(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0138444
(43) 공개일자 2023년10월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) *A61K 31/519* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6803 (2023.08)
A61K 31/519 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7021028
(22) 출원일자(국제) 2021년11월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년06월21일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/060560
(87) 국제공개번호 WO 2022/115451
국제공개일자 2022년06월02일
(30) 우선권주장
63/117,724 2020년11월24일 미국(US)

(71) 출원인
노파르티스 아게
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
르 라보레또레 쎄르비에르
프랑스 수레즈네스 세덱스 뤼 드 베르둔 35 (우:92284)
(72) 발명자
버거, 매튜, 티.
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내
첸, 주오리앙
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상영

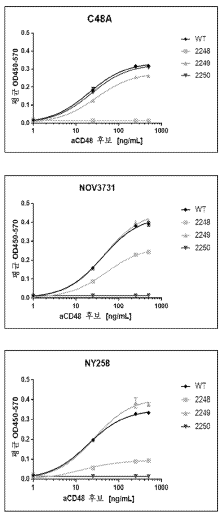
전체 청구항 수 : 총 63 항

(54) 발명의 명칭 **MCL-1 억제제 항체-약물 접합체 및 사용 방법**

(57) 요 약

항-CD48 항체-약물 접합체가 개시된다. 항-CD48 항체-약물 접합체는 Mcl-1 억제제 약물 모이어티, 및 항원 표적, 예를 들어 종양 또는 다른 암 세포 상에 발현된 항원에 결합하는 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함한다. 본 개시내용은 추가로 본원에 제공된 항체-약물 접합체를 투여함으로써 암의 치료에 사용하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다. Mcl-1 억제제 약물 모이어티를 포함하는 링커-약물 접합체 및 그의 제조 방법이 또한 개시된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 47/6851 (2017.08)
A61K 47/6889 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
(72) 발명자
드'알레시오, 조셉, 안토니
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내
클린터, 클라우디아, 수디스
스위스 4002 바젤 포스트파흐 노바티스 파마 아게 내
멕네일, 에릭
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내
문트, 코르넬리아, 안
스위스 4002 바젤 포스트파흐 노바티스 파마 아게 내
나카지마, 카츠마사
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내
뉴컴, 리차드, 본
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내
팔레르모, 마크, 지.
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내
슈바이크호퍼, 타마스
스위스 4125 리엔 딩켈베르크스트라세 40
유, 빙
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내
빙켈바흐, 카타리나
스위스 4002 바젤 포스트파흐 노바티스 파마 아게 내
장, 치앙
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내
브레송, 라우라
프랑스 92120 몽루주 임파스 드 레글리세 10
콜랑드, 프레데릭
프랑스 95380 푸이스-아-프랑스 뤼 두 마누아 16
마라그노, 애나, 레티시아
프랑스 78290 크루아시-쉬르-센 알레 아나스타시 4
록케티, 프란체스카
프랑스 75005 파리 불바 생 마르셀 32

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (1)의 항체-약물 접합체:

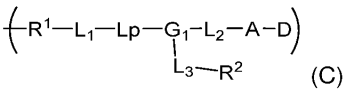
$Ab-(L-D)_p$ (1)

여기서:

Ab는 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편이고;

p는 1 내지 16의 정수이고;

-(L-D)는 하기 화학식 (C)이고:



(C)

여기서:

R^1은 부착 기이고;

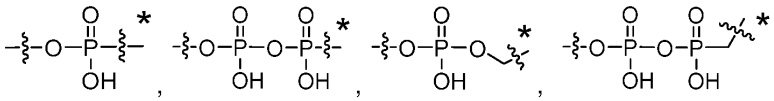
L_1은 가교 스페이서이고;

L_p는 1 내지 6개의 아미노산을 포함하는 펩티드 기이고;

D는 Mcl-1 억제제이고;

G_1-L_2-A는 자기 희생적 스페이서이고;

L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌이고;

A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

L_3은 스페이서 모이어티이고;

R^2는 친수성 모이어티이고,

여기서 항-CD48 항체 또는 항원 결합 단편은 하기와 같은 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다:

(i) 서열식별번호: 1로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 2로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 3으로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 16으로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 17로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 18로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3);

(ii) 서열식별번호: 4로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 2로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 3으로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 16으로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 17로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 18로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3);

(iii) 서열식별번호: 5로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 6으로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 3으로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 19로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 20으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 21로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3);

(iv) 서열식별번호: 7로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 8로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 9로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 22로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 20으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 18로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3);

(v) 서열식별번호: 27로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 28로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 29로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 42로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 43으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 44로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3);

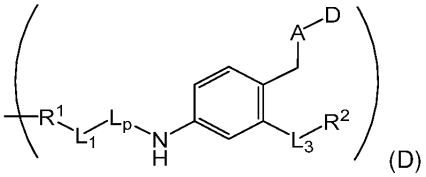
(vi) 서열식별번호: 30으로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 28로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 29로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 42로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 43으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 44로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3);

(vii) 서열식별번호: 31로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 32로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 29로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 45로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 46으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 47로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3); 또는

(viii) 서열식별번호: 33으로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 34로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 35로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 48로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 46으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 44로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3).

청구항 2

제1항에 있어서, -(L-D)는 하기 화학식 (D)의 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염:



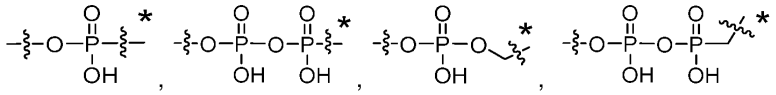
(D)

여기서:

R^1은 부착 기이고;

L_1은 가교 스페이서이고;

Lp는 1 내지 6개의 아미노산을 포함하는 펩티드 기이고;

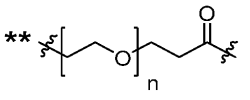
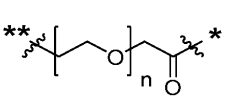
A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

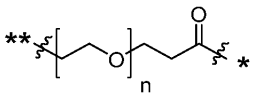
L_3은 스페이서 모이어티이고;

R^2는 친수성 모이어티이다.

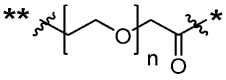
청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, L_1은  ,  , 또는 *-CH(OH)CH(OH)CH(OH)CH(OH)CH(OH)-**를 포함하고, 여기서 각각의 n은 1 내지 12의 정수이고, L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내는 것인 항체-약물 접합체.

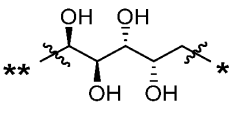
청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, L_1은  이고, n은 1 내지 12의 정수이거나 또는 n은 1이거나 또는 n은 12이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, L_1은  이고, n은 1 내지 12의 정수이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, L_1은  를 포함하고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, L_1은

*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;

*-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

*-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**; *-C(=O)$(CH_2)_mX_1(CH_2)_m$-**;

*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

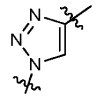
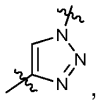
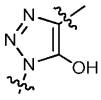
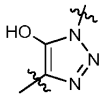
*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**; *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(R^3)$_2$-** 또는

*-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**

를 포함하는 가교 스페이서이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^{1}에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고,

X_1은  ,  ,  또는  이고;

각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

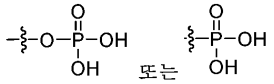
각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

각각의 R^{3}은 독립적으로 H 및 C_1-C_6알킬로부터 선택되는 것인

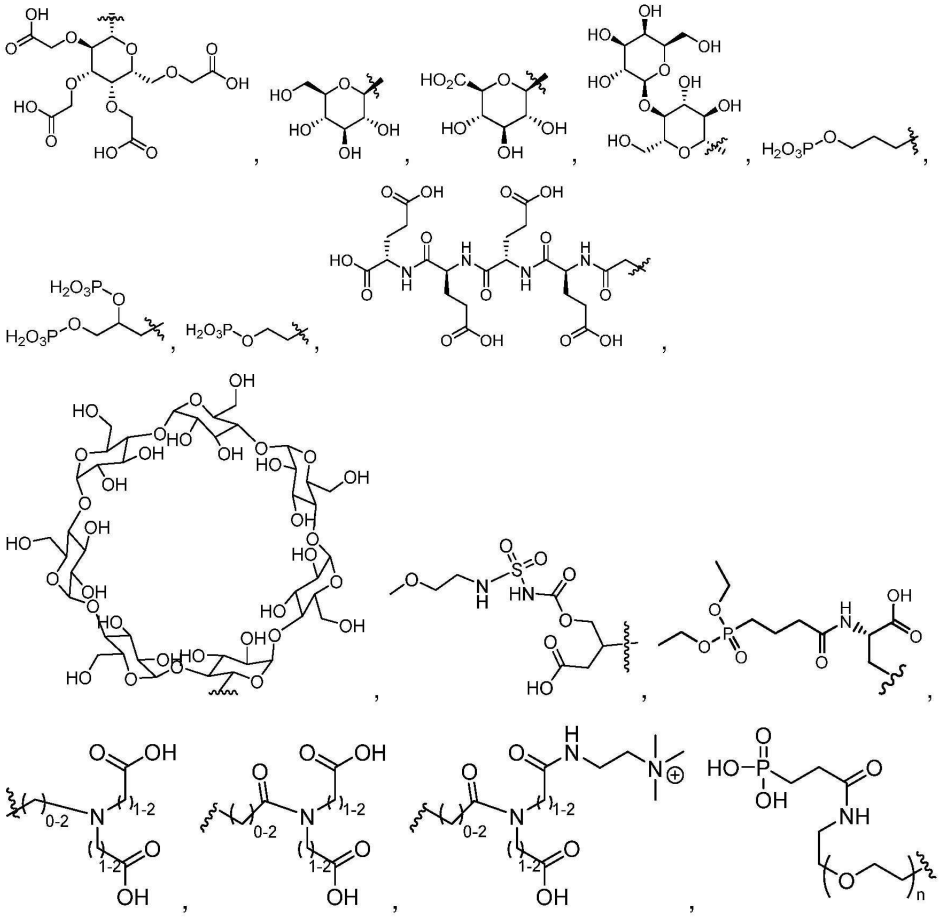
항체-약물 접합체.

청구항 8

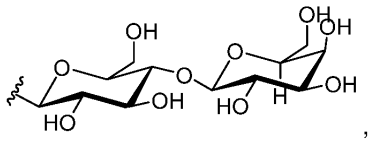
제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, R^{2}는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 폴리올, 폴리사르코신, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6 알킬 또는 -OC(=O)NHS(O)$_2$NHCH$_2$CH$_2$OCH$_3$, -NHC(=O)C_{1-4}알킬렌-P(O)(OCH$_2$CH$_3$)$_2$ 및 -COOH 기로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 치환기로 치환된 C_2-C_6 알킬을 포함하는 친수성 모이어티인 항체-약물 접합체.

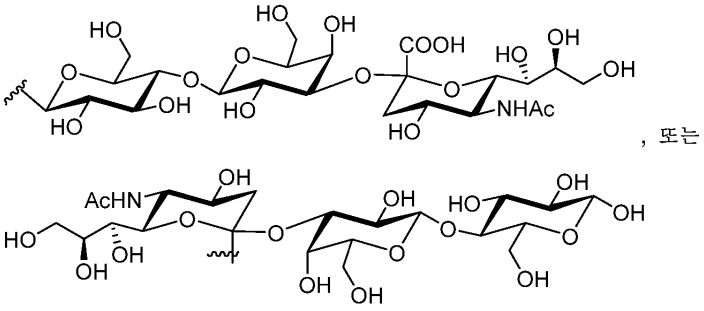
청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, R^{2}는



(여기서, n은 1 내지 6의 정수임),



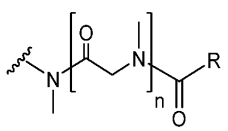


인 항체-약물 접합체.

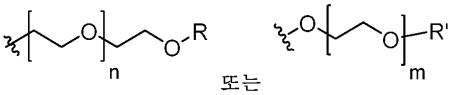
청구항 10

제1항 또는 제8항에 있어서, 친수성 모이어티는

(i) 하기 모이어티를 갖는 폴리사르코신:

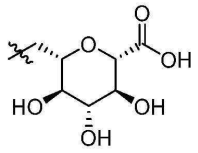


(여기서, n은 3 내지 25의 정수이고; R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$임); 또는

(ii) 화학식  의 폴리에틸렌 글리콜 (여기서, R은 H, $-CH_3$, $CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$, $-CH_2CH_2NHC(=O)R_a$, 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OR_a$이고, R'은 OH, $-OCH_3$, $-CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$, $-CH_2CH_2NHC(=O)R_a$, 또는 $-OCH_2CH_2C(=O)OR_a$이고, 여기서 R_a는 H, 또는 OH 또는 C_{1-4} 알콕실로 임의로 치환된 C_{1-4} 알킬이고, m 및 n은 각각 독립적으로 2 내지 25의 정수임)

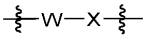
을 포함하는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 친수성 모이어티는  를 포함하는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

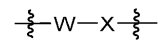
(i) L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

여기서:

W는 $-CH_2-$, $-CH_2O-$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)O-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NH-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)-$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$, $-C(=O)N(X-R^2)-$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$, $-C(=O)NR^b-$, $-C(=O)NH-$, $-CH_2NR^bC(=O)-$, $-CH_2NR^bC(=O)NH-$, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$, $-NHC(=O)-$, $-NHC(=O)O-$, $-NHC(=O)NH-$, $-OC(=O)NH-$, $-S(O)_2NH-$, $-NHS(O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)O-$ 또는 $-NH-$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬, 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고;

X는 결합, 트리아졸릴, 또는 $-CH_2-$트리아졸릴-이고,

여기서 X는 R^2에 연결되거나,

(ii) L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

여기서:

W는 $-CH_2-$, $-CH_2O-$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)O-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NH-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)-$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$, $-C(=O)N(X-R^2)-$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$, $-C(=O)NR^b-$, $-C(=O)NH-$, $-CH_2NR^bC(=O)-$, $-CH_2NR^bC(=O)NH-$, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$, $-NHC(=O)-$, $-NHC(=O)O-$, $-NHC(=O)NH-$, $-OC(=O)NH-$, $-S(O)_2NH-$, $-NHS(O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)O-$ 또는 $-NH-$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬, 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고;

X는 $-CH_2-$트리아졸릴-C_{1-4} 알킬렌-$OC(O)NHS(O)_2NH-$, $-C_{4-6}$ 시클로알킬렌-$OC(O)NHS(O)_2NH-$, $-(CH_2CH_2O)_n-C(O)NHS(O)_2NH-$, $-(CH_2CH_2O)_n-C(O)NHS(O)_2NH-(CH_2CH_2O)_n-$, 또는 $-CH_2-$트리아졸릴-C_{1-4} 알킬렌-$OC(O)NHS(O)_2NH-(CH_2CH_2O)_n-$이고, 여기서 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 또는 3이고, 여기서 X는 R^2에 연결되는 것인

항체-약물 접합체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 부착 기는 적어도 하나의 반응성 기를 포함하는 반응에 의해 형성되는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 부착 기는

링커에 부착된 제1 반응성 기, 및

항체에 부착되거나 항체의 아미노산 잔기인 제2 반응성 기

를 반응시킴으로써 형성되는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 15

제13항 또는 제14항에 있어서, 반응성 기 중 적어도 하나는

티올,

말레이미드,

할로아세트아미드,

아지드,

알킨,

시클로옥텐,

트리아릴 포스핀,

옥사노보르나디엔,

시클로옥틴,

디아릴 테트라진,

모노아릴 테트라진,

노르보르넨,

알데히드,

히드록실아민,

히드라진,

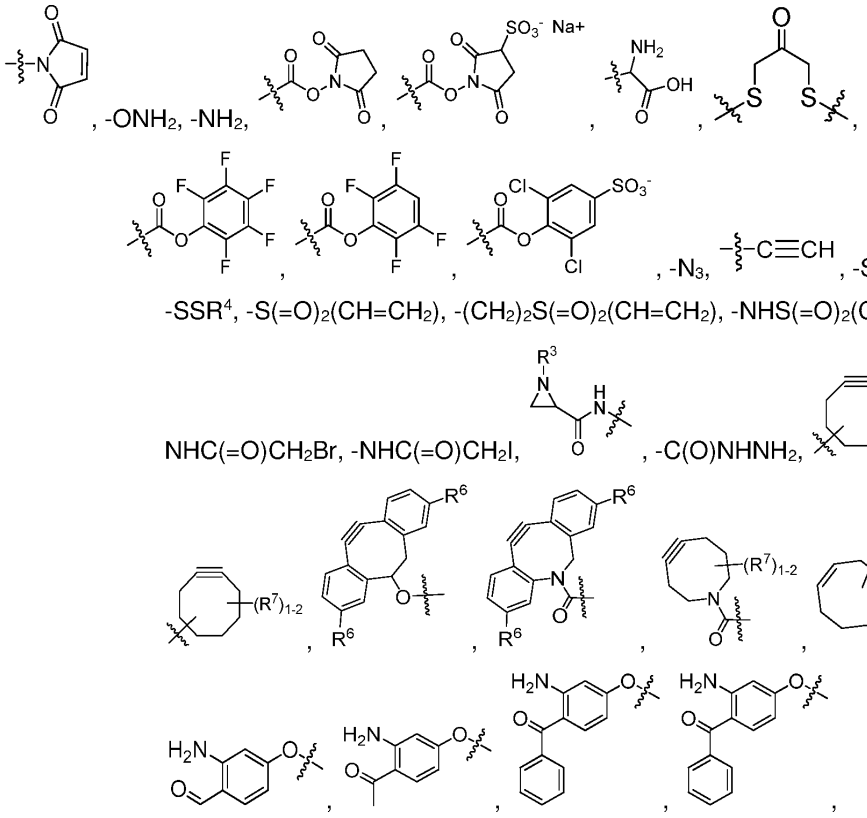
NH_2-NH-C(=O)-,

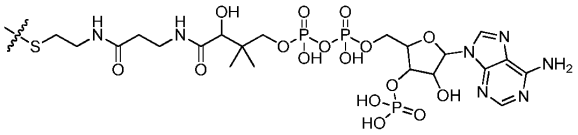
케톤,

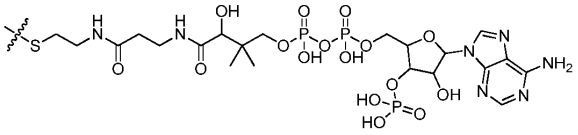
비닐 술폰,

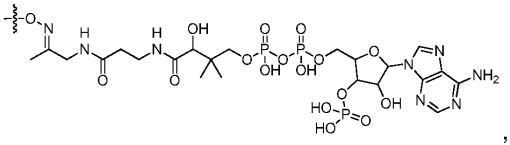
아지리딘,

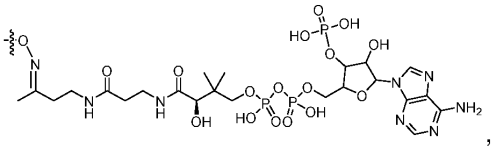
아미노산 잔기,

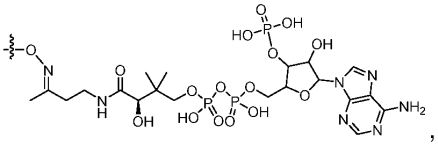


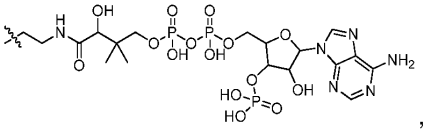

,

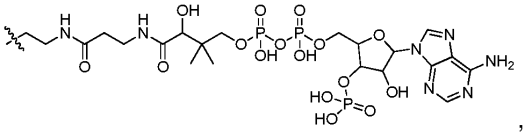

,

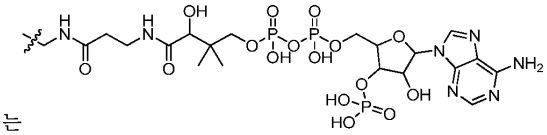

,


,


,


,


,


또는

를 포함하고;

여기서:

각각의 R^3은 독립적으로 H 및 C_1-C_6알킬로부터 선택되고;

각각의 R^4는 2-피리딜 또는 4-피리딜이고;

각각의 R^5는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 선택되고;

각각의 R^6은 독립적으로 H, C_1-C_6알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, -CN, $-NO_2$ 및 -OH로부터 선택되고;

각각의 R^7은 독립적으로 H, C_{1-6}알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4}알콕시, 및 -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되는 것인

항체-약물 접합체.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, 제1 반응성 기 및 제2 반응성 기는

티올 및 말레이미드,

티올 및 할로아세트아미드,

티올 및 비닐 술폰,

티올 및 아지리딘,

아지드 및 알킨,

아지드 및 시클로옥틴,

아지드 및 시클로옥텐,

아지드 및 트리아릴 포스핀,

아지드 및 옥사노보르나디엔,

디아릴 테트라진 및 시클로옥텐,

모노아릴 테트라진 및 논보르넨,

알데히드 및 히드록실아민,

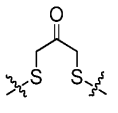
알데히드 및 히드라진,

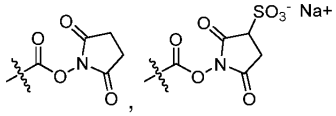
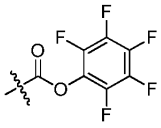
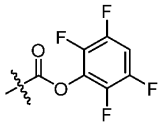
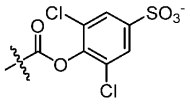
알데히드 및 NH_2-NH-C(=O)-,

케톤 및 히드록실아민,

케톤 및 히드라진,

케톤 및 NH_2-NH-C(=O)-,

히드록실아민 및  ,

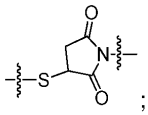
아민 및  ,  ,  , 또는  , 또는

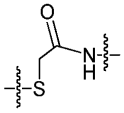
CoA 또는 CoA 유사체 및 세린 잔기

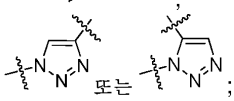
를 포함하는 것인 항체-약물 접합체.

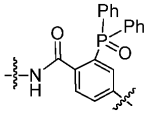
청구항 17

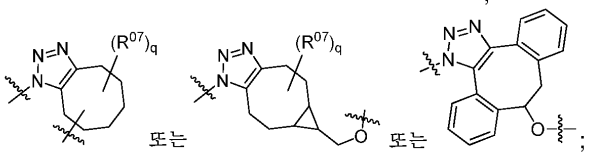
제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 부착 기는 하기로부터 선택되는 기를 포함하는 것인 항체-약물 접합체:

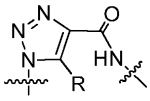

;

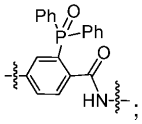

;

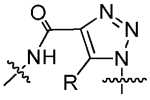

또는 ;

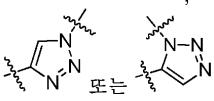

;

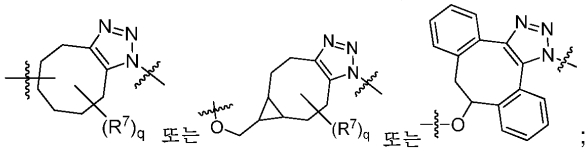

또는 또는 ;

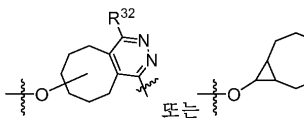

;

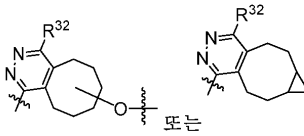

;

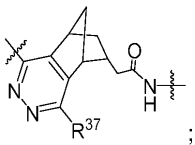

;

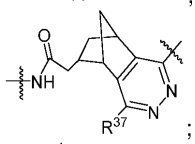

또는 ;

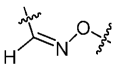

또는 또는 ;

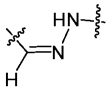

또는 ;

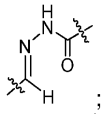

또는 ;

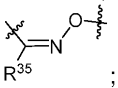

;

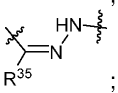

;

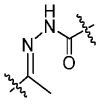

;

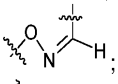

;

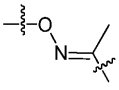

;

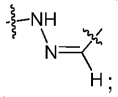

;

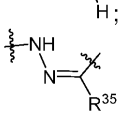

;

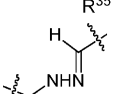

;

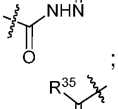

;

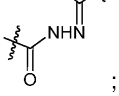

;


;


;

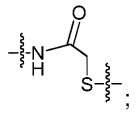

;

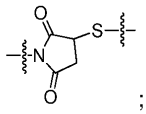

;

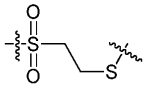

;

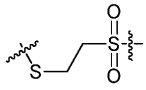
;

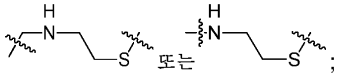
;

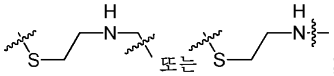

;

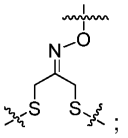

;


;

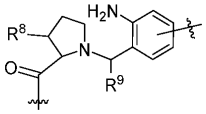

;

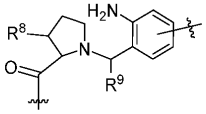

또는 ;

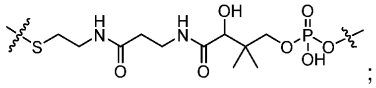

또는 ;

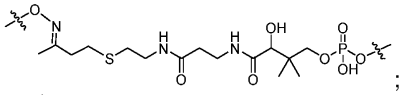

;

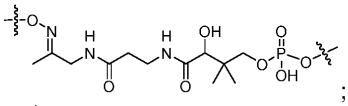
아미드;

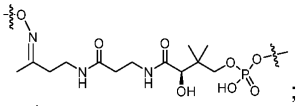

;

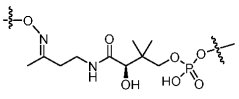

;

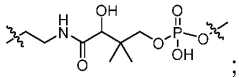

;

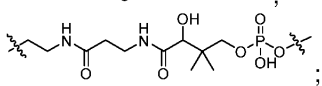

;

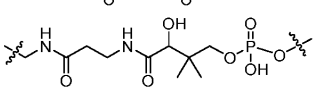

;


;


;


;


;


; 및

디술피드,

여기서:

R^{32}는 H, C_{1-4} 알킬, 페닐, 피리미딘 또는 피리딘이고;

R^{35}는 H, C_{1-6} 알킬, 페닐, 또는 1 내지 3개의 -OH 기로 치환된 C_{1-4} 알킬이고;

각각의 R^{7}은 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알콕시, 및 -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 선택되고;

R^{37}은 H, 페닐 및 피리딘으로부터 독립적으로 선택되고;

q는 0, 1, 2 또는 3이고;

R^{8}은 H 또는 메틸이고;

R^{9}는 H, $-CH_3$ 또는 페닐이다.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 펩티드 기는 1 내지 4개의 아미노산 잔기, 1 내지 3개의 아미노산 잔기 또는 1 내지 2개의 아미노산 잔기를 포함하는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 19

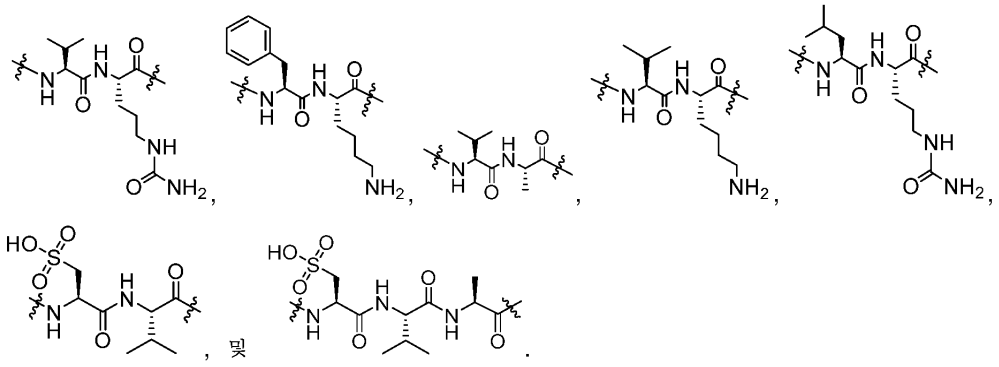
제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 아미노산 잔기는 L-글리신 (Gly), L-발린 (Val), L-시트룰린 (Cit), L-시스테산 (술포-Ala), L-리신 (Lys), L-이소류신 (Ile), L-페닐알라닌 (Phe), L-메티오닌 (Met), L-아스파라긴 (Asn), L-프롤린 (Pro), L-알라닌 (Ala), L-류신 (Leu), L-트립토판 (Trp), 및 L-티로신 (Tyr)으로부터 선택되는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 20

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 펩티드 기는 Val-Cit, Phe-Lys, Val-Ala, Val-Lys, Leu-Cit, 술포-Ala-Val 및/또는 술포-Ala-Val-Ala를 포함하는 것인 항체-약물 접합체.

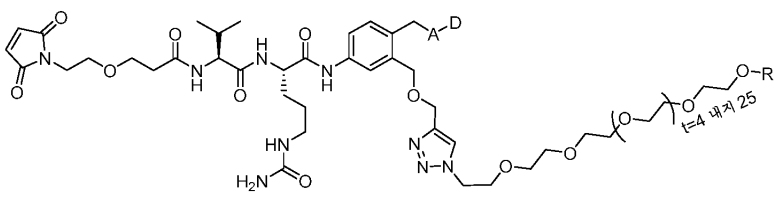
청구항 21

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, Lp는 하기로부터 선택되는 것인 항체-약물 접합체.



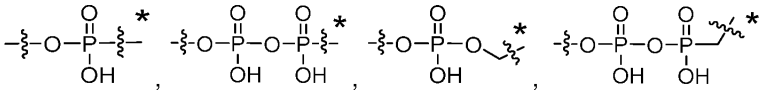
청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성되는 것인 항체-약물 접합체:



(1) (여기서:

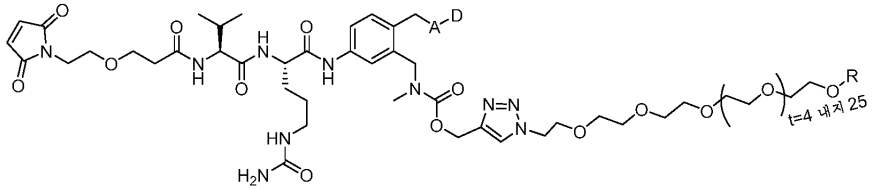
R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

A는 결합, $-OC(=O)-*$,  ,

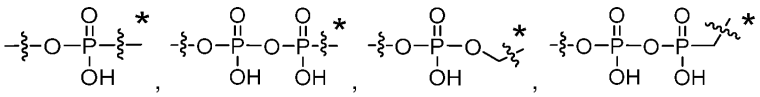
$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

(2)  (여기서:

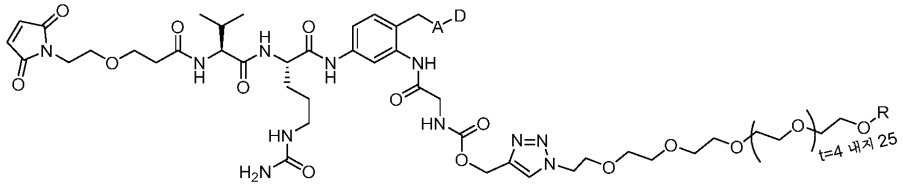
R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

A는 결합, $-OC(=O)-*$,  ,

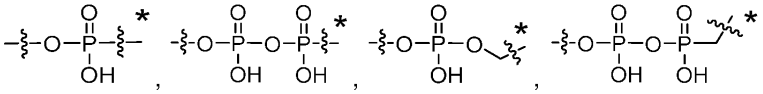
$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

(3)  (여기서:

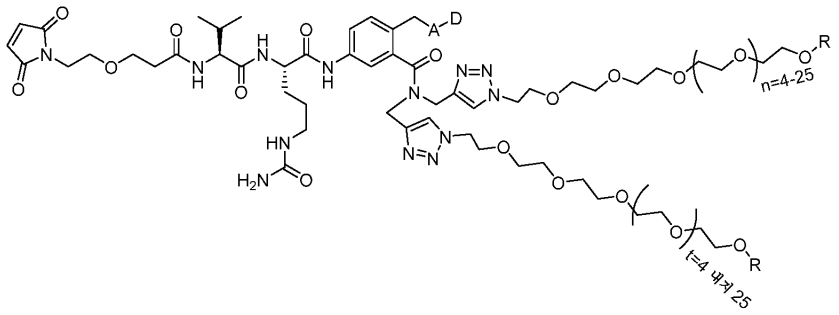
R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

A는 결합, $-OC(=O)-*$,  ,

$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

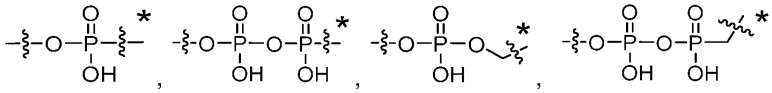
여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);



(4) (여기서:

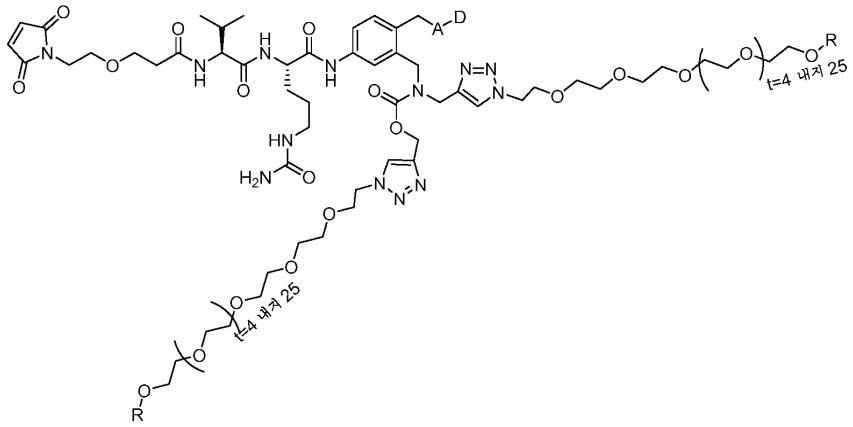
각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$, 및 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택되고;

A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

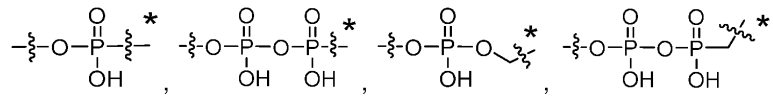
여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);



(5) (여기서:

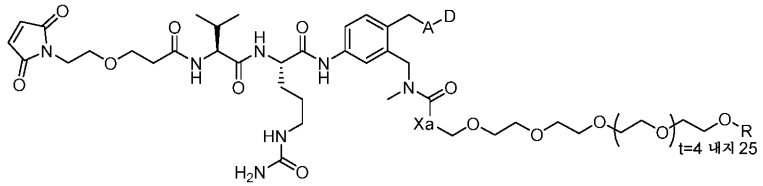
각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$, 및 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택되고;

A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

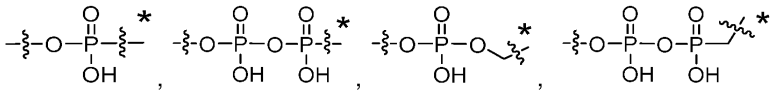
여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);



(6) (여기서:

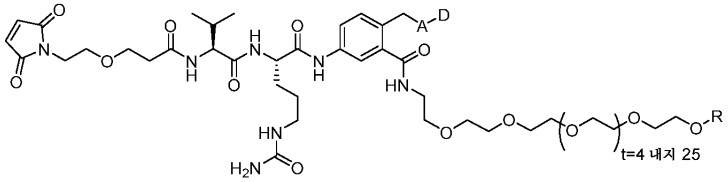
Xa는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

A는 결합, $-OC(=O)-*$,  ,

$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

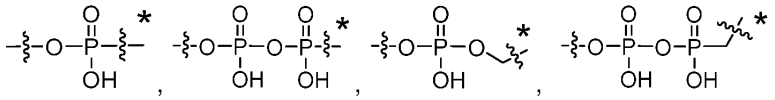
여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

(7) 

(여기서:

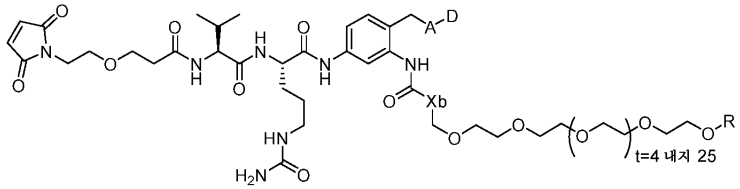
R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

A는 결합, $-OC(=O)-*$,  ,

$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

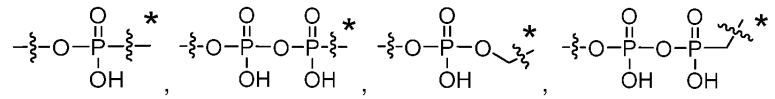
여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

(8) 

(여기서:

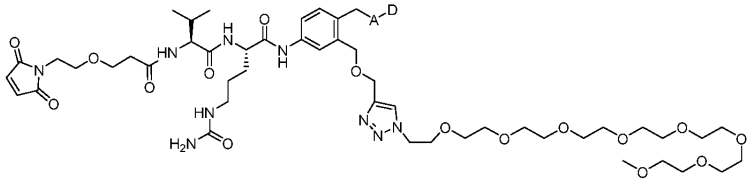
Xb는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

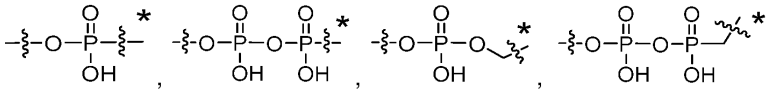
A는 결합, $-OC(=O)-*$,  ,

$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

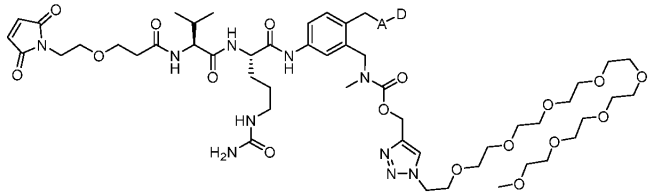
(9)  (여기서:

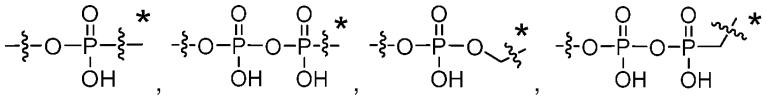
A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

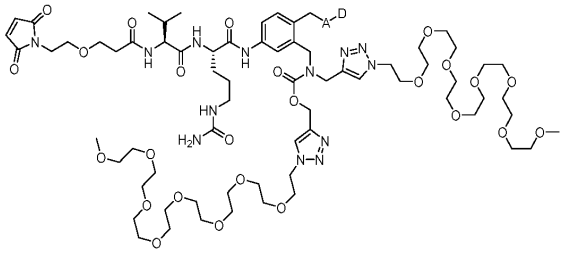
(10)  (여기서:

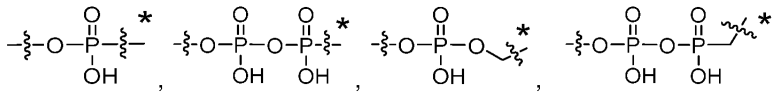
A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

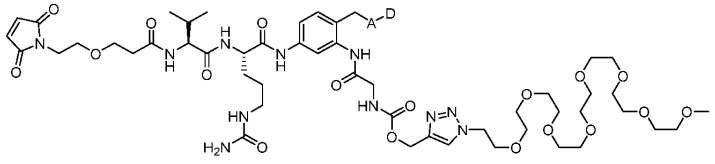
(11)  (여기서:

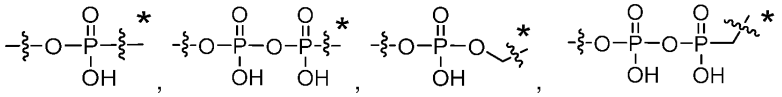
A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

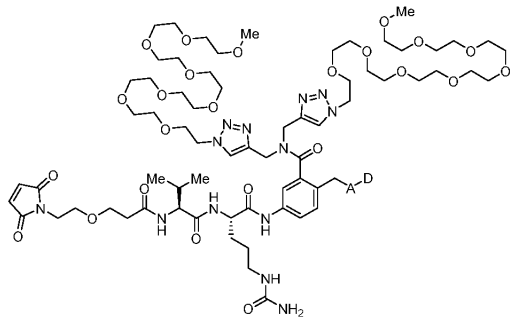
(12)  (여기서:

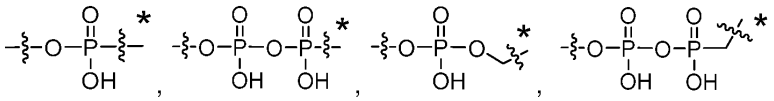
A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

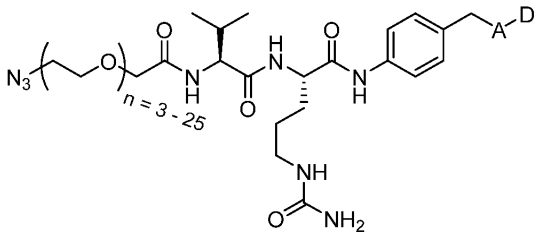
(13)  (여기서:

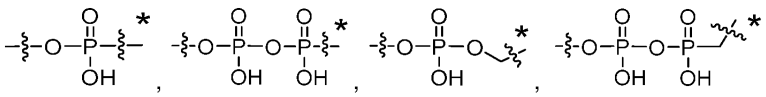
A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);

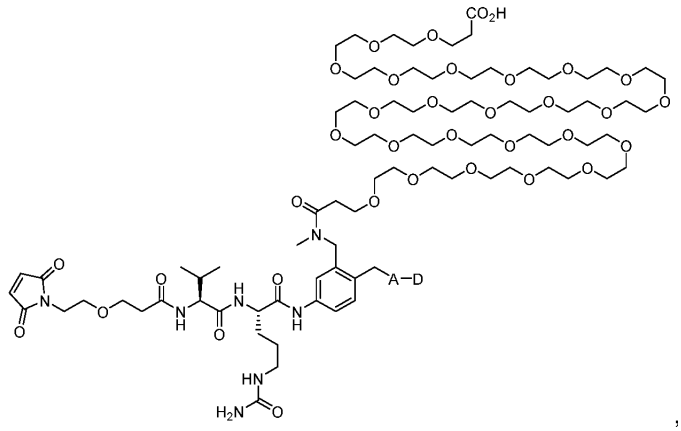
(14)  (여기서:

A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

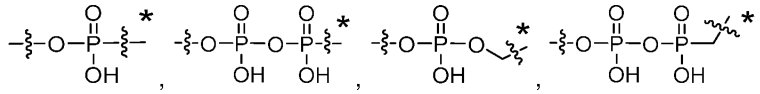
-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임);



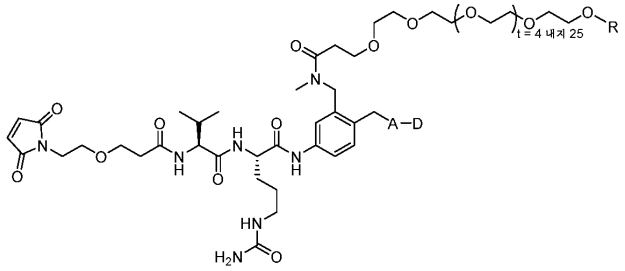
(15) , (여기서:

A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

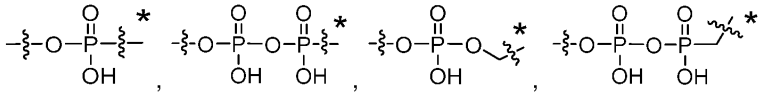
여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임); 또는



(16) (여기서:

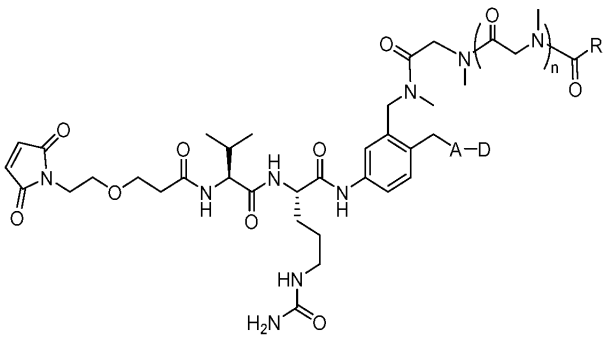
각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고,

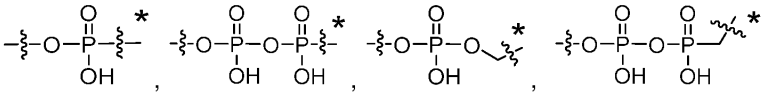
여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임); 또는



(17) (여기서:

각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

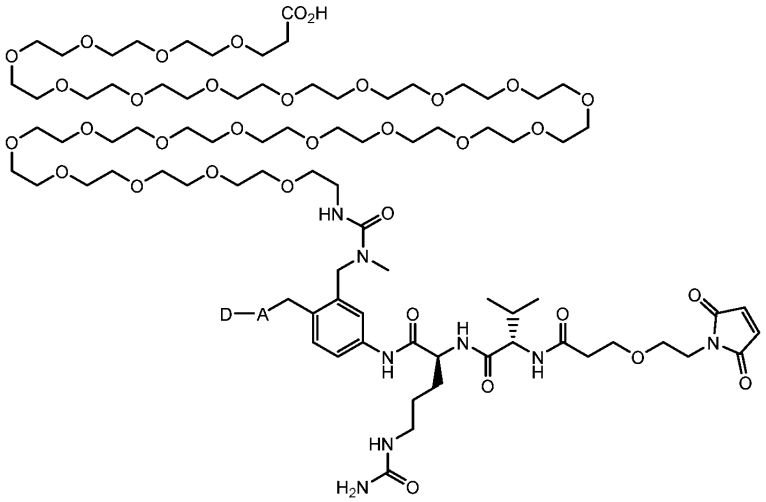
A는 결합,  , $-OC(=O)-*$, $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는

$-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

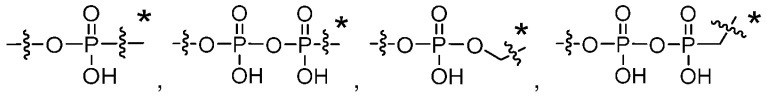
여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

n은 2 내지 24의 정수이고;

D는 Mcl-1 억제제임); 또는



(18) (여기서:

A는 결합,  , $-OC(=O)-*$, $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는

$-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

D는 Mcl-1 억제제임).

청구항 23

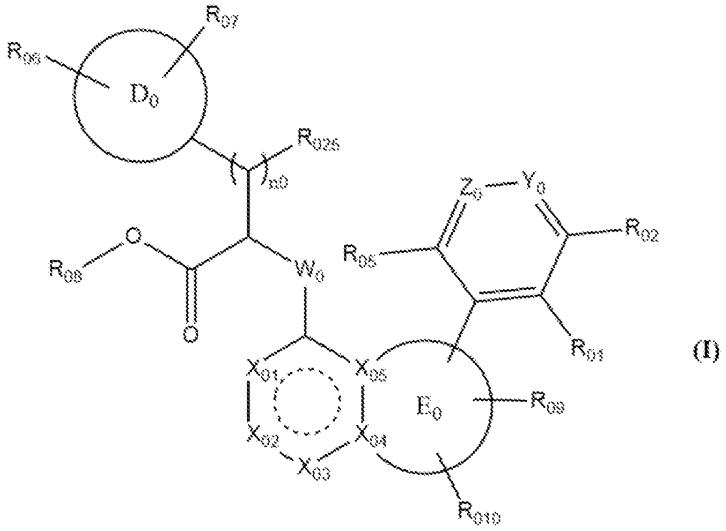
제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, A는 결합인 항체-약물 접합체.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, R은 $-CH_3$인 항체-약물 접합체.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, D는 하기 화학식 (I)의 화합물, 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 항체-약물 접합체:



(I)

여기서:

고리 D_0은 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고,

고리 E_0은 푸릴, 티에닐 또는 피롤릴 고리이고,

X_{01}, X_{03}, X_{04} 및 X_{05}는 서로 독립적으로 탄소 원자 또는 질소 원자이고,

X_{02}는 $C-R_{026}$ 기 또는 질소 원자이고,

 는 고리가 방향족임을 의미하고,

Y_0은 질소 원자 또는 $C-R_{03}$ 기이고,

Z_0은 질소 원자 또는 $C-R_{04}$ 기이고,

R_{01}은 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬 기, 히드록시 기, 히드록시(C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, $-S-(C_1-C_6)$알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, $-Cy_{08}$, $-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{012}$, $-C(O)-OR_{011}$, $-O-C(O)-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-OR_{011}'$, $-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-SO_2-NR_{011}R_{011}'$, 또는 $-SO_2-(C_1-C_6)$알킬이고,

R_{02}, R_{03}, R_{04} 및 R_{05}는 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기,

히드록시(C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, -(C_0-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}'$, -O-Cy_{01}, -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알케닐-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알키닐-Cy_{01}, -O-(C_1-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}'$, -O-(C_1-C_6)알킬-R_{031}, -O-(C_1-C_6)알킬-R_{012}, -C(O)-OR_{011}, -O-C(O)-R_{011}, -C(O)-$NR_{011}R_{011}'$, -NR_{011}-C(O)-R_{011}', -NR_{011}-C(O)-OR_{011}', -(C_1-C_6)알킬-NR_{011}-C(O)-R_{011}', -SO_2-$NR_{011}R_{011}'$, 또는 -SO_2-(C_1-C_6)알킬이거나,

또는 쌍 (R_{01}, R_{02}), (R_{02}, R_{03}), (R_{03}, R_{04}), 또는 (R_{04}, R_{05})은 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 할로겐, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬, (C_0-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}'$, -$NR_{013}R_{013}'$, -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01} 또는 옥소로부터 선택되는 1 또는 2개의 기에 의해 임의로 치환되고,

R_{06} 및 R_{07}은 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, -(C_0-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}'$, -O-(C_1-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}'$, -O-Cy_{01}, -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알케닐-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알키닐-Cy_{01}, -O-(C_1-C_6)알킬-R_{012}, -C(O)-OR_{011}, -O-C(O)-R_{011}, -C(O)-$NR_{011}R_{011}'$, -NR_{011}-C(O)-R_{011}', -NR_{011}-C(O)-OR_{011}', -(C_1-C_6)알킬-NR_{011}-C(O)-R_{011}', -SO_2-$NR_{011}R_{011}'$, 또는 -SO_2-(C_1-C_6)알킬이거나,

또는 쌍 (R_{06}, R_{07})은 2개의 인접한 탄소 원자와 융합된 경우에 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, -$NR_{013}R_{013}'$, -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01} 또는 옥소에 의해 임의로 치환되고,

W_0은 -CH_2- 기, -NH- 기 또는 산소 원자이고,

R_{08}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_8)알킬 기, -$CHR_{0a}R_{0b}$ 기, 아릴 기, 헤테로아릴 기, 아릴(C_1-C_6)알킬 기 또는 헤테로아릴(C_1-C_6)알킬 기이고,

R_{09}는 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, -Cy_{02}, -(C_1-C_6)알킬-Cy_{02}, -(C_2-C_6)알케닐-Cy_{02}, -(C_2-C_6)알키닐-Cy_{02}, -Cy_{02}-Cy_{03}, -(C_2-C_6)알키닐-O-Cy_{02}, -Cy_{02}-(C_0-C_6)알킬-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{03}, 할로겐 원자, 시아노 기, -C(O)-R_{014}, 또는 -C(O)-$NR_{014}R_{014}'$이고,

R_{010}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 아릴(C_1-C_6)알킬 기, (C_1-C_6)시클로알킬알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 또는 -(C_1-C_6)알킬-O-Cy_{04}이거나,

또는 쌍 (R_{09}, R_{010})은 2개의 인접한 탄소 원자와 융합된 경우에 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고,

R_{011} 및 R_{011}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 또는 -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}이거나,

또는 쌍 (R_{011}, R_{011}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 N 원자는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기로부터 선택되는 1 또는 2개의 기에 의해 치환될 수 있고, 여기서 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기의 탄소 원자 중 1개 이상은 임의로 중수소화되고,

R_{012}는 -Cy_{05}, -Cy_{05}-(C_0-C_6)알킬-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, -Cy_{05}-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, -Cy_{05}-(C_0-C_6)알킬-NR_{011}-(C_0-C_6)알킬-

Cy_{06}, $-Cy_{05}-Cy_{06}-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{07}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{09}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{09}$, $-NH-C(O)-NH-R_{011}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{09}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}R_{011}'$, $-OR_{011}$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-OR_{011}$, $-SO_2-R_{011}$, $-C(O)-OR_{011}$이고,

R_{013}, R_{013}', R_{014} 및 R_{014}'는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

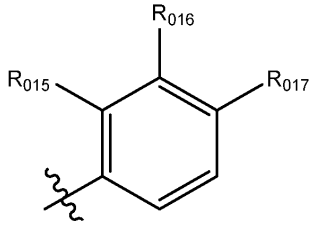
R_{0a}는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

R_{0b}는 $-O-C(O)-O-R_{0c}$ 기, $-O-C(O)-NR_{0c}R_{0c}'$ 기, 또는 $-O-P(O)(OR_{0c})_2$ 기이고,

R_{0c} 및 R_{0c}'는 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_8)알킬 기, 시클로알킬 기, (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기, 또는 (C_1-C_6)알콕시카르보닐(C_1-C_6)알킬 기이거나,

또는 쌍 (R_{0c}, R_{0c}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 산소 및 질소로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 함유할 수 있는 5 내지 7개의 고리원으로 구성된 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 질소는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{04}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07}, Cy_{08} 및 Cy_{010}은 서로 독립적으로 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고, 이들 각각은 임의로 치환되고,

Cy_{09}는 

이거나,

또는 Cy_{09}는 $-O-P(O)(OR_{020})_2$; $-O-P(O)(O^-M^+)_2$; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$; 히드록시; 히드록시$(C_1-C_6)$알킬; $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}-$헤테로시클로알킬; 및 $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$로부터 선택되는 기에 의해 치환된 헤테로아릴 기이고,

R_{015}는 수소 원자; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$ 기; 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기; $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$ 기; 또는 $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}-$헤테로시클로알킬 기이고,

R_{016}은 수소 원자; 히드록시 기; 히드록시(C_1-C_6)알킬 기; $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}-$헤테로시클로알킬 기; $(CH_2)_{r0}-U_0-V_0-O-P(O)(OR_{020})_2$ 기; $-O-P(O)(O^-M^+)_2$ 기; $-O-S(O)_2OR_{020}$ 기; $-S(O)_2OR_{020}$ 기; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$ 기; $-(CH_2)_{p0}-O-C(O)-NR_{022}R_{023}$ 기; 또는 $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$ 기이고,

R_{017}은 수소 원자; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$ 기; $-CH_2-P(O)(OR_{020})_2$ 기, $-O-P(O)(OR_{020})_2$ 기; $-O-P(O)(O^-M^+)_2$ 기; 히드록시 기; 히드록시(C_1-C_6)알킬 기; $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}-$헤테로시클로알킬 기; $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$ 기; 또는 알돈산이고,

M^+는 제약상 허용되는 1가 양이온이고,

U_0은 결합 또는 산소 원자이고,

V_0은 $-(CH_2)_{s0}-$ 기 또는 $-C(O)-$ 기이고,

R_{018}은 수소 원자 또는 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기이고,

R_{019}는 수소 원자 또는 히드록시(C_1-C_6)알킬 기이고,

R_{020}은 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

R_{021} 및 R_{021}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 히드록시(C_1-C_6)알킬 기이거나,

또는 쌍 (R_{021}, R_{021}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

R_{022}는 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기, $-(CH_2)_{p0}-NR_{024}R_{024}$' 기, 또는 $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{20}$ 기이고,

R_{023}은 수소 원자 또는 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기이거나,

또는 쌍 (R_{022}, R_{023})은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 5개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 18개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 헤테로시클로알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

R_{024} 및 R_{024}'는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이거나,

또는 쌍 (R_{024}, R_{024}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 함유할 수 있는 5 내지 7개의 고리원으로 구성된 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

R_{025}는 수소 원자, 히드록시 기 또는 히드록시(C_1-C_6)알킬 기이고,

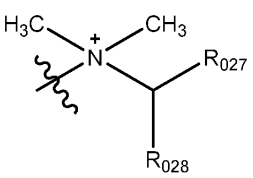
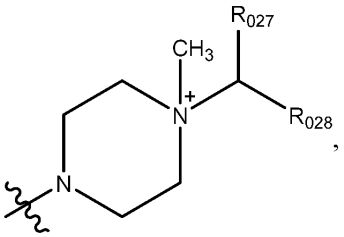
R_{026}은 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 시아노 기이고,

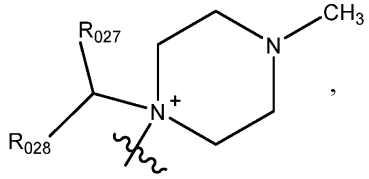
R_{027}은 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

R_{028}은 $-O-P(O)(O^-)(O^-)$ 기, $-O-P(O)(O^-)(OR_{030})$ 기, $-O-P(O)(OR_{030})(OR_{030}')$ 기, $-(CH_2)_{p0}-O-SO_2-O^-$ 기, $-(CH_2)_{p0}-SO_2-O^-$ 기, $-(CH_2)_{p0}-O-SO_2-OR_{030}$ 기, $-Cy_{010}$, $-(CH_2)_{p0}-SO_2-OR_{030}$ 기, $-O-C(O)-R_{029}$ 기, $-O-C(O)-OR_{029}$ 기 또는 $-O-C(O)-NR_{029}R_{029}$' 기이고;

R_{029} 및 R_{029}'는 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 선형 또는 분지형 아미노(C_1-C_6)알킬 기이고,

R_{030} 및 R_{030}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 아릴(C_1-C_6)알킬 기이고,

또는 

R_{031}은 이고, 여기서 암모늄은 임의로 쯔비터이온 형태로 존재하거나 또는 1가 음이온성 반대이온을 갖고,

n_0은 0 또는 1의 정수이고,

p_0은 0, 1, 2 또는 3의 정수이고,

q_0은 1, 2, 3 또는 4의 정수이고,

r_0 및 s_0은 독립적으로 0 또는 1의 정수이고;

여기서, R_{03}, R_{09}, 또는 R_{012} 기 중 최대 1개가 존재하는 경우 링커에 공유 부착되고,

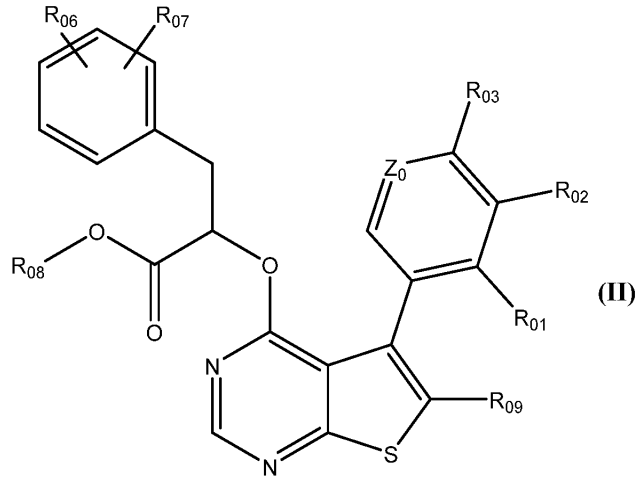
여기서 원자의 원자가는 그에 결합된 1개 이상의 치환기에 의해 초과되지 않는다.

청구항 26

제25항에 있어서, Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{04}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07}, Cy_{08} 및 Cy_{010}는 서로 독립적으로 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고, 이들 각각은 할로; $-(C_1-C_6)$알콕시; $-(C_1-C_6)$할로알킬; $-(C_1-C_6)$할로알콕시; $-(CH_2)_{p0}-O-SO_2-OR_{030}$; $-(CH_2)_{p0}-SO_2-OR_{030}$; $-O-P(O)(OR_{020})_2$; $-O-P(O)(O^-M^+)_2$; $-CH_2-P(O)(OR_{020})_2$; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$; 히드록시; 히드록시$(C_1-C_6)$알킬; $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}-$헤테로시클로알킬; 또는 $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$로부터 선택되는 1개 이상의 기에 의해 임의로 치환되는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, D는 하기 화학식 (II)의 화합물, 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 항체-약물 접합체:



(II)

여기서:

Z_0은 질소 원자 또는 C-R_{04} 기이고,

R_{01}은 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬 기, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, -Cy_{08}, -$NR_{011}R_{011}$'이고,

R_{02}, R_{03} 및 R_{04}는 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, -(C_0-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}$', -O-Cy_{01}, -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알케닐-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알키닐-Cy_{01}, -O-(C_1-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}$', -O-(C_1-C_6)알킬-R_{031}, -C(O)-OR_{011}, -O-C(O)-R_{011}, -C(O)-$NR_{011}R_{011}$', -NR_{011}-C(O)-R_{011}', -NR_{011}-C(O)-OR_{011}', -(C_1-C_6)알킬-NR_{011}-C(O)-R_{011}', -SO_2-$NR_{011}R_{011}$', 또는 -SO_2-(C_1-C_6)알킬이거나,

또는 쌍 (R_{02}, R_{03}) 또는 (R_{03}, R_{04})은 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 고리는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬, -$NR_{013}R_{013}$', -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01} 및 옥소로부터 선택되는 기에 의해 임의로 치환되고,

R_{06} 및 R_{07}은 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, -(C_0-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}$', -O-Cy_{01}, -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알케닐-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알키닐-Cy_{01}, -O-(C_1-C_6)알킬-R_{012}, -C(O)-OR_{011}, -O-C(O)-R_{011}, -C(O)-$NR_{011}R_{011}$', -NR_{011}-C(O)-R_{011}', -NR_{011}-C(O)-OR_{011}', -(C_1-C_6)알킬-NR_{011}-C(O)-R_{011}', -SO_2-$NR_{011}R_{011}$', 또는 -SO_2-(C_1-C_6)알킬이거나,

또는 쌍 (R_{06}, R_{07})은 2개의 인접한 탄소 원자와 융합된 경우에 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, -$NR_{013}R_{013}$', -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01} 및 옥소에 의해 임의로 치환되고,

R_{08}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_8)알킬 기, 아릴 기, 헤테로아릴 기, 아릴-(C_1-C_6)알킬 기 또는 헤테로아릴(C_1-C_6)알킬 기이고,

R_{09}는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, -Cy_{02}, -(C_1-C_6)알킬-Cy_{02}, -(C_2-C_6)알케닐-Cy_{02}, -(C_2-C_6)알키닐-Cy_{02}, -Cy_{02}-Cy_{03}, -(C_2-C_6)알키닐-O-Cy_{02}, -Cy_{02}-(C_0-C_6)알킬-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{03}, 할로겐 원자, 시아노 기, -C(O)-R_{014}, -C(O)-$NR_{014}R_{014}$'이고,

R_{011} 및 R_{011}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 또는 -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}이거나,

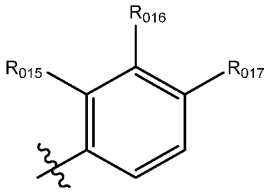
또는 쌍 (R_{011}, R_{011}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 N 원자는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고, 여기서 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기의 탄소 원자 중 1개 이상은 임의로 중수소화되고,

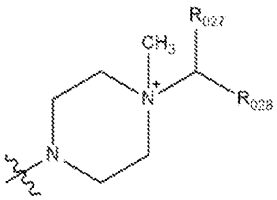
R_{012}는 -Cy_{05}, -Cy_{05}-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, -Cy_{05}-(C_0-C_6)알킬-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, -Cy_{05}-(C_0-C_6)알킬-NR_{011}-(C_0-C_6)알킬-

Cy_{06}, $-Cy_{05}-Cy_{06}-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{07}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{09}$, $-NH-C(O)-NH-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}R_{011}'$, $-OR_{011}$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-OR_{011}$, $-SO_2-R_{011}$ 또는 $-C(O)-OR_{011}$이고,

R_{013}, R_{013}', R_{014} 및 R_{014}'는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07} 및 Cy_{08}은 서로 독립적으로 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고, 이들 각각은 임의로 치환되고,

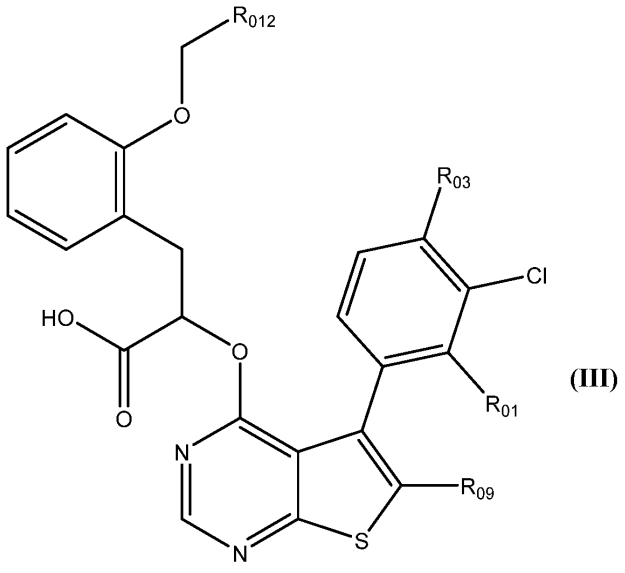
Cy_{09}는  이고, 여기서 R_{015}, R_{016}, 및 R_{017}은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고,

R_{031}은  이고, 여기서 R_{027} 및 R_{028}은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고,

여기서 R_{03}, R_{09}, 또는 R_{012} 기 중 최대 1개가 존재하는 경우 링커에 공유 부착된다.

청구항 28

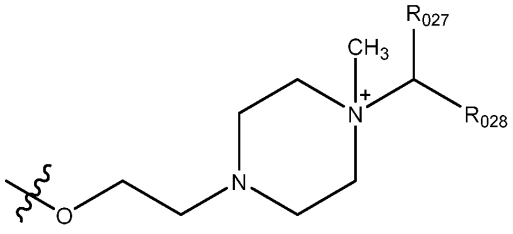
제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, D는 하기 화학식 (III)의 화합물, 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 항체-약물 접합체:



(III)

여기서:

R_{01}은 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

R_{03}은 -O-(C_1-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}$', 또는  이고,

여기서 R_{011} 및 R_{011}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 또는 -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}이거나;

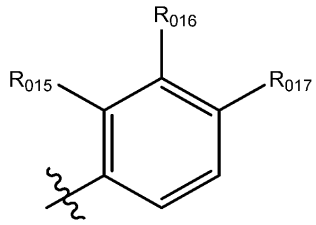
또는 쌍 (R_{011}, R_{011}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 N 원자는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기로부터 선택되는 1 또는 2개의 기에 의해 치환될 수 있고,

여기서 R_{027}은 수소 원자이고, R_{028}은 -$(CH_2)_{p0}$-O-SO_2-O^- 기 또는 -$(CH_2)_{p0}$-SO_2-OR_{030} 기이고;

R_{09}는 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기 또는 -Cy_{02}이고,

R_{012}는 -Cy_{05}, -Cy_{05}-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06} 또는 -Cy_{05}-(C_0-C_6)알킬-Cy_{09}이고,

Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{05} 및 Cy_{06}은 서로 독립적으로 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고, 이들 각각은 임의로 치환되고,

Cy_{09}는  이고, 여기서 R_{015}, R_{016}, 및 R_{017}은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고,

여기서 R_{03}, R_{09}, 또는 R_{012} 기 중 최대 1개가 존재하는 경우 링커에 공유 부착된다.

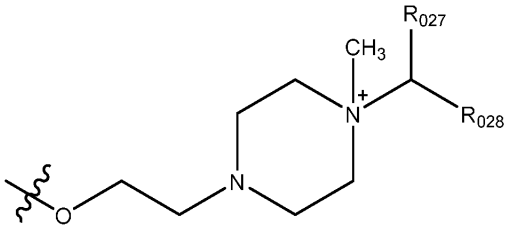
청구항 29

제28항에 있어서, R_{01}은 메틸 또는 에틸인 항체-약물 접합체.

청구항 30

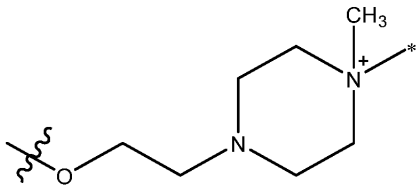
제28항에 있어서, R_{03}은 -O-CH_2-CH_2-$NR_{011}R_{011}$'이고, 여기서 R_{011} 및 R_{011}'은 이들을 보유하는 질소 원자와 함께, 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기인 기에 의해 치환될 수 있는 피페라지닐 기를 형성하는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 31

제28항에 있어서, R_{03}은 화학식  를 포함하고, 여기서 R_{027}은 수소

원자이고, R_{028}은 $-(CH_2)_{p0}-SO_2-OR_{030}$ 기인 항체-약물 접합체.

청구항 32

제28항에 있어서, R_{03}은 화학식  를 포함하고, 여기서 —*은 링커에 대한 결합인 항체-약물 접합체.

청구항 33

제28항에 있어서, R_{09}는 Cy_{02}인 항체-약물 접합체.

청구항 34

제33항에 있어서, Cy_{02}는 임의로 치환된 아릴 기인 항체-약물 접합체.

청구항 35

제28항에 있어서, Cy_{05}는 피라졸릴 기 및 피리미디닐 기로부터 선택되는 헤테로아릴 기를 포함하는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 36

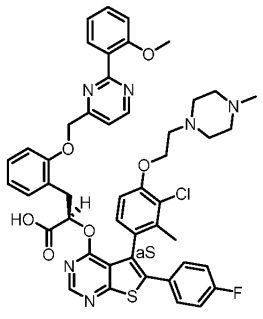
제28항에 있어서, Cy_{05}는 피리미디닐 기인 항체-약물 접합체.

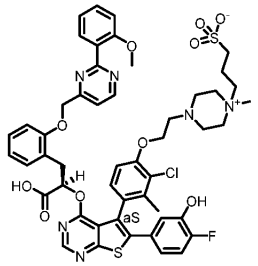
청구항 37

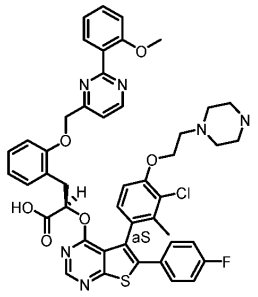
제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, L은 L에서 화학식 (I), (II), 또는 (III)의 R_{03}으로의 공유 결합에 의해 D에 부착되거나; 또는 L은 L에서 화학식 (I), (II), 또는 (III)의 R_{09}로의 공유 결합에 의해 D에 부착되는 것인 항체-약물 접합체.

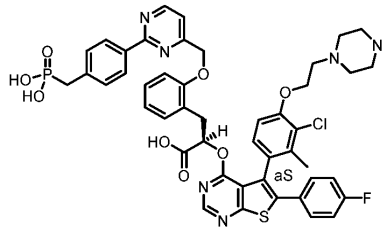
청구항 38

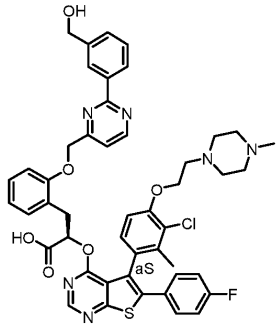
제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

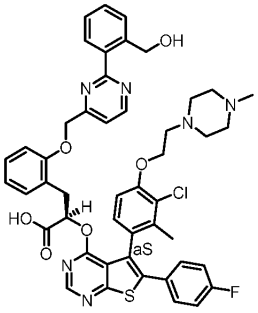
(1) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

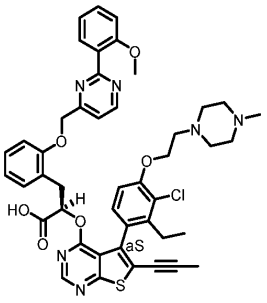
(2) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

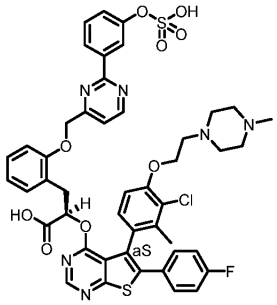
(3) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

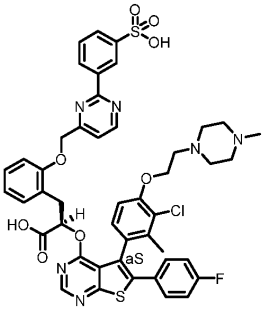
(4) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

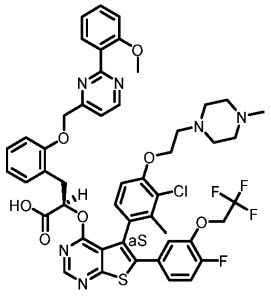
(5) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

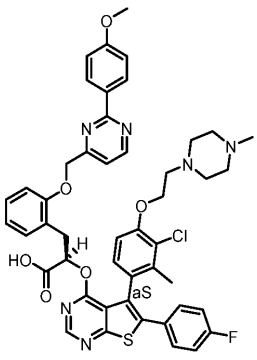
(6) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

(7) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

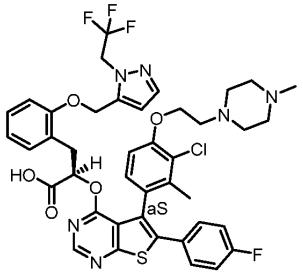
(8) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

(9) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

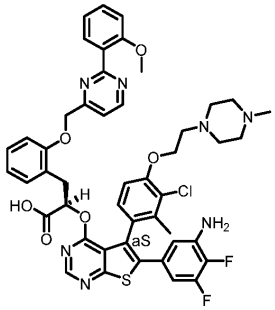
(10) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

(11) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도

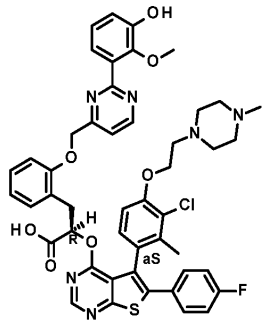
체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;



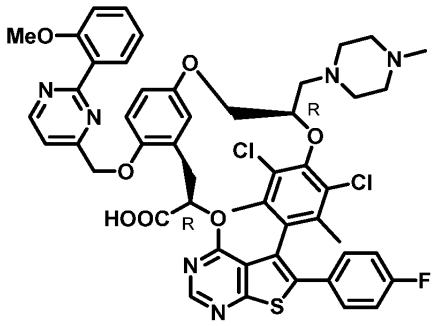
(12) D는 , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;



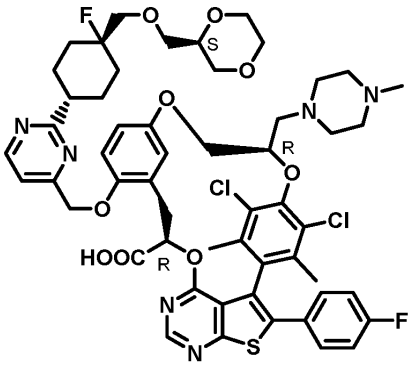
(13) D는 , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

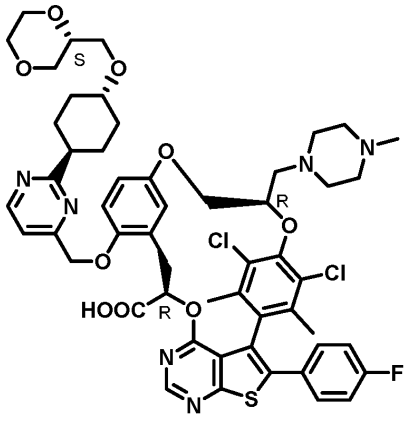


(14) D는 , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;



(15) D는 , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

(16) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하거나;

(17) D는  , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인

항체-약물 접합체.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, -(L-D)는 표 A로부터 선택되는 화합물, 또는 그의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 제약상 허용되는 염으로부터 형성되는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은

(i) 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(ii) 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 41

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CD48 항체는

(a) 서열식별번호: 12의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 25의 경쇄 아미노산 서열;

(b) 서열식별번호: 14의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 25의 경쇄 아미노산 서열;

(c) 서열식별번호: 38의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 51의 경쇄 아미노산 서열;

(d) 서열식별번호: 40의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 51의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 것인 항체-약물 접합체.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 항체-약물 접합체의 다중 카피를 포함하는 조성물이며, 여기서 조성물 중 항체-약물 접합체의 평균 p는 약 2 내지 약 16, 예를 들어 약 2 내지 약 8, 예를 들어 약 2 내지 약 4인 조성물.

청구항 43

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 항체-약물 접합체 또는 제42항의 조성물, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 44

암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체에게 치료 유효량의 제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 항체-약물 접합체, 제42항의 조성물 또는 제43항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체를 치료하는 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 암은 CD48를 발현하는 것인 방법.

청구항 46

제44항 또는 제45항에 있어서, 암은 종양 또는 혈액암이고, 바람직하게는 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, B-세포 림프종, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암인 방법.

청구항 47

대상체에게 치료 유효량의 제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 항체-약물 접합체, 제42항의 조성물 또는 제43항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 종양의 성장을 감소시키거나 또는 억제하는 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, 종양은 CD48를 발현하는 것인 방법.

청구항 49

제47항 또는 제48항에 있어서, 종양은 유방암, 위암, 방광암, 뇌암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 흑색종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암인 방법.

청구항 50

제44항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물의 투여는 종양의 성장을 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99%만큼 감소시키거나 또는 억제하는 것인 방법.

청구항 51

대상체에게 치료 유효량의 제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 항체-약물 접합체, 제42항의 조성물 또는 제43항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암 세포 집단의 확장을 감소시키거나 또는 둔화시키는 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 암 세포 집단은 CD48를 발현하는 것인 방법.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서, 암 세포 집단은 종양 또는 혈액암으로부터의 것이고, 바람직하게는 암 세포 집단은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, B-세포 림프종, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암으로부터의 것인 방법.

청구항 54

제51항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물의 투여는 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99%만큼 암 세포 집단을 감소시키거나 또는 암 세포 집단의 확장을 둔화시키는 것인 방법.

청구항 55

암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하는 단계; 샘플을 항체-약물 접합체와 접촉시키는 단계; 샘플에서 암 세포에 대한 항체-약물 접합체의 결합을 검출하는 단계를 포함하는, 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체가 제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 항체-약물 접합체, 제42항의 조성물 또는 제43항의 제약 조성물로의 치료에 반응성일지 여부를 결정하는 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 샘플 내의 암 세포는 CD48를 발현하는 것인 방법.

청구항 57

제55항 또는 제56항에 있어서, 암은 CD48를 발현하는 것인 방법.

청구항 58

제55항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 종양 또는 혈액암이고, 바람직하게는 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, B-세포 림프종, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암인 방법.

청구항 59

제55항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 조직 생검 샘플, 혈액 샘플 또는 골수 샘플인 방법.

청구항 60

제44항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 이를 필요로 하는 대상체에게 적어도 1종의 추가의 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함하며, 바람직하게는 1종의 추가의 치료제는 Bcl-2 억제제이고, 보다 바람직하게는 1종의 추가의 치료제는 베네토클락스, 화합물 A1 또는 화합물 A2인 방법.

청구항 61

제1항의 항-CD48 항체 또는 항원-결합 단편을 MCL1 억제제에 연결된 절단가능한 링커와 접합을 허용하는 조건하에 반응시키는 것을 포함하는, 제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 항체-약물 접합체를 생산하는 방법.

청구항 62

하기 화학식 (1)의 항체-약물 접합체:

$Ab-(L-D)_p$ (1)

여기서:

Ab는 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편이고, 임의로 Ab는 Fc 침묵 항체이고;

p는 1 내지 16의 정수이고;

L은 링커이고;

D는 MCL1 억제제 화합물이다.

청구항 63

질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 제62항의 항체-약물 접합체를 Bcl-2 억제제와 조합하여 투여하는 것을 포함하며, 여기서 질환 또는 장애는 CD48에 의해 매개되는 것인, 질환 또는 장애를 치료하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] <관련 출원>

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에 2020년 11월 24일에 출원된 미국 가출원 번호 63/117,724의 출원일의 이익 및 그에 대한 우선권을 주장하며, 그의 전체 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] <서열 목록>

[0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자 제출된 서열 목록을 함유하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 2021년 11월 19일에 생성된 상기 ASCII 카피는 132043-00320_SL.txt로 명명되고, 84,193 바이트 크기이다.

[0005] <기술분야>

[0006] 본 개시내용은 Mcl-1 억제제, 및 항원 표적, 예를 들어 종양 또는 다른 암 세포 상에 발현된 항원에 결합하는 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 항체-약물 접합체 (ADC)에 관한 것이다. 본 개시내용은 추가로 표적 항원 CD48을 발현하고/하거나 Mcl-1 발현 및/또는 활성을 조정함으로써 치료될 수 있는 암의 치료 및/또는 진단에 유용한 방법 및 조성물, 및 상기 조성물의 제조 방법에 관한 것이다. Mcl-1 억제제 약물 모이어티를 포함하는 링커-약물 접합체 및 그의 제조 방법이 또한 개시된다.

배 경 기 술

[0007] 아폽토시스 또는 프로그램화된 세포 사멸은 배아 발생 및 조직 항상성의 유지에 중요한 생리학적 과정이다. 아폽토시스-유형 세포 사멸은 일반적으로 형태학적 변화, 예컨대 핵의 응축 및 DNA 단편화, 뿐만 아니라 생화학적 변화, 예컨대 세포의 주요 구조적 성분에 대한 손상을 유발할 수 있는 카스파제의 활성화를 수반한다. 아폽토시스의 조절은 복잡하고, 전형적으로 여러 세포내 신호전달 경로의 활성화 또는 억제를 수반한다 (문헌 [Cory et al. (2002) Nature Review Cancer 2:647-656]).

[0008] 아폽토시스의 탈조절은 특정 병리상태와 연관된다. 예를 들어, 증가된 아폽토시스는 신경변성 질환, 예컨대 파킨슨병, 알츠하이머병 및 허혈과 연관된다. 반대로, 아폽토시스의 결핍은 암 및 화학요법저항성, 자가면역 질환, 염증성 질환 및 바이러스 감염의 발생에서 역할을 할 수 있다. 아폽토시스의 부재는 암의 표현형 서명 중 하나이다 (문헌 [Hanahan et al. (2000) Cell 100:57-70]). Bcl-2 패밀리의 항아폽토시스 단백질은 수많은 유형의 암, 예컨대 결장암, 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 방광암, 난소암, 전립선암, 만성 림프성 백혈병, 림프종, 골수종 및 췌장암과 연관된다.

[0009] 항아폽토시스 Bcl-2 패밀리 구성원인 골수 세포 백혈병 1 (Mcl-1)은 세포 생존의 조절제이다. Mcl-1 유전자의 증폭 및/또는 Mcl-1 단백질의 과다발현은 다수의 암 유형에서 관찰되었고, 종양 발생에 통상적으로 연루되어 있다 (문헌 [Beroukhim et al. (2010) Nature 463(7283):899-905]). Mcl-1은 인간 암에서 가장 빈번하게 증폭되

는 유전자 중 하나이고, 또한 다양한 항암제에 대한 약물 내성을 매개하는 것으로 밝혀진 중요한 생존 인자이다.

[0010] Mcl-1은 아폽토시스촉진 단백질, 예컨대 Bim, Noxa, Bak 및 Bax에 결합하여 이들의 사멸-유도 활성을 중화시킴으로써 세포 생존을 촉진하는 것으로 여겨진다. Mcl-1의 억제는 이들 아폽토시스촉진 단백질을 방출하여, 생존을 위해 Mcl-1에 의존성인 종양 세포에서 아폽토시스를 종종 유도한다. 따라서, 아폽토시스 신호전달 경로에서 Mcl-1 또는 그의 상류 및/또는 하류의 단백질을 치료적으로 표적화하는 것은 다양한 악성종양을 치료하고 특정 인간 암에서 약물 내성을 극복하기 위한 유망한 전략을 나타낼 수 있다.

[0011] CD48 (BLAST-1 및 SLAMF2로도 공지됨)은 정상 비-조혈 조직에서의 그의 부재, 성숙 림프구 및 단핵구로 제한된 발현, 및 다양한 혈액 악성종양에서의 유의한 상향조절로 인해 항체 약물 접합체에 대한 매력적인 표적이다. CD48은 부착 및 공동자극 분자이고, 과립구 활성 및 알레르기에서 T 세포 활성화 및 자가면역에 이르는 매우 다양한 선천성 및 적응성 면역 반응에 수반된다 (McArdel et al. (2016) Clin Immunol 164:10-20). 종양학에서, CD48이 림프성 백혈병, 다발성 골수종 및 림프종에서 유의하게 상향조절된다는 것이 널리 확립되어 있다. CD48을 표적화하는 항체 및 항체-약물 접합체는 골수종 세포 표면 상의 CD48에 결합 시 내재화되고 리소솜 소포로 트래픽킹되고, 암의 전임상 모델에서 항종양 활성을 나타내는 것으로 이미 밝혀졌다 (예를 들어 문헌 [Lewis et al. (2016) Blood 128(22):4470] 참조).

발명의 내용

[0012] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 부분적으로 암 세포에 대해 생물학적 활성을 갖는 신규 항체-약물 접합체 (ADC) 화합물을 제공한다. 화합물은 포유동물에서 종양 성장을 둔화시키고/거나, 억제하고/거나, 역전시킬 수 있고/거나, 인간 암 환자를 치료하는 데 유용할 수 있다. 본 개시내용은 보다 구체적으로, 일부 실시양태에서, 암 세포에 결합하여 이를 사멸시킬 수 있는 ADC 화합물에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 ADC 화합물은 Mcl-1 억제제를 전장 항-CD48 항체 또는 항원-결합 단편에 부착시키는 링커를 포함한다. 일부 실시양태에서, ADC 화합물은 또한 결합 후에 표적 세포 내로 내재화될 수 있다.

[0013] 일부 실시양태에서, ADC 화합물은 화학식 (1)에 의해 나타내어질 수 있다:

[0014] $Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (1)

[0015] 여기서, Ab는 암 세포를 표적화하는 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편이고;

[0016] D는 Mcl-1 억제제이고;

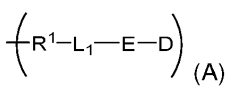
[0017] L은 Ab를 D에 공유 부착시키는 링커이고;

[0018] p는 1 내지 16의 정수이다.

[0019] 일부 실시양태들에서, p는 1 내지 8의 정수이다. 일부 실시양태들에서, p는 1 내지 5의 정수이다. 일부 실시양태들에서, p는 2 내지 4의 정수이다. 일부 실시양태들에서, p는 2이다. 일부 실시양태들에서, p는 4이다. 일부 실시양태들에서, p는 액체 크로마토그래피-질량 분광측정법 (LC-MS)에 의해 측정된다.

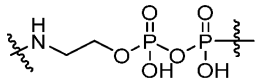
[0020] 일부 실시양태에서, 링커 (L)는 부착 기, 적어도 1개의 스페이서 기 및 적어도 1개의 절단가능한 기를 포함한다. 일부 경우, 절단가능한 기는 피로포스페이트 기 및/또는 자기-희생적 기를 포함한다. 구체적 실시양태에서, L은 부착 기; 적어도 1개의 가교 스페이서 기; 및 피로포스페이트 기 및/또는 자기-희생적 기를 포함하는 적어도 1개의 절단가능한 기를 포함한다.

[0021] 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체는 화학식 (A)의 링커-약물 (또는 "링커-페이로드") 모이어티 -(L-D)를 포함한다:

[0022]  (A)

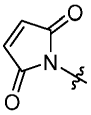
[0023] 여기서, R^1은 부착 기이고, L_1은 가교 스페이서 기이고, E는 절단가능한 기이다.

[0024] 일부 실시양태에서, 절단가능한 기는 피로포스페이트 기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 절단가능한 기는 하기를 포함한다:

[0025] 

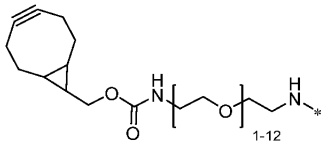
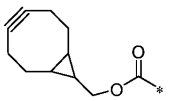
[0026] 일부 실시양태에서, 가교 스페이서 기는 폴리옥시에틸렌 (PEG) 기를 포함한다. 일부 경우, PEG 기는 PEG1, PEG2, PEG3, PEG4, PEG5, PEG6, PEG7, PEG8, PEG9, PEG10, PEG11, PEG12, PEG13, PEG14 및 PEG15로부터 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 가교 스페이서 기는 -CO-CH_2-CH_2-PEG12-를 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, 가교 스페이서 기는 부타노일, 펜타노일, 헥사노일, 헵타노일 또는 옥타노일 기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 가교 스페이서 기는 헥사노일 기를 포함한다.

[0027] 일부 실시양태에서 부착 기는 말레이미드 기, 티올 기, 시클로옥틴 기 및 아지도 기로부터 선택되는 적어도 1개의 반응성 기로부터 형성된다. 예를 들어, 말레이미드 기는 다음 구조를 가질 수 있다:

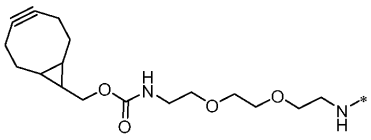
[0028] 

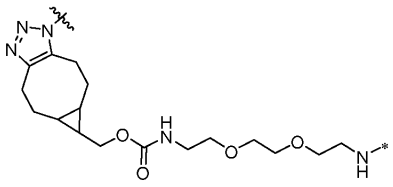
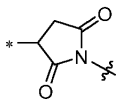
[0029] 아지도 기는 다음 구조를 가질 수 있다: -N=N^+=N^-.

[0030] 시클로옥틴 기는 다음 구조를 가질 수 있다:

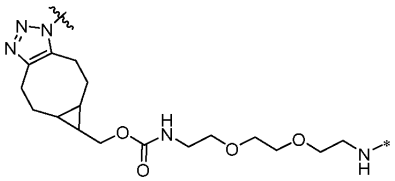
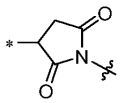
[0031]  또는  , 여기서 —*은 항체에 대한 결합이다.

[0032] 일부 경우, 시클로옥틴 기는 다음 구조를 갖는다:

[0033]  , 여기서 —*는 항체에 대한 결합이다.

[0034] 일부 실시양태에서, 부착 기는  또는  를 포함하는 화학식을 가지며, 여기서 —*은 항체에 대한 결합이다.

[0035] 일부 실시양태에서, 항체는 다음으로부터 선택되는 부착 기에 의해 링커 (L)에 연결된다:

[0036]  및 

[0037] 여기서, —*은 항체에 대한 결합이고,  는 가교 스페이서 기에 대한 결합이다.

[0038] 일부 실시양태에서, 가교 스페이서 기는 절단가능한 기에 연결된다.

[0039] 일부 실시양태에서, 가교 스페이서 기는 -CO-CH_2-CH_2-PEG12-이다.

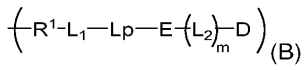
[0040] 일부 실시양태에서, 절단가능한 기는 -피로포스페이트-CH_2-CH_2-NH_2-이다.

[0041] 일부 실시양태에서, 절단가능한 기는 Mcl-1 억제제 (D)에 연결된다.

[0042] 일부 실시양태에서, 절단가능한 기는 페닐-피리미디닐 기를 통해 Mcl-1 억제제 (D) 기에 연결된다.

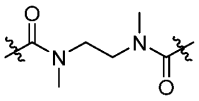
[0043] 일부 실시양태에서, 링커는 부착 기, 적어도 1개의 가교 스페이서 기, 펩티드 기, 및 적어도 1개의 절단가능한 기를 포함한다.

[0044] 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체는 하기 화학식 (B)의 링커-약물 모이어티 -(L-D)를 포함한다:

[0045] 

(B)

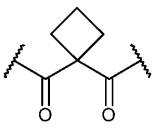
[0046] 여기서, R^1은 부착 기이고, L_1은 가교 스페이서이고, Lp는 1 내지 6개의 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 기이고, E는 절단가능한 기이고, L_2는 가교 스페이서이고, m은 0 또는 1이고; D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 경우, m은 1이고, 가교 스페이서는 하기를 포함한다:

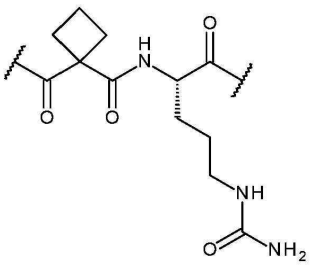
[0047] 

[0048] 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 가교 스페이서는 PEG 기를 포함한다. 일부 경우, PEG 기는 PEG1, PEG2, PEG3, PEG4, PEG5, PEG6, PEG7, PEG8, PEG9, PEG10, PEG11, PEG12, PEG13, PEG14 및 PEG15로부터 선택된다. 일부 경우, 적어도 1개의 가교 스페이서는 *-C(O)-CH_2-CH_2-PEG1-**, *-C(O)-CH_2-PEG3-**, *-C(O)-CH_2-CH_2-PEG12**, *-NH-CH2-CH2-PEG1-**, 폴리히드록시알킬 기, *-C(O)-N(CH_3)-CH_2-CH_2-N(CH_3)-C(O)-**, 및 *-C(O)-CH_2-CH_2-PEG12-NH-C(O)CH_2-CH_2-**로부터 선택되며, 여기서 **는 1개 이상의 가교 스페이서가 부착 기에 직접 또는 간접 부착되는 지점을 나타내고, *는 1개 이상의 가교 스페이서가 펩티드 기에 직접 또는 간접 부착되는 지점을 나타낸다.

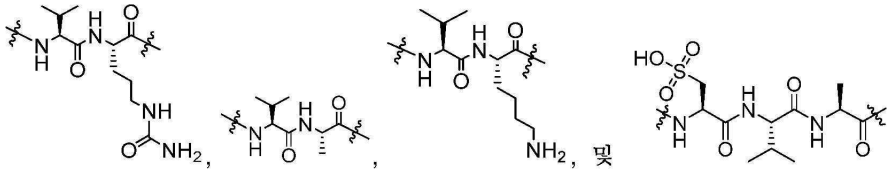
[0049] 일부 실시양태에서, L_1은 *-C(O)-CH_2-CH_2-PEG1-**, *-C(O)-CH_2-PEG3-**, *-C(O)-CH_2-CH_2-PEG12**, *-NH-CH2-CH2-PEG1-**, 및 폴리히드록시알킬 기로부터 선택되고, 여기서 **는 R^1에 대한 L_1의 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, *는 Lp에 대한 L_1의 직접 또는 간접 부착 지점을 나타낸다.

[0050] 일부 실시양태에서, m은 1이고 L_2는 -C(O)-N(CH_3)-CH_2-CH_2-N(CH_3)-C(O)-이다.

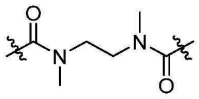
[0051] 일부 실시양태에서, 펩티드 기는 1 내지 12개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기 (Lp)는 1 내지 10개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기 (Lp)는 1 내지 8개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기 (Lp)는 1 내지 6개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기는 1 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기는 1 내지 3개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기는 1 내지 2개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 경우, 아미노산 잔기는 L-글리신 (Gly), L-발린 (Val), L-시트룰린 (Cit), L-시스테산 (술포-Ala), L-리신 (Lys), L-이소류신 (Ile), L-페닐알라닌 (Phe), L-메티오닌 (Met), L-아스파라긴 (Asn), L-프롤린 (Pro), L-알라닌 (Ala), L-류신 (Leu), L-트립토판 (Trp), 및 L-티로신 (Tyr)으로부터 선택된다. 예를 들어, 펩티드 기는 Val-Cit, Val-Ala, Val-Lys 및/또는 술포-Ala-Val-Ala를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기 (Lp)는  기에 연결된 1개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기 (Lp)는


로부터 선택되는 기를 포함한다.

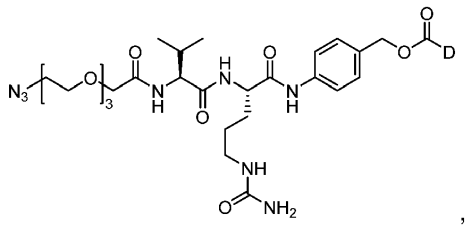
[0052] 일부 경우, 펩티드 기는 다음으로부터 선택되는 기를 포함한다:

[0053] 

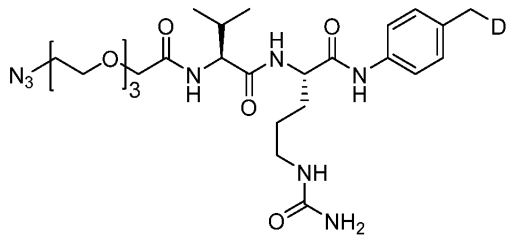
[0054] 일부 실시양태에서, 자기-희생적 기는 파라-아미노벤질-카르바메이트, 파라-아미노벤질-암모늄, 파라-아미노-(술포)벤질-암모늄, 파라-아미노-(술포)벤질-카르바메이트, 파라-아미노-(알콕시-PEG-알킬)벤질-카르바메이트, 파라-아미노-(폴리히드록시카르복시테트라히드로피라닐)알킬-벤질-카르바메이트 또는 파라-아미노-(폴리히드록시카르복시테트라히드로피라닐)알킬-벤질-암모늄을 포함한다.

[0055] 일부 실시양태에서, m은 1이고, 가교 스페이서는  를 포함한다.

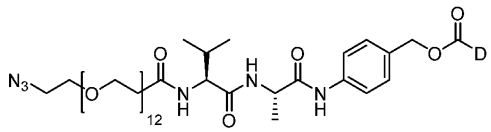
[0056] 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 -(L-D)는 다음으로부터 선택되는 화합물로부터 형성된다:



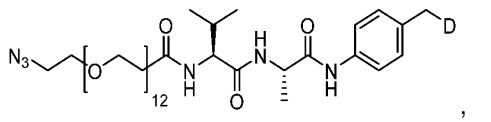
,



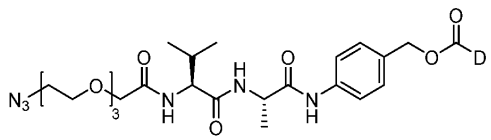
,



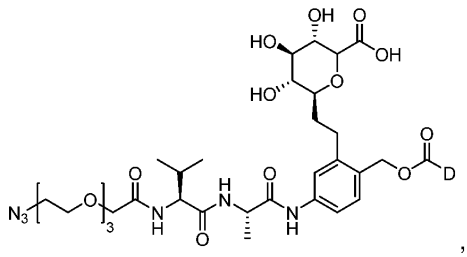
,



,

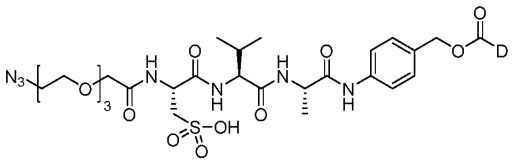


,

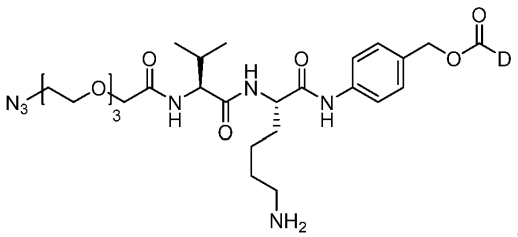


,

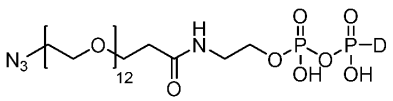
[0057]



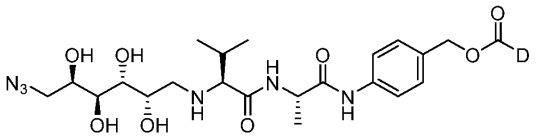
,



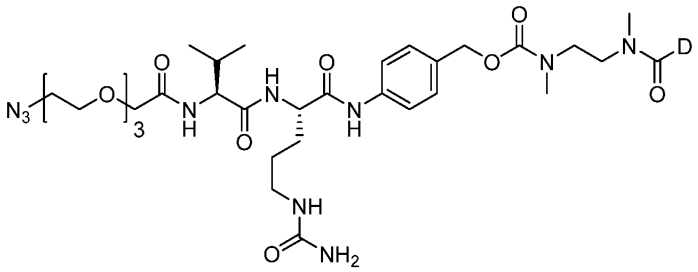
,



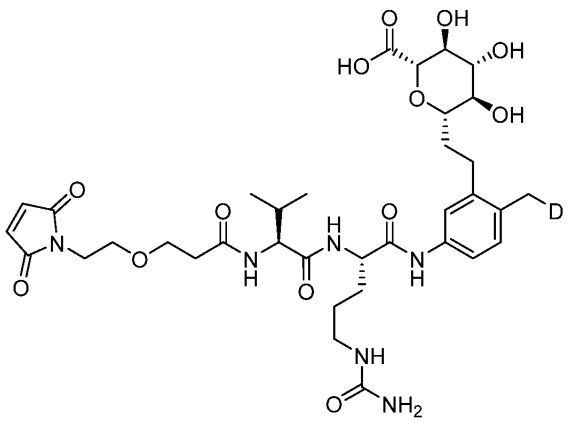
,



,

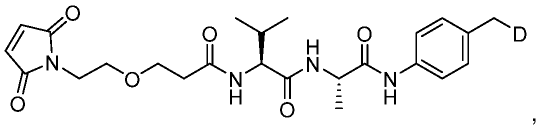


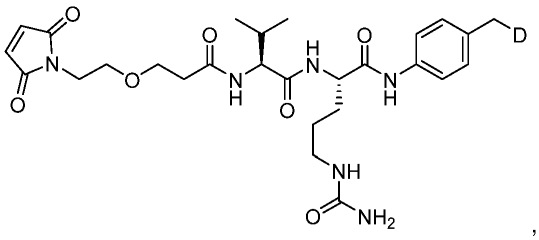
,

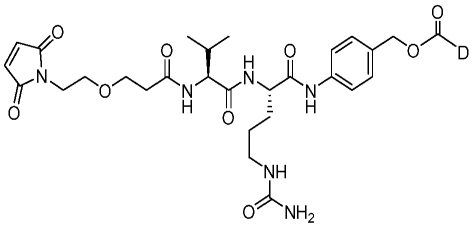


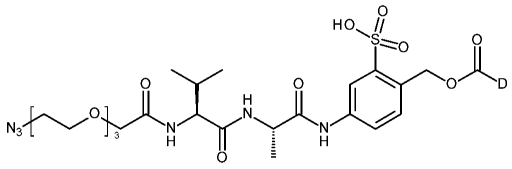
,

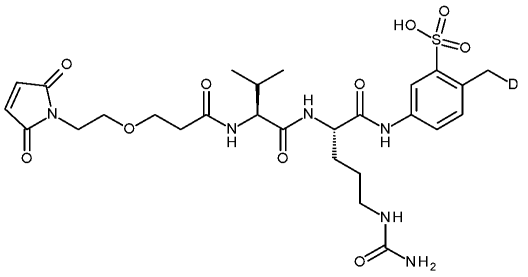
[0058]

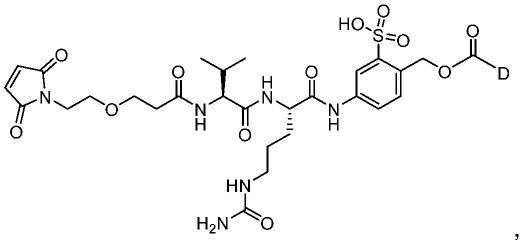

,


,

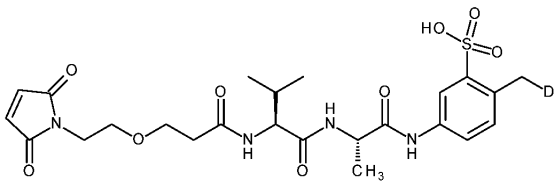

,

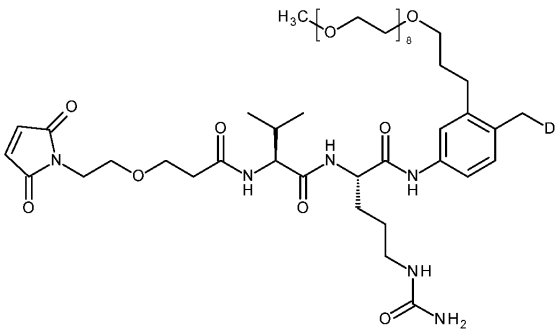

,

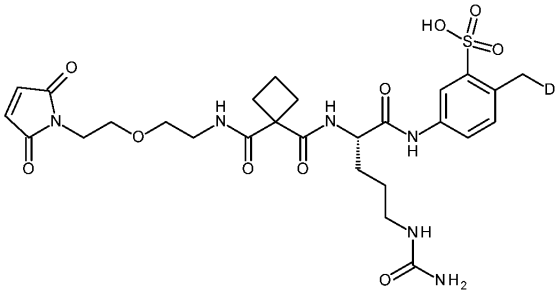

,

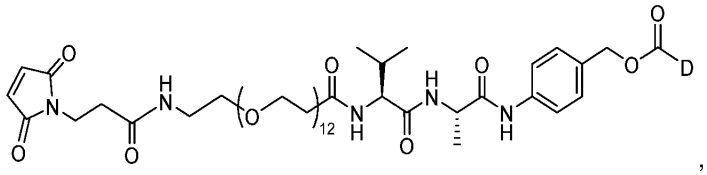

,

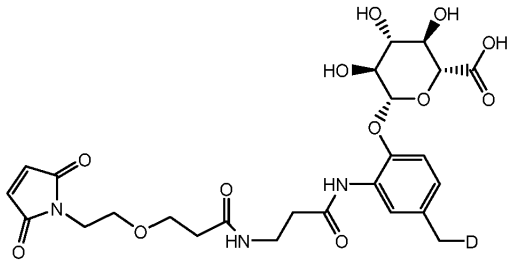
[0059]


,

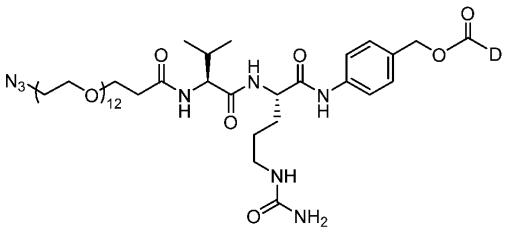

,


,


,

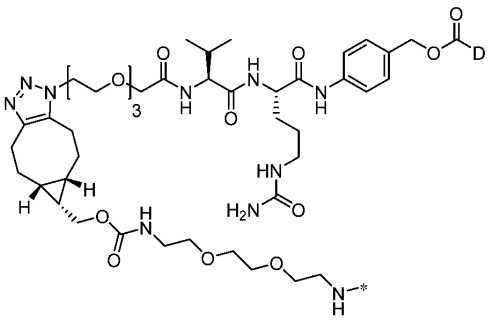

, 및

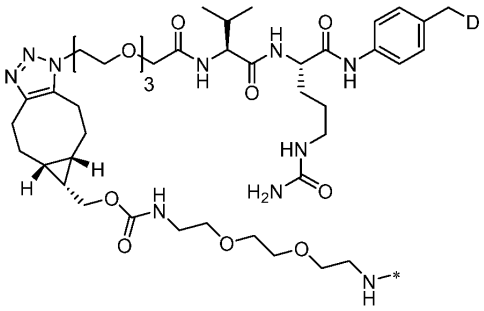
[0060]

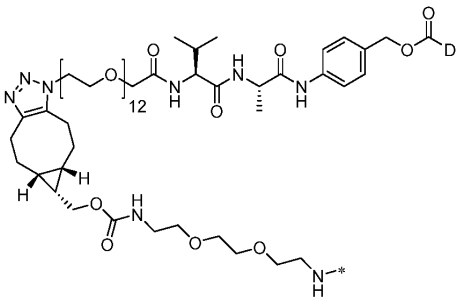


[0061]

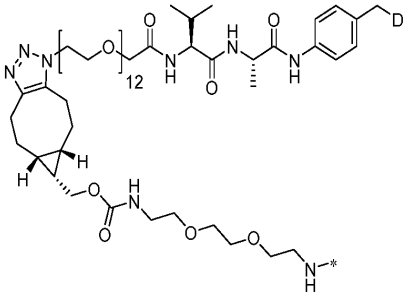
[0062] 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체는 다음으로부터 선택되는 화학식을 포함하는 링커-약물 기 -(L-D)를 포함한다:


,

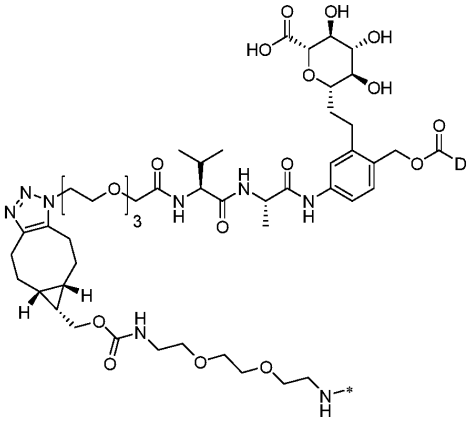

,


,

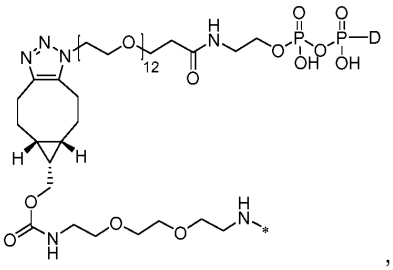
[0063]



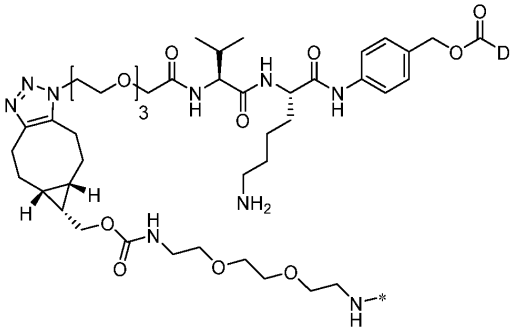
,



,

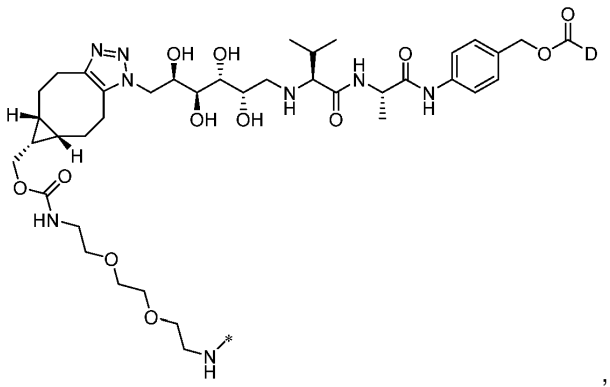


,

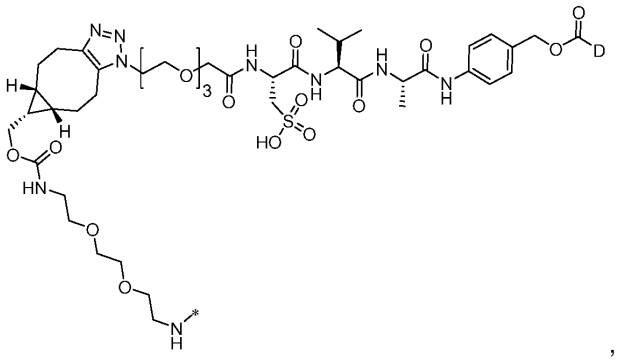


,

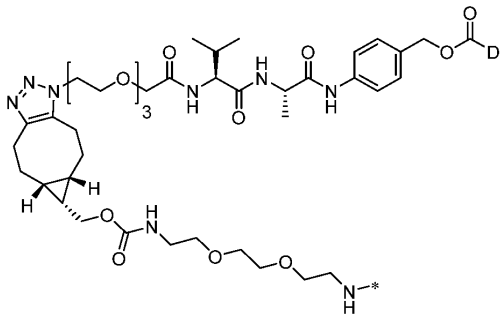
[0064]



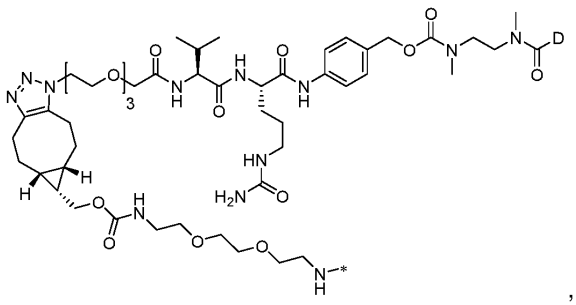
,



,

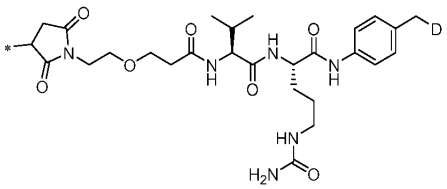


,

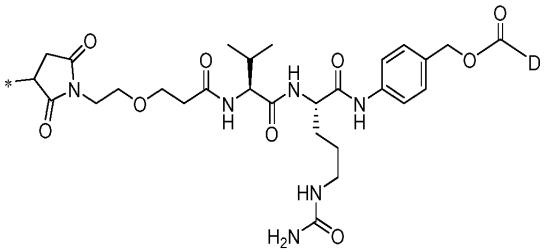


,

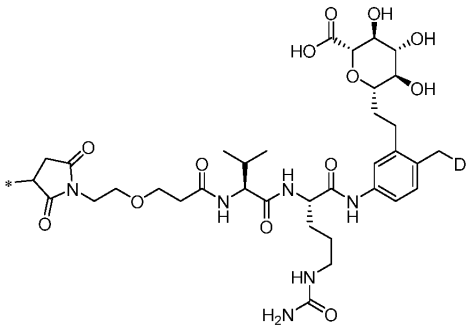
[0065]



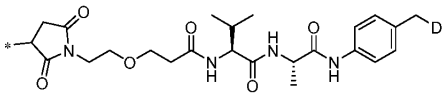
,



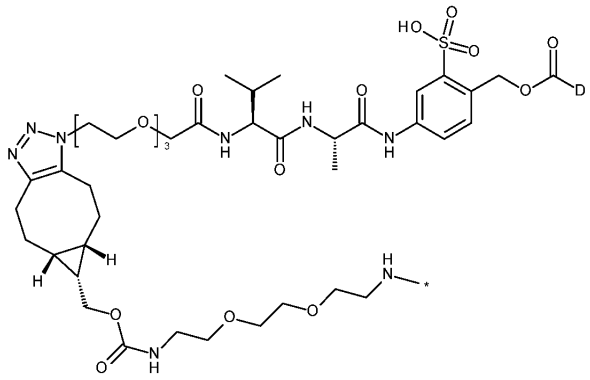
,



,

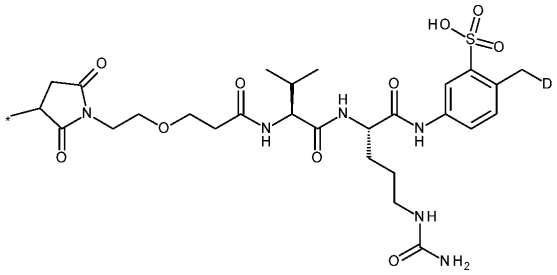


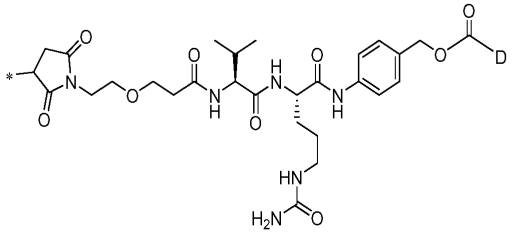
,

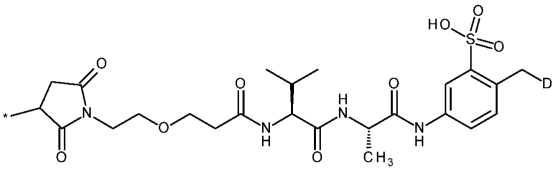


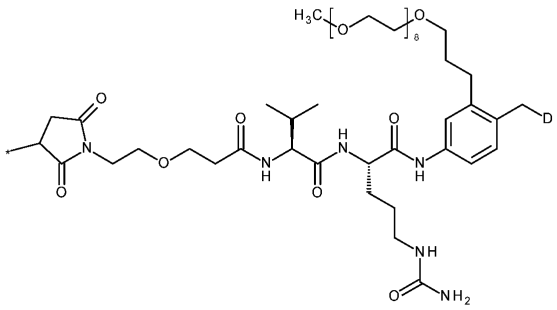
,

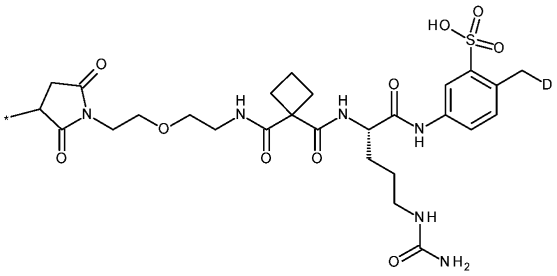
[0066]


,

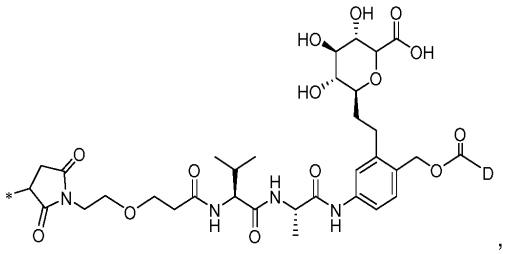

,

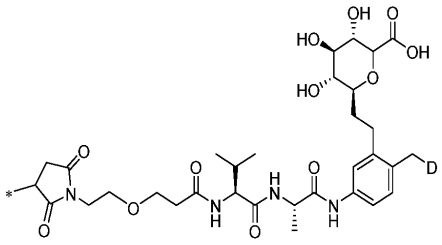

,

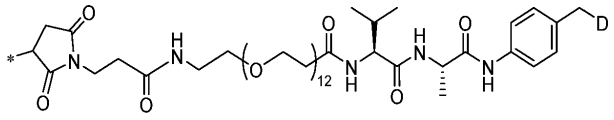

,

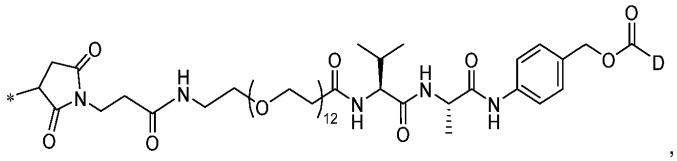

,

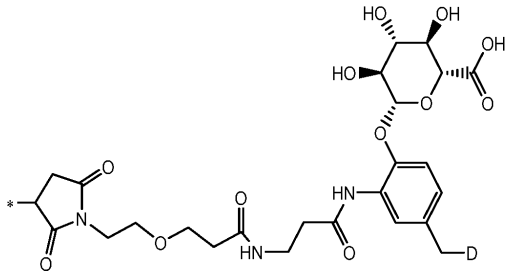
[0067]

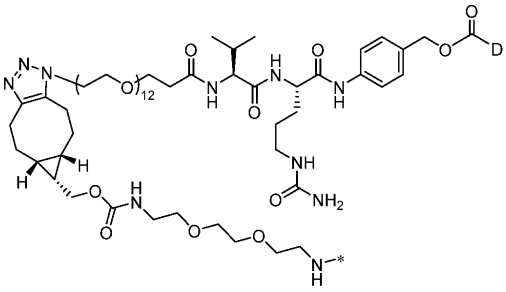

,


,


,


,

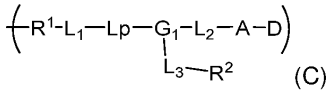

,


,

[0068]

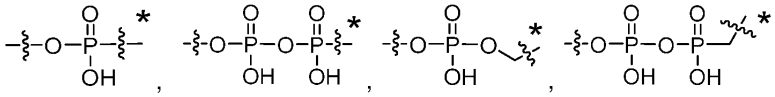
[0069] 여기서, —*은 항체에 대한 결합이다.

[0070] 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체는 화학식 (C)의 링커 약물 기 -(L-D)를 포함한다:

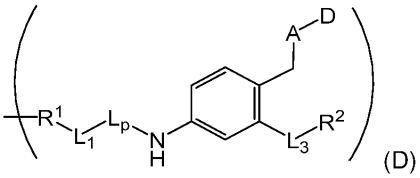

(C)

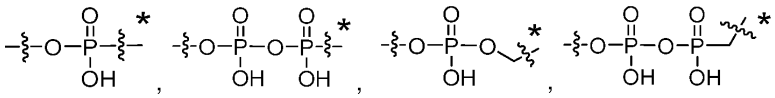
[0071]

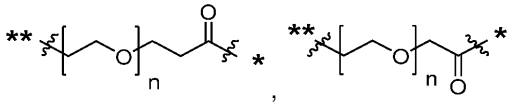
[0072] 여기서, R^1은 부착 기이고, L_1은 가교 스페이서이고; L_p는 1 내지 6개의 아미노산을 포함하는 펩티드 기이고; D는 Mcl-1 억제제이고; G_1-L_2-A는 자기-희생적 스페이서이고; L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌

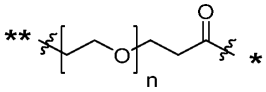
이고; A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고; L_3은 스페이서 모이어티이고; R^2는 친수성 모이어티이다.

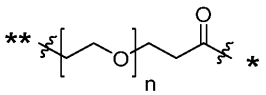
[0073] 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체는 하기 화학식 (D)의 링커 약물 기 -(L-D)를 포함한다:

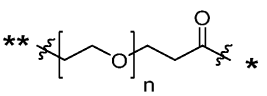
[0074] 

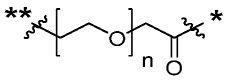
[0075] 여기서, R^1은 부착 기이고; L_1은 가교 스페이서이고; Lp는 1 내지 6개의 아미노산을 포함하는 펩티드 기이고; A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고; L_3은 스페이서 모이어티이고; R^2는 친수성 모이어티이다.

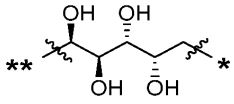
[0076] 일부 실시양태에서, L_1은  또는 *-CH(OH)CH(OH)CH(OH)CH(OH)-**를 포함하고, 여기서 각각의 n은 1 내지 12의 정수이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타낸다.

[0077] 일부 실시양태에서, L_1은  이고, n은 1 내지 12의 정수이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타낸다.

[0078] 일부 실시양태에서, L_1은  이고, n은 1이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타낸다.

[0079] 일부 실시양태에서, L_1은  이고, n은 12이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타낸다.

[0080] 일부 실시양태에서, L_1은  이고, n은 1 내지 12의 정수이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타낸다.

[0081] 일부 실시양태에서, L_1은  를 포함하고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타낸다.

