(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0010706
(43) 공개일자 2025년01월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) *A61K 31/454* (2006.01)
A61K 31/5025 (2006.01) *A61K 31/513* (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01) *A61K 31/551* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) *A61K 47/64* (2017.01)
A61K 47/65 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/68 (2017.08)
A61K 31/454 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7042046
(22) 출원일자(국제) 2023년05월17일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년12월18일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2023/094714
(87) 국제공개번호 WO 2023/222019
국제공개일자 2023년11월23일
(30) 우선권주장
202210540244.3 2022년05월18일 중국(CN)

(71) 출원인
시스트이뮨, 인코포레이티드
미국, 워싱턴 98052, 레드몬드, 15318 엔이 95 스트리트
(72) 발명자
주, 이
미국 워싱턴 98052 레드먼드 노스트이스트 95번 스트리트 15318
완, 웨이리
중국 쓰촨 611130 청두 웬지앙 디스트릭트 청두 내셔널 크로스-스트레이트 테크놀로지 인더스트리얼 디벨롭먼트 파크 바이리 로드 139
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
공병욱

전체 청구항 수 : 총 14 항

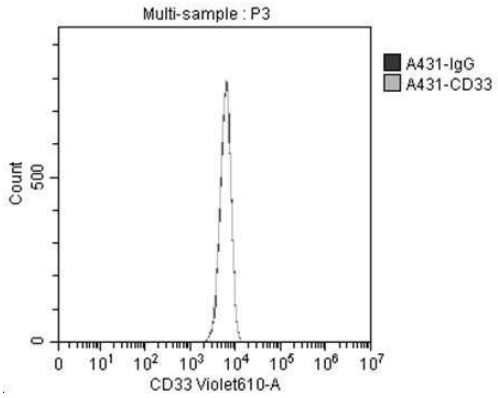
(54) 발명의 명칭 **리간드-약물 접합체 및 이의 용도**

(57) 요 약

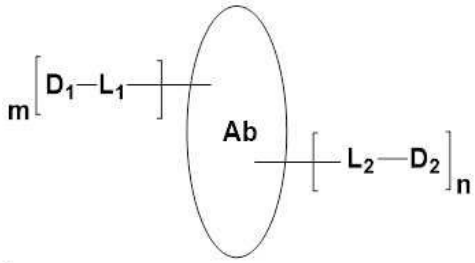
본 발명은 리간드-약물 접합체 및 이의 용도를 제공한다. 구체적으로, 본 발명은 화학식 I로 표현되는 리간드-약

(뒷면에 계속)

대 표 도



물 접합체 또는 이의 입체이성체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물을 제공한다.



화학식 I

(52) CPC특허분류
A61K 31/454 (2013.01)
A61K 31/5025 (2013.01)
A61K 31/513 (2013.01)
A61K 31/5377 (2013.01)
A61K 31/551 (2013.01)
A61K 39/00 (2025.01)
A61K 47/64 (2017.08)
A61K 47/65 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)

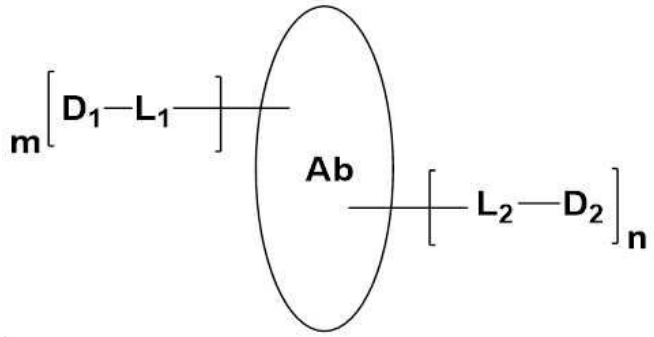
(72) 발명자
주오, 쉬
중국 쓰촨 611130 청두 웬지앙 디스트릭트 청두 내셔널 크로스-스트레이트 테크놀로지 인더스트리얼 디벨롭먼트 파크 바이리 로드 139
주, 구이리
중국 쓰촨 611130 청두 웬지앙 디스트릭트 청두 내셔널 크로스-스트레이트 테크놀로지 인더스트리얼 디벨롭먼트 파크 바이리 로드 139
유, 티엔즈
중국 쓰촨 611130 청두 웬지앙 디스트릭트 청두 내셔널 크로스-스트레이트 테크놀로지 인더스트리얼 디벨롭먼트 파크 바이리 로드 139

명 세 서

청구범위

청구항 1

1. 화학식 I로 표현되는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물,



식 I

여기에서:

Ab는 항체, 항체 단편, 표적 단백질 및 Fc-융합 단백질로 구성된 군에서 선택된 표적화 모이어티이고;

D1은 L1에 연결된 첫 번째 약물이며;

D2는 DNA 손상 복구 억제제에서 선택된 두 번째 약물이고 L2에 연결되며;

L1은 첫 번째 약물을 표적화 모이어티에 연결하는 첫 번째 연결 단위이고;

L2는 두 번째 약물을 표적화 모이어티에 연결하는 두 번째 연결 단위이며;

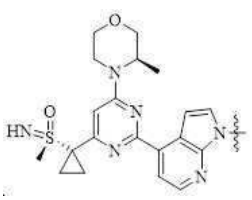
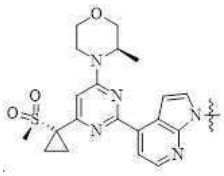
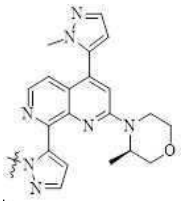
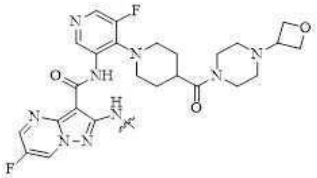
m은 0~20에서 선택된 정수이고;

n은 1~20에서 선택된 정수임.

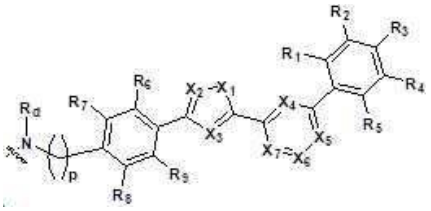
청구항 2

제1항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

상기 제2 약물은 ATR 억제제, ATM 억제제, PARP 억제제, WEE1 억제제, CHK1 억제제 및 DNA-PK 억제제로 구성된 그룹에서 선택되고,

바람직하게는, 상기 ATR 억제제는  ,  ,  ,  및 화학식 A로 표현되는 화합물 또는 이의 중수소화물로 구성된 그룹에서

선택되고,



화학식 A

여기서,

X_1은 O, S, NH 및 CH_2로 구성된 군에서 선택되고;

바람직하게는, X_1은 O 및 S로 구성된 군에서 선택되며;

더 바람직하게는, X_1은 O이고;

X_2, X_3은 각각 N 및 CH로 구성된 군에서 독립적으로 선택되고;

바람직하게는, X_2는 N이고, X_3은 CH이며;

X_4, X_5, X_6은 각각 N 및 CH로 구성된 군에서 독립적으로 선택되고;

바람직하게는, X_4 및 X_6은 N이고, X_5는 CH이며;

X_7은 N 및 C(R_0)로 구성된 군에서 선택되며;

바람직하게는, X_7은 C(R_0)이고;

R_0은 H, C1-C6 알킬 및 R_bR_aN-로 구성된 군에서 선택되고;

바람직하게는 R_0은 R_bR_aN-이고;

R_a, Rb는 각각 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 독립적으로 선택되며;

바람직하게는, R_a, R_b는 각각 H이이고;

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5는 각각 H, C1-C6 알킬 및  으로 구성된 군에서 독립적으로 선택되고;

바람직하게는, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5는 각각 H 및  로 구성된 그룹에서 독립적으로 선택되고;

더 바람직하게는, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 중 하나는  이고, 나머지는 H이며;

가장 바람직하게는, R_3는  , R1, R2, R4 및 R5는 H이고;

R_c는 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되며;

바람직하게는, R_c는 C1-C6 알킬로부터 선택되고;

더 바람직하게는, R_c는 이소프로필이고;

R_6, R_7, R_8, R_9는 각각 독립적으로 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되고;

바람직하게는, R_6, R_7, R_8, R_9는 H이고;

R_d는 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되며;

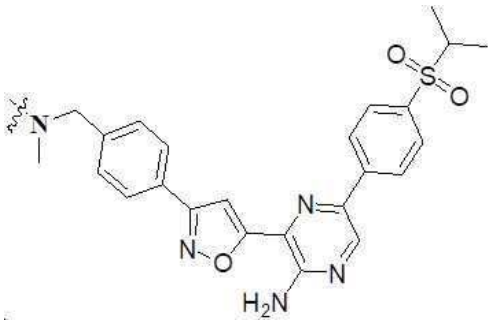
바람직하게는, R_d는 C1-C6 알킬로부터 선택되고;

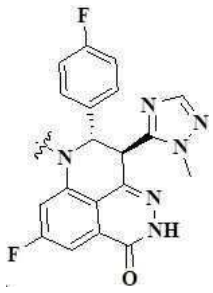
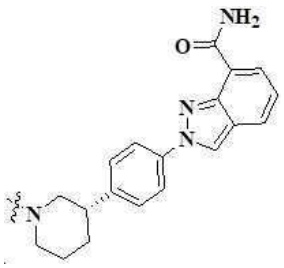
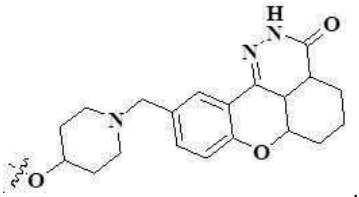
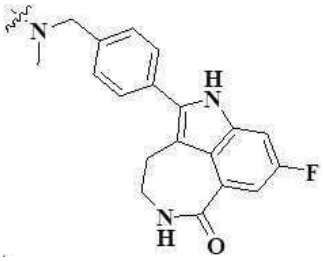
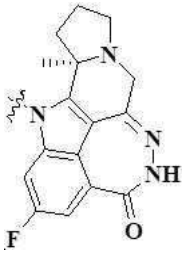
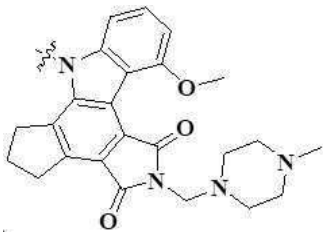
더 바람직하게는, R_d는 메틸이며;

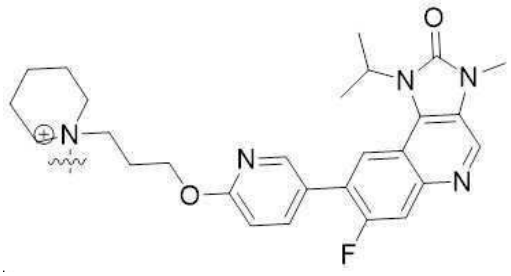
p는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로 구성된 군에서 선택되고;

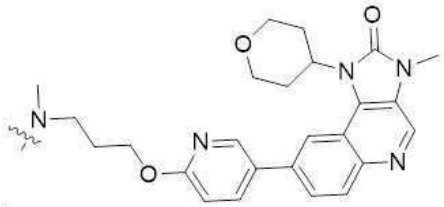
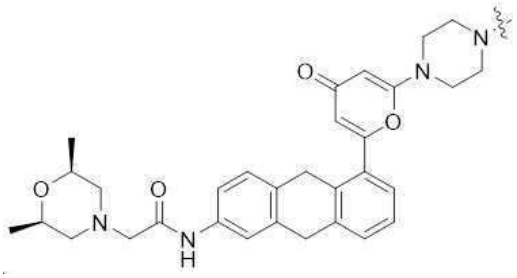
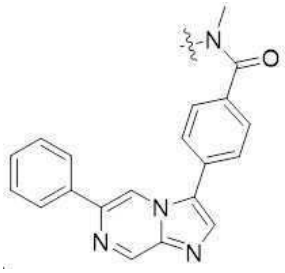
바람직하게는, p는 1, 2 및 3으로 구성된 그룹으로부터 선택되며;

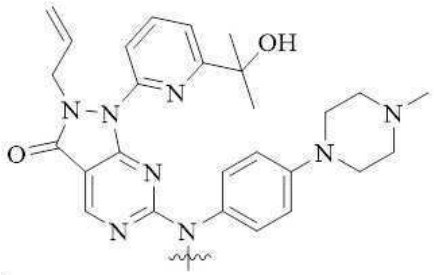
더 바람직하게는, p는 1이고;

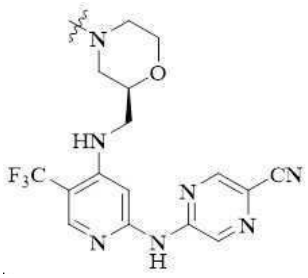
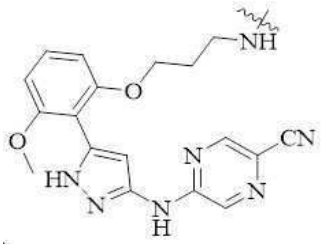
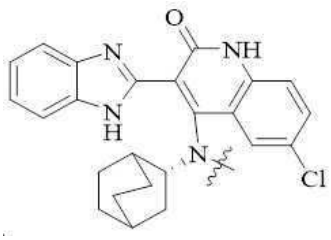
더 바람직하게는, 화학식 A로 표현되는 화합물은  이고;

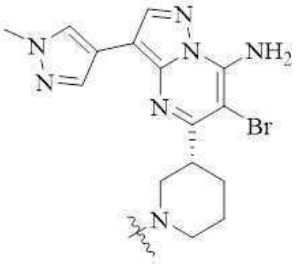
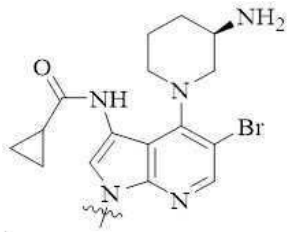
바람직하게는, PARP 억제제는  ,  ,  ,  ,  , 및  로 구성된 그룹에서 선택되고;

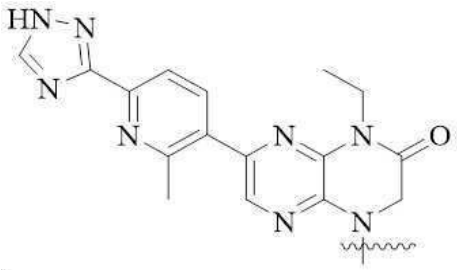
바람직하게는, ATM 억제제는  ,


,

,
및

로 구성된 그룹에서 선택되며;

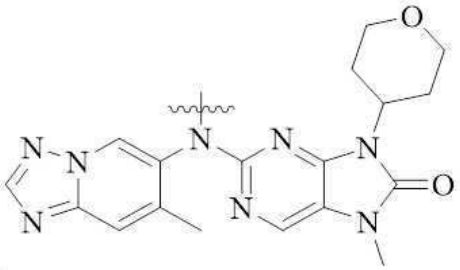

바람직하게는, WEE1 억제제는
이고;

바람직하게는, CHK1 억제제는

,

,

,

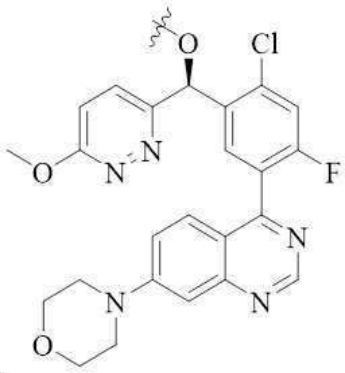
,

,
및

로 구성된 그룹으로부터 선택되고;



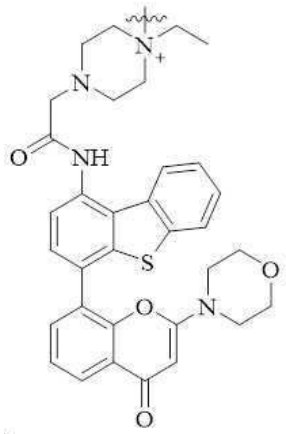
바람직하게는, DNA-PK 억제제는 ,



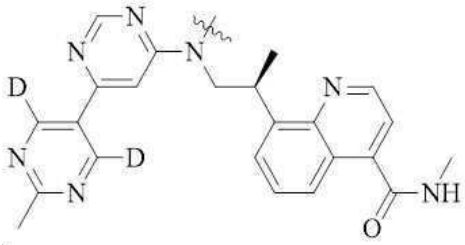
,



,



, 및



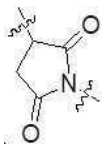
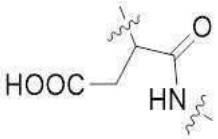
로 구성된 그룹으로부터 선택됨.

청구항 3

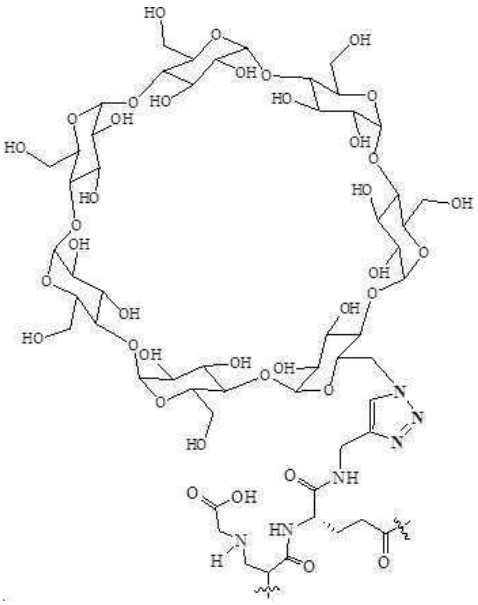
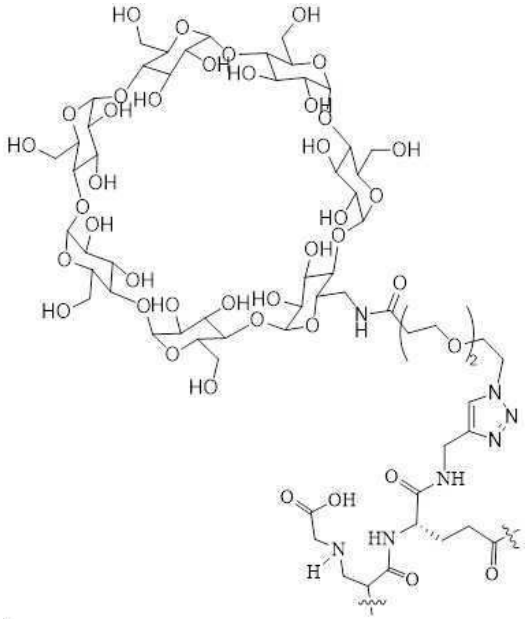
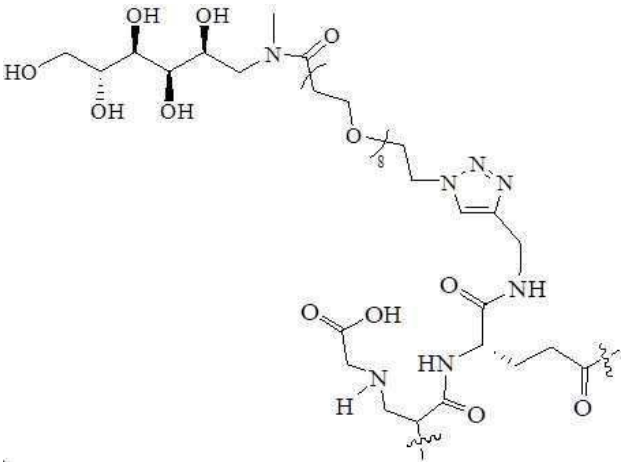
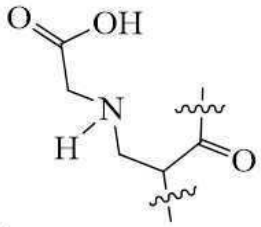
제1항 또는 제2항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

제2 연결 단위는 깨질 수 있거나(breakable) 깨지지 않는(non-breakable) 연결 단위이고;

바람직하게는, L_2는 L_{21}-L_{22}-L_{23}-L_{24}이고, L_{24}는 D_2에 연결되며, L_{21}은 Ab에 연결되고(바람직하게는, L_{21}은 티올 그룹을 통해 Ab에 결합됨),

L_{21}은  , 및  로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 이의 N-말단은 L_{22}에 연결되며,

L_{22}는 다음으로 구성된 그룹으로부터 선택되고:

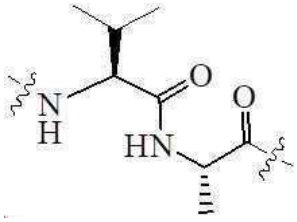
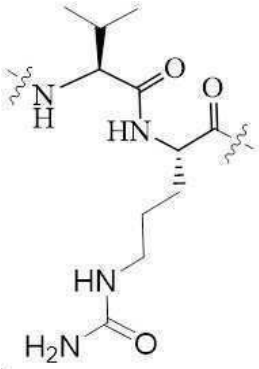

,

,

, 및

,

여기에서 이의 카르보닐 말단은 L_{23}에 연결되고;

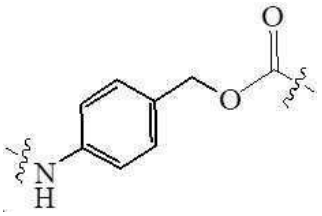
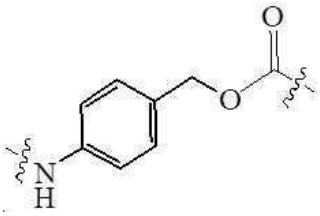
L_{23}은 2~10개의 아미노산 잔기로 구성된 아미노산 잔기 또는 펩타이드 잔기에서 선택되고, 카르보닐 말단은 L_{24}에 연결되며;

바람직하게는, L_{23}은 2~4개(바람직하게는 2개)의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기이며, 그 카르보닐 말단은 L_{24}에 연결되고, 바람직하게는, 아미노산은 발린, 알라닌, 페닐알라닌, 글리신, 리신, 시트룰린, 세린, 글루탐산 및 아스파르트산으로 구성된 군에서 선택되고, 더 바람직하게는, 아미노산은 발린, 알라닌 및 시트룰린으로 구성된 군에서 선택되며;

더 바람직하게는, L_{23}은 발린-알라닌(Val-Ala) 및 발린-시트룰린(Val-Cit)으로 구성된 군에서 선택되며, 카르보닐 말단은 L_{24}에 연결되고;

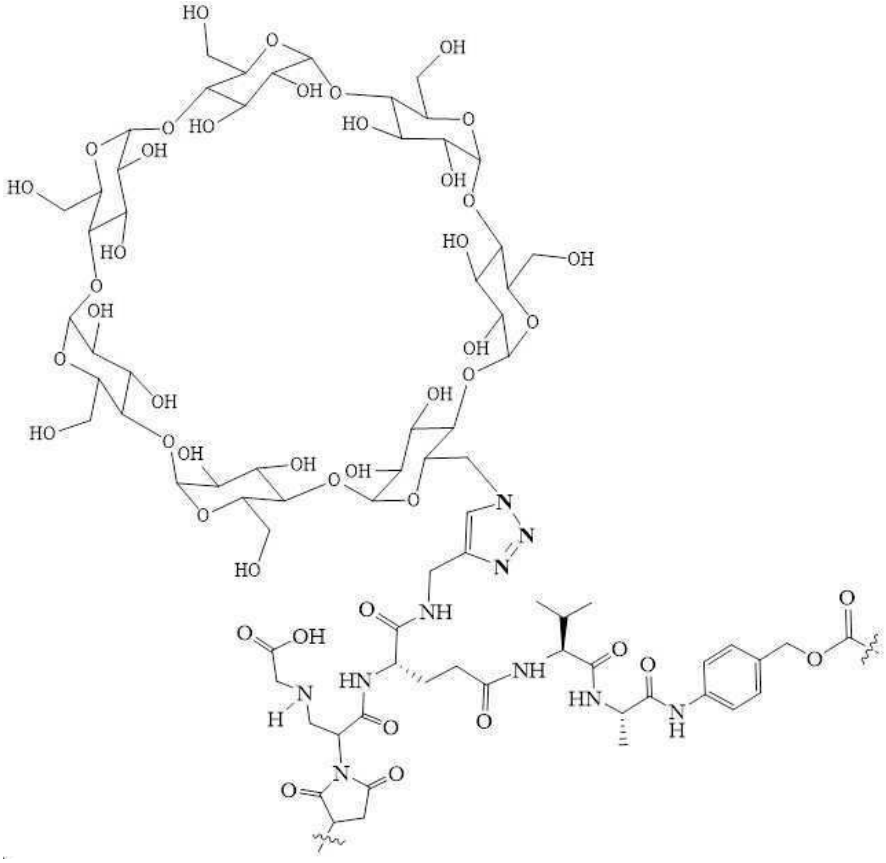



가장 바람직하게는, L_{23}은 , 및 로 구성된 그룹에서 선택되고, 이의 카르보닐 말단은 L_{24}에 연결되며;

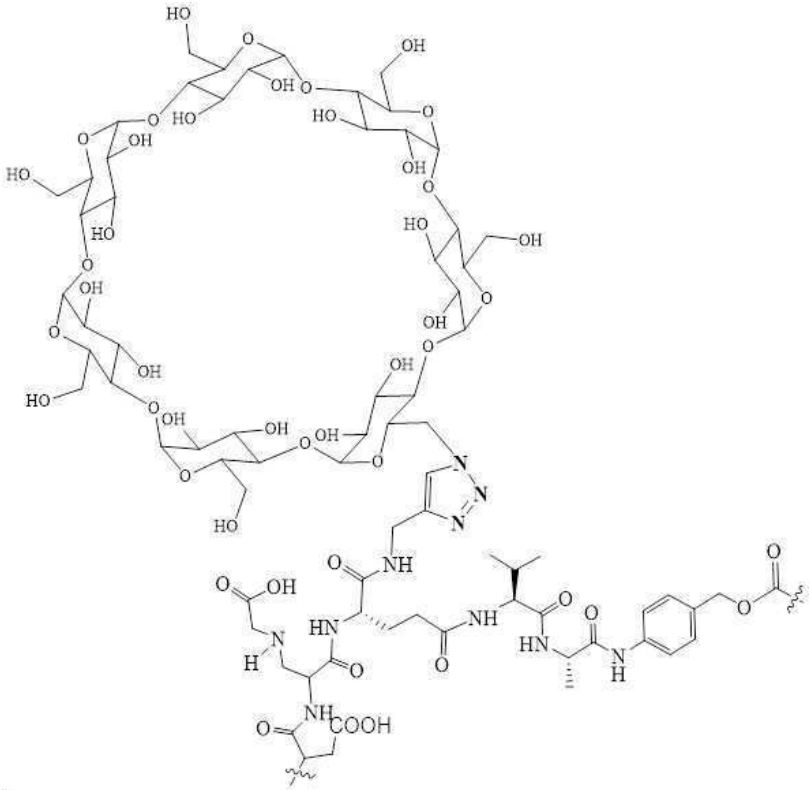



L_{24}는 또는 직접 결합이고, L_{24}가 인 경우, 그 카르보닐 말단은 D_2에 연결되며;

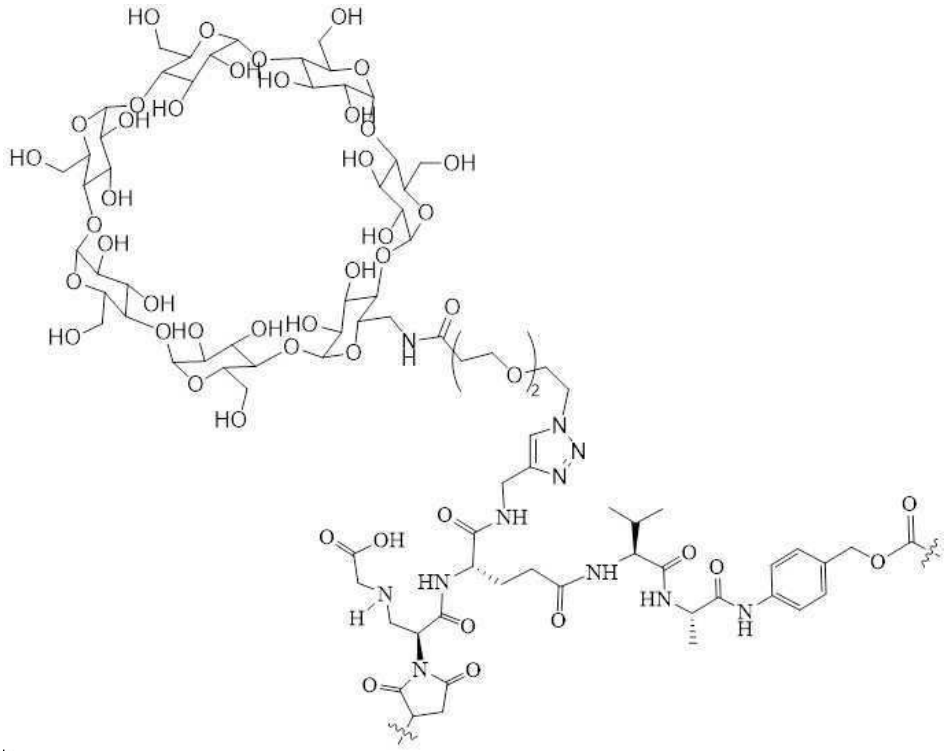
바람직하게는, L_2는 다음으로 구성된 그룹에서 선택되고:



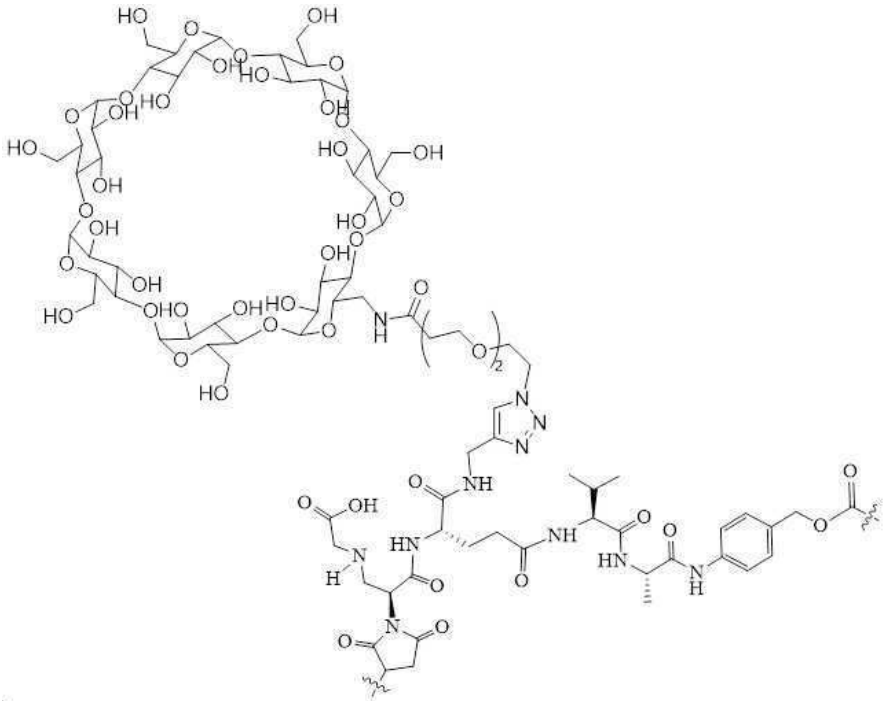
,



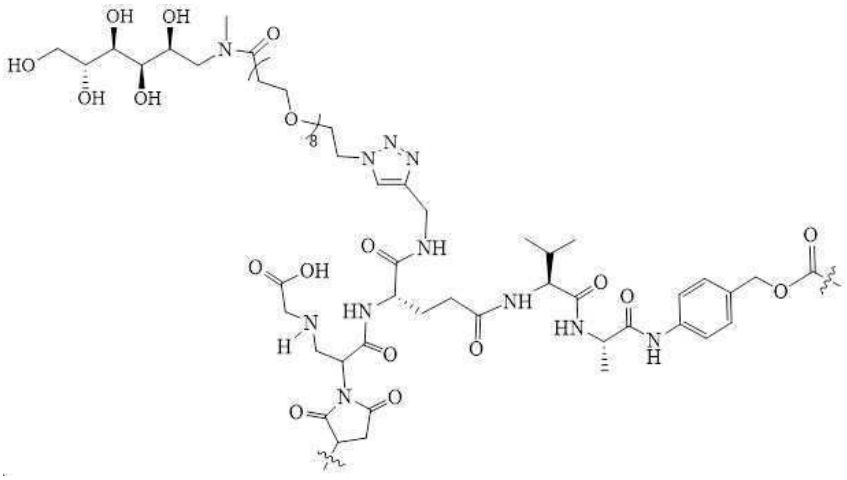
,



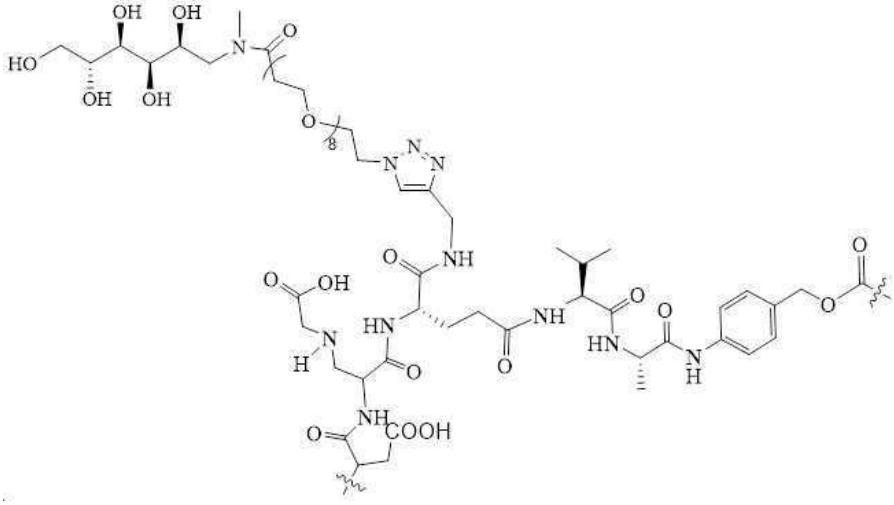
,



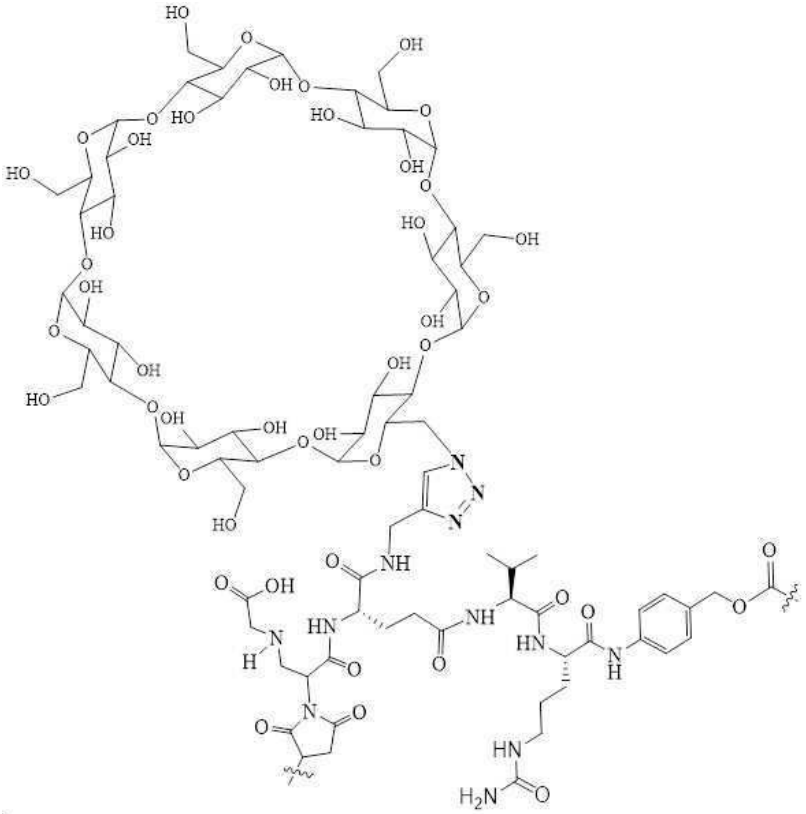
,



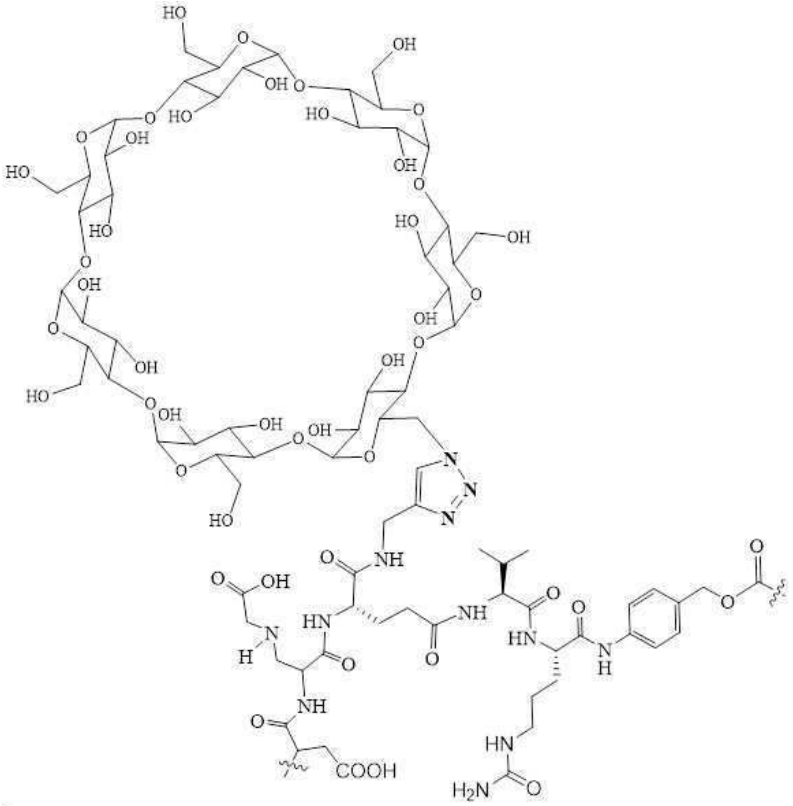
,



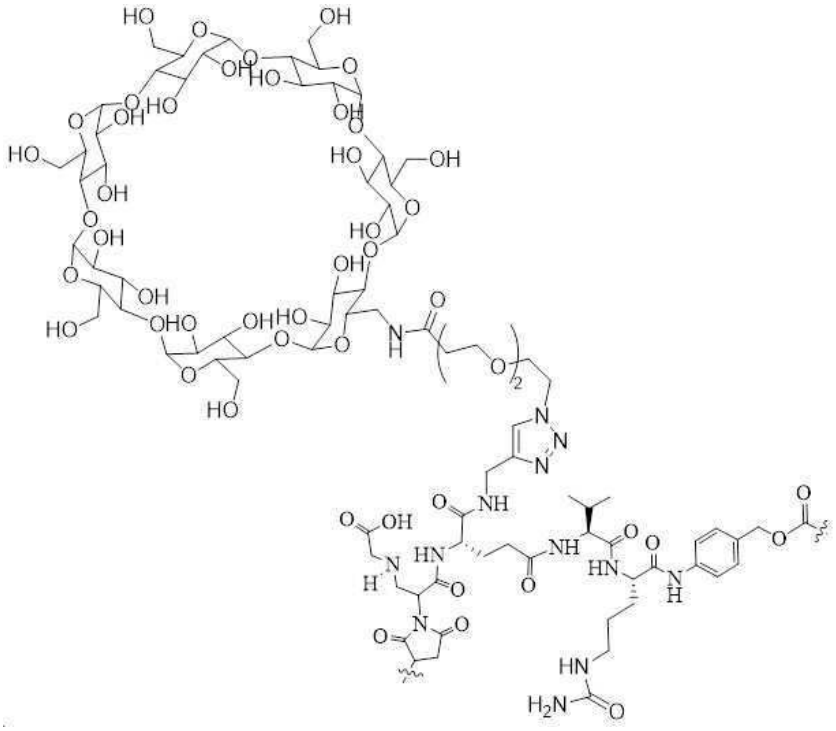
,



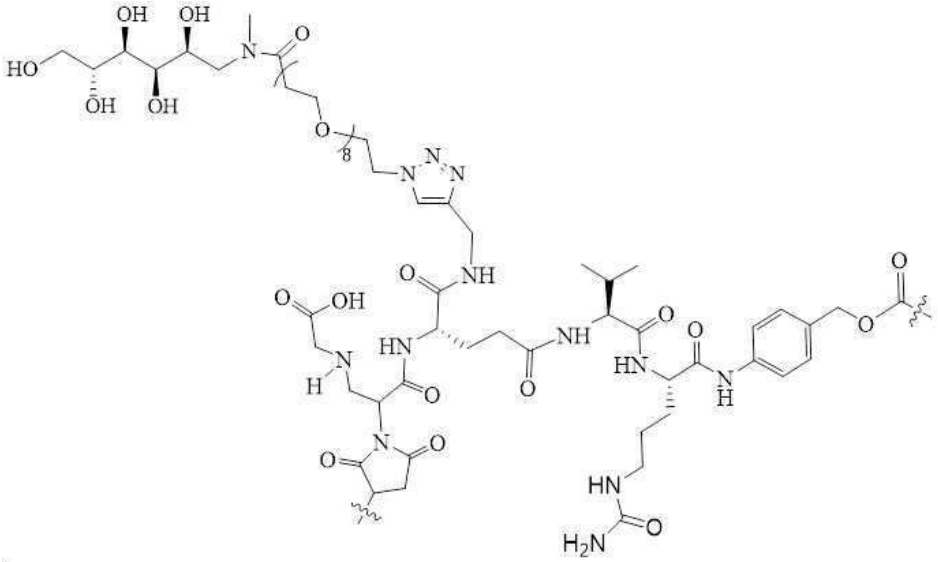
,



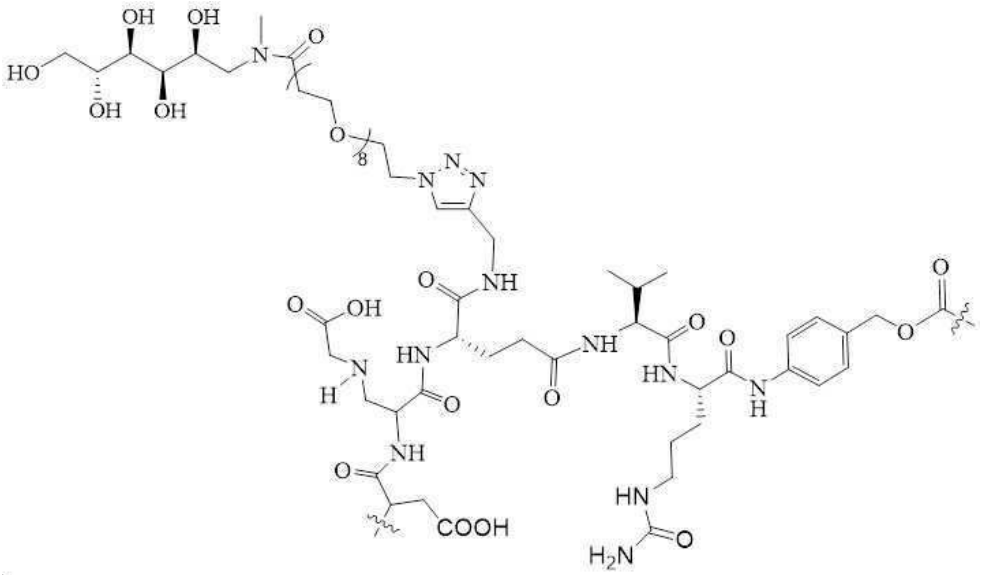
,



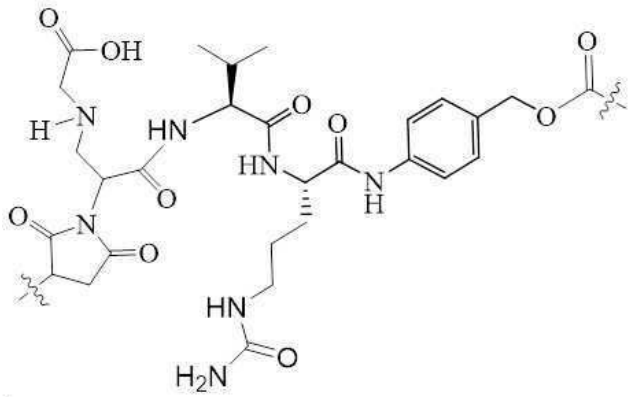
,



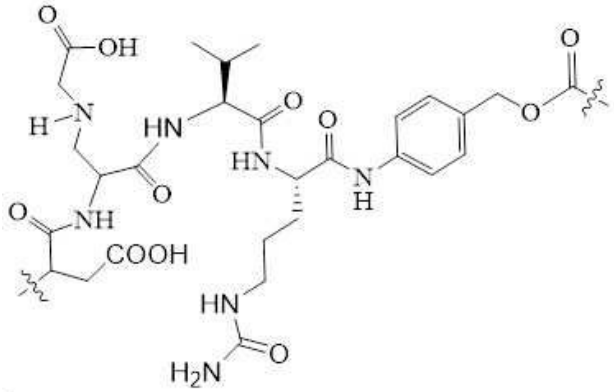
,



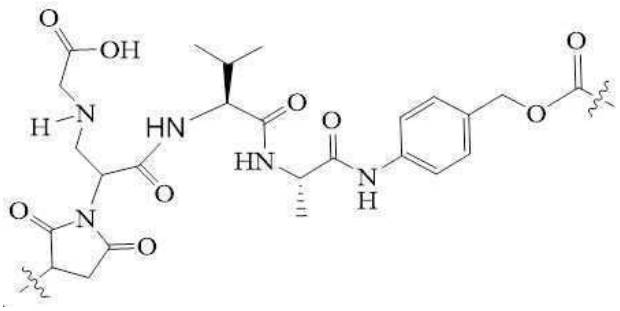
,



,



및



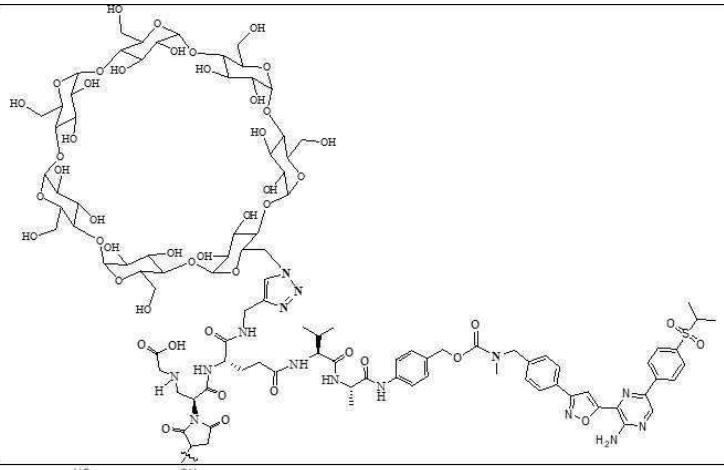
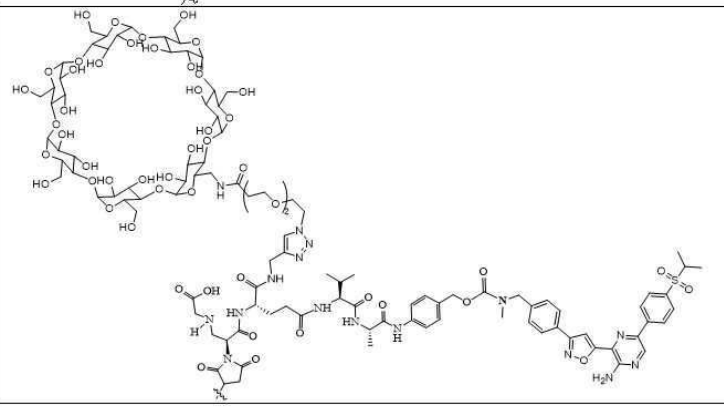
,

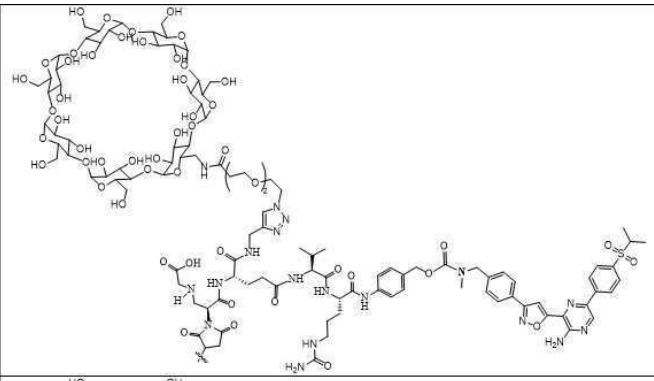
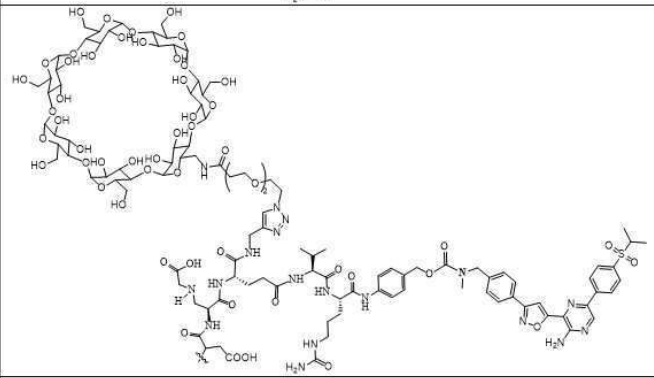
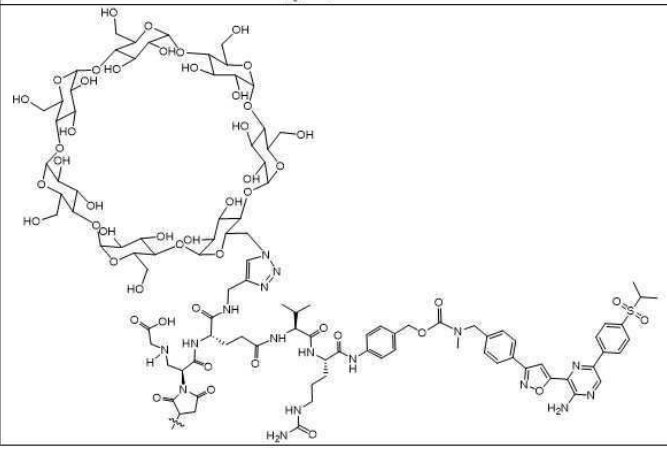
이의 카르보닐 말단은 D_2에 연결됨.

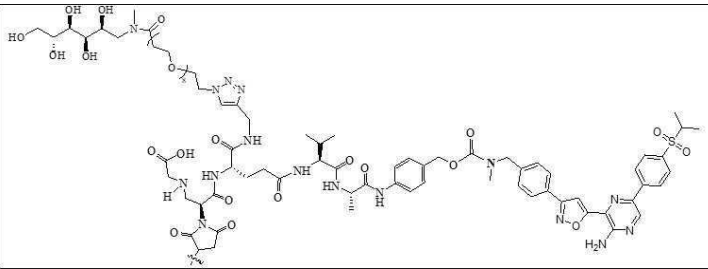
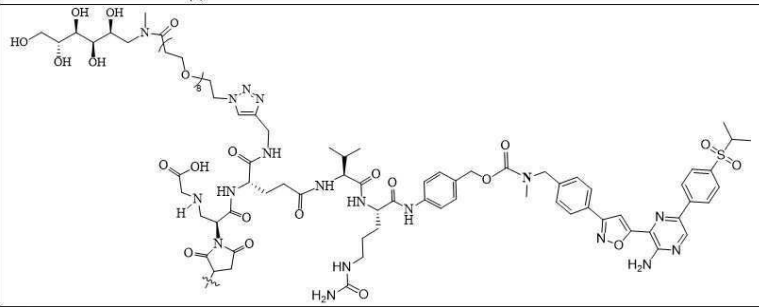
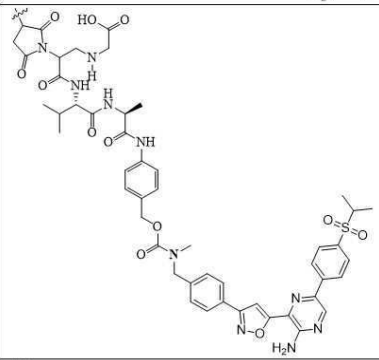
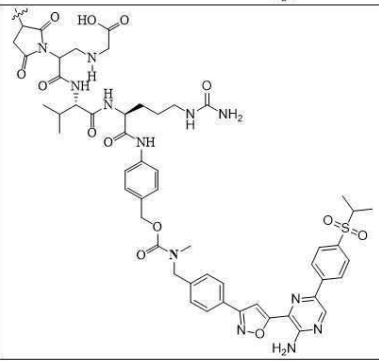
청구항 4

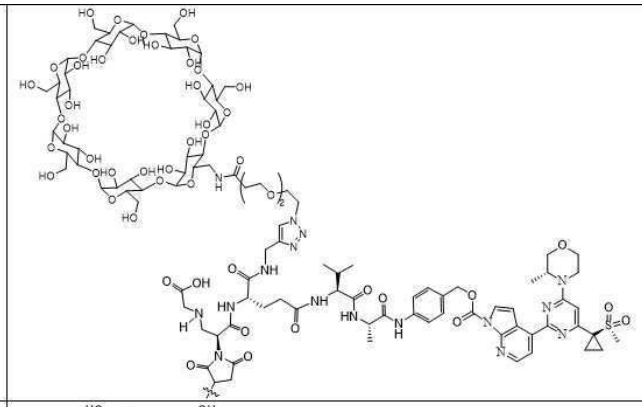
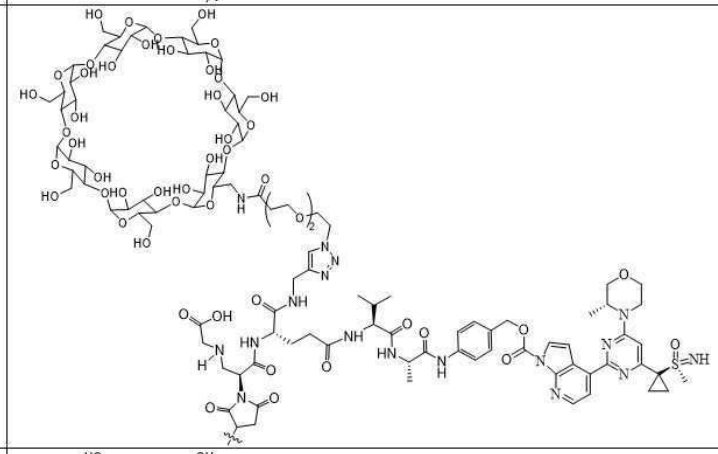
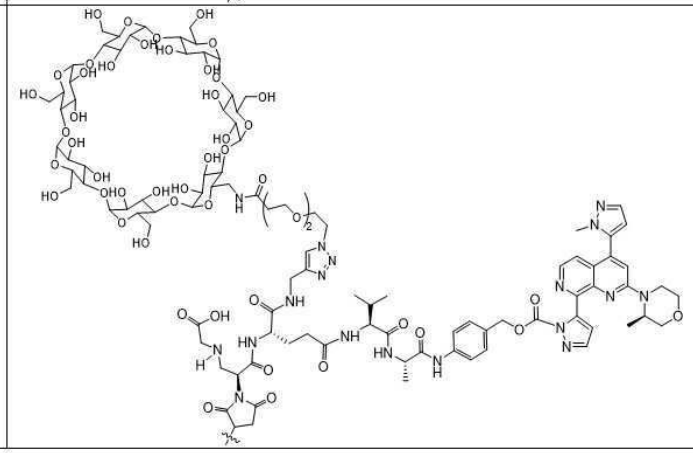
제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

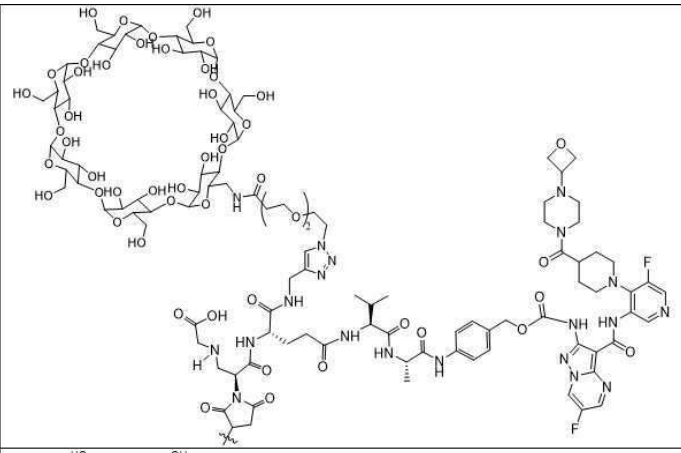
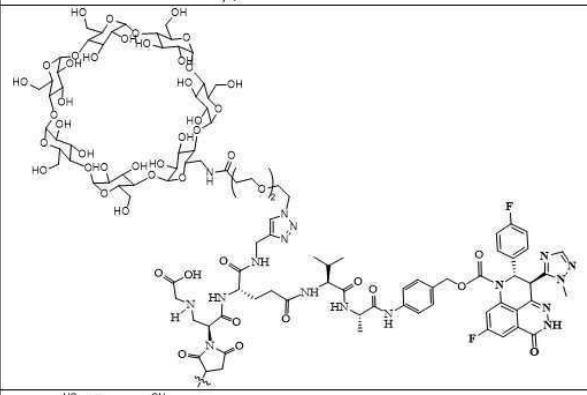
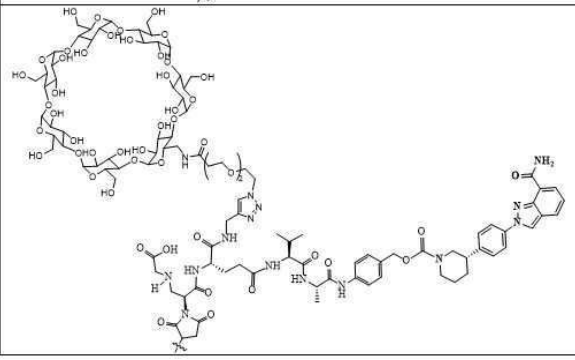
D_2-L_2-는 다음으로 구성된 그룹으로부터 선택됨:

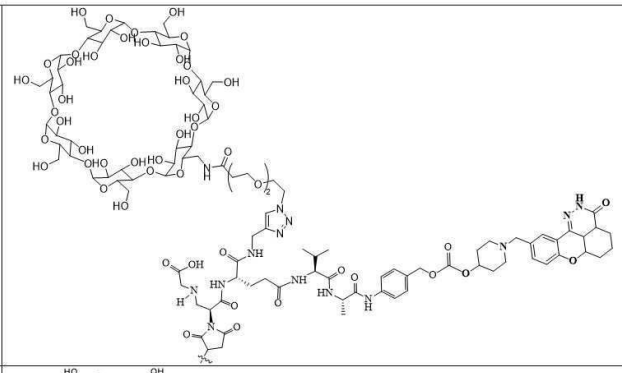
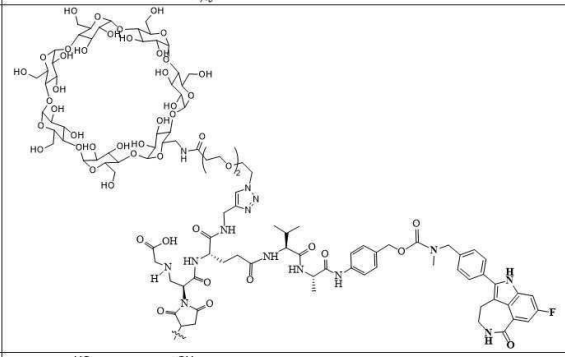
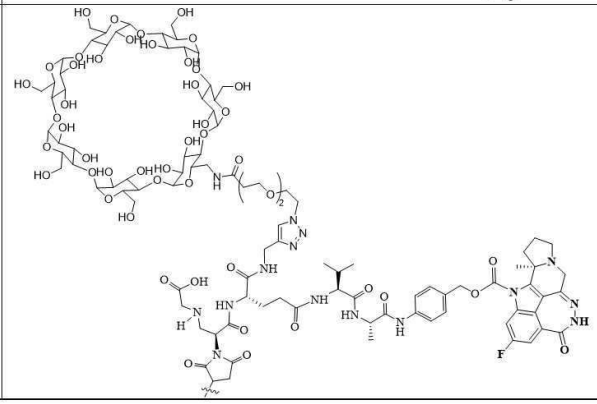
R01	
R01-1	

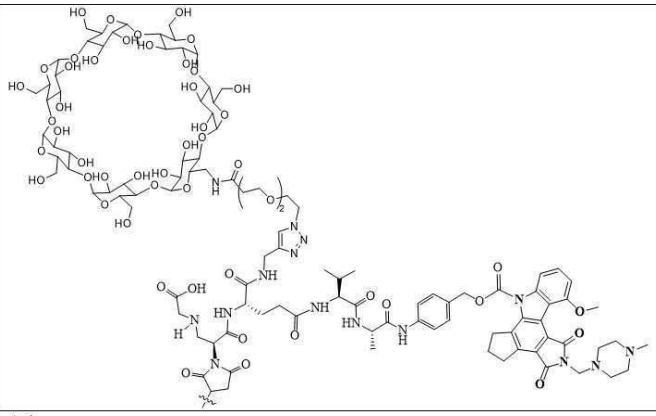
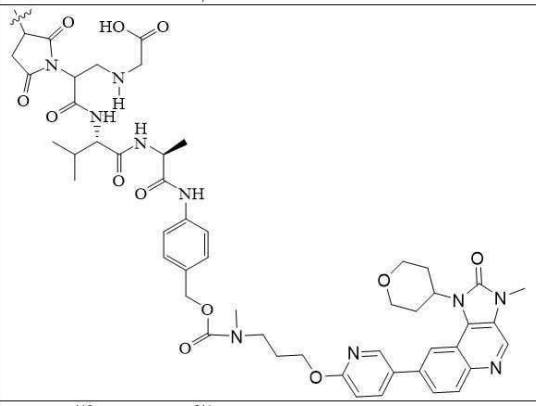
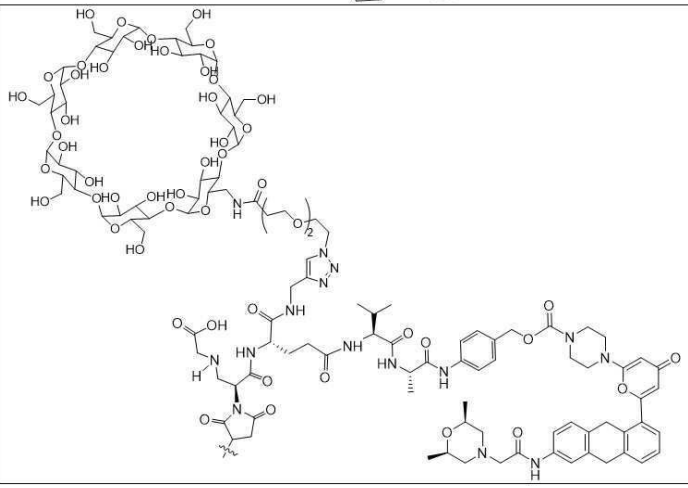
R01-2	
R01-3	
R01-4	

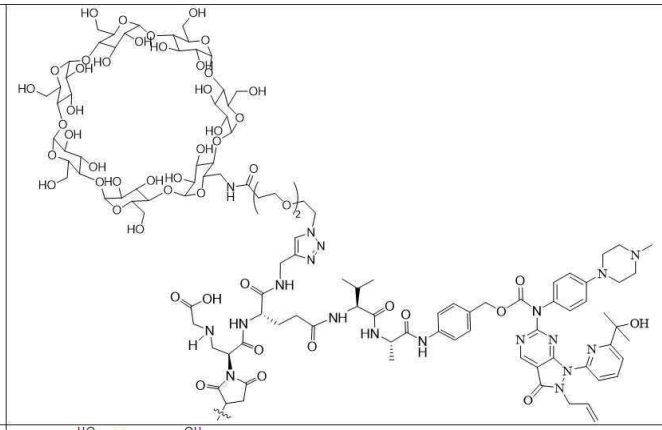
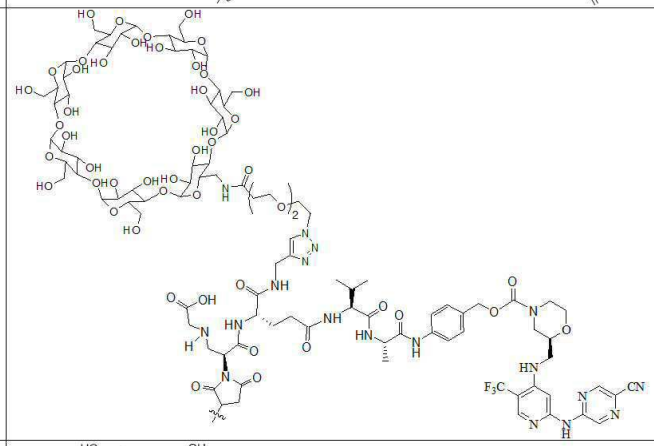
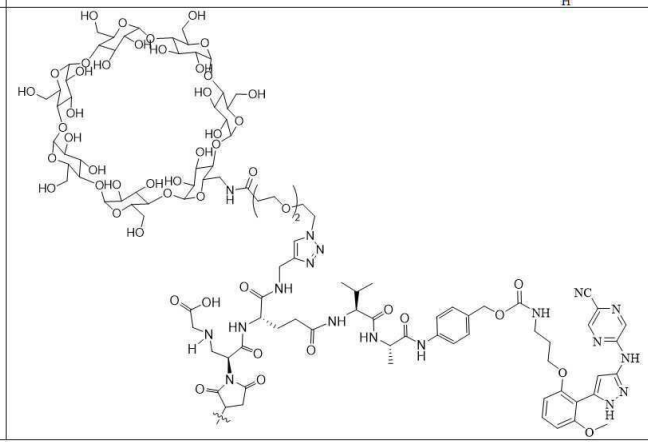
R02	
R02-1	
R03	
R03-1	

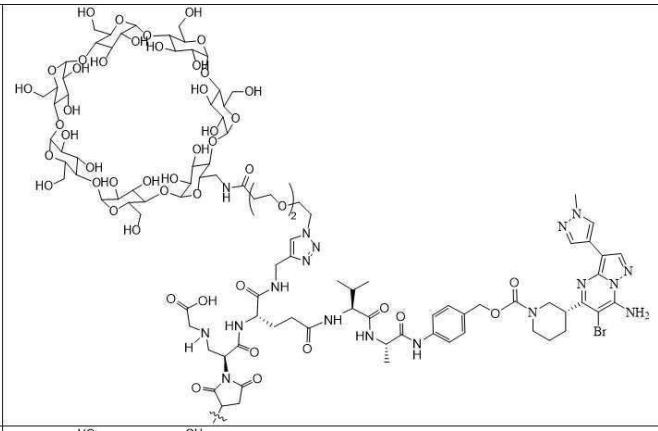
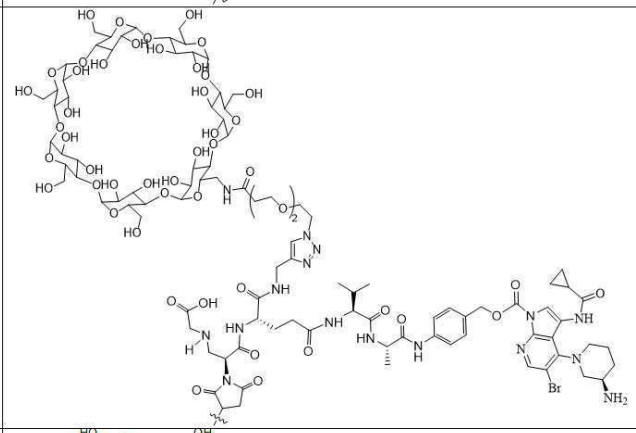
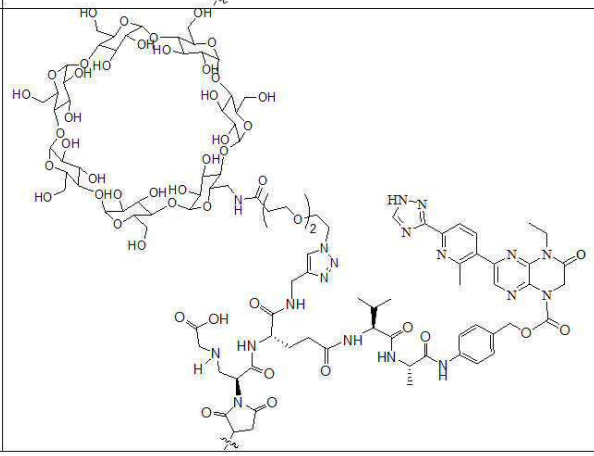
AT01	
AT02	
AT03	

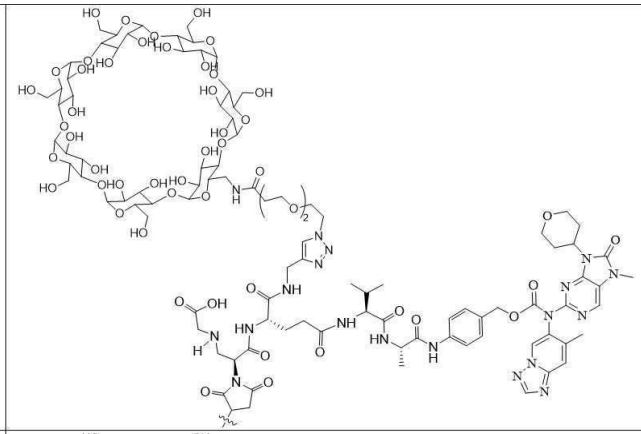
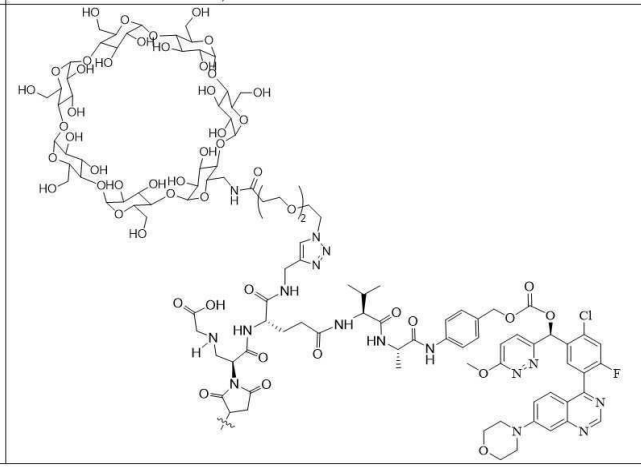
AT04	
TA01	
VE01	

E01	
RU01	
PA01	

CEP01	
TM01	
TM02	

WE01	
CH01	
CH02	

CH03	
CH04	
DP01	

DP02	
DP03	

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

상기 제1 약물은 튜불린 결합제, DNA 손상제, 효소 억제제, 면역 조절제, 펩타이드 및 뉴클레오타이드로 구성된 그룹에서 제한 없이 선택되고;

