



등록특허 10-2679892



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년07월02일
(11) 등록번호 10-2679892
(24) 등록일자 2024년06월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) *A61K 31/4745* (2006.01)
A61K 47/65 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07D 491/22 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/6889 (2017.08)
A61K 31/4745 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7003605(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2020년03월23일
심사청구일자 2023년03월22일
- (85) 번역문제출일자 2023년01월31일
- (65) 공개번호 10-2023-0023814
- (43) 공개일자 2023년02월17일
- (62) 원출원 특허 10-2021-7035043
원출원일자(국제) 2020년03월23일
심사청구일자 2022년08월10일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2020/057984
- (87) 국제공개번호 WO 2020/200880
국제공개일자 2020년10월08일
- (30) 우선권주장
62/826,393 2019년03월29일 미국(US)
62/964,177 2020년01월22일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
J Med Chem., 1998, 41, 2308-2318*

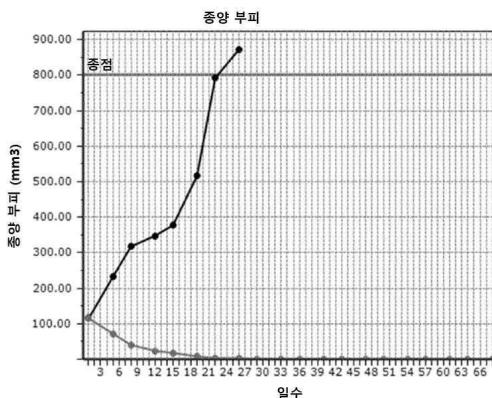
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 6 항

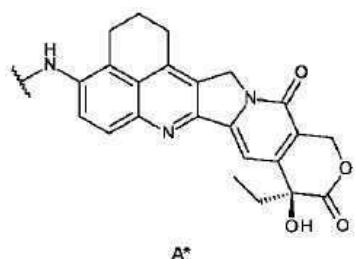
심사관 : 나영국

(54) 발명의 명칭 **화합물 및 이의 접합체****(57) 요 약**

리간드 단위에 연결하기 위한 링커를 갖는, 하기 토포이소머라제 억제제 유도체(A*)를 포함하는 접합체로서, 링
(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1

커가 절단 가능한 방식으로 아미노 잔기에 부착되는, 접합체. 리간드 단위는 바람직하게는 항체이다. 또한 연결 단위가 부착된 A*, 이들의 합성을 위한 중간체, 및 방출되는 탄두가 제공된다.



(52) CPC특허분류

A61K 47/65 (2017.08)*A61K 47/6803* (2023.08)*A61K 47/6855* (2017.08)*A61P 35/00* (2018.01)*C07D 491/22* (2013.01)

(72) 발명자

카일료, 타이스

영국 씨비21 6지에이치 케임브리지셔 케임브리지
그랜타 파크 밀스타인 빌딩 메디뮨 리미티드 내

매스터슨, 루크

영국 씨비21 6지에이치 케임브리지셔 케임브리지
그랜타 파크 밀스타인 빌딩 메디뮨 리미티드 내

곤드리, 윌리엄

영국 씨비20에이에이 케임브리지셔 케임브리지 케
임브리지 바이오메디컬 캠퍼스 프랜시스 크릭 애비
뉴 1 아스트라제네카 내

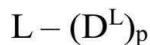
명세서

청구범위

청구항 1

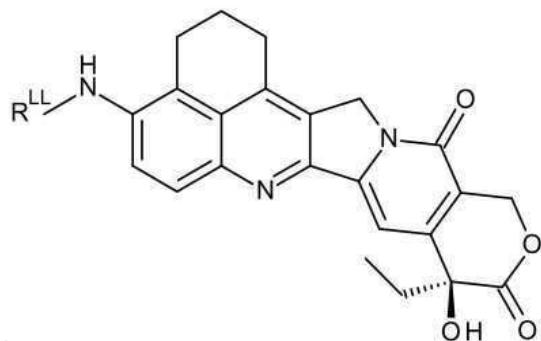
화학식 IV의 접합체:

[화학식 IV]



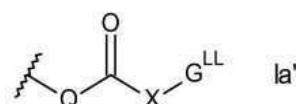
또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물(상기 식에서, L은 항체 또는 항체의 항원-결합 단편이고, D^L 은 화학식 III의 약물 링커 단위이고,

[화학식 III]



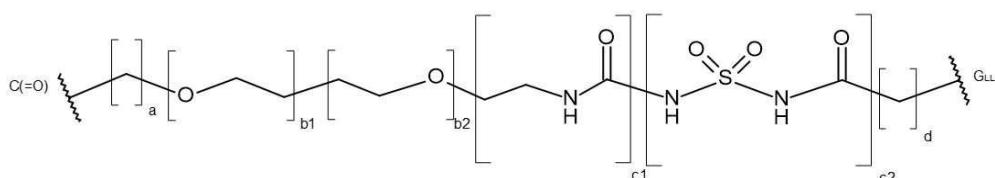
R^{LL} 은 하기 Ia' 및 Ib'로부터 선택되는, 상기 항체 또는 항체의 항원-결합 단편에 연결된 링커이고,

(Ia'):



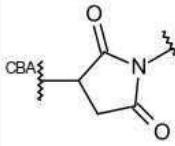
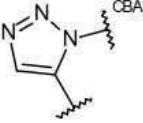
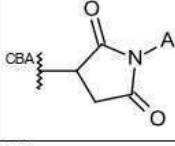
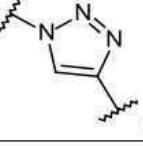
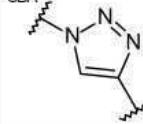
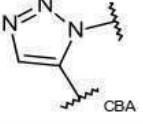
Q는 $NH-Val-Ala-C=O$, $NH-Gly-Gly-Phe-Gly-C=O$ 또는 $NH-\alpha Glu-Val-Ala-C=O$ 인 디펩티드 잔기, 트리펩티드 잔기, 또는 테트라펩티드 잔기이며, 여기서 $NH-$ 는 N-말단을 나타내고, $-C=O$ 는 잔기의 C-말단을 나타내고;

X는:



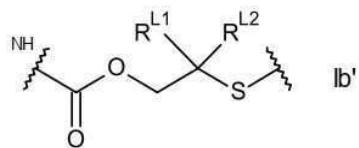
이고, 이때 $a = 0$ 내지 3이고, $b1 = 0$ 내지 8이고, $b2 = 0$ 내지 8이고, $c1 = 0$ 또는 1이고, $c2 = 0$ 이고, $d = 0$ 내지 3이고, 적어도 $b1$ 또는 $b2 = 0$ 이고;

G^{LL} 은 항체 또는 항체의 항원-결합 단편에 연결된 링커이며, 여기서 G^{LL} 은 하기로부터 선택되고:

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

여기서 Ar은 C_6 아릴렌기를 나타내고;

(Ib'):



여기서, R^{L1} 은 H이고 R^{L2} 는 메틸이고;

p는 1 내지 20의 정수임).

청구항 2

제1항에 있어서, G^{LL} 은 G^{LL1-1} 및 G^{LL1-2} 로부터 선택되는, 접합체.

청구항 3

제1항에 있어서, 항체(Ab)에 대한 약물(D)의 약물 로딩(p)은 1 내지 10의 정수인, 접합체.

청구항 4

제3항에 따른 접합체의 혼합물로서, 항체-약물 접합체의 혼합물에서 항체당 평균 약물 로딩이 1 내지 10인, 접합체의 혼합물.

청구항 5

제1항의 접합체 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체, 또는 부형제를 포함하는, 대상체에서의 암의 치료에 사용하기 위한 약학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 대상체에서의 폐암, 소세포 폐암, 위장암, 장암, 결장암, 유방 암종, 난소 암종, 전립선암, 고환암, 간암, 신장암, 방광암, 췌장암, 뇌암, 육종, 골육종, 카포시 육종, 흑색종, 혈액암, 백혈병 또는 림프종의 치료에 사용하기 위한 약학적 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

발명의 설명

기술 분야

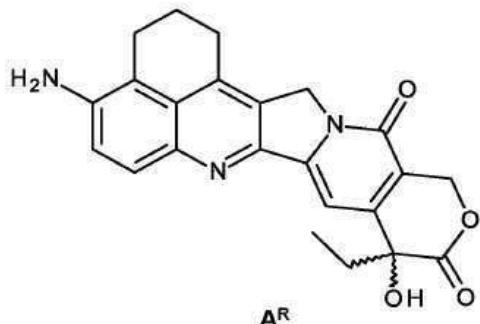
[0001] 본 발명은 특정 토포이소미라제 억제제를 포함하는 표적화된 접합체 및 이의 합성에 유용한 화합물, 및 방출되는 탄두에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 토포이소머라제 억제제

[0003] 토포이소머라제 억제제는 정상 세포 주기 동안 DNA 가닥의 포스포디에스테르 백본의 파단 및 재결합에 촉매작용을 함으로써 DNA 구조의 변화를 제어하는 효소인 토포이소머라제(토포이소머라제 I 및 II)의 작용을 차단하는 화학적 화합물이다.

[0004] 라세미 형태의 하기 화합물:

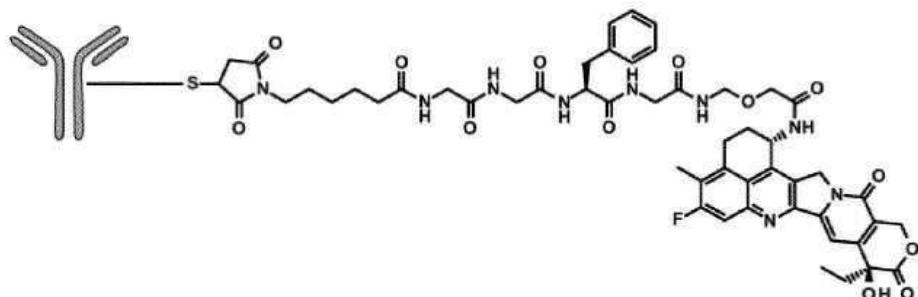


[0005]

[0006] 은 EP 0296597(실시예 63)에 개시되어 있다. 이는 또한 문헌[Sugimori, M., et al., *J Med Chem*, 1998, 41, 2308-2318 (DOI: 10.1021/jm970765q)]에 (라세미 형태의 화합물 34로서) 개시되어 있으며, 이의 생물학적 활성이 다수의 관련 화합물의 생물학적 활성과 함께 논의되어 있다.

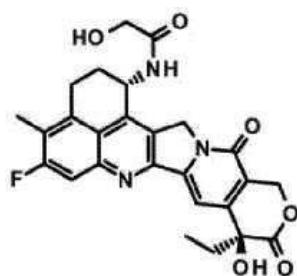
[0007]

이리노테칸 및 엑사테칸 유도체 및 독소루비신과 같은 다양한 토포이소머라제 억제제가 항체-약물 접합체에 포함되어 있다. 예를 들어, Daiichi Sankyo는 임상 시험에서 다음과 같은 DS-8201a를 보유하고 있으며,



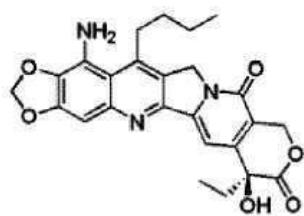
[0008]

[0009] 여기서, 항체는 Her2이다(Takegawa, N., et al., *Int J Cancer*, 2017, 141, 1682-1689 (DOI: 10.1002/ijc.30870)). 이러한 ADC는 다음과 같은 엑사테칸 유도체를 방출한다.



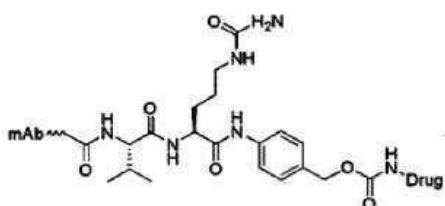
[0010]

[0011] 문헌[Burke, P.J., et al., *Bioconjugate Chem.*, 2009, 20, 1242-1250]에는 다음과 같은 접합체가 개시되어 있고,



[0012]

[0013] 상기 접합체는 아미노기를 통해 하기 구조와 연결되고,

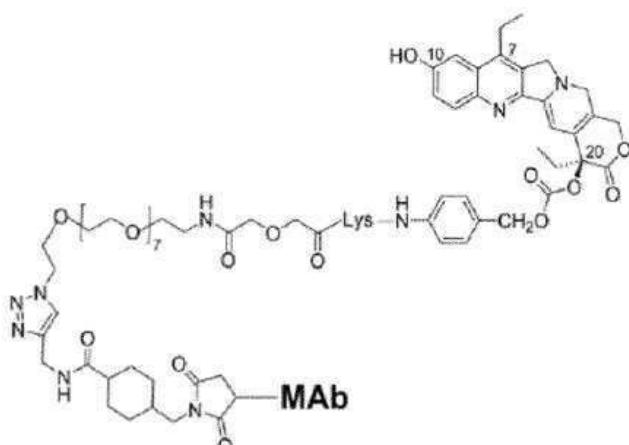


[0014]

[0015] 상기 구조는 PABC(파라-아미노벤질옥시카보닐) 기를 포함한다.

[0016]

Immunomedics는 임상 시험에서 다음과 같은 Sacituzumab Govitecan(IMMU-132)을 보유하고 있다(Cardillo, T.M., et al., *Bioconjugate Chem.*, 2015, 26(5), 919-931, DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00223).

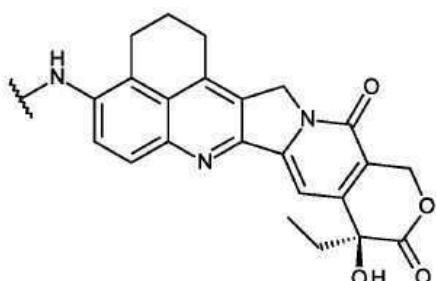


[0017]

발명의 내용

[0018]

일반적 양태에서, 본 발명은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커를 갖는, 하기 토포이소머라제 억제제 유도체 (A*, 약물 단위):

**A***

[0019]

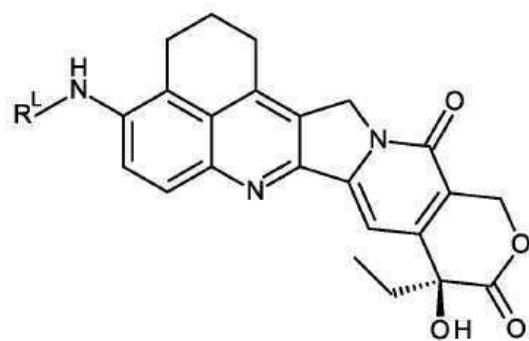
[0020] 를 포함하는 접합체로서, 링커는 절단 가능한 방식으로 아미노 잔기에 부착되는, 접합체를 제공한다. 리간드 단위는 바람직하게는 항체이다. 본 발명은 또한 연결 단위가 부착된 A*, 및 이들의 합성을 위한 중간체, 및 방출되는 탄두를 제공한다.

[0021]

본 발명의 제1 양태는 화학식 I의 화합물:

[0022]

[화학식 I]



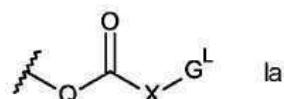
[0023]

[0024]

및 이의 염 및 용매화물을 포함하며, 상기 식에서, R^L 은 하기 ia 및 ib로부터 선택되는, 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고,

[0025]

(ia):

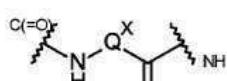


[0026]

여기서,

[0028]

Q는

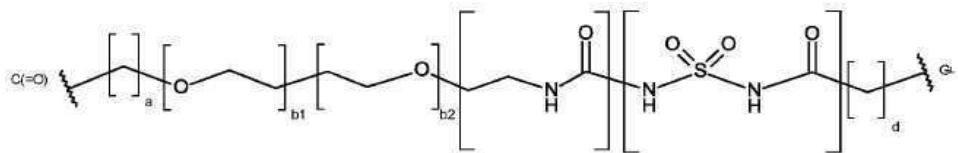


[0029]

이고, 이때 Q^X 는 Q가 아미노산 잔기, 디펩티드 잔기, 트리펩티드 잔기, 또는 테트라펩티드 잔기인 것이고;

[0030]

X는



[0031]

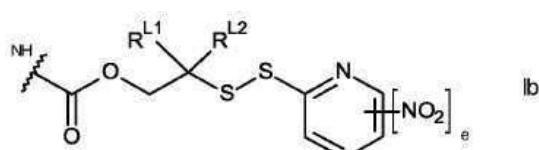
이고, $b_1 = 0$ 내지 16이고, $b_2 = 0$ 내지 16이고, $c_1 = 0$ 또는 1이고, $c_2 = 0$ 또는 1이고, $d = 0$ 내지 5이고, 적어도 b_1 또는 $b_2 = 0$ (즉, b_1 과 b_2 중 하나만 0이 아닐 수 있음)이고, 적어도 c_1 또는 $c_2 = 0$ (즉, c_1 과 c_2 중 하나만 0이 아닐 수 있음)이고;

[0032]

 G^L 은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고;

[0033]

(ib):



[0034]

여기서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 독립적으로 H 및 메틸로부터 선택되거나, 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌 또는 시클로부틸렌 기를 형성하고;

[0036]

e는 0 또는 1이다.

[0037]

본 발명의 제2 양태는 하기에 기재된 방법 단계 중 적어도 하나를 포함하는, 본 발명의 제1 양태의 화합물을 제

조하는 방법을 제공한다.

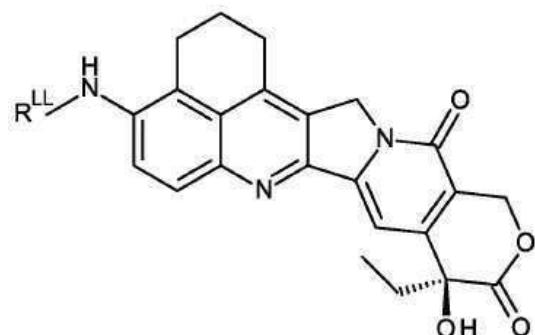
[0038] 제3 양태에서, 본 발명은 화학식 IV의 접합체:

[화학식 IV]

$L - (D^L)_p$

[0041] 또는 이의 표적화제으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공하며, 상기 식에서, L은 리간드 단위(즉, 표적화제)이고, D^L 은 화학식 III의 약물 링커 단위이고,

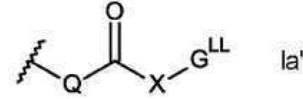
[화학식 III]



[0043]

[0044] R^{LL} 은 하기 ia' 및 ib'로부터 선택되는, 상기 리간드 단위에 연결된 링커이고,

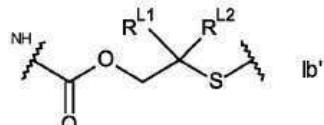
[0045] (ia'):



[0046]

[0047] 여기서, Q 및 X는 제1 양태에 정의된 바와 같고, G^{LL} 은 리간드 단위에 연결된 링커이고;

[0048] (ib'):



[0049]

[0050] 여기서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 제1 양태에 정의된 바와 같고;

[0051] p는 1 내지 20의 정수이다.

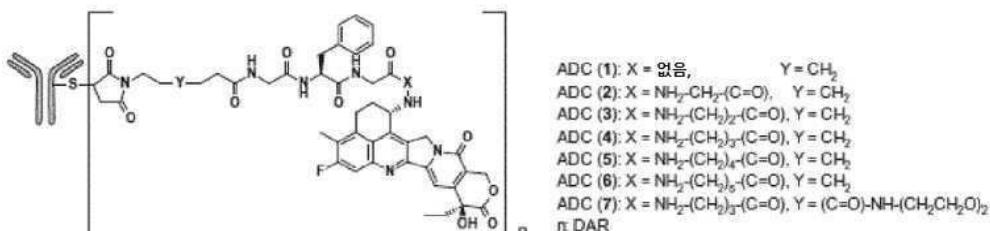
[0052] 따라서, 접합체는 링커 단위(즉, 하나 이상의 약물-링커 단위가 부착된 리간드 단위)에 의해 적어도 하나의 약물 단위(A*)에 공유 연결된 리간드 단위를 포함한다. 하기에 보다 완전하게 설명되는 리간드 단위는 표적 모이어티에 결합하는 표적화제이다. 리간드 단위는 예를 들어 세포 성분(세포 결합체) 또는 다른 기타 관심 표적 분자에 특이적으로 결합할 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 예를 들어 다양한 암 및 자가면역 질환의 치료 방법을 제공한다. 이러한 방법은 리간드 단위가 표적 분자에 특이적으로 결합하는 표적화제인 접합체의 사용을 포함한다. 리간드 단위는 예를 들어 단백질, 폴리펩티드, 또는 웨პ티드, 예컨대 항체, 항체의 항원-결합 단편, 또는 Fc 융합 단백질과 같은 기타 다른 결합체일 수 있다.

[0053] 약물 로딩은 리간드 단위(예를 들어, 항체)당 약물 단위 수인 p로 표시된다. 약물 로딩의 범위는 리간드 단위(예를 들어, Ab 또는 mAb)당 1 내지 20의 약물 단위(D)일 수 있다. 조성물의 경우, p는 조성물에서 접합체의 평균 약물 로딩을 나타내고, p의 범위는 1 내지 20이다.

[0054] 본 발명의 제4 양태는 증식성 질환을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 본 발명의 제3 양태의 접합체의 용도를 제공한다. 제4 양태는 또한 증식성 질환의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 제3 양태의 접합체를 제공한다.

[0055] 당업자는 후보 화합물이 임의의 특정 세포 유형에 대한 증식성 병태를 치료하는지 여부를 쉽게 판단할 수 있다. 예를 들어, 특정 화합물이 제공하는 활성을 평가하는 데 편리하게 사용할 수 있는 분석이 하기 예전 기술되어 있다.

[0056] 문헌[Nakada, et al., *Bioorg Med Chem Lett*, 26 (2016), 1542-1545 (DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.02.020)]은 하기 일련의 ADC에 대해 논하고 있으며,

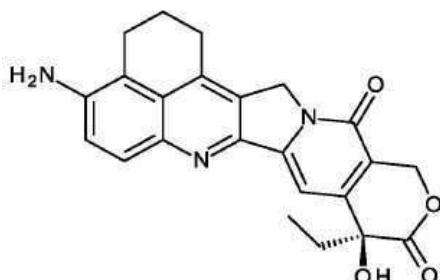


[0057]

[0058] ADC (1) 및 (2)의 감소된 세포독성이 종양 세포의 분해 효소에 의해 작용하는 부위에서 방출되는 약물 모이어티의 입체 장애 때문일 수 있다고 결론지었다. 이 문헌은 큰 부피로 방출되는 약물 모이어티와 웨티드 기에 간격을 두는 것의 중요성을 교시한다. 대조적으로, 본 발명에서, 웨티드 기는 큰 부피로 방출되는 약물 모이어티에 직접 연결된다.

[0059]

본 발명의 제5 양태는 단일 거울상이성체인 또는 거울상이성체 풍부 형태의 화합물 A이다:

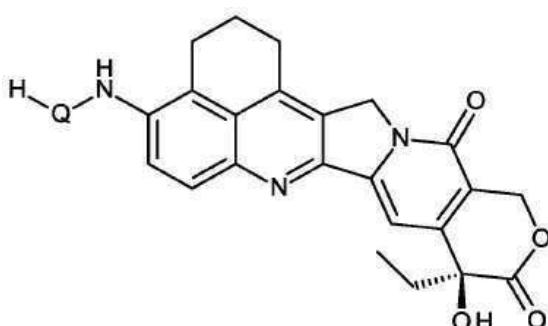


A

[0060]

[0061] 본 발명의 제6 양태는 화학식 VI의 화합물:

[0062] [화학식 VI]



[0063]

[0064]로서, Q는 제1 양태에 정의된 바와 같다.

도면의 간단한 설명

[0065] 도 1은 아래 범례에 따른 평균 종양 플롯을 나타낸다.

비히클	●
ConjA*	◆

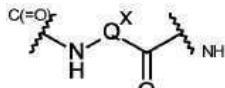
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

- [0066] **C₅₋₆ 아릴렌:** 본원에서 사용되는 용어 "C₅₋₆ 아릴렌"은 방향족 화합물의 방향족 고리 원자로부터 2개의 수소 원자를 제거하여 수득되는 2가 모이어티에 관한 것이다.
- [0067] 이러한 맥락에서, 접두사(예를 들어, C₅₋₆)는 탄소 원자이든 헤테로원자이든, 고리 원자의 수, 또는 고리 원자 수의 범위를 나타낸다.
- [0068] 고리 원자는 "카보아릴렌기"에서와 같이 모두 탄소 원자일 수 있고, 이 경우 기는 폐닐렌(C₆)이다.
- [0069] 대안적으로, 고리 원자는 "헤테로아릴렌기"에서와 같이, 하나 이상의 헤테로원자를 포함할 수 있다. 헤테로아릴렌기의 예는
- [0070] N₁: 피롤(아졸)(C₅), 피리딘(아진)(C₆);
- [0071] O₁: 퓨란(옥솔)(C₅);
- [0072] S₁: 티오펜(티올)(C₅);
- [0073] N₁O₁: 옥사졸(C₅), 이속사졸(C₅), 이속사진(C₆);
- [0074] N₂O₁: 옥사디아졸(퓨라잔)(C₅);
- [0075] N₃O₁: 옥사트리아졸(C₅);
- [0076] N₁S₁: 티아졸(C₅), 이소티아졸(C₅);
- [0077] N₂: 이미다졸 (1,3-디아졸)(C₅), 피라졸(1,2-디아졸)(C₅), 피리다진(1,2-디아진)(C₆), 피리미딘(1,3-디아진)(C₆)(예를 들어, 시토신, 티민, 우라실), 피라진(1,4-디아진)(C₆); 및
- [0078] N₃: 트리아졸(C₅), 트리아진(C₆)으로부터 유래된 것들을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0079] C₁₋₄ 알킬: 본원에서 사용되는 용어 "C₁₋₄ 알킬"은, 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 화합물의 탄소 원자로부터 수소 원자를 제거하여 수득되는 1가 모이어티에 관한 것으로, 지방족 또는 지환족일 수 있고, 포화 또는 불포화(예를 들어, 부분 불포화, 완전 불포화)일 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "C_{1-n} 알킬"은, 1 내지 n개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 화합물의 탄소 원자로부터 수소 원자를 제거하여 수득되는 1가 모이어티에 관한 것으로, 지방족 또는 지환족일 수 있고, 포화 또는 불포화(예를 들어, 부분 불포화, 완전 불포화)일 수 있다. 따라서, 용어 "알킬"은 이하에서 논의되는 하위 부류인 알케닐, 알키닐, 시클로알킬 등을 포함한다.
- [0080] 포화 알킬기의 예는 메틸(C₁), 에틸(C₂), 프로필(C₃), 및 부틸(C₄)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0081] 포화 선형 알킬기의 예는 메틸(C₁), 에틸(C₂), n-프로필(C₃), 및 n-부틸(C₄)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0082] 포화 분지형 알킬기의 예는 이소-프로필(C₃), 이소-부틸(C₄), sec-부틸(C₄), tert-부틸(C₄)을 포함한다.
- [0083] C₂₋₄ 알케닐: 본원에서 사용되는 용어 "C₂₋₄ 알케닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 알킬기에 관한 것이다.
- [0084] 불포화 알케닐기의 예는 에테닐(비닐, -CH=CH₂), 1-프로페닐(-CH=CH-CH₃), 2-프로페닐(알릴, -CH-CH=CH₂), 이소프로페닐(1-메틸비닐, -C(CH₃)=CH₂), 및 부테닐(C₄)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0085] C₂₋₄ 알키닐: 본원에서 사용되는 용어 "C₂₋₄ 알키닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 알킬기에 관한 것이다.
- [0086] 불포화 알키닐기의 예는 에티닐(-C≡CH) 및 2-프로페닐(프로파길, -CH₂-C≡CH)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0088] C_{3-4} 시클로알킬: 본원에서 사용되는 용어 "C₃₋₄ 시클로알킬"은 시클릴기이기도 한 알킬기에 관한 것으로; 즉, 시클릭 탄화수소 (카보시클릭) 화합물의 지환족 고리 원자로부터 수소 원자를 제거함으로서 수득되는 1가 모이어티이고, 모이어티는 3 내지 7개의 고리 원자를 포함하는 3 내지 7개의 탄소 원자를 갖는다.

[0089] 시클로알킬기의 예는 포화 모노시클릭 탄화수소 화합물(시클로프로판(C₃) 및 시클로부탄(C₄)); 및 불포화 모노시클릭 탄화수소 화합물(시클로프로펜(C₃) 및 시클로부텐(C₄))로부터 유래된 것들을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.



[0090] 연결 표시: 화학식에서, 위첨자 표시 $C^{(=0)}$ 및 NH 는 원자들이 결합되는 기를 나타낸다. 예를 들어, NH기는 (예시된 모이어티의 일부가 아닌) 카보닐에 결합되는 것으로 표시되고, 카보닐은 (예시된 모이어티의 일부가 아닌) NH기에 결합되는 것으로 표시된다.

[0091] 염

[0092] 활성 화합물의 상응하는 염, 예를 들어 약학적으로 허용 가능한 염을 제조, 정제, 및/또는 취급하는 것이 편리하거나 바람직할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 염의 예는 문헌[Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977)]에 논의되어 있다.

[0093] 예를 들어, 화합물이 음이온성이거나, 음이온성일 수 있는 작용기를 갖는 경우(예를 들어, -COOH는 $-COO^-$ 일 수 있음), 적합한 양이온을 사용하여 염이 형성될 수 있다. 적합한 무기 양이온의 예는 Na^+ 및 K^+ 와 같은 알칼리 금속 이온, Ca^{2+} 및 Mg^{2+} 와 같은 알칼리토류 양이온, 및 Al^{+3} 과 같은 기타 양이온을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 적합한 유기 양이온의 예는 암모늄 이온(즉, NH_4^+) 및 치환된 암모늄 이온(예를 들어, NH_3R^+ , $NH_2R_2^+$, NHR_3^+ , NR_4^+)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 적합한 치환된 암모늄 이온의 예는 에틸아민, 디에틸아민, 디시클로헥실아민, 트리에틸아민, 부틸아민, 에틸렌디아민, 에탄올아민, 디에탄올아민, 피페라진, 벤질아민, 페닐벤질아민, 콜린, 메글루민, 및 트로메타민 뿐만 아니라 아미노산, 예컨대 라이신 및 아르기닌으로부터 유래된 것들이다. 일반적인 4차 암모늄 이온의 예는 $N(CH_3)_4^+$ 이다.

[0094] 화합물이 양이온성이거나, 양이온성일 수 있는 작용기를 갖는 경우(예를 들어, $-NH_2$ 는 $-NH_3^+$ 일 수 있음), 적합한 음이온을 사용하여 염이 형성될 수 있다. 적합한 무기 음이온의 예는 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 황산, 아황산, 질산, 아질산, 인산, 및 아인산과 같은 무기산으로부터 유래된 것들을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0095] 적합한 유기 음이온의 예는 2-아세틸옥시벤조산, 아세트산, 아스코르브산, 아스파르트산, 벤조산, 캄포르설폰산, 신남산, 시트르산, 에데트산, 에탄디설폰산, 에탄설폰산, 푸마르산, 글루셉تون산, 글루탐산, 글리콜산, 하이드록시말레산, 하이드록시나프탈렌 카복실산, 이세티온산, 락트산, 락토비온산, 라우르산, 말레산, 말산, 메탄설폰산, 뮤신산, 올레산, 옥살산, 팔미트산, 팜산, 판토텐산, 페닐아세트산, 페닐설폰산, 프로피온산, 피루브산, 살리실산, 스테아르산, 숙신산, 설파닐산, 타르타르산, 틀루엔설폰산, 트리플루오로아세트산, 및 발레르산과 같은 유기산으로부터 유래된 것들을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 적합한 고분자 유기 음이온의 예는 탄닌산, 카복시메틸 셀룰로스와 같은 고분자 산으로부터 유래된 것들을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0096] 용매화물

[0097] 활성 화합물의 상응하는 용매화물을 제조, 정제, 및/또는 취급하는 것이 편리하거나 바람직할 수 있다. 용어 "용매화물"은 용질(예를 들어, 활성 화합물, 활성 화합물의 염)과 용매의 복합체를 지칭하는 통상적인 의미로 본원에서 사용된다. 용매가 물인 경우, 용매화물은 편의상 수화물, 예를 들어 일수화물, 이수화물, 삼수화물 등으로 지칭될 수 있다.

[0098] 이성체

- [0099] 본 발명의 특정 화합물은 시스- 및 트랜스-형태; E- 및 Z-형태; c-, t-, 및 r-형태; 엔도- 및 엑소-형태; R-, S-, 및 메소 형태; D- 및 L-형태; d- 및 l-형태; (+) 및 (-) 형태; 케토-, 에놀-, 및 에놀레이트-형태; syn- 및 anti-형태; 향사- 및 배사-형태; α - 및 β -형태; 축상 및 수평방향 형태; 보트-, 의자-, 꼬임-, 봉투-, 및 반의자-형태; 및 이들의 조합을 포함하는(이에 한정되지 않음) 하나 이상의 특정한 기하, 광학, 거울상이성체, 부분입체이성체, 에피머, 아트로프, 입체이성체, 호변이성체, 배좌, 또는 아노미 형태로 존재할 수 있고, 이하에서는 통칭하여 "이성체"(또는 "이성체 형태")로 지칭한다.

[0100] 용어 "키랄"은 거울상 파트너의 중첩할 수 없는 성질을 갖는 문자를 지칭하고, 반면, 용어 "아키랄"은 거울상 파트너에 중첩될 수 있는 문자를 지칭한다.

[0101] 용어 "입체이성체"는 동일한 화학적 구성을 갖지만, 공간 내의 원자 또는 기의 배열에 있어서 상이한 화합물을 지칭한다.

[0102] "부분입체이성체"는 2개 이상의 키랄 중심을 갖고 문자가 서로 거울상이 아닌 입체이성체를 지칭한다. 부분입체이성체는 융점, 비등점, 분광 특성, 및 반응성과 같은 물리적 성질이 다르다. 부분입체이성체의 혼합물은 고해상도 분석 절차, 예컨대 전기영동 및 크로마토그래피로 분리될 수 있다.

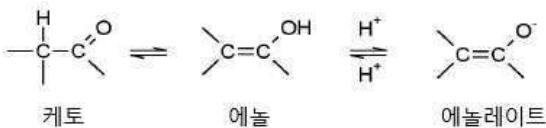
[0103] "거울상이성체"는 서로 중첩되지 않는 거울상인, 화합물의 2개의 입체이성체를 지칭한다.

[0104] 본원에서 사용된 입체화학적 정의 및 관례는 일반적으로 문헌[S. P. Parker, Ed., *McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 및 Eliel, E. and Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994]에 따른 것이다. 본 발명의 화합물은 비대칭 또는 키랄 중심을 포함할 수 있으므로, 서로 다른 입체이성체 형태로 존재한다. 본 발명의 화합물의 모든 입체이성체 형태(부분입체이성체, 거울상이성체, 및 회전장애이성체를 포함하나 이에 한정되지 않음) 뿐만 아니라, 라세미 혼합물과 같은 이들의 혼합물도 본 발명의 일부를 형성하는 것으로 의도된다. 많은 유기 화합물은 광학적으로 활성인 형태로 존재하는데, 즉 이들은 평면-편광의 평면을 회전시킬 수 있는 능력을 갖는다. 광학적으로 활성인 화합물을 설명함에 있어서, 이의 키랄 중심(들)에 대한 문자의 절대 배열을 나타내기 위해 접두사 D 및 L, 또는 R 및 S가 사용된다. 화합물에 의한 평면-편광 회전의 부호를 나타내기 위해 접두사 d 및 I 또는 (+) 및 (-)가 사용되며, (-) 또는 I는 화합물이 좌선성임을 의미한다. (+) 또는 d가 접두사로 붙은 화합물은 우선성이다. 제시된 화학 구조에 있어서, 이러한 입체이성체는 서로 거울상이라는 점을 제외하면 동일하다. 특정 입체이성체는 또한 거울상이성체로서 지칭될 수 있고, 이러한 이성체의 혼합물은 종종 거울상이성체 혼합물로 불린다. 거울상이성체의 50:50 혼합물은 화학 반응 또는 과정에서 입체선택성 또는 입체특이성이 없는 경우에 발생할 수 있는 라세미 혼합물 또는 라세미체로 지칭된다. 용어 "라세미 혼합물" 및 "라세미체"는 광학적 활성이 없는, 2개의 거울상이성체 종의 등몰 혼합물을 지칭한다.