[0082] 일부 실시양태에서, L_1은 하기를 포함하는 가교 스페이서이고:

[0083] *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0084] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;

[0085] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0086] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

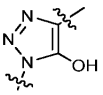
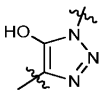
[0087] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**; *-C(=O)$(CH_2)_mX_1(CH_2)_m$-**;

[0088] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[0089] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

[0090] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

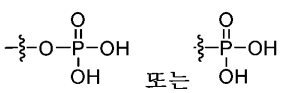
[0091] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$C$(R^3)_2$-** 또는

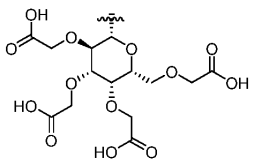
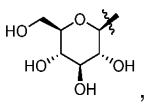
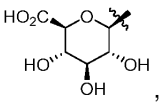
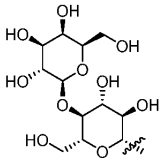
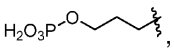
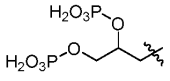
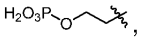
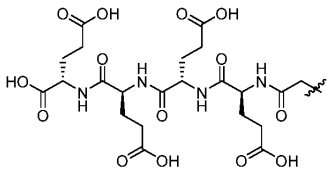
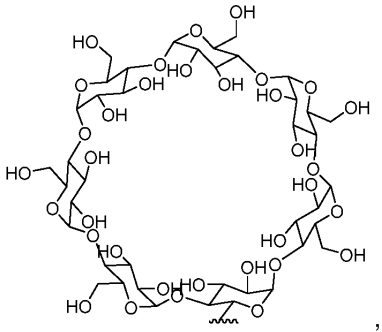
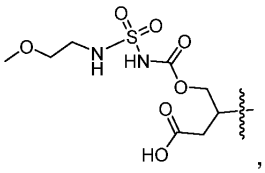
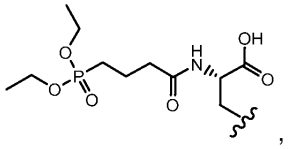
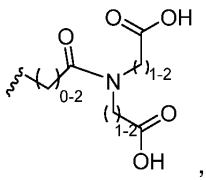
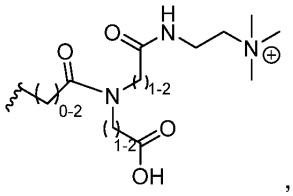
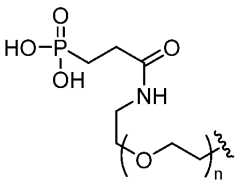
[0092] *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 직접 또는 간접 부착 지점을 나타내며, 여기서 X_1은  ,  ,  또는  이고,

[0093] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[0094] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

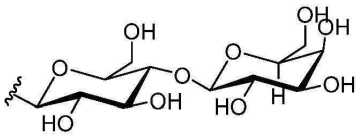
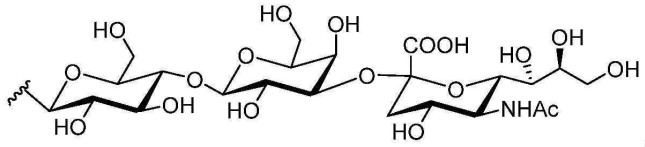
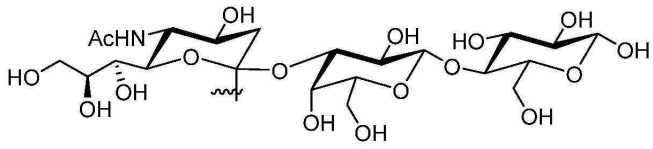
[0095] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택된다.

[0096] 일부 실시양태에서, R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 폴리올, 폴리사르코신, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6 알킬 또는 -OC(=O)NHS(O)$_2$NHCH$_2$CH$_2$OCH$_3$, -NHC(=O)C_{1-4}알킬렌-P(O)$(OCH_2CH_3)_2$ 및 -COOH 기로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 치환기로 치환된 C_2-C_6 알킬을 포함하는 친수성 모이어티이다. 일부 실시양태에서, R^2는

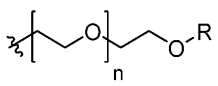
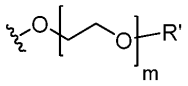

,

,

,

,

,

,

,

또는

,

,

,

,

,


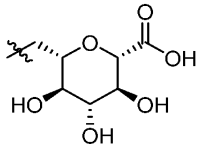
[0097]

[0098] (여기서, n은 1 내지 6의 정수임),


,

, 또는


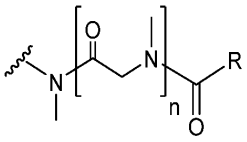
[0099] 이다.

[0100] 일부 실시양태에서, 친수성 모이어티는 화학식  또는  의 폴리에틸렌 글리콜을 포함하며, 여기서 R은 H, $-CH_3$, $-CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$, $-CH_2CH_2NHC(=O)R_a$, 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OR_a$이고, R'는 OH, $-OCH_3$, $-CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$, $-CH_2CH_2NHC(=O)R_a$, 또는 $-OCH_2CH_2C(=O)OR_a$이고, 여기서 R_a는 H, 또는 OH 또는 C_{1-4}알콕실로 임의로 치환된 C_{1-4}알킬이고, m 및 n은 각각 2 내지 25 (예를 들어 3 내지 25)의 정수이다.

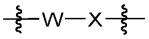


[0101] 일부 실시양태에서, 친수성 모이어티는 를 포함한다.

[0102] 일부 실시양태에서, 친수성 모이어티는, 예를 들어 하기 모이어티:



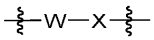
[0103] 를 갖는 폴리사르코신이고, 여기서 n은 3 내지 25의 정수이고; R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

[0104] 일부 실시양태에서, L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[0105] 여기서:

[0106] W는 $-CH_2-$, $-CH_2O-$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)O-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NH-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)-$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$, $-C(=O)N(X-R^2)-$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$, $-C(=O)NR^b-$, $-C(=O)NH-$, $-CH_2NR^bC(=O)-$, $-CH_2NR^bC(=O)NH-$, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$, $-NHC(=O)-$, $-NHC(=O)O-$, $-NHC(=O)NH-$, $-OC(=O)NH-$, $-S(O)_2NH-$, $-NHS(O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)O-$ 또는 $-NH-$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬, 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고;

[0107] X는 결합, 트리아졸릴, 또는 $-CH_2-$트리아졸릴-이고, 여기서 X는 R^2에 연결된다.

[0108] 일부 실시양태에서, L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[0109] 여기서:

[0110] W는 $-CH_2-$, $-CH_2O-$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)O-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NH-$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)-$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$, $-C(=O)N(X-R^2)-$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$, $-C(=O)NR^b-$, $-C(=O)NH-$, $-CH_2NR^bC(=O)-$, $-CH_2NR^bC(=O)NH-$, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$, $-NHC(=O)-$, $-NHC(=O)O-$, $-NHC(=O)NH-$, $-OC(=O)NH-$, $-S(O)_2NH-$, $-NHS(O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)O-$ 또는 $-NH-$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬, 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고;

[0111] X는 $-CH_2-$트리아졸릴-C_{1-4} 알킬렌-$OC(O)NHS(O)_2NH-$, $-C_{4-6}$ 시클로알킬렌-$OC(O)NHS(O)_2NH-$, $-(CH_2CH_2O)_n-C(O)NHS(O)_2NH-$, $-(CH_2CH_2O)_n-C(O)NHS(O)_2NH-(CH_2CH_2O)_n-$, $-CH_2-$트리아졸릴-C_{1-4} 알킬렌-$OC(O)NHS(O)_2NH-(CH_2CH_2O)_n-$, 또는 $-C_{4-6}$ 시클로알킬렌-$OC(O)NHS(O)_2NH-(CH_2CH_2O)_n-$이고, 여기서 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 또는 3이고, 여기서 X는 R^2에 연결된다.

[0112] 일부 실시양태에서, 부착 기는 적어도 1개의 반응성 기를 포함하는 반응에 의해 형성된다. 일부 경우, 부착 기는 링커에 부착된 제1 반응성 기 및 항체에 부착되거나 항체의 아미노산 잔기인 제2 반응성 기를 반응시킴으로써 형성된다.

[0113] 일부 실시양태에서, 반응성 기 중 적어도 1개는 하기를 포함한다:

[0114] 티올,

[0115] 말레이미드,

[0116] 할로아세트아미드,

[0117] 아지드,

[0118] 알킨,

[0119] 시클로옥텐,

[0120] 트리아릴 포스핀,

[0121] 옥사노보르나디엔,

[0122] 시클로옥틴,

[0123] 디아릴 테트라진,

[0124] 모노아릴 테트라진,

[0125] 노르보르넨,

[0126] 알데히드,

[0127] 히드록실아민,

[0128] 히드라진,

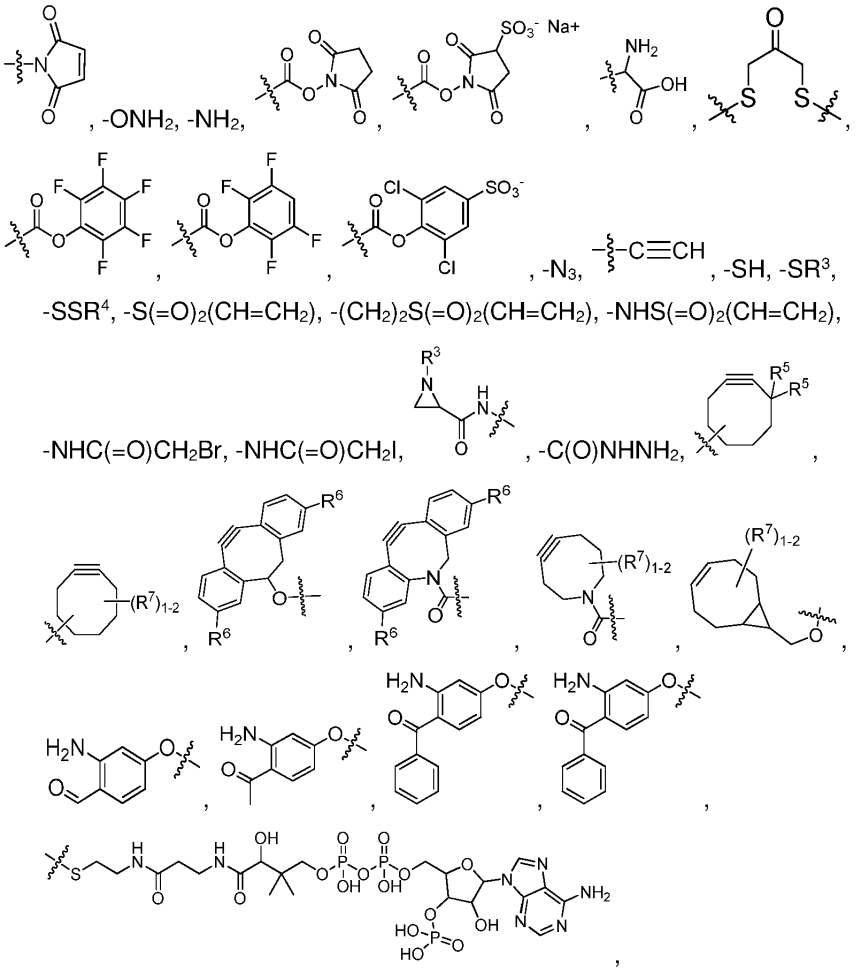
[0129] NH_2-NH-C(=O)-,

[0130] 케톤,

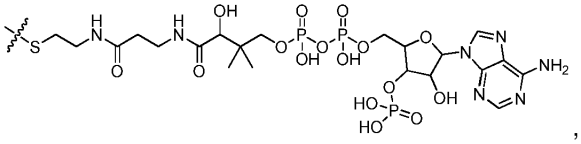
[0131] 비닐 술폰,

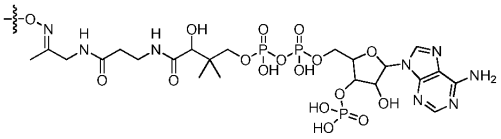
[0132] 아지리딘,

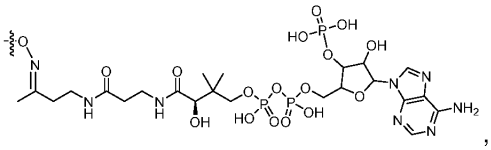
[0133] 아미노산 잔기,

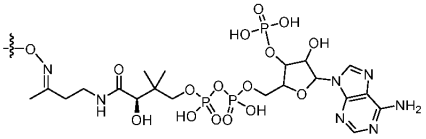


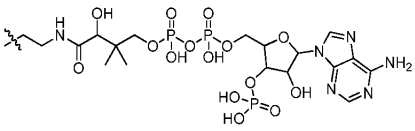
[0134]

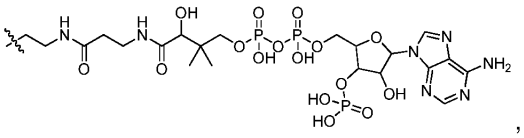

,

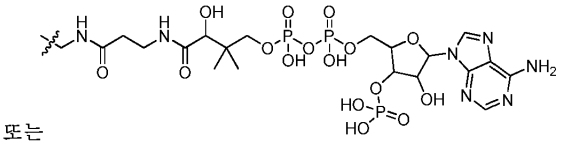

,


,


,


,


,



또는

[0135]

[0136] 여기서:

[0137] 각각의 R^3은 독립적으로 H 및 C_1-C_6알킬로부터 선택되고;

[0138] 각각의 R^4는 2-피리딜 또는 4-피리딜이고;

[0139] 각각의 R^5는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 선택되고;

[0140] 각각의 R^6은 독립적으로 H, C_1-C_6알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, -CN, $-NO_2$ 및 -OH로부터 선택되고;

[0141] 각각의 R^7은 독립적으로 H, C_{1-6}알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4}알콕시, 및 -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되는 것인 항체-약물 접합체.

[0142] 일부 실시양태에서, 제1 반응성 기 및 제2 반응성 기는 하기를 포함한다:

[0143] 티올 및 말레이미드,

[0144] 티올 및 할로아세트아미드,

[0145] 티올 및 비닐 술폰,

[0146] 티올 및 아지리딘,

[0147] 아지드 및 알킨,

[0148] 아지드 및 시클로옥틴,

[0149] 아지드 및 시클로옥텐,

[0150] 아지드 및 트리아릴 포스핀,

[0151] 아지드 및 옥사노보르나디엔,

[0152] 디아릴 테트라진 및 시클로옥텐,

[0153] 모노아릴 테트라진 및 논보르넨,

[0154] 알데히드 및 히드록실아민,

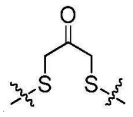
[0155] 알데히드 및 히드라진,

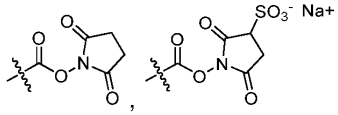
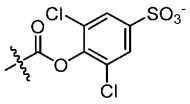
[0156] 알데히드 및 NH_2-NH-C(=O)-,

[0157] 케톤 및 히드록실아민,

[0158] 케톤 및 히드라진,

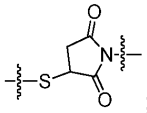
[0159] 케톤 및 NH2-NH-C(=O)-,

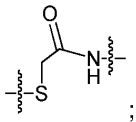
[0160] 히드록실아민 및  ,

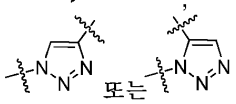
[0161] 아민 및  , 또는  , 또는

[0162] CoA 또는 CoA 유사체 및 세린 잔기.

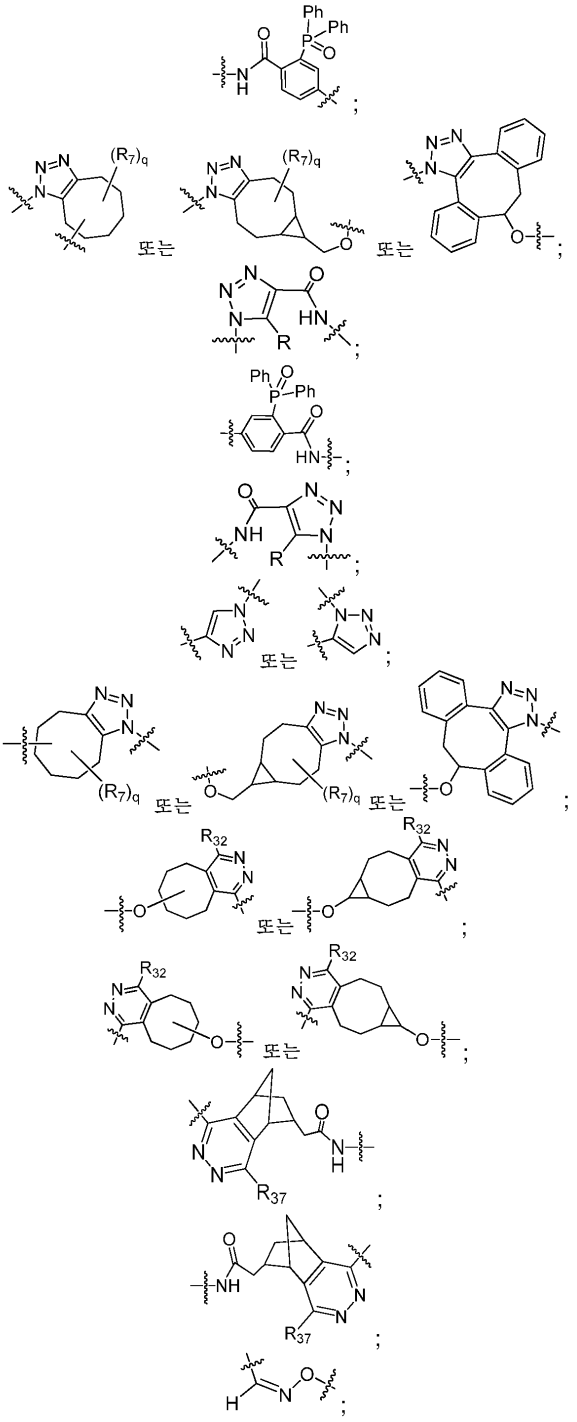
[0163] 일부 실시양태에서, 부착 기는 다음으로부터 선택되는 기를 포함한다:

 ;

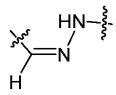
 ;

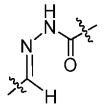
 ;

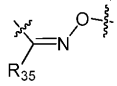
[0164]

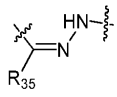


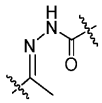
[0165]

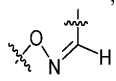

;

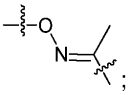

;

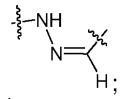

;

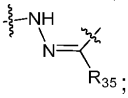

;

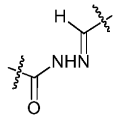

;

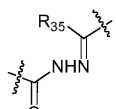

;

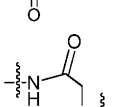

;

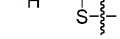

;

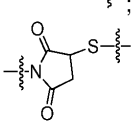

;

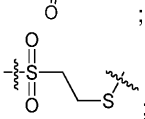

;


;


;


;

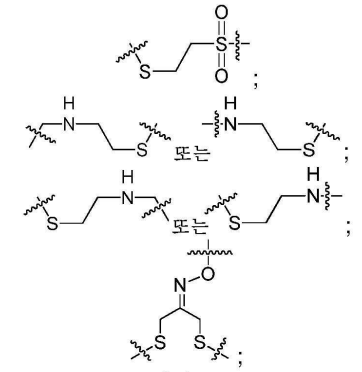

;


;

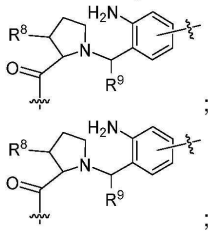
;

;

[0166]

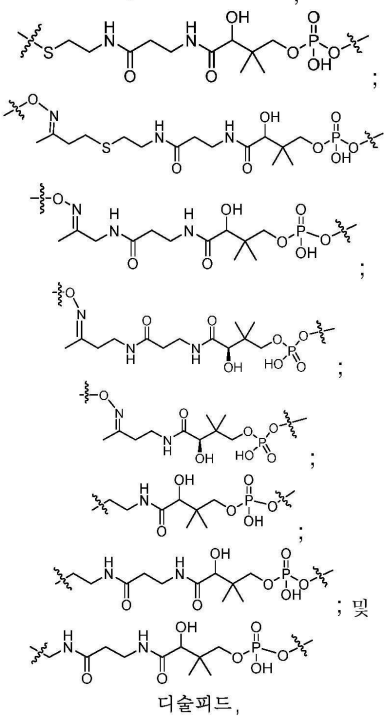


아미드;



;

;



; 및

디술피드,

[0167]

[0168] 여기서:

[0169] R^{32}는 H, C_{1-4} 알킬, 페닐, 피리미딘 또는 피리딘이고;

[0170] R^{35}는 H, C_{1-6} 알킬, 페닐, 또는 1 내지 3개의 -OH 기로 치환된 C_{1-4} 알킬이고;

[0171] 각각의 R^{7}은 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알콕시, 및 -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 선택되고;

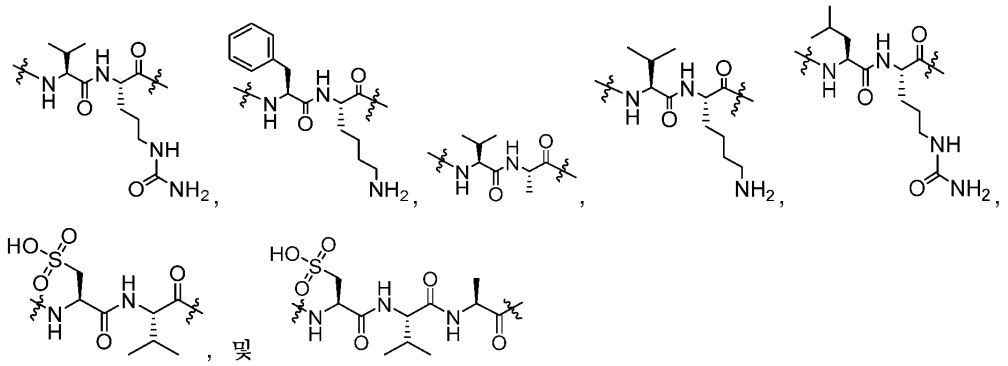
[0172] R^{37}은 독립적으로 H, 페닐 및 피리딘으로부터 선택되고;

[0173] q는 0, 1, 2 또는 3이고;

[0174] R^{8}은 H 또는 메틸이고;

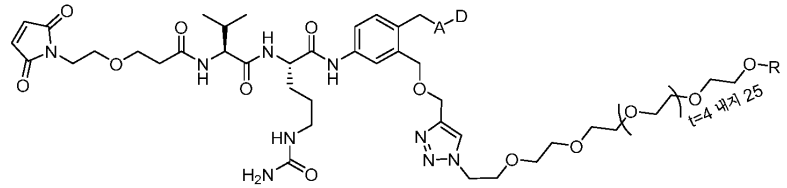
[0175] R^9는 H, $-CH_3$ 또는 페닐이다.

[0176] 일부 실시양태에서, 펩티드 기 (Lp)는 1 내지 6개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기 (Lp)는 1 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기는 1 내지 3개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기는 1 내지 2개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 아미노산 잔기는 L-글리신 (Gly), L-발린 (Val), L-시트룰린 (Cit), L-시스테산 (술포-Ala), L-리신 (Lys), L-이소류신 (Ile), L-페닐알라닌 (Phe), L-메티오닌 (Met), L-아스파라긴 (Asn), L-프롤린 (Pro), L-알라닌 (Ala), L-류신 (Leu), L-트립토판 (Trp), 및 L-티로신 (Tyr)으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 펩티드 기는 Val-Cit, Phe-Lys, Val-Ala, Val-Lys, Leu-Cit, 술포-Ala-Val 및/또는 술포-Ala-Val-Ala를 포함한다. 일부 실시양태에서, Lp는 다음으로부터 선택된다:



[0177] , 및

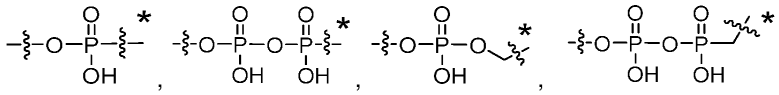
[0178] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:



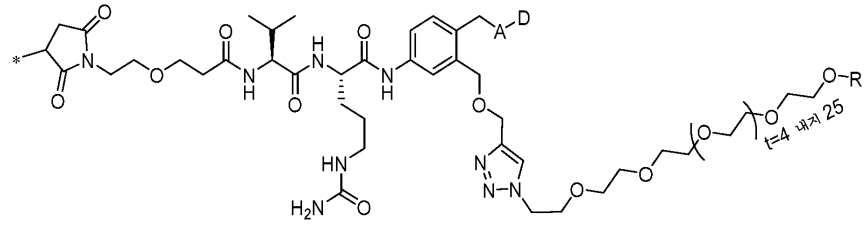
[0179]

[0180] 여기서:

[0181] R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

[0182] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0183] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:



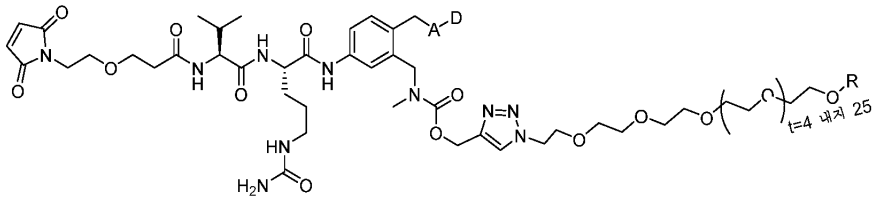
[0184]

[0185] 여기서:

[0186] —*는 항체에 결합되고, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 $-OC(=O)-*$이

고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

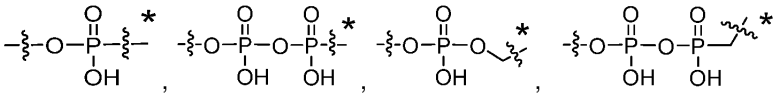
[0187] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:



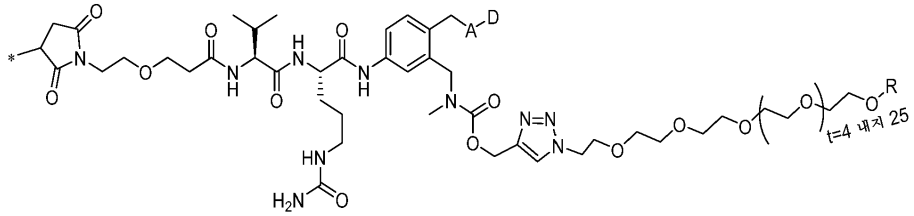
[0188]

[0189] 여기서:

[0190] R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

[0191] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0192] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

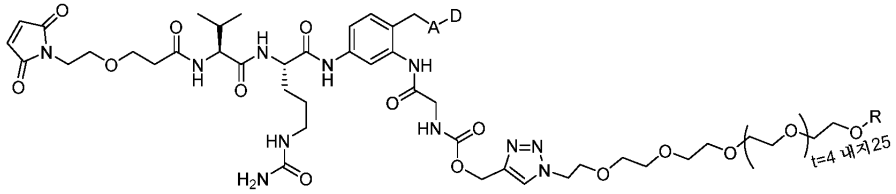


[0193]

[0194] 여기서:

[0195] —*는 항체에 결합되고, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 $-OC(=O)-*$이고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

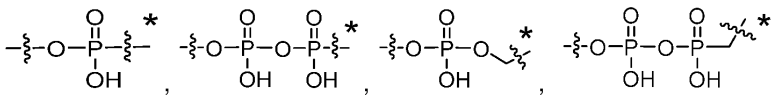
[0196] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:



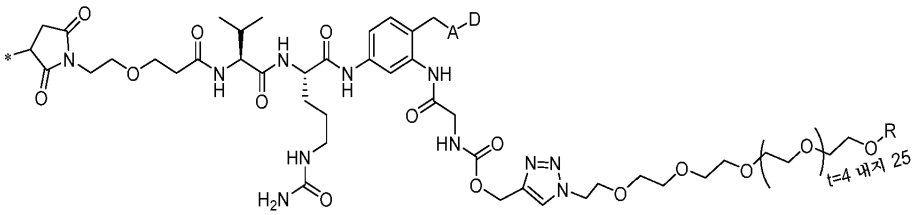
[0197]

[0198] 여기서:

[0199] R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

[0200] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0201] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

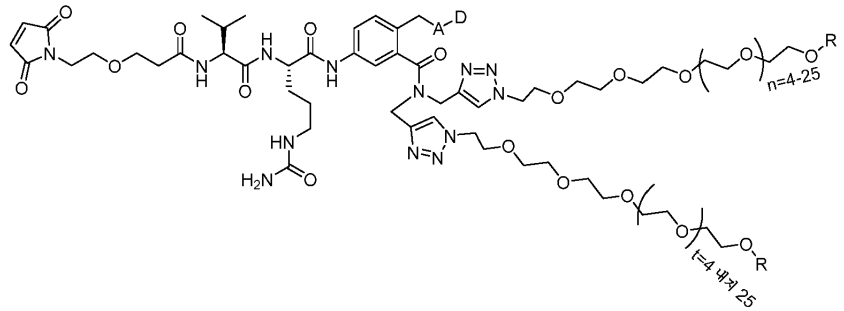


[0202]

[0203] 여기서:

[0204] —*는 항체에 결합되고, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

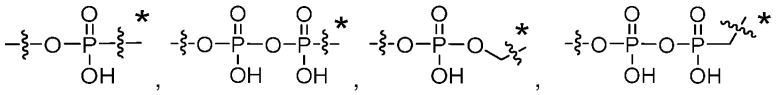
[0205] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:



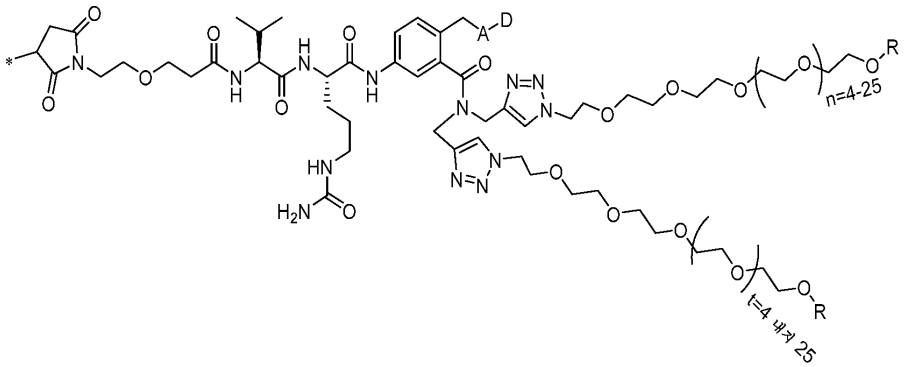
[0206]

[0207] 여기서:

[0208] 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$, 및 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택되고;

[0209] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0210] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

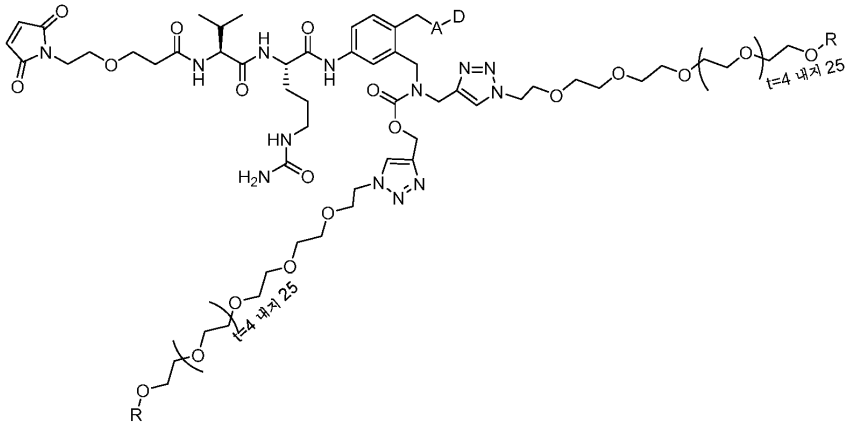


[0211]

[0212] 여기서:

[0213] —*는 항체에 결합되고, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

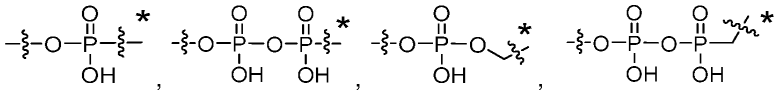
[0214] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:



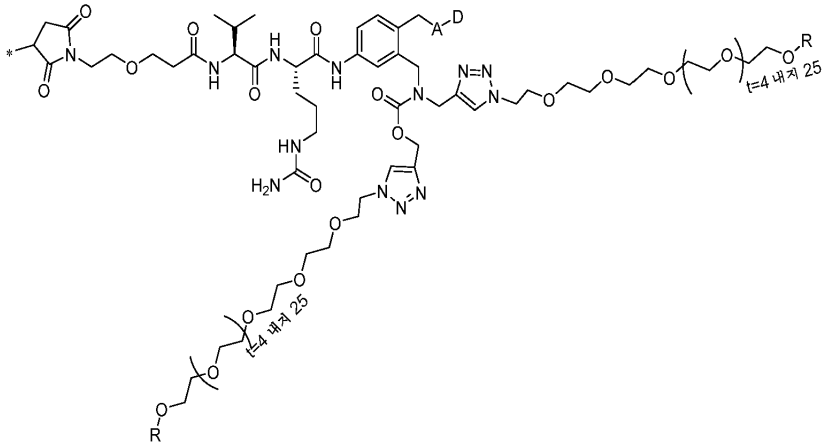
[0215]

[0216] 여기서:

[0217] 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$, 및 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택되고;

[0218] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0219] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

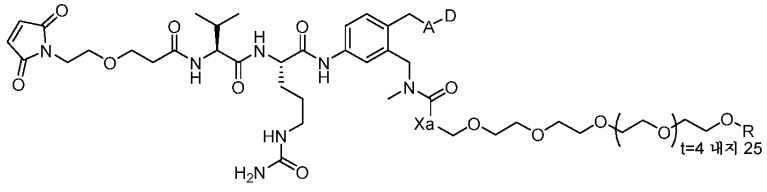


[0220]

[0221] 여기서:

[0222] —*는 항체에 결합되고, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 $-OC(=O)-*$이고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

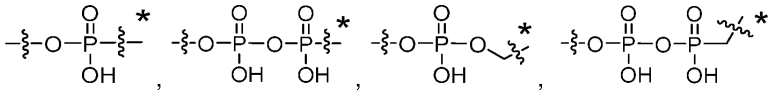
[0223] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:



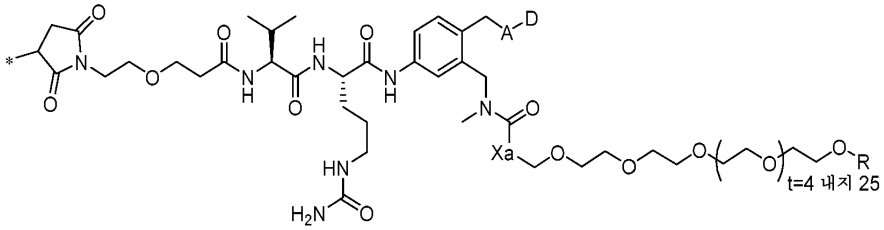
[0224]

[0225] 여기서:

[0226] Xa는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

[0227] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0228] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

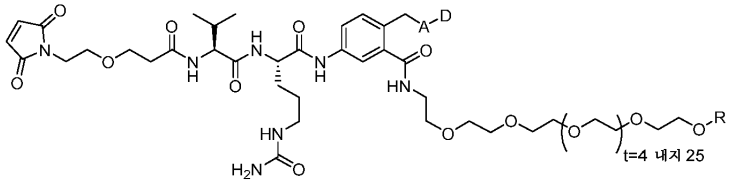


[0229]

[0230] 여기서:

[0231] —*는 항체에 결합되고, Xa, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, Xa는 $-CH_2-$ 또는 $-NHCH_2-$이고; A는 결합 또는 $-OC(=O)-*$이고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

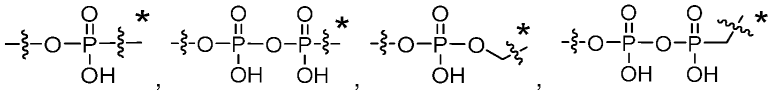
[0232] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:



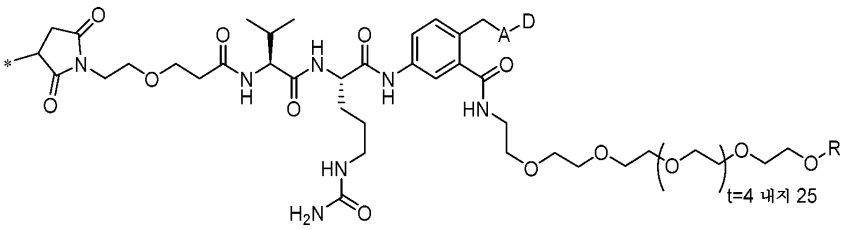
[0233]

[0234] 여기서:

[0235] R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

[0236] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0237] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:



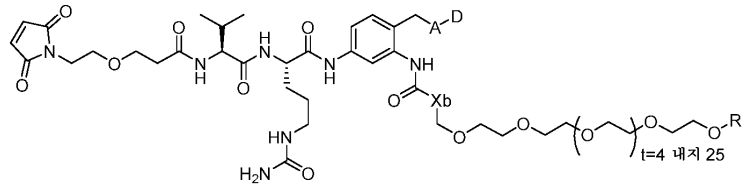
[0238]

[0239] 여기서:

[0240] —*는 항체에 결합되고, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 $-OC(=O)-*$

이고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

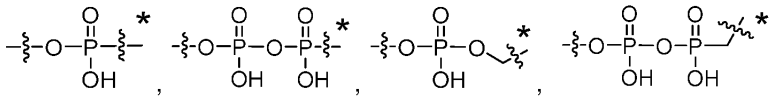
[0241] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 그로부터 형성된다:



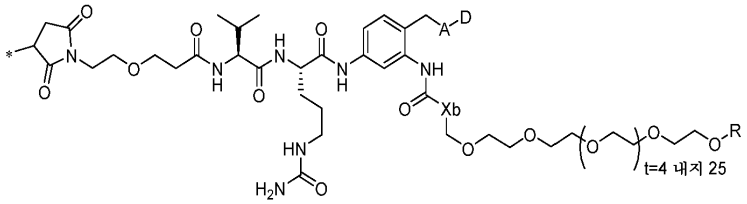
[0242]

[0243] 여기서:

[0244] Xb는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

[0245] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0246] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

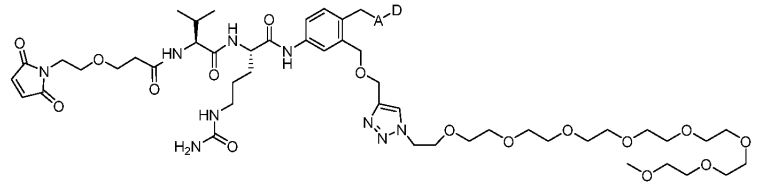


[0247]

[0248] 여기서:

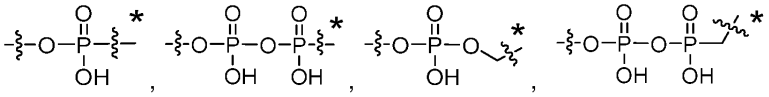
[0249] —*는 항체에 결합되고, Xb, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 $-OC(=O)-*$이고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

[0250] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:

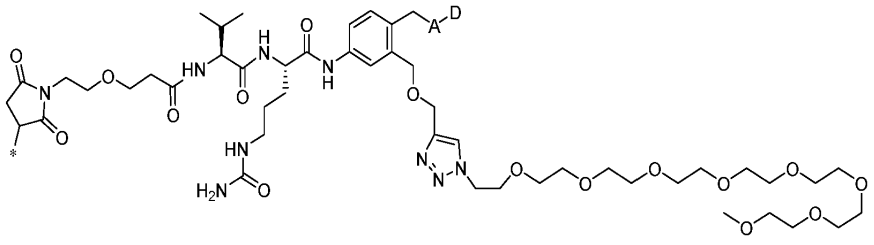


[0251]

[0252] 여기서:

[0253] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0254] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

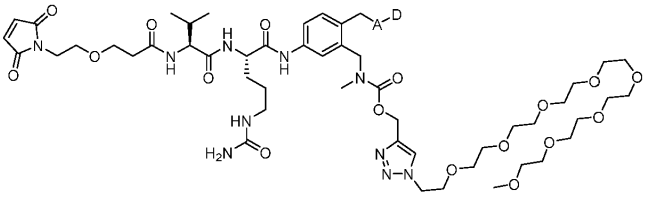


[0255]

[0256] 여기서:

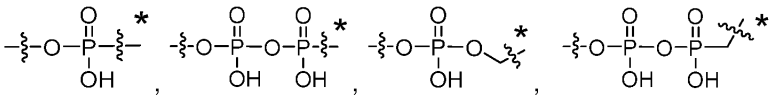
[0257] —*는 항체에 결합되고, A는 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이다.

[0258] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:

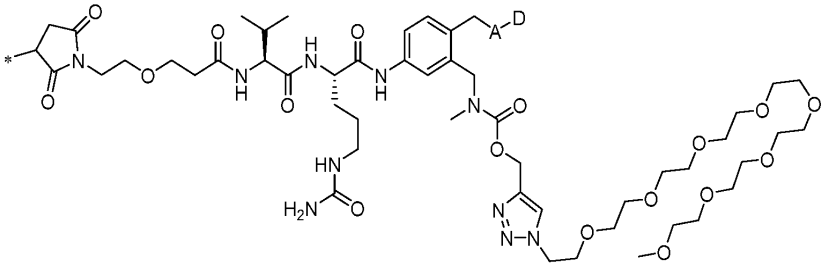


[0259]

[0260] 여기서:

[0261] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0262] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

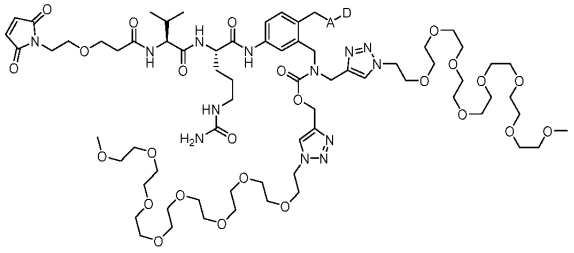


[0263]

[0264] 여기서:

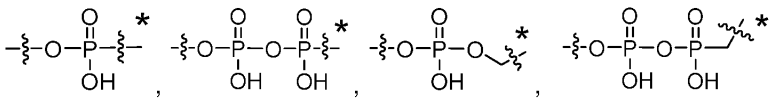
[0265] —*는 항체에 결합되고, A 및 D는 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이다.

[0266] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:

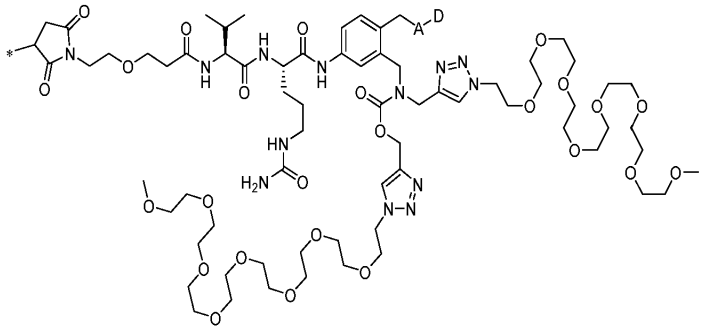


[0267]

[0268] 여기서:

[0269] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

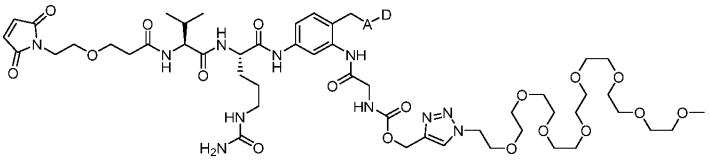
[0270] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

[0271] 

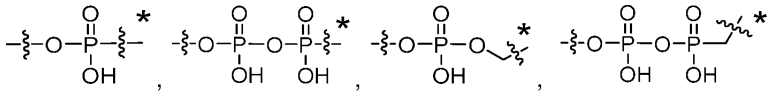
[0272] 여기서:

[0273] —*는 항체에 결합되고, A 및 D는 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이다.

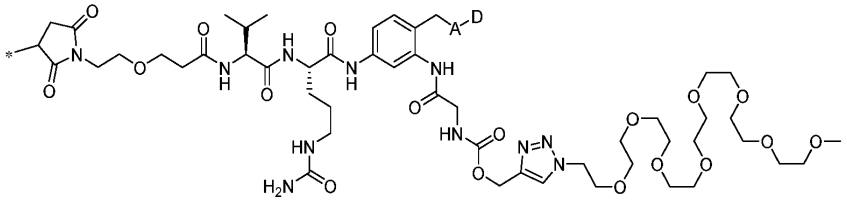
[0274] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:

[0275] 

[0276] 여기서:

[0277] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

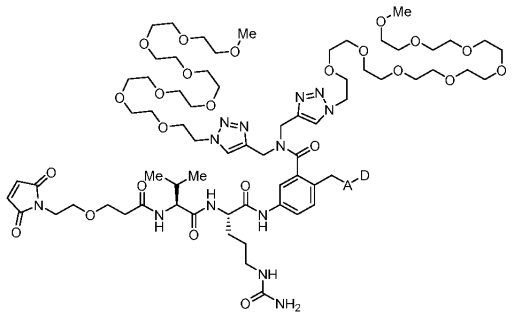
[0278] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

[0279] 

[0280] 여기서:

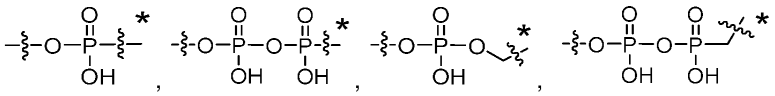
[0281] —*는 항체에 결합되고, A 및 D는 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이다.

[0282] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:

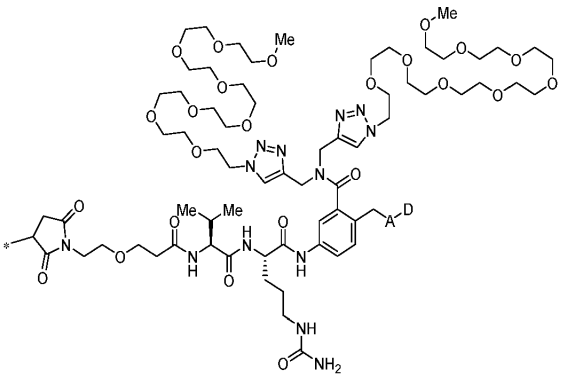


[0283]

[0284] 여기서:

[0285] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0286] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

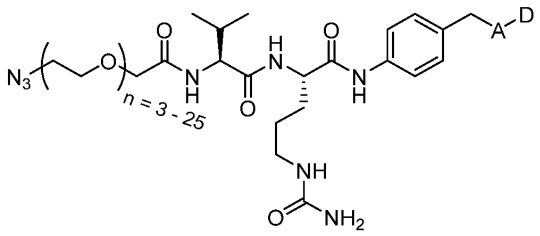


[0287]

[0288] 여기서:

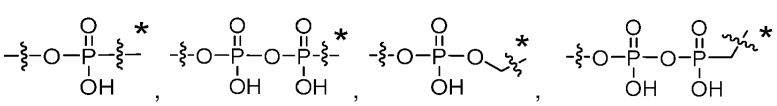
[0289] —*는 항체에 결합되고, A 및 D는 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이다.

[0290] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:

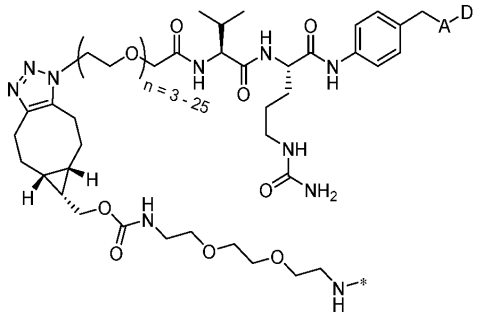


[0291]

[0292] 여기서:

[0293] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0294] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

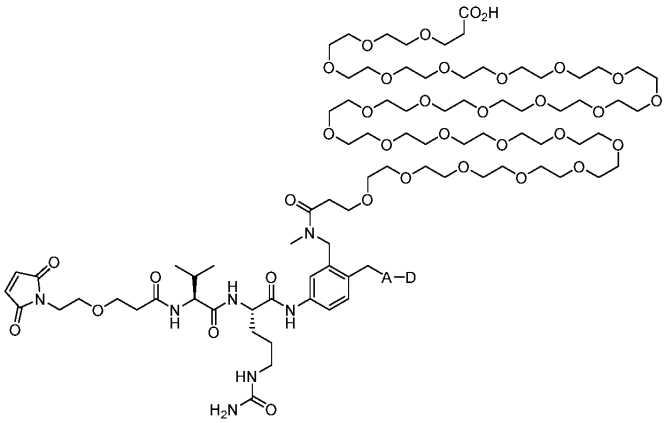


[0295]

[0296] 여기서:

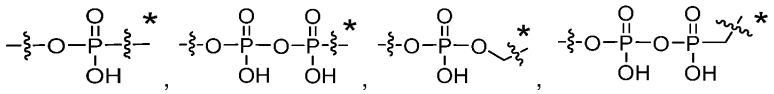
[0297] —*는 항체에 결합되고, A 및 D는 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이다.

[0298] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:

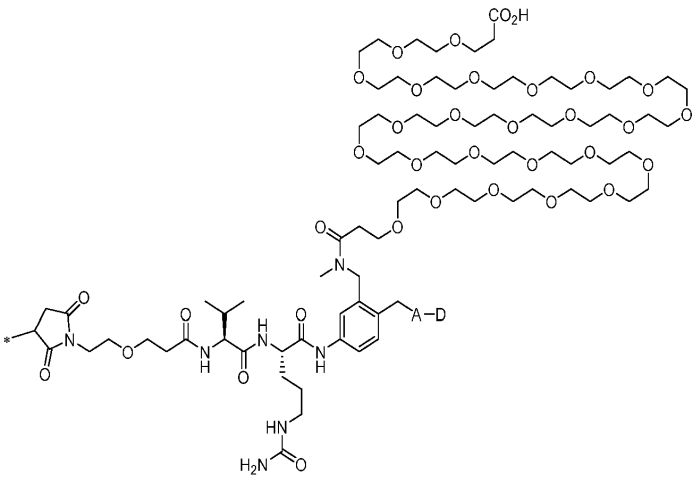


[0299]

[0300] 여기서:

[0301] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0302] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

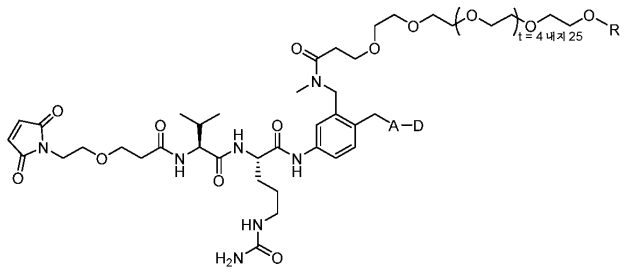


[0303]

[0304] 여기서:

[0305] —*는 항체에 결합되고, A 및 D는 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이다.

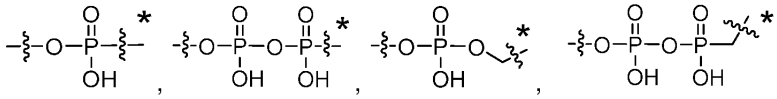
[0306] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:



[0307]

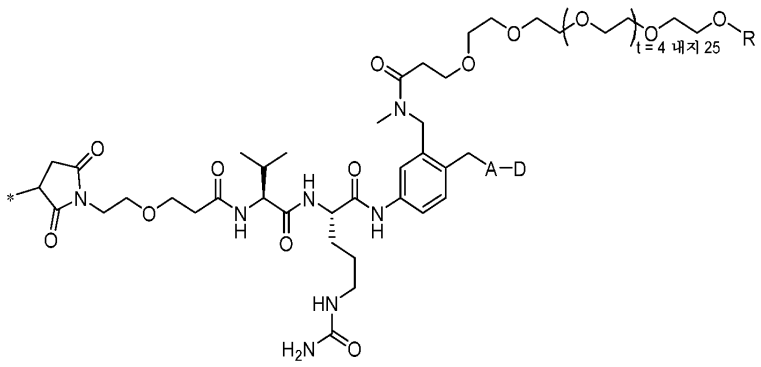
[0308] 여기서:

[0309] 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

[0310] A는 결합, -OC(=O)-*,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-* 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*이고,

[0311] 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0312] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

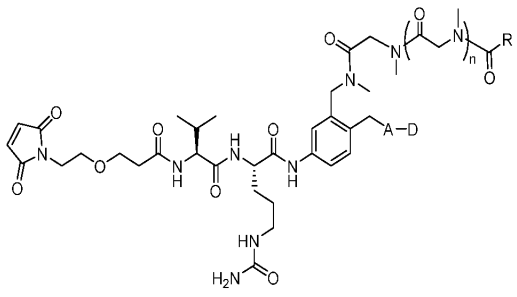


[0313]

[0314] 여기서:

[0315] —*는 항체에 결합되고, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

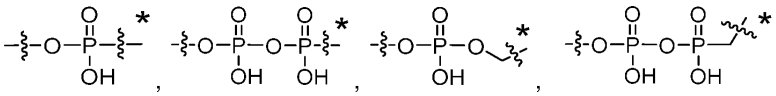
[0316] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:



[0317]

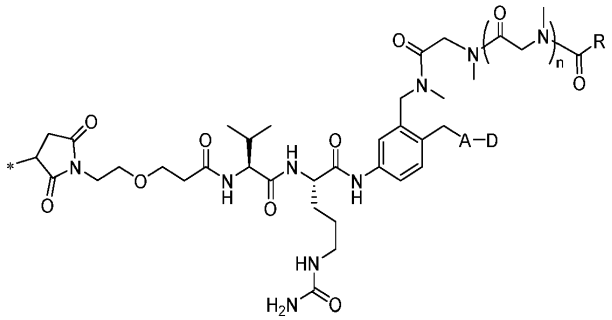
[0318] 여기서:

[0319] 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고;

[0320] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

[0321] 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

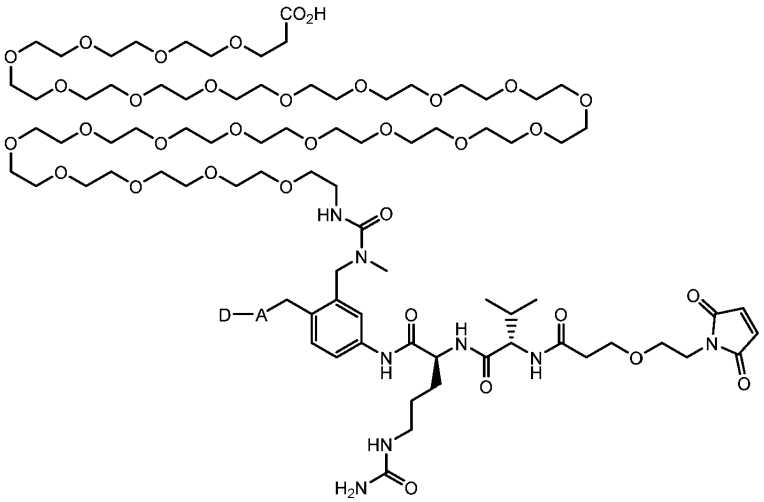
[0322] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:

[0323] 

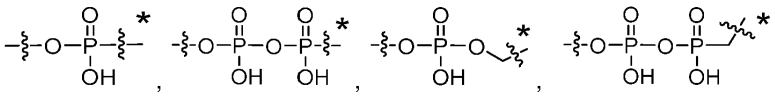
[0324] 여기서:

[0325] —*는 항체에 결합되고, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 $-OC(=O)-*$이고; R은 $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

[0326] 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함하거나 또는 그로부터 형성된다:

[0327] 

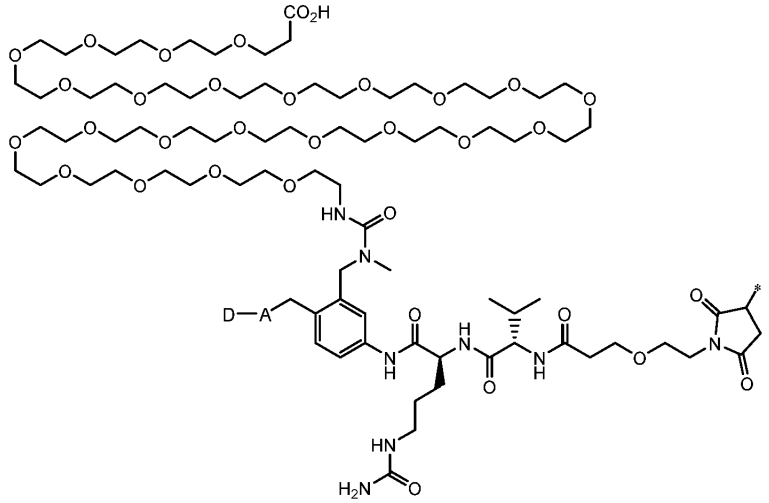
[0328] 여기서:

[0329] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고,

[0330] 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬 및 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점

을 나타내고;

[0331] D는 Mcl-1 억제제이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 기 -(L-D)는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:



[0332]

[0333] 여기서:

[0334] —*는 항체에 결합되고, A, D 및 R은 상기 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, A는 결합 또는 -OC(=O)-*이다.

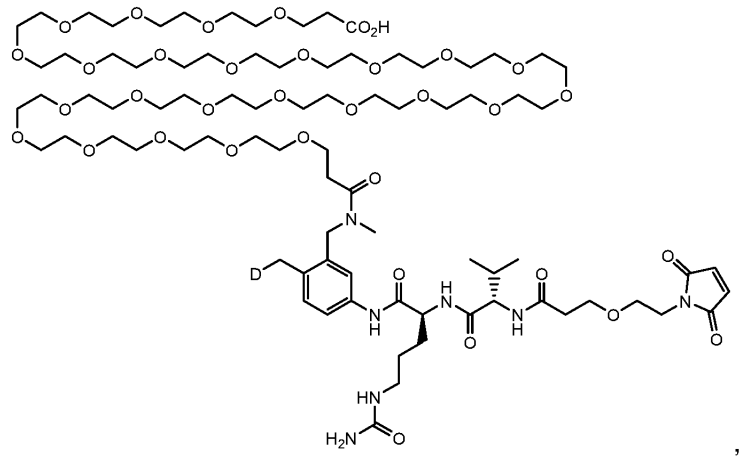
[0335] 일부 실시양태에서, A는 결합이다.

[0336] 일부 실시양태에서, A는 -OC(=O)-*이다.

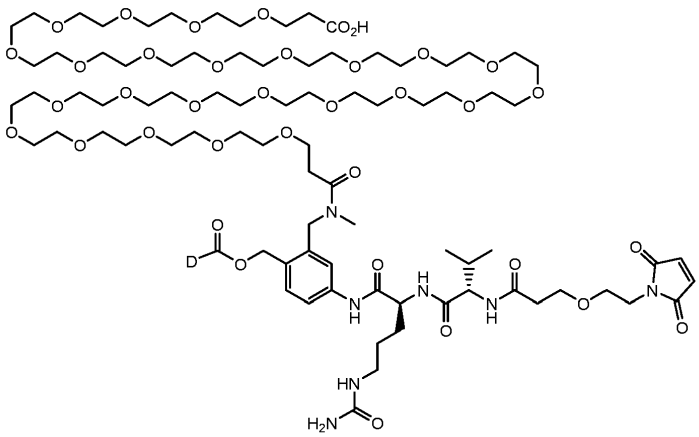
[0337] 일부 실시양태에서, R은 $-CH_3$이다.

[0338] 일부 실시양태에서, R은 $-CH_2CH_2COOH$이다.

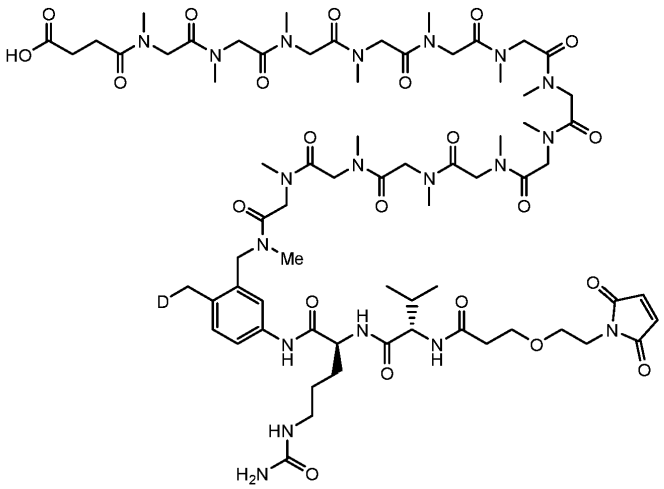
[0339] 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체는 링커-약물 기 -(L-D)을 포함하고, 이는 하기로부터 선택된 화합물로부터 형성된다:



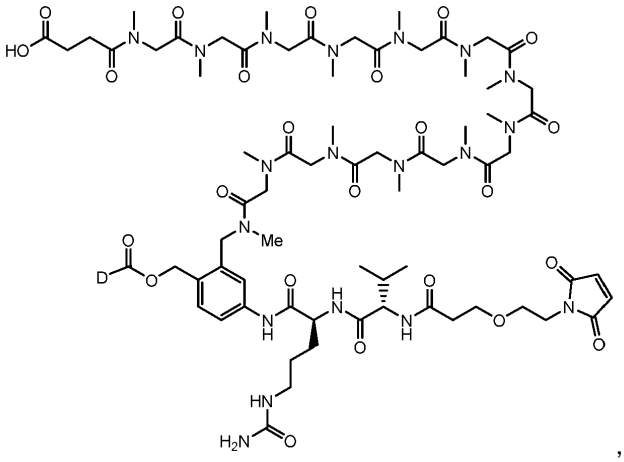
[0340] ,



,

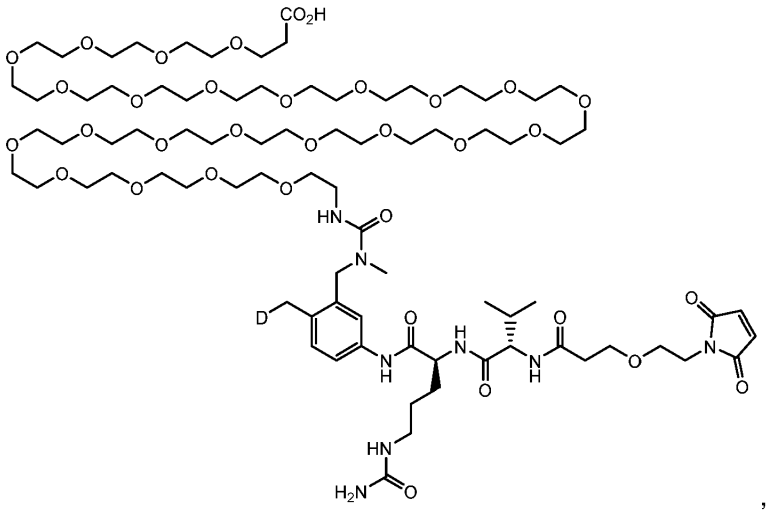


,

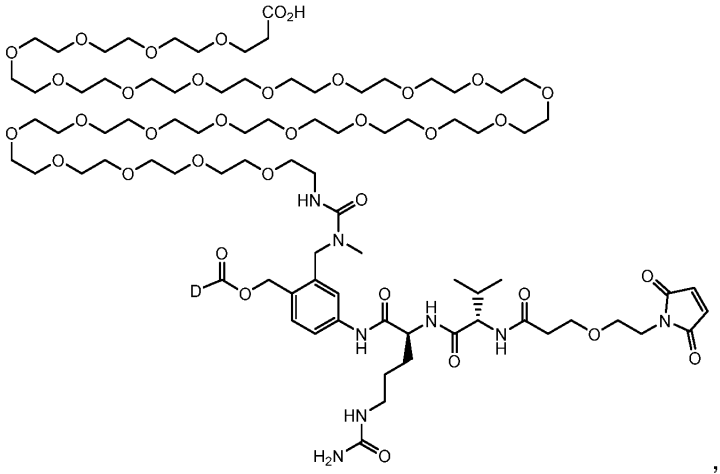


,

[0341]

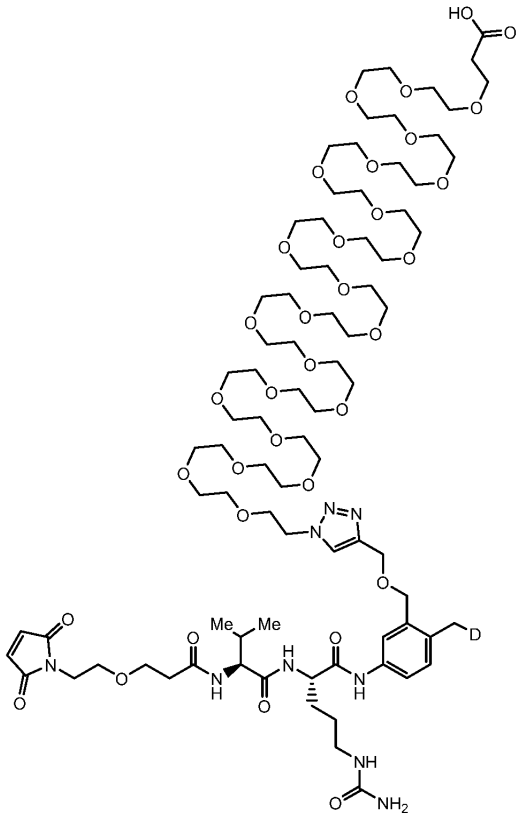


,

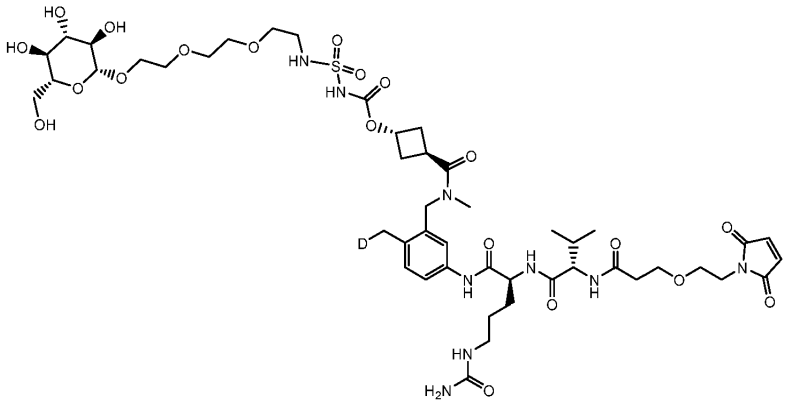


,

[0342]

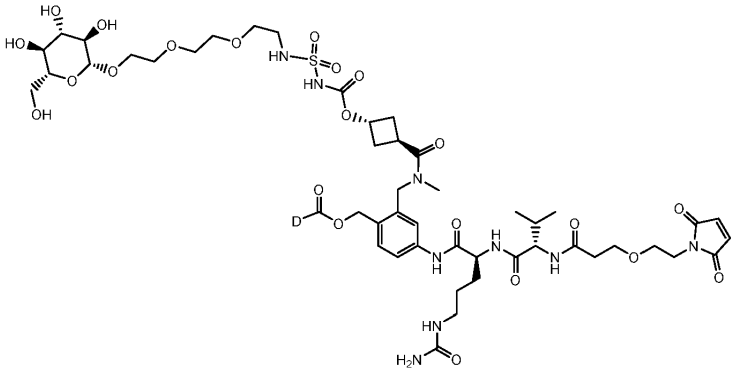


,



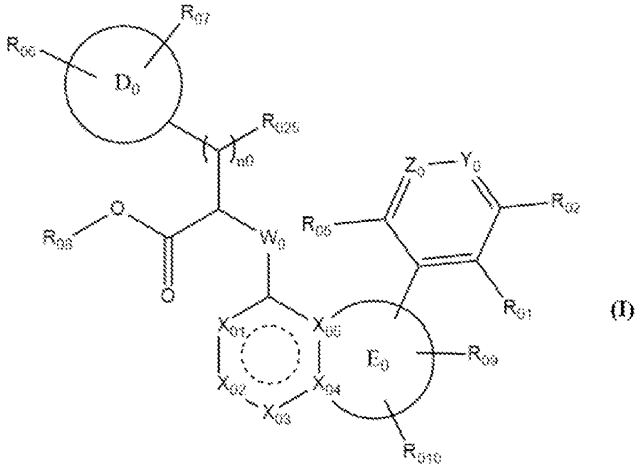
, 및

[0343]



[0344]

[0345] 일부 실시양태에서, Mcl-1 억제제 (D)는 화학식 (I)의 화합물, 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함한다.



(I)

[0346]

[0347] 여기서:

[0348] 고리 D_0은 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고,

[0349] 고리 E_0은 푸릴, 티에닐 또는 피롤릴 고리이고,

[0350] X_{01}, X_{03}, X_{04} 및 X_{05}는 서로 독립적으로 탄소 원자 또는 질소 원자이고,

[0351] X_{02}는 $C-R_{026}$ 기 또는 질소 원자이고,

[0352]  는 고리가 방향족임을 의미하고,

[0353] Y_0은 질소 원자 또는 $C-R_{03}$ 기이고,

[0354] Z_0은 질소 원자 또는 $C-R_{04}$ 기이고,

[0355] R_{01}은 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬 기, 히드록시 기, 히드록시(C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, $-S-(C_1-C_6)$알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, $-Cy_{08}$, $-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{012}$, $-C(O)-OR_{011}$, $-O-C(O)-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-OR_{011}'$, $-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-SO_2-NR_{011}R_{011}'$, 또는 $-SO_2-(C_1-C_6)$알킬이고,

[0356] R_{02}, R_{03}, R_{04} 및 R_{05}는 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 히드록시(C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, $-S-(C_1-C_6)$알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, $-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-Cy_{01}$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알케닐$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-Cy_{01}$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{031}$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{012}$, $-C(O)-OR_{011}$, $-O-C(O)-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-OR_{011}'$, $-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-SO_2-NR_{011}R_{011}'$, 또는 $-SO_2-(C_1-C_6)$알킬이거나,

[0357] 또는 쌍 (R_{01}, R_{02}), (R_{02}, R_{03}), (R_{03}, R_{04}), 또는 (R_{04}, R_{05})은 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 할로겐, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬, (C_0-C_6)알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{013}R_{013}'$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$ 또는 옥소로부터 선택되는 1 또는 2개의 기에 의해 임의로 치환되고,

[0358] R_{06} 및 R_{07}은 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 선형

또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, $-S-(C_1-C_6)$알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, $-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-Cy_{01}$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알케닐$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-Cy_{01}$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{012}$, $-C(O)-OR_{11}$, $-O-C(O)-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{11}-C(O)-R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-OR_{011}'$, $-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-SO_2-NR_{011}R_{011}'$, 또는 $-SO_2-(C_1-C_6)$알킬이거나,

[0359] 또는 쌍 (R_{06}, R_{07})은 2개의 인접한 탄소 원자와 융합된 경우에 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, $-NR_{013}R_{013}'$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$ 또는 옥소에 의해 임의로 치환되고,

[0360] W_0은 $-CH_2-$ 기, -NH- 기 또는 산소 원자이고,

[0361] R_{08}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_8)알킬 기, $-CHR_{0a}R_{0b}$ 기, 아릴 기, 헤테로아릴 기, 아릴(C_1-C_6)알킬 기 또는 헤테로아릴(C_1-C_6)알킬 기이고,

[0362] R_{09}는 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, $-Cy_{02}$, $-(C_1-C_6)$알킬$-Cy_{02}$, $-(C_2-C_6)$알케닐$-Cy_{02}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-Cy_{02}$, $-Cy_{02}-Cy_{03}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-O-Cy_{02}$, $-Cy_{02}-(C_0-C_6)$알킬$-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{03}$, 할로겐 원자, 시아노 기, $-C(O)-R_{014}$, 또는 $-C(O)-NR_{014}R_{014}'$이고,

[0363] R_{010}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 아릴(C_1-C_6)알킬 기, (C_1-C_6)시클로알킬알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 또는 $-(C_1-C_6)$알킬$-O-Cy_{04}$이거나,

[0364] 또는 쌍 (R_{09}, R_{010})은 2개의 인접한 탄소 원자와 융합된 경우에 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고,

[0365] R_{011} 및 R_{011}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 또는 $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$이거나,

[0366] 또는 쌍 (R_{011}, R_{011}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 질소는 수소 원자 및 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기로부터 선택되는 1 또는 2개의 기에 의해 치환될 수 있고, 여기서 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기의 탄소 원자 중 1개 이상은 임의로 중수소화되고,

[0367] R_{012}는 $-Cy_{05}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{06}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{06}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{06}$, $-Cy_{05}-Cy_{06}-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{07}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{09}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{09}$, $-NH-C(O)-NH-R_{011}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{09}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}R_{011}'$, $-OR_{011}$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-OR_{011}$, $-SO_2-R_{011}$, 및 $-C(O)-OR_{011}$이고,

[0368] R_{013}, R_{013}', R_{014} 및 R_{014}'는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

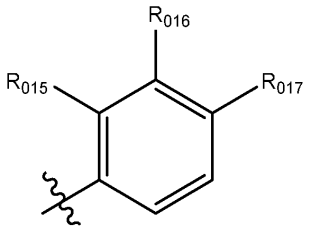
[0369] R_{0a}는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

[0370] R_{0b}는 $-O-C(O)-O-R_{0c}$ 기, $-O-C(O)-NR_{0c}R_{0c}'$ 기, 또는 $-O-P(O)(OR_{0c})_2$ 기이고,

[0371] R_{0c} 및 R_{0c}'는 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_8)알킬 기, 시클로알킬 기, (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기, 또는 (C_1-C_6)알콕시카르보닐(C_1-C_6)알킬 기이거나,

[0372] 또는 쌍 (R_{0c}, R_{0c}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 산소 및 질소로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 함유할 수 있는 5 내지 7개의 고리원으로 구성된 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 질소는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

[0373] Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{04}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07}, Cy_{08} 및 Cy_{010}은 서로 독립적으로 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기를 나타내고, 이들 각각은 임의로 치환되고,

[0374] Cy_{09}는  이거나,

[0375] 또는 Cy_{09}는 -O-P(O)(OR_{020})$_2$; -O-P(O)(O^-M^+)$_2$; -$(CH_2)_{p0}$-O-$(CHR_{018}$-CHR_{019}-O$)_{q0}$-R_{020}; 히드록시; 히드록시(C_1-C_6)알킬; -$(CH_2)_{r0}$-U_0-$(CH_2)_{s0}$-헤테로시클로알킬; 및 -U_0-$(CH_2)_{q0}$-$NR_{021}R_{021}$'로부터 선택되는 기에 의해 치환된 헤테로아릴 기이고,

[0376] R_{015}는 수소 원자; -$(CH_2)_{p0}$-O-$(CHR_{018}$-CHR_{019}-O$)_{q0}$-R_{020} 기; 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기; -U_0-$(CH_2)_{q0}$-$NR_{021}R_{021}$' 기; 또는 -$(CH_2)_{r0}$-U_0-$(CH_2)_{s0}$-헤테로시클로알킬 기이고,

[0377] R_{016}은 수소 원자; 히드록시 기; 히드록시(C_1-C_6)알킬 기; -$(CH_2)_{r0}$-U_0-$(CH_2)_{s0}$-헤테로시클로알킬 기; $(CH_2)_{r0}$-U_0-V_0-O-P(O)(OR_{020})$_2$ 기; -O-P(O)(O^-M^+)$_2$ 기; -O-S(O)$_2$$OR_{020}$ 기; -S(O)$_2$$OR_{020}$ 기; -$(CH_2)_{p0}$-O-$(CHR_{018}$-CHR_{019}-O$)_{q0}$-R_{020} 기; -$(CH_2)_{p0}$-O-C(O)-$NR_{022}R_{023}$ 기; 또는 -U_0-$(CH_2)_{q0}$-$NR_{021}R_{021}$' 기이고,

[0378] R_{017}은 수소 원자; -$(CH_2)_{p0}$-O-$(CHR_{018}$-CHR_{019}-O$)_{q0}$-R_{020} 기; -CH_2-P(O)(OR_{020})$_2$ 기, -O-P(O)(OR_{020})$_2$ 기; -O-P(O)(O^-M^+)$_2$ 기; 히드록시 기; 히드록시(C_1-C_6)알킬 기; -$(CH_2)_{r0}$-U_0-$(CH_2)_{s0}$-헤테로시클로알킬 기; -U_0-$(CH_2)_{q0}$-$NR_{021}R_{021}$' 기; 또는 알돈산이고,

[0379] M^+는 제약상 허용되는 1가 양이온이고,

[0380] U_0은 결합 또는 산소 원자이고,

[0381] V_0은 -$(CH_2)_{s0}$- 기 또는 -C(O)- 기이고,

[0382] R_{018}은 수소 원자 또는 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기이고,

[0383] R_{019}는 수소 원자 또는 히드록시(C_1-C_6)알킬 기이고,

[0384] R_{020}은 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

[0385] R_{021} 및 R_{021}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 히드록시(C_1-C_6)알킬 기이거나,

[0386] 또는 쌍 (R_{021}, R_{021}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

[0387] R_{022}는 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기, -$(CH_2)_{p0}$-$NR_{024}R_{024}$' 기, 또는 -$(CH_2)_{p0}$-O-$(CHR_{018}$-CHR_{019}-O$)_{q0}$-R_{020} 기이고,

[0388] R_{023}은 수소 원자 또는 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기이거나,

[0389] 또는 쌍 (R_{022}, R_{023})은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 5개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 18개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 헤테로시클로알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

[0390] R_{024} 및 R_{024}'는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이거나,

[0391] 또는 쌍 (R_{024}, R_{024}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 함유할 수 있는 5 내지 7개의 고리원으로 구성된 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

[0392] R_{025}는 수소 원자, 히드록시 기 또는 히드록시(C_1-C_6)알킬 기이고,

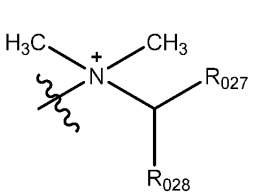
[0393] R_{026}은 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 시아노 기이고,

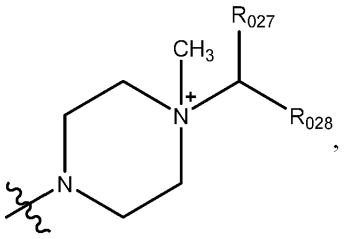
[0394] R_{027}은 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

[0395] R_{028}은 -O-P(O)(O^-)(O^-) 기, -O-P(O)(O^-)(OR_{030}) 기, -O-P(O)(OR_{030})(OR_{030}') 기, -$(CH_2)_{p0}$-O-SO_2-O^- 기, -$(CH_2)_{p0}$-SO_2-O^- 기, -$(CH_2)_{p0}$-O-SO_2-OR_{030} 기, -Cy_{010}, -$(CH_2)_{p0}$-SO_2-OR_{030} 기, -O-C(O)-R_{029} 기, -O-C(O)-OR_{029} 기 또는 -O-C(O)-$NR_{029}R_{029}$' 기이고;

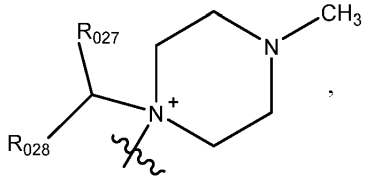
[0396] R_{029} 및 R_{029}'는 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 선형 또는 분지형 아미노(C_1-C_6)알킬 기를 나타내고,

[0397] R_{030} 및 R_{030}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 아릴(C_1-C_6)알킬 기이고,



,


,

또는


,

[0398] R_{031}은 이고, 여기서 암모늄 양이온은 임의로 쯔비터이온 형태로 존재하거나 또는 1가 음이온성 반대이온을 갖고,

[0399] n_0은 0 또는 1의 정수이고,

[0400] p_0은 0, 1, 2 또는 3의 정수이고,

[0401] q_0은 1, 2, 3 또는 4의 정수이고,

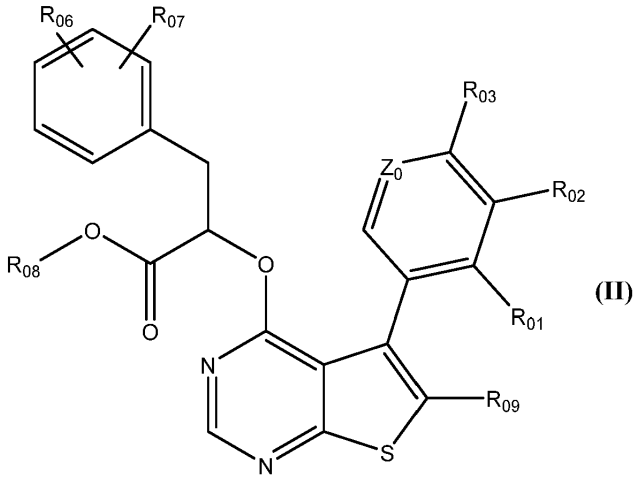
[0402] r_0 및 s_0은 독립적으로 0 또는 1의 정수이고;

[0403] 여기서, R_{03}, R_{09}, 또는 R_{012} 기 중 최대 1개가 존재하는 경우 링커에 공유 부착되고, 여기서 원자의 원자가는 그에 결합된 1개 이상의 치환기에 의해 초과되지 않는다.

[0404] 일부 실시양태에서, Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{04}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07}, Cy_{08} 및 Cy_{010}은 서로 독립적으로 시클로알킬 기, 헤

테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고, 이들 각각은 할로; -(C_1-C_6)알콕시; -(C_1-C_6)할로알킬; -(C_1-C_6)할로알콕시; -$(CH_2)_{p0}$-O-SO_2-OR_{030}; -$(CH_2)_{p0}$-SO_2-OR_{030}; -O-P(O)(OR_{020})$_2$; -O-P(O)(O^-M^+)$_2$; -CH_2-P(O)(OR_{020})$_2$; -$(CH_2)_{p0}$-O-$(CHR_{018}$-CHR_{019}-O)$_{q0}$-R_{020}; 히드록시; 히드록시(C_1-C_6)알킬; -$(CH_2)_{r0}$-U_0-$(CH_2)_{s0}$-헤테로시클로알킬; 또는 -U_0-$(CH_2)_{q0}$-$NR_{021}R_{021}$'로부터 선택되는 1개 이상의 기에 의해 임의로 치환된다.

[0405] 일부 실시양태에서, D는 하기 화학식 (II)의 화합물, 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함한다.



(II)

[0406]

[0407] 여기서:

[0408] Z_0은 질소 원자 또는 C-R_{04} 기이고,

[0409] R_{01}은 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬 기, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, -Cy_{08}, -$NR_{011}R_{011}$'이고,

[0410] R_{02}, R_{03} 및 R_{04}는 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, -(C_0-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}$', -O-Cy_{01}, -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알케닐-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알키닐-Cy_{01}, -O-(C_1-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}$', -O-(C_1-C_6)알킬-R_{031}, -C(O)-OR_{011}, -O-C(O)-R_{011}, -C(O)-$NR_{011}R_{011}$', -NR_{011}-C(O)-R_{011}', -NR_{011}-C(O)-OR_{011}', -(C_1-C_6)알킬-NR_{011}-C(O)-R_{011}', -SO_2-$NR_{011}R_{011}$', 또는 -SO_2-(C_1-C_6)알킬이거나,

[0411] 또는 쌍 (R_{02}, R_{03}) 또는 (R_{03}, R_{04})은 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 고리는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬, -$NR_{013}R_{013}$', -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01} 및 옥소로부터 선택되는 기에 의해 임의로 치환되고,

[0412] R_{06} 및 R_{07}은 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, -(C_0-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}$', -O-Cy_{01}, -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알케닐-Cy_{01}, -(C_2-C_6)알키닐-Cy_{01}, -O-(C_1-C_6)알킬-R_{012}, -C(O)-OR_{011}, -O-C(O)-R_{011}, -C(O)-$NR_{011}R_{011}$', -NR_{011}-C(O)-R_{011}', -NR_{011}-C(O)-OR_{011}', -(C_1-C_6)알킬-NR_{011}-C(O)-R_{011}', -SO_2-$NR_{011}R_{011}$', 또는 -SO_2-(C_1-C_6)알킬이거나,

[0413] 또는 쌍 (R_{06}, R_{07})은 2개의 인접한 탄소 원자와 융합된 경우에 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, $-NR_{013}R_{013}'$, -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01} 및 옥소로부터 선택되는 기에 의해 임의로 치환되고,

[0414] R_{08}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_8)알킬 기, 아릴 기, 헤테로아릴 기, 아릴-(C_1-C_6)알킬 기 또는 헤테로아릴(C_1-C_6)알킬 기이고,

[0415] R_{09}는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, $-Cy_{02}$, -(C_1-C_6)알킬-Cy_{02}, -(C_2-C_6)알케닐-Cy_{02}, -(C_2-C_6)알키닐-Cy_{02}, $-Cy_{02}$-Cy_{03}, -(C_2-C_6)알키닐-O-Cy_{02}, $-Cy_{02}$-(C_0-C_6)알킬-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{03}, 할로겐 원자, 시아노 기, $-C(O)-R_{014}$, $-C(O)-NR_{014}R_{014}'$이고,

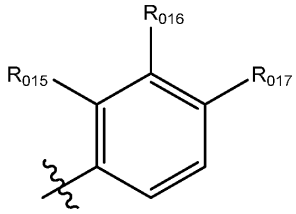
[0416] R_{011} 및 R_{011}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 또는 -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}이거나,

[0417] 또는 쌍 (R_{011}, R_{011}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 N 원자는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고, 여기서 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기의 탄소 원자 중 1개 이상은 임의로 중수소화되고,

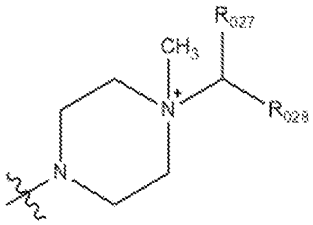
[0418] R_{012}는 $-Cy_{05}$, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-NR_{011}-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, $-Cy_{05}$-Cy_{06}-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{07}, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-Cy_{09}, $-NH-C(O)-NH-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}R_{011}'$, $-OR_{011}$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, -O-(C_1-C_6)알킬-OR_{011}, $-SO_2-R_{011}$, 또는 $-C(O)-OR_{011}$을 나타내고,

[0419] R_{013}, R_{013}', R_{014} 및 R_{014}'는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

[0420] Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07} 및 Cy_{08}은 서로 독립적으로 임의로 치환된 시클로알킬 기, 임의로 치환된 헤테로시클로알킬 기, 임의로 치환된 아릴 기 또는 임의로 치환된 헤테로아릴 기이고,

[0421] Cy_{09}는 

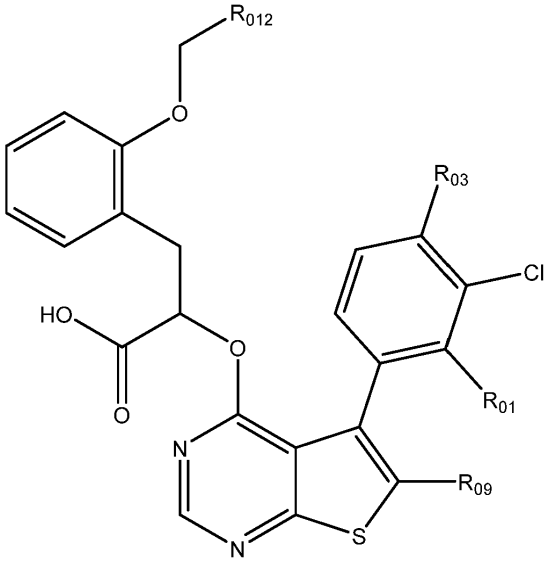
이고, 여기서 R_{015}, R_{016}, 및 R_{017}은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고,

[0422] R_{031}은 

이고, 여기서 R_{027} 및 R_{028}은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고,

[0423] 여기서, R_{03}, R_{09}, 또는 R_{012} 기 중 최대 1개가 존재하는 경우 링커에 공유 부착된다.

[0424] 일부 실시양태에서, D는 하기 화학식 (III)의 화합물, 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

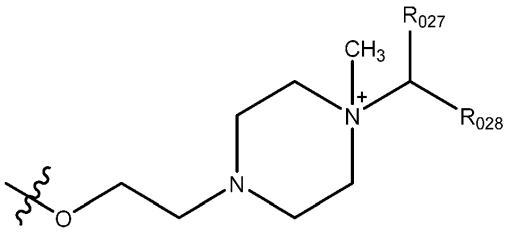


(III)

[0425]

[0426] 여기서:

[0427] R_{01}은 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

[0428] R_{03}은 -O-(C_1-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}'$, 또는  이고,

[0429] 여기서 R_{011} 및 R_{011}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 또는 -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}이거나;

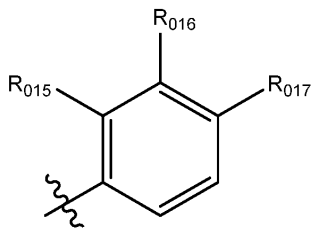
[0430] 또는 쌍 (R_{011}, R_{011}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 N 원자는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기로부터 선택되는 1 또는 2개의 기에 의해 치환될 수 있고,

[0431] 여기서 R_{027}은 수소 원자이고, R_{028}은 $-(CH_2)_{p0}-O-SO_2-O^-$ 기 또는 $-(CH_2)_{p0}-SO_2-OR_{030}$ 기이고;

[0432] R_{09}는 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기 또는 $-Cy_{02}$이고,

[0433] R_{012}는 $-Cy_{05}$, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06} 또는 $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-Cy_{09}이고,

[0434] Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{05} 및 Cy_{06}은 서로 독립적으로 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고, 이들 각각은 임의로 치환되고,

[0435] Cy_{09}는  이고,

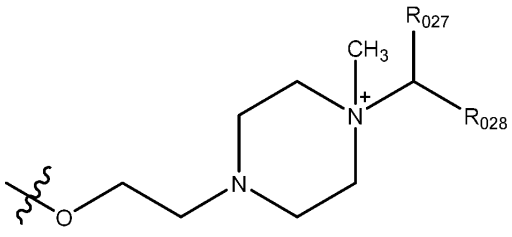
[0436] R_{015}, R_{016}, 및 R_{017}은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고,

[0437] 여기서 R_{03}, R_{09}, 또는 R_{012} 기 중 최대 1개가 존재하는 경우 링커에 공유 부착된다.

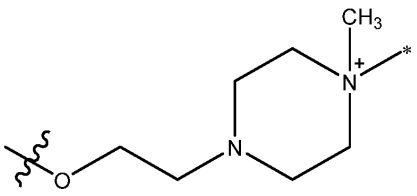
[0438] 일부 실시양태에서, Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{05}, Cy_{06}은 서로 독립적으로 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고, 이들 각각은 할로; $-(C_1-C_6)$알콕시; $-(C_1-C_6)$할로알킬; $-(C_1-C_6)$할로알콕시; $-(CH_2)_{p0}-O-SO_2-OR_{030}$; $-(CH_2)_{p0}-SO_2-OR_{030}$; $-O-P(O)(OR_{020})_2$; $-O-P(O)(O^-M^+)_2$; $-CH_2-P(O)(OR_{020})_2$; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$; 히드록시; 히드록시$(C_1-C_6)$알킬; $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}-$헤테로시클로알킬; 또는 $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$로부터 선택되는 1개 이상의 기에 의해 임의로 치환된다.

[0439] 일부 실시양태에서, R_{01}은 메틸 또는 에틸이다.

[0440] 일부 실시양태에서, R_{03}은 $-O-CH_2-CH_2-NR_{011}R_{011}'$이고, 여기서 R_{011} 및 R_{011}'은 이들을 보유하는 질소 원자와 함께, 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 치환될 수 있는 피페라지닐 기를 형성한다.

[0441] 일부 실시양태에서, R_{03}은 화학식  를 포함하며, 여기서 R_{027}은 수소 원자이고, R_{028}은 $-(CH_2)_{p0}-O-SO_2-OR_{030}$ 기이고, p_0은 0, 1, 2 또는 3의 정수이고; 여기서 R_{030}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 아릴(C_1-C_6)알킬 기를 나타낸다.

[0442] 일부 실시양태에서, R_{03}은 하기 화학식을 포함한다:

[0443] 

[0444] 여기서, —*은 링커에 대한 결합이다.

[0445] 일부 실시양태에서, Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{04}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07}, Cy_{08} 및 Cy_{010}은 서로 독립적으로 임의로 치환된 시클로알킬 기, 임의로 치환된 헤테로시클로알킬 기, 임의로 치환된 아릴 기 또는 임의로 치환된 헤테로아릴 기이고, 여기서 임의적인 치환기는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시, 임의로 치환된 (C_1-C_6)알킬-S-, 히드록시, 옥소 (또는 적절한 경우에 N-옥시드), 니트로, 시아노, $-C(O)-OR_0'$, $-O-C(O)-R_0'$, $-C(O)-NR_0'R_0"$, $-NR_0'R_0"$, $-(C=NR_0')-OR_0"$, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 트리플루오로메톡시 또는 할로겐으로부터 선택되고, 여기서 R_0' 및 $R_0"$은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고, 여기서 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기의 탄소 원자 중 1개 이상은 임의로 중수소화된다.

[0446] 일부 실시양태에서, R_{09}는 Cy_{02} 기, 바람직하게는 아릴 기, 보다 바람직하게는 페닐 기이다. 일부 실시양태에서, Cy_{02}는 임의로 치환된 아릴 기이다.

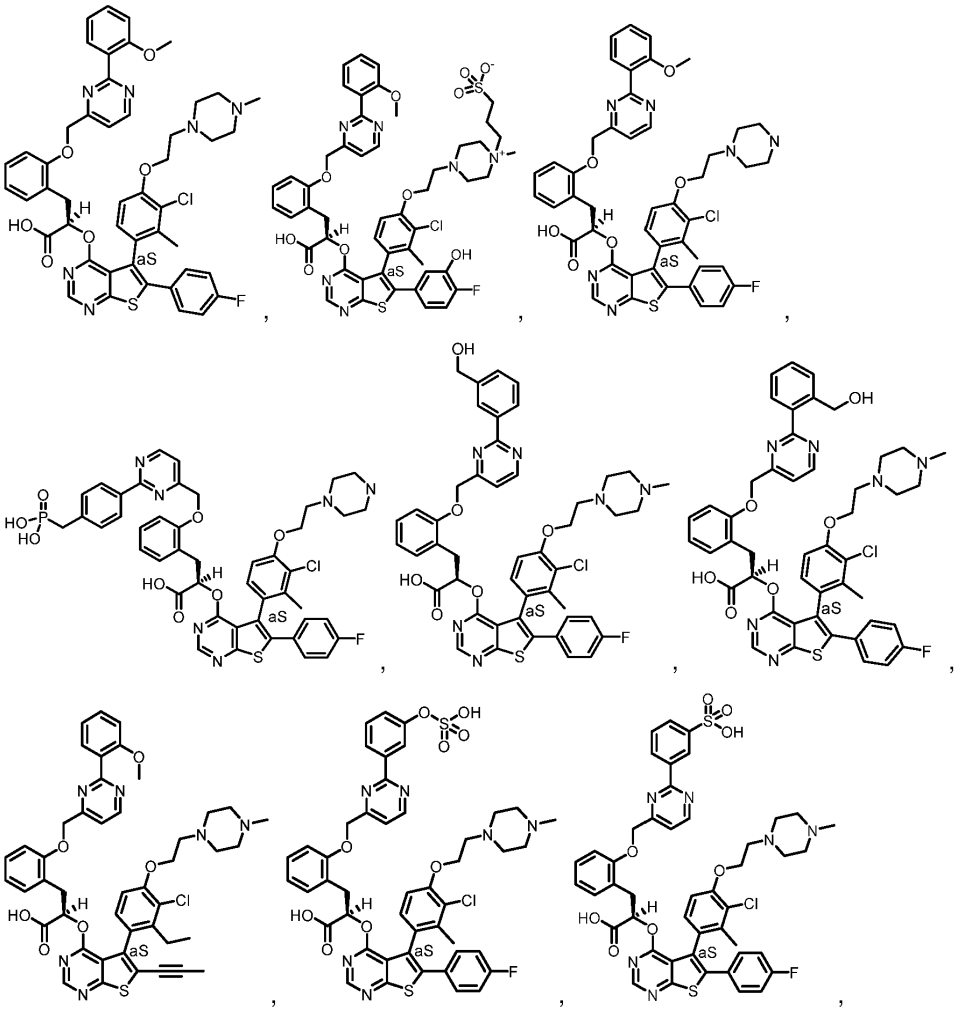
[0447] 일부 실시양태에서, Cy_{05}는 피라졸릴 기 및 피리미디닐 기로부터 선택되는 헤테로아릴 기를 포함한다.

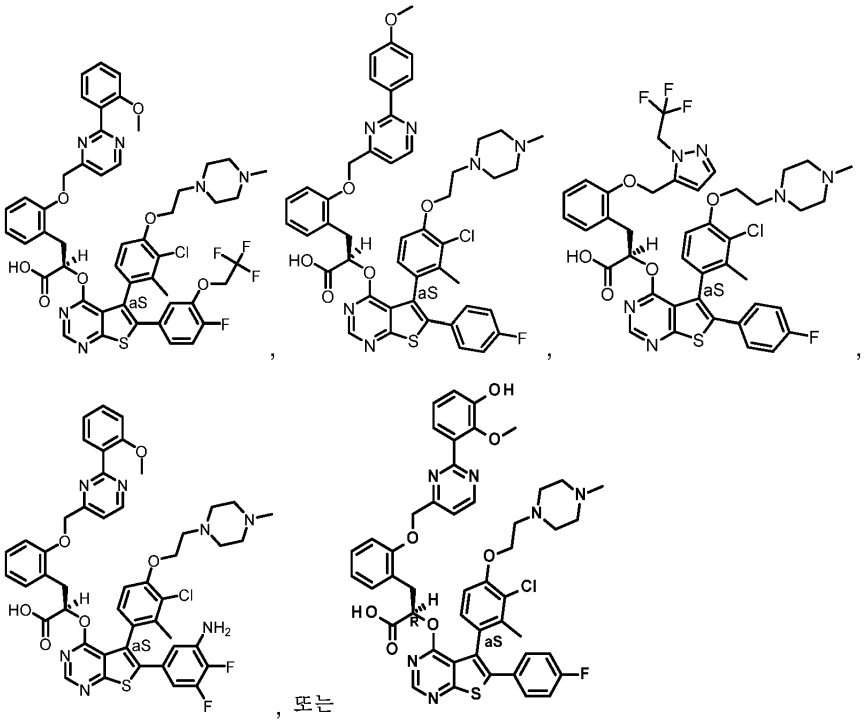
[0448] 일부 실시양태에서, Cy_{05}는 피리미디닐 기이다.

[0449] 일부 실시양태에서, Cy_{05}는 피리미디닐 기이고, Cy_{06}은 페닐 기이다.

[0450] 일부 실시양태에서, 링커 (L)는 L로부터 화학식 (I), (II) 또는 (III)의 R_{03}으로의 공유 결합에 의해 D에 부착된다. 일부 실시양태에서, 링커 (L)는 L로부터 화학식 (I), (II) 또는 (III)의 R_{09}로의 공유 결합에 의해 D에 부착된다.

[0451] 일부 실시양태에서, D는

[0452] 

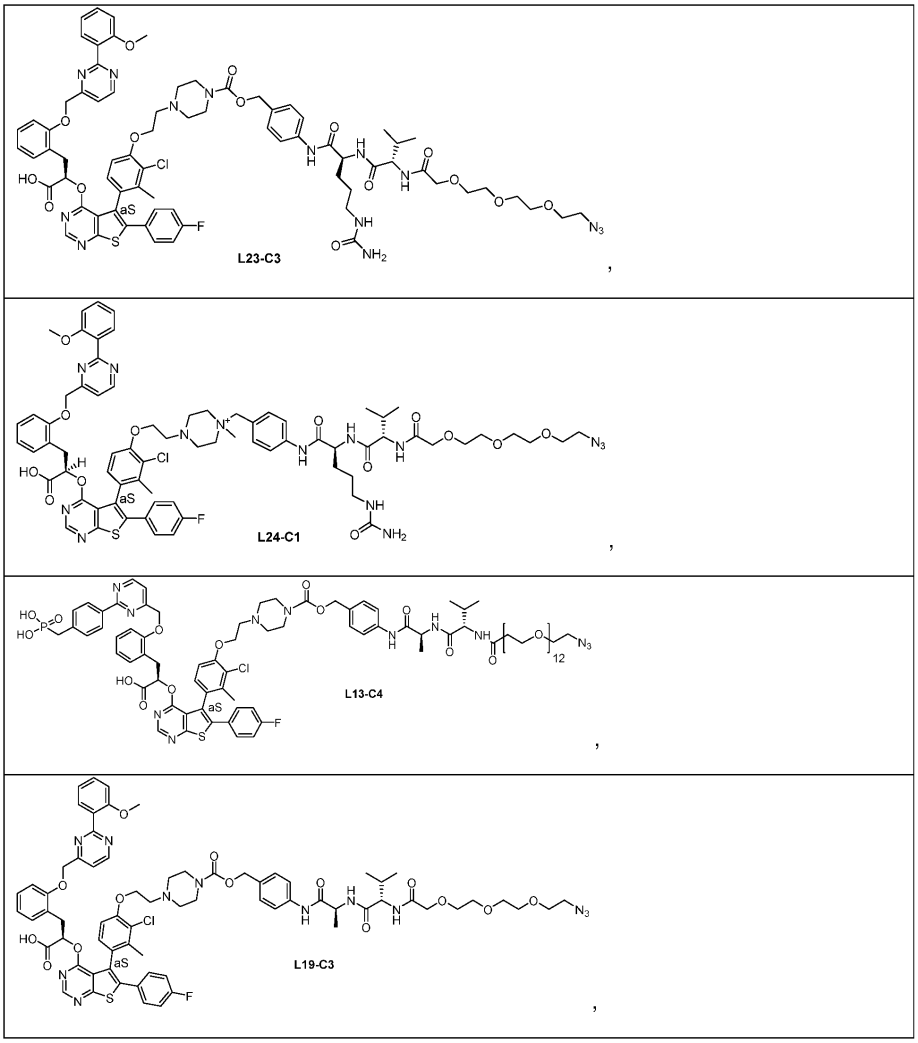


[0453]

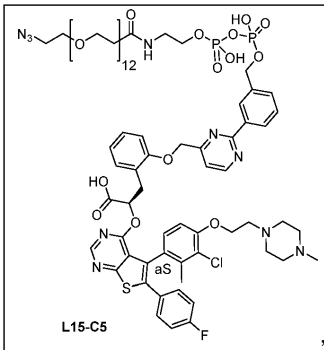
[0454] 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

[0455] 일부 실시양태에서, -(L-D)는 표 A로부터 선택되는 화합물, 또는 그의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 제약상 허용되는 염으로부터 형성된다. 표 A의 화합물에 대해, 그의 전자 전하에 따라, 이들 화합물은 1종의 제약상 허용되는 1가 음이온성 반대이온 M_1^-을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 1가 음이온성 반대이온 M_1^-은 브로마이드, 클로라이드, 아이오다이드, 아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 벤조에이트, 메실레이트, 토실레이트, 트리플레이트, 포르메이트 등으로부터 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1가 음이온성 반대이온 M_1^-은 트리플루오로아세테이트 또는 포르메이트이다.

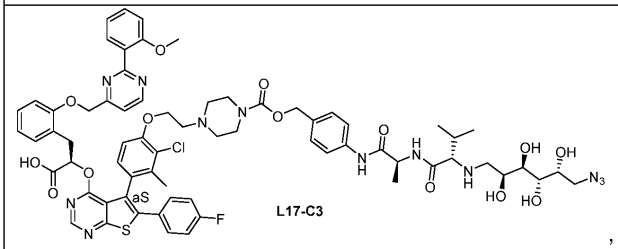
[0456] 표 A. 예시적인 링커 약물 기



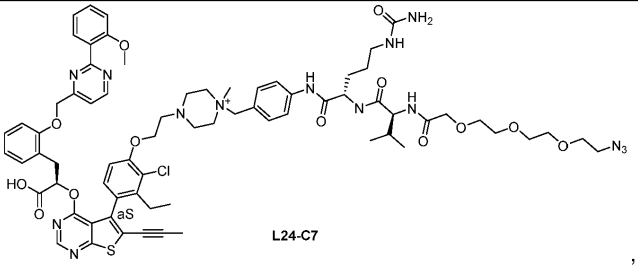
[0457]



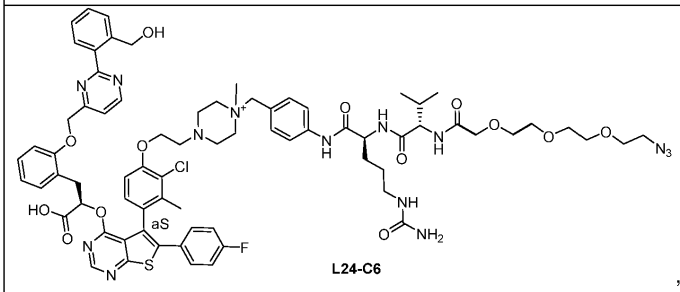
,



,

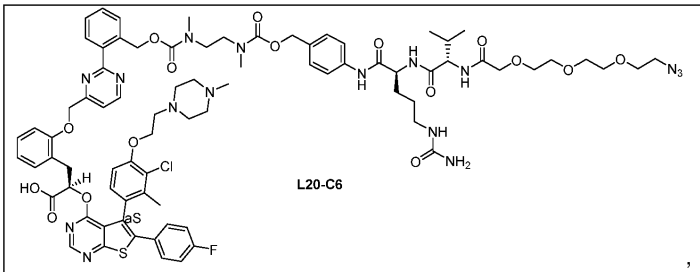


,

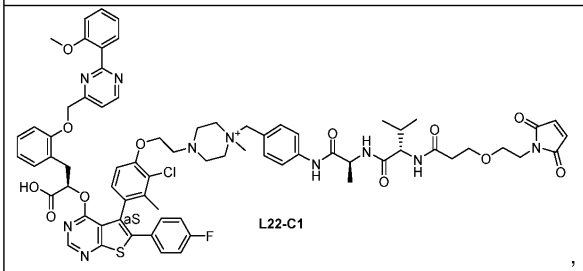


,

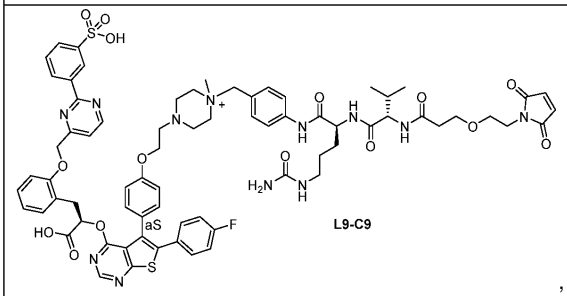
[0458]



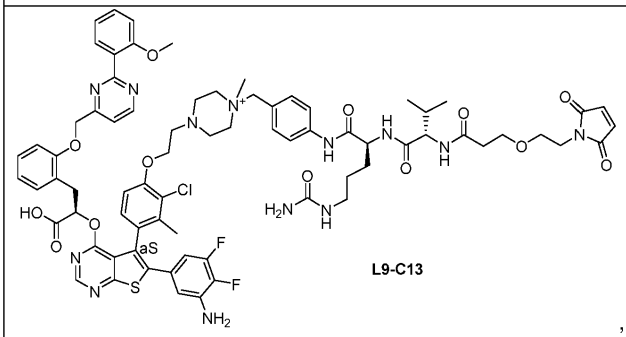
,



,

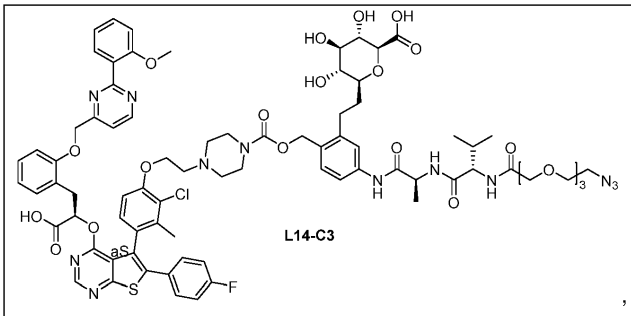


,

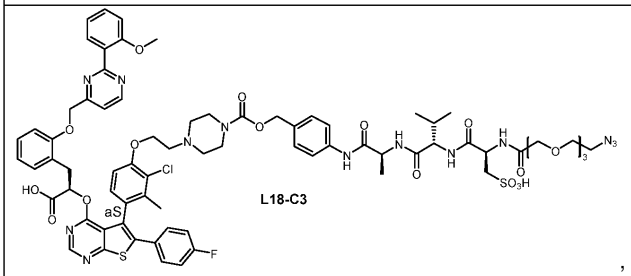


,

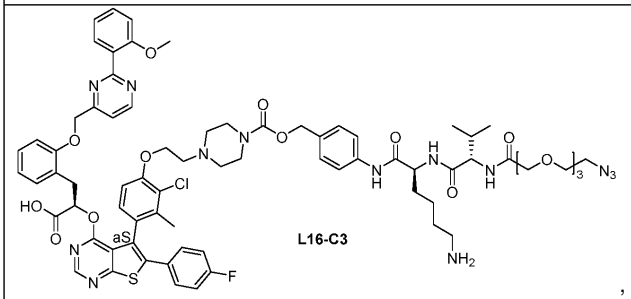
[0459]



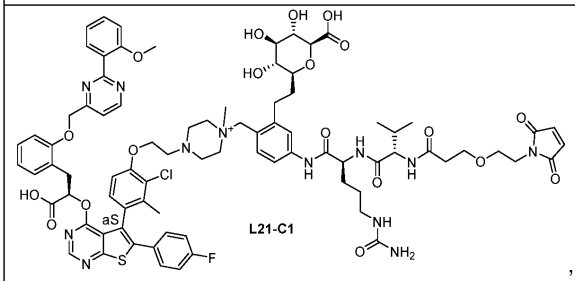
,



,



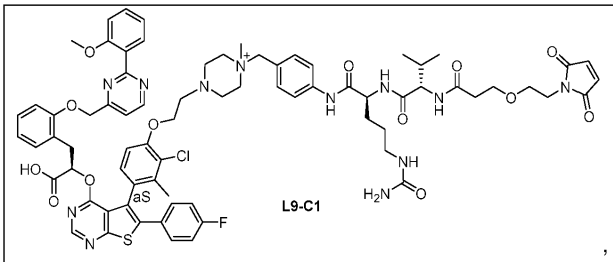
,



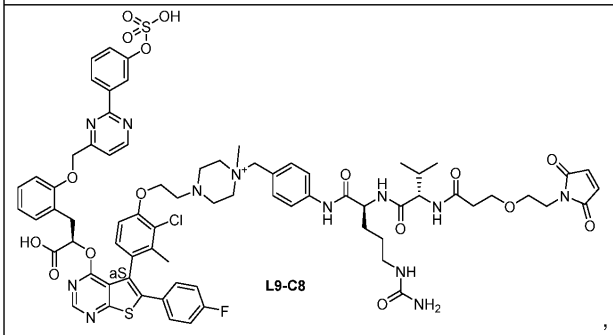
,

[0460]

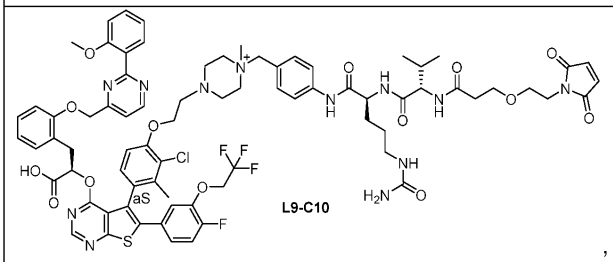
[0461]



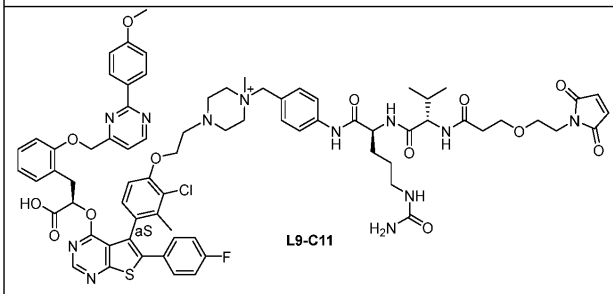
,



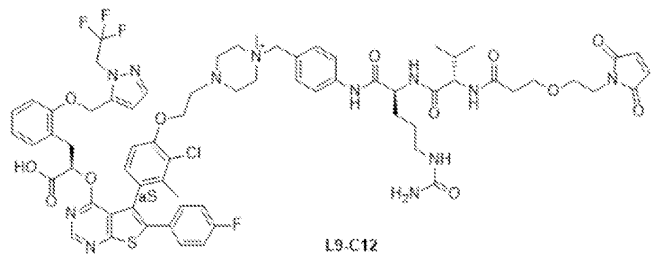
,



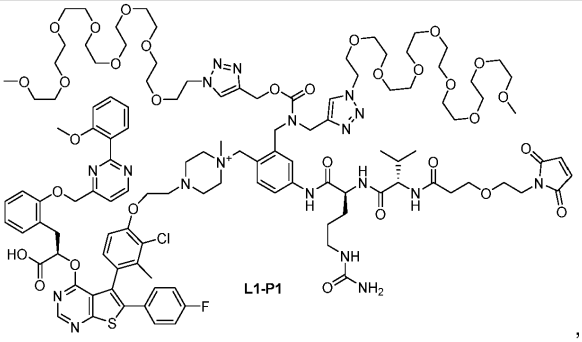
,



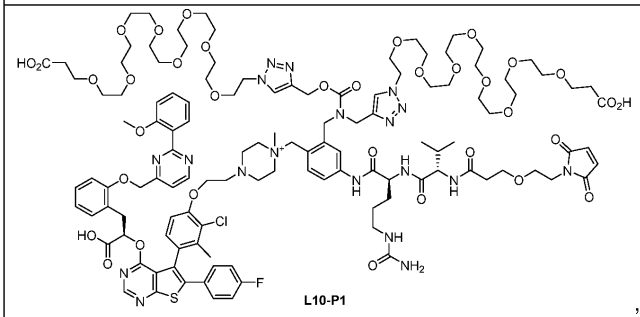
,



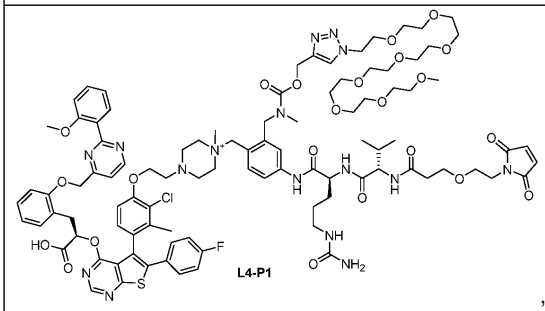
L9-C12 ,



L1-P1 ,



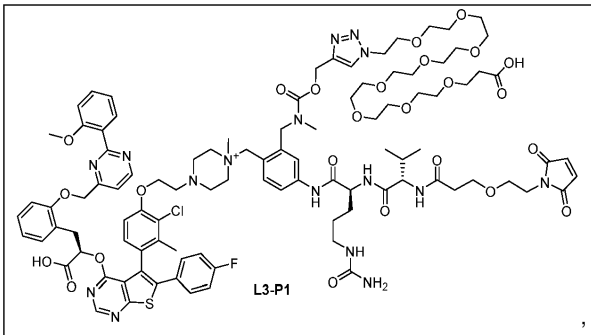
L10-P1 ,



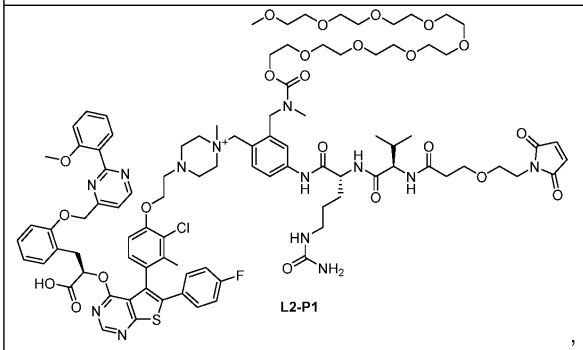
L4-P1 ,

[0462]

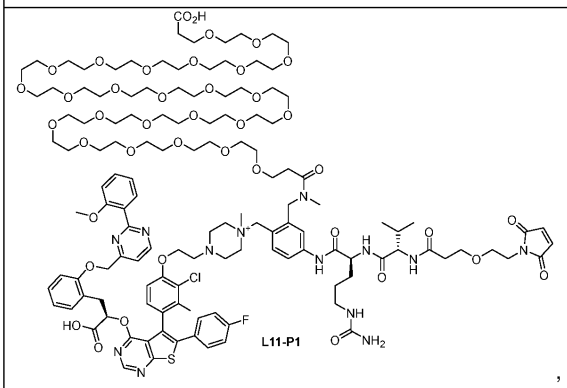
[0463]



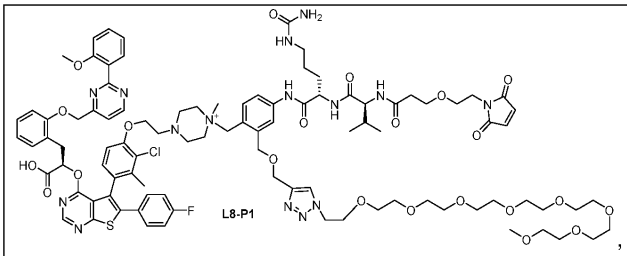
,

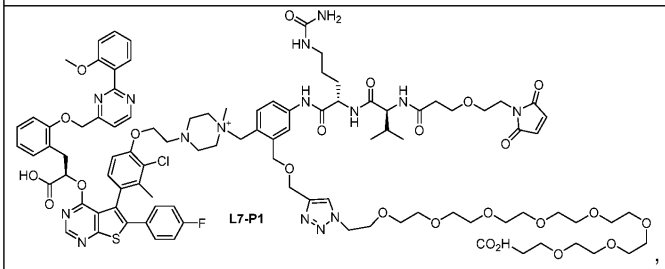


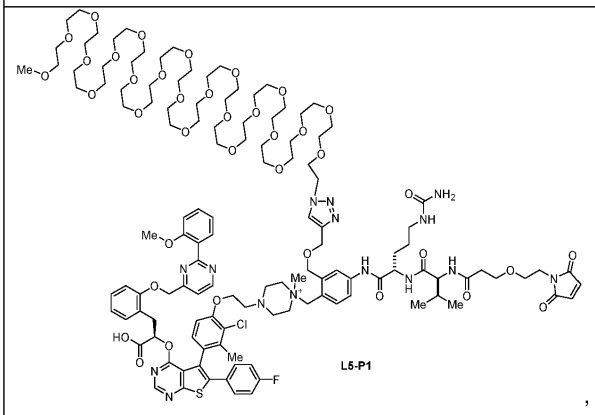
,

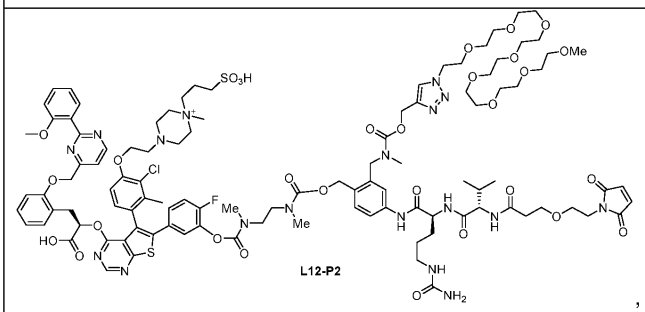


,

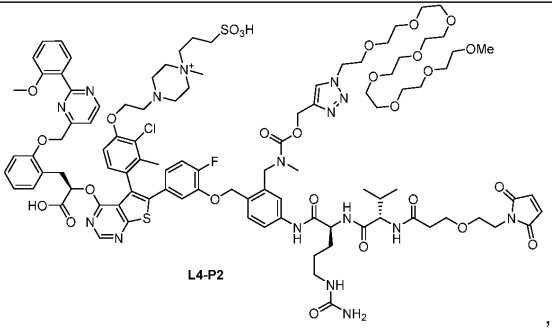




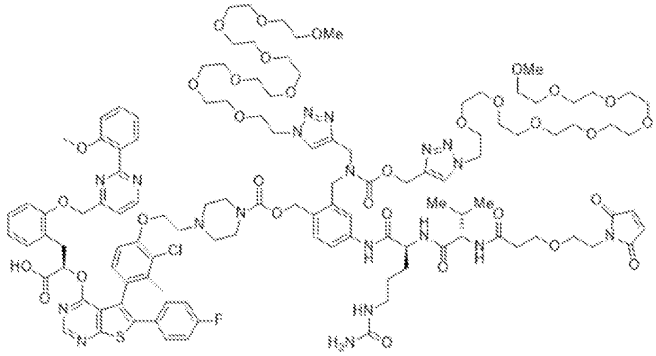




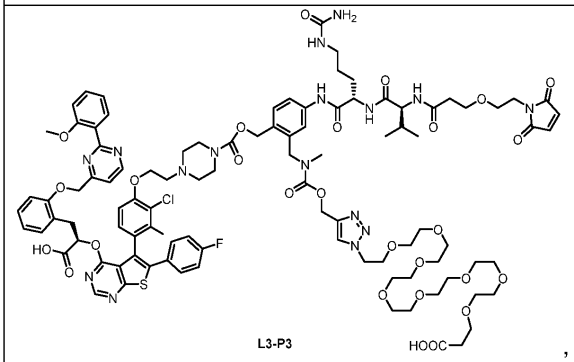
[0464]



,

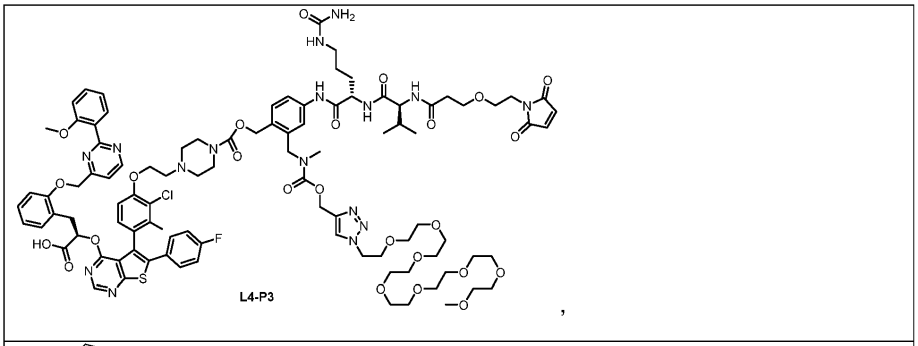


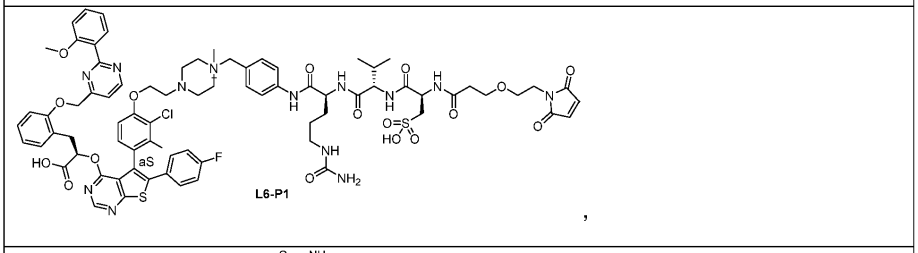
L1-P3,

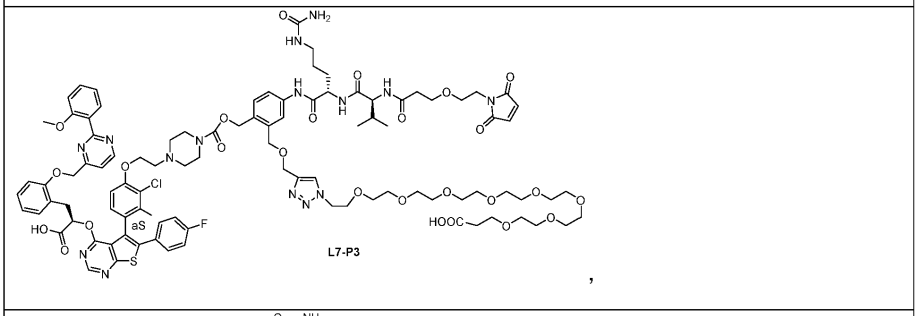


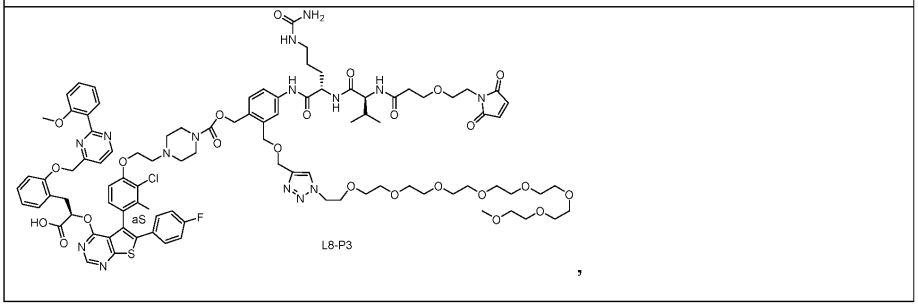
,

[0465]

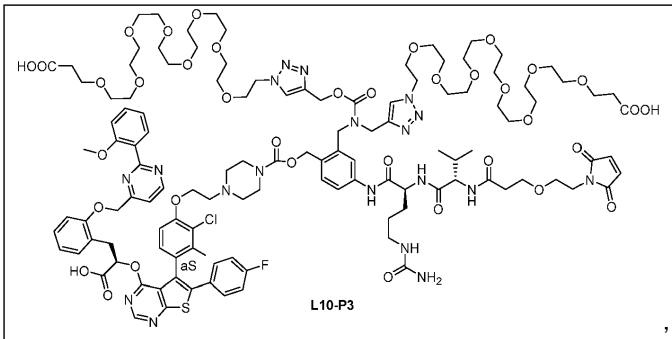




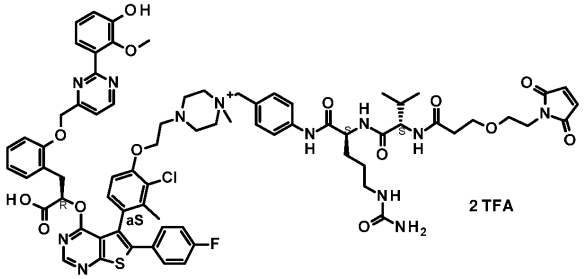




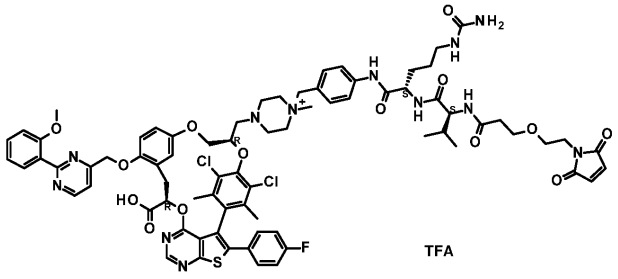
[0466]



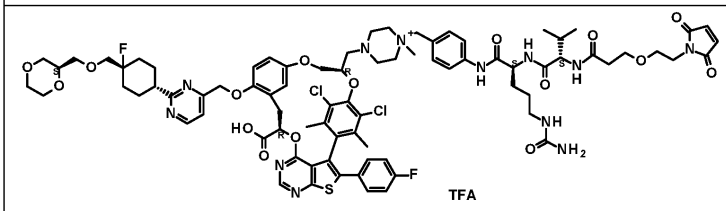
,



L9-C14,

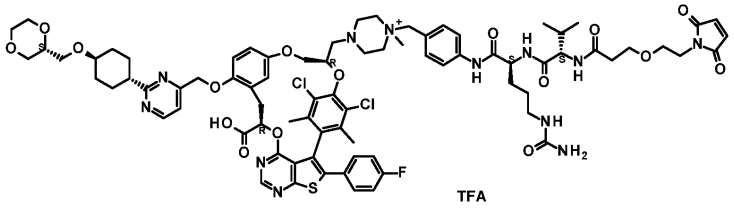


L9-P15,

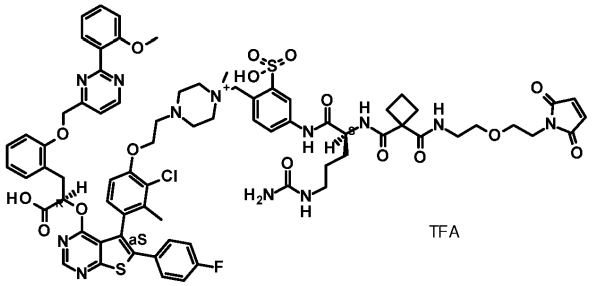


L9-P16,

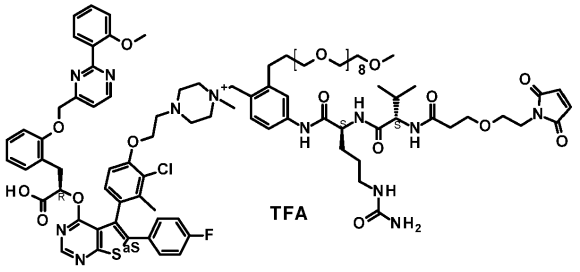
[0467]



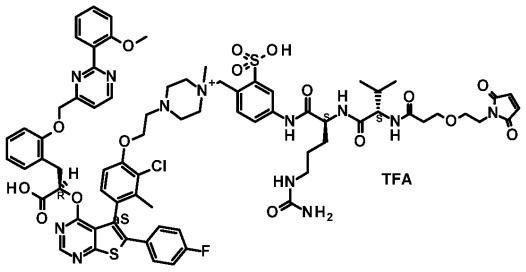
L9-P17,



L25-P1.