바람직하게는 상기 제1 약물은 다음으로 구성된 그룹에서 선택되며:

a) 알킬화제, PBD 및 그 유도체, 클로르페니라메이트, 클로르프로마진, 사이클로포스파마이드, 다카르바진, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로레타민, 디메톡시아민 염산염, 메클로레타민 산화물, 암로디핀 염산염, 미코페놀산, 둘시톨, 피포브로만, 노보엠비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 티오테파, 트로포스파마이드, 우라실; CC-1065; 도카마이신; 벤조디아제핀 다이머; 니트로소우레아; 알킬 설포네이트; 트리아젠; 백금 함유 화합물; 크로마논, 퀴놀론, 메투레데파 및 마도파와 같은 아지리딘; 헥사메틸멜라민, 트리에틸렌트리아민, 트리에틸포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 트리메틸올메틸아민을 포함한 에틸렌이민 및 메틸멜라민 및 이의 유도체 및 중수소화물;

b) 식물 알칼로이드, 빈카 알칼로이드, 탁솔 및 그 유사체, 메이탄시노이드 및 그 유사체, 크립토피신, 에포틸론, 엘루테로빈, 디스코데르몰리드, 브리오스타틴, 아플리시아톡신, 오리스타틴, 튜불리신, 세팔로스타틴, 판크라티스타틴, 사르코딕티인, 스폰지스타틴, 모노메틸 오리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 오리스타틴 F(MMAF), 메이탄시노이드(예: 메이탄신 DM1, 메이탄신 DM4), 아마톡신 및 이의 유도체 및 중수소화물;

c) DNA 토포이소머라제 억제제, 에토포시드, 테니포시드, 9-아미노캄토테신, 캄토테신, 크리스나톨, 다우노마이신, 에토포시드 인산, 이리노테칸, 미톡산트론, 노반트론, 레티노산, 테니포시드, 토포테칸, 9-니트로캄토테신, SN38, 미토마이신 및 이의 유도체 및 중수소화물;

d) 항대사제, 항엽산제, DHFR 억제제; MP 탈수소효소 억제제; 리보뉴클레오티드 환원효소 억제제; 피리미딘 유사체, 우라실 유사체; 시토신 유사체; 퓨린 유사체; 엽산 보충제;

e) 호르몬 치료제, 수용체 길항제, 항에스트로겐, LHRH 작용제; 항안드로겐; 레티노이드, 비타민 D3 유사체; 광역학적 치료제; 사이토카인, TNF를 포함하는 인간 단백질 및 이의 유도체 및 중수소화물;

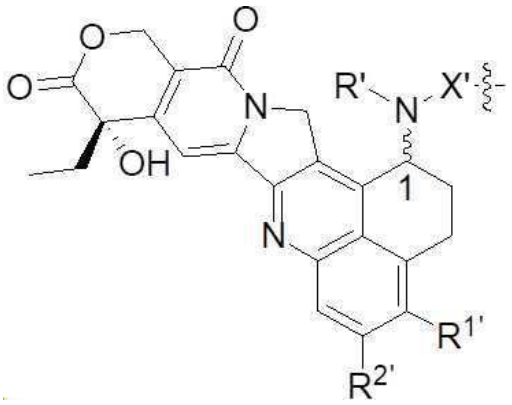
f) 키나제 억제제, BIBW2992, 이마티닙, 게피티닙, 페갑타닙, 소라페닙, 다사티닙, 수니티닙, 에를로티닙, 닐로티닙, 라파티닙, 악시티닙, 파조파닙, 반데타닙, E7080, 무브리티닙, 포나티닙, 바페티닙, 보수티닙, 카보잔티닙, 비스모데깁, 이니파립, 룩소리티닙, CYT387, 악시티닙, 티보자닙, 소라페닙, 베바시주맙, 세툭시맙, 트라스투주맙, 라니비주맙, 파니투무맙, 이스피네십 및 이의 유도체 및 중수소화물;

g) 항생제, 에네다이인 항생제, 아클라시노마이신, 안트라마이신, 암리노마이신, 아자세린, 블레오마이신, 세토사이클린, 칼라마이신, 카르미노마이신, 카르시노필린, 독소루비신, 모르폴리노 독소루비신, 2-피롤린 독소루비신 및 데옥시다우노루비신, 에피루비신, 아클라루비신, 이다루비신, 마르코마이신, 마이신, 미코페놀산, 로피마이신, 펠로마이신, 푸로마이신, 트리페릭 독소루비신, 스트렙토조토신, 스트렙토조토신, 튜베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신, PNU-159682 및 이의 유도체 및 중수소화물;

h) 폴리케타이드, 특히 불라타신 및 불라타시논; 젬시타빈, 에폭소마이신, 보르테조밉, 탈리도마이드, 레날리도마이드, 포말 이도마이드, 토세도스타트, 지브레스타트, PLX4032, STA-9090, 스티무박스, 알로벡틴-7, 제게바, 프로벤지, 예르보이, 프레닐화 억제제, 도파민성 신경독소, 액티노마이신, 블레오마이신, 안트라사이클린계 항생제, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 라루비신, 조루비신, 미톡산트론, MDR 억제제, Ca2+ ATPase 억제제, 히스톤 탈아세틸화효소 억제제, 셀레콕십, 글리타존, 에피갈로카테킨 갈레이트, 디술피람, 살리노스포라미드 A; 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄, 아세글라톤, 알드포스포라미드, 아미노레불린산, 암사크린, 아라비노사이드, 베스트라부시, 비산트렌, 에다트락세이트, 데포파민, 마이케신, 디아지쿠온, 에플로르니틴, 엘포르니틴, 셀립튬, 에틸글루콘산, 질산갈륨, 시토신, 하이드록시우레아, 이반드로네이트, 렌티난, 로니다민, 미토구아존, 미톡산트론, 모피다몰, 니트라크린, 펜토스타틴, 페나메트, 피라루비신, 포도필산, 2-에틸히드라진, 프로카바진과 같은 항부신제; PSK®; 라족산; 리조마이신; 시조(sizzo); 스피로게르마늄; 테누아존산, 트리아지쿠온; 트리클로로트리에틸아민; 트리코테센, 폴리우레탄, siRNA 및 안티센스 약물과 그 유도체 및 중수소화물;

더 바람직하게는, 제1 약물 D1은 캄프토테신 기반 화합물 또는 이의 중수소화물이고;

바람직하게는, 상기 캄프토테신 기반 화합물은 화학식 B로 표현되는 구조를 갖고,



화학식 B

여기에서:

N 원자에 연결된 키랄 탄소 원자 No. 1은 R 또는 S 배열에서 절대 키랄성을 가지고;

R'은 H, D, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 중수소화 알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 그룹에서 선택되며;

바람직하게는, R'은 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되고;

더 바람직하게는, R'은 H이고;

R^{1}'은 H, D, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 중수소화 알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 카르복실, 헤테로사이클릴, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 그룹에서 선택되고;

바람직하게는, R^{1}'은 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되며;

더 바람직하게는, R^{1}'은 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되고;

가장 바람직하게는, R^{1}'은 메틸이고;

R^{2}'는 H, D, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 중수소화 알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 카르복실, 헤테로사이클릴, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 그룹에서 선택되며;

바람직하게는, R^{2}'는 할로겐으로 구성된 군에서 선택되고;

더 바람직하게는, R^{2}'는 F이며;

X'는 -C(O)-(CR^{3}'R^{4}')t-CR^{a}'R^{b}'-O-, -C(O)-(CR^{3}'R^{4}')t-CR^{a}'R^{b}'-NH- 및 -C(O)-(CR^{3}'R^{4}')t-CR^{a}'R^{b}'-S-로 구성된 군에서 선택되고, 바람직하게는 그 카르보닐 말단은 N 원자에 연결되며;

바람직하게는, X'는 -C(O)-(CR^{3}'R^{4}')t-CR^{a}'R^{b}'-O-에서 선택되고, 바람직하게는 그 카르보닐 말단이 N 원자에 연결되며;

더 바람직하게는, X'는 -C(O)-CR^{a}'R^{b}'-O-에서 선택되고, 바람직하게는 그 카르보닐 말단이 N 원자에 연결되며;

R^{a}'는 H, D, 할로겐, 알킬, 중수소화 알킬, 할로알킬, 시클로알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 헤테로시클릴, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택되고;

바람직하게는, R^{a}'는 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되고;

더 바람직하게는, R^{a}'는 H이며;

R^{b}'는 H, D, 할로겐, 알킬, 중수소화 알킬, 할로알킬, 시클로알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 헤테로시클릴, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택되며;

바람직하게는, R^{b}'는 H, D, C1-C6 알킬, C3-C6 시클로알킬 및 C1-C6 할로알킬로 구성된 그룹에서 선택되고;

더 바람직하게는, R^{b}'는 H, D, 메틸, 시클로프로필 및 트리플루오로메틸로 구성된 그룹에서 선택되며;

또는 R^{a}', R^{b}' 및 이들이 연결된 탄소 원자는 C3-C6 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬 또는 헤테로사이클릴을 형성하고;

동일하거나 다른 R^{3}', R^{4}'는 각각 H, D, 할로겐, 알킬, 할로알킬, 중수소화 알킬, 알콕시, 하이드록시, 아미노, 시아노, 니트로, 하이드록시알킬, 사이클로알킬 및 헤테로사이클릴로 구성된 그룹에서 독립적으로 선택되며;

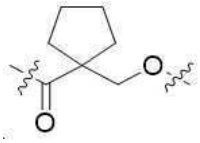
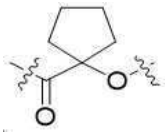
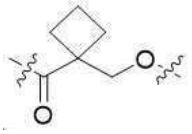
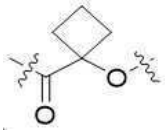
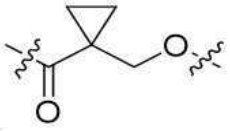
또는 R^{3}', R^{4}' 및 이들이 연결된 탄소 원자는 C3-C6 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬 또는 헤테로사이클릴을 형성하고;

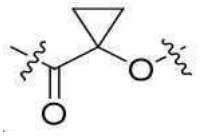
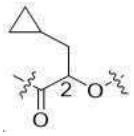
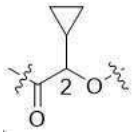
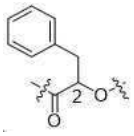
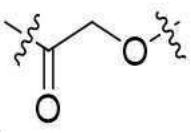
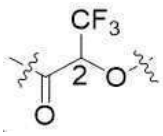
X'에 연결된 오른쪽 물결선은 L_1에 연결되며;

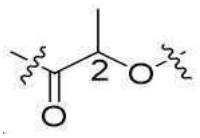
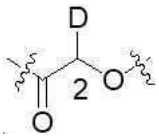
t는 0 내지 4 중에서 선택된 정수이고;

바람직하게는, t는 0이고;

바람직하게는, X'는 다음 구조로 구성된 그룹에서 제한 없이 선택되고:

 ,  ,  ,  ,  ,

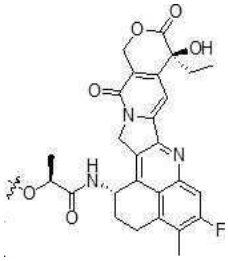
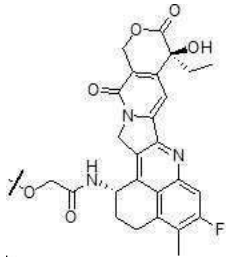
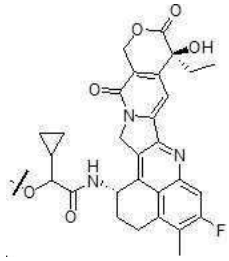
 ,  ,  ,  ,  ,  ,

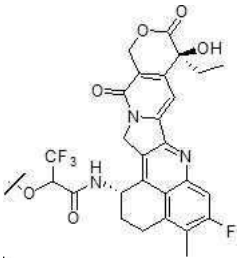
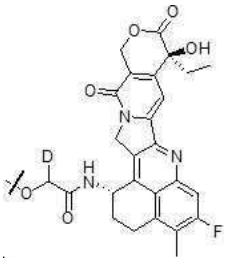
 , 또는  ;

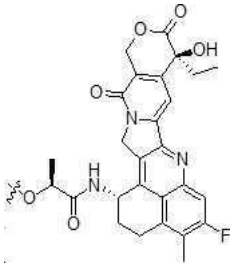
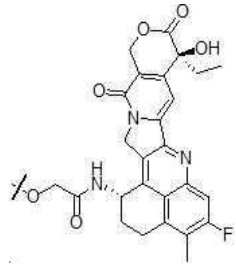
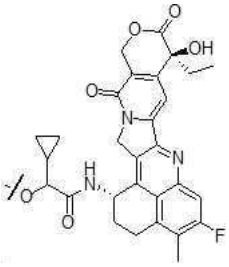
여기서:

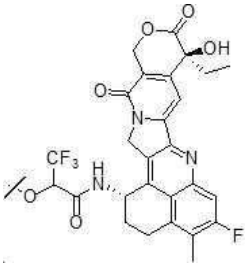
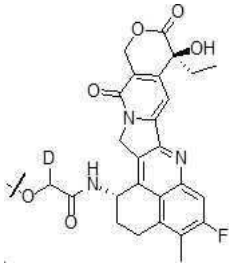
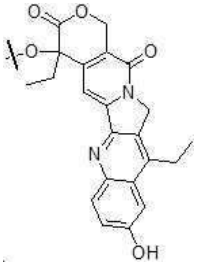
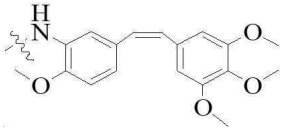
키랄 탄소 원자 번호 2는 R 또는 S 배열에서 절대 키랄성을 가지고;

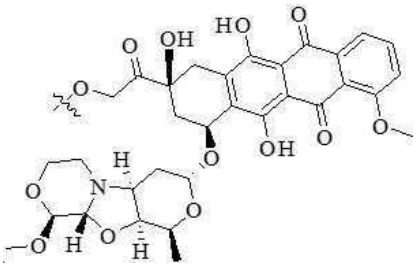
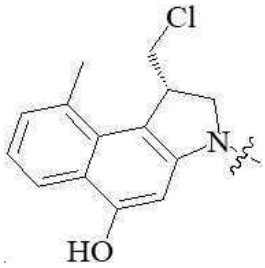
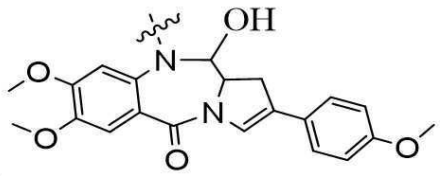
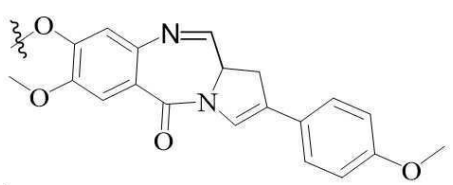
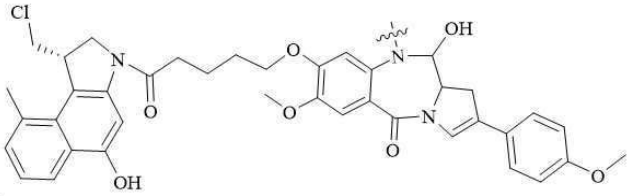
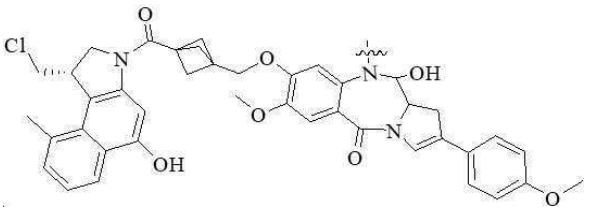
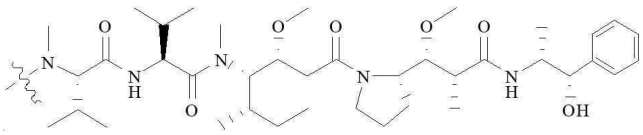
왼쪽 물결선은 화학식 B로 표현되는 화합물의 N에 연결되고, 오른쪽 물결선은 L_1에 연결되며;

바람직하게는, 화학식 B로 표현되는 화합물은  ,  ,  ,

 , 및  으로 구성된 그룹에서 선택되고;

바람직하게는, 제1 약물은  ,  ,  ,

 ,  ,  ,  ,


,

,

,

,

,

,

으로 구성된 그룹에서 선택됨.

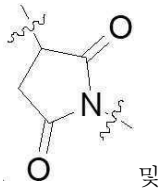
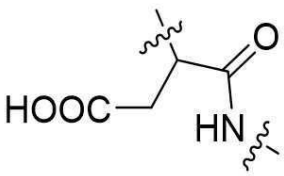
및

청구항 6

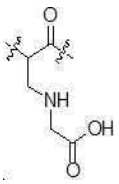
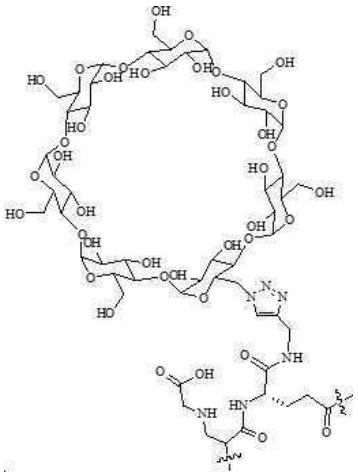
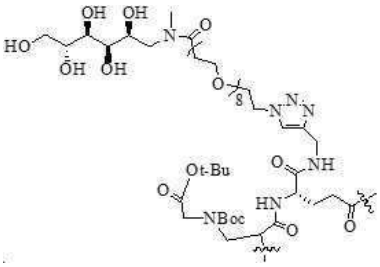
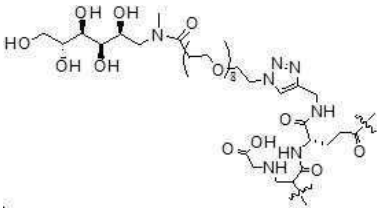
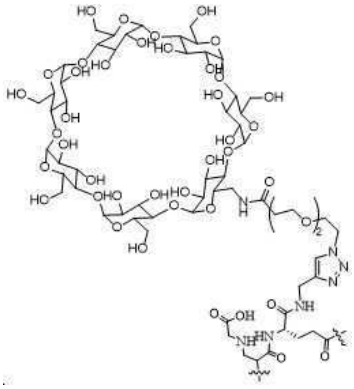
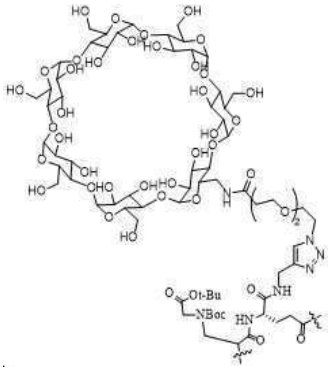
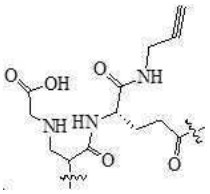
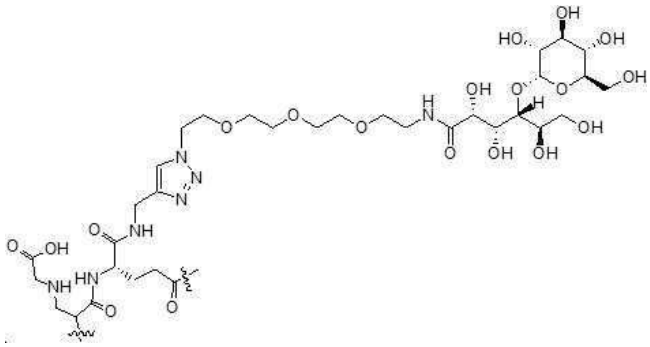
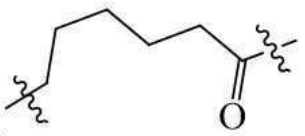
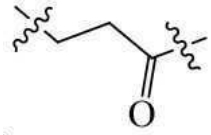
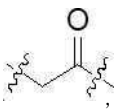
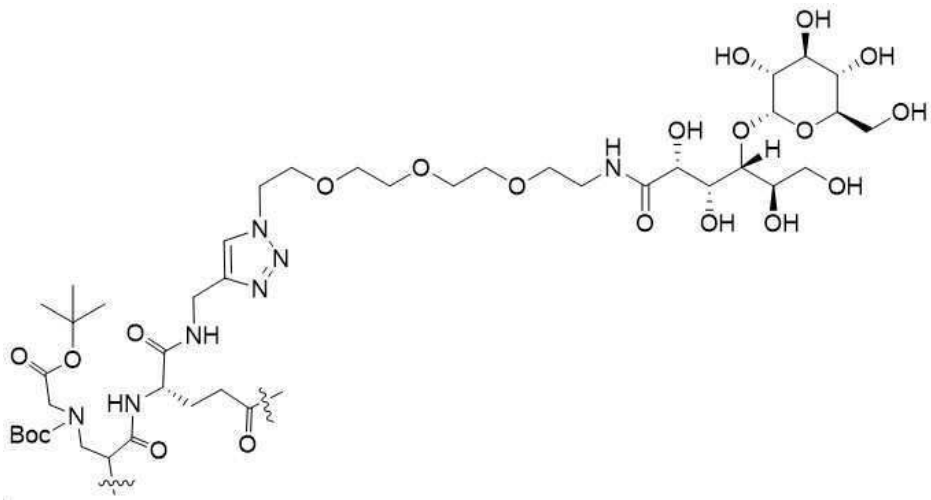
제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

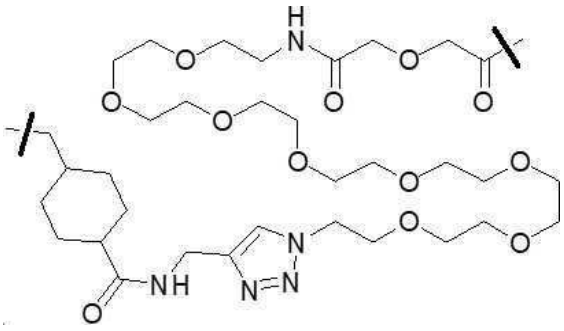
상기 제1 연결 단위는 파손 가능하거나 파손 불가능한 연결 단위이고;

특정 구현예에서, L_1은 L_{11}-L_{12}-L_{13}-L_{14}이고, L_{14}는 D_1에 연결되고, L_{11}은 Ab에 연결되고(바람직하게는, L_{11}은 티올기를 통해 Ab에 결합됨),

L_{11}은  및  로 구성된 그룹에서 선택되고, 이의 N 말단은 L_{12}에 연결되며,

L_{12}는 다음으로 구성된 그룹에서 선택되고:


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

, 및

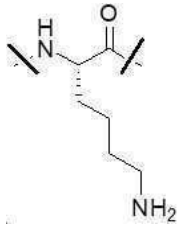
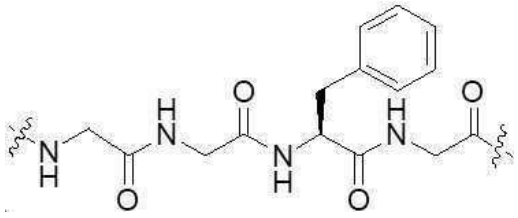
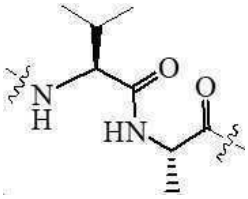
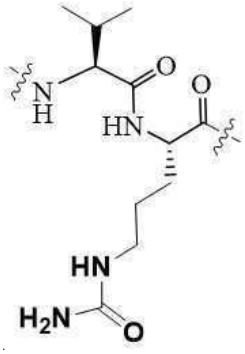
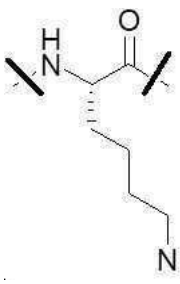
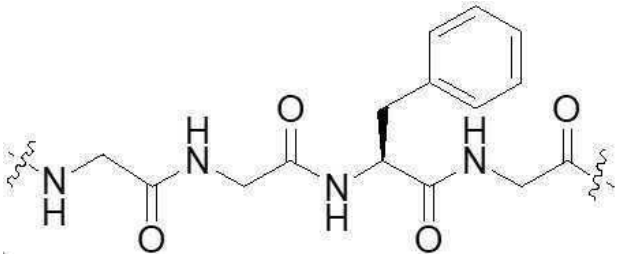
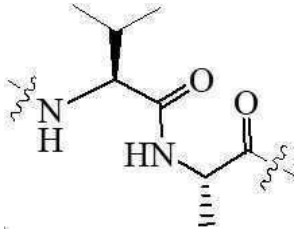


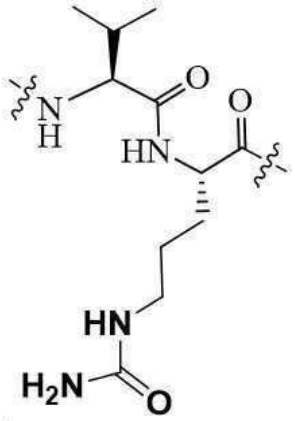
, 이들의 카르보닐 말단은 L_{13} 또는 L_{14}에 연결되며;

L_{13}은 직접 결합, 아미노산 잔기 또는 2~10개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기로부터 선택되고, L_{13}이 아미노산 잔기 또는 2~10개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기로부터 선택되는 경우, 그 카르보닐 말단은 L_{14}에 연결되며;

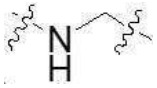
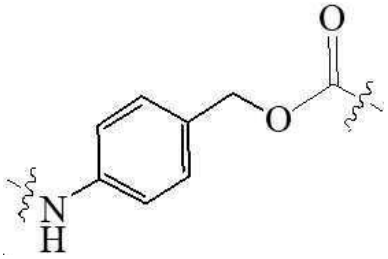
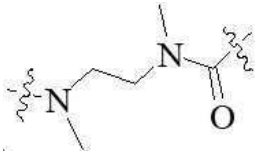
바람직하게는, L_{13}은 직접 결합, 아미노산 잔기 또는 2~4개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기로부터 선택되고, L_{13}이 아미노산 잔기 또는 2~4개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기로부터 선택되는 경우, 그 카르보닐 말단은 L14에 연결되고, 바람직하게는 아미노산은 발린, 알라닌, 페닐알라닌, 글리신, 리신, 시트룰린, 세린, 글루탐산 및 아스파르트산으로 구성된 군으로부터 선택되고, 더욱 바람직하게는 아미노산은 발린, 알라닌, 페닐알라닌, 글리신, 시트룰린 및 리신으로 구성된 군으로부터 선택되며;

더 바람직하게는, L_{13}은 직접 결합, 리신, 글리신-글리신-페닐알라닌-글리신(Gly-Gly-Phe-Gly), 발린-알라닌(Val-Ala) 및 발린-시트룰린(Val-Cit)으로 구성된 군에서 선택되고, L_{13}이 리신, 글리신-글리신-페닐알라닌-글리신(Gly-Gly-Phe-Gly), 발린-알라닌(Val-Ala) 및 발린-시트룰린(Val-Cit)으로 구성된 군에서 선택되는 경우, 그 카르보닐 말단은 L_{14}에 연결되고;

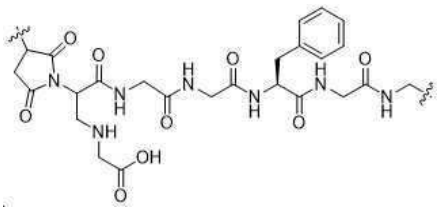
가장 바람직하게는, L_{13}은 직접 결합,  ,  ,  및  로 구성된 군으로부터 선택되고, L_{13}이  ,  ,  및

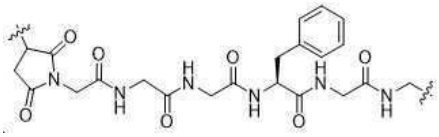


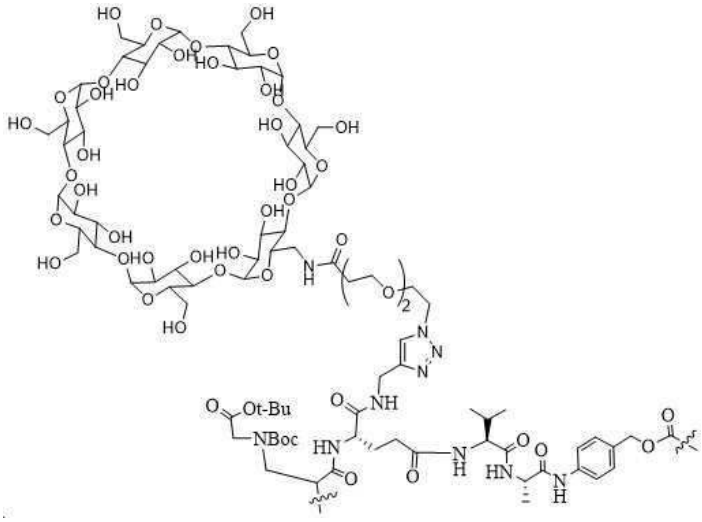
로 구성된 군으로부터 선택되는 경우, 그 카르보닐 말단은 L_{14}에 연결되며;

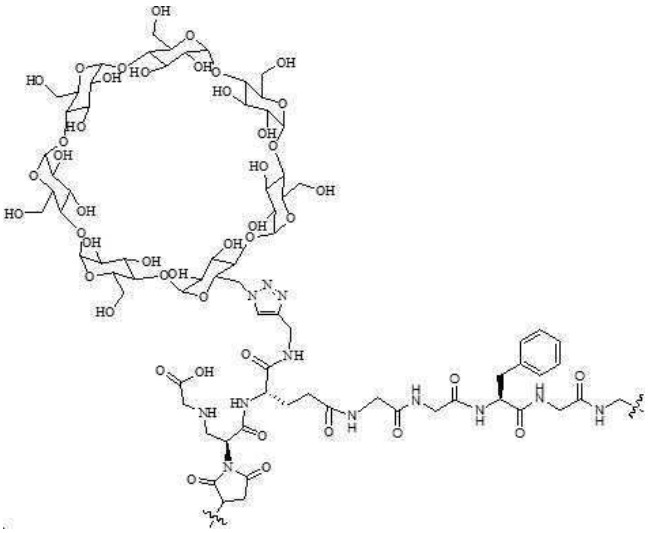
L_{14}는  ,  , 및  로 구성된 군에서 선택되며, 아미노 말단은 L_{13} 또는 L_{12}에 연결되고, 카르보닐 말단 또는 탄소 말단은 D_1에 연결되며;

바람직하게는, L1은 다음으로 구성된 그룹에서 선택되고:

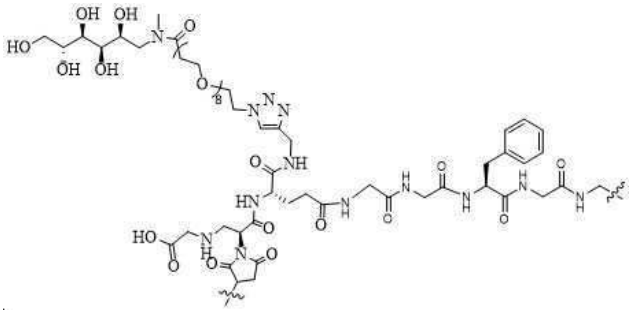
 ,

 ,

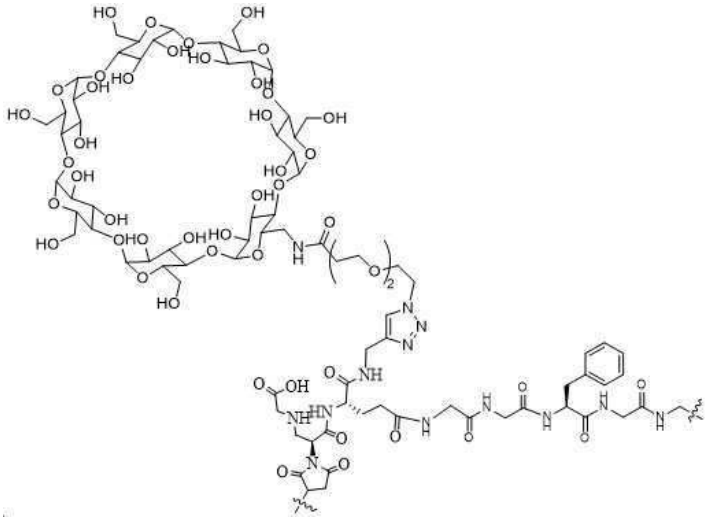
 ,



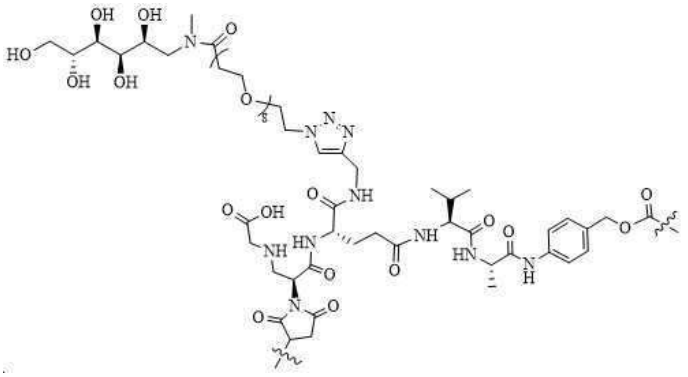
,



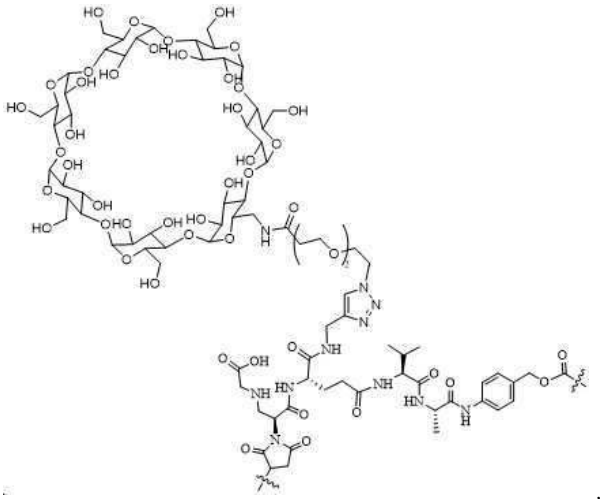
,



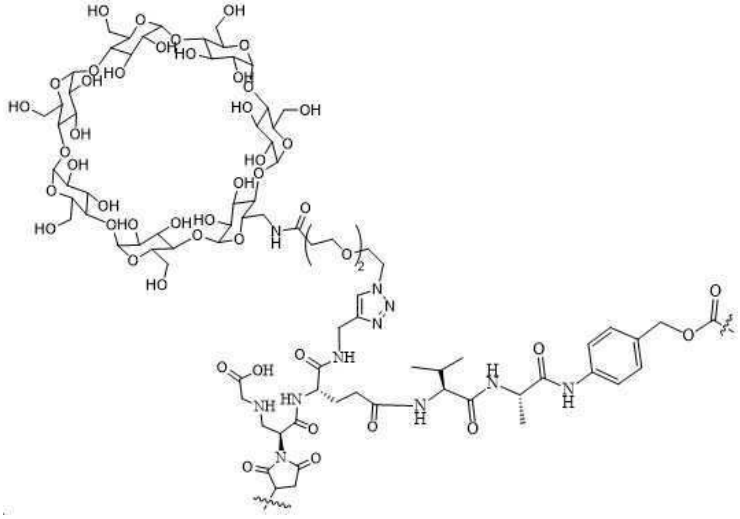
,



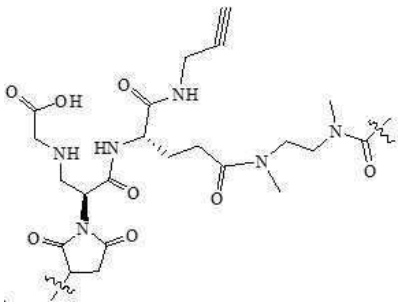
,



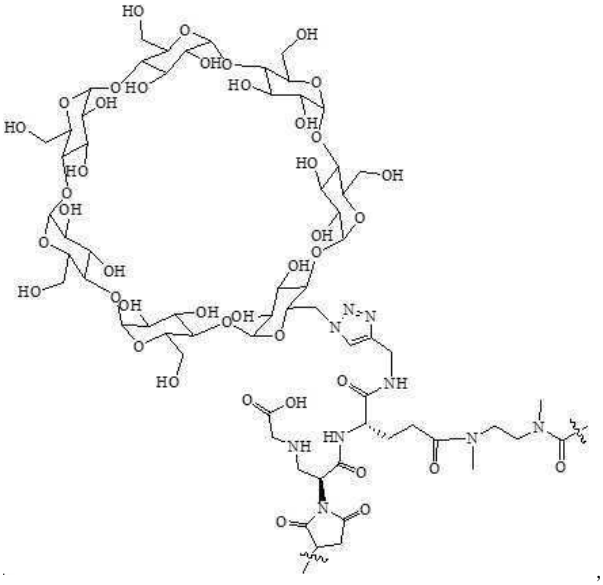
,



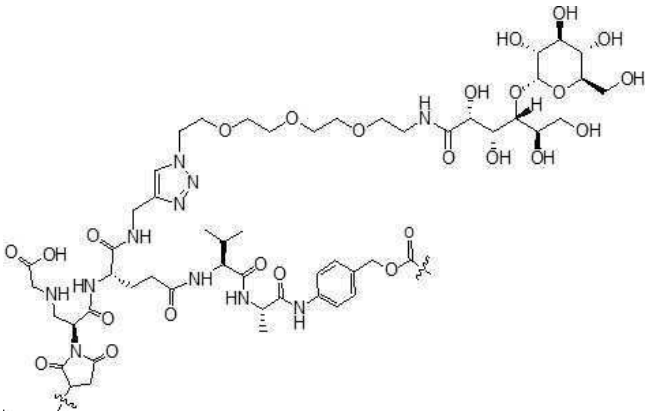
,



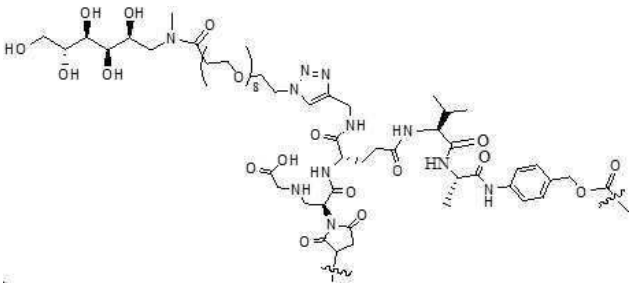
,



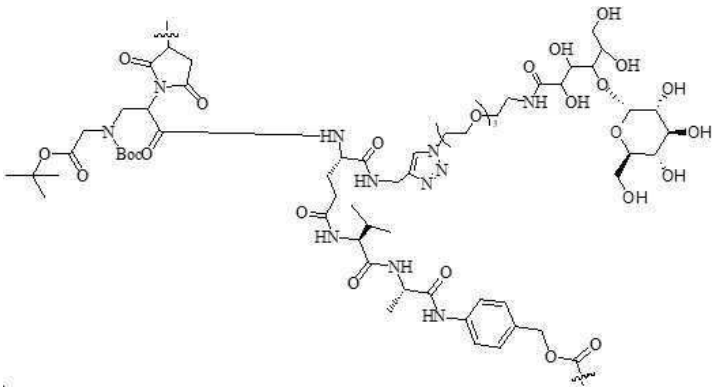
,



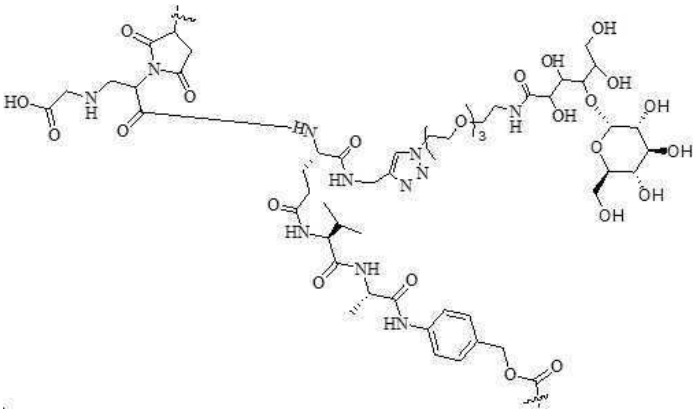
,



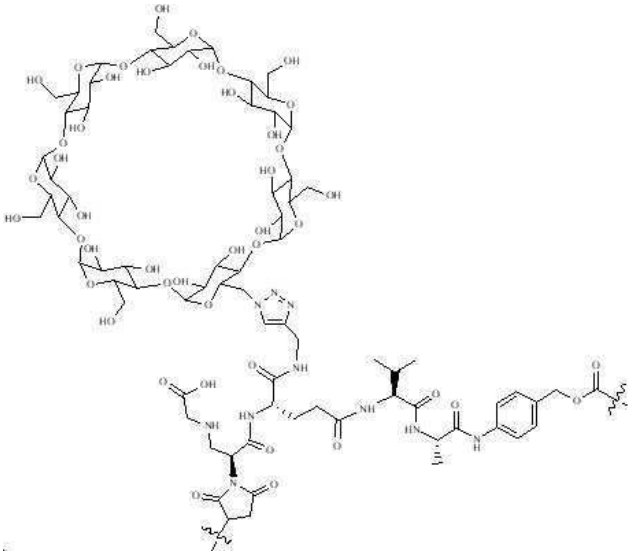
,

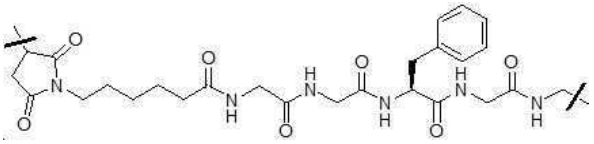


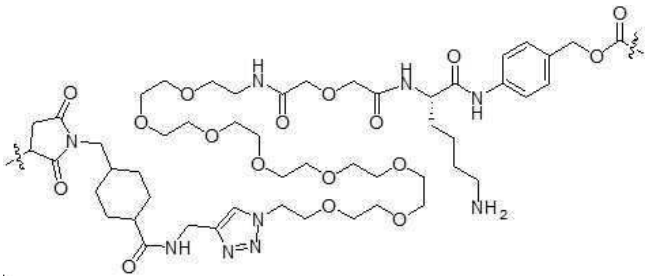
,

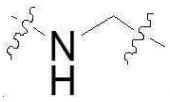


,


,


,

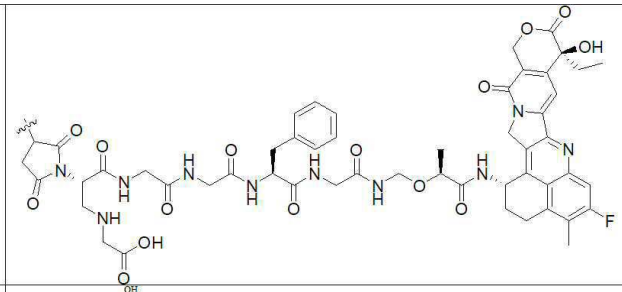
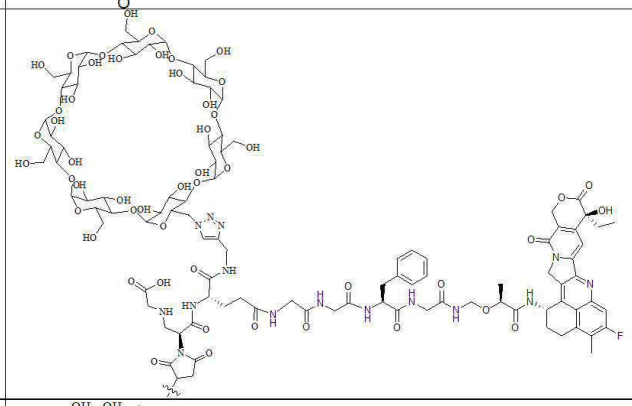
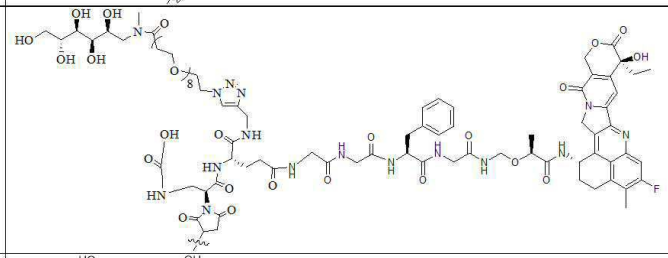
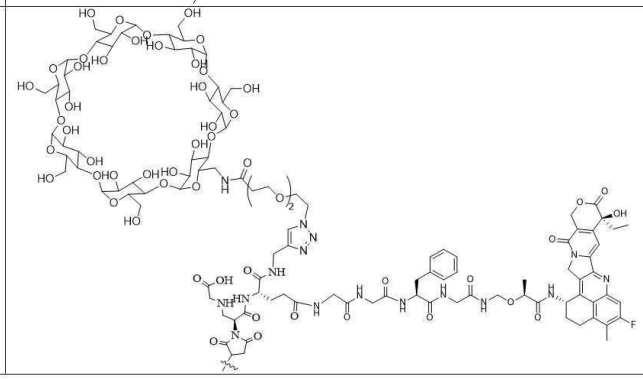

, 그 카르보닐 말단 또는

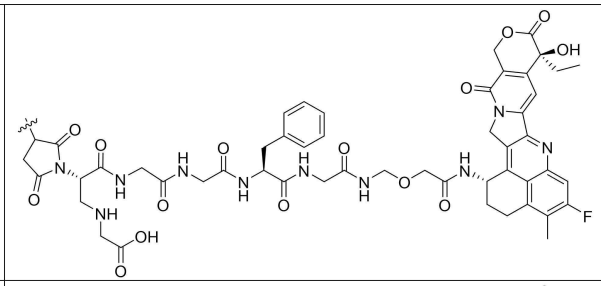
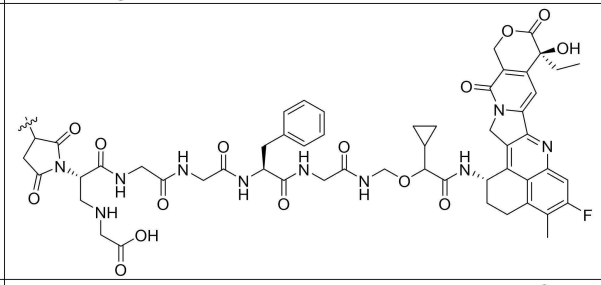
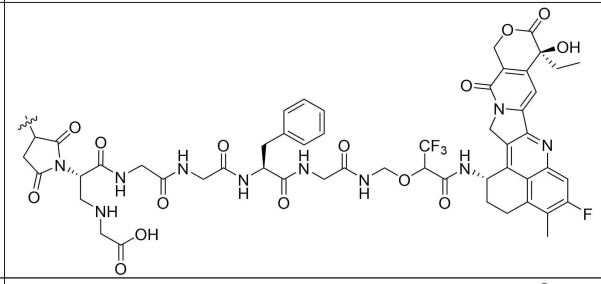
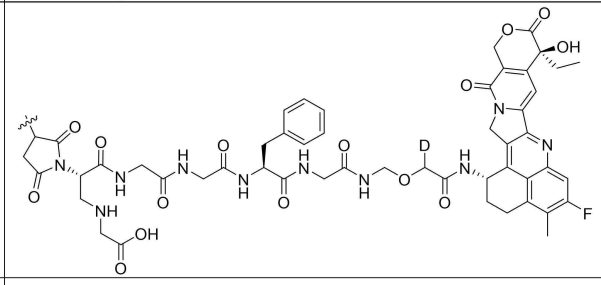
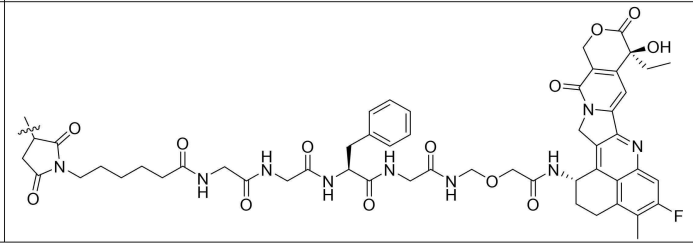

을 포함하는 말단의 탄소 말단은 D_1에 연결된다.

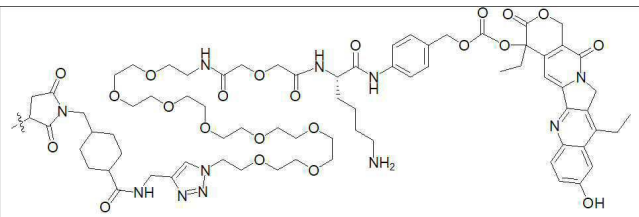
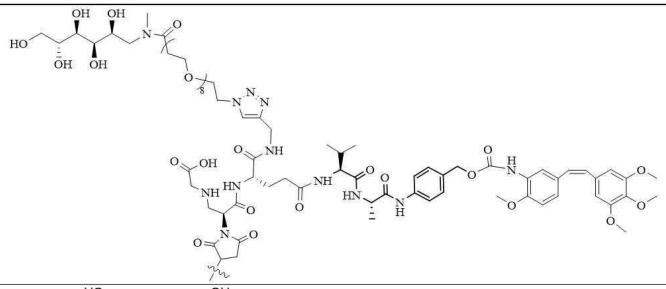
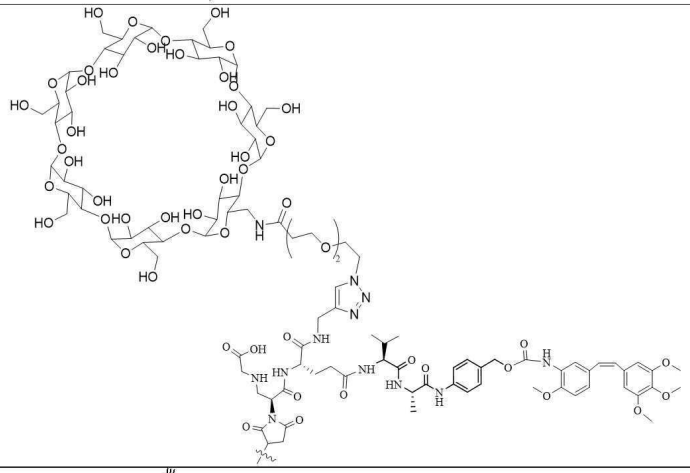
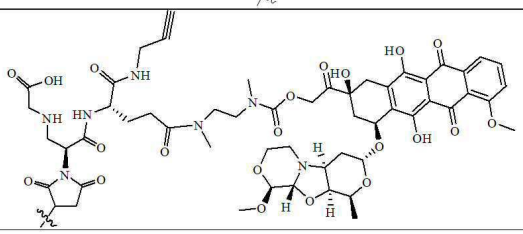
청구항 7

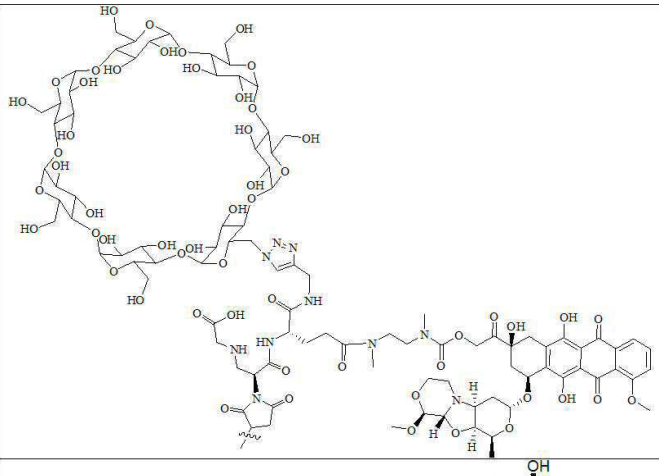
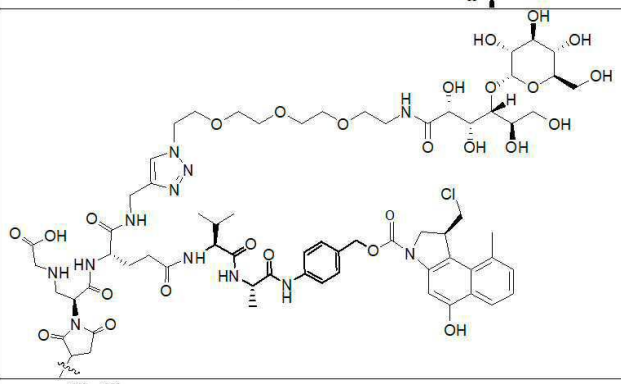
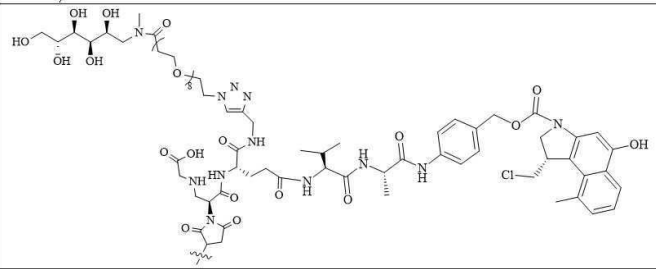
제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

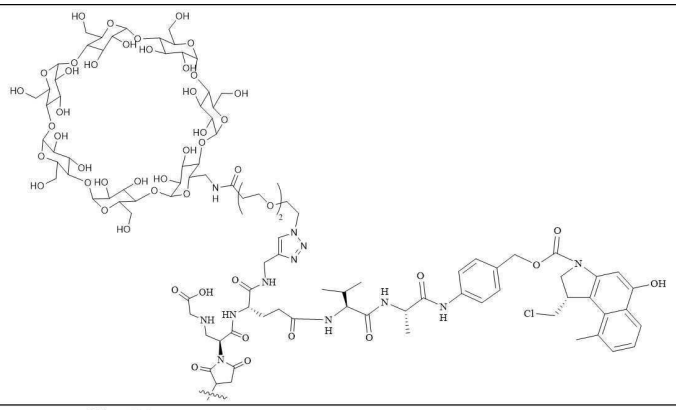
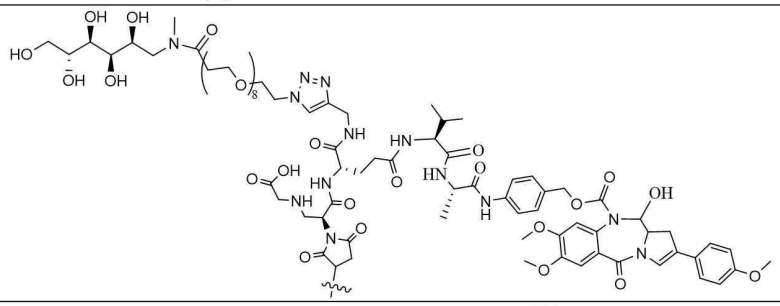
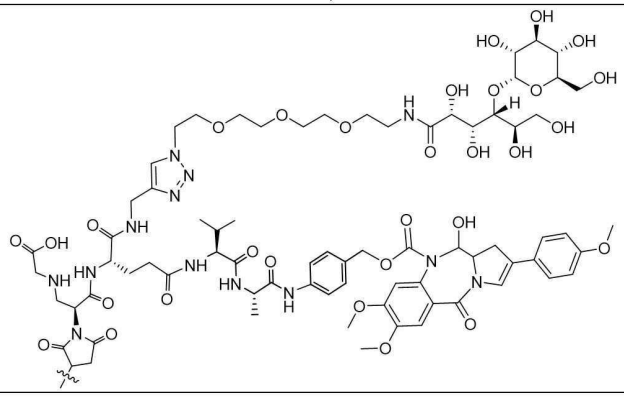
특정 구현예에서, D_1-L_1-은 다음으로 구성된 그룹에서 선택된다:

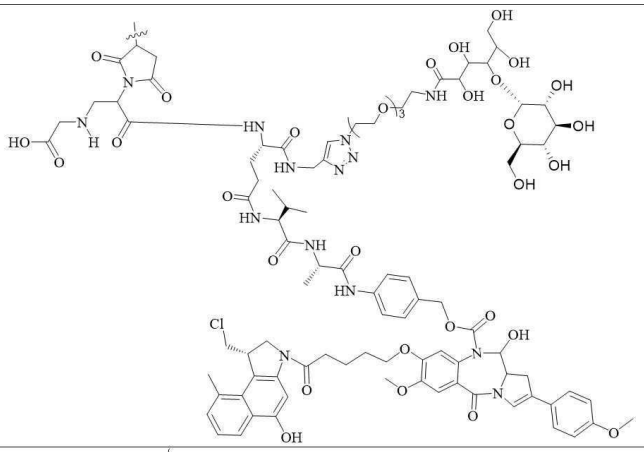
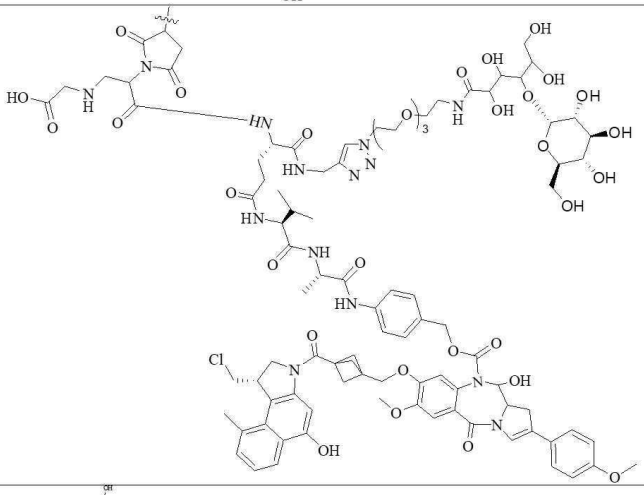
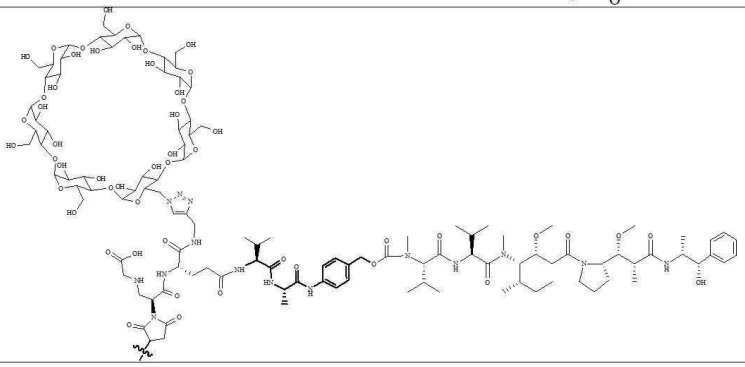
Ex01	
Ex02	
Ex03	
Ex04	

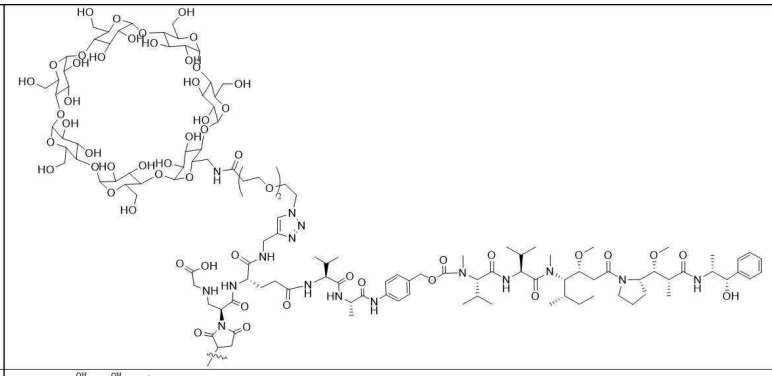
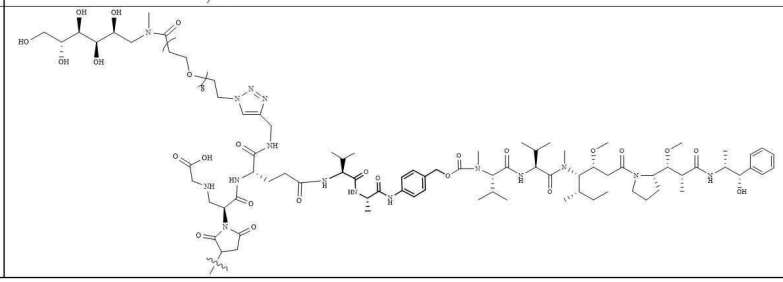
Ex05	
Ex06	
Ex07	
Ex08	
Ex09	

SN01	
PB01	
PB02	
PNU01	

PNU02	
CBI01	
CBI02	

CBI03	
PBD01	
PBD02	

PBD-CBI01	
PBD-CBI02	
M01	

M02	
M03	

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

m은 1 내지 10에서 선택된 정수이고;

바람직하게는, m은 2 내지 8에서 선택된 정수이며;

더 바람직하게는, m은 2, 4 및 8로 구성된 그룹에서 선택되고;

또는, n은 1 내지 10에서 선택된 정수이고;

또는 바람직하게는, n은 2 내지 8에서 선택된 정수이며;

또는, 더 바람직하게는, n은 2, 4 및 8로 구성된 그룹에서 선택됨.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

상기 Ab는 쥐 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 완전 인간화 항체, 항체 단편, 이중 특이 항체 및 다중 특이 항체로 구성된 그룹에서 선택되고, 바람직하게는, Ab는 시스테인 티올기(-SH)를 통해 연결 단위와 연결 결합을 형성하며;

바람직하게는, Ab는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된 단일클론 항체인 항체임: 항-EGFRvIII 항체, 항-DLL-3 항체, 항-PSMA 항체, 항-CD70 항체, 항-MUC16 항체, 항-ENPP3 항체, 항-TDGF1 항체, 항-ETBR 항체, 항-MSLN 항체, 항-TIM-1 항체, 항-LRRC15 항체, 항-LIV-1 항체, 항-CanAg/AFP 항체, 항-클라딘 18.2 항체, 항-메소텔린 항체, 항-HER2(ErbB2) 항체, 항-EGFR 항체, 항-c-MET 항체, 항-SLITRK6 항체, 항-KIT/CD117 항체, 항-STEAP1 항체, 항-SLAMF7/CS1 항체, 항-NaPi2B/SLC34A2 항체, 항-GPNMB 항체, 항-HER3(ErbB3) 항체. 항-MUC1/CD227 항체, 항-AXL 항체, 항-CD166 항체, 항-B7-H3(CD276) 항체, 항-PTK7/CCK4 항체, 항-PRLR 항체, 항-EFNA4 항체, 항-5T4 항체, 항-NOTCH3 항체, 항-Nectin 4 항체, 항-TROP-2 항체, 항-CD142 항체, 항-CA6 항체, 항-GPR20 항체, 항-CD174 항체, 항-CD71 항체, 항-EphA2 항체, 항-LYPD3 항체, 항-FGFR2 항체, 항-FGFR3 항체, 항-FRα 항

체, 항-CEACAMs 항체, 항-GCC 항체, 항-Integrin Av 항체, 항-CAIX 항체, 항-P-카드헤린 항체, 항-GD3 항체, 항-카드헤린 6 항체, 항-LAMP1 항체, 항-FLT3 항체, 항-BCMA 항체, 항-CD79b 항체, 항-CD19 항체, 항-CD33 항체, 항-CD56 항체, 항-CD74 항체, 항-CD22 항체, 항-CD30 항체, 항-CD37 항체, 항-CD47 항체, 항-CD138 항체, 항-CD352 항체, 항-CD25 항체 및 항-CD123 항체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

상기 D_1-L_1- 및 D_2-L_2-는 모두 티올기를 통해 Ab에 결합되고;

바람직하게는, 티올기의 공급원은 다음으로 구성된 그룹에서 선택되고:

타겟팅 모이어티에서 기존 사슬간 디설파이드 결합의 환원 후 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 타겟팅 모이어티에서 특정 원래 아미노산의 부위 지향 돌연변이(site-directed mutagenesis)에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 타겟팅 모이어티에 시스테인의 부위 지향 삽입(site-directed insertion)에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 타겟팅 모이어티에 시스테인 함유 펩타이드의 부위 지향 삽입(site-directed insertion)에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기;

바람직하게는, D_1-L_1- 및 D_2-L_2-는 각각 다른 공급원의 티올기를 통해 Ab에 결합되고;

바람직하게는, D_1-L_1- 및 D_2-L_2- 중 하나는 표적 모이어티에서 기존 사슬 간 이황화물 결합의 환원 후 형성된 시스테인 잔기의 티올기를 통해 Ab에 결합되고, 다른 하나는 표적 모이어티에서 특정 원래 아미노산의 부위 지향 돌연변이에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 표적 모이어티에 시스테인의 부위 지향 삽입에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 또는 표적 모이어티에 시스테인 함유 펩타이드의 부위 지향 삽입에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기를 통해 Ab에 결합됨.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 특징으로 하는 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물:

상기 리간드-약물 접합체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택됨:

Ab-R01 (2) -Ex01 (8),

Ab-R01 (8) -Ex01 (2),

Ab-R01 (4) -Ex01 (4),

Ab-R01 (4) -Ex01 (8),

Ab-R01 (8) -Ex01 (4),

Ab-R01 (2) -Ex02 (8),

Ab-R01 (8) -Ex02 (2),

Ab-R01 (4) -Ex02 (4),

Ab-R01 (2) -Ex03 (8),

Ab-R01 (8) -Ex03 (2),

Ab-R01 (4) -Ex03 (4),

Ab-R01 (2) -Ex04 (8),

Ab-R01 (8) -Ex04 (2),

Ab-R01 (4) -Ex04 (4),

Ab-R01 (2) -Ex05 (8),

Ab-R01 (8) -Ex05 (2),

Ab-R01 (4) -Ex05 (4),

Ab-R01 (2) -Ex06 (8),

Ab-R01 (8) -Ex06 (2),

Ab-R01 (4) -Ex06 (4),

Ab-R01-1 (2) -Ex01 (8),

Ab-R01-1 (8) -Ex01 (2),

Ab-R01-1 (4) -Ex01 (4),

Ab-R01-1 (8) -Ex01 (4),

Ab-R01-1 (4) -Ex01 (8),

Ab-R01-1 (2) -Ex02 (8),

Ab-R01-1 (8) -Ex02 (2),

Ab-R01-1 (4) -Ex02 (4),

Ab-R01-1 (2) -Ex03 (8),

Ab-R01-1 (8) -Ex03 (2),

Ab-R01-1 (4) -Ex03 (4),

Ab-R01-1 (2) -Ex04 (8),

Ab-R01-1 (8) -Ex04 (2),

Ab-R01-1 (4) -Ex04 (4),

Ab-R01-1 (2) -Ex05 (8),

Ab-R01-1 (8) -Ex05 (2),

Ab-R01-1 (4) -Ex05 (4),

Ab-R01-1 (2) -Ex06 (8),

Ab-R01-1 (8) -Ex06 (2),

Ab-R01-1 (4) -Ex06 (4),

Ab-R01-1 (2) -PB01 (8),

Ab-R01-1 (2) -PB02 (8),

Ab-R01-1 (8) -PNU01 (2),

Ab-R01-1 (8) -PNU02 (2),

Ab-R01-1 (2) - CBI01 (8),

Ab-R01-1 (2) - CBI02 (8),

Ab-R01-1 (2) - CBI03 (8),

Ab-R01-1 (2) -PBD01 (8),

Ab-R01-1 (2) -PBD02 (8),

Ab-R01-1 (2) -PBD-CBI01 (8),

Ab-R01-1 (2) -PBD-CBI02 (8),

Ab-R01-1 (8) -M01 (2),

Ab-R01-1 (8) -M02 (2),

Ab-R01-1 (8) -M03 (2),

Ab-AT01 (2) -Ex01 (8),

Ab-AT02 (2) -Ex01 (8),

Ab-AT03 (2) -Ex01 (8),

Ab-AT04 (2) -Ex01 (8),

Ab-TA01 (2) -Ex01 (8),

Ab-VE01 (2) -Ex01 (8),

Ab-E01 (2) -Ex01 (8),

Ab-RU01 (2) -Ex01 (8),

Ab-PA01 (2) -Ex01 (8),

Ab-CEP01 (2) -Ex01 (8),

Ab-TM01 (2) -Ex01 (8),

Ab-TM02 (2) -Ex01 (8),

Ab-WE01 (2) -Ex01 (8),

Ab-CH01 (2) -Ex01 (8),

Ab-CH02 (2) -Ex01 (8),

Ab-CH03 (2) -Ex01 (8),

Ab-CH04 (2) -Ex01 (8),

Ab-DP01 (2) -Ex01 (8),

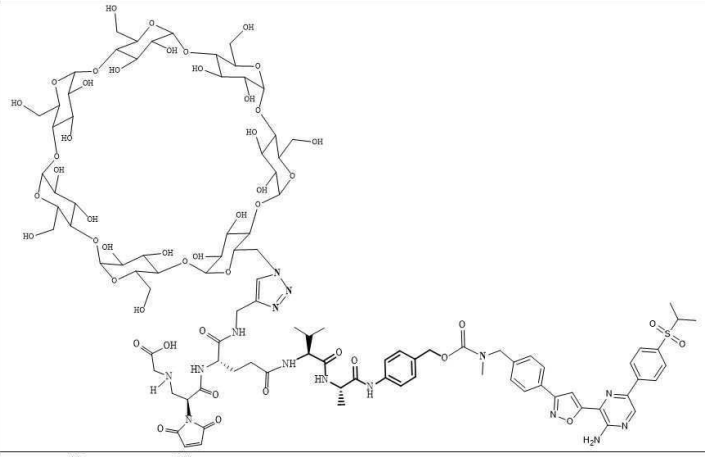
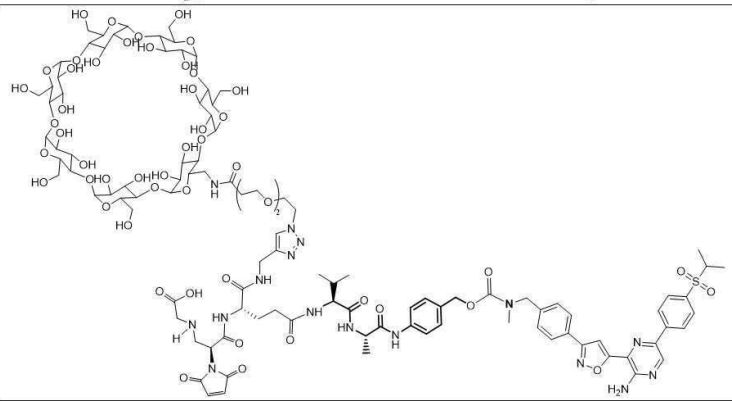
Ab-DP02 (2) -Ex01 (8), 및

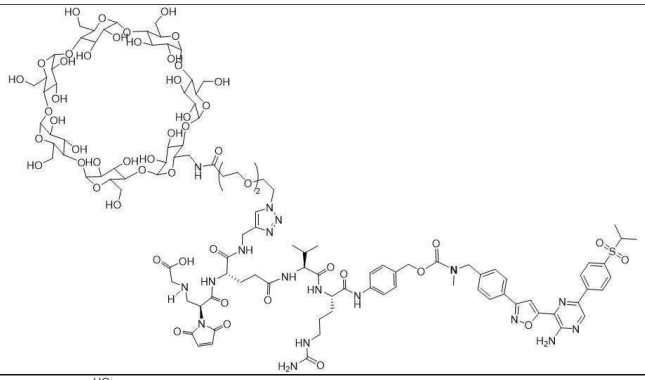
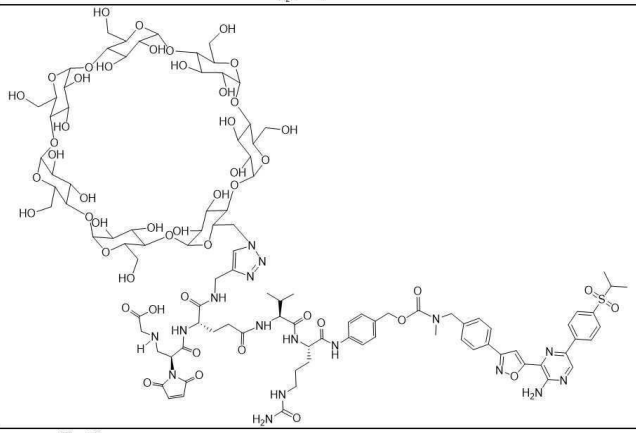
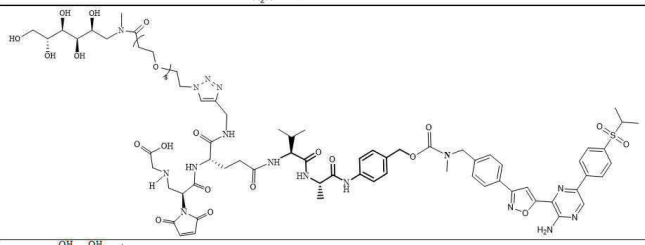
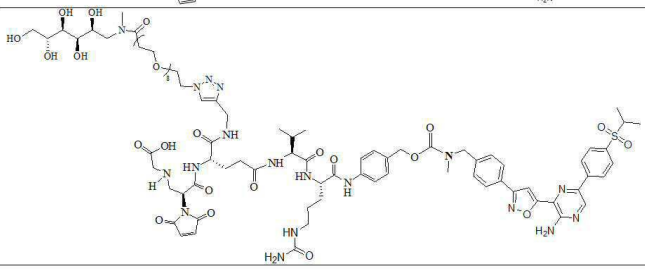
Ab-DP03 (2) -Ex01 (8).

