(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0017343
(43) 공개일자 2024년02월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) *A61K 47/68* (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07D 207/452* (2006.01)
C07D 213/79 (2006.01) *C07D 239/38* (2006.01)
C07D 239/58 (2006.01) *C07D 251/16* (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01) *C07D 403/12* (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 487/04 (2022.08)
A61K 47/68031 (2023.08)
(21) 출원번호 10-2023-7037967
(22) 출원일자(국제) 2022년05월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년11월02일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2022/094540
(87) 국제공개번호 WO 2022/253033
국제공개일자 2022년12월08일
(30) 우선권주장
202110615166.4 2021년06월02일 중국(CN)
202111225483.1 2021년10월21일 중국(CN)

(71) 출원인
쓰촨 케룬-바이오테크 바이오파마수티컬 컴퍼니 리미티드
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666
(72) 발명자
티안 치앙
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666
왕 샤오베이
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **화학적 결합 링커 및 그의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 화학적 결합 링커 및 그의 용도, 및 화학적 결합 링커에 의해 제조된 생리활성 접합체에 관한 것이다. 본 발명은 또한 종양 질환의 예방 또는 치료를 위한 약물의 제조에 있어서 생리활성 접합체의 용도에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
A61K 47/68037 (2023.08)
A61K 47/6889 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07D 207/452 (2013.01)
C07D 213/79 (2013.01)
C07D 239/38 (2013.01)
C07D 239/58 (2013.01)
C07D 251/16 (2013.01)
C07D 403/14 (2013.01)

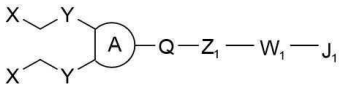
(72) 발명자
리 더량
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666
장 이타오
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666
예 젠
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666
후 루이빈
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666
송 홍메이
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666
거 쥔유
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666
왕 징이
중국 611138 쓰촨 원장 디스트릭트 청두 하이 샤 인더스트리얼 파크 신화 애비뉴 (섹션 2) 넘버 666

명 세 서

청구범위

청구항 1

식 I의 구조를 가지는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물:



식 I

여기서,

X는 Cl, Br, I, OM, OT, OTf 또는  와 같은 이탈기이고;

Y는 없거나 카르보닐이고;

고리 A는 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 방향족 고리, 5원 내지 12원 헤테로방향족 고리 또는 5원 내지 12원 헤테로사이클릭 고리로 이루어진 군으로부터 선택되고;

Q는 없거나 -C(=O)-NH-이고;

Z_1는 없거나 $-CH_2-$ 또는 C_{2-6} 알키닐렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

W_1는 없거나 C_{1-10} 알킬렌, $-(CH_2CH_2O)_p-$, 및 $-(OCH_2CH_2)_p-$로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상이고;

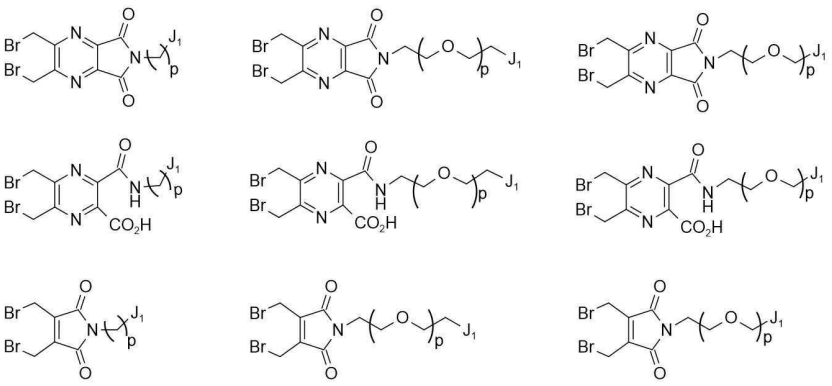
J_1는 -COOH, $-NH_2$, 3원 내지 10원 질소-함유 헤테로사이클릭기, 설포닐우레아기 또는 하이드록실로 이루어진 군으로부터 선택되고;

p는 1 내지 10의 정수임.

청구항 2

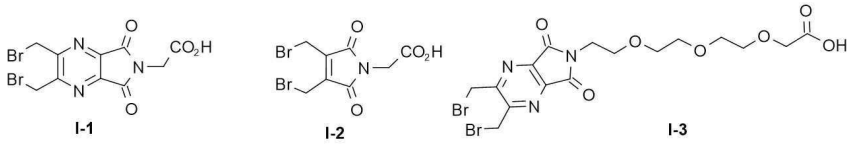
제1항에 있어서,

식 I의 화합물은 다음 중에서 선택되는 구조를 가지고:



여기서 p는 1 내지 10의 정수이고, J_1는 -COOH 또는 $-NH_2$이고;

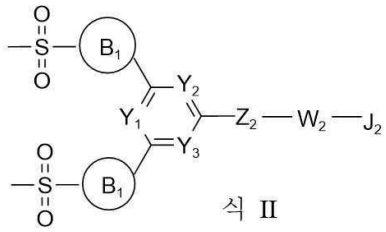
바람직하게는, 식 I의 화합물은 다음 중에서 선택되는 구조를 가지는, 화합물:



I-1 I-2 I-3

청구항 3

식 II의 구조를 가지는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물:



식 II

여기서, B_1는 각 경우에 단일 결합 또는 5원 내지 12원 질소 함유 헤테로방향족 고리로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

Y_1, Y_2 및 Y_3는 각 경우에 각각 CH 및 N으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

Z_2는 없거나 -NH-, $-CH_2-$, 카르보닐, -C(=O)NH-, -NHC(=O)- 또는 C_{2-6} 알키닐렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

W_2는 없거나 C_{1-10} 알킬렌, $-(CH_2CH_2O)_p-$ 또는 $-(OCH_2CH_2)_p-$로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상이고;

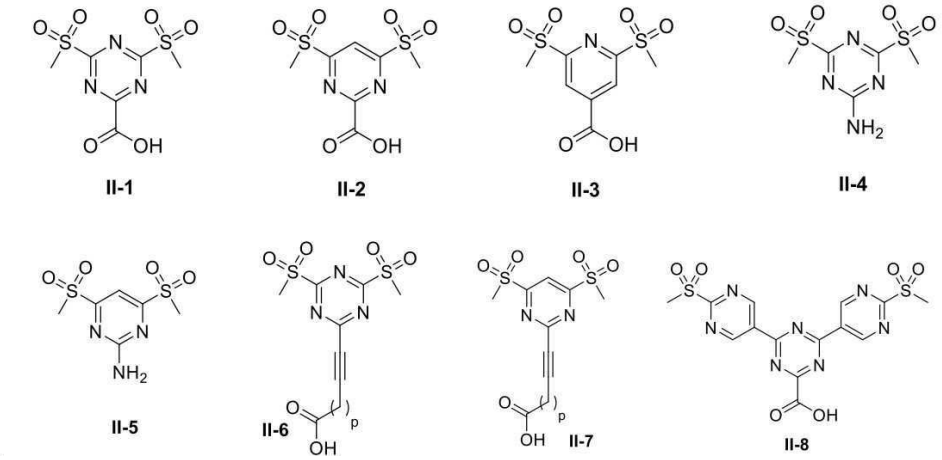
J_2는 -COOH, $-NH_2$, 3원 내지 10원 질소 함유 헤테로사이클릭기, 설포닐우레아기 또는 하이드록실로 이루어진 군으로부터 선택되고;

p는 1 내지 10의 정수임.

청구항 4

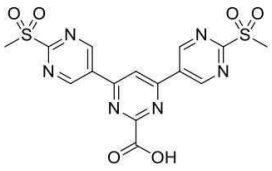
제3항에 있어서,

식 II의 화합물은 다음 중에서 선택되는 구조를 가지고:

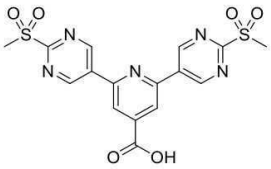


II-1 II-2 II-3 II-4

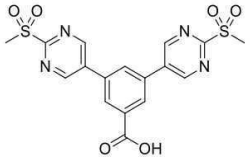
II-5 II-6 II-7 II-8



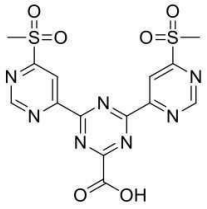
II-9



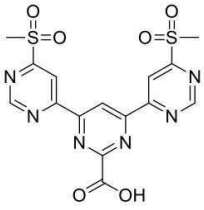
II-10



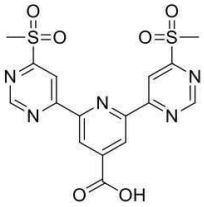
II-11



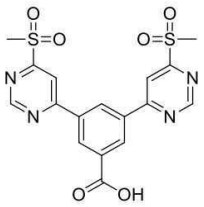
II-12



II-13



II-14



II-15



II-16



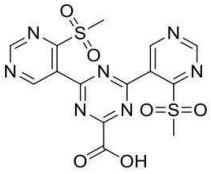
II-17



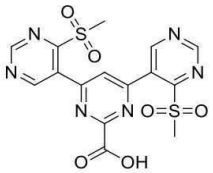
II-18



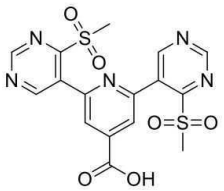
II-19



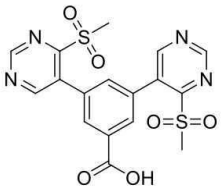
II-20



II-21



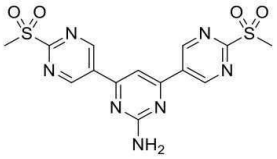
II-22



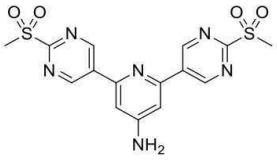
II-23



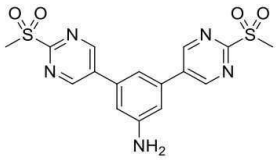
II-24



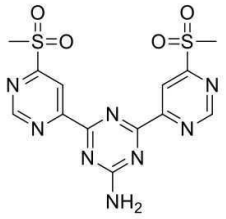
II-25



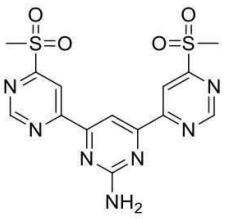
II-26



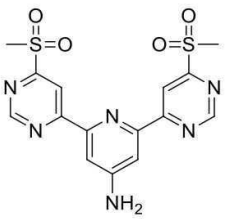
II-27



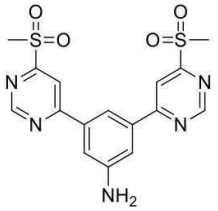
II-28



II-29



II-30



II-31



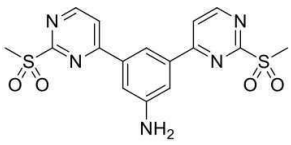
II-32



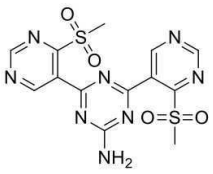
II-33



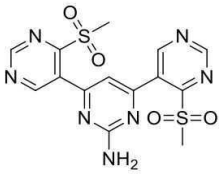
II-34



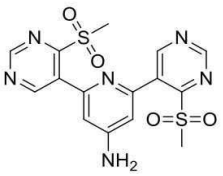
II-35



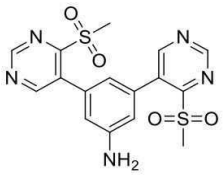
II-36



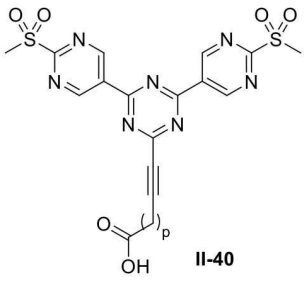
II-37



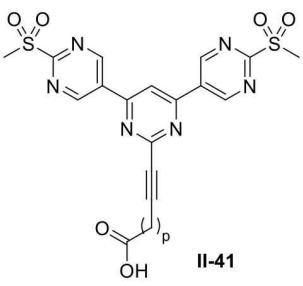
II-38



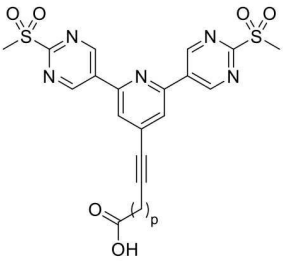
II-39



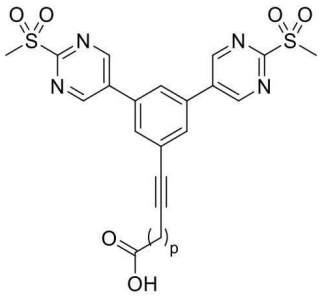
II-40



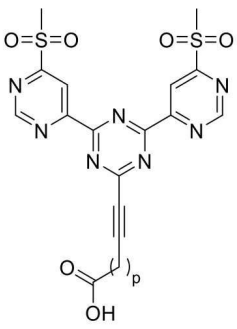
II-41



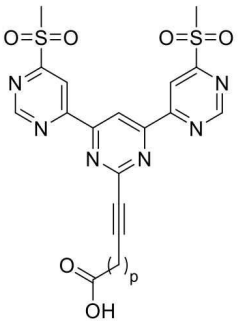
II-42



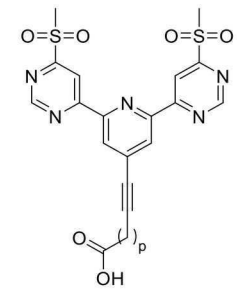
II-43



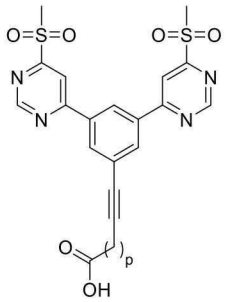
II-44



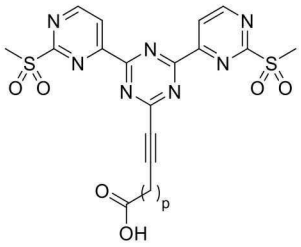
II-45



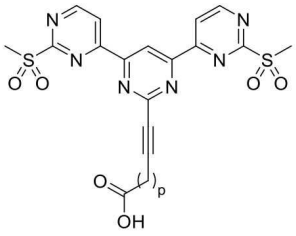
II-46



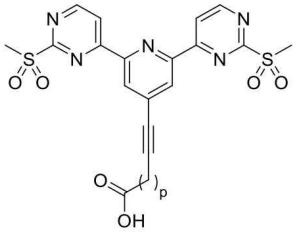
II-47



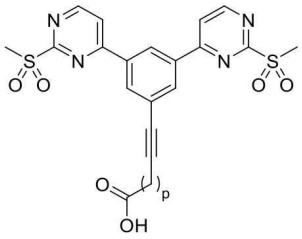
II-48



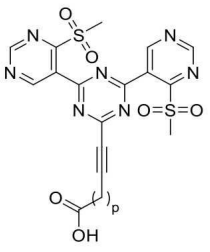
II-49



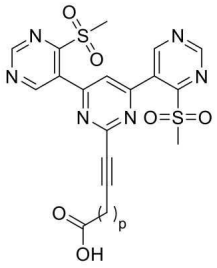
II-50



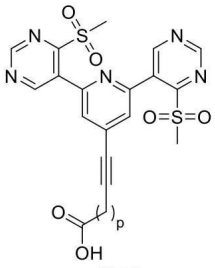
II-51



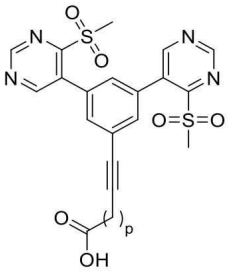
II-52



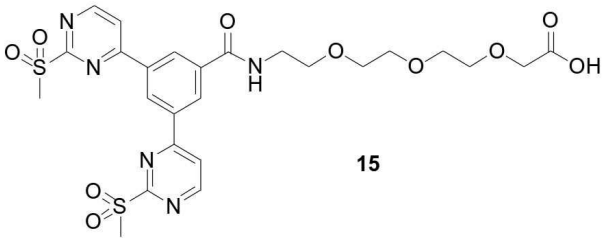
II-53



II-54



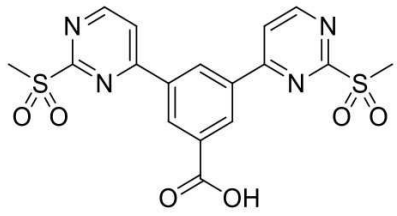
II-55



15

p는 1 내지 10의 정수이고;

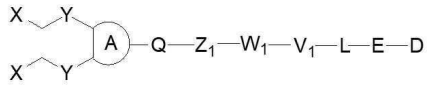
바람직하게는 식 II의 화합물은 다음의 구조를 가지는, 화합물:



II-19

청구항 5

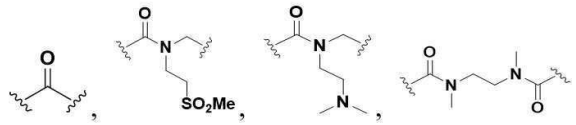
식 V의 구조를 가지는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물:



식 V

여기서,

E는 단일 결합, $-NH-CH_2-$ 또는 다음 구조로 이루어진 군으로부터 선택되고:



;

D는 생리활성 분자의 단편(예를 들어, 세포독성 약물)이고;

X, Y, A, Q, Z_1, W_1는 제1항 또는 제2항에 정의된 바와 같고;

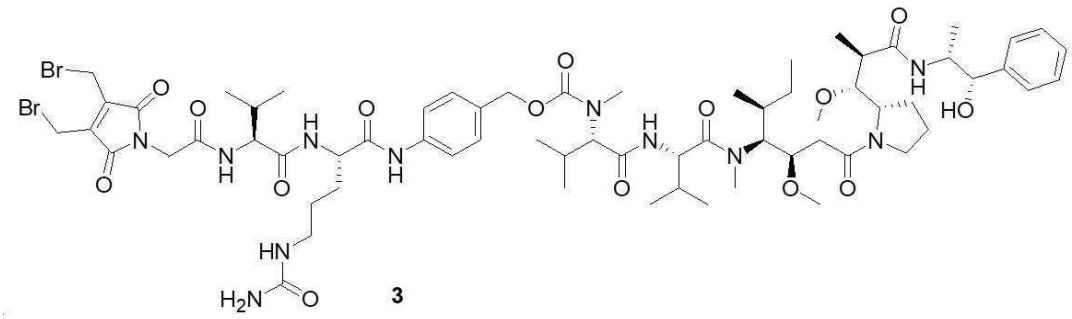
V_1는 L에 연결될 때, 제1항 또는 제2항에 따른 식 I의 화합물의 J_1으로부터 형성되는 기이고; 바람직하게는 V_1는 -CO-, $-N(R_1)-$, -O-, 3원 내지 10원의 질소 함유 헤테로사이클릭 고리기 또는 설포닐우레아기로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_1은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고; 더욱 바람직하게는, V_1는 -C(O)- 및 $-N(R_1)-$로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_1은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고;

L은 V_1과 E를 연결하는 링커임.

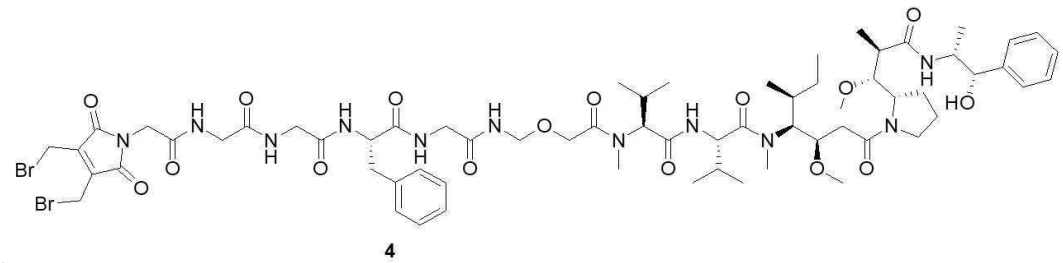
청구항 6

제5항에 있어서,

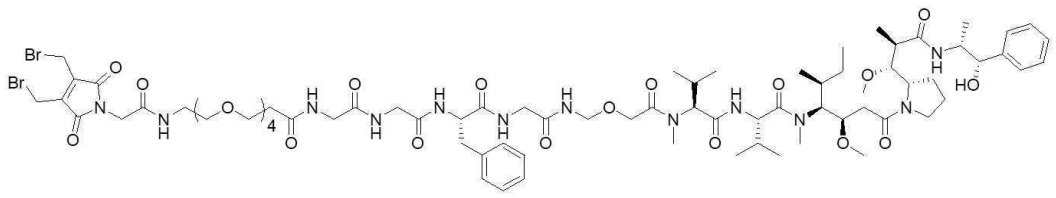
식 V의 화합물은 다음 중에서 선택되는 구조를 가지는, 화합물:



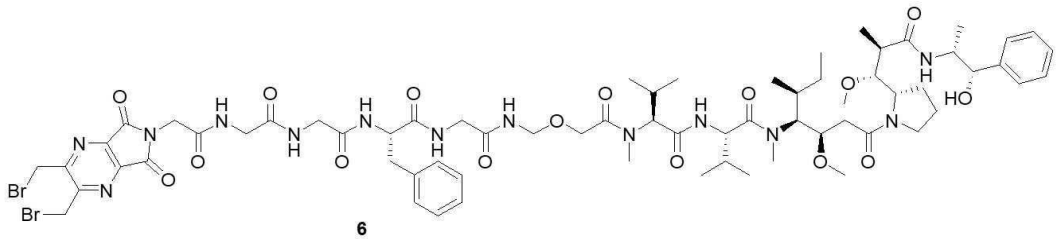
3



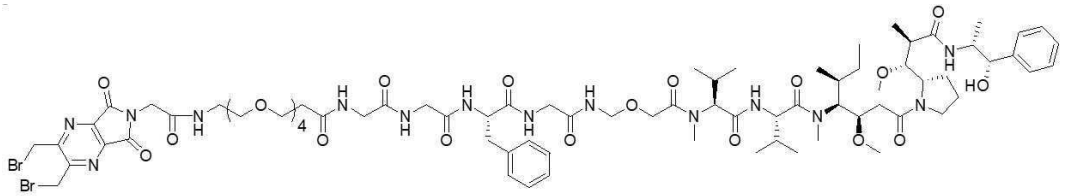
4



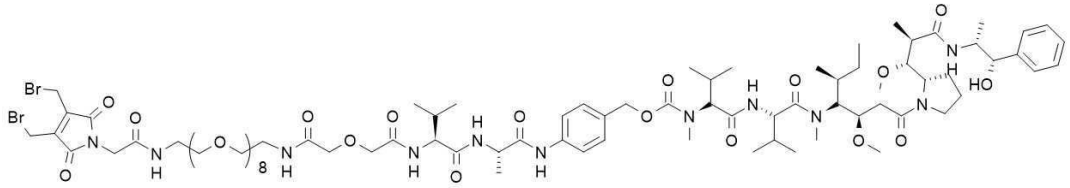
5



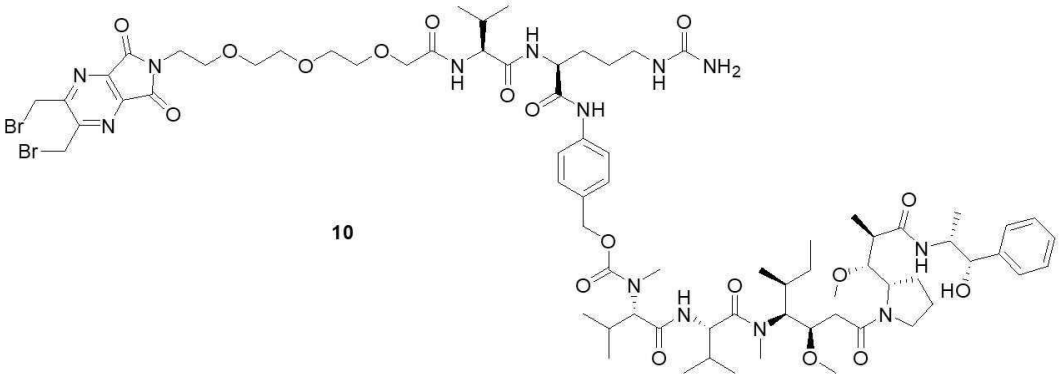
6



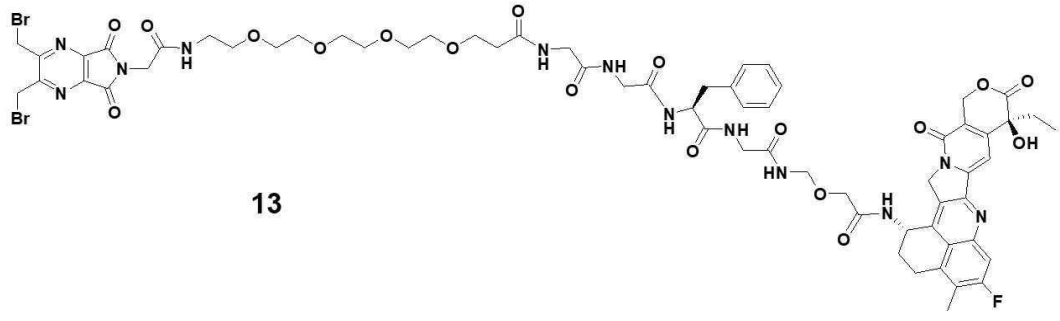
7



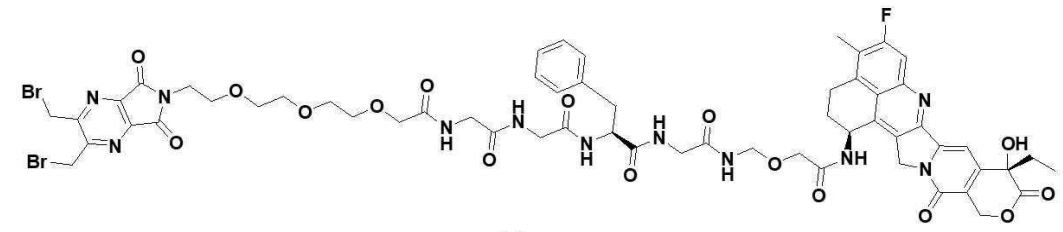
8



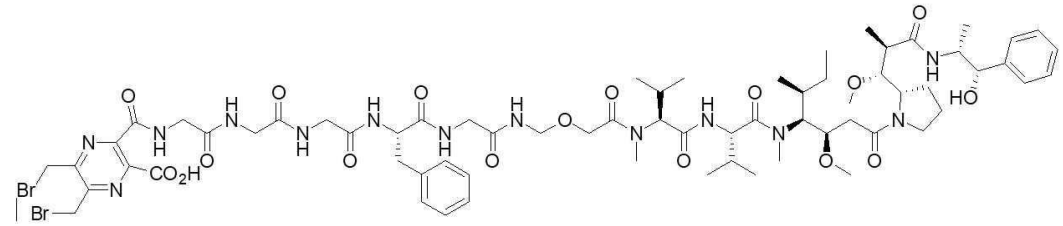
10

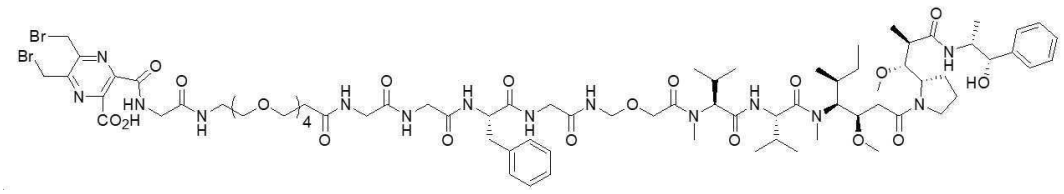


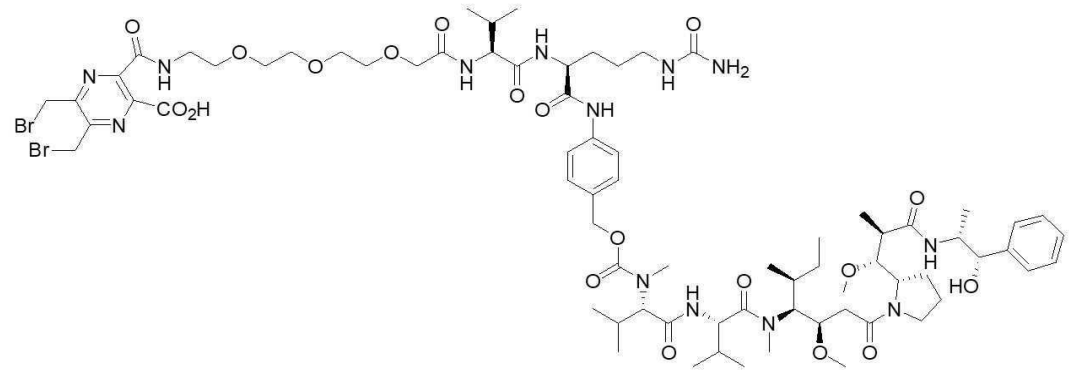
13

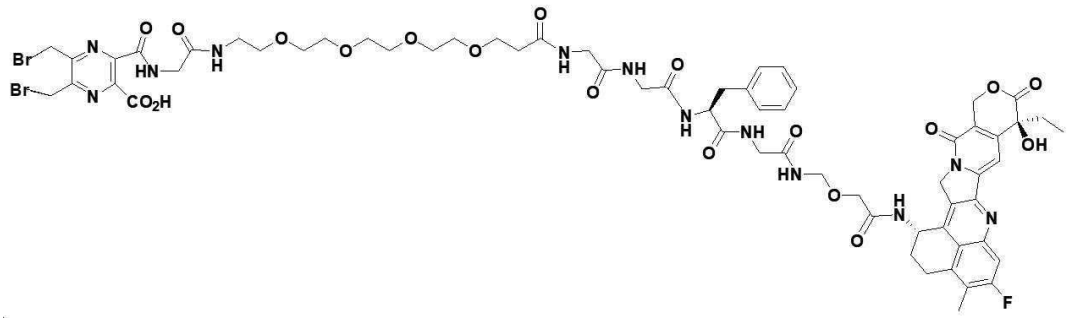


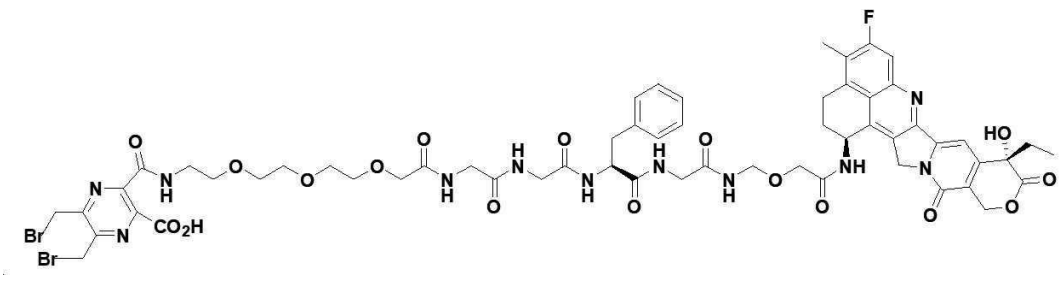
14





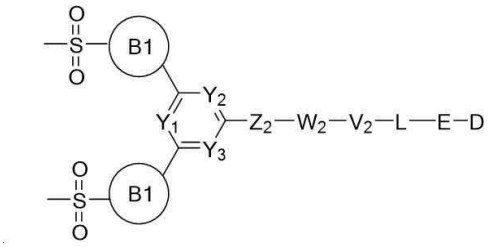






청구항 7

식 VI의 구조를 가지는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, N-산화물 또는 동위원소 표지 화합물:



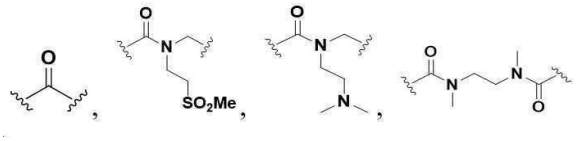
식 VI

B_1, Y_1, Y_2, Y_3, Z_2 및 W_2는 제3항 또는 제4항에 정의된 바와 같고;

L은 V_1과 E를 연결하는 링커이고;

V_2는 L에 연결될 때, 제3항 또는 제4항에 정의된 J_2로부터 형성되는 기이고; 바람직하게는 V_2는 -CO-, $-N(R_2)-$, -O-, 3원 내지 10원의 질소 함유 헤테로사이클릭 고리기 또는 설포닐우레아기로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_2은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고; 더욱 바람직하게는, V_2는 -C(O)- 및 $-N(R_2)-$로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_2은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고;

E는 단일 결합, $-NH-CH_2-$ 또는 다음 구조로 이루어진 군으로부터 선택되고:



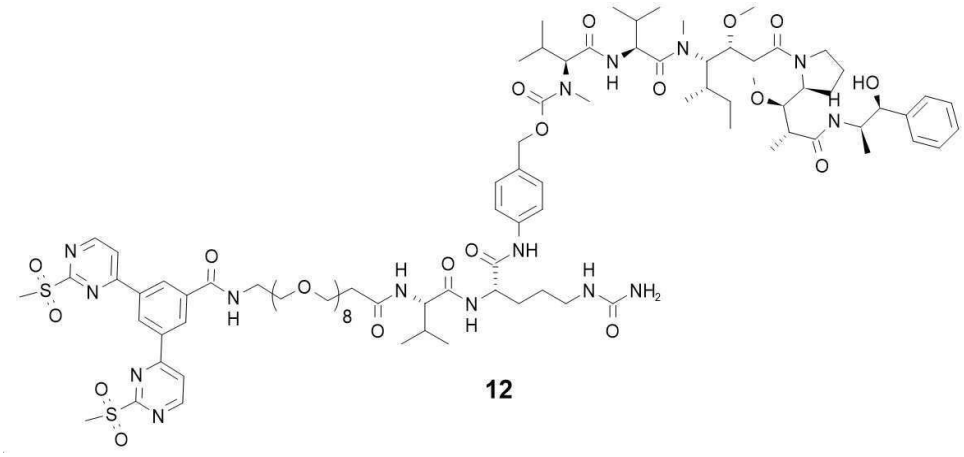
;

D는 생리활성 분자의 단편(예를 들어, 세포독성 약물)임.