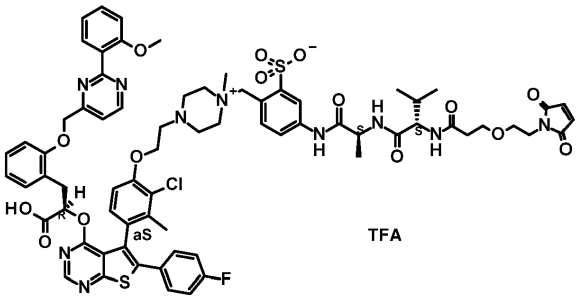


L26-P1,

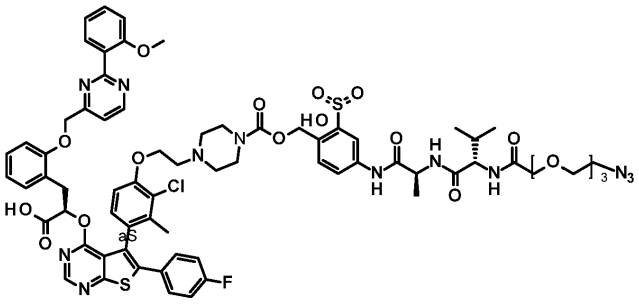


L27-P1,

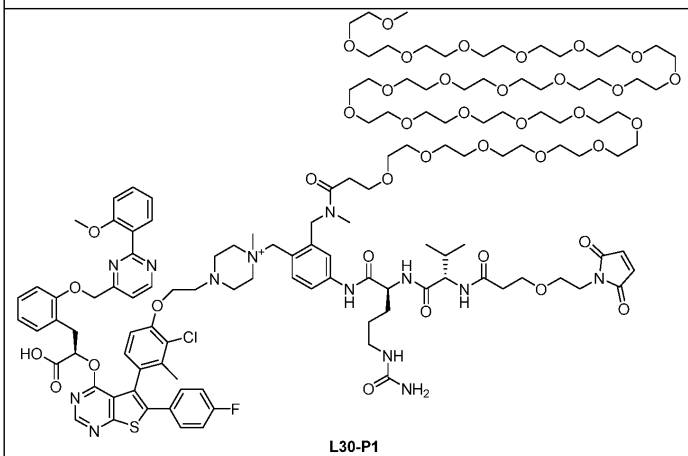
[0468]



L28-P1,

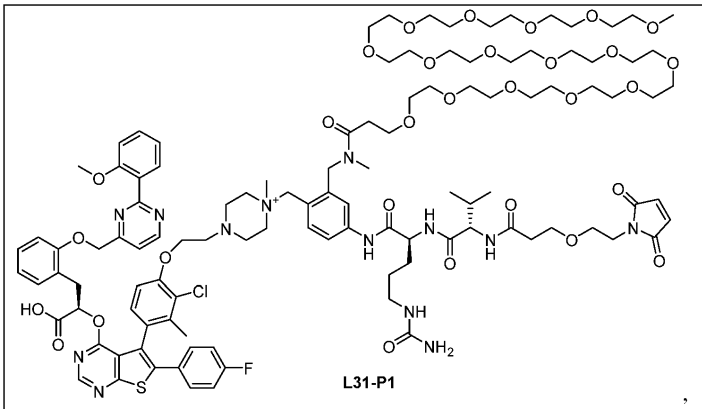


L29-C3,

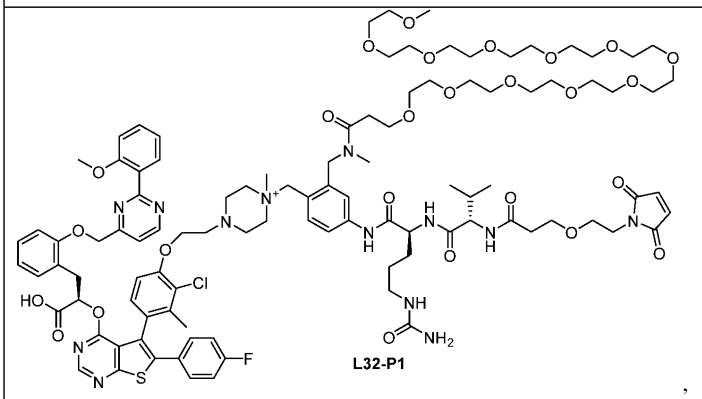


,

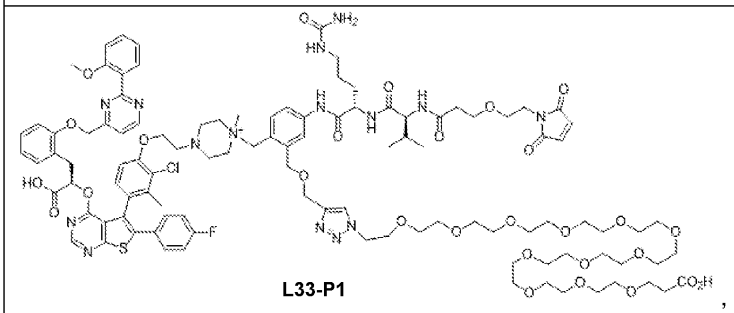
[0469]



L31-P1 ,



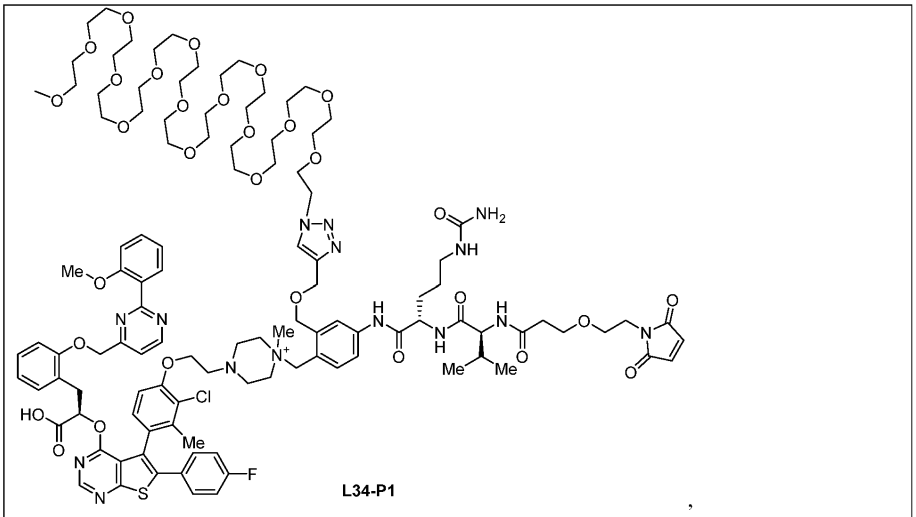
L32-P1 ,



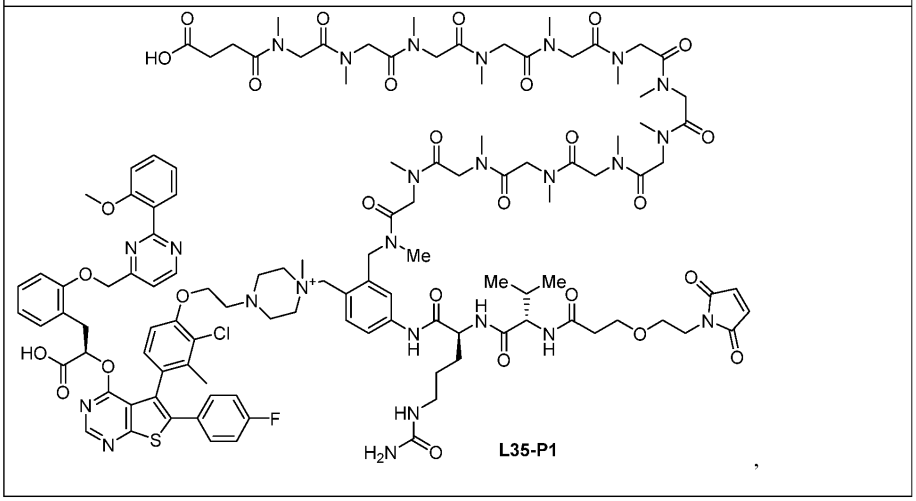
L33-P1 ,

[0470]

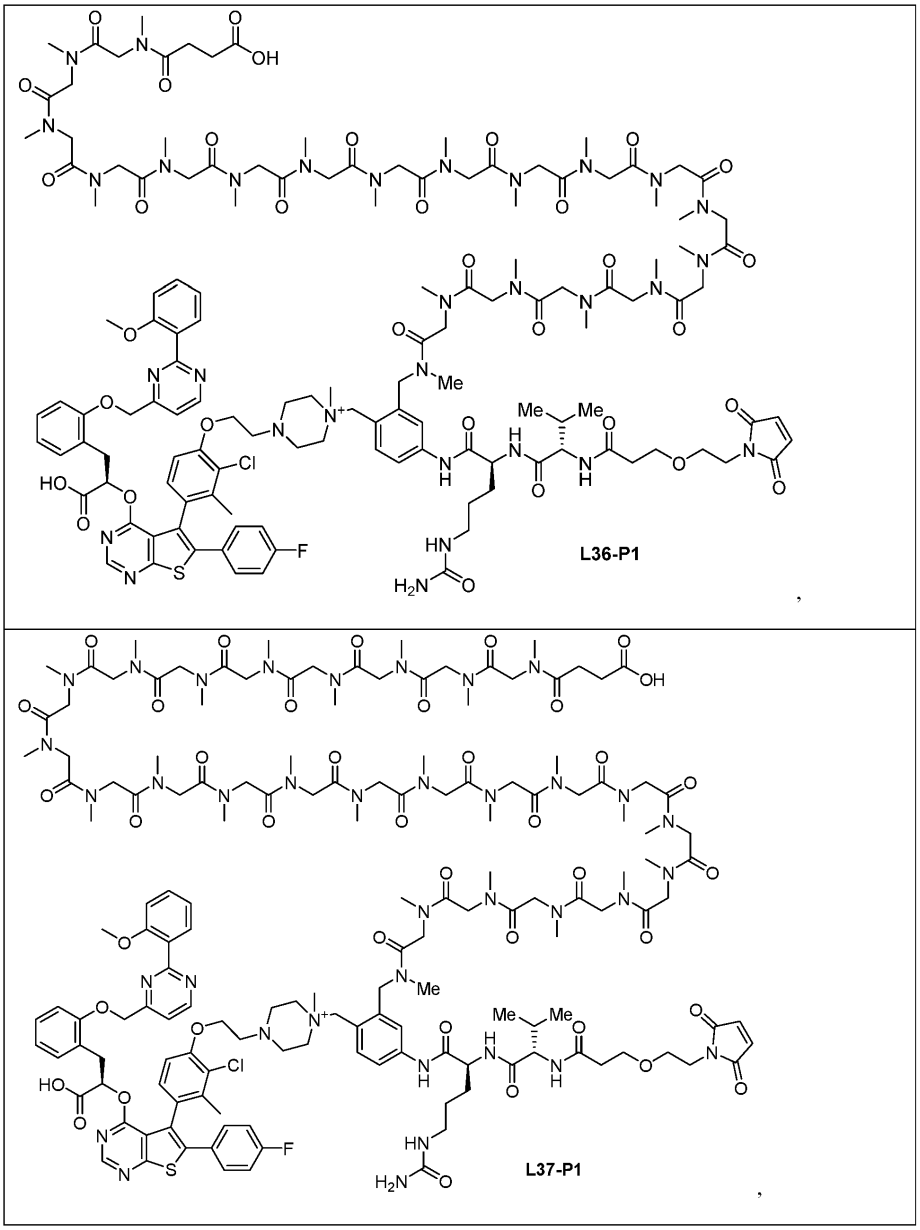
[0471]



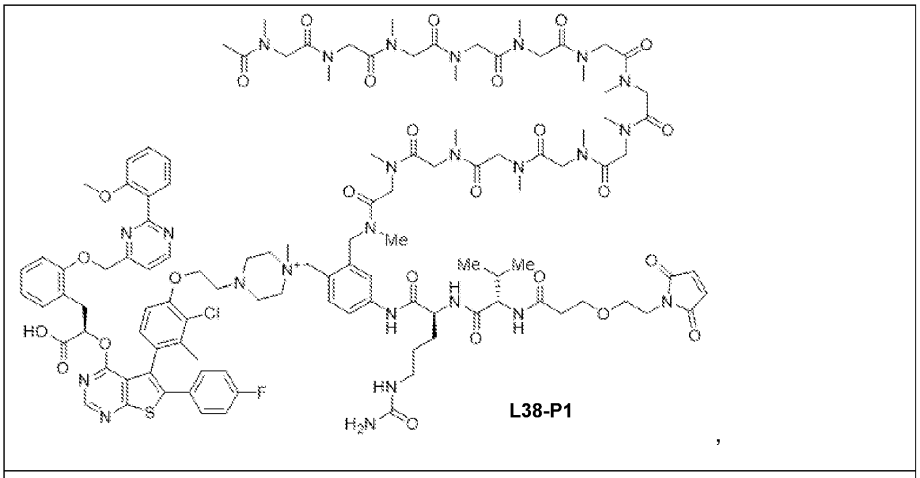
L34-P1 ,



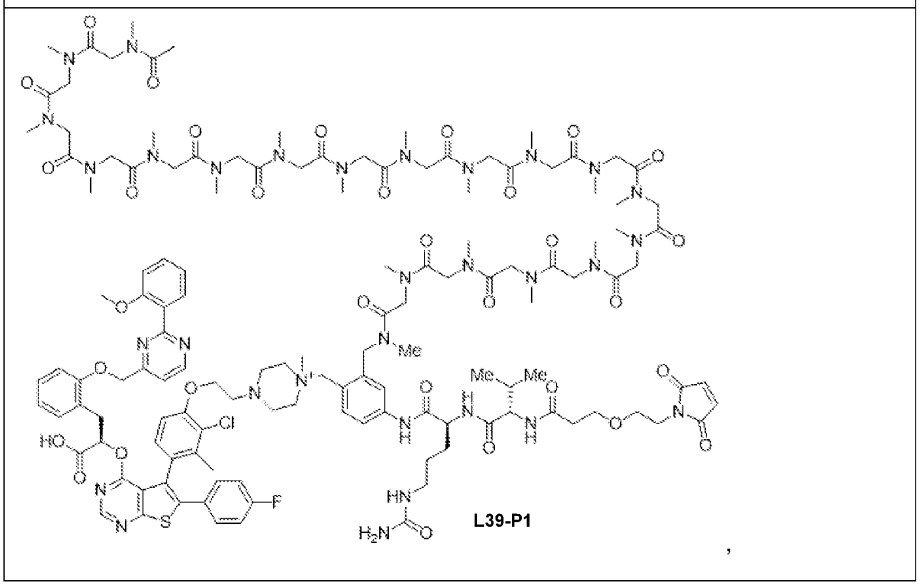
L35-P1 ,



[0472]

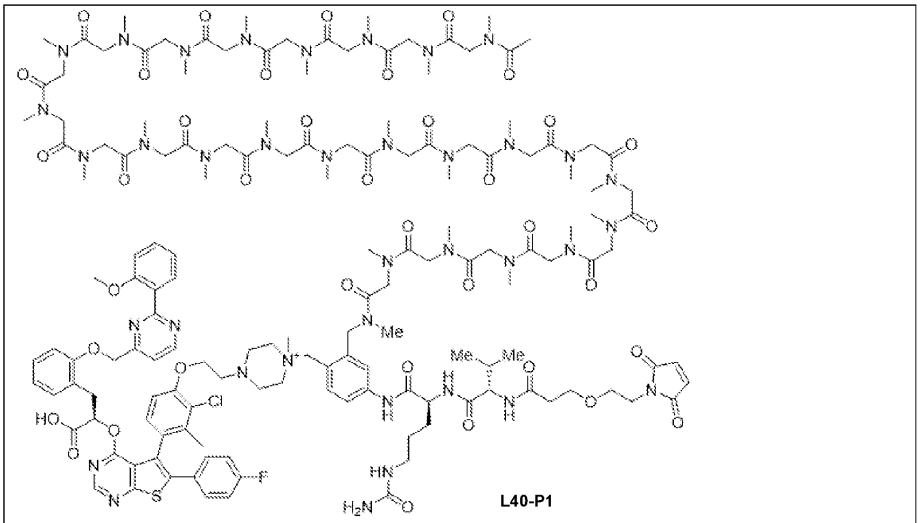


,

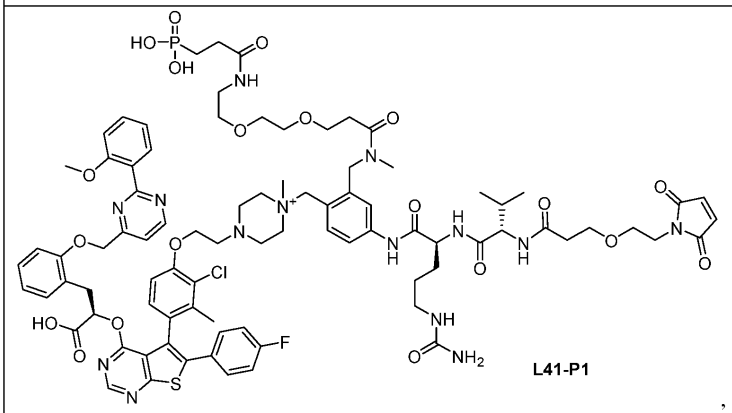


,

[0473]

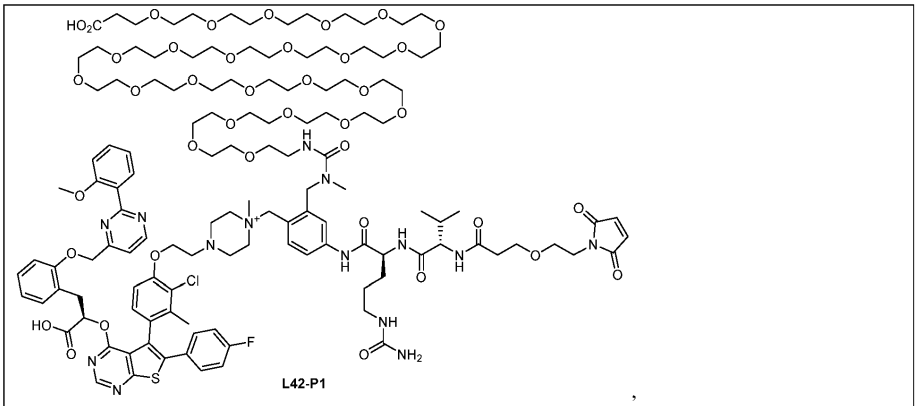


,

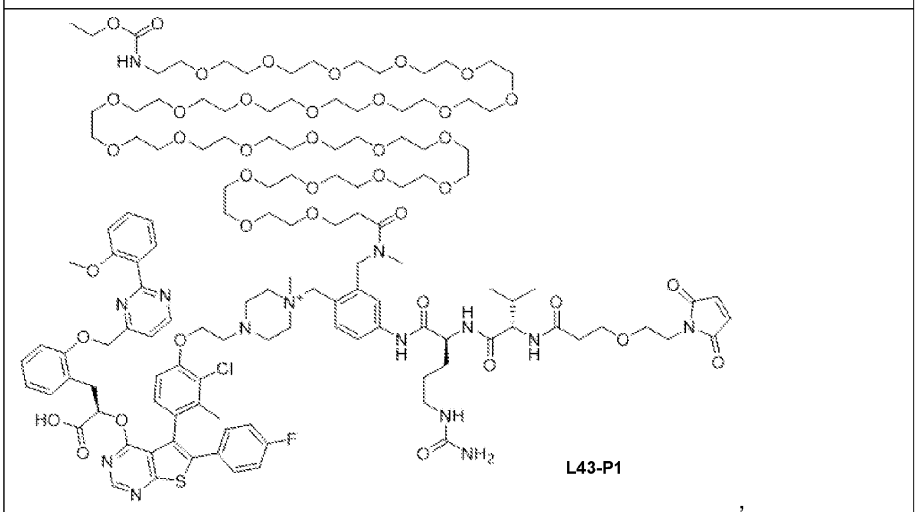


,

[0474]

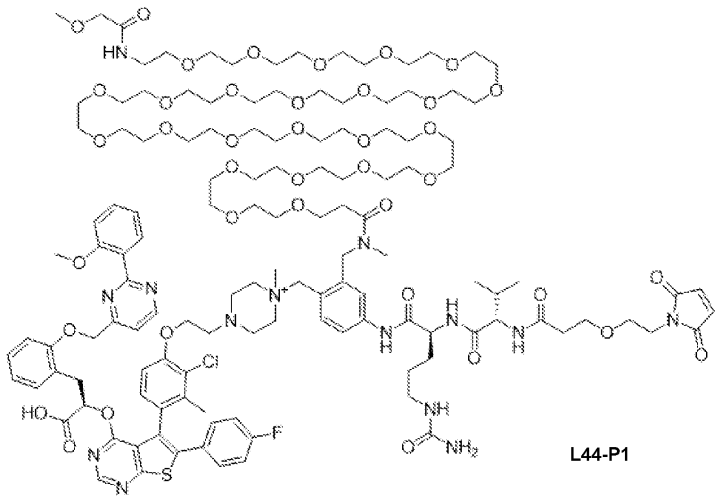


L42-P1 ,



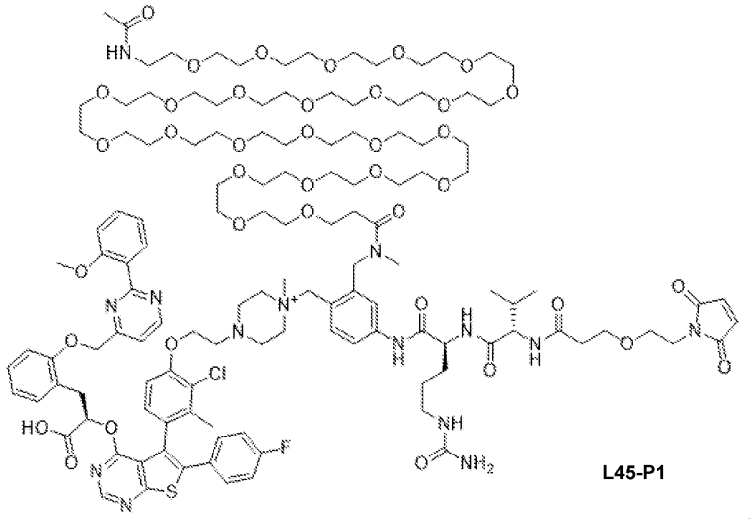
L43-P1 ,

[0475]



L44-P1

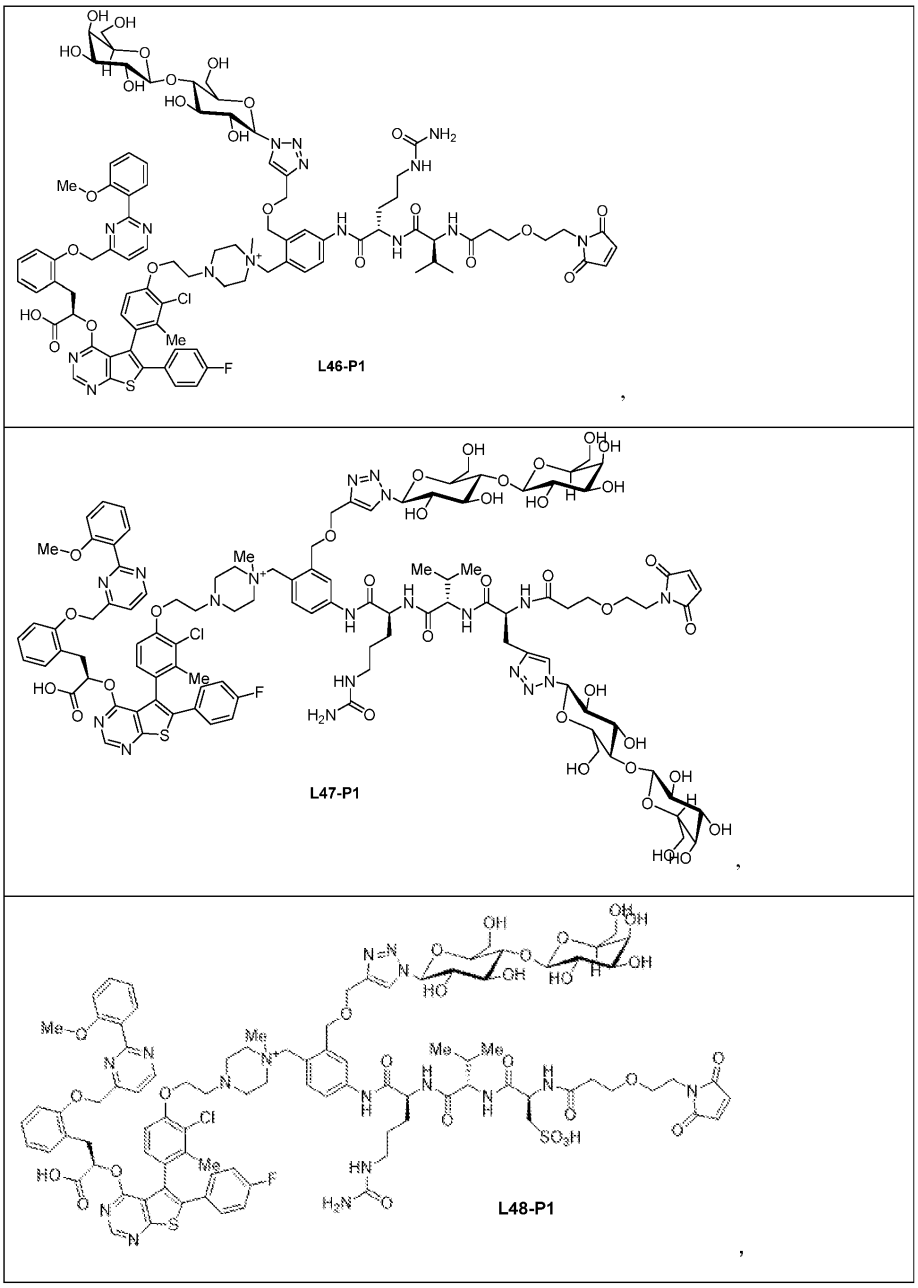
,



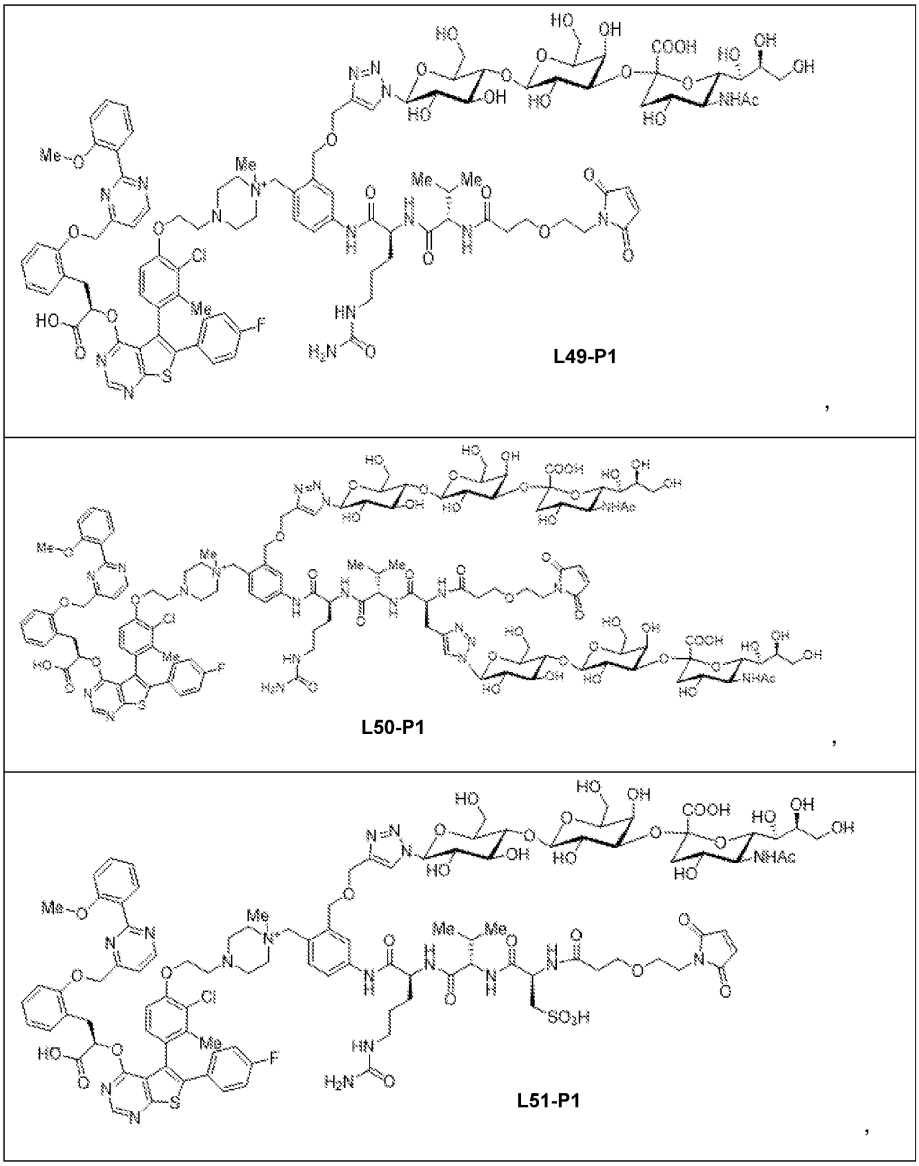
L45-P1

,

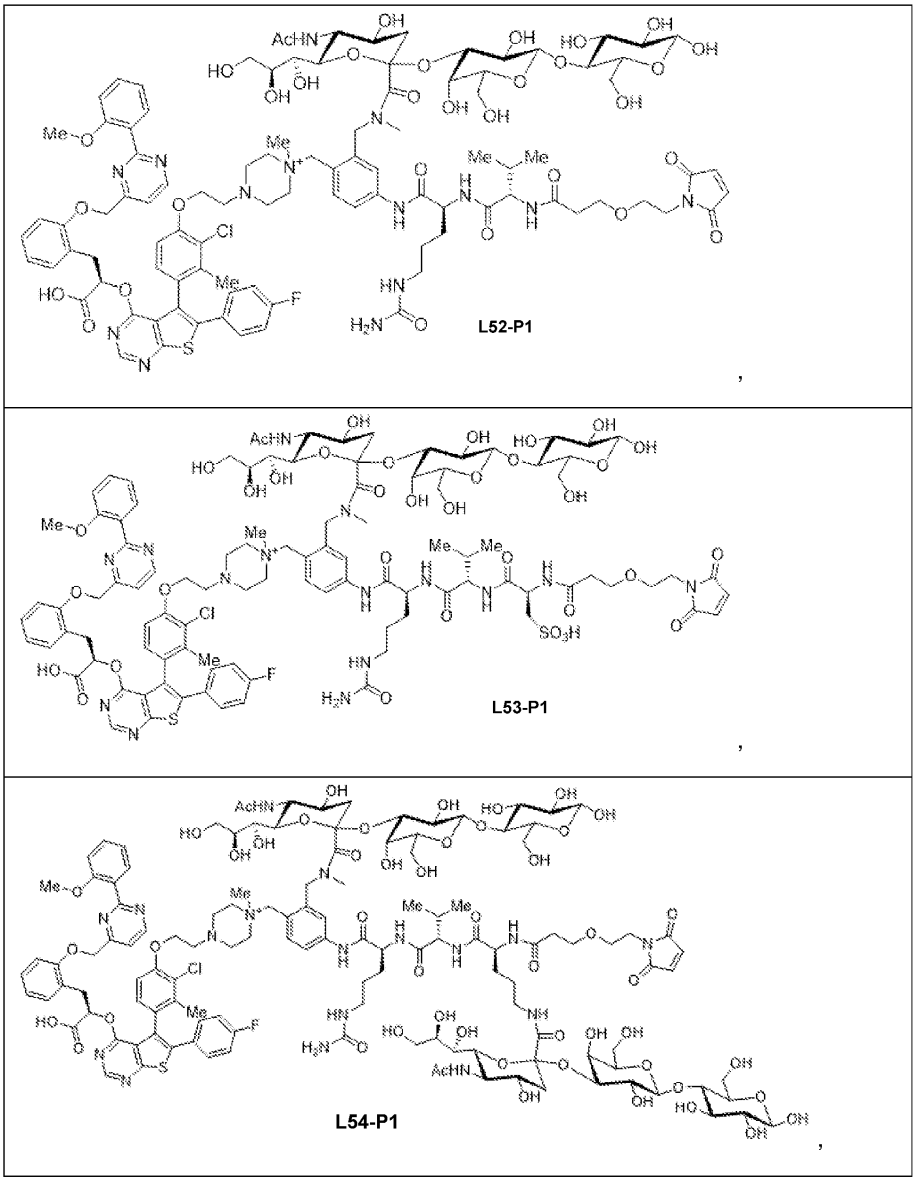
[0476]



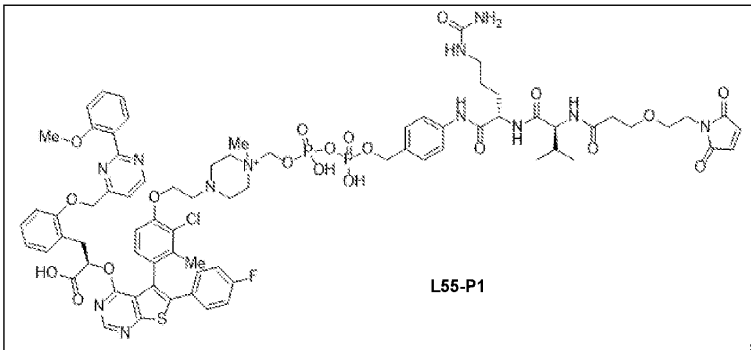
[0477]



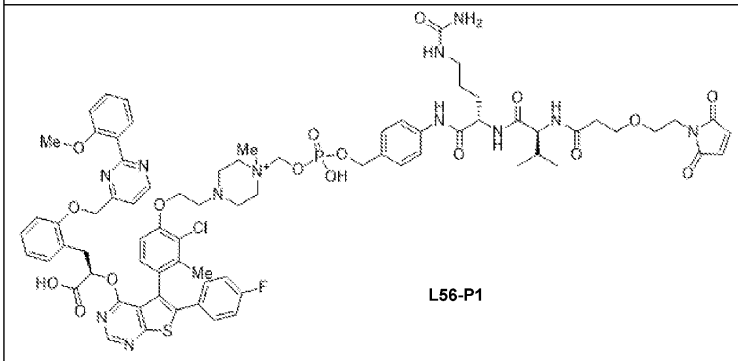
[0478]



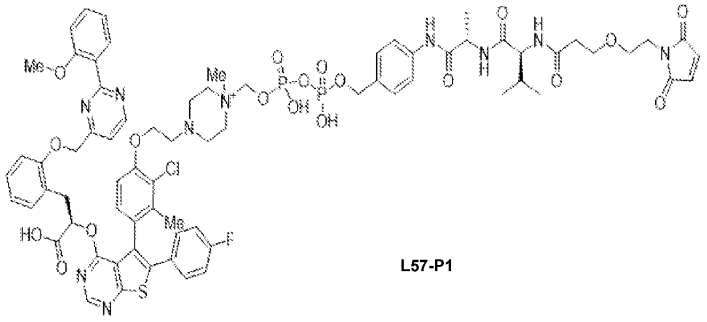
[0479]



L55-P1 ,

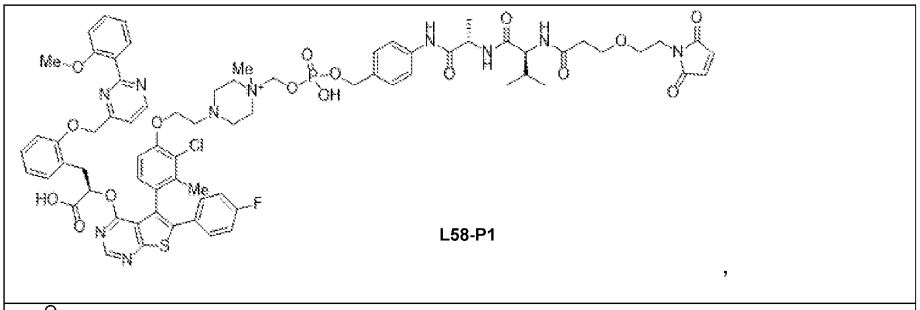


L56-P1 ,



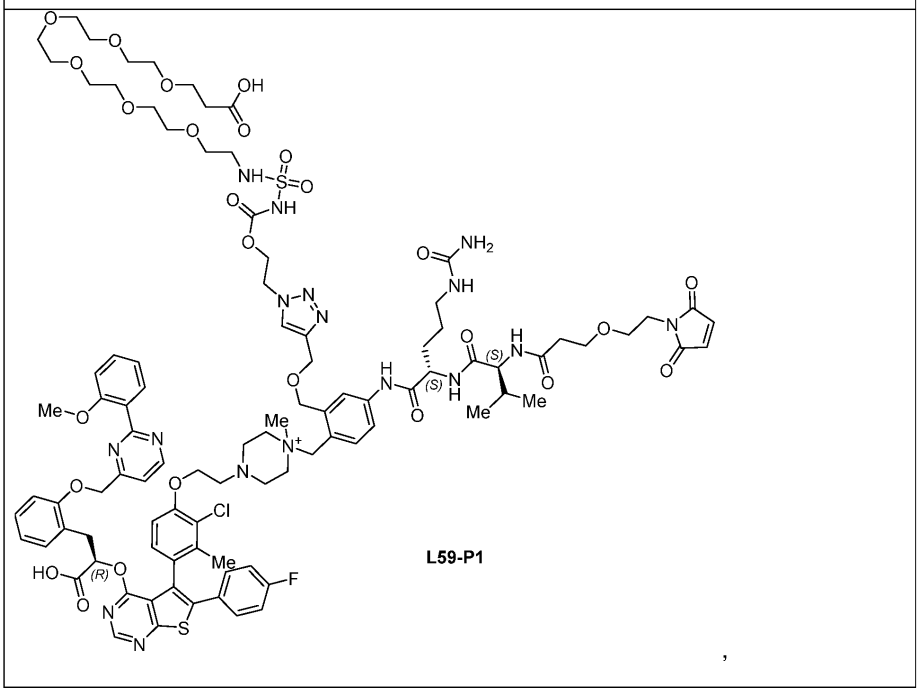
L57-P1 ,

[0480]



L58-P1

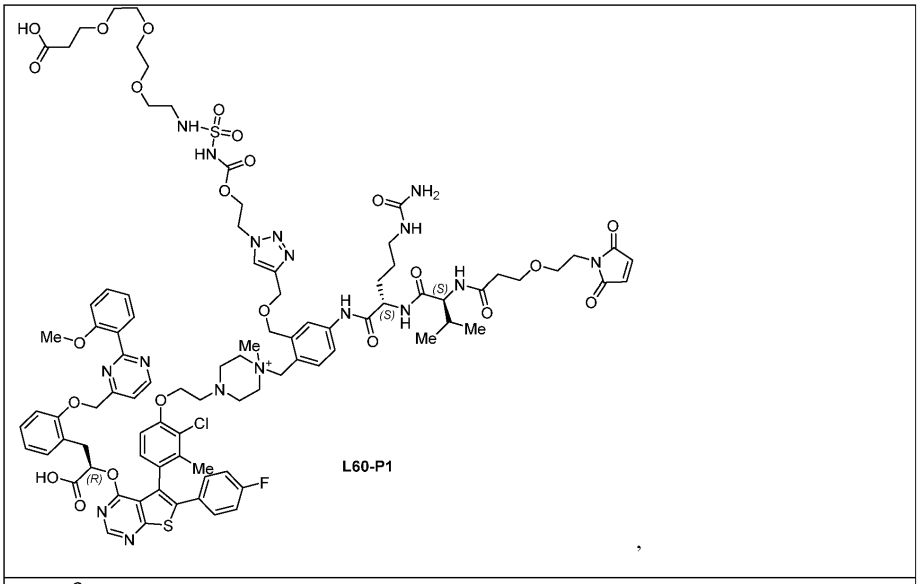
,



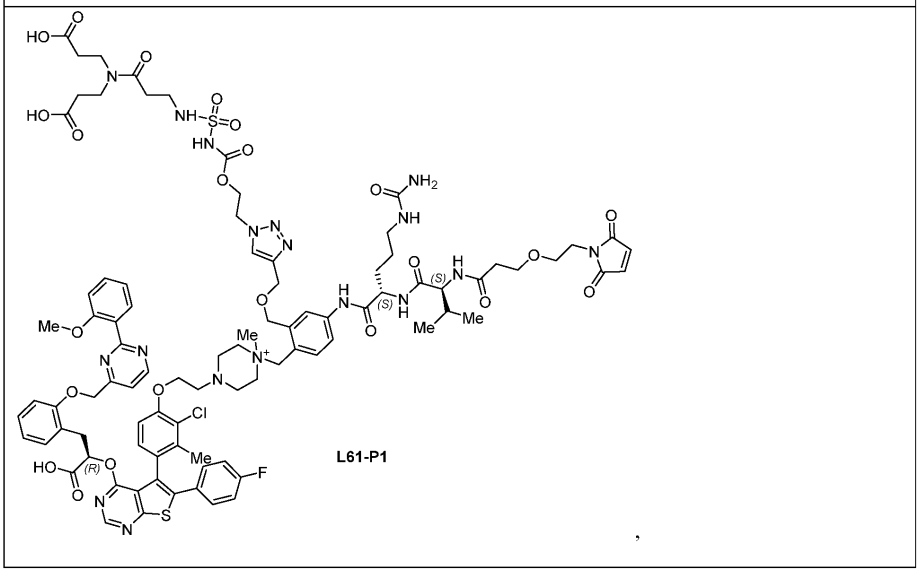
L59-P1

,

[0481]

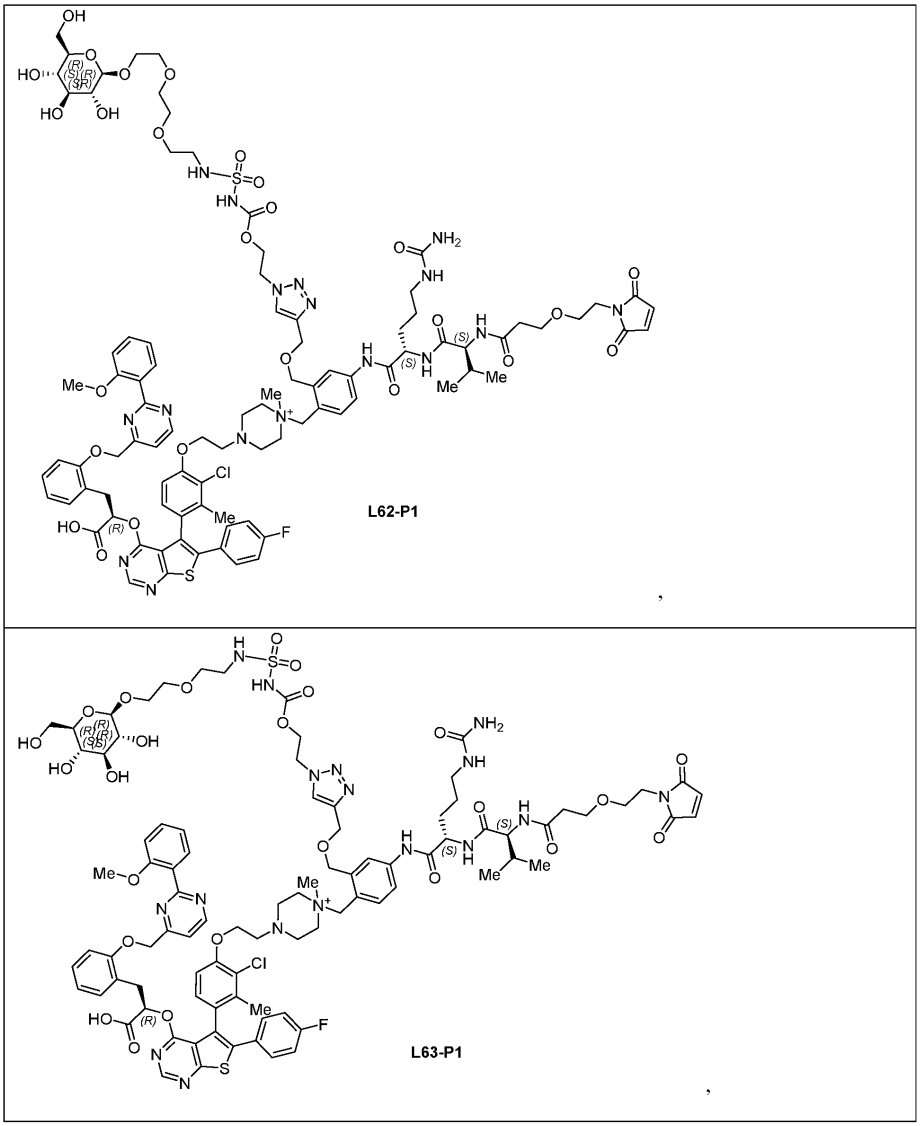


,



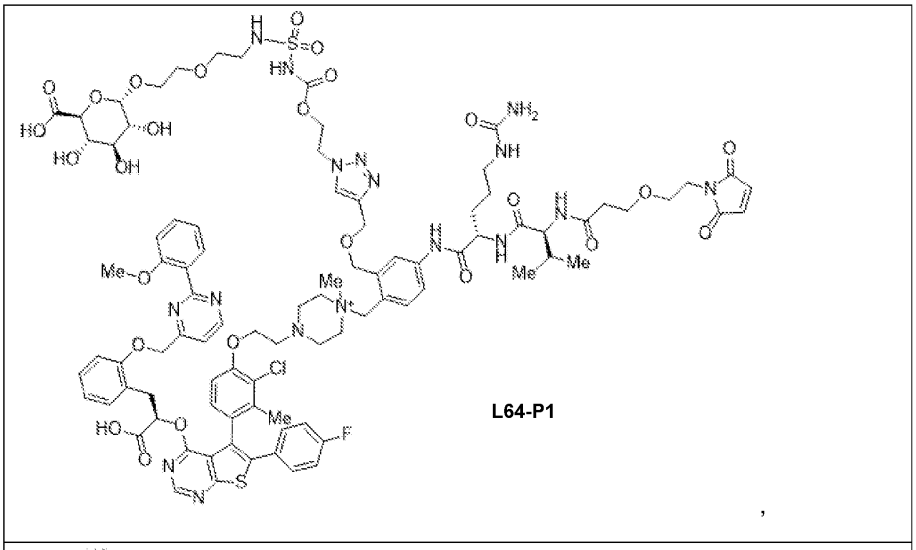
,

[0482]



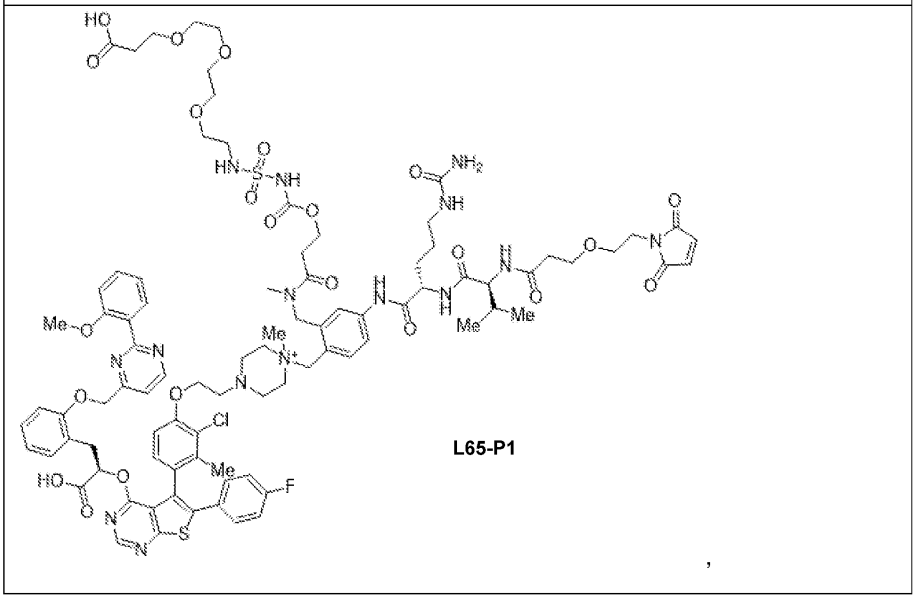
[0483]

[0484]



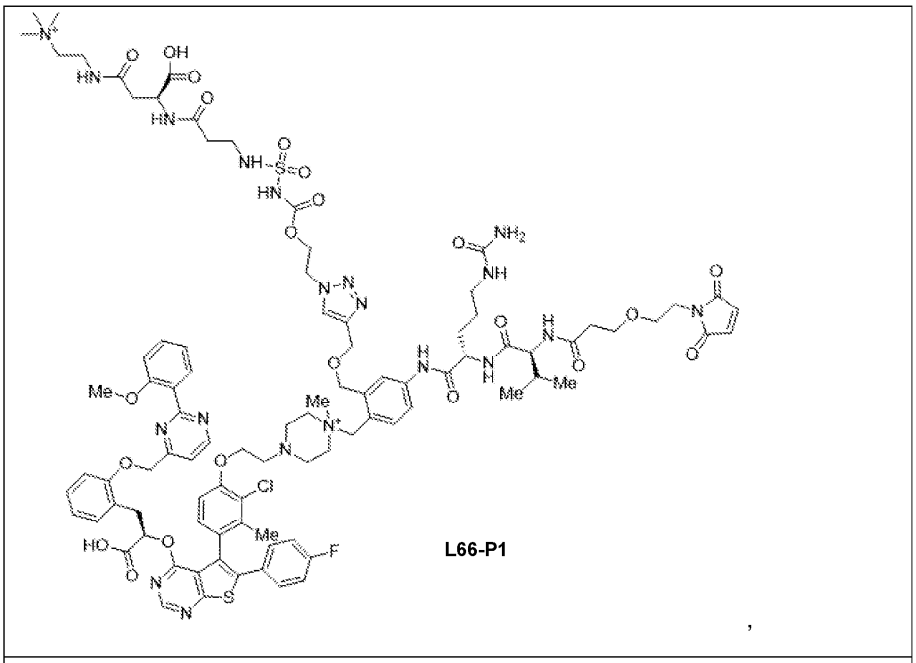
L64-P1

,

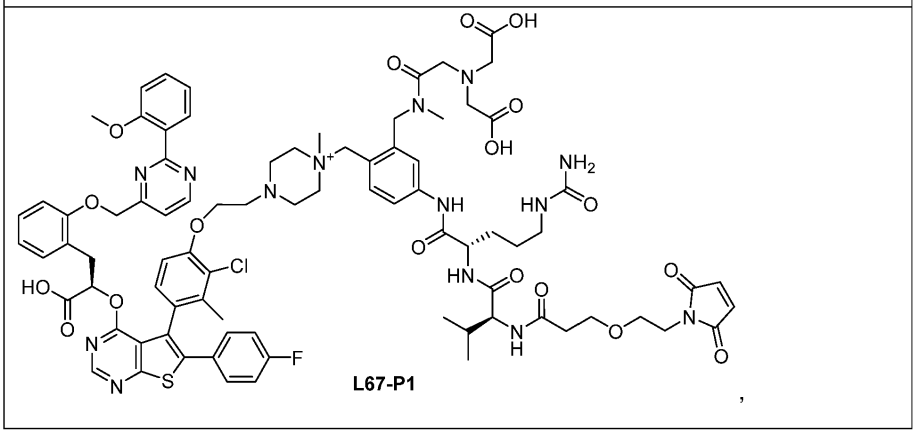


L65-P1

,

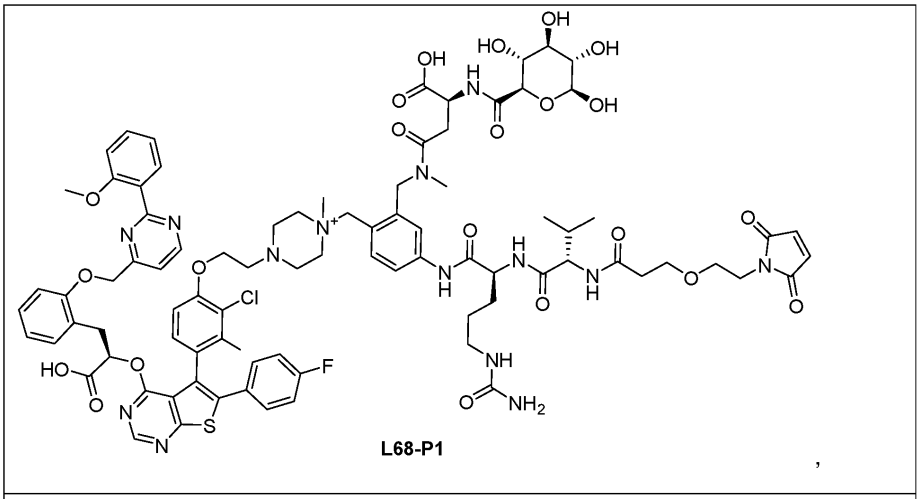


L66-P1 ,

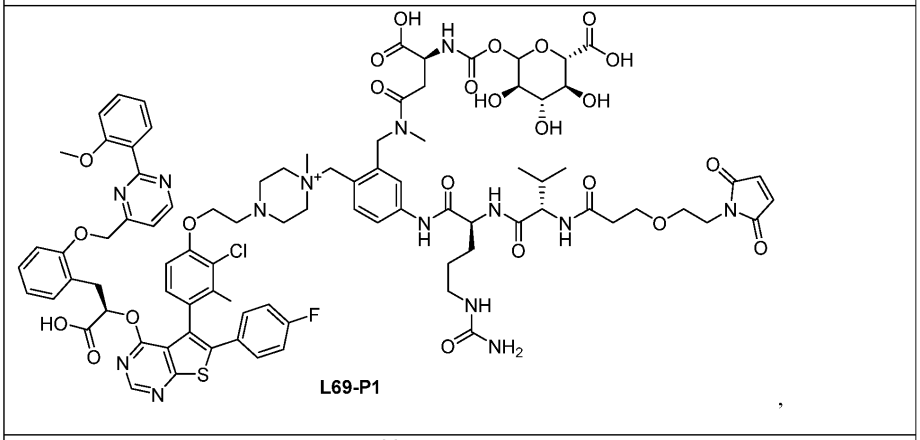


L67-P1 ,

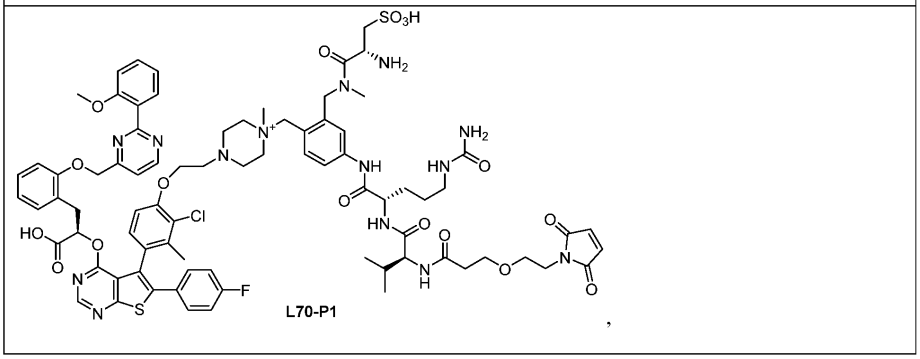
[0485]



L68-P1 ,

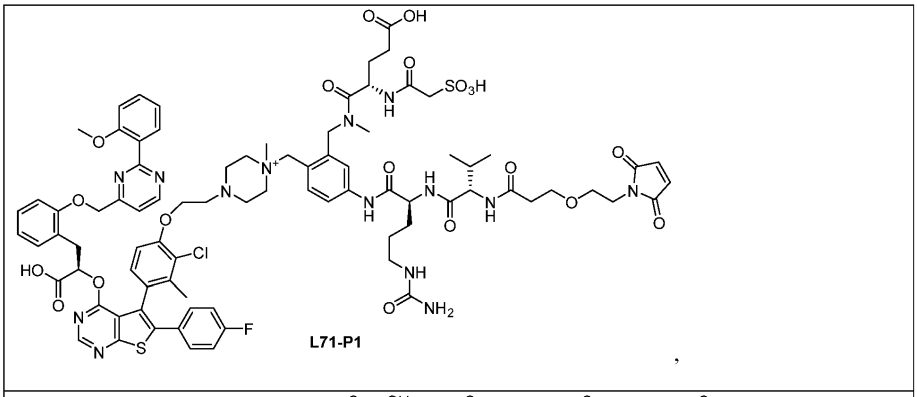


L69-P1 ,

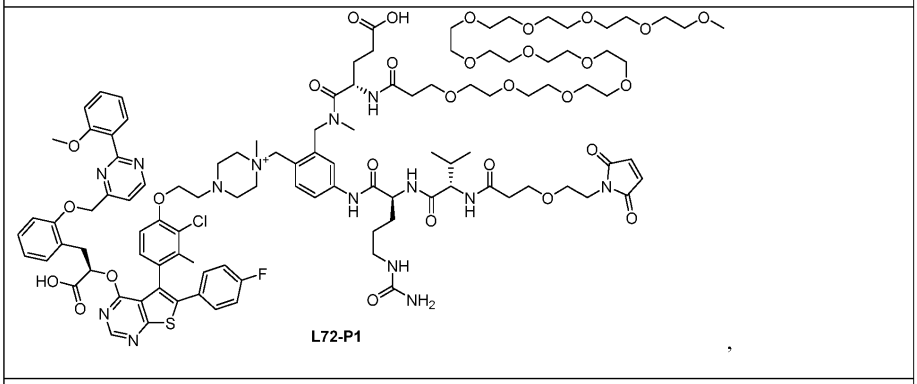


L70-P1 ,

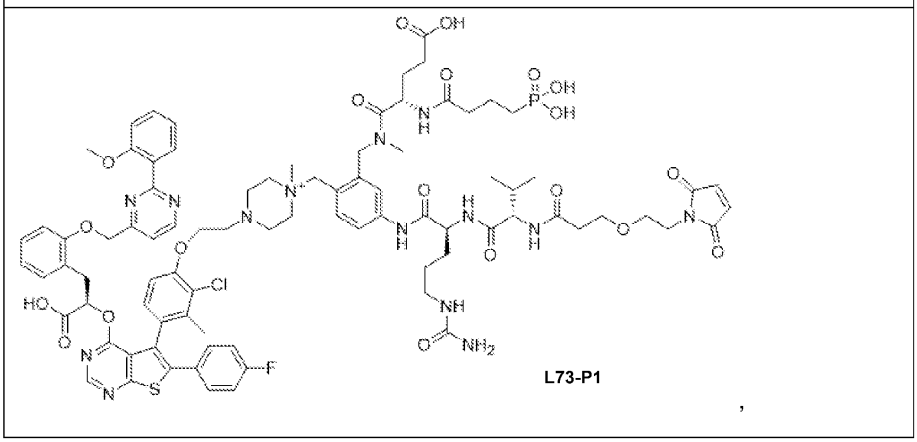
[0486]



L71-P1 ,

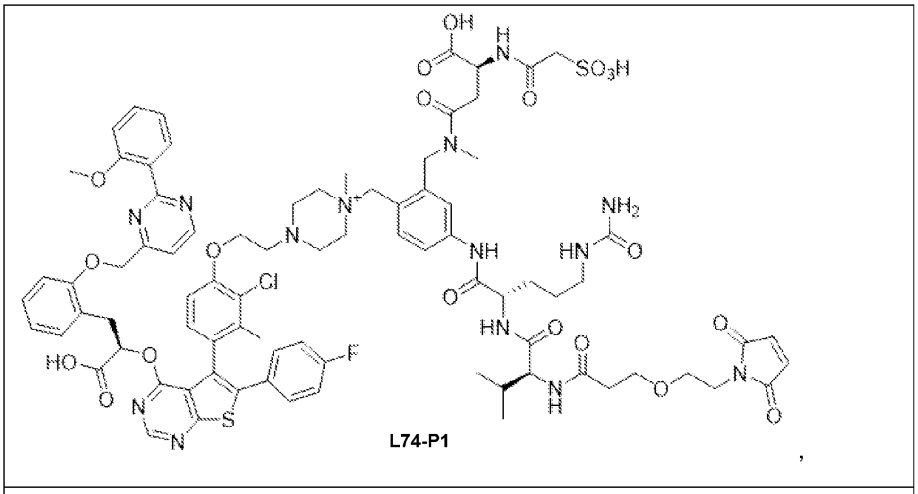


L72-P1 ,

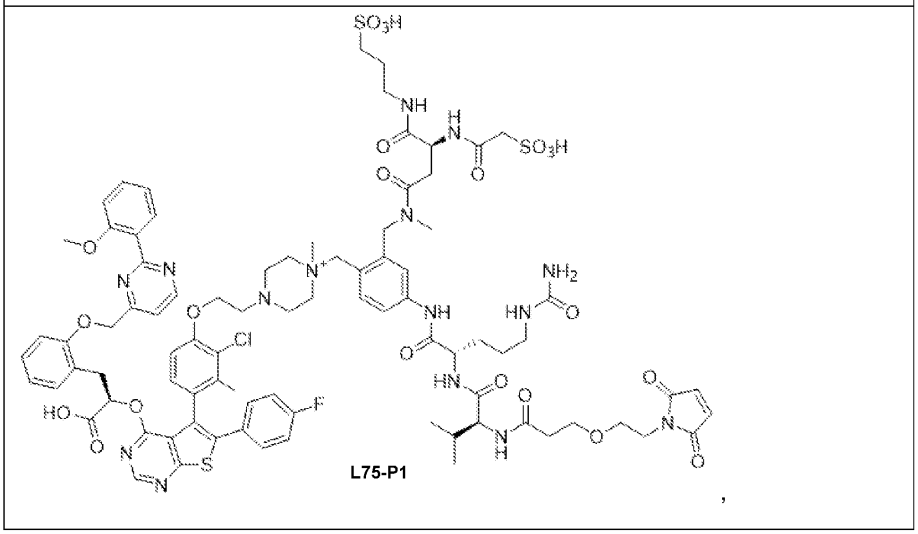


L73-P1 ,

[0487]

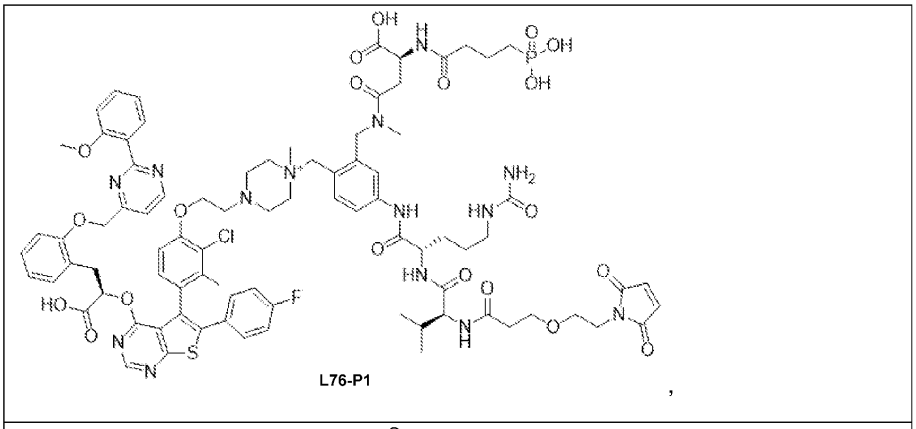


L74-P1 ,

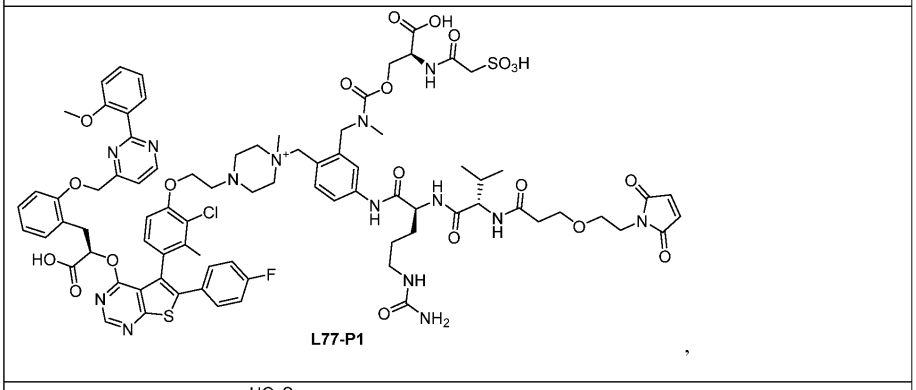


L75-P1 ,

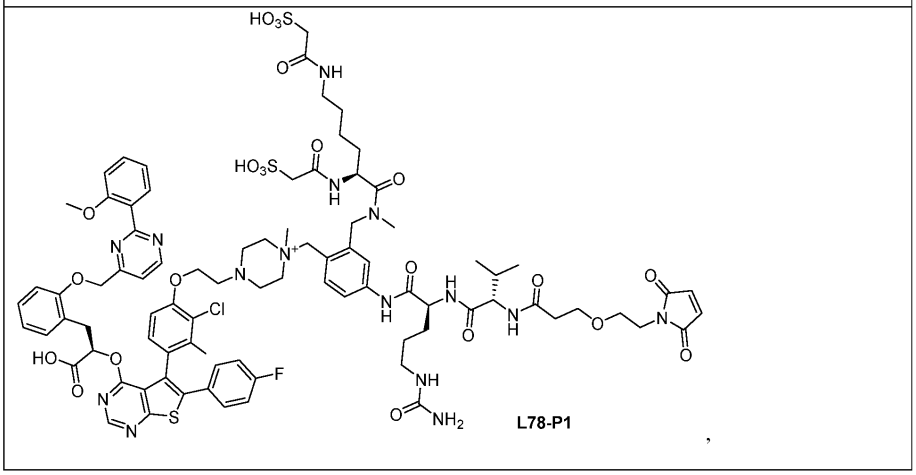
[0488]



L76-P1 ,

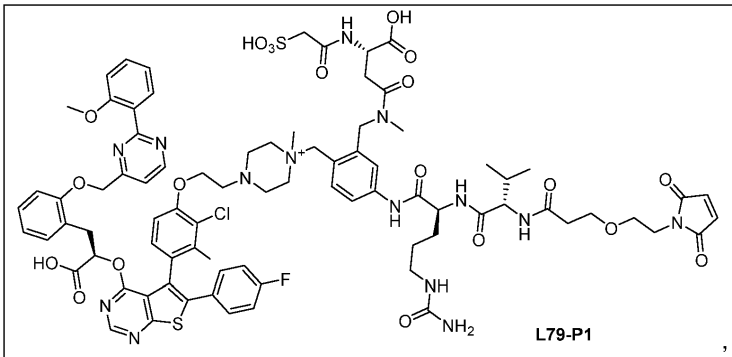


L77-P1 ,

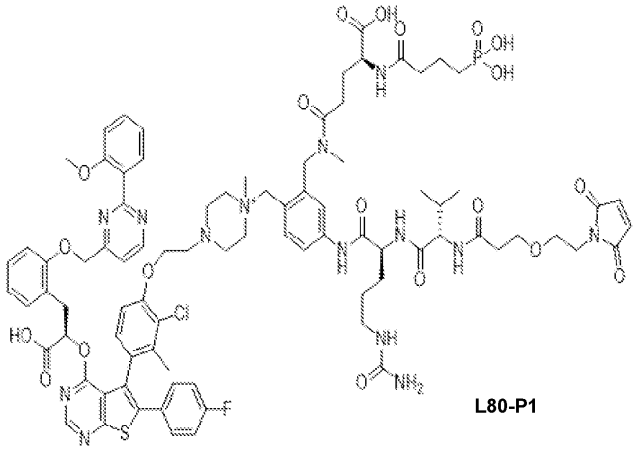


L78-P1 ,

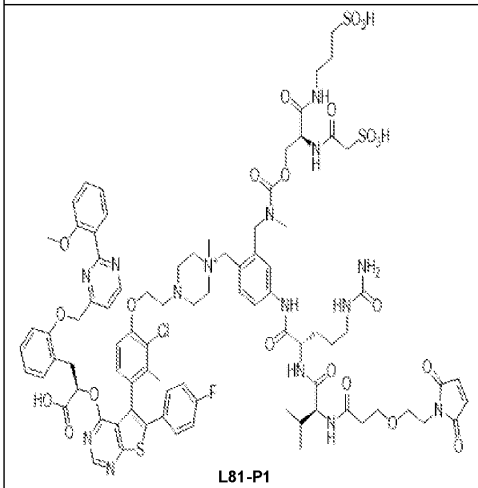
[0489]



L79-P1 ,

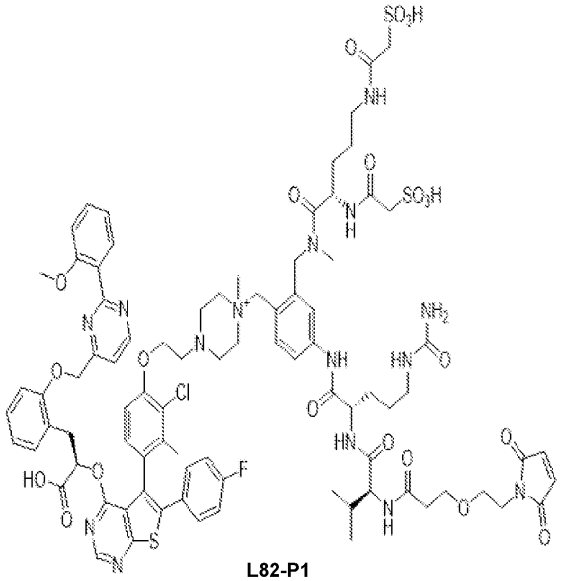


L80-P1 ,

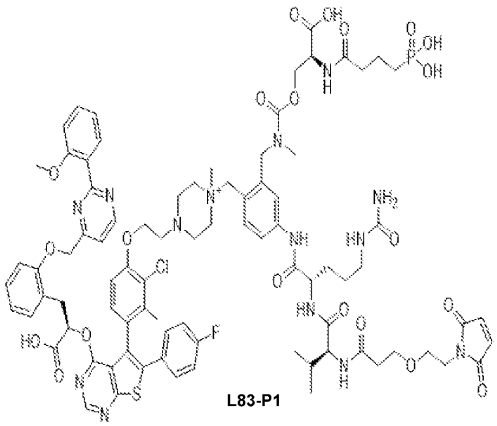


L81-P1 ,

[0490]

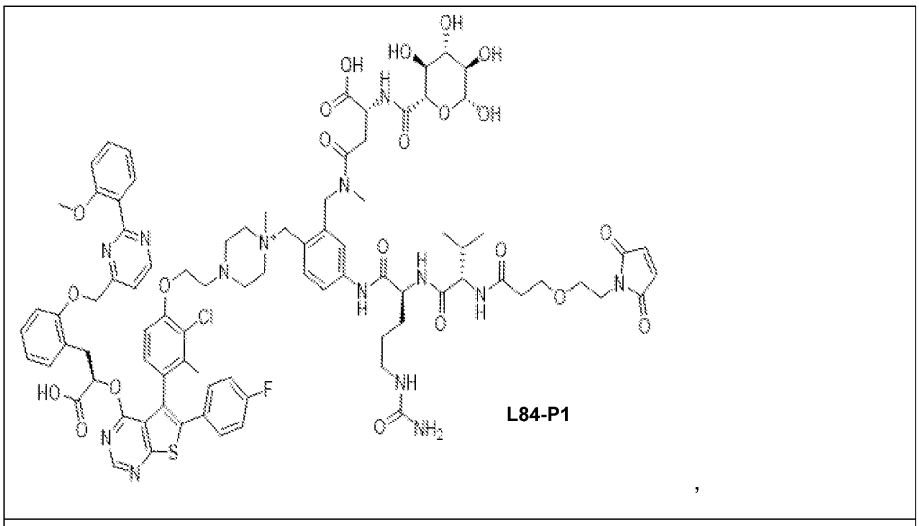


L82-P1 ,



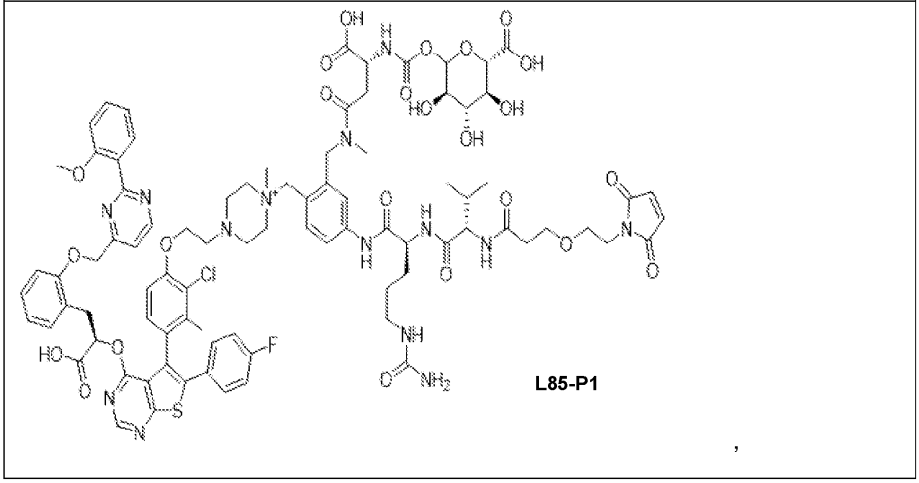
L83-P1 ,

[0491]



L84-P1

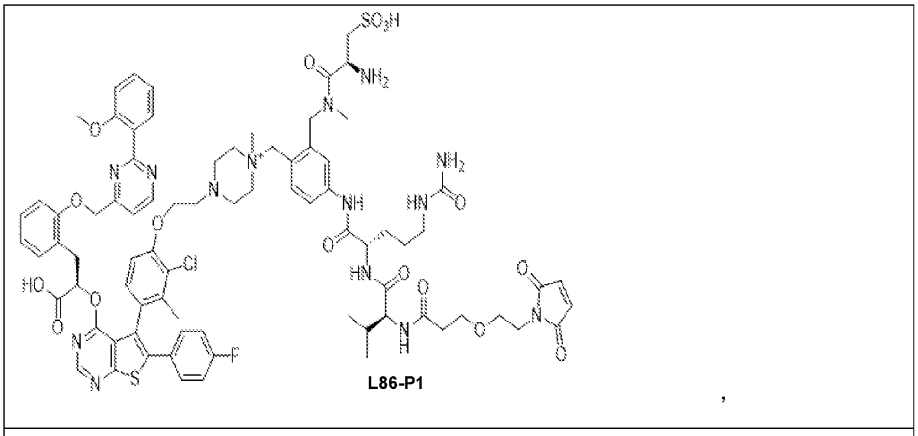
,



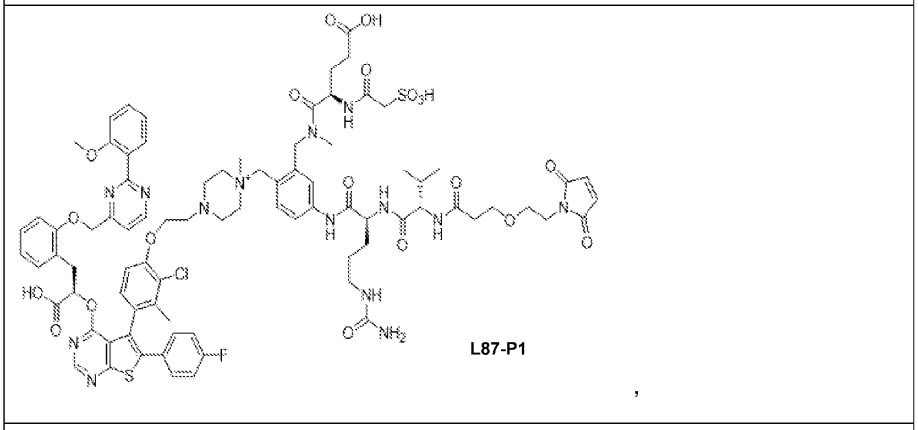
L85-P1

,

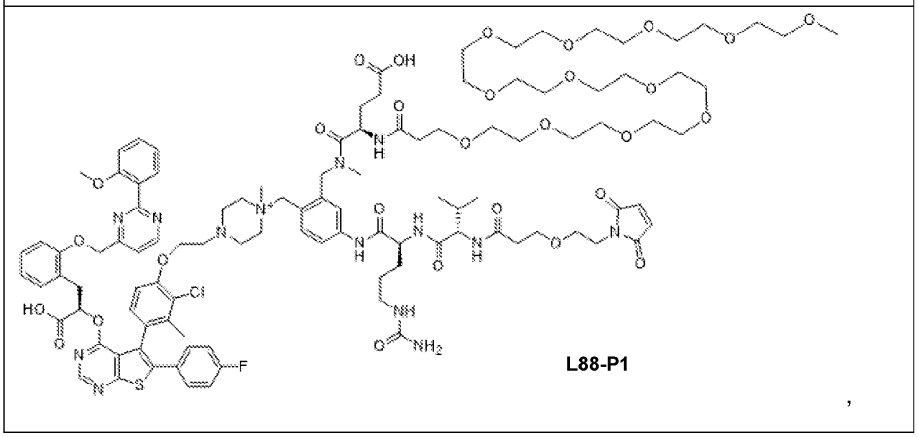
[0492]



L86-P1 ,

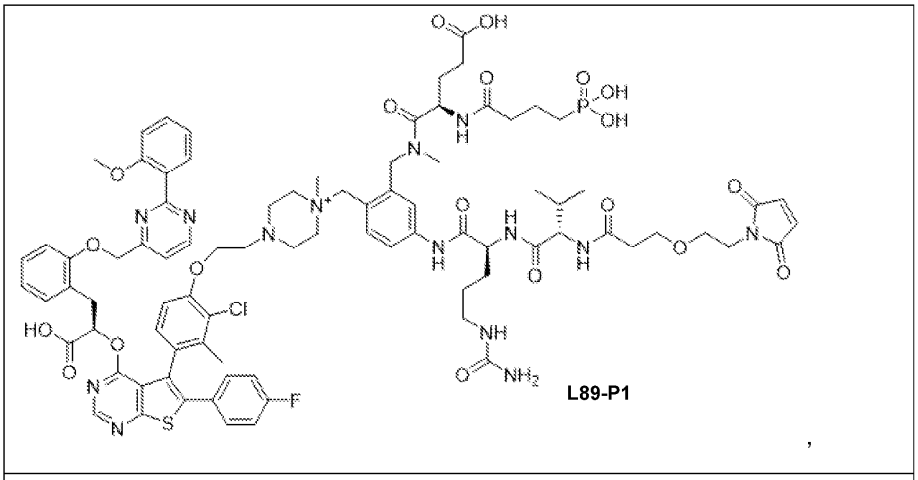


L87-P1 ,

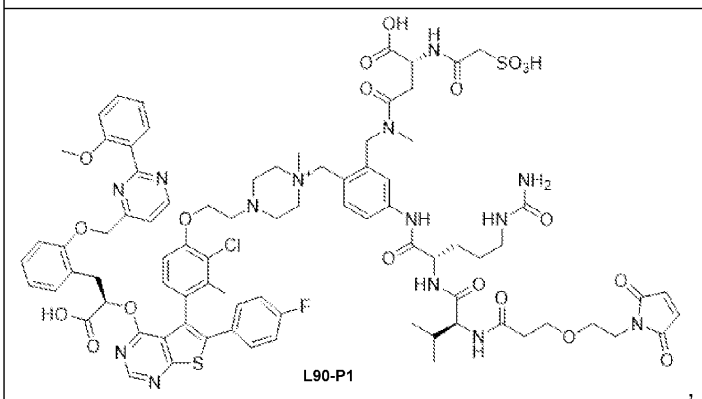


L88-P1 ,

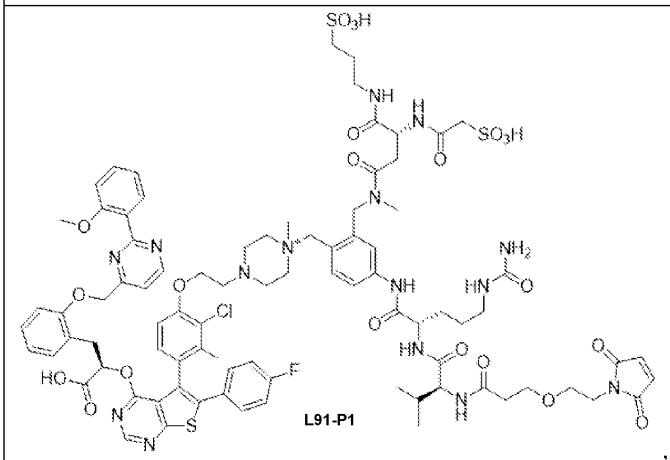
[0493]



,

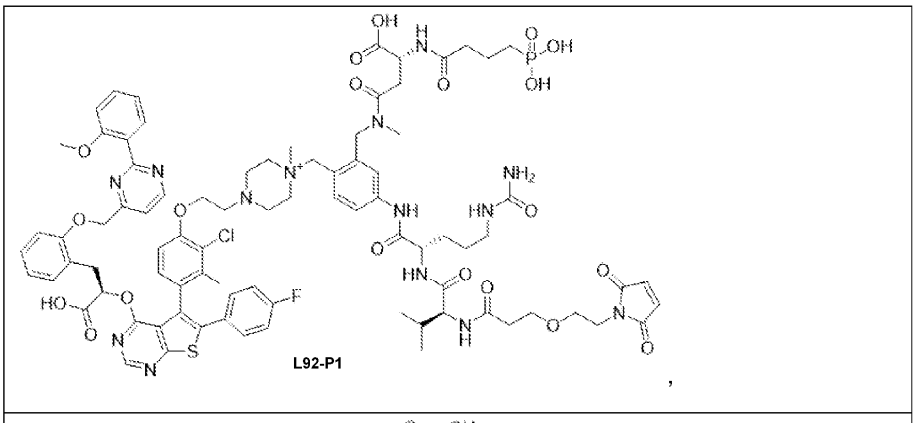


,

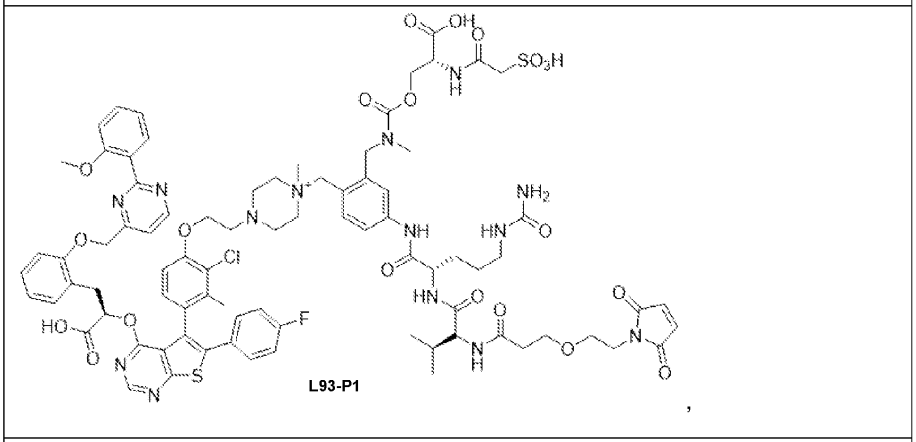


,

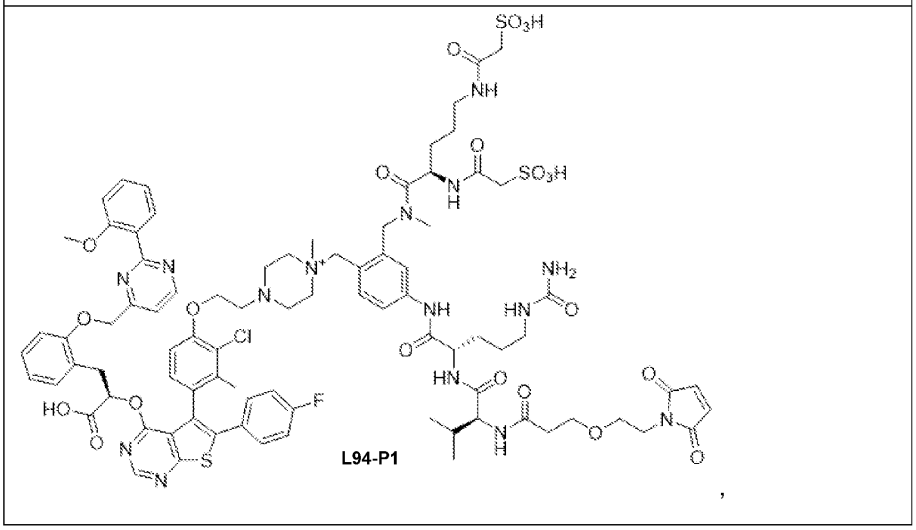
[0494]



L92-P1 ,

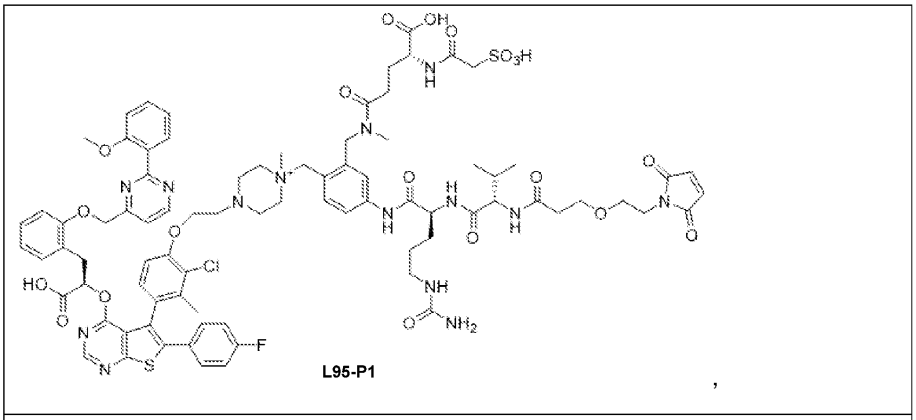


L93-P1 ,

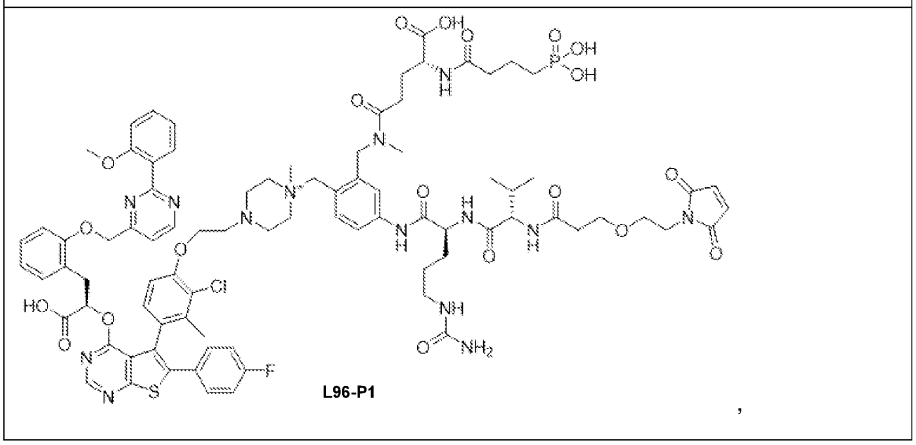


L94-P1 ,

[0495]



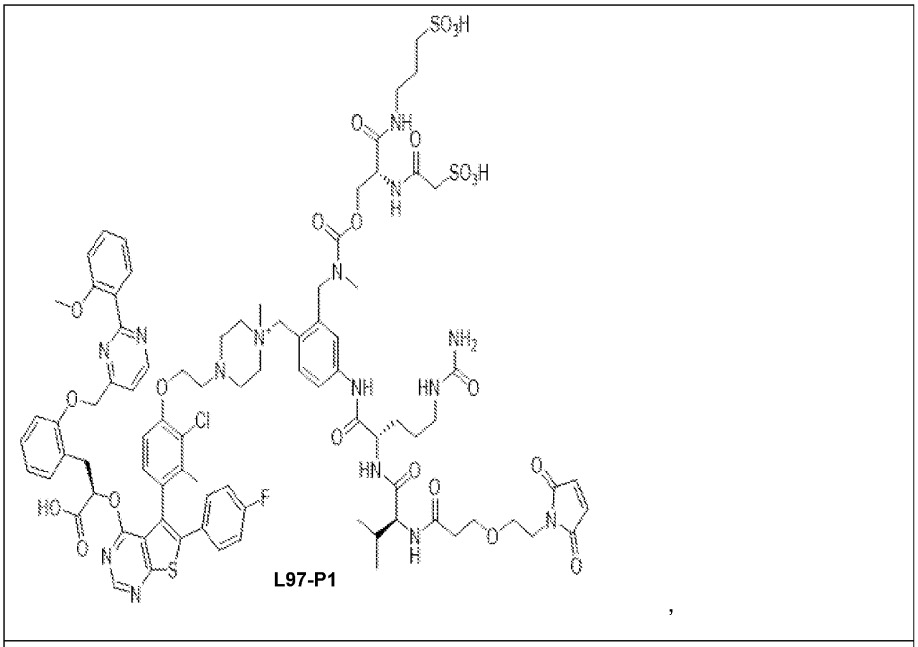
L95-P1 ,



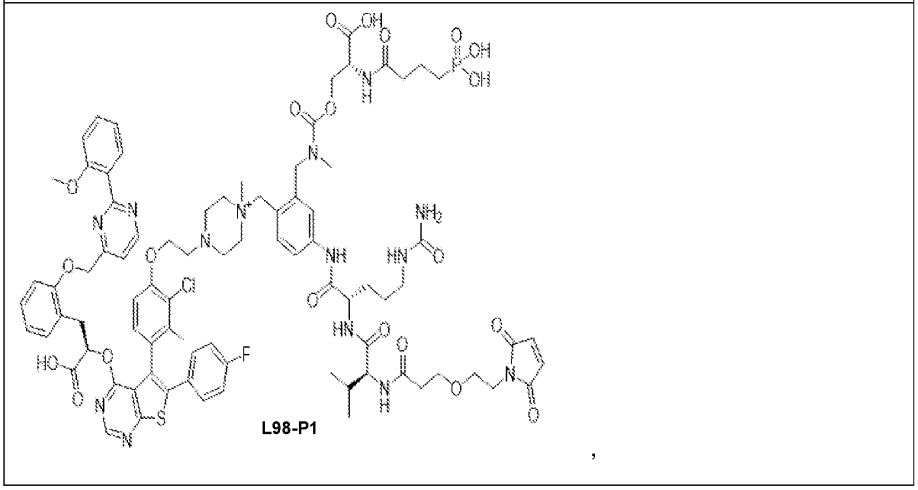
L96-P1 ,

[0496]

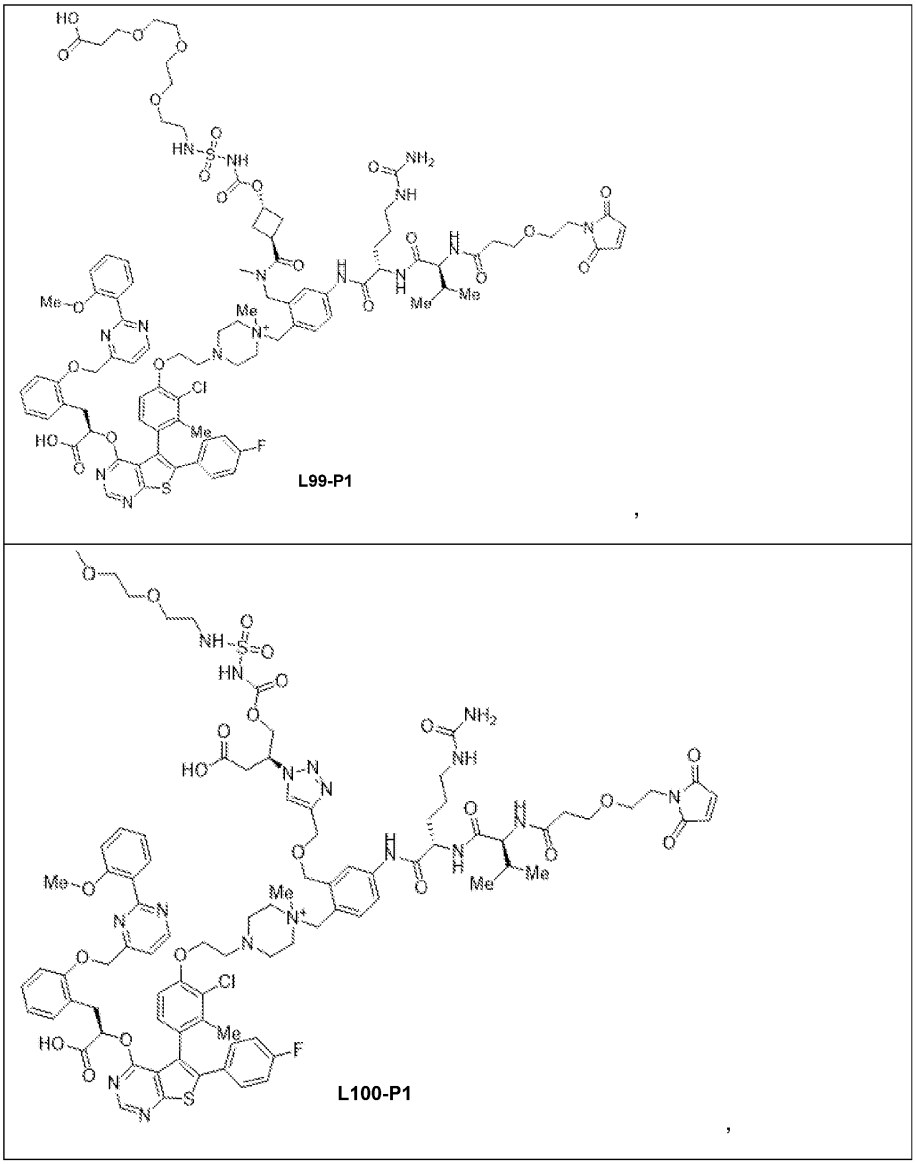
[0497]



,

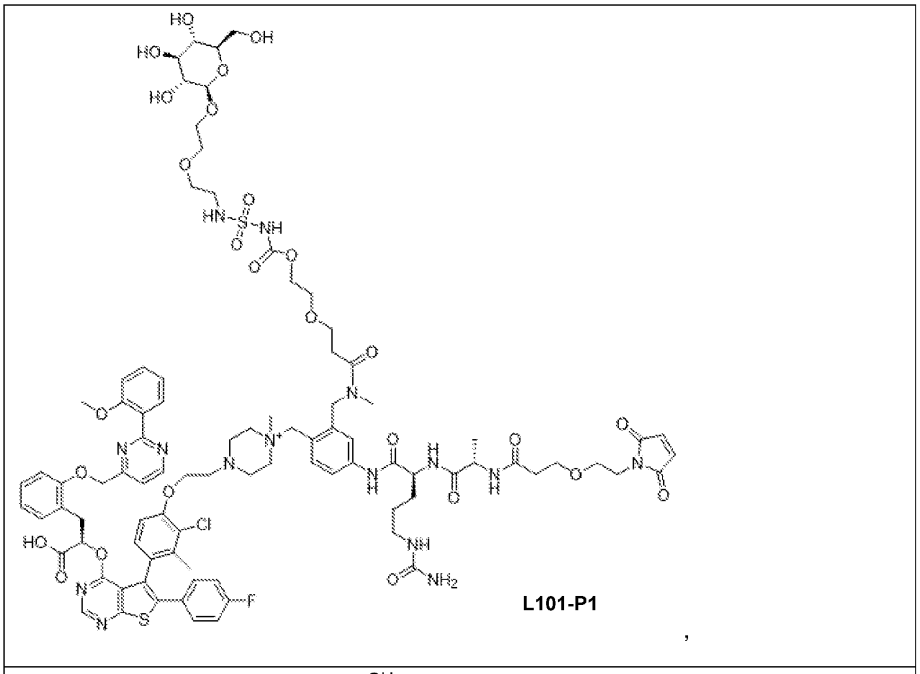


,

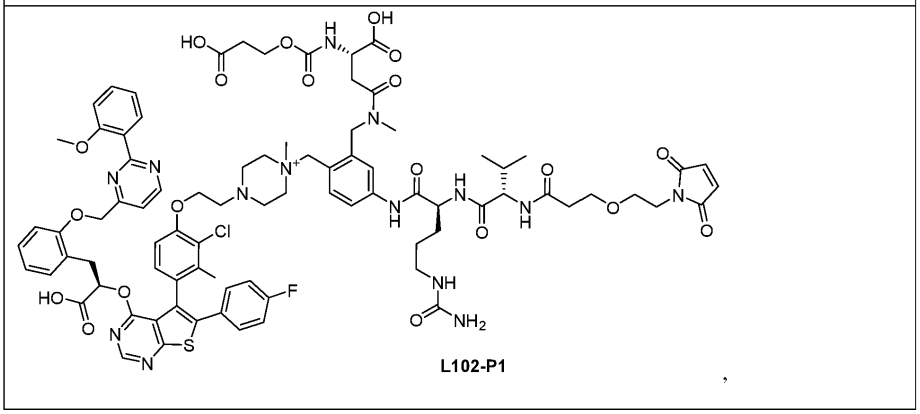


[0498]

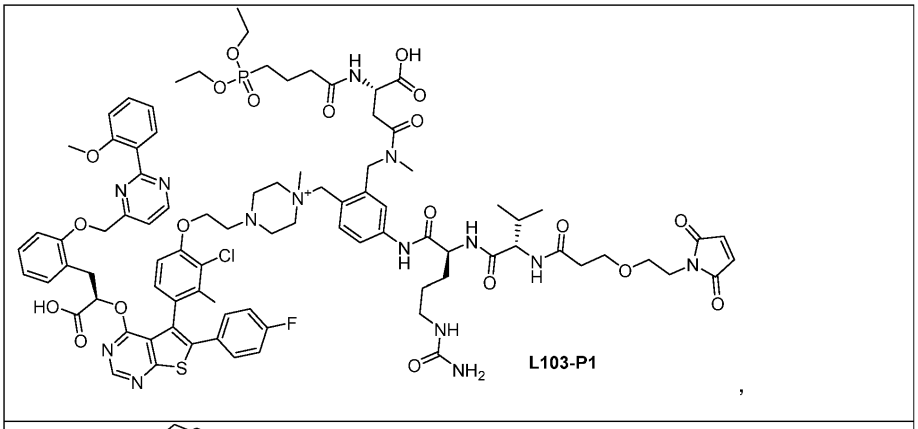
[0499]



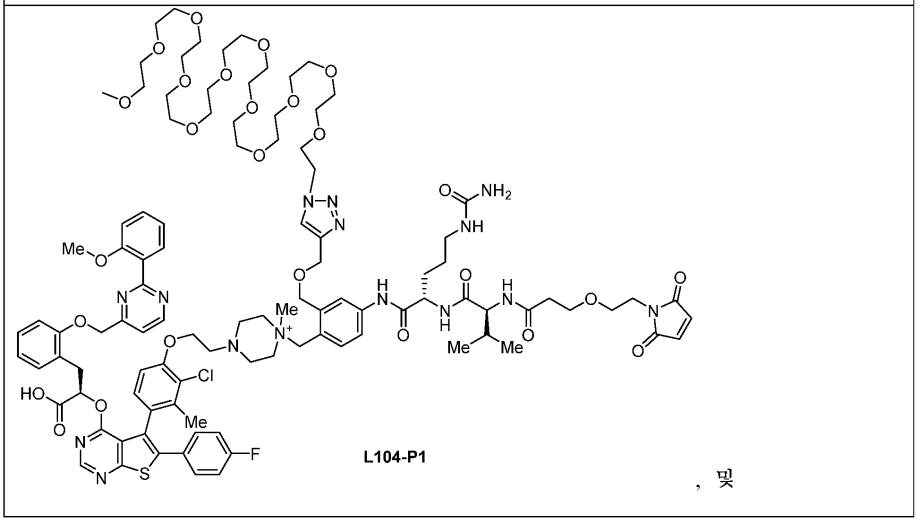
L101-P1 ,



L102-P1 ,

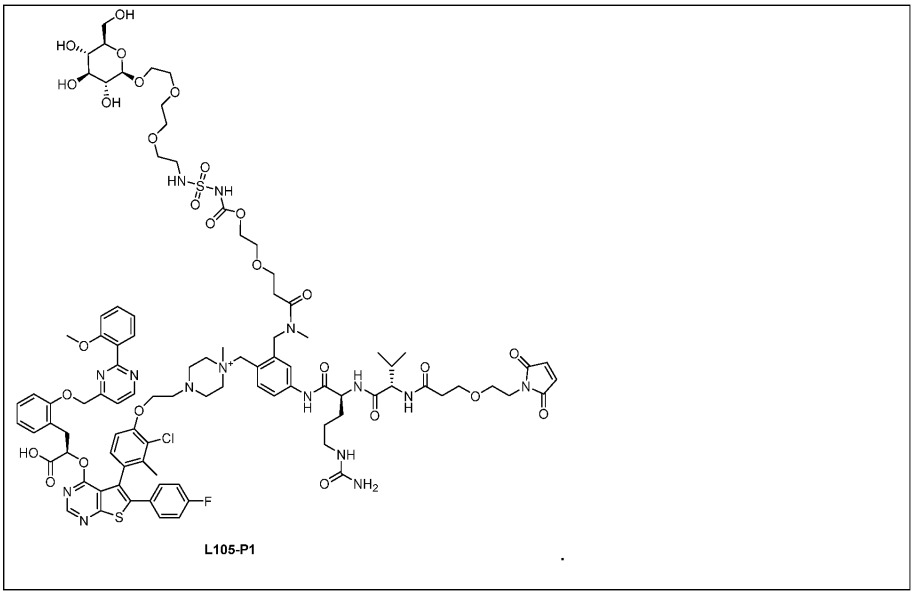


,



, 및

[0500]

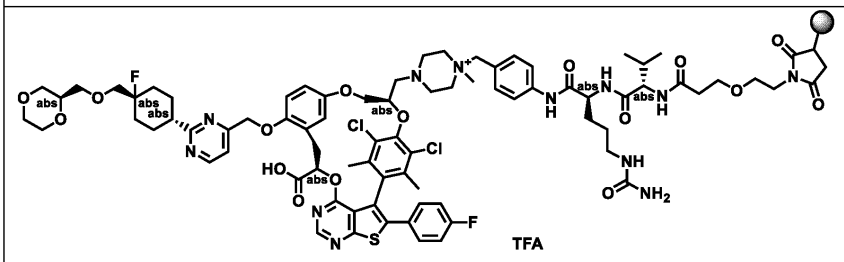
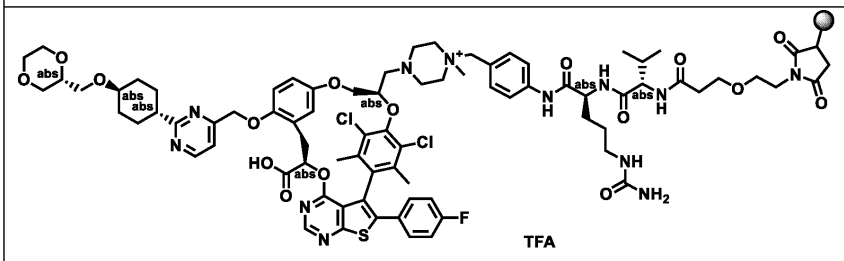
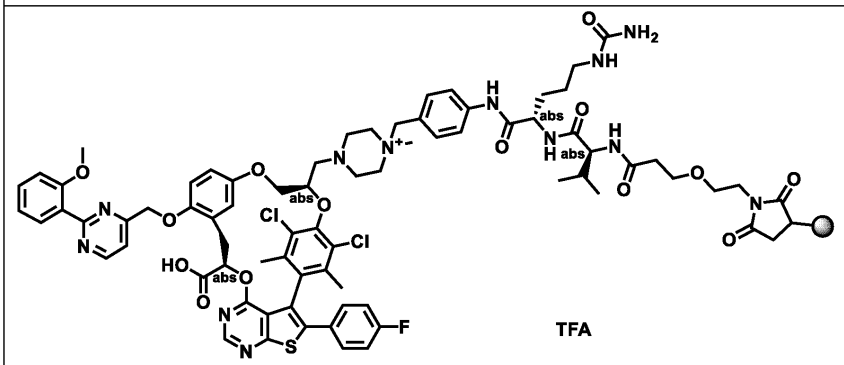


.

[0501]

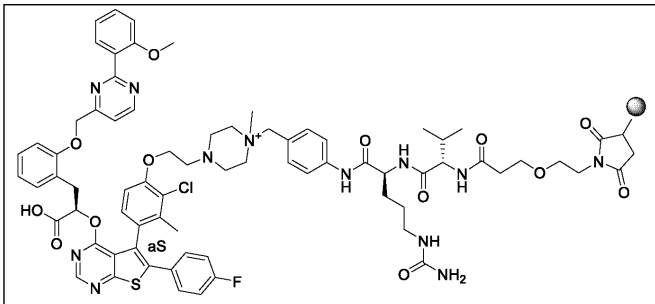
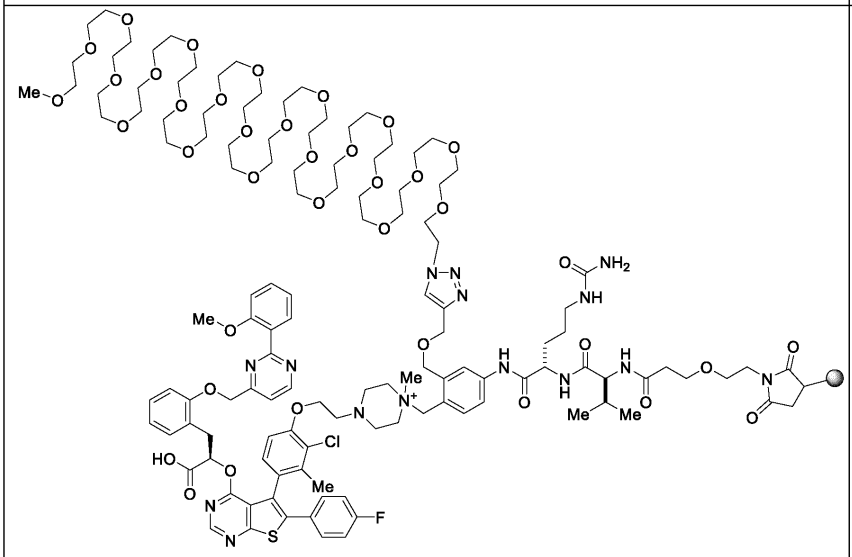
[0502] 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체는 표 B에 제시된 구조 중 어느 하나에 따른 화학식을 갖는다.

