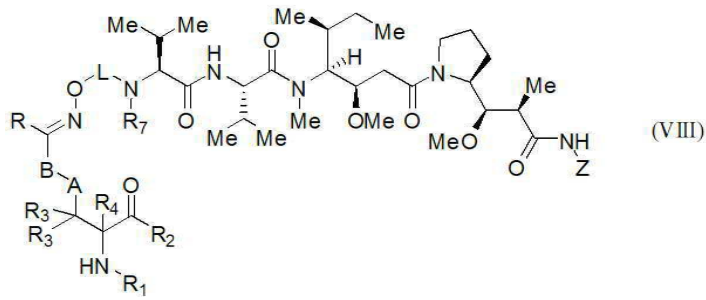
[0130] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

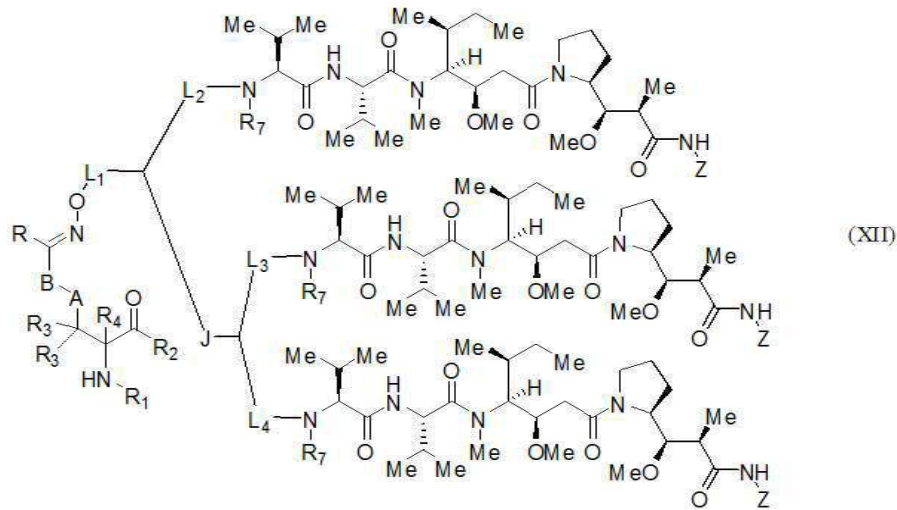
[0131] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지(resin), 1개 이상의 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0132] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

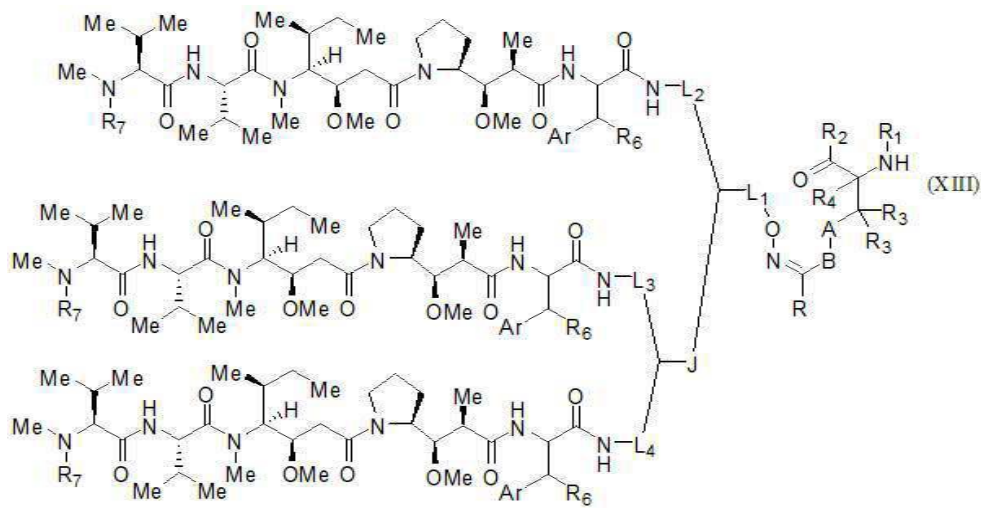
[0133] R₃ 및 R₄는 서로 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성한다.

[0134] 일부 실시양태로, 상기 유도체화된 돌라스타틴 유사체가 화학식 (VIII), (IX), (X), (XI), (XII), 또는 (XIII)의 구조를 갖는 아미노산을 함유하는 옥심을 적어도 1개 포함한다:





[0139]



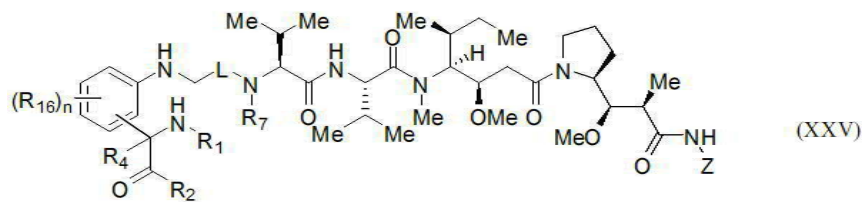
[0140]

[0141]

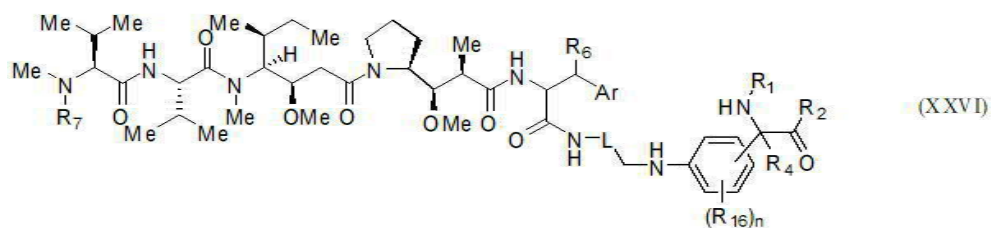
구체적인 실시양태로, 상기 돌라스타틴 유사체를 약한 산성인 조건하에 수용액에서 화학식 (XXXVII)의 시약과 접촉시킨다.

[0142]

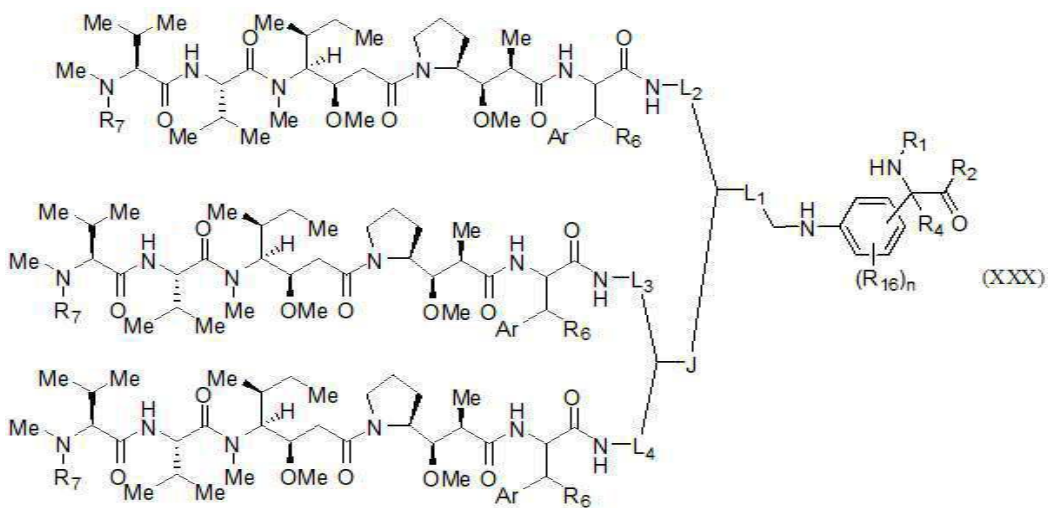
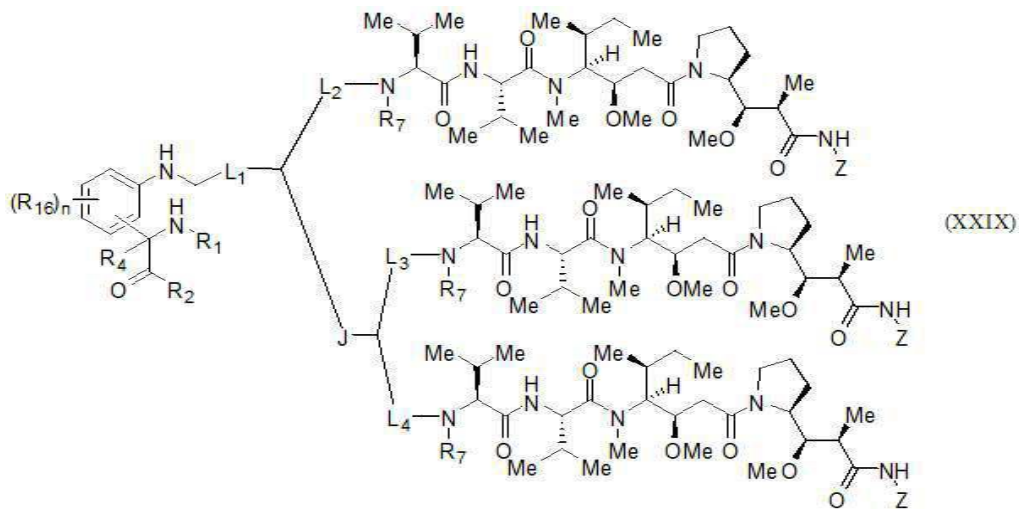
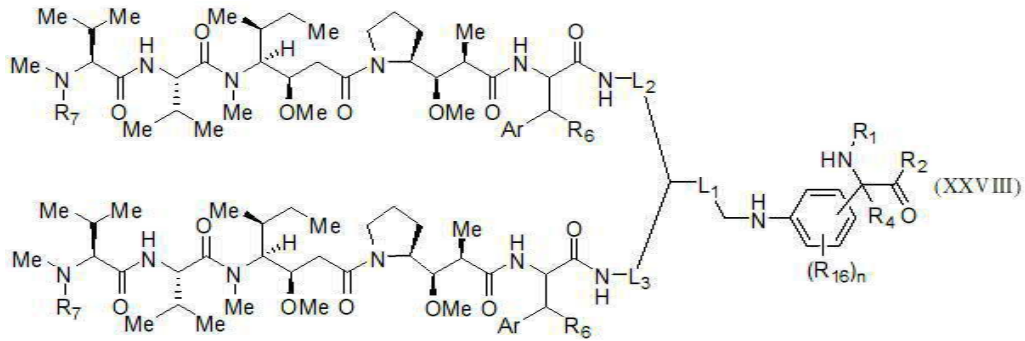
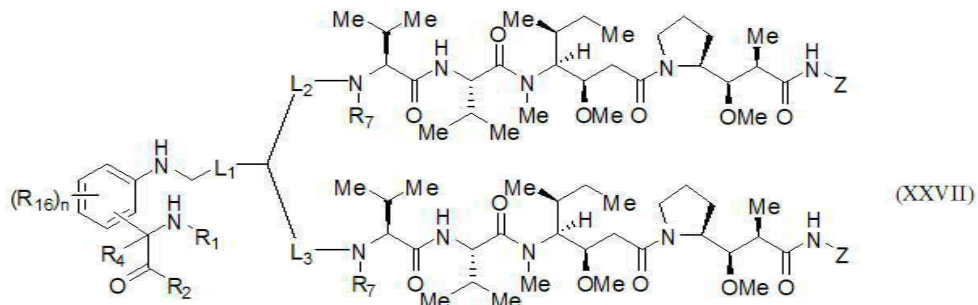
본 발명의 특징의 실시양태는 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)를 포함하는 화합물을 기재한다:



[0143]

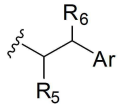


[0144]



상기 식에서,

Z는 하기 구조



[0151] 를 가지며;

[0152] R₅는 H, CO₂H, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

[0153] R₆는 OH 또는 H이며;

[0154] Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

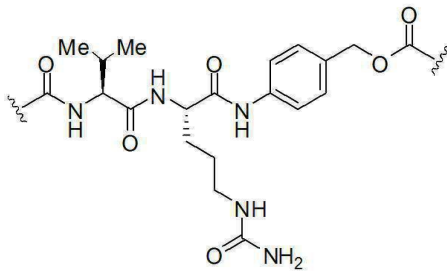
[0155] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0156] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이고;

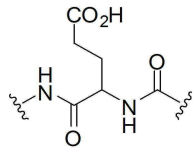
[0157] R₄는 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이며;

[0158] R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

[0159] L, L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -알킬렌-J-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-J-, -(알킬렌-O)_n-J-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_{n'}-NHC(O)-(CH₂)_{n'}-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_{n'}-NHC(O)-(알킬렌-O)_{n'}-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌'-, -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J'-, -W-, -알킬렌-W-, -알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌; -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;

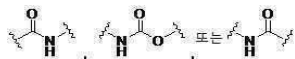


[0160] W는 의 구조를 가지고;



[0161] U는 의 구조를 가지고;

[0162] 각각의 J 및 J'는 서로 독립적으로



[0163] 의 구조를 가지며;

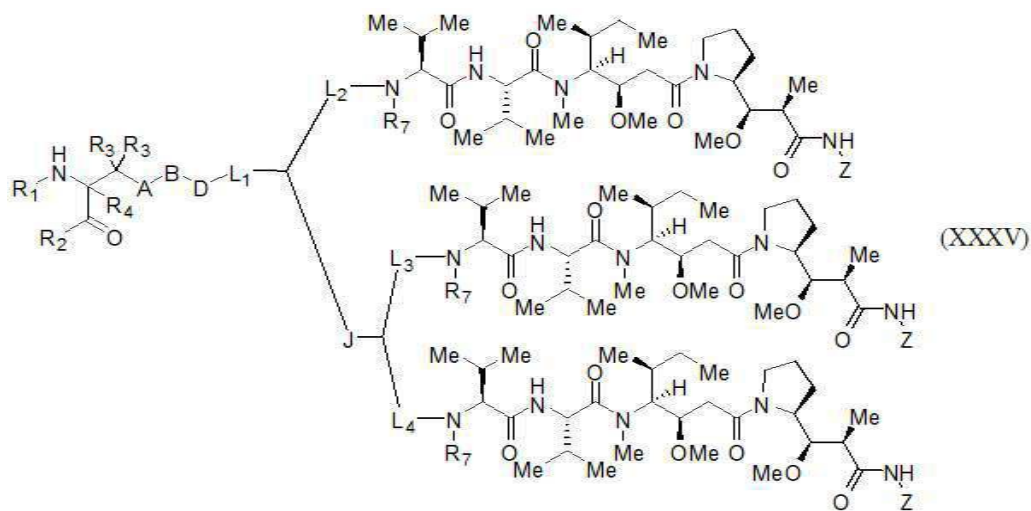
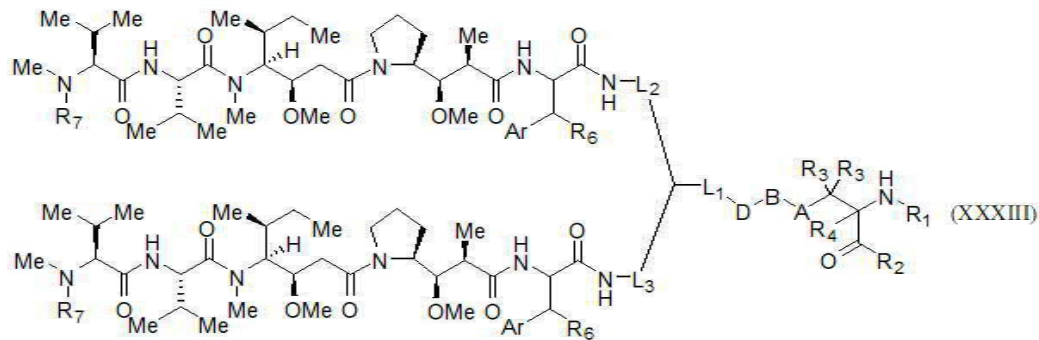
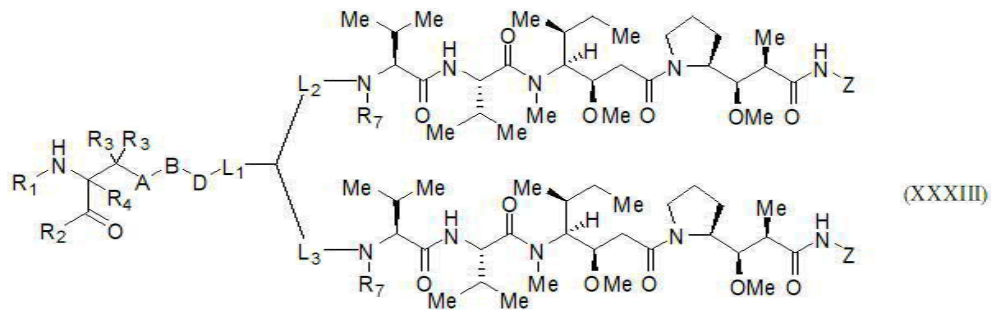
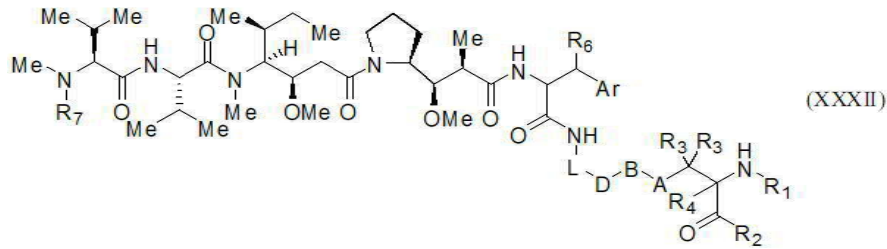
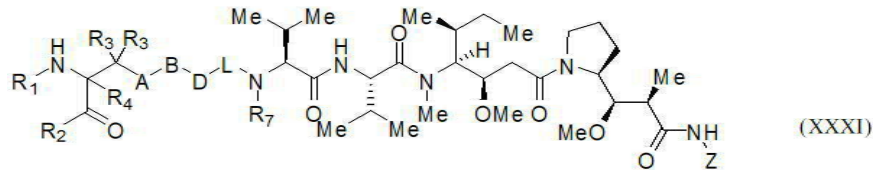
[0164] 각각의 n 및 n'는 서로 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이고;

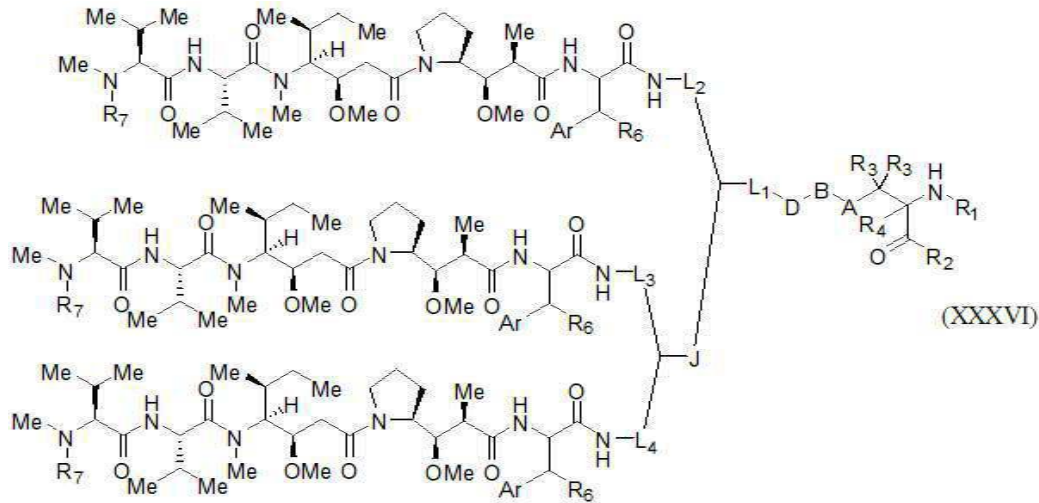
[0165] 각각의 R₁₆은 수소, 할로젠, 알킬, NO₂, CN, 및 치환된 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0166] 일부 실시양태로, R₁이 폴리펩티드이다. 구체적인 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 특정의 구체적인 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다. 다른 실시양태로, R₂가 폴리펩티드이다. 구체적인 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 특정의 구체적인 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다.

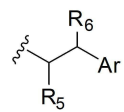
[0167] 본 발명의 일부 실시양태는 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)를 포함하는 화

합물을 기재한다:





상기 식에서,
Z는 하기 구조



를 가지며;

R₅는 H, CO₂H, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

R₆는 OH 또는 H이며;

Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

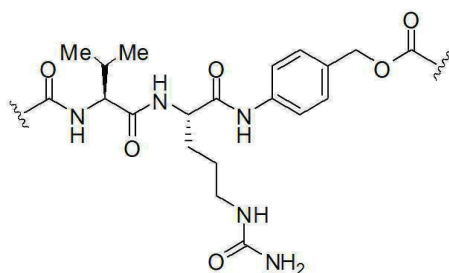
R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이며;

R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이고;

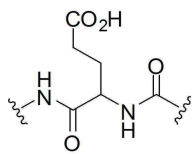
R₄는 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이며;

R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

L, L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -알킬렌-J-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-J-, -(알킬렌-O)_n-J-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_n-NHC(O)-(CH₂)_n-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_n-NHC(O)-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌', -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J', -W-, -알킬렌-W-, -알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe)-알킬렌-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌; -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;

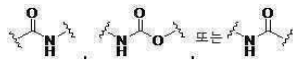


W는 의 구조를 가지고;



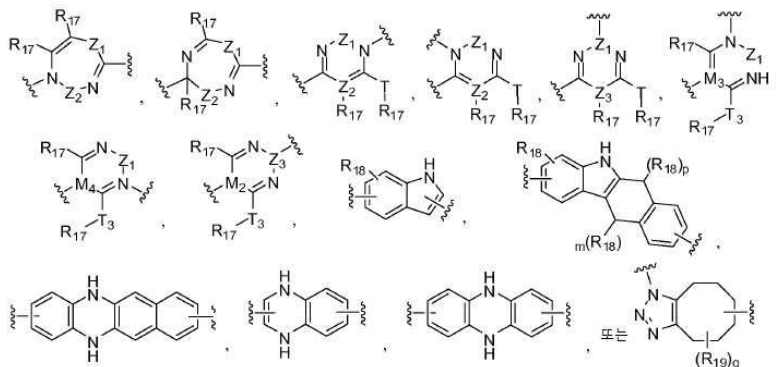
U는 의 구조를 가지고;

각각의 J 및 J'는 서로 독립적으로



의 구조를 가지며;

각각의 n 및 n'는 서로 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이고;



D는 의 구조를 가지며;

각각의 R_{17} 은 H, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 알킬알콕시, 치환된 알킬알콕시, 폴리알킬렌 옥사이드, 치환된 폴리알킬렌 옥사이드, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 치환된 아르알킬, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-ON(R'')₂, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-C(O)SR'', -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-S-S-(아릴 또는 치환된 아릴), -C(O) R'' , -C(O)₂ R'' , 또는 -C(O)N(R'')₂로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 각각의 R'' 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 또는 치환된 아르알킬이며;

각각의 Z_1 은 결합, $CR_{17}R_{17}$, O, S, NR' , $CR_{17}C_{17}$ - $CR_{17}R_{17}$, $CR_{17}C_{17}$ -O, O- $CR_{17}C_{17}$, $CR_{17}C_{17}$ -S, S- $CR_{17}C_{17}$, $CR_{17}C_{17}$ - NR' , 또는 NR' - $CR_{17}C_{17}$ 이고;

각각의 R' 는 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

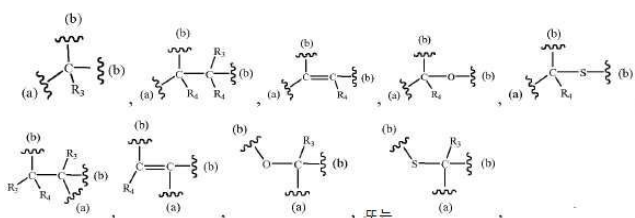
각각의 Z_2 는 결합, -C(O)-, -C(S)-, 임의로 치환된 C₁-C₃ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₃ 알케닐렌, 및 임의로 치환된 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

각각의 Z_3 은 결합, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알케닐렌, 임의로 치환된 헤테로알킬, -O-, -S-, -C(O)-, -C(S)-, 및 -N(R')-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며;

각각의 T_3 은 결합, C(R'')(R''), O, 또는 S이고; 단, T_3 이 O 또는 S일 때, R'' 는 할로젠일 수 없으며;

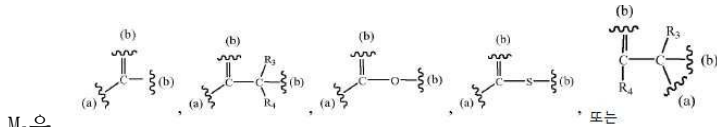
각각의 R'' 는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

m 및 p는 0, 1, 2, 또는 3인데, 단, m 또는 p 중 적어도 하나는 0이 아니며;

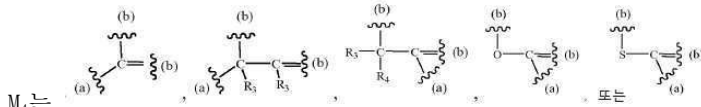


M_2 는 이며, 여기서 (a)는 B기에 대한 결합을 나타내고

(b)는 상기 헤테로사이클기내에서 각 위치에 대한 결합을 나타내며;



[0200] M_3 은 이고, 여기서 (a)는 B기에 대한 결합을 나타내고 (b)는 상기 헤테로사이클기내에서 각 위치에 대한 결합을 나타내고;



[0201] M_4 는 이고, 여기서 (a)는 B기에 대한 결합을 나타내고 (b)는 상기 헤테로사이클기내에서 각 위치에 대한 결합을 나타내고;

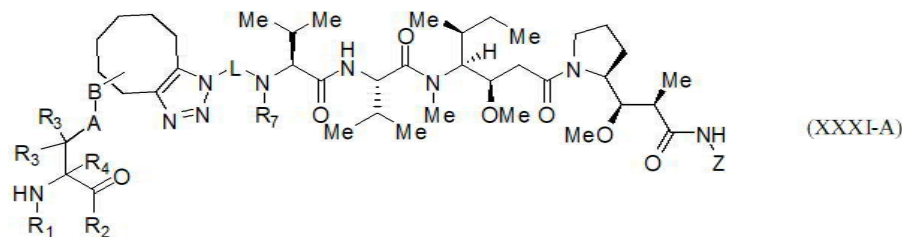
[0202] 각각의 R_{19} 는 C_1 - C_6 알킬, C_1 - C_6 알콕시, 에스테르, 에테르, 티오에테르, 아미노알킬, 할로젠, 알킬 에스테르, 아릴 에스테르, 아마이드, 아릴 아마이드, 알킬 할라이드, 알킬 아민, 알킬 술폰산, 알킬 니트로, 티오에스테르, 술폰닐 에스테르, 할로술폰닐, 니트릴, 알킬 니트릴, 및 니트로로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며;

[0203] q 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11이고;

[0204] 각각의 R_{16} 은 수소, 할로젠, 알킬, NO_2 , CN, 및 치환된 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0205] 일부 실시양태로, R_1 은 폴리펩티드이다. 구체적인 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 특정의 구체적인 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다. 다른 실시양태로, R_2 가 폴리펩티드이다. 구체적인 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 특정의 구체적인 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다.

[0206] 일부 실시양태로, 화학식 (XXXI-A)를 포함하는 화합물이 기재된다:



[0207]

[0208] 특정의 실시양태로, 상기 기재된 화합물 중 어느 하나 및 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 또는 결합제를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.

[0209] 추가의 또는 대안적 실시양태로, 환자에서 폴리펩티드의 존재를 검출하는 방법이 제공되며, 이 방법은 헤테로사이클-함유 비-천연 아미노산을 적어도 1개 포함하는 폴리펩티드를 투여함으로써 생성된 헤테로사이클-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 상동성 천연 아미노산 폴리펩티드에 대해 상기 폴리펩티드의 면역원성을 조절함을 특징으로 한다.

[0210] 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물은 본 명세서에 기재된 특정의 방법론, 프로토콜, 세포주, 작제물, 및 시약으로 제한되지 않으며 그와 같은 것들은 변화될 수 있는 것임을 알아야 한다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어는 특정의 실시양태를 설명하기 위한 목적일 뿐이지, 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물의 범주를 제한하고자 함이 아니며, 이들의 범주는 첨부되는 특허청구의 범위에 의해서만 제한됨을 알아야 한다.

[0211] 본 명세서 및 첨부되는 특허청구의 범위에서 사용되는 바와 같은 단수 형태 "a", "an", 및 "the"는 문맥에 달리 명확하게 표시되지 않는 한, 복수의 언급을 포함하는 것이다.

[0212] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 명세서에 기재된 본 발명이 속하는 기술 분야의 숙련자가 통상적으로 이해하고 있는 의미와 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에 기재된 것들과 유사하거나 대등한 임의의 방법, 장치, 및 재료가 본 명세서에 기재된 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법, 장치 및 재료가 이제 기재된다.

[0213] 본 명세서에서 언급된 모든 공보 및 특허는 예를 들어, 지금 설명되는 발명과 관련하여 사용될 수 있는, 상기

공보에 기재된 작제물 및 방법을 설명 및 개시할 목적으로 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 포함된다. 본 명세서에서 논의되는 공보는 본원의 출원전 이들의 개시내용에 대해서만 제공된다. 본 명세서에 기재된 것 중에서 본 발명자들이 그러한 개시내용을 선행 발명으로 또는 임의의 다른 이유로 선행할 자격이 없다고 시인하는 것으로 간주되는 것은 하나도 없다.

- [0214] 용어 "알돌-기재 연결기(aldol-based linkage)" 또는 "혼합된 알돌-기재 연결기"는 카르보닐 화합물 하나가 동일하거나 동일하지 않을 수 있는, 다른 카르보닐 화합물의 에놀레이트/에놀에 의해 산- 또는 염기-촉매된 축합 반응에 의해 β -히드록시 카르보닐 화합물 - 알돌을 발생시키는 것을 언급한다.
- [0215] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "친화성 표지물(affinity label)"은 가역적으로 또는 비가역적으로 다른 분자에 결합하여 이를 변형시키거나, 이를 파괴시키거나, 또는 이와 화합물을 형성하는 표지물을 언급한다. 일례로서, 친화성 표지물로는 효소 및 이들의 기질, 또는 항체와 이들의 항원이 있다.
- [0216] 용어 "알콕시", "알킬아미노" 및 "알킬티오"(또는 티오알콕시)는 통상적인 의미로 사용되며, 각각, 산소 원자, 아미노기, 또는 황 원자를 통하여 분자에 결합되어 있는 알킬기를 언급한다.
- [0217] 홀로 또는 다른 분자의 일부로서, 용어 "알킬"은 달리 언급되지 않는 한, 완전 포화, 단일- 또는 다중치환될 수 있으며 2가- 및 다가 라디칼을 포함할 수 있고, 표시된 개수의 탄소 원자를 갖는 (즉, C₁-C₁₀은 1개 내지 10개의 탄소를 의미한다), 직쇄 또는 분지된 쇠, 또는 환식 탄화수소 라디칼, 또는 이들의 조합물을 의미한다. 포화 탄화수소 라디칼의 예로는, 비제한적으로, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, t-부틸, 이소부틸, sec-부틸, 사이클로헥실, (사이클로헥실)메틸, 사이클로프로필메틸, 이들의 동족체 및 이성체, 예를 들면, n-펜틸, n-헥실, n-헵틸, n-옥틸 등과 같은 기가 있다. 불포화 알킬기는 이중결합 또는 삼중결합을 1개 이상 갖는 것이다. 불포화 알킬기의 예로는, 비제한적으로, 비닐, 2-프로페닐, 크로틸, 2-이소펜테닐, 2-(부타디에닐), 2,4-펜타디에닐, 3-(1,4-펜타디에닐), 에티닐, 1- 및 3-프로피닐, 3-부티닐, 및 고급 동족체 및 이성체가 있다. 용어 "알킬"은 달리 표시되지 않는 한, "헤테로알킬", "할로알킬" 및 "호모알킬"과 같이, 본 명세서에서 상세하게 정의되는 알킬의 유도체를 포함함을 의미한다.
- [0218] 홀로 또는 다른 분자의 일부로서, 용어 "알킬렌"은 $(-CH_2-)_n$ (여기서, n은 1 내지 약 24일 수 있다)로 예시되는 바와 같이, 알칸으로부터 유래되는 2가 라디칼을 의미한다. 그러한 기의 예로서, 비제한적으로, 구조식 $-CH_2CH_2-$ 및 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 와 같이 10개 이하의 탄소 원자를 갖는 기가 있다. "저급 알킬" 또는 "저급 알킬렌"은 일반적으로 8개 이하의 탄소 원자를 갖는 더 짧은 쇠 알킬 또는 알킬렌기이다. 용어 "알킬렌"은 달리 표시되지 않는 한, "헤테로알킬렌"으로 본 명세서에 기재되는 기들도 포함함을 의미한다.
- [0219] 용어 "아미노산"은 천연 및 비-천연 아미노산, 뿐만 아니라 천연 아미노산과 유사한 방식으로 작용하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 언급한다. 천연 아미노산은 20개의 통상적인 아미노산 (알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린)과 피로리신 및 셀레노시스테인이 있다. 아미노산 유사체는 천연 아미노산과 동일한 기본 화학 구조, 예를 들어, 수소, 카르복실기, 아미노기, 및 R기에 결합되어 있는 α -탄소,를 갖는 화합물을 언급한다. 그러한 유사체는 변형된 R기를 가질 수 있거나 (예를 들어, 노르류신), 변형된 펩티드 주쇄를 가질 수 있는 한편, 천연 아미노산과 동일한 기본적인 화학 구조는 여전히 유지한다. 아미노산 유사체의 비-제한 예로 호모세린, 노르류신, 메티오닌 술폭사이드, 메티오닌 메틸 술포늄이 있다.
- [0220] 아미노산은 본 명세서에서 이들의 명칭, 이들의 통상적으로 알려져 있는 3개의 문자 기호로 또는 IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission에 의해 권장되는 단일-문자 기호로 언급될 수 있다. 추가로, 뉴클레오타이드는 이들의 통상적으로 허용되는 단일-문자 코드로 언급될 수 있다.
- [0221] "아미노 말단 변형기(amino terminus modification group)"는 말단 아민기에 부착될 수 있는 임의의 분자를 언급한다. 예로서, 그러한 말단 아민기는 폴리머성 분자의 말단에 존재할 수 있으며, 이때 그러한 폴리머성 분자로는, 비제한적으로, 폴리펩티드, 폴리뉴클레티드, 및 폴리사카라이드가 있다. 말단 변형기로는 비제한적으로, 다양한 수용성 폴리머, 펩티드 또는 단백질이 있다. 예로서, 말단 변형기로 폴리에틸렌 글리콜 또는 혈청 알부민이 있다. 말단 변형기를 사용하여 비제한적으로, 펩티드의 혈청 반감기를 증가시키는 것을 포함하여, 폴리머 분자의 치료적 특성을 변형시킬 수 있다.
- [0222] "항체 단편"은 전장(full-length) 형태를 제외한 항체의 임의의 형태를 의미한다. 본 명세서에서 항체 단편은

전장 항체내에 존재하는 더 작은 성분인 항체, 및 조작되어 있는 항체를 포함한다. 항체 단편은 비제한적으로 Fv, Fc, Fab, 및 (Fab')₂, 단일쇄 Fv(scFv), 디아바디(diabodies), 트리아바디(triabodies), 테트라바디(tetrabodies), 이작용성 하이브리드 항체, CDR1, CDR2, CDR3, CDR's의 조합물, 가변 영역, 프레임워크 영역, 불변 영역, 중쇄, 경쇄, 및 가변 영역, 및 대안체 스캐폴드 비-항체 분자, 이중특이적 항체 등을 포함한다 (Maynard & Georgiou, 2000, Annu. Rev. Biomed. Eng. 2:339-76; Hudson, 1998, Curr. Opin. Biotechnol. 9:395-402). 다른 작용성기는 면역글로불린 중쇄 및 경쇄의 가변 영역으로 이루어져 있으며, 펩티드 링커에 의해 공유결합으로 연결되어 있는, 단일쇄 Fv (scFv)이다 (S-z Hu et al., 1996, Cancer Research, 56, 3055-3061). 이들 작은 (Mr 25,000) 단백질은 일반적으로 단일 폴리펩티드중 항원에 대해 특이성과 친화성을 보유하며 더 큰, 항원-특이적 분자에 대해 편리한 빌딩 블록(building block)을 제공한다. 상세하게 달리 표시되지 않는 한, 용어 "항체" 또는 "항체들"을 사용하는 서술 및 특허청구의 범위는 구체적으로 "항체 단편" 및 "항체 단편들"을 포함한다.

[0223] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "항체-약물 접합체" 또는 "ADC"는 생물학적 활성 물질(들) 1개 이상에 공유 결합되어 있는, 항체 분자, 또는 이들의 단편을 언급한다. 상기 생물학적으로 활성인 분자는 링커, 폴리머, 또는 기타 공유결합을 통하여 항체에 접합될 수 있다.

[0224] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "방향족" 또는 "아릴"은 공액되어 있는 파이(pi) 전자 시스템을 갖는 환을 적어도 1개 갖는 폐환 구조를 언급하는 것으로 카르보사이클릭 아릴 및 헤테로사이클릭 아릴 (또는 "헤테로아릴" 또는 "헤테로방향족")기를 둘 다 포함한다. 상기 카르보사이클릭 또는 헤테로사이클릭 방향족기는 5 내지 20개의 환 원자를 함유할 수 있다. 상기 용어는 공유결합에 의해 연결된 단환식 환 또는 융합된-환 다환식 (즉, 인접한 탄소 원자의 쌍을 공유하는 환) 기를 포함한다. 방향족기는 비치환되거나 치환될 수 있다. "방향족" 또는 "아릴"기의 비-제한 예로는 페닐, 1-나프틸, 2-나프틸, 4-비페닐, 안트라세닐, 및 페난트라세닐이 있다. 상기 표시된 아릴과 헤테로아릴 환 시스템 각각에 대한 치환체는 본 명세서에 기재된 허용가능한 치환체의 군으로부터 선택된다.

[0225] 간결함을 위하여, 다른 용어와 함께 사용될 때 (비제한적으로, 아릴옥시, 아릴티옥시, 아르알킬) 상기 용어 "방향족" 또는 "아릴"은 상기 정의된 바와 같은 아릴 및 헤테로아릴 환을 둘 다 포함한다. 따라서, 용어 "아르알킬" 또는 "알코아릴"은 탄소 원자가 헤테로 원자, 예를 들어, 산소 원자로 대체되어 있는 알킬기 (비제한적으로, 메틸렌기를 포함하여)를 포함하는, 아릴기가 알킬기에 부착되어 있는 라디칼 (비제한적으로, 벤질, 펜에틸, 피리디메틸 등을 포함함)을 포함함을 의미한다. 그러한 아릴기의 예로는, 비제한적으로, 페녹시메틸, 2-피리디닐옥시메틸, 3-(1-나프틸옥시)프로필 등이 있다.

[0226] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "아릴렌"은 2가 아릴 라디칼을 언급한다. "아릴렌"의 비-제한 예로는 페닐렌, 피리디닐렌, 피리미디닐렌 및 티오펜렌이 있다. 아릴렌기에 대한 치환체는 본 명세서에 기재된 허용가능한 치환체의 군으로부터 선택된다.

[0227] "이작용성 링커(bifunctional linker)"로도 언급되는 "이작용성 폴리머(bifunctional polymer)"는 다른 부위와 특이적으로 반응하여 공유 또는 비-공유 결합 연결기(linkages)를 형성할 수 있는 작용기를 2개 포함하는 폴리머를 언급한다. 그러한 부위는 비제한적으로, 천연 또는 비-천연 아미노산 또는 그러한 천연 또는 비-천연 아미노산을 함유하는 펩티드상의 사이드기(side group)를 포함할 수 있다. 이작용성 링커 또는 이작용성 폴리머에 결합될 수 있는 다른 부위는 동일하거나 상이한 부위일 수 있다. 단지 예로서, 이작용성 링커가 제1 펩티드 상의 기와 반응성인 작용기, 및 제2 펩티드 상의 기와 반응성인 다른 작용기를 가질 수 있어, 제1 펩티드, 이작용성 링커 및 제2 펩티드를 포함하는 접합체를 형성할 수 있다. 다양한 화합물을 펩티드에 부착시키기 위한 수많은 방법 및 링커 분자가 공지되어 있다. 예를 들면, 유럽 특허원 제188,256호; 미국 특허 제4,671,958호, 제4,659,839호, 제4,414,148호, 제4,699,784호; 제4,680,338호; 및 제4,569,789호를 참고하며, 이들은 전문 본 명세서에서 참고로 포함된다. "다작용성 링커"로도 언급되는, "다작용성 폴리머"는 다른 부위와 반응할 수 있는 작용기를 2개 이상 포함하는 폴리머를 언급한다. 그러한 부위는 비제한적으로, 천연 또는 비-천연 아미노산 또는 그러한 천연 또는 비-천연 아미노산을 함유하는 펩티드 상의 사이드기를 포함할 수 있다. (비제한적으로, 아미노산 사이드기를 포함하는) 공유 또는 비-공유 결합을 형성한다. 이(bi)-작용성 폴리머 또는 다-작용성 폴리머는 임의의 목적하는 길이 또는 분자량을 가질 수 있으며, 화합물에 결합된 분자 1개 이상과 화합물이 결합되어 있는 분자 또는 상기 화합물 사이에 목적하는 간격 또는 구조를 제공하도록 선택될 수 있다.

[0228] 본 명세서에서 사용되는 용어 "생체이용가능성"은 물질 또는 이의 활성 부위가 약제학적 투여형으로부터 운반되어 작용 부위 또는 일반 순환(general circulation)에서 이용가능하게되는 비율(rate) 및 정도를 언급한다. 생

체이용가능성에서의 증가란 물질 또는 이의 활성 부위가 약제학적 투여형으로부터 운반되어 작용 부위 또는 일반 순환(general circulation)에서 이용가능하게되는 비율 및 정도를 증가시키는 것을 언급한다. 예로서, 생체 이용가능성에서의 증가가 다른 물질 또는 활성 부위와 비교할 때 혈액중에서 물질 또는 이의 활성 부위의 농도에서의 증가로 표시될 수 있다. 생체이용가능성에서의 증가를 평가하는 방법의 비-제한적 예가 실시예 21 내지 25에 제시되어 있다. 이 방법은 임의의 폴리펩티드의 생체이용가능성을 평가하는데 사용될 수 있다.

[0229] 본 명세서에서 사용될 때 용어 "생물학적 활성 분자", "생물학적 활성 부위" 또는 "생물학적 활성제"는 비제한적으로, 바이러스, 세균, 박테리오파지, 전이인자(transposon), 프라이온(prion), 곤충, 진균, 식물, 동물, 및 인간을 포함한, 유기체와 관련한 생물학적 시스템, 경로, 분자, 또는 상호작용의 생리적 또는 생화학적 특성에 영향을 줄 수 있는 임의의 물질을 의미한다. 특히, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 생물학적 활성 분자는 비제한적으로 인간 또는 다른 동물에서의 질병의 진단, 치유(cure), 완화(mitigation), 치료 또는 방지를 위한, 또는 달리 인간 또는 다른 동물의 신체적 또는 정신적 웰빙(well-being)을 향상시키기 위한 임의의 물질을 포함한다. 생물학적 활성 분자의 예로는 비제한적으로, 펩티드, 단백질, 효소, 소분자 약물, 경질 약물, 연질 약물, 프로드럭(prodrug), 탄수화물, 무기 원자 또는 분자, 염료, 지질, 뉴클레오시드, 방사성핵종(radionuclide), 올리고뉴클레오타이드, 독소, 세포, 바이러스, 리포좀, 미세입자 및 미셀(micelles)이 있다. 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물에 대해 사용하기에 적합한 생물학적 활성제의 부류에는, 비제한적으로, 약물, 프로드럭, 방사성핵종, 이미징화제(imaging agent), 폴리머, 항생제, 살진균제, 항-바이러스제, 소염제, 중앙치료제, 심혈관계, 항불안제, 호르몬, 성장인자, 스테로이드제제, 미생물 유래 독소 등이 있다.

[0230] "생물학적 활성을 조절하는"이란, 폴리펩티드의 반응성을 증가 또는 감소, 폴리펩티드의 선택성을 변화, 폴리펩티드의 기질 선택성을 향상 또는 감소시키는 것을 의미한다. 변형된 생물학적 활성의 분석은 천연 폴리펩티드의 생물학적 활성과 비-천연 폴리펩티드의 것을 비교함으로써 수행할 수 있다.

[0231] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "생물소재(biomaterial)"는 비제한적으로 생물반응기로부터 및/또는 재조합 방법 및 기술로부터 수득되는 물질을 포함한, 생물학적-유래 물질을 언급한다.

[0232] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "생물물리학적 프로브(biophysical probe)"는 분자중 구조적 변화를 검출하거나 모니터링할 수 있는 프로브를 언급한다. 그러한 분자는 비제한적으로, 단백질을 포함하며 "생물물리학적 프로브"를 사용하여 다른 거대분자와 단백질의 상호반응을 검출하거나 모니터링할 수 있다. 생물물리학적 프로브의 예로는, 비제한적으로, 스핀-표지물(spin-labels), 형광단, 및 광활성화기(photoactivatable groups)가 있다.

[0233] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "생물합성적으로(biosynthetically)"는 하기 성분 중 적어도 1개의 용도를 포함하는, 번역 시스템(세포 또는 비-세포)을 이용하는 임의의 방법을 언급한다: 폴리뉴클레오타이드, 코돈, tRNA, 및 리보솜. 예로서, 비-천연 아미노산은 본 명세서, "비-천연 아미노산을 포함하는 폴리펩티드의 생체내 생성", 및 비-제한 실시예 20에 기재된 방법 및 기술을 사용하여 비-천연 아미노산 폴리펩티드중으로 "생물합성적으로 혼입"시킬 수 있다. 추가로, 비-천연 아미노산 폴리펩티드중으로 "생물합성적으로 혼입"시킬 수 있는 유용한 비-천연 아미노산을 선택하는 방법이 비-제한 실시예 20에 기재되어 있다.

[0234] "바이오틴 모방체"로도 언급되는, 본 명세서에서 사용되는 용어 "바이오틴 유사체"는 아비딘 및/또는 스트렙타비딘에 높은 친화도를 갖고 결합하는, 바이오틴을 제외한, 임의의 분자이다.

[0235] 본 명세서에서 사용되는 용어 "카르보닐"은 $-C(O)-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, 및 $-C(S)-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 부위를 함유하는 기를 언급하는 것으로, 비제한적으로, 적어도 1개의 케톤기, 및/또는 적어도 1개의 알데히드기, 및/또는 적어도 1개의 에스테르기, 및/또는 적어도 1개의 카르복실산기, 및/또는 적어도 1개의 티오에스테르기를 함유하는 기를 포함한다. 그러한 카르보닐기는 케톤, 알데히드, 카르복실산, 에스테르, 및 티오에스테르를 포함한다. 또한, 그러한 기는 직쇄, 분지된, 또는 환식 분자의 일부일 수 있다.

[0236] 용어 "카르복시 말단 변형기"는 말단 카르복시기에 부착될 수 있는 임의의 분자를 언급한다. 예로서, 그러한 말단 카르복시기는 폴리머 분자의 말단에 존재할 수 있으며, 여기서 그러한 폴리머 분자는 비제한적으로, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오타이드, 및 폴리사카라이드를 포함한다. 말단 변형기는 비제한적으로, 다양한 수용성 폴리머, 펩티드 또는 단백질을 포함한다. 예로서, 말단 변형기가 폴리에틸렌 글리콜 또는 혈청 알부민을 포함한다. 비제한적으로, 펩티드의 혈청 반감기를 증가시키는 것을 포함하여, 말단 변형기를 사용하여 폴리머 분자의 치료 특성을 변형시킬 수 있다.

[0237] "화학적으로 불안정한"으로도 언급되는, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "화학적으로 분해가능한 기"는

산, 염기, 산화제, 환원제, 화학적 개시제, 또는 라디칼 개시제에 노출시 파괴되거나 분해되는 기를 언급한다.

[0238] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "화학발광기"는 열을 부가하지 않고도 화학 반응 결과 광을 방출하는 기를 언급한다. 예로서, 루미놀 (5-아미노-2,3-디히드로-1,4-나프탈라진디온)은 과산화수소(H_2O_2)와 같은 산화제와 염기 및 금속 촉매의 존재하에서 반응하여 여기된 상태의 생성물 (3-아미노프탈레이트, 3-APA)를 생산한다.

[0239] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "발색단(chromophore)"은 가시 파장, UV 파장 또는 IR 파장의 광선을 흡수하는 분자를 언급한다.

[0240] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "보조인자(cofactors)"는 큰 분자의 작용에 있어서 필수적인 원자 또는 분자를 언급한다. 보조인자는, 비제한적으로, 무기 이온, 코엔자임, 단백질, 또는 효소의 활성화에 필수적인 일부 기타 인자를 포함한다. 예를 들면, 헤모글로빈중의 헴 (heme), 클로로필중의 마그네슘, 및 단백질의 경우 금속 이온이 있다.

[0241] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "동시폴딩(cofolding)"은 서로 상호반응하여 폴딩되지 않거나 부적절하게 폴딩된 분자를 적절하게 폴딩된 분자로 전환(transformation)시키는 분자를 적어도 2개 사용하는 재폴딩 과정, 반응, 또는 방법을 언급한다. 예로서, "동시폴딩"은 서로 상호반응하여 폴딩되지 않거나 부적절하게 폴딩된 폴리펩티드를 적절하게 폴딩된 폴리펩티드로 전환시키는 분자를 적어도 2개 사용한다. 그러한 폴리펩티드는 천연 아미노산 및/또는 적어도 1개의 비-천연 아미노산을 함유할 수 있다.

[0242] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "비교창(comparison window)"은 2개의 서열이 최적으로 정렬된 후 근접 위치의 동일한 번호의 참고 서열과 서열을 비교하는데 사용되는 근접 위치의 임의의 하나의 절편을 언급한다. 그러한 근접 위치는 비제한적으로, 약 5- 내지 약 200개의 서열 단위, 및 약 100 내지 150개의 서열 단위를 포함하여, 약 20 내지 약 600개의 서열 단위로 이루어져 있는 군을 포함한다. 예로서, 그러한 서열은 폴리펩티드 및 비-천연 아미노산을 함유하는 폴리펩티드를 포함하며, 상기 서열 단위는 비제한적으로 천연 및 비-천연 아미노산을 포함한다. 또한, 예로서, 그러한 서열은 폴리뉴클레오티드를 포함하며 뉴클레오티드는 대응하는 서열 단위이다. 비교용 서열의 정렬 방법은 당해 분야에 숙지되어 있다. 비교용 서열의 최적의 정렬은 비제한적으로, Smith and Waterman(1970: Adv. Appl. Math. 2:482c)의 국소적 상동성 알고리즘에 의해, Needleman and Wunsch(1970: J. Mol. Biol. 48:443)의 상동성 정렬 알고리즘에 의해, Pearson and Lipman의 유사성 검색 방법(1988: Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444)에 의해, 이들 알고리즘의 컴퓨터화된 실행(GAP, BESTFIF, FASTA, 및 TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI)에 의해, 또는 수동식 정렬 및 가시적 검사 (예를 들면, Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (1995 보충판)를 참조)에 의해 수행될 수 있다.

[0243] 예로서, 서열 동일성과 서열 유사성을 측정하는데 사용할 수 있는 알고리즘은 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘으로, 이는 각각 문헌: Altschul et al. (1997) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, 및 Altschul et al (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410에 기재되어 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 National Center for Biotechnology Information을 통하여 공개적으로 입수할 수 있다. BLAST 알고리즘 변수 W, T, 및 X는 정렬의 민감도와 정렬 속도를 결정한다. BLASTN 프로그램 (뉴클레오티드 서열용)은 디폴트(default)값으로서 11의 단어길이(W), 10의 기대치(E), M=5, N=-4, 및 두 스트랜드의 비교를 사용한다. 아미노산 서열의 경우, BLASTP 프로그램이 디폴트값으로서 3의 단어길이, 10의 기대치(E), 및 50의 BLOSUM62 스코어링 매트릭스 (참조: Henikoff and Henikoff (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915) 정렬(B), 10의 기대치(E), M=5, N=-4, 및 두 스트랜드의 비교를 사용한다. BLAST 알고리즘은 전형적으로 "복잡성이 낮은" 필터 봉쇄된 상태(turned off)로 수행한다.

[0244] BLAST 알고리즘은 또한 2개의 서열 간의 유사성의 통계적 분석을 수행한다 (예를 들어, Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787 참조). BLAST 알고리즘에 의해 제공된 유사성 측정치 하나는 최소합 확률(P(N))이며, 이는 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열간의 매치(match)가 우연히 일어날 확률의 지표를 제공한다. 예를 들어, 시험 핵산을 참고용 핵산과 비교시 최소합 확률이 약 0.2 미만, 또는 약 0.01 미만, 또는 약 0.001 미만일 때 핵산이 참고 서열과 유사한 것으로 간주된다.

[0245] 용어 "보존적으로 변형된 변이체"는 천연 및 비-천연 아미노산과 천연 및 비-천연 핵산 서열 둘 다, 및 이들의 조합에 적용된다. 특정의 핵산 서열에 있어서, "보존적으로 변형된 변이체"는 동일하거나 필수적으로 동일한 천연 및 비-천연 아미노산 서열을 암호화하는 천연 및 비-천연 핵산을 언급하거나, 상기 천연 및 비-천연 핵산이 천연 및 비-천연 아미노산 서열을 필수적으로 동일한 서열로 암호화하지 않는 것들을 언급한다. 예로서, 유

전자 코드의 축퇴성(degeneracy) 때문에, 다수의 기능적으로 동일한 핵산이 임의의 제공된 단백질을 암호화한다. 예를 들어, 코돈 GCA, GCC, GCG 및 GCU는 모두 아미노산 알라닌을 암호화한다. 따라서, 알라닌이 코돈에 의해 명시되는 모든 위치에서, 상기 코돈은 암호화된 폴리펩티드를 변형시키지 않고 기재된 임의의 상응하는 코돈으로 변형될 수 있다. 그러한 핵산 변이가 "사일런트 변이(silent variations)"로, 이는 보존적으로 변형된 변이의 일종이다. 따라서, 예로서 본 명세서에서 천연 또는 비-천연 폴리펩티드를 암호화하는 모든 천연 또는 비-천연 핵산 서열은 천연 또는 비-천연 핵산의 모든 가능한 사일런트 변이를 기술한다. 당해 분야의 숙련가는 천연 또는 비-천연 핵산중의 각 코돈 (통상적으로 메티오닌에 대한 유일한 코돈인 AUG, 및 트립토판에 대한 유일한 코돈인 TGG는 제외)을 변형시켜 기능적으로 동일한 분자를 생산할 수 있다는 것을 인지할 것이다. 따라서, 천연 및 비-천연 폴리펩티드를 암호화하는 천연 및 비-천연 핵산의 각각의 사일런트 변이는 각각의 기재된 서열에 내포되어 있다.

- [0246] 아미노산 서열로서, 단일 천연 및 비-천연 아미노산 또는 암호화된 서열중 작은 퍼센트의 천연 및 비-천연 아미노산이 변화, 첨가 또는 결실되어 있는 핵산, 펩티드, 폴리펩티드, 또는 단백질 서열에 대한 각각의 치환, 결실 또는 첨가가 "보존적으로 변형된 변이체"이며, 여기서 변화는 아미노산의 결실, 아미노산의 첨가, 또는 천연 및 비-천연 아미노산이 화학적으로 유사한 아미노산으로 치환됨으로써 발생된다. 기능적으로 유사한 천연 아미노산을 제공하는 보존적 치환표는 당해 분야에 숙지되어 있다. 그러한 보존적으로 변형된 변이체는 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물의 다형태성 변이체, 이종간 상동체, 및 대립유전자 이외의 것들이며 이들을 배제시키는 것은 아니다.
- [0247] 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표(Tables)가 당해 분야의 숙련가에게 알려져 있다. 하기 8개 군은 각각 다른 하나에 대해 보존적 치환인 아미노산을 함유한다:
- [0248] 1) 알라닌(A), 글리신(G);
- [0249] 2) 아스파르트산(D), 글루탐산(E);
- [0250] 3) 아스파라긴(N), 글루타민(Q);
- [0251] 4) 아르기닌(R), 리신(K);
- [0252] 5) 이소류신(I), 류신(L), 메티오닌(M), 발린(V);
- [0253] 6) 페닐알라닌(F), 티로신(Y), 트립토판(W);
- [0254] 7) 세린(S), 트레오닌(T); 및
- [0255] 8) 시스테인(C), 메티오닌(M)
- [0256] (예를 들어, Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties (W H Freeman & Co.; 2nd edition (December 1993)을 참고한다).
- [0257] 홀로 또는 다른 용어와 함께, 용어 "사이클로알킬" 및 "헤테로사이클로알킬"은 달리 언급되지 않는 한, 각각 "알킬" 및 "헤테로알킬"의 환식 버전을 나타낸다. 따라서, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬은 포화, 부분적으로 불포화 및 완전 불포화된 환 연결기(linkages)를 포함한다. 추가로, 헤테로사이클로알킬의 경우, 헤테로원자는 헤테로사이클이 분자의 나머지 부분에 부착되는 위치를 차지한다. 헤테로원자는 비제한적으로, 산소, 질소 또는 황을 포함할 수 있다. 사이클로알킬의 예로는 비제한적으로, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 1-사이클로헥세닐, 3-사이클로헥세닐, 사이클로헵틸 등이 있다. 헤테로사이클로알킬의 예로는 비제한적으로, 1-(1,2,5,6-테트라히드로피리딜), 1-피페리디닐, 2-피페리디닐, 3-피페리디닐, 4-모르폴리닐, 3-모르폴리닐, 테트라히드로푸란-2-일, 테트라히드로푸란-3-일, 테트라히드로티엔-2-일, 테트라히드로티엔-3-일, 1-피페라지닐, 2-피페라지닐 등이 있다. 추가로, 상기 용어는 다환식 구조를 포괄하며, 비제한적으로 이환식 및 삼환식 고리 구조를 포함한다. 유사하게, 홀로 또는 다른 분자의 일부로서 상기 용어 "헤테로사이클로알킬렌"은 헤테로사이클로알킬로부터 유래되는 2가 라디칼을 의미하며, 용어 홀로 또는 다른 분자의 일부로서 "사이클로알킬렌"은 사이클로알킬로부터 유래되는 2가 라디칼을 의미한다.
- [0258] 본 명세서에서 사용되는 용어 "사이클로텍스트린"은 환 형성에 있어서 적어도 6개 내지 8개의 글루코오스 분자로 이루어진 환식 탄수화물을 언급한다. 상기 환의 외부 부분은 수용성 기를 함유하며; 환의 중앙은 상대적으로 비극성 공동(cavity)이어서 작은 분자를 수용할 수 있다.
- [0259] 본 명세서에서 사용되는 용어 "세포독성"은 세포에 유해한 화합물을 언급한다.

- [0260] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "변성화제" 또는 "변성제"는 폴리머의 가역적 언폴딩(unfolding)을 일으키는 임의의 화합물 또는 물질을 언급한다. 예로서, "변성화제" 또는 "변성제"는 단백질의 가역적 언폴딩을 일으킬 수 있다. 변성화제 또는 변성제의 강도는 특정 변성화제 또는 변성제의 특성과 농도 둘 다에 의해 결정된다. 예로서, 변성화제 또는 변성제로는, 비제한적으로, 카오트로프(chaotropes), 세제, 유기, 수산화성 용매, 인지질, 또는 이들의 조합물이 있다. 카오트로프의 비-제한적 예로는, 비제한적으로, 우레아, 구아니딘, 및 나트륨 티오시아네이트가 있다. 세제의 비-제한적 예로는, 비제한적으로, 나트륨 도데실 술페이트와 같은 강력 세제, 또는 폴리옥시에틸렌 에테르 (예, Tween 또는 Triton 세제), 사르코실(Sarkosyl), 부드러운 비-이온성 세제 (예, 디지토닌(digitonin)), 부드러운 양이온성 세제, 예로서 N-2,3-(디올레이옥시)-프로필-N,N,N-트리메틸암모늄, 부드러운 이온성 세제 (예, 나트륨 콜레이트 또는 나트륨 데옥시콜레이트) 또는 비제한적으로, 술포베타인(Zwittergent), 3-(3-클로로아미도프로필)디메틸암모니오-1-프로판 술페이트 (CHAPS), 및 3-(3-클로로아미도프로필)디메틸암모니오-2-히드록시-1-프로판 술포네이트(CHAPSO)를 포함한, 썬비터이온성 세제가 있다. 유기, 수산화성 용매의 비-제한 예로는, 비제한적으로, 아세토니트릴, 저급 알칸올 (특히 C₂-C₄ 알칸올, 예로서 에탄올 또는 이소프로판올), 또는 저급 알칸디올 (C₂-C₄ 알칸디올, 예로서 에틸렌-글리콜)이 있으며 변성제로 사용될 수 있다. 인지질의 비-제한 예로, 비제한적으로, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜콜린, 포스파티딜세린, 및 포스파티딜노시돌과 같은 천연 인지질 또는 디헥사노일포스파티딜콜린 또는 디헵타노일포스파티딜콜린과 같은 합성 인지질 유도체 또는 변이체가 있다.
- [0261] 본 명세서에서 사용되는 용어 "목적하는 작용성"은 표지물; 염료; 폴리머; 수용성 폴리머; 폴리에틸렌 글리콜의 유도체; 광가교결합제; 세포독성 화합물; 약물; 친화성 표지물; 광친화성 표지물; 반응성 화합물; 수지; 제2의 단백질 또는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 유사체; 항체 또는 항체 단편; 금속 킬레이트; 보조인자(cofactor); 지방산; 탄수화물; 폴리뉴클레오티드; DNA; RNA; 안티센스 폴리뉴클레오티드; 사카라이드; 수용성 덴드리머(dendrimer); 사이클로렉스트린, 생물소재; 나노입자; 스핀 표지물; 형광단; 금속-함유 부위; 방사성 부위; 신규한 작용기; 다른 분자와 공유결합적으로 또는 비공유결합적으로 상호반응하는 기; 포토케이징된(photocaged) 부위; 화학방사선 여기성 부위(actinic radiation excitable moiety); 리간드; 광이성화 부위; 바이오틴; 바이오틴 유사체; 무거운 원자를 내포하는 부위; 화학분해성 기; 광분해성 기; 신장된 측쇄; 탄소-결합된 슈가; 산화환원반응-활성제; 아미노 티오산; 독성 부위; 동위원소 표지된 부위; 생물물리학적 프로브; 인광성 기(phosphorescent group); 화학발광성 기; 전자밀도가 높은 기(electron dense group); 자성 기(magnetic group); 개재 기(intercalating group); 발색단; 에너지 전달제; 생물학적 활성제 (이 경우, 생물학적 활성제는 치료 활성을 갖는 시약을 포함할 수 있으며 상기 비-천연 아미노산 폴리펩티드 또는 변형된 비-천연 아미노산은 부착된 치료제와 함께 보조-치료제로서 또는 치료제를 유기체내의 목적하는 부위로 운반하는 수단으로서 작용할 수 있다); 검출가능한 표지물; 소분자; 억제성 리보핵산; 방사성핵종; 중성자-포획제; 바이오틴 유도체; 양자점(quantum dot(s)); 나노전송기(nanotransmitter); 방사성전송기; 항체효소(abzyme); 활성화된 복합 활성화제, 바이러스, 에주번트, 아글리칸(aglycan), 알레르겐(allergen), 안지오스타틴(angiostatin), 항호르몬(antihormone), 항산화제, 아파타머(aptamer), 가이드 RNA, 사포닌, 셔틀 벡터, 거대분자(macromolecule), 미모토프(mimotope), 수용체, 역 미셀(reverse micelle), 및 이들의 조합물로부터 선택되는 임의의 기를 언급한다.
- [0262] 본 명세서에서 사용되는 용어 "디아민"은 비제한적으로, 히드라진기, 아미딘기, 이민기, 1,1-디아민기, 1,2-디아민기, 1,3-디아민기, 및 1,4-디아민기를 포함하여, 아민 작용기 적어도 2개를 포함하는 기/분자를 언급한다. 또한, 그러한 기는 직쇄, 측쇄, 또는 환식 분자의 일부일 수 있다.
- [0263] 본 명세서에서 사용되는 용어 "검출가능한 표지물"은 비제한적으로, 형광, 화학발광, 전자-스핀 공명, 자외선/가시광선 흡수 분광학, 질량 분광분석법, 핵자기공명, 자기 공명, 및 전기화학 방법을 포함한, 분석 기술을 사용하여 관측할 수 있는 표지물을 언급한다.
- [0264] 본 명세서에서 사용되는 용어 "디카르보닐"은 비제한적으로, 1,2-디카르보닐기, 1,3-디카르보닐기, 및 1,4-디카르보닐기를 포함하여, -C(O)-, -S(O)-, -S(O)₂-, 및 -C(S)-로 이루어진 군으로부터 선택되는 부위를 적어도 2개 함유하는 기, 및 적어도 1개의 알데히드기, 및/또는 적어도 1개의 에스테르기, 및/또는 적어도 1개의 카르복실산, 및/또는 적어도 1개의 티오에스테르기를 함유하는 기를 언급한다. 그러한 디카르보닐기는 디케톤, 케토알데히드, 케토산, 케토에스테르, 및 케토티오에스테르를 포함한다. 또한, 그러한 기는 직쇄, 측쇄, 또는 환식 분자의 일부일 수 있다. 디카르보닐기 중 2개의 부위는 동일하거나 상이할 수 있으며, 단지 예로서, 에스테르, 케톤, 알데히드, 티오에스테르, 또는 아마이드를 상기 2개의 부위 중 어느 하나에서 생산하는 치환체를 포함할 수 있다.