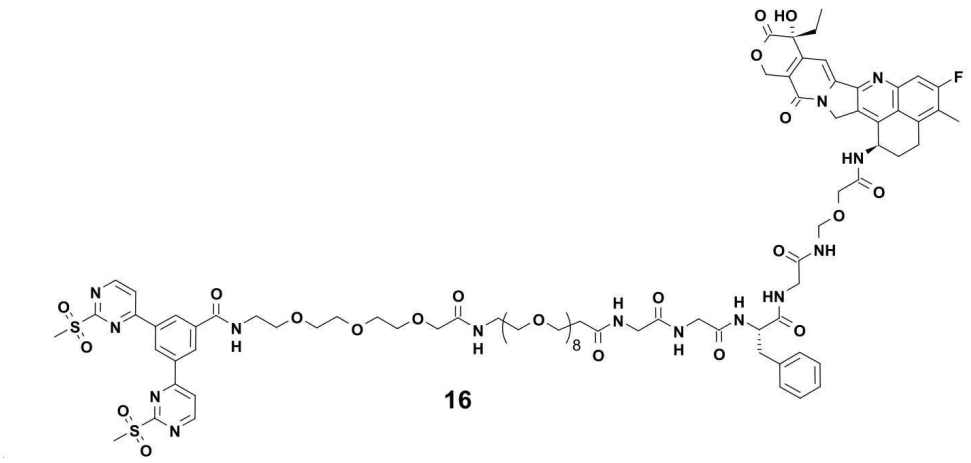
청구항 8

제7항에 있어서,

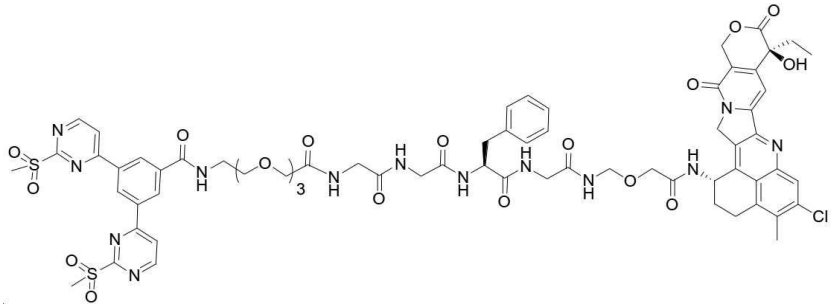
다음 중에서 선택되는 구조를 가지는, 화합물:

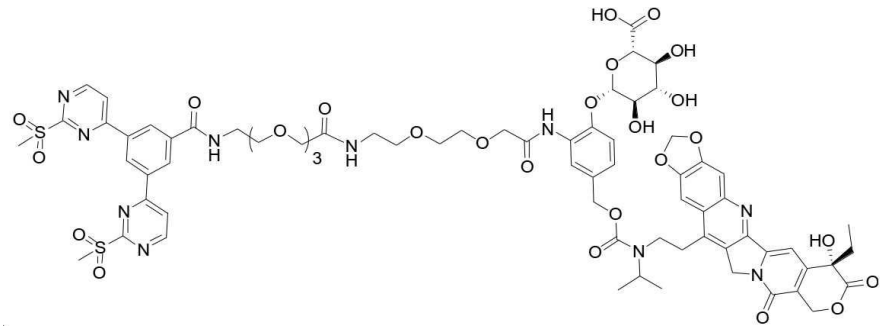


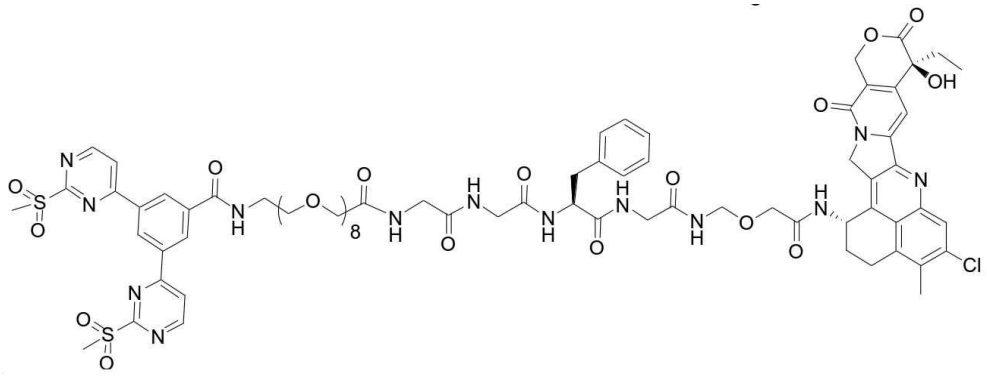
12

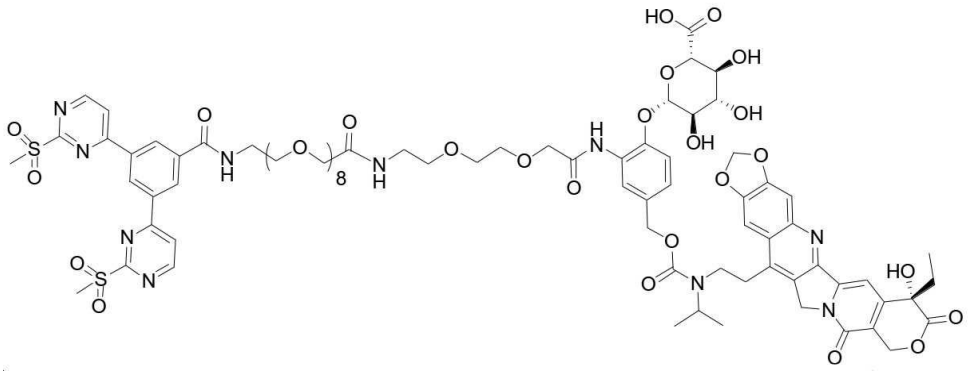


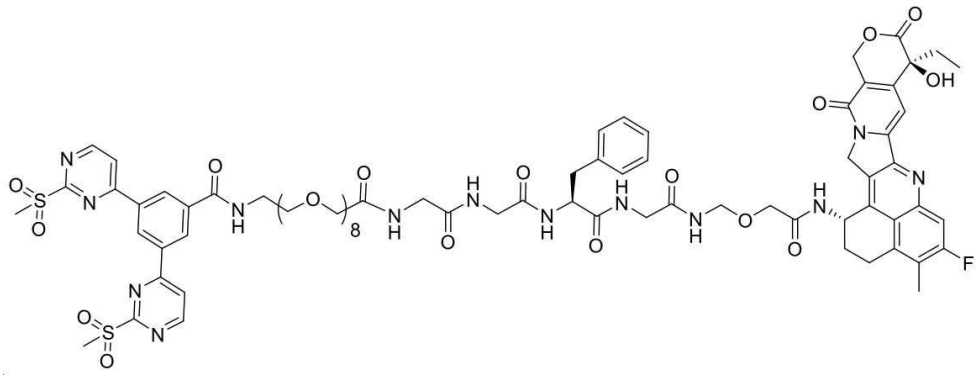
16

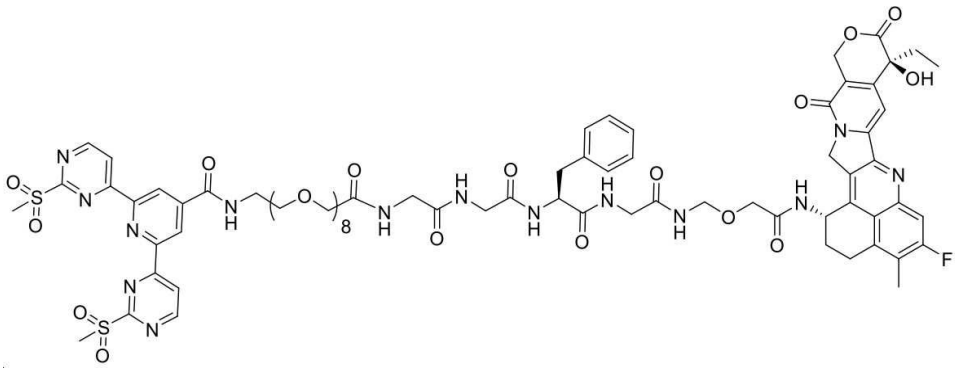


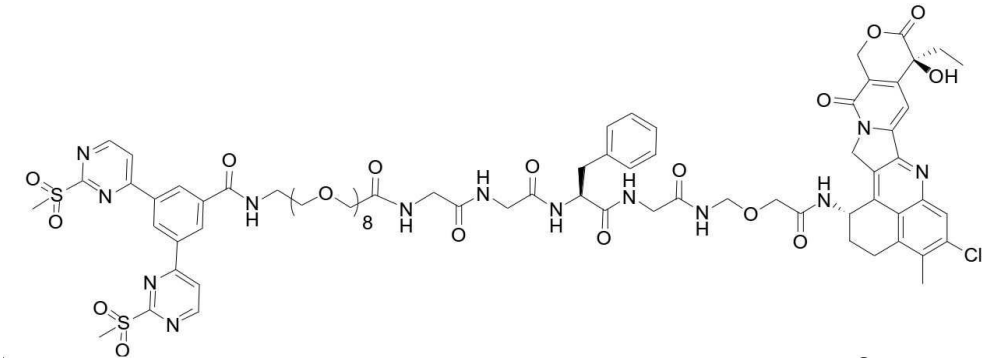


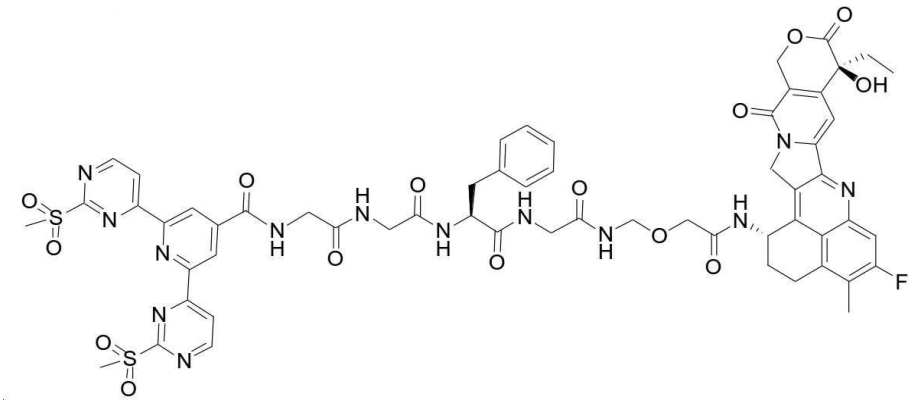


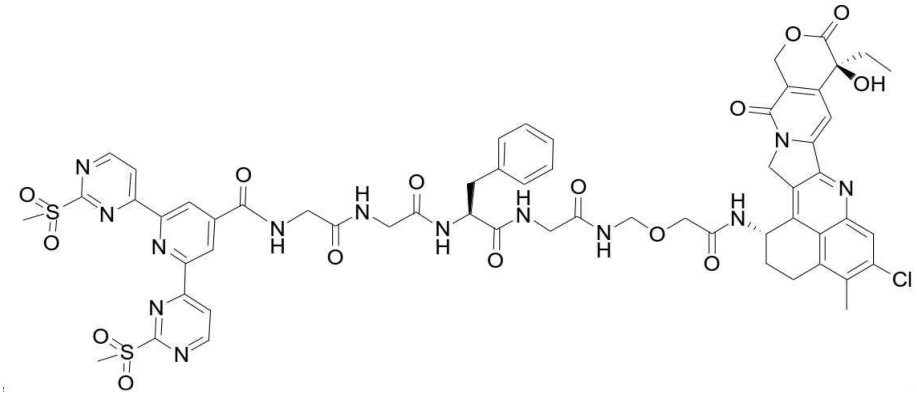






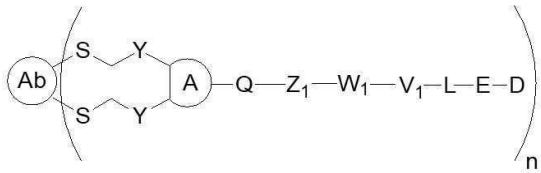






청구항 9

식 VII에 나타난 구조를 가지는, 생리활성 접합체:



식 VII

여기서, Ab는 표적 모이어티(예를 들어, 저분자 리간드, 단백질(예를 들어, 항체), 폴리펩타이드, 비단백질 시약(예를 들어, 당류, RNA 또는 DNA))이고; n은 1 내지 10의 정수 또는 소수이고;

V_1는 -C(O)- 및 -N(R_1)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_1은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고;

L은 V_1와 E를 연결하는 링커이고;

E는 L과 D를 연결하는 구조적 단편이고;

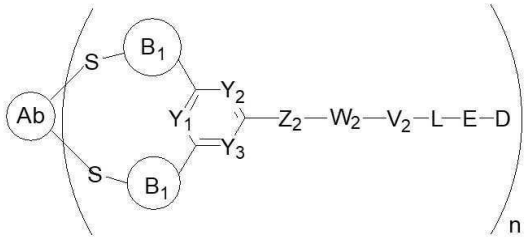
D는 생리활성 분자(예를 들어, 세포독성 약물)의 단편이고;

표적 모이어티가 항체인 경우, 접합체의  는 항체의 설프하이드릴기가 접합체의 나머지 부분과 연결되는 특정 방식을 나타내고;

다른 모든 기는 제1항 및 제2항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음.

청구항 10

식 VIII에 나타난 구조를 가지는, 생리활성 접합체:



식 VIII

여기서, Ab는 표적 모이어티(예를 들어, 저분자 리간드, 단백질(예를 들어, 항체), 폴리펩타이드, 비단백질 시약(예를 들어, 당류, RNA 또는 DNA))이고; n은 1 내지 10의 정수 또는 소수이고;

V_2는 -C(O)- 및 -N(R_2)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_2은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고;

L은 V_2와 E를 연결하는 링커이고;

E는 L과 D를 연결하는 구조적 단편이고;

D는 생리활성 분자(예를 들어, 세포독성 약물)의 단편이고;

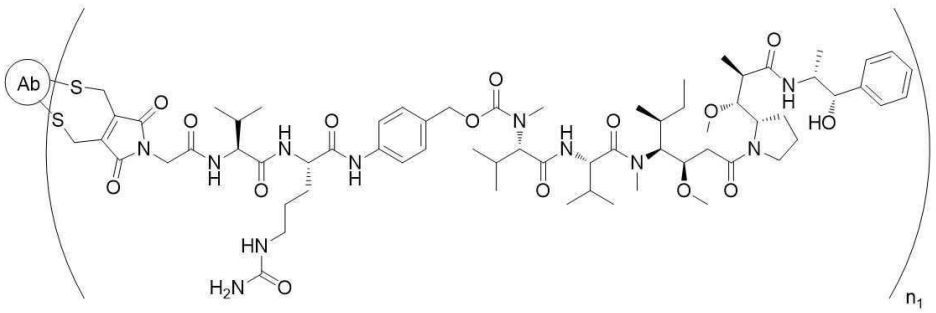
표적 모이어티가 항체인 경우, 접합체의  는 항체의 설프하이드릴기가 접합체의 나머지 부분과 연결되는 특정 방식을 나타내고;

다른 모든 기는 제3항 내지 제4항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음.

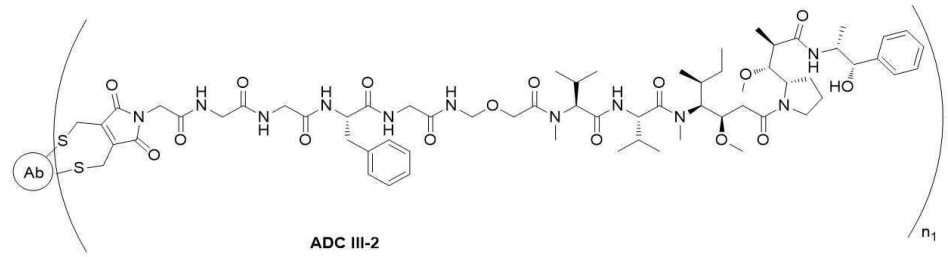
청구항 11

제9항에 있어서,

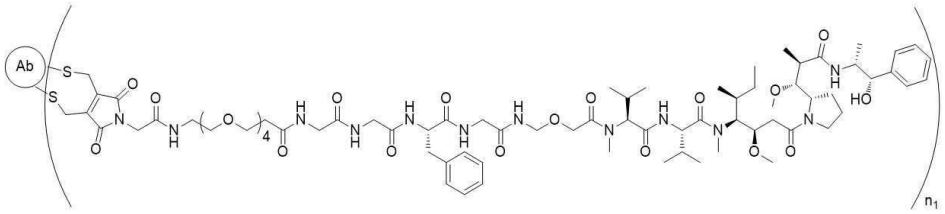
생리활성 접합체는 다음과 같은 구조를 가지며, 여기서 Ab는 항-Her2 항체 트라스투주맙(trastuzumab) 또는 항-Trop2 항체 사시투주맙(sacituzumab) 또는 항-ROR1 항체 19F6_Hu35V1 (생략해서 19F6)로 이루어진 군으로부터 선택되고, n_1은 1 내지 8이고, 바람직하게는 3 내지 5인, 생리활성 접합체:



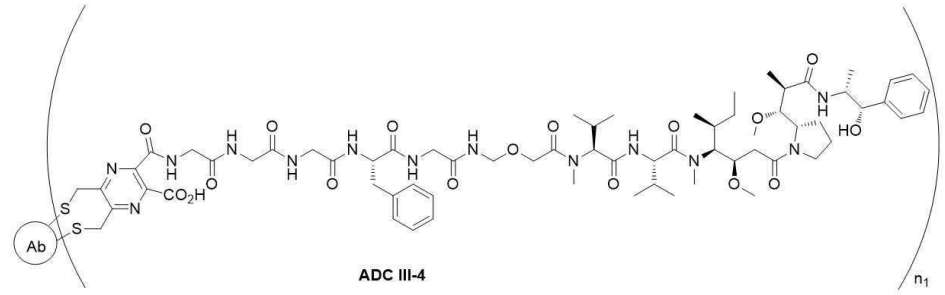
ADC III-1



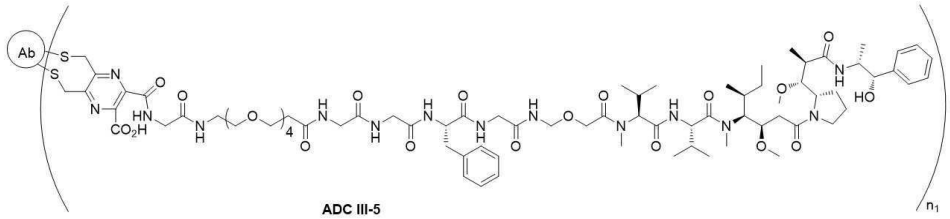
ADC III-2



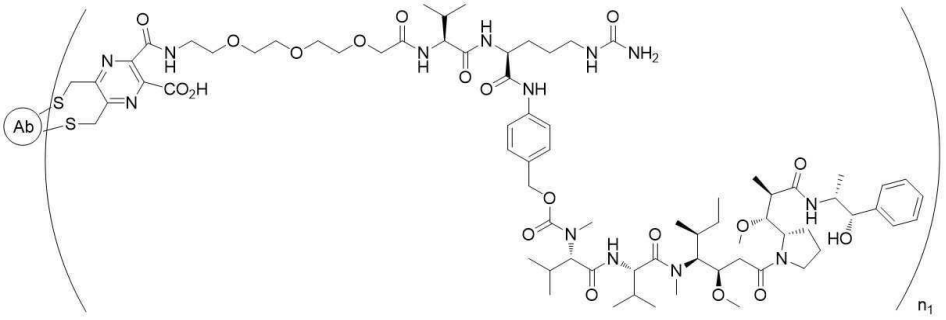
ADC III-3



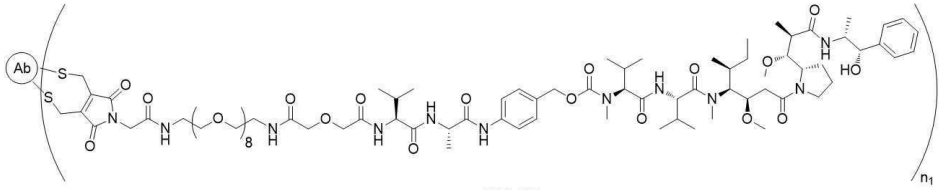
ADC III-4



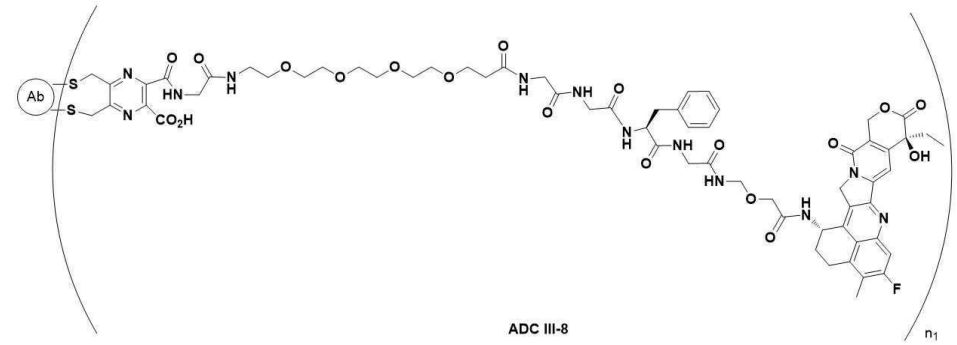
ADC III-5



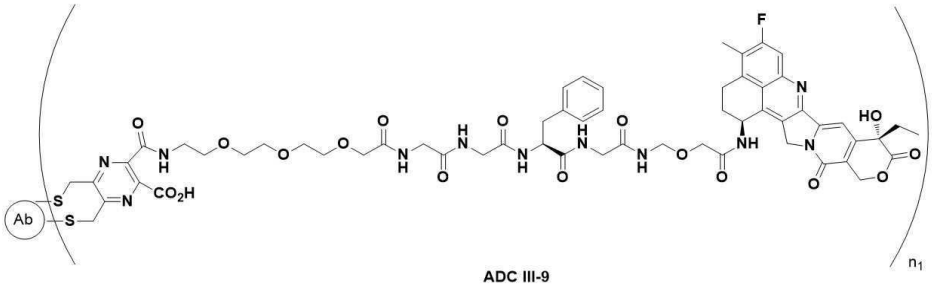
ADC III-6



ADC III-7



ADC III-8

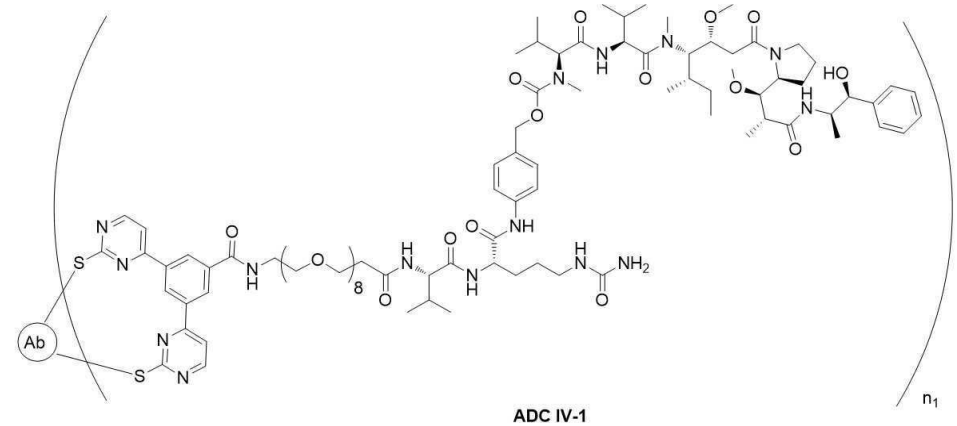


ADC III-9

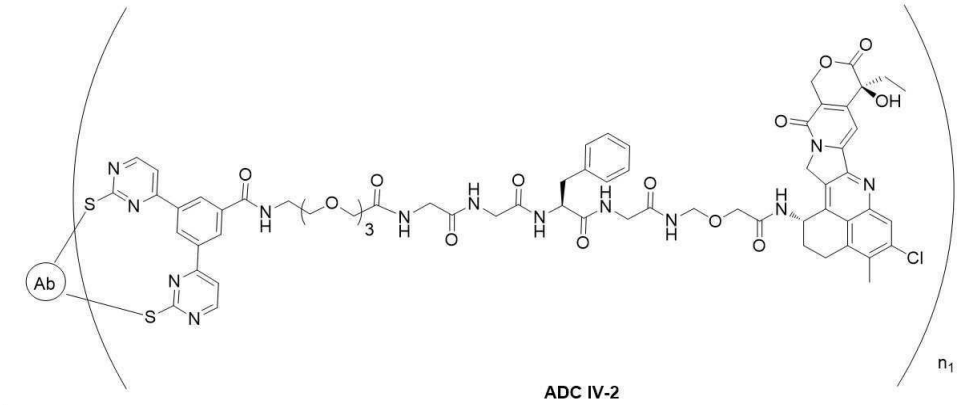
청구항 12

제10항에 있어서,

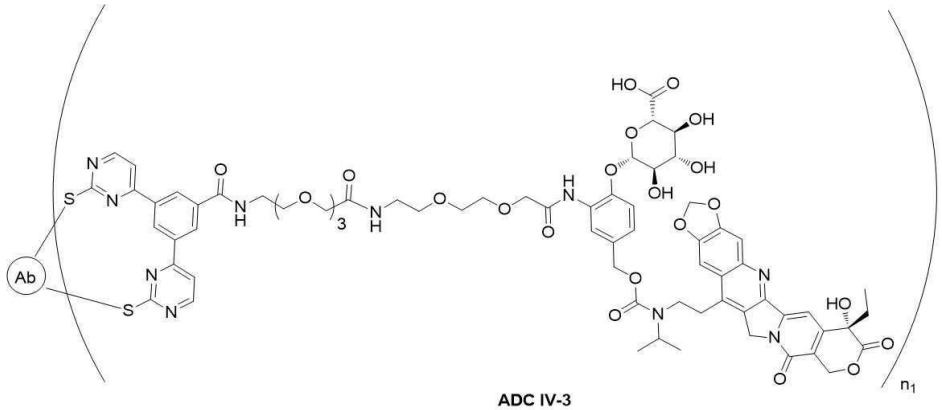
생리활성 접합체는 다음과 같은 구조를 가지며, 여기서 Ab는 항-Her2 항체 트라스투주맙 또는 항-Trop2 항체 사시투주맙 또는 항-ROR1 항체 19F6_Hu35V1 (생략해서 19F6)로 이루어진 군으로부터 선택되고, n_1은 1 내지 8이고, 바람직하게는 3 내지 5인, 생리활성 접합체:



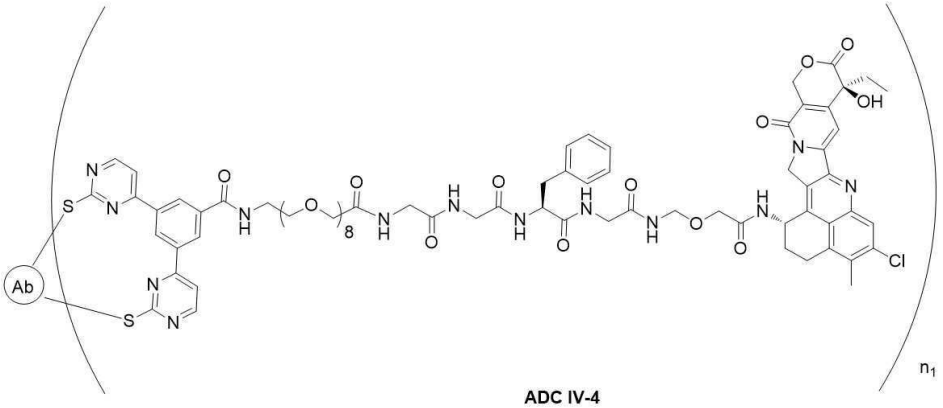
ADC IV-1



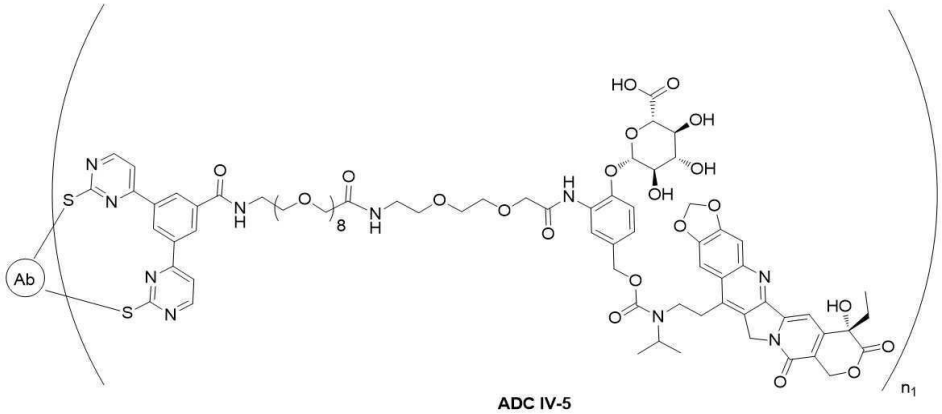
ADC IV-2



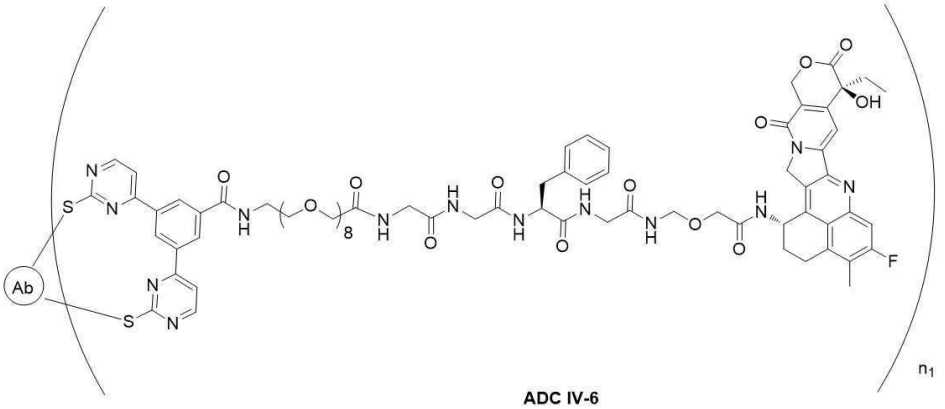
ADC IV-3



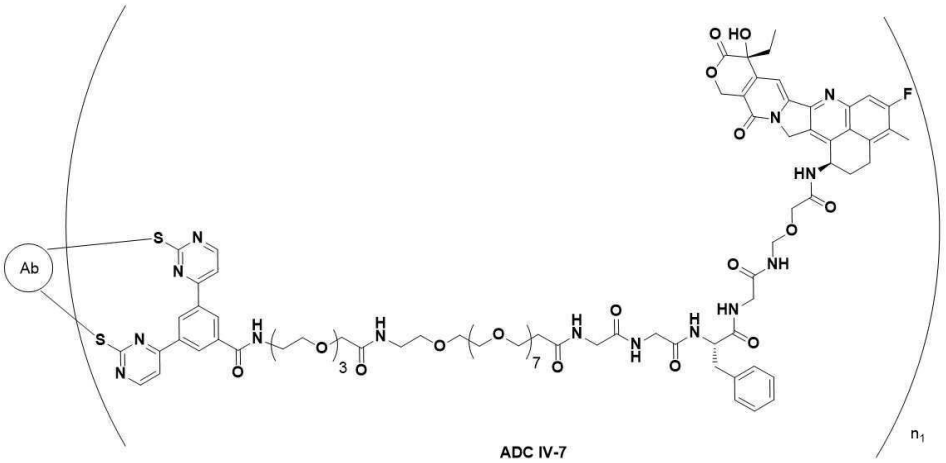
ADC IV-4



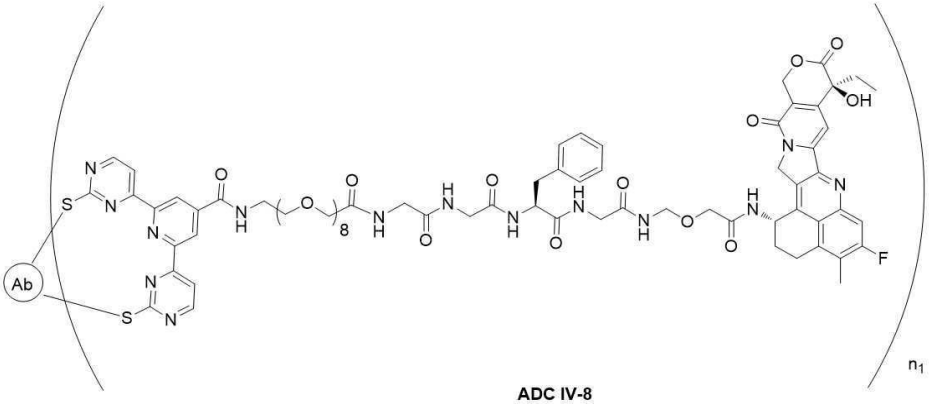
ADC IV-5



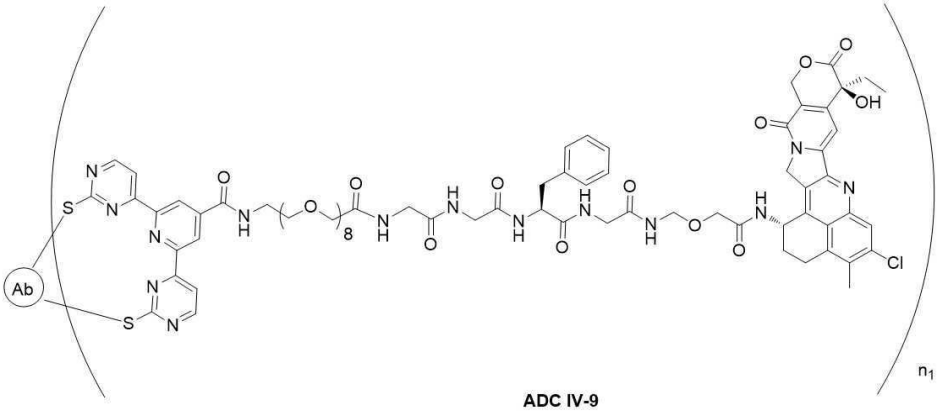
ADC IV-6



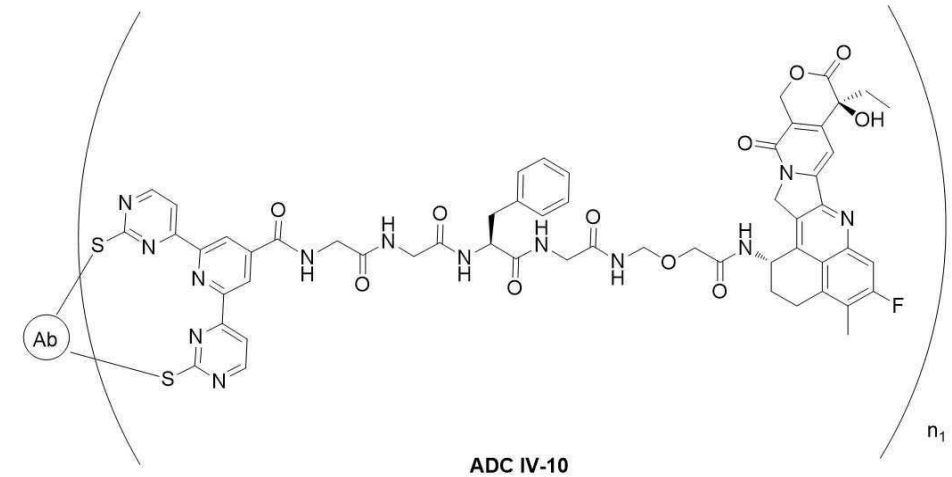
ADC IV-7



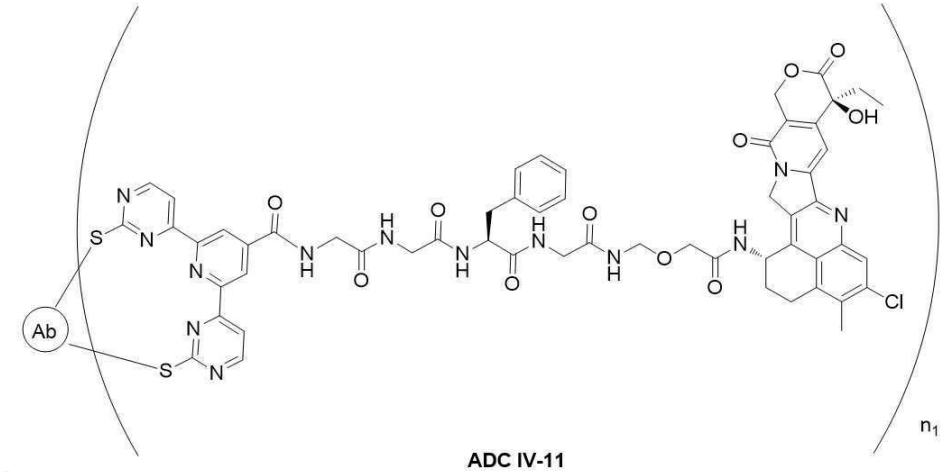
ADC IV-8



ADC IV-9



ADC IV-10



ADC IV-11

청구항 13

제5항 내지 제8항 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물 또는 제9항 내지 제12항 중 어느 하나에 따른 생리활성 접합체, 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 약학 조성물.

청구항 14

제5항 내지 제8항 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물, 또는 제9항 내지 제12항 중 어느 하나에 따른 생리활성 접합체, 또는 제13항에 따른 약학 조성물, 및 선택적으로 설명서를 포함하는, 키트 제품.

청구항 15

종양 질환의 예방 또는 치료를 위한 의약품의 제조에 있어서, 제5항 내지 제8항 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물, 또는 제9항 내지 제12항 중 어느 하나에 따른 생리활성 접합체의 용도.

청구항 16

종양 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 제5항 내지 제8항 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물, 또는 제9항 내지 제12항 중 어느 하나에 따른 생리활성 접합체.

청구항 17

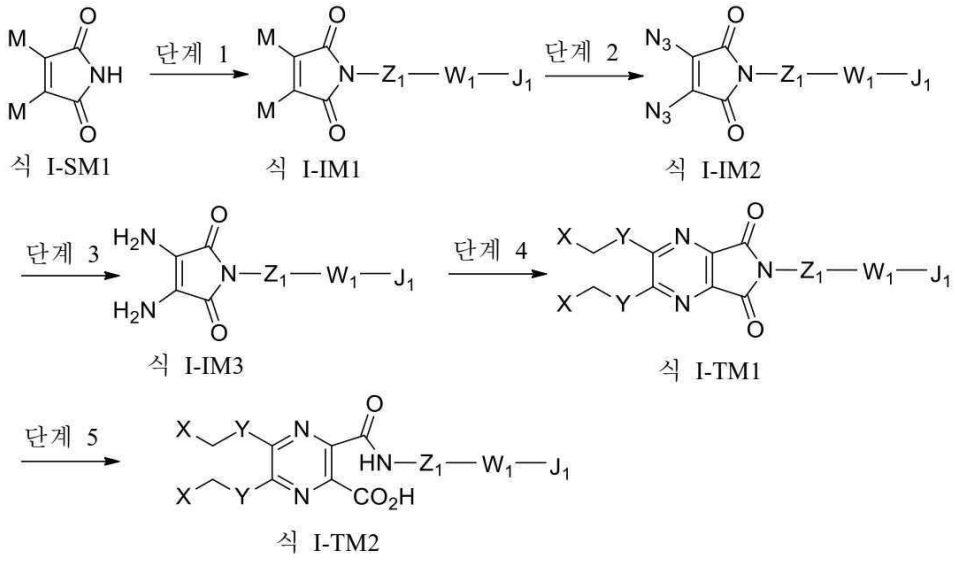
제5항 내지 제8항 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체,

호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물, 또는 제9항 내지 제12항 중 어느 하나에 따른 생리활성 접합체의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 종양 질환의 예방 또는 치료 방법.

청구항 18

화합물의 합성 방법으로서,

상기 방법은 다음 단계를 포함하고:

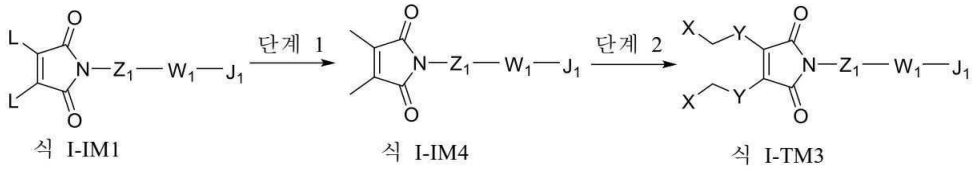


여기서,

X, Z_1, W_1, J_1는 제1항에 정의된 바와 같고, Y는 부재하고,

M은 할로겐, 트리플루오로메틸설포닐, p-톨루엔설포닐, 바람직하게는 할로겐을 포함하되 이에 제한되지 않는 치환 반응을 거치는 이탈기이고;

또는 다음 단계를 포함하고:

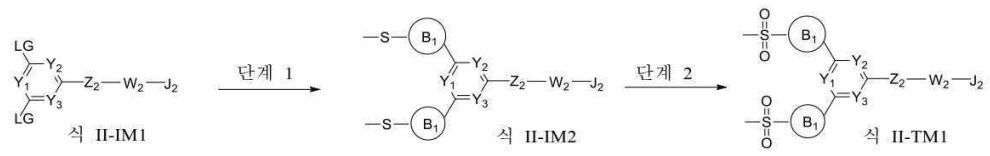


여기서,

X, Z_1, W_1, J_1는 상기 일반식에서 정의된 바와 같고,

L은 할로겐, 트리플루오로메틸설포닐, p-톨루엔설포닐, 바람직하게는 할로겐, OTf를 포함하되 이에 제한되지 않는 치환 반응을 거치는 이탈기이고;

또는 다음 단계를 포함하고:



여기서,

Y_1, Y_2, Y_3, B_1, J_2는 상기 일반식에서 정의된 바와 같고,

LG는 할로겐, 트리플루오로메틸설포닐, 바람직하게는 할로겐을 포함하되 이에 제한되지 않는 커플링 반응을 거치는 이탈기인, 합성 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 이 출원은 출원일 2021년 6월 2일의 중국 출원 번호 제202110615166.4호 및 출원일 2021년 10월 21일의 중국 출원 번호 제202111225483.1호를 기초로 하며, 이들에 대한 우선권을 주장한다. 이들 중국 출원의 개시 내용은 이 출원에 그 전문이 포함된다.

[0002] 본 발명은 화학적 결합(chemical coupling)에 사용되는 신규 링커, 항체-약물 접합체 및 이로부터 제조된 조성물, 그리고 제조 방법 및 종양 관련 질환의 치료에 있어서의 그의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 최근 몇년 동안 항체-약물 접합체는 종양 치료의 희망을 가져다주는 정밀 종양 치료의 뜨거운 방향 중 하나가 되었다. 항체-약물 접합체(ADC)는, 특정 항원을 표적으로 하는 단일클론 항체 약물 및 링커를 통해 접합된 소분자 세포독성 약물로 구성되며, 전통적인 소분자 화학요법의 강력한 살상 효과와 항체 의약품의 종양 표적성을 모두 가지고 있다. 2021년 4월 현재 진론타(Zynlonta)의 승인으로 전 세계적으로 12개의 ADC 약물이 시판 허가를 받았으며, 이 중 7개는 혈액 종양의 치료에 사용되고, 5개는 고형 종양의 치료에 사용된다.

[0004] 항체-약물 접합체는 항체, 링커, 페이로드(payload) 및 접합 모드(conjugation mode)로 구성된다. 접합 모드는 항체와 약물-링커 사이의 연결 모드를 의미한다. 접합 모드는 크게 비부위-특이적 접합 및 부위-특이적 접합으로 구분된다. 초기에는 주로 라이신 접합과 시스테인 접합에 의해 비부위-특이적 접합 모드가 사용되었다. 약물은, 항체의 형질전환이나 변형을 수반하지 않는 화학적 방법으로 항체의 아미노산 잔기와 직접 접합되었으며, 접합된 세포독소의 수와 접합 부위가 모두 불확실하고 균일성이 좋지 않았다. 현재 일반적으로 사용되는 부위-특이적 접합 모드는 보다 균일한 접합을 달성하기 위해 유전 공학 부위 또는 특수 커넥터를 통한 특정 접합으로, 특정 부위에서 세포독소의 연결을 실현할 수 있다. 부위-특이적 접합에 의해 생성된 항체-약물 접합체는 접합 부위 및 접합 수의 차이로 인한 효능, 약동학 및 CMC 품질 관리의 변동을 줄일 수 있다.

[0005] 현재 일반적인 부위-특이적 접합 방법은 THIOMAB 기술, 비천연 아미노산 접합 기술, 글루타민 효소 접합 기술, 소르타제(Sortase) 트랜스펩티다제 접합 기술 및 ThioBridge 기술을 포함한다. 이들 중, 항체 공학 또는 효소 접합을 이용한 항체의 변형은 항체의 구조적 안정성에 일정한 영향을 미칠 수 있으며, 이와 동시에 CMC에 대한 특정 요구 사항을 가질 수 있다. 또한 화학적 접합을 사용하는 부분적 ThioBridge 기술에는 특정 결함이 있는데, 예를 들어 DBM(디브로모말레이미드) 링커는 다른 설프하이드릴-함유 생물학적 그룹으로 치환될 수 있으므로, 혈장에서 불안정하여 약물 효능이 감소하고 독성 및 부작용이 증가할 수 있다 (Chem. - Eur. J., 2019, 25, 43-59). 따라서 효능과 안전성이 우수한 항체-약물 접합체를 개발하기 위한 새로운 링커 구조를 개발하는 것은 여전히 큰 의미가 있다.