[0503] 표 B. ADC 구조

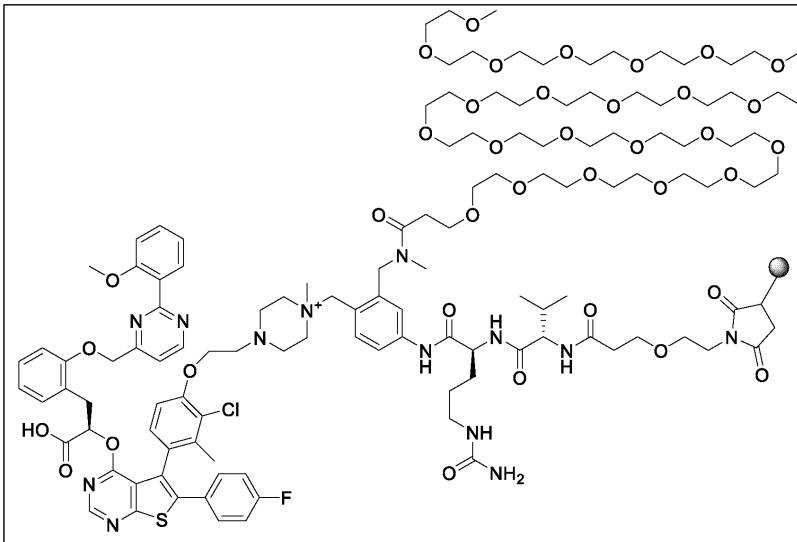
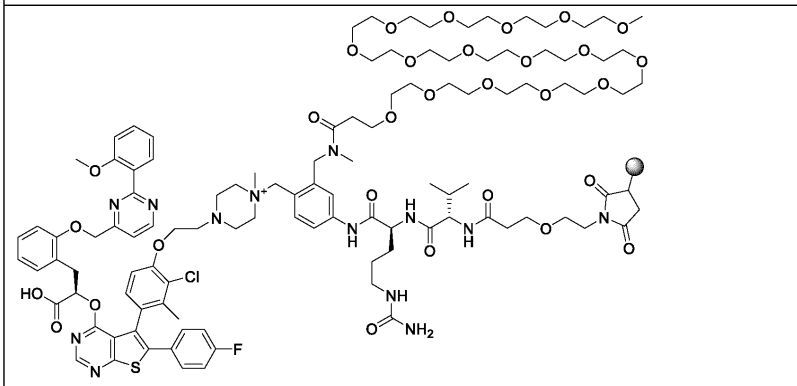
ADC 구조	*L/P 명칭*
	L9-P16
	L9-P17
	L9-P15

[0504]

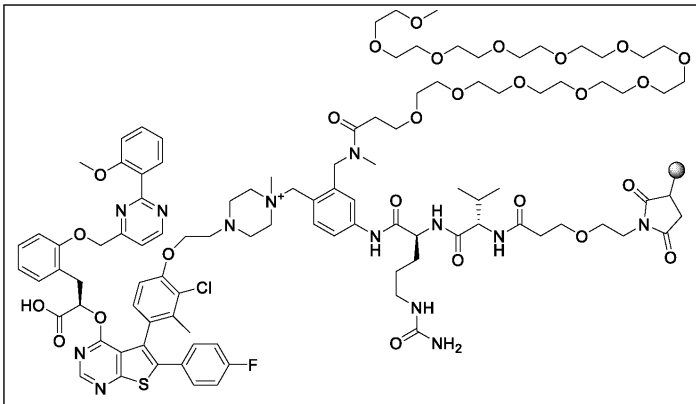
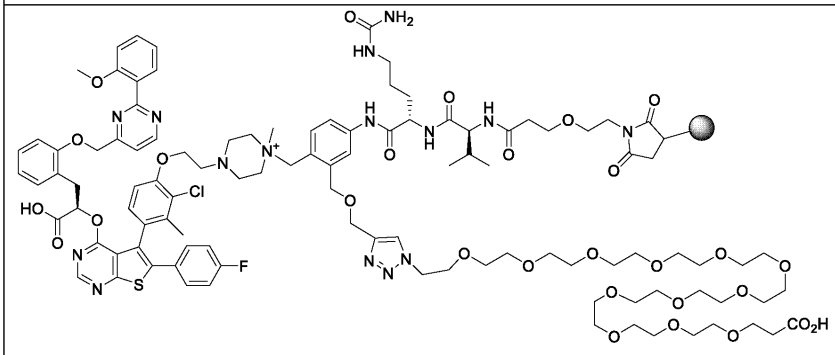
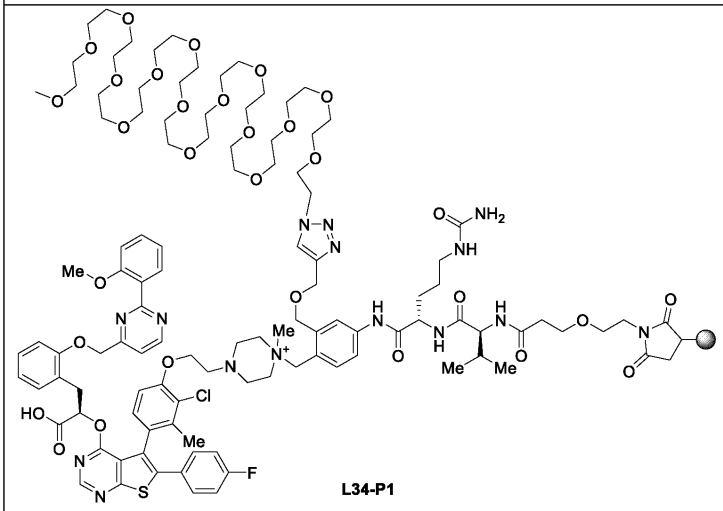
[0505]

	L9-C1
	L5-P1

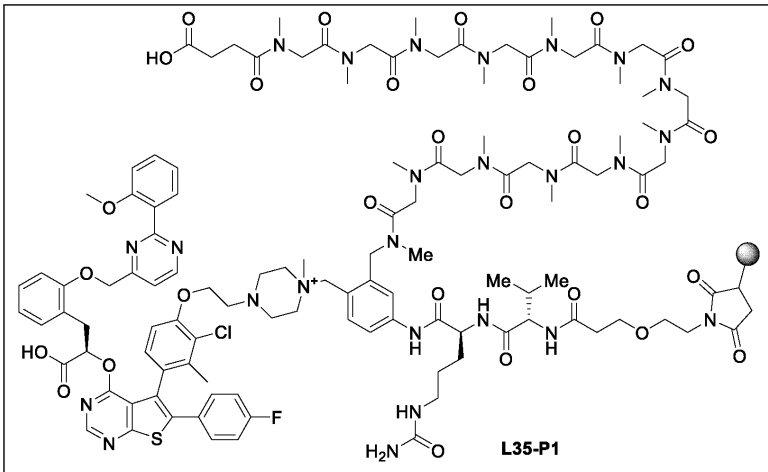
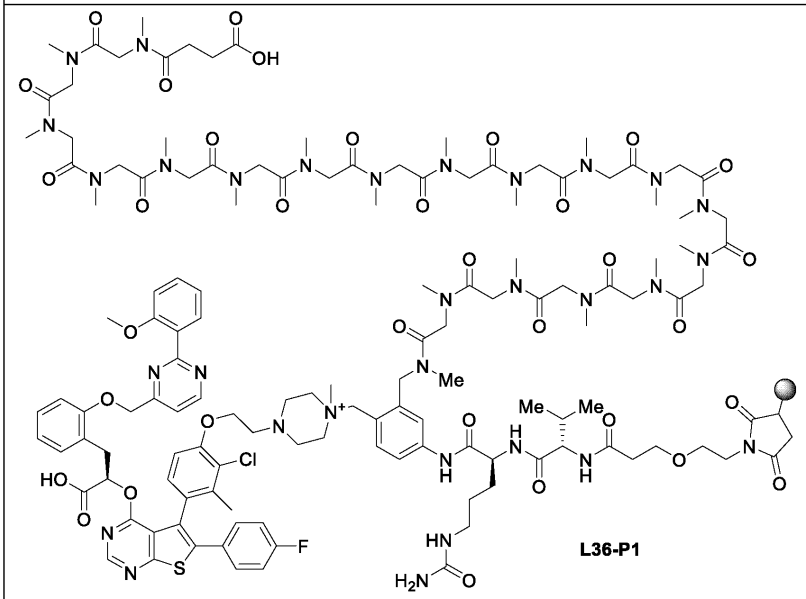
[0506]

	L30-P1
	L31-P1

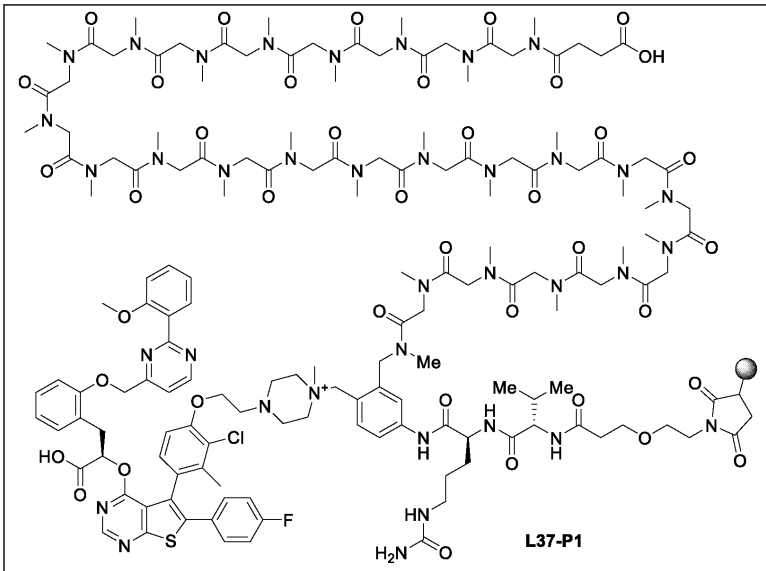
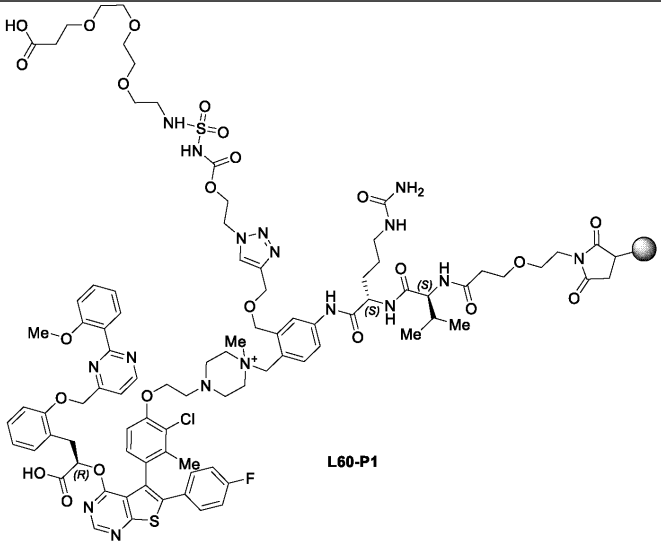
[0507]

	L32-P1
	L33-P1
 L34-P1	L34-P1

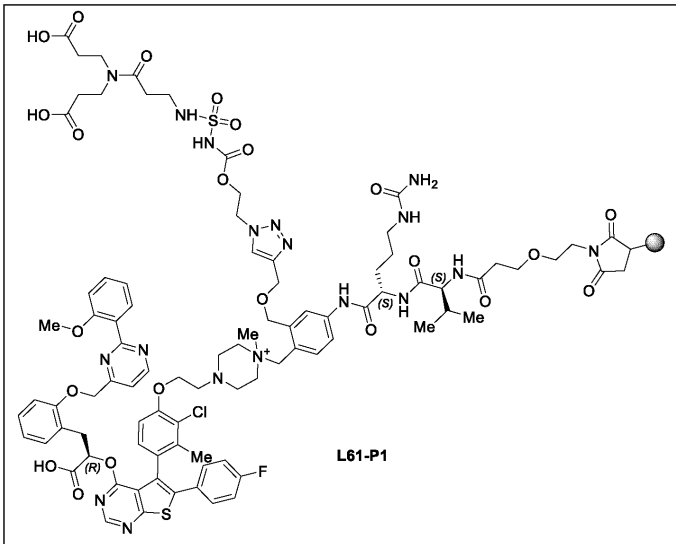
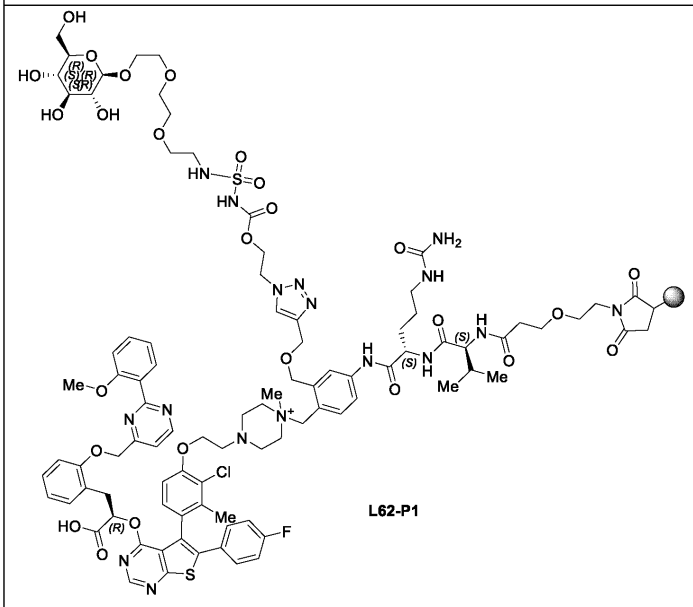
[0508]

	L35-P1
	L36-P1

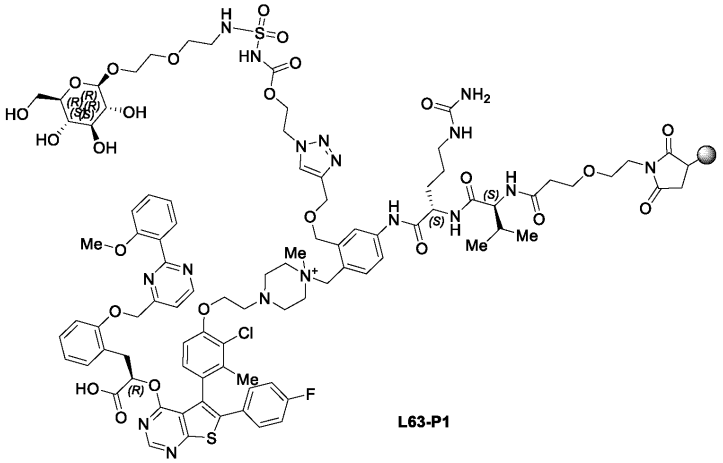
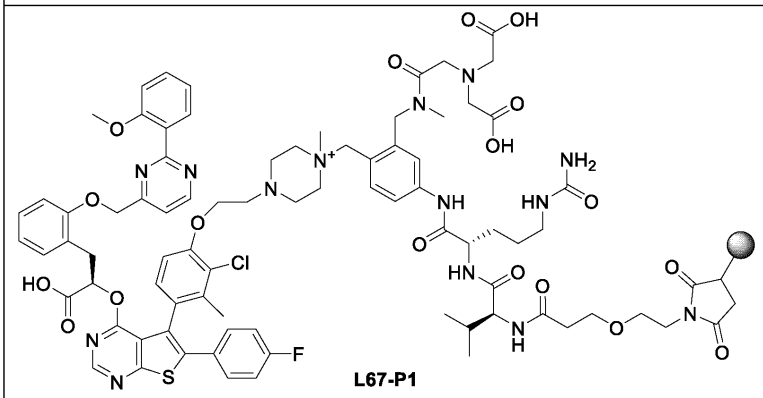
[0509]

	L37-P1
	L60-P1

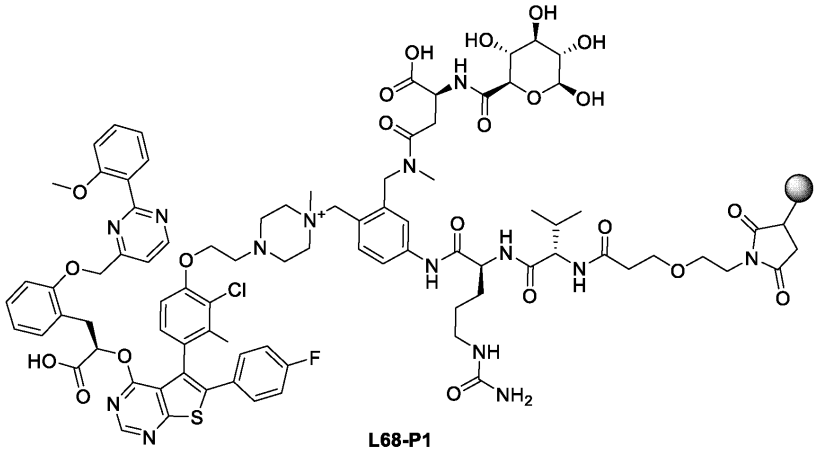
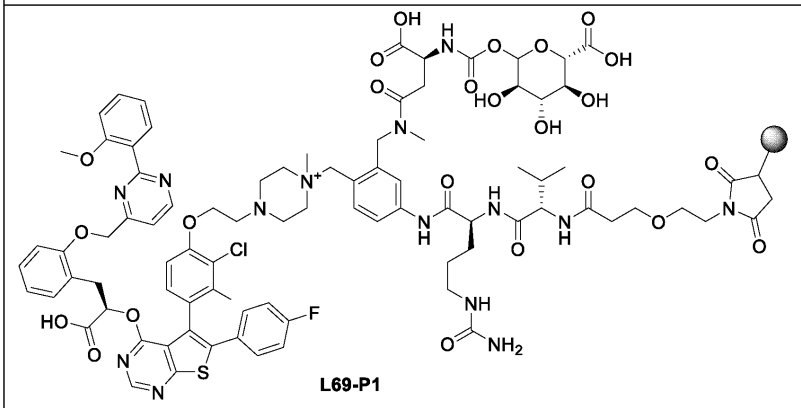
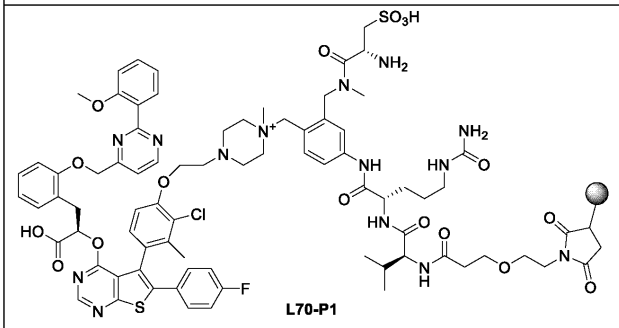
[0510]

	L61-P1
	L62-P1

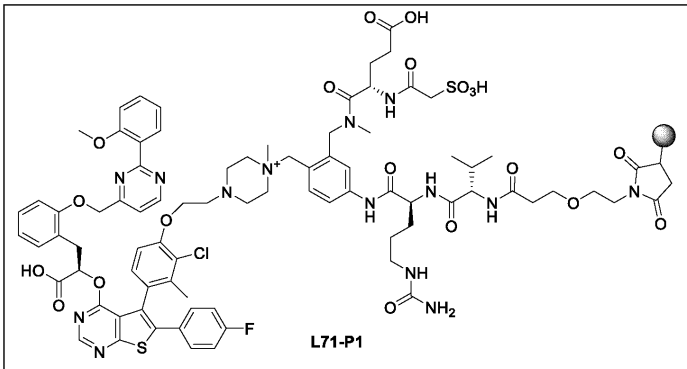
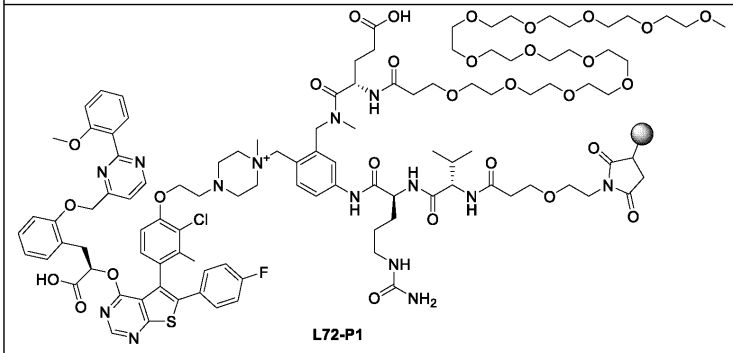
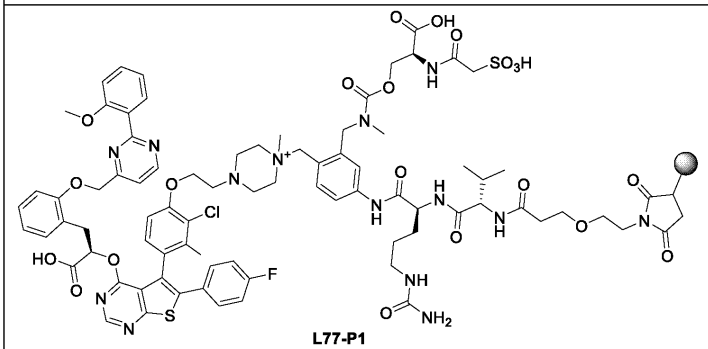
[0511]

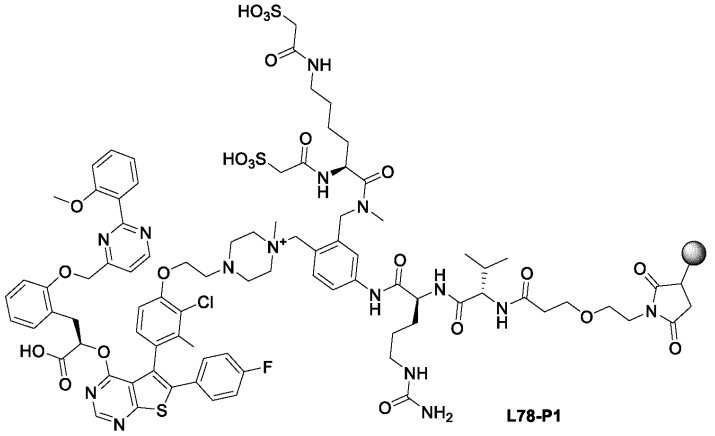
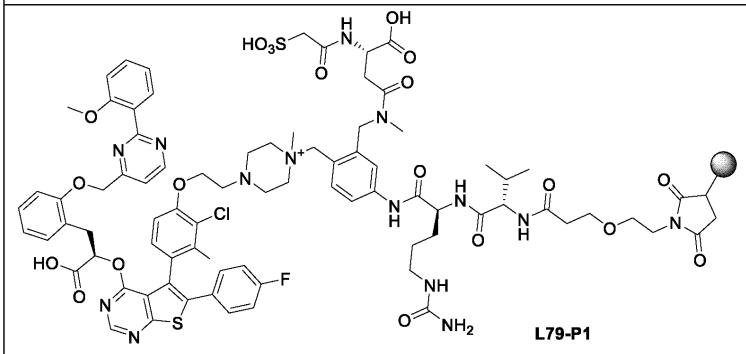
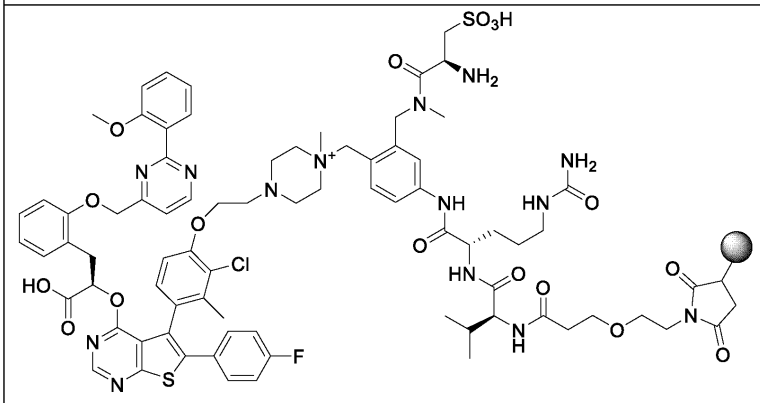
 L63-P1	L63-P1
 L67-P1	L67-P1

[0512]

 L68-P1	L68-P1
 L69-P1	L69-P1
 L70-P1	L70-P1

[0513]

 L71-P1	L71-P1
 L72-P1	L72-P1
 L77-P1	L77-P1

	L78-P1
	L79-P1
	L86-P1

[0514]

= 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편임 상기 도시된 ADC는 또한 하기 화학식에 의해 나타내어질 수 있다 Ab-(L-D)$_p$, 여기서  는 상기 도시된 링커-페이로드 (L/P)에 공유 연결된 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 그의 단편이고; p는 1 내지 16의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 5의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 2이다. 일부 실시양태에서, p는 4이다. 일부 실시양태에서, p는 액체 크로마토그래피-질량 분광측정법 (LC-MS)에 의해 결정된다.	

[0515]

[0516] 본원에 사용된 "L/P"는 본원에 개시된 링커-페이로드, 링커-약물 또는 링커-화합물을 지칭하고, 용어 "L#-P#" 및 "L#-C#"은 본원에 개시된 특정 링커-약물을 지칭하기 위해 상호교환가능하게 사용되는 한편, 코드 "P#" 및 "C#"은 달리 명시되지 않는 한 특정 화합물을 지칭하기 위해 상호교환가능하게 사용된다. 예를 들어, "L1-C1" 및 "L1-P1"은 둘 다 본원에 개시된 동일한 링커-페이로드 구조를 지칭하는 한편, "C1" 및 "P1"은 둘 다 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체를 포함한 본원에 개시된 동일한 화합물 및/또

는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 나타낸다.

[0517] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 암 세포 상의 표적 항원 CD48에 결합한다. 일부 실시양태에서, CD48는 인간 CD48 이소형이다. 일부 실시양태에서, 인간 CD48 이소형은 하기 아미노산 서열을 갖는 이소형 1 (NP_001769.2)이다:

[0518] MCSRGWDSCLALELLLLPLSLLVTSIQGHLVHMTVVSGSNVTLNISESLPENYKQLTWFYTFDQKIVEWDSRKSKYFESKFKGRVRLDPQSGALYISKVQKE
DNSTYIMRVLKKTGNEQEWKIKLQVLDPVPKPVIKIEKIEDMDDNCYLKLSCVIPGESVNYTWYGDKRPFPKELQNSVLETTLMPHNYSRCYTCQVSNSVSS
KNGTVCLSPPCTLARSFGVEWIASWLVVTVPTILGLLLT (서열식별번호: 53)

[0519] 일부 실시양태에서, 인간 CD48이소형은 하기 아미노산 서열을 갖는 이소형 2 (NP_001242959.1)이다:

[0520] MCSRGWDSCLALELLLLPLSLLVTSIQGHLVHMTVVSGSNVTLNISESLPENYKQLTWFYTFDQKIVEWDSRKSKYFESKFKGRVRLDPQSGALYISKVQKE
DNSTYIMRVLKKTGNEQEWKIKLQVLDPVPKPVIKIEKIEDMDDNCYLKLSCVIPGESVNYTWYGDKRPFPKELQNSVLETTLMPHNYSRCYTCQVSNSVSS
KNGTVCLSPPCTLGKKDPWELRGAQGNWSCFEQRKAGGPIQPPCTVWW (서열식별번호: 54).

[0521] 또한, 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체 (예를 들어, 본원에 기재된 임의의 예시적인 항체-약물 접합체)의 다중 카피를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 조성물 중 항체-약물 접합체의 평균 p는 약 2 내지 약 4이다.

[0522] 또한, 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체 (예를 들어, 본원에 기재된 임의의 예시적인 항체-약물 접합체) 또는 조성물 (예를 들어, 본원에 기재된 임의의 예시적인 조성물) 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 본원에 제공된다.

[0523] 일부 실시양태에서, 예를 들어 암을 치료하는 데 있어서 기재된 ADC 화합물 및 조성물에 대한 치료 용도가 본원에 추가로 제공된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 암 (예를 들어, ADC의 항체 또는 항원-결합 단편에 의해 표적화된 CD48 항원을 발현하는 암)을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 암 세포 집단의 확장을 감소 또는 둔화시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체가 본원에 개시된 ADC 화합물 또는 조성물을 사용한 치료에 반응성일지 여부를 결정하는 방법을 제공한다.

[0524] 예시적인 실시양태는 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체에게 치료 유효량의 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물)을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법이다. 일부 실시양태에서, 암은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암은 종양 또는 혈액암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 림프종 또는 위암이다.

[0525] 또 다른 예시적인 실시양태는 대상체에게 치료 유효량의 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물)을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 종양의 성장을 감소시키거나 또는 억제하는 방법이다. 일부 실시양태에서, 종양은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 종양은 유방암, 위암, 방광암, 뇌암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 흑색종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 종양은 위암이다. 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물의 투여는 종양의 성장을 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99%만큼 감소시키거나 또는 억제한다.

[0526] 또 다른 예시적인 실시양태는 대상체에게 치료 유효량의 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물)을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암 세포 집단의 확장을 감소시키거나 또는 둔화시키는 방법이다. 일부 실시양태에서, 암 세포 집단은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암 세포 집단은 종양 또는 혈액암으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 암 세포 집단은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구

강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 암 세포 집단은 림프종 또는 위암으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물의 투여는 암 세포 집단을 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99%만큼 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물의 투여는 암 세포 집단의 확장을 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99%만큼 둔화시킨다.

[0527] 또 다른 예시적인 실시양태는 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 의심되는 대상체를 치료하는 데 사용하기 위한 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물)이다. 일부 실시양태에서, 암은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암은 종양 또는 혈액암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 림프종 또는 위암이다.

[0528] 또 다른 예시적인 실시양태는 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체를 치료하는 데 있어서 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물)의 용도이다. 일부 실시양태에서, 암은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암은 종양 또는 혈액암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 림프종 또는 위암이다.

[0529] 또 다른 예시적인 실시양태는 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 의약을 제조하는 방법에서 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물)의 용도이다. 일부 실시양태에서, 암은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암은 종양 또는 혈액암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 림프종 또는 위암이다.

[0530] 또 다른 예시적인 실시양태는 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하고; 샘플을 항체-약물 접합체와 접촉시키고; 샘플 내 암 세포에 대한 항체-약물 접합체의 결합을 검출함으로써, 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체가 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 항체-약물 접합체, 조성물 또는 제약 조성물)로의 치료에 반응성일지 여부를 결정하는 방법이다. 일부 실시양태에서, 샘플 내 암 세포는 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암은 종양 또는 혈액암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 림프종 또는 위암이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 조직 생검 샘플, 혈액 샘플 또는 골수 샘플이다.

[0531] 상기 기재된 ADC 화합물 및 조성물을 생성하는 방법이 또한 개시된다. 예시적인 실시양태는 접합을 허용하는 조건 하에 항체 또는 항원-결합 단편을 Mcl-1 억제제에 연결된 절단가능한 링커와 반응시킴으로써 항체-약물 접합체를 생성하는 방법이다.

도면의 간단한 설명

[0532] 도 1은 야생형 및 돌연변이된 인간 CD48 단백질에 대한 후보 항체 NOV3731 및 NY258 및 대조군 항체 CD48A의 결

합을 보여주는 그래프이다.

도 2는 3종의 내인성 암 세포주인 NCI-H929, KMS-21BM 및 KMS-27에 대한 CD48 MCL-1 항체-약물 접합체의 세포독성 효과를 보여주는 그래프이다.

도 3은 KMS-21-BM, NCI-H929, 또는 KMS-27 세포에서 CD48 MCL-1 항체-약물 접합체인 NY920-L42-P1 단독의 또는 베네토클락스 또는 BCL2 억제제 화합물 A1과 조합된 것의 시험관내 활성을 보여주는 그래프이다. IgG-L42-P1을 비-표적화 대조군으로서 사용하였다.

도 4는 KMS-21-BM, NCI-H929, 또는 KMS-27 세포에서 CD48 MCL-1 항체-약물 접합체인 NY938-L42-P1 단독의 또는 베네토클락스 또는 BCL2 억제제 화합물 A1과 조합된 것의 시험관내 활성을 보여주는 그래프이다. IgG-L42-P1을 비-표적화 대조군으로서 사용하였다.

도 5는 IgG1-링커-페이로드 Fc 침묵, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵_L42-P1, 항-CD48 NY920_CysmAb WT_L42-P1 및 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 (15 또는 30 mg/kg, IV 1회 투여됨, n=6)로의 치료 시 H929-이식된 암컷 SCID 마우스의 종양 부피 (mm^3)를 나타낸다.

도 6은 IgG1-링커-페이로드 Fc WT, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1 (10 및/또는 30 mg/kg) 및 보르테조밉 (0.5 mg/kg) (단독으로 또는 조합으로 IV 1회 투여됨, n=6)으로의 치료 시 KMS-21-BM-이식된 암컷 NSG 마우스의 종양 부피 (mm^3)를 나타낸다.

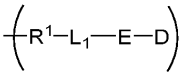
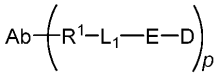
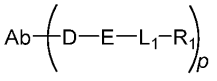
도 7은 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵, 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 및 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 (2.5 및/또는 5 mg/kg, IV 1회) 및 ABT-199 (50 mg/kg, PO QD3) 단독 또는 조합 (n=6)으로 치료 시 KMS27-이식된 암컷 NSG 마우스의 종양 부피 (mm^3)를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0533] 개시된 조성물 및 방법은 본 개시내용의 일부를 형성하는 첨부 도면과 연계해서 취해진 하기 상세한 설명을 참조함으로써 보다 쉽게 이해될 수 있다.

[0534] 본 명세서 전반에 걸쳐, 설명은 조성물 및 조성물의 사용 방법에 관한 것이다. 본 개시내용이 조성물과 연관된 특색 또는 실시양태를 기재하거나 청구하는 경우, 이러한 특색 또는 실시양태는 조성물을 사용하는 방법에도 동일하게 적용가능하다. 마찬가지로, 본 개시내용이 조성물을 사용하는 방법과 연관된 특색 또는 실시양태를 기재하거나 청구하는 경우, 이러한 특색 또는 실시양태는 조성물에도 동일하게 적용가능하다.

[0535] 값의 범위가 표현되는 경우, 이는 범위 내의 임의의 특정한 값을 사용하는 실시양태를 포함한다. 또한, 범위로 언급된 값들은 그 범위 내 각각의 그리고 모든 값을 포함한다. 모든 범위는 그의 종점을 포함하고 조합가능하다. 값이 선행사 "약"의 사용에 의해 근사치로 표현되는 경우, 특정한 값은 또 다른 실시양태를 형성하는 것으로 이해될 것이다. 특정한 수치에 대한 언급은 문맥상 달리 명백하게 지시되지 않는 한 적어도 그 특정한 값을 포함한다. "또는"의 사용은 그의 사용에 대해 구체적으로 문맥상 달리 지시되지 않는 한 "및/또는"을 의미할 것이다. 본원에 인용된 모든 참고문헌은 임의의 목적을 위해 참조로 포함된다. 참고문헌 및 명세서가 상충되는 경우, 명세서가 우선할 것이다.

[0536] 설명에서 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 예를 들어 연결부의 구체적인 지점(들)을 나타내는 기호의 부재 하에 구조 또는 구조의 단편이 그려질 때, 이는 그 자체로 사용되거나 또는 ADC의 다른 성분에 부착될 수 있고, 이는 임의의 배향으로, 예를 들어 항체가 임의의 적합한 부착 지점에서 화학적 모이어티, 예컨대 링커-약물에 부착되도록 부착되어질 수 있다. 그러나, 나타내어진 경우, ADC의 성분은 주어진 화학식에 제시된 배향으로 부착된다. 예를 들어, 화학식 (1)이 $Ab-(L-D)_p$로서 기재되고 기 "-(L-D)"가  로서 기재되는 경우, 화학식 (1)의 정교화된 구조는  이다. 이는  이 아니다.

[0537] 명확성을 위해, 별도의 실시양태의 맥락에서 본원에 기재되는 개시된 조성물 및 방법의 특정 특색이 또한 단일 실시양태에서 조합하여 제공될 수 있음을 인지해야 한다. 반대로, 간결성을 위해, 단일 실시양태의 맥락에서

기재되는 개시된 조성물 및 방법의 다양한 특색이 또한 별도로 또는 임의의 하위-조합으로 제공될 수 있다.

[0538] 본 출원 전반에 걸쳐 사용된 항체 약물 접합체는 "표적 항원/항체-링커-페이로드"의 일반 포맷의 명명 규정을 사용하여 식별될 수 있다. 단지 예를 들어, 항체 약물 접합체가 "표적 X-L0-P0"으로 지칭되는 경우, 이러한 접합체는 표적 X에 결합하는 항체, L0으로 지정된 링커 및 P0으로 지정된 페이로드를 포함할 것이다. 대안적으로, 항체 약물 접합체가 "항-표적 X-L0-P0"으로 지칭되는 경우, 이러한 접합체는 표적 X에 결합하는 항체, L0으로 지정된 링커 및 P0으로 지정된 페이로드를 포함할 것이다. 또 다른 대안에서, 항체 약물 접합체가 "AbX-L0-P0"으로 지칭되는 경우, 이러한 접합체는 AbX로 지정된 항체, L0으로 지정된 링커 및 P0으로 지정된 페이로드를 포함할 것이다. 비-특이적 이소형 대조군 항체를 포함하는 대조군 항체 약물 접합체는 "이소형 대조군 IgG1-L0-P0" 또는 "IgG1-L0-P0"으로 지칭될 수 있다.

[0539] 본원에 제시된 임의의 화학식은 또한 화합물의 비표지된 형태 뿐만 아니라 동위원소 표지된 형태를 나타내는 것으로 의도된다. 동위원소 표지된 화합물은 본원에 제시된 화학식으로 도시된 구조를 갖지만, 단 1개 이상의 원자가 선택되는 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자에 의해 대체된다. 본 발명의 화합물에 혼입될 수 있는 동위원소는, 예를 들어 수소, 탄소, 질소, 산소, 플루오린 및 염소의 동위원소, 예컨대 ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F 및 ^{36}Cl을 포함한다. 따라서, 본 개시내용은, 예를 들어 방사성 동위원소, 예컨대 ^{3}H 및 ^{14}C, 또는 비-방사성 동위원소, 예컨대 ^{2}H 및 ^{13}C가 존재하는 것들을 포함한, 상기 언급된 동위원소 중 임의의 것 중 1종 이상을 포함하는 화합물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 이러한 동위원소 표지된 화합물은 대사 연구 (^{14}C), 반응 동역학 연구 (예를 들어, ^{2}H 또는 ^{3}H), 검출 또는 영상화 기술, 예컨대 약물 또는 기질 조직 분포 검정을 포함한 양전자 방출 단층촬영 (PET) 또는 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영 (SPECT), 또는 환자의 방사성 치료에 유용하다. 특히, ^{18}F 또는 표지된 화합물이 PET 또는 SPECT 연구에 특히 바람직할 수 있다. 동위원소-표지된 화합물은 일반적으로, 예를 들어 이전에 사용된 비-표지된 시약 대신에 적절한 동위원소-표지된 시약을 사용하여 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0540] 정의

[0541] 설명의 측면과 관련된 다양한 용어가 명세서 및 청구범위 전반에 걸쳐 사용된다. 이러한 용어는 달리 나타내지 않는 한 관련 기술분야에서 그의 통상의 의미로 주어져야 한다. 다른 구체적으로 정의된 용어는 본원에 제공된 정의와 일치하는 방식으로 해석되어야 한다.

[0542] 본원에 사용된 단수 형태 ("a", "an", 및 "the")는 문맥상 달리 명백하게 지시하지 않는 한 복수 형태를 포함한다. "화학식의 것인", "포함하는" 및 "함유하는"에서와 같이, 용어 "포함하는", "갖는", "의 것인"은 달리 나타내지 않는 한 개방형 용어 (즉, "포함하나 이에 제한되지는 않는"을 의미함)로서 해석되어야 한다. 추가로, 한 실시양태에서 "포함하는" 또는 또 다른 개방형 용어가 사용될 때마다, 동일한 실시양태는 중간 용어 "본질적으로 이루어진" 또는 폐쇄형 용어 "이루어진"을 사용하여 보다 좁게 청구될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0543] 용어 "약" 또는 "대략"은 수치 값 및 범위와 관련하여 사용되는 경우, 본원에 함유된 교시로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백한 바와 같이, 실시양태가 의도된 바와 같이 수행할 수 있도록 언급된 값 또는 범위에 근접하거나 그에 근접한 값 또는 범위를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 약은 수치 양의 ± 20%, 15%, 10%, 5%, 1%, 0.5% 또는 0.1%를 의미한다. 한 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 10% 많거나 적은 값의 범위를 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 5% 많거나 적은 값의 범위를 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 1% 많거나 적은 값의 범위를 지칭한다.

[0544] 용어 "항체-약물 접합체", "항체 접합체", "접합체", "면역접합체" 및 "ADC"는 상호교환가능하게 사용되고, 하나 이상의 항체 또는 항원-결합 단편에 연결된 하나 이상의 치료 화합물 (예를 들어, Mcl-1 억제제)을 지칭한다. 일부 실시양태에서, ADC는 다음 일반식에 의해 정의된다: $Ab-(L-D)_p$ (화학식 (1)), 여기서 Ab = 항체 또는 항원-결합 단편, L = 링커 모이어티, D = 약물 모이어티 (예를 들어, Mcl-1 억제제 약물 모이어티), 및 p = 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 수. Mcl-1 억제제 약물 모이어티를 포함하는 ADC에서, "p"는 항체 또는 항원-결합 단편에 연결된 Mcl-1 억제제 화합물의 수를 지칭한다.

[0545] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 이뮤노글로불린 분자의 가변 영역 내의 하나 이상의 항원 인식 부위를 통해 표적, 예컨대 단백질, 폴리펩티드, 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질 또는 그의 조합을 인식하고 특이적으로 결합하는 이뮤노글로불린 분자를 지칭하도록 사용된다. 항체는 폴리클로날 또는 모노클로날, 다중 또는 단일 쇄,

또는 무손상 이뮤노글로불린일 수 있고, 천연 공급원으로부터 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. "무손상" 항체는 전형적으로 디술피드 결합에 의해 상호연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 당단백질이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 VH로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 VL로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인, CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 명명된 보다 보존된 영역에 산재되어 있는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 명명된 초가변 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노-말단으로부터 카르복실-말단으로 다음 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항체는 모노클로날 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 낙타화 항체 또는 키메라 항체일 수 있다. 항체는 임의의 이소형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2), 또는 하위부류의 것일 수 있다. 항체는 무손상 항체 또는 그의 항원-결합 단편일 수 있다.

[0546] 본원에 사용된 용어 "항체 단편" 또는 "항원-결합 단편" 또는 "기능적 항체 단편"은 항원 (예를 들어, CD48)의 에피토프와 (예를 들어, 결합, 입체 장애, 안정화/탈안정화, 공간 분포에 의해) 특이적으로 상호작용하는 능력을 보유하는 항체의 적어도 한 부분을 지칭한다. 항원-결합 단편은 또한 항원-발현 세포 내로 내재화하는 능력을 보유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원-결합 단편은 또한 면역 이펙터 활성을 보유한다. 용어 항체, 항체 단편, 항원-결합 단편 등은 보다 큰 거대분자, 예컨대 ADC와 관련하여 항체로부터의 결합 도메인의 사용을 포괄하는 것으로 의도된다. 전장 항체의 단편이 전장 항체의 항원 결합 기능을 수행할 수 있는 것으로 나타났다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')2, Fv 단편, scFv 항체 단편, 디술피드-연결된 Fv (sdFv), VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편, 선형 항체, 단일 도메인 항체, 예컨대 sdAb (VL 또는 VH), 낙타류 VHH 도메인, 항체 단편, 예컨대 힌지 영역에서 디술피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편으로부터 형성된 다중-특이적 항체 및 단리된 CDR 또는 항체의 다른 에피토프 결합 단편을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 항원-결합 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 이중특이적 또는 다중특이적 항체 구축물, ADC, v-NAR 및 비스-scFv 내로 혼입될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Holliger and Hudson (2005) Nat Biotechnol. 23 (9):1126-36] 참조). 항원-결합 단편은 또한 폴리펩티드에 기초한 스캐폴드, 예컨대 피브로넥틴 유형 III (Fn3) 내로 이식될 수 있다 (피브로넥틴 폴리펩티드 미니바디를 기재하고 있는 미국 특허 번호 6,703,199 참조). 용어 "scFv"는 경쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 1개의 항원-결합 단편 및 중쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 1개의 항원-결합 단편을 포함하는 융합 단백질을 지칭하며, 여기서 경쇄 및 중쇄 가변 영역은, 예를 들어 합성 링커, 예를 들어 짧은 가요성 폴리펩티드 링커를 통해 인접하여 연결되고, 단일 쇄 폴리펩티드로서 발현될 수 있고, 여기서 scFv는 그가 유래된 무손상 항체의 특이성을 보유한다. 명시되지 않는 한, scFv는 VL 및 VH 가변 영역을 임의의 순서로 가질 수 있고, 예를 들어 폴리펩티드의 N-말단부 및 C-말단부와 관련하여, scFv는 VL-링커-VH를 포함할 수 있거나 또는 VH-링커-VL을 포함할 수 있다. 항원-결합 단편은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 수득되고, 결합 단편은 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성 (예를 들어, 결합 친화도, 내재화)에 대해 스크리닝된다. 항원-결합 단편은, 예를 들어 무손상 단백질의 절단, 예를 들어 프로테아제 또는 화학적 절단에 의해 제조될 수 있다.

[0547] 본원에 사용된 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 항원 특이성 및 결합 친화도를 부여하는 항체 가변 영역 내의 아미노산의 서열을 지칭한다. 예를 들어, 일반적으로, 각각의 중쇄 가변 영역 내에 3개의 CDR (예를 들어, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 각각의 경쇄 가변 영역 내에 3개의 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)이 존재한다. 주어진 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 문헌 [Kabat et al. (1991) "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD] ("카바트" 넘버링 스킴); [Al-Lazikani et al. (1997) J Mol Biol. 273(4):927-48] ("코티아" 넘버링 스킴); [ImMunoGenTics (IMGT) numbering (Lefranc (2001) Nucleic Acids Res. 29(1):207-9]; [Lefranc et al. (2003) Dev Comp Immunol. 27(1):55-77)] ("IMGT" 넘버링 스킴)에 기재된 것들 또는 그의 조합을 비롯한 다수의 널리 공지된 스킴 중 임의의 것을 사용하여 결정될 수 있다. 주어진 CDR 영역 (예를 들어, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2 또는 LC CDR3)에 대한 조합된 카바트 및 코티아 넘버링 스킴에서, 일부 실시양태에서, CDR은 코티아 CDR의 일부로서 정의된 아미노산 잔기와 함께, 카바트 CDR의 일부로서 정의된 아미노산 잔기에 상응한다. 본원에 사용된 "코티아" 넘버링 스킴에 따라 정의된 CDR은 또한 때때로 "초가변 루프"로 지

칭된다.

[0548] 일부 실시양태에서, 카바트 하에, 중쇄 가변 도메인 (VH) 내의 CDR 아미노산 잔기는 31-35 (HCDR1) (예를 들어, 위치 35 후의 삽입(들)), 50-65 (HCDR2), 및 95-102 (HCDR3)로 넘버링되고; 경쇄 가변 도메인 (VL) 내의 CDR 아미노산 잔기는 24-34 (LCDR1) (예를 들어, 위치 27 후의 삽입(들)), 50-56 (LCDR2), 및 89-97 (LCDR3)로 넘버링된다. 일부 실시양태에서, 코티아 하에, VH 내의 CDR 아미노산은 26-32 (HCDR1) (예를 들어, 위치 31 후의 삽입(들)), 52-56 (HCDR2), 및 95-102 (HCDR3)로 넘버링되고; VL 내의 아미노산 잔기는 26-32 (LCDR1) (예를 들어, 위치 30 후의 삽입(들)), 50-52 (LCDR2), 및 91-96 (LCDR3)으로 넘버링된다. 카바트 및 코티아 둘 다의 CDR 정의를 조합함으로써, 일부 실시양태에서, CDR은, 예를 들어 인간 VH 내의 아미노산 잔기 26-35 (HCDR1), 50-65 (HCDR2), 및 95-102 (HCDR3) 및 인간 VL 내의 아미노산 잔기 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2), 및 89-97 (LCDR3)을 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 일부 실시양태에서, IMGT 하에, VH 내의 CDR 아미노산 잔기는 대략 26-35 (CDR1), 51-57 (CDR2) 및 93-102 (CDR3)로 넘버링되고, VL 내의 CDR 아미노산 잔기는 대략 27-32 (CDR1), 50-52 (CDR2), 및 89-97 (CDR3)로 넘버링된다. 일부 실시양태에서, IMGT 하에, 항체의 CDR 영역은 프로그램 IMGT/도메인갭 얼라인(IMGT/DomainGap Align)을 사용하여 결정될 수 있다.

[0549] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하며, 즉 집단을 구성하는 개별 항체는 미량으로 존재할 수도 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 모노클로날 항체는 단일 항원 에피토프에 대해 작용하며, 특이성이 높다. 대조적으로 종래 (다중클론) 항체 제제는 전형적으로 상이한 에피토프에 대한 (또는 그에 특이적인) 다수의 항체를 포함한다. 수식어 "모노클로날"은 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득되는 바와 같은 항체의 특징을 나타내고, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생성을 요구하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 개시내용에 따라 사용될 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al. (1975) Nature 256:495]에 최초로 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 참조). 모노클로날 항체는 또한 예를 들어 문헌 [Clackson et al. (1991) Nature 352:624-8] 및 [Marks et al. (1991) J Mol Biol. 222:581-97]에 기재된 기술을 사용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 상기 용어는 또한 단일 분자 조성의 항체 분자의 제제를 포함한다. 모노클로날 항체 조성물은 특정한 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타낸다.

[0550] 본원에 기재된 모노클로날 항체는 비-인간, 인간 또는 인간화 항체일 수 있다. 용어는 구체적으로 표적 항원에 특이적으로 결합하고/거나 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래되거나 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동이고, 쇄(들)의 나머지는 또 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동인 "키메라" 항체 뿐만 아니라 이러한 항체의 단편을 포함한다.

[0551] 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체, 또는 인간에 의해 생산된 항체의 아미노산 서열을 갖는 항체를 지칭한다. 상기 용어는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다가 인간 기원의 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는 항체를 포함한다. 또한, 항체가 불변 영역을 함유하는 경우, 불변 영역은 또한 이러한 인간 서열, 예를 들어 인간 배선 서열 또는 인간 배선 서열의 돌연변이된 버전, 또는 예를 들어 문헌 [Knappik et al. ((2000) J Mol Biol. 296(1):57-86)]에 기재된 바와 같은 인간 프레임워크 서열 분석으로부터 유래된 컨센서스 프레임워크 서열을 함유하는 항체로부터 유래된다. 이뮤노글로불린 가변 도메인, 예를 들어 CDR의 구조 및 위치는 널리 공지된 넘버링 스킴, 예를 들어 카바트 넘버링 스킴, 코티아 넘버링 스킴 또는 카바트 및 코티아의 조합 및/또는 이뮤노젠틱스 (IMGT) 넘버링을 사용하여 정의될 수 있다. 본 발명의 인간 항체는 인간 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이, 또는 안정성 또는 제조를 촉진하기 위한 보존적 치환)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그라프팅된 항체를 포함하는 것으로 의도되지 않는다.

[0552] 본원에 사용된 용어 "재조합 인간 항체"는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 인간 항체, 예컨대 인간 이뮤노글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉 또는 트랜스크로모소말인 동물 (예를 들어, 마우스) 또는 그로부터 제조된 하이브리도마로부터 단리된 항체, 인간 항체를 발현하도록 형질전환된 숙주 세포, 예를 들어 트랜스펙토마로부터 단리된 항체, 재조합 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 및 인간 이뮤노글로불린 유전자 서열의 전부 또는 일부를 다른 DNA 서열로 스플라이싱하는 것을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 지칭한다. 이러한 재조합 인간 항체는 프레임워크 및 CDR 영역이 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는다. 그러나, 일부 실시양태에서, 이러한 재조합 인간

항체에 대해 시험관내 돌연변이유발 (또는, 인간 Ig 서열에 대해 트랜스제닉인 동물이 사용되는 경우, 생체내 체세포 돌연변이유발) 시킬 수 있으므로, 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은, 인간 배선 VH 및 VL 서열로부터 유래되고 이와 관련되지만, 생체내 인간 항체 배선 레퍼토리 내에 자연적으로 존재하지 않을 수 있는 서열이다.

[0553] 본원에 사용된 용어 "키메라 항체"는 이뮤노글로불린 분자의 아미노산 서열이 2종 이상의 종으로부터 유래된 항체를 지칭한다. 일부 경우, 중쇄 및 경쇄 둘 다의 가변 영역은 목적하는 특이성, 친화도 및 활성을 갖는 한 종으로부터 유래된 항체의 가변 영역에 상응하는 반면, 불변 영역은 또 다른 종 (예를 들어, 인간)으로부터 유래된 항체와 상동이어서 후자 종에서의 면역 반응을 최소화한다.

[0554] 본원에 사용된 용어 "인간화 항체"는 비-인간 (예를 들어, 뮤린) 항체 뿐만 아니라 인간 항체로부터의 서열을 함유하는 항체의 형태를 지칭한다. 이러한 항체는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체의 유형이다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 (FR) 영역은 인간 이뮤노글로불린 서열의 것이다. 또한, 인간화 항체는 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 이뮤노글로불린의 것을 포함할 것이다. 인간화 항체는 Fv 프레임워크 영역에서 및/또는 상기 대체된 비-인간 잔기 내에서 잔기를 치환시킴으로써 추가로 변형되어 항체 특이성, 친화도 및/또는 활성을 정밀화 및 최적화할 수 있다.

[0555] 본원에 사용된 용어 "Fc 영역"은 CH3, CH2, 및 항체의 불변 도메인의 힌지 영역의 적어도 일부를 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 임의로, Fc 영역은 일부 항체 부류에 존재하는 CH4 도메인을 포함할 수 있다. Fc 영역은 항체의 불변 도메인의 전체 힌지 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 항체의 Fc 영역 및 CH1 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 항체의 Fc 영역 CH3 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 항체의 불변 도메인으로부터의 Fc 영역, CH1 영역 및 카파/람다 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 불변 영역, 예를 들어 중쇄 불변 영역 및/또는 경쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 불변 영역은 야생형 불변 영역에 비해 변형된다. 즉, 폴리펩티드는 3개의 중쇄 불변 도메인 (CH1, CH2 또는 CH3) 중 하나 이상 및/또는 경쇄 불변 영역 도메인 (CL)에 대한 변경 또는 변형을 포함할 수 있다. 예시적인 변형은 하나 이상의 도메인에서의 1개 이상의 아미노산의 부가, 결실 또는 치환을 포함한다. 이러한 변화는 이펙터 기능, 반감기 등을 최적화하기 위해 포함될 수 있다.

[0556] 항체 또는 항원-결합 단편과 관련하여 본원에 사용된 "내재화"는 세포에 결합시 세포의 지질 이중층 막을 통해 내부 구획으로 (즉, "내재화"), 바람직하게는 세포 내 분해 구획으로 취해질 수 있는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭한다. 예를 들어, 내재화 항-HER2 항체는 세포 막 상의 HER2에 결합한 후에 세포 내로 취해질 수 있는 것이다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 ADC에 사용된 항체 또는 항원-결합 단편은 세포 표면 항원 (예를 들어, CD48)을 표적화하고, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편이다 (즉, ADC는 항원 결합 후에 세포 막을 통해 전달됨). 일부 실시양태에서, 내재화 항체 또는 항원-결합 단편은 세포 표면 상의 수용체에 결합한다. 세포막 상의 수용체를 표적화하는 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 수용체-매개 세포내이입을 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 수용체-매개 세포내이입을 통해 세포 내로 취해진다.

[0557] 항체 또는 항원-결합 단편과 관련하여 본원에 사용된 "비-내재화"는 세포에 결합시 세포 표면에 남아있는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 ADC에 사용된 항체 또는 항원-결합 단편은 세포 표면 항원을 표적화하고, 비-내재화 항체 또는 비-내재화 항원-결합 단편이다 (즉, ADC는 세포 표면에 남아있고, 항원 결합 후에 세포 막을 통해 전달되지 않음). 일부 실시양태에서, 비-내재화 항체 또는 항원-결합 단편은 비-내재화 수용체 또는 다른 세포 표면 항원에 결합한다. 예시적인 비-내재화 세포 표면 항원은 CA125 및 CEA를 포함하나 이에 제한되지는 않고, 비-내재화 항원 표적에 결합하는 항체가 또한 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Bast et al. (1981) J Clin Invest. 68(5):1331-7]; [Scholler and Urban (2007) Biomark Med. 1(4):513-23]; 및 [Boudousq et al. (2013) PLoS One 8(7):e69613] 참조).

[0558] 본원에 사용된 용어 "결합 특이성"은 상이한 항원 결정기에 비해 하나의 항원 결정기와 우선적으로 반응하는 개별 항체 또는 항원 결합 단편의 능력을 지칭한다. 특이성의 정도는 항체 또는 단편이 상이한 항원 결정기에 비해 하나의 항원 결정기에 우선적으로 결합하는 정도를 나타낸다. 또한, 본원에 사용된 용어 "특이적", "특이적으로 결합한다" 및 "특이적으로 결합하는"은 단백질 및 다른 생물제제의 불균질 집단에서 항체 또는 항원-결합

단편 (예를 들어, 항-CD48 항체)과 표적 항원 (예를 들어, CD48) 사이의 결합 반응을 지칭한다. 항체는 주어진 세트의 조건 하에 적절한 항원에 대한 결합을 비관련 항원 또는 항원 혼합물에 대한 결합과 비교함으로써 결합의 특이성에 대해 시험될 수 있다. 항체가 비관련 항원 또는 항원 혼합물보다 적어도 2, 5, 7, 10배 또는 그 초과로 더 큰 친화도로 적절한 항원에 결합하는 경우, 이는 특이적인 것으로 간주된다. "특이적 항체" 또는 "표적-특이적 항체"는 표적 항원 (예를 들어, CD48)에만 결합하지만, 다른 항원에는 결합하지 않는 (또는 최소 결합을 나타내는) 것이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원 (예를 들어, CD48)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 단편은 $1x10^{-6}$ M 미만, $1x10^{-7}$ M 미만, $1x10^{-8}$ M 미만, $1x10^{-9}$ M 미만, $1x10^{-10}$ M 미만, $1x10^{-11}$ M, $1x10^{-12}$ M 미만 또는 $1x10^{-13}$ M 미만의 K_D를 갖는다. 일부 실시양태에서, K_D는 1 pM 내지 500 pM이다. 일부 실시양태에서, K_D는 500 pM 내지 1 μM, 1 μM 내지 100 nM 또는 100 mM 내지 10 nM이다.

[0559] 본원에 사용된 용어 "친화도"는 단일 항원 부위에서 항체와 항원 사이의 상호작용의 강도를 지칭한다. 이론에 얽매이지는 않지만, 각각의 항원 결합 부위 내에서, 항체 "아암"의 가변 영역은 다수의 부위에서 약한 비-공유 힘을 통해 항원과 상호작용하고; 상호작용이 많을수록, 전형적으로 친화도가 더 강하다. 항체의 결합 친화도는 항원 결정기와 항체의 결합 부위 사이에서 작동하는 인력 및 척력의 합이다.

[0560] 용어 "k_{on}" 또는 "k_a"는 항체/항원 복합체를 형성하기 위한 항원에 대한 항체의 회합에 대한 온-레이트(on-rate) 상수를 지칭한다. 레이트는 표준 검정, 예컨대 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭법 또는 ELISA 검정을 사용하여 측정될 수 있다.

[0561] 용어 "k_{off}" 또는 "k_d"는 항체/항원 복합체로부터의 항체의 해리에 대한 오프-레이트(off-rate) 상수를 지칭한다. 레이트는 표준 검정, 예컨대 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭법 또는 ELISA 검정을 사용하여 측정될 수 있다.

[0562] 용어 "K_D"는 특정한 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭한다. K_D는 k_a/k_d에 의해 계산된다. 레이트는 표준 검정, 예컨대 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭법 또는 ELISA 검정을 사용하여 측정될 수 있다.

[0563] 용어 "에피토프"는 항체 (또는 항원-결합 단편)에 의해 인식되고 특이적으로 결합될 수 있는 항원의 부분을 지칭한다. 에피토프 결정기는 일반적으로 분자의 화학적 활성 표면 기, 예컨대 아미노산 또는 탄수화물 또는 당 측쇄로 이루어지고, 특이적 3차원 구조적 특징 뿐만 아니라 특이적 전하 특징을 가질 수 있다. 항원이 폴리펩티드인 경우, 에피토프는 인접 아미노산, 또는 폴리펩티드의 3차 폴딩에 의해 병치된 비인접 아미노산으로부터 형성될 수 있다. 에피토프는 "선형" 또는 "입체형태적"일 수 있다. 입체형태적 및 선형 에피토프는, 전자에 대한 결합은 변성 용매의 존재 하에 상실되지만 후자에 대한 결합은 그렇지 않다는 점에서 구별된다. 항체 (또는 항원-결합 단편)에 의해 결합된 에피토프는 관련 기술분야에 공지된 임의의 에피토프 맵핑 기술, 예컨대 항원-항체 복합체의 직접 가시화에 의한 에피토프 확인을 위한 X선 결정학, 뿐만 아니라 항원의 단편 또는 돌연변이된 변이에 대한 항체의 결합의 모니터링, 또는 항체 및 항원의 상이한 부분의 용매 접근성의 모니터링을 이용하여 확인될 수 있다. 항체 에피토프를 맵핑하는 데 사용되는 예시적인 전략은 어레이-기반 올리고-펩티드 스캐닝, 제한된 단백질분해, 부위-지정 돌연변이유발, 고처리량 돌연변이유발 맵핑, 수소-중수소 교환 및 질량 분광측정법을 포함하나 이에 제한되지는 않는다 (예를 들어, 문헌 [Gershoni et al. (2007) BioDrugs 21:145-56]; 및 [Hager-Braun and Tomer (2005) Expert Rev Proteomics 2:745-56] 참조).

[0564] 경쟁적 결합 및 에피토프 비닝을 또한 이용하여, 동일하거나 중복되는 에피토프를 공유하는 항체를 결정할 수 있다. 경쟁적 결합은 교차-차단 검정, 예컨대 문헌 ["Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow and Lane (1^{st} edition 1988, 2^{nd} edition 2014)}에 기재된 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 일부 실시양태에서, 경쟁적 결합은 시험 항체 또는 결합 단백질이 표적 항원, 예컨대 CD48 (예를 들어, 표 3-5에서 확인된 것으로부터 선택되는 CDR 및/또는 가변 도메인을 포함하는 결합 단백질)에 대한 참조 항체 또는 결합 단백질의 결합을 교차-차단 검정에서 적어도 약 50% (예를 들어, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 99.5% 또는 그 초과, 또는 그 사이의 임의의 백분율) 감소시키는 경우에 확인되고/거나, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 일부 실시양태에서, 경쟁적 결합은 공유되거나 유사한 (예를 들어, 부분적으로 중첩되는) 에피토프에 기인할 수 있거나, 또는 항체 또는 결합 단백질이 인근의 에피토프에 결합하는 입체 장애에 기인할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Tzartos, Methods in Molecular Biology (Morris, ed. (1998) vol. 66, pp. 55-66)] 참조). 일부 실시양태에서, 경쟁적 결합은 유사한 에피토프를 공유하는 결합 단백질의 기를 분류하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 결합에 대해 경쟁하는 결합 단백질은 중복 또는 인근 에피토프를 갖는 결합 단백질의 군

으로서 "비닝"될 수 있는 반면, 경쟁하지 않는 것은 중복 또는 인근 에피토프를 갖지 않는 결합 단백질의 별개의 군에 위치한다.

[0565] 본원에 사용된 용어 "펩티드", "폴리펩티드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 상호교환 가능하게 사용된다. 상기 용어는 펩티드 결합에 의해 서로 연결된 2개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 중합체, 1개 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생 아미노산의 인공 화학적 모방체인 아미노산 중합체, 뿐만 아니라 자연 발생 아미노산 중합체 및 비-자연 발생 아미노산 중합체를 포괄한다. 상기 용어는, 예를 들어 생물학적 활성 단편, 실질적으로 상동인 폴리펩티드, 올리고펩티드, 동종이량체, 이종이량체, 폴리펩티드의 변이체, 변형된 폴리펩티드, 유도체, 유사체, 융합 단백질을 특히 포함한다. 상기 용어는 또한 천연 펩티드, 재조합 펩티드, 합성 펩티드 또는 그의 조합을 포함한다. 달리 나타내지 않는 한, 특정한 폴리펩티드 서열은 또한 그의 보존적으로 변형된 변이체를 암시적으로 포괄한다.

[0566] "재조합" 단백질은 재조합 기술을 사용하여, 예를 들어 재조합 핵산의 발현을 통해 제조된 단백질 (예를 들어, 항체)을 지칭한다.

[0567] "단리된" 단백질은 그의 천연 상태에서 정상적으로 회합되는 물질의 적어도 일부가 동반되지 않은 단백질을 지칭한다. 예를 들어, 살아있는 유기체에 존재하는 자연 발생 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 단리되지 않지만, 살아있는 유기체에서 공존하는 물질의 일부 또는 전부로부터 분리된 동일한 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 단리된다. 정의는 관련 기술분야에 공지된 매우 다양한 유기체 및/또는 숙주 세포에서의 항체의 생산을 포함한다.

[0568] 본원에 사용된 "단리된 항체"는 그의 공급원 환경의 성분 (중량 기준) 중 1종 이상 (예를 들어, 대다수)으로부터, 예를 들어 그의 생산에 사용된 하이브리도마 세포 배양물 또는 상이한 세포 배양물의 구성분으로부터 확인되고 분리된 항체이다. 일부 실시양태에서, 분리는 달리 목적하는 적용 (예를 들어, 치료 용도)을 위한 항체의 적합성을 방해할 수 있는 성분을 충분히 제거하도록 수행된다. 단리된 항체를 제조하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 단백질 A 크로마토그래피, 음이온 교환 크로마토그래피, 양이온 교환 크로마토그래피, 바이러스 보유 여과 및 한외여과를 비제한적으로 포함한다.

[0569] 본원에 사용된 용어 "변이체"는 각각 참조 핵산 서열 또는 아미노산 서열과 상이하지만 참조 서열의 하나 이상의 생물학적 특성을 보유하는 핵산 서열 또는 아미노산 서열을 지칭한다. 변이체는 참조 서열과 관련하여 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입 (또는 코돈의 상응하는 치환, 결실 및/또는 삽입)을 함유할 수 있다. 핵산 변이체에서의 변화는 참조 핵산 서열에 의해 코딩되는 펩티드의 아미노산 서열을 변경시키지 않을 수 있거나, 또는 아미노산 치환, 부가, 결실, 융합 및/또는 말단절단을 유발할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 핵산 변이체는 비변형된 핵산에 의해 코딩되는 것과 동일한 아미노산 서열을 코딩하거나 또는 비변형된 아미노산 서열의 하나 이상의 기능적 특성을 보유하는 변형된 아미노산 서열을 코딩한다. 펩티드 변이체의 서열에서의 변화가 전형적으로 제한되거나 또는 보존적이어서, 비변형된 펩티드 및 변이체의 서열이 전체적으로 밀접하게 유사하고, 많은 영역에서 동일하다. 일부 실시양태에서, 펩티드 변이체는 비변형된 펩티드 서열의 하나 이상의 기능적 특성을 보유한다. 변이체 및 비변형된 펩티드는 임의의 조합으로 하나 이상의 치환, 부가, 결실에 의해 아미노산 서열이 상이할 수 있다.

[0570] 핵산 또는 펩티드의 변이체는 자연 발생 변이체 또는 자연 발생하는 것으로 공지되지 않은 변이체일 수 있다. 핵산 및 펩티드의 변이체는 돌연변이유발 기술에 의해, 직접 합성에 의해, 또는 관련 기술분야에 공지된 다른 기술에 의해 제조될 수 있다. 변이체는 참조 서열의 물리적 조작을 반드시 필요로 하지는 않는다. 서열이 참조 서열과 비교하여 상이한 핵산 또는 아미노산을 함유하는 한, 이는 그가 합성된 방법과는 상관없이 "변이체"로 간주된다. 일부 실시양태에서, 변이체는 참조 서열에 비해 높은 서열 동일성 (즉, 60% 핵산 또는 아미노산 서열 동일성 또는 그 초과)을 갖는다. 일부 실시양태에서, 펩티드 변이체는, 폴리펩티드가 참조 서열과 또는 참조 서열의 상응하는 절편 (예를 들어, 기능적 단편)에 대해 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 아미노산 서열 동일성을 갖는 한, 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 폴리펩티드, 예를 들어 참조 서열의 하나 이상의 기능을 또한 보유하는 변이체를 포괄한다. 일부 실시양태에서, 핵산 변이체는, 폴리뉴클레오티드가 참조 서열과 또는 참조 서열의 상응하는 절편 (예를 들어, 기능적 단편)에 대해 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 핵산 서열 동일성을 갖는 한, 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 폴리뉴클레오티드를 포괄한다.

[0571] 용어 "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산 및 핵산 서열 둘 다에 적용된다. 핵산 서열의 경우, 보존적으로 변형된 변이체는 동일하거나 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 지칭한다. 유전자 코드의 축중성으로 인해 다수의 기능적으로 동일한 핵산이 임의의 주어진 단백질을 코딩한다. 예를 들어, 코돈 GCA, GCC, GCG 및 GCU는 모두 알라닌 아미노산을 코딩한다. 따라서, 알라닌이 코돈에 의해 특정되는 모든 위치에서, 코돈은 코딩되는 폴리펩티드를 변경하지 않으면서 기재된 임의의 상응하는 코돈으로 변경될 수 있다. 이러한 핵산 변이는 보존적으로 변형된 변이의 일종인 "침묵 변이"이다. 또한, 본원에서 폴리펩티드를 코딩하는 모든 핵산 서열은 핵산의 모든 가능한 침묵 변이를 기재한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 핵산 내의 각각의 코돈 (통상적으로 메티오닌에 대한 유일한 코돈인 AUG 및 통상적으로 트립토판에 대한 유일한 코돈인 TGG 제외)이 기능적으로 동일한 분자를 생성하도록 변형될 수 있음을 인식할 것이다. 따라서, 폴리펩티드를 코딩하는 핵산의 각각의 침묵 변이는 각각의 기재된 서열에 내포된다. 폴리펩티드 서열의 경우, 보존적으로 변형된 변이체는 아미노산을 화학적으로 유사한 아미노산으로 치환시키는, 폴리펩티드 서열에 대한 개별 치환, 결실 또는 부가를 포함한다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다.

[0572] 본원에 사용된 용어 "보존적 서열 변형"은, 예를 들어 아미노산 서열을 함유하는 항체 또는 항원-결합 단편의 결합 특징에 유의하게 영향을 미치거나 이를 변경시키지 않는 아미노산 변형을 지칭한다. 이러한 보존적 변형은 아미노산 치환, 부가 및 결실을 포함한다. 변형은 관련 기술분야에 공지된 표준 기술, 예컨대 예를 들어 부위-지정 돌연변이유발 및 PCR-매개 돌연변이유발에 의해 항체 또는 항원-결합 단편 내로 도입될 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 관련 기술분야에 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄 (예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 항체 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 패밀리로부터의 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있고, 변경된 항체는 본원에 기재된 기능적 검정을 사용하여 시험될 수 있다.

[0573] 본원에 사용된 용어 "상동" 또는 "동일성"은 2개의 중합체 분자, 예를 들어 2개의 핵산 분자, 예컨대 2개의 DNA 분자 또는 2개의 RNA 분자 또는 2개의 폴리펩티드 분자 사이의 서브유닛 서열 동일성을 지칭한다. 2개의 분자 둘 다 내에서의 서브유닛 위치가 동일한 단량체 서브유닛에 의해 점유되는 경우; 예를 들어, 각각 2개의 DNA 분자 내에서의 위치가 아데닌에 의해 점유되는 경우, 이들은 그 위치에서 상동이거나 동일하다. 2개의 서열 사이의 상동성은 매칭 또는 상동 위치의 수의 직접 함수이다. 예를 들어, 2개의 서열 내 위치의 절반 (예를 들어, 10개 서브유닛 길이의 중합체 내 5개의 위치)이 매칭되거나 상동이면, 2개의 서열은 50% 상동이고; 위치의 90% (예를 들어, 10개 중 9개)가 매칭되거나 상동이면, 2개의 서열은 90% 상동이다.

[0574] "서열 동일성"의 백분율은 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교 윈도우 상에서 비교함으로써 결정될 수 있으며, 여기서 비교 윈도우 내의 아미노산 서열의 단편은 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 참조 서열 (이는 부가 또는 결실을 포함하지 않음)과 비교하여 부가 또는 결실 (예를 들어, 갭 또는 오버행)을 포함할 수 있다. 백분율은 동일한 아미노산 잔기가 서열 둘 다에서 발생하는 위치의 수를 결정하여 매칭되는 위치의 수를 산출하고, 매칭되는 위치의 수를 비교 윈도우 내의 위치의 총 수로 나누고, 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산될 수 있다. 산출값은 질의 서열에 대한 대상 서열의 퍼센트 동일성이다. 2개의 서열 간의 퍼센트 동일성은 두 서열의 최적의 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려하여 서열들에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다. 일반적으로, 표적 항원 (예컨대, CD48)의 변이체 및 항체 가변 도메인의 변이체 (개별 변이체 CDR 포함)를 포함한 본원에 개시된 단백질과 그의 변이체 사이의 아미노산 동일성 또는 상동성은 본원에 도시된 서열에 대해 적어도 80%, 예를 들어 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 거의 100% 또는 100%의 동일성 또는 상동성이다.

[0575] 서열의 비교 및 두 서열 사이의 퍼센트 동일성의 측정은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 블로섬(Blossum) 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용하여, GCG 소프트웨어 패키지 중의 GAP 프로그램 내로 혼입된 니들만(Needleman) 및 분쉬(Wunsch) ((1970) J Mol Biol. 48:444-53) 알고리즘을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 2개의 뉴클레오티드 서열 사이의 퍼센트 동일성은 NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 갭 가중치 40, 50, 60, 70 또는 80의 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용

하는 GCG 소프트웨어 패키지 중의 GAP 프로그램을 사용하여 결정된다. 예시적인 파라미터 세트는 갭 페널티 12, 갭 연장 페널티 4 및 프레임시프트 갭 페널티 5를 갖는 블로섬 62 스코어링 매트릭스이다. 2개의 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열 사이의 퍼센트 동일성은 또한 PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하여, ALIGN 프로그램 (버전 2.0) 내로 혼입된 마이어스(Meyers) 및 밀러(Miller) ((1989) CABIOS 4:11-17)의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.

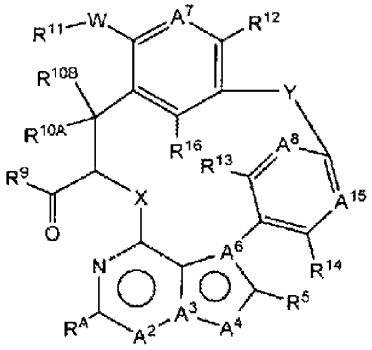
[0576] 용어 "작용제"는 화학적 화합물, 화학적 화합물의 혼합물, 생물학적 거대분자, 생물학적 물질로부터 생성된 추출물 또는 그의 2종 이상의 조합을 지칭하기 위해 본원에 사용된다. 용어 "치료제" 또는 "약물"은 생물학적 과정을 조정할 수 있고/거나 생물학적 활성을 갖는 작용제를 지칭한다. 본원에 기재된 바와 같은 Mcl-1 억제제 및 그를 포함하는 ADC는 예시적인 치료제이다.

[0577] 용어 "화학요법제" 또는 "항암제"는 (작용 메카니즘에 상관없이) 암을 치료하는 데 효과적인 모든 작용제를 지칭하기 위해 본원에 사용된다. 전이 또는 혈관신생의 억제는 빈번하게 화학요법제의 특성이다. 화학요법제는 항체, 생물학적 분자 및 소분자를 포함하고, 본원에 기재된 바와 같은 Mcl-1 억제제 및 그를 포함하는 ADC를 포괄한다. 화학요법제는 세포독성제 또는 세포증식억제제일 수 있다. 용어 "세포증식억제제"는 세포 성장 및/또는 세포의 증식을 억제하거나 저해하는 작용제를 지칭한다. 용어 "세포독성제"는 주로 세포의 발현 활성 및/또는 기능을 방해함으로써 세포 사멸을 유발하는 물질을 지칭한다.

[0578] 본원에 사용된 용어 "골수 세포 백혈병 1" 또는 "Mcl-1"은 Bcl-2 단백질 패밀리의 항아폽토시스 구성원인 인간 Mcl-1의 임의의 천연 형태를 지칭한다. 상기 용어는 전장 인간 Mcl-1 (예를 들어, 유니프롯(UniProt) 참조 서열: Q07820; 서열식별번호: 79), 뿐만 아니라 세포 프로세싱으로부터 생성될 수 있는 임의의 형태의 인간 Mcl-1을 포괄한다. 상기 용어는 또한 인간 Mcl-1의 하나 이상의 생물학적 기능을 보유하는 스플라이스 변이체, 대립유전자 변이체 및 이소형을 포함하나 이로 제한되지는 않는 인간 Mcl-1의 기능적 변이체 또는 단편을 포괄한다 (즉, 변이체 및 단편은 상기 용어가 야생형 단백질만을 지칭하기 위해 사용된다는 것을 문맥상 달리 나타내지 않는 한 포함된다). Mcl-1은 인간으로부터 단리될 수 있거나, 또는 재조합적으로 또는 합성 방법에 의해 생성될 수 있다.

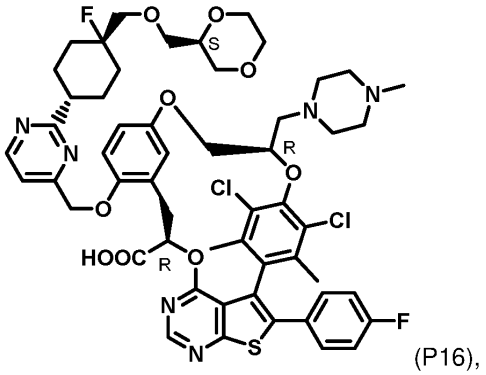
[0579] 본원에 사용된 용어 "억제하다" 또는 "억제" 또는 "억제하는"은 생물학적 활성 또는 과정을 측정가능한 양만큼 감소시키는 것을 의미하고, 완전한 방지 또는 억제를 포함할 수 있으나 이를 요구하지는 하지 않는다. 일부 실시양태에서, "억제"는 Mcl-1 및/또는 1종 이상의 상류 조정제 또는 그의 하류 표적의 발현 및/또는 활성을 감소시키는 것을 의미한다.

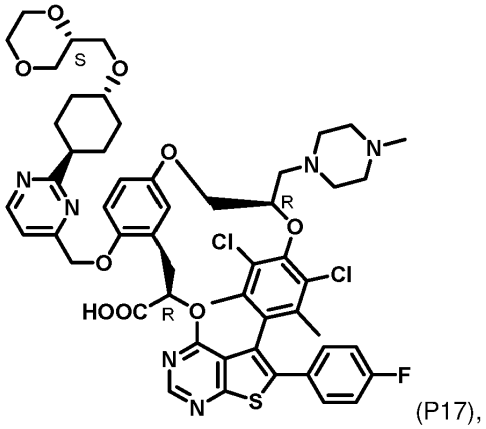
[0580] 본원에 사용된 용어 "Mcl-1 억제제"는 Mcl-1 및/또는 그의 1종 이상의 상류 조정제 또는 하류 표적의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있는 작용제를 지칭한다. 예시적인 Mcl-1 조정제 (예시적인 Mcl-1의 억제제 포함)는 WO 2015/097123; WO 2016/207216; WO 2016/207217; WO 2016/207225; WO 2016/207226; WO 2017/125224; WO 2019/035899, WO 2019/035911, WO 2019/035914, WO 2019/035927, US 2019/0055264, WO 2016/033486, WO 2017/147410, WO 2018/183418 및 WO 2017/182625에 기재되어 있으며, 이들 각각은 개시된 ADC에 약물 모이어티로서 포함될 수 있는 예시적인 Mcl-1 억제제를 포함한 예시적인 Mcl-1 조정제로서 본원에 참조로 포함된다. 예를 들어, 개시된 ADC에서 약물 모이어티로서 포함될 수 있는 예시적인 Mcl-1 억제제는 하기 화학식의 것이다:

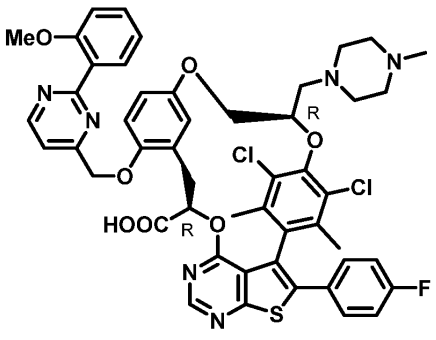


[0581]

[0582] 여기서, 각각의 가변기는 WO2019/035911; WO 2019/035899; WO 2019/035914; 또는 WO 2019/035927에 정의된 바와 같다. 구체적 예는, 예를 들어


(P16),


(P17),


(P15)

[0583]

[0584] 를 포함하고, 여기서 약물 페이로드로서의 각각의 화합물은 화합물의 피페라지닐 관능기 내의 N-메틸의 질소 원자를 통해 항체 또는 링커에 접합될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "유도체" 및 "유사체"는 Mcl-1 억제제 등을 지칭할 때, 본래의 화합물과 비교하여 본질적으로 동일하거나, 유사하거나, 증진된 생물학적 기능 또는 활성을 보유하지만 변경된 화학적 또는 생물학적 구조를 보유하는 임의의 이러한 화합물을 의미한다.

[0585] 본원에 사용된 "Mcl-1 억제제 약물 모이어티", "Mcl-1 억제제" 등은 본래의 화합물과 비교하여 본질적으로 동일하거나, 유사하거나 또는 증진된 생물학적 기능 또는 활성을 보유하는 Mcl-1 억제제 화합물 또는 ADC로의 부착을 위해 변형된 화합물의 구조를 제공하는 ADC 또는 조성물의 성분을 지칭한다. 일부 실시양태에서, Mcl-1 억제제 약물 모이어티는 화학식 (1)의 ADC 내의 성분 (D)이다.

[0586] 본원에 사용된 용어 "암"은 암-유발 세포의 전형적인 특징, 예컨대 비제어된 증식, 불멸성, 전이 잠재력, 빠른 성장 및 증식 속도 및/또는 특정 형태학적 특색을 보유하는 세포의 존재를 지칭한다. 종종, 암 세포는 종양 또는 덩어리의 형태일 수 있지만, 이러한 세포는 대상체 내에 단독으로 존재할 수 있거나, 또는 독립적 세포, 예컨대 백혈병 또는 림프종 세포로서 혈류에서 순환할 수 있다. 용어 "암"은 혈액암, 고형 종양, 육종, 암종, 및 다른 고형 및 비-고형 종양 암을 포함한 모든 유형의 암 및 암 전이를 포함한다. 혈액암은 B-세포 악성종양, 혈액의 암 (백혈병), 형질 세포의 암 (골수종, 예를 들어 다발성 골수종), 또는 림프절의 암 (림프종)을 포함할 수 있다. 예시적인 B-세포 악성종양은 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 여포성 림프종, 외투 세포 림프종 및 미만성 대 B-세포 림프종을 포함한다. 백혈병은 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수 백혈병 (CML), 만성 골수단핵구성 백혈병 (CMML), 급성 단핵구성 백혈병 (AMoL) 등을 포함할 수 있다. 림프종은 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종 등을 포함할 수 있다. 다른 혈액암은 골수이형성증 증후군 (MDS)을 포함할 수 있다. 고형 종양은 암종, 예컨대 선암종, 예를 들어 유방암, 췌장암, 전립선암, 결장 또는 결장직장암, 폐암, 위암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 담관암종, 신경교종, 흑색종 등을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 림프종 또는 위암이다.

[0587] 일부 실시양태에서, 암은 혈액암, 예를 들어 백혈병, 림프종 또는 골수종이다. 예를 들어, 본원에 기재된 조합물은 예를 들어 급성 백혈병, 예를 들어 B-세포 급성 림프성 백혈병 (BALL), T-세포 급성 림프성 백혈병 (TALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 급성 림프성 백혈병 (ALL); 만성 백혈병, 예를 들어 만성 골수 백혈병

(CML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL); 추가의 혈액암 또는 혈액 상태, 예를 들어 B 세포 전림프구성 백혈병, 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 미만성 대 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 털세포백혈병, 소세포- 또는 대세포-여포성 림프종, 악성 림프증식성 상태, MALT 림프종, 외투 세포 림프종, 변연부 림프종, 다발성 골수종, 골수이형성증 및 골수이형성 증후군, 비-호지킨 림프종, 형질모구성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발덴스트룀 마크로글로불린혈증, 골수섬유증, 아밀로이드 경쇄 아밀로이드증, 만성 호중구성 백혈병, 본태성 혈소판혈증, 만성 호산구성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 리히터 증후군, 혼합 표현형 급성 백혈병, 급성 이중표현형 백혈병, 및 골수성 혈액 세포의 비효과적인 생산 (또는 이형성)에 의한 혈액 상태의 다양한 집합인 "전백혈병" 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 암, 악성종양 및 관련 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0588] 본원에 사용된 용어 "종양"은 전암성 병변을 포함한, 양성 또는 악성의 과도한 세포 성장 또는 증식으로부터 발생하는 임의의 조직 덩어리를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 종양은 유방암, 위암, 방광암, 뇌암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 흑색종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 종양은 위암이다.

[0589] 용어 "종양 세포" 및 "암 세포"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있고, 비-종양발생 세포 및 암 줄기 세포 둘 다를 포함한, 종양 또는 암으로부터 유래된 개별 세포 또는 전체 세포 집단을 지칭한다. 용어 "종양 세포" 및 "암 세포"는 재생 및 분화 능력이 결여되어 이들 세포를 암 줄기 세포와 구별하는 세포만을 지칭하는 경우에 용어 "비-종양발생"에 의해 변형될 것이다.

[0590] 본원에 사용된 용어 "표적-음성", "표적 항원-음성" 또는 "항원-음성"은 세포 또는 조직에 의한 표적 항원 발현의 부재를 지칭한다. 용어 "표적-양성", "표적 항원-양성" 또는 "항원-양성"은 표적 항원 발현의 존재를 지칭한다. 예를 들어, 표적 항원을 발현하지 않는 세포 또는 세포주는 표적-음성으로서 기재될 수 있는 반면, 표적 항원을 발현하는 세포 또는 세포주는 표적-양성으로서 기재될 수 있다.

[0591] 용어 "대상체" 및 "환자"는 치료를 필요로 하는 임의의 인간 또는 비-인간 동물을 지칭하기 위해 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 비-인간 동물은 모든 척추동물 (예를 들어, 포유동물 및 비-포유동물), 예컨대 임의의 포유동물을 포함한다. 포유동물의 비제한적 예는 인간, 침팬지, 유인원, 원숭이, 소, 말, 양, 염소, 돼지, 토끼, 개, 고양이, 래트, 마우스 및 기니 피그를 포함한다. 비-포유동물의 비제한적 예는 조류 및 어류를 포함한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0592] 본원에 사용된 용어 "치료를 필요로 하는 대상체"는 치료 (예를 들어, 본원에 기재된 예시적인 ADC 화합물 중 임의의 1종 이상을 사용한 치료)로부터 생물학적으로, 의학적으로 또는 삶의 질에 있어서 이익을 얻을 대상체를 지칭한다.

[0593] 본원에 사용된 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 질환, 장애 또는 상태의 임의의 결과의 임의의 개선, 예컨대 연장된 생존, 보다 적은 이환율 및/또는 대안적 치료 양식으로 인한 부작용의 감소를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 치료는 질환, 장애 또는 상태를 지연 또는 개선시키는 것 (즉, 질환 또는 그의 임상 증상 중 적어도 1종의 발생을 둔화 또는 정지 또는 감소시키는 것)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료는 환자에 의해 식별가능하지 않을 수 있는 것들을 포함한 질환, 장애 또는 상태의 적어도 1종의 물리적 파라미터를 지연, 완화 또는 개선시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료는 질환, 장애 또는 상태를 물리적으로 (예를 들어, 식별가능한 증상의 안정화), 생리학적으로 (예를 들어, 물리적 파라미터의 안정화), 또는 둘 다로 조정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료는 본원에 열거된 치료 이익을 얻기 위해 대상체, 예를 들어 환자에게 기재된 ADC 화합물 또는 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 치료는 질환, 장애 또는 상태 (예를 들어, 암), 질환, 장애 또는 상태 (예를 들어, 암)의 증상, 또는 질환, 장애 또는 상태 (예를 들어, 암)에 대한 소인을 치유, 치료, 완화(alleviate), 지연, 경감, 변경, 해소, 호전, 완화(palliate), 개선시키거나 또는 그에 영향을 미치는 것일 수 있다.

[0594] 본원에 사용된 용어 질환, 장애 또는 상태의 "예방하다", "예방하는" 또는 "예방"은 질환, 장애 또는 상태의 예방적 치료; 또는 질환, 장애 또는 상태의 발병 또는 진행의 지연을 지칭한다.

[0595] 본원에 사용된 "제약 조성물"은, 대상체에게 투여하기에 적합한 적어도 1종의 다른 (및 임의로 1종 초과의 다른) 성분, 예컨대 제약상 허용되는 담체, 안정화제, 희석제, 분산제, 현탁화제, 증점제 및/또는 부형제에 추가로, 조성물, 예를 들어 ADC 화합물 또는 조성물의 제제를 지칭한다. 본원에 제공된 제약 조성물은 투여를 허용하고 후속적으로 활성 성분(들)의 의도된 생물학적 활성을 제공하고/거나 치료 효과를 달성하도록 하는 형태

이다. 본원에 제공된 제약 조성물은 바람직하게는 제제가 투여될 대상체에게 허용되지 않는 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는다.

[0596] 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 담체" 및 "생리학상 허용되는 담체"는 상호교환가능하게 사용될 수 있으며, 대상체에게 유의한 자극을 유발하지 않고 투여된 ADC 화합물 또는 조성물 및/또는 조성물 중 임의의 추가의 치료제의 생물학적 활성 및 특성을 제거하지 않는 담체 또는 희석제를 지칭한다. 제약상 허용되는 담체는 조성물을 증진 또는 안정화시킬 수 있거나 또는 조성물의 제조를 용이하게 하는 데 사용될 수 있다. 제약상 허용되는 담체는 통상의 기술자에게 공지된 바와 같은 용매, 분산 매질, 코팅, 계면활성제, 항산화제, 보존제 (예를 들어, 항박테리아제, 항진균제), 등장화제, 흡수 지연제, 염, 보존제, 약물 안정화제, 결합제, 부형제, 붕해제, 윤활제, 감미제, 향미제, 염료 등 및 그의 조합을 포함할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289- 1329] 참조). 통상적인 어떠한 담체도 활성 성분과 비상용성인 경우를 제외하고는, 치료 또는 제약 조성물에서의 그의 사용이 고려된다. 담체는 대상체에서 유해 부작용을 최소화하고/거나 활성 성분(들)의 분해를 최소화하도록 선택될 수 있다. 아주반트는 또한 임의의 이들 제제에 포함될 수 있다.

[0597] 본원에 사용된 용어 "부형제"는 활성 성분의 투여를 추가로 용이하게 하기 위해 제약 조성물에 첨가되는 불활성 물질을 지칭한다. 비경구 투여를 위한 제제는, 예를 들어 부형제, 예컨대 멸균수 또는 염수, 폴리알킬렌 글리콜, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일 또는 수소화 나프탈렌을 함유할 수 있다. 다른 예시적인 부형제는 중탄산칼슘, 인산칼슘, 다양한 당 및 전분 유형, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 에틸렌-비닐 아세테이트 공중합체 입자, 및 예를 들어 폴리소르베이트 20을 비롯한 계면활성제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0598] 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 염"은 본 발명의 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 제거하지 않고, 그가 투여되는 대상체에게 유의한 자극을 유발하지 않는 염을 지칭한다. 이러한 염의 예는 (a) 무기 산, 예를 들어 염산, 브로민화수소산, 황산, 인산, 질산 등으로 형성된 산 부가염; 및 유기 산, 예를 들어 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 숙신산, 말레산, 푸마르산, 글루콘산, 시트르산, 말산, 아스코르브산, 벤조산, 탄닌산, 팔미트산, 알긴산, 폴리글루탐산, 나프탈렌술폰산, 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 나프탈렌디술폰산, 폴리갈락투론산 등으로 형성된 염; 및 (b) 원소 음이온, 예컨대 염소, 브로민 및 아이오딘으로부터 형성된 염을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 문헌 [Haynes et al., "Commentary: Occurrence of Pharmaceutically Acceptable Anions and Cations in the Cambridge Structural Database," J. Pharmaceutical Sciences, vol. 94, no. 10 (2005)], 및 [Berge et al., "Pharmaceutical Salts," J. Pharmaceutical Sciences, vol. 66, no. 1 (1977)]을 참조하며, 이들은 본원에 참조로 포함된다.

[0599] 일부 실시양태에서, 그의 전자 전하에 따라, 본원에 기재된 항체-약물 접합체 (ADC), 링커, 페이로드 및 링커-페이로드는 1가 음이온성 반대이온 M_1^-을 함유할 수 있다. 임의의 적합한 음이온성 반대이온이 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 1가 음이온성 반대이온은 제약상 허용되는 1가 음이온성 반대이온이다. 특정 실시양태에서, 1가 음이온성 반대이온 M_1^-은 브로마이드, 클로라이드, 아이오다이드, 아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 벤조에이트, 메실레이트, 토실레이트, 트리플레이트, 포르메이트 등으로부터 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1가 음이온성 반대이온 M_1^-은 트리플루오로아세테이트 또는 포르메이트이다.

[0600] 본원에 사용된 용어 "치료 유효량" 또는 "치료 유효 용량"은 목적하는 치료 결과 (즉, 효소 또는 단백질 활성의 감소 또는 억제, 증상의 개선, 증상 또는 상태의 완화, 질환 진행의 지연, 종양 크기의 감소, 종양 성장의 억제, 전이의 예방)를 가져오는 본원에 기재된 화합물, 예를 들어 본원에 기재된 ADC 화합물 또는 조성물의 양을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 바람직하지 않은 부작용을 유도하거나 야기하지 않는다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 부작용을 유도하거나 야기하지만, 단지 환자의 상태의 관점에서 치료 임상의에 의해 허용되는 부작용만을 유도하거나 야기한다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 암 세포의 성장 또는 확산, 종양의 크기 또는 수, 및/또는 암의 수준, 병기, 진행 및/또는 중증도의 다른 척도의 검출가능한 사멸, 감소 및/또는 억제에 효과적이다. 상기 용어는 또한 표적 세포에서 특정한 반응, 예를 들어 세포 성장의 감소, 둔화 또는 억제를 유도할 용량에 적용된다. 치료 유효량은 먼저 저용량을 투여한 다음, 목적하는 효과가 달성될 때까지 그 용량을 점증적으로 증가시킴으로써 결정될 수 있다. 치료 유효량은 또한 의도된 적용 (시험관내 또는 생체내), 또는 치료될 대상체 및 질환 상태, 예를 들어 대상체의 체중 및 연령, 질환 상태의 중증도, 투여 방식 등에 따라 달라질 수 있으며, 이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 구체적 양은, 예를 들어 특정한 제약 조성물, 대상체 및 그의 연령 및 기존 건강 상태 또는 건강 상태에 대한 위

험, 후속될 투여 요법, 질환의 중증도, 다른 작용제와 조합되어 투여되는지 여부, 투여 시기, 투여되는 조직, 및 그가 운반되는 물리적 전달 시스템에 따라 달라질 수 있다. 암의 경우, ADC의 치료 유효량은 암 세포의 수를 감소시키고/거나, 종양 크기를 감소시키고/거나, 종양 전이를 억제 (예를 들어, 둔화 또는 정지)하고/거나, 종양 성장을 억제 (예를 들어, 둔화 또는 정지)하고/거나, 1종 이상의 증상을 완화시킬 수 있다.

[0601] 본원에 사용된 용어 "예방 유효량" 또는 "예방 유효 용량"은 목적하는 예방 결과를 달성하는 데 필요한 투여량 및 기간 동안 효과적인 본원에 개시된 화합물, 예를 들어 본원에 기재된 ADC 화합물 또는 조성물의 양을 지칭한다. 전형적으로, 예방 용량은 질환 전에 또는 질환의 초기 단계에서 대상체에서 사용되기 때문에, 예방 유효량은 치료 유효량 미만일 것이다. 일부 실시양태에서, 예방 유효량은 암과 연관된 증상을 포함한 질환 증상의 발병을 예방할 수 있다.

[0602] 용어 "p" 또는 "약물 로딩" 또는 "약물:항체 비" 또는 "약물-대-항체 비" 또는 "DAR"은 화학식 (1)의 ADC에서 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 수, 즉 약물 로딩, 또는 항체 또는 항원-결합 단편 (Ab)당 -L-D 모이어티의 수를 지칭한다. Mcl-1 억제제 약물 모이어티를 포함하는 ADC에서, "p"는 항체 또는 항원-결합 단편에 연결된 Mcl-1 억제제 화합물의 수를 지칭한다. 예를 들어, 2개의 Mcl-1 억제제 화합물이 항체 또는 항원-결합 단편에 연결되면, p = 2이다. 화학식 (1)의 ADC의 다중 카피를 포함하는 조성물에서, "평균 p"는 항체 또는 항원-결합 단편당 -L-D 모이어티의 평균 수를 지칭하며, 또한 "평균 약물 로딩"으로 지칭된다.

[0603] 항체-약물 접합체

[0604] 본 개시내용의 항체-약물 접합체 (ADC) 화합물은 항암 활성을 갖는 것을 포함한다. 특히, ADC 화합물은 약물 모이어티 (예를 들어, Mcl-1 억제제)에 접합된 (즉, 링커에 의해 공유 부착된) 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서 약물 모이어티는 항체 또는 항원-결합 단편에 접합되지 않은 경우에 세포독성 또는 세포증식억제 효과를 갖는다. 일부 실시양태에서, 약물 모이어티는 항체 또는 항원-결합 단편에 접합되지 않은 경우에 Mcl-1 및/또는 1종 이상의 상류 조정제 또는 그의 하류 표적의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다. 이론에 얽매이지는 않지만, Mcl-1 발현 및/또는 활성을 표적화함으로써, 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 ADC는 강력한 항암제를 제공할 수 있다. 또한, 이론에 얽매이지는 않지만, 종양 세포 또는 암에서의 발현과 연관된 항원에 결합하는 항체에 약물 모이어티를 접합시킴으로써, ADC는 단독으로 투여되는 경우에 약물 모이어티와 비교하여 개선된 활성, 보다 양호한 세포독성 특이성 및/또는 감소된 오프-타겟 사멸을 제공할 수 있다.

[0605] 따라서, 일부 실시양태에서, ADC의 성분은 (i) 단리된 항체 및 약물 모이어티에 의해 나타나는 1종 이상의 치료 특성을 보유하고/거나, (ii) 항체 또는 항원-결합 단편의 특이적 결합 특성을 유지하고/거나; (iii) 약물 로딩 및 약물-대-항체 비를 최적화하고/거나; (iv) 항체 또는 항원-결합 단편에의 안정한 부착을 통한 약물 모이어티의 전달, 예를 들어 세포내 전달을 가능하게 하고/거나; (v) 표적 부위로의 수송 또는 전달까지 무손상 접합체로서의 ADC 안정성을 보유하고/거나; (vi) 투여 전 또는 후에 ADC의 응집을 최소화하고/거나; (vii) 절단 또는 세포 환경에서의 다른 방출 메카니즘 후에 약물 모이어티의 치료 효과, 예를 들어 세포독성 효과를 가능하게 하고/거나; (viii) 단리된 항체 및 약물 모이어티의 것에 필적하거나 그보다 우수한 생체내 항암 치료 효능을 나타내고/거나; (ix) 약물 모이어티에 의한 오프-타겟 사멸을 최소화하고/거나; (x) 바람직한 약동학적 및 약역학적 특성, 제제화가능성 및 독성학적/면역학적 프로파일을 나타내도록 선택된다. 각각의 이들 특성은 치료 용도를 위한 개선된 ADC를 제공할 수 있다 (문헌 [Ab et al. (2015) Mol Cancer Ther. 14:1605-13]).

[0606] 본 개시내용의 ADC 화합물은 유효 용량의 세포독성제 또는 세포증식억제제를 암 세포 또는 종양 조직에 선택적으로 전달할 수 있다. 일부 실시양태에서, ADC의 세포독성 및/또는 세포증식억제 활성은 세포에서의 표적 항원 발현에 의존한다. 일부 실시양태에서, 개시된 ADC는 오프-타겟 사멸을 최소화하면서 표적 항원을 발현하는 암 세포를 사멸시키는 데 특히 효과적이다. 일부 실시양태에서, 개시된 ADC는 표적 항원을 발현하지 않는 암 세포에 대해 세포독성 및/또는 세포증식억제 효과를 나타내지 않는다.

[0607] 특정 측면에서, 암 세포를 표적화하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편 (Ab), Mcl-1 억제제 약물 모이어티 (D), 및 Ab를 D에 공유 부착시키는 링커 모이어티 (L)를 포함하는 ADC 화합물이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 예를 들어 높은 특이성 및 높은 친화도로 종양-연관 항원 (예를 들어, BCMA, CD33, PCAD 또는 HER2)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 결합시 표적 세포 내로, 예를 들어 세포 내의 분해 구획 내로 내재화된다. 일부 실시양태에서, ADC는 표적 세포에 결합시 내재화되고, 분해되고, Mcl-1 억제제 약물 모이어티를 방출하여 암 세포를 사멸시킨다. Mcl-1 억제제 약물 모이어티는 효소 작용, 가수분해, 산화 또는 임의의 다른 메카니즘에 의해 ADC의 항체 및/또는 링커 모이어티로부터 방출될 수 있다.

[0608] 예시적인 ADC는 하기 화학식 (1)을 갖는다:

[0609] $Ab-(L-D)_p$ (1)

[0610] 여기서, Ab = 항체 또는 항원-결합 단편, L = 링커 모이어티, D = Mcl-1 억제제 약물 모이어티 및 p = 항체 또는 항원-결합 단편당 Mcl-1 억제제 약물 모이어티의 수이다.

[0611] 항체

[0612] 화학식 (1)의 항체 또는 항원-결합 단편 (Ab)은 그의 범주 내에 암 세포 상의 표적 항원에 특이적으로 결합하는 임의의 항체 또는 항원-결합 단편을 포함한다. 항체 또는 항원-결합 단편은, 예를 들어 비아코어(BIAcore)® 분석에 의해 측정 시, ≤1 mM, ≤100 nM 또는 ≤10 nM 또는 이들 사이의 임의의 양의 해리 상수 (K_D)로 표적 항원에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, K_D는 1 pM 내지 500 pM이다. 일부 실시양태에서, K_D는 500 pM 내지 1 μM, 1 μM 내지 100 nM 또는 100 mM 내지 10 nM이다.

[0613] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함하는 4-쇄 항체 (이뮤노글로불린 또는 전장 또는 무손상 항체로도 지칭됨)이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 이뮤노글로불린의 항원-결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 표적 암 항원에 결합하고/거나 이뮤노글로불린의 적어도 하나의 기능을 제공하는 능력을 보유하는 이뮤노글로불린의 항원-결합 단편이다.

[0614] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 내재화 항체 또는 그의 내재화 항원-결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 내재화 항체 또는 그의 내재화 항원-결합 단편은 세포의 표면 상에 발현된 표적 암 항원에 결합하고, 결합시 세포에 진입한다. 일부 실시양태에서, ADC의 Mcl-1 억제제 약물 모이어티는, ADC가 표적 암 항원을 발현하는 세포에 진입하여 존재한 후 (즉, ADC가 내재화된 후), 예를 들어 절단에 의해, 항체 또는 항원-결합 단편의 분해에 의해 또는 임의의 다른 적합한 방출 메카니즘에 의해 ADC의 항체 또는 항원-결합 단편으로부터 방출된다.

[0615] 예시적인 항원 표적에 추가로, 본 개시내용의 예시적인 항-CD48 항체의 아미노산 서열이 표 C, D 및 E에 제시된다.

[0616] 본원에 제시된 바와 같이, 항체는 그의 명칭, 예를 들어 NY920에 의해 명명된다. 항체에 대해 변형이 이루어지는 경우에, 이들은 추가로 그 변형으로 지정된다. 예를 들어, 항체 내의 선택된 아미노산이 시스테인으로 변화된 경우에 (예를 들어, 링커-약물 모이어티에 대한 접합을 용이하게 하기 위해 항체 중쇄의 EU 넘버링에 따라 E152C, S375C), 이들은 "CysMab"로 지정되거나; 또는 항체가 EU 넘버링에 따라 IgG1 불변 영역의 Fc 침묵 돌연변이 D265A 및 P329A로 변형된 경우에, "DAPA"가 항체 명칭에 부가된다. 항체가 항체 약물 접합체에 사용되는 경우에, 이들은 하기 포맷을 사용하여 명명된다: 항체 지정-링커-페이로드.

[0617] 표 C. mAb CDR의 아미노산 서열

Ab	서열식별번호	IgG 쇄	아미노 산 서열
NY920 Cysmab	서열식별번호:1 (조합)	HCDR1	GFTFSSFAMS
	서열식별번호:2 (조합)	HCDR2	AISGFGGSTYYADSVKG
	서열식별번호:3 (조합)	HCDR3	QFWEDQPFYFDY
	서열식별번호:4 (카바트)	HCDR1	SFAMS
	서열식별번호:2 (카바트)	HCDR2	AISGFGGSTYYADSVKG
	서열식별번호:3 (카바트)	HCDR3	QFWEDQPFYFDY
	서열식별번호:5 (코티아)	HCDR1	GFTFSSF
	서열식별번호:6 (코티아)	HCDR2	SGFGGS
	서열식별번호:3 (코티아)	HCDR3	QFWEDQPFYFDY
	서열식별번호:7 (IMGT)	HCDR1	GFTFSSFA
	서열식별번호:8 (IMGT)	HCDR2	ISGFGGST
	서열식별번호:9 (IMGT)	HCDR3	ARQFWEDQPFYFDY
	서열식별번호:16 (조합)	LCDR1	RASQSISSYLN
	서열식별번호:17 (조합)	LCDR2	AASSLQS
	서열식별번호:18 (조합)	LCDR3	QQSYSTPLT
	서열식별번호:16 (카바트)	LCDR1	RASQSISSYLN
	서열식별번호:17 (카바트)	LCDR2	AASSLQS
	서열식별번호:18 (카바트)	LCDR3	QQSYSTPLT
	서열식별번호:19 (코티아)	LCDR1	SQSISSY
	서열식별번호:20 (코티아)	LCDR2	AAS
	서열식별번호:21 (코티아)	LCDR3	SYSTPL
	서열식별번호:22 (IMGT)	LCDR1	QSISSY
	서열식별번호:20 (IMGT)	LCDR2	AAS
	서열식별번호:18 (IMGT)	LCDR3	QQSYSTPLT
NY920 Cysmab DAPA	서열식별번호:1 (조합)	HCDR1	GFTFSSFAMS
	서열식별번호:2 (조합)	HCDR2	AISGFGGSTYYADSVKG
	서열식별번호:3 (조합)	HCDR3	QFWEDQPFYFDY
	서열식별번호:4 (카바트)	HCDR1	SFAMS
	서열식별번호:2 (카바트)	HCDR2	AISGFGGSTYYADSVKG

[0618]

[0619]

	서열식별번호:3 (카바트)	HCDR3	QFWEDQPFYFDY
	서열식별번호:5 (코티아)	HCDR1	GFTFSSF
	서열식별번호:6 (코티아)	HCDR2	SGFGGS
	서열식별번호:3 (코티아)	HCDR3	QFWEDQPFYFDY
	서열식별번호:7 (IMGT)	HCDR1	GFTFSSFA
	서열식별번호:8 (IMGT)	HCDR2	ISGFGGST
	서열식별번호:9 (IMGT)	HCDR3	ARQFWEDQPFYFDY
	서열식별번호:16 (조합)	LCDR1	RASQSISSYLN
	서열식별번호:17 (조합)	LCDR2	AASSLQS
	서열식별번호:18 (조합)	LCDR3	QQSYSTPLT
	서열식별번호:16 (카바트)	LCDR1	RASQSISSYLN
	서열식별번호:17 (카바트)	LCDR2	AASSLQS
	서열식별번호:18 (카바트)	LCDR3	QQSYSTPLT
	서열식별번호:19 (코티아)	LCDR1	SQSISSY
	서열식별번호:20 (코티아)	LCDR2	AAS
	서열식별번호:21 (코티아)	LCDR3	SYSTPL
	서열식별번호:22 (IMGT)	LCDR1	QSISSY
	서열식별번호:20 (IMGT)	LCDR2	AAS
	서열식별번호:18 (IMGT)	LCDR3	QQSYSTPLT
NY938 Cysmab	서열식별번호:27 (조합)	HCDR1	GYTFTEYTMH
	서열식별번호:28 (조합)	HCDR2	GINPDTGDTSYNQKFTG
	서열식별번호:29 (조합)	HCDR3	AQFWTTPRFAY
	서열식별번호:30 (카바트)	HCDR1	EYTMH
	서열식별번호:28 (카바트)	HCDR2	GINPDTGDTSYNQKFTG
	서열식별번호:29 (카바트)	HCDR3	AQFWTTPRFAY
	서열식별번호:31 (코티아)	HCDR1	GYTFTEY
	서열식별번호:32 (코티아)	HCDR2	NPDTGD
	서열식별번호:29 (코티아)	HCDR3	AQFWTTPRFAY
	서열식별번호:33 (IMGT)	HCDR1	GYTFTEYT
	서열식별번호:34 (IMGT)	HCDR2	INPDTGDT

	서열식별번호:35 (IMGT)	HCDR3	ARAQFWTTPRFAY
	서열식별번호:42 (조합)	LCDR1	KASQDVGTAVA
	서열식별번호:43 (조합)	LCDR2	WASTRHT
	서열식별번호:44 (조합)	LCDR3	QQYSTYPIT
	서열식별번호:42 (카바트)	LCDR1	KASQDVGTAVA
	서열식별번호:43 (카바트)	LCDR2	WASTRHT
	서열식별번호:44 (카바트)	LCDR3	QQYSTYPIT
	서열식별번호:45 (코티아)	LCDR1	SQDVGTA
	서열식별번호:46 (코티아)	LCDR2	WAS
	서열식별번호:47 (코티아)	LCDR3	YSTYPI
	서열식별번호:48 (IMGT)	LCDR1	QDVGTA
	서열식별번호:46 (IMGT)	LCDR2	WAS
	서열식별번호:44 (IMGT)	LCDR3	QQYSTYPIT
NY938 Cysmab DAPA	서열식별번호:27 (조합)	HCDR1	GYTFTEYTMH
	서열식별번호:28 (조합)	HCDR2	GINPDTGDTSYNQKFTG
	서열식별번호:29 (조합)	HCDR3	AQFWTTPRFAY
	서열식별번호:30 (카바트)	HCDR1	EYTMH
	서열식별번호:28 (카바트)	HCDR2	GINPDTGDTSYNQKFTG
	서열식별번호:29 (카바트)	HCDR3	AQFWTTPRFAY
	서열식별번호:31 (코티아)	HCDR1	GYTFTEY
	서열식별번호:32 (코티아)	HCDR2	NPDTGD
	서열식별번호:29 (코티아)	HCDR3	AQFWTTPRFAY
	서열식별번호:33 (IMGT)	HCDR1	GYTFTEYT
	서열식별번호:34 (IMGT)	HCDR2	INPDTGDT
	서열식별번호:35 (IMGT)	HCDR3	ARAQFWTTPRFAY
	서열식별번호:42 (조합)	LCDR1	KASQDVGTAVA
	서열식별번호:43 (조합)	LCDR2	WASTRHT
	서열식별번호:44 (조합)	LCDR3	QQYSTYPIT
	서열식별번호:42 (카바트)	LCDR1	KASQDVGTAVA

[0620]

	서열식별번호:43 (카바트)	LCDR2	WASTRHT
	서열식별번호:44 (카바트)	LCDR3	QQYSTYPIT
	서열식별번호:45 (코티아)	LCDR1	SQDVGTA
	서열식별번호:46 (코티아)	LCDR2	WAS
	서열식별번호:47 (코티아)	LCDR3	YSTYPI
	서열식별번호:48 (IMGT)	LCDR1	QDVGTA
	서열식별번호:46 (IMGT)	LCDR2	WAS
	서열식별번호:44 (IMGT)	LCDR3	QQYSTYPIT

[0621]

[0622] 표 D. mAb 가변 영역의 아미노산 서열 및 핵산 서열

Ab	서열식별번호	IgG 쇄	아미노 산 서열
NY920 Cysmab	서열식별번호:10	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS FAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGFGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARQFWEDQPFYFDYWGQGTLVTVSS
	서열식별번호:11	DNA VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGGGGTGG ACTGGTGCAGCCCGGAGGTTCCCTGCGGT TGTCTTGTGCCGCCTCGGGATTCACCTTCT CGTCCTTCGCGATGAGCTGGGTCCGCCAA GCTCCTGGAAAAGGGCTCGAATGGGTGTC CGCGATCAGCGGATTTGGCGGCTCCACCTA CTACGCCGATTCAGTGAAGGGCCGGTTCAC CATCTCACGGGACAACAGCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGA GGACACCGCAGTGTACTACTGCGCGAGAC AGTTCTGGGAGGACCAGCCGTTCTACTTCG ACTACTGGGGACAGGGGACCCTCGTGACT GTCTCCTCC
	서열식별번호:23	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK
	서열식별번호:24	DNA VL	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCG CTGAGCGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGAC CATTACCTGTCGGGCCAGCCAGTCGATCTC CTCCTACCTTAACTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGCACCGAAACTGCTGATCTACGC CGCGTCCTCCTTGCAATCCGGAGTGCCCTC AAGGTTCTCCGGGTCGGGTTCTGGCACTGA CTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCC CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTCATACTCCACCCCTCTGACATTCGGCCA AGGGACCAAGGTCGAAATCAAG
NY920 Cysmab DAPA	서열식별번호:10	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS FAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGFGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARQFWEDQPFYFDYWGQGTLVTVSS
	서열식별번호:11	DNA VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGGGGTGG ACTGGTGCAGCCCGGAGGTTCCCTGCGGT TGTCTTGTGCCGCCTCGGGATTCACCTTCT CGTCCTTCGCGATGAGCTGGGTCCGCCAA GCTCCTGGAAAAGGGCTCGAATGGGTGTC CGCGATCAGCGGATTTGGCGGCTCCACCTA CTACGCCGATTCAGTGAAGGGCCGGTTCAC CATCTCACGGGACAACAGCAAGAACACGCT

[0623]

			GTATCTGCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGA GGACACCGCAGTGTACTACTGCGCGAGAC AGTTCTGGGAGGACCAGCCGTTCTACTTCG ACTACTGGGGACAGGGGACCCTCGTGACT GTCTCCTCC
	서열식별 번호:23	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK
	서열식별 번호:24	DNA VL	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCG CTGAGCGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGAC CATTACCTGTCGGGCCAGCCAGTCGATCTC CTCCTACCTTAACTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGCACCGAAACTGCTGATCTACGC CGCGTCCTCCTTGCAATCCGGAGTGCCCTC AAGGTTCTCCGGGTCGGGTTCTGGCACTGA CTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCC CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTCATACTCCACCCCTCTGACATTCGGCCA AGGGACCAAGGTCGAAATCAAG
NY938 Cysmab	서열식별 번호:36	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTE YTMHWVRQAPGQGLEWMGGINPDTGDTSY NQKFTGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCARAQFWTTPRFAYWGQGTLVTVSS
	서열식별 번호:37	DNA VH	CAAGTGCAGCTCGTGCAGTCCGGAGCGGA AGTGAAAAAGCCCGGAGCCTCAGTGAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCGGGGTACACCTTCAC CGAGTACACTATGCATTGGGTCCGCCAAGC TCCTGGTCAAGGCCTCGAATGGATGGGCG GCATCAATCCCGACACCGGCGACACCAGCT ATAACCAGAAGTTCACCGGACGCGCCACTC TGACTGTCGATAAGAGCACAAGCACCGCCT ACATGGAACTGTCGTCCTTGCGGTCCGAGG ATACCGCCGTGTACTACTGCGCGAGAGCG CAGTTTTGGACTACCCCGCGGTTCGCCTAC TGGGGACAGGGCACTCTCGTGACTGTGTCA TCG
	서열식별 번호:49	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGT AVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYST YPITFGQGTKLEIK
	서열식별 번호:50	DNA VL	GACATCCAAATGACCCAGAGCCCTTCGAGC CTGTCAGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGAC CATTACTTGCAAAGCCAGCCAGGACGTGGG AACTGCAGTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGTCCCCAAGCTCCTGATCTACTG GGCTTCCACCCGGCACACTGGCGTGCCGT CAAGGTTTTCGGGATCGGGTTCCGGGACTG ATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTCCAACC

[0624]

[0625]

			CGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGCA GTACTCCACCTACCCGATCACATTCGGACA GGGCACCAAGCTCGAAATCAAG
NY938 Cysmab DAPA	서열식별 번호:36	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTE YTMHWVRQAPGQGLEWMGGINPDTGDTSY NQKFTGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCARAQFWTTPRFAYWGQGTLVTVSS
	서열식별 번호:37	DNA VH	CAAGTGCAGCTCGTGCAGTCCGGAGCGGA AGTGAAAAAGCCCGGAGCCTCAGTGAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCGGGGTACACCTTCAC CGAGTACACTATGCATTGGGTCCGCCAAGC TCCTGGTCAAGGCCTCGAATGGATGGGCG GCATCAATCCCGACACCGGCGACACCAGCT ATAACCAGAAGTTCACCGGACGCGCCACTC TGACTGTCGATAAGAGCACAAGCACCGCCT ACATGGAACTGTCGTCCTTGCGGTCCGAGG ATACCGCCGTGTACTACTGCGCGAGAGCG CAGTTTTGGACTACCCCGCGGTTCGCCTAC TGGGGACAGGGCACTCTCGTGACTGTGTCA TCG
	서열식별 번호:49	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGT AVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYST YPITFGQGTKLEIK
	서열식별 번호:50	DNA VL	GACATCCAAATGACCCAGAGCCCTTCGAGC CTGTCAGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGAC CATTACTTGCAAAGCCAGCCAGGACGTGGG AACTGCAGTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGTCCCCAAGCTCCTGATCTACTG GGCTTCCACCCGGCACACTGGCGTGCCGT CAAGGTTTTCGGGATCGGGTTCCGGGACTG ATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTCCAACC CGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGCA GTACTCCACCTACCCGATCACATTCGGACA GGGCACCAAGCTCGAAATCAAG

[0626] 표 E. 전장 mAb IgG 쇄의 아미노산 및 핵산 서열

Ab	서열식별번호	IgG 쇄	아미노 산 서열
NY920	서열식별번호:68	중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS FAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGFGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARQFWEDQPFYFDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
	서열식별번호:69	DNA 중쇄	GAGGTCCAATTGCTGGAATCTGGCGGAGGACTGGTT CAGCCTGGTGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCC AGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTTTGCCATGTCCTGG GTTCGACAGGCCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGT GTCCGCTATCTCTGGCTTTGGCGGCAGCACATATTA CGCCGATAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCC GGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACAGCCGTGTATTACT GCGCGCGTCAGTTCTGGGAAGATCAGCCCTTCTACT TCGACTACTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACAGTTA GCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCC CTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCAC AGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCT GCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGG TGACAGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGA CAAGACCCACACATGCCCCCCCTGCCCGGCGCCAG AGCTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCC CCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACC CCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA CGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCC AGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGT GTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGG CCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGG CCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC CTGCCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCC AGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCAGTGC TGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGC TGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC

[0627]

[0628]

			GTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCA CAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCTTAAGCCC CGGCAAG
	서열식별 번호:25	경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	서열식별 번호:26	DNA 경쇄	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCG CTGAGCGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGAC CATTACCTGTCGGGCCAGCCAGTCGATCTC CTCCTACCTTAACTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGCACCGAAACTGCTGATCTACGC CGCGTCCTCCTTGCAATCCGGAGTGCCCTC AAGGTTCTCCGGGTCGGGTTCTGGCACTGA CTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCC CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTCATACTCCACCCCTCTGACATTCGGCCA AGGGACCAAGGTCGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCC CAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCG CCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCT ACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCA AGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCAC CAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAG CTTCAACAGGGGCGAGTGC
NY920 Cysmab	서열식별 번호:12	중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS FAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGFGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARQFWEDQPFYFDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
	서열식별 번호:13	DNA 중쇄	GAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGGGGTGG ACTGGTGCAGCCCGGAGGTTCCCTGCGGT

[0629]

			TGTCTTGTGCCGCCTCGGGATTCACCTTCT CGTCCTTCGCGATGAGCTGGGTCCGCCAA GCTCCTGGAAAAGGGCTCGAATGGGTGTC CGCGATCAGCGGATTTGGCGGCTCCACCTA CTACGCCGATTCAGTGAAGGGCCGGTTCAC CATCTCACGGGACAACAGCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGA GGACACCGCAGTGTACTACTGCGCGAGAC AGTTCTGGGAGGACCAGCCGTTCTACTTCG ACTACTGGGGACAGGGGACCCTCGTGACT GTCTCCTCCGCCTCCACTAAGGGCCCATCC GTGTTCCCTCTGGCCCCTTCCAGCAAGTCC ACCTCTGGCGGCACCGCCGCTCTGGGCTG CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCTGTCCCGT GACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGA CCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTG CTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCC TCCGTCGTGACCGTGCCCTCCAGCTCTCTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAG CGGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGAC CCACACCTGTCCTCCCTGCCCTGCCCCTGA GCTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTT CCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGAT CTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGG TGGTGGACGTGTCCCACGAGGATCCCGAA GTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTG GAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAG AGAGGAACAGTACAACTCCACCTACCGGGT GGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCA AAGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCAA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCC AGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACACTG CCTCCCAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAA CCAAGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAGGG CTTCTACCCCTGCGATATCGCCGTGGAGTG GGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACT ACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCG ACGGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGA CCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGC AACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAG GCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCC CTGTCCCTGAGCCCCGGCAAG
	서열식별 번호:25	경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG

			NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	서열식별 번호:26	DNA 경쇄	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCG CTGAGCGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGAC CATTACCTGTCGGGCCAGCCAGTCGATCTC CTCCTACCTTAACTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGCACCGAAACTGCTGATCTACGC CGCGTCCTCCTTGCAATCCGGAGTGCCCTC AAGGTTCTCCGGGTCGGGTTCTGGCACTGA CTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCC CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTCATACTCCACCCCTCTGACATTCGGCCA AGGGACCAAGGTCGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCC CAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCG CCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCT ACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCA AGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCAC CAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAG CTTCAACAGGGGCGAGTGC
NY920 Cysmab DAPA	서열식별 번호:14	중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS FAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGFGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARQFWEDQPFYFDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
	서열식별 번호:15	DNA 중쇄	GAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGGGGTGG ACTGGTGCAGCCCGGAGGTTCCCTGCGGT TGTCTTGTGCCGCCTCGGGATTCACCTTCT CGTCCTTCGCGATGAGCTGGGTCCGCCAA GCTCCTGGAAAAGGGCTCGAATGGGTGTC CGCGATCAGCGGATTTGGCGGCTCCACCTA CTACGCCGATTCAGTGAAGGGCCGGTTCAC CATCTCACGGGACAACAGCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGA GGACACCGCAGTGTACTACTGCGCGAGAC

[0630]

[0631]

			AGTTCTGGGAGGACCAGCCGTTCTACTTCG ACTACTGGGGACAGGGGACCCTCGTGACT GTCTCCTCCGCCTCCACTAAGGGCCCTAGC GTGTTCCCACTGGCGCCTTCCTCGAAATCG ACTAGCGGGGGTACCGCCGCTCTGGGATG CTTGGTGAAAGACTACTTTCCGTGTCCGGT GACCGTGAGCTGGAACTCCGGGGCACTCA CCTCCGGTGTGCATACTTTCCCTGCTGTCT TGCAGTCCTCGGGCCTGTACAGCCTGTCCT CCGTGGTGACCGTGCCTTCGTCGTCCCTG GGAACCCAGACGTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCGAGCAACACCAAAGTCGATAAG AGAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGATAAGAC CCACACTTGTCCGCCTTGTCCTGCCCCTGA GCTTCTGGGTGGCCCATCGGTGTTTCTGTT TCCCCCGAAGCCCAAAGACACCCTGATGAT CTCGCGCACTCCGGAGGTCACTTGCGTGG TCGTGGCGGTGTCCCACGAGGACCCAGAA GTGAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGAGTG GAAGTCCACAACGCGAAAACTAAGCCCCG GGAGGAACAATACAACTCCACCTACCGCGT CGTGTCCGTGCTCACTGTGCTGCACCAGGA TTGGCTGAACGGTAAAGAGTACAAGTGTAA GGTGTCGAACAAAGCCCTCGCCGCCCCTAT CGAAAAGACTATTTCGAAAGCTAAGGGCCA GCCGCGAGAACCCCAAGTGTATACCCTGCC CCCTTCACGGGAAGAGATGACTAAGAATCA GGTGTCGCTCACCTGTCTGGTGAAGGGATT TTATCCCTGCGACATTGCCGTGGAGTGGGA ATCGAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAA GACCACTCCGCCGGTGCTTGACAGCGACG GTTCGTTCTTCCTCTACTCTAAGCTCACCGT GGACAAGTCACGGTGGCAACAGGGCAACG TGTTCTCGTGCTCTGTGATGCACGAAGCTC TCCACAACCATTACACCCAGAAGTCCCTCA GCCTCAGCCCGGGGAAG
	서열식별 번호:25	경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	서열식별 번호:26	DNA 경쇄	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCG CTGAGCGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGAC CATTACCTGTCGGGCCAGCCAGTCGATCTC CTCCTACCTTAACTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGCACCGAAACTGCTGATCTACGC CGCGTCCTCCTTGCAATCCGGAGTGCCCTC

			AAGGTTCTCCGGGTCGGGTTCTGGCACTGA CTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCC CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTCATACTCCACCCCTCTGACATTCGGCCA AGGGACCAAGGTCGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCC CAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCG CCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCT ACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCA AGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCAC CAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAG CTTCAACAGGGGCGAGTGC
NY938	서열식별 번호:70	중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTE YTMHWVRQAPGQGLEWMGGINPDTGDTSY NQKFTGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCARAQFWTTPRFAYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
	서열식별 번호:67	DNA 중쇄	CAGGTCCAATTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAA GAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGTAAAG CCAGCGGCTACACCTTTACCGAGTACACCATGCACT GGGTCCGACAGGCTCCAGGACAAGGACTCGAGTGG ATGGGCGGCATCAATCCTGATACCGGCGACACCAG CTACAACCAGAAGTTCACAGGCAGAGCCACACTGAC CGTGGACAAGAGCACAAGCACCGCCTACATGGAACT GAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATT ATTGCGCGCGTGCCCAGTTTTGGACCACACCTAGAT TTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTA GCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCC CTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCAC AGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCT GCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGG TGACAGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGA CAAGACCCACACATGCCCCCCCTGCCCGGCGCCAG AGCTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCC CCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACC

[0632]

[0633]

			CCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA CGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCC AGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGT GTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGG CCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGG CCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC CTGCCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCC AGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCAGTGC TGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGC TGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCA CAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCTTAAGCCC CGGCAAG
	서열식별 번호:51	경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGT AVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYST YPITFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	서열식별 번호:52	DNA 경쇄	GACATCCAAATGACCCAGAGCCCTTCGAGC CTGTCAGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGAC CATTACTTGCAAAGCCAGCCAGGACGTGGG AACTGCAGTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGTCCCCAAGCTCCTGATCTACTG GGCTTCCACCCGGCACACTGGCGTGCCGT CAAGGTTTTCGGGATCGGGTTCCGGGACTG ATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTCCAACC CGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGCA GTACTCCACCTACCCGATCACATTCGGACA GGGCACCAAGCTCGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCC CAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCG CCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCT ACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCA AGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCAC CAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAG CTTCAACAGGGGCGAGTGC
NY938 Cysmab	서열식별 번호:38	중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTE YTMHWVRQAPGQGLEWMGGINPDTGDTSY NQKFTGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCARAQFWTTPRFAYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY

			SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
	서열식별 번호:39	DNA 중쇄	CAAGTGCAGCTCGTGCAGTCCGGAGCGGA AGTGAAAAAGCCCGGAGCCTCAGTGAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCGGGGTACACCTTCAC CGAGTACACTATGCATTGGGTCCGCCAAGC TCCTGGTCAAGGCCTCGAATGGATGGGCG GCATCAATCCCGACACCGGCGACACCAGCT ATAACCAGAAGTTCACCGGACGCGCCACTC TGACTGTCGATAAGAGCACAAGCACCGCCT ACATGGAACTGTCGTCCTTGCGGTCCGAGG ATACCGCCGTGTACTACTGCGCGAGAGCG CAGTTTTGGACTACCCCGCGGTTCGCCTAC TGGGGACAGGGCACTCTCGTGACTGTGTCA TCGGCGTCCACCAAGGGCCCATCCGTGTTC CCTCTGGCCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCT GGCGGCACCGCCGCTCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCTGTCCCGTGACCGT GTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACCTCCG GCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGT CCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTCG TGACCGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACCC AGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGC CCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTG GAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACC TGTCCTCCCTGCCCTGCCCCTGAGCTGCTG GGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCTCCA AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGG ACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGA CGTGTCCCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTT CAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGC ACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAA CAGTACAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCC GTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCT GAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTC CAACAAGGCCCTGCCTGCCCCAATCGAAAA GACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCC GCGAGCCCCAAGTGTACACACTGCCTCCCA GCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTG TCCCTGACCTGCCTCGTGAAGGGCTTCTAC CCCTGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTC CAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGA

[0634]

			CCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTG GACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGT GTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCT GCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC CCTGAGCCCCGGCAAG
	서열식별 번호:51	경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGT AVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYST YPITFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	서열식별 번호:52	DNA 경쇄	GACATCCAAATGACCCAGAGCCCTTCGAGC CTGTCAGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGAC CATTACTTGCAAAGCCAGCCAGGACGTGGG AACTGCAGTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGTCCCCAAGCTCCTGATCTACTG GGCTTCCACCCGGCACACTGGCGTGCCGT CAAGGTTTTCGGGATCGGGTTCCGGGACTG ATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTCCAACC CGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGCA GTACTCCACCTACCCGATCACATTCGGACA GGGCACCAAGCTCGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCC CAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCG CCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCT ACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCA AGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCAC CAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAG CTTCAACAGGGGCGAGTGC
NY938 Cysmab DAPA	서열식별 번호:40	중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTE YTMHWVRQAPGQGLEWMGGINPDTGDTSY NQKFTGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCARAQFWTTPRFAYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD

[0635]

			SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
	서열식별 번호:41	DNA 중쇄	CAAGTGCAGCTCGTGCAGTCCGGAGCGGA AGTGAAAAAGCCCGGAGCCTCAGTGAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCGGGGTACACCTTCAC CGAGTACACTATGCATTGGGTCCGCCAAGC TCCTGGTCAAGGCCTCGAATGGATGGGCG GCATCAATCCCGACACCGGCGACACCAGCT ATAACCAGAAGTTCACCGGACGCGCCACTC TGACTGTCGATAAGAGCACAAGCACCGCCT ACATGGAACTGTCGTCCTTGCGGTCCGAGG ATACCGCCGTGTACTACTGCGCGAGAGCG CAGTTTTGGACTACCCCGCGGTTCGCCTAC TGGGGACAGGGCACTCTCGTGACTGTGTCA TCGGCGTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTT CCCACTGGCGCCTTCCTCGAAATCGACTAG CGGGGGTACCGCCGCTCTGGGATGCTTGG TGAAAGACTACTTTCCGTGTCCGGTGACCG TGAGCTGGAACTCCGGGGCACTCACCTCC GGTGTGCATACTTTCCCTGCTGTCTTGCAG TCCTCGGGCCTGTACAGCCTGTCCTCCGTG GTGACCGTGCCTTCGTCGTCCCTGGGAACC CAGACGTACATCTGCAACGTGAACCACAAG CCGAGCAACACCAAAGTCGATAAGAGAGTC GAGCCCAAGAGCTGCGATAAGACCCACACT TGTCCGCCTTGTCCTGCCCCTGAGCTTCTG GGTGGCCCATCGGTGTTTCTGTTTCCCCCG AAGCCCAAAGACACCCTGATGATCTCGCGC ACTCCGGAGGTCACTTGCGTGGTCGTGGC GGTGTCCCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTT TAACTGGTACGTGGACGGAGTGGAAGTCCA CAACGCGAAAACTAAGCCCCGGGAGGAAC AATACAACTCCACCTACCGCGTCGTGTCCG TGCTCACTGTGCTGCACCAGGATTGGCTGA ACGGTAAAGAGTACAAGTGTAAGGTGTCGA ACAAAGCCCTCGCCGCCCCTATCGAAAAGA CTATTTCGAAAGCTAAGGGCCAGCCGCGAG AACCCCAAGTGTATACCCTGCCCCCTTCAC GGGAAGAGATGACTAAGAATCAGGTGTCGC TCACCTGTCTGGTGAAGGGATTTTATCCCT GCGACATTGCCGTGGAGTGGGAATCGAAC GGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACT CCGCCGGTGCTTGACAGCGACGGTTCGTT CTTCCTCTACTCTAAGCTCACCGTGGACAA GTCACGGTGGCAACAGGGCAACGTGTTCTC GTGCTCTGTGATGCACGAAGCTCTCCACAA CCATTACACCCAGAAGTCCCTCAGCCTCAG CCCGGGGAAG

[0636]

	서열식별번호:51	경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGT AVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYST YPITFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	서열식별번호:52	DNA 경쇄	GACATCCAAATGACCCAGAGCCCTTCGAGC CTGTCAGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGAC CATTACTTGCAAAGCCAGCCAGGACGTGGG AACTGCAGTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCC AGGAAAGGTCCCCAAGCTCCTGATCTACTG GGCTTCCACCCGGCACACTGGCGTGCCGT CAAGGTTTTCGGGATCGGGTTCCGGGACTG ATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTCCAACC CGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGCA GTACTCCACCTACCCGATCACATTCGGACA GGGCACCAAGCTCGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCC CAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCG CCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCT ACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCA AGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCAC CAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAG CTTCAACAGGGGCGAGTGC

[0637]

[0638] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 ADC의 항체 또는 항원-결합 단편은 상기 표에 열거된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 임의의 세트 또는 상기 표에 열거된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 임의의 세트로부터의 6개의 CDR의 세트를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 ADC의 항체 또는 항원-결합 단편은, ADC가 그의 표적 암 항원에 결합하는 능력 (예를 들어, $1x10^{-8}$ M 미만의 K_D)을 보유하고 본원에 개시된 ADC의 하나 이상의 기능적 특성 (예를 들어, 항원 표적, 예를 들어 종양 또는 다른 암 세포 상에 발현된 항원에 내재화하거나 결합하는 능력 등)을 보유하는 한, 상기 표에 열거된 서열에 대해 보존적으로 변형되고/거나 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0639] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 ADC의 항체 또는 항원-결합 단편은 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 예를 들어, 기재된 ADC의 항체 또는 항원-결합 단편은 인간 IgG 중쇄 불변 도메인 (예컨대 IgG1) 및 인간 카파 또는 람다 경쇄 불변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 기재된 ADC의 항체 또는 항원-결합 단편은 인간 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 갖는 인간 이뮤노글로불린 G 하위유형 1 (IgG1) 중쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0640] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 다음과 같은 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다: 서열식별번호: 1로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 2로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 3으로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 16으로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 17로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 18로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0641] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 다음과 같은 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다: 서열식별번호: 4로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 2로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 3으로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 16으로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 17로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 18로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0642] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 다음과 같은 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다: 서열식별번호: 5로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 6으로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 3으로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 19로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 20으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 21로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0643] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 다음과 같은 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다: 서열식별번호: 7로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 8로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2),

서열식별번호: 9로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 22로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 20으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 18로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0644] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 다음과 같은 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다: 서열식별번호: 27로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 28로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 29로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 42로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 43으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 44로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0645] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 다음과 같은 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다: 서열식별번호: 30로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 28로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 29로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 42로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 43으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 44로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0646] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 다음과 같은 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다: 서열식별번호: 31로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 32로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 29으로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 45로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 46으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 47로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0647] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 다음과 같은 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다: 서열식별번호: 33으로 이루어진 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열식별번호: 34로 이루어진 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열식별번호: 35로 이루어진 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열식별번호: 48로 이루어진 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열식별번호: 46으로 이루어진 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열식별번호: 44로 이루어진 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0648] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 10의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열식별번호: 23의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 개시된 서열에 대해 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 10에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 23에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖는다.