[0105] "거울상이성체 풍부 형태"는 거울상이성체 비율이 50:50 초과 100:0 미만인 키랄 물질의 샘플을 지칭한다.

[0106] 본원에서 사용되는 바와 같이, 호변이성체 형태에 대해 이하에 논의되는 것을 제외하고는, 본원에서 사용되는 용어 "이성체"로부터 구체적으로 구조(또는 구성) 이성체(즉, 단지 공간내 원자의 위치가 아닌 원자간의 연결이 상이한 이성체)는 제외된다. 예를 들어, 메톡시기 $-OCH_3$ 에 대한 언급은 이의 구조 이성체인 하이드록시메틸기 $-CH_2OH$ 에 대한 언급으로 해석되어서는 안 된다. 마찬가지로, 오르토-클로로페닐에 대한 언급은 이의 구조 이성체인 메타-클로로페닐에 대한 언급으로 해석되어서는 안 된다. 그러나, 구조 부류를 언급할 경우, 해당 부류에 속하는 구조 이성체 형태를 적절히 포함할 수 있다(예를 들어, C_{1-7} 알킬은 n-프로필 및 이소-프로필을 포함하며; 부틸은 n-, 이소-, sec-, 및 tert-부틸을 포함하고; 메톡시페닐은 오르토-, 메타-, 및 파라-메톡시페닐을 포함한다).

[0107] 상기 제외는 예를 들어 케토/에놀(아래에 도시됨), 이민/엔아민, 아미드/이미노 알코올, 아미딘/엔디아민, 니트로소/옥심, 티오케톤/엔티올, N-니트로소/하이드록시아조, 및 니트로/아시-니트로와 같은 호변이성체 쌍에서와 같은 호변이성체 형태, 예를 들어 케토-, 에놀-, 및 에놀레이트-형태에 관한 것은 아니다.



- [0109] 용어 "호변이성체" 또는 "호변이성체 형태"는 낮은 에너지 장벽을 통해 상호전환될 수 있는 상이한 에너지를 갖

는 구조 이성체를 지칭한다. 예를 들어, 양성자 호변이성체(양성자 이전성 호변이성체로도 알려져 있음)는 양성자의 이동을 통한 상호전환, 예컨대 케토-에놀 및 이민-엔아민 이성체화를 포함한다. 원자가 호변이성체는 결합전자 중 일부 전자의 재편성에 의한 상호전환을 포함한다.

[0110] 용어 "이성체"에 하나 이상의 동위원소 치환을 갖는 화합물이 구체적으로 포함된다는 점에 주의한다. 예를 들어, H는 ¹H, ²H(D), 및 ³H(T)를 포함하는 임의의 동위원소 형태로 존재할 수 있고; C는 ¹²C, ¹³C, 및 ¹⁴C를 포함하는 임의의 동위원소 형태로 존재할 수 있으며; O는 ¹⁶O 및 ¹⁸O를 포함하는 임의의 동위원소 형태로 존재할 수 있다.

[0111] 본 발명의 화합물에 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 불소, 염소, 및 요오드의 동위원소, 예컨대 ²H(중수소, D), ³H(삼중수소), ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸F, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl, 및 ¹²⁵I를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 다양한 동위원소 표지 화합물은, 예를 들어, ³H, ¹³C, 및 ¹⁴C와 같은 방사성 동위원소가 혼입된 화합물이다. 이러한 동위원소 표지 화합물은 대사 연구, 반응 동역학 연구, 약물 또는 기질 조직 분포 분석을 포함하여 양전자 방출 단층촬영(PET) 또는 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영(SPECT)과 같은 검출 또는 이미징 기법, 또는 환자의 방사선 치료에 유용할 수 있다. 본 발명의 중수소 표지되거나 치환된 치료 화합물은 분포, 대사, 및 배설(ADME)과 관련하여, 개선된 DMPK(약물 대사 및 약동학) 특성을 가질 수 있다. 중수소와 같은 보다 무거운 동위원소에 의한 치환은 보다 큰 대사 안정성으로 얻어지는 특정 치료적 이점(예를 들어, 생체내 반감기 증가 또는 필요 투약량 감소)을 제공할 수 있다. ¹⁸F로 표지된 화합물은 PET 또는 SPECT 연구에 유용할 수 있다. 본 발명의 동위원소 표지 화합물 및 이의 프로드럭은 일반적으로 동위원소 비표지 시약을 용이하게 입수할 수 있는 동위원소 표지 시약으로 대체함으로써 하기 기술된 반응식 또는 실시예 및 제조에 개시된 절차를 수행하여 제조될 수 있다. 또한, 보다 무거운 동위원소, 특히 중수소(즉, ²H 또는 D)에 의한 치환은 보다 더 큰 대사 안정성으로 얻어지는 특정 치료적 이점, 예를 들어 생체내 반감기의 증가 또는 투약 요건의 감소 또는 치료지수의 개선을 제공할 수 있다. 이러한 맥락에서 중수소는 치환기로 간주되는 것으로 이해된다. 이러한 보다 무거운 동위원소, 구체적으로 중수소의 농도는 동위원소 농축 계수에 의해 정의될 수 있다. 본 발명의 화합물에서 특정 동위원소로 구체적으로 지정되지 않은 임의의 원자는 그 원자의 임의의 안정한 동위원소를 나타내는 것으로 의도된다.

[0112] 달리 명시되지 않는 한, 특정 화합물에 대한 언급은 (전체적으로 또는 부분적으로) 라세미 및 이의 다른 혼합물을 포함하는 상기 모든 이성체 형태를 포함한다. 상기 이성체 형태의 제조방법(예를 들어, 비대칭 합성) 및 분리방법(예를 들어, 분별 결정화 및 크로마토그래피 방식)은 당해 분야에 공지되어 있거나, 본원에 교시된 방법 또는 공지된 방법을 공지된 방식으로 적용함으로써 용이하게 수득된다.

리간드 단위

[0113] 리간드 단위는 임의의 종류의 것일 수 있고, 표적 분자에 특이적으로 결합하는 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 및 비펩티드 제제를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드 단위는 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드일 수 있다. 일부 구현예에서, 리간드 단위는 환형 폴리펩티드일 수 있다. 이를 리간드 단위는 적어도 하나의 표적 분자-결합 부위를 포함하는 항체 또는 항체 단편, 림포카인, 호르몬, 성장 인자, 또는 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 기타 세포 결합 분자 또는 물질을 포함할 수 있다.

[0114] 용어 "특이적으로 결합함" 및 "특이적 결합"은, 소정 분자(예를 들어, 항원)에 대한 항체 또는 다른 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드의 결합을 지칭한다. 전형적으로, 항체 또는 다른 분자는 적어도 약 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 의 친화도로 결합되고, 소정 분자 또는 밀접하게 관련된 분자 이외의 비특이적분자(예를 들어, BSA, 카세인)에 대한 결합 친화도보다 2배 이상 더 높은 친화도로 소정 분자에 결합한다.

[0115] 리간드 단위의 예는 본원에 포함된 WO 2007/085930에서 용도에 대해 기재된 제제를 포함한다.

[0116] 일부 구현예에서, 리간드 단위는 세포 상의 세포외 표적에 결합하는 세포 결합제이다. 이러한 세포 결합제는 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 비펩티드 제제일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 결합제는 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 결합제는 환형 폴리펩티드일 수 있다. 또한 세포 결합제는 항체 또는 항체의 항원 결합 단편일 수 있다. 따라서, 일 구현예에서, 본 발명은 항체-약물 접합체(ADC)를 제공한다.

세포 결합제

- [0119] 세포 결합체는 임의의 종류일 수 있고, 웨티드 및 비웨티드를 포함한다. 이들은 적어도 하나의 결합 부위를 포함하는 항체 또는 항체 단편, 림포카인, 호르몬, 호르몬 모사체, 비타민, 성장 인자, 영양소-운반 분자, 또는 임의의 기타 세포 결합 분자 또는 물질을 포함할 수 있다.
- [0120] 웨티드
- [0121] 일 구현예에서, 상기 세포 결합체는 4 내지 30개, 바람직하게는 6 내지 20개의 연속 아미노산 잔기를 포함하는 선형 또는 환형 웨티드이다.
- [0122] 일 구현예에서, 세포 결합체는 인테그린 $\alpha_v\beta_6$ 에 결합하는 웨티드를 포함한다. 웨티드는 XYS에 비해 $\alpha_v\beta_6$ 에 선택적일 수 있다.
- [0123] 일 구현예에서, 세포 결합체는 A20FMDV-Cys 폴리웨티드를 포함한다. A20FMDV-Cys는 서열 NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC를 갖는다. 대안적으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산 잔기가 다른 아미노산 잔기로 치환된 A20FMDV-Cys 서열의 변이체가 사용될 수 있다. 또한, 폴리웨티드는 서열 NAVXXXXXXXXXXXXXXRTC를 가질 수 있다.
- [0124] 항체
- [0125] 본원에서 용어 "항체"는 최광의 개념으로 사용되고, 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 구체적으로 단클론 항체, 다클론 항체, 이량체, 다량체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체), 다가 항체, 및 항체 단편을 포함한다(문헌[Miller et al (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861]). 항체는 뮤린, 인간, 인간화, 키메라, 또는 기타 다른 종으로부터 유래된 것일 수 있다. 항체는 특이적 항원에 대한 인식 및 결합이 가능한 면역계에 의해 생성된 단백질이다(문헌[Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York]). 표적 항원은 일반적으로, 다중 항체 상의 CDR에 의해 인식되는 다수의 결합 부위(에피토프라고도 칭함)를 갖는다. 상이한 에피토프와 특이적으로 결합하는 각 항체는 상이한 구조를 갖는다. 따라서, 하나의 항원은 하나보다 많은 대응 항체를 가질 수 있다. 항체는 전장의 면역글로불린 분자 또는 전장의 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 즉 관심 표적 항원 또는 이의 일부를 면역 특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 분자를 포함하고, 이러한 표적은 암세포 또는 자가면역 질환과 연관된 자가면역 항체를 생성하는 세포들을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 면역글로불린은 면역글로불린 분자의 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, 및 IgA), 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2), 또는 하위 부류일 수 있다. 면역글로불린은 인간, 뮤린, 또는 토끼 기원을 비롯한 임의의 종으로부터 유래될 수 있다.
- [0126] "항체 단편"은 전장 항체의 일부, 일반적으로 이의 항원 결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 scFv 단편; 디아바디; 선형 항체; Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편, 항-이디오타입(항-Id) 항체, CDR(상보성 결정 영역), 및 암 세포 항원, 바이러스성 항원 또는 미생물성 항원과 면역특이적으로 결합하는 상기의 임의의 것의 에피토프-결합성 단편, 단쇄 항체분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중 특이적 항체를 포함한다.
- [0127] 본원에서 사용되는 용어 "단클론 항체"는 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭한다(즉, 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생적 돌연변이를 제외하고는 집단을 구성하는 개별 항체가 동일함). 단클론 항체는 매우 특이적으로, 단일 항원 부위에 대해 유도된다. 또한, 상이한 결정기(에피토프)에 대해 유도된 상이한 항체를 포함하는 다클론 항체 조제물과는 대조적으로, 각각의 단클론 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 유도된다. 이의 특이성 외에도, 단클론 항체는 다른 항체에 의해 오염되지 않고 합성될 수 있다는 점에서 유리하다. 수식어 "단클론"은 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 수득된 것으로서의 항체의 특징을 나타내며, 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생성을 필요로 하는 것으로 해석되지는 않는다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 단클론 항체는 문헌[Kohler et al (1975) *Nature* 256:495]에서 최초로 기술된 하이브리도마 방법으로 제조될 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법(US 4816567 참조)으로 제조될 수 있다. 또한 단클론 항체는 문헌[Clackson et al (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks et al (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597]에 기재된 기술을 사용하여 과거 항체 라이브러리로부터 또는 완전 인간 면역글로불린 체계를 보유하는 유전자이식 마우스(문헌[Lonberg (2008) *Curr. Opinion* 20(4):450-459])로부터 단리할 수 있다.
- [0128] 본원에서 단클론 항체는 구체적으로 키메라 항체, 인간화 항체, 및 인간 항체를 포함한다.
- [0129] 세포 결합체의 예는 본원에 포함된 WO 2007/085930에서 용도에 대해 기재된 제제를 포함한다.

- [0130] 본 발명의 구현예에서 사용하기 위한 종양-연관 항원 및 동족 항체는 하기에 열거되어 있고, 본원에 포함된 WO 2017/186894의 14 내지 86페이지에 보다 상세하게 기재되어 있다.
- [0131] (1) BMPR1B(골 형태형성 단백질 수용체-IB형)
- [0132] (2) E16(LAT1, SLC7A5)
- [0133] (3) STEAP1(전립선의 6개의 막관통 상피 항원)
- [0134] (4) 0772P(CA125, MUC16)
- [0135] (5) MPF(MPF, MSLN, SMR, 거핵모구 강화 인자, 메소텔린)
- [0136] (6) Nap13b(NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, 용질 담체 패밀리 34(인산나트륨) 구성원 2, II형 나트륨의존적 인산염 수송체 3b)
- [0137] (7) 세마 5b(FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, 세마포린 5b Hlog, 세마 도메인, 7개의 트롬보스 폰딘 반복체(1형 및 1-유사형), 막관통 도메인(TM), 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린)5B)
- [0138] (8) PSCA hlg(2700050C12Rik, C530008016Rik, RIKEN cDNA 2700050C12, RIKEN cDNA 2700050C12 유전자)
- [0139] (9) ETBR(엔도텔린 B형 수용체)
- [0140] (10) MSG783(RNF124, 가상 단백질 FLJ20315)
- [0141] (11) STEAP2(HGNC_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, 전립선 암 관련 유전자 1, 전립선 암 관련 단백질 1, 전립선 2의 6개의 막관통 상피 항원, 6개의 막관통 전립선 단백질)
- [0142] (12) TrpM4(BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, 일시적 수용체 전위 양이온 5 채널, 서브패밀리 M, 구성원 4)
- [0143] (13) CRIPTO(CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, 기형암종-유래 성장 인자)
- [0144] (14) CD21(CR2 (보체 수용체 2) 또는 C3DR(C3d/Epstein Barr 바이러스 수용체) 또는 Hs.73792)
- [0145] (15) CD79b(CD79B, CD79β, IgB(면역글로불린 관련 베타), B29)
- [0146] (16) FcRH2(IFGP4, IRTA4, SPAP1A(SH2 도메인 함유 포스파타제 앵커 단백질 1a), SPAP1B, SPAP1C)
- [0147] (17) HER2(ErbB2)
- [0148] (18) NCA(CEACAM6)
- [0149] (19) MDP(DPEP1)
- [0150] (20) IL20R-알파(IL20Ra, ZCYTOR7)
- [0151] (21) 브레비칸(BCAN, BEHAB)
- [0152] (22) EphB2R(DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)
- [0153] (23) ASLG659(B7h)
- [0154] (24) PSCA(전립선 줄기 세포 항원 전구체)
- [0155] (25) GEDA
- [0156] (26) BAFF-R(B 세포-활성 인자 수용체, BLyS 수용체 3, BR3)
- [0157] (27) CD22(B-세포 수용체 CD22-B 이소형, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814)
- [0158] (27a) CD22(CD22 분자)
- [0159] (28) CD79a(CD79A, CD79알파), (면역글로불린-관련 알파, Ig 베타(CD79B)와 공유 상호작용하고, Ig M 분자와 표면에서 복합체를 형성하고, B-세포분화에 관여하는 신호를 전달하는 B 세포-특이적 단백질), pI: 4.84, MW: 25028 TM: 2 [P] 유전자 염색체: 19q13.2
- [0160] (29) CXCR5(버킷 림프종 수용체 1, CXCL13 캐모카인에 의해 활성화되고, 림프구 이동 및 체액성 방어 기능이 있고, HIV-2 감염 및 아마도 AIDS, 림프종, 골수종, 및 백혈병 발병에 작용하는 G 단백질-결합 수용체); 372 aa,

pI: 8.54 MW: 41959 TM: 7 [P] 유전자 염색체: 11q23.3

[0161] (30) HLA-DOB(펩티드에 결합하여 CD4+ T 림프구에 제공하는 MHC 클래스 II 분자(Ia 항원)의 베타 서브유닛); 273 aa, pI: 6.56, MW: 30820. TM: 1 [P] 유전자 염색체: 6p21.3

[0162] (31) P2X5(퓨린 수용체 P2X 리간드-개폐 이온 채널 5, 시냅스 전달 및 신경 발생에 관여할 수 있고, 결핍은 특발성 배뇨근 불안정성의 병태생리를 초래할 수 있는, 세포외 ATP에 의해 개폐되는 이온 채널); 422 aa, pI: 7.63, MW: 47206 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 17p13.3

[0163] (32) CD72(B-세포 분화 항원 CD72, Lyb-2); 359 aa, pI: 8.66, MW: 40225, TM: 15 [P] 유전자 염색체: 9p13.3

[0164] (33) LY64(림프구 항원 64(RP105), B-세포 활성 및 세포사멸을 조절하고, 기능의 손실은 전신 홍반성 루푸스 환자에서 질환 활성의 증가와 관련된, 류신 풍부 반복체(LRR) 패밀리의 I형 막 단백질); 661 aa, pI: 6.20, MW: 74147 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 5q12

[0165] (34) FcRH1(Fc 수용체-유사 단백질 1, B-림프구 분화에 작용할 수 있는, C2형 Ig-유사 및 ITAM 도메인을 포함하는 면역글로불린 Fc 도메인의 추정 수용체); 429 aa, pI: 5.28, MW: 46925 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 1q21-1q22

[0166] (35) IRTA 2(면역글로불린 슈퍼패밀리 수용체 전위 관련 2, B 세포 발달 및 림프종 형성에 작용 가능성이 있는 추정 면역수용체; 전위에 의한 유전자의 탈조절이 일부 B 세포 악성종양에서 발생함); 977 aa, pI: 6.88, MW: 106468, TM: 1 [P] 유전자 염색체: 1q21

[0167] (36) TENB2(TMEFF2, 토모레귤린, TPEF, HPP1, TR, 추정 막판통 프로테오글리칸, 성장 인자 및 폴리스타틴의 EGF/헤레귤린 패밀리 관련); 374 aa

[0168] (37) PSMA - FOLH1(엽산 가수분해효소(전립선 특이적 막 항원) 1)

[0169] (38) SST(소마토스타틴 수용체; 5가지 하위유형이 있음에 유의)

[0170] (38.1) SSTR2(소마토스타틴 수용체 2)

[0171] (38.2) SSTR5(소마토스타틴 수용체 5)

[0172] (38.3) SSTR1

[0173] (38.4) SSTR3

[0174] (38.5) SSTR4

[0175] AvB6 - 두 서브유닛(39+40)

[0176] (39) ITGAV(인테그린, 알파 V)

[0177] (40) ITGB6(인테그린, 베타 6)

[0178] (41) CEACAM5(암배아성 항원 관련 세포 부착 분자 5)

[0179] (42) MET(met 원종양 유전자; 간세포 성장 인자 수용체)

[0180] (43) MUC1(류신 1, 세포 표면 관련)

[0181] (44) CA9(탄산 탈수효소 IX)

[0182] (45) EGFRvIII(표피 성장 인자 수용체(EGFR), 전사 변이체 3)

[0183] (46) CD33(CD33 분자)

[0184] (47) CD19(CD19 분자)

[0185] (48) IL2RA(인터류킨 2 수용체, . 2 알파); NCBI 참조 서열: NM_000417;

[0186] (49) AXL(AXL 수용체 티로신 키나제)

[0187] (50) CD30 - TNFRSF8(종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 8)

[0188] (51) BCMA(B-세포 성숙 항원) - TNFRSF17(종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 17)

- [0189] (52) CT Ags - CTA(암 고환 항원)
- [0190] (53) CD174(루이스 Y) - FUT3(푸코실트랜스퍼라제 3(갈락토시드 3(4)-L-푸코실트랜스퍼라제, 루이스 혈액형)
- [0191] (54) CLEC14A(C형 렉틴 도메인 패밀리 14, 구성원 A; Genbank 수탁 번호: NM175060)
- [0192] (55) GRP78 - HSPA5(열 충격 70 kDa 단백질 5(글루코스 조절 단백질, 78 kDa)
- [0193] (56) CD70(CD70 분자) L08096
- [0194] (57) 줄기 세포 특이적 항원. 예를 들어:
 * 5T4(하기 엔트리 (63) 참조)
- [0195] * CD25(상기 엔트리 (48) 참조)
- [0196] * CD32
- [0197] * LGR5/GPR49
- [0198] * 프로미닌/CD133
- [0200] (58) ASG-5
- [0201] (59) ENPP3(액토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 3)
- [0202] (60) PRR4(프롤린 풍부 4(눈물샘))
- [0203] (61) GCC - GUCY2C(구아닐레이트 시클라제 2C(열 안정성 장독소 수용체)
- [0204] (62) Liv-1 - SLC39A6(용질 담체 패밀리 39(아연 수송체), 구성원 6)
- [0205] (63) 5T4, 영양막 당단백질, TPBG - TPBG(영양막 당단백질)
- [0206] (64) CD56 - NCMA1(신경 세포 부착 분자 1)
- [0207] (65) CanAg(종양 관련 항원 CA242)
- [0208] (66) FOLR1(엽산 수용체 1)
- [0209] (67) GPNMB(당단백질(막관통) nmb)
- [0210] (68) TIM-1 - HAVCR1(A형 간염 바이러스 세포 수용체 1)
- [0211] (69) RG-1/전립선 종양 표적 민딘(Mindin) - 민딘/RG-1
- [0212] (70) B7-H4 - VTCN1(V-세트 도메인 함유 T 세포 활성화 억제제 1)
- [0213] (71) PTK7(PTK7 단백질 티로신 키나제 7)
- [0214] (72) CD37(CD37 분자)
- [0215] (73) CD138 - SDC1(신데칸 1)
- [0216] (74) CD74(CD74 분자, 주요 조직적합성 복합체, 클래스 II 불변 사슬)
- [0217] (75) 클라우딘 - CL(클라우딘)
- [0218] (76) EGFR(표피 성장 인자 수용체)
- [0219] (77) Her3(ErbB3) - ERBB3(v-erb-b2 적혈구 백혈병 바이러스 종양 유전자 상동체 3(조류))
- [0220] (78) RON - MST1R(대식세포 자극 1 수용체(c-met 관련 티로신 키나제))
- [0221] (79) EPHA2(EPH 수용체 A2)
- [0222] (80) CD20 - MS4A1(막관통 4-도메인, 서브패밀리 A, 구성원 1)

- [0223] (81) 테나신 C - TNC(테나신 C)
- [0224] (82) FAP(섬유아세포 활성화 단백질, 알파)
- [0225] (83) DKK-1(딕코프 1 상동체(제노푸스 래비스))
- [0226] (84) CD52(CD52 분자)
- [0227] (85) CS1 - SLAMF7(SLAM 패밀리 구성원 7)
- [0228] (86) 엔도글린 - ENG(엔도글린)
- [0229] (87) 아넥신 A1 - ANXA1(아넥신 A1)
- [0230] (88) V-CAM(CD106) - VCAM1(혈관 세포 부착 분자 1)
- [0231] 추가 종양 관련 항원 및 관심 동족 항체는 다음과 같다:
- [0232] (89) ASCT2(ASC 수송체 2, SLC1A5로도 알려짐).
- [0233] ASCT2 항체는 본원에 참고로 포함되는 WO 2018/089393에 기재되어 있다.
- [0234] 세포 결합체는 예를 들어 접합체로서 또는 접합체의 일부로서 혼입되기 전에 제제의 검출 또는 정체를 돋기 위해 표지될 수 있다. 표지는 비오틴 표지일 수 있다. 다른 구현예에서, 세포 결합체는 방사성 동위원소로 표지될 수 있다.
- [0235] 치료 방법
- [0236] 본 발명의 접합체는 요법의 방법에서 사용될 수 있다. 또한, 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 화학식 IV의 접합체를 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법이 제공된다 용어 "치료적 유효량"은, 환자에게 유익을 나타내기에 충분한 양이다. 이러한 유익은 하나 이상의 증상에 대한 적어도 완화일 수 있다. 실제 투여량, 투여 속도, 및 시간-과정은 치료 대상의 성질 및 중증도에 따라 다를 것이다. 치료의 처방, 예를 들어, 투여량에 대한 결정은 일반 의사 및 다른 의사의 책임하에 있다.
- [0237] 접합체는 치료될 질병에 따라 단독으로 또는 다른 치료와 병행하여 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 치료 및 요법의 예는 화학요법(예를 들어, 약물을 포함한 활성제의 투여); 수술; 및 방사선 요법을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0238] 본 발명에 따른, 그리고 본 발명에 따라 사용하기 위한 약학적 조성물은 활성 성분, 즉 화학식 IV의 접합체 이외에, 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 완충제, 안정화제, 또는 당업자에게 알려진 다른 물질을 포함할 수 있다. 이러한 물질은 무독성이어야 하고, 활성 성분의 효능을 방해하지 않아야 한다. 담체 또는 다른 물질의 정확한 성질은 경구 또는 주사, 예를 들어 피부, 피하 또는 정맥내 주사일 수 있는 투여의 경로에 따라 달라질 것이다.
- [0239] 경구 투여용 약학적 조성물은 정제, 캡슐, 분말, 또는 액체 형태일 수 있다. 정제는 고체 담체 또는 보조제를 포함할 수 있다. 액상 약학적 조성물은 일반적으로 액상 담체 예컨대 물, 석유, 동물성 또는 식물성 오일, 광유, 또는 합성 오일을 포함한다. 생리 식염수, 텍스트로스, 또는 다른 당류 용액, 또는 글리콜 예컨대 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 또는 폴리에틸렌 글리콜이 포함될 수 있다. 캡슐은 젤라틴과 같은 고체 담체를 포함할 수 있다.
- [0240] 정맥내, 피부, 또는 피하 주사, 또는 환부 주사의 경우에, 활성 성분은 무발열원이고, 적합한 pH, 등장성, 및 안정성을 갖는 비경구적으로 허용 가능한 수용액의 형태일 것이다. 당업자는 예를 들어, 염화나트륨 주사액, 링거 주사액, 락테이트 첨가 링거 주사액와 같은 등장성 비히클을 사용하여 적합한 용액을 적절하게 제조할 수 있다. 보존제, 안정화제, 완충제, 산화방지제, 및/또는 다른 첨가제는 필요에 따라 포함될 수 있다.
- [0241] 본 접합체는 증식성 질환 및 자가면역 질환을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 용어 "증식성 질환"은 시험관내 또는 생체내 어느 곳에서든 신생물 또는 과형성 성장과 같은 바람직하지 않은 과도하거나 비정상적인 세포의 원치 않는 또는 제어되지 않는 세포 증식에 관한 것이다.
- [0242] 증식성 병태의 예는 신생물 및 종양(예를 들어, 조직구종, 신경아교종, 성상세포종, 골종), 암(예를 들어, 폐암, 소세포 폐암, 위장암, 장암, 결장암, 유방 암종, 난소 암종, 전립선암, 고환암, 간암, 신장암, 방광암, 췌장암, 뇌암, 육종, 골육종, 카포시 육종, 흑색종), 백혈병, 건선, 골 질환, (예를 들어, 결합 조직의)섬유증

식성 장애, 및 아테롬성 동맥 경화증을 포함하는(이에 제한되지 않음) 양성, 전악성, 및 악성 세포 증식을 포함한다. 관심 대상의 다른 암은 혈액암; 악성종양 예컨대 백혈병 및 림프종, 예컨대 비호지킨 림프종, 및 하위유형 예컨대 DLBCL, 변연부, 외투세포, 및 여포성, 호지킨 림프종, AML, 및 B 또는 T 세포 기원의 다른 암을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 폐, 위장(예를 들어, 장, 결장을 포함), 유방(유방 관련), 난소, 전립선, 간(간 관련), 신장(신장 관련), 방광, 췌장, 뇌, 및 피부를 포함하나 이에 한정되지 않는 모든 유형의 세포가 치료될 수 있다.

[0243]

자가면역 질환의 예는 류마티스 관절염, 자가면역 탈수초성 질환(예를 들어, 다발성 경화증, 알레르기성 뇌척수염), 건선성 관절염, 내분비 안병증, 포도막막염, 전신 홍반성 루푸스, 중증 근무력증, 그레이브스병, 사구체신염, 자가면역 간장 장애, 염증성 장 질환(예를 들어, 크론병), 아나필락시스, 알레르기성 반응, 쇼그렌 증후군, 제 I형 당뇨병, 원발성 담즙성 간경변증, 베게너 육아종증, 섬유근육통, 다발성근염, 피부근염, 다발성 내분비 부전, 슈미트 증후군, 자가면역 포도막염, 애디슨병, 부신염, 갑상선염, 하시모토 갑상선염, 자가 면역 갑상선 질환, 악성 빈혈, 위 위축증, 만성 간염, 루푸스 간염, 아테롬성 동맥 경화증, 아급성 피부 홍반성 루푸스, 부갑상선기능저하증, 드레슬러 증후군, 자가면역 혈소판감소증, 특발성 혈소판감소성 자반증, 용혈성 빈혈, 심상성 천포장, 천포장, 포진성 피부염, 원형 탈모증, 유사천포장, 경피증, 진행성 전신 경화증, CREST 증후군(석회증, 레이노 증후군, 식도 운동 장애, 수지경화증, 및 모세혈관화장증), 남성 및 여성 자가면역 불임, 강직성 척추염, 궤양성 대장염, 혼합 결합 조직 질환, 결절 다발 동맥염, 전신 괴사성 혈관염, 아토피성 피부염, 아토피성 비염, 굿파스튜어 증후군, 샤파스 질환, 유육종증, 류마티스성 열, 천식, 습관성 유산, 항-인지질 증후군, 농부폐병, 다형 홍반, 심장결개수술후 증후군, 쿠싱 증후군, 자가면역 만성 활동성 간염, 새-사육가 폐병, 독성 표피 괴사, 알포트 증후군, 폐포염, 알레르기성 폐포염, 섬유성 폐포염, 간질성 폐 질환, 결절 홍반, 괴저성 동피증, 수혈 부작용, 다카야수 동맥염, 다발성 근육통, 측두 동맥염, 주혈흡증증, 거대세포 동맥염, 회충증, 아스페르길루스증, 샘프터 증후군, 습진, 림프종양 육아종증, 베체트병, 카풀란 증후군, 가와사키병, 맹기열, 뇌척수염, 심내막염, 심내막심근 섬유증, 내안구염, 장기 용기성 홍반, 건선, 태아적모구증, 호산구성 근막염, 슬만 증후군, 펠티 증후군, 사상충증, 섬모체염, 만성 섬모체염, 홍채이색 섬모체염, 푸스 섬모체염, IgA 신장병, 헨노흐-손라인 자반증, 이식편 대숙주병, 이식 거부, 심근증, 이튼-람베르트 증후군, 재발성 다발연골염, 한랭글로불린혈증, 밸렌스트롬 마크로글로불린혈증, 이반 증후군, 및 자가면역 생식샘 부전을 포함한다.

[0244]

일부 구현예에서, 자가면역 질환은 B 림프구 장애(예를 들어, 전신 홍반성 루푸스, 굿파스튜어 증후군, 류마티스 관절염, 및 제 I형 당뇨병), Th1-림프구(예를 들어, 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 건선, 쇼그伦 증후군, 하시모토 갑상선염, 그레이브스병, 원발성 담즙성 간경변증, 베게너 육아종증, 결핵, 또는 이식편 대 숙주병), 또는 Th2-림프구(예를 들어, 아토피성 피부염, 전신 홍반성 루푸스, 아토피성 천식, 비결막염, 알레르기성 비염, 오멘 증후군, 전신성 경화증, 또는 만성 이식편 대 숙주병)이다. 일반적으로, 수지상 세포 관련 장애는 Th1-림프구 또는 Th2-림프구의 장애와 관련된다. 일부 구현예에서, 자가면역 장애는 T 세포-매개 면역학적 장애이다.

[0245]

"화학요법제"는 작용 메커니즘과 관계없이, 암 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학요법제의 종류는 일킬화제, 항대사물질, 방추 독식물 알칼로이드, 세포 독성/항종양 항생제, 토포이소머라제 억제제, 항체, 감광제, 및 키나제 억제제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 화학요법제에는 "표적 치료" 및 통상적인 화학요법에 사용되는 화합물이 포함된다.

[0246]

화학요법제의 예는 에를로티닙(TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), 도세탁셀(TAXOTERE®, Sanofi-Aventis), 5-FU(플루오로우라실, 5-플루오로우라실, CAS No. 51-21-8), 겹시타빈(GEMZAR®, Lilly), PD-0325901(CAS No. 391210-10-9, Pfizer), 시스플라틴(시스-디아민, 디클로로플레티늄(II), CAS No. 15663-27-1), 카보플라틴(CAS No. 41575-94-4), 파클리탁셀(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), 트라스투주맙(HERCEPTIN®, Genentech), 테모졸로미드(4-메틸-5-옥소-2,3,4,6,8-펜타아자비시클로[4.3.0]노나-2,7,9-트리엔-9-카복사미드, CAS No. 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough), 타목시펜((Z)-2-[4-(1,2-디페닐부트-1-에닐)페녹시]-N,N-디메틸에탄아민, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®), 및 독소루비신(ADRIAMYCIN®), Akt i-1/2, HPPD, 및 라파마이신을 포함한다.