발명의 내용

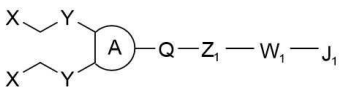
해결하려는 과제

[0006] 본 출원의 한 가지 목적은 화학 접합을 위한 새로운 링커를 제공하는 것이다. 이러한 유형의 링커는 반응성이 높고, 접합 조건이 온화하며, 작동하기 쉽고, 부위-특이적 접합을 실현할 수 있으며, 얻어진 생리활성 접합체는 생체내 및 시험 관내에서 명확한 약물 효능뿐만 아니라 우수한 균일성 및 혈장 안정성을 갖는다.

과제의 해결 수단

[0007] 화합물

[0008] 제1 측면에서, 본 출원은 식 I의 구조를 가지는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물을 제공한다:



식 I

[0009]

[0010] 여기서,

[0011] X는 Cl, Br, I, OM, OT, OTf 또는  와 같은 이탈기이고;

[0012] Y는 없거나 카르보닐이고;

[0013] 고리 A는 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 방향족 고리, 5원 내지 12원 헤테로방향족 고리 또는 5원 내지 12원 헤테로사이클릭 고리로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0014] Q는 없거나 -C(=O)-NH-이고;

[0015] Z_1는 없거나 $-CH_2-$ 또는 C_{2-6} 알키닐렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0016] W_1는 없거나 C_{1-10} 알킬렌, $-(CH_2CH_2O)_p-$, 및 $-(OCH_2CH_2)_p-$로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상이고;

[0017] J_1는 -COOH, $-NH_2$, 3원 내지 10원 질소-함유 헤테로사이클릭기, 설포닐우레아기 또는 하이드록실로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0018] p는 1 내지 10의 정수이다.

[0019] 일부 구현예에서, X는 Cl, Br, I, OM, OT 및 OTf로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다.

[0020] 일부 구현예에서, Y는 부재한다.

[0021] 일부 구현예에서, Z_1는 없거나 C_{2-6} 알키닐렌이다.

[0022] 일부 구현예에서, W_1는 없거나, C_{1-10} 알킬렌 및 $-(CH_2CH_2O)_p-$로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다.

[0023] 일부 구현예에서, W_1는 C_{1-10} 알킬렌이고; 바람직하게는 C_{1-6} 알킬렌, 더 바람직하게는 C_{1-3} 알킬렌이다.

[0024] 일부 구현예에서, J_1는 -COOH이다.

[0025] 일부 구현예에서, 고리 A는 치환되거나 치환되지 않은 5원 내지 12원 질소 함유 헤테로방향족 고리 또는 5원 내지 12원 질소 함유 헤테로사이클릭 고리로 이루어진 그룹으로부터 선택되며, 바람직하게는, 고리 A는 옥소 또는 -COOH로 치환되거나 치환되지 않은 5원 내지 12원 질소 함유 헤테로방향족 고리 또는 5원 내지 12원 질소 함유 헤테로사이클릭 고리로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0026] 일부 구현예에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다.

[0027] 일부 구현예에서, X는 Cl, Br, I, OM, OT, OTf 및  로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0028] Y는 부재하고;

[0029] 고리 A는 옥소 또는 -COOH로 치환되거나 치환되지 않은, 5원 내지 12원 질소 함유 헤테로방향족 고리 또는 5원 내지 12원 질소 함유 헤테로사이클릭 고리로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0030] Q는 없거나 -C(=O)-NH-이고;

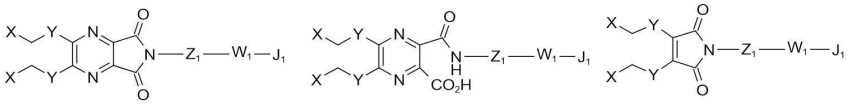
[0031] Z_1은 없거나 $-CH_2-$이고;

[0032] W_1는 없거나 C_{1-10} 알킬렌 및 $-(CH_2CH_2O)_p-$로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이고;

[0033] J_1는 -COOH이고;

[0034] p는 1 내지 10의 정수이다.

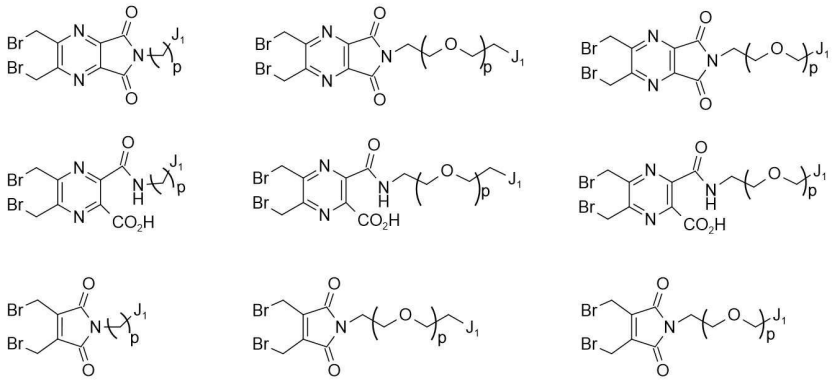
[0035] 일부 구현예에서, 식 I은 다음과 같은 구조로 이루어진 군으로부터 선택된다:



식 I-TM1 식 I-TM2 식 I-TM3

[0036]

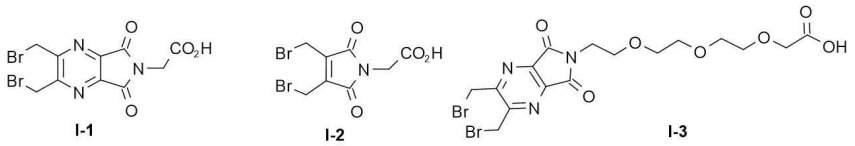
[0037] 일부 구현예에서, 식 I의 화합물은 다음과 같은 구조를 가진다:



[0038]

[0039] 여기서 p는 1 내지 10에서 선택된 정수이고, J_1는 -COOH 또는 $-NH_2$이다.

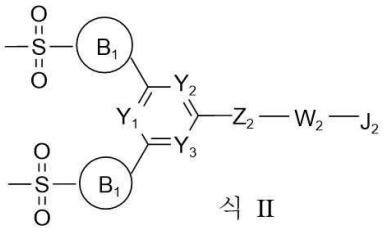
[0040] 일부 구현예에서, 식 I의 화합물은 다음과 같은 구조를 가진다:



I-1 I-2 I-3

[0041]

[0042] 제2 측면에서, 본 출원은 식 II의 구조를 가지는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물을 제공한다:



식 II

[0043]

[0044] 여기서, B_1는 각 경우에 단일 결합 또는 5원 내지 12원 질소 함유 헤테로방향족 고리로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0045] Y_1, Y_2 및 Y_3는 각 경우에 각각 CH 및 N으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0046] Z_2는 없거나 -NH-, $-CH_2-$, 카르보닐, -C(=O)NH-, -NHC(=O)- 또는 C_{2-6} 알키닐렌으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 바람직하게는 Z_2는 없거나 -NH-, $-CH_2-$, 카르보닐 또는 C_{2-6} 알키닐렌으로부터 선택되고;

[0047] W_2는 없거나 C_{1-10} 알킬렌, $-(CH_2CH_2O)_p-$ 또는 $-(OCH_2CH_2)_p-$로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상이고;

[0048] J_2는 -COOH, $-NH_2$, 3원 내지 10원 질소 함유 헤테로사이클릭기, 설포닐우레아기 또는 하이드록실로 이루어진 군

으로부터 선택되고;

[0049] p는 1 내지 10의 정수이다.

[0050] 일부 구현예에서, B_1는 각 경우에 단일 결합 또는 5원 내지 6원 질소 함유 헤테로방향족 고리로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는, B_1는 각 경우에 단일 결합 또는 5원 내지 6원 질소 함유 헤테로방향족 고리로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 더 바람직하게는, B_1는 각 경우에 단일 결합 또는 피리미딘 고리로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0051] 일부 구현예에서, Y_1, Y_2 및 Y_3는 모두 N이거나; Y_1는 CH이고, Y_2 및 Y_3는 모두 N이거나; Y_1는 N이고, Y_2 및 Y_3는 모두 CH이거나; Y_1, Y_2 및 Y_3는 모두 CH이다.

[0052] 일부 구현예에서, Z_2는 없거나 C_{2-6} 알키닐렌이다.

[0053] 일부 구현예에서, W_2는 없거나 C_{1-10} 알킬렌이다.

[0054] 일부 구현예에서, J_2는 -COOH 또는 $-NH_2$로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0055] 일부 구현예에서, B_1는 각 경우에 단일 결합 또는 피리미딘 고리로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0056] Y_1, Y_2 및 Y_3는 모두 CH이고;

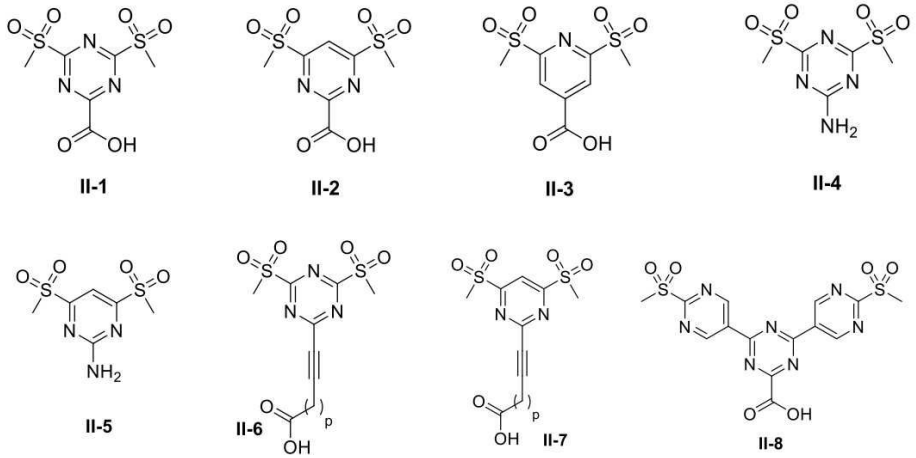
[0057] Z_2는 없거나 -C(=O)NH-이고;

[0058] W_2는 없거나 C_{1-10} 알킬렌, $-(CH_2CH_2O)_p$로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이고;

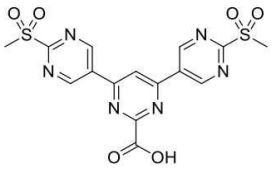
[0059] J_2는 -COOH이고;

[0060] p는 1 내지 10의 정수이다.

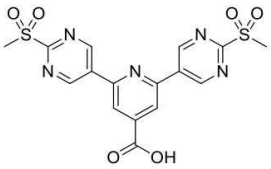
[0061] 일부 구현예에서, 식 II의 화합물은 다음과 같은 구조를 가진다:

[0062] 

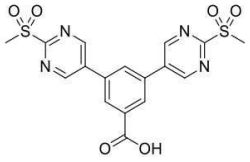
[0063]



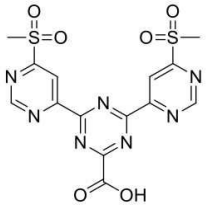
II-9



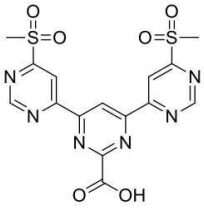
II-10



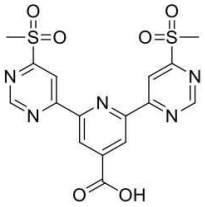
II-11



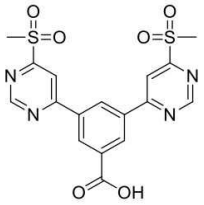
II-12



II-13

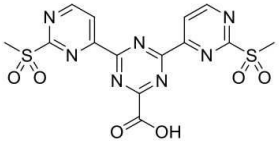


II-14



II-15

[0064]



II-16



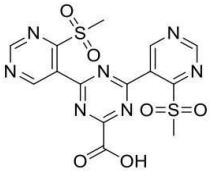
II-17



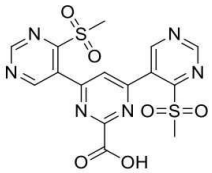
II-18



II-19

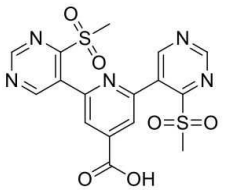


II-20

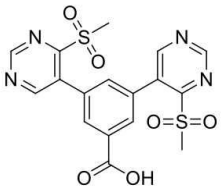


II-21

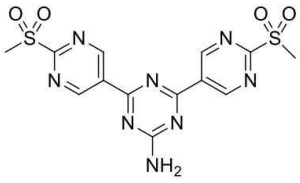
[0065]



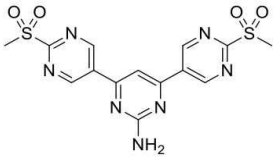
II-22



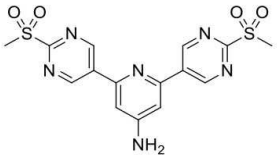
II-23



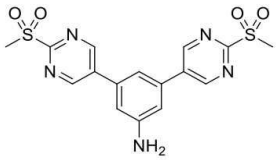
II-24



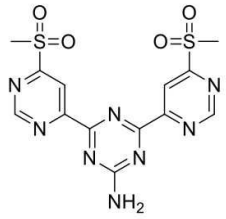
II-25



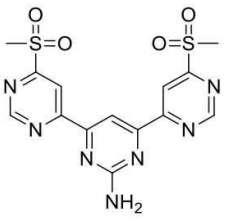
II-26



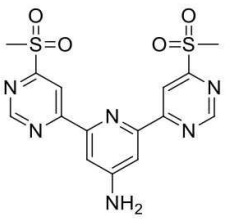
II-27



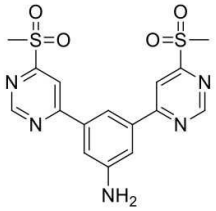
II-28



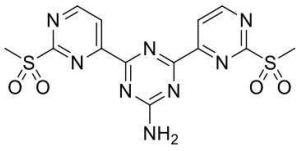
II-29



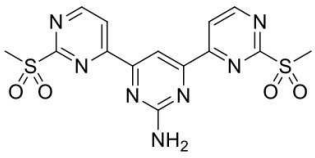
II-30



II-31

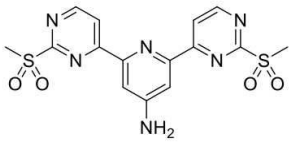


II-32

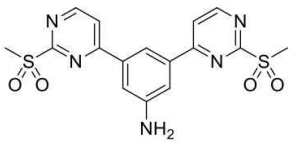


II-33

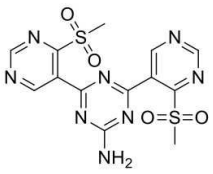
[0066]



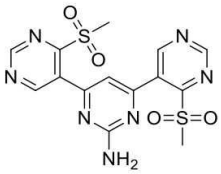
II-34



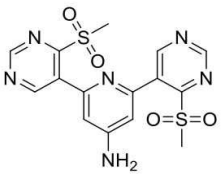
II-35



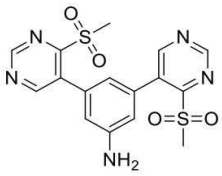
II-36



II-37

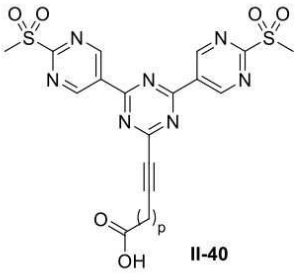


II-38

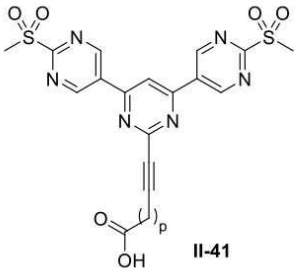


II-39

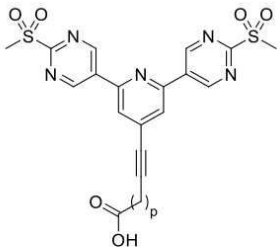
[0067]



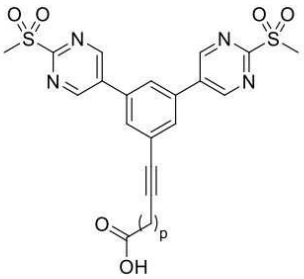
II-40



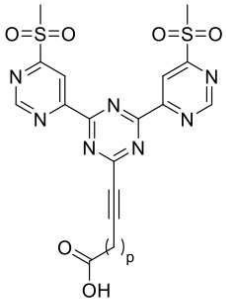
II-41



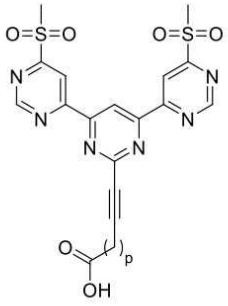
II-42



II-43

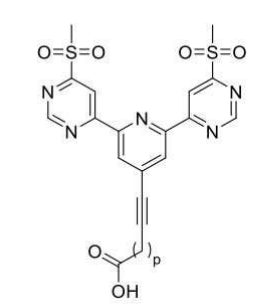


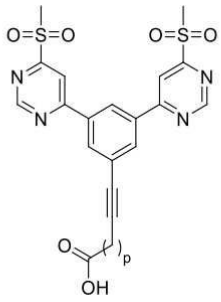
II-44

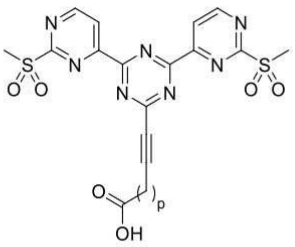


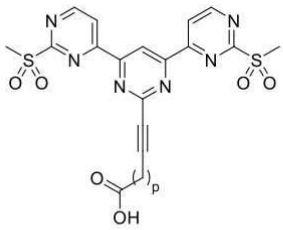
II-45

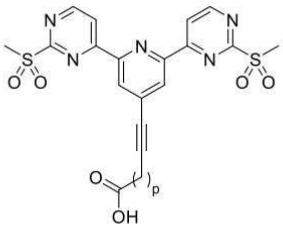
[0068]

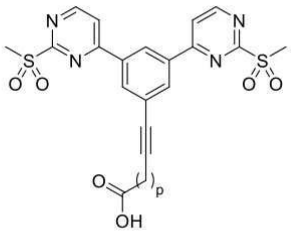
[0069] 
II-46

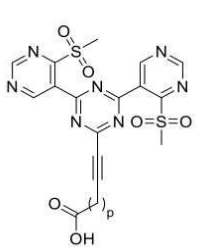

II-47

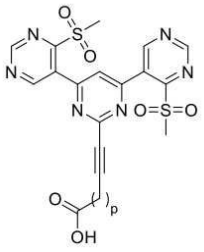

II-48

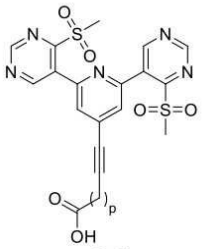

II-49

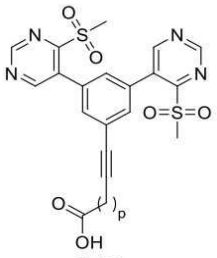

II-50

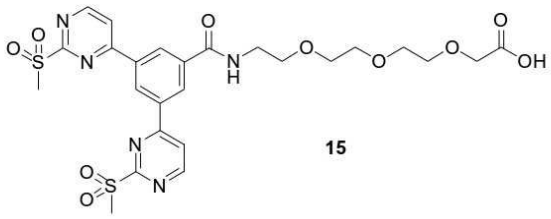

II-51


II-52


II-53


II-54


II-55 ;

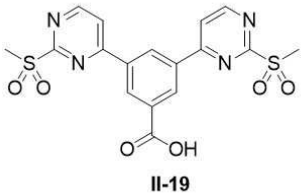

15

[0070]

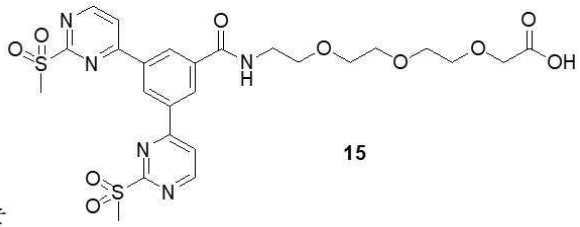
[0071] p는 1 내지 10의 정수이다.

[0072] 일부 구현예에서, p는 1 내지 8의 정수이고, 보다 바람직하게는, p는 1 내지 5의 정수이다.

[0073] 일부 구현예에서, 식 II의 화합물은 다음과 같은 구조를 가진다:

[0074] 
II-19

또는


15

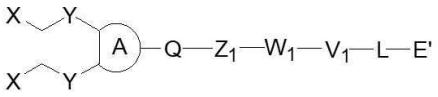
[0075] 일부 구현예에서, 식 II의 화합물은 다음과 같은 구조를 가진다:



II-19

[0076]

[0077] 제3 측면에서, 본 출원은 식 III의 구조를 가지는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물을 제공한다:



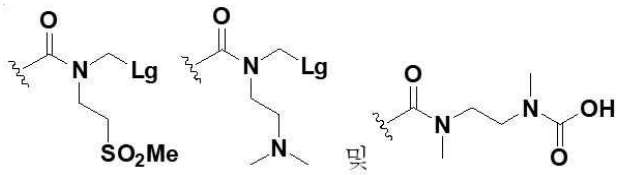
식 III

[0078]

[0079] 여기서,

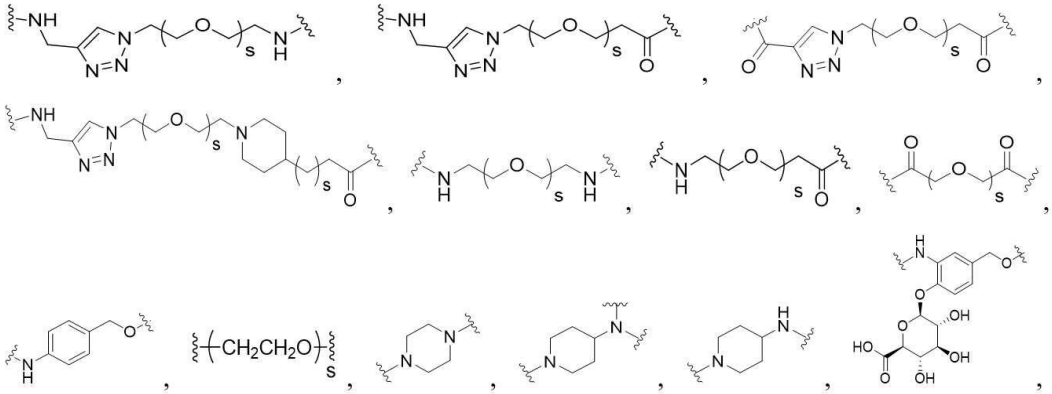
[0080] V_1는 L에 연결될 때, 본 출원의 제1 측면에서 식 I의 화합물의 J_1으로부터 형성된 기이고; 바람직하게는, V_1는 -CO-, -N(R_1)-, -O-, 3원 내지 10원의 질소 함유 헤테로사이클릭 고리기 또는 설포닐우레아기로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_1은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고; 더욱 바람직하게는, V_1는 -C(O)- 및 -N(R_1)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_1은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고;

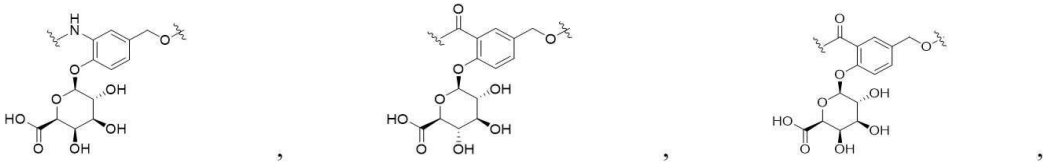
[0081] L은 V_1 와 E'를 연결하는 링커이고;

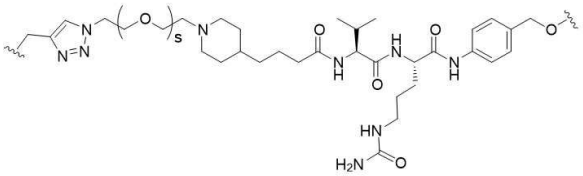
[0082] E'는 H, -NHCH$_2$-Lg, -COOH,  로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 Lg 는 Cl, Br, I, OM, OT, OTf 또는  와 같은 이탈기를 나타내고;

[0083] X, Y, A, Q, Z_1 및 W_1는 전술한 제1 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같다.

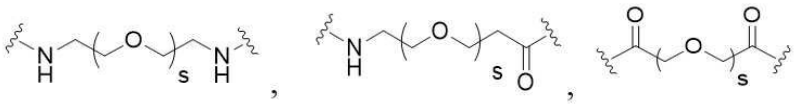
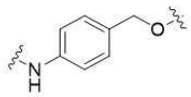
[0084] 일부 구현예에서, L은 다음의 그룹으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다: C_{1-6} 알킬렌, -N(R_6)-, 카르보닐, -O-, Val, Cit, Phe, Lys, D-Val, Leu, Gly, Phe, Ala, Asn, Val-Cit, Val-Ala, Val-Lys, Val-Lys(Ac), Phe-Lys, Phe-Lys(Ac), D-Val-Leu-Lys, Gly -Gly-Arg, Ala-Ala-Asn, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Phe-Gly, Gly-Gly-Gly-Gly-Gly,

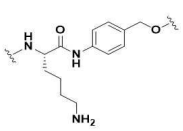
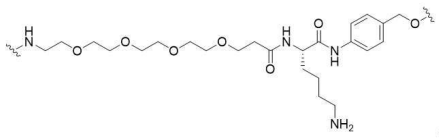
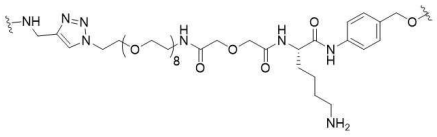
[0085] 

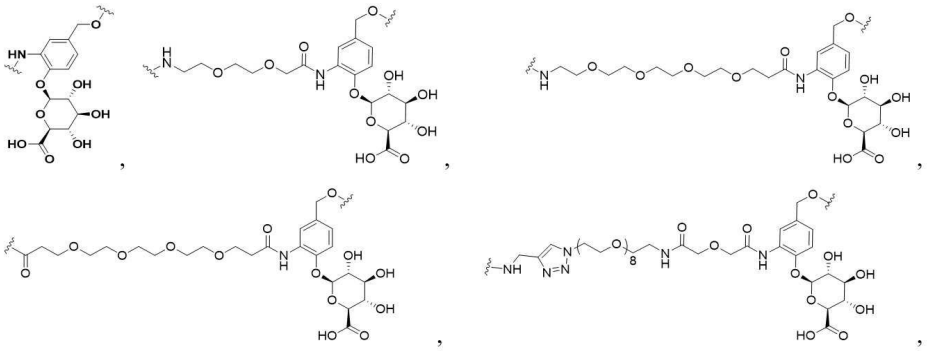
[0086] 

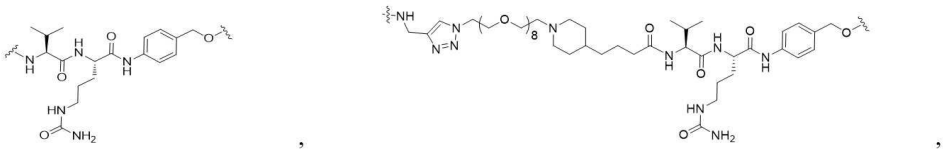
[0087] 

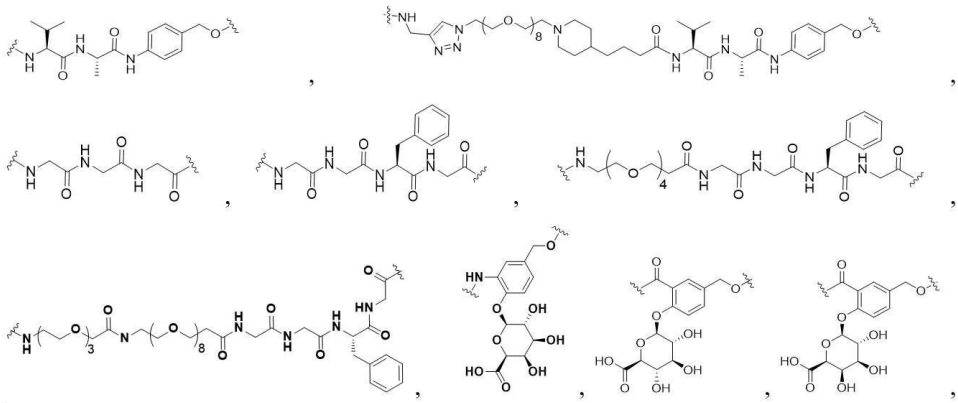
[0088] 여기서 R_6 은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고 s는 1 내지 10의 정수이다.

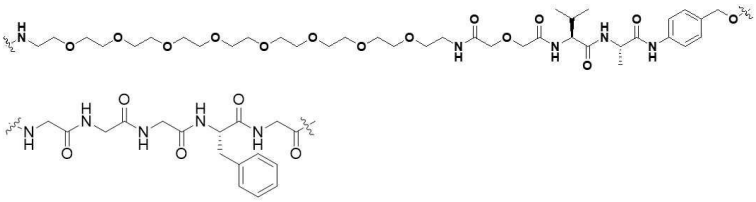
[0089] 일부 구현예에서, L은 다음 그룹으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다: Val, Cit, Gly, Phe, Ala, 
Val-Cit, Val-Ala, Gly-Gly-Phe-Gly, 
및 .

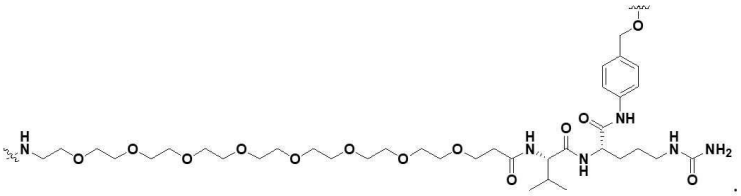
[0090] 일부 구현예에서, L은 , ,
.

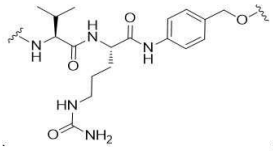
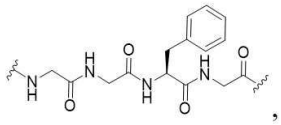
[0091] 

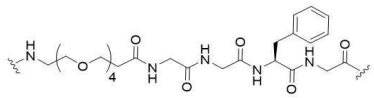
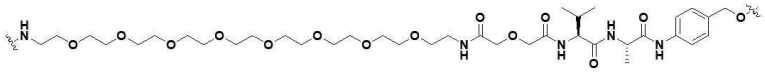
[0092] 

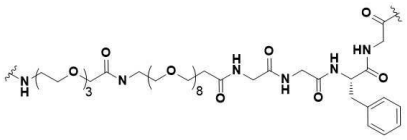
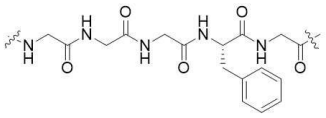
[0093] 

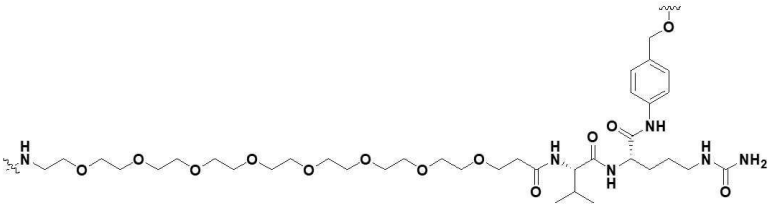
[0094] 
및

[0095] 
로부터 선택된다.

[0096] 일부 구현예에서, L은 , ,

[0097] , ,

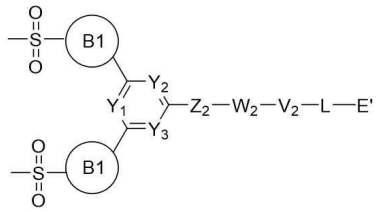
, , 및



[0098]

[0099] 로부터 선택된다.

[0100] 제4 측면에서, 본 출원은 식 IV의 구조를 가지는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물을 제공한다:



식 IV

[0101]

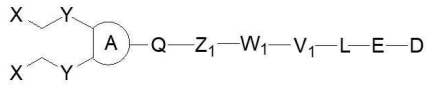
[0102] 여기서,

[0103] V_2는 L에 연결될 때, 본 출원의 제2 측면에서 식 II의 화합물의 J_2로부터 형성된 기이고; 바람직하게는, V_2는 -CO-, -N(R_2)-, -O-, 3원 내지 10원의 질소 함유 헤테로사이클릭 고리기 또는 설포닐우레아기로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_2는 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고; 더 바람직하게는, V_2는 -C(O)- 및 -N(R_2)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_2는 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고;

[0104] B_1 , Y_1 , Y_2 , Y_3 , Z_2 및 W_2는 전술한 제2 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같고;

[0105] L 및 E'는 전술한 제3 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같다.

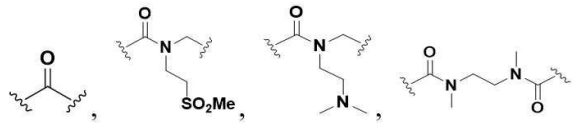
[0106] 제5 측면에서, 본 출원은 식 V의 구조를 가지는 화합물 또는 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물을 제공한다:



[0107] 식 V

[0108] 여기서,

[0109] E는 단일 결합, -NH-CH_2 - 또는 다음 구조로 이루어진 군으로부터 선택되고:

[0110]  ;

[0111] D는 생리활성 분자의 단편(예를 들어, 세포독성 약물)이고;

[0112] X, Y, A, Q, Z_1, W_1는 전술한 제1 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같고;

[0113] V_1 및 L은 제3 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같다.

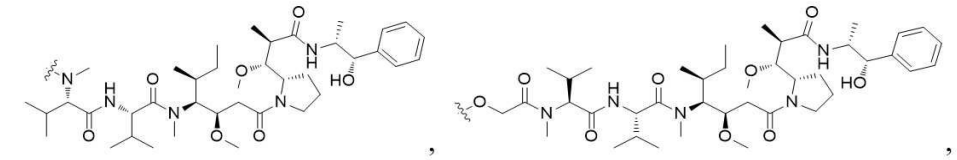
[0114] 일부 구현예에서, 생리활성 분자는 항-투불린제, DNA 인터칼레이터(intercalator), DNA 토포이소머라제(topoisomerase) 억제제 및 RNA 중합효소 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된다.

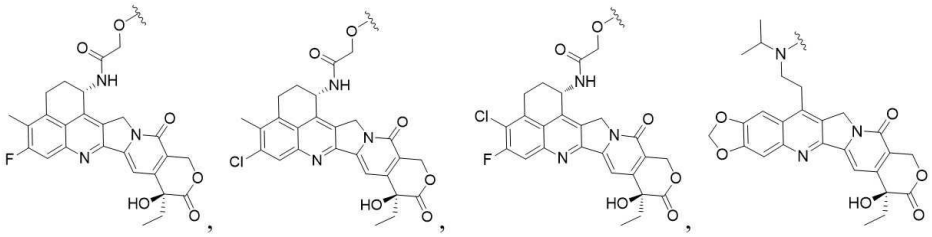
[0115] 일부 구현예에서, 생리활성 분자는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다: 오리스타틴(auristatin) 화합물 또는 메이탄신(maytansine) 화합물과 같은 튜불린 억제제; 피롤로벤조디아제핀(PBD)과 같은 DNA 인터칼레이터; 토포이소머라제 I 억제제(예를 들어, 캄프토테신(camptothecin), 하이드록시캄프토테신, 9-아미노캄프토테신, SN-38, 이리노테칸(irinotecan), 토포테칸(topotecan,), 벨로테칸(belotecan), 또는 루비테칸(rubitecan)) 또는 토포이소머라제 II 억제제(예를 들어, 아드리아마이신, 독소루비신, PNU-159682, 듀오카르마이신, 다우노루비신, 미톡산트론(mitoxantrone), 포도필로톡신 또는 에토포사이드)와 같은 DNA 토포이소머라제 억제제; α-아마니틴(amanitin) 등과 같은 RNA 중합효소 억제제; 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르 또는 유사체.

[0116] 일부 구현예에서, 생리활성 분자는 토포이소머라제 I 억제제(예를 들어, 캄프토테신, 하이드록시캄프토테신, 9-아미노캄프토테신, SN-38, 이리노테칸, 토포테칸, 벨로테칸, 루비테칸), MMAE 및 MMAE 유도체 중에서 선택된다.

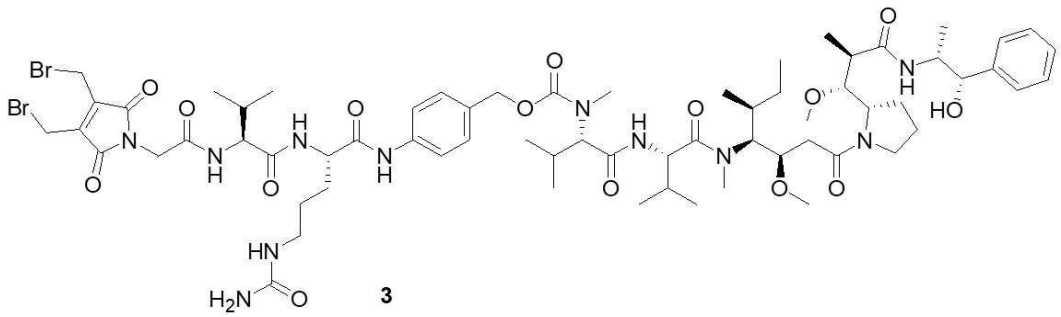
[0117] 일부 구현예에서, 생리활성 분자는 MMAE 및 MMAE 유도체 중에서 선택된다.