- [0265] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "약물"은 질병 또는 상태의 방지, 진단, 경감, 치료, 또는 치유에 사용되는 임의의 물질을 언급한다.
- [0266] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "염료"는 발색단을 함유하는, 가용성, 착색 물질을 언급한다.
- [0267] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "유효량"은 치료할 질병 또는 상태의 증상 하나 이상을 어느 정도로 완화시키는 투여될 약제 또는 화합물의 충분한 양을 언급한다. 상기 결과는 생물학적 시스템의 질병의 징후, 증상 또는 원인의 감소 및/또는 완화, 또는 임의의 다른 목적하는 변화일 수 있다. 예로서, 투여할 약제 또는 화합물로는 비제한적으로, 천연 아미노산 폴리펩티드, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 천연 아미노산 폴리펩티드, 또는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 있다. 그러한 천연 아미노산 폴리펩티드, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 천연 아미노산 폴리펩티드, 또는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 함유하는 조성물은 예방, 향상, 및/또는 치료적 처치용으로 투여될 수 있다. 임의의 개별 경우에 있어서 적절한 "유효한" 양은 투여량 단계적 상승(escalation) 연구와 같은 기술을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0268] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "전자밀도가 높은 기(electron dense group)"는 전자 빔으로 조사시 전자를 산란시키는 기를 언급한다. 그러한 기로는, 비제한적으로, 암모늄 몰리브데이트, 비스무트 서브니트레이트 카드뮴 요오다이드, 99%, 카르보히드라이드, 염화철 옥수화물, 헥사메틸렌 테트라민, 98.5%, 무수 삼염화인듐, 질화란탄, 납 아세테이트 삼수화물, 납 시트레이트 삼수화물, 납 니트레이트, 과요오드산, 포스포몰리브드산, 포스포팅스트산, 페리시안화칼륨, 페로시안화칼륨, 루테튬 레드, 질산은, 은 프로테이네이트 (Ag Assay: 8.0-8.5%) "Strong", 은 테트라페닐포르핀(S-TPPS), 나트륨 클로로아우레이트, 나트륨 텅스테이트, 질산탈륨, 티오세미카르바미드(TSC), 우라닐 아세테이트, 우라닐 니트레이트, 및 바나딜 술페이트가 있다.
- [0269] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "에너지 전달제"는 다른 분자로부터 에너지를 주거나 받을 수 있는 분자를 언급한다. 단지 예로서, 형광 공명 에너지 전달(FRET)은 쌍극자(dipole)-쌍극자 커플링 공정으로, 이 공정에 의해 형광 공여체 분자의 여기된-상태의 에너지(excited-state energy)는 여기되지 않은 허용체 분자로 비방사적으로 전달된 다음, 더 긴 파장에서 증여된(donated) 에너지가 형광으로 방출된다.
- [0270] 용어 "향상시키다" 또는 "향상시키는"은 목적하는 효과의 강도(potency) 또는 지속기간을 증가시키거나 연장시키는 것을 의미한다. 예로서, 치료제의 효과를 "향상시키는 것"은 질병, 질환 또는 상태의 치료 기간 동안 치료제의 효과를 강도 또는 지속기간에 있어서 증가 또는 연장시키는 능력을 언급한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "향상시키는데 유효한 양"은 질병, 질환 또는 상태의 치료에 있어서 치료제의 효과를 향상시키는데 적절한 양을 언급한다. 환자에서 사용시, 이런 용도에 효과적인 양은 질병, 질환 또는 상태의 심화도 및 과정, 선행 치료법, 환자의 건강 상태 및 약물에 대한 반응, 및 치료하는 의사의 판단에 따른다.
- [0271] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "진핵세포"는 비제한적으로 동물(비제한적으로 포유류, 곤충류, 파충류, 조류 등을 포함), 섬모충(ciliates), 식물 (비제한적으로, 단자엽, 쌍자엽, 및 조류(algae) 포함), 진균류, 효모, 편모충(flagellates), 작은포자충(microsporidia), 및 원생생물(protists)을 포함하는, 계통발생적 도메인 진핵생물계에 속하는 유기체를 언급한다.
- [0272] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "지방산"은 약 C6 이상의 길이를 갖는 탄화수소 측쇄를 갖는 카르복실산을 언급한다.
- [0273] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "형광단"은 여기(excitation)시 광자를 방출하여 형광성인 분자를 언급한다.
- [0274] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "작용기", "활성 부위", "활성화기", "이탈기", "반응성 부위", "화학적으로 반응성인 기" 및 "화학적으로 반응성인 부위"는 화학 반응이 일어나는 분자의 부분 또는 단위를 언급한다. 상기 용어는 화학분야에서 어느정도 동의어이며 본 명세서에서 일부 기능 또는 활성을 수행하고 다른 분자와 반응성인 분자의 부분을 나타내기 위하여 사용된다.
- [0275] 상기 용어 "할로젠"은 불소, 염소, 요오드, 및 브롬을 포함한다.
- [0276] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 상기 용어 "할로아실"은 비제한적으로, $-C(O)CH_3$, $-C(O)CF_3$, $-C(O)CH_2OCH_3$ 등을 포함하여, 할로젠 부위를 함유하는 아실기를 언급한다.
- [0277] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "할로알킬"은 비제한적으로, $-CF_3$ 및 $-CH_2CF_3$ 등을 포함하여, 할로젠 부위를 함유하는 알킬기를 언급한다.

- [0278] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "헤테로알킬"은 알킬기와, O, N, Si 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되는 헤테로원자 적어도 1개로 이루어져 있는, 직쇄 또는 측쇄, 또는 환식 탄화수소 라디칼을 언급하며, 이때 질소 및 황 원자는 임의로 산화될 수 있으며 질소 헤테로원자는 임의로 4급화될 수 있다. 헤테로원자(들) O, N 및 S 및 Si는 헤테로알킬기의 내부 위치에 또는 분자의 나머지 부분에 알킬기가 부착되는 위치에 위치할 수 있다. 예로는, 비제한적으로, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$, 및 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 가 있다. 또한, 예로서, $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 및 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 와 같이, 헤테로원자 2개 까지 연이어 존재할 수 있다.
- [0279] 용어 "헤테로환식-기재 연결기" 또는 "헤테로사이클 연결기"는 디카르보닐기와 디아민기의 반응으로부터 형성되는 부위를 언급한다. 상기 생성된 반응 생성물은 헤테로사이클이며, 헤테로아릴기 또는 헤테로사이클로알킬기를 포함한다. 생성된 헤테로사이클기는 비-천연 아미노산 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드와 다른 작용기간의 화학적 결합으로서 작용한다. 하나의 실시양태로, 상기 헤테로사이클 연결기가 단지 예로서, 피라졸 연결기, 피롤 연결기, 인돌 연결기, 벤조디아제핀 연결기, 및 피라잘론 연결기를 포함한, 질소-함유 헤테로사이클 연결기를 포함한다.
- [0280] 유사하게, 용어 "헤테로알킬렌"은 비제한적으로, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 및 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 로 예시되는 바와 같이, 헤테로알킬로부터 유래되는 2가 라디칼을 언급한다. 헤테로알킬렌기의 경우, 동일하거나 상이한 헤테로원자가 또한 쇠 말단 중 하나 또는 둘 다를 차지할 수 있다 (비제한적으로, 알킬렌옥시, 알킬렌디옥시, 알킬렌아미노, 알킬렌디아미노, 아미노옥시알킬렌 등을 포함). 또한, 알킬렌 및 헤테로알킬렌 연결기의 경우, 연결기의 화학식을 쓴 방향에 의해 연결기의 배향이 암시되는 것은 하나도 없다. 예로서, 화학식 $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'-$ 는 $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'-$ 및 $-\text{R}'\text{C}(\text{O})_2-$ 둘 다 나타낸다.
- [0281] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "헤테로아릴" 또는 "헤테로방향족"은 N, O 및 S로부터 선택되는 헤테로원자를 적어도 1개 함유하는 아릴기를 언급하는 것으로; 여기서 상기 질소 및 황 원자는 임의로 산화될 수 있고, 상기 질소 원자(들)는 임의로 4급화될 수 있다. 헤테로아릴기는 치환되거나 비치환될 수 있다. 헤테로아릴기는 헤테로원자를 통하여 분자의 나머지 부분에 부착될 수 있다. 헤테로아릴기의 비-제한 예로 1-피롤릴, 2-피롤릴, 3-피롤릴, 3-피라졸릴, 2-이미다졸릴, 4-이미다졸릴, 피라지닐, 2-옥사졸릴, 4-옥사졸릴, 2-페닐-4-옥사졸릴, 5-옥사졸릴, 3-이속사졸릴, 4-이속사졸릴, 5-이속사졸릴, 2-티아졸릴, 4-티아졸릴, 5-티아졸릴, 2-푸릴, 3-푸릴, 2-티에닐, 3-티에닐, 2-피리딜, 3-피리딜, 4-피리딜, 2-피리미딜, 4-피리미딜, 5-벤조티아졸릴, 푸리닐, 2-벤즈이미다졸릴, 5-인돌릴, 1-이소퀴놀릴, 5-이소퀴놀릴, 2-퀴녹살리닐, 5-퀴녹살리닐, 3-퀴놀릴, 및 6-퀴놀릴이 있다.
- [0282] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "호모알킬"은 탄화수소기인 알킬기를 언급한다.
- [0283] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "동일한"은 동일한 2개 이상의 서열 또는 서브서열을 언급한다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "실질적으로 동일"은 비교하여 비교창 상에서 최대 대응에 대해 정렬시켰을 때 동일한 서열 단위의 퍼센트, 또는 비교 알고리즘을 사용하여 또는 수동적 정렬 및 가시적 검사에 의해 측정된 바에 따라 표시된 영역을 갖는 2개 이상의 서열을 언급한다. 단지 예로서, 서열 단위가 명시된 영역 상에서 약 60% 동일, 약 65% 동일, 약 70% 동일, 약 75% 동일, 약 80% 동일, 약 85% 동일, 약 90% 동일, 또는 약 95% 동일한 경우 2개 이상의 서열이 "실질적으로 동일"할 수 있다. 그러한 퍼센트는 2개 이상의 서열의 "동일성 퍼센트"를 기재하는 것이다. 서열의 동일성은 길이가 적어도 약 75 내지 100개의 서열 단위인 영역에 걸쳐서, 길이가 약 50개의 서열 단위인 영역에 걸쳐서, 또는 명시되지 않은 경우, 전체 서열에 걸쳐 존재할 수 있다. 상기 정의는 또한 시험 서열의 보체(complement)를 언급한다. 단지 예로서, 아미노산 잔기가 동일할 때 2개 이상의 폴리펩티드 서열은 동일하며, 한편, 아미노산 잔기가 명시된 영역상에서 약 60% 동일, 약 65% 동일, 약 70% 동일, 약 75% 동일, 약 80% 동일, 약 85% 동일, 약 90% 동일, 또는 약 95% 동일한 경우 2개 이상의 폴리펩티드 서열은 "실질적으로 동일"하다. 상기 동일성은 길이가 적어도 약 75 내지 100개의 아미노산인 영역에 걸쳐서, 길이가 약 50개의 아미노산인 영역에 걸쳐서, 또는 명시되지 않은 경우, 폴리펩티드 서열의 전체 서열에 걸쳐 존재할 수 있다. 또한, 단지 예로서, 핵산 잔기가 동일할 때 2개 이상의 폴리뉴클레오티드 서열은 동일하며, 한편, 핵산 잔기가 명시된 영역상에서 약 60% 동일, 약 65% 동일, 약 70% 동일, 약 75% 동일, 약 80% 동일, 약 85% 동일, 약 90% 동일, 또는 약 95% 동일한 경우 2개 이상의 폴리뉴클레오티드 서열은 "실질적으로 동일"하다. 상기 동일성은 길이가 적어도 약 75 내지 100개의 핵산인 영역에 걸쳐서, 길이가 약 50개의 핵산인 영역에 걸쳐서, 또는 명시되지 않은 경우, 폴리뉴클레오티드 서열의 전체 서열에 걸쳐 존재할 수 있다.

- [0284] 서열 비교의 경우, 전형적으로 서열 하나가 비교 서열(reference sequence)로 작용하는데, 이 서열을 시험 서열과 비교한다. 서열 비교 알고리즘을 사용할 경우, 시험 및 비교 서열을 컴퓨터에 넣고, 서열 좌표를 표시하여, 필요에 따라, 서열 알고리즘 프로그램 변수를 표시한다. 디폴트 프로그램 변수를 사용할 수 있거나, 대안적인 변수가 표시될 수 있다. 이어서 서열 비교 알고리즘이 프로그램 변수를 기준으로 하여, 비교 서열에 대해 시험 서열에 대한 서열 동일성 퍼센트를 계산한다.
- [0285] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "면역원성(immunogenicity)"은 치료용 약물의 투여에 대한 항체 반응을 언급한다. 치료용 비-천연 아미노산 폴리펩티드에 대한 면역원성은 생물학적 유체 중 항-비-천연 아미노산 폴리펩티드 항체의 검출을 위한 정량적 및 정성적 검정법을 사용하여 수득할 수 있다. 그러한 검정법으로는 비제한적으로, 방사성면역검정법(RIA), 효소-결합된 면역흡수체 검정법(ELISA), 발광성 면역검정법(LIA), 및 형광성 면역검정법(FIA)이 있다. 치료용 비-천연 아미노산 폴리펩티드에 대한 면역원성의 분석은 치료용 비-천연 아미노산 폴리펩티드 투여시 항체 반응을 치료용 천연 아미노산 폴리펩티드 투여시 항체 반응과 비교하는 것을 포함한다.
- [0286] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, "개재기(intercalating group)"로도 언급되는 용어 "개재시약(intercalating agent)"은 분자의 분자내 공간 또는 분자 사이의 분자간 공간으로 삽입될 수 있는 화학물질을 언급한다. 단지 예로서, 개재시약 또는 개재기는 DNA 이중나선의 스택된 염기중으로 삽입될 수 있는 분자일 수 있다.
- [0287] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "단리된"은 당해 성분이 아닌 것으로부터 당해 성분을 분리하여 제거하는 것을 언급한다. 단리된 물질은 건조 또는 반-건조 상태, 또는 비제한적으로 수용액을 포함한, 용액으로 존재할 수 있다. 단리된 성분은 균질한 상태로 존재할 수 있거나 단리된 성분이 추가의 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 포함하는 약학 조성물의 일부일 수 있다. 순도 및 균질성은 비제한적으로, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동법 또는 고성능 액체 크로마토그래피를 포함한, 분석 화학 기술을 사용하여 측정할 수 있다. 또한, 당해 성분이 단리되어 제제중에 존재하는 우세종일 때, 상기 성분은 본 명세서에서는 실질적으로 정제된 것으로 기재된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "정제된"은 당해 성분이 적어도 85% 순수한, 적어도 90% 순수한, 적어도 95% 순수한, 적어도 99% 순수한 또는 그 이상 순수한 것을 언급할 수 있다. 단지 예로서, 핵산 또는 단백질이 천연 상태에서 이들과 관련되어 있는 세포 성분 중 적어도 일부가 없을 때, 또는 핵산 또는 단백질이 이의 생체내 또는 시험관내 생산의 농도보다 더 큰 수준으로 농축된 것을 핵산 또는 단백질이 "단리"된다. 또한, 예로서, 유전자는 유전자를 플랭킹하여 당해 유전자 이외의 단백질을 암호화하는 개방판독프레임으로부터 분리될 때 단리된다.
- [0288] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "표지물(label)"은 화합물중에 혼입되어 용이하게 검출됨으로써, 이의 물리적 분산이 검출되고/되거나 모니터링될 수 있는 물질을 언급한다.
- [0289] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "연결기(linkage)"는 링커의 작용기와 다른 분자간의 화학 반응으로부터 형성된 결합 또는 화학 부위를 언급한다. 그러한 결합은 비제한적으로, 공유결합 연결기 및 비-공유결합 연결기를 포함하는 한편, 그러한 화학적 부위는 비제한적으로, 에스테르, 카르보네이트, 이민, 포스페이트 에스테르, 히드라존, 아세탈, 오르토에스테르, 펩티드 연결기, 및 올리고뉴클레오타이드 연결기를 포함할 수 있다. 가수분해적으로 안정한 연결기는 상기 연결기가 수중에서 실질적으로 안정하고 비제한적으로, 생리학적 조건하를 포함한, 유용한 pH 값에서, 연장된 기간동안, 아마도 심지어는 무한정하게 물과 반응하지 않는 것을 의미한다. 가수분해적으로 불안정한 또는 분해가능한 연결기는 상기 연결기가 수중에서 또는 예를 들면, 혈액을 포함한, 수용액중에서 분해될 수 있음을 의미한다. 효소적으로 불안정한 또는 분해가능한 연결기는 상기 연결기가 1종 이상의 효소에 의해 분해될 수 있음을 의미한다. 단지 예로서, PEG 및 관련 폴리머는 폴리머 주쇄중 또는 폴리머 주쇄와 폴리머 분자의 1개 이상의 말단 작용기 사이의 링커기중의 분해가능한 연결기를 포함할 수 있다. 그러한 분해가능한 연결기는 PEG 카르복실산 또는 활성화된 PEG 카르복실산과 생물학적 활성제상의 알코올기의 반응에 의해 형성된 에스테르 연결기를 포함하지만 이로 제한되는 것은 아니며, 여기서 그러한 에스테르기는 일반적으로 생리학적 조건하에서 가수분해되어 생물학적 활성제를 방출시킨다. 다른 가수분해적으로 분해가능한 연결기로는 카르보네이트 연결기; 아민과 알데히드의 반응으로부터 생성된 이민 연결기; 알코올과 포스페이트기의 반응에 의해 형성된 포스페이트 에스테르 연결기; 히드라지드와 알데히드의 반응 생성물인 히드라존 연결기; 알데히드와 알코올의 반응 생성물인 아세탈 연결기; 포르메이트와 알코올의 반응 생성물인 오르토에스테르 연결기; 비제한적으로 PEG와 같은 폴리머의 말단에 있는 것을 포함한, 아민기와, 펩티드의 카르복실기에 의해 형성된 펩티드 연결기; 및 비제한적으로 폴리머의 말단에 있는 것을 포함한, 포스포르아미다이트기, 및 올리고뉴클레오

티드의 5'히드록실기에 의해 형성된 올리고뉴클레오타이드 연결기를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다.

- [0290] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "배지" 또는 "배지들"은 세포 및/또는 그러한 세포에 의해 발현되고/되거나 분비된 생체분자를 성장시키고 하베스트하는데 사용되는 임의의 겔 배지를 언급한다. 그러한 "배지" 또는 "배지들"로는 예로서, 세균성 숙주 세포, 효모 숙주 세포, 곤충 숙주 세포, 식물 숙주 세포, 진핵성 숙주 세포, 포유동물 숙주 세포, CHO 세포, 전핵성 숙주 세포, 이. 콜리(E. coli), 또는 슈도모나스(Pseudomonas) 숙주 세포, 및 세포 내용물을 포함하는, 임의의 숙주 세포를 지지하거나 함유할 수 있는 용액, 고체, 반-고체, 또는 겔 지지체가 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 그러한 "배지" 또는 "배지들"은 증식 단계 전 또는 후의 배지를 포함하여, 숙주 세포가 성장하여 숙주 세포내로 폴리펩티드가 분비된 배지 또는 배지들을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 그러한 "배지" 또는 "배지들"은 또한 숙주 세포 용해물, 예로서 세포내 생산된 폴리펩티드를 함유하는 완충액 또는 시약을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니며 상기 숙주 세포는 용해되거나 파괴되어 상기 폴리펩티드를 방출시킨다.
- [0291] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "대사물질(metabolite)"은 화합물, 예로서 천연 아미노산 폴리펩티드, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 천연 아미노산 폴리펩티드, 또는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 대사될 때 형성되는, 화합물, 예로서 천연 아미노산 폴리펩티드, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 천연 아미노산 폴리펩티드, 또는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 유도체를 언급한다. 상기 용어 "약제학적으로 활성인 대사물질" 또는 "활성 대사물질"은 화합물, 예로서 천연 아미노산 폴리펩티드, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 천연 아미노산 폴리펩티드, 또는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 대사될 때 형성되는, 화합물, 예로서 천연 아미노산 폴리펩티드, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 천연 아미노산 폴리펩티드, 또는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 생물학적 활성 유도체를 언급한다.
- [0292] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "대사된"은 특정 물질이 유기체에 의해 변화되는 공정의 합을 언급한다. 그러한 공정은 가수분해 반응 및 효소에 의해 촉매되는 반응을 포함하지만, 이로 제한되는 것은 아니다. 대사작용에 대한 추가적인 정보는 다음: Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Edition, McGraw-Hill (1996)으로부터 취득할 수 있다. 단지 예로서, 천연 아미노산 폴리펩티드, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 천연 아미노산 폴리펩티드, 또는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 대사물질은 천연 아미노산 폴리펩티드, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 천연 아미노산 폴리펩티드, 또는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 숙주에 투여하고 숙주로부터의 조직 샘플을 분석함으로써, 또는 천연 아미노산 폴리펩티드, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 천연 아미노산 폴리펩티드, 또는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 간의 세포와 시험관내에서 배양하여 생성된 화합물을 분석함으로써 확인할 수 있다.
- [0293] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "금속 킬레이터(metal chelator)"는 금속 이온과의 금속 착화합물을 형성하는 분자를 언급한다. 예로서, 그러한 분자는 중앙 금속 이온과 2개 이상의 배위결합을 형성할 수 있으며 환 구조를 형성할 수 있다.
- [0294] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "금속-함유 부위"는 금속 이온, 원자 또는 입자를 함유하는 기를 언급한다. 그러한 부위는 시스플라틴, 킬레이드화된 금속 이온 (예로서, 니켈, 철, 및 백금), 및 금속 나노입자(예로서, 니켈, 철, 및 백금)를 포함하지만, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0295] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "무거운 원자를 내포하고 있는 부위"는 통상적으로 탄소보다 더 무거운 원자의 이온을 내포하고 있는 기를 언급한다. 그러한 이온 또는 원자는 실리콘, 텅스텐, 금, 납, 및 우라늄을 포함하지만, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0296] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "변형된(modified)"은 천연 아미노산, 비-천연 아미노산, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드에 대한 변화의 존재를 언급한다. 그러한 변화, 또는 변형은 천연 아미노산, 비-천연 아미노산, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 합성 후 변형에 의해, 또는 천연 아미노산, 비-천연 아미노산, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 번역 후 변형에 의해 취득될 수 있다. 형태 "변형된 또는 변형되지 않은"은 논의될 천연 아미노산, 비-천연 아미노산, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 선택적으로 변형되는 것, 즉, 논의될 천연 아미노산, 비-천연 아미노산, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 변형될 수 있거나 변형되지 않을 수 있음을 의미한다.
- [0297] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "조절된 혈청 반감기"는 생물학적 활성 분자의 변형되지 않은 형태와 비교하여 변형된 생물학적 활성 분자의 순환 반감기에서의 포지티브 또는 네가티브 변화를 언급한다. 예로서,

상기 변형된 생물학적 활성 분자로, 천연 아미노산, 비-천연 아미노산, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 있으나, 이로 제한되는 것은 아니다. 예로서, 혈청 반감기는 생물학적 활성 분자 또는 변형된 생물학적 활성 분자의 투여 후 다양한 시점에서 혈액 샘플을 취하여, 각 샘플중 상기 분자의 농도를 측정함으로써 측정된다. 혈청 농도와 시간과의 상관관계는 혈청 반감기의 계산을 가능케한다. 예로서, 조절된 혈청 반감기는 혈청 반감기가 증가된 것일 수 있으며, 이는 투여량 섭생을 개선시킬 수 있거나 독성 효과를 피할 수 있도록 할 수 있다. 그러한 혈청에서의 증가는 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 5배, 또는 적어도 약 10배일 수 있다. 혈청 반감기에서의 증가를 평가하기 위한 방법의 비-제한 예가 실시예 33에 제시되어 있다. 이 방법은 임의의 폴리펩티드의 혈청 반감기를 평가하기 위하여 사용될 수 있다.

[0298] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "조절된 치료적 반감기"는 생물학적 활성 분자의 변형되지 않은 형태와 비교하여, 변형된 생물학적 활성 분자의 치료적 유효량의 반감기에서의 포지티브 또는 네가티브 변화를 언급한다. 예로서, 상기 변형된 생물학적 활성 물질은 천연 아미노산, 비-천연 아미노산, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 포함하지만, 이로 제한되는 것은 아니다. 예로서, 치료적 반감기는 투여 후 다양한 시점에서 상기 분자의 약물동태학적 및/또는 약물동력학적 특성을 측정함으로써 측정된다. 증가된 치료적 반감기는 특정의 유익한 투여량 섭생법, 특정의 유익한 총 투여량을 가능케 하거나, 원치않는 효과를 피할 수 있도록 한다. 예로서, 증가된 치료적 반감기는 증가된 효능, 표적으로의 변형된 분자의 증가되거나 감소된 결합, 비-변형된 분자의 다른 변수 또는 작용 메카니즘에서의 증가 또는 감소, 또는 단지 예로서, 프로테아제와 같은 효소에 의한 분자의 증가되거나 감소된 파괴(breakdown)로부터 발생될 수 있다. 치료적 반감기에서의 증가를 평가하기 위한 방법의 비-제한 실시예가 실시예 33에 제시되어 있다. 이 방법은 임의의 폴리펩티드의 치료적 반감기를 평가하기 위하여 사용될 수 있다.

[0299] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "나노입자"는 약 500 nm 내지 약 1 nm 사이의 입자 크기를 갖는 입자를 언급한다.

[0300] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "거의-화학양론적"은 화학반응에 참여하는 화합물의 몰비가 약 0.75 내지 약 1.5인 것을 언급한다.

[0301] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "비-진핵세포"는 비-진핵세포성 유기체를 언급한다. 예로서, 비-진핵성 유기체는 진정세균(Eubacteria: 비제한적으로, 에세리키아 콜리(*Escherichia coli*), 테르무스 썬모필루스(*Thermus thermophilus*), 또는 바실루스 스테아로썬로필루스(*Bacillus stearothermophilus*), 슈도모나스 플루오레스센스(*Pseudomonas fluorescens*), 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 슈도모나스 푸티다(*Pseudomonas putida*)를 포함함), 계통발생적 도메인, 또는 고세균(Archaea)(이는 비제한적으로, 메타노코쿠스 야나쉬(*Methanococcus jannaschii*), 메타노박테리움 썬모아우토포트로피쿰(*Methanobacterium thermoautotrophicum*), 아르캐오글로부스 풀지두스(*Archaeoglobus fulgidus*), 피로코쿠스 푸리오수스(*Pyrococcus furiosus*), 피로코쿠스 호리코쉬(*Pyrococcus horikoshii*), 아에우로피룸 페르닉스(*Aeopyrum pernix*)를 포함함), 또는 염생세균(*Halobacterium*), 예로서 할로페락스 볼카니(*Haloferax volcanii*) 및 염색세균종 NRC-1, 또는 계통발생적 도메인에 속할 수 있다.

[0302] "비-천연 아미노산"은 20개의 통상적인 아미노산 또는 피로리신 또는 셀레노시스테인 중 하나가 아닌 아미노산을 언급한다. 상기 용어 "비-천연 아미노산"과 동의어적으로 사용될 수 있는 다른 용어는 "비-천연적으로 암호화된 아미노산", "천연이 아닌 아미노산", "비-천연 발생 아미노산", 및 이들의 다양하게 하이픈으로 연결된 버전 및 하이픈으로 연결되지 않은 버전이 있다. 상기 용어 "비-천연 아미노산"은 비제한적으로, 자연적으로 암호화된 아미노산 (비제한적으로, 20개의 통상적인 아미노산 또는 피로리신 또는 셀레노시스테인을 포함)의 변형에 의해 자연적으로 발생하는 아미노산을 포함하지만 번역 복합체(translation complex)에 의해 이들 자체가 성장하는 폴리펩티드 쇄중에 혼입되지는 않는다. 자연적으로-암호화되지 않는 천연 아미노산의 예로는, 비제한적으로, N-아세틸글루코사미닐-L-리신, N-아세틸글루코사미닐-L-트레오닌, 및 O-포스포티로신이 있다. 추가로, 용어 "비-천연 아미노산"은 비제한적으로, 자연적으로 발생하지 않으며 합성적으로 수득할 수 있거나 비-천연 아미노산의 변형에 의해 수득될 수 있는 아미노산을 포함한다.

[0303] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "핵산"은 데옥시리보뉴클레오티드, 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드와 단일사 또는 이중사 형태의 이들의 폴리머를 언급한다. 예로서, 그러한 핵산 및 핵산 폴리머는 비제한적으로, (i) 비교 핵산과 유사한 결합 특성을 가지며 천연 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사되는 천연 뉴클레오티드의 유사체; (ii) 비제한적으로, PNA (펩티도핵산), 안티센스 기술에 사용되는 DNA의 유사체 (포스포로티오에이트, 포스포로아미데이트 등)를 포함하는 올리고뉴클레오티드 유사체; (iii) 보

존적으로 변형된 이들의 변이체 (비제한적으로, 퇴화한 코돈 치환을 포함) 및 명확하게 표시된 상보적 서열들 및 서열을 포함한다. 예로서, 퇴화한 코돈 치환은 선택된 (또는 모든) 코돈 중 1개 이상의 세번째 위치가 혼합된 염기 및/또는 테옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 발생시킴으로써 수행될 수 있다 (Batzner et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); 및 Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98(1994)).

- [0304] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "산화제"는 산화될 화합물로부터 전자를 제거할 수 있는 화합물 또는 물질을 언급한다. 예로서, 산화제는 비제한적으로, 산화된 글루타티온, 시스틴, 시스타민, 산화된 디티오프레이톨, 산화된 에리트리톨, 및 산소를 포함한다. 다양한 산화제를 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물에 사용하기에 적합하다.
- [0305] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "약학적으로 허용되는"은 화합물의 생물학적 활성 또는 특성을 없애지 않으며, 상대적으로 비독성인, 즉, 원치않는 생물학적 효과를 일으키지 않거나 이들이 포함되는 조성물의 임의의 성분들과 유해한 방식으로 상호반응하지 않고 개체에게 투여될 수 있는, 비제한적으로, 염, 담체 또는 희석제를 포함하는 물질을 언급한다.
- [0306] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "광친화성 표지물"은 광에 노출시, 표지물이 친화성을 갖는 분자와 연결(linkage)을 형성하는 기를 갖는 표지물을 언급한다. 단지 예로서, 그러한 연결기는 공유결합 또는 비-공유결합일 수 있다.
- [0307] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "포토케이징된 부위(photocaged moiety)"는 특정 파장에서 조사시 다른 이온 또는 분자를 공유결합적으로 또는 비-공유결합적으로 결합하는 기를 언급한다.
- [0308] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "광분해성 기(photocleavable group)"는 광에 노출시 파괴되는 기를 언급한다.
- [0309] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "광가교제(photocrosslinker)"는 광에 노출시 반응성이고 2개 이상의 모노머성 또는 폴리머성 분자와 공유결합 또는 비-공유결합 연결기를 형성하는 작용기를 2개 이상 포함하는 화합물을 언급한다.
- [0310] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "광이성화 부위(photoisomerizable moiety)"는 광으로 조사시 이성체 형태가 다른것으로 변화되는 기를 언급한다.
- [0311] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "폴리알킬렌 글리콜"은 직쇄 또는 측쇄 폴리머성 폴리에테르 폴리올을 언급한다. 그러한 폴리알킬렌 글리콜은 비제한적으로, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리부틸렌 글리콜, 및 이들의 유도체를 포함한다. 다른 예시적 실시양태가 예를 들면, Shearwater Corporation's catalog "Polyethylene Glycol and Derivatives for Biomedical Applications"(2001)과 같은 상업적 공급업자의 카탈로그에 게시되어 있다. 단지 예로서, 그러한 폴리머성 폴리에테르 폴리올은 약 0.1 kDa 내지 약 100 kDa 사이의 평균 분자량을 갖는다. 예로서, 그러한 폴리머성 폴리에테르 폴리올은 비제한적으로 약 100 Da 내지 약 100,000 Da 또는 그 이상 사이의 평균 분자량을 갖는다. 상기 폴리머의 분자량은 약 100 Da 내지 약 100,000 Da 사이일 수 있으며, 비제한적으로, 약 100,000 Da, 약 95,000 Da, 약 90,000 Da, 약 85,000 Da, 약 80,000 Da, 약 75,000 Da, 약 70,000 Da, 약 65,000 Da, 약 60,000 Da, 약 55,000 Da, 약 50,000 Da, 약 45,000 Da, 약 40,000 Da, 약 35,000 Da, 약 30,000 Da, 약 25,000 Da, 약 20,000 Da, 약 15,000 Da, 약 10,000 Da, 약 9,000 Da, 약 8,000 Da, 약 7,000 Da, 약 6,000 Da, 약 5,000 Da, 약 4,000 Da, 약 3,000 Da, 약 2,000 Da, 약 1,000 Da, 약 900 Da, 약 800 Da, 약 700 Da, 약 600 Da, 약 500 Da, 약 400 Da, 약 300 Da, 약 200 Da, 및 약 100 Da를 포함한다. 일부 실시양태로, 상기 폴리머의 분자량이 약 100 Da 내지 약 50,000 Da 사이이다. 일부 실시양태로, 상기 폴리머의 분자량이 약 100 Da 내지 약 40,000 Da 사이이다. 일부 실시양태로, 상기 폴리머의 분자량이 약 1,000 Da 내지 약 40,000 Da 사이이다. 일부 실시양태로, 상기 폴리머의 분자량이 약 2,000 Da 내지 약 50,000 Da 사이이다. 일부 실시양태로, 상기 폴리머의 분자량이 약 5,000 Da 내지 약 40,000 Da 사이이다. 일부 실시양태로, 상기 폴리머의 분자량이 약 10,000 Da 내지 약 40,000 Da 사이이다. 일부 실시양태로, 상기 폴리(에틸렌 글리콜) 분자가 분지된 폴리머이다. 상기 분지쇄 PEG의 분자량이 약 1,000 Da 내지 약 100,000 Da 사이일 수 있으며, 비제한적으로, 약 100,000 Da, 약 95,000 Da, 약 90,000 Da, 약 85,000 Da, 약 80,000 Da, 약 75,000 Da, 약 70,000 Da, 약 65,000 Da, 약 60,000 Da, 약 55,000 Da, 약 50,000 Da, 약 45,000 Da, 약 40,000 Da, 약 35,000 Da, 약 30,000 Da, 약 25,000 Da, 약 20,000 Da, 약 15,000 Da, 약 10,000 Da, 약 9,000 Da, 약 8,000 Da, 약 7,000 Da, 약 6,000 Da, 약 5,000 Da, 약 4,000 Da, 약 3,000 Da,

약 2,000 Da, 및 약 1,000 Da를 포함한다. 일부 실시양태로, 상기 측쇄 PEG의 분자량이 약 1,000 Da 내지 약 50,000 Da이다. 일부 실시양태로, 상기 측쇄 PEG의 분자량이 약 1,000 Da 내지 약 40,000 Da이다. 일부 실시양태로, 상기 측쇄 PEG의 분자량이 약 5,000 Da 내지 약 40,000 Da이다. 일부 실시양태로, 상기 측쇄 PEG의 분자량이 약 5,000 Da 내지 약 20,000 Da이다. 다른 실시양태로, 상기 측쇄 PEG의 분자량이 약 2,000 Da 내지 약 50,000 Da이다.

[0312] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "폴리머"는 반복되는 서브유닛으로 이루어진 분자를 언급한다. 그러한 분자는, 비제한적으로 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 또는 폴리사카라이드 또는 폴리알킬렌 글리콜을 포함한다.

[0313] 용어 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은 본 명세서에서 아미노산 잔기의 폴리머에 대해 언급하는데 있어서 상호교환적으로 사용된다. 즉, 폴리펩티드에 관한 설명은 펩티드의 설명 및 단백질의 설명에 대등하게 적용되며, 역으로도 적용된다. 상기 용어는 천연 아미노산 폴리머 뿐만 아니라 아미노산 잔기 1개 이상이 비-천연 아미노산인 아미노산 폴리머에도 적용된다. 추가로, 그러한 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은 전장 단백질을 포함하여, 임의의 길이의 아미노산 쇄를 포함하며, 이때 아미노산 잔기는 공유결합적 펩티드 결합에 의해 연결된다.

[0314] 용어 "번역후 변형된(post-translationally modified)"은 그러한 아미노산이 번역적으로 폴리펩티드 쇄중으로 혼입된 후 발생하는 천연 또는 비-천연 아미노산의 임의의 변형을 언급한다. 그러한 변형은 비제한적으로 동시-번역 생체내 변형, 동시-번역 시험관내 변형 (예로서 세포-유리 번역 시스템), 번역후 생체내 변형, 및 번역후 시험관내 변형을 포함한다.

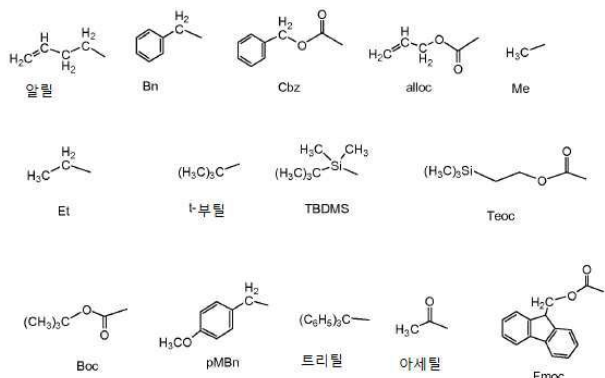
[0315] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "프로드럭" 또는 "약학적으로 허용되는 프로드럭"은 생체내 또는 시험관내에서 모체 약물(parent drug)로 전환되는 약제를 언급하는 것으로, 이는 약물의 생물학적 활성 또는 특성을 없애지 않으며, 상대적으로 비독성인, 즉, 원치않는 생물학적 효과를 일으키지 않거나 이들이 포함되는 조성물의 임의의 성분들과 유해한 방식으로 상호반응하지 않고 개체에게 투여될 수 있는, 비제한적으로, 염, 담체 또는 희석제를 포함하는 물질을 언급한다. 프로드럭은 일반적으로 약물 전구체로, 개체에 투여되어 흡수된 다음, 대사적 경로에 의한 전환과 같은 일부 공정을 통하여 활성, 또는 더욱 활성인 화학종으로 전환된다. 일부 프로드럭은 활성을 약하게 만들고/만들거나 가용성 또는 일부 다른 특성을 약물에 부여하는, 프로드럭상에 존재하는 화학적 기를 갖는다. 상기 화학적 기가 프로드럭으로부터 일단 분해되고/되거나 변형된 다음, 활성 약물이 발생된다. 프로드럭은 효소적 또는 비-효소적 반응을 통하여 체내에서 활성 약물로 전환된다. 프로드럭은 더욱 양호한 가용성과 같은 생리화학적 특성, 향상된 운반 특성, 예로서 특정 세포, 조직, 기관 또는 리간드를 특이적으로 표적화하는 것, 및 약물의 향상된 치료값을 제공할 수 있다. 그러한 프로드럭의 장점으로는, 비제한적으로, (i) 모체 약물과 비교되는 투여의 용이성; (ii) 프로드럭은 경구투여에 의해 생체이용될 수 있지만, 모체 약물은 그러하지 않다는 점; (iii) 프로드럭은 또한 모체 약물과 비교할 때 약학 조성물중에서 향상된 가용성을 가질 수 있다는 점이 있다. 프로드럭은 약리학적 불활성, 또는 감소된-활성, 활성 약물의 유도체를 포함한다. 프로드럭은 생리화학적, 생물약제학적, 또는 약물동태학적 특성과 같은, 약물 특성의 조작을 통하여 목적하는 작용 부위에 도달하는 약물 또는 생물학적 활성 분자의 양을 조절하도록 디자인될 수 있다. 제한없이, 프로드럭의 예로 수용성이 운동성에 있어서 결정적인 세포막을 경유한 전달이 용이하도록 하는 에스테르로서 ("프로드럭") 투여되는 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 있는데, 이는 세포막을 경유한 다음, 일단, 수용성이 유리한 세포내부에서 활성 본체인, 카르복실산으로 대사적으로 가수분해된다. 프로드럭은 부위-특이적 조직으로의 약물 운반이 향상되도록 하는 변형제(modifiers)로 사용하기 위한, 가역적 약물 유도체로 디자인될 수 있다.

[0316] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "예방적 유효량"은 치료할 질병, 상태 또는 질환의 증상 하나 이상을 어느 정도 완화시키는, 환자에게 예방적으로 투여되는 적어도 1종의 비-천연 아미노산 폴리펩티드 또는 적어도 1종의 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 함유하는 조성물의 양을 언급한다. 그러한 예방적 적용에 있어서, 그러한 양은 환자의 건강 상태, 체중 등에 따를 수 있다. 비제한적으로 투여량 단계적 확대 임상시험을 포함한, 통상의 실험으로 그러한 예방적 유효량을 측정하는 것은 당해 숙련가에게 잘 인식되어 있다.

[0317] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "보호된"은 특정의 반응 조건하에서 화학적으로 반응성인 작용기의 반응을 방지하기 위한 "보호기" 또는 부위의 존재를 언급한다. 상기 보호기는 보호할 화학적 반응성기의 타입에 따라 변화될 수 있다. 단지 예로서, (i) 화학적 반응성기가 아민 또는 히드라지드인 경우, 보호기는 tert-부틸 옥시카르보닐(t-Boc) 및 9-플루오렌릴메톡시카르보닐(Fmoc)로부터 선택될 수 있으며; (ii) 화학적 반응성기가 티올인 경우, 보호기는 오르토퍼리디디술파이드일 수 있고; (iii) 화학적 반응성기가 부타노산 또는 프로피온산

과 같은 카르복실산, 또는 히드록실기인 경우, 보호기는 벤질 또는 알킬, 예로서 메틸, 에틸, 또는 tert-부틸일 수 있다.

[0318] 단지 예로서, 차단/보호기가 하기로부터 선택될 수 있다:



[0319]

[0320] 추가로, 보호기는 비제한적으로, Nvoc 및 MeNvoc와 같은 광불안정기 및 당해 분야에 공지되어 있는 기타 보호기를 포함한다. 다른 보호기가 본 명세서에서 전문 참고로 포함되는, 하기 문헌에 기재되어 있다: Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, NY, 1999.

[0321] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "방사성 부위"는 이 기의 핵이 알파, 베타 또는 감마 입자와 같은 핵방사선을 자발적으로 방출하는 기를 언급하는 것으로; 여기서 알파 입자는 헬륨 핵이고, 베타 입자는 전자이며, 감마 입자는 고에너지 광자이다.

[0322] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "반응성 화합물"은 적절한 조건하에서 다른 원자, 분자 또는 화합물에 대해 반응성인 화합물을 언급한다.

[0323] "숙주 세포"로도 언급되는, 용어 "제조합 숙주 세포"는 외인성 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 세포를 언급하는 것으로, 여기서 외인성 폴리뉴클레오타이드를 세포내로 삽입시키는데 사용되는 방법으로는, 비제한적으로, 직접적인 도입, 형질도입, f-메이팅(mating), 또는 제조합 숙주 세포를 생성시키기 위한 당해 분야에 공지된 다른 방법이 있다. 단지 예로서, 상기와 같은 외인성 폴리뉴클레오타이드는 비제한적으로, 플라스미드를 포함한, 비통합 벡터일 수 있거나, 숙주 게놈중으로 통합될 수 있다.

[0324] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "산화환원반응-활성제"는 다른 분자를 산화시키거나 환원시키는 분자를 언급하는 것으로, 이에 의해 산화환원반응 활성제는 환원되거나 산화된다. 산화환원반응 활성제의 예로서, 비제한적으로, 페로센, 퀴논, $Ru^{2+/3+}$ 착화합물, $Co^{2+/3+}$ 착화합물, 및 $Os^{2+/3+}$ 착화합물이 있다.

[0325] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "환원제"는 환원시킬 화합물에 전자를 추가할 수 있는 화합물 또는 물질을 언급한다. 환원제의 예로는, 비제한적으로, 디티오프레이톨 (DTT), 2-머캅토에탄올, 디티오에리트릴, 시스테인, 시스테인 (2-아미노에탄티올), 및 환원된 글루타티온이 있다. 그러한 환원제는 단지 예로서, 술포하이드릴기를 환원된 상태로 유지하기 위해서 및 분자내 또는 분자간 디설파이드 결합을 환원시키기 위하여 사용될 수 있다.

[0326] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "재폴딩(refolding)"은 부적합하게 폴딩되거나 폴딩되지 않은 상태를 천연 또는 적절하게 폴딩된 구조로 전환시키는 임의의 공정, 반응 또는 방법을 설명한다. 단지 예로서, 재폴딩은 디설파이드 결합을 함유하는 폴리펩티드를 부적합하게 폴딩되거나 폴딩되지 않은 상태에서 디설파이드 결합에 대해 천연 또는 적합하게 폴딩된 구조로 전환시킨다. 그러한 디설파이드 결합 함유 폴리펩티드는 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드일 수 있다.

[0327] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "수지"는 고분자량의, 불용성 폴리머 비드를 언급한다. 단지 예로서, 그러한 비드는 고체상 펩티드 합성용 지지체로서, 또는 정제된 분자의 부착용 부위로서 사용될 수 있다.

[0328] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "사카라이드"는 비제한적으로, 슈가, 모노사카라이드, 올리고사카라이드, 및 폴리사카라이드를 포함한, 일련의 탄수화물을 언급한다.

[0329] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "안전성" 또는 "안전성 프로파일"은 약물이 투여되는 횟수에 대한 약물의 투여와 관련될 수 있는 부작용을 언급한다. 예로서, 여러번 투여되어 단지 미약하거나 부작용이 없는 약물은 우

수한 안전성 프로필을 갖는 것이라 한다. 안전성 프로필을 평가하기 위한 방법의 비-제한 예가 실시예 26에 제시되어 있다. 이 방법은 임의의 폴리펩티드의 안전성 프로필을 평가하기 위하여 사용될 수 있다.

- [0330] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 문구 "선택적으로 하이브리드화시키는" 또는 "특이적으로 하이브리드화시키는"은 서열이 비제한적으로 전체 세포 또는 라이브러리 DNA 또는 RNA를 포함하는 복합 혼합물로 존재할 때 엄격한 하이브리드화 조건하에서 특정 뉴클레오티드 서열에 분자를 결합, 이합체화(duplexing) 또는 하이브리드화시키는 것을 언급한다.
- [0331] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "스핀 표지물(spin label)"은 전자 스핀 공명 분광학으로 검출할 수 있으며 다른 분자에 부착될 수 있는 짝이 없는 전자 스핀 (즉, 안정한 상자성기(paramagnetic group))를 나타내는 원자 또는 원자의 기를 함유하는 분자를 언급한다. 그러한 스핀-표지물 분자로는, 비제한적으로, 니트릴 라디칼 및 니트록사이드가 있으며, 단일 스핀-표지물 또는 이중 스핀-표지물일 수 있다.
- [0332] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "화학양론적"이란 화학반응에 참여하는 화합물의 몰비가 약 0.9 대 약 1.1인 것을 언급한다.
- [0333] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "화학양론적-유사"는 반응 조건에서의 변화시 또는 첨가제의 존재하에서 화학양론적 또는 거의-화학양론적으로 되는 화학 반응을 언급한다. 그러한 반응 조건에서의 변화는 비제한적으로, 온도에서의 증가 또는 pH에서의 변화를 포함한다. 상기와 같은 첨가제로는 비제한적으로, 가속화제(accelerants)를 포함한다.
- [0334] 문구 "엄격한 하이브리드화 조건"은 낮은 이온 강도 및 고온의 조건하에서, DNA, RNA, PNA 또는 기타 핵산 모방체, 또는 이들의 조합의 서열의 하이브리드화를 언급한다. 예로서, 엄격한 조건하에서 프로브는 핵산의 복합 혼합물 (비제한적으로 전체 세포 또는 라이브러리 DNA 또는 RNA를 포함)중 이의 표적 서열에 하이브리드화되지만 복합 혼합물중의 다른 서열에는 하이브리드화되지 않는다. 엄격한 조건은 서열-의존적이며 상이한 상황에서 상이할 것이다. 예로서, 서열 길이가 더 길면 길수록 더 높은 온도에서 특이적으로 하이브리드화된다. 엄격한 하이브리드화 조건은 비제한적으로, (i) 정의된 이온 강도 및 pH에서 특이적 서열에 대한 열적 용점(Tm)보다 약 5 내지 10°C 더 낮은 온도; (ii) 약 pH 7.0 내지 약 pH 8.3에서 약 0.01M 내지 약 1.0M인 염 농도 및 짧은 프로브 (비제한적으로, 약 10 내지 약 50개의 뉴클레오티드를 포함)의 경우 적어도 약 30°C 및 긴 프로브 (비제한적으로, 50개 이상의 뉴클레오티드를 포함)의 경우 적어도 약 60°C인 온도; (iii) 비제한적으로, 포름아미드를 포함하는 탈안정화제의 첨가, (iv) 50% 포름아미드, 5X SSC, 및 1% SDS, 42°C에서 배양, 또는 5X SSC, 약 1% SDS, 65°C에서 배양, 0.2X SSC에서 세척, 및 약 0.1% SDS 65°C에서 약 5분 내지 약 120분간을 포함한다. 단지 예로서, 선택적 또는 특이적 하이브리드화의 검출은 적어도 2회의 백그라운드에서 포지티브 시그널을 포함하지만, 이로 제한되는 것은 아니다. 핵산의 하이브리드화에 대한 광범위한 안내는 하기 문헌으로부터 알 수 있다: Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Probes, "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays" (1993).
- [0335] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "개체"는 치료, 관찰 또는 실험의 목적인 동물을 언급한다. 단지 예로서, 개체는 비제한적으로 인간을 포함한 포유동물일 수 있지만, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0336] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "실질적으로 정제된"은 통상적으로 수반되거나 정제전에 당해 성분과 상호반응하는 다른 성분이 실질적으로 또는 필수적으로 없을 수 있는 당해 성분을 언급한다. 단지 예로서, 당해 성분은 당해 성분의 제제가 약 30% 미만, 약 25% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2% 미만, 또는 약 1% 미만(건조 중량으로)의 오염 성분을 함유할 때 "실질적으로 정제"될 수 있다. 따라서, 당해 "실질적으로 정제된" 성분은 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 또는 그 이상의 순도 수준을 가질 수 있다. 단지 예로서, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드는 천연 세포로부터, 또는 재조합식으로 생산된 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 경우 숙주 세포로부터 정제될 수 있다. 예로서 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 제제는 상기 제제가 약 30% 미만, 약 25% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2% 미만, 또는 약 1% 미만(건조 중량으로)의 오염 물질을 함유할 때 "실질적으로 정제"될 수 있다. 예로서, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 재조합식으로 숙주 세포에 의해 생산될 때, 상기 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드는 세포의 건조 중량의 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 또는 약 1% 또는 미만으로 존재할 수 있다. 예로서, 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 재조합식으로 숙주 세포에 의해 생산될 때, 상기 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴

리펩티드는 컬처 배지중에 세포의 건조 중량의 약 5 g/l, 약 4 g/l, 약 3 g/l, 약 2 g/l, 약 1 g/l, 약 750 mg/l, 약 500 mg/l, 약 250 mg/l, 약 100 mg/l, 약 50 mg/l, 약 10 mg/l, 또는 약 1 mg/l 또는 미만으로 존재할 수 있다. 예로서, "실질적으로 정제된" 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 폴리펩티드는 비제한적으로, SDS/PAGE 분석, RP-HPLC, SEC, 및 모세관 전기영동법을 포함한 적절함 방법으로 측정된 바 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99% 또는 그 이상의 순도 수준을 가질 수 있다.

[0337] "비-간접 치환체"로도 언급되는 용어 "치환체"는 분자상의 다른 기를 대체하는데 사용될 수 있는 기를 언급한다. 그러한 기로는 비제한적으로, 할로, C₁-C₁₀ 알킬, C₂-C₁₀ 알케닐, C₂-C₁₀ 알키닐, C₁-C₁₀ 알콕시, C₅-C₁₂ 아르알킬, C₃-C₁₂ 사이클로알킬, C₄-C₁₂ 사이클로알케닐, 페닐, 치환된 페닐, 톨루올릴, 자일레닐, 비페닐, C₂-C₁₂ 알콕시알킬, C₅-C₁₂ 알콕시아릴, C₅-C₁₂ 아릴옥시알킬, C₇-C₁₂ 옥시아릴, C₁-C₆ 알킬술피닐, C₁-C₁₀ 알킬술폰닐, -(CH₂)_m-O-(C₁-C₁₀ 알킬) (여기서, m은 1 내지 8임), 아릴, 치환된 아릴, 치환된 알콕시, 플루오로알킬, 헤테로 환식 라디칼, 치환된 헤테로환식 라디칼, 니트로알킬, -NO₂, -CN, -NRC(O)-(C₁-C₁₀ 알킬), -C(O)-(C₁-C₁₀ 알킬), C₂-C₁₀ 알킬티오알킬, -C(O)O-(C₁-C₁₀ 알킬), -OH, -SO₂, =S, -COOH, -NR₂, 카르보닐, -C(O)-(C₁-C₁₀ 알킬)-CF₃, -C(O)-CF₃, -C(O)NR₂, -(C₁-C₁₀ 아릴)-S-(C₆-C₁₀ 아릴), -C(O)-(C₆-C₁₀ 아릴), -(CH₂)_m-O-(CH₂)_m-O-(C₁-C₁₀ 알킬) (여기서, 각각의 m은 1 내지 8임), -C(O)NR₂, -C(S)NR₂, -SO₂NR₂, -NRC(O)NR₂, -NRC(S)NR₂, 이의 염 등이 있다. 선행 목록에서 각각의 R기는 비제한적으로, H, 알킬 또는 치환된 알킬, 아릴 또는 치환된 아릴, 또는 알콕시아릴을 포함한다. 치환체기가 좌측에서 우측으로 기재되는 이들의 통상적인 화학식으로 명시되는 경우, 이들은 우측에서 좌측으로 기재되는 것로부터 생성되는 화학적으로 동일한 치환체를 포괄하는데; 예를 들어, -CH₂O-는 -OCH₂-와 대등하다.

[0338] 단지 예로서, 알킬 및 헤테로알킬 라디칼 (알킬렌, 알케닐, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 사이클로알케닐, 및 헤테로사이클로알케닐로 언급되는 것들을 포함)에 대한 치환체로는 비제한적으로 다음과 같은 것들이 있다: -OR, =O, =NR, =N-OR, -NR₂, -SR, -할로젠, -SiR₃, -OC(O)R, -C(O)R, -CO₂R, -CONR₂, -OC(O)NR₂, -NRC(O)R, -NRC(O)NR₂, -NR(O)₂R, -NR-C(NR₂)=NR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)₂NR₂, -NRSO₂R, -CN 및 -NO₂. 전술한 목록중 각각의 R기는 비제한적으로, 수소, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬, 비제한적으로, 1 내지 3개의 할로젠으로 치환된 아릴을 포함하는, 치환 또는 비치환된 아릴, 치환 또는 비치환된 알킬, 알콕시 또는 티오알콕시기, 또는 아르알킬기가 있다. 2개의 R기가 동일한 질소 원자에 부착되어 있을 때, 이들은 상기 질소 원자와 함께 5-, 6-, 또는 7-원환을 형성할 수 있다. 예를 들어, -NR₂는 비제한적으로, 1-피롤리디닐 및 4-모르폴리닐을 포함하는 것을 의미한다.

[0339] 예로서, 아릴 및 헤테로아릴기에 대한 치환체로는 비제한적으로 다음과 같은 것들이 있다: -OR, =O, =NR, =N-OR, -NR₂, -SR, -할로젠, -SiR₃, -OC(O)R, -C(O)R, -CO₂R, -CONR₂, -OC(O)NR₂, -NRC(O)R, -NRC(O)NR₂, -NR(O)₂R, -NR-C(NR₂)=NR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)₂NR₂, -NRSO₂R, -CN, -NO₂, -R, -N₃, -CH(Ph)₂, 플루오로(C₁-C₄)알콕시, 및 플루오로(C₁-C₄)알킬, 수의 범위는 제로(zero)부터 방향족 환 시스템상의 개방 원자의 총수까지이며; 전술한 목록중 각 R기는 비제한적으로, 수소, 알킬, 헤테로알킬, 아릴 및 헤테로아릴을 포함한다.

[0340] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "치료적 유효량"은 치료할 질병, 질환 또는 상태의 증상 중 하나 이상을 어느 정도 치료하거나 적어도 부분적으로 정지시키거나, 완화시키는데 충분한, 질병, 상태 또는 질환으로 이미 고생하고 있는 환자에게 투여되는 적어도 1종의 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및/또는 적어도 1종의 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 함유하는 조성물의 양을 언급한다. 그러한 조성물의 효과는 비제한적으로, 질병, 질환 또는 상태의 심화도 및 과정, 선행 치료법, 환자의 건강 상태 및 약물에 대한 반응, 및 치료 의사의 판단을 포함하는 조건에 따른다. 단지 예로서, 치료적 유효량은 비제한적으로 투여량 단계적 확대 임상시험을 포함한, 통상의 실험으로 결정될 수 있다.

[0341] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "티오알콕시"는 산소 원자를 통하여 분자에 연결되는 황을 함유하는 알킬기를 언급한다.

[0342] 용어 "열적 융점" 또는 T_m은 평형 상태에서 표적에 대해 상보적인 프로브의 50%가 표적 서열에 하이브리드화되

는 온도 (규정된 이온 강도, pH, 및 핵 농도하에서)이다.

[0343]

본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "독성 부위" 또는 "독성기"는 유해함, 방해 또는 사멸을 일으킬 수 있는 화합물을 언급한다. 독성 부위로는, 비제한적으로, 아우리스타틴(auristatin), DNA 작은 홈(minor groove) 결합제, DNA 작은 홈 알킬화제, 에네디인(enediynes), 렉시트로프신(lexitropsin), 듀오카르마이신(duocarmycin), 택산(taxane), 퓨로마이신(puromycin), 돌라스타틴(dolastatin), 메이탄시노이드(maytansinoid), 빙카 알칼로이드(vinca alkaloid), AFP, MMAF, MMAE, AEB, AEVB, 아우리스타틴 E, 파클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(docetaxel), CC-1065, SN-38, 토포테칸(topotecan), 모르폴리노-독소루비신(morpholino-doxorubicin), 리족신(rhizoxin), 시아노모르폴리노-독소루비신, 돌라스타틴-10, 에키노마이신(echinomycin), 콤브레타트스타틴(combretastatin), 칼리케아마이신(chalicheamicin), 메이탄신(maytansine), DM-1, 네트로프신(netropsin), 포도필로톡신(phodophyllotoxin; 예를 들어, 에토포사이드, 테니포사이드 등), 박카틴(baccatin) 및 이의 유도체, 항-튜불린제(anti-tubulin agents), 크립토피신(cryptophysin), 콤브레타스타틴(combretastatin), 아우리스타틴 E, 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 빈데신(vindesine), 비노렐빈(vinorelbine), VP-16, 캄프토테신(camptothecin), 에포틸론 A(epothilone A), 에포틸론 B, 노코다졸(nocodazole), 콜키신(colchicines), 콜시미드(colcimid), 에스트라뮤스틴(estramustine), 세마도틴(cemadotin), 디스코데르몰라이드(discodermolide), 메이탄신, 엘레우테로빈(eleutherobin), 메클로레타민(mechlorethamine), 사이클로포스파미드, 멜팔란(melphalan), 카르무스틴(carmustine), 로뮤스틴(lomustine), 세뮤스틴(semustine), 스트렙토조토신(streptozotocin), 클로로조토신, 우라실 머스타드, 클로르메틴(chlormethine), 이포스파미드(ifosfamide), 클로르암부실(chlorambucil), 피포브로만(pipobroman), 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌티오포스포라민, 부설판(busulfan), 다카르바진(dacarbazine), 및 테모졸로마이드(temozolomide), 이타라빈(ytarabine), 시토신(cytosine), 아라비노사이드, 플루오로우라실, 플록수리딘(floxuridine), 6-티오구아닌, 6-머캅토피린, 펜토스타틴, 5-플루오로우라실, 메토티렉세이트(methotrexate), 10-프로파르길-5,8-디데아자플레이트, 5,8-디데아자테트라히드로폴산, 류코보린(leucovorin), 플루다라빈(fludarabine) 포스페이트, 펜토스타틴, 겐시타빈(gemcitabine), Ara-C, 파클리탁셀, 도세탁셀(docetaxel), 데옥시코포르마이신, 미토마이신-C, L-아스파라기나제, 아자티오프린(azathioprine), 브레퀴나르(brequinar), 항생제(예, 안트라사이클린, 겐타마이신, 세팔로틴, 반코마이신, 텔라반신, 닙토마이신, 아지트로마이신, 에리트로마이신, 로시트로마이신, 푸라졸리돈, 아목시실린, 암피실린, 카르베니실린, 플루클록사실린, 메티실린, 페니실린, 시프로플록사신, 목시플록사신, 오픈록사신, 데옥시사이클린, 미모사이클릭, 옥시테트라사이클린, 테트라사이클린, 스트렙토마이신, 리파부틴, 에탐부톨, 리팍시민 등), 항바이러스 약물 (예, 아바카비르, 아사이클로비르, 암플리젠, 시도포비르, 델라비르딘, 디다노신, 에파비렌즈, 엔테카비르, 포스포네트, 간시클로비르, 이바시타빈, 이무노비르, 이독수리딘, 이노신, 로피나비르, 메티아존, 넥사비르, 네비라핀, 오셀타미비르, 펜사이클로비르, 스타부딘, 트리플루리딘, 트루바다, 발라사이클로비르, 자나미비르 등), 다우노루비신 히드로클로라이드, 다우노마이신, 루비도마이신, 세루비딘, 이다루비신, 독소루비신, 에피루비신 및 모르폴리노 유도체, 페녹시존 비스사이클로헥시드 (예, 닥티노마이신), 염기성 글리코헥시드 (예, 블레오마이신), 안트라퀴논 글리코시드 (예, 플리카마이신, 미트라마이신), 안트라세네디온 (예, 미토크산트론), 아지리노피롤로 인돌디온 (예, 미토마이신), 거대환식 면역억제제 (예, 사이클로스포린, FK-506, 타크로리무스, 프로그래프, 라파마이신 등), 나벨렌, CPT-11, 아나스트라졸, 레트라졸, 카페시타빈, 레록사핀, 사이클로포스파미드, 이포사미드, 드록록사핀, 알로콜키신, 할리콘드린 B(Halichondrin B), 콜키신(colchicine), 콜키신 유도체, 메이탄신, 리족신(rhizoxin), 파클리탁셀, 파클라탁셀 유도체, 도세탁셀, 티오킨, 트리틸 시스테린, 빈블라스틴 술페이트, 빈크리스틴 술페이트, 시스플라틴, 카르보플라틴, 히드록시우레아, N-메틸히드라진, 에피도필로톡신, 프로카르바진, 미토크산트론, 류코보린, 및 테가푸르(tegafur)가 있다. "택산(Taxanes)"은 파클리탁셀, 뿐만 아니라 임의의 활성 택산 유도체 또는 프로드럭을 포함한다.