[0247]

화학요법제의 또 다른 예는 옥살리플라틴(ELOXATIN®, Sanofi), 보르테조닙(VELCADE®, Millennium Pharm.), 수텐트(SINITINIB®, SU11248, Pfizer), 레트로졸(FEMARA®, Novartis), 이마티닙 메실레이트(GLEEVEC®, Novartis), XL-518(Mek 억제제, Exelixis, WO 2007/044515), ARRY-886(Mek 억제제, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126(PI3K 억제제, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235(PI3K 억제제,

Novartis), XL-147(PI3K 억제제, Exelixis), PTK787/ZK 222584(Novartis), 폴베스트란트(FASLODEX®, AstraZeneca), 류코보린(풀린산), 라파마이신(시辱리무스, RAPAMUNE®, Wyeth), 라파티닙(TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), 로나파닙(SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), 소라페닙(NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), 게피티닙(IRESSA®, AstraZeneca), 이리노테칸(CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), 티피파닙(ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), ABRAXANE™(무-크레모퍼), 파클리탁셀의 일부민-조작된 나노입자 제형(American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, IL), 반데타닙(rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), 클로람부실, AG1478, AG1571(SU 5271; Sugen), 템시辱리무스(TORISEL®, Wyeth), 파조파닙(GlaxoSmithKline), 칸포스파미드(TELCYTA®, Telik), 티오텐파 및 시클로스포스파미드(CYTOXAN®, NEOSAR®); 알킬 살포네이트, 예컨대 부설판, 임프로설판 및 피포설판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카보쿠논, 메투레도파, 및 우레도파; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드, 및 트리메틸로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸아멜라민; 아세토제닌(특히 불라타신 및 불라타시논); 캄토테신(합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(이의 아도젤레신, 카르겔레신, 및 비겔레신 합성 유사체들 포함); 크립토파이신(특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신(합성 유사체, KW2189 및 CB1-TM1 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사코디틴; 스폰기스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 클로로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 하이드로클로라이드; 멜팔란, 노벰비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 무스타드; 니트로소우레아, 예컨대 카무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라님누스틴; 항생제, 예컨대 에네디인 항생제(예를 들어, 칼리케아미신, 칼리케아미신 감마II, 칼리케아미신 오메가1(문헌[*Angew Chem. Int'l. Ed. Engl.* (1994) 33:183-186])); 다이네미신, 다이네미신 A; 비스포스포네이트, 예컨대 클로드로네이트; 에스페라미신; 뿐만 아니라 네오카지노스테틴 크로모포어 및 관련 크로모단백질 에네디인 항생제 크로모포어), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캄티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카지노필린, 크로모마이시니스, 닉티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노를류신, 모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 테옥시독소루비신, 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 네모루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신스, 예컨대 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신스, 폐플로마이신, 포르파로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 대사길항물질, 예컨대 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU); 엽산 유사체, 예컨대 데놉테린, 메토트렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토퓨린, 티아미프린, 티오구아니딘; 페리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모파, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항부신제, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 엽산 보충제, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레불린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비스안트렌; 에다트락세이트; 디포파민; 테메콜신; 디아지쿠온; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산 갈륨; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아준; 미톡산트론; 모피단몰; 니트라에린; 웨토스타틴; 페나메트; 페라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸하이드라지드; 프로카바진; PSK® 폴리사카라이드 복합체(JHS Natural Products, Eugene, OR); 라죽산; 리죽신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아진산; 트리아지퀴논; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센(특히 T-2 독소, 베라쿠린A, 로리딘 A, 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신; 다카바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 페포브로만; 가시토신; 아라비노시드("Ara-C"); 시클로포스파미드; 티오텐파; 6-티오구아닌; 메르캅토퓨린; 메토트렉세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카보플라틴; 빈블라스틴; 에토포시드(VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빙크리스틴; 비노렐빈(NAVELBINE®); 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 카페시타빈(XELODA®, Roche); 이반드로네이트; CPT-11; 토포아이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴(DMFO); 레티노이드, 예컨대 레티노산; 및 이들 중 어느 하나의 약학적으로 허용 가능한 염, 산, 및 유도체를 포함한다.

[0248] 또한, "화학요법제"의 정의에는 (i) 종양에 대한 호르몬 작용을 조절하거나 억제하는 작용을 하는 항 호르몬제, 예컨대 항-에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제(SERMs), 예를 들어, 타목시펜(NOLVADEX®; 타목시펜 시트레이트 포함), 랄록시펜, 드롤록시펜, 4-하이드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤, 및 FARESTON®(토레미핀 시트레이트); (ii) 부신의 에스트로겐 생성을 조절하는 효소 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예컨대 예를 들어, 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, MEGASE®(메게스트롤 아세테이트), AROMASIN®(액세메스탄, Pfizer), 포르메스타니, 파드로졸, RIVISOR®(보로졸), FEMARA®(레트로졸,

Novartis), 및 ARIMIDEX®(아나스트로졸; AstraZeneca); (iii) 항-안드로겐, 예컨대 플루타미드, 널루타미드, 비칼루타미드, 류프롤리드, 및 고세렐린; 뿐만 아니라 트록사시타빈(1,3-디옥솔란 뉴클레오시드 시토신 유사체); (iv) 단백질 키나제 억제제, 예컨대 MEK 억제제(WO 2007/044515); (v) 지질 키나제 억제제; (vi) 안티센스 올리고뉴클레오티드, 특히 이상세포증식에 관여하는 신호전달 경로에서 유전자 발현을 억제하는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 예를 들어, PKC- α , Raf 및 H-Ras, 예컨대 오블리머센(GENASENSE®, Genta Inc.); (vii) 리보자임, 예컨대 VEGF 발현 억제제(예를 들어, ANGIOZYME®) 및 HER2 발현 억제제; (viii) 백신, 예컨대 유전자 치료 백신, 예를 들어 ALLOVECTIN®, LEUVECTIN®, 및 VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; 토포이소머라제 1 억제제들, 예컨대 LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) 항 혈관신생제, 예컨대 베바시주맙(AVASTIN®, Genentech); 및 이들 중 어느 하나의 약학적으로 허용 가능한 염, 산, 및 유도체가 포함된다.

[0249] 또한 "화학요법제"의 정의에는 치료용 항체들, 예컨대 알렘투주맙(Campath), 베바시주맙(AVASTIN®, Genentech); 세툭시맙(ERBITUX®, Imclone); 파니투무맙(VECTIBIX®, Amgen), 리툭시맙(RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), 오파투무맙(ARZERRA®, GSK), 페투주맙(PERJETA™, OMNITARG™, 2C4, Genentech), 트라스투주맙(HERCEPTIN®, Genentech), 토시투모맙(Bexxar, Corixia), 및 항체-약물 접합체, 켐투주맙 오조가미신(MYLOTARG®, Wyeth)이 포함된다.

[0250] 본 발명의 접합체와 조합하여 화학요법제로서의 치료적 잠재력을 지닌 인간화 단클론 항체로는 알렘투주맙, 아폴리주맙, 아셀리주맙, 아틀리주맙, 바피네우주맙, 베바시주맙, 비바투주맙 메르탄신, 칸투주맙 메르탄신, 세델리주맙, 세르톨리주맙 폐골, 시드푸시투주맙, 시드투주맙, 다클리주맙, 다클리주맙, 에콜리주맙, 에팔리주맙, 에프라투주맙, 에를리주맙, 펠비주맙, 폰톨리주맙, 켐투주맙 오조가미신, 이노투주맙 오조가미신, 이필리무맙, 라베투주맙, 린투주맙, 마투주맙, 메풀리주맙, 모타비주맙, 모토비주맙, 나탈리주맙, 니모투주맙, 놀로비주맙, 누마비주맙, 오크렐리주맙, 오말리주맙, 팔비주맙, 파스콜리주맙, 펙푸시투주맙, 펙투주맙, 페투주맙, 펙셀리주맙, 랄리비주맙, 라니비주맙, 레슬리비주맙, 레슬리주맙, 레시비주맙, 로벨리주맙, 루플리주맙, 시브로투주맙, 시플리주맙, 손투주맙, 타카투주맙 테트락세탄, 타도시주맙, 텔리주맙, 테피바주맙, 토실리주맙, 토랄리주맙, 트라스투주맙, 투코투주맙 셀모류킨, 투쿠시투주맙, 우마비주맙, 우르톡사주맙, 및 비실리주맙이 포함된다.

제형

[0251] 접합체를 단독으로 사용(예를 들어, 투여)하는 것이 가능하지만, 조성물 또는 제형으로 제시하는 것이 종종 바람직하다.

[0253] 일 구현예에서, 조성물은 본원에 기술된 바와 같은 접합체 및 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물(예를 들어, 제형, 조제물, 의약)이다.

[0254] 일 구현예에서, 조성물은 본원에 기술된 바와 같은 하나 이상의 접합체를 다른 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 부형제, 보조제, 충전제, 완충제, 보존제, 항산화제, 유통제, 안정화제, 용해제, 계면활성제(예를 들어, 습윤제), 차폐제, 착색제, 풍미제, 및 감미제를 포함하나, 이에 한정되지 않는, 당업자에게 잘 알려진 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 성분들과 함께 포함하는 약학적 조성물이다.

[0255] 일 구현예에서, 조성물은 다른 활성제, 예를 들어 다른 치료제 또는 예방제를 추가로 포함한다.

[0256] 적합한 담체, 희석제, 부형제 등은 표준 의약품 텍스트에서 찾아볼 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Handbook of Pharmaceutical Additives](#), 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), [Remington's Pharmaceutical Sciences](#), 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; 및 [Handbook of Pharmaceutical Excipients](#), 2nd edition, 1994]를 참조한다.

[0257] 본 발명의 다른 양태는 본원에 정의된 바와 같은 적어도 하나의 ^{11}C -방사성 표지된 접합체 또는 접합체-유사화합물을 당업자에게 널리 공지된 하나 이상의 다른 약학적으로 허용 가능한 성분(예를 들어, 담체, 희석제, 부형제 등)과 혼합하는 단계를 포함하는 약학적 조성물의 제조 방법에 관한 것이다. 개별 단위(예를 들어, 정제 등)로 제형화되는 경우, 각 단위는 활성 화합물의 소정량(투약량)을 함유한다.

[0258] 본원에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용 가능한"은, 타당한 의학적 판단의 범위 내에서, 합리적인 이득/위험비에 상응하여, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이, 당해 대상체(예를 들어, 인간)의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 화합물, 성분, 물질, 조성물, 투여 형태 등에 관한 것이다. 각각의 담체, 희석제, 부형제 등은 또한 제형의 다른 성분과 양립할 수 있다는 의미에서 "허용 가능"해야 한다.

[0259] 제형은 약학 분야에 잘 알려진 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 이러한 방법은 활성 화합물을 하나 이상의

보조 성분을 구성하는 담체와 회합시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 제형은 활성 화합물을 담체(예를 들어, 액체 담체, 미세하게 분해된 고체 담체 등)와 균일하고 긴밀하게 회합시킨 다음, 필요한 경우 생성물을 성형하여 제조된다.

[0260] 제형은 급방출 또는 서방출; 즉시, 지연, 정기적(timed), 또는 지속 방출; 또는 이들의 조합으로 제공되도록 제조될 수 있다.

[0261] 비경구 투여(예를 들어, 주사에 의함)용으로 적합한 제형은 활성 성분이 용해되거나, 현탁되거나, 또는 다른식으로 제공된(예를 들어, 리포솜 또는 다른 미립자 내에) 수성 또는 비수성이며, 등장성이고, 무-발열성 물질인 멀균 액체(예를 들어, 용액, 혼탁액)를 포함한다. 이러한 액체는 항산화제, 완충제, 보존제, 안정화제, 정균제, 혼탁화제, 농조화제, 및 제형이 계획된 수용자의 혈액(또는 다른 적절한 체액)과 등장성이 되도록 하는 용질과 같은 그 밖의 다른 약학적으로 허용 가능한 성분을 추가로 함유할 수 있다. 부형제의 예는 예를 들어, 물, 알코올, 폴리올, 글리세롤, 식물성 오일 등을 포함한다. 이러한 제형에서 사용하기에 적합한 등장성 담체의 예는 염화나트륨 주사액, 링거 주사액, 또는 락테이트 첨가 링거 주사액을 포함한다. 전형적으로, 액체 내의 활성 성분의 농도는 약 1 ng/ml 내지 약 10 µg/ml, 예를 들어, 약 10 ng/ml 내지 약 1 µg/ml이다. 제형은 단위-용량 또는 다회-용량형 밀봉 용기, 예를 들어, 앰플 및 바이알 내에 제공될 수 있으며, 사용하기 직전에 멀균 액체 담체, 예를 들어, 주사용수를 첨가하는 것만을 필요로 하는 동결-건조된(동결건조) 상태로 저장될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 혼탁액은 멀균 분말, 파립, 및 정제로부터 제조될 수 있다.

투약량

[0263] 당업자라면 접합체 화합물, 및 접합체 화합물을 포함하는 조성물의 적절한 투약량이 환자마다 다를 수 있음을 이해할 것이다. 최적 투약량을 결정하는 것은 일반적으로, 모든 위험 또는 유해한 부작용을 고려하여 치료학적 이득의 수준의 균형을 달성하는 것을 수반한다. 선택된 투약량 수준은 특정 화합물의 활성, 투여 경로, 투여 시기, 화합물의 배설률, 치료의 지속기간, 조합물 내의 그 밖의 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 병태의 중증도, 및 환자의 종, 성별, 연령, 체중, 상태, 전반적인 건강, 및 이전 병력을 포함하는(이에 한정되지 않음) 다양한 인자에 따라 달라질 것이다. 화합물의 양 및 투여 경로는 궁극적으로 의사, 수의사, 또는 임상의의 재량에 달려 있지만, 작용 부위에서 실질적으로 위험하거나 해로운 부작용을 야기함이 없이 바람직한 효과를 달성하는 국소농도를 이루도록 선택될 것이다.

[0264] 투여는 치료의 과정 전체에 걸쳐서 단일 용량으로 연속적으로 또는 간헐적으로(예를 들어, 적절한 간격으로 분할된 용량으로) 이루어질 수 있다 가장 효과적인 투여의 수단 및 투약량을 결정하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있으며, 치료에 사용된 제형, 치료의 목적, 치료될 표적 세포(들), 및 치료될 대상체에 따라 달라질 것이다. 단일 또는 다회 투여는 치료하는 의사, 수의사, 또는 임상의에 의해서 선택되는 용량 수준 및 패턴으로 수행될 수 있다.

[0265] 일반적으로, 활성 화합물의 적합한 용량은 1일에 대상체의 체중 kg당 약 100 ng 내지 약 25 mg (보다 일반적으로 약 1 µg 내지 약 10 mg)의 범위 내이다. 활성 화합물이 염, 에스테르, 아미드, 프로드럭 등인 경우, 투여되는 양은 모화합물을 기준으로 계산되며, 따라서 사용되는 실증량은 비례해서 증가한다

[0266] 상술한 투약량은 접합체에 적용하거나 링커의 절단 후에 방출될 수 있는 화합물의 유효량에 적용할 수 있다.

[0267] 질환의 예방 또는 치료를 위해서, 본 발명의 ADC의 적절한 투약량은 상기 정의된 바와 같은 치료될 질환의 타입, 질환의 중증도 및 과정, 분자가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 선행 치료법, 항체에 대한 환자의 임상력 및 반응, 및 주치의의 재량에 따라 달라질 것이다. 분자는 적합하게는 한꺼번에 또는 일련의 치료에 걸쳐서 환자에게 투여된다. 질환의 타입 및 중증도에 따라서 약 1 µg/kg 내지 100 mg/kg 또는 그 이상의 분자가 예를 들어, 하나 이상의 별도의 투여에 의해서든, 또는 연속 주입에 의해서든, 환자에게 투여하기 위한 일차 후보 투약량이다. 수일 이상에 걸쳐서 반복 투여하는 경우, 병태에 따라, 치료는 질환 증상에 대한 목적하는 억제가 일어날 때까지 지속된다. 다른 투약 요법이 유용할 수도 있다. 이러한 요법의 진행은 통상적인 기술 및 분석으로 용이하게 모니터링된다.

약물 로딩

[0269] 약물 로딩(p)은 항체와 같은 세포 결합제일 수 있는 리간드 단위당 약물의 평균 개수이다.

[0270] 접합 반응으로부터의 ADC 조제물에서 항체당 약물의 평균 개수는 UV, 역상 HPLC, HIC, 질량 분광분석법, ELISA 분석, 및 전기영동과 같은 통상의 수단에 의해 특성화될 수 있다. 또한 p의 측면에서 ADC의 정량적 분포가 결정

될 수 있다. ELISA에 의해, ADC의 특정 조제물에서의 p의 평균 값이 결정될 수 있다(문헌[Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852]). 그러나, p(약물) 값의 분포는 항체-항원 결합 및 ELISA의 검출 한계에 의해 식별가능하지 않다. 또한, 항체-약물 접합체의 검출을 위한 ELISA 분석은 약물 모이어티가 중쇄 또는 경쇄 단편, 또는 특정 아미노산 잔기와 같은 항체에 부착되는 부위를 판단하지 못한다. 일부 예에서, p가 다른 약물 로딩을 갖는 ADC로부터의 특정한 값인 경우, 균질한 ADC의 분리, 정제, 및 특성화는 역상 HPLC 또는 전기영동과 같은 수단에 의해 달성될 수 있다. 이러한 기술은 또한 다른 유형의 접합체에도 적용될 수 있다.

[0271] 일부 항체-약물 접합체의 경우에, p는 항체 상의 부착 부위의 수에 의해 제한될 수 있다. 예를 들어, 항체는 단 하나 또는 수 개의 시스테인 티올기를 가질 수 있거나, 이를 통해 링커가 부착될 수 있는 단 하나 또는 수 개의 충분히 반응성인 티올기를 가질 수 있다. 약물 로딩이 높을 수록, 특정 항체-약물 접합체의 응집, 불용성, 독성, 또는 세포 투과성의 상실을 야기할 수 있다.

[0272] 일반적으로, 약물 모이어티의 이론적 최대치보다 적게, 접합 반응 중에 항체에 접합된다. 항체는 예를 들어, 약물 링커와 반응하지 않는 다수의 라이신 잔기를 함유할 수 있다. 가장 반응성이 큰 라이신기만이 아민-반응성 링커 시약과 반응할 수 있다. 또한, 가장 반응성이 큰 시스테인 티올기만이 티올-반응성 링커 시약과 반응할 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 유리 및 반응성 시스테인 티올기를 함유하더라도 많이 함유하지는 않는다. 화합물의 항체 내 대부분의 시스테인 티올 잔기는 디설파이드 브릿지로서 존재하며, 부분적 또는 완전한 환원 조건 하에서 디티오프레이탈(DTT) 또는 TCEP와 같은 환원제에 의해 환원되어야 한다. ADC의 로딩(약물/항체 비)은 (i) 항체에 대해 몰과량의 약물-링커의 제한, (ii) 접합 반응 시간 또는 온도의 제한, 및 (iii) 시스테인 티올 변형을 위한 부분적이거나 제한적인 환원 조건을 포함한 몇 가지 상이한 방식으로 제어될 수 있다.

[0273] 특정 항체는 환원성 사슬간 디설파이드, 즉 시스테인 브릿지를 갖는다. 항체는 DTT(디티오프레이탈)와 같은 환원제를 이용한 처리에 의해 링커 시약과의 접합에 대해 반응성이 될 수 있다. 각 시스테인 브릿지는 따라서 이론적으로 2개의 반응성 티올 친핵체를 형성할 것이다. 리신을 2-아미노티올란(트라우트 시약)과 반응시킴으로써 추가의 친핵기를 항체들에 도입하여, 아민을 티올로 전환할 수 있다. 반응성 티올기는, 1, 2, 3, 4, 또는 그 이상의 시스테인 잔기를 조작(예를 들어, 하나 이상의 비천연 시스테인 아미노산 잔기를 포함하는 돌연변이 항체를 제조)함으로써, 항체(또는 이의 단편)에 도입될 수 있다. US 7521541은 반응성 시스테인 아미노산의 도입에 의한 항체 조작에 대해 교시하고 있다.

[0274] 시스테인 아미노산은 항체 내의 반응성 부위에서 조작될 수 있고, 이것은 사슬간 또는 분자간 디설파이드 결합을 형성하지 않는다(문헌[Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan et al (2009) Blood 114(13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249]). 조작된 시스테인 티올은 말레이미드 또는 알파-할로 아미드와 같은 티올-반응성 친전자성기를 갖는 본 발명의 약물-링커와 반응하여 시스테인 조작된 항체를 갖는 ADC를 형성할 수 있다. 따라서, 약물 단위의 위치가 설계, 제어, 및 공지될 수 있다. 조작된 시스테인 티올기는 일반적으로 약물-링커 시약과 높은 수율로 반응하기 때문에 약물 로딩이 제어될 수 있다. IgG 항체의 조작으로 중쇄 또는 경쇄 상의 단일 부위에서의 치환에 의해 시스테인 아미노산을 도입하는 것은 대칭 항체 상에 2개의 새로운 시스테인을 제공한다. 2에 가까운 약물 로딩이 달성되고, 접합 산물 ADC의 균질성에 접근 할 수 있다.

[0275] 항체의 복수개의 친핵성 또는 친전자성기가 약물 링커와 반응하는 경우, 생성된 생성물은 예를 들어, 1, 2, 3개 등의 항체에 부착된 약물 단위의 분포를 갖는 ADC 화합물의 혼합물일 수 있다. 폴리머 역상(PLRP) 및 소수성 상호작용(HIC)과 같은 액체 크로마토그래피 방법은 약물 로딩값에 의해 혼합물에서 화합물을 분리시킬 수 있다. 단일 약물 로딩값(p)을 갖는 ADC의 조제물이 분리될 수 있지만, 약물 단위가 링커를 통해 항체 상의 상이한 부위에서 부착될 수 있기 때문에 이를 단일 로딩값의 ADC는 여전히 불균질한 혼합물일 수 있다.

[0276] 따라서, 본 발명의 항체-약물 접합체 조성물은 항체가 하나 이상의 약물 모이어티를 갖고 약물 모이어티가 다양한 아미노산 잔기에서 항체에 부착될 수 있는 경우에 항체-약물 접합체의 혼합물을 포함할 수 있다.

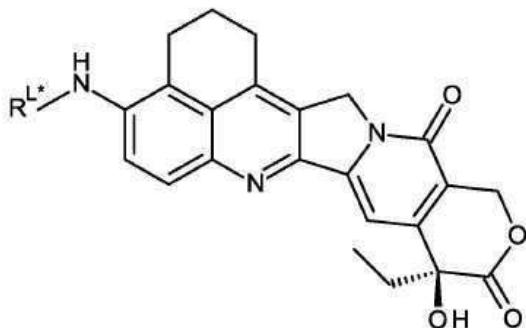
[0277] 일 구현예에서, 세포 결합제당 약물의 평균 수는 1 내지 20이다. 일부 구현예에서, 상기 범위는 1 내지 10, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 및 4 내지 10 중에서 선택된다.

[0278] 일부 구현예에서, 세포 결합제당 하나의 약물이 존재한다.

[0279] 일반적인 합성 경로

[0280] R^{L^*} 이 화학식 Ia의 R^L 인 화학식 I의 화합물은 화학식 2의 화합물:

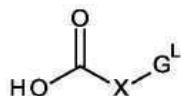
[0281] [화학식 2]



[0282]

[0283] (상기 식에서, R^{L^*} 은 $-QH$ 임)을 사용하여, 화학식 3의 화합물:

[0284] [화학식 3]



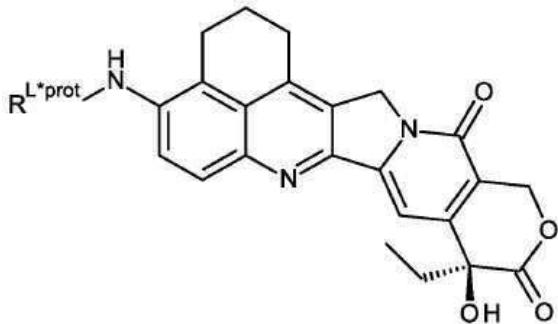
[0285]

[0286] 또는 이의 활성화 버전을 연결함으로써 합성될 수 있다.

[0287] 이러한 반응은 아미드 커플링 조건 하에서 수행될 수 있다.

[0288] 화학식 2의 화합물은 화학식 4의 화합물을 탈보호함으로써 합성될 수 있다.

[0289] [화학식 4]



[0290]

[0291] (상기 식에서, R^{L*prot} 은 $-Q-\text{Prot}^N$ 이고, Prot^N 은 아민 보호기임)

[0292] 화학식 4의 화합물은 Friedlander 반응을 이용하여 화학식 5의 화합물:

[0293] [화학식 5]



[0294]

[0295] 을 화합물 A3과 커플링함으로써 합성될 수 있다.

[0296] 화학식 5의 화합물은 화학식 6의 화합물:

[0297] [화학식 6]



[0298]

[0299]로부터 트리플루오로아세트아미드 보호기를 제거하여 합성될 수 있다.

[0300]화학식 6의 화합물은 $R^{L*prot}-OH$ 를 화합물 I7에 커플링하여 합성될 수 있다.[0301] R^L 이 화학식 Ia 또는 Ib의 R^L 인 화학식 I의 화합물은 화합물 R^L-OH 또는 이의 활성화된 형태의 커플링에 의해 화합물 I11로부터 합성될 수 있다.

[0302] 아민 보호기

[0303] 아민 보호기는 당업자에게 잘 알려져 있다. 자세한 내용은 문헌[Greene's Protecting Groups in Organic Synthesis, Fourth Edition, John Wiley & Sons, 2007 (ISBN 978-0-471-69754-1), pages 696-871]의 적합한 보호기의 개시를 참조한다.

[0304] 추가 바람직한 예

[0305] 하기 바람직한 예는 전술한 바와 같이 본 발명의 모든 양태에 적용될 수 있거나 단일 양태와 관련될 수 있다. 바람직한 예는 임의의 조합으로 함께 결합될 수 있다.

[0306] Q^X

[0307] 일 구현예에서, Q는 아미노산 잔기이다. 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산일 수 있다.

[0308] 일 구현예에서, Q는 Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, 및 Trp로부터 선택되며, Cit는 시트룰린이다.

[0309] 일 구현예에서, Q는 디펩티드 잔기를 포함한다. 디펩티드의 아미노산은 천연 아미노산과 비천연 아미노산의 임의의 조합일 수 있다. 일부 구현예에서, 디펩티드는 천연 아미노산을 포함한다. 링커가 카텝신 불안정성 링커인 경우, 디펩티드는 카텝신 매개 절단에 대한 작용 부위이다. 즉 디펩티드는 카텝신에 대한 인식 부위이다.

[0310] 일 구현예에서, Q는

[0311] $NH -Phe-Lys-C=O$,[0312] $NH -Val-Ala-C=O$,[0313] $NH -Val-Lys-C=O$,[0314] $NH -Ala-Lys-C=O$,[0315] $NH -Val-Cit-C=O$,[0316] $NH -Phe-Cit-C=O$,[0317] $NH -Leu-Cit-C=O$,[0318] $NH -Ile-Cit-C=O$,[0319] $NH -Phe-Arg-C=O$,[0320] $NH -Trp-Cit-C=O$, 및

[0321] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Val}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$ 로부터 선택되며,

[0322] 여기서, Cit는 시트룰린이다.

[0323] 바람직하게는, Q는

[0324] $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Lys}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$,

[0325] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Ala}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$,

[0326] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Lys}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$,

[0327] $\text{NH}-\text{Ala}-\text{Lys}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$, 및

[0328] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Cit}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$ 로부터 선택된다.

[0329] 가장 바람직하게는, Q는 $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Lys}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$, $\text{NH}-\text{Val}-\text{Cit}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$, 또는 $\text{NH}-\text{Val}-\text{Ala}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$ 로부터 선택된다.

[0330] 다른 관심 디펩티드 조합은

[0331] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Gly}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$,

[0332] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Val}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$,

[0333] $\text{NH}-\text{Pro}-\text{Pro}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$, 및

[0334] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Glu}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$ 를 포함한다.

[0335] 본원에 참고로 포함되는 문헌[Dubowchik et al., *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13, 855-869]에 기술된 것들을 포함하는 다른 디펩티드 조합이 사용될 수 있다.

[0336] 일부 구현예에서, Q는 트리펩티드 잔기이다. 트리펩티드의 아미노산은 천연 아미노산과 비천연 아미노산의 임의의 조합일 수 있다. 일부 구현예에서, 트리펩티드는 천연 아미노산을 포함한다. 링커가 카텝신 불안정성 링커인 경우, 트리펩티드는 카텝신 매개 절단에 대한 작용 부위이다. 즉 트리펩티드는 카텝신에 대한 인식 부위이다. 특히 관심 대상인 트리펩티드 링커는 다음과 같다:

[0337] $\text{NH}-\text{Glu}-\text{Val}-\text{Ala}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$

[0338] $\text{NH}-\text{Glu}-\text{Val}-\text{Cit}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$

[0339] $\text{NH}-\alpha\text{Glu}-\text{Val}-\text{Ala}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$

[0340] $\text{NH}-\alpha\text{Glu}-\text{Val}-\text{Cit}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$

[0341] 일부 구현예에서, Q는 테트라펩티드 잔기이다. 테트라펩티드의 아미노산은 천연 아미노산과 비천연 아미노산의 임의의 조합일 수 있다. 일부 구현예에서, 테트라펩티드는 천연 아미노산을 포함한다. 링커가 카텝신 불안정성 링커인 경우, 테트라펩티드는 카텝신 매개 절단에 대한 작용 부위이다. 즉 테트라펩티드는 카텝신에 대한 인식 부위이다. 특히 관심 대상인 테트라펩티드 링커는 다음과 같다:

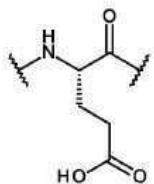
[0342] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Gly}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$ 및

[0343] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Gly}-\text{Gly}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$.

[0344] 일부 구현예에서, 테트라펩티드는 $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Gly}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$ 이다.

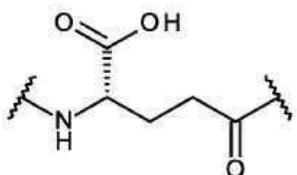
[0345] 웹티드 잔기의 상기 표현에서, $\text{NH}-$ 는 N-말단을 나타내고, $-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$ 는 잔기의 C-말단을 나타낸다. C-말단은 A*의 NH에 결합한다.

[0346] Glu는 글루탐산의 잔기를 나타낸다. 즉:



[0347]

α Glu는 α -사슬을 통해 결합될 때의 글루탐산의 잔기를 나타낸다. 즉:



[0349]

일 구현예에서, 아미노산 측쇄는 적절한 경우 화학적으로 보호된다. 측쇄 보호기는 상기 논의된 바와 같은 기일 수 있다. 보호된 아미노산 서열은 효소에 의해 절단될 수 있다. 예를 들어, Boc 측쇄-보호된 Lys 잔기를 포함하는 디펩티드 서열은 카텝신에 의해 절단될 수 있다.

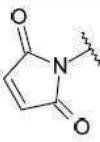
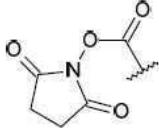
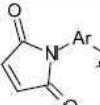
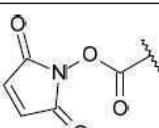
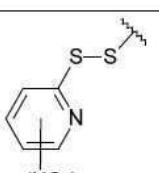
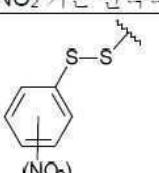
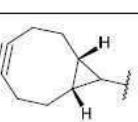
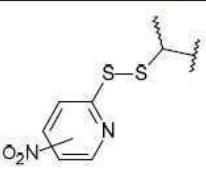
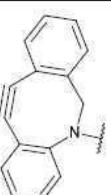
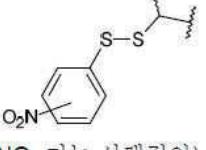
[0351]

아미노산의 측쇄에 대한 보호기는 당업계에 잘 알려져 있고 Novabiochem 카탈로그에 기술되어 있으며, 전술된 바와 같다.

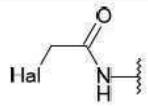
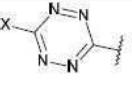
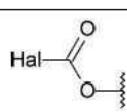
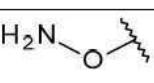
[0352]

G^L

[0353] G^L 은 하기로부터 선택될 수 있다:

(G^{L1-1})		(G^{L6})	
(G^{L1-2})		(G^{L7})	
(G^{L2})		(G^{L8})	
(G^{L3-1})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G^{L9})	
(G^{L3-2})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G^{L10})	
(G^{L3-3})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G^{L11})	
(G^{L3-4})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G^{L12})	

[0354]

(G^{L4})	 (Hal = I, Br, Cl)	(G^{L13})	
(G^{L5})		(G^{L14})	

[0355]

[0356] 상기 표에서, Ar은 C₅₋₆ 아릴렌기(예를 들어, 페닐렌)를 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타낸다.

[0357]

일부 구현예에서, G^L 은 G^{L1-1} 및 G^{L1-2} 로부터 선택된다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, G^L 은 G^{L1-1} 이다.

[0358] G^{LL}

[0359] G^{LL} 은 하기로부터 선택될 수 있다:

(G^{LL1-1})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL10})	
(G^{LL4})		(G^{LL11})	
(G^{LL5})		(G^{LL12})	
(G^{LL6})		(G^{LL13})	

(G^{LL7})		(G^{LL14})	
-------------	--	--------------	--

[0360]

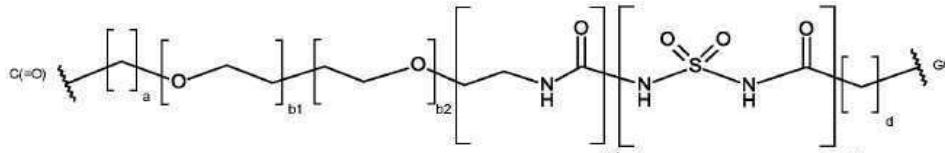
[0361]

[0362] 상기 표에서, Ar은 C_{5-6} 아릴렌기(예를 들어, 페닐렌)를 나타내고, X는 C_{1-4} 알킬을 나타낸다.

[0363] 일부 구현예에서, G^{LL} 은 G^{LL1-1} 및 G^{LL1-2} 로부터 선택된다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, G^{LL} 은 G^{LL1-1} 이다.

[0364] X는

[0365] X는



[0366] 이고, 이때 $a = 0$ 내지 5이고, $b1 = 0$ 내지 16이고, $b2 = 0$ 내지 16이고, $c = 0$ 또는 1이고, $d = 0$ 내지 5이고, 적어도 $b1$ 또는 $b2 = 0$ 이고, 적어도 $c1$ 또는 $c2 = 0$ 이다.

[0367] a 는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5일 수 있다. 일부 구현예에서, a 는 0 내지 3이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, a 는 0 또는 1이다. 추가 구현예에서, a 는 0이다.

[0368] $b1$ 은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16일 수 있다. 일부 구현예에서, $b1$ 은 0 내지 12이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, $b1$ 은 0 내지 8이고, 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8일 수 있다.

[0369] $b2$ 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16일 수 있다. 일부 구현예에서, $b2$ 는 0 내지 12이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, $b2$ 는 0 내지 8이고, 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8일 수 있다.

[0370] $b1$ 과 $b2$ 중 하나만 0이 아닐 수 있다.

[0371] $c1$ 은 0 또는 1일 수 있다.

[0372] $c2$ 는 0 또는 1일 수 있다.

[0373] $c1$ 과 $c2$ 중 하나만 0이 아닐 수 있다.

[0374] d 는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5일 수 있다. 일부 구현예에서, d 는 0 내지 3이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, d 는 1 또는 2이다. 추가 구현예에서, d 는 2이다. 추가 구현예에서, d 는 5이다.

[0375] X의 일부 구현예에서, a 는 0이고, $b1$ 은 0이고, $c1$ 은 1이고, $c2$ 는 0이고, d 는 2이고, $b2$ 는 0 내지 8일수 있다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, $b2$ 는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8이다.

[0376] X의 일부 구현예에서, a 는 1이고, $b2$ 는 0이고, $c1$ 은 0이고, $c2$ 는 0이고, d 는 0이고, $b1$ 은 0 내지 8일수 있다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, $b1$ 은 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8이다.

[0377] X의 일부 구현예에서, a 는 0이고, $b1$ 은 0이고, $c1$ 은 0이고, $c2$ 는 0이고, d 는 1이고, $b2$ 는 0 내지 8일수 있다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, $b2$ 는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8이다.

[0378] X의 일부 구현예에서, $b1$ 은 0이고, $b2$ 는 0이고, $c1$ 은 0이고, $c2$ 는 0이고, a 와 d 중 하나는 0이다. a 와 d 중 다른 하나는 1 내지 5이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, a 와 d 중 다른 하나는 1이다. 이러한 구현예 중 다른 구현예에서, a 와 d 중 다른 하나는 5이다.

[0379] X의 일부 구현예에서, a 는 1이고, $b2$ 는 0이고, $c1$ 은 0이고, $c2$ 는 1이고, d 는 2이고, $b1$ 은 0 내지 8일수 있다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, $b2$ 는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8이다.

[0380] 일부 구현예에서, R^{L1} 은 화학식 Ib의 R^L 이다.

[0381] 일부 구현예에서, R^{LL} 은 화학식 Ib'의 R^{LL} 이다.

[0382] R^{L1} 및 R^{L2} 는 독립적으로 H 및 메틸로부터 선택되거나, 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌 또는 시클로부틸렌 기를 형성한다.