[0118] 일부 구현예에서, D는 다음 중에서 선택된다:

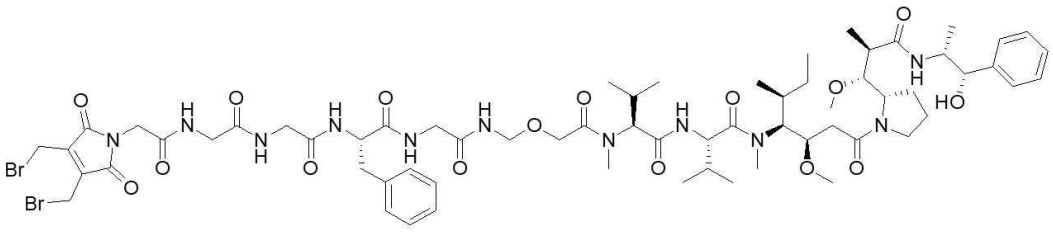
[0119] 

[0120] 

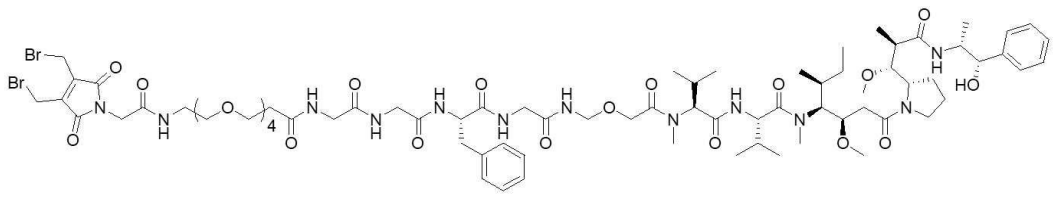
[0121] 일부 구현예에서, 식 V의 화합물은 다음 중에서 선택된다:

[0122] 

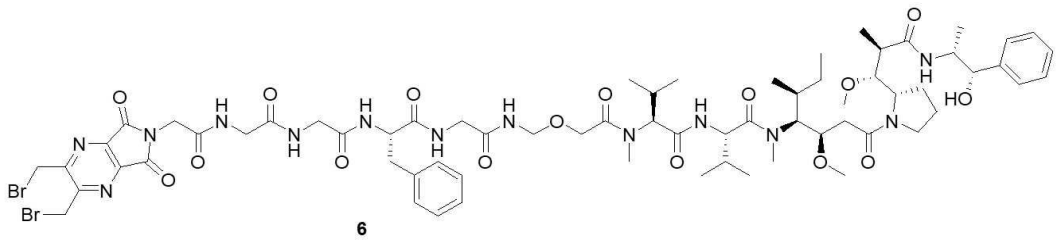
3

[0123] 

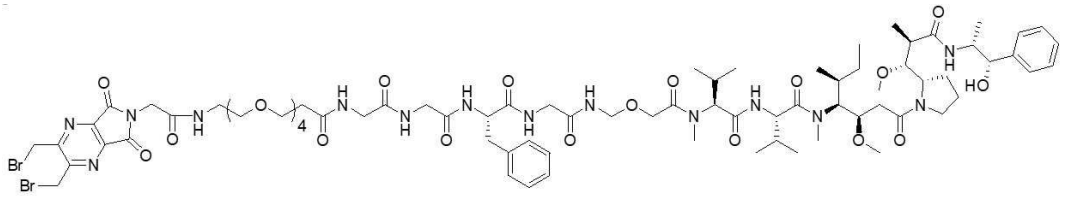
4

[0124] 

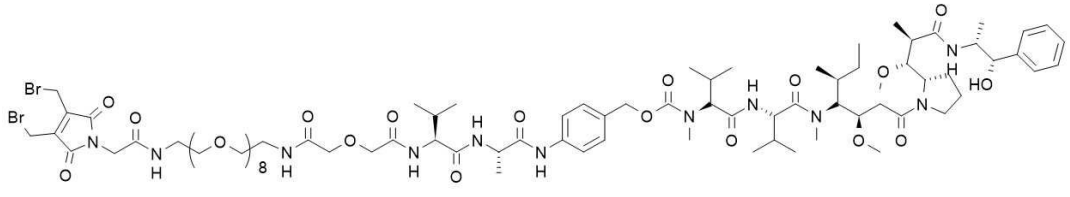
5

[0125] 

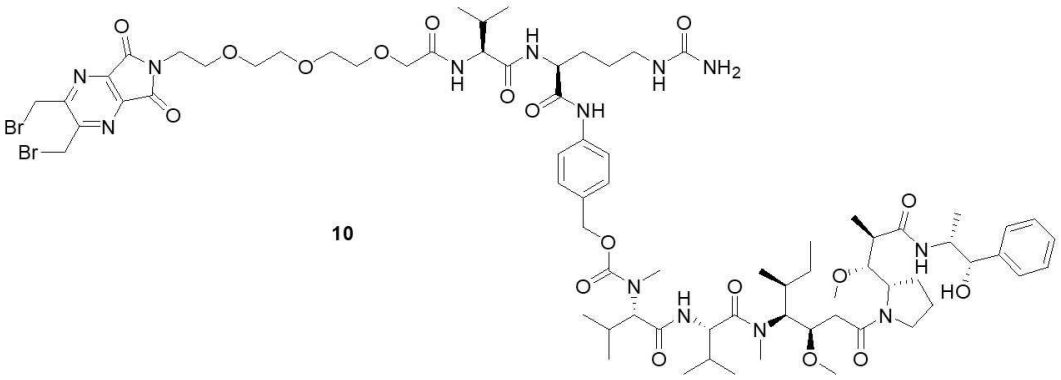
6



7

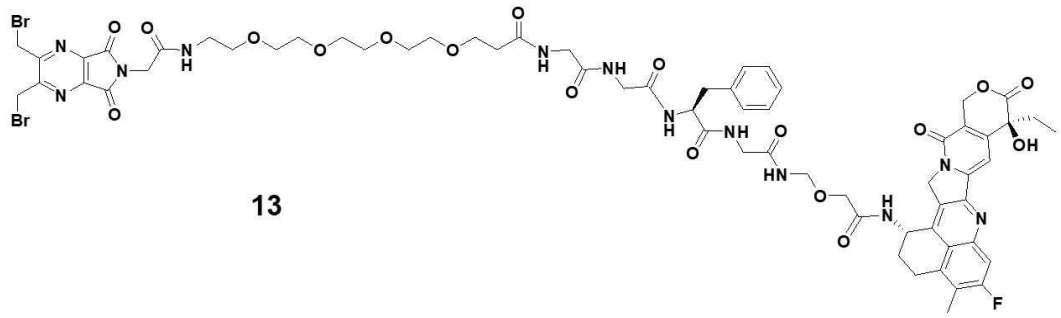
[0126] 

8



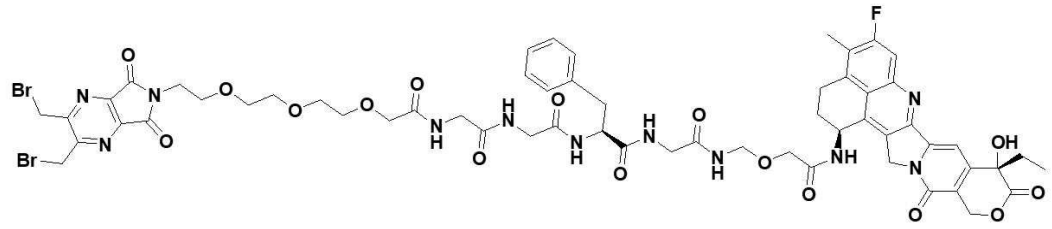
10

[0127]



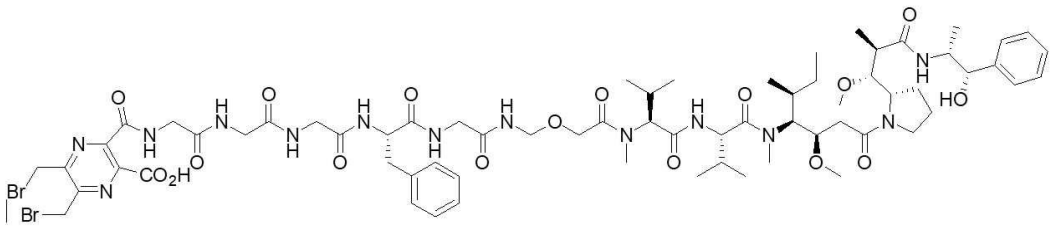
13

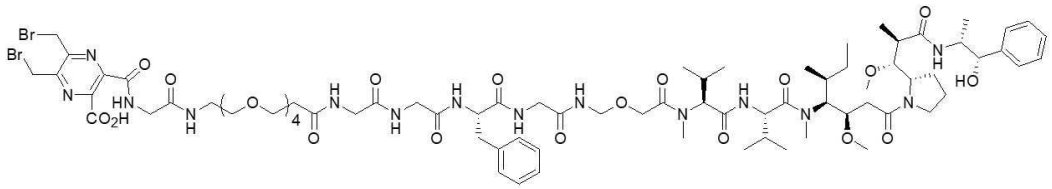
[0128]



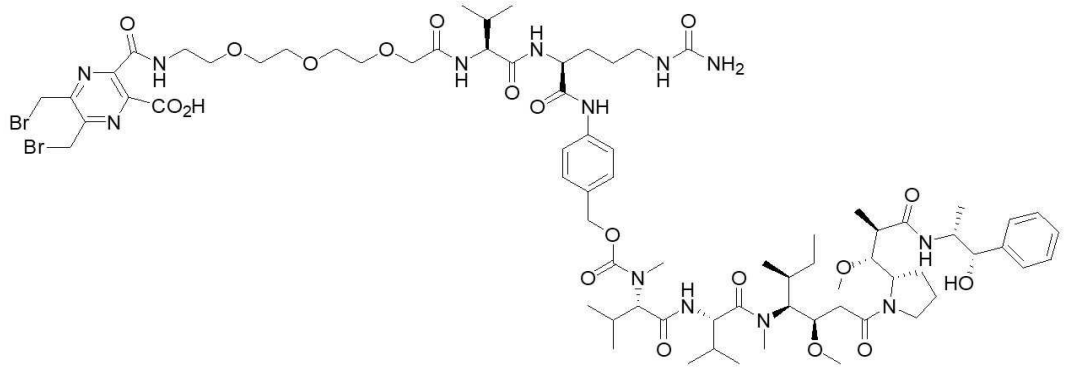
14

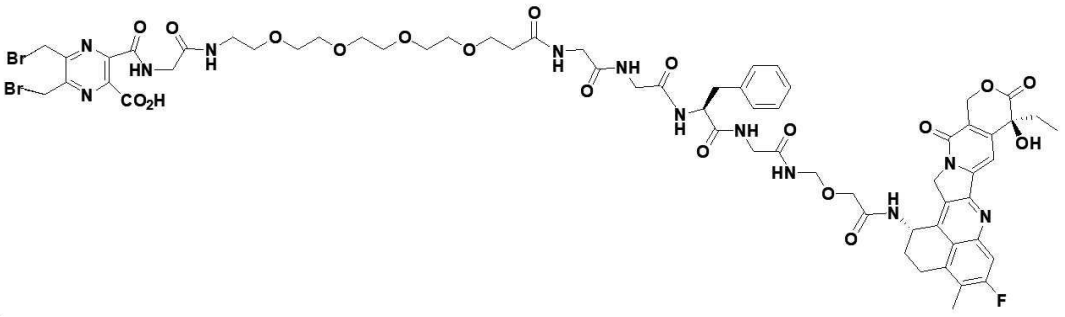
[0129]

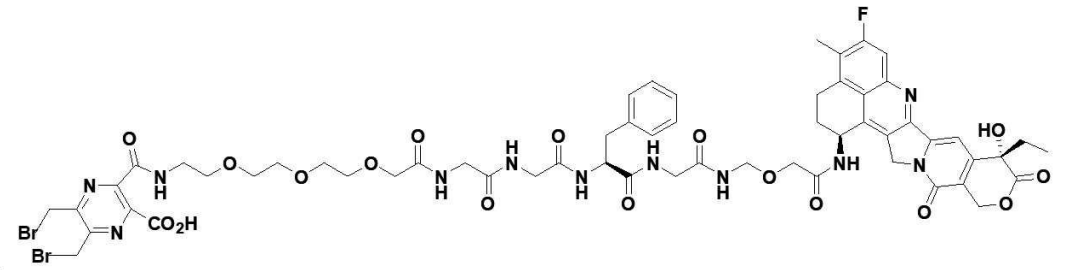




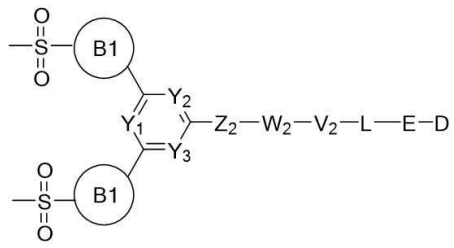
[0130]

[0131] 

[0132] 

[0133] 

[0134] 제6 측면에서, 본 출원은 식 VI의 구조를 가지는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 다형체, 용매화물, *N*-산화물 또는 동위원소 표지 화합물을 제공한다:

[0135] 

[0136] 식 VI

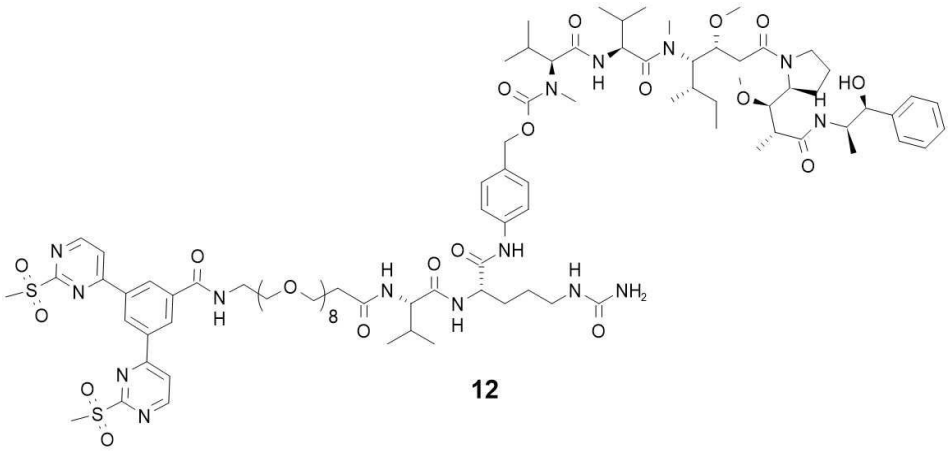
[0137] B_1, Y_1, Y_2, Y_3, Z_2 및 W_2는 전술한 제2 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같고;

[0138] L은 전술한 제3 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같고;

[0139] V_2는 전술한 제4 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같고;

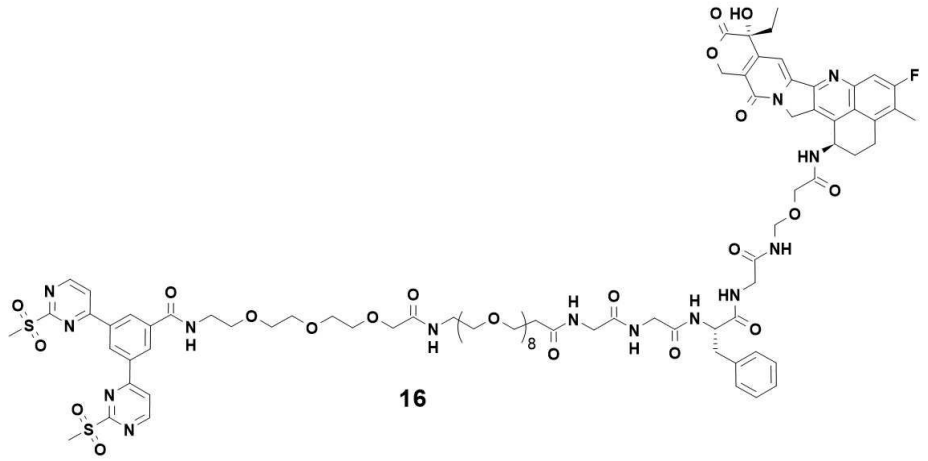
[0140] E 및 D는 전술한 제5 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같다.

[0141] 일부 구현예에서, 식 VI의 화합물은 다음과 같다.



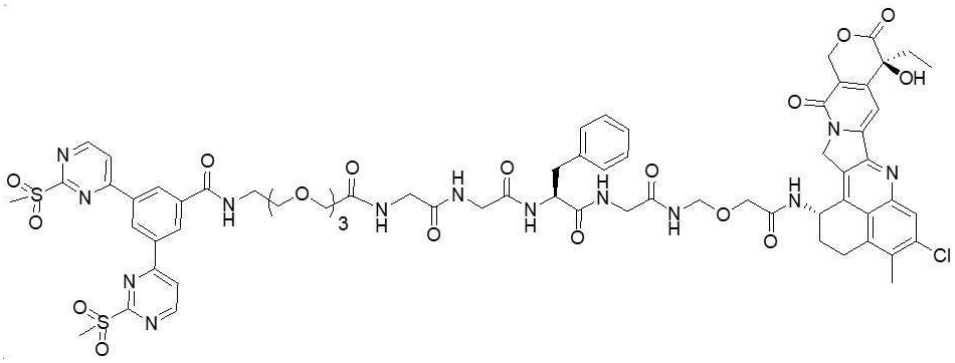
12

[0142]

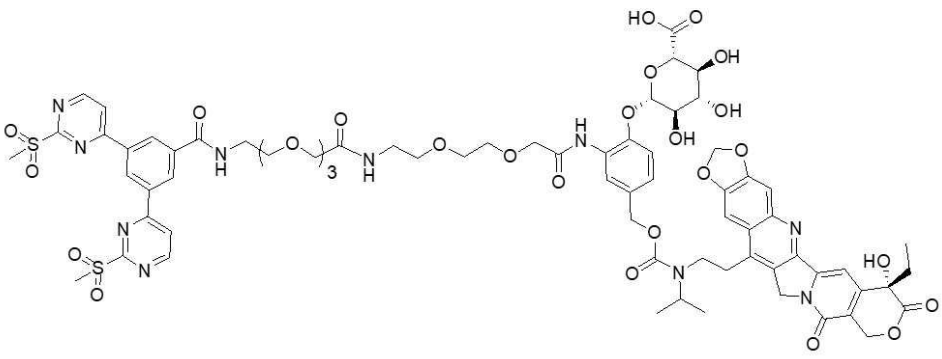


16

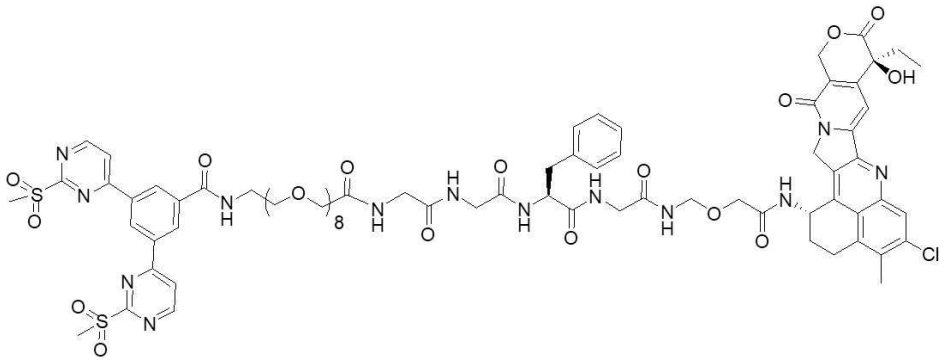
[0143]

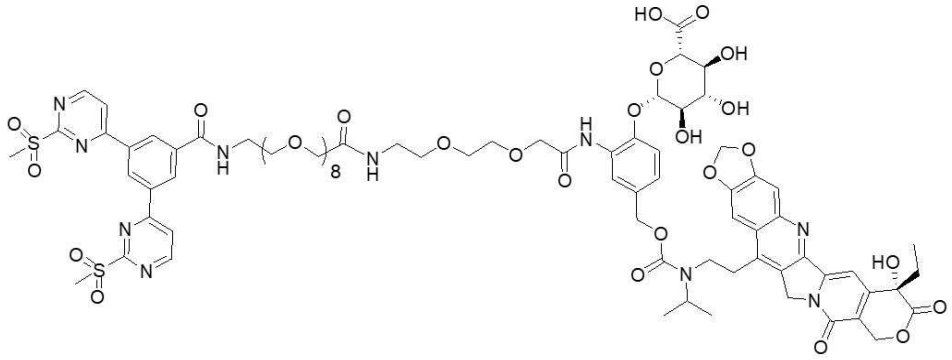


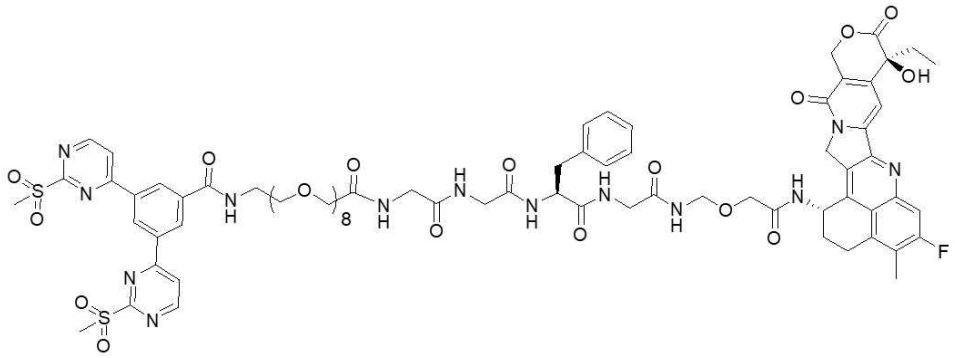
[0144]

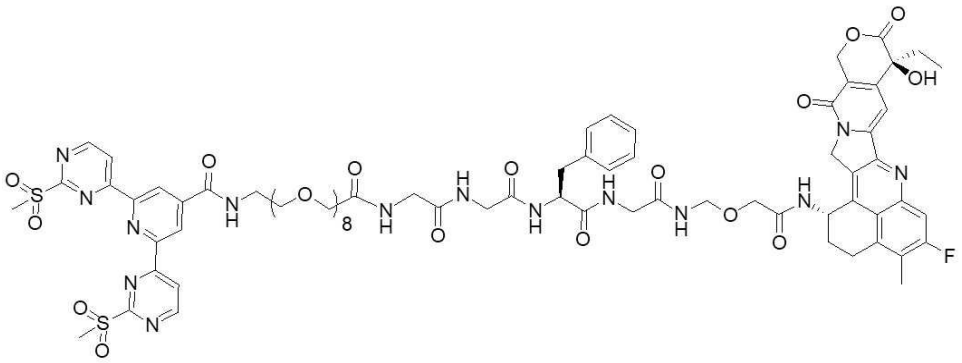


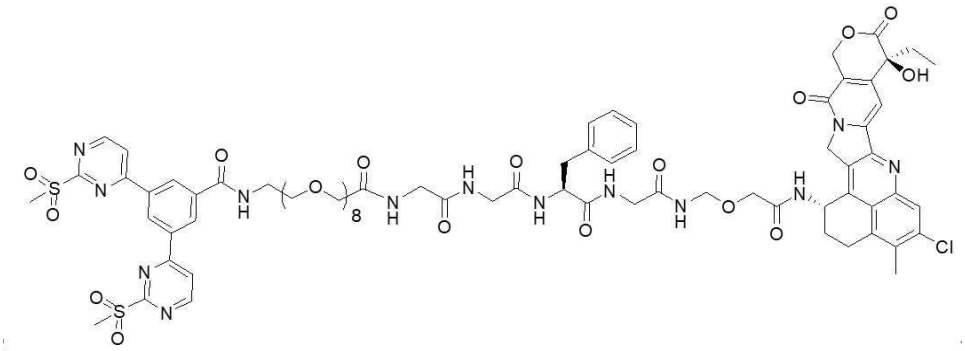
[0145]

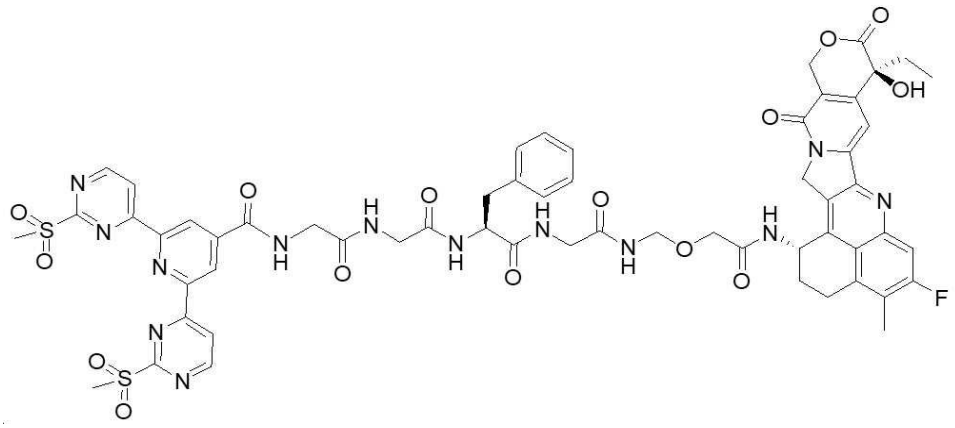
[0146] 

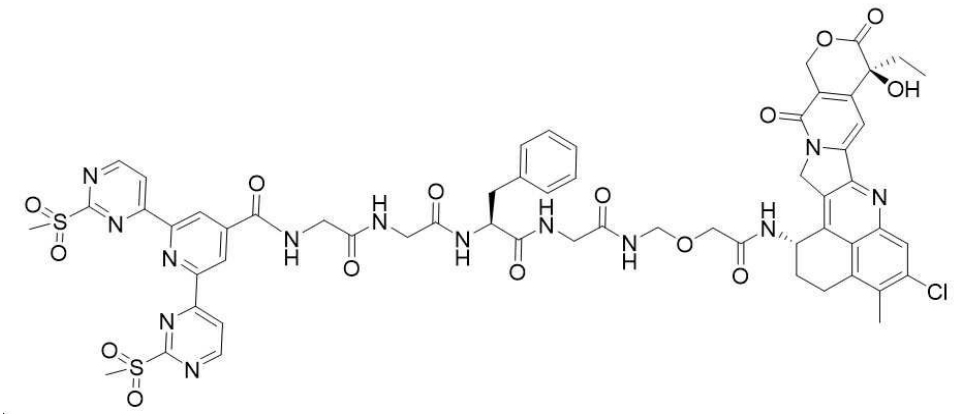
[0147] 

[0148] 

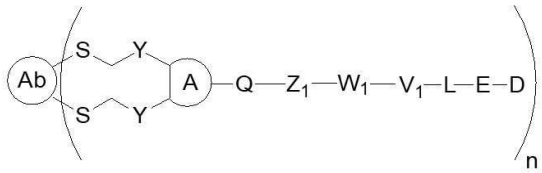
[0149] 

[0150] 

[0151] 

[0152] 

[0153] 제7 측면에서, 본 출원은 식 VII에 나타낸 바와 같은 구조를 갖는 생리활성 접합체를 제공한다:



식 VII

[0154]

[0155] 여기서, Ab는 표적 모이어티(예를 들어, 저분자 리간드, 단백질(예를 들어, 항체), 폴리펩타이드, 비단백질 시약(예를 들어, 당류, RNA 또는 DNA))이고, n은 1 내지 10의 정수 또는 소수이고;

[0156] V_1는 -C(O)- 및 -N(R_1)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_1은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고;

[0157] L은 V_1와 E를 연결하는 링커이고;

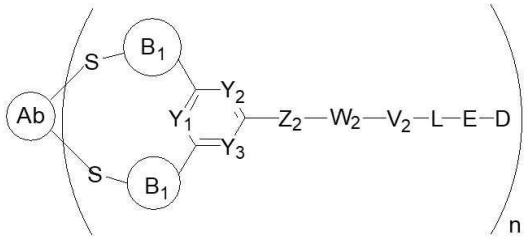
[0158] E는 L과 D를 연결하는 구조적 단편이고;

[0159] D는 생리활성 분자(예를 들어, 세포독성 약물)의 단편이고;

[0160] 표적 모이어티가 항체인 경우, 접합체의  는 항체의 설프하이드릴기가 접합체의 나머지 부분과 연결되는 특정 방식을 나타내고;

[0161] 다른 모든 기는 전술한 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같다.

[0162] 본 발명의 또 다른 측면은 식 VIII에 나타낸 바와 같은 구조를 갖는 생리활성 접합체를 제공한다:



식 VIII

[0163]

[0164] 여기서, Ab는 표적 모이어티(예를 들어, 저분자 리간드, 단백질(예를 들어, 항체), 폴리펩타이드, 비단백질 시약(예를 들어, 당류, RNA 또는 DNA))이고, n은 1 내지 10의 정수 또는 소수이고;

[0165] V_2는 -C(O)- 및 -N(R_2)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R_2은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고;

[0166] L은 V_2와 E를 연결하는 링커이고;

[0167] E는 L과 D를 연결하는 구조적 단편이고;

[0168] D는 생리활성 분자(예를 들어, 세포독성 약물)의 단편이고;

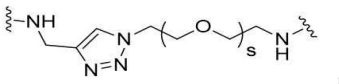
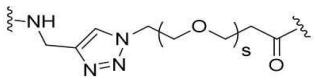
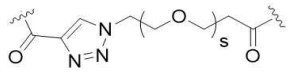
[0169] 표적 모이어티가 항체인 경우, 접합체의  는 항체의 설프하이드릴기가 접합체의 나머지 부분과 연결되는 특정 방식을 나타내고;

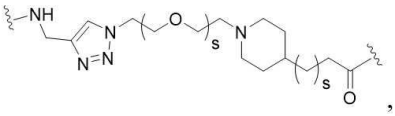
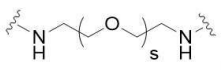
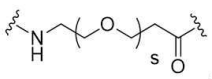
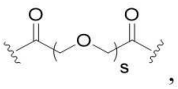
[0170] 다른 모든 기는 전술한 측면의 임의의 항목에 정의된 바와 같다.

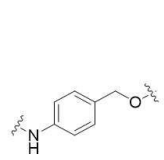
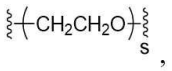
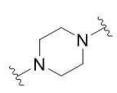
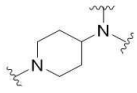
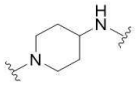
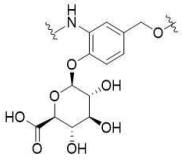
[0171] 일부 구현예에서, Ab는 표피 성장 인자, Trop-2, CD37, HeR2, CD70, EGFRvIII, 메소텔린(Mesothelin), 엽산 수용체1(Folate receptor1), 뮤신1, CD138, CD20, CD19, CD30, SLTRK6, 넥틴 4(Nectin 4), 조직 인자, 뮤신16, 엔도텔린 수용체, STEAP1, SLC39A6, 구아닐릴사이클라제 C(Guanylylcyclase C), PSMA, CCD79b, CD22, 인산나트륨 공동수송체(cotransporter) 2B, GPNMB, 영양막 당단백질(Trophoblast glycoprotein), AGS-16, EGFR, CD33, CD66e, CD74, CD56, PD-L1, TACSTD2, DR5, E16, STEAP1, 0772P, MPF, Napi3b, Sema 5b, PSCA hlg, ETBR, MSG783, STEAP2, TrpM4, CRIPTO, CD21, CD79b, FcRH2, NCA, MDP, IL20Rα, Brevican, EphB2R, ASLG659, PSCA, GEDA, BAFF-R, CD22, CD79a, CXCR5, HLA-DOB, P2X5, CD72, LY64, FcRH1, IRTA2, TENB2, 인테그린 α5β6, α4β7, FGF2, FGFR2, Her3, CD70, CA6, DLL3, DLL4, P-cadherin, EpCAM, pCAD, CD223, LYPD3, LY6E, EFNA4, ROR1, SLITRK6, 5T4, ENPP3, SLC39A6, Claudin18.2, BMPR1B, E16, STEAP1, Tyro7, 0772P, MPF, Napi3b, Sema 5b, PSCA hlg, ETBR, MSG783, STEAP2, TrpM4, CRIPTO, CD21, CD79b, FcRH2, NCA, MDP, IL20Rα, Brevican, EphB2R, ASLG659, PSCA, GEDA, CD22, CD79a, CXCR5, HLA-DOB, P2X5, CD72, LY64, FcRH1, IRTA2, c-Met, ApoE, CD11c, CD40, CD45(PTPRC), CD49D(ITGA4), CD80, CSF1R, CTSD, GZMB, Ly86, MS4A7, PIK3AP1, PIK3CD, CCR5, IFNG, IL10RA1, IL-6, ACTA2, COL7A1, LOX, LRRC15, MCPT8, MMP10, NOG, SERPINE1, STAT1, TGFBR1, CTSS, PGF, VEGFA, C1QA, C1QB, ANGPTL4, EGLN, ANGPTL4, EGLN3, BNIP3, AIF1, CCL5, CXCL10, CXCL11, IFI6, PLOD2, KISS1R, STC2, DDIT4, PFKFB3, PGK1, PDK1, AKR1C1, AKR1C2, CADM1, CDH11, COL6A3, CTGF, HMOX1, KRT33A, LUM, WNT5A, IGFBP3, MMP14, CDCP1, PDGFRA, TCF4, TGF, $TGFB_1$, TGFB2, CD1 1b, ADGRE1, EMR2, TNFRSF21, UPK1B, TNFSF9, MMP16, MFI2, IGF-1R, RNF43, NaPi2b, BCMA, B7H3, 및 TENB2로 이루어진 군으로부터 선택되고;

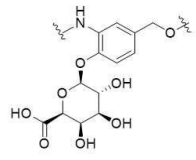
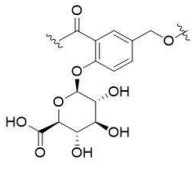
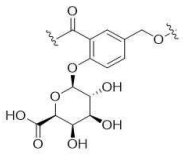
[0172] 바람직하게는, Ab는 항-Her2 항체 트라스투주맙(trastuzumab) 또는 항-Trop2 항체 사시투주맙(sacituzumab) 또는 항-ROR1 항체 19F6_Hu35V1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

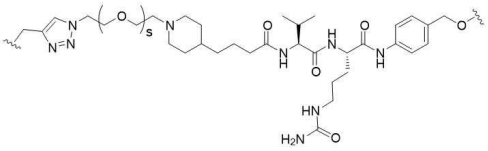
[0173] 일부 구현예에서, L은 다음 그룹으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다: C_{1-6} 알킬렌, $-N(R_6)-$, 카르보닐, O-, Val, Cit, Phe, Lys, D-Val, Leu, Gly, Phe, Ala, Asn, Val-Cit, Val-Ala, Val-Lys, Val-Lys(Ac), Phe-Lys, Phe-Lys(Ac), D-Val-Leu-Lys, Gly -Gly-Arg, Ala-Ala-Asn, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Phe-Gly, Gly-Gly-Gly-Gly-Gly,

[0174] , , ,

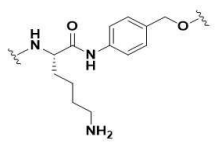
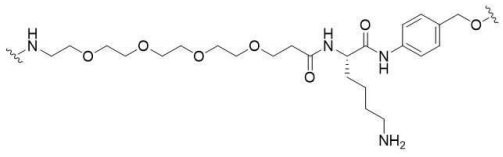
[0175] , , , ,

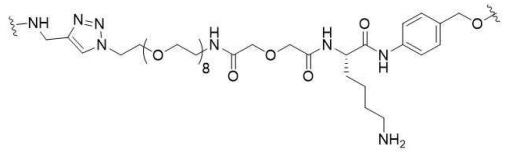
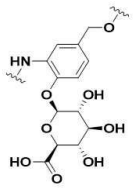
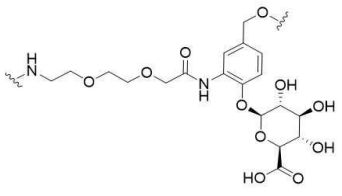
[0176] , , , , , ,

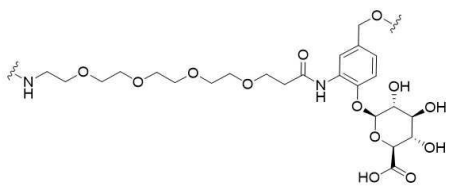
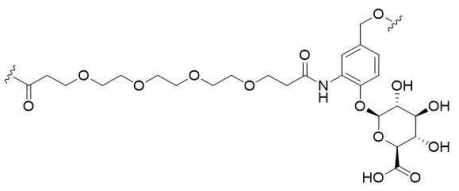
, , ,

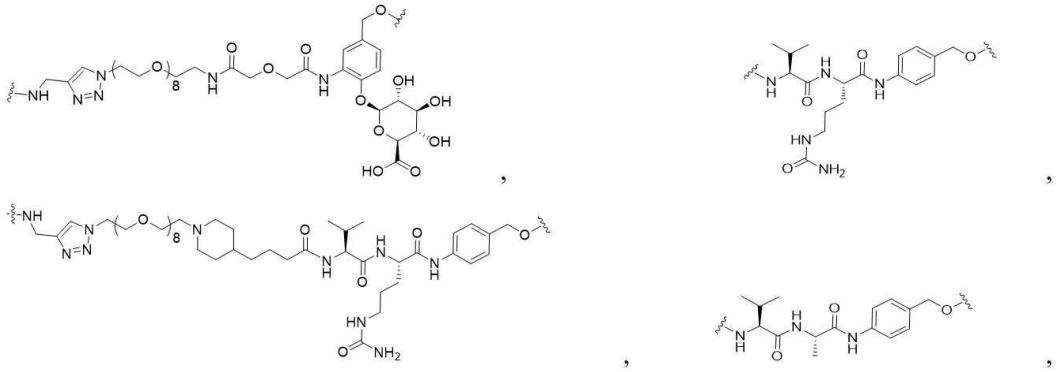
[0177] , 여기서 R_6 은 H, C_{1-6} 알킬 또는 C_{2-6} 알콕시알킬이고, s는 1 내지 10의 정수이다;

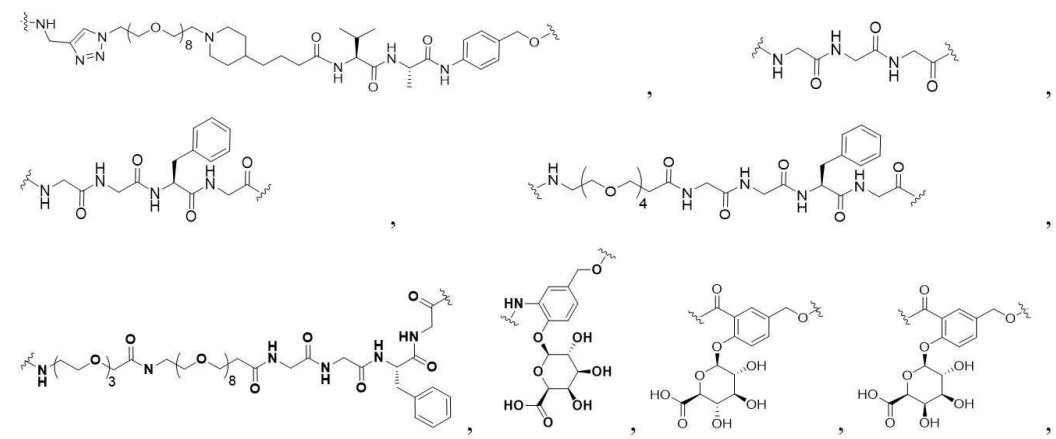
[0178] 바람직하게는, L은 다음 구조로 이루어진 군으로부터 선택된다:

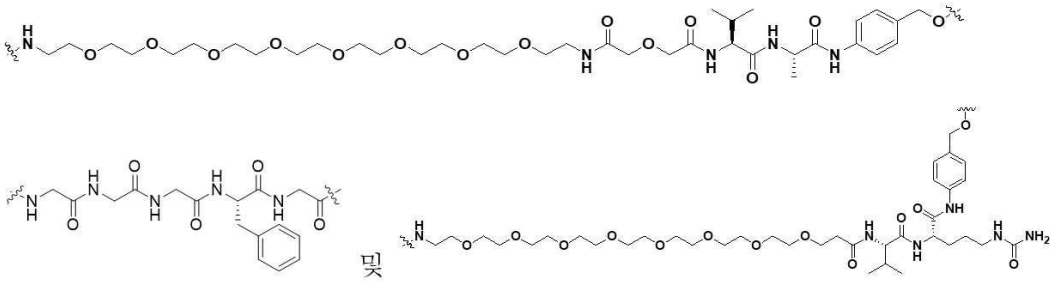
[0179] , ,

, , ,

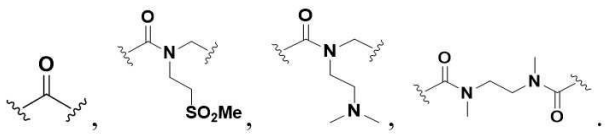
[0180] , ,

[0181] 

[0182] 

[0183] 

[0184] 일부 구현예에서, E는 단일 결합, -NH-CH_2- 및 다음과 같은 구조이다:

[0185] 

[0186] 일부 구현예에서, E는 -NH-CH_2-이다.

[0187] 일부 구현예에서, 생리활성 분자는 항-투불린제, DNA 인터칼레이터, DNA 토포이소머라제 억제제 및 RNA 중합효소 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된다.