[0649] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 36의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열식별번호: 49의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 개시된 서열에 대해 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 36에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 49에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖는다.

[0650] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 12의 중쇄 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 12와 적어도 95% 동일한 서열, 및 서열식별번호: 25의 경쇄 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 25와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 12의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 25의 경쇄 아미노산 서열, 또는 개시된 서열과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 12와 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 25와 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 갖는다.

[0651] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 14의 중쇄 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 14에 대해 적어도 95% 동일한 서열 및 서열식별번호: 25의 경쇄 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 25에 대해 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 14의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 25의 경쇄 아미노산 서열, 또는 개시된 서열에 대해 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 14에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 25에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 갖는다.

[0652] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 38의 중쇄 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 38에 대해 적어도 95% 동일한 서열 및 서열식별번호: 51의 경쇄 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 51에 대해 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 38의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 51의 경쇄 아미노산 서열, 또는 개시된 서열에 대해 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 38에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 51에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 갖는다.

[0653] 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 40의 중쇄 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 40에 대해 적어도 95% 동일한 서열, 및 서열식별번호: 51의 경쇄 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 51에 대해 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 40의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 51의 경쇄 아미노산 서열, 또는 개시된 서열에 대해 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CD48 항체는 서열식별번호: 40에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 51에 대해 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 갖는다.

[0654] 2개 이상의 폴리펩티드 내의 잔기는 잔기가 폴리펩티드 구조에서 유사한 위치를 점유하는 경우에 "상응하는" 것으로 언급된다. 2개 이상의 폴리펩티드 내의 유사한 위치는 아미노산 서열 또는 구조적 유사성에 기초하여 폴리펩티드 서열을 정렬함으로써 결정될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 만족스러운 정렬을 생성하기 위해 각각의 서열에 갭을 도입하는 것이 필요할 수 있음을 이해한다.

[0655] 일부 실시양태에서, 아미노산 치환은 단일 잔기의 치환이다. 삽입은 통상적으로 대략 약 1 내지 약 20개 아미노산 잔기일 것이지만, 생물학적 기능이 유지되는 한 (예를 들어, 표적 항원에 대한 결합) 상당히 더 큰 삽입이 허용될 수 있다. 결실은 일반적으로 약 1 내지 약 20개 아미노산 잔기의 범위이지만, 일부 경우에는 결실이 훨씬 더 클 수 있다. 치환, 결실, 삽입 또는 그의 임의의 조합이 최종 유도체 또는 변이체에 도달하기 위해 사용될 수 있다. 일반적으로, 이들 변화는 분자의 변경, 특히 항원 결합 단백질의 면역원성 및 특이성을 최소화하기 위해 몇몇 아미노산에 대해 수행된다. 그러나, 특정 상황에서는 보다 큰 변화가 허용될 수 있다. 보존적 치환은 하기 표 1에 도시된 차트에 따라 이루어질 수 있다.

[0656] 표 1

원래 잔기	예시적 치환
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

[0657]

[0658] 변이체 항체 서열이 ADC에 사용되는 일부 실시양태에서, 변이체는 전형적으로 동일한 정성적 생물학적 활성을 나타내고, 동일한 면역 반응을 도출할 것이지만, 변이체는 또한 필요에 따라 항원 결합 단백질의 특징을 변형시

키기 위해 선택될 수 있다. 대안적으로, 변이체는 항원 결합 단백질의 생물학적 활성이 변경되도록 설계될 수 있다. 예를 들어, 글리코실화 부위는 변경 또는 제거될 수 있다.

[0659] 본 발명의 면역접합체는, 예를 들어 항체의 특성을 개선시키기 위해, VH 및/또는 VL 내의 프레임워크 잔기에 대한 변형을 추가로 포함하는 변형된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 프레임워크 변형은 항체의 면역원성을 감소시키기 위해 이루어진다. 예를 들어, 한 접근법은 1개 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 배선 서열로 "역-돌연변이"시키는 것이다. 보다 구체적으로, 체세포 돌연변이가 일어난 항체는 이러한 항체가 유래된 배선 서열과는 상이한 프레임워크 잔기를 함유할 수 있다. 이러한 잔기는 항체 프레임워크 서열을 항체가 유래된 배선 서열과 비교함으로써 확인할 수 있다. 프레임워크 영역을 그의 배선 형상으로 되돌리기 위해, 예를 들어 부위-지정 돌연변이유발에 의해, 체세포 돌연변이가 배선 서열로 "역-돌연변이"될 수 있다. 이같은 "역-돌연변이"된 항체 또한 본 발명에 포괄되도록 의도된다.

[0660] 또 다른 유형의 프레임워크 변형은 프레임워크 영역 내의 또는 심지어 1개 이상의 CDR 영역 내의 1개 이상의 잔기를 돌연변이시켜 T-세포 에피토프를 제거함으로써 항체의 잠재적인 면역원성을 감소시키는 것을 수반한다. 이러한 접근법은 또한 "탈면역화"로도 지칭되며, 미국 특허 공개 번호 20030153043 (Carr et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0661] 프레임워크 또는 CDR 영역 내에서 이루어진 변형에 추가로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체는 전형적으로 항체의 하나 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 항원-의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 변경시키기 위해 Fc 영역 내에 변형을 포함하도록 조작될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체는 항체의 하나 이상의 기능적 특성을 다시 변경시키기 위해 화학적으로 변형될 수 있거나 (예를 들어, 하나 이상의 화학적 모이어티가 항체에 부착될 수 있음), 또는 그의 글리코실화가 변경되도록 변형될 수 있다. 이들 양태 각각이 하기에 추가로 상세히 기재된다.

[0662] 한 실시양태에서, CH1의 힌지 영역은 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경, 예를 들어 증가 또는 감소되도록 변형된다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,677,425 (Bodmer et al.)에 추가로 기재되어 있다. CH1의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나, 항체의 안정성을 증가 또는 감소시키도록 변경된다.

[0663] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 또는 항체 단편은 약물 모이어티에의 접합을 위한 부위로서 변형된 또는 조작된 아미노산 잔기, 예를 들어 1개 이상의 시스테인 잔기를 포함한다 (문헌 [Junutula JR, et al., Nat Biotechnol 2008, 26:925-932]). 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 위치에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하는 변형된 항체 또는 항체 단편을 제공한다. 시스테인 치환을 위한 부위는 항체 또는 항체 단편의 불변 영역 내에 있고, 따라서 다양한 항체 또는 항체 단편에 적용가능하고, 부위는 안정하고 균질한 접합체를 제공하도록 선택된다. 변형된 항체 또는 단편은 1, 2개 또는 그 초과의 시스테인 치환을 가질 수 있고, 이들 치환은 본원에 기재된 바와 같은 다른 변형 및 접합 방법과 조합되어 사용될 수 있다. 항체의 특정 위치에 시스테인을 삽입하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 [Lyons et al., (1990) Protein Eng., 3:703-708], WO 2011/005481, WO2014/124316, WO 2015/138615를 참조한다. 특정 실시양태에서, 변형된 항체는 항체의 중쇄의 위치 117, 119, 121, 124, 139, 152, 153, 155, 157, 164, 169, 171, 174, 189, 191, 195, 197, 205, 207, 246, 258, 269, 274, 286, 288, 290, 292, 293, 320, 322, 326, 333, 334, 335, 337, 344, 355, 360, 375, 382, 390, 392, 398, 400 및 422로부터 선택되는 그의 불변 영역 상에 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다. 일부 실시양태에서, 변형된 항체 또는 항체 단편은 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 107, 108, 109, 114, 129, 142, 143, 145, 152, 154, 156, 159, 161, 165, 168, 169, 170, 182, 183, 197, 199 및 203으로부터 선택되는 그의 불변 영역 상에 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 특정 실시양태에서, 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 그의 불변 영역 상에 2개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하며, 여기서 조합은 항체 중쇄의 위치 375, 항체 중쇄의 위치 152, 항체 중쇄의 위치 360 또는 항체 경쇄의 위치 107에서의 치환을 포함하고, 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다. 특정 실시양태에서, 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 그의 불변 영역 상에서 1개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 치환은 항체 중쇄의 위치 375, 항체 중쇄의 위치 152, 항체 중쇄의 위치 360, 항체 경쇄의 위치 107, 항체 경쇄의 위치 165 또는 항체 경쇄의 위치 159이고, 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링 되고, 경쇄는 카파 쇄이다. 특정한 실시양태에서, 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 그의 불변 영역 상에 2개의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하며, 여기서 조합은 항체 중쇄의 위치 375 및 항체 중쇄의 위치 152에서의 치환을 포함하고, 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다. 특정한 실시양

태에서, 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 항체 중쇄의 위치 360에서 1개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다. 다른 특정한 실시양태에서, 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 항체 경쇄의 위치 107에서 1개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 경쇄는 카파 쇄이다.

[0664] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체에 유용한 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, 항원 결합 단편)은 변형된 또는 조작된 항체, 예컨대 천연 서열의 적어도 1개의 아미노산 대신에 Pcl, 피롤리신, 펩티드 태그 (예컨대, S6, A1 및 ybbR 태그)를 포함한 1개 이상의 다른 반응성 아미노산 (시스테인 이외의 것) 및 비-천연 아미노산을 도입하여, 상보적 반응성을 갖는 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에의 접합을 위한 항체 또는 항원 결합 단편 상의 반응성 부위를 제공하도록 변형된 항체를 포함한다. 예를 들어, 항체 또는 항체 단편은 약물에의 접합을 위한 부위로서 Pcl 또는 피롤리신을 포함하도록 변형될 수 있다 (문헌 [W. Ou, et al., (2011) PNAS 108 (26), 10437-10442]; WO2014124258) 또는 비천연 아미노산 (문헌 [J.Y. Axup, et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 109 (2012), pp. 16101-16106]; 검토를 위해, 문헌 [C.C. Liu and P.G. Schultz (2010) Annu Rev Biochem 79, 413-444]; [C.H. Kim, et al., (2013) Curr Opin Chem Biol. 17, 412-419] 참조). 유사하게, 효소적 접합 방법을 위한 펩티드 태그를 항체 내로 도입할 수 있다 (문헌 [Strop P., et al., Chem Biol. 2013, 20(2):161-7]; [Rabuka D., Curr Opin Chem Biol. 2010 Dec;14(6):790-6]; [Rabuka D, et al., Nat Protoc. 2012, 7(6):1052-67]). 하나의 다른 예는 조효소 A 유사체의 접합을 위한 4'-포스포판테테이닐 트랜스퍼라제 (PPTase)의 사용이다 (WO2013184514, 및 문헌 Gruenewald et al., (2015) Bioconjugate Chem. 26 (12), 2554-62]). 이러한 변형 또는 조작된 항체를 페이로드 또는 링커-페이로드 조합물과 접합시키는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다.

[0665] 또 다른 실시양태에서, 항체의 생물학적 반감기를 감소시키기 위해 항체의 Fc 힌지 영역이 돌연변이된다. 보다 구체적으로, 항체가 천연 Fc-힌지 도메인 스타필로코실 단백질 A (SpA) 결합에 비해 손상된 SpA 결합을 갖도록 1개 이상의 아미노산 돌연변이가 Fc-힌지 단편의 CH2-CH3 도메인 계면 영역 내로 도입된다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,165,745 (Ward et al.)에서 더욱 상세하게 기재된다.

[0666] 또 다른 실시양태에서, Fc 영역이 적어도 1개의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 대체함으로써 변경되어 항체의 이펙터 기능을 변경시킨다. 예를 들어, 항체가 이펙터 리간드에 대해 변경된 친화도를 갖지만 모 항체의 항원-결합 능력은 보유하도록 1개 이상의 아미노산을 상이한 아미노산 잔기로 대체할 수 있다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근법은, 예를 들어 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260 (둘 다 Winter et al.).에 기재되어 있다.

[0667] 또 다른 실시양태에서, 아미노산 잔기로부터 선택되는 1개 이상의 아미노산은 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 감소된 또는 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 이러한 접근법은, 예를 들어 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 기재되어 있다.

[0668] 또 다른 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 잔기를 변경하여, 이에 따라 보체를 고정하는 항체의 능력을 변경한다. 이러한 접근법은, 예를 들어 PCT 공개 WO 94/29351 (Bodmer et al.)에 기재되어 있다. 동종이형 아미노산 잔기는 문헌 [Jefferis et al., MAbs. 1:332-338 (2009)]에 기재된 바와 같이, IgG1, IgG2 및 IgG3 하위부류의 중쇄의 불변 영역 뿐만 아니라 카파 이소형의 경쇄의 불변 영역을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0669] 일부 실시양태에서, 항체는 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 또는 보체-의존성 세포독성 (CDC)의 감소 또는 부재를 매개하는 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이들 돌연변이는 Fc 침묵, Fc 침묵 또는 Fc 침묵 돌연변이로 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, IgG1 불변 영역의 아미노산 잔기 L234 및 L235는 A234 및 A235 ("LALA"로도 공지됨)로 치환된다. 일부 실시양태에서, IgG1 불변 영역의 아미노산 잔기 N297은 A297 ("N297A"로도 공지됨)로 치환된다. 일부 실시양태에서, IgG1 불변 영역의 아미노산 잔기 D265 및 P329는 A265 및 A329 ("DAPA"로도 공지됨)로 치환된다. 다른 항체 Fc 침묵 돌연변이가 또한 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 침묵 돌연변이, 예를 들어 D265A, N297A 및 P329A ("DANAPA"로도 공지됨)가 조합되어 사용된다.

[0670] 또 다른 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 잔기를 변경하여, 이에 따라 보체를 고정하는 항체의 능력을 변경한다. 이러한 접근법은, 예를 들어 PCT 공개 WO 94/29351 (Bodmer et al.)에 기재되어 있다. 구체적 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 1개 이상의 아미노산은 1개 이상의 동종이형 아미노산 잔기에 의해 대체된다. 동종이형 아미노산 잔기는 또한 문헌 [Jefferis et al., MAbs. 1:332-338 (2009)]에 기재된 바와 같이, IgG1, IgG2 및 IgG3 하위부류의 중쇄의 불변 영역 뿐만 아니라 카파 이소형의 경쇄의 불변 영역을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0671] 또 다른 실시양태에서, 항체의 글리코실화가 변형된다. 예를 들어, 비-글리코실화 항체가 제조될 수 있다 (즉, 항체에 글리코실화가 결여됨). 글리코실화는, 예를 들어 "항원"에 대한 항체의 친화도를 증가시키도록 변경될 수 있다. 이러한 탄수화물 변형은, 예를 들어 항체 서열 내의 1개 이상의 글리코실화 부위를 변경시킴으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 1개 이상의 가변 영역 프레임워크 글리코실화 부위를 제거하여 이 부위에서 글리코실화가 일어나지 않도록 하는 1개 이상의 아미노산 치환이 이루어질 수 있다. 이러한 비-글리코실화는 항원에 대한 항체의 친화도를 증가시킬 수 있다. 이러한 접근법은, 예를 들어 미국 특허 번호 5,714,350 및 6,350,861 (Co et al.)에 기재되어 있다.

[0672] 또 다른 실시양태에서, 항체는 그의 생물학적 반감기를 증가시키도록 변형된다. 다양한 접근법이 가능하다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,277,375 (Ward)에 기재된 바와 같이, 다음 돌연변이 중 하나 이상이 도입될 수 있다: T252L, T254S, T256F. 대안적으로, 생물학적 반감기를 증가시키기 위해, 항체는 미국 특허 번호 5,869,046 및 6,121,022 (Presta et al.)에 기재된 바와 같이, IgG의 Fc 영역의 CH2 도메인의 2개의 루프로부터 취해진 샐비지 수용체 결합 에피토프를 함유하도록 CH1 또는 CL 영역 내에서 변경될 수 있다.

[0673] 링커

[0674] 일부 실시양태에서, ADC 내의 링커는 치료상 유효하기에 충분한 방식으로 세포외에서 안정하다. 일부 실시양태에서, 링커는 세포 외부에서 안정하여, ADC가 세포외 조건에 존재할 때 (예를 들어, 세포 내로의 수송 또는 전달 전에) 무손상으로 유지된다. ADC와 관련하여 사용된 용어 "무손상"은 항체 또는 항원-결합 단편이 약물 모이어티 (예를 들어, Mcl-1 억제제)에 부착되어 유지되는 것을 의미한다.

[0675] 링커, 또는 링커를 포함하는 ADC와 관련하여 본원에 사용된 "안정한"은 ADC가 세포외 조건에 존재하는 경우에 ADC의 샘플에서 20%이하, 약 15%이하, 약 10%이하, 약 5%이하, 약 3%이하 또는 약 1%이하 (또는 그 사이의 임의의 백분율)의 링커가 절단되는 것 (또는 전체 ADC의 경우에는 달리 무손상이 아님)을 의미한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 링커 및/또는 ADC는 대안적 링커, 및/또는 대안적 링커 및/또는 Mcl-1 억제제 페이로드를 갖는 ADC와 비교하여 안정하다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 ADC는 약 48시간 초과, 60시간 초과, 약 72시간 초과, 약 84시간 초과 또는 약 96시간 초과 동안 무손상으로 유지될 수 있다.

[0676] 링커가 세포외에서 안정한지 여부는, 예를 들어 ADC를 혈장에 미리 결정된 기간 (예를 들어, 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48 또는 72시간) 동안 포함시킨 다음, 혈장에 존재하는 유리 약물 모이어티의 양을 정량화함으로써 결정될 수 있다. 안정성은 ADC 시간이 표적 암 세포에 국재화되게 하고 약물 모이어티의 조기 방출 (이는 정상 및 암 조직 둘 다를 무차별적으로 손상시킴으로써 ADC의 치료 지수를 낮출 수 있음)을 방지할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 표적 세포 외부에서 안정하고, 세포 내부에서 ADC로부터 약물 모이어티를 한번에 방출하여, 약물이 그의 표적에 결합할 수 있도록 한다. 따라서, 효과적인 링커는 (i) 항체 또는 항원-결합 단편의 특이적 결합 특성을 유지하고; (ii) 항체 또는 항원-결합 단편에 대한 안정한 부착을 통해 약물 모이어티의 전달, 예를 들어 세포내 전달을 가능하게 하고; (iii) ADC가 그의 표적 부위로 수송 또는 전달될 때까지 안정하고 무손상으로 유지되고; (iv) 절단 또는 대안적 방출 메카니즘 후에 약물 모이어티의 치료 효과, 예를 들어 세포독성 효과를 허용할 것이다.

[0677] 링커는 ADC의 물리-화학적 특성에 영향을 미칠 수 있다. 많은 세포독성제가 사실상 소수성이기 때문에, 이들을 추가의 소수성 모이어티를 갖는 항체에 연결시키는 것은 응집을 일으킬 수 있다. ADC 응집체는 불용성이고, 종종 항체 상으로의 달성가능한 약물 로딩을 제한하며, 이는 ADC의 효력에 부정적인 영향을 미칠 수 있다. 일반적으로, 생물제제의 단백질 응집체는 또한 증가된 면역원성과 연관되어 있다. 하기 나타낸 바와 같이, 본원에 개시된 링커는 낮은 응집 수준 및 바람직한 약물 로딩 수준을 갖는 ADC를 생성한다.

[0678] 링커는 "절단가능한" 또는 "비-절단가능한" 것일 수 있다 (문헌 [Ducry and Stump (2010) Bioconjugate Chem. 21:5-13]). 절단가능한 링커는 특정 환경 인자에 적용될 때, 예를 들어 표적 세포 내로 내재화될 때 약물 모이어티 (예를 들어, Mcl-1 억제제)를 방출하도록 설계되는 반면, 비-절단가능한 링커는 일반적으로 항체 또는 항원-결합 단편 자체의 분해에 의존한다.

[0679] 본원에 사용된 용어 "알킬"은 불포화를 함유하지 않는, 탄소 및 수소 원자만으로 이루어진 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "C_1-C_6알킬"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 불포화를 함유하지 않고, 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖고, 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착되는 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼을 지칭한다. "C_1-C_6알킬" 기의 비제한적 예는 메틸 (C_1알킬), 에틸 (C_2알킬), 1-메

틸에틸 (C_3알킬), n-프로필 (C_3알킬), 이소프로필 (C_3알킬), n-부틸 (C_4알킬), 이소부틸 (C_4알킬), sec-부틸 (C_4알킬), tert-부틸 (C_4알킬), n-펜틸 (C_5알킬), 이소펜틸 (C_5알킬), 네오펜틸 (C_5알킬) 및 헥실 (C_6알킬)을 포함한다

[0680] 본원에 사용된 용어 "알케닐"은 적어도 1개의 이중 결합을 함유하는, 탄소 및 수소 원자만으로 이루어진 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼 기를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "C_2-C_6알케닐"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 1개 이상의 이중 결합을 함유하고, 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖고, 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착되는 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼 기를 지칭한다. "C_2-C_6알케닐" 기의 비제한적 예는 에테닐 (C_2알케닐), 프로프-1-에닐 (C_3알케닐), 부트-1-에닐 (C_4알케닐), 펜트-1-에닐 (C_5알케닐), 펜트-4-에닐 (C_5알케닐), 펜타-1,4-디에닐 (C_5알케닐), 헥사-1-에닐 (C_6알케닐), 헥사-2-에닐 (C_6알케닐), 헥사-3-에닐 (C_6알케닐), 헥사-1,4-디에닐 (C_6알케닐), 헥사-1,5-디에닐 (C_6알케닐) 및 헥사-2,4-디에닐 (C_6알케닐)을 포함한다. 본원에 사용된 용어 "C_2-C_3알케닐"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 1개 이상의 이중 결합을 함유하고, 2 내지 3개의 탄소 원자를 갖고, 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착된 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼 기를 지칭한다. "C_2-C_3알케닐" 기의 비제한적 예는 에테닐 (C_2알케닐) 및 프로프-1-에닐 (C_3알케닐)을 포함한다.

[0681] 본원에 사용된 용어 "알킬렌"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 불포화를 함유하지 않는 2가 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "C_1-C_6알킬렌"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 불포화를 함유하지 않으며, 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 2가 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼을 지칭한다. "C_1-C_6알킬렌" 기의 비제한적 예는 메틸렌 (C_1알킬렌), 에틸렌 (C_2알킬렌), 1-메틸에틸렌 (C_3알킬렌), n-프로필렌 (C_3알킬렌), 이소프로필렌 (C_3알킬렌), n-부틸렌 (C_4알킬렌), 이소부틸렌 (C_4알킬렌), sec-부틸렌 (C_4알킬렌), tert-부틸렌 (C_4알킬렌), n-펜틸렌 (C_5알킬렌), 이소펜틸렌 (C_5알킬렌), 네오펜틸렌 (C_5알킬렌), 및 헥실렌 (C_6알킬렌)을 포함한다.

[0682] 본원에 사용된 용어 "알케닐렌"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 적어도 1개의 이중 결합을 함유하는 2가 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "C_2-C_6알케닐렌"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 1개 이상의 이중 결합을 함유하고, 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 2가 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼 기를 지칭한다. "C_2-C_6알케닐렌" 기의 비제한적 예는 에테닐렌 (C_2알케닐렌), 프로프-1-에닐렌 (C_3알케닐렌), 부트-1-에닐렌 (C_4알케닐렌), 펜트-1-에닐렌 (C_5알케닐렌), 펜트-4-에닐렌 (C_5알케닐렌), 펜타-1,4-디에닐렌 (C_5알케닐렌), 헥사-1-에닐렌 (C_6알케닐렌), 헥사-2-에닐렌 (C_6알케닐렌), 헥사-3-에닐렌 (C_6알케닐렌), 헥사-1,4-디에닐렌 (C_6알케닐렌), 헥사-1,5-디에닐렌 (C_6알케닐렌) 및 헥사-2,4-디에닐렌 (C_6알케닐렌)을 포함한다. 본원에 사용된 용어 "C_2-C_6알케닐렌"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 1개 이상의 이중 결합을 함유하고, 2 내지 탄소 원자를 갖는 2가 직쇄형 또는 분지형 탄화수소 쇄 라디칼 기를 지칭한다. "C_2-C_3알케닐렌" 기의 비제한적 예는 에테닐렌 (C_2알케닐렌) 및 프로프-1-에닐렌 (C_3알케닐렌)을 포함한다.

[0683] 본원에 사용된 용어 "시클로알킬" 또는 "C_3-C_8시클로알킬"은 포화, 모노시클릭, 융합된 비시클릭, 융합된 트리시클릭 또는 가교된 폴리시클릭 고리계를 지칭한다. 융합된 비시클릭 또는 가교된 폴리시클릭 고리계의 비제한적 예는 비시클로[1.1.1]펜탄, 비시클로[2.1.1]헥산, 비시클로[2.2.1]헵탄, 비시클로[3.1.1]헵탄, 비시클로[3.2.1]옥탄, 비시클로[2.2.2]옥탄 및 아다만타닐을 포함한다. 모노시클릭 C_3-C_8시클로알킬 기의 비제한적 예는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸 및 시클로옥틸 기를 포함한다.

[0684] 본원에 사용된 용어 "할로알킬"은 탄화수소 쇄를 따라 수소 대신 1개 이상의 할로겐 기로 치환된 선형 또는 분지형 알킬 쇄를 지칭한다. 할로알킬 기에서의 치환에 적합한 할로겐 기의 예는 플루오린, 브로민, 염소 및 아이오딘을 포함한다. 할로알킬 기는 알킬 쇄 내의 수소 대신 다수의 할로겐 기로의 치환을 포함할 수 있으며, 여기서 상기 할로겐 기는 알킬 쇄 내의 동일한 탄소에 또는 또 다른 탄소에 부착될 수 있다.

[0685] 본원에 사용된 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 아미노, 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬 및 헤테로시클로알킬 기

는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시, 임의로 치환된 (C_1-C_6)알킬-S-, 히드록시, 옥소 (또는 적절한 경우에 N-옥시드), 니트로, 시아노, -C(O)-OR_0', -O-C(O)-R_0', -C(O)-NR_0'R_0", -NR_0'R_0", -(C=NR_0')-OR_0", 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 트리플루오로메톡시 또는 할로겐으로부터 선택되는 1 내지 4개의 기에 의해 임의로 치환될 수 있고, 여기서 R_0' 및 R_0"은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고, 여기서 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기의 탄소 원자 중 1개 이상은 임의로 중수소화된다.

[0686] 본원에 사용된 용어 "폴리옥시에틸렌", "폴리에틸렌 글리콜" 또는 "PEG"는 (OCH_2CH_2) 기로 구성된 선형 쇄, 분지형 쇄 또는 성상 배위를 지칭한다. 특정 실시양태에서 폴리에틸렌 또는 PEG 기는 -(OCH_2CH_2)$_t$*-이고, 여기서 t는 4-40이고, 여기서 "-"는 자기-희생적 스페이서를 향해 있는 말단을 나타내고, "*-"는 말단 기 R'에 대한 부착 지점을 나타내고, 여기서 R'는 OH, OCH_3 또는 OCH_2CH_2C(=O)OH이다. 다른 실시양태에서, 폴리에틸렌 또는 PEG 기는 -(CH_2CH_2O)$_t$*-이고, 여기서 t는 4-40이고, 여기서 "-"는 자기-희생적 스페이서를 향해 있는 말단을 나타내고, "*-"는 말단 기 R"에 대한 부착 지점을 나타내고, 여기서 R"는 H, CH_3 또는 CH_2CH_2C(=O)OH이다. 예를 들어, 본원에 사용된 용어 "PEG12"는 t가 12임을 의미한다.

[0687] 본원에 사용된 용어 "폴리알킬렌 글리콜"은 ($O(CH_2)_m)_n$ 기로 구성된 선형 쇄, 분지형 쇄 또는 성상 배위를 지칭한다. 특정 실시양태에서 폴리에틸렌 또는 PEG 기는 -($O(CH_2)_m$)$_t$*-이고, 여기서 m은 1-10이고, t는 4-40이고, 여기서 "-"는 자기-희생적 스페이서를 향해 있는 말단을 나타내고, "*-"는 말단 기 R'에 대한 부착 지점을 나타내고, 여기서 R'는 OH, OCH_3 또는 OCH_2CH_2C(=O)OH이다. 다른 실시양태에서, 폴리에틸렌 또는 PEG 기는 -((CH_2)$_m$O)$_t$*-이고, 여기서 m은 1-10이고, t는 4-40이고, 여기서 "-"는 자기-희생적 스페이서를 향해 있는 말단을 나타내고, "*-"는 말단 기 R"에 대한 부착 지점을 나타내고, 여기서 R"는 H, CH_3 또는 CH_2CH_2C(=O)OH이다.

[0688] 본원에 사용된 용어 "반응성 기"는 항체, 항체 단편, 또는 항체 또는 항체 단편에 부착된 또 다른 반응성 기의 관능기와 공유 결합을 형성할 수 있는 관능기이다. 이러한 관능기의 비제한적 예는 본원에 제공된 표 2의 반응성 기를 포함한다.

[0689] 본원에 사용된 용어 "부착 기" 또는 "커플링 기"는 가교 스페이서를 항체 또는 그의 단편에 연결하는 2가 모이어티를 지칭한다. 부착 또는 커플링 기는 반응 기와 항체 또는 그의 단편 상의 관능기 사이의 반응에 의해 형성된 2가 모이어티이다. 이러한 2가 모이어티의 비제한적 예는 본원에 제공된 표 2 및 표 3에 주어진 2가 화학적 모이어티를 포함한다.

[0690] 본원에 사용된 용어 "가교 스페이서"는 2가 펩티드 스페이서를 반응성 기에 연결하거나, 2가 펩티드 공간을 커플링 기에 연결하거나 또는 부착 기를 적어도 1개의 절단가능한 기에 연결하는 2가 모이어티를 형성하도록 함께 공유 부착된 1개 이상의 링커 성분을 지칭한다. 특정 실시양태에서, "가교 스페이서"는 아미드 결합을 통해 2가 펩티드 스페이서의 N-말단에 부착된 카르복실 기를 포함한다.

[0691] 본원에 사용된 용어 "스페이서 모이어티"는 자기 희생적 스페이서를 친수성 모이어티에 연결하는 모이어티를 형성하도록 함께 공유 부착된 1개 이상의 링커 성분을 지칭한다.

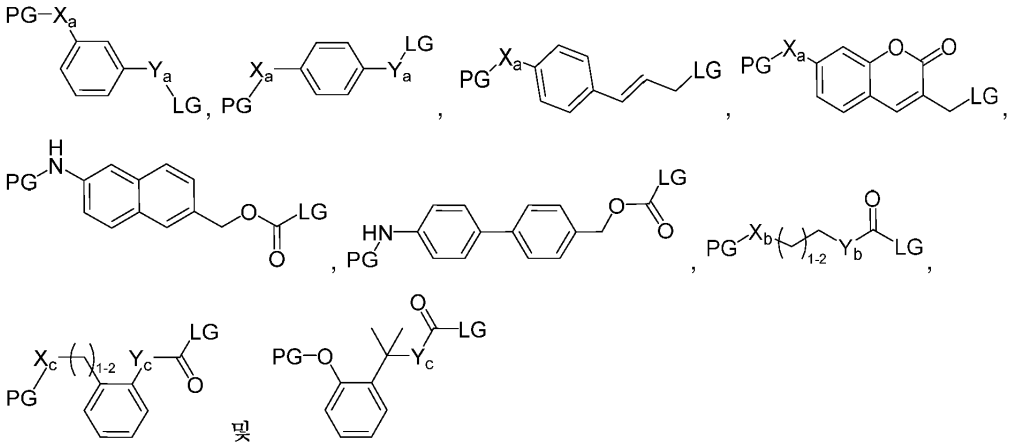
[0692] 본원에 사용된 용어 "2가 펩티드 스페이서"는 가교 스페이서를 자기 희생적 스페이서에 연결하는 모이어티를 형성하도록 함께 공유 부착된 1개 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 링커를 지칭한다. 1개 이상의 아미노산 잔기는 알라닌 (Ala), 시스테인 (Cys), 아스파르트산 (Asp), 글루탐산 (Glu), 페닐알라닌 (Phe), 글리신 (Gly), 히스티딘 (His), 이소류신 (Ile), 리신 (Lys), 류신 (Leu), 메티오닌 (Met), 아스파라긴 (Asn), 프롤린 (Pro), 글루타민 (Gln), 아르기닌 (Arg), 세린 (Ser), 트레오닌 (Thr), 발린 (Val), 트립토판 (Trp), 티로신 (Tyr), 시트룰린 (Cit), 노르발린 (Nva), 노르류쿤 (Nle), 셀레노시스테인 (Sec), 피롤리신 (Pyl), 호모세린, 호모시스테인 및 데스메틸 피롤리신으로부터 선택되는 아미노산의 잔기일 수 있다.

[0693] 특정 실시양태에서, "2가 펩티드 스페이서"는 각각의 잔기가 알라닌 (Ala), 시스테인 (Cys), 아스파르트산 (Asp), 글루탐산 (Glu), 페닐알라닌 (Phe), 글리신 (Gly), 히스티딘 (His), 이소류신 (Ile), 리신 (Lys), 류신 (Leu), 메티오닌 (Met), 아스파라긴 (Asn), 프롤린 (Pro), 글루타민 (Gln), 아르기닌 (Arg), 세린 (Ser), 트레

오닌 (Thr), 발린 (Val), 트립토판 (Trp), 티로신 (Tyr), 시트룰린 (Cit), 노르발린 (Nva), 노르류쿤 (Nle), 셀레노시스테인 (Sec), 피롤리신 (Pyl), 호모세린, 호모시스테인 및 데스메틸 피롤리신, 예를 들어 -ValCit*; -CitVal*; -AlaAla*; -AlaCit*; -CitAla*; -AsnCit*; -CitAsn*; -CitCit*; -ValGlu*; -GluVal*; -SerCit*; -CitSer*; -LysCit*; -CitLys*; -AspCit*; -CitAsp*; -AlaVal*; -ValAla*; -PheAla*; -AlaPhe*; -PheLys*; -LysPhe*; -ValLys*; -LysVal*; -AlaLys*; -LysAla*; -PheCit*; -CitPhe*; -LeuCit*; -CitLeu*; -IleCit*; -CitIle*; -PheArg*; -ArgPhe*; -CitTrp*; -TrpCit*; -PhePheLys*; -LysPhePhe*; -DphePheLys*; -DlysPhePhe*; -GlyPheLys*; -LysPheGly*; -GlyPheLeuGly- [서열식별번호: 62]; -GlyLeuPheGly- [서열식별번호: 57]; -AlaLeuAlaLeu- [서열식별번호: 58], -GlyGlyGly*; -GlyGlyGlyGly- [서열식별번호: 59]; -GlyPheValGly- [서열식별번호: 60]; 및 -GlyValPheGly- [서열식별번호: 61]로부터 선택되는 아미노산의 잔기로부터 독립적으로 선택되는 2 내지 4개의 아미노산 잔기의 조합이며, 여기서 "-"는 가교 스페이서에 대한 부착 지점을 나타내고, "*"는 자기-희생적 스페이서에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0694] 본원에 사용된 용어 "링커 성분"은 링커의 일부인 화학적 모이어티를 지칭한다. 링커 성분의 예는 알킬렌 기: $-(CH_2)_n-$ (이는 선형 또는 분지형일 수 있음) (이 경우에 n은 1-18임); 알케닐렌 기; 알키닐렌 기; 알케닐 기; 알키닐 기; 에틸렌 글리콜 단위: $-OCH_2CH_2-$ 또는 $-CH_2CH_2O-$; 폴리에틸렌 글리콜 단위: $(-CH_2CH_2O-)_x$ (이 경우에 x는 2-20임); -O-; -S-; 카르보닐:-C(=O); 에스테르: C(=O)-O 또는 O-C(=O); 카르보네이트: -OC(=O)O-; 아민: -NH-; 3급 아민; 아미드: -C(=O)-NH-, -NH-C(=O)- 또는 $-C(=O)N(C_{1-6}$알킬); 카르바메이트: -OC(=O)NH- 또는 -NHC(=O)O; 우레아: -NHC(=O)NH; 술폰아미드: $-S(O)_2NH-$ 또는 $-NHS(O)_2$; 에테르: $-CH_2O-$ 또는 $-OCH_2-$; 카르복시, 술포네이트, 히드록실, 아민, 아미노산, 사카라이드, 포스페이트 및 포스포네이트로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 기로 치환된 알킬렌; 카르복시, 술포네이트, 히드록실, 아민, 아미노산, 사카라이드, 포스페이트 및 포스포네이트로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 기로 치환된 알케닐렌; 카르복시, 술포네이트, 히드록실, 아민, 아미노산, 사카라이드, 포스페이트 및 포스포네이트로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 기로 치환된 알키닐렌; 1개 이상의 메틸렌 기가 1개 이상의 -S-, -NH- 또는 -O- 모이어티에 의해 대체된 C_1-C_{10}알킬렌; 2개의 이용가능한 부착 지점을 갖는 고리계, 예컨대 페닐 (1,2-, 1,3- 및 1,4-이치환된 페닐 포함), C_5-C_6 헤테로아릴, C_3-C_8 시클로알킬 (1,1-이치환된 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸 또는 시클로헥실 및 1,4-이치환된 시클로헥실 포함), 및 C_4-C_8 헤테로시클로알킬; 알라닌 (Ala), 시스테인 (Cys), 아스파르트산 (Asp), 글루탐산 (Glu), 페닐알라닌 (Phe), 글리신 (Gly), 히스티딘 (His), 이소류신 (Ile), 리신 (Lys), 류신 (Leu),메티오닌 (Met), 아스파라긴 (Asn), 프롤린 (Pro), 글루타민 (Gln), 아르기닌 (Arg), 세린 (Ser), 트레오닌 (Thr), 발린 (Val), 트립토판 (Trp), 티로신 (Tyr), 시트룰린 (Cit), 노르발린 (Nva), 노르류쿤 (Nle), 셀레노시스테인 (Sec), 피롤리신 (Pyl), 호모세린, 호모시스테인 및 데스메틸 피롤리신으로부터 선택되는 아미노산의 잔기; 각각의 잔기가 알라닌 (Ala), 시스테인 (Cys), 아스파르트산 (Asp), 글루탐산 (Glu), 페닐알라닌 (Phe), 글리신 (Gly), 히스티딘 (His), 이소류신 (Ile), 리신 (Lys), 류신 (Leu),메티오닌 (Met), 아스파라긴 (Asn), 프롤린 (Pro), 글루타민 (Gln), 아르기닌 (Arg), 세린 (Ser), 트레오닌 (Thr), 발린 (Val), 트립토판 (Trp), 티로신 (Tyr), 시트룰린 (Cit), 노르발린 (Nva), 노르류쿤 (Nle), 셀레노시스테인 (Sec), 피롤리신 (Pyl), 호모세린, 호모시스테인 및 데스메틸 피롤리신으로부터 선택되는 아미노산의 잔기로부터 독립적으로 선택되는 2개 이상의 아미노산 잔기의 조합, 예를 들어 Val-Cit; Cit-Val; Ala-Ala; Ala-Cit; Cit-Ala; Asn-Cit; Cit-Asn; Cit-Cit; Val-Glu; Glu-Val; Ser-Cit; Cit-Ser; Lys-Cit; Cit-Lys; Asp-Cit; Cit-Asp; Ala-Val; Val-Ala; Phe-Lys; Lys-Phe; Val-Lys; Lys-Val; Ala-Lys; Lys-Ala; Phe-Cit; Cit-Phe; Leu-Cit; Cit-Leu; Ile-Cit; Cit-Ile; Phe-Arg; Arg-Phe; Cit-Trp; 및 Trp-Cit; 및 산-유도된 절단, 펩티다제-유도된 절단, 에스테라제-유도된 절단, 글리코시다제 유도된 절단, 포스포디에스테라제 유도된 절단, 포스파타제 유도된 절단, 프로테아제 유도된 절단, 리파제 유도된 절단 또는 디술피드 결합 절단에 감수성인 1개 이상의 보호 (촉발) 기를 포함하는 자기-희생적 스페이서를 포함한다.

[0695] 이러한 자기-희생적 스페이서의 비제한적 예는 하기를 포함한다:



[0696] 및

[0697] 여기서, PG는 보호 (촉발) 기이고;

[0698] X_a는 O, NH 또는 S이고;

[0699] X_b는 O, NH, NCH_3 또는 S이고;

[0700] X_c는 O 또는 NH이고;

[0701] Y_a는 CH_2, CH_2O 또는 CH_2NH이고;

[0702] Y_b는 CH_2, O 또는 NH이고;

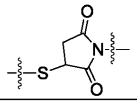
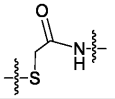
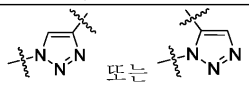
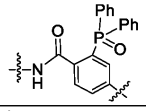
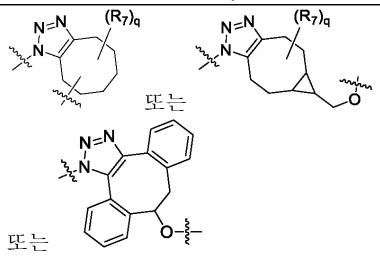
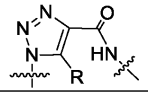
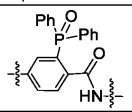
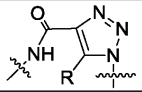
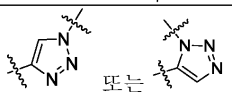
[0703] Y_c는 결합, CH_2, O 또는 NH이고,

[0704] LG는 이탈기, 예컨대 본 발명의 링커-약물 기의 약물 모이어티 (D)이다.

[0705] 이러한 자기 희생적 스페이서의 추가의 비제한적 예는 문헌 [Angew. Chem. Int. Ed. 2015, 54, 7492 - 7509]에 기재되어 있다.

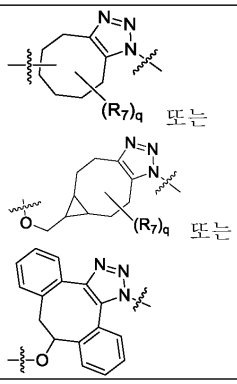
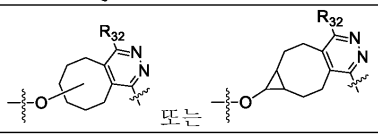
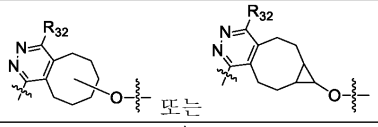
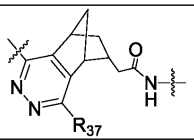
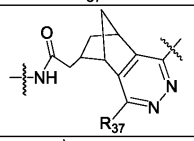
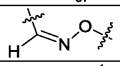
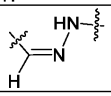
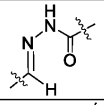
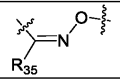
[0706] 또한, 링커 성분은 2개의 반응성 기 사이의 반응에 의해 용이하게 형성되는 화학적 모이어티일 수 있다. 이러한 화학적 모이어티의 비제한적 예는 표 2에 주어진다.

[0707] 표 2

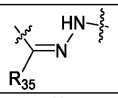
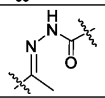
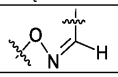
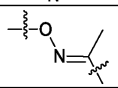
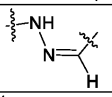
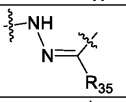
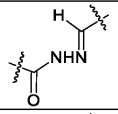
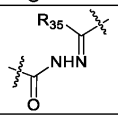
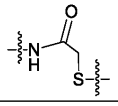
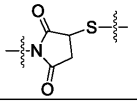
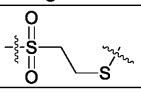
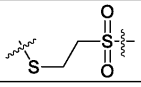
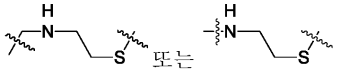
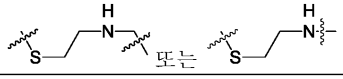
반응성 기 1 (RG1)	반응성 기 2 (RG2)	화학적 모이어티
티올	티올	-S-S-
티올	말레이미드	
티올	할로아세트아미드	
아지드	알킨	 또는
아지드	트리아릴 포스핀	
아지드	시클로옥틴	 또는 또는
아지드	옥사노보르나디엔	
트리아릴 포스핀	아지드	
옥사노보르나디엔	아지드	
알킨	아지드	 또는

[0708]

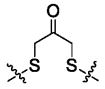
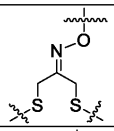
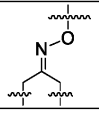
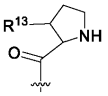
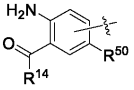
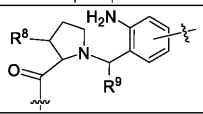
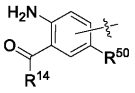
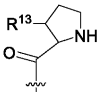
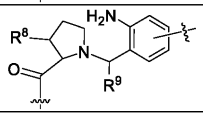
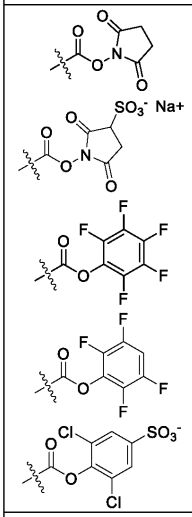
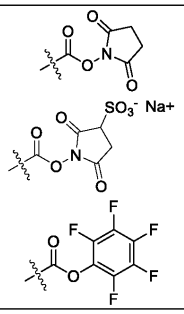
[0709]

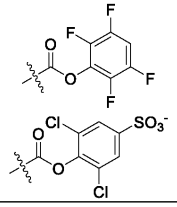
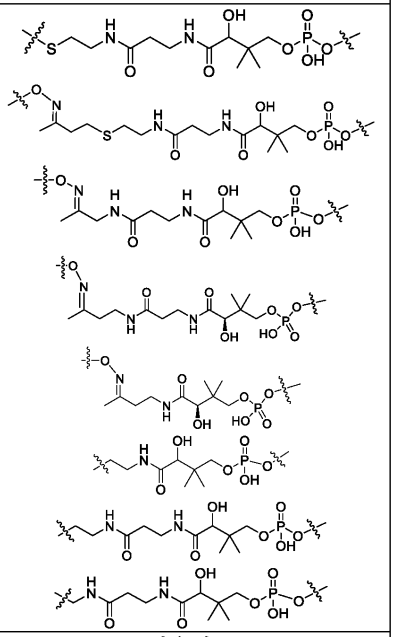
반응성 기 1 (RG1)	반응성 기 2 (RG2)	화학적 모이어티
시클로옥틴	아지드	 또는
시클로옥텐	디아릴 테트라진	 또는
디아릴 테트라진	시클로옥텐	 또는
모노아릴 테트라진	노르보르넨	
노르보르넨	모노아릴 테트라진	
알데히드	히드록실아민	
알데히드	히드라진	
알데히드	NH_2-NH-C(=O)-	
케톤	히드록실아민	

[0710]

반응성 기 1 (RG1)	반응성 기 2 (RG2)	화학적 모이어티
케톤	히드라진	
케톤	NH_2-NH-C(=O)-	
히드록실아민	알데히드	
히드록실아민	케톤	
히드라진	알데히드	
히드라진	케톤	
NH_2-NH-C(=O)-	알데히드	
NH_2-NH-C(=O)-	케톤	
할로아세트아미드	티올	
말레이미드	티올	
비닐 술폰	티올	
티올	비닐 술폰	
아지리딘	티올	
티올	아지리딘	

[0711]

반응성 기 1 (RG1)	반응성 기 2 (RG2)	화학적 모이어티
	히드록실아민	
	히드록실아민	
		
		
	-NH_2,	아미드
-NH_2,		아미드

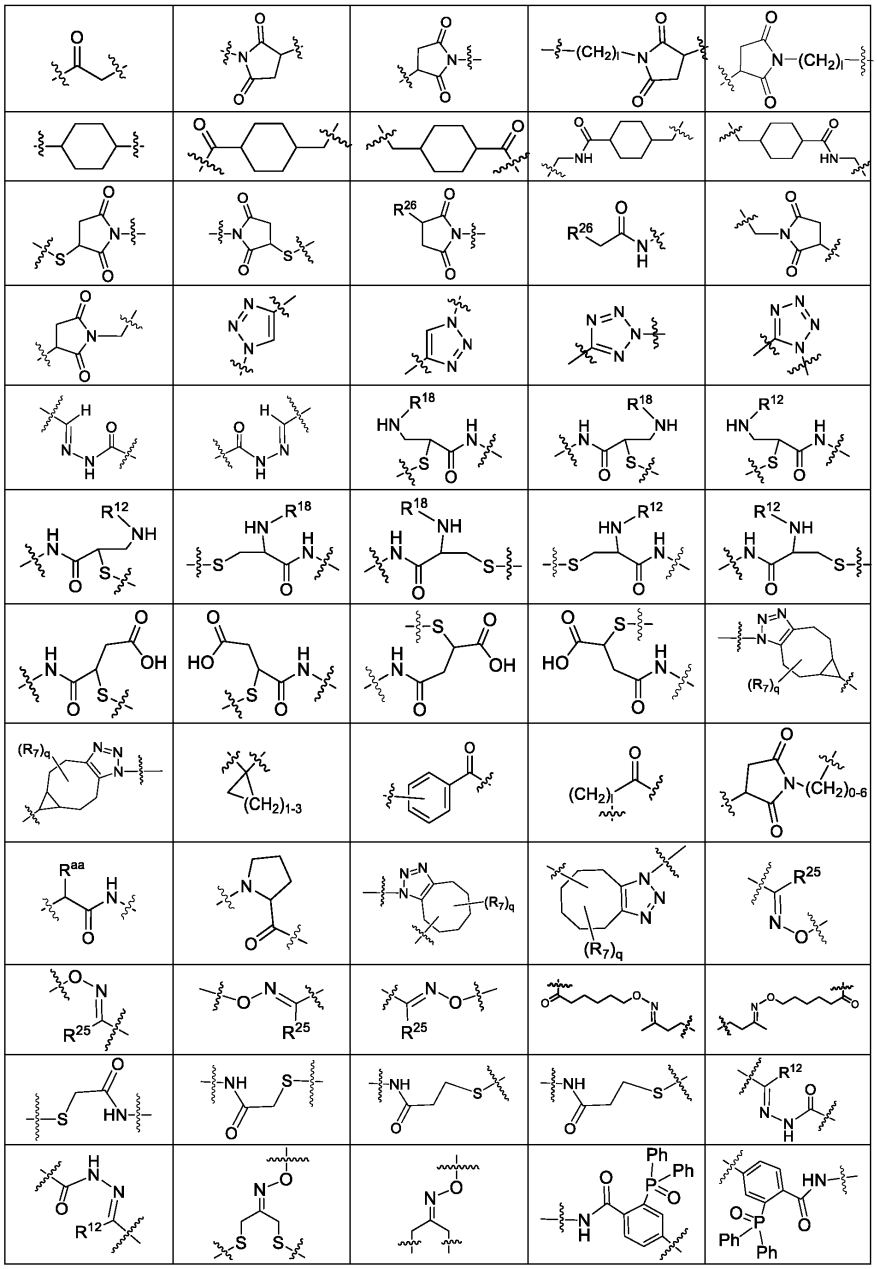
반응성 기 1 (RG1)	반응성 기 2 (RG2)	화학적 모이어티
		
CoA 또는 CoA 유사체	세린 잔기	
피리딜디티올	티올	디술피드

[0712]

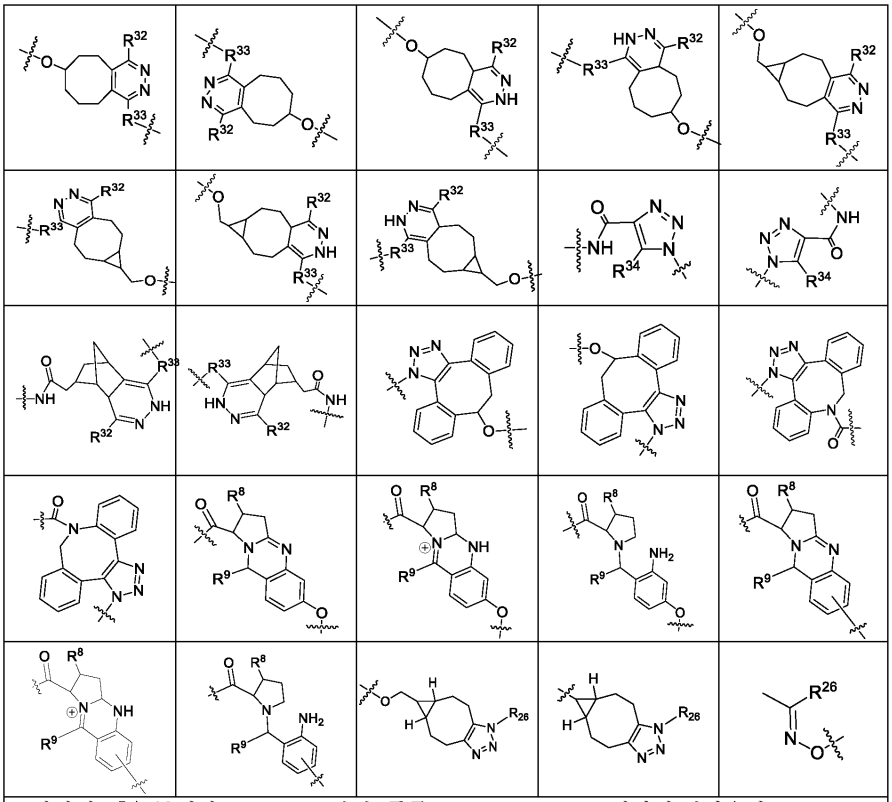
[0713] 여기서, 표 2에서 R^{32}는 H, C_{1-4}알킬, 페닐, 피리미딘 또는 피리딘이고; 표 2에서 R^{35}는 H, C_{1-6}알킬, 페닐, 또는 1 내지 3개의 -OH 기로 치환된 C_{1-4}알킬이고; 표 2에서 각각의 R^{7}은 독립적으로 H, C_{1-6}알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4}알콕시, 및 -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되고; 표 2에서 R^{37}은 H, 페닐 및 피리딘으로부터 독립적으로 선택되고; 표 2에서 q는 0, 1, 2 또는 3이고; 표 2에서 R^{8} 및 R^{13}은 각각 H 또는 메틸이고; 표 2에서 R^{9} 및 R^{14}는 각각 H, $-CH_3$ 또는 페닐이고; 표 2에서 R은 H 또는 임의의 적합한 치환기이고; 표 2에서 R^{50}은 H이다.

[0714] 또한, 링커 성분은 하기 표 3에 열거된 기일 수 있다.

[0715] 표 3.



[0716]



각각의 R^7은 독립적으로 H, C_{1-6}알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치화된 C_{1-4}알콕시, 및 -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되고;

각각의 R^{12}는 독립적으로 H 및 C_1-C_6알킬로부터 선택되고

R^8은 H 또는 메틸이고;

R^9는 H, $-CH_3$ 또는 페닐이고;

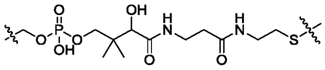
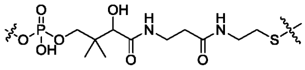
각각의 R^{25}는 독립적으로 H 또는 C_{1-4} 알킬로부터 선택되고;

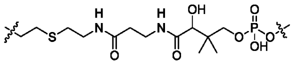
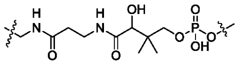
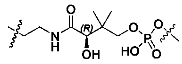
각각의 R^{18}는 독립적으로 C_1-C_6알킬, 아지도로 치환된 C_1-C_6알킬, 및 1 내지 5개의 히드록실로 치환된 C_1-C_6알킬로부터 선택되고;

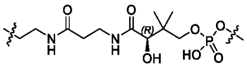
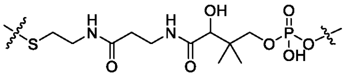
q는 0, 1, 2 또는 3이고;

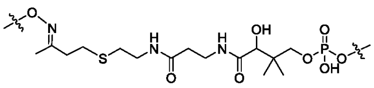
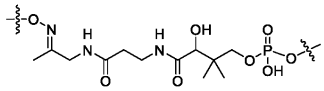
l은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고;

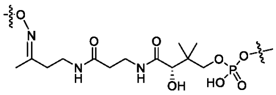
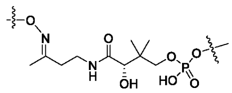
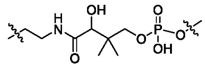
[0717]

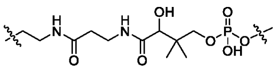
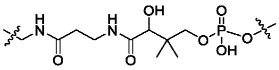
R^{26}는  ,  ,

 ,  ,  ,

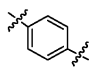
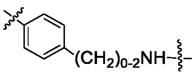
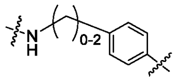
 ,  ,

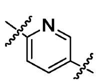
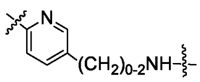
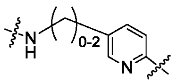
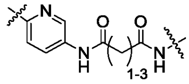
 ,  ,

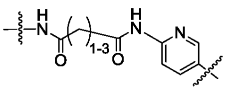
 ,  ,  ,

 , 또는  이고

R^{32}는 독립적으로 H, C_{1-4} 알킬, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

R^{33}는 독립적으로  ,  ,  ,

 ,  ,  ,  ,

및  로부터 선택되고;

R^{34}는 독립적으로 H, C_{1-4} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 선택되고,

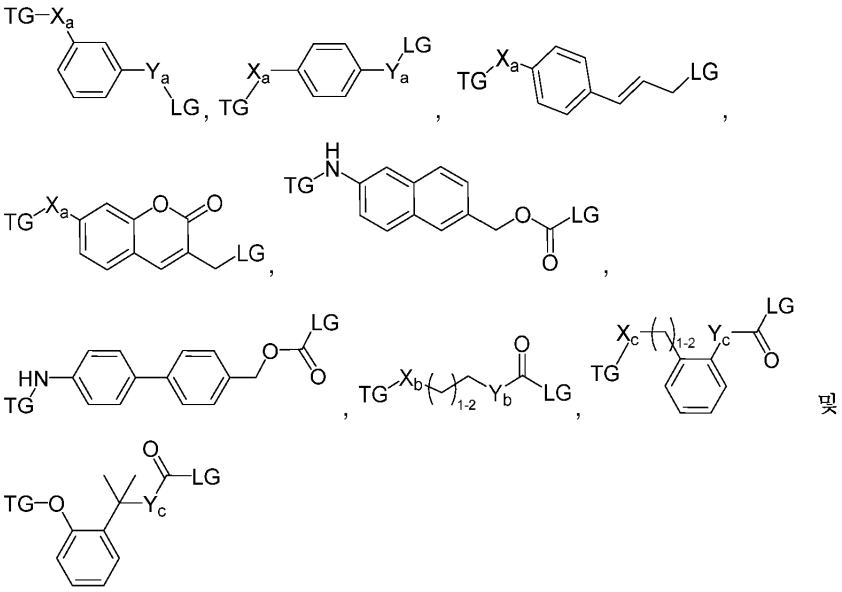
R^{aa}는 아미노산 측쇄이다.

[0718]

[0719] 본원에 사용된 바와 같이, 화합물의 부분 구조가 예시되는 경우, 파상선 (∿∿∿)은 분자의 나머지 부분에 대한 부분 구조의 부착 지점을 나타낸다.

[0720] 본원에 사용된 용어 "자기-희생적 스페이서" 및 "자기-희생적 기"는 산-유도된 절단, 펩티다제-유도된 절단, 에스테라제-유도된 절단, 글리코시다제 유도된 절단, 포스포디에스테라제 유도된 절단, 포스파타제 유도된 절단, 프로테아제 유도된 절단, 리파제 유도된 절단 또는 디술피드 결합 절단에 의해 활성화되고, 활성화 후에 보호기가 제거되어, 이탈기의 일시적인 순차적 방출을 유도하는 분해 반응의 캐스케이드를 생성하는 1개 이상의 촉발기 (TG)를 포함하는 모이어티를 지칭한다. 이러한 반응 캐스케이드는 1,4-, 1,6- 또는 1,8-제거 반응일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0721] 자기-희생적 스페이서 또는 기의 비제한적 예는 하기를 포함한다:



[0722] (여기서, 이러한 기는 임의로 치환될 수 있음)

[0723] 여기서:

[0724] TG는 촉발 기이고;

[0725] X_a는 O, NH 또는 S이고;

[0726] X_b는 O, NH, NCH_3 또는 S이고;

[0727] X_c는 O 또는 NH이고;

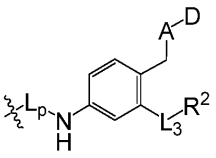
[0728] Y_a는 CH_2, CH_2O 또는 CH_2NH이고;

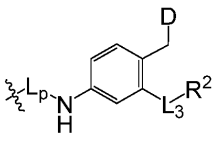
[0729] Y_b는 CH_2, O 또는 NH이고;

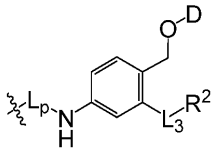
[0730] Y_c는 결합, CH_2, O 또는 NH이고,

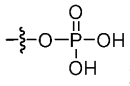
[0731] LG는 이탈기, 예컨대 본 발명의 링커-약물 기의 약물 모이어티 (D)이다.

[0732] 자기 희생적 스페이서의 부가의 비-제한적 예는 문헌 [Angew. Chem. Int. Ed. 2015, 54, 7492 - 7509]에 기재되어 있다.

[0733] 특정 실시양태에서, 자기-희생적 스페이서는 구조  를 갖는 모이어티이고, 여기서 Lp는 효소적으로 절단가능한 2가 펩티드 스페이서이고, A, D, L_3 및 R^2는 본원에 정의된 바와 같다.

[0734] 바람직한 실시양태에서, 자기-희생적 스페이서는 구조  를 갖는 모이어티이고, 여기서 Lp는 효소적으로 절단가능한 2가 펩티드 스페이서이고, D, L_3 및 R^2는 본원에 정의된 바와 같다. 일부 실시양태에서, D는 4급화된 3급 아민-함유 MC11 억제제이다.

[0735] 다른 바람직한 실시양태에서, 자기-희생적 스페이서는 구조  를 갖는 모이어티이고, 여기서 Lp는 효소적으로 절단가능한 2가 펩티드 스페이서이고, D, L_3 및 R^2는 본원에 정의된 바와 같다.

[0736] 본원에 사용된 용어 "친수성 모이어티"는 약물 모이어티 (D)가 본 발명의 링커 기에 부착되는 경우에 약물 모이어티 (D)의 수용해도를 증가시키는 친수성 특성을 갖는 모이어티를 지칭한다. 이러한 친수성 기의 예는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬인 폴리펩티드를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

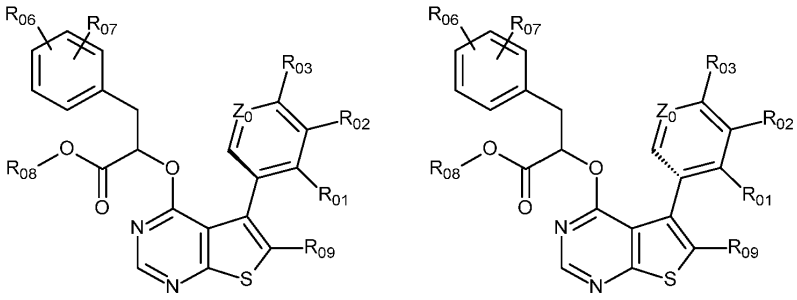
[0737] 약물 모이어티

[0738] 일부 실시양태에서, 링커 모이어티의 전구체인 중간체는 적절한 조건 하에 약물 모이어티 (예를 들어, Mcl-1 억제제)와 반응한다. 일부 실시양태에서, 반응성 기가 약물 및/또는 중간체 또는 링커 상에 사용된다. 약물 및 중간체 사이의 반응 생성물 또는 유도체화된 약물 (약물 플러스 링커)은 후속적으로 약물 및 중간체 또는 유도체화된 약물 및 항체 또는 항원-결합 단편의 접합을 용이하게 하는 조건 하에 항체 또는 항원-결합 단편과 반응한다. 대안적으로, 중간체 또는 링커는 먼저 항체 또는 항원-결합 단편 또는 유도체화된 항체 또는 항원-결합 단편과 반응한 다음, 약물 또는 유도체화된 약물과 반응할 수 있다.

[0739] 항체 또는 항원-결합 단편에 대한 약물 모이어티 및/또는 링커 모이어티의 공유 부착을 위해 다수의 상이한 반응이 이용가능하다. 이는 종종 리신의 아민 기, 글루탐산 및 아스파르트산의 유리 카르복실산 기, 시스테인의 술프히드릴 기 및 방향족 아미노산의 다양한 모이어티를 포함한, 항체 또는 항원-결합 단편의 1개 이상의 아미노산 잔기의 반응에 의해 달성된다. 예를 들어, 비-특이적 공유 부착은 약물 모이어티 상의 카르복시 (또는 아미노) 기를 항체 또는 항원-결합 단편 상의 아미노 (또는 카르복시) 기에 연결하는 카르보디이미드 반응을 사용하여 수행될 수 있다. 추가로, 이관능성 작용제, 예컨대 디알데히드 또는 이미도에스테르가 또한 약물 모이어티 상의 아미노 기를 항체 또는 항원-결합 단편 상의 아미노 기에 연결하는 데 사용될 수 있다. 또한, 결합제에 대한 약물 (예를 들어, Mcl-1 억제제)의 부착을 위해 쉬프 염기 반응이 이용가능하다. 이 방법은 알데히드를 형성한 후 결합제와 반응하는, 글리콜 또는 히드록시 기를 함유하는 약물의 퍼아이오데이트 산화를 수반한다. 부착은 결합제의 아미노 기와 쉬프 염기의 형성을 통해 발생한다. 이소티오시아네이트는 또한 약물을 결합제에 공유 부착하기 위한 커플링제로서 사용될 수 있다. 다른 기술이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 본 개시내용의 범주 내에 있다. 관련 기술분야에 공지된 다양한 화학을 사용하여 생성되고 항체 또는 항원-결합 단편에 연결될 수 있는 약물 모이어티의 예는 Mcl-1 억제제, 예를 들어 본원에 기재되고 예시된 Mcl-1 억제제를 포함한다.

[0740] 적합한 약물 모이어티는 화학식 (I), (II), (III)의 화합물, 또는 그의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체, 및/또는 제약상 허용되는 산 또는 염기와의 부가염을 포함할 수 있다. 추가로, 약물 모이어티는 본원에 기재된 Mcl-1 억제제 (D)의 임의의 화합물을 포함할 수 있다.

[0741] 본원에 사용된 "회전장애이성질체"는 단일 결합에 대한 장애 회전으로 인해 발생하는 입체이성질체이며, 여기서 입체 변형 또는 다른 기여자로 인한 에너지 차이는 개별 이형태체의 단리를 가능하게 하기에 충분히 높은 회전에 대한 장벽을 생성한다 (문헌 [Bringmann et al. Angew. Chem. Int. Ed. 2005, 44, 5384-5427]). 예를 들어, 본 발명에 따른 화학식 (II)의 화합물의 경우, 회전장애이성질체는 하기와 같을 수 있다:

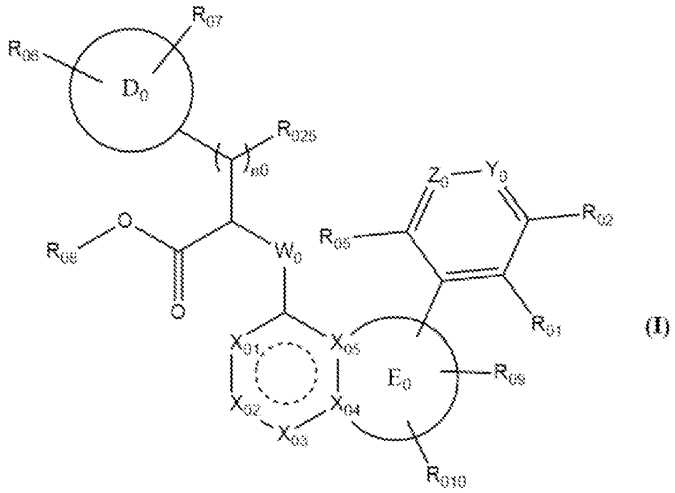


[0742]

[0743] 예를 들어, 바람직한 회전장애이성질체는 (5aS)로도 명명되는 ($5S_a$)일 수 있다.

[0744] 본 개시내용의 약물 모이어티는 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2015/097123; WO 2016/207216; WO 2016/207217; WO 2016/207225; WO 2016/207226; WO 2017/125224; WO 2019/035899; WO 2019/035911; WO 2019/035914; WO 2019/035927; WO 2016/033486; WO 2017/147410; WO 2018/183418; 및 WO 2017/182625, 및 미국 특허 출원 공개 번호 2019/0055264 (이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 화합물 중 어느 하나일 수 있다.

[0745] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 약물 모이어티는 화학식 (I)의 화합물, 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함할 수 있다:



(I)

[0746]

[0747] 여기서:

[0748] 고리 D_0은 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고,

[0749] 고리 E_0은 푸릴, 티에닐 또는 피롤릴 고리이고,

[0750] X_{01}, X_{03}, X_{04} 및 X_{05}는 서로 독립적으로 탄소 원자 또는 질소 원자이고,

[0751] X_{02}는 C-R_{026} 기 또는 질소 원자이고,

[0752]  는 고리가 방향족임을 의미하고,

[0753] Y_0은 질소 원자 또는 C-R_{03} 기이고,

[0754] Z_0은 질소 원자 또는 C-R_{04} 기이고,

[0755] R_{01}은 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬 기, 히드록시 기, 히드록시(C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, -Cy_{08}, -(C_0-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}'$, -O-(C_1-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}'$, -O-(C_1-C_6)알킬-R_{012}, -C(O)-OR_{011}, -O-C(O)-R_{011}, -C(O)-$NR_{011}R_{011}'$, -NR_{011}-C(O)-R_{011}', -NR_{011}-C(O)-

OR_{011}', $-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-SO_2-NR_{011}R_{011}'$, 또는 $-SO_2-(C_1-C_6)$알킬이고,

[0756] R_{02}, R_{03}, R_{04} 및 R_{05}는 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 히드록시(C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, $-S-(C_1-C_6)$알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, $-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-Cy_{01}$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알케닐$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-Cy_{01}$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{031}$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{012}$, $-C(O)-OR_{011}$, $-O-C(O)-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-OR_{011}'$, $-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-SO_2-NR_{011}R_{011}'$, 또는 $-SO_2-(C_1-C_6)$알킬이거나,

[0757] 또는 쌍 (R_{01}, R_{02}), (R_{02}, R_{03}), (R_{03}, R_{04}), 또는 (R_{04}, R_{05})은 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 할로겐, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬, (C_0-C_6)알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{013}R_{013}'$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$ 또는 옥소로부터 선택되는 1 또는 2개의 기에 의해 임의로 치환되고,

[0758] R_{06} 및 R_{07}은 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, $-S-(C_1-C_6)$알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, $-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-Cy_{01}$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알케닐$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-Cy_{01}$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{012}$, $-C(O)-OR_{011}$, $-O-C(O)-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-OR_{011}'$, $-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-SO_2-NR_{011}R_{011}'$, 또는 $-SO_2-(C_1-C_6)$알킬이거나,

[0759] 또는 쌍 (R_{06}, R_{07})은 2개의 인접한 탄소 원자와 융합된 경우에 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, $-NR_{013}R_{013}'$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$ 또는 옥소에 의해 임의로 치환되고,

[0760] W_0은 $-CH_2-$ 기, -NH- 기 또는 산소 원자이고,

[0761] R_{08}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_8)알킬 기, $-CHR_{0a}R_{0b}$ 기, 아릴 기, 헤테로아릴 기, 아릴(C_1-C_6)알킬 기 또는 헤테로아릴(C_1-C_6)알킬 기이고,

[0762] R_{09}는 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, $-Cy_{02}$, $-(C_1-C_6)$알킬$-Cy_{02}$, $-(C_2-C_6)$알케닐$-Cy_{02}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-Cy_{02}$, $-Cy_{02}-Cy_{03}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-O-Cy_{02}$, $-Cy_{02}-(C_0-C_6)$알킬$-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{03}$, 할로겐 원자, 시아노 기, $-C(O)-R_{014}$, 또는 $-C(O)-NR_{014}R_{014}'$이고,

[0763] R_{010}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 아릴(C_1-C_6)알킬 기, (C_1-C_6)시클로알킬알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 또는 $-(C_1-C_6)$알킬$-O-Cy_{04}$이거나,

[0764] 또는 쌍 (R_{09}, R_{010})은 2개의 인접한 탄소 원자와 융합된 경우에 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고,

[0765] R_{011} 및 R_{011}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 또는 $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$이거나,

[0766] 또는 쌍 (R_{011}, R_{011}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를

형성하고, 여기서 N 원자는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기로부터 선택되는 1 또는 2개의 기에 의해 치환될 수 있고, 여기서 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기의 탄소 원자 중 1개 이상은 임의로 중수소화되고,

[0767] R_{012}는 $-Cy_{05}$, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-NR_{011}-(C_0-C_6)알킬-Cy_{06}, $-Cy_{05}$-Cy_{06}-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{07}, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-O-(C_0-C_6)알킬-Cy_{09}, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-Cy_{09}, -NH-C(O)-NH-R_{011}, $-Cy_{05}$-(C_0-C_6)알킬-NR_{011}-(C_0-C_6)알킬-Cy_{09}, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}R_{011}'$, $-OR_{011}$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}$ ', -O-(C_1-C_6)알킬-OR_{011}, $-SO_2-R_{011}$, $-C(O)-OR_{011}$이고,

[0768] R_{013}, R_{013}', R_{014} 및 R_{014}'는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

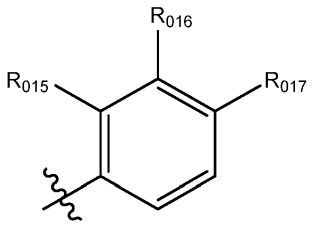
[0769] R_{0a}는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

[0770] R_{0b}는 $-O-C(O)-O-R_{0c}$ 기, $-O-C(O)-NR_{0c}R_{0c}'$ 기, 또는 $-O-P(O)(OR_{0c})_2$ 기이고,

[0771] R_{0c} 및 R_{0c}'는 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_8)알킬 기, 시클로알킬 기, (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기, 또는 (C_1-C_6)알콕시카르보닐(C_1-C_6)알킬 기이거나,

[0772] 또는 쌍 (R_{0c}, R_{0c}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 산소 및 질소로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 함유할 수 있는 5 내지 7개의 고리원으로 구성된 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 질소는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

[0773] Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{04}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07}, Cy_{08} 및 Cy_{010}은 서로 독립적으로 임의로 치환된 시클로알킬 기, 임의로 치환된 헤테로시클로알킬 기, 임의로 치환된 아릴 기 또는 임의로 치환된 헤테로아릴 기이고,

[0774] Cy_{09}는  이거나,

[0775] 또는 Cy_{09}는 $-O-P(O)(OR_{020})_2$; $-O-P(O)(O^-M^+)_2$; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$; 히드록시; 히드록시($C_1$-$C_6$)알킬; $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}$-헤테로시클로알킬; 및 $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$로부터 선택되는 기에 의해 치환된 헤테로아릴 기이고,

[0776] R_{015}는 수소 원자; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$ 기; 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기; $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$ 기; 또는 $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}$-헤테로시클로알킬 기이고,

[0777] R_{016}은 수소 원자; 히드록시 기; 히드록시(C_1-C_6)알킬 기; $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}$-헤테로시클로알킬 기; $(CH_2)_{r0}-U_0-V_0-O-P(O)(OR_{020})_2$ 기; $-O-P(O)(O^-M^+)_2$ 기; $-O-S(O)_2OR_{020}$ 기; $-S(O)_2OR_{020}$ 기; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$ 기; $-(CH_2)_{p0}-O-C(O)-NR_{022}R_{023}$ 기; 또는 $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$ 기이고,

[0778] R_{017}은 수소 원자; $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$ 기; $-CH_2-P(O)(OR_{020})_2$ 기, $-O-P(O)(OR_{020})_2$ 기; $-O-P(O)(O^-M^+)_2$ 기; 히드록시 기; 히드록시(C_1-C_6)알킬 기; $-(CH_2)_{r0}-U_0-(CH_2)_{s0}$-헤테로시클로알킬 기; $-U_0-(CH_2)_{q0}-NR_{021}R_{021}'$ 기; 또는 알돈산이고,

[0779] M^+는 제약상 허용되는 1가 양이온이고,

[0780] U_0은 결합 또는 산소 원자이고,

[0781] V_0은 $-(CH_2)_{s0}-$ 기 또는 -C(O)- 기이고,

[0782] R_{018}은 수소 원자 또는 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기이고,

[0783] R_{019}는 수소 원자 또는 히드록시(C_1-C_6)알킬 기이고,

[0784] R_{020}은 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

[0785] R_{021} 및 R_{021}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 히드록시(C_1-C_6)알킬 기이거나,

[0786] 또는 쌍 (R_{021}, R_{021}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

[0787] R_{022}는 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기, $-(CH_2)_{p0}-NR_{024}R_{024}$' 기, 또는 $-(CH_2)_{p0}-O-(CHR_{018}-CHR_{019}-O)_{q0}-R_{020}$ 기이고,

[0788] R_{023}은 수소 원자 또는 (C_1-C_6)알콕시(C_1-C_6)알킬 기이거나,

[0789] 또는 쌍 (R_{022}, R_{023})은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 5개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 18개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 헤테로시클로알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

[0790] R_{024} 및 R_{024}'는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이거나,

[0791] 또는 쌍 (R_{024}, R_{024}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 함유할 수 있는 5 내지 7개의 고리원으로 구성된 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고,

[0792] R_{025}는 수소 원자, 히드록시 기 또는 히드록시(C_1-C_6)알킬 기이고,

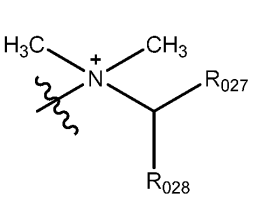
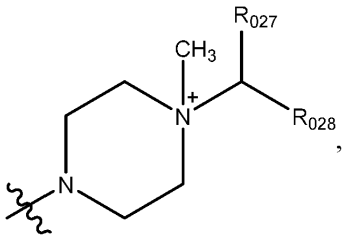
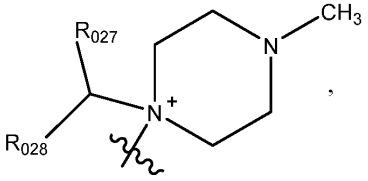
[0793] R_{026}은 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 시아노 기이고,

[0794] R_{027}은 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

[0795] R_{028}은 $-O-P(O)(O^-)(O^-)$ 기, $-O-P(O)(O^-)(OR_{030})$ 기, $-O-P(O)(OR_{030})(OR_{030}')$ 기, $-(CH_2)_{p0}-O-SO_2-$ 기, $-(CH_2)_{p0}-SO_2-O^-$ 기, $-(CH_2)_{p0}-O-SO_2-OR_{030}$ 기, $-Cy_{010}$, $-(CH_2)_{p0}-SO_2-OR_{030}$ 기, $-O-C(O)-R_{029}$ 기, $-O-C(O)-OR_{029}$ 기 또는 $-O-C(O)-NR_{029}R_{029}$' 기이고;

[0796] R_{029} 및 R_{029}'는 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 선형 또는 분지형 아미노(C_1-C_6)알킬 기이고,

[0797] R_{030} 및 R_{030}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기 또는 아릴(C_1-C_6)알킬 기이고,



또는 

[0798] R_{031}은 이고, 여기서 암모늄 이온은 임의로 쯔비터이온 형태로 존재하거나 또는 1가 음이온성 반대이온을 갖고,

[0799] n_0은 0 또는 1의 정수이고,

[0800] p_0은 0, 1, 2 또는 3의 정수이고,

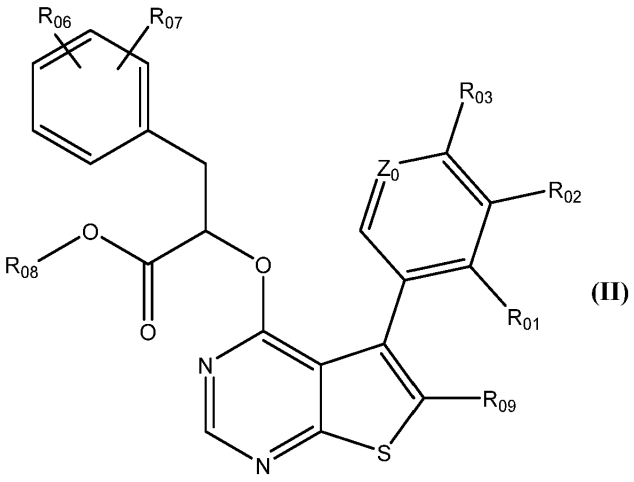
[0801] q_0은 1, 2, 3 또는 4의 정수이고,

[0802] r_0 및 s_0은 독립적으로 0 또는 1의 정수이고;

[0803] 여기서, R_{03}, R_{09}, 또는 R_{012} 기 중 최대 1개가 존재하는 경우 링커에 공유 부착되고,

[0804] 여기서 원자의 원자가는 그에 결합된 1개 이상의 치환기에 의해 초과되지 않는다.

[0805] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 약물 모이어티는 화학식 (II)의 화합물, 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함할 수 있다.


(II)

[0806]

[0807] 여기서:

[0808] Z_0은 질소 원자 또는 C-R_{04} 기이고,

[0809] R_{01}은 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬 기, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, -S-(C_1-C_6)알킬 기, 시아노 기, -Cy_{08}, -$NR_{011}R_{011}$'이고,

[0810] R_{02}, R_{03} 및 R_{04}는 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 선형

또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, $-S-(C_1-C_6)$알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, $-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-Cy_{01}$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알케닐$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-Cy_{01}$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{031}$, $-C(O)-OR_{011}$, $-O-C(O)-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-OR_{011}'$, $-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-SO_2-NR_{011}R_{011}'$, 또는 $-SO_2-(C_1-C_6)$알킬이거나,

[0811] 또는 쌍 (R_{02}, R_{03}) 또는 (R_{03}, R_{04})은 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 고리는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬, $-NR_{013}R_{013}'$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$ 및 옥소로부터 선택되는 기에 의해 임의로 치환되고,

[0812] R_{06} 및 R_{07}은 서로 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 히드록시 기, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시 기, $-S-(C_1-C_6)$알킬 기, 시아노 기, 니트로 기, $-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}R_{011}'$, $-O-Cy_{01}$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알케닐$-Cy_{01}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-Cy_{01}$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-R_{012}$, $-C(O)-OR_{011}$, $-O-C(O)-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-NR_{011}-C(O)-OR_{011}'$, $-(C_1-C_6)$알킬$-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-SO_2-NR_{011}R_{011}'$, 또는 $-SO_2-(C_1-C_6)$알킬이거나,

[0813] 또는 쌍 (R_{06}, R_{07})은 2개의 인접한 탄소 원자와 융합된 경우에 이들이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께, O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 생성된 고리는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, $-NR_{013}R_{013}'$, $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$ 및 옥소로부터 선택되는 기에 의해 임의로 치환되고,

[0814] R_{08}은 수소 원자, 선형 또는 분지형 (C_1-C_8)알킬 기, 아릴 기, 헤테로아릴 기, 아릴$-(C_1-C_6)$알킬 기 또는 헤테로아릴(C_1-C_6)알킬 기이고,

[0815] R_{09}는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, $-Cy_{02}$, $-(C_1-C_6)$알킬$-Cy_{02}$, $-(C_2-C_6)$알케닐$-Cy_{02}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-Cy_{02}$, $-Cy_{02}-Cy_{03}$, $-(C_2-C_6)$알키닐$-O-Cy_{02}$, $-Cy_{02}-(C_0-C_6)$알킬$-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{03}$, 할로겐 원자, 시아노 기, $-C(O)-R_{014}$, $-C(O)-NR_{014}R_{014}'$이고,

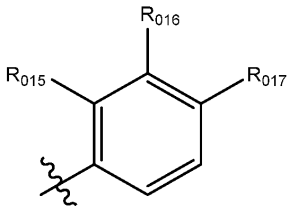
[0816] R_{011} 및 R_{011}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 또는 $-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{01}$이거나,

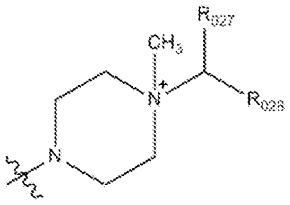
[0817] 또는 쌍 (R_{011}, R_{011}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 N 원자는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기에 의해 임의로 치환되고, 여기서 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기의 탄소 원자 중 1개 이상은 임의로 중수소화되고,

[0818] R_{012}는 $-Cy_{05}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{06}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{06}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-NR_{011}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{06}$, $-Cy_{05}-Cy_{06}-O-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{07}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{09}$, $-NH-C(O)-NH-R_{011}$, $-C(O)-NR_{011}R_{011}'$, $-NR_{011}R_{011}'$, $-OR_{011}$, $-NR_{011}-C(O)-R_{011}'$, $-O-(C_1-C_6)$알킬$-OR_{011}$, $-SO_2-R_{011}$, 또는 $-C(O)-OR_{011}$이고,

[0819] R_{013}, R_{013}', R_{014} 및 R_{014}'는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

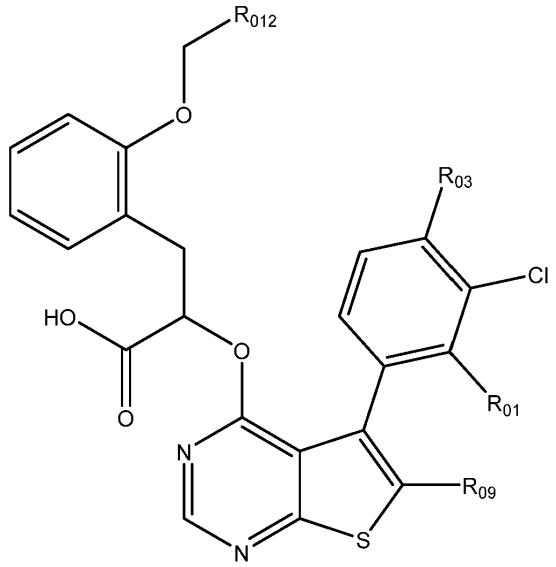
[0820] Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07} 및 Cy_{08}은 서로 독립적으로 임의로 치환된 시클로알킬 기, 임의로 치환된 헤테로시클로알킬 기, 임의로 치환된 아릴 기 또는 임의로 치환된 헤테로아릴 기이고,

[0821] Cy_{09}는  이고, 여기서 R_{015}, R_{016}, 및 R_{017}은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고,

[0822] R_{031}은  이고, 여기서 R_{027} 및 R_{028}은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고,

[0823] 여기서 R_{03}, R_{09}, 또는 R_{012} 기 중 최대 1개가 존재하는 경우 링커에 공유 부착된다.

[0824] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 약물 모이어티는 하기 화학식 (III)의 화합물, 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함할 수 있다.

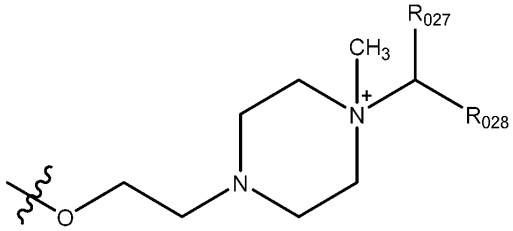


(III)

[0825]

[0826] 여기서:

[0827] R_{01}은 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고,

[0828] R_{03}은 -O-(C_1-C_6)알킬-$NR_{011}R_{011}'$, 또는  이고,

[0829] 여기서 R_{011} 및 R_{011}'은 서로 독립적으로 수소 원자, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기, 또는 -(C_0-C_6)알킬-Cy_{01}이거나;

[0830] 또는 쌍 (R_{011}, R_{011}')은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 질소 원자에 추가로 O, S 및 N으로부터 선택되

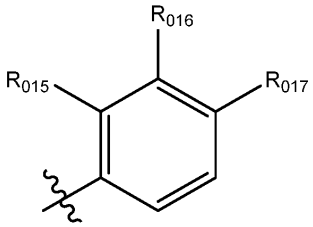
는 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 함유하는 5 내지 7개의 고리원을 함유하는 방향족 또는 비-방향족 고리를 형성하고, 여기서 N 원자는 수소 원자 또는 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기로부터 선택되는 1 또는 2개의 기에 의해 치환될 수 있고,

[0831] 여기서 R_{027}은 수소 원자이고, R_{028}은 $-(CH_2)_{p0}-O-SO_2-O^-$ 기 또는 $-(CH_2)_{p0}-SO_2-OR_{030}$ 기이고;

[0832] R_{09}는 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기 또는 $-Cy_{02}$이고,

[0833] R_{012}는 $-Cy_{05}$, $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{06}$ 또는 $-Cy_{05}-(C_0-C_6)$알킬$-Cy_{09}$이고,

[0834] Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{05} 및 Cy_{06}은 서로 독립적으로 시클로알킬 기, 헤테로시클로알킬 기, 아릴 기 또는 헤테로아릴 기이고, 이들 각각은 임의로 치환되고,

[0835] Cy_{09}는 

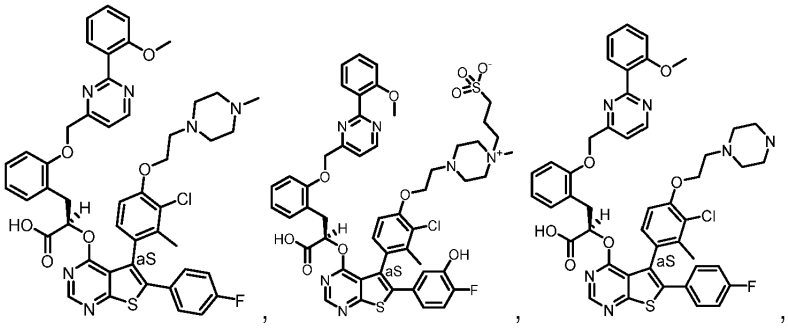
이고;

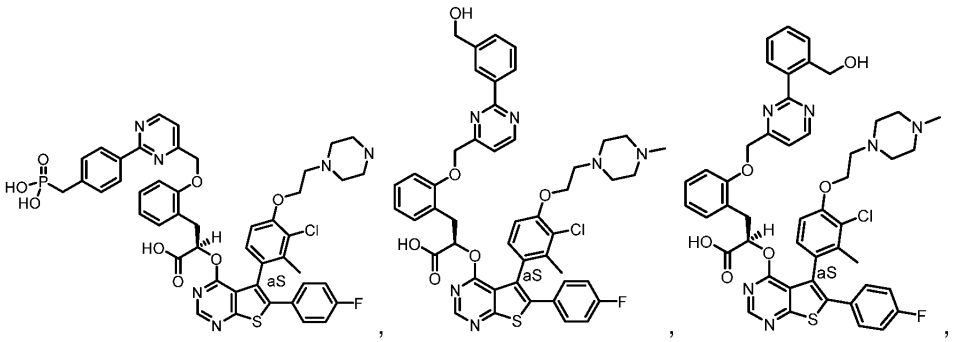
[0836] p_0, R_{015}, R_{016} 및 R_{017}은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같고,

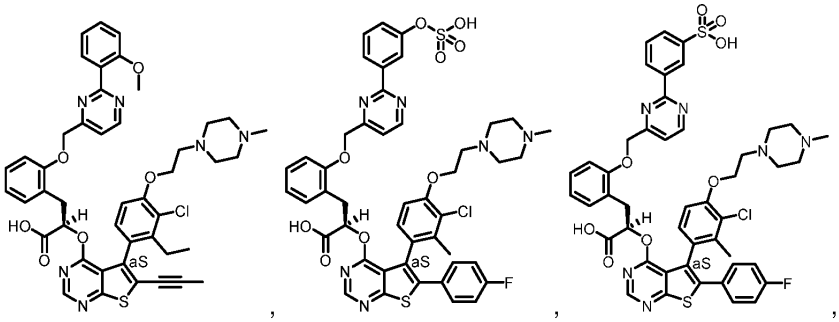
[0837] 여기서 R_{03}, R_{09}, 또는 R_{012} 기 중 최대 1개가 존재하는 경우 링커에 공유 부착된다.

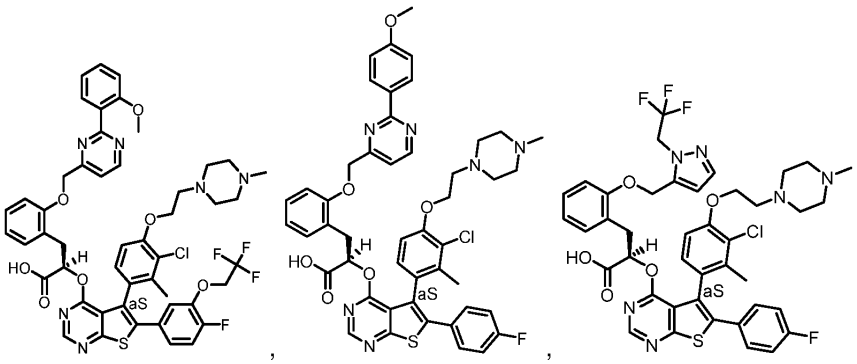
[0838] 일부 실시양태에서, Cy_{01}, Cy_{02}, Cy_{03}, Cy_{04}, Cy_{05}, Cy_{06}, Cy_{07}, Cy_{08} 및 Cy_{010}은 서로 독립적으로 임의로 치환된 시클로알킬 기, 임의로 치환된 헤테로시클로알킬 기, 임의로 치환된 아릴 기 또는 임의로 치환된 헤테로아릴 기이고, 여기서 임의적인 치환기는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알케닐 기, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_2-C_6)알키닐 기, 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알콕시, 임의로 치환된 (C_1-C_6)알킬-S-, 히드록시, 옥소 (또는 적절한 경우에 N-옥시드), 니트로, 시아노, $-C(O)-OR_0'$, $-O-C(O)-R_0'$, $-C(O)-NR_0'R_0"$, $-NR_0'R_0"$, $-(C=NR_0')-OR_0"$, 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)할로알킬, 트리플루오로메톡시 또는 할로겐으로부터 선택되고, 여기서 R_0' 및 $R_0"$은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 임의로 치환된 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기이고, 여기서 선형 또는 분지형 (C_1-C_6)알킬 기의 탄소 원자 중 1개 이상은 임의로 중수소화된다.

[0839] 일부 실시양태에서, 약물 모이어티 (D)는

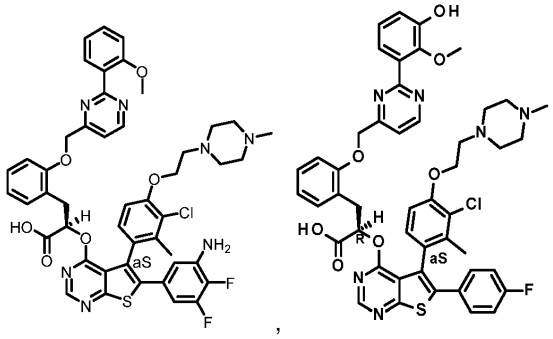






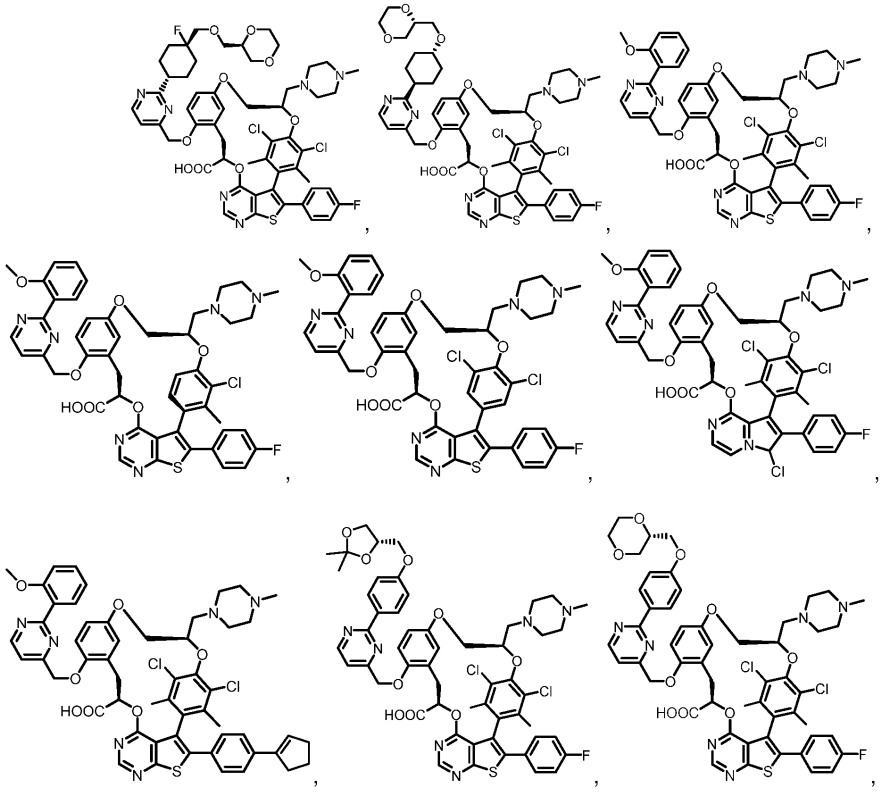


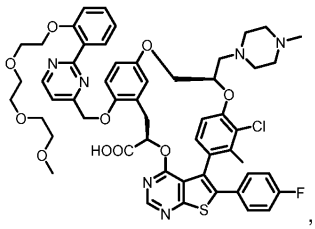
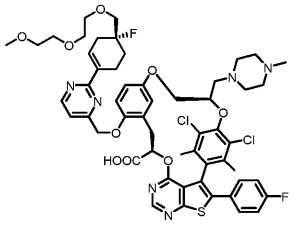
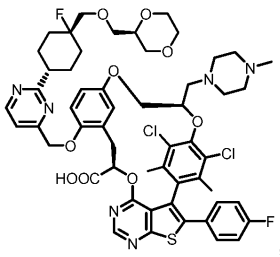
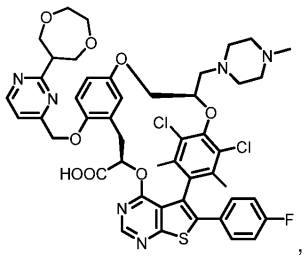
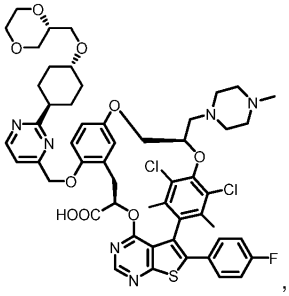
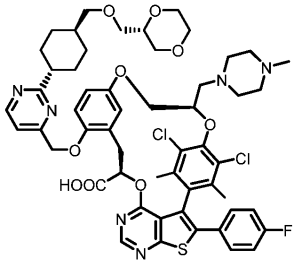
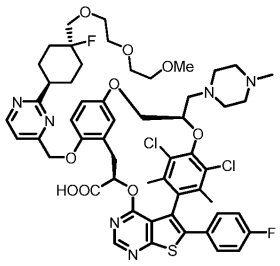
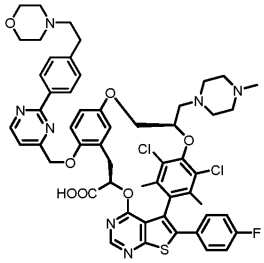
[0840]



[0841] , , 또는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 회전장애이성질체, 중수소화 유도체 및/또는 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

[0842] 추가로, 본 개시내용의 약물 모이어티는 하기 중 어느 하나를 포함할 수 있다:

[0843] 


,

,

,

,

,

,

, 또는


[0844]

[0845] 일부 실시양태에서, 링커-약물 (또는 "링커-페이로드") 모이어티 -(L-D)는 표 A로부터 선택되는 화합물을 포함할 수 있다.

[0846] 약물 로딩

[0847] 약물 로딩은 p로 표시되고, 본원에서 약물-대-항체 비 (DAR)로도 지칭된다. 약물 로딩은 항체 또는 항원-결합 단편당 1 내지 16개의 약물 모이어티의 범위일 수 있다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 16의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 16, 1 내지 15, 1 내지 14, 1 내지 13, 1 내지 12, 1 내지 11, 1 내지 10, 1 내지 9, 1 내지 8, 1 내지 7, 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3 또는 1 내지 2의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 10, 2 내지 9, 2 내지 8, 2 내지 7, 2 내지 6, 2 내지 5, 2 내지 4 또는 2 내지 3의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 16의 정수이다. 일부 실시양태들에서, p는 1 내지 8의 정수이다. 일부 실시양태들에서, p는 1 내지 5의 정수이다. 일부 실시양태들에서, p는 2 내지 4의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이다. 일부 실시양태들에서, p는 2이다. 일부 실시양태들에서, p는 4이다.

[0848] 약물 로딩은 항체 또는 항원-결합 단편 상의 부착 부위의 수에 의해 제한될 수 있다. 일부 실시양태에서, ADC의 링커 모이어티 (L)는 항체 또는 항원-결합 단편 상의 1개 이상의 아미노산 잔기 상의 화학적 활성 기를 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 부착된다. 예를 들어, 링커는 유리 아미노, 이미노, 히드록실, 티올 또는 카르복실 기를 통해 (예를 들어, N- 또는 C-말단에, 하나 이상의 리신 잔기의 엡실론 아미노 기에, 하나 이상의 글루탐산 또는 아스파르트산 잔기의 유리 카르복실산 기에 또는 하나 이상의 시스테인 잔기의 술프히드릴 기에) 항체 또는 항원-결합 단편에 부착될 수 있다. 링커가 부착되는 부위는 항체 또는 항원-결합 단편의 아미노산 서열 내의 천연 잔기일 수 있거나, 또는 예를 들어 DNA 재조합 기술에 의해 (예를 들어, 시스테인 잔기를 아미노

산 서열 내로 도입함으로써) 또는 단백질 생화학에 의해 (예를 들어, 환원, pH 조정 또는 가수분해에 의해) 항체 또는 항원-결합 단편 내로 도입될 수 있다.

[0849] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편에 접합될 수 있는 약물 모이어티의 수는 유리 시스테인 잔기의 수에 의해 제한된다. 예를 들어, 부착이 시스테인 티올 기인 경우, 항체는 단지 1개 또는 소수 개의 시스테인 티올 기를 가질 수 있거나, 또는 그를 통해 링커가 부착될 수 있는 충분히 반응성인 티올 기를 단지 1개 또는 소수 개 가질 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 많은 유리 및 반응성 시스테인 티올 기를 함유하지 않는다. 실제로, 항체 내의 대부분의 시스테인 티올 잔기는 쇄간 또는 쇄내 디술피드 결합에 포함된다. 따라서, 시스테인에 대한 접합은 일부 실시양태에서 항체의 적어도 부분적인 환원을 필요로 할 수 있다. 항체에 대한 링커-독소의 과다-부착은 디술피드 결합을 형성하는 데 이용가능한 시스테인 잔기를 환원시킴으로써 항체를 탈안정화시킬 수 있다. 따라서, 최적의 약물:항체 비는 항체 또는 항원-결합 단편을 탈안정화시키지 않으면서 (항체당 부착된 약물 모이어티의 수를 증가시킴으로써) ADC의 효력을 증가시켜야 한다. 일부 실시양태에서, 최적 비는 2, 4, 6 또는 8일 수 있다. 일부 실시양태에서, 최적 비는 2 또는 4일 수 있다.

[0850] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 1개 이상의 유리 시스테인 잔기를 생성하기 위해 접합 전에 환원 조건에 노출된다. 일부 실시양태에서, 항체를 부분 또는 전체 환원 조건 하에 환원제, 예컨대 디티오트레이톨 (DTT) 또는 트리스(2-카르복시에틸)포스핀 (TCEP)으로 환원시켜 반응성 시스테인 티올 기를 생성할 수 있다. 쌍형성되지 않은 시스테인은 제한된 몰 당량의 TCEP로의 부분 환원을 통해 생성될 수 있으며, 이는 경쇄 및 중쇄 (H-L 쌍형성당 1개의 쌍) 및 힌지 영역 내의 2개의 중쇄 (인간 IgG1의 경우에 H-H 쌍형성당 2개의 쌍)를 연결하는 쇄간 디술피드 결합을 환원시키면서 쇄내 디술피드 결합을 무손상 상태로 남길 수 있다 (문헌 [Stefano et al. (2013) Methods Mol Biol. 1045:145-71]). 실시양태에서, 항체 내의 디술피드 결합은, 예를 들어 교대 환원 및 산화 전압을 적용하는 작업 전극을 사용함으로써 전기화학적으로 환원된다. 이러한 접근법은 분석 장치 (예를 들어, 전기화학적 검출 장치, NMR 분광계 또는 질량 분광계) 또는 화학적 분리 장치 (예를 들어, 액체 크로마토그래프 (예를 들어, HPLC) 또는 전기영동 장치 (예를 들어, US 2014/0069822 참조))에 대한 디술피드 결합 환원의 온-라인 커플링을 가능하게 할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 변성 조건에 적용되어 아미노산 잔기, 예컨대 시스테인 상의 반응성 친핵성 기를 드러낸다.

[0851] ADC의 약물 로딩은 다양한 방식으로, 예를 들어 (i) 항체 대비 몰 과량의 약물-링커 중간체 또는 링커 시약을 제한하고/거나; (ii) 접합 반응 시간 또는 온도를 제한하고/거나; (iii) 시스테인 티올 변형을 위한 부분적 또는 제한적 환원 조건을 제한하고/거나; (iv) 링커-약물 부착의 수 및/또는 위치의 제어를 위해 시스테인 잔기의 수 및 위치가 변형되도록 재조합 기술에 의해 항체의 아미노산 서열을 조작함으로써 제어될 수 있다.

[0852] 일부 실시양태에서, 유리 시스테인 잔기가 항체 또는 항원-결합 단편의 아미노산 서열 내로 도입된다. 예를 들어, 모 항체의 1개 이상의 아미노산이 시스테인 아미노산으로 대체된 시스테인 조작된 항체가 제조될 수 있다. 임의의 형태의 항체가 그렇게 조작될 수 있고, 즉 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 모 Fab 항체 단편은 "티오 Fab"로 지칭되는 시스테인 조작된 Fab를 형성하도록 조작될 수 있다. 유사하게, 모 모노클로날 항체는 "티오 Mab"를 형성하도록 조작될 수 있다. 단일 부위 돌연변이는 티오Fab에서 단일 조작된 시스테인 잔기를 생성하는 반면, 단일 부위 돌연변이는 IgG 항체의 이량체 성질로 인해 티오Mab에서 2개의 조작된 시스테인 잔기를 생성한다. 모 폴리펩티드의 아미노산 서열 변이체를 코딩하는 DNA는 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다 (예를 들어, WO 2006/034488에 기재된 방법 참조). 이들 방법은 폴리펩티드를 코딩하는 앞서 제조된 DNA의 부위-지정 (또는 올리고뉴클레오티드-매개) 돌연변이유발, PCR 돌연변이유발 및 카세트 돌연변이유발에 의한 제조를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 재조합 항체의 변이체는 또한 제한 단편 조작에 의해 또는 합성 올리고뉴클레오티드를 사용한 중첩 연장 PCR에 의해 구축될 수 있다. 화학식 (1)의 ADC는 1, 2, 3 또는 4개의 조작된 시스테인 아미노산을 갖는 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다 (문헌 [Lyon et al. (2012) Methods Enzymol. 502:123-38]). 일부 실시양태에서, 1개 이상의 유리 시스테인 잔기는 조작의 사용 없이 항체 또는 항원-결합 단편에 이미 존재하고, 이 경우 존재하는 유리 시스테인 잔기는 항체 또는 항원-결합 단편을 약물 모이어티에 접합시키는 데 사용될 수 있다.

[0853] 항체 또는 항원-결합 단편 및 링커 모이어티의 다중 카피를 포함하는 반응 혼합물에서 1개 초과의 친핵성 기가 약물-링커 중간체 또는 링커 모이어티 시약, 및 이어서 약물 모이어티 시약과 반응하는 경우, 수득된 생성물은 혼합물에서 항체 또는 항원-결합 단편의 각각의 카피에 부착된 1개 이상의 약물 모이어티의 분포를 갖는 ADC 화합물의 혼합물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 접합 반응으로부터 생성된 ADC의 혼합물 내의 약물 로딩은 항체 또는 항원-결합 단편당 부착된 1 내지 16개의 약물 모이어티 범위이다. 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수 (즉, 평균 약물 로딩 또는 평균 p)는 관련 기술분야에 공지된 임의의 통상적인 방법에 의해, 예

를 들어 질량 분광측정법 (예를 들어, 액체 크로마토그래피-질량 분광측정법 (LC-MS)) 및/또는 고성능 액체 크로마토그래피 (예를 들어, HIC-HPLC)에 의해 계산될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수는 액체 크로마토그래피-질량 분광측정법 (LC-MS)에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수는 약 1.5 내지 약 3.5, 약 2.5 내지 약 4.5, 약 3.5 내지 약 5.5, 약 4.5 내지 약 6.5, 약 5.5 내지 약 7.5, 약 6.5 내지 약 8.5 또는 약 7.5 내지 약 9.5이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수는 약 2 내지 약 4, 약 3 내지 약 5, 약 4 내지 약 6, 약 5 내지 약 7, 약 6 내지 약 8, 약 7 내지 약 9, 약 2 내지 약 8 또는 약 4 내지 약 8이다.

[0854] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수는 약 2이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수는 약 1.5, 약 1.6, 약 1.7, 약 1.8, 약 1.9, 약 2, 약 2.1, 약 2.2, 약 2.3, 약 2.4 또는 약 2.5이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수는 2이다.

[0855] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수는 약 4이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3.5, 약 3.6, 약 3.7, 약 3.8, 약 3.9, 약 4, 약 4.1, 약 4.2, 약 4.3, 약 4.4 또는 약 4.5이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수는 4이다.

[0856] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편당 약물 모이어티의 평균 수와 관련하여 사용된 용어 "약"은 ±20%, 15%, 10%, 5% 또는 1%를 의미한다. 한 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 10% 많거나 적은 값의 범위를 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 5% 많거나 적은 값의 범위를 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 1% 많거나 적은 값의 범위를 지칭한다.

[0857] 개별 ADC 화합물 또는 "종"은 질량 분광분석법에 의해 혼합물에서 확인되고, 예를 들어 UPLC 또는 HPLC, 예를 들어 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC-HPLC)에 의해 분리될 수 있다. 일부 실시양태에서, 단일 로딩 값을 갖는 균질 또는 거의 균질 ADC 생성물은, 예를 들어 전기영동 또는 크로마토그래피에 의해 접합 혼합물로부터 단리될 수 있다.

[0858] 일부 실시양태에서, 보다 높은 약물 로딩 (예를 들어, $p > 16$)은 특정 항체-약물 접합체의 응집, 불용성, 독성 또는 세포 투과성의 상실을 유발할 수 있다. 보다 높은 약물 로딩은 또한 특정 ADC의 약동학 (예를 들어, 클리어런스)에 부정적인 영향을 미칠 수 있다. 일부 실시양태에서, 보다 낮은 약물 로딩 (예를 들어, $p < 2$)은 표적-발현 세포에 대한 특정 ADC의 효력을 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 ADC에 대한 약물 로딩은 약 2 내지 약 16, 약 2 내지 약 10, 약 2 내지 약 8; 약 2 내지 약 6; 약 2 내지 약 5; 약 3 내지 약 5; 약 2 내지 약 4; 또는 약 4 내지 약 8의 범위이다.

[0859] 일부 실시양태에서, 약 2의 약물 로딩 및/또는 평균 약물 로딩은, 예를 들어 항체 또는 항원-결합 단편 상의 쇄내 디술피드의 부분적 환원을 사용하여 달성되고, 유익한 특성을 제공한다. 일부 실시양태에서, 약 4 또는 약 6 또는 약 8의 약물 로딩 및/또는 평균 약물 로딩은, 예를 들어 항체 또는 항원-결합 단편 상의 쇄내 디술피드의 부분적 환원을 사용하여 달성되고, 유익한 특성을 제공한다. 일부 실시양태에서, 약 2 미만의 약물 로딩 및/또는 평균 약물 로딩은 표적 항원 CD48에의 결합에 대해 ADC와 경쟁하고/거나 감소된 치료 효능을 제공할 수 있는 허용되지 않는 높은 수준의 비접합된 항체 종을 초래할 수 있다. 일부 실시양태에서, 약 16 초과의 약물 로딩 및/또는 평균 약물 로딩은 허용되지 않는 높은 수준의 생성물 불균질성 및/또는 ADC 응집을 유발할 수 있다. 약 16 초과의 약물 로딩 및/또는 평균 약물 로딩은 또한 항체 또는 항원-결합 단편을 안정화시키는 데 요구되는 1개 이상의 화학 결합의 상실로 인해 ADC의 안정성에 영향을 미칠 수 있다.

[0860] 본 개시내용은 기재된 ADC를 생성하는 방법을 포함한다. 간략하게, ADC는 항체 또는 항원-결합 단편으로서의 항체 또는 항원-결합 단편, 약물 모이어티 (예를 들어, Mcl-1 억제제), 및 약물 모이어티와 항체 또는 항원-결합 단편을 연결하는 링커를 포함한다. 일부 실시양태에서, ADC는 약물 모이어티 및 항체 또는 항원-결합 단편에 공유 부착하기 위한 반응성 관능기를 갖는 링커를 사용하여 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 링커 또는 약물-링커 중간체와 반응성인 관능기를 제조하도록 관능화된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편의 시스테인 티올은 링커 또는 약물-링커 중간체의 반응성 관능기와 결합을 형성하여 ADC를 제조할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 박테리아 트랜스글루타미나제 (BTG) - 아민 함유 시클로옥틴 BCN (N-[(1R,8S,9s)-비시클로[6.1.0]논-4-인-9-일메틸옥시카르보닐]-1,8-디아미노-3,6-디옥사옥탄) 모이어티로 특이적으로 관능화된 반응성 글루타민을 사용하여 제조된다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편의 BCN 모이어티에 대한 링커 또는 약물-링커 중간체의 부위-특이적 접

합은, 예를 들어 본원에 기재되고 예시된 바와 같이 수행된다. ADC의 생성은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 기술에 의해 달성될 수 있다.

[0861] 일부 실시양태에서, ADC는, 항체 또는 항원-결합 단편이 먼저 링커에 공유 연결된 후, 미리 형성된 항체-링커 중간체가 약물 모이어티와 반응하도록 항체 또는 항원-결합 단편을 링커 및 약물 모이어티 (예를 들어, Mcl-1 억제제)와 순차적 방식으로 접촉시켜 생성된다. 항체-링커 중간체는 약물 모이어티와 접촉하기 전에 정제 단계에 적용될 수 있거나 또는 적용되지 않을 수 있다. 다른 실시양태에서, ADC는 링커를 약물 모이어티와 반응시킴으로써 미리 형성된 링커-약물 화합물과 항체 또는 항원-결합 단편을 접촉시켜 생성된다. 미리 형성된 링커-약물 화합물은 항체 또는 항원-결합 단편과 접촉하기 전에 정제 단계에 적용될 수 있거나 또는 적용되지 않을 수 있다. 다른 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 하나의 반응 혼합물에서 링커 및 약물 모이어티와 접촉하여, 항체 또는 항원-결합 단편과 링커 사이 및 링커와 약물 모이어티 사이의 공유 결합의 동시 형성을 허용한다. ADC를 생성하는 이러한 방법은 항체 또는 항원-결합 단편이 반응 혼합물에 링커를 첨가하기 전에 항체 또는 항원-결합 단편과 접촉하는 반응 및 그 반대의 반응을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, ADC는 항체 또는 항원-결합 단편을 약물 모이어티, 예컨대 Mcl-1 억제제에 연결된 링커와 접합을 허용하는 조건 하에 반응시킴으로써 생성된다.

[0862] 상기 기재된 방법에 따라 제조된 ADC는 정제 단계에 적용될 수 있다. 정제 단계는 단백질을 정제하기 위한 관련 기술분야에 공지된 임의의 생화학적 방법 또는 그의 방법들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 이들은 접선 유동 여과 (TFF), 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 임의의 전하 또는 등전점-기반 크로마토그래피, 혼합 모드 크로마토그래피, 예를 들어 CHT (세라믹 히드록시아파타이트), 소수성 상호작용 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피, 투석, 여과, 선택적 침전 또는 그의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0863] 치료 용도 및 조성물

[0864] 장애, 예를 들어 암에 대해 대상체를 치료하는 데 있어서 본원에 기재된 조성물, 예를 들어 개시된 ADC 화합물 및 조성물을 사용하는 방법이 본원에 개시된다. 조성물, 예를 들어 ADC는 단독으로 또는 적어도 1종의 추가의 불활성 및/또는 활성제, 예를 들어 적어도 1종의 추가의 치료제와 조합하여 투여될 수 있고, 임의의 제약상 허용되는 제제, 투여량 및 투여 요법으로 투여될 수 있다. 치료 효능은 독성 뿐만 아니라 효능의 지표에 대해 평가되고, 그에 따라 조정될 수 있다. 효능 척도는 시험관내 또는 생체내에서 관찰되는 세포증식억제 및/또는 세포독성 효과, 감소된 종양 부피, 종양 성장 억제 및/또는 연장된 생존을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0865] ADC가 세포에 대해 세포증식억제 및/또는 세포독성 효과를 발휘하는지 여부를 결정하는 방법은 공지되어 있다. 예를 들어, ADC의 세포독성 또는 세포증식억제 활성은, 예를 들어 ADC의 표적 항원 CD48를 발현하는 포유동물 세포를 세포 배양 배지에 노출시키고; 세포를 약 6시간 내지 약 6일의 기간 동안 배양하고; 세포 생존율을 측정함으로써 (예를 들어, 셀타이터-글로(CellTiter-Glo)® (CTG) 또는 MTT 세포 생존율 검정을 사용함) 측정될 수 있다. 세포-기반 시험관내 검정이 또한 ADC의 생존율 (증식), 세포독성 및 아폽토시스의 유도 (카스파제 활성화)를 측정하는 데 사용될 수 있다.

[0866] 세포독성을 결정하기 위해, 괴사 또는 아폽토시스 (프로그램화된 세포 사멸)를 측정할 수 있다. 괴사는 전형적으로 형질막의 증가된 투과성, 세포 팽윤 및 형질막의 파열을 동반한다. 아폽토시스는 예를 들어 DNA 단편화를 측정함으로써 정량화될 수 있다. DNA 단편화의 정량적 시험관내 측정을 위한 상업적 광도측정 방법이 이용가능하다. TUNEL (단편화된 DNA 내의 표지된 뉴클레오티드 혼입 검출) 및 ELISA-기반 검정을 비롯한 이러한 검정의 예는 문헌 [Biochemica (1999) 2:34-7 (Roche Molecular Biochemicals)]에 기재되어 있다.

[0867] 아폽토시스는 또한 세포에서 형태학적 변화를 측정함으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 괴사에서와 같이, 형질막 완전성의 상실은 특정 염료 (예를 들어, 형광 염료, 예컨대 예를 들어 아크리딘 오렌지 또는 에티듐 브로마이드)의 흡수를 측정함으로써 결정될 수 있다. 아폽토시스 세포 수를 측정하는 방법은 문헌 [Duke and Cohen, Current Protocols in Immunology (Coligan et al., eds. (1992) pp. 3.17.1-3.17.16)]에 기재되어 있다. 세포는 또한 DNA 염료 (예를 들어, 아크리딘 오렌지, 브로민화에티듐 또는 아이오딘화프로피듐)로 표지될 수 있고, 세포는 내부 핵막을 따라 염색질 응축 및 주변화에 대해 관찰될 수 있다. 일부 실시양태에서, 아폽토시스는 또한 카스파제 활성에 대해 스크리닝함으로써 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 카스파제-글로(Caspase-Glo)® 검정은 카스파제-3 및 카스파제-7의 활성을 측정하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 검정은 카스파제 활성, 루시페라제 활성 및 세포 용해에 최적화된 시약 중 발광 카스파제-3/7 기질을 제공한다. 일부 실시양태에서, "첨가-혼합-측정" 포맷으로 카스파제-글로® 3/7시약을 첨가하는 것은 세포 용해, 이어서

기질의 카스파제 절단, 및 루시페라제에 의해 생성된 "글로우-유형" 발광 신호의 생성을 유발할 수 있다. 일부 실시양태에서, 발광은 존재하는 카스파제 활성의 양에 비례할 수 있고, 아폽토시스의 지표로서 작용할 수 있다. 아폽토시스를 결정하기 위해 측정될 수 있는 다른 형태학적 변화는, 예를 들어 세포질 응축, 증가된 막 수포화 및 세포 수축을 포함한다. 암 세포에 대한 임의의 이들 효과의 결정은 ADC가 암의 치료에 유용하다는 것을 나타낸다.

[0868] 세포 생존율은, 예를 들어 세포에서 염료, 예컨대 뉴트랄 레드, 트리판 블루, 크리스탈 바이올렛 또는 ALAMAR™ 블루의 흡수를 결정함으로써 측정될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Page et al. (1993) Intl J Oncology 3:473-6] 참조). 이러한 검정에서, 세포를 염료를 함유하는 배지에서 인큐베이션하고, 세포를 세척하고, 염료의 세포 흡수를 반영하는 나머지 염료를 분광광도계로 측정한다.

[0869] 세포 생존율은 또한, 예를 들어 대사적 활성 세포의 지표인 ATP를 정량화함으로써 측정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 제조된 ADC 또는 Mcl-1 억제제 화합물의 시험관내 효력 및/또는 세포 생존율은 본원에 제공된 실시예에 기재된 바와 같이 셀타이터-글로® (CTG) 세포 생존율 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 본 검정에서, 일부 실시양태에서, 단일 시약 (셀타이터-글로® 시약)은 혈청-보충 배지에서 배양된 세포에 직접 첨가된다. 시약의 첨가는 세포 용해 및 존재하는 ATP의 양에 비례하는 발광 신호의 생성을 유발한다. ATP의 양은 배양물에 존재하는 세포의 수에 정비례한다.