[0383] 일부 구현예에서, R^{L1} 및 R^{L2} 모두 H이다.

[0384] 일부 구현예에서, R^{L1} 은 H이고, R^{L2} 는 메틸이다.

[0385] 일부 구현예에서, R^{L1} 및 R^{L2} 모두 메틸이다.

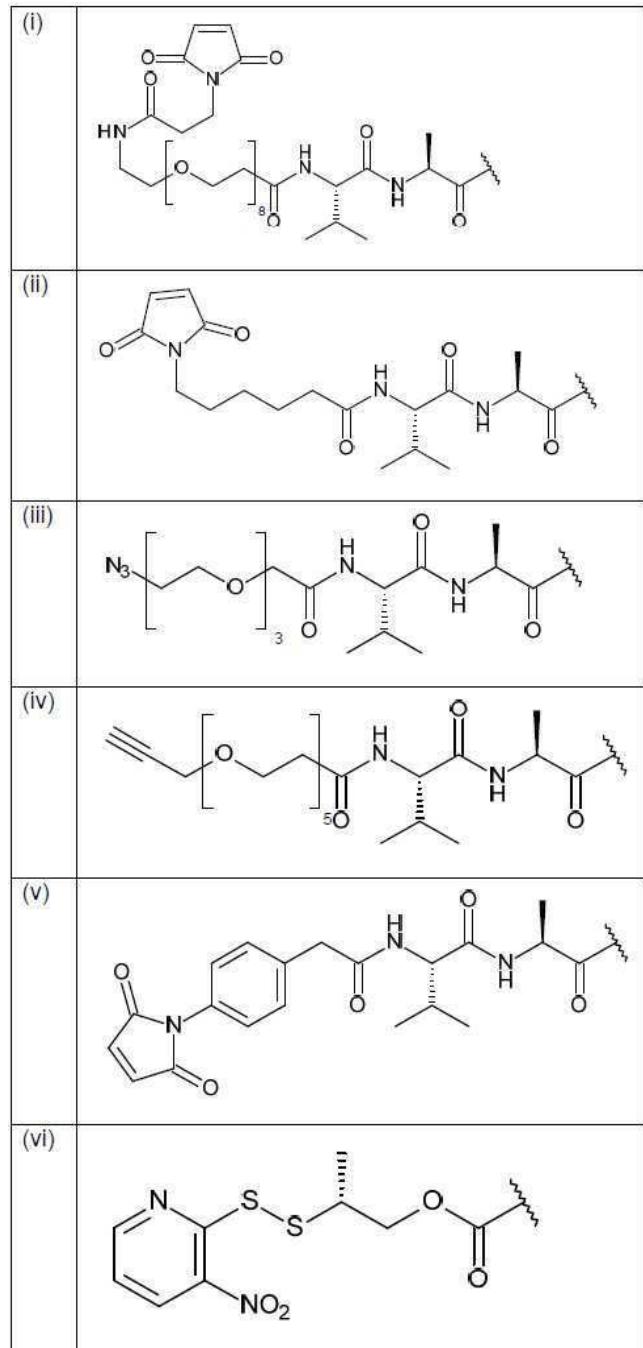
[0386] 일부 구현예에서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌기를 형성한다.

[0387] 일부 구현예에서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로부틸렌기를 형성한다.

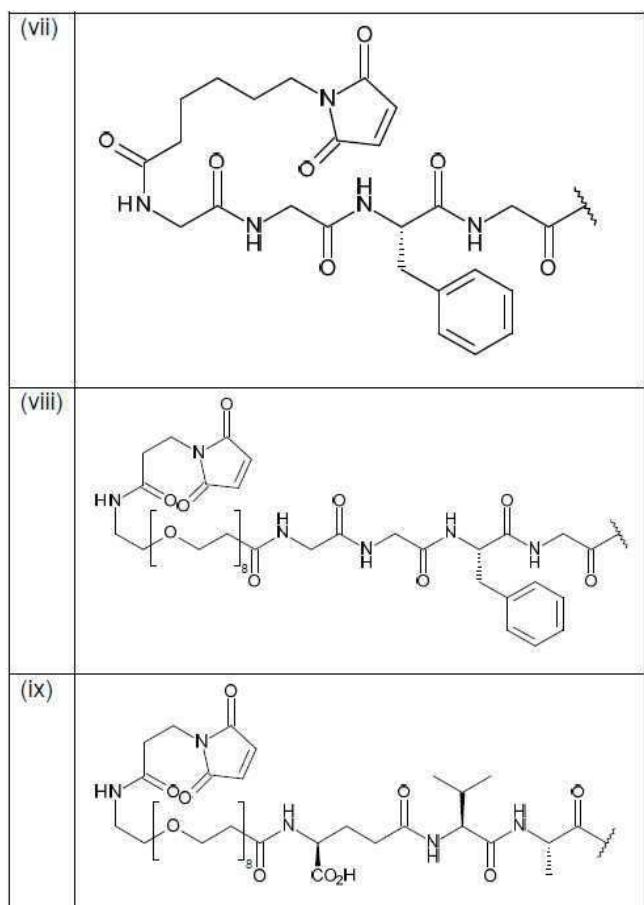
[0388] Ib 기의 일부 구현예에서, e는 0이다. 다른 구현예에서, e는 1이고, 니트로기는 고리의 임의의 이용가능한 위치에 있을 수 있다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, 이는 오르토 위치에 있다. 이러한 구현예 중 다른 구현예에서, 이는 파라 위치에 있다.

[0389] 본 발명의 제5 양태의 일부 구현예에서, 거울상이성체 풍부 형태의 거울상이성체비는 60:40, 70:30, 80:20, 또는 90:10보다 크다. 추가 구현예에서, 거울상이성체비는 95:5, 97:3, 또는 99:1보다 크다.

[0390] 일부 구현예에서, R¹은 하기로부터 선택된다:



[0391]

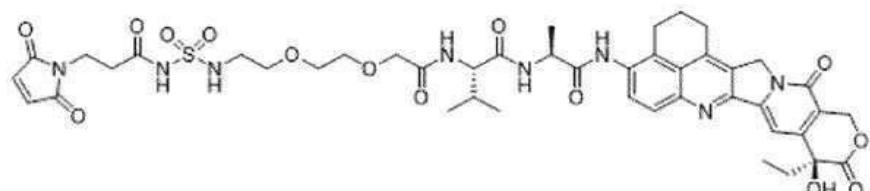


[0392]

[0393] 일부 구현예에서, R^{LL} 은 상기 R^L 기로부터 유래된 기이다.

[0394]

본 발명의 제1 양태의 일 구현예에서, 화학식 I의 화합물은 다음과 같다.



[0395]

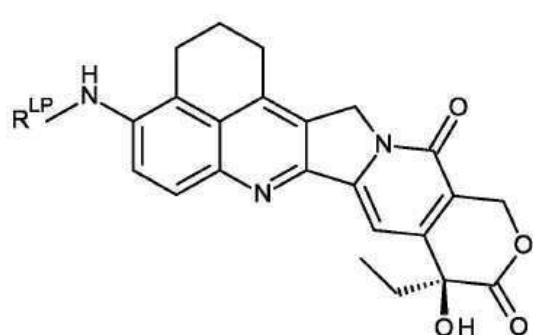
추가 바람직한 예

[0396]

일부 구현예에서, 화학식 I의 화합물은 화학식 I^P 의 화합물:

[0397]

[화학식 I^P]

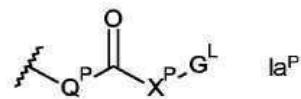


[0398]

및 이의 염 및 용매화물이고, 상기 식에서, R^{LP} 는 하기 ia 및 ib로부터 선택되는, 세포 결합제에 연결하기 위한

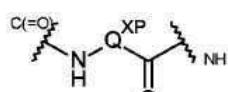
링커이고,

[0401] (ia):



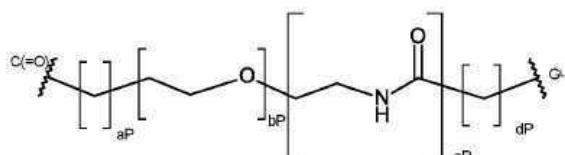
[0402] 여기서,

[0403] Q^P 는



[0404] [0405] 이고, 이때 Q^P 는 Q^P 가 아미노산 잔기, 디펩티드 잔기, 또는 트리펩티드 잔기인 것이고;

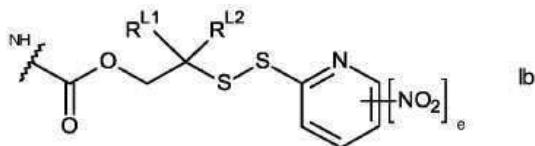
[0406] X^P 는



[0407] 이고, 이때 $aP = 0$ 내지 5이고, $bP = 0$ 내지 16이고, $cP = 0$ 또는 1이고, $dP = 0$ 내지 5이고;

[0408] G^L 은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고;

[0409] (ib):



[0410] 여기서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 독립적으로 H 및 메틸로부터 선택되거나, 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌 또는 시클로부틸렌 기를 형성하고;

[0411] e 는 0 또는 1이다.

[0412] aP 는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5일 수 있다. 일부 구현예에서, aP 는 0 내지 3이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, aP 는 0 또는 1이다. 추가 구현예에서, aP 는 0이다.

[0413] bP 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16일 수 있다. 일부 구현예에서, b 는 0 내지 12이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, bP 는 0 내지 8이고, 0, 2, 4, 또는 8일 수 있다.

[0414] cP 는 0 또는 1일 수 있다.

[0415] dP 는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5일 수 있다. 일부 구현예에서, dP 는 0 내지 3이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, dP 는 1 또는 2이다. 추가 구현예에서, dP 는 2이다.

[0416] X^P 의 일부 구현예에서, aP 는 0이고, cP 는 1이고, dP 는 2이고, bP 는 0 내지 8일 수 있다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, bP 는 0, 4, 또는 8이다.

[0417] 화학식 I의 화합물에 대한 상기 Q^P 에 대한 바람직한 예는 적절한 경우 Q^{XP} 에 적용될 수 있다.

[0418] 화학식 I의 화합물에 대한 상기 G^L , R^{L1} , R^{L2} , 및 e 에 대한 바람직한 예는 화학식 I P 의 화합물에 적용될 수 있다.

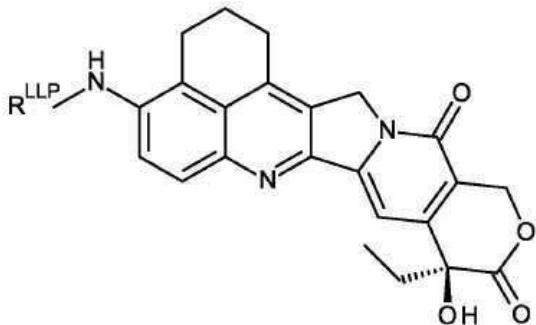
[0419] 일부 구현예에서, 화학식 IV의 접합체는 화학식 IV P 의 접합체:

[0421] [화학식 IV^P]

L - (D^{LP})_p

[0423] 또는 이의 약학적으로 혜용 가능한 염 또는 용매화물이고, 상기 식에서, L은 리간드 단위(즉, 표적화제)이고, D^{LP}는 화학식 III^P의 약물 링커 단위이고,

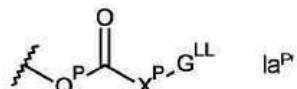
[0424] [화학식 III^P]



[0425]

[0426] R^{LP}는 하기 ia' 및 ib'로부터 선택되는, 상기 리간드 단위에 연결된 링커이고,

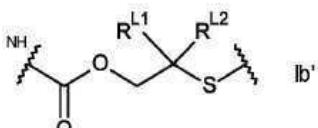
[0427] (ia'):



[0428]

[0429] 여기서, Q^P 및 X^P는 상기에 정의된 바와 같고, G^{LL}은 리간드 단위에 연결된 링커이고;

[0430] (ib'):



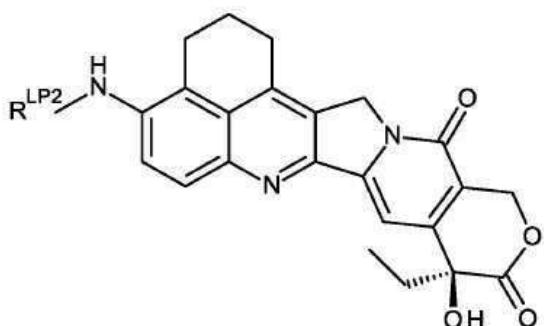
[0431]

[0432] 여기서, R^{L1} 및 R^{L2}는 상기에 정의된 바와 같고;

[0433] p는 1 내지 20의 정수이다.

[0434] 일부 구현예에서, 화학식 I의 화합물은 화학식 I^{P2}의 화합물:

[0435] [화학식 I^{P2}]

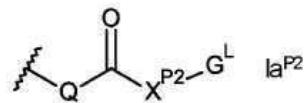


[0436]

[0437] 및 이의 염 및 용매화물이고, 상기 식에서, R^{LP2}는 하기 ia 및 ib로부터 선택되는, 세포 결합제에 연결하기 위한

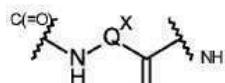
링커이고,

[0438] (ia):



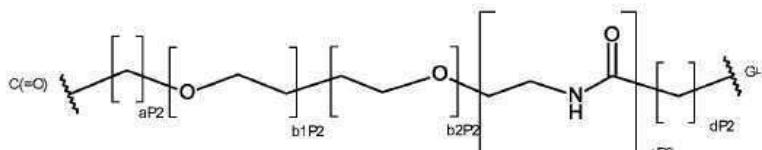
[0439] 여기서,

[0440] Q는



[0441] [0442] 그리고, 이때 Q^X 는 Q가 아미노산 잔기, 디펩티드 잔기, 트리펩티드 잔기, 또는 테트라펩티드 잔기인 것이고;

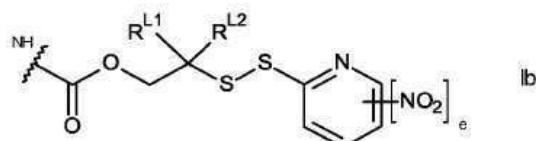
[0443] X^{P2}는



[0444] 그리고, 이때 $aP2 = 0$ 내지 5이고, $b1P2 = 0$ 내지 16이고, $b2P2 = 0$ 내지 16이고, $cP2 = 0$ 또는 1이고, $dP2 = 0$ 내지 5이고, 적어도 $b1P2$ 또는 $b2P2 = 0$ (즉, $b1$ 과 $b2$ 중 하나만 0이 아닐 수 있음)이고;

[0445] G^L은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고;

[0446] (ib):



[0447] [0448] 여기서, R^{L1} 및 R^{L2}는 독립적으로 H 및 메틸로부터 선택되거나, 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌 또는 시클로부틸렌 기를 형성하고;

[0449] e는 0 또는 1이다.

[0450] aP2는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5일 수 있다. 일부 구현예에서, aP2는 0 내지 3이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, aP2는 0 또는 1이다. 추가 구현예에서, aP2는 0이다.

[0451] b1P2는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16일 수 있다. 일부 구현예에서, b1P2는 0 내지 12이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, b1P2는 0 내지 8이고, 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8일 수 있다.

[0452] b2P2는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16일 수 있다. 일부 구현예에서, b2P2는 0 내지 12이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, b2P2는 0 내지 8이고, 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8일 수 있다.

[0453] b1P2와 b2P2 중 하나만 0이 아닐 수 있다.

[0454] cP2는 0 또는 1일 수 있다.

[0455] dP2는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5일 수 있다. 일부 구현예에서, dP2는 0 내지 3이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, dP2는 1 또는 2이다. 추가 구현예에서, dP2는 2이다. 추가 구현예에서, dP2는 5이다.

[0456] X^{P2}의 일부 구현예에서, aP2는 0이고, b1P2는 0이고, cP2는 1이고, dP2는 2이고, b2P2는 0 내지 8일 수 있다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, b2P2는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8이다.

[0457] X^{P2} 의 일부 구현예에서, aP2는 1이고, b2P2는 0이고, cP2는 0이고, dP2는 0이고, b1P2는 0 내지 8일수 있다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, b1P2는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8이다.

[0458] X^{P2} 의 일부 구현예에서, aP2는 0이고, b1P2는 0이고, cP2는 0이고, dP2는 1이고, b2P2는 0 내지 8일수 있다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, b2P2는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8이다.

[0459] X^{P2} 의 일부 구현예에서, b1P2는 0이고, b2P2는 0이고, cP2는 0이고, aP2와 dP2 중 하나는 0이다. aP2와 d 중 다른 하나는 1 내지 5이다. 이러한 구현예 중 일부 구현예에서, aP2와 d 중 다른 하나는 1이다. 이러한 구현예 중 다른 구현예에서, aP2와 dP2 중 다른 하나는 5이다.

[0460] 화학식 I의 화합물에 대한 상기 Q^X 에 대한 바람직한 예는 적절한 경우 화학식 Ia P2 의 Q^X 에 적용될 수 있다.

[0461] 화학식 I의 화합물에 대한 상기 G^L , R^{L1} , R^{L2} , 및 e에 대한 바람직한 예는 화학식 I P2 의 화합물에 적용될 수 있다.

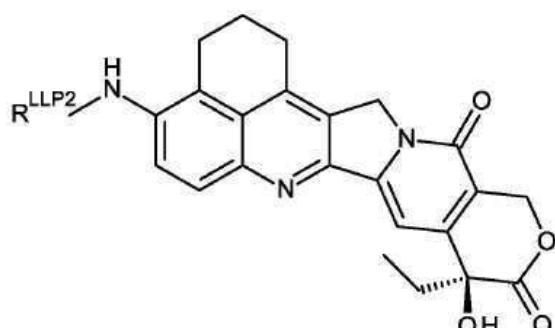
[0462] 일부 구현예에서, 화학식 IV의 접합체는 화학식 IV P2 의 접합체:

[0463] [화학식 IV P2]

[0464] $L - (D^{LP2})_p$

[0465] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물이고, 상기 식에서, L은 리간드 단위(즉, 표적화제)이고, D^{LP2} 는 화학식 III P2 의 약물 링커 단위이고,

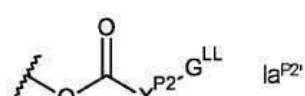
[0466] [화학식 III P2]



[0467]

[0468] R^{LLP2} 는 하기 ia' 및 ib'로부터 선택되는, 상기 리간드 단위에 연결된 링커이고,

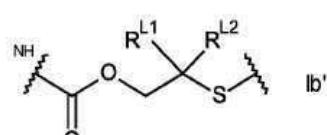
[0469] (ia'):



[0470]

[0471] 여기서, Q 및 X P2 는 상기에 정의된 바와 같고, G LL 은 리간드 단위에 연결된 링커이고;

[0472] (ib'):



[0473]

[0474] 여기서, R L1 및 R L2 는 상기에 정의된 바와 같고;

[0475] p는 1 내지 20의 정수이다.

실시예

일반 정보

[0478] 플래쉬 크로마토그래피는 Biotage® Isolera™을 사용하여 수행하였고, 박층 크로마토그래피(TLC)를 사용하여 분획의 순도를 확인하였다. TLC는 알루미늄 플레이트에서 형광 표식자가 있는 Merck Kieselgel 60 F254 실리카겔을 사용하여 수행하였다. UV 광으로 TLC를 시각화하였다.

[0479] 추출 및 크로마토그래피 용매를 VWR(U.K.)로부터 구입하여, 추가 정제 없이 사용하였다.

[0480] 달리 명시되지 않는 한, 모든 정밀 화학물질은 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

[0481] 폐길화 시약은 Stratech UK를 통해 Quanta biodesign US로부터 입수하였다.

LC/MS 조건

방법 A

[0484] Waters Aquity H-class SQD2를 사용하여 포지티브 모드 전기분무 질량 분석을 수행하였다.

[0485] 이동상으로 용매 A(0.1% 포름산이 포함된 물) 및 용매 B(0.1% 포름산이 포함된 아세토니트릴)를 사용하였다. 초기 조성 5% B에서 25초 간 유지한 후, 1분 35초에 걸쳐 5% B에서 100% B로 증가시켰다. 조성을 100% B에서 50초 간 유지한 후, 5초 내에 5% B로 회복시키고, 5초 동안 유지시켰다. 총 구배 실행 시간은 3.0분이었다. 유속은 0.8 mL/분이었다. 254 nm에서 검출하였다. 컬럼: Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard Pre-column(130 Å, 1.7 μm, 2.1 mm×5 mm)이 장착된 Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18(1.7 μm, 2.1×50 mm, 50°C).

방법 B

[0487] 물(A)(포름산 0.1%) 및 아세토니트릴(B)(포름산 0.1%)의 이동상을 사용하여 HPLC(Waters Alliance 2695)를 수행하였다.

[0488] 초기 조성 5% B에서 25초 간 유지한 후, 1분 35초에 걸쳐 5% B에서 100% B로 증가시켰다. 조성을 100% B에서 50초 간 유지한 후, 5초 내에 5% B로 회복시키고, 5초 동안 유지시켰다. 총 구배 실행 시간은 3.0분이었다. 유속은 0.8 mL/분이었다. 파장 검출 범위: 190 내지 800 nm. 컬럼: Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard Pre-column(130 Å, 1.7 μm, 2.1 mm×5 mm)이 장착된 Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18(1.7 μm, 2.1×50 mm, 50°C).

방법 C

[0490] 물(A)(포름산 0.1%) 및 아세토니트릴(B)(포름산 0.1%)의 이동상을 사용하여 HPLC(Waters Alliance 2695)를 수행하였다.

[0491] 초기 조성 5% B에서 1분 간 유지한 후, 9분에 걸쳐 5% B에서 100% B로 증가시켰다. 조성을 100% B에서 2분 간 유지한 후, 0.10분 내에 5% B로 회복시키고, 3분 동안 유지시켰다. 총 구배 실행 시간은 15분이었다. 유속은 0.6 mL/분이었다. 파장 검출 범위: 190 내지 800 nm. 오븐 온도: 50°C. 컬럼: ACE Excel 2 C18-AR(2 μ, 3.0 x 100 mm).

HPLC 조건

[0493] 역상 초고속 고성능 액체 크로마토그래피(UFLC)는 Phenomenex™ Gemini NX 5 μ C18 컬럼(50°C) 치수: 150×21.2 mm을 사용하여 Shimadzu Prominence™ 기계에서 수행하였다. 용리제로 용매 A(0.1% 포름산이 포함된 H₂O) 및 용매 B (0.1% 포름산이 포함된 CH₃CN)를 사용하였다. 수행된 모든 UFLC 실험의 구배 조건은 다음과 같다: 초기 조성 13% B를 3분에 걸쳐 30% B로 증가시킨 후, 8분에 걸쳐 45% B로 증가시키고, 6분에 걸쳐 다시 100%로 증가시킨 후, 2분에 걸쳐 13%로 회복시키고, 1분 동안 유지하였다. 총 구배 실행 시간은 20.0분이었다. 유속은 20.0 mL/분이었고, 254 및 223 nm에서 검출하였다.

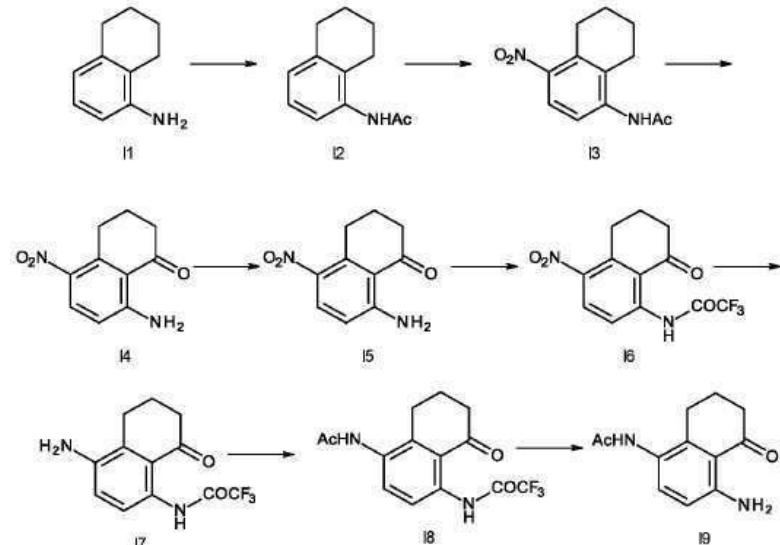
NMR 방법

[0495] 양성자 NMR 화학적 이동 값은 Bruker AV400을 사용하여 400 MHz에서 델타 스케일로 측정하였다. 다음의 약어를

사용하였다: s(단일항); d(이중항); t(삼중항); q(사중항); quin(오중항); m(다중항); br(광폭). 커플링 상수는 Hz로 기록하였다.

[0496]

주요 중간체의 합성



[0497]

a) *N*-(5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드(I2)

[0499]

5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-아민 I1(8.54 g, 58.0 mmol)을 디클로로메탄(80 mL)에 용해시켰다. 트리에틸 아민(18 mL, 129 mmol)을 첨가하고 혼합물을 0°C까지 냉각시켰다. 아세트산 무수물(11.5 mL, 122 mmol)을 적가하고, 첨가 완료시, 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 45분 동안 교반한 결과, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 혼합물을 CH₂Cl₂로 회석하고, H₂O, 포화 NaHCO₃, 10% 시트르산으로 세척하고, 유기상을 MgSO₄로 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 미색 고체를 1:3 Et₂O/이소헥산으로 분쇄하여 I2(10.8 g, 57.1 mmol, 98% 수율)를 백색 고체로서 수득하고, 추가 정제 없이 사용하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.44분(ES+) *m/z* 190 [M + H]⁺

[0500]

b) *N*-(4-니트로-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드(I3)

[0501]

N-(5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드 I2(1.00 g, 5.2840 mmol)를 -5°C에서 황산(15 mL, 281 mmol)에 조금씩 첨가하였다. 질산나트륨(450 mg, 5.2945 mmol)을 반응 혼합물에 조금씩 첨가하고 -5°C에서 30분 동안 교반한 결과, LCMS는 더 이상의 반응 진행을 나타내지 않았다. 반응 혼합물을 외부 냉각시키면서 얼음에 붓고, 수성 혼합물을 CH₂Cl₂로 추출하고, 유기상을 MgSO₄로 건조시키고, Isolera(이소헥산 중의 10~80% EtOAc)로 정제하여 *N*-(4-니트로-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드 I3과 *N*-(2-니트로-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드의 혼합물(956 mg, 4.0811 mmol, 77% 수율)을 백색/황색 고체로서 수득하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.53분(ES+) *m/z* 235 [M + H]⁺

[0502]

c) *N*-(4-니트로-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드(I4)

[0503]

N-(4-니트로-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드 I3(1.01 g, 4.31 mmol)을 아세톤(30 mL)에 용해시켰다. 물 중의 황산마그네슘(3.9 mL, 5.9 mmol, 1.5 mol/L)을 첨가하고 혼합물을 0°C까지 냉각시켰다. 과망간산칼륨(2.07 g, 13.0 mmol)을 반응 혼합물에 조금씩 첨가하고, 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 50분 동안 교반한 결과, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 고체를 CHCl₃로 세척하고, 생성된 유기 혼합물을 H₂O, 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, isolera(이소헥산 중의 20~50% EtOAc)로 정제하여, *N*-(4-니트로-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드 I4와 *N*-(2-니트로-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드의 혼합물(709 mg, 2.86 mmol, 66%)을 백색/황색 고체로서 수득하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.44분(ES+) *m/z* 190 [M + H]⁺

[0504]

d) 8-아미노-5-니트로-3,4-디하이드로나프탈렌-1(2H)-온(I5)

[0505]

N-(4-니트로-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드 I4와 *N*-(2-니트로-8-옥소-5,6,7,8-테트

라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드의 혼합물(709 mg, 2.8561 mmol) 및 6 N 염산(7 mL)을 80°C에서 2.5시간 동안 교반한 결과, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 냉각시키고, pH가 염기성이 될 때까지 6 N NaOH 용액을 첨가하였다. 수성 혼합물을 CH₂Cl₂로 추출하고, 유기상을 MgSO₄로 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. Isolera(이소헥산 중의 0~50% EtOAc)로 8-아미노-5-나트로-3,4-디하이드로나프탈렌-1(2H)-온 I5(320 mg, 1.552 mmol, 54% 수율)를 황색/주황색 고체로서 수득하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.54분 (ES+) *m/z* 207 [M + H]⁺

[0506] e) 2,2,2-트리플루오로-N-(4-나트로-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드(I6)

8-아미노-5-나트로-3,4-디하이드로나프탈렌-1(2H)-온 I5(430 mg, 2.0854 mmol)를 디클로로메탄(20 mL)에 용해 시켰다. 피리딘(340 μL, 4.20 mmol)을 첨가하고 혼합물을 0°C까지 냉각시켰다. 트리플루오로아세트산 무수물(590 μL, 4.197 mmol)을 첨가하고 30분 동안 교반한 결과, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 혼합물을 CH₂Cl₂로 희석하고, H₂O로 세척하고, 유기상을 MgSO₄로 건조시키고, 진공에서 농축하여 2,2,2-트리플루오로-N-(4-나트로-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드 I6(630 mg, 2.0846 mmol, 99% 초과의 수율)을 황색 고체로서 수득하고, 추가 정제 없이 사용하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.86분(ES+) *m/z* 301X [M - H]⁻

[0508] f) N-(4-아미노-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드(I7)

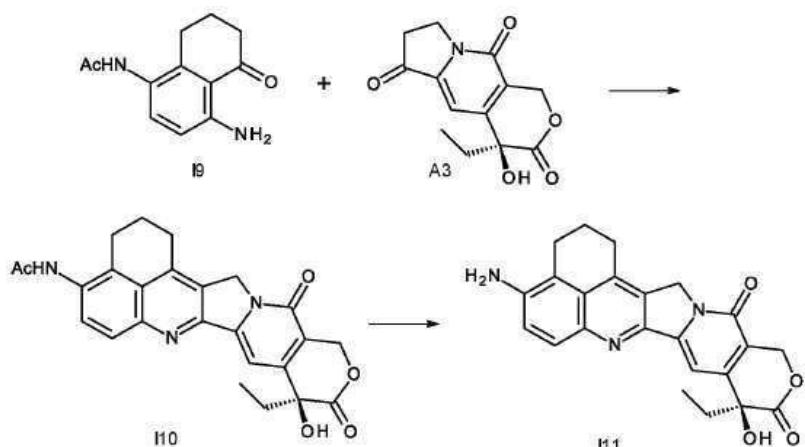
아연(2.73 g, 41.7 mmol)을 메탄올(80 mL), 포름산(4 mL), 및 물(4 mL)에 혼탁시키고 혼합물을 0°C까지 냉각시켰다. 2,2,2-트리플루오로-N-(4-나트로-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드 I6(568 mg, 2.0865 mmol)을 조금씩 첨가하고 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반한 결과, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 여과하고, 여과액을 EtOAc로 희석하고, 포화 NaHCO₃로 세척하였다. 유기상을 MgSO₄로 건조시키고 진공에서 농축하여 N-(4-아미노-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드 I7(568 mg, 2.0865 mmol, 99% 초과의 수율)을 황색 고체로서 수득하고, 추가 정제 없이 사용하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.65분(ES+) *m/z* 273 [M + H]⁺

[0510] g) N-(4-아세트아미도-8-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드(I8)

N-(8-아미노-4-옥소-테트랄린-5-일)-2,2,2-트리플루오로-아세트아미드 I7(568 mg, 2.0865 mmol)을 디클로로메탄(20 mL)에 용해시켰다. 트리에틸아민(580 μL, 4.16 mmol)에 이어 아세틸 클로라이드(297 μL, 4.173 mmol)를 첨가하고 혼합물을 30분 동안 교반한 결과, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 CH₂Cl₂로 희석하고, H₂O로 세척하고, 유기상을 MgSO₄로 건조시키고, 진공에서 농축하여 N-(8-아세트아미도-4-옥소-테트랄린-5-일)-2,2,2-트리플루오로-아세트아미드 I8(655 mg, 2.084 mmol, 99% 초과의 수율)을 황색 고체로서 수득하고, 추가 정제 없이 사용하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.55분(ES+) *m/z* 315 [M + H]⁺

[0512] h) N-(4-아미노-5-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아세트아미드(I9)

N-(8-아세트아미도-4-옥소-테트랄린-5-일)-2,2,2-트리플루오로-아세트아미드 I8(2.77 g, 8.81 mmol)을 메탄올(240 mL) 및 물(17 mL)에 용해시켰다. 탄산칼륨(4.88 g, 35.3 mmol)을 첨가하고 혼합물을 50°C에서 1.5시간 동안 교반한 결과, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 냉각하고, 진공에서 농축하고, CH₂Cl₂ 중의 10% MeOH에 용해시키고, H₂O로 세척하였다. 유기상을 MgSO₄로 건조시키고 isolera 크로마토그래피(CH₂Cl₂ 중의 2~15% MeOH)로 정제하여 N-(8-아미노-1-옥소-테트랄린-5-일)아세트아미드 I9(1.20 g, 5.50 mmol, 62.3% 수율)를 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 0.98분(ES+) *m/z* 219 [M + H]⁺



[0514]

[0515] i) (*S*)-*N*-(9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1*H*,12*H*-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아세트아미드(I10)

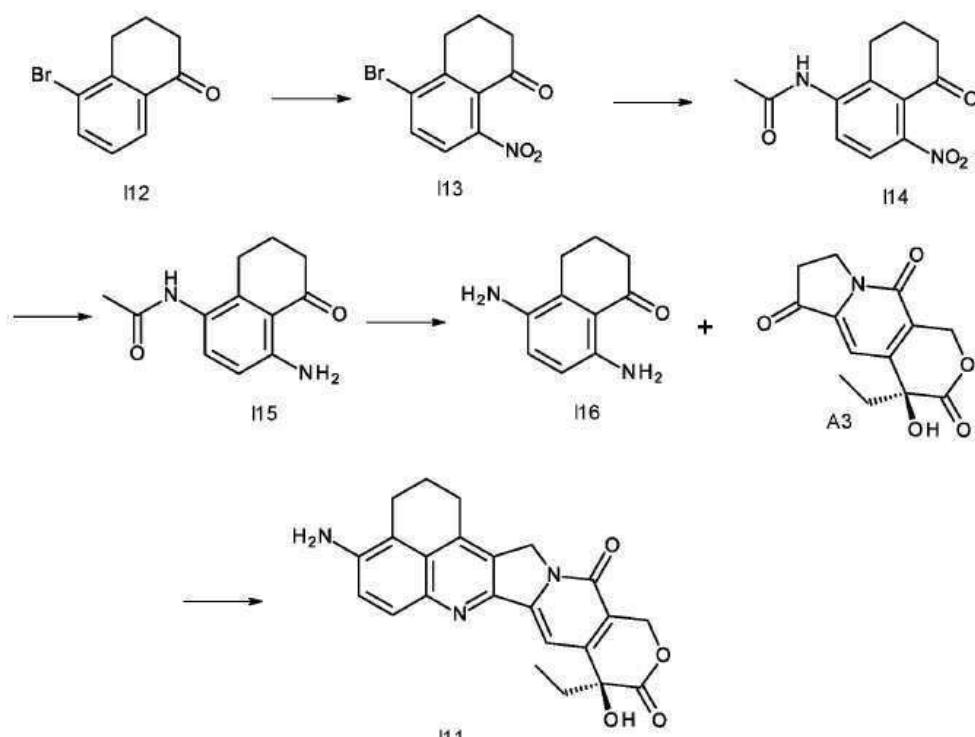
[0516] *N*-(8-아미노-1-옥소-테트랄린-5-일)아세트아미드 I9(641 mg, 2.94 mmol, 1.0 당량), (*S*)-4-에틸-4-하이드록시-7,8-디하이드로-1*H*-페라노[3,4-f]인돌리진-3,6,10(4*H*)-트리온 A3(840 mg, 3.19 mmol, 1.1 당량), 및 PPTS(740 mg, 2.95 mmol, 1.0 당량)를 톨루엔(60 mL)에 용해시키고 3시간 동안 환류 교반한 결과, LCMS는 I9가 소모되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 진공에서 농축하였다. 생성된 고체를 아세토니트릴, 이어서 아세톤으로 분쇄하여 I10을 약간의 TsOH 오염이 있는 갈색 고체(1.26 g, 96%)로서 수득하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.32분(ES+) m/z 447 [$M + H$]⁺

[0517] j) (*S*)-4-아미노-9-에틸-9-하이드록시-1,2,3,9,12,15-헥사하이드로-10*H*,13*H*-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-10,13-디온(I11)

[0518] (*S*)-*N*-(9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1*H*,12*H*-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아세트아미드(I10)(1.26 g, 2.83 mmol, 1.0 당량)를 H_2O (12 mL) 중의 염산(6 mol/L)에 용해시키고, 혼합물을 80°C에서 5시간 동안 교반한 결과, LCMS는 I10이 소모되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석하고 진공에서 농축하여 (*S*)-4-아미노-9-에틸-9-하이드록시-1,2,3,9,12,15-헥사하이드로-10*H*,13*H*-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-10,13-디온 I11(1.51 g, 2.85 mmol, 90 질량%, 101% 수율)을 적색 결정질 고체로서 수득하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.36분(ES+) m/z 405 [$M + H$]⁺

[0519]

I11의 대체 합성



[0520]

[0521]

이러한 합성을 위한 IPC, 순도, 및 분석 방법

기기	Thermo U-3000
컬럼	ACE Excel 3 C18- PFP(3.0 mm × 150 mm)
오븐	40°C
이동상	A: 물 중의 10 mM 포름산암모늄(pH 3.5) B: CAN
구배 프로그램	시간(분) A(%) B(%) 0.0 90 10 20.0 10 90 23.0 10 90 24.0 90 10 30.0 90 10 재평형 시간: 6 분
유속	1.0 mL/분
검출기	UV 220 nm
회석제	ACN

[0522]

a) 5-브로모-8-니트로-테트랄린-1-온(I13)

[0523]

황산(Conc., 5.0 상대부피, 160 mL)에 용해된 질산칼륨(1.15 당량, 13.83 g)의 용액을 질소 하에 황산(Conc., 5.0 상대부피, 160 mL) 중의 5-브로모테트랄린-1-온(I12)(1.0 당량, 26.77 g)의 용액에 침가하였다(침가 시간 4~12시간, 10°C 미만으로 온도 유지). 반응이 완료된 후, 온도를 10°C 미만으로 유지하도록 이동 속도를 조정하면서 반응 혼합물을 물(36 상대부피, 1.15 L)이 담긴 플라스크로 옮겼다. 생성된 고체를 여과하고, 물(4.0 상대부피, 128 mL)로 3회 세척한 후, 약 40°C에서 24시간 동안 건조시켰다. 건조 케이크를 약 75°C로 가열된 아세톤(2.5 상대부피, 80 mL)과 물(0.38 상대부피, 12.2 mL)의 혼합물에 용해시킨 후 약 20°C까지 냉각시켰다. 생성된 고체를 여과로 제거하였다. 용매를 종류를 통해 에탄올로 고체하고 용액 부피를 2.0 상대부피(64 mL)로 감소시켰다. 용액을 약 25°C까지 냉각시키고, 생성된 고체를 여과로 수집하였다. 고체를 에탄올(1.0 상대부피, 32 mL)로 세척한 후 40°C에서 진공 건조시켜 5-브로모-8-니트로-테트랄린-1-온 I13(15.36 g, 40%)을 갈색 고체로서

수득하였다(RT 14.0분).

