



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0012380
(43) 공개일자 2024년01월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) A61K 47/65 (2017.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6889 (2017.08)
A61K 47/65 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2023-7039500
(22) 출원일자(국제) 2022년05월17일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년11월16일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/029535
(87) 국제공개번호 WO 2022/245759
국제공개일자 2022년11월24일
(30) 우선권주장
63/189,522 2021년05월17일 미국(US)

(71) 출원인
바이오하벤 테라퓨틱스 리미티드
브리티쉬버진아일랜드 토르톨라 브이जू1110 로드
타운 리터 하우스 피.오. 박스 173
(72) 발명자
카즈미에르스키, 비슬라프
미국 06510 코네티컷 뉴 하벤 처치 스트리트 215
바이오하벤 테라퓨틱스 리미티드
두보치크, 진 엠.
미국 06510 코네티컷 뉴 하벤 처치 스트리트 215
바이오하벤 테라퓨틱스 리미티드
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

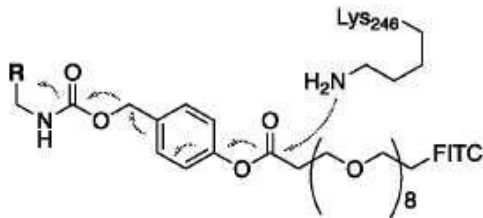
전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 지향 접합 기술용 제제 및 접합 생성물

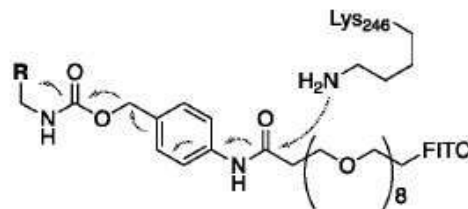
(57) 요약

무엇보다도, 본 개시내용은 다양한 관심 모이어티의 표적 제제에 대한 부위 지향적 접합을 위한 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용은 표적 결합 모이어티를 활용하여 높은 접합 효율과 선택성을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 항체 접합체를 제조하는데 유용하다.

대표도 - 도4b



R = uABT DAR = 1.3
R = H DAR = 0.06



R = uABT DAR = 0.8
R = H DAR = 0.13

(52) CPC특허분류

A61K 47/6803 (2023.08)

(72) 발명자

폴드웰, 리즈 엠.

미국 06510 코네티컷 뉴 하벤 처치 스트리트 215
바이오하벤 테라퓨틱스 리미티드

스피겔, 데이비드 애덤

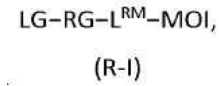
미국 06510 코네티컷 뉴 하벤 처치 스트리트 215
바이오하벤 테라퓨틱스 리미티드

명세서

청구범위

청구항 1

구조식 (R-I)의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 염으로서



여기서

LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티를 포함하는 기이고,

RG는 구조식 $\text{-L}^{\text{LG2}}\text{-L}^{\text{LG3}}\text{-L}^{\text{LG4}}\text{-L}^{\text{RG1}}\text{-L}^{\text{RG2}}$ 의 반응기이고, 여기서

L^{LG2} 는 $\text{-NH-C(O)O-C(R')}_2\text{-}$ 이고, 여기서 각 R'는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 R'는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,

L^{LG3} 은 임의로 치환된 아릴 고리이고,

L^{LG4} 는 -NH- 또는 -O- 이고,

L^{RG1} 는 -C(O)- , -S(O)- , $\text{-OS(O)}_2\text{-}$, 또는 $\text{-OP(O)(OR)}_2\text{-}$ 이고,

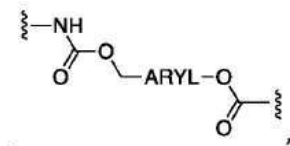
L^{RG2} 는 공유결합이거나 $[\text{-C(R'')}_2\text{C(R'')=C(R'')}] \text{C(O)-}$ 이고, 여기서 각 R''는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 임의의 2개의 R''는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,

L^{RM} 은 링커이고,

MOI는 관심 모이어티인, 화합물 또는 이의 염.

청구항 2

제1항에 있어서, RG는 다음의 화학식을 갖는 반응기이거나 이를 포함하고



여기서 ARYL은 치환 또는 비치환 파라-페닐렌 고리인, 화합물.

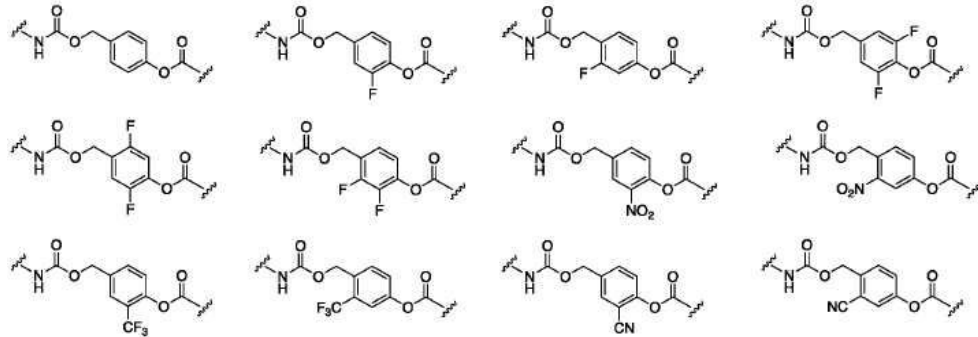
청구항 3

제2항에 있어서, ARYL은 또는 의 구조를 갖고, 여기서 R^{S} 는 각 경우에 독립적으로 할로젠, -NO_2 , -F , -L-R' , -C(O)-L-R' , -S(O)-L-R' , $\text{-S(O)}_2\text{-L-R'}$, 및 -P(O)(-L-R')_2 로부터 선택되고, R'는 H 또

는 C₁-C₆알킬인, 화합물.

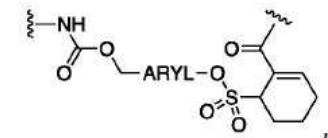
청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 반응기는 다음의 화학식 중 하나이거나 이를 포함하는 것인, 화합물.



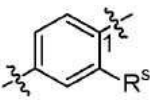
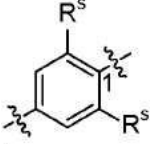
청구항 5

제1항에 있어서, RG는 다음의 화학식을 갖는 반응기이거나 이를 포함하고



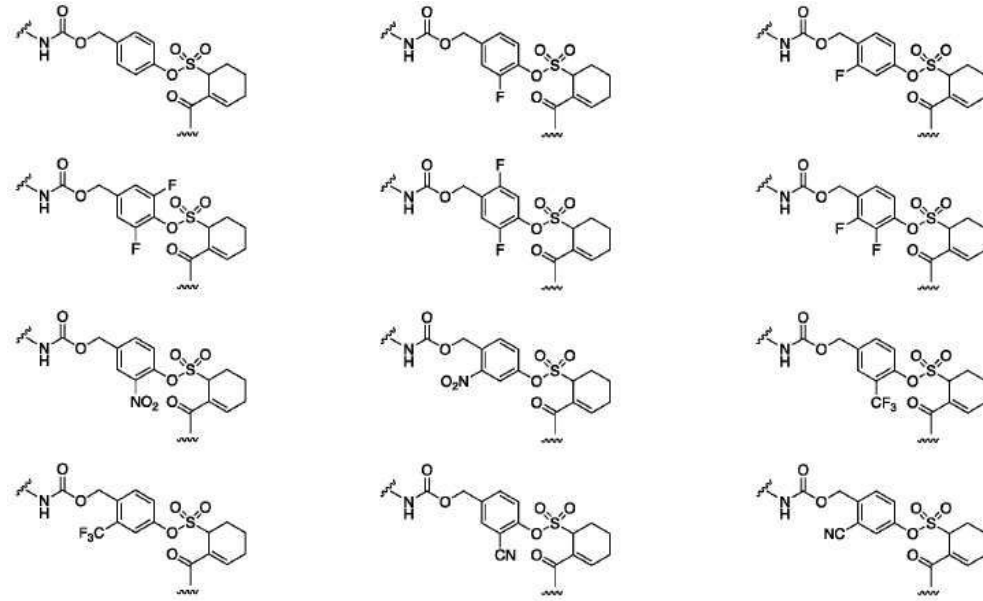
여기서 ARYL은 치환 또는 비치환 파라-페닐렌 고리인, 화합물.

청구항 6

제5항에 있어서, ARYL은  또는  의 구조를 갖고, 여기서 R^s는 독립적으로 각 경우에 할로젠, -NO₂, -F, -L-R', -C(O)-L-R', -S(O)-L-R', -S(O)₂-L-R', 및 -P(O)(-L-R')₂로부터 선택되고, R'는 H 또는 C₁-C₆알킬인, 화합물.

청구항 7

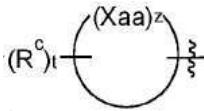
제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 반응기는 다음의 화학식 중 하나이거나 이를 포함하는 것인 화합물.



청구항 8

제1항에 있어서,

LG는 $R^{LG}-L^{LG}$ 이고,



R^{LG} 는 $R^C-(Xaa)_z-$, 핵산 모이어티, 또는 소분자 모이어티이고,

각 Xaa는 독립적으로 아미노산 또는 아미노산 유사체의 잔기이고,

t는 0-50이고,

z는 1-50이고,

각 R^C 는 독립적으로 $-L^a-R'$ 이고,

각 L^a 는 독립적으로 공유 결합이거나, C_1-C_{20} 지방족 또는 1-5개의 헤테로원자를 갖는 C_1-C_{20} 헤테로지방족으로부터 선택되는 임의로 치환된 2가 기이고, 여기서 상기 기의 하나 이상의 메틸렌 단위는 임의로 및 독립적으로 $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, 또는 $-C(O)O-$ 로 대체되고,

각 $-Cy-$ 는 독립적으로 임의로 치환된 2가 모노시클릭, 바이시클릭 또는 폴리시클릭 기이고, 여기서 각 모노시클릭 고리는 C_{3-20} 지방족 고리, C_{6-20} 아릴 고리, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 5-20원 헤테로아릴 고리, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 3-20원 헤테로시클릭 고리로부터 독립적으로 선택되고

L^{LG} 는 $-L^{LG1}-$, $-L^{LG1}-L^{LG2}-$, $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-$, 또는 $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-$ 이고,

각각의 L^{LG1} , L^{LG2} , L^{LG3} , 및 L^{LG4} 는 독립적으로 공유 결합이거나, 하나 이상의 지방족 모이어티, 아릴 모이어티, 각각 독립적으로 1-20개의 헤테로원자를 갖는 헤테로지방족 모이어티, 각각 독립적으로 1-20개의 헤테로원자를 갖는 헤테로지방족 모이어티, 또는 이러한 모이어티 중 하나 이상의 임의의 조합을 포함하는 2가 임의로 치환된

선형 또는 분지형 C_{1-100} 기이고, 여기서 상기 기의 하나 이상의 메틸렌 단위는 임의로 및 독립적으로 C_{1-6} 알킬렌, C_{1-6} 알케닐렌, 1-5개의 헤테로원자를 갖는 2가 C_{1-6} 헤테로지방족기, $-C\equiv C-$, $-Cy-$, $-C(R')_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, 아미노산 잔기, 또는 n 이 1-20인 $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)]_n-$ 로 대체되고,

각 R' 는 독립적으로 $-R$, $-C(O)R$, $-CO_2R$, 또는 $-SO_2R$ 이고

각 R 은 독립적으로 $-H$ 이거나, C_{1-30} 지방족, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 C_{1-30} 헤테로지방족, C_{6-30} 아릴, C_{6-30} 아릴 지방족, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 C_{6-30} 아릴헤테로지방족, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 5-30원 헤테로아릴, 및 1-10개의 헤테로원자를 갖는 3-30원 헤테로시클릴로부터 선택되는 임의로 치환된 기이거나, 또는

2개의 R 기는 임의로 및 독립적으로 함께 공유 결합을 형성하거나, 또는

동일 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 및 독립적으로 상기 원자와 함께, 상기 원자에 추가로 0-10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된, 3-30원, 모노시클릭, 바이시클릭 또는 폴리시클릭 고리를 형성하거나, 또는

2개 이상의 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 및 독립적으로 이들의 개재 원자와 함께, 상기 개재 원자에 추가로 0-10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3-30원, 모노시클릭, 바이시클릭 또는 폴리시클릭 고리를 형성하는 것인, 화합물.

청구항 9

제1항에 있어서, LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티이거나 이를 포함하고, 상기 표적 제제는 항체 제제인, 화합물.

청구항 10

제1항에 있어서, LG는 Fc 영역에 결합하는 표적 결합 모이어티이거나 이를 포함하고/하거나, R^{LG} 는 DCAWXLGELVWCT (서열 번호 2)이거나 이를 포함하고, 상기 2개의 시스테인 잔기는 임의로 이황화 결합을 형성하고, X는 아미노산 잔기인, 화합물.

청구항 11

제1항에 있어서,

- (a) 관심 모이어티는 치료제이거나 이를 포함하는 것,
 - (b) 관심 모이어티는 단백질, 핵산 또는 세포에 결합하는 모이어티이거나 이를 포함하는 것, 및/또는
 - (c) 관심 모이어티는 생체 직교 반응에 적합한 반응기이거나 이를 포함하는 것
- 중 적어도 하나의 조건을 만족하는 것인, 화합물.

청구항 12

제1항에 있어서, LG는 명세서에 나타난 화학식 A-1 내지 A-50의 구조를 갖는 표적 결합 모이어티이거나 이를 포함하는 것인, 화합물.

청구항 13

제1항에 있어서, MOI는 치료제이거나 이를 포함하고/하거나 MOI는 항체 제제이거나 이를 포함하는 것인, 화합물.

청구항 14

제1항에 있어서, L^{RM} 은 하나 이상의 $-[(CH_2)_n-O]_m-$ 를 포함하고, 여기서 각 n 은 독립적으로 1-20이고, m 은 1-100인, 화합물.

청구항 15

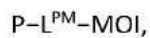
제1항에 있어서, 구조식 (R-I)에서,

상기 표적 제제는 K246 또는 K248을 포함하는 IgG 중쇄를 포함하는 항체이고,

상기 표적 결합 모이어티는 L^{RM} -MOI를 포함하는 모이어티의 K246 또는 K248에의 부착 및 화합물로부터 표적 결합 모이어티를 포함하는 기의 방출을 초래하는 반응기와 K246 또는 K248 사이의 반응을 가능하게 하기 위해 반응기를 IgG 중쇄의 K246 또는 K248에 근접하게 하도록 항체에 결합하도록 구성되는 것인, 화합물.

청구항 16

(P-I)의 구조를 갖는 제제 또는 이의 염을 제조하는 방법으로서



(P-I)

여기서,

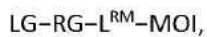
P는 표적 제제 모이어티이고,

L^{PM} 은 링커이고,

MOI는 관심 모이어티이며,

1) 구조식 (R-I)의 구조 또는 이의 염을 갖는 반응 파트너를 표적 제제와 접촉하는 단계, 및

2) 구조식 (P-I)의 구조를 갖는 제제를 형성하는 단계를 포함하는 방법으로서,



(R-I)

여기서,

LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티를 포함하는 기이고,

RG는 구조식 $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ 의 반응기이고, 여기서

L^{LG2} 은 $-NH-C(O)O-C(R')_2-$ 이고, 여기서 각 R' 는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 R' 는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,

L^{LG3} 은 임의로 치환된 아릴 고리이고,

L^{LG4} 는 -NH- 또는 -O-이고,

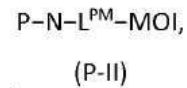
L^{RG1} 은 -C(O)-, -S(O)-, -OS(O)₂-, 또는 -OP(O)(OR)₂-이고,

L^{RG2} 는 공유결합이거나 [-C(R'')₂C(R'')=C(R'')C(O)-]이고, 여기서 각 R''는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 임의의 2개의 R''는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,

L^{RM} 은 링커이고,

MOI는 관심 모이어티인 방법, 또는

구조식 (P-II)의 구조를 갖는 제제를 제조하는 방법으로서



여기서,

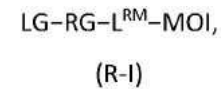
P-N은 리신 잔기를 포함하는 단백질 제제 모이어티이고,

L^{PM} 은 링커이고,

MOI는 관심 모이어티이고,

상기 방법은

구조식 (R-I)의 구조 또는 이의 염을 갖는 반응 파트너와 P-N을 접촉하는 단계를 포함하고



여기서,

LG는 P-N에 결합하는 단백질 결합 모이어티를 포함하는 기이고,

RG는 구조식 $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ 의 반응기이고, 여기서

L^{LG2} 는 -NH-C(O)O-C(R')₂-이고, 여기서 각 R'는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 R'는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,

L^{LG3} 은 임의로 치환된 아릴 고리이고,

L^{LG4} 는 -NH- 또는 -O-이고,

L^{RG1} 은 -C(O)-, -S(O)-, -OS(O)₂-, 또는 -OP(O)(OR)₂-이고,

L^{RG2} 는 공유결합이거나 [-C(R'')₂C(R'')=C(R'')C(O)-]이고, 여기서 각 R''는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 임의의 2개의 R''는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,

L^{RM} 은 링커이고,

MOI는 관심 모이어티인, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 표적 제제는 항체 제제이거나 이를 포함하는 것인, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 관심 모이어티는 IgG1 중쇄의 K246 또는 K248 또는 이에 상응하는 위치에서 항체 제제에 선택적으로 부착되는 것인, 방법.

청구항 19

제17항에 있어서, 관심 모이어티는 IgG2 중쇄의 K251 또는 K253 또는 이에 상응하는 위치에서 항체 제제에 선택적으로 부착되는 것인, 방법.

청구항 20

제17항에 있어서, 관심 모이어티는 IgG4 중쇄의 K239 또는 K241 또는 이에 상응하는 위치에서 항체 제제에 선택적으로 부착되는 것인, 방법.

청구항 21

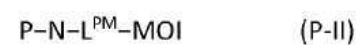
제16항에 있어서, 상기 접착 및 형성 단계는 하나의 화학 반응에서 수행되는 것인, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항의 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물.

청구항 23

화학식 (P-II)의 구조를 갖는 제1 화합물, 및 (LG-I)의 구조를 갖는 제2 화합물을 포함하는 조성물로서



(P-II)에서,

P-N은 리신 잔기를 포함하는 단백질 제제 모이어티이고,

L^{PM} 은 링커이고,

MOI는 관심 모이어티이고,

(LG-I)에서, LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티를 포함하는 기인, 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서,

구조식 (R-I)를 갖는 제3 화합물,

구조식 (R-III)를 갖는 제4 화합물,

또는 이들의 조합을 추가로 포함하는 조성물로서



LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티를 포함하는 기이고, 이는 구조식 (LG-I)에서의 LG와 동일하고,

RG는 구조식 $-\text{L}^{\text{LG2}}-\text{L}^{\text{LG3}}-\text{L}^{\text{LG4}}-\text{L}^{\text{RG1}}-\text{L}^{\text{RG2}}$ 의 반응기이고, 여기서

L^{LG2} 는 $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{C}(\text{R}')_2-$ 이고, 여기서 각 R'는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 R'는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,

L^{LG3} 은 임의로 치환된 아릴 고리이고,

L^{LG4} 는 $-\text{NH}-$ 또는 $-\text{O}-$ 이고,

L^{RG1} 은 $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{OS}(\text{O})_2-$, 또는 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR})_2-$ 이고,

L^{RG2} 는 공유결합이거나 $[-\text{C}(\text{R}'')_2\text{C}(\text{R}'')=\text{C}(\text{R}'')]\text{C}(\text{O})-$ 이고, 여기서 각 R''는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 임의의 2개의 R''는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,

L^{RM} 은 링커이고, 이는 구조식 (P-II)에서와 동일하고,

MOI는 관심 모이어티인, 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 교차 참조

[0002] 본 출원은 2021년 5월 17일에 출원된 미국 가출원 번호 제63/189,522호의 우선권을 주장하며, 본원에 이의 전문이 참조로 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 다양한 병태, 질병, 또는 질환을 예방 및/또는 치료하는데 유용한 접합된 치료 강화제에 관한 것이다. 구체적으로 본 발명은 치료 강화제로서 작용할 수 있는 항체-약물 접합체와 같은 단백질 접합체에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 접합된 치료 강화제는 다양한 병태, 질환, 및 질병을 예방 및/또는 치료하기 위해 광범위하게 사용되어 왔다. 이러한 강화제는 일반적으로 병태, 질환, 또는 질병과 관련된 특정 표적에 친화성을 갖는 모이어티에 연결된 항체와 같은 치료적 활성 분자를 포함한다. 그러나, 대부분의 알려진 접합 기술은 치료적 활성 분자의 특정 부위를 지향하지 않으며, 일반적으로 접합체의 혼합물을 생성한다. 높은 수준의 균질성을 갖는 반응 생성물을 제공하는 부위별(site-specific) 접합 기술의 개발이 여전히 필요하다.

발명의 내용

[0006] 본 개시내용은 특정 위치에서 표적 제제 모이어티에 접합된 관심 모이어티를 함유하는 치료 강화제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

- [0007] 일 구현예에서, 구조식 (R-I)의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 염이 제공되고,
- $$\text{LG-RG-L}^{\text{RM}}\text{-MOI,}$$
- [0008] (R-I)
- [0009] 여기서,
- [0010] LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티를 포함하는 기이고,
- [0011] RG는 구조식 $-\text{L}^{\text{LG2}}-\text{L}^{\text{LG3}}-\text{L}^{\text{LG4}}-\text{L}^{\text{RG1}}-\text{L}^{\text{RG2}}$ 의 반응기이고, 여기서
- [0012] L^{LG2} 는 $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{C}(\text{R}')_2-$ 이고, 여기서 각 R'는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 R'는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,
- [0013] L^{LG3} 은 임의로 치환된 아릴 고리이고,
- [0014] L^{LG4} 는 $-\text{NH}-$ 또는 $-\text{O}-$ 이고,
- [0015] L^{RG1} 은 $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{OS}(\text{O})_2-$, 또는 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR})_2-$ 이고,
- [0016] L^{RG2} 는 공유결합이거나 $[-\text{C}(\text{R}'')_2\text{C}(\text{R}'')=\text{C}(\text{R}'')]\text{C}(\text{O})-$ 이고, 여기서 R''는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 임의의 2개의 R''는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,
- [0017] L^{RM} 은 링커이고,
- [0018] MOI는 관심 모이어티이다.
- [0019] 또 다른 구현예에서, 상기 화합물을 포함하는 조성물이 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0020] 이들 및/또는 다른 양태는 첨부 도면과 함께 구현예에 대한 다음의 설명으로부터 명백해지고 더 쉽게 이해될 것이다.
- 도 1. 표적 결합제 및 표적 접합 과정 (상단) 및 번역글로불린 표적의 Lys246과 상호작용하는 표적 결합제의 개략도.
- 도 2. 선형 펩티드 IgG 결합제에 대한 결합 특이성 데이터. GSYWYDVWF 펩티드 (서열 번호 1)에 대한 데이터가 표시된다.
- 도 3. 고리형 펩티드 IgG 결합제의 결합 특이성 데이터. DCAWXLGELVWCT (서열 번호 2) 펩티드에 대한 데이터가 표시된다.
- 도 4. 도 4a는 반응성 화합물이 아자-마이클 수용체인 반응기를 갖는 표적 접합을 나타내고, 도 4b는 반응성 화합물이 접합 시 CO₂를 방출하는 반응기를 갖는 표적 접합을 나타낸다.
- 도 5. 펩티드 DKEWILQKIYEIMRLDELGHAEASMRVSDLIYEFMKGDRLLEEAERLLEEVEE (서열 번호 3)를 포함하는 표적 결합제.
- 도 6. 일부 구현예에 따른 예시된 표적 결합기. Ac-DCAWNLGELVWCT (서열 번호 4), Ac-DCAWHLGELVWCT-R (서열 번호 5), R-DCAWHLGELVWCT (서열 번호 6), ASYHLGELVW-Tic-Aib-CE -R (서열 번호 7)
- 도 7 및 8. 예시적 표적 결합기의 합성
- 도 9. 예시적 LG-RG 기.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 다음의 상세한 설명은 본 개시내용의 당업자를 돕기 위해 제공된다. 예시 구현예에 대해 이하에서 상세히 설명할 것이다. 그러나, 이들 구현예는 단지 예시에 불과하며, 본 개시내용은 이에 제한되지 않지만 첨부된 청구범

위의 범위에 의해 정의된다. 당업자는 본 개시내용의 사상 또는 범위를 벗어나지 않고 본원에 기재된 구현예에서 변형 및 변경을 만들 수 있다.

[0022] 따라서, 구현예는 본 명세서의 양태를 설명하기 위해 구조 및 방식을 참조하여 하기에 단지 설명될 것이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "및/또는"은 하나 이상의 연관된 나열 항목의 임의의 및 모든 조합을 포함한다. 용어 "또는"은 "및/또는"을 의미한다. "~중 적어도 하나"와 같은 표현은 요소의 목록에 선행할 때, 요소의 전체 목록을 변형하고, 이의 목록의 개별 요소를 변형하지 않는다.

[0023] 요소가 또 다른 요소 "상에(on)" 있는 것으로 언급되는 경우, 요소가 다른 요소와 직접 접촉할 수 있거나 그 사이에 개재 요소가 존재할 수 있음이 이해될 것이다. 대조적으로, 요소가 또 다른 요소 "상에 직접(directly on)" 있는 것으로 언급되는 경우 어떠한 개재 요소도 존재하지 않는다.

[0024] 용어 제1, 제2, 제3 등은 다양한 요소, 구성요소, 영역, 층, 및/또는 섹션을 설명하기 위해 본원에 사용될 수 있지만, 이들 요소, 구성요소, 영역, 층, 및/또는 섹션은 이들 용어에 의해 제한되어서는 안 되는 것으로 이해될 것이다. 이들 용어는 하나의 요소, 구성요소, 영역, 층, 또는 섹션을 또 다른 요소, 구성요소, 영역, 층, 또는 섹션으로부터 구별하기 위해서만 사용된다. 따라서, 하기에 논의되는 제1 요소, 구성요소, 영역, 층, 또는 섹션은 본 구현예의 교시로부터 벗어남 없이 제2 요소, 구성요소, 영역, 층, 또는 섹션으로 칭해질 수 있다.

[0025] 용어 "포함하다(comprises)" 및/또는 "포함하는(comprising)" 또는 "포함하다(includes)" 및/또는 "포함하는(including)"은 본 명세서에서 사용되는 경우, 언급되는 특성, 영역, 정수, 단계, 동작, 요소, 및/또는 구성요소의 존재를 명시하지만, 하나 이상의 다른 특성, 영역, 정수, 단계, 동작, 요소, 구성요소, 및/또는 이들의 그룹의 존재 또는 추가를 배제하지 않는 것으로 이해된다.

[0026] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 속하는 기술분야의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본 설명에서 사용된 용어는 단지 특정한 구현예를 설명하기 위한 것으로, 이를 제한하려는 의도가 아니다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의된 것과 같은 용어는 관련 기술 및 본 개시내용의 문맥에서 그의 의미와 일치하는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 하며, 본원에 명시적으로 정의되지 않는 한, 이상화되거나 지나치게 형식적인 의미로 해석되지 않을 것이라는 것이 추가적으로 이해될 것이다.

[0027] 본원에 달리 명시적으로 제공된 경우를 제외하고, 본 출원에서 사용된 바와 같이 다음 용어 각각은 하기에 기재된 의미를 가질 것이다. 추가적인 정의는 본 명세서 전반에 걸쳐 명시되어 있다. 용어가 본원에 구체적으로 정의되지 않는 예에서, 용어는 당업자에 의해 기술분야에서 인식되는 의미로 주어지며 본 개시내용의 문맥 내에서 해당 용어를 이의 사용에 적용한다.

[0028] 단수형 관사 ("a" 및 "an")는 문맥에서 명백하게 달리 지시되지 않는 한, 관사의 문법적 대상 중에서 하나 또는 하나 초과 (즉, 적어도 하나)를 지칭한다. 예로서 "요소(an element)"는 하나의 요소 또는 하나 초과 요소의 의미한다.

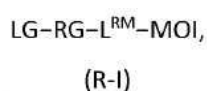
[0029] 본원에서 사용된 바와 같이, 특정 정의가 제공되지 않는 한, "치환된(substituted)"이라는 용어는 치환기 또는 화합물 중 적어도 하나의 수소 대신에 중수소, 할로젠 (-F, -Cl, -Br, -I), 히드록시기 (-OH), 아미노기 (-NH₂), 카르복실기 (-CO₂H), 치환 또는 비치환된 C₁-C₁₀ 아민기, 니트로기 (-NO₂), C₁-C₁₀ 알킬기, C₃-C₁₀ 시클로알킬기, C₆-C₁₂ 아릴기, C₁-C₁₀ 알콕시기, 트리플루오로메틸기 (-CF₃) 등과 같은 C₁-C₁₀ 트리플루오로알킬기, 시아노기 (-CN)로 치환된 기를 의미한다.

[0030] 추가적인 양태는 다음의 설명에서 부분적으로 설명될 것이고, 부분적으로는 설명으로부터 명백해질 것이다.

[0031] 본 개시내용의 제약 조성물을 제조하는데 유용한 출발 물질은 용이하게 상업적으로 입수 가능하거나 당업자에 의해 제조될 수 있다.