[0344]

본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 질병 또는 상태 증상을 완화, 약화 또는 개선, 추가적인 증상을 방지, 증상의 기저 대사적 원인을 개선 또는 방지, 질병 또는 상태를 억제, 예를 들어 질병 또는 상태의 발달을 정지시킴, 질병 또는 상태를 줄여줌(relieving), 질병 또는 상태를 퇴행시킴, 질병 또는 상태에 의해 발생된 상태를 줄여줌, 또는 질병 또는 상태의 증상을 중단시킴을 포함한다. 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 비제한적으로, 예방적 및/또는 치료적 처치를 포함한다.

[0345]

본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "수용성 폴리머"는 수성 용매중에 가용성인 임의의 폴리머를 언급한다. 그러한 수용성 폴리머로는 비제한적으로, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드, 이의 모노 C₁-C₁₀ 알콕시 또는 아릴옥시 유도체 (본 명세서에서 참고로 포함되는 미국 특허 제5,252,714호에 기재되어

있음), 모노메톡시-폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리비닐 알코올, 폴리아미노산, 디비닐에테르 말레산 무수물, N-(2-히드록시프로필)-메타크릴아미드, 텍스트란, 텍스트란 술포이트를 포함한 텍스트란 유도체, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 코폴리머, 폴리옥시에틸레이트화된 폴리올, 헤파린, 헤파린 단편, 폴리사카라이드, 올리고사카라이드, 글리칸, 비제한적으로 메틸셀룰로오스 및 카르복시메틸 셀룰로오스를 포함한, 셀룰로오스 및 셀룰로오스 유도체, 혈청 알부민, 전분 및 전분 유도체, 폴리펩티드, 폴리알킬렌 글리콜 및 이의 유도체, 폴리알킬렌 글리콜의 코폴리머 및 이의 유도체, 폴리비닐 에틸 에테르, 및 알파-베타-폴리(2-히드록시에틸)-DL-아스파르트아미드 등, 또는 이들의 혼합물이 있다. 단지 예로서, 그러한 수용성 폴리머를 천연 아미노산 폴리펩티드 또는 비-천연 폴리펩티드에 커플링시키면 비제한적으로, 수용성이 증가되고, 혈청 반감기가 증가되거나 조절되며, 변형되지 않은 형태와 비교하여 치료 반감기가 증가되거나 조절되고, 생체이용가능성이 증가되며, 생물학적 활성이 조절되고, 순환시간이 연장되며, 면역원성이 조절되고, 비제한적으로, 응집 및 다합체(multimer) 형성, 변화된 수용체 결합, 1개 이상의 결합 파트너로의 변화된 결합, 및 변화된 수용체 이합체화 또는 다합체화를 포함하는 물리적 연계 특징이 조절되는 것을 포함한 변화가 발생할 수 있다. 또한, 그러한 수용성 폴리머는 이들 자체의 생물학적 활성을 가질 수 있거나 가질 수 없다.

[0346] 달리 표시되지 않는 한, 당해 기술내에서, 질량 분광학, NMR, HPLC, 단백질 화학, 생화학, 재조합 DNA 기술 및 약리학의 통상적인 방법이 사용된다.

[0347] 본 명세서에서 제공되는 화합물 (비제한적으로, 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 및 전술한 화합물을 생산하기 위한 시약을 포함)은 동위원소-표지된 화합물을 포함하는데, 이는 1개 이상의 원자가 자연에서 통상적으로 발견되는 원자량 또는 질량수와 다른 원자량 또는 질량수를 갖는 원자로 대체된다는 사실을 제외하고는 본 명세서에 제시된 다양한 식 및 구조로 인용되는 것들과 동일하다. 본 발명의 화합물에 포함될 수 있는 동위원소의 예로 각각 ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl 와 같은, 수소, 탄소, 질소, 산소, 불소 및 염소의 동위원소를 포함한다. 본 명세서에 기재된 특징의 동위원소-표지된 화합물, 예를 들면, ^3H 및 ^{14}C 와 같은 방사성 동위원소가 혼입되어 있는 것들은 약물 및/또는 기질 조직 분배 검정법에 유용하다. 또한, 중수소, 즉, ^2H 와 같은 동위원소는 더 큰 대사 안정성, 예를 들어, 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요구조건으로부터 발생하는 특징의 치료적 장점이 제공될 수 있다.

[0348] 본 명세서에서 화합물 중 일부 (비제한적으로, 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 및 전술한 화합물을 생산하기 위한 시약을 포함하여)는 비대칭 탄소 원자를 가지며 따라서 거울상이성체(enantiomers) 또는 부분입체이성체로 존재할 수 있다. 부분입체이성체 혼합물은 이들의 물리적 화학적 차이를 근거로 공지된 방법, 예를 들면, 크로마토그래피 및/또는 분별결정에 의해 이들의 개별적 부분입체이성체로 분리될 수 있다. 거울상이성체는 거울상이성체 혼합물을 적합한 광학 활성 화합물 (예, 알코올)과 반응시켜 부분입체이성체 혼합물로 전환시키고, 상기 부분입체이성체를 분리시켜 상기 개별적 부분입체이성체를 대응하는 순수한 거울상이성체로 전환 (예, 가수분해)시킴으로써 분리될 수 있다. 부분입체이성체, 거울상이성체, 및 이들의 혼합물을 포함하여, 그러한 모든 이성체는 본 명세서에 기재된 조성물의 일부로 인정된다.

[0349] 추가적인 또는 추가의 실시양태로, 본 명세서에 기재된 화합물 (비제한적으로 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 및 전술한 화합물을 생산하기 위한 시약을 포함하여)이 프로드럭의 형태로 사용된다. 추가적인 또는 추가의 실시양태로, 본 명세서에 기재된 화합물 (비제한적으로 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 및 전술한 화합물을 생산하기 위한 시약을 포함하여)이 필요로 하는 유기체에 투여시 대사되어 대사물질을 생산한 다음 사용되어 목적하는 치료 효과를 포함한, 목적하는 효과를 생산한다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 화합물이 비-천연 아미노산 및 "변형된 또는 변형되지 않은" 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 활성 대사물질이다.

[0350] 본 명세서에 기재된 방법 및 제형은 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 N-옥사이드, 결정형 (다형태로도 알려져 있음), 또는 약학적으로 허용되는 염의 용도를 포함한다. 특징의 실시양태로, 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 호변이성체로 존재할 수 있다. 모든 호변이성체가 본 명세서에 제시된 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 범주내에 포함된다. 또한, 본 명세서에 기재된 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드는 용매화되지 않은 형태 뿐만 아니라 물, 에탄올 등과 같은 약학적으로 허용되는 용매에 의해 용매화된 형태로 존재할 수 있다. 본 명세서에 기재된 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 용매화된

형태는 또한 본 명세서에 개시되는 것으로 인정된다.

- [0351] 본 명세서에서 화합물 중 일부 (비제한적으로, 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 및 전술한 화합물을 생산하기 위한 시약을 포함하여)는 수개의 호변이성체 형태로 존재할 수 있다. 그러한 모든 호변이성체 형태는 본 명세서에 기재된 조성물의 일부로 인정된다. 또한, 예를 들어, 임의의 화합물 (비제한적으로, 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 및 전술한 화합물을 생산하기 위한 시약을 포함하여)의 모든 에놀-케토 형태는 본 명세서에 기재된 조성물의 일부로 인정된다.
- [0352] 본 명세서에서 화합물 중 일부 (비제한적으로, 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 및 전술한 화합물을 생산하기 위한 시약을 포함하여)는 산성이며 약학적으로 허용되는 양이온과 염을 형성할 수 있다. 본 명세서에서 화합물 중 일부 (비제한적으로, 비-천연 아미노산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드 및 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 및 전술한 화합물을 생산하기 위한 시약을 포함하여)는 염기성이며 따라서 약학적으로 허용되는 음이온과 염을 형성할 수 있다. 이-염(di-salts)을 포함하여, 그러한 모든 염은 본 명세서에 기재된 조성물의 범주내에 있으며 이들은 통상적인 방법으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 산성 및 염기성 본체를 수성, 비-수성 또는 부분적으로 수성인 배지에서 접촉시킴으로써 염이 제조될 수 있다. 염은 다음 기술중 적어도 하나를 사용하여 회수한다: 여과, 비-용매로 침전시킨 다음 여과, 용매의 증발, 또는 수용액의 경우, 동결건조.
- [0353] 모체 비-천연 아미노산 폴리펩티드에 존재하는 산성 양성자가 알칼리 금속 이온, 알칼리 토금속 이온, 또는 알루미늄 이온에 의해 금속 이온으로 대체되거나; 유기 염기와 배위결합할 때 본 명세서에 개시된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 약학적으로 허용되는 염이 형성될 수 있다. 또한, 개시된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 염 형태는 출발 물질 또는 중간체의 염을 사용하여 제조할 수 있다. 본 명세서에 기재된 비-천연 아미노산 폴리펩티드는 본 명세서에 기재된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 유리 염기 형태를 약학적으로 허용되는 무기 또는 유기산과 반응시킴으로써 약학적으로 허용되는 산부가염 (이는 약학적으로 허용되는 염의 타입임)으로 제조될 수 있다. 달리, 본 명세서에 기재된 비-천연 아미노산 폴리펩티드는 본 명세서에 기재된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 유리 산 형태를 약학적으로 허용되는 무기 또는 유기 염기와 반응시킴으로써 약학적으로 허용되는 염 기부가염 (이는 약학적으로 허용되는 염의 타입임)으로 제조될 수 있다.
- [0354] 약학적으로 허용되는 염의 타입으로는, 비제한적으로, 하기와 같은 것들이 있다: (1) 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등과 같은 무기산과 형성되거나; 아세트산, 프로피온산, 헥사노산, 사이클로펜탄프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 락트산, 말론산, 숙신산, 말산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 3-(4-히드록시벤조일)벤조산, 신남산, 만델산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 1,2-에탄술폰산, 2-히드록시에탄술폰산, 벤젠술폰산, 2-나프탈렌술폰산, 4-메틸비사이클로-[2,2,2]옥트-2-엔-1-카르복실산, 글루코헵톤산, 4,4'-메틸렌비스-(3-히드록시-2-엔-1-카르복실산), 3-페닐프로피온산, 트리메틸아세트산, 3급 부틸아세트산, 라우릴 황산, 글루콘산, 글루탐산, 히드록시나프토산, 살릴산, 스테아르산, 묶은산 등과 같은 유기산과 형성된 산 부가염; (2) 모체 화합물에 존재하는 산성 양성자가 금속 이온, 예를 들면, 알칼리 금속 이온, 알칼리 토금속 이온, 또는 알루미늄 이온으로 대체되거나; 유기 염기와 배위결합될 때 형성되는 염. 허용되는 유기 염기로는 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 트로메타민, N-메틸글루카민 등이 있다. 허용되는 무기 염기로는 수산화알루미늄, 수산화칼슘, 수산화칼륨, 탄산나트륨, 수산화나트륨 등이 있다.
- [0355] 비-천연 아미노산 폴리펩티드 약제학적 허용가능한 염의 대응하는 카운터이온은 비제한적으로, 이온 교환 크로마토그래피, 이온 크로마토그래피, 모세관 전기영동법, 유도결합플라즈마(inductively coupled plasma), 원자흡수 분광학, 질량 분광학, 또는 이들의 조합을 포함하는 다양한 방법을 사용하여 분석하고 확인할 수 있다. 또한, 그러한 비-천연 아미노산 폴리펩티드 약제학적 허용가능한 염의 치료적 활성은 실시예 87-91에 기재된 기술과 방법을 사용하여 시험할 수 있다.
- [0356] 염에 대한 언급은 이들의 용매 부가 형태 또는 결정 형태, 특히 용매화물 또는 다형태를 포함하는 것임을 알아야 한다. 용매화물은 화학양론적 또는 비-화학양론적 양의 용매를 함유하며, 흔히 물, 에탄올 등과 같은 약학적으로 허용되는 용매를 사용한 결정화 과정 중에 형성된다. 수화물은 용매가 물일 때 형성되며, 알코올레이트는 용매가 알코올일 때 형성된다. 다형태는 화합물의 동일한 원소 조성의 상이한 결정 패킹 배열 (crystal packing arrangements)을 포함한다. 다형태는 흔히 상이한 X-선 회절 패턴, 적외선 스펙트럼, 융점, 밀도, 경도, 결정 형태, 광학 및 전기적 특성, 안정성, 및 가용성을 갖는다. 재결정화 용매, 결정화 속도, 및 보관 온도와 같은 다양한 인자가 단일 결정형이 우세해지도록 할 수 있다.

[0357]

비-천연 아미노산 폴리펩티드 약제학적 허용가능한 염 다형태 및/또는 용매화물의 스크리닝 및 특징화는 비제한적으로, 열적 분석, x-선 회절법, 분광학, 증기 흡착, 및 현미경관찰을 포함한, 다양한 기술을 사용하여 수행할 수 있다. 열적 분석 방법은 열적 화학적 분해 또는 열적 물리적 공정에 맞춘것으로, 다형태 전이를 포함하지만 이로 제한되는 것은 아니며, 그러한 방법은 다형태성 형태간의 관계를 분석하고, 중량 손실을 측정하며, 유리 전이 온도를 알아내거나, 부형제 화합성 연구를 위하여 사용된다. 그러한 방법으로는, 비제한적으로, 차동주사 열량측정법(DSC), 조절식 차동주사열량측정법(MDSC), 열 중량 분석(TGA: thermogravimetric analysis), 및 열 중량 및 적외선 분석법(TG/IR)이 있다. X-선 회절 방법은 비제한적으로, 단일 결정 및 분말 회절분석기 및 싱크로트론 공급원을 포함한다. 사용되는 다양한 분광학 기술은 비제한적으로, Raman, FTIR, UVIS, 및 NMR(액체 및 고체 상태)을 포함한다. 다양한 현미경 기술은 비제한적으로 편광 현미경, 에너지 분산형 X-선 분석기(Energy Dispersive X-Ray Analysis:EDX)가 장착되어 있는 주사 전자 현미경(Scanning Electron Microscopy:SEM), EDX가 장착되어 있는 환경 주사 전자 현미경(Environmental Scanning Electron Microscopy)(가스 또는 수증기 대기중), IR 현미경, 및 Raman 현미경을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0358]

본 발명의 신규한 특징이 첨부되는 특허청구의 범위에 상세하게 기재되어 있다. 본 발명의 원리를 이용하는 설명적인 실시양태가 기재되어 있는 하기의 상세한 설명, 및 첨부되는 도면을 참고로 본 발명의 특징과 장점을 보다 잘 이해하게 될 것이다:

도 1은 Her2 수용체로의 Her-Tox 결합의 그래프 설명을 나타낸다.

도 2는 ELISA 분석법으로 측정한 항-Her2 변이체 발현의 그래프 설명을 나타낸다.

도 3은 ELISA 분석법으로 측정한 항-Her2 변이체 발현의 그래프 설명을 나타낸다.

도 4는 HCC 1954 유방암 세포주와 돌라스타틴 링커 유도체를 사용한 세포 증식 검정법의 그래프 설명을 나타낸다.

도 5는 HCC 1954 유방암 세포주와 트라스투주마브(trastuzumab)-tox 접합체를 사용한 세포 증식 검정법 분석의 그래프 설명을 나타낸다.

도 6은 SKOV-3 난소암 세포주와 돌라스타틴 링커 유도체를 사용한 세포 증식 검정법 분석의 그래프 설명을 나타낸다.

도 7은 SKOV-3 난소암 세포주와 트라스투주마브(trastuzumab)-tox 접합체를 사용한 세포 증식 검정법 분석의 그래프 설명을 나타낸다.

도 8은 MDA-MB-468 유방암 세포주와 돌라스타틴 링커 유도체를 사용한 세포 증식 검정법의 그래프 설명을 나타낸다.

도 9는 MDA-MB-468 유방암 세포주와 트라스투주마브(trastuzumab)-tox 접합체를 사용한 세포 증식 검정법 분석의 그래프 설명을 나타낸다.

도 10은 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 단일 IC 투약 (3.3 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg) 후 종양 부피 측정 (mm³)의 그래프 설명을 나타낸다.

도 11은 SD 래트 혈청 중 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 농도 측정에 사용되는 검정법 포맷을 나타낸다.

도 12는 단일 IV 주사 후 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 혈청 농도 (ng/ml)의 그래프 설명을 나타낸다.

도 13은 단일 IV 주사 후 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 혈청 농도 (ng/ml)의 그래프 설명을 나타낸다. 이 검정법은 ErbB2 수용체에 대한 항체 결합을 검출한다.

도 14는 단일 IV 주사 후 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 혈청 농도 (ng/ml)의 그래프 설명을 나타낸다. 생체내 안정성 측정으로 적어도 2개의 트라스투주마브에 연결된 돌라스타틴 유도체를 검출한다.

도 15는 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체로 치료 후 래트 체중 및 종양 부피에서의 변화에 대한 그래프 설명이다.

도 16은 SCID-bg 마우스에서 HCC1954의 확립된 종양에 대한 트라스투주마브, Her2-HS122-NCD1 및 Her2-HS122/LK145-HCD1의 항-종양 효과의 그래프 설명을 나타낸다. 마우스에게 1일째(화살표)에 단일 IV 주사로 투여하였다. 데이터 점은 그룹 평균 종량 부피를 나타내며 오차 막대(error bars)는 평균의 표준 오차(SEM)를 나타낸다.

도 17은 MDA361DYT2 유방(2+) 이종이식 모델에서의 돌라스타틴 링커 유도체의 항-종양 효과의 그래프 설명을 나타낸다.

도 18은 MDA361DYT2 유방(2+) 이종이식 모델에서의 돌라스타틴 링커 유도체의 항-종양 효과의 그래프 설명을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0359] 본 발명의 바람직한 실시양태가 본 명세서에서 제시되고 설명되었지만, 당해 분야의 숙련가에게는 그러한 실시양태가 단지 예로서 제공되는 것임이 자명할 것이다. 이제 본 발명으로부터 벗어나지 않고도 당해 분야의 숙련가에게 수많은 변형, 변화, 및 치환이 일어날 것이다. 본 명세서에 기재된 본 발명의 실시양태에 대한 다양한 대안책이 본 발명을 실시하는데 사용될 수 있음을 알아야 한다. 하기 특허청구의 범위는 본 발명의 범주를 규정하며 이들 특허청구의 범위의 범주내의 방법 및 구조식 및 이들의 등가물은 특허청구의 범위에 의해 포함된다.

I. 서론

[0361] 최근에, 단백질 과학에서 전혀 새로운 기술이 보고되었는데, 이는 단백질의 부위-특이적 변형과 관련한 수많은 단점의 극복을 예고한다. 상세하게는, 새로운 성분을 원핵생물 에셰리키아 콜리(*Escherichia coli*: E. coli)(예를 들면, L. Wang et al., (2001), *Science* 292:498-500) 및 진핵생물 사카로미세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*: S. cerevisiae)(예를 들면, J. Chin et al., *Science* 301:964-7 (2003))의 단백질 생합성 시스템(protein biosynthetic machinery)에 첨가하였는데, 이로써 비-천연 아미노산을 생체내에서 단백질내로 혼입시킬 수 있게 되었다. 광친화성 표지물 및 광이성체화가능한 아미노산, 케토 아미노산, 및 글리코실화된 아미노산을 포함한, 신규한 화학적, 물질적 또는 생물학적 특성을 갖는 수많은 새로운 아미노산을 효율적이고 높은 정확도를 갖고 앰버 코돈인 TAG에 대한 반응으로, 상기 방법론을 사용하여 이. 콜리 및 효모중의 단백질내로 혼입시켰다. 예를 들어, J. W. Chin et al., (2002), *Journal of the American Chemical Society* 124:9026-9027 (전문 참고로 포함됨); J. W. Chin, & P. G. Schultz, (2002), *ChemBioChem* 3(11):1135-1137 (전문 참고로 포함됨); J. W. Chin, et al., (2002), *PNAS United States of America* 99(17):11020-11024 (전문 참고로 포함됨); 및, L. Wang, & P. G. Schultz, (2002), *Chem. Comm.*, 1-11 (전문 참고로 포함됨)를 참고한다. 20개의 통상의, 유전자에 의해-암호화된 아미노산에서 발견되는 모든 작용성기에 대해 화학적으로 불활성이며 이를 사용하여 효율적이고 선택적으로 반응시켜 안정한 공유결합 연결기를 형성할 수 있는, 단백질에서 발견되지 않은 화학적 작용성기를 선택적이고 일상적으로 도입시킬 수 있음이 이들 연구로 증명되었다.

II. 개요

[0363] 적어도 1개의 카르보닐, 디카르보닐, 옥심, 히드록실아민, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아지드, 아미딘, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 알킨, 사이클로알킨, 또는 엔-디온을 포함하는 돌라스타틴 링커 유도체 또는 유사체를 생성시키고 사용하기 위한 도구(방법, 조성물, 기술)가 하나의 차원(level)으로 본 명세서에 기재된다. 다른 차원으로, 적어도 1개의 비-천연 아미노산 또는 변형된 비-천연 아미노산을 옥심, 방향족 아민, 헤테로사이클 (예, 인돌, 퀴놀살린, 페나진, 피라졸, 트리아졸 등)과 함께 포함하는 돌라스타틴 링커 유도체 또는 유사체를 생성시키고 사용하기 위한 도구(방법, 조성물, 기술)가 본 명세서에 기재된다.

[0364] 비-천연 아미노산을 포함하는 그러한 돌라스타틴 링커 유도체는 비제한적으로, 폴리머; 수용성 폴리머; 폴리에틸렌 글리콜의 유도체; 제2 단백질 또는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 유사체; 항체 또는 항체 단편; 및 임의의 이들의 조합물을 포함하는, 추가의 작용성을 함유할 수 있다. 상기 기술한 다양한 작용성은 하나의 작용성의 일원(members)이 다른 작용성의 일원으로 분류될 수 없다는 것을 암시하는 것을 의미하는 것이 아님을 알아야 한다. 사실, 특정 상황에 따라 중복될 수 있다. 단지 예로서, 수용성 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜의 유도체와 범주에 있어서 중복될 수 있지만, 이런 중복은 완전한 것이 아니며 따라서 두 작용성 모두 상기에 인용되어 있다.

[0365] 일부 실시양태로, 카르보닐, 디카르보닐, 옥심, 히드록실아민, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아지드, 아미딘, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 알킨,

사이클로알킨, 또는 엔-디온을 포함하는 독성기 링커 유도체가 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시양태로, 상기 독성기 유도체가 본 명세서에 개시된 임의의 링커를 포함한다. 다른 실시양태로, 적어도 1개의 비-천연 아미노산 또는 변형된 비-천연 아미노산을 옥심, 방향족 아민, 헤테로사이클 (예, 인돌, 퀴놀살린, 페나진, 피라졸, 트리아졸 등)과 함께 포함하는 도라스타틴 링커 유도체 또는 유사체를 생성시키고 사용하기 위한 도구 (방법, 조성물, 기술)가 본 명세서에서 제공된다.

[0366] 일부 실시양태로, 비-천연 아미노산을 포함하는 그러한 독성 유도체가 비제한적으로, 폴리머; 수용성 폴리머; 폴리에틸렌 글리콜의 유도체; 제2 단백질 또는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 유사체; 항체 또는 항체 단편; 및 임의의 이들의 조합물을 포함하는, 추가의 작용성을 함유할 수 있다. 구체적인 실시양태로, 상기 독성기가 도라스타틴 또는 아우리스타틴(auristatin)이다. 특정의 구체적인 실시양태로, 상기 독성기가 도라스타틴-10이다. 전술한 다양한 작용성이 하나의 작용성의 일원(members)이 다른 작용성의 일원으로 분류될 수 없다는 것을 암시하는 것을 의미하는 것이 아님을 알아야 한다. 사실, 특정 상황에 따라 중복될 수 있다. 단지 예로서, 수용성 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜의 유도체와 범주에 있어서 중복될 수 있지만, 이런 중복은 완전한 것이 아니며 따라서 두 작용성 모두 상기에 인용되어 있다.

[0367] 본 발명의 특정 실시양태는 생체내에서 독성 부위의 독성을 감소시키는 한편 상기 독성 부위는 약리학적 활성을 유지하고 있는 링커를 갖는 특정의 독성 부위의 체제를 기재하고 있다. 일부 실시양태로, 상기 연결된 독성기의 독성은, 동물 또는 인간에게 투여되었을 때, 유리 독성기 또는 불안정한 연결기를 포함하는 독성기 유도체와 비교할 때 감소되거나 제거되는 한편, 약리학적 활성은 유지하고 있다. 일부 실시양태로, 상기 연결된 독성기 (예, 도라스타틴 링커 유도체, 비-천연 아미노산 연결된 도라스타틴 유도체)의 증가된 투여량이 더 큰 안전성을 갖고 동물 또는 인간에게 투여될 수 있다. 특정의 실시양태로, 독성 부위 (예, 도라스타틴 유도체)에 연결된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 시험관내 및 생체내 안정성을 제공한다. 일부 실시양태로, 독성 부위 (예, 도라스타틴-10 유도체)에 연결된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 유리 독성 부위 (예, 도라스타틴-10)와 비교하여 효과적이고 독성이 덜하다.

[0368] III. 도라스타틴 링커 유도체

[0369] 하나의 차원으로, 적어도 1개의 비-천연 아미노산 또는 변형된 비-천연 아미노산을 카르보닐, 디카르보닐, 옥심 또는 히드록실옥심과 함께 포함하는 도라스타틴 링커 유도체 또는 유사체를 생성시키고 사용하기 위한 도구 (방법, 조성물, 기술)가 본 명세서에 기재된다. 비-천연 아미노산을 포함하는 상기과 같은 도라스타틴 링커 유도체는 비제한적으로, 폴리머; 수용성 폴리머; 폴리에틸렌 글리콜의 유도체; 제2 단백질 또는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 유사체; 항체 또는 항체 단편; 및 임의의 이들의 조합물을 포함하는, 추가의 작용성을 함유할 수 있다. 전술한 다양한 작용성이 하나의 작용성의 일원(members)이 다른 작용성의 일원으로 분류될 수 없다는 것을 암시하는 것을 의미하는 것이 아님을 알아야 한다. 사실, 특정 상황에 따라 중복될 수 있다. 단지 예로서, 수용성 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜의 유도체와 범주에 있어서 중복될 수 있지만, 이런 중복은 완전한 것이 아니며 따라서 두 작용성 모두 상기에 인용되어 있다.

[0370] 하나의 양태로, 상기 방법, 조성물 및 기술을 사용하여 변형시킬 도라스타틴 링커 유도체를 선택하고 디자인하는 방법이 본 명세서에 기재된다. 상기 새로운 도라스타틴 링커 유도체는 단지 예로서, 높은-처리량 스크리닝 공정 (이 경우에는 수많은 폴리펩티드가 디자인, 합성, 특징화 및/또는 시험될 수 있다)의 일부로서 또는 본 연구원의 관심을 근거로 새롭게 디자인될 수 있다. 상기 새로운 도라스타틴 링커 유도체는 또한 공지의 또는 부분적으로 특징화된 폴리펩티드의 구조를 기본으로 디자인될 수 있다. 단지 예로서, 도라스타틴은 과학계에 의한 집중적인 연구의 과제였으며; 새로운 화합물은 도라스타틴의 구조를 기본으로 디자인될 수 있다. 치환시키고/시키거나 변형시킬 아미노산(들)을 선택하는 원리는 본 명세서에서 별도로 설명된다. 사용할 변형의 선택도 본 명세서에 설명되며, 이를 사용하여 실험자 또는 최종 사용자의 수요(needs)를 만족시킬 수 있다. 상기과 같은 수요는 비제한적으로, 폴리펩티드의 치료 효과를 조작하는 것, 폴리펩티드의 안전성 프로필을 개선시키는 것, 폴리펩티드의 약물동태학, 약리학 및/또는 약물동력학을, 단지 예로서 수용성, 생체이용가능성의 증가, 혈청 반감기의 증가, 치료 반감기의 증가, 면역원성의 조절, 생물학적 활성의 조절, 또는 순환시간의 연장과 같은 방법으로 조절하는 것을 포함할 수 있다. 또한, 상기과 같은 변형은 단지 예로서, 폴리펩티드에 추가적인 작용성을 제공, 항체를 혼입시킴, 및 전술한 변형 중 임의의 조합을 포함할 수 있다.

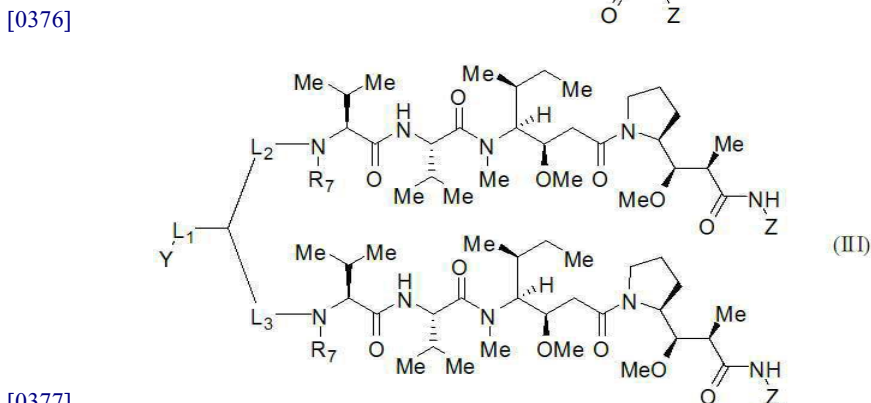
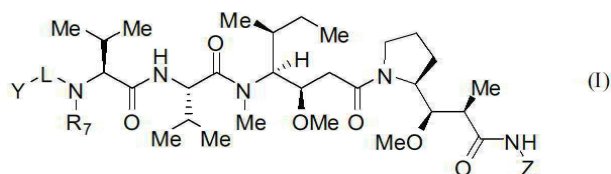
[0371] 옥심, 카르보닐, 디카르보닐, 또는 히드록실아민기를 갖는 또는 함유하도록 변형시킬 수 있는 도라스타틴 링커 유도체가 또한 본 명세서에 기재된다. 이 양태에는 그러한 도라스타틴 링커 유도체를 생산, 정제, 특징화 및 사용하기 위한 방법이 포함된다.

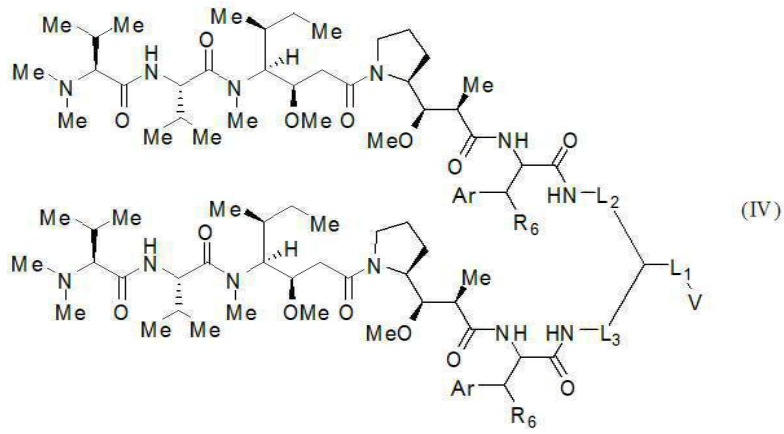
[0372] 상기 돌라스타틴 링커 유도체는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 또는 10개 이상의 카르보닐 또는 디카르보닐기, 옥심기, 히드록실아민기, 또는 이들의 보호된 형태를 함유할 수 있다. 상기 돌라스타틴 링커 유도체는 동일하거나 상이할 수 있으며, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상의 상이한 반응성기를 포함하는 유도체중에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상의 상이한 부위가 존재할 수 있다.

[0373] **A. 돌라스타틴 링커 유도체의 구조 및 합성: 친전자성 및 친핵성기**

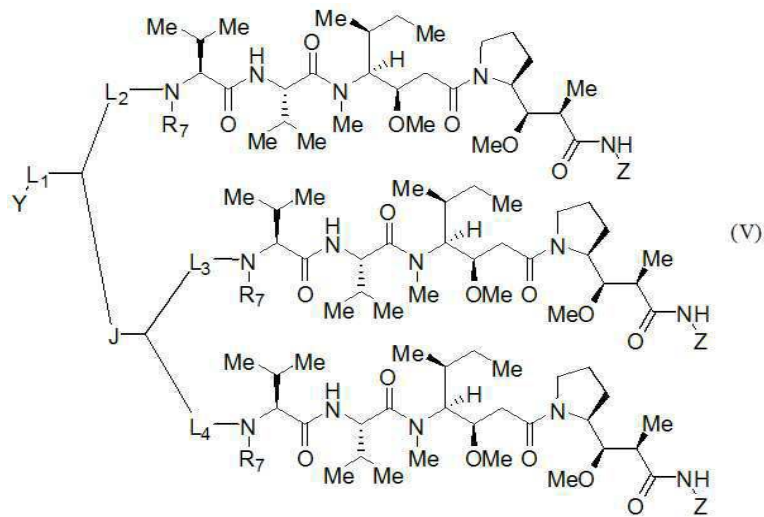
[0374] 히드록실아민(아미노옥시로도 불리워짐)기를 함유하는 링커가 있는 돌라스타틴 유도체는 다양한 친전자성기와 반응하여 접합체 (비제한적으로, PEG 또는 기타 수용성 폴리머를 포함)를 형성하도록 한다. 히드라진, 히드라지드 및 세미카르바지드와 같이, 상기 아미노옥시기의 향상된 친핵성(nucleophilicity)은 비제한적으로 케톤, 알데히드 또는 유사한 화학 반응성을 갖는 기타 작용기를 포함한, 카르보닐- 또는 디카르보닐-기를 함유하는 다양한 분자와 효율적이고 선택적으로 반응하도록 한다. 예를 들어, Shao, J. and Tam, J., J.Am.Chem.Soc.117:3893-3899(1995); H. Hang and C. Bertozzi, Acc.Chem. Res.34(9):727-736(2001)을 참고한다. 히드라진기와와의 반응 결과가 상응하는 히드라존이지만, 아미노옥시기와 예로서, 케톤, 알데히드 또는 유사한 화학 반응성을 갖는 기타 작용기와 같은 카르보닐- 또는 디카르보닐기와의 반응으로부터는 일반적으로 옥심이 생성된다. 일부 실시양태로, 아지드, 알킨 또는 사이클로알킨을 포함하는 링커가 있는 돌라스타틴 유도체는 고리화첨가 반응(cycloaddition reaction; 예를 들면, 1,3-이극성 고리화첨가 반응, 아지드-알킨 Huisgen 고리화첨가 반응 등)을 통하여 분자가 연결되도록 한다. (미국 특허 제7,807,619호에 기재되어 있으며, 상기 반응에 대한 정도로 본 명세서에서 참고로 인용됨).

[0375] 따라서, 특정 실시양태로 히드록실아민, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아미딘, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 및 엔-디온 히드록실아민기, 히드록실아민-유사 기 (이는 히드록실아민기와 유사한 반응성을 가지며 히드록실아민기와 구조적으로 유사하다), 차폐된 히드록실아민기 (이는 히드록실아민기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 히드록실아민기 (이는 탈보호시 히드록실아민기와 유사한 반응성을 갖는다)를 포함하는 링커를 갖는 돌라스타틴 유사체가 본 명세서에 기재된다. 일부 실시양태로, 상기 링커를 갖는 돌라스타틴 유도체가 아지드, 알킨 또는 사이클로알킨을 포함한다. 그러한 돌라스타틴 링커 유도체는 하기 화학식 (I), (III), (IV), (V), 및 (VI)의 구조를 갖는 화합물을 포함한다:

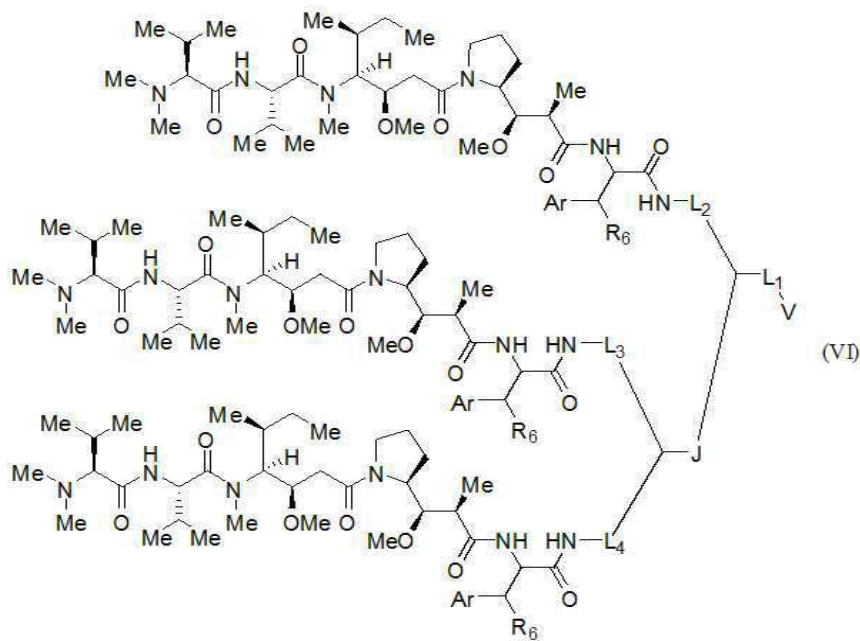




[0378]



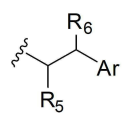
[0379]



[0380]

[0381] 상기 식에서

[0382] Z는 하기 구조



[0383]

를 가지며;

[0384] R_5 는 H, COR_8 , C_1-C_6 알킬, 또는 티아졸이고;

[0385] R_8 은 OH 또는 $-NH-(알킬렌-O)_n-NH_2$ 이며;

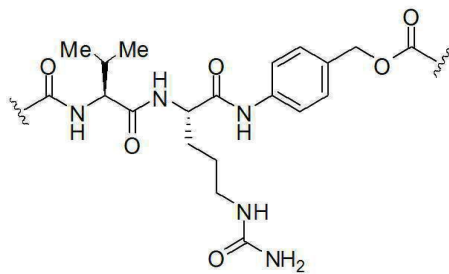
[0386] R_6 은 OH 또는 H이고;

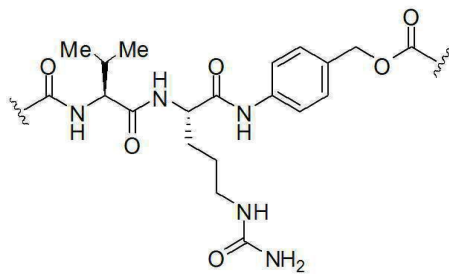
[0387] Ar는 페닐 또는 피리딘이며;

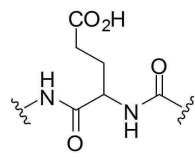
[0388] R_7 은 C_1-C_6 알킬 또는 수소이고;

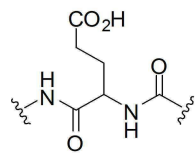
[0389] Y 및 V는 각각 히드록실아민, 메틸, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아지드, 아미드, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 알킨, 사이클로알킨, 및 엔-디온으로 이루어진 군으로부터 선택되며;

[0390] L, L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 는 각각 결합, $-알킬렌-$, $-알킬렌-C(O)-$, $-알킬렌-J-$, $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-$, $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-$, $-(알킬렌-O)_n-J-$, $-(알킬렌-O)_n-J-알킬렌$, $-(알킬렌-O)_n-(CH_2)_n'-NHC(O)-(CH_2)_n''-C(Me)_2-S-S-(CH_2)_n'''-NHC(O)-$, $-(알킬렌-O)_n'''-알킬렌$, $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-$, $-알킬렌-C(O)-W-$, $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-$, $-알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-$, $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌'$, $-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-$, $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)'-알킬렌-J'-$, $-W-$, $-알킬렌-W-$, $-알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-$, $-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-$, $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-$, $-(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌$; $-J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌''-W-$, 및 $-알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌''-NMe-알킬렌'''-W-$ 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;

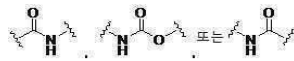


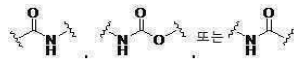
[0391] W는 의 구조를 가지고;



[0392] U는 의 구조를 가지고;

[0393] 각각의 J 및 J'는 서로 독립적으로



[0394] 의 구조를 가지거나;

[0395] 각각의 n, n', n'', n''' 및 n''''는 서로 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이거나; 또는

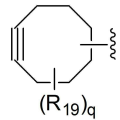
[0396] L이 부재하거나, Y가 메틸이고, R_5 가 COR_8 이고, R_8 이 $-NH-(알킬렌-O)_n-NH_2$ 이다.

[0397] 그러한 돌라스타틴 링커 유도체는 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0398] 화학식 (I), (III), 및 (V)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 티아졸 또는 카르복실산이다. 화학식 (I), (III), 및 (V)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 수소이다. 화학식 (I), (III), 및 (V)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, 이소-부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (I), (III), 및 (V)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 $-NH-(알킬렌-O)_n-NH_2$ 이고, 여기서 알킬렌은 독립적으로 $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$,

$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$,
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$
 이다. 화학식 (IV) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, R_5 가 $-\text{NH}-(\text{알킬렌-O})_n-\text{NH}_2$ 이고, 여기서 n 은 0, 1, 2,
 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29,
 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54,
 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79,
 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.

[0399] 일부 실시양태로, Y가 아지드이다. 다른 실시양태로, Y가 사이클로알킨이다. 구체적인 실시양태로, 상기 사이클로옥틴이 하기 구조식을 갖는다:



[0400]

[0401] (여기에서, R_{19} 는 C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, 에스테르, 에테르, 티오에테르, 아미노알킬, 할로젠, 알킬 에스테르, 알릴 에스테르, 아마이드, 알릴 아마이드, 알킬 할라이드, 알킬 아민, 알킬 술폰산, 알킬 니트로, 티오에스테르, 술폰일 에스테르, 할로술폰일, 니트릴, 알킬 니트릴, 및 니트로로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0402] q 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11임).

[0403] 화학식 (I), (III), 및 (V)의 화합물의 특성의 실시양태로, R_6 가 H이다. 화학식 (I), (III), 및 (V)의 화합물의 일부 실시양태로, R_6 가 히드록시이다.

[0404] 화학식 (I), (III), 및 (V)의 화합물의 특성의 실시양태로, Ar가 페닐이다.

[0405] 화학식 (I), (III), (IV), (V), 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, R_7 이 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, sec-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (I), (III), (IV), (V), 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, R_7 이 수소이다.

[0406] 화학식 (I), (III), 및 (V)의 화합물의 특성의 실시양태로, Y가 히드록실아민, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아마이드, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 또는 엔-디온이다.

[0407] 화학식 (IV) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, V가 히드록실아민, 메틸, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아마이드, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 및 엔-디온이다.

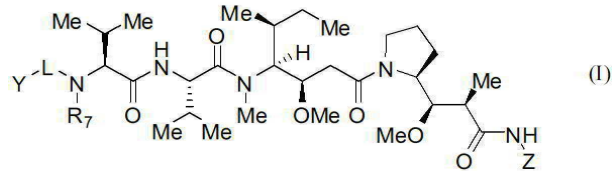
[0408] 화학식 (I), (III), (IV), (V), 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, 각각의 L , L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 가 서로 독립적으로 분해가능한 링커 또는 비-분해가능한 링커이다. 화학식 (I), (III), (IV), (V), 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, 각각의 L , L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 가 서로 독립적으로 올리고(에틸렌 글리콜) 유도체화된 링커이다.

[0409] 화학식 (I), (III), (IV), (V), 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, 각각의 알킬렌, 알킬렌', 알킬렌", 및 알킬렌"'이 독립적으로 $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 이다. 화학식 (XIV), (XV), (XVI), (XVII), 및 (XVIII)의 화합물의 특성의 실시양태로, 각각의 n , n' , n'' , n''' , 및 n'''' 이 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또

는 100이다.

[0410] **B. 돌라스타틴 링커 유도체의 구조 및 합성: 히드록실아민기**

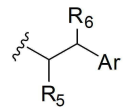
[0411] 따라서, 특정의 실시양태로, 히드록실아민기, 히드록실아민-유사기 (이는 히드록실아민기와 유사한 반응성을 가지며 히드록실아민기와 구조적으로 유사하다), 차폐된 히드록실아민기 (이는 히드록실아민기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 히드록실아민기 (이는 탈보호시 히드록실아민기와 유사한 반응성을 갖는다)를 포함하는 링커를 갖는 돌라스타틴 유사체가 본 명세서에 기재된다. 그러한 돌라스타틴 링커 유도체는 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물을 포함한다:



[0412]

[0413] 상기 식에서,

[0414] Z는 하기 구조



[0415] 를 가지며;

[0416] R₅는 H, COR₈, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

[0417] R₈은 OH 또는 -NH-(알킬렌-O)_n-NH₂이며;

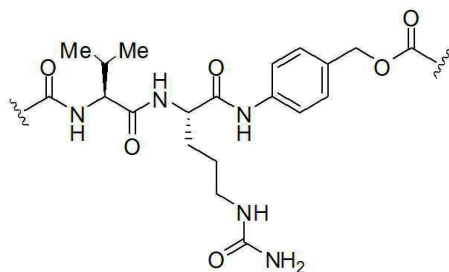
[0418] R₆은 OH 또는 H이고;

[0419] Ar는 페닐 또는 피리딘이며;

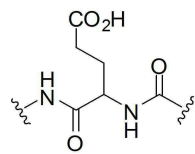
[0420] R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

[0421] Y는 NH₂-O- 또는 메틸이며;

[0422] L은 -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_n-NHC(O)-(CH₂)_n-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_n-NHC(O)-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, 및 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-으로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고;



[0423] W는 의 구조를 가지며;



[0424] U는 의 구조를 가지거나;

[0425] L이 부재하고, Y가 메틸이며, R₅가 COR₈이고, R₈이 -NH-(알킬렌-O)_n-NH₂이며;

- [0426] 각각의 n , n' , n'' , n''' 및 n'''' 은 독립적으로 1과 대응하거나 큰 정수이다. 그러한 도라스타틴 링커 유도체는 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.
- [0427] 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_5 가 티아졸이다. 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_5 가 수소이다. 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_5 가 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, 이소-부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_5 가 $-NH-(\text{알킬렌-O})_n-NH_2$ 이고, 여기서 알킬렌은 독립적으로 $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, 또는 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 이다. 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_5 가 $-NH-(\text{알킬렌-O})_n-NH_2$ 이고, 여기서 n 은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.
- [0428] 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_6 가 H이다. 화학식 (I)의 화합물의 일부 실시양태로, R_6 가 히드록실이다.
- [0429] 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, Ar가 페닐이다.
- [0430] 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_7 이 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, sec-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_7 이 수소이다.
- [0431] 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, Y가 히드록실아민, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아미딘, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 또는 엔-디온이다. 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, V가 히드록실아민, 메틸, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아미딘, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 및 엔-디온이다.
- [0432] 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 L이 독립적으로 분해가능한 링커 또는 비-분해가능한 링커이다. 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 L이 독립적으로 올리고(에틸렌 글리콜) 유도체화된 링커이다.
- [0433] 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, 알킬렌이 독립적으로 $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, 또는 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 이다. 화학식 (I)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 n , n' , n'' , n''' , 및 n'''' 이 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.

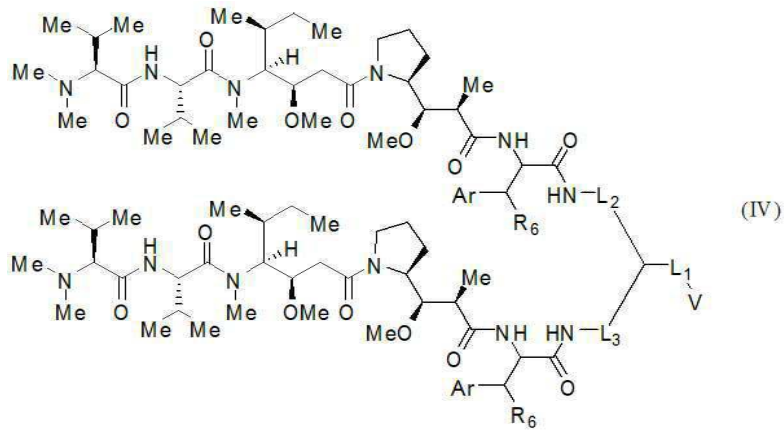


[0437] 화학식 (II)의 화합물의 특징의 실시양태로, 각각의 L이 독립적으로 분해가능한 링커 또는 비-분해가능한 링커이다. 화학식 (II)의 화합물의 특징의 실시양태로, 각각의 L이 독립적으로 올리고(에틸렌 글리콜) 유도체화된 링커이다.

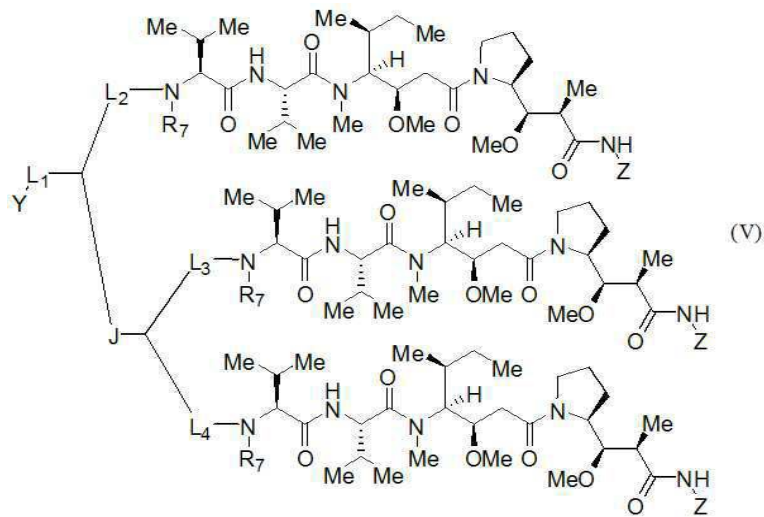
[0438] 화학식 (II)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₇이 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, sec-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (II)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₇이 수소이다.

[0440] 그러한 도라스타틴 링커 유도체는 화학식 (III), (IV), (V) 또는 (VI)의 구조를 갖는 화합물을 포함한다:

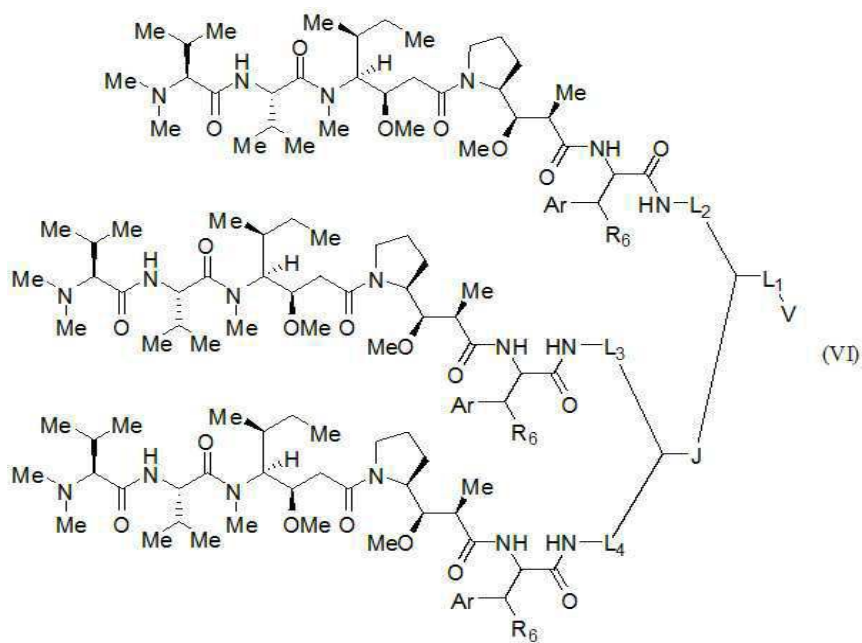




[0442]



[0443]

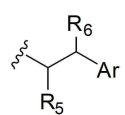


[0444]

[0445]

[0446]

상기 식에서,
Z는 하기 구조:



[0447]

를 가지며;

12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.

[0463] 화학식 (III), (IV), (V) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, R_6 가 H이다. 화학식 (III), (IV), (V) 및 (VI)의 화합물의 일부 실시양태로, R_6 가 히드록시이다.

[0464] 화학식 (III), (IV), (V) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, Ar가 페닐이다.

[0465] 화학식 (III), (IV), (V) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, R_7 이 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, sec-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (III), (IV), (V) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, R_7 이 수소이다.

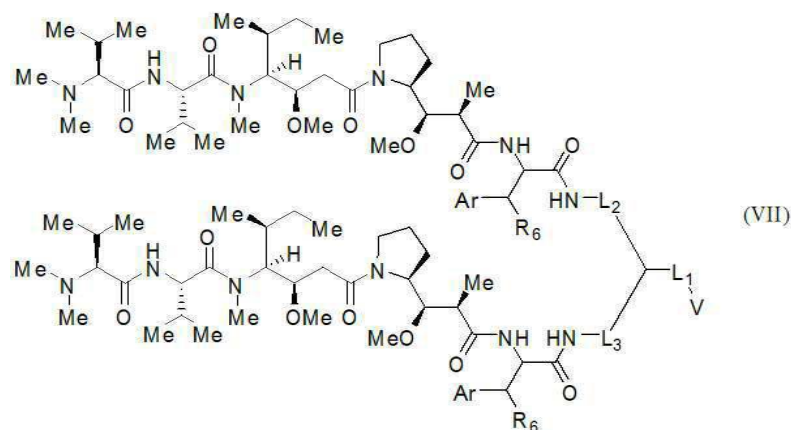
[0466] 화학식 (III) 및 (V)의 화합물의 특성의 실시양태로, Y가 히드록실아민, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아미딘, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 또는 엔-디온이다. 화학식 (IV) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, V가 히드록실아민, 메틸, 알데히드, 보호된 알데히드, 케톤, 보호된 케톤, 티오에스테르, 에스테르, 디카르보닐, 히드라진, 아미딘, 이민, 디아민, 케토-아민, 케토-알킨, 및 엔-디온이다.

[0467] 화학식 (XIV), (XV), (XVI), (XVII), 및 (XVIII)의 화합물의 특성의 실시양태로, 각각의 L , L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 가 독립적으로 분해가능한 링커 또는 비-분해가능한 링커이다. 화학식 (XIV), (XV), (XVI), (XVII), 및 (XVIII)의 화합물의 특성의 실시양태로, 각각의 L , L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 가 독립적으로 올리고(에틸렌 글리콜) 유도체화된 링커이다.

[0468] 화학식 (III), (IV), (V) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, 각각의 알킬렌, 알킬렌', 알킬렌'', 및 알킬렌'''이 독립적으로 $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 이다. 화학식 (III), (IV), (V) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, 알킬렌이 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 부틸렌, 펜틸렌, 헥실렌, 또는 헵틸렌이다.

[0469] 화학식 (III), (IV), (V) 및 (VI)의 화합물의 특성의 실시양태로, 각각의 n 및 n' 가 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.

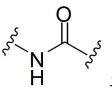
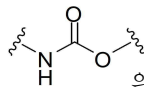
[0470] 특성의 실시양태로, 돌라스타틴 링커 유도체가 화학식 (VII)의 구조를 갖는 화합물을 포함한다:

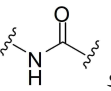


[0471]

[0472] 화학식 (VII)의 화합물의 특성의 실시양태로, L_1 이 $-(\text{알킬렌}-\text{O})_n-\text{알킬렌}-\text{J}-$ 이고, L_2 가 $-\text{알킬렌}'-\text{J}'-(\text{알킬렌}-$

O)'_n-알킬렌-이며, L₃가 -J''-(알킬렌-O)_n-알킬렌-이고, 알킬렌이 -CH₂CH₂-이며, 알킬렌'가 -(CH₂)₄-이고, n이 1

이며, n' 및 n''가 3이고, J가 의 구조를 가지며, J' 및 J''가 의 구조를 가지고, R₇이 메틸이다. 화학식 (VII)의 화합물의 특징의 실시양태로, L₁이 -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-이고, L₂가 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J'-알킬렌'-이며, L₃가 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J''-이고, 알킬렌이 -CH₂CH₂-이며, 알킬렌'가 -(CH₂)₄-이고, n

이 1이며, n' 및 n''가 4이고, J, J' 및 J''가 의 구조를 갖는다. 그러한 돌라스타틴 링커 유도체는 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0473] 특징의 실시양태로, 화학식 (I) 내지 (VII)의 화합물이 약한 산성인 조건하의 수용액에서 적어도 1개월 동안 안정하다. 특징의 실시양태로, 화학식 (I) 내지 (VII)의 화합물이 적어도 2주 동안 약한 산성인 조건하에서 안정하다. 특징의 실시양태로, 화학식 (I) 내지 (VII)의 화합물이 적어도 5일간 약한 산성인 조건하에서 안정하다. 특징의 실시양태로, 그러한 산성 조건이 pH 2 내지 8이다.

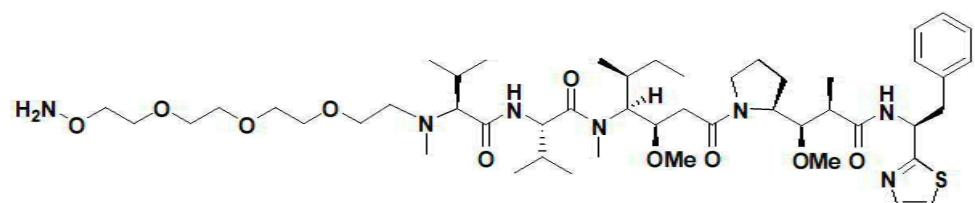
[0474] 본 명세서에서 제공되고 기재되는 방법 및 조성물은 적어도 1개의 카르보닐 또는 디카르보닐기, 옥심기, 히드록실아민기, 또는 이들의 보호된 또는 차폐된 형태를 함유하는 돌라스타틴 링커 유도체를 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 적어도 1개의 반응성기를 돌라스타틴 링커 유도체중으로 도입시키면 비제한적으로, 1개 이상의 돌라스타틴 링커 유도체(들)과 반응하는 반면, 통상의 아미노산과는 반응하지 않는 것을 포함하는, 특이적 화학 반응을 수반하는 접합 화학을 적용시킬 수 있다. 일단 혼입된 다음, 돌라스타틴 링커 유도체 측쇄는 또한 본 명세서에 기재되어 있거나 돌라스타틴 링커 유도체에 존재하는 특정 작용기 또는 치환체에 적합한 화학 방법론을 이용하여 변형시킬 수 있다.

[0475] 본 명세서에 기재된 돌라스타틴 링커 유도체 방법 및 조성물은 광범위하게 다양한 작용기, 치환체 또는 부위를 갖는 물질과, 비제한적으로 폴리머; 수용성 폴리머; 폴리에틸렌 글리콜의 유도체; 제2 단백질 또는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 유사체; 항체 또는 항체 단편; 및 이들의 임의의 조합을 포함하는, 다른 물질과의 접합체를 제공한다.

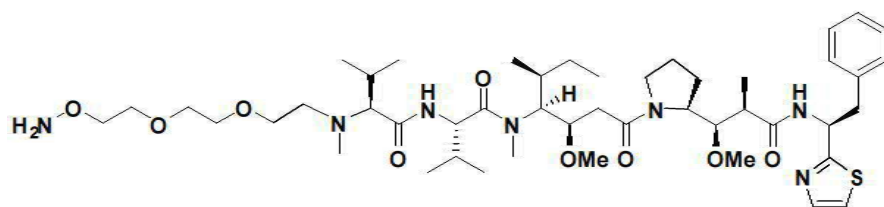
[0476] 특징의 실시양태로, 화학식 (I) 내지 (VII)의 화합물을 포함하여, 본 명세서에 기재된 돌라스타틴 링커 유도체, 링커 및 시약은 약한 산성이 조건 (pH 2 내지 8을 포함하지만 이로 제한되는 것은 아니다)하의 수용액중에서 안정하다. 다른 실시양태로, 그러한 화합물이 수용액에서 적어도 1개월 동안 약한 산성인 조건하에서 안정하다. 다른 실시양태로, 그러한 화합물이 적어도 2주 동안 약한 산성인 조건하에서 안정하다. 다른 실시양태로, 그러한 화합물이 적어도 5일간 약한 산성인 조건하에서 안정하다.

[0477] 본 명세서에 기재된 조성물, 방법, 기술 및 전략의 다른 양태로 전술한 임의의 "변형된 또는 변형되지 않은" 비-천연 아미노산 돌라스타틴 링커 유도체를 연구하거나 사용하는 방법이 있다. 상기 양태내에, 단지 예로, "변형된 또는 변형되지 않은" 비-천연 아미노산 폴리펩티드 또는 단백질을 포함하는 돌라스타틴 링커 유도체로부터의 잇점인 치료, 진단, 검정법-기재, 산업, 화장품, 식물 생물학, 환경, 에너지-생산, 소비재(consumer-products), 및/또는 군사적 용도가 포함된다.