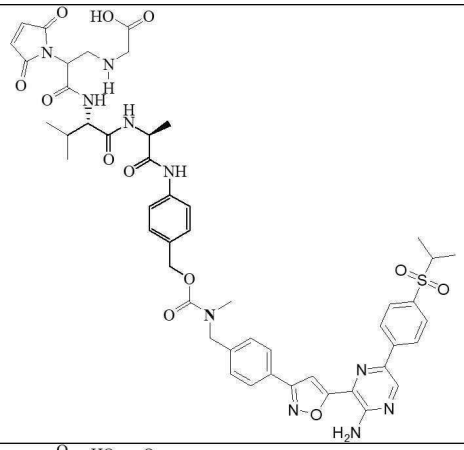
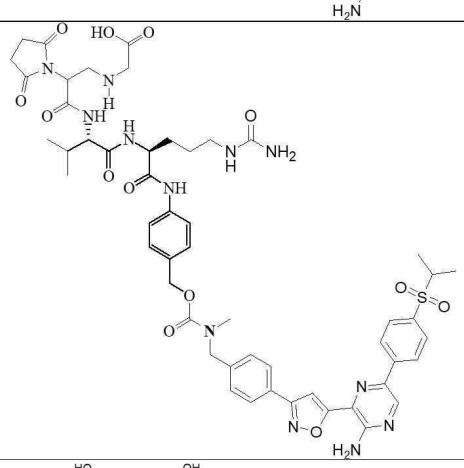
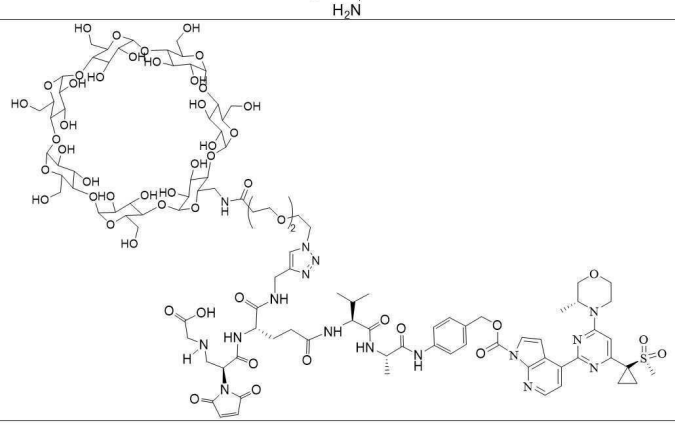
청구항 12

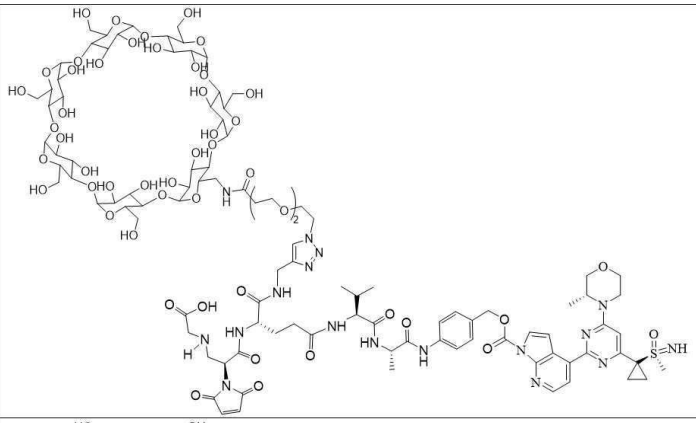
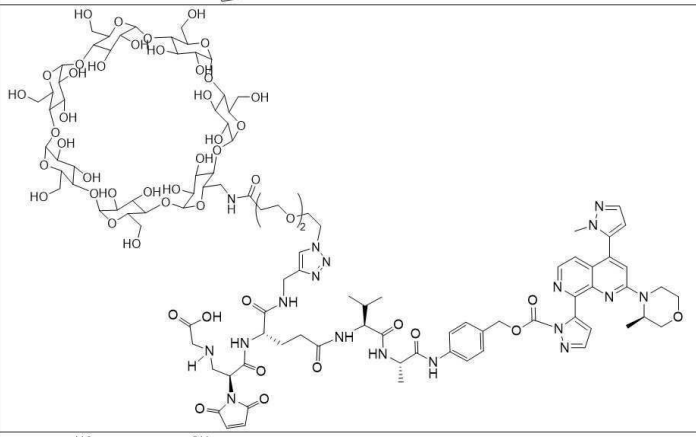
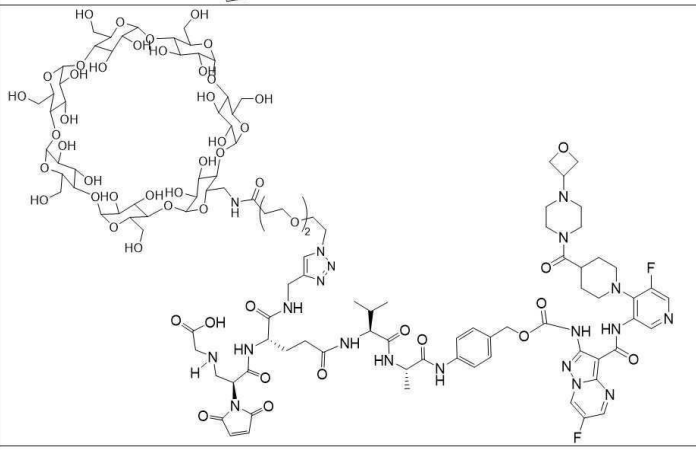
약물-연결 단위 접합체 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물에 있어서,

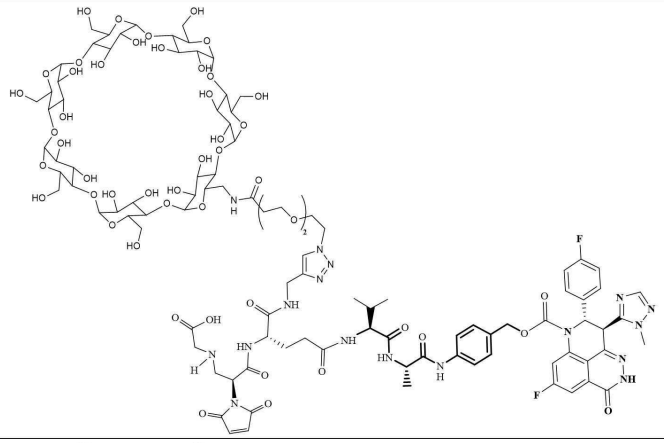
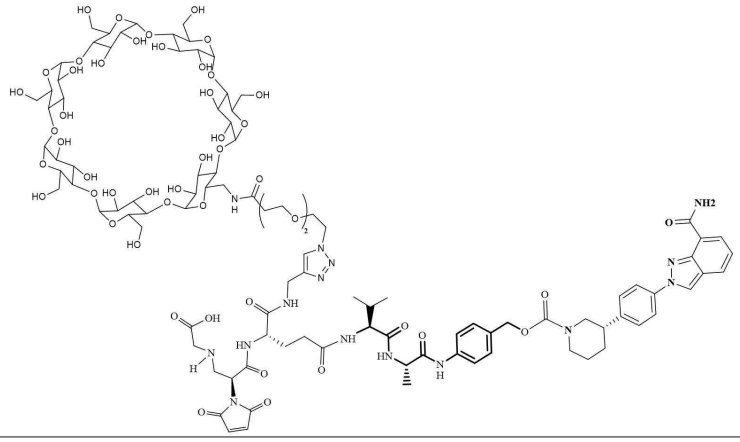
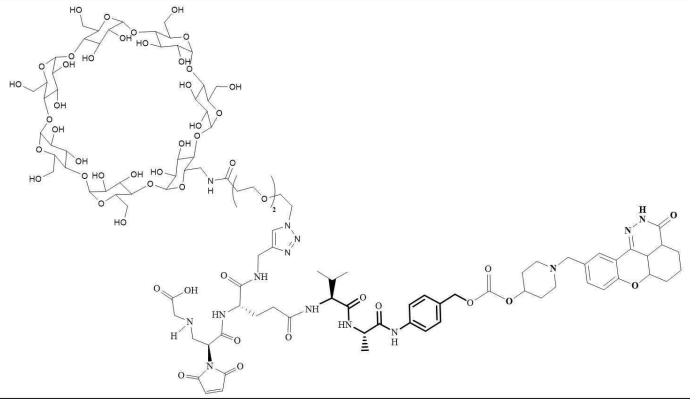
여기에서, 상기 약물-연결 단위 접합체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택됨:

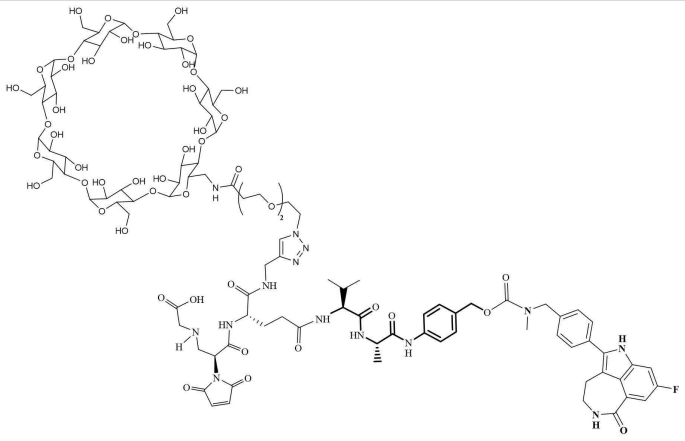
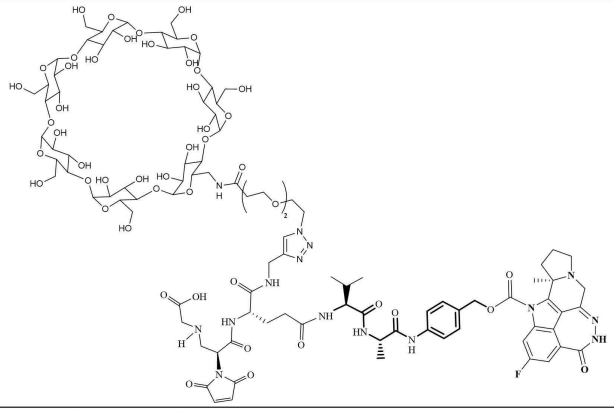
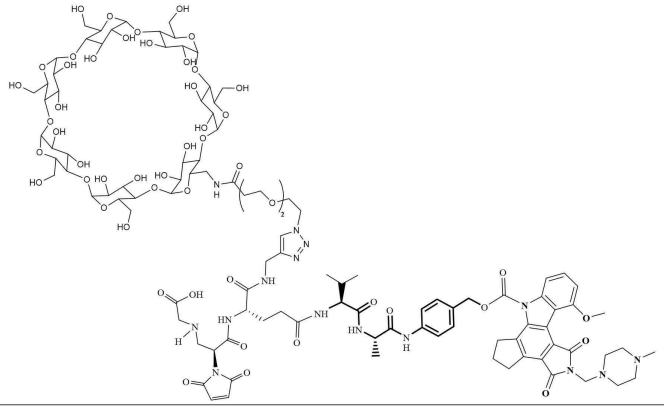
R01’	
R01-1’	

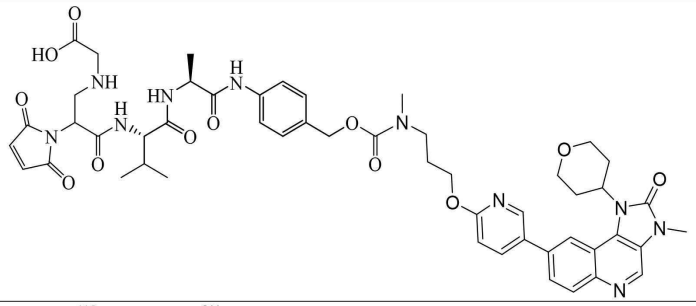
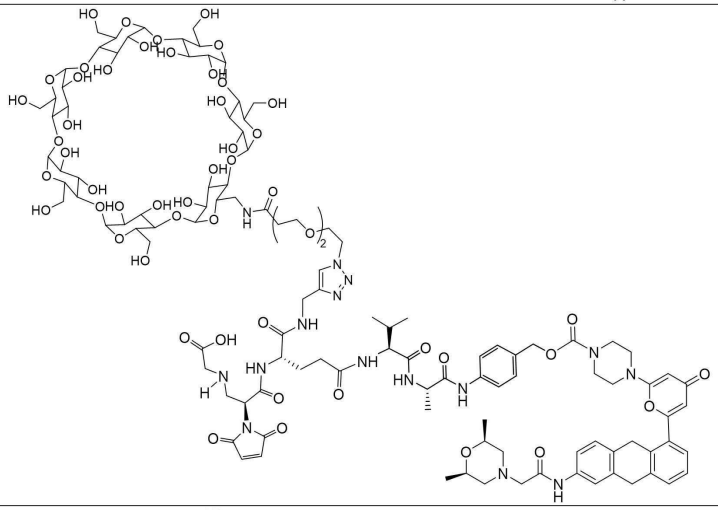
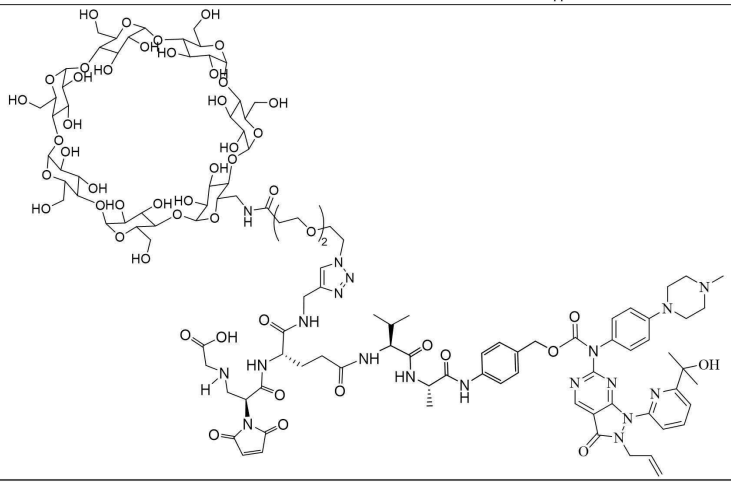
R01-2’	
R01-4’	
R02’	
R02-1’	

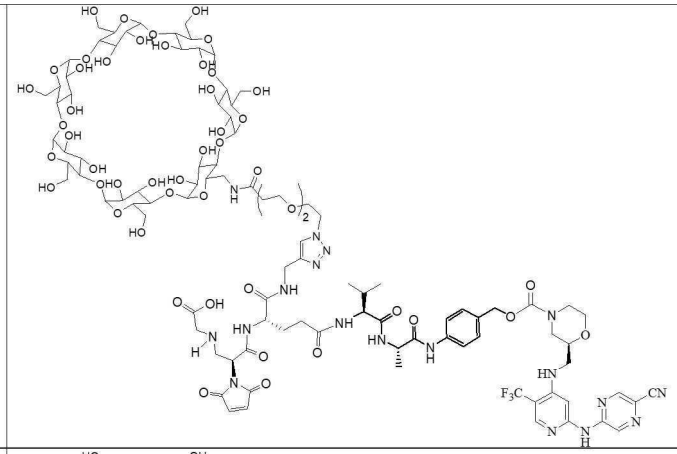
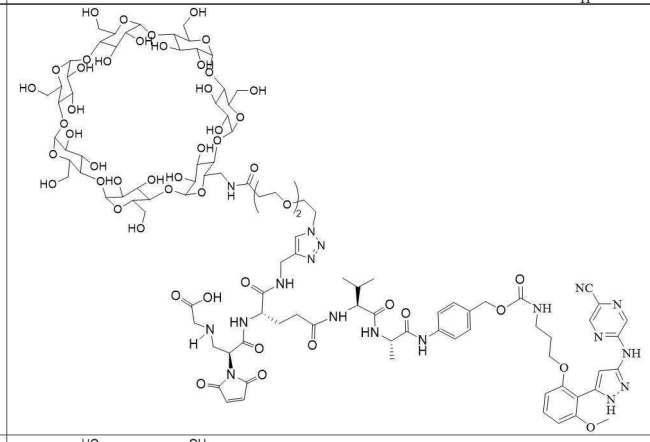
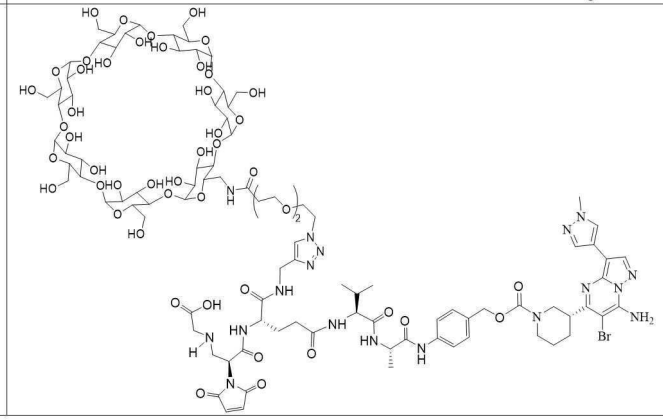
R03’	
R03-1’	
AT01’	

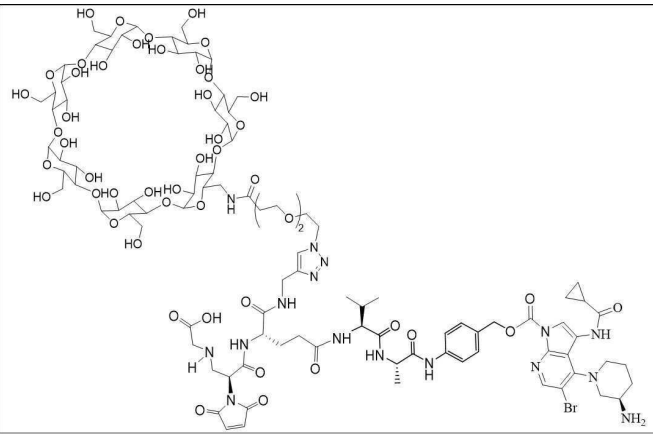
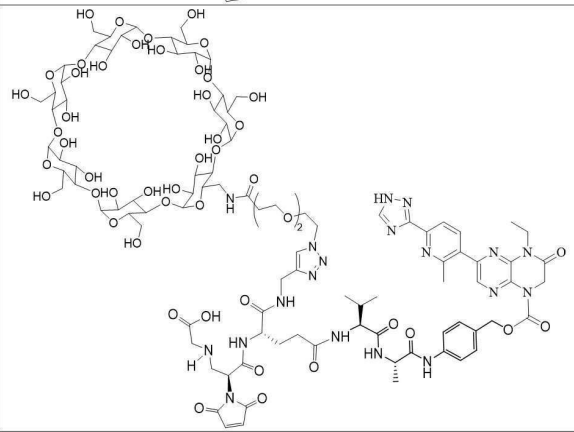
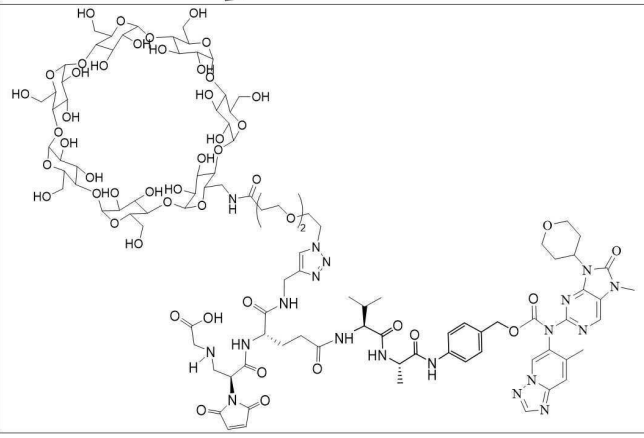
AT02’	
AT03’	
AT04’	

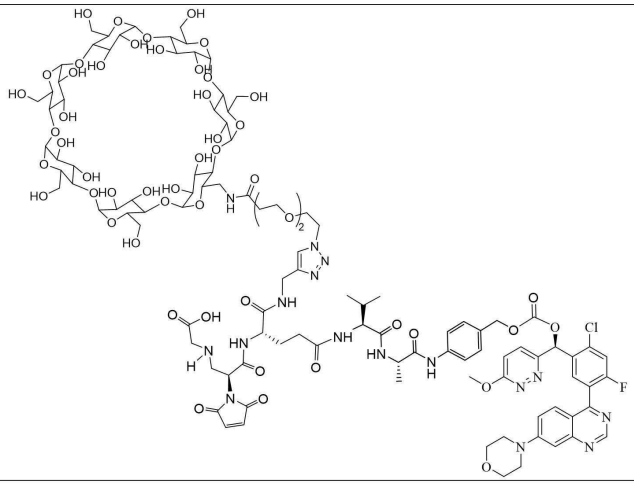
TA01’	
VE01’	
E01’	

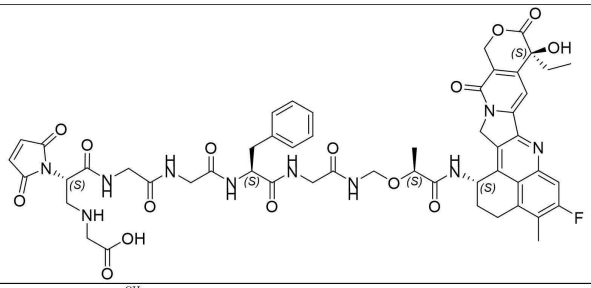
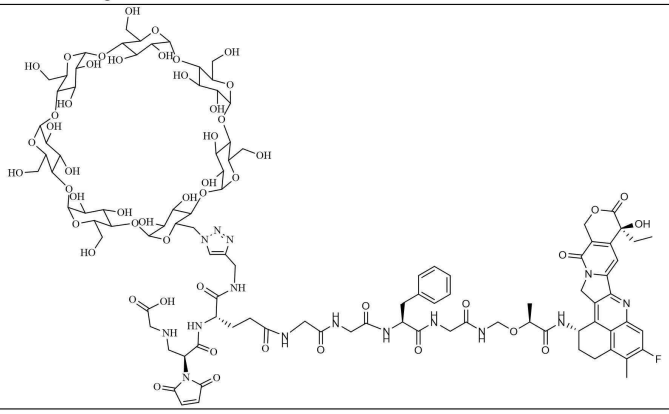
RU01’	
PA01’	
CEP01’	

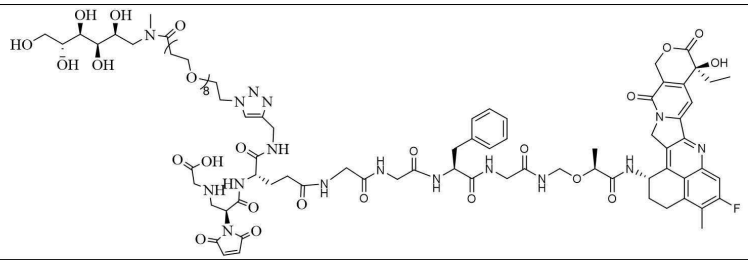
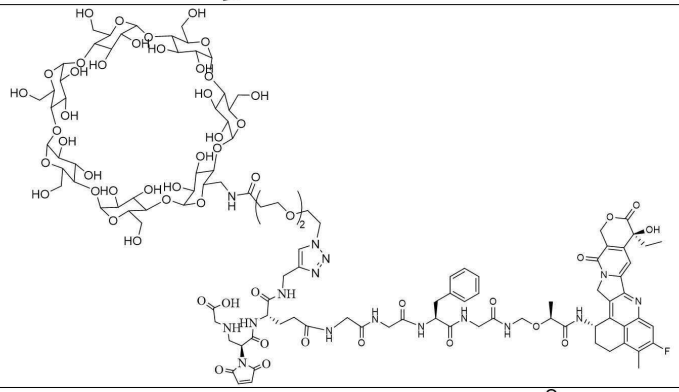
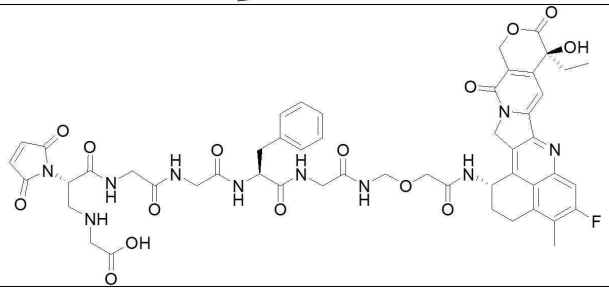
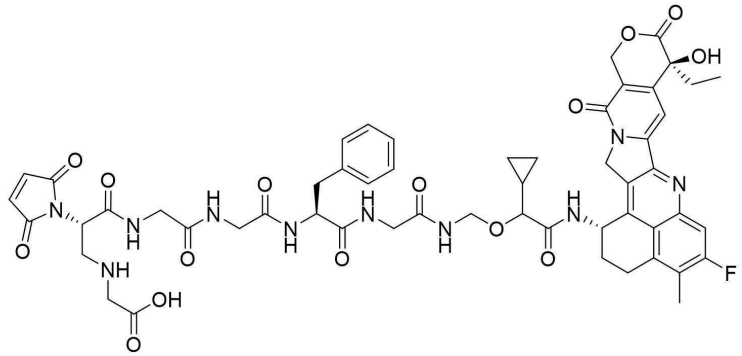
TM01’	
TM02’	
WE01’	

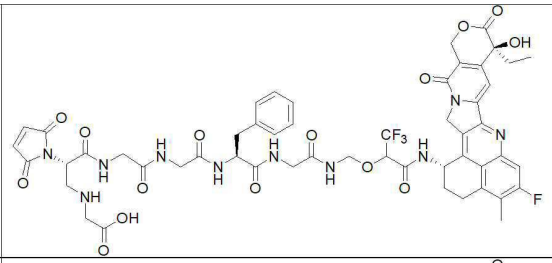
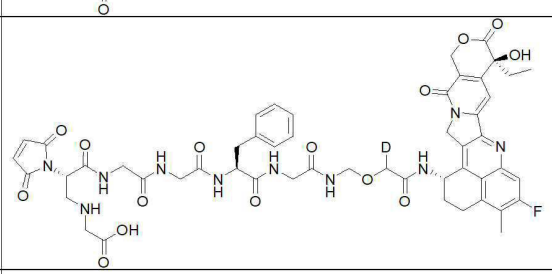
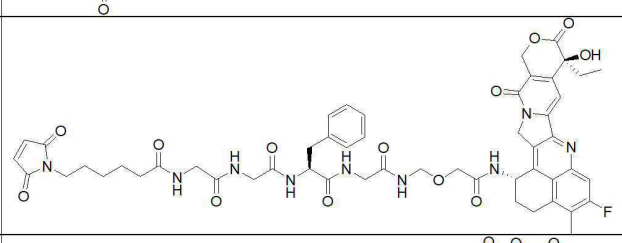
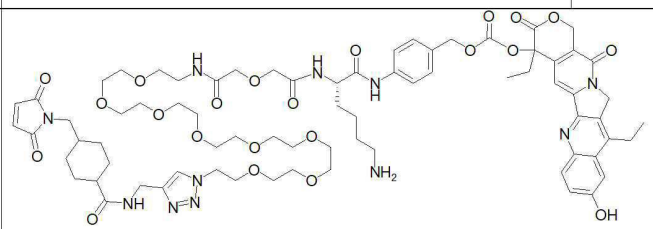
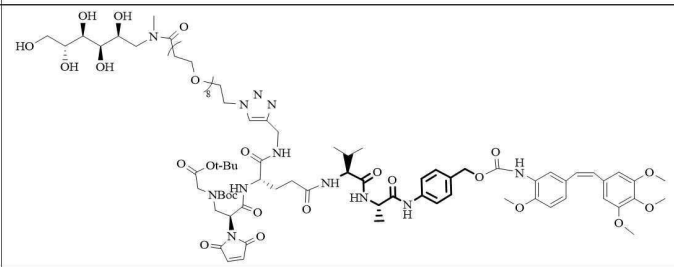
CH01’	
CH02’	
CH03’	

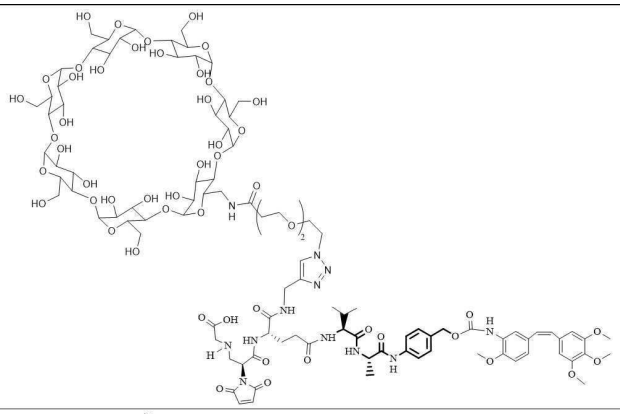
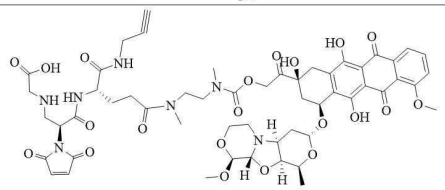
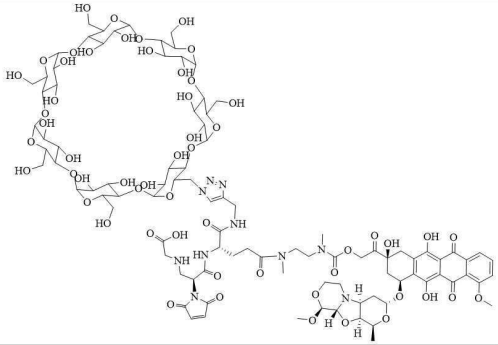
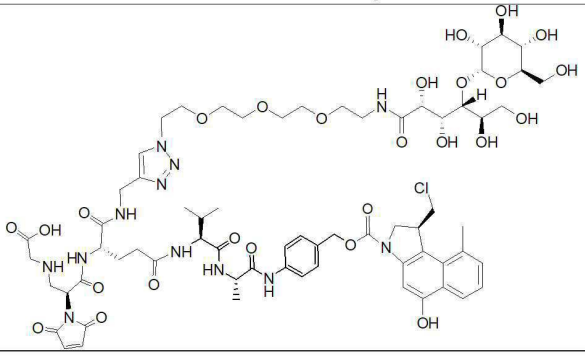
CH04’	
DP01’	
DP02’	

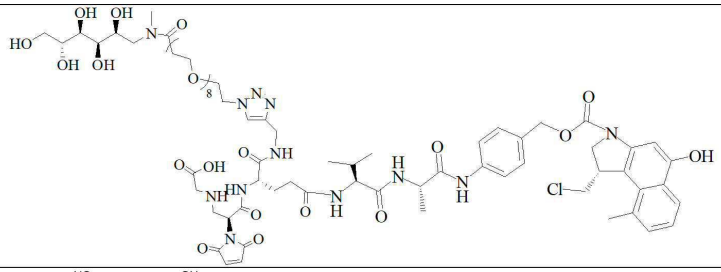
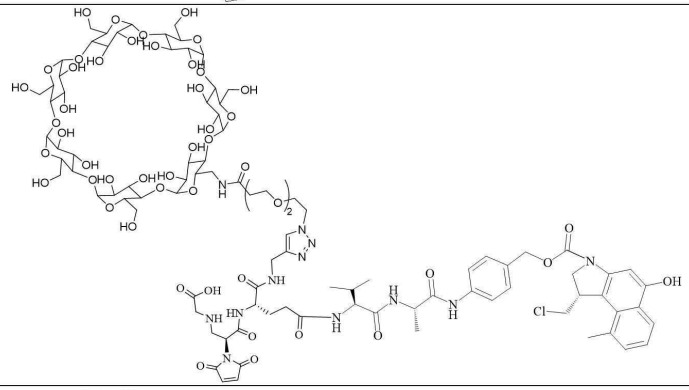
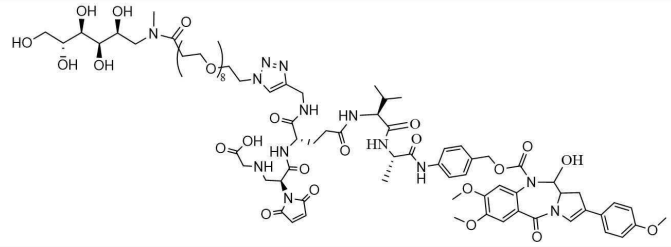
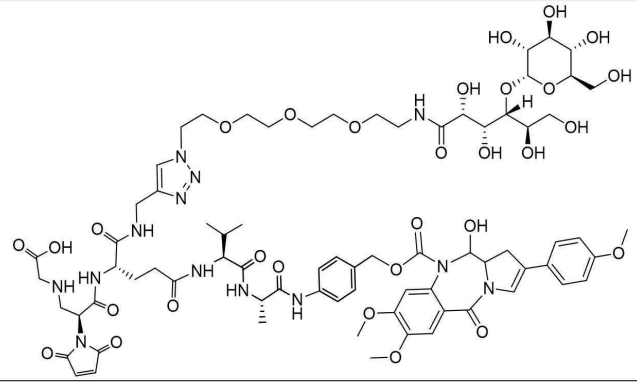
DP03’	

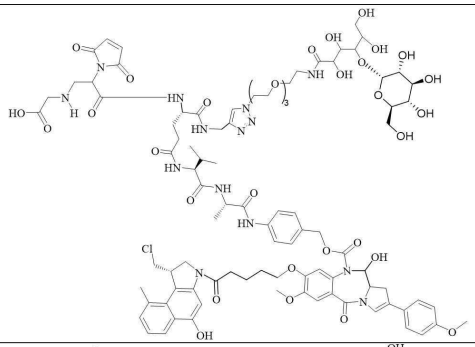
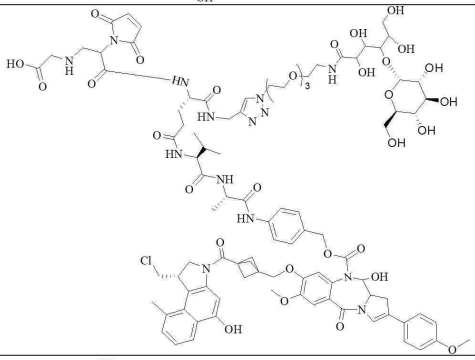
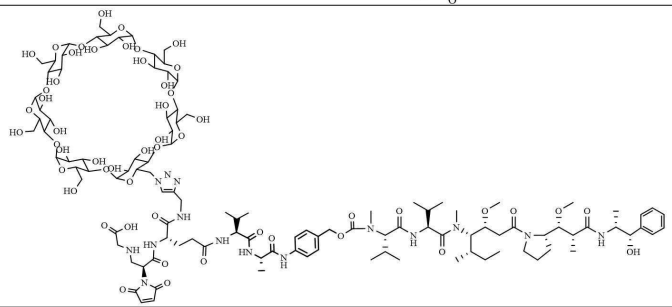
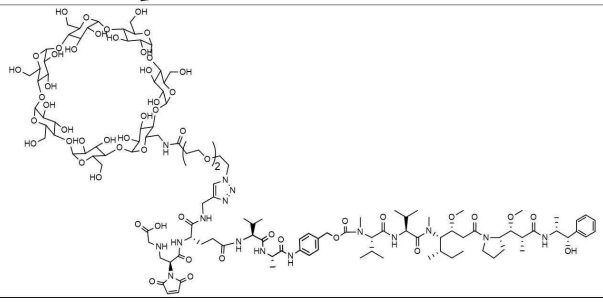
Ex01’	
Ex02’	

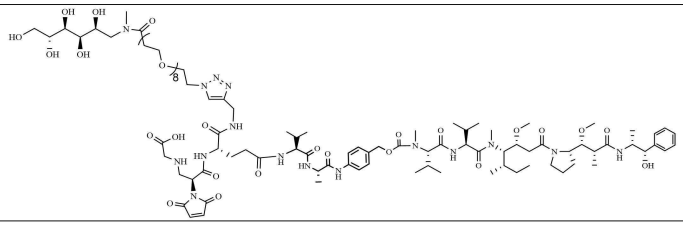
Ex03’	
Ex04’	
Ex05’	
Ex06’	

Ex07’	
Ex08’	
Ex09’	
SN01’	
PB01’	

PB02’	
PNU01’	
PNU02’	
CBI01’	

CBI02’	
CBI03’	
PBD01’	
PBD02’	

PBD-CBI01’	
PBD-CBI02’	
M01’	
M02’	

M03’	

청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 제12항의 약물-연결 단위 접합체 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 및 선택

적으로 하나 이상의 약학적 어주번트를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 제12항의 약물-연결 단위 접합체 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 제13항의 약학적 조성물의, 질병의 치료 및/또는 예방을 위한 약물의 제조에서의 용도에 있어서, 상기 질병은 암이고;

바람직하게는, 상기 암은 피부암, 림프종, 식도암(예: 식도 선암 및 식도 편평세포 암), 뇌종양, 폐암(예: 소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 편평세포 암, 방광암, 위암, 난소암, 복막암, 췌장암, 유방암, 두경부암, 자궁경부암, 자궁내막암, 대장암, 직장암, 대장암, 간암, 신장암, 고형 종양, 비호지킨 림프종, 중추 신경계 종양(예: 신경교종, 다형성 신경교모세포종, 신경모세포종, 신경교종 또는 육종), 흑색종, 전립선암, 갑상선암, 뼈암, 요로암, 타액선암, 백혈병(예: 급성 골수성 백혈병), 및 기타 고형 종양 및 혈액 종양으로 구성된 그룹에서 선택되고;

더 바람직하게는, 상기 암은 폐암(예: 소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 편평세포암, 방광암, 위암, 난소암, 유방암, 결장암, 직장암, 결장직장암, 간암 및 신장암으로 구성된 그룹에서 선택됨.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 의약의 기술 분야에 관한 것으로, 특히 리간드-약물 접합체 및 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 항체-약물 접합체(Antibody-drug conjugate, ADC)는 새로운 치료법의 거대 분자(macromolecule)로, 미세 분자(micromolecule) 약물의 강력한 치사성(lethality)과 항체의 높은 특이적 표적화 특성을 모두 갖추고 있으며, 항체의 특이성을 통해 약물을 종양 부위 또는 종양 세포에 정확하게 투여하여 생체 내 정상 세포를 죽이는 것을 방지하고 치료 과정에서 부작용을 줄일 수 있다. ADC는 세 부분, 즉, 항체, 약물 및 링커로 이루어진다. ADC의 항체 부분이 종양 세포 표면의 특정 항원에 특이적으로 결합하면 종양 세포의 세포막이 안쪽으로 가라앉아 엔도솜을 형성하여 ADC를 삼키는데, 이를 내재화(internalization)라고도 한다. ADC의 항체 부분 또는 링커는 세포 내의 일부 효소에 의해 분해되어 약물을 방출하고 방출된 약물은 종양 세포를 죽이기 시작한다. ADC 약물의 개발 과정에서 링커 + 약물(페이로드)은 중요한 중간 물질이며 링커와 세포독성 분자(약물)로 이루어진다. 현 단계에서, 페이로드 내의 세포독성 분자는 주로 튜불린 억제제(tubulin inhibitor)와 토포이소머라제 억제제(topoisomerase inhibitor)를 포함한다.

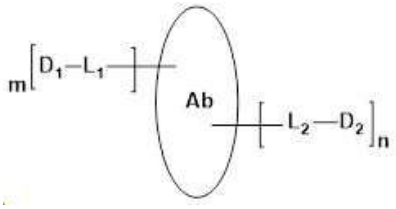
발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 리간드-약물 접합체(예: 항체-약물 접합체 ADC)의 치료 효능을 개선하고 치료적 창(therapeutic window)을 확대하기 위해, 본 발명은 화학식 I로 표현되는 리간드-약물 접합체 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물을 제공한다. 리간드-약물 접합체는 두 가지 다른 약물, 즉 낮은 독성 및 낮은 사멸 활성을 갖는 복구 억제제(repair inhibitor)와 높은 사멸 활성을 갖는 손상제(damage agent)와 결합된다. 리간드(예: 항체)는 저독성의 복구 억제제(repair inhibitor) 및 높은 독성의 손상제(damage agent와 동시에 결합되고, 얻어진 이중 약물 ADC 약물은 단일 약물과 결합된 리간드(예: 항체)를 포함하는 ADC보다 더 높은 사멸 활성을 갖는다. 리간드-약물 접합체(예: 이중 약물 ADC)는 세포 수준에서 현저하게 더 강한 종양 억제 효과를 갖는다.

과제의 해결 수단

[0004] 이를 위해, 제1 양태에서, 본 발명은 화학식 I로 표시되는 리간드-약물 접합체 또는 이의 입체이성체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물을 제공한다.

[0005] 

[0006] 화학식 I

[0007] 여기에서:

[0008] Ab는 항체, 항체 단편, 타겟팅 단백질 및 Fc-융합 단백질로 구성된 그룹으로부터 선택된 타겟팅 모이어티이고;

[0009] D1은 L1에 연결된 첫 번째 약물이며;

[0010] D2는 DNA 손상 복구 억제제로부터 선택된 두 번째 약물이고, L2에 연결되며;

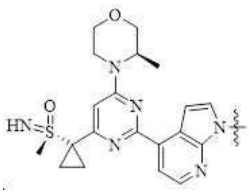
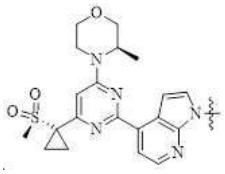
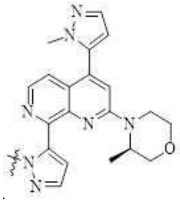
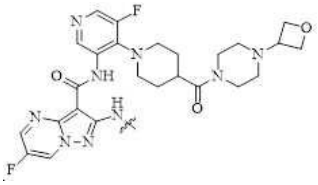
[0011] L1은 제1 약물을 타겟팅 모이어티에 연결하는 첫 번째 연결 단위이고;

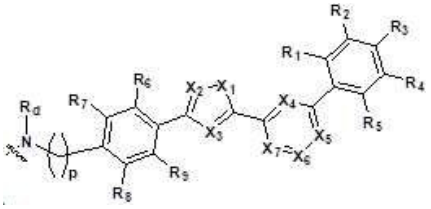
[0012] L2는 제2 약물을 타겟팅 모이어티에 연결하는 두 번째 연결 단위이며;

[0013] m은 0 내지 20 중에서 선택된 정수(예: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20)이고;

[0014] n은 1 내지 20 중에서 선택된 정수(예: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20)이며;

[0015] 특정 구현예에서, 제2 약물은 ATR 억제제, ATM 억제제, PARP 억제제, WEE1 억제제, CHK1 억제제 및 DNA-PK 억제제로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0016] 특정 구현예에서, 상기 ATR 억제제는  ,  ,  ,  및 화학식 A로 표현되는 화합물 또는 이의 중수소화물로 구성된 그룹에서 선택된다:

[0017] 

[0018] 화학식 A

[0019] 여기서,

[0020] X_1은 O, S, NH 및 CH_2로 구성된 군에서 선택되고;

[0021] X_2, X_3은 각각 N 및 CH로 구성된 군에서 독립적으로 선택되며;

[0022] X_4, X_5, X_6은 각각 N 및 CH로 구성된 군에서 독립적으로 선택되고;

[0023] X_7은 N 및 C(RO)로 구성된 군에서 선택되며;

[0024] R_0은 H, C1-C6 알킬 및 RbRaN-로 구성된 군에서 선택되고;

[0025] R_a, Rb는 각각 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 독립적으로 선택되며;

[0026] R_1, R_2, R_3, R_4, R_5는 각각 H, C1-C6 알킬 및  으로 구성된 군에서 독립적으로 선택되고;

[0027] R_c는 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되며;

[0028] R_6, R_7, R_8, R_9는 각각 독립적으로 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되고;

[0029] R_d는 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택되며;

[0030] p는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로 구성된 군에서 선택된다.

[0031] 특정 구현예에서, X_1은 O 및 S로 구성된 군에서 선택된다.

[0032] 특정 구현예에서, X_1은 O이다.

[0033] 특정 구현예에서, X_2는 N이고, X_3은 CH이다.

[0034] 특정 구현예에서, X_4 및 X_6은 N이고, X_5는 CH이다.

[0035] 특정 구현예에서, X_7은 C(R_0)이다.

[0036] 특정 구현예에서, R_0은 R_bR_aN-이다.

[0037] 특정 구현예에서, R_a, R_b는 각각 H이다.

[0038] 특정 구현예에서, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5는 각각 H 및  로 구성된 그룹에서 독립적으로 선택된다.

[0039] 특정 구현예에서, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 중 하나는  이고, 나머지는 H이다.

[0040] 특정 구현예에서, R_3는  , R1, R2, R4 및 R5는 H이다.

[0041] 특정 구현예에서, R_c는 C1-C6 알킬로부터 선택된다.

[0042] 특정 구현예에서, R_c는 이소프로필이다.

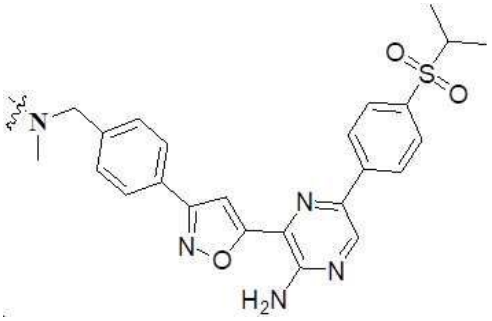
[0043] 특정 구현예에서, R_6, R_7, R_8, R_9는 H이다.

[0044] 특정 구현예에서, R_d는 C1-C6 알킬로부터 선택된다.

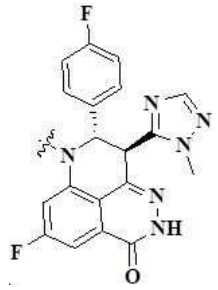
[0045] 특정 구현예에서, R_d는 메틸이다.

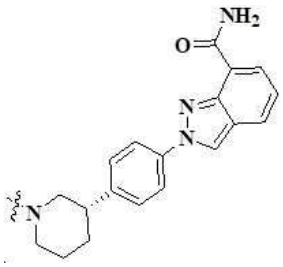
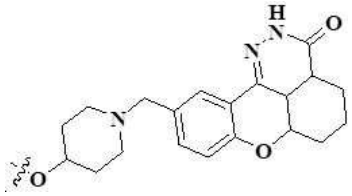
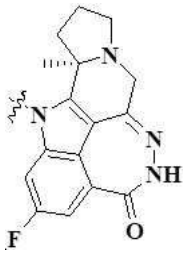
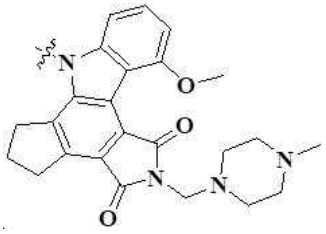
[0046] 특정 구현예에서, p는 1, 2 및 3으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

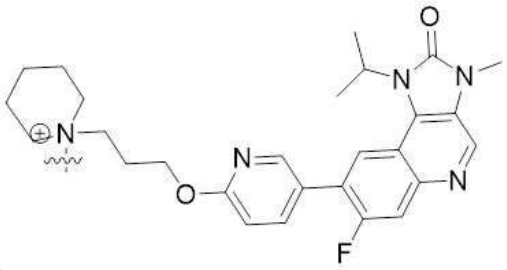
[0047] 특정 구현예에서, p는 1이다.

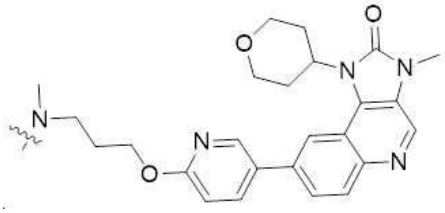
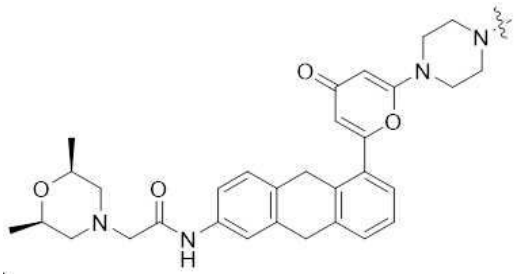


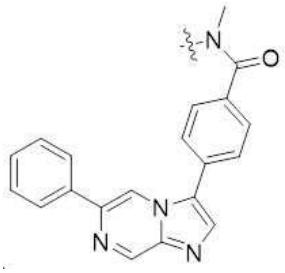
[0048] 특정 구현예에서, 화학식 A로 표현되는 화합물은 이다.



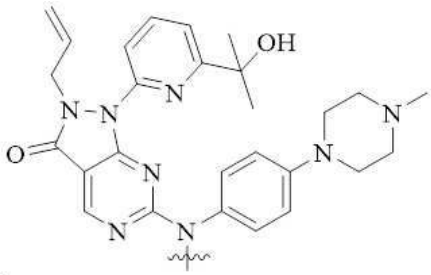
[0049] 특정 구현예에서, PARP 억제제는 ,  ,  ,  ,  , 및  로 구성된 그룹에서 선택된다.



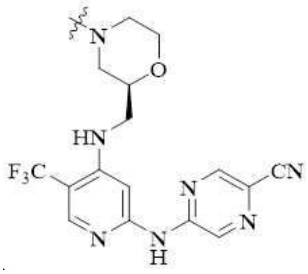
[0050] 특정 구현예에서, ATM 억제제는 ,  ,  , 및



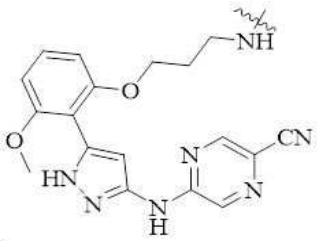
로 구성된 그룹에서 선택된다.



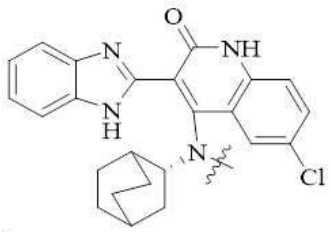
[0051] 특정 구현예에서, WEE1 억제제는 이다.



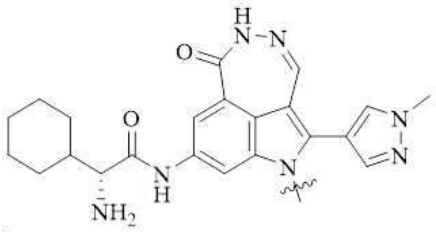
[0052] 특정 구현예에서, CHK1 억제제는 ,



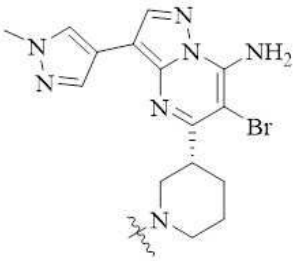
,



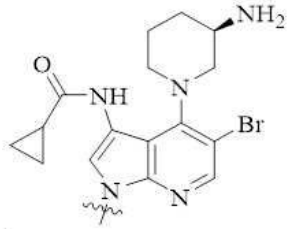
,



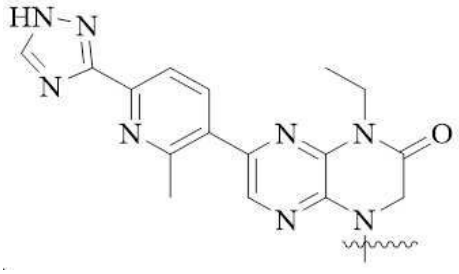
,



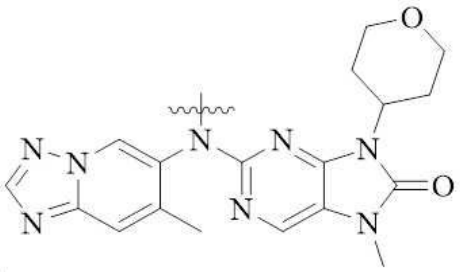
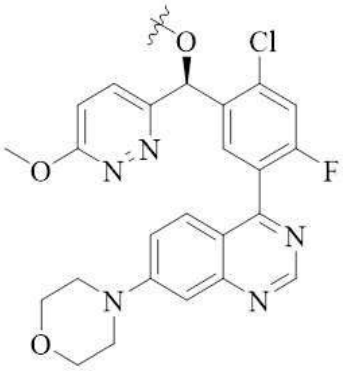
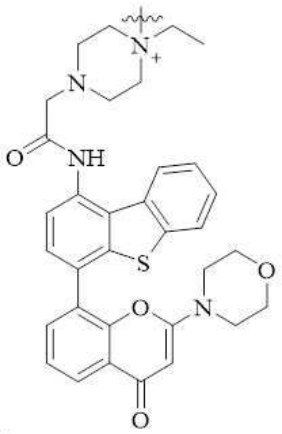
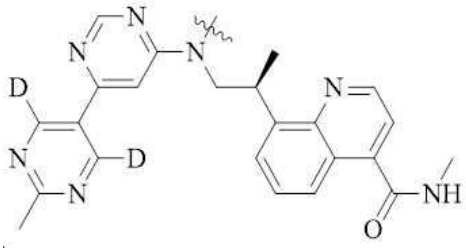
, 및



로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

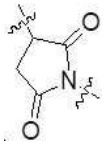
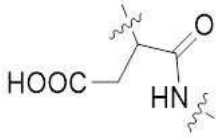


[0053] 특정 구현예에서, DNA-PK 억제제는 ,

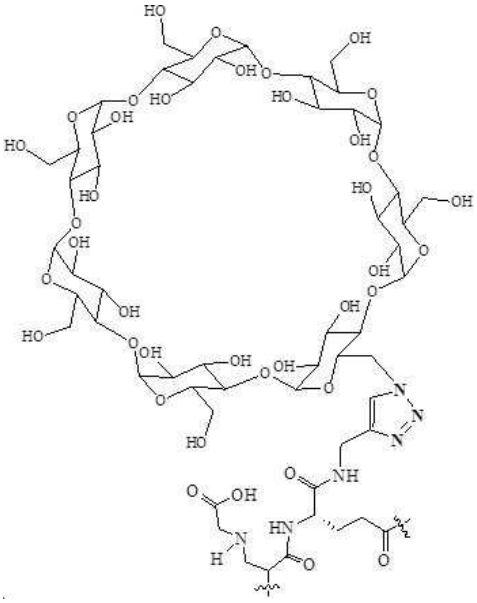
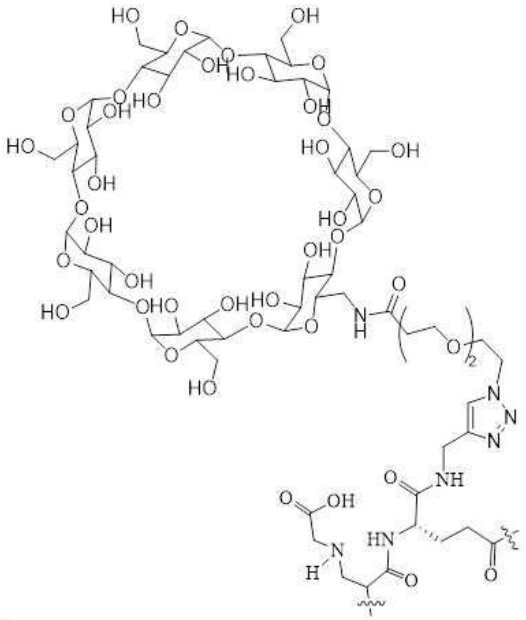

,

,

, 및

로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

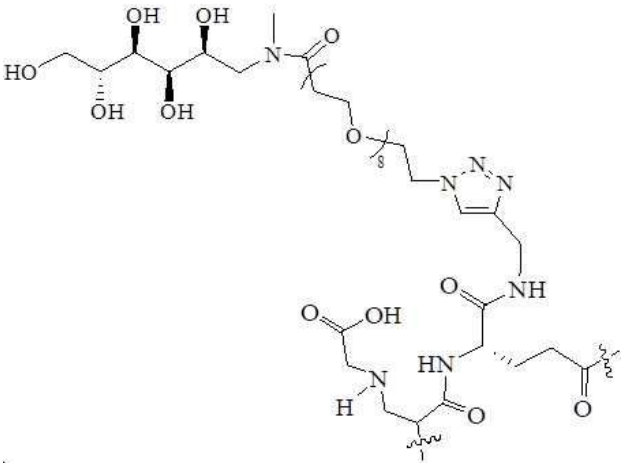
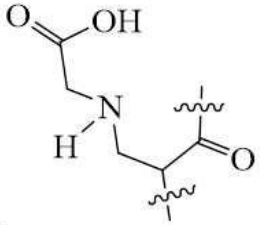
[0054] 특정 구현예에서, 제2 연결 단위는 깨질 수 있거나(breakable) 깨지지 않는(non-breakable) 연결 단위이다.

[0055] 특정 구현예에서, L_2는 L_{21}-L_{22}-L_{23}-L_{24}이고, L_{24}는 D_2에 연결되며, L_{21}은 Ab에 연결되고(바람직하게는, L_{21}은 티올 그룹을 통해 Ab에 결합됨),

[0056] L_{21}은

, 및

로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 이의 N-말단은 L_{22}에 연결되며,

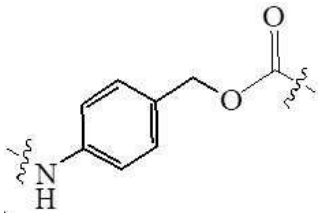
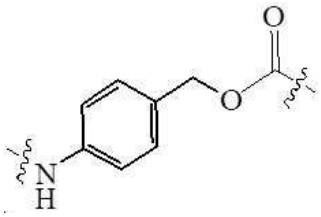
[0057] L22는 다음으로 구성된 그룹으로부터 선택된다:

[0058]

,

,


, 및 
,

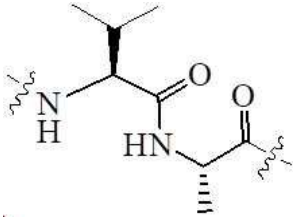
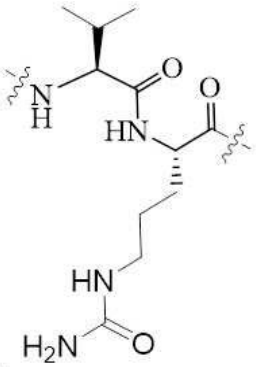
[0059] 여기에서 이의 카르보닐 말단은 L_{23}에 연결되고;

[0060] L_{23}은 2~10개의 아미노산 잔기로 구성된 아미노산 잔기 또는 펩타이드 잔기에서 선택되고, 카르보닐 말단은 L_{24}에 연결되며;

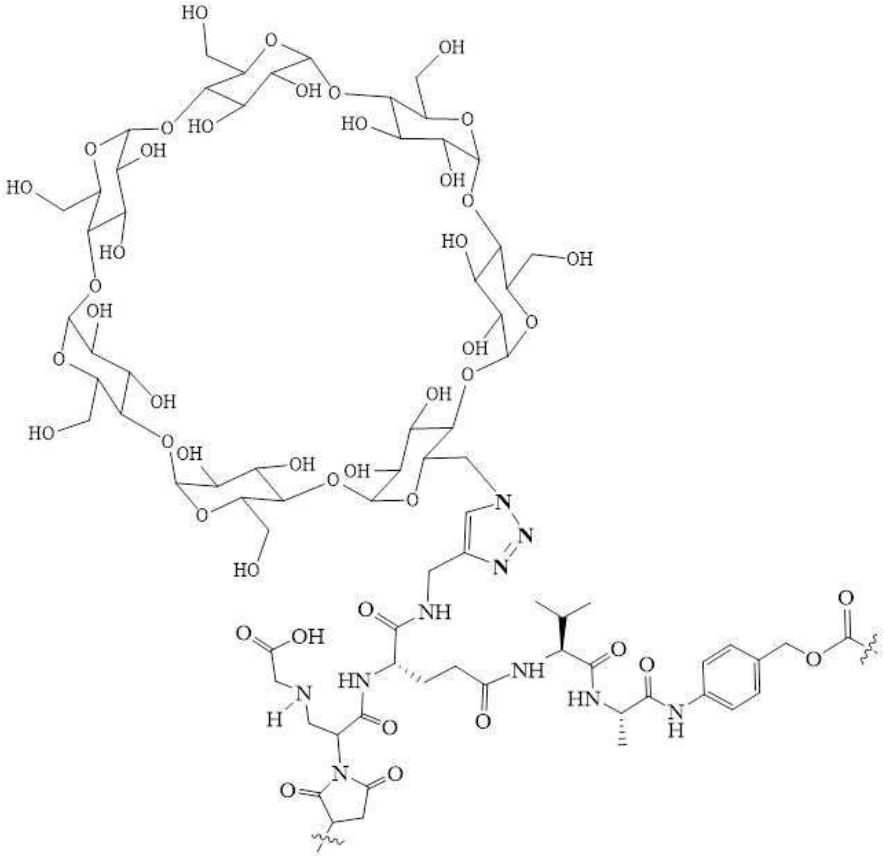
[0061] L_{24}는  또는 직접 결합이고, L_{24}가  인 경우, 그 카르보닐 말단은 D_2에 연결된다.

[0062] 특정 구현예에서, L_{23}은 2-4개(바람직하게는 2개)의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기이며, 그 카르보닐 말단은 L_{24}에 연결되고, 바람직하게는, 아미노산은 발린, 알라닌, 페닐알라닌, 글리신, 리신, 시트룰린, 세린, 글루탐산 및 아스파르트산으로 구성된 군에서 선택되고, 더 바람직하게는, 아미노산은 발린, 알라닌 및 시트룰린으로 구성된 군에서 선택된다.

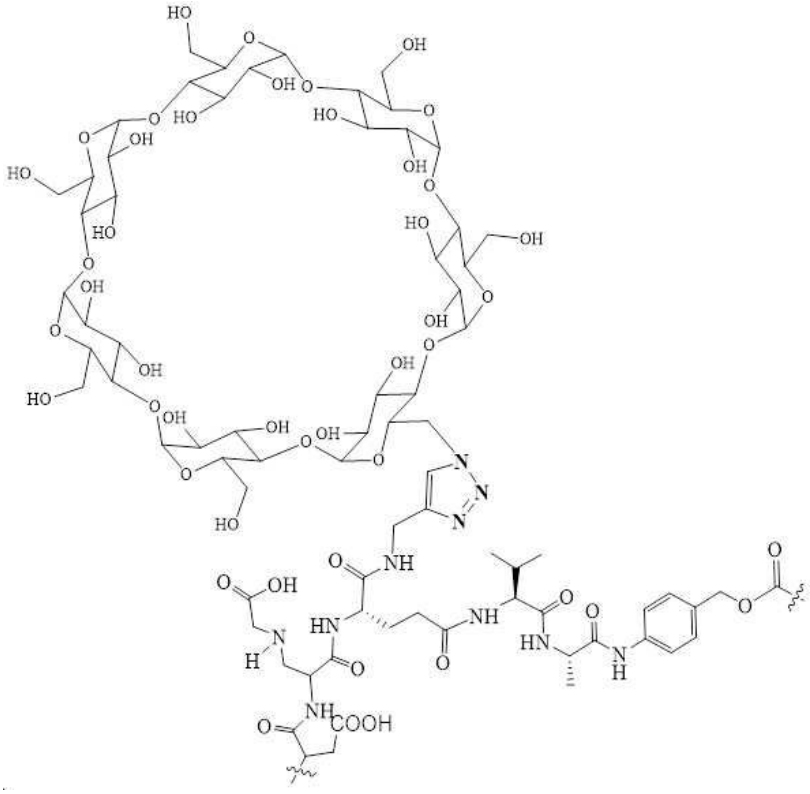
[0063] 특정 구현예에서, L_{23}은 발린-알라닌(Val-Ala) 및 발린-시트룰린(Val-Cit)으로 구성된 군에서 선택되며, 카르보닐 말단은 L_{24}에 연결된다.

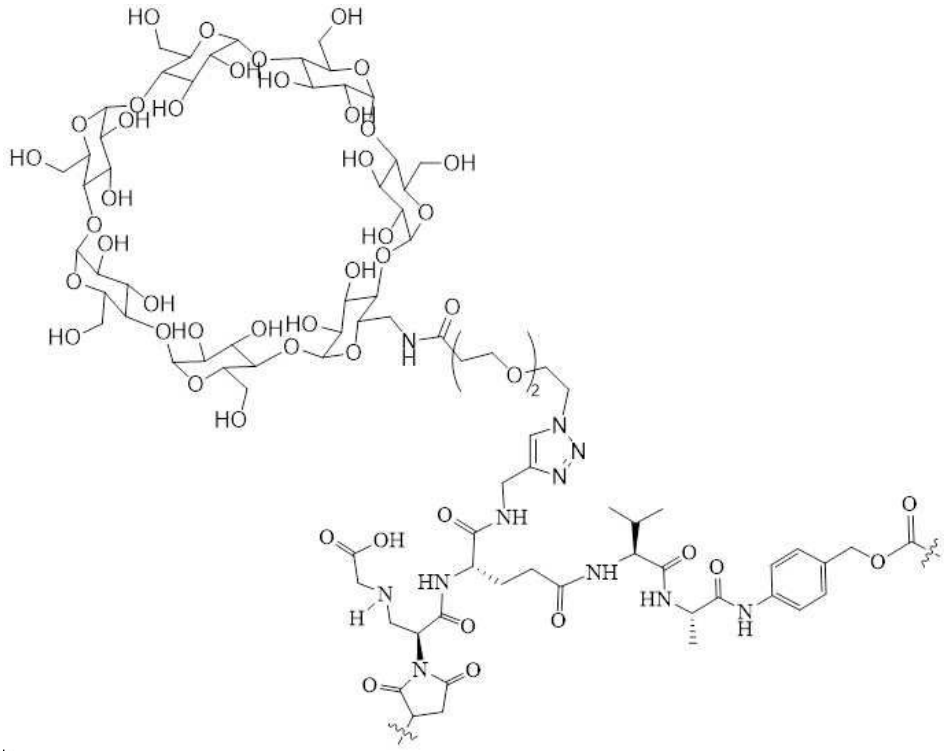
[0064] 특정 구현예에서, L_{23}은  , 및  로 구성된 그룹에서 선택되며, 이의 카르보닐 말단은 L_{24}에 연결된다.