[0032] 본 개시내용은 특정 위치에서 표적 제제 모이어티에 접합된 관심 모이어티를 함유하는 치료 강화제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0033] 일 구현예에서, 구조식 R-I의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 염을 제공하고



[0034]

- [0035] 여기서,
- [0036] LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티를 포함하는 기이고,
- [0037] RG는 구조식 $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ 의 반응기이고, 여기서
- [0038] L^{LG2} 는 $-NH-C(O)O-C(R')_2-$ 이고, 여기서 각 R'는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 R'는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,
- [0039] L^{LG3} 은 임의로 치환된 아릴 고리이고,
- [0040] L^{LG4} 는 $-NH-$ 또는 $-O-$ 이고,
- [0041] L^{RG1} 은 $-C(O)-$, $-S(O)-$, $-OS(O)_2-$, 또는 $-OP(O)(OR)_2-$ 이고,
- [0042] L^{RG2} 은 공유결합이거나 $[-C(R'')_2C(R'')=C(R'')][C(O)-$ 이고, 여기서 각 R''는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 임의의 2개의 R''는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,
- [0043] L^{RM} 은 링커이고,
- [0044] MOI는 관심 모이어티이다.
- [0045] **표적**
- [0046] 본 개시내용을 읽은 후 당업자는 본원에서 제공된 기술이 다양한 표적 제제를 많은 유형의 관심 모이어티에 접합시키는 데 유용하다는 것을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 단백질 제제를 다양한 관심 모이어티에 접합시키는 데 특히 유용하다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 단백질 제제, 핵산, 또는 이들의 조합이거나 이를 포함한다.
- [0047] 일부 구현예에서, 표적 제제는 단백질 제제이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 단백질 제제이다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 세포, 조직, 기관 또는 유기체 내 천연 단백질이다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 내인성 단백질이다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 외인성 단백질이다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 제조된 단백질, 예를 들어 다양한 생명공학을 사용하여 생성된 단백질이다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 항체 제제이다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 치료제로서 유용한 항체이다. 이러한 다양한 항체는 당업계에 공지되어 있으며 표적 제제로서 활용될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 단클론 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 다클론 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 IgG 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 IVIG이다 (일부 구현예에서, 건강한 기증자로부터 모은 것). 일부 구현예에서, 단백질은 Fc 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 Fc 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, Fc 영역은 단일 중쇄 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, Fc 영역은 2개의 중쇄 또는 이들의 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 인간 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 키메라 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 인간화된 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 마우스 항체이다.
- [0048] 일부 구현예에서, 다클론 항체 제제 또는 IVIG 제제를 특성화할 때, 접합 전, 도중 또는 후에 소화, 예를 들어, IdeZ, IdeS 등을 사용한 효소 소화가 수행되어, 항체의 특정 영역 (예를 들어, Fab)을 제거하여 특성화를 위해 향상된 균질성을 갖는 조성물을 제공하도록 한다 (예를 들어, MS에 의함).
- [0049] 일부 구현예에서, 항체는 치료적 항체, 예를 들어, 치료 용도를 위해 FDA 승인된 항체이다. 일부 구현예에서, 치료적 항체는 암을 치료하는데 유용하다. 일부 구현예에서, 항체는 아달리무맙, 알렘투주맙, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 이필리무맙, 세특시맙, 다라투무맙, 디누특시맙, 엘로투주맙, 이브리투모맙 티옥세탄, 임가투주맙, 인플릭시맙, 이필리무맙, 네시투무맙, 오비누투주맙, 오파투무맙, 페르투주맙, 레슬리주맙, 리툽시맙, 트라스투주맙, 모가물리주맙, AMP-224, FS-102, GSK-2857916, ARGX-111, ARGX-110, AFM-13, APN-301, BI-836826, BI-836858, 에노블리투주맙, 오텔레르투주맙, 벨투주맙, KHK-4083, BIW-8962, ALT-803, 카로특시맙, 에프라투주맙, 이네빌리주맙, 이사특시맙, 마게특시맙, MOR-208, 오카라투주맙, 탈라코투주맙, 트레멜리무맙, 벤탈리주맙, 루미릭시맙, MOR-208, 이피바투주맙, GSK2831781, SEA-CD40, KHK-2823, 또는 BI836858이다. 일부 구현예에서, 항체는 리툽시맙, 바실릭시맙, 인플릭시맙, 세특시맙, 실툽시맙, 디누특시맙, 알터토삭시맙, 다클

리주맙, 팔리비주맙, 트라스트주맙, 알렘투주맙, 오말리주맙, 에팔리주맙, 베바시주맙, 나탈리주맙, 토실리주맙, 에쿨리주맙, 모가물리주맙, 페르투주맙, 오비누투주맙, 베돌리주맙, 펌브롤리주맙, 메폴리주맙, 엘로투주맙, 다라투무맙, 익세키주맙, 레실리주맙, 및 아테졸리주맙, 아달리무맙, 파니투무맙, 골리무맙, 우스테키누맙, 카나키누맙, 오파투무맙, 데노수맙, 이필리무맙, 벨리무맙, 락시바쿠맙, 라무시루맙, 니볼루맙, 세쿠키누맙, 에볼로쿠맙, 알리로쿠맙, 네시투무맙, 브로달루맙 또는 올라라투맙이다. 일부 구현예에서, 항체는 다라투무맙이다. 일부 구현예에서, 항체는 세톡시맙이다. 일부 구현예에서, 항체 제제 모이어티를 포함하는 제공된 제제 또는 화합물은 항체 제제에 의해 치료될 수 있는 병태, 질병, 또는 질환을 치료하는데 유용하다.

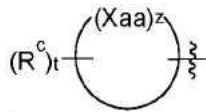
[0050] 항체는 본 개시내용에 따라 수많은 기술로 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 천연 면역글로불린에 비해 조작된 구조를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 정제, 식별, 평가 등을 위한 특정 태그를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 단편 (예를 들어, CDR 및/또는 Fc 등)을 함유할 수 있으며 전체 면역글로불린은 함유하지 않을 수 있다. 당업자는, 항체의 부위가 본 개시내용에 나열될 때 (예를 들어, K246, K248, K288, K290, K317, 등; 달리 명시하지 않는 한, EU 넘버링에 따른 인간 항체), 아미노산 잔기는 정확히 넘버링된 부위에 없을 수도 있지만 예를 들어, EU 넘버링 및/또는 서열 상동성 (예를 들어, 동일하거나 다른 종의 상동체)에 따라 넘버링된 부위에 해당하는 부위에 있을 수 있음을 이해할 것이다.

[0051] 당업자가 이해하는 바와 같이, 제공된 기술은 다른 무엇보다도 천연 표적, 예를 들어, 천연(native) 항체와의 지향된(directed) 접합을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 천연 항체 제제이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 표적 제제는 가공된 항체 제제이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 표적 제제, 예를 들어, 항체는 가공된 비천연 아미노산 잔기를 포함하지 않는다.

[0052] **표적 결합 모이어티**

[0053] 화학식 (LG-I) 및 (R-I)의 일부 구현예에서

[0054] LG는 $R^{LG}-L^{LG}$ 이고,



[0055] R^{LG} 는 $R^c-(Xaa)_z-$, 핵산 모이어티, 또는 소분자 모이어티이고,

[0056] 각 Xaa는 독립적으로 아미노산 또는 아미노산 유사체의 잔기이고,

[0057] t는 0-50이고,

[0058] z는 1-50이고,

[0059] 각 R^c 는 독립적으로 $-L^a-R'$ 이고,

[0060] 각 L^a 는 독립적으로 공유 결합이거나, C_1-C_{20} 지방족 또는 1-5개의 헤테로원자를 갖는 C_1-C_{20} 헤테로지방족으로부터 선택되는 임의로 치환된 2가 기이고, 여기서 상기 기의 하나 이상의 메틸렌 단위는 임의로 및 독립적으로 $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, 또는 $-C(O)O-$ 로 대체되고,

[0061] 각 $-Cy-$ 는 독립적으로 임의로 치환된 2가 모노시클릭, 바이시클릭 또는 폴리시클릭 기이고, 여기서 각 모노시클릭 고리는 C_{3-20} 지방족 고리, C_{6-20} 아릴 고리, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 5-20원 헤테로아릴 고리, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 3-20원 헤테로시클릭 고리로부터 독립적으로 선택되고,

[0062] L^{LG} 는 $-L^{LG1}-$, $-L^{LG1}-L^{LG2}-$, $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-$, 또는 $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-$ 이고,

[0063] 각각의 L^{LG1} , L^{LG2} , L^{LG3} , 및 L^{LG4} 는 독립적으로 공유 결합이거나, 하나 이상의 지방족 모이어티, 아릴 모이어티, 각각 독립적으로 1-20개의 헤테로원자를 갖는 헤테로지방족 모이어티, 각각 독립적으로 1-20개의 헤테로원자를 갖는 헤테로방향족 모이어티, 또는 이러한 모이어티 중 하나 이상의 임의의 조합을 포함하는 2가 임의로 치환된 선형 또는 분지형 C_{1-100} 기이고, 여기서 상기 기의 하나 이상의 메틸렌 단위는 임의로 및 독립적으로 C_{1-6} 알킬렌, C_{1-6} 알케닐렌, 1-5개의 헤테로원자를 갖는 2가 C_{1-6} 헤테로지방족기, $-C\equiv C-$, $-Cy-$, $-C(R')_2-$, $-O-$,

-S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -C(O)C(R')₂N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -C(O)S-, -C(O)O-, -P(O)(OR')-, -P(O)(SR')-, -P(O)(R')-, -P(O)(NR')-, -P(S)(OR')-, -P(S)(SR')-, -P(S)(R')-, -P(S)(NR')-, -P(R')-, -P(OR')-, -P(SR')-, -P(NR')-, 아미노산 잔기, 또는 n이 1-20인 $[-(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]$ -로 대체되고,

[0064] 각 R'는 독립적으로 -R, -C(O)R, -CO₂R, 또는 -SO₂R이고

[0065] 각 R은 독립적으로 -H이거나, C₁₋₃₀ 지방족, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 C₁₋₃₀ 헤테로지방족, C₆₋₃₀ 아릴, C₆₋₃₀ 아릴지방족, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 C₆₋₃₀ 아릴헤테로지방족, 1-10개의 헤테로원자를 갖는 5-30원 헤테로아릴, 및 1-10개의 헤테로원자를 갖는 3-30원 헤테로시클릴로부터 선택되는 임의로 치환된 기이거나, 또는

[0066] 2개의 R기는 임의로 및 독립적으로 함께 공유 결합을 형성하거나, 또는:

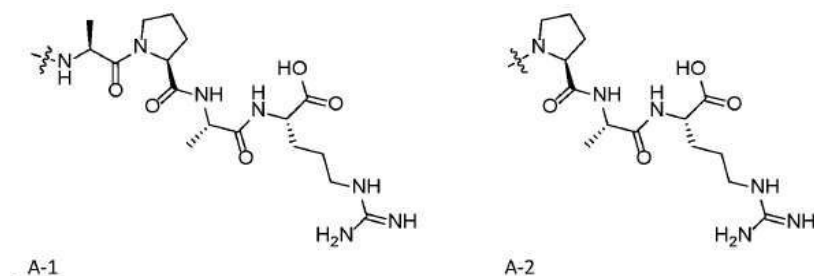
[0067] 동일 원자 상의 2개 이상의 R기는 임의로 및 독립적으로 상기 원자와 함께, 상기 원자에 추가로 0-10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된, 3-30원, 모노시클릭, 바이시클릭 또는 폴리시클릭 고리를 형성하거나; 또는

[0068] 2개 이상의 원자 상의 2개 이상의 R기는 임의로 및 독립적으로 이들의 개재 원자와 함께, 상기 개재 원자에 추가로 0-10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3-30원, 모노시클릭, 바이시클릭 또는 폴리시클릭 고리를 형성한다

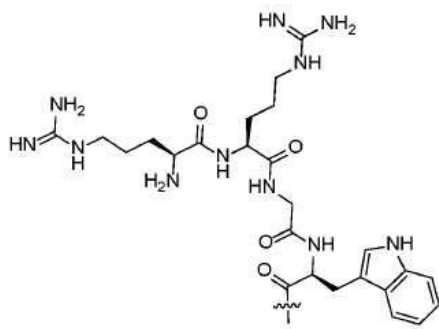
[0069] 일부 구현예에서, LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티이거나 이를 포함하고, 여기서 상기 표적 제제는 항체 제제이다.

[0070] 일부 구현예에서, LG는 Fc 영역에 결합하는 표적 결합 모이어티이거나 이를 포함하고/하거나 R^{LG}는 DCAWXLGELVWCT (서열 번호 2)이거나 이를 포함하고, 여기서 2개의 시스테인 잔기는 임의로 이황화 결합을 형성하고, X는 아미노산 잔기이다.

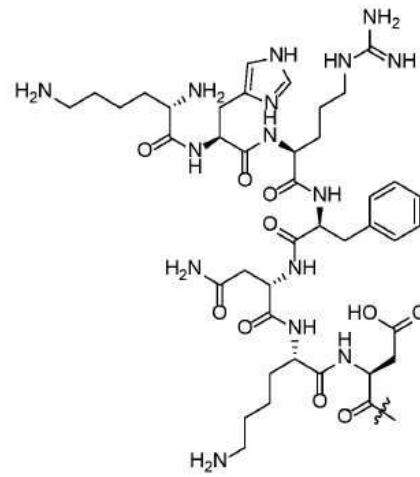
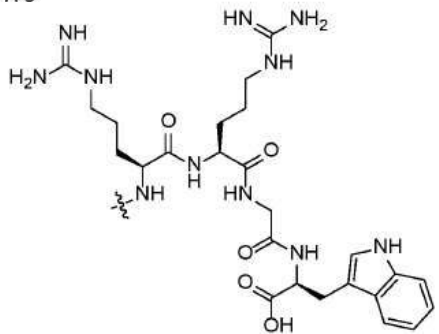
[0071] 일부 구현예에서, LG는 A-1 내지 A-50의 구조를 갖는 표적 결합 모이어티이거나 이를 포함한다.



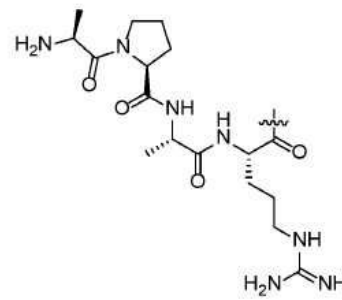
[0072]



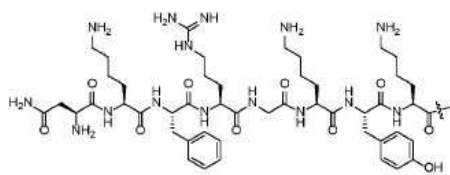
A-3



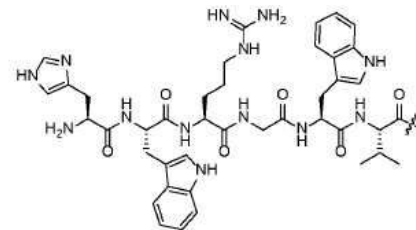
A-4



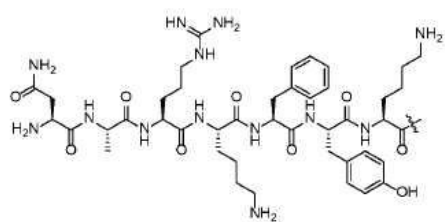
A-6



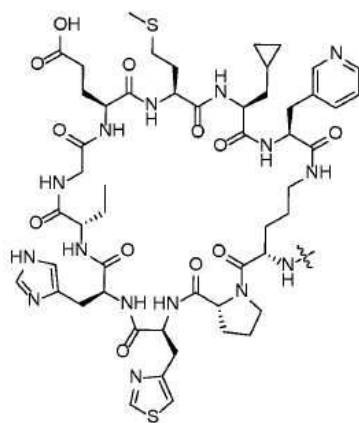
A-7



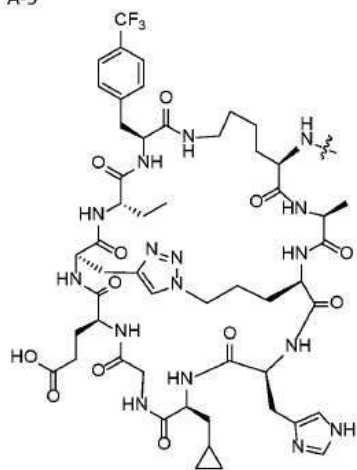
A-8



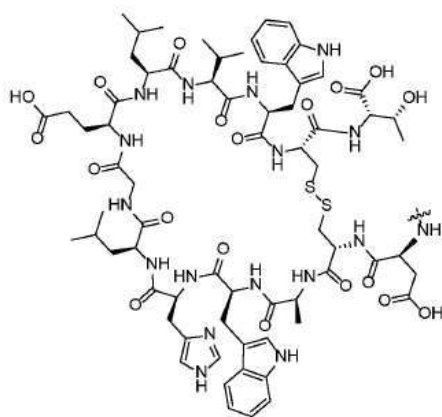
A-9



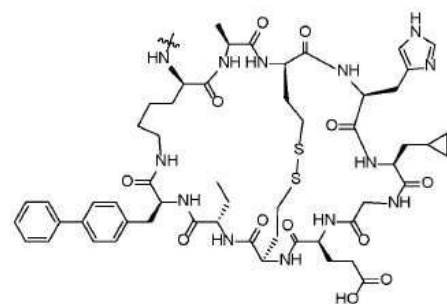
A-10



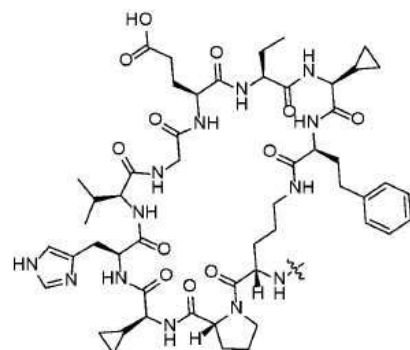
A-11



A-12



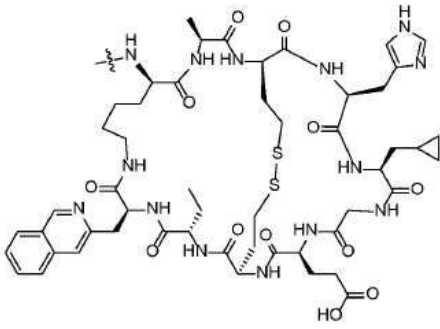
A-13



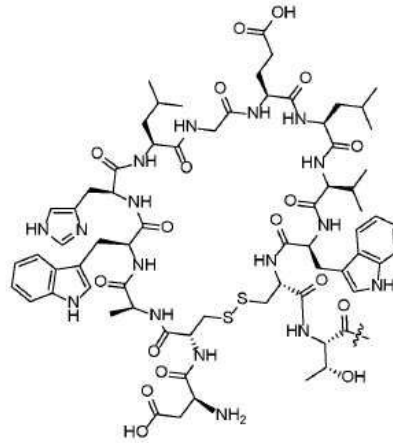
A-14

[0075]

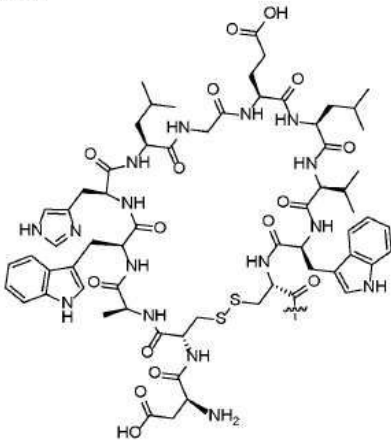
[0076]



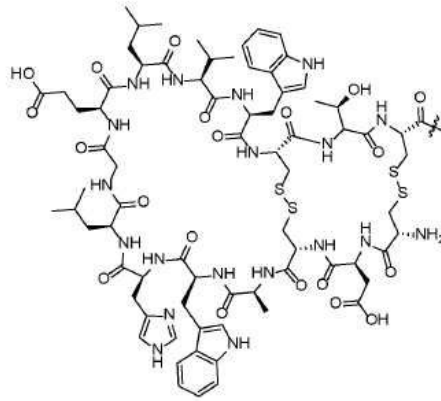
A-15



A-16

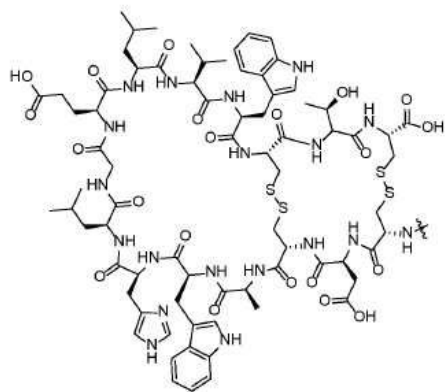


A-17

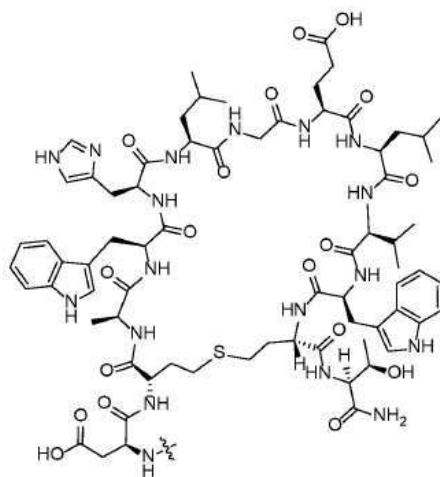


A-18

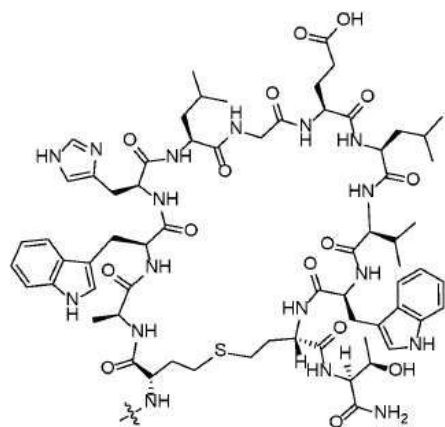
[0077]



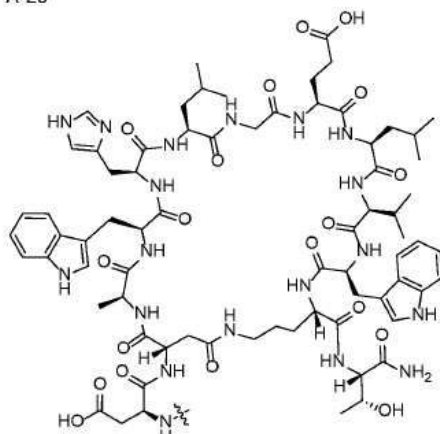
A-19



A-20

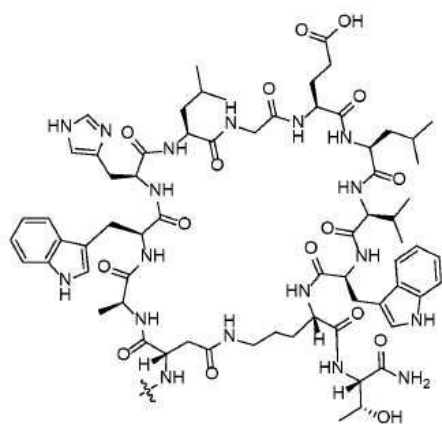


A-21

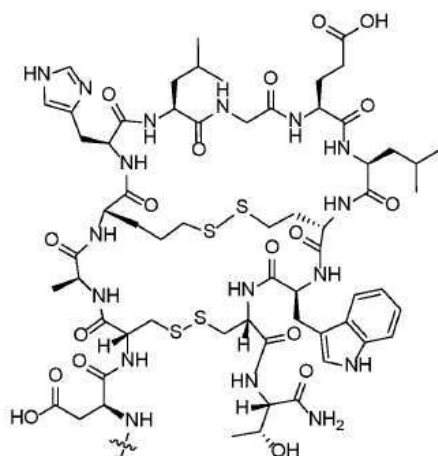


A-22

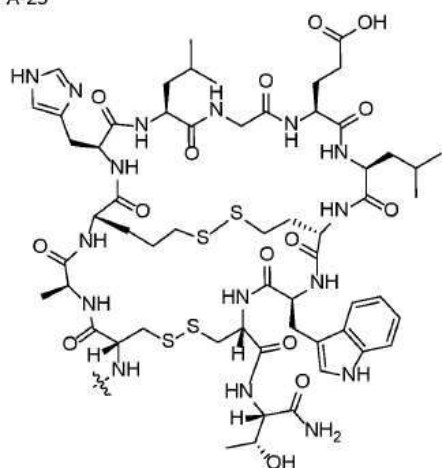
[0078]



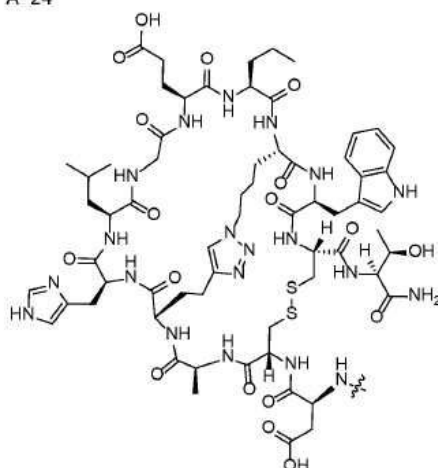
A-23



A-24

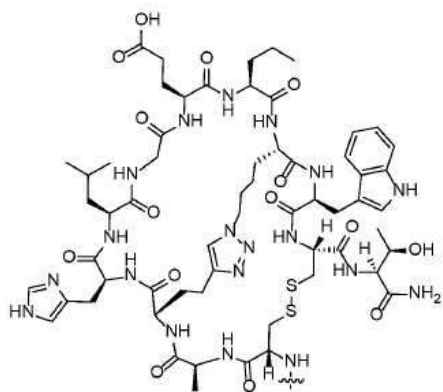


A-25

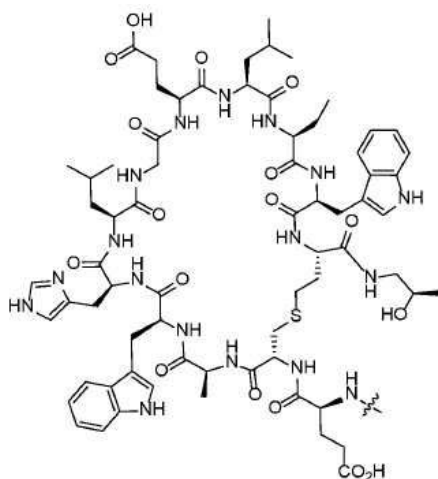


A-26

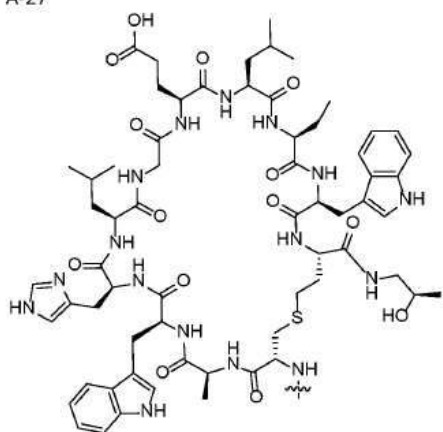
[0079]



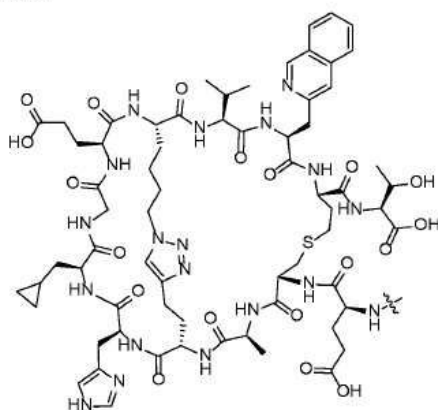
A-27



A-28

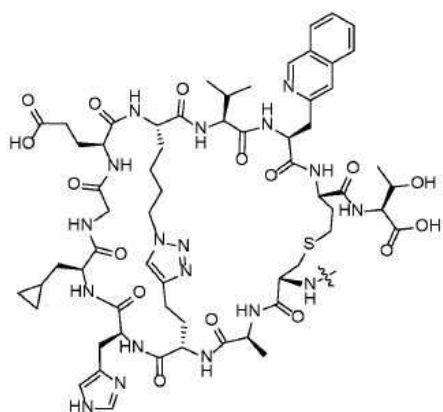


A-29

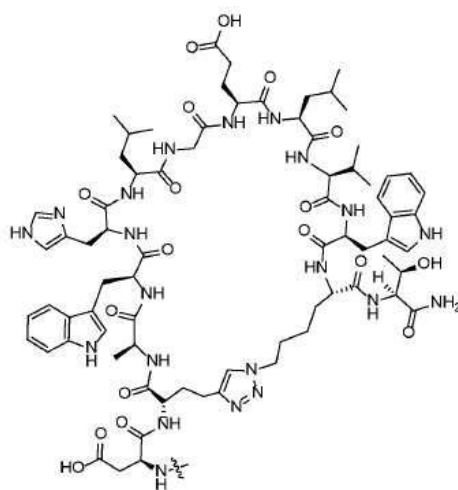


A-30

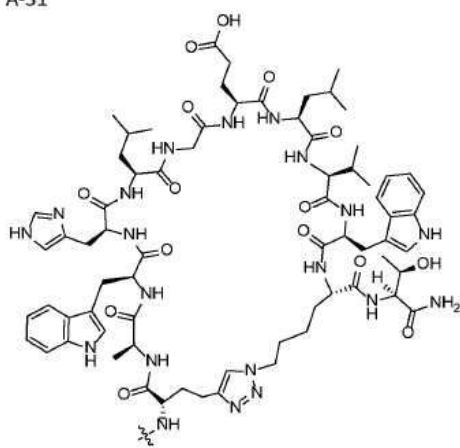
[0080]