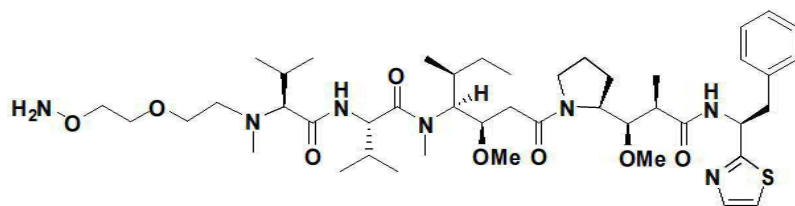
[0478] 돌라스타틴 링커 유도체의 비-제한 예로 하기를 포함한다:



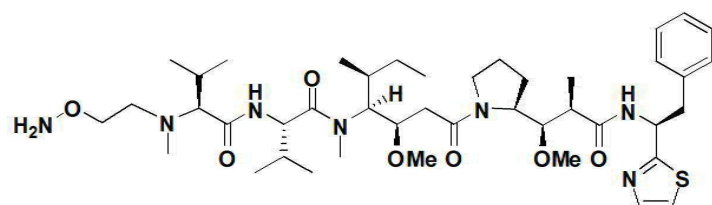
[0479]



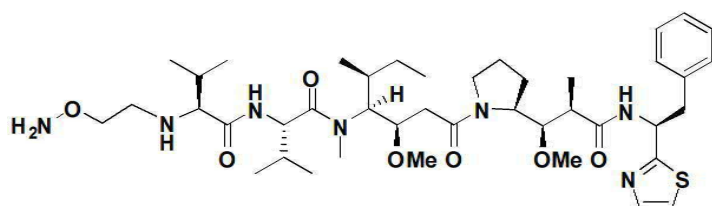
[0480]



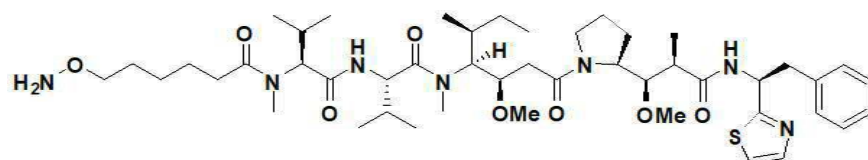
[0481]



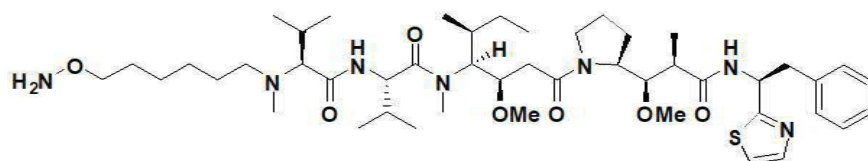
[0482]



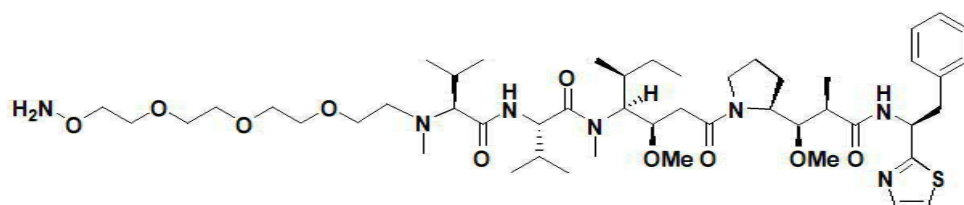
[0483]



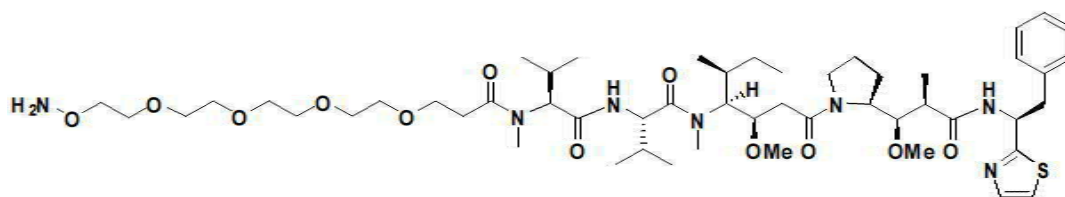
[0484]

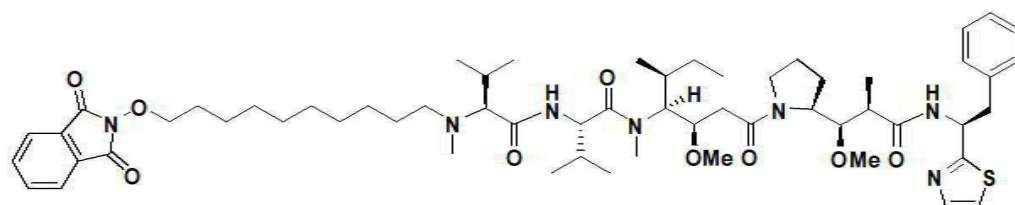


[0485]

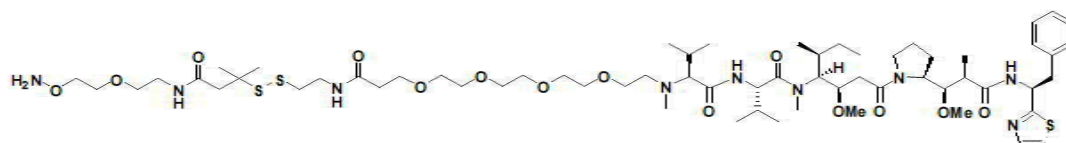


[0486]

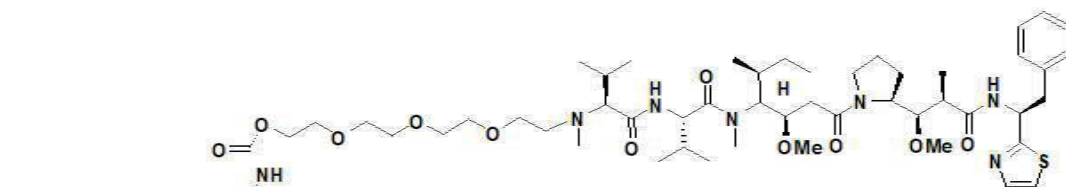




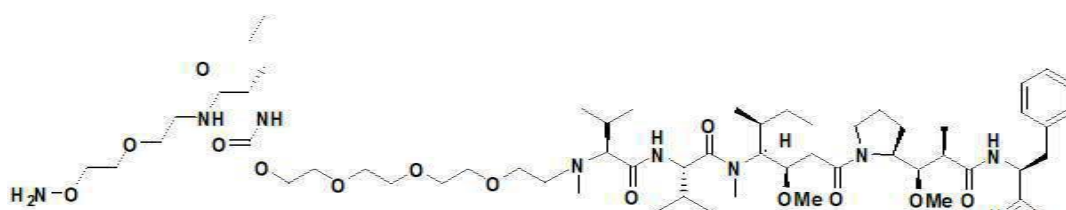
[0487]



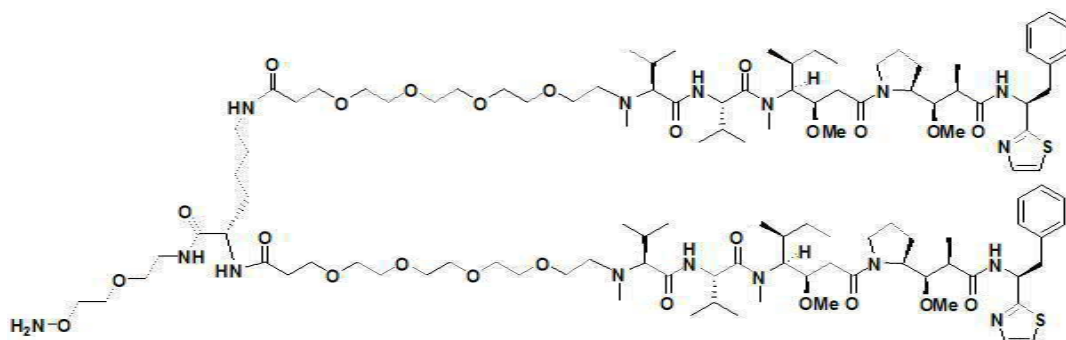
[0488]



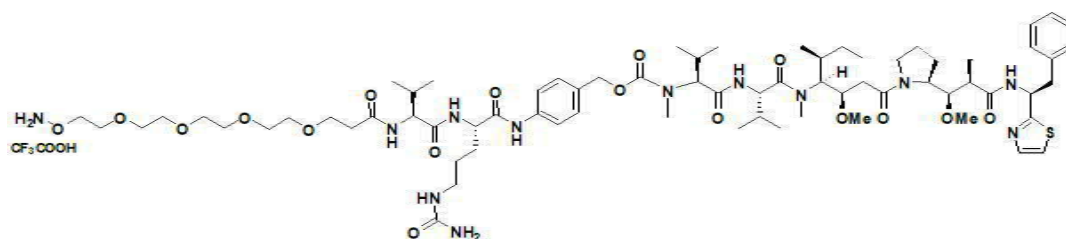
[0489]



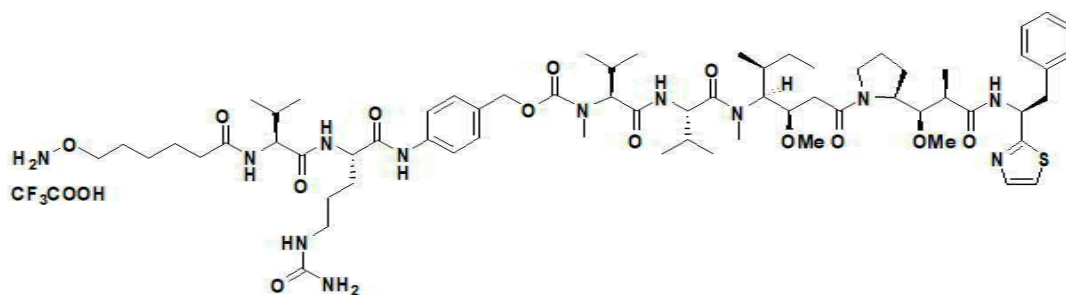
[0490]

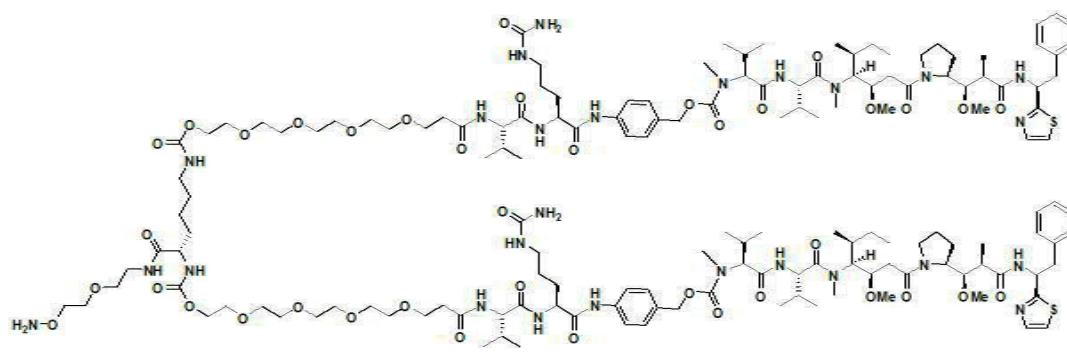
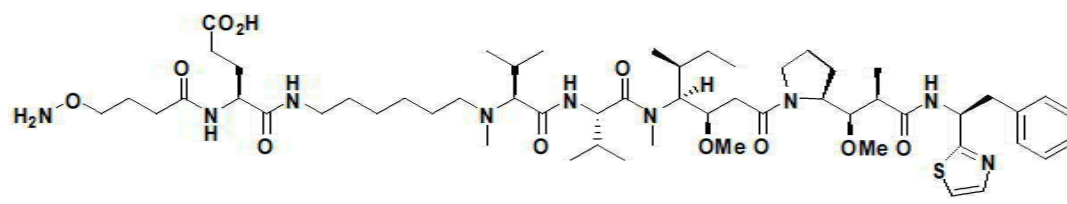
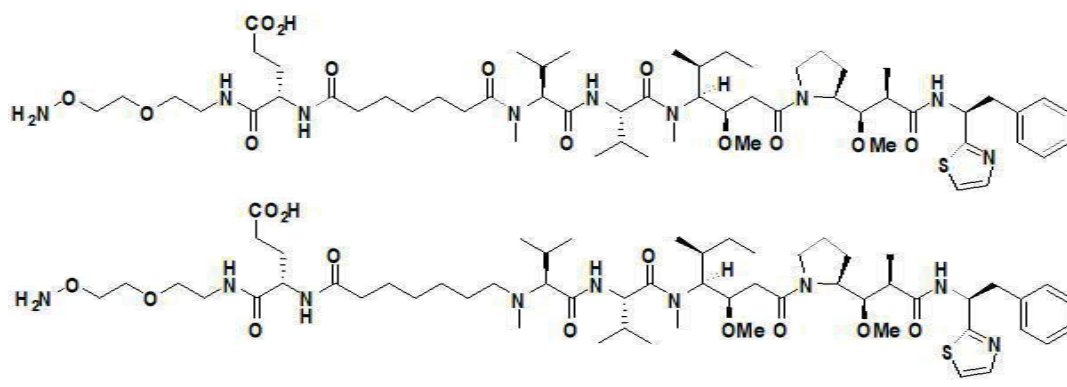
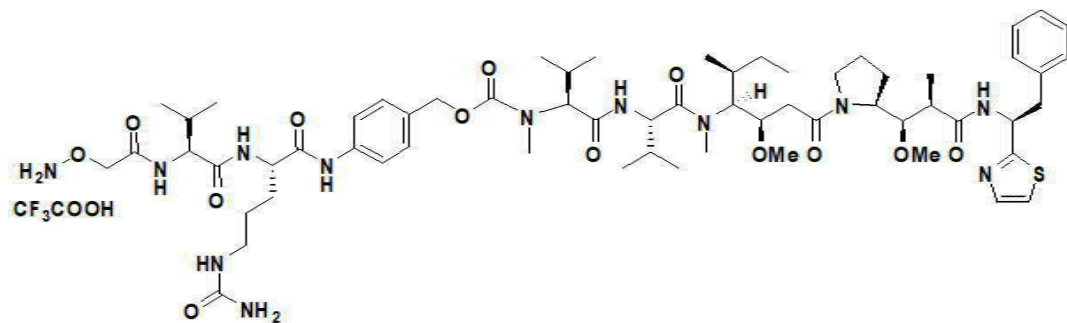
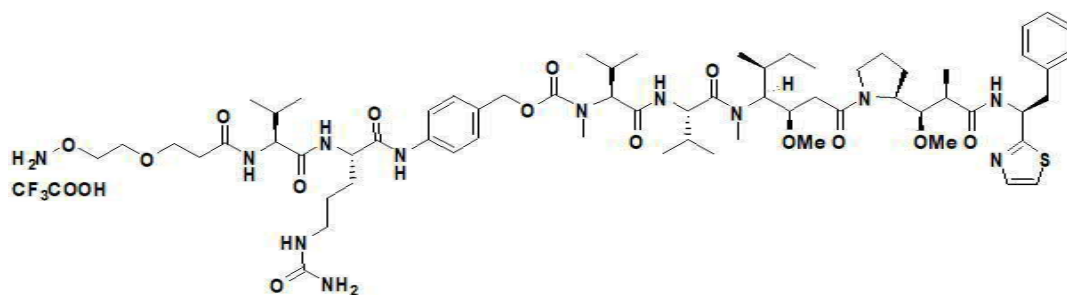


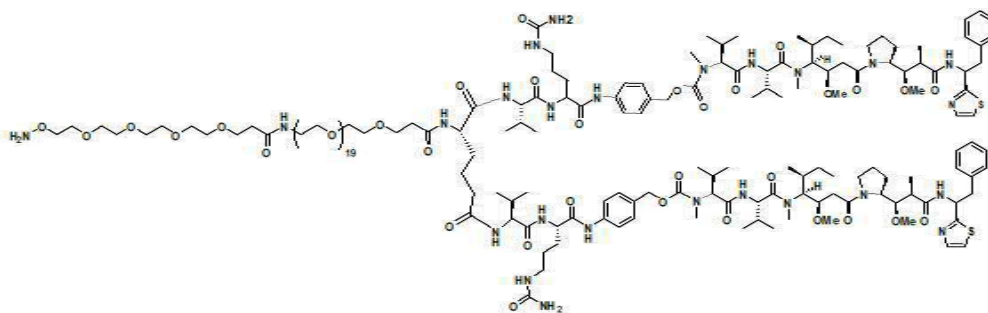
[0491]



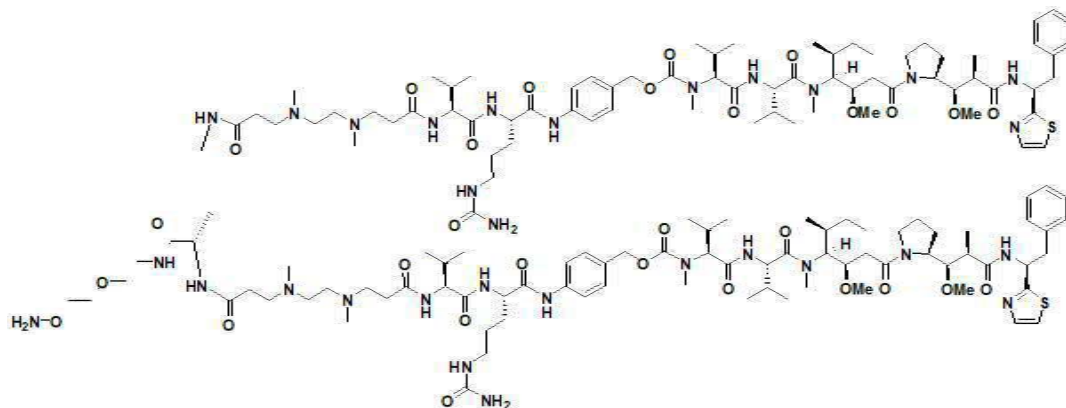
[0492]



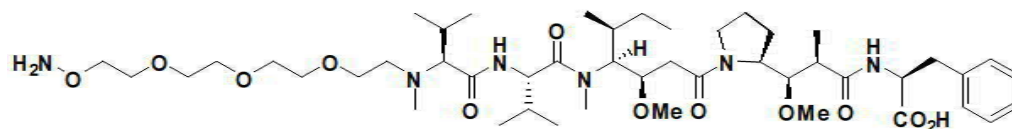




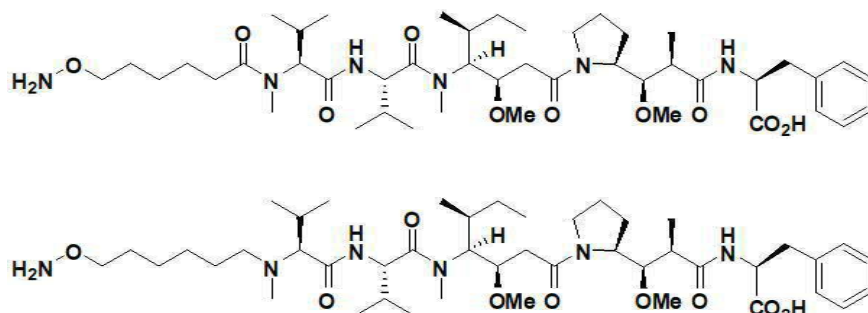
[0499]



[0500]



[0501]



[0502]

[0503]

[0504]

- 81 -

를 갖는다: (1) 비-천연 아미노산의 측쇄상의 작용성기 적어도 1개가 20개의 통상의, 유전자적으로-암호화된 아미노산 (즉, 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린)의 화학 반응성에 대해 오르토고날(orthogonal)인, 또는 비-천연 아미노산을 포함하는 폴리펩티드에 존재하는 천연 아미노산의 화학적 반응성에 대해 적어도 오르토고날인, 적어도 1개의 특징 및/또는 활성 및/또는 반응성을 갖는다; (2) 상기 도입된 비-천연 아미노산은 20개의 통상의, 유전자적으로-암호화된 아미노산에 대해 실질적으로 화학적으로 불활성이다; (3) 상기 비-천연 아미노산은 폴리펩티드중으로, 바람직하게는 천연 아미노산에 비례하는 안정성을 갖고 또는 전형적인 생리학적 조건하에서 안정하게 혼입될 수 있으며, 추가로 바람직하게는 그러한 혼입이 생체내 시스템을 통하여 일어날 수 있다; 및 (4) 비-천연 아미노산은 옥심 작용성기 또는 시약과, 바람직하게는 비-천연 아미노산을 포함하는 폴리펩티드의 생물학적 특성을 파괴하지 않는 조건하에서 (물론, 그러한 생물학적 특성의 파괴가 변형/전환의 목적이 아니라면), 또는 상기 전환이 약 4 내지 약 8 사이의 pH의 수성 조건하에서 일어날 수 있는 경우, 또는 비-천연 아미노산 상의 상기 반응성 부위가 친전자성 부위인 경우의 반응에 의해 옥심기로 전환될 수 있는 작용성기를 포함한다. 임의의 수의 비-천연 아미노산이 폴리펩티드중으로 도입될 수 있다. 비-천연 아미노산은 또한 보호되거나 차폐된 옥심 또는 보호기의 탈보호 또는 차폐된 기의 차폐제 제거 후 옥심기로 전환될 수 있는 보호되거나 차폐된 기를 포함할 수 있다. 비-천연 아미노산은 또한 보호되거나 차폐된 카르보닐 또는 디카르보닐기를 포함할 수 있는데, 이는 보호기의 탈보호 또는 차폐된 기의 차폐제 제거 후 카르보닐 또는 디카르보닐기로 전환될 수 있으며 이에 의해 옥심기를 형성하기 위한 히드록실아민 또는 옥심과의 반응에 이용될 수 있다.

[0505] 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물에 사용될 수 있는 비-천연 아미노산으로는, 비제한적으로, 신규한 작용기가 있는 아미노산, 다른 분자와 공유결합적으로 또는 비공유결합적으로 상호반응하는 아미노산, 슈가 치환된 세린과 같은 글리코실화된 아미노산, 기타 탄수화물 변형된 아미노산, 케토-함유 아미노산, 알데히드-함유 아미노산, 폴리에틸렌 글리콜 또는 기타 폴리에테르를 포함하는 아미노산, 무거운 원자 치환된 아미노산, 화학적으로 분해가능하고/하거나 광분해가능한 아미노산, 폴리에테르 또는 비제한적으로 약 5개 이상 또는 약 10개 이상의 탄소를 포함하는 장쇄 탄화수소를 포함하지만 이로 제한되지 않는, 천연 아미노산과 비교하여 연장된 측쇄를 갖는 아미노산, 탄소-연결된 슈가-함유 아미노산, 산화환원-활성 아미노산, 아미노 티오산 함유 아미노산, 및 1개 이상의 독성 부위를 포함하는 아미노산이 있다.

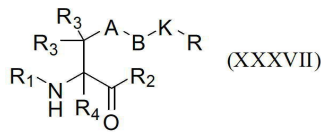
[0506] 일부 실시양태로, 비-천연 아미노산이 사카라이드 부위를 포함한다. 그러한 아미노산의 예로는 N-아세틸-L-글루코사미닐-L-세린, N-아세틸-L-갈락토사미닐-L-세린, N-아세틸-L-글루코사미닐-L-트레오닌, N-아세틸-L-글루코사미닐-L-아스파라긴 및 O-만노사미닐-L-세린이 있다. 그러한 아미노산의 예는 또한 아미노산과 사카라이드 사이에 천연 N- 또는 O-연결기가 자연에서 통상적으로 발견되지 않는 공유결합 연결기 - 비제한적으로, 알켄, 옥심, 티오에테르, 아마이드 등을 포함 - 로 대체되는 경우의 예를 포함한다. 그러한 아미노산의 예는 또한 2-테옥시-글루코오스, 2-테옥시갈락토오스 등과 같은 천연 단백질에서 통상적으로 발견되지 않는 사카라이드를 포함한다.

[0507] 그러한 폴리펩티드중으로의 비-천연 아미노산의 혼입을 통하여 폴리펩티드중에 혼입되는 화학적 부위는 다양한 장점과 폴리펩티드의 조작을 제공한다. 예를 들어, 카르보닐 또는 디카르보닐 작용성기 (케토- 또는 알데히드-작용성기를 포함)의 독특한 반응성은 수많은 히드라진 또는 히드록실아민-함유 시약을 사용한 생체내 및 시험관내 단백질의 선택적 변형을 가능케 한다. 예를 들어, 무거운 원자 비-천연 아미노산은 x-선 구조 데이터를 페이징(phasing)시키는데 유용할 수 있다. 비-천연 아미노산을 사용한 무거운 원자의 부위-특이적 도입은 또한 무거운 원자에 대한 위치를 선택하는데 있어서 선택성과 유연성을 제공한다. 예를 들어, 광반응성 비-천연 아미노산 (비제한적으로, 벤조페논 및 아릴아지드 (비제한적으로, 페닐아지드를 포함) 측쇄를 갖는 아미노산을 포함)은 폴리펩티드의 효율적인 생체내 및 시험관내 광가교결합을 가능케 한다. 광반응성 비-천연 아미노산의 예로는, 비제한적으로, p-아지도-페닐알라닌 및 p-벤조일-페닐알라닌이 있다. 광반응성 비-천연 아미노산을 갖는 폴리펩티드는 이후 마음대로 광반응성기-제공 시간적 제어의 여기(excitation)에 의해 가교결합될 수 있다. 비-제한 실시예에서, 비-천연 아미노산의 메틸기는 비제한적으로, 핵자기 공명 및 진공 분광학의 사용을 포함한, 국소적 구조 및 동력학의 프로브로서, 비제한적으로, 메틸기를 포함한, 동위원소 표지된 메틸기로 치환될 수 있다.

[0508] **A. 비-천연 아미노산 유도체의 구조 및 합성: 카르보닐, 카르보닐 유사, 차폐된 카르보닐, 및 보호된 카르보닐기**

[0509] 친전자성 반응성기를 갖는 아미노산은 비제한적으로, 친핵성 부가 반응을 포함한, 다양한 화학 반응을 통하여 분자를 연결시키는 다양한 반응을 가능케 한다. 그러한 친전자성 반응성기로는 카르보닐- 또는 디카르보닐-기 (케토- 또는 알데히드기 포함), 카르보닐-유사 또는 디카르보닐-유사-기 (이는 카르보닐- 또는 디카르보닐-기와

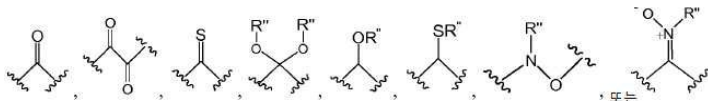
유사한 반응성을 가지며 카르보닐- 또는 디카르보닐-기와 구조적으로 유사하다), 차폐된 카르보닐- 또는 차폐된 디카르보닐-기 (이는 카르보닐 또는 디카르보닐-기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 카르보닐- 또는 보호된 디카르보닐-기 (이는 탈보호시 카르보닐- 또는 디카르보닐-기와 유사한 반응성을 갖는다)가 있다. 그러한 아미노산은 하기 화학식 (XXXVII)의 구조를 갖는 아미노산을 포함한다:



상기 식에서,

A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -S(O)_k-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N=, -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;



K는 이고;

R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이며;

각각의 R"는 독립적으로 H, 알킬, 치환된 알킬, 또는 보호기이거나, 1개 이상의 R"가 존재할 때, 2개의 R"는 임의로 헤테로사이클로알킬을 형성하고;

R₁은 H, 아미노 보호기, 수지(resin), 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

각각의 R₃ 및 R₄는 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고, 또는

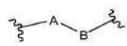
-A-B-K-R 기는 함께 디카르보닐기, 보호된 디카르보닐기를 포함한 보호된 카르보닐기, 또는 차폐된 디카르보닐기를 포함한 차폐된 카르보닐기를 적어도 1개 포함하는 이환식 또는 삼환식 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하거나;

-K-R 기는 함께 디카르보닐기를 포함한 카르보닐기, 보호된 디카르보닐기를 포함한 보호된 카르보닐기, 또는 차폐된 디카르보닐기를 포함한 차폐된 카르보닐기를 적어도 1개 포함하는 단환식 또는 이환된 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하는데;

단, A가 페닐렌이고 각각의 R₃이 H일 때, B가 존재하고; A가 -(CH₂)₄-이고 각각의 R₃이 H일 때, B는 -NHC(O)(CH₂CH₂)-가 아니며; A 및 B가 부재하고 각각의 R₃이 H일 때, R은 메틸이 아니다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0523] 특정의 실시양태로, 화학식 (XXXVII)의 화합물이 약한 산성인 조건하의 수용액에서 적어도 1개월간 안정하다. 특정의 실시양태로, 화학식 (XXXVII)의 화합물이 약한 산성인 조건하에서 적어도 2주간 안정하다. 특정의 실시양태로, 화학식 (XXXVII)의 화합물이 약한 산성인 조건하에서 적어도 5일간 안정하다. 특정의 실시양태로, 그러한 산성 조건이 pH 2 내지 8이다.

[0524] 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, B가 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(R')=N-N(R')-, -N(R')CO-, -C(O)-, -C(R')=N-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, 또는 -S(O)₂(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, B가 -O(CH₂)-, -CH=N-, -CH=N-NH-, -NHCH₂-, -NHCO-, -C(O)-, -C(O)-(CH₂)-, -CONH-(CH₂)-, -SCH₂-, -S(=O)CH₂-, 또는 -S(O)₂CH₂-이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, R이 C₁₋₆ 알킬 또는 사이클로알킬이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₁이 H, tert-부틸옥시카르보닐(Boc), 9-플루오레닐메톡시카르보닐(Fmoc), N-아세틸, 테트라플루오로아세틸(TFA), 또는 벤질옥시카르보닐(Cbz)이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₁이 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 항체, 또는 폴리뉴클레오티드이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₂가 OH, O-메틸, O-에틸, 또는 O-t-부틸이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₂가 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 항체, 또는 폴리뉴클레오티드이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₂가 리보핵산(RNA)이다.

[0525] 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로,  가 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:

[0526] (i) A가 치환된 저급 알킬렌, C₄-아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0527] B는 임의적이고, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -N(R')-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -N(R')C(S)-, -S(O)N(R')-, -S(O)₂N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)N(R')-, -N(R')S(O)₂N(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N=, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 2가 링커이며;

[0528] (ii) A가 임의적이고, 존재할 경우, 치환된 저급 알킬렌, C₄-아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

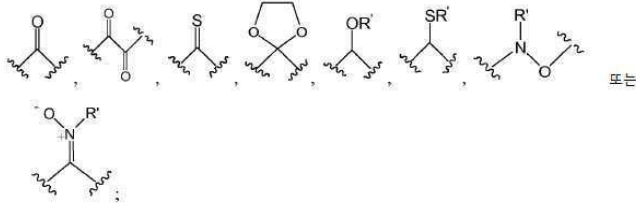
[0529] B는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -N(R')-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -N(R')C(S)-, -S(O)N(R')-, -S(O)₂N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)N(R')-, -N(R')S(O)₂N(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N=, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 2가 링커이며;

[0530] (iii) A가 저급 알킬렌이고;

[0531] B는 임의적이고, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -N(R')-, -C(O)N(R')-, -CSN(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -N(R')C(S)-, -S(O)N(R')-, -S(O)₂N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)N(R')-, -N(R')S(O)₂N(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N=, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 2가 링커이며;

[0532] (iv) A는 페닐렌이고;

[0533] B는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -N(R')-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -N(R')C(S)-, -S(O)N(R')-, -S(O)₂N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)N(R')-, -N(R')S(O)₂N(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N-, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 2가 링커이며;



[0534] K는 이고;

[0535] 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

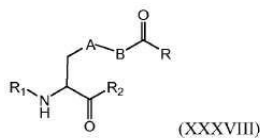
[0536] R₁은 임의적이고, 존재할 경우, H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0537] R₂는 임의적이고, 존재할 경우, OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0538] 각각의 R₃ 및 R₄는 독립적으로, H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이고;

[0539] R는 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이다.

[0540] 또한, 화학식 (XXXVIII)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0541]

[0542] 상기 식에서,

[0543] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0544] B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N-, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

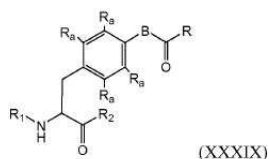
[0545] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0546] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0547] R_2 는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0548] 단, A가 페닐렌일 때, B가 존재하며; A가 $-(CH_2)_4-$ 일때, B는 $-NHC(O)(CH_2CH_2)-$ 가 아니며; A와 B가 부재할 때, R은 메틸이 아니다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0549] 또한, 화학식 (XXXIX)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0550]

[0551] 상기 식에서,

[0552] B는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, $-O-$, $-O-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-S-$, $-S-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-S(O)_k-$ (이때, k는 1, 2, 또는 3임), $-S(O)_k$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-C(O)-$, $-NS(O)_2-$, $-OS(O)_2$, $-C(O)-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-C(S)-$, $-C(S)-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-N(R')-$, $-NR'-($ 알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-C(O)N(R')-$, $-CON(R')-($ 알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-CSN(R')-$, $-CSN(R')-($ 알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-N(R')CO-($ 알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)_kN(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(S)N(R')-$, $-N(R')S(O)_kN(R')-$, $-N(R')-N=$, $-C(R')=N-$, $-C(R')=N-N(R')-$, $-C(R')=N-N=$, $-C(R')_2-N=N-$, 및 $-C(R')_2-N(R')-N(R')-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

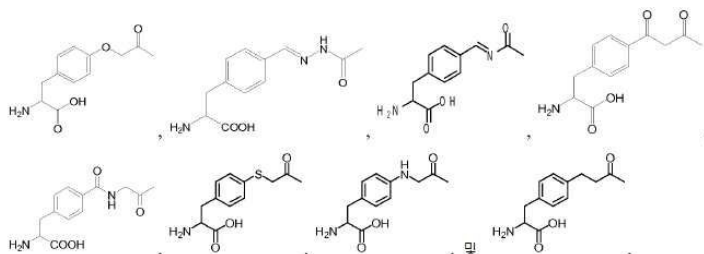
[0553] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0554] R_1 은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0555] R_2 는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0556] 각각의 R_a 는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, $-N(R')_2$, $-C(O)_kR'$ (여기서, k는 1, 2 또는 3임), $-C(O)N(R')_2$, $-OR'$, 및 $-S(O)_kR'$ 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

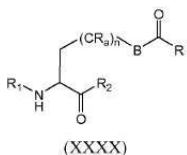
[0557] 추가로, 다음과 같은 아미노산이 포함된다:



[0558]

[0559] 그러한 비-천연 아미노산은 임의로 아미노 보호된 기, 카르복실 보호된 기일 수 있고/있거나 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0560] 또한, 하기 화학식 (XXXX)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0561]

[0562] 상기 식에서

[0563] $-NS(O)_2-$, $-OS(O)_2-$ 는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, $-O-$, $-O-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-S-$, $-S-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-S(O)_k-$ (이때, k는 1, 2, 또는 3임), $-S(O)_k$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-C(O)-$, $-C(O)-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌), $-C(S)-$, $-C(S)-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-N(R')-$, $-NR'-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-C(O)N(R')-$, $-CON(R')-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-CSN(R')-$, $-CSN(R')-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-N(R')CO-$ (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)_kN(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(S)N(R')-$, $-N(R')S(O)_kN(R')-$, $-N(R')-N=$, $-C(R')=N-$, $-C(R')=N-N(R')-$, $-C(R')=N=N=$, $-C(R')_2-N=N-$, 및 $-C(R')_2-N(R')-N(R')-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R' 는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0564] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

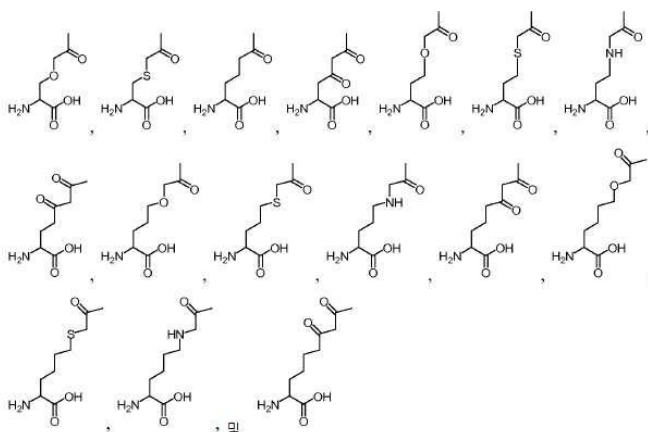
[0565] R_1 은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0566] R_2 는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0567] 각각의 R_a 는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, $-N(R')_2$, $-C(O)_kR'$ (여기서, k는 1, 2 또는 3임), $-C(O)N(R')_2$, $-OR'$, 및 $-S(O)_kR'$ 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 이때 각각의 R' 는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이고; n은 0 내지 8이며;

[0568] 단, A가 $-(CH_2)_4-$ 일때, B는 $-NHC(O)(CH_2CH_2)-$ 가 아니다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역 후 변형될 수 있다.

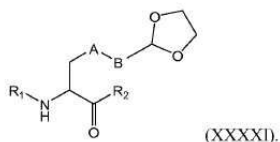
[0569] 또한, 하기 아미노산이 포함된다:



[0570]

[0571] 여기서, 그러한 화합물은 임의로 아미노 보호된, 임의로 카르복실 보호된, 임의로 아미노 보호되고 카르복실 보호되거나, 이의 염일 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역 후 변형될 수 있다.

[0572] 또한, 하기 화학식 (XXXXI)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0573]

[0574] 상기 식에서,

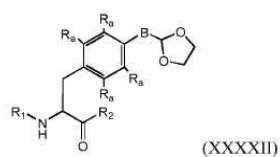
[0575] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0576] B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N=, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0577] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0578] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0579] 또한, 하기 화학식 (XXXXII)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0580]

[0581] 상기 식에서,

[0582] B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N=, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

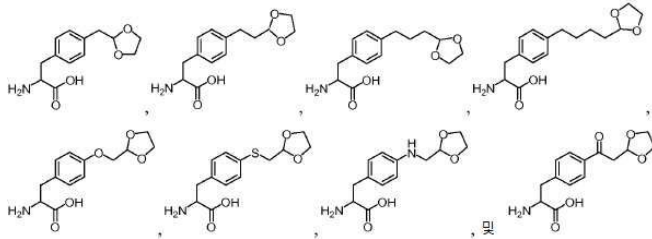
[0583] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0584] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0585] R_2 는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0586] 각각의 R_a 는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, $-N(R')_2$, $-C(O)_kR'$ (여기서, k는 1, 2 또는 3임), $-C(O)N(R')_2$, $-OR'$, 및 $-S(O)_kR'$ 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 이때 각각의 R' 는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

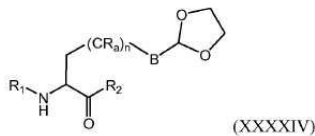
[0587] 또한, 하기 아미노산이 포함된다:



[0588]

[0589] 여기서, 상기와 같은 화합물은 임의로 아미노 보호된, 임의로 카르복실 보호된, 임의로 아미노 보호되고 카르복실 보호되거나, 이들의 염이거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0590] 또한, 하기 화학식 (XXXXIV)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0591]

[0592] 상기 식에서,

[0593] B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, $-O-$, $-O-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-S-$, $-S-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-S(O)_k-$ (이때, k는 1, 2, 또는 3임), $-S(O)_k(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-C(O)-$, $-NS(O)_2-$, $-OS(O)_2$, $-C(O)-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-C(S)-$, $-C(S)-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-N(R')-$, $-NR'-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-C(O)N(R')-$, $-CON(R')-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-CSN(R')-$, $-CSN(R')-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-N(R')CO-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)_kN(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(S)N(R')-$, $-N(R')S(O)_kN(R')-$, $-N(R')-N=$, $-C(R')=N-$, $-C(R')=N-N(R')-$, $-C(R')=N=N-$, $-C(R')_2-N=N-$, 및 $-C(R')_2-N(R')-N(R')-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R' 는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0594] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0595] R_1 은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

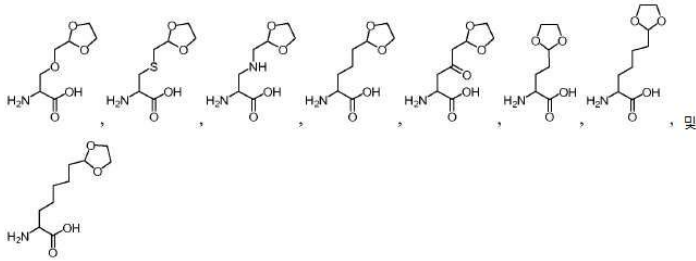
[0596] R_2 는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0597] 각각의 R_a 는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, $-N(R')_2$, $-C(O)_kR'$ (여기서, k는 1, 2 또는 3임), $-C(O)N(R')_2$, $-OR'$, 및 $-S(O)_kR'$ 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 이때 각각의 R' 는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이고;

[0598] n은 0 내지 8이다.

[0599] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

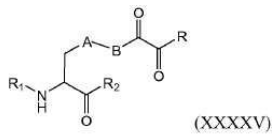
[0600] 또한, 하기 아미노산이 포함된다:



[0601]

[0602] 여기서, 상기와 같은 화합물은 임의로 아미노 보호된, 임의로 카르복실 보호된, 임의로 아미노 보호되고 카르복실 보호되거나, 이들의 염이거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드 중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0603] 모노카르보닐 구조 외에, 본 명세서에 기재된 비-천연 아미노산은 디카르보닐, 디카르보닐 유사, 차폐된 디카르보닐 및 보호된 디카르보닐기와 같은 기를 포함할 수 있다. 예를 들어, 하기 화학식 (XXXXV)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0604]

[0605] 상기 식에서,

[0606] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

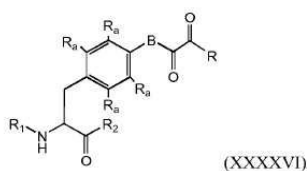
[0607] B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N-, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0608] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0609] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0610] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드 중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0611] 또한, 하기 화학식 (XXXXVI)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0612]

[0613] 상기 식에서,

[0614] B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')=N-, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N-, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0615] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

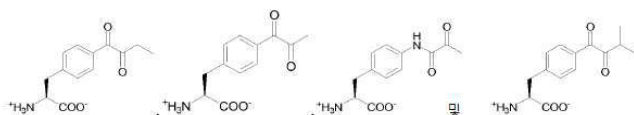
[0616] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0617] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0618] 각각의 R_a는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, -N(R')₂, -C(O)_kR' (여기서, k는 1, 2 또는 3임), -C(O)N(R')₂, -OR', 및 -S(O)_kR'로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이다.

[0619] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

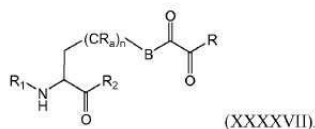
[0620] 또한, 하기 아미노산이 포함된다:



[0621]

[0622] 여기서, 그러한 화합물은 임의로 아미노 보호되고 카르보닐 보호되거나, 이의 염이다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0623] 또한, 하기 화학식 (XXXXVII)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0624]

[0625] 상기 식에서,

[0626] B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -NS(O)₂-, -OS(O)₂-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')=N-, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N-, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0627] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0628] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

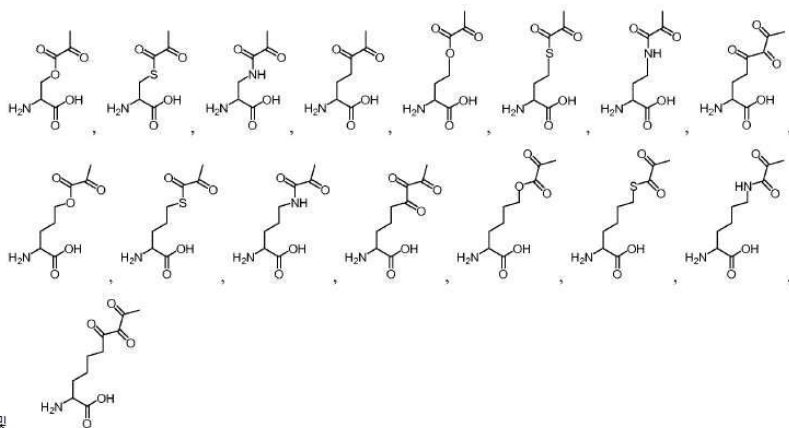
[0629] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0630] 각각의 R_a는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, -N(R')₂, -C(O)_kR' (여기서, k는 1, 2 또는 3임), -C(O)N(R')₂, -OR', 및 -S(O)_kR'로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이고;

[0631] n은 0 내지 8이다.

[0632] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

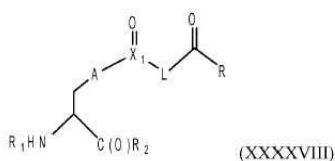
[0633] 또한, 하기 아미노산이 포함된다:



[0634] 및

[0635] 여기서, 그러한 화합물은 임의로 아미노 보호되고 카르복실 보호되거나, 이의 염이거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0636] 또한, 하기 화학식 (XXXXVIII)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0637]

[0638] 상기 식에서,

[0639] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0640] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0641] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

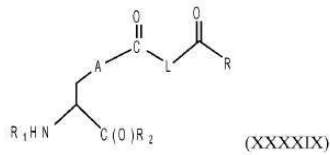
[0642] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0643] X₁은 C, S, 또는 S(O)이며;

[0644] L은 알킬렌, 치환된 알킬렌, N(R')(알킬렌) 또는 N(R')(치환된 알킬렌)이고, 여기서 R'는 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로

번역후 변형될 수 있다.

[0645] 또한, 하기 화학식 (XXXXIX)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0646]

[0647] 상기 식에서,

[0648] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

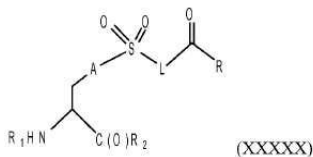
[0649] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0650] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0651] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0652] L은 알킬렌, 치환된 알킬렌, N(R')(알킬렌) 또는 N(R')(치환된 알킬렌)이고, 여기서 R'는 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0653] 또한, 하기 화학식 (XXXXX)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0654]

[0655] 상기 식에서,

[0656] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

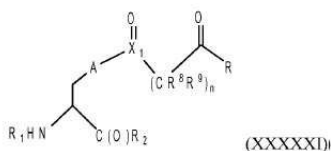
[0657] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0658] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0659] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

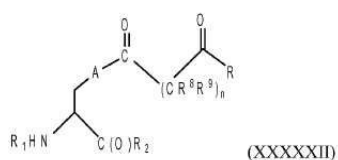
[0660] L은 알킬렌, 치환된 알킬렌, N(R')(알킬렌) 또는 N(R')(치환된 알킬렌)이고, 여기서 R'는 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0661] 또한, 하기 화학식 (XXXXXI)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



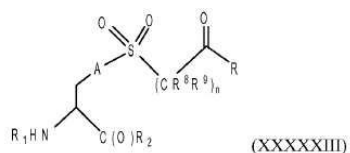
[0662]

- [0663] 상기 식에서,
- [0664] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;
- [0665] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;
- [0666] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;
- [0667] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;
- [0668] X₁은 C, S, 또는 S(O)이며;
- [0669] n은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;
- [0670] 각 CR⁸R⁹상의 각각의 R⁸ 및 R⁹는 H, 알콕시, 알킬아민, 할로젠, 알킬, 아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되거나, 임의의 R⁸과 R⁹는 함께 =O 또는 사이클로알킬을 형성할 수 있거나, 임의의 인접한 R⁸기는 함께 사이클로알킬을 형성할 수 있다.
- [0671] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.
- [0672] 또한, 하기 화학식 (XXXXXII)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



- [0673]
- [0674] 상기 식에서,
- [0675] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;
- [0676] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;
- [0677] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;
- [0678] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;
- [0679] n은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;
- [0680] 각 CR⁸R⁹상의 각각의 R⁸ 및 R⁹는 H, 알콕시, 알킬아민, 할로젠, 알킬, 아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되거나, 임의의 R⁸과 R⁹는 함께 =O 또는 사이클로알킬을 형성할 수 있거나, 임의의 인접한 R⁸기는 함께 사이클로알킬을 형성할 수 있다.
- [0681] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0682] 또한, 하기 화학식 (XXXXXIII)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0683]

[0684] 상기 식에서,

[0685] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0686] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0687] R1은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

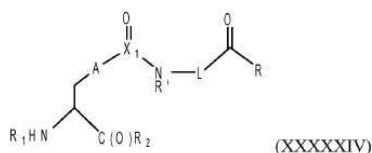
[0688] R2는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0689] n은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0690] 각 CR⁸R⁹상의 각각의 R⁸ 및 R⁹는 H, 알콕시, 알킬아민, 할로젠, 알킬, 아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되거나, 임의의 R⁸과 R⁹는 함께 =O 또는 사이클로알킬을 형성할수 있거나, 임의의 인접한 R⁸기는 함께 사이클로알킬을 형성할 수 있다.

[0691] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0692] 또한, 하기 화학식 (XXXXXIV)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0693]

[0694] 상기 식에서,

[0695] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0696] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0697] R1은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

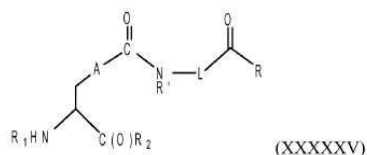
[0698] R2는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0699] X1은 C, S, 또는 S(O)이며;

[0700] L은 알킬렌, 치환된 알킬렌, N(R')(알킬렌) 또는 N(R')(치환된 알킬렌)이고, 여기서 R'는 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이다.

[0701] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0702] 또한, 하기 화학식 (XXXXXV)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0703]

[0704] 상기 식에서,

[0705] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0706] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

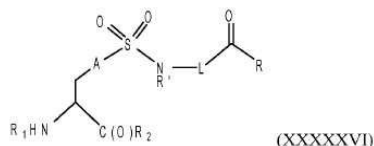
[0707] R1은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0708] R2는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0709] L은 알킬렌, 치환된 알킬렌, N(R')(알킬렌) 또는 N(R')(치환된 알킬렌)이고, 여기서 R'는 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이다.

[0710] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0711] 또한, 하기 화학식 (XXXXXVI)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0712]

[0713] 상기 식에서,

[0714] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0715] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0716] R1은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0717] R2는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0718] L은 알킬렌, 치환된 알킬렌, N(R')(알킬렌) 또는 N(R')(치환된 알킬렌)이고, 여기서 R'는 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이다.

[0719] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0735] (a)는 A기로의 결합을 나타내고 (b)는 각각의 카르보닐기로의 결합을 나타내며, R_3 및 R_4 는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬로부터 독립적으로 선택되거나, R_3 과 R_4 또는 2개의 R_4 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하며;

[0736] R은 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0737] T_3 은 결합, C(R)(R), O, 또는 S이고 R은 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이며;

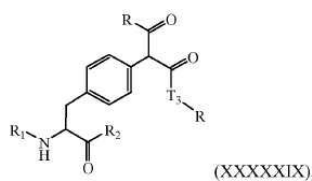
[0738] R_1 은 H, 아미노 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0739] R_2 는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0740] 각각의 R_a 는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, $-N(R')_2$, $-C(O)kR'$ (여기서, k는 1, 2 또는 3임), $-C(O)N(R')_2$, $-OR'$, 및 $-S(O)_kR'$ 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이다.

[0741] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0742] 또한, 하기 화학식 (XXXXIX)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0743]

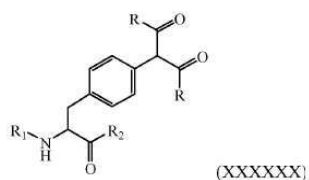
[0744] 상기 식에서,

[0745] R은 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0746] T_3 은 O, 또는 S이다.

[0747] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0748] 또한, 화학식 (XXXXX)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:

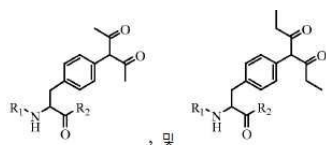


[0749]

[0750] 상기 식에서,

[0751] R은 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이다.

[0752] 또한, 하기 화학식 (XXXXX)의 구조를 갖는 아미노산이 포함된다:



[0753]

[0754] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0755] 상기 카르보닐 또는 디카르보닐 작용성은 히드록실아민-함유 시약과 약한 조건하에 수용액중에서 선택적으로 반

응하여 생리학적 조건하에서 안정한, 상응하는 옥심 연결기를 형성할 수 있다. 참조: Jencks, W.P., J. Am. Chem. Soc. 81, 475-481(1959); Shao, J and Tam, J. P., J. Am. Chem. Soc. 117(14):3893-3899(1995). 또한, 상기 카르보닐 또는 디카르보닐기의 독특한 반응성은 다른 아미노산 측쇄의 존재하에서 선택적인 변형이 일어나도록 한다. 참조: Cornish, V.W., et al., J. Am. Chem. Soc. 118:8150-8151(1996); Geoghegan, K.F. & Stroh, J.G., Bioconjug. Chem. 3:138-146(1992); Mahal, L.K., et al., Science 276:1125-1128(1997).

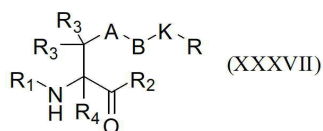
[0756] p-아세틸-(+/-)-페닐알라닌과 m-아세틸-(+/-)-페닐알라닌의 합성은 문헌: Zhang, Z., et al., Biochemistry 42:6735-6746(2003)에 기재되어 있으며, 이 문헌은 참고로 포함된다. 다른 카르보닐 또는 디카르보닐-함유 아미노산을 유사하게 제조할 수 있다.

[0757] 일부 실시양태로, 비-천연 아미노산을 포함하는 폴리펩티드를 화학적으로 변형시켜 반응성 카르보닐 또는 디카르보닐 작용성기를 생성시킨다. 예를 들어, 접합 반응에 유용한 알데히드 작용성은 인접한 아미노 및 히드록실기를 갖는 작용성으로부터 생성될 수 있다. 생물학적 활성 분자가 폴리펩티드인 경우, 예를 들어, N-말단 세린 또는 트레오닌(이는 정상적으로 존재할 수 있거나 화학적 또는 효소적 분해를 통하여 노출될 수 있다)을 사용하여 약한 산화적 분해 조건하에서 과요오드산염(periodate)을 사용하여 알데히드 작용성을 생성시킬 수 있다. 참조: Gaertner, et al., Bioconjug. Chem. 3:262-268(1992); Geoghegan, K.&Stroh, J., Bioconjug. Chem. 3:138-146(1992); Gaertner et al., J. Biol. Chem. 269:7224-7230(1994). 그러나, 당해 분야에 공지되어 있는 방법은 펩티드 또는 단백질의 N-말단에서의 아미노산으로 제한된다.

[0758] 추가로, 예로서, 인접한 히드록실과 아미노기를 포함하는 비-천연 아미노산은 "차폐된(masked)" 알데히드 작용성으로 폴리펩티드중에 혼입될 수 있다. 예를 들어, 5-히드록시리신은 엡실론 아민에 인접한 히드록실기를 포함한다. 알데히드를 발생시키기 위한 반응 조건은 전형적으로 폴리펩티드내의 다른 부위에서의 산화를 피하기 위하여 약한 조건하에서 과잉 물의 나트륨 메타과요오드산염 첨가를 수반한다. 상기 산화 반응의 pH는 전형적으로 약 7.0이다. 전형적인 반응은 약 1.5몰 과량의 나트륨 메타 과요오드산염을 폴리펩티드의 완충된 용액에 첨가한 다음, 암실에서 약 10분간 배양시키는 것을 수반한다. 예를 들어, 미국 특허 제6,423,685호를 참조한다.

[0759] **B. 비-천연 아미노산의 구조 및 합성: 디카르보닐, 디카르보닐-유사, 차폐된 디카르보닐, 및 보호된 디카르보닐기**

[0760] 친전자성 반응성기를 갖는 아미노산은 다른 것들 중에서 친핵성 첨가 반응을 통하여 분자를 연결시키는 다양한 반응을 가능케 한다. 그러한 친전자성 반응성기로는 디카르보닐기(디케톤기, 케토알데히드기, 케토산기, 케토에스테르기, 및 케토티오에스테르기 포함), 디카르보닐-유사 기(이는 디카르보닐기와 유사한 반응성을 가지며 디카르보닐기와 구조적으로 유사하다), 차폐된 디카르보닐기(이는 디카르보닐기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 디카르보닐기(이는 탈보호시 디카르보닐기와 유사한 반응성을 갖는다)가 있다. 그러한 아미노산은 하기 화학식 (XXXVII)의 구조를 갖는 아미노산을 포함한다:

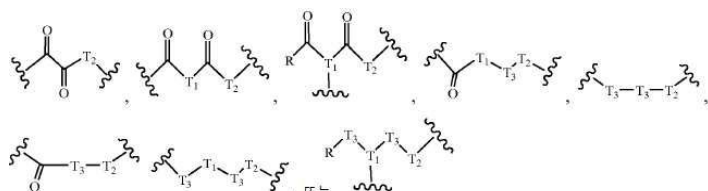


[0761]

[0762] 상기 식에서,

[0763] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

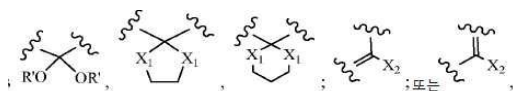
[0764] B는 임의적이며, 존재할 경우, 디아민 함유 부위로 말단 중 하나에서 연결되는 링커이고, 상기 링커는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)R"-, -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -NR"-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R"')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R"')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, 및 -N(R"')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이때 각각의 R"는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;



[0765] K는 이며;

[0766] T₁은 결합, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알케닐렌, 또는 임의로 치환된 헤테로알킬이고; 여기서 각각의 임의의 치환체는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌으로부터 독립적으로 선택되며;

[0767] T₂는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')-N=, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N-N=, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')-로 이루어진 군으로부터 선택되는 독립적으로 선택되고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;



[0768] T₃은 이고, 여기서 각각의 X₁은 -O-, -S-, -N(H)-, -N(R)-, -N(Ac)-, 및 -N(OMe)-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며; X₂는 -OR, -OAc, -SR, -N(R)₂, -N(R)(Ac), -N(R)(OMe), 또는 N₃이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0769] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0770] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지(resin), 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0771] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이거나;

[0772] -A-B-K-R기는 함께 디카르보닐기를 포함한, 카르보닐기, 보호된 디카르보닐기를 포함한, 보호된 디카르보닐기, 또는 차폐된 디카르보닐기를 포함한, 차폐된 카르보닐기를 적어도 1개 포함하는 이환식(bicyclic) 또는 삼환식(tricyclic) 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하거나;

[0773] -K-R기는 함께 디카르보닐기를 포함한, 카르보닐기, 보호된 디카르보닐기를 포함한, 보호된 디카르보닐기, 또는 차폐된 디카르보닐기를 포함한, 차폐된 카르보닐기를 적어도 1개 포함하는 단환식(monocyclic) 또는 이환식 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성한다.

Chemical structures of 11 derivatives of 2-amino-3-oxobutanoic acid, showing various substituents on the phenyl ring:

- Structure 1: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 2: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 3: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 4: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 5: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 6: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 7: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 8: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 9: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 10: 4-(2-oxoethyl)phenyl
- Structure 11: 4-(2-oxoethyl)phenyl

The figure displays ten chemical structures, labeled 1 through 10, representing various amino acid derivatives. Each structure features a central carbon atom bonded to a hydrogen atom (H), an amino group (H₂N), a carboxylic acid group (COOH), and a side chain. The side chains are defined by the following structures:

- 1: CC(=O)OCC(N)C(=O)O
- 2: CC(=O)OCC(S)C(=O)O
- 3: CC(=O)OCC(N)C(=O)O
- 4: CC(=O)OCC(N)C(=O)O
- 5: CC(=O)OCC(N)C(=O)O
- 6: CC(=O)OCC(S)C(=O)O
- 7: CC(=O)OCC(N)C(=O)O
- 8: CC(=O)OCC(N)C(=O)O
- 9: CC(=O)OCC(N)C(=O)O
- 10: CC(=O)OCC(N)C(=O)O

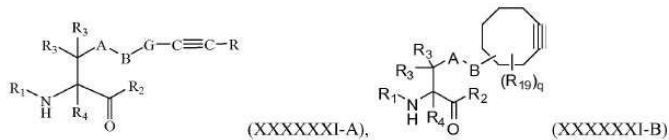
Chemical structures of the 12 amino acid derivatives are shown below:

The structures are arranged in two rows of six. Each structure shows a central carbon atom bonded to a hydrogen atom (H), an amino group (NH₂), a carboxylic acid group (COOH), and a side chain. The side chains are: 1. methyl, 2. ethyl, 3. propyl, 4. butyl, 5. pentyl, 6. hexyl, 7. heptyl, 8. octyl, 9. nonyl, 10. decyl, 11. undecyl, 12. dodecyl.

– 101 –

[0781] C. 비-천연 아미노산의 구조 및 합성: 케토알킨, 케토알킨-유사, 차폐된 케토알킨, 보호된 케토알킨기, 알킬, 및 사이클로알킨기

[0782] 디카르보닐-유사 반응성을 갖는 반응성기를 함유하는 아미노산은 친핵성 첨가 반응을 통하여 분자가 연결되도록 한다. 그러한 친전자성 반응성기로는 케토알킨기, 케토알킨-유사기 (이는 케토알킨기와 유사한 반응성을 가지며 케토알킨기와 구조적으로 유사하다), 차폐된 케토알킨기 (이는 케토알킨기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 케토알킨기 (이는 탈보호시 케토알킨기와 유사한 반응성을 갖는다)가 있다. 일부 실시양태로, 말단 알킨, 내부 알킨 또는 사이클로알킨을 갖는 반응성기를 함유하는 아미노산은 고리화첨가 반응 (예, 1,3-양극성 고리화첨가, 아지드-알킨 Huisgen 고리화첨가 등)을 통하여 분자가 연결되도록 한다. 그러한 아미노산은 화학식 (XXXXXXI-A) 또는 (XXXXXXI-B)의 구조를 갖는 아미노산을 포함한다:



[0783]

[0784] 상기 식에서,

[0785] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0786] B는 임의적이며, 존재할 경우, 디아민 함유 부위로 말단 중 하나에서 연결되는 링커이고, 상기 링커는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)R"-, -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -NR"-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R"')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R"')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, 및 -N(R"')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이때 각각의 R"는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0787] G는 임의적이며, 존재할 경우, 또는 이고;

[0788] T₄는 카르보닐 보호기로, 비제한적으로, 를 포함하며, 이때 각 X₁은 -O-, -S-, -N(H)-, -N(R)-, -N(Ac)-, 및 -N(OMe)-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며; X₂는 -OR, -OAc, -SR, -N(R)₂, -N(R)(Ac), -N(R)(OMe), 또는 N₃이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0789] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0790] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지(resin), 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0791] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

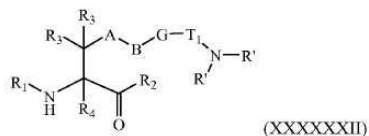
[0792] 각각의 R₃ 및 R₄는 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하며;

[0793] 각각의 R₁₉는 C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, 에스테르, 에테르, 티오에테르, 아미노알킬, 할로젠, 알킬 에스테르, 아릴 에스테르, 아마이드, 아릴 아마이드, 알킬 할라이드, 알킬 아민, 알킬 술폰산, 알킬 니트로, 티오에스테르, 술폰 에스테르, 할로술폰, 니트릴, 알킬 니트릴, 및 니트로로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0794] q는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11이다.

[0795] **D. 비-천연 아미노산의 구조 및 합성: 케토아민, 케토아민-유사, 차폐된 케토아민, 및 보호된 케토아민기**

[0796] 디카르보닐-유사 반응성을 갖는 반응성기를 함유하는 아미노산은 친핵성 첨가 반응을 통하여 분자가 연결되도록 한다. 그러한 반응성기로는 케토아민기, 케토아민-유사기 (이는 케토아민기와 유사한 반응성을 가지며 케토아민기와 구조적으로 유사하다), 차폐된 케토아민기 (이는 케토아민기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 케토아민기 (이는 탈보호시 케토아민기와 유사한 반응성을 갖는다)가 있다. 그러한 아미노산은 화학식 (XXXXXXI)의 구조를 갖는 아미노산을 포함한다:



[0797]

[0798] 상기 식에서,

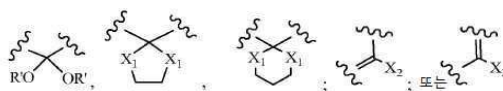
[0799] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0800] B는 임의적이며, 존재할 경우, 디아민 함유 부위로 말단 중 하나에서 연결되는 링커이고, 상기 링커는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)R"-, -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -NR"-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R"')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R"')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, 및 -N(R"')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이때 각각의 R"는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;



[0801] G는 임의적이며, 존재할 경우, 이고;

[0802] T1은 임의로 치환된 C₁-C₄ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알케닐렌, 또는 임의로 치환된 헤테로알킬이며;



[0803] T4는 카르보닐 보호기로, 비제한적으로, 를 포함하며, 이때 각 X₁은 -O-, -S-, -N(H)-, -N(R)-, -N(Ac)-, 및 -N(OMe)-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며; X₂는 -OR, -OAc, -SR, -N(R)₂, -N(R)(Ac), -N(R)(OMe), 또는 N₃이고, 이때 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

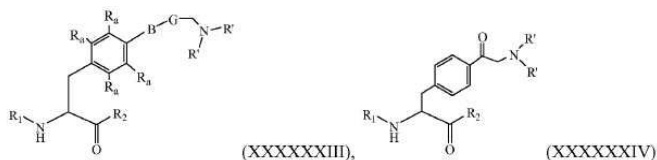
[0804] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

[0805] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지(resin), 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0806] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0807] 각각의 R₃ 및 R₄는 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성한다.

[0808] 화학식 (XXXXXXII)의 구조를 갖는 아미노산은 하기 화학식 (XXXXXXIII) 및 화학식 (XXXXXXIV)를 갖는 아미노산을 포함한다:



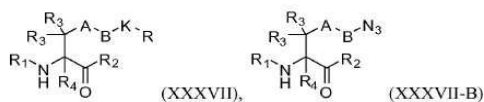
상기 식에서, 각각의 R_a 는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, $-N(R')_2$, $-C(O)_kR'$ (여기서, k 는 1, 2 또는 3임), $-C(O)N(R')_2$, $-OR'$, 및 $-S(O)_kR'$ 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 이때 각각의 R' 는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이다.

E. 비-천연 아미노산의 구조 및 합성: 디아민, 디아민-유사, 차폐된 디아민, 및 보호된 아민 및 아지드

친핵성 반응성기를 갖는 아미노산은 다른 것들간의 친핵성 첨가 반응을 통하여 분자를 연결시키는 다양한 반응을 가능케한다. 그러한 친핵성 반응성기로는 디아민기 (히드라진기, 아미딘기, 이민기, 1,1-디아민기, 1,2-디아민기, 1,3-디아민기, 및 1,4-디아민기를 포함), 디아민-유사기 (이는 디아민기와 유사한 반응성을 가지며 디아민기와 구조적으로 유사하다), 차폐된 디아민기 (이는 디아민기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 디아민기 (이는 탈보호시 디아민기와 유사한 반응성을 갖는다)가 있다. 일부 실시양태로, 아지드를 갖는 반응성기를 함유하는 아미노산은 고리화 첨가반응(예, 1,3-양극성 고리화첨가, 아지드-알킨 Huisgen 고리화첨가 등)을 통하여 분자가 연결되도록 한다.

다른 양태로 카르보닐-치환된 돌라스타틴 유도체를 유도체화하기 위한 히드라진-치환된 분자의 화학적 합성 방법이 있다. 하나의 실시양태로, 상기 히드라진-치환된 분자가 돌라스타틴 연결된 유도체일 수 있다. 단지 예로서, 케톤-, 또는 알데히드-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 포함한, 카르보닐-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 유도체화에 적합한 히드라진-치환된 분자의 제조 방법이 하나의 실시양태로 제공된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 단백질의 생체내 번역중 부위-특이적으로 혼입된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 히드라진-치환된 돌라스타틴 유도체가 각각의 카르보닐기의 친핵성 공격을 통하여 카르보닐-함유 비-천연 아미노산의 부위-특이적 유도체화시킴으로써 질소-함유 헤테로사이클-유도체화된 폴리펩티드를 포함한, 헤테로사이클-유도체화된 폴리펩티드를 부위-특이적 방식으로 형성시킬 수 있다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 히드라진-치환된 돌라스타틴 유도체의 제조 방법이 다양한 부위-특이적으로 유도체화된 폴리펩티드로의 접근기회(access)를 제공한다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 히드라진-작용화된 폴리에틸렌글리콜(PEG) 연결된 돌라스타틴 유도체의 합성 방법이 제공된다.