[0525] 방법 1 브로모-8-니트로-테트랄린-1-온에 대한 IPC, 순도, 및 분석 방법.

기기	Thermo U-3000	
컬럼	ACE Excel 3 C18- PFP(3.0 mm×150 mm)	
온도	40°C	
이동상	A: 물 중의 10 mM 포름산암모늄(pH 3.5) B: ACN	
구배 프로그램	시간(분) A(%) B(%) 0.0 90 10 20.0 10 90 23.0 10 90 24.0 90 10 30.0 90 10 총평형 시간: 6 분	
유속	1.0 mL/분	
검출기	UV 220 nm	
회색제	ACN	

[0526]

b) *N*-(8-니트로-1-옥소-테트랄린-5-일)아세트아미드(I14)

디옥산(15 상대부피, 270 mL) 중의 브로모-8-니트로-테트랄린-1-온(I13)(1.0 당량, 18.0 g, 90.6% ww), 아세트아미드(1.2 당량, 4.72 g), 트리스(디벤질리텐아세톤)디팔라듐(0)(0.01 당량, 0.61 g), 및 인산칼륨(1.4 당량, 19.8 g)의 용액을 질소 하에 약 70°C까지 가열하였다. 반응이 완료된 후 용액을 약 20°C까지 냉각시키고 디옥산(5 상대부피, 90.0 mL)으로 회색하고 여과하였다. 용매를 에탄올로 교체하고 부피를 3 상대부피(54.0 mL)의 총 반응 부피로 감소시켰다. 용액을 약 20°C까지 냉각시키고, 생성된 고체를 여과로 수집하고 MTBE(메틸 tert-부틸에테르)(1.0 상대부피, 18.0 mL)로 세척하였다. 고체를 40°C에서 진공 건조시켜 *N*-(8-니트로-1-옥소-테트랄린-5-일)아세트아미드 I14(10.0 g, 60.6%)를 암황색 고체로서 수득하였다(RT 8.86분).

c) *N*-(8-아미노-1-옥소-테트랄린-5-일)아세트아미드(I15)

탄소 상의 수산화팔라듐(20% w/w, 0.15 당량, 5.25 g)을 메탄올(40 상대부피, 1250 mL) 중의 *N*-(8-니트로-1-옥소-테트랄린-5-일)아세트아미드(I14)(1.0 당량, 32.6 g)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 약 40°C에서 8시간 동안 약 40 psi의 수소 분위기하에 두었다. 수소를 제거하고 질소로 대체하고 촉매를 셀룰로스 상에서 여과로 제거하고, 셀룰로스를 메탄올(4.0 상대부피, 130 mL)로 세척하였다. 용액 부피를 증류를 통해 4.0 상대부피로 감소시킨 후, MTBE(4 상대부피, 130 mL)로 회색하였다. 생성된 고체를 여과로 수집하고, MTBE(2 상대부피, 65 mL)로 세척하고, 40°C에서 진공 건조시켜 *N*-(8-아미노-1-옥소-테트랄린-5-일)아세트아미드 I15(21.1 g, 77.8%)를 회녹색 고체로서 수득하였다(RT 5.44분).

d) 5,8-디아미노테트랄린-1-온(I16)

염산(5 M, 6.0 상대부피, 60 mL) 중의 *N*-(8-아미노-1-옥소-테트랄린-5-일)아세트아미드(I15)(1.0 당량, 10.0 g)의 용액을 약 90°C에서 3시간 동안 유지하였다. 온도를 25°C로 낮추고, 온도를 25°C로 유지하면서, pH 10.0에 도달할 때까지 수산화나트륨(2 M, 4.0 상대부피, 40 mL)을 첨가하였다. 생성된 고체를 여과로 수집하고 물(2.0 상대부피, 20 mL)로 세척하였다. 습윤 케이크를 테트라하이드로푸란(60 상대부피, 600 mL)에 용해시키고 여과하였다. 용액을 5.0 상대부피로 농축시키고 헵탄(20 상대부피, 200 mL)을 첨가하였다. 용액을 10.0 상대부피로 농축시키고 추가적으로 헵탄(20 상대부피, 200 mL)을 첨가한 후, 부피를 다시 10.0 상대부피로 감소시켰다. 생성된 고체를 여과로 수집하고 헵탄(5.0 상대부피, 50 mL)으로 세척하였다. 고체를 40°C에서 17시간 동안 진공 건조시켜 5,8-디아미노테트랄린-1-온(I16)(6.90 g, 82.7%)을 황색 고체로서 수득하였다; 1H NMR (400 MHz DMSO-d6) δ ppm 1.82 (m, 2H), 2.38 (t, J=2.0 Hz, 2H), 2.47 (t, J=2.0 Hz, 2H), 6.34 (d, J=2.0 Hz, 1H), 6.68 (d, J=2.0 Hz, 1H); RT 3.90

e) (S)-4-아미노-9-에틸-9-하이드록시-1,2,3,9,12,15-헥사하이드로-10H,13H-벤조[de]파라노[3',4':6,7]인돌리

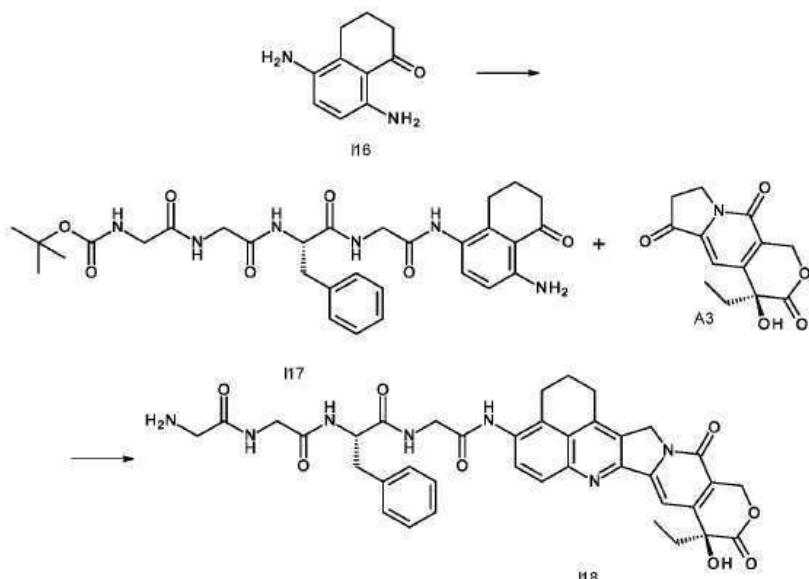
지노[1,2-b]퀴놀린-10, 13-디온(I11)

[0534]

톨루엔(50.0 상대부피, 250 mL) 중의 5,8-디아미노테트랄린-1-온(I16)(1.0 당량, 5.0 g), (4S)-4-에틸-4-하이드록시-7,8-디하이드로-1H-페라노[3,4-f]인돌리진-3,6,10-트리온(A3)(1.06 당량, 7.9 g), 및 피리디늄 파라-톨루엔설포네이트(1.0 당량, 7.2 g)의 용액을 120°C에서 15시간 동안 유지하였다. 용액의 부피를 2.0 상대부피로 감소시킨 후, 아세토니트릴(20 상대부피, 100 mL) 및 물(20 상대부피, 100 mL)로 회석하였다. 생성된 슬러리를 여과하고 고체를 수성 아세토니트릴(1:1, 20 상대부피, 100 mL)로 세척하였다. 고체를 수성 메탄올(물:MeOH 3:1, 40 상대부피, 200 mL)로 슬러리화하고, 여과하고 수성 메탄올(1:1, 20 상대부피, 100 mL)로 세척하였다. 고체를 50°C에서 물(60 상대부피, 300 mL)로 슬러리화하고, 여과하고 물(10 상대부피, 50 mL)로 세척하였다. 고체를 30°C에서 수성 아세토니트릴(물:아세토니트릴 1:3, 40 상대부피, 200 mL)로 슬러리화하고, 여과하고 수성 아세토니트릴(물:아세토니트릴 1:3, 5 상대부피, 50 mL)로 세척한 후 40°C에서 진공 건조시켜 (S)-4-아미노-9-에틸-9-하이드록시-1,2,3,9,12,15-헥사하이드로-10H,13H-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-10,13-디온(I11)을 백색 고체(5.0 g, 43.7%)로서 수득하였다(RT 5.13).

[0535]

I18의 합성



[0536]

[0537]

a) *tert*-부틸 (S)-(2-((2-((1-((4-아미노-5-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아미노)-2-옥소에틸)아미노)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-2-옥소에틸)아미노)-2-옥소에틸)카바메이트(I17)

[0538]

Boc-GFG-OH(227 mg, 0.52 mmol) 및 EEDQ(157 mg, 0.634 mmol)를 CH₂Cl₂(25 mL)에 용해시키고, 웨티드가 용액이 될 때까지 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 이후에, 화합물 I16(100 mg, 0.56747 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 완료될 때까지 교반되도록 하였다. 1시간 후, 반응은 LVMC에 의해 90% 완료된 것으로 나타났다. 생성물이 석출되면서 혼합물이 농후해졌다. 혼합물을 1시간 동안 더 방치한 후 진공 건조시켰다. 미정제물을 Et₂O(50 mL)에 용해시켰다. 고체를 여과하고, 이어서 CH₂Cl₂(50 mL)에 용해시켜 추가로 정제하였다. 고체를 여과하고 건조시켜 생성물 I17(273 mg, 0.459 mmol, 80.9% 수율)을 회색 고체로서 수득하였다. 분석 데이터: LCMS 3분: ES⁺ = 1.46 분, m/z 595.7 [M + H]⁺.

[0539]

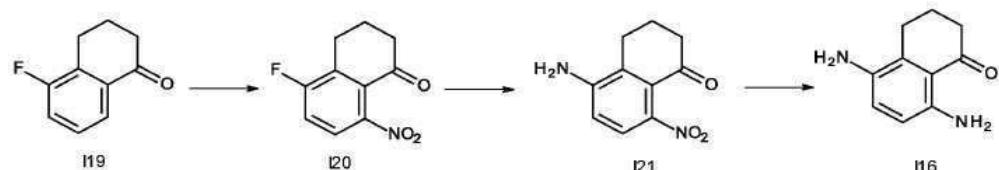
b) (S)-2-(2-아미노아세트아미도)아세트아미도)-N-(2-(((S)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-2-옥소에틸)-3-페닐프로판아미드(I18)

[0540]

아닐린 I17(450 mg, 1.045 mmol), 락تون A5(280 mg, 1.064 mmol), 및 피리디늄 *p*-톨루엔설포네이트(273 mg, 1.086 mmol)를 톨루엔(20 mL)에 용해시키고 혼합물을 150°C까지 가열하였다(고환류). 혼합물의 가용화를 돋기 위해 MeOH(4 mL)를 첨가하였다. 7시간 후, 미정제 반응물을 진공 건조시켰다. 미정제 생성물을 실리카겔 크로마토그래피(CHCl₃/MeOH, 100%에서 65:35)로 정제하여 생성물 I18(259 mg, 0.359 mmol, 78.1 수율)을 수득하였다.

분석 데이터: LCMS 3분: ES⁺ = 1.17분, m/z 722.8 [M + H]⁺.

[0541] I16의 대체 합성



[0542]

a) 5-플루오로-8-니트로-테트랄린-1-온(I20)

[0544]

5-플루오로테트랄린-1-온 I19(4.7 g, 29 mmol)를 3구 등근 바닥 플라스크에서 1/2 양의 황산(120 mL)에 용해시켰다. 모든 고체가 용해될 때까지 혼합물을 교반한 후, 0~5°C까지 냉각시켰다. 적하 깔때기에서, 질산칼륨(3 g, 29.6730 mmol)을 0~5°C에서 나머지 절반의 황산(120 mL)에 용해시켰다. 용액을 차갑게 유지시키면서 SM 혼합물에 천천히 첨가하였다(45분). 완료될 때까지 0~5°C에서 교반하였다. 이후에, 반응 혼합물을 물(250 mL)로 끼얹고 0~5°C에서 교반되도록 하였다. 고체를 여과하고 물(50 mL)로 세척하였다. 고체를 50°C에서 2시간 동안 진공 오븐에서 건조시켰다. 미정제 고체를 밤새 Et₂O에서 슬러리화시킨 후 0°C까지 냉각시키고 여과하였다. 습윤 케이크를 더 차가운 Et₂O(50 mL)로 세척하고 50°C의 진공 오븐에서 건조시켜 순수한 생성물 I20(5.5 g, 26 mmol, 92% 수율)을 연분홍색 미세 분말로서 수득하였다. LCMS (방법 B): ES⁺ = 1.55분, m/z 210.1 [M + H]⁺.

[0545]

b) 5-아미노-8-니트로-테트랄린-1-온(I21)

[0546]

화합물 I20(2.7 g, 13 mmol)을 CH₃CN(2.5 mL)에 용해시키고 H₂O(8 mL, 40 mmol) 중의 NH₄OH(21 질량%)를 밀봉된 내압 튜브에 첨가하고 185°C까지 가열하였다. 완료된 후, 혼합물을 등근 바닥 플라스크로 옮기고 진공 처리하였다. 미정제물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(CHCl₃/MeOH; 100에서 99:1)로 정제하여 순수한 생성물 I21(1.1 g, 5.3 mmol, 41% 수율)을 흑색 고체로서 수득하였다. LCMS (방법 B): ES⁺ = 1.34분, m/z 207.1 [M + H]⁺.

[0547]

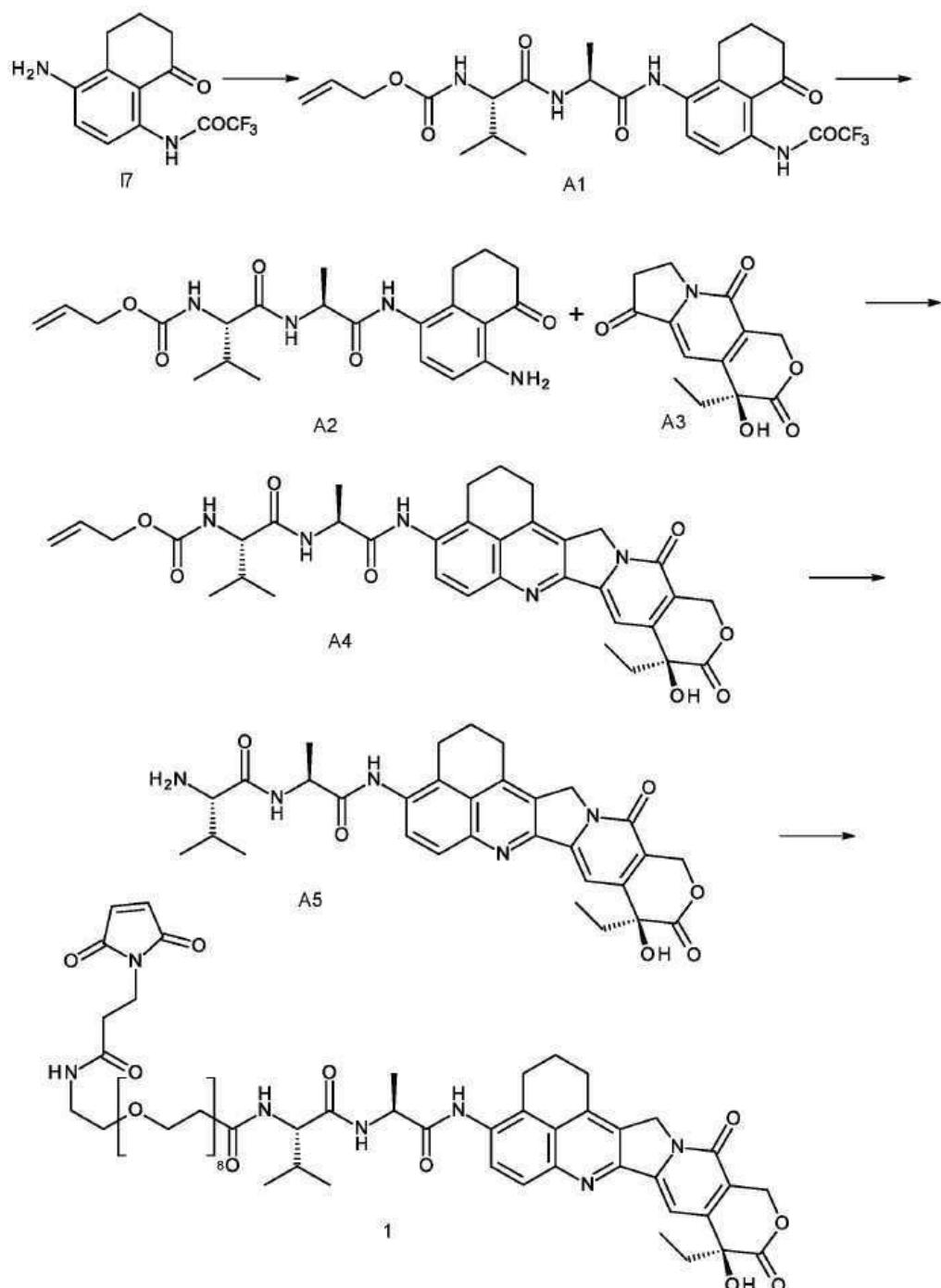
c) 5,8-디아미노테트랄린-1-온(I16)

[0548]

화합물 I21(1.35 g, 6.55 mmol)을 0°C에서 메탄올(20 mL), H₂O(1 mL), 및 포름산(1 mL)의 혼합물에 용해시켰다. 온도를 40°C 미만으로 유지되도록 하면서 아연(8.5 g, 130 mmol)을 천천히 첨가하였다. 포름산/H₂O(0.5 mL)를 약간 더 첨가하여 반응이 완료되도록 하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여과액을 EtOAc 및 CH₂Cl₂로 희석한 후 진공 처리하였다. 미정제물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(CHCl₃/EtOAc; 100에서 7:3, 이어서 CHCl₃/MeOH; 99:1에서 98:2)에 건조 로딩하여 순수한 생성물 I16(1.015 g, 5.760 mmol, 88.0% 수율)을 수득하였다. LCMS (방법 B): ES⁺ = 0.2분, m/z는 관찰되지 않음.

[0549]

실시예 1



[0550]

[0551]

a) 알릴 ((S)-3-메틸-1-옥소-1-(((S)-1-옥소-1-((5-옥소-4-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아미노)프로판-2-일)아미노)부탄-2-일)카바메이트(A1)

[0552]

DCC(6.54 g, 31.7 mmol) 및 HOPO(3.36 g, 30.2 mmol)를 25°C에서 CH₂Cl₂(300 mL) 중의 alloc-Val-Ala-OH(9.09 g, 31.7 mmol) 및 I7(7.85 g, 28.8 mmol)의 용액에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 밤새 교반되도록 하였다. 반응 중 형성된 백색 고체를 여과하고 차가운 CH₂Cl₂로 세척하였다. 여과액을 물(150 mL) 및 염수(150 mL)로 세척하였다. 유기층을 MgSO₄로 건조시키고, 여과하고, 증발시켰다. 미정제 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 (Hex/EtOAc, 60:40)로 정제하였다. 분리된 생성물 A1을 동시용리 DCU로 오염시켰다(21.1 g, 140% 수율). LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.81분, m/z 527.6 [M + H]⁺.

[0553]

b) 알릴((S)-1-(((S)-1-((4-아미노-5-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)

아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카바메이트(A2)

[0554] 보호된 아닐린 A1(18 g, 34.19 mmol)을 MeOH와 H₂O 10:1의 혼합물(165 mL)에 용해시키고 K₂CO₃를 첨가하였다(10 g, 72.36 mmol). 혼합물을 완료될 때까지 50°C에서 교반하였다. 혼합물을 거의 건조될 때까지 진공 처리하고 잔류물을 CH₂Cl₂에 용해시키고 H₂O 및 염수로 세척한 후, MgSO₄로 건조시키고, 여과하고 증발시켰다. 미정제 생성물을 실리카겔 크로마토그래피(CHCl₃/MeOH, 100%에서 7:3)로 정제하였다. 분리된 생성물 A2를 동시용리 불순물로 오염시켰다(10.71 g, 73% 수율). LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.46분, m/z 431.7 [M + H]⁺.

[0555] c) 알릴((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸부탄-2-일)카바메이트(A4)

[0556] 아닐린 A2(450 mg, 1.045 mmol), 락톤 A3(280 mg, 1.064 mmol), 및 피리디늄 p-톨루엔설포네이트(273 mg, 1.086 mmol)를 톨루엔(20 mL)에 용해시키고 혼합물을 130°C까지 가열하였다(고환류). 혼합물의 가용화를 돋기 위해 때때로 MeOH 몇 방울을 첨가하였다. 7시간 후, 미정제 반응물을 진공 건조시켰다. 미정제 생성물을 실리카겔 크로마토그래피(CHCl₃/MeOH, 100%에서 95:5)로 정제하여 생성물 A4(360 mg, 52.3% 수율)를 수득하였다. LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.51분, m/z 658.8 [M + H]⁺.

[0557] d) 알릴 (S)-2-아미노-N-((S)-1-(((S)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)-3-메틸부탄아미드(A5)

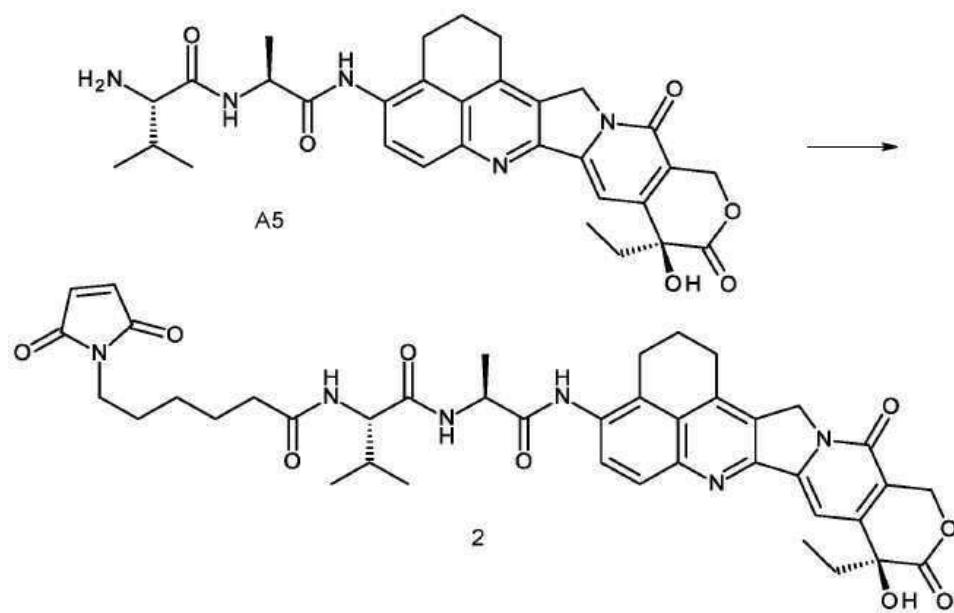
[0558] 과량의 피페리딘(642 μL)을 CH₂Cl₂(15 mL) 중의 A4(543 mg, 0.82 mmol) 및 PdP(Ph₃)₄(89 mg, 0.08 mmol) 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반되도록 하고, 이 시점에서 반응이 완료되었다(LC/MS로 모니터링함). 반응 혼합물을 CH₂Cl₂(25 mL)로 희석하고 유기상을 H₂O(25 mL) 및 염수(25 mL)로 세척하였다. 유기상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과하고, 과량의 용매를 감압하에 회전 증발로 제거하여 미정제 생성물 A5를 수득하고, 다음 단계에서 그대로 사용하였다. LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.15분, m/z 574.6 [M + H]⁺.

[0559] e) 1-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-N-((S)-1-(((S)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헵타코산-27-아미드(1)

[0560] 피리딘(83 μL, 1.03 mmol) 및 Ma1-dPEG₈-OTFP(767 mg, 1.03 mmol)를 아르곤 분위기하에서 건조 CH₂Cl₂(50 mL) 중의 미정제 A5(1.03 mmol로 추정)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 밤새 교반하고, 반응이 불완전하여 반응이 완료되도록 Ma1-dPEG₈-OTFP(0.5 당량)를 첨가하였다. 반응물을 CH₂Cl₂(25 mL)로 희석하고 유기상을 H₂O(2 x 50 mL) 및 염수로 세척한 후, MgSO₄로 건조시키고, 여과하고 과량의 용매를 감압하에 회전 증발로 제거하였다. 미정제물을 역상 HPLC(H₂O/CH₃CN +0.05% FA의 구배)로 정제하고 동결건조하여 1(1.189 g, 2단계에 걸쳐 31% 수율)을 수득하였다. LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.43분, m/z 1149.3 [M + H]⁺. LC/MS (방법 C): ES⁺ = 5.37분, m/z 1149.4 [M + H]⁺.

[0561]

실시예 2



[0562]

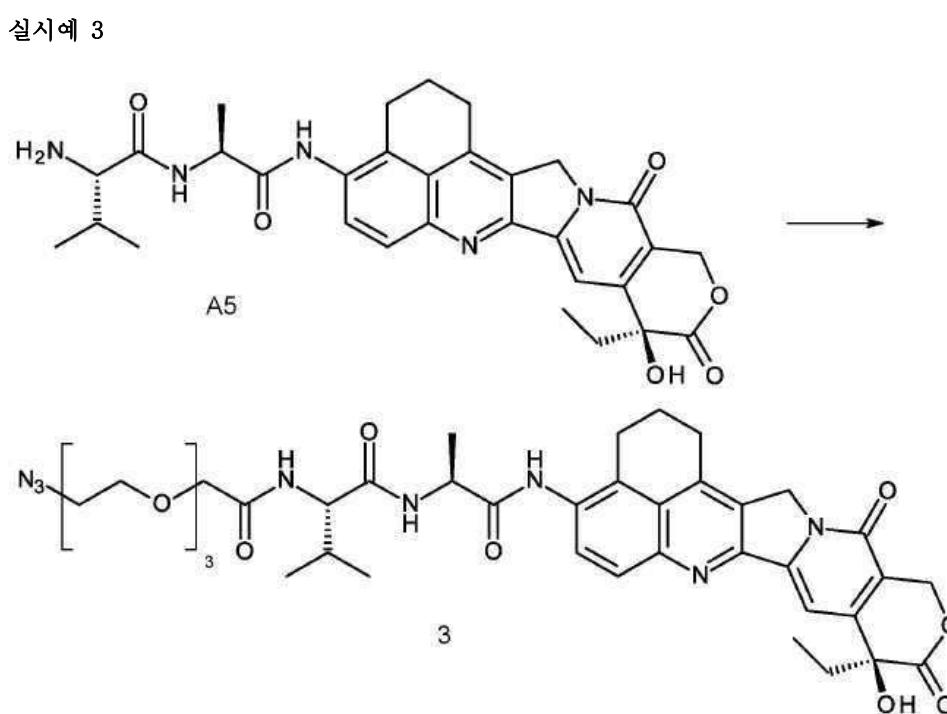
[0563]

6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)-N-((S)-1-(((S)-1-((S)-9-아이드로-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]파라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-1-아미노프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)헥산아미드(2)

[0564]

Mal-카프로산(56 mg, 0.26 mmol) 및 EDCI.HCl(51 mg, 0.26 mmol)을 아르곤 분위기 하에서 건조 CH₂Cl₂(20 mL) 중의 미정제 A5(0.26 mmol로 추정)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 밤새 교반하고, 반응이 불완전하여 0.5 당량의 Mal-카프로산 및 EDCI.HCl을 더 첨가하였다. 반응물을 CH₂Cl₂(25 mL)로 회석하고 유기상을 H₂O(2 x 50 mL) 및 염수로 세척한 후, MgSO₄로 건조시키고, 여과하고 과량의 용매를 감압하에 회전 증발로 제거하였다. 미정제물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(CHCl₃/MeOH 95:5)로 정제하여 2(31.6 mg, 2단계에 걸쳐 20% 수율)를 수득하였다.
LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.56분, m/z 767.8 [M + H]⁺. LC/MS (방법 C) 15분: ES⁺ = 6.05분, m/z 767.8 [M + H]⁺.

[0565]



[0566]

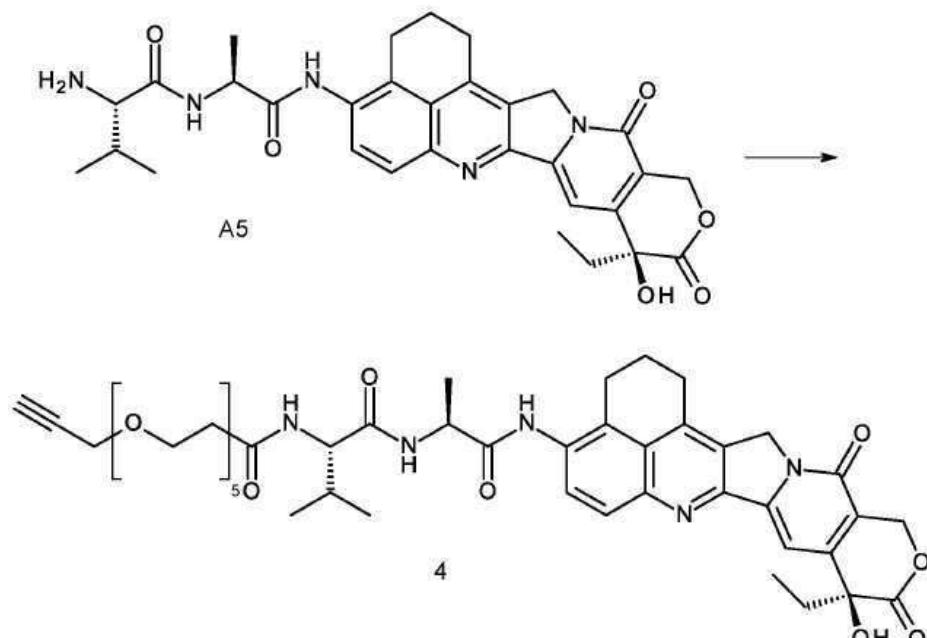
[0567]

(S)-2-(2-(2-(2-아지도아이디시)아이디시)아세트아미도)-N-((S)-1-(((S)-9-아이드로-9-하이드록시-10,13-디

옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]파라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)-3-메틸부탄아미드(3)

[0568] 아지도-dPEG₃-산(77.5 mg, 0.31 mmol) 및 EDCI.HCl(60 mg, 0.31 mmol)을 아르곤 분위기하에서 건조 CH₂Cl₂(20 mL) 중의 미정제 A5(0.31 mmol로 추정)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 밤새 교반하고, 반응이 불완전하여 0.5 당량의 아지도-dPEG₃-OH 및 EDCI.HCl을 더 첨가하였다. 반응물을 CH₂Cl₂(25 mL)로 희석하고 유기상을 H₂O(2 x 50 mL) 및 염수로 세척한 후, MgSO₄로 건조시키고, 여과하고 과량의 용매를 감압하에 회전 증발로 제거하였다. 미정제물을 분취 HPLC로 정제하고 분획을 동결건조하여 순수한 3(92.2 mg, 2단계에 걸쳐 24.7% 수율)을 수득하였다. LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.69분, m/z 789.9 [M + H]⁺. LC/MS (방법 C): ES⁺ = 6.68분, m/z 790.0 [M + H]⁺.