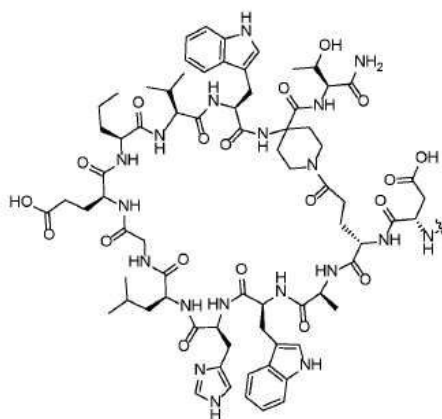
A-31



A-32

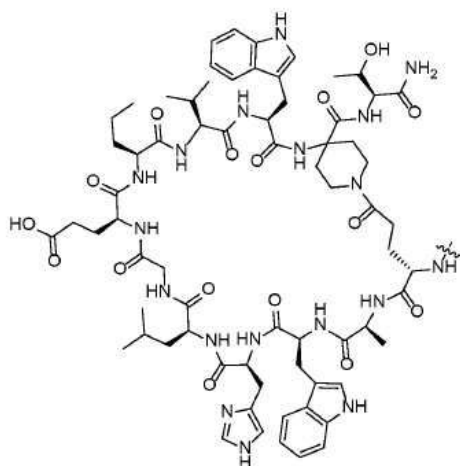


A-33

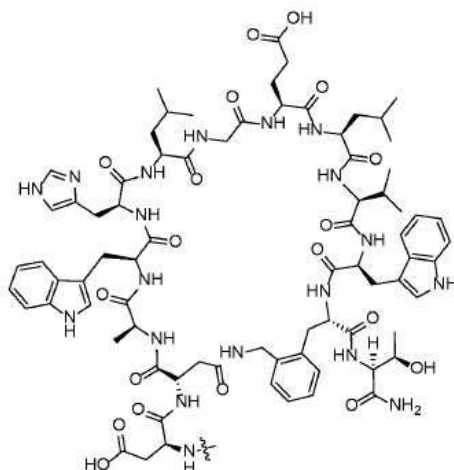


A-34

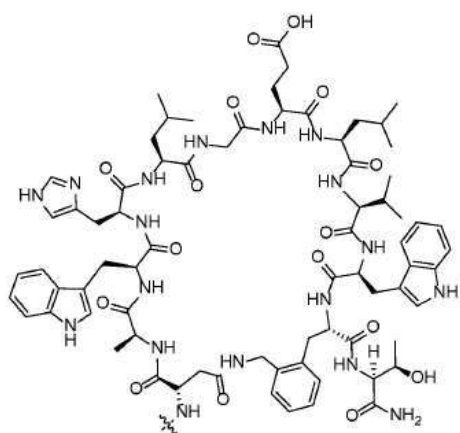
[0081]



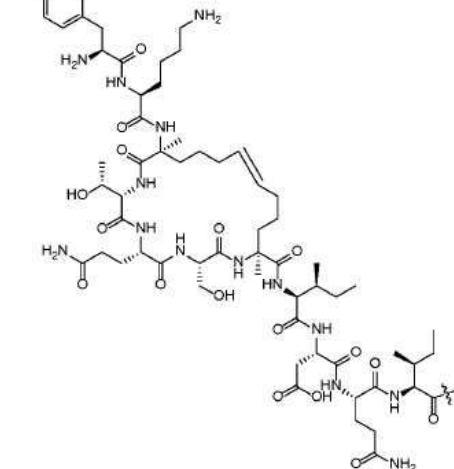
A-35



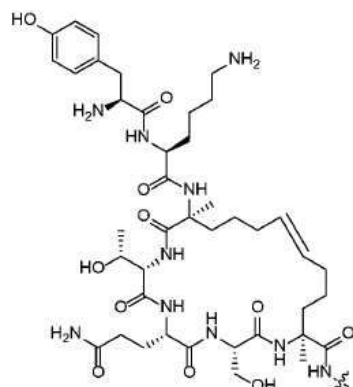
A-36



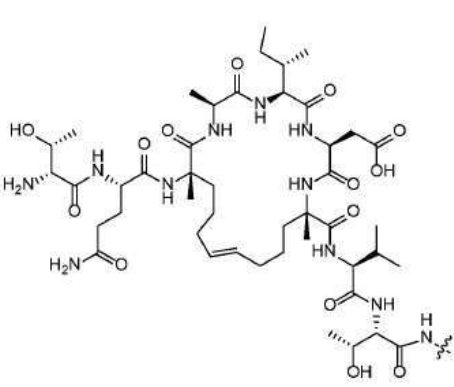
A-37



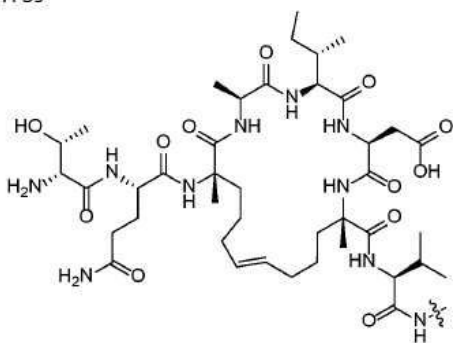
A-38



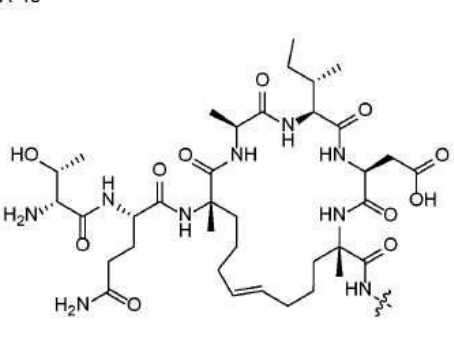
A-39



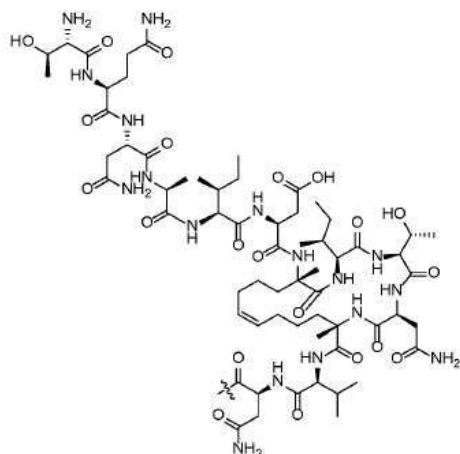
A-40



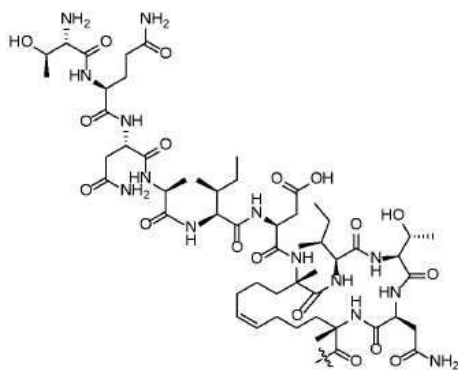
A-41



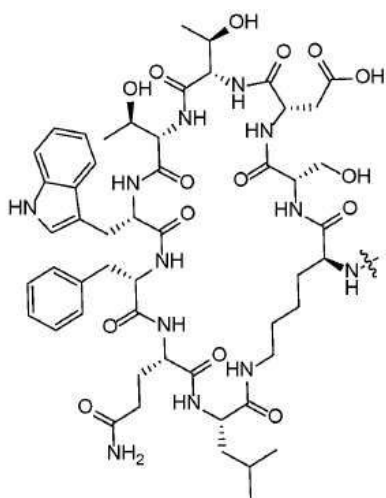
A-42



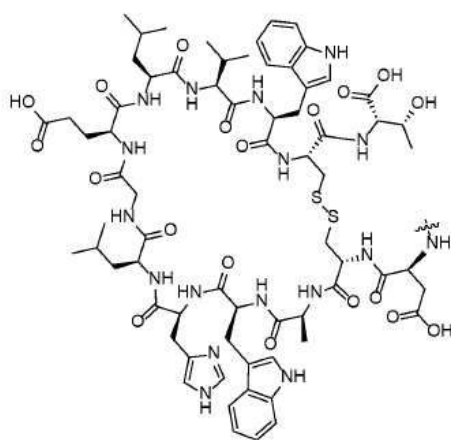
A-43



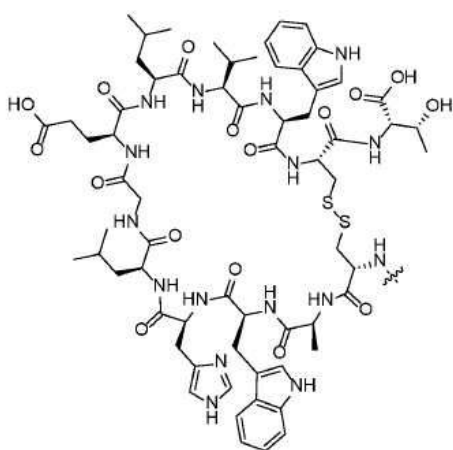
A-44



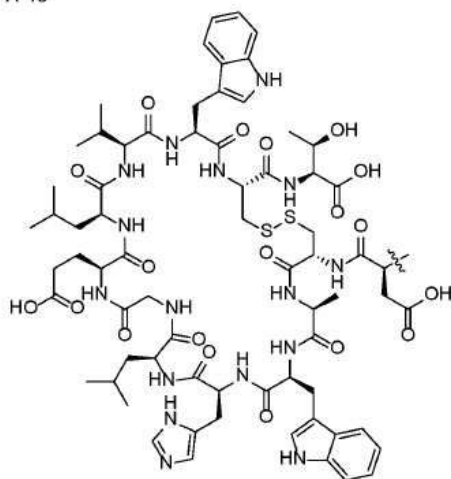
A-45



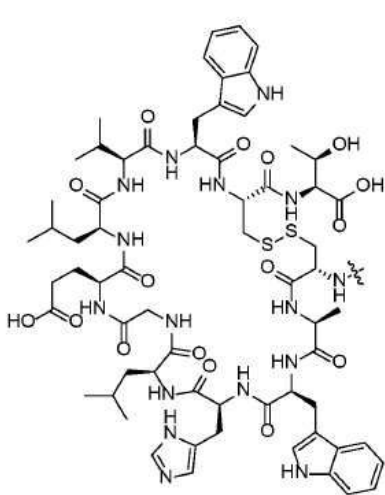
A-46



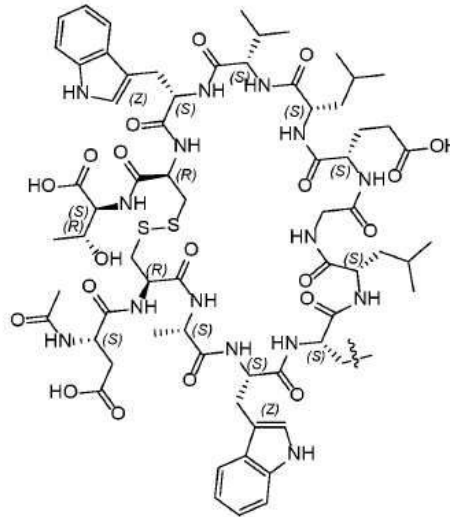
A-47



A-48



A-49



A-50

관심 모이어티

본 개시내용을 읽는 당업자는 다양한 유형의 관심 모이어티가 본 개시내용에 따라 다양한 목적을 위해 활용될 수 있음을 이해할 것이다.

일부 구현예에서, 관심 모이어티는 검출 가능한 모이어티이거나 이를 포함한다. 무엇보다도, 그러한 모이어티는 검출, 정량화, 진단, 치료 등에 유용할 수 있다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 방사성 표지이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 분광학을 통해 검출될 수 있는 표지이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 FITC 모이어티와 같은 형광단이거나 이를 포함한다.

관심 모이어티는 의학적 병태, 질환, 또는 질병과 관련된 특정 표적에 친화성을 갖는 모이어티일 수 있다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 치료제 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 약물 모이어티, 예를 들어 항체-약물 접합체 내 약물 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 독성제이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 세포독성제이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 항암제이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 항암제는 화학요법제이다.

일부 구현예에서, 관심 모이어티는 단백질, 핵산, 세포 등과 같은 다른 체제와 상호작용하고/하거나 모집할 수 있는 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 특정 세포 유형, 예를 들어, 면역 세포, 질병 세포 등에 의해 발현되는 단백질과 상호작용한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 면역 세포 결합제이다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 면역 세포를 모집한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 예를 들어 원하는 표적 (예를 들어, 암세포, 항원 등)을 제거, 사멸 및/또는 억제하기 위해 하나 이상의 면역 활동을 촉발, 촉진 및/또는 강화한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 질병 세포와 상호작용하고, 모집하고/하거나 질병 세포에 결합하고, 질병 세포의 제거, 사멸, 및/또는 억제를 촉발, 촉진, 및/또는 강화한다.

일부 구현예에서, 관심 모이어티는 소분자 체제 (예를 들어, 단백질 표적, 세포 표적 등에 특이적으로 결합할 수 있는 것)이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 펩티드 또는 단백질 체제 (예를 들어, scFv, 특정 표적에 대한 펩티드 결합제 등)이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 핵산 체제 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드, mRNA 등)이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 탄수화물 체제이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 지질 체제이거나 이를 포함한다.

일부 구현예에서, 관심 모이어티는 단백질 복합체 (예를 들어, Fab)이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 형광단이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 세포독성 소분자 체제이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 세포독성 펩티드 체제이거나 이를 포함한다.

일부 구현예에서, 관심 모이어티는 애주번트이다. 당업자는 다양한 애주번트가 본 개시내용에 따라 관심 모이어티로서 활용될 수 있음을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 애주번트는 US 2019/0015516에 기술된 것이며, 이의 전문이 참조로서 본원에 포함된다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 면역체계를 자극한다.

일부 구현예에서, 관심 모이어티는 입자이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서 입자는 나노입자이거나 이를 포

함한다.

- [0096] 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 핵산 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 올리고뉴클레오타이드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 앵타머이거나 이를 포함한다.
- [0097] 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 항체 제제이다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 항체 단편이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 표적 결합 모이어티가 결합하는 영역을 함유하지 않는 항체 제제 모이어티이다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 Fc 영역을 함유하지 않는 항체 제제이다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 scFv이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, scFv는 항체 표적 제제와는 다른 항원에 대한 것이다.
- [0098] 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 반응성 모이어티, 특히 생체 직교 반응을 위한 반응 파트너이거나 이를 포함한다. 생체 직교 반응을 위한 것을 포함하는 적합한 반응성 모이어티는 당업계에 널리 알려져 있으며 본원에서 활용될 수 있다. 일부 구현예에서, 생체 직교 반응은 고리화 첨가 반응, 예를 들어 클릭 화학이다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 $-N_3$ 이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 알킨이거나 이를 포함한다.
- [0099] 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 COVID-19 질환과 관련된 SARS-CoV-2 바이러스에 결합하는 모이어티일 수 있다. 예를 들어, SARS-CoV-2 바이러스에 결합하는 모이어티는 [L. Cao 등, "De novo design of picomolar SARS-CoV-2 mini-protein inhibitors" Science 370, 426-431 (2020)]에 개시된 폴리펩티드일 수 있으며, 이의 전문이 본원에 참조로서 포함된다. 이러한 폴리펩티드 모이어티는 SARS-CoV-2 스파이크 단백질에 대한 결합, 세포의 결합 및/또는 감염의 억제, 감소, 및 예방, SARS-CoV-2 바이러스 및/또는 이에 의해 감염된 세포의 억제, 사멸, 및 제거를 초래할 수 있다. SARS-CoV-2 바이러스와 상호작용하는 다양한 관심 모이어티는 2021년 3월 25일 출원된 국제 특허 출원 번호 PCT/US21/24186, 2021년 2월 6일 출원된 미국 특허 가출원 번호 63/146584, 및 2021년 4월 30일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 63/182098에 설명되어 있으며, 이들 출원 각각은 전문이 본원에 참조로서 포함된다.
- [0100] 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 표적 제제의 하나 이상의 특성 및/또는 활성을 개선한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 안정성 강화제이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 관심 모이어티는 표적 제제의 하나 이상의 약력학적 및/또는 약동학적(pharmacodynamic and/or pharmacokinetic) 특성을 개선한다.
- [0101] 일부 구현예에서, 다음 조건 중 적어도 하나가 충족된다:
- [0102] (a) 관심 모이어티는 치료제이거나 이를 포함함; 및/또는
- [0103] (b) 관심 모이어티는 단백질, 핵산 또는 세포에 결합할 수 있는 모이어티이거나 이를 포함함; 및/또는
- [0104] (c) 관심 모이어티는 생체 직교 반응에 적합한 반응성 모이어티이거나 이를 포함함.
- [0105] 일부 구현예에서, MOI는 치료제이거나 이를 포함하고/하거나 MOI는 항체 제제이거나 이를 포함한다.
- [0106] **연결기**
- [0107] 일부 구현예에서, 모이어티는 임의로 링커 모이어티를 통해 서로 연결된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 반응기, 예를 들어, RG는 관심 모이어티, 예를 들어, MOI에 링커, 예를 들어, L^{RM} 을 통해 연결된다. 일부 구현예에서, 모이어티, 예를 들어, LG는 또한 다양한 부분을 연결하기 위해 하나 이상의 링커, 예를 들어, L^{LG1} , L^{LG2} , L^{LG3} , L^{LG4} 등을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, L^{LG} 는 본원에 기재된 링커 모이어티이다. 일부 구현예에서, L^{LG1} 은 본원에 기재된 링커 모이어티이다. 일부 구현예에서, L^{LG2} 는 본원에 기재된 링커 모이어티이다. 일부 구현예에서, L^{LG3} 는 본원에 기재된 링커 모이어티이다. 일부 구현예에서, L^{LG4} 는 본원에 기재된 링커 모이어티이다. 일부 구현예에서, L^{RM} 은 본원에 기재된 링커 모이어티이다. 일부 구현예에서, L^{PM} 은 본원에 기재된 바와 같은 L이다. 일부 구현예에서, L^{PM} 은 본원에 기재된 링커 모이어티이다. 일부 구현예에서, L^{PM} 은 본원에 기재된 바와 같은 L이다.
- [0108] 다양한 유형의 및/또는 다양한 목적을 위한 링커 모이어티, 예를 들어 항체 약물 접합체 등에 활용되는 것들이 본 개시내용에 따라 활용될 수 있다.
- [0109] 링커 모이어티는 이들이 어떻게 사용되는지에 따라 2가 또는 다가일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 모이어티

는 2가이다. 일부 구현예에서, 링커는 다가이고 2개 이상의 모이어티를 연결한다.

[0110] 일부 구현예에서, L^{LM} 은 하나 이상의 $-(CH_2)_n-O-$ 를 포함하고, 여기서 각 n 은 독립적으로 1-20이고, m 은 1-100이다.

[0111] 일부 구현예에서, 링커인 L^{RM} 은 하나 이상의 $-(CH_2)_n-O-$ 를 포함하고, 여기서 각 n 은 독립적으로 1-20이고, m 은 1-100이다.

[0112] 반응기

[0113] 일부 구현예에서, 제공된 화합물, 예를 들어, 반응 파트너로서 유용한 것은 반응기 (예를 들어, RG)를 포함한다. 본원에 예시된 바와 같이, 많은 구현예에서, 제공된 화합물에서 반응기 (예를 들어, RG)는 제1 기 (예를 들어, LG) 및 관심 모이어티 (예를 들어, MOI) 사이에 위치하고, 링커를 통해 임의로 및 독립적으로 제1 기 및 관심 모이어티에 연결된다. 일부 구현예에서, RG는 본원에 기재된 바와 같은 반응기이다.

[0114] 일부 구현예에서, 본원에 입증된 바와 같이, 표적 결합 모이어티를 포함하지 않는 화합물에서 활용될 때 반응기는 천천히 반응하고, 낮은 수준의 표적 제제와 관심 모이어티의 접합, 일부 구현예에서, 실질적으로 표적 제제와 관심 모이어티의 접합이 없음을 제공한다. 본원에 입증된 바와 같이, 동일한 화합물에서, 예를 들어 화학식 R-I의 화합물 또는 이의 염에서와 같이 반응기와 표적 결합 모이어티의 조합은 무엇보다도 반응기와 표적 제제 사이의 반응을 촉진하고/하거나, 반응 효율을 향상시키고/거나, 부반응을 감소시키고/거나, 반응 선택성을 향상시킬 수 있다 (예를 들어, 표적 제제와 관심 모이어티의 접합이 발생하는 표적 부위의 관점에서).

[0115] 제공된 화합물 내 반응기는 표적 제제 내 다양한 유형의 기와 반응할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 화합물 내 반응기는 표적 제제의 아미노기, 예를 들어 단백질의 리신 잔기의 측쇄 상의 $-NH_2$ 기와 선택적으로 반응한다. 일부 구현예에서, 제공된 화합물, 예를 들어 화학식 R-I의 것 또는 이의 염에서 활용될 때 반응기는 표적 제제의 특정 부위, 예를 들어 본원의 실시예에 나타낸 바와 같이 IgG1에 대해 K246, K248, K288, K290, K317 등, IgG2에 대해 K251, K 253 등, IgG4에 대해 K239, K241 등 중 하나 이상과 선택적으로 반응한다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 중쇄의 K246 또는 K248이다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 중쇄의 K246 및/또는 K248이다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 중쇄의 K246이다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 중쇄의 K248이다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 중쇄의 K288 또는 K290이다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 중쇄의 K288이다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 중쇄의 K290이다. 일부 구현예에서, 부위는 K317이다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 중쇄의 K414이다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 경쇄의 K185이다. 일부 구현예에서, 부위는 항체 경쇄의 K187이다. 일부 구현예에서, 부위는 IgG2 중쇄의 K251 및/또는 K253이다. 일부 구현예에서, 부위는 IgG2 중쇄의 K251이다. 일부 구현예에서, 부위는 IgG2 중쇄의 K253이다. 일부 구현예에서, 부위는 IgG4 중쇄의 K239 및/또는 K241이다. 일부 구현예에서, 부위는 IgG4 중쇄의 K239이다. 일부 구현예에서, 부위는 IgG4 중쇄의 K241이다. 일부 구현예에서, 접합은 경쇄 부위보다 하나 이상의 중쇄 부위에서 선택적으로 발생한다. 일부 구현예에서, 표적 결합 모이어티가 없는 기술의 경우, 접합은 중쇄 부위보다 경쇄 부위에서 더 많이 발생한다.

[0116] 일부 구현예에서, 반응기, 예를 들어, RG는 에스테르 기이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 반응기, 예를 들어, RG는 친전자성기, 예를 들어 마이클 수용체(Michael acceptor)이거나 이를 포함한다.

[0117] 일부 구현예에서, RG는 구조식 $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ 의 반응기이고, 여기서

[0118] L^{LG2} 는 $-NH-C(O)O-C(R')_2-$ 이고, 여기서 각 R' 는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 R' 는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,

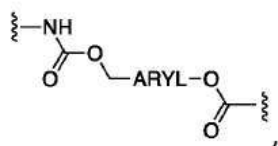
[0119] L^{LG3} 은 임의로 치환된 아릴 고리이고,

[0120] L^{LG4} 는 $-NH-$ 또는 $-O-$ 이고,

[0121] L^{RG1} 은 $-C(O)-$, $-S(O)-$, $-OS(O)_2-$, 또는 $-OP(O)(OR)_2-$ 이고,

[0122] L^{RG2} 는 공유결합이거나 $[-C(R'')_2C(R'')=C(R'')]C(O)-$ 이고, 여기서 각 R'' 는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 임의의 2개의 R'' 는 임의로 연결되어 고리를 형성한다.

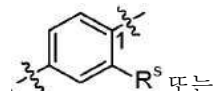
[0123] 일부 구현예에서, RG는 다음의 화학식을 갖는 반응기이거나 이를 포함하고



[0124]

[0125]

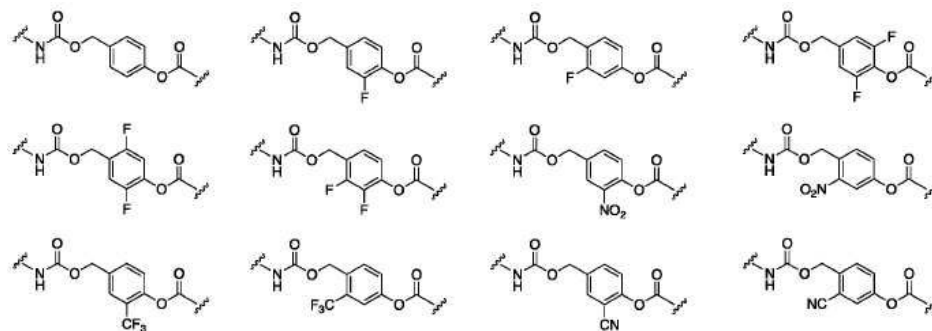
여기서 ARYL은 치환 또는 비치환 파라-페닐렌 고리이다. 일부 구현예에서, ARYL은



의 구조를 가질 수 있고, 여기서 R^S 는 각 경우에 독립적으로 할로젠, $-\text{NO}_2$, $-\text{F}$, $-\text{L-R}'$, $-\text{C}(\text{O})-\text{L-R}'$, $-\text{S}(\text{O})-\text{L-R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2-\text{L-R}'$, 및 $-\text{P}(\text{O})(-\text{L-R}')_2$ 로부터 선택되고, R' 는 H 또는 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬이다.

[0126]

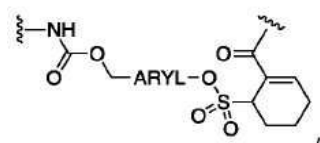
일부 구현예에서, 반응기는 다음 화학식 중 하나 이거나 이를 포함한다:



[0127]

[0128]

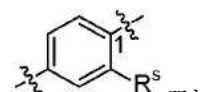
일부 구현예에서, RG는 다음의 화학식을 갖는 반응기이거나 이를 포함하고



[0129]

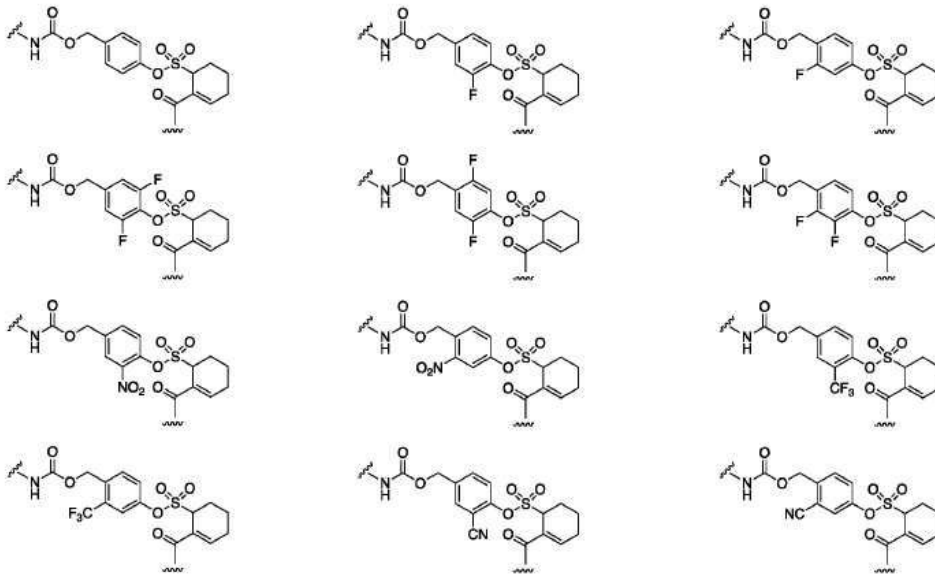
[0130]

여기서 ARYL은 치환 또는 비치환 파라-페닐렌 고리이다. 일부 구현예에서, ARYL은



의 구조를 가질 수 있고, 여기서 R^S 는 독립적으로 각 경우에 할로젠, $-\text{NO}_2$, $-\text{F}$, $-\text{L-R}'$, $-\text{C}(\text{O})-\text{L-R}'$, $-\text{S}(\text{O})-\text{L-R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2-\text{L-R}'$, 및 $-\text{P}(\text{O})(-\text{L-R}')_2$ 로부터 선택되고, R' 는 H 또는 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬이다.

[0131] 일부 구현예에서, 반응기는 다음 화학식 중 하나 이거나 이를 포함한다:



[0132]

[0133] 조성물

[0134] 일부 구현예에서, 상기 화합물 중 하나 이상을 포함하는 조성물을 제공한다.

[0135] 일부 구현예에서, 상기 조성물은

[0136] 구조식 (P-II)의 구조를 갖는 제1 화합물, 및

[0137] (LG-I)의 구조를 갖는 제2 화합물을 포함할 수 있고

[0138] $P-N-L^{PM}-MOI$ (P-II)

[0139] (P-II)에서,

[0140] P-N은 리신 잔기를 포함하는 단백질 제제 모이어티이고,

[0141] L^{PM} 은 링커이고,

[0142] MOI는 관심 모이어티이고,

[0143] $LG-OH$ (LG-I)

[0144] (LG-I)에서, LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티를 포함하는 기이다.