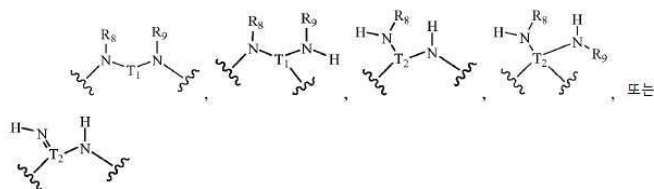
그러한 아미노산은 화학식 (XXXVII-A) 또는 (XXXVII-B)의 구조를 갖는 아미노산을 포함한다:



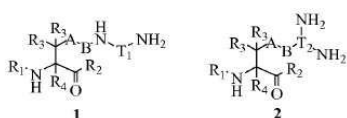
상기 식에서,

A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

B는 임의적이며, 존재할 경우, 디아민 함유 부위로 말단 중 하나에서 연결되는 링커이고, 상기 링커는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, $-O-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-S-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-C(O)R''-$, $-S(O)_k(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$ (이때, k 는 1, 2, 또는 3임), $-C(O)-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-C(S)-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-NR''-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-C(O)N(R'')-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, $-CSN(R'')-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$, 및 $-N(R'')CO-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이때 각각의 R'' 는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;



- [0819] K는 이고;
- [0820] R₈ 및 R₉는 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 또는 아민 보호기로부터 독립적으로 선택되며;
- [0821] T₁은 결합, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알케닐렌, 또는 임의로 치환된 헤테로알킬이고;
- [0822] T₂는 임의로 치환된 C₁-C₄ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알케닐렌, 임의로 치환된 헤테로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이며;
- [0823] 여기서 각각의 임의의 치환체는 저급 알킬, 치환된 저급 알킬, 저급 사이클로알킬, 치환된 저급 사이클로알킬, 저급 알케닐, 치환된 저급 알케닐, 알킬닐, 저급 헤테로알킬, 치환된 헤테로알킬, 저급 헤테로사이클로알킬, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 또는 치환된 아르알킬로부터 독립적으로 선택되고;
- [0824] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이며;
- [0825] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지(resin), 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;
- [0826] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이고;
- [0827] 각각의 R₃ 및 R₄는 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고; 또는
- [0828] -A-B-K-R기는 디아민기, 보호된 디아민기 또는 차폐된 디아민기를 적어도 1개 포함하는 이환식 또는 삼환식 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고; 또는
- [0829] -B-K-R기는 함께 디아민기, 보호된 디아민기 또는 차폐된 디아민기를 적어도 1개 포함하는 이환식 또는 삼환식 사이클로알킬 또는 사이클로아릴 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고; 또는
- [0830] -K-R기는 함께 디아민기, 보호된 디아민기 또는 차폐된 디아민기를 적어도 1개 포함하는 단환식(monocyclic) 또는 이환식 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하며;
- [0831] -A-B-K-R 상의 적어도 1개의 아민기는 임의로 보호된 아민이다.
- [0832] 하나의 양태로, 구조식 1 또는 2를 포함하는 화합물 또는 이의 활성 대사물질, 염, 또는 약학적으로 허용되는 프로드럭 또는 용매화물이 제공된다:



- [0833]
- [0834] 상기 식에서,
- [0835] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알킬닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;
- [0836] B는 임의적이며, 존재할 경우, 디아민 함유 부위로 말단 중 하나에서 연결되는 링커이고, 상기 링커는 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)R"-, -S(O)_k-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)- (이때, k는 1, 2, 또는 3임), -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알

킬렌)-, -NR"- (알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R")-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R")-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, 및 -N(R")CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이때 각각의 R"는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

[0837] T₁은 결합 또는 CH₂ 이고; T₂는 CH이며;

[0838] 여기서 각각의 임의의 치환체는 저급 알킬, 치환된 저급 알킬, 저급 사이클로알킬, 치환된 저급 사이클로알킬, 저급 알케닐, 치환된 저급 알케닐, 알키닐, 저급 헤테로알킬, 치환된 헤테로알킬, 저급 헤테로사이클로알킬, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 또는 치환된 아르알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0839] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지(resin), 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0840] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

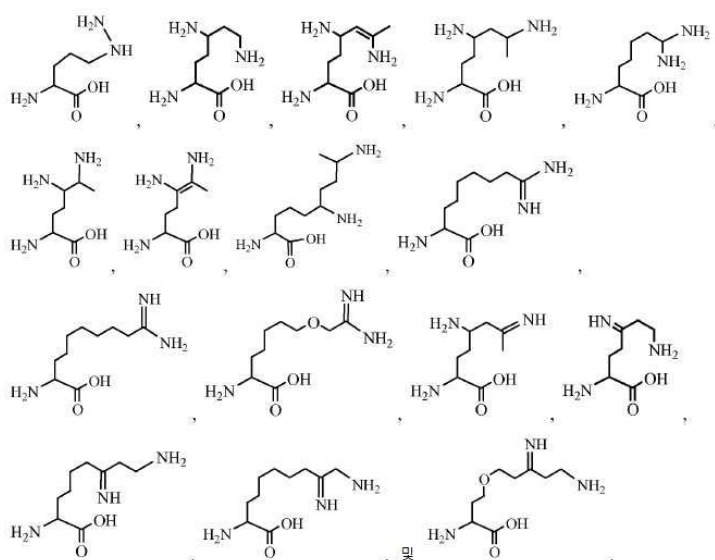
[0841] 각각의 R₃ 및 R₄는 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고; 또는

[0842] -A-B-디아민 함유 부위는 함께 디아민기, 보호된 디아민기 또는 차폐된 디아민기를 적어도 1개 포함하는 이환식 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고; 또는

[0843] -B-디아민 함유 부위는 함께 디아민기, 보호된 디아민기 또는 차폐된 디아민기를 적어도 1개 포함하는 이환식 또는 삼환식 사이클로알킬 또는 사이클로아릴 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하며;

[0844] 이때 -A-B-디아민 상의 적어도 1개의 아민기는 임의로 보호된 아민이다.

[0845] 화학식 (XXXVII)의 구조를 갖는 하기 비-제한 예의 아미노산이 포함된다:



[0846]

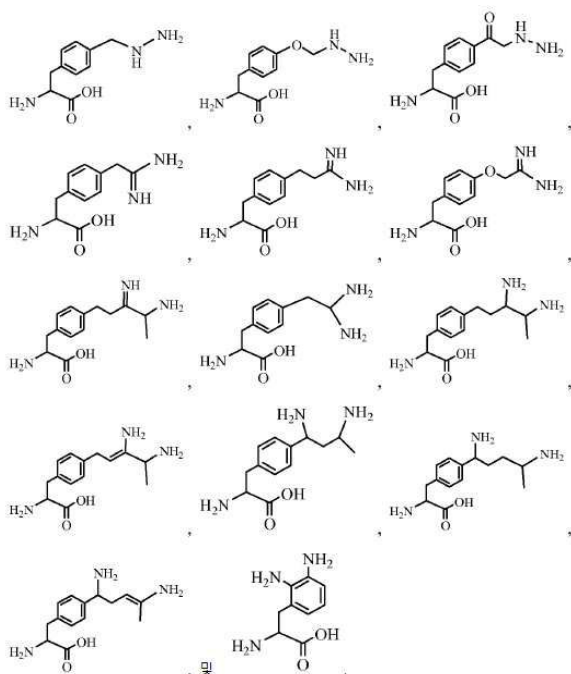
[0847] 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0848] 특정의 실시양태로, 화학식 (XXXVII)의 화합물이 약한 산성인 조건하의 수용액에서 적어도 1개월간 안정하다. 특정의 실시양태로, 화학식 (XXXVII)의 화합물이 약한 산성인 조건하에서 적어도 2주간 안정하다. 특정의 실시양태로, 화학식 (XXXVII)의 화합물이 약한 산성인 조건하에서 적어도 5일간 안정하다. 특정의 실시양태로, 그러한 산성 조건이 약 2 내지 약 8의 pH이다.

[0849] 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, B가 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(R')=NN(R')-, -N(R')CO-, -C(O)-, -C(R')=N-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(C)(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, 또는 -S(O)₂(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특정의 실시양태로, B가

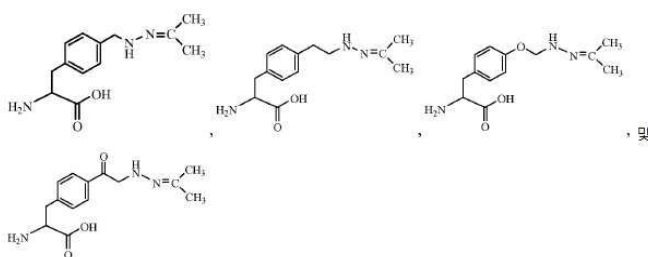
-O(CH₂)-, -CH=N-, CH=NNH-, -NHCH₂-, -NHCO-, -C(O)-, -C(O)(CH₂)-, -CONH-(CH₂)-, -SCH₂-, -S(=O)CH₂-, 또는 -S(O)₂CH₂-이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R이 C₁₋₆ 알킬 또는 사이클로알킬이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R이 -CH₃, -CH(CH₃)₂, 또는 사이클로프로필이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R₁이 H, tert-부틸옥시카르보닐(Boc), 9-플루오레닐메톡시카르보닐(Fmoc), N-아세틸, 테트라플루오로아세틸(TFA), 또는 벤질옥시카르보닐(Cbz)이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R₁이 수지, 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R₂가 OH, O-메틸, O-에틸, 또는 O-t-부틸이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R₂가 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이다. 화학식 (XXXVII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R₂가 항체, 항체 단편 또는 모노클로날 항체이다.

[0850] 화학식 (XXXVII)의 구조를 갖는 하기 비-제한 예의 아미노산이 포함된다:



[0851]

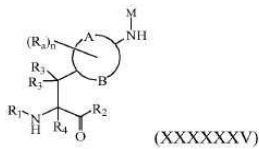
[0852] 화학식 (XXXVII)의 구조를 갖는 하기 비-제한 예의 아미노산이 포함된다:



[0853]

[0854] **F. 비-천연 아미노산의 구조 및 합성: 방향족 아민**

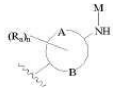
[0855] 단지 예로서, 방향족 아민기 (2급 및 3급 아민기를 포함하여), 차폐된 방향족 아민기 (이는 방향족 아민기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 방향족 아민기 (이는 탈보호시 방향족 아민기와 유사한 방향성을 갖는다)와 같은 친핵성 반응성기를 갖는 비-천연 아미노산은 비제한적으로, 알데히드 함유 도라스타틴 링커 유도체와의 환원성 알킬화 반응을 포함한, 다양한 반응을 통하여 분자를 연결시키는 다양한 반응을 가능케 한다. 그러한 방향족 아민 함유 비-천연 아미노산은 화학식 (XXXXXXV)의 구조를 갖는 아미노산을 포함한다:



[0856]

[0857]

상기 식에서,



[0858]

는 단환식 아릴환, 이환식 아릴환, 다환식 아릴환, 다환식 헤테로아릴환, 이환식 헤테로아릴환, 및 다환식 헤테로아릴환으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0859]

A는 독립적으로 CR_a, 또는 N이며;

[0860]

B는 독립적으로 CR_a, N, O, 또는 S이고;

[0861]

각각의 R_a는 H, 할로젠, 알킬, -NO₂, -CN, 치환된 알킬, -N(R')₂, -C(O)_kR', -C(O)N(R')₂, -OR', 및 -S(O)_kR'로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 k는 1, 2 또는 3이고;

[0862]

n은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이며;

[0863]

R₁은 H, 아미노 보호기, 수지(resin), 1개 이상의 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0864]

R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0865]

각각의 R₃ 및 R₄는 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고;

[0866]

M은 H 또는 -CH₂R₅이거나; M-N-C(R₅) 부위는 4 내지 7원 환 구조를 형성하며;

[0867]

R₅는 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 알킬알콕시, 치환된 알킬알콕시, 폴리알킬렌 옥사이드, 치환된 폴리알킬렌 옥사이드, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 치환된 아르알킬, -C(O)R"-, -C(O)OR"-, -C(O)N(R")₂-, -C(O)NHCH(R")₂-, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-N(R")₂-, -(알케닐렌 또는 치환된 알케닐렌)-N(R")₂-, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-(아릴 또는 치환된 아릴), -(알케닐렌 또는 치환된 알케닐렌)-(아릴 또는 치환된 아릴), -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-ON(R")₂-, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-C(O)SR"-, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-S-S-(아릴 또는 치환된 아릴)이고, 여기서 각각의 R"는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 치환된 아르알킬, 또는 -C(O)OR'이고; 또는

[0868]

2개의 R₅기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하거나;

[0869]

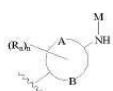
R₅와 임의의 R_a는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하며;

[0870]

각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이다.

[0871]

그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 환원적으로 알킬화될 수 있다.



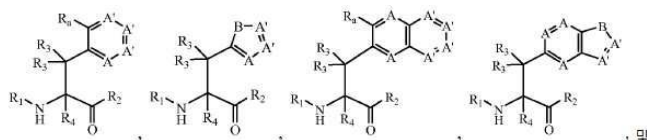
[0872]

구조 (본 명세서의 모든 실시예에서 제시되는 바와 같음)는 "A", "B", "NH-M" 및 "R_a"의 상대적 배향을 제시하지 않으며; 대신 이 구조의 이들 4개의 피처(features)는 본 명세서의 실시예에 의해 설명되는 바와 같이, 임의의 화학적으로-타당한 방식으로 (이 구조의 다른 피처와 함께) 배향될 수 있다.

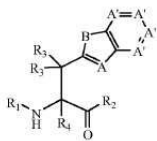
[0873]

화학식 (A)의 구조를 갖는 방향족 아민 부위를 함유하는 비-천연 아미노산은 하기 구조를 갖는 비-천연 아미노

산을 포함한다:



[0874]



[0875]

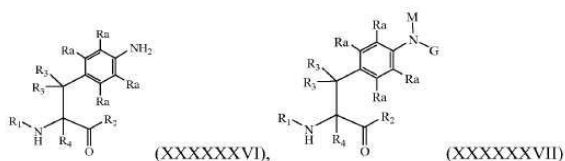
; 상기 식에서, 각각의 A'는 CR_a, N, 또는 $\text{C}^{\text{M}}\text{-NH}$ 로부터 독립적으로 선택되고, 2개 이하의 A'는 $\text{C}^{\text{M}}\text{-NH}$ 일 수 있으며, 나머지 A'는 CR_a, 또는 N로부터 선택된다.

[0876]

그러한 비-천연 아미노산은 또한 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 환원적으로 알킬화될 수 있다.

[0877]

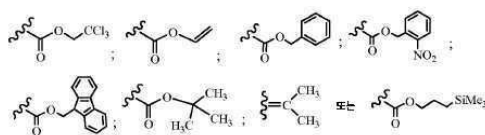
화학식 (XXXXXXV)의 구조를 갖는 방향족 아민 부위를 함유하는 비-천연 아미노산의 비-제한 예는 화학식 (XXXXXXVI), 및 화학식 (XXXXXXVII)의 구조를 갖는 비-천연 아미노산을 포함한다:



[0878]

[0879]

상기 식에서, G는 아민 보호기로, 비제한적으로,



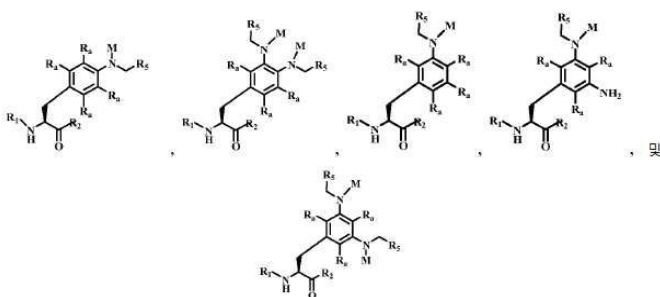
[0880]

[0881]

그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되고 임의로 환원적으로 알킬화될 수 있다.

[0882]

방향족 아민 부위를 함유하는 비-천연 아미노산은 하기 구조식을 갖는다:



[0883]

[0884]

상기 식에서,

[0885]

각각의 R_a는 H, 할로젠, 알킬, -NO₂, -CN, 치환된 알킬, -N(R')₂, -C(O)_kR', -C(O)N(R')₂, -OR', 및 -S(O)_kR'로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 k는 1, 2 또는 3이고;

[0886]

M은 H 또는 -CH₂R₅이거나; M-N-C(R₅) 부위는 4 내지 7원 환 구조를 형성하며;

[0887]

R₁은 H, 아미노 보호기, 수지(resin), 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

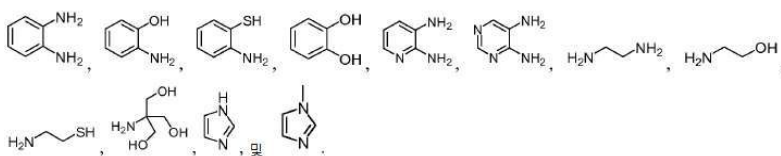
- [0888] R_2 는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드이며;
- [0889] R_5 는 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 알킬알콕시, 치환된 알킬알콕시, 폴리알킬렌 옥사이드, 치환된 폴리알킬렌 옥사이드, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 치환된 아르알킬, $-C(O)R''$ -, $-C(O)OR''$ -, $-C(O)N(R'')_2$ -, $-C(O)NHCH(R'')_2$ -, $-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-N(R'')_2$ -, $-(\text{알케닐렌 또는 치환된 알케닐렌})-N(R'')_2$ -, $-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-(\text{아릴 또는 치환된 아릴})$ -, $-(\text{알케닐렌 또는 치환된 알케닐렌})-(\text{아릴 또는 치환된 아릴})$ -, $-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-ON(R'')_2$ -, $-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-C(OSR'')$ -, $-(\text{알킬렌 또는 치환된 알킬렌})-S-S-(\text{아릴 또는 치환된 아릴})$ 이고, 여기서 각각의 R'' 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 치환된 아르알킬, 또는 $-C(O)OR'$ 이거나;
- [0890] R_5 와 임의의 R_6 는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하며;
- [0891] 각각의 R' 는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이다. 그러한 비-천연 아미노산은 또한 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입될 수 있다.
- [0892] 화학식 (XXXXXXV)의 그러한 비-천연 아미노산은 비-천연 아미노산의 방향족 부위 상의 보호된 또는 차폐된 아민 부위의 환원에 의해 형성될 수 있다. 그러한 보호된 또는 차폐된 아민 부위는 비제한적으로, 이민, 히드라진, 니트로, 또는 아지드 치환체를 포함한다. 그러한 보호된 또는 차폐된 아민 부위를 환원시키는데 사용되는 환원제는, 비제한적으로, TCEP, Na_2S , $Na_2S_2O_4$, $LiAlH_4$, $NaBH_4$ 또는 $NaBCNH_3$ 을 포함한다.
- [0893] **V. 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체**
- [0894] 다른 양태로, 적어도 1개의 돌라스타틴 링커 유도체를 비-천연 아미노산 중으로 혼입시키기 위한 방법, 전략 및 기술이 본 명세서에 기재된다. 이 양태에는 또한 적어도 1개의 비-천연 아미노산을 함유하는 돌라스타틴 링커 유도체를 생산, 정제, 특징화 및 사용하기 위한 방법이 포함된다. 이 양태에는 또한 적어도 1개의 비-천연 아미노산을 함유하는 돌라스타틴 링커 유도체를, 적어도 부분적으로, 생산하기 위하여 사용할 수 있는 올리고뉴클레오티드(DNA 및 RNA 포함)를 생산, 정제, 특징화 및 사용하기 위한 조성물 및 방법이 포함된다. 또한 이 양태에는 적어도 1개의 비-천연 아미노산을 함유하는 돌라스타틴 링커 유도체를, 적어도 부분적으로, 생산하기 위하여 사용할 수 있는 올리고뉴클레오티드를 발현시킬 수 있는 세포를 생산, 정제, 특징화 및 사용하기 위한 조성물 및 방법이 포함된다.
- [0895] 따라서, 적어도 1개의 비-천연 아미노산 또는 카르보닐, 디카르보닐, 알킨, 사이클로알킨, 아지드, 옥심 또는 히드록실아민기를 갖는 변형된 비-천연 아미노산을 포함하는 돌라스타틴 링커 유도체가 본 명세서에 제공되고 기재된다. 특정의 실시양태로, 적어도 1개의 비-천연 아미노산 또는 카르보닐, 디카르보닐, 알킨, 사이클로알킨, 아지드, 옥심 또는 히드록실아민기를 갖는 변형된 비-천연 아미노산을 포함하는 돌라스타틴 링커 유도체가 폴리펩티드상의 일부 위치에서 적어도 1개의 번역후 변형을 포함한다. 일부의 실시양태로, 상기 동시-번역 또는 번역후 변형이 세포 시스템(cellular machinery) (예, 글리코실화, 아세틸화, 아실화, 지질-개량, 팔미토일화, 팔미테이트 첨가, 포스포릴화, 당지질-연결기 변형 등)을 통하여 일어나며, 수많은 경우, 그러한 세포-시스템-기본 동시-번역 또는 번역후 변형은 폴리펩티드상의 천연 아미노산 부위에서 일어나지만, 특정의 실시양태에서는, 상기 세포-시스템-기본 동시-번역 또는 번역후 변형이 폴리펩티드상의 비-천연 아미노산 부위(들)에서 일어난다.
- [0896] 다른 실시양태로, 상기 번역후 변형이 세포 시스템을 이용하지 않고, 대신, 제2의 반응성기를 포함하는 분자 (폴리머; 수용성 폴리머; 폴리에틸렌 글리콜의 유도체; 제2의 단백질 또는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 유사체; 항체 또는 항체 단편; 및 이들의 임의의 조합)를 제1 반응성기를 포함하는 비-천연 아미노산 (비제한적으로, 케톤, 알데히드, 아세탈, 헤미아세탈, 알킨, 사이클로알킨, 아지드, 옥심, 또는 히드록실아민 작용성기를 함유하는 비-천연 아미노산 포함) 적어도 1개에 본 명세서에 기재된 화학 방법론, 또는 특정의 반응성기에 적합한 기타 방법론을 이용하여 부착시킴으로써 작용성이 제공된다. 특정의 실시양태로, 동시-번역 또는 번역후 변형이 진핵세포 또는 비-진핵세포에서 생체내로 일어난다. 특정의 실시양태로, 상기 번역후 변형이 세포 시스템을 이용하지 않고 시험관내에서 일어난다. 또한, 그러한 동시-번역 또는 번역후 변형된 비-천연 아미노산을 적어도 1

개 함유하는 도라스타틴 링커 유도체를 생산, 정제, 특징화 및 사용하는 방법이 상기 양태에 포함된다.

또한, 폴리캡티드의 일부인 돌라스타틴 링커 유도체 (카르보닐 또는 디카르보닐기, 옥심기, 알킨, 사이클로알킨, 아지드, 히드록실아민기, 또는 이들의 차폐된 또는 보호된 형태를 함유)와 반응할 수 있어 전술한 임의의 번역후 변형을 생성시킬 수 있는 시약이 본 명세서에 기재된 방법, 조성물, 전략 및 기술의 범주내에 포함된다. 특정의 실시양태로, 상기 생성된 번역후 변형된 돌라스타틴 링커 유도체가 적어도 1개이 옥심기를 함유하게되어; 생성된 변형된 옥심-함유 돌라스타틴 링커 유도체가 후속되는 변형 반응을 수행할 수 있다. 또한, 그러한 돌라스타틴 링커 유도체(들)를 임의의 번역후 개량시킬 수 있는 그러한 시약의 생산, 정제, 특징화 및 사용 방법이 상기 양태에 포함된다.

특정의 실시양태로, 상기 폴리펩티드 또는 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체가 숙주 세포에 의해 생체내에서 수행되는 동시-번역 또는 번역후 개량을 적어도 1개 포함하며, 여기서 상기 번역후 개량은 다른 숙주 세포 타입에 의해서는 정상적으로 수행되지 않는다. 특정의 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 진핵세포에 의해 생체내에서 수행되는 동시-번역 또는 번역후 변형을 적어도 1개 포함하며, 상기 번역후 개량은 다른 숙주 세포 타입에 의해서는 정상적으로 수행되지 않는다. 그러한 동시-번역 또는 번역후 변형의 예는 비제한적으로, 글리코실화, 아세틸화, 아실화, 지질-개량, 팔미토일화, 팔미테이트 첨가, 포스포릴화, 당지질-연결기 변형 등을 포함한다. 하나의 실시양태로, 상기 동시-번역 또는 번역후 변형이 GlcNAc-아스파라긴 연결기에 의한 올리고사카라이드의 아스파라긴으로의 부착 (비제한적으로, 상기 올리고사카라이드가 (GlcNAc-Man)₂-Man-GlcNAc-GlcNAc 등을 포함하는 경우를 포함)을 포함한다. 다른 실시양태로, 상기 동시-번역 또는 번역후 변형이 GalNAc-세린, GalNAc-트레오닌, GlcNAc-세린, 또는 GlcNAc-트레오닌 연결기에 의한 세린 또는 트레오닌으로의 올리고사카라이드 (비제한적으로, Gal-GalNAc, Gal-GlcNAc 등 포함)의 부착을 포함한다. 특정의 실시양태로, 단백질 또는 폴리펩티드가 분비 또는 편재 서열, 에피토프 tag, FLAG tag, 폴리히스티딘 tag, GST 융합, 및/또는 등을 포함한다. 또한, 상기 양태에 그러한 동시-번역 또는 번역후 변형을 적어도 1개 함유하는 폴리펩티드를 생산, 정제, 특징화 및 사용하는 방법이 포함된다. 다른 실시양태로, 상기 글리코실화된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 비-글리코실화된 형태로 생산된다. 그러한 글리코실화된 비-천연 아미노산의 비-글리코실화된 형태는 단리된 또는 실질적으로 정제된 또는 정제되지 않는 글리코실화된 비-천연 아미노산 폴리펩티드로부터 올리고사카라이드기를 화학적 또는 효소적으로 제거; 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 글리코실화하지 않는 숙주 (그러한 숙주는 그러한 폴리펩티드를 글리코실화하지 않도록 조작되거나 돌연변이화시킨 원핵세포 또는 진핵세포를 포함한다)에서 상기 비-천연 아미노산의 생산, 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 정상적으로 글리코실화시키는 진핵세포에 의해 그러한 폴리펩티드가 생산될 세포 걸쳐 배지로 글리코실화 억제제를 도입하는 것을 포함하는 방법, 또는 임의의 그러한 방법의 조합에 의해 생산될 수 있다. 또한, 정상적으로-글리코실화된 비-천연 아미노산 폴리펩티드 (정상적으로 글리코실화된이란 천연 폴리펩티드가 글리코실화되는 조건하에서 생산될 때 글리코실화되는 폴리펩티드를 의미한다)의 그러한 비-글리코실화된 형태가 본 명세서에 기재된다. 물론, 정상적으로-글리코실화된 비-천연 아미노산 폴리펩티드 (또는 사실 본 명세서에 기재된 임의의 폴리펩티드)의 그러한 비-글리코실화된 형태는 정제되지 않은 형태, 실질적으로 정제된 형태, 또는 단리된 형태로 존재할 수 있다.

특정의 실시형태로, 상기 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 가속화제(accelerant)의 존재하에서 수행되는 번역후 변형을 적어도 1개 포함하며, 이때 상기 번역후 변형은 화학양론적, 화학양론적-유사, 또는 거의-화학양론적이다. 다른 실시양태로, 상기 폴리펩티드를 가속화제의 존재하에서 화학식 (XIX)의 시약과 접촉시킨다. 다른 실시양태로, 상기 가속화제가 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:



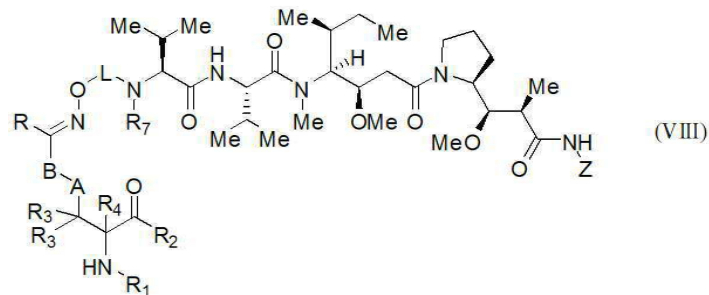
A. 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체의 화학적 합성: 옥심-함유 연결된 돌라스타틴 유도체

옥심기를 함유하는 비-천연 아미노산 돌라스타틴 연결된 유도체는 특정의 반응성 카르보닐- 또는 디카르보닐-기 (비제한적으로, 케톤, 알데히드, 또는 유사한 반응기를 갖는 다른 기를 포함)를 함유하는 다양한 시약과 반응하여 새로운 옥심기를 포함하는 새로운 비-천연 아미노산을 형성시키는 반응을 가능케 한다. 그러한 옥심 교환 반응은 돌라스타틴 연결된 유도체의 추가적인 작용성화를 가능케 한다. 또한, 원래의 옥심기를 함유하는 돌라스타틴 연결된 유도체는 옥심 연결기가 아미노산을 폴리펩티드중으로 혼입시키는데 (예를 들면, 생체내, 시험관내

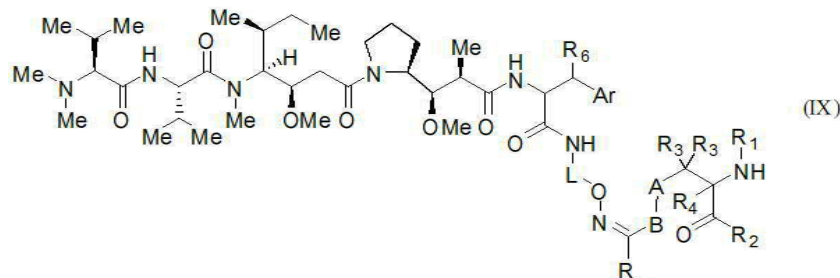
및 본 명세서에 기재된 화학적 합성 방법) 필수적인 조건하에서 안정한 한 그들 자신의 정당한 권리로 유용할 수 있다.

[0903] 따라서, 특정의 실시양태로 옥심기, 옥심-유사기 (이는 옥심기와 유사한 반응성을 가지며 옥심기와 구조적으로 유사하다), 차폐된 옥심기 (이는 옥심기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 옥심기 (이는 탈보호시 옥심기와 유사한 반응성을 갖는다)를 포함하는 측쇄를 갖는 비-천연 아미노산 돌라스타틴 연결된 유도체가 본 명세서에 기재된다.

[0904] 그러한 비-천연 아미노산 돌라스타틴 연결된 유도체는 화학식 (VIII) 또는 (IX)의 구조를 갖는 돌라스타틴 연결된 유도체 또는 이의 활성 대사물질, 또는 약학적으로 허용되는 프로드럭 또는 용매화물을 포함한다:



[0905]



[0906]

[0907] 상기 식에서,

[0908] A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

[0909] B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (여기서, k는 1, 2 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, N(R')C(S)N(R')-, -N(R')S(O)_kN(R')-, -N(R')=N-, -C(R')=N-, -C(R')=N-N(R')-, -C(R')=N=N-, -C(R')₂-N=N-, 및 -C(R')₂-N(R')-N(R')- (여기서, 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고;

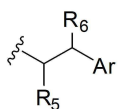
[0910] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이며;

[0911] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0912] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0913] R₃ 및 R₄는 서로 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고;

[0914] Z는 하기 구조



를 가지며;

R₅는 H, COR₈, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

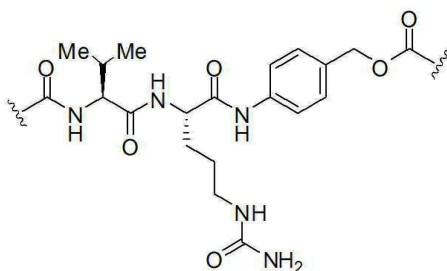
 R_8 은 OH이며;

R_6 은 OH 또는 H이고;

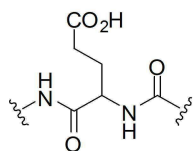
Ar는 페닐 또는 피리딘이며;

R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

L은 -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)-(CH₂)_n-NHC(O)-(CH₂)_n-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_n-NHC(O)-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, 및 -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-으로 이루어진 군으로부터 선택되는 링 커이고;



W 는 O^--NH_2 의 구조를 가지며;



U는 $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H} \end{array}$ 의 구조를 가지고;

각각의 n, n', n'', n''' 및 n'''' 는 서로 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이다.

화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 티아졸이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_6 가 H이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특징의 실시양태로, Ar가 페닐이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_7 이 메틸이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특징의 실시양태로, n 이 0 내지 20의 정수이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특징의 실시양태로, n 이 0 내지 10의 정수이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특징의 실시양태로, n 이 0 내지 5의 정수이다.

[illegible]

화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 $-NH-(알킬렌-O)_n-NH_2$ 이고, 여기서 n 은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30,

31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.

[0928] 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_6 가 H이다.

[0929] 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, Ar가 페닐이다.

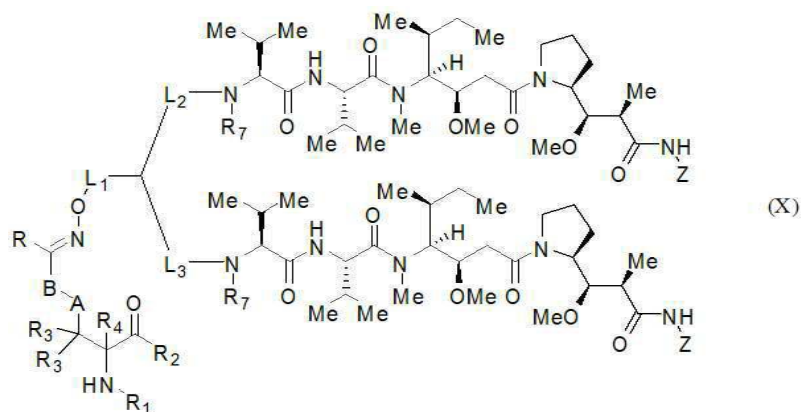
[0930] 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_7 이 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, sec-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_7 이 수소이다.

[0931] 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 L이 독립적으로 분해가능한 링커 또는 비-분해가능한 링커이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 L이 독립적으로 올리고(에틸렌 글리콜) 유도체화된 링커이다.

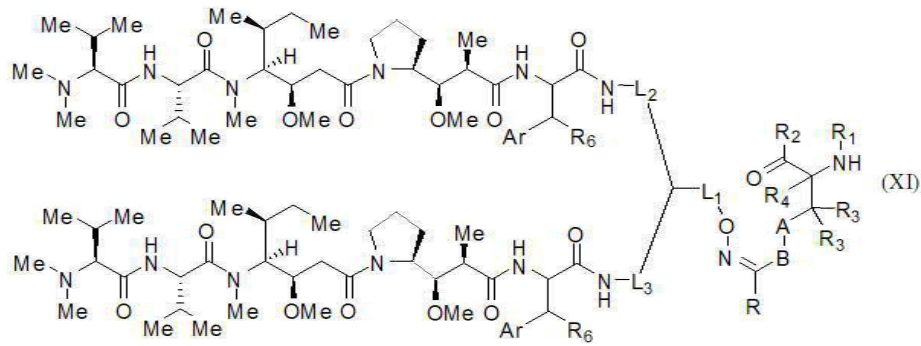
[0932] 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 알킬렌, 알킬렌', 알킬렌", 및 알킬렌"'이 독립적으로 $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, 알킬렌이 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 부틸렌, 펜틸렌, 헥실렌, 또는 헵틸렌이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 n, n', n", n"', 및 n"'이 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.

[0933] 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_1 이 폴리펩티드이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_2 가 폴리펩티드이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 화학식 (VIII) 및 (IX)의 화합물의 특정의 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다.

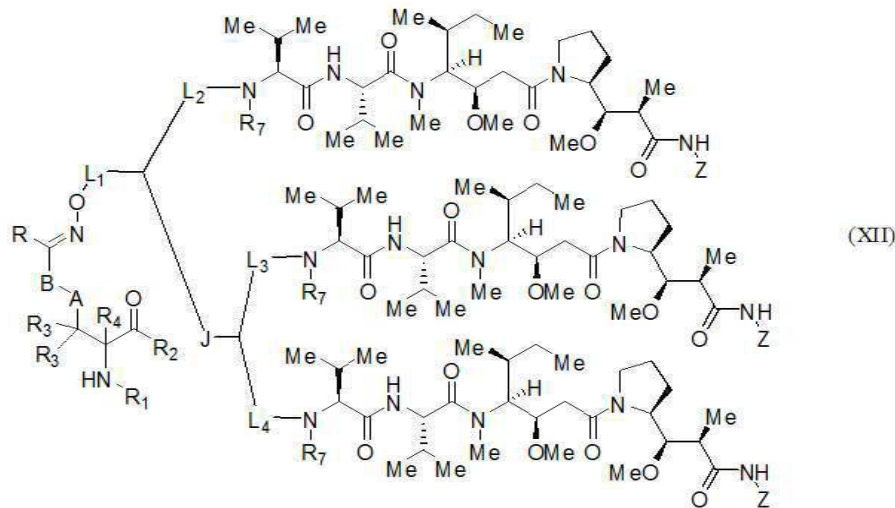
[0934] 그러한 비-천연 아미노산 도라스타틴 연결된 유도체는 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 구조를 갖는 도라스타틴 연결된 유도체를 포함한다:



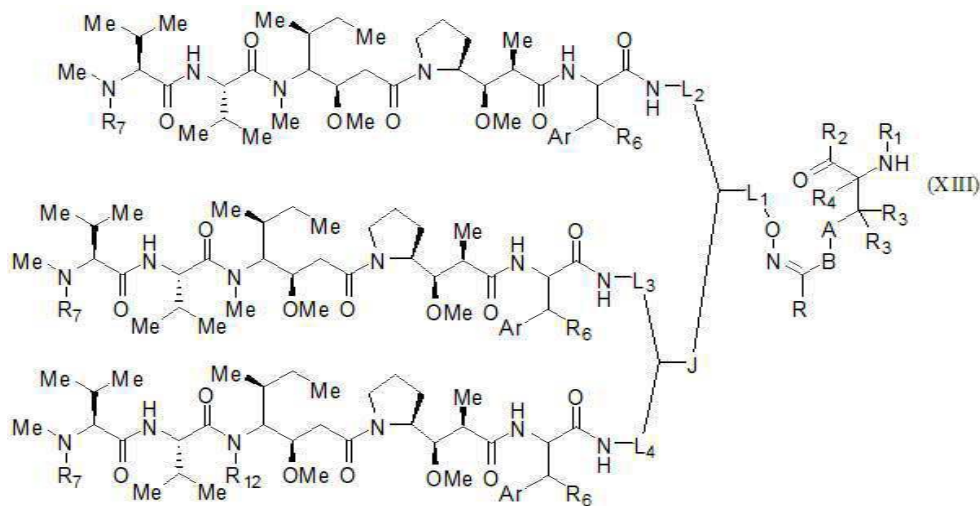
[0935]



[0936]



[0937]



[0938]

[0939]

[0940]

[0941]

상기 식에서,

A는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 사이클로알킬렌, 치환된 저급 사이클로알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 알키닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 헤테로알킬렌, 저급 헤테로사이클로알킬렌, 치환된 저급 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 치환된 헤테로아릴렌, 알크아릴렌, 치환된 알크아릴렌, 아르알킬렌, 또는 치환된 아르알킬렌이고;

B는 임의적이며, 존재할 경우, 저급 알킬렌, 치환된 저급 알킬렌, 저급 알케닐렌, 치환된 저급 알케닐렌, 저급 헤테로알킬렌, 치환된 저급 헤테로알킬렌, -O-, -O-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S-, -S-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -S(O)_k- (여기서 k는 1, 2 또는 3임), -S(O)_k(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)-, -C(O)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(S)-, -C(S)-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')-, -NR'-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -C(O)N(R')-, -CON(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -CSN(R')-, -CSN(R')-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')CO-(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-, -N(R')C(O)O-, -S(O)_kN(R')-, -N(R')C(O)N(R')-,

$N(R')C(S)N(R')-$, $-N(R')S(O)_kN(R')-$, $-N(R')=N-$, $-C(R')=N-$, $-C(R')=N-N(R')-$, $-C(R')=N=N-$, $-C(R')_2=N-$, 및 $-C(R')_2-N(R')-N(R')-$ (여기서 각각의 R'는 독립적으로 H, 알킬, 또는 치환된 알킬임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 링커이고;

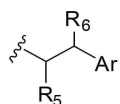
[0942] R은 H, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이며;

[0943] R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 적어도 1개의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이고;

[0944] R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 적어도 1개의 아미노산, 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0945] R₃ 및 R₄는 서로 독립적으로 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이거나, R₃ 과 R₄ 또는 2개의 R₃ 기는 임의로 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성하고;

[0946] Z는 하기의 구조



[0947] 를 가지며;

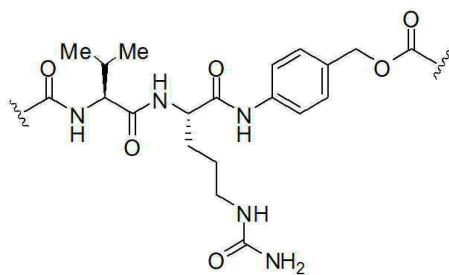
[0948] R₅는 H, CO₂H, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

[0949] R₆는 OH 또는 H이며;

[0950] Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

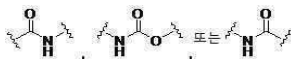
[0951] R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이며;

[0952] L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)'_n-알킬렌-J'-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌'-, -W-, -알킬렌-W-, -알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe)_n-알킬렌-W-, -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"'-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;



[0953] W는 의 구조를 가지고;

[0954] 각각의 J 및 J'는 서로 독립적으로



[0955] 의 구조를 가지며;

[0956] 각각의 n 및 n'는 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이다.

[0957] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₅가 티아졸 또는 카르복실산이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₆가 H이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특정의 실시양태로, Ar가 페닐이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특정의 실시양태로, R₇이 메틸이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특정의 실시양태로, n이 0 내지 20의 정수이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특정의 실시양태로, n이 0 내지 10의 정수이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특정의 실시양태로, n이 0 내지 5의 정수이다.

- [0958] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 티아졸이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 특징의 실시양태로, R_5 가 수소이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 메틸, 에틸, 이소-프로필, 부틸, 이소-부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 $-NH-(알킬렌-O)_n-NH_2$ 이고, 여기서 알킬렌은 독립적으로 $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, 또는 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, 알킬렌이 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 부틸렌, 펜틸렌, 헥실렌, 또는 헵틸렌이다.
- [0959] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 $-NH-(알킬렌-O)_n-NH_2$ 이고, 여기서 n 은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.
- [0960] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_6 가 H이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_6 가 히드록시이다.
- [0961] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, Ar가 페닐이다.
- [0962] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_7 이 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, sec-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_7 이 수소이다.
- [0963] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, 각각의 L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 가 독립적으로 분해가능한 링커 또는 비-분해가능한 링커이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, 각각의 L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 가 독립적으로 올리고(에틸렌 글리콜) 유도체화된 링커이다.
- [0964] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, 각각의 알킬렌, 알킬렌', 알킬렌", 및 알킬렌"이 독립적으로 $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, 또는 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, 알킬렌이 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 부틸렌, 펜틸렌, 헥실렌, 또는 헵틸렌이다.
- [0965] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, 각각의 n 및 n' 가 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.
- [0966] 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_1 이 폴리펩티드이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_2 가 폴리펩티드이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물의 특징의 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다.
- [0967] 특정 실시양태로, 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물이 약한 산성인 조건하의 수용액에서 적어도 1개월간 안정하다. 특정의 실시양태로, 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물이 약한 산성인 조건하에서 적어도 2주간 안정하다. 특정의 실시양태로, 화학식 (X), (XI), (XII) 또는 (XIII)의 화합물이 약한 산성인

조건하에서 적어도 5일간 안정하다. 특정의 실시양태로, 그러한 산성 조건이 pH 2 내지 8이다. 그러한 비-천연 아미노산은 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드에 혼입되고 임의로 번역후 변형될 수 있다.

[0968] 옥심-기재 비-천연 아미노산은 당해 분야에 이미 기재되어 있는 방법에 의해, 또는 본 명세서에 기재되어 있는 방법에 의해 합성될 수 있으며, 본 명세서에 기재된 방법은 (a) 히드록실아민-함유 비-천연 아미노산과 카르보닐- 또는 디카르보닐-함유 시약과의 반응; (b) 카르보닐- 또는 디카르보닐-함유 비-천연 아미노산과 히드록실아민-함유 시약과의 반응; 또는 (c) 옥심-함유 비-천연 아미노산과 특정의 카르보닐- 또는 디카르보닐-함유 시약과의 반응을 포함한다.

[0969] **B. 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴의 화학적 구조 및 합성: 알킬화된 방향족 아민 연결된 돌라스타틴 유도체**

[0970] 하나의 양태로, 방향족 아민기의 반응성을 기본으로하는 비-천연 아미노산의 화학적 유도체화를 위한 돌라스타틴 링커 유도체가 있다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 전술한 비-천연 아미노산 중 적어도 1개가 돌라스타틴 링커 유도체중으로 혼입되는데, 즉, 그러한 실시양태는 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체이다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 돌라스타틴 링커 유도체가 비-천연 아미노산을 유도체화시키는 시약과의 반응으로 아민 연결기가 생성되도록 이들의 측쇄에서 작용성화된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 돌라스타틴 링커 유도체가 방향족 아민 측쇄를 갖는 돌라스타틴 링커 유도체로부터 선택된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 돌라스타틴 링커 유도체가 차폐된 방향족 아민기를 포함한, 차폐된 측쇄를 포함한다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 방향족 아민 측쇄를 갖는 아미노산으로부터 선택된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 차폐된 방향족 아민기를 포함한, 차폐된 방향족 아민기를 포함한다.

[0971] 다른 양태로, 아민 연결기를 기본으로 하는 유도체화된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 생산을 위한, 예로서, 알데히드, 및 케톤과 같은 카르보닐-치환된 돌라스타틴 링커가 있다. 추가의 실시양태로, 유도체화 돌라스타틴 링커와 방향족 아민-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드 사이의 아민 연결기 형성을 통하여 방향족 아민-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 유도체화하는데 사용되는 알데히드-치환된 돌라스타틴 링커 유도체가 있다.

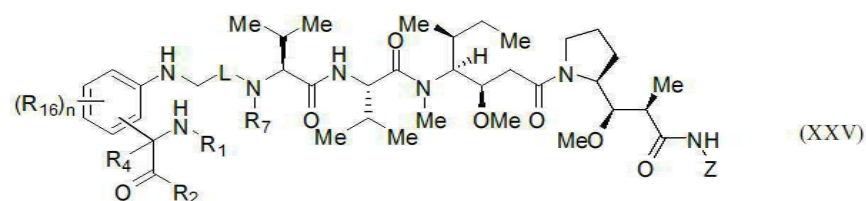
[0972] 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 방향족 아민 측쇄를 포함하는데 여기서 상기 방향족 아민은 아릴 아민 또는 헤테로아릴 아민으로부터 선택된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 천연 아미노산과 구조적으로 닮았지만 방향족 아민기를 함유한다. 다른 또는 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 페닐알라닌 또는 티로신 (방향족 아미노산)을 닮았다. 하나의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 천연 아미노산의 특성과 다른 특성을 갖는다. 하나의 실시양태로, 그러한 다른 특성이 측쇄의 화학적 반응성이고; 추가의 실시양태로, 상기 다른 화학적 반응성이 동일한 폴리펩티드중의 천연 아미노산 유닛의 측쇄가 반응을 수행하지 않는다 하더라도 비-천연 아미노산의 측쇄는 동일한 폴리펩티드의 유닛이면서 상기 반응을 수행하도록 한다. 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄가 천연 아미노산의 화학과 오르토 고달인 화학을 갖는다. 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄가 친핵체-함유 부위를 포함하며; 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄상의 친핵체-함유 부위가 아민-연결된 유도체화된 돌라스타틴을 생성시키기 위한 반응을 수행할 수 있다. 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄가 친전자체-함유 부위를 포함하며; 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄상의 친전자체-함유 부위가 아민-연결된 유도체화된 돌라스타틴을 생성시키기 위한 친핵성 공격을 수행할 수 있다. 상기 패러그래프중의 임의의 전술한 실시양태에서, 상기 비-천연 아미노산은 별개의 분자로 존재할 수 있거나 임의의 길이를 갖는 폴리펩티드중에 혼입될 수 있으며; 후자의 경우, 상기 폴리펩티드는 천연 또는 비-천연 아미노산을 추가로 포함할 수 있다.

[0973] 환원성 알킬화 또는 환원성 아민화 반응을 사용한, 본 명세서에 기재된 비-천연 아미노산의 변형은 하기 장점 중 어느 하나 또는 장점 모두를 갖는다. 첫째, 방향족 아민은 알데히드, 및 케톤을 포함한, 카르보닐-함유 화합물에 의해, 약 4 내지 약 10의 범위의 pH에서 (및 특정 실시양태에서는 약 4 내지 약 7 범위의 pH에서) 환원적으로 알킬화되어, 2급 및 3급 아민을 포함한, 치환된 아민 연결기를 생성시킬 수 있다. 둘째, 이들 반응 조건하에서 화학은 천연 아미노산의 측쇄가 비반응성이기 때문에 비-천연 아미노산에 대해 선택적이다. 이는 예로서, 제조할 단백질을 포함한, 방향족 아민 부위 또는 보호된 알데히드 부위를 함유하는 비-천연 아미노산을 이미 포함하고 있는 폴리펩티드의 부위-특이적 유도체화가 가능토록 한다. 그러한 유도체화된 폴리펩티드 및 단백질은 이에 의해 정의된 동종 생성물로 제조될 수 있다. 셋째, 폴리펩티드중에 혼입되어 있는, 아미노산 상의 방향족 아민 부위의, 알데히드-함유 시약과의 반응을 수행하는데 필요한 온화한 조건은 일반적으로 폴리펩티드의 3차

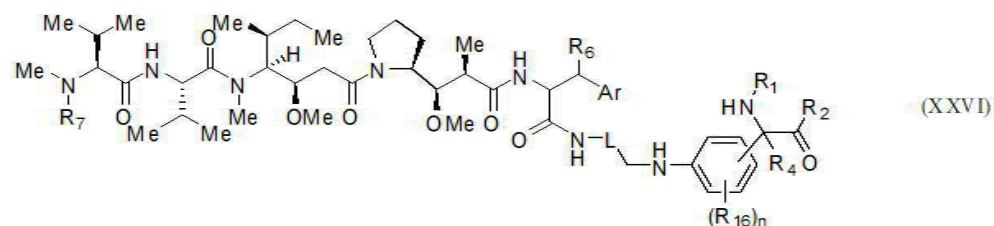
구조를 비가역적으로 파괴하지 않는다 (물론, 상기 반응의 목적이 그러한 3차 구조를 파괴하는 경우는 제외한다). 유사하게, 폴리펩티드중에 혼입되어 보호되어있는, 아미노산 상의 알데히드 부위의, 방향족 아민-함유 시약과의 반응을 수행하는데 필요한 온화한 조건은 일반적으로 폴리펩티드의 3차 구조를 비가역적으로 파괴하지 않는다 (물론, 상기 반응의 목적이 그러한 3차 구조를 파괴하는 경우는 제외한다). 넷째, 상기 반응은 실온에서 신속하게 일어나며, 이는 더 높은 온도에서는 달리 불안정한 수많은 타입의 폴리펩티드 또는 시약의 용을 가능케 한다. 다섯째, 상기 반응은 수성 조건에서 신속하게 일어나며, 이는 다시 비-수성 용액과 비화합성인 (임의의 정도로) 폴리펩티드 및 시약의 사용을 가능케 한다. 여섯째, 상기 반응은 폴리펩티드 또는 아미노산 대 시약의 비율이 화학양론적, 화학양론적-유사, 또는 거의-화학양론적인 때에도 신속하게 일어나, 유용한 양의 반응 생성물을 수득하기 위하여 과량의 시약 또는 폴리펩티드를 첨가할 필요가 없도록 한다. 일곱번째, 상기 생성된 아민은 반응물의 아민 및 카르보닐 부분의 디자인에 따라서, 위치선택적으로 및/또는 위치특이적으로 생산될 수 있다. 마지막으로, 방향족 아민과 알데히드-함유 시약과의 환원적 알킬화, 및 알데히드와 방향족 아민 함유 시약과의 환원적 아민화는 2급 및 3급 아민을 포함한, 아민 연결기를 발생시키며, 이는 생물학적 조건하에서 안정하다.

[0974]

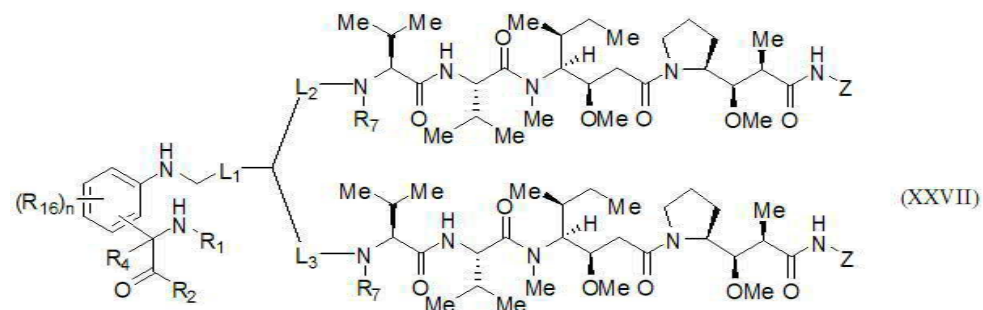
단지 예로서, 방향족 아민기 (2급 및 3급 아민기 포함), 차폐된 방향족 아민기 (이는 방향족 아민기로 용이하게 전환될 수 있다), 또는 보호된 방향족 아민기 (이는 탈보호시 방향족 아민기와 유사한 반응성을 갖는다)와 같은, 친핵성 반응성기를 갖는 비-천연 아미노산은 비제한적으로, 알데히드 함유 돌라스타틴 연결된 유도체와의 환원적 알킬화 반응을 포함한, 다양한 반응을 통하여 분자를 연결시키기 위한 다양한 반응을 가능케 한다. 그러한 알킬화된 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체는 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 구조를 갖는 아미노산을 포함한다:



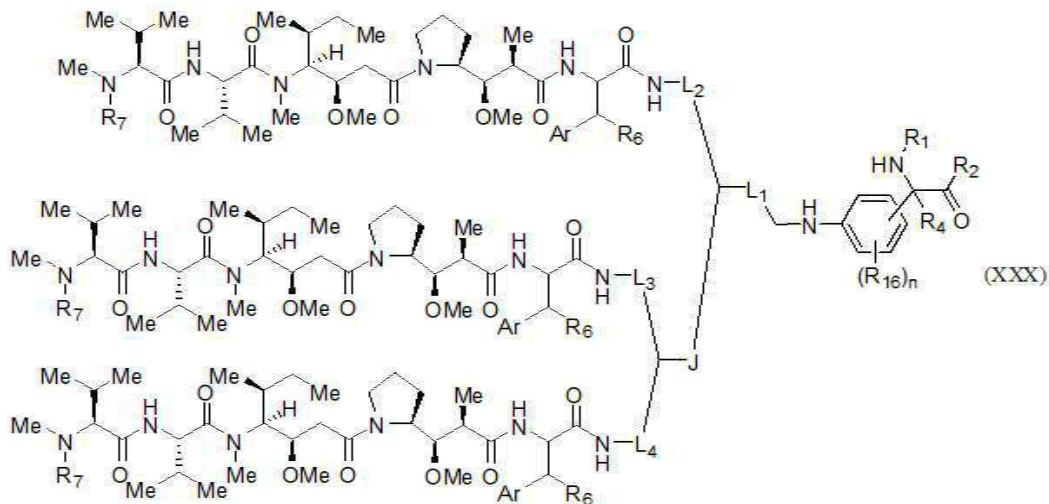
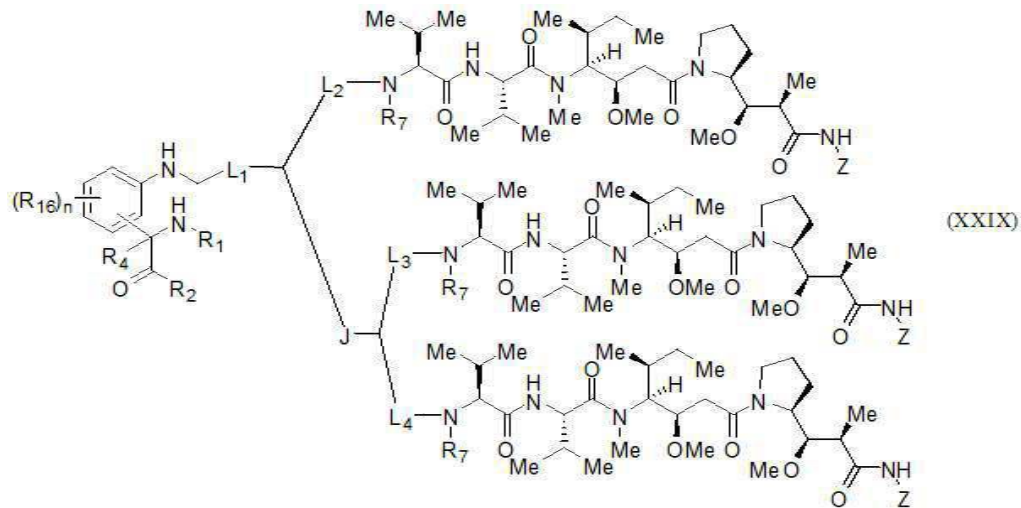
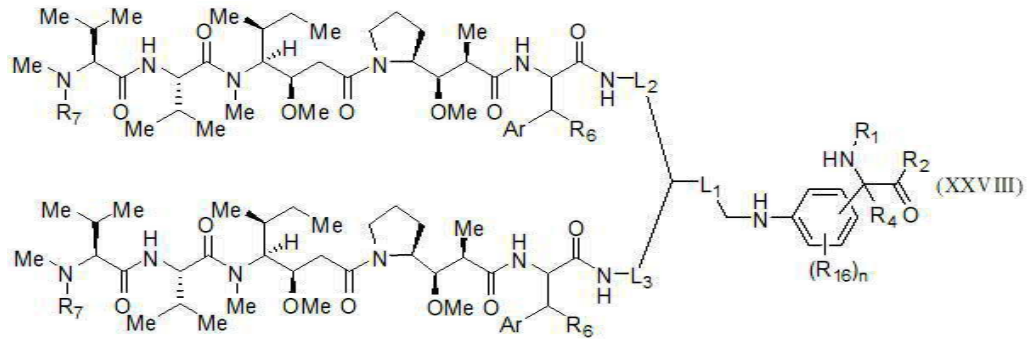
[0975]



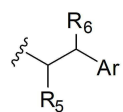
[0976]



[0977]



상기 식에서,
Z는 하기 구조



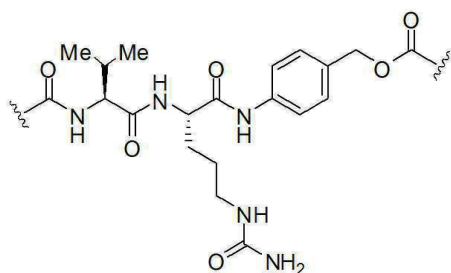
- 를 가지며;
R₅는 H, CO₂H, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;
R₆는 OH 또는 H이며;
Ar는 페닐 또는 피리딘이고;
R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이며;

[0988] R_2 는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이고;

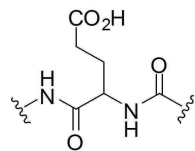
[0989] R_4 는 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이며;

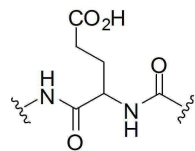
[0990] R_7 은 C_1 - C_6 알킬 또는 수소이고;

[0991] L, L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 는 각각 결합, -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -알킬렌-J-, -(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-, -(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O) $_n$ -J-, -(알킬렌-O) $_n$ -J-알킬렌-, -(알킬렌-O) $_n$ -(CH $_2$) $_n$ -NHC(O)-(CH $_2$) $_n$ -C(Me) $_2$ -S-S-(CH $_2$) $_n$ -NHC(O)-(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-, -(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-W-, -알킬렌-C(O)-W-, -(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-, -(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-J-알킬렌', -J-(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-, -(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-J-(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-J', -W-, -알킬렌-W-, -알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe) $_n$ -알킬렌-W-, -(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O) $_n$ -알킬렌-U-알킬렌; -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"'-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;

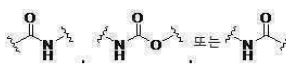


[0992] W는 의 구조를 가지고;



[0993] U는 의 구조를 가지고;

[0994] 각각의 J 및 J'는 서로 독립적으로

[0995] 의 구조를 가지며;

[0996] 각각의 n 및 n'는 서로 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이고;

[0997] 각각의 R_{16} 은 수소, 할로젠, 알킬, NO $_2$, CN, 및 치환된 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0998] 그러한 알킬화된 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체는 염의 형태로 존재할 수 있거나, 비-천연 아미노산 폴리펩티드, 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중으로 혼입되고 임의로 환원적으로 알킬화될 수 있다.

[0999] 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 티아졸 또는 카르복실산이다. 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_6 가 H이다. 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물의 특징의 실시양태로, Ar가 페닐이다. 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_7 이 메틸이다. 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물의 특징의 실시양태로, n이 0 내지 20의 정수이다. 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물의 특징의 실시양태로, n이 0 내지 10의 정수이다. 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물의 특징의 실시양태로, n이 0 내지 5의 정수이다.

[1000] 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물의 특징의 실시양태로, R_5 가 티아졸 또는 카르복실산이다. 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물의 특징의 실시양태로,

특정의 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다.

[1009] 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 화합물은 방향족 아민 화합물과 카르보닐 함유 시약, 예로서, 케톤, 에스테르, 티오에스테르, 및 알데히드와의 환원적 알킬화에 의해 형성된다.

[1010] 일부 실시양태로, 폴리펩티드에 포함되어 있는 비-천연 아미노산의 상기 차폐된 아민 부위는 초기에 환원되어 비-천연 아미노산 폴리펩티드중에 혼입되어 있는 방향족 아민 부위를 함유하는 비-천연 아미노산을 제공한다. 이어서 그러한 방향족 아민 부위는 상기한 카르보닐-함유 시약에 의해 환원적 알킬화되어 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 비-천연 아미노산을 함유하는 폴리펩티드를 제공한다. 그러한 반응은 또한 합성 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되어 있는 비-천연 아미노산에도 적용될 수 있다. 추가로, 그러한 반응은 비-혼입된 비-천연 아미노산에도 적용될 수 있다. 예로서, 차폐된 아민 부위를 환원시키는데 사용되는 환원제로는 비제한적으로, TCEP, Na_2S , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, LiAlH_4 , B_2H_6 및 NaBH_4 를 포함한다. 단지 예로서, 환원성 알킬화는 약 4 내지 약 7의 pH를 갖는 수성 완충액중에서 단지 예로서, 나트륨 시아노붕소화물 (NaBCNH_3)과 같은 온화한 환원제를 사용하여 수행될 수 있다. 또한, 다른 환원제가 환원적 알킬화에 사용될 수 있으며, 비제한적으로, TCEP, Na_2S , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, LiAlH_4 , B_2H_6 및 NaBH_4 를 포함한다.

[1011] 화학식 (XXV), (XXVI), (XXVII), (XXVIII), (XXIX), 또는 (XXX)의 아미노산을 함유하는 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 비-제한 합성 예는 상기한 카르보닐-함유 시약에 의한, 비-천연 아미노산에 함유되어 있는, 2급 방향족 아민 부위의 환원적 알킬화가 있다. 그러한 환원적 알킬화에 의해 3급 방향족 아민 부위를 갖는 비-천연 아미노산을 함유하는 폴리펩티드가 제공된다. 그러한 반응은 또한 합성 폴리머, 폴리사카라이드, 또는 폴리뉴클레오티드중에 혼입되어 있는 비-천연 아미노산에도 적용될 수 있다. 추가로, 그러한 반응은 비-혼입 비-천연 아미노산에도 적용될 수 있다. 단지 예로서, 환원적 알킬화는 약 4 내지 약 7의 pH를 갖는 수성 완충액중에서, 단지 예로서, 나트륨 시아노붕소화물 (NaBCNH_3)과 같은 온화한 환원제를 사용하여 수행될 수 있다. 또한, 다른 환원제가 환원적 알킬화에 사용될 수 있으며, 비제한적으로, TCEP, Na_2S , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, LiAlH_4 , B_2H_6 및 NaBH_4 를 포함한다.