[0569] 실시예 4



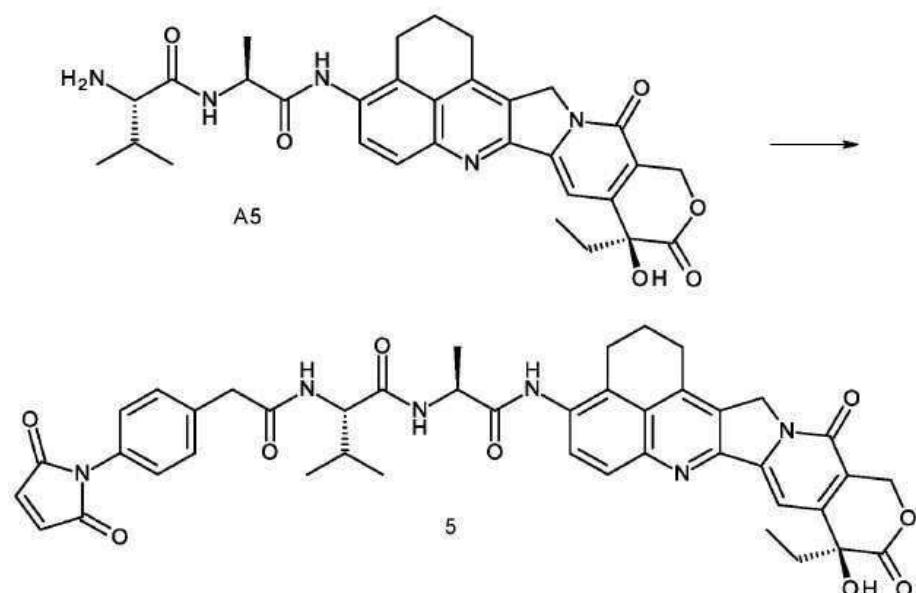
[0570]

[0571] N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-아틸-9-하이드록시)-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]파라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4,7,10,13,16-펜타옥사노나데크-18-인아미드(4)

[0572] 프로파길-dPEG₅-산(56 mg, 0.19 mmol) 및 EDCI.HCl(37 mg, 0.19 mmol)을 아르곤 분위기하에서 건조 CH₂Cl₂(10 mL) 중의 미정제 A5(0.19 mmol로 추정)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 밤새 교반하고, 반응이 불완전하여 0.5 당량의 프로파길-dPEG₅-OH 및 EDCI.HCl을 더 첨가하였다. 반응물을 CH₂Cl₂(25 mL)로 희석하고 유기상을 H₂O(2 x 50 mL) 및 염수로 세척한 후, MgSO₄로 건조시키고, 여과하고 과량의 용매를 감압하에 회전 증발로 제거하였다. 미정제물을 분취 HPLC로 정제하고 분획을 동결건조하여 순수한 4(22 mg, 2단계에 걸쳐 16.7% 수율)를 수득하였다. LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.54분, m/z 860.9 [M + H]⁺. LCMS (방법 C): ES⁺ = 5.57분, m/z 860.9 [M + H]⁺.

[0573]

실시예 5



[0574]

[0575]

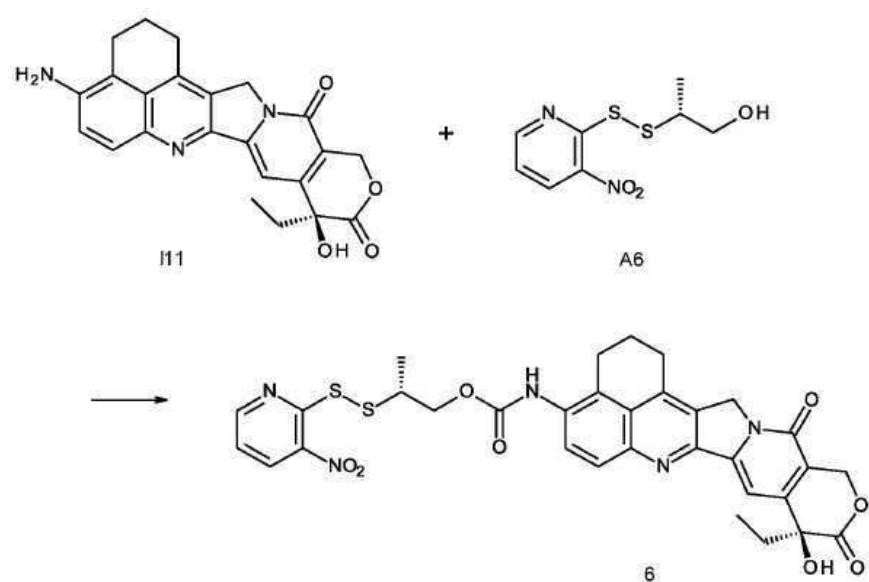
(*S*)-2-(2-(4-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1*H*-페롤-1-일)페닐)아세트아미도)-*N*-((*S*)-1-((*S*)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1*H*,12*H*-벤조[*de*]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-*b*]퀴놀린-4-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)-3-메틸부탄아미드(5)

[0576]

PM-아세트산-OSu(64 mg, 0.19 mmol)를 아르곤 분위기하에서 건조 CH₂Cl₂(10 mL) 중의 미정제 A5(0.19 mmol로 추정)의 용액에 첨가하였다. 반응이 진행되지 않아 DIPEA(51 μL, 0.28 mmol)를 첨가하였다. 반응이 완료될 때까지 교반하였다. 혼합물을 CH₂Cl₂(25 mL)로 회석하고 유기상을 H₂O(2 x 50 mL) 및 염수로 세척한 후, MgSO₄로 건조시키고, 여과하고 과량의 용매를 감압하에 회전 증발로 제거하였다. 미정제물을 분류 HPLC로 정제하고 분획을 동결건조하여 순수한 5(2.5 mg, 2단계에 걸쳐 1.6% 수율)를 수득하였다. LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.54분, m/z 787.7 [M + H]⁺. LC/MS (방법 C): ES⁺ = 5.61분, m/z 787.8 [M + H]⁺.

[0577]

실시예 6



[0578]

[0579]

(*R*)-2-((3-니트로페리딘-2-일)디설파닐)프로필((*S*)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1*H*,12*H*-벤조[*de*]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-*b*]퀴놀린-4-일)카바메이트(6)

[0580]

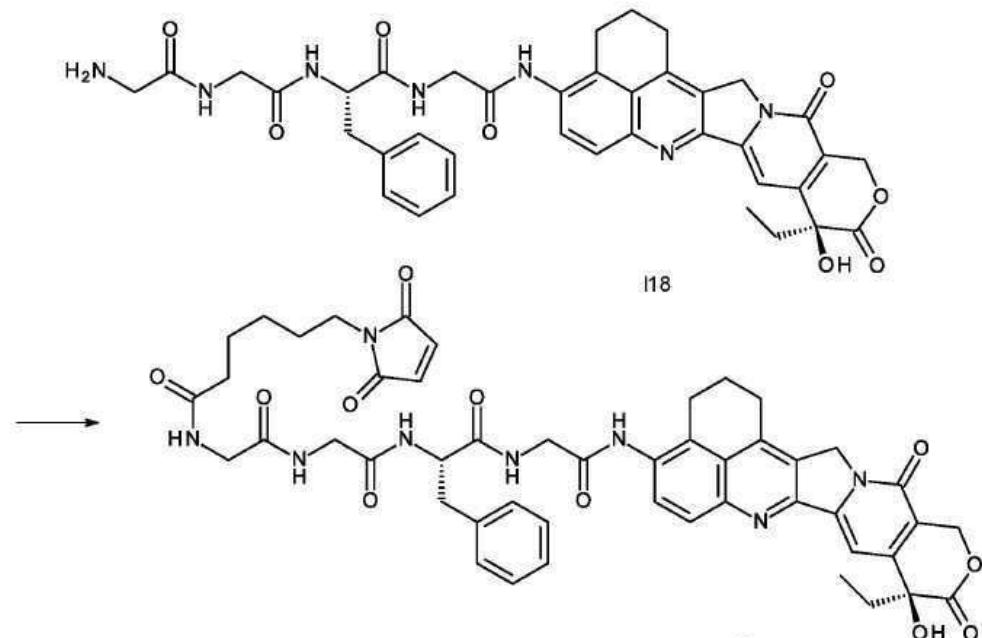
(i) (2*R*)-2-[(3-니트로-2-페리딜)디설파닐]프로판-1-올 A6(25 mg, 0.1015 mmol, 1.0 당량)을 디클로로메탄(1

mL)에 용해시켰다. 피리딘(8.5 μ L, 0.11 mmol, 1.0 당량)에 이어 트리포스겐(11 mg, 0.0370685 mmol, 0.33 당량)을 첨가하고 혼합물을 Ar 하에서 45분 동안 교반한 결과, LCMS(Et₂NH 펜칭)는 상응하는 카바메이트의 형성을 나타냈다.

[0581] (ii) (*S*)-4-아미노-9-에틸-9-하이드록시-1,2,3,9,12,15-헥사하이드로-10H,13H-벤조[*de*]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-10,13-디온(I11)(43 mg, 0.09026 mmol, 1.0 당량)을 디클로로메탄(2 mL), *N,N*-디이소프로필에틸아민(42 μ L, 0.241 mmol, 2.7 당량), 및 피리딘(25 μ L, 0.309 mmol, 3.4 당량)에 용해시켰다. 단계(i)의 반응 혼합물을 첨가하고 혼합물을 30분 동안 교반한 결과, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공 농축하고 isolera 크로마토그래피(CH_2Cl_2 중의 0~4% MeOH)로 정제하여 6(22 mg, 0.03256 mmol, 36% 수율, QC = 96.8%)을 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS (방법 B): RT = 1.86분, 676.6 [$\text{M}+\text{H}$]⁺.

[0582]

실시예 7



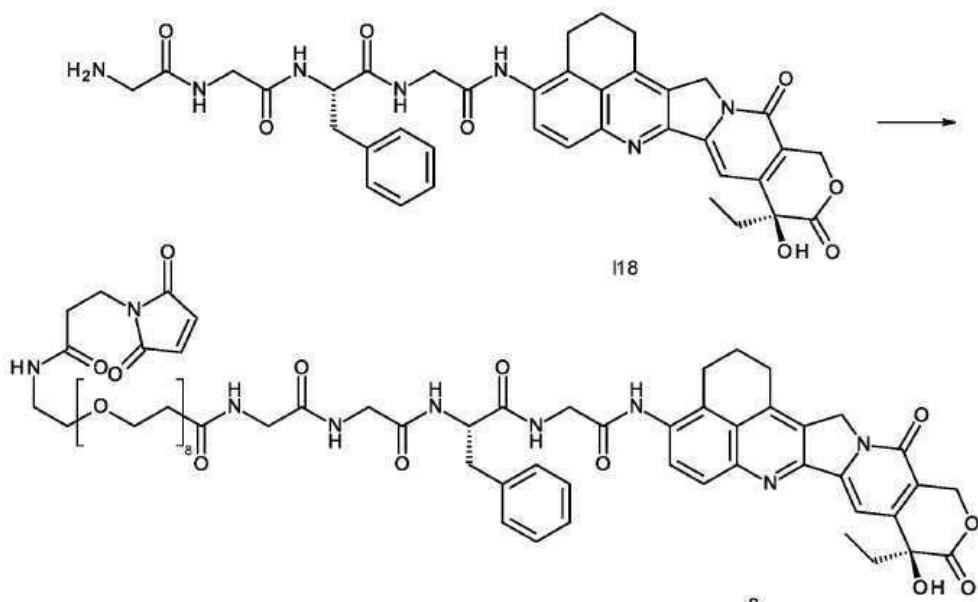
[0583]

[0584] 6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파롤-1-일)-N-(2-((2-(((S)-1-((2-(((S)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-2-옥소에틸)아미노)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-2-옥소에틸)아미노)-2-옥소에틸)헥산아미드(7)

[0585] 화합물 I18(259 mg, 0.3588 mmol)을 CH₂Cl₂(25 mL)에 용해시켰다. 출발 물질이 전혀 용해되지 않아 DMA(1 mL)를 첨가하였다. 개선이 관찰되지 않았기 때문에 DIPEA(68 μL, 0.390 mmol)를 첨가해서 모든 고체가 용해되었다. 말레이미드 카프로산(69 mg, 0.358 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 밤새 교반되도록 한 결과, LCMS 분석은 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 MeOH(2 mL)로 훈청하고 진공 건조시켰다. 미정제 생성물을 분취 HPLC로 정제한 이후에 동결건조하여 화합물 7을 황토색 고체(38.2 mg, 11% 수율)로서 수득하였다. 분석 데이터: LCMS 3분: ES⁺ = 1.47분, m/z 916.2 [M + H]⁺ LCMS 15분: ES⁺ = 5.46분, m/z 916.1 [M + H]⁺.

[0586]

실시예 8



[0587]

[0588]

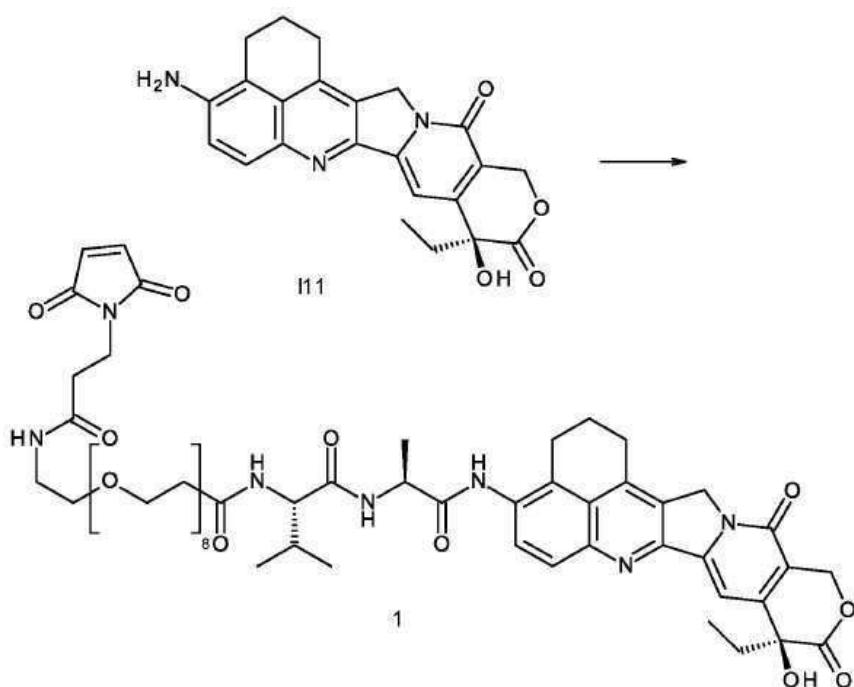
1-13-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-N-(2-((2-((S)-1-((2-(((S)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]페라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-2-옥소에틸)아미노)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-2-옥소에틸)아미노)-2-옥소에틸)-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헵타코산-27-아미드(8)

[0589]

화합물 I18(70 mg, 0.096 mmol)을 CH_2Cl_2 (5 mL)에 용해시켰다. 출발 물질이 전혀 용해되지 않아 DMA(0.5 mL)를 첨가하였다. 개선이 관찰되지 않았기 때문에 DIPEA(19 μL , 0.106 mmol)를 첨가해서 모든 고체가 용해되었다. Mal-dPEG₈-OH(63 mg, 0.106 mmol) 및 EDCI·HCl(19 mg, 0.099 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 밤새 교반되도록 한 결과, LCMS 분석은 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 MeOH(2 mL)로 퀘칭하고 진공 건조시켰다. 미정제 생성물을 분취 HPLC로 정제한 이후에 동결건조하여 8을 황토색 고체(30 mg, 24% 수율)로서 수득하였다. LCMS 3분: $\text{ES}^+ = 1.44\text{분}$, m/z 1297.6 [$\text{M} + \text{H}$]⁺

[0590]

실시예 9 - 1의 대체 합성



[0591]

[0592]

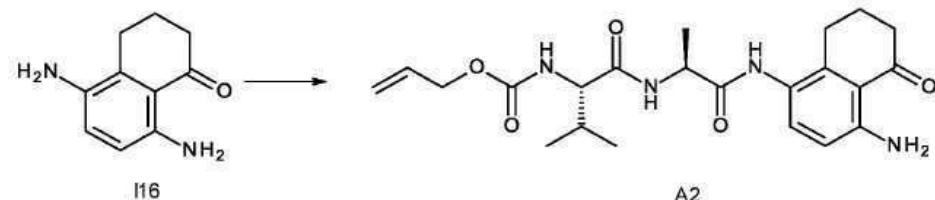
(S)-4-아미노-9-에틸-9-하이드록시-1,2,3,9,12,15-헥사하이드로-10*H*,13*H*-벤조[de]파라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-*b*]퀴놀린-10,13-디온 I11(371 mg, 0.779 mmol, 1.0 당량)을 디클로로메탄(30 mL)에 용해시켰다. *N,N*-디메틸아세트아미드(10 mL) 중의 *N,N*-디이소프로필에틸아민(69 μ L, 0.396 mmol, 0.51 당량), 및 (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[3-(2,5-디옥소페롤-1-일)프로파노일아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로판산(664 mg, 0.871 mmol, 1.1 당량)을 첨가한 후, EDCI.HCl(226 mg, 1.18 mmol, 1.5 당량)을 첨가하고 혼합물을 2시간 동안 교반한 결과, LCMS는 양호한 전환을 나타냈지만 반응은 멈춘 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 30°C로 가온하고 30분 동안 교반하였고, LCMS는 변화가 없음을 나타내어 CH₂Cl₂를 진공 제거하고 Et₂O를 생성된 DMA 용액에 첨가하였다. 침전된 오일을 수집하고 Et₂O를 진공 제거하고 침전 과정을 반복하였다. 합한 침전물을 HPLC(13분)에 걸쳐 A 중의 10~60% B)로 정제하여 1(200 mg, 0.174 mmol, 98% 순도, 22% 수율)을 동결건조 후 황색 잔류물로서 수득하였다. LC/MS (방법 A): 유지 시간 1.44분(ES+) *m/z* 1149 [M + H]⁺

[0593]

¹H NMR (600 MHz, 클로로포름-*d*) δ 8.81 (s, 1H), 7.83 (s, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.18 (dd, *J* = 18.7, 7.5 Hz, 2H), 6.69 (s, 2H), 6.43 (s, 1H), 5.68 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 5.27 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 5.03 (d, *J* = 18.4 Hz, 1H), 4.90 (d, *J* = 18.4 Hz, 1H), 4.75 (p, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.32 (dd, *J* = 7.4, 5.8 Hz, 1H), 4.05 (s, 1H), 3.83 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 3.78 ~ 3.68 (m, 3H), 3.68 ~ 3.57 (m, 31H), 3.53 (t, *J* = 5.1 Hz, 3H), 3.40 (q, *J* = 5.3 Hz, 2H), 3.06 ~ 2.91 (m, 3H), 2.84 (dt, *J* = 16.3, 6.2 Hz, 1H), 2.63 (ddd, *J* = 14.8, 8.5, 4.2 Hz, 1H), 2.57 ~ 2.44 (m, 4H), 2.30 (dq, *J* = 13.4, 6.7 Hz, 1H), 2.10 (p, *J* = 6.4 Hz, 3H), 1.91 (ddt, *J* = 16.8, 14.3, 7.2 Hz, 3H), 1.54 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.02 (dd, *J* = 15.5, 6.9 Hz, 10H).

[0594]

실시예 10 - A2의 대체 합성



[0595]

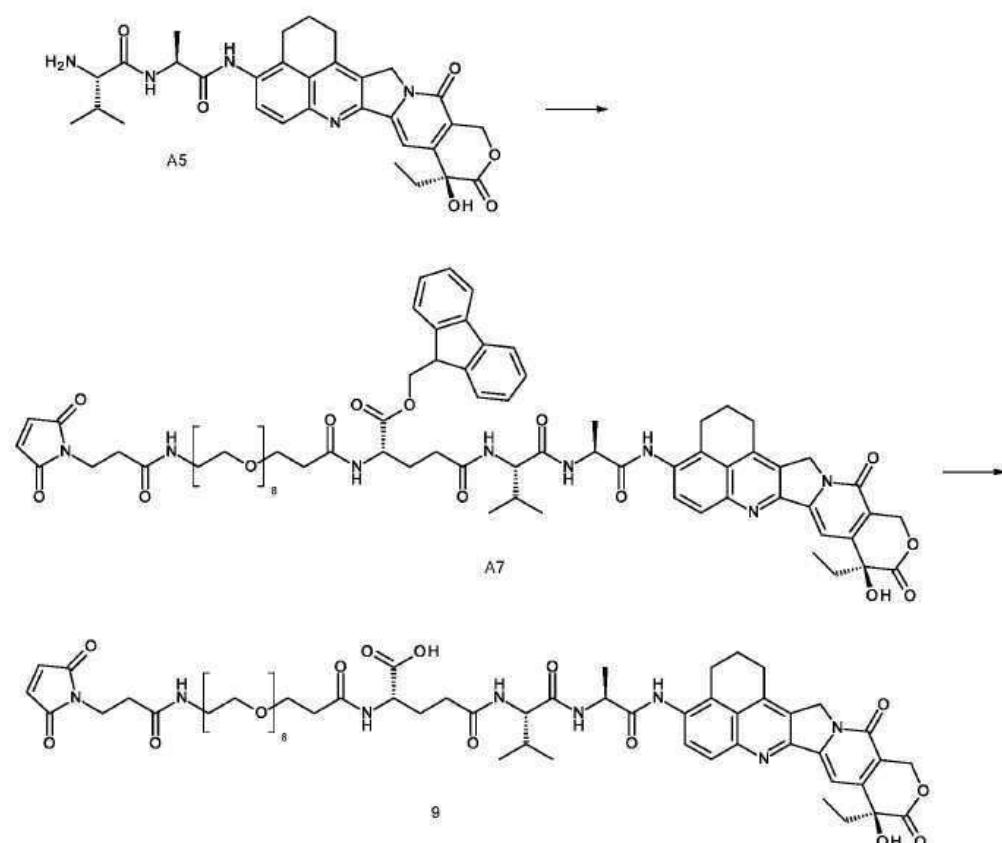
알릴 ((*S*)-1-(((*S*)-1-((4-아미노-5-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로나프탈렌-1-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카바메이트(A2)

[0596]

EDCI.HCl(7.71 g, 31.2 mmol)을 CH₂Cl₂(200 mL) 중의 alloc-Val-Ala-OH(8.49 g, 31.2 mmol)의 용액에 첨가하고, 15분 동안 또는 용해될 때까지 교반하였다. 이후에, I16(5 g, 28.3 mmol)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 반응이 완료될 때까지 교반되도록 하였다. 휘발물을 감압하에 제거하였다. 미정제 생성물을 Et₂O(50 mL)에 용해시키고 혼합물을 3분 동안 초음파 처리하였다. 고체를 여과하고 CH₂Cl₂(50 mL)에 다시 용해시키고, 3분 동안 초음파 처리하고 다시 여과하여 순수한 생성물 A2를 회색 고체(12.21 g, 79% 수율)로서 수득하였다. LC/MS (방법 B): ES⁺ = 1.47분, *m/z* 431.5 [M + H]⁺.

[0598]

실시예 11



[0599]

[0600]

a) (*9H-플루오レン-9-일*)메틸 *N*2-(1-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1*H*-페롤-1-일)-3-옥소-7,10,13,16,19,22,25,28-옥타옥사-4-아자헵트리아콘탄-31-오일)-*N*5-((*S*)-1-(((*S*)-1-((*S*)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1*H*,12*H*-벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부坦-2-일)-*L*-글루타미네이트(A7)

[0601]

EDCI.HCl(0.10 mmol, 1.2 당량)을 DCM(5 mL) 중의 A5(0.087 mmol, 1.0 당량) 및 Mal-PEG₈-Glu-OH(0.10 mmol, 1.2 당량)의 용액에 첨가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 중발 건조시키고 컬럼(8~12% MeOH/DCM)으로 정제하여 생성물을 백색 고체로 남겼다. 수율 = 80 mg(63%). LC/MS (방법 B) rt 1.66 분 *m/z* (1456.2) M+H.

[0602]

b) *N*2-(1-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1*H*-페롤-1-일)-3-옥소-7,10,13,16,19,22,25,28-옥타옥사-4-아자헵트리아콘탄-31-오일)-*N*5-((*S*)-1-((*S*)-1-((*S*)-9-에틸-9-하이드록시-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1*H*,12*H*-벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부坦-2-일)-*L*-글루타민(9)

[0603]

1-메틸페롤리딘(200 μ L)을 DMF(0.8 mL) 중의 A7(0.06 mmol)의 용액에 첨가하고 실온에서 10분 동안 교반하였다. 용매를 진공 제거하고 잔류물을 분취 HPLC(8.5분에 걸쳐서 30% MeCN/물 + 0.05% 포름산)로 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을 동결건조시켜 생성물을 미색 고체로서 수득하였다. 수율 = 23 mg(30%). LC/MS (방법 B) rt 1.43분 *m/z* (1278.4) M+H.

[0604]

실시예 12 - 접합

[0605]

Herceptin-C239i 항체

[0606]

Herceptin 항체는 239 및 240 위치 사이에 삼입된 시스테인을 갖도록 조작되었고, 문헌[Dimasi, N., et al., Molecular Pharmaceutics, 2017, 14, 1501-1516 (DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.6b00995)]에 기재된 방법에 따라 생성되었다.

[0607]

ConjA

- [0608] pH 7.4 인산완충식염수(PBS) 중의 DL-디티오토레이톨(DTT)의 50 mM 용액을, PBS 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)을 함유하는 환원 완충액 중의 Herceptin-C239i 항체(40mg, 267 나노몰)의 10 mL 용액에 4.0 mg/mL의 최종 항체 농도가 되도록 첨가하였다(150 몰당량/항체, 40 마이크로몰, 800 μL). 환원 혼합물을 실온에서 4시간 45분 동안(또는 완전한 환원이 UHPLC에 의해 관찰될 때까지) 오비탈 쉐이커에서 가볍게(60 rpm) 진탕하면서 반응하도록 하였다. 환원된 항체를 스픈 필터 원심분리를 통해, PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 재산화 완충액으로 완충액 교환하여 과량의 환원제를 모두 제거하였다. DMSO 중의 디하이드로아스코르브산(DHAA, 20 몰당량/항체, 5.33 마이크로몰, 106.7 μL)의 50 mM 용액을 첨가하고, 재산화 혼합물을 4 mg/mL의 항체 농도에서 가볍게(60 rpm) 진탕하면서 실온에서 16시간 동안 반응하도록 하였다(또는 더 많은 DHAA를 첨가하고, 사슬간 시스테인 이황화물을 개질하기 위한 시스테인 티올의 완전한 재산화가 UHPLC에 의해 관찰될 때까지 더 오래 반응하도록 하였음). 이어서, 재산화 혼합물을 멸균-여과하고, PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 접합 완충액에서 3.6 mg/mL의 최종 항체 농도가 되도록 회석하였다. 화합물 1을 상기 재산화된 항체 용액(20 mg, 133 나노몰) 5.0 mL에 10%(v/v) 최종 DMSO 농도가 되도록 DMSO 용액(10 몰당량/항체, 1.33 마이크로몰, 0.55 mL DMSO 중)으로서 첨가하였다. 용액을 실온에서 2시간 동안 혼합하고, 이어서 N-아세틸 시스테인(6.67 마이크로몰, 100 mM의 67 μL)을 첨가하여 접합을 훈청한 후, 15 mL Amicon Ultracell 30 kDa MWCO 스픈 필터를 사용하여 PBS에 스픈 여과하여 정제하고, 멸균-여과하고 분석하였다.
- [0609] 물 및 아세토니트릴의 구배로 용리하는 Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2.1 mm 컬럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 214 nm 및 330 nm에서의 ConJA의 환원 샘플에 대한 UHPLC 분석(화합물 1 특정)은 접합되지 않은 경쇄 및 접합되지 않은 중쇄와 화합물 1의 단일 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내며, 이는 항체 당 화합물 1 분자수 1.89의 약물/항체 비(DAR)와 일치한다.
- [0610] 200 mM 인산칼륨(pH 6.95), 250 mM 염화칼륨, 및 10% 이소프로판올(v/v)을 함유하는 멸균-여과된 SEC 완충액(0.3 mL/분)으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μm 4.6 x 150 mm 컬럼(4 μm 3.0 x 20 mm 가드 컬럼 포함)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 280 nm에서의 ConJA의 샘플에 대한 UHPLC 분석은 98%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석 결과, 최종 ConJA 농도는 6.5 mL에서 2.14 mg/mL이며, 수득된 ConJA 질량은 13.9 mg(70% 수율)이다.
- [0611] *ConjA**
- [0612] pH 7.4 인산완충식염수(PBS) 중의 트리스(2-카복시에틸)포스핀(TCEP)의 10 mM 용액을, PBS 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)을 함유하는 환원 완충액 중의 트라스투주맙 항체(6 mg, 40 나노몰)의 2.4 mL 용액에 2.5 mg/mL의 최종 항체 농도가 되도록 첨가하였다(10 몰당량/항체, 400 나노몰, 40 μL). 환원 혼합물을 실온에서 16시간 동안(또는 완전한 환원이 UHPLC에 의해 관찰될 때까지) 오비탈 쉐이커에서 가볍게(60 rpm) 진탕하면서 반응하도록 하였다. 환원된 항체 용액을 2.0 mg/mL의 최종 항체 농도에 대해 PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 접합 완충액으로 스픈 필터 원심분리를 통해 (모든 과잉 환원제를 제거하기 위해) 완충액 교환하였다. 화합물 1을 상기 환원된 항체 용액(3 mg, 20 나노몰) 1.35 mL에 10%(v/v) 최종 DMSO 농도가 되도록 DMSO 용액(20 몰당량/항체, 400 나노몰, 0.15 mL DMSO 중)으로서 첨가하였다. 용액을 실온에서 2시간 동안 혼합하고, 이어서 N-아세틸 시스테인(2 마이크로몰, 100 mM의 20 μL)을 첨가하여 접합을 훈청한 후, 15 mL Amicon Ultracell 30 kDa MWCO 스픈 필터를 사용하여 스픈 필터 원심분리를 통해 정제하고, 멸균-여과하고 분석하였다.
- [0613] 물 및 아세토니트릴의 구배로 용리하는 Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2.1 mm 컬럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 214 nm 및 330 nm에서의 ConjA*의 환원 샘플에 대한 UHPLC 분석(화합물 1 특정)은 접합되지 않은 경쇄, 화합물 1의 단일 분자에 부착된 경쇄, 접합되지 않은 중쇄, 및 최대 3개의 화합물 1 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내며, 이는 항체당 화합물 1 분자수 7.89의 약물/항체 비(DAR)와 일치한다.
- [0614] 200 mM 인산칼륨(pH 6.95), 250 mM 염화칼륨, 및 10% 이소프로판올(v/v)을 함유하는 멸균-여과된 SEC 완충액(0.3 mL/분)으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μm 4.6 x 150 mm 컬럼(4 μm 3.0 x 20 mm 가드 컬럼 포함)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 280 nm에서의 ConjA*의 샘플에 대한 UHPLC 분석은 98.5%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석 결과, 최종 ConjA* 농도는 1.25 mL에서 2.02 mg/mL이며, 수득된 ConjA* 질량은 2.5 mg(84% 수율)이다.
- [0615] *ConjB*
- [0616] pH 7.4 인산완충식염수(PBS) 중의 트리스(2-카복시에틸)포스핀(TCEP)의 10 mM 용액을, PBS(pH 7.4) 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)을 함유하는 환원 완충액 중의 트라스투주맙 항체(53.4 mg, 356 나노몰)의 11.1

mL 용액에 4.84 mg/mL의 최종 항체 농도가 되도록 첨가하였다(10 몰당량/항체, 3.56 마이크로몰, 356 μL). 환원 혼합물을 37°C에서 1시간 30분 동안(또는 완전한 환원이 UHPLC에 의해 관찰될 때까지) 오비탈 쉐이커에서 가볍게(60 rpm) 진탕하면서 반응하도록 하였다. 화합물 2를 상기 환원된 항체 용액(50.8 mg, 339 나노몰) 10.5 mL에 10%(v/v) 최종 DMSO 농도가 되도록 DMSO 용액(15 몰당량/항체, 5.1 마이크로몰, 1.2 mL DMSO 중)으로서 첨가하였다. 용액을 실온에서 1시간 30분 동안 혼합하고, 이어서 N-아세틸 시스테인(25.4 마이크로몰, 100 mM의 254 μL)을 첨가하여 접합을 훈칭한 후, PBS(2.6 mL/분)로 용리하는, Superdex 200 PG로 패킹된 GE Healthcare HiLoad™ 26/600 컬럼을 사용하여 AKTA™ Start FPLC에서 정제하였다. ConjB 단량체 피크에 해당하는 분획을 모으고, 농축하고, 15 mL Amicon Ultracell 50 kDa MWCO 스픈 필터를 사용하여 25 mM 히스티딘 205 mM 수크로스 pH 6.0 완충액으로 완충액 교환하고, 멸균-여과하고 분석하였다.

[0617] 물 및 아세토니트릴의 구배로 용리하는 Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2.1 mm 컬럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 214 nm 및 330 nm에서의 ConjB의 환원 샘플에 대한 UHPLC 분석(화합물 2 특징)은 접합되지 않은 경쇄, 화합물 2의 단일 분자에 부착된 경쇄, 접합되지 않은 중쇄, 및 최대 3개의 화합물 2 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내며, 이는 항체당 화합물 2 분자수 7.93의 약물/항체 비(DAR)와 일치한다.

[0618] 200 mM 인산칼륨(pH 6.95), 250 mM 염화칼륨, 및 10% 이소프로판올(v/v)을 함유하는 멸균-여과된 SEC 완충액 (0.3 mL/분)으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μm 4.6 x 150 mm 컬럼(4 μm 3.0 x 20 mm 가드 컬럼 포함)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 280 nm에서의 ConjB의 샘플에 대한 UHPLC 분석은 98.9%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석 결과, 최종 ConjB 농도는 16 mL에서 2.4 mg/mL이며, 수득된 ConjB 질량은 38.4 mg(84% 수율)이다.

[0619] ConjC

[0620] pH 7.4 인산완충식염수(PBS) 중의 트리스(2-카복시에틸)포스핀(TCEP)의 10 mM 용액을, PBS 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)을 함유하는 환원 완충액 중의 Herceptin-C239i 항체(42 mg, 280 나노몰)의 20 mL 용액에 2.1 mg/mL의 최종 항체 농도가 되도록 첨가하였다(40 몰당량/항체, 11.2 마이크로몰, 1.12 mL). 환원 혼합물을 실온에서 16시간 동안(또는 완전한 환원이 UHPLC에 의해 관찰될 때까지) 오비탈 쉐이커에서 가볍게(60 rpm) 진탕하면서 반응하도록 하였다. 환원된 항체를 스픈 필터 원심분리를 통해, PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 재산화 완충액으로 완충액 교환하여 과량의 환원제를 모두 제거하였다. DMSO 중의 디하이드로아스코르브산(DHAA, 30 몰당량/항체, 7.0 마이크로몰, 141 μL)의 50 mM 용액을 상기 환원 완충액 교환 항체(35.2 mg, 235 나노몰) 22 mL에 첨가하고, 재산화 혼합물을 1.6 mg/mL의 항체 농도에서 가볍게(60 rpm) 진탕하면서 실온에서 2시간 30분 동안 반응하도록 하였다(또는 더 많은 DHAA를 첨가하고, 사슬간 시스테인 이황화물을 개질하기 위한 시스테인 티올의 완전한 재산화가 UHPLC에 의해 관찰될 때까지 더 오래 반응하도록 하였음). 이어서, 재산화 혼합물을 멸균-여과하였다. 10%(v/v) 최종 DMSO 농도 및 10%(v/v) 1 M 중탄산나트륨에 대해 1 M 중탄산나트륨 1.22 mL로 pH 조정된 상기 재산화된 항체 용액(17.6 mg, 117 나노몰) 11.0 mL에 화합물 6을 DMSO 용액(20 몰당량/항체, 2.3 마이크로몰, 1.36 mL DMSO 중)으로서 첨가하였다. 용액을 가볍게 진탕하면서 실온에서 2시간 동안 반응하도록 하였다. 이어서, N-아세틸 시스테인(12 마이크로몰, 100 mM의 117 μL)을 첨가하여 접합을 훈칭한 후, 정제하고, 15 mL Amicon Ultracell 50 kDa MWCO 스픈 필터를 사용하여 25 mM 히스티딘 205 mM 수크로스 pH 6.0 완충액으로 완충액 교환하고, 멸균-여과하고 분석하였다.