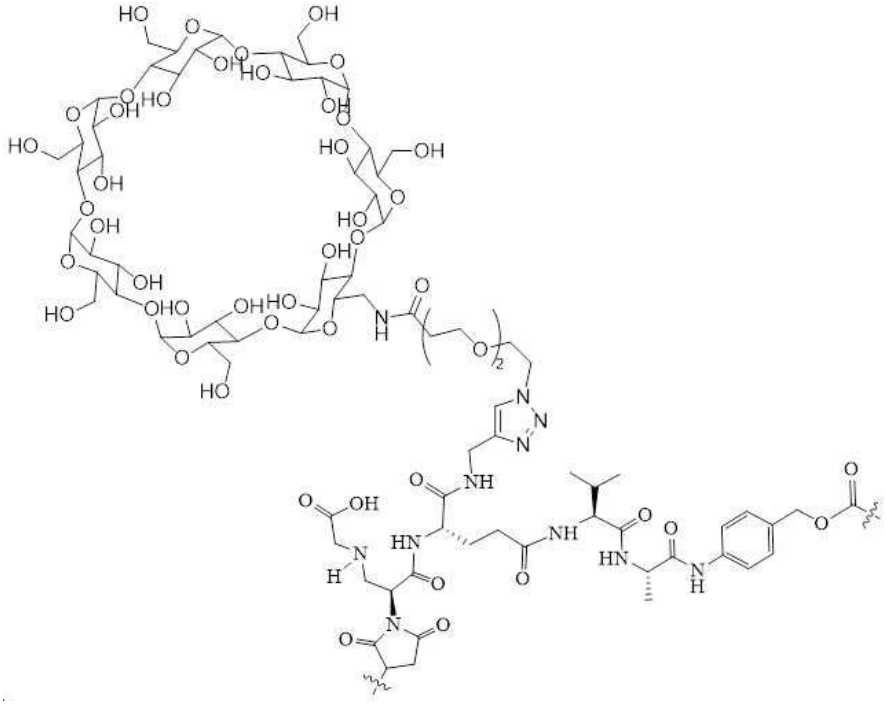
[0065] 특정 구현예에서, L_2는 다음으로 구성된 그룹에서 선택되고:

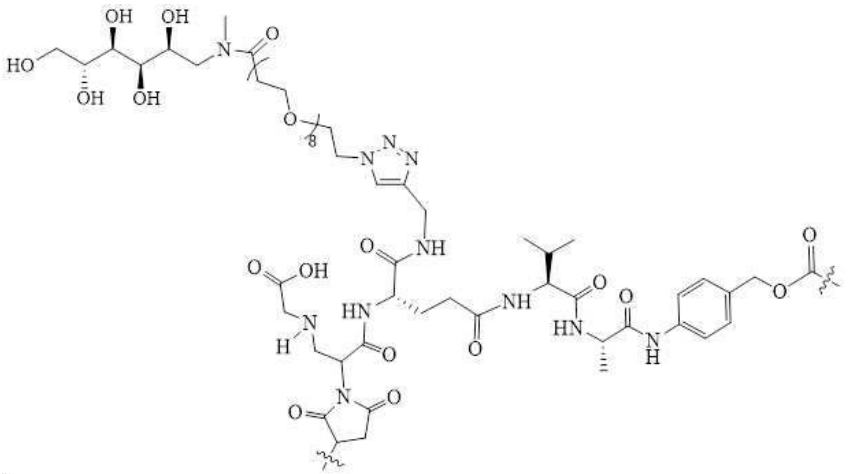


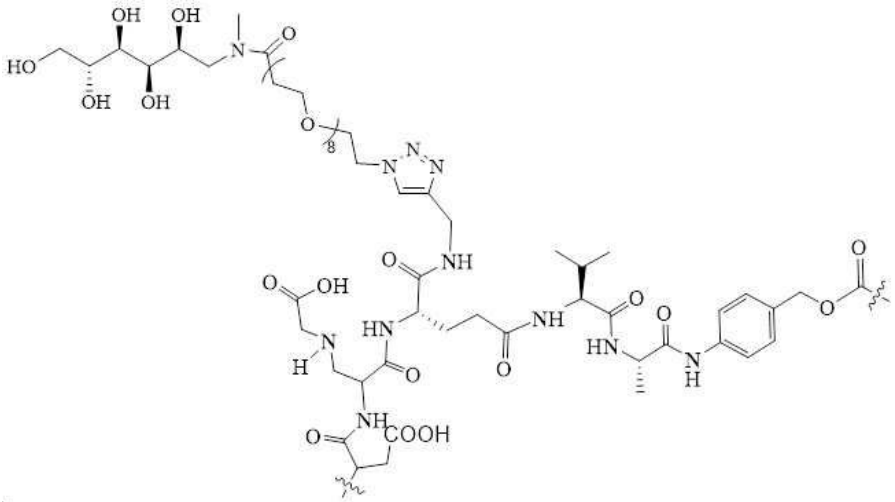
[0066]



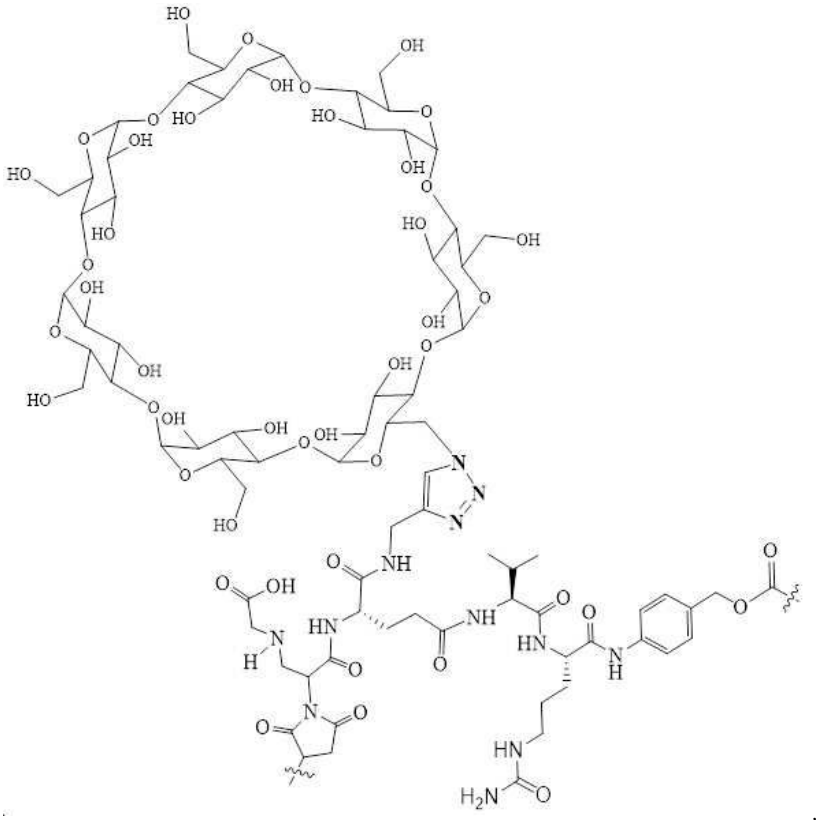




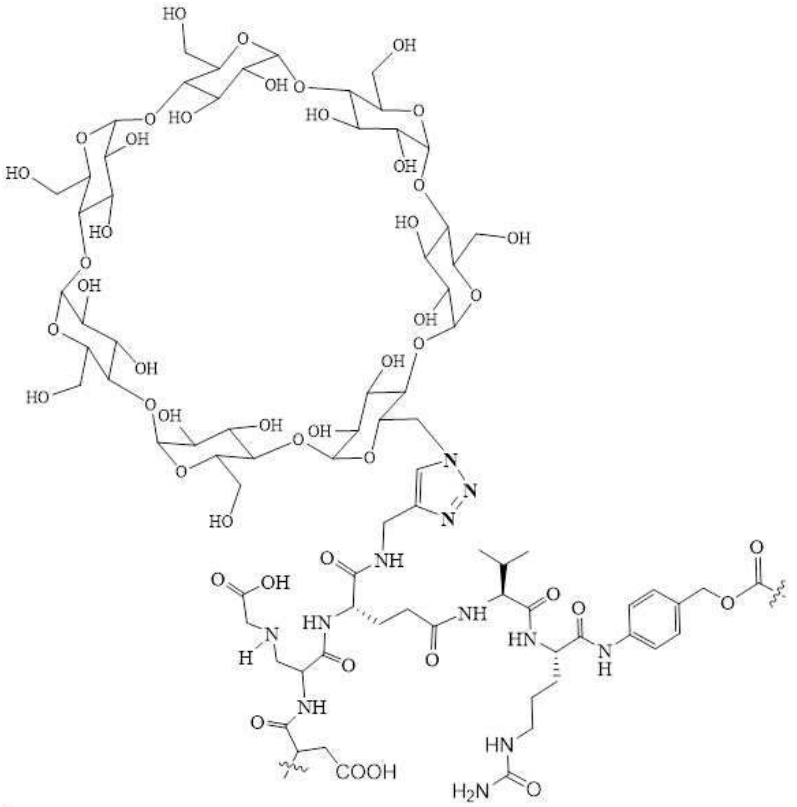




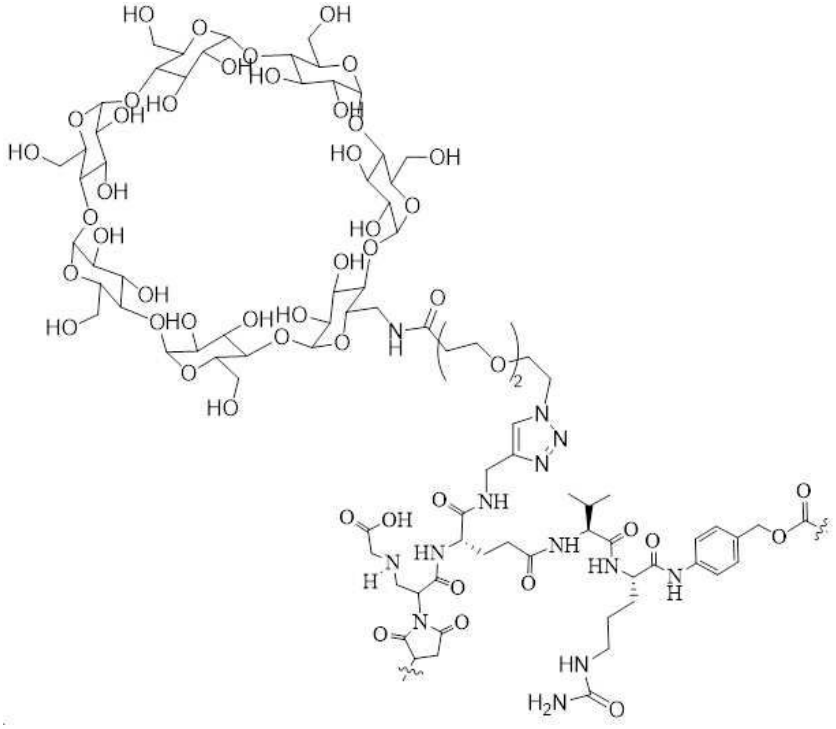
,



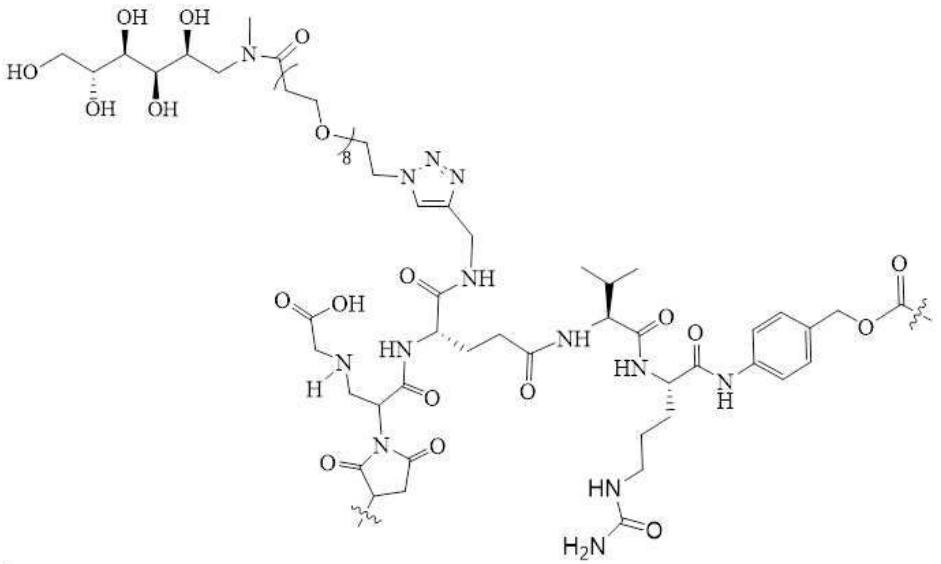
,



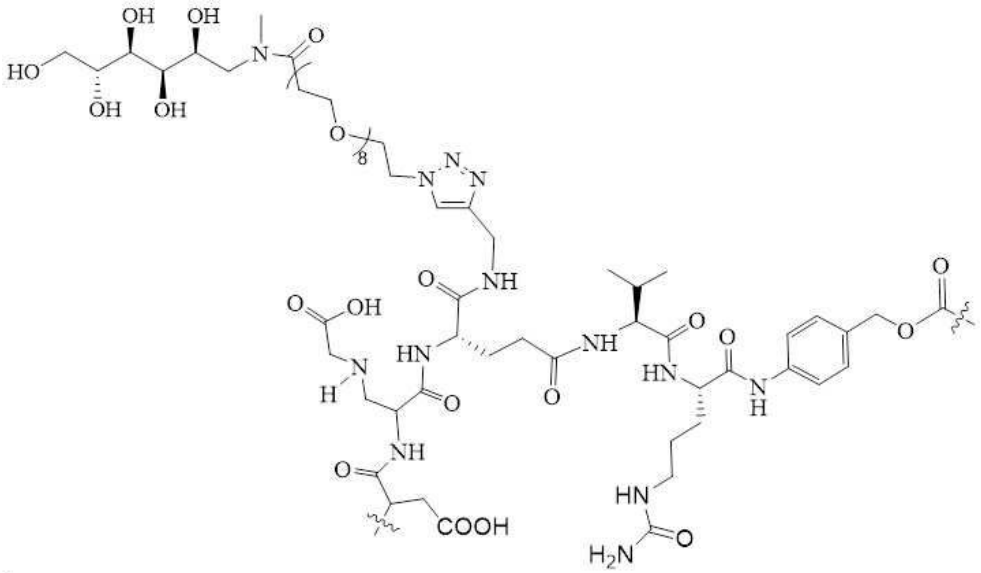
,



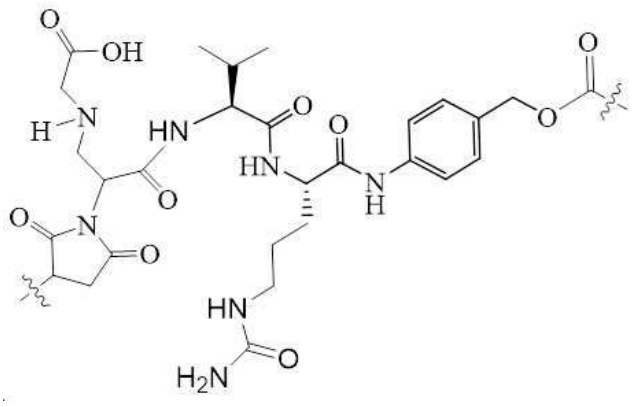
,



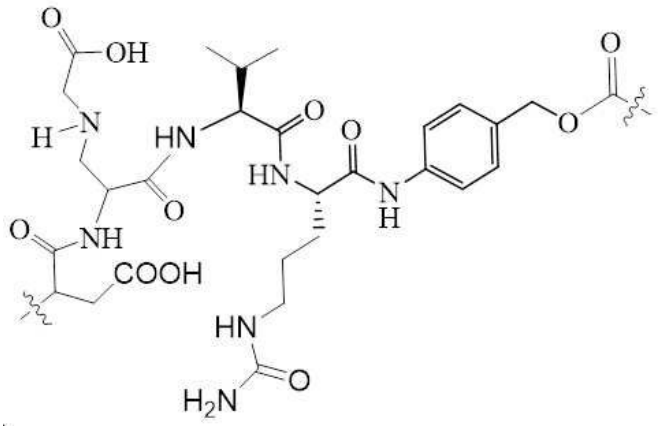
,



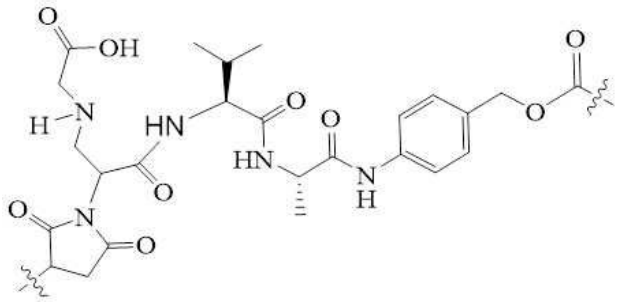
,



,



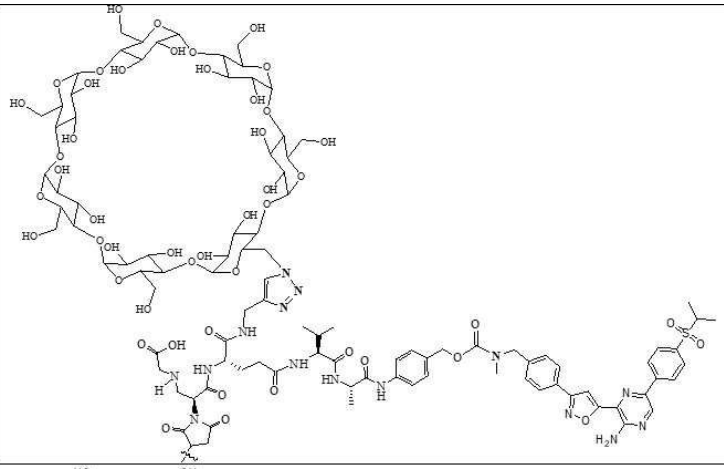
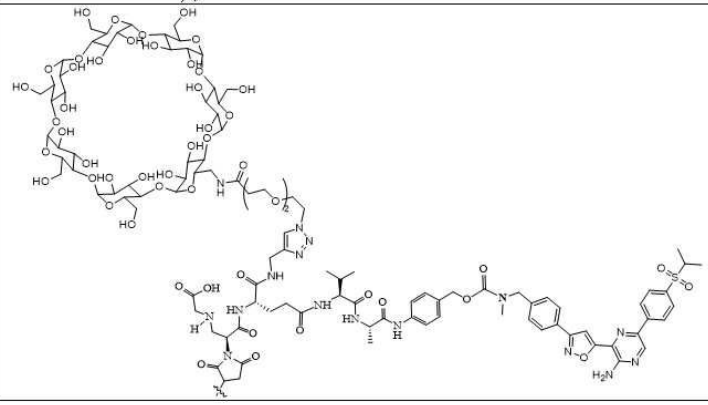
,



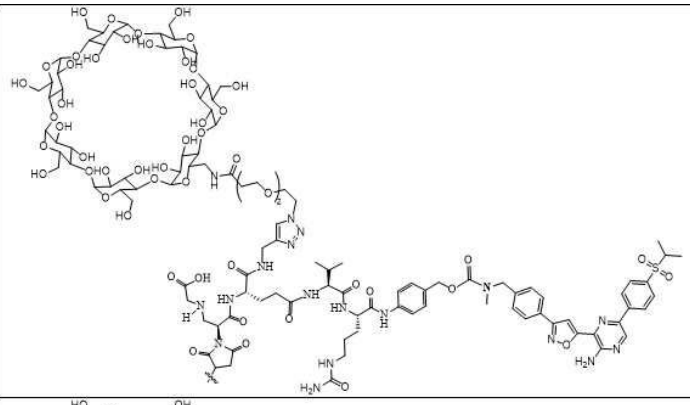
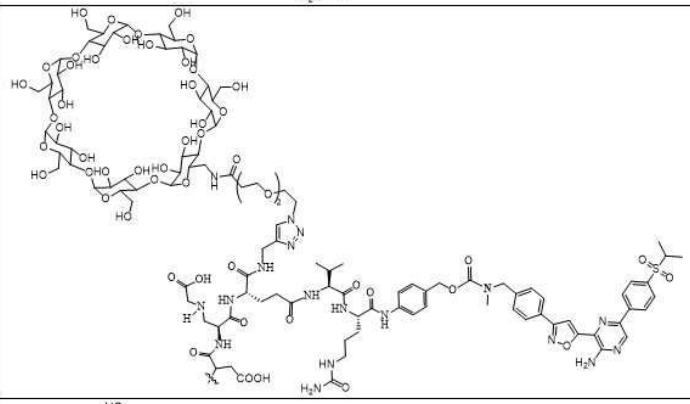
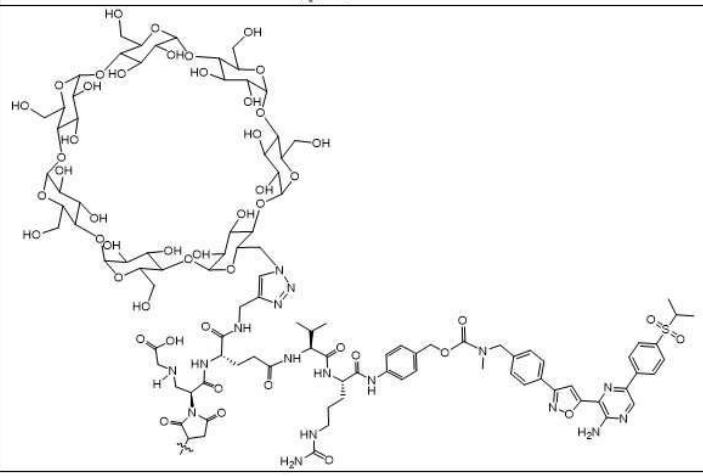
,

[0067] 이의 카르보닐 말단은 D_2에 연결된다.

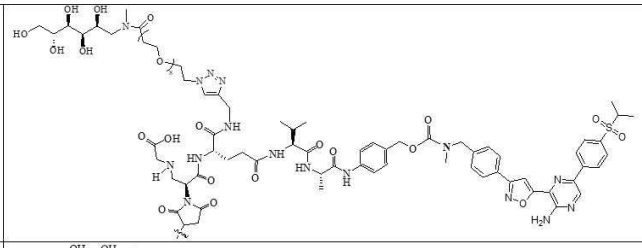
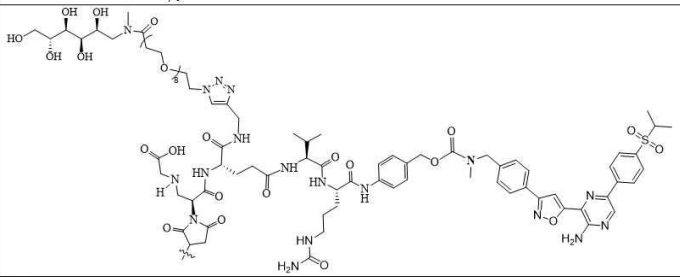
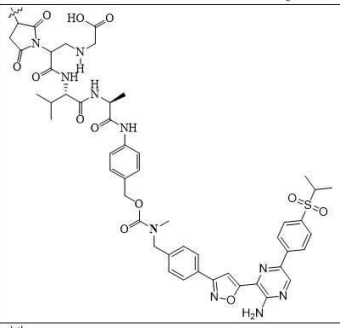
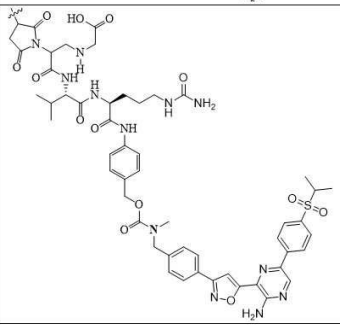
[0068] 본 발명의 일 구현예에서, D2-L2-는 다음으로 구성된 그룹으로부터 선택된다:

R01	
R01-1	

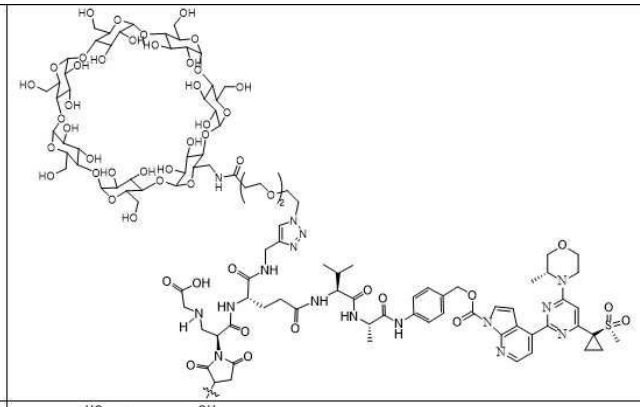
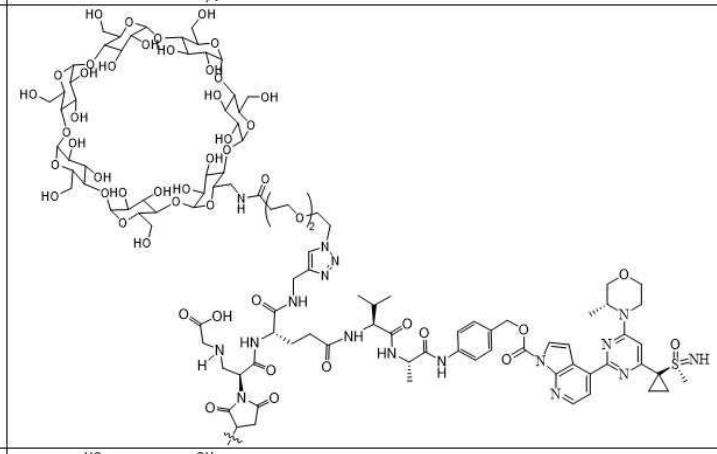
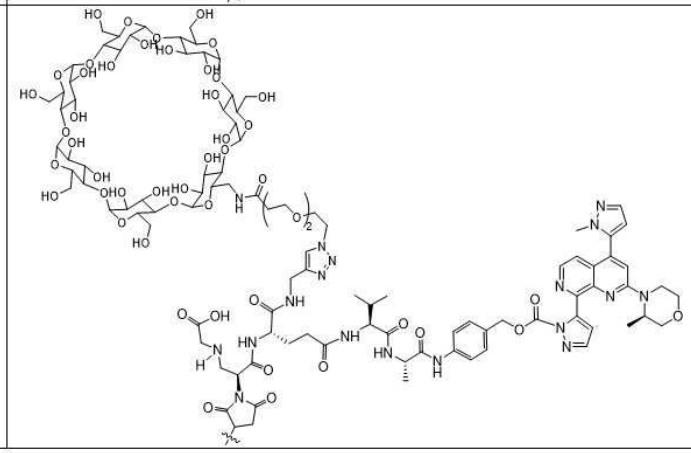
[0069]

R01-2	
R01-3	
R01-4	

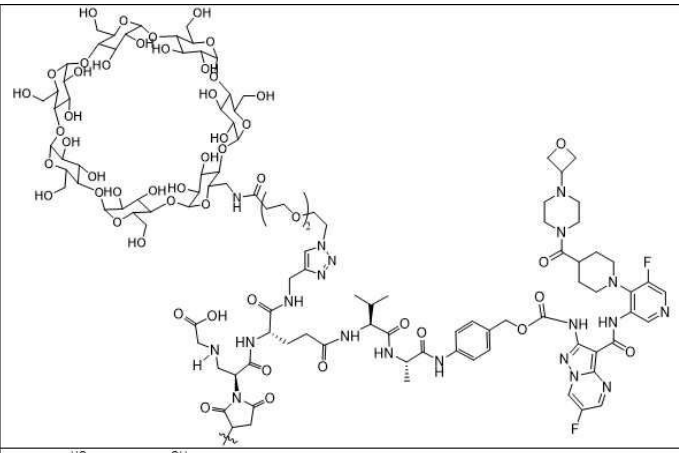
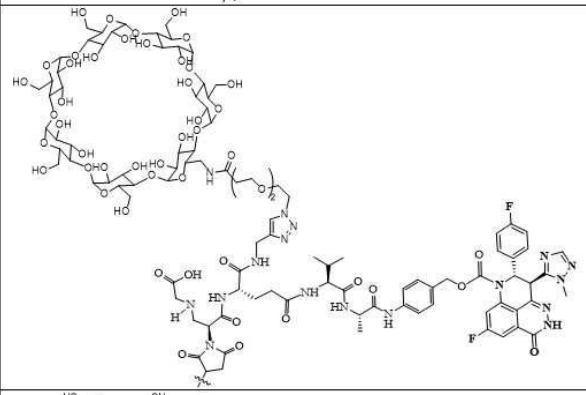
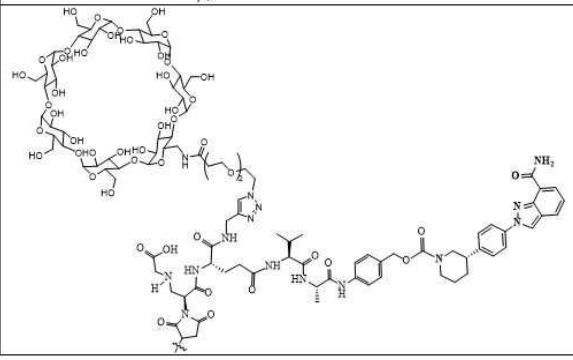
[0070]

R02	
R02-1	
R03	
R03-1	

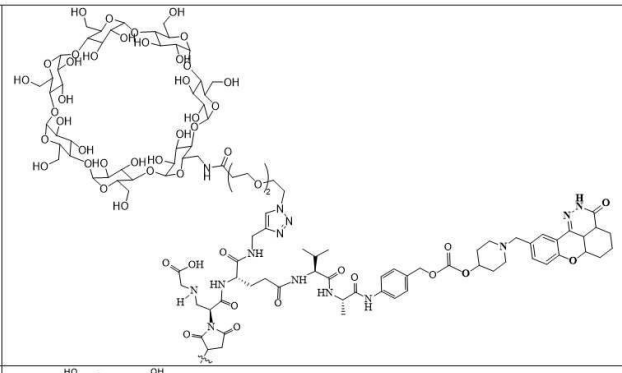
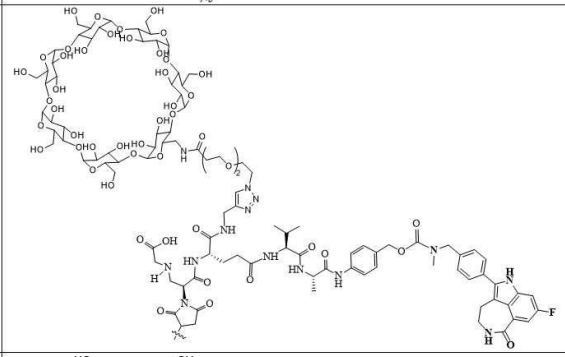
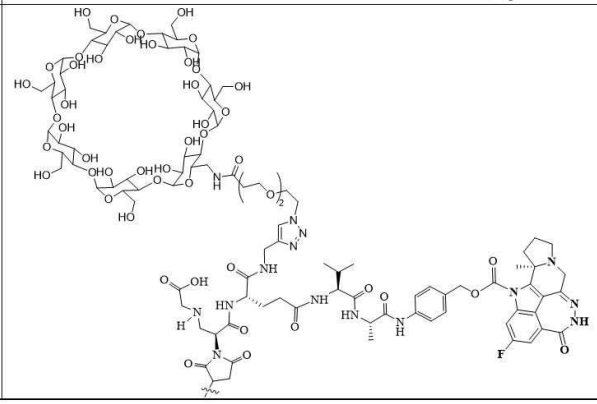
[0071]

AT01	
AT02	
AT03	

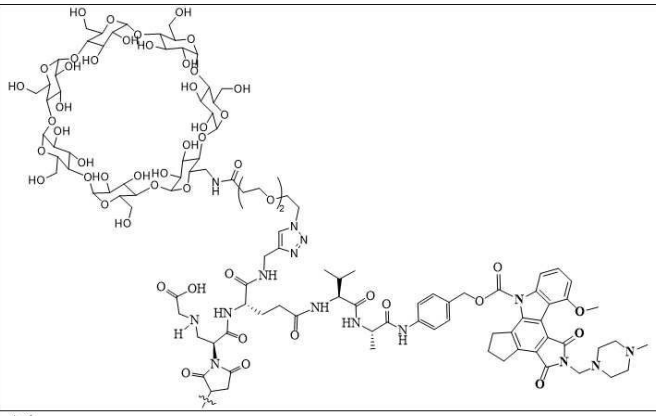
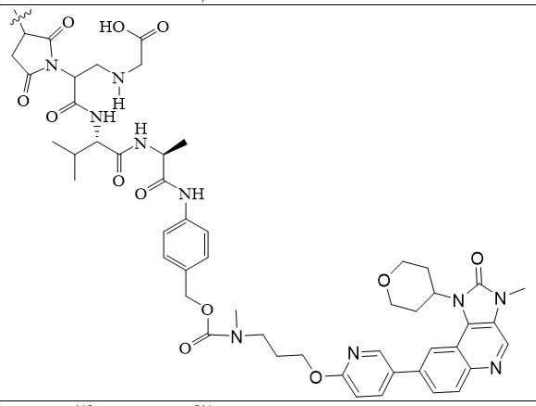
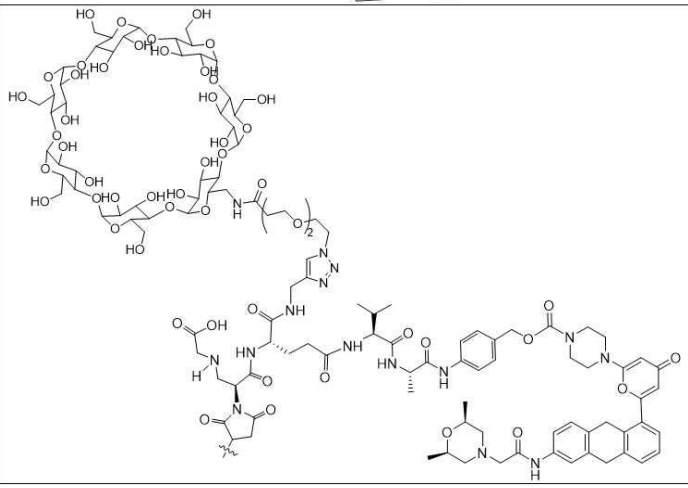
[0072]

AT04	
TA01	
VE01	

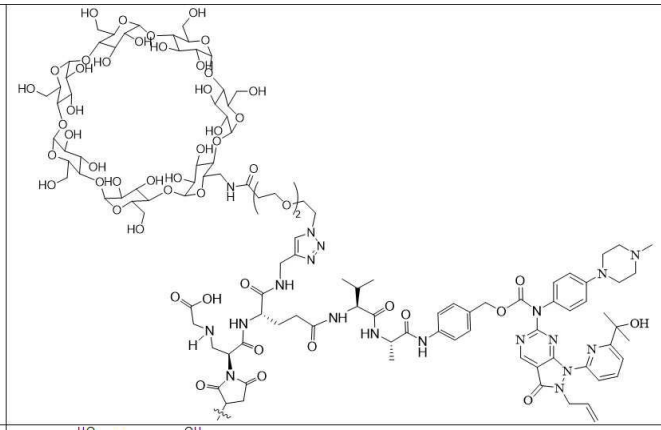
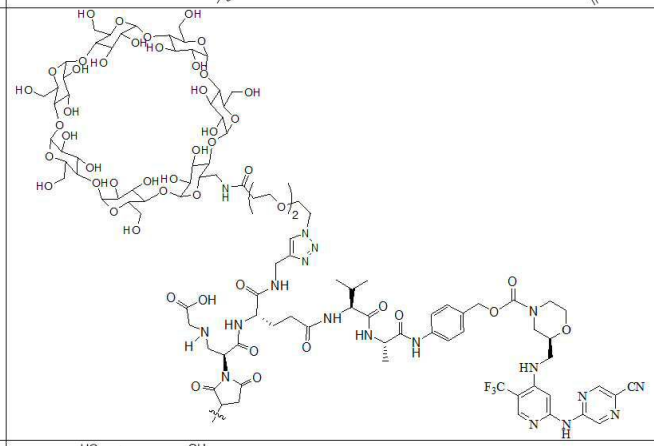
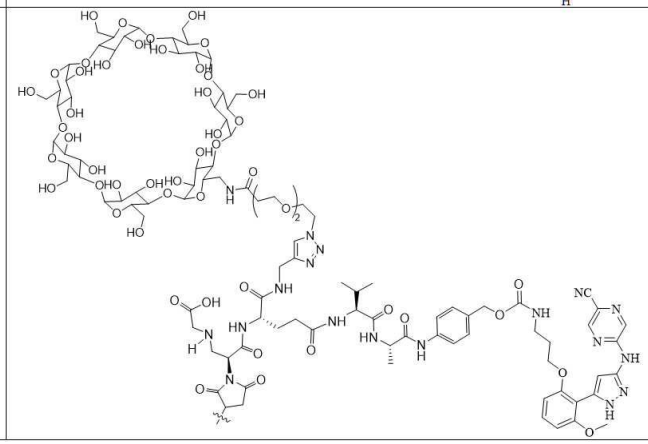
[0073]

E01	
RU01	
PA01	

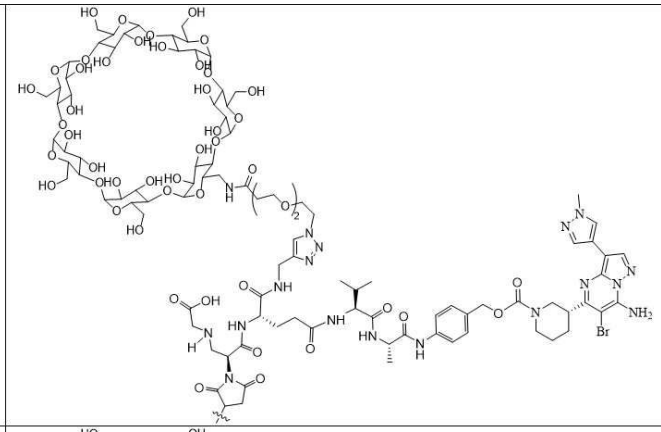
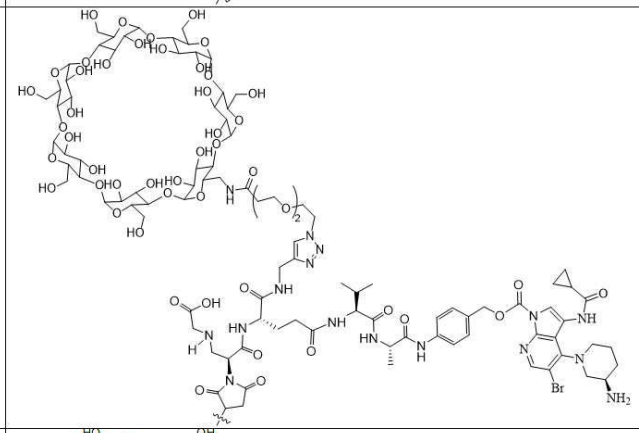
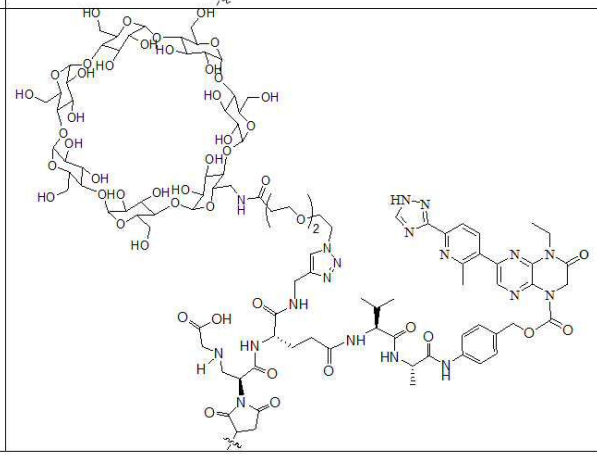
[0074]

CEP01	
TM01	
TM02	

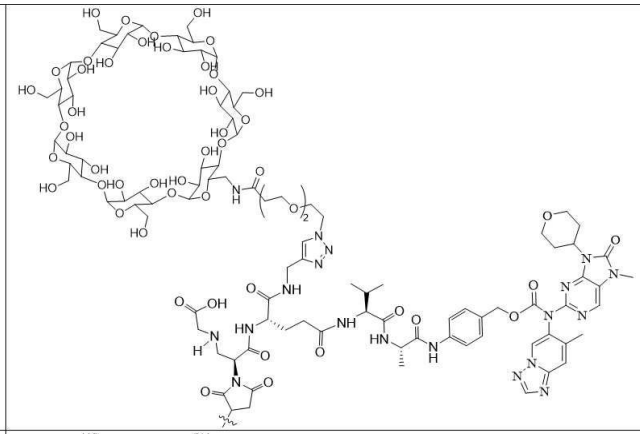
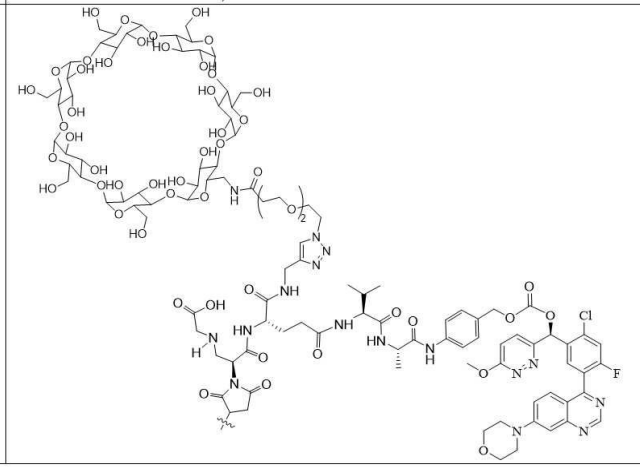
[0075]

WE01	
CH01	
CH02	

[0076]

CH03	
CH04	
DP01	

[0077]

DP02	
DP03	

[0078]

[0079] 특정 구현예에서, 제1 약물은 튜불린 결합제, DNA 손상제, 효소 억제제, 면역 조절제, 펩타이드 및 뉴클레오타이드로 구성된 그룹에서 제한 없이 선택된다.

[0080] 특정 구현예에서, 제1 약물은 다음으로 구성된 그룹에서 선택된다:

[0081] a) 알킬화제, PBD 및 그 유도체, 클로르페니라메이트, 클로르프로마진, 사이클로포스파마이드, 다카르바진, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로레타민, 디메톡시아민 염산염, 메클로레타민 산화물, 암로디핀 염산염, 미코페놀산, 둘시톨, 피포브로만, 노보엠비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 티오테파, 트로포스파마이드, 우라실; CC-1065; 도카마이신; 벤조디아제핀 다이머; 니트로소우레아; 알킬 설포네이트; 트리아젠; 백금 함유 화합물; 크로마논, 퀴놀론, 메투레데파 및 마도파와 같은 아지리딘; 헥사메틸멜라민, 트리에틸렌트리아민, 트리에틸포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 트리메틸올메틸아민을 포함한 에틸렌이민 및 메틸멜라민 및 이의 유도체 및 중수소화물;

[0082] b) 식물 알칼로이드, 빈카 알칼로이드, 탁솔 및 그 유사체, 메이탄시노이드 및 그 유사체, 크립토피신, 에포틸론, 엘루테로빈, 디스코데르몰리드, 브리오스타틴, 아플리시아톡신, 오리스타틴, 튜불리신, 세팔로스타틴, 판크라티스타틴, 사르코딕티인, 스폰지스타틴, 모노메틸 오리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 오리스타틴 F(MMAF), 메이탄시노이드(예: 메이탄신 DM1, 메이탄신 DM4), 아마톡신 및 이의 유도체 및 중수소화물;

[0083] c) DNA 토포이소머라제 억제제, 에토포시드, 테니포시드, 9-아미노캄토테신, 캄토테신, 크리스나톨, 다우노마이신, 에토포시드 인산, 이리노테칸, 미톡산트론, 노반트론, 레티노산, 테니포시드, 토포테칸, 9-니트로캄토테신, SN38, 미토마이신 및 이의 유도체 및 중수소화물;

[0084] d) 항대사제, 항엽산제, DHFR 억제제; MP 탈수소효소 억제제; 리보뉴클레오티드 환원효소 억제제; 피리미딘 유사체, 우라실 유사체; 시토신 유사체; 퓨린 유사체; 엽산 보충제;

[0085] e) 호르몬 치료제, 수용체 길항제, 항에스트로겐, LHRH 작용제; 항안드로겐; 레티노이드, 비타민 D3 유사체; 광역학적 치료제; 사이토카인, TNF를 포함하는 인간 단백질 및 이의 유도체 및 중수소화물;

[0086] f) 키나제 억제제, BIBW2992, 이마티닙, 게피티닙, 페갑타닙, 소라페닙, 다사티닙, 수니티닙, 에를로티닙, 닐로

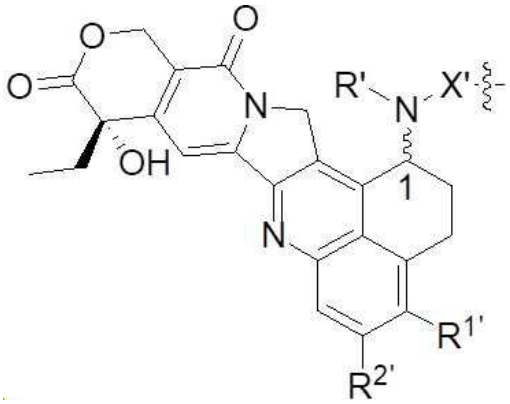
티닙, 라파티닙, 악시티닙, 파조파닙, 반데타닙, E7080, 무브리티닙, 포나티닙, 바페티닙, 보수티닙, 카보잔티닙, 비스모데깁, 이니파립, 룩소리티닙, CYT387, 악시티닙, 티보자닙, 소라페닙, 베바시주맙, 세툭시맙, 트라스투주맙, 라니비주맙, 파니투무맙, 이스피네십 및 이의 유도체 및 중수소화물;

[0087] g) 항생제, 에네다이인 항생제, 아클라시노마이신, 안트라마이신, 암리노마이신, 아자세린, 블레오마이신, 세토사이클린, 칼라마이신, 카르미노마이신, 카르시노필린, 독소루비신, 모르폴리노 독소루비신, 2-피롤린 독소루비신 및 데옥시다우노루비신, 에피루비신, 아클라루비신, 이다루비신, 마르코마이신, 마이신, 미코페놀산, 로피마이신, 펠로마이신, 푸로마이신, 트리페릭 독소루비신, 스트렙토조토신, 스트렙토조토신, 튜베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신, PNU-159682 및 이의 유도체 및 중수소화물;

[0088] h) 폴리케타이드, 특히 불라타신 및 불라타시논; 젬시타빈, 에폭소마이신, 보르테조밉, 탈리도마이드, 레날리도마이드, 포말 이도마이드, 토세도스타트, 지브레스타트, PLX4032, STA-9090, 스티무박스, 알로벡틴-7, 제게바, 프로벤지, 예르보이, 프레닐화 억제제, 도파민성 신경독소, 액티노마이신, 블레오마이신, 안트라사이클린계 항생제, 독소루비신, 이다루비신, 에피루비신, 라루비신, 조루비신, 미톡산트론, MDR 억제제, Ca2+ ATPase 억제제, 히스톤 탈아세틸화효소 억제제, 셀레콕십, 글리타존, 에피갈로카테킨 갈레이트, 디술피람, 살리노스포라미드 A; 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄, 아세글라톤, 알드포스포라미드, 아미노레불린산, 암사크린, 아라비노사이드, 베스트라부시, 비산트렌, 에다트락세이트, 데포파민, 마이케신, 디아지쿠온, 에플로르니틴, 엘포르니틴, 셀립튬, 에틸글루콘산, 질산갈륨, 시토신, 하이드록시우레아, 이반드로네이트, 렌티난, 로니다민, 미토구아존, 미톡산트론, 모피다몰, 니트라크린, 펜토스타틴, 페나메트, 피라루비신, 포도필산, 2-에틸히드라진, 프로카바진과 같은 항부신제; PSK®; 라족산; 리조마이신; 시조(sizzo); 스피로게르마늄; 테누아존산, 트리아지쿠온; 트리클로로트리에틸아민; 트리코테센, 폴리우레탄, siRNA 및 안티센스 약물과 그 유도체 및 중수소화물.

[0089] 특정 구현예에서, 제1 약물 D1은 캄프토테신 기반 화합물 또는 이의 중수소화물이다.

[0090] 특정 구현예에서, 캄프토테신 기반 화합물은 화학식 B로 표현되는 구조를 갖고,



[0091]

[0092] 화학식 B

[0093] 여기에서:

[0094] N 원자에 연결된 키랄 탄소 원자 No. 1은 R 또는 S 배열에서 절대 키랄성을 가지고;

[0095] R'은 H, D, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 중수소화 알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 그룹에서 선택되며;

[0096] R^{1}'은 H, D, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 중수소화 알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 카르복실, 헤테로사이클릴, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 그룹에서 선택되고;

[0097] R^{2}'는 H, D, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 중수소화 알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 카르복실, 헤테로사이클릴, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 그룹에서 선택되며;

[0098] X'는 $-C(O)-(CR^{3}'R^{4}')t-CR^{a}'R^{b}'-O-$, $-C(O)-(CR^{3}'R^{4}')t-CR^{a}'R^{b}'-NH-$ 및 $-C(O)-(CR^{3}'R^{4}')t-CR^{a}'R^{b}'-S-$로 구성된 군에서 선택되고, 바람직하게는 그 카르보닐 말단은 N 원자에 연결되며;

[0099] R^a'는 H, D, 할로겐, 알킬, 중수소화 알킬, 할로알킬, 시클로알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 헤테로시클릴, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택되고;

[0100] R^b'는 H, D, 할로겐, 알킬, 중수소화 알킬, 할로알킬, 시클로알킬, 시클로알킬알킬, 알콕시알킬, 헤테로시클릴, 아릴, 치환된 아릴 및 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택되며;

[0101] 또는 R^a', R^b' 및 이들이 연결된 탄소 원자는 C3-C6 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬 또는 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0102] 동일하거나 다른 R^3', R^4'는 각각 H, D, 할로겐, 알킬, 할로알킬, 중수소화 알킬, 알콕시, 하이드록시, 아미노, 시아노, 니트로, 하이드록시알킬, 사이클로알킬 및 헤테로사이클릴로 구성된 그룹에서 독립적으로 선택되며;

[0103] 또는 R^3', R^4' 및 이들이 연결된 탄소 원자는 C3-C6 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬 또는 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0104] X'에 연결된 오른쪽 물결선은 L_1에 연결되며;

[0105] t는 0 내지 4 중에서 선택된 정수(예: 0, 1, 2, 3 또는 4)이다.

[0106] 특정 구현예에서, R'은 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택된다.

[0107] 특정 구현예에서, R'은 H이다.

[0108] 특정 구현예에서, R^1'은 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택된다.

[0109] 특정 구현예에서, R^1'은 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택된다.

[0110] 특정 구현예에서, R^1'은 메틸이다.

[0111] 특정 구현예에서, R^2'는 할로겐으로 구성된 군에서 선택된다.

[0112] 특정 구현예에서, R^2'는 F이다.

[0113] 특정 구현예에서, X'는 -C(O)-(CR^3'R^4')t-CR^a'R^b'-O-에서 선택되고, 바람직하게는 그 카르보닐 말단이 N 원자에 연결된다.

[0114] 특정 구현예에서, X'는 -C(O)-CR^a'R^b'-O-에서 선택되고, 바람직하게는 그 카르보닐 말단이 N 원자에 연결된다.

[0115] 특정 구현예에서, R^a'는 H 및 C1-C6 알킬로 구성된 군에서 선택된다.

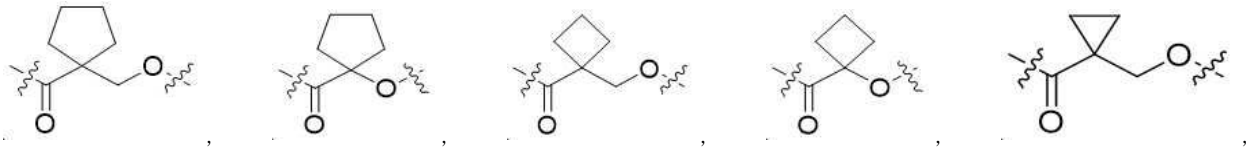
[0116] 특정 구현예에서, R^a'는 H이다.

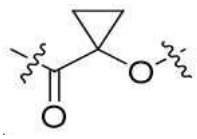
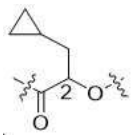
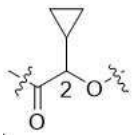
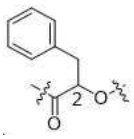
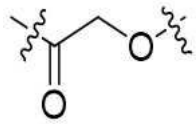
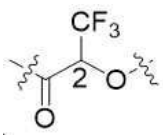
[0117] 특정 구현예에서, R^b'는 H, D, C1-C6 알킬, C3-C6 시클로알킬 및 C1-C6 할로알킬로 구성된 그룹에서 선택된다.

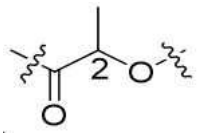
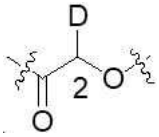
[0118] 특정 구현예에서, R^b'는 H, D, 메틸, 시클로프로필 및 트리플루오로메틸로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0119] 특정 구현예에서, t는 0이다.

[0120] 특정 구현예에서, X'는 다음 구조로 구성된 그룹에서 제한 없이 선택된다:

[0121] 

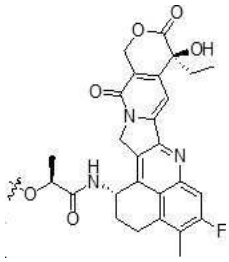
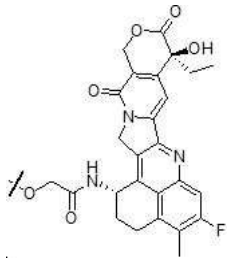
 ,  ,  ,  ,  ,  ,

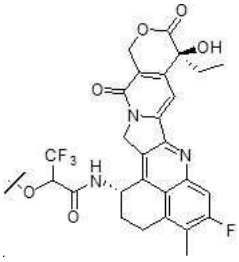
 , 또는  ;

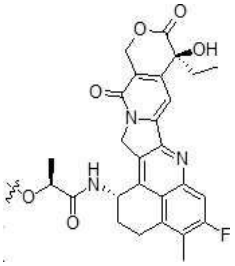
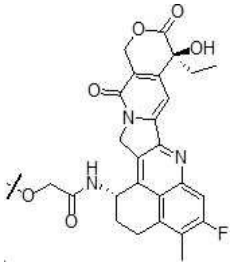
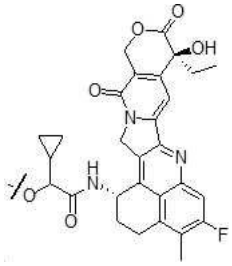
[0122] 여기서:

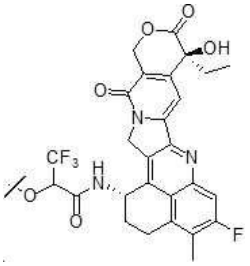
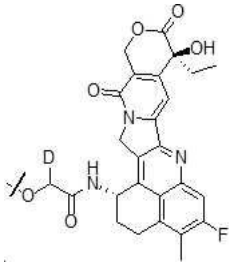
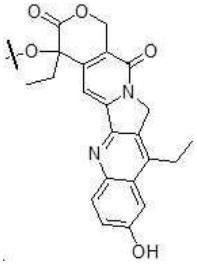
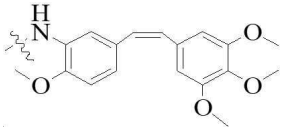
[0123] 키랄 탄소 원자 번호 2는 R 또는 S 배열에서 절대 키랄성을 가지고;

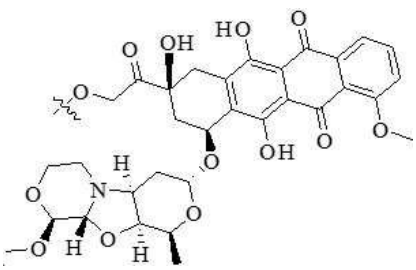
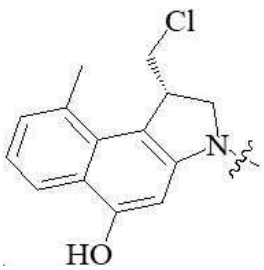
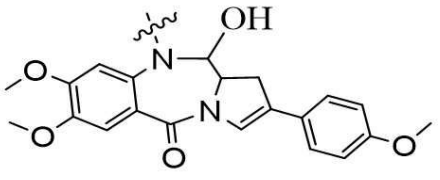
[0124] 왼쪽 물결선은 화학식 B로 표현되는 화합물의 N에 연결되고, 오른쪽 물결선은 L_1에 연결된다.

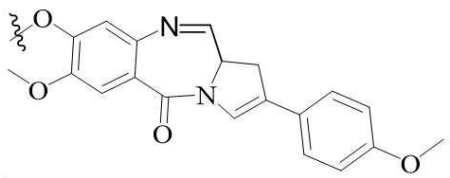
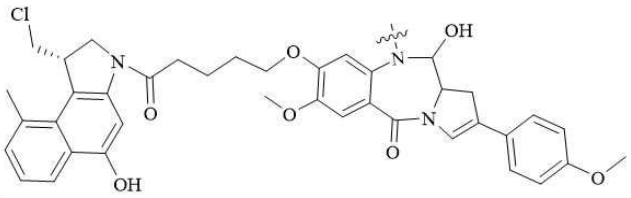
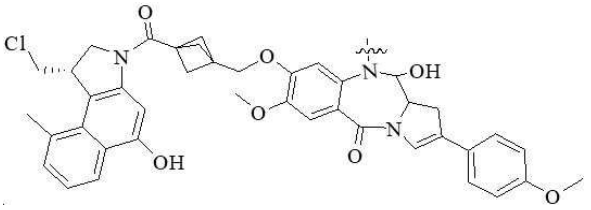
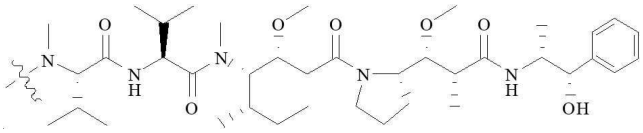
[0125] 특정 구현예에서, 화학식 B로 표현되는 화합물은  ,  ,

 ,  , 및  으로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0126] 특정 구현예에서, 제1 약물은  ,  ,  ,

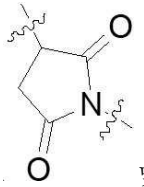
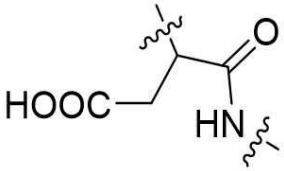
 ,  ,  ,  ,

 ,  ,  ,

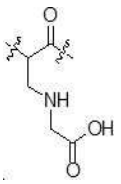
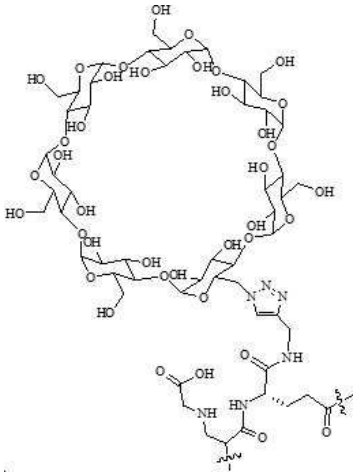
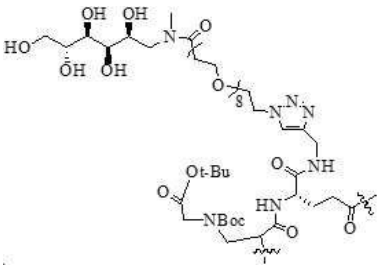
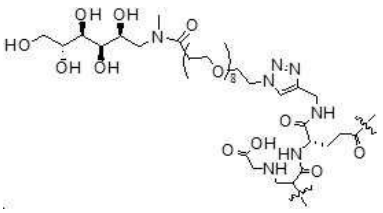
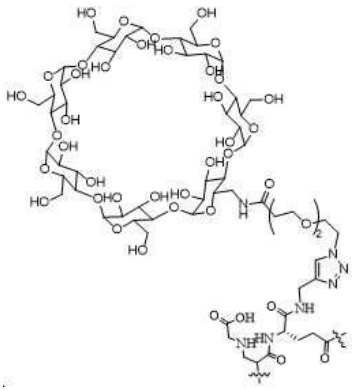
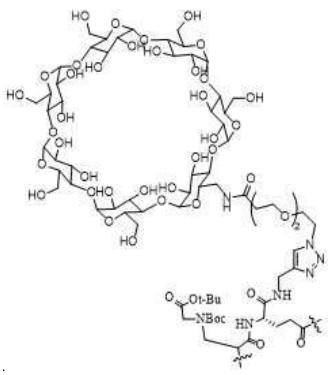

,

,

,

및
으로 구성된 그룹에서 선택된다.

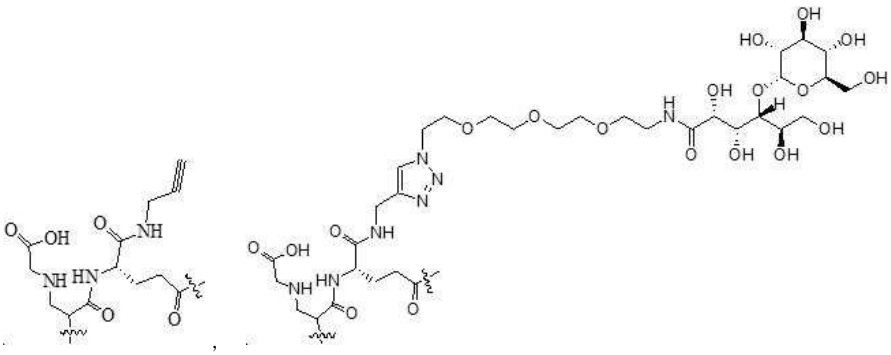
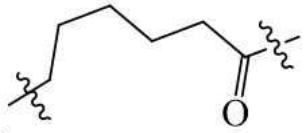
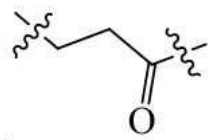
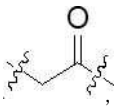
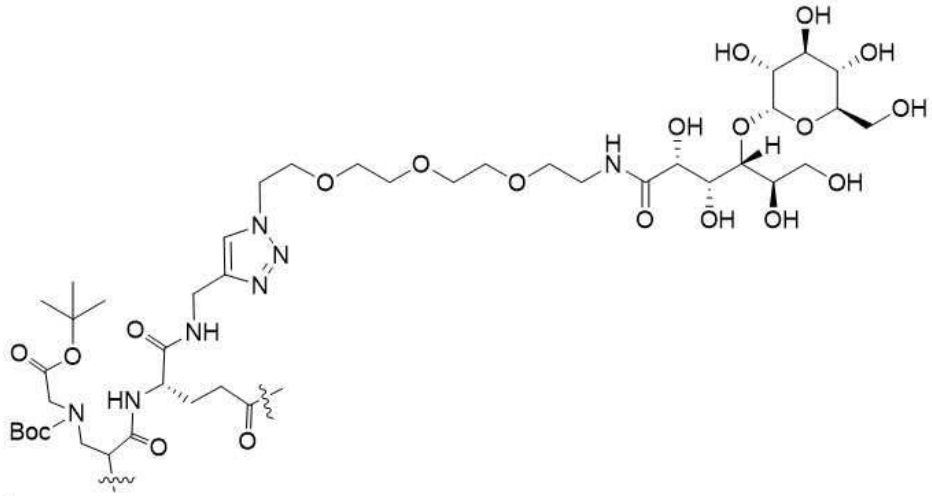
[0127] 특정 구현예에서, 제1 연결 단위는 파손 가능하거나 파손 불가능한 연결 단위이다.

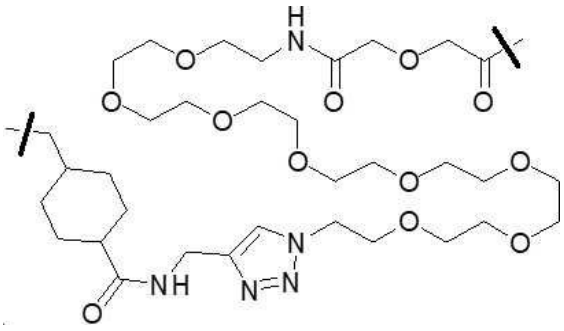
[0128] 특정 구현예에서, L_1은 L_{11}-L_{12}-L_{13}-L_{14}이고, L_{14}는 D_1에 연결되고, L_{11}은 Ab에 연결되고(바람직하게는, L_{11}은 티올기를 통해 Ab에 결합됨),

[0129] L_{11}은  및  로 구성된 그룹에서 선택되고, 이의 N 말단은 L_{12}에 연결되며,

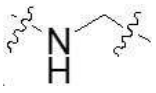
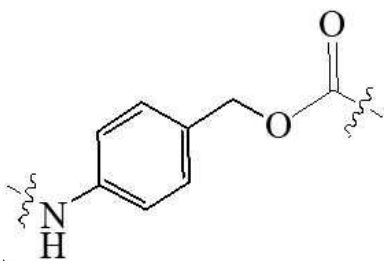
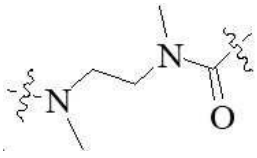
[0130] L_{12}는 다음으로 구성된 그룹에서 선택되고:

[0131] 
,

,

,

,

,

,






, 및

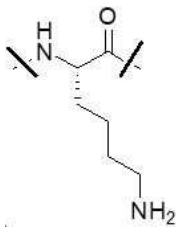
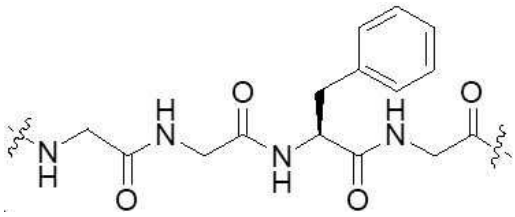
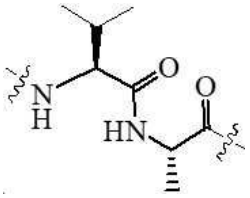
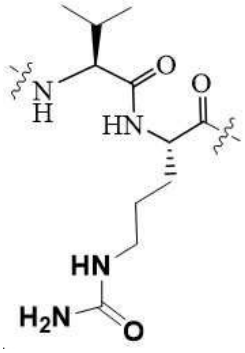
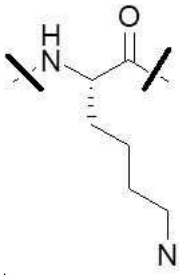
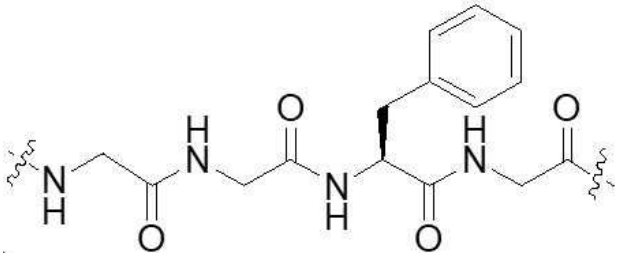
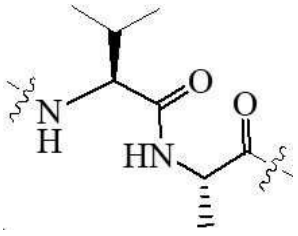
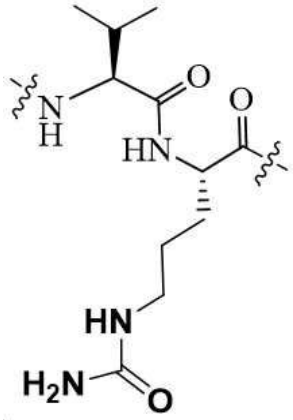

, 이들의 카르보닐 말단은 L_{13} 또는 L_{14}에 연결되며;

[0133] L_{13}은 직접 결합, 아미노산 잔기 또는 2~10개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기로부터 선택되고, L_{13}이 아미노산 잔기 또는 2~10개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기로부터 선택되는 경우, 그 카르보닐 말단은 L_{14}에 연결되며;

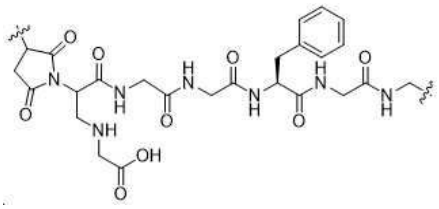
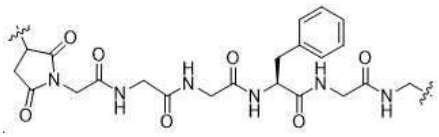
[0134] L14는  ,  , 및  로 구성된 군에서 선택되며, 아미노 말단은 L_{13} 또는 L_{12}에 연결되고, 카르보닐 말단 또는 탄소 말단은 D_1에 연결된다.

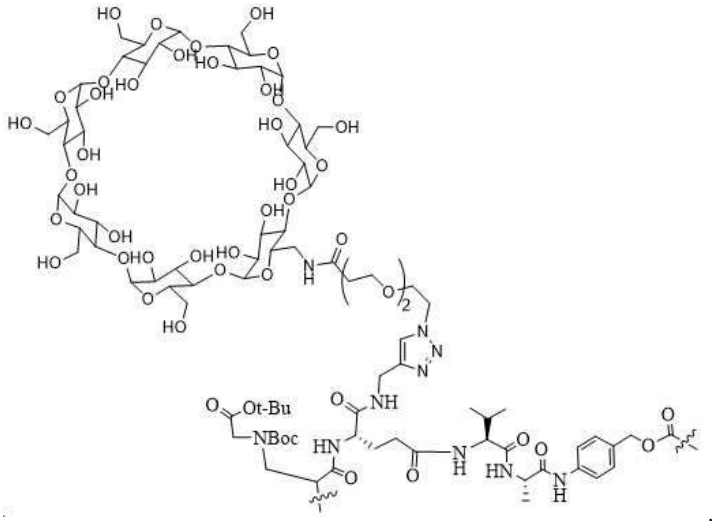
[0135] 특정 구현예에서, L_{13}은 직접 결합, 아미노산 잔기 또는 2~4개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기로부터 선택되고, L_{13}이 아미노산 잔기 또는 2~4개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드 잔기로부터 선택되는 경우, 그 카르보닐 말단은 L14에 연결되고, 바람직하게는 아미노산은 발린, 알라닌, 페닐알라닌, 글리신, 리신, 시트룰린, 세린, 글루탐산 및 아스파르트산으로 구성된 군으로부터 선택되고, 더욱 바람직하게는 아미노산은 발린, 알라닌, 페닐알라닌, 글리신, 시트룰린 및 리신으로 구성된 군으로부터 선택된다.

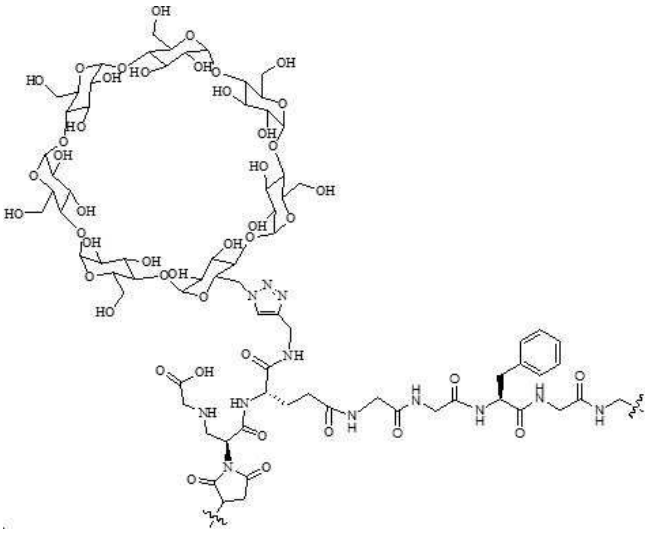
[0136] 특정 구현예에서, L_{13}은 직접 결합, 리신, 글리신-글리신-페닐알라닌-글리신(Gly-Gly-Phe-Gly), 발린-알라닌(Val-Ala) 및 발린-시트룰린(Val-Cit)으로 구성된 군에서 선택되고, L_{13}이 리신, 글리신-글리신-페닐알라닌-글리신(Gly-Gly-Phe-Gly), 발린-알라닌(Val-Ala) 및 발린-시트룰린(Val-Cit)으로 구성된 군에서 선택되는 경우, 그 카르보닐 말단은 L_{14}에 연결된다.

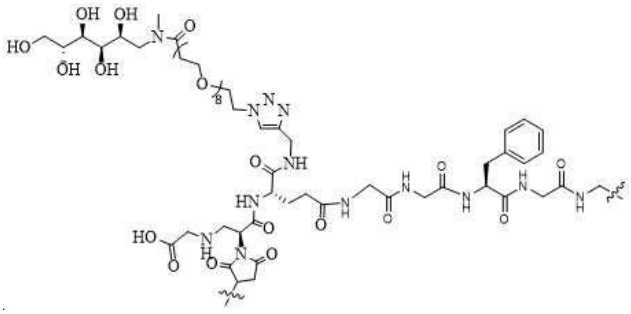
[0137] 특정 구현예에서, L_{13}은 직접 결합,  ,  ,  및  로 구성된 군으로부터 선택되고, L_{13}이  ,  ,  및  로 구성된 군으로부터 선택되는 경우, 그 카르보닐 말단은 L_{14}에 연결된다.