[1012] **C. 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴의 화학적 합성: 헤테로아릴-함유 연결된 돌라스타틴 유도체**

[1013] 하나의 양태로, 적어도 1개의 케톤기, 및/또는 적어도 1개의 알데히드기, 및/또는 적어도 1개의 에스테르기, 및/또는 적어도 1개의 카르복실산, 및/또는 적어도 1개의 티오에스테르기를 함유하는 기를 포함한, 디카르보닐기의 반응성을 기본으로하는 돌라스타틴 연결된 유도체의 화학적 유도체화를 위한 비-천연 아미노산이 있으며, 여기서 상기 디카르보닐기는 1,2-디카르보닐기, 1,3-디카르보닐기, 또는 1,4-디카르보닐기일 수 있다. 추가의 또는 추가적인 양태로 히드라진기, 아미딘기, 이민기, 1,1-디아민기, 1,2-디아민기, 1,3-디아민기, 및 1,4-디아민기를 포함한, 디아민기의 반응성을 기본으로하는 돌라스타틴 연결된 유도체의 화학적 유도체화를 위한 비-천연 아미노산이 있다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 전술한 비-천연 아미노산 중 적어도 1개가 돌라스타틴 연결된 유도체 중으로 혼입되며, 즉, 그러한 실시양태는 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체이다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 이들의 유도체화 분자와의 반응으로 질소-함유 헤테로사이클을 포함한, 헤테로사이클-기본 연결기, 및/또는 알돌-기본 연결기를 포함한, 연결기를 발생시키도록 이들의 측쇄상에서 작용성화된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로 유도체화 돌라스타틴 링커와 반응하여 질소-함유 헤테로사이클을 포함한, 헤테로사이클-기본 연결기, 및/또는 알돌-기본 연결기를 포함한, 연결기를 발생시킬 수 있는 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체가 있다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 디카르보닐 및/또는 디아민 측쇄를 갖는 아미노산으로부터 선택된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 차폐된 디아민기 및/또는 차폐된 디카르보닐기를 포함한다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 케토-아민 (즉, 케톤과 아민을 둘다 함유하는 기); 케토-알킨 (즉, 케톤과 알킨을 둘다 함유하는 기); 및 엔-디온 (즉, 디카르보닐기와 알켄을 함유하는 기)로부터 선택되는 기를 포함한다.

[1014] 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 디카르보닐 측쇄를 포함하며 여기서 카르보닐은 케톤, 알데히드, 카르복실산, 또는 에스테르 (티오에스테르 포함)로부터 선택된다. 다른 실시양태로, 적합하게 작용성화된 시약으로 처리시, 질소-함유 헤테로사이클을 포함한, 헤테로사이클을 형성할 수 있는 작용성기를 함유하는 비-천연 아미노산이 있다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 천연 아미노산을 구조면에서 닮았지만 전술한 작용성기를 1개 함유한다. 다른 또는 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 페닐알라닌 또는 티로신(방향족 아미노산)을 닮았으며; 별개의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 알라닌 및

류신 (소수성 아미노산)을 닮았다. 하나의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 천연 아미노산의 특성과 다른 특성을 갖는다. 하나의 실시양태로, 그러한 상이한 특성이 측쇄의 화학적 반응성이며, 추가의 실시양태로, 상기 상이한 화학적 반응성은 동일한 폴리펩티드중의 천연 아미노산 유니트의 측쇄가 반응을 수행하지 않는다 하더라도 비-천연 아미노산의 측쇄는 동일한 폴리펩티드의 유니트이면서 상기 반응을 수행하도록 한다. 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄가 천연 아미노산의 화학과 오르토고날인 화학을 갖는다. 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄가 친전자체-함유 부위를 포함하며; 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄상의 친전자체-함유 부위가 헤테로사이클-유도체화된 단백질 (질소-함유 헤테로사이클-유도체화된 단백질 포함)을 생성시키기 위한 친핵성 공격을 수행할 수 있다. 상기 패러그래프중의 임의의 전술한 실시양태에서, 상기 비-천연 아미노산은 별개의 분자로 존재할 수 있거나 임의의 길이를 갖는 폴리펩티드중에 혼입될 수 있으며; 후자의 경우, 상기 폴리펩티드는 천연 또는 비-천연 아미노산을 추가로 포함할 수 있다.

[1015] 다른 양태로, 디아민-치환된 분자가 있으며, 여기서 상기 디아민기는 질소-함유 헤테로사이클을 포함한, 헤테로사이클 연결기를 기본으로 하는 유도체화된 비-천연 아미노산 연결된 돌라스타틴 유도체의 생산을 위한 히드라진, 아미딘, 이민, 1,1-디아민, 1,2-디아민, 1,3-디아민 및 1,4-디아민기로부터 선택된다. 추가의 실시양태로 유도체화 분자와 디카르보닐-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드 사이에 질소-함유 헤테로사이클을 포함한, 헤테로사이클 연결기의 형성을 통하여 디카르보닐-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 유도체화하는데 사용되는 디아민-치환된 돌라스타틴 유도체가 있다. 추가의 실시양태로, 전술한 디카르보닐-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 디케톤-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드이다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 디카르보닐-함유 비-천연 아미노산이 측쇄를 포함하며 여기서 상기 카르보닐은 케톤, 알데히드, 카르복실산, 또는 에스테르 (티오에스테르 포함)로부터 선택된다. 추가의 추가적인 실시양태로, 상기 디아민-치환된 분자가 목적하는 작용성으로부터 선택되는 기를 포함한다. 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄가 비-천연 아미노산이 디아민-치환된 분자와 선택적으로 반응할 수 있도록 하는 천연 아미노산의 화학과 오르토고날인 화학을 갖는다. 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄가 디아민-함유 분자와 선택적으로 반응하는 친전자체-함유 부위를 포함하며; 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄상의 친전자체-함유 부위가 헤테로사이클-유도체화된 단백질 (질소-함유 헤테로사이클-유도체화된 단백질 포함)을 생성시키기 위한 친핵성 공격을 수행할 수 있다. 상기 패러그래프에 기재된 실시양태와 관련한 추가의 양태로, 유도체화 분자와 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 반응으로부터 생성되는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 있다. 추가의 양태는 이미 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 임의의 추가적인 변형을 포함한다.

[1016] 다른 양태로, 헤테로사이클 (질소-함유 헤테로사이클 포함) 연결기를 기본으로 하는 유도체화된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 생산을 위한 디카르보닐-치환된 분자가 있다. 추가의 실시양태로, 헤테로사이클 (질소-함유 헤테로사이클기 포함)의 형성을 통하여 디아민-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 유도체화하는데 사용되는 디카르보닐-치환된 분자가 있다. 추가의 실시양태로, 약 4 내지 약 8 범위의 pH에서 디아민-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드와 헤테로사이클 (질소-함유 헤테로사이클 포함)을 형성할 수 있는 디카르보닐-치환된 분자가 있다. 추가의 실시양태로, 유도체화 분자와 디아민-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드 사이에 헤테로사이클 (질소-함유 헤테로사이클기 포함) 연결기의 형성을 통하여 디아민-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 유도체화하는데 사용되는 디카르보닐-치환된 분자가 있다. 추가의 실시양태로, 상기 디카르보닐-치환된 분자가 디케톤-치환된 분자이고, 다른 양태로 케토알데히드-치환된 분자, 다른 양태로 케토산-치환된 분자, 다른 양태로 케토에스테르-치환된 분자 (케토티오에스테르-치환된 분자 포함)가 있다. 추가의 실시양태로, 상기 디카르보닐-치환된 분자가 목적하는 작용성으로부터 선택되는 기를 포함한다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 알데히드-치환된 분자가 알데히드-치환된 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 분자이다. 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄가 천연 아미노산의 화학과 오르토고날인 화학을 가지며 이는 비-천연 아미노산이 카르보닐-치환된 분자와 선택적으로 반응하도록 한다. 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄가 디카르보닐-함유 분자와 선택적으로 반응하는 부위 (예, 디아민기)를 포함하며; 추가의 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산의 측쇄상의 친핵성 부위는 친핵성 공격을 수행하여 질소-함유 헤테로사이클-유도체화된 단백질을 포함한, 헤테로사이클-유도체화된 단백질을 발생시킬 수 있다. 상기 패러그래프에 기재된 실시양태와 관련한 추가의 양태로 유도체화 분자와 비-천연 아미노산 폴리펩티드와의 반응으로부터 생성되는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 있다. 추가의 실시양태는 이미 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 추가적인 임의의 변형을 포함한다.

[1017] 하나의 양태로 질소-함유 헤테로사이클-유도체화된 돌라스타틴을 포함한, 헤테로사이클-유도체화된 단백질을 발생시키기 위한 카르보닐과 히드라진 반응물의 반응을 통한 단백질의 유도체화 방법이 있다. 질소-함유 헤테로사이클-유도체화된 돌라스타틴을 포함한, 헤테로사이클-유도체화된 단백질을 발생시키기 위한 카르보닐- 및 히드라진-함유 반응물의 축합반응을 기본으로 하는 돌라스타틴 링커 유도체의 유도체화 방법이 상기 양태내에 포함

된다. 추가적인 또는 추가의 실시양태로 케톤-함유 돌라스타틴 유도체 또는 알데히드-함유 돌라스타틴 유도체를 히드라진-작용성화된 비-천연 아미노산으로 유도체화하는 방법이 있다. 추가적인 또는 추가의 양태로, 상기 히드라진-치호나된 분자가 단백질, 다른 폴리머, 및 소분자를 포함할 수 있다.

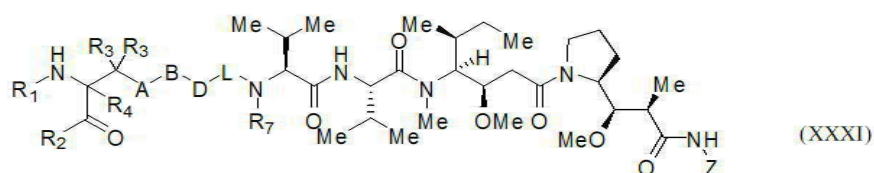
[1018] 다른 양태로 카르보닐-치환된 돌라스타틴 유도체의 유도체화를 위한 히드라진-치환된 분자의 화학적 합성 방법이 있다. 하나의 실시양태로, 상기 히드라진-치환된 분자가 단지 예로서, 케톤-, 또는 알데히드-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 포함한, 카르보닐-함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 유도체화에 적합한 돌라스타틴 연결된 유도체이다.

[1019] 하나의 양태로 퀴녹살린 또는 페나진 연결기를 기본으로 하는 돌라스타틴 유사체의 화학적 유도체화를 위한 비-천연 아미노산이 있다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 이들의 유도체화 돌라스타틴 링커와의 반응이 퀴녹살린 또는 페나진 연결기를 생성시키도록 그들의 측쇄상에서 작용성화된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 1,2-디카르보닐 또는 1,2-아릴디아민 측쇄를 갖는 아미노산으로부터 선택된다. 추가의 또는 추가적인 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 보호된 또는 차폐된 1,2-디카르보닐 또는 1,2-아릴디아민 측쇄를 갖는 아미노산으로부터 선택된다. 추가로 1,2-디카르보닐 측쇄에 대한 등가물, 또는 1,2-디카르보닐 측쇄에 대한 보호된 또는 차폐된 등가물이 포함된다.

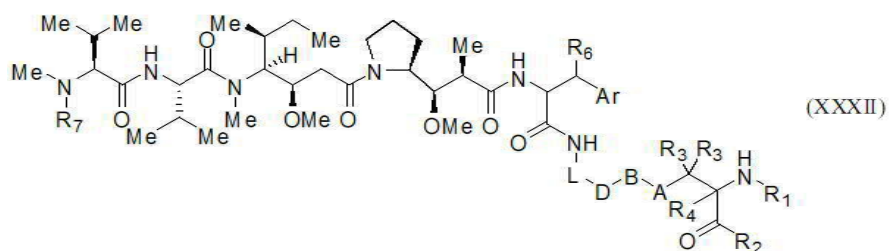
[1020] 다른 양태로, 퀴녹살린 또는 페나진 연결기를 기본으로 하는 유도체화된 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 제조를 위한 유도체화 분자가 있다. 하나의 실시양태로, 1,2-아릴디아민 함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 유도체화하여 퀴녹살린 또는 페나진 연결기를 형성시키기 위하여 사용되는 1,2-디카르보닐 치환된 돌라스타틴 링커 유도체가 있다. 다른 실시양태로, 1,2-디카르보닐 함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 유도체화하여 퀴녹살린 또는 페나진 연결기를 형성시키기 위하여 사용되는 1,2-아릴디아민 치환된 돌라스타틴 링커 유도체가 있다. 상기 실시양태와 관련한 추가의 양태로 유도체화 돌라스타틴 링커와 비-천연 아미노산 폴리펩티드의 반응으로부터 생성되는 변형된 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 있다. 하나의 실시양태로 퀴녹살린 또는 페나진 연결기를 형성시키기 위하여 1,2-디카르보닐 치환된 돌라스타틴 링커 유도체로 유도체화된 1,2-아릴디아민 함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 있다. 다른 실시양태로 퀴녹살린 또는 페나진 연결기를 형성시키기 위하여 1,2-아릴디아민 치환된 돌라스타틴 링커 유도체로 유도체화된 1,2-디카르보닐 함유 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 있다.

[1021] 특정의 실시양태로 트리아졸 연결기를 기본으로 하는 비-천연 아미노산 폴리펩티드를 포함하는 독성 화합물의 생산을 위한 유도체화 분자가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시양태로, 제1 및 제2 반응성기 간의 반응이 친쌍극체 반응을 통하여 진행될 수 있다. 특정의 실시양태로, 제1 반응성기가 아지드일 수 있고 제2 반응성기가 알킨일 수 있다. 추가의 또는 대안적 실시양태로, 제1 반응성기가 알킨일 수 있다. 제2 반응성기가 아지드일 수 있다. 일부의 실시양태로, Huisgen 고리화 첨가반응 (예를 들어, Huisgen, in 1,3-DIPOLAR CYCLOADDITION CHEMISTRY, (ed. Padwa, A., 1984), p.1-176 참조)으로 아지드 및 알킨-함유 측쇄를 포함하는 비-천연 암호화된 아미노산의 혼입을 가능케하며 이는 생성된 폴리펩티드가 극히 높은 선택성을 갖도록 변형되도록 한다. 특정의 실시양태로, 아지드와 알킨 작용성기가 둘 다 자연 폴리펩티드에서 발견되는 20개의 통상의 아미노산에 대해 불활성이다. 그러나, 밀접한 근접성에 놓고 볼 때, 아지드와 알킨기의 "스프링-부하된"특성이 드러났으며 이들은 Huisgen[3 2] 고리화 첨가반응을 통하여 선택적이고 효율적으로 반응하여 대응하는 트리아졸을 발생시킨다. 예를 들어, Chin et al., Science 301:964-7 (2003); Wang et al., J. Am. Chem. Soc., 125, 3192-3193(2003); Chin et al., J. Am. Chem. Soc., 124:9026-9027 (2002)를 참조한다. 아지드 또는 알킨-함유 폴리펩티드를 포함하는 고리화 첨가반응은 실온에 수성 조건하에서 Cu(II)를 Cu(I)로 환원시키기 위한 환원제의 존재하에, 동일계에서, 촉매량으로 Cu(II) (예, 촉매량의 CuSO_4 의 형태로)를 첨가함으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, Wang et al., J. Am. Chem. Soc., 125, 3192-3193(2003); Tornøe et al., J. Org. Chem. 67:3057-3064(2002); Rostovtsev, Angew. Chem. Int. Ed. 41:2596-2599(2002)를 참조한다. 바람직한 환원제로는 아스코르베이트, 금속성 구리, 퀴닌, 히드로퀴논, 비타민 K, 글루타티온, 시스테인, Fe^2 , Co^2 , 및 인가된 전기 전위가 있다.

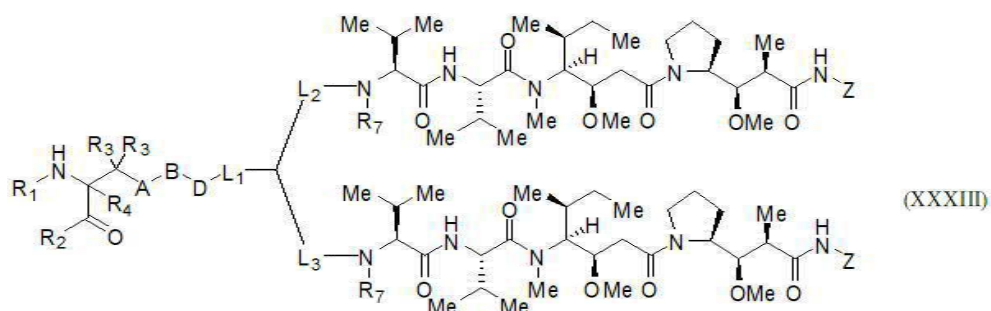
[1022] 그러한 비-천연 아미노산 헤테로아릴-연결된 돌라스타틴 유도체는 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 구조를 갖는 아미노산을 포함한다:



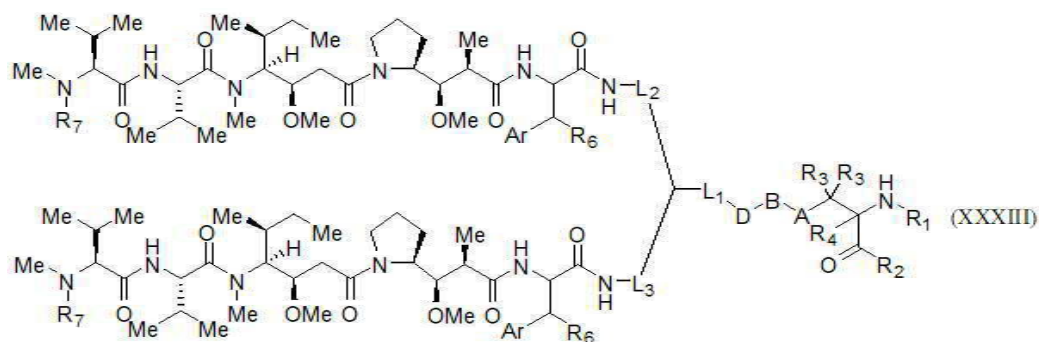
[1023]



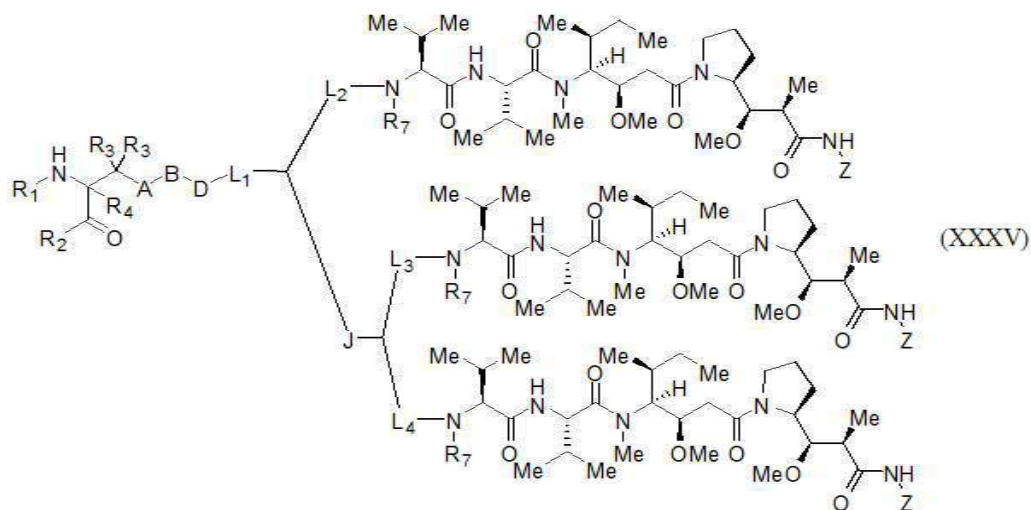
[1024]



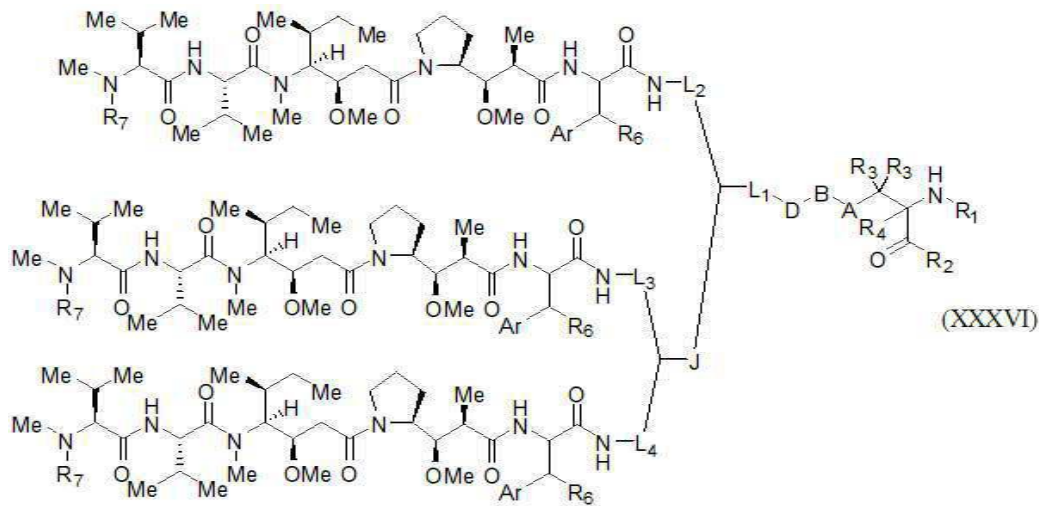
[1025]



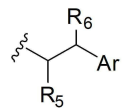
[1026]



[1027]



상기 식에서,
Z는 하기 구조



를 가지며;

R₅는 H, CO₂H, C₁-C₆ 알킬, 또는 티아졸이고;

R₆는 OH 또는 H이며;

Ar는 페닐 또는 피리딘이고;

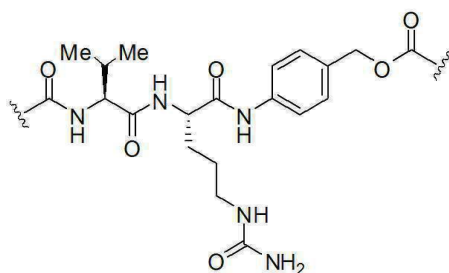
R₁은 H, 아미노 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이며;

R₂는 OH, 에스테르 보호기, 수지, 1개 이상의 아미노산, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이고;

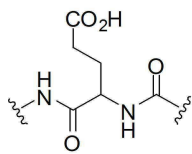
R₄는 H, 할로젠, 저급 알킬, 또는 치환된 저급 알킬이며;

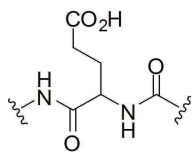
R₇은 C₁-C₆ 알킬 또는 수소이고;

L, L₁, L₂, L₃, 및 L₄는 각각 결합, -알킬렌-, -알킬렌-C(O)-, -알킬렌-J-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-J-, -(알킬렌-O)_n-J-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-(CH₂)_n-NHC(O)-(CH₂)_n-C(Me)₂-S-S-(CH₂)_n-NHC(O)-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-, -알킬렌'-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-알킬렌', -J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-J-(알킬렌-O)_n-알킬렌-J', -W-, -알킬렌-W-, -알킬렌'-J-(알킬렌-NMe)-알킬렌-W-, -J-(알킬렌-NMe)-알킬렌-W-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌-C(O)-, -(알킬렌-O)_n-알킬렌-U-알킬렌; -J-알킬렌-NMe-알킬렌'-NMe-알킬렌"-W-, 및 -알킬렌-J-알킬렌'-NMe-알킬렌"-NMe-알킬렌"-W-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 링커이며;

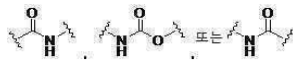


W는 의 구조를 가지고;



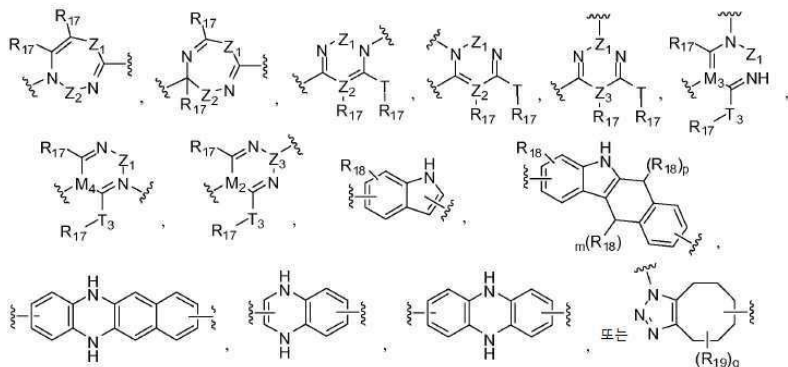
U는 의 구조를 가지고;

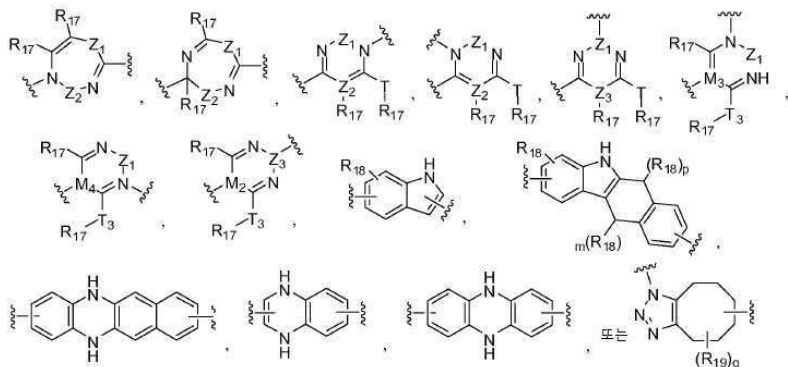
각각의 J 및 J'는 서로 독립적으로



의 구조를 가지며;

각각의 n 및 n'는 서로 독립적으로 1보다 크거나 대등한 정수이고;



D는 의 구조를 가지며;

각각의 R₁₇은 H, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 알킬알콕시, 치환된 알킬알콕시, 폴리알킬렌 옥사이드, 치환된 폴리알킬렌 옥사이드, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 치환된 아르알킬, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-ON(R'')₂, -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-C(O)SR'', -(알킬렌 또는 치환된 알킬렌)-S-S-(아릴 또는 치환된 아릴), -C(O)R'', -C(O)₂R'', 또는 -C(O)N(R'')₂로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 각각의 R''는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 알크아릴, 치환된 알크아릴, 아르알킬, 또는 치환된 아르알킬이며;

각각의 Z₁은 결합, CR₁₇R₁₇, O, S, NR', CR₁₇C₁₇-CR₁₇R₁₇, CR₁₇C₁₇-O, O-CR₁₇C₁₇, CR₁₇C₁₇-S, S-CR₁₇C₁₇, CR₁₇C₁₇-NR', 또는 NR'-CR₁₇C₁₇이고;

각각의 R'는 H, 알킬, 또는 치환된 알킬이며;

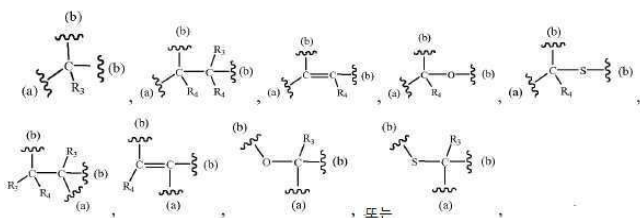
각각의 Z₂는 결합, -C(O)-, -C(S)-, 임의로 치환된 C₁-C₃ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₃ 알케닐렌, 및 임의로 치환된 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

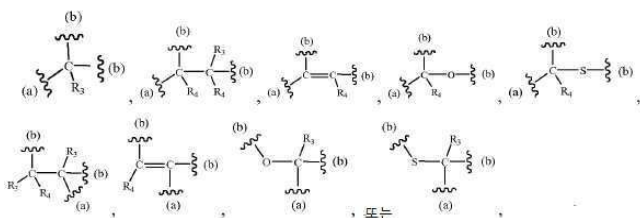
각각의 Z₃은 결합, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₄ 알케닐렌, 임의로 치환된 헤테로알킬, -O-, -S-, -C(O)-, -C(S)-, 및 -N(R')-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며;

각각의 T₃은 결합, C(R'')(R''), O, 또는 S이고; 단, T₃이 O 또는 S일 때, R''는 할로젠일 수 없으며;

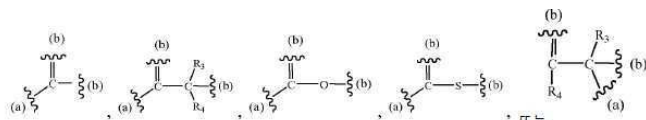
각각의 R''는 H, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 또는 치환된 사이클로알킬이고;

m 및 p는 0, 1, 2, 또는 3인데, 단, m 또는 p 중 적어도 하나는 0이 아니며;

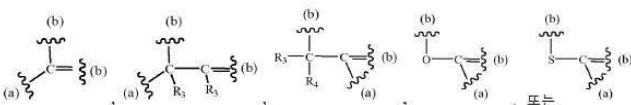


M₂는 이며, 여기서 (a)는 B기에 대한 결합을 나타내고

(b)는 상기 헤테로사이클기내에서 각 위치에 대한 결합을 나타내며;



M_3 은 $\begin{matrix} (a) & & (a) & & (a) & & (a) & & (a) & & (a) \\ & + & & + & & + & & + & & + & \\ & & & & & & & & & & \end{matrix}$ 이고, 여기서 (a)는 B기에 대한 결합을 나타내
고 (b)는 상기 헤테로사이클기내에서 각 위치에 대한 결합을 나타내고;



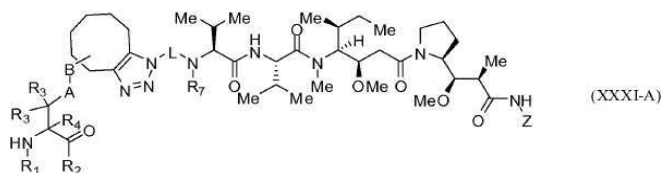
M_4 는 $\begin{matrix} & (a) \\ \textcircled{} & \end{matrix}$, $\begin{matrix} & (a) \\ \textcircled{} & \end{matrix}$, R_1 , R_2 , $\begin{matrix} & (a) \\ \textcircled{} & \end{matrix}$, 또는 $\begin{matrix} & (a) \\ \textcircled{} & \end{matrix}$ 이고, 여기서 (a)는 B기에 대한 결함을 나타내고
 (b)는 상기 헥테로사이클기내에서 각 위치에 대한 결함을 나타내고;

각각의 R₁₉는 C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, 에스테르, 에테르, 티오에테르, 아미노알킬, 할로젠, 알킬 에스테르, 아릴 에스테르, 아미드, 아릴 아미드, 알킬 할라이드, 알킬 아민, 알킬 술폰산, 알킬 니트로, 티오에스테르, 술폰일 에스테르, 할로술폰일, 니트릴, 알킬 니트릴, 및 니트로로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며;

q는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11이고;

각각의 R₁₆은 수소, 할로젠, 알킬, NO₂, CN, 및 치환된 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

일부 실시양태로, 화학식 (XXXI)의 화합물은 화학식 (XXXI-A)의 구조를 갖는 화합물을 포함한다:



화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특징의 실시양태로, R₅가 티아졸 또는 카르복실산이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특징의 실시양태로, R₆가 H이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특징의 실시양태로, Ar가 페닐이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특징의 실시양태로, R₇이 메틸이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특징의 실시양태로, n이 0 내지 20의 정수이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특징의 실시양태로, n이 0 내지 10의 정수이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특징의 실시양태로, n이 0 내지 5의 정수이다.

[illegible]

화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특징의 실시양태로, R₅가 -NH-(알킬렌-O)_n-NH₂이고, 여기서 n은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19,

20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.

[1065] 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_6 가 H이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 일부 실시양태로, R_6 가 히드록시이다.

[1066] 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, Ar가 페닐이다.

[1067] 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_7 이 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, 이소-부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 헥실이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_7 이 수소이다.

[1068] 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 L , L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 가 독립적으로 분해가능한 링커 또는 비-분해가능한 링커이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 L , L_1 , L_2 , L_3 , 및 L_4 가 독립적으로 올리고(에틸렌 글리콜) 유도체화된 링커이다.

[1069] 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 알킬렌, 알킬렌', 알킬렌", 및 알킬렌'"가 독립적으로 $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$, 또는 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정 실시양태로, 알킬렌이 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 부틸렌, 펜틸렌, 헥실렌, 또는 헵틸렌이다.

[1070] 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, 각각의 n , n' , n'' , n''' 및 n'''' 이 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100이다.

[1071] 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_1 이 폴리펩티드이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, R_2 가 폴리펩티드이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 항체이다. 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물의 특정의 실시양태로, 상기 항체가 헤르셉틴이다.

[1072] 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 화합물은 방향족 아민 화합물을 카르보닐 함유 시약, 예로서, 케톤, 에스테르, 테오에스테르, 및 알데히드로 환원적 알킬화시킴으로써 형성될 수 있다.

[1073] 화학식 (XXXI), (XXXII), (XXXIII), (XXXIV), (XXXV), 또는 (XXXVI)의 구조를 갖는 상기과 같은 비-천연 아미노산 헤테로사이클-연결된 돌라스타틴 유도체의 형성은 비제한적으로, (i) 디아민-함유 비-천연 아미노산과 디카르보닐-함유 돌라스타틴 연결된 유도체와의 반응 또는 디아민-함유 비-천연 아미노산과 케토알킬렌-함유 돌라스타틴 연결된 유도체와의 반응, (ii) 디카르보닐-함유 비-천연 아미노산과 디아민-함유 돌라스타틴 연결된 유도체와의 반응 또는 디카르보닐-함유 비-천연 아미노산과 케토아민-함유 돌라스타틴 연결된 유도체와의 반응, (iii) 케토알킬렌-함유 비-천연 아미노산과 디아민-함유 돌라스타틴 연결된 유도체와의 반응, 또는 (iv) 케토아

민-함유 비-천연 아미노산과 디카르보닐 함유 v와의 반응을 포함한다.

[1074] 상기와 같은 반응에 의해 본 명세서에 기재된 돌라스타틴 연결된 유도체를 변형시키는 것은 다음과 같은 장점 중 어느 하나 또는 장점 모두를 갖는다: 첫째, 디아민은 디카르보닐-함유 화합물에 의해, 약 5 내지 약 8의 범위의 pH에서 (및 추가의 실시양태에서는 약 4 내지 약 10 범위의 pH에서, 다른 실시양태에서는 약 3 내지 약 8 범위의 pH에서, 다른 실시양태에서는 약 4 내지 약 9 범위의 pH에서, 및 추가의 실시양태에서는 약 4 내지 약 9 범위의 pH에서, 다른 실시양태에서는 약 4의 pH, 및 또 다른 실시양태에서는 약 8의 pH에서) 축합되어, 질소-함유 헤테로사이클을 포함한, 헤테로사이클 연결기를 연결기를 생성시킬 수 있다. 이들 조건하에서, 천연 아미노산의 축합은 비반응성이다. 둘째, 상기와 같은 선택적 화학은 단백질의 부위-특이적 유도체화가 가능토록 한다: 이제 유도체화된 단백질은 정의된 동종 생성물로 제조될 수 있다. 셋째, 폴리펩티드중에 혼입되어 있는, 본 명세서에 기재된 디아민과 본 명세서에 기재된 디카르보닐-함유 폴리펩티드와의 반응을 수행하는데 필요한 온화한 조건은 일반적으로 폴리펩티드의 3차 구조를 비가역적으로 파괴하지 않는다 (물론, 상기 반응의 목적이 그러한 3차 구조를 파괴하는 경우는 제외한다). 넷째, 상기 반응은 실온에서 신속하게 일어나며, 이는 더 높은 온도에서는 달리 불안정한 수많은 타입의 폴리펩티드 또는 시약의 사용을 가능케 한다. 다섯째, 상기 반응은 수성 조건에서 신속하게 일어나며, 이는 다시 비-수성 용액과 비화합성인 (임의의 정도로) 폴리펩티드 및 시약의 사용을 가능케 한다. 여섯째, 상기 반응은 폴리펩티드 또는 아미노산 대 시약의 비율이 화학양론적, 화학양론적-유사, 또는 거의-화학양론적인 때에도 신속하게 일어나, 유용한 양의 반응 생성물을 수득하기 위하여 과량의 시약 또는 폴리펩티드를 첨가할 필요가 없도록 한다. 일곱번째, 상기 생성된 헤테로사이클은 반응물의 디아민 및 디카르보닐 부분의 디자인에 따라서, 위치선택적으로 및/또는 위치특이적으로 생산될 수 있다. 마지막으로, 디아민과 디카르보닐-함유 분자와의 축합반응은 질소-함유 헤테로사이클을 포함한, 헤테로사이클 연결기를 연결기를 발생시키며, 이는 생물학적 조건하에서 안정하다.

[1075] VI. 돌라스타틴 링커 유도체중 비-천연 아미노산의 위치

[1076] 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물은 돌라스타틴 링커 유도체중으로 1개 이상의 비-천연 아미노산을 혼입시키는 것을 포함한다. 1개 이상의 비-천연 아미노산은 돌라스타틴 링커 유도체의 활성을 파괴하지 않으면서 1개 이상의 특정 위치에 혼입될 수 있다. 이는 비제한적으로, 소수성 아미노산을 비-천연 또는 천연 소수성 아미노산으로 치환, 별키한 아미노산을 비-천연 또는 천연의 별키한 아미노산으로 치환, 친수성 아미노산을 비-천연 또는 천연의 친수성 아미노산으로 치환을 포함하는 "보존적(conservative)" 치환 및/또는 활성에 있어 요구되지 않는 위치에 비-천연 아미노산을 삽입시킴으로써 성취될 수 있다.

[1077] 다양한 생화학적 및 구조적 방법을 이용하여 돌라스타틴 링커 유도체내에서 비-천연 아미노산으로 치환시키는데 바람직한 부위를 선택할 수 있다. 일부 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 돌라스타틴 유도체의 C-말단에서 연결된다. 일부 실시양태로, 상기 비-천연 아미노산이 돌라스타틴 유도체의 N-말단에서 연결된다. 돌라스타틴 링커 유도체의 임의의 위치는 비-천연 아미노산을 혼입시키기 위한 선택에 적합하며, 상기 선택은 임의의 또는 특정하지 않은 바람직한 목적을 위한 합리적인 디자인을 기본으로 하거나 또는 랜덤한 선택에 의해 이루어질 수 있다. 바람직한 부위의 선택은 비제한적으로 수용체 결합 조절인자(modulators), 수용체 활성 조절인자, 바인더 파트너에 대한 결합의 조절인자, 결합 파트너 활성 조절인자, 결합 파트너 구조 조절인자, 이합체(dimer) 또는 다합체(multimer) 형성, 천연 분자와 비교하여 활성 또는 특성의 무변화, 또는 가용성, 응집, 또는 안정성과 같은 폴리펩티드의 임의의 물리적 또는 화학적 특성의 조작을 포함한, 임의의 바람직한 특성 또는 활성을 갖는 비-천연 아미노산 폴리펩티드 (이는 추가로 변형될 수 있거나 변형되지 않은 상태로 유지될 수 있다) 생산을 기본으로 할 수 있다. 달리, 생물학적 활성에 있어서 임계적인 것으로 확인된 부위는 폴리펩티드에 대해 추구되는 바람직한 활성에 따라서, 비-천연 아미노산으로의 치환에 있어서 양호한 후보 부위가 될 수 있다. 다른 대안은 폴리펩티드상의 각 위치에서 비-천연 아미노산으로 일련적으로 단순히 치환시키고 폴리펩티드의 활성에 대한 영향을 관찰하는 것이다. 임의의 폴리펩티드중으로 비-천연 아미노산으로 치환시키기 위한 위치를 선택하기 위한 임의의 수단, 기술, 또는 방법이 본 명세서에 기재된 방법, 기술 및 조성물에서 사용하기에 적합하다.

[1078] 결실을 포함하는 폴리펩티드의 천연 돌연변이체의 구조 및 활성을 또한 조사하여 비-천연 아미노산으로의 치환에 내성이 있을 것 같은 단백질의 영역을 결정할 수 있다. 비-천연 아미노산으로의 치환에 내성이 없을 것 같은 잔기를 일단 제거한 다음, 각각의 나머지 위치에서 제안된 치환의 영향(impact)은 비제한적으로, 관련 폴리펩티드, 및 임의의 연관된 리간드 또는 결합 단백질의 3차원 구조를 포함한, 방법을 사용하여 조사할 수 있다. 수많은 폴리펩티드의 X-선 결정학적 및 NMR 구조는 단백질 및 핵산의 거대 분자의 3차원 구조 데이터를 함유하는 데이터베이스가 수집되어 있는, Protein Data Bank (PDB, www.rcsb.org)로부터 입수할 수 있으며, 이를 사용하여 비-천연 아미노산으로 치환될 수 있는 아미노산 위치를 확인할 수 있다. 또한, 3차원 구조 데이터를 입수할 수

없는 경우, 폴리펩티드의 2차 및 3차 구조를 조사함으로써 모델을 만들 수 있다. 따라서, 비-천연 아미노산으로 치환될 수 있는 아미노산 위치의 동일성(identity)이 용이하게 획득될 수 있다.

[1079] 비-천연 아미노산의 혼입 부위의 예로는, 비제한적으로, 잠재적 수용체 결합 영역, 또는 완전히 또는 부분적으로 용매 노출될 수 있으며, 근처의 잔기와 최소로 또는 전혀 수소-결합 상호작용하지 않고, 근처의 반응성 잔기에 최소로 노출될 수 있고/있거나 이의 연관 수용체, 리간드 또는 결합 단백질을 갖는 특정의 폴리펩티드의 3차원 결정 구조에 의해 예측된 바 고도로 가요성인 영역에 존재할 수 있는 결합 단백질 또는 리간드로의 결합을 위한 영역으로부터 배제되는 것들이 있다.

[1080] 다양한 비-천연 아미노산이 폴리펩티드중의 제시된 위치로 치환되거나 혼입될 수 있다. 예로서, 특정의 비-천연 아미노산은 이의 연관 리간드, 수용체 및/또는 결합 단백질을 갖는 폴리펩티드의 3차원 결정 구조의 조사를 기본으로하는 혼입을 위하여 선택될 수 있으며, 보존적 치환이 바람직하다.

[1081] 하나의 실시양태로, 본 명세서에 기재된 방법은 돌라스타틴 링커 유도체로의 혼입 (여기서, 상기 돌라스타틴 링커 유도체는 제1 반응성기를 포함한다); 및 상기 돌라스타틴 링커 유도체를 제2의 반응성기를 포함하는 분자 (비제한적으로, 제2 단백질 또는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 유사체; 항체 또는 항체 단편; 및 이들의 임의의 조합을 포함한다)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 특정의 실시양태로, 상기 제1 반응성기가 히드록실아민 부위이고 상기 제2의 반응성기가 카르보닐 또는 디카르보닐 부위로, 이에 의해 옥심 연결기가 형성된다. 특정의 실시양태로, 상기 제1 반응성기가 카르보닐 또는 디카르보닐 부위이고 상기 제2의 반응성기가 히드록실아민 부위로, 이에 의해 옥심 연결기가 형성된다. 특정의 실시양태로, 상기 제1 반응성기가 카르보닐 또는 디카르보닐 부위이고 상기 제2의 반응성기가 옥심 부위로, 이에 의해 옥심 교환 반응이 일어난다. 특정의 실시양태로, 상기 제1 반응성기가 옥심 부위이고 상기 제2의 반응성기가 카르보닐 또는 디카르보닐 부위로, 이에 의해 옥심 교환 반응이 일어난다.

[1082] 일부 경우에는, 상기 돌라스타틴 링커 유도체 혼입(들)이 폴리펩티드내에서 다른 첨가, 치환, 또는 결실과 조합되어 다른 호학적, 물리적, 약리학적 및/또는 생물학적 특성을 발생시킬 수 있다. 일부 경우에는, 상기 다른 첨가, 치환 또는 결실이 폴리펩티드의 안정성 (비제한적으로, 단백질분해성 분해에 대한 내성을 포함)을 증가시키거나 이의 적합한 수용체, 리간드 및/또는 결합 단백질에 대한 폴리펩티드의 친화성을 증가시킬 수 있다. 일부 경우에는, 상기 다른 첨가, 치환 또는 결실이 폴리펩티드의 가용성 (비제한적으로, 이. 콜리 또는 기타 숙주 세포에서 발현될 때를 포함)을 증가시킬 수 있다. 일부 실시양태로, 이. 콜리(E. coli) 또는 다른 재조합 숙주 세포에서 발현된 다음 폴리펩티드 가용성을 증가시키는 목적을 위한 비-천연 아미노산의 혼입을 위한 다른 부위 외에 자연적으로 암호화된 또는 비-천연 아미노산으로의 치환을 위하여 부위가 선택된다. 일부 실시양태로, 상기 폴리펩티드가 연관된 리간드, 결합 단백질, 및/또는 수용체에 대한 친화성을 조절하고, 수용체 이합체화를 조절하며 (비제한적으로 증가시키거나 감소시키는 것 포함), 수용체 이합체를 안정화시키고, 순환 반감기를 조절하며, 방출 또는 생체이용율을 조절하고, 정제를 용이하게 하거나, 특정 투여 경로를 개선시키거나 변화시키는 다른 첨가, 치환, 또는 결실을 포함한다. 유사하게, 비-천연 아미노산 폴리펩티드가 화학적 또는 효소 분해 서열, 프로테아제 분해 서열, 반응성기, 항체-결합 도메인 (비제한적으로, FLAG 또는 폴리-His를 포함) 또는 다른 친화성 기본 서열 (비제한적으로, FLAG, 폴리-His, GST 등을 포함) 또는 결실(비제한적으로, GFP 포함), 정제, 조직 또는 세포막을 통한 운반, 프로드럭 방출 또는 활성화, 크기 감소, 또는 폴리펩티드의 다른 특성을 개선시키는 연결된 분자 (비제한적으로, 바이오틴 포함)를 포함할 수 있다.

[1083] VII. 표본으로서 HER2 유전자

[1084] 본 명세서에 기재된 방법, 조성물, 전략 및 기술은 특정의 타입, 부류 또는 족의 폴리펩티드 또는 단백질로 제한되지 않는다. 사실상 임의의 폴리펩티드가 본 명세서에 기재된 돌라스타틴 링커 유도체를 함유하는 "변형되거나 변형되지 않은" 비-천연 아미노산을 적어도 1개 포함하도록 디자인되거나 변형될 수 있다. 단지 예로서, 폴리펩티드는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 치료 단백질과 상동성일 수 있다: 알파-1 안티트립신, 안지오스타틴, 항응혈성 인자(antihemolytic factor), 항체, 항체 단편, 모노클로날 항체 (예, 베바시주마브(bevacizumab), 세톡시마브(cetuximab), 파니투무마브(panitumumab), 인플릭시마브(infliximab), 아달리우마브(adalimumab), 바실릭시마브(basiliximab), 다클리주마브(daclizumab), 오말리주마브(omalizumab), 우스테키누마브(ustekinumab), 에타네르셉트(etanercept), 겐투주마브(gemtuzumab), 알렘투주마브(alemtuzumab), 리툽시마브(rituximab), 트라스투주마브(trastuzumab), 니모투주마브(nimotuzumab), 팔리비주마브(palivizumab), 및 아브식시마브(abciximab)), 아포리포단백질(apolipoprotein), 아포단백질(apoprotein), 심방 나트륨이뇨 인자(atrial natriuretic factor), 심방 나트륨이뇨 폴리펩티드, 심방 펩티드, C-X-C 케모킨, 39765, NAP-2,

ENA-78, gro-a, gro-b, gro-c, IP-10, GCP-2, NAP-4, SDF-1, PF4, MIG, 칼시토닌, c-키트 리간드, 사이토킨, CC 케모킨, 단핵구 화학유인성 단백질-1(monocyte chemoattractant protein-1), 단핵구 화학유인성 단백질-2, 단핵구 화학유인성 단백질-3, 단핵구 염증성 단백질-1 알파, 단핵구 염증성 단백질-1 베타, RANTES, 1309, R83915, R91733, HCC1, T58847, D31065, T64262, CD40, CD40 리간드, c-키트 리간드, 콜라겐, 콜로니 자극 인자(CSF), 보체 인자 5a, 보체 억제제, 보체 수용체 1, 사이토킨, 상피 호중구 활성화 펩티드-78, MIP-16, MCP-1, 표피 성장 인자(EGF: epidermal growth factor), 상피 호중구 활성화 펩티드, 에리트로포이에틴(erythropoietin: EPO), 엑스폴리에이팅 독소(exfoliating toxin), 인자 IX, 인자 VII, 인자 VIII, 인자 X, 섬유아세포 성장 인자(FGF), 피브리노겐, 피브로넥틴, 고나도트로핀, 성장 인자, 성장 인자 수용체, grf, 헤지호그(hedgehog) 단백질, 헤모글로빈, 간세포 성장 인자(hGF), 히루딘, 인간 성장 호르몬(hGH), 인간 혈청 알부민, ICAM-1, ICAM-1 수용체, LFA-1, LFA-1 수용체, 인슐린, 인슐린-유사 성장 인자(IGF), IGF-1, IGF-II, 인터페론(IFN), IFN-알파, IFN-베타, IFN-감마, 인터류킨(IL), IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, 케라틴세포 성장 인자(KGF), 락토페린, 백혈병 억제 인자, 루시페라제(luciferase), 뉴르투린(neurturin), 호중구 성장 인자(KGF), 온코스타틴 M, 골원성 단백질, 발암유전자 생성물, 파라시토닌(paracitonin), 부갑상선 호르몬, PD-ECSF, PDGF, 펩티드 호르몬, 플레이오토프(pleiotropin), 단백질 A, 단백질 G, pth, 발열성 외독소(pyrogenic exotoxin) A, 발열성 외독소 B, 발열성 외독소 C, pyy, 렐락신(relaxin), 레닌(renin), SCF, 작은 생화성 단백질, 가용성 보체 수용체 I, 가용성 I-CAM 1, 가용성 인터류킨 수용체, 가용성 TNF 수용체, 소마토메딘(somatomedin), 소마토스타틴, 소마토트로핀, 스트렙토키나제, 초항원(superantigens), 스태필로코쿠스 장내독소(staphylococcal enterotoxin), SEA, SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED, SEE, 스테로이드 호르몬 수용체, 과산화물 디스무타제, 독성 쇼크 증상 독소, 티모신 알파 1, 조직 플라스미노겐 활성화제, 종양 성장 인자(TGF), 종양 괴사 인자, 종양 괴사 인자 알파, 종양 괴사 인자 베타, 종양 괴사 인자 수용체(TNFR), VLA-4 단백질, VCAM-1 단백질, 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 유로키나제(urokinase), mos, ras, raf, met, p53, tat, fos, myc, jun, myb, rel, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체, 테스토스테론 수용체, 알도스테론 수용체, LDL 수용체, 및 코르티코스테론.

- [1085] 하나의 실시양태로, 유방암, 소세포 폐암, 난소암, 전립선암, 위암, 자궁암, 식도암, 및 대장암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 HER-2를 과발현시키는 고형 종양을 치료하는 방법이 있다. 다른 실시양태로, 상기 고형 종양이 유방암이다. 추가의 실시양태로, 상기 고형 종양이 난소암이다.
- [1086] 따라서, 설명 및 단지 예를 들 목적으로 트라스투주마브의 하기와 같은 설명이 제공되며 본 명세서에 기재된 방법, 조성물, 전략 및 기술의 범주를 제한하는 것이 아니다. 또한, 본원에서 트라스투주마브에 대한 언급은 임의의 항체의 예로서 일반적인 용어를 사용하고자 함이다. 따라서, 트라스투주마브에 대해 언급하는본 명세서에 기재된 변형 및 화학은 본 명세서에 상세하게 게시된 것들을 포함하여, 임의의 항체 또는 모노클로날 항체에 대응하게 적용될 수 있다.
- [1087] 트라스투주마브는 HER2/neu 수용체의 세포외 절편의 도메인 IV에 결합하는 인간화된 모노클로날 항체이다. HER2 유전자 (HER2/neu 및 ErbB2 유전자로도 알려져 있음)는 초기-단계 유방암의 20 내지 30%에서 증폭되며, 이는 과발현되도록 한다. 또한, 암에서, HER2는 임의의 수용체에 도달하고 결합하여, 이를 과활성화시키는 미토겐 없이도 시그날을 보낼 수 있다.
- [1088] HER2는 세포막을 통하여 확장되며, 세포 외부로부터 내부로 시그날을 운반한다. 건강한 사람에서는, 미토겐으로 불리우는 시그널화 화합물이 세포막에 도달하여, HER족 수용체의 다른 일원의 외부 일부에 결합한다. 이어서 수용체에 결합된 것들은 HER2와 연결되고(이합체화), 이를 활성화시킨다. 이후, HER2는 시그날을 세포의 내부로 보낸다. 상기 시그날은 상이한 생화학적 경로를 통하여 통과한다. 이는 PI3K/Akt 경로 및 MAPK 경로를 포함한다. 이들 시그날은 세포의 혈관의 침입, 생존 및 성장(신생혈관형성)을 촉진한다.
- [1089] 트라스투주마브로 치료한 세포는 세포 사이클의 G1 상중에 정지되어 증식이 감소된다. 트라스투주마브가 HER2/neu의 하향조절에 의해 이의 효과의 일부를 유도함으로써 수용체 이합체화가 파괴되고 다운스트림 PI3K 캐스케이드를 통한 시그날이 전달된다. 이후, P27Kip1은 포스포릴화되지 않으며 핵에 들어갈 수 있어 세포 사이클 정지를 일으키는 cdk2 활성을 억제할 수 있음이 제시된 바 있다. 또한, 트라스투주마브는 항신생혈관형성 인자를 유발하고 전혈관형성 인자(proangiogenic factors)를 억압함으로써 신생혈관형성을 억제한다. 이는 암에서 관찰되는 비조절된 성장에 기여함이 세포외 도메인을 방출시키는 HER2/neu의 단백질분해성 분해로 인한 것일 수 있다고 생각된다. 트라스투주마브는 유방암 세포에서 HER2/neu 엑토도메인(ectodomain) 분해를 억제하는 것으로 나타났다.

[1090] **VIII. 비-천연 아미노산의 세포 흡수(uptake)**

[1091] 진행 세포에 의해 비-천연 아미노산 흡수는 비-천연 아미노산을 단백질에 혼입시키기 위한 경우를 포함하지만 이에 한정되는 것은 아닌, 비-천연 아미노산을 디자인하고 선택하는 경우 전형적으로 고려되는 이슈중 하나이다. 예를 들어, α-아미노산의 높은 전하 밀도는 이들 화합물이 세포 불투과성일 개연성이 낮음을 제시한다. 천연 아미노산은 단백질-기재 수송 시스템의 수집을 통해 진행 세포에 흡수된다. 존재한다면, 비-천연 아미노산이 세포에 의해 흡수되는지 평가하는 신속한 스크린을 수행할 수 있다 (본 명세서에서 실시예 15 및 16은 비-천연 아미노산에 대해 수행될 수 있는 시험의 비-제한적 예를 설명한다). 예를 들면, "Protein Arrays" 포제의 미국 특허 제2004/198637호 (이는 본 명세서에서 전문 참고로 포함됨) 및 문헌: Liu, D.R. & Schultz, P.G. (1999) Progress toward the evolution of an organism with an expanded genetic code. PNAS United States 96:4780-4785에서의 독성 검정법을 참조할 수 있다. 비록 흡수는 다양한 검정법으로 용이하게 분석되지만, 세포 흡수 경로를 따르는 비-천연 아미노산을 디자인하는 것에 대한 대안은 생체내 아미노산을 생성시키기위한 생합성 경로를 제공한다.

[1092] 전형적으로, 본 명세서에 기재된 세포 흡수를 통해 생산된 비-천연 아미노산은 비제한적으로 천연 세포량을 포함하여, 효율적인 단백질 생합성에 충분한 농도로 생산되지만, 다른 아미노산의 농도에 영향을 주거나 세포 자원을 고갈시킬 정도는 아니다. 이 방법으로 생산되는 전형적인 농도는 약 10 mM 내지 약 0.05 mM이다.

[1093] **IX. 비-천연 아미노산의 생합성**

[1094] 아미노산 및 기타 화합물의 생산을 위한 수많은 생합성 경로가 이미 세포에 존재한다. 특정의 비-천연 아미노산에 대한 생합성 경로가 비제한적으로, 세포를 포함한 자연에 존재하지 않을 수 있지만, 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물은 그러한 방법을 제공한다. 예를 들면, 비-천연 아미노산에 대한 생합성 경로가 새로운 효소를 첨가하거나 존재하는 숙주 세포 경로를 변형시킴으로써 숙주 세포에서 발생시킬 수 있다. 추가적인 새로운 효소는 천연 효소 또는 인공적으로 발달된 효소가 있다. 예를 들면, p-아미노페닐알라닌의 생합성 ("In vivo incorporation of unnatural amino acids"라는 표제하의 WO 2002/085923에서 실시예로 제공됨)은 다른 유기체로부터 공지의 효소의 조합물의 첨가에 의존한다. 이들 효소에 대한 유전자는 유전자를 포함하는 플라스미드를 사용하여 세포를 형질전환시킴으로써 진행 세포종으로 도입될 수 있다. 유전자는 세포에서 발현되는 경우 효소적 경로를 제공하여 목적하는 화합물을 합성한다. 임의적으로 첨가되는 효소 타입의 예가 하기 실시예에서 제공된다. 추가적인 효소 서열은 예를 들면, Genbank에서 찾을 수 있다. 인공적으로 발달된 효소는 동일한 방식으로 세포중에 첨가될 수 있다. 이 방식으로, 세포 기구 및 세포의 공급원을 조작하여 비-천연 아미노산을 생산한다.

[1095] 다양한 방법들이 생합성 경로에서의 사용을 위해 신규한 효소를 생산하거나 또는 현존하는 경로를 발전시키는 데 이용될 수 있다. 예를 들면, Maxygen, Inc. (월드 와이드 웹상의 www.maxygen.com에서 입수가능하다)에 의해 개발된 것을 포함하여, 이에 한정되지 않는 반복적 재조합을 사용하여 신규한 효소와 경로를 개발할 수 있다. 예를 들면, 문헌: Stemmer(1994), Rapid evolution of a protein in vitro by DNA shuffling, Nature 370(4):389-391; 및 Stemmer(1994), DNA shuffling by random fragmentation and reassembly: In vitro recombination for molecular evolution, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91:10747-10751을 참조한다. 유사하게, Genecor에 의해 개발된 DesignPath™ (월드 와이드 웹상의 genecor.com에서 입수가능)은 임의적으로 경로를 조작하여 세포에서 비-천연 아미노산을 생성하는 것을 포함하며 이에 한정되지 않는 대사 경로 조작에 사용된다. 이 기술은 기능적 계층을 통해 동정된 것을 포함하며 이에 한정되지 않는 신규한 유전자의 조합물, 및 분자 진화 및 디자인을 사용하여 숙주 유기체 중에 현존하는 경로를 재구성한다. Diversa Corporation (월드 와이드 웹상의 diversa.com에서 입수가능)도 유전자 및 유전자 경로의 라이브러리를 신속하게 스크리닝하여 비-천연 아미노산을 생합성적으로 생산하기 위한 신규한 경로를 생성시키는 것을 포함하며 이에 한정되지 않는 기술을 제공한다.

[1096] 전형적으로, 본 명세서에 설명되는 바와 같은 조작된 생합성 경로를 사용하여 생산된 비-천연 아미노산은 다른 아미노산의 농도에 영향을 주거나 세포 공급원을 고갈시키는 정도는 아닌 천연 세포 양을 포함하며 이에 한정되지 않는 양으로 효과적인 단백질 생합성에 충분한 농도로 생산된다. 이 방식으로 생체 내에서 생산되는 전형적인 농도는 약 10 mM 내지 약 0.05 mM 이다. 일단, 특이적 경로에 바람직한 효소를 생산하는데 사용되는 유전자를 포함하는 플라스미드로 세포를 형질전환시키고 비-천연 아미노산을 생성시킨 다음, 임의적으로 생체내 선택을 사용하여 리보솜 단백질 합성 및 세포 성장 둘 다를 위한 비-천연 아미노산의 생산을 추가로 최적화시킨다.

[1097] **X. 추가적인 합성 방법론**

[1098] 본 명세서에 기재된 비-천연 아미노산은 당해 분야에 기재되어 있는 방법론을 사용하거나 본 명세서에 기재된 기술을 사용하거나 또는 이들을 조합하여 합성할 수 있다. 도움을 주고자, 하기 표는 목적하는 작용성을 생성시키기 위하여 조합할 수 있는 다양한 출발 친전자체 및 친핵체를 제공한다. 제공되는 정보는 본 명세서에 기재된 합성 기술을 설명하기 위함이며 제한하는 것이 아니다.

[1099] 표 1

공유결합적 연결기 및 이들의 전구체의 예

공유결합적 연결기 생성물	친전자체	친핵체
카르복스아미드	활성화된 에스테르	아민/아닐린
카르복스아미드	아실 아지드	아민/아닐린
카르복스아미드	아실 할라이드	아민/아닐린
에스테르	아실 할라이드	알코올/페놀
에스테르	아실 니트릴	알코올/페놀
카르복스아미드	아실 니트릴	아민/아닐린
이민	알데히드	아민/아닐린
히드라존	알데히드 또는 케톤	히드라진
옥심	알데히드 또는 케톤	히드록실아민
알킬 아민	알킬 할라이드	아민/아닐린
에스테르	알킬 할라이드	카르복실산
티오에테르	알킬 할라이드	티올
에테르	알킬 할라이드	알코올/페놀
티오에테르	알킬 술폰네이트	티올
에스테르	알킬 술폰네이트	카르복실산
에테르	알킬 술폰네이트	알코올/페놀
에스테르	무수물	알코올/페놀
카르복스아미드	무수물	아민/아닐린
티오페놀	아릴 할라이드	티올
아릴 아민	아릴 할라이드	아민
티오에테르	아진딘	티올
보로네이트 에스테르	보로네이트	글리콜
카르복스아미드	카르복실산	아민/아닐린
에스테르	카르복실산	알코올
히드라진	히드라지드	카르복실산
N-아실우레아 또는 무수물	카르보디이미드	카르복실산
에스테르	디아조알칸	카르복실산
티오에테르	에폭사이드	티올
티오에테르	할로아세트아미드	티올
암모트리아진	할로트리아진	아민/아닐린
트리아지닐 에테르	할로트리아진	알코올/페놀
아미딘	이미도 에스테르	아민/아닐린
우레아	이소시아네이트	아민/아닐린
우레탄	이소시아네이트	알코올/페놀
티오우레아	이소티오시아네이트	아민/아닐린
티오에테르	말레이미드	티올
포스포이트 에스테르	포스포르아미다이트	알코올
실릴 에테르	실릴 할라이드	알코올
알킬 아민	술폰네이트 에스테르	아민/아닐린
티오에테르	술폰네이트 에스테르	티올
에스테르	술폰네이트 에스테르	카르복실산
에테르	술폰네이트 에스테르	알카올
술폰아미드	술폰닐 할라이드	아민/아닐린
술폰네이트 에스테르	술폰닐 할라이드	페놀/알코올

[1100]

[1101] 일반적으로, 탄소 친전자체는 탄소 친핵체를 포함한, 상보성 친핵체에 의해 공격받기 쉬우며, 여기서 공격하는 친핵체는 친핵체와 탄소 친전자체 사이에 새로운 결합을 형성시키기 위하여 탄소 친전자체와 전자쌍을 이룬다.