[0145] 일부 구현예에서, 상기 조성물은

[0146] 구조식 (R-I)를 갖는 제3 화합물,

[0147] 구조식 (R-III)를 갖는 제4 화합물,

[0148] 또는 이들의 조합을 추가로 포함할 수 있고

[0149] $LG-RG-L^{RM}-MOI$ (R-I)

[0150] $HO-RG-L^{RM}-MOI$ (R-III)

[0151] LG는 표적 제제에 결합하는 표적 결합 모이어티를 포함하는 기이고, 이는 구조식 (LG-I)에서의 LG와 동일하고,

[0152] RG는 구조식 $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ 의 반응기이고, 여기서

- [0153] L^{LG2} 는 $-NH-C(O)O-C(R')_2-$ 이고, 여기서 각 R' 는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 R' 는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,
- [0154] L^{LG3} 은 임의로 치환된 아릴 고리이고,
- [0155] L^{LG4} 는 $-NH-$ 또는 $-O-$ 이고,
- [0156] L^{RG1} 은 $-C(O)-$, $-S(O)-$, $-OS(O)_2-$, 또는 $-OP(O)(OR)_2-$ 이고,
- [0157] L^{RG2} 는 공유결합이거나 $[-C(R'')_2C(R'')=C(R'')]C(O)-$ 이고, 여기서 각 R'' 는 독립적으로 H 또는 C1-C10 알킬이고, 여기서 임의의 2개의 R'' 는 임의로 연결되어 고리를 형성하고,
- [0158] L^{RM} 은 링커이고, 이는 구조식 (P-II)에서와 동일하고,
- [0159] MOI는 관심 모이어티이다.
- [0160] 일부 구현예에서, 조성물은 제1 화합물과 제2 화합물을 등몰량으로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 화합물의 양은 조성물 중 제1 화합물과 제2 화합물의 총 몰수를 기준으로 50 몰퍼센트 (몰%) 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 화합물의 양은 조성물 중 제1 화합물과 제2 화합물의 총 몰수를 기준으로 50 몰% 이하, 45 몰% 이하, 40 몰% 이하, 35 몰% 이하, 30 몰% 이하, 25 몰% 이하, 20 몰% 이하, 15 몰% 이하, 10 몰% 이하, 또는 5 몰% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 화합물의 양은 조성물 중 제1 화합물과 제2 화합물의 총 몰수를 기준으로 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2% 이하, 또는 1% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 화합물의 양은 조성물 중 제1 화합물과 제2 화합물의 총 몰수를 기준으로 1.0% 이하, 0.9% 이하, 0.8% 이하, 0.7% 이하, 0.6% 이하, 0.5% 이하, 0.4% 이하, 0.3% 이하, 0.2% 이하, 0.1% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 화합물의 양은 조성물 중 제1 화합물과 제2 화합물의 총 몰수를 기준으로 0.10% 이하, 0.09% 이하, 0.08% 이하, 0.07% 이하, 0.06% 이하, 0.05% 이하, 0.04% 이하, 0.03% 이하, 0.02% 이하, 0.01% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 화합물의 양은 조성물 중 제1 화합물과 제2 화합물의 총 몰수를 기준으로 0.010% 이하, 0.009% 이하, 0.008% 이하, 0.007% 이하, 0.006% 이하, 0.005% 이하, 0.004% 이하, 0.003% 이하, 0.002% 이하, 0.001% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 화합물의 양은 조성물 중 제1 화합물과 제2 화합물의 총 몰수를 기준으로 0.0010% 이하, 0.0009% 이하, 0.0008% 이하, 0.0007% 이하, 0.0006% 이하, 0.0005% 이하, 0.0004% 이하, 0.0003% 이하, 0.0002% 이하, 0.0001% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 화합물의 양은 조성물 중 제1 화합물과 제2 화합물의 총 몰수를 기준으로 0.00010% 이하, 0.00009% 이하, 0.00008% 이하, 0.00007% 이하, 0.00006% 이하, 0.00005% 이하, 0.00004% 이하, 0.00003% 이하, 0.00002% 이하, 0.00001% 이하일 수 있다.
- [0161] 일부 구현예에서, 조성물은 제3 화합물, 제4 화합물, 또는 이들의 조합을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 제3 화합물, 제4 화합물, 또는 이들의 조합의 양은 조성물 중 제1 화합물의 몰수를 기준으로 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2% 이하, 또는 1% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제3 화합물, 제4 화합물, 또는 이들의 조합의 양은 조성물 중 제1 화합물의 몰수를 기준으로 1.0% 이하, 0.9% 이하, 0.8% 이하, 0.7% 이하, 0.6% 이하, 0.5% 이하, 0.4% 이하, 0.3% 이하, 0.2% 이하, 0.1% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제3 화합물, 제4 화합물, 또는 이들의 조합의 양은 조성물 중 제1 화합물의 몰수를 기준으로 0.10% 이하, 0.09% 이하, 0.08% 이하, 0.07% 이하, 0.06% 이하, 0.05% 이하, 0.04% 이하, 0.03% 이하, 0.02% 이하, 0.01% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제3 화합물, 제4 화합물, 또는 이들의 조합의 양은 조성물 중 제1 화합물의 몰수를 기준으로 0.010% 이하, 0.009% 이하, 0.008% 이하, 0.007% 이하, 0.006% 이하, 0.005% 이하, 0.004% 이하, 0.003% 이하, 0.002% 이하, 0.001% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제3 화합물, 제4 화합물, 또는 이들의 조합의 양은 조성물 중 제1 화합물의 몰수를 기준으로 0.0010% 이하, 0.0009% 이하, 0.0008% 이하, 0.0007% 이하, 0.0006% 이하, 0.0005% 이하, 0.0004% 이하, 0.0003% 이하, 0.0002% 이하, 0.0001% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제3 화합물, 제4 화합물, 또는 이들의 조합의 양은 조성물 중 제1 화합물의 몰수를 기준으로 0.00010% 이하, 0.00009% 이하, 0.00008% 이하, 0.00007% 이하, 0.00006% 이하, 0.00005% 이하, 0.00004% 이하, 0.00003% 이하, 0.00002% 이하, 0.00001% 이하일 수 있다. 일부 구현예에서, 제3 화합물, 제4 화합물, 또는 이들의 조합

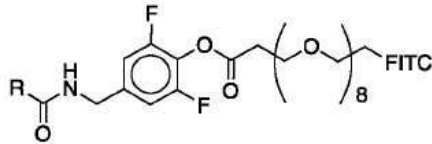
의 양은 조성물 중 제1 화합물의 몰수를 기준으로 0.000010% 이하, 0.000009% 이하, 0.000008% 이하, 0.000007% 이하, 0.000006% 이하, 0.000005% 이하, 0.000004% 이하, 0.000003% 이하, 0.000002% 이하, 0.000001% 이하일 수 있다.

[0162] 본 발명은 다음의 비제한적 실시예에 의해 추가로 예시된다.

[0163] 실시예

[0164] 일부 구현예에서, 표적 결합 모이어티는 K246 및/또는 K248을 포함하는 면역글로불린 결합 모이어티일 수 있고, 지향된 접합의 과정은 도 1에 도시된 다음의 다이어그램으로 표시될 수 있다.

[0165] 일부 구현예에서, 표적 결합기는 K_d 가 600 nM인 지향기(directing group)를 포함하는 선형 펩티드 IgG 결합제일 수 있다.



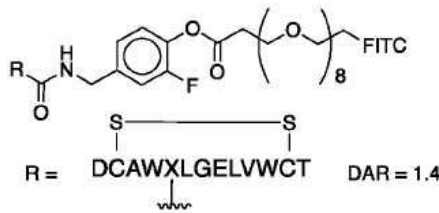
$R = \text{GSYWYDVWF-PEG2-}$ $\text{DAR} = 0.6$

$R = \text{H}$ $\text{DAR} = 0.06$

[0166] (서열 번호 1)

[0168] 선형 펩티드 IgG 결합제에 대한 결합 특이성 데이터는 도 2에 도시되어 있다.

[0169] 일부 구현예에서, 표적 결합기는 K_d 가 15 nM인 지향기를 포함하는 고리형 펩티드 IgG 결합제일 수 있다.



$R = \text{DCAWXLGELVWCT}$ $\text{DAR} = 1.4$

$R = \text{H}$ $\text{DAR} = 0.02$

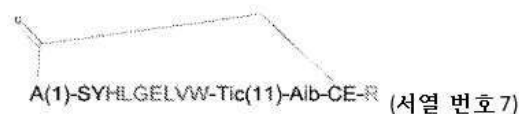
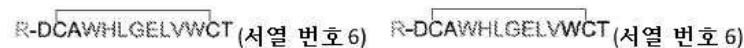
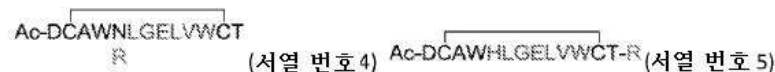
[0170] (서열 번호 2)

[0172] 고리형 펩티드 결합제에 대한 결합 특이성 데이터는 도 3에 도시되어 있다.

[0173] 일부 구현예에서, 화합물은 도 4a에 도시된 바와 같이 아자 마이클 수용체인 반응기를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 화합물은 도 4b에 도시된 바와 같이 접합시 CO₂를 방출하는 반응기를 가질 수 있다.

[0174] 일부 구현예에서, 화합물은 도 5에 도시된 구조를 가질 수 있다.

[0175] 일부 구현예에서, 표적 결합기는 도 6에 도시된 다음 서열 중 하나를 포함할 수 있다.



[0176]

[0177] 이들 기 중 일부의 합성이 도 7-8에 도시되어 있다.

[0178] 일부 구현예에 따른 예시적인 LG-RG기가 도 9에 도시되어 있다.

[0179] 본 출원 전체를 통해, 다양한 간행물은 저자의 이름 및 발행일, 또는 특허 번호 또는 특허 출원번호에 의해 언급된다. 이들 간행물의 개시내용은 본원에 기술되고 청구된 발명의 일자에 당업자에게 공지된 최신 기술을 보다 완전하게 설명하기 위해 본 출원에 참조로 그 전체가 포함된다. 그러나, 본원에서 참고문헌의 인용은 이러한 참고문헌이 본 발명에 대한 선행 기술임을 인정하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

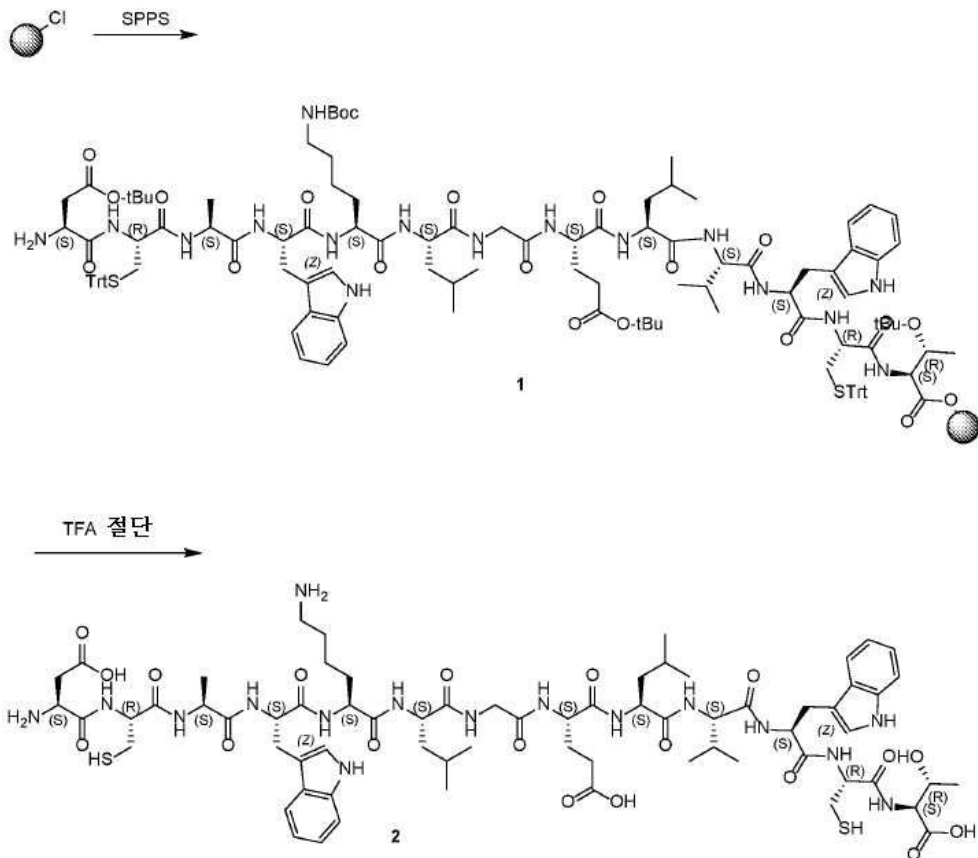
[0180] 당업자는 단지 일상적인 실험을 사용하여 본원에 기술된 특정 절차에 대한 수많은 등가물을 인식하거나 확증할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 본 발명의 범주 내에 속하는 것으로 고려되고, 다음의 청구범위에 의해 포괄된다. 예를 들어, 본원의 상세한 설명 및 실시예에 구체적으로 개시된 것 이외의 약학적으로 허용되는 염이 사용될 수 있다. 또한, 항목 목록 내의 구체적인 항목, 또는 항목의 더 큰 그룹 내의 항목의 하위 그룹은 본원에서 이러한 조합을 확인하는 구체적인 개시가 있는지 여부에 관계없이 다른 구체적인 항목, 항목의 하위 그룹 또는 항목의 더 큰 그룹과 결합될 수 있도록 의도된다.

[0181] 약어:

표 1		
#	약어	용어
1	Fmoc	플루오레닐메틸옥시카르보닐
2	CTC 수지	2-염화 클로로트리틸 수지
3	DCM	디클로로메탄
4	MeOH	메탄올
5	DMF	N,N-디메틸포름아미드
6	HBTU	N,N,N',N'-테트라메틸-O-(1H-벤조트리아졸-1-일)우로늄 헥사플루오로포스페이트
7	DIEA	N,N-디이소프로필에틸아민
8	TFA	트리플루오로 아세트산
9	TIS	HBTU (2.85당량) 및 DIEA (6.00당량)
10	MeCN	아세토니트릴
11	AcOH/HOAc	아세트산
12	MS	질량 분석
13	NMM	4-메틸모르폴린
15	HOBt	1-히드록시벤조트리아졸 수화물
16	DMAP	4-(디메틸아미노)피리딘
17	LCMS	액체 크로마토그래피-질량 분석법
18.	FITC	플루오레세인 이소티오시아네이트, 이성질체 I
19	HPLC	고성능 액체 크로마토그래피
20	THF	테트라히드로푸란
21	NaBH ₄	수소화붕소나트륨
22	BOC	tert-부톡시카르보닐 보호기
23	SPPS	9-안트라센카복사미드, 폴리머 결합
24	ALLOC	알릴옥시카르보닐 보호기
25	IgG	면역글로불린 G
26	scFv	단일 사슬 가변 단편
27	SEQ ID	서열 번호
28	EDCI	1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드
29	TIPs	트리이소프로필실란
30	DIC	N,N'-디이소프로필카르보디이미드

[0182]

[0183] 실시예 1. 화합물 1290의 제조 절차.



[0184]

[0185]

[0186] 화합물 1290의 제조:

[0187] 표준 Fmoc 화학 (CTC 수지)을 사용하여 펩티드를 합성하였다.

[0188] 수지 제조: DCM (10 mL) 중 CTC 수지 (1.00 g, 1.00 mmol, 1.00 mmol/g) 및 Fmoc-Thr(tBu)-OH (397.0 mg, 1.00 mmol, 1.00 당량)를 함유하는 용기에 DIEA (4.00 당량)를 25 ° C에서 N2 버블링과 함께 2시간 동안 혼합하였다. 그런 다음 MeOH (1.0 mL)를 첨가하고 추가 30분 동안 N2로 버블링하였다. 수지를 DMF (20 mL)로 세척한 후, DMF (10 mL) 중 20% 피페리딘을 첨가하고 Fmoc 탈보호를 위해 25 ° C에서 30분 동안 N2로 버블링하였다. 혼합물을 여과하고 다음 단계로 진행하기 전에 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0189] 커플링: DMF (10 mL) 중 Fmoc-Cys(Trt)-OH (1.76 g, 3.0 mmol, 3.00 당량), HBTU (0.82 g, 2.86 mmol, 2.85 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그런 다음 DIEA (6.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색으로 나타나면 커플링이 완료된 것이었다. 이어서 수지를 DMF (20 mL)로 세척하였다.

[0190] 탈보호: DMF (20 mL) 중 20% 피페리딘을 수지에 첨가하고 혼합물을 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 탈보호 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하여, 파란색 또는 갈색을 띤 빨간색을 나타내면 반응이 완료된 것이었다. 이어서 수지를 DMF (20 mL)로 세척하였다.

[0191] 하기 아미노산 신장(elongation)을 위해 단계 2 및 3을 반복하였다: 번호 # 3-13, 표 1.

[0192] 모든 단계가 완료된 후, 수지를 DMF (50 mL), MeOH (50 mL)로 세척한 후, 감압 하에 건조하여 수지-결합된 펩티드 중간체 1 (CTC 수지, 2.40 g, 1.00 mmol)을 얻었다.

[0193] 표 2: SPPS에 사용되는 아미노산 및 해당 시약 목록.

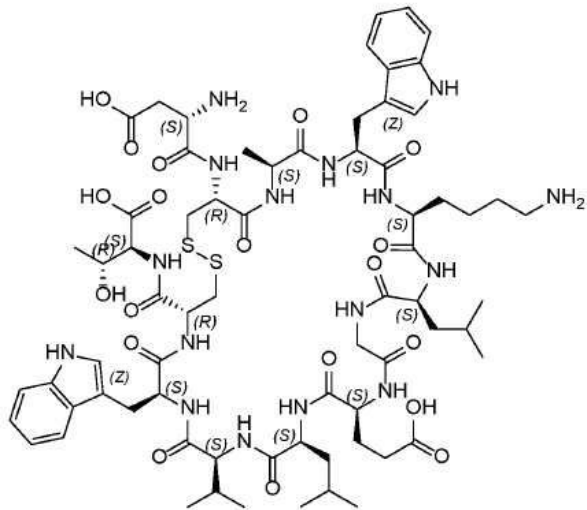
표 2		
#	물질	커플링 시약
1	Fmoc-Thr(tBu)-OH (1.00 당량)	DIEA (4.00 당량)
2	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
3	Fmoc-Trp-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
4	Fmoc-Val-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
5	Fmoc-Leu-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
6	Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
7	Fmoc-Gly-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
8	Fmoc-Leu-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
9	Fmoc-Lys(Boc)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
10	Fmoc-Trp-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
11	Fmoc-Ala-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
12	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
13	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)

[0194]

[0195] 펩티드 절단 및 고리화:

[0196] 절단: TFA/TIS/H₂O/ 3-메르캅토프로판산 (92.5/2.5/2.5/2.5, v/v/v, 40 mL)의 용액을 실온에서 상기 수지 (중간체 1, 0.50 mmol, 추가 0.5 mmol이 화합물 1291에 대해 사용됨)에 첨가하고 2시간 동안 교반하였다. 여과 후, 여과액을 모아 차가운 이소프로필 에테르 (200 mL)로 침전시킨 후, 여과하여, 고체를 이소프로필 에테르 (100 mL)로 2회 세척하고, 조 펩티드를 감압 하에 2시간 동안 건조하여 중간체 2 (0.50 mmol, 조물질)를 백색 고체로 얻었다.

[0197] 고리화: MeCN/H₂O (1/1, v/v, 500 mL) 중의 조 펩티드 (**중간체 2**)에 노란색이 지속될 때까지 0.1 M I₂/AcOH를 적가하고, 그 다음 혼합물을 25 ° C에서 5분간 교반하였다. 노란색이 사라질 때까지 0.1 M aq. Na₂S₂O₃를 적가하여 혼합물을 켄칭하였다. 여과 후, 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 정제하고, 이어서 동결건조하여 **화합물 1290** (93.0 mg, 94.6% 순도, 15.5% 수율)을 백색 고체로 얻었다. LCMS: RT = 0.81 분, 계산된 MS: M_{av} = 1521.76, 관찰된 질량: [M + H]⁺ = 1522.70, [M + 2H]²⁺ = 761.50.



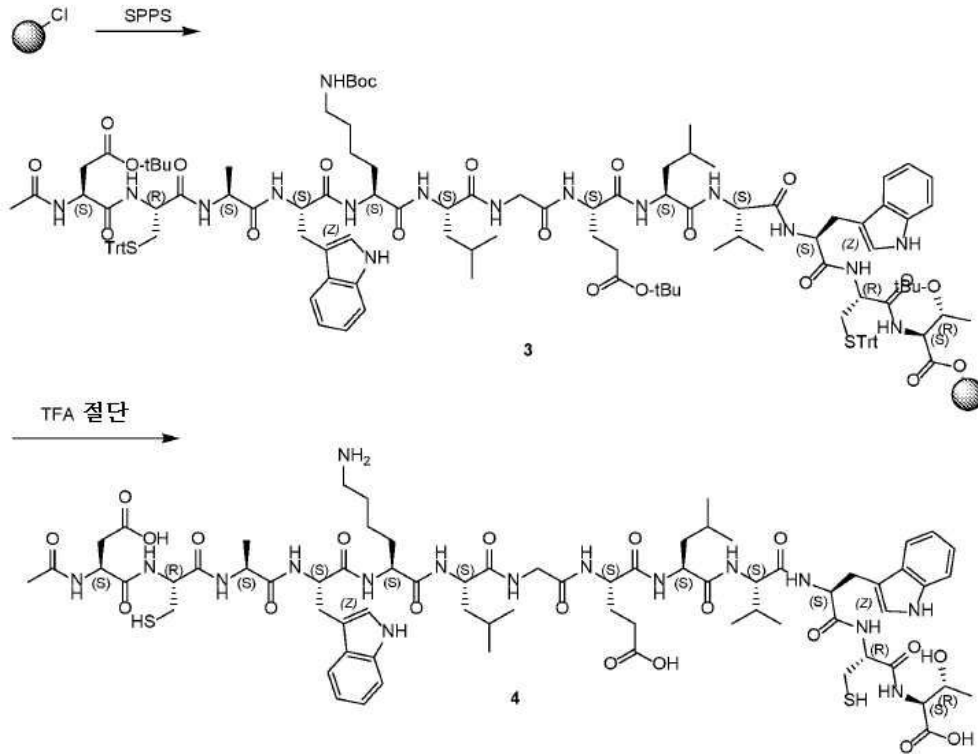
분자량 : 1521.76

화합물 1290

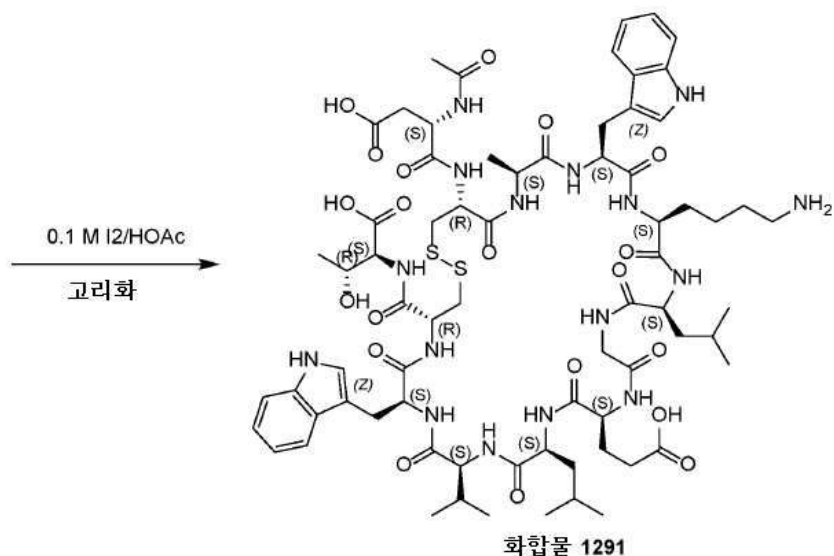
[0198]

[0199]

실시예 2. 화합물1291의 제조 절차.



[0200]



화합물 1291의 제조:

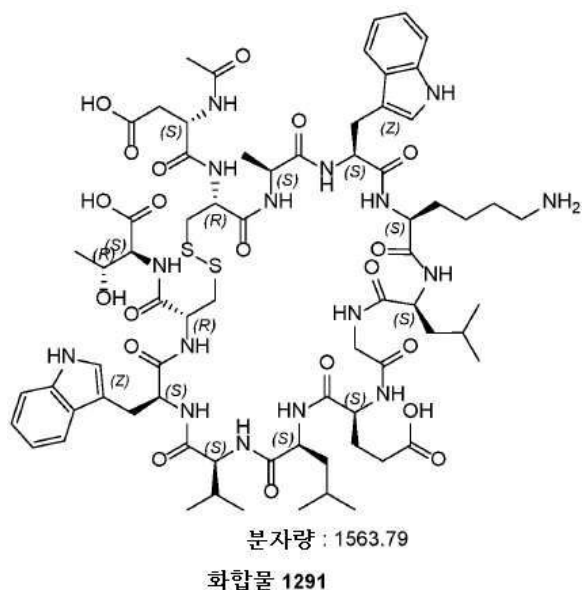
펩티드 수지 (중간체 1, 0.50 mmol)를 아세틸화하여 중간체 3 (펩티드 수지)를 합성하였다.

아세틸화: Ac₂O/NMM/DMF (10/5/85, v/v/v, 40 mL)의 용액을 수지에 첨가하고, 혼합물을 N₂로 20분 동안 버블링 하였다. 아세틸화 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링 하였다. 그런 다음 수지를 DMF (20 mL), MeOH (20 mL)로 세척하고, 감압 하에 건조하여 수지-결합된 펩티드 중간체 4 (CTC 수지, 1.23 g, 0.50 mmol)를 얻었다.

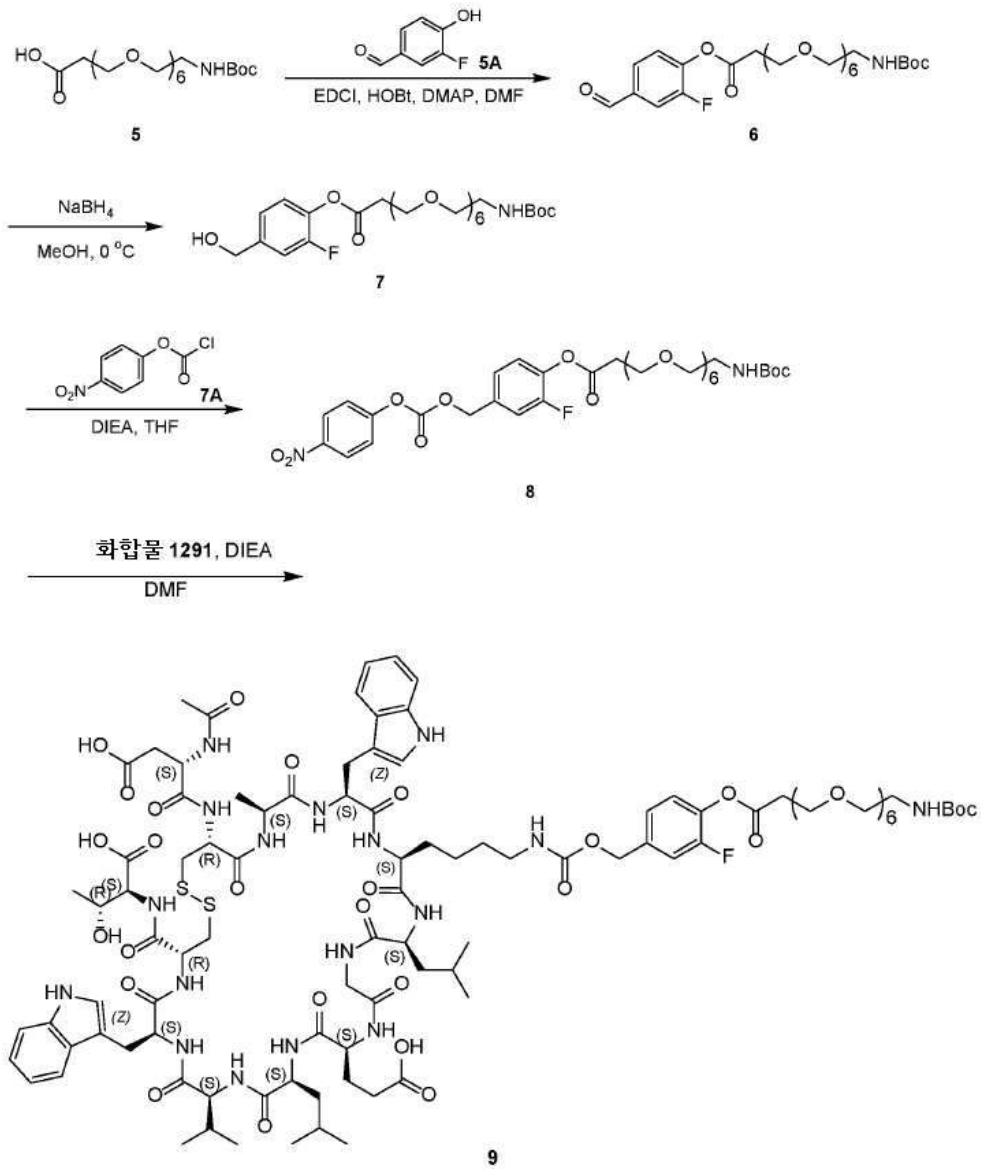
표 3. SPPS 상 아세틸화

#	물질	커플링 시약
1	아세틸화	Ac ₂ O/NMM/DMF (10/5/85, v/v/v, 20 mL)

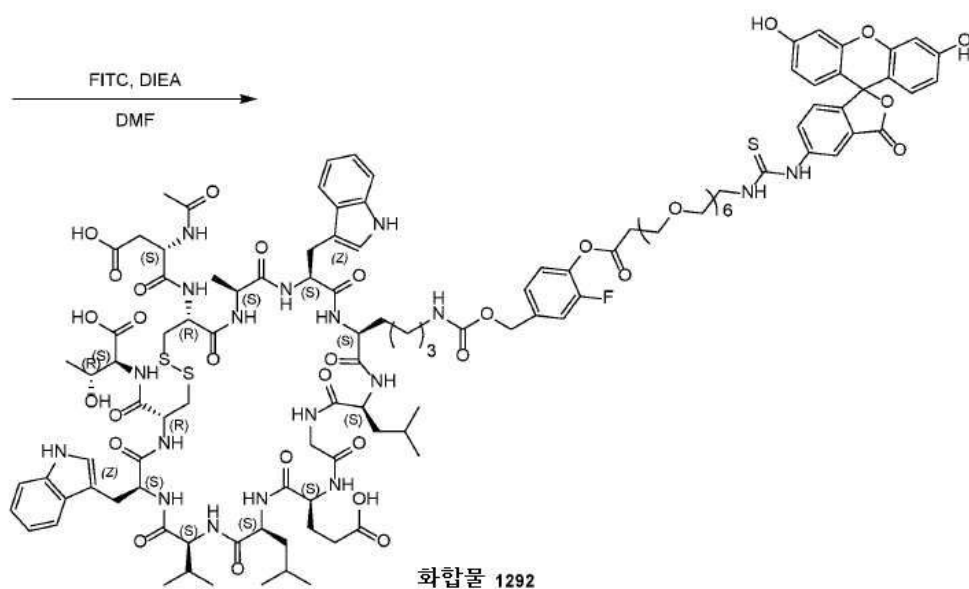
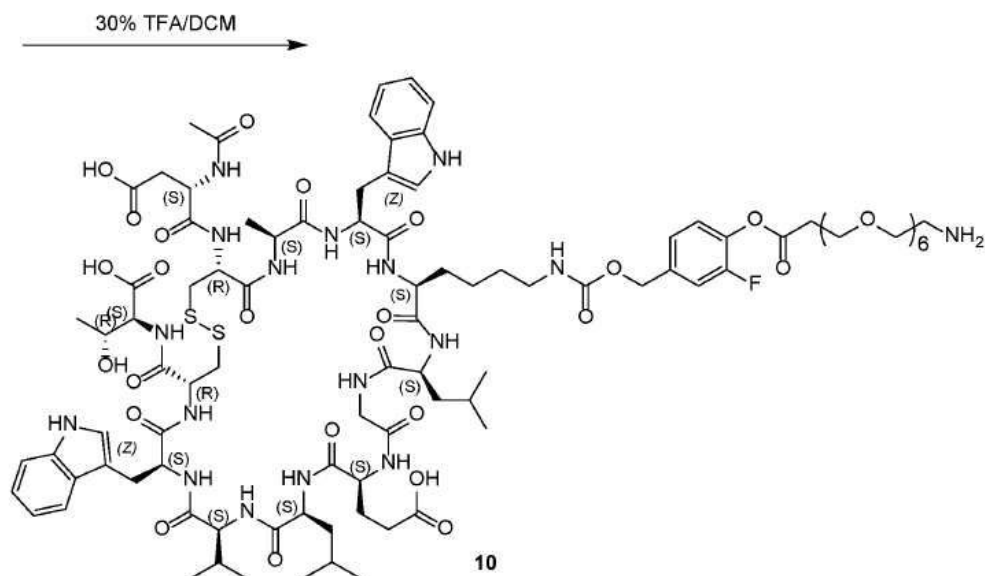
실시에 1의 펩티드 절단 및 고리화 반응에 언급된 절차에 따라 펩티드 절단 및 고리화를 수행하였다. 0.50 mmol 수지로 **화합물 1291** (148.0 mg, 95.5% 순도, 18.1% 수율)을 백색 고체로 얻었다. LCMS: RT = 1.53 분, 계산된 MS: M_{av} = 1563.79, 관찰된 질량: [M + H]⁺ = 1564.40, [M + 2H]²⁺ = 782.80.