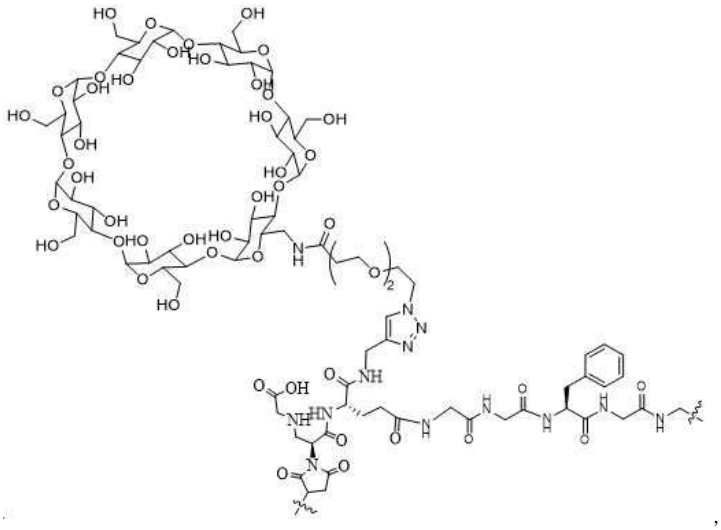
[0138] 특정 실시예에서, L1은 다음으로 구성된 그룹에서 선택된다:

[0139]  ,  ,

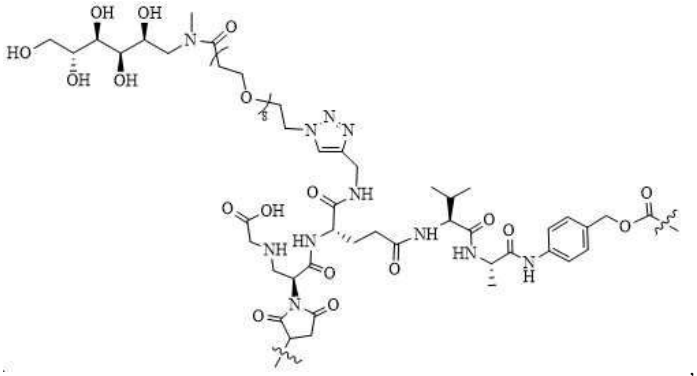
 ,

 ,

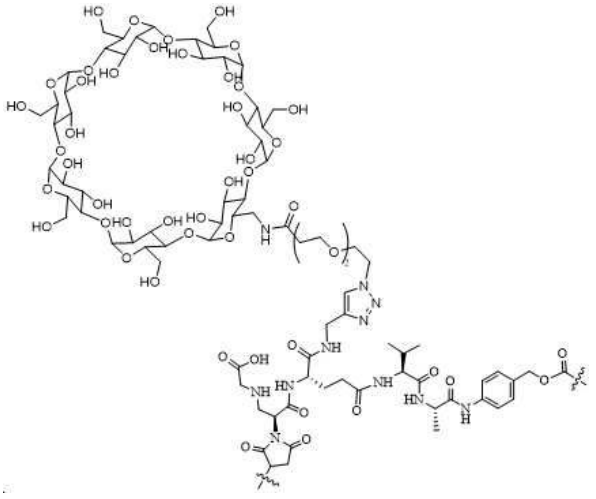
 ,



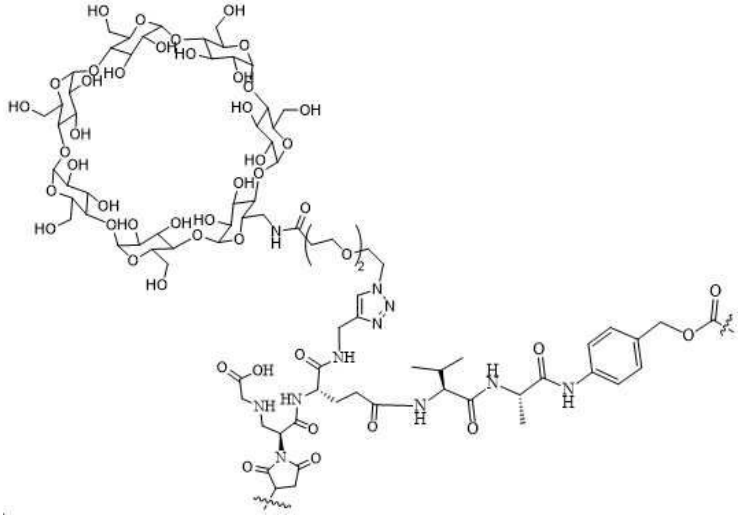
,



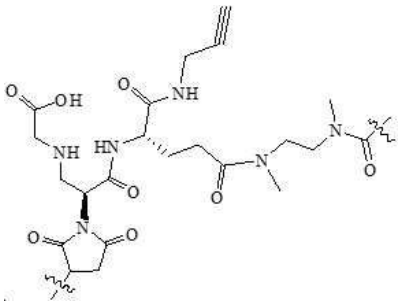
,



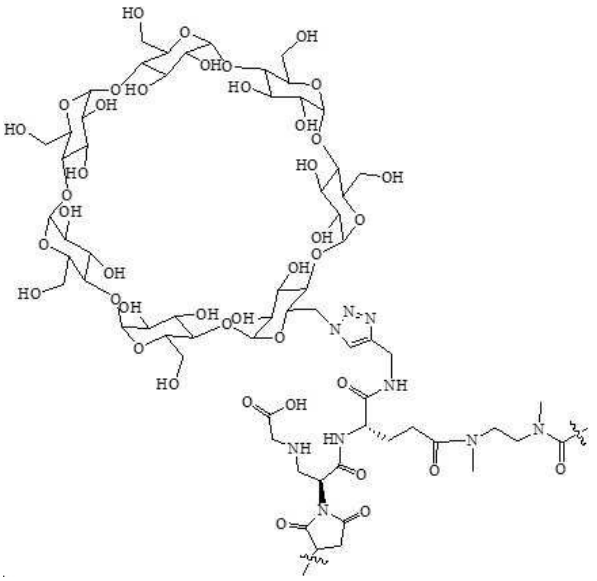
,



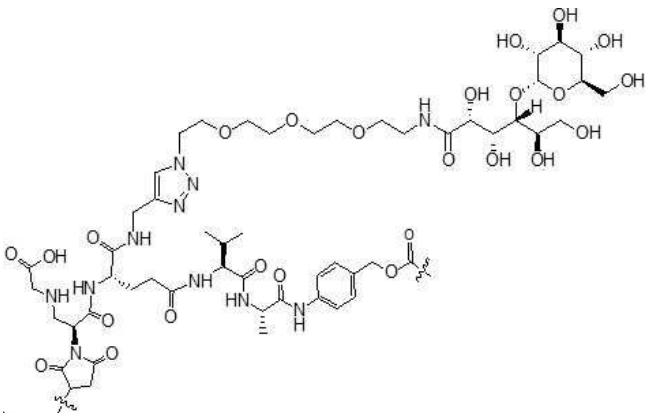
,



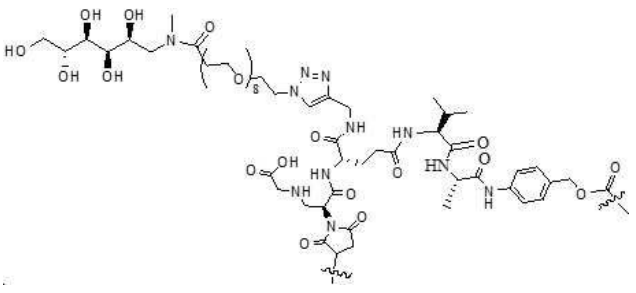
,



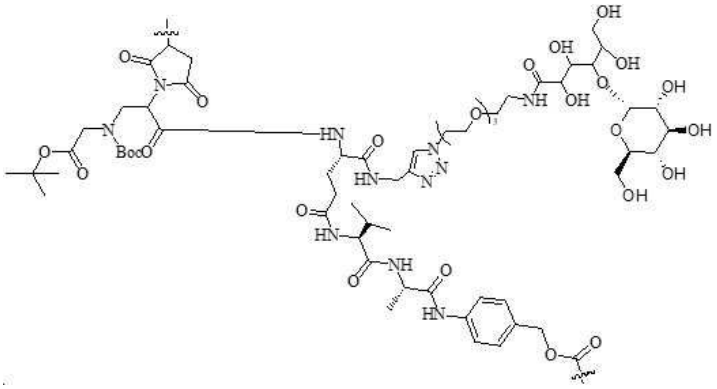
,

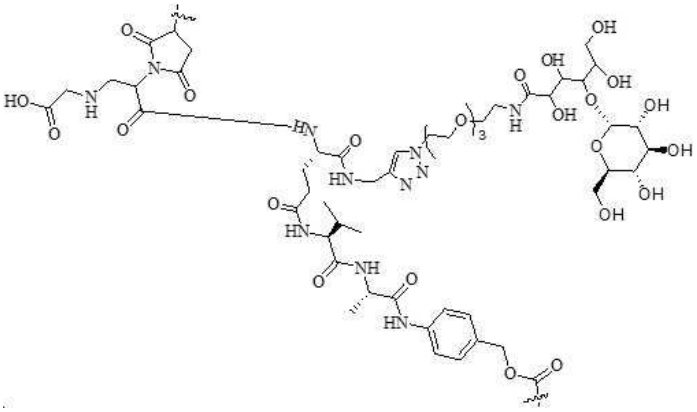


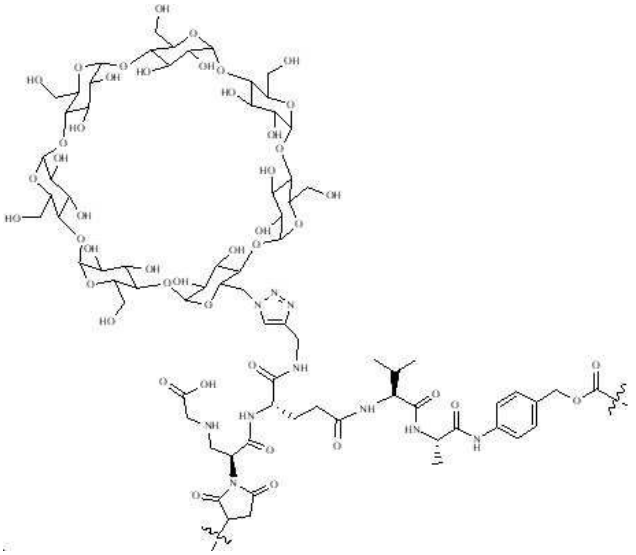
,

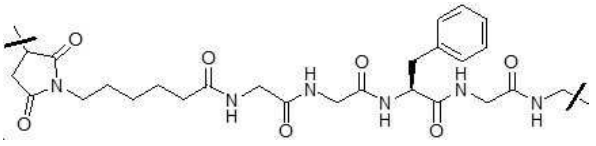


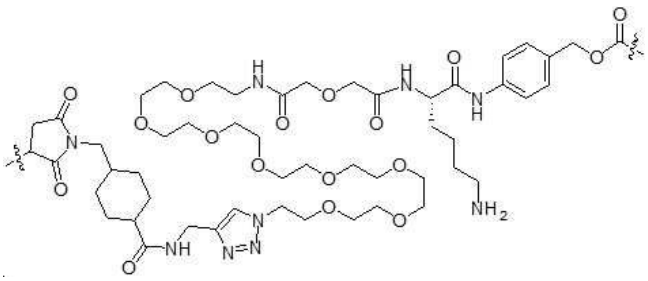
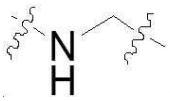
,


,


,

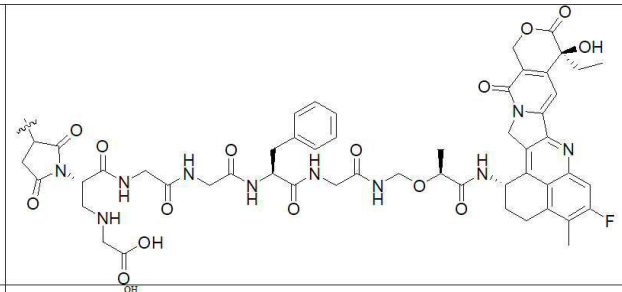
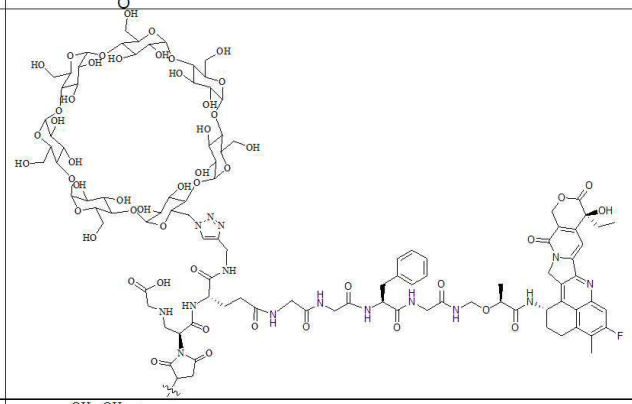
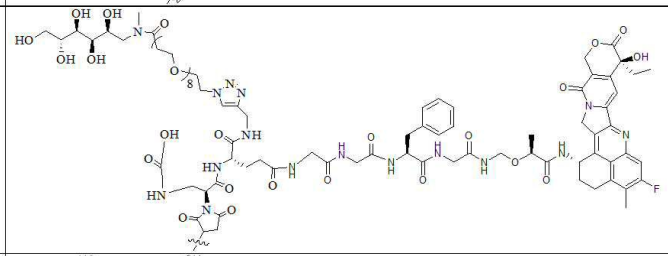
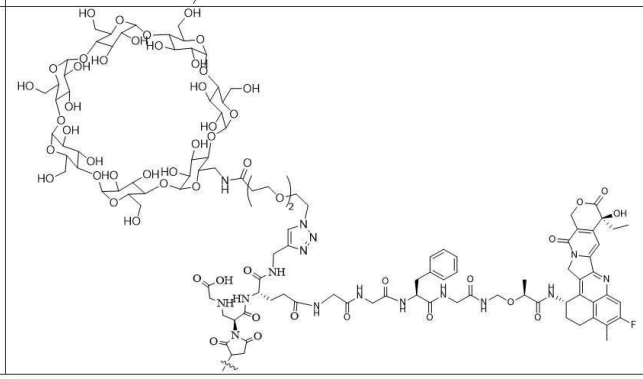

,


,

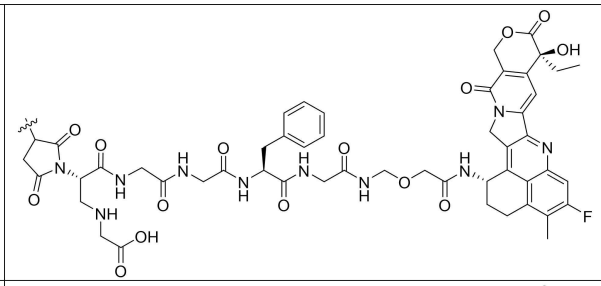
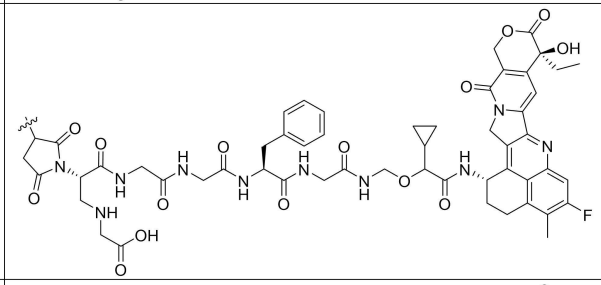
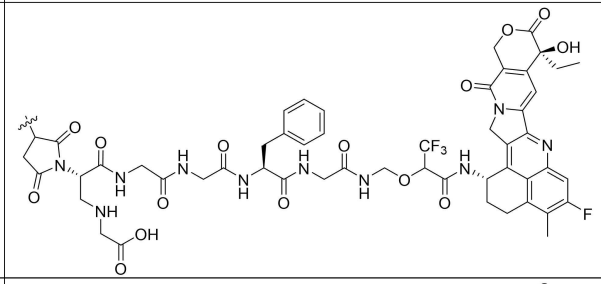
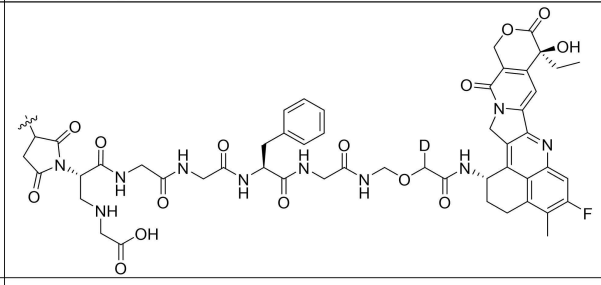
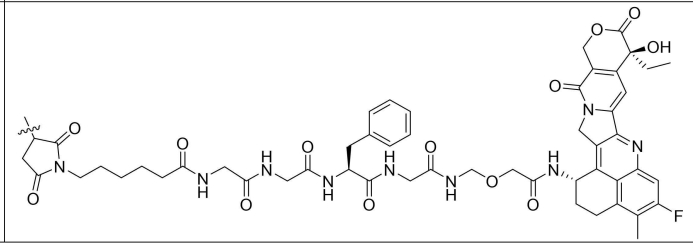

, 그 카르보닐 말단 또는  을 포함하는 말단의 탄소 말단은 D_1에 연결된다.

및

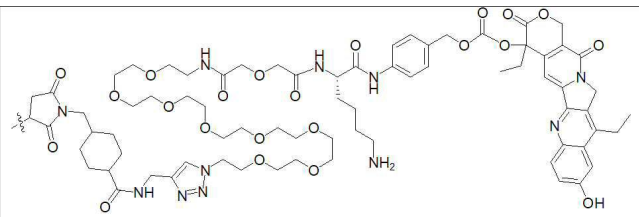
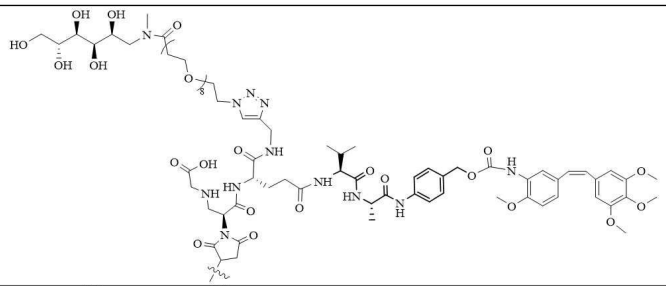
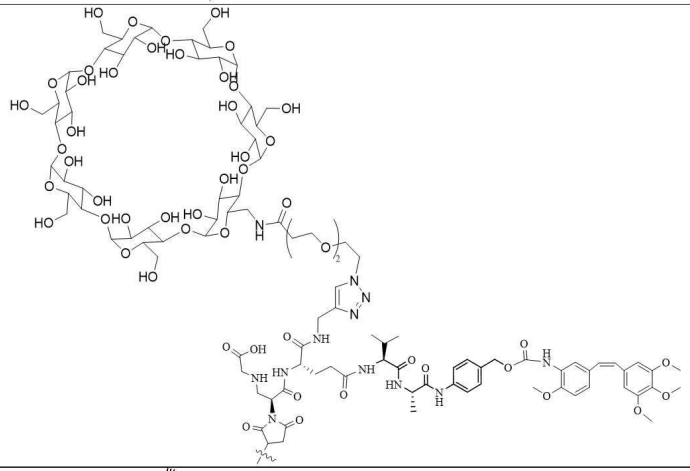
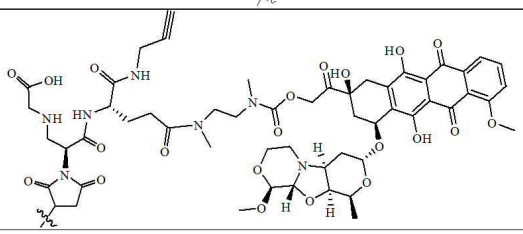
[0140] 특정 구현예에서, D_1-L_1-은 다음으로 구성된 그룹에서 선택된다:

Ex01	
Ex02	
Ex03	
Ex04	

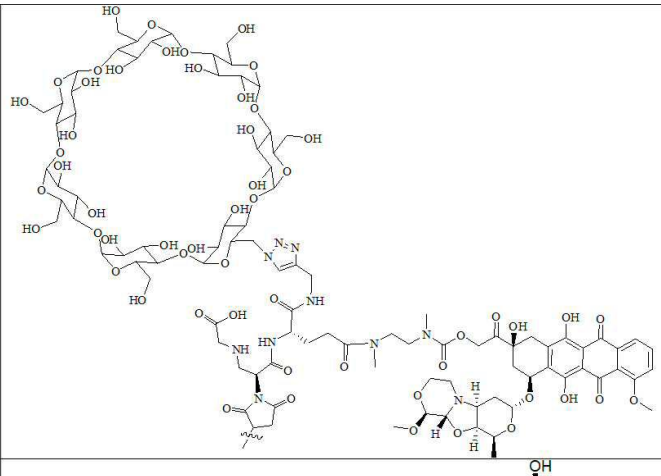
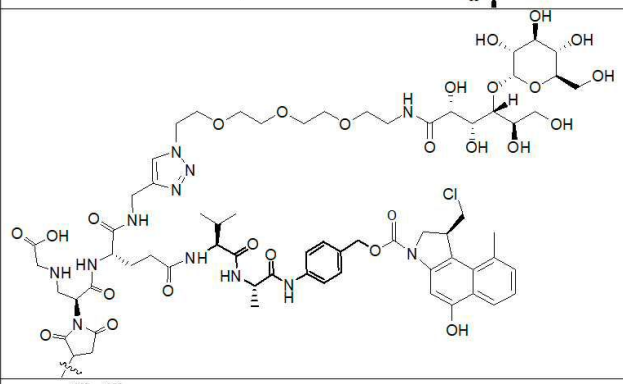
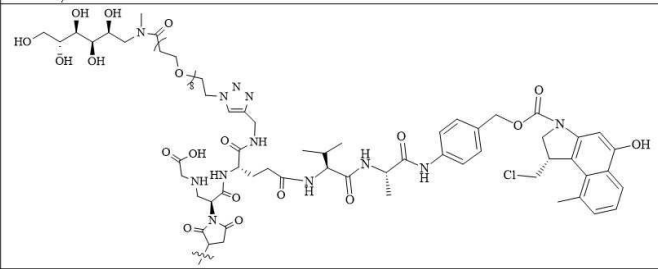
[0141]

Ex05	
Ex06	
Ex07	
Ex08	
Ex09	

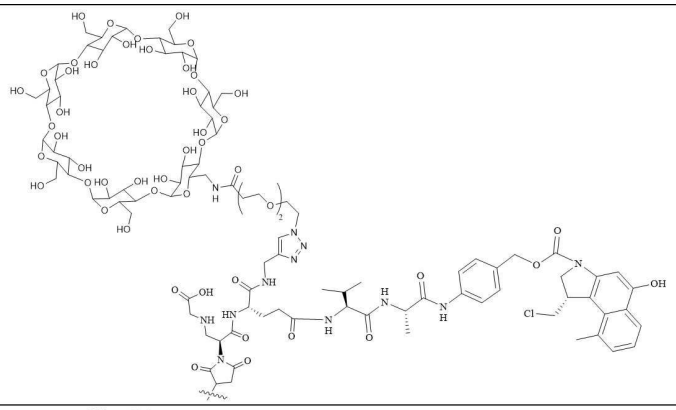
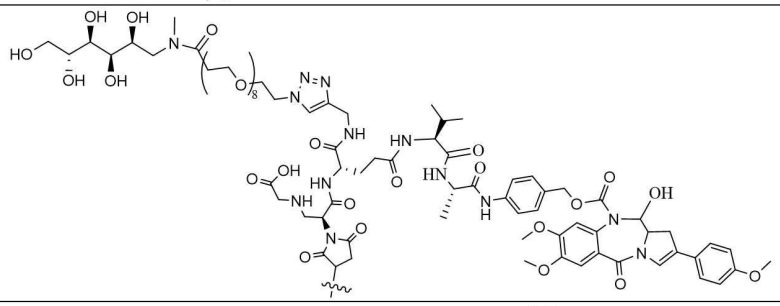
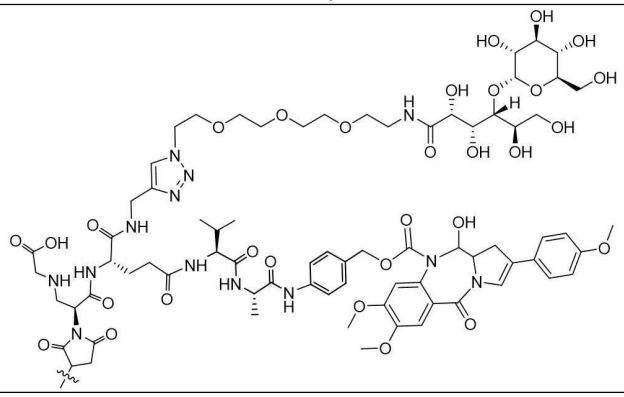
[0142]

SN01	
PB01	
PB02	
PNU01	

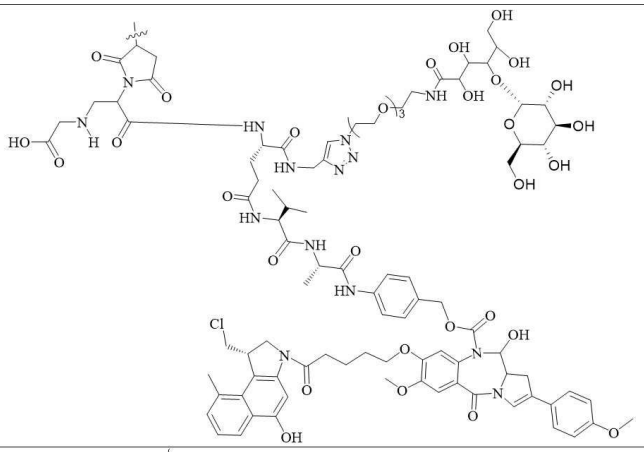
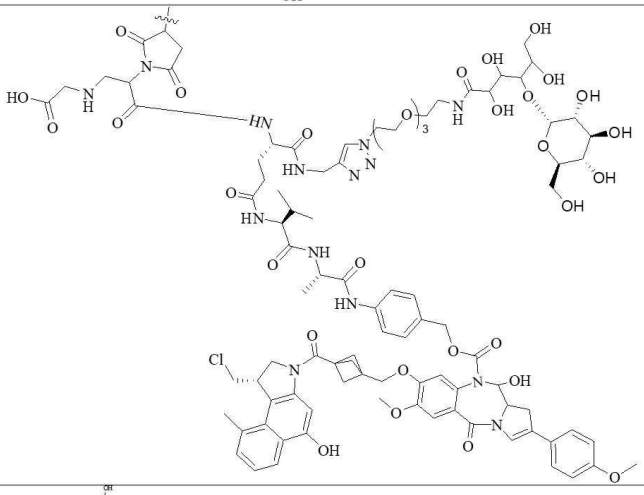
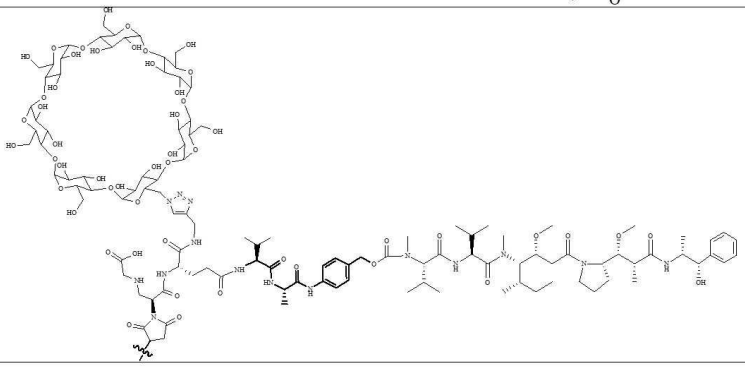
[0143]

PNU02	
CBI01	
CBI02	

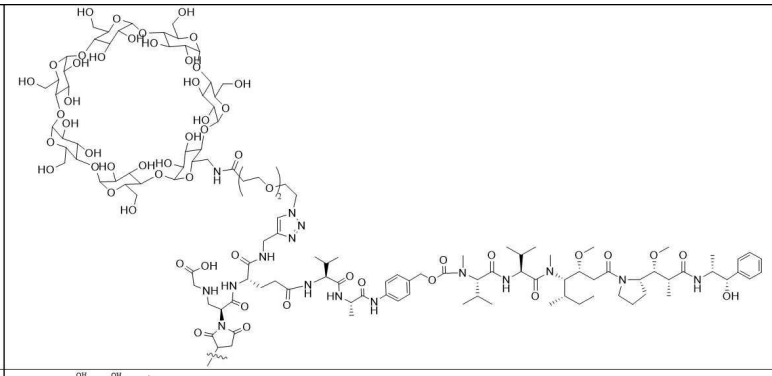
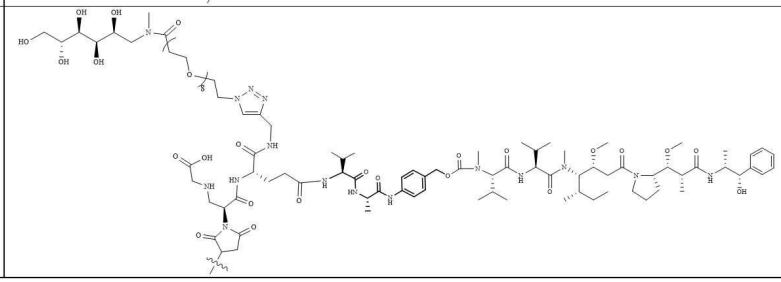
[0144]

CBI03	
PBD01	
PBD02	

[0145]

PBD-CBI01	
PBD-CBI02	
M01	

[0146]

M02	
M03	

[0147]

[0148] 특정 구현예에서, m은 1 내지 10에서 선택된 정수이다.

[0149] 특정 구현예에서, m은 2 내지 8에서 선택된 정수이다.

[0150] 특정 구현예에서, m은 2, 4 및 8로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0151] 특정 구현예에서, n은 1 내지 10에서 선택된 정수이다.

[0152] 특정 구현예에서, n은 2 내지 8에서 선택된 정수이다.

[0153] 특정 구현예에서, n은 2, 4 및 8로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0154] 특정 구현예에서, Ab는 쥐 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 완전 인간화 항체, 항체 단편, 이중 특이 항체 및 다중 특이 항체로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0155] 특정 구현예에서, Ab는 시스테인 티올기(-SH)를 통해 연결 단위와 연결 결합을 형성한다.

[0156] 특정 구현예에서, Ab는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된 단일클론 항체인 항체이다: 항-EGFRvIII 항체, 항-DLL-3 항체, 항-PSMA 항체, 항-CD70 항체, 항-MUC16 항체, 항-ENPP3 항체, 항-TDGF1 항체, 항-ETBR 항체, 항-MSLN 항체, 항-TIM-1 항체, 항-LRRC15 항체, 항-LIV-1 항체, 항-CanAg/AFP 항체, 항-클라딘 18.2 항체, 항-메소텔린 항체, 항-HER2(ErbB2) 항체, 항-EGFR 항체, 항-c-MET 항체, 항-SLITRK6 항체, 항-KIT/CD117 항체, 항-STEAP1 항체, 항-SLAMF7/CS1 항체, 항-NaPi2B/SLC34A2 항체, 항-GPNMB 항체, 항-HER3(ErbB3) 항체. 항-MUC1/CD227 항체, 항-AXL 항체, 항-CD166 항체, 항-B7-H3(CD276) 항체, 항-PTK7/CCK4 항체, 항-PRLR 항체, 항-EFNA4 항체, 항-5T4 항체, 항-NOTCH3 항체, 항-Nectin 4 항체, 항-TROP-2 항체, 항-CD142 항체, 항-CA6 항체, 항-GPR20 항체, 항-CD174 항체, 항-CD71 항체, 항-EphA2 항체, 항-LYPD3 항체, 항-FGFR2 항체, 항-FGFR3 항체, 항-FRα 항체, 항-CEACAMs 항체, 항-GCC 항체, 항-Integrin Av 항체, 항-CAIX 항체, 항-P-카드헤린 항체, 항-GD3 항체, 항-카드헤린 6 항체, 항-LAMP1 항체, 항-FLT3 항체, 항-BCMA 항체, 항-CD79b 항체, 항-CD19 항체, 항-CD33 항체, 항-CD56 항체, 항-CD74 항체, 항-CD22 항체, 항-CD30 항체, 항-CD37 항체, 항-CD47 항체, 항-CD138 항체, 항-CD352 항체, 항-CD25 항체 및 항-CD123 항체.

[0157] 특정 구현예에서, Ab는 항-CD33 항체 ANTI-CD33, 항-Trop2 항체 ANTI-Trop2-1, 항-Trop2 항체 ANTI-Trop2-2, 항-HER2 항체 Trastuzumab(Tras), 및 항-HER2 항체 Tras-016으로 구성된 그룹에서 선택된 항체이며, 관련 서열은 다음과 같다:

[0158] 항-CD33 항체 ANTI-CD33

[0159] >경쇄-LC의 서열

[0160] DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESLDNYGIRFLTWFQQKPGKAPKLLMYAASNQGSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTKEVPWSF GQGTKVEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVCTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1)

[0161] >중쇄-HC의 서열

[0162] EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIYPYNGGTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPW LAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 2)

[0163] 항-Trop2 항체 ANTI-Trop2-1의 서열

[0164] >경쇄-LC

[0165] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTK LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO: 3)

[0166] >중쇄-HC

[0167] QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPEQRLEWMGWIFPGDGNTKYSQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRGEAL YYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 4)

[0168] 항-Trop2 항체 ANTI-Trop2-2의 서열

[0169] >경쇄-LC

[0170] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTK LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV CTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 5)

[0171] >중쇄-HC

[0172] QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPEQRLEWMGWIFPGDGNTKYSQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRGEAL YYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 6)

[0173] 항-HER2 항체 트라스투주맙(Tras)의 서열

[0174] >경쇄-LC

[0175] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 7)

[0176] >중쇄-HC

[0177] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGD GFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 8)

[0178] 항-HER2 항체 Tras-016의 서열

[0179] >경쇄-LC

[0180] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGT
KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VCTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 9)

[0181] >중쇄-HC

[0182] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGD
GFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 10)

[0183] 특정 구현예에서, D_1-L_1- 및 D_2-L_2-는 모두 티올기를 통해 Ab에 결합된다.

[0184] 특정 구현예에서, 티올기의 공급원은 다음으로 구성된 그룹에서 선택된다:

[0185] 타겟팅 모이어티에서 기존 사슬간 디설파이드 결합의 환원 후 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 타겟팅 모이어티에서 특정 원래 아미노산의 부위 지향 돌연변이(site-directed mutagenesis)에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 타겟팅 모이어티에 시스테인의 부위 지향 삽입(site-directed insertion)에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 타겟팅 모이어티에 시스테인 함유 펩타이드의 부위 지향 삽입(site-directed insertion)에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기.

[0186] 특정 구현예에서, D_1-L_1- 및 D_2-L_2-는 각각 다른 공급원의 티올기를 통해 Ab에 결합된다.

[0187] 특정 실시예에서, D1-L1- 및 D2-L2- 중 하나는 표적 모이어티에서 기존 사슬 간 이황화물 결합의 환원 후 형성된 시스테인 잔기의 티올기를 통해 Ab에 결합되고, 다른 하나는 표적 모이어티에서 특정 원래 아미노산의 부위 지향 돌연변이에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 표적 모이어티에 시스테인의 부위 지향 삽입에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기, 또는 표적 모이어티에 시스테인 함유 펩타이드의 부위 지향 삽입에 의해 형성된 시스테인 잔기의 티올기를 통해 Ab에 결합된다.

[0188] 특정 구현예에서, 리간드-약물 접합체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된다:

[0189] Ab-R01 (2) -Ex01 (8),

[0190] Ab-R01 (8) -Ex01 (2),

[0191] Ab-R01 (4) -Ex01 (4),

[0192] Ab-R01 (4) -Ex01 (8),

[0193] Ab-R01 (8) -Ex01 (4),

[0194] Ab-R01 (2) -Ex02 (8),

[0195] Ab-R01 (8) -Ex02 (2),

[0196] Ab-R01 (4) -Ex02 (4),

[0197] Ab-R01 (2) -Ex03 (8),

[0198] Ab-R01 (8) -Ex03 (2),

[0199] Ab-R01 (4) -Ex03 (4),

[0200] Ab-R01 (2) -Ex04 (8),

[0201] Ab-R01 (8) -Ex04 (2),

[0202] Ab-R01 (4) -Ex04 (4),

[0203] Ab-R01 (2) -Ex05 (8),

[0204] Ab-R01 (8) -Ex05 (2),

[0205] Ab-R01 (4) -Ex05 (4),

[0206] Ab-R01 (2) -Ex06 (8),

[0207] Ab-R01 (8) -Ex06 (2),

[0208] Ab-R01 (4) -Ex06 (4),

[0209] Ab-R01-1 (2) -Ex01 (8),

[0210] Ab-R01-1 (8) -Ex01 (2),

[0211] Ab-R01-1 (4) -Ex01 (4),

[0212] Ab-R01-1 (8) -Ex01 (4),

[0213] Ab-R01-1 (4) -Ex01 (8),

[0214] Ab-R01-1 (2) -Ex02 (8),

[0215] Ab-R01-1 (8) -Ex02 (2),

[0216] Ab-R01-1 (4) -Ex02 (4),

[0217] Ab-R01-1 (2) -Ex03 (8),

[0218] Ab-R01-1 (8) -Ex03 (2),

[0219] Ab-R01-1 (4) -Ex03 (4),

[0220] Ab-R01-1 (2) -Ex04 (8),

[0221] Ab-R01-1 (8) -Ex04 (2),

[0222] Ab-R01-1 (4) -Ex04 (4),

[0223] Ab-R01-1 (2) -Ex05 (8),

[0224] Ab-R01-1 (8) -Ex05 (2),

[0225] Ab-R01-1 (4) -Ex05 (4),

[0226] Ab-R01-1 (2) -Ex06 (8),

[0227] Ab-R01-1 (8) -Ex06 (2),

[0228] Ab-R01-1 (4) -Ex06 (4),

[0229] Ab-R01-1 (2) -PB01 (8),

[0230] Ab-R01-1 (2) -PB02 (8),

[0231] Ab-R01-1 (8) -PNU01 (2),

[0232] Ab-R01-1 (8) -PNU02 (2),

[0233] Ab-R01-1 (2) - CBI01 (8),

[0234] Ab-R01-1 (2) - CBI02 (8),

[0235] Ab-R01-1 (2) - CBI03 (8),

[0236] Ab-R01-1 (2) -PBD01 (8),

[0237] Ab-R01-1 (2) -PBD02 (8),

[0238] Ab-R01-1 (2) -PBD-CBI01 (8),

[0239] Ab-R01-1 (2) -PBD-CBI02 (8),

[0240] Ab-R01-1 (8) -M01 (2),

[0241] Ab-R01-1 (8) -M02 (2),

[0242] Ab-R01-1 (8) -M03 (2),

[0243] Ab-AT01 (2) -Ex01 (8),

[0244] Ab-AT02 (2) -Ex01 (8),

[0245] Ab-AT03 (2) -Ex01 (8),

[0246] Ab-AT04 (2) -Ex01 (8),

[0247] Ab-TA01 (2) -Ex01 (8),

[0248] Ab-VE01 (2) -Ex01 (8),

[0249] Ab-E01 (2) -Ex01 (8),

[0250] Ab-RU01 (2) -Ex01 (8),

[0251] Ab-PA01 (2) -Ex01 (8),

[0252] Ab-CEP01 (2) -Ex01 (8),

[0253] Ab-TM01 (2) -Ex01 (8),

[0254] Ab-TM02 (2) -Ex01 (8),

[0255] Ab-WE01 (2) -Ex01 (8),

[0256] Ab-CH01 (2) -Ex01 (8),

[0257] Ab-CH02 (2) -Ex01 (8),

[0258] Ab-CH03 (2) -Ex01 (8),

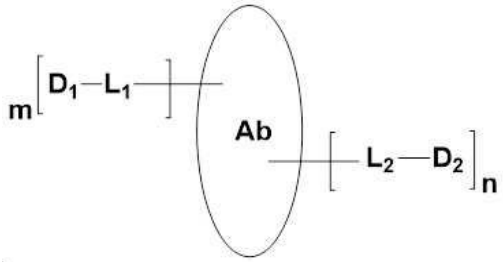
[0259] Ab-CH04 (2) -Ex01 (8),

[0260] Ab-DP01 (2) -Ex01 (8),

[0261] Ab-DP02 (2) -Ex01 (8), 및

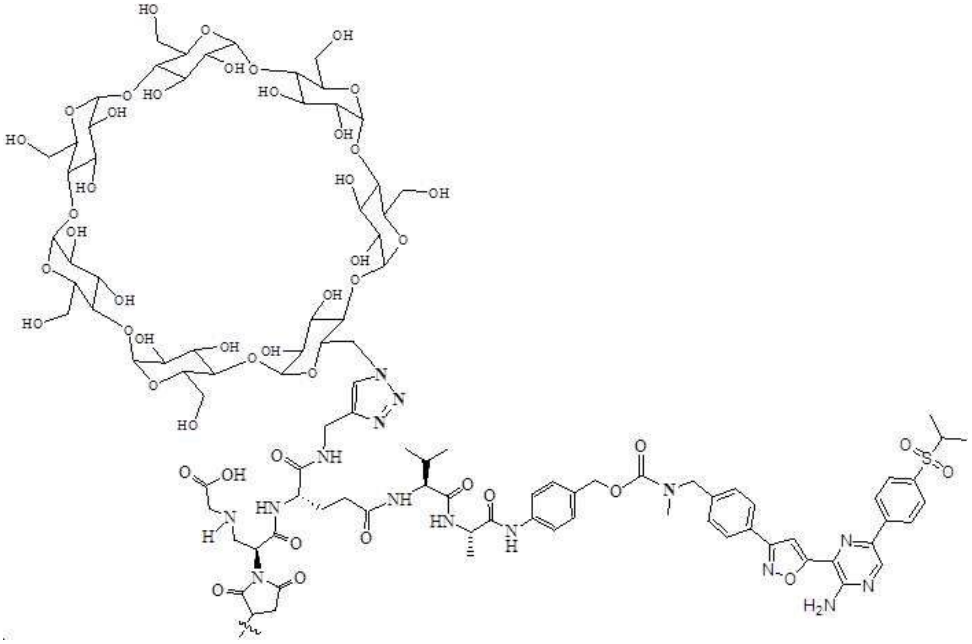
[0262] Ab-DP03 (2) -Ex01 (8).

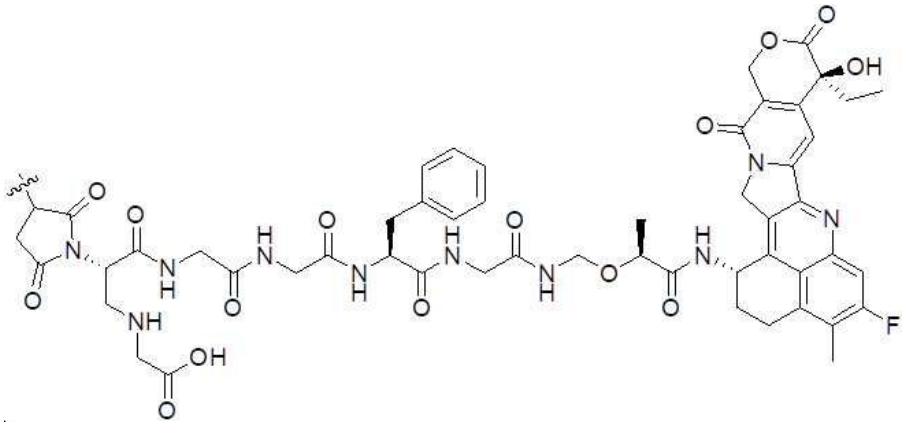
[0263] 상기 리간드-약물 접합체, 예를 들어 Ab-R01(2)-Ex01(8)의 구조식의 의미는, 화학식 I



으로 표현되는 리간드-약물 접합체에서,

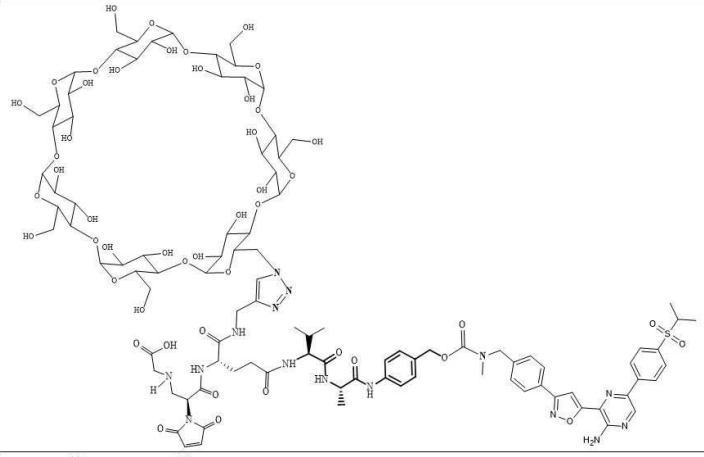
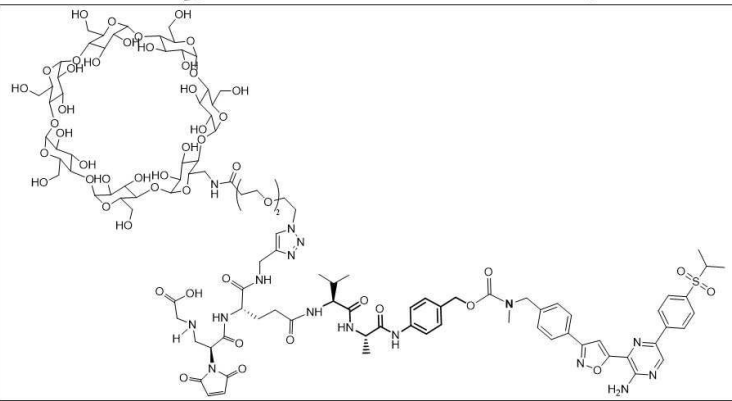
[0264] D_2-L_2- 는 R01, 즉,

[0265]  이고,

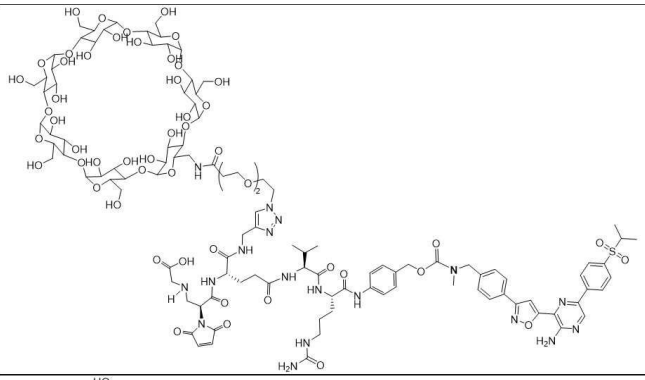
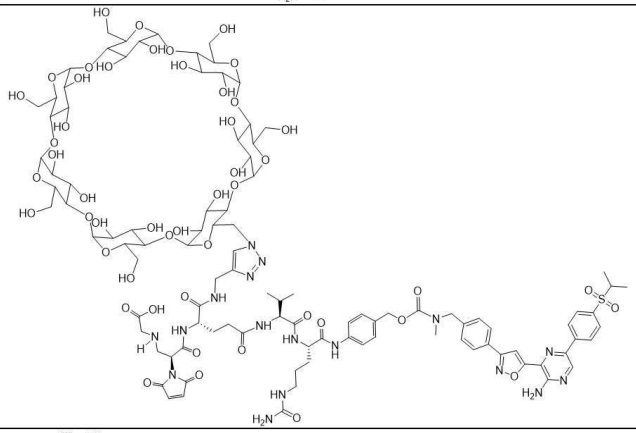
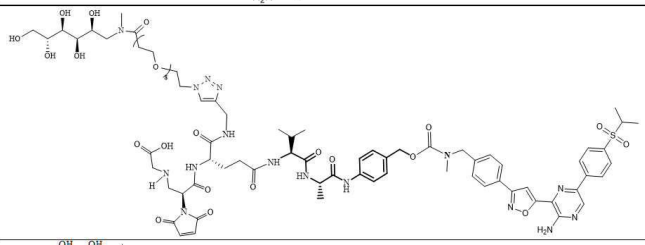
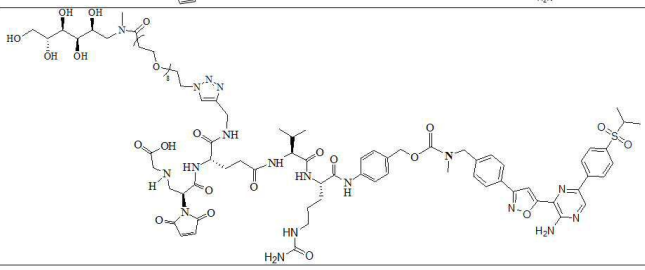
[0266] D_1-L_1- 는 Ex01, 즉,  이며,

[0267] Ab에 결합된 D_1-L_1-의 수는 8개, 즉, m은 8이고, Ab에 결합된 D_2-L_2-의 수는 2개, 즉, n은 2이다. 리간드-약물 접합체의 다른 구조식의 의미는 앞서 언급한 내용을 참조하여 이해할 수 있다.

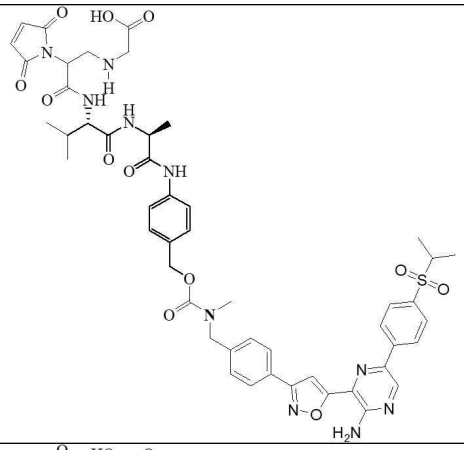
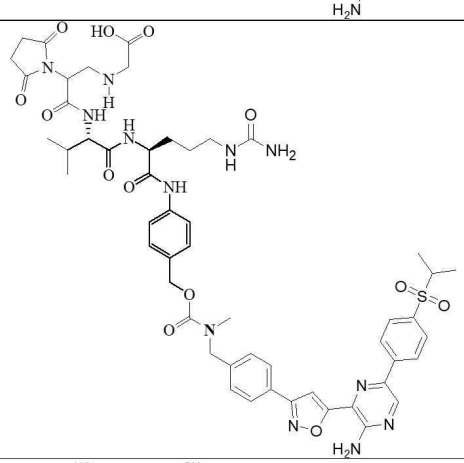
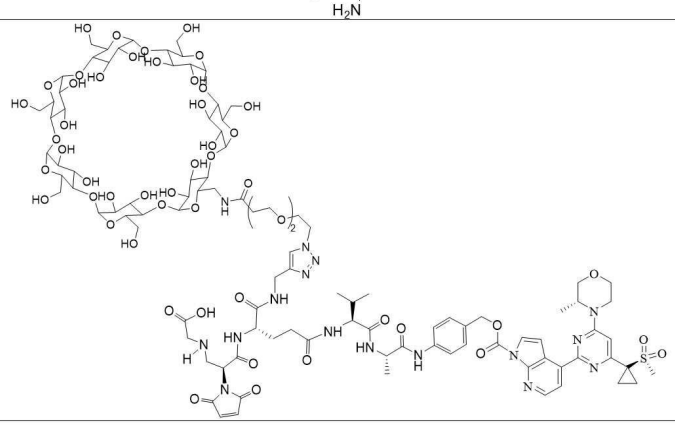
[0268] 본 발명의 제 2 양태에서, 본 발명은 약물-연결 단위 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물을 제공하고, 여기에서, 약물-연결 단위 접합체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된다:

R01’	
R01-1’	

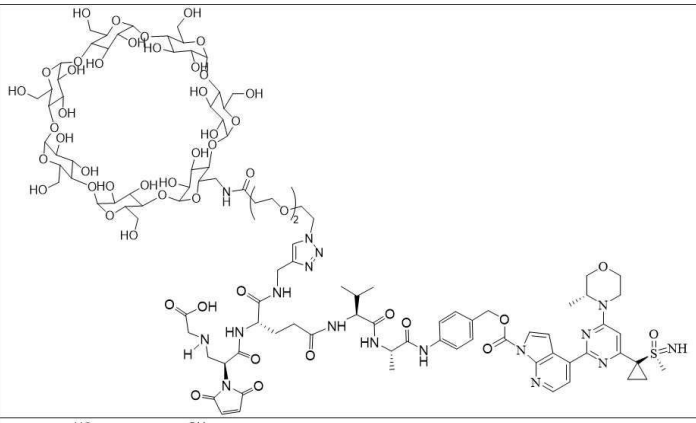
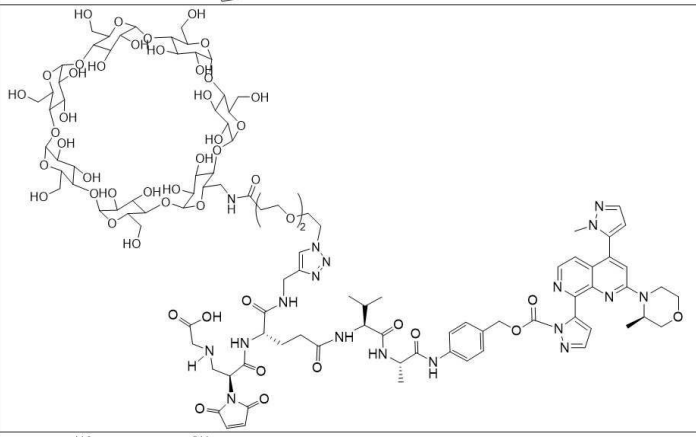
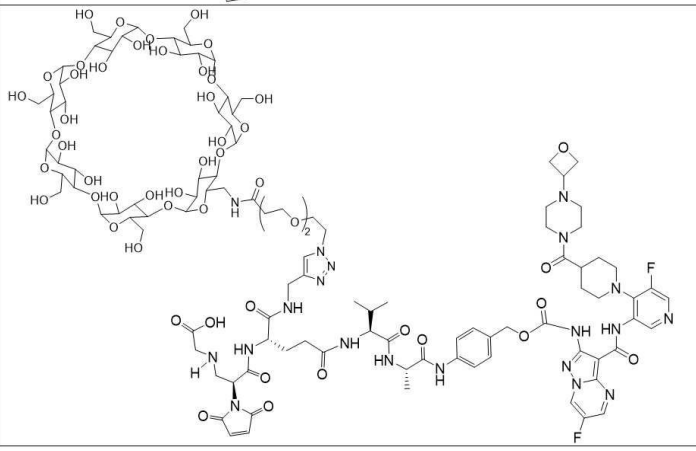
[0269]

R01-2’	
R01-4’	
R02’	
R02-1’	

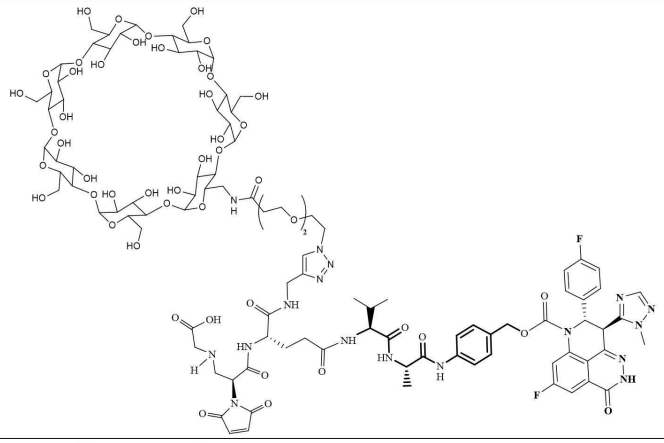
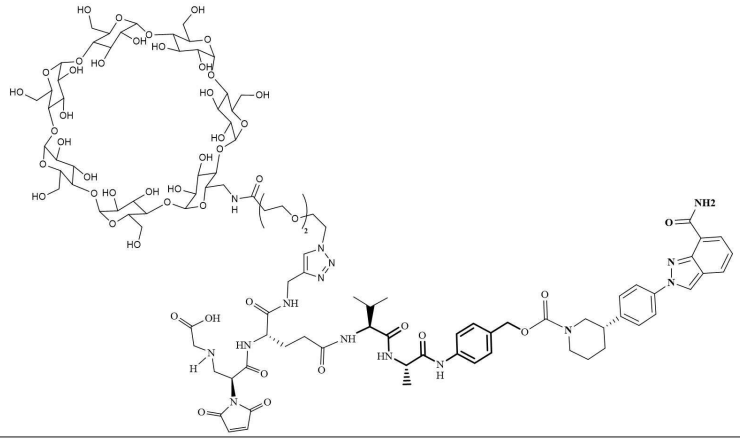
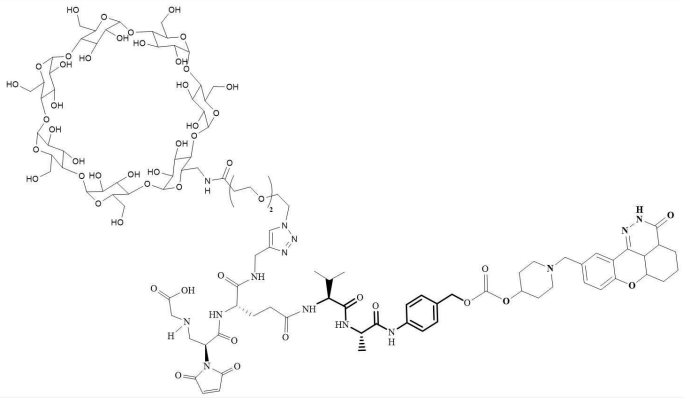
[0270]

R03’	
R03-1’	
AT01’	

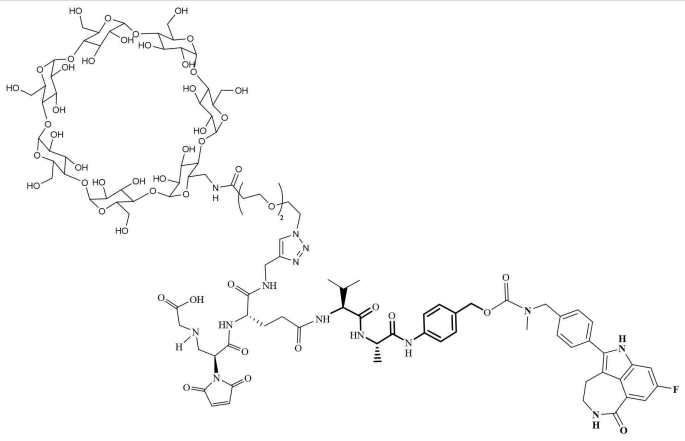
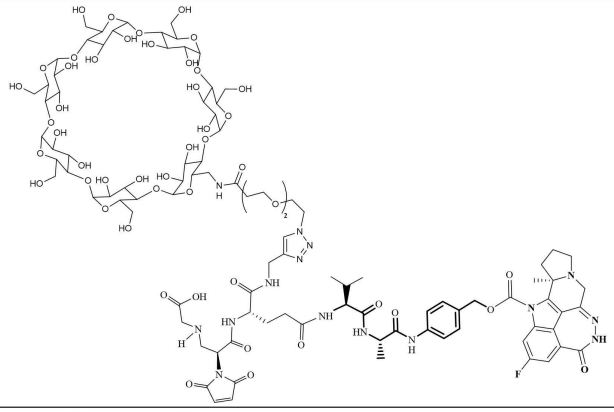
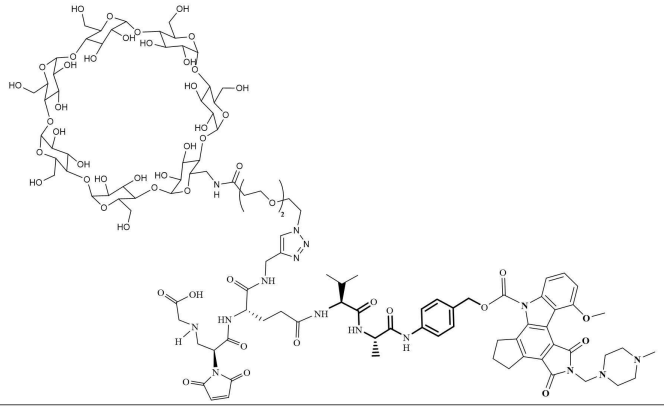
[0271]

AT02’	
AT03’	
AT04’	

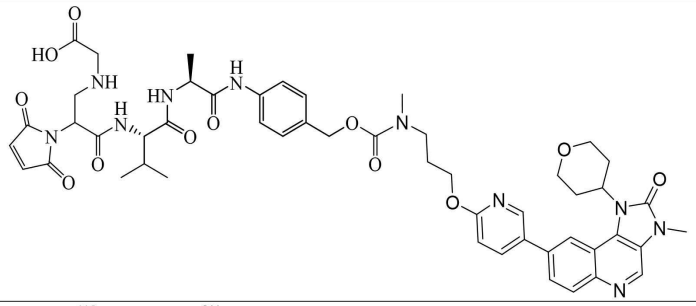
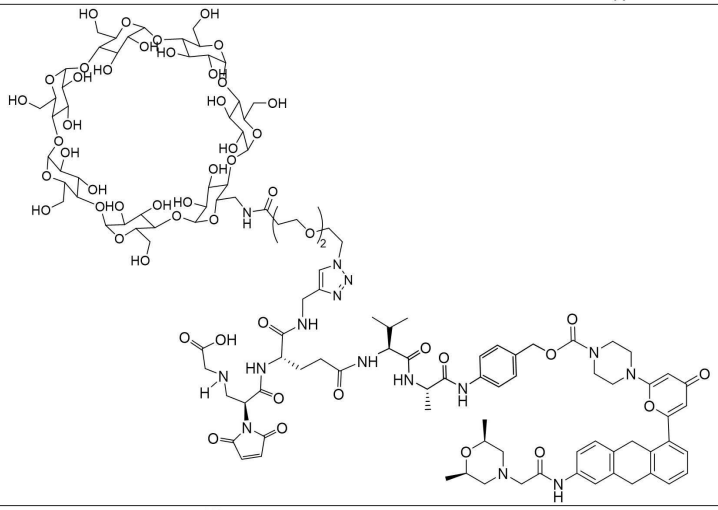
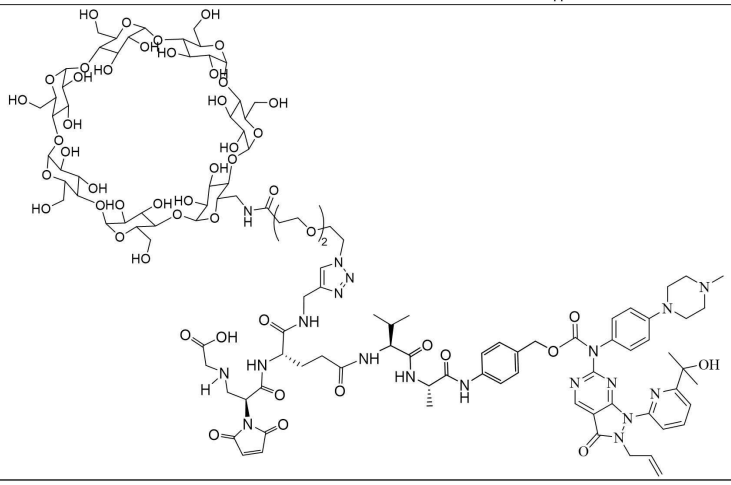
[0272]

TA01’	
VE01’	
E01’	

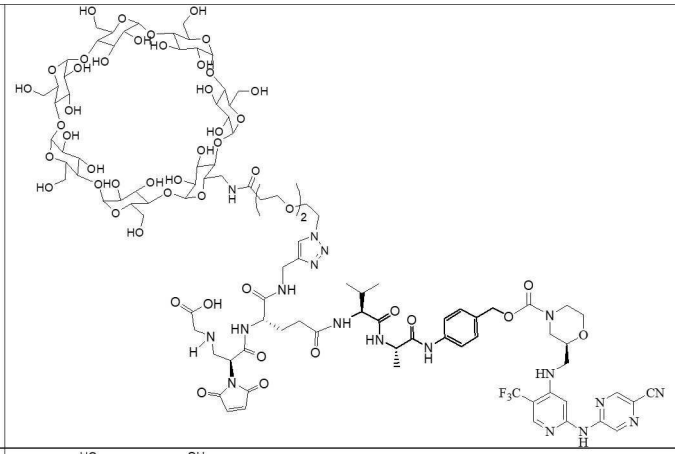
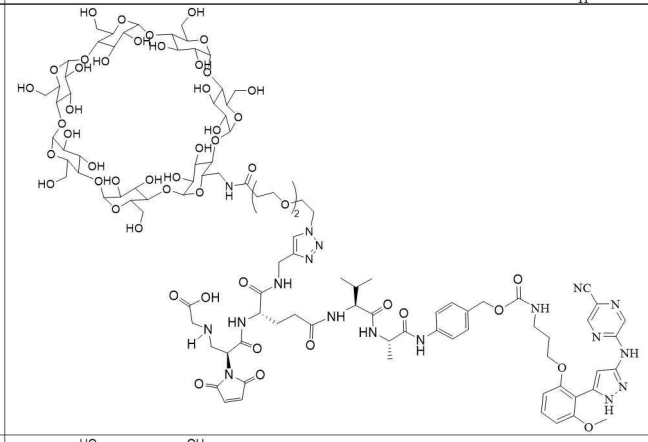
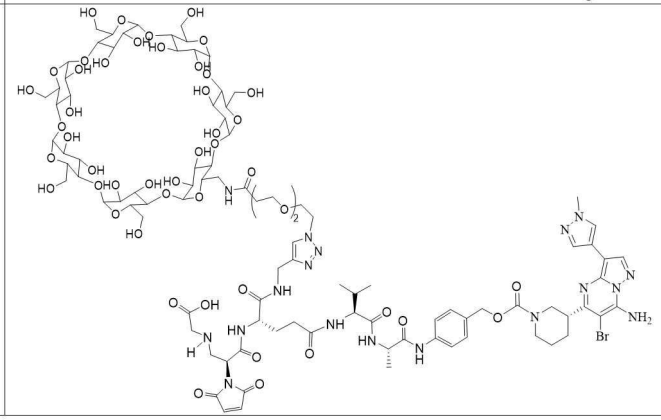
[0273]

RU01’	
PA01’	
CEP01’	

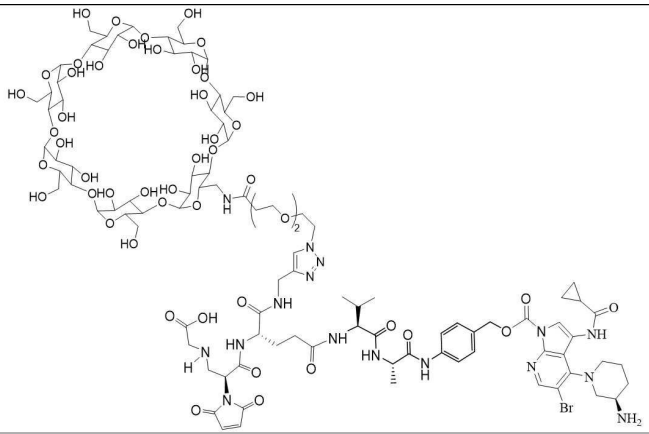
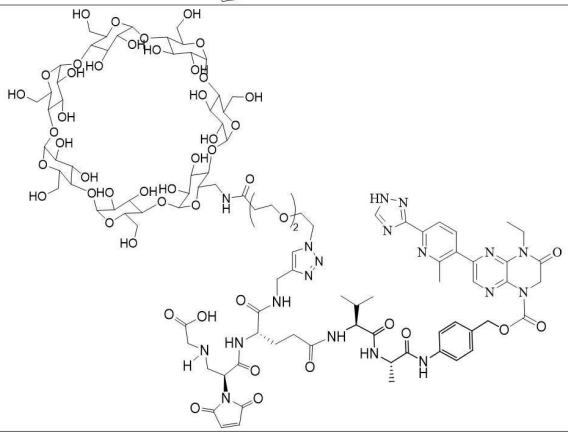
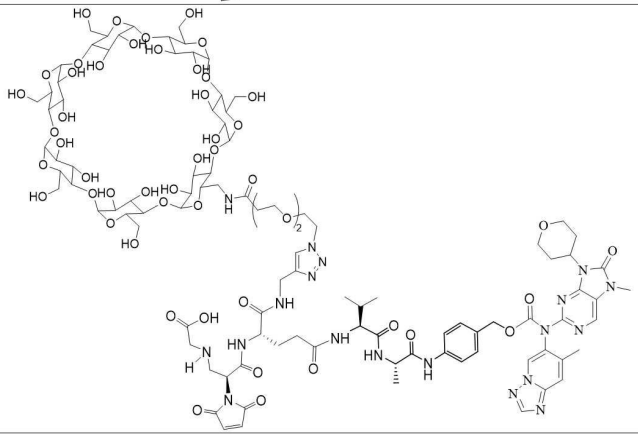
[0274]

TM01’	
TM02’	
WE01’	

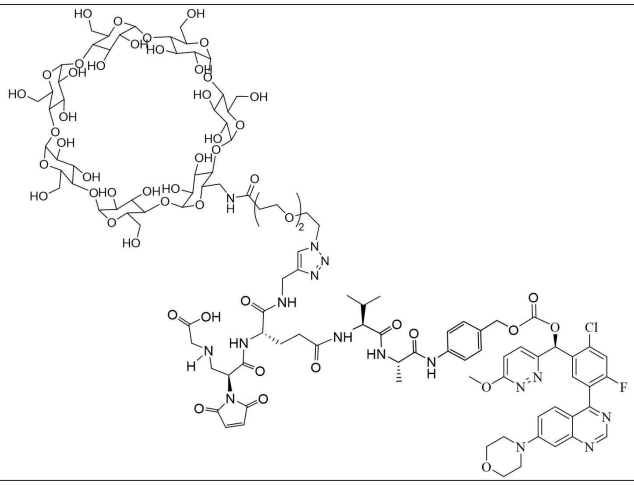
[0275]

CH01’	
CH02’	
CH03’	

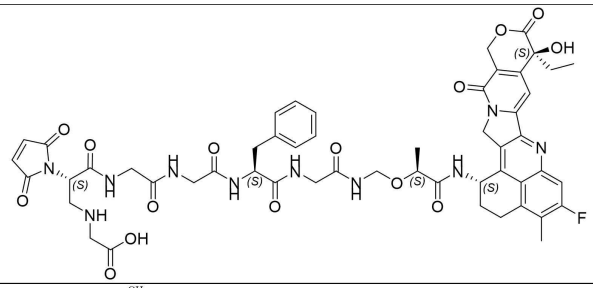
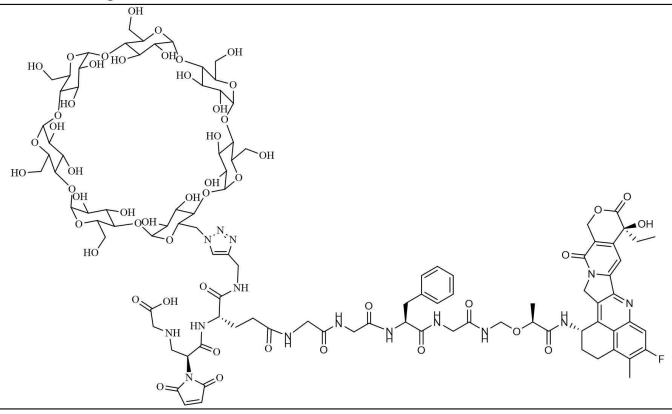
[0276]

CH04’	
DP01’	
DP02’	

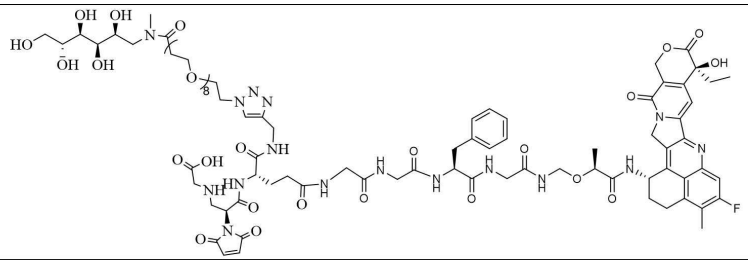
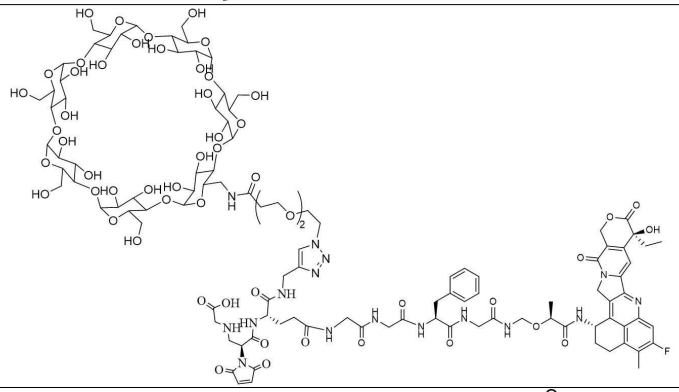
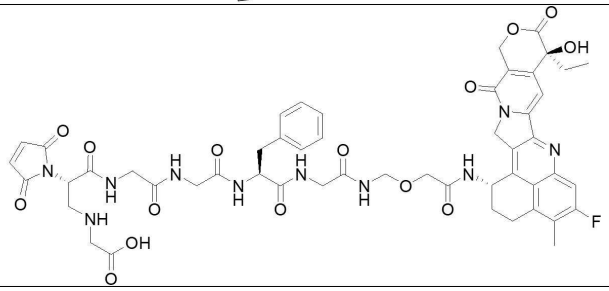
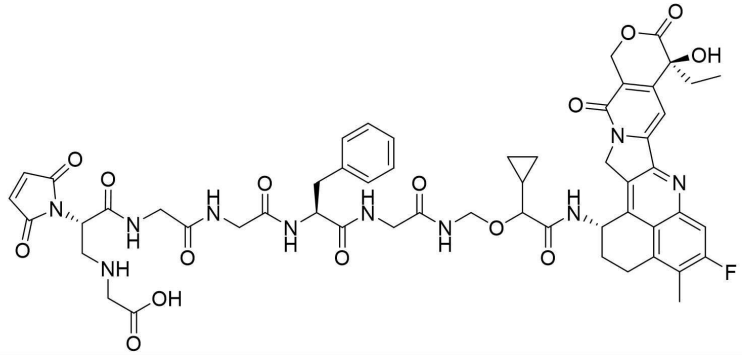
[0277]

DP03’	

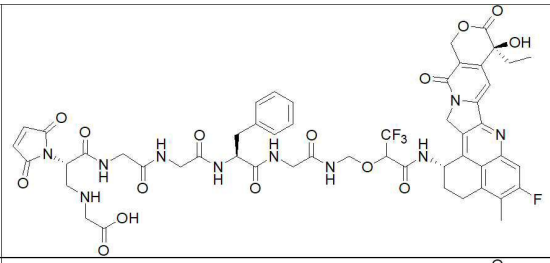
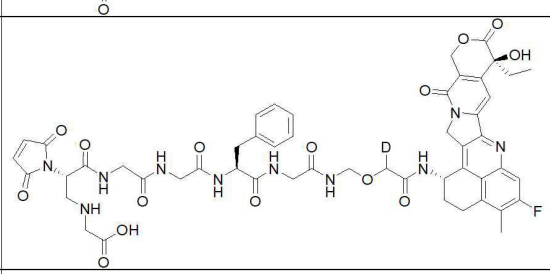
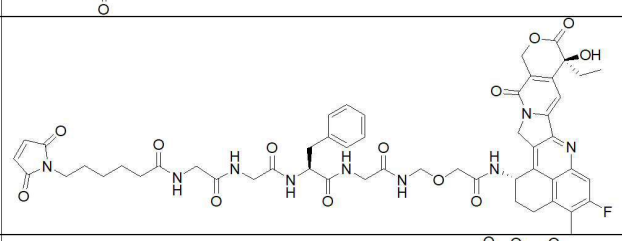
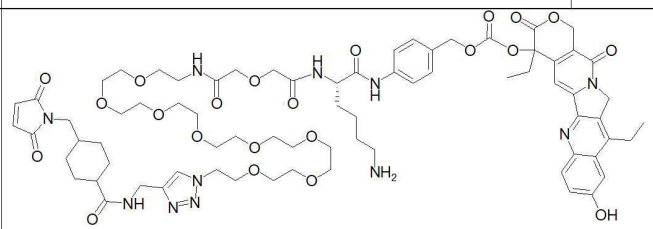
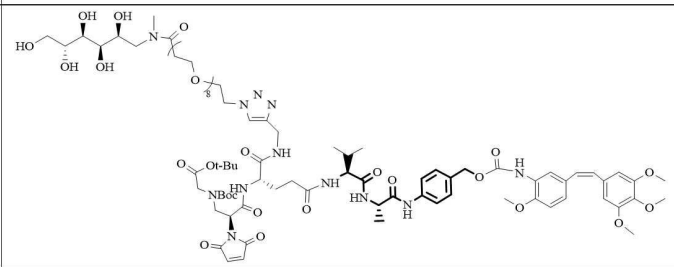
[0278]

Ex01’	
Ex02’	

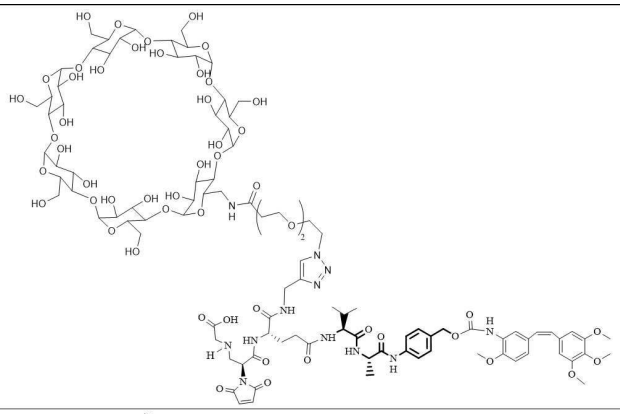
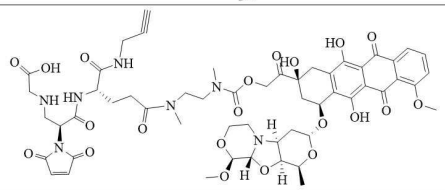
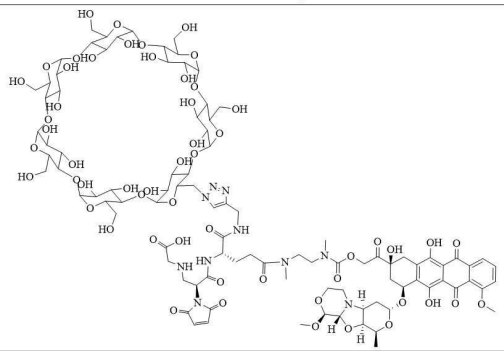
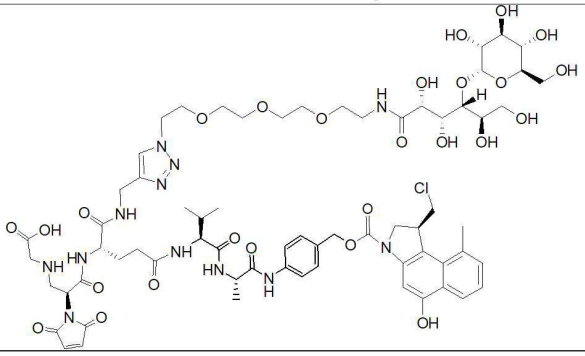
[0279]

Ex03’	
Ex04’	
Ex05’	
Ex06’	

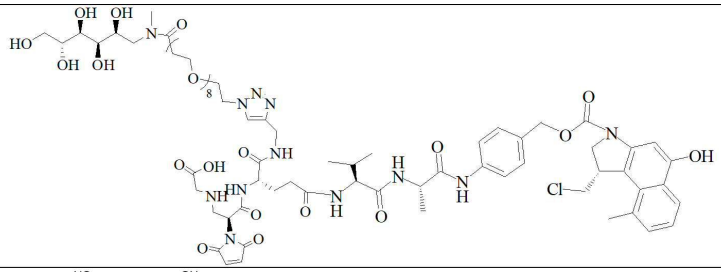
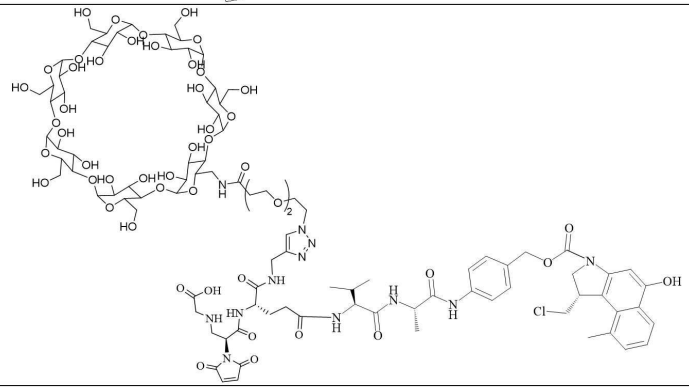
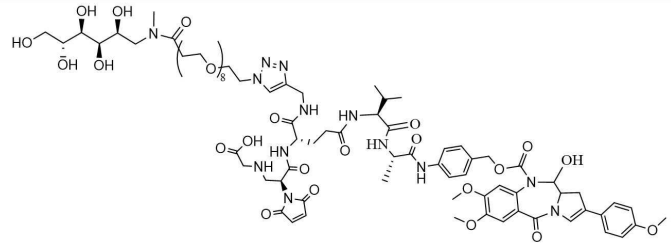
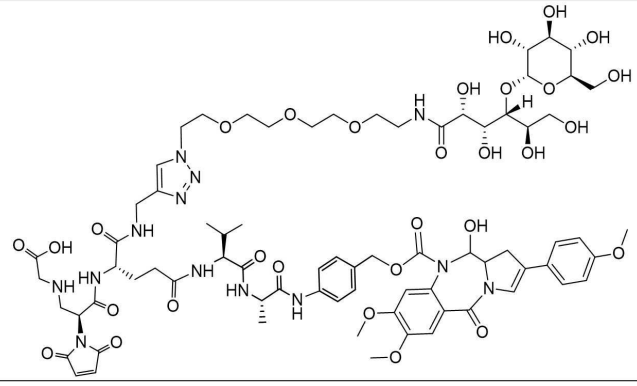
[0280]

Ex07’	
Ex08’	
Ex09’	
SN01’	
PB01’	

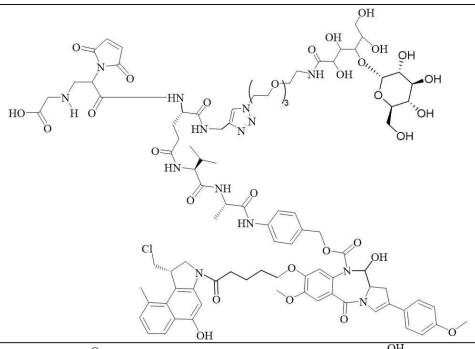
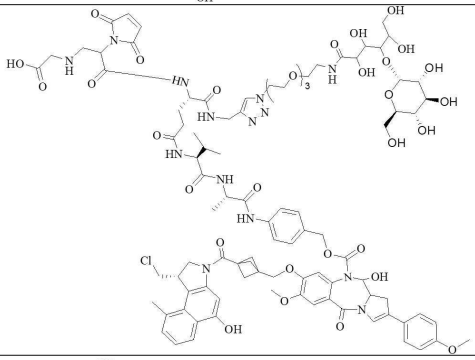
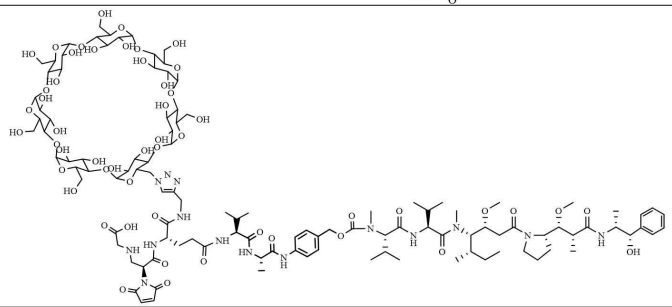
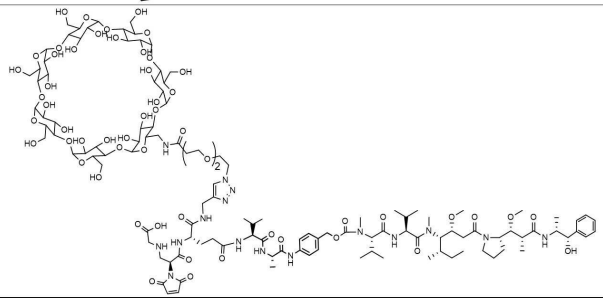
[0281]

PB02’	
PNU01’	
PNU02’	
CBI01’	

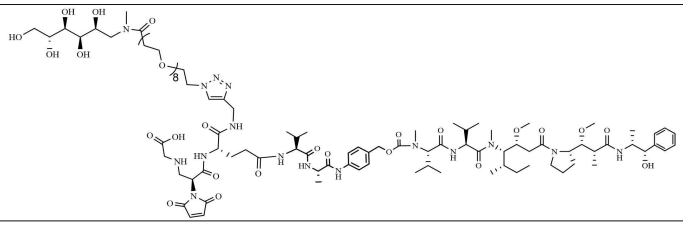
[0282]

CBI02’	
CBI03’	
PBD01’	
PBD02’	

[0283]

PBD-CBI01’	
PBD-CBI02’	
M01’	
M02’	

[0284]

M03’	

[0285]

[0286] 제3 양태에서, 본 발명은 상기 설명한 바와 같은 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 상기 설명한 바와 같은 약물-연결 단위 접합체 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 및 선택적으로 하나 이상의 약학적 어주번트를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0287] 제4 양태에서, 본 발명은 상기 설명한 바와 같은 리간드-약물 접합체, 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 상기 설명한 바와 같은 약물-연결

단위 접합체 또는 이의 입체이성질체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 상기 설명한 바와 같은 약학적 조성물의 질병의 치료 및/또는 예방을 위한 약물의 제조에서의 용도를 제공하며, 상기 질병은 암이다.