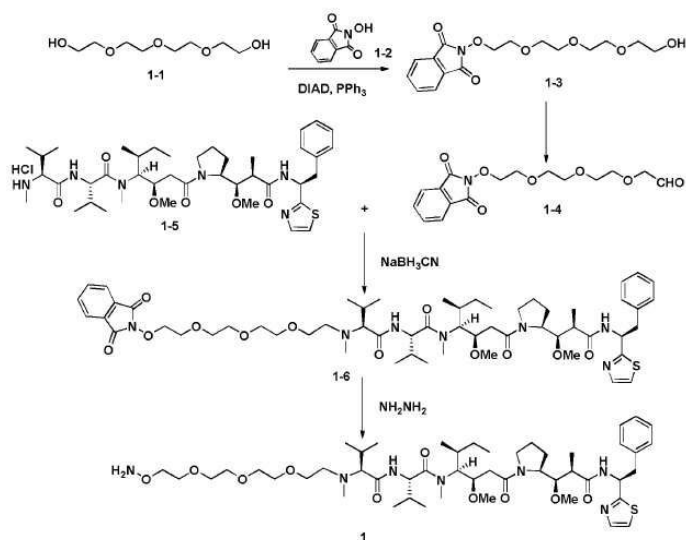
[1102] 탄소 친핵체의 비-제한적 예로는 알킬, 알케닐, 아릴 및 알킬닐 그리나드(Grignard), 오가노리튬, 오가노아연, 알킬-, 알케닐-, 아릴- 및 알킬닐-주석 시약 (오가노주석), 알킬-, 알케닐-, 아릴- 및 알킬닐-보란 시약 (유기 붕소 및 유기붕소산염)이 있으나 이들로 제한되는 것은 아니며; 이들 탄소 친핵체는 물 또는 극성 유기 용매중에서 운동적으로 안정한 장점을 갖는다. 탄소 친핵체의 다른 비-제한 예로는 포스포러스 일리드(ylids), 에놀 및 에놀레이트 시약이 있으며; 이들 탄소 친핵체는 합성 유기 화학 분야의 숙련가에게 숙지되어 있는 전구체로부터 상대적으로 용이하게 발생시킬 수 있는 장점을 갖는다. 탄소 친핵체가 탄소 친전자체와 함께 사용될 때, 탄소 친핵체와 탄소 친전자체 사이에 새로운 탄소-탄소 결합이 생성된다.

[1103] 탄소 친전자체에 커플링시기기에 적합한 비-탄소 친핵체의 비-제한 예로 1급 및 2급 아민, 티올, 티올레이트, 및 티오에테르, 알코올, 알콕사이드, 아지드, 세미카르바지드 등이 있으나 이들로 제한되는 것은 아니다. 이들 비-탄소 친핵체가 탄소 친전자체와 함께 사용될 때, 전형적으로 헤테로원자 연결기 (C-X-C, 여기서 X는 비제한적으로, 산소, 황, 또는 질소를 포함한, 헤테로원자임)를 생성시킨다.

[1104] 실시예

[1105] 실시예 1: 화합물 1의 합성

[1106] 반응식 1



[1107]

[1108] 화합물 1-3: 테트라(에틸렌 글리콜)1-1(10g, 51.5 밀리몰), N-히드록시프탈이미드 1-2(8.4g, 51.15 밀리몰) 및 트리페닐포스핀 (17.6g, 67 밀리몰)을 300 ml의 테트라히드로푸란에 용해시킨 다음 DIAD (12.8 ml, 61.78 밀리몰)을 0℃에서 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 다음 농축건고시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 1-3을 5.47g(31%)을 수득하였다.

[1109] 화합물 1-4: 15 ml의 디클로로메탄 중 화합물 1-3 (200 mg, 0.59 밀리몰)의 용액에 Dess-Martin 퍼요오디난 (Periodinane) (300 mg, 0.71 밀리몰)을 가하였다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 밤새 교반시켰다. 15 ml의 포화 중탄산나트륨 중의 중아황산나트륨의 용액으로 상기 반응을 중단시켰다. 혼합물을 분리시켰다. 유기층을 포화 중탄산나트륨, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켜, 여과하고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 150 mg(75%)의 화합물 1-4를 수득하였다.

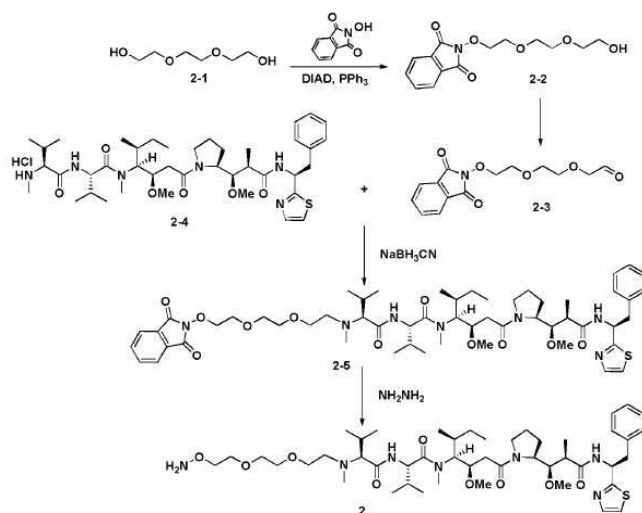
[1110] 화합물 1-6: 1 ml의 DMF중 모노메틸돌라스타틴 염산염 1-5 (50 mg, 0.062 밀리몰)의 용액에 화합물 1-4 (63 mg, 0.186 밀리몰) 및 70 μ l의 아세트산을 가한 다음, 8 mg의 나트륨 시아노붕소수화물을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 주위 온도에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 물로 희석하고 HPLC로 정제하여 60 mg(80%)의 화합물 1-6을 수득하였다. MS(ESI)m/z 547[M+2H], 1092[M+H].

[1111] 1d.

[1112] 화합물 1: 화합물 1-6 (60 mg, 0.05 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 32 μ l의 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 주위 온도에서 1시간 동안 교반시켰다. 1N 염산 용액으로 상기 반응을 중단시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 33 mg(55%)의 화합물 1을 수득하였다. MS(ESI)m/z 482[M+2H], 962[M+H].

[1113] 실시예 2: 화합물 2의 합성

[1114] 반응식 2

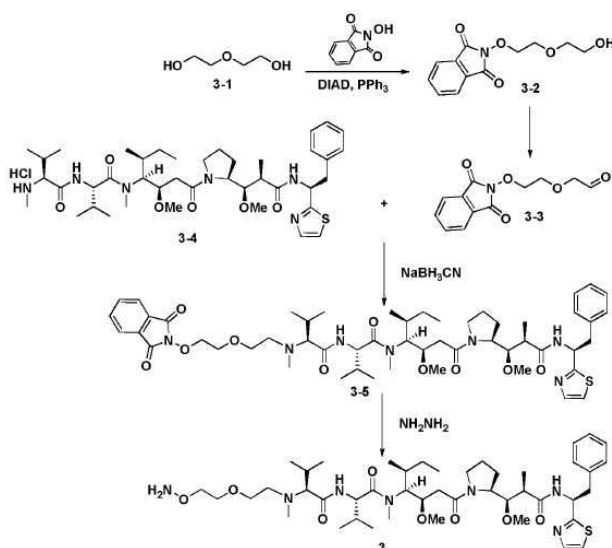


[1115]

[1116] 화합물 2를 실시예 1에 기재된 바와 유사한 합성 경로를 통하여 합성하였다. MS(ESI) m/z 460[M+2H], 918[M+H].

[1117] **실시예 3: 화합물 3의 합성**

[1118] 반응식 3



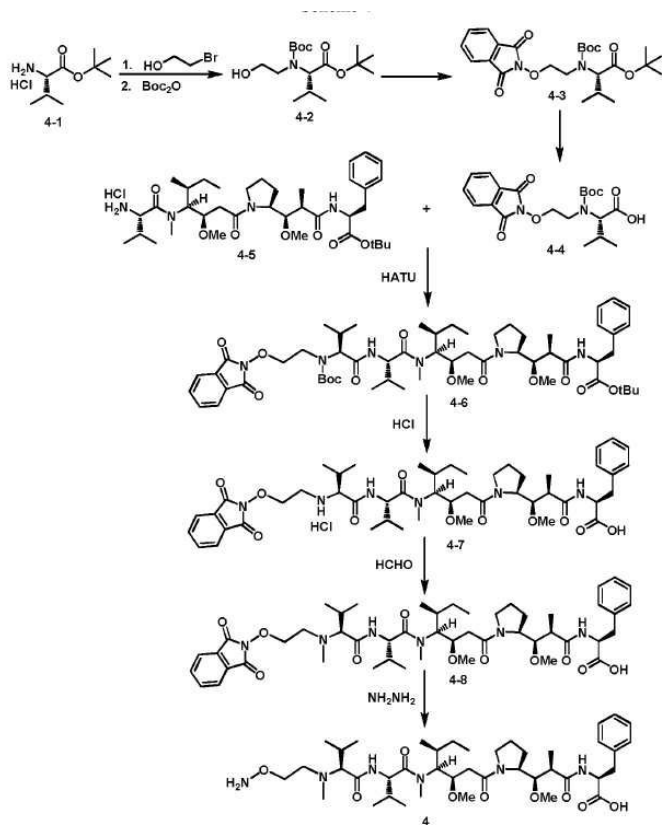
[1119]

[1120] 화합물 3을 실시예 1에 기재된 바와 유사한 합성 경로를 통하여 합성하였다. MS(ESI) m/z 438[M+2H], 974[M+H].

[1121] **실시예 4: 화합물 4의 합성**

[1122] 화합물 4-2: 10 ml의 DMF중 Val (OtBu)-OH.HCl 4-1(1 g, 4.66 밀리몰) 및 브로모에탄올 (304.7 μ l, 4.3 밀리몰)의 용액에 1.68 ml의 DIEA를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2일간 교반시켰다. 4.8 밀리몰의 Boc₂O를 상기 반응 혼합물에 가한 다음, 0.84 ml의 DIEA를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2일간 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고 에틸 아세테이트로 추출한 다음 물, 염수로 세척한 다음, 황산나트륨 상에서 건조시키고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 0.66 g의 화합물 4-2를 수득하였다.

[1123] 반응식 4



[1124]

[1125] 화합물 4-3: 15 ml의 THF중 화합물 4-2 (500 mg, 1.58 밀리몰), N-히드록시프탈이미드 (261 mg, 1.6 밀리몰) 및 트리페닐포스핀 (538 mg, 2.05 밀리몰)의 용액에 DIAD (394 μ l, 1.9 밀리몰)를 0℃에서 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 다음, 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 0.68 g의 화합물 4-3을 수득하였다.

[1126] 화합물 4-4: 화합물 4-3을 15 ml의 HCl/디옥산에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2일간 교반시킨 다음 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 DMF에 용해시키고 Boc₂O (230 μ l, 1 밀리몰) 및 DIEA (352 μ l, 2 밀리몰)로 처리하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2일간 교반시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 100 mg의 화합물 4-4를 수득하였다.

[1127] 화합물 4-5: DMF중 화합물 Boc-Val-Dil-메틸Dap-OH의 용액에 phe(OtBu)-OH.HCl, HATU 및 N-메틸모르폴린을 가한다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 에틸 아세테이트 (100 ml x 1, 50 ml x 2)로 추출한다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고 진공하에서 농축시킨다. 잔사를 플래쉬 크로마토그래피로 정제한다. 생성된 화합물을 HCl/EtOAc로 처리하여 화합물 4-5를 수득한다.

[1128] 화합물 4-6: DMF 중 화합물 4-5의 용액에 화합물 4-4, HATU 및 DIEA를 가한다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 에틸 아세테이트 (100 ml x 1, 50 ml x 2)로 추출한다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고 진공하에서 농축시킨다. 잔사를 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 화합물 4-6을 수득한다.

[1129] 화합물 4-7: 화합물 4-6을 15 ml의 4N HCl/디옥산에 용해시킨다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켜 화합물 4-7을 수득한다.

[1130] 화합물 4-8: 1 ml의 DMF중 화합물 4-7의 용액에 포름알데히드 및 아세트산을 가한 다음, 나트륨 시아노붕소화물을 가한다. 생성된 혼합물을 주위 온도에서 2시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 물로 희석하고 HPLC로 정제하여 화합물 4-8을 수득한다.

[1131] 화합물 4: 화합물 4-8을 1 ml의 DMF에 용해시킨다. 히드라진을 가한다. 생성된 용액을 주위 온도에서 1시간 동

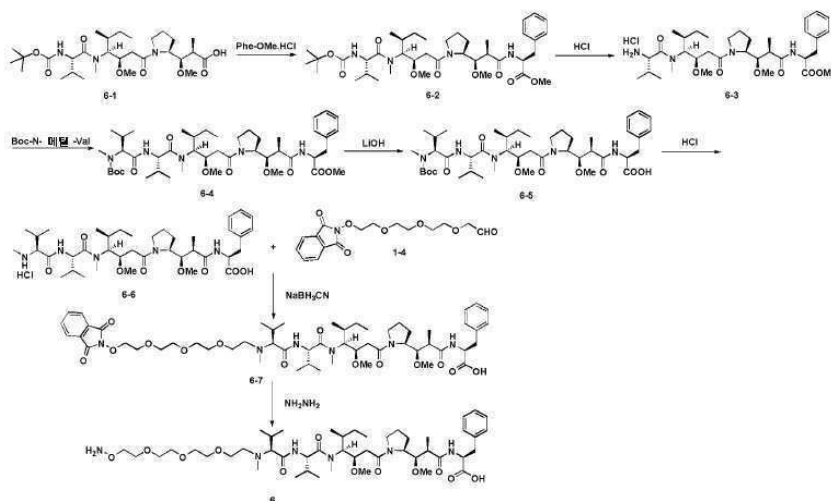
안 교반시킨다. 1N 염산 용액으로 반응을 중단시킨다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 화합물 4를 수득한다.

[1132] 실시예 5: 화합물 5의 합성

[1133] 화합물 4-7을 1 ml의 DMF에 용해시킨다. 생성된 용액을 주위 온도에서 1시간 동안 교반시킨다. 1N 염산 용액으로 반응을 중단시킨다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 화합물 5를 수득한다.

[1134] 실시예 6: 화합물 6의 합성

[1135] 반응식 6



[1137] 화합물 6-2: 3 ml의 DMF 중 화합물 6-1의 용액에 283 mg의 페닐알라닌 히드로클로라이드, 433 mg의 HATU 및 581 μ l의 N-메틸모르폴린을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 에틸 아세테이트 (100 ml x 1, 50 ml x 2)로 추출하였다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 560 mg(76%)의 화합물 6-2를 수득하였다.

[1138] 화합물 6-3: 화합물 6-2를 15 ml의 4N HCl/디옥산에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공에서 농축시켜 511 mg의 화합물 6-3을 수득하였다.

[1139] 화합물 6-4: 3 ml의 DMF중 화합물 6-3의 용액에 255 mg의 Boc-N-메틸 발린, 314 mg의 HATU 및 303 μ l의 N-메틸 모르폴린을 가하였다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 4시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 에틸 아세테이트 (100 ml x 1, 50 ml x 2)로 추출하였다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 370 mg(79%)의 화합물 6-4를 수득하였다.

[1140] 화합물 6-5: 10 ml의 MeOH 중 화합물 6-4(170 mg)의 용액에 5 당량의 1N LiOH를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 1N HCl로 산성화하고 에틸 아세테이트로 추출한 다음 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켜 진공하에 농축시킴으로써 150 mg(90%)의 화합물 6-5를 수득하였다.

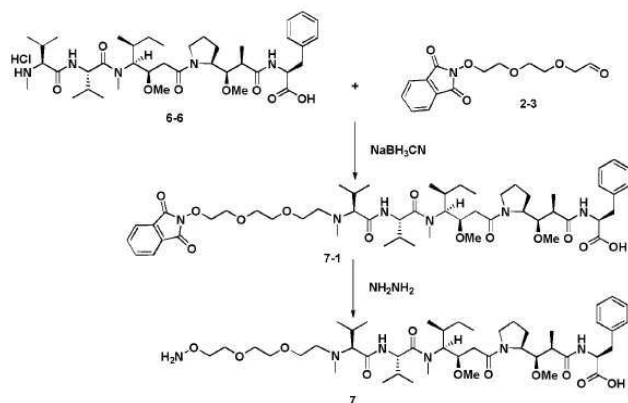
[1141] 화합물 6-6: 화합물 6-5를 4N HCl/디옥산에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공에서 농축시켜 150 mg의 화합물 6-6을 수득하였다.

[1142] 화합물 6-7: 1 ml의 DMF중 화합물 6-6 (50 mg, 0.062 밀리몰)의 용액에 화합물 1-4 (63 mg, 0.186 밀리몰) 및 70 μ l의 아세트산을 가한 다음, 8 mg의 나트륨 시아노보무소화물을 가하였다. 생성된 혼합물을 주위 온도에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 물로 희석시키고 HPLC로 정제하여 60 mg(80%)의 화합물 6-7을 수득하였다.

[1143] 화합물 6: 화합물 6-7 (60 mg, 0.05 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 32 μ l의 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 주위 온도에서 1시간 동안 교반시켰다. 1N 염산 용액으로 반응을 중단시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 33 mg(55%)의 화합물 6을 수득하였다.

[1144] 실시예 7: 화합물 7의 합성

[1145] 반응식 7

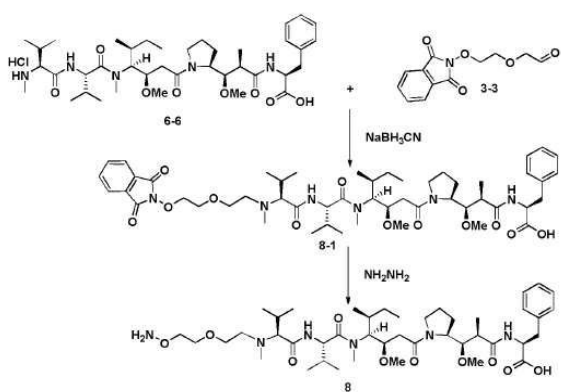


[1146]

[1147] 화합물 7을 실시예 1에 기재된 바와 유사한 합성 경로를 통하여 합성하였다. MS(ESI) m/z 440[M+2H], 879[M+H].

[1148] **실시예 8: 화합물 8의 합성**

[1149] 반응식 8

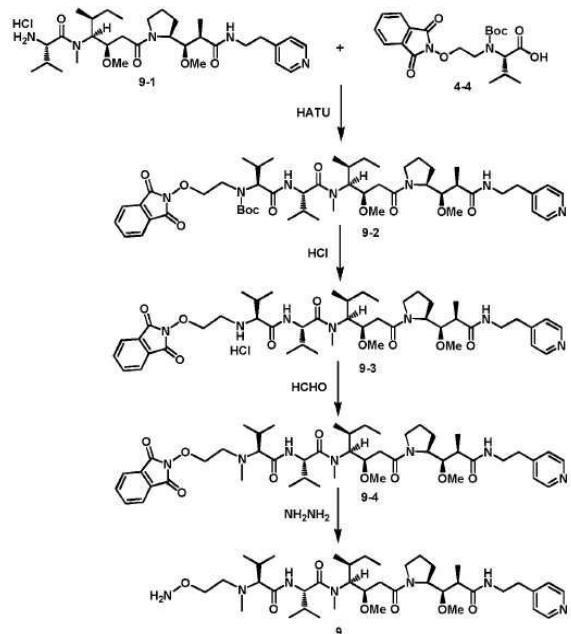


[1150]

[1151] 화합물 8을 실시예 1에 기재된 바와 유사한 합성 경로를 통하여 합성하였다. MS(ESI) m/z 418[M+2H], 835[M+H].

[1152] **실시예 9: 화합물 9의 합성**

[1153] 반응식 9



[1154]

[1157] 화합물 9-3: 화합물 9-2를 15 ml의 4N HCl/디옥산에 용해시킨다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공에서 농축시켜 화합물 9-3을 수득한다.

[1159] 화합물 9: 화합물 9-4를 1 ml의 DMF에 용해시킨다. 히드라진을 가한다. 생성된 용액을 주위 온도에서 1시간 동안 교반시킨다. 1N 염산 용액으로 반응을 중단시킨다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 화합물 9를 수득한다.

[1161] 반응식 10



[1164] 실시예 11: 화합물 11의 합성

[1165] 반응식 11



- 141 -

시키고 에틸 아세테이트(100 mlx1, 50 mlx2)로 추출하였다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시킨 다음 진공하에서 농축시켜 화합물 11-3을 6.4 g(23%) 수득하였다.

[1168] 화합물 11-5: 화합물 11-3 (1.0 g, 3.12 밀리몰), N-히드록시프탈이미드 11-4(611 mg, 3.744 밀리몰) 및 트리페닐포스핀 (1.23 g, 4.68 밀리몰)을 테트라히드로푸란 20 ml에 용해시킨 다음 DIAD (0.84 ml, 4.06 밀리몰)을 0℃에서 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 다음, 농축건고시켰다. 잔사를 0-100% 에틸 아세테이트/헥산으로 용출시키는, SiliaSep Cartridges(80 g)을 사용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 11-5 1.0 g(100%)을 수득하였다.

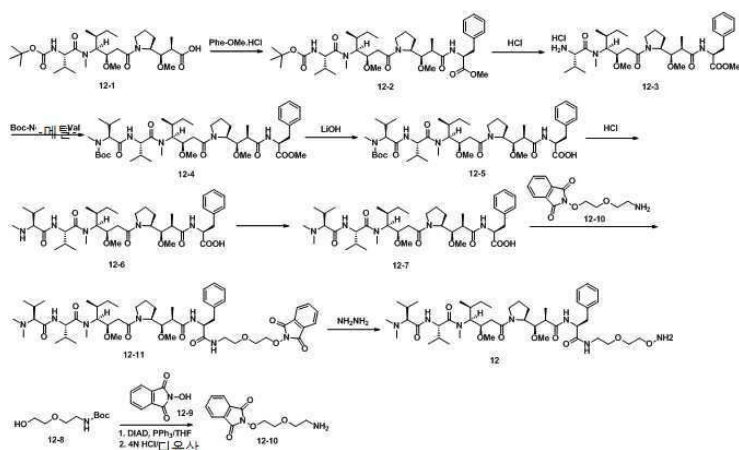
[1169] 화합물 11-6: 화합물 11-5를 4N HCl/디옥산 15 ml에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켜 화합물 11-6 1.0 g을 수득하였다.

[1170] 화합물 11-8: 1 ml의 DMF중 30 mg(0.0372 밀리몰)의 모노메틸돌라스타틴 히드로클로라이드, 31 mg(0.0744 밀리몰)의 화합물 11-6 및 38.2 mg(0.082 밀리몰)의 PyBroP의 용액에 33 μ l(0.186 밀리몰)의 디이소프로필에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 28 mg(65%)의 화합물 11-8을 수득하였다. MS(ESI)m/z 785[M+2H], 1164[M+H].

[1171] 화합물 11: 화합물 11-8(28 mg, 0.024 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 23 μ l(0.72 밀리몰)의 무수 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산 용액으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는, 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 20 mg(66%)의 화합물 11을 수득하였다. MS(ESI)m/z 518[M+2H], 1034[M+H].

[1172] 실시예 12: 화합물 12의 합성

[1173] 반응식 12



[1174]

[1175] 화합물 12-2: 3 ml의 DMF중 화합물 12-1(500 mg, 0.875 밀리몰)의 용액에 283 mg의 페닐알라닌 히드로클로라이드, 433 mg의 HATU 및 581 μ l의 N-메틸모르폴린을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고 에틸 아세테이트(100 mlx1, 50 mlx2)로 추출하였다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시킨 다음 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 화합물 12-2를 560 mg(76%) 수득하였다.

[1176] 화합물 12-3: 화합물 12-2를 15 ml의 4N HCl/디옥산에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켜 511 mg의 화합물 12-3을 수득하였다.

[1177] 화합물 12-4: 3 ml의 DMF중 화합물 12-3(368 mg, 0.55 밀리몰)의 용액에 255 mg의 Boc-N-메틸 발린, 314 mg의 HATU 및 303 μ l의 N-메틸모르폴린을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고 에틸 아세테이트(100 mlx1, 50 mlx2)로 추출하였다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시킨 다음 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 화합물 12-4를 370 mg(79%) 수득하였다.

[1178] 화합물 12-5: 10 ml의 MeOH 중 화합물 12-4(170 mg)의 용액에 5당량의 1N LiOH를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 1N HCl로 산성화시키고 에틸 아세테이트로 추출한 다음 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고 진공하에서 농축시켜 화합물 12-5 150 mg(90%)을 수득하였다.

[1179] 화합물 12-6: 화합물 12-5를 4N HCl/디옥산에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시킨 다음 HPLC로 정제하여 화합물 12-6 150 mg을 수득하였다.

[1180] 화합물 12-7: DMF중 화합물 12-6의 용액에 포름알데히드 (3 당량) 및 20 당량의 아세트산을 가한 다음, 2 당량의 나트륨 시아노붕소화물을 가하였다. 생성된 혼합물을 주위 온도에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 물로 희석하고 HPLC로 정제하여 화합물 12-7을 수득하였다.

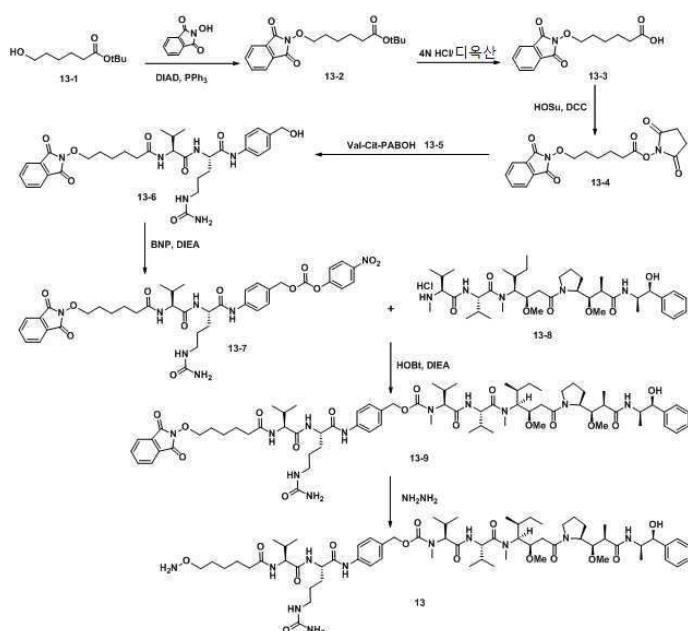
[1181] 화합물 12-10: tert-부틸 2-(2-히드록시에톡시)에틸카르바메이트 (2.05 g, 10 밀리몰), N-히드록시프탈이미드 (1.8 g, 11 밀리몰) 및 트리페닐포스핀 (3.67 g, 14 밀리몰)을 100 ml의 테트라히드로푸란에 용해시킨 다음 DIAD (2.48 ml, 12 밀리몰)을 0°C에서 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 다음, 농축건고시켰다. 잔사를 50 ml의 4N HCl/디옥산으로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 용매를 진공하에서 제거하였다. 잔사를 에테르로 처리하고, 여과하여, 에테르로 세척하고 진공하에서 건조시켜 2.6 g (91%)의 화합물 12-10을 수득하였다. MS(ESI)m/z 251[M+H].

[1182] 화합물 12-11: 1 ml의 DMF중 화합물 12-10(20 mg, 0.026 밀리몰)의 용액에 11.2 mg의 화합물 12-10, 15 mg의 HATU 및 23 μ l의 DIEA를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 20 mg(70%)의 화합물 12-4를 수득하였다. MS(ESI)m/z 490[M+2H], 978[M+H].

[1183] 화합물 12: 화합물 12-11(20 mg, 0.0183 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 18 μ l(0.56 밀리몰)의 무수 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산 용액으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는, 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 14 mg(72%)의 화합물 12를 수득하였다. MS(ESI)m/z 425[M+2H], 848[M+H].

[1184] 실시예 13: 화합물 13의 합성

[1185] 반응식 13



[1186]

[1187] 화합물 13-2: tert-부틸 6-히드록시헥사노에이트 13-1 (1.5 g, 1.97 밀리몰), N-히드록시프탈이미드 (1.42 g, 8.76 밀리몰) 및 트리페닐포스핀 (2.82 g, 10.76 밀리몰)을 50 ml의 테트라히드로푸란에 용해시킨 다음 DIAD (2 ml, 9.564 밀리몰)을 0°C에서 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 다음, 농축건고시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 2.5 g(95%)의 화합물 13-2를 수득하였다.

[1188] 화합물 13-3: 화합물 13-2를 디옥산 중 4N HCl 15 ml로 처리하였다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 12시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축건고시켜 900 mg(100%)의 화합물 13-3을 수득하였다.

[1189] 화합물 13-4: 10 ml의 THF중 화합물 13-3 (900 mg, 3.0 밀리몰)의 용액에 397 mg의 N-히드록시숙신이미드를 가한 다음, 이어서 669 mg의 DCC를 가하였다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 밤새 교반시키고 여과하였다. 여액을 농축시키고 10 ml의 DCM으로 처리하였다. DCM 용액을 주위 온도에서 1시간 동안 정치시키고 여과하였다. 여액을

농축시키고 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 800 mg(71%)의 화합물 13-4를 수득하였다.

[1190] 화합물 13-6: 12 ml의 DMF 중 화합물 13-4(435 mg, 1.16 밀리몰) 및 Val-Cit-PABOH 13-5¹(400 mg, 1.054 밀리몰)의 혼합물을 주위 온도에서 24시간 동안 교반시켰다. 용매를 진공하에서 제거하였다. 잔사를 에테르로 처리하고, 여과하여 에테르로 세척하였다. 고체를 진공하에서 건조시켜 660 mg(98%)의 화합물 13-6을 수득하였다.

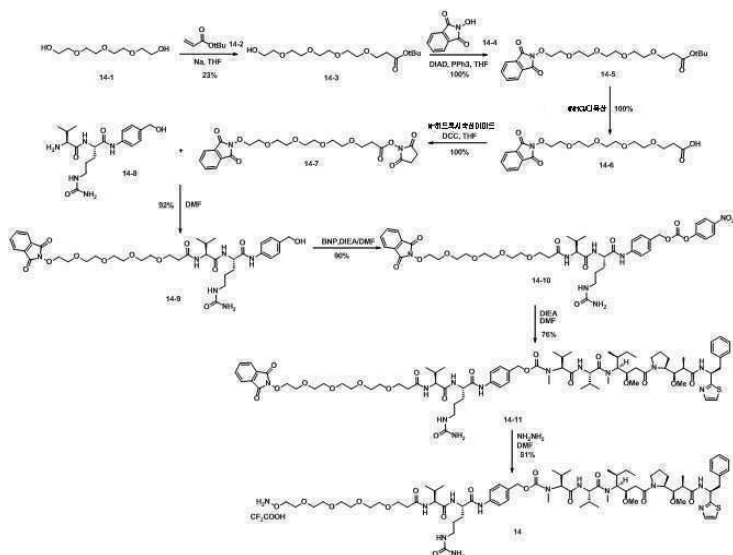
[1191] 화합물 13-7: 6 ml의 DMF 중 화합물 13-6(200 mg, 0.313 밀리몰)의 용액에 비스(p-니트로페닐) 카르보네이트(286 mg, 0.94 밀리몰)를 가한 다음, 110.2 μ l의 DIEA를 가하였다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 5시간 동안 교반시키고 농축시켰다. 잔사를 에테르로 처리하고 여과하였다. 수거한 고체를 에테르, 5% 시트르산, 물, 에테르로 세척하고 진공하에서 건조시켜 210 mg(83%)의 화합물 13-7을 수득하였다.

[1192] 화합물 13-9: 2 ml의 DMF 중 모노메틸아우리스타틴 염산염 13-8(100 mg, 0.1325 밀리몰)의 용액에 화합물 13-7(159 mg, 0.2 밀리몰) 및 10 mg의 HOBt를 가한 다음, 35.2 μ l의 DIEA를 가하였다. 생성된 혼합물을 주위 온도에서 2일간 교반시켰다. 반응 혼합물을 물로 희석하고 HPLC로 정제하여 93 mg(51%)의 화합물 13-7을 수득하였다. MS(ESI)m/z 692[M+2H], 1382[M+H].

[1193] 화합물 13: 화합물 13-9 (50 mg, 0.036 밀리몰)를 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 23 μ l의 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 주위 온도에서 3시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산 용액으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 32 mg(65%)의 화합물 13을 수득하였다. MS(ESI)m/z 638.5[M+Na+2H], 1253.3[M+H], 1275.8[M+Na].

[1194] 실시예 14: 화합물 14의 합성

[1195] 반응식 14



[1196]

[1197] 화합물 14-3: 100 ml의 테트라히드로푸란 중 테트라(에틸렌 글리콜)14-1 (40.6 ml, 235 밀리몰)의 용액에 나트륨 47 mg을 가하였다. 나트륨에 이어서 tert-부틸아크릴레이트 12 ml를 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고 1N HCl 2 ml로 중단시켰다. 잔사를 염수에 현탁시키고 에틸 아세테이트(100 mlx1, 50 mlx2)로 추출하였다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시킨 다음 진공하에서 농축시켜 화합물 14-3을 6.4 g(23%) 수득하였다.

[1198] 화합물 14-5: 화합물 14-3 (1.0 g, 3.12 밀리몰), N-히드록시프탈이미드 14-4(611 mg, 3.744 밀리몰) 및 트리페닐포스핀 (1.23 g, 4.68 밀리몰)을 테트라히드로푸란 20 ml에 용해시킨 다음 DIAD (0.84 ml, 4.06 밀리몰)을 0°C에서 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 다음, 농축건고시켰다. 잔사를 0-100% 에틸 아세테이트/헥산으로 용출시키는, SiliaSep Cartridges(80 g)을 사용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 14-5 1.0 g(100%)을 수득하였다.

[1199] 화합물 14-6: 화합물 14-5를 4N HCl/디옥산 15 ml에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켜 화합물 14-6 1.0 g을 수득하였다.

[1200] 화합물 14-7: 20 ml의 테트라히드로푸란 중 화합물 6(1.93 g, 4.68 밀리몰) 및 N-히드록시숙신이미드(646 mg, 5.616 밀리몰)의 용액에 1.062 g(5.148 밀리몰)의 DCC를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시키고 여

과하였다. 여액을 농축시키고 0-100% 에틸 아세테이트/헥산으로 용출시키는, SiliaSep Cartridges(80 g)을 사용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 14-7 2.37 g(100%)을 수득하였다.

[1201] 화합물 14-8: 화합물 14-8은 문헌 (Bioconjugat Chem. 2002,13(4),855-869)에 따라서 제조하였다.

[1202] 화합물 14-9: 2 ml의 DMF중 화합물 14-8 (200 mg, 0.527 밀리몰)의 용액에 화합물 14-7 295 mg(0.58 밀리몰)을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시키고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 에테르로 처리하고, 여과하여, 에테르로 세척하고 진공하에서 건조시켜 402 mg(98%)의 화합물 14-9를 수득하였다.

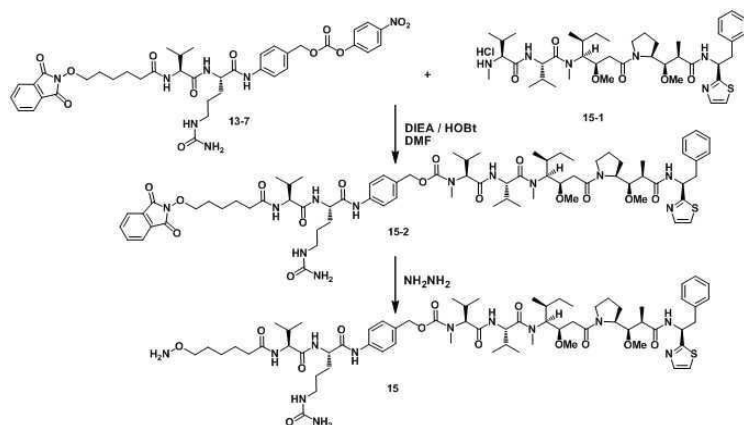
[1203] 화합물 14-10: 10 ml의 DMF중 화합물 14-9 (406 mg, 0.527 밀리몰) 및 비스(p-니트로페놀) 카르보네이트 (481 mg, 1.58 밀리몰)의 용액에 0.186 ml(1.054 밀리몰)의 디이소프로필에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반시켰다. 용매를 진공하에서 제거하였다. 잔사를 에테르로 처리하고, 여과하여, 에테르, 5% 시트르산, 물로 세척하고 진공하에서 건조시켜 350 mg(72%)의 화합물 14-10을 수득하였다.

[1204] 화합물 14-11: 1 ml의 DMF중 50 mg(0.062 밀리몰)의 모노메틸돌라스타틴 히드로클로라이드, 87.2 mg(0.093 밀리몰)의 화합물 14-10 및 4.7 mg(0.031 밀리몰)의 HOBt의 용액에 22 μ l(0.124 밀리몰)의 디이소프로필에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 41 mg(42%)의 화합물 14-11를 수득하였다. MS(ESI)m/z 785[M+2H].

[1205] 화합물 14: 화합물 14-11(41 mg, 0.026 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 17 μ l(0.52 밀리몰)의 무수 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산 용액으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는, 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 22 mg(58%)의 화합물 14를 수득하였다. MS(ESI)m/z 720[M+2H].

[1206] 실시예 15: 화합물 15의 합성

[1207] 반응식 15



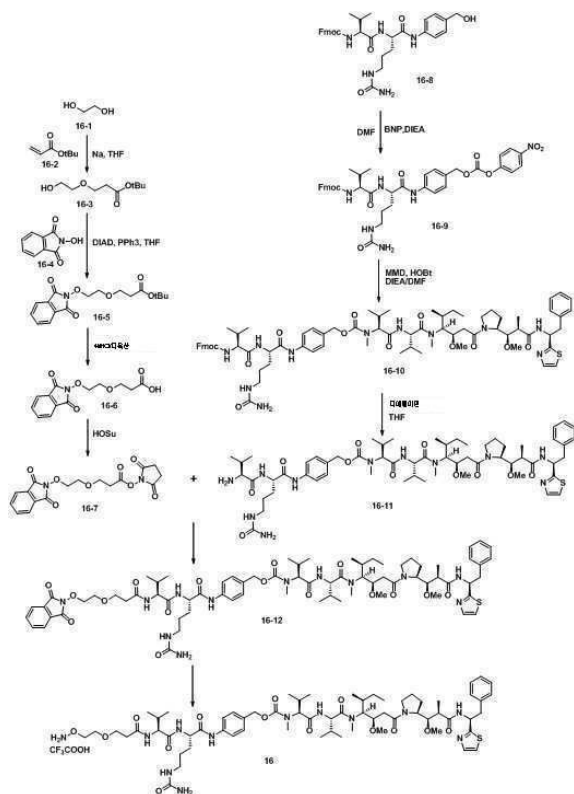
[1208]

[1209] 화합물 15-2: 1 ml의 DMF중 50 mg(0.062 밀리몰)의 모노메틸돌라스타틴 히드로클로라이드, 75 mg(0.093 밀리몰)의 화합물 13-7 및 4.7 mg(0.031 밀리몰)의 HOBt의 용액에 22 μ l(0.124 밀리몰)의 디이소프로필에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 41 mg(42%)의 화합물 15-2를 수득하였다. MS(ESI)m/z 718[M+2H], 1435[M+H].

[1210] 화합물 15: 화합물 15-2(41 mg, 0.026 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 17 μ l(0.52 밀리몰)의 무수 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산 용액으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는, 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 22 mg(58%)의 화합물 15를 수득하였다. MS(ESI)m/z 653[M+2H], 1305[M+H].

[1211] 실시예 16: 화합물 16의 합성

반응식 16



화합물 16-3: 100 ml의 테트라히드로푸란 중 에틸렌 글리콜 16-1 (13.1 ml, 235 밀리몰)의 용액에 나트륨 47 mg을 가하였다. 나트륨에 이어서 tert-부틸아크릴레이트 12 ml를 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반시켜졌다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고 1N HCl 2 ml로 중단시켰다. 잔사를 염수에 현탁시키고 에틸 아세테이트(100 mlx1, 50 mlx2)로 추출하였다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시킨 다음 진공하에서 농축시켜 화합물 16-3을 5.2 g(24%) 수득하였다.

화합물 16-5: 화합물 16-3 (2.0 g, 10.5 밀리몰), N-히드록시프탈이미드 (2.05 g, 12.6 밀리몰) 및 트리페닐포스핀 (3.58 g, 13.65 밀리몰)을 테트라히드로푸란 50 ml에 용해시킨 다음 DIAD (3.26 ml, 15.75 밀리몰)을 0℃에서 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 다음, 농축건고시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 16-5를 수득하였다.

화합물 16-6: 화합물 16-5를 4N HCl/디옥산 15 ml에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켜 화합물 16-6을 수득하였다.

화합물 16-7: 20 ml의 테트라히드로푸란 중 화합물 16-6(5.16 밀리몰) 및 N-히드록시숙신이미드(722 mg, 6.7 밀리몰)의 용액에 1.28 g(6.2 밀리몰)의 DCC를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시키고 여과하였다. 여액을 농축시키고 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 16-7 500 mg을 수득하였다.

화합물 16-8: 화합물 16-8은 문헌 (Bioconjugat Chem. 2002,13(4),855-869)에 따라서 제조하였다.

화합물 16-9: 100 ml의 DMF중 화합물 16-8 (5.0 g, 8.3 밀리몰) 및 비스(p-니트로페놀) 카르보네이트 (7.6 g, 25 밀리몰)의 용액에 2.92 ml (16.6 밀리몰)의 디이소프로필에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시켰다. 용매를 진공하에서 제거하였다. 잔사를 에테르로 처리하고, 여과하여, 에테르로 세척하고 진공하에서 건조시켜 5.0 g(81%)의 화합물 16-9를 수득하였다.

화합물 16-10: 10 ml의 DMF중 1.0 g(1.24 밀리몰)의 모노메틸올라스타틴 히드록로라이드, 1.42 g(1.8575 밀리몰)의 화합물 16-9 및 95 mg(0.62 밀리몰)의 HOBT의 용액에 437 μl(2.48 밀리몰)의 디이소프로필에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 1.0 g(58%)의 화합물 16-10를 수득하였다. MS(ESI)m/z 700[M+2H], 1398[M+H].

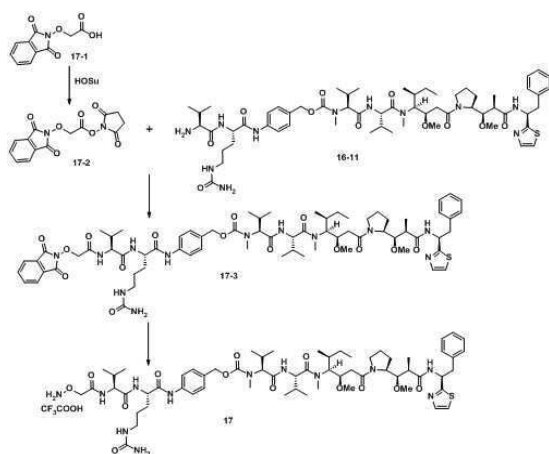
화합물 16-11: 15 ml의 DMF중 화합물 16-10 (1.0 g, 0.715 밀리몰)의 화합물 16-10의 용액에 5 ml (48 밀리몰)의 디에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켰다. 잔사

를 20 ml의 DCM에 용해시키고, 200 ml의 에테르로 처리하여 여과하고, 에테르로 세척하고 진공하에서 건조시켜 860 mg의 화합물 16-11를 수득하였다. MS(ESI)m/z 589[M+2H], 1176[M+H].

[1222] 화합물 16: 1 ml의 DMF중 50 mg(0.0425 밀리몰)의 용액에 32 mg(0.085 밀리몰)의 화합물 16-7을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시켰다. HPLC 및 MS는 반응이 수행된 것으로 나타났다. 27.2 μ l(0.85 밀리몰)의 무수 히드라진을 반응 혼합물에 가하였다. 반응은 2시간 동안 수행되었다. 반응 혼합물을 1N HCl로 산성화시키고 HPLC로 정제하여 40 mg(66%)의 화합물 16을 수득하였다. MS(ESI)m/z 654[M+2H], 1307[M+H].

[1223] **실시예 17: 화합물 17의 합성**

[1224] 반응식 17



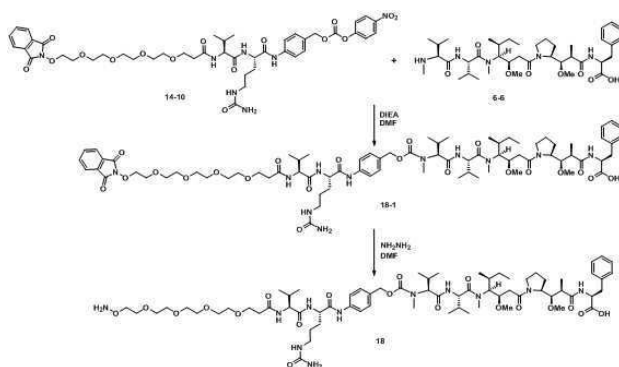
[1225]

[1226] 화합물 17-2: 20 ml의 테트라히드로푸란 중 화합물 17-1 (1.0 g, 4.52 밀리몰) 및 N-히드록시숙신이미드 (572 mg, 4.97 밀리몰)의 용액에 1.12 g(5.424 밀리몰)의 DCC를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시키고 여과하였다. 여액을 농축시켜 화합물 17-2를 수득하였다.

[1227] 화합물 17: 1 ml의 DMF중 50 mg(0.0425 밀리몰)의 화합물 16-11의 용액에 41 mg(0.1275 밀리몰)의 화합물 17-2를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시켰다. HPLC 및 MS는 반응이 수행되었음을 나타냈다. 20 μ l(0.625 밀리몰)의 무수 히드라진을 상기 반응 혼합물에 가하였다. 반응을 2시간 동안 수행하였다. 반응 혼합물을 1N HCl로 산성화시키고 HPLC로 정제하여 35 mg(60%)의 화합물 17을 수득하였다. MS(ESI)m/z 625[M+2H], 1249[M+H].

[1228] **실시예 18: 화합물 18의 합성**

[1229] 반응식 18



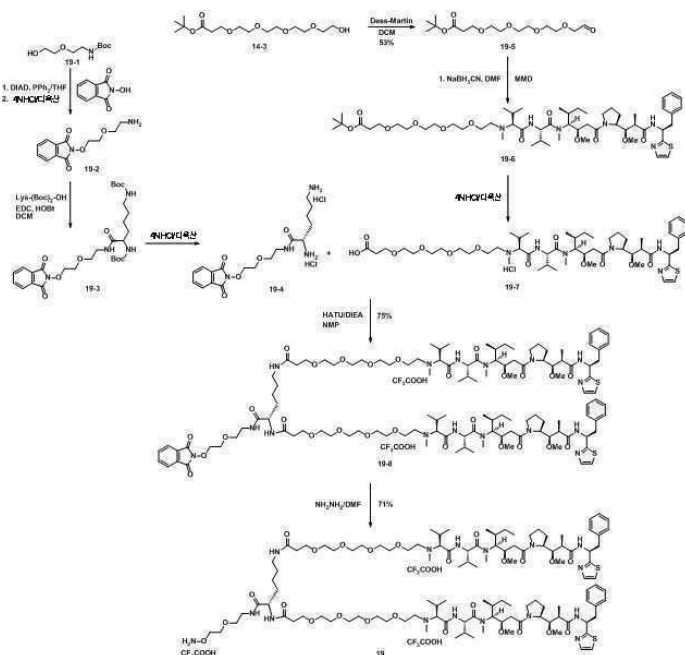
[1230]

[1231] 화합물 18-1: 1 ml의 DMF중 화합물 6-6, mg(0.093 밀리몰)의 화합물 14-10 및 HOBt의 용액에 디이소프로필에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 화합물 18-1을 수득하였다.

[1232] 화합물 18: 화합물 18-1을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 무수 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산 용액으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는, 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 화합물 18을 수득하였다.

[1233] 실시예 19: 화합물 19의 합성

[1234] 반응식 19



[1235]

[1236] 화합물 19-2: tert-부틸 2-(2-히드록시에톡시)에틸 카르바메이트 13 (2.05 g, 10 밀리몰), N-히드록시프탈이미드 (1.8 g, 11 밀리몰) 및 트리페닐포스핀 (3.67 g, 14 밀리몰)을 테트라히드로푸란 100 ml에 용해시킨 다음 DIAD (2.48 ml, 12 밀리몰)을 0°C에서 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 다음, 농축건고시켰다. 잔사를 50 ml의 4N HCl/디옥산으로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 용매를 진공하에서 제거하였다. 잔사를 에테르로 처리하고, 여과하여, 에테르로 세척하고 진공하에서 건조시켜 2.6 g(91%)의 화합물 19-2를 수득하였다. MS(ESI) m/z 251[M+H].

[1237] 화합물 19-3: 10 ml의 DCM중 화합물 19-2 (315 mg, 1.1 밀리몰), Boc-Lys(Boc)-OH (365 mg, 1 밀리몰), EDC (382 mg, 2 밀리몰) 및 HOBt (306 mg, 2 밀리몰)의 혼합물에 1.056 ml(6 밀리몰)의 디이소프로필에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반시키고 에틸 아세테이트로 추출하여, 5% 시트르산, 중탄산나트륨 포화 용액, 염수로 세척한 다음, 황산나트륨 상에서 건조시키고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 0-100% 에틸 아세테이트/헥산으로 용출시키는, SiliaSep Cartridges (40 g)을 사용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 405 mg(70%)의 화합물 19-3을 수득하였다.

[1238] 화합물 19-4: 화합물 19-3을 15 ml의 4N HCl/디옥산에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켜 315 mg(98%)의 화합물 19-4를 수득하였다. MS(ESI) m/z 379[M+H].

[1239] 화합물 19-5: 20 ml의 디클로로메탄중 화합물 14-3 (322 mg, 1 밀리몰)의 용액에 Dess-Martin Periodinane (636 mg, 1.5 밀리몰)을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 반응을 15 ml의 중탄산나트륨 포화용액 중 나트륨 티오술페이트(1.4 g, 8.85 밀리몰)의 용액으로 중단시켰다. 혼합물을 분리시켰다. 유기층을 중탄산나트륨 포화용액, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켜, 여과하고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 0-100% 에틸 아세테이트/헥산으로 용출시키는, SiliaSep Cartridges (40 g)을 사용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 170 mg(53%)의 화합물 19-5를 수득하였다.

[1240] 화합물 19-6: 20 ml의 DMF중 모노메틸올라스타틴 히드로클로라이드 1.0 g(1.24 밀리몰)의 용액에 1.19 g(3.72 밀리몰)의 화합물 17, 이어서 1.4 ml(24.8 밀리몰)의 아세트산 및 156 mg (2.48 밀리몰)의 나트륨 시아노붕소수화물을 가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 용매를 진공하에서 제거하였다. 잔사를 중탄산나트륨을 사용하여 pH 8로 조정하고 DCM으로 추출하여, 염수로 세척하고 황산나트륨 상에서 건조시킨 다음, 여과하고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 0-5% 메탄올/DCM으로 용출시키는, SiliaSep Cartridges (40 g)을 사용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 680 mg(51%)의 화합물 19-6을 수득하였다. MS(ESI) m/z 538[M+2H], 1075[M+H].

[1241] 화합물 19-7: 5 ml의 DCM중 화합물 19-6 (680 mg, 0.632 밀리몰)의 용액에 20 ml의 4N HCl/디옥산을 가하였다.

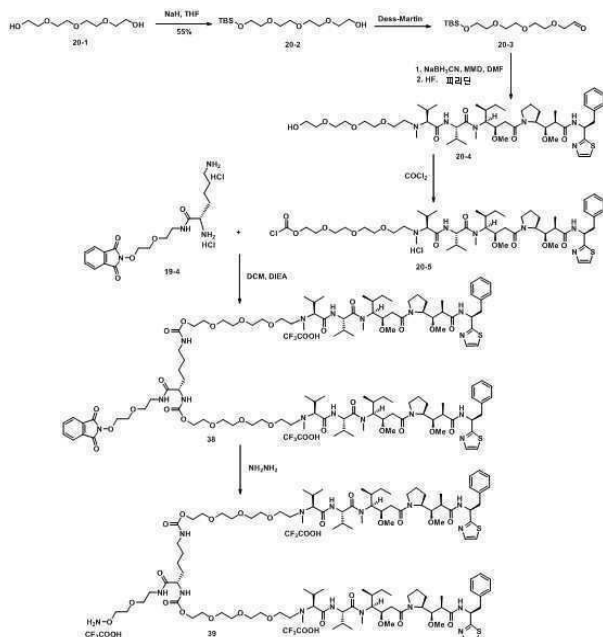
반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 에테르로 처리하고, 여과하여, 에테르로 세척하고 진공하에서 건조시켜 660 mg(98%)의 화합물 19-7을 수득하였다. MS(ESI) m/z 510[M+2H], 1019[M+H].

[1242] 화합물 19-8: 5 ml의 N-메틸피롤리디논 중 화합물 19-7 (280 mg, 0.257 밀리몰), 화합물 19-4 (38 mg, 0.0857 밀리몰) 및 N-메틸모르폴린 (0.283 ml, 2.57 밀리몰)의 용액에 98 mg (0.257 밀리몰)의 HATU를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 160 mg(71%)의 화합물 19-8을 수득하였다. MS(ESI) m/z 596[M+4H], 794[M+3H], 1191[M+2H].

[1243] 화합물 19: 화합물 19-8 (160 mg, 0.0613 밀리몰)을 1.5 ml의 DMF에 용해시켰다. 20 μ l(0.613 밀리몰)의 무수 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는, 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 120 mg(75%)의 화합물 19를 수득하였다. MS(ESI) m/z 451[M+5H], 563[M+4H], 751[M+3H], 1126[M+2H].

[1244] 실시예 20: 화합물 20의 합성

[1245] 반응식 20



[1246]

[1247] 화합물 20-2: 100 ml의 테트라히드로푸란 중 테트라(에틸렌 글리콜)20-1 (8.0 g, 41.2 밀리몰)의 용액에 0℃에서 수소화나트륨 1.65 g을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분간 교반시켰다. 6.21 g의 TBS-Cl을 상기 용액에 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고 1N HCl 2 ml로 중단시켰다. 잔사를 염수에 현탁시키고 에틸 아세테이트(100 ml x1, 50 ml x2)로 추출하였다. 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시킨 다음 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 20-2를 5.7 g 수득하였다.

[1248] 화합물 20-3: 30 ml의 디클로로메탄 중 화합물 20-2(500 mg, 1.62 밀리몰)의 용액에 Dess-Martin Periodinane (1.03 g, 2.43 밀리몰)을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 반응을 15 ml의 중탄산나트륨 포화용액 중 나트륨 티오술페이트(1.4 g, 8.85 밀리몰)의 용액으로 중단시켰다. 혼합물을 분리시켰다. 유기층을 중탄산나트륨 포화용액, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켜, 여과하고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 400 mg의 화합물 20-3을 수득하였다.

[1249] 화합물 20-4: 4 ml의 DMF중 모노메틸돌라스타틴 히드로클로라이드 213 mg (0.263 밀리몰)의 용액에 245 mg(0.75 밀리몰)의 화합물 20-3에 이어서, 0.303 ml(5 밀리몰)의 아세트산 및 34 mg(0.5 밀리몰)의 나트륨 시아노보붕소화물을 가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 용매를 진공하에서 제거하였다. 3 ml의 60% 아세토니트릴을 가한 다음, 0.2 ml의 HF, 피리딘을 0℃에서 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 유기 용매를 진공하에서 제거하였다. 중탄산나트륨으로 잔사를 pH 8로 조정하고 DCM으로 추출하여, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켜, 여과하고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토

그래피로 정제하여 160 mg의 화합물 20-4를 수득하였다. MS(ESI) m/z 474[M+2H], 947[M+H].

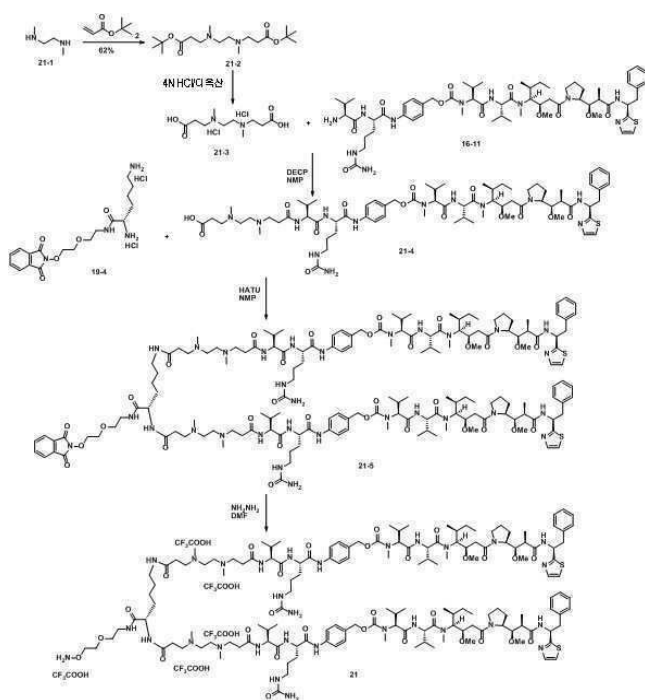
[1250] 화합물 20-5: 4 ml의 DCM중 화합물 20-4 (50 mg, 0.062 밀리몰)의 용액에 0.3 ml의 포스겐/톨루엔을 0°C에서 가하였다. 정제없이 다음 단계를 위하여 반응 혼합물을 0°C에서 3시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켰다.

[1251] 화합물 20-6: 화합물 19-4 (7.6 mg, 0.017 밀리몰) 및 화합물 20-5 (0.062 밀리몰)의 용액에 25 μ l의 디이소프로필에틸아민을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 33 mg의 화합물 20-6을 수득하였다. MS(ESI) m/z 582[M+4H], 775[M+3H], 1163[M+2H].

[1252] 화합물 20: 화합물 20-6 (33 mg, 0.014 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 14 μ l(0.43 밀리몰)의 무수 히드라진을 가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는, 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 10 mg의 화합물 20을 수득하였다. MS(ESI) m/z 549[M+4H], 732[M+3H], 1098[M+2H].

[1253] 실시예 21: 화합물 21의 합성

[1254] 반응식 21



[1255] 화합물 21-2: N,N'-디메틸렌 디아민 21-1(5 ml, 46.5 밀리몰) 및 tert-부틸 아크릴레이트 13 ml(116 밀리몰)의 혼합물을 85°C에서 1시간 동안 가열하였다. 다시 tert-부틸 아크릴레이트 13 ml(116 밀리몰)을 가하였다. 반응 혼합물을 연속해서 85°C에서 1시간 동안 가열하고 실온에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 헥산으로 희석시키고 0-5% 메탄올/DCM으로 용출시키는, SiliaSep Cartridges (120 g)을 사용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 10.1 g(62%)의 화합물 21-2를 수득하였다. MS(ESI) m/z 345[M+H].

[1257] 화합물 21-3: 50 ml의 DCM중 화합물 21-3 (5.0 g, 14.5 밀리몰)의 용액에 40 ml의 4N HCl/디옥산을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2일간 교반시키고 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 에테르로 처리하고, 여과하여, 에테르로 세척하고 진공하에서 건조시켜 4.3 g(97%)의 화합물 21-3을 수득하였다.

[1258] 화합물 21-4: 10 ml의 N-메틸피롤리딘 중 화합물 21-3 166 mg(0.544 밀리몰) 및 N-메틸모르폴린 0.15 ml의 용액에 160 mg의 화합물 16-11, 이어서 0.068 ml (0.408 밀리몰)의 DECP를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 35-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여 100 mg(50%)의 화합물 21-4를 수득하였다. MS(ESI) m/z 464[M+3H], 696[M+2H], 1391[M+H].

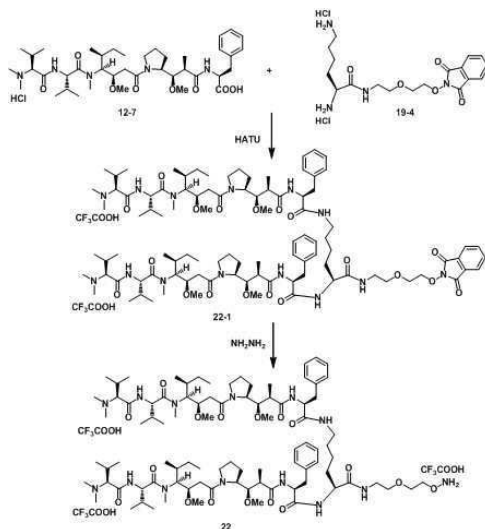
[1259] 화합물 21-5: 1.5 ml의 N-메틸피롤리딘 중 화합물 19-4 (11 mg, 0.025 밀리몰), 화합물 21-4 (115 mg, 0.077 밀리몰) 및 N-메틸모르폴린 (0.028 ml, 0.25 밀리몰)의 용액에 29.3 mg의 HATU를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 35-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서

정제하여 60 mg(67%)의 화합물 21-5를 수득하였다. MS(ESI) m/z 625[M+5H], 781[M+4H], 1041[M+3H].

[1260] 화합물 21: 화합물 21-5 (60 mg, 0.014 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 7 μ l(0.21 밀리몰)의 무수 히드라진을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는, 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 29 mg(58%)의 화합물 21을 수득하였다. MS(ESI) m/z 599[M+5H], 749[M+4H], 998[M+3H].

[1261] **실시예 22: 화합물 22의 합성**

[1262] 반응식 22



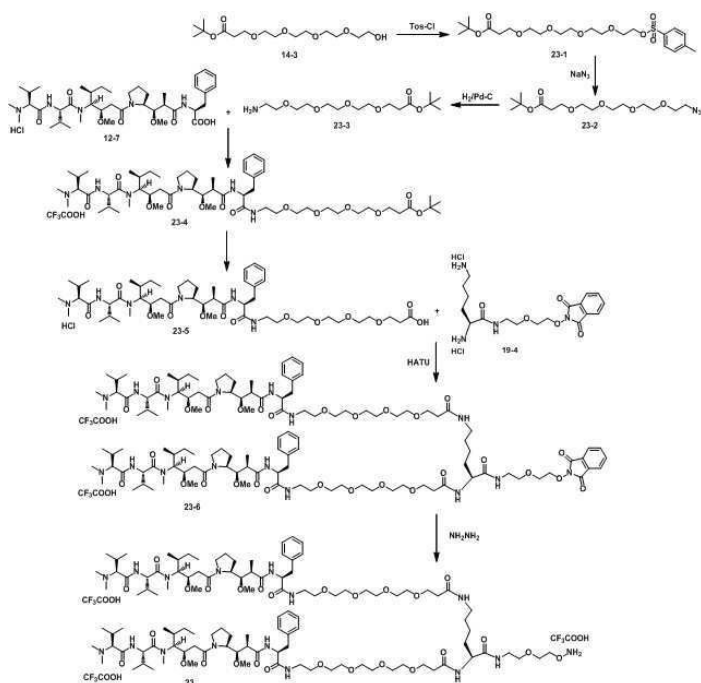
[1263]

[1264] 화합물 22-1: 2 ml의 DMF 중 화합물 19-4 (7.6 mg, 0.017 밀리몰), 화합물 12-7 (40 mg, 0.051 밀리몰) 및 DIEA (0.030 ml, 0.17 밀리몰)의 용액에 32 mg(0.085 밀리몰)의 HATU를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 35-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여 24 mg(68%)의 화합물 22-1을 수득하였다. MS(ESI) m/z 612[M+3H], 917[M+2H], 1834[M+H].

[1265] 화합물 22: 화합물 22-1 (24 mg, 0.012 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 12 μ l(0.36 밀리몰)의 무수 히드라진을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는, 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 15 mg(58%)의 화합물 22를 수득하였다. MS(ESI) m/z 569[M+3H], 852[M+2H], 1726[M+2H].

[1266] **실시예 23: 화합물 23의 합성**

[1267] 반응식 23



[1268]

[1269] 화합물 23-1: 50 ml의 DCM중 화합물 14-3 (4.0 g, 12.4 밀리몰) 및 6.6 ml (37.2 밀리몰)의 DUEA의 용액에 3.31 g의 톨루엔술포닐 클로라이드를 0℃에서 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2일간 교반시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 합하여 5% 시트르산, 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켜 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 3.5 g의 화합물 23-1을 수득하였다.

[1270] 화합물 23-2: 20 ml의 DMF 중 화합물 23-1 (3.5 g, 7.34 밀리몰)의 용액에 나트륨 아지드(1.44 g, 22.02 밀리몰)을 가하였다. 반응 혼합물을 50℃에서 2일간 교반시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 물, 염수로 세척하고 황산나트륨 상에서 건조시킨 다음 진공하에서 농축시켰다. 잔사를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 2.1 g의 화합물 23-2를 수득하였다.

[1271] 화합물 23-3: 50 ml의 MeOH 중 화합물 23-2 (2.1 g, 6.05 밀리몰)의 용액에 400 mg(10%)의 Pd-C를 가하였다. 생성된 혼합물을 실온에 1 기압의 H₂하에서 24시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 여과하고 진공하에서 농축시켜 2.1 g의 화합물 23-3을 수득하였다. MS(ESI) m/z 322[M+H].