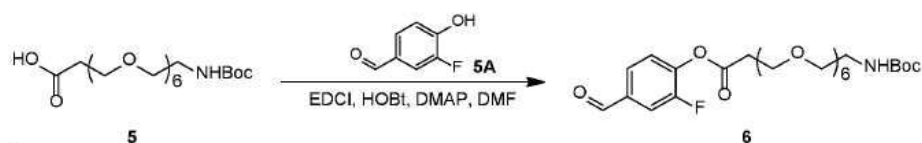
[0208] 실시예3. 화합물 1292의 제조 절차.



[0209]

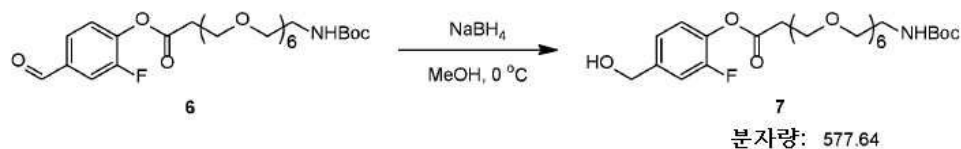


중간체 6의 제조:



DMF (0.2 mL)에서 **중간체 5** (1.40 g, 3.09 mmol, 1.00 당량) 및 **중간체 5A** (1.30 g, 9.26 mmol, 3.00 당량)의 혼합물, HOBT (1.25 g, 9.26 mmol, 3.00 당량), DMAP (188.56 mg, 1.54 mmol, 0.50 당량) 및 EDCI (1.78 g, 9.26 mmol, 3.00 당량)를 25 ° C에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 플래쉬 (C18, A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제한 후, 이어서 동결건조하여 **중간체 6** (1.10 g, 1.91 mmol, 61.9% 수율)을 노란색 오일로 얻었다.

중간체 7의 제조:

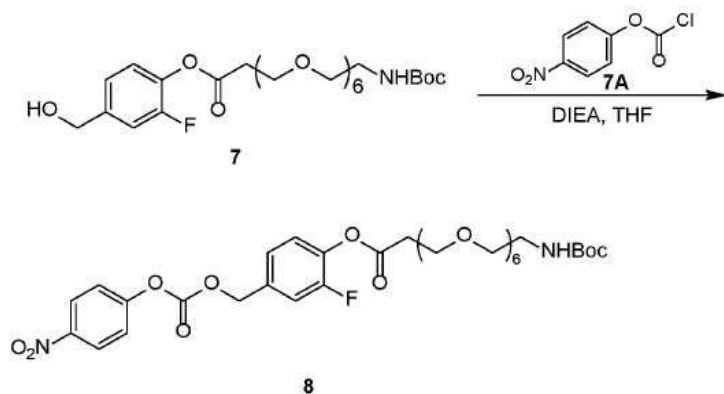


[0216]

중간체 6 (1.85 g, 3.21 mmol, 1.00 당량)의 혼합물을 MeOH (5 mL)에 용해시키고, 반응 혼합물에 MeOH (1 mL) 중 NaBH₄ (145.91 mg, 3.86 mmol, 1.20 당량)를 0 ° C에서 적가하였다. 반응 혼합물을 0 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후, 반응을 LC-MS로 모니터링하고, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화한 다음, 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제한 후, 동결건조하여 무색 오일로 **중간체 7** (1.35 g, 2.34 mmol, 72.7% 수율)을 얻었다. LCMS: RT = 9.3 분, 계산된 MS: M_{av} = 577.64, 관찰된 질량: [M + H]⁺ = 578.30, [M + H₂O + H]⁺ = 595.4, [M - Boc + H]⁺ = 478.37.

[0217]

중간체 8의 제조:



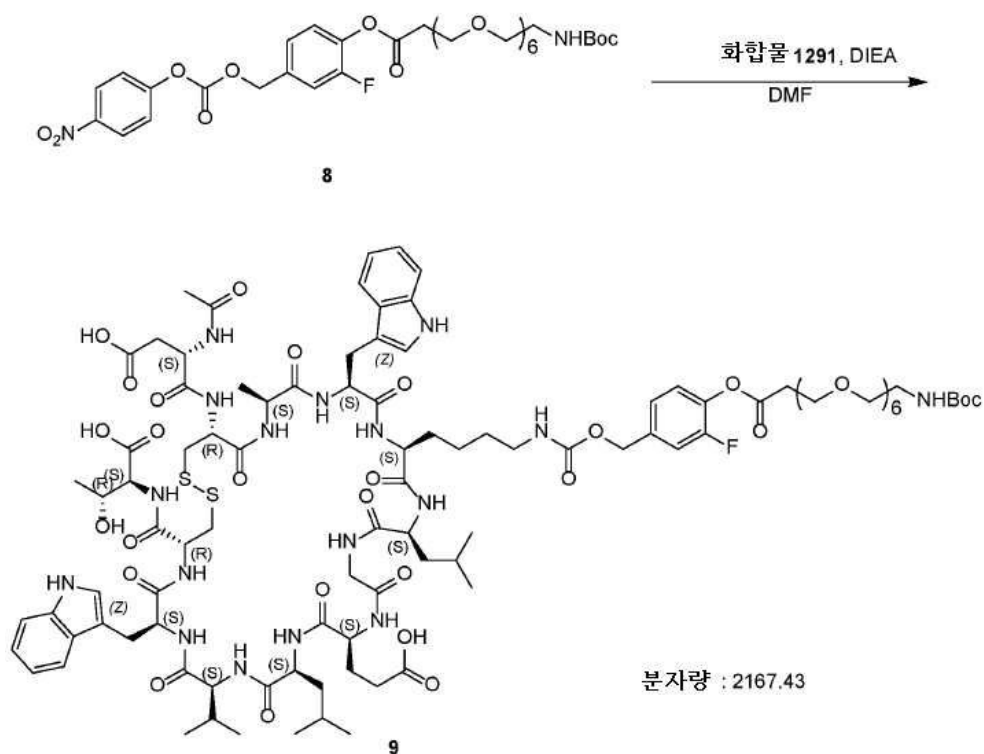
[0218]

분자량:742.74

[0219]

DCM (10 mL) 중 **중간체 7** (1.20 g, 2.08 mmol, 1.00 당량), TEA (420.43 mg, 4.15 mmol, 578.30 μL, 2.00 당량)의 용액에 **중간체 7A** (460.61 mg, 2.29 mmol, 1.10 당량)를 첨가하였다. 반응물을 25 ° C에서 4시간 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링 완료 후, 혼합물을 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제한 후, 동결건조하여 노란색 오일로 **중간체 8** (900.0 mg, 1.21 mmol, 58.3% 수율)을 얻었다. LCMS: RT = 9.3 분, 계산된 MS: M_{av} = 742.74, 관찰된 질량: [M + H]⁺ = 743.2, [M + H₂O + H]⁺ = 761.3, [M - Boc + H]⁺ = 643.3.

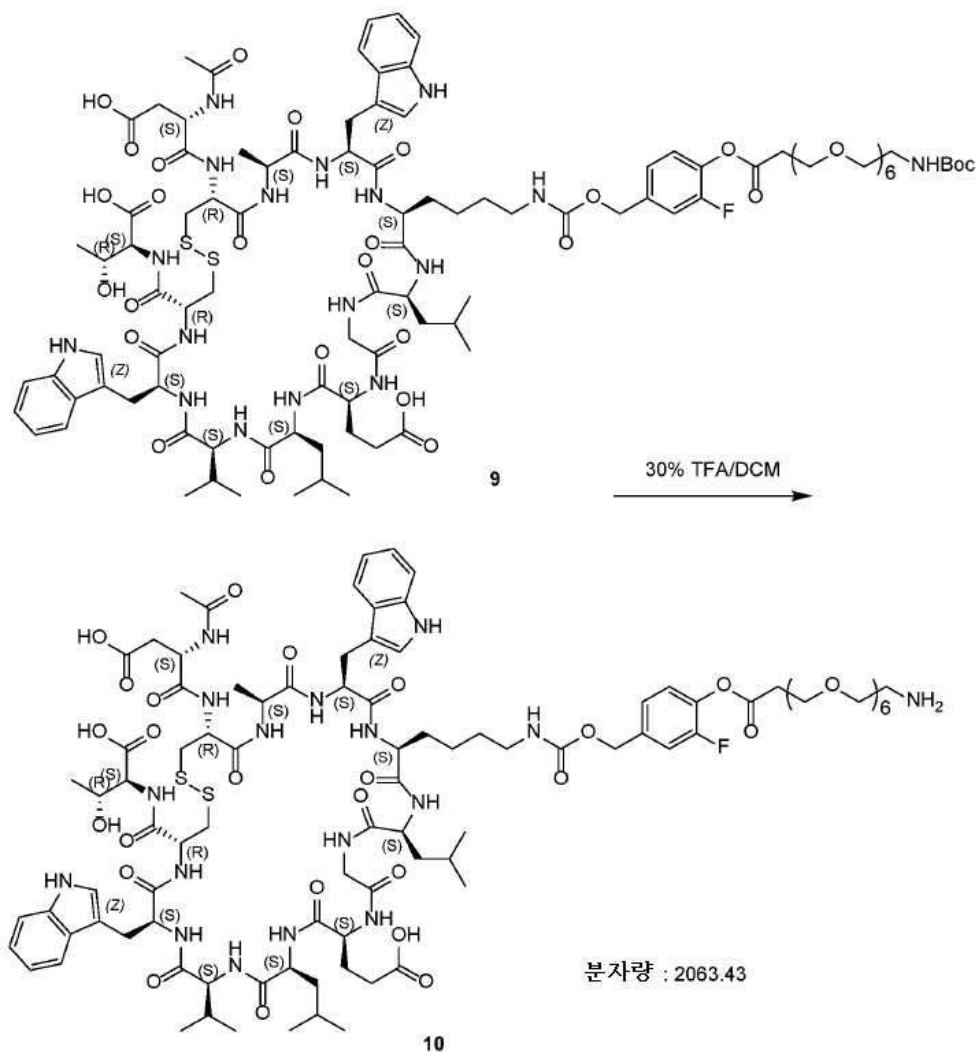
[0220] 중간체 9의 제조:



[0221]

[0222] DMF (5 mL) 중 **중간체 8** (500.00 mg, 667.50 μmol , 2.00 당량) 및 **화합물 1291** (521.5 mg, 333.70 μmol , 1.00 당량)의 혼합물, DIEA (129.0 mg, 174.3 μL , 1.00 mmol, 3.00 당량)를 25 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링 완료 후, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화하고, 그런 다음 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제하고, 이어서 동결건조하여 백색 고체로 **중간체 9** (517.3 mg, 238.69 μmol , 81.2% 순도, 71.5% 수율)를 얻었다. LCMS: RT = 1.05 분, 계산된 MS: $M_{av} = 2167.43$, 관찰된 질량: $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+} = 1034.58$.

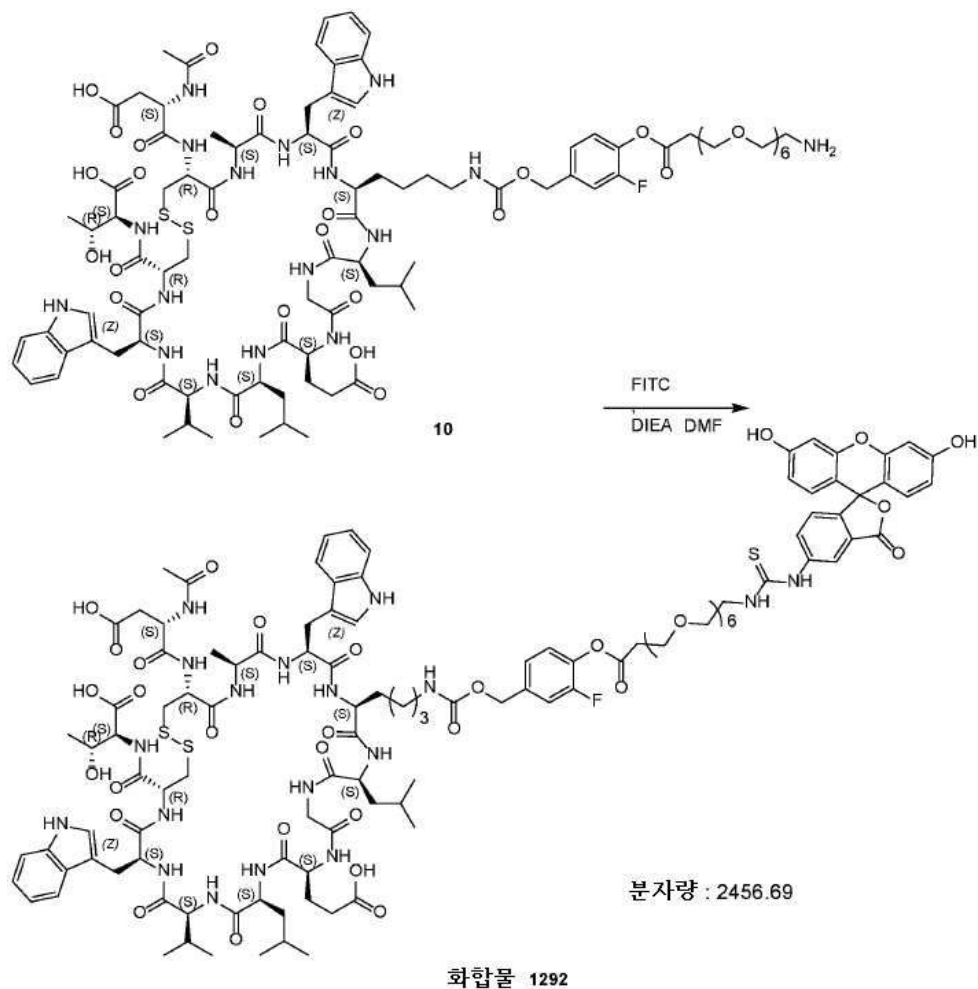
[0223] 중간체 10의 제조:



[0224]

[0225] TFA/DCM (3/7, v/v, 3 mL) 중 **중간체 9** (517.3 mg, 238.69 μmol)의 혼합물을 0 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링을 완료한 후, 감압 하에 용매를 제거하였다. 잔류물을 분취용HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 정제하고, 이어서 동결건조하여 백색 고체로 **중간체 10** (429.27 mg, 207.65 μmol , 87.0% 수율, TFA 염)을 얻었다. UPLC: RT = 0.92 분, 계산된 MS: $M_{\text{calc}} = 2067.43$, 관찰된 질량: $[M + 2H]^{2+} = 1034.12$.

[0226] 화합물 1292의 제조:

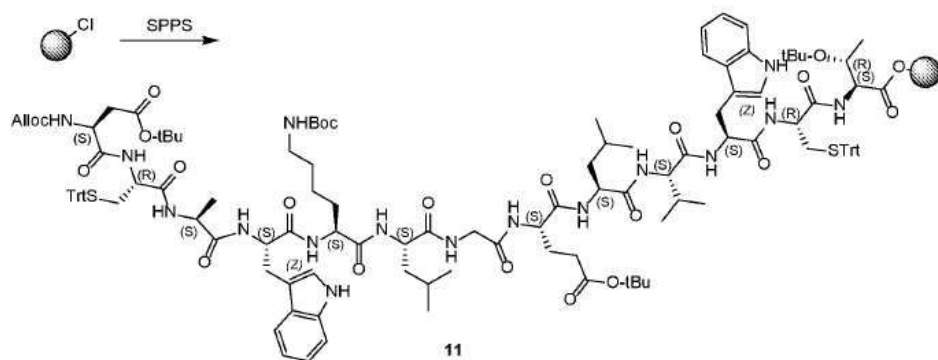
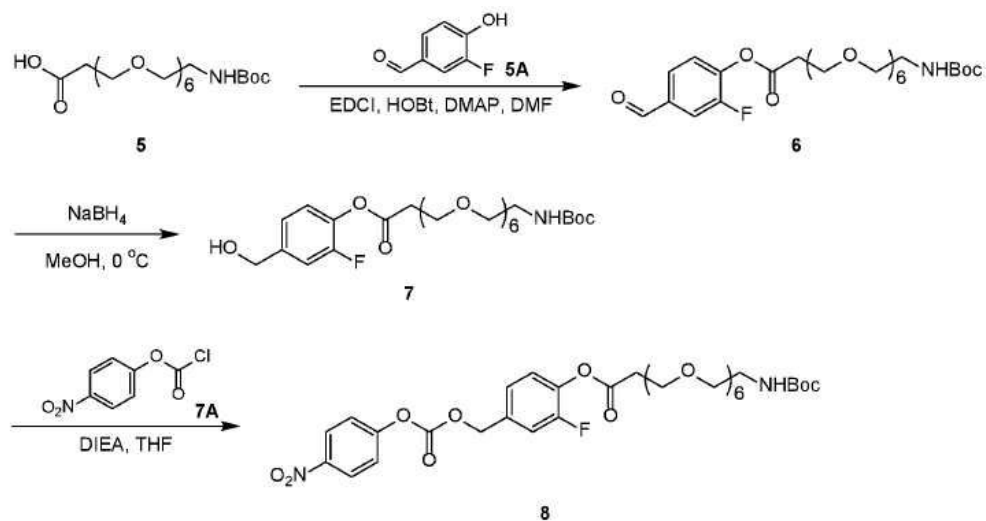


[0227]

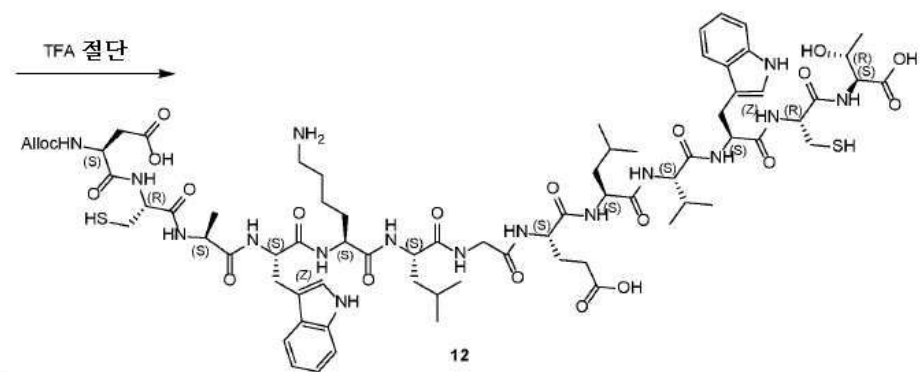
[0228] DMF (0.2 mL) 중 **중간체 10** (429.27 mg, 207.65 μmol , 1.00 당량) 및 **FITC** (121.28 mg, 311.47 μmol , 1.50 당량)의 혼합물에 DIEA (20.76 mg, 934.42 μmol , 162.75 μL , 4.50 당량)를 25 ° C에서 첨가하였다. 혼합물을 25 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링을 완료한 후, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화하고, 그 다음 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN) 직접 정제하고, 이어서 동결건조하여 노란색 오일로 **화합물 1292** (115.0 mg, 92.0% 순도, 22.5% 수율)를 얻었다. LCMS: RT = 2.08 분, 계산된 MS: M_{av} = 2456.69, 관찰된 질량: $[M + 2H]^{2+}$ = 1229.1, $[M + 3H]^{3+}$ = 819.7, $[2M + 3H]^{3+}$ = 1637.9.

[0229]

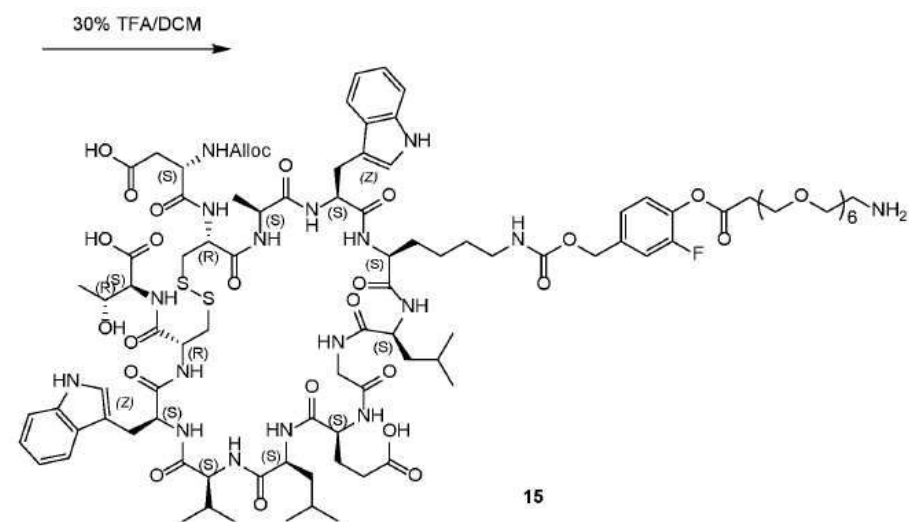
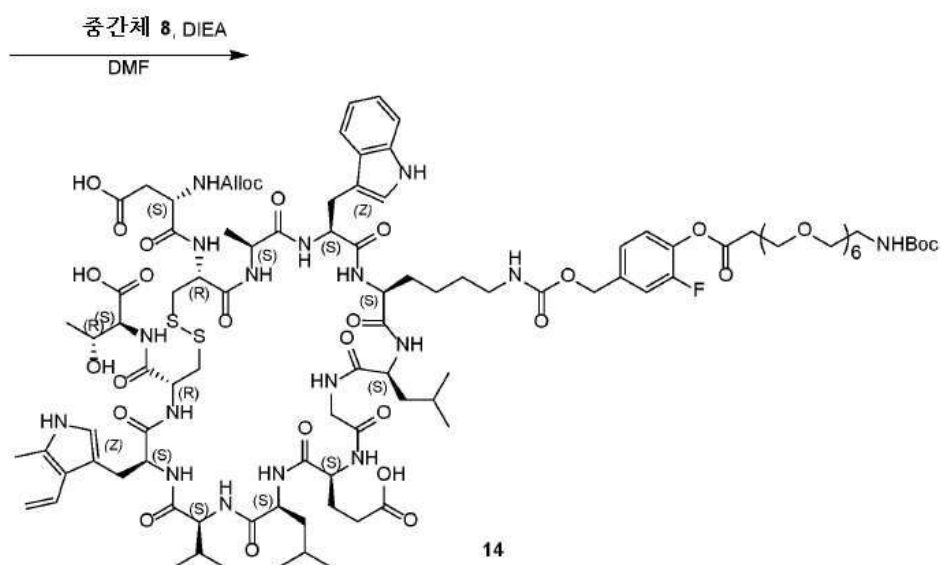
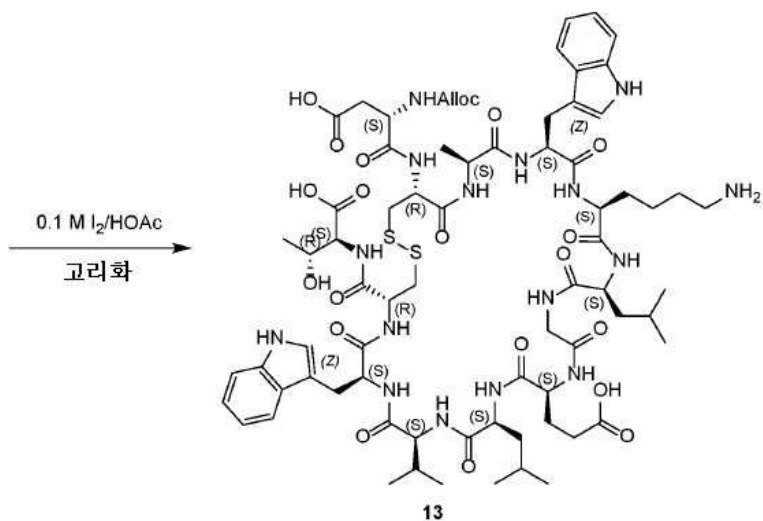
실시예 4. 화합물 1294의 제조 절차.