[0621] 25 mM 인산나트륨, 1.5 M 황산암모늄 pH 7.4 완충액, 및 25 mM 인산나트륨 pH 7.4 완충액 중의 20% 아세토니트릴(v/v)의 구배로 용리하는 Sepax Proteomix HIC Butyl-NP5 4.6 x 35 mm 5 μm 컬럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 214 nm 및 330 nm에서의 ConjC의 온전한 샘플에 대한 UHPLC 분석(화합물 6 특징)은 화합물 6의 1개 또는 2개의 분자에 부착된 비접합 및 접합 항체를 나타내며, 이는 항체당 화합물 6 분자수 1.42의 약물/항체 비(DAR)와 일치한다.

[0622] 200 mM 인산칼륨(pH 6.95), 250 mM 염화칼륨, 및 10% 이소프로판올(v/v)을 함유하는 멸균-여과된 SEC 완충액 (0.3 mL/분)으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μm 4.6 x 150 mm 컬럼(4 μm 3.0 x 20 mm 가드 컬럼 포함)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 280 nm에서의 ConjC의 샘플에 대한 UHPLC 분석은 98%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석 결과, 최종 ConjC 농도는 10.1 mL에서 1.06 mg/mL이며, 수득된 ConjC 질량은 10.7 mg(61% 수율)이다.

[0623] 실시예 13 - 시험관내 분석

[0624] 고체 시험 물질을 DMSO에 용해시켜 2 mM 모액으로 하고, 이로부터 8개의 연속 희석액을 DMSO에서 1:10 비로 제

조하여 사용시까지 -20°C에서 보관하였다.

[0625] 부착 NCI-N87 세포를 D-PBS로 세정하고 트립신-EDTA로 탈착한 후, 자동화 세포 계수기(LUNA-II™)를 사용하여 트립판 블루 배제 분석에 의해 이중으로 세포 밀도 및 생존도를 측정하였다. 세포 혼탁액을 성장 배지(Glutamax + 10%(v/v) HyClone™ 우태혈청이 포함된 RPMI 1640)에서 1×10^5 개 세포/ml로 희석하고 볼텍싱(vortex)한 후, 멸균 3 mL 폴리프로필렌 플레이트에 웰당 2 mL로 분배시켰다. 이후에, 탄두 희석액을 적절한 웰에 10 μ l/웰로 분배하고, 반복 피펫팅하여 혼합하였다. 대조군 웰의 경우, 10 μ l의 DMSO를 2 mL 세포 혼탁액에 분배하고 완전히 혼합하였다. 다음으로, 각각의 샘플 100 μ l를 멸균된 평평한 96-웰マイ크로플레이트의 2개의 복제 웰에 분주(aliquote)하고, 37°C의 CO₂-가스가 있는(5%) 인큐베이터에서 인큐베이션하였다. 인큐베이션 기간(7일)의 종료시, CellTiter 96™ Aqueous One(MTS) 분석으로 세포 생존도를 측정하고, 이를 20 μ l/웰로 분배하고 37°C, 5% CO₂에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 이후에, 490 nm에서의 흡광도를 사용하여 EnVision™ Multi-label Plate Reader(Perkin Elmer)에서 플레이트를 판독하였다.

[0626] DMSO 단독으로 처리된 2개의 대조군 웰에서의 평균 흡광도(100%)와 비교하여, 각각의 샘플에 대한 2개의 복제 웰의 평균 흡광도로부터 세포 생존 백분율을 계산하였다. GraphPad Prism 소프트웨어(San Diego, CA)의 비선형 곡선 피트 알고리즘을 사용하여 가변 기울기를 갖는 S자형 용량-반응 곡선으로 각각의 데이터 세트를 피팅하여 IC₅₀을 결정하였다.

[0627] 이 보고서의 모든 실험은 3개의 독립적인 실험으로 수행되고 테스트되었다. 데이터는 3개의 독립적인 반복실험의 평균으로 기록하였다.

	IC ₅₀ (nM)
I11	0.3854

[0628] 실시예 14 - ADC 시험관내 분석

[0630] 하위-융합성 (80~90% 밀집도) T75 플라스크로부터의 세포의 농도와 생존도를 트립판 블루 염색으로 측정하고, LUNA-II™ 자동화 세포 계수기를 사용하여 계수한다. 세포를 2×10^5 /ml로 희석하고, 96-웰 평평한 바닥 플레이트에 분배하였다(50 μ l/웰).

[0631] 필터-멸균된 ADC를 세포 배양 배지에 희석하여 항체-약물 접합체(ADC, 20 μ g/ml)의 모액(1 ml)을 제조하였다. 100 μ l를 900 μ l의 세포 배양 배지에 연속으로 옮겨 24-웰 플레이트에서 ADC 모액의 10배 희석액(8x) 세트를 제조하였다. 이전에 시딩된 50 μ l 세포 혼탁액을 함유하는 96-웰 플레이트의 4개의 복제 웰에 ADC 희석액을 분배하였다(50 μ l/웰). 대조군 웰은 50 μ l 세포 배양 배지를 수용했다. 세포와 ADC를 함유하는 96-웰 플레이트를 CO₂-가스가 있는 인큐베이터에서 노출 시간 동안 37°C로 인큐베이션했다.

[0632] 인큐베이션 기간의 종료시, MTS 분석으로 세포 생존도를 측정했다. MTS(Promega)를 각 웰에 분배하고(20 μ l/웰), CO₂-가스가 있는 인큐베이터에서 37°C로 4시간 동안 인큐베이션했다. 웰 흡광도를 490 nm에서 측정하였다. 4개의 대조군 미처리 웰에서의 평균 흡광도(100%)와 비교하여 4개의 ADC-처리 웰의 평균 흡광도로부터 세포 생존 백분율을 계산하였다. 비선형 곡선 피트 알고리즘(가변 기울기를 갖는 S자형 용량-반응 곡선)을 사용하는 GraphPad Prism을 사용하여 용량-반응 데이터로부터 IC₅₀을 결정하였다.

[0633] ADC 인큐베이션 시간은 MDA-MB-468 및 NCI-N87에 대해 각각 4일 및 7일이었다. MDA-MB-468 및 NCI-N87은 Glutamax + 10%(v/v) HyClone™ 우태혈청이 포함된 RPMI 1640에서 배양하였다. NCI-N87은 Her2 발현 세포주이고 MDA-MB-468은 Her2 음성 세포주이다.

EC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	NCI-N87	MDA-MB-468
ConjA	0.1176	>10
ConjA*	0.01634	>10
ConjB	0.01857	>10
ConjC	0.1452	>10

[0634]

실시예 15 - ADC 생체내 분석

[0635]

방법 및 물질

[0636]

마우스

[0637]

암컷 중증 복합성 면역결핍 마우스(Fox Chase SCID, CB17/Icr-*Prkdcscid*/IcoIcrCr1, Charles River)는 연구 1일차에 체중(BW) 범위가 14.5 내지 20.0 g인 8주령이었다. 동물들에게 18.0% 미정제 단백질, 5.0% 미정제 지방, 및 5.0% 미정제 섬유로 구성된 NIH 31 Modified and Irradiated Lab Diet™ 및 물(역삼투, 1 ppm Cl)을 임의로 공급했다. 20~22°C 및 40~60% 습도에서 12-시간 광 주기로 조사된 고정 마이크로아이솔레이터의 Enrich-o'cobs™ Laboratory Animal Bedding 상에 마우스를 수용했다. CR Discovery Services는 구속, 사육, 수술 절차, 사료, 및 체액 조절, 수의학 관리와 관련하여 실험실 동물의 관리 및 사용에 대한 지침의 권고 사항을 명확하게 준수한다. CR Discovery Services의 동물 관리 및 사용 프로그램은 실험실 동물의 관리 및 사용에 대한 허용된 표준을 준수하는 것을 보장하는 AAALAC(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International)의 인증을 받았다.

[0638]

종양 세포 배양

[0639]

10% 우태혈청, 2 mM 글루타민, 100 단위/mL 폐니실린, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 스트렙토마이신 세페이트, 및 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 젠타마이신으로 보충된 RPMI-1640 배지에서 인간 NCI-N87 위 암종 림프종 세포를 배양하였다. 5% CO_2 및 95% 공기의 분위기 중의 37°C의 가습 인큐베이터 내 조직 배양 플라스크에서 세포를 성장시켰다.

[0640]

생체내 이식 및 종양 성장

[0641]

이식에 사용된 NCI-N87 세포를 대수증식기 단계에서 수확하고, 50% Matrigel™ (BD Biosciences)을 함유하는 인산완충식염수(PBS)에 재현탁하였다. 종양 이식 당일, 각 시험 마우스의 우측 옆구리에 1×10^7 개 세포(0.1 mL 세포 혼탁액)를 피하 주사하고, 평균 크기가 100 내지 150 mm^3 의 목표 범위에 근접함에 따라 종양 성장을 모니터링하였다. 연구 1일차로 지정된 12일 후, 마우스를 계산된 종양 크기에 따라 14개 그룹으로 분류하였다(7개는 효능 평가를 위해 지정되었고(n=10), 7개는 샘플 수집을 위해 지정되었으며(n=3), 각각은 108 내지 172 mm^3 범위의 개별 종양 부피와 120~124 mm^3 의 그룹 평균 종양 부피를 가진 동물들로 구성됨). 캘리퍼를 사용하여 종양을 2차원으로 측정하였고, 하기 식을 사용하여 부피를 계산하였다:

[0642]

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

[0643]

상기 식에서, w 와 l 은 각각 종양의 폭과 길이이다(mm 단위). 종양 중량은 1 mg이 1 mm^3 의 종양 부피에 해당한다고 가정하여 추정될 수 있다.

[0644]

치료제

[0645]

ConjA*는 4°C에서 빛으로부터 보호된 상태로 보관되었다. 멸균 PBS를 사용하여 비허를 대조군에 투여하였다.

[0646]

치료

[0647]

연구 1일차에, 확립된 NCI-N87 이종이식편을 보유하는 암컷 SCID 마우스를 그룹으로 분류하였다. 모액의 분취량을 PBS를 사용하여 적절한 농도로 희석하였다. 1일차에 1회 꼬리 정맥 주사를 통해 제제를 i.v. 투여하였다. 투

약 부피는 체중 20 g당 0.2 mL(10 mL/kg)이었고, 각 개별 동물의 체중에 따라 조정하였다.

[0649] 그룹 1 마우스에게 PBS 비허클을 투여하고, 대조군으로 사용하였다. 그룹 2에게 4 mg/kg의 ConjA*를 투여하였다.

[0650] 캘리퍼를 사용하여 주 2회 종양을 측정하였고, 종양이 800 mm³의 종점 부피에 도달하는 때 또는 연구 종료일(68 일차) 중 먼저 도래하는 시점에 각 동물을 안락사시켰다. 종양 부피 종점으로 연구를 종료한 동물은 종양 진행(TP)에 대해 안락사된 것으로 안락사 날짜와 함께 기록하였다.

퇴행 반응에 대한 기준

[0652] 치료 효능은 연구 기간 동안 관찰된 퇴행 반응의 발생률 및 정도로부터 결정될 수 있다. 치료는 동물에서 종양의 부분 퇴행(PR) 또는 완전 퇴행(CR)을 야기시킬 수 있다 PR 반응에서, 종양 부피는 연구 과정 동안 3회 연속 측정에 대하여 1일차 부피의 50% 이하였고, 이러한 3회 측정 중 하나 이상에 대하여 13.5 mm³ 이상이었다. CR 반응에서, 종양 부피는 연구 과정 동안 3회 연속 측정에 대하여 13.5 mm³ 미만이었다. PR 또는 CR 이벤트에 대하여 연구 기간 동안 한 번만 동물에게 점수를 매기고, PR 및 CR 두 기준 모두 충족된 경우에만 CR로 점수를 매겼다. 연구 종료시 CR 반응이 있는 동물은 추가적으로 무종양 생존자(TFS)로서 분류하였다. 퇴행 반응에 대하여 동물을 모니터링하였다.

독성

[0654] 1~5일차에는 동물의 체중을 매일 측정한 이후, 연구가 완료될 때까지 주 2회 측정하였다. 마우스를 대상으로 모든 이상, 치료 관련(TR) 부작용의 명백한 징후에 대하여 빈번하게 관찰하였고, 관찰시 임상 징후를 기록하였다. 프로토콜에 따라 개별 체중을 모니터링하고, 1회 측정에서 30%를 초과하거나 3회 연속 측정에서 25%를 초과하는 체중 감소를 보이는 동물은 TR 사망으로 안락사시켰다. CR Discovery Services 프로토콜에 따라 그룹 평균 체중 감소를 또한 모니터링하였다. 허용 가능한 독성은 연구 기간 중 20% 미만의 그룹 평균 체중(BW) 감소 및 10% 이하의 TR 사망으로 정의하였다.

결과

[0656] 도 1은 아래 범례에 따른 평균 종양 성장 플롯을 나타낸다.

비허클	●
ConjA*	◆

[0657]

[0658] 그룹 1 마우스에게 PBS 비허클을 투여하고(i.v. qd x 1), 대조군으로 사용하였다. 그룹 1의 TTE 중앙값은 24.8 일이었다. 모든 대조군 종양은 800 mm³ 종점에 도달하였다.

[0659] 그룹 2에게 4 mg/kg의 ConjA*를 투여하였다(i.v. qd x 1). 연구 종료시 추가로 TFS로 분류된 10마리의 마우스 모두에서 CR이 관찰되었다.

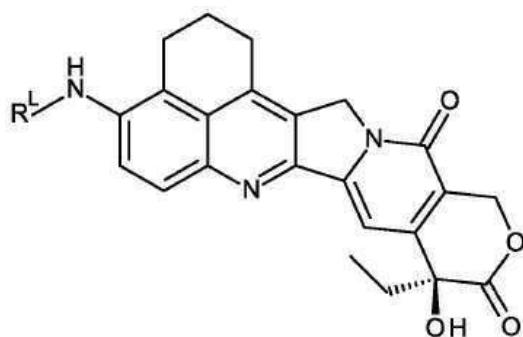
[0660] 치료 그룹에서 체중 최하점은 연구 50일차에 -9.5%였다. TR 사망은 관찰되지 않았다.

발명의 명시

[0662] 1. 화학식 I의 화합물:

[0663]

[화학식 I]



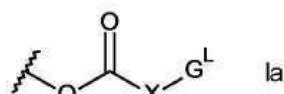
[0664]

[0665]

및 이의 염 및 용매화물(상기 식에서, R^L 은 하기 ia 및 ib로부터 선택되는, 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고,

[0666]

(ia):

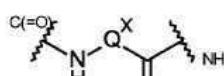


[0667]

여기서,

[0669]

Q는

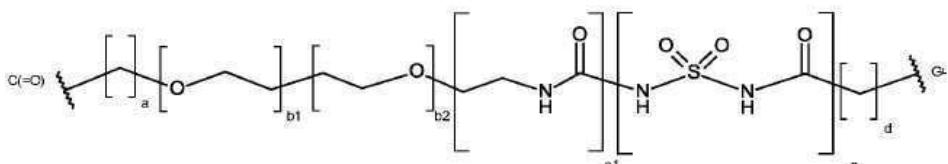


[0670]

이고, 이때 Q^X 는 Q가 아미노산 잔기, 디펩티드 잔기, 트리펩티드 잔기, 또는 테트라펩티드 잔기인 것이고;

[0671]

X는



[0672]

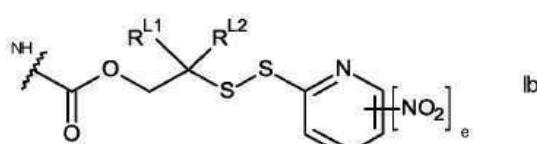
이고, 이때 $a = 0$ 내지 5, $b1 = 0$ 내지 16이고, $b2 = 0$ 내지 16이고, $c1 = 0$ 또는 1이고, $c2 = 0$ 또는 1이고, $d = 0$ 내지 5이고, 적어도 $b1$ 또는 $b2 = 0$ 이고, 적어도 $c1$ 또는 $c2 = 0$ 이고;

[0673]

 G^L 은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고;

[0674]

(ib):



[0675]

여기서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 독립적으로 H 및 메틸로부터 선택되거나, 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌 또는 시클로부틸렌 기를 형성하고;

[0677]

e는 0 또는 1임).

[0678]

2. 제1 명시에 있어서, R^L 은 화학식 Ia의 R^L 인, 화합물.

[0679]

3. 제2 명시에 있어서, Q는 아미노산 잔기인, 화합물.

- [0680] 4. 제3 명시에 있어서, Q는 Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, 및 Trp로부터 선택되는, 화합물.
- [0681] 5. 제2 명시에 있어서, Q는 디펩티드 잔기인, 화합물.
- [0682] 6. 제5 명시에 있어서, Q는
- [0683] $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Lys}-\text{C}=\text{O}$,
- [0684] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Ala}-\text{C}=\text{O}$,
- [0685] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Lys}-\text{C}=\text{O}$,
- [0686] $\text{NH}-\text{Ala}-\text{Lys}-\text{C}=\text{O}$,
- [0687] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,
- [0688] $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,
- [0689] $\text{NH}-\text{Leu}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,
- [0690] $\text{NH}-\text{Ile}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,
- [0691] $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Arg}-\text{C}=\text{O}$,
- [0692] $\text{NH}-\text{Trp}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$, 및
- [0693] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Val}-\text{C}=\text{O}$ 로부터 선택되는, 화합물.
- [0694] 7. 제6 명시에 있어서, Q는 $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Lys}-\text{C}=\text{O}$, $\text{NH}-\text{Val}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$, 및 $\text{NH}-\text{Val}-\text{Ala}-\text{C}=\text{O}$ 로부터 선택되는, 화합물.
- [0695] 8. 제2 명시에 있어서, Q는 트리펩티드 잔기인, 화합물.
- [0696] 9. 제8 명시에 있어서, Q는
- [0697] $\text{NH}-\text{Glu}-\text{Val}-\text{Ala}-\text{C}=\text{O}$,
- [0698] $\text{NH}-\text{Glu}-\text{Val}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,
- [0699] $\text{NH}-\alpha\text{Glu}-\text{Val}-\text{Ala}-\text{C}=\text{O}$, 및
- [0700] $\text{NH}-\alpha\text{Glu}-\text{Val}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$ 로부터 선택되는, 화합물.
- [0701] 10. 제2 명시에 있어서, Q는 태트라펩티드 잔기인, 화합물.
- [0702] 11. 제10 명시에 있어서, Q는
- [0703] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Gly}-\text{C}=\text{O}$ 및
- [0704] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Gly}-\text{C}=\text{O}$ 로부터 선택되는, 화합물.
- [0705] 12. 제11 명시에 있어서, Q는
- [0706] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Gly}-\text{C}=\text{O}$ 인, 화합물.
- [0707] 13. 제2 내지 제12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 0 내지 3인, 화합물.
- [0708] 14. 제13 명시에 있어서, a는 0 또는 1인, 화합물.
- [0709] 15. 제13 명시에 있어서, a는 0인, 화합물.
- [0710] 16. 제2 내지 제15 명시 중 어느 한 명시에 있어서, b1은 0 내지 8인, 화합물.

- [0711] 17. 제16 명시에 있어서, b1은 0인, 화합물.
- [0712] 18. 제16 명시에 있어서, b1은 2인, 화합물.
- [0713] 19. 제16 명시에 있어서, b1은 3인, 화합물.
- [0714] 20. 제16 명시에 있어서, b1은 4인, 화합물.
- [0715] 21. 제16 명시에 있어서, b1은 5인, 화합물.
- [0716] 22. 제16 명시에 있어서, b1은 8인, 화합물.
- [0717] 23. 제2 내지 제15 명시, 및 제17 명시 중 어느 한 명시에 있어서, b2는 0 내지 8인, 화합물.
- [0718] 24. 제23 명시에 있어서, b2는 0인, 화합물.
- [0719] 25. 제23 명시에 있어서, b2는 2인, 화합물.
- [0720] 26. 제23 명시에 있어서, b2는 3인, 화합물.
- [0721] 27. 제23 명시에 있어서, b2는 4인, 화합물.
- [0722] 28. 제23 명시에 있어서, b2는 5인, 화합물.
- [0723] 29. 제23 명시에 있어서, b2는 8인, 화합물.
- [0724] 30. 제2 내지 제29 명시 중 어느 한 명시에 있어서, c1은 0인, 화합물.
- [0725] 31. 제2 내지 제29 명시 중 어느 한 명시에 있어서, c1은 1인, 화합물.
- [0726] 32. 제2 내지 제31 명시 중 어느 한 명시에 있어서, c2는 0인, 화합물.
- [0727] 33. 제2 내지 제30 명시 중 어느 한 명시에 있어서, c2는 1인, 화합물.
- [0728] 34. 제2 내지 제33 명시 중 어느 한 명시에 있어서, d는 0 내지 3인, 화합물.
- [0729] 35. 제34 명시에 있어서, d는 1 또는 2인, 화합물.
- [0730] 36. 제34 명시에 있어서, d는 2인, 화합물.
- [0731] 37. 제2 내지 제33 명시 중 어느 한 명시에 있어서, d는 5인, 화합물.
- [0732] 38. 제2 내지 제12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 0이고, b1은 0이고, c1은 0이고, c2는 0이고, d는 2이고, b2는 0 내지 8인, 화합물.
- [0733] 39. 제38 명시에 있어서, b2는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8인, 화합물.
- [0734] 40. 제2 내지 제12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 1이고, b2는 0이고, c1은 0이고, c2는 0이고, d는 0이고, b1은 0 내지 8인, 화합물.
- [0735] 41. 제40 명시에 있어서, b1은 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8인, 화합물.
- [0736] 42. 제2 내지 제12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 0이고, b1은 0이고, c1은 0이고, c2는 0이고, d는 1이고, b2는 0 내지 8인, 화합물.
- [0737] 43. 제42 명시에 있어서, b2는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8인, 화합물.
- [0738] 44. 제2 내지 제12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, b1은 0이고, b2는 0이고, c1은 0이고, c2는 0이고, a와 d 중 하나는 0이고, a와 d 중 다른 하나는 1 내지 5인, 화합물.
- [0739] 45. 제44 명시에 있어서, a와 d 중 다른 하나는 1 또는 5인, 화합물.
- [0740] 46. 제2 내지 제12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 1이고, b2는 0이고, c1은 0이고, c2는 1이고, d는 2이고, b1은 0 내지 8인, 화합물.
- [0741] 47. 제46 명시에 있어서, b1은 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8인, 화합물.

[0742] 48. 제2 내지 제47 명시 중 어느 한 명시에 있어서, G^L 은 하기로부터 선택되는, 화합물.

(G^{L1-1})		(G^{L6})	
(G^{L1-2})		(G^{L7})	
(G^{L2})		(G^{L8})	
(G^{L3-1})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G^{L9})	
(G^{L3-2})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G^{L10})	
(G^{L3-3})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G^{L11})	
(G^{L3-4})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G^{L12})	

[0743]

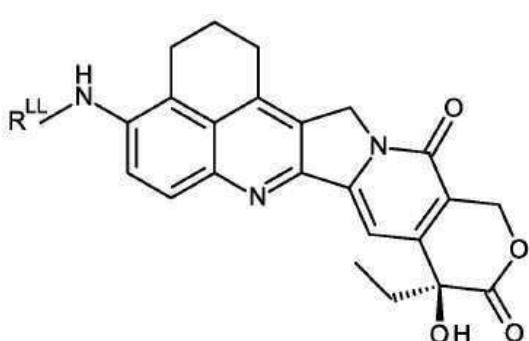
(G^{L4})	 (Hal = I, Br, Cl)	(G^{L13})	
(G^{L5})		(G^{L14})	

[0744]

[0745] (상기 표에서, Ar은 C₅₋₆ 아릴렌기를 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타냄)

[0746] 49. 제48 명시에 있어서, G^L 은 G^{L1-1} 및 G^{L1-2} 로부터 선택되는, 화합물.

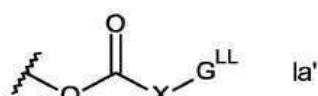
- [0747] 50. 제48 명시에 있어서, G^L 은 G^{L1-1} 인, 화합물.
- [0748] 51. 제1 명시에 있어서, R^L 은 화학식 Ib의 R^L 인, 화합물.
- [0749] 52. 제51 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 모두 H인, 화합물.
- [0750] 53. 제51 명시에 있어서, R^{L1} 은 H이고, R^{L2} 는 메틸인, 화합물.
- [0751] 54. 제51 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 모두 메틸인, 화합물.
- [0752] 55. 제51 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌기를 형성하는, 화합물.
- [0753] 56. 제51 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로부틸렌기를 형성하는, 화합물.
- [0754] 57. 제51 내지 제56 명시 중 어느 한 명시에 있어서, e는 0인, 화합물.
- [0755] 58. 제51 내지 제56 명시 중 어느 한 명시에 있어서, e는 1인, 화합물.
- [0756] 59. 화학식 IV의 접합체:
- [0757] [화학식 IV]
- [0758] $L - (D^L)_p$
- [0759] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물(상기 식에서, L은 리간드 단위(즉, 표적화제)이고, D^L 은 화학식 III의 약물 링커 단위이고,
- [0760] [화학식 III]



[0761]

[0762] R^{LL} 은 하기 ia' 및 ib'로부터 선택되는, 상기 리간드 단위에 연결된 링커이고,

[0763] (ia'):

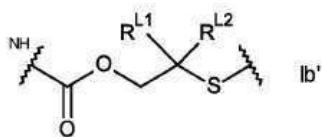


[0764]

[0765] 여기서, Q 및 X는 제1 내지 제47 명시 중 어느 한 명시에 정의된 바와 같고, G^{LL} 은 리간드 단위에 연결된 링커이고;

[0766]

(ib'):



[0767]

[0768] 여기서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 제1 명시 및 제52 내지 56 명시 중 어느 한 명시에 정의된 바와 같고;

[0769] p는 1 내지 20의 정수임).

[0770] 60. 제59 명시에 있어서, G^{LL} 은 하기로부터 선택되는, 접합체.

(G^{LL1-1})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL10})	
(G^{LL4})		(G^{LL11})	
(G^{LL5})		(G^{LL12})	
(G^{LL6})		(G^{LL13})	
(G^{LL7})		(G^{LL14})	

[0771]

[0772]

[0773] (상기 표에서, Ar은 C₅₋₆ 아릴렌기를 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타냄)

[0774] 61. 제60 명시에 있어서, G^{LL}은 G^{LL1-1} 및 G^{LL1-2}로부터 선택되는, 접합체.

[0775] 62. 제61 명시에 있어서, G^{LL}은 G^{LL1-1}인, 접합체.

[0776] 63. 제59 내지 제62 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 리간드 단위는 세포 결합제인, 접합체.

[0777] 64. 제59 내지 제62 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 리간드 단위는 항체 또는 이의 활성 단편인, 접합체.

[0778] 65. 제64 명시에 있어서, 항체 또는 항체 단편은 종양 관련 항원에 대한 항체 또는 항체 단편인, 접합체.

[0779] 66. 제65 명시에 있어서, 항체 또는 항체 단편은 (1) 내지 (89)에서 선택된 하나 이상의 종양 관련 항원 또는 세포 표면 수용체에 결합하는 항체인, 접합체:

[0780] (1) BMPR1B;

[0781] (2) E16;

[0782] (3) STEAP1;

[0783] (4) 0772P;

[0784] (5) MPF;

[0785] (6) Napi3b;

[0786] (7) Sema 5b;

[0787] (8) PSCA hlg;

[0788] (9) ETBR;

[0789] (10) MSG783;

[0790] (11) STEAP2;

[0791] (12) TrpM4;

[0792] (13) CRIPTO;

[0793] (14) CD21;

[0794] (15) CD79b;

[0795] (16) FcRH2;

[0796] (17) HER2;

[0797] (18) NCA;

[0798] (19) MDP;

[0799] (20) IL20R-알파;

[0800] (21) 브레비]칸;

[0801] (22) EphB2R;

[0802] (23) ASLG659;

[0803] (24) PSCA;

[0804] (25) GEDA;

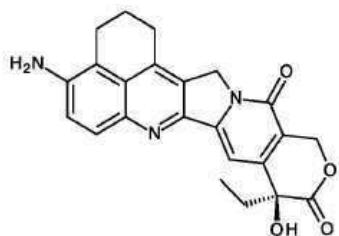
[0805] (26) BAFF-R;

[0806] (27) CD22;

- [0807] (28) CD79a;
- [0808] (29) CXCR5;
- [0809] (30) HLA-DOB;
- [0810] (31) P2X5;
- [0811] (32) CD72;
- [0812] (33) LY64;
- [0813] (34) FcRH1;
- [0814] (35) IRTA2;
- [0815] (36) TENB2;
- [0816] (37) PSMA – FOLH1;
- [0817] (38) SST;
- [0818] (38.1) SSTR2;
- [0819] (38.2) SSTR5;
- [0820] (38.3) SSTR1;
- [0821] (38.4)SSTR3;
- [0822] (38.5) SSTR4;
- [0823] (39) ITGAV;
- [0824] (40) ITGB6;
- [0825] (41) CEACAM5;
- [0826] (42) MET;
- [0827] (43) MUC1;
- [0828] (44) CA9;
- [0829] (45) EGFRvIII;
- [0830] (46) CD33;
- [0831] (47) CD19;
- [0832] (48) IL2RA;
- [0833] (49) AXL;
- [0834] (50) CD30 – TNFRSF8;
- [0835] (51) BCMA – TNFRSF17;
- [0836] (52) CT Ags – CTA;
- [0837] (53) CD174 (루이스 Y) – FUT3;
- [0838] (54) CLEC14A;
- [0839] (55) GRP78 – HSPA5;
- [0840] (56) CD70;
- [0841] (57) 줄기 세포 특이적 항원;
- [0842] (58) ASG-5;

- [0843] (59) ENPP3;
- [0844] (60) PRR4;
- [0845] (61) GCC - GUCY2C;
- [0846] (62) Liv-1 - SLC39A6;
- [0847] (63) 5T4;
- [0848] (64) CD56 - NCMA1;
- [0849] (65) CanAg;
- [0850] (66) FOLR1;
- [0851] (67) GPNMB;
- [0852] (68) TIM-1 - HAVCR1;
- [0853] (69) RG-1/전립선 종양 표적 민딘 - 민딘/RG-1;
- [0854] (70) B7-H4 - VTCN1;
- [0855] (71) PTK7;
- [0856] (72) CD37;
- [0857] (73) CD138 - SDC1;
- [0858] (74) CD74;
- [0859] (75) 클라우딘 - CL;
- [0860] (76) EGFR;
- [0861] (77) Her3;
- [0862] (78) RON - MST1R;
- [0863] (79) EPHA2;
- [0864] (80) CD20 - MS4A1;
- [0865] (81) 테나신 C - TNC;
- [0866] (82) FAP;
- [0867] (83) DKK-1;
- [0868] (84) CD52;
- [0869] (85) CS1 - SLAMF7;
- [0870] (86) 엔도글린 - ENG;
- [0871] (87) 아넥신 A1 - ANXA1;
- [0872] (88) V-CAM (CD106) - VCAM1;
- [0873] (89) ASCT2 (SLC1A5).
- [0874] 67. 제64 내지 제66 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 항체 또는 항체 단편은 시스테인 조작된 항체인, 접합체].
- [0875] 68. 제64 내지 제67 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 항체(Ab)에 대한 약물(D)의 약물 로딩(p)은 1 내지 약 10의 정수인, 접합체.
- [0876] 69. 제68 명시에 있어서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10인, 접합체.

- [0877] 70. 제64 내지 제69 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체의 혼합물로서, 항체-약물 접합체의 혼합물에서 항체당 평균 약물 로딩이 약 1 내지 약 10인, 접합체의 혼합물.
- [0878] 71. 치료에 사용하기 위한, 제59 내지 제70 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물.
- [0879] 72. 제59 내지 제70 명시 중 어느 한 명시의 접합체 또는 혼합물 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체, 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물.
- [0880] 73. 제59 내지 제70 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물, 또는 제72 명시에 따른 약학적 조성물에 있어서, 대상체에서의 증식성 질환의 치료에 사용하기 위한 접합체, 혼합물, 또는 약학적 조성물.
- [0881] 74. 제73 명시에 있어서, 질환은 암인, 접합체, 혼합물, 또는 약학적 조성물.
- [0882] 75. 의학적 치료 방법에 있어서, 제59 내지 제70 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물, 또는 제72 명시에 따른 약학적 조성물의 용도.
- [0883] 76. 제72 명시의 약학적 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 의학적 치료 방법.
- [0884] 77. 제76 명시에 있어서, 의학적 치료 방법은 암을 치료하기 위한 것인, 방법.
- [0885] 78. 제77 명시에 있어서, 환자에게 접합체와 조합된 화학요법제를 투여하는, 방법.
- [0886] 79. 증식성 질환의 치료를 위한 의약의 제조 방법에 있어서, 제59 내지 제70 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물의 용도.
- [0887] 80. 제59 내지 제70 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물, 또는 제72 명시에 따른 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 증식성 질환이 있는 포유동물을 치료하는 방법.
- [0888] 81. 단일 거울상이성체인 또는 거울상이성체가 풍부한 형태인 화합물 A:



[0889]

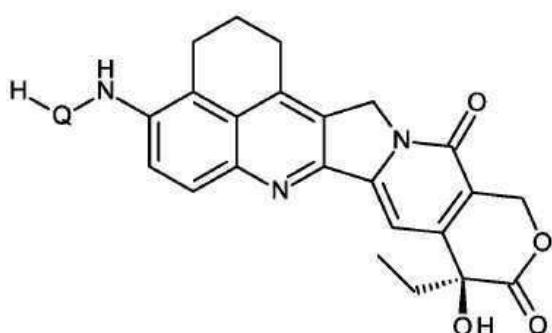
A

[0890]

82. 화학식 VI의 화합물:

[0891]

[화학식 VI]



[0892]

(Q는 제1, 제3, 및 제12 명시 중 어느 하나에서와 같음).

[0893]

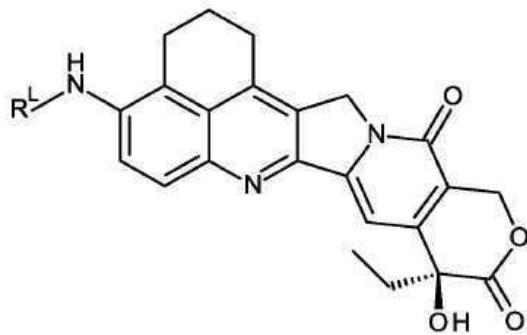
제1 우선 출원(P1)의 발명의 명시

[0894]

P1-1. 화학식 I의 화합물:

[0896]

[화학식 I]



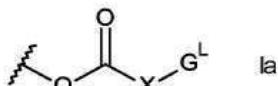
[0897]

[0898]

및 이의 염 및 용매화물(상기 식에서, R^L 은 하기 ia 및 ib로부터 선택되는, 세포 결합제에 연결하기 위한 링커이고,

[0899]

(ia):

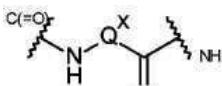


[0900]

여기서,

[0902]

Q는

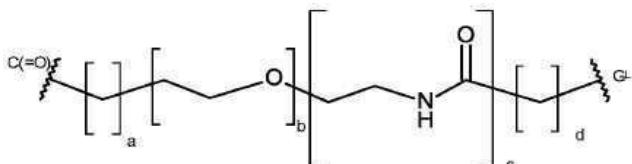


[0903]

이고, 이때 Q^X 는 Q가 아미노산 잔기, 디펩티드 잔기, 또는 트리펩티드 잔기인 것이고;

[0904]

X는



[0905]

이고, 이때 $a = 0$ 내지 5이고, $b = 0$ 내지 16이고, c

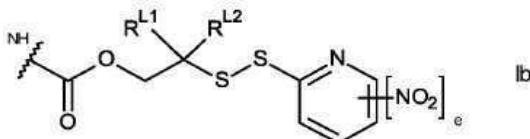
$= 0$ 또는 1이고, $d = 0$ 내지 5이고;

[0906]

G^L 은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고;

[0907]

(ib):



[0908]

여기서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 독립적으로 H 및 메틸로부터 선택되거나, 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌 또는 시클로부틸렌 기를 형성하고;

[0910]

e는 0 또는 1임).