[0288] 특정 구현예에서, 암은 피부암, 림프종, 식도암(예: 식도 선암 및 식도 편평세포 암), 뇌종양, 폐암(예: 소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 편평세포 암, 방광암, 위암, 난소암, 복막암, 췌장암, 유방암, 두경부암, 자궁경부암, 자궁내막암, 대장암, 직장암, 대장암, 간암, 신장암, 고형 종양, 비호지킨 림프종, 중추 신경계 종양(예: 신경교종, 다형성 신경교모세포종, 신경모세포종, 신경교종 또는 육종), 흑색종, 전립선암, 갑상선암, 뼈암, 요로암, 타액선암, 백혈병(예: 급성 골수성 백혈병), 및 기타 고형 종양 및 혈액 종양으로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0289] 특정 구현예에서, 암은 폐암(예: 소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 편평세포암, 방광암, 위암, 난소암, 유방암, 결장암, 직장암, 결장직장암, 간암 및 신장암으로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0290] 제5 양태에서, 본 발명은 상기 설명된 바와 같은 리간드-약물 접합체 또는 이의 입체이성체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 상기 설명된 바와 같은 약물-연결 단위 접합체 또는 이의 입체이성체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 상기 설명된 바와 같은 약학 조성물을 제공하고, 질병의 치료 및/또는 예방에 사용하고, 질병은 암이다.

[0291] 특정 구현예에서, 암은 피부암, 림프종, 식도암(예: 식도 선암 및 식도 편평세포 암), 뇌종양, 폐암(예: 소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 편평세포 암, 방광암, 위암, 난소암, 복막암, 췌장암, 유방암, 두경부암, 자궁경부암, 자궁내막암, 대장암, 직장암, 대장암, 간암, 신장암, 고형 종양, 비호지킨 림프종, 중추 신경계 종양(예: 신경교종, 다형성 신경교모세포종, 신경모세포종, 신경교종 또는 육종), 흑색종, 전립선암, 갑상선암, 뼈암, 요로암, 타액선암, 백혈병(예: 급성 골수성 백혈병), 기타 고형 종양 및 혈액 종양으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

[0292] 특정 구현예에서, 암은 폐암(예: 소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 편평세포 암, 방광암, 위암, 난소암, 유방암, 대장암, 직장암, 대장직장암, 간암 및 신장암으로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0293] 제6 양태에서, 본 발명은 질병의 치료 및/또는 예방을 위한 방법을 제공하며, 상기 질병은 암이며, 상기 방법은 다음을 포함한다:

[0294] 필요한 대상에게 상기 설명된 바와 같은 리간드-약물 접합체 또는 이의 입체이성체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 상기 설명된 바와 같은 약물-연결 단위 접합체 또는 이의 입체이성체, 이의 프로드럭, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학적으로 허용되는 용매화물, 또는 상기 설명된 바와 같은 약학 조성물의 예방적 및/또는 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0295] 특정 구현예에서, 상기 암은 피부암, 림프종, 식도암(예: 식도 선암 및 식도 편평세포 암), 뇌종양, 폐암(예: 소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 편평세포 암, 방광암, 위암, 난소암, 복막암, 췌장암, 유방암, 두경부암, 자궁경부암, 자궁내막암, 대장암, 직장암, 대장암, 간암, 신장암, 고형 종양, 비호지킨 림프종, 중추 신경계 종양(예: 신경교종, 다형성 신경교모세포종, 신경모세포종, 신경교종 또는 육종), 흑색종, 전립선암, 갑상선암, 뼈암, 요로암, 타액선암, 백혈병(예: 급성 골수성 백혈병), 및 기타 고형 종양 및 혈액 종양으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

[0296] 특정 구현예에서, 암은 폐암(예: 소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 편평세포 암, 방광암, 위암, 난소암, 유방암, 대장암, 직장암, 대장직장암, 간암 및 신장암으로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0297] **용어의 정의**

[0298] 본 발명에서 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 과학 및 기술 용어는 해당 기술 분야의 숙련자가 일반적으로 이해하는 의미를 갖는다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 세포 배양, 분자 유전학, 핵산 화학, 면역학 실험실 절차는 모두 관련 기술 분야에서 널리 사용되는 통상적인 절차이다. 한편, 본 발명을 더 잘 이해하기 위해 관련 용어의 정의 및 설명을 아래에 제공한다.

[0299] 본 발명에서 "약학적으로 허용되는 염"이라는 용어의 예는 포름산, 아세트산, 프로피오네이트, 벤조산, 말레산, 푸마르산, 석신산, 타르트르산, 구연산, 아스코르브산, α-케토글루타르산, α-글리세로포스페이트, 알킬설포네이트 또는 아릴설포네이트를 포함하되 이에 국한되지 않는 약학적으로 허용되는 음이온을 형성하는 유기산으로

부터 형성된 유기산 부가염이고; 바람직하게는, 알킬 설포네이트는 메틸 설포네이트 또는 에틸 설포네이트이며; 아릴 설포네이트는 벤젠 설포네이트 또는 p-톨루엔 설포네이트이다. 염산염, 브롬화수소산염, 요오드화수소산염, 질산염, 중탄산염 및 탄산염, 황산염 또는 인산염 등을 포함하되 이에 국한되지 않는 적합한 무기염도 형성될 수 있다.

[0300] 약학적으로 허용되는 염은 당업계에 잘 알려진 표준 절차를 사용하여, 예를 들어, 충분한 양의 염기성 화합물을 약학적으로 허용되는 음이온을 제공하는 적합한 산과 반응시켜를 얻을 수 있다.

[0301] 본 발명에서 용어 "프로드럭"은 생물학적 조건(시험관 내 또는 생체 내)에서 가수분해, 산화 또는 기타 방식으로 반응하여 본 발명의 화합물을 제공할 수 있는 유도체를 말한다. 프로드럭은 생물학적 조건에서 이 반응을 통해서만 활성 화합물이 되거나, 비반응성 형태로 활성이 없거나 활성이 낮을 뿐이다. 프로드럭은 일반적으로 Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery(1995) 172-178, 949-982(Manfred E. Wolff, 5th Edition)에 기술된 것과 같은 잘 알려진 방법을 사용하여 제조할 수 있다.

[0302] 여기에 기술된 화합물의 입체이성체는 화학명으로 (R)- 또는 (S)-이성체로 구체적으로 지정된 경우 각각 (R)-이성체 또는 (S)-이성체로서 우세한 구성을 갖는 것으로 이해해야 한다. 모든 비대칭 탄소 원자는 (R)-, (S)- 또는 (R, S)-배치, 바람직하게는 (R)- 또는 (S)-배치로 존재할 수 있다.

[0303] 본 발명에서, 용어 "용매화된 화합물" 또는 "용매화물"은 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 특정 용매 분자와 조합하여 존재하는 화합물을 지칭한다. 조합은 모노하이드레이트 또는 디하이드레이트와 같은 특정 용매의 화학양론적(stoichiometric) 양을 포함할 수 있거나, 임의의 양의 물을 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 메탄올 또는 에탄올은 "알코올레이트(alcoholate)"를 형성하는 데 사용될 수 있으며, 이는 또한 화학양론적(stoichiometric)이거나 비화학양론적(non-stoichiometric)일 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "용매화물"은 고체 형태를 지칭한다. 즉, 용매 용액의 화합물이 용매화될 수 있지만, 본원에서 사용되는 용어가 지칭하는 것은 용매화물이 아니다.

[0304] 본 발명에서, 용어 "중수소화물(deuteride)"은 화합물에서 하나 이상의 수소 원자를 중수소 원자로 대체하여 얻은 물질을 지칭한다.

[0305] 본 발명에서, 약학적 어주번트(pharmaceutical adjuvant)는 약물의 생산 및 처방의 제형에 사용되는 부형제 및 첨가제를 말하며, 안전성 측면에서 합리적으로 평가되었고 활성 성분 외에 약제학적 제제에 포함되는 물질을 말한다. 약학적 어주번트는 성형, 운반체로서의 작용 및 안정성 개선 외에도 가용화, 용해 보조, 지속 및 제어 방출 등의 중요한 기능을 가지고 있으며, 약물의 품질, 안전성 및 효능에 영향을 줄 수 있는 중요한 성분이다. 출처에 따라, 약학적 어주번트는 천연 물질, 반합성 물질 및 완전 합성 물질로 나눌 수 있다. 역할과 용도에 따라, 약학적 어주번트는 용매, 추진제, 가용화제, 공용매, 유화제, 착색제, 결합제, 붕괴제, 충전제, 윤활제, 습윤제, 삼투 조절제, 안정제, 활택제, 향미제, 방부제, 현탁제, 코팅재, 향료, 부착 방지제, 산화 방지제, 킬레이트제, 침투 강화제, pH 조절제, 완충제, 가소제, 계면 활성제, 발포제, 소포제, 증점제, 캡슐화제, 보습제, 흡수제, 희석제, 응집제 및 응집 제거제, 여과 보조제, 방출 지연제 등으로 나눌 수 있다. 투여 경로에 따라, 약학적 어주번트는 경구, 주사, 점막, 경피 또는 국소 투여, 비강 또는 경구 흡입 투여, 안구 투여 등으로 나눌 수 있다. 동일한 약학적 어주번트가 약학 제제의 다른 투여 경로에 사용될 수 있으며, 그 역할과 용도도 다를 수 있다.

[0306] 본 발명에서, 약제학적 조성물은 투여 경로에 따라 다양한 적합한 투여 형태로 제조될 수 있다. 예를 들어, 정제, 캡슐, 과립, 경구 용액, 경구 현탁액, 경구 에멀전, 분말, 팅크제, 시럽, 주사제, 좌약, 연고, 크림, 페이스트, 안과용 제제, 알약, 임플란트, 에어로졸, 분말 에어로졸, 스프레이 등이다. 여기서, 약제학적 조성물 또는 적합한 투여 형태는 본원에 기술된 바와 같은 화합물 또는 약제학적으로 허용되는 염 또는 접합체를 0.01mg 내지 1000mg, 적합하게는 0.1mg 내지 800mg, 바람직하게는 0.5 내지 500mg, 바람직하게는 0.5 내지 350mg, 특히 바람직하게는 1 내지 250mg 함유할 수 있다.

[0307] 약제학적 조성물은 주사제, 주사용 멸균 분말 및 주사용 농축 용액을 포함하는 주사제의 형태로 투여될 수 있다. 여기서, 사용 가능한 운반체 및 용매는 물, 링거액 및 등장성 염화나트륨 용액을 포함한다. 또한, 멸균된 비휘발성 오일도 모노글리세리드 또는 디글리세리드와 같은 용매 또는 현탁 매체로 사용될 수 있다.

[0308] 본 발명에서, 용어 "치료"는 일반적으로 필요한 약리학적 및/또는 생리학적 효과의 획득을 지칭한다. 이 효과는 질병 또는 그 증상을 완전히 또는 부분적으로 예방하는 측면에서 예방적일 수 있고; 및/또는 질병 및/또는 질병으로 인한 부작용을 부분적으로 또는 완전히 안정화 또는 치료하는 측면에서 치료적일 수 있다. 본원에서 사용

되는 용어 "치료"는 다음을 포함하여 환자의 질병에 대한 모든 치료를 포함한다: (a) 질병 또는 그 증상에 걸리기 쉽지만 아직 진단받지 않은 환자에서 질병 또는 그 증상을 예방하는 것; (b) 질병의 증상을 억제하는 것, 즉 질병의 발병을 멈추는 것; 또는 (c) 질병의 증상을 완화하는 것, 즉 질병 또는 그 증상의 퇴행(regression)을 유발하는 것.

[0309] 본 발명에서, 용어 "대상"은 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 예시적인 인간 개체에는 질병(예: 본 명세서에 설명된 질병)이 있는 인간 개체(환자로 지칭됨) 또는 정상적인 인간 개체가 포함된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "비인간 동물"에는 비포유류(예: 조류, 양서류, 파충류)와 같은 모든 척추동물 및 비인간 영장류, 가축 및/또는 가축(예: 양, 개, 고양이, 소, 돼지 등)과 같은 포유류가 포함된다.

[0310] 본 발명에서, 용어 "유효량"은 투여 시 치료되는 상태의 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화하는 화합물의 양을 말한다.

[0311] 본 발명에서, 용어 "표적화 모이어티(targeting moiety)"는 세포 표면의 표적(또는 표적의 일부)에 특이적으로 결합할 수 있는 접합체의 모이어티를 말한다. 접합체는 표적 모이어티와 표적의 상호작용을 통해 특정 세포 집단에 전달될 수 있다. 바람직하게는, 상기 표적화 모이어티는 항체이다.

[0312] 본 발명에서, 가장 넓은 의미로 해석되는 용어 "항체"에는 온전한 단일클론 항체, 다클론 항체 및 필요한 생물학적 활성을 보유하는 한 적어도 두 개의 온전한 항체로부터 형성된 다중특이적 항체(예: 이중특이적 항체)가 포함된다. 본 발명에서, 용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 상호 교환적으로 사용될 수 있다.

[0313] 본 발명에서, 용어 "단일클론 항체"는 실질적으로 동질적인 항체 집단으로부터의 항체를 지칭하는데, 즉, 집단을 구성하는 항체는 소수의 가능한 자연적 돌연변이를 제외하고는 정확히 동일하다. 단일클론 항체는 항원의 한 결정인자(에피토프)에 대한 높은 특이성을 갖는 반면, 이와 대조적으로 다클론 항체는 서로 다른 결정인자(에피토프)를 표적으로 하는 서로 다른 항체를 포함한다. 특이성 외에도, 단일클론 항체는 다른 항체에 의해 오염되지 않고 합성될 수 있다는 이점이 있다. 본원에서 사용되는 수식어 "단일클론"은 항체가 실질적으로 동질적인 항체 집단으로부터 유래된 것으로 특징지어지고, 특별한 방법으로 제조되어야 한다는 것으로 이해해서는 안 된다.

[0314] 본 발명의 특정 실시 예에서, 모노클로날 항체는 또한 구체적으로 키메라 항체를 포함하는데, 즉, 키메라 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 일부는 특정 유형, 클래스 또는 하위 클래스의 항체와 동일(identical)하거나 상동(homologous)하고, 나머지는 필요한 생물학적 활성을 보유하는 한 다른 유형, 클래스 또는 하위 클래스의 항체와 동일하거나 상동하다(예를 들어, US 4,816,567; 및 Morrison et al, 1984, PNAS, 81: 6851-6855 참조). 사용 가능한 키메라 항체에는 비인간 영장류(예를 들어, 고대 원숭이, 오랑우탄 등)의 가변 영역 항원 결합 서열과 인간 불변 영역 서열을 포함하는 영장류화 항체가 포함된다.

[0315] 본 발명에서, 용어 "항체 단편"은 항체의 일부, 바람직하게는 항원 결합 또는 가변 영역을 말한다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')2, Fd, Fv, dAb 및 상보성 결정 영역 단편(complementarity determining region fragment), 디아바디, 선형 항체 및 단일 사슬 항체 분자(single chain antibody molecule)가 있다.

[0316] 본 발명에서 "이중특이 항체"라는 용어는 "이중기능 항체 접합체"라고도 하며, 첫 번째 항체(단편)와 두 번째 항체(단편)가 결합 팔(coupling arm)을 통해 형성된 접합체를 말하며, 이는 각 항체의 활성을 유지하므로, 이중기능 및 이중특이성을 갖는다.

[0317] 본 발명에서, 용어 "다중특이적 항체"에는 예를 들어, 세 가지 다른 항원 결합 특이성을 갖는 항체인 삼중특이적 항체와 네 가지 다른 항원 결합 특이성을 갖는 항체인 사중특이적 항체가 포함된다.

[0318] 본 발명에서, 용어 "무손상 항체(intact antibody)"는 항원 결합 가변 영역과 경쇄 불변 영역(CL), 중쇄 불변 영역(CH1, CH2 및 CH3)을 포함하는 항체를 말ㅎ다한다.

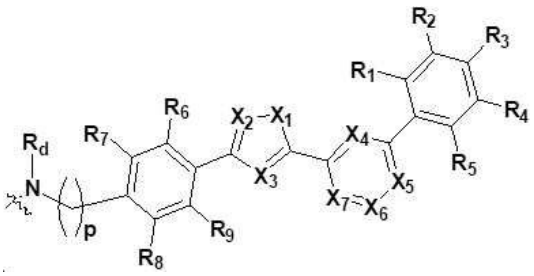
[0319] 불변 영역은 기본 서열(native sequence)(예: 인간 기본 불변 영역 서열(human native constant region sequence)) 또는 이의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 무손상 항체는 바람직하게는 하나 이상의 이펙터 기능을 갖는 무손상 항체이다.

[0320] 본 발명에서, 비인간(예: 쥐) 항체의 "인간화(humanized)" 형태는 최소한의 비인간 면역글로불린 서열을 포함하는 키메라 항체를 말한다. 대부분의 인간화 항체는 인간 수용자 면역글로불린(human recipient immunoglobulin)의 고가변 영역 잔기를 비인간(예: 생쥐, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류)의 고가변 영역 잔기(공여 항체, donor antibody)로 대체하여 얻는다. 이 잔기는 필요한 특이성, 친화성 및 기능을 가지고 있다. 특정 구현예에

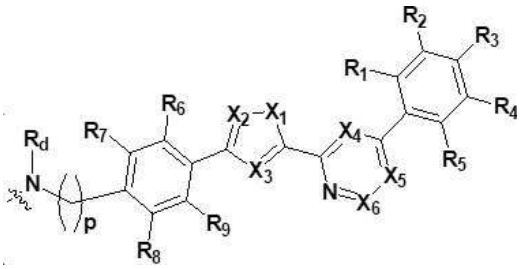
서, 인간 면역글로불린의 프레임워크 영역(Framework Region, FR) 잔기도 비인간 잔기로 대체된다. 나아가, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 공여 항체에 존재하지 않는 잔기를 포함할 수도 있다. 이러한 변형은 항체의 성능을 더욱 최적화하기 위해 이루어진다. 인간화 항체는 일반적으로 모든 고가변 루프가 비인간 면역글로불린에 상응하고 FR이 인간 면역글로불린의 서열과 완전히 또는 실질적으로 완전히 동일한 하나 이상, 일반적으로 두 개의 가변 영역을 포함한다. 인간화 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc, 일반적으로 인간 면역글로불린 Fc)의 일부 이상을 포함할 수 있다. 자세한 내용은 예를 들어 Jones et al, 1986, Nature, 321: 522-525; Riechmann et al, 1988, Nature, 332: 323-329; 및 Presta, 1992, Curr Op Struct Bwl 2: 593-596을 참조한다.

[0321] 여기에서 사용된 단일클론 항체는 여러 가지 방법으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 여기에서 사용된 단일클론 항체는 다양한 종(마우스, 햄스터, 래트 및 인간 세포 포함)을 사용하는 하이브리도마 방법으로 얻을 수 있거나(예를 들어, Kohler et al, 1975, Nature, 256: 495 참조), 또는 재조합 DNA 기술로 제조할 수 있거나(예를 들어, US 4,816,567 참조), 또는 파지 항체 라이브러리에서 분리할 수 있다(예를 들어, Clackson et al, 1991, Nature, 352: 624-628; 및 Marks et al, 1991, Journal of Molecular Biology, 222: 581-597 참조).

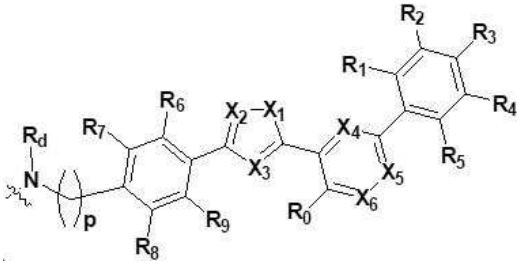
[0322] 본 발명에서, 달리 명시적으로 표시되지 않는 한, "각각은 ...에서 독립적으로 선택된다"와 "...각각은 ...서 독립적으로 선택된다"라는 표현은 상호 교환 가능하고, 넓은 의미로 이해되어야 하며, 이는 서로 다른 그룹에서 동일하거나 다른 기호로 표현된 특정 옵션이 서로 영향을 미치지 않거나, 동일한 그룹에서 동일하거나 다른 기호로 표현된 특정 옵션이 서로 영향을 미치지 않는다는 것을 의미한다.



[0323] 본 발명에서, 화학식 A 로 표현된 구조에서 X7은 N 또는 C(R_0)에서 선택되며, 이는 화학식 A로 표현된 구조가



또는



임을 의미한다. 다른 유사한 정의들은 앞서 언급한 내용을 참조하여 이해될 수 있다.

[0324] 본 발명에서 "직접 결합(direct bond)"이라는 용어는 양쪽의 기가 직접 연결되어 있는 것을 의미하는데, 예를 들어 L_1은 L_{11}-L_{12}-L_{13}-L_{14}이고, L_{13}이 직접 결합인 경우 L_1은 L_{11}-L_{12}-L_{14}이며, 즉 L_{12}는 L_{14}에 직접 연결되어 있다. 다른 유사한 정의들은 앞서 언급한 내용을 참조하여 이해될 수 있다.

[0325] 본 발명의 각 부분에서 본 발명 화합물의 치환기는 치환기의 유형 또는 범위에 따라 개시된다. 본 발명은 이러한 치환기 유형 및 범위의 다양한 구성원의 각각의 독립적인 2차 조합을 포함한다는 것이 구체적으로 표시되어 있다. 예를 들어, "C1-C6 알킬"이라는 용어는 구체적으로 독립적으로 공개된 메틸, 에틸, C3 알킬, C4 알킬, C5 알킬 및 C6 알킬을 지칭한다.

[0326] 본 발명에서 "알킬"이라는 용어는 표시된 수의 탄소 원자를 갖는 분지형 및 직쇄형 포화 지방족 탄화수소 기를 포함하는 것을 의미한다. 예를 들어, 용어 "C1-C6 알킬"은 1-6개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 또는 분지형 알킬을 지칭하며, 예를 들어 "C1-C3 알킬" 또는 "C1-C4 알킬", 메틸, 에틸 등을 포함하며, 구체적인 예로는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 헥실을 포함하되 이에 국한되지 않는다.

[0327] 본 발명에서 용어 "C1-C4 알킬"은 1-4개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 또는 분지형 알킬을 지칭하며, 예를 들어 "C1-C3 알킬", 메틸, 에틸 등을 포함하며, 구체적인 예로는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸을 포함하되 이에 국한되지 않는다.

[0328] 본 발명에서 용어 "중수소화 알킬"은 알킬의 하나 이상의 수소 원자를 중수소 원자로 대체하여 얻은 기를 지칭한다. 여기서, 알킬은 C1-C6 알킬, C1-C4 알킬 또는 C1-C3 알킬일 수 있다. 알킬, C1-C6 알킬, C1-C4 알킬 또는 C1-C3 알킬은 상기 정의된 바와 같다.

[0329] 본 발명에서, 용어 "할로알킬(haloalkyl)"은 알킬의 하나 이상의 수소 원자를 할로겐으로 대체하여 얻은 그룹을 말한다. 예를 들어, "C1-C6 할로알킬"일 수 있으며, 이는 C1-C6 알킬(예를 들어, C1-C4 알킬, C1-C3 알킬 등)의 하나 이상의 수소 원자를 할로겐(바람직하게는 불소, 염소)으로 대체하여 얻은 그룹, 예를 들어, 모노플루오로메틸, 디플루오로에틸, 트리플루오로메틸 등을 말한다. 알킬, C1-C6 알킬, C1-C4 알킬 또는 C1-C3 알킬은 상기 정의한 바와 같다.

[0330] 본 발명에서, 용어 "히드록시알킬"은 알킬의 하나 이상의 수소 원자를 히드록시기로 대체하여 얻은 그룹을 말한다. 예를 들어, "C1-C6 히드록시알킬"일 수 있으며, 이는 C1-C6 알킬(예: C1-C4 알킬, C1-C3 알킬 등)의 하나 이상의 수소 원자를 히드록시로 대체하여 얻은 그룹, 예를 들어 히드록시메틸, 2-히드록시에틸 등을 말한다. 알킬, C1-C6 알킬, C1-C4 알킬 또는 C1-C3 알킬은 상기 정의한 바와 같다.

[0331] 본 발명에서, 용어 "알콕시"는 산소 원자(-O-)를 통해 분자의 나머지 부분에 부착된 상기 설명된 임의의 알킬(예: C1-C6 알킬, C1-C4 알킬, C1-C3 알킬 등)을 말한다.

[0332] 본 발명에서, 용어 "사이클로알킬"은 포화된 탄소 고리의 모노사이클릭 고리 시스템을 갖는 탄화수소기를 지칭하며, 예를 들어 C3-C6 사이클로알킬일 수 있으며, 구체적으로 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실 등일 수 있다.

[0333] 할로겐은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드를 지칭한다.

[0334] 본 발명에서, 용어 "아릴"은 치환 및 비치환된 방향족 6원 모노사이클릭 그룹, 10원 바이사이클릭 그룹 및 10원 이상 트리사이클릭 그룹을 지칭하며, 모두 고리 헤테로원자가 없고 고리 탄소 원자를 포함한다. 구체적으로, 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다.

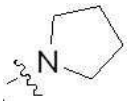
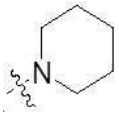
[0335] 본 발명에서, 용어 "헤테로아릴"은 치환되고 비치환된 방향족 5- 또는 6-원 모노사이클릭 그룹, 8-, 9- 또는 10-원 바이사이클릭 그룹, 및 적어도 하나의 고리에 적어도 하나의 헤테로원자(N, O 또는 S)를 갖는 11- 내지 14-원 트리사이클릭 그룹을 의미하며, 헤테로원자를 포함하는 고리는 선택적으로 N, O 또는 S에서 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 추가로 갖는다. 이들 중에서, 적어도 하나의 고리에 적어도 하나의 헤테로원자(N, O 또는 S)를 갖는 치환 및 비치환된 방향족 8-, 9- 또는 10-원 바이사이클릭 그룹 및 11- 내지 14-원 트리사이클릭 그룹은 "융합된 헤테로아릴 그룹"이다. 바이사이클릭 또는 트리사이클릭 헤테로아릴로서, 방향족 시스템을 형성하기 위해서는 전체적으로 바이사이클릭 또는 트리사이클릭 구조가 필요하다. 헤테로아릴은 임의의 고리의 임의의 이용 가능한 질소 또는 탄소 원자에 부착될 수 있다. 그리고 당업자는 두 개의 인접한 원자(바람직하게는 탄소 원자)가 융합 고리의 두 고리 사이에 공유된다는 것을 이해할 것다.

[0336] 예시적인 모노사이클릭 헤테로아릴에는 피롤릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아졸릴, 티아디아졸릴, 이소티아졸릴, 푸라닐, 티에닐, 옥사디아졸릴, 피리딜, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 트리아지닐, 트리아졸릴 등이 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0337] 예시적인 바이사이클릭 헤테로아릴에는 인돌릴, 5-아자인돌릴, 피롤로[2, 3-d]피리미디닐, 5, 6-디아자인돌릴, 6-아자인돌릴, 7-아자인돌릴, 피라졸로[3, 4-b]피리딜, 피롤로[2, 3-c]피리다지닐, 티에노[2, 3-d]이미다졸릴, 피라졸로[3, 4-c]피리딜, 벤조티아졸릴, 벤즈이미다졸릴, 벤조옥사졸릴, 벤조티에닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 벤조푸라닐, 인돌리지닐, 퀴녹살리닐, 인다졸릴, 피롤로피리미디닐, 푸라노피리딜, 이소인돌릴 등이 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0338] 본 발명에서, 용어 "헤테로사이클", "헤테로사이클릭" 또는 "헤테로사이클릴"은 상호 교환적으로 사용되며, 치환되거나 치환되지 않은 3- 내지 7-원(바람직하게는 4- 내지 7-원, 더 바람직하게는 5- 내지 6-원) 모노사이클릭 그룹, 7- 내지 11-원 바이사이클릭 그룹, 10- 내지 15-원 트리사이클릭 그룹을 지칭하며, 이는 하나 이상의 이중 결합을 포함할 수 있지만 방향족 고리를 구성하지 않으며, 여기서 적어도 하나의 고리는 적어도 하나의 헤테로원자(N, O 또는 S)를 갖는다. 바이사이클릭 및 트리사이클릭 그룹을 완성하는 융합 고리는 탄소 원자만 포함할 수 있으며, 방향족 고리를 구성하지 않고 포화되거나 부분적으로 포화될 수 있다. 헤테로사이클릭 그룹은 이용 가능한 모든 질소 또는 탄소 원자에 부착될 수 있다.

[0339] 예시적인 모노사이클릭 헤테로사이클릴에는 아제티디닐, 옥세타닐, 피롤리디닐, 이미다졸리닐, 옥사졸리디닐, 이소옥사졸리닐, 티아졸리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 2-옥소피페라지닐, 2-옥소피페리디닐, 2-옥소피롤리디닐, 2-옥소아제피닐, 1-피리도닐, 4-피페리디노닐, 테트라하이드로피라닐, 모르폴리닐, 1,3-디옥솔라닐 등이 포함된다.

[0340] 여기서, "포화 헤테로사이클"은 상기 정의된 헤테로사이클이 불포화 결합을 포함하지 않는다는 것을 의미하는데, 예를 들어, 이중 결합을 포함하지 않는다는 것을 의미하는데, 예를 들어, "질소 함유 포화 헤테로사이클릴"은  또는  일 수 있다.

[0341] 본 발명에서, 용어 "치환된다" 또는 "치환된" 또는 "치환"은 상호 교환 가능하게 사용되고, 지정된 원자 또는 그룹의 하나 이상의 수소 원자를 지정된 그룹으로 선택적으로 대체하는 것을 의미하며, 이는 지정된 원자의 정상적인 원자가 상태(valence state)를 초과하지 않는 경우에 한한다. 여기서 하나 이상의 치환기가 있을 수 있고, 각 치환기는 중수소, 할로겐, 알킬, 사이클로알킬, 알콕시, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴로 구성된 그룹에서 독립적으로 선택되며, 여기서 할로겐, 알킬, 사이클로알킬, 알콕시, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴은 상기 정의된 바와 같다.

[0342] 위의 모든 설명에서, 예를 들어 "사이클로알킬알킬"과 같이 합성명인 모든 기는 그 부분으로부터 관례적으로 왼쪽에서 오른쪽으로 유도된 것으로 해석되어야 한다는 것이 당업자에게 자명할 것이다. 예를 들어, "사이클로알킬알킬"의 경우 "알킬"을 "사이클로알킬"로 치환한 것이다. 여기서 사이클로알킬과 알킬은 위에서 정의한 대로이다.

발명의 효과

[0343] 1. 본 발명의 ADC 약물에서, 암세포를 손상시키는 동시에 손상 복구를 억제하여 암세포 사멸을 유도하는 합성치사 개념은, 병용 요법에 비해 세포 손상 복구 억제제의 투여 요구량을 낮추면서도, 정상 세포에 대한 손상 가능성을 더욱 감소시킨다.

[0344] 2. 본 발명의 손상 복구 억제제를 갖는 ADC는 중간 독성 약물(moderately toxic drugs)에 대한 민감성을 증가시킬 수 있다(또는 중간 독성 약물의 가용성 또는 투여 방식을 증가시킬 수 있다).

[0345] 3. 본 발명의 손상 복구 억제제를 갖는 ADC에서, 독소 약물이 고독성 화합물인 경우, 창(window)을 확대할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0346] 도 1은 A431 세포 표면에서 CD33 표적의 발현을 보여준다.

도 2는 HEL92.1.7 세포 표면에서 CD33 표적의 발현을 보여준다.

도 3은 CMK 세포 표면에서 CD33 표적의 발현을 보여준다.

도 4는 U937 세포 표면에서 CD33 표적의 발현을 보여준다.

도 5는 HL-60 세포 표면에서 CD33 표적의 발현을 보여준다.

도 6, 7, 8, 9 및 10은 각각 4개의 AML 세포주와 A431을 CD33 표적 세포로 사용하여 사멸 실험 결과를 보여준다.

도 11은 N87 세포 표면에서 Trop2 표적의 발현을 보여준다.

도 12는 A431+SW620 이종 종양 세포 표면에서 Trop2 표적의 발현을 보여준다.

도 13 및 14는 다른 Trop2 표적 발현을 가진 2개 세포의 사멸 실험 결과를 각각 보여준다.

도 15, 16, 17 및 18은 다른 HER2 표적 발현을 가진 4개 세포의 사멸 실험 결과를 각각 보여준다.

도 19 및 20은 재조합 인간 CD33 단백질에 대한 항-CD33 항체-약물 접합체(모노-약물 ADC, 이중-약물 ADC)의 결합을 보여준다.

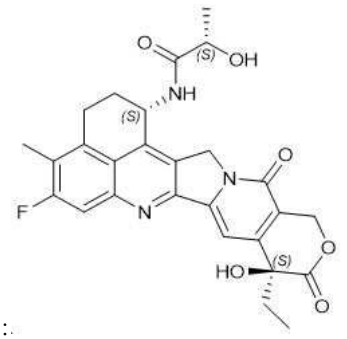
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0347] 본 발명은 구체적인 구현예에 대한 다음의 설명에 의해 더욱 설명되지만, 이에 제한하려는 것은 아니다. 본 발명의 기본적인 정신과 범위를 벗어나지 않고 본 발명의 교시사항에 비추어 당업자는 다양한 수정 또는 개선을 할 수 있다. 제조업체가 표시되지 않은 사용된 시약 또는 기구는 모두 시중에서 판매되는 기존 제품이다.

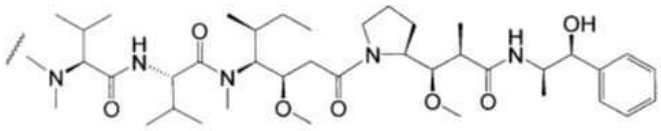
[0348] 본 출원은 표적화 단백질(targeting protein)에 DNA 손상 복구 억제제 및 추가 약물이 동시에 결합된 항체-약물 접합체를 개시한다. 특히, 특정 구현예에서, DNA 손상 억제제와 추가 약물 중 하나는 표적화 단백질의 원래 사슬간 디설파이드 시스테인(Cys) 잔기에 결합되고, 다른 하나는 표적화 단백질의 시스테인(Cys) 잔기에 부위 지향 결합 방식으로 연결되며, 여기서 부위 지향 결합 메커니즘은 표적화 단백질의 원래 아미노산 중 일부가 부위 지향 돌연변이를 거쳐 시스테인이 되거나, 시스테인 또는 시스테인을 함유하는 폴리펩티드가 부위 지향 삽입을 거치는 것이다.

[0349] 본 발명에서, 일부 약물의 약어와 구조식 간의 대응 관계는 다음과 같다:

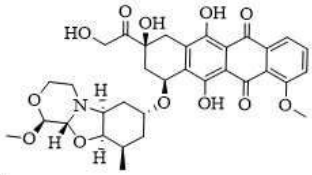
[0350] XD-01:



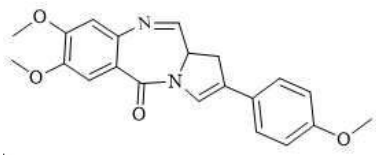
[0351] MMAE:



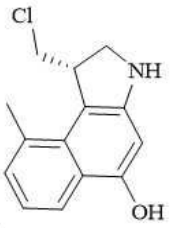
[0352] PNU159682:



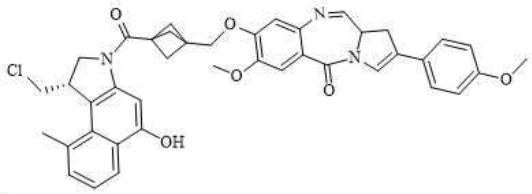
[0353] PBD:



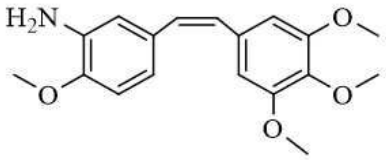
[0354] CBI:



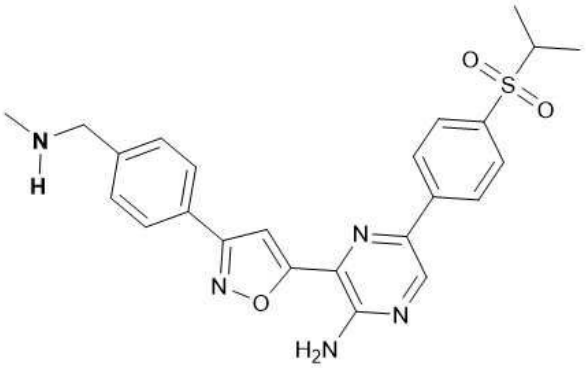
[0355] PBD-CBI:



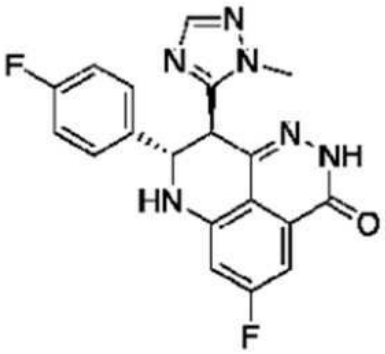
[0356] AMCA4:



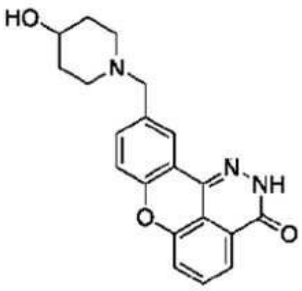
[0357] VE-822:



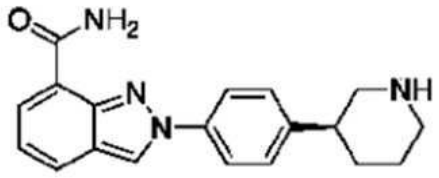
[0358] 탈라조파립:



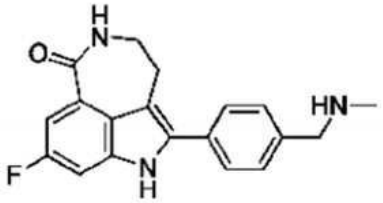
[0359] E7016:



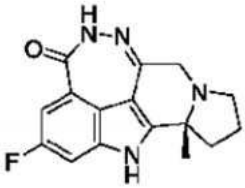
[0360] 니라파립:



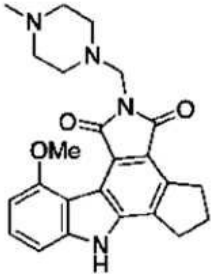
[0361] 루카파립:



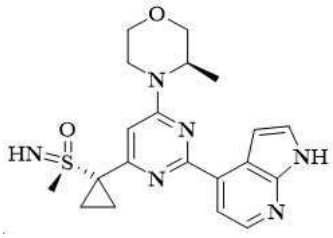
[0362] BGB-290:



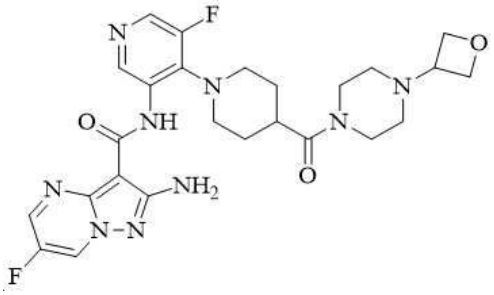
[0363] CEP-9722:



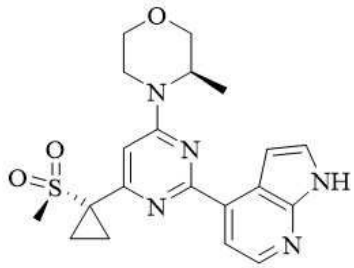
[0364] 세랄라세르팁(AZD6738):



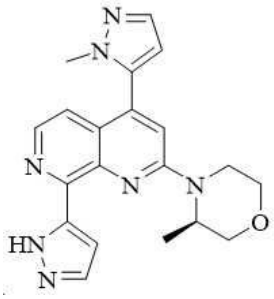
[0365] VX-803(M4344):



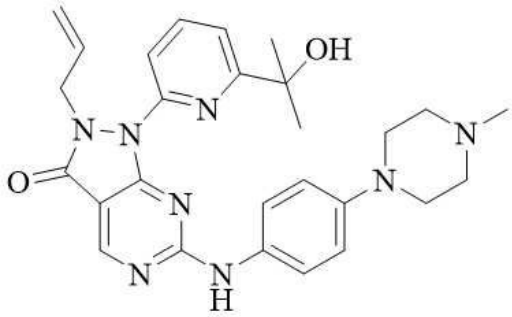
[0366] AZ20:



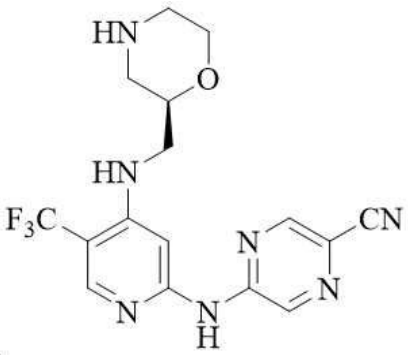
[0367] 엘리무세르팁(BAY-1895344):



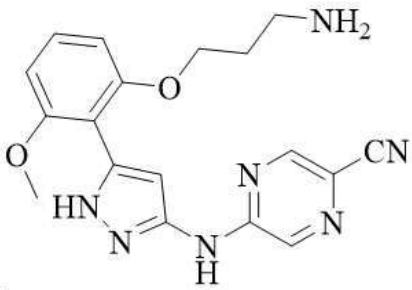
[0368] 아다보세르팁(MK-1775, AZD1775):

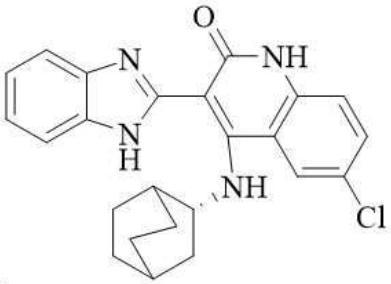


[0369] SRA737(CCT245737, PNT-737):

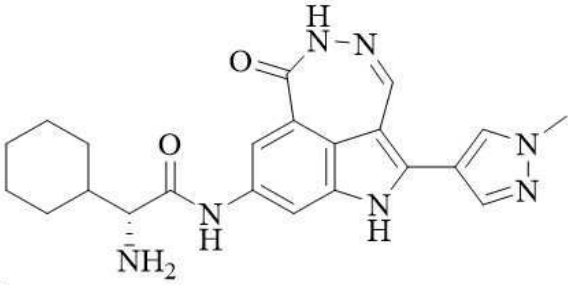


[0370] 프렉사세르팁(LY2606368, ACR368):

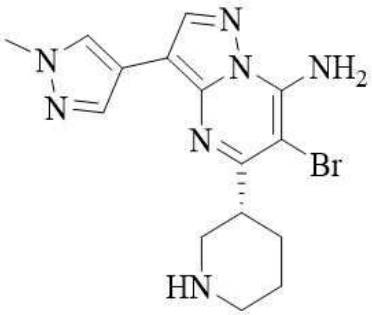




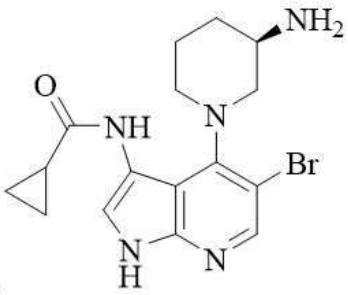
[0371] CHIR-124:



[0372] PF-477736(PF-736):



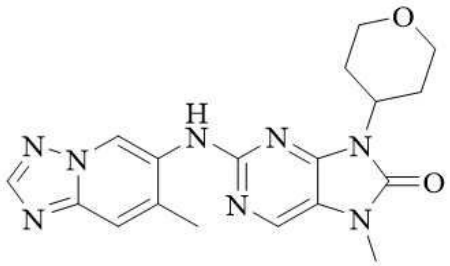
[0373] MK-8776(SCH 900776):



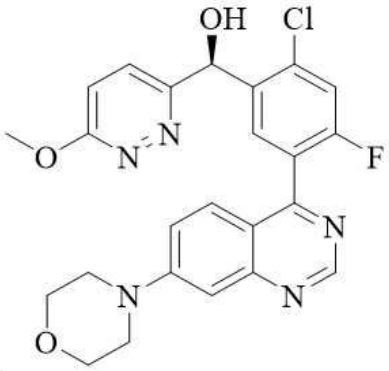
[0374] GDC-0575(ARRY-575, RG7741):



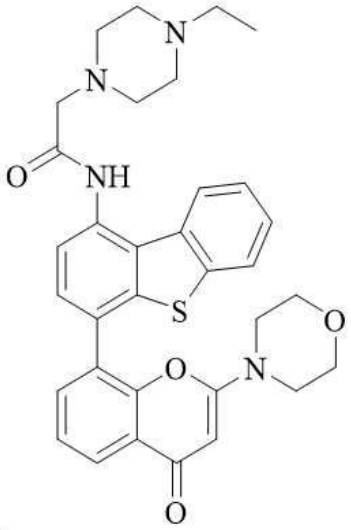
[0375] CC-115:



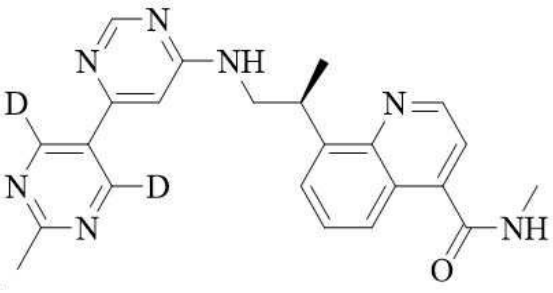
[0376] AZD7648:



[0377] 네디서팁(M3814, 페포서팁):



[0378] KU-0060648:

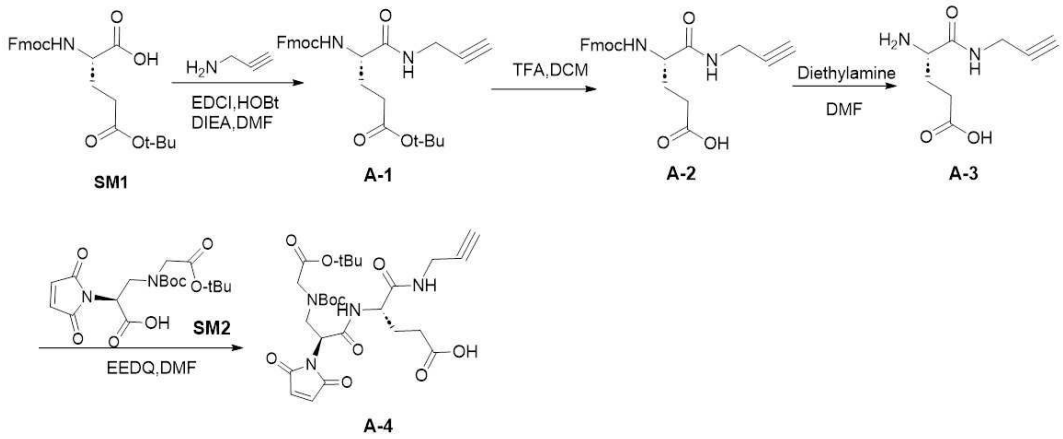


[0379] VX-984 (M9831):

[0380] 본 발명은 다음의 실시예를 조합하여 더욱 자세히 설명하며, 달리 명시되지 않는 한, 모든 출발 물질은 상업적으로 구입 가능하다.

[0381] **실시예 1**

[0382] **화합물 A-4의 합성:**



[0383]

[0384] **1단계: 화합물 A-1의 합성**

[0385] 2L 단일구 병에 Fmoc-L-글루탐산 5-tert-부틸 에스테르(**SM1**, 200g, 470mmol), 프로파길아민(28.5g, 517mmol)을 넣고, DMF 400mL에 용해시켜 투명한 용액을 얻은 다음, 얼음물 욕조에서 약 0℃로 냉각한 다음, EDCI(108.2g, 564mmol), HOBt(76.2g, 564mmol) 및 DIEA(117mL, 705mmol)를 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 TLC로 모니터링하였다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 2L의 물에 붓고, 에틸 아세테이트로 3회 추출(500mL*3)하였다. 유기상을 합치고, 포화 NaCl 용액으로 2회 세척한 다음, 무수 황산나트륨으로 건조하였다. 황산나트륨을 제거하기 위해 여과한 후, 여과액을 농축하여 조생성물을 얻었다. 조생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(2/1)로 정제하여 화합물 **A-1**(100.9g)을 얻었다. 수율 48%, LCMS: $[M+H]^+$=463.2.

[0386] **2단계: 화합물 A-2의 합성**

[0387] 1L 단일구 병에 **A-1**(100.0g)을 넣고, 디클로로메탄 500mL에 녹인 다음, 트리플루오로아세트산 200mL를 넣고, 반응의 종말점을 TLC로 모니터링하면서 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 농축하여 DCM과 일부 트리플루오로아세트산을 제거하여 조생성물을 얻었다. 조생성물에 메틸 tert-butyl ether를 첨가하여 흰색 고체를 침전시킨 후 여과하고 건조하여 화합물 **A-2**(77.5g)를 얻었다. 수율 87%, LCMS: $[M-H]^-$=405.1.

[0388] **3단계: 화합물 A-3의 합성**

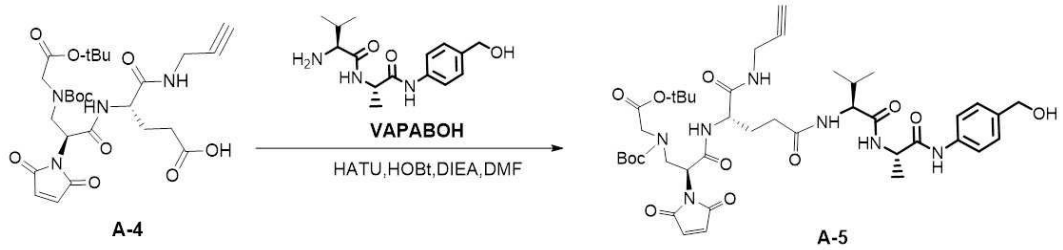
[0389] 2L 단일구 병에 **A-2**(77.0g)를 첨가하고 DMF 150mL에 용해한 다음, 디에틸아민 38mL를 첨가하고 TLC로 반응의 종말점을 모니터링하면서 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응 완료 후, 800mL의 메틸 tert-butyl ether를 반응 용액에 첨가하여 흰색 고체를 침전시킨 다음 여과하고 건조하여 화합물 **A-3**(33.7g)을 얻었다. 수율 96.6%, LCMS: $[M-H]^-$=183.1.

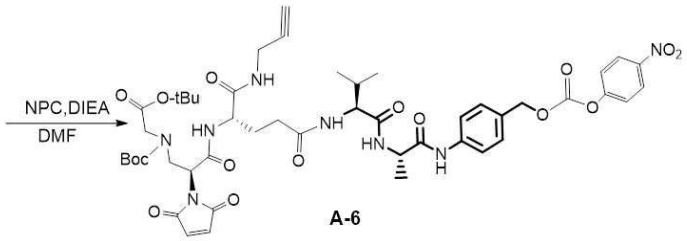
[0390] **4단계: 화합물 A-4의 합성**

[0391] 100mL 단일구 병에 화합물 A-3(10.02g, 54.4mmol), 화합물 SM2(14.48g, 36.3mmol)[CN108452321의 방법에 따라 합성]을 첨가하고, 100mL의 DMF에 용해한 다음, EEDQ(13.5g, 54.8mmol)를 첨가하고, 반응의 종말점을 HPLC로 모니터링하면서 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응 완료 후, 반응 용액을 제조용 액체크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조용액을 얻은 다음, 제조용액을 동결건조하여 화합물 A-4(9.94g)를 얻었다. 수율 48%, LCMS: [M-H]-=563.2.

[0392] **실시예 2**

[0393] **화합물 A-6의 합성:**





[0394]

[0395] **1단계: 화합물 A-5의 합성**

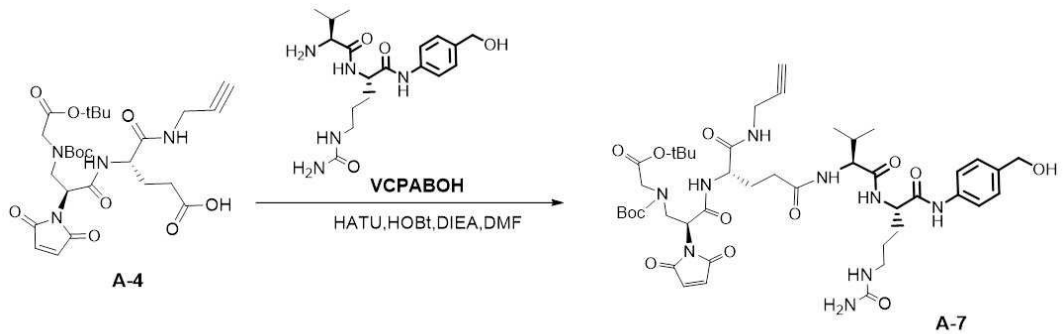
[0396] 250mL 단일구 병에 화합물 **A-4**(6.38g, 11.3mmol), 화합물 VAPAB-OH(3.98g, 13.56mmol)를 넣고 50mL의 DMF에 용해시킨 다음 EDCI(2.6g, 13.56mmol), HOBt(1.83g, 13.56mmol) 및 DIEA(2.8mL, 16.96mmol)를 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결건조하여 흰색 고체 화합물 **A-5**(5.07g)를 얻었다. 수율 53%, LCMS: $[M+H]^+$=840.4.

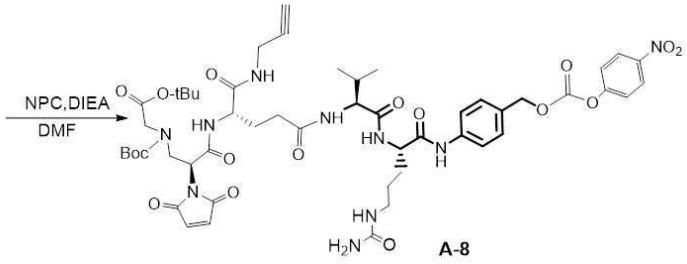
[0397] **2단계: 화합물 A-6의 합성**

[0398] 100mL 단일구 병에 화합물 **A-5**(3.94g, 4.7mmol), 화합물 디(p-니트로페닐) 카보네이트(NPC, 8.56g, 28.14mmol)를 넣고 40mL의 DMF에 녹인 다음 DIEA(2.32mL, 14.07mmol)를 넣고 실온에서 1.5시간 동안 반응시키며, 반응의 종말점은 TLC로 모니터링하였다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 **A-6**(3.9g)을 얻었다. 수율 83%, LCMS: $[M+H]^+$=1005.4.

[0399] **실시예 3**

[0400] **화합물 A-8의 합성:**





[0401]

[0402] **1단계: 화합물 A-7의 합성**

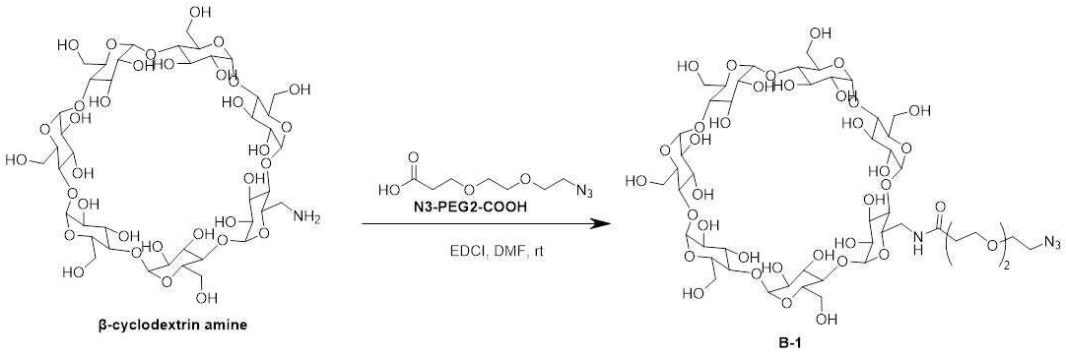
[0403] 50mL 단일구 병에 화합물 **A-4**(2.5g, 4.4mmol), 화합물 VCPAB-OH(2.0g, 5.28mmol)를 넣고 25mL의 DMF에 용해한 다음 EDCI(1.01g, 5.28mmol), HOBt(0.72g, 5.28mmol) 및 DIEA(1.1mL, 6.6mmol)를 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 반응 완료 후, 반응 용액을 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결 건조하여 흰색 고체 화합물 **A-7**(1.96g)을 얻었다. 수율 48%, LCMS: $[M+H]^+$=926.4.

[0404] **2단계: 화합물 A-8의 합성**

[0405] 50mL 단일구 병에 화합물 **A-7**(1.85g, 2.0mmol), 화합물 디(p-니트로페닐) 카보네이트(NPC, 3.65g, 12.0mmol)를 넣고, DMF 15mL로 용해한 다음, DIEA(1.05mL, 6.0mmol)를 넣고, 반응의 종말점을 TLC로 모니터링하면서 실온에서 1.5시간 동안 반응시켰다. 반응 완료 후 반응 용액을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 A-8(1.77g)을 얻었다. 수율 81%, LCMS: $[M+H]^+$=1091.5.

[0406] **실시예 4**

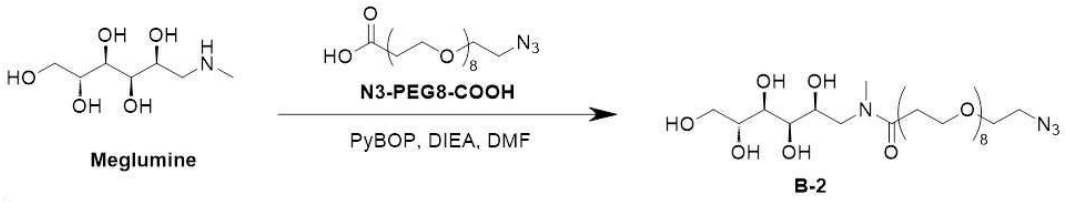
[0407] **화합물 B-1의 합성:**

[0408] 

[0409] 25mL 단일구 병에 **β-사이클로덱스트린 아민**(모노(6-아미노-6-데옥시)-β-사이클로덱스트린, 구입, 2.0g, 1.76mmol), 화합물 **N3-PEG2-COOH**(구입, 428.8mg, 2.11mmol)를 첨가하고, DMF 7mL에 용해한 다음, EDCI(405mg, 2.11mmol)를 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 그 동안 반응계는 탁한 상태에서 투명하게 바뀌었고, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 반응 완료 후, 반응 용액을 제조용 액체크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조용액을 얻은 다음, 제조용액을 동결건조하여 흰색 고체 화합물 B-1(1.68g)을 얻었다. 수율 72%, LCMS: $[M+H]^+$=1319.5.

[0410] **실시예 5**

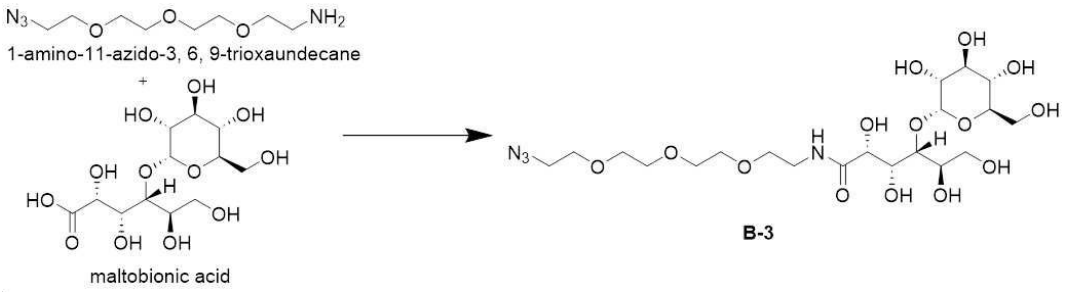
[0411] **화합물 B-2의 합성:**

[0412] 

[0413] 100mL 단일구 병에 **메글루민**(3.0g, 6.4mmol), 화합물 **N3-PEG8-COOH**(구매, 1.5g, 7.68mmol)를 넣고 24mL의 DMF에 용해한 다음 PyBOP(4.0g, 7.68mmol), DIEA(1.58mL, 9.6mmol)를 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시키며, HPLC로 반응을 모니터링하였다. 반응이 크게 진전되지 않을 때까지 반응을 완료하였다. 반응 용액을 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결건조하여 밝은 노란색 유성 물질 **B-2**(3.27g)를 얻었다. 수율 32%, LCMS: $[M+H]^+$=645.3.