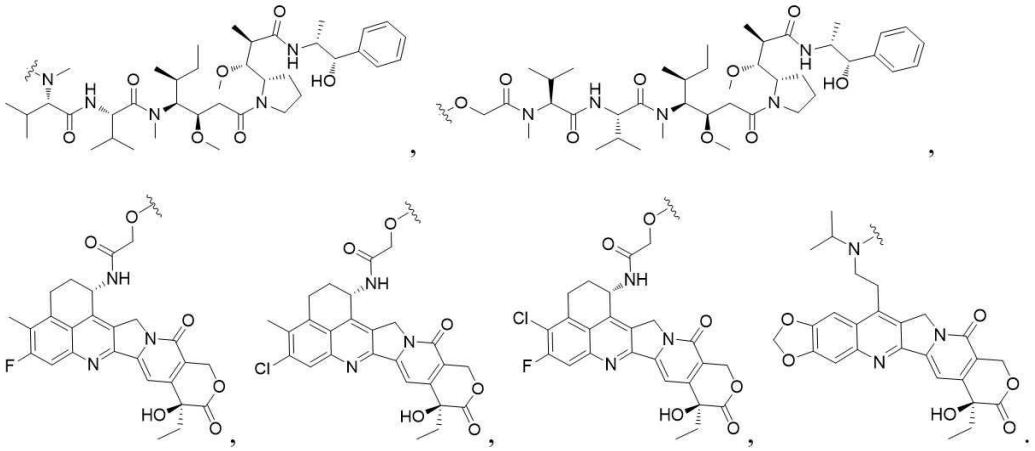
[0188] 일부 구현예에서, 생리활성 분자는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다: 오리스타틴(auristatin) 화합물 또는 메이탄신(maytansine) 화합물과 같은 튜불린 억제제; 피롤로벤조디아제핀(PBD)과 같은 DNA 인터칼레이터; 토포이소머라제 I 억제제(예를 들어, 캠프토테신(camptothecin), 하이드록시캠프토테신, 9-아미노캠프토테신, SN-38, 이리노테칸(irinotecan), 토포테칸(topotecan,), 벨로테칸(belotecan), 또는 루비테칸(rubitecan)) 또는 토포이소머라제 II 억제제(예를 들어, 아드리아마이신, 독소루비신, PNU-159682, 듀오카르마이신, 다우노루비신, 미톡산트론(mitoxantrone), 포도필로톡신 또는 에토포사이드)와 같은 DNA 토포이소머라제 억제제; α-아마니틴(amanitin) 등과 같은 RNA 중합효소 억제제; 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 에스테르

또는 유사체.

[0189] 일부 구현예에서, 생리활성 분자는 토포이소머라제 I 억제제(예를 들어, 캠프토테신, 하이드록시캠프토테신, 9-아미노캠프토테신, SN-38, 이리노테칸, 토포테칸, 벨로테칸, 루비테칸), MMAE 및 MMAE 유도체 중에서 선택된다.

[0190] 일부 구현예에서, 생리활성 분자는 MMAE 및 MMAE 유도체 중에서 선택된다.

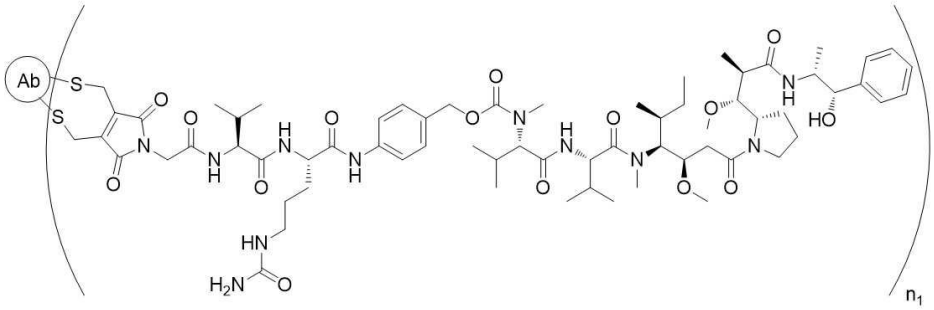
[0191] 일부 구현예에서, D는 다음 중에서 선택된다:



[0192]

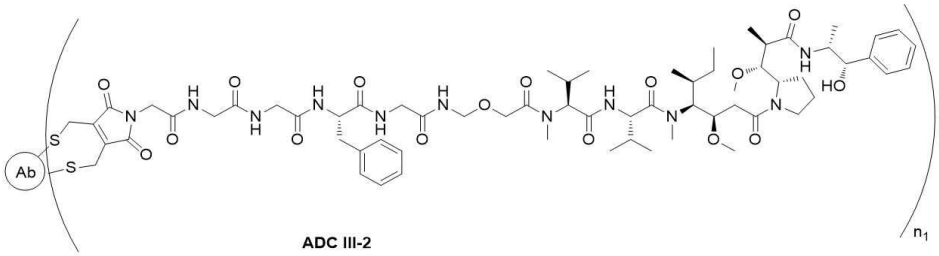
[0193] 일부 구현예에서, n은 1 내지 8이고, 보다 바람직하게는 n은 3 내지 5이다.

[0194] 일부 구현예에서, 생리활성 접합체는 다음과 같은 구조를 가지며, 여기서 Ab는 항-Her2 항체 트라스투주맙(trastuzumab) 또는 항-Trop2 항체 사시투주맙(sacituzumab) 또는 항-ROR1 항체 19F6_Hu35V1로 이루어진 군으로부터 선택되고, n_1은 1 내지 8이고; 보다 바람직하게는 3 내지 5이다:



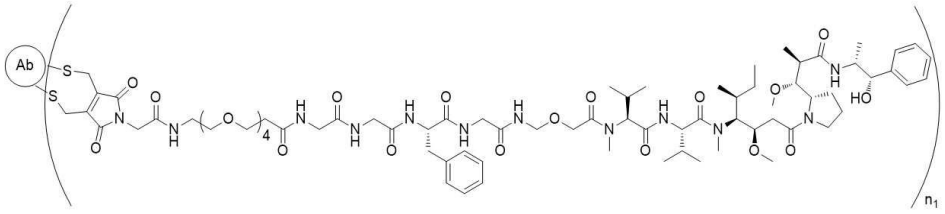
ADC III-1

[0195]

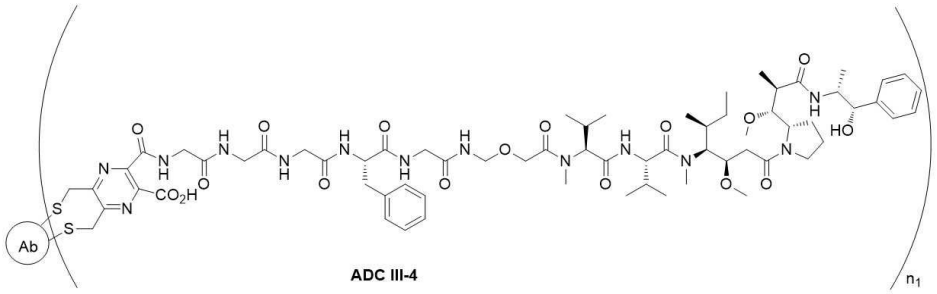


ADC III-2

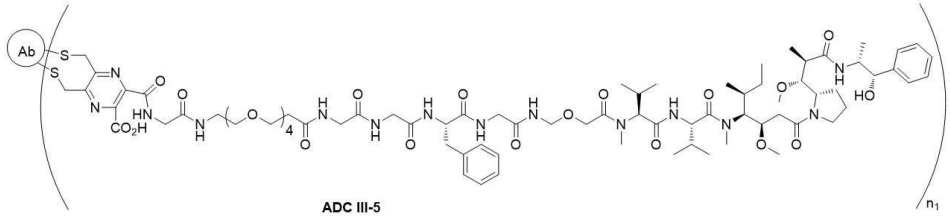
[0196]

[0197] 

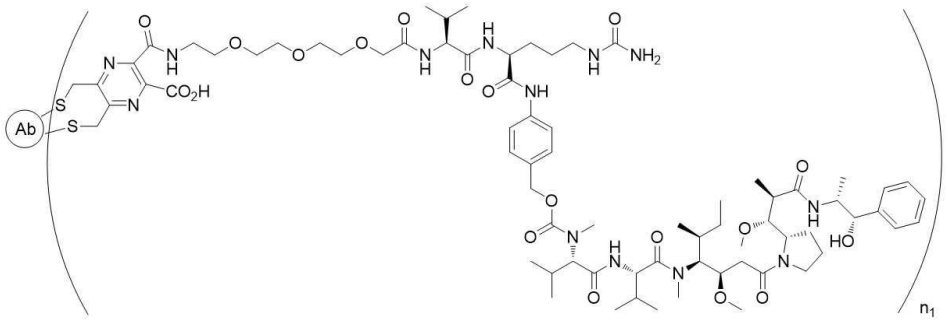
ADC III-3

[0198] 

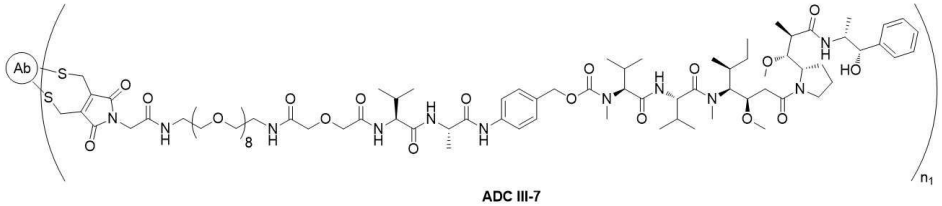
ADC III-4

[0199] 

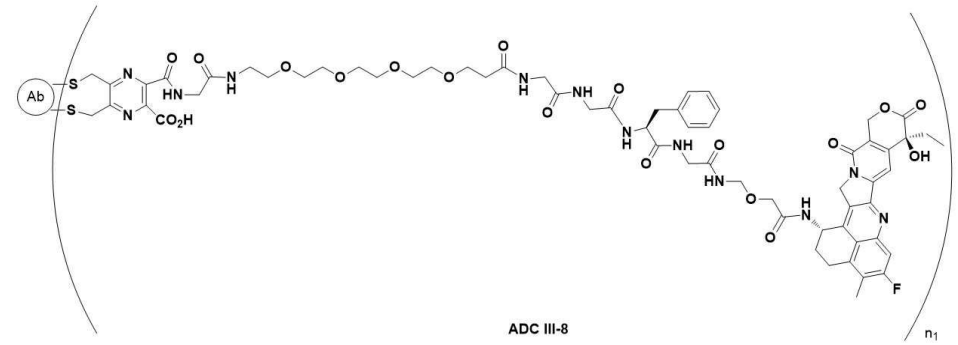
ADC III-5

[0200] 

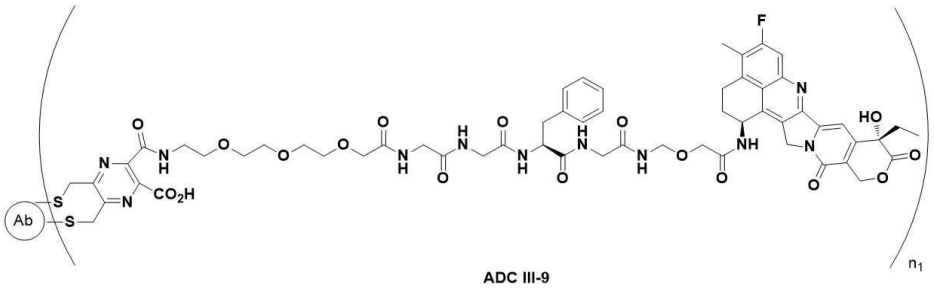
ADC III-6

[0201] 

ADC III-7

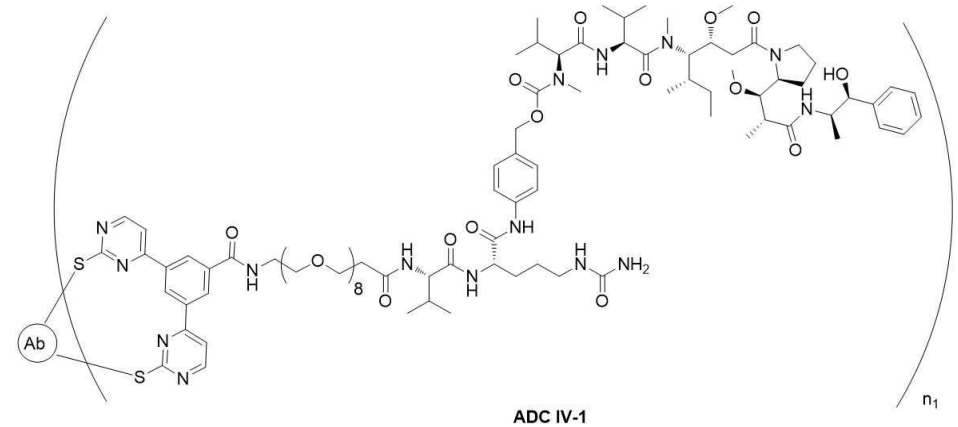
[0202] 

ADC III-8

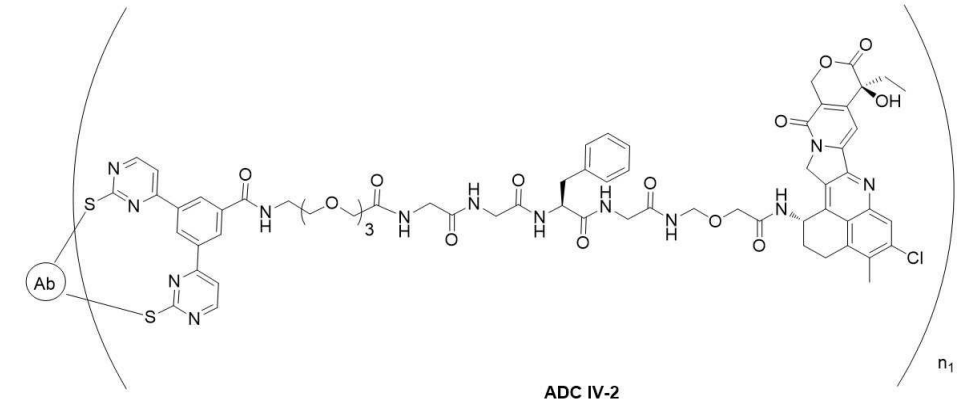
[0203] 

ADC III-9

[0204] 일부 구현예에서, 생리활성 접합체는 다음과 같은 구조를 가지며, 여기서 Ab는 항-Her2 항체 트라스투주맙 또는 항-Trop2 항체 사시투주맙 또는 항-ROR1 항체 19F6_Hu35V1로 이루어진 군으로부터 선택되고, n_1은 1 내지 8이고; 보다 바람직하게는 3 내지 5이다:

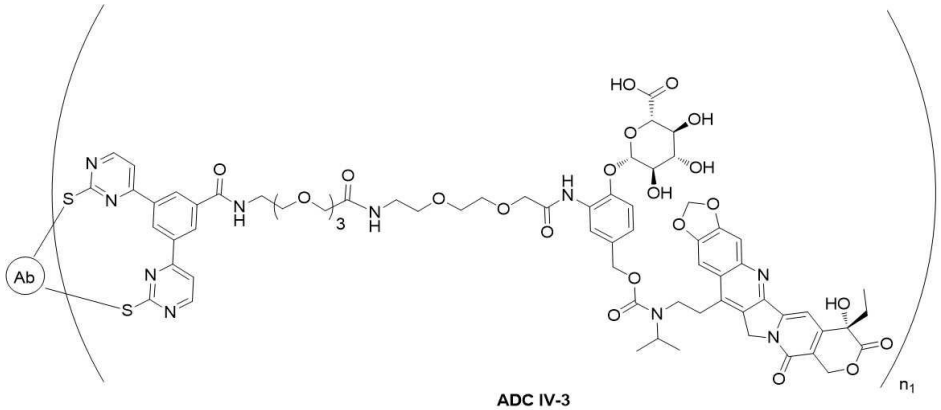
[0205] 

ADC IV-1

[0206] 

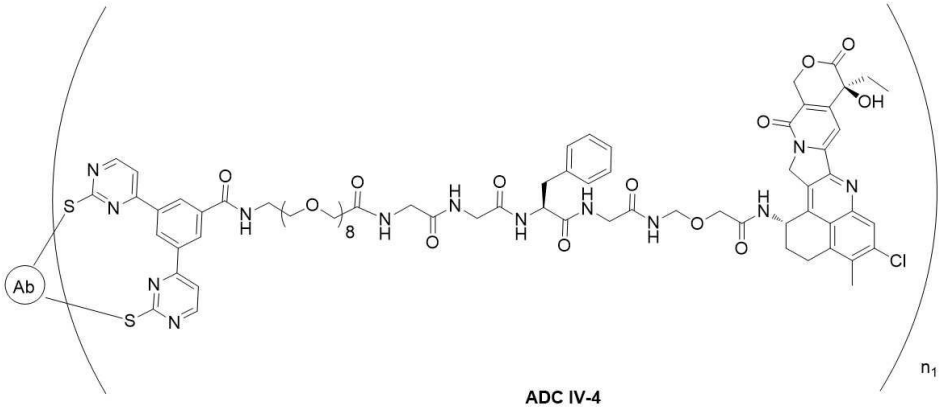
ADC IV-2

[0207]



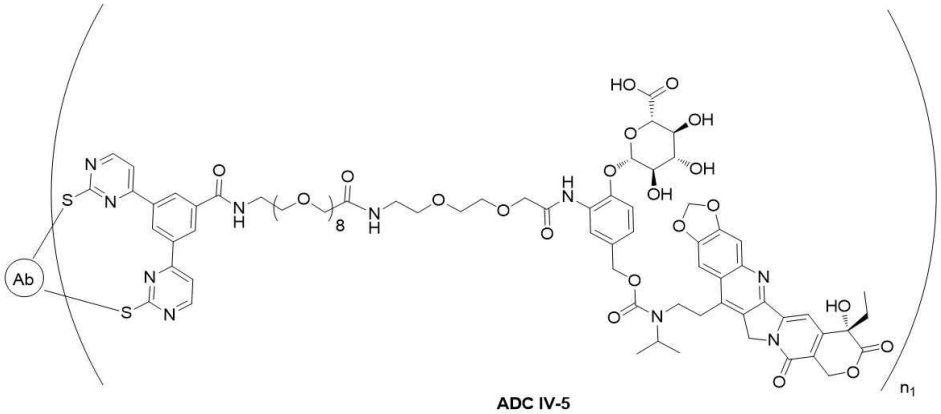
ADC IV-3

[0208]



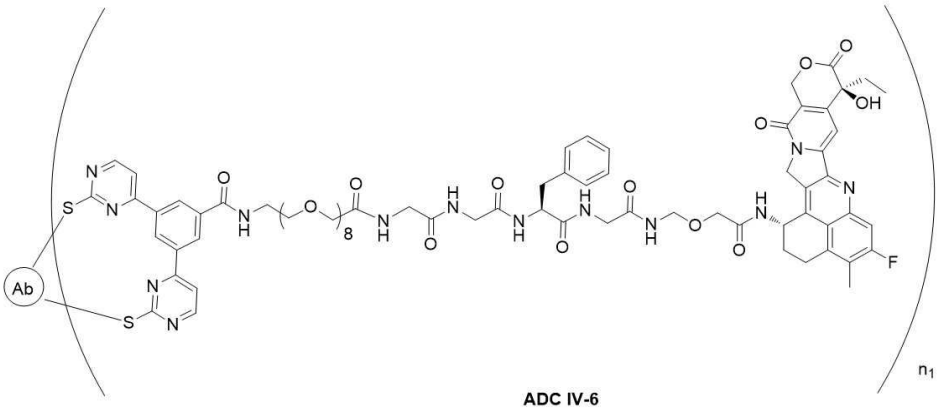
ADC IV-4

[0209]

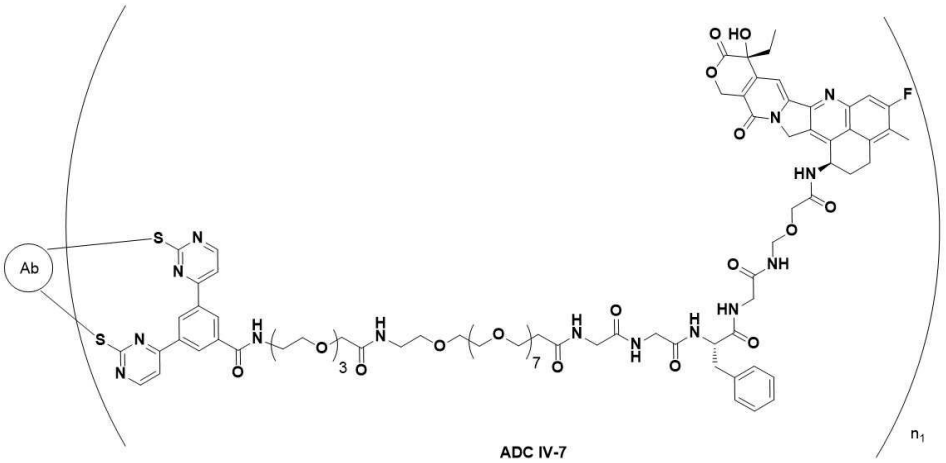


ADC IV-5

[0210]

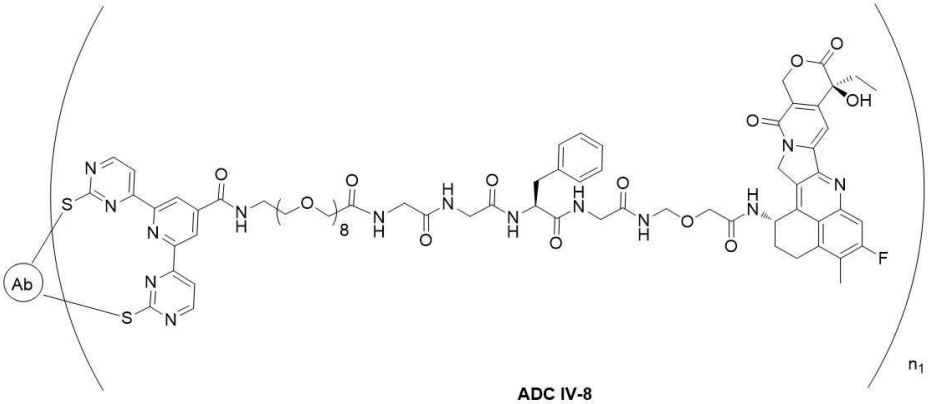


ADC IV-6



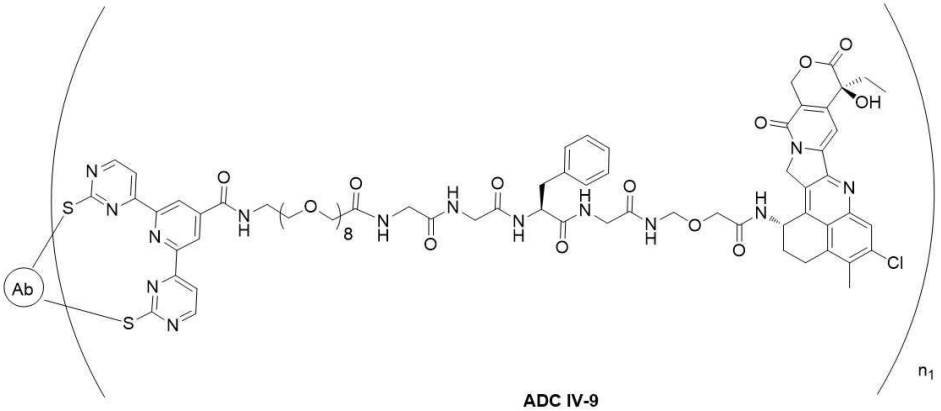
ADC IV-7

[0211]



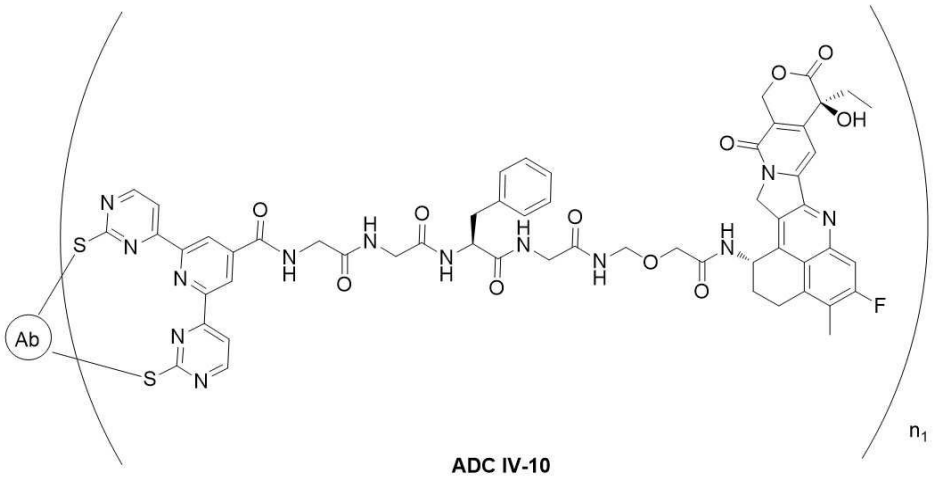
ADC IV-8

[0212]

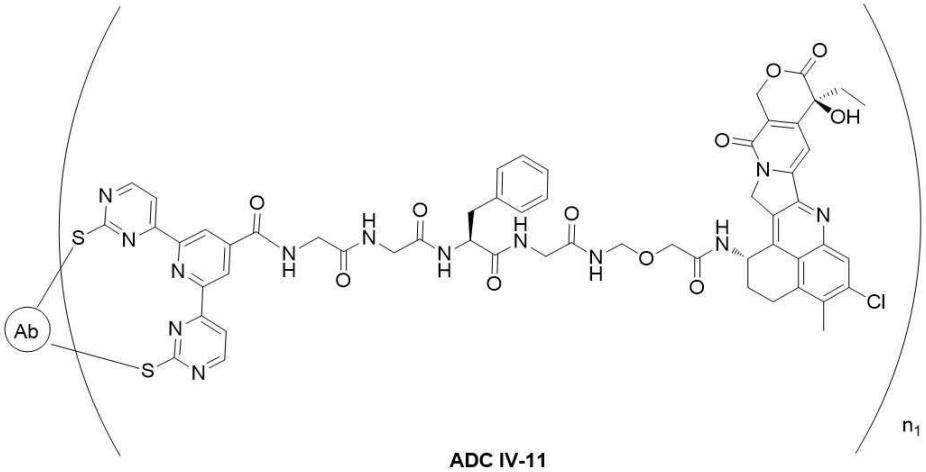


ADC IV-9

[0213]

[0214] 

ADC IV-10

[0215] 

ADC IV-11

[0216] 정의

[0217] 이하에서 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 당업자에게 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 명세서에서 사용된 기술에 대한 언급은 당업자에게 자명한 기술 변경 또는 동등한 기술의 대체를 포함하여, 당업자에게 통상적으로 이해되는 기술을 지칭하기 위한 것이다. 다음 용어들은 당업자에게 잘 이해될 것으로 믿어지지만, 본 발명을 보다 잘 설명하기 위해 다음과 같은 정의가 제시된다.

[0218] 본 명세서에서 사용되는 "알킬렌"이라는 용어는 포화 2가 탄화수소 라디칼, 바람직하게는 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌 또는 부틸렌과 같은 탄소 원자 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개를 갖는 포화 2가 탄화수소 라디칼을 지칭한다.

[0219] 본 명세서에서 사용되는 "알킬"이라는 용어는 선형 또는 분지형 포화 지방족 탄화수소 라디칼로 정의된다. 일부 구현예에서, 알킬은 1 내지 12개, 예를 들어, 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는다. 예를 들어, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "C_{1-6} 알킬"이라는 용어는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 지방족 탄화수소 라디칼(예를 들어, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸 또는 n-헥실)을 지칭하며, 이것은 하나 이상의(예를 들어, 1 내지 3개의) 적합한 치환체(예를 들어, 할로겐)(이 경우 그룹을 "할로알킬"이라고 함)(예를 들어, CH_2F, CHF_2, CF_3, CCl_3, C_2F_5, C_2Cl_5, CH_2CF_3, CH_2Cl 또는 $-CH_2CH_2CF_3$ 등)로 선택적으로 치환될 수 있다. "C_{1-4} 알킬"이라는 용어는 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 지방족 탄화수소 라디칼(예를 들어, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸 또는 tert-부틸)을 지칭한다.

[0220] 본 명세서에서 사용되는 "알콕시"라는 용어는 -O-알킬로 정의되며, 여기서 알킬은 상기에 정의된 바와 같다. 예를 들어, 본 명세서에서 사용되는 "C_{1-6} 알콕시"라는 용어는 $-O-C_{1-6}$ 알킬을 지칭한다.

[0221] 본 명세서에서 사용되는 "알콕시알킬"이라는 용어는 알콕시로 치환된 알킬로 정의되며, 여기서 알킬은 상기 정

의된 바와 같다. 예를 들어, 본 명세서에서 사용되는 "C_{2-6} 알콕시알킬"이라는 용어는 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알콕시-치환된 알킬을 지칭한다.

[0222] 본 명세서에서 사용되는 "알키닐렌"이라는 용어는 바람직하게는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 탄소 원자를 갖는, 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 포함하는 2가 탄화수소 라디칼, 예를 들어, 에틸렌, 프로피닐렌 또는 부티닐렌을 지칭한다.

[0223] 본 명세서에서 사용되는 "헤테로사이클릴", "헤테로사이클릭 고리"라는 용어는 포화 또는 부분적으로 불포화(즉, 고리 내에 하나 이상의 이중 결합 및/또는 삼중 결합이 존재함) 사이클릭기로서, 적어도 하나의 고리 원자가 N, O 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 헤테로원자이고 나머지 고리 원자가 C인 것을 의미한다. 예를 들어, "5원 내지 12원 헤테로사이클릭 고리(기)"은 4 내지 11개(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개)의 고리-형성 탄소 원자 및 N, O 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 (예를 들어, 1, 2, 3 또는 4) 고리-형성 헤테로원자를 갖는 포화 또는 부분적 불포화 사이클릭기이다. "5원 내지 12원 질소-함유 헤테로사이클릭 고리(기)"는 적어도 하나의 고리-형성 원자가 N인 헤테로사이클릭 고리(기)이다. 헤테로사이클릭기의 예는 옥시라닐, 아지리디닐, 아제티디닐, 옥세타닐, 테트라하이드로푸라닐, 디옥솔린, 피롤리디닐, 피롤리도닐, 이미다졸리디닐, 피라졸리디닐, 피롤리닐, 테트라하이드로피라닐, 피페리디닐, 모르폴리닐, 디티아닐, 티오모르폴리닐, 피페라지닐 또는 트리티아닐을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 헤테로사이클릭 기는 선택적으로 하나 이상의 (예를 들어, 1, 2, 3 또는 4) 적합한 치환체로 치환될 수 있으며, 하나 이상의 방향족 고리, 헤테로아릴 고리와 선택적으로 융합되어 융합된 고리 구조를 형성할 수 있다.

[0224] 본 명세서에서 사용되는 "방향족 고리" 또는 "아릴"이라는 용어는 예를 들어 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14개의 고리-형성 탄소 원자, 특히 1 또는 2 또는 3 또는 4 또는 5 또는 6 또는 9 또는 10개의 탄소 원자를 갖는 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭 방향족 고리 시스템을 지칭한다.

[0225] 본 명세서에서 사용되는 "헤테로방향족 고리" 또는 "헤테로아릴"이라는 용어는 예를 들어 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14개의 고리 원자, 특히 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 또는 10개의 탄소 원자, 및 동일하거나 다를 수 있는 적어도 하나의 헤테로원자(헤테로원자는 예를 들어 산소, 질소 또는 황임)를 갖는 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭 방향족 고리 시스템을 의미하며, 각 경우에 추가로 벤조-융합될 수 있다.

[0226] 본 명세서에서 사용되는 "할로겐"이라는 용어는 F, Cl, Br 또는 I를 포함한다.

[0227] 본 명세서에서 사용되는 "설포닐우레아 기"라는 용어는 $-SO_2-NH-(C=O)-NH_2$ 또는 $-NH-(C=O)-NH-SO_2H$를 의미한다.

[0228] "치환"이라는 용어는 지정된 원자의 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3 또는 4개)의 수소가 지정된 그룹으로 치환되는 것을 의미하며, 다만 치환 수가 본 사례에서 지정된 원자의 정상 원자가를 초과하지 않고 그러한 치환으로 인해 안정적인 화합물이 생성되는 경우에 한한다. 치환체 및/또는 변수의 조합은 그러한 조합이 안정적인 화합물을 생성하는 경우에만 허용된다.

[0229] 치환체가 "선택적으로 치환"된 것으로 기술된 경우, 치환체는 (1) 치환되지 않거나 (2) 치환될 수 있다. 치환체의 탄소가 나열된 치환체 중 하나 이상으로 선택적으로 치환되는 것으로 기술된 경우, 탄소상의 하나 이상의 수소(존재하는 임의의 수소의 범위 내에서)는 독립적으로 선택된 임의의 치환체에 의해 개별적으로 및/또는 동시에 치환될 수 있다. 치환체의 질소가 나열된 치환체 중 하나 이상으로 선택적으로 치환되는 것으로 기술된 경우, 질소상의 하나 이상의 수소(존재하는 임의의 수소의 범위 내에서)는 독립적으로 선택된 임의의 치환체에 의해 치환될 수 있다.

[0230] 치환체가 한 그룹에서 "독립적으로 선택"된 것으로 기술된 경우, 각 치환체는 서로 간에 독립적으로 선택된다. 따라서 각 치환체는 다른 (그 밖의) 치환체와 같거나 다를 수 있다.

[0231] 본 명세서에서 사용되는 "하나 이상"이라는 용어는 합리적인 조건에서 1, 또는 2, 3, 4, 5 또는 10과 같은 1 이상을 의미한다.

[0232] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 달리 명시되지 않는 한 치환체의 연결 부위는 치환체의 임의의 적절한 위치일 수 있다.

[0233] 치환체가 고리에서 두 원자를 연결하는 결합을 통과하는 것으로 나타낸 결합을 갖는 경우, 이러한 치환체는 고리에서 임의의 고리-형성 원자에 결합하여 치환될 수 있다.

[0234] 본 발명은, 또한 하나 이상의 원자가 원자 번호는 동일하지만 원자 질량 또는 질량 번호가 자연에서 통용되는

원자 질량 또는 질량 번호와 다른 해당 원자로 치환된 것을 제외하고, 본 발명의 화합물과 동일한 모든 약학적으로 허용 가능한 동위원소 표지 화합물을 포함한다. 본 발명의 화합물에 포함하기에 적합한 동위원소의 예는, 수소의 동위원소(예를 들어, 중수소(^{2}H), 삼중수소(^{3}H)); 탄소의 동위원소(예를 들어, 수소, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C); 염소의 동위원소(예를 들어, ^{36}Cl); 불소의 동위원소(예를 들어, ^{18}F); 요오드의 동위원소(예를 들어, ^{123}I 및 ^{125}I); 질소의 동위원소(예를 들어, ^{13}N 및 ^{15}N); 산소의 동위원소(예를 들어, ^{15}O, ^{17}O 및 ^{18}O); 인의 동위원소(예를 들어 ^{32}P); 및 황의 동위원소(예를 들어, ^{35}S)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0235] "입체 이성질체"라는 용어는 적어도 하나의 비대칭 중심의 결과로서 형성된 이성질체를 의미한다. 화합물에 비대칭 중심이 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3 또는 4개)인 경우, 라세믹 혼합물, 단일 거울상 이성질체, 부분 이성질체 혼합물(diastereomeric mixture) 및 부분 입체 이성질체(diastereoisomer)를 생성할 수 있다. 특정 개별 분자는 기하학적 이성질체(시스/트랜스)로도 존재할 수 있다. 마찬가지로, 본 발명의 화합물은 급속 평형 상태에서 2개 이상의 구조적으로 구별되는 형태(일반적으로 호변 이성질체라고 함)의 혼합물로서 존재할 수 있다. 호변 이성질체의 대표적인 예는 케토-에놀 호변 이성질체, 페놀-케토 호변 이성질체, 니트로소-옥심 호변 이성질체, 이민-에나민 호변 이성질체 등을 포함한다. 본 출원의 범위는 임의의 비율(예를 들어, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%)의 이러한 모든 이성질체 또는 이들의 혼합물을 포함하는 것으로 이해해야 한다.

[0236] 본 발명의 화합물의 탄소-탄소 결합은 실선(——), 실선 쐐기() 또는 점선 쐐기()를 사용하여 본 명세서에 나타낼 수 있다. 비대칭 탄소 원자에 대한 결합을 설명할 때 실선을 사용하는 것은, 해당 탄소 원자로부터 생성되는 모든 가능한 입체 이성질체(예를 들어, 특정 거울상 이성질체, 라세믹 혼합물 등)가 포함된다는 것을 나타내기 위한 것이다. 비대칭 탄소 원자에 대한 결합을 설명할 때 실선 쐐기 또는 점선 쐐기를 사용하는 것은, 나타난 바와 같이 입체 이성질체를 나타내기 위한 것이다. 라세믹 혼합물에 사용되는 경우, 실선 쐐기 및 점선 쐐기는 절대 입체화학이 아닌 상대 입체화학을 정의하기 위한 것이다. 달리 명시되지 않는 한, 본 발명의 화합물은 입체 이성질체(시스 및 트랜스 이성질체, 광학 이성질체(예를 들어, R 및 S 거울상 이성질체), 부분입체 이성질체, 기하 이성질체, 로타머, 형태 이성질체, 회전장애 이성질체(atropisomer) 및 이들의 임의의 혼합물을 포함함)의 형태로 존재하는 것으로 의도된다. 본 발명의 화합물은 하나 이상의 유형의 이성질체를 나타낼 수 있으며 이들의 혼합물(예를 들어, 라세믹 혼합물 및 부분입체 이성질체 쌍)로 구성될 수 있다.

[0237] 본 발명은, 본 발명의 화합물의 가능한 모든 결정 형태 또는 다형체를 포함하며, 이는 단일 다형체 또는 임의의 비율로 하나 이상의 다형체의 혼합물일 수 있다.

[0238] 또한, 본 발명의 특정 화합물은 치료에 사용하기 위해 유리 형태로, 또는 적절한 경우, 그의 약학적으로 허용되는 유도체 형태로 존재할 수 있다는 것도 이해될 것이다. 본 발명에서, 약학적으로 허용되는 유도체는 약학적으로 허용되는 염, 에스테르, 용매화물, *N*-산화물, 대사산물 또는 프로드럭을 포함하나 이에 제한되지 않으며, 이를 필요로 하는 환자에게 투여할 때, 본 발명의 화합물 또는 그의 대사산물 또는 그 잔류물을 직접 또는 간접적으로 제공할 수 있다. 따라서, 본 명세서에서 "본 발명의 화합물"이 언급되는 경우, 이는 상기 언급된 화합물의 다양한 유도체 형태도 포괄하도록 의도된다.

[0239] 본 발명의 화합물의 약학적으로 허용되는 염은 산 첨가염 및 그의 염기 첨가염을 포함한다.

[0240] 적합한 산 첨가염은 약학적으로 허용되는 염을 형성할 수 있는 산으로부터 형성된다. 그 예는 아스파르테이트, 벤조에이트, 중카르보네이트/카르보네이트, 글루코헵토네이트, 글루코네이트, 질산염, 오로테이트, 팔미테이트 및 기타 유사한 염을 포함한다.

[0241] 적합한 염기 부가염은 약학적으로 허용되는 염을 형성할 수 있는 염기로부터 형성된다. 그 예는 알루미늄 염, 아르기닌 염, 콜린 염, 마그네슘 염 및 기타 유사한 염을 포함한다.

[0242] 적합한 염에 대한 검토는 Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, 2002)에 의한 "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use"을 참조한다. 본 발명의 화합물의 약학적으로 허용되는 염을 제조하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다.

[0243] 본 명세서에서 사용되는 "에스테르"라는 용어는 생리적으로 가수분해 가능한 에스테르(생리학적 조건 하에서 가수분해되어 유리 산 또는 알코올 형태로 본 발명의 화합물을 방출하는 것)를 포함하여 본 출원의 일반식의 각 화합물로부터 유래된 에스테르를 의미한다. 본 발명의 화합물 자체도 에스테르일 수 있다.

[0244] 본 발명의 화합물은 용매화물, 바람직하게는 수화물의 형태로 존재할 수 있으며, 본 발명의 화합물은 화합물의 결정 격자의 구조 요소로서, 특히 물, 메탄올 또는 에탄올과 같은 극성 용매를 포함한다. 극성 용매, 특히 물의 양은 화학량론적 또는 비화학량론적 비율로 존재할 수 있다.