[1272] 화합물 23-4: 1 ml의 DMF 중 화합물 23-3 (33 mg, 0.102 밀리몰), 화합물 12-7(40 mg, 0.051 밀리몰) 및 54 μl의 디이소프로필에틸아민의 용액에 38 mg의 HATU를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 52 mg의 화합물 23-4를 수득하였다. MS(ESI) m/z 525[M+2H], 1049[M+H].

[1273] 화합물 23-5: 화합물 23-4 (52 mg, 0.045 밀리몰)를 5 ml 4N HCl/디옥산에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고 진공하에서 농축시켜 52 mg의 화합물 23-5를 수득하였다. MS(ESI) m/z 497[M+2H], 993[M+H].

[1274] 화합물 23-6: 2 ml의 DMF 중 화합물 19-4 (7.6 mg, 0.017 밀리몰), 화합물 23-6 (52 mg, 0.051 밀리몰) 및 DIEA (0.030 ml, 0.17 밀리몰)의 용액에 32 mg(0.085 밀리몰)의 HATU를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여 26 mg (61%)의 화합물 23-6을 수득하였다. MS(ESI) m/z 583[M+4H], 777[M+3H], 1165[M+2H].

[1275] 화합물 23: 화합물 23-6 (26 mg, 0.01 밀리몰)을 1 ml의 DMF에 용해시켰다. 10 μl(0.31 밀리몰)의 무수 히드라진을 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 1N 염산으로 중단시켰다. 반응 혼합물을 20-70% CH₃CN/H₂O로 용출시키는 예비적 HPLC로 20분간 254 nm에서 정제하여, 10 mg(40%)의 화합물 23을 수득하였다. MS(ESI) m/z 550[M+4H], 733[M+3H], 1100[M+2H].

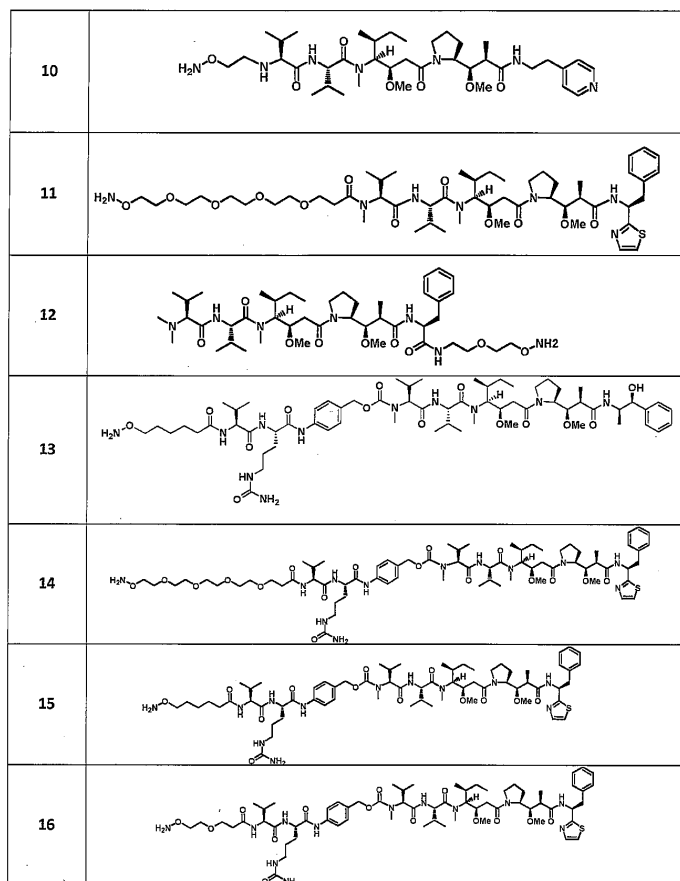
[1276] 표 1. 화합물 1 내지 23의 구조

실시예	구조
1	
2	

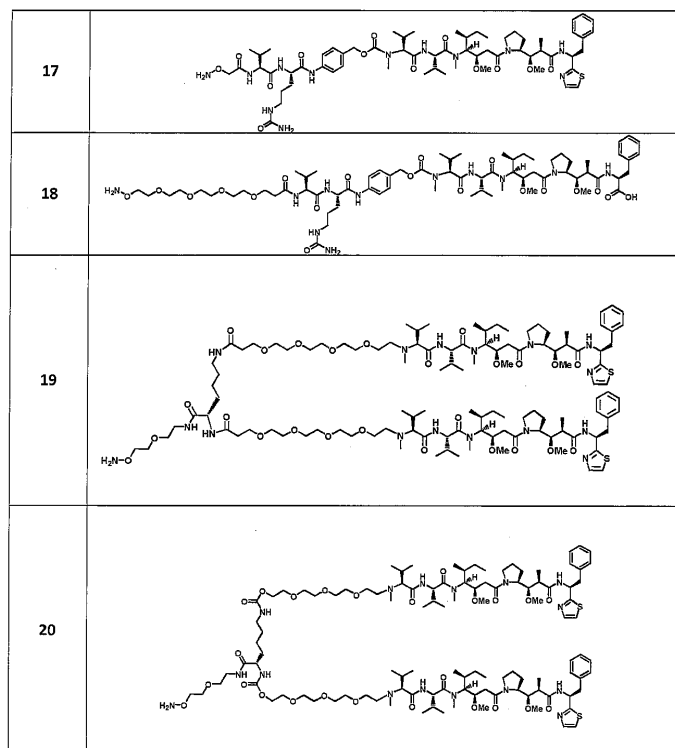
[1277]

3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	

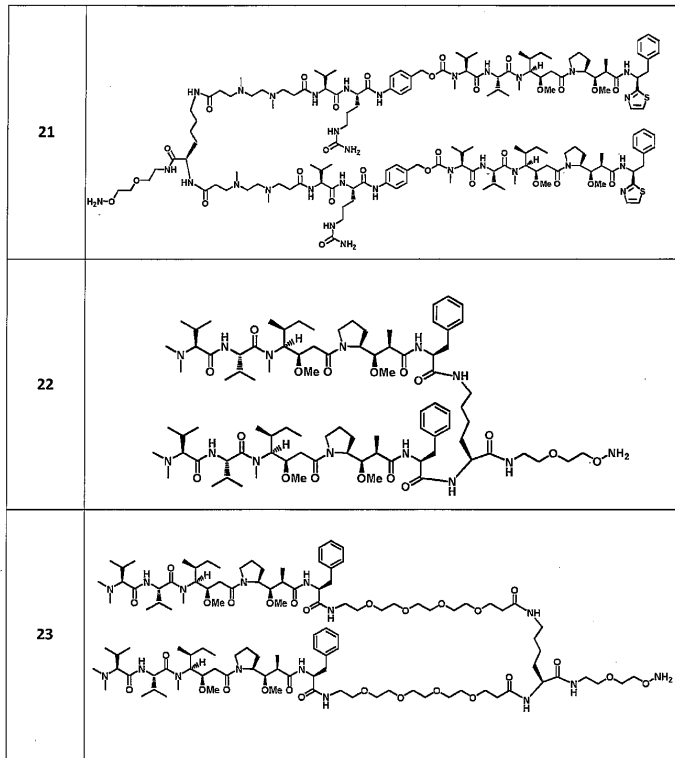
[1278]



[1279]



[1280]



실시예 24: HER2 수용체로의 HER-tox 결합의 분석

Her2-Fc를 CM5 칩 상에 대략 280 RU의 밀도로 고정화시켰다. 유속은 완충제로서 HBS-EP를 사용하여 50 μ l/분으로 조절하였다. HerTox 변이체를 3분간 15개의 분리상(dissociation phase)으로 주입하였다. 재생을 위하여 30 초 펄스의 20mM HCl를 사용하였다. 2가 분석물질 모델(Bivalent Analyte model)을 이용하여 데이타를 맞춘다(도 1). 데이타의 분석은 HerTox HA121-NC2D:Kd ~60 pM($\chi^2=4$) 및 HerTox HA121-NC1D:Kd ~300 pM($\chi^2=14$)를 나타낸다.

실시예 25: 일시적 형질감염

CHO-S 컬처를 0.75×10^6 /ml로 대략 16시간 동안 FreeStyle Cho 배지에서 미리-형질감염시킨다. 세포 계수량이 1.4 내지 1.6×10^6 /ml에 도달하였을 때 다음날 세포는 형질감염시킬 준비가 된다. 세포가 표적 계수량에 도달하면, 400 mM pAF 스톱을 1.4 mM 최종 컬처 농도로 가한다. PEI/DNA 복합체는 다음과 같이 제조한다: DNA (1.42μ g/ 1×10^6 개의 세포)를 RPMI (5% (v/v)의 전체 컬처 용량)에 용해시키고, DNA/RPMI 혼합물을 실온에서 2분간 배양시킨 다음, PEI 스톱 (1 mg/ml)을 DNA 용액에 3:1의 비율 (ml PEI/ μ g DNA)로 가하고, 상기 혼합물을 실온에서 5분간 배양시킨다. 컬처를 부드럽게 상기 혼합물에 가하여 소용돌이시킨다. 플라스크를 32°C 배양기로 옮긴다. 형질감염후 6일째에, 웨스턴 블롯 분석을 수행한다. 형질감염후 7일째에, 상등액을 하베스트한다.

실시예 26: 항-Her2 변이체 발현 시험

30 ml 진탕기 컬처, FreeStyle 배지중의 CHO-S; PEI 시약중 56 μ g DNA를 사용하였다. 1.5 mM pAF를 또한 사용하였다. 6일째에, 상등액을 하베스트하였다. 역가는 Fc ELISA로 측정하였다(도 2 및 3).

실시예 27: 증식 검정의 시험관내 억제

1일째에, 세포를 씨딩하였다. 배지를 흡입(aspirated)시키고 세포의 T-225 컬처 플라스크를 30 ml의 PBS-/로 세정하였다. PBS를 흡입시키고 6 ml의 0.25% 트립신-EDTA를 각각의 플라스크에 가하였다. 플라스크를 37°C, 5% CO₂에서 2 내지 5분간 배양시켰다. 플라스크를 탁탁쳐서(hitting) 접착성 세포를 떨어내고 14 ml의 컬처 배지를 가하여 트립신을 중화시켰다. 세포 현탁액을 혼합하고 50 ml의 원뿔형 튜브로 옮겼다. 세포를 1200 rpm으로 5분간 실온에서 스핀 다운(spin down)시켰다. 생성된 세포 펠릿을 12 ml의 컬처 배지에 다시 현탁시켰다. 세포를 혈구계에서 계수하였다. 세포를 적절한 세포 밀도로 96개-웰 평저, 등명 플레이트에 씨딩하여 밤새 37°C, 5% CO₂에서 배양시켜 세포가 부착되도록 하였다. 플레이트링 용량은 80 μ l/웰이었다. 80 μ l/웰의 컬처 배지를 "세포-

없는" 대조물로 이용하였다.

[1290] 세포 플레이팅 밀도 예는 다음을 포함한다:

[1291] BT474(높은 Her2) - F12k/DMEM(50/50), 10% FBS, P/S 중 20,000개의 세포/웰

[1292] MDA-MB-468(Her2 네가티브) - F12k/DMEM(50/50), 10% FBS, P/S 중 6,000개의 세포/웰

[1293] HCC1954 - RPMI 1640, 10% FBS, P/S 중 5,000개의 세포/웰

[1294] SKOV-3 - RPMI 1640, 10% FBS, P/S 중 6,000개의 세포/웰

[1295] HT29 - McCoy's 5A, 10% FBS, P/S중 20,000개의 세포/웰

[1296] 2일째에, 상기 시험 샘플을 세포에 가하였다. 시험 샘플을 걸쳐 배지에 9x 스톱 농도로 환저 96개-웰 플레이트의 컬럼 2에서 희석시켰다. 멀티-채널 피펫토를 사용하여 컬럼 2로부터 컬럼 11까지 3x 단계 희석시켰다. 10 μ l /웰의 상기 샘플을 상기 씨딩된 플레이트의 적절한 웰에 이중으로 가하였다. 웰중 전체 용량은 약 90 μ l /웰이 되었다. 10 μ l /웰의 걸쳐 배지를 가하여 샘플 웰에 대한 에지 효과(edge effect)를 피하였다. 배지 대조 웰을 상기 내부 웰에 포함시키는데 여기에는 증식 계산에 사용하기 위하여 샘플이 첨가되지 않았다 (단지 10 μ l /웰의 걸쳐 배지만 있음). 플레이트를 37°C, 5% CO₂에서 72시간 동안 배양시켰다.

[1297] 5일째에, 증식 해독(readout)을 수행하였다. 세포 증식을 검출하기 위하여, 10 μ l /웰의 WST-8 시약을 모든 웰에 가하였다 (Cell Counting Kit-8, cat# CK04-20, Dojindo Labs). 플레이트를 4시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다. 플레이트를 OD 450nm에서의 흡광도에 대해 측정하였다. 시험 샘플의 증식 억제 계산: 모든 웰의 OD450 값으로부터 "세포 없는 대조물" OD450 값을 뺀다; 배지 대조물(비처리) 웰의 평균을 계산한다; 다음식을 사용하여 각 샘플의 % 배지 대조물 값을 계산한다: (OD450 샘플/OD450 평균% 배지 대조물)*100; 각 샘플의 2회 % 배지 대조물 값의 평균, 표준편차, 및 %CV를 계산한다; 샘플 농도에 대한 각 샘플 평균 % 배지 대조물값을 플로팅한다; 시험 샘플의 효능을 측정하기 위하여 4개-변수 로지스틱 피트 회귀 분석법(logistic fit regression analysis)을 사용하여 IC₅₀ 값을 계산한다.

[1298] 도 4 및 도 5는 돌라스타틴 링커 유도체와 유방암 세포주 HCC1954, HER2+++를 사용한 시험관내 증식 검정으로부터의 결과를 설명한다. 도 6 및 도 7은 돌라스타틴 링커 유도체와 난소암 세포주 SKOV-3, HER2+++를 사용한 시험관내 증식 검정으로부터의 결과를 설명한다. 도 8 및 9는 돌라스타틴 링커 유도체와 유방암 세포주 MDS-MB-468, HER2 네가티브를 사용한 시험관내 증식 검정으로부터의 결과를 설명한다.

[1299] 표 2. HER-Tox 증식 검정 요약: 약물 처리 72시간 후 IC₅₀ 값[nM]

실험일	데이터세트 I								
	9/4/10	9/4/10	9/4/10	9/4/10	9/4/10	9/4/10	9/13/10	9/13/10	9/13/10
HER2 exp. (문헌/인하우스)	+++ / +++	+++ / +++	2 / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	?
헤르셉틴에 대한 생체내 민감도	+	+	-	?	-	?	+	-	?

[1300]

샘플	BT474	HCC1954	LS513	NCI-N87	SKOV-3	ZR-75-30	BT474	SKOV-3	MDA-MB-175
돌라스타틴	0.1	0.06	0.2	>30	0.2	>30	0.1	0.1	no fit
NC-D1	2.7	0.9	11	>100	3.7	>100	2.9	2.1	no fit
NC-D2	2.4	1.5	5.2	>100	3.4	>100	2.8	2.3	no fit
PHC-D2									
헤르셉틴	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300
Mab HA121-NC-D1	0.2	0.1	>10	>10	(0.04)*	>10	0.2	no fit	0.3
Mab HA121-NC-D2	1.0	0.3	>10	>10	0.3	>10	0.4	no fit	0.7
Mab HA121-PHC-D2									
Fab K136pAF	>10	>10	>10	>10	>10	>10			
Fab K136-NC-D1	1.8	0.5	>10	>10	2.5	>10			

데이터세트 II					
실험일	9/24/10	9/24/10	10/8/10	10/8/10	10/8/10
HER2 exp. (문헌/인하우스)	++/?	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	-/?
헤르셉틴에 대한 민감도	없을것같음	+	+	-	?
샘플	HT29	BT474	HCC1954	SKOV-3	MDA-MB-468
돌라스타틴	4	2.5	0.04	0.2	<0.01
NC-D1	4	(45)*	<0.01	<0.1	<0.1
NC-D2	4	3	<0.01	(0.1)*	0.3
PHC-D2	12	7	2	8	2
헤르셉틴	>300	>300	>300	>300	>300
Mab HA121-NC-D1	>10	1	0.2	1.3	>30
Mab HA121-NC-D2	>10	0.8	0.03	(1.3)*	>30

Mab HA121-PHC-D2	5*	2	0.1	0.3	(5.8)*
Fab K136pAF					
Fab K136-NC-D1					

표 3. 시험관내 세포 데이터

암	세포주	KRAS	BRAF	EGFR 발현	소분자, IC50, nM				ADC, IC50, nM		
					MMD	NC-D-1	C-D-1	NC-D-2	C225-NC-D-1	C225-HC-D-1	C225-NC-D-2
피부	A431	wt	wt	+++	0.1	8.22	16.54		0.09	0.12	0.19
대장	Colo 205	wt	mut	+	0.25	6.81	40.03		>100	>100	
	HCT-116	mut	wt	++	0.13	2.14	24.86	5.7	51.73	>100	62.8
	HT-29	wt	mut	++	0.1	4.3		1.7	36.9		16.7
	SW620	mut	wt	-	0.14	5		3.2	121		56.8
	HCT-15	mut	wt	++	2.65	31.03	>100	>100	>300	>300	
폐	A549*	mut	wt	++	0.19	6.44	39.82	39.82	>100	>100	
	H2122	mut	wt	+	0.11	12.71	31.76	31.76	>100	>100	
	H460	mut	wt	+	0.48	10.4	95.1	95.1	>300	>300	
전립선	DU145	wt	wt	++	0.24	4.8	20.51	20.51	>100	>100	

실시예 28: HCC1954(인간 유방암종) 이중이식 동물 모델에서 Her2-ADCs의 생체내 항-종양 효과

[1307] HCC1954 (인간 유방암종) 세포를 Americal Type Culture Collection (Manassas, VA)로부터 수득하여 RPMI+10% FBS, 37°C, 5% CO₂에서 80% 콘플루언트(confluent)가 될 때까지 배양시켰다. 세포를 트립신화에 의해 하베스트하여 PBS에 1x10⁸ 개 세포/ml로 현탁시켰다.

[1308] 5 내지 8주령의 암컷, SCID-베이지색 마우스를 Charles River Laboratories로부터 입수하였다. HCC1954 세포 (인간, 유방암종, ATCC, #CRL-2338)를 Matrigel (BD Biosciences, Bedford MA)와 1:1로 혼합하여 마우스에게 피하 주사하였다. 종양의 평균 크기가 100 내지 200 mm³에 도달하였을 때, 마우스를 각 9 내지 10 마리씩 그룹으로 분리하였다. 연구 종결시까지 1주에 2회씩 캘리퍼 측정하였다. 종양 부피를 평가하기 위하여, 2개의 수직 직경을 캘리퍼로 측정하고 그 값을 식, (L x W x W)/2=V (여기서, W=최단 직경, L=최장 직경 및 V=부피)에 대입하여 평가된 부피를 수득하였다. 종양 부피는 1 mm³ = 1 mg으로 가정하여 Excel 데이터 파일에서 종양 중량으로 전환시켰다. 최종값(endpoint)은 종양 성장 억제(TGI)의 연구 디자인을 기본으로 하였다. 대조군의 평균 종양 부피가 대략 1,000 mm³에 도달하였을 때, 모든 마우스를 안락사시키거나 28일이 첫째날로 하였다.

[1309] 마우스에게 1일 투여시 단일 IV 주사 (꼬리 정맥)하였다. 시험 물품을 4 mg/ml, 2 mg/ml 및 0.66 mg/ml로 용해시켜 5 ml/kg의 투여 용량으로 투여하여 20, 10 및 3.3 mg/kg을 전달하였다. 시험 물품은 다음과 같다: Herceptin® 임상 등급 (Trastuzumab), Her2-HS122-NCD1 (Ab:약물 비율=1:2, 비-분해가능한 링커), 및 Her2-HS122/LK145-HCD1 (Ab:약물 비율=1:4, 분해가능한 링커). 도 16 참조.

[1310] **실시예 29: Her2-돌라스타틴 연결된 유도체의 생체내 연구**

[1311] 본 연구에서는 HCC1954 세포를 우측 플랭크의 Matrigel,SC중에 10⁷ 개 세포/마우스로 이용하였다. 마우스는 SCID-bg 암컷 4 내지 8주령이었다. 세포 이식후 5일째에 그룹으로 나누었다 (종양 ~100 mm³): 각 10마리의 마우스로 이루어진 그룹 11개로 분류하였다. 각 화합물에 대해 3개의 투여량 수준, 20 mg/kg, 10 mg/kg 및 3.3 mg/kg으로 1일째 투여일에 단일 IV 투여하였다. 종양 부피는 최종값에 도달할 때까지 (1,000 mm³ 또는 60일) 모니터링 하였다. (도 10) 파클리탁셀 25 mg/kg, IV, qod x 5를 대조 화학요법으로 이용하였다. 비히클 = 50 mM 히스타민, 0.1 M NaCl, 5% 트레할로오스, pH 6. Herceptin® 임상 등급 (Trastuzumab), Her2-HS122-NCD1 (비-분해가능한 링커), 및 Her2-HS122/LK145-HCD1 (분해가능한 링커)를 시험하였다 (도 11 및 12).

[1312] 표 4. 28일째에 HCC1954 연구에 대한 T/C (처리된/대조)의 계산

그룹	n	처리 요법 1				종양 종양 부피 (mm ³)	T/C
		시작	mg/kg	경로	스케줄		
1 [#]	10	비히클	-	iv	qd x 1	486	--
2	10	트라스투주마브	3.3	iv	qd x 1	405	0.833
3	10	트라스투주마브	10	iv	qd x 1	446	0.918
4	10	트라스투주마브	20	iv	qd x 1	385	0.792
5	10	Her-HS122-NC1D-002	3.3	iv	qd x 1	40	0.082
6	10	Her-HS122-NC1D-002	10	iv	qd x 1	14	0.029
7	10	Her-HS122-NC1D-002	20	iv	qd x 1	18	0.037
8	10	Her-HS122/LK145-HC1D-001	3.3	iv	qd x 1	40	0.082
9	10	Her-HS122/LK145-HC1D-001	10	iv	qd x 1	25	0.051
10	10	Her-HS122/LK145-HC1D-001	20	iv	qd x 1	18	0.037
11	10	파클리탁셀	25	iv	qod x 5	18	0.037

[1313]

[1314] **실시예 30: 약물동력학적 연구**

[1315] ErbB2 수용체에 결합하는 항체를 검출하는 검정법을 수행하였다 (도 13). 항체에 연결된 돌라스타틴을 적어도 2 개 검출하는 검정법을 수행하였다 (도 14).

[1316] 도 15.

[1317] **실시예 31: 유방암의 치료**

[1318] 유방암 치료에 대한 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 안전성 및/또는 효과의 인간 임상 시험

- [1319] 목적: 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체를 포함하는 투여된 조성물의 안전성 및 약물동력학을 비교하기 위함.
- [1320] 연구 디자인: 본 연구는 유방암 환자에서 I상, 단일-센터, 개방-라벨, 랜덤화된 투여량 단계적 확대 연구에 이어 II상 연구이다. 환자는 본 연구에 들어가기 전 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체에 노출된 적이 없어야 한다. 환자는 반드시 본 시험 개시 후 2주내에 그들의 암에 대한 치료를 받아서는 안된다. 치료는 화학요법, 조혈 성장 인자, 및 모노클로날 항체와 같은 생물학적 요법의 사용을 포함한다. 환자는 이전 치료와 관련한 모든 독성으로부터 회복되어야한다 (0 또는 1등급으로). 모든 개체는 안전성에 대해 평가되며 약물동력학적 분석을 위한 모든 혈액 수집은 스케줄에 따라 수집된다. 모든 연구는 연구 유리 위원회 승인과 환자의 동의로 수행된다.
- [1321] I상: 환자에게 각 28-일 사이클의 1, 8, 및 15일에 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체를 i.v. 투여한다. 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 투여량은 하기 개략되어 있는 바와 같은 평가치를 기준으로 독성에 대해 유지하거나 변형될 수 있다. 치료는 28일마다 허용불가능한 독성의 부재하에서 반복한다. 3 내지 6명의 환자의 코호트(cohorts)에게는 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체에 대해 최대 내성 투여량(MTD)가 측정될 때까지 단계적 확대 투여량의 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체를 공급한다. MTD는 3명의 환자 중 2명 또는 6명의 환자 중 2명이 경험하는 투여량-제한 독성을 뛰어 투여량으로 정의된다. 투여량 제한 독성은 National Cancer Institute (NCI) Common Terminology for Adverse Events(CTCAE) Version 3.0 (2006년 8월 9일)에 의해 정해진 정의와 기준에 따라 결정된다.
- [1322] II상: 환자에게 I상에서 측정된 MTD로 I상에서와 같이 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체를 공급한다. 치료는 질병 진행 또는 허용될 수 없는 독성의 부재하에서 2 내지 6개의 코스 동안 4주 마다 반복한다. 연구 치료법의 2개 코스 완료 후, 완전한 또는 부분적인 반응을 성취하는 환자에게는 추가로 4개의 코스를 공급할 수 있다. 연구 치료법의 6개 코스 완료 후, 2개월 이상 동안 안정한 질병을 유지하는 환자에게 질병 진행시 추가의 6개의 코스를 공급할 수 있는데, 단 이들은 원래의 적법성기준을 충족시킨다.
- [1323] 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 투여 전 및 후에 직접적인 정맥 천공으로 혈액 샘플링 일련 혈액을 채취한다. 혈청 농도 측정을 위하여 정맥혈 샘플 (5 ml)을 투여하기 약 10분전 및 투여 후 대략적으로 다음과 같은 시간에서 수득한다: 1일, 8일, 및 15일. 각각의 혈청 샘플을 2개의 분취량으로 나눈다. 모든 혈청 샘플은 -20°C에서 보관한다. 혈청 샘플을 드라이아이스위에 올려놓는다.
- [1324] 약물동력학: 치료 시작전 및 1일, 8일, 및 15일에 약물동력학 평가를 위하여 환자에게서 혈장/혈청 샘플을 수집한다. 약물동력학 변수는 Digital Equipment Corporation VAX 8600 컴퓨터 시스템상에서 최신 버전의 BIOAVL 소프트웨어를 사용하여 모델 독립적 방법으로 계산한다. 다음과 같은 약물동력학 변수를 측정한다: 피크 혈청 농도 (C_{max}); 피크 혈청 농도까지의 시간 (t_{max}); 선형 사다리꼴 공식을 사용하여 계산된 제로에서부터 마지막 혈액 샘플링 시간까지(AUC_{0-72}) 농도-시간 곡선(AUC)하의 면적; 및 제거 속도 상수로부터 계산된, 말단 제거 반감기($t_{1/2}$). 상기 제거 속도 상수는 로그-선형 농도-시간 플롯의 말단 선형 영역에서 연속적인 데이터 점의 선형 회귀법으로 평가된다. 상기 약물동력학적 변수의 평균, 표준편차(SD), 및 변동계수(CV)를 각 치료에 대해 계산한다. 변수 평균 비(보존된 제형/비-보존된 제형)를 계산한다.
- [1325] 병용 요법에 대한 환자 반응: 환자 반응은 X-선, CT 스캔, 및 MRI를 사용한 이미지화를 통하여 평가하며, 이미지화는 연구 시작 전 및 최초 사이클의 말기에 수행하며, 4주마다 또는 후속 사이클 말기에 추가적인 이미지화를 수행한다. 이미지화 양식은 암의 종류 및 실행가능성 및/또는 입수가능성을 기준으로 하여 선택하며, 유사한 암 종류 뿐만 아니라 각 환자의 연구 과정을 통하여 동일한 양식을 이용한다. 반응 속도는 RECIST 기준 (Therasse et al, J.Natl. Cancer Inst. 2000 Feb 2; 92(3):205-16; <http://ctep.cancer.gov/forms/TherasseRECISTJNCI.pdf>)을 사용하여 결정한다. 환자에게서 또한 유세포분석, 웨스턴 블로팅, 및 IHC에 의해 선조 암세포(progenitor cancer cell) 표현형 및 집락형성 성장(colonogenic growth)에서의 변화, 및 FISH에 의해 세포유전학에서의 변화를 평가하기 위한 암/종양 생검을 수행한다. 연구 치료 완료 후, 4주간 주기적으로 환자를 관찰한다.
- [1326] **실시예 32: 유방암의 치료**
- [1327] 유방암 치료에 대한 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 안전성 및 효과의 인간 임상 시험
- [1328] 목적: HER2-과발현시키는 전이성 유방암을 앓고 있는 여성에서 트라스투주마브와 파클리탁셀을 함께 투여 대 제

1-라인 트라스투주마브와 파클리탁셀을 함께 투여함으로써 질병 진행에서 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체를 단독 투여후의 효과 및 독성을 비교함.

[1329] 연구 디자인: 본 연구는 랜덤화된, 멀티센터 연구이다. 환자는 HER2/neu-과발현 정도(2+ 대 3+), 안트라사이클린-함유 애주번트 치료전 (이전 치료가 없는 것 대 좌측 가슴 벽에 방사선요법없는 이전 치료 대 좌측 가슴 벽에 방사선요법을 사용한 이전 치료), 에스트로겐-수용체 상태 (포지티브 대 네가티브 대 미지), 이전 치료 (제 1-라인 대 제2/제3-라인), 및 센터에 따라 계층화된다. 환자는 2개의 치료 암(arm)중 하나로 랜덤화된다. 암 (arm) I: 환자에게 1주마다 30 내지 90분에 걸쳐 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체 IV를 공급한다. 질병 진행시, 환자에게 암 II로서 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체와 파클리탁셀 IV를 함께 공급한다. 암 II: 환자에게 1주마다 0 내지 90분에 걸쳐 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체 IV를 공급한다. 파클리탁셀은 1주 휴식한 다음 3주 동안 1주에 1시간에 걸쳐 IV 투여한다.

[1330] 질병 진행 또는 허용될 수 없는 독성 부재시 암 둘다에서 치료를 계속한다. 삶의 질은 기준선에서 코스 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 및 12 중 1일째에 평가한다. 이후 1, 3, 및 6개월 및 이어서 6개월 마다 환자를 관찰한다.

[1331] 실시예 33: 방광암의 치료

[1332] 목적: 방광의 근육-침윤성 과도기 세포 암종에 대한 경요도 방광 절제전의 환자에서 본원에 기술된 돌라스타틴 유도체와 함께 또는 없이 파클리탁셀과 방사선요법의 급성 독성을 측정한다.

[1333] 질병 특징: 조직학적으로 또는 세포학적으로 방광의 1차 과도기 세포 암종(TCC)으로 확증된다; 고유근육층 침윤의 조직학적 증거; 다음 단계 기준 중 1을 만족시킨다: 단계 T2-4a; NX, N0, 또는 N1; 및 M- 질병 또는 임상 단계 T1, 등급 3/3 질병 및 명확하고 국소적인 요법을 필요로 한다; 하기 기준을 만족시키는 경우 허용되는 전립선 요도의 종양 침범: 종양은 가시적으로 완벽하게 절제된다; 전립선의 기질 침입의 증거가 없음; 흉부 x-선 또는 CT 스캔 및 복부/골반 CT 스캔에 의해 원격 전이 증거가 없음; 은 종양 맵화에 의한 쌍합진(bimanual examination); HER2/neu 분석에 이용할 수 있는 충분한 종양 조직; 라디칼 방광절제술용 후보가 아닌 것을 포함하여, 지난 3 내지 8주내에 경요도 방광 절제 (안전하게 가능한 것으로 판단되도록 완전하게)를 시행한다.

[1334] 연구 디자인: 본 연구는 비-랜덤화된, 멀티센터 연구이다. 환자를 HER2/neu 상태 (HER2/neu2+ 또는 3+ 스테이닝 [그룹 1] 대 HER2/neu 0 또는 1+ 스테이닝 [그룹 2])에 따라서 2개의 치료 그룹중 하나에 배정한다.

[1335] 그룹 1: 환자에게 1일, 8일, 15일, 22일, 29일, 36일, 및 43일에 1시간에 걸쳐 파클리탁셀 IV 및 1일째에 90분에 걸쳐 및 이어서 8일, 15일, 22일, 29일, 36일, 및 43일째에 30분에 걸쳐 본원에 기술된 돌라스타틴 유도체 IV를 공급한다. 환자에게 또한 1-5일, 8-12일, 15-19일, 22-26일, 29-33일, 36-40일, 43-47, 및 50일에 매일 1회 방사선요법을 시행한다. 치료는 질병 진행 또는 허용될 수 없는 독성 부재시 계속한다.

[1336] 그룹 2: 환자에게 그룹 1에서와 같이 파클리탁셀을 공급하고 방사선요법을 시행한다. 연구 치료 완료 후, 1년 동안 3개월마다 4 내지 5주에 걸쳐 관찰하고, 1년간 4개월 마다, 3년가 6개월마다, 그리고 이후 매년 환자를 관찰한다.

[1337] 실시예 34: 난소암의 치료

[1338] 난소암 치료에 대한 본 명세서에 기재된 돌라스타틴 유도체의 안전성 및 효과의 인간 임상 시험

[1339] 목적: HER2-과발현시키는 난소암을 앓고 있는 여성에서 본 명세서에 기재된 돌라스타틴 유도체를 포함하는 조성물의 1주에 1회 4주간 IV 투여의 안전성 및 효과를 평가한다.

[1340] 연구 디자인: 본 연구는 비-랜덤화된, 개방-라벨, 11주, 멀티센터 연구이다. 본 연구는 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 1주에 1회 4주간 IV 투여, MTD, PK 및 면역원성의 안전성 프로필을 평가한다. 환자를 단일 그룹으로 배정한다. 환자에게 4주간 1주에 1회 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체를 단일 투여량으로 제공한다. 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체는 연구 1일, 8일, 15일, 및 22일에 IV 주사로 투여된다. 오줌 샘플은 1일 및 22일에 채취한다.

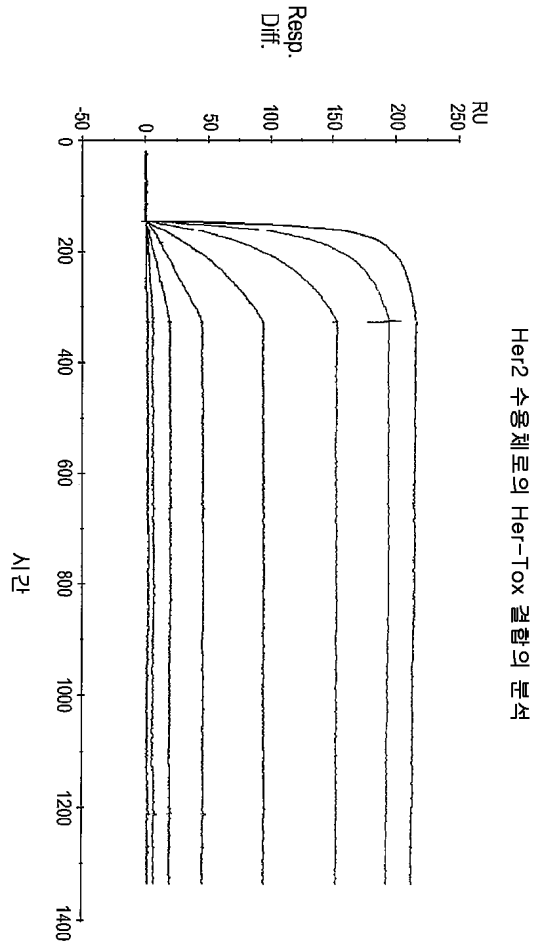
[1341] 돌라스타틴 유도체의 투여 전 및 후에 직접적인 정맥 천공으로 혈액 샘플링 일련 혈액을 채취한다. 혈청 농도 측정을 위하여 정맥혈 샘플 (5 mL)을 투여하기 약 10분전 및 투여 후 대략적으로 다음과 같은 시간에서 수득한다: 1일, 2일, 4일, 5일, 8일, 15일, 22일, 36일, 43일 및 50일. 각각의 혈청 샘플을 2개의 분취량으로 나눈다. 모든 혈청 샘플은 -20℃에서 보관한다. 혈청 샘플을 드라이아이스위에 올려놓는다.

[1342] 질병 진행 또는 허용될 수 없는 독성 부재시 치료를 계속한다. 삶의 질은 기준선에서 코스 2, 3, 4, 5, 6, 8,

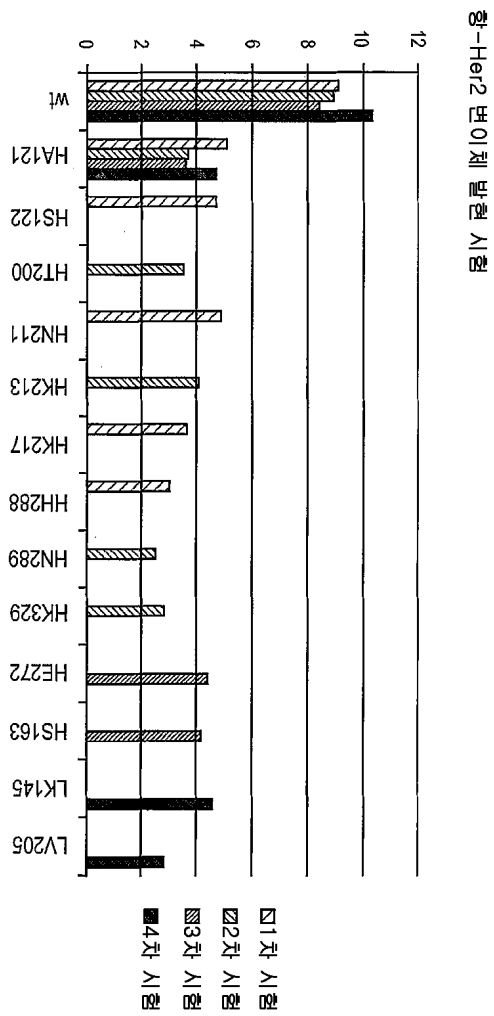
10, 및 12 중 1일째에 평가한다. 이후 29일, 36일, 43일, 및 50일에 환자를 관찰한다. 환자에게 부작용에 대해 질문한다. 환자는 이미지화 스캔 및 ECG를 갖게 되며 종양 크기 및 심장 기능에 대해 평가받는다 (43일). 연구 종결시 환자는 신체검사를 받게된다 (50일). 질병 재발의 증거가 있는 환자는 질병의 진행 증거가 모일 때까지 계속된 치료를 받게된다.

도면

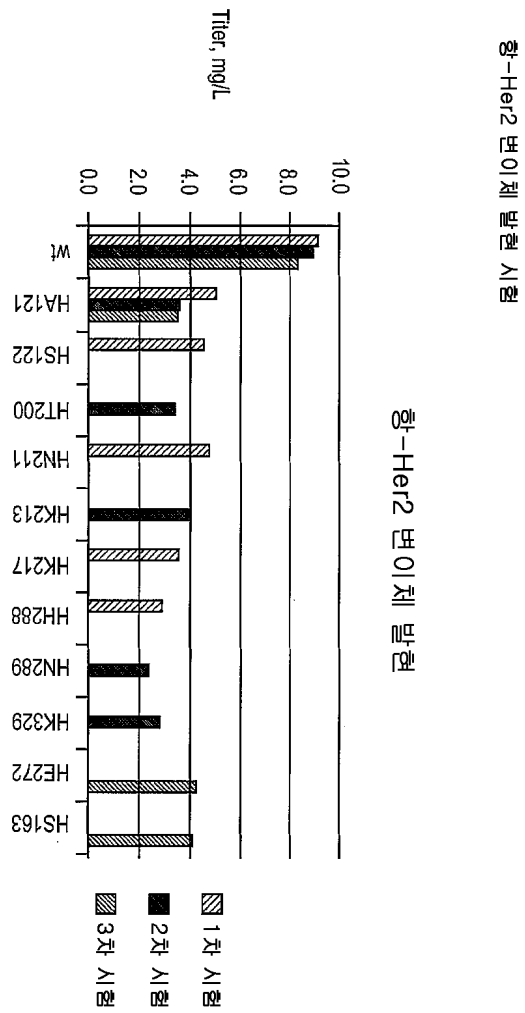
도면1



도면2

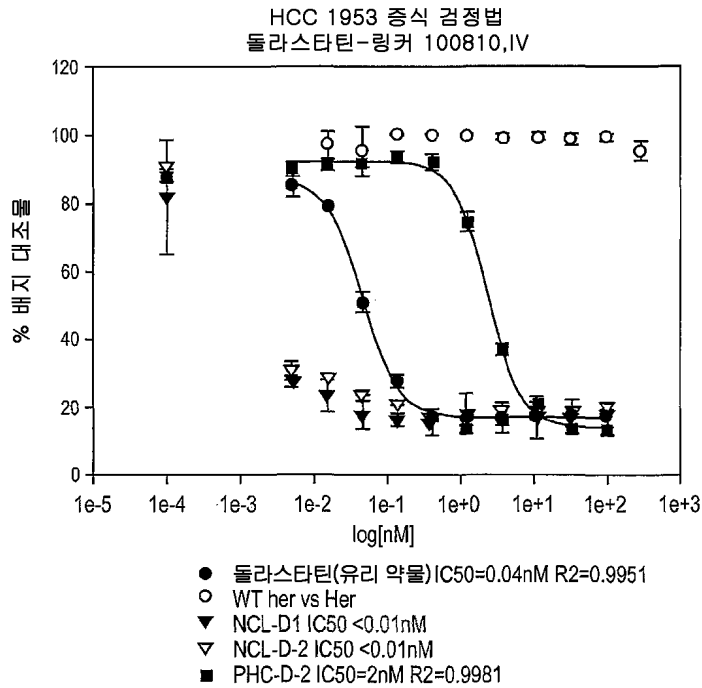


도면3



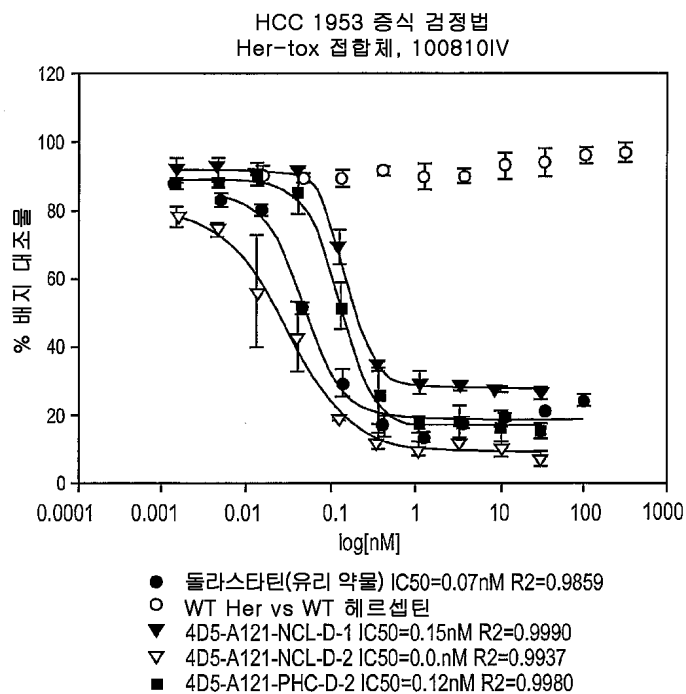
도면4

HCC 1954 유방암 세포주와 돌라스타틴 링커
유도체를 사용한 증식 검정법



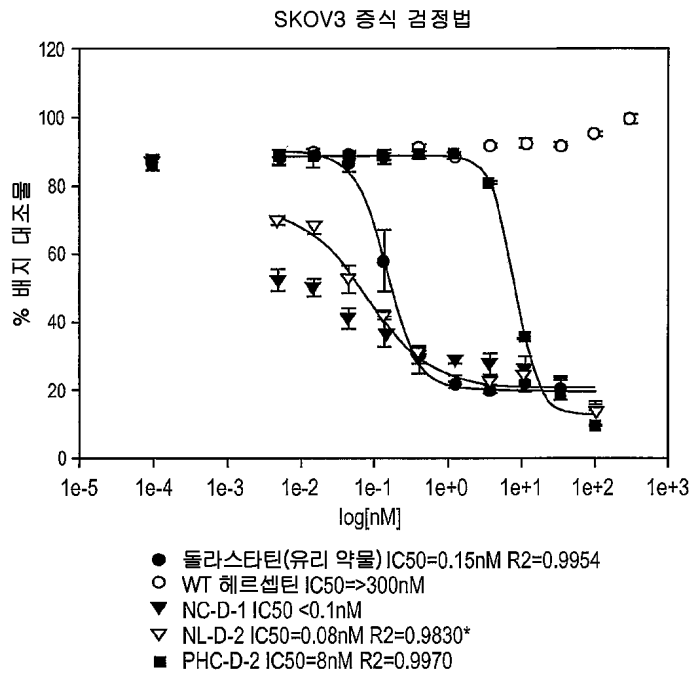
도면5

HCC 1954 유방암 세포주와 Her-tox 접합체를
사용한 증식 검정법



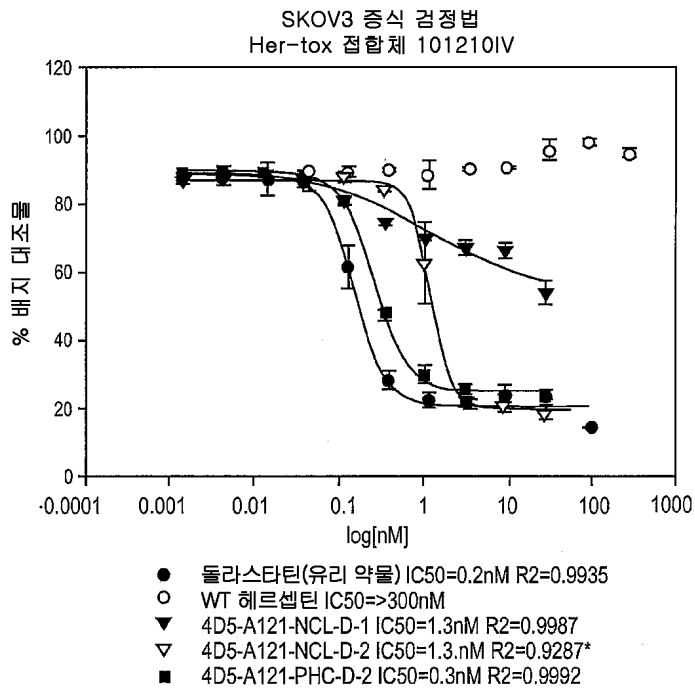
도면6

SKOV-3 난소암 세포주와 돌라스타틴 링커
유도체를 사용한 증식 검정법



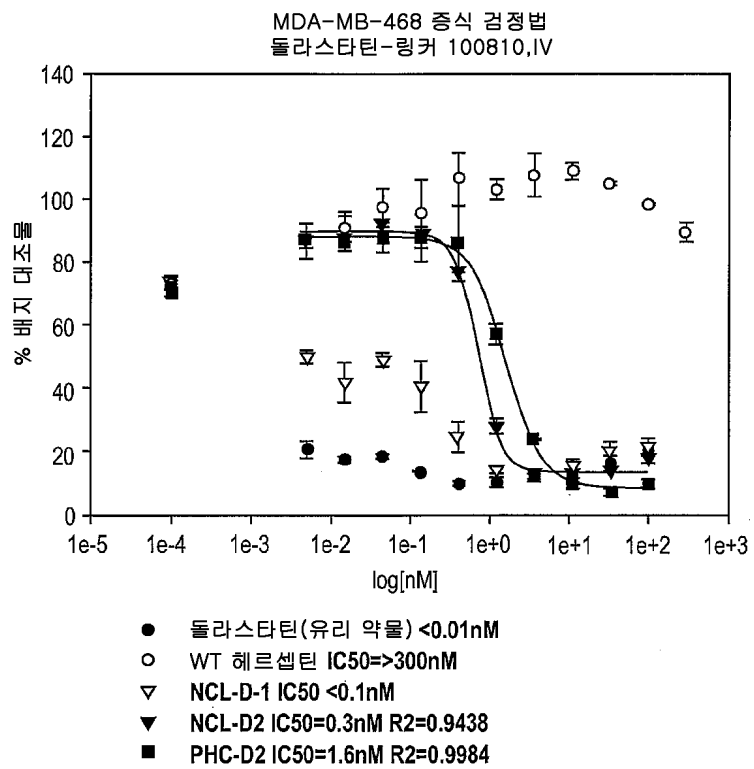
도면7

SKOV-3 난소암 세포주와 Her-tox 접합체를
사용한 증식 검정법



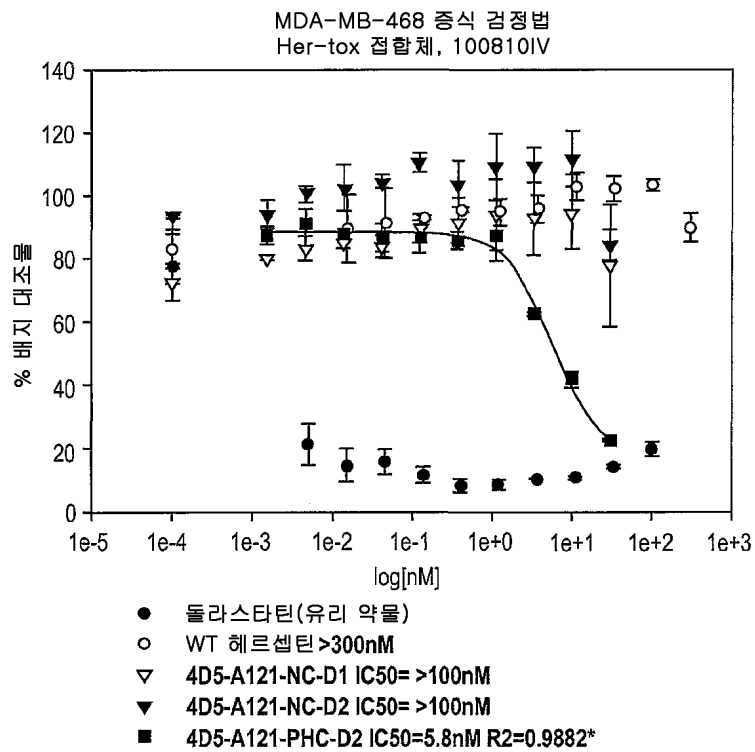
도면8

MDA-MB-468 유방암 세포주와 돌라스타틴 링커
유도체를 사용한 증식 검정법

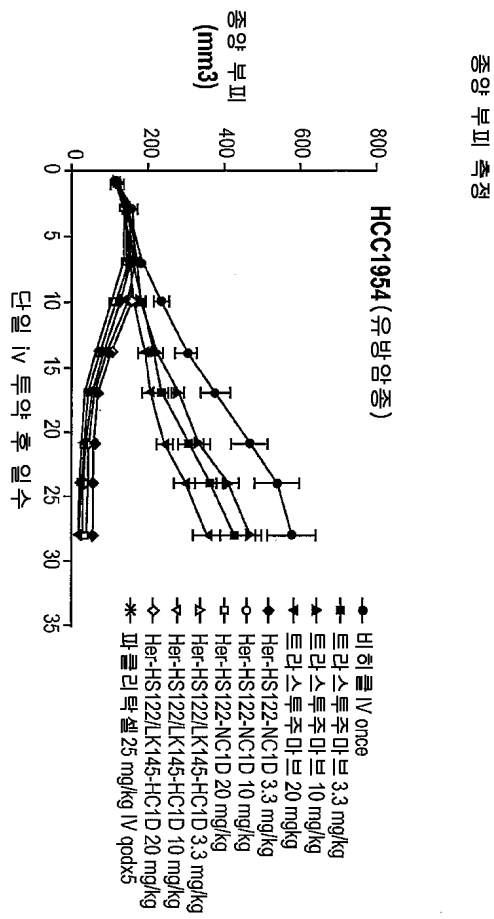


도면9

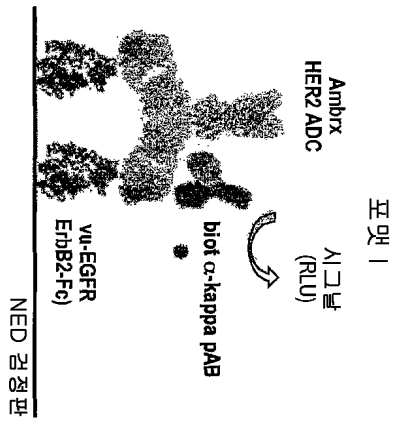
MDA-MB-468 유방암 세포주와
Her-tox 접합체를 사용한 증식 검정법



도면10

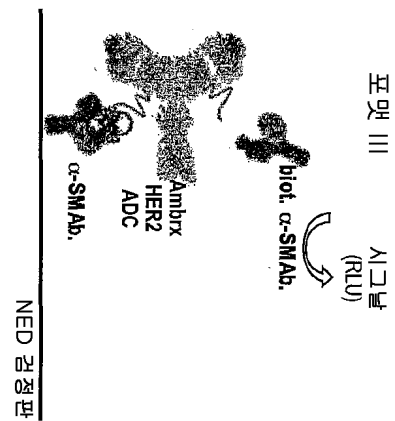


SD 래트 혈청 중 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체의 농도 측정에 사용되는 검정법 포맷
소분자(SM)-돌라스타틴



동물 세포간질(matrix)(비-선택적) 중
HER-2 항체의 전체 수준 측정
(비-선택적으로)

어플리케이션:
• Her2+/-SM에 대한 PK 프로파일
비검출된 Ab
검출된 Ab

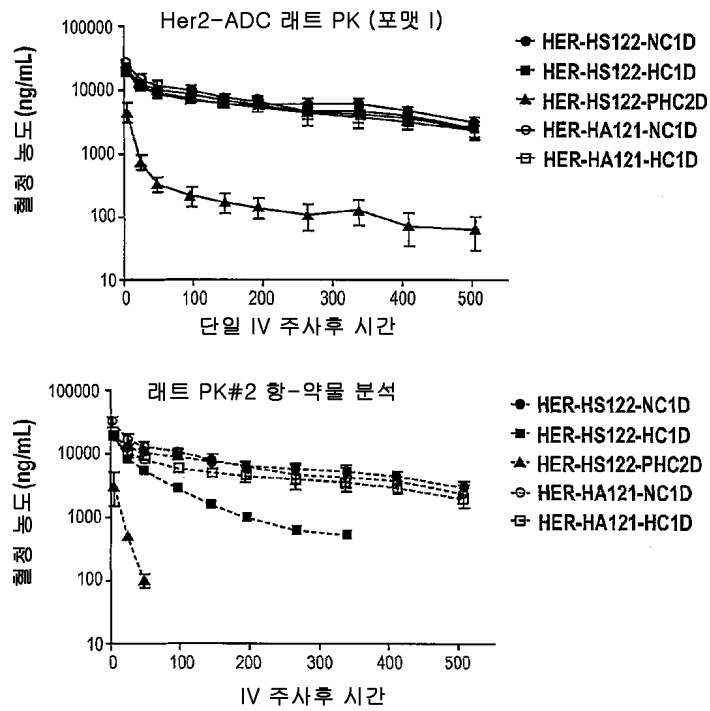


약물당 2개 이상의 페이로드에 대한
분리의 HER2-ADC 의 수준 측정
(선택적으로)

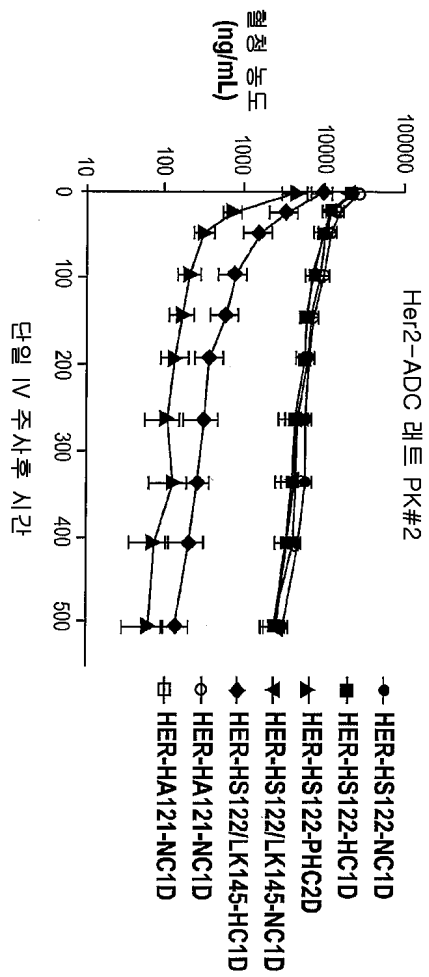
어플리케이션:
• 모든 Ambryx ADC(+SM)에 대한 PK 프로파일
• 링커 안정성의 평가
• 포맷에 대한 확장적 검정법

도면12

랫 PK 결과: 트라스투주마브-연결된 돌라스타틴
유도체의 혈청 농도

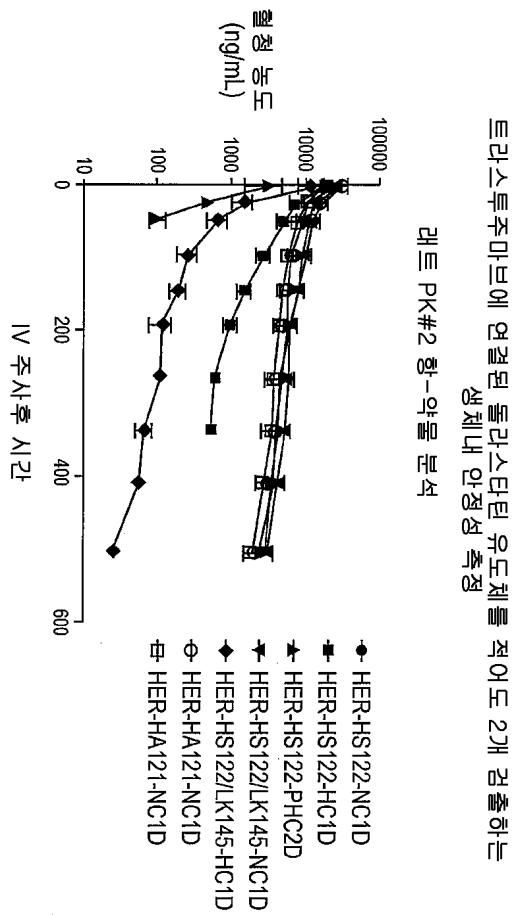


도면13



트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체에 대한 래트 PK 데이터

도면14



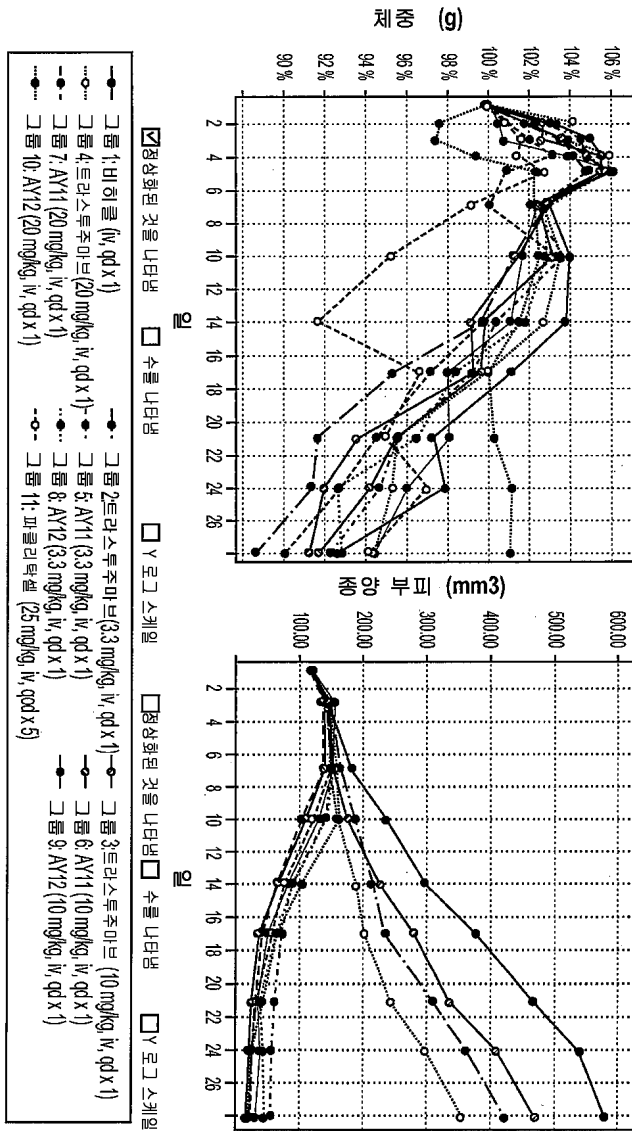
도면15

트라스투주마브-연결된 돌라스타틴 유도체에 대한 래트 PK 데이터

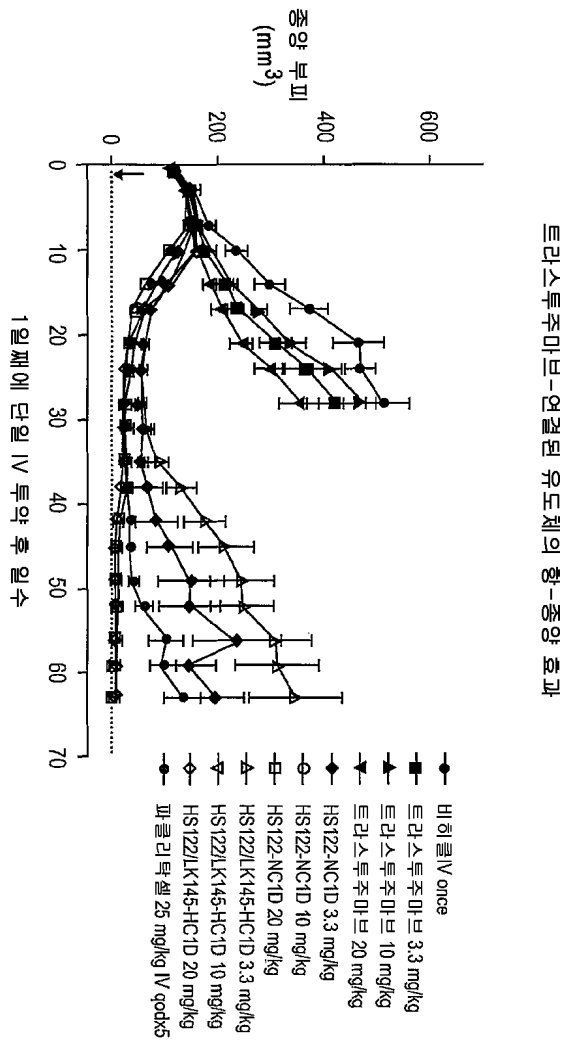
HCC1954-e202 그룹 평균 요약 데이터 (TV = 1000 mm³ or Day 60)

체중 (정상화)

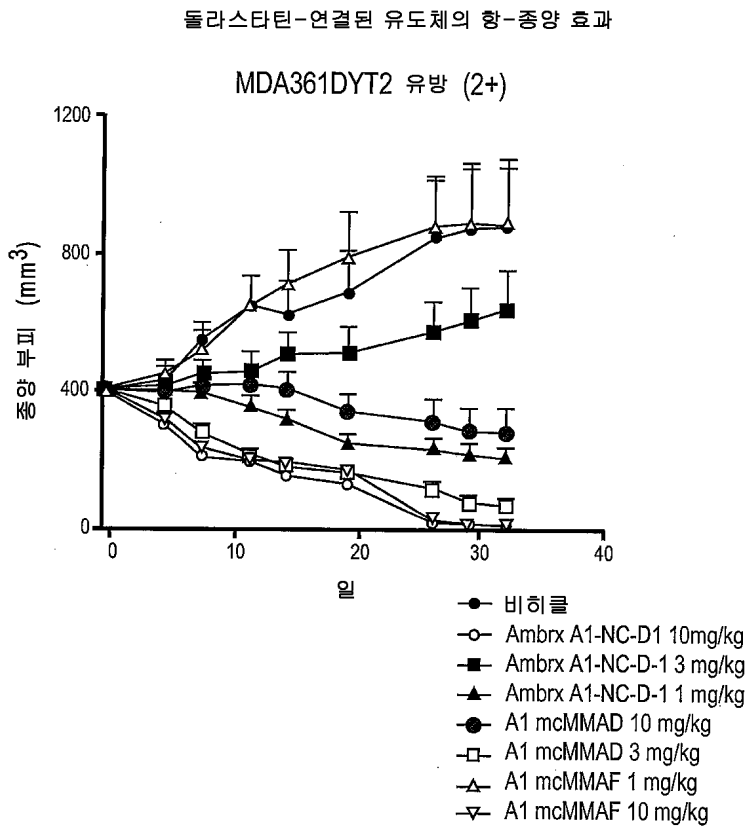
종양 부피



도면16



도면17



도면18