[0870] 세포 생존율은 또한, 예를 들어 테트라졸륨 염의 환원을 측정함으로써 측정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 제조된 ADC 또는 Mcl-1 억제제 화합물의 시험관내 효력 및/또는 세포 생존율은 본원에 제공된 실시예에 기재된 바와 같이 MTT 세포 생존율 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 본 검정에서, 일부 실시양태에서, 황색 테트라졸륨 MTT (3-(4,5-디메틸티아졸릴-2)-2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드)는 대사적 활성 세포에 의해, 부분적으로 데히드로게나제 효소의 작용에 의해 환원되어 NADH 및 NADPH와 같은 환원 등가물을 생성한다. 이어서, 생성된 세포내 자주색 포르마잔을 가용화시키고, 분광광도측정 수단에 의해 정량화할 수 있다.

[0871] 특정 측면에서, 본 개시내용은 Mcl-1 및/또는 1종 이상의 상류 조절제 또는 그의 하류 표적의 발현 및/또는 활성을 파괴함으로써 암 세포 또는 조직의 성장을 사멸, 억제 또는 조정하는 방법을 특징으로 한다. 방법은 Mcl-1 발현 및/또는 활성의 파괴가 치료 이익을 제공하는 임의의 대상체에 사용될 수 있다. Mcl-1 발현 및/또는 활성을 파괴하는 것으로부터 이익을 얻을 수 있는 대상체는 암, 예컨대 종양 또는 혈액암을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 림프종 또는 위암이다.

[0872] 예시적인 방법은 세포를 유효량, 즉 세포를 사멸시키기에 충분한 양의 본원에 기재된 ADC와 접촉시키는 단계를 포함한다. 상기 방법은 예를 들어 시험관내, 생체내, 생체외 또는 계내에서 배양물 중 세포에 사용될 수 있다. 예를 들어, CD48를 발현하는 세포 (예를 들어, 종양 또는 전이성 병변의 생검에 의해 수집된 세포; 확립된 암 세포주로부터의 세포; 또는 재조합 세포)는 배양 배지에서 시험관내 배양될 수 있고, 접촉 단계는 ADC를 배양 배지에 첨가함으로써 영향을 받을 수 있다. 방법은 특히 CD48를 발현하는 암 세포를 포함한, CD48를 발현하는 세포의 사멸을 유발할 것이다. 대안적으로, ADC는 생체내에서 효과를 갖도록 임의의 적합한 투여 경로 (예를 들어, 정맥내, 피하 또는 종양 조직과의 직접 접촉)에 의해 대상체에게 투여될 수 있다.

[0873] 개시된 ADC 치료 조성물의 생체내 효과는 적합한 동물 모델에서 평가될 수 있다. 예를 들어, 이종 암 모델이 사용될 수 있으며, 여기서 암 외식편 또는 계대된 이종이식편 조직은 면역 손상된 동물, 예컨대 누드 또는 SCID 마우스 내로 도입된다 (문헌 [Klein et al. (1997) Nature Med. 3:402-8]). 효능은 종양 형성, 종양 퇴행 또는 전이 등의 억제를 측정하는 검정을 사용하여 예측될 수 있다.

[0874] 아폽토시스와 같은 메카니즘에 의한 종양 사멸의 촉진을 평가하는 생체내 검정이 또한 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료 조성물로 치료된 종양 보유 마우스로부터의 이종이식편을 아폽토시스 병소의 존재에 대해 검사하고, 비치료 대조군 이종이식편-보유 마우스와 비교할 수 있다. 처리된 마우스의 종양에서 아폽토시스 병소가 발견되는 정도가 조성물의 치료 효능의 지표를 제공한다.

[0875] 추가로, 장애, 예를 들어 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 본원에 기재된 조성물, 예를 들어 본원에 개시된 ADC는 치료 목적을 위해 비-인간 포유동물 또는 인간 대상체에게 투여될 수 있다. 치료 방법은 암을 갖거

나 갖는 것으로 의심되는 대상체에게 Mcl-1 억제제, 예를 들어 ADC를 포함하는 조성물의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 억제제는 (1) 암 세포 상에 발현되고/거나 (2) 결합에 접근가능하고/거나 (3) 비-암 세포에 비해 암 세포 표면 상에 국재화되거나 우세하게 발현된 항원에 결합하는 표적화 항체에 연결된다.

[0876] 예시적인 실시양태는 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체에게 치료 유효량의 본원에 개시된 조성물, 예를 들어 ADC, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 ADC, 조성물 또는 제약 조성물)을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법이다. 일부 실시양태에서, 암은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암은 종양 또는 혈액암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 림프종 또는 위암이다.

[0877] 또 다른 예시적인 실시양태는 Mcl-1 억제제를 CD48 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 항체에 접합시키고, 세포를 ADC에 노출시키는 것을 포함하는, Mcl-1 억제제를 CD48를 발현하는 세포에 전달하는 방법이다. 본 개시내용의 ADC가 지시되는 CD48를 발현하는 예시적인 암 세포는 다발성 골수종 세포를 포함한다.

[0878] 특정 측면에서, 본 개시내용은 치료 유효량의 ADC 또는 ADC를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 종양 (예를 들어, CD48-발현 종양)의 성장을 감소시키거나 또는 억제하는 방법을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 치료는 환자의 종양의 성장을 감소 또는 억제하고/거나, 전이성 병변의 수 또는 크기를 감소시키고/거나, 종양 부하를 감소시키고/거나, 원발성 종양 부하를 감소시키고/거나, 침습성을 감소시키고/거나, 생존 시간을 연장시키고/거나, 삶의 질을 유지 또는 개선시키기에 충분하다. 일부 실시양태에서, 종양은 단독 투여시 ADC의 항체 또는 항원-결합 단편 (예를 들어, 항-CD48 항체)을 사용한 치료에 대해 저항성 또는 불응성이고/거나, 종양은 단독 투여시 Mcl-1 억제제 약물 모이어티를 사용한 치료에 대해 저항성 또는 불응성이다.

[0879] 예시적인 실시양태는 대상체에게 치료 유효량의 ADC, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 ADC, 조성물 또는 제약 조성물)을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 종양의 성장을 감소시키거나 또는 억제하는 방법이다. 일부 실시양태에서, 종양은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 종양은 유방암, 위암, 방광암, 뇌암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 흑색종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 종양은 위암이다. 일부 실시양태에서, ADC, 조성물 또는 제약 조성물의 투여는 치료 부재 하의 성장과 비교하여 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99%만큼 종양의 성장을 감소시키거나 또는 억제한다.

[0880] 또 다른 예시적인 실시양태는 대상체에게 치료 유효량의 ADC, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 ADC, 조성물 또는 제약 조성물)을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 종양의 성장을 지연시키거나 늦추는 방법이다. 일부 실시양태에서, 종양은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 종양은 유방암, 위암, 방광암, 뇌암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 흑색종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암이다. 일부 실시양태에서, 종양은 위암이다. 일부 실시양태에서, ADC, 조성물 또는 제약 조성물의 투여는 치료 부재 하의 성장과 비교하여 종양의 성장을 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99% 지연시키거나 둔화시킨다.

[0881] 특정 측면에서, 본 개시내용은 치료 유효량의 ADC 또는 ADC를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암 세포 집단 (예를 들어, CD48-발현 암 세포 집단)의 확장을 감소시키거나 또는 둔화시키는 방법을 추가로 제공한다.

[0882] 예시적인 실시양태는 대상체에게 치료 유효량의 ADC, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 ADC, 조성물 또는 제약 조성물)을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암 세포 집단의 확장을 감소시키거나 또는 둔화시키는 방법이다. 일부 실시양태에서, 암 세포 집단은 표적 항원 CD48를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암 세포 집단은 종양 또는 혈액암으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 암 세포 집단은 유방암, 다발성 골수종, 형질 세포 골수종, 백혈병, 림프종, 위암, 급성 골수성 백혈병, 방광암, 뇌암, 골수암, 자궁경부암, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 식도암, 간세포성암, 림프모구성 백혈병, 여포성 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 흑색종, 골수 백혈병, 골수종, 구강암, 난소암, 비소세포 폐암, 만성 림프구성 백혈병, 전립선암, 소세포 폐암 또는 비장암으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 암 세포 집단은 림

프종 또는 위암으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, ADC, 조성물 또는 제약 조성물의 투여는 암 세포 집단을 치료 부재 하의 집단과 비교하여 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99%만큼 감소시킨다. 일부 실시양태에서, ADC, 조성물 또는 제약 조성물의 투여는 암 세포 집단의 확장을 치료 부재 하의 확장과 비교하여 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99%만큼 둔화시킨다.

[0883] 또한, 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체가 개시된 ADC 및 조성물을 사용한 치료에 반응성일지 여부를 결정하는 방법이 본원에 제공된다. 예시적인 실시양태는 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하고; 샘플을 ADC와 접촉시키고; 샘플에서 암 세포에 대한 ADC의 결합을 검출함으로써, 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체가 ADC, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 ADC, 조성물 또는 제약 조성물)을 사용한 치료에 반응성일지 여부를 결정하는 방법이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 조직 생검 샘플, 혈액 샘플 또는 골수 샘플이다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하고; 샘플을 ADC와 접촉시키고; 샘플에서 암 세포 사멸의 1종 이상의 마커 (예를 들어, 1종 이상의 아폽토시스 마커의 증가된 발현, 배양물 중 암 세포 집단의 감소된 확장 등)를 검출하는 것을 포함한다.

[0884] 개시된 ADC 및 조성물의 치료 용도가 본원에 추가로 제공된다. 예시적인 실시양태는 암 (예를 들어, CD48-발현 암)을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체를 치료하는 데 사용하기 위한 ADC, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 ADC, 조성물 또는 제약 조성물)이다. 또 다른 예시적인 실시양태는 암 (예를 들어, CD48-발현 암)을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체를 치료하는 데 있어서 ADC, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 ADC, 조성물 또는 제약 조성물)의 용도이다. 또 다른 예시적인 실시양태는 암 (예를 들어, CD48-발현 암)을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 의약을 제조하는 방법에서의 ADC, 조성물 또는 제약 조성물 (예를 들어, 본원에 개시된 임의의 예시적인 ADC, 조성물 또는 제약 조성물)의 용도이다. 표적 항원 CD48를 발현하는 암을 갖는 대상체를 확인하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 개시된 ADC 화합물 또는 조성물을 사용한 치료에 적합한 환자를 확인하는 데 사용될 수 있다.

[0885] 또한, 본 개시내용의 ADC는 ADC가 수의학적 목적을 위해 또는 인간 질환의 동물 모델로서 결합할 수 있는 항원을 발현하는 비-인간 포유동물에게 투여될 수 있다. 후자와 관련하여, 이러한 동물 모델은 개시된 ADC의 치료 효능을 평가하는데 (예를 들어, 투여량 및 투여의 시간 경과를 시험하는데) 유용할 수 있다.

[0886] 상기 방법의 실시에 사용되는 치료 조성물은 목적하는 전달 방법에 적합한 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물로 제제화될 수 있다. 예시적인 실시양태는 본 개시내용의 ADC, 및 제약상 허용되는 담체, 예를 들어 선택되는 투여 수단, 예를 들어 정맥내 투여에 적합한 것을 포함하는 제약 조성물이다. 제약 조성물은 또한, 예를 들어 암을 치료 또는 예방하는 데 적합한 1종 이상의 추가의 불활성제 및/또는 치료제 (예를 들어, 표준 관리 작용제 등)를 포함할 수 있다. 제약 조성물은 또한 1종 이상의 담체, 부형제 및/또는 안정화제 성분 등을 포함할 수 있다. 이러한 제약 조성물을 제제화하는 방법 및 적합한 제제는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 ["Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Publishing Co., Easton, PA] 참조).

[0887] 적합한 담체는 치료 조성물과 조합시 치료 조성물의 항종양 기능을 보유하고 일반적으로 환자의 면역계와 비반응성인 임의의 물질을 포함한다. 제약상 허용되는 담체는 생리학상 상용성인 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 제약상 허용되는 담체의 예는 물, 염수, 포스페이트 완충 염수, 덱스트로스, 글리세롤, 에탄올, 메실레이트 염 등 뿐만 아니라 그의 조합 중 하나 이상을 포함한다. 많은 경우, 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨 또는 염화나트륨이 조성물에 포함된다. 제약상 허용되는 담체는 ADC의 보관 수명 또는 유효성을 증진시키는 소량의 보조 물질, 예컨대 습윤제 또는 유화제, 보존제 또는 완충제를 추가로 포함할 수 있다.

[0888] 본 개시내용의 제약 조성물은 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법에 의해 투여될 수 있다. 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라 달라질 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료 제제는 가용화되어 치료 조성물을 암 부위에 전달할 수 있는 임의의 경로를 통해 투여된다. 잠재적으로 유효한 투여 경로는 비경구 (예를 들어, 정맥내, 피하), 복강내, 근육내, 종양내, 피내, 기관내, 동소 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 투여는 정맥내, 피하, 복강내 또는 근육내이다. 제약상 허용되는 담체는 투여 경로, 예를 들어 정맥내 또는 피하 투여 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의함)에 적합해야 한다. 투여 경로에 따라, 활성 화합물(들), 즉 ADC 및/또는 임의의 추가의 치료제는 화합물(들)을 불활성화시킬 수 있는 산 및 다른 천연 조건의 작

용으로부터 화합물(들)을 보호하는 물질로 코팅될 수 있다. 투여는 전신 또는 국소일 수 있다.

[0889] 본원에 개시된 치료 조성물은 제조 및 저장 조건 하에 멸균되고 안정할 수 있으며, 다양한 형태일 수 있다. 이는 예를 들어 액체, 반고체 및 고체 투여 형태, 예컨대 액체 용액 (예를 들어, 주사가능한 및 주입가능한 용액), 분산액 또는 현탁액, 정제, 환제, 분말, 리포솜 및 좌제를 포함한다. 형태는 의도된 투여 방식 및 치료 용도에 따라 달라진다. 일부 실시양태에서, 개시된 ADC는 비경구 투여에 적합한 제약 조성물 내로 혼입될 수 있다. 주사가능한 용액은 플린트 또는 앰버 바이알, 앰플 또는 사전-충전된 시린지 또는 다른 공지된 전달 또는 저장 장치 내의 액체 또는 동결건조된 투여 형태로 구성될 수 있다. 일부 실시양태에서, ADC 또는 제약 조성물 중 1종 이상은 기밀 밀봉된 용기 내의 건조 멸균 동결건조 분말 또는 무수 농축물로서 공급되고, 대상체에게 투여하기에 적절한 농도로 (예를 들어, 물 또는 염수로) 재구성될 수 있다.

[0890] 전형적으로, 개시된 조성물, 예를 들어 개시된 ADC의 치료 유효량 또는 효능량이 본 개시내용의 제약 조성물에 사용된다. 조성물, 예를 들어 ADC를 포함하는 조성물은 관련 기술분야에 공지된 통상적인 방법에 의해 제약상 허용되는 투여 형태로 제제화될 수 있다. 상기 방법을 사용한 암의 치료를 위한 투여량 및 투여 프로토콜은 방법 및 표적 암에 따라 달라질 것이며, 일반적으로 관련 기술분야에서 인지되는 다수의 다른 요인에 의존할 것이다.

[0891] 본원에 개시된 조성물, 예를 들어 ADC를 단독으로 또는 적어도 1종의 추가의 불활성 및/또는 활성 치료제와 조합하여 포함하는 조성물에 대한 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예를 들어, 치료 반응)을 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들어, 하나 또는 둘 다의 작용제의 단일 볼루스가 한번에 투여될 수 있거나, 여러 분할 용량이 미리 결정된 기간에 걸쳐 투여될 수 있거나, 또는 하나 또는 둘 다의 작용제의 용량이 치료 상황의 위급성에 의해 지시되는 바와 같이 비례적으로 증가 또는 감소될 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료는 허용되는 투여 경로를 통한 ADC 제제의 단일 볼루스 또는 반복 투여를 포함한다. 일부 실시양태에서, ADC는 환자에게 매일, 매주, 매월 또는 그 사이의 임의의 기간에 투여된다. 임의의 특정한 대상체에 대해, 구체적인 투여 요법은 개체의 필요 및 치료 임상의의 전문적 판단에 따라 시간 경과에 따라 조정될 수 있다. 비경구 조성물은 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제제화될 수 있다. 본원에 사용된 투여 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단일 투여량으로서 적합화된 물리적 이산 단위를 지칭하고; 각각의 단위는 요구되는 제약 담체와 함께 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을 함유한다.

[0892] ADC 및/또는 임의의 추가의 치료제(들)를 포함하는 조성물에 대한 투여량 값은 활성 화합물(들)의 고유한 특징 및 달성될 특정한 치료 효과에 기초하여 선택될 수 있다. 의사 또는 수의사는 제약 조성물에 사용되는 ADC의 용량을 목적하는 치료 효과를 달성하는 데 요구되는 것보다 더 낮은 수준에서 시작하고, 목적하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점진적으로 증가시킬 수 있다. 일반적으로, 암의 치료를 위한 본 개시내용의 조성물의 유효 용량은 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리학적 상태, 환자가 인간인지 동물인지의 여부, 투여되는 다른 의약, 및 치료가 예방적인지 또는 치료적인지의 여부를 비롯한 많은 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다. 선택되는 투여량 수준은 또한 사용되는 본 개시내용의 특정 조성물 또는 그의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정 화합물의 배출 속도, 치료 지속기간, 사용되는 특정 조성물과 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료되는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강 및 과거 병력 등을 포함한 다양한 약동학적 요인에 따라 달라질 수 있다. 치료 투여량은 안전성 및 효능을 최적화하기 위해 적정될 수 있다.

[0893] 본원에 제공된 화합물의 독성 및 치료 효능은 세포 배양물 또는 동물 모델에서 표준 제약 절차에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, LD50, ED50, EC50 및 IC50이 측정될 수 있고, 독성 및 치료 효과 사이의 용량 비(LD50/ED50)가 치료 지수로서 계산될 수 있다. 시험관내 및 생체내 검정으로부터 수득된 데이터는 인간에서 사용하기 위한 투여량 범위를 추정 또는 공식화하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 조성물 및 방법은 초기에 이종 암 모델 (예를 들어, NCI-H929 다발성 골수종 마우스 모델)에서 평가될 수 있다.

[0894] 일부 실시양태에서, ADC 또는 ADC를 포함하는 조성물은 단회 투여된다. 다른 실시양태에서, ADC 또는 ADC를 포함하는 조성물은 다수회 투여된다. 단일 투여량 사이의 간격은 예를 들어 매일, 매주, 매월 또는 매년일 수 있다. 간격은 또한 작용제의 비교적 일관된 혈장 농도를 유지하기 위해 환자에서의 투여된 작용제 (예를 들어, ADC)의 혈액 수준의 측정에 기초하여 불규칙적일 수 있다. ADC 또는 ADC를 포함하는 조성물의 투여량 및 투여 빈도는 또한 치료가 예방적인지 또는 치료적인지에 따라 달라질 수 있다. 예방 용도에서, 비교적 낮은 투여량은 장기간에 걸쳐 비교적 드문 간격으로 투여될 수 있다. 일부 환자는 그의 여생 동안 계속 치료를 받는다. 치료 용도에서, 질환의 진행이 감소되거나 종결될 때까지, 바람직하게는 환자가 1종 이상의 질환 증상의 부분적

또는 완전한 개선을 나타낼 때까지, 상대적으로 더 짧은 간격의 상대적으로 더 높은 투여량이 때때로 요구된다. 그 후, 환자에게 보다 낮은, 예를 들어 예방적 요법을 투여할 수 있다.

[0895] 상기 치료 접근법은 매우 다양한 추가의 수술, 화학요법 또는 방사선 요법 중 어느 하나와 조합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 ADC 또는 조성물은 치료할 특정한 상태에 대해 1종 이상의 추가의 치료제, 예를 들어 1종 이상의 화학요법제, 1종 이상의 표준 관리 작용제와 공동-제제화되고/거나 공동-투여된다.

[0896] 본원에 기재된 치료 및/또는 진단 용도에 사용하기 위한 키트가 또한 제공된다. 이러한 키트는 1종 이상의 용기, 예컨대 바이알, 튜브 등을 수용하도록 구획화된 캐리어, 패키지 또는 용기를 포함할 수 있으며, 각각의 용기(들)는 본원에 개시된 방법에 사용될 개별 요소 중 하나를 포함한다. 키트 내의 ADC 또는 조성물이 특정 요법 또는 비-치료 용도, 예컨대 예후, 예방, 진단 또는 실험실 용도에 사용된다는 것을 나타내는 표지가 용기(들) 상에 또는 용기(들)와 함께 존재할 수 있다. 표지는 또한 본원에 기재된 것과 같은 생체내 또는 시험관내 사용을 위한 지시를 나타낼 수 있다. 지시 및/또는 다른 정보가 또한 삽입물(들) 또는 표지(들) 상에 포함될 수 있으며, 이는 키트와 함께 또는 키트 상에 포함된다. 표지는 용기 상에 있거나 용기와 결합될 수 있다. 표지는 표지를 형성하는 문자, 숫자 또는 기타 문자가 용기 자체로 성형 또는 에칭될 때 용기 상에 있을 수 있다. 표지는 예를 들어 포장 삽입물로서 용기를 또한 보유하는 리셉터클 또는 캐리어 내에 존재하는 경우에 용기와 결합될 수 있다. 표지는 키트 내의 ADC 또는 조성물이 상태, 예컨대 본원에 기재된 암을 진단 또는 치료하는 데 사용된다는 것을 나타낼 수 있다.

[0897] 일부 실시양태에서, 키트는 ADC 또는 ADC를 포함하는 조성물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 사용 지침서; 다른 시약, 예를 들어 치료제 (예를 들어, 표준 관리 작용제); 투여용 ADC를 제조하기 위한 장치, 용기 또는 다른 물질; 제약상 허용되는 담체; 및 대상체에게 ADC를 투여하기 위한 장치, 용기 또는 다른 물질을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1종 이상의 추가의 구성요소를 추가로 포함한다. 사용 지침서는, 예를 들어 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 환자에서의 제안된 투여량 및/또는 투여 방식을 포함한 치료 용도에 대한 지침을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트는 ADC 및 암을 치료, 예방 및/또는 진단하는 데 있어서 ADC의 사용에 대한 지침서를 포함한다.

[0898] 조합 요법

[0899] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 항체-약물 접합체가 1종 이상의 추가의 치료제와 조합하여 투여되는 치료 방법을 제공한다. 예시적인 조합 파트너가 본원에 개시된다.

[0900] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 PD-1 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, PD-1 억제제는 PDR001 (노파르티스(Novartis)), 니볼루맙 (브리스톨-마이어스 스퀩(Bristol-Myers Squibb)), 펨브롤리주맙 (머크 & 캄파니(Merck & Co)), 피딜리주맙 (큐어테크(CureTech)), MEDI0680 (메드이뮨(Medimmune)), REGN2810 (레게네론(Regeneron)), TSR-042 (테사로(Tesaro)), PF-06801591 (화이자(Pfizer)), BGB-A317 (베이진(Beigene)), BGB-108 (베이진), INCSHR1210 (인사이트(Incyte)), 또는 AMP-224 (암플리뮨(Amplimmune))로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, PD-1 억제제는 PDR001이다. PDR001은 또한 스파르탈리주맙으로도 공지되어 있다.

[0901] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 LAG-3 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 LAG525 (노파르티스), BMS-986016 (브리스톨-마이어스 스퀩) 또는 TSR-033 (테사로)으로부터 선택된다.

[0902] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 TIM-3 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, TIM-3 억제제는 MBG453 (노파르티스), TSR-022 (테사로), LY-3321367 (일라이 릴리(Eli Lily)), Sym23 (심포겐(Symphogen)), BGB-A425 (베이진), INCAGN-2390 (아제누스(Agenus)), BMS-986258 (BMS), RO-7121661 (로슈(Roche)) 또는 LY-3415244 (일라이 릴리)이다.

[0903] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 PDL1 억제제를 포함한다. 한 실시양태에서, PDL1 억제제는 FAZ053 (노파르티스), 아테졸리주맙 (제넨테크(Genentech)), 두르발루맙 (아스트라 제네카(Astra Zeneca)) 또는 아벨루맙 (화이자)으로부터 선택된다.

[0904] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 GITR 효능제를 포함한다. 일부 실시양태에서, GITR 효능제는 GWN323 (NVS), BMS-986156, MK-4166 또는 MK-1248 (머크), TRX518 (립 테라퓨틱스(Leap Therapeutics)), INCAGN1876 (인사이트/아제누스), AMG 228 (암젠(Amgen)) 또는 INBRX-110 (인히브릭스(Inhibrx))으로부터 선택된다.

[0905] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 IAP 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, IAP 억제제는 LCL161 또는 국제 출원 공개 번호 WO 2008/016893에 개시된 화합물을 포함한다.

[0906] 한 실시양태에서, 조합물은 mTOR 억제제, 예를 들어 RAD001 (또한 에베롤리무스로 공지됨)을 포함한다.

[0907] 한 실시양태에서, 조합물은 HDAC 억제제, 예를 들어 LBH589를 포함한다. LBH589는 또한 파노비노스타트로 공지되어 있다.

[0908] 한 실시양태에서, 조합물은 IL-17 억제제, 예를 들어 CJM112를 포함한다.

[0909] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 에스트로겐 수용체 (ER) 길항제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 에스트로겐 수용체 길항제는 PD-1 억제제, CDK4/6 억제제 또는 둘 다와 조합하여 사용된다. 일부 실시양태에서, 조합물은 ER 양성 (ER+) 암 또는 유방암 (예를 들어, ER+ 유방암)을 치료하는 데 사용된다.

[0910] 일부 실시양태에서, 에스트로겐 수용체 길항제는 선택적 에스트로겐 수용체 분해제 (SERD)이다. SERD는 수용체에 결합하고, 예를 들어 수용체의 분해 또는 하향-조절을 유발하는 에스트로겐 수용체 길항제이다 (문헌 [Boer K. et al., (2017) Therapeutic Advances in Medical Oncology 9(7): 465-479]). ER은 예를 들어 인간 생식계의 성장, 발생 및 생리학에 중요한 호르몬-활성화 전사 인자이다. ER은 예를 들어 호르몬 에스트로겐 (17베타 에스트라디올)에 의해 활성화된다. ER 발현 및 신호전달은 암 (예를 들어, 유방암), 예를 들어 ER 양성 (ER+) 유방암에 연루된다. 일부 실시양태에서, SERD는 LSZ102, 풀베스트란트, 브릴라네스트란트 또는 엘라세스트란트로부터 선택된다.

[0911] 일부 실시양태에서, SERD는 국제 출원 공개 번호 WO 2014/130310 (이는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 화합물을 포함한다.

[0912] 일부 실시양태에서, SERD는 LSZ102를 포함한다. LSZ102는 화학 명칭 (E)-3-(4-((2-(2-(1,1-디플루오로에틸)-4-플루오로페닐)-6-히드록시벤조[b]티오펜-3-일)옥시)페닐)아크릴산을 갖는다. 일부 실시양태에서, SERD는 풀베스트란트 (CAS 등록 번호: 129453-61-8), 또는 국제 출원 공개 번호 WO 2001/051056 (이는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 화합물을 포함한다. 일부 실시양태에서, SERD는 엘라세스트란트 (CAS 등록 번호: 722533-56-4), 또는 미국 특허 번호 7,612,114 (이는 그 전문이 참조로 포함됨)에 개시된 화합물을 포함한다. 엘라세스트란트는 또한 RAD1901, ER-306323 또는 (6R)-6-{2-[에틸({4-[2-(에틸아미노)에틸]페닐}메틸)아미노]-4-메톡시페닐}-5,6,7,8-테트라히드로나프탈렌-2-올로도 공지되어 있다. 엘라세스트란트는 경구로 생체이용가능한 비-스테로이드성 조합된 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM) 및 SERD이다. 엘라세스트란트는 또한 예를 들어 문헌 [Garner F et al., (2015) Anticancer Drugs 26(9):948-56]에 개시되어 있다. 일부 실시양태에서, SERD는 브릴라네스트란트 (CAS 등록 번호: 1365888-06-7), 또는 국제 출원 공개 번호 WO 2015/136017 (이는 그 전문이 참조로 포함됨)에 개시된 화합물이다.

[0913] 일부 실시양태에서, SERD는 예를 들어 문헌 [McDonell et al. (2015) Journal of Medicinal Chemistry 58(12) 4883-4887]에 개시된 바와 같은 RU 58668, GW7604, AZD9496, 바제독시펜, 피펜독시펜, 아르족시펜, OP-1074 또는 아콜비펜으로부터 선택된다.

[0914] 다른 예시적인 에스트로겐 수용체 길항제는, 예를 들어 WO 2011/156518, WO 2011/159769, WO 2012/037410, WO 2012/037411 및 US 2012/0071535 (이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시되어 있다.

[0915] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 시클린-의존성 키나제 4 또는 6 (CDK4/6)의 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, CDK4/6 억제제는 PD-1 억제제, 에스트로겐 수용체 (ER) 길항제 또는 둘 다와 조합하여 사용된다. 일부 실시양태에서, 조합물은 ER 양성 (ER+) 암 또는 유방암 (예를 들어, ER+ 유방암)을 치료하는 데 사용된다. 일부 실시양태에서, CDK4/6 억제제는 리보시클립, 아베마시클립 (일라이 릴리) 또는 팔보시클립으로부터 선택된다.

[0916] 일부 실시양태에서, CDK4/6 억제제는 리보시클립 (CAS 등록 번호: 1211441-98-3), 또는 미국 특허 번호 8,415,355 및 8,685,980 (이들은 그 전문이 참조로 포함됨)에 개시된 화합물을 포함한다.

[0917] 일부 실시양태에서, CDK4/6 억제제는 국제 출원 공개 번호 WO 2010/020675 및 미국 특허 번호 8,415,355 및 8,685,980 (이들은 그 전문이 참조로 포함됨)에 개시된 화합물을 포함한다.

[0918] 일부 실시양태에서, CDK4/6 억제제는 리보시클립 (CAS 등록 번호: 1211441-98-3)을 포함한다. 리보시클립은 또한 LEE011, 키스칼리(KISQALI)® 또는 7-시클로펜틸-N,N-디메틸-2-((5-(피페라진-1-일)피리딘-2-일)아미노)-

7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-6-카르복스아미드로 공지되어 있다.

[0919] 일부 실시양태에서, CDK4/6 억제제는 아베마시클립 (CAS 등록 번호: 1231929-97-7)을 포함한다. 아베마시클립은 또한 LY835219 또는 N-[5-[(4-에틸-1-피페라지닐)메틸]-2-피리디닐]-5-플루오로-4-[4-플루오로-2-메틸-1-(1-메틸에틸)-1H-벤즈이미다졸-6-일]-2-피리미딘아민으로도 공지되어 있다. 아베마시클립은 CDK4 및 CDK6에 대해 선택적인 CDK 억제제이고, 예를 들어 문헌 [Torres-Guzman R et al. (2017) Oncotarget 10.18632/oncotarget.17778]에 개시되어 있다.

[0920] 일부 실시양태에서, CDK4/6 억제제는 팔보시클립 (CAS 등록 번호: 571190-30-2)을 포함한다. 팔보시클립은 또한 PD-0332991, 이브런스(IBRANCE)® 또는 6-아세틸-8-시클로펜틸-5-메틸-2-{[5-(1-피페라지닐)-2-피리디닐]아미노}피리도[2,3-d]피리미딘-7 (8H)-온으로도 공지되어 있다. 팔보시클립은 CDK4를 11 nM의 IC50으로 억제하고, CDK6을 16 nM의 IC50으로 억제하며, 예를 들어 문헌 [Finn et al. (2009) Breast Cancer Research 11(5):R77]에 개시되어 있다.

[0921] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 케모카인 (C-X-C 모티프) 수용체 2 (CXCR2)의 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, CXCR2 억제제는 6-클로로-3-((3,4-디옥소-2-(펜탄-3-일아미노)시클로부트-1-엔-1-일)아미노)-2-히드록시-N-메톡시-N-메틸벤젠술폰아미드, 다니릭신, 레파릭신 또는 나바릭신으로부터 선택된다.

[0922] 일부 실시양태에서, CSF-1/1R 결합제는 대식세포 콜로니-자극 인자 (M-CSF)의 억제제, 예를 들어 M-CSF에 대한 모노클로날 항체 또는 Fab (예를 들어, MCS110), CSF-1R 티로신 키나제 억제제 (예를 들어, 4-((2-(((1R,2R)-2-히드록시시클로헥실)아미노)벤조[d]티아졸-6-일)옥시)-N-메틸피콜린아미드 또는 BLZ945), 수용체 티로신 키나제 억제제 (RTK) (예를 들어, 펙시다르티닙), 또는 CSF-1R을 표적화하는 항체 (예를 들어, 에막투주맙 또는 FPA008)로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, CSF-1/1R 억제제는 BLZ945이다. 일부 실시양태에서, CSF-1/1R 결합제는 MCS110이다. 다른 실시양태에서, CSF-1/1R 결합제는 펙시다르티닙이다.

[0923] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 c-MET 억제제를 포함한다. 많은 종양 세포 유형에서 과다발현 또는 돌연변이된 수용체 티로신 키나제인 C-MET는 종양 세포 증식, 생존, 침습, 전이 및 종양 혈관신생에서 주요 역할을 한다. c-MET의 억제는 c-MET 단백질을 과다발현하거나 또는 구성적으로 활성화된 c-MET 단백질을 발현하는 종양 세포에서 세포 사멸을 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, c-MET 억제제는 캅마티닙 (INC280), JNJ-3887605, AMG 337, LY2801653, MSC2156119J, 크리조티닙, 티반티닙 또는 골바티닙으로부터 선택된다.

[0924] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 형질전환 성장 인자 베타 (또한 본원에서 상호교환가능하게 사용되는 TGF-β TGFβ, TGFb 또는 TGF-베타로 공지됨) 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, TGF-β 억제제는 프레솔리무맙 또는 XOMA 089로부터 선택된다.

[0925] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 아데노신 A2a 수용체 (A2aR) 길항제 (예를 들어, A2aR 경로의 억제제, 예를 들어 아데노신 억제제, 예를 들어 A2aR 또는 CD-73의 억제제)를 포함한다. 일부 실시양태에서, A2aR 길항제는 PD-1 억제제 및 CXCR2 억제제, CSF-1/1R 결합제, LAG-3 억제제, GITR 효능제, c-MET 억제제 또는 IDO 억제제 중 1종 이상 (예를 들어, 2, 3, 4, 5종 또는 모두)과 조합하여 사용된다. 일부 실시양태에서, 조합물은 췌장암, 결장직장암, 위암 또는 흑색종 (예를 들어, 불응성 흑색종)을 치료하는 데 사용된다. 일부 실시양태에서, A2aR 길항제는 PBF509 (NIR178) (팔로비오파마(Palobiofarma)/노파르티스), CPI444/V81444 (코르부스(Corvus)/제넨테크), AZD4635/HTL-1071 (아스트라제네카/헵타레스(Heptares)), 비파데난트 (레독스(Redox)/주노(Juno)), GBV-2034 (글로바비르(Globavir)), AB928 (아쿠스 바이오사이언시스(Arcus Biosciences)), 테오필린, 이스트라데필린 (교와 하꼬 고교(Kyowa Hakko Kogyo)), 토자데난트/SYN-115 (아코다(Acorda)), KW-6356 (교와 하꼬 고교), ST-4206 (레디안트 바이오사이언시스(Leadiant Biosciences)) 또는 프렐라데난트/SCH 420814 (머크/쉐링(Schering))로부터 선택된다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 일부 실시양태에서, A2aR의 억제는 IL-1b의 상향조절로 이어지는 것으로 여겨진다.

[0926] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 인돌아민 2,3-디옥시게나제 (IDO) 및/또는 트립토판 2,3-디옥시게나제 (TDO)의 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, IDO 억제제는 PD-1 억제제 및 TGF-β 억제제, A2aR 길항제, CSF-1/1R 결합제, c-MET 억제제 또는 GITR 효능제 중 1종 이상 (예를 들어, 2, 3, 4종 또는 모두)과 조합하여 사용된다. 일부 실시양태에서, 조합물은 췌장암, 결장직장암, 위암 또는 흑색종 (예를 들어, 불응성 흑색종)을 치료하는 데 사용된다. 일부 실시양태에서, IDO 억제제는 (4E)-4-[(3-클로로-4-플루오로아닐리노)-니트로소메틸리덴]-1,2,5-옥사디아졸-3-아민 (또한 에파카도스타트 또는 INCB24360으로도 공지됨), 인독시모드

(NLG8189), (1-메틸-D-트립토판), α-시클로헥실-5H-이미다조[5,1-a]이소인돌-5-에탄올 (또한 NLG919로도 공지됨), 인독시모드, BMS-986205 (이전에 F001287)로부터 선택된다.

[0927] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 갈렉틴, 예를 들어 갈렉틴-1 또는 갈렉틴-3 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조합물은 갈렉틴-1 억제제 및 갈렉틴-3 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조합물은 갈렉틴-1 및 갈렉틴-3 둘 다를 표적화하는 이중특이적 억제제 (예를 들어, 이중특이적 항체 분자)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 갈렉틴 억제제는 본원에 기재된 하나 이상의 치료제와 조합하여 사용된다. 일부 실시양태에서, 갈렉틴 억제제는 항-갈렉틴 항체 분자, GR-MD-02 (갈렉틴 테라퓨틱스(Galectin Therapeutics)), 갈렉틴-3C (만달 메드(Mandal Med)), 안지넥스 또는 OTX-008 (온코에틱스(OncoEthix), 머크)로부터 선택된다.

[0928] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 MEK 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, MEK 억제제는 트라메티닙, 셀루메티닙, AS703026, BIX 02189, BIX 02188, CI-1040, PD0325901, PD98059, U0126, XL-518, G-38963 또는 G02443714로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, MEK 억제제는 트라메티닙이다.

[0929] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 인터류킨-1 베타 (IL-1β) 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL-1β 억제제는 카나키누맙, 게보키주맙, 아나킨라 또는 릴로나셉트로부터 선택된다.

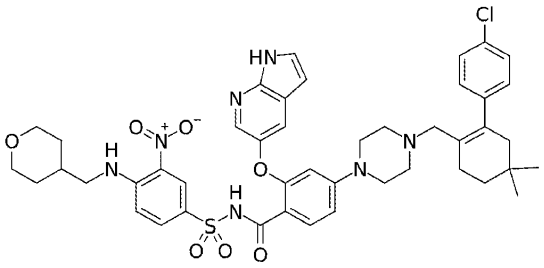
[0930] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 IL-15/IL-15Ra 복합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 NIZ985 (노파르티스), ATL-803 (알토르(Altor)) 또는 CYP0150 (사이튠(Cytune))으로부터 선택된다.

[0931] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 마우스 이중 미세염색체 2 상동체 (MDM2) 억제제를 포함한다. MDM2의 인간 상동체는 또한 HDM2로도 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 MDM2 억제제는 또한 HDM2 억제제로도 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, MDM2 억제제는 HDM201 또는 CGM097로부터 선택된다.

[0932] 한 실시양태에서, MDM2 억제제는 장애, 예를 들어 본원에 기재된 장애를 치료하기 위한 (S)-1-(4-클로로페닐)-7-이소프로폭시-6-메톡시-2-(4-(메틸((1r,4S)-4-(4-메틸-3-옥소피페라진-1-일)시클로헥실)메틸)아미노)페닐)-1,2-디히드로이소퀴놀린-3 (4H)-온 (또한 CGM097로도 공지됨) 또는 PCT 공개 번호 WO 2011/076786에 개시된 화합물을 포함한다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 치료제는 CGM097과 조합하여 사용된다.

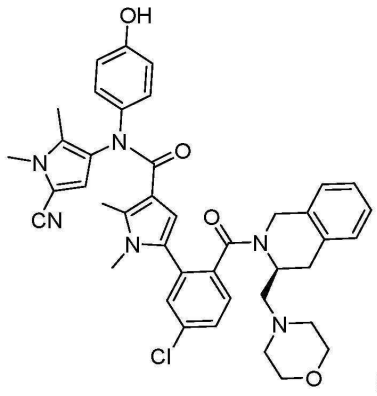
[0933] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 저메틸화제 (HMA)를 포함한다. 한 일부 실시양태에서, HMA는 데시타빈 또는 아자시티딘으로부터 선택된다.

[0934] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 Bcl2 패밀리의 생존촉진 단백질에 작용하는 억제제를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 조합물은 Bcl-2 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, Bcl-2 억제제는 베네토클락스이다:

[0935] 

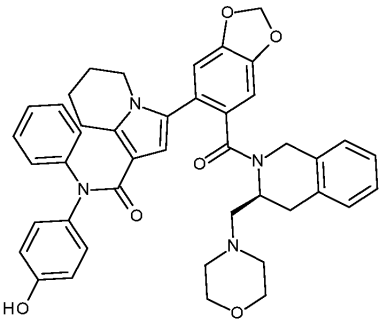
(베네토클락스)

[0936] 한 실시양태에서, Bcl-2 억제제는 WO 2013/110890 및 WO 2015/011400에 기재된 화합물로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, Bcl-2 억제제는 나비토클락스 (ABT-263), ABT-737, BP1002, SPC2996, APG-1252, 오바토클락스 메실레이트 (GX15-070MS), PNT2258, Zn-d5, BGB-11417 또는 오블리메르센 (G3139)을 포함한다. 일부 실시양태에서, Bcl-2 억제제는 (S)-5-(5-클로로-2-(3-(모르폴리노메틸)-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린-2-카르보닐)페닐)-N-(5-시아노-1,2-디메틸-1H-피롤-3-일)-N-(4-히드록시페닐)-1,2-디메틸-1H-피롤-3-카르복스아미드), 화합물 A1이다:



(화합물 A1)

[0937] . 일부 실시양태에서, Bcl-2 억제제는 N-(4-히드록시페닐)-3-[6-[(3S)-3-(모르폴리노메틸)-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-카르보닐]-1,3-벤조디옥솔-5-일]-N-페닐-5,6,7,8-테트라히드로인돌리진-1-카르복스아미드, 화합물 A2이다:



(화합물 A2)

[0938] .

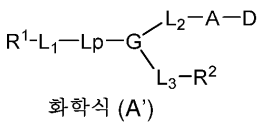
[0939] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체-약물 접합체 또는 조합물은 생체내 암의 치료에 적합하다. 예를 들어, 조합물은 암성 종양의 성장을 억제하는 데 사용될 수 있다. 조합물은 또한 본원의 장애를 치료하기 위한 표준 관리 치료 (예를 들어, 암 또는 감염성 장애의 경우), 백신 (예를 들어, 치료 암 백신), 세포 요법, 방사선 요법, 수술 또는 임의의 다른 치료제 또는 양식 중 1종 이상과 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 면역의 항원-특이적 증진을 달성하기 위해, 조합물은 관심 항원과 함께 투여될 수 있다. 본원에 개시된 조합물은 임의의 순서로 또는 동시에 투여될 수 있다.

[0940] 추가의 실시양태

[0941] 본 개시내용은 링커-약물 기, 항체-약물 접합체, 링커 기 및 접합 방법에 대한 하기 추가의 실시양태를 제공한다.

[0942] 링커-약물 기

[0943] 일부 실시양태에서, 본 발명의 링커-약물 기는 하기 화학식 (A')의 구조를 갖는 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염일 수 있다:



화학식 (A')

[0944]

[0945] 여기서:

[0946] R^1은 반응성 기이고;

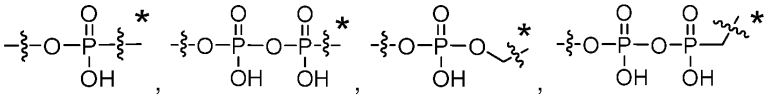
[0947] L_1은 가교 스페이서이고;

[0948] Lp는 2가 펩티드 스페이서이고;

[0949] G-L_2-A는 자기 희생적 스페이서이고;

[0950] R^2는 친수성 모이어티이고;

[0951] L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌이고;

[0952] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0953] L_3은 스페이서 모이어티이고;

[0954] D는 예를 들어 본원에 개시된 항체 약물 접합체 또는 면역접합체로부터 방출되는 경우에 MCl-1 단백질의 활성을 억제할 수 있는 약물 모이어티이다.

[0955] 본 발명의 링커-약물 기의 특정 측면 및 예는 열거된 실시양태의 하기 목록에 제공된다. 각 실시양태에 명시된 특색은 다른 명시된 특색과 조합하여 본 발명의 추가 실시양태를 제공할 수 있는 것으로 인지될 것이다.

[0956] 실시양태 1.

[0957] R^1은 반응성 기이고;

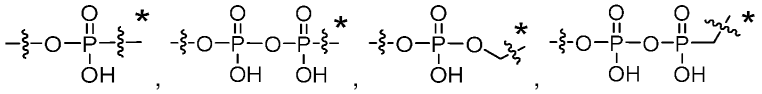
[0958] L_1은 가교 스페이서이고;

[0959] Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[0960] G-L_2-A는 자기 희생적 스페이서이고;

[0961] R^2는 친수성 모이어티이고;

[0962] L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌이고;

[0963] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0964] L_3은 스페이서 모이어티이고;

[0965] D는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티, 예를 들어 MCl-1 억제제인

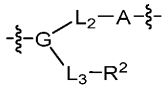
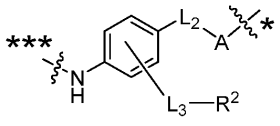
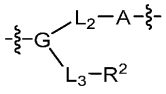
[0966] 화학식 (A')의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

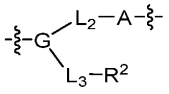
[0967] 실시양태 2.

[0968] R^1은 반응성 기이고;

[0969] L_1은 가교 스페이서이고;

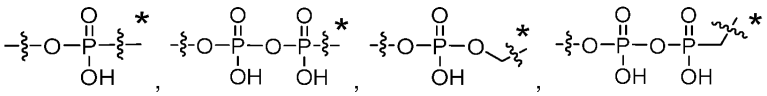
[0970] Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[0971]  기는  로부터 선택되고, 여기서  의 *는 D (예를 들어,

약물 모이어티의 N 또는 O)에 대한 부착 지점을 나타내고,  의 ***는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0972] R^2는 친수성 모이어티이고;

[0973] L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌이고;

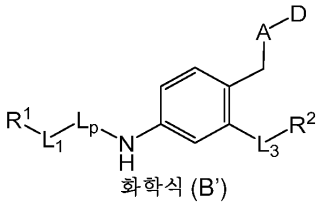
[0974] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 독립적으로 R^a는 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0975] L_3은 스페이서 모이어티이고;

[0976] D는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티, 예를 들어 MCl-1 억제제인

[0977] 화학식 (A')의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[0978] 실시양태 3. 하기 화학식 (B')의 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염:

[0979] 
화학식 (B')

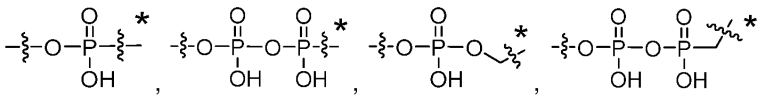
[0980] 여기서:

[0981] R^1은 반응성 기이고;

[0982] L_1은 가교 스페이서이고;

[0983] Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[0984] R^2는 친수성 모이어티이고;

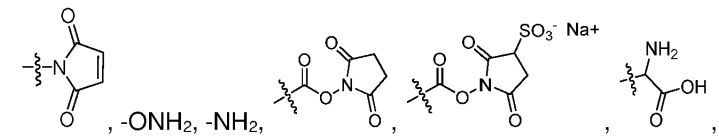
[0985] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0986] L_3은 스페이서 모이어티이고;

[0987] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결된다.

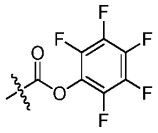
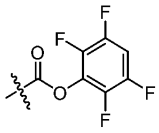
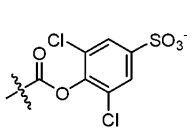
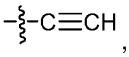
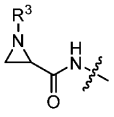
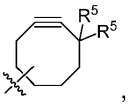
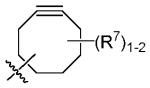
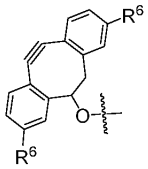
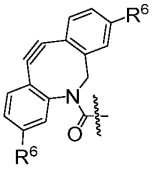
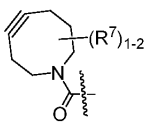
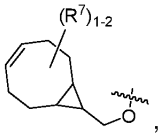
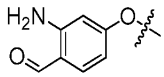
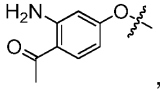
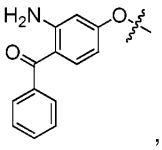
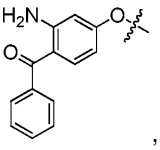
[0988] 실시양태 4.

[0989] R^1은

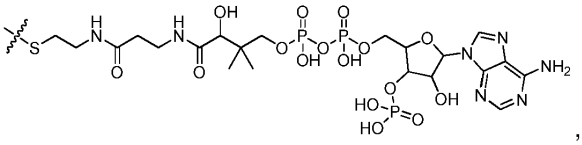

, -ONH_2, -NH_2,

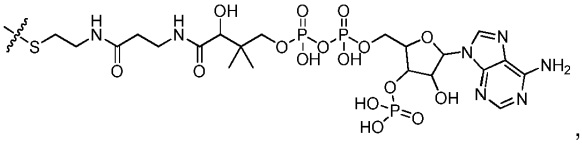
,

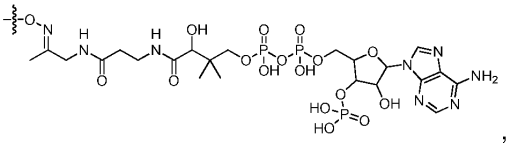
,

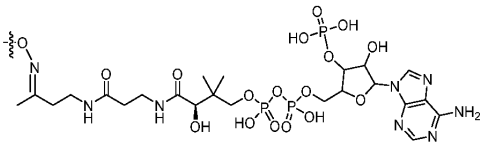
,

,

,

, -N_3,

, -SH, -SR^3, -SSR^4, -$S(=O)_2(CH=CH_2)$, -$(CH_2)_2S(=O)_2(CH=CH_2)$, -$NHS(=O)_2(CH=CH_2)$, -$NHC(=O)CH_2Br$, -$NHC(=O)CH_2I$,

, -$C(O)NHNH_2$,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

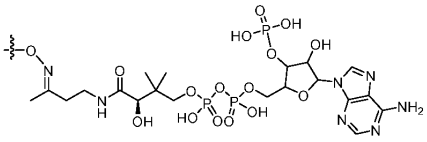
[0990]

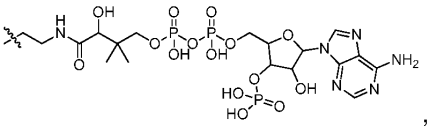

,

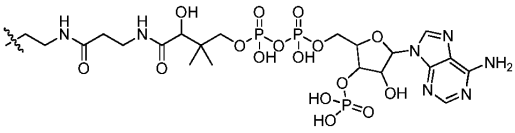

,

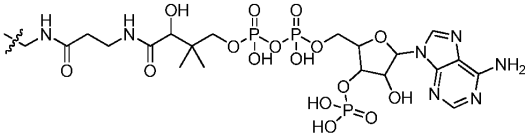

,


,


,


,


, 또는



[0991]

[0992] 이고,

[0993] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;

[0994] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;

[0995] *-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0996] *-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;

[0997] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m NR^3$C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0998] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;

[0999] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;

[1000] *-C(=O)$(CH_2)_m X_1(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;

[1001] *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1002] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;

[1003] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

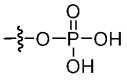
[1004] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

[1005] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;

[1006] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(R^3)$_2$-**; 또는

[1007] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**이고,

[1008] 여기서 L$_1$의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L$_1$의 **는 R^{1}에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1009] R^{2}는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C$_2$-C$_6$알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

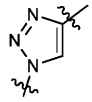
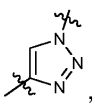
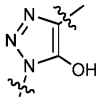
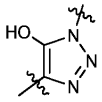
[1010] 각각의 R^{3}은 독립적으로 H 및 C$_1$-C$_6$알킬로부터 선택되고;

[1011] R^{4}는 2-피리딜 또는 4-피리딜이고;

[1012] 각각의 R^{5}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 선택되고;

[1013] 각각의 R^{6}은 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬, F, Cl, -NH$_2$, -OCH$_3$, -OCH$_2$CH$_3$, -N(CH$_3$)$_2$, -CN, -NO$_2$ 및 -OH로부터 선택되고;

[1014] 각각의 R^{7}은 독립적으로 H, C$_{1-6}$알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알콕시, 및 -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

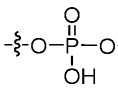
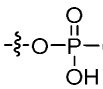
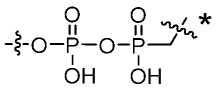
[1015] X$_1$은  ,  ,  또는  이고;

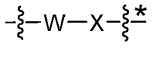
[1016] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1017] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1018] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1019] Lp는 글리신, 발린, 시트룰린, 리신, 이소류신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 류신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택되는 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1020] A는 결합, -OC(=O)-*,  ,  ,  ,  , -OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^{a}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 및 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1021] L$_3$은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1022] 여기서

[1023] W는 $-CH_2O-**$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-**$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)O-**$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NH-**$, $-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, $-C(=O)N(X-R^2)-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**$, $-C(=O)NR^b-**$, $-C(=O)NH-**$, $-CH_2NR^bC(=O)-**$, $-CH_2NR^bC(=O)NH-**$, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**$, $-NHC(=O)-**$, $-NHC(=O)O-**$, $-NHC(=O)NH-**$, $-OC(=O)NH-**$, $-S(O)_2NH-**$, $-NHS(O)_2-**$, $-C(=O)-$, $-C(=O)O-**$ 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

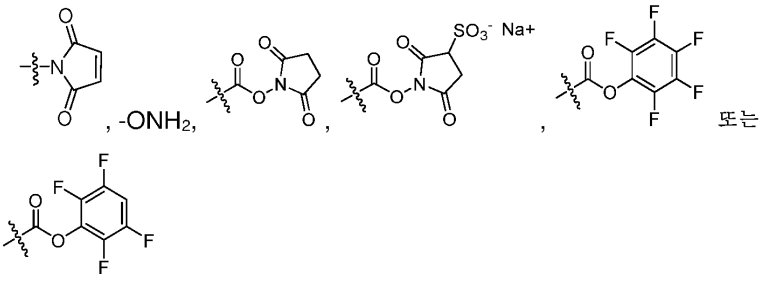
[1024] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1025] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1026] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되는 것인

[1027] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 3 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1028] 실시양태 5.



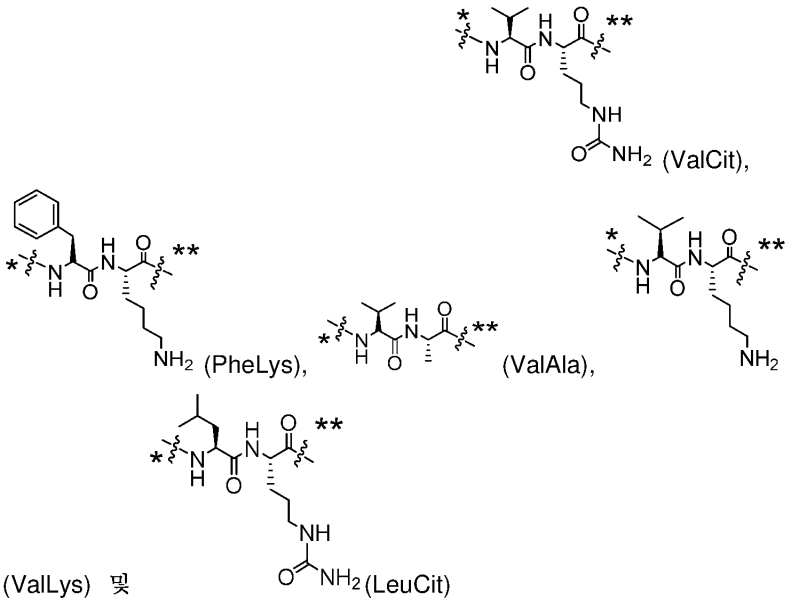
[1029] R^1은 이고;

[1030] L_1은 $*-C(=O)(CH_2)_mO(CH_2)_m-**$; $*-C(=O)((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n-**$; $*-C(=O)(CH_2)_m-**$; 또는 $*-C(=O)NH((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n-$이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 부착 지점을 나타내고;

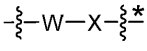
[1031] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1032] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1033] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;



[1034] Lp는 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

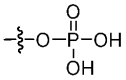
[1035] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

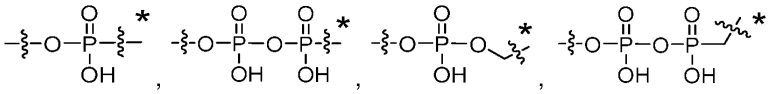
[1036] 여기서

[1037] W는 $-CH_2O-**$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NH-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, $-C(=O)N(X-R^2)-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**$, $-C(=O)NR^b-**$, $-C(=O)NH-**$, $-CH_2NR^bC(=O)-**$, $-CH_2NR^bC(=O)NH-**$, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**$, $-NHC(=O)-**$, $-NHC(=O)O-**$, $-NHC(=O)NH-**$, $-OC(=O)NH-**$, $-S(O)_2NH-**$, $-NHS(O)_2-**$, $-C(=O)-$, $-C(=O)O-**$ 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1038] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1039] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

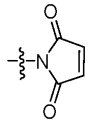
[1040] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1041] A는 결합, $-OC(=O)-*$,  , $-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$ 또는 $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1042] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되는 것인

[1043] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 4 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1044] 실시양태 6.

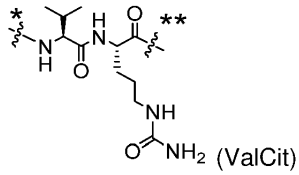
[1045] R^1은  이고;

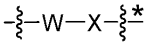
[1046] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1047] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1048] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1049] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1050] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

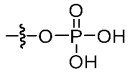
[1051] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

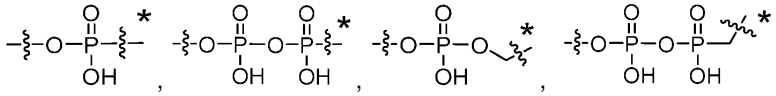
[1052] 여기서

[1053] W는 -CH_2O-**, -CH_2N(R^b)C(=O)O-**, -NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**, -C(=O)N(X-R^2)-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)-**, -C(=O)NR^b-**, -C(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)-**, -CH_2NR^bC(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)NR^b-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -$S(O)_2$NH-**, -NH$S(O)_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1054] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1055] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

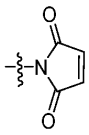
[1056] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1057] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1058] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되는 것인

[1059] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 5 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1060] 실시양태 7.

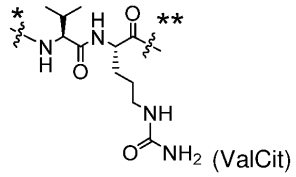
[1061] R^1은  이고;

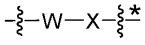
[1062] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1063] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1064] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1065] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1066] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

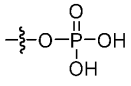
[1067] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1068] 여기서

[1069] W는 $-CH_2O$-**, $-CH_2N(R^b)C(=O)O$-**, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**, $-C(=O)N(X-R^2)$-**, $-C(=O)NR^b$-**, -C(=O)NH-**, $-CH_2NR^bC(=O)$-**, $-CH_2NR^bC(=O)NH$-**, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, 또는 -NHC(=O)NH-**이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1070] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1071] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

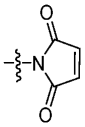
[1072] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1073] A는 결합 또는 -OC(=O)*이고, 여기서 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1074] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되는 것인

[1075] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 6 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1076] 실시양태 8.

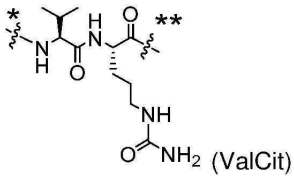
[1077] R^1은  이고;

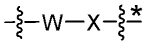
[1078] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^1에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1079] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1080] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1081] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1082] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

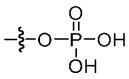
[1083] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1084] 여기서

[1085] W는 $-CH_2O$-**, $-CH_2N(R^b)C(=O)O$-**, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**, 또는 $-C(=O)N(X-R^2)$-**이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1086] X는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내며;

[1087] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1088] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1089] A는 결합 또는 -OC(=O)*이고, 여기서 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

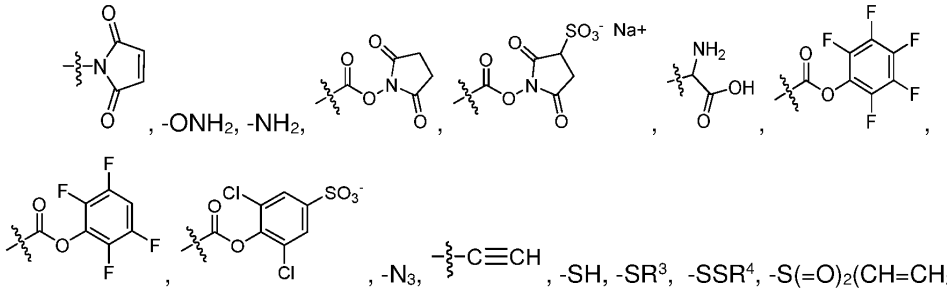
[1090] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되는 것인

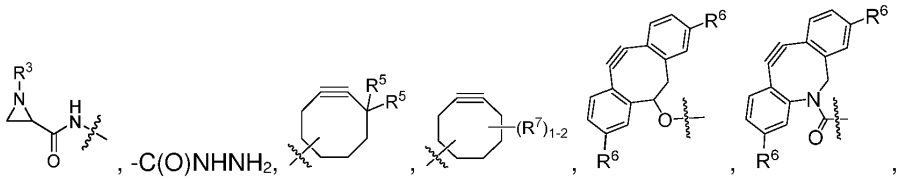
[1091] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 7 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

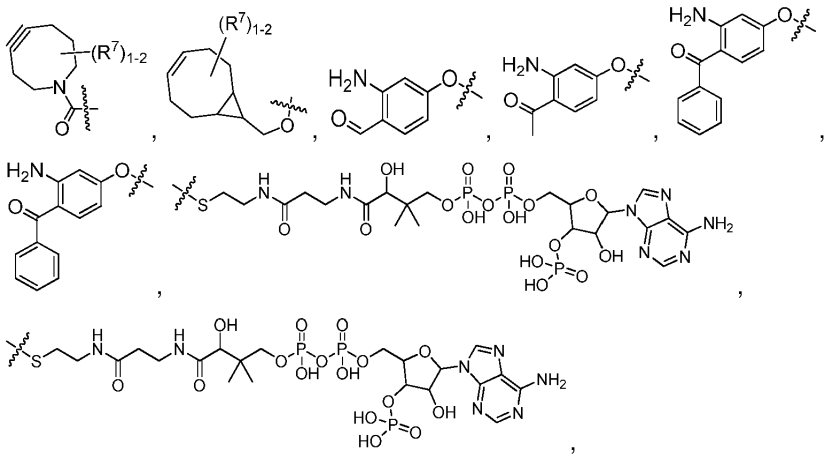
[1092] 실시양태 9. R^1은 표 2로부터 선택되는 반응성 기인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 8 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1093] 실시양태 10.

[1094] R^1은



[1095] 



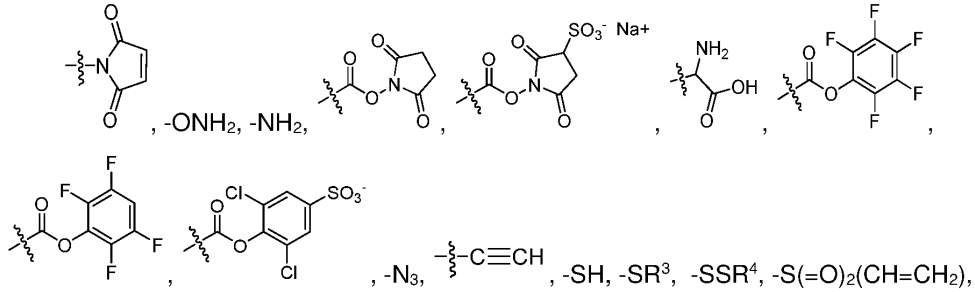
또는

[1096]

[1097] 인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

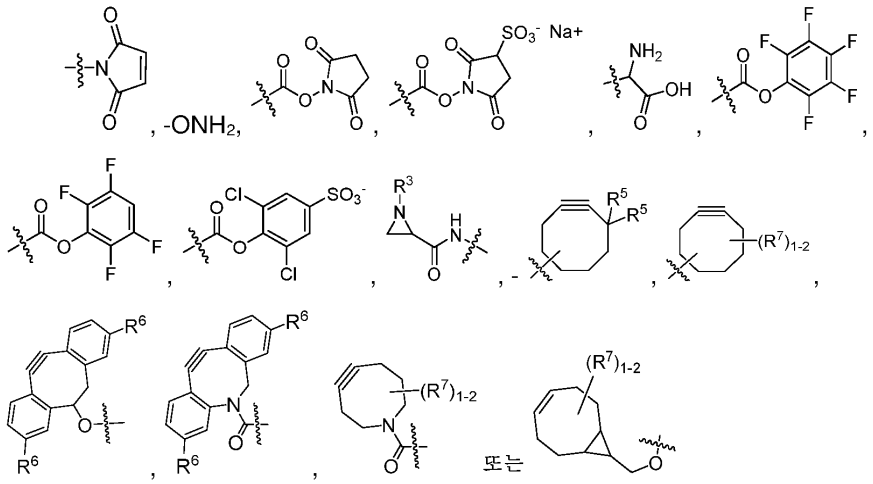
[1098] 실시양태 11.

[1099] R^1은



[1100] 인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

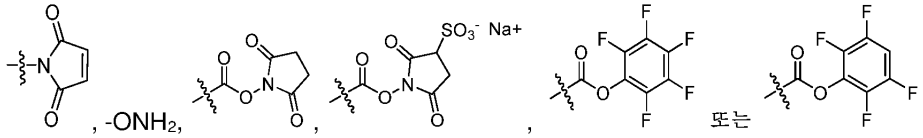
[1101] 실시양태 12.



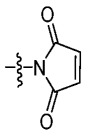
[1102] R^1은 인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1103] 실시양태 13.

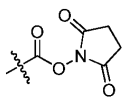
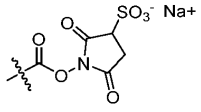
[1104] R^1은



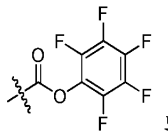
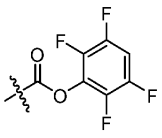
[1105] 인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1106] 실시양태 14. R^1은  인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

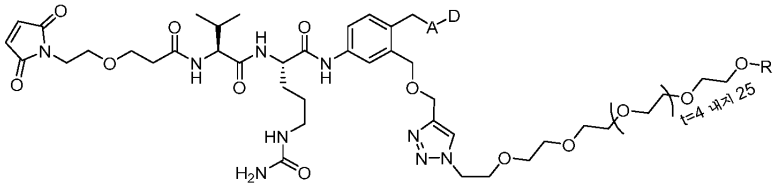
[1107] 실시양태 15. R^1은 $-ONH_2$인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1108] 실시양태 16. R^1은  또는  인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1109] 실시양태 17.

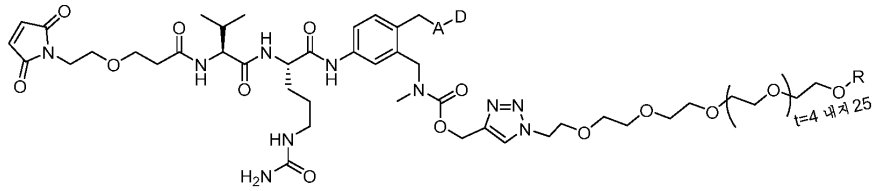
[1110] R^1은  또는  인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1111] 실시양태 18. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1112] 

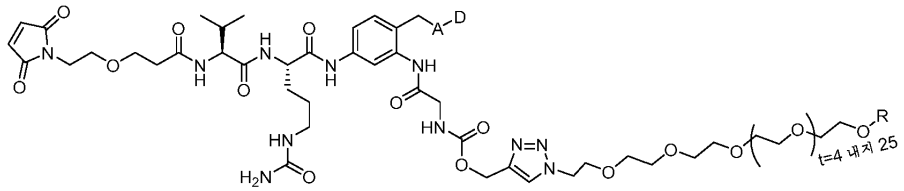
[1113] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

[1114] 실시양태 19. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1115] 

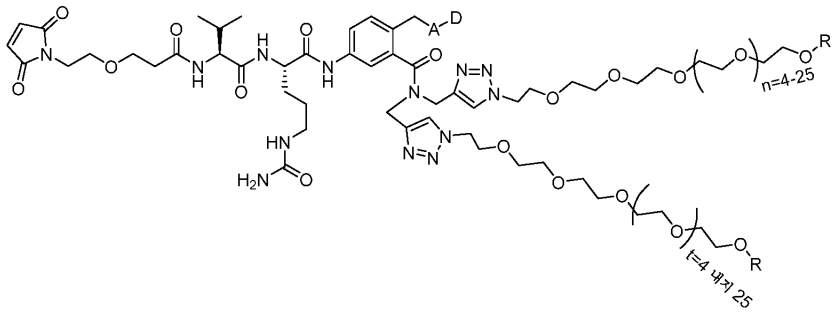
[1116] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

[1117] 실시양태 20. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1118] 

[1119] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

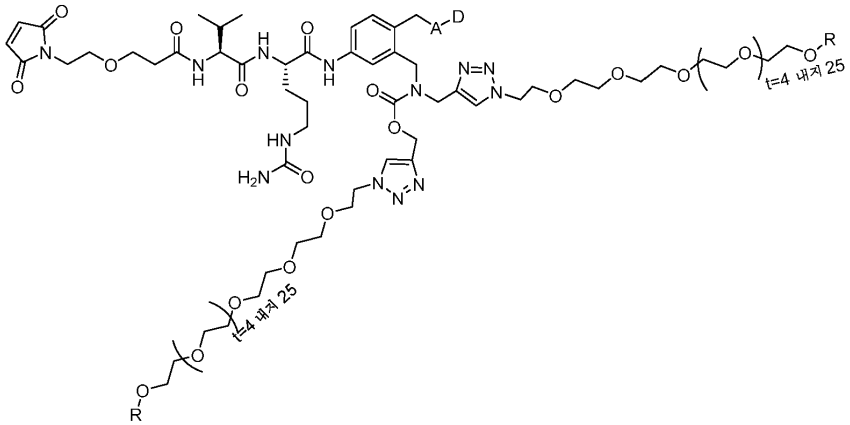
[1120] 실시양태 21. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



[1121]

[1122] 여기서, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택된다.

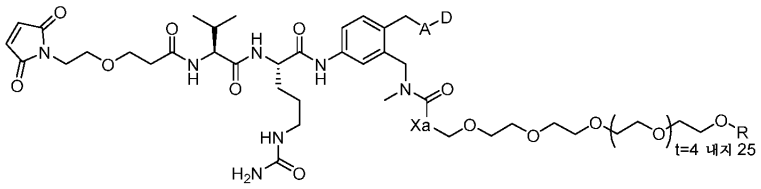
[1123] 실시양태 22. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



[1124]

[1125] 여기서, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택된다.

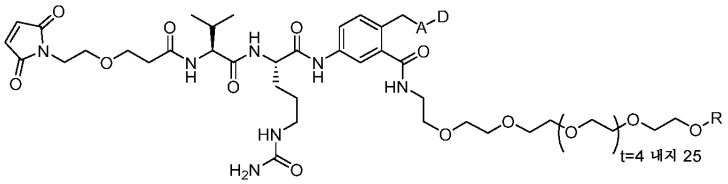
[1126] 실시양태 23. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



[1127]

[1128] 여기서, Xa는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

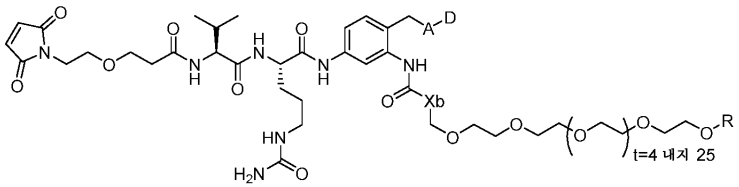
[1129] 실시양태 24. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



[1130]

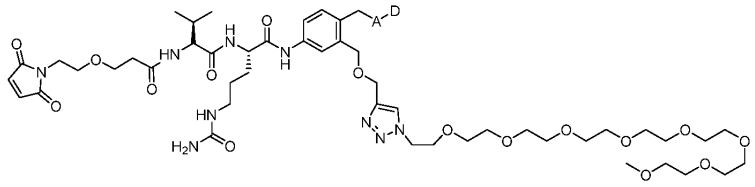
[1131] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

[1132] 실시양태 25. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

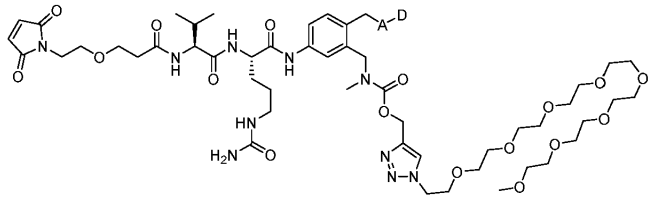
[1133] 

[1134] 여기서, Xb는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

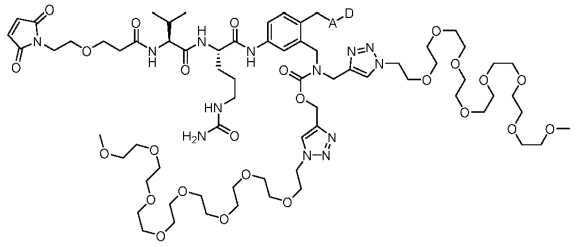
[1135] 실시양태 26. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1136] 

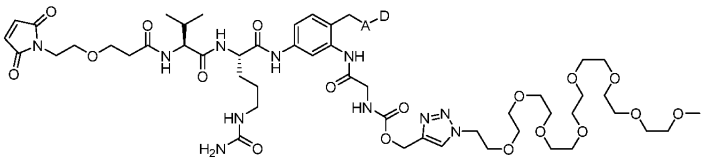
[1137] 실시양태 27. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1138] 

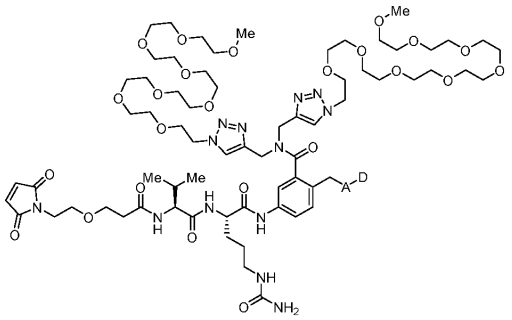
[1139] 실시양태 28. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1140] 

[1141] 실시양태 29. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1142] 

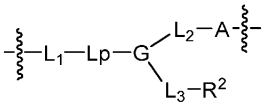
[1143] 실시양태 30. 다음 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



[1144]

[1145] 실시양태 31. 표 A의 화합물의 구조를 갖는 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

[1146] 실시양태 32. 하기 화학식 (C')의 구조를 갖는 화학식 (A')의 링커-약물 기의 링커.



화학식 (C')

[1147]

[1148] 여기서,

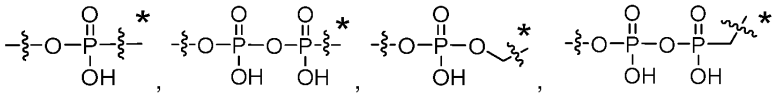
[1149] L_1은 가교 스페이서이고;

[1150] Lp는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1151] G-L_2-A는 자기 희생적 스페이서이고;

[1152] R^2는 친수성 모이어티이고;

[1153] L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌이고;

[1154] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고,

[1155] L_3은 스페이서 모이어티이다.

[1156] 실시양태 33.

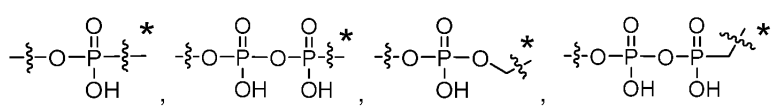
[1157] L_1은 가교 스페이서이고;

[1158] Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1159] G-L_2-A는 자기 희생적 스페이서이고;

[1160] R^2는 친수성 모이어티이고;

[1161] L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌이고;

[1162] A는 결합, -OC(=O)-*,  ,

-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^{a}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 및 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고,

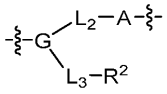
[1163] L$_3$은 스페이서 모이어티인

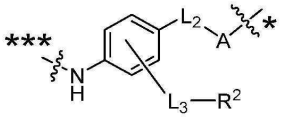
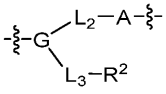
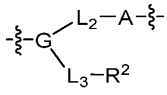
[1164] 실시양태 32의 링커.

[1165] 실시양태 34.

[1166] L$_1$은 가교 스페이서이고;

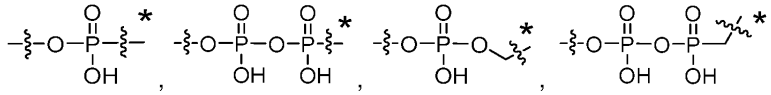
[1167] Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1168]  기는

[1169]  로부터 선택되고, 여기서  의 *는 D (예를 들어, 약물 모이어티의 N 또는 O)에 대한 부착 지점을 나타내고,  의 ***는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1170] R^{2}는 친수성 모이어티이고;

[1171] L$_2$는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C$_2$-C$_3$알케닐렌이고;

[1172] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^{a}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 및 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고,

[1173] L$_3$은 스페이서 모이어티인

[1174] 실시양태 32 또는 33의 링커.

[1175] 실시양태 35.

[1176] L$_1$은 *-C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-**; *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**; *-C(=O)(CH$_2$)$_m$-**;

[1177] *-C(=O)NH((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**;

[1178] *-C(=O)O(CH$_2$)$_m$SSC(R^3)$_2$(CH$_2$)$_m$C(=O)NR^3(CH$_2$)$_m$NR^{3}C(=O)(CH$_2$)$_m$-**;

[1179] *-C(=O)O(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**; *-C(=O)(CH$_2$)$_m$NH(CH$_2$)$_m$-**;

[1180] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$NH(CH$_2$)$_n$C(=O)-**; *-C(=O)(CH$_2$)$_m$X$_1$(CH$_2$)$_m$-**;

[1181] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**; *-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;

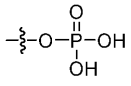
[1182] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;

[1183] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

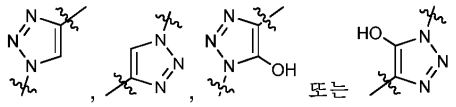
[1184] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

[1185] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;

[1186] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(R^3)$_2$-** 또는 *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**이고, 여기서 L$_1$의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1187] R^{2}는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C$_2$-C$_6$알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1188] 각각의 R^{3}은 독립적으로 H 및 C$_1$-C$_6$알킬로부터 선택되고;

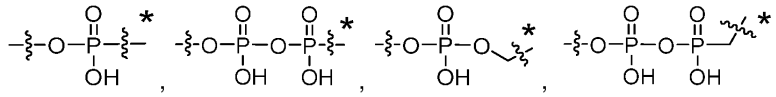
[1189] X$_1$은  이고;

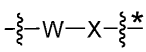
[1190] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1191] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1192] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1193] Lp는 글리신, 발린, 시트룰린, 리신, 이소류신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 류신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택되는 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1194] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^{a}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 및 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1195] L$_3$은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1196] 여기서

[1197] W는 -CH$_2$O-**, -CH$_2$N(R^b)C(=O)O-**, -NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**, -NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**, -NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**, -CH$_2$N(X-R^2)C(=O)O-**, -C(=O)N(X-R^2)-**, -CH$_2$N(X-R^2)C(=O)-**, -C(=O)NR^b-**, -C(=O)NH-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)NH-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)NR^b-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -S(O)$_2$NH-**, -NHS(O)$_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^{b}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 또는 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1198] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH$_2$-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^{2}에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1199] L$_3$의 *는 R^{2}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1200] 실시양태 32 내지 34 중 어느 하나의 링커.

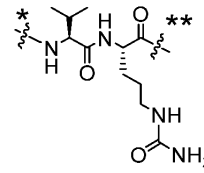
[1201] 실시양태 36.

[1202] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

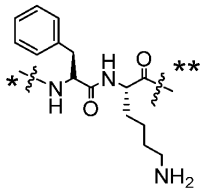
[1203] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1204] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

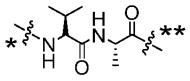
[1205] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;



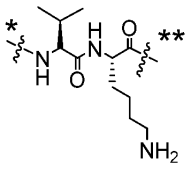
(ValCit),

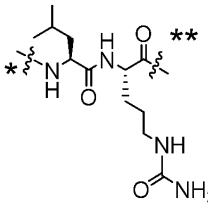


(PheLys),



(ValAla),

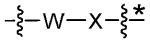




(ValLys) 및

(LeuCit)

[1206] Lp는 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고;

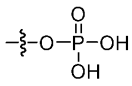
[1207] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

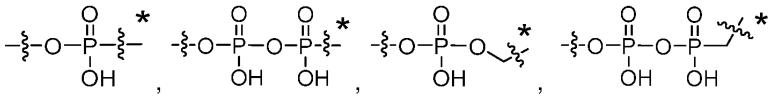
[1208] 여기서

[1209] W는 -CH_2O-**, -CH_2N(R^b)C(=O)O-**, -NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**, -NHC(=O)CH_2NH-**, -NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**, -C(=O)N(X-R^2)-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)-**, -C(=O)NR^b-**, -C(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)-**, -CH_2NR^bC(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)NR^b-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -$S(O)_2$NH-**, -NHS$(O)_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-로부터 선택되고, 여기서 각각의 R^b가 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1210] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1211] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1212] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1213] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^{a}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 및 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1214] 실시양태 32 내지 35 중 어느 하나의 링커.

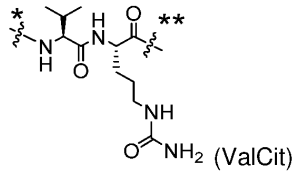
[1215] 실시양태 37.

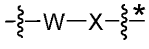
[1216] L$_1$은 *-C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-**; *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**; *-C(=O)(CH$_2$)$_m$-**; 또는 *-C(=O)NH((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-이고, 여기서 L$_1$의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1217] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1218] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1219] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1220] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L$_1$에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

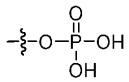
[1221] L$_3$은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

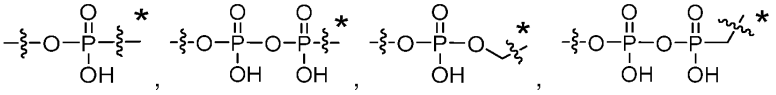
[1222] 여기서

[1223] W는 -CH$_2$O-**, -CH2N(Rb)C(=O)O-**, -NHC(=O)CH$_2$NHC(=O)O-**, -CH$_2$N(X-R^2)C(=O)O-**, -C(=O)N(X-R^2)-**, -CH$_2$N(X-R^2)C(=O)-**, -C(=O)NR^b-**, -C(=O)NH-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)NH-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)NR^b-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -S(O)$_2$NH-**, -NHS(O)$_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^{b}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 또는 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1224] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH$_2$-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^{2}에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1225] L$_3$의 *는 R^{2}에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1226] R^{2}는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C$_2$-C$_6$알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1227] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^{a}는 독립적

으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1228] 실시양태 32 내지 36 중 어느 하나의 링커.

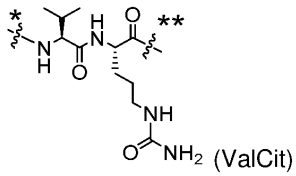
[1229] 실시양태 38.

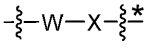
[1230] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1231] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1232] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1233] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1234] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고;

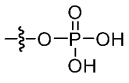
[1235] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1236] 여기서

[1237] W는 $-CH_2O$-**, -CH2N(Rb)C(=O)O-**, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**, $-CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**, $-C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**, $-C(=O)NR^b$-**, -C(=O)NH-**, $-CH_2NR^bC(=O)$-**, $-CH_2NR^bC(=O)NH$-**, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, 또는 -NHC(=O)NH-**이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1238] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1239] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1240] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1241] A는 결합 또는 -OC(=O)*이고, 여기서 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1242] 실시양태 32 내지 37 중 어느 하나의 링커.

[1243] 실시양태 39.

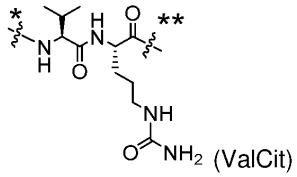
[1244] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

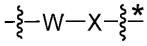
[1245] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1246] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1247] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22,

23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1248] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고;

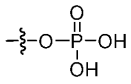
[1249] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1250] 여기서

[1251] W는 $-CH_2O-**$, -CH2N(Rb)C(=O)O-**, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, 또는 $-C(=O)N(X-R^2)-**$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1252] X는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내며;

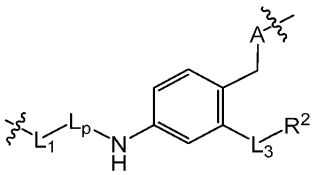
[1253] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1254] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1255] A는 결합 또는 -OC(=O)*이고, 여기서 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1256] 실시양태 32 내지 38 중 어느 하나의 링커.

[1257] 실시양태 40. 하기 화학식 (D')의 구조를 갖는 구조를 갖는 화학식 (C')의 링커.



화학식 (D')

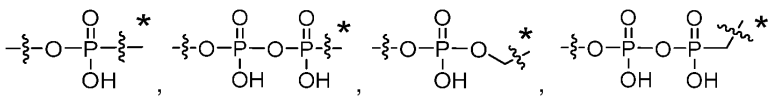
[1258]

[1259] 여기서,

[1260] L_1은 가교 스페이서이고;

[1261] Lp는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1262] R^2는 친수성 모이어티이고;

[1263] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고,

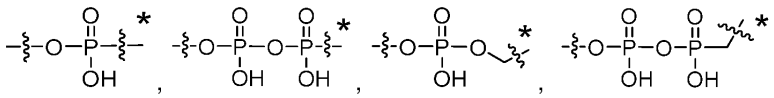
[1264] L_3은 스페이서 모이어티이다.

[1265] 실시양태 41.

[1266] L_1은 가교 스페이서이고;

[1267] Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1268] R^2는 친수성 모이어티이고;

[1269] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고,

[1270] L_3은 스페이서 모이어티인

[1271] 실시양태 40의 링커.

[1272] 실시양태 42.

[1273] L_1은 *-C(=O)(CH_2)$_m$O(CH_2)$_m$-**; *-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**; *-C(=O)(CH_2)$_m$-**; *-C(=O)NH((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**;

[1274] *-C(=O)O(CH_2)$_m$SSC(R^3)$_2$(CH_2)$_m$C(=O)NR^3(CH_2)$_m$NR^3C(=O)(CH_2)$_m$-**;

[1275] *-C(=O)O(CH_2)$_m$C(=O)NH(CH_2)$_m$-**; *-C(=O)(CH_2)$_m$NH(CH_2)$_m$-**;

[1276] *-C(=O)(CH_2)$_m$NH(CH_2)$_n$C(=O)-**; *-C(=O)(CH_2)$_m$$X_1$($CH_2$)$_m$-**;

[1277] *-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$$X_1$($CH_2$)$_n$-**; *-C(=O)($CH_2$)$_m$NHC(=O)($CH_2$)$_n$-**;

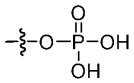
[1278] *-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$NHC(=O)(CH_2)$_n$-**;

[1279] *-C(=O)(CH_2)$_m$NHC(=O)(CH_2)$_n$$X_1$($CH_2$)$_n$-**;

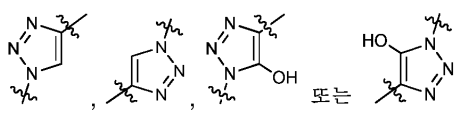
[1280] *-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$NHC(=O)(CH_2)$_n$$X_1$($CH_2$)$_n$-**;

[1281] *-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$C(=O)NH(CH_2)$_m$-**; *-C(=O)(CH_2)$_m$C(R^3)$_2$-** 또는

[1282] *-C(=O)(CH_2)$_m$C(=O)NH(CH_2)$_m$-**이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1283] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1284] 각각의 R^3은 독립적으로 H 및 C_1-C_6알킬로부터 선택되고;

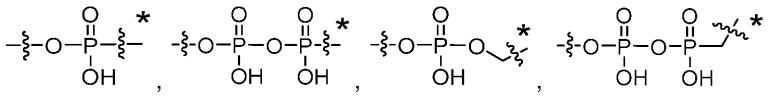
[1285] X_1은  이고;

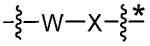
[1286] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1287] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1288] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1289] Lp는 글리신, 발린, 시트룰린, 리신, 이소류신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 류신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택되는 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1290] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^{a}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 및 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1291] L$_3$은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1292] 여기서

[1293] W는 -CH$_2$O-**, -CH2N(Rb)C(=O)O-**, -NHC(=O)CH$_2$NHC(=O)O-**, -CH$_2$N(X-R^2)C(=O)O-**, -C(=O)N(X-R^2)-**, -CH$_2$N(X-R^2)C(=O)-**, -C(=O)NR^b-**, -C(=O)NH-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)NH-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)NR^b-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -S(O)$_2$NH-**, -NHS(O)$_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^{b}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 또는 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1294] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH$_2$-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^{2}에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1295] L$_3$의 *는 R^{2}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1296] 실시양태 40 또는 41의 링커.

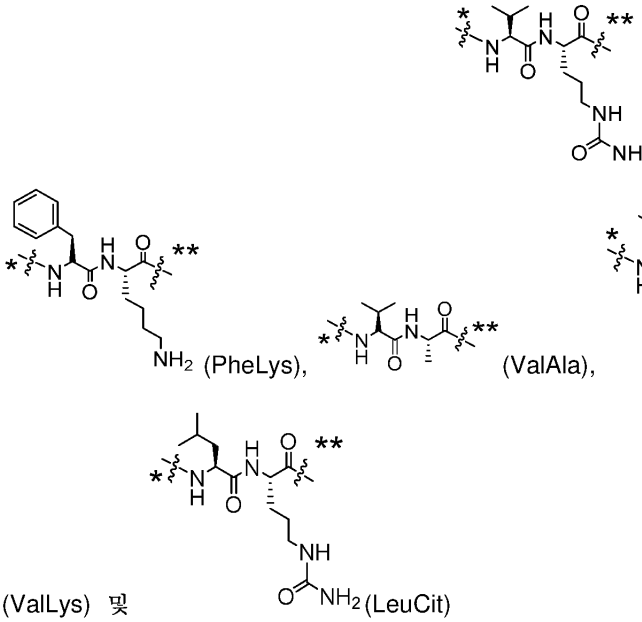
[1297] 실시양태 43.

[1298] L$_1$은 *-C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-**; *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**; *-C(=O)(CH$_2$)$_m$-**; 또는 *-C(=O)NH((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-이고, 여기서 L$_1$의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

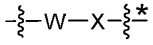
[1299] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1300] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1301] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;



[1302] Lp는 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

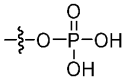
[1303] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

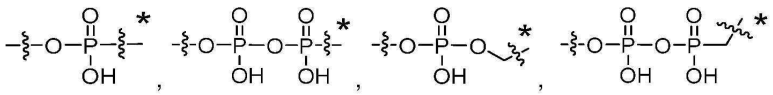
[1304] 여기서

[1305] W는 $-CH_2O-$**, $-CH2N(Rb)C(=O)O-$**, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-$**, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$**, $-C(=O)N(X-R^2)-$**, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$**, $-C(=O)NR^b-$**, $-C(=O)NH-$**, $-CH_2NR^bC(=O)-$**, $-CH_2NR^bC(=O)NH-$**, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$**, $-NHC(=O)-$**, $-NHC(=O)O-$**, $-NHC(=O)NH-$**, $-OC(=O)NH-$**, $-S(O)_2NH-$**, $-NHS(O)_2-$**, $-C(=O)-$, $-C(=O)O-$** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1306] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1307] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1308] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1309] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1310] 실시양태 40 내지 42 중 어느 하나의 링커.

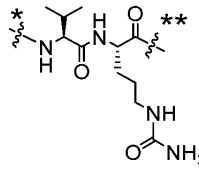
[1311] 실시양태 44.

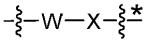
[1312] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1313] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1314] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1315] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1316] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

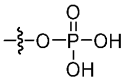
[1317] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

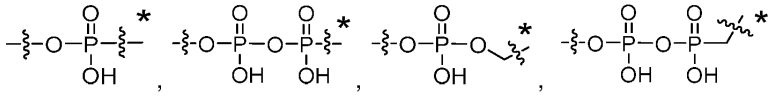
[1318] 여기서

[1319] W는 $-CH_2O$-**, $-CH_2N(Rb)C(=O)O$-**, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**, $-C(=O)N(X-R^2)$-**, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)$-**, $-C(=O)NR^b$-**, -C(=O)NH-**, $-CH_2NR^bC(=O)$-**, $-CH_2NR^bC(=O)NH$-**, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, $-S(O)_2NH$-**, $-NHS(O)_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1320] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1321] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1322] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1323] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N$(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-* 또는 -OC(=O)N$(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)$C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1324] 실시양태 40 내지 43 중 어느 하나의 링커.

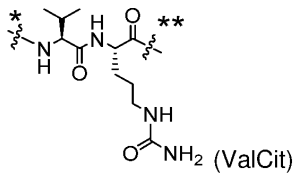
[1325] 실시양태 45.

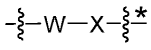
[1326] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1327] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1328] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1329] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1330] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

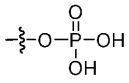
[1331] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1332] 여기서

[1333] W는 $-CH_2O-**$, $-CH_2N(Rb)C(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, $-C(=O)N(X-R^2)-**$, $-C(=O)NR^b-**$, $-C(=O)NH-**$, $-CH_2NR^bC(=O)-**$, $-CH_2NR^bC(=O)NH-**$, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**$, $-NHC(=O)-**$, $-NHC(=O)O-**$, 또는 $-NHC(=O)NH-**$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1334] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1335] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1336] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1337] A는 결합 또는 -OC(=O)*이고, 여기서 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1338] 실시양태 40 내지 44 중 어느 하나의 링커.

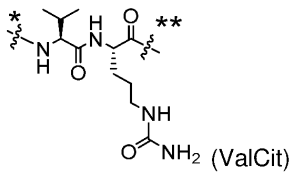
[1339] 실시양태 46.

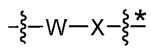
[1340] L_1은 $*-C(=O)(CH_2)_mO(CH_2)_m-**$; $*-C(=O)((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n-**$; $*-C(=O)(CH_2)_m-**$; 또는 $*-C(=O)NH((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n-$이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1341] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1342] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1343] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1344] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

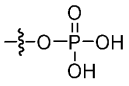
[1345] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1346] 여기서

[1347] W는 $-CH_2O-**$, $-CH_2N(Rb)C(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, 또는 $-C(=O)N(X-R^2)-**$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1348] X는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내며;

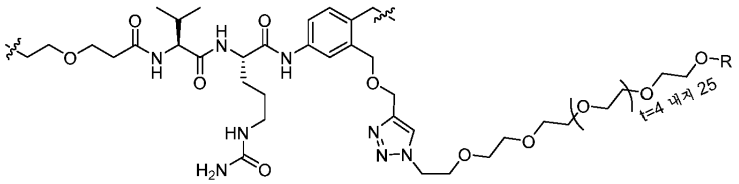
[1349] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1350] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1351] A는 결합 또는 -OC(=O)*이고, 여기서 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

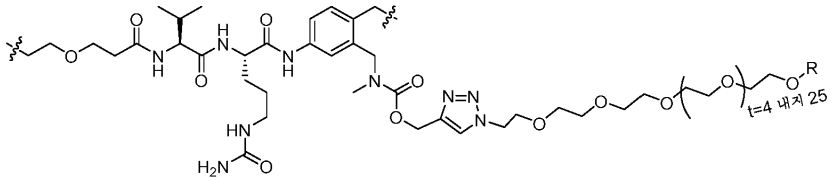
[1352] 실시양태 40 내지 45 중 어느 하나의 링커.

[1353] 실시양태 47. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:

[1354] 

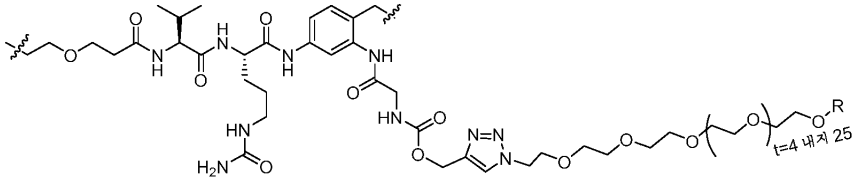
[1355] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

[1356] 실시양태 48. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:

[1357] 

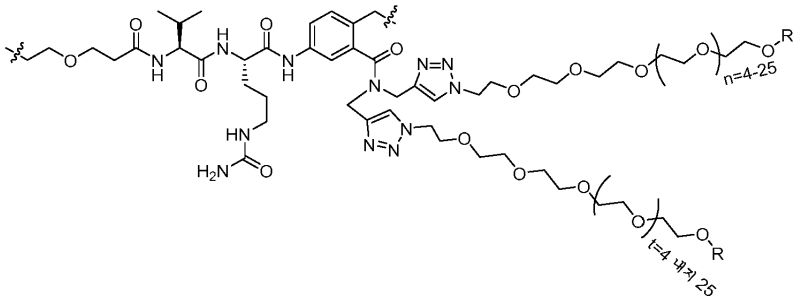
[1358] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

[1359] 실시양태 49. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:

[1360] 

[1361] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

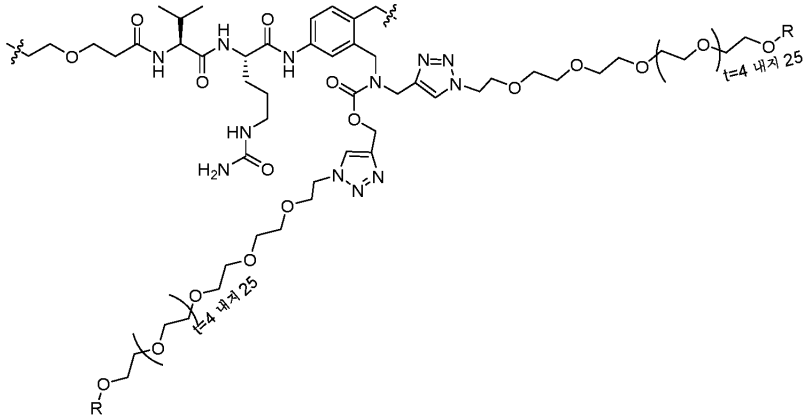
[1362] 실시양태 50. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:



[1363]

[1364] 여기서, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택된다.

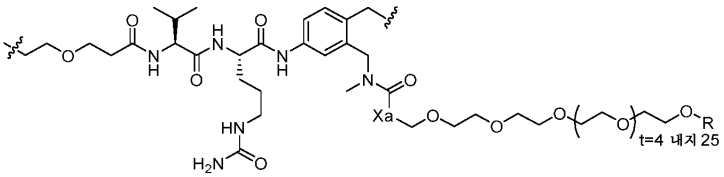
[1365] 실시양태 51. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:



[1366]

[1367] 여기서, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택된다.

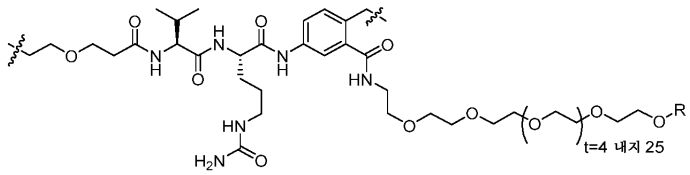
[1368] 실시양태 52. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:



[1369]

[1370] 여기서, Xa는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

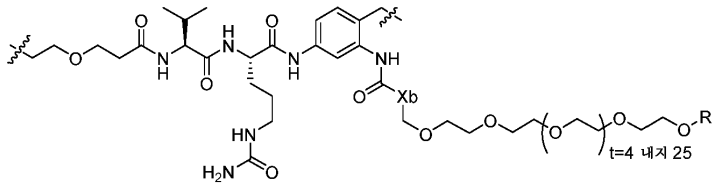
[1371] 실시양태 53. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:



[1372]

[1373] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

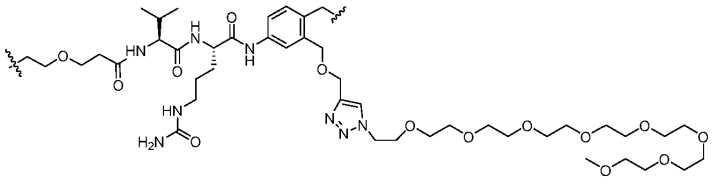
[1374] 실시양태 54. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:



[1375]

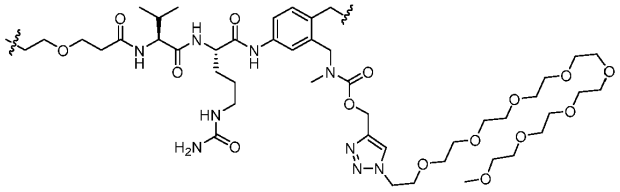
[1376] 여기서, Xb는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이다.

[1377] 실시양태 55. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:



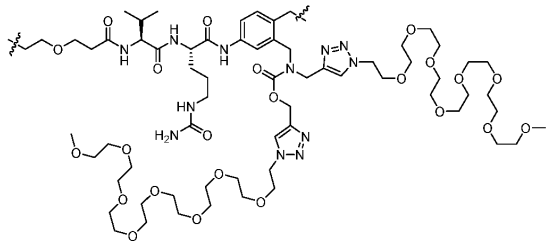
[1378]

[1379] 실시양태 56. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:



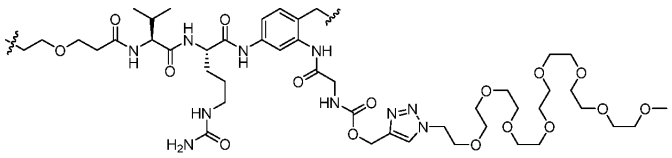
[1380]

[1381] 실시양태 57. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:



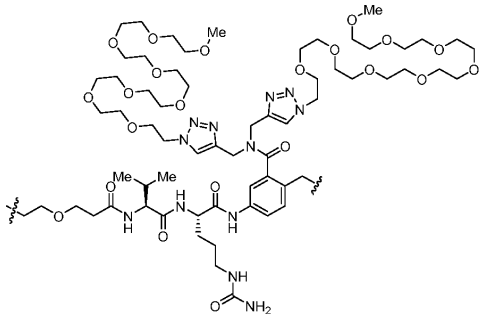
[1382]

[1383] 실시양태 58. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:



[1384]

[1385] 실시양태 59. 하기 구조를 갖는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나의 링커:

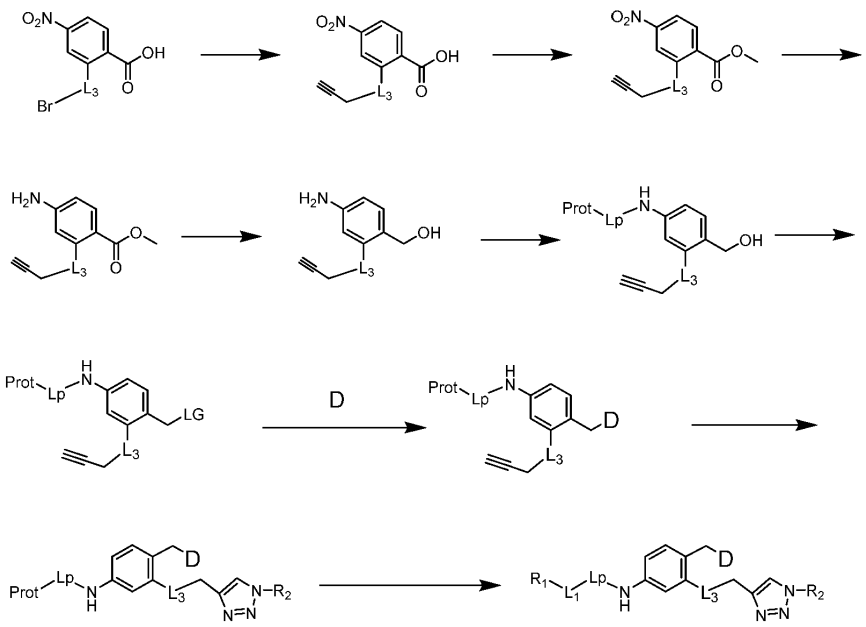


[1386]

[1387] 예시적 목적을 위해, 본원에 도시된 일반적 반응식은 본 발명의 화합물 뿐만 아니라 주요 중간체를 합성하기 위한 잠재적 경로를 제공한다. 개별 반응 단계의 보다 상세한 설명에 대해서는, 하기 실시예 섹션을 참조한다. 특정 출발 물질 및 시약이 하기 반응식에 도시되고 논의되지만, 다양한 유도체 및/또는 반응 조건을 제공하기 위해 다른 출발 물질 및 시약이 용이하게 대체될 수 있다. 또한, 하기 기재된 방법에 의해 제조된 많은 화합물은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 통상적인 화학을 이용하여 본 개시내용의 관점에서 추가로 변형시킬 수 있다.

[1388] 예로서, 화학식 (B')의 화합물에 대한 일반적 합성은 하기 반응식 1에 제시된다.

[1389] <반응식 1>

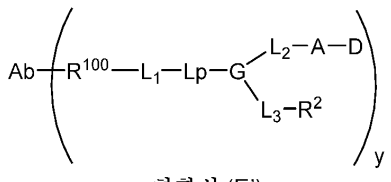


[1390]

[1391] 본 발명의 항체 약물 접합체

[1392] 본 발명은 하나 이상의 친수성 모이어티를 포함하는 링커를 포함하는, 본원에서 면역접합체로도 지칭되는 항체 약물 접합체를 제공한다.

[1393] 본 발명의 항체 약물 접합체는 하기 화학식 (E')의 구조를 갖는다.



화학식 (E')

[1394]

[1395] 여기서:

[1396] Ab는 항체 또는 그의 단편이고;

[1397] R^{100}은 커플링 기이고;

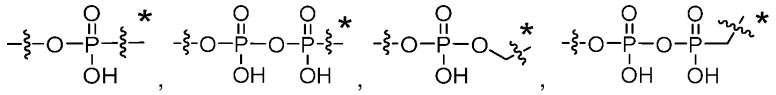
[1398] L_1은 가교 스페이서이고;

[1399] Lp는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1400] G-L_2-A는 자기 희생적 스페이서이고;

[1401] R^2는 친수성 모이어티이고;

[1402] L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌이고;

[1403] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1404] L_3은 스페이서 모이어티이고;

[1405] D는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티, 예를 들어 MCl-1 억제제이고, N 또는 O를 포함할 수 있으며, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결될 수 있고,

[1406] y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

[1407] 본 발명의 항체 약물 접합체의 특정 측면 및 예는 열거된 실시양태의 하기 목록에 제공된다. 각 실시양태에 명시된 특색은 다른 명시된 특색과 조합하여 본 발명의 추가 실시양태를 제공할 수 있는 것으로 인지될 것이다.

[1408] 실시양태 60.

[1409] Ab는 항-CD48 항체 또는 상기 기재된 그의 단편이고;

[1410] R^{100}은 커플링 기이고;

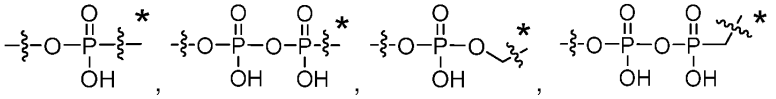
[1411] L_1은 가교 스페이서이고;

[1412] Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1413] G-L_2-A는 자기 희생적 스페이서이고;

[1414] R^2는 친수성 모이어티이고;

[1415] L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌이고;

[1416] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1417] L_3은 스페이서 모이어티이고;

[1418] D는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 D (예를 들어, 약물 모이어티의 N 또는 O)로의 직접 결합을 통해 A에 연결되고,

[1419] y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16인

[1420] 화학식 (E')의 면역접합체.

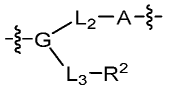
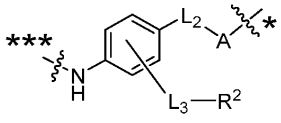
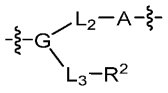
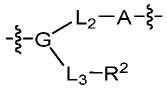
[1421] 실시양태 61.

[1422] Ab는 항-CD48 항체 또는 상기 기재된 그의 단편이고;

[1423] R^{100}은 커플링 기이고;

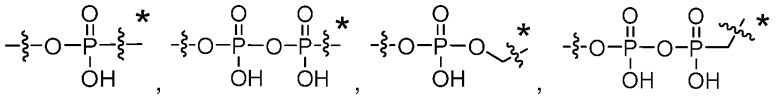
[1424] L_1은 가교 스페이서이고;

[1425] Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1426]  기는  로부터 선택되고, 여기서  의 *는 D (예를 들어, 약물 모이어티의 N 또는 O)에 대한 부착 지점을 나타내고,  의 ***는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1427] R^2는 친수성 모이어티이고;

[1428] L_2는 결합, 메틸렌, 네오펜틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌이고;

[1429] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

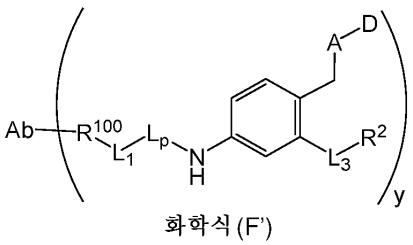
[1430] L_3은 스페이서 모이어티이고;

[1431] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되고,

[1432] y가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16인

[1433] 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60.

[1434] 실시양태 62. 하기 화학식 (F')의 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 61 중 어느 하나.



화학식 (F')

[1435]

[1436] 여기서:

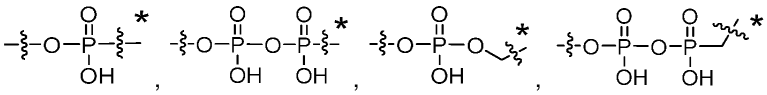
[1437] Ab는 항-CD48 항체 또는 상기 기재된 그의 단편이고;

[1438] R^{100}은 커플링 기이고;

[1439] L_1은 가교 스페이서이고;

[1440] Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1441] R^2는 친수성 모이어티이고;

[1442] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1443] L_3은 스페이서 모이어티이고;

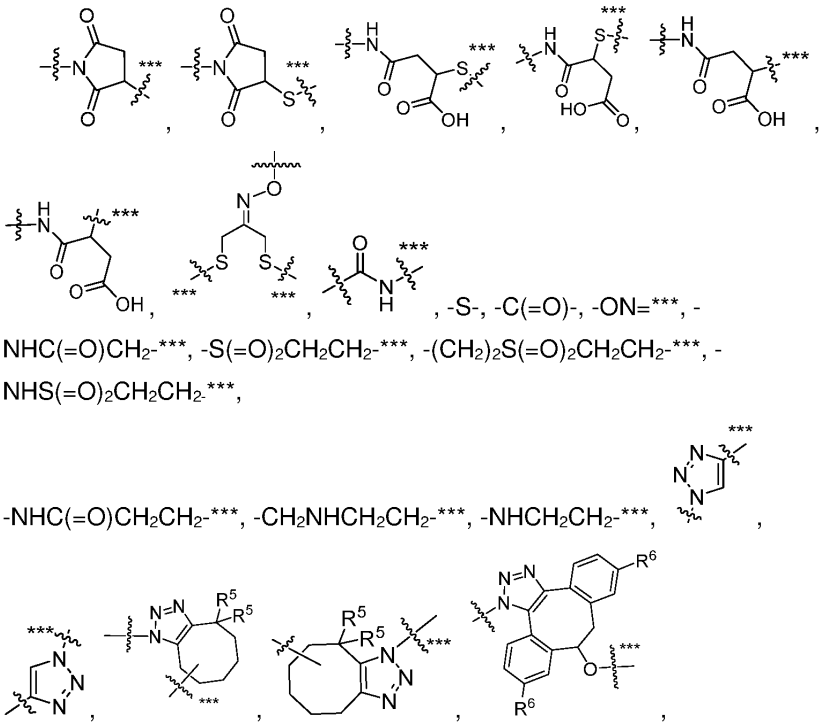
[1444] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되고,

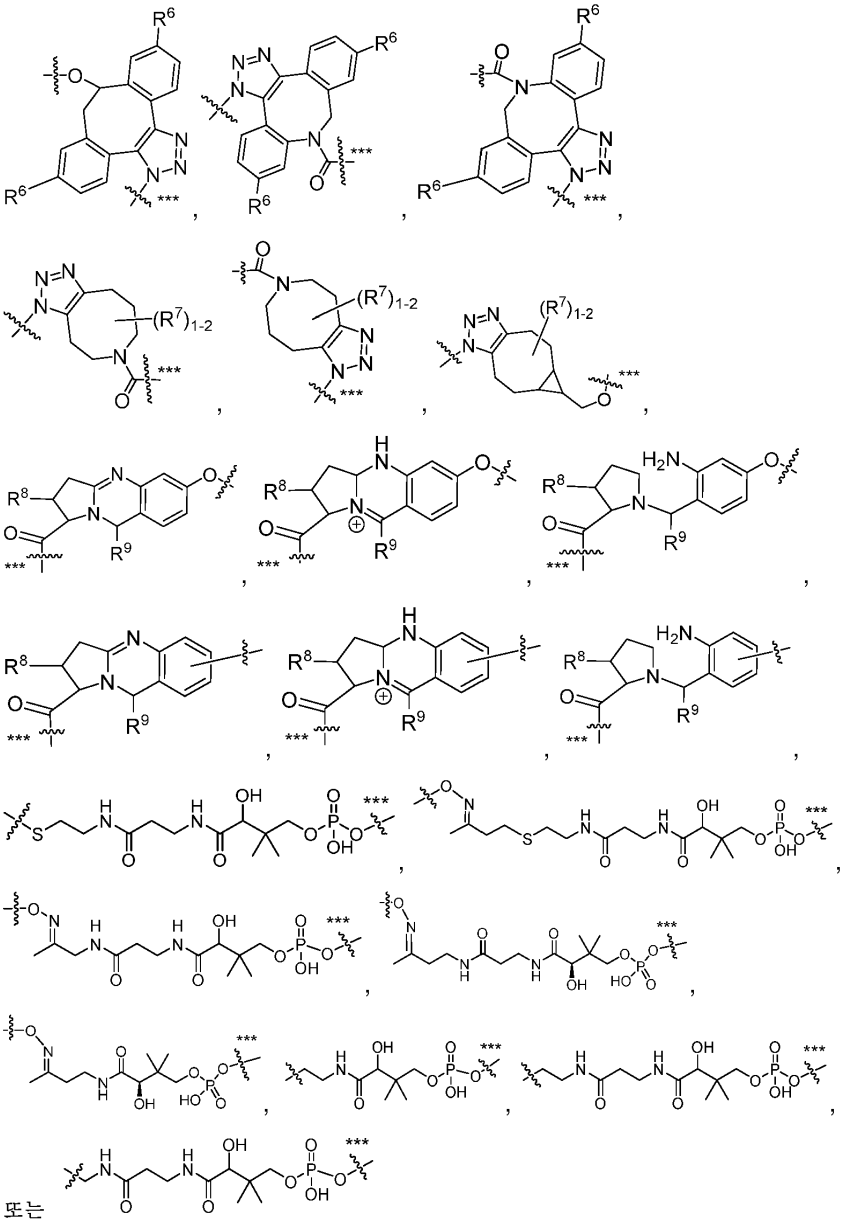
[1445] y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16인 화학식 (E')의 면역접합체.

[1446] 실시양태 63.

[1447] Ab는 항-CD48 항체 또는 상기 기재된 그의 단편이고;

[1448] R^{100}은

[1449]  , -S-, -C(=O)-, -ON=***, -NHC(=O)CH_2-***, -S(=O)$_2CH_2CH_2$-***, -(CH_2)$_2$S(=O)$_2CH_2CH_2$-***, -NHS(=O)$_2CH_2CH_2$-***, -NHC(=O)CH_2CH_2-***, -CH_2NHCH_2CH_2-***, -NHCH_2CH_2-***, , ,



또는

[1450] 이고, 여기서 R^{100}의 ***는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1451] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1452] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;

[1453] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1454] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[1455] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**; *-C(=O)$(CH_2)_mX_1(CH_2)_m$-**;

[1456] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

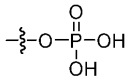
[1457] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1458] *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

[1459] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

[1460] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**; *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(R^3)$_2$-** 또는

[1461] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**이고, 여기서 L$_1$의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L$_1$의 **는 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1462] R^{2}는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C$_2$-C$_6$알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

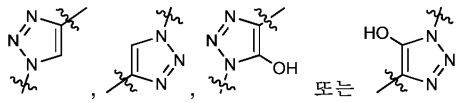
[1463] 각각의 R^{3}은 독립적으로 H 및 C$_1$-C$_6$알킬로부터 선택되고;

[1464] R^{4}는 2-피리딜 또는 4-피리딜이고;

[1465] 각각의 R^{5}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 선택되고;

[1466] 각각의 R^{6}은 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬, F, Cl, -NH$_2$, -OCH$_3$, -OCH$_2$CH$_3$, -N(CH$_3$)$_2$, -CN, -NO$_2$ 및 -OH로부터 선택되고;

[1467] 각각의 R^{7}은 독립적으로 H, C$_{1-6}$알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알콕시, 및 -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

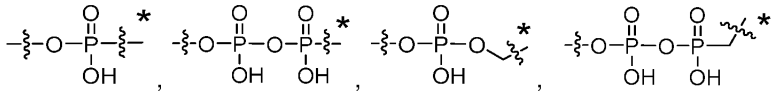
[1468] X$_1$은  이고;

[1469] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1470] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1471] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1472] Lp는 발린, 시트룰린, 리신, 이소류신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 류신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택되는 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서이고;

[1473] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^{a}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬 및 C$_3$-C$_8$시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1474] L$_3$은 구조 를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1475] 여기서

[1476] W는 -CH$_2$O-**, -CH$_2$N(Rb)C(=O)O-**, -NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**, -NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**, -NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**, -CH$_2$N(X-R^2)C(=O)O-**, -C(=O)N(X-R^2)-**, -CH$_2$N(X-R^2)C(=O)-**, -C(=O)NR^b-**, -C(=O)NH-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)NH-**, -CH$_2$NR^{b}C(=O)NR^b-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -S(O)$_2$NH-**, -NHS(O)$_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^{b}는 독립적으로 H, C$_1$-C$_6$알킬

또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1477] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1478] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

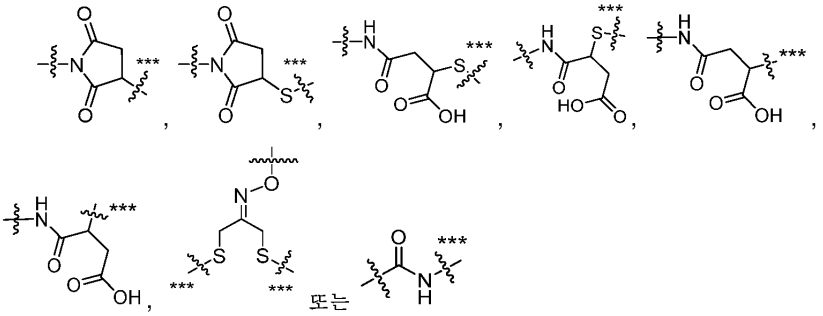
[1479] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되고,

[1480] y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16인

[1481] 화학식 (D')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 62 중 어느 하나.

[1482] 실시양태 64.

[1483] Ab는 항-CD48 항체 또는 상기 기재된 그의 단편이고;

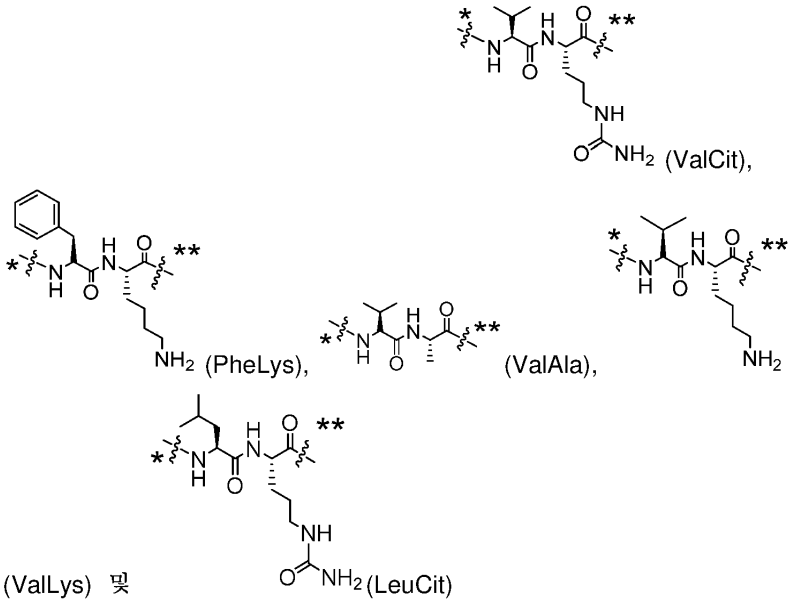
[1484] R^{100}은  이고, 여기서 R^{100}의 ***는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1485] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내고;

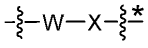
[1486] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1487] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1488] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;



[1489] Lp는 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

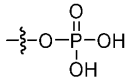
[1490] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

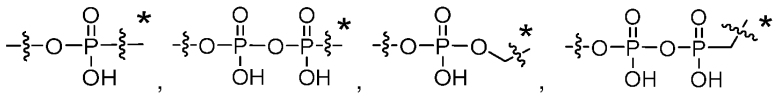
[1491] 여기서

[1492] W는 $-CH_2O-**$, $-CH_2N(Rb)C(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NH-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, $-C(=O)N(X-R^2)-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**$, $-C(=O)NR^b-**$, $-C(=O)NH-**$, $-CH_2NR^bC(=O)-**$, $-CH_2NR^bC(=O)NH-**$, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**$, $-NHC(=O)-**$, $-NHC(=O)O-**$, $-NHC(=O)NH-**$, $-OC(=O)NH-**$, $-S(O)_2NH-**$, $-NHS(O)_2-**$, $-C(=O)-$, $-C(=O)O-**$ 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1493] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1494] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1495] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1496] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

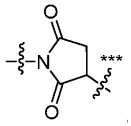
[1497] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되고,

[1498] y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16인

[1499] 화학식 (D')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 63 중 어느 하나.

[1500] 실시양태 65.

[1501] Ab는 항-CD48 항체 또는 상기 기재된 그의 단편이고;

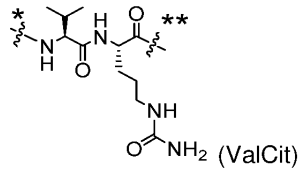
[1502] R^{100}은  이고, 여기서 R^{100}의 ***는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내고;

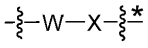
[1503] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_mO(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1504] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1505] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1506] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1507] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1508] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

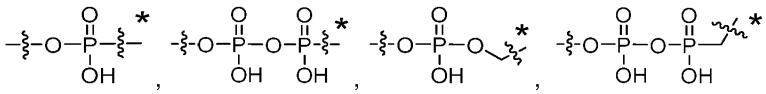
[1509] 여기서

[1510] W는 -CH_2O-**, -CH_2N(Rb)C(=O)O-**, -NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**, -C(=O)N(X-R^2)-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)-**, -C(=O)NR^b-**, -C(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)-**, -CH_2NR^bC(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)NR^b-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -$S(O)_2$NH-**, -NH$S(O)_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1511] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1512] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1513] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1514] A는 결합, -OC(=O)-*,  , -OC(=O)N$(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-* 또는 -OC(=O)N(CH_3)C$(R^a)_2$C$(R^a)_2$N(CH_3)C(=O)-*이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적

으로 H, C_1-C_6알킬 및 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, A의 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

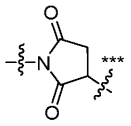
[1515] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되고,

[1516] y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16인

[1517] 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 64 중 어느 하나.