[0245] 당업자는, 질소가 산화물을 형성하기 위한 산화를 위해서는 이용가능한 고립 전자쌍을 필요로 하기 때문에, 모든 질소 함유 헤테로사이클릭 고리가 *N*-산화물을 형성할 수 없다는 점을 이해할 것이며; 당업자는 *N*-산화물을 형성할 수 있는 질소 함유 헤테로사이클릭 고리를 인식할 것이다. 당업자는 또한 3차 아민이 *N*-산화물을 형성할 수 있다는 것을 인식할 것이다. 헤테로사이클 및 3차 아민의 *N*-산화물의 제조를 위한 합성 방법은 당업자에게 잘 알려져 있으며, 이는 과산화아세트산 및 m-클로로과벤조산(MCPBA)과 같은 과산화산(peroxyacid), 과산화수소, t-부틸 하이드로과산화물과 같은 알킬 하이드로과산화물, 과붕산 나트륨 및 디메틸디옥시란과 같은 디옥시란을 사용하여 헤테로사이클 및 3차 아민을 산화시키는 것을 포함한다. 이러한 *N*-산화물의 제조 방법은 문헌에서 광범위하게 기재 및 검토되어 있으며, 예를 들어, 문헌[T. L. Gilchrist, Comprehensive Organic Synthesis, vol. 7, pp 748-750; A. R. Katritzky and A. J. Boulton, Eds., Academic Press and G. W. H. Cheeseman and E. S. G. Werstiuk, Advances in Heterocyclic Chemistry, vol. 22, pp 390-392, A. R. Katritzky and A. J. Boulton, Eds., Academic Press]을 참조한다.

[0246] 또한, 본 발명의 범위 내에는 본 발명의 화합물의 대사산물, 즉 본 발명의 화합물의 투여에 따라 생체 내에서 형성되는 물질이 포함된다. 이러한 생성물은 예를 들어, 투여된 화합물의 산화, 환원, 가수분해, 아미드화, 탈아미드화, 에스테르화, 효소 가수분해 등에 의해 생성될 수 있다. 따라서, 본 발명은, 본 발명의 화합물의 대사산물을 포함하며, 이는 본 발명의 화합물을 그의 대사산물을 생성하기에 충분한 시간 동안 포유류와 접촉시키는 방법에 의해 생성된 화합물을 포함한다.

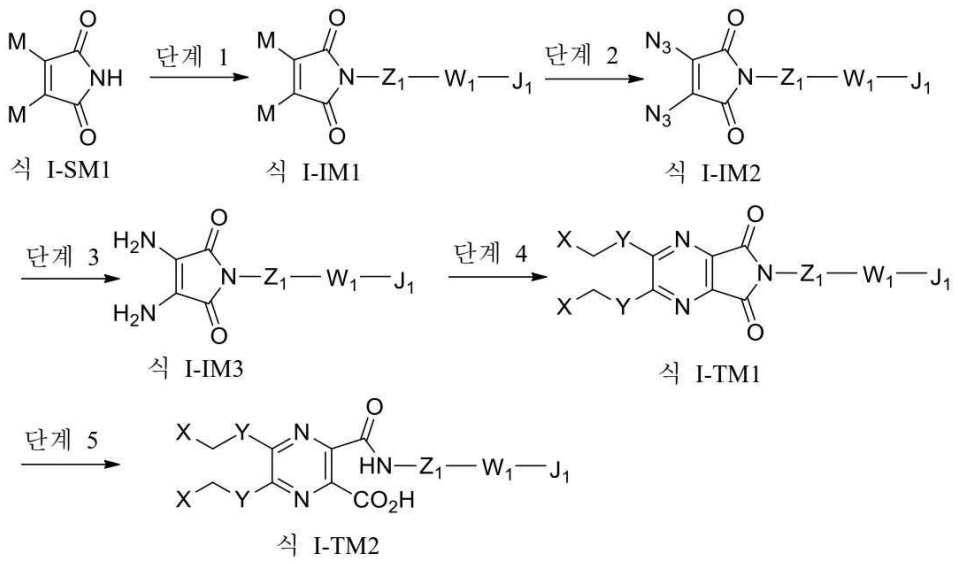
[0247] 본 발명은 또한 본 발명의 화합물의 특정 유도체로서, 그 자체로는 약리 활성이 거의 또는 전혀 없을 수 있지만, 체내 또는 체외로 투여될 때, 예를 들어 가수분해에 의해 원하는 활성을 갖는 본 발명의 화합물로 전환될 수 있는, 본 발명의 화합물의 프로드럭을 발명의 범위 내에 포함한다. 전형적으로, 이러한 프로드럭은 화합물의 작용기 유도체일 수 있으며, 이는 생체 내에서 원하는 치료 활성을 가지는 화합물로 쉽게 전환될 수 있다. 프로드럭의 사용에 대한 추가 정보는 "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", Volume 14, ACS Symposium Series (T. Higuchi and V. Stella)에서 확인할 수 있다. 본 발명의 프로드럭은 예를 들어, 본 발명의 화합물에 존재하는 적절한 작용기를 당업자에게 "프로-모이어티(pro-moiety)(예를 들어, "Design of Prodrugs", H. Bundgaard (Elsevier, 1985)에 기술됨)"로 알려진 특정 모이어티로 치환함으로써 제조할 수 있다.

[0248] 본 발명은 또한 보호기를 포함하는 본 발명의 화합물을 포함한다. 본 발명의 화합물을 제조하는 임의의 공정 동안, 관련된 분자의 민감성 또는 반응성 그룹을 보호하여 화학적으로 보호된 형태의 본 발명의 화합물을 형성하는 것이 필요하고/하거나 바람직할 수 있다. 이는 종래의 보호기, 예를 들어, T.W. Greene & P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991에 기술된 보호기를 사용함으로써 달성될 수 있으며, 이러한 참고문헌은 본 명세서에서 원용에 의해 포함된다. 보호기는 당업자에게 알려진 방법을 사용하여 적절한 후속 단계에서 제거될 수 있다.

[0249] 제조 방법

[0250] 본 발명의 또 다른 측면은 식 I에 나타난 화합물을 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 다음 단계를 포함한다:

[0251] Y가 부재하는 때, 본 발명의 식 I-TM1 및 식 I-TM2의 화합물은 다음과 같은 합성 경로를 통해 합성될 수 있다.



[0252]

[0253] 여기서,

[0254] X, Z_1 , W_1 , J_1는 상기 일반식에서 정의된 바와 같고;

[0255] M은 할로겐, 트리플루오로메탄설포네이트, p-톨루엔설포네이트, 바람직하게는 할로겐을 포함하되 이에 제한되지 않는 치환 반응을 거치는 이탈기이다.

[0256] 단계 1

[0257] 식 I-IM1의 화합물은 식 I-SM1의 화합물 및 M-Z_1-W_1-J_1 화합물 사이의 치환 반응에 의해 얻어지고;

[0258] 일부 구현예에서, 반응은 기본 조건 하에서 수행되고;

[0259] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 온도에서 수행되며, 상기 온도는 20℃, 25℃, 50℃, 60℃, 100℃, 바람직하게는 20℃이고;

[0260] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 용매에서 수행되며, 상기 용매는 아세톤, 테트라하이드로푸란, 디클로로메탄, N,N-디메틸포름아미드, N-메틸피롤리돈, 디메틸 설폭사이드, 바람직하게는 아세톤을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0261] 단계 2

[0262] 식 I-IM2의 화합물은 식 I-IM1의 화합물과 아지드산나트륨 사이의 치환 반응에 의해 얻어지고;

[0263] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 온도에서 수행되며, 상기 온도는 20℃, 25℃, 50℃, 60℃, 100℃, 바람직하게는 20℃이고;

[0264] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 용매에서 수행되며, 상기 용매는 아세톤, 테트라하이드로푸란, 디클로로메탄, N,N-디메틸포름아미드, N-메틸피롤리돈, 디메틸 설폭사이드, 바람직하게는 아세톤을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0265] 단계 3

[0266] 식 I-IM3의 화합물은 식 I-IM2의 화합물의 환원 반응을 통해 얻어지고;

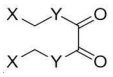
[0267] 일부 구현예에서, 이 단계는 적절한 환원제의 존재 하에서 수행되며, 상기 환원제는 팔라듐 촉매, 백금 촉매, 로듐 촉매, 바람직하게는 팔라듐 촉매로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있고;

[0268] 일부 구현예에서, 이 단계는 적절한 온도에서 수행되며, 상기 온도는 20℃, 25℃, 50℃, 60℃, 100℃, 바람직하게는 20℃이고;

[0269] 일부 구현예에서, 이 단계는 적절한 유기 용매에서 수행되며, 상기 유기 용매는 테트라하이드로푸란, 디클로로

메탄, N,N-디메틸포름아미드, N-메틸피롤리돈, 디메틸 설폭사이드, n-헵탄, n-헥산, 에틸 아세테이트, 바람직하게는 에틸 아세테이트로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0270] 단계 4

[0271] 식 I-TM1의 화합물은 탈수에 의해 식 I-IM3의 화합물과  사이의 고리 폐쇄 반응에 의해 얻어지고;

[0272] 일부 구현예에서, 이 단계는 적절한 온도에서 수행되며, 온도는 20℃, 25℃, 50℃, 60℃, 100℃, 바람직하게는 20℃이고;

[0273] 일부 구현예에서, 이 단계는 적절한 유기 용매에서 수행되며, 상기 유기 용매는 아세토니트릴, 에탄올, 테트라하이드로푸란, 디클로로메탄, N,N-디메틸포름아미드, 디메틸 설폭사이드, n-헵탄, n-헥산, 에틸 아세테이트, 바람직하게는 아세토니트릴로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0274] 단계 5

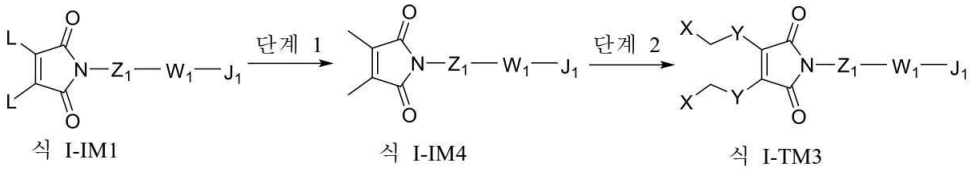
[0275] 식 I-TM2의 화합물은 식 I-TM1의 화합물을 가수분해하여 얻어지고;

[0276] 일부 구현예에서, 반응은 염기성 조건 하에서 수행되며, 상기 염기성 조건은 pH가 7.0, 7.4 또는 8.0인 PB 버퍼를 포함하되 이에 제한되지 않고;

[0277] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 온도에서 수행되며, 상기 온도는 20℃, 25℃, 50℃, 60℃, 100℃, 바람직하게는 20℃이고;

[0278] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 용매에서 수행되며, 상기 용매는 아세토니트릴, 테트라하이드로푸란, 디클로로메탄, N,N-디메틸포름아미드, 디메틸 설폭사이드, 바람직하게는 아세토니트릴을 포함하되 이에 제한되지 않는다.

[0279] Y가 부재하는 경우, 본 발명의 식 I-TM3의 화합물은 다음과 같은 합성 경로를 통해 합성될 수 있다.

[0280] 

[0281] 여기서,

[0282] X, Z_1 , W_1 , J_1는 상기 일반식에서 정의된 바와 같고;

[0283] L은 할로겐, 트리플루오로메탄설포네이트, p-톨루엔설포네이트, 바람직하게는 할로겐, OTf를 포함하되 이에 제한되지 않는 치환 반응을 거치는 이탈기이다.

[0284] 단계 1

[0285] 식 I-IM4의 화합물은 식 I-IM1의 화합물로부터 커플링 반응을 통해 얻어지고;

[0286] 일부 구현예에서, 커플링 반응에 사용되는 시약은 메틸보론산, 트리메틸보록신, 바람직하게는 트리메틸보록신을 포함하되 이에 제한되지 않고;

[0287] 일부 구현예에서, 커플링 반응은 염기 상태에서 수행되며, 상기 염기는 트리에틸아민, DIPEA, NMM, tert-부톡사이드 나트륨, 아세트산 칼륨, 아세트산 나트륨, 플로오르화세슘, 플루오르화칼륨, 탄산 칼륨, 탄산 나트륨, 중탄산 나트륨, 탄산 세슘, 인산 칼륨, 인산이수소 칼륨, 바람직하게는 플로오르화세슘을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0288] 일부 구현예에서, 커플링 반응은 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐, 팔라듐 아세테이트, $Pd_2(dba)_3$, $Pd(PPh_3)_2Cl_2$, $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ 디클로로메탄 복합체, $Pd(dppf)Cl_2$, $Pd(Amphos)Cl_2$, 바람직하게는 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐을 포함하지만 이에 제한되지 않는 촉매의 존재 하에 수행된다.

[0289] 일부 구현예에서, 커플링 반응은 0 내지 200℃의 온도에서, 바람직하게는 50 내지 150℃의 온도에서 수행된다.

[0290] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 용매에서 수행되며, 상기 용매는 1,4-디옥산, 물, 톨루엔, 테트라하이드로푸란, N,N-디메틸포름아미드, N-메틸피롤리돈, 디메틸 설폭사이드 및 이들의 임의의 조합, 바람직하게는 1,4-디옥산을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0291] 단계 2

[0292] 식 I-TM3의 화합물은 할로겐화 반응을 통해 식 I-IM4의 화합물로부터 얻어지고;

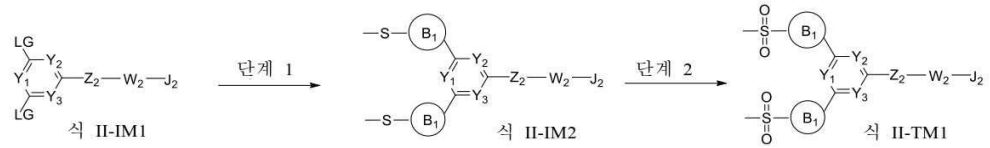
[0293] 일부 구현예에서, 할로겐화 반응에 사용되는 시약은 브롬, N-요오도숙신이미드, N-브로모숙신이미드, N-클로로숙신이미드, 바람직하게는 N-브로모숙신이미드를 포함하지만 이에 제한되지는 않고;

[0294] 일부 구현예에서, 커플링 반응은 촉매의 존재 하에서 수행되고, 상기 촉매는 과산화 벤조일이다.

[0295] 일부 구현예에서, 커플링 반응은 0 내지 200℃의 온도에서, 바람직하게는 50 내지 150℃의 온도에서 수행된다.

[0296] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 용매에서 수행되고, 상기 용매는 할로겐화 탄화수소(예를 들어, 사염화탄소, 디클로로메탄, 클로로포름, 1,2-디클로로에탄 등), 메탄올, 에탄올, DMF, 아세토니트릴, 에테르(예를 들어, 에틸렌 글리콜 디메틸 에테르, 테트라하이드로푸란, 다이옥산), 방향족 탄화수소(예를 들어, 톨루엔, 벤젠, 크실렌), 물 및 이들의 임의의 조합, 바람직하게는 사염화탄소를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0297] Z_2 및 W_2가 부재하는 경우, 본 발명의 식 II-TM1의 화합물은 다음과 같은 합성 경로를 통해 합성될 수 있다.

[0298] 

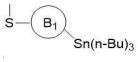
[0299] 여기서,

[0300] Y_1 , Y_2 , Y_3 , B_1 , J_2는 상기 일반식에서 정의된 바와 같고;

[0301] LG는 할로겐, 트리플루오로메탄술포네이트, 바람직하게는 할로겐을 포함하되 이에 제한되지 않는 커플링 반응을 거치는 이탈기이다.

[0302] 단계 1

[0303] 식 II-IM2의 화합물은 식 II-IM1의 화합물로부터 커플링 반응을 통해 얻어지고;

[0304] 일부 구현예에서, 커플링 반응에 사용되는 시약은 

이고;

[0305] 일부 구현예에서, 커플링 반응은 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐, 팔라듐 아세테이트, $Pd_2(dba)_3$, $Pd(PPh_3)_2Cl_2$, $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ 디클로로메탄 복합체, $Pd(dppf)Cl_2$, $Pd(Amphos)Cl_2$, 바람직하게는 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐을 포함하지만 이에 제한되지 않는 촉매의 존재 하에 수행된다.

[0306] 일부 구현예에서, 커플링 반응은 0 내지 200℃의 온도에서, 바람직하게는 50 내지 150℃의 온도에서 수행된다.

[0307] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 용매에서 수행되며, 상기 용매는 1,4-디옥산, 물, 톨루엔, 테트라하이드로푸란, N,N-디메틸포름아미드, N-메틸피롤리돈, 디메틸 설폭사이드 및 이들의 임의의 조합, 바람직하게는 1,4-디옥산을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0308] 단계 2

[0309] 식 II-TM1의 화합물은 산화 반응을 통해 식 II-IM2의 화합물로부터 얻어지고;

[0310] 일부 구현예에서, 커플링 반응은 산화제의 존재 하에서 수행되고 촉매는 m-클로로퍼옥시벤조산(m-chloroperoxybenzoic acid)이다.

[0311] 일부 구현예에서, 커플링 반응은 0 내지 120℃의 온도에서, 바람직하게는 50 내지 80℃의 온도에서 수행된다.

[0312] 일부 구현예에서, 반응은 적절한 용매에서 수행되고, 상기 용매는 할로겐화 탄화수소(예를 들어, 사염화탄소, 디클로로메탄, 클로로포름, 1,2-디클로로에탄 등), 메탄올, 에탄올, DMF, 아세토니트릴, 에테르(예를 들어, 에틸렌 글리콜 디메틸 에테르, 테트라하이드로푸란, 다이옥산), 방향족 탄화수소(예를 들어, 톨루엔, 벤젠, 크실렌), 물 및 이들의 임의의 조합, 바람직하게는 메탄올을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0313] 또한, 본 발명의 화합물은 유기 합성 분야의 당업자에게 공지된 다양한 방법으로 제조할 수 있다. 본 발명의 화합물은 아래에 설명된 방법뿐만 아니라 합성 유기 화학 분야에 공지된 방법 또는 당업자에게 공지된 그의 변형을 사용하여 합성할 수 있다. 바람직한 방법들은 전술한 방법들을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 반응은 사용된 시약 및 물질에 적절하고 전환에 적합한 용매 또는 혼합 용매에서 수행될 수 있다. 유기 합성 분야의 당업자는 분자에 존재하는 작용기가 제안된 전환과 일치해야 한다는 것을 이해할 것이다. 이것은 때때로 본 발명의 원하는 화합물을 얻기 위해 합성 단계의 순서를 수정하거나 다른 경로보다 특정 경로를 선택하기 위한 판단을 필요로 할 것이다.

[0314] 또한, 본 발명에 기재된 화합물에 존재하는 반응성 작용기를 보호하기 위한 보호기의 적절한 선택이 당업계의 합성 경로 설계에 있어서 또 다른 주요 고려사항임을 인식할 것이다. 당업자에게 많은 대안을 설명하는 권위있는 지침이 Greene et al. Protective Groups in Organic Synthesis, 4th edition, Wiley-Interscience 2006))에 의해 제공된다.

[0315] 달리 명시되지 않는 한, 상기 경로에서 화합물의 치환체는 본 명세서에 정의된 바와 같다. 당업자는 원하는 생성물의 구조에 따라 상기 경로에서 하나 이상의 단계를 생략할 수 있음을 이해할 것이다. 당업자는 또한 필요에 따라 반응 단계의 순서를 적절히 조정할 수 있다.

[0316] 약학 조성물

[0317] 본 발명은 또한 본 발명에 기술된 생리활성 접합체 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0318] 본 문헌에서 언급된 약학적 부형제는 의약품 생산 및 처방전 조제 시 사용되는 부형제 및 첨가제를 의미하며, 안전성 측면에서 합리적으로 평가되어 약학 제제에 포함된, 유효성분 이외의 물질을 지칭한다.

[0319] 약학 조성물은 인간 또는 동물 환자의 증상을 예방, 완화, 중지 또는 치료하는 한 어떠한 형태로든 투여할 수 있다. 예를 들어, 투여 경로에 따라 다양한 적절한 제형을 제조할 수 있다.

[0320] 본 출원은 또한 본 발명의 생리활성 접합체 또는 약학 조성물, 및 선택적으로 약물 설명서를 포함하는 키트 제품을 제공한다.

[0321] 치료 방법 및 용도

[0322] 본 출원의 또 다른 측면은 종양 질환의 예방 또는 치료를 위한 의약품의 제조에 있어서 생리활성 접합체의 용도를 제공한다.

[0323] 본 출원의 또 다른 측면은 종양 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 생리활성 접합체를 제공한다.

[0324] 본 출원의 또 다른 측면은, 이를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 생리활성 접합체 또는 생리활성 접합체를 포함하는 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 종양 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

[0325] 본 발명의 일 구현예에서, 종양 질환은 고형 종양 또는 혈액학적 악성 종양이며, 예를 들어, 종양 질환은 대장암, 위암, 유방암, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암, 특히 폐 선암(lung adenocarcinoma)), 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0326] 본 명세서에서 사용되는 "유효량"이라는 용어는 투여 시 치료되는 질병의 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화시키는 접합체의 양을 의미한다.

[0327] 본 명세서에서 사용되는 "치료"라는 용어는 달리 명시되지 않는 한, 치료 중인 질병 또는 상태의 회복, 완화 또는 그러한 질병 또는 상태의 하나 이상의 증상 진행을 의미합니다.

[0328] 본 명세서에서 사용되는 "개인" 또는 "대상체"는 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 예시적인 인간 대상체는 질병(예를 들어, 본 명세서에 기재된 질병)을 앓고 있는 인간 대상체(환자로 지칭함) 또는 정상 대상체를 포함한다. 본 발명에서 "비인간 동물"은 비포유류(예를 들어, 조류, 양서류, 파충류) 및 포유류(예를 들어, 비인간 영장류, 가축 및/또는 가축화 동물(예를 들어, 양, 개, 고양이, 소, 돼지 등)과 같은 모든 척추동물을

포함한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0329] 이하에서 실시예 및 실험예를 제시하여 본 발명을 구체적으로 설명하지만, 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니며, 본 발명의 범위를 벗어나지 않는 범위 내에서 변경될 수 있다.

[0330] 1. 본 발명에 관련된 항-ROR1 항체 19F6_Hu35V1의 제조

[0331] 초기 단계에서 Balb/c, C57Bl/6, NZB 및 A/J 마우스를 면역화하고 하이브리도마 스크리닝을 통해, 마우스 항체 19F6을 얻었고, 이를 인간화하여 인간화 항체 19F6_Hu35V1 (중쇄 가변 영역, 서열번호 1; 경쇄 가변 영역, 서열번호 2)를 얻었으며, 상기 인간화 항체의 중쇄 불변 영역은 인간 IgG1 중쇄 불변 영역 (서열번호 18)이었고, 경쇄 불변 영역은 인간 카파 경쇄 불변 영역 (서열번호 19)이었다. 상기 인간화 항체의 코딩 DNA 서열의 합성 및 코돈-최적화 후, 이를 pcDNA3.4 플라스미드에 클로닝하고, 인간화 항체의 중쇄 및 경쇄에 대응하는 pcDNA3.4 플라스미드를 Expi293F 세포에 동시에 형질감염시켰다. 단백질 A를 사용하여 상청액에서 발현된 항체를 정제하여 상응하는 항체를 얻었다.

[0332] 19F6_Hu35V1의 서열 정보 표:

[0333]

항체	번호 체계	서열번호:									
		CDR H1	CDR H2	CDR H3	CDR L1	CDR L2	CDR L3	VH	VL	CH	CL
19F6_Hu35V1	Chothia	3	4	5	6	7	8	1	2	18	19
	AbM	9	10	5	6	7	8				
	Kabat	11	12	5	6	7	8				
	IMGT	13	14	15	16	17	8				

[0334] 2. 본 발명에 관련된 약물-링커의 합성예

[0335] 본 명세서에 사용된 약어는 다음과 같은 의미를 가진다:

[0336]

NBS	브로모숙신이미드	DMF	N,N-디메틸포름아미드
HOBt	1-하이드록시벤조트리아졸	DIPEA	N,N-디이소프로필에틸아민
DIC	N,N- 디이소프로필카르보디이미드	HATU	O-(7-아조벤조트리아졸-1-옥시)- N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트
EEDQ	2-에톡시-1-에톡시카르보닐- 1,2-디하이드로퀴놀린	DIAD	디이소프로필 아조디카르복실레이트

[0337] 다음의 실시예에 기재된 화합물의 구조는 핵자기공명(^{1}H NMR) 또는 질량분석법(MS)으로 확인하였다.

[0338] 핵자기공명(^{1}H NMR)은 Bruker 400MHz 핵자기공명 기기; 중수소화 클로로포름($CDCl_3$)을 사용하여 측정하였고; 내부 표준 물질은 테트라메틸실란(TMS)이었다.

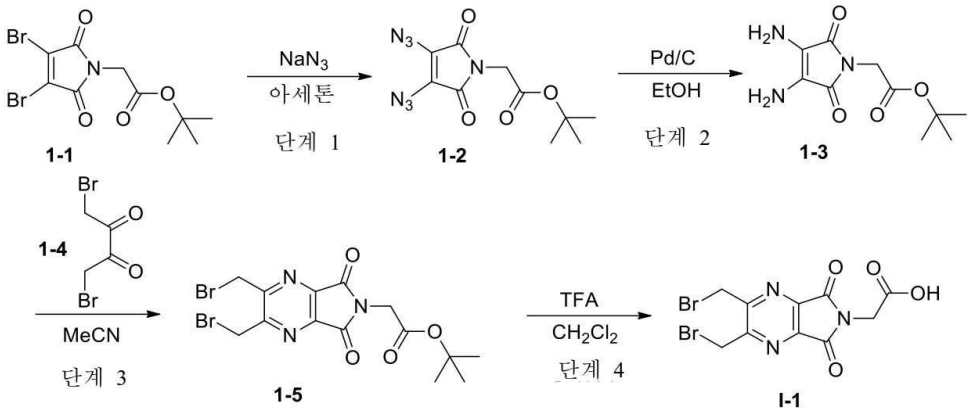
[0339] 핵자기공명(NMR) 스펙트럼의 해석에 있어서 실시예에서 사용된 약어는 아래와 같다.

[0340] s: 단일선, d: 이중선, t: 삼중선, q: 사중선, m: 다중선, br: 넓음(broad), J: 결합 상수, Hz: 헤르츠, $CDCl_3$: 중수소화 클로로포름. δ 값은 ppm으로 표시하였다.

[0341] 질량 스펙트럼(MS)은 Agilent (ESI) 질량 분석기(모델명: Agilent 6120B)를 사용하여 측정했다.

[0342] 화학 합성 실시예

[0343] 실시예 1: 2-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5,7-디하이드로-6H-피롤로[3,4-b]피라진-6-일)아세트산(I-1)



[0344]

[0345] 단계 1: tert-부틸 2-(3,4-디아지도-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세테이트의 합성(1-2)

[0346] 화합물 1-1 (0.40 g, 1.08 mmol, 합성에 대해서는 WO2019057964 참조)과 아지드 나트륨 (141.00 mg, 2.17 mmol)을 아세톤(10 mL)에 용해시키고 25℃에서 8시간 동안 반응시키고 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 물에 첨가하고 초산 에틸로 추출하고, 유기상을 결합하고 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 여과액을 감압하에 농축하여, 표제 화합물의 조생성물 0.28g을 얻었으며, 이를 정제 없이 바로 다음 반응에 사용했다.

[0347] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0348] ESI-MS (m/z): 311.0[M+18]$^+$.

[0349] 단계 2: tert-부틸 2-(3,4-디아미노-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세테이트의 합성(1-3)

[0350] 화합물 1-2 (0.15 g, 0.51 mmol) 및 10% 탄소 상 팔라듐 (15.00 mg)을 에탄올 (20 mL)에 용해시키고, 수소로 3회 교체하고 수소 분위기 하에서 25℃에서 3 시간 동안 반응시키고 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 규조토로 여과하고 여과액을 감압하에서 농축하여 표제 화합물의 조생성물 101.00 mg을 얻었으며, 이를 정제 없이 바로 다음 반응에 사용했다.

[0351] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0352] ESI-MS (m/z): 185.9[M-56]$^+$.

[0353] 단계 3: tert-부틸 2-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5,7-디하이드로-6H-피롤로[3,4-b]피라진-6-일)아세테이트의 합성(1-5)

[0354] 화합물 1-3 (50.00 mg, 0.21 mmol) 및 화합물 1-4 (54.00 mg, 0.21 mmol)를 아세토니트릴 (5mL)에 용해시키고 25 ℃에서 3 시간 동안 반응시키고 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 플래시 실리카겔 컬럼(석유 에테르: 에틸 아세테이트 = 5:1)으로 직접 정제하여 표제 화합물 40.00mg을 얻었다.

[0355] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0356] ESI-MS (m/z): 466.8[M+18]$^+$.

[0357] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 4.88 (s, 4H), 4.47 (s, 2H), 1.48 (s, 9H).

[0358] 단계 4: 2-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5,7-디하이드로-6H-피롤로[3,4-b] 피라진-6-일)아세트산(I-1)의 합성

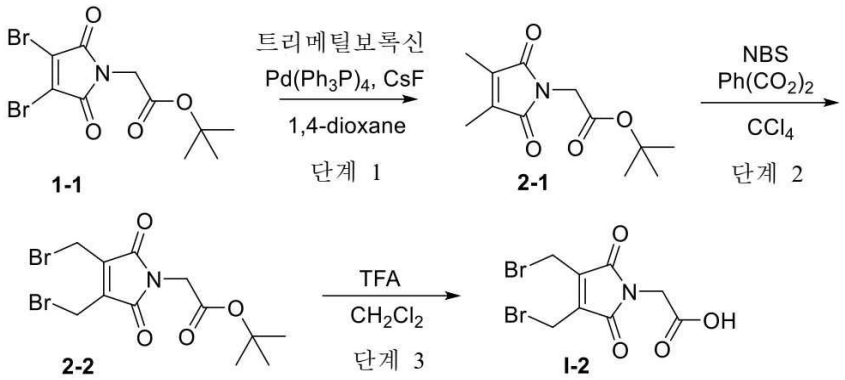
[0359] 화합물 1-5 (20.00 mg, 0.05 mmol)를 디클로로메탄 (5mL) 및 트리플루오로아세트산 (1 mL)에 용해시키고 25 ℃에서 5 시간 동안 반응시키고 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 감압하에서 직접 농축하여 표제 화합물의 조생성물 15.00mg을 얻었으며, 이를 정제 없이 바로 다음 반응에 사용

했다.

[0360] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0361] ESI-MS (m/z): 410.8[M+18]$^{+}$.

[0362] 실시예 2: 2-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세트산(I-2)



[0363]

[0364] 단계 1: tert-부틸 2-(3,4-디메틸-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세테이트(2-1)의 합성

[0365] 질소 보호 하에서 화합물 **1-1** (0.20 g, 0.54 mmol), 트리메틸보록신 (0.34 g, 2.71 mmol), 플로오르화세슘 (0.41 g, 2.71 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀) 팔라듐 (63.00 mg, 0.05 mmol)을 1,4-디옥산 (20 mL)에 용해시키고 110 ℃에서 3 시간 동안 반응시키고 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석기로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 플래시 실리카겔 컬럼(석유 에테르 : 에틸 아세테이트 = 5 : 1)으로 직접 정제하여 표제 화합물 80.00mg을 얻었다.

[0366] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0367] ESI-MS (m/z): 184.0[m+h-56]$^{+}$.

[0368] 단계 2: tert-부틸 2-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세테이트(2-2)의 합성

[0369] 질소 보호 하에서 화합물 **2-1** (72.00 mg, 0.30 mmol), NBS (118.00 mg, 0.66 mmol) 및 디벤조일 퍼옥사이드 (7.00 mg, 0.03 mmol)를 사염화탄소 (8 mL)에 용해시키고 85 ℃에서 12 시간 동안 반응시키고 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 플래시 실리카겔 컬럼(석유 에테르: 에틸 아세테이트 = 10:1)으로 직접 정제하여 표제 화합물 65.00mg을 얻었다.

[0370] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0371] ESI-MS (m/z): 414.8[M+18]$^{+}$.

[0372] ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 4.28 (s, 4H), 4.20 (s, 2H), 1.45 (s, 9H).

[0373] 단계 3: 2-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세트산(I-2)의 합성

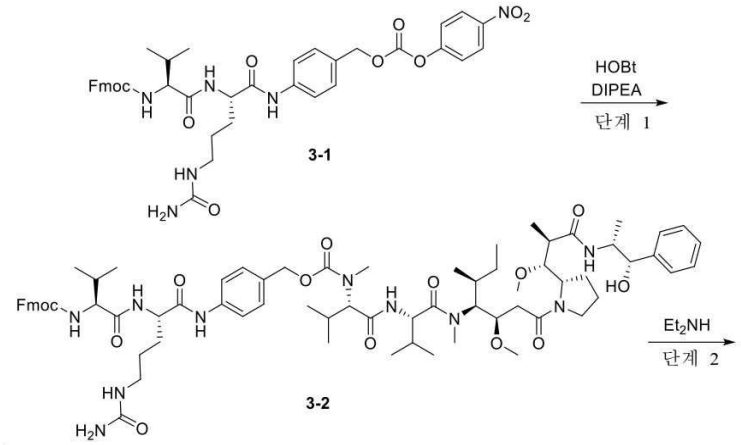
[0374] 화합물 **2-2** (60.00 mg, 0.15 mmol)를 디클로로메탄 (10 mL) 및 트리플루오로아세트산 (2mL)에 용해시키고 25 ℃에서 5 시간 동안 반응시키고 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 감압하에서 직접 농축하여 표제 화합물의 조생성물 50.00mg을 얻었으며, 이를 정제 없이 바로 다음 반응에 사용했다

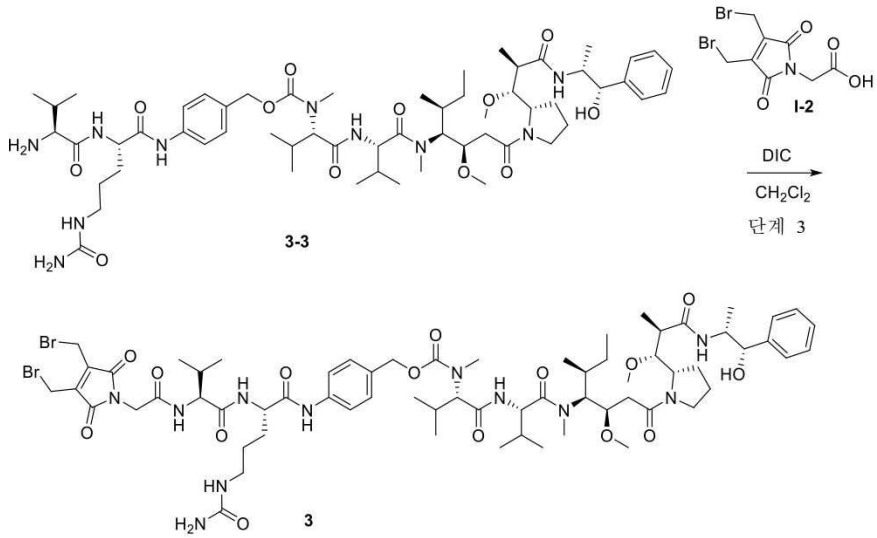
[0375] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0376] ESI-MS (m/z): 358.9[M+18]$^{+}$.

[0377] 실시예 3: 4-((S)-2-((S)-2-(2-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세트아미도)-3-메틸부틸아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질 ((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하

이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (약물-링커 **3**)

[0378] 

[0379] 

[0380] 단계 1: 4-((S)-2-((S)-2-((((9H-플루오렌-9-yl)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부틸암도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트(**3-2**)의 합성

[0381] 25℃에서, (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥시헵트-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미드 (30.00 mg, 0.04 mmol) 및 화합물 **3-1** (38.50 mg, 0.05 mmol)을 DMF (3 mL)에 용해시키고 HOBt 8.46 mg, 0.06 mmol) 및 DIPEA (10.80 mg, 0.08 mmol)를 첨가하고, 25 ℃에서 2 시간 동안 반응시키고, 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액은 추가 처리 없이 다음 단계에 바로 사용하였다.

[0382] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0383] ESI-MS (m/z): 1345.2 $[m+h]^+$.

[0384] 단계 2: 4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부틸아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질((S)-1-(((S))-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부

탄-2-일(메틸)카르바메이트 (**3-3**)의 합성

[0385] 25 ℃에서, 화합물 **3-2**의 반응 용액에 디에틸아민 (0.30 ㎖)을 첨가하고, 25℃에서 2 시간 동안 반응시킨 후 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법에 의해 반응을 모니터링하였다. 반응 용액을 감압하에서 농축하고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물의 포름산 염 36.30mg을 얻었다.

[0386] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0387] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

[0388]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
18.00	90	10	28

[0389] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0390] ESI-MS (m/z): 1123.2 $[m+h]^+$.

[0391] 단계 3: 4-((S)-2-((S)-2-(2-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세트아미도)-3-메틸부틸아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질 ((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-(((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (**3**)의 합성

[0392] 화합물 **I-2** (12.75 mg, 0.04 mmol)를 디클로로메탄 (3 mL)에 용해시키고, DIC 2.36 mg, 0.02 mmol) 및 화합물 **3-3** (21.00 mg, 0.02 mmol)을 첨가하고, 25 ℃에서 1 시간 동안 반응시키고, 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석기로 반응을 모니터링 하였다. 반응 용액을 감압하에서 농축하고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물 14.30mg를 얻었다.

[0393] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0394] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

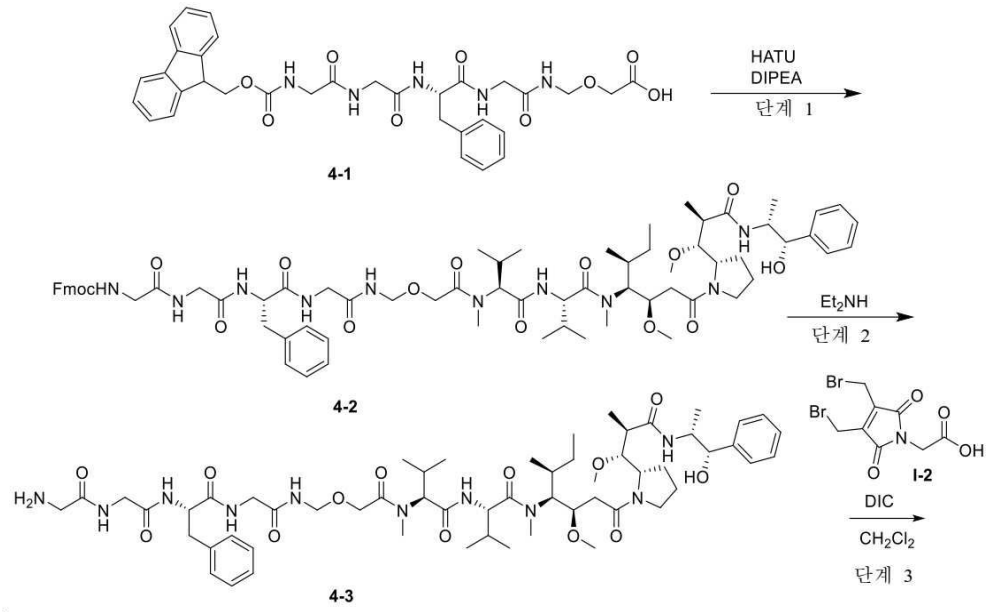
[0395]

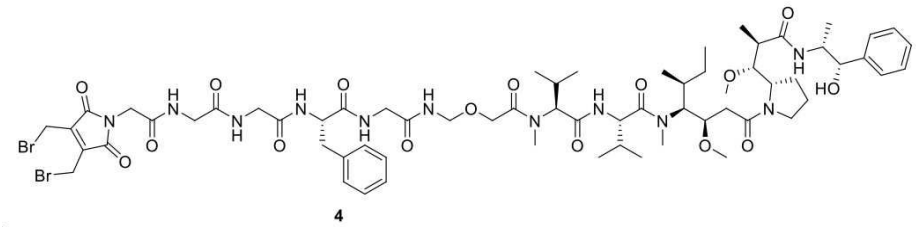
시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
17.00	90	10	28

[0396] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0397] ESI-MS (m/z): 1445.9$[M+H]^+$.