[0911]

P1-2. P1-1 명시에 있어서, R^L 은 화학식 Ia의 R^L 인, 화합물.

[0912]

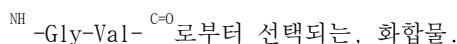
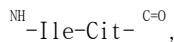
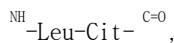
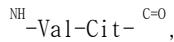
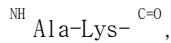
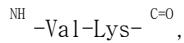
P1-3. P1-2 명시에 있어서, Q는 아미노산 잔기인, 화합물.

[0913]

P1-4. P1-3 명시에 있어서, Q는 Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, 및 Trp로부터 선택되는, 화합물.

[0914] P1-5. P1-2 명시에 있어서, Q는 디펩티드 잔기인, 화합물.

[0915] P1-6. P1-5 명시에 있어서, Q는



[0927] P1-7. P1-6 명시에 있어서, Q는 $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Lys}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$, $\text{NH}-\text{Val}-\text{Cit}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$, 및 $\text{NH}-\text{Val}-\text{Ala}-\overset{\text{C=O}}{\text{C}}$ 로부터 선택되는, 접합체.

[0928] P1-8. P1-2 명시에 있어서, Q는 트리펩티드 잔기인, 화합물.

[0929] P1-9. P1-2 내지 P1-8 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 0 내지 3인, 화합물.

[0930] P1-10. P1-9 명시에 있어서, a는 0 또는 1인, 화합물.

[0931] P1-11. P1-9 명시에 있어서, a는 0인, 화합물.

[0932] P1-12. P1-2 내지 P1-11 명시 중 어느 한 명시에 있어서, b는 0 내지 8인, 화합물.

[0933] P1-13. P1-12 명시에 있어서, b는 0인, 화합물.

[0934] P1-14. P1-12 명시에 있어서, b는 4인, 화합물.

[0935] P1-15. P1-12 명시에 있어서, b는 8인, 화합물.

[0936] P1-16. P1-2 내지 P1-15 명시 중 어느 한 명시에 있어서, c는 0인, 화합물.

[0937] P1-17. P1-2 내지 P1-15 명시 중 어느 한 명시에 있어서, c는 1인, 화합물.

[0938] P1-18. P1-2 내지 P1-17 명시 중 어느 한 명시에 있어서, d는 0 내지 3인, 화합물.

[0939] P1-19. P1-18 명시에 있어서, d는 1 또는 2인, 화합물.

[0940] P1-20. P1-19 명시에 있어서, d는 2인, 화합물.

[0941] P1-21. P1-2 내지 P1-8 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 0이고, c는 1이고, d는 2이고, b는 0, 4, 또는 8인, 화합물.

[0942] P1-22. P1-2 내지 P1-21 명시 중 어느 한 명시에 있어서, G^L은 하기로부터 선택되는, 화합물.

(G ^{L1-1})		(G ^{L6})	
(G ^{L1-2})		(G ^{L7})	
(G ^{L2})		(G ^{L8})	
(G ^{L3-1})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G ^{L9})	
(G ^{L3-2})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G ^{L10})	
(G ^{L3-3})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G ^{L11})	
(G ^{L3-4})	 (NO ₂ 기는 선택적임)	(G ^{L12})	

[0943]

(G ^{L4})	 (Hal = I, Br, Cl)	(G ^{L13})	
(G ^{L5})		(G ^{L14})	

[0944]

[0945] (상기 표에서, Ar은 C₅₋₆ 아릴렌기를 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타냄)

[0946] P1-23. P1-22 명시에 있어서, G^L은 G^{L1-1} 및 G^{L1-2}로부터 선택되는, 화합물.

[0947] P1-24. P1-22 명시에 있어서, G^L 은 G^{L1-1} 인, 화합물.

[0948] P1-25. P1-1 명시에 있어서, R^L 은 화학식 I_b의 R^L 인, 화합물.

[0949] P1-26. P1-25 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 모두 H인, 화합물.

[0950] P1-27. P1-25 명시에 있어서, R^{L1} 은 H이고, R^{L2} 는 메틸인, 화합물.

[0951] P1-28. P1-25 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 모두 메틸인, 화합물.

[0952] P1-29. P1-25 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌기를 형성하는, 화합물.

[0953] P1-30. P1-25 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로부틸렌기를 형성하는, 화합물.

[0954] P1-31. P1-25 내지 P1-30 명시 중 어느 한 명시에 있어서, e는 0인, 화합물.

[0955] P1-32. P1-25 내지 P1-30 명시 중 어느 한 명시에 있어서, e는 1인, 화합물.

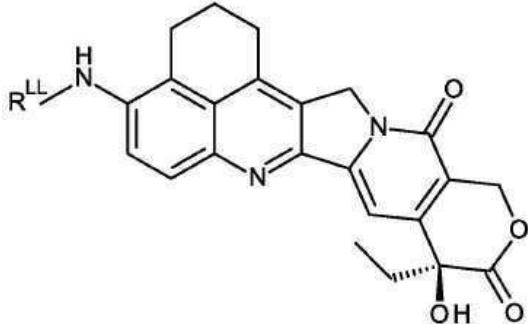
[0956] P1-33. 화학식 IV의 접합체:

[0957] [화학식 IV]

[0958] $L - (D^L)_p$

[0959] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물(상기 식에서, L은 리간드 단위(즉, 표적화제)이고, D^L 은 화학식 III의 약물 링커 단위이고,

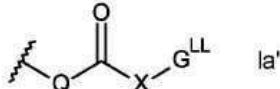
[0960] [화학식 III]



[0961]

[0962] R^{L1} 은 하기 ia' 및 ib'로부터 선택되는, 상기 리간드 단위에 연결된 링커이고,

[0963] (ia'):

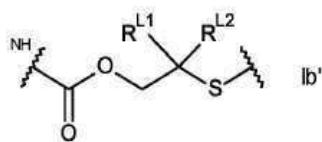


[0964]

[0965] 여기서, Q 및 X는 P1-1 내지 P1-21 명시 중 어느 한 명시에 정의된 바와 같고, G^L 은 리간드 단위에 연결된 링커이고;

[0966]

(ib'):



[0967]

[0968] 여기서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 P1-1 명시 및 P1-25 내지 P1-30 명시 중 어느 한 명시에 정의된 바와 같고;

[0969] p는 1 내지 20의 정수임).

[0970] P1-34. P1-33 명시에 있어서, G^{LL} 은 하기로부터 선택되는, 접합체.

(G^{LL1-1})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL10})	
(G^{LL4})		(G^{LL11})	
(G^{LL5})		(G^{LL12})	
(G^{LL6})		(G^{LL13})	
(G^{LL7})		(G^{LL14})	

[0971]

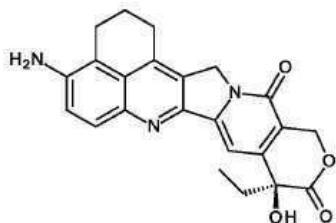
[0972]

- [0973] (상기 표에서, Ar은 C₅₋₆ 아릴렌기를 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타냄)
- [0974] P1-35. P1-34 명시에 있어서, G^{LL}은 G^{LL1-1} 및 G^{LL1-2}로부터 선택되는, 접합체.
- [0975] P1-36. P1-35 명시에 있어서, G^{LL}은 G^{LL1-1}인, 접합체.
- [0976] P1-37. P1-33 내지 P1-36 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 세포 결합체는 항체 또는 이의 활성 단편인, 접합체.
- [0977] P1-38. P1-37 명시에 있어서, 항체 또는 항체 단편은 종양 관련 항원에 대한 항체 또는 항체 단편인, 접합체.
- [0978] P1-39. P1-38 명시에 있어서, 항체 또는 항체 단편은 (1) 내지 (88)에서 선택된 하나 이상의 종양 관련 항원 또는 세포 표면 수용체에 결합하는 항체인, 접합체:
- [0979] (1) BMPR1B;
 - [0980] (2) E16;
 - [0981] (3) STEAP1;
 - [0982] (4) 0772P;
 - [0983] (5) MPF;
 - [0984] (6) Napi3b;
 - [0985] (7) Sema 5b;
 - [0986] (8) PSCA hlg;
 - [0987] (9) ETBR;
 - [0988] (10) MSG783;
 - [0989] (11) STEAP2;
 - [0990] (12) TrpM4;
 - [0991] (13) CRIPTO;
 - [0992] (14) CD21;
 - [0993] (15) CD79b;
 - [0994] (16) FcRH2;
 - [0995] (17) HER2;
 - [0996] (18) NCA;
 - [0997] (19) MDP;
 - [0998] (20) IL20R-알파;
 - [0999] (21) 브레비칸;
 - [1000] (22) EphB2R;
 - [1001] (23) ASLG659;
 - [1002] (24) PSCA;
 - [1003] (25) GEDA;
 - [1004] (26) BAFF-R;
 - [1005] (27) CD22;

- [1006] (28) CD79a;
- [1007] (29) CXCR5;
- [1008] (30) HLA-DOB;
- [1009] (31) P2X5;
- [1010] (32) CD72;
- [1011] (33) LY64;
- [1012] (34) FcRH1;
- [1013] (35) IRTA2;
- [1014] (36) TENB2;
- [1015] (37) PSMA – FOLH1;
- [1016] (38) SST;
- [1017] (38.1) SSTR2;
- [1018] (38.2) SSTR5;
- [1019] (38.3) SSTR1;
- [1020] (38.4)SSTR3;
- [1021] (38.5) SSTR4;
- [1022] (39) ITGAV;
- [1023] (40) ITGB6;
- [1024] (41) CEACAM5;
- [1025] (42) MET;
- [1026] (43) MUC1;
- [1027] (44) CA9;
- [1028] (45) EGFRvIII;
- [1029] (46) CD33;
- [1030] (47) CD19;
- [1031] (48) IL2RA;
- [1032] (49) AXL;
- [1033] (50) CD30 – TNFRSF8;
- [1034] (51) BCMA – TNFRSF17;
- [1035] (52) CT Ags – CTA;
- [1036] (53) CD174 (루이스 Y) – FUT3;
- [1037] (54) CLEC14A;
- [1038] (55) GRP78 – HSPA5;
- [1039] (56) CD70;
- [1040] (57) 줄기 세포 특이적 항원;
- [1041] (58) ASG-5;

- [1042] (59) ENPP3;
- [1043] (60) PRR4;
- [1044] (61) GCC - GUCY2C;
- [1045] (62) Liv-1 - SLC39A6;
- [1046] (63) 5T4;
- [1047] (64) CD56 - NCMA1;
- [1048] (65) CanAg;
- [1049] (66) FOLR1;
- [1050] (67) GPNMB;
- [1051] (68) TIM-1 - HAVCR1;
- [1052] (69) RG-1/전립선 종양 표적 민딘 - 민딘/RG-1;
- [1053] (70) B7-H4 - VTCN1;
- [1054] (71) PTK7;
- [1055] (72) CD37;
- [1056] (73) CD138 - SDC1;
- [1057] (74) CD74;
- [1058] (75) 클라우딘 - CL;
- [1059] (76) EGFR;
- [1060] (77) Her3;
- [1061] (78) RON - MST1R;
- [1062] (79) EPHA2;
- [1063] (80) CD20 - MS4A1;
- [1064] (81) 테나신 C - TNC;
- [1065] (82) FAP;
- [1066] (83) DKK-1;
- [1067] (84) CD52;
- [1068] (85) CS1 - SLAMF7;
- [1069] (86) 엔도글린 - ENG;
- [1070] (87) 아넥신 A1 - ANXA1;
- [1071] (88) V-CAM (CD106) - VCAM1;
- [1072] (89) ASCT2 (SLC1A5).
- [1073] P1-40. P1-37 내지 P1-39 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 항체 또는 항체 단편은 시스테인 조작된 항체인, 접합체.
- [1074] P1-41. P1-37 내지 P1-40 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 항체(Ab)에 대한 약물(D)의 약물 로딩(p)은 1 내지 약 10의 정수인, 접합체.
- [1075] P1-42. P1-41 명시에 있어서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10인, 접합체.

- [1076] P1-43. P1-33 내지 P1-42 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체의 혼합물로서, 항체-약물 접합체 화합물의 혼합물에서 항체당 평균 약물 로딩이 약 1 내지 약 10인, 접합체의 혼합물.
- [1077] P1-44. 치료에 사용하기 위한, P1-33 내지 P1-43 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물.
- [1078] P1-45. P1-33 내지 P1-43 명시 중 어느 한 명시의 접합체 또는 혼합물 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체, 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물.
- [1079] P1-46. P1-33 내지 P1-43 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물, 또는 P1-45 명시에 따른 약학적 조성물에 있어서, 대상체에서의 증식성 질환의 치료에 사용하기 위한 접합체, 혼합물, 또는 약학적 조성물.
- [1080] P1-47. P1-46 명시에 있어서, 질환은 암인, 접합체 또는 혼합물.
- [1081] P1-48. 의학적 치료 방법에 있어서, P1-33 내지 P1-43 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물, 또는 P1-45 명시에 따른 약학적 조성물의 용도.
- [1082] P1-49. P1-45 명시의 약학적 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 의학적 치료 방법.
- [1083] P1-50. P1-49 명시에 있어서, 의학적 치료 방법은 암을 치료하기 위한 것인, 방법.
- [1084] P1-51. P1-50 명시에 있어서, 환자에게 접합체와 조합된 화학요법제를 투여하는, 방법.
- [1085] P1-52. 증식성 질환의 치료를 위한 의약의 제조 방법에 있어서, P1-33 내지 P1-43 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물의 용도.
- [1086] P1-53. P1-33 내지 P1-43 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물, 또는 P1-45 명시에 따른 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 증식성 질환이 있는 포유동물을 치료하는 방법.
- [1087] P1-54. 단일 거울상이성체인 또는 거울상이성체가 풍부한 형태인 화합물 A:



[1088]

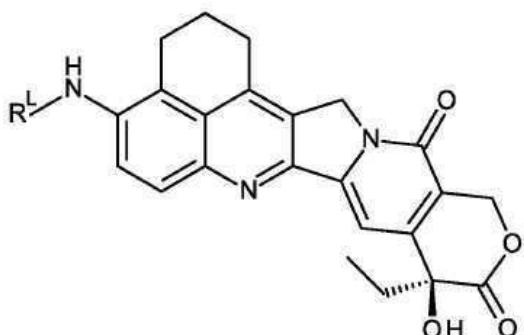
제2 우선 출원(P2)의 발명의 명시

[1089]

P2-1. 화학식 I의 화합물:

[1090]

[화학식 I]

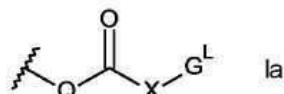


[1091]

및 이의 염 및 용매화물(상기 식에서, R^L은 하기 ia 및 ib로부터 선택되는, 세포 결합제에 연결하기 위한 링커이고,

[1094]

(ia):

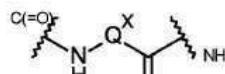


[1095]

여기서,

[1096]

Q는

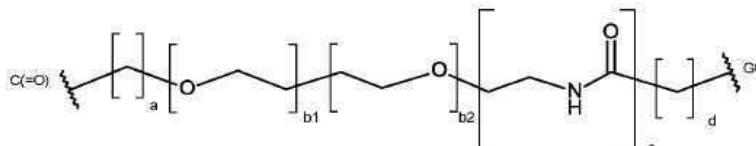


[1097]

[1098] 이고, 이때 Q^X 는 Q가 아미노산 잔기, 디펩티드 잔기, 트리펩티드 잔기, 또는 테트라펩티드 잔기인 것이고;

[1099]

X는



[1100]

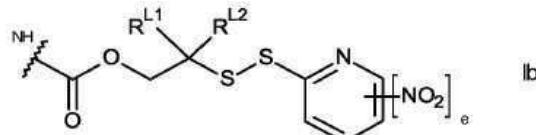
[1100] 이고, 이때 $a = 0$ 내지 5이고, $b1 = 0$ 내지 16이고, $b2 = 0$ 내지 16이고, $c = 0$ 또는 1이고, $d = 0$ 내지 5이고, 적어도 $b1$ 또는 $b2 = 0$ 이고;

[1101]

 G^L 은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고;

[1102]

(ib):



[1103]

[1104] 여기서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 독립적으로 H 및 메틸로부터 선택되거나, 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌 또는 시클로부틸렌 기를 형성하고;

[1105]

e는 0 또는 1임).

[1106] P2-2. P2-1 명시에 있어서, R^L 은 화학식 Ia의 R^L 인, 화합물.

[1107] P2-3. P2-2 명시에 있어서, Q는 아미노산 잔기인, 화합물.

[1108] P2-4. P2-3 명시에 있어서, Q는 Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, 및 Trp로부터 선택되는, 화합물.

[1109] P2-5. P2-2 명시에 있어서, Q는 디펩티드 잔기인, 화합물.

[1110] P2-6. P2-5 명시에 있어서, Q는

[1111] $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Lys}-\text{C}=\text{O}$,[1112] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Ala}-\text{C}=\text{O}$,[1113] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Lys}-\text{C}=\text{O}$,[1114] $\text{NH}-\text{Ala}-\text{Lys}-\text{C}=\text{O}$,[1115] $\text{NH}-\text{Val}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,[1116] $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,

- [1117] $\text{NH}-\text{Leu}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,
- [1118] $\text{NH}-\text{Ile}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,
- [1119] $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Arg}-\text{C}=\text{O}$,
- [1120] $\text{NH}-\text{Trp}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$, 및
- [1121] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Val}-\text{C}=\text{O}$ 로부터 선택되는, 화합물.
- [1122] P2-7. P2-6 명시에 있어서, Q는 $\text{NH}-\text{Phe}-\text{Lys}-\text{C}=\text{O}$, $\text{NH}-\text{Val}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$, 및 $\text{NH}-\text{Val}-\text{Ala}-\text{C}=\text{O}$ 로부터 선택되는, 화합물.
- [1123] P2-8. P2-2 명시에 있어서, Q는 트리펩티드 잔기인, 화합물.
- [1124] P2-9. P2-8 명시에 있어서, Q는
- [1125] $\text{NH}-\text{Glu}-\text{Val}-\text{Ala}-\text{C}=\text{O}$,
- [1126] $\text{NH}-\text{Glu}-\text{Val}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$,
- [1127] $\text{NH}-\alpha\text{Glu}-\text{Val}-\text{Ala}-\text{C}=\text{O}$, 및
- [1128] $\text{NH}-\alpha\text{Glu}-\text{Val}-\text{Cit}-\text{C}=\text{O}$ 로부터 선택되는, 화합물.
- [1129] P2-10. P2-2 명시에 있어서, Q는 테트라펩티드 잔기인, 화합물.
- [1130] P2-11. P2-10 명시에 있어서, Q는
- [1131] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Gly}-\text{C}=\text{O}$ 및
- [1132] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{C}=\text{O}$ 로부터 선택되는, 화합물.
- [1133] P2-12. P2-11 명시에 있어서, Q는
- [1134] $\text{NH}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Phe}-\text{Gly}-\text{C}=\text{O}$ 인, 화합물.
- [1135] P2-13. P2-2 내지 P2-12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 0 내지 3인, 화합물.
- [1136] P2-14. P2-13 명시에 있어서, a는 0 또는 1인, 화합물.
- [1137] P2-15. P2-13 명시에 있어서, a는 0인, 화합물.
- [1138] P2-16. P2-2 내지 P2-15 명시 중 어느 한 명시에 있어서, b1은 0 내지 8인, 화합물.
- [1139] P2-17. P2-16 명시에 있어서, b1은 0인, 화합물.
- [1140] P2-18. P2-16 명시에 있어서, b1은 2인, 화합물.
- [1141] P2-19. P2-16 명시에 있어서, b1은 3인, 화합물.
- [1142] P2-20. P2-16 명시에 있어서, b1은 4인, 화합물.
- [1143] P2-21. P2-16 명시에 있어서, b1은 5인, 화합물.
- [1144] P2-22. P2-16 명시에 있어서, b1은 8인, 화합물.
- [1145] P2-23. P2-2 내지 P2-15, 및 P2-17 명시 중 어느 한 명시에 있어서, b2는 0 내지 8인, 화합물.
- [1146] P2-24. P2-23 명시에 있어서, b2는 0인, 화합물.
- [1147] P2-25. P2-23 명시에 있어서, b2는 2인, 화합물.
- [1148] P2-26. P2-23 명시에 있어서, b2는 3인, 화합물.

- [1149] P2-27. P2-23 명시에 있어서, b2는 4인, 화합물.
- [1150] P2-28. P2-23 명시에 있어서, b2는 5인, 화합물.
- [1151] P2-29. P2-23 명시에 있어서, b2는 8인, 화합물.
- [1152] P2-30. P2-2 내지 P2-29 명시 중 어느 한 명시에 있어서, c는 0인, 화합물.
- [1153] P2-31. P2-2 내지 P2-29 명시 중 어느 한 명시에 있어서, c는 1인, 화합물.
- [1154] P2-32. P2-2 내지 P2-31 명시 중 어느 한 명시에 있어서, d는 0 내지 3인, 화합물.
- [1155] P2-33. P2-32 명시에 있어서, d는 1 또는 2인, 화합물.
- [1156] P2-34. P2-32 명시에 있어서, d는 2인, 화합물.
- [1157] P2-35. P2-2 내지 P2-12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 0이고, b1은 0이고, c는 1이고, d는 2이고, b2는 0 내지 8인, 화합물.
- [1158] P2-36. P2-35 명시에 있어서, b2는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8인, 화합물.
- [1159] P2-37. P2-2 내지 P2-12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 1이고, b2는 0이고, c는 0이고, d는 0이고, b1은 0 내지 8인, 화합물.
- [1160] P2-38. P2-37 명시에 있어서, b1은 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8인, 화합물.
- [1161] P2-39. P2-2 내지 P2-12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, a는 0이고, b1은 0이고, c는 0이고, d는 1이고, b2는 0 내지 8인, 화합물.
- [1162] P2-40. P2-39 명시에 있어서, b2는 0, 2, 3, 4, 5, 또는 8인, 화합물.
- [1163] P2-41. P2-2 내지 P2-12 명시 중 어느 한 명시에 있어서, b1은 0이고, b2는 0이고, c는 0이고, a와 d 중 하나는 0이고, a와 d 중 다른 하나는 1 내지 5인, 화합물.
- [1164] P2-42. P2-41 명시에 있어서, a와 d 중 다른 하나는 1 또는 5인, 화합물.

[1165] P2-43. P2-2 내지 P2-42 명시 중 어느 한 명시에 있어서, G^L 은 하기로부터 선택되는, 화합물.

(G^{L1-1})		(G^{L6})	
(G^{L1-2})		(G^{L7})	
(G^{L2})		(G^{L8})	
(G^{L3-1})		(G^{L9})	
(G^{L3-2})		(G^{L10})	
(G^{L3-3})		(G^{L11})	
(G^{L3-4})		(G^{L12})	

[1166]

(G^{L4})		(G^{L13})	
(G^{L5})		(G^{L14})	

[1167]

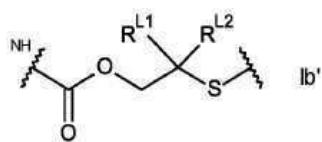
[1168] (상기 표에서, Ar은 C_{5-6} 아릴렌기를 나타내고, X는 C_{1-4} 알킬을 나타냄)

[1169] P2-44. P2-43 명시에 있어서, G^L 은 G^{L1-1} 및 G^{L1-2} 로부터 선택되는, 화합물.

- [1170] P2-45. P2-43 명시에 있어서, G^L 은 G^{L1-1} 인, 화합물.
- [1171] P2-46. P2-1 명시에 있어서, R^L 은 화학식 I b 의 R^L 인, 화합물.
- [1172] P2-47. P2-46 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 모두 H인, 화합물.
- [1173] P2-48. P2-46 명시에 있어서, R^{L1} 은 H이고, R^{L2} 는 메틸인, 화합물.
- [1174] P2-49. P2-46 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 모두 메틸인, 화합물.
- [1175] P2-50. P2-46 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로프로필렌기를 형성하는, 화합물.
- [1176] P2-51. P2-46 명시에 있어서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 시클로부틸렌기를 형성하는, 화합물.
- [1177] P2-52. P2-46 내지 P2-51 명시 중 어느 한 명시에 있어서, e는 0인, 화합물.
- [1178] P2-53. P2-46 내지 P2-51 명시 중 어느 한 명시에 있어서, e는 1인, 화합물.
- [1179] P2-54. 화학식 IV의 접합체:
- [1180] [화학식 IV]
- [1181] $L - (D^L)_p$
- [1182] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물(상기 식에서, L은 리간드 단위(즉, 표적화제)이고, D^L 은 화학식 III의 약물 링커 단위이고,
- [1183] [화학식 III]
-
- [1184]
- [1185] R^{L1} 은 하기 ia' 및 ib'로부터 선택되는, 상기 리간드 단위에 연결된 링커이고,
- [1186] (ia'):
-
- [1187]
- [1188] 여기서, Q 및 X는 P2-1 내지 P2-42 명시 중 어느 한 명시에 정의된 바와 같고, G^{L1} 은 리간드 단위에 연결된 링커이고;

[1189]

(ib'):



[1190]

[1191] 여기서, R^{L1} 및 R^{L2} 는 P2-1 명시 및 P2-47 내지 P2-51 명시 중 어느 한 명시에 정의된 바와 같고;

[1192] p는 1 내지 20의 정수임).

[1193] P2-55. P2-54 명시에 있어서, G^{LL} 은 하기로부터 선택되는, 접합체.

(G^{LL1-1})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL10})	
(G^{LL4})		(G^{LL11})	
(G^{LL5})		(G^{LL12})	
(G^{LL6})		(G^{LL13})	
(G^{LL7})		(G^{LL14})	

[1194]

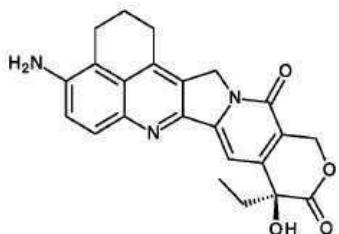
[1195]

- [1196] (상기 표에서, Ar은 C₅₋₆ 아릴렌기를 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타냄)
- [1197] P2-56. P2-55 명시에 있어서, G^{LL}은 G^{LL1-1} 및 G^{LL1-2}로부터 선택되는, 접합체.
- [1198] P2-57. P2-56 명시에 있어서, G^{LL}은 G^{LL1-1}인, 접합체.
- [1199] P2-58. P2-54 내지 P2-57 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 리간드 단위는 항체 또는 이의 활성 단편인, 접합체.
- [1200] P2-59. P2-58 명시에 있어서, 항체 또는 항체 단편은 종양 관련 항원에 대한 항체 또는 항체 단편인, 접합체.
- [1201] P2-60. P2-59 명시에 있어서, 항체 또는 항체 단편은 (1) 내지 (89)에서 선택된 하나 이상의 종양 관련 항원 또는 세포 표면 수용체에 결합하는 항체인, 접합체:
- [1202] (1) BMPR1B;
 - [1203] (2) E16;
 - [1204] (3) STEAP1;
 - [1205] (4) 0772P;
 - [1206] (5) MPF;
 - [1207] (6) Napi3b;
 - [1208] (7) Sema 5b;
 - [1209] (8) PSCA hlg;
 - [1210] (9) ETBR;
 - [1211] (10) MSG783;
 - [1212] (11) STEAP2;
 - [1213] (12) TrpM4;
 - [1214] (13) CRIPTO;
 - [1215] (14) CD21;
 - [1216] (15) CD79b;
 - [1217] (16) FcRH2;
 - [1218] (17) HER2;
 - [1219] (18) NCA;
 - [1220] (19) MDP;
 - [1221] (20) IL20R-알파;
 - [1222] (21) 브레비칸;
 - [1223] (22) EphB2R;
 - [1224] (23) ASLG659;
 - [1225] (24) PSCA;
 - [1226] (25) GEDA;
 - [1227] (26) BAFF-R;
 - [1228] (27) CD22;

- [1229] (28) CD79a;
- [1230] (29) CXCR5;
- [1231] (30) HLA-DOB;
- [1232] (31) P2X5;
- [1233] (32) CD72;
- [1234] (33) LY64;
- [1235] (34) FcRH1;
- [1236] (35) IRTA2;
- [1237] (36) TENB2;
- [1238] (37) PSMA – FOLH1;
- [1239] (38) SST;
- [1240] (38.1) SSTR2;
- [1241] (38.2) SSTR5;
- [1242] (38.3) SSTR1;
- [1243] (38.4)SSTR3;
- [1244] (38.5) SSTR4;
- [1245] (39) ITGAV;
- [1246] (40) ITGB6;
- [1247] (41) CEACAM5;
- [1248] (42) MET;
- [1249] (43) MUC1;
- [1250] (44) CA9;
- [1251] (45) EGFRvIII;
- [1252] (46) CD33;
- [1253] (47) CD19;
- [1254] (48) IL2RA;
- [1255] (49) AXL;
- [1256] (50) CD30 – TNFRSF8;
- [1257] (51) BCMA – TNFRSF17;
- [1258] (52) CT Ags – CTA;
- [1259] (53) CD174 (루이스 Y) – FUT3;
- [1260] (54) CLEC14A;
- [1261] (55) GRP78 – HSPA5;
- [1262] (56) CD70;
- [1263] (57) 줄기 세포 특이적 항원;
- [1264] (58) ASG-5;

- [1265] (59) ENPP3;
- [1266] (60) PRR4;
- [1267] (61) GCC - GUCY2C;
- [1268] (62) Liv-1 - SLC39A6;
- [1269] (63) 5T4;
- [1270] (64) CD56 - NCMA1;
- [1271] (65) CanAg;
- [1272] (66) FOLR1;
- [1273] (67) GPNMB;
- [1274] (68) TIM-1 - HAVCR1;
- [1275] (69) RG-1/전립선 종양 표적 민딘 - 민딘/RG-1;
- [1276] (70) B7-H4 - VTCN1;
- [1277] (71) PTK7;
- [1278] (72) CD37;
- [1279] (73) CD138 - SDC1;
- [1280] (74) CD74;
- [1281] (75) 클라우딘 - CL;
- [1282] (76) EGFR;
- [1283] (77) Her3;
- [1284] (78) RON - MST1R;
- [1285] (79) EPHA2;
- [1286] (80) CD20 - MS4A1;
- [1287] (81) 테나신 C - TNC;
- [1288] (82) FAP;
- [1289] (83) DKK-1;
- [1290] (84) CD52;
- [1291] (85) CS1 - SLAMF7;
- [1292] (86) 엔도글린 - ENG;
- [1293] (87) 아넥신 A1 - ANXA1;
- [1294] (88) V-CAM (CD106) - VCAM1;
- [1295] (89) ASCT2 (SLC1A5).
- [1296] P2-61. P2-58 내지 P2-60 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 항체 또는 항체 단편은 시스테인 조작된 항체인, 접합체.
- [1297] P2-62. P2-58 내지 P2-61 명시 중 어느 한 명시에 있어서, 항체(Ab)에 대한 약물(D)의 약물 로딩(p)은 1 내지 약 10의 정수인, 접합체.
- [1298] P2-63. P2-62 명시에 있어서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10인, 접합체.

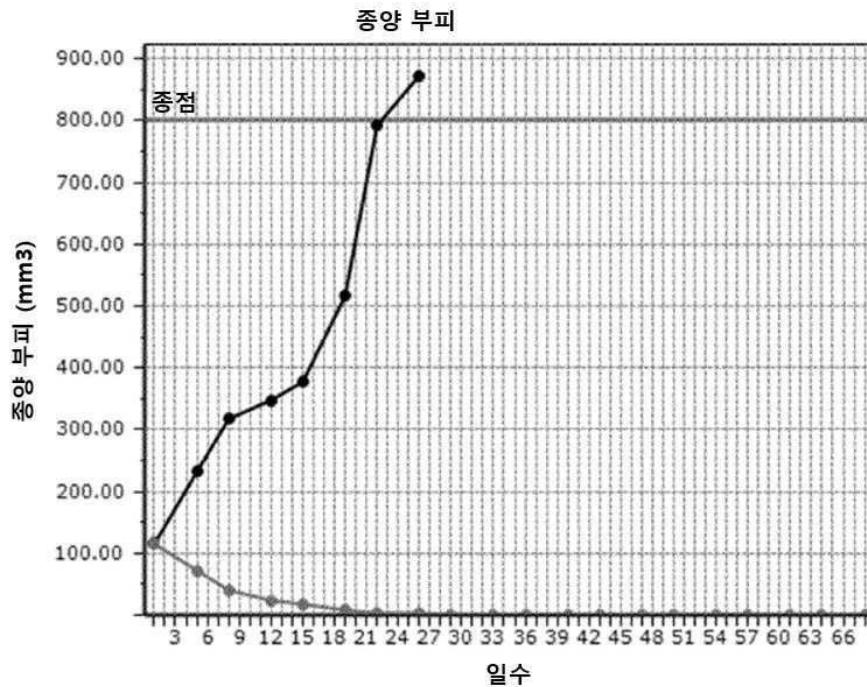
- [1299] P2-64. P2-58 내지 P2-63 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체의 혼합물로서, 항체-약물 접합체의 혼합물에서 항체당 평균 약물 로딩이 약 1 내지 약 10인, 접합체의 혼합물.
- [1300] P2-65. 치료에 사용하기 위한, P2-54 내지 P2-64 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물.
- [1301] P2-66. P2-54 내지 P2-64 명시 중 어느 한 명시의 접합체 또는 혼합물 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체, 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물.
- [1302] P2-67. P2-54 내지 P2-64 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물, 또는 P2-66 명시에 따른 약학적 조성물에 있어서, 대상체에서의 증식성 질환의 치료에 사용하기 위한 접합체, 혼합물, 또는 약학적 조성물.
- [1303] P2-68. P2-67 명시에 있어서, 질환은 암인, 접합체, 혼합물, 또는 약학적 조성물.
- [1304] P2-69. 의학적 치료 방법에 있어서, P2-54 내지 P2-64 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물, 또는 P2-66 명시에 따른 약학적 조성물의 용도.
- [1305] P2-70. P2-66 명시의 약학적 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 의학적 치료 방법.
- [1306] P2-71. P2-70 명시에 있어서, 의학적 치료 방법은 암을 치료하기 위한 것인, 방법.
- [1307] P2-72. P2-71 명시에 있어서, 환자에게 접합체와 조합된 화학요법제를 투여하는, 방법.
- [1308] P2-73. 증식성 질환의 치료를 위한 의약의 제조 방법에 있어서, P2-54 내지 P2-64 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물의 용도.
- [1309] P2-74. P2-54 내지 P2-64 명시 중 어느 한 명시에 따른 접합체 또는 혼합물, 또는 P2-66 명시에 따른 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 증식성 질환이 있는 포유동물을 치료하는 방법.
- [1310] P2-75. 단일 거울상이성체인 또는 거울상이성체가 풍부한 형태인 화합물 A:



- [1311]

도면

도면1



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> MEDIMMUNE LIMITED

<120> COMPOUNDS AND CONJUGATES THEREOF

<130> TOP-100-WO-PCT

<140><141><150> 62/964,177

<151> 2020-01-22

<150> 62/826,393

<151> 2019-03-29

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 1

Asn Ala Val Pro Asn Leu Arg Gly Asp Leu Gln Val Leu Ala Gln Lys

1 5 10 15

Val Ala Arg Thr Cys

20

<210> 2

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(18)

<223> Any amino acid

<400> 2

Asn Ala Val Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa Arg Thr Cys

20

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 3

Gly Gly Phe Gly

1

<210> 4

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 4

Gly Phe Gly Gly

1