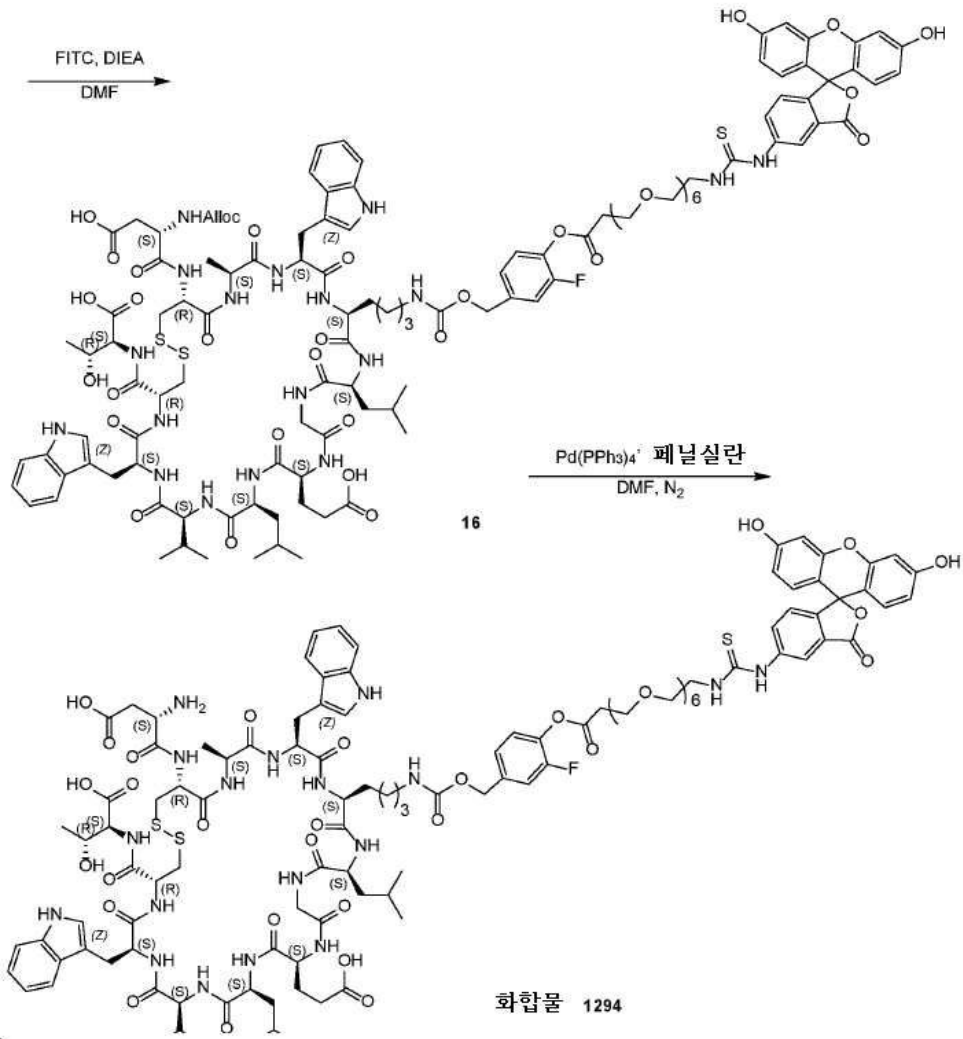


[0230]



[0231]

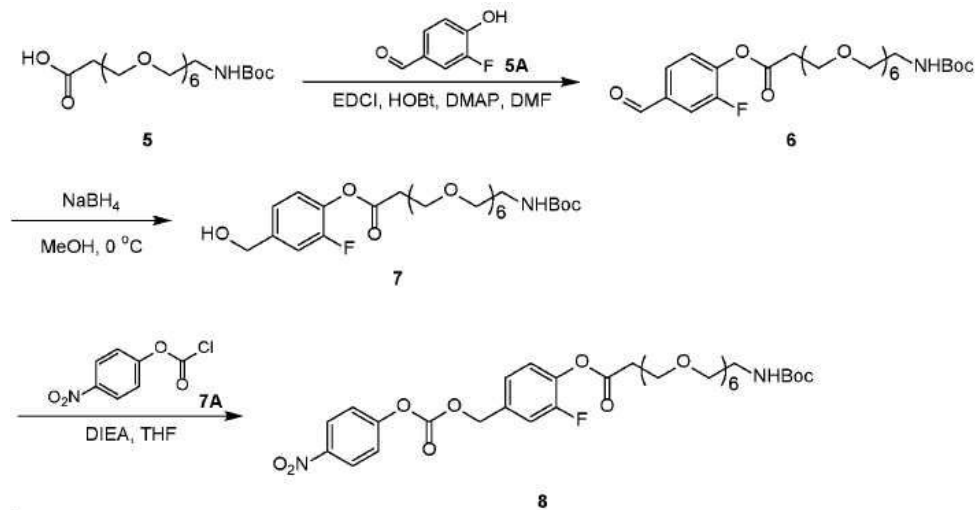




[0234]

[0235]

중간체 6, 7, 8의 제조:

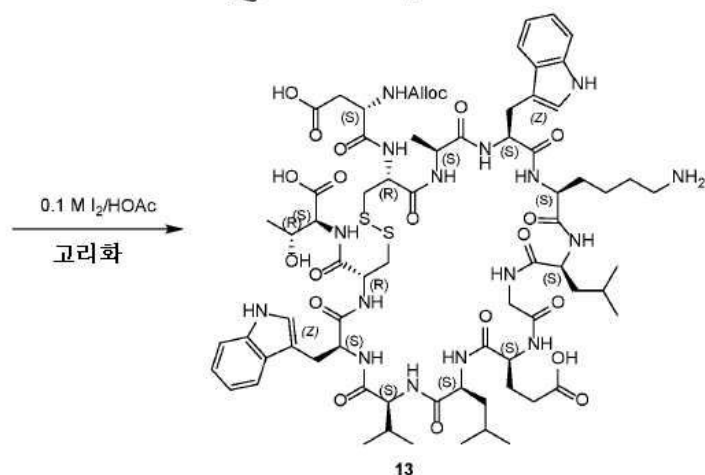
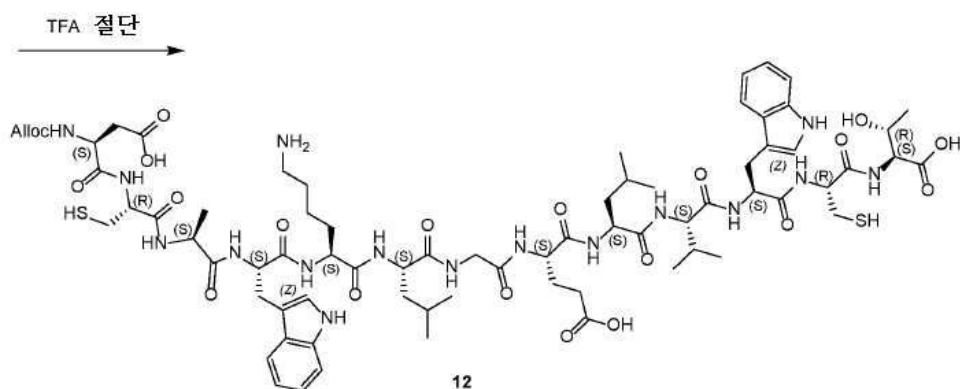
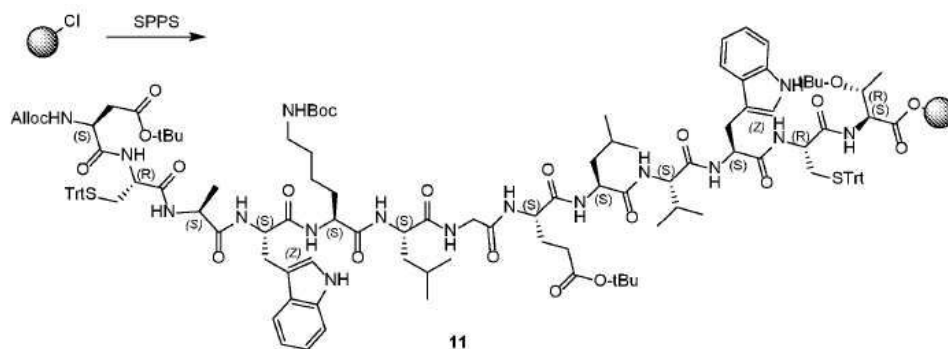


[0236]

[0237]

실시에 3의 중간체 6, 7, 8의 제조에서 언급된 절차에 따라 중간체 6, 7, 8을 합성하였다.

중간체 13의 제조:



표준 Fmoc 화학을 사용하여 펩티드를 합성하였다 (CTC 수지).

수지 제조: DCM (10 mL) 중 CTC 수지 (1.00 g, 1.00 mmol, 1.00 mmol/g) 및 Fmoc-Thr(tBu)-OH (397.0 mg, 1.00 mmol, 1.00 당량)를 함유하는 용기에 DIEA (4.00 당량)를 적가하고 25 ° C에서 N2 버블링과 함께 2시간 동안 혼합하였다. 그런 다음 MeOH (1.0 mL)를 첨가하고 추가 30분 동안 N2로 버블링하였다. 수지를 DMF (20 mL)로 세척하고, 이어서 DMF (10 mL) 중 20% 피페리딘을 첨가하고 Fmoc 탈보호를 위해 25 ° C에서 30분 동안 N2로 버블링하였다. 혼합물을 여과하고 다음 단계로 넘어가기 전에 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

커플링: DMF (10 mL) 중 Fmoc-Cys(Trt)-OH (1.76 g, 3.0 mmol, 3.00 당량), HBTU (0.82 g, 2.86 mmol, 2.85 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 이어서 DIEA (6.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색을 나타내면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (20 mL)로 세척하였다.

탈보호: DMF (20 mL) 중 20% 피페리딘을 수지에 첨가하고 혼합물을 25 ° C에서 30분 동안 N2로 버블링하였다. 탈보호 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 파란색 또는 갈색을 띠는 빨간색을 나타내면, 반응이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (20 mL)로 세척하였다.

[0245] 다음의 아미노산 신장을 위해 단계 2 및 3을 반복하였다: 번호 # 3-13, 표3.

[0246] N-말단에 대한 Alloc-Cl 커플링: 수지를 DCM (20 mL)으로 세척하였다. DCM (10 mL) 중 Allo-Cl (0.72 g, 6.0 mmol, 6.00 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 이어서 DIEA (12.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색을 나타내면, 반응이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DCM (50 mL) * 3, DMF (50 mL) * 3, MeOH (50 mL) * 3로 세척한 후, 감압 하에 건조하여 수지 결합된 펩티드 **중간체 11** (CTC 수지, 2.35 g, 1.00 mmol)을 얻었다.

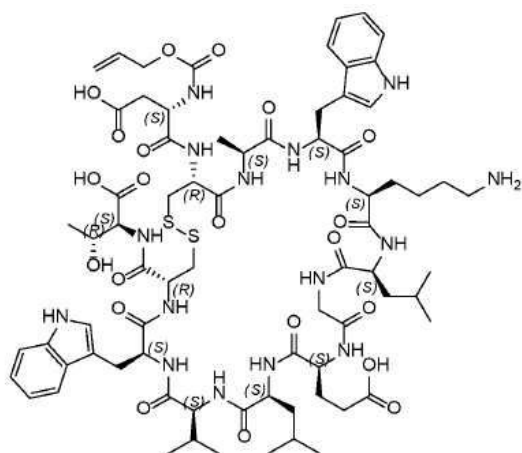
표 4. SPPS 상 사용된 아미노산 및 해당 시약의 목록		
#	물질	커플링 시약
1	Fmoc-Thr(tBu)-OH (1.00 당량)	DIEA (4.00 당량)
2	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
3	Fmoc-Trp-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
4	Fmoc-Val-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
5	Fmoc-Leu-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
6	Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
7	Fmoc-Gly-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
8	Fmoc-Leu-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
9	Fmoc-Lys(Dde)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
10	Fmoc-Trp-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
11	Fmoc-Ala-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
12	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
13	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
14	Alloc-Cl (6.00 당량)	DIEA (12.00 당량)

[0247]

[0248] 펩티드 절단 및 고리화:

[0249] 절단: TFA/TIS/H₂O/ 3-메르캅토프로판산(92.5/2.5/2.5/2.5, v/v/v, 40 mL)의 용액을 상온에서 상기 수지(중간체 11, 1.00 mmol)에 첨가하고 2시간 동안 교반하였다. 여과 후, 여과액을 모으고 차가운 이소프로필 에테르 (400 mL)로 침전시킨 후, 여과하고, 고체를 이소프로필 에테르 (200 mL)로 2번 세척하고, 조 펩티드를 감압 하에 2시간 동안 건조하여 백색 고체로 중간체 12 (1.00 mmol, 조물질)를 얻었다.

[0250] 고리화: MeCN/H₂O (1/1, v/v, 1000 mL) 중 조 펩티드 (**중간체 12**)에 노란색이 유지될 때까지 0.1 M I₂/AcOH를 적가한 후, 혼합물을 25 ° C에서 5분 동안 교반하였다. 노란색이 사라질 때까지 0.1 M aq. Na₂S₂O₃를 적가하여 혼합물을 퀀칭하였다. 여과 후, 여과액을 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 정제하고, 이어서 동결 건조하여 백색 고체로 **중간체 13** (280.5 mg, 17.4% 수율)을 얻었다. LCMS: RT = 7.9 분, 계산된 MS: M_{av} = 1605.83, 관찰된 질량: [M + H]⁺ = 1606.80, [M + 2H]²⁺ = 803.52.

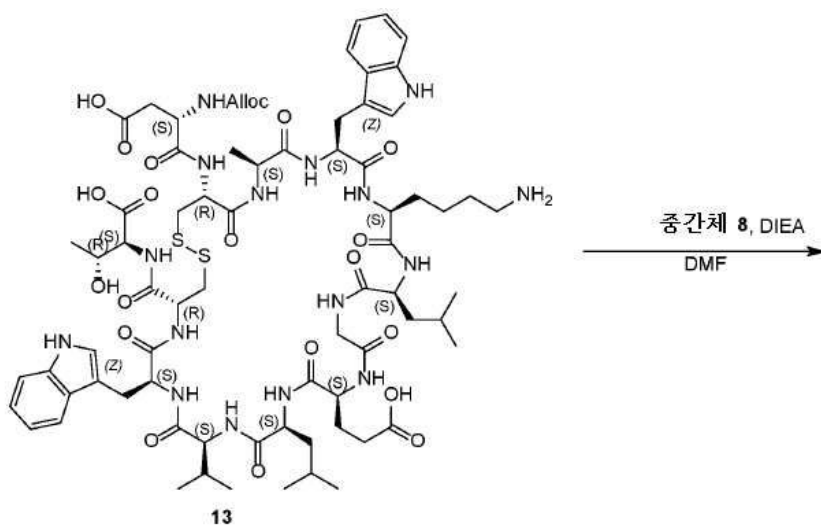


분자량 : 1605.83

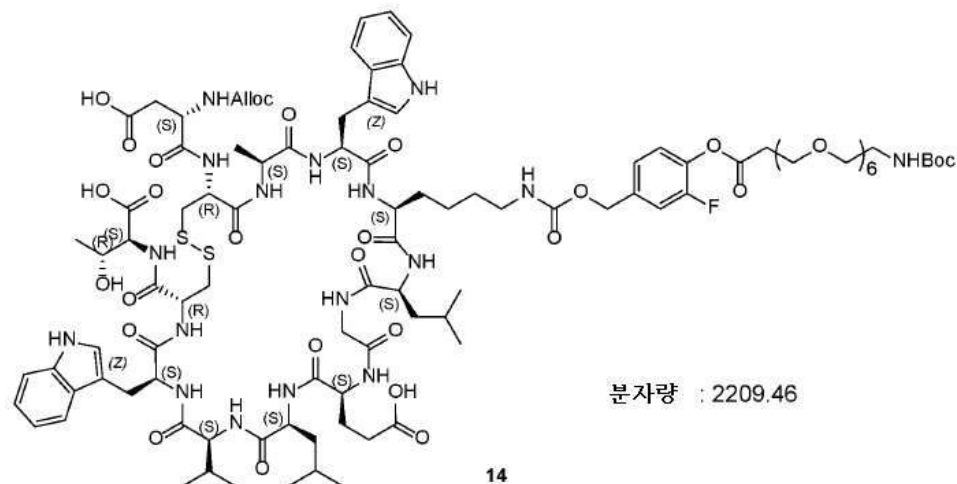
중간체 13

[0251]

[0252] 중간체 14의 제조:



13



분자량 : 2209.46

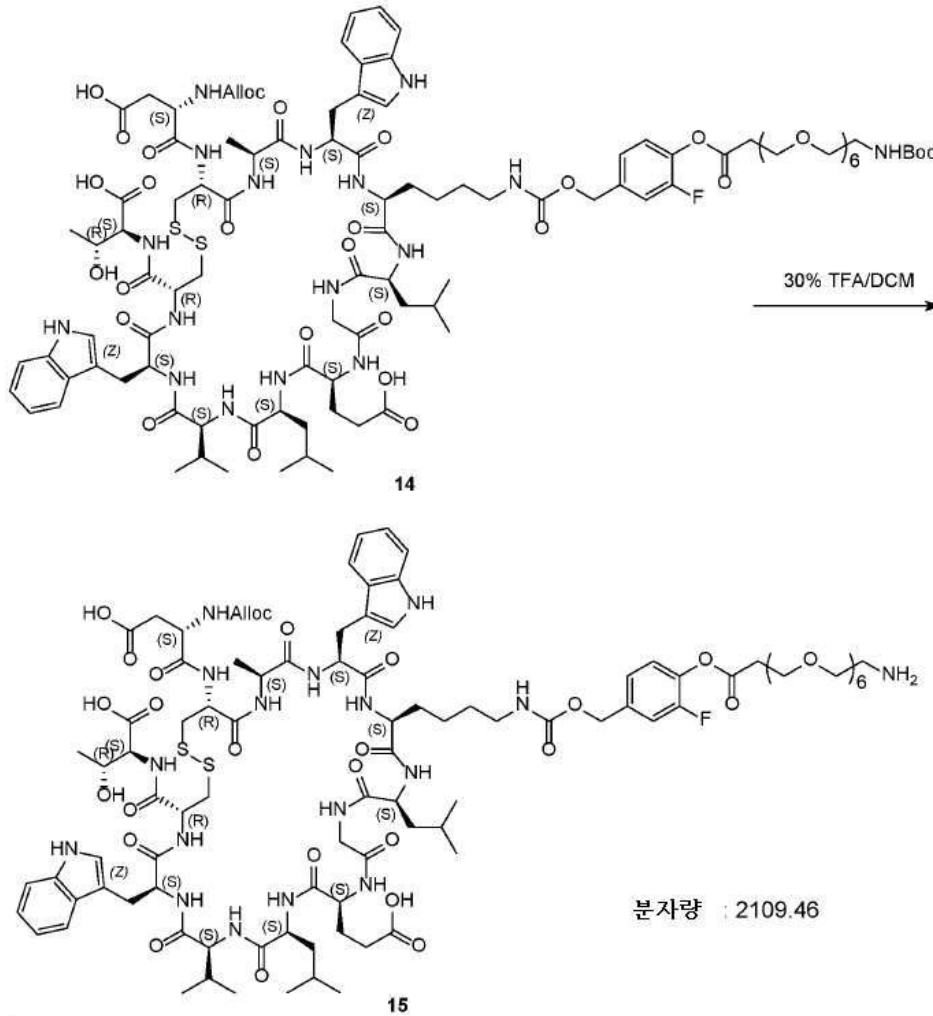
14

[0253]

[0254] DMF (5 mL) 중 중간체 8 (475.28 mg, 0.63 mmol, 2.00 당량) 및 중간체 13 (500.0 mg, 0.31 mmol, 1.00 당량)의 혼합물, DIEA (120.5 mg, 162.9 μ L, 0.93 mmol, 3.00 당량)를 25 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링을 완료한 후, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화한 후, 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제하고, 이어서 동결건조하여 백색 고체로 **중간체 14** (517.3 mg, 74.6% 수율)를 얻었다. LCMS: RT = 0.960 분, 계산된 MS: $M_{av} = 2209.46$, 관찰된 질량: $[M - Boc + 2H]^{2+} = 1055.28$.

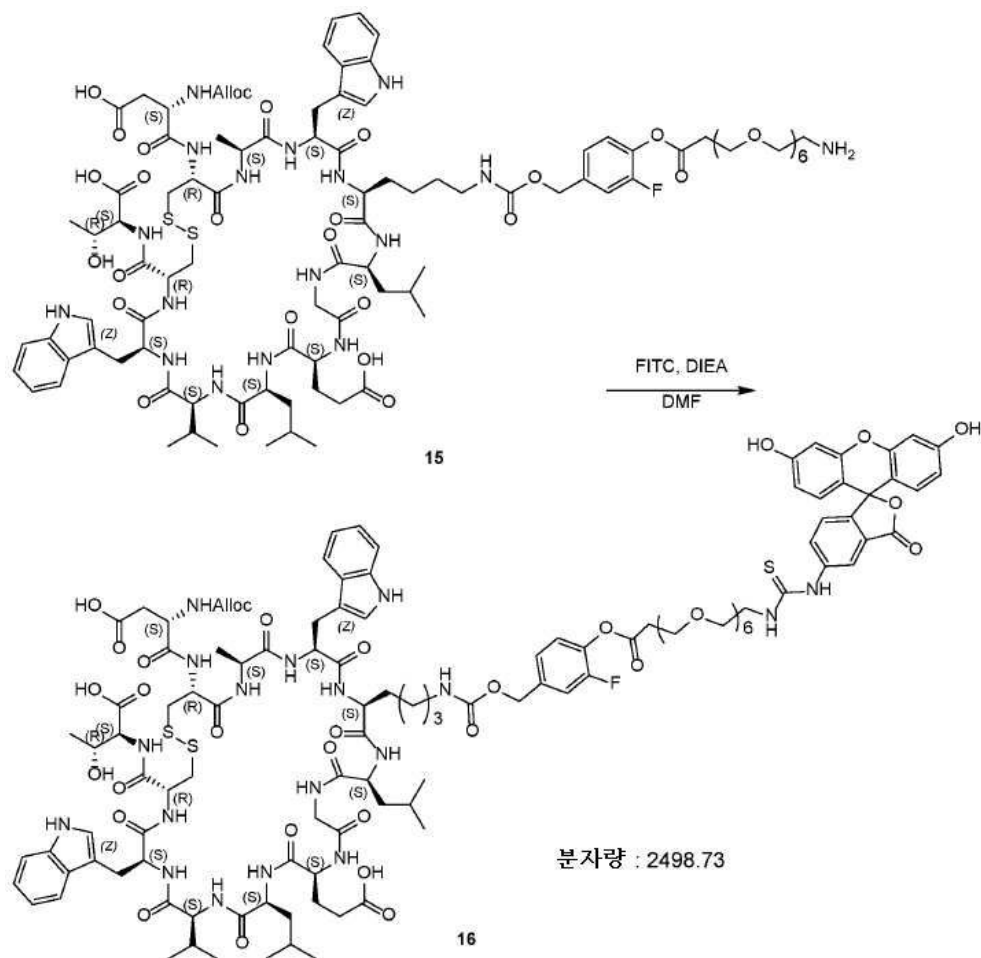
[0255] **중간체 15의 제조:**

[0256] TFA/DCM (3/7, 5 mL) 중 **중간체 14** (517.3 mg)의 혼합물을 0 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링을 완료한 후, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화하고, 그런 다음 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제하고, 이어서 동결건조하여 백색 고체로 **화합물 1579** (437.0 mg, 97.9% 순도, 88.4% 수율, TFA 염)를 얻었다.



[0257]

[0258] 중간체 16의 제조:

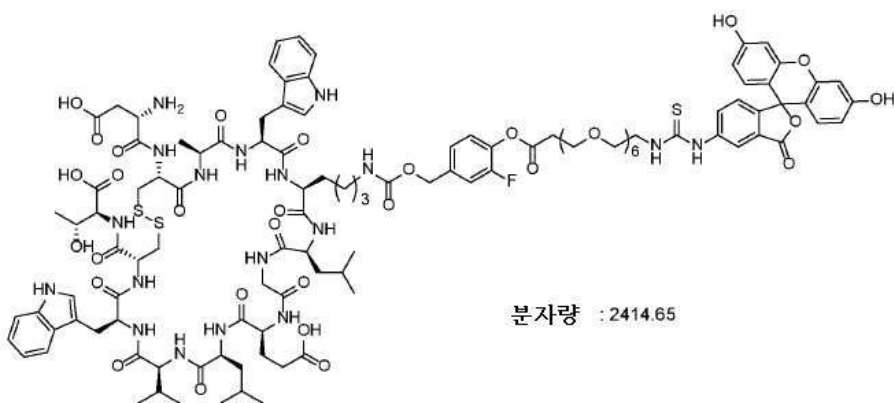
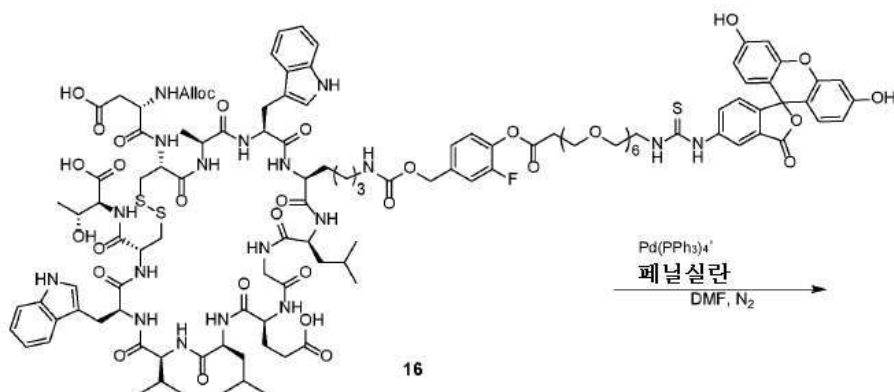


[0259]

[0260]

DMF (0.2 mL) 중 **중간체 15** (437.0 mg, 207.2 μmol , 1.00 당량) 및 **FITC** (120.8 mg, 310.80 μmol , 1.50 당량)의 혼합물에 DIEA (120.7 mg, 162.5 μL , 932.4 μmol , 4.50 당량)를 25 ° C에서 첨가하였다. 혼합물을 25 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링을 완료한 후, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화한 후, 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제하고, 이어서 동결건조하여 노란색 고체로 **중간체 16** (300.0 mg, 92.5% 순도, 57.9% 수율)을 얻었다. LCMS: RT = 9.3 분, 계산된 MS: $M_{\text{av}} = 2498.73$, 관찰된 질량: $[M + 2H]^{2+} = 1249.87$.

[0261] 화합물1294의 제조:

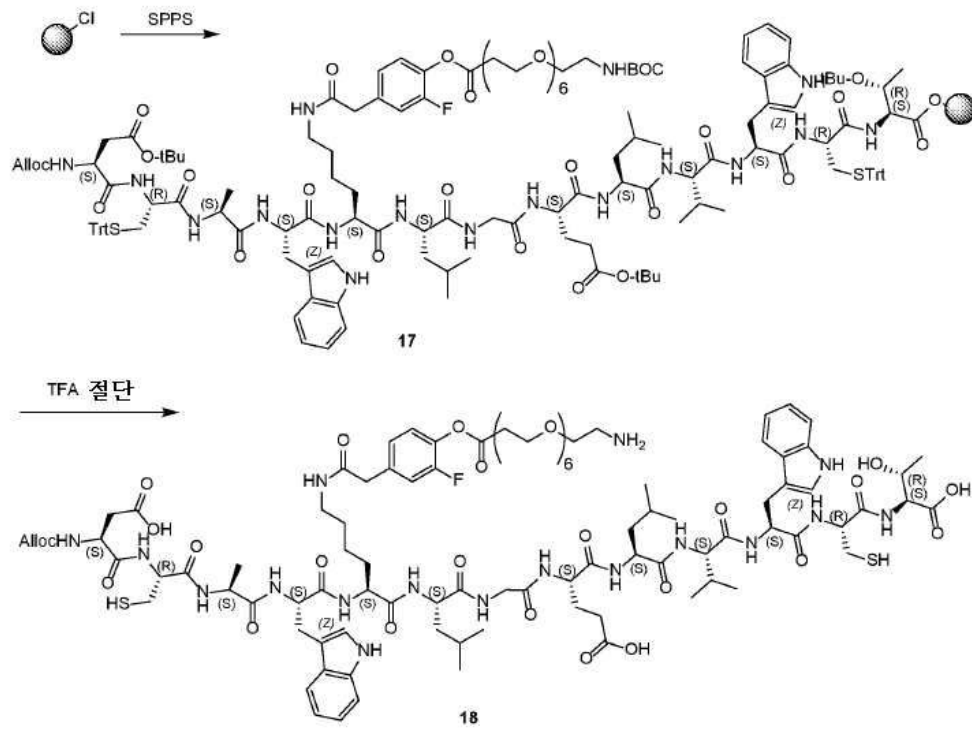


화합물 1294

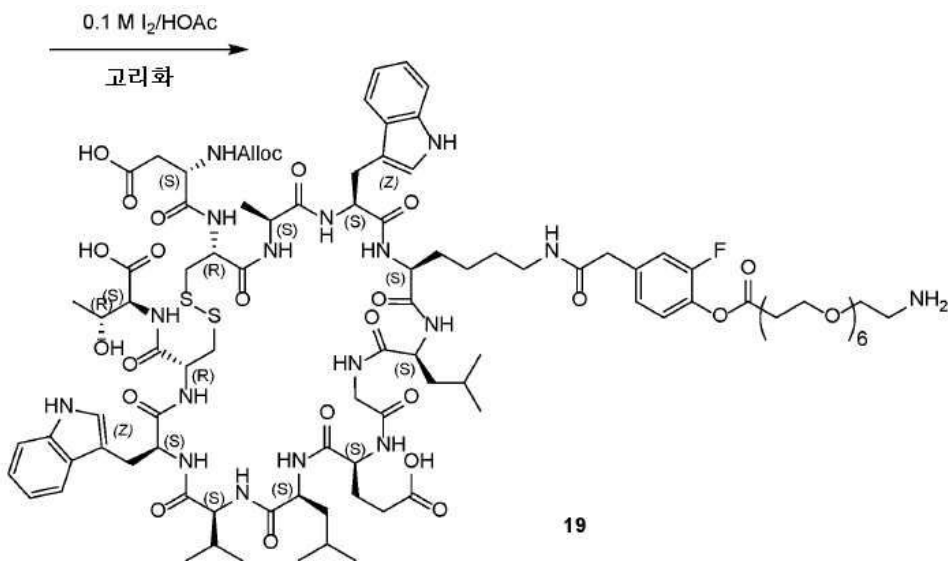
[0262]

[0263] DMF (3 mL) 중 용해된 **중간체 16** (300.0 mg, 120.06 μmol , 1.00 당량)의 혼합물에 $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (20.81 mg, 18.01 μmol , 0.15 당량) 및 페닐실란 (129.92 mg, 1.20 mmol, 148.14 μL , 10.00 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20 ° C에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 반응물을 0 ° C에서 5분 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링을 완료한 후, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화하고, 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제하고, 이어서 동결건조하여 노란색 고체로 **화합물 1294** (98.3 mg, 87.0% 순도, 29.5% 수율)를 얻었다. LCMS: RT = 2.02 분, 계산된 MS: M_{av} = 2414.65, 관찰된 질량: $[2M + 3H]^{3+}$ = 1610.6, $[M + 2Na]^{2+}$ = 1230.5, $[M + H + Na]^{2+}$ = 1219.3, $[M + 2H]^{2+}$ = 1208.1, $[M + 3H]^{3+}$ = 805.8.

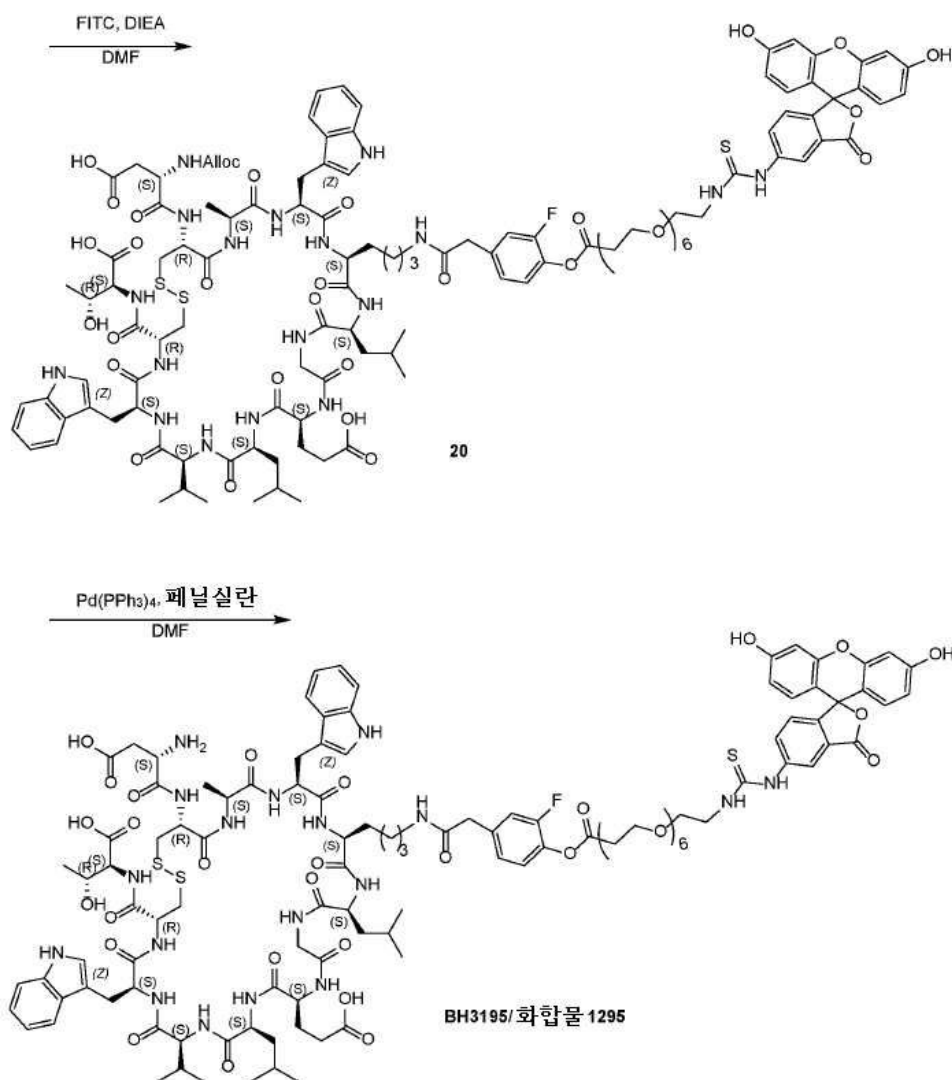
[0264] 실시예 5. 화합물 1295의 제조 절차.