[0398] 실시예 4: (S)-2-((2S,13S)-13-벤질-22-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)-2-이소프로필-3-메틸-4,9,12,15,18,21-헥사옥소-6-옥사-3,8,11,14,17,20-헥사아자도코산아미도)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸부탄아미드 (약물-링커 **4**)

[0399] 

[0400] 

[0401] 단계 1: (9H-플루오렌-9-일)메틸((3R,4S,7S,10S,21S)-21-벤질-4-((S)-sec-부틸)-3-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-7,10-디이소프로필-5,11-디메틸-6,9,12,17,20,23,26-헵타옥소-2,14-디옥사-5,8,11,16,19,22,25-헵틸헵탄디아미도-27)카르바메이트 (**4-2**)의 합성

[0402] 화합물 **4-1** (50.00 mg, 0.08 mmol) 및 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥시프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부티릴아미도)부탄아미드 (55.60 mg, 0.08 mmol)를 칭량하고 DMF (1mL)에 용해시킨 다음 HATU (32.37 mg, 85.18 μmol) 및 DIPEA (20.02 mg, 154.88 μmol)를 첨가하고, 첨가 후, 실온에서 1 시간 동안 반응을 수행하고, 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 모니터링했다. 반응 용액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하여 표제 화합물 35.00mg을 얻었다.

[0403] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0404] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	40	60	28
2.00	40	60	28
18.00	90	10	28

[0405]

[0406] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0407] ESI-MS (m/z): 1345.1[M+H]$^+$.

[0408] 단계 2: (S)-2-((2S,13S)-19-아미노-13-벤질-2-이소프로필-3-메틸-4,9,12,15,18-펜타옥소-6-옥사-3,8,11,14,17-헵탄아존)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸부탄아미드

(**4-3**)의 합성

[0409] 화합물 **4-2** (20.00 mg, 0.02 mmol)를 디클로로메탄 (2mL)에 용해시킨 후 디에틸아민 (1mL)을 첨가하고, 첨가 후, 실온에서 1 시간 동안 반응을 수행하고 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 모니터링했다. 반응 용액을 감압하에서 농축하고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물의 포름산 염 15.00mg을 얻었다.

[0410] 크로마토그래피 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 19mm X 150mm X 5.0 μm

[0411] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

[0412]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	10	90	28
2.00	10	90	28
18.00	90	10	28

[0413] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0414] ESI-MS (m/z): 1123.1[M+H]$^+$.

[0415] 단계 3: (S)-2-((2S,13S)-13-벤질-22-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)-2-이소프로필-3-메틸-4,9,12,15,18,21-헥사옥소-6-옥사3,8,11,14,17,20-헥사아자도코산아미도)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로프-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵트-4-일)-N,3-디메틸부티르아미드 (**4**)의 합성

[0416] 화합물 **I-2** (4.00 mg, 12.0 μmol)를 디클로로메탄 (3 mL)에 용해시키고, DIC 1.12 mg, 8.00 μmol) 및 화합물 **4-3** (6.58 mg, 6.00 μmol)을 첨가하고, 25 ℃에서 1 시간 동안 반응시키고, 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 감압하에서 농축하고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물 4.77mg을 얻었다.

[0417] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19x150mm

[0418] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

[0419]

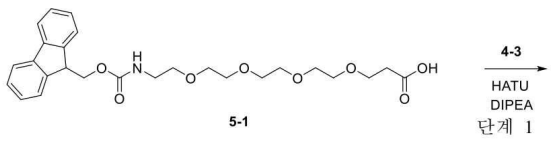
시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	35	65	28
18.00	90	10	28

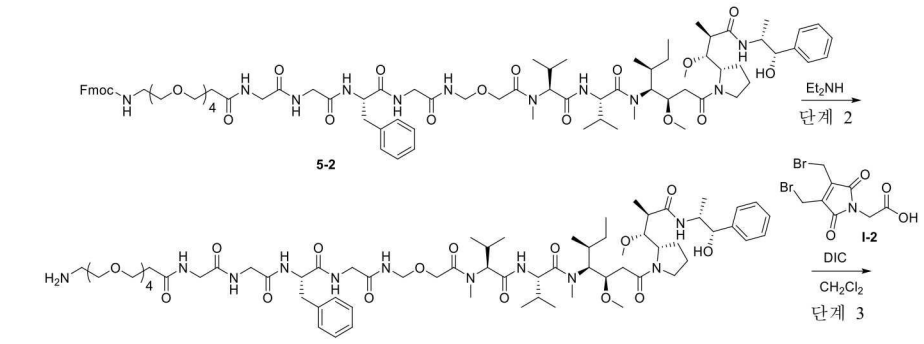
[0420] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

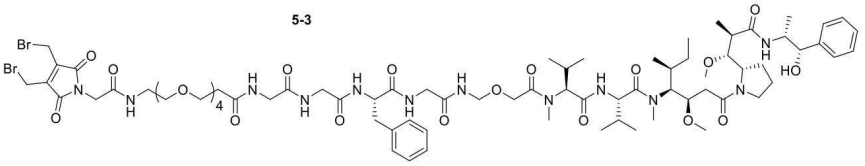
[0421] ESI-MS (m/z): 1445.9[M+H]$^+$.

[0422] 실시예 5: N-(((3R,4S,7S,10S,21S)-21-벤질-4-((S)-sec-부틸)-3-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로프-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-7,10-디이소프로필-5,11-디메틸-6,9,12,17,20,23,26-헵타옥소-2,14-디옥사-5,8,11,16,19,22,25-헵타아자헵타코산-27-일)-1-(2-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세트아미도)-3,6,9,12-테트라옥사펜타데칸-15-아미드 (약물-링커 **5**)

[0423]



[0424] 

[0425] 

[0426] 단계 1: (9H-플루오렌-9-일)메틸((3R,4S,7S,10S,21S)-21-벤질-4-((S)-sec-부틸)-3-(2-((S)-2-(((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-7,10-디이소프로필-5,11-디메틸-6,9,12,17,20,23,26,29-옥타옥소-2,14,32,35,38,41-헥사옥사-5,8,11,16,19,22,25,28-옥타아자펜타코산-43-일)카르바메이트 (**5-2**)의 합성

[0427] 화합물 **5-1** (5.21 mg, 11.00 μmol) 및 **4-3** (10.00 mg, 9.00 μmol)을 칭량하고 DMF (1mL)에 용해시킨 다음 HATU (4.06 mg, 11.00 μmol) 및 DIPEA (2.30 mg, 18.00 μmol)를 첨가하고, 첨가 후, 실온에서 1 시간 동안 반응을 수행하고, 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 모니터링했다. 반응 용액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하여 표제 화합물 9.00mg을 얻었다.

[0428] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0429] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

[0430]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	20	80	28
16.00	90	10	28

[0431] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0432] ESI-MS (m/z): 1592.8$[M+H]^+$.

[0433] 단계 2: 1-아미노-N-(((3R,4S,7S,10S,21S)-21-벤질-4-((S)-sec-부틸)-3-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-7,10-디이소프로필-5,11-디메틸-6,9,12,17,20,23,26-헵타옥소-2,14-디옥사-5,8,11,16,19,22,25-헵타아자헵타코산-27-일)-3,6,9,12-테트라옥사펜타데칸-15-아미드 (**5-3**)의 합성

[0434] 화합물 **5-2** (10.00 mg, 6.00 μmol)를 디클로로메탄 (2mL)에 용해시킨 후 디에틸아민 (1mL)을 첨가하고, 첨가 후, 실온에서 1 시간 동안 반응을 수행하고 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 모니터링하였다. 반응 용액을 감압하에서 농축하고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물의 포름산 염 7.00mg을 얻었다.

[0435] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0436] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	10	90	28
20.00	90	10	28

[0437]

[0438] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0439] ESI-MS (m/z): 1370.9[M+H]$^+$.

[0440] 단계 3: N-(((3R,4S,7S,10S,21S)-21-벤질-4-((S)-sec-부틸)-3-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-7,10-디이소프로필-5,11-디메틸-6,9,12,17,20,23,26-헵타옥소-2,14-디옥사-5,8,11,16,19,22,25-헵타아자헵타코산-27-일)-1-(2-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)아세트아미도)-3,6,9,12-테트라옥소펜타데칸아미드(**5**)의 합성

[0441] 화합물 **I-2** (4.00 mg, 12.00 μmol)를 디클로로메탄 (2mL)에 용해시키고, DIC 1.12 mg, 8.00 μmol) 및 화합물 **5-3** (8.04 mg, 6.00 μmol)을 첨가하고, 25 ℃에서 1 시간 동안 반응시키고, 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 감압하에서 농축하고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물 4.68mg을 얻었다.

[0442] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0443] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

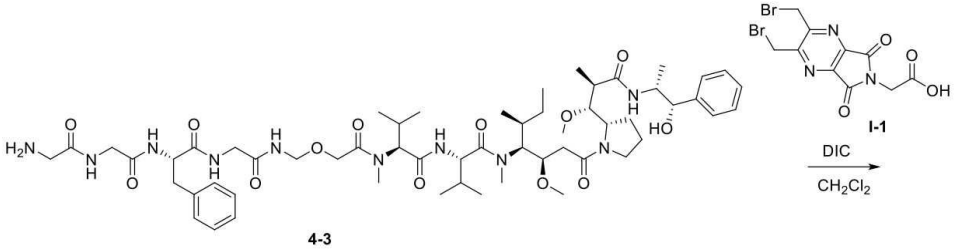
시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	35	65	28
18.00	90	10	28

[0444]

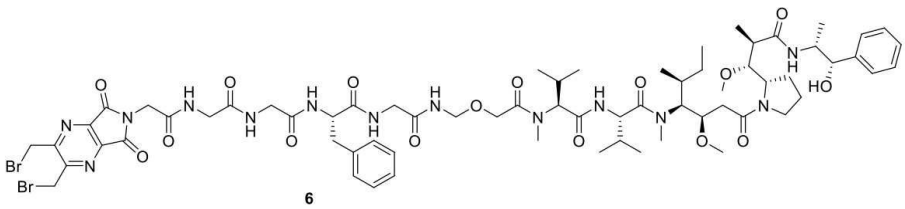
[0445] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0446] ESI-MS (m/z): 1693.7[M+H]$^+$.

[0447] 실시예 6: (S)-2-((2S,13S)-13-벤질-22-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5,7-디하이드로-6H-피롤로[3,4-b]피라진-6-일)-2-이소프로필-3-메틸-4,9,12,15,18,21-헥사옥소-6-옥사-3,8,11,14,17,20-헥사아자도코산아미도)-N-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노))-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸부탄아미드 약물-링커 **6**)



4-3



6

[0448]

[0449] 화합물 **I-1** (6.03 mg, 15.00 μmol)을 디클로로메탄 (2mL)에 용해시키고, DIC 1.45 mg, 12.00 μmol) 및 화합

물 **4-3** (8.62 mg, 8.00 μmol)을 첨가하고, 25 ℃에서 1 시간 동안 반응시키고, 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 감압하에서 농축하고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물 4.21mg을 얻었다.

[0450] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0451] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

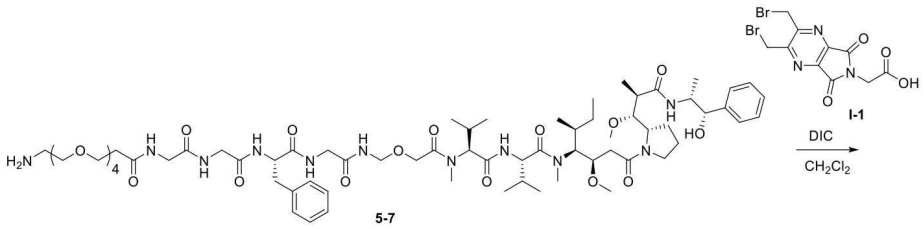
시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
18.00	90	10	28

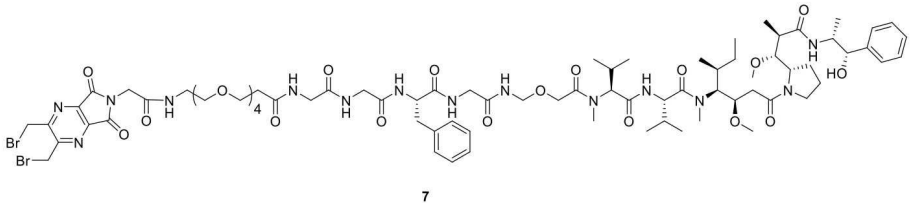
[0452]

[0453] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0454] ESI-MS (m/z): 1498.5[M+H]$^+$.

[0455] 실시예 7: N-(((3R,4S,7S,10S,21S)-21-벤질-4-((S)-sec-부틸)-3-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-((((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-7,10-디이소프로필-5,11-디메틸-6,9,12,17,20,23,26-헵타옥소-2,14-디옥사-5,8,11,16,19,22,25-헵타아자헵타코산-27-일)-1-(2-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5,7-디하이드로-6H-피롤로[3,4-b]피라진-6-일)아세트아미도)-3,6,9,12-테트라옥사펜타데칸-15-아미드 (약물-링커 **7**)





[0456]

[0457] 화합물 **I-1** (12.06 mg, 0.03 mmol)을 디클로로메탄 (4 mL)에 용해시키고, DIC 3.00 mg, 0.02 mmol) 및 화합물 **5-3** (20.00 mg, 15.00 μmol)을 첨가하고, 25 ℃에서 1 시간 동안 반응시키고, 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법으로 반응을 모니터링했다. 반응 용액을 감압하에서 농축하고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물 12.00 mg을 얻었다.

[0458] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0459] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

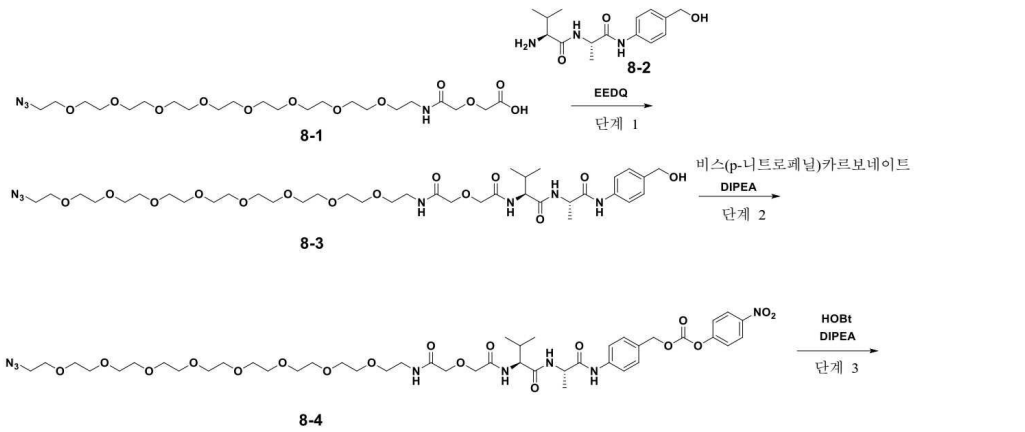
[0460]

[0461] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0462] ESI-MS (m/z): 1745.8[M+H]$^+$.

[0463] 실시예 8: 4-((2S,5S)-41-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)-5-이소프로필-2-메

틸-4,7,11,40-테트라옥소-9,15,18,21,24,27,30,33,36-노나옥사-3,6,12,39-테트라아자펜타데칸아미도)페닐((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르보네이트 (약물-링커 **8**)

[0464] 

[0465]

[0466] 단계 1: (S)-2-(32-아지도-5-옥소-3,9,12,15,18,21,24,27,30-노나옥사-6-아자테트라트리아콘탄아미도)-N-((S)-1-((4-(하이드록시메틸)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)-3-메틸부탄아민(**8-3**)의 합성

[0467] 화합물 **8-2**(3.60 g, 12.27 mmol)를 디클로로메탄(30 mL)에 용해시키고 화합물 **8-1**(7.49 g, 13.50 mmol) 및 EEDQ(6.07 g, 24.54 mmol)를 첨가하고, 25℃에서 4시간 동안 반응시켰다. 반응액을 감압하에서 농축하고 농축액을 역상 C18 칼럼(70% 아세토니트릴/0.1% 수성 포름산)으로 분리하여 표제 화합물 **8-3**(7.80 g)을 얻었다.

[0468] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0469] ESI-MS (m/z): 830.4[M+H]$^+$.

[0470] 단계 2: 4-((2S,5S)-38-아지도-5-이소프로필-2-메틸-4,7,11-트리옥소-9,15,18,21,24,27,30,33,36-노나옥사-3,6,12-트리아자옥타트리아코나탄아미도)벤질 4-니트로페닐)카르보네이트(**8-4**)의 합성

[0471] 화합물 **8-3**(2.50 g, 3.01 mmol)을 디클로로메탄(20 mL)에 용해시키고 비스(p-니트로페닐)카르보네이트(3.66 g, 12.05 mmol) 및 DIPEA(1.56 g, 12.05 mmol)를 첨가하고 25℃에서 4시간 동안 반응시켰다. 반응 용액을 실리카겔 컬럼(에틸 아세테이트~디클로로메탄:메탄올=84:16)으로 직접 정제하여 표제 화합물 **8-4**(2.07g)를 얻었다.

[0472] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0473] ESI-MS (m/z): 995.4[M+H]$^+$.

[0474] 단계 3: 4-((2S,5S)-38-아지도-5-이소프로필-2-메틸-4,7,11-트리옥소-9,15,18,21,24,27,30,33,36-노나옥사-3,6,12-트리아자옥타트리아콘탄아미도)벤질 (S)-1-(((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르보네이트 (**8-5**)의 합성

[0475] (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로프-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥시프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵트-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부틸아미드 (100 mg, 139.28 μmol), 화합물 **8-4** (180.17 mg, 181.06 μmol) 및 HOBt (56.46 mg, 417.84 μmol)를 DMF 3 mL)에 용해시키고 DIPEA (54.00 mg, 417.84 μmol)를 첨가하고 25 ℃에서 6 시간 동안 반응시켰다. 반응 용액을 감압하에 농축시키고, 농축액을 역상 C18 컬럼(55% 아세토니트릴/0.1% 수성 포름산)으로 분리하여 표제 화합물 **8-5**(60.00 mg)를 얻었다.

[0476] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0477] ESI-MS (m/z): 1573.9[M+H]$^+$.

[0478] 단계 4: 4-((2S,5S)-38-아미노-5-이소프로필-2-메틸-4,7,11-트리옥소-9,15,18,21,24,27,30,33,36-노나옥사-3,6,12-트리아자옥타트리아콘탄아미도)벤질 (S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸 -1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르보네이트 (**8-6**)의 합성

[0479] 화합물 **8-5** (0.60 g, 381.22 μmol)를 THF (10 mL)에 용해시키고 트리페닐포스 핀 232.02 mg, 762.44 μmol)을 첨가한 다음 물 (10 mL)을 첨가하고 50℃에서 6 시간 동안 반응시켰다. 반응 용액에 물을 첨가하고 디클로로메탄으로 추출하고 무수 황산나트륨으로 건조시키고 여과하고 여과액을 감압하에서 농축시키고, 실리카겔 컬럼(디클로로메탄 : 메탄올 = 84 : 16)으로 정제하여 표제 화합물 **8-6** (50.00 mg)을 얻었다.

[0480] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0481] ESI-MS (m/z): 1548.9[M+H]$^+$.

[0482] 단계 5: 4-((2S,5S)-41-(3,4-비스(브로모메틸)-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)-5-이소프로필-2-메틸-4,7,11,40-테트라옥소-9,15,18,21,24,27,30,33,36-노나옥사-3,6,12,39-테트라아자펜타데칸아미도)페닐 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르보네이트 (**8**)의 합성

[0483] 화합물 **I-2** (10.00 mg, 0.03 mmol)를 디클로로메탄 (4 mL)에 용해시키고, DIC 3.70 mg, 0.03 mmol) 및 화합물 **8-6** (23.37 mg, 15.00 μmol)을 첨가하고, 25 ℃에서 1 시간 동안 반응시키고, 고성능 액체 크로마토그래피-질량 분석법에 의해 반응을 모니터링 하였다. 반응 용액을 감압하에서 농축시키고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물 **8** (12.88 mg)을 얻었다.

[0484] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0485] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

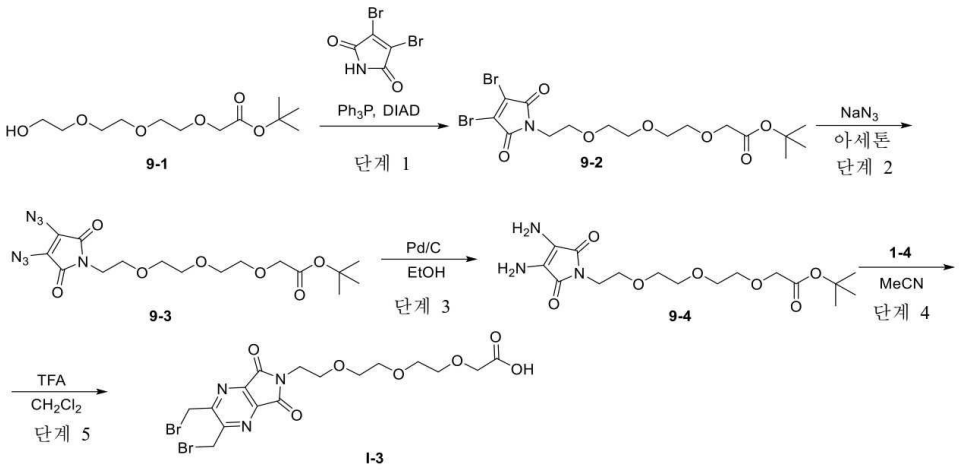
[0486]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	35	65	28
2.00	35	65	28
18.00	95	5	28

[0487] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0488] ESI-MS (m/z): 1871.8[M+H]$^+$.

[0489] 실시예 9: 2-(2-(2-(2-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5,7-디하이드로-6H-피롤로[3,4-b]피라진-6-일)에톡시)에톡시)아세트산(I-3)

[0490] 

[0491] 단계 1: tert-부틸 2-(2-(2-(2-(3,4-디브로모-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)에톡시)아세테이트 (9-2)의 합성

[0492] 0℃에서 화합물 9-1 (523.00 mg, 1.98 mmol) 및 트리페닐포스핀 (518.97 mg, 1.98 mmol)을 테트라하이드로푸란 (8 mL)에 용해시키고, DIAD (400.11 mg, 1.98 mmol, 389.59 μL)를 첨가한 후 5분간 교반하고 3,4-디브로모피롤-2,5-디온 (504.30 mg, 1.98 mmol)을 첨가하고 0℃에서 3시간 동안 반응시켰다. 반응 용액에 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하고 에틸 아세테이트로 추출하고, 무수 황산나트륨으로 건조하고 여과하고, 여과액을 감압하에서 농축시켰다. 농축액을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르: 에틸 아세테이트 = 1:1)로 분리하여 표제 화합물 9-2(0.90 g)를 얻었다.

[0493] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0494] ESI-MS (m/z): 519.0[M+18]$^+$.

[0495] 단계 2: tert-부틸 2-(2-(2-(2-(3,4-디아지도-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)에톡시)아세테이트 (9-3)의 합성

[0496] 화합물 9-2 (0.20 g, 399.07 μmol)를 아세톤(8 mL)에 용해시키고, 아자이드 나트륨 (51.89 mg, 798.14 μmol)을 첨가하고 25℃에서 8시간 동안 반응시켰다. 반응 용액을 물에 첨가하고 에틸 아세테이트로 추출하고 무수 황산나트륨으로 건조시키고 여과하고 여과액을 감압하에서 농축시켜서 표제 화합물 9-3의 조생성물(160.00 mg)을 얻었다.

[0497] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0498] ESI-MS (m/z): 443.1[M+18]$^+$.

[0499] 단계 3: tert-부틸 2-(2-(2-(2-(3,4-디아미노-2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)에톡시)아세테이트 (9-4)의 합성

[0500] 화합물 9-3 (170.00 mg, 399.63 μmol) 및 탄소상 10% 팔라듐(85.00 mg)을 에탄올(34 mL)에 용해시키고 수소 분위기 하에서 25℃에서 8시간 동안 반응시켰다. 반응 용액을 여과하고 여과액을 감압하에서 건조시켜 표제 화합물 9-4의 조생성물(140.00 mg)을 얻었다.

[0501] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0502] ESI-MS (m/z): 391.3[M+18]$^+$.

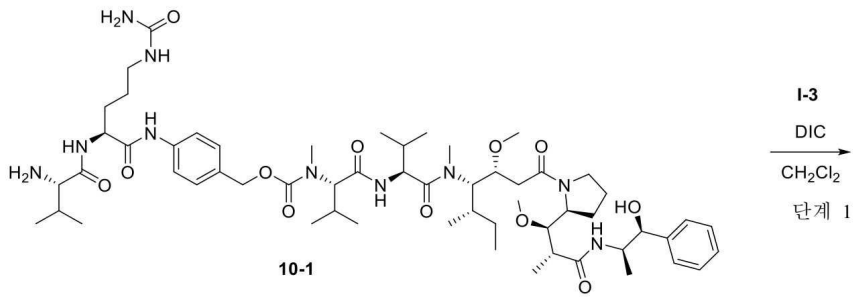
[0503] 단계 4: 2-(2-(2-(2-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5,7-디하이드로-6H-피롤로[3,4-b]피라진-6-일)에톡시)에톡시)아세트산(I-3)의 합성

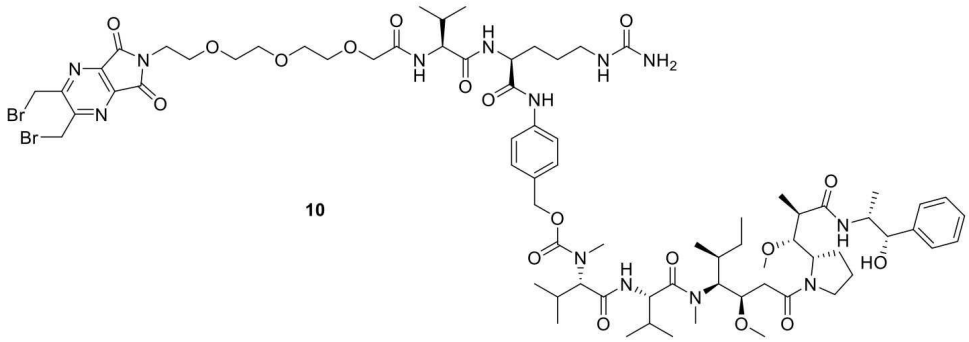
[0504] 화합물 **9-4** (70.00 mg, 187.47 μmol) 및 화합물 **1-4** (45.72 mg, 187.47 μmol)를 아세토니트릴 (5mL)에 용해시키고 25 ℃에서 2 시간 동안 반응시켰다. 반응 용매를 감압하에서 건조시키고 농축액을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르: 에틸 아세테이트 = 1:1)로 분리하여 표제 화합물 **I-3**(26.00 mg)을 얻었다.

[0505] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0506] ESI-MS (m/z): 391.3[M+18]$^+$.

[0507] 실시예 10: 4-((2S,5S)-17-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5,7-디하이드로-6H-피롤로[3,4-b]피라진-6-일)-5-이소프로필-4,7-디옥소-2-(3-우레이도프로필)-9,12,15-트리옥사-3,6-디아자헵타데칸아미도)벤질 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르보네이트 (약물-링커 **10**)

[0508] 

[0509] 

[0510] 화합물 **I-3** (13.47 mg, 25.65 μmol)을 디클로로메탄 (4 mL)에 용해시키고 DIC 2.43 mg, 19.24 μmol, 2.98 μL)를 첨가하고 20분 동안 교반한 후, 화합물 **10-1**의 포메이트(15.00 mg, 12.83 μmol)를 첨가하고, 20 ℃에서 2 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물 **10** (9.00 mg)을 얻었다.

[0511] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0512] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

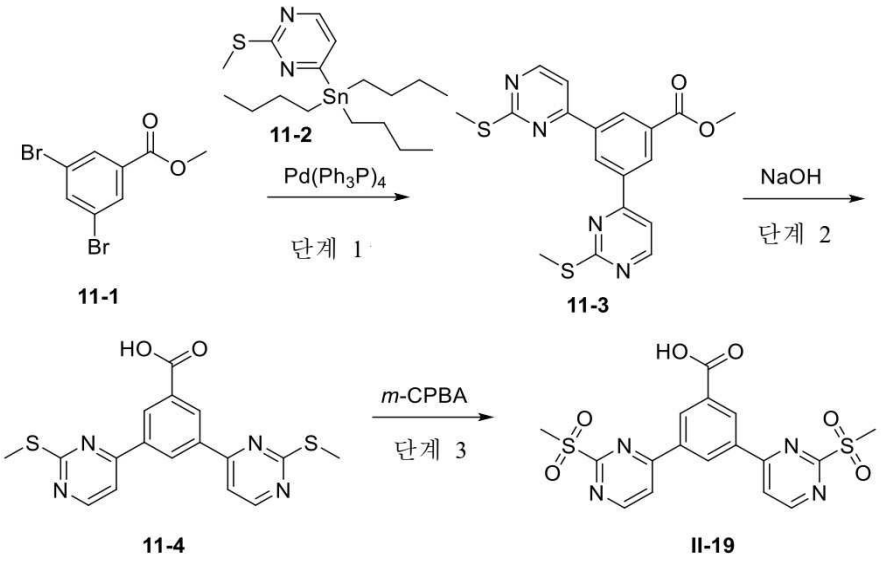
[0513]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	35	65	28
2.00	35	65	28
16.00	90	10	28

[0514] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0515] ESI-MS (m/z): 1630.4[M+H]$^+$.

[0516] 실시예 11: 3,5-비스(2-(메틸설포닐)피리미딘-4-일)벤조산 (II-19)



[0517]

[0518] 단계 1: 메틸 3,5-비스(2-(메틸티오)피리미딘-4-일)벤조에이트 (11-3)의 합성

[0519] 메틸 3,5-디브로모벤조에이트 (1.00 g, 3.40 mmol), 4-트리부틸스탄닐-2-티오메틸피리미딘 (3.11 g, 7.48 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (393.00 mg, 0.034 mmol)을 1,4-디옥산 (10 mL)에 용해시키고, 질소로 대체하고 110 ℃에서 6 시간 동안 마이크로파에서 반응시켰다. 반응 용액을 감압하에서 농축시키고 농축액을 실리카겔 컬럼(석유 에테르: 초산 에틸 = 5:1)으로 정제하여 화합물 11-3(398.00 mg)을 얻었다.

[0520] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0521] ESI-MS (m/z): 385.0[M+H]$^+$.

[0522] 단계 2: 3,5-비스(2-(메틸티오)피리미딘-4-일)벤조산(11-4)의 합성

[0523] 화합물 11-3 (398.00 mg, 1.04 mmol)을 메탄올 (5mL), 테트라하이드로푸란 (5mL) 및 물 (1mL)에 용해시키고 수산화나트륨 (166.00 mg, 4.14 mmol)을 첨가하고 1 시간 동안 교반하면서 반응시켰다. 중화를 위해 반응 용액에 3N 수성 염산 용액을 적가하고, 감압하에서 농축한 다음 물을 첨가하고 교반하고 여과하고, 고체를 물로 세척하고 진공에서 건조하여 표제 화합물 11-4 (0.38 g)를 얻었다.

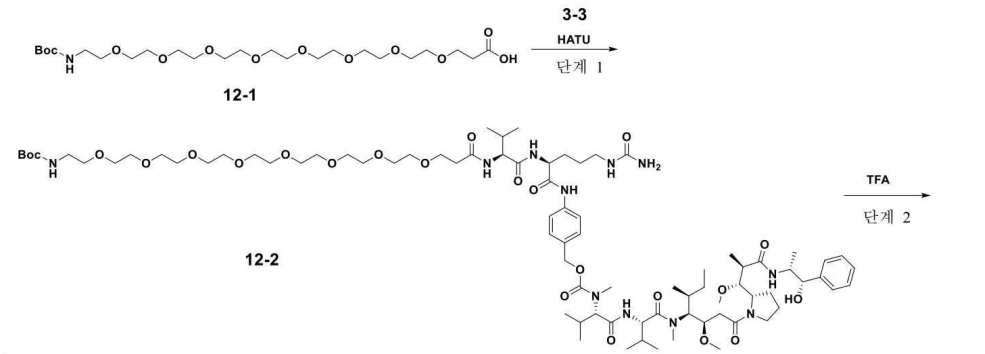
[0524] 단계 3: 3,5-비스(2-(메틸설포닐)피리미딘-4-일)벤조산 (II-19)의 합성

[0525] 화합물 11-4 (0.38 g, 1.03 mmol)를 메탄올 (20 mL)에 용해시키고 m-클로로퍼옥시 벤조산 (1.25 g, 80%, 6.15 mmol)을 교반하면서 첨가하고, 60 ℃로 가열하고 4 시간 동안 반응시켰다. 용매를 질소로 블로우 건조하고 고체를 디클로로메탄에 용해하고 실리카겔 컬럼(디클로로메탄:메탄올=10:1)에서 직접 정제하여 표제 화합물 II-19(0.25 g)를 얻었다.

[0526] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0527] ESI-MS (m/z): 452.0[M+18]$^+$.

[0528] 실시예 12: 4-((31S,34S)-1-(3,5-비스(2-(메틸술포닐)피리미딘-4-일)페닐)-31-이소프로필-1,29,32-트리옥소-34-(3-우레이도프로필))-5,8,11,14,17,20,23,26-옥타옥사-2,30,33-트리아자테트라펜타콘탄-35-아미도)벤질 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르보네이트 (약물-링커 12)

[0529] 

[0530]

[0531] 단계 1: 4-((34S,37S)-34-이소프로필-2,2-디메틸-4,32,35-트리옥소-37-(3-우레이도프로필)-3,8,11,14,17,20,23,26,29-노나옥사-5,33,36-트리아자옥타데칸-38-아미도)벤질 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (**12-2**)의 합성

[0532] 화합물 **3-3**의 포메이트 염 (200.00 mg, 171.02 μmol), HATU (91.04 mg, 239.43 μmol) 및 화합물 **12-1** (120.42 mg, 222.33 μmol)을 DMF (6 mL)에 용해시킨 후 DIPEA (66.31 mg, 513.06 μmol)를 첨가하고, 첨가 후 실온에서 0.5 시간 동안 반응을 수행했다. 용매를 감압하에서 건조시키고, 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고, 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물 **12-2** (210.00 mg)를 얻었다.

[0533] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0534] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

[0535]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

[0536] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0537] ESI-MS (m/z): 824.0[(m+h)/2]$^{+}$.

[0538] 단계 2: 4-((29S,32S)-1-아미노-29-이소프로필-27,30-디옥소-32-(3-우레이도프로필)-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사-28,31-디아자테트라트리아콘탄-33-아미도)벤질 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥시프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-

5-메틸-1-옥소부트-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르보네이트 (**12-3**)의 합성

[0539] 화합물 **12-2** (140.00 mg, 85.00 μmol)를 트리플루오로 아세트산 (0.5mL)과 디클로로메탄 (5mL)에 용해하고 0 ℃에서 2시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에 건조시켜 표제 화합물 **12-3**의 조 포메이트(crude formate) 73.00 mg을 얻었다.

[0540] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0541] ESI-MS (m/z): 774.1[(m+h)/2]$^{+}$.

[0542] 단계 3: 4-((31S,34S)-1-(3,5-비스(2-(메틸술포닐)피리미딘-4-일)페닐)-31-이소프로필-1,29,32-트리옥소-34-(3-우레이도프로필))-5,8,11,14,17,20,23,26-옥타옥사-2,30,33-트리아자테트라펜타콘탄-35-아미도)벤질 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르보네이트 (**12**)의 합성

[0543] 화합물 **II-19** (5.45 mg, 12.56 μmol), HATU (14.32 mg, 37.67 μmol) 및 화합물 **12-3**의 포메이트 (20.00 mg, 12.56 μmol)를 DMF (2mL)에 용해시킨 다음 DIPEA (8.11 mg, 62.78 μmol, 11.18 μL)를 첨가하고, 첨가 후 실온에서 2 시간 동안 반응을 수행했다. 용매를 감압하에서 건조시켰다. 농축액을 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고 분획물을 동결 건조시켜 표제 화합물 **12** (6.50mg)를 얻었다.

[0544] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0545] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

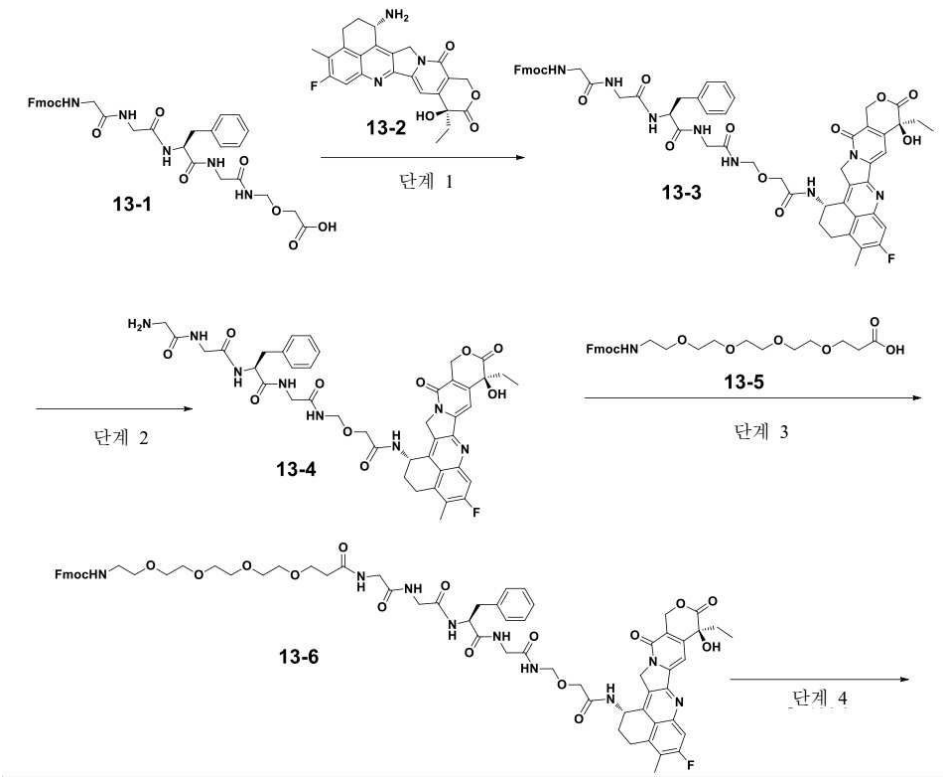
[0546]

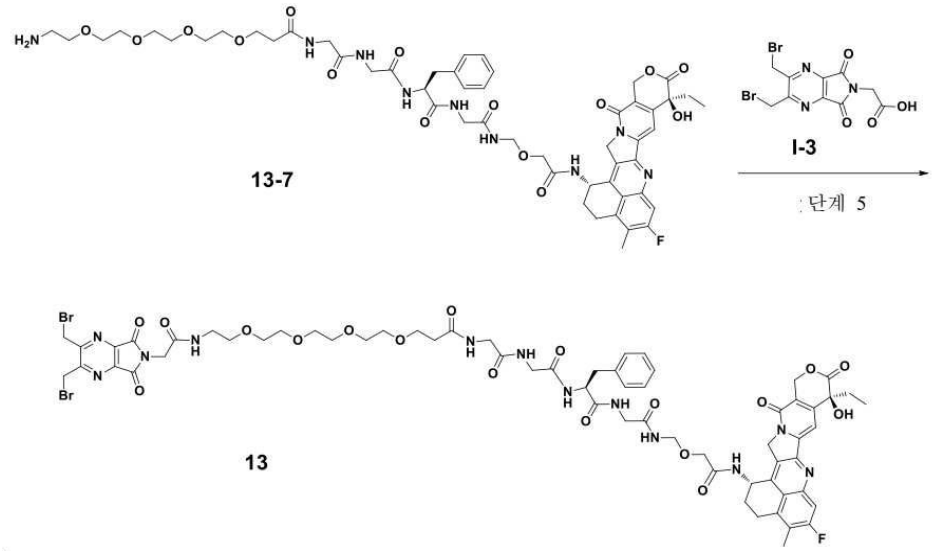
시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	40	60	28
2.00	40	60	28
18.00	80	20	28

[0547] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0548] ESI-MS (m/z): 982.5[(m+h)/2]$^{+}$.