[1518] 실시양태 66.

[1519] Ab는 항-CD48 항체 또는 상기 기재된 그의 단편이고;

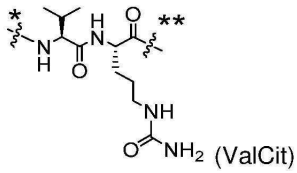
[1520] R^{100}은  이고, 여기서 R^{100}의 ***는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내고;

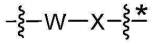
[1521] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1522] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1523] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1524] 각각의 t는 독립적으로 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1525] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

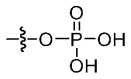
[1526] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1527] 여기서

[1528] W는 $-CH_2O$-**, $-CH_2N(Rb)C(=O)O$-**, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**, $-C(=O)N(X-R^2)$-**, $-C(=O)NR^b$-**, -C(=O)NH-**, $-CH_2NR^bC(=O)$-**, $-CH_2NR^bC(=O)NH$-**, $-CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, 또는 -NHC(=O)NH-**이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1529] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1530] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1531] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1532] A는 결합 또는 -OC(=O)*이고, 여기서 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

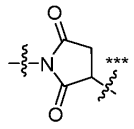
[1533] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되고,

[1534] y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16인

[1535] 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 65 중 어느 하나.

[1536] 실시양태 67.

[1537] Ab는 항-CD48 항체 또는 상기 기재된 그의 단편이고;

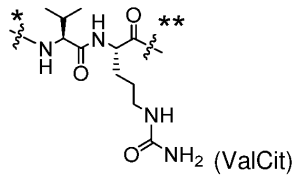
[1538] R^{100}은  이고, 여기서 R^{100}의 ***는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내고;

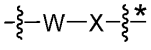
[1539] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)(($(CH_2)_m$O)$_t$$(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**; 또는 *-C(=O)NH(($(CH_2)_m$O)$_t$$(CH_2)_n$-이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1540] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1541] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고;

[1542] 각각의 t는 독립적으로 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되고;

[1543] Lp는  (ValCit) 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 G의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내고;

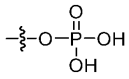
[1544] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1545] 여기서

[1546] W는 -CH_2O-**, -CH_2N(Rb)C(=O)O-**, -NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**, 또는 -C(=O)N(X-R^2)-**이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1547] X는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내며;

[1548] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1549] R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티이고;

[1550] A는 결합 또는 -OC(=O)*이고, 여기서 *는 D에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1551] D는 N 또는 O를 포함하는 본원에 정의된 바와 같은 약물 모이어티이고, 여기서 D는 A에서 약물 모이어티의 N 또

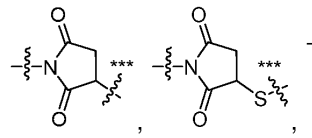
는 O로의 직접 결합을 통해 A에 연결되고,

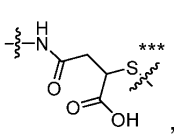
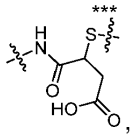
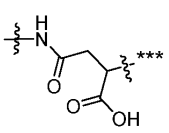
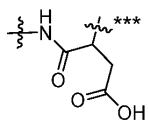
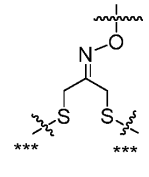
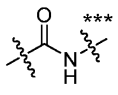
[1552] y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16인

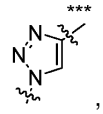
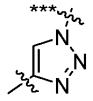
[1553] 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 66 중 어느 하나.

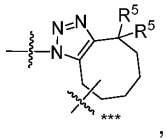
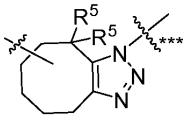
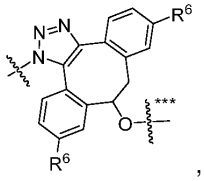
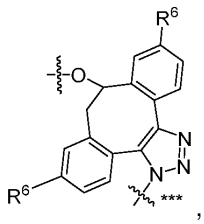
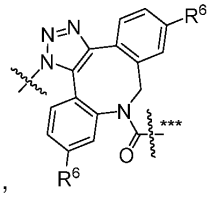
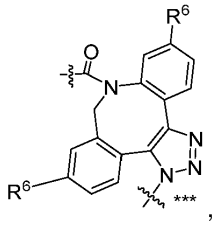
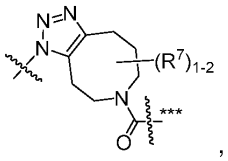
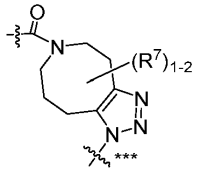
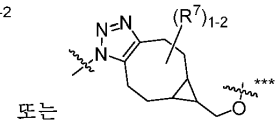
[1554] 실시양태 68.

[1555] R^{100}은









-S-, -C(=O)-, -ON=***, -NHC(=O)CH_2-***, -S(=O)$_2$$CH_2$$CH_2$-***, -$(CH_2)_2$S(=O)$_2$$CH_2$$CH_2$-***, -NHS(=O)$_2$$CH_2$$CH_2$-***,

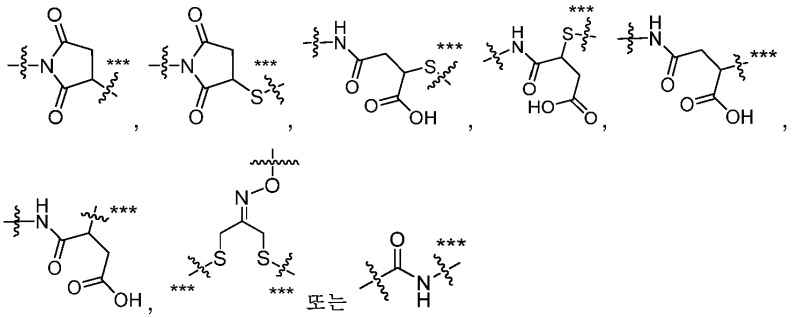
-NHC(=O)$CH_2$$CH_2$-***, -$CH_2NHCH_2$$CH_2$-***, -NHC$H_2$$CH_2$-***,












또는

[1556]

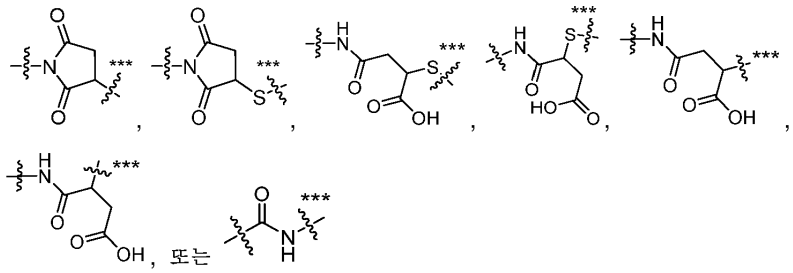
[1557] 이고, 여기서 R^{100}의 ***는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내는 것인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 63 중 어느 하나.

[1558] 실시양태 69.



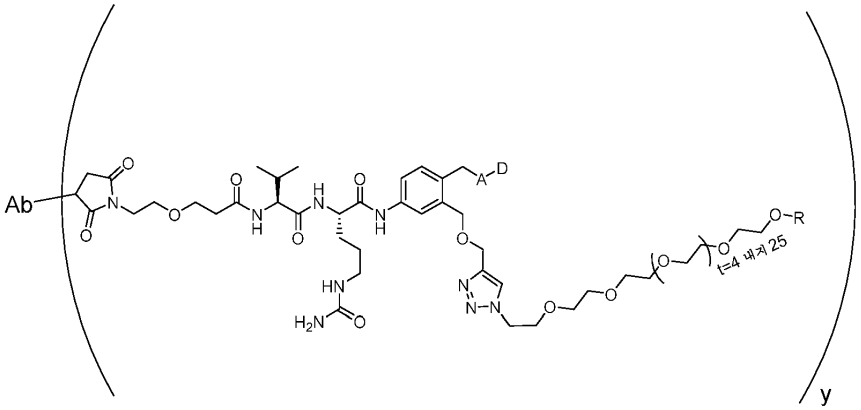
[1559] R^{100}은 이고, 여기서 R^{100}의 ***는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내는 것인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 63 중 어느 하나.

[1560] 실시양태 70.



[1561] R^{100}은 이고, 여기서 R^{100}의 ***는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내는 것인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 63 중 어느 하나.

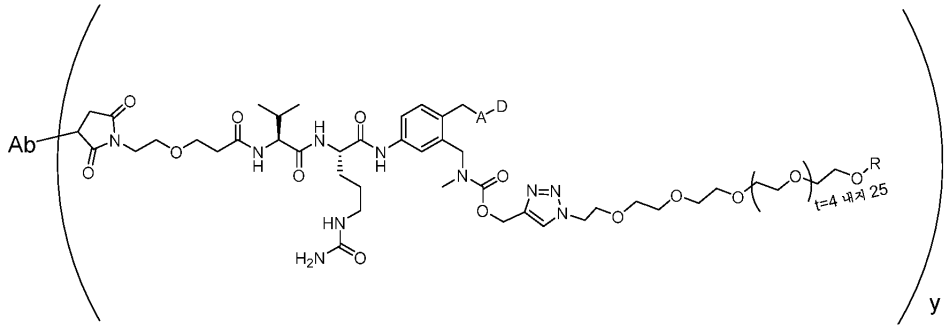
[1562] 실시양태 71. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1563]

[1564] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

[1565] 실시양태 72. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:

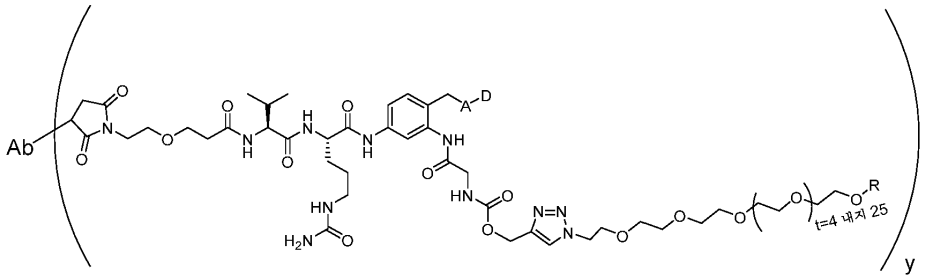


[1566]

[1567] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는

16이다.

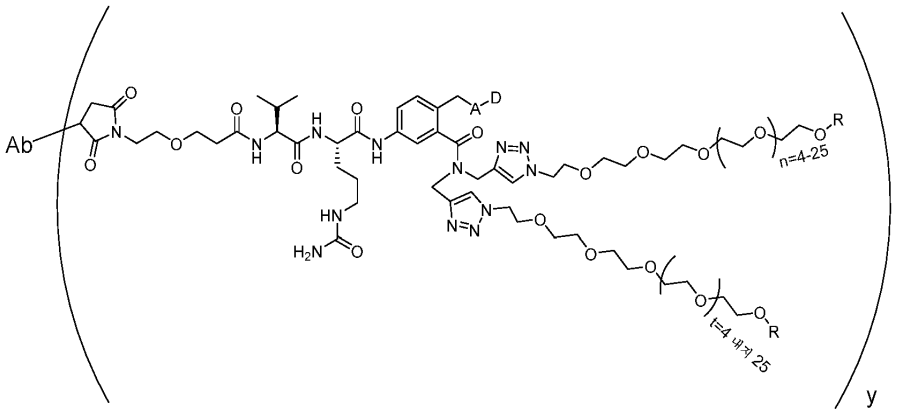
[1568] 실시양태 73. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1569]

[1570] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

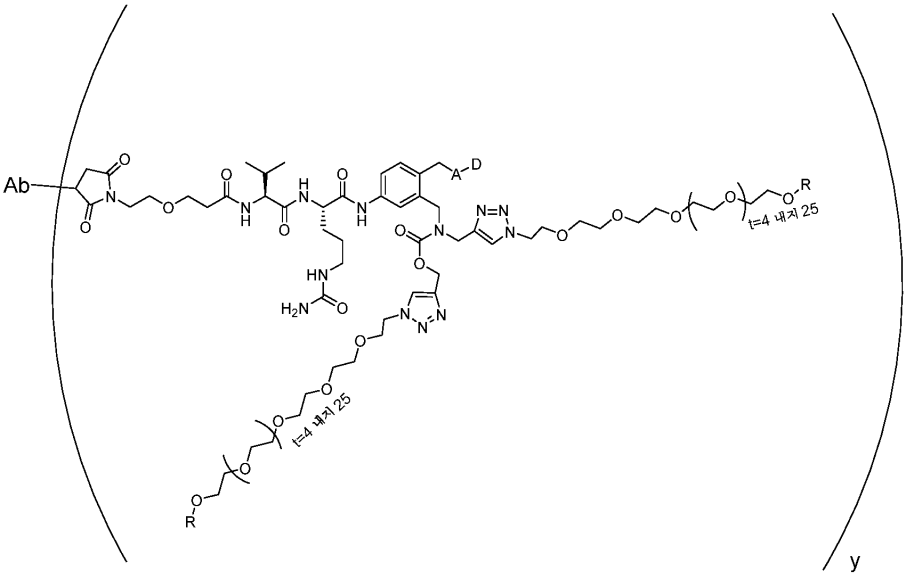
[1571] 실시양태 74. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1572]

[1573] 여기서, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택되고, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

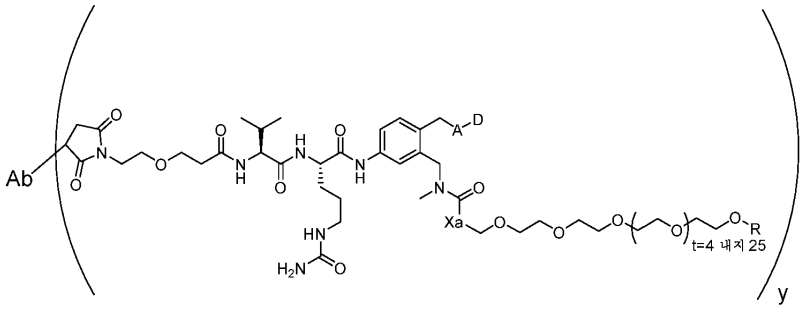
[1574] 실시양태 75. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1575]

[1576] 여기서, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$로부터 선택되고, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

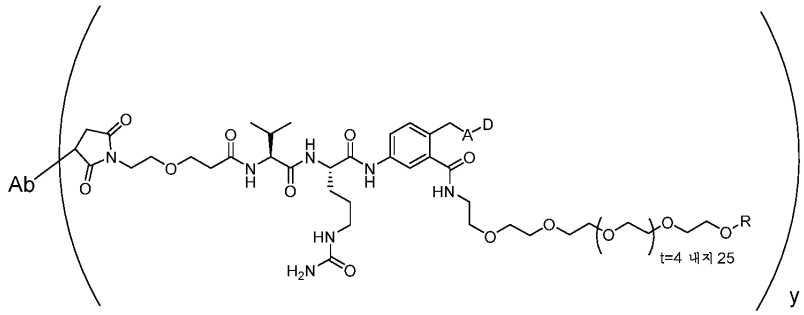
[1577] 실시양태 76. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1578]

[1579] 여기서, Xa는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

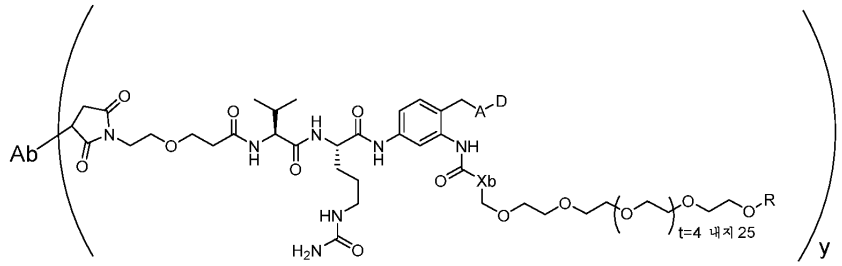
[1580] 실시양태 77. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1581]

[1582] 여기서, R은 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

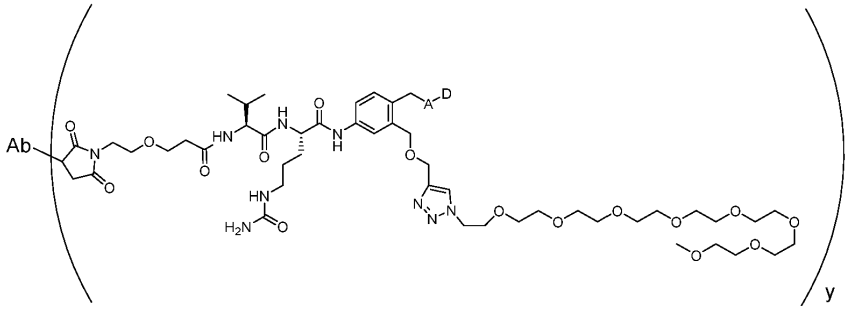
[1583] 실시양태 78. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1584]

[1585] 여기서, Xb는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, $-NHCH_2-$ 또는 $-NRCH_2-$이고, 각각의 R은 독립적으로 H, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2C(=O)OH$이고, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

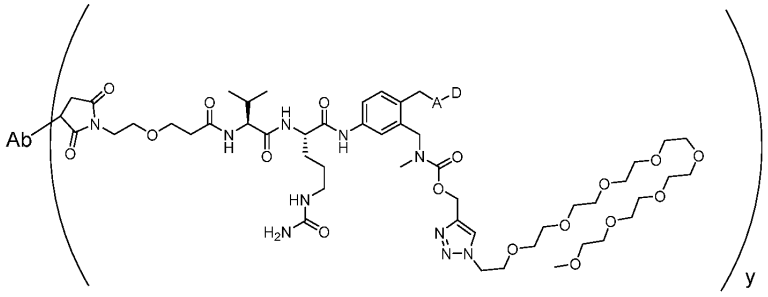
[1586] 실시양태 79. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1587]

[1588] 여기서, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

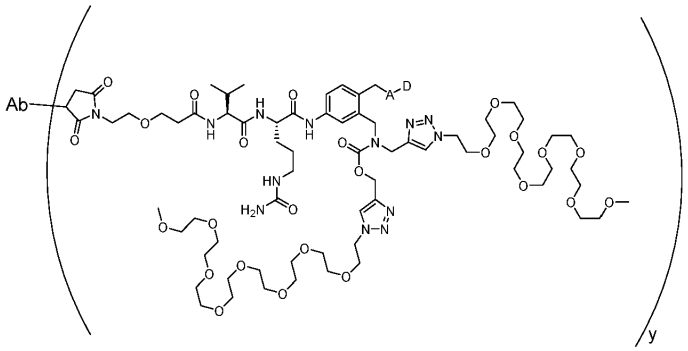
[1589] 실시양태 80. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1590]

[1591] 여기서, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

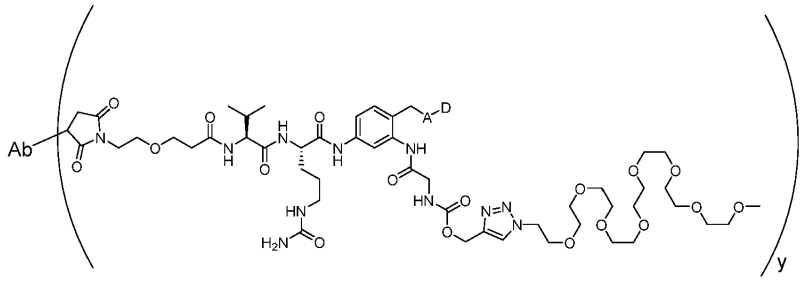
[1592] 실시양태 81. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1593]

[1594] 여기서, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

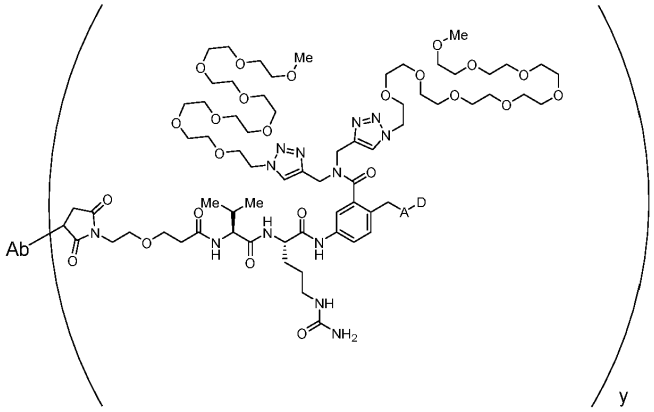
[1595] 실시양태 82. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:



[1596]

[1597] 여기서, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

[1598] 실시양태 83. 다음 구조를 갖는 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나:

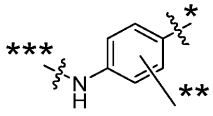


[1599]

[1600] 여기서, y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16이다.

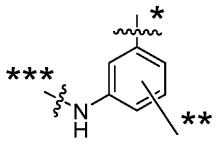
[1601] 본 발명의 링커-약물 기, 링커 및 항체 약물 접합체의 특정 측면 및 예는 추가의 열거된 실시양태의 하기 목록에 제공된다. 각 실시양태에 명시된 특색은 다른 명시된 특색과 조합하여 본 발명의 추가 실시양태를 제공할 수 있는 것으로 인지될 것이다.

[1602] 실시양태 84.

[1603] G는  이고, 여기서 G의 *는 L_2에 대한 부착 지점을 나타내고, G의 **는 L_3에 대한 부착 지점을 나타내고, G의 ***는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1604] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 2 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 39 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 61 중 어느 하나.

[1605] 실시양태 85.

[1606] G는  이고, 여기서 G의 *는 L_2에 대한 부착 지점을 나타내고, G의 **는 L_3에 대한 부착 지점을 나타내고, G의 ***는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1607] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 2 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 39 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 61 중 어느 하나.

[1608] 실시양태 86.

[1609] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1610] *-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**;

[1611] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1612] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[1613] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$$X_1(CH_2)_m$-**;

[1614] *-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$$X_1(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1615] *-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$$X_1(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$$X_1(CH_2)_n$-**;

[1616] *-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$C$(R^3)_2$-** 또는

[1617] *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 존재하는 경우 R^1에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 L_1의 **는 존재하는 경우 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1618] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나.

[1619] 실시양태 87.

[1620] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1621] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[1622] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1623] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1624] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$C$(R^3)_2$-** 또는 *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 존재하는 경우 R^1에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 L_1의 **는 존재하는 경우 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1625] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나.

[1626] 실시양태 88.

[1627] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1628] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**; 또는 *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 존재하는 경우 R^1에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 L_1의 **는 존재하는 경우 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1629] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나.

[1630] 실시양태 89.

[1631] L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**; *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**; *-C(=O)$(CH_2)_m$-** 또는 *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 존재하는 경우 R^1에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 L_1의 **는 존재하는 경우 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1632] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나.

[1633] 실시양태 90. L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 존재하는 경우 R^1에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 L_1의 **는 존재하는 경우 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나.

[1634] 실시양태 91. L_1은 *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 존재하는 경우 R^1에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 L_1의 **는 존재하는 경우 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나.

[1635] 실시양태 92. L_1은 *-C(=O)$(CH_2)_m$-**이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 존재하

는 경우 R^1에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 L_1의 **는 존재하는 경우 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나.

[1636] 실시양태 93. L_1은 *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**이고, 여기서 L_1의 *는 Lp에 대한 부착 지점을 나타내고, L_1의 **는 존재하는 경우 R^1에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 L_1의 **는 존재하는 경우 R^{100}에 대한 부착 지점을 나타내는 것인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나.

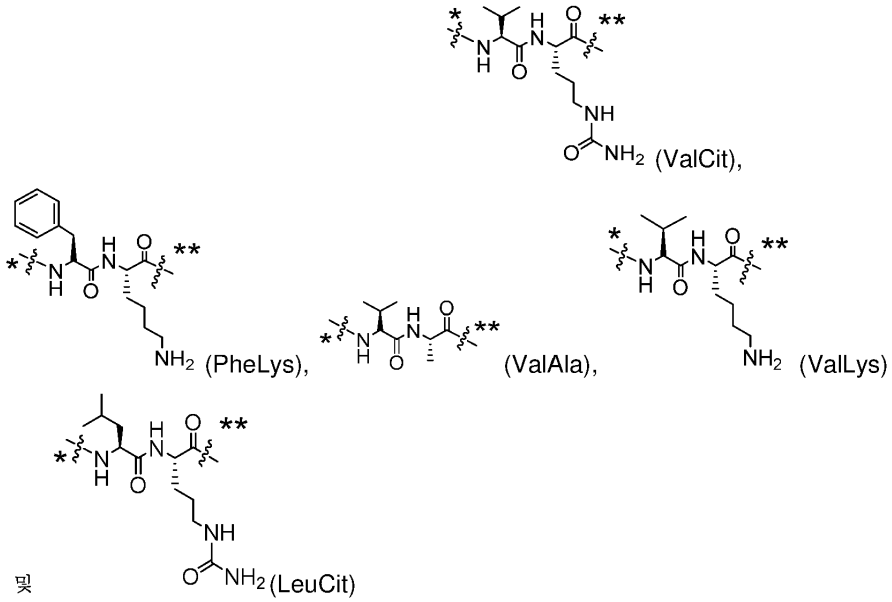
[1637] 실시양태 94. Lp는 효소적으로 절단가능한 2가 펩티드 스페이서인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 93 중 어느 하나.

[1638] 실시양태 95. Lp는 글리신, 발린, 시트룰린, 리신, 이소류신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 류신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택되는 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 94 중 어느 하나.

[1639] 실시양태 96. Lp는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 95 중 어느 하나.

[1640] 실시양태 97. Lp는 글리신, 발린, 시트룰린, 리신, 이소류신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 류신, 트립토판 및 티로신으로부터 각각 독립적으로 선택되는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 포함하는 2가 펩티드 스페이서인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 96 중 어느 하나.

[1641] 실시양태 98.

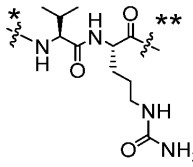


[1642] Lp는 및 로부터 선택되는 2가 펩티드 스페이서이고, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 화학식 (B')의 -NH-기에 대한

부착 지점을 나타내거나 또는 Lp의 **는 화학식 (A')의 G에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

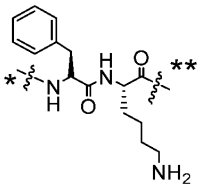
[1643] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 97 중 어느 하나.

[1644] 실시양태 99.

[1645] Lp는  (ValCit) 이며, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 화학식 (B')의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 Lp의 **는 화학식 (A')의 G에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

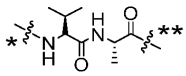
[1646] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 98 중 어느 하나.

[1647] 실시양태 100.

[1648] Lp는  (PheLys) 이며, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 화학식 (B')의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 Lp의 **는 화학식 (A')의 G에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

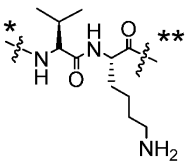
[1649] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 98 중 어느 하나.

[1650] 실시양태 101.

[1651] Lp는  (ValAla) 이며, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 화학식 (B')의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 Lp의 **는 화학식 (A')의 G에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1652] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 98 중 어느 하나.

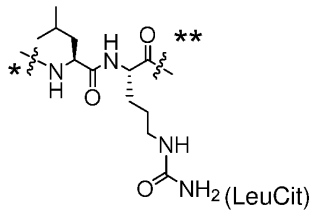
[1653] 실시양태 102.

[1654] Lp는  (ValLys) 이며, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 화학식 (B')의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 Lp의 **는 화학식 (A')의 G에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1655] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느

하나, 또는 실시양태 84 내지 98 중 어느 하나.

[1656] 실시양태 103.



[1657] Lp는 이며, 여기서 Lp의 *는 L_1에 대한 부착 지점을 나타내고, Lp의 **는 화학식 (B')의 -NH-기에 대한 부착 지점을 나타내거나 또는 Lp의 **는 화학식 (A')의 G에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1658] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 98 중 어느 하나.

[1659] 실시양태 104. L_2는 결합, 메틸렌 또는 C_2-C_3알케닐렌인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 103 중 어느 하나.

[1660] 실시양태 105. L_2는 결합 또는 메틸렌인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 104 중 어느 하나.

[1661] 실시양태 106. L_2는 결합인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 105 중 어느 하나.

[1662] 실시양태 107. L_2는 메틸렌인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 105 중 어느 하나.

[1663] 실시양태 108.

[1664] A는 결합, -OC(=O)-, -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)- 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되는 것인

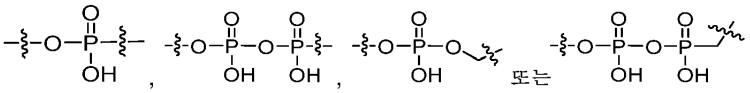
[1665] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 30 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 83 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 107 중 어느 하나.

[1666] 실시양태 109. A는 결합 또는 -OC(=O)인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 30 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 83 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 107 중 어느 하나.

[1667] 실시양태 110. A는 결합인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 30 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 83 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 109 중 어느 하나.

[1668] 실시양태 111. A는 -OC(=O)인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 30 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 83 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 109 중 어느 하나.

[1669] 실시양태 112.

[1670] A는  인

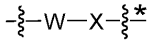
[1671] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 30 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 83 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 107 중 어느 하나.

[1672] 실시양태 113.

[1673] A는 -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)- 또는 -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-이고, 여기서 각각의 R^a는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되는 것인

[1674] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 30 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 83 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 107 중 어느 하나.

[1675] 실시양태 114.

[1676] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1677] 여기서

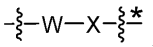
[1678] W는 -CH_2O-**, -CH_2N(R^b)C(=O)O-**, -NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**, -NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**, -NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**, -C(=O)N(X-R^2)-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)-**, -C(=O)NR^b-**, -C(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)-**, -CH_2NR^bC(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)NR^b-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -S(O)$_2$NH-**, -NHS(O)$_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1679] X는 결합, 트리아졸릴 또는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1680] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1681] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 113 중 어느 하나.

[1682] 실시양태 115.

[1683] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1684] 여기서

[1685] W는 -CH_2O-**, -CH_2N(R^b)C(=O)O-**, -NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**, -NHC(=O)CH_2NH-**, -NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**, -C(=O)N(X-R^2)-**, -CH_2N(X-R^2)C(=O)-**, -C(=O)NR^b-**, -C(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)-**, -CH_2NR^bC(=O)NH-**, -CH_2NR^bC(=O)NR^b-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -S(O)$_2$NH-**, -NHS(O)$_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1686] X는 결합이고;

[1687] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1688] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 114 중 어느 하나.

[1689] 실시양태 116.

[1690] L_3은 구조 를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1691] 여기서

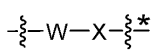
[1692] W는 -CH_2O-**, -$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**, -$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**, -$NHC(=O)CH_2NH$-**, -$NHC(=O)CH_2NHC(=O)$-**, -$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**, -$C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**, -$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)$-**, -$C(=O)NR^b$-**, -C(=O)NH-**, -$CH_2NR^bC(=O)$-**, -$CH_2NR^bC(=O)NH$-**, -$CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -$S(O)_2NH$-**, -$NHS(O)_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1693] X는 트리아졸릴이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1694] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1695] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 115 중 어느 하나.

[1696] 실시양태 117.

[1697] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1698] 여기서

[1699] W는 -CH_2O-**, -$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**, -$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**, -$NHC(=O)CH_2NH$-**, -$NHC(=O)CH_2NHC(=O)$-**, -$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**, -$C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**, -$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)$-**, -$C(=O)NR^b$-**, -C(=O)NH-**, -$CH_2NR^bC(=O)$-**, -$CH_2NR^bC(=O)NH$-**, -$CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**, -NHC(=O)-**, -NHC(=O)O-**, -NHC(=O)NH-**, -OC(=O)NH-**, -$S(O)_2NH$-**, -$NHS(O)_2$-**, -C(=O)-, -C(=O)O-** 또는 -NH-이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8 시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1700] X는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내며;

[1701] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1702] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 115 중 어느 하나.

[1703] 실시양태 118.

[1704] L_3은 구조 를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1705] 여기서

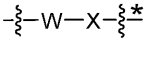
[1706] W는 $-CH_2O-**$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, $-C(=O)N(X-R^2)-**$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1707] X는 결합, 트리아졸릴 또는 $***-CH_2$-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1708] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1709] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 115 중 어느 하나.

[1710] 실시양태 119.

[1711] L_3은 구조  를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1712] 여기서

[1713] W는 $-CH_2O-**$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, $-C(=O)N(X-R^2)-**$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1714] X는 결합이고;

[1715] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1716] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 115 중 어느 하나.

[1717] 실시양태 120.

[1718] L_3은 구조 를 갖는 스페이서 모이어티이고,

[1719] 여기서

[1720] W는 $-CH_2O-**$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, $-C(=O)N(X-R^2)-**$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1721] X는 트리아졸릴이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1722] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1723] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의

링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 115 중 어느 하나.

[1724] 실시양태 121.

[1725] L_3은 구조 를 갖는 스페이서 모이어티이고,

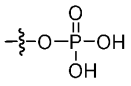
[1726] 여기서

[1727] W는 $-CH_2O-**$, $-CH_2N(R^b)C(=O)O-**$, $-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**$, $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$, $-C(=O)N(X-R^2)-**$이고, 여기서 각각의 R^b는 독립적으로 H, C_1-C_6알킬 또는 C_3-C_8시클로알킬로부터 선택되고, 여기서 W의 **는 X에 대한 부착 지점을 나타내고;

[1728] X는 ***-CH_2-트리아졸릴-*이고, 여기서 X의 ***는 W에 대한 부착 지점을 나타내고, X의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내며;

[1729] L_3의 *는 R^2에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1730] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 115 중 어느 하나.

[1731] 실시양태 122. R^2는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬렌 글리콜, 당, 올리고사카라이드, 폴리펩티드, 또는 1 내지 3개의  기로 치환된 C_2-C_6알킬로부터 선택되는 친수성 모이어티인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 121 중 어느 하나.

[1732] 실시양태 123. R^2는 당인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1733] 실시양태 124. R^2는 올리고사카라이드인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1734] 실시양태 125. R^2는 폴리펩티드인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1735] 실시양태 126. R^2는 폴리알킬렌 글리콜인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1736] 실시양태 127. R^2는 구조 $-(O(CH_2)_m)_tR'$을 갖는 폴리알킬렌 글리콜이고, 여기서 R'은 OH, OCH_3 또는 $OCH_2CH_2C(=O)OH$이고, m은 1-10이고, t는 4-40인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1737] 실시양태 128. R^2는 구조 $-((CH_2)_mO)_tR"-$를 갖는 폴리알킬렌 글리콜이고, 여기서 R"는 H, CH_3 또는

$CH_2CH_2C(=O)OH$이고, m은 1-10이고, t는 4-40인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

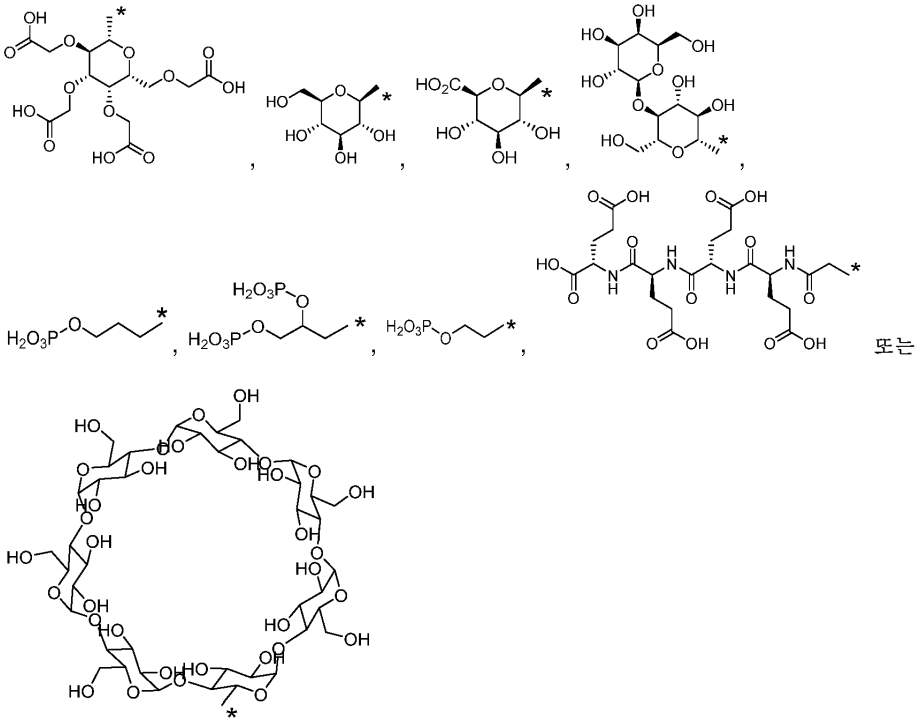
[1738] 실시양태 129. R^2는 폴리에틸렌 글리콜인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1739] 실시양태 130. R^2는 구조 $-(OCH_2CH_2)_tR'$을 갖는 폴리에틸렌 글리콜이고, 여기서 R'은 OH, OCH_3 또는 $OCH_2CH_2C(=O)OH$이고, t는 4-40인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1740] 실시양태 131. R^2는 구조 $-(CH_2CH_2O)_tR''-$를 갖는 폴리에틸렌 글리콜이고, 여기서 R"은 H, CH_3 또는 $CH_2CH_2C(=O)OH$이고, t는 4-40인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1741] 실시양태 132.

[1742] R^2는



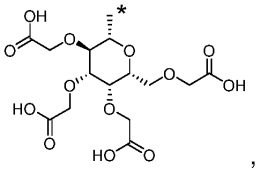
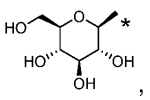
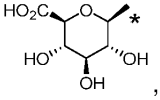
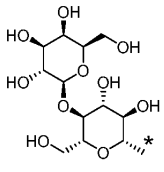
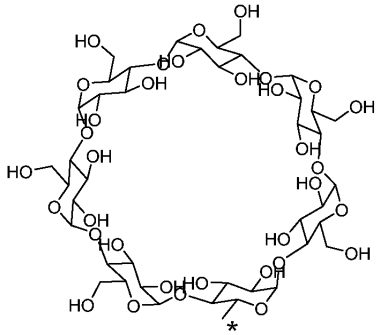
[1743]

[1744] 이고, 여기서 R^2의 *는 X 또는 L_3에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

[1745] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1746] 실시양태 133.

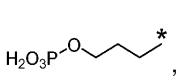
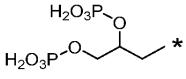
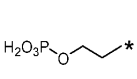
[1747] R^2는





또는


[1748] 이고, 여기서 R^2의 *는 X 또는 L_3에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

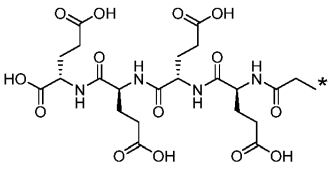
[1749] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1750] 실시양태 134.

[1751] R^2는  ,  또는  이고, 여기서 R^2의 *는 X 또는 L_3에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

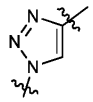
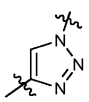
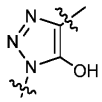
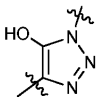
[1752] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1753] 실시양태 135.

[1754] R^2는  이고, 여기서 R^2의 *는 X 또는 L_3에 대한 부착 지점을 나타내는 것인

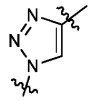
[1755] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 122 중 어느 하나.

[1756] 실시양태 136.

[1757] X_1은  ,  ,  또는  인

[1758] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 135 중 어느 하나.

[1759] 실시양태 137.

[1760] X_1은  또는  인

[1761] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 135 중 어느 하나.

[1762] 실시양태 138.

[1763] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4 및 5로부터 선택되는 것인

[1764] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 137 중 어느 하나.

[1765] 실시양태 139.

[1766] 각각의 m은 독립적으로 1, 2 및 3으로부터 선택되는 것인

[1767] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 137 중 어느 하나.

[1768] 실시양태 140.

[1769] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4 및 5로부터 선택되는 것인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 139 중 어느 하나.

[1770] 실시양태 141.

[1771] 각각의 n은 독립적으로 1, 2 및 3으로부터 선택되는 것인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 139 중 어느 하나.

[1772] 실시양태 142.

[1773] 각각의 t는 독립적으로 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30으로부터 선택되는 것인

[1774] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 141 중 어느 하나.

[1775] 실시양태 143.

[1776] 각각의 t는 독립적으로 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25로부터 선택되는 것인

[1777] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 141 중 어느 하나.

[1778] 실시양태 144.

[1779] 각각의 t는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 및 18로부터 선택되는 것인

[1780] 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 17 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (C')의 링커 또는 실시양태 32 내지 46 중 어느 하나, 및 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느

하나, 또는 실시양태 84 내지 141 중 어느 하나.

[1781] 실시양태 145. y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1782] 실시양태 146. y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1783] 실시양태 147. y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1784] 실시양태 148. y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1785] 실시양태 149. y는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1786] 실시양태 150. y는 1, 2, 3 또는 4인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1787] 실시양태 151. y는 1 또는 2인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1788] 실시양태 152. y는 2인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1789] 실시양태 153. y는 4인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1790] 실시양태 154. y는 6인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1791] 실시양태 155. y는 8인 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 144 중 어느 하나.

[1792] 실시양태 156. D는 면역접합체로부터 방출되는 경우 MC1-1 억제제인 화학식 (A')의 화합물 또는 실시양태 1 내지 30 중 어느 하나, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 화학식 (E')의 면역접합체 또는 실시양태 60 내지 70 중 어느 하나, 또는 실시양태 84 내지 155 중 어느 하나.

[1793] 다른 링커 기

[1794] 본원에 개시된 MC1-1 억제제의 ADC 또는 면역접합체를 제조하는 데 적합한 링커 기의 다른 예는 국제 출원 공개, 예컨대 WO2018200812, WO2017214456, WO2017214458, WO2017214462, WO2017214233, WO2017214282, WO2017214301, WO2017214322, WO2017214335, WO2017214339, WO2016094509, WO2016094517 및 WO2016094505에 개시된 것들을 포함하며, 이들 각각의 내용은 그 전문이 참조로 포함된다.

[1795] 예를 들어, 본원에 개시된 MC1-1 억제제의 면역접합체는 다음으로부터 선택되는 링커-페이로드 ("-L-D") 구조를 가질 수 있다:

[1796] $-\!\!\!\sim\!\!\!-(L_c)_x-C_E-D$, $-\!\!\!\sim\!\!\!-(L_c)_x-C_E-(L_c)_y-C_E-D$, 및 $-\!\!\!\sim\!\!\!-((L_c)_x-C_E)_p-(L_c)_y-C_E-D$

[1797] 여기서:

[1798] Lc는 링커 성분이고, 각각의 Lc는 독립적으로 본원에 개시된 바와 같은 링커 성분으로부터 선택되고;

[1799] x는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 및 20으로부터 선택되는 정수이고;

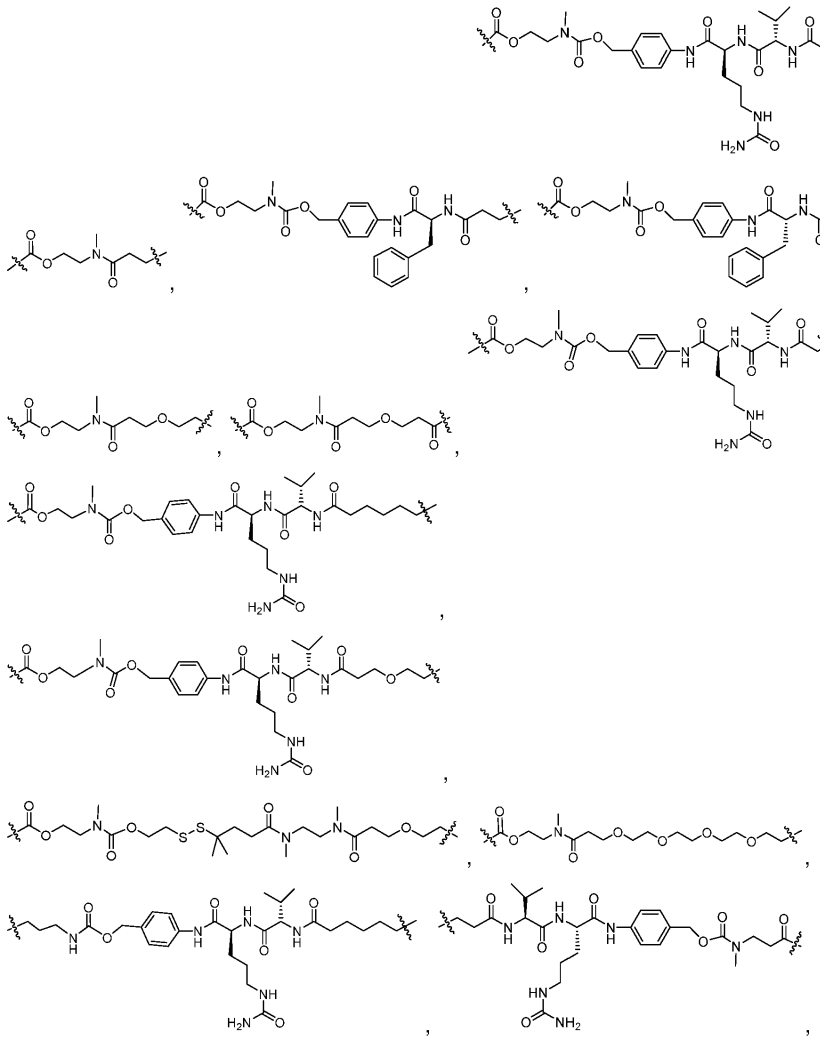
[1800] y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 및 20으로부터 선택되는 정수이고;

[1801] p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되는 정수이고;

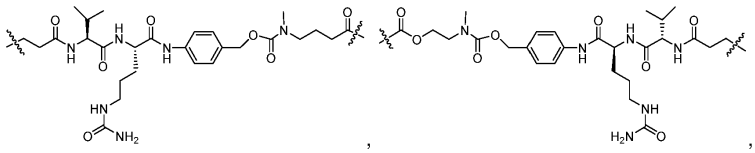
[1802] D는 본원에 개시된 MC1-1 억제제이고;

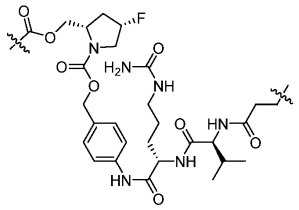
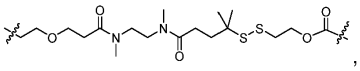
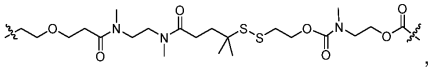
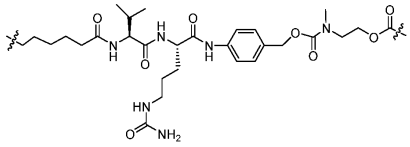
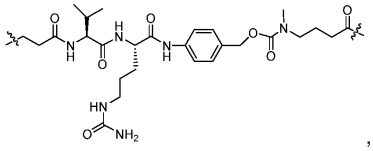
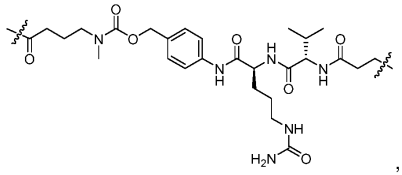
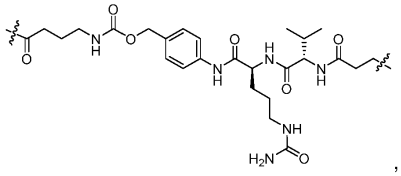
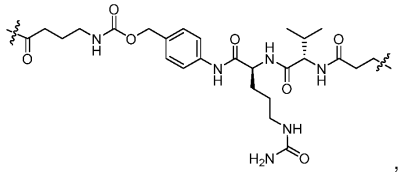
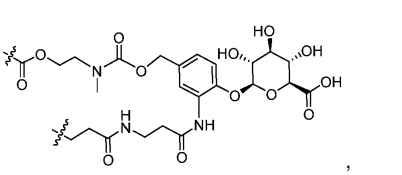
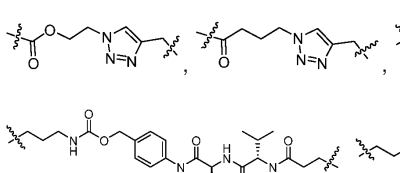
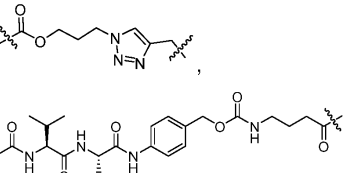
[1803] 각각의 절단 요소 (C_E)는 자기-희생적 스페이서, 및 산-유도된 절단, 펩티다제-유도된 절단, 에스테라제-유도된 절단, 글리코시다제 유도된 절단, 포스포디에스테라제 유도된 절단, 포스파타제 유도된 절단, 프로테아제 유도된 절단, 리파제 유도된 절단 또는 디술피드 결합 절단으로부터 선택되는 절단에 감수성인 기로부터 독립적으로 선택된다.

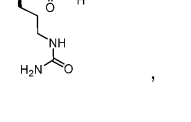
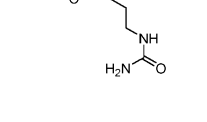
[1804] 일부 실시양태에서, L은 다음으로부터 선택되는 구조를 갖거나 또는 L은 다음으로부터 선택되는 구조적 구성요소를 포함한다:



[1805]

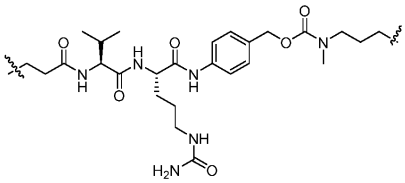
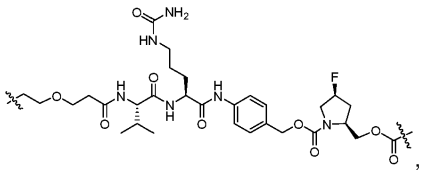
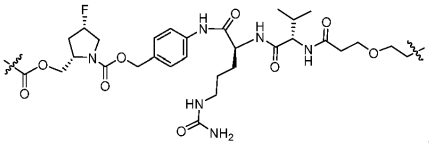
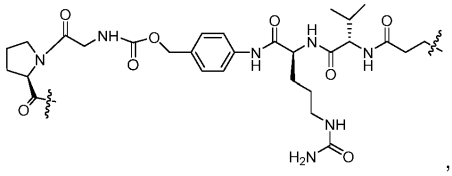
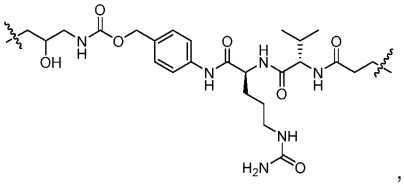
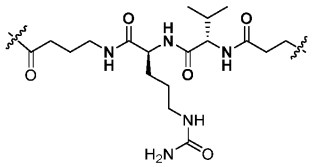
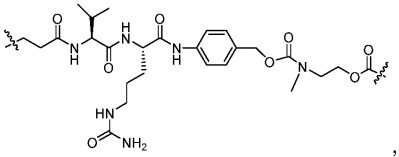
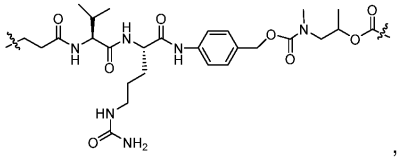
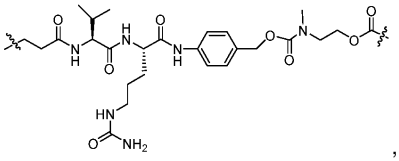
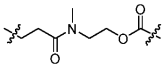
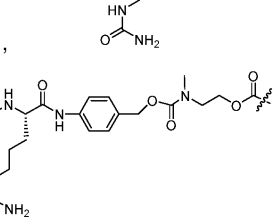

,

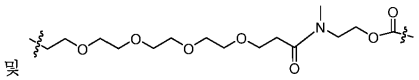
,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

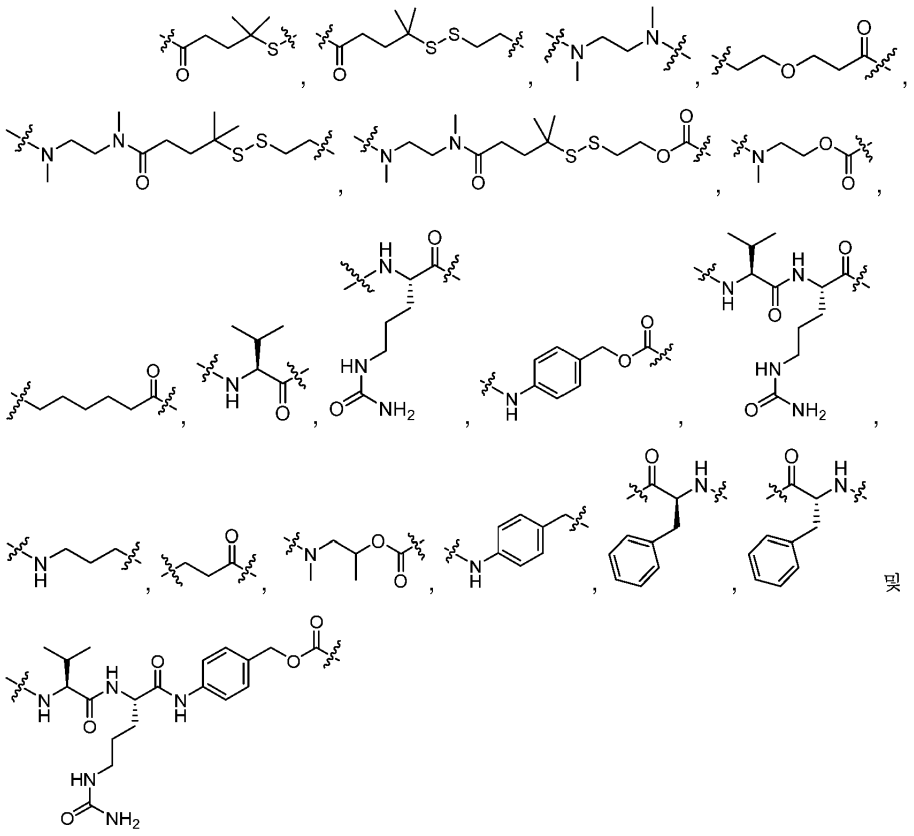
,

,
[1806]


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

및

[1808] 일부 실시양태에서, Lc는 링커 성분이고, 각각의 Lc는 독립적으로



[1809]

[1810] 로부터 선택된다.

[1811] 일부 실시양태에서, 링커 L은 다음으로부터 선택되는 링커 성분을 포함하고:

[1812] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$-; -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-;

[1813] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$-;

[1814] -**C(=O)OC(R^{12})$_2$(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$-;

[1815] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-;

[1816] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$C(=O)-;

[1817] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_4$C(=O)NR^{11}(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-;

[1818] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_5$C(=O)(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$-;

[1819] -**C(=O)X$_4$C(=O)NR^{11}(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-;

[1820] -**C(=O)(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$-;

[1821] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$X$_6$C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$-;

[1822] -**C(=O)(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$-

[1823] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)(CH2)m-; -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)(CH2)mO(CH2)m-;

[1824] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)X1aX2aC(=O)(CH2)m-;

[1825] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)X1aX2aC(=O)(CH2)mO(CH2)m-;

[1826] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)X1aX2aC(=O)(CH2)mO(CH2)mC(=O)-;

[1827] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)X4C(=O)NR11(CH2)mNR11C(=O)(CH2)mO(CH2)m-;

[1828] -**C(=O)X4C(=O)X6(CH2)mNR11C(=O)(CH2)mO(CH2)m-;

[1829] -**C(=O)(CH2)mX6C(=O)X1aX2aC(=O)(CH2)m-;

[1830] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)m-;

[1831] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mNR11C(=O)(CH2)m-;

[1832] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mX3(CH2)m-;

[1833] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)((CH2)mO)n(CH2)m-;

[1834] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)(CH2)m-;

[1835] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)(CH2)mX3(CH2)m-;

[1836] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O))X5C(=O)((CH2)mO)n(CH2)mX3(CH2)m-;

[1837] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mNR11C(=O)((CH2)mO)n(CH2)m-;

[1838] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mNR11C(=O)((CH2)mO)n(CH2)mX3(CH2)m-;

[1839] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5(CH2)mX3(CH2)m-;

[1840] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5((CH2)mO)n(CH2)m-;

[1841] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)(CH2)m-;

[1842] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)(CH2)mX3(CH2)m-;

[1843] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5((CH2)mO)n(CH2)mX3(CH2)m-;

[1844] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5(CH2)mNR11((CH2)mO)n(CH2)m-;

[1845] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mNR11((CH2)mO)n(CH2)mX3(CH2)m-;

[1846] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5(CH2)m-;

[1847] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)((CH2)mO)n(CH2)m-;

[1848] -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_5$(CH$_2$)$_m$X$_3$(CH$_2$)$_m$-; -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$-;

[1849] -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$-; -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}(CH$_2$)$_m$-;

[1850] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}(CH$_2$)$_m$C(=O)X$_{2a}$X$_{1a}$C(=O)-;

[1851] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$X$_3$(CH$_2$)$_m$-; -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$X$_3$(CH$_2$)$_m$-;

[1852] -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$-; -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O(CH$_2$)$_m$X$_3$(CH$_2$)$_m$-;

[1853] -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$X$_3$(CH$_2$)$_m$-;

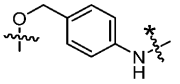
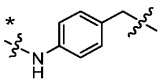
[1854] -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$X$_3$(CH$_2$)$_m$-; -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$X$_3$(CH$_2$)$_m$-;

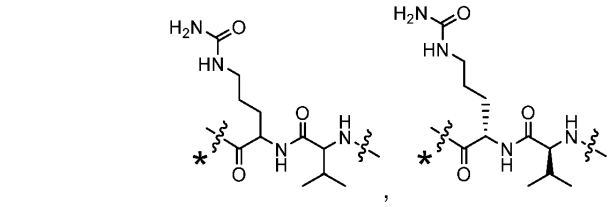
[1855] -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$C(=O)NR^{11}(CH$_2$)$_m$-; -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$C(R^{12})$_2$-;

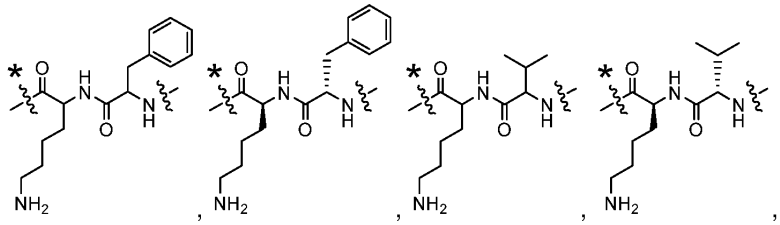
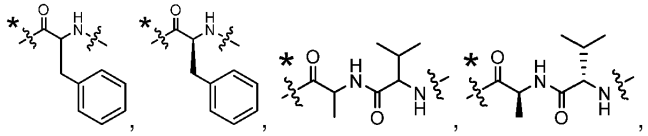
[1856] -**C(=O)OCH$_2$)$_m$C(R^{12})$_2$SS(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$-, 및

[1857] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$C(=O)NR^{11}(CH$_2$)$_m$- (여기서, **는 약물 모이어티 (D)에 대한 부착 지점을 나타내고, 다른 말단은 R^{100}, 즉 본원에 기재된 바와 같은 커플링 기에 연결될 수 있음);

[1858] 여기서:

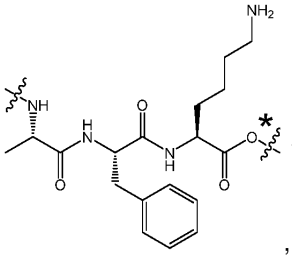
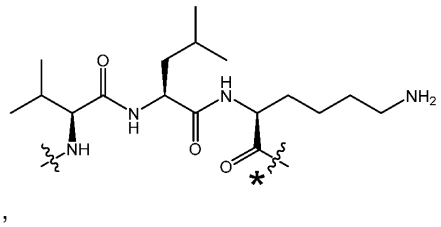
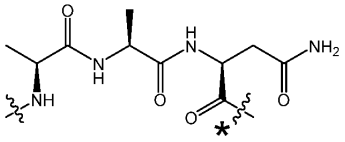
[1859] X$_{1a}$는  또는  이고, 여기서 *는 X$_{2a}$에 대한 부착 지점을 나타내고;


,

,

,

,

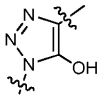
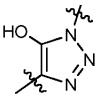
,

,

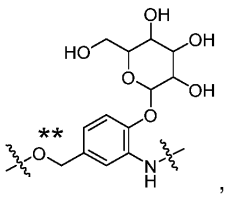
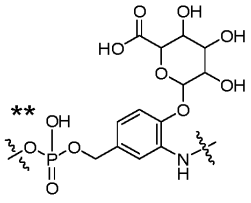
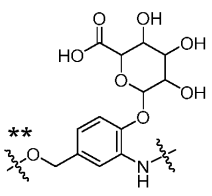
,

,

, 및


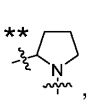
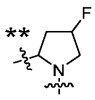
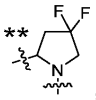
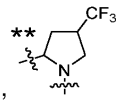
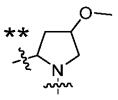
[1860] X_{2a}는 로부터 선택되고; 여기서 *는 X_{1a}에 대한 부착 지점을 나타내며;

[1861] X_3은 
,

,

또는

이고;

[1862] X_4는 $-O(CH_2)_nSSC(R^{12})_2(CH_2)_n-$ 또는 $-(CH_2)_nC(R^{12})_2SS(CH_2)_nO-$이고;

[1863] X_5는 
,

또는

이고, 여기서 **는 약물 모이어티를 향한 배향을 나타내고;

[1864] X_6은 
,

,

,

또는

이고, 여기서 **는 약물 모이어티를 향한 배향을 나타내고;

[1865] 각각의 R^{11}은 독립적으로 H 및 C_1-C_6알킬로부터 선택되고;

[1866] 각각의 R^{12}는 독립적으로 H 및 C_1-C_6알킬로부터 선택되고;

[1867] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되고,

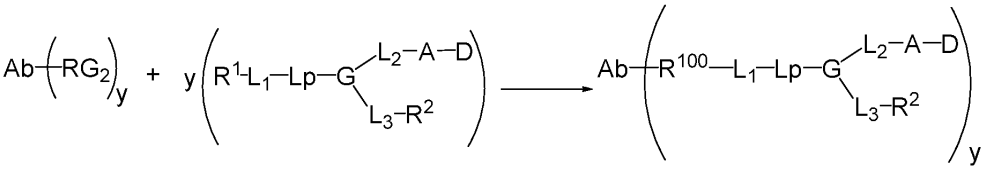
[1868] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 및 18로부터 선택된다.

[1869] 접합 방법

[1870] 본 발명은 본 발명의 링커-약물 기를 항체 또는 항체 단편에 접합시켜 1개 이상의 친수성 모이어티를 갖는 링커를 포함하는 항체 약물 접합체를 생성하는 다양한 방법을 제공한다.

[1871] 화학식 (E')의 항체 약물 접합체의 형성을 위한 일반적 반응식이 하기 반응식 2에 제시된다:

[1872] <반응식 2>

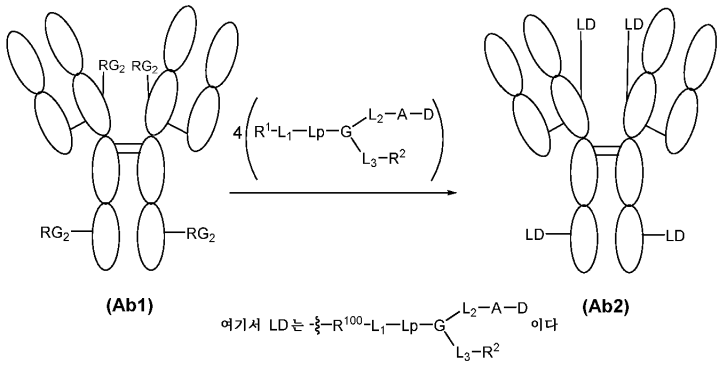


[1873]

[1874] 여기서, RG_2는 상용성 R^1 기와 반응하여 상응하는 R^{100} 기를 형성하는 반응성 기이다 (이러한 기는 표 2 및 표 3에 예시됨). D, R^1, L_1, Lp, Ab, y 및 R^{100}은 본원에 정의된 바와 같다.

[1875] 반응식 3은 화학식 (E')의 항체 약물 접합체의 형성을 위한 이러한 일반적 접근법을 추가로 예시하며, 여기서 항체는 R^1 기 (본원에 정의된 바와 같음)와 반응하여 링커-약물 기를 R^{100} 기 (본원에 정의된 바와 같음)를 통해 항체에 공유 부착시키는 반응성 기 (RG_2)를 포함한다. 예시적 목적을 위해, 반응식 3만이 4개의 RG_2 기를 갖는 항체를 나타낸다.

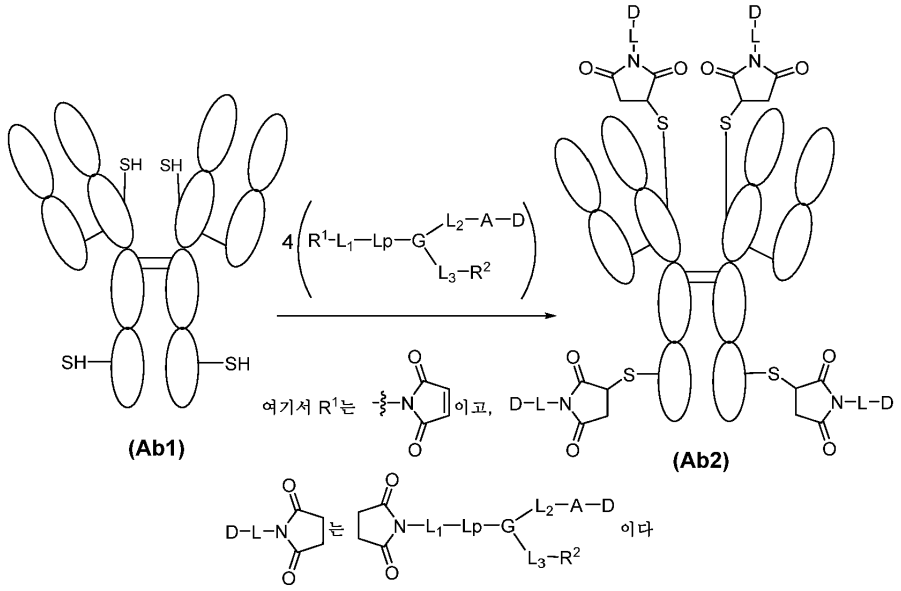
[1876] <반응식 3>



[1877]

[1878] 한 측면에서, 링커-약물 기는 항체 내의 변형된 시스테인 잔기를 통해 항체에 접합된다 (예를 들어 WO2014/124316 참조). 반응식 4는 항체 내의 조작된 시스테인 잔기로부터 생성된 유리 티올 기가 R^1 기 (여기서, R^1은 말레이미드임)와 반응하여 R^{100} 기 (여기서, R^{100}은 숙신이미드 고리임)를 통해 링커-약물 기를 항체에 공유 부착시키는 화학식 (E')의 항체 약물 접합체의 형성에 대한 이러한 접근법을 예시한다. 예시적 목적을 위해, 반응식 4만이 4개의 유리 티올 기를 갖는 항체를 나타낸다.

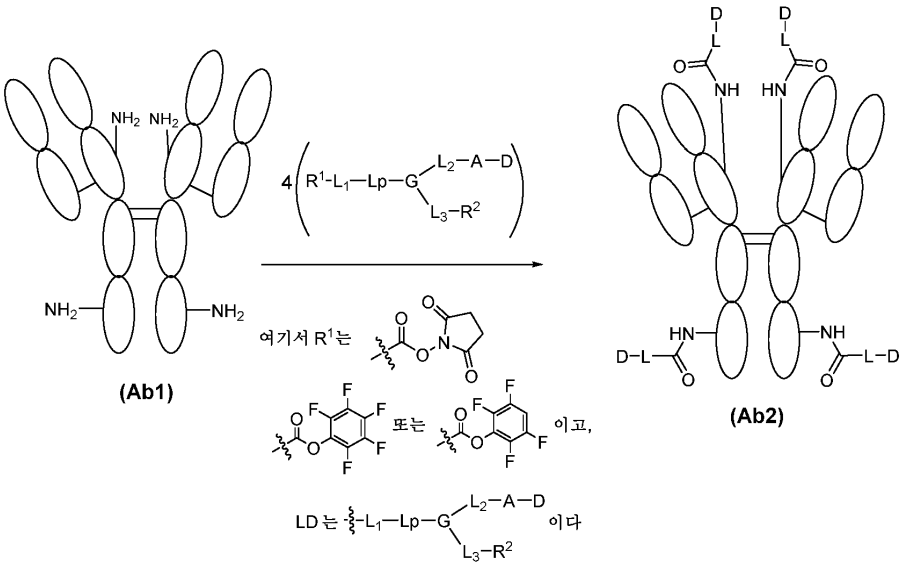
[1879] <반응식 4>



[1880]

[1881] 또 다른 측면에서, 링커-약물 기는 항체 내의 리신 잔기를 통해 항체에 접합된다. 반응식 5는 항체 내 리신 잔기로부터의 유리 아민 기가 R^1 기 (여기서, R^1은 NHS 에스테르, 펜타플루오로페닐 또는 테트라플루오로페닐임)와 반응하여 R^{100} 기 (여기서, R^{100}은 아미드임)를 통해 링커-약물 기를 항체에 공유 부착시키는 화학식 (E')의 항체 약물 접합체의 형성에 대한 이러한 접근법을 예시한다. 예시적 목적을 위해, 단지 반응식 5만이 4개의 아민 기를 갖는 항체를 나타낸다.

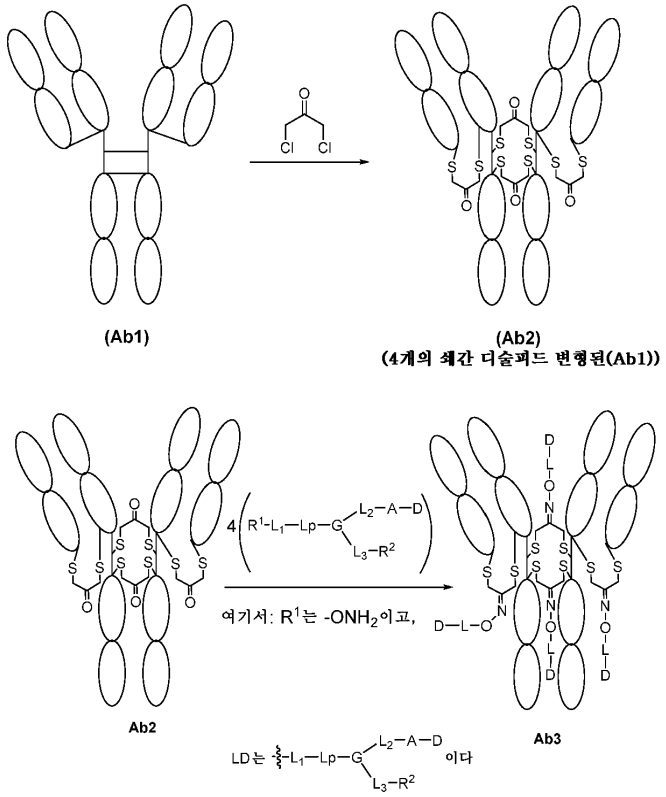
[1882] <반응식 5>



[1883]

[1884] 또 다른 측면에서, 링커-약물 기는 항체의 자연 발생 디술피드 가교에서의 옥심 가교의 형성을 통해 항체에 접합된다. 옥심 가교는 항체의 쇄간 디술피드 가교의 환원 및 1,3-디할로아세톤 (예를 들어, 1,3-디클로로아세톤)을 사용한 재-가교에 의해 케톤 가교를 초기에 생성함으로써 형성된다. 히드록실 아민을 포함하는 링커-약물 기와의 후속 반응은 이에 의해 링커-약물 기를 항체에 부착시키는 옥심 연결 (옥심 가교)을 형성한다 (예를 들어, WO2014/083505 참조). 반응식 6은 화학식 (E')의 항체 약물 접합체의 형성을 위한 이러한 접근법을 예시한다.

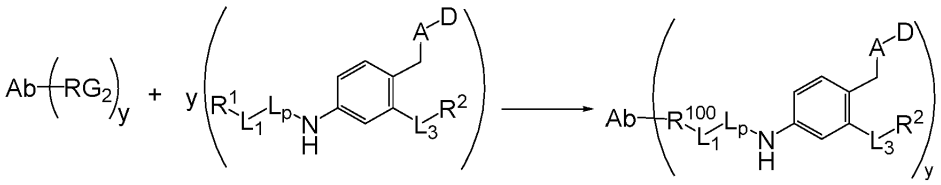
[1885] <반응식 6>



[1886]

[1887] 화학식 (F')의 항체 약물 접합체의 형성을 위한 일반적 반응식이 하기 반응식 7에 제시된다:

[1888] <반응식 7>

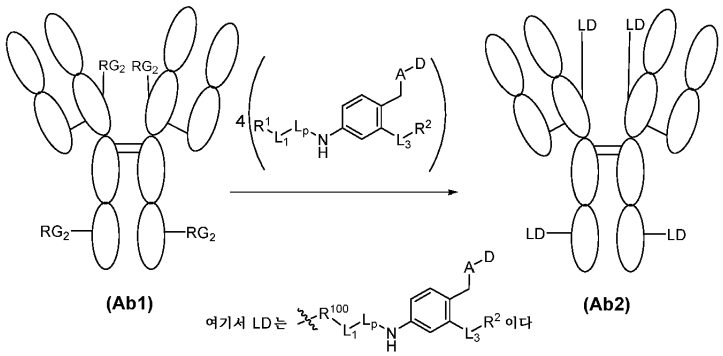


[1889]

[1890] 여기서, RG_2는 상용성 R^1 기와 반응하여 상응하는 R^{100} 기를 형성하는 반응성 기이다 (이러한 기는 표 2 및 표 3에 예시됨). D, R^1, L_1, Lp, Ab, y 및 R^{100}은 본원에 정의된 바와 같다.

[1891] 반응식 8은 화학식 (F')의 항체 약물 접합체의 형성을 위한 이러한 일반적 접근법을 추가로 예시하며, 여기서 항체는 R^1 기 (본원에 정의된 바와 같음)와 반응하여 R^{100} 기 (본원에 정의된 바와 같음)를 통해 링커-약물 기를 항체에 공유 부착시키는 반응성 기 (RG_2)를 포함한다. 예시적 목적을 위해, 반응식 8만이 4개의 RG_2 기를 갖는 항체를 나타낸다.

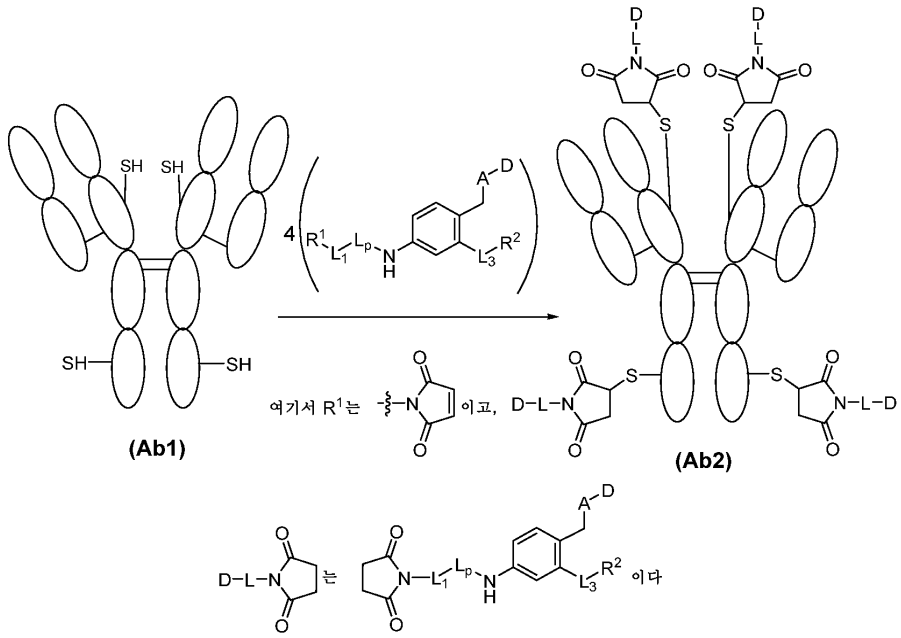
[1892] <반응식 8>



[1893]

[1894] 한 측면에서, 링커-약물 기는 항체 내의 변형된 시스테인 잔기를 통해 항체에 접합된다 (예를 들어 WO2014/124316 참조). 반응식 9는 항체 내의 조작된 시스테인 잔기로부터 생성된 유리 티올 기가 R^1 기 (여기서, R^1은 말레이미드임)와 반응하여 R^{100} 기 (여기서, R^{100}은 숙신이미드 고리임)를 통해 링커-약물 기를 항체에 공유 부착시키는 화학식 (F')의 항체 약물 접합체의 형성에 대한 이러한 접근법을 예시한다. 예시적 목적을 위해, 반응식 9만이 4개의 유리 티올 기를 갖는 항체를 나타낸다.

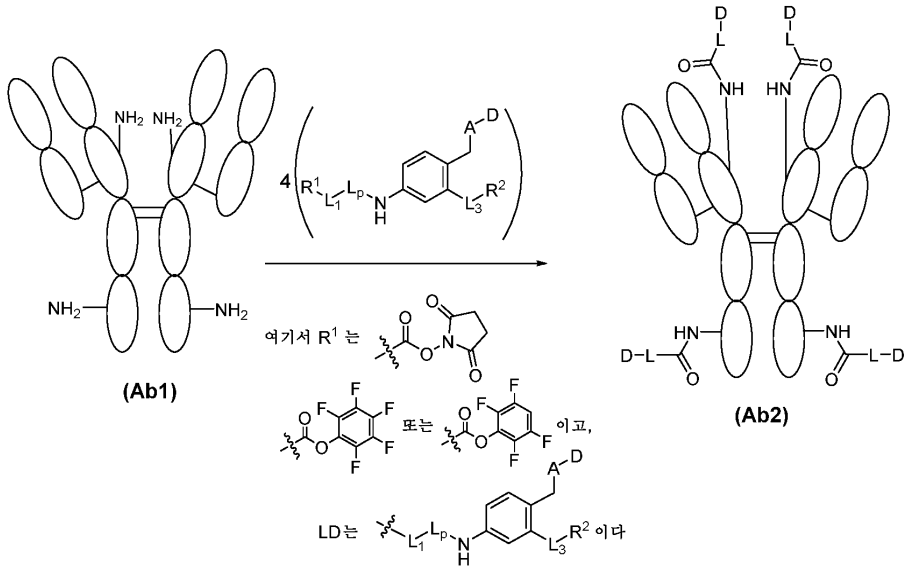
[1895] <반응식 9>



[1896]

[1897] 또 다른 측면에서, 링커-약물 기는 항체 내의 리신 잔기를 통해 항체에 접합된다. 반응식 10은 항체 내의 리신 잔기로부터의 유리 아민 기가 R^1 기 (여기서, R^1은 NHS 에스테르, 펜타플루오로페닐 또는 테트라플루오로페닐임)와 반응하여 R^{100} 기 (여기서, R^{100}은 아미드임)를 통해 링커-약물 기를 항체에 공유 부착시키는 화학식 (F')의 항체 약물 접합체의 형성에 대한 이러한 접근법을 예시한다. 예시적 목적을 위해, 반응식 10만이 4개의 아민 기를 갖는 항체를 나타낸다.

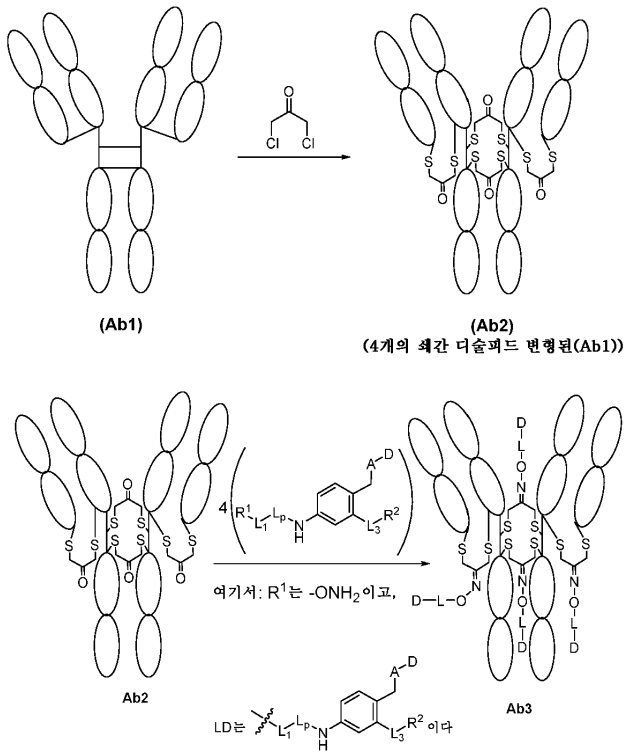
[1898] <반응식 10>



[1899]

[1900] 또 다른 측면에서, 링커-약물 기는 항체의 자연 발생 디술피드 가교에서의 옥심 가교의 형성을 통해 항체에 접합된다. 옥심 가교는 항체의 쇄간 디술피드 가교의 환원 및 1,3-디할로아세톤 (예를 들어, 1,3-디클로로아세톤)을 사용한 재-가교에 의해 케톤 가교를 초기에 생성함으로써 형성된다. 히드록실 아민을 포함하는 링커-약물 기와의 후속 반응은 이에 의해 링커-약물 기를 항체에 부착시키는 옥심 연결 (옥심 가교)을 형성한다 (예를 들어, WO2014/083505 참조). 반응식 11은 화학식 (F')의 항체 약물 접합체의 형성을 위한 이러한 접근법을 예시한다.

[1901] <반응식 11>



[1902]

[1903] 또한, 본 발명의 항체 접합체를 평가하기 위한 분석 방법론의 일부 측면에 대한 프로토콜이 제공된다. 이러한 분석 방법론 및 결과는 접합체가 유리한 특성, 예를 들어 그를 보다 제조하기 쉽게, 환자에게 보다 투여하기 쉽게, 보다 효과적이게 및/또는 잠재적으로 환자에게 보다 안전하게 만들 특성을 갖는 것을 입증할 수 있다. 한 예는 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의한 분자 크기의 결정이고, 여기서 샘플 내의 목적하는 항체 종의 양

은 샘플 내에 존재하는 고분자량 오염물 (예를 들어, 이량체, 다량체 또는 응집된 항체) 또는 저분자량 오염물 (예를 들어, 항체 단편, 분해 산물 또는 개별 항체 쇄)의 양에 비해 결정된다. 일반적으로, 예를 들어 응집체가 항체 샘플의 다른 특성, 예컨대 비제한적으로 클리어런스율, 면역원성 및 독성에 미치는 영향으로 인해 보다 많은 양의 단량체 및 보다 적은 양의 예를 들어 응집된 항체를 갖는 것이 바람직하다. 추가의 예는 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC)에 의한 소수성의 결정이며, 여기서 샘플의 소수성은 공지된 특성의 표준 항체의 세트에 대해 평가된다. 일반적으로, 항체 샘플의 다른 특성, 예컨대 비제한적으로 응집, 시간 경과에 따른 응집, 표면에 대한 부착, 간독성, 클리어런스율 및 약동학적 노출에 대한 소수성의 영향으로 인해 낮은 소수성을 갖는 것이 바람직하다. 문헌 [Damle, N.K., Nat Biotechnol. 2008; 26(8):884-885]; [Singh, S.K., Pharm Res. 2015; 32(11):3541-71]을 참조한다. 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 측정시, 보다 높은 소수성 지수 점수 (즉, HIC 칼럼으로부터의 보다 빠른 용리)는 접합체의 보다 낮은 소수성을 반영한다. 하기 실시예에 제시된 바와 같이, 대부분의 시험된 항체 접합체는 0.8 초과의 소수성 지수를 나타냈다. 일부 실시양태에서, 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의한 결정시 0.8 이상의 소수성 지수를 갖는 항체 접합체가 제공된다.

[1904] <실시예>

[1905] 하기 실시예는 본 개시내용의 예시적 실시양태를 제공한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용의 취지 또는 범주를 변경시키지 않으면서 수행될 수 있는 수많은 변형 및 변경을 인식할 것이다. 이러한 변형 및 변화는 본 개시내용의 범주 내에 포괄된다. 제공된 실시예는 어떠한 방식으로도 본 개시내용을 제한하지 않는다.

[1906] 실시예 1. 링커, 링커-페이로드 및 그의 전구체의 합성 및 특징화.

[1907] 예시적인 링커, 링커-페이로드 및 그의 전구체를 본 실시예에 기재된 예시적인 방법을 사용하여 합성하였다.

[1908] 약어:

[1909] CuI 아이오딘화구리 (I)

[1910] DCC 디시클로헥실 카르보디이미드

[1911] DCM 디클로로메탄

[1912] DEA N-에틸에탄아민

[1913] DIPEA: N,N-디이소프로필에틸아민

[1914] DMF: 디메틸포름아미드

[1915] DMSO: 디메틸술폭시드

[1916] EEDQ 에틸 2-에톡시-2H-퀴놀린-1-카르복실레이트

[1917] Fmoc-Cit-OH (2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜탄산

[1918] HBTU: (2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트

[1919] HOAt: 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸

[1920] THF 테트라히드로푸란

[1921] $MgSO_4$황산마그네슘

[1922] NH_4Cl 염화암모늄

[1923] NMP N-메틸피롤리돈

[1924] $Pd(PPh_3)_2Cl_2$디클로로-트리(트리페닐포스핀)팔라듐

[1925] PBr_3트리브로모포스판

[1926] Pt/C 10% 탄소 상 백금 10%

[1927] $SOCl_2$티오닐 클로라이드

[1928] TBAI 테트라부틸암모늄, 아이오다이드

[1929] TFA 트리플루오로아세트산

[1930] 물질, 방법 및 일반적 절차:

[1931] 상업적 공급원으로부터 수득된 모든 시약을 추가 정제 없이 사용하였다. 무수 용매를 상업적 공급원으로부터 입수하고, 추가 건조 없이 사용하였다. 플래쉬 크로마토그래피는 사전-패킹된 실리카-겔 카트리지 (마슈레-나겔 크로마본드 플래쉬(Macherey-Nagel Chromabond Flash))를 사용하여 콤비플래쉬 Rf (텔레다인 이스코) 상에서 수행하였다. 박층 크로마토그래피를 머크 유형 60 F254 실리카-겔로 코팅된 5 x 10 cm 플레이트로 수행하였다. 마이크로웨이브 가열을 CEM 디스커버(CEM Discover)® 기기에서 수행하였다.

[1932] ^{1}H-NMR 측정은 용매로서 DMSO-d_6 또는 $CDCl_3$을 사용하여 400 MHz 브루커 아반스 또는 500 MHz 아반스 네오 분광계 상에서 수행하였다. ^{1}H NMR 데이터는 내부 표준으로서 용매의 잔류 피크 (DMSO-d_6의 경우 2.50 ppm 및 $CDCl_3$의 경우 7.26 ppm)를 사용하여 백만분율 (ppm)로 주어진 화학적 이동 값의 형태이다. 분할 패턴은 s (단일선), d (이중선), t (삼중선), q (사중선), quint (오중선), m (다중선), br s (넓은 단일선), br t (넓은 삼중선), dd (이중선의 이중선), td (이중선의 삼중선), dt (삼중선의 이중선), ddd (이중선의 이중선의 이중선)로서 지정된다. ATR 골든 게이트 장치 (SPECAC)가 장착된 브루커 텐서 27 상에서 IR 측정을 수행하였다. HRMS 측정은 LTQ 오르비트랩 벨로스 프로 질량 분광계 (써모피셔 사이언티픽(ThermoFisher Scientific)) 상에서 수행하였다. 샘플을 CH_3CN/H2O (2/1:v/v) 중에 대략 0.01 내지 0.05 mg/mL의 농도 범위로 용해시키고, 0.1 mL/분의 유량으로 2 μL의 주입에 의해 공급원에 도입하였다. ESI 이온화 파라미터는 다음과 같았다: 3.5 kV 및 350℃ 전달 이온 모세관. 모든 스펙트럼은 락(lock) 질량을 사용하여 30,000 또는 60,000의 해상력으로 양이온 모드에서 획득하였다.

[1933] HRMS 측정은 LTQ 오르비트랩 벨로스 프로 질량 분광계 (써모피셔 사이언티픽 게엠베하, 독일 브레멘) 상에서 수행하였다. 샘플을 CH_3CN/H_2O (2/1:v/v) 중에 대략 0.01 내지 0.05 mg/mL의 농도 범위로 용해시키고, 0.1 mL/분의 유량으로 2 μL의 주입에 의해 공급원에 도입하였다. ESI 이온화 파라미터는 다음과 같았다: 3.5 kV 및 350℃ 전달 이온 모세관. 모든 스펙트럼은 락 질량을 사용하여 30,000 또는 60,000의 해상력으로 양이온 모드에서 획득하였다.

[1934] UPLC®-MS:

[1935] UPLC®-MS 데이터를 하기 파라미터를 갖는 기기를 사용하여 획득하였다 (표 4):

[1936] 표 4. UPLC®-MS 파라미터

기기	다이오드 어레이 UV 검출기 "PDA" 및 "ZQ 검출기 2" 질량 장치 및 매스링크스 소프트웨어를 구비한 워터스 액퀴티 A-클래스.
ZQ 검출기 2	MS 스캔 0.15 내지 6분 및 100 내지 2372 Da
PDA 검출기	190 내지 400 nm
칼럼	액퀴티 UPLC ®BEH 칼럼 C18, 1.7 μm, 130 Å, 2.1x50 mm 40℃에서 0.6mL/분의 유량으로 사용되는 칼럼
용매 A	물 + 0.02% TFA
용매 B	아세토니트릴 + 0.02% TFA
구배	5분 동안 2% B에서 100% B, 이어서 100% B로 0.3분 세척, 및 다음 주입을 위해 2% B에서 0.5분 평형화 (총 6분의 구배).

[1937]

[1938] 정제용-HPLC:

[1939] 정제용-HPLC ("정제용-HPLC") 데이터를 하기 파라미터를 갖는 기기를 사용하여 획득하였다 (표 5):

[1940] 표 5. 정제용-HPLC 파라미터

[1941]

기기	19x50 mm (12 ml/분), 19x100 mm (12 ml/분), 30x100 mm (30-50 ml/분), 30x250 mm (30-50 ml/분), 50x250 mm (80-150 ml/분)의 크기 (유량)를 갖는 칼럼 워터스 엑스-브리지 5 또는 10 μm; 최대 100 bar 및 최대 250 ml/분의 유량을 갖는 인터킴 퓨리플래쉬 4100, 또는 최대 250 bar 및 최대 250 ml/분의 유량을 갖는 인터킴 퓨리플래쉬 4250; 4종의 용매를 동시에 구배로 사용할 가능성이 있는 4원 용매 펌프
UV	200 내지 400 nm의 2개의 수집 파장
칼럼	워터스 엑스브리지 10 μm
수집	8 ml 또는 32 ml 튜브

[1942] 3가지 정제용-HPLC 방법을 사용하였다:

[1943] a. TFA 방법: 용매: A 물 + 0.05% TFA, B 아세토니트릴 + 0.05% TFA, 15 내지 30 CV 동안 5에서 100% B의 구배

[1944] b. NH_4HCO_3 방법: 용매: A 물 + 0.02 M NH_4HCO_3, B 아세토니트릴/물 80/20 + 0.02 M NH_4HCO_3, 15 내지 30 CV 동안 5에서 100% B의 구배

[1945] c. 중성 방법: 용매: A 물, B 아세토니트릴, 15 내지 30 CV 동안 5에서 100% B의 구배

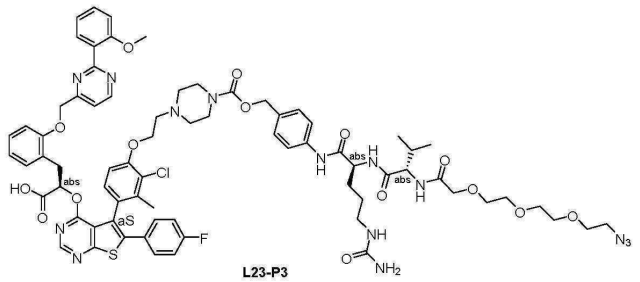
[1946] 순수한 화합물을 함유하는 모든 분획을 합하고, 직접 동결-건조시켜 화합물을 무정형 분말로서 수득하였다.

[1947] 정제용 SFC 정제:

[1948] 정제용 키랄 SFC는 PIC 용액 정제용200 시스템에서 수행하였다. 샘플을 에탄올 중에 150 mg/mL의 농도로 용해시켰다. 이동상을 40% 에탄올/CO_2에서 등용매적으로 유지하였다. 기기에 키랄팩 IA 칼럼 및 3 mL의 루프를 장착하였다. ABPR (자동 배압 조절기)를 100 bar로 설정하였다.

[1949] L23-P3의 제조:

[1950] (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-(2-아지도에톡시)아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[1951] 

[1952] 단계 1: (2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(히드록시메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드

[1953] THF (20 ml) 중 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세트산 (브로드팜(Broadpharm)으로부터 구입함, 1.4 g, 6 mmol)의 용액에 1-히드록시피롤리딘-2,5-디온 (690 mg, 6 mmol) 및 N,N'-디시클로헥실카르보디이미드 (1.2 g, 6 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 침전물을 여과하고, 여과물을 농축시켜 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세테이트 (1.9 g, 6 mmol)를 수득하였으며, 이를 즉시 추가 정제 없이 사용하였다.

[1954] DMF (15 mL) 중 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세테이트 (1.6 g; 4.85 mmol)의 용액에 (2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(히드록시메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (1.96 g; 5.17 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 농축시켰다. 잔류물을 물 (20 mL) 및 아세토니트릴 (5 mL)로 희석하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 중성 방법을 사용하는 역상

C18 크로마토그래피에 의해 정제하여 (2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(히드록시메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (1.07 g, 1.8 mmol)를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.95 (s, 1H), 8.3 (d, 1H), 7.55 (d, 2H), 7.46 (d, 1H), 7.22 (d, 2H), 5.98 (t, 1H), 5.4 (s, 1H), 5.08 (t, 1H), 4.43 (d, 2H), 4.4 (q, 1H), 4.33 (dd, 1H), 3.95 (s, 2H), 3.6 (m, 10H), 3.38 (t, 2H), 3 (m, 2H), 2 (m, 1H), 1.7/1.6 (2m, 2H), 1.5-1.3 (m, 2H), 0.89/0.82 (2d, 6H).

[1955] 단계 2: [4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐)카르보네이트

[1956] DMF (30 mL) 중 (2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(히드록시메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (100 mg, 0.168 mmol)의 용액에 DIPEA (32 μL, 0.179 mmol) 및 비스(4-니트로페닐)카르보네이트 (100 mg, 0.329 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하고, 농축 건조시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐)카르보네이트 (65 mg, 0.088 mmol)를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.95 (s, 1H), 8.3 (d, 1H), 7.55 (d, 2H), 7.46 (d, 1H), 7.22 (d, 2H), 5.98 (t, 1H), 5.4 (s, 1H), 5.08 (t, 1H), 4.43 (d, 2H), 4.4 (q, 1H), 4.33 (dd, 1H), 3.95 (s, 2H), 3.6 (m,10H), 3.38 (t, 2H), 3 (m, 2H), 3.02-2.95 (m, 2H), 2 (m, 1H), 1.7 (m, 1H), 1.6 (m, 1H), 0.89 (d, 3H), 0.82 (d, 3H).

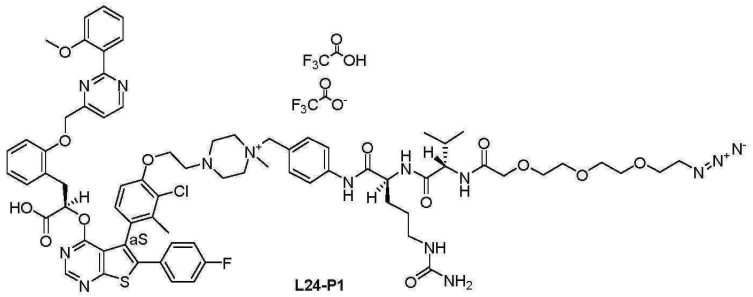
[1957] 단계 3: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 L23-P3

[1958] DMF (16 mL) 중 ((2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 P3 (147 mg, 0.17 mmol)의 용액에 DIPEA (85 μL, 0.51 mmol), 4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐)카르보네이트 (136 mg, 0.179 mmol), 2,6-루티딘 (99 μL, 0.85 mmol) 및 HOAt (7 mg, 0.05 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 L23-P3 (110 mg, 0.074 mmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.05 (s, 1H), 8.87 (d, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.32 (d, 1H), 7.67 (br s, 1H), 7.59 (d, 2H), 7.52 (dd, 1H), 7.45 (td, 1H), 7.44 (d, 1H), 7.36 (dl, 1H), 7.29 (m, 2H), 7.27 (d, 2H), 7.2 (t, 2H), 7.19 (d, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.13 (t, 1H), 7.03 (t, 1H), 6.99 (d, 1H), 6.71 (t, 1H), 6.24 (dl, 1H), 5.99 (t, 1H), 5.48 (dd, 1H), 5.41 (br s, 1H), 5.23 (m, 2H), 4.97 (s, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.32 (dd, 1H), 4.21 (m, 2H), 3.95 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.65-3.50 (m, 10H), 3.34 (m, 2H), 3.02/2.95 (m, 2H), 2.73 (t, 2H), 2.49/2.3 (m,2H), 2.45 (m, 4H), 2.3 (m, 4H), 2 (m, 1H), 1.82 (s, 3H), 1.7/1.59 (m, 2H), 1.44/1.37 (m, 2H), 0.87 (d, 3H), 0.82 (d, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 158.3, 152.9, 131.6, 131.6, 131.3, 131.3, 131, 129, 128.8, 121, 120.8, 119.5, 116.4, 116.1, 112.8, 112.4, 111.2, 74.5, 70.1, 69.3, 67.7, 66.4, 57, 56.7, 56.2, 53.7, 53.2, 50.4, 43.6, 39, 32.8, 31.6, 29.6, 27.3, 19.3, 17.7. IR 파장 (cm^{-1}): 3500-2500, 2106, 1656. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1479.5422 / 1479.5405 (측정치/이론치).

[1959] L24-P1의 제조:

[1960] (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메

톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 2,2,2-트리플루오로아세트산



[1961]

[1962] 단계 1: (2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(브로모메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드

[1963] THF (10 mL) 중 (2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(히드록시메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (330 mg, 0.55 mmol; L23-P3의 합성의 단계 1에 따라 수득함)의 용액에 0℃에서 디클로로메탄 중 삼브로민화인 1M의 용액 (1 mL, 1 mmol)을 적가하였다. 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반하고, 미분된 $NaHCO_3$ (100 mg)을 첨가하였다. 10분 동안 교반한 후, 반응물을 에틸 아세테이트로 희석하고, 여과하였다. 유기 층을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물 (2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(브로모메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (283 mg, 0.43 mmol)를 추가 정제 없이 사용하였다. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = = 595.3200 / 595.3198 (측정치/이론치).

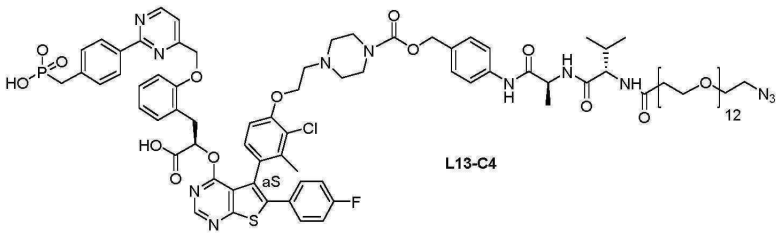
[1964] 단계 2: ((2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 2,2,2-트리플루오로아세트산 L24-P1

[1965] DMF (1 mL) 중 에틸 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 디클로로히드레이트 (P1) (345 mg, 0.355 mmol)의 용액에 (2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(브로모메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (233 mg, 0.355 mmol) 및 DIPEA (50 μL, 0.304 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 물 (0.5 mL) 중 수산화리튬 1수화물 (15 mg, 3.55 mmol)의 용액을 첨가하고, 반응물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L24-P1 (80 mg, 0.054 mmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 13.2 (m, 1H), 10.25 (m, 1H), 8.88 (d, 1H), 8.6 (s, 1H), 8.36 (d, 1H), 7.72 (d, 2H), 7.63 (d, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.46 (t, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.43 (m, 2H), 7.37 (d, 1H), 7.3 (dd, 2H), 7.21 (t, 2H), 7.2 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.15 (t, 1H), 7.03 (t, 1H), 7 (t, 1H), 6.72 (t, 1H), 6.22 (d, 1H), 6 (t, 1H), 5.52 (m, 2H), 5.49 (dd, 1 H), 5.25 (dd, 2H), 4.5 (br s, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.32 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.95 (br s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.4/3.24 (m, 4H), 3.35 (m, 2H), 3.28/2.51 (m, 2H), 3.04/2.83 (m, 4H), 3.02/2.96 (m, 2H), 2.92 (m, 2H), 2.87 (s, 3H), 1.99 (m,1 H), 1.83 (s, 3H), 1.69/1.61 (m, 2H), 1.46/1.38 (m, 2H), 0.88/0.82 (m, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, dmso-d6): δ 134.2, 131.4, 131.3, 131.3, 131.2, 130.7, 128.7, 120.9, 120.5, 119.2, 116.3, 115.8, 112.7, 112.3, 111, 74, 70.2, 69.6, 67.8, 58.9, 56.9, 56.1, 55.4, 54, 50.5, 46.6, 44.9, 39, 32.7, 31.6, 29.8, 27.5, 19.7/18.4, 18. IR 파장 (cm^{-1}): 3700-2200, 3000-2000, 2109, 1662, 1250-1050. HR-ESI+: m/z [M+Na]+ = 1473.5656 / 1473.5628 (측정치/이론치).

[1966] L13-C4의 제조:

[1967] (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부

타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[4-(포스포노메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산



[1968]

[1969] 단계 1: (2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]-N-[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]-3-메틸-부탄아미드의 합성

[1970] DMF (20 mL) 중 (2S)-2-아미노-N-[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]-3-메틸-부탄아미드 (0.9 g, 3.07 mmol; L18-C3의 합성의 단계 3에 따라 수득함) 및 3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로판산 (브로드팜으로부터 구입함, 2 g, 3.07 mmol)의 용액에 DIPEA (1 mL, 6.13 mmol), 3-(에틸이미노메틸렌아미노)프로필-디메틸-암모늄; 클로라이드 (EDC) (0.65 g, 3.37 mmol) 및 [디메틸아미노 (트리아졸로[4,5-b]피리딘-3-일옥시)메틸렌]-디메틸-암모늄; 헥사플루오로포스페이트 (HATU) (1.28 g, 3.37 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 (2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]-N-[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]-3-메틸-부탄아미드 (1.64 g, 1.81 mmol)를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.82 (m, 1H), 8.14 (d, 1H), 7.87 (d, 1H), 7.54 (d, 2H), 7.23 (d, 2H), 5.08 (t, 1H), 4.43 (d, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.2 (m, 1H), 3.65-3.44 (m, 48H), 3.39 (t, 2H), 2.50-2.30 (m, 2H), 1.97 (m, 1H), 1.31 (d, 3H), 0.87/0.84 (m, 6 H). IR 파장 (cm^{-1}): 3600-3200, 3287, 2106, 1668, 1630, 1100. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 919.5265 / 919.5234 (측정치/이론치).

[1971] 단계 2: [4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐) 카르보네이트

[1972] THF 및 디클로로메탄 (각각 5 및 2.5 mL)의 혼합물 중 (2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]-N-[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]-3-메틸-부탄아미드 (210 mg, 0.228 mmol)의 용액에 피리딘 (30 μL, 0.479 mmol) 및 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (97 mg, 0.479 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응물을 실온에서 3시간 동안 교반하고, 다른 부분의 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (40 mg, 0.197 mmol) 및 피리딘 (30 μL, 0.479 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 55시간 동안 교반하고, 증발 건조시켰다. 잔류물을 실리카-겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 MeOH의 구배)에 의해 정제하여 [4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐) 카르보네이트 (118 mg, 0.110 mmol)를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.00 (s, 1H), 8.31 (d, 2H), 8.19 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.64 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 7.41 (d, 2H), 5.25 (s, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 3.63-3.47 (m, 48H), 3.39 (t, 2H), 2.50-2.35 (m, 2H), 1.98 (m, 1H), 1.31 (d, 3H), 0.89/0.85 (m, 6H). IR 파장 (cm^{-1}): 3278, 2108, 1763, 1633, 1526, 1525, 1350, 1215, 1110.

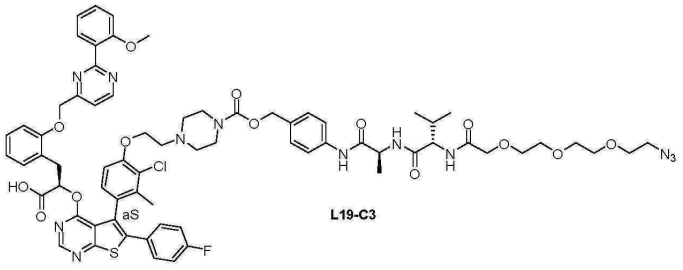
[1973] 단계 3: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]-3-

메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[4-(포스포노메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (L13-C4)

[1974] DMF (5 mL) 중 [4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐)카르보네이트 (52 mg, 47.6 μmol)의 용액에 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[4-(포스포노메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 C4 (36.7 mg, 39.7 μmol) 및 DIPEA (26 μL, 108 μmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 L13-C4 (36 mg, 19 μmol)를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.1 (br s, 1H), 8.81 (br s, 1 H), 8.55 (m, 1 H), 8.32 (br s, 1H), 8.19 (d, 2H), 8.02 (br s, 1H), 7.66 (m, 1H), 7.58 (d, 2H), 7.37 (d, 1H), 7.29 (dd, 2H), 7.28 (d, 2H), 7.25 (d, 2H), 7.19 (t, 2H), 7.17 (d, 1H), 7.08 (t, 1H), 6.96 (d, 1H),6.68 (t, 1H), 6.21 (d, 1H), 5.5 (m, 1H), 5.22 (m, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.4 (m, 1H), 4.2 (dd, 1H), 4.18 (m, 2H), 3.62/3.41 (m, 24H), 3.5 (m, 4H), 3.38 (m, 2H), 3.28 (m, 4H), 2.87 (m, 2H), 2.7 (m, 2H), 2.48/2.36 (m, 2H), 2.41 (m, 4H), 1.99 (m, 1H), 1.79 (s, 3H), 1.3 (d, 3H), 0.87/0.83 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 130.7, 130.7, 130.6, 130.3, 129, 128.4, 127.4, 121, 119.6, 116.3, 116.1, 112.1, 70.2/67.3, 69.5, 67.5, 66.4, 58.2, 56.4, 53.2, 50.3, 49.6, 43.8, 36.3, 31, 19, 18.5, 17.8. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6): δ -112.4. ^{31}P NMR (200 MHz, dmso-d6): δ 17.8. IR 파장 (cm^{-1}): 3290, 2102, 1698, 1651, 1237, 1094, 833, 756. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1867.7129 / 1867.7154 (측정치/이론치).

[1975] L19-C3의 제조:

[1976] (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[1977] 

[1978] 단계 1: [4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐) 카르보네이트

[1979] THF/디클로로메탄 혼합물 (각각 100 및 30 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (1 g, 1.66 mmol)의 현탁액에 피리딘 (269 μL, 3.32 mmol) 및 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (670 mg, 3.30 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하고, 4-니트로페닐 클로로포르메이트의 또 다른 부분을 첨가하였다 (335 mg, 1.66 mmol). 반응물을 실온에서 3시간 동안 교반하고, 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (헵탄 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 [4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐)카르보네이트 (658 mg, 0.97 mmol)를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.07 (m, 1H), 8.31 (d, 2H), 8.19 (d, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.74 (t, 2H), 7.64 (d, 2H), 7.57 (d, 2H), 7.41 (m, 2H), 7.41 (d, 2H), 7.4 (m, 1H), 7.32 (t, 2H), 5.24 (s, 2H), 4.43 (m, 1H), 4.36-4.19 (m, 3H), 3.92 (dd, 1H), 2 (m, 1H), 1.32 (d, 3H),

0.9/0.87 (m, 6 H). IR 파장 (cm^{-1}): 3350-3200, 1760, 1690, 1670, 1630, 1523, 1290.

[1980] 단계 2: (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[1981] DMF (1 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 C3 (100 mg, 0.116 mmol)의 용액에 [4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐)카르보네이트 (87 mg, 0.128 mmol) 및 DIPEA (38 μL, 0.232 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 농축시켰다. 잔류물을 물에 녹이고, 여과하여 (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (110 mg, 0.078 mmol)을 수득하였으며, 이를 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.05 (br s, 1 H), 8.88 (d, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.23 (d, 1H), 7.88 (d, 2H), 7.75 (m, 1H), 7.74 (2d, 2H), 7.58 (d, 2H), 7.53 (dd, 1H), 7.45 (m, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.4 (m, 2H), 7.31 (m, 2H), 7.29 (m, 2H), 7.26 (d, 2H), 7.2 (t, 2H), 7.18 (m, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.11 (t, 1H), 7.03 (t, 1H), 6.98 (d, 1H), 6.69 (t, 1H), 6.2 (d, 1H), 5.46 (d, 1H), 5.22 (m, 2H), 4.97 (s, 2H), 4.42 (t, 1H), 4.26 (m, 2H), 4.21 (m, 1H), 4.2 (m, 2H), 3.91 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.35/2.45 (m, 2H), 3.29 (m, 4H), 2.73 (t, 2H), 2.44 (m, 4H), 1.99 (m, 1H), 1.8 (s, 3H), 1.29 (d, 3H), 0.88/0.85 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 158.3, 152.7, 131.6, 131.4, 131.3, 131.1, 131.1, 128.9, 128.5, 128, 127.6, 125.8, 120.9, 120.5, 120.5, 119.4, 116.4, 116, 112.7, 112.2, 111.1, 69.4, 67.8, 66.5, 66.1, 60.7, 56.8, 56.1, 53.2, 49.6, 47.1, 43.8, 33.3, 30.9, 19.7, 18.9, 18.1.

[1982] 단계 3: (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[1983] DMF (3 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (176 mg, 0.125 mmol)의 용액에 피페리딘 (300 μL, 1.25 mmol)을 0℃에서 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 농축시켰다. 잔류물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (130 mg, 0.11 mmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.2 (s, 1H), 8.9 (d, 1H), 8.6 (dl, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.6 (d, 2H), 7.55 (dd, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.25 (d, 2H), 7.25 (m, 4H), 7.2 (m, 3H), 7.15 (d, 1H), 7.1 (t, 1H), 7.05 (t, 1H), 6.95 (d, 1H), 6.65 (t, 1H), 6.15 (d, 1H), 5.4 (dd, 1H), 5.2 (m, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.45 (m, 1H), 4.2 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.4/2.35 (m, 2H), 3.3 (m, 5H), 2.6 (t, 2H), 2.4 (m, 4H), 2 (m, 3H), 1.8 (s, 3H), 1.3 (d, 3H), 0.9/0.85 (m, 6H). IR 파장 (cm^{-1}): 3600-2500, 1678.

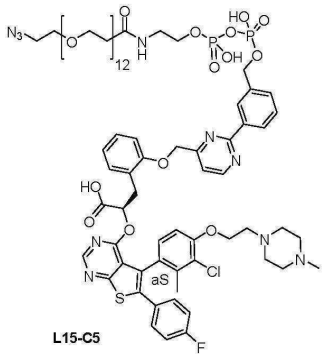
[1984] 단계 4: (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 L19-C3

[1985] DMF (0.3 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메

톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (50 mg, 0.042 mmol)의 용액에 DIPEA (14 μL, 0.085 mmol), [디메틸아미노-(2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시-메틸렌]-디메틸-암모늄; 테트라플루오로보레이트 (14 mg, 0.046 mmol) 및 DMF (0.5 mL) 중 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세트산 (28 mg, 0.12 mmol)의 용액을 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 L19-C3 (22 mg, 0.016 mmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.02 (s, 1H), 8.88 (d, 1H), 8.4 (d, 1H), 7.72 (br s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.58 (d, 2H), 7.53 (d, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.38 (d, 1H), 7.29 (dd, 2H), 7.27 (d, 2H), 7.2 (t, 2H), 7.18 (d, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.11 (t, 1H), 7.03 (t, 1H), 6.98 (d, 1H), 6.7 (t, 1H), 6.21 (d, 1H), 5.46 (dd, 1H), 5.23 (m, 2H), 4.97 (s, 2H), 4.4 (m, 1H), 4.29 (dd, 1H), 4.22 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.65-3.53 (m, 10H), 3.35 (m, 2H), 3.3 (m, 4H), 3.3/2.5 (m, 2H), 2.73 (t, 2H), 2.44 (m, 4H), 2 (m, 1H), 1.81 (s, 3H), 1.3 (d, 3H), 0.88/0.82 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 158, 152.7, 131.4, 131.4, 131.3, 131.1, 131.1, 128.9, 128.6, 120.9, 120.7, 119.5, 116.2, 112.5, 112.1, 111.1, 70.4, 70.4, 69.7, 67.5, 66.2, 56.8, 56.7, 56.1, 53.3, 50.4, 49.5, 43.8, 31.7, 19.5, 0.82, 18.3, 18.2. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6): δ -112.3. IR 파장 (cm^{-1}): 3294, 2104, 1697, 1663, 1288, 1238, 1120, 1076, 1051, 1020, 833,755. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1395.5083 / 1395.5070 (측정치/이론치).

[1986] L15-C5의 제조:

[1987] (2R)-3-[2-[[2-[3-[[[2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]에톡시-히드록시-포스포릴]옥시-히드록시-포스포릴]옥시메틸]페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-프로판산



L15-C5

[1988]

[1989] 단계 1: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[3-(포스포노옥시메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 비스 2,2,2-트리플루오로아세트산

[1990] THF (0.5 mL) 중 에틸 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[3-(히드록시메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (110 mg, 0.123 mmol; WO 2016/207216에 따라 제조함)의 용액에 아르곤 하에 디포스포릴 클로라이드 (51 μL, 0.368 mmol)를 -40℃에서 적가하였다. 반응 혼합물을 -40℃에서 30분 동안 교반하였다. 또 다른 부분의 디포스포릴 클로라이드 (10 μL, 0.074 mmol)를 -40℃에서 첨가하고, 반응물을 -40℃에서 20분 동안 교반하고, 탄산칼륨의 포화 수용액 (0.1 mL)의 첨가에 의해 켄칭하고, 실온으로 가온되도록 하였다. 탄산칼륨 (분말)을 첨가하여 pH를 10으로 조정하고, 반응물을 실온에서 20분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 수성 2 M HCl 용액을 천천히 첨가하여 pH 2로 산성화시키고, 디클로로메탄으로 추출하였다 (4회). 합한 유기 층을 농축시키고, 디옥산 (3 mL)으로 희석하고, 물 (0.3 mL) 중 수산화리튬 1수화물 (17 mg, 0.403 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4일 동안 교반하고, 수성 4 M HCl 용액 (0.4 mL, 0.4 mmol)으로 중화시키고, 증발시켰다. 잔류물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에

의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[3-(포스포노옥시메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세트산을 2TFA 염 (41 mg, 43 μmol)으로서 수득하였다. MS (ESI) m/z [M + 2H]/2+ = 487.5.

[1991] 단계 2: 2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]에틸 디히드로겐 포스페이트

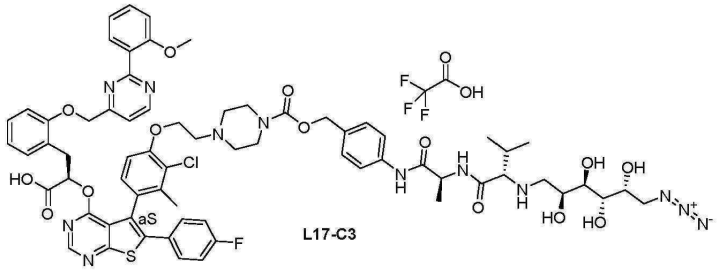
[1992] 디클로로메탄 (2 mL) 중 3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로판산 (200 mg, 0.311 mmol)의 용액에 1-히드록시피롤리딘-2,5-디온 (79 mg, 0.684 mmol), 3-(에틸이미노메틸렌아미노)프로필-디메틸-암모늄; 클로라이드 (107 mg, 0.56 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 디클로로메탄으로 희석하고, $NaHCO_3$의 포화 수용액으로 분배하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 대략 1 mL로 농축시켰다. 잔류물을 DMF (1 mL)로 희석하고, 2-아미노에틸 디히드로겐 포스페이트 (30 mg, 0.214 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 80℃에서 밤새 교반하고, 디클로로메탄으로 희석하고, 물로 세척하였다. 수성 층을 분리하고, 동결-건조시켜 2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]에틸 디히드로겐 포스페이트 (165 mg, 0.2 mmol)를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 3.45-3.65 (m, 53H), 3.26-3.39 (m, 2H), 3.12 (m, 2H), 2.27 (t, 2H). HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 767.3697 / 767.3686 (측정치/이론치).

[1993] 단계 3: (2R)-3-[2-[[2-[3-[[[2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]에톡시-히드록시-포스포릴]옥시-히드록시-포스포릴]옥시메틸]페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-프로판산 (L15-C5)

[1994] DMF (0.2 mL) 중 2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]에틸 디히드로겐 포스페이트 (49 mg, 0.064 mmol)의 용액에 디 (이미다졸-1-일)메타논 (11 mg, 0.066 mmol), 트리에틸아민 (17 μL, 0.066 mmol) 및 4Å 분자체 (50 mg)를 연속적으로 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 고체를 여과에 의해 제거하고, 여과물을 염화아연 (23 mg, 0.172 mmol) 및 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[3-(포스포노옥시메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 비스 2,2,2-트리플루오로아세트산 (41 mg, 0.043 mmol)으로 처리하였다. 혼합물을 50℃로 밤새 가열하였다. 반응 혼합물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 L15-C5 (11 mg, 6 μmol)를 수득하였다. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1703.5962 / 1703.5959 (측정치/이론치).

[1995] L17-C3의 제조:

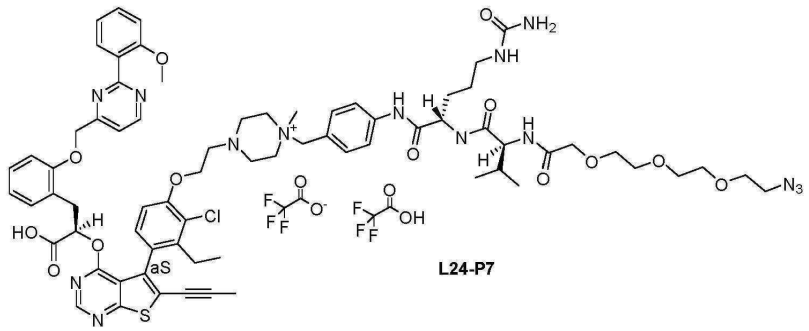
[1996] (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[(2S,3R,4S,5R)-6-아지도-2,3,4,5-테트라히드록시-헥실]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세트산

[1997] 

[1998] 1%의 DIPEA (20 mL)를 함유하는 DMSO/물 80/20의 혼합물 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (230 mg, 0.194 mmol; L19-C3의 제조의 단계 5에 따라 수득함) 및 6-데옥시-6-아지도-D-갈락토스 (120 mg, 0.584 mmol; 문헌 [Ekholm et al., ChemMedChem 2016, 11, 2501-2505]에 따라 수득함)의 용액에 실온에서 소듐 시아노보로히드라이드 (24 mg, 0.389 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 65℃에서 48시간 동안 가열하였다. 이어서, 소듐 시아노보로히드라이드 (24 mg, 0.389 mmol) 및 6-데옥시-6-아지도-D-갈락토스 (120 mg, 0.584 mmol)의 또 다른 부분을 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 65℃에서 추가 48시간 동안 가열하고, C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L17-C3 (38 mg, 28 μmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 13.2 (br s, 1H), 10.2 (s, 1H), 8.88 (d, 1H), 8.85 (d, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.53 (br s, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.59 (d, 2H), 7.52 (d, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.33 (dd, 2H), 7.33 (d, 2H), 7.27 (d, 1H), 7.27 (d, 1H), 7.21 (t, 2H), 7.15 (t, 1H), 7.04 (t, 1H), 7.01 (d, 1H), 6.73 (t, 1H), 6.21 (d, 1H), 5.51 (d, 1H), 5.28/5.22 (m, 2H), 5.04 (br s, 2H), 4.52 (m, 1H), 4.49 (m, 2H), 4.12 (m, 1H), 3.89 (m, 1H), 3.78 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.63 (m, 6H), 3.42/3.21 (m, 2H), 3.38 (m, 1H), 3.37 (m, 1H), 3.28/2.52 (m, 2H), 3.22 (m, 4H), 2.96 (m, 2H), 2.21 (m, 1H), 1.86 (s, 3H), 1.36 (d, 3H), 1.03/0.94 (m, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, dmso-d6): δ 157.8, 152.5, 131.4, 131.3, 131.3, 130.6, 129.1, 129, 128.8, 120.8, 120.6, 119.4, 116.2, 116.1, 112.3, 111.3, 111.3, 74.2, 71.3, 70.4, 69.5, 69.2, 67.1, 65.6, 64.5, 64.5, 56.2, 54.8, 54.2, 51.9, 50.3, 49.9, 32.7, 29.4, 19.3, 18.9, 18. ^{19}F NMR (470 MHz, dmso-d6): δ -74.4, -112.1. IR 파장 (cm^{-1}): 2200-3500, 2104, 1669, 1181, 1132, 798, 758, 720. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1369.4918 / 1369.4913 (측정치/이론치).