[0265]



[0266]



중간체 19의 제조:

표준 Fmoc 화학을 사용하여 펩티드를 합성하였다 (CTC 수지).

수지 제조: DCM (5 mL) 중 CTC 수지 (0.50 g, 0.50 mmol, 1.00 mmol/g) 및 Fmoc-Thr(tBu)-OH (198.5 mg, 0.50 mmol, 1.00 당량)가 함유된 용기에 DIEA (4.00 당량)를 적가하고 25 ° C에서 N₂ 버블링과 함께 2시간 동안 혼합하였다. 그런 다음 MeOH (0.5 mL)를 첨가하고 추가 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 수지를 DMF (10 mL)로 세척하고, 이어서 DMF (10 mL) 중 20% 피페리딘을 첨가하고 탈보호를 위해 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 혼합물을 여과하고 다음 단계로 진행하기 전에 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

커플링: DMF (5 mL) 중 Fmoc-Cys(Trt)-OH (0.88 g, 1.5 mmol, 3.00 당량), HBTU (0.41 g, 1.43 mmol, 2.85 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그런 다음 DIEA (6.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색을 나타내면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (20 mL)로 세척하였다.

탈보호: DMF (10 mL) 중 20% 피페리딘을 수지에 첨가하고 혼합물을 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 탈보호 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 파란색 또는 갈색을 띤 빨간색을 나타내면, 반응이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

다음의 아미노산 신장을 위해 반응 2 및 3을 반복하였다: 번호 # 3-9, 표 4.

커플링: DMF (5 mL) 중 2-(3-플루오로-4-히드록시페닐)아세트산 (253.5 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량), HOBt (189.0 mg, 202.5 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그런 다음 DIC (1.50 mmol, 3.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드

린 테스트로 모니터링하고, 무색으로 나타나면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0275] Dde 탈보호: DMF (10 mL) 중 3% 히드라진 수화물을 N₂버블링과 함께 30분 동안 수지에 첨가하였다. 탈보호 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 파란색 또는 갈색을 띤 빨간색을 나타내면, 반응이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0276] 커플링: DMF (5 mL) 중 Fmoc-Trp-OH (639.0 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량), HOBt (202.5 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그런 다음 DIC (1.50 mmol, 3.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링 하고, 무색을 나타내면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0277] 탈보호: DMF (10 mL) 중 20% 피페리딘을 수지에 첨가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 탈보호 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 파란색 또는 갈색을 띤 빨간색을 나타내면, 반응이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0278] 다음의 아미노산 신장을 위해 단계 7 및 8을 반복하였다: 번호# 11-14, 표 5.

[0279] N-말단 상 Alloc-Cl 커플링: 수지를 DCM (20 mL)로 세척하였다. DCM (10 mL) 중 Allo-Cl (0.36 g, 3.0 mmol, 6.00 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그런 다음 DIEA (6.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색을 나타내면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DCM (50 mL), DMF (50 mL)로 세척하였다.

[0280] 커플링: DMF (5 mL) 중 BocHN-PEG6-CH₂CH₂COOH (700.0 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량), HOBt (202.5 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량), DMAP (61.0 mg, 0.50 mmol, 1.00 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그리고 나서 DIC (1.50 mmol, 3.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 16시간 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색을 나타내면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL), MeOH (50 mL)로 세척하고, 감합 하에 건조하여 수지 결합된 펩티드 **중간체 17** (CTC 수지, 1.30 g, 0.50 mmol)을 얻었다.

표 5. SPPS 상 사용된 아미노산 및 해당 시약의 목록

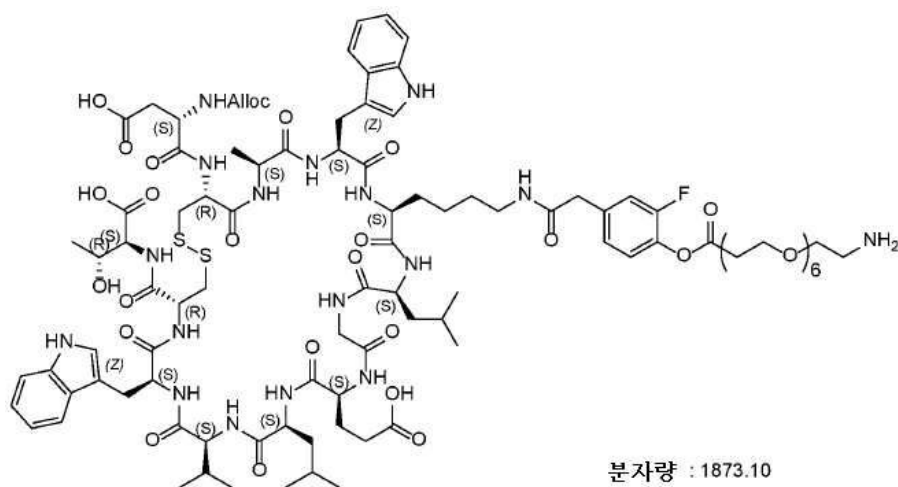
#	물질	커플링 시약
1	Fmoc-Thr(tBu)-OH (1.00 당량)	DIEA (4.00 당량)
2	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
3	Fmoc-Trp-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
4	Fmoc-Val-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
5	Fmoc-Leu-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
6	Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
7	Fmoc-Gly-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
8	Fmoc-Leu-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
9	Dde-Lys(Fmoc)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
10	2-(3-플루오로-4-히드록시페닐)아세트산 (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
11	Fmoc-Trp-OH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
12	Fmoc-Ala-OH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
13	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
14	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
15	Alloc-Cl (6.00 당량)	DIEA (12.00 당량)
16	BocHN-PEG6-CH ₂ CH ₂ COOH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량), HOBt (3.00 당량), DMAP (3.00 당량)

[0281]

[0282] 펩티드 절단 및 고리화:

[0283] 절단: TFA/TIS/H₂O/3-메르캅토프로판산(92.5/2.5/2.5/2.5, v/v/v, 30 mL)의 용액을 실온에서 수지 (중간체 17, 0.50 mmol)에 첨가하고 2시간 동안 교반하였다. 여과 후, 여과액을 모으고 차가운 이소프로필 에테르 (150 mL)로 침전시킨 후, 여과하고, 고체를 이소프로필 에테르 (100 mL)로 2번 세척하고, 조 펩티드를 감압 하에 2시간 동안 건조하여 백색 고체로 중간체 18 (0.50 mmol, 조물질)을 얻었다.

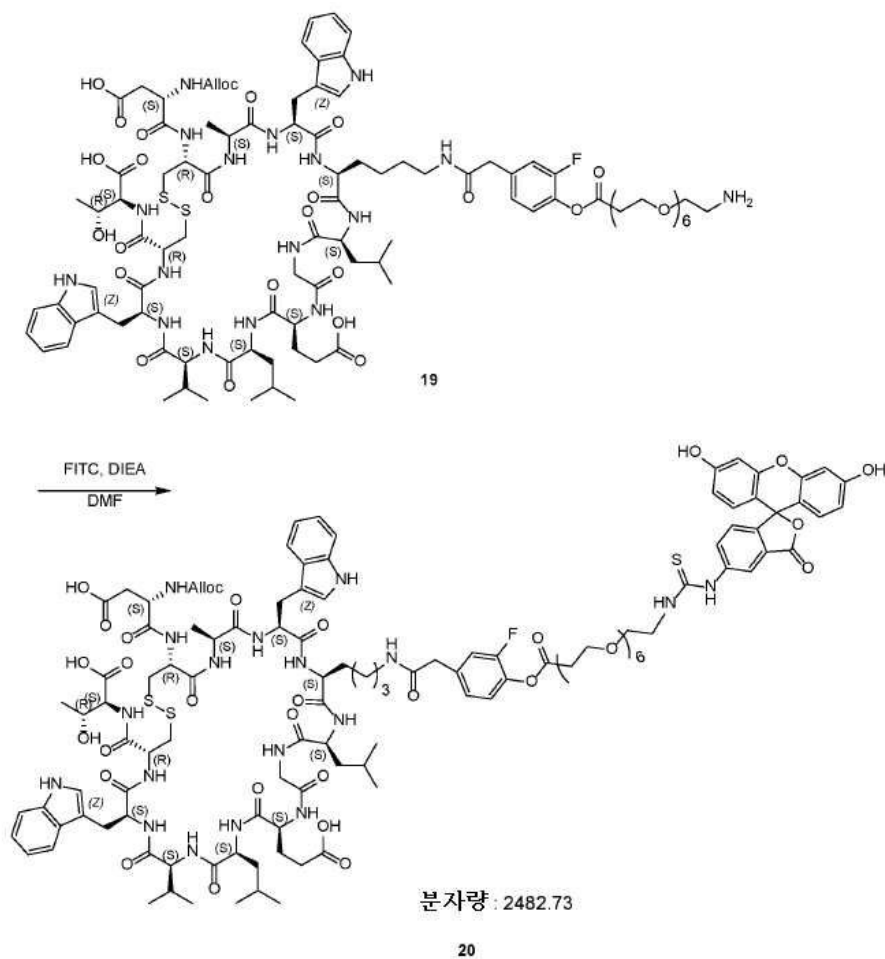
[0284] 고리화: MeCN/H₂O (1/1, v/v, 500 mL) 중 조 펩티드 (중간체 18)에 노란색이 유지될 때까지 0.1 M I₂/AcOH를 적가하고, 그런 다음 혼합물을 25 ° C에서 5분 동안 교반하였다. 노란색이 사라질 때까지 0.1 M aq. Na₂S₂O₃를 적가하여 혼합물을 퀀칭하였다. 여과 후, 여과액을 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 정제하고, 이어서 동결건조하여 백색 고체로 중간체 19 (150.1 mg, 94.6% 순도, 14.3% 수율)를 얻었다. LCMS: RT = 1.00 분, 계산된 MS: M_{av} = 2093.35, 관찰된 질량: [M + 2H]²⁺ = 1048.2, [M + 3H]³⁺ = 880.56.



분자량 : 1873.10
중간체 19

[0285]

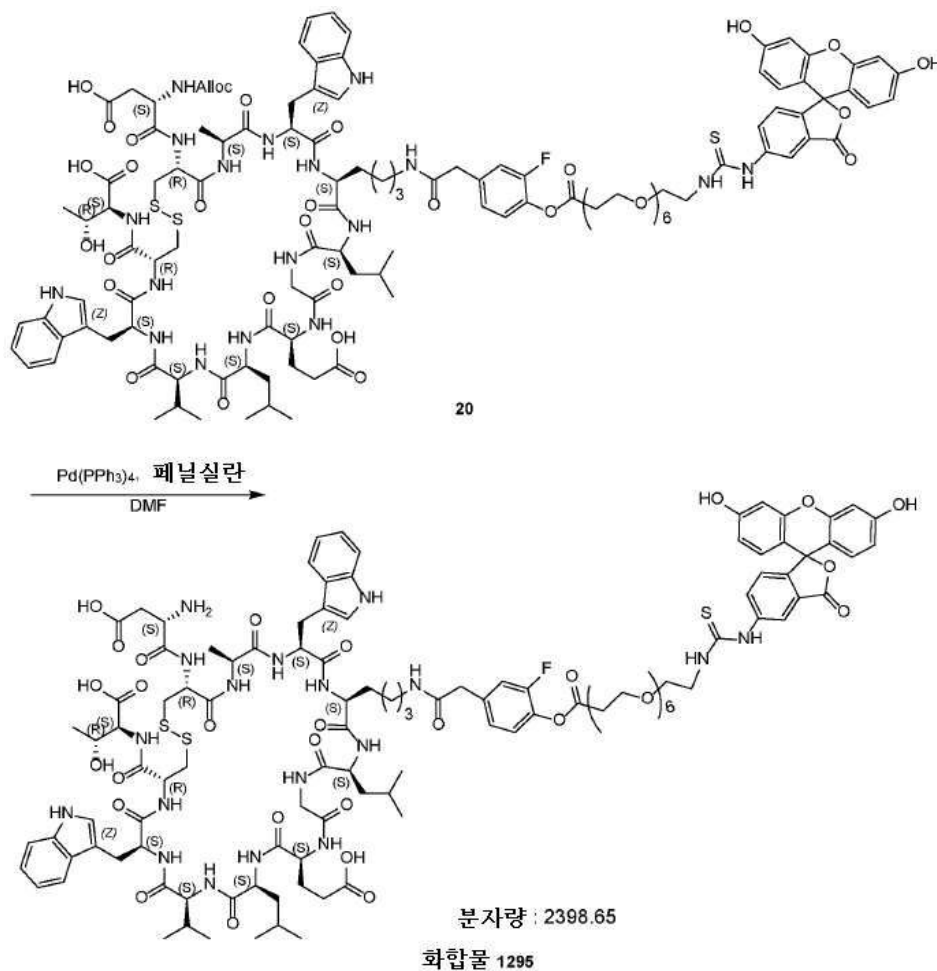
[0286] 중간체 20의 제조:



[0287]

[0288] DMF (2 mL) 중 **중간체 19** (150.1 mg, 71.7 μmol , 1.00 당량) 및 **FITC** (41.9 mg, 107.55 μmol , 1.50 당량)의 혼합물에 25 ° C에서 DIEA (27.7 mg, 37.5 μL , 515.1 μmol , 3.00 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링을 완료한 후, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화한 후, 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제하고, 이어서 동결건조하여 노란색 고체로 **중간체 20** (80.3 mg, 77.4% 순도, 34.9% 수율)을 얻었다. LCMS: RT = 1.06 분, 계산된 MS: M_{av} = 2482.73, 관찰된 질량: $[2M + 3H]^{3+}$ = 1655.79, $[M + 2H]^{2+}$ = 1242.10, $[M + 3H]^{3+}$ = 828.31, $[M + 4H]^{4+}$ = 621.72.

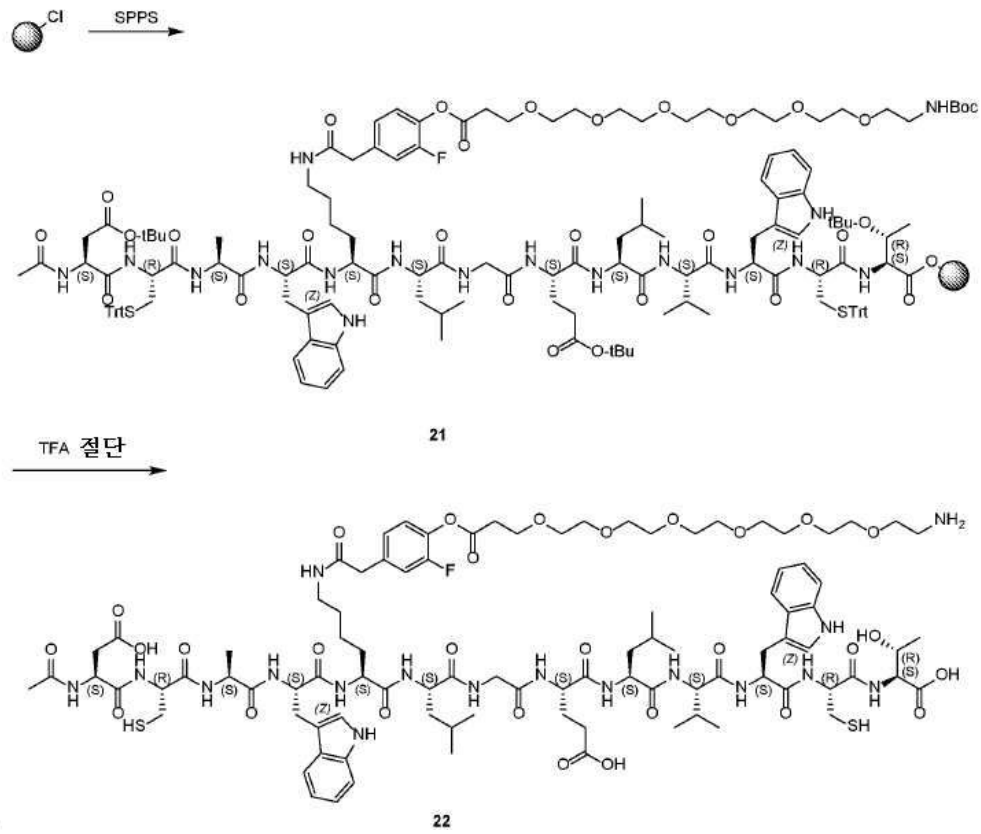
[0289] 화합물 1295의 제조:



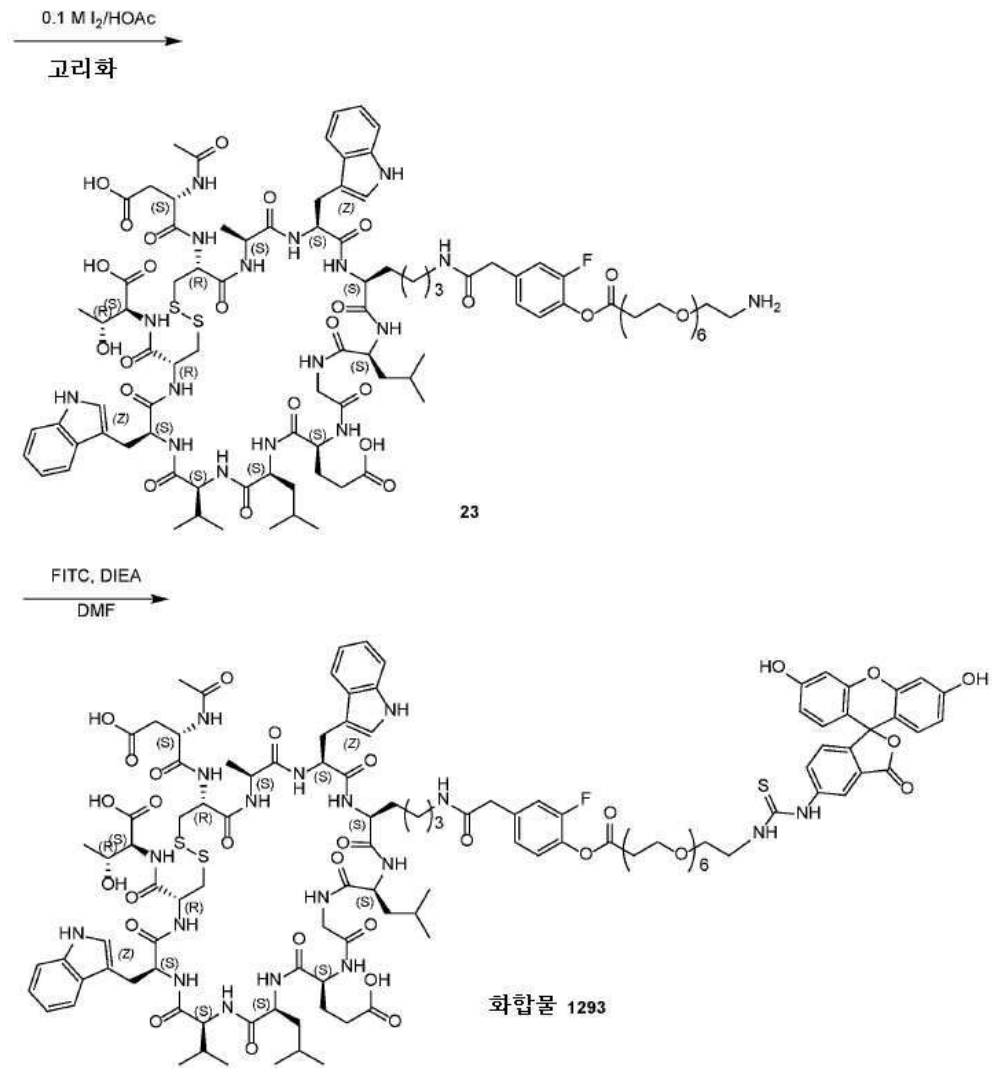
[0290]

[0291] DMF (1 mL) 중 용해된 **중간체 20** (80.30 mg, 32.30 μmol , 1.00 당량)의 혼합물에 Pd(PPh₃)₄ (5.60 mg, 4.84 μmol , 0.15 당량) 및 페닐실란 (35.0 mg, 323.0 μmol , 10.00 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20 ° C에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 반응물을 0 ° C에서 5분 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링을 완료한 후, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화한 후, 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제하고, 이어서 동결건조하여 노란색 고체로 **화합물 1295** (17.0 mg, 94.9% 순도, 15.9% 수율)를 얻었다. LCMS: RT = 2.02 분, 계산된 MS: $M_{av} = 2398.65$, 관찰된 질량: $[2M + 3H]^{3+} = 1599.8$, $[M + H + Na]^{2+} = 1211.6$, $[M + 2H]^{2+} = 1200.1$, $[M + 3H]^{3+} = 800.4$.

[0292] 실시예 6. 화합물 1293의 제조 절차.

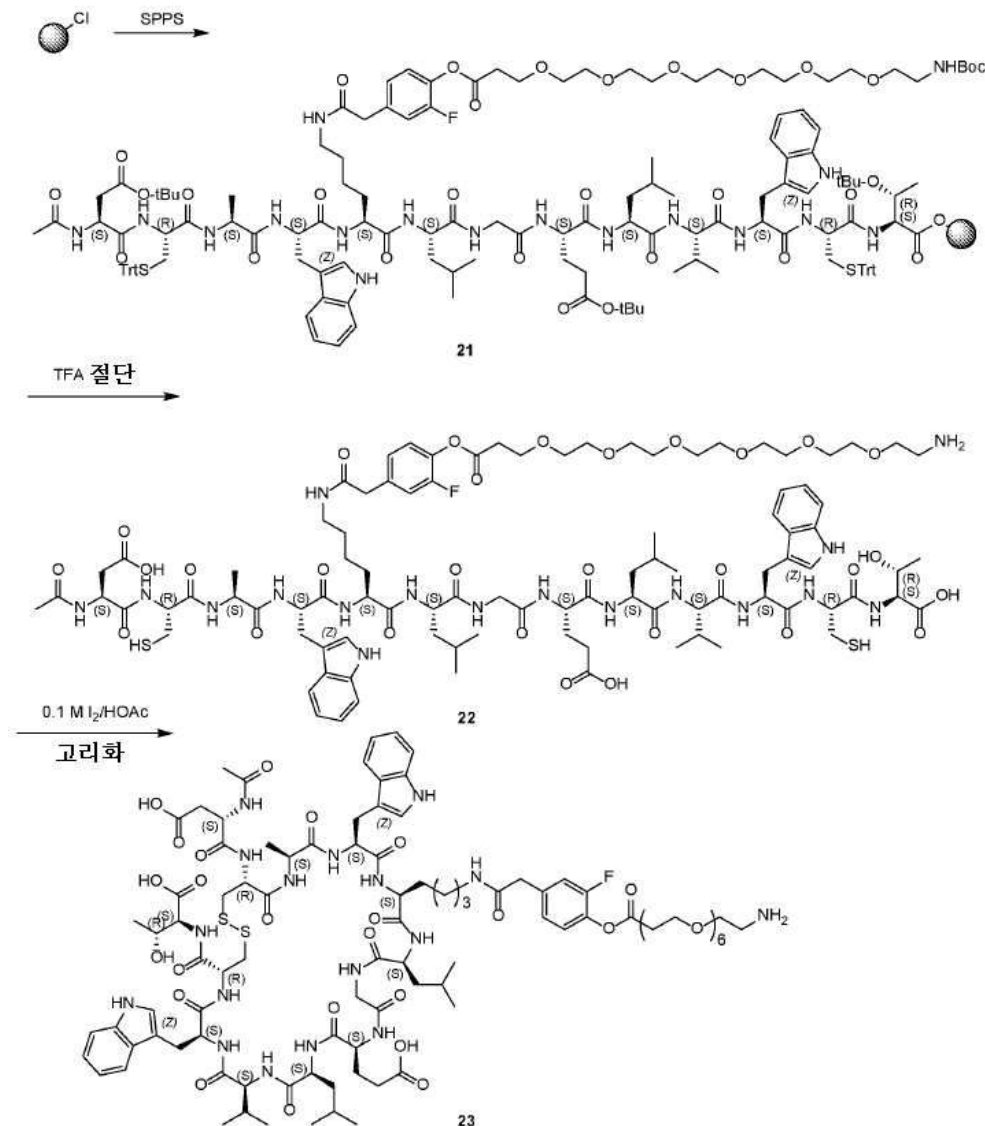


[0293]



[0294]

[0295] 중간체 23의 제조:



[0296]

[0297] 표준 Fmoc 화학을 사용하여 펩티드를 합성하였다 (CTC 수지).

[0298] 수지 제조: DCM (5 mL) 중 CTC 수지 (0.50 g, 0.50 mmol, 1.00 mmol/g) 및 Fmoc-Thr(tBu)-OH (198.5 mg, 0.50 mmol, 1.00 당량)를 함유한 용기에 DIEA (4.00 당량)를 적가하고 25 ° C에서 N₂ 버블링과 함께 2시간 동안 혼합하였다. 그런 다음 MeOH (0.5 mL)를 첨가하고 추가 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 수지를 DMF (10 mL)로 세척하고, 이어서 DMF (10 mL) 중 20% 피페리딘을 첨가하고 Fmoc 탈보호를 위해 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 혼합물을 여과하고 다음 단계로 넘어가기 전에 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0299] 커플링: DMF (5 mL) 중 Fmoc-Cys(Trt)-OH (0.88 g, 1.5 mmol, 3.00 당량), HBTU (0.41 g, 1.43 mmol, 2.85 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그런 다음 DIEA (6.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색을 나타내면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (20 mL)로 세척하였다.

[0300] 탈보호: DMF (10 mL) 중 20% 피페리딘을 수지에 첨가하고 혼합물을 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 탈보호 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 과란색 또는 갈색을 띤 빨간색을 나타내면, 반응이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0301] 다음의 아미노산 신장을 위해 단계 2 및 3을 반복하였다: 번호 # 3-9, 표 6.

[0302] 커플링: DMF (5 mL) 중 2-(3-플루오로-4-히드록시페닐)아세트산 (253.5 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량), HOBT

(189.0 mg, 202.5 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그런 다음 DIC (1.50 mmol, 3.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색을 나타내면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0303] Dde 탈보호: DMF (10 mL) 중 3% 히드라진 수화물을 30분 동안 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 탈보호 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링한 후, 파란색 또는 갈색을 띤 빨간색을 나타내면, 반응이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0304] 커플링: DMF (5 mL) 중 Fmoc-Trp-OH (639.0 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량), HOBt (202.5 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그런 다음 DIC (1.50 mmol, 3.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색을 나타내면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0305] 탈보호: DMF (10 mL) 중 20% 피페리딘을 수지에 첨가하고 혼합물을 25 ° C에서 30분 동안 N₂로 버블링하였다. 탈보호 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 파란색 또는 갈색을 띤 빨간색이 나타나면, 반응이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL)로 세척하였다.

[0306] 다음의 아미노산 신장을 위해 반응 7 및 8을 반복하였다: 번호 # 11-14, 표 6.

[0307] 아세틸화: Ac₂O/NMM/DMF (2/1/17, v/v/v, 40 mL)의 용액을 수지에 첨가하고, 혼합물을 N₂로 20분 동안 버블링하였다. 아세틸화 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하였다. 그런 다음 수지를 DMF (20 mL)로 세척하였다.

[0308] 커플링: DMF (5 mL) 중 BocHN-PEG₆-CH₂CH₂COOH (700.0 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량), HOBt (202.5 mg, 1.50 mmol, 3.00 당량), DMAP (61.0 mg, 0.50 mmol, 1.00 당량)의 용액을 N₂ 버블링과 함께 수지에 첨가하였다. 그런 다음 DIC (1.50 mmol, 3.00 당량)를 혼합물에 적가하고 25 ° C에서 16시간 동안 N₂로 버블링하였다. 커플링 반응을 닌히드린 테스트로 모니터링하고, 무색을 나타내면, 커플링이 완료된 것이었다. 그런 다음 수지를 DMF (10 mL), MeOH (50 mL)로 세척한 후, 감압 하에 건조하여 수지 결합된 펩티드 **중간체 21** (CTC 수지, 1.35 g, 0.50 mmol)를 얻었다.