[0549] 실시예 13: N-((S)-10-벤질-1-((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-1,6,9,12,15-펜타옥소-3-옥사-5,8,11,14-테트라아자헥사데칸-16-일)-1-(2-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5H-피롤로[3,4-b]피라진-6(7H)-일)아세트아미도)-3,6,9,12-테트라옥사펜타데칸아미드 (약물-링커 **13**)

[0550] 

[0551] 

[0552] 단계 1: (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((S)-10-벤질-1-((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[데]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-1,6,9,12,15-펜타옥소-3-옥사-5,8,11,14-테트라아자헥사데칸-16-일)) 카르바메이트 (**13-3**)의 합성

[0553] 화합물 **13-1**(1.00 g, 1.55 mmol)을 DMF (5mL)에 용해하고, HATU(647.40 mg, 1.70 mmol), 화합물 **13-2**(1.00 g, 1.55 mmol)의 엑사테칸 메실레이트(Exatecan mesylate) 및 DIPEA (400.34 mg, 3.10 mmol)를 순차적으로 첨가하고, 25℃에서 2시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고, 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 제조하고, 동결 건조시켜 표제 화합물 **13-3**(1.05 g)을 얻었다.

[0554] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0555] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
18.00	90	10	28

[0556]

[0557] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0558] ESI-MS (m/z): 1063.4$[M+H]^+$.

[0559] 단계 2: (S)-2-(2-아미노아세트아미도)아세트아미도)-N-(2-((2-(((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-2-옥소-에톡시)메틸)-2-옥소-3-페닐프로판아미드 (**13-4**)의 합성

[0560] 화합물 **13-3** (1.05 g, 987.69 μmol)을 디클로로메탄 (100mL)에 용해시키고 디에틸아민 (20mL)을 첨가하고 25℃에서 1 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고 동결 건조시켜 표제 화합물 **13-4**의 포메이트(285.00 mg)를 얻었다.

[0561] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0562] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
18.00	90	10	28

[0563]

[0564] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0565] ESI-MS (m/z): 841.2$[M+H]^+$.

[0566] 단계 3: (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((S)-10-벤질-1-((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,15-옥타하이드로벤조[데]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-1,6,9,9,15,18-헥사옥소-3,21,24,27,30-펜타옥사-5,8,11,14,17-펜타아자트리카르복실레이트 (**13-6**)의 합성

[0567] **화합물 13-4**의 포메이트 (83.00 mg, 98.71 μmol) 및 HATU (45.04 mg, 118.45 μmol), 화합물 **13-5** (57.75 mg, 118.45 μmol)를 DMF (2mL)에 용해시킨 다음 DIPEA (25.51 mg, 197.42 μmol, 35.14 μL)와 첨가하고, 첨가 후 0.5 시간 동안 실온에서 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고 동결 건조시켜 표제 화합물 **13-6**(30.00 mg)을 얻었다.

[0568] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0569] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
16.00	90	10	28

[0570]

[0571] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0572] ESI-MS (m/z): 1310.5$[M+H]^+$.

[0573] 단계 4: 1-아미노-N-((S)-10-벤질-1-((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[데]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노-1,6,9,12,15-펜타옥소-3-옥사-5,8,11,14-테트라아자헥사데칸-16-일)-3,6,9,12-테트라옥사-15-데칸아미드 (**13-7**)의 합성

[0574] 화합물 **13-6** (30.00 mg, 22.89 μmol)을 디에틸아민 (1mL) 및 DMF (2mL)에 용해시키고 실온에서 1 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고 동결 건조시켜 표제 화합물 **13-7**의 포메이트 (16.00 mg)를 얻었다.

[0575] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0576] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

[0577]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	5	95	28
18.00	90	10	28

[0578] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0579] ESI-MS (m/z): 1088.4$[M+H]^+$.

[0580] 단계 5: N-((S)-10-벤질-1-((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-1,6,9,12,15-펜톡소-3-옥사-5,8,11,14-테트라아자헥사데칸-16-일)-1-(2-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5H-피롤로[3,4-b]피라진-6(7H)-일)아세트아미도)-3,6,9,12-테트라옥사펜타데칸아미드 (**13**)의 합성

[0581] 화합물 **13-7**의 포메이트 (16.00 mg, 14.70 μmol), 화합물 **I-3** (11.56 mg, 29.41 μmol) 및 DIC (2.60 mg, 20.59 μmol, 3.19 μL)를 디클로로메탄 (4 mL)에 용해하고 20 ℃에서 1 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고 동결 건조시켜 표제 화합물 **13**(5.33 mg)을 얻었다.

[0582] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0583] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

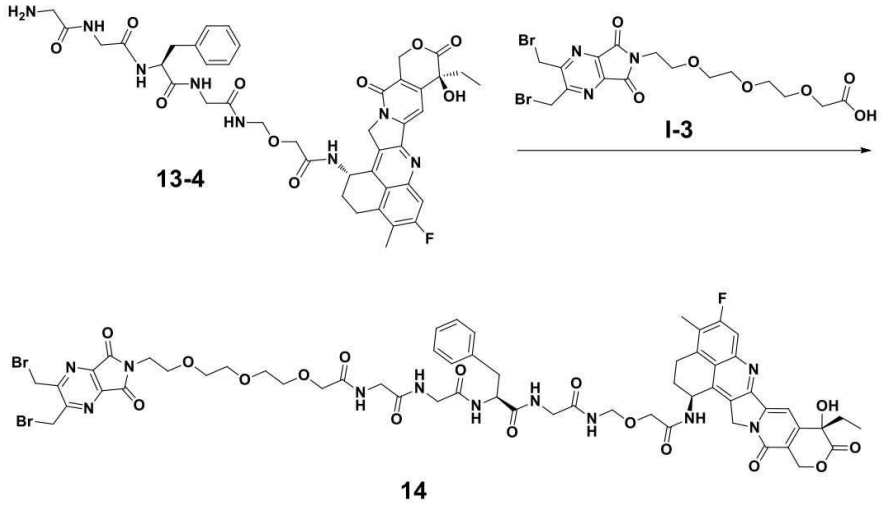
[0584]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
3.00	30	70	28
18.00	95	5	28

[0585] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0586] ESI-MS (m/z): 1463.3$[M+H]^+$.

[0587] 실시예 14: (S)-2-(17-(2,3-비스(브로모메틸)-5,7-디옥소-5H-피롤로[3,4-b]피라진-6(7H)-일)-4,7-디옥소-9,12,15-트리옥사-3,6-디아자헵탄아미도)-N-(2-((2-((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소)-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[데]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-2-옥소에톡시(메틸)아미노)-2-옥소에틸)-3-페닐프로판아미드 (약물-링커 **14**)



[0588]

[0589] 화합물 **I-3** (40.26 mg, 76.67 μmol)을 디클로로메탄 (5mL)에 용해시키고 DIC 9.68 mg, 76.67 μmol)를 첨가하고 20 분 동안 교반한 다음, 화합물 **13-4**의 포메이트 (34.00 mg, 38.34 μmol)를 첨가하고 20 ℃에서 2 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고 동결 건조시켜 표제 화합물 **14**(5.33 mg)를 얻었다.

[0590] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0591] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

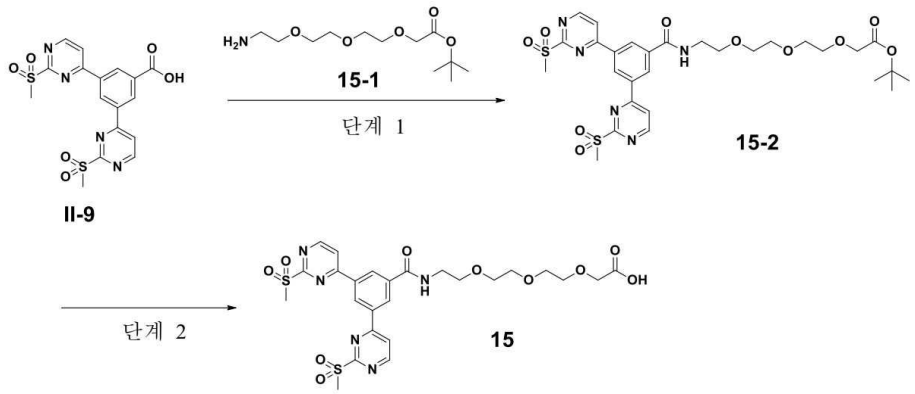
시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

[0592]

[0593] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0594] ESI-MS (m/z): 1348.3$[M+H]^+$.

[0595] 실시예 15: 1-(3,5-비스(2-(메틸설포닐)피리미딘-4-일)페닐)-1-옥소-5,8,11-트리옥사-2-아자트리데칸-13-올레산 (**15**)



[0596]

[0597] 단계 1: tert-부틸 1-(3,5-비스(2-(메틸설포닐)피리미딘-4-일)페닐)-1-옥소-5,8,11-트리옥사-2-아자트리데칸-13-올레이트 (**15-2**)의 합성

[0598] 화합물 **II-9** (50.00 mg, 115.09 μmol)를 DMF (2mL)에 용해시키고 HATU (65.60 mg, 172.53 μmol)를 첨가하고 교반한 다음, 화합물 **15-1** (36.37 mg, 138.11 μmol) 및 DIPEA (44.62 mg, 345.27 μmol, 61.46 μL)와 첨가하고 25 ℃에서 2 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직

접 정제하고 동결 건조시켜 표제 화합물 **15-2**(25.00 mg)를 얻었다.

[0599] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0600] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

[0601]

[0602] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0603] ESI-MS (m/z): 697.2[M+18]$^+$.

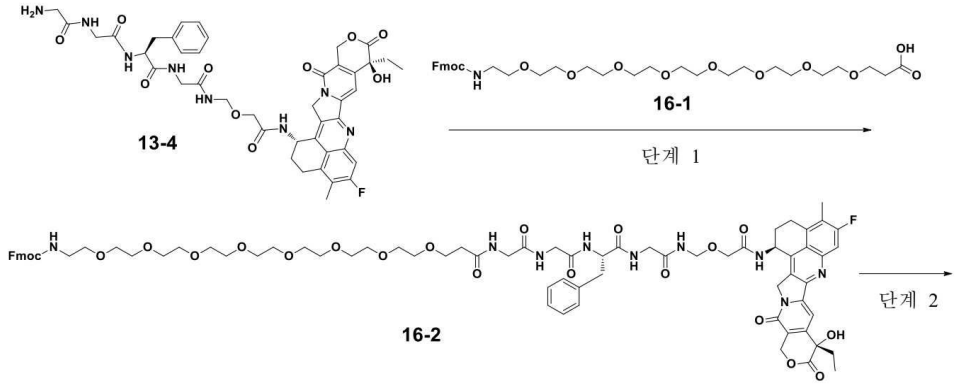
[0604] 단계 2: 1-(3,5-비스(2-(메틸설포닐)피리미딘-4-일)페닐)-1-옥소-5,8,11-트리옥사-2-아자트리데칸-13-올레산(**15**)의 합성

[0605] 화합물 **15-2** (20.00 mg, 29.42 μmol)를 트리플루오로 아세트산 (1mL) 및 디클로로메탄 (5mL)에 용해하고 25℃에서 2 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에 제거하고, 표제 화합물 **15** (15.00 mg)의 조생성물로서 농축액을 얻었고, 이를 정제하지 않고 다음 단계에서 바로 사용하였다.

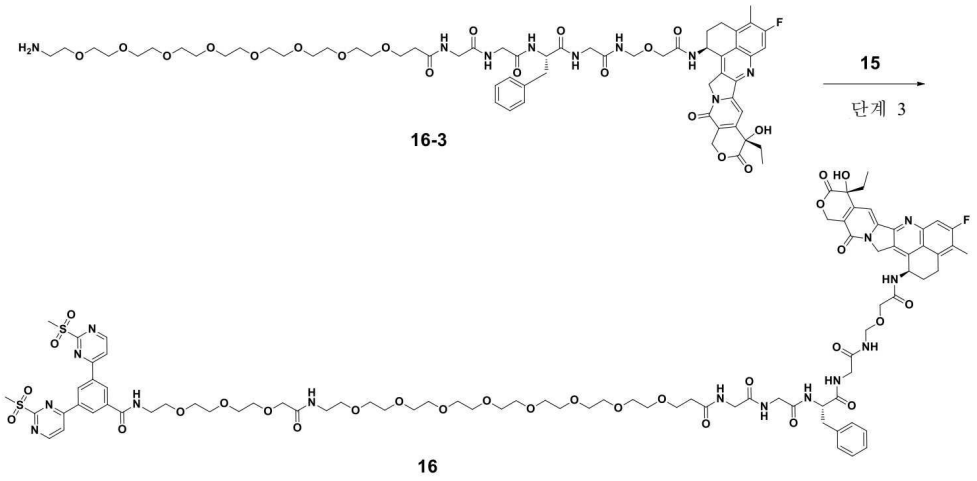
[0606] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0607] ESI-MS (m/z): 641.1[M+18]$^+$.

[0608] 실시예 16: N-((S)-10-벤질-1-((1R,9R)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-1,6,9,12,15,18,46-헵타옥소-3,21,24,27,30,33,36,39,42,48,51,54-도데카옥사-5,8,11,14,17,45-헥사아자헥사펜탄-56-일)-3,5-비스(2-(메틸술포닐)피리미딘-4-일)벤즈아미드 (약물-링커 **16**)



[0609]



[0610]

[0611] 단계 1: (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((S)-10-벤질-1-((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[데]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-1,6,9,12,15,18-헥사옥소-3,21,24,27,30,33,36,39,42-노나옥사-5,8,11,14,17-펜타아자테트라데칸-44-일)카르바메이트 (**16-2**)의 합성

[0612] 화합물 **13-4**의 메실레이트 (132.00 mg, 148.84 μmol)를 DMF (5mL)에 용해하고 HATU (90.55 mg, 238.14 μmol), 화합물 **16-1** (148.19 mg, 223.26 μmol) 및 DIPEA 96.18 mg, 744.19 μmol, 132.48 μL)를 첨가하고 25 ℃에서 2 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고 동결 건조시켜 표제 화합물 **16-2**(110.00 mg)를 얻었다.

[0613] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0614] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

[0615]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	20	80	28
3.00	20	80	28
17.00	90	10	28

[0616] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0617] ESI-MS (m/z): 1486.5[M+1]$^{+}$.

[0618] 단계 2: 1-아미노-N-((S)-10-벤질-1-((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[데]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노-1,6,9,12,15-펜타옥소-3-옥사-5,8,11,14-테트라아자헥사데칸-16-일)-3,6,9,12,15,18,21,2-옥타옥사헵탄-27-아미드 (**16-3**)의 합성

[0619] 화합물 **16-2** (110.00 mg, 74.00 μmol, FR)를 디에틸아민 (1mL) 및 디클로로메탄 (5mL)에 용해하고 25 ℃에서 2 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고 동결 건조시켜 표제 화합물 **16-3**의 포메이트 (40.00 mg)를 얻었다.

[0620] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0621] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

[0622]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	10	90	28
2.00	10	90	28
18.00	90	10	28

[0623] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0624] ESI-MS (m/z): 1264.6[M+1]$^{+}$.

[0625] 단계 3: N-((S)-10-벤질-1-((1R,9R)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,3,9,10,12,13,15-옥타하이드로벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-1,6,9,12,15,18,46-헵타옥소-3,21,24,27,30,33,36,39,42,48,51,54-도데카옥사-5,8,11,14,17,45-헥사아자헥사펜탄-56-일)-3,5-비스(2-(메틸술포닐)피리미딘-4-일)벤즈아미드 (**16**)의 합성

[0626] 화합물 **15** (7.00 mg, 11.22 μmol)를 DMF (3 mL)에 용해하고, HATU (7.76 mg, 20.41 μmol), 화합물 **16-3**의 포메이트 (13.37 mg, 10.20 μmol) 및 DIPEA (3.96 mg, 30.61 μmol, 5.45 μL)를 첨가하고 25 ℃에서 2 시간 동안 반응시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고 농축액을 고성능 액체 크로마토그래피로 직접 정제하고 동결 건조시켜 표제 화합물 **16**(7.00 mg)을 얻었다.

[0627] 컬럼: SunFire Prep C18 OBD 5μm 19x150mm

[0628] 이동상 A: 아세토니트릴; 이동상 B: 물(0.05% 포름산)

[0629]

시간 [분]	이동상 A [%]	이동상 B [%]	유량 [mL/min]
0.00	15	85	28
2.00	15	85	28
18.00	80	20	28

[0630] 구조 확인 데이터는 다음과 같았다:

[0631] ESI-MS (m/z): 1869.7[M+1]$^{+}$.

[0632] 3. 생리활성 접합체의 제조

[0633] 접합 방법(Conjugation Method) A:

[0634] 0.5mL의 항체 (항-ROR1 항체 19F6_Hu35V1, 3 내지 20mg/mL, 표 1에서 19F6이라고 함)를 0.1mM 에데테이트 이나트륨 용액 (pH 7.60)으로 희석한 다음 1M Na_2HPO_4 를 사용하여 pH 7.60으로 조정하고, 10mM TCEP (트리스(2-카르복시에틸)포스핀) 용액 (pH 7.60)을 첨가하고 잘 혼합한 후, 실온에서 2 시간 동안 방치했다. 상기 용액 시스템에 항체의 5~10배 양으로 DMSO에 용해된 약물-링커(10 mM)를 첨가하고 잘 혼합하고, 실온에서 20 시간 동안 방치한 후, NAP-5 겔 컬럼(Cytiva)을 사용하여 완충액을 pH 6.0의 10 mM 히스티딘 완충액으로 교체하여 표 1과 같은 ADC 생성물을 얻었다.

[0635] 접합 방법 B:

[0636] 0.5mL의 항체(항-ROR1 항체 19F6_Hu35V1, 3 내지 20 mg/mL, 표 1에서 19F6이라고 함)를 0.1mM 에데테이트 이나트륨 용액 (pH 7.60)으로 희석한 다음 1M Na_2HPO_4 용액을 사용하여 pH 7.60으로 조정하고, 10mM TCEP(트리스(2-카르복시에틸)포스핀) 용액 (pH 7.60)을 첨가하고 잘 혼합한 후, 실온에서 2 시간 동안 방치했다. NAP-5 겔 컬럼(Cytiva)을 사용하여 TCEP을 제거하고, 생성된 용액 시스템에 항체의 5~10배 양으로 DMSO에 용해된 약물-링커(10 mM)를 첨가하고 잘 혼합하고, 실온에서 20시간 동안 방치한 후, NAP-5 겔 컬럼(Cytiva)을 사용하여 완충액을 pH 6.0의 10 mM 히스티딘 완충액으로 교체하여 표 1과 같은 ADC 생성물을 얻었다.

[0637] 표 1: ADC의 제조 방법, 일련 번호 및 DAR

접합 반응의 기질	접합 방법	ADC 이름	항체에 대한 약물-링커의 몰 비율	평균 DAR (n_1)	DAR4 비율
19F6+약물-링커 7	방법 B	19F6-ADC III-5-A	6.0	3.87	56.7%
19F6+약물-링커 10	방법 B	19F6-ADC III-6-A	7.0	4.42	53.2%
19F6+약물-링커 12	방법 A	19F6-ADC IV-1-A	6.5	3.74	79.1%
19F6+약물-링커 12	방법 A	19F6-ADC IV-1-B	8.0	3.75	80.0%
19F6+약물-링커 12	방법 B	19F6-ADC IV-1-C	6.5	3.82	88.5%
19F6+약물-링커 12	방법 B	19F6-ADC IV-1-D	8.0	3.87	91.4%
19F6+약물-링커 16	방법 A	19F6-ADC IV-7-A	10.0	3.98	57.6%

[0638]

[0639] 생리활성 접합체의 약물 대 항체 비율(DAR)의 측정

[0640] SEC-MS를 사용하여 ADC 샘플의 분자량을 측정하고 약물 대 항체 비율(DAR)을 계산했다.

[0641] 크로마토그래피 조건:

[0642] 크로마토그래피 컬럼: ACQUITY UPLC 단백질 BEH SEC 컬럼, BTQR-18-016;

[0643] 샘플 챔버 온도: 8℃; 컬럼 온도: 컬럼 온도는 제어하지 않았음; UV: 280nm;

[0644] 이동상: 20mM 암모늄 아세테이트, 유속: 0.1ml/min, 20분, 샘플 크기: 50ug;

[0645] 질량 분석 조건:

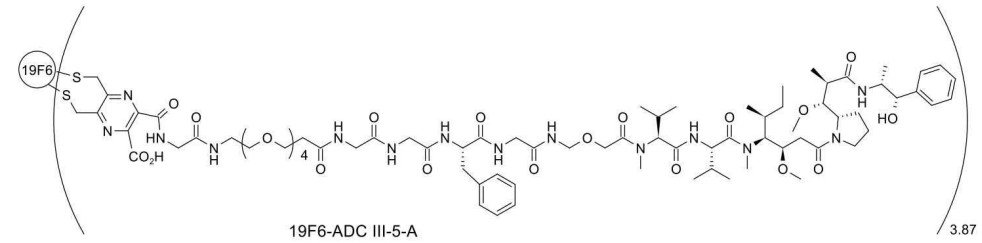
[0646] 질량 분석기 모델: AB Sciex Triple TOF 5600+;

[0647] GS1 55; GS2 55; CUR 30; TEM 450; ISVF 5500; DP 75; CE 5;

[0648] m/z 900-7000; 100으로 합산하는 시간 구간.

[0649] (1) SEC-MS에 의한 19F6-ADC III-5-A의 분자량 측정 및 약물 대 항체 비율의 계산

[0650] 접합 후 얻은 19F6-ADC III-5-A의 SEC-MS 분자량 분석은 표 2에 나타내었고, DAR은 3.87이었다.

[0651] 

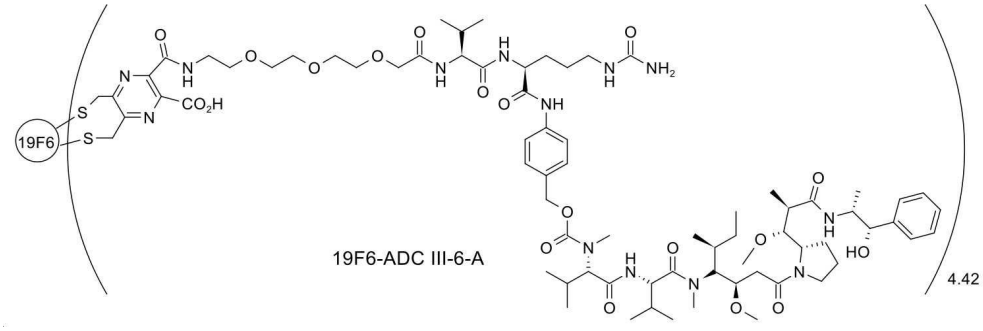
[0652] 표 2: 19F6-ADC III-5-A의 측정된 분자량 및 DAR 계산

[0653]

로드	$MW_{Exp.}$	최대 신호 강도	비율	DAR
네이키드 항체	145050.00	0.00	0.000	3.87
DAR2	N/A	0.00	0.000	
DAR3	149863.68	18.50	0.282	
DAR4	151472.75	37.25	0.567	
DAR5	153078.63	9.92	0.151	

[0654] (2) SEC-MS에 의한 19F6-ADC III-6-A의 분자량 측정 및 약물 대 항체 비율의 계산

[0655] 접합 후 얻은 19F6-ADC III-6-A의 SEC-MS 분자량 분석은 표 3에 나타내었고, DAR은 4.42이었다.

[0656] 

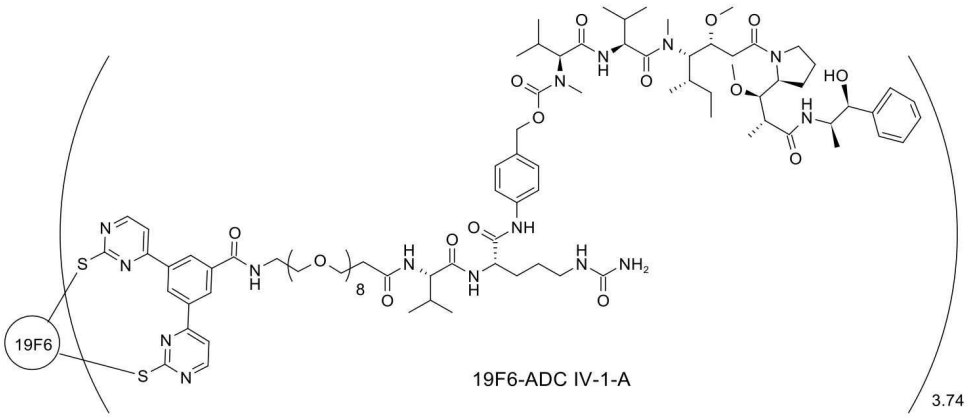
[0657] 표 3: 19F6-ADC III-6-A의 측정된 분자량 및 DAR 계산

[0658]

로드	$MW_{Exp.}$	최대 신호 강도	비율	DAR
네이키드 항체	145050.00	0.00	0.000	4.42
DAR2	N/A	0.00	0.000	
DAR3	149510.90	4.85	0.052	
DAR4	151001.13	49.64	0.532	
DAR5	152483.55	33.24	0.356	
DAR6	153972.11	5.54	0.059	

[0659] (3) SEC-MS에 의한 19F6-ADC IV-1-A의 분자량 측정 및 약물 대 항체 비율의 계산

[0660] 접합 후 얻은 19F6-ADC IV-1-A의 SEC-MS 분자량 분석은 표 4에 나타내었고, DAR은 3.74였다.



[0661]

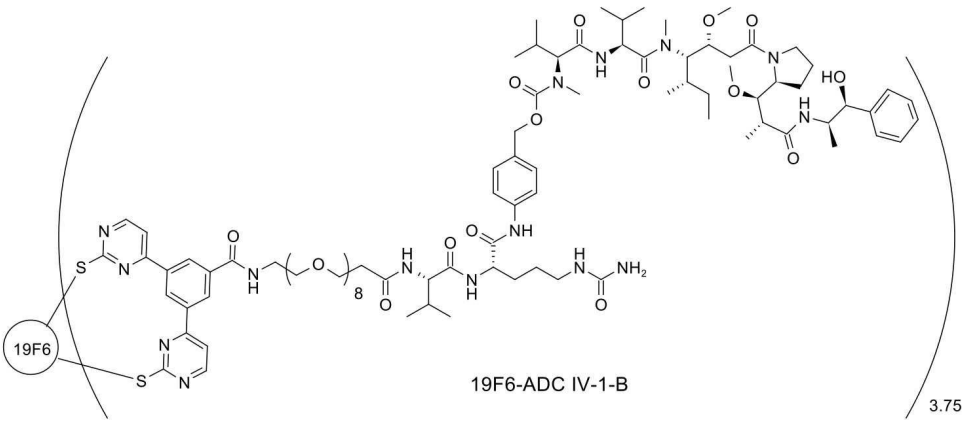
[0662] 표 4: 19F6-ADC IV-1-A의 측정된 분자량 및 DAR 계산

로드	$MW_{Exp.}$	최대 신호 강도	비율	DAR
네이키드 항체	145054.77	0.00	0.000	3.74
DAR1	146863.97	2.09	0.017	
DAR2	148669.83	1.75	0.014	
DAR3	150468.31	21.98	0.178	
DAR4	152274.07	97.91	0.791	

[0663]

[0664] (4) SEC-MS에 의한 19F6-ADC IV-1-B의 분자량 측정 및 약물 대 항체 비율의 계산

[0665] 접합 후 얻은 19F6-ADC IV-1-B의 SEC-MS 분자량 분석은 표 5에 나타내었고, DAR은 3.75였다.



[0666]

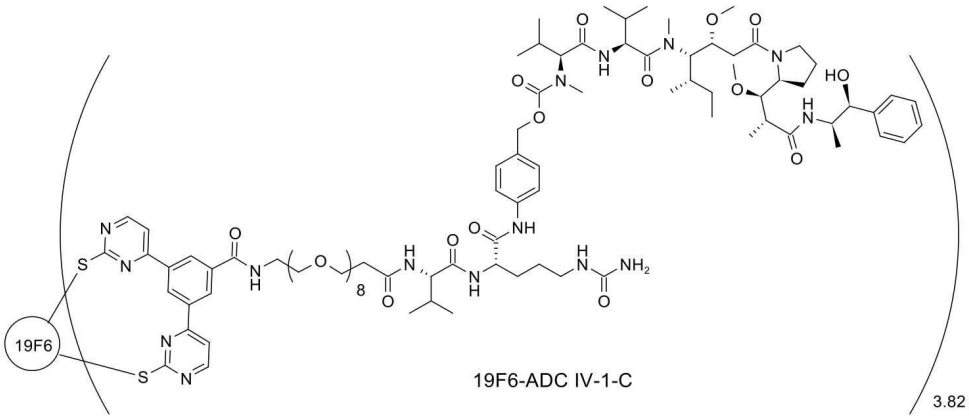
[0667] 표 5: 19F6-ADC IV-1-B의 측정된 분자량 및 DAR 계산

로드	$MW_{Exp.}$	최대 신호 강도	비율	DAR
네이키드 항체	145054.77	0.00	0.000	3.75
DAR1	146861.63	1.96	0.015	
DAR2	148662.46	2.54	0.020	
DAR3	150467.51	21.19	0.165	
DAR4	152273.42	102.47	0.800	

[0668]

[0669] (4) SEC-MS에 의한 19F6-ADC IV-1-C의 분자량 측정 및 약물 대 항체 비율의 계산

[0670] 접합 후 얻은 19F6-ADC IV-1-C의 SEC-MS 분자량 분석은 표 6에 나타내었고, DAR은 3.82였다.



[0671]

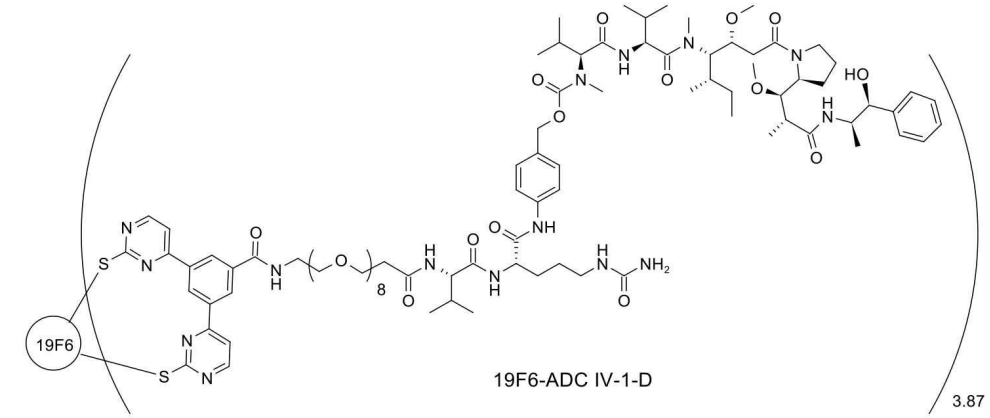
[0672] 표 6: 19F6-ADC IV-1-C의 측정된 분자량 및 DAR 계산

로드	$MW_{Exp.}$	최대 신호 강도	비율	DAR
네이키드 항체	145054.77	0.00	0.000	3.82
DAR1	146862.39	1.68	0.025	
DAR2	148667.57	0.96	0.014	
DAR3	150470.67	5.12	0.076	
DAR4	152273.43	60.04	0.885	

[0673]

[0674] (6) SEC-MS에 의한 19F6-ADC IV-1-D의 분자량 측정 및 약물 대 항체 비율의 계산

[0675] 접합 후 얻은 19F6-ADC IV-1-D의 SEC-MS 분자량 분석은 표 7에 나타내었고, DAR은 3.87이었다.



[0676]

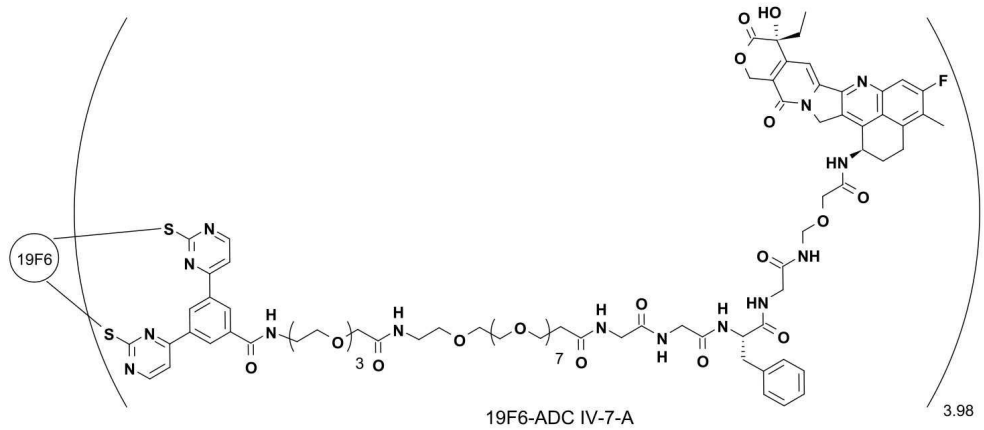
[0677] 표 7: 19F6-ADC IV-1-D의 측정된 분자량 및 DAR 계산

로드	$MW_{Exp.}$	최대 신호 강도	비율	DAR
네이키드 항체	145054.77	0.00	0.000	3.87
DAR1	146855.00	1.79	0.017	
DAR2	148660.10	1.00	0.009	
DAR3	150470.36	6.44	0.060	
DAR4	152273.33	98.45	0.914	

[0678]

[0679] (7) SEC-MS에 의한 19F6-ADC IV-7-A의 분자량 측정 및 약물 대 항체 비율의 계산

[0680] 접합 후 얻은 19F6-ADC IV-7-A의 SEC-MS 분자량 분석은 표 8에 나타내었고, DAR은 3.98이었다.



[0681]

[0682] 표 8: 19F6-ADC IV-7-A의 측정된 분자량 및 DAR 계산

로드	$MW_{Exp.}$	최대 신호 강도	비율	DAR
네이키드 항체	145054.69	1.75	0.013	3.98
DAR1	146760.24	2.02	0.016	
DAR2	148460.32	5.75	0.044	
DAR3	150178.32	11.66	0.090	
DAR4	151894.99	74.75	0.576	
DAR5	153762.19	33.88	0.261	

[0683]

[0684] 4. 세포 생존력에 대한 생리활성 접합체의 시험관 내 억제 시험

[0685] 세포 증식에 대한 ADC 화합물의 억제 효과

[0686] (1) 세포 플레이팅(Cell plating): 먼저, 종양 세포 N87을 해당 배지에서 배양하고, 세포를 트립신으로 분해하고, 다시 현탁시킨 다음 계수했다. 세포를 적절한 농도로 조정하고 플레이트상에 코팅했다. 종양 세포의 출처는 표 9에 나타내었다.

[0687] 표 9: 종양 세포의 출처

세포 이름	종양 유형	출처
NCI-N87	인간 위암 세포	ATCC

[0688]

[0689] 본 발명의 화합물과 종양 세포의 공동 배양: 세포를 벽에 부착한 후, 배지를 제거하고 희석된 생리활성 분자(본 발명의 화합물)를 상기 플레이트의 웰에 첨가하고 96시간 동안 배양하였다.

[0690] 시험관내 세포 생존율 검출: 배양 후, 각 웰에 50 μL의 Cell Counting-Lite™ 2.0 시약(Vazyme/Novazyme)을 첨가하고 암실에서 흔들어 잘 혼합하고, 10분간 반응시킨 후 마이크로플레이트 판독기(제조사: BMG, 모델: PHERAStar-FS)로 검출하여 판독값을 얻었다. 세포가 없는 배지의 Cell Counting-Lite™ 를 사용하여 백그라운드 RLU를 얻었고, 세포가 포함된 배지의 Cell Counting-Lite™ 를 사용하여 비히클 RLU를 얻었다. 세포 억제율 = 1 - (샘플 RLU - 백그라운드 RLU)/(비히클 RLU - 백그라운드 RLU) X 100%. 4가지 파라미터 모델 피팅 곡선에 따라 화합물의 반 억제 농도(IC_{50})를 계산했다.

[0691] (2) 데이터 결과: 검출 결과는 표 10에 나타내었다.

[0692] 표 10: NCI-N87 세포주에 대한 ADC 접합체의 사멸 결과

ADC 번호	IC_{50}(μg/mL) 세포 이름: NCI-N87 (96 시간)
19F6-ADC III-6-A	8.48
19F6-ADC IV-1-D	2.57

[0693]

[0694] 새로운 접합 방법으로 형성된 ADC는 종양 세포를 사멸시킬 수 있으며, 새로운 접합 방법은 ADC 분자에 효과적으로 적용될 수 있음을 보여주었다.

[0695] 본 명세서에 기재된 것 이외에, 본 발명의 다양한 변형은 전술한 설명으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 이러한 변형은 또한 첨부된 청구범위의 범위 내에 포함되도록 의도된다. 모든 특허, 특허 출원, 저널 논문, 서적 및 기타 출판물을 포함하여 본 출원에 인용된 각 참조 문헌은 그 전문이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> SICHUAN KELUN-BIOTECH BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.

<120> CHEMICAL COUPLING LINKER AND USE THEREOF

<130> IEC210181PCT

<150> 202110615166.4

<151> 2021-06-02

<150> 202111225483.1

<151> 2021-10-02

<160> 19

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> VH of 19F6_Hu35V1

<400> 1

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ile Arg Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Glu Ile Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> VL of 19F6_Hu35V1

<400> 2

Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ala Phe Met Ser Ala Thr Pro Gly
1 5 10 15

Asp Lys Val Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Thr Ser Ile Asp Asp Asp
20 25 30

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Pro Pro Lys Leu Ile Ile
35 40 45

Ser Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Ile Pro Pro Arg Phe Ser Ser
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Asn Lys Ile Lys Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asn Asp Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Chothia CDR H1 of 19F6_Hu35V1

<400> 3

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr
1 5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Chothia CDR H2 of 19F6_Hu35V1

<400> 4

Ser Tyr Ser Gly Ser
1 5

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Chothia/Abm/Kabat CDR H3 of 19F6_Hu35V1

<400> 5

Gly Glu Ile Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Chothia/Abm/Kabat CDR L1 of 19F6_Hu35V1

<400> 6

Lys Ala Ser Thr Ser Ile Asp Asp Asp Met Asn
1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial

<220
><223> Chothia/Abm/Kabat CDRL2 of 19F6_Hu35V1

<400> 7

Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro
1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Chothia/Abm/Kabat/IMGT CDR L3 of 19F6_Hu35V1

<400> 8

Leu Gln Ser Asn Asp Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Abm CDR H1 of 19F6_Hu35V1

<400> 9

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn

1 5 10

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Abm CDR H2 of 19F6_Hu35V1

<400> 10

Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ile Arg

1 5

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Kabat CDR H1 of 19F6_Hu35V1

<400> 11

Ser Asp Tyr Ala Trp Asn

1 5

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> Kabat CDR H2 of 19F6_Hu35V1

<400> 12

Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ile Arg Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> IMGT CDR H1 of 19F6_Hu35V1

<400> 13

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala

1 5

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> IMGT CDR H2 of 19F6_Hu35V1

<400> 14

Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ile

1 5

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> IMGT CDR H3 of 19F6_Hu35V1

<400> 15

Ala Arg Gly Glu Ile Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 16

<211> 6

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> IMGT CDR L1 of 19F6_Hu35V1

<400> 16

Thr Ser Ile Asp Asp Asp

1 5

<210> 17

<211> 3

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> IMGT CDR L2 of 19F6_Hu35V1

<400> 17

Glu Gly Asn

1

<210> 18

<211> 330

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> CH of 19F6_Hu35V1

<400> 18

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> CL of 19F6_Hu35V1

<400> 19

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105