[0414] **실시예 6**

[0415] **화합물 B-3의 합성:**

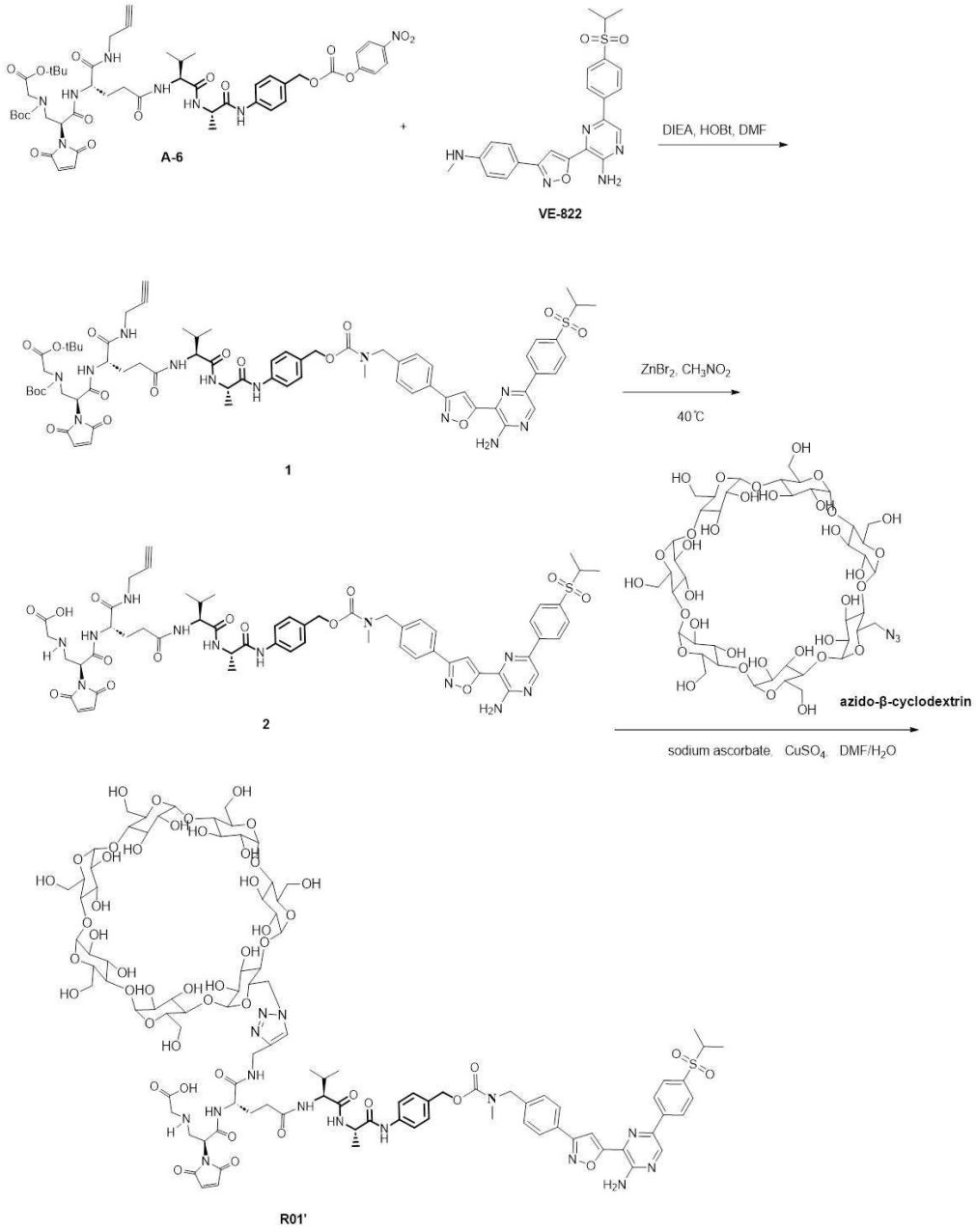


[0416]

[0417] 실온에서 말토비온산(7.0g, 19.5mmol)을 무수 메탄올 70mL에 용해시키고, 시스템 내의 대기를 질소로 3회 치환한 후, 4Å 분자 체(molecular sieve)를 첨가하고, 반응 용액을 밤새 가열 환류시키고, 실온 조건으로 냉각한 후, 1-아미노-11-아지도-3, 6, 9-트리옥사운데칸(1-amino-11-azido-3, 6, 9-trioxaundecane)을 첨가하고, 실온에서 24시간 동안 교반한 후, 반응 용액을 감압 하에 곧바로 농축시켰다. 얻어진 조생성물을 메탄올 5mL에 용해시키고, 클로로포름 30mL와 테트라히드로푸란 100mL를 차례로 첨가한 후, 교반하고 방치하여 흰색 고체를 얻었다. 여과한 후, 필터 케이크를 테트라히드로푸란으로 2회 헹구었다. 얻어진 흰색 고체를 물 30 mL에 녹인 후 동결건조하여 흰색 고체 화합물 **B-3** 5.6 g을 얻었다; LC-MS m/z $(M+H)^+$: 559.3.

[0418] **실시예 7**

[0419] **화합물 R01'의 합성:**



[0420]

[0421] **1단계: 화합물 1의 합성**

[0422] 25mL 단일구 병에 화합물 **VE-822**(840.5mg, 1.81mmol), **A-6**(1.9231g, 1.90mmol), HOBt(369.0mg, 2.72mmol)를 넣고 10mL의 DMF에 녹인 다음 DIEA(300uL, 1.81mmol)를 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시키며, 반응은 TLC로 모니터링하였다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 분취 용액을 얻은 다음, 분취 용액을 동결 건조하여 노란색 고체 **화합물 1**(1.9270g)을 얻었다. 수율 80%, LCMS: $[M+H]^+$=1329.6.

[0423] **2단계: 화합물 2의 합성**

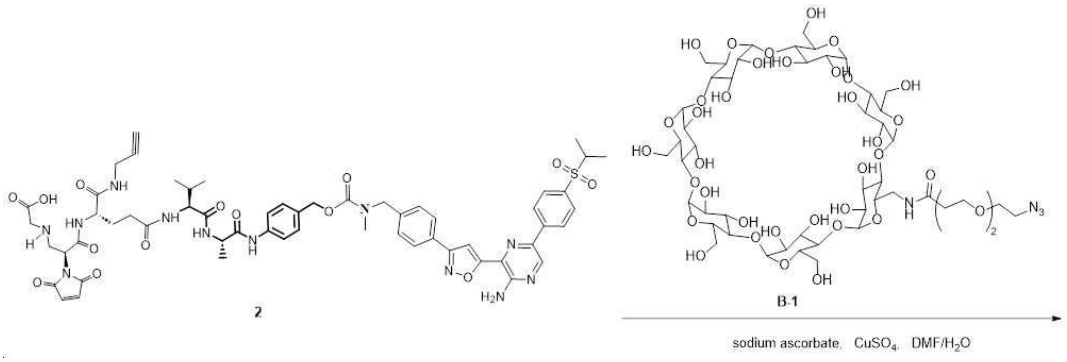
[0424] 100mL 단일구 병에 **화합물 1**(604.2mg, 0.45mmol), 브롬화 아연(2017.6mg, 9.09mmol)을 넣고 18mL의 CH_3NO_2에 용해시켜 균일한 황탁 용액을 얻고, 40℃에서 0.5시간 동안 반응시키고, 용매는 물 펌프를 사용하여 45℃에서 감압 농축하여 제거하였으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 농축물을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 분취 용액을 얻고, 분취 용액을 동결 건조하여 화합물 2(225.6mg)를 얻었다. 수율 42%, LCMS: $[M+H]^+$= 1173.4.

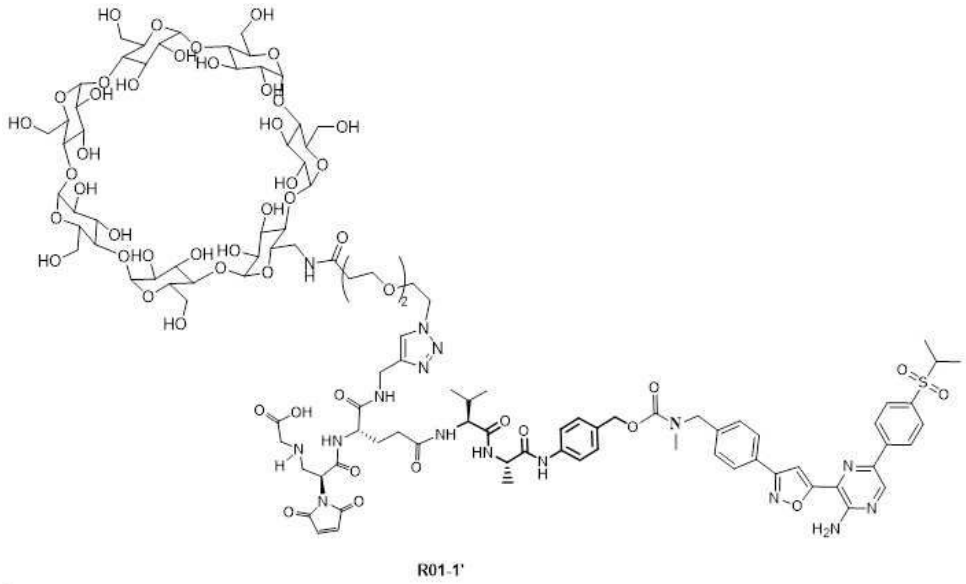
[0425] **3단계: 화합물 R01'의 합성**

[0426] 10mL PE 파이프에 **화합물 2**(27.73mg, 0.02mmol), 아지도-β-사이클로덱스트린(구매, 33.0mg, 0.026mmol)을 넣고, DMF 2mL와 물 0.2mL에 녹인 다음, CuSO4·5H2O(38.07mg, 0.075mmol), 아스코르브산나트륨(21.99mg, 0.075mmol)을 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 반응 완료 후, 반응액을 고성능 액체 제조 크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조액을 얻은 다음, 제조액을 동결건조하여 화합물 R01'(46.11mg)을 얻었다. 수율 83.6%, LC-MS: $[M+2H]2^{+}$=1167.4.

[0427] **실시예 8**

[0428] **화합물 R01-1'의 합성:**

[0429] 

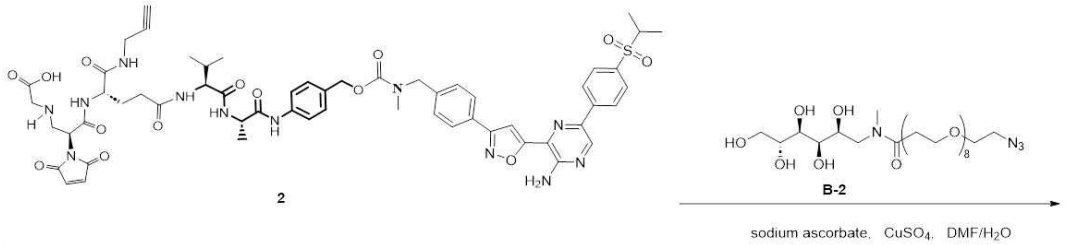


[0430]

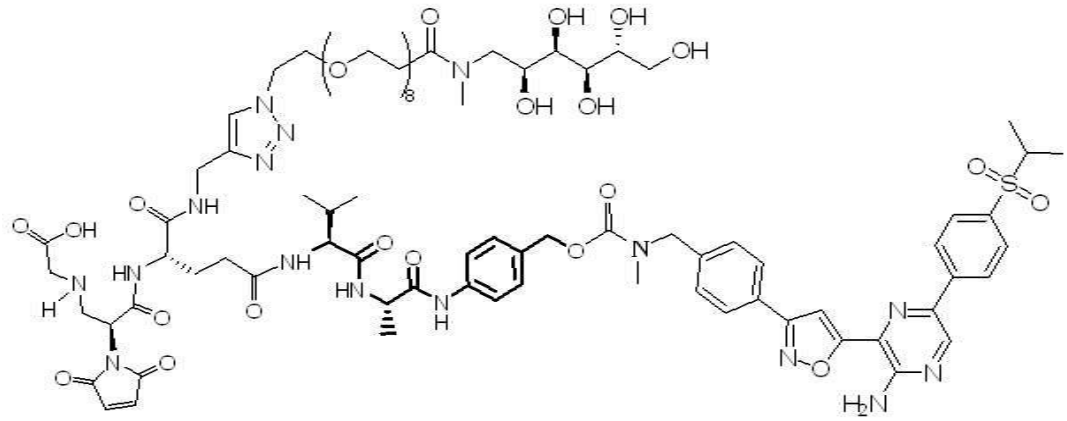
[0431] 50mL 둥근 바닥 플라스크에 **화합물 2**(379.8mg, 0.32mmol), **B-1**(480.65mg, 0.364mmol)을 넣고, DMF 4mL와 물 0.4mL에 녹인 다음, $CuSO_4.5H_2O$(262.8mg, 1.1mmol), 아스코르브산나트륨(206.1mg, 1.04mmol)을 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 반응 완료 후, 반응액을 고성능 액체 제조 크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조액을 얻은 다음, 제조액을 동결건조하여 화합물 R01-1'(386.4mg)을 얻었다. 수율 48%, LC-MS: [M+2H]2+=1247.0.

[0432] **실시예 9**

[0433] **화합물 R02'의 합성:**



[0434]

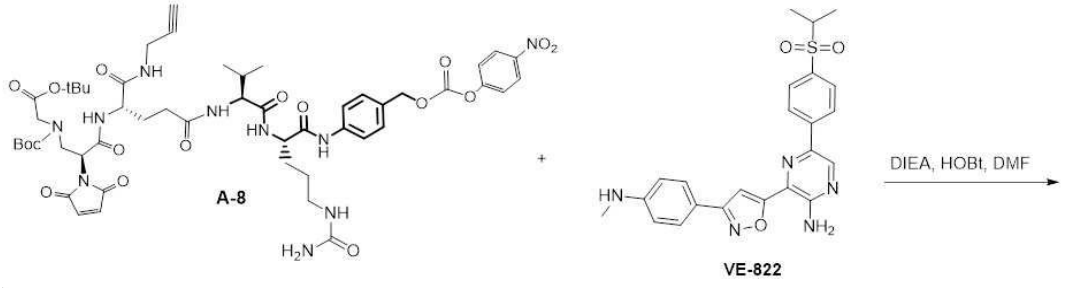


[0435] **R02'**

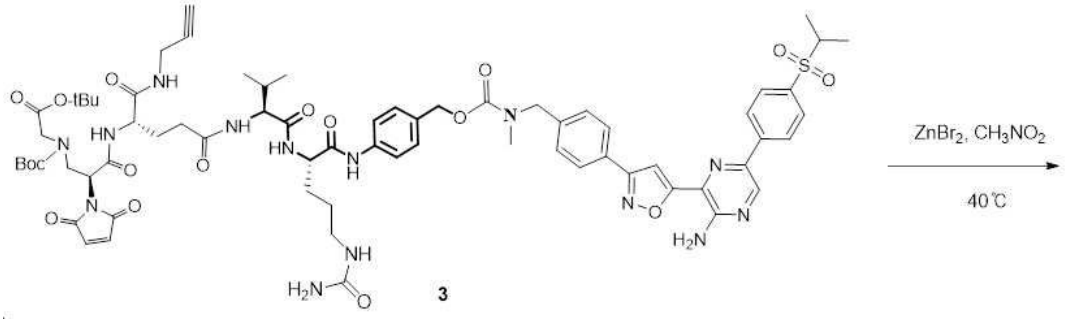
[0436] 50mL 둥근 바닥 플라스크에 **화합물 2**(105.2mg, 0.09mmol), **B-2**(72.3mg, 0.112mmol)를 넣고, DMF 4mL와 물 0.8mL에 녹인 다음, CuSO4·5H2O(69.9mg, 0.28mmol), 아스코르브산나트륨(59.46mg, 0.30mmol)을 넣고 실온에서 0.5시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링했다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 분취 용액을 얻은 다음, 분취 용액을 동결건조하여 **화합물 R02'**(120.8mg)를 얻었다, 수율 74%, LC-MS: $[M+2H]^{2+}$=909.4.

[0437] **실시예 10**

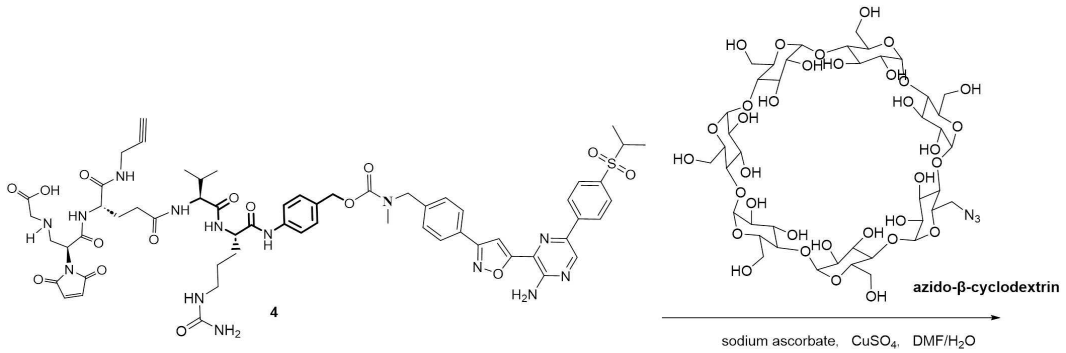
[0438] **화합물 R01-4'의 합성:**

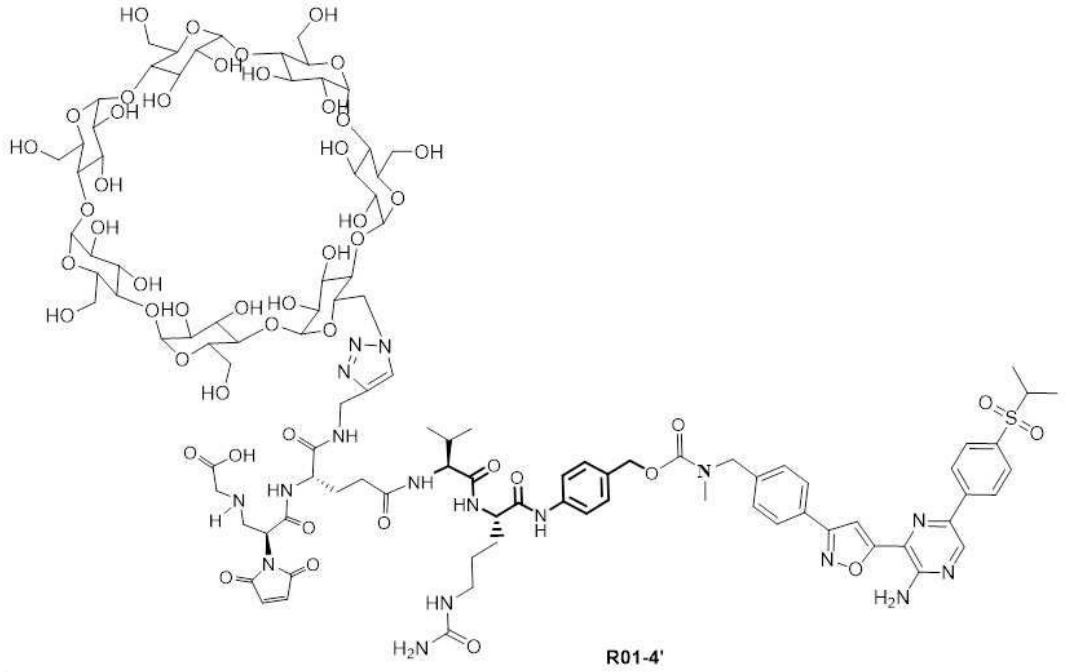


[0439]



[0440]

[0441] 

[0442] 

[0443] **1단계: 화합물 3의 합성**

[0444] 10mL PE 파이프에 화합물 **VE-822**(28.77mg, 0.062mmol), **A-8**(70.77g, 0.065mmol), HOBt(13.62mg, 0.10mmol)를 넣고 1mL의 DMF에 녹인 다음 DIEA(10uL, 0.062mmol)를 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시키며, 반응은 TLC로 모니터링하였다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 분취 용액을 얻은 다음, 분취 용액을 동결 건조하여 노란색 고체 **화합물 3**(75.44mg)을 얻었다. 수율 86%, LCMS: $[M+H]^+$=1415.6.

[0445] **2단계: 화합물 4의 합성**

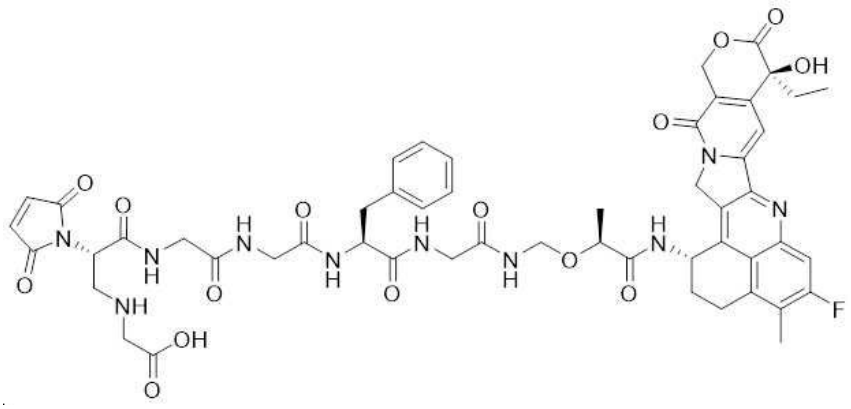
[0446] 25mL 둥근 바닥 플라스크에 **화합물 3**(75.0mg, 0.053mmol), 브롬화 아연(238.95mg, 1.07mmol)를 넣고 7.5mL의 CH_3NO_2에 용해시키고 40℃에서 0.5시간 동안 반응시킨 후, 용매를 물 펌프를 사용하여 45℃에서 감압 농축하여 제거하였고, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 농축물을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결 건조하여 **화합물 4**(18.82mg)를 얻었다. 수율 28%, LCMS: [M+H]+= 1259.5.

[0447] **3단계: 화합물 R01-4'의 합성**

[0448] 10mL PE 파이프에 **화합물 4**(18.5mg, 0.015mmol), 아지도-β-사이클로덱스트린(19.5mg, 0.017mmol)을 넣고, DMF 1mL와 물 0.1mL에 녹인 다음, $CuSO_4.5H_2O$(5.12mg, 0.02mmol), 아스코르브산 나트륨(4.02mg, 0.02mmol)을 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결 건조하여 **화합물 R01-4'**(21.6mg)를 얻었다. 수율 60%, LC-MS: $[M+2H]^{2+}$=1210.3.

[0449] **실시예 11**

[0450] **화합물 Ex01'의 합성:**

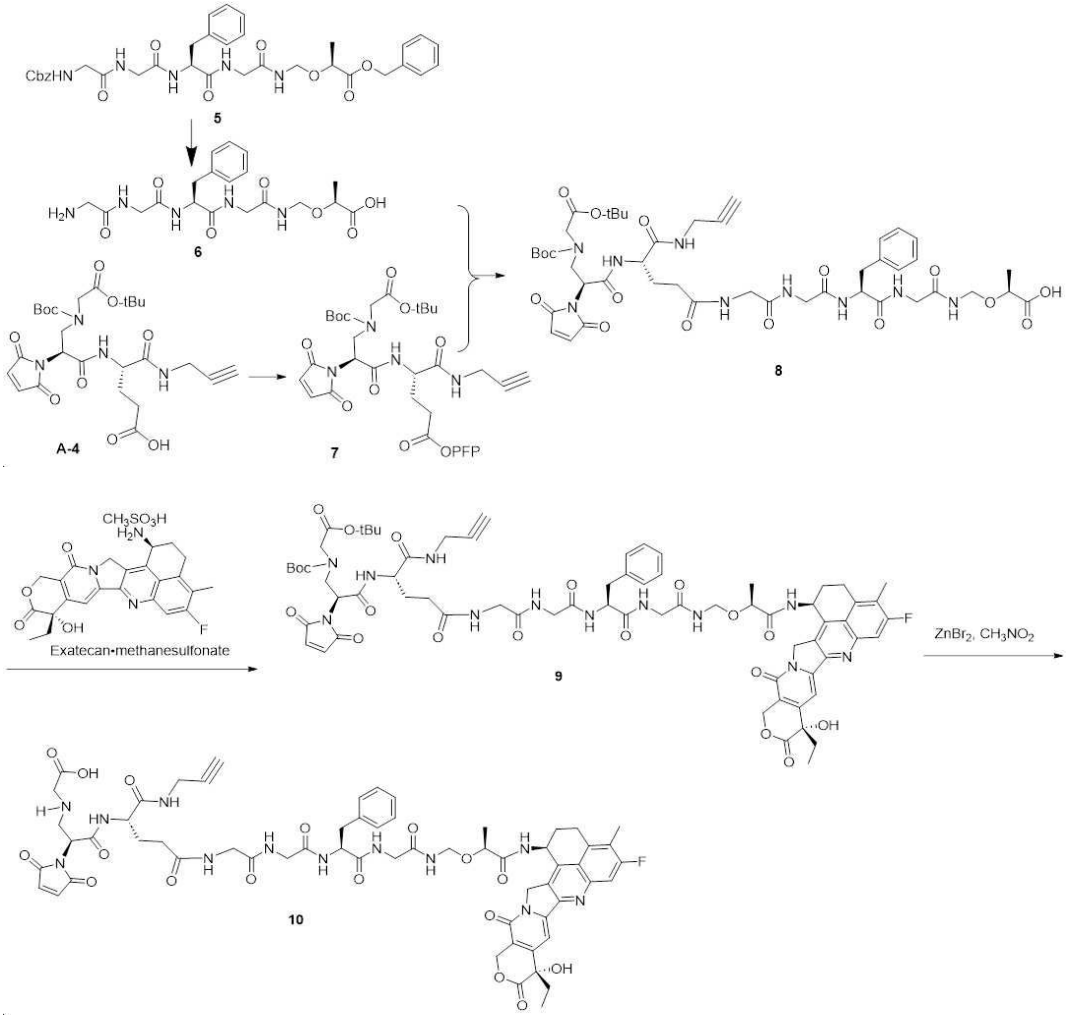


[0451]

[0452] 화합물 Ex01'은 당사 특허 CN113827736A를 참조하여 합성되었다.

[0453] **실시예 12**

[0454] **화합물 10의 합성:**



[0455]

[0456]

[0457] **1단계: 화합물 6의 합성**

[0458] 50mL 단일구 병에 화합물 5(1.0g, 1.51mmol, 특허 WO2020063676A1에 따라 합성)를 넣고, DMF 15mL에 용해하여 투명한 용액을 얻은 다음, 5%Pd/C(1.0g)를 넣고 실온에서 2시간 동안 수소화 반응을 수행하면서 HPLC로 반응의 종말점을 모니터링했습니다. 반응 용액을 여과하여 나중에 사용할 여과액을 얻었고, 이를 여과액 1이라고 표시

했습니다.

[0459] **2단계: 화합물 7의 합성**

[0460] 다른 50mL 단일구 병에 화합물 A-4(0.85g, 1.51mmol)를 넣고 15mL의 DMF에 용해시켜 투명한 용액을 얻은 다음, DCC(1.55g, 7.56mmol), 펜타플루오로페놀(0.31g, 1.66mmol)을 얼음물 욕조에 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 TLC로 모니터링했습니다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 여과하여 여과액 2로 표시된 여과액을 얻었습니다.

[0461] **3단계: 화합물 8의 합성**

[0462] 얼음물 욕조에서 여과액 1을 여과액 2에 넣은 다음, 실온에서 1시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링했습니다. 반응 완료 후, 반응 용액을 고성능 액체 제조 크로마토그래피로 정제하여 제품 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결 건조하여 805 mg의 흰색 고체 화합물 8을 얻었으며, 수율 54%, LC-MS m/z (M+H)+: 985.2.

[0463] **4단계: 화합물 9의 합성**

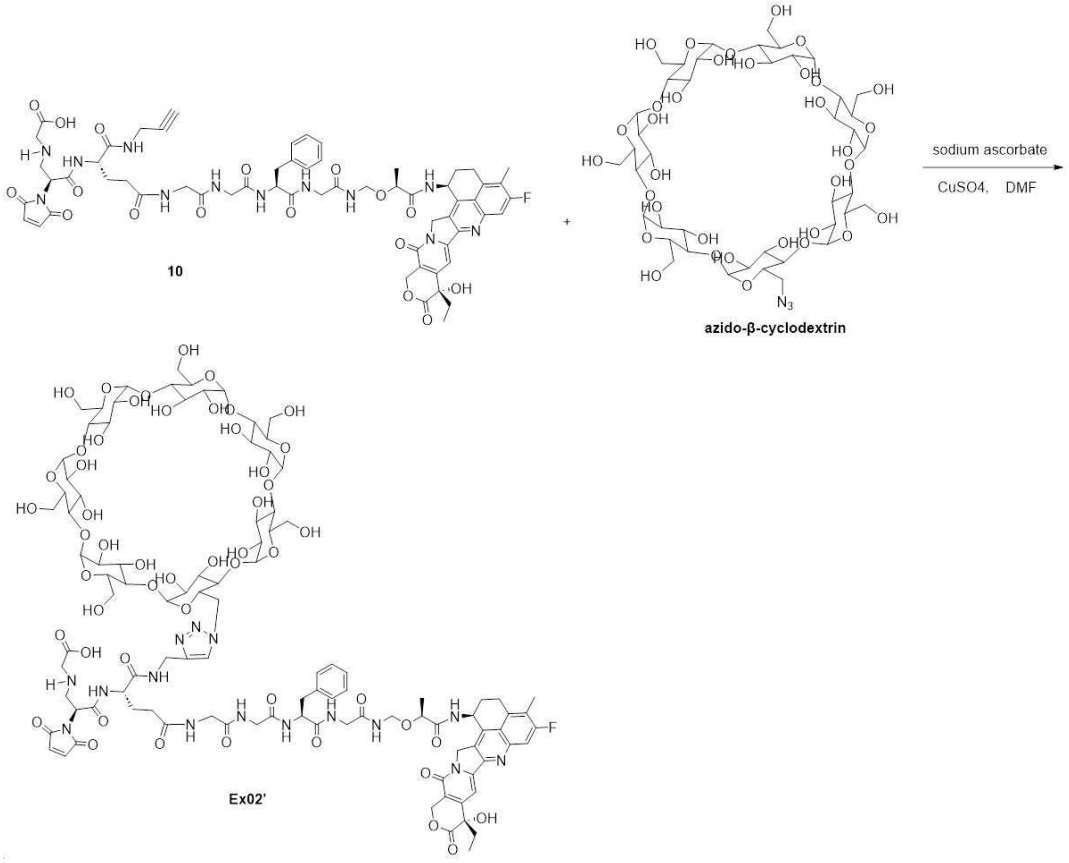
[0464] 50mL 단일구 병에 **화합물 8**(500mg, 0.51mmol)을 넣고, DMF 10mL에 용해하여 투명한 용액을 얻은 다음, PyBOP(396mg, 0.76mmol), HOBt(103mg, 0.76mmol), Exatecan·methanesulfonate(270mg, 0.51mmol)를 얼음물 욕조에서 순서대로 넣은 다음, DIEA(252uL, 1.52mmol)를 넣고, 반응의 종말점을 HPLC로 모니터링하면서 실온에서 2시간 동안 반응시켰습니다. 반응 완료 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결 건조하여 500 mg의 흰색 고체 **화합물 9**를 얻었으며, 수율 70%, LC-MS m/z (M+H)+: 1402.2.

[0465] **5단계: 화합물 10의 합성**

[0466] 100mL 둥근 바닥 플라스크에 **화합물 9**(450.1mg, 0.32mmol), 브롬화 아연(1448.2mg, 6.42mmol)을 넣고 30mL의 CH_3NO_2에 용해시키고 45℃에서 0.5시간 동안 반응시킨 후, 물 펌프를 사용하여 45℃에서 감압 하에 농축하여 용매를 제거하였고, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 농축물을 고성능 액체 제조 크로마토그래피로 정제하여 제품 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결 건조하여 **화합물 10**(203.9mg)을 얻었다. 수율 51%, LCMS: $[M+H]^+$= 1245.6.

[0467] **실시예 13**

[0468] **화합물 Ex02'의 합성:**

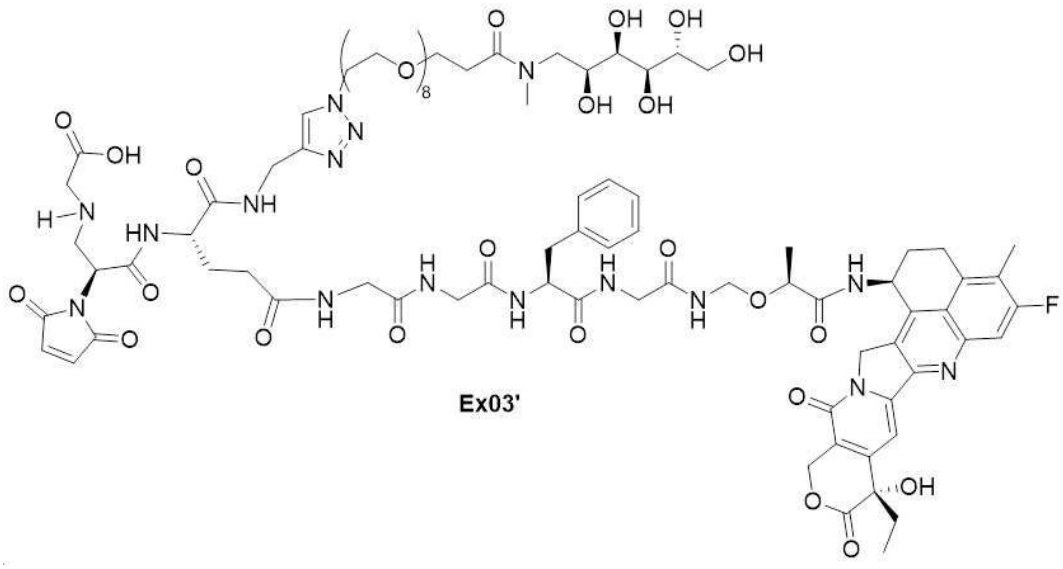


[0469]

[0470] 10mL PE 파이프에 **화합물 10**(100.1mg, 0.081mmol), 아지도-β-사이클로덱스트린(100.5mg, 0.087mmol)을 넣고, DMF 2mL와 정제수 0.2mL에 녹여 맑은 용액을 얻은 다음, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$(20.1mg, 0.081mmol), 아스코르브산 나트륨(16.0mg, 0.081mmol)을 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결건조하여 **화합물 Ex02'**(91.6mg)를 얻었다. 수율은 47%, LC-MS: $[M+2H]^{2+}$=1203.0.

[0471] **실시예 14**

[0472] **화합물 Ex03'의 합성**



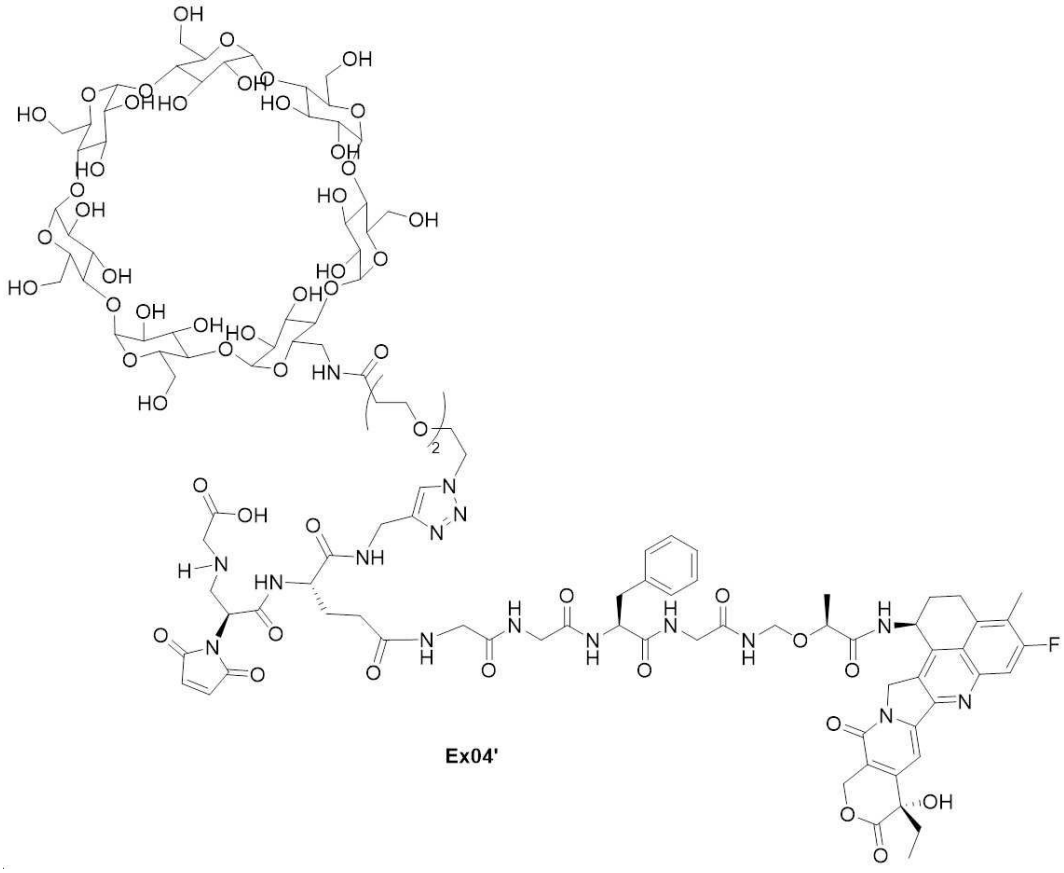
[0473]

[0474] 실시예 9의 합성 경로를 참조하여, **화합물 Ex03'**(57.8mg)은 **화합물 10**과 화합물 **B-2**를 사용하여 합성되었다;

LC-MS m/z(M+2H)$^{2+}$: 1023.9.

[0475] **실시예 15**

[0476] **화합물 Ex04'의 합성**



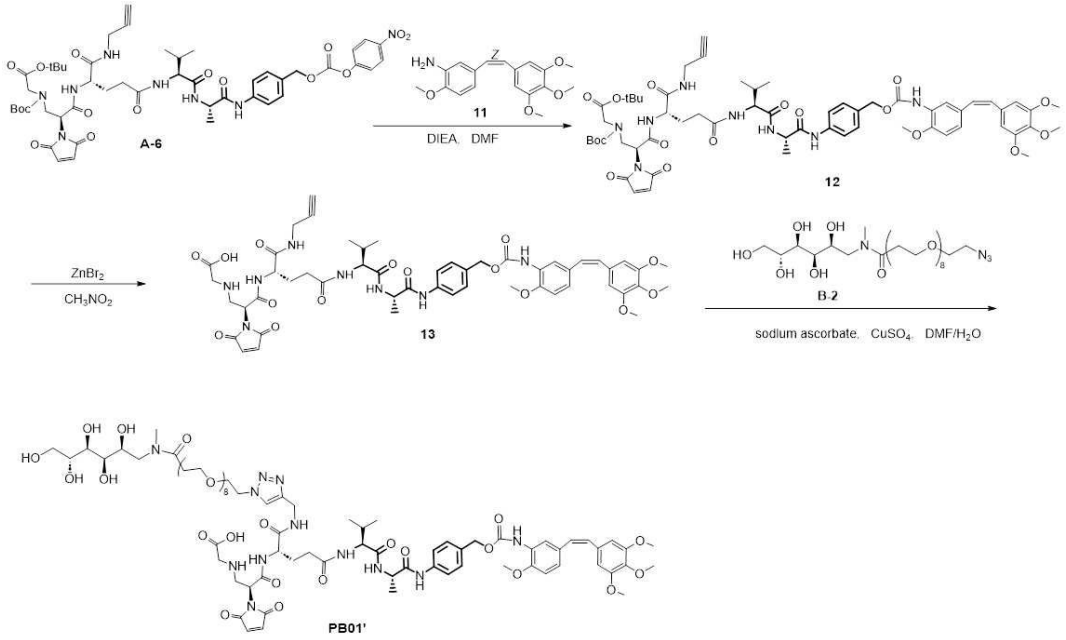
Ex04'

[0477]

[0478] 실시예 8의 합성 경로를 참조하여, **화합물 Ex04'**(125.2mg)는 **화합물 10**과 화합물 **B-1**을 사용하여 합성되었다; LC-MS m/z(M+2H)2+: 1282.8.

[0479] **실시예 16**

[0480] **화합물 PB01'의 합성:**



[0481]

[0482] **1단계: 화합물 12의 합성**

[0483] 25mL 단일구 병에 **화합물 A-6**(100mg, 0.099mmol), **화합물 11**(구매, 31.3mg, 0.099mmol)을 넣고 5mL의 DMF에 용해한 다음 DIEA(32.8uL, 0.199mmol)를 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링하였다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결 건조하여 **화합물 12**(75.8mg)를 얻었고, 수율은 64.5%, LCMS: $[M+H]^+$=1181.5였다.

[0484] **2단계: 화합물 13의 합성**

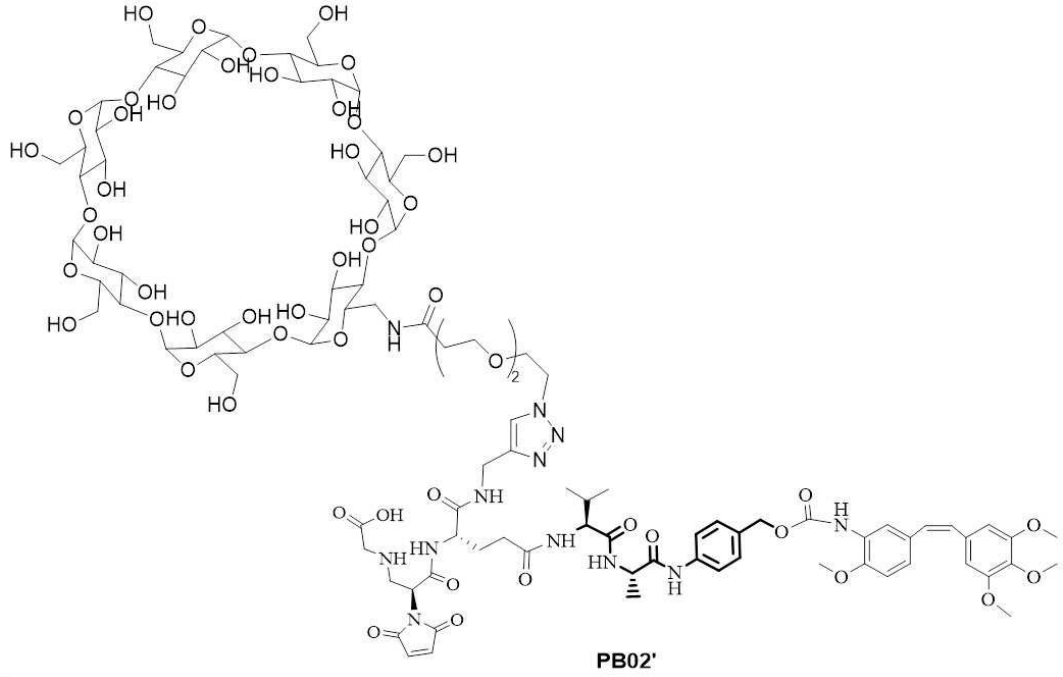
[0485] 25mL 단일구 병에 **화합물 12**(75mg, 0.063mmol), 브롬화 아연(285.7mg, 1.27mmol)을 넣고 10mL의 CH_3NO_2에 용해시킨 후 실온에서 2시간 동안 반응시켰고, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링했다. 반응이 완료된 후, 물 펌프를 사용하여 45℃에서 감압 하에 농축하여 용매를 제거하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결 건조하여 **화합물 13**(49.6mg)을 얻었고, 수율은 76.3%, LCMS: $[M+H]^+$= 1025.4였다.

[0486] **3단계: 화합물 PB01'의 합성**

[0487] 25mL 단일구 병에 **화합물 13**(25mg, 0.024mmol), **화합물 B-2**(15.8mg, 0.024mmol)를 넣고, DMF 2mL와 물 1mL에 녹인 다음, $CuSO_4.5H_2O$(6.7mg, 0.026mmol), 아스코르브산 나트륨(5.3mg, 0.026mmol)을 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링했다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결 건조하여 **화합물 PB01'**(33.1mg)을 얻었고, 수율은 82.5%, LC-MS: $[M+2H]^{2+}$ m/z =835.5였다.

[0488] **실시예 17**

[0489] **화합물 PB02'의 합성:**

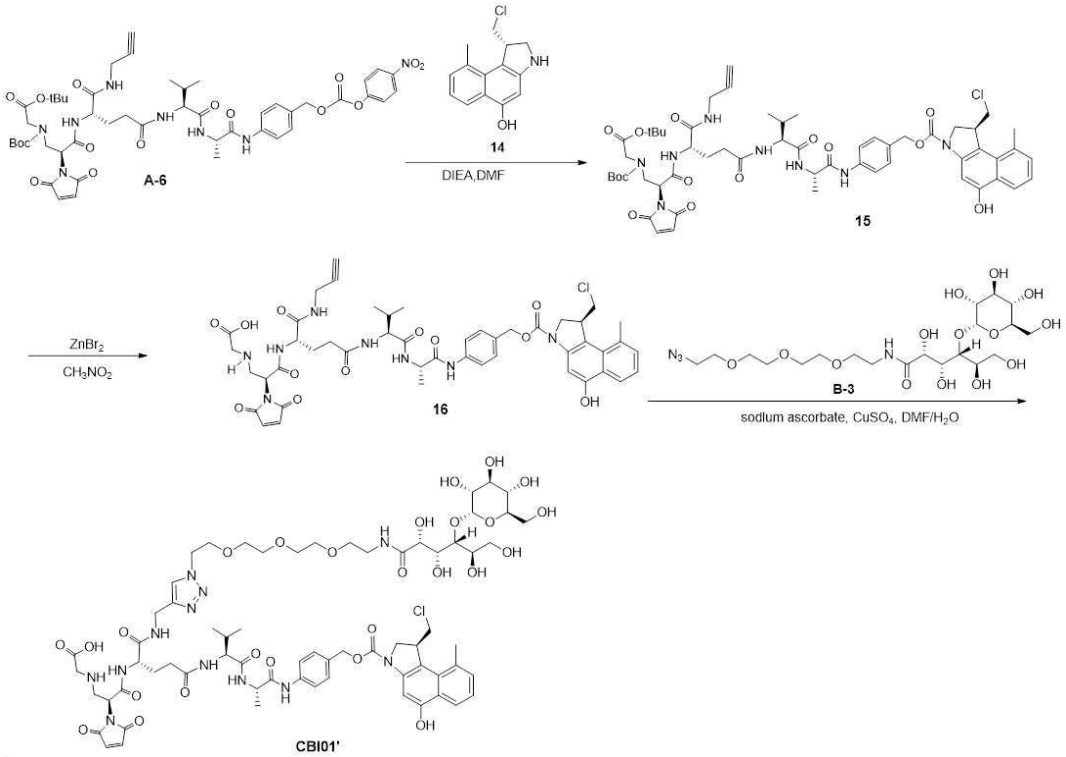


[0490]

[0491] 실시예 8의 합성 경로를 참조하여, **화합물 PB02'**(43.6mg)는 **화합물 13**과 **화합물 B-1**을 사용하여 합성되었고, 수율은 77.5%, LC-MS: $[M+2H]^{2+}$ m/z =1173.1였다.

[0492] **실시예 18**

[0493] **화합물 CBI01'의 합성:**



[0494]

[0495] **1단계: 화합물 15의 합성**

[0496] 25mL 단일구 병에 **화합물 A-6**(231.6mg, 0.23mmol), **화합물 14**(구매, 50.0mg, 0.22mmol)를 넣고, DMF 10mL에 용해한 다음, DIEA(42uL, 0.25mmol)를 넣고, 반응의 종말점을 HPLC로 모니터링하면서 실온에서 1시간 동안 반응시

켰다. 반응 완료 후, 반응 용액을 고성능 액체 제조 크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결 건조하여 **화합물 15**(190.9mg)를 얻었다. 수율 78%, LCMS: $[M+H]^+$=1113.5.

[0497] **2단계: 화합물 16의 합성**

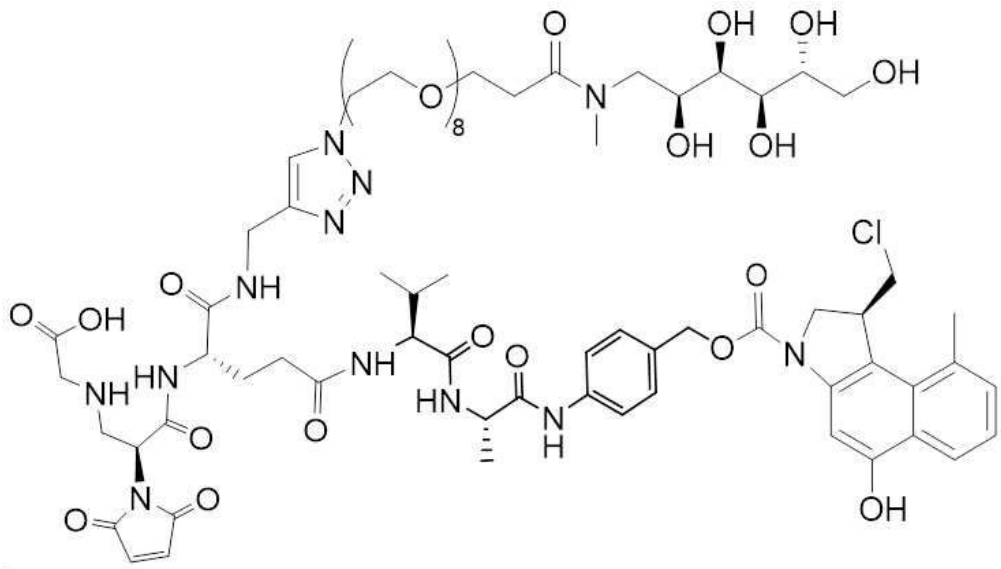
[0498] 50mL 단일구 병에 **화합물 15**(180.5mg, 0.163mmol), 브롬화 아연(740.8mg, 3.28mmol)을 첨가하고, 10mL의 CH_3NO_2에 용해시키고, 실온에서 0.5시간 동안 반응시킨 후, 물 펌프를 사용하여 45℃에서 감압 하에 용매를 농축하여 제거하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 제품 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결 건조하여 화합물 16(73.8mg)을 얻었고, 수율은 48%, LCMS: [M+H]+= 957.2입니다.

[0499] **3단계: 화합물 CBI01'의 합성**

[0500] 25mL 단일구 병에 **화합물 16**(30.5mg, 0.032mmol), **화합물 B-3**(18.0mg, 0.035mmol)을 넣고, DMF 2mL와 물 0.5mL에 용해한 다음, $CuSO_4.5H_2O$(8.0mg, 0.032mmol), 아스코르브산 나트륨(6.4mg, 0.032mmol)을 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링했다. 반응 완료 후, 반응 용액을 고성능 액체 제조 크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결 건조하여 **화합물 CBI01'**(29.5mg)을 얻었다. 수율 62.5%, LC-MS: [M+H]+ m/z =1515.6.

[0501] **실시예 19**

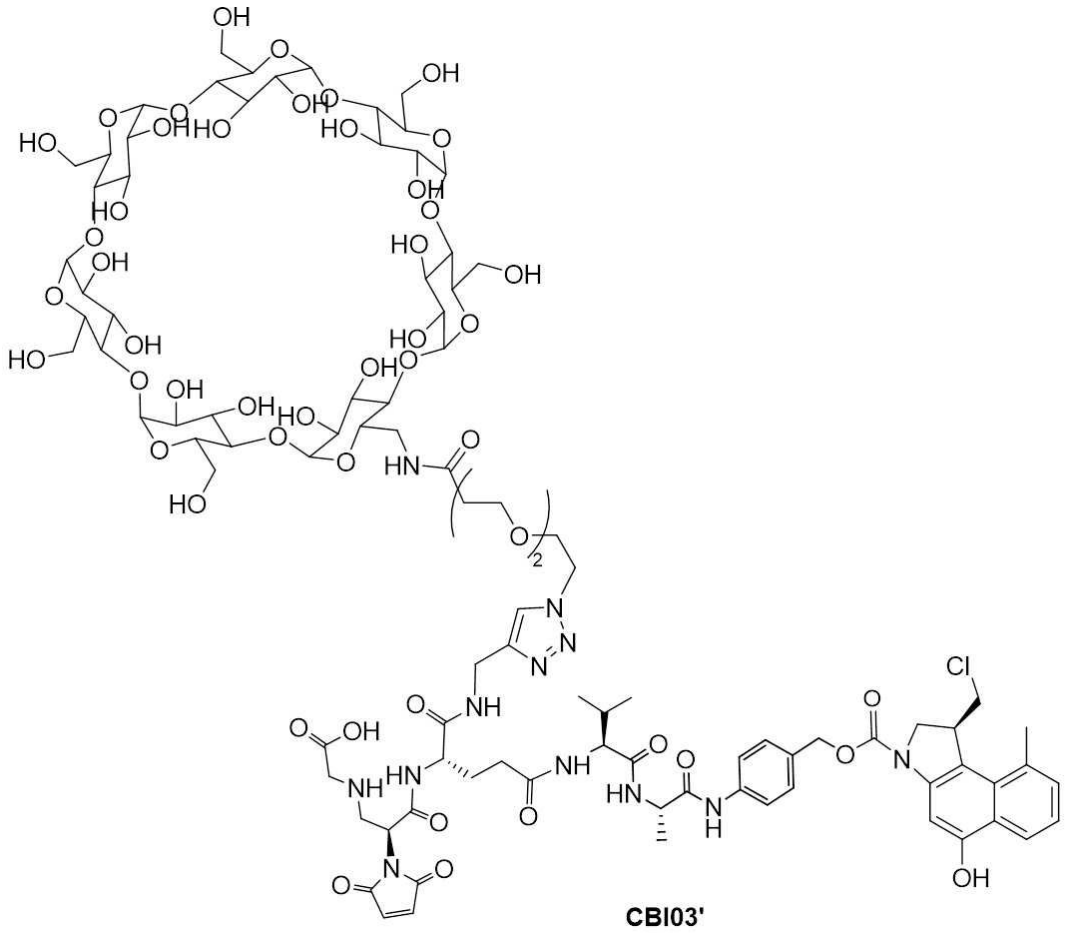
[0502] **화합물 CBI02' 의 합성**

[0503] 

[0504] 실시예 9의 합성 경로를 참조하여, **화합물 CBI02'** (17.6mg)는 **화합물 16**과 **화합물 B-2**를 사용하여 합성되었다; LC-MS m/z(M+2H)2+: 801.4.

[0505] **실시예 20**

[0506] **화합물 CBI03' 의 합성**



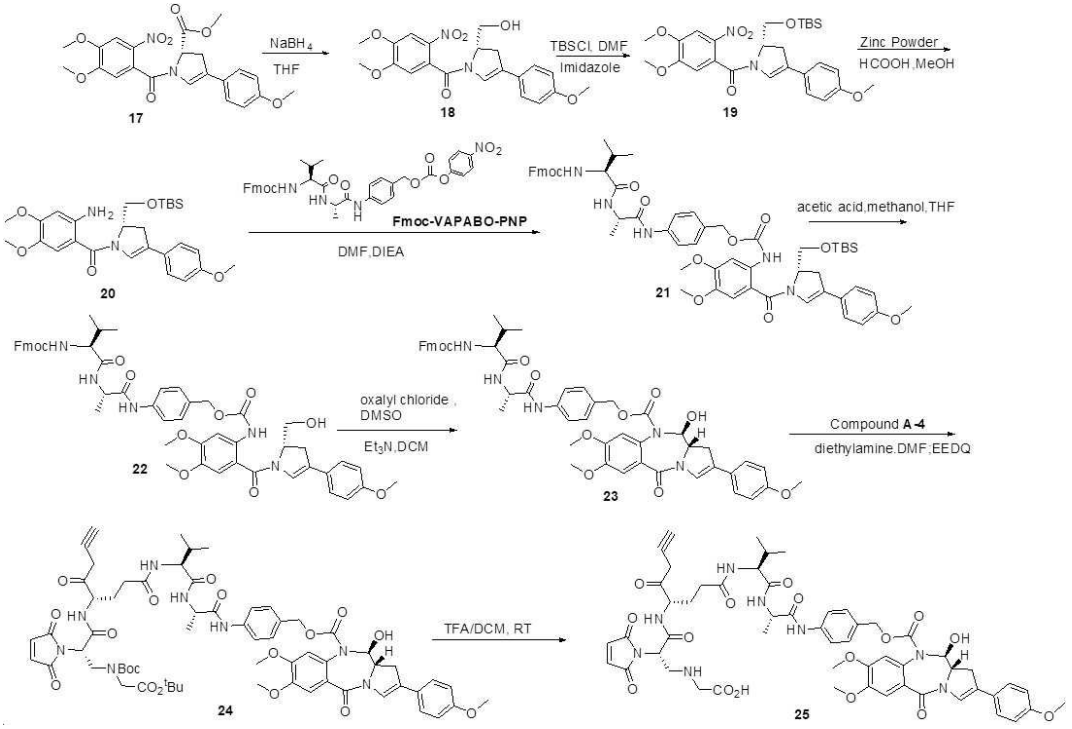
CBI03'

[0507]

[0508] 실시예 8의 합성 경로를 참조하여, **화합물 CBI03'** (12.5mg)는 **화합물 16**과 **화합물 B-1**을 사용하여 합성되었다; LC-MS m/z(M+2H)2+: 1138.9.

[0509] **실시예 21**

[0510] **화합물 25의 합성:**

[0511] 

[0512] **1단계: 화합물 18의 합성**

[0513] 특허 CN102933236A의 "**화합물 26**"의 합성을 참조하여 **화합물 18**을 합성하였다. 250mL 3구 병에 **화합물 17**(3g, 6.7mmol)을 넣고 무수 THF 50mL에 용해했다. 얼음물 욕조에서 질소 보호 하에 용액을 0℃로 유지하면서 고체 보로하이드라이드 나트륨(384mg, 10.2mmol)을 넣고 0℃에서 30분간 반응시킨 후 실온에서 2시간 동안 반응시켰고, 반응의 종말점은 TLC로 모니터링했다. 반응 완료 후, 얼음물 욕조에서 반응을 퀀칭하기 위해 반응 용액에 50mL의 물을 천천히 첨가한 다음, 거품이 나타나지 않을 때까지 1N 희석 HCl을 첨가하고, 반응 용액을 에틸 아세테이트(60mL*3)로 추출하고, 유기상을 합치고, 포화 NaCl 용액으로 두 번 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조한 다음, 여과하고, 농축하여 조생성물을 얻었다. 조생성물을 컬럼 크로마토그래피(DCM/MeOH=20:1-5:1)로 정제하여 **화합물 18**(2.08g, 노란색 고체)을 얻었다. 수율 74.3%, LC-MS: [M+H]+=415.1.

[0514] **2단계: 화합물 19의 합성**

[0515] 100mL 단일구 병에 **화합물 18**(2g, 4.8mmol), TBSCl(1.32g, 8.8mmol), 이미다졸(1.2g, 17.6mmol)을 넣고 무수 DMF 15mL에 녹인 후 실온에서 3시간 동안 반응시켰고, 반응의 종말점은 TLC로 모니터링했다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 물 30mL에 붓고 DCM(25mL*3)으로 추출한 다음, 유기상을 합치고 물과 염수로 세척하고 무수 황산나트륨으로 건조한 후 감압 하에 증발시켜 조생성물을 얻었다. 조생성물을 컬럼 크로마토그래피(PE/EA=5:1-1:2)로 정제하여 **화합물 19**(2.28g, 노란색 고체)를 얻었다. 수율 89.3%, LC-MS: [M+H]+=529.2.

[0516] **3단계: 화합물 20의 합성**

[0517] 100mL 단일구병에 **화합물 19**(2.2g, 4.16mmol)를 넣고 5% 포름산/메탄올 용액 30mL에 녹인 후, 얼음물 욕조에서 5℃ 이하로 냉각한 후, 아연 분말(5.44g, 83.2mmol)를 교반하면서 천천히 넣고, 반응의 종말점을 TLC로 모니터링하면서 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 완료 후, 반응 용액을 뜨거운 상태에서 여과하고, 여과 케이크를 소량의 메탄올로 세척하고, 여과액을 포화 중탄산나트륨 용액으로 pH = 7로 조정한 다음, 45℃에서 감압 하에 농축하여 용매를 제거하여 갈색-노란색 오일성 물질을 얻었고, 여기에 60 mL의 DCM을 첨가했다. 유기층을 분리하고, 포화 염수로 1회 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조한 다음, 여과하고, 45℃에서 감압 하에 농축하여 조생성물을 얻었다. 조생성물을 컬럼 크로마토그래피(PE: EA=1: 1-1: 3)로 정제하여 **화합물 20**(1.87 g, 옅은 노란색 고체)을 얻었다. 수율 90.1%, LC-MS: [M+H]+=500.2.

[0518] **4단계: 화합물 21의 합성**

[0519] 50mL 단일구 병에 **화합물 20**(1.8g, 3.6mmol), Fmoc-VA-PABO-PNP(구매, 2.45g, 3.6mmol)를 넣고, DMF 15mL에 녹

여 투명한 용액을 얻은 다음, DIEA(893uL, 5.4mmol)를 넣고, 반응의 종말점을 HPLC로 모니터링하면서 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결 건조하여 **화합물 21**(2.94g, 옅은 노란색 고체)을 얻었고, 수율은 78.3%, LC-MS: $[M+H]^+$=1040.5였다.

[0520] **5단계: 화합물 22의 합성**

[0521] 50mL 단일구 병에 **화합물 21**(2.9g, 2.78mmol)을 넣고 THF 8mL와 물 8mL에 녹인 다음 빙초산 20mL을 넣고 실온에서 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링했다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 포화 중탄산나트륨 용액 400mL에 천천히 적하하고, 에틸 아세테이트(100mL*3)로 추출하고, 유기상을 합치고, 물과 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조하고 감압 하에 증발시켜 조생성물을 얻었다. 조생성물을 컬럼 크로마토그래피(DCM/MeOH=10:1-5:1)로 정제하여 **화합물 22**(1.94g, 옅은 노란색 고체)를 얻었고, 수율은 75%, LC-MS: $[M+H]^+$=926.3였다.

[0522] **6단계: 화합물 23의 합성**

[0523] 100mL 3구 병에 **화합물 22**(1.9g, 2.0mmol)를 넣고, 질소 보호 하에 무수 DCM 40mL에 용해시키고, Dess-Martin 과가 요오드 시약(0.93g, 2.2mmol)을 넣고, TLC로 반응의 종말점을 모니터링하면서 실온에서 4시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 여과하고, 여과액을 포화 중탄산나트륨 용액, 물 및 포화 NaCl 용액으로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조하고, 농축하여 조생성물을 얻었다. 조생성물을 고성능 액체 크로마토그래피로 정제하여 생성물 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결 건조하여 **화합물 23**(1.61g, 회백색 고체)을 얻었다. 수율 85%, LC-MS: $[M+H]^+$=924.4.

[0524] **7단계: 화합물 24의 합성**

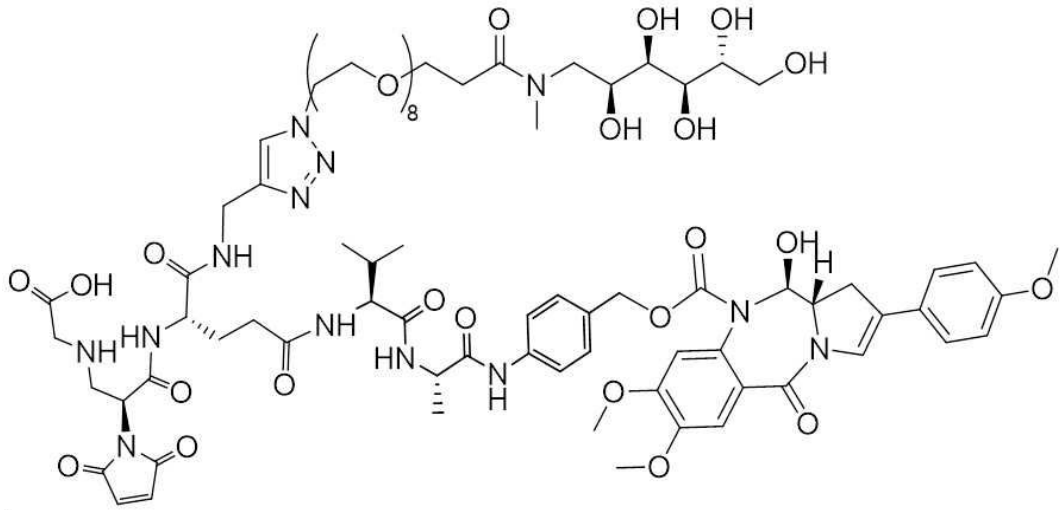
[0525] 50mL 단일구 병에 **화합물 23**(1.5g, 1.62mmol)을 넣고, 15mL DMF에 용해시켜 투명한 용액을 얻은 다음, 3mL 디에틸아민을 넣고, TLC로 반응의 종말점을 모니터링하면서 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 100mL 메틸 tert-부틸 에테르에 부어 고체를 침전시키고, 여과하여 보호가 제거된 생성물을 얻었다. 보호가 제거된 생성물을 15mL DMF에 용해시킨 다음, **화합물 A-4**(0.92g, 1.62mmol), EEDQ(0.48g, 1.94mmol)를 넣고, HPLC로 반응의 종말점을 모니터링하면서 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응 완료 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결 건조하여 **화합물 24**(1.30 g, 오프화이트 고체)를 얻었다. 수율 64.2%, LC-MS: $[M+H]^+$=1248.5.

[0526] **8단계: 화합물 25의 합성**

[0527] 50 mL 단일구 병에 **화합물 24**(500 mg, 0.4 mmol)를 넣고, 5 mL의 DCM으로 용해한 다음, 트리플루오로아세트산(5 mL)을 넣고, 반응의 종말점을 HPLC로 모니터링하면서 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후, 용매를 감압 하에 45℃에서 농축하여 제거하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 고성능 액체 제조 크로마토그래피로 정제하여 제품 제조 용액을 얻은 다음, 제조 용액을 동결 건조하여 **화합물 25**(294 mg)를 얻었다. 수율 67.4%, LC-MS: $[M+H]^+$=1092.4.

[0528] **실시예 22**

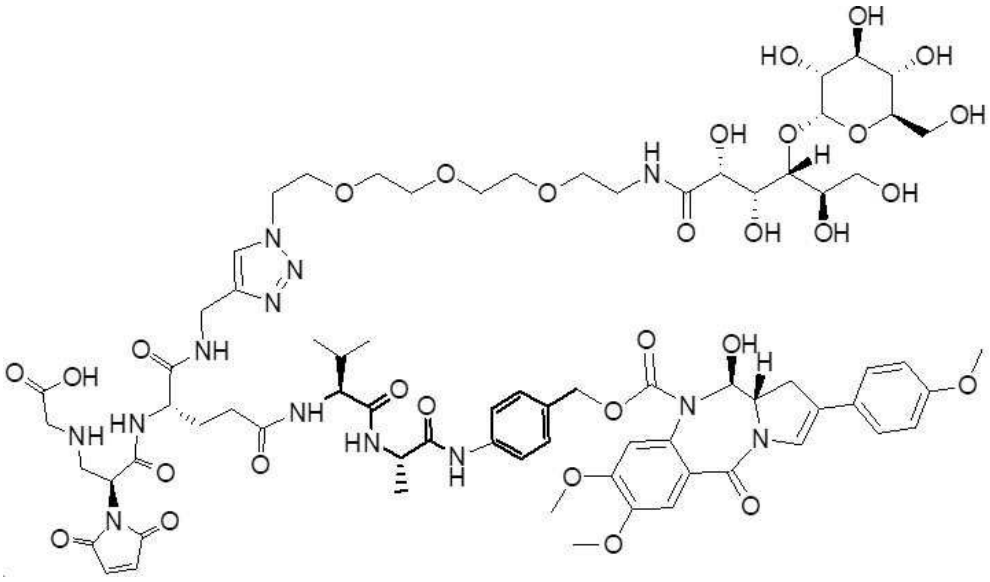
[0529] **화합물 PBD01'의 합성**

[0530] 

[0531] 실시예 9의 합성 경로를 참조하여, **화합물 PBD01'**(45.2mg)은 **화합물 25**와 **화합물 B-2**를 사용하여 합성되었다; LC-MS m/z(M+2H)$^{2+}$: 869.0.

[0532] **실시예 23**

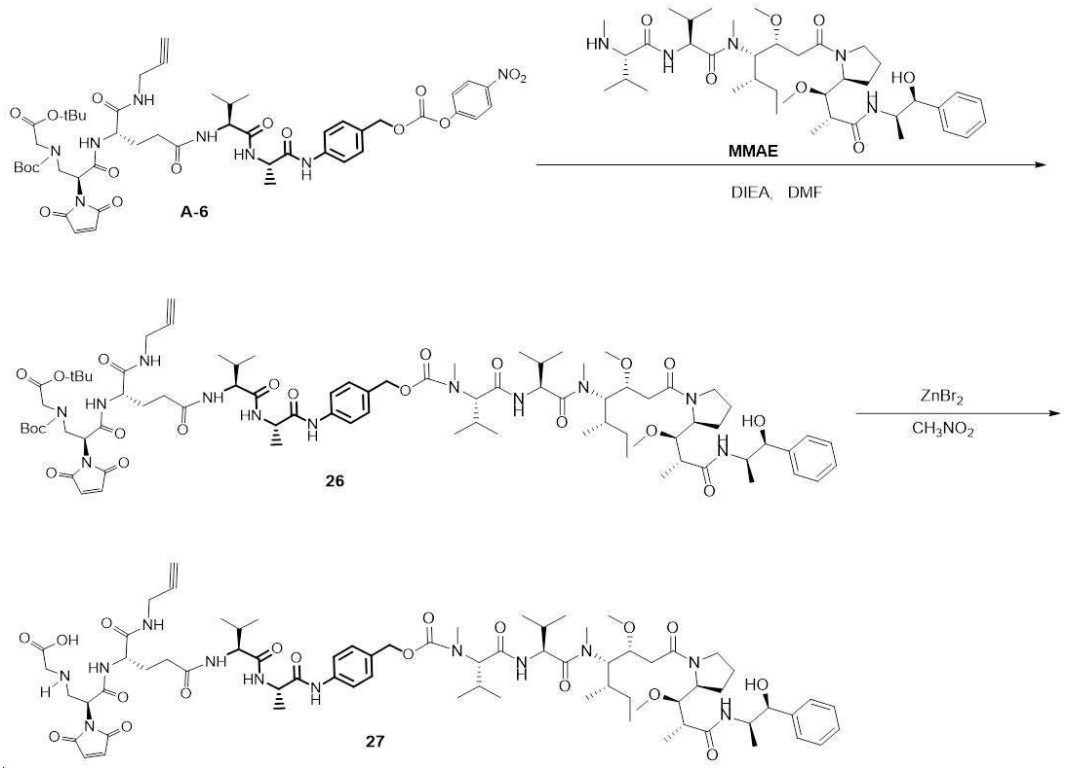
[0533] **화합물 PBD02'의 합성**

[0534] 

[0535] 실시예 18의 합성 경로를 참조하여, **화합물 PBD02'**(31.6mg)은 **화합물 25**와 **화합물 B-3**을 사용하여 합성되었다; LC-MS m/z(M+2H)$^{2+}$: 825.8.

[0536] **실시예 24**

[0537] **화합물 27의 합성:**



[0538]

[0539] **1단계: 화합물 26의 합성**

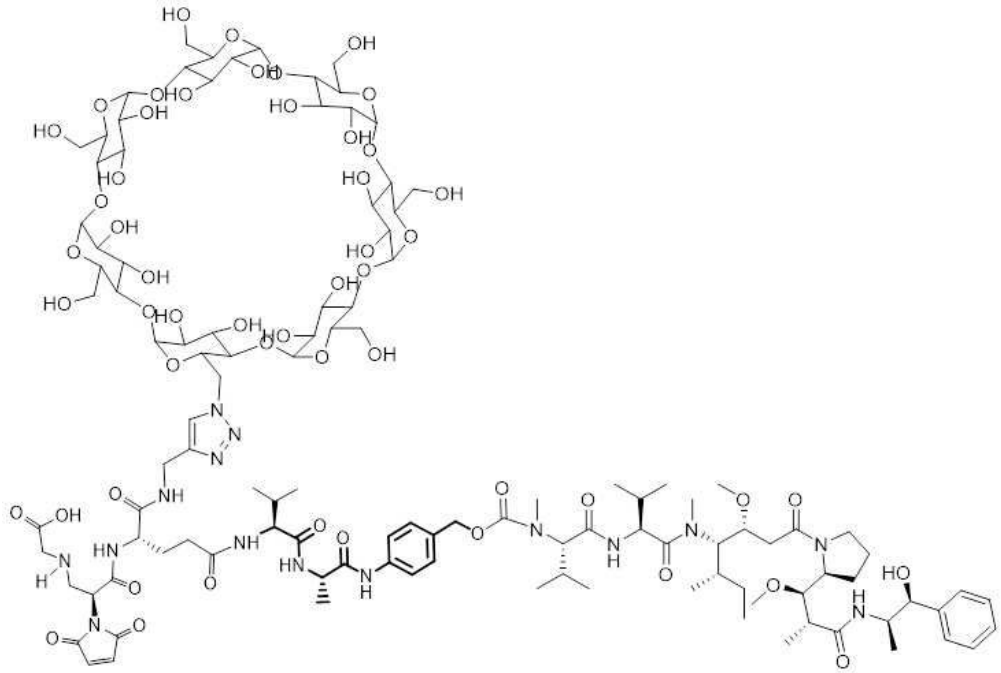
[0540] 50mL 단일구 병에 **화합물 A-6**(2.0012g, 1.99mmol), 화합물 **MMAE**(구매, 1.36g, 1.90mmol)를 넣고 20mL의 DMF에 녹인 다음 DIEA(0.48mL, 2.80mmol)를 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시켰으며, 반응의 종말점은 HPLC로 모니터링했다. 반응이 완료된 후, 반응 용액을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결 건조하여 **화합물 26**(2.21g)을 얻었고, 수율은 73.5%, LCMS: $[M+H]^+$=1584.0이었다.