표 6. SPPS 상 사용된 아미노산 및 해당 시약의 목록

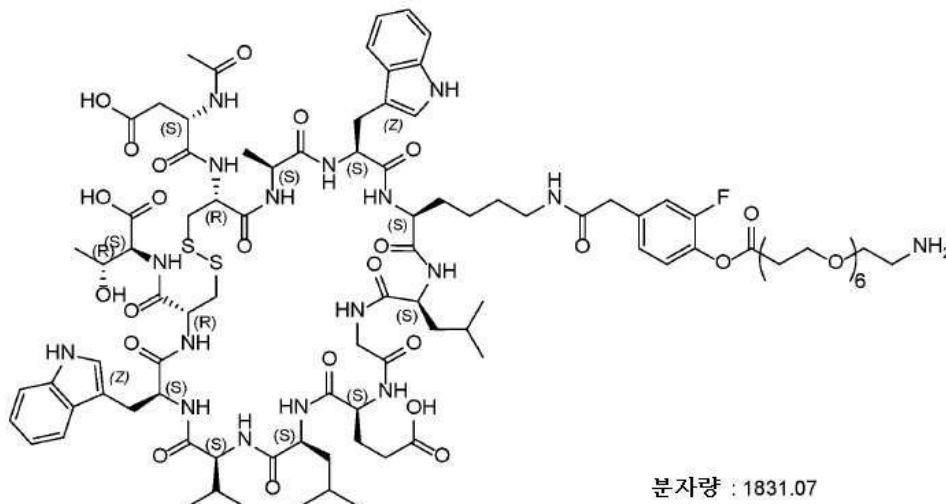
#	물질	커플링 시약
1	Fmoc-Thr(tBu)-OH (1.00 당량)	DIEA (4.00 당량)
2	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
3	Fmoc-Trp-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
4	Fmoc-Val-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
5	Fmoc-Leu-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
6	Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
7	Fmoc-Gly-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
8	Fmoc-Leu-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
9	Dde-Lys(Fmoc)-OH (3.00 당량)	HBTU (2.85 당량) 및 DIEA (6.00 당량)
10	2-(3-플루오로-4-히드록시페닐)아세트산 (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
11	Fmoc-Trp-OH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
12	Fmoc-Ala-OH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
13	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
14	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량) 및 HOBt (3.00 당량)
15	아세틸화 (6.00 당량)	Ac ₂ O/NMM/DMF (10/5/85, 10 mL)
16	BocHN-PEG ₆ -CH ₂ CH ₂ COOH (3.00 당량)	DIC (3.00 당량), HOBt (3.00 당량), DMAP (3.00 당량)

[0309]

[0310] 펩티드 절단 및 고리화:

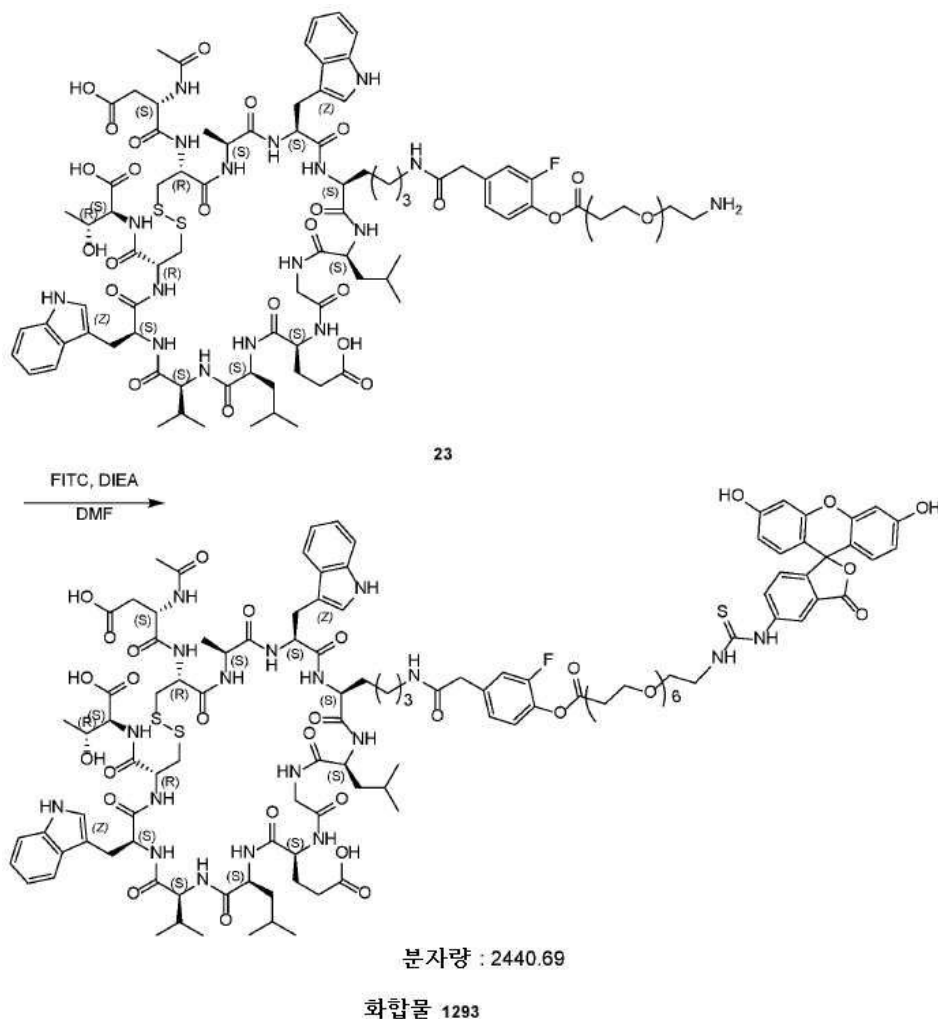
[0311] 절단: TFA/TIS/H₂O/3-메르캅토프로판산 (92.5/2.5/2.5/2.5, v/v/v, 30 mL)의 용액을 실온에서 수지 (중간체 21, 0.50 mmol)에 첨가하고 2시간 동안 교반하였다. 여과 후, 여과액을 모으고 차가운 이소프로필 에테르 (150 mL)로 침전시킨 후, 여과하고, 고체를 이소프로필 에테르 (100 mL)로 2회 세척하고, 조 펩티드를 감압 하에 2시간 동안 건조하여 백색 고체로 중간체 22 (0.50 mmol, 조물질)를 얻었다.

[0312] 고리화: MeCN/H₂O (1/1, v/v, 500 mL) 중 조 펩티드 (중간체 22)에 노란색이 유지될 때까지 0.1 M I₂/AcOH를 적가하고, 그런 다음 혼합물을 25 ° C에서 5분 동안 교반하였다. 노란색이 사라질 때까지 0.1 M aq. Na₂S₂O₃를 적가하여 혼합물을 킨칭하였다. 여과 후, 여과액을 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 정제하고, 이어서 동결건조하여 백색 고체로 중간체 23 (160.1 mg, 90.0% 순도, 15.6% 수율)을 얻었다. LCMS: RT = 7.9 분, 계산된 MS: M_{av} = 2051.31, 관찰된 질량: [M + 2H]²⁺ = 1026.60, [M + 3H]³⁺ = 684.59.



[0313]

[0314] 화합물 1293의 제조:

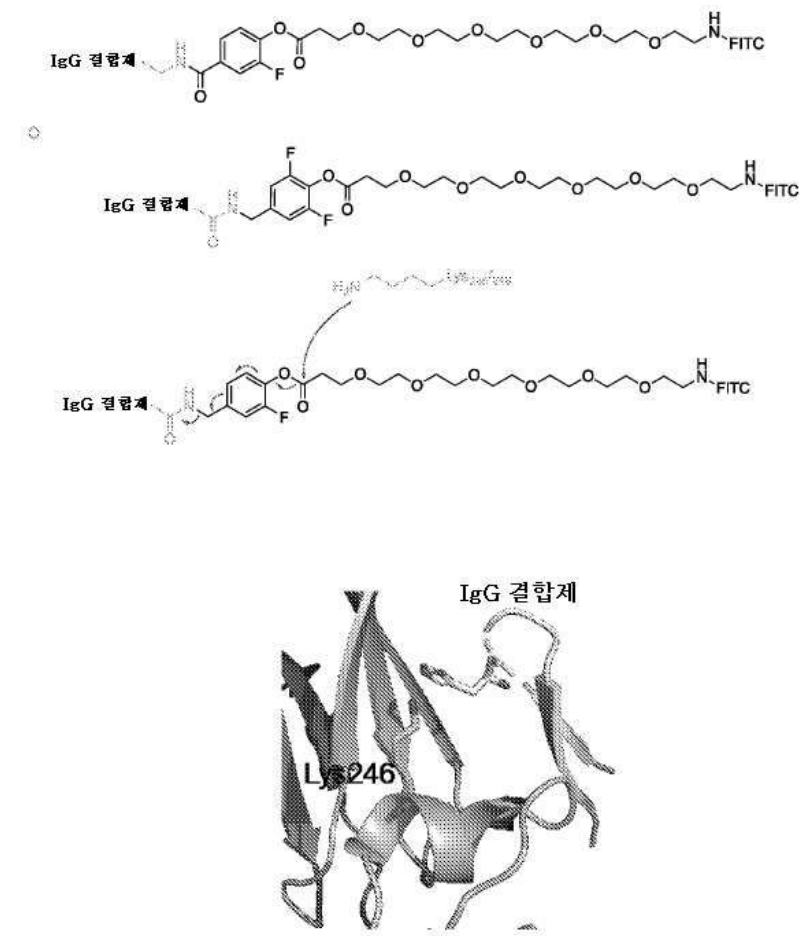


[0315]

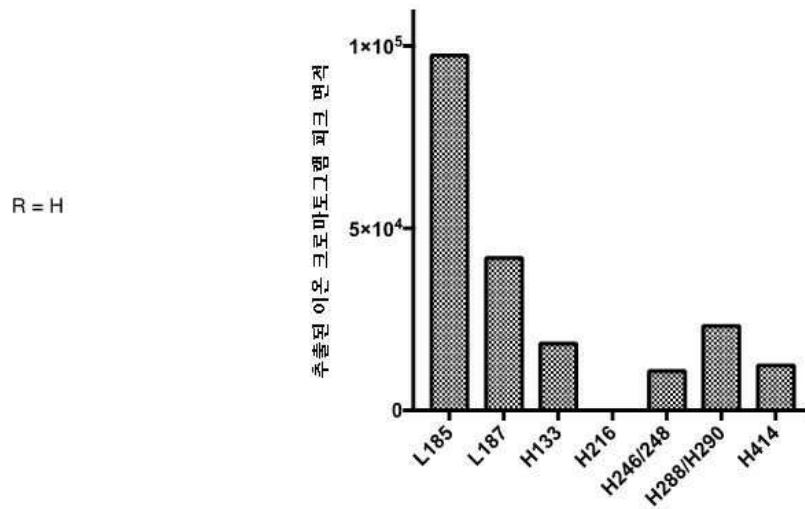
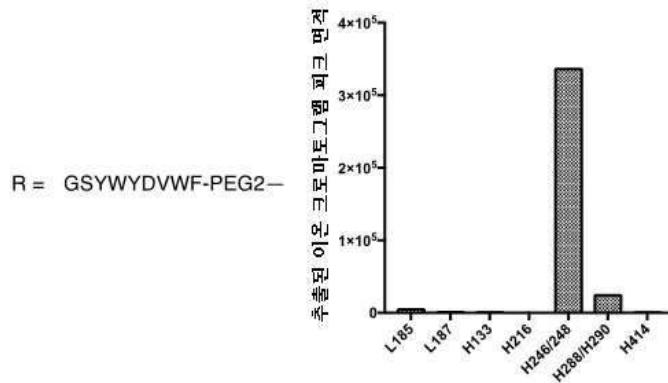
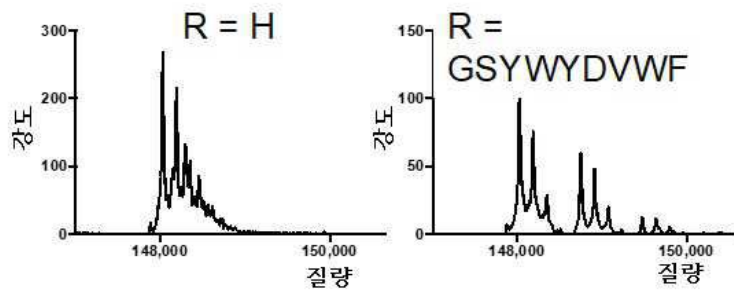
[0316] DMF (2 mL) 중 **중간체 23** (120.0 mg, 58.50 μmol , 1.00 당량) 및 **FITC** (34.08 mg, 87.51 μmol , 1.50 당량)의 혼합물에 25 ° C에서 DIEA (27.7 mg, 30.59 μL , 175.5 μmol , 3.00 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. LC-MS로 모니터링을 완료한 후, 혼합물을 1 M HCl로 pH = 5까지 산성화하고, 분취용 HPLC (A: 0.075% TFA/H₂O, B: MeCN)로 직접 정제한 후, 동결건조하여 노란색 고체로 **혼합물 1293** (33.8 mg, 91.4% 순도, 23.7% 수율)을 얻었다. LCMS: RT = 2.02 분, 계산된 MS: M_{av} = 2440.69, 관찰된 질량: $[M + Na + H]^{2+}$ = 1232.00, $[M + 2H]^{2+}$ = 1221.60, $[M + 3H]^{3+}$ = 814.30.

도면

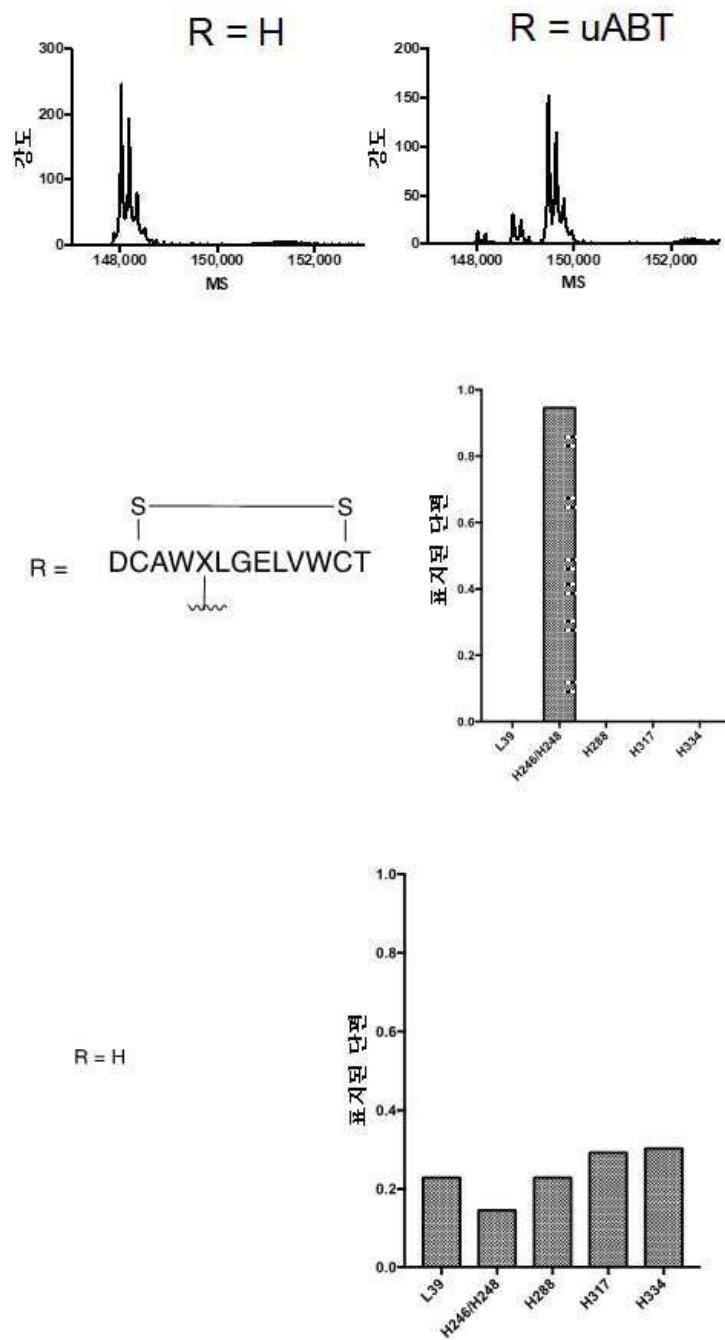
도면1



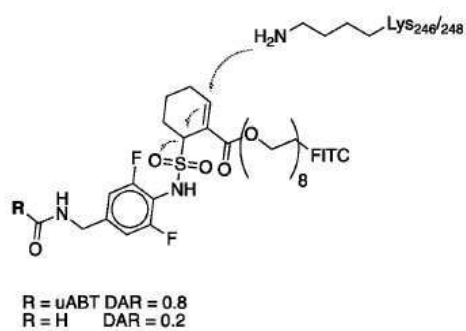
도면2



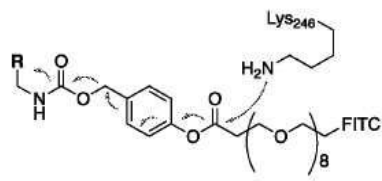
도면3



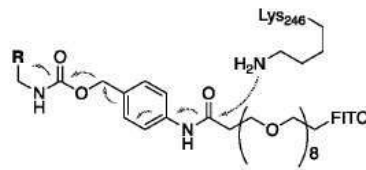
도면4a



도면4b

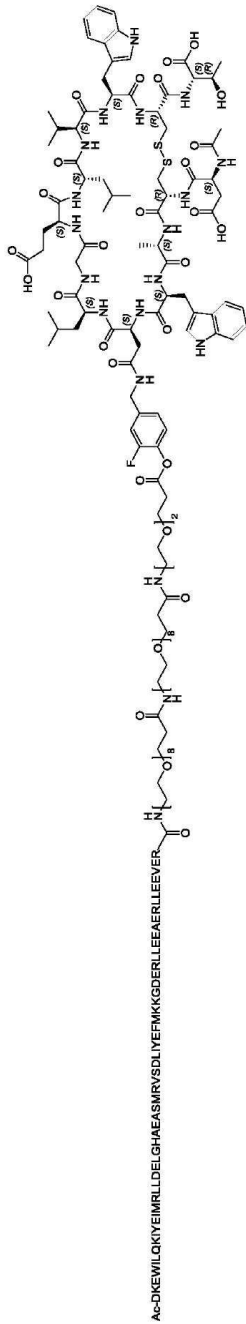


R = uABT DAR = 1.3
R = H DAR = 0.06

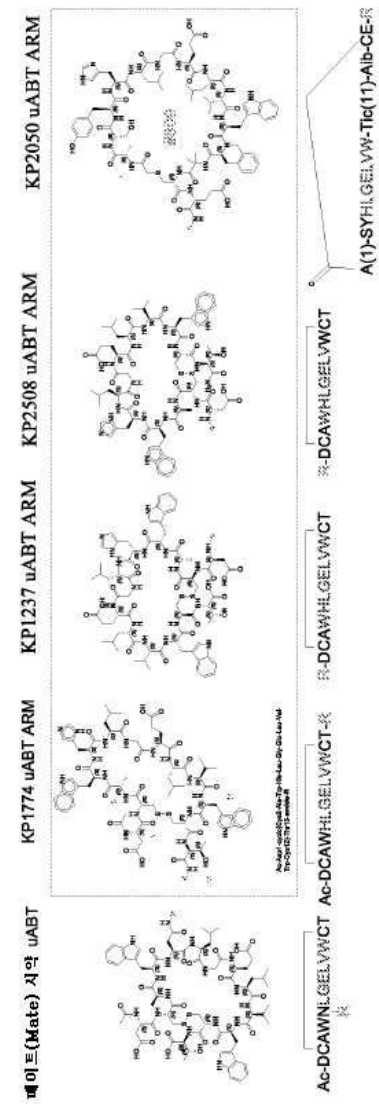


R = uABT DAR = 0.8
R = H DAR = 0.13

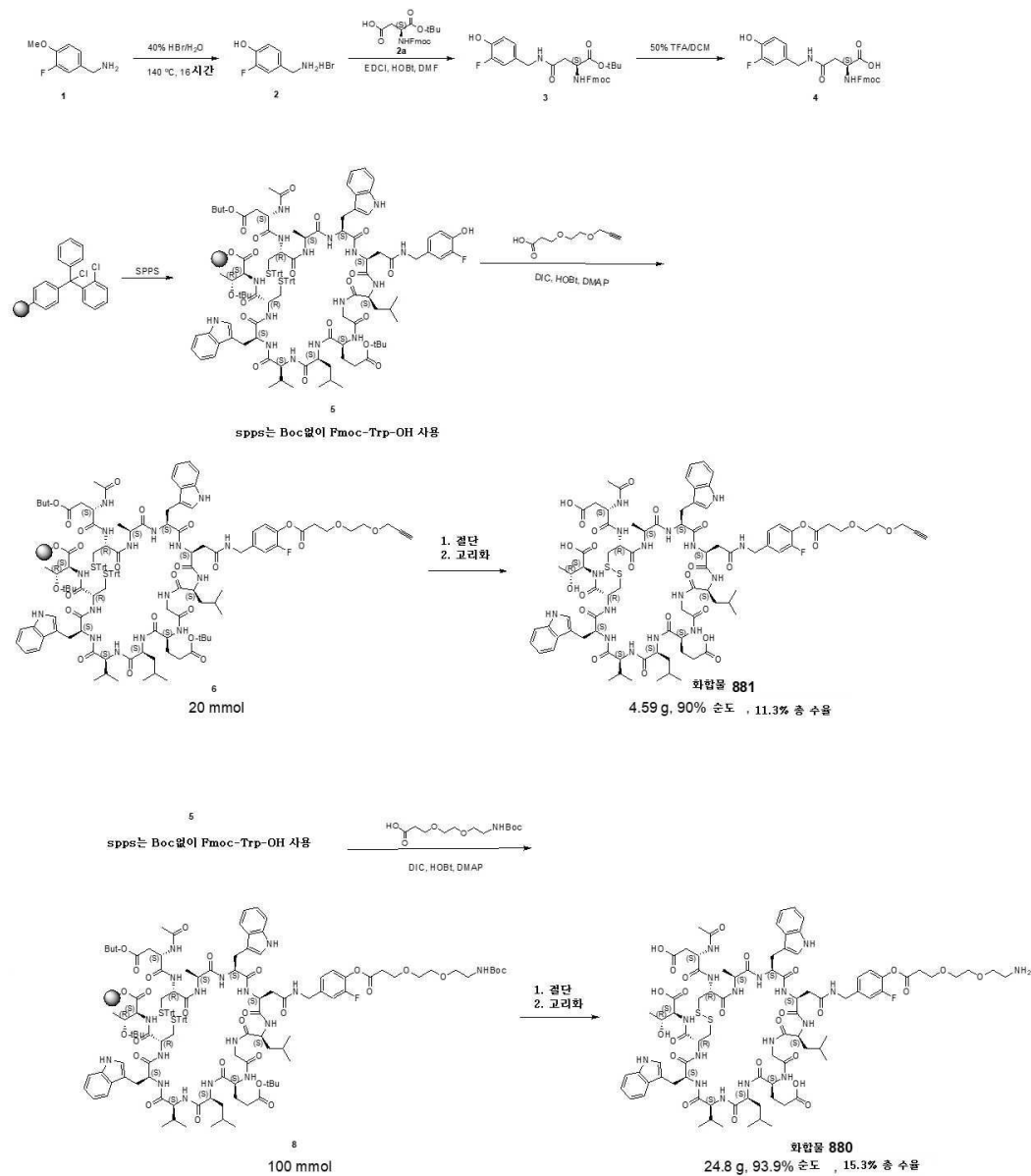
도면5



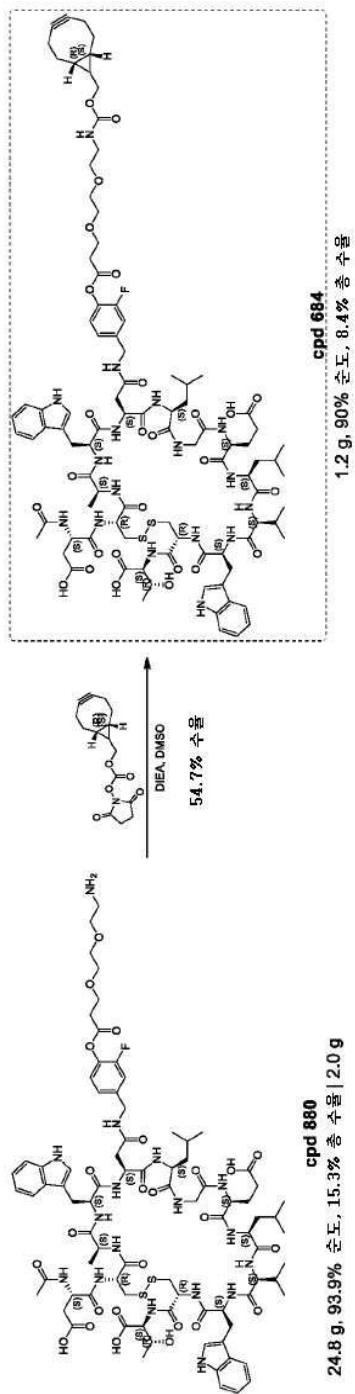
도면6



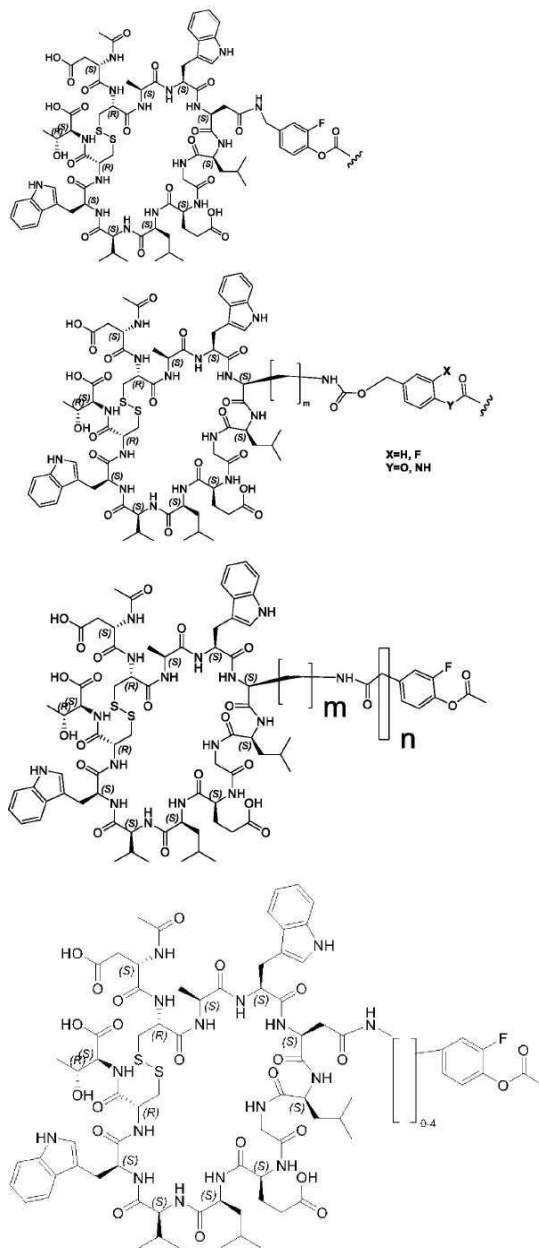
도면7



도면8



도면9



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> BIOHAVEN THERAPEUTICS LTD

<120> AGENTS FOR DIRECTED CONJUGATION TECHNIQUES AND CONJUGATED PRODUCTS

<130> BHL0032PCT

<150> 63/189522

<151> 2021-05-17

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 1

Gly Ser Tyr Trp Tyr Asp Val Trp Phe

1 5

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> Disulfid

<222> (2)..(12)

<220><221> SITE

<222> (5)..(5)

<223> X is any amino acid

<400> 2

Asp Cys Ala Trp Xaa Leu Gly Glu Leu Val Trp Cys Thr

1 5 10

<210> 3

<211> 56

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> acetylation

<222> (1)..(1)

<223> N-terminal

<220><221> non_ter

<222> (56)..(56)

<400> 3

Asp Lys Glu Trp Ile Leu Gln Lys Ile Tyr Glu Ile Met Arg Leu Leu

1 5 10 15

Asp Glu Leu Gly His Ala Glu Ala Ser Met Arg Val Ser Asp Leu Ile

20 25 30

Tyr Glu Phe Met Lys Lys Gly Asp Glu Arg Leu Leu Glu Glu Ala Glu

35 40 45

Arg Leu Leu Glu Glu Val Glu Arg

50 55

<210> 4

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> acetylation

<222> (1)..(1)

<220><221> disulfid

<222> (2)..(12)

<400

> 4

Asp Cys Ala Trp Asn Leu Gly Glu Leu Val Trp Cys Thr

1 5 10

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> synthetic

<220><221> acetylation

<222> (1)..(1)

<220><221> disulfid

<222> (2)..(12)

<220><221> non_ter

<222> (13)..(13)

<400> 5

Asp Cys Ala Trp His Leu Gly Glu Leu Val Trp Cys Thr

1 5 10

<210> 6
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic
 <220><221> non_ter
 <222> (1)..(1)
 <220><221> disulfid
 <222> (2)..(12)
 <400> 6

Asp Cys Ala Trp His Leu Gly Glu Leu Val Trp Cys Thr

1 5 10

<210> 7
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> SITE
 <222> (11)..(11)
 <223> X is Tic
 <220><221> SITE
 <222> (12)..(12)
 <223> X is Aib
 <220><221> Non_term
 <222> (14)..(14)
 <400> 7

Ala Ser Tyr His Leu Gly Glu Leu Val Trp Xaa Xaa Cys Glu

1 5 10

<210> 8
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic

<220><221> disulfid

<222> (2)..(12)

<400> 8

Asp Cys Ala Trp His Leu Gly Glu Leu Val Trp Cys Thr

1 5 10

<210> 9

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> disulfid

<222> (1)..(15)

<220><221> disulfid

<222> (3)..(13)

<400> 9

Cys Asp Cys Ala Trp His Leu Gly Glu Leu Val Trp Cys Thr Cys

1 5 10 15