[0541] **2단계: 화합물 27의 합성**

[0542] 100mL 단일구 병에 **화합물 26**(2.0g, 1.26mmol), 브롬화 아연(5.69g, 25.25mmol)을 넣고 40mL의 CH_3NO_2에 용해시키고 40℃에서 오일 욕조에서 0.5시간 동안 반응시킨 후, 물 펌프를 사용하여 45℃에서 감압 농축하여 용매를 제거하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 고성능 액체 분취 크로마토그래피로 정제하여 생성물 조제 용액을 얻은 다음, 조제 용액을 동결 건조하여 **화합물 27**(773.5mg)을 얻었다. 수율 43%, LCMS: $[M+H]^+$=1427.8.

[0543] **실시예 25**

[0544] **화합물 M01'의 합성:**

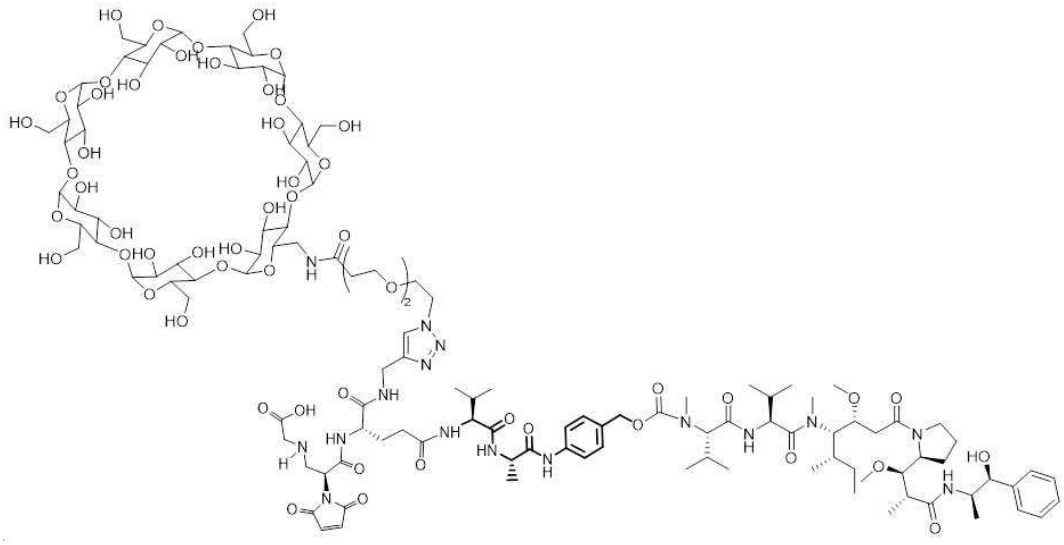


[0545]

[0546] 실시예 13의 합성 경로를 참조하여, **화합물 M01'**(85.5mg)은 **화합물 27**과 아지도-β-사이클로덱스트린을 원료로 사용하여 합성되었다; LC-MS m/z(M+2H)$^{2+}$: 1294.5.

[0547] **실시예 26**

[0548] **화합물 M02'의 합성:**

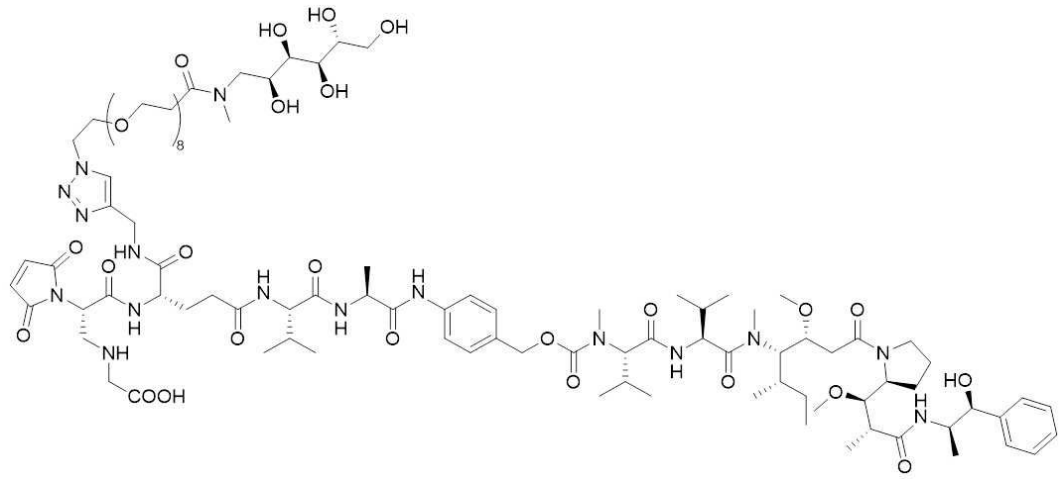


[0549]

[0550] 실시예 8의 합성 경로를 참조하여, **화합물 M02'**(293.2mg)는 **화합물 27**과 **화합물 B-1**을 사용하여 합성되었다; LC-MS m/z(M+2H)$^{2+}$: 1374.0.

[0551] **실시예 27**

[0552] **화합물 M03'의 합성:**



[0553]

[0554] 실시예 9의 합성 경로를 참조하여, **화합물 M03'**(98.2mg)는 **화합물 27**과 **화합물 B-2**를 사용하여 합성되었다; LC-MS $m/z(M+2H)^{2+}$: 1037.1.

[0555] **실시예 28**

[0556] **사용된 항체의 서열:**

[0557] anti-CD33 항체 ANTI-CD33의 서열

[0558] >경쇄-LC

[0559] DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESLDNYGIRFLTWFQQKPGKAPKLLMYAASNQGSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTKEVPWSF
GQGTKVEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVCTKSFNRGEC

[0560] >중쇄-HC

[0561] EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIYPYNGGTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPW
LAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0562] 항-Trop2 항체 ANTI-Trop2-1의 서열

[0563] >경쇄-LC

[0564] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTK
LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC

[0565] >중쇄-LC

[0566] QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPEQRLEWMGWIFPGDGNTKYSQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRGEAL
YYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0567] 항-Trop2 항체 ANTI-Trop2-2의 서열

[0568] >경쇄-LC

[0569] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTK

LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNRGEC

[0570] >중쇄-HC

[0571] QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPEQRLEWMGWIFPGDGNTKYSQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRGEALYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0572] 항-HER2 항체 트라스투주맙(Tras)의 서열

[0573] >경쇄-LC

[0574] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0575] >중쇄-HC

[0576] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0577] 항-HER2 항체 Tras-016의 서열

[0578] >경쇄-LC

[0579] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNRGEC

[0580] >중쇄-HC

[0581] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0582] **실시예 29**

[0583] 단일 약물 ADC(DAR = 8)의 제조(일반 방법)

[0584] 항체-약물 접합체 샘플은 항체 A를 L1-D1 또는 L2-D2와 접합시켜 제조하였다.

[0585] 세포에서 발현시키고 단백질 A 친화 크로마토그래피와 분자 체 크로마토그래피(molecular sieve chromatography)로 정제한 후, 항체 A를 20 mM NaAc-HAc 완충액(pH 6.0)으로 교환하고 단백질 농도가 5 mg/mL이 되도록 농축 또는 희석했다. L1-D1 또는 L2-D2는 나중에 사용하기 위해 N,N-디메틸아세트아미드(DMA)에 10 mg/mL의 농도로 용해했다.

[0586] 항체 A의 사슬 간 디설파이드 결합을 끊기 위해 먼저 트리스(2-카르복시에틸)포스핀(TCEP)을 몰 비율로 15~25배 첨가하고 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 그런 다음, L1-D1 또는 L2-D2 용액을 15~25배의 몰비로 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후, 30 KDa의 초여과 스핀 컬럼을 사용하여 완충액 교환을 실시하여, 결합되지 않은 L1-D1 또는 L2-D2를 제거하여 항체 A-D1(DAR=8) 또는 항체 A-D2(8) 샘플을 얻었다.

[0587] **실시예 30**

[0588] 단일 약물 ADC(DAR=10) 및 이중 약물 ADC(DAR=2+8)의 제조(일반 방법)

[0589] 항체-약물 접합체 샘플 B-D2(2)-D1(8), 항체 B-D1(2)-D2(8), 항체 B-D1(10) 또는 항체 B-D2(10)는 항체 B를 L1-D1, L2-D2와 접합시켜 제조했다.

[0590] 세포에서 발현시키고 단백질 A 친화 크로마토그래피 및 분자 체 크로마토그래피로 정제한 후, 항체 B를 20 mM NaAc-HAc 완충액(pH6.0)으로 교환하고 단백질 농도 5 mg/mL로 농축 또는 희석했다. L1-D1 또는 L2-D2는 나중에 사용하기 위해 DMA에 10 mg/mL의 농도로 용해했다.

[0591] TCEP를 먼저 15~25배의 몰비로 첨가하고, 실온에서 2~4시간 동안 반응시켜 항체 B의 사슬간 디설파이드 결합 또는 항체에 도입된 시스테인 측쇄를 티오기(thio group)로 환원시켰다. 반응이 완료된 후, 30 KDa의 한외여과 스핀 컬럼을 사용하여 완충액 교환을 실시하여 반응 용액의 불순물을 제거하여 항체 B 환원 샘플을 얻었다.

[0592] 항체 B 환원 샘플 용액에 디하이드로아스코르브산(dHA) 용액을 15~25배의 몰비로 첨가하고, 실온에서 2~4시간 동안 반응시켜 항체의 환원된 티오기를 사슬간 디설파이드 결합으로 산화시켰다. 그런 다음, L2-D2 또는 L1-D1 용액을 5~15배의 몰비로 첨가하여 항체에 도입된 디설파이드 결합과 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응 완료 후, 30 KDa 초여과 스핀 컬럼을 사용하여 완충액 교환을 실시하여 접합되지 않은 L2-D2 또는 L1-D1을 제거하여 항체 B-D2(2) 또는 항체 B-D1(2) 접합체 샘플을 얻었다.

[0593] TCEP를 먼저 항체 B-D2(2) 또는 항체 B-D1(2)에 몰비 15~25배로 첨가하고 실온에서 2시간 동안 반응시켜 항체 B-D2(2) 또는 항체 B-D1(2)의 항체 사슬간 이황화물 결합을 끊었다. 그런 다음 L1-D1 또는 L2-D2 용액을 몰비 15~25배로 첨가하여 실온에서 2시간 동안 항체의 사슬간 이황화물 결합과 반응시켰다. 반응이 완료된 후, 30 KDa 초여과 스핀 컬럼을 사용하여 완충액 교환을 실시하여 반응하지 않은 L1-D1 또는 L2-D2를 제거하여 항체 B-D2(2)-D1(8), 항체 B-D1(2)-D2(8), 항체 B-D1(10) 또는 항체 B-D2(10) 접합체 샘플을 얻었다.

[0594] 위의 방법을 참조하여 다음 ADC를 각각 항체 ANTI-CD33, ANTI-Trop2-1, ANTI-Trop2-2, Tras, Tras-016을 사용하여 합성했다.

Sample name	DAR
ANTI-CD33-Ex01	10
ANTI-CD33-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)
ANTI-CD33-Ex01-R01-1	2 (Ex01) +8 (R01-1)
ANTI-Trop2-1-Ex01	8
ANTI-Trop2-2-Ex01	10
ANTI-Trop2-2-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)
ANTI-Trop2-2-R02-Ex01	2 (R02) +8 (Ex01)
Tras-Ex01	8
Tras-016-Ex01	10
Tras-016-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)
Tras-016-R02-Ex01	2 (R02) +8 (Ex01)

[0595]

[0596] **실험예 1:** CD33, Trop2, HER2를 표적으로 한 이중 약물 ADC 세포 사멸 실험

[0597] 1. 장비, 소모품 및 시약

[0598] 시약

Category	Name	Manufacturer	Cargo No.
MTS test	CellTiter 96® One Solution Reagen	Promega	G3581
	0.25%Trypsin-EDTA (1×)	Gibco	25200
	0.4% Trypan Blue	Gibco	15250

[0599]

[0600] 장비

Name of instrument	Model
Cell centrifuge	EQ4044
HWS-24 electric heating constant temperature water bath	EQ4032
Airstream class I A2 type biosafety cabinet	EQ4007/EQ4008
CO_2 incubator	EQ4025
Inverted microscope	EQ4055
Count Star automatic cell counter	EQ4027
Siemens refrigerator	EQ4020
Cell incubator	INS-Q-070
Microplate Reader	EQ4092

[0601]

[0602] 세포

Type	Cell line
Human acute promyelocytic leukemia cell	HL-60
Human histiocytic lymphoma	U937
Human acute megakaryocytic leukemia cell	CMK
Human erythroleukemia cell	HEL92.1.7
Human skin squamous carcinoma cell	A431
Human gastric cancer cell	N87
Human colorectal adenocarcinoma cell	SW620
Human lung adenocarcinoma cell	H1975
Human breast cancer cell	MDA-MB-453
Human breast adenocarcinoma cell	SK-BR-3
Human breast cancer cell	MDA-MB-468

[0603]

[0604] 2. 샘플 정보

Sample name	DAR	Preservation conditions	Description of samples
ANTI-CD33 mAb	/	4℃	Naked anti-CD33 antibody
ANTI-CD33-Ex01	10	4℃	Mono-antibody conjugated mono-drug ADC using CD33 as target
ANTI-CD33-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)	4℃	Mono-antibody conjugated dual-drug ADC using CD33 as target
ANTI-Trop2-1 mAb	/	4℃	Naked anti- Trop2 antibody
ANTI-Trop2-2 mAb	/	4℃	Naked anti- Trop2 antibody
ANTI-Trop2-1-Ex01	8	4℃	Mono-antibody conjugated mono-drug ADC using Trop2 as target
ANTI-Trop2-2-Ex01	10	4℃	Mono-antibody conjugated mono-drug ADC using Trop2 as target
ANTI-Trop2-2-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)	4℃	Mono-antibody conjugated dual-drug ADC using Trop2 as target
ANTI-Trop2-2-R02-Ex01	2 (R02) +8 (Ex01)	4℃	Mono-antibody conjugated dual-drug ADC using Trop2 as target
Trastuzumab	/	4℃	Naked anti- HER2 antibody
Tras-Ex01	8	4℃	Mono-antibody conjugated mono-drug ADC using HER2 as target
Tras-016-Ex01	10	4℃	Mono-antibody conjugated mono-drug ADC using HER2 as target
Tras-016-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)	4℃	Mono-antibody conjugated dual-drug ADC using HER2 as target
Tras-016-R02-Ex01	2 (R02) +8 (Ex01)	4℃	Mono-antibody conjugated dual-drug ADC using HER2 as target

[0605]

[0606] 3. 원리 및 방법

[0607] 3.1 MTS 방법에 의한 세포 사멸 실험의 원리

[0608] 세포 수준에서의 약력학 시험: 세포 플레이팅은 일정 밀도로 96-웰 플레이트에서 수행되었다. 세포가 벽에 부착된 후(일반적으로 최소 4시간 소요), 여러 배로 희석된 일련의 약물을 각 웰 플레이트에 첨가하여 일정 시간 동안 작용하여 세포를 사멸시켰다. 약물 작용이 끝나면 일정량의 MTS를 첨가하여 37℃, 5% CO_2에서 1-4시간 동안 반응시켰다. MTS 시약을 사용하여 발색한 후, 마이크로플레이트 리더를 사용하여 OD 490nm 흡광도 값을 검출한 다음 세포 사멸에 대한 IC_{50}을 분석하여 계산했다.

[0609] 그 중 MTS[3-(4,5-디에틸-티아졸-2-일)-5-(3-카르복시메톡시페닐)-2-(4-설포페닐)-2H-테트라졸륨, 내부염]는 신세대의 청색 테트라졸륨 화합물이며, 이를 환원시켜 형성된 포르마잔 생성물은 더 높은 수용성과 안정성을 가지고 있으며, 색상 발현이 더 빠르다. 이는 MTT와 동일한 적용 원리에 기초하고 있는데, 즉, 살아있는 세포의 미토콘드리아에 있는 여러 탈수소효소에 의해 다양한 색상의 포르마잔 생성물로 환원되며, 색상의 농도는 특정 범위 내에서 일부 민감한 세포 균주의 살아있는 세포 수와 높은 상관 관계를 갖는다.

[0610] 3.2. 방법

[0611] 3.2.1. 샘플 준비

[0612] 첨가하기 전에 각 시험 샘플의 농도에 따라 약물(모액 농도의 5배)을 예열된 1% FBS 배양 배지를 사용하여 초기 농도 5.0 μM에 따라 준비한 다음 농도 구배의 10배에 따라 희석하여 총 8개의 검출 지점을 만든 다음 나중에 사용하기 위해 방치했다. 준비하는 동안 각 농도를 진동기를 사용하여 균일하게 혼합했으며, 구체적으로 1초 간격으로 2~3초씩 진동한 다음 다시 진동하여 2~3회 반복했다.

[0613] 항체와 항체 접합 약물의 최종 농도는 0(Vehicle), 0.6pM, 4.25pM, 29.75pM, 0.21nM, 1.46nM, 10.20nM, 71.43nM, 500 nM이었다.

[0614] 3.2.2. 실험

[0615] 1) 세포 재생: 37℃ 수조에서 예열한 후, 9mL의 배양 배지를 취하여 나중에 사용하기 위해 원심분리관에 넣었다. 세포를 액체 질소에서 꺼내고, 즉시 37℃에서 빠르게 흔들어 완전히 녹인 다음, 원심분리관으로 옮겨 실온에서 1000rpm으로 3분간 원심분리하였다. 상층액을 버리고 침전물을 1mL의 완전 배양 배지에 재현탁하였다. 이때의 과정은 부드러워야 거품이 날아가는 것을 방지하여 세포 손상을 줄일 수 있다. 세포를 배양 플라스크로 옮겨 37℃, 5% CO_2, 95% 상대 습도의 세포 배양기에서 배양하였다. 24시간 동안 부활시킨 후 세포 상태를 관찰하고, 배양 배지를 새 것으로 교체하여 계대 배양 및 세포 수를 측정하였다.

[0616] 2) 세포 플레이팅: 시험관 내 약력학 시험에 사용된 모든 세포주가 부활한 후, 각각 3세대의 계대 배양을 거쳐야 했다. 검증된 세포 플레이팅 밀도에 따라, 세포 현탁액을 1% FBS가 포함된 세포 배양 배지를 사용하여 희석하고, 96웰 플레이트에 80 μL/웰로 부드럽게 첨가한 다음, 마지막으로 멸균 PBS 또는 멸균 ddH_2O 200 μL를 가장자리에 세포 현탁액이 없는 96웰 플레이트에 첨가하여 가장자리 밀봉한 다음, 플레이트를 CO_2 배양기에 넣어 밤새 배양하였다.

[0617] 3) 약물은 웰 플레이트에 예상 농도의 5배로(예: B2에서 B10, C2에서 C10, D2에서 D10, E2에서 E10, F2에서 F10, 또는 G2에서 G10) 테스트할 각 분자에 대해 농도당 3회 반복하는 원칙에 따라 20 μL/웰로 순차적으로 추가했으며, 초기 웰 약물 농도는 1000nM이었고, 각 96웰 플레이트에 두 가지 테스트 약물을 추가할 수 있었다. 일반적으로 세포를 포함하고 1% FBS 배양 배지 20 μL만 보충한 세 개의 웰 B11, C11, D11을 음성 대조군으로 사용했다. E11, F11, G11은 세포가 없는 1% FBS 배양 배지 100 μL만 포함하는 공백 대조군이었다.

[0618] 4) 일반적으로 ADC 약물을 사용한 치료 기간은 5일이었고, 이 기간 동안 약물의 작용은 첨가 후 24시간, 48시간 및 72시간에 역상 현미경으로 관찰했다.

[0619] 5) CellTiter 96® One Solution Reagen MTS 시약을 -20℃ 환경에서 채취하여 어둠 속에서 실온에서 해동하고, 완전히 진탕하고 혼합했다. 그런 다음 생물 안전 캐비닛에서 CellTiter 96® One Solution Reagen MTS 시약 20 μL를 웰의 측벽을 따라 세포 배양 부피 100 μL당 첨가했다. MTS 시약은 다른 세포 배양 부피에 동일한 비율로 첨가했다. MTS 용액은 플레이트 표면을 가볍게 두드려 균일하게 혼합한 다음 세포 배양기에 넣어 어둠 속에서 2~4시간 동안 배양했다.

[0620] 6) 반응이 완료된 후, 96-well plate를 꺼내어 microplate reader를 이용하여 OD 490nm 흡광도 값을 검출하면서 data recording, sorting, storage를 수행하였다.

[0621] 7) 각 약물 농도에서 세포 생존율을 계산하기 위해 다음 공식에 따라 data를 처리하고 분석하였다.

[0622]
$$\text{Cell viability} = \frac{\text{OD 490nm (drug)} - \text{OD 490nm (blank control)}}{\text{OD 490nm (negative control)} - \text{OD 490nm (blank control)}} \times 100\%$$

[0623] OD 490nm(drug): 소분자 약물로 세포를 처리한 후의 OD 490nm 값;

[0624] OD 490nm(negative control): 0.1% DMSO가 포함된 완전 배양 배지로 세포를 처리한 후의 OD 490nm 값;

[0625] OD 490nm(blank control): 0.1% DMSO가 포함된 완전 배양 배지의 OD 490nm 값.

[0626] 8) Graphpad Prism 9.0 데이터 처리 소프트웨어의 4-매개변수 로직 피팅 모듈을 채택하여 처리 곡선을 피팅하여 IC_{50}을 얻었다.

[0627] 4. 결과 및 분석

[0628] 4.1 CD33 세포 사멸 실험:

[0629] CD33 고발현 급성 골수성 백혈병 세포주 HEL92.1.7, CD33 중간 발현 급성 골수성 백혈병 세포주 CMK, U937 및 HL-60, 그리고 CD33을 발현하지 않는 피부 편평세포암 세포주 A431을 각각 표적 세포로 사용하여, 먼저 유동 분석으로 표적 세포의 CD33 발현 수준을 결정한 다음, MTS 방법으로 CD33 이중 약물 ADC의 세포 사멸 활성을 평가했다.

[0630] 결과는 그림 1-10과 표 1 및 표 2에 나타내었다.

표 1

[0631] 시험 세포에서의 CD33 발현

세포주 명칭	CD33 비율	CD33 상태
HEL92.1.7	20.88	고발현
CMK	15.65	중간발현(Moderate expression)
U937	8.79	
HL-60	8.42	
A431	0.98	음성

표 2

[0632] 세포 수준에서 시험 약물의 IC_{50}

시험 약물 IC_{50} (nM)			
세포	항-CD33 mAb	항-CD33-Ex01 (10)	항-CD33-R01-1 (2) -Ex01 (8)
HEL92.1.7	>500	10.089	2.136
CMK	>500	11.462	2.525
U937	>500	31.642	6.627
HL-60	>500	5.387	2.22
A431	>500	87.217	14.671

[0633] 결론:

[0634] 실험 조건에서, 4가지 AML 세포주와 1가지 상피 편평세포암 세포 모델의 사멸 실험에서,

[0635] 1. CD33의 naked 항체 ANTI-CD33-mAb는 여러 AML 세포주에 대해 유의한 사멸 활성이 없었다.

[0636] 2. CD33 고발현, 중간 발현 및 CD33 음성 세포주에서 낮은 독성 복구 억제제와 높은 독성 손상제를 동시에 항-CD33 항체에 결합하여 얻은 이중 약물 ADC, 즉 ANTI-CD33-R01-1(2) - Ex01(8)은 높은 독성 손상제만 결합하여 얻은 단일 약물 ADC, 즉 ANTI-CD33-Ex01(10)보다 여러 AML 종양 세포주에 대한 시험관 내 민감도가 유의하게 더 좋았다.

[0637] 4.2 Trop2 세포 사멸 실험:

[0638] Trop2 고발현 세포주 N87과 이종 종양 암세포 A431+ SW620을 각각 표적 세포로 하여, 표적 세포의 Trop2 발현 수준을 먼저 유동 분석으로 결정한 다음, MTS 방법으로 Trop2 이중 약물 ADC의 세포 사멸 활성을 평가했다. 결과는 도 11 내지 14와 표 3 및 표 4에 나타내었다.

표 3

[0639] 시험세포에서 Trop2 발현

세포주 명칭	Trop2 비율	Trop2 상태
N87	298.50	고발현
A431+SW620	0.92	음성

표 4

[0640] 세포 수준에서 시험약물의 IC_{50}

세포	시험 약물 IC_{50}(nM)					
	항-Trop2-1 mAb	항-Trop2-2 mAb	항-Trop2-1-Ex01(8)	항-Trop2-2-Ex01(10)	항-Trop2-2-R01-1(2)-Ex01(8)	항-Trop2-2-R02(2)-Ex01(8)
N87	＞500	＞500	336.49	64.10	24.99	26.55
A431+SW620	＞500	＞500	＞500	635.30	185.36	161.17

[0641] 결론:

[0642] 실험 조건에서, 2가지 세포 모델의 사멸 실험에서,

[0643] 1. 네이키드 항체 Trop2 ANTI-Trop2-1-mAb 및 ANTI-Trop2-2-mAb는 두 세포주에 대해 유의미한 사멸 활성을 나타내지 않았다.

[0644] 2. Trop2 고발현 세포주와 음성 세포주에서 낮은 독성 및 낮은 활성 복구 억제제를 항-Trop2 항체에 결합하고 동시에 높은 살상 활성 손상제인 ANTI-Trop2-2-R01-1(2)-Ex01(8) 및 ANTI-Trop2-2-R02(2)-Ex01(8)을 결합한 이중 약물 ADC는 높은 살상 활성 손상제인 ANTI-Trop2-1-Ex01(8)만을 결합한 단일 약물 ADC보다 종양 세포에 대한 시험관 내 민감도가 유의하게 우수했고, 단일 약물 ADC인 ANTI-Trop2-2-Ex01(10)보다 시험관 내 민감도가 유의하게 우수했다.

[0645] 4.3 HER2 세포 사멸 실험:

[0646] 각각 HER2 발현 정도가 다른 세포주 SK-BR-3, H1975, MDA-MB-453 및 MDA-MB-468을 표적 세포로 하여, 먼저 유동 분석으로 표적 세포의 HER2 발현 수준을 결정한 다음, MTS 방법으로 HER2 이중 약물 ADC의 세포 사멸 활성을 평가했다. 결과는 도 15 내지 18과 표 5 및 표 6에 나타내었다.

표 5

[0647] 시험 세포에서 HER2 발현

세포주 명칭	HER2 항원의 수 (HER2/Cell)	HER2 상태
SK-BR-3	822, 659	고발현
MDA-MB-453	158, 428	중간발현
H1975	6, 697	저발현
MDA-MB-468	검출불가	음성

표 6

[0648] 세포 수준에서 시험 약물의 IC_{50}

-	IC_{50} (nM)			
세포	Tras-Ex01 (DAR8)	Tras-016-Ex01 (DAR10)	Tras-016-R01-1(2)-Ex01(8)	Tras-016-R02(2)-Ex01(8)
SK-BR-3	>500	>500	343.44	178.42
MDA-MB-453	>500	>500	119.76	123.88
H1975	365.85	162.92	36.46	21.72
MDA-MB-468	99.20	22.06	5.11	3.92

[0649] 결론:

[0650] 실험 조건에서, 4가지 세포 모델의 사멸 실험에서,

[0651] 1. 높은 사멸 활성 손상제를 항-HER2 항체에 결합하여 얻은 단일 약물 ADC인 Tras-Ex01(DAR8)과 Tras-016-

Ex01(DAR10)은 종양 세포에 대한 사멸 활성에서 유의미한 차이를 보였고, DAR이 8일 때보다 10일 때 활성이 유의미하게 더 높았다.

[0652] 2. HER2 발현이 다른 세포주에서 낮은 독성 및 낮은 활성 복구 억제제를 항-HER2 항체에 결합하고 동시에 높은 살상 활성 손상제인 Tras-016-R01-1(2)-Ex01(8) 및 Tras-016-R02(2)-Ex01(8)을 결합함으로써 얻은 이중 약물 ADC는 높은 살상 활성 손상제인 Tras-Ex01(DAR8)만을 결합함으로써 얻은 단일 약물 ADC보다 종양 세포에 대한 시험관 내 민감도가 유의하게 우수했고 단일 약물 ADC인 Tras-016-Ex01(DAR10)보다 활성이 유의하게 우수했다.

[0653] **실험예 2: ELISA를 통한 항-CD33 항체-약물 접합체의 재조합 인간 CD33 단백질에 대한 결합 테스트:**

[0654] 항체의 항원에 대한 결합 능력은 ELISA를 통해 예비적으로 판단할 수 있습니다. 여기서 재조합 인간 CD33 단백질을 효소 스트립에 고정하고 일련의 농도 구배 CD33 항체를 추가하여 테스트했다.

[0655] 1. 코팅: 1×PBS를 사용하여 0.5 μg/mL로 희석한 CD33을, 웰당 100 μL 넣어 코팅하고, 4℃에서 하룻밤 동안 두었다.

[0656] 2. 플레이트 세척: 플레이트 세척 완충액(1×PBS + 0.05% Tween 20)으로 웰당 200 μL씩 플레이트를 3회 세척하고, 매번 1분씩 방치하였다.

[0657] 3. 실링: 세척 완충액의 3번째 패팅-건조 후, 봉인 완충액(1×PBS +0.05% Tween20+1% BSA)으로 웰당 200 μL, 37℃에서 1시간 동안 실링하였다.

[0658] 4. 플레이트 세척: 플레이트를 플레이트 세척 완충액으로 3회 세척하고, 웰당 200 μL씩, 매번 1분씩 방치하였다.

[0659] 5. 1차 항체 로딩: 항체-약물 접합체(테스트 예 1과 동일)를 샘플 희석액(1×PBS +0.05% Tween20+1% BSA)을 사용하여 2 μg/mL에서 3배 그래디언트로 희석하였다. 플레이트를 플레이트 세척 완충액으로 웰당 200 μL씩 3회 세척하고, 매번 1분씩 방치하였다.

[0660] 6. 2차 항체 로딩: Solarbio 토끼 항-인간 항체를 1:10000의 비율로 분석 완충액(1×PBS +0.05% Tween20+1% BSA)으로 희석하여 웰당 100 μL로 만들고, 37℃에서 1시간 동안 방치하였다.

[0661] 7. 플레이트 세척: 플레이트를 플레이트 세척 완충액으로 웰당 200 μL씩 3회 세척하고, 매번 1분씩 방치하였다.

[0662] 8. 판독: TMB 발색액(웰당 50 μL)을 첨가하여 7분간 발색한 후, 2M H_2SO_4(웰당 50 μL)를 첨가하여 종결시켰다. 마이크로플레이트 리더를 사용하여 450 nm에서 플레이트를 판독하였다.

[0663] 실험 결과는 도 19 및 20에 나타내었다.

[0664] 결론: 항-CD33 항체-약물 접합체, 단일 약물 ADC: ANTI-CD33-Ex01(10), 이중 약물 ADC: ANTI-CD33-R01-1(2) - Ex01(8), 및 ANTI-CD33-Ex01(2) - R01-1(8)의 재조합 인간 CD33 단백질에 대한 결합 능력은 재조합 인간 CD33 단백질에 대한 순수 항-CD33 항체와 기본적으로 동일했으며 유의한 차이는 없었다.

[0665] **실험예 3: 항-CD33 항체와 항체-약물 접합체의 혈장 안정성 시험**

[0666] IgG가 고갈된 인간 혈장과 함께 naked ANTI-CD33 항체와 ADC(ANTI-CD33-R01-1(2)-Ex01(8))의 혼합물을 각각 최종 농도가 0.6mg/ml인 nake 항체와 ADC로 제형화하고 37℃ 인큐베이터에서 0, 3, 7일 동안 수조에서 배양하면서, 배양되지 않고 추출되지 않은 대조군과, 배양되지 않고 추출된 대조군을 설정했다. 배양 후, 샘플은 SEC-HPLC 방법으로 시험했다. 결과는 표 7에 나타내었다.

표 7

[0667] 혈장 안정성 데이터

명칭	Naked anti-CD33 antibody	ANTI-CD33-R01-1 (2) -Ex01 (8)

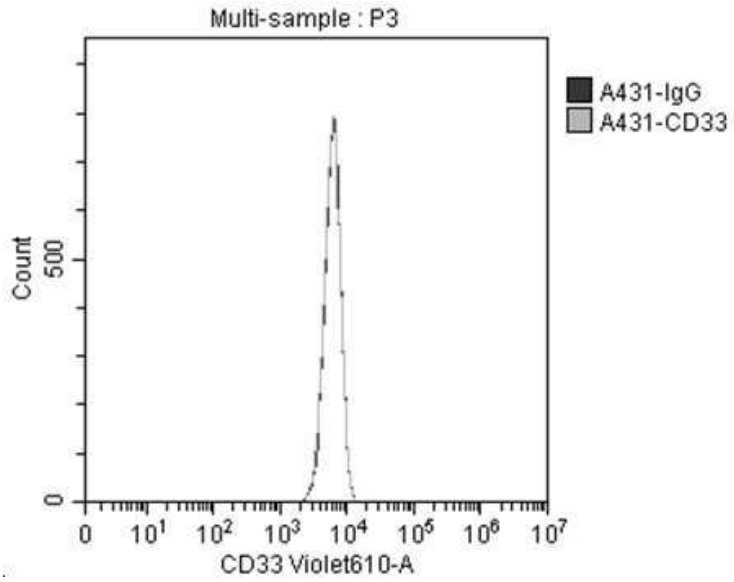
혈장 안정성 SEC	혈장에서 비배양 및 추출	응집%	5.82	7.88
		모노머%	94.19	92.13
		분해%	0.00	0.00
	혈장에서 0일간 배양	응집%	8.48	9.11
		모노머%	91.52	90.89
		분해%	0.00	0.00
	혈장에서 3일간 배양	응집%	14.65	11.04
		모노머%	85.35	88.96
		분해%	0.00	0.00
	혈장에서 7일간 배양	응집%	15.18	19.00
		모노머%	84.82	81.00
		분해%	0.00	0.00

[0668] 결론: 본 발명에 개시된 ADC는 우수한 플라스마 안정성, 낮은 분해율, 낮은 응집율 및 높은 모노머 비율을 포함한 우수한 특성을 가졌다.

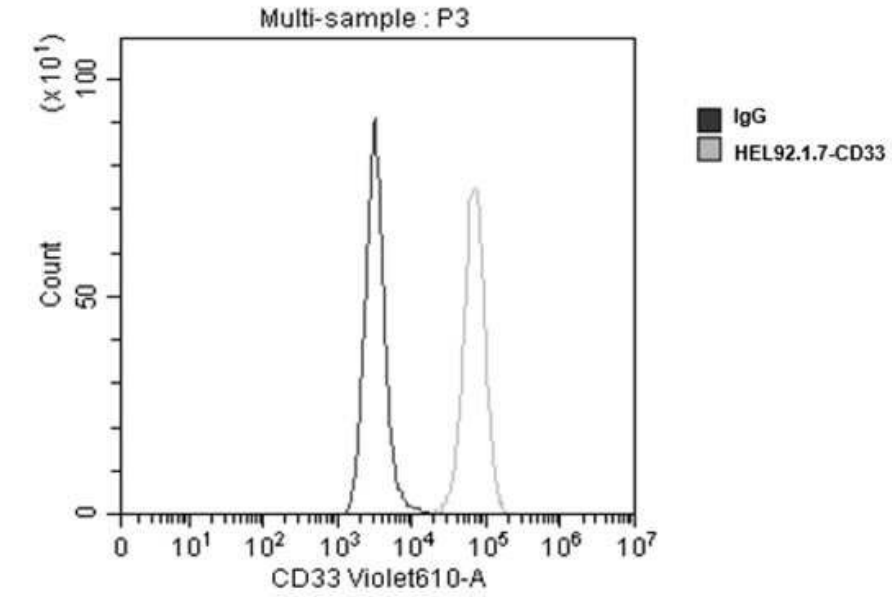
[0669] 본 발명의 구체적인 실시예가 자세히 설명되었지만, 해당 분야의 숙련자는 다음을 이해할 것이다: 본 발명의 전반적인 교시사항에 비추어 세부 사항에 다양한 수정 및 변형이 이루어질 수 있으며, 이러한 변경은 모두 본 발명의 범위 내에 있다. 본 발명의 전체 범위는 첨부된 청구항 및 그 등가물에 의해 주어진다.

도면

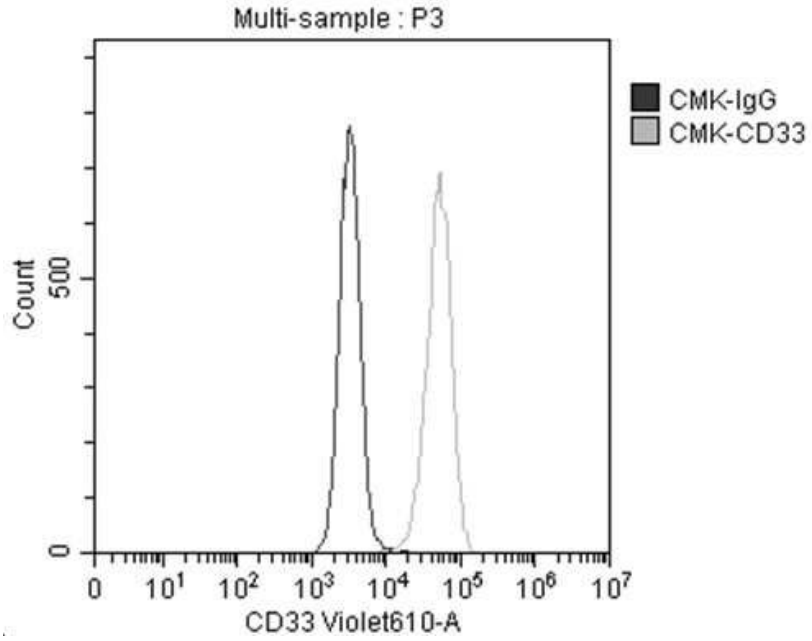
도면1



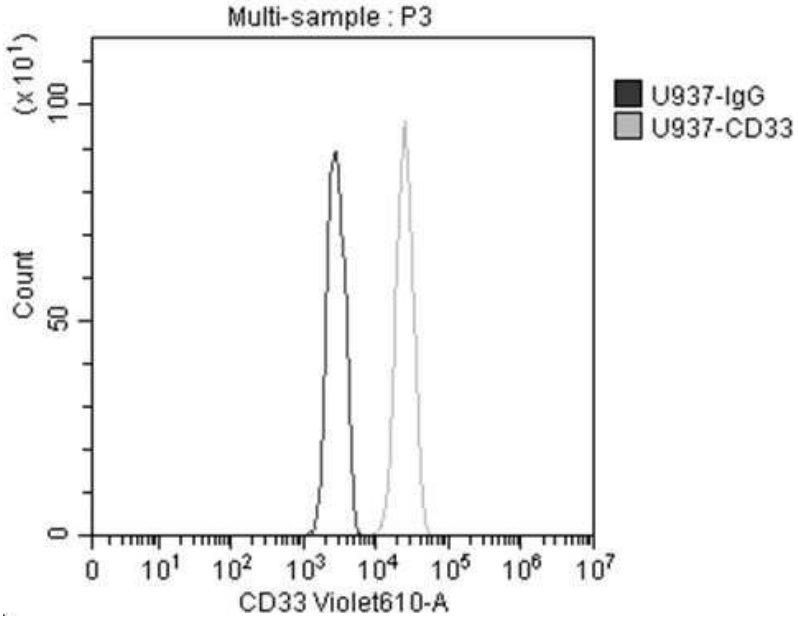
도면2


Multi-sample : P3
(x10¹)
100
Count
50
0
0 10¹ 10² 10³ 10⁴ 10⁵ 10⁶ 10⁷
CD33 Violet610-A
IgG
HEL92.1.7-CD33

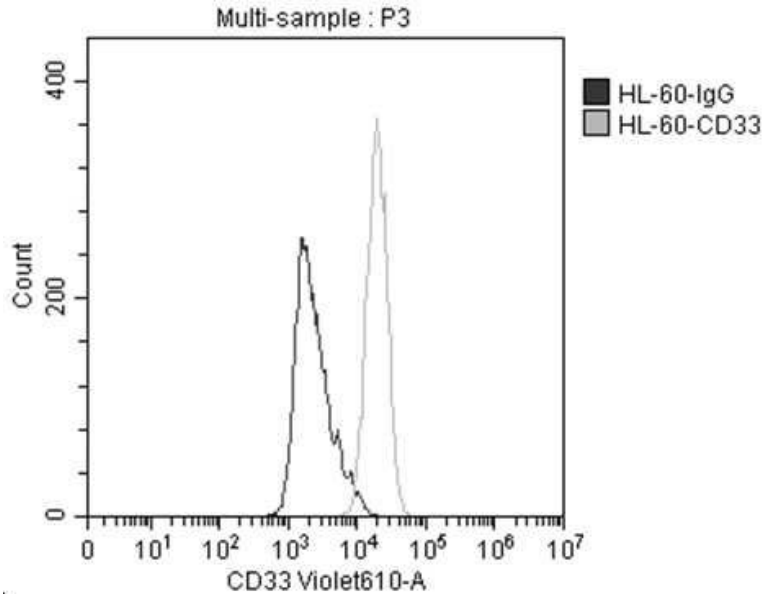
도면3


Multi-sample : P3
Count
500
0
0 10¹ 10² 10³ 10⁴ 10⁵ 10⁶ 10⁷
CD33 Violet610-A
CMK-IgG
CMK-CD33

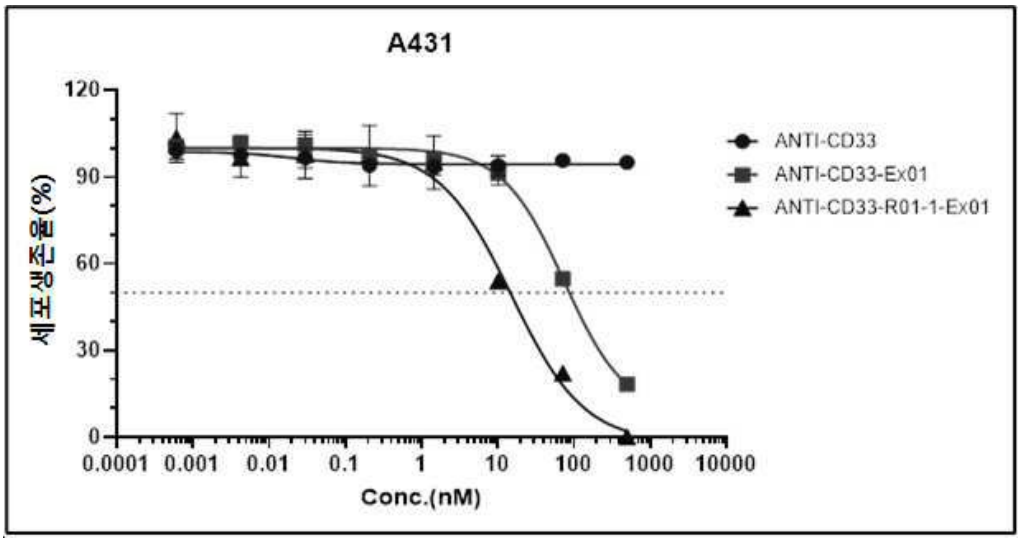
도면4


Multi-sample : P3
(x 10¹)
100
50
0
Count
U937-IgG
U937-CD33
0
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
10⁶
10⁷
CD33 Violet610-A

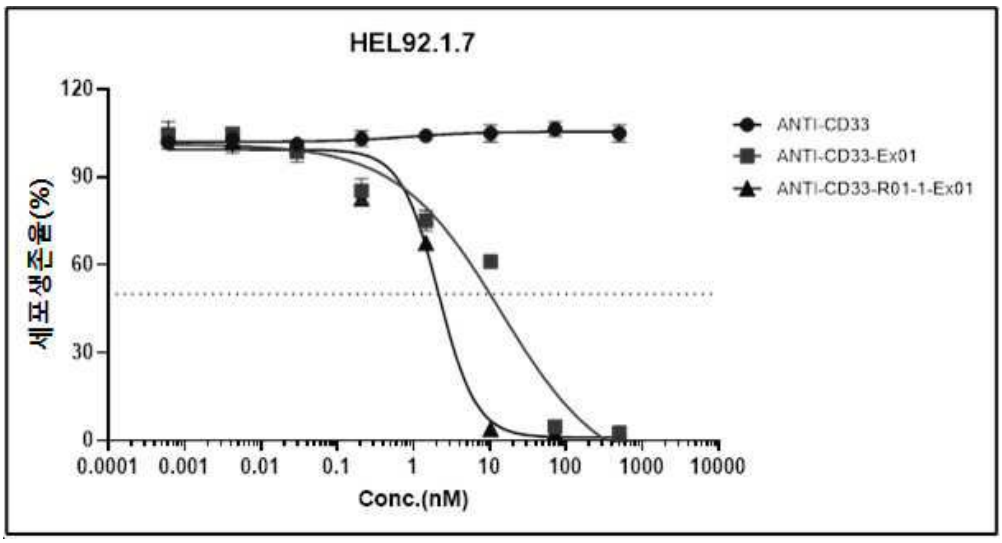
도면5


Multi-sample : P3
400
200
0
Count
HL-60-IgG
HL-60-CD33
0
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
10⁶
10⁷
CD33 Violet610-A

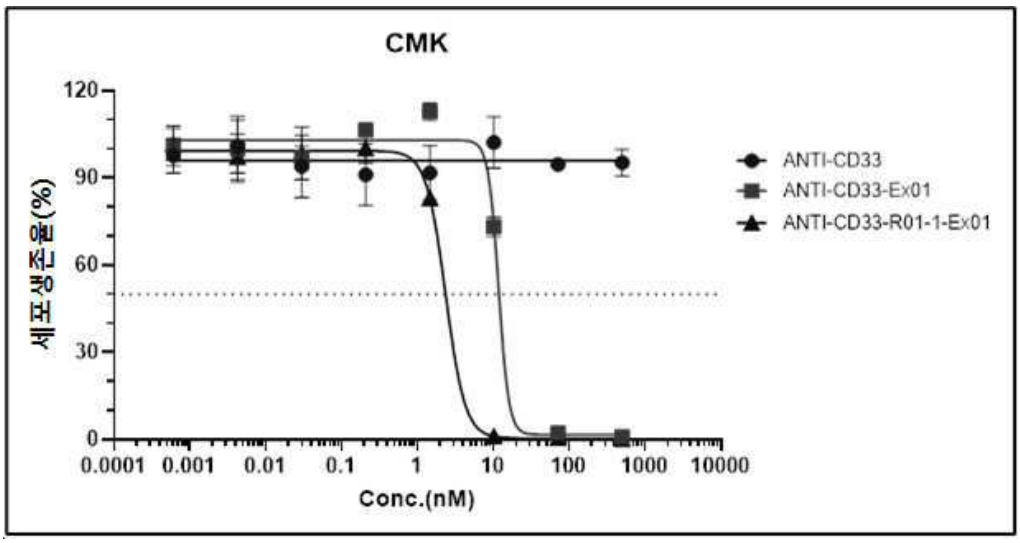
도면6


A431
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000 10000
Conc.(nM)
ANTI-CD33
ANTI-CD33-Ex01
ANTI-CD33-R01-1-Ex01

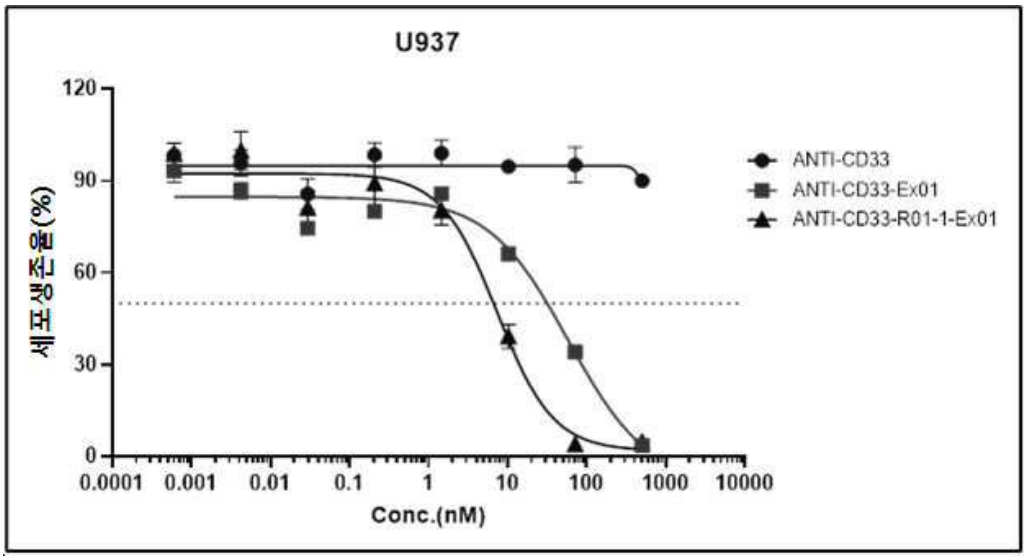
도면7


HEL92.1.7
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000 10000
Conc.(nM)
ANTI-CD33
ANTI-CD33-Ex01
ANTI-CD33-R01-1-Ex01

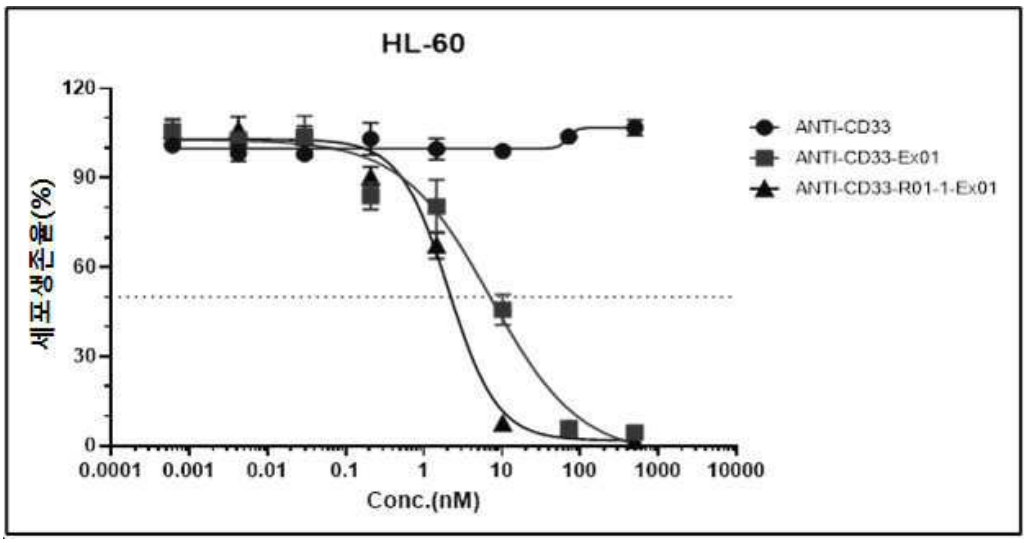
도면8


CMK
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000 10000
Conc.(nM)
ANTI-CD33
ANTI-CD33-Ex01
ANTI-CD33-R01-1-Ex01

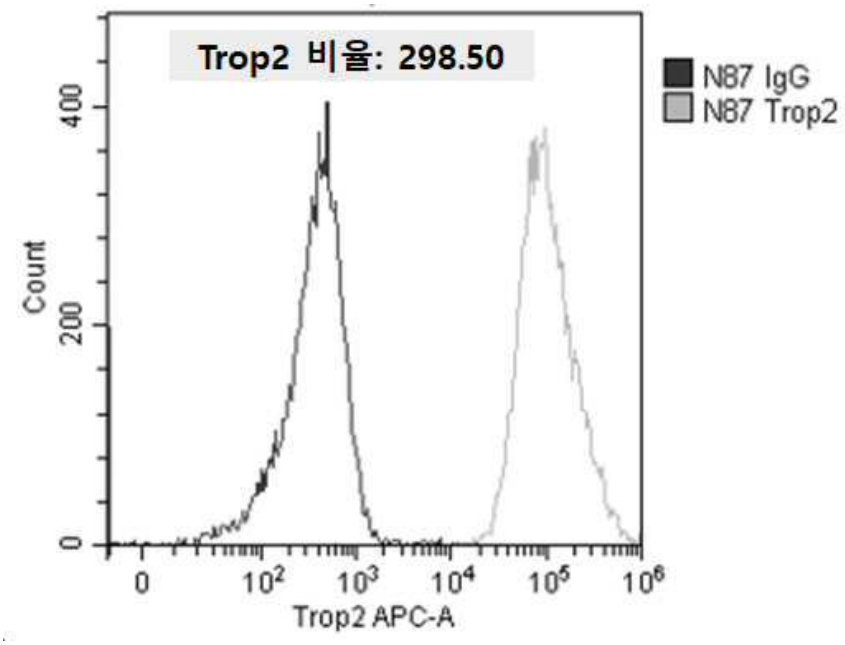
도면9


U937
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
Conc.(nM)
ANTI-CD33
ANTI-CD33-Ex01
ANTI-CD33-R01-1-Ex01

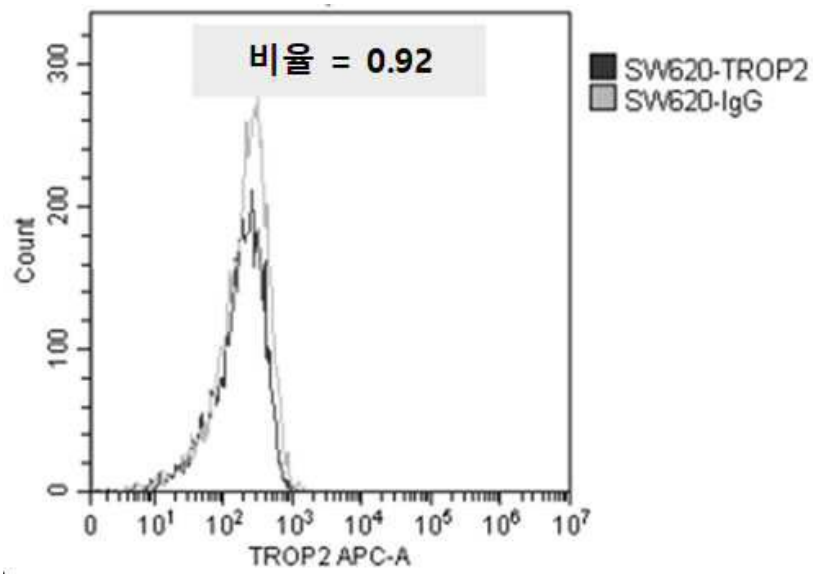
도면10


HL-60
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
Conc.(nM)
ANTI-CD33
ANTI-CD33-Ex01
ANTI-CD33-R01-1-Ex01

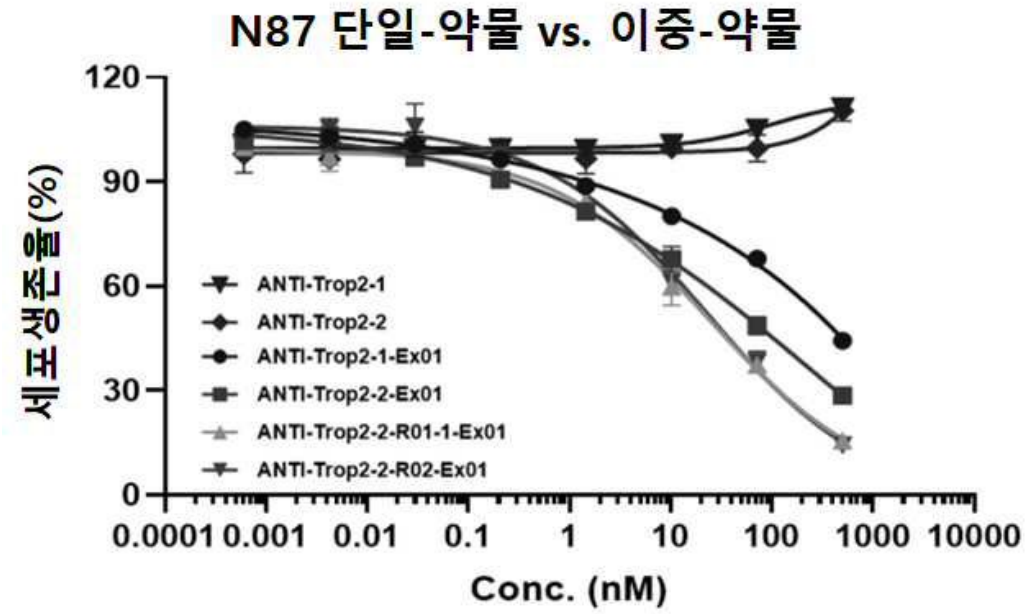
도면11


Trop2 비율: 298.50
N87 IgG
N87 Trop2
Count
400
200
0
0
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6
Trop2 APC-A

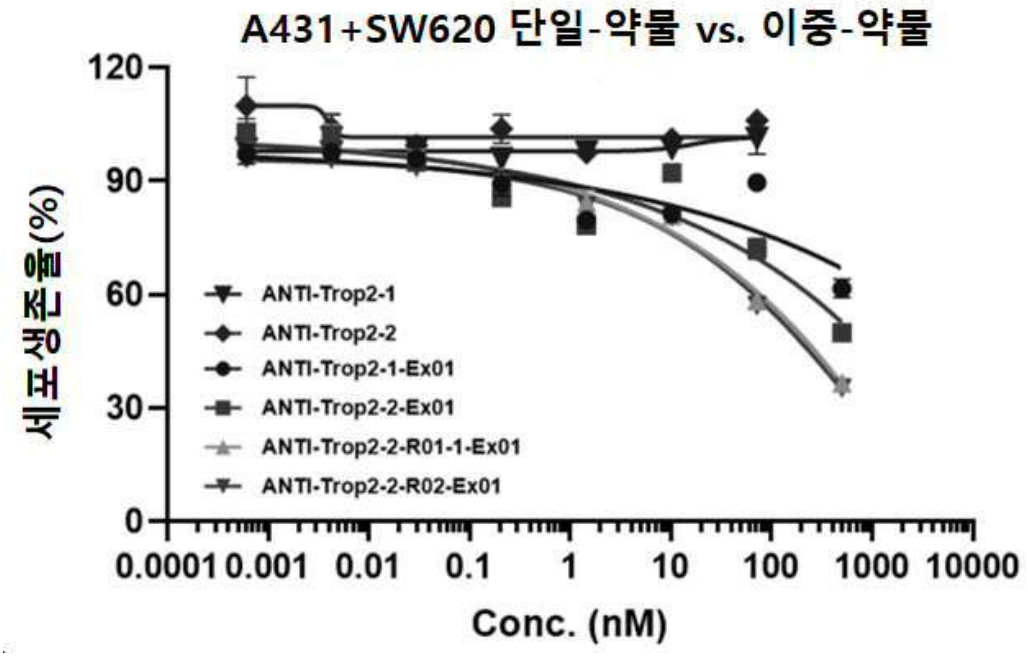
도면12


비율 = 0.92
SW620-TROP2
SW620-IgG
Count
300
200
100
0
0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6
10^7
TROP2 APC-A

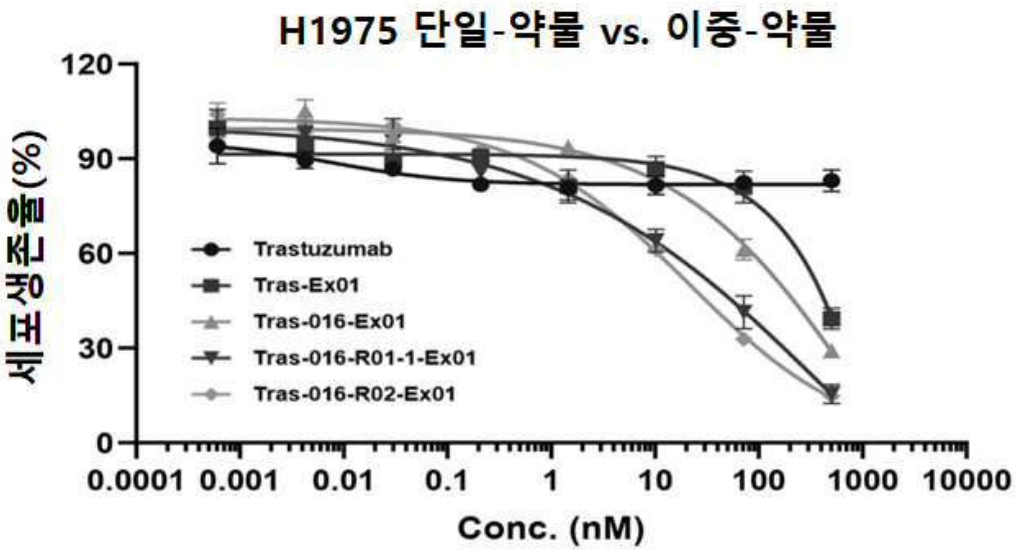
도면13


N87 단일-약물 vs. 이중-약물
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
ANTI-Trop2-1
ANTI-Trop2-2
ANTI-Trop2-1-Ex01
ANTI-Trop2-2-Ex01
ANTI-Trop2-2-R01-1-Ex01
ANTI-Trop2-2-R02-Ex01
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000 10000
Conc. (nM)

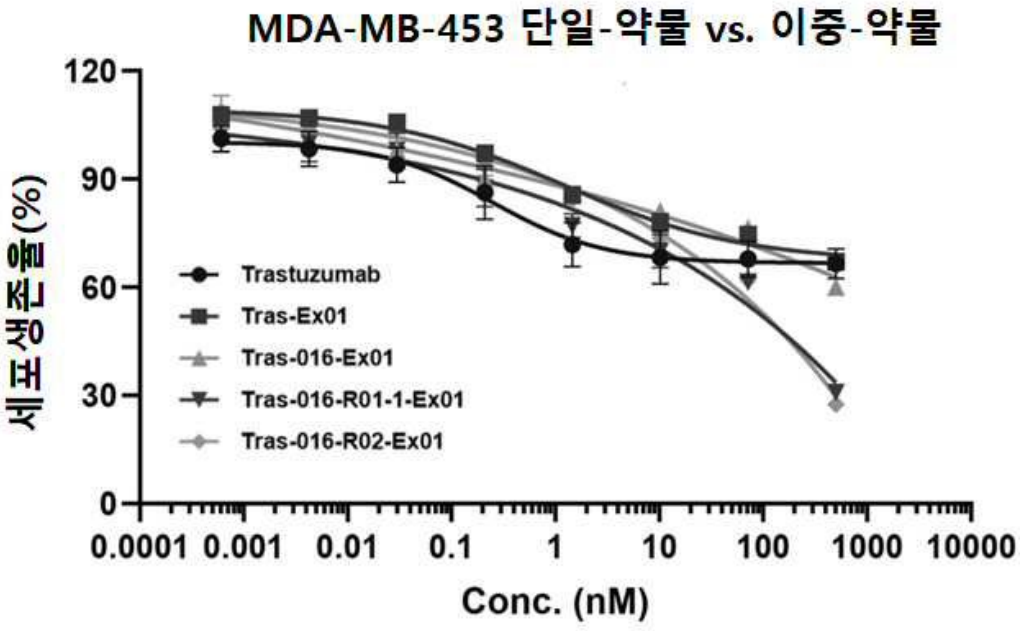
도면14


A431+SW620 단일-약물 vs. 이중-약물
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
ANTI-Trop2-1
ANTI-Trop2-2
ANTI-Trop2-1-Ex01
ANTI-Trop2-2-Ex01
ANTI-Trop2-2-R01-1-Ex01
ANTI-Trop2-2-R02-Ex01
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000 10000
Conc. (nM)

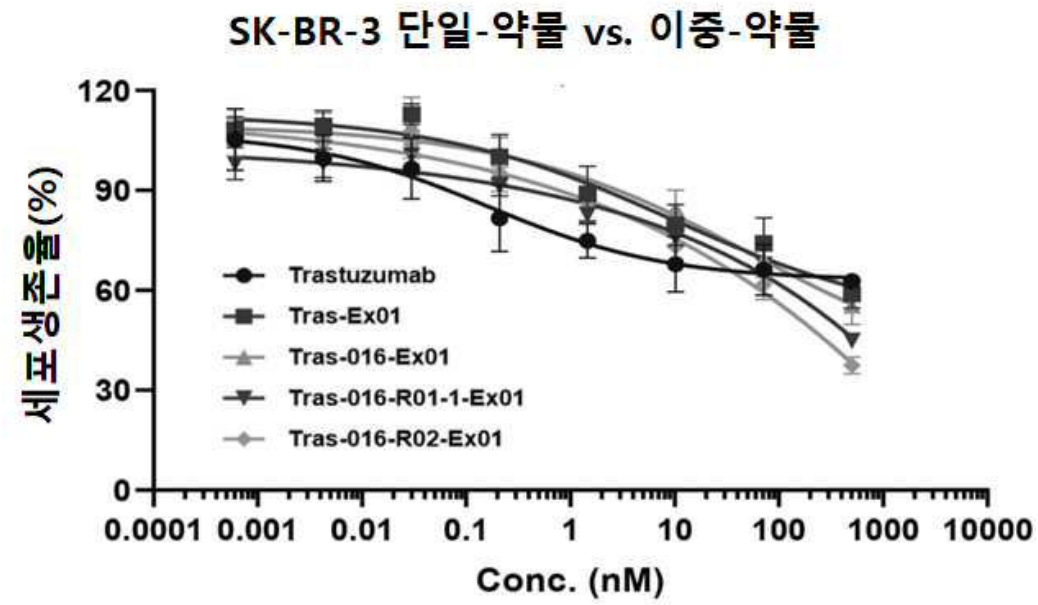
도면15


H1975 단일-약물 vs. 이중-약물
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
Conc. (nM)
Trastuzumab
Tras-Ex01
Tras-016-Ex01
Tras-016-R01-1-Ex01
Tras-016-R02-Ex01

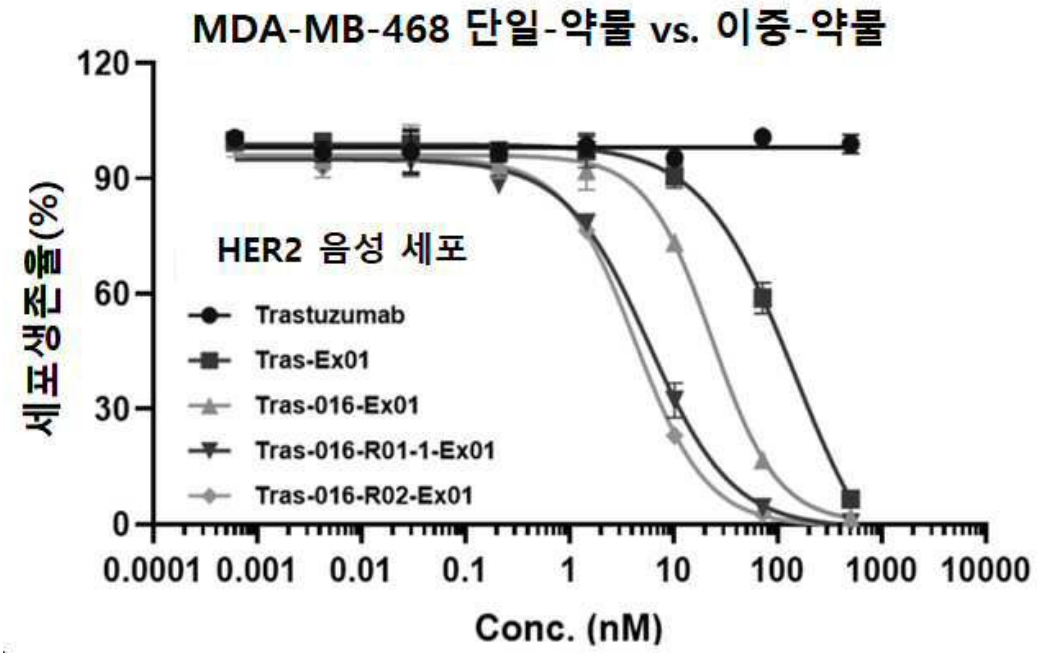
도면16


MDA-MB-453 단일-약물 vs. 이중-약물
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
Conc. (nM)
Trastuzumab
Tras-Ex01
Tras-016-Ex01
Tras-016-R01-1-Ex01
Tras-016-R02-Ex01

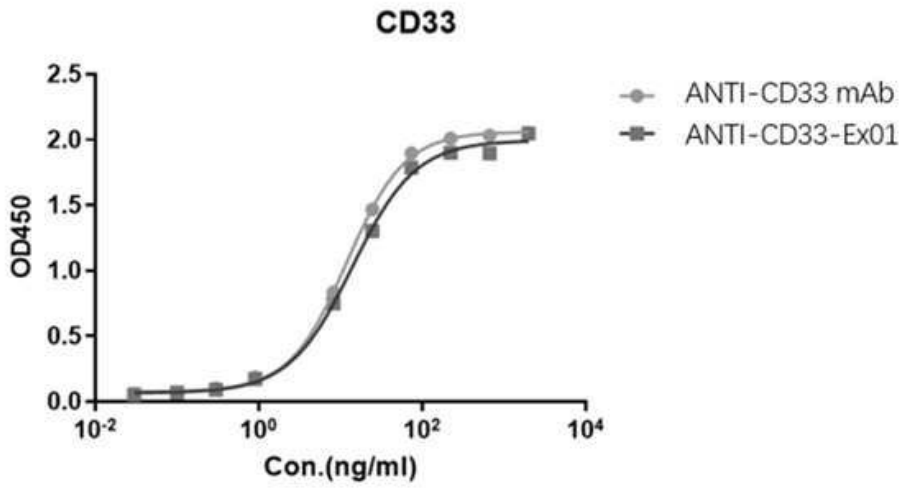
도면17


SK-BR-3 단일-약물 vs. 이중-약물
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
Trastuzumab
Tras-Ex01
Tras-016-Ex01
Tras-016-R01-1-Ex01
Tras-016-R02-Ex01
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000 10000
Conc. (nM)

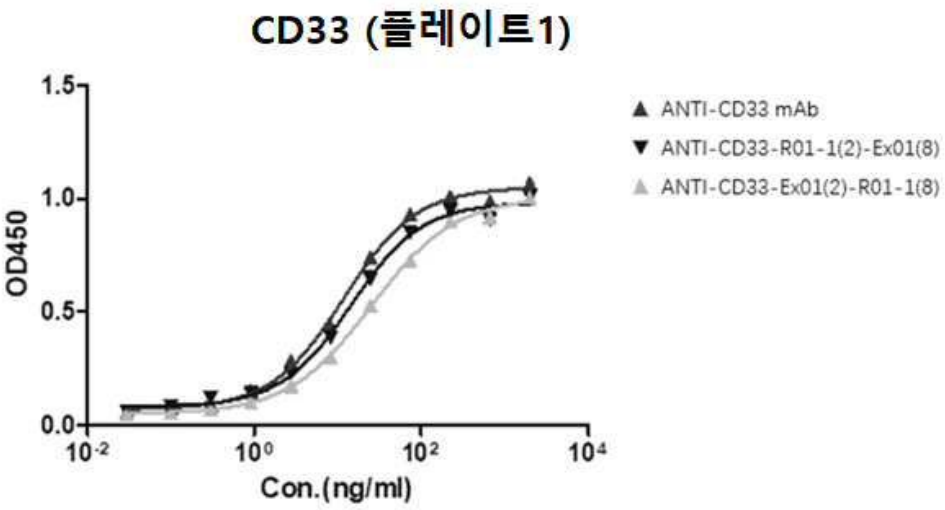
도면18


MDA-MB-468 단일-약물 vs. 이중-약물
세포생존율(%)
120
90
60
30
0
HER2 음성 세포
Trastuzumab
Tras-Ex01
Tras-016-Ex01
Tras-016-R01-1-Ex01
Tras-016-R02-Ex01
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000 10000
Conc. (nM)

도면19


CD33
OD450
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
10-2
100
102
104
Con.(ng/ml)
ANTI-CD33 mAb
ANTI-CD33-Ex01

도면20


CD33 (플레이트1)
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
10-2
100
102
104
Con.(ng/ml)
ANTI-CD33 mAb
ANTI-CD33-R01-1(2)-Ex01(8)
ANTI-CD33-Ex01(2)-R01-1(8)

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.