[1999] L24-P7의 제조:

[2000] (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-욤-1-일]에톡시]-3-클로로-2-에틸-페닐]-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 2,2,2-트리플루오로아세트산



L24-P7

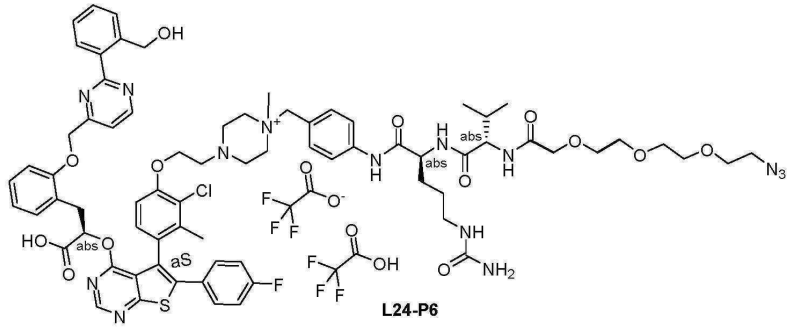
[2001]

[2002] THF (5 mL) 중 (2S)-2-[[(2S)-2-[[2-(2-아지도에톡시)아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(브로모메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (72 mg, 0.109 mmol)의 용액에 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-에틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 P7 (30 mg, 0.036 mmol) 및 DIPEA (19 μL, 0.108 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L24-P7 (25 mg, 18 μmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.25 (s, 1H), 8.85 (d, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.35 (d, 1H), 7.72 (d, 2H), 7.6 (d, 1H), 7.5 (d, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.43 (d, 2H), 7.4 (d, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.17 (m, 1H), 7.15 (m, 1H), 7.13 (d, 1H), 7.02 (t, 1H), 7 (d, 1H), 6.78 (t, 1H), 6.3 (d, 1H), 5.98 (br s, 1H), 5.5 (dd, 1H), 5.4 (br s, 1H), 5.28/5.2 (m, 2H), 4.5 (br s, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.3 (dd, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.94 (br s, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.70/3.50 (m, 10H), 3.50 (m, 8 H), 3.35 (t, 2H), 3.22/2.5 (m, 2 H), 3.0 (m, 2H),

2.95 (t, 2H), 2.9 (br s, 3H), 2.55/2.4 (m, 2H), 2.0 (s, 3H), 1.98 (m, 1H), 1.70/1.30 (m, 4H), 0.88/0.82 (m, 6H), 0.72 (t, 3H). IR 파장 (cm^{-1}): 3321, 2111, 1660, 1188, 1124, 798,756,719. HR-ESI+: m/z [M+H-CF3COOH]+ = 1409.59077 / 1409.5903 (측정치/이론치).

[2003] L24-P6의 제조:

[2004] (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[2-(히드록시메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 2,2,2-트리플루오로아세트산



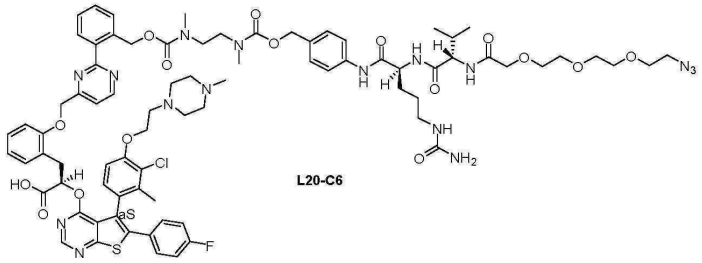
L24-P6

[2005]

[2006] DMF (1 mL) 중 (2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(브로모메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (55.3 mg, 84 μmol)의 용액에 에틸 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[2-(히드록시메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (53.2 mg, 59 μmol; EP 2 886 545에 따라 합성함) 및 DIPEA (44 μL, 0.252 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 디옥산 (1 mL)으로 희석하고, 물 (0.3 mL) 중 수산화리튬 1수화물 (14 mg, 0.0334 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 수성 1 M HCl 용액 (0.33mL, 0.33 mmol)을 첨가하여 중화시키고, 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L24-P6 (47 mg, 32 μmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.27 (s, 1H), 8.94 (d, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.38 (d, 1H), 7.93 (d, 1H), 7.73 (d, 2H), 7.68 (t, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.5 (t, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.43 (d, 2H), 7.38 (d, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.3 (dd, 2H), 7.21 (d, 1H), 7.2 (t, 2H), 7.16 (t, 1H), 7.02 (d, 1H), 6.72 (t, 1H), 6.21 (d, 1H), 6.01 (m, 1H), 5.5 (d, 1H), 5.4 (m, 1H), 5.3 (m, 2H), 4.8 (s, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.32 (dd, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.95 (s, 2H), 3.57 (m, 16H), 3.42/3.26 (m, 2 H), 3.36 (m, 2H), 3.29/2.51 (m, 2H), 3.11/2.92 (m, 8H), 2.98 (m, 2H), 2.97 (m, 2H), 1.99 (m, 1H), 1.83 (s, 3H), 1.68/1.62 (m, 2H), 1.45/1.39 (m, 2H), 0.88/0.82 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 158.2, 152.1, 134.2, 131.4, 131.3, 130.9, 130.8, 130.2, 128.7, 128.1, 127, 120.8, 119.3, 116.3, 115.7, 112.2, 111, 74, 70.5, 70.1, 69.5, 67.7, 62.3, 58.8, 57.2, 55.5, 54.1, 50.5, 46.6, 38.9, 32.5, 31.5, 29.6, 27.6, 19.6, 18.6, 18.3. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6): δ -74.6, -112.5. IR 파장 (cm^{-1}): 3303, 2104, 1730, 1662, 1182, 1124, 833,796,761. HR-ESI+: m/z [M+2H]/2+ = 726.2957 / 726.2941 (측정치/이론치).

[2007] L20-C6의 제조:

[2008] (2R)-3-[2-[[2-[2-[[2-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐-메틸-아미노]에틸-메틸-카르바모일]옥시메틸]페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-프로판산



[2009]

[2010] 단계 1: 에틸 (2R)-3-[2-[[2-[2-[[2-[tert-부톡시카르보닐(메틸)아미노]에틸-메틸-카르바모일]옥시메틸]페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-프로파노에이트

[2011] 디클로로메탄 (0.5 mL) 중 (에틸 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[2-(히드록시메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (50 mg, 55 μmol; EP 2 886 545에 따라 합성함)의 용액에 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (19 mg, 94 μmol) 및 DIPEA (69 μL, 0.5 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, tert-부틸 N-메틸-N-[2-(메틸아미노)에틸]카르바메이트 (54 mg, 0.287 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 에틸 (2R)-3-[2-[[2-[2-[[2-[tert-부톡시카르보닐(메틸)아미노]에틸-메틸-카르바모일]옥시메틸]페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-프로파노에이트 (30 mg, 27 μmol)를 수득하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, dmso-d6): δ 9.00 (d, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.98 (m, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.51 (t, 1H), 7.48 (d, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.31 (dd, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.22 (t, 2H), 7.18 (t, 1H), 7.17 (d, 1H), 7.02 (d, 1H), 6.76 (t, 1H), 6.32 (d, 1H), 5.52 (dd, 1H), 5.47 (br s, 2H), 5.26 (m, 2H), 4.2 (m, 2H), 4.07 (m, 2H), 3.24/3.17 (2m, 4H), 3.17/2.6 (2m, 2H), 2.77/2.64 (m, 6H), 2.7 (m, 2H), 2.49/2.28 (m, 8H), 2.12 (br s, 3H), 1.87 (s, 3H), 1.3 (3s, 9H), 1.07 (t, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, dmso-d6): δ 158.2, 152.4, 131, 130.1, 130.1, 129, 128.3, 128.2, 121.5, 121.4, 120.9, 116.3, 115.8, 112, 111.1, 74.1, 69.2, 68.1, 65.6, 61.2, 56.8, 55.2, 53.1, 46.5, 45.9, 34.5, 32.4, 28.3, 17.4, 14.9. ^{19}F NMR (470 MHz, dmso-d6): δ -112.2. IR 파장 (cm^{-1}): 1750, 1693, 1221/1160/1120, 834/756.

[2012] 단계 2: 2R)-3-[2-[[2-[2-[[2-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐-메틸-아미노]에틸-메틸-카르바모일]옥시메틸]페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-프로판산 L20-C6

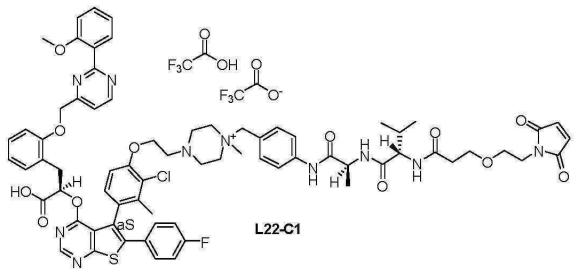
[2013] 디클로로메탄 (0.5 mL) 중 에틸 (2R)-3-[2-[[2-[2-[[2-[tert-부톡시카르보닐(메틸)아미노]에틸-메틸-카르바모일]옥시메틸]페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-프로파노에이트 (25 mg, 22 μmol)의 용액에 트리플루오로아세트산 (35 μL, 447 mmol)을 0℃에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 DMF (0.5 mL)로 희석하고, [4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐)카르보네이트 (20 mg, 22 μmol; L23-P3의 제조의 단계 3에 따라 수득함) 및 DIPEA (78 μL, 0.447 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 감압 하에 농축시키고, 디옥산 (0.5 mL)으로 희석하고, 물 (0.3 mL) 중 수산화리튬 1수화물 (3.7 mg, 89 μmol)의 용액을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하고, 수성 1M HCl 용액을 pH 7까지 적가하여 0℃에서 중화시키고, 감압 하에 농축시켰다.

[2014] 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH_4HCO_3

방법을 사용하여 정제하여 L20-C6 (13 mg, 8 μmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, dmso-d6): δ 8.88 (m, 1H), 8.54 (s, 1 H), 7.97 (d, 1H), 7.77 (m, 1H), 7.6 (d, 2H), 7.5 (m, 1H), 7.47 (m, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.41 (d, 1H), 7.29 (dd, 2H), 7.21 (t, 2H), 7.19 (d, 1H), 7.18 (m, 2H), 7.12 (t, 1H), 6.97 (d, 1H), 6.7 (t, 1H), 6.19 (d, 1H), 5.49 (d, 1H), 5.45 (m, 4H), 5.23 (m, 2H), 4.89 (m, 2H), 4.4 (m, 1H), 4.32 (dd, 1H), 4.22 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.56 (m, 10H), 3.39/2.44 (m, 2H), 3.34 (t, 2H), 3.28 (m, 4H), 2.99 (m, 2H), 2.75/2.7 (m, 6H), 2.73 (m, 2H), 2.5/2.37 (m, 8H), 2.18 (s, 3H), 2.04 (m, 1H), 1.81 (s, 3H), 1.74/1.62 (m, 2H), 1.46/1.38 (m, 2H), 0.86/0.8 (m, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, dmso-d6): δ 158.3, 152.9, 131.5, 131.4, 131.3, 131, 130, 128.3, 128.3, 128, 127.7, 120.8, 119.3, 116.2, 115.6, 112.1, 111.1, 75.3, 70.5, 70.2, 69.2, 67.6, 66.6, 65.4, 57.2, 56.7, 55.1/52.9, 54, 50.5, 46.5, 45.1, 39.1, 34.4, 31.5, 29.6, 27.4, 19.9, 18.2, 18. ^{19}F NMR (470 MHz, dmso-d6): δ -112.5. IR 파장 (cm^{-1}): 3323, 2106, 1691, 1660, 1220, 1120, 1051, 759. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1609.6517 / 1609.6500 (측정치/이론치).

[2015] L22-C1의 제조:

[2016] (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트;2,2,2-트리플루오로아세트산



[2017]

[2018] 단계 1: (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트; 비스-2,2,2-트리플루오로아세트산

[2019] DMF (20 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (200 mg, 0.388 mmol)의 용액에 트리페닐포스핀 (152 mg, 0.581 mmol) 및 N-브로모숙신이미드 (103 mg, 0.581 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 C1 (302 mg, 345 mmol) 및 DIPEA (120 μL, 0.691 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 디에틸아민 (49 μL, 486 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 감압 하에 농축시키고, C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 비스-2,2,2-트리플루오로아세트산 (253 mg, 0.220 mmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.4 (s, 1H), 8.89 (d, 1H), 8.75 (d, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.08 (대형, 3H), 7.72 (d, 2H), 7.63 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.46 (t, 1H), 7.45 (d, 2H), 7.39 (d, 1H), 7.31 (dd, 2H), 7.21 (d, 1H), 7.21 (t, 2H), 7.15 (d, 1H), 7.15 (t, 1H), 7.04 (t, 1H), 7.01 (d, 1H), 6.72 (t, 1H), 6.22 (d, 1H), 5.5 (dd, 1H), 5.25 (m, 2H), 4.53 (m, 2H), 4.52 (m, 1H), 4.28 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.62 (m, 1H), 3.43/3.29 (m, 4H), 3.28/2.5 (m, 2H), 3.13/2.94 (m, 4H), 3.01 (m, 2H), 2.9 (br s, 3H), 2.07 (m, 1H), 1.84 (d, 3H), 1.36 (d, 3H), 0.95 (d, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, dmso-d6): δ 253, 158.2, 134.3, 131.5, 131.4, 131.4, 131.3, 131, 128.9,

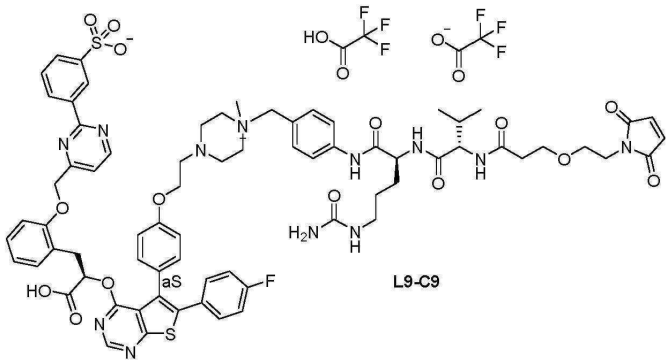
121.1, 120.6, 119.5, 116.3, 115.9, 113, 112.3, 111.1, 74.1, 69.8, 67.5, 58.7, 57.9, 56.5, 55.4, 49.8, 46.5, 45.2, 32.9, 30.4, 18.6, 18.4, 18.3. ^{19}F NMR (470 MHz, dmso-d6): δ -74, -112.6.

[2020] 단계 2: (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 비스-2,2,2-트리플루오로아세트산 L22-C1

[2021] DMF (0.4 mL) 중 (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 비스-2,2,2-트리플루오로아세트산 (150 mg, 0.130 mmol)의 용액에 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노에이트 (60 mg, 194 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하고, 감압 하에 농축시키고, C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L22-C1 (67 mg, 37 μmol)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.14 (s, 1H), 8.88 (d, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.22 (d, 1H), 7.84 (d, 1H), 7.73 (d, 2H), 7.63 (d, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.45 (td, 1H), 7.44 (d, 2H), 7.38 (d, 1H), 7.31 (dd, 2H), 7.21 (d, 1H), 7.21 (t, 2H), 7.15 (t, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.02 (t, 1H), 7.01 (d, 1H), 7 (s, 2H), 6.71 (t, 1H), 6.21 (d, 1H), 5.5 (dd, 1H), 5.25 (m, 2H), 4.53 (br s, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 4.19 (dd, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.58 (m, 2H), 3.54 (t, 2H), 3.48 (m, 2H), 3.43/3.3 (m, 4H), 3.28/2.51 (m, 2H), 3.16/2.98 (m, 4H), 3.04 (m, 2H), 2.91 (br s, 3H), 2.43/2.33 (m, 2H), 1.93 (m, 1H), 1.84 (s, 3H), 1.31 (d, 3H), 0.87/0.82 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 158, 152.8, 135.2, 134, 131.4, 131.3, 131.3, 131.2, 131, 128.9, 120.8, 120.6, 119.3, 116.3, 115.8, 112.4, 112.3, 111.1, 74.2, 69.6, 67.4, 67.4, 67.1, 67, 58.4, 57.9, 56.2, 55.2, 49.7, 46.5, 45.1, 37.1, 36.3, 32.7, 30.9, 19.6, 18.5, 18.2, 18.2. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6): δ -74.6, -112.2. IR 파장 (cm^{-1}): 2000-3500, 1760/1705, 1733, 1668, 1180/1128, 829/798/758/720/696. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1345.4944 / 1345.4954 (측정치/이론치)

[2022] L9-C9의 제조:

[2023] 3-[4-[[2-[(2R)-2-카르복시-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-에틸]페녹시]메틸]피리미딘-2-일]벤젠술포네이트; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 2,2,2-트리플루오로아세트산



[2024]

[2025] 단계 1: (2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(히드록시메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드

[2026] THF (42 mL) 중 3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로판산 (855 mg, 4.01 mmol)의 용액에 N,N'-디시클로헥실메탄디이민 (1.05 g, 5.08 mmol) 및 1-히드록시피롤리딘-2,5-디온 (510 mg, 4.43 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반하였다. 침전물을 여과에 의해 제거하고, 여과물을 DMF (42 mL) 중 (2S)-

2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(히드록시메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (1.27 g, 3.35 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반하고, 디에틸 에테르 (250 mL)로 희석하였다. 고체를 여과에 의해 회수하여 (2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(히드록시메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (1.81 g; 3.15 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.87 (s, 1H), 8.05 (d, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.53 (d, 2H), 7.21 (d, 2H), 7.00 (s, 2H), 5.95 (t, 1H), 5.39 (s, 2H), 5.07 (t, 1H), 4.41 (d, 2H), 4.34-4.40 (m, 1H), 4.18-4.22 (m, 1H), 3.42-3.65 (m, 4H), 2.88-3.02 (m, 2H), 2.73 (s, 2H), 2.28-2.45 (m, 2H), 1.91-1.99 (m, 1H), 1.53-1.75 (m, 2H), 1.30-1.147 (m, 2H), 0.85 (d, 3H), 0.81 (d, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, dmso-d6): δ 171.05, 170.83, 170.32, 170.09, 158.82, 137.49, 137.37, 134.50, 126.88, 118.81, 66.66, 66.53, 62.57, 57.49, 53.06, 36.74, 35.76, 30.51, 29.31, 26.79, 25.20, 19.16, 18.07. MS (ESI) m/z [M + H]+ = 575.2.

[2027] 단계 2: (2S)-N-[4-(브로모메틸)페닐]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜탄아미드

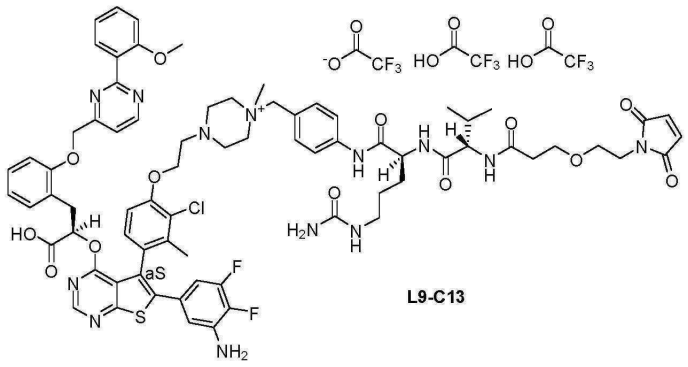
[2028] THF (1 mL) 중 (2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-N-[4-(히드록시메틸)페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (37.2 mg, 65 μmol)의 용액에 아르곤 하에 0℃에서 삼브로민화인 (45 μL, 97 mmol)을 적가하였다. 반응물을 0℃에서 1시간 동안 교반하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다: 분취물을 아세토니트릴 중 과량의 모르폴린으로 처리한 후, 상응하는 모르폴린 부가물을 형성하였다. 반응물을 THF (3 mL)로 희석하고, $NaHCO_3$의 포화 용액 2 방울을 첨가하여 켄칭하고, 실온에서 5분 동안 교반하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하였다. 조 (2S)-N-[4-(브로모메틸)페닐]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜탄아미드 (45 mg, 이론치 65 μmol)를 함유하는 잔류물을 즉시 후속 단계에 사용하였다. MS (ESI) m/z [M + H]+ =662.62 (모르폴린 부가물)

[2029] 단계 3: 3-[4-[[2-[(2R)-2-카르복시-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-에틸]페녹시]메틸]피리미딘-2-일]벤젠술포네이트 L9-C9

[2030] DMF (0.8 mL) 중 (2R)-2-{[(5S$_a$)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(3-술포페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산 C9 (15 mg, 16 mmol)의 용액에 THF (1 mL) 중 (2S)-N-[4-(브로모메틸)페닐]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜탄아미드 (45 mg 조 물질, 65 μmol, 단계 2로부터 이론치)의 용액 및 DIPEA (14 μL, 81 μmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 교반하고, 50℃에서 2시간 동안 가열하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L9-C9 (5.2 mg, 3.5 μmol)를 수득하였다. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1481.4917 / 1481.4896 (측정치/이론치).

[2031] L9-C13의 제조:

[2032] (2R)-2-[6-(3-아미노-4,5-디플루오로-페닐)-(5S$_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트;2,2,2-트리플루오로아세트산

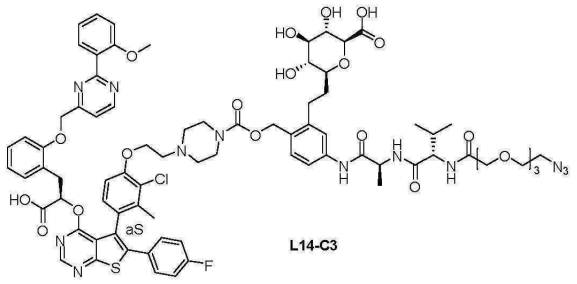


[2033]

[2034] 절차는 L9-C9의 합성 방법에서와 같고, 단계 3에서 사용된 C9를 (2R)-2-{[(5S_a)-6-(3-아미노-4,5-디플루오로페닐)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산 C13으로 대체하고, 정제를 위해 TFA 방법을 사용하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.2 (s), 8.9 (d, 1H), 8.6 (s, 1H), 8.12 (d), 7.8 (d), 7.7 (d, 2H), 7.6 (d, 1H), 7.5 (d, 1H), 7.45 (d, 2H), 7.42 (m, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.2 (d, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.02 (d, 1H), 7 (s, 2H), 7 (m, 1H), 6.75 (t, 1H), 6.65 (d, 1H), 6.25 (d, 1H), 6.15 (dd, 1H), 5.98 (m, 1H), 5.48 (dd, 1H), 5.4 (br s, 1H), 5.24 (dd, 2H), 4.51 (br s, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.28 (m, 2H), 4.22 (m, 1H), 3.80-3.40 (m, 8H), 3.75 (s, 3H), 3.26 (m, 4H), 3.1 (m, 2H), 2.98 (m, 4H), 2.9 (br s, 3H), 2.9/2.5 (2m, 2H), 2.43/2.3 (2m, 2H), 1.92 (m, 1H), 1.88 (s, 3H), 1.70-1.30 (m, 4H), 0.82 (2d, 6H). ^{19}F NMR (470 MHz, dmso-d6): δ -74.3, -139.3, -160.4. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1464.5482 / 1464.5449 (측정치/이론치).

[2035] L14-C3의 제조:

[2036] (2S,3S,4R,5R,6S)-6-[2-[(5S_a)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-(2-아지도에톡시)아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]피페라진-1-카르보닐]옥시메틸]페닐]에틸]-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실산



[2037]

[2038] 단계 1: 2-아이오도-4-니트로-벤조산

[2039] 아세토니트릴 (280 mL) 중 2-아미노-4-니트로-벤조산 (10.0 g, 54.90 mmol)의 용액에 p-톨루엔술폰산 1수화물 (32.0 g, 168.2 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반한 다음, 물 (140 mL) 중 아질산나트륨 (8.00 g, 115.9 mmol) 및 아이오딘화칼륨 (24.0 g, 144.6 mmol)의 용액을 15분 내에 적가하였다. 반응 혼합물을 19시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 혼합물을 티오황산나트륨 (13.02 g, 82.36 mmol)으로 켄칭하고, 염화수소 3 M의 수용액 (25 mL)으로 산성화시켰다. 수성 층을 에틸 아세테이트 (2 x 250 mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 염화수소의 수용액 1 M (100 mL)으로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켰다. 생성된 잔류물을 디클로로메탄 (1 L)에 녹이고, HCl 1 M의 수용액 (100 mL)으로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켜 2-아이오도-4-니트로-벤조산 (15.0 g, 51.2 mmol)을 오렌지색 분말로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 13.8 (br s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.27 (d, 1H), 7.86 (d, 1H).

[2040] 단계 2: (2-아이오도-4-니트로-페닐)메탄올

[2041] THF (70 mL) 중 2-아이오도-4-니트로-벤조산 (5.0 g, 17.06 mmol)의 용액에 THF 중 보란 1 M의 용액 (85 mL, 85.0 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 65℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 메탄올 (200 mL)을 첨가하여 켄칭하였다. 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반한 다음, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 (2-아이오도-4-니트로-페닐)메탄올 (3.38 g, 12.11 mmol)을 황색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 8.54 (d, 1H), 8.29 (dd, 1H), 7.70 (d, 1H), 5.82 (t, 1H), 4.47 (d, 2H).

[2042] 단계 3: (4-아미노-2-아이오도-페닐)메탄올

[2043] 에탄올 (100 mL) 및 물 (25 mL) 중 (2-아이오도-4-니트로-페닐)메탄올 (3.70 g, 13.26 mmol)의 용액에 철 (3.70 g, 66.25 mmol) 및 염화암모늄 (800 mg, 14.96 mmol)을 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 80℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)® 상에서 여과하고, 에탄올로 세척하고, 농축 건조시켰다. 생성된 잔류물을 에틸 아세테이트 (100 mL)에 녹이고, 탄산수소나트륨의 포화 용액 (100 mL)으로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켜 (4-아미노-2-아이오도-페닐)메탄올 (2.48 g, 9.95 mmol)을 황색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 7.02-7.10 (m, 2H), 6.57 (d, 1H), 5.16 (s, 2H), 4.97 (t, 1H), 4.28 (d, 2H).

[2044] 단계 4: 4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-아닐린

[2045] 디클로로메탄 (150 mL) 중 (4-아미노-2-아이오도-페닐)메탄올 (3.51 g, 13.37 mmol)의 용액에 이미다졸 (0.95 g, 13.95 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 0℃로 냉각시킨 다음, 디클로로메탄 (150 mL) 중 tert-부틸-클로로-디메틸-실란 (2.40 mL, 13.85 mmol)의 용액을 15분에 걸쳐 적가하였다. 빙조를 제거하고, 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 반응 혼합물을 메탄올 (20 mL)로 켄칭하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-아닐린 (3.64 g; 10.03 mmol; 75%)을 황색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 7.05 (s, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.55 (d, 1H), 5.24 (s, 2H), 4.46 (s, 2H), 0.88 (s, 9H), 0.06 (s, 6H).

[2046] 단계 5: (2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로판산

[2047] 물 (90 mL) 중 (2S)-2-아미노프로판산 (3.22 g, 36.09 mmol)의 용액에 탄산나트륨 (7.29 g, 68.74 mmol), 및 디메톡시에탄 (90 mL) 중 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) (2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노에이트 (15.0 g, 34.37 mmol)의 용액을 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 혼합물을 염화수소의 수용액 1 M을 사용하여 pH=1까지 산성화시킨 다음, 수성 층을 에틸 아세테이트 (3 x 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켜 조 혼합물을 수득하였으며, 이를 디에틸 에테르 (50 mL)로 연화처리하여 (2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로판산 (11.25 g, 27.41 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6) δ 12.48 (s, 1H), 8.21 (d, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.72-7.79 (m, 2H), 7.28-7.46 (m, 5H), 4.15-4.32 (m, 4H), 3.90 (t, 1H), 1.90-2.02 (m, 1H), 1.28 (d, 3H), 0.86-0.90 (m, 6H).

[2048] 단계 6: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2049] 디클로로메탄 (18 mL) 및 메탄올 (18 mL) 중 (2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로판산 (1.50 g, 3.65 mmol)의 용액에 4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-아닐린 (1.33 g, 3.65 mmol) 및 에틸 2-에톡시-2H-퀴놀린-1-카르복실레이트 (1.36 g, 5.48 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 무색 현탁액을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 농축 건조시킨 후, 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 이어서 C18 크로마토그래피 (물 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (1.18 g, 1.56 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.05 (s, 1H). 8.16-8.24 (m, 2H), 7.88 (d, 2H), 7.71-7.77

(m, 2H), 7.55 (d, 1H), 7.37-7.48 (m, 3H), 7.27-7.37 (m, 3H), 4.56 (s, 2H), 4.38 (t, 1H), 4.18-4.33 (m, 3H), 3.91 (t, 1H), 2.08-2.20 (m, 1H), 1.30 (d, 3H), 0.83-0.95 (m, 15H), 0.06 (s, 6H).

[2050] 단계 7: (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-(벤질옥시메틸)테트라히드로피란-2-온

[2051] DMSO (120 mL) 중 (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-(벤질옥시메틸)테트라히드로피란-2-올 (30.0 g, 55.49 mmol)의 현탁액을 실온에서 30분 동안 교반한 다음 (완전히 가용화될 때까지), 아세트산 무수물 (90 mL)을 실온에서 15분에 걸쳐 적가하였다. 베이지색 용액을 16시간 동안 교반한 다음, 0℃로 냉각시키고, 염화수소 1 M 수용액 (100 mL)을 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반한 다음, 아세트산을 증발시켰다. 생성된 잔류물을 물 (200 mL) 및 에틸 아세테이트 (200 mL)로 희석하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트 (2 x 200 mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 물 (2 x 500 mL), 탄산수소나트륨의 포화 용액 (2 x 500 mL)으로 세척한 다음, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켜 조 혼합물을 수득하였다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-(벤질옥시메틸)테트라히드로피란-2-온 (25.05 g, 46.51 mmol)을 무색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 7.19-7.39 (m, 20H), 4.85 (d, 1H), 4.57-4.72 (m, 5H), 4.46-4.56 (m, 3H), 4.36 (d, 1H), 3.98-4.05 (m, 1H), 3.84-3.92 (m, 1H), 3.65-3.76 (m, 2H).

[2052] 단계 8: (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-(벤질옥시메틸)-2-(2-트리메틸실릴에티닐)테트라히드로피란-2-올

[2053] THF (325 mL) 중 트리메틸실릴아세틸렌 (24 mL, 168.6 mmol)의 용액에 헥산 중 부틸리튬 2.5 M의 용액 (59.41 mL, 148.5 mmol)을 -78℃에서 20분 동안 첨가하였다. 무색 용액을 -78℃에서 45분 동안 교반한 다음, 이어서 0℃에서 45분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 -78℃로 냉각시키고, THF (325 mL) 중 (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-[(벤질옥시메틸)테트라히드로피란-2-온 (25.0 g, 46.41 mmol)의 용액을 45분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 이 온도에서 4시간 동안 교반한 다음, 물 (200 mL)로 켄칭하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트 (2 x 200 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켜 (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-(벤질옥시메틸)-2-(2-트리메틸실릴에티닐)테트라히드로피란-2-올 (29.56 g, 46.41 mmol)을 2종의 부분입체이성질체를 4/6의 비로 함유하는 베이지색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 7.13-7.43 (m, 20H), 4.87-4.99 (m, 1H), 4.65-4.83 (m, 4H), 3.43-3.57 (m, 3H), 3.70-3.85 (m, 2H), 3.55-3.68 (m, 3H), 3.43-3.53 (m, 2H), 0.11-0.22 (m, 9H).

[2054] 단계 9: 트리메틸-[2-[(2S,3S,4R,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-(벤질옥시메틸)테트라히드로피란-2-일]에티닐]실란

[2055] 아세토니트릴 (83 mL) 및 디클로로메탄 (193 mL) 중 (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-(벤질옥시메틸)-2-(2-트리메틸실릴에티닐)테트라히드로피란-2-올 (29.56 g, 46.42 mmol)의 용액에 -15℃에서 20분 내에 아세토니트릴/디클로로메탄의 혼합물 (37 mL/18 mL) 중 트리에틸실란 (44.98 mL, 278.5 mmol)의 용액을 첨가한 다음, 이어서 아세토니트릴 (37 mL) 중 삼플루오린화붕소 디에틸 에테레이트 (23.53 mL, 185.7 mmol)의 용액을 -15℃에서 30분에 걸쳐 첨가하였다. 무색 용액을 동일한 온도에서 5시간 동안 교반한 다음, 물 (500 mL)로 희석하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트 (2 x 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켜 트리메틸-[2-[(2S,3S,4R,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-(벤질옥시메틸)테트라히드로피란-2-일]에티닐]실란 (28.82 g, 46.41 mmol)을 갈색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 7.10-7.44 (m, 20H), 4.93 (d, 1H), 4.67-4.86 (m, 4H), 4.43-4.57 (m, 3H), 4.16-4.28 (m, 1H), 3.42-3.68 (m, 6H), 0.15 (s, 9H).

[2056] 단계 10: (2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-트리벤질옥시-2-(벤질옥시메틸)-6-에티닐-테트라히드로피란

[2057] 메탄올 (1.12 L) 및 디클로로메탄 (240 mL) 중 트리메틸-[2-[(2S,3S,4R,5R,6R)-3,4,5-트리벤질옥시-6-(벤질옥시메틸)테트라히드로피란-2-일]에티닐]실란 (28.80 g, 46.39 mmol)의 용액에 수산화나트륨 1 M의 수용액 (80 mL)을 첨가하였다. 베이지색 용액을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, 염화수소 1 M의 수용액을 사용하여 pH=1이 될 때까지 산성화시키고, 물 (500 mL)로 희석하였다. 메탄올을 증발시킨 다음, 수성 층을 에틸 아세테이트 (2 x 1 L)로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 (2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-트리벤질옥시-2-(벤질옥시메틸)-6-에티닐-테트라히드로피란 (20.00 g, 36.45 mmol)을 무색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 3.42-3.67 (m, 7H), 4.17 (d, 1H), 4.44-4.56 (m, 3H), 4.67-4.86

(m, 4H), 4.90 (d, 1H), 7.15-7.40 (m, 20H).

[2058] 단계 11: (2S,3R,4R,5S,6R)-2-에티닐-6-(히드록시메틸)테트라히드로피란-3,4,5-트리올

[2059] 에탄티올 (400 mL) 중 (2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-트리벤질옥시-2-(벤질옥시메틸)-6-에티닐-테트라히드로피란 (20.00 g, 36.45 mmol)의 용액에 실온에서 5분에 걸쳐 삼플루오린화붕소 디에틸 에테레이트 (147.8 mL, 1166 mmol)를 적가하였다. 베이지색 용액을 실온에서 16시간 동안 교반한 다음, 0℃로 냉각시키고, 차아염소산나트륨의 포화 수용액을 함유하는 기체 트랩을 장착하였다. 탄산수소나트륨의 포화 수용액 (500 mL)을 0℃에서 1시간 내에 적가하였다 (이산화탄소의 형성). 농축 건조시킨 후, 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 (2S,3R,4R,5S,6R)-2-에티닐-6-(히드록시메틸)테트라히드로피란-3,4,5-트리올 (4.05 g, 21.52 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 5.28 (d, 1H), 4.99 (d, 1H), 4.91 (d, 1H), 4.52 (t, 1H), 3.77 (d, 1H), 3.60-3.69 (m, 1H), 3.35-3.43 (m, 1H), 3.32 (s, 1H), 2.97-3.13 (m, 4H).

[2060] 단계 12: 메틸 (2S,3S,4R,5R,6S)-6-에티닐-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2061] 탄산수소나트륨의 포화 수용액 (81 mL) 및 THF (81 mL) 중 (2S,3R,4R,5S,6R)-2-에티닐-6-(히드록시메틸)테트라히드로피란-3,4,5-트리올 (4.05 g, 21.52 mmol)의 용액에 (2,2,6,6-테트라메틸피페리딘-1-일)옥실 (168 mg, 1.08 mmol)을 첨가하였다. 황색 현탁액을 0℃로 냉각시키고, 1,3-디브로모-5,5-디메틸-이미다졸리딘-2,4-디온 (12.31 g, 43.04 mmol)을 30분 내에 조금씩 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 4시간 동안 교반한 다음, 메탄올 (40 mL)을 첨가하여 켄칭하였다. 이 온도에서 30분 동안 교반한 후, 탄산칼륨의 포화 수용액 (10 mL) 및 디클로로메탄 (100 mL)을 첨가하였다. 유기 층을 물 (2 x 200 mL)로 추출한 다음, 합한 수성 층을 염화수소 3M의 수용액을 사용하여 pH= 1이 될 때까지 산성화시키고, 농축 건조시켰다. 생성된 잔류물을 메탄올 (100 mL) 및 염화수소 3M의 수용액 (20 mL)에 녹였다. 혼합물을 농축 건조시키고, 메탄올 (4 x 100 mL)과 수회 공증발시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 세륨 현상제 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (2S,3S,4R,5R,6S)-6-에티닐-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (3.00 g, 13.88 mmol)를 베이지색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 5.46 (d, 1H), 5.32 (d, 1H), 5.18 (d, 1H), 3.93-4.00 (m, 1H), 3.75 (dd, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.40-3.44 (m, 1H), 3.31 (s, 1H), 3.09-3.19 (m, 2H).

[2062] 단계 13: 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-에티닐-테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2063] DMF (37.5 mL) 및 피리딘 (12.5 mL) 중 메틸 (2S,3S,4R,5R,6S)-6-에티닐-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (3.00 g, 13.88 mmol)의 용액에 N,N-디메틸피리딘-4-아민 (84.8 mg, 0.693 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시킨 다음, 아세트산 무수물 (20.0 mL, 213 mmol)을 5분 내에 적가하였다. 무색 용액을 실온에서 3시간 동안 교반한 다음, 1 M 염화수소의 수용액 (200 mL)으로 희석하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트 (2 x 200 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염화수소 1 M의 수용액 (2 x 200 mL)으로 세척한 다음, 이어서 탄산칼륨의 포화 수용액 (200 mL)으로 세척한 다음, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켜 조 혼합물을 수득하였다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 세륨 전개제 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-에티닐-테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (4.60 g, 13.44 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 5.33 (t, 1H), 4.93-5.01 (m, 2H), 4.70 (d, 1H), 4.44 (d, 1H), 3.67 (s, 1H), 3.64 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.94-2.01 (m, 6H).

[2064] 단계 14: 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2065] DMF (7.3 mL) 중 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-에티닐-테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (496 mg, 1.45 mmol)의 용액에 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (730 mg, 0.966 mmol), DIPEA (738 μL, 4.47 mmol), 아이오딘화구리 (18.4 mg, 96.6 mmol) 및 디클로로-비스-(트리페닐포스핀)팔라듐(II) (67.8 mg, 96.6 mmol)을 연속적으로 첨가하였다. 황색 용액을 아르곤으로 플러싱한 다음, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 물 (100 mL)로 희석한 후, 수성 층을 에틸 아세테이트 (2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한

유기 층을 물 (2 x 200 mL), 및 염화암모늄의 포화 수용액 (2 x 200 mL)으로 세척한 다음, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (782 mg, 0.806 mmol)를 황색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.09 (s, 1H). 8.20 (d, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.70-7.78 (m, 3H), 7.55 (d, 1H), 7.32-7.46 (m, 4H), 7.27-7.32 (m, 2H), 5.41 (t, 1H), 4.96-5.14 (m, 3H), 4.67 (s, 2H), 4.51 (d, 1H), 4.36-4.44 (m, 1H), 4.16-4.32 (m, 3H), 3.88-3.95 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 1.94-2.07 (m, 10H), 1.30 (d, 3H), 0.84-0.93 (m, 15H), 0.08 (s, 6H).

[2066] 단계 15: 메틸 (3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2067] THF (15 mL) 중 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (750 mg, 0.773 mmol)의 용액을 아르곤으로 플러싱하였다. 탄소 상 건조 백금 5% (75 mg, 50% w/w)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 H_2로 아르곤으로 연속적으로 플러싱하고, H_2 분위기 (P atm) 하에 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트® 패드를 통해 여과하고, THF로 세척한 다음, 농축 건조시켰다. 완전한 순서 (탄소 상 건조 백금 5% (75 mg, 50% w/w)의 첨가, H_2분위기 (1 bar) 하에 실온에서 16시간 동안 교반 및 셀라이트® 패드를 통한 여과)를 4회 더 수행하였다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (470 mg, 0.483 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.90 (s, 1H), 8.16 (d, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.70-7.78 (m, 2H), 7.37-7.49 (m, 4H), 7.27-7.32 (m, 3H), 7.23 (d, 1H), 5.29 (t, 1H), 4.95 (t, 1H), 4.78 (t, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.34-4.44 (m, 2H), 4.16-4.32 (m, 3H), 3.88-3.95 (m, 1H), 3.72-3.79 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 2.69-2.78 (m, 1H), 2.50-2.60 (m, 1H), 1.92-2.03 (m, 10H), 1.55-1.75 (m, 2H), 1.30 (d, 3H), 0.84-0.93 (m, 15H), 0.05 (s, 6H).

[2068] 단계 16: 메틸 (3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2069] THF (540 μL) 및 물 (540 μL) 중 메틸 (3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (470 mg, 0.483 mmol)의 용액에 아세트산 (1.6 mL, 28.28 mmol)을 첨가하였다. 무색 용액을 실온에서 16시간 동안 교반한 다음, 물 (100 mL)로 희석하였다. 수성층을 에틸 아세테이트 (2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 (2 x 200 mL), 및 탄산수소나트륨의 포화 수용액 (200 mL)으로 세척한 다음, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (354 mg, 0.412 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.87 (s, 1H), 8.16 (d, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.70-7.78 (m, 2H), 7.37-7.50 (m, 4H), 7.27-7.37 (m, 3H), 7.25 (d, 1H), 5.29 (t, 1H), 4.91-4.98 (m, 2H), 4.78 (t, 1H), 4.34-4.44 (m, 4H), 4.16-4.32 (m, 3H), 3.88-3.95 (m, 1H), 3.72-3.79 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 2.64-2.73 (m, 1H), 2.50-2.60 (m, 1H), 1.92-2.03 (m, 10H), 1.69-1.79 (m, 1H), 1.52-1.65 (m, 1H), 1.30 (d, 3H), 0.84-0.93 (m, 6H).

[2070] 단계 17: 메틸 (3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[(4-니트로페녹시)카르보닐옥시메틸]페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2071] THF (7.75 mL) 중 메틸 (3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (310 mg, 0.361 mmol)의 용액에 피리딘 (146 μL, 1.80 mmol) 및 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (182 mg, 0.901 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 백색 현탁액을 실온에서 16시간 동안 교반한 다음, 농축 건조시켜 조 혼합물을 수득하였다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[(4-니트로페녹시)카르보닐옥시메틸]페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (257 mg, 0.251 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.04 (s, 1H), 8.31 (d, 2H), 8.20 (d, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.66-7.78 (m, 2H), 7.56 (d, 2H), 7.28-7.52 (m, 8H), 5.31 (t, 1H), 5.25 (s, 2H), 4.96 (t, 1H), 4.79 (t, 1H), 4.40 (d, 2H), 4.16-4.32 (m, 3H), 3.88-3.95 (m, 1H), 3.74-3.83 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 2.74-2.84 (m, 1H), 2.60-2.71 (m, 1H), 1.90-2.03 (m, 10H), 1.72-1.83 (m, 1H), 1.58-1.71 (m, 1H), 1.30 (d, 3H), 0.82-0.94 (m, 6H). LC-MS: MS (ESI) m/z [M+Na]+ = 1047.6.

[2072] 단계 18: (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[2-[(2SR,3SR,4RS,5SR,6SR)-3,4,5-트리아세톡시-6-메톡시카르보닐-테트라히드로피란-2-일]에틸]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2073] 디메틸포름아미드 (3.0 mL) 중 (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (C3) (118 mg, 0.121 mmol)의 용액에 디메틸포름아미드 (3.0 mL) 중 메틸 (3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[(4-니트로페녹시)카르보닐옥시메틸]페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (130 mg, 0.127 mmol)의 용액 및 DIPEA (60 μL, 0.363 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[2-[(2SR,3SR,4RS,5SR,6SR)-3,4,5-트리아세톡시-6-메톡시카르보닐-테트라히드로피란-2-일]에틸]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산을 디메틸포름아미드 중 용액으로서 수득하고, 이를 후속 단계에 그대로 사용하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1745.6+1747.6.

[2074] 단계 19: (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[2-[(2SR,3SR,4RS,5SR,6SR)-3,4,5-트리아세톡시-6-메톡시카르보닐-테트라히드로피란-2-일]에틸]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2075] 단계 18로부터의 DMF (3.0 mL) 중 2SR,3SR,4RS,5RS,6SR)-6-[2-[(5S$_a$)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]피페라진-1-카르보닐]옥시메틸]페닐]에틸]-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실산 (0.121 mmol)의 용액에 물 (2 ml) 중 메탄올 (2 mL) 및 수산화리튬 1수화물 (64.0 mg, 1.52 mmol)의 용액을 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH4HCO3 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[(5S$_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[2-[(2SR,3SR,4RS,5SR,6SR)-3,4,5-트리아세톡시-6-메톡시카르보닐-테트라히드로피란-2-일]에틸]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (124 mg, 0.0895 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1384.3+1386.3.

[2076] 단계 20: (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세테이트 2-[2-[2-(2-아지도

에톡시)에톡시]에톡시]아세트산

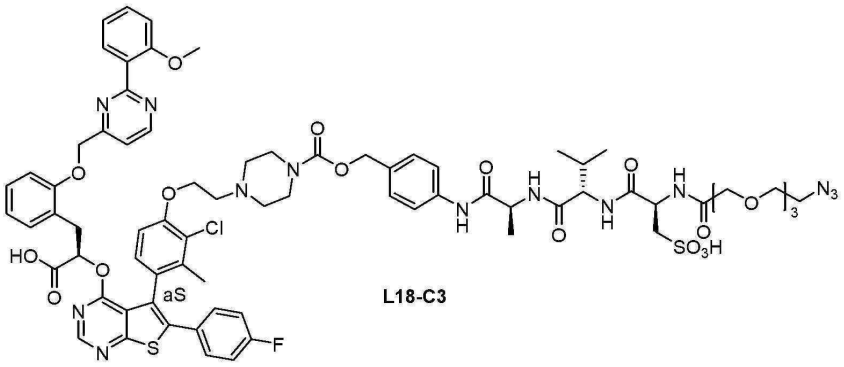
[2077] THF (500 μL) 중 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세트산 (75 mg, 0.342 mmol)의 용액에 THF (500 μL) 중 2,3,4,5,6-펜타플루오로페놀 (75.5 mg, 0.410 mmol)의 용액 및 THF (500 μL) 중 N,N'-디시클로헥실메탄디이민 (84.7 mg, 0.410 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세테이트를 작은 일회용 프릿 상에서의 현탁액의 단순 여과에 의해 THF 용액으로서 수득하였다. 이 용액을 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M-N2+H]+ = 372.3.

[2078] 단계 21: (2SR,3SR,4RS,5RS,6SR)-6-[2-[(5S_a)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]피페라진-1-카르보닐]옥시메틸]페닐]에틸]-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실산 L14-C3

[2079] DMF (500 μL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[2-[(2SR,3SR,4RS,5SR,6SR)-3,4,5-트리아세톡시-6-메톡시카르보닐-테트라히드로피란-2-일]에틸]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (118 mg, 0.085 mmol)의 용액에 단계 20으로부터의 THF 중 (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세테이트 (0.342 mmol)의 용액 및 DIPEA (42.2 μL, 0.256mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 반응의 진행에 이어서 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 L14-C3을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1599.0+1601.2. IR 파장 (cm^{-1}): 3263, 2105, 1652, 1600, 1284/1240/1089, 756. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.98 (s), 8.85 (d, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.38 (d, 1H), 7.93 (d, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.5 (t, 1H), 7.49 (d, 1H), 7.47 (d, 1H), 7.44 (d, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.3 (dd, 2H), 7.22 (d, 1H), 7.2 (t, 2H), 7.19 (t, 1H), 7.13 (d, 1H), 7.08 (t, 1H), 7.02 (t, 1H), 6.95 (d, 1H), 6.65 (t, 1H), 6.11 (d, 1H), 5.43 (d, 1H), 5.27/5.2 (m, 2H), 4.93 (br s, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.35/4.2 (2m, 2H), 4.3 (m, 1H), 3.94 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.58 (m, 10H), 3.57 (m, 1H), 3.51/2.29 (2dd, 2H), 3.35 (m, 2H), 3.25 (m, 4H), 3.2 (m, 1H), 3.2 (m, 1H), 3.06 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.75 (m, 2H), 2.72/2.5 (m, 2H), 2.41 (m, 4 H), 2 (m, 1H), 1.99/1.6 (m, 2H), 1.8 (s, 3H), 1.3 (d, 3H), 0.88/0.82 (2d, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 158.2, 152.7, 131.9, 131.4, 131.4, 131.3, 131.1, 131, 127.8, 120.6, 120.5, 120.1, 116.8, 116.3, 116, 112.6, 112, 111.6, 79.6, 79.6, 78.5, 76.8, 74.2, 73.1, 70.3, 70.3, 69.3, 66.3, 65.1, 56.8, 56.3, 56.1, 52.6, 50.3, 49.4, 43.8, 34.2, 33.5, 31.7, 28, 19.6/18.4, 18.2, 18. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6): δ -112.5. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1599.5724 (1599.5704) (측정치/이론치)

[2080] L18-C3의 제조:

[2081] (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[(2R)-2-[[2-(2-아지도에톡시)아세틸]아미노]-3-술포-프로파노일]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산



[2082]

[2083] 단계 1: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2084] 디클로로메탄 (70 mL) 및 메탄올 (30 mL) 중 (2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로판산 (6.0 g, 14.6 mmol; L14-C3의 제조의 단계 5에 따라 수득함)의 용액에 (4-아미노페닐)메탄올 (2.16 g, 17.5 mmol) 및 에틸 2-에톡시-2H-퀴놀린-1-카르복실레이트 (5.42 g, 21.93 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 적색 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하였다 (수분 후 침전). 반응이 완결된 후, 반응 혼합물을 디에틸 에테르 (70 mL)로 희석하였다. 생성된 침전물을 여과하고, 건조시켜 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (5.16 g, 10.01 mmol)를 베이지색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.91 (s, 1H), 8.15 (d, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.70-7.78 (m, 2H), 7.53 (d, 2H), 7.38-7.46 (m, 3H), 7.29-7.35 (m, 2H), 7.23 (d, 2H), 5.08 (t, 1H), 4.37-4.50 (m, 3H), 4.16-4.34 (m, 3H), 3.91 (t, 1H), 1.92-2.02 (m, 1H), 1.30 (d, 3H), 0.83-0.91 (m, 6H).

[2085] 단계 2: (2S)-2-아미노-N-[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]-3-메틸-부탄아미드

[2086] DMF (120 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (5.16 g, 10.01 mmol)의 용액에 피페리딘 (52 mL, 525mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반한 다음, 피페리딘을 증발시키고, 생성된 용액을 물 (500 mL)로 희석하였다. 생성된 고체를 여과하고, 여과물을 디에틸 에테르 (2 x 500 mL)로 2회 세척하였다. 수성 층을 농축 건조시켜 조 반응 혼합물을 수득하였다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올 (7M 암모니아 함유)의 구배)에 의해 정제하여 (2S)-2-아미노-N-[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]-3-메틸-부탄아미드 (2.02 g, 6.89 mmol)를 베이지색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.0 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.53 (d, 2H), 7.23 (d, 2H), 5.12 (t, 1H), 4.39-4.52 (m, 3H), 2.96-3.02 (m, 1H), 1.86-1.97 (m, 1H), 1.70 (br s, 2H), 1.29 (d, 3H), 0.88 (d, 3H), 0.78 (d, 3H).

[2087] 단계 3: [(2R)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-옥소-3-소디오옥시-프로필]술포닐옥시나트륨

[2088] 물 (127 mL) 중 [(2R)-2-아미노-3-옥소-3-소디오옥시-프로필]술포닐옥시나트륨 1수화물 (3.00 g, 12.98 mmol)의 용액에 탄산나트륨 (4.13 g, 38.94 mmol)을 첨가하였다. 디옥산 (127 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 카르보노클로리데이트 (3.69 g, 14.28 mmol)의 용액을 실온에서 15분 동안 적가하였다. 혼합물을 이 온도에서 4시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 혼합물을 HCl 1 M의 수용액을 사용하여 pH= 7로 중화시키고, 탄산수소나트륨의 포화 수용액 (50 mL)으로 희석하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 중성 방법을 사용하여 C18 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 [(2R)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-옥소-3-소디오옥시-프로필]술포닐옥시나트륨 (4.4 g, 10.11 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 7.88 (d, 2H). 7.70 (d, 2H), 7.39-7.44 (m, 2H), 7.29-7.36 (m, 2H), 6.71 (s, 1H), 3.84-4.25 (m, 4H), 2.73-2.91 (m, 2H).

[2089] 단계 4: [(2R)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-[[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]아미노]-3-옥소-프로필]술포닐옥시나트륨

[2090] DMF (395 mL) 중 (2S)-2-아미노-N-[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]-3-메틸-부탄아미드 (1.19 g, 4.04 mmol)의 용액에 [(2R)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-옥소-3-소디오옥시-프로

필]술포닐옥시나트륨 (4.40 g, 10.11 mmol), DIPEA (6.01 mL, 36.38 mmol) 및 HBTU (3.83 g, 10.11 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 백색 현탁액을 실온에서 22시간 동안 교반한 다음, 0℃로 냉각시켰다. 물 (1.5 L), 탄산나트륨의 포화 용액 (20 mL) 및 고체 염화나트륨으로 희석하여 백색 에멀젼을 수득하였으며, 이를 여과하고, 여과물을 농축 건조시켜 조 혼합물을 수득하였다. 조 생성물을 역상 C18 크로마토그래피 (물 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 [(2R)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-[[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]아미노]-3-옥소-프로필]술포닐옥시나트륨 (936 mg, 1.36 mmol)을 베이지색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.39 (s, 1H). 8.25-8.31 (m, 1H), 8.11-8.17 (m, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.70 (d, 2H), 7.64 (d, 2H), 7.50-7.55 (m, 1H), 7.38-7.46 (m, 2H), 7.29-7.35 (m, 2H), 7.20 (d, 2H), 5.07 (s, 1H), 4.51 (s, 1H), 4.42 (s, 2H), 4.19-4.33 (m, 4H), 4.01 (s, 1H), 2.90-3.10 (m, 2H), 2.08-2.20 (m, 1H), 1.31 (d, 3H), 0.8-0.93 (m, 6H).

[2091] 단계 5: (2R)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-[[(1S)-2-메틸-1-[[(1S)-1-메틸-2-[4-[(4-니트로페녹시)카르보닐옥시메틸]아닐리노]-2-옥소-에틸]카르바모일]프로필]아미노]-3-옥소-프로판-1-술포네이트

[2092] THF (24 mL) 중 [(2R)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-[[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(히드록시메틸)아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]아미노]-3-옥소-프로필]술포닐옥시나트륨 (600 mg, 0.87 mmol)의 현탁액에 DIPEA (432 μL, 2.61 mmol)를 첨가한 다음, 이어서 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (439 mg, 2.17 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 추가의 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (439 mg, 2.17 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 추가로 16시간 동안 교반하였다. 추가의 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (439 mg, 2.17 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 5시간 동안 교반한 후, 혼합물을 농축 건조시키고, 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 이어서 중성 방법을 사용하는 역상 C18 크로마토그래피에 의해 정제하여 (2R)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-[[(1S)-2-메틸-1-[[(1S)-1-메틸-2-[4-[(4-니트로페녹시)카르보닐옥시메틸]아닐리노]-2-옥소-에틸]카르바모일]프로필]아미노]-3-옥소-프로판-1-술포네이트 (303 mg, 0.32 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.52 (s, 1H), 8.25-8.37 (m, 3H), 8.06-8.24 (m, 4H), 7.89 (d, 2H), 7.76 (d, 2H), 7.70 (d, 2H), 7.49-7.61 (m, 3H), 7.35-7.45 (m, 4H), 7.26-7.35 (m, 2H), 5.23 (s, 2H), 4.48 (s, 1H), 4.20-4.33 (m, 4H), 4.01 (s, 1H), 3.57-3.66 (m, 2H), 3.10-3.18 (m, 2H), 2.90-3.10 (m, 2H), 2.08-2.20 (m, 1H), 1.33 (d, 3H), 1.21-1.26 (m, 15H), 0.86-0.92 (m, 6H). UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M-H]-: 830.5.

[2093] 단계 6: (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)부타노일]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2094] DMF (1.5mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세트산 (C3) (128 mg, 0.149 mmol)의 용액에 DMF (1.5mL) 중 (2R)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-[[(1S)-2-메틸-1-[[(1S)-1-메틸-2-[4-[(4-니트로페녹시)카르보닐옥시메틸]아닐리노]-2-옥소-에틸]카르바모일]프로필]아미노]-3-옥소-프로판-1-술포네이트 (150 mg, 0.156 mmol)의 용액 및 DIPEA (77 μl, 0.468 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)부타노일]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산을 디메틸포름아미드 중 용액으로서 수득하였으며, 이를 후속 단계에 이와 같이 사용하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1553.2+1555.3.

[2095] 단계 7: (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노부타노일]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2096] 이전 단계에서 수득한 디메틸포름아미드 (3 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)부타노일]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아

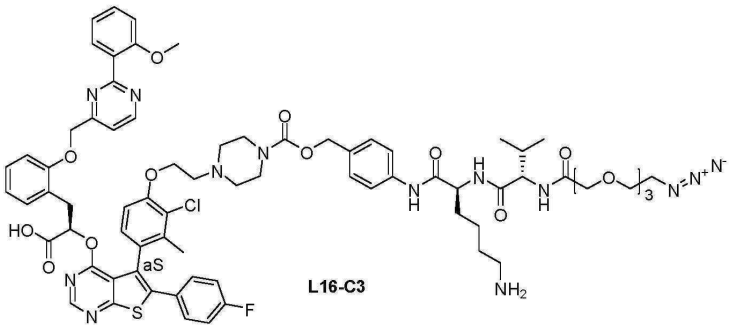
미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (0.156 mmol)의 용액에 피페리딘 (30.6 μL, 0.312 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노부타노일]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (148 mg = 0.111 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1331.4+1333.5.

[2097] 단계 8: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]부타노일]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세트산 L18-C3

[2098] DMF (1.5 mL) 중 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노부타노일]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (148 mg, 0.111 mmol)의 용액에 THF (1 mL) 중 (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세테이트 (0.596 mmol; L14-C3의 제조의 단계 20에 따라 수득함)의 용액 및 DIPEA (74 μL, 0.447 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 반응의 진행에 이어서 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 엑스브리지 칼럼 상의 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 L18-C3 (60 mg, 0.0389mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. IR 파장 (cm^{-1}): 3288, 2101, 1659, 1237,1039, 833,755. ^1H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ (m, 10H), 9.42 (s, 1H), 8.88 (d, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.32 (d, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.12 (d, 1H), 7.71 (m, 1H), 7.7 (d, 2H), 7.54 (dd, 1H), 7.46 (td, 1H), 7.39 (d, 1H), 7.29 (dd, 2H), 7.25 (d, 2H), 7.21 (t, 2H), 7.18 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.13 (t, 1H), 7.04 (t, 1H), 6.99 (d, 1H), 6.71 (t, 1H), 6.22 (d, 1H), 5.47 (m, 1H), 5.23 (AB, 2H), 4.98 (s, 2H), 4.71 (q, 1H), 4.3 (m, 1H), 4.24/4.19 (2m, 2H), 3.97 (dd, 1H), 3.92 (m, 2H), 3.76 (s, 3 H), 3.37 (t, 2H), 3.31 (m, 4H), 3.12/2.97 (2dd, 2H), 2.74 (t, 2H), 2.45 (m, 4H), 2.15 (m, 1H), 1.81 (s, 3H), 1.33 (d, 3H), 0.91 (2d, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 157.9, 152.3, 131.3, 131.2, 131.1, 131, 130.7, 128.9, 128.6, 120.7, 120.4, 119.6, 116.4, 112.7, 112, 111.3, 70.6, 70.3, 69.4, 67.5, 66.3, 59.7, 56.7, 56.1, 53.4, 52.5, 50.8, 50.4, 49.9, 44, 29.9, 19.6, 17.8, 17.6. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6): δ ppm 112.3. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1546.503 (1546.5009) (측정치/이론치).

[2099] L16-C3의 제조:

[2100] (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-6-아미노-2-[[(2S)-2-[[2-(2-아지도에톡시)아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2101] 

[2102] 단계 1: (2S)-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-[[2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]헥산산

[2103] 물 (30 mL) 중 (2S)-2-아미노-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)헥산산 (2.96 g, 12 mmol) 및 탄산수소나트륨 (1.01 g, 12 mmol)의 용액에 디메톡시에탄 (30 mL) 중 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노에이트 (5.0 g, 11.5 mmol)의 용액을 첨가하고, THF (15 mL)를 첨가하여 용해도를 향상시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 염산 1 M의 수용액 (15 mL)을 첨가하고, 수성 층을 에틸 아세테이트 (3 x 75 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켜 조 화합물을 수득하였다. 초음파처리하면서 디클로로메탄/펜탄 중에서 연화처리하여 (2S)-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-[[2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노] 헥산산 (4.9 g, 8.63 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 12.48 (s, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.74 (t, 2H), 7.28-7.44 (m, 6H), 6.73 (s, 1H), 4.10-4.33 (m, 5H), 3.9 (t, 1H), 2.82-2.90 (m, 2H), 1.52-1.73 (m, 2H), 1.34 (s, 9H), 1.22-1.31 (m, 4H), 0.83-0.91 (m, 6H).

[2104] 단계 2: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[1-[[(1S)-5-(tert-부톡시카르보닐아미노)-1-[[4-(히드록시메틸)페닐]카르바모일]펜틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2105] 디클로로메탄 (19 mL) 및 메탄올 (9.5 mL) 중 (2S)-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-[[2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]헥산산 (1.5 g, 2.64 mmol)의 용액에 메탄올 (1.5 mL) 중 (4-아미노페닐)메탄올 (651.0 mg, 5.28 mmol)을 첨가하였다. 이어서, 에틸 2-에톡시-2H-퀴놀린-1-카르복실레이트 (1.31 g, 5.28 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 다음, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[1-[[(1S)-5-(tert-부톡시카르보닐아미노)-1-[[4-(히드록시메틸)페닐]카르바모일]펜틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (544 mg, 0.80 mmol)를 연적색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.93 (s, 1H). 8.01 (d, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.74 (t, 2H), 7.52 (d, 2H), 7.37-7.45 (m, 3H), 7.32 (t, 2H), 7.22 (d, 2H), 6.71 (s, 1H), 5.08 (br s, 1H), 4.43 (d, 2H), 4.21-4.40 (m, 4H), 3.92 (t, 1H), 2.83-2.91 (m, 2H), 1.94-2.01 (m, 1H), 1.55-1.74 (m, 2H), 1.21-1.42 (m, 4H), 1.33 (s, 9H), 0.87 (t, 6H).

[2106] 단계 3: [4-[[(2S)-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-[[2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]헥사노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐) 카르보네이트

[2107] THF (19 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[1-[[(1S)-5-(tert-부톡시카르보닐아미노)-1-[[4-(히드록시메틸)페닐]카르바모일]펜틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (600.0 mg, 0.892 mmol)의 용액에 피리딘 (361 μL, 4.46 mmol)에 이어서 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (448 mg, 2.22 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 다음, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 [4-[[(2S)-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-[[2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]헥사노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐)카르보네이트 (524 mg; 0.62 mmol; 70%)를 연분홍색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.13 (s, 1H), 8.31 (d, 2H), 8.1 (d, 1H), 7.89 (d, 2H), 7.74 (t, 2H), 7.63 (d, 2H), 7.57 (d, 2H), 7.28-7.45 (m, 7H), 6.72 (s, 1H), 5.24 (s, 2H), 4.35-4.42 (m, 1H), 4.27-4.33 (m, 1H), 4.22 (s, 2H), 3.92 (t, 1H), 2.83-2.91 (m, 2H), 1.96-2.00 (m, 1H), 1.58-1.73 (m, 2H), 1.20-1.30 (m, 4H), 1.33 (s, 9H), 0.86 (t, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 171.22, 170.67, 156.1, 155.5, 155.27, 151.92, 145.15, 143.87, 143.75, 140.68, 139.34, 129.43, 129.31, 127.6, 127.03, 125.38, 125.32, 122.58, 120.07, 119.11, 77.28, 70.23, 65.67, 60.11, 54.89, 53.43, 46.67, 31.69, 30.39, 29.22, 28.23, 22.74, 19.19, 18.26. LC-MS: MS (ESI) m/z [M+Na]+ = 837.4.

[2108] 단계 4: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2109] DMF (1.5 mL) 중 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 C3 (166.3 mg, 0.170

mmol)의 용액에 DMF (1.5 mL) 중 [4-[[(2S)-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-[[2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]헥사노일]아미노]페닐]메틸 (4-니트로페닐)카르보네이트 (150 mg, 0.179 mmol)의 용액 및 DIPEA (85 μl, 0.510 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 반응의 진행에 이어서 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH4HCO3 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (134mg, 0.0859mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1559.1+1561.3, [M+Na]+: 1581.0+1583.2. IR 파장 (cm^{-1}): 3309, 1698, 1238, 1162, 757, 744. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.05 (s, 1H), 8.87 (d, 1H), 8.6 (m, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.88 (d, 2H), 7.74 (2d, 2H), 7.64 (m, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.52 (dd, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.4 (t, 2H), 7.35 (d, 1H), 7.3 (t, 2H), 7.3 (dd, 2H), 7.26 (d, 2H), 7.2 (t, 2H), 7.18 (d, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.12 (t, 1H), 7.03 (t, 1H), 6.99 (d, 1H), 6.72 (t, 1H), 6.71 (m, 1H), 6.24 (d, 1H), 5.49 (dd, 1H), 5.23 (m, 2H), 4.97 (s, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.29/4.23 (m, 2H), 4.22 (m, 1H), 4.2 (m, 2H), 3.92 (dd, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.29 (m, 4H), 3.29/2.5 (2dd, 2H), 2.87 (m, 2H), 2.74 (t, 2H), 2.45 (m, 4H), 1.99 (m, 1H), 1.82 (s, 3 H), 1.68/1.6 (2m, 2H), 1.36/1.28 (2m, 4H), 1.32 (s, 9H), 0.86 (2d, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 158, 131.4, 131.2, 131.2, 131, 130.8, 128.9, 128.5, 127.9, 127.5, 125.6, 120.8, 120.5, 120.4, 119.3, 116, 115.9, 112.4, 112.2, 111.2, 74.1, 69.2, 67.9, 66.7, 66.2, 60.6, 56.6, 56.2, 53.8, 53, 47.1, 43.7, 40, 32.6, 32.2, 30.6, 29.8/23.2, 28.5, 18.8, 18.1. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6): δ -112.

[2110] 단계 5: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2111] 디메틸포름아미드 (3 mL) 중 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (134 mg, 0.0859 mmol)의 용액에 피페리딘 (17 μL, 0.172 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (88 mg, 0.0658 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1337.4+1339.4, [M+Na]+ = 1359.4+1361.4. IR 파장 (cm^{-1}): 3307, 1683, 1290, 1238, 1162, 835, 754. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6) δ ppm 10.23 (s, 1H), 8.88 (d, 1H), 8.53 (m, 1H), 8.47 (br, 1H), 7.86 (d, 1H), 7.58 (d, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.48 (d, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.27 (dd, 2H), 7.25 (d, 2H), 7.19 (t, 2H), 7.18 (d, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.08 (t, 1H), 7.03 (t, 1H), 6.96 (t, 1H), 6.72 (t, 1H), 6.67 (t, 1H), 6.14 (d, 1H), 5.42 (d, 1H), 5.21 (m, 2H), 4.97 (s, 2H), 4.4 (m, 1H), 4.21 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.42/2.35 (m, 2H), 3.29 (m, 4H), 3.24 (m, 1H), 2.87 (q, 2H), 2.72 (t, 2H), 2.43 (m, 4H),1.99 (m, 1H), 1.78 (s, 3H), 1.7/1.61 (2m, 2H), 1.36 (m, 2H), 1.34 (s, 9H), 1.26 (m, 2H), 0.89/0.82 (2d, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ ppm 158.4, 131.3, 131.2, 131.1, 131, 128.4, 128, 120.8, 120.6, 120.4, 119.7, 116.1, 115.9, 112.7, 111.7, 111.2, 76.2, 69.2, 67.4, 66.3, 59.2, 56.6, 56.3, 53.6, 53.1, 43.8, 40.1, 33.2, 32.4, 31.3, 29.3, 28.8, 22.9, 19.7/17.5, 17.9. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6): δ ppm -112.4.

[2112] 단계 6: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메

톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

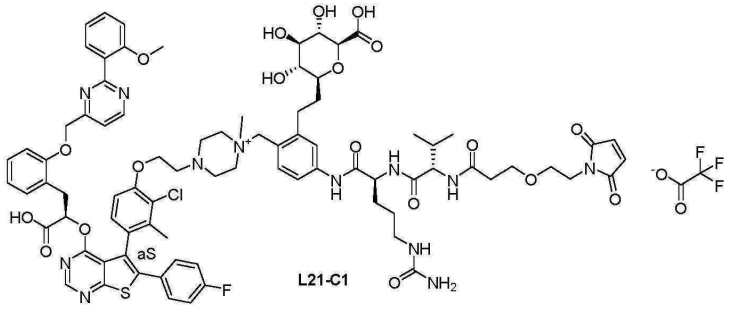
[2113] DMF (500 μL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (82 mg, 0.0613 mmol)의 용액에 THF 중 (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세테이트 (0.245 mmol; L14-C3의 제조의 단계 20에 따라 수득함)의 용액 및 DIPEA (30.4 μL, 0.184 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (60 mg, 0.0386 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1552.2+1554.2, [M+Na]+ = 1574.1+1576.3.

[2114] 단계 7: (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-6-아미노-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 L16-C3

[2115] 디클로로메탄 (3 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-6-(tert-부톡시카르보닐아미노)헥사노일]아미노]페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (23 mg, 0.0148 mmol)의 용액에 2,2,2-트리플루오로아세트산 (400 μl, 4.57 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 엑스브리지 칼럼 상의 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 L16-C3 (5 mg, 0.00344 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1552.4+1554.5, [M+Na]+ = 1574.4+1576.4. IR 파장 (cm^{-1}): 3250, 2250-3500, 2102, 1660, 1288, 1238, 1121, 833, 755. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ ppm 10.24 (s, 1H), 8.85 (d, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.49 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.6 (d, 2H), 7.55 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.5 (d, 1H), 7.46 (t, 1H), 7.26 (d, 2H), 7.25 (dd, 2H), 7.18 (t, 2H), 7.17 (d, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.05 (t, 1H), 7.02 (t, 1H), 6.89 (d, 1H), 6.6 (t, 1H), 6.05 (d, 1H), 5.32 (d, 1H), 5.21/5.15 (m, 2H), 5.02/4.96 (m, 2H), 4.36 (q, 1H), 4.31 (dd, 1H), 4.2 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.77 (s, 3 H), 3.58 (m, 10 H), 3.46/2.28 (d+t, 2H), 3.34 (t, 2H), 3.29 (m, 4 H), 2.8 (m, 2H), 2.67 (t, 2H), 2.43 (m, 4 H), 2.01 (m, 1H), 1.75 (s, 3 H), 1.69/1.6 (2m, 2H), 1.51 (m, 2H), 1.31 (m, 2H), 0.86/0.8 (2d, 6 H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ ppm 157.9, 153.7, 131.4, 131.4, 131.3, 131.1, 130.9, 129.3, 127.6, 120.9, 120.4, 119.8, 116.2, 116.1, 112.6, 111.8, 111.8, 78.1, 70.5, 70.4, 69.3, 66.6, 66.6, 56.9, 56.5, 56.3, 54, 52.3, 50.4, 44, 39, 33.8, 32.2, 31.8, 28.2, 23.1, 19.7/18.1, 18.3. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6): δ ppm -112.6. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1452.5661 (1452.5648) (측정치/이론치).

[2116] L21-C1의 제조:

[2117] (2S,3S,4R,5R,6S)-6-[2-[2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]에틸]-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실산;2,2,2-트리플루오로아세테이트



[2118]

[2119] 단계 1: tert-부틸-[(2-아이오도-4-니트로-페닐)메톡시]-디메틸-실란

[2120] 디클로로메탄 (300 mL) 중 (2-아이오도-4-니트로-페닐)메탄올 (172 g, 61.64 mmol; L14-C3의 제조의 단계 2에 따라 수득함)의 용액에 이미다졸 (5.04 g, 73.97 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 0℃로 냉각시킨 다음, 디클로로메탄 (300 mL) 중 tert-부틸-클로로-디메틸-실란 (11.15 g, 73.97 mmol)의 용액을 15분 내에 적가하였다. 빙조를 제거하고, 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 반응 혼합물을 메탄올 (20 mL)로 켄칭하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 tert-부틸-[(2-아이오도-4-니트로-페닐)메톡시]-디메틸-실란 (19.65 g, 49.96 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 8.57 (s, 1H), 8.31 (d, 1H), 7.66 (d, 1H), 4.67 (s, 2H), 0.92 (s, 9H), 0.14 (s, 6H).

[2121] 단계 2: 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-5-니트로-페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2122] DMF (55 mL) 중 tert-부틸-[(2-아이오도-4-니트로-페닐)메톡시]-디메틸-실란 화합물 (3.0 g, 7.63 mmol)의 용액에 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-에티닐-테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (3.39 g, 9.92 mmol; L14-C3의 제조의 단계 13에 따라 수득함), DIPEA (5.80 mL, 35.09 mmol), 아이오딘화구리 (145 mg, 0.763 mmol) 및 디클로로-비스-(트리페닐포스핀)팔라듐(II) (535 mg, 0.763 mmol)을 연속적으로 첨가하였다. 황색 용액을 아르곤으로 플러싱하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 물 (300 mL)로 희석한 후, 수성 층을 에틸 아세테이트 (2 x 300 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 (2 x 300 mL)로 세척한 다음, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-5-니트로-페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (4.01 g, 6.60 mmol)를 베이지색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 8.32 (dd, 1H), 8.19 (d, 1H), 7.75 (d, 1H), 5.45 (t, 1H), 5.16 (t, 1H), 5.02-5.07 (m, 2H), 4.82 (s, 2H), 4.55 (d, 1H), 3.65 (s, 3H), 1.98-2.07 (m, 9H), 0.92 (m,9H), 0.14 (s, 6H).

[2123] 단계 3: 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-(히드록시메틸)-5-니트로-페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2124] THF (48 mL) 및 물 (48 mL) 중 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-5-니트로-페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (4.01 g, 6.60 mmol)의 용액에 아세트산 (193 mL, 3.36 mol)을 첨가하였다. 무색 용액을 실온에서 2일 동안 교반한 다음, 물 (300 mL)로 희석하였다. 수성 층을 디클로로메탄 (2 x 300 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 (2 x 300 mL), 및 탄산수소나트륨의 포화 수용액 (400 mL)으로 세척한 다음, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-(히드록시메틸)-5-니트로-페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (2.67 g, 5.41 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 8.29 (dd, 1H), 8.15 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 5.68 (t, 1H), 5.45 (t, 1H), 5.16 (t, 1H), 5.02-5.07 (m, 2H), 4.62 (d, 2H), 4.55 (d, 1H), 3.65 (s, 3H), 1.98-2.07 (m, 9H).

[2125] 단계 4: 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-아미노-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2126] THF (59 mL) 중 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-(히드록시메틸)-5-니트로-페닐]에티닐]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (2.67 g, 5.41 mmol)의 용액을 아르곤으로 플러싱하였다. 5% 건조 탄소 상 백금 (1.34 g, 50% w/w)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 H_2로 아르곤으로 연속적으로 플러싱하고, H_2 분위기 (P atm) 하에 실온에서 2일 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트® 패드를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트/메탄올 9/1의 용액 (500 mL)으로 세척한 다음, 농축 건조시켰다. 모든 순서 (탄소 상 백금 5% 건조물 (1.34 g, 50% w/w)의 첨가, H_2 (P atm) 하에 실온에서 16시간 동안 교반 및 셀라이트® 패드를 통한 여과)를 반복하여 완전한 전환을 허용하였다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (시클로헥산 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-아미노-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (1.12 g, 2.40 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 6.93 (d, 1H). 6.67-6.33 (m, 2H), 5.30 (t, 1H), 4.96 (t, 1H), 4.88 (s, 2H), 4.81 (t, 1H), 4.61 (t, 1H), 4.39 (d, 1H), 4.29-4.24 (m, 2H), 3.78-3.72 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 2.65-2.54 (m, 2H), 2.07-1.98 (m, 9H), 1.79-1.68 (m, 1H), 1.63-1.52 (m, 1H).

[2127] 단계 5: 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-(tert-부톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2128] DMF (21 mL) 중 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-아미노-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (1.00 g, 2.14 mmol)의 용액에 (2S)-2-(tert-부톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜탄산 (589 mg, 2.14 mmol), DIPEA (707 μl, 4.28 mmol) 및 HBTU (1.22 g, 3.21 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 72시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 혼합물을 물 (100 mL)로 희석하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-(tert-부톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (1.05 g, 1.45 mmol)를 베이지색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.82 (s, 1H), 7.35-7.42 (m, 2H), 7.24 (d, 1H), 6.95 (d, 1H), 5.94 (t, 1H), 5.37 (s, 2H), 5.30 (t, 1H), 4.91-4.99 (m, 2H), 4.79 (t, 1H), 4.36-4.42 (m, 3H), 4.01-4.08 (m, 1H), 3.76 (t, 1H), 3.65 (s, 3H), 2.95-3.04 (m, 2H), 2.54-2.65 (m, 2H), 1.98-2.07 (m, 9H), 1.68-1.79 (m, 1H), 1.49-1.63 (m, 3H), 1.30-1.42 (m, 11H).

[2129] 단계 6: 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2130] 디클로로메탄 (7.5 mL) 중 화합물 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-(tert-부톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (950 mg, 1.31 mmol)의 용액에 0℃에서 트리플루오로아세트산 (1.9 mL, 25.6 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 반응 혼합물을 농축 건조시키고, 톨루엔 (2 x 50 mL)과 공증발시켜 조 화합물을 수득하였다.

[2131] 이러한 조 물질의 DMF (13 mL)의 용액에 (2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부탄산 (467 mg, 1.38 mmol), DIPEA (867 μl, 5.24 mmol) 및 HBTU (845 mg, 2.23 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 탄산수소염의 포화 수용액 (20 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 물 (100 mL)로 희석하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올의 구배)에 이어서 중성 방법을 사용하는 역상 C18 크로마토그래피에 의해 정제하여 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (680 mg, 0.720 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 946.3. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 9.90 (s, 1H). 8.07 (d, 2H), 7.89 (d, 2H), 7.74 (t, 2H), 7.44-7.38 (m, 3H), 7.36-7.28 (m, 3H), 7.24 (d, 1H), 5.94 (t, 1H), 5.37 (s, 2H), 5.30 (t, 1H), 4.99-4.92 (m, 2H), 4.79 (t, 1H), 4.42-4.36 (m, 4H), 4.32-4.19 (m, 3H), 3.94-3.90 (m, 1H), 3.76 (t, 1H), 3.65 (s, 3H), 2.99-2.94 (m, 2H), 2.65-2.54 (m, 2H), 2.07-1.98 (m, 10H), 1.70-1.55 (m, 4H), 1.46-1.36 (m, 2H), 0.89-0.84 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ 171.19, 170.33, 169.58, 169.45, 169.27, 167.77, 158.81, 156.12, 143.89, 143.76, 140.69, 139.48, 137.54, 134.88, 128.44, 127.62,

127.06, 125.35, 120.08, 119.42, 116.65, 75.78, 74.61, 72.65, 71.20, 69.49, 65.68, 60.49, 60.10, 53.14, 52.40, 46.68, 32.32, 30.43, 29.54, 27.19, 26.77, 20.39, 20.34, 20.24, 19.22, 18.25.

[2132] 단계 7: 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-(브로모메틸)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트

[2133] THF (8.2 mL) 중 화합물 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-(히드록시메틸)페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (154 mg, 0.163 mmol)의 용액에 페닐포스핀 (85.4 mg트리, 0.326 mmol) 및 1-브로모피롤리딘-2,5-디온 (58.0 mg, 0.326 mmol)을 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다: 분취물을 상응하는 메틸 에테르의 형성 후에 과량의 MeOH로 처리하였다. 예상된 보마이드 유도체는 UPLC-MS 조건에서 안정하였다. 5시간 후, 트리페닐포스핀 (85.4 mg, 0.326 mmol) 및 1-브로모피롤리딘-2,5-디온 (58.0 mg, 0.326 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하였다. 수득된 조 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-(브로모메틸)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트를 이와 같이 후속 단계에 사용하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+Ome-Br+H]+ = 960.7.

[2134] 단계 8: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[2-[(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-메톡시카르보닐-테트라히드로피란-2-일]에틸]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2135] 이전 단계 (단계 7)로부터의 DMF 중 메틸 (2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-[2-[2-(브로모메틸)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]에틸]테트라히드로피란-2-카르복실레이트 (0.167mmol)의 용액에 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (C1) (143 mg, 0.163 mmol) 및 DIPEA (114 μL, 0.652 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다 (분취물을 과량의 MeOH로 처리함). 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[2-[(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-메톡시카르보닐-테트라히드로피란-2-일]에틸]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (21.3 mg, 0.0111 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1802.9+1804.9. IR 파장 (cm^{-1}): 1755, 1672, 1226,1201,1130. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6) δ ppm 13.3 (br s, 1H), 10.2 (s, 1H), 8.88 (d, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.14 (d, 1H), 7.88 (d, 2H), 7.73 (dd, 2H), 7.65 (d, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.54 (br s, 1H), 7.51 (dd, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.4 (t, 2H), 7.38 (m, 1H), 7.32 (t, 2H), 7.3 (dd, 2H), 7.2 (d, 1H), 7.2 (t, 2H), 7.15 (t, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.03 (t, 1H), 7.01 (dd, 1H), 6.72 (t, 1H), 6.22 (d,1H), 6 (br s, 1H), 5.51 (dd, 1H), 5.34 (t, 1H), 5.3 (br s, 2H), 5.27/5.21 (m, 2H), 4.98 (t, 1H), 4.85 (t, 1H), 4.57/4.49 (m, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.35 (d, 1H), 4.27 (m, 2H), 4.26 (m, 2H), 4.23 (m, 1H), 3.93 (t, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.71 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.4 (m, 4H), 3.29/2.51 (2dd, 2H), 3.13/2.94 (2m, 4H), 3 (m, 2H), 2.98 (m, 2H), 2.93 (br s, 3H), 2.81 (m, 2H), 1.99/1.95 (3s, 9H), 1.98 (m, 1H), 1.84 (s, 3H), 1.77/1.59 (2m, 2H), 1.64 (2m, 2H), 1.41 (2m, 2H), 0.88/0.85 (2d, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, dmso-d6): δ ppm 158.1, 152.9, 135.6, 131.5, 131.4, 131.3, 131.2, 131, 128.9, 128.1, 127.5, 125.7, 120.9, 120.6, 120.4, 120.3, 117, 116, 116, 112.8, 112.2, 111.2, 75.6, 74.9, 73.8, 72.9, 71.4, 69.6, 69.4, 67.5, 66.1, 60.4, 58.3, 56, 55.4, 53.9, 52.8, 47.2, 46.2, 44.3, 39, 32.8, 32.8, 31, 29.6, 27.4, 27.2, 21.1, 19.5/18.7, 18.1. ^{19}F NMR (376 MHz, dmso-d6) δ ppm -74, -112.

[2136] 단계 9: (2S,3S,4R,5R,6S)-6-[2-[($5S_a$)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타

노일]아미노]-2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]페닐]에틸]-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실산

[2137] 메탄올 (6.0 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[2-[(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-메톡시카르보닐-테트라히드로피란-2-일]에틸]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (21.3 mg, 0.0111 mmol)의 용액에 물 (4 ml) 중 수산화리튬 1수화물 (4.66 mg µL, 0.111 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 60시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 (2S,3S,4R,5R,6S)-6-[2-[(5S_a)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]페닐]에틸]-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실산 (47.8 mg, 0.029 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1440.6+1442.6.

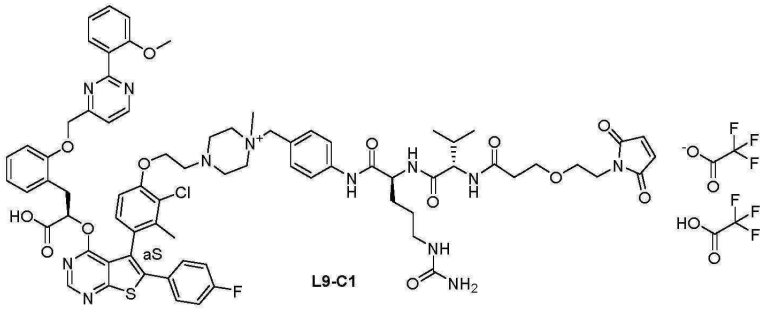
[2138] 단계 10: (2S,3S,4R,5R,6S)-6-[2-[2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]에틸]-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트 L21-C1

[2139] DMF (1.5 mL) 중 (2S,3S,4R,5R,6S)-6-[2-[(5S_a)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]페닐]에틸]-3,4,5-트리히드록시-테트라히드로피란-2-카르복실산 (47.1 mg, 0.0282 mmol)의 용액에 DMF (500 µL) 중 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노에이트 (브로드팜으로부터 구입함, 13.1 mg, 0.0423 mmol)의 용액 및 DIPEA (17.2 µL, 0.0988 mmol)를 연속적으로 첨가하였다.

[2140] 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L21-C1 (65 mg, 0.0310 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1635.6093 (1635.6068) (측정치/이론치).

[2141] L9-C1의 제조:

[2142] (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트;2,2,2-트리플루오로아세트산



[2143]

[2144] 단계 1: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(브로모메틸)페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2145] THF (3.8 ml) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(브로모메틸)페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (150 mg, 0.249 mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. 0℃에서 트리브로모포스판 (디클로로메탄 중 1 M) (374 μL, 0.249 mmol)을 적가하였다. 반응물을 0℃에서 5분 및 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다 (분취물을 과량의 MeOH로 처리함). 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 (3 ml)로 희석하고, 탄산수소나트륨의 포화 수용액 (1x 6ml)으로 세척하였다. 유기층을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하였다. DMF (10 ml)를 첨가하고, 에틸 아세테이트 및 THF를 증발시켰다. 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(브로모메틸)페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트의 수득된 용액을 후속 단계에서 그와 같이 사용하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+Na]+ = 686.5+688.6.

[2146] 단계 2: (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2147] 이전 단계 (단계 1)로부터의 DMF 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(브로모메틸)페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (0.249 mmol)의 용액에 DMF (10 ml), (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (C1) (218 mg, 0.249 mmol) 및 DIPEA (130 μL, 0.748 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다 (분취물을 과량의 MeOH로 처리함). DMF 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산의 수득된 용액을 후속 단계에서 그와 같이 사용하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+Na]+ = 1458.7+1460.7.

[2148] 단계 3: (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 비스 2,2,2-트리플루오로아세트산

[2149] 이전 단계 (단계 2)에서 수득된 디메틸포름아미드 (3 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (0.249 mmol)의 용액에 피페리딘 (49.3 μL, 0.499 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 비스 2,2,2-트리플루오로아세트산 (31.2 mg = 0.0213 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+Na]+ = 1236.7+1238.7.

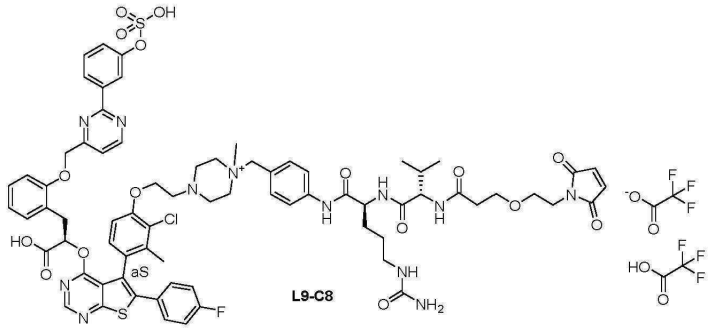
[2150] 단계 4: (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 2,2,2-트리플루오로아세트산 L9-C1

[2151] DMF (1.5 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (31.2 mg, 0.0213 mmol)의 용액에 DMF (500 μL) 중 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로

파노에이트 (23.8 mg, 0.0768 mmol)의 용액 및 DIPEA (31.2 μL, 0.179 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L9-C1 (6 mg, 0.00303 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. HR-ESI+: m/z [M]+ = 1431.5437 (1431.5433) (측정치/이론치).

[2152] L9-C8의 제조:

[2153] (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-술포옥시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트;2,2,2-트리플루오로아세트산



[2154]

[2155] 단계 1: (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-술포옥시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2156] DMF (3 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(브로모메틸)페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (0.0230 mmol; L9-C1의 제조의 단계 1에 따라 수득함)의 용액에 DMF (5 ml), 암모늄; [3-[4-[[2-[(2R)-2-카르복시-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-에틸]페녹시]메틸]피리미딘-2-일]페닐] 술페이트 (C8) (22 mg, 0.0230 mmol) 및 DIPEA (12 μL, 0.069 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다 (분취물을 과량의 MeOH로 처리함). DMF 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산의 수득된 용액을 후속 단계에 사용하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M-SO_3H]+ = 1444.8+1446.7.

[2157] 단계 2: (2R)-2-[(5S_a)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-술포옥시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 비스 2,2,2-트리플루오로아세트산

[2158] 이전 단계 (단계 1)에서 수득된 디메틸포름아미드 (3 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-술포옥시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (0.0230 mmol)의 용액에 피페리딘 (9 μL, 0.0920 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 [3-[4-[[2-[(2R)-2-[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페

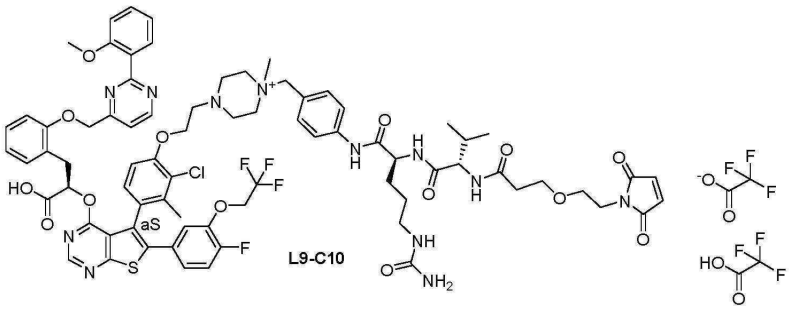
닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-2-카르복시-에틸]페녹시]메틸]피리미딘-2-일]페닐] 술페이트; 비스 2,2,2-트리플루오로아세트산 (10.0 mg = 0.00633 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M-SO_3]+ = 1224.12.

[2159] 단계 3: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-술포옥시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트;2,2,2-트리플루오로아세트산

[2160] DMF (1 mL) 중 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-술포옥시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (10 mg, 0.00653 mmol)의 용액에 DMF (500 μL) 중 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노에이트 (3.1 mg, 0.00980 mmol)의 용액 및 DIPEA (4 μL, 0.0229 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 추적하였다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L9-C8 (6 mg, 0.00401 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+Na]+ = 1519.5+1521.2, [M+H-SO3]+ 1417.7+1419.6. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1497.486 (1497.4845) (측정치/이론치).

[2161] L9-C10의 제조:

[2162] (2R)-2-[($5S_a$)5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-[4-플루오로-3-(2,2,2-트리플루오로에톡시)페닐]티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 2,2,2-트리플루오로아세트산

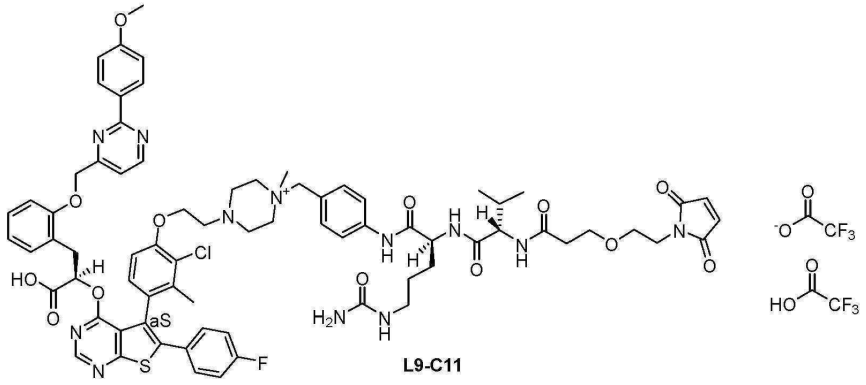


[2163]

[2164] 절차는 L9-C9의 합성 방법에서와 같고, 단계 3에서 사용된 C9를 (2R)-2-[(($5S_a$)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-[4-플루오로-3-(2,2,2-트리플루오로에톡시)페닐]티에노[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시]-3-(2-{[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산 C10으로 대체하고, 정제를 위해 TFA 방법을 사용하였다. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1529.543 / 1529.5413 (측정치/이론치).

[2165] L9-C11의 제조:

[2166] (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(4-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산; 2,2,2-트리플루오로아세테이트; 2,2,2-트리플루오로아세트산.

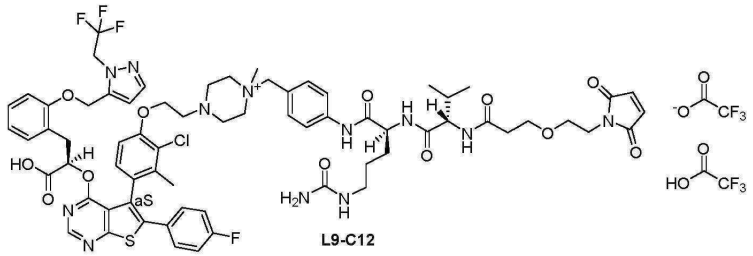


[2167]

[2168] 절차는 L9-C9의 합성 방법에서와 같고, 단계 3에서 사용된 C9를 (2R)-2-{[(5S_a)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(4-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산 C11로 대체하고, 정제를 위해 TFA 방법을 사용하였다. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1431.5442 / 14.31.5433 (측정치/이론치).

[2169] L9-C12의 제조:

[2170] (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2,2,2-트리플루오로에틸)피라졸-3-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트;2,2,2-트리플루오로아세트산

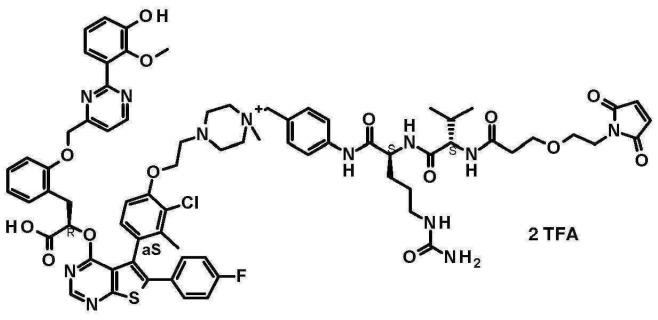


[2171]

[2172] 절차는 L9-C9의 합성 방법에서와 같고, 단계 3에서 사용된 C9를 (2R)-2-{[(5S_a)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸-5-일]메톡시}페닐)프로판산 C12로 대체하고, 정제를 위해 TFA 방법을 사용하였다. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1395.5048 / 1395;5045 (측정치/이론치).

[2173] L9-C14의 제조:

[2174] (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-히드록시-2-메톡시-페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트



[2175]

[2176] 단계 1: (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시-3-술포옥시-페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

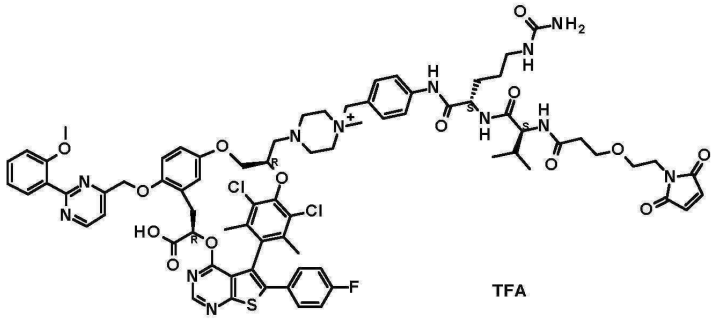
[2177] 500 mg 에틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐]프로파노에이트 (0.60 mmol, WO2016/207216 제조예 1) 및 202 mg (3-히드록시-2-메톡시-페닐)보론산 (1.20 mmol)을 9 mL 1,4-디옥산 중에 용해시킨 다음, 42 mg $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (0.06 mmol), 588 mg Cs_2CO_3 (1.80 mmol) 및 9 mL 물을 첨가하고, 혼합물을 N_2 분위기 하에 70℃에서 완전한 전환까지 교반하였다. 이어서, 이를 물로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 에스테르를 플래쉬 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 헵탄, EtOAc, 및 MeOH 중 0.7 M NH_3 용액을 사용하여 정제하여 부분입체이성질체의 혼합물을 수득하였다. 이어서, 이를 23.6 mL 피리딘에 용해시키고, 0.97 mL SO_3x피리미딘 (5.98 mmol)을 첨가하고, 완전한 전환까지 혼합물을 70℃에서 교반하였다. 이어서, 이를 감압 하에 농축시키고, 2 mL 디옥산 중에 용해시킨 다음, 200 mg KOH (3.57 mmol) 및 1 mL 물을 첨가하였다. 혼합물을 완전히 가수분해될 때까지 실온에서 교반하였다. 이어서, 이를 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, 용리액으로서 25 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용-RP-HPLC 상에 직접 주입하였다. 이후에 용리된 부분입체이성질체를 표제의 생성물로서 수집하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ: 8.92 (d, 1H), 8.63 (s, 1H), 7.68 (dd, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.30 (dd, 2H), 7.29 (d, 1H), 7.20 (t, 2H), 7.16 (t, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.10 (t, 1H), 7.02 (d, 1H), 6.73 (t, 1H), 6.38 (d, 1H), 5.50 (dd, 1H), 5.29/5.23 (d +d, 2H), 4.21/4.16 (m +m, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.25/2.55 (dd+dd, 2H), 3.18-2.75 (m, 10H), 2.65 (brs, 3H), 1.82 (s, 3H). HRMS $C_{47}H_{44}N_6O_{10}S_2ClF$에 대한 계산치: 970.2233; 실측치 971.2297 (M+H).

[2178] 단계 2: (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-히드록시-2-메톡시-페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트 L9-C14

[2179] DMF (309 μL) 중 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시-3-술포옥시-페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (20.0 mg; 0.0206 mmol)의 용액에 (2S)-N-[4-(클로로메틸)페닐]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜탄아미드 (17.5 mgL; 0.0206 mmol), DIPEA (10.8 μL; 0.0618 mmol) 및 TBAI (1 mg; 0.0027 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 70℃에서 18시간 동안 교반하였다. 조 생성물을 C_{18} 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L9-C14 (10.5 mg; 0.00725 mmol)를 백색 분말로서 수득하였다. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1448.5437 / 1448.5466 [측정치/이론치].

[2180] L9-P15의 제조:

[2181] (11R,20R)-23,26-디클로로-20-[[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]메틸]-3-(4-플루오로페닐)-14-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]-24,25-디메틸-10,18,21-트리옥사-4-티아-6,8-디아자펜타시클로[20.2.2.12,5.113,17.09,28]옥타코사-1(24),2,5(28),6,8,13,15,17(27),22,25-데카엔-11-카르복실산;2,2,2-트리플루오로아세테이트

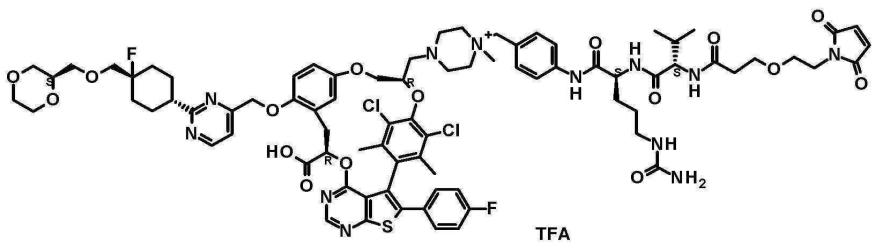


[2182]

[2183] DMF (630 μL) 중 (11R,20R)-23,26-디클로로-3-(4-플루오로페닐)-14-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]-24,25-디메틸-20-[(4-메틸피페라진-1-일)메틸]-10,18,21-트리옥사-4-티아-6,8-디아자펜타시클로[20.2.2.12,5.113,17.09,28]옥타코사-1(25),2,5(28),6,8,13,15,17(27),22(26),23-데카엔-11-카르복실산 P15 (WO 2019/035914에 따라 수득함; 10.0 mg; 0.0105 mmol)의 용액에 (2S)-N-[4-(브로모메틸)페닐]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜탄아미드 (10.0 mg; 0.0158 mmol), DIPEA (5.5 μL; 0.0315 mmol) 및 TBAI (0.5mg, 0.0010mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 0.5시간 동안 교반하였다. 조 생성물을 C_{18} 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L9-P15 (11.9 mg, 0.00733 mmol)를 백색 분말로서 수득하였다. HR-ESI+: m/z $[M-CF_3CO_2]+$ = 1507.5183 / 1507.5155

[2184] L9-P16의 제조:

[2185] (11R,20R)-23,26-디클로로-14-[[2-[4-[[(2S)-1,4-디옥산-2-일]메톡시메틸]-4-플루오로-시클로헥실]피리미딘-4-일]메톡시]-20-[[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]메틸]-3-(4-플루오로페닐)-24,25-디메틸-10,18,21-트리옥사-4-티아-6,8-디아자펜타시클로[20.2.2.12,5.113,17.09,28]옥타코사-1(25),2,5(28),6,8,13,15,17(27),22(26),23-데카엔-11-카르복실산;2,2,2-트리플루오로아세테이트



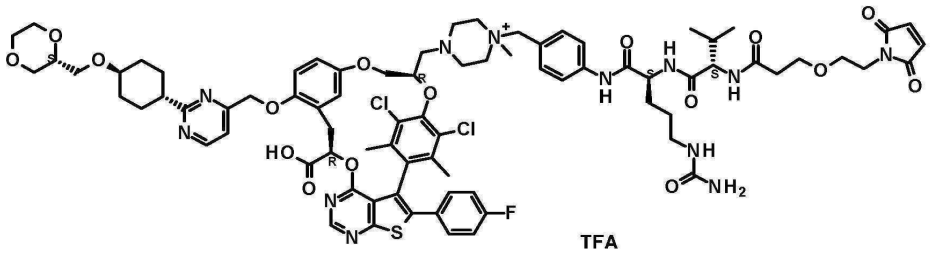
[2186]

[2187] DMF (1 mL) 중 (11R,20R)-23,26-디클로로-14-[[2-[4-[[(2S)-1,4-디옥산-2-일]메톡시메틸]-4-플루오로-시클로헥실]피리미딘-4-일]메톡시]-3-(4-플루오로페닐)-24,25-디메틸-20-[(4-메틸피페라진-1-일)메틸]-10,18,21-트리옥사-4-티아-6,8-디아자펜타시클로[20.2.2.12,5.113,17.09,28]옥타코사-1(24),2,5(28),6,8,13,15,17(27),22,25-데카엔-11-카르복실산 P16 (WO 2019/035911에 따라 수득함; 14.7 mg; 0.0137 mmol)의 용액에 (2S)-N-[4-(브로모메틸)페닐]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜탄아미드 (13.1 mg; 0.0205 mmol) 및 DIPEA (7.1 μL; 0.0410 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 조 생성물을 TFA 방법을 사용하여 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 L9-P16 (7.9 mg; 0.00420 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. IR (cm^{-1}): 3327, 1768/1706, 1666, 1199/1118, 831/798. HR-ESI+: m/z $[M-CF_3CO_2]+$ = 1631.6071/1631.6054 [측정치/이론치]

[2188] L9-P17의 제조:

[2189] (11R,20R)-23,26-디클로로-14-[[2-[4-[[(2S)-1,4-디옥산-2-일]메톡시]시클로헥실]피리미딘-4-일]메톡시]-20-[[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]메틸]-3-(4-플루오로페닐)-24,25-디메틸-10,18,21-트리옥사-4-티아-6,8-디아자펜타시클로[20.2.2.12,5.113,17.09,28]옥타코사-

1(24),2,5(28),6,8,13,15,17(27),22,25-데카엔-11-카르복실산;2,2,2-트리플루오로아세테이트

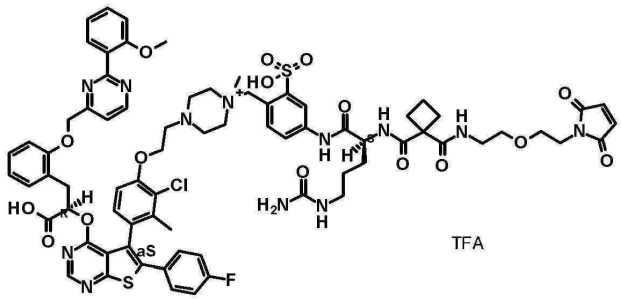


[2190]

[2191] DMF (1 mL) 중 (11R,20R)-23,26-디클로로-14-[[2-[4-[[(2S)-1,4-디옥산-2-일]메톡시]시클로헥실]피리미딘-4-일]메톡시]-3-(4-플루오로페닐)-24,25-디메틸-20-[(4-메틸피페라진-1-일)메틸]-10,18,21-트리옥사-4-티아-6,8-디아자펜타시클로[20.2.2.12,5.113,17.09,28]옥타코사-1(24),2,5(28),6,8,13,15,17(27),22,25-데카엔-11-카르복실산 P17 (WO 2019/035911에 따라 수득함; 14.5 mg; 0.0139 mmol)의 용액에 (2S)-N-[4-(브로모메틸)페닐]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜탄아미드 (13.3 mg; 0.0208 mmol) 및 DIPEA (7.3 μL; 0.0417 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 8시간 동안 교반하였다. 조 생성물을 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L9-P17 (7.0 mg, 0.00437 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. IR (cm^{-1}): 3700-2400, 1771/1738/1705, 1665, 1194/1128. HR-ESI+: m/z [M-CF_3CO_2]+ = 1599.6013 / 1599.5992. HR-ESI+: m/z [M-CF_3CO_2+H]2+ = 800.3049 / 800.3035 [측정치/이론치]

[2192] L25-P1의 제조:

[2193] 2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]-5-[[(2S)-2-[[1-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]시클로부탄카르보닐]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]벤젠술포네이트;2,2,2-트리플루오로아세트산



[2194]

[2195] 단계 1: tert-부틸 1-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]시클로부탄카르복실레이트

[2196] DCM (5.85 ml) 중 1-tert-부톡시카르보닐시클로부탄카르복실산 (58.6 mg; 0.293 mmol)의 용액에 1-[2-(2-아미노에톡시)에틸]피롤-2,5-디온 (53.9 mg; 0.293 mmol)에, EDC (84.2 mg; 0.439 mmol), HOBt (59.3 mg; 0.439 mmol), 및 DIPEA (204 μL; 1.17 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 농축 건조시키고, DMF (1 ml) 중에 용해시키고, 용액을 엑스-브리지 칼럼 C_{18}에 의해 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 표제 화합물 (57.3 mg; 0.156 mmol)을 수득하였다. IR (cm^{-1}): 3390, 1697/1666. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6) δ ppm 7.5 (t, 1H), 7.02 (s, 2H), 3.55/3.5 (2t, 4H), 3.38 (t, 2H), 3.17 (q, 2H), 2.33 (m, 4H), 1.77 (m, 2H), 1.38 (s, 9H). UPLC-MS: MS(ESI): m/z [M+Na]+ = 389.26 [M+H-tBu]+ = 311.22

[2197] 단계 2: 1-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]시클로부탄카르복실산

[2198] DCM (0.175 mL) 중 tert-부틸 1-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]시클로부탄카르복실레이트 (7 mg; 0.0191 mmol)의 용액에 TFA (51.2 μL; 0.668 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3.5시간

동안 교반한 다음, 농축 건조시켜 표제 화합물 (5.8 mg; 0.0187 mmol)을 무색 오일로서 수득하였다. 조 생성물을 후속 단계에 사용하였다. UPLC-MS: MS(ESI): m/z [M+H]+ = 311.35, [M+Na]+ = 333.37

[2199] 단계 3: (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) 1-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]시클로부탄카르복실레이트

[2200] THF (3 mL) 중 1-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]시클로부탄카르복실산 (18.2 mg; 0.0587 mmol)의 용액에 2,3,4,5,6-펜타플루오로페놀 (13.0 mg; 0.0704 mmol) 및 DCC (14.5 mg; 0.0704 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물은 현탁액이었고, 침전물을 여과하고, THF (1 ml)로 세척하여 THF 중 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 1-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]시클로부탄카르복실레이트의 용액을 수득하였다. 조 생성물 용액을 단계 9에 사용하였다. UPLC-MS: MS(ESI): m/z [M+H]+ = 477.28, [M+Na]+ = 499.23

[2201] 단계 4: 메틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트

[2202] DCM (25 mL) 및 메탄올 (25 mL) 중 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 P1 (5.0 g; 5.712 mmol)의 용액에 디아조메틸 (트리메틸)실란의 용액 (Et_2O 중 2 M) (5.712 mL; 11.42 mmol)을 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 완결된 후, 황색이 적색으로 변할 때까지 아세트산을 천천히 첨가하여 반응물을 켄칭하고, 농축 건조시켜 조 혼합물을 수득하였다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (DCM 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 표제 화합물 (4.52 g; 5.082 mmol)을 수득하였다. UPLC-MS: MS(ESI): m/z [M+H]+ = 889.27+891.6, [M+Na]+ = 911.31, [M+2H]2+= 445.59. IR (cm^{-1}): 1753, 1238/1053. ^1H NMR (400 MHz, dmso-d6) δ ppm 8.6 (s, 1H), 8.45 (d, 1H), 7.6 (d, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.45 (td, 1H), 7.3 (m, 3H), 7.25-7.1 (m, 5H), 7.02 (t +d, 2H), 6.78 (t, 1H), 6.31 (dd, 1H), 5.52 (dd, 1H), 5.25 (AB, 2H), 4.2 (m, 2H), 3.78/3.65 (2s, 6H), 3.2/2.58 (2dd, 2H), 2.71 (t, 2H), 2.5/2.3 (2ml, 8H), 2.12 (s, 3H), 1.88 (s, 3H).

[2203] 단계 5: 5-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술폰산

[2204] DCM (22.2 mL) 및 메탄올 (22.2 mL) 중 Fmoc-Cit-OH (2.224 g; 5.596 mmol)의 용액에 소듐 5-아미노-2-(히드록시메틸) 벤젠술포네이트 (1.89 mg; 8.395 mmol) 및 EEDQ (2.768 g; 11.19 ml)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 25시간 동안 교반한 다음, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (DCM 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 표제 화합물 (2.81 g; 4.823 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. IR (cm^{-1}): 3700-3000, 1660(큰 것), 1180. ^1H NMR (400 MHz, dmso-d6) δ ppm 10.02 (s, 1H), 7.88 (m, 3H), 7.76 (2t, 2H), 7.7 (dd, 1H), 7.61 (d, 1H), 5.99 (t, 1H), 5.38 (m, 2H), 5.03 (t, 1H), 4.72 (d, 2H), 4.3-4.2 (m, 3H), 4.15 (m, 1H), 3.06-2.90 (m, 2H), 1.75-1.30 (m, 4H). UPLC-MS: MS(ESI): m/z [M+H]+ = 583.42, [M+Na]+ = 565.31.

[2205] 단계 6: 2-(클로로메틸)-5-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜타노일]아미노]벤젠술폰산

[2206] NMP (5 mL) 중 5-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술폰산 (543.6 mg; 0.933 mmol)의 용액에 실온에서 NMP (200 μL) 중 $SOCl_2$ (68.1 μL; 0.933 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 완전한 전환을 달성하기 위해, $SOCl_2$ 첨가는 (68 μL)를 7회 더 수행해야 한다. 과량의 $SOCl_2$를 진공 하에 증발시키고, 잔류물을 TFA 방법을 사용하여 오아시스 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 표제 화합물 (362 mg; 0.512 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. UPLC-MS: MS(ESI): m/z [M+H]+ = 601.19+603.23 [M+Na]+ = 622.93

[2207] 단계 7: 2-[[4-[2-[2-클로로-4-[6-(4-플루오로페닐)-4-[(1R)-2-메톡시-1-[[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]메틸]-2-옥소-에톡시]티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-

일]메틸]-5-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜타노일]아미노]벤젠술포네이트

[2208] NMP (10 mL) 중 단계 6으로부터의 2-(클로로메틸)-5-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜타노일]아미노]벤젠술폰산 (195.6 mg; 0.277 mmol)의 용액에 단계 4로부터의 메틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (123 mg; 0.138 mmol), DIPEA (385 μL, 2.213 mmol) 및 TBAI (10 mg, 0.027 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 70℃에서 12시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 조 생성물의 NMP의 용액을 직접 후속 단계에 사용하였다. UPLC-MS: MS(ESI): m/z [M+H]+ = 1231.12+1233.45, [M+2H]2+ = 616.34+617.37

[2209] 단계 8: 5-[[(2S)-2-아미노-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]벤젠술포네이트 ;2,2,2-트리플루오로아세트산

[2210] NMP 중 2-[[4-[2-[2-클로로-4-[6-(4-플루오로페닐)-4-[(1R)-2-메톡시-1-[[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]메틸]-2-옥소-에톡시]티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]-5-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-5-우레이도-펜타노일]아미노]벤젠술포네이트의 이전 용액에 물 (4 mL) 중 수산화리튬 1수화물 (82.2 mg; 1.106 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 조 생성물 용액을 TFA 방법을 사용하여 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 표제 화합물 (45.6 mg; 0.0374 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS(ESI): m/z [M+H]+ = 1217.46, [M+Na]+ = 1241.16, [M+2H]2+ = 609.61

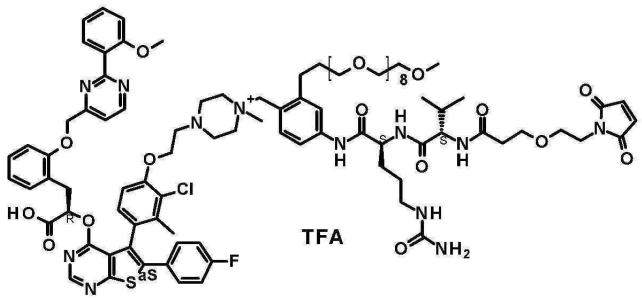
[2211] 단계 9: 2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]-5-[[(2S)-2-[[1-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]시클로부탄카르보닐]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]벤젠술포네이트 L25-P1

[2212] DMF (1.4 mL) 중 5-[[(2S)-2-아미노-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[[4-[2-[4-[4-[(1R)-1-카르복시-2-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]에톡시]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-2-클로로-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]벤젠술포네이트 (22.6 mg; 0.0186 mmol)의 용액에 (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) 1-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]시클로부탄카르복실레이트 (단계 3으로부터) (26.8 mg; 0.0562 mmol)의 THF 용액 및 DIPEA (12.9 μL; 0.0742 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 조 생성물 용액을 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L25-P1 (7.5 mg; 0.0050 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. IR (cm^{-1}): 3321, 1705/1624, 1666, 1581, 1180/1124, 833/798/756/719/696. ^{1}H NMR (400/500 MHz, dmso-d6) δ ppm 10.4 (s), 8.88 (d, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.13 (df, 1H), 7.92 (dd, 1H), 7.78 (d), 7.74 (t), 7.63 (d, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.47 (d, 1H), 7.46 (t, 1H), 7.38 (d, 1H), 7.3 (dd, 2H), 7.23 (d, 1H), 7.21 (t, 2H), 7.16 (t, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.03 (t, 1H), 7.01 (d, 1H), 7 (s, 2H), 6.73 (t, 1H), 6.22 (d, 1H), 5.99 (m), 5.55 (sl), 5.5 (dd, 1H), 5.25 (AB, 2H), 5.1 (sl, 2H), 4.37 (m, 1H), 4.33 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.7 (m, 10H), 3.55 (m, 2H), 3.5 (m, 2H), 3.42 (m, 2H), 3.28/2.52 (2dd, 2H), 3.21 (m, 2H), 3.04 (sl, 3H), 2.97 (m, 2H), 2.4 (m, 4H), 1.85 (w, 3H), 1.74/1.62 (2m, 2H), 1.73 (m, 2H), 1.43/1.35 (2m, 2H). ^{13}C NMR (400/500 MHz, dmso-d6) δ ppm 157.5, 152.8, 135.4, 134.9, 131.5, 131.4, 131.4, 131.2, 131.1, 128.7, 121, 120.6, 119.2, 119.2, 116.3, 116, 112.8, 112.2, 111, 74, 69.5, 68.9, 67.4, 66.6, 56.2, 55.3/46.5, 54.1, 45.7, 39.4, 39.2, 37.2, 32.9, 29.7, 29.7, 27.3, 18, 16. ^{19}F NMR (400/500 MHz, dmso-d6) δ ppm -74.6, -112.2. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1509.4867 / 1509.4851 [측정치/이론치]

[2213] L26-P1의 제조:

[2214] (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로필]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프

로파노에이트;2,2,2-트리플루오로아세테이트



[2215]

[2216] 단계 1: 3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로프-1-인

[2217] THF (25.0 mL) 중 2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에탄올 (1.95 g; 6.50 mmol)의 용액에 0℃에서 수소화나트륨 (260.0 mg; 6.57 mmol)을 첨가하였다. 5분 후, 톨루엔 중 3-브로모프로프-1-인의 용액 (1.42 mL; 13.14 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반하고, 실온에서 2일 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 이어서, 반응 혼합물을 여과하고, 여과물을 농축 건조시키고, 실리카 겔 크로마토그래피 (구배: 메탄올 중 DCM)에 의해 정제하여 표제 화합물 (1.74 g; 4.12 mmol)을 무색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): 2.43 (t, 1H, J = 2.4 Hz), 3.37 (s, 3H), 3.53-3.55 (m, 2H), 3.64-3.70 (m, 30H), 4.20 (d, 2H, J = 2.4 Hz).

[2218] 단계 2: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바메이트

[2219] 메탄올 (70 mL) 및 DCM (140 mL) 중 [[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-아닐린 (10.0 g; 27.52 mmol)의 용액에 Fmoc-Cit-OH (12.0 g; 30.28 mmol) 및 EEDQ (8.17 g; 33.03 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 14시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 생성된 잔류물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 DCM/메탄올 (100/0에서 88/12)을 사용하여 정제하여 표제 화합물 (17.09 g; 21.97 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 0.09 (s, 6H), 0.91 (s, 9H), 1.38-1.48 (m, 2H), 1.59-1.68 (m, 2H), 2.93-3.05 (m, 2H), 4.06-4.15 (m, 2H), 4.20-4.29 (m, 3H), 4.56 (s, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.98 (t, 1H, J = 5.5 Hz), 7.30-7.43 (m, 5H), 7.55 (dd, 1H, J = 8.8, 2.1 Hz), 7.69 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 7.74 (dd, 1H, J = 7.2, 3.4 Hz), 7.89 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 8.25 (d, 1H, J = 1.5 Hz), 10.12 (s, 1H).

[2220] 단계 3: (2S)-2-아미노-N-[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-페닐]-5-우레이도-펜탄아미드

[2221] THF (120 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바메이트 (17.08 g; 23.00 mmol)의 용액에 THF 중 디메틸아민 2M (44.5 mL; 89.00 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하였다. 농축 건조시킨 후, 생성된 잔류물을 C_{18} 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 물/아세토니트릴 (98/02에서 0/100)을 사용하여 정제하여 화합물 표제 화합물 (5.47 g; 10.50 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 0.0 (s, 6H), 0.81 (s, 9H), 1.27-1.38 (m, 3H), 1.47-1.53 (m, 1H), 2.83-2.89 (m, 2H), 3.16-3.19 (m, 1H), 4.46 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 5.82 (t, 1H, J = 5.6 Hz), 7.24 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 7.50 (dd, 1H, J = 8.3, 2.0 Hz), 8.17 (d, 1H, J = 2.0 Hz).

[2222] 단계 4: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2223] 2-메틸테트라히드로푸란 (240 mL) 중 (2S)-2-아미노-N-[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-페닐]-5-우레이도-펜탄아미드 (3.00 g; 5.76 mmol)의 용액에 Fmoc-Val-Osu (8.65 g; 8.65 mmol) 및 DIPEA (1.90 mL; 11.53 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 소결 깔때기를 통해 여과하고, 회수된 고체를 2-메틸테트라히드로푸란 (2 x 250 mL)으로 세척한 다음, 고진공

하에 건조시켜 표제 화합물 (3.57 g; 4.24 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 0.10 (s, 6H), 0.83-0.95 (m, 15H), 1.27-1.52 (m, 2H), 1.52-1.75 (m, 2H), 1.93-2.07 (m, 1H), 2.88-3.09 (m, 2H), 3.93 (t, 1H, J = 8.0 Hz), 4.17-4.49 (m, 4H), 4.56 (s, 2H), 5.40 (s, 2H), 5.96 (t, 1H, J = 5.6 Hz), 7.27-7.37 (m, 3H), 7.37-7.48 (m, 3H), 7.54 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 7.74 (t, 2H, J = 7.2 Hz), 7.88 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 8.13 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 8.22 (s, 1H), 10.11 (s, 1H).

[2224] 단계 5: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로프-1-이닐]페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2225] 디메틸포름아미드 (15.40 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-아이오도-페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (1.23 g; 1.46 mmol)의 용액에 3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로프-1-인 (930.0 mg; 2.20 mmol) 및 DIPEA (2.47 mL; 14.92 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 아르곤으로 3회 퍼징한 후, $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (220 mg; 0.307 mmol) 및 CuI (68.0 mg; 0.36 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 아르곤으로 3회 퍼징하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 혼합물을 이소프로필 아세테이트 (200 mL)로 희석하고, 염수 (3 x 150 mL)로 세척하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켰다. 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 중성 방법을 사용하여 정제하여 표제 화합물 (790.0 mg; 0.70 mmol)을 연황색 검으로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 0.08 (s, 6H), 0.85-0.90 (m, 15H), 1.36-1.45 (m, 2H), 1.58-1.71 (m, 2H), 1.97-2.00 (m, 1H), 2.93-3.03 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 3.40-3.43 (m, 2H), 3.49-3.52 (m, 25H), 3.56-3.58 (m, 2H), 3.63-3.66 (m, 2H), 3.93 (dd, 1H, J = 8.9, 6.9 Hz), 4.23-4.32 (m, 3H), 4.37-4.43 (m, 3H), 4.75 (s, 2H), 5.39 (s, 2H), 5.97 (t, 1H, J = 6.1 Hz), 7.30-7.43 (m, 6H), 7.51-7.54 (m, 1H), 7.72-7.78 (m, 3H), 7.88 (d, 2H J = 7.5 Hz), 8.12 (d, 2H, J = 7.4 Hz), 10.10 (s, 1H).

[2226] 단계 6: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(히드록시메틸)-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로프-1-이닐]페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2227] 테트라히드로푸란 (0.60 mL) 및 물 (0.90 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시메틸]-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로프-1-이닐]페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (452 mg; 0.40 mmol)의 용액에 아세트산 (4.17 mL; 72.78 mmol)을 첨가하였다.

[2228] 반응 혼합물을 실온에서 22시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 농축 건조시킨 후, 조 생성물을 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 중성 방법을 사용하여 정제하여 표제 화합물 (327 mg, 0.32 mmol)을 백색 검으로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 0.87 (dd, 6H, J = 11.7, 6.8 Hz), 1.36-1.45 (m, 2H), 1.58-1.71 (m, 2H), 1.97-2.00 (m, 1H), 2.93-3.02 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 3.31 (s, 5H), 3.40-3.43 (m, 2H), 3.48-3.53 (m, 21H), 3.54-3.64 (m, 6H), 3.91-3.95 (m, 1H), 4.23-4.42 (m, 4H), 4.56 (d, 2H, J = 5.5 Hz), 5.19 (t, 1H, J = 5.6 Hz), 5.39 (s, 2H), 5.96 (t, 1H, J = 5.8 Hz), 7.30-7.34 (m, 2H), 7.39-7.43 (m, 4H), 7.50-7.52 (m, 1H), 7.72-7.76 (s, 3H), 7.88 (d, 1H J = 7.5 Hz), 8.12 (d, 2H, J = 7.4 Hz), 10.06 (s, 1H).

[2229] 단계 7: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(히드록시메틸)-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로필]페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2230] THF (3.7 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(히드록시메틸)-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로프-1-이닐]페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (327.0 mg; 0.32 mmol)의 용액에 아세트산 (0.37 mL)을 첨가하였다. 아르곤으로 3회 퍼징한 후, Pt/C 5% (195 mg)를 첨가하고, 아르곤으로 3회 더 퍼징한 후, 반응 혼합물을 수소 분위기 하에 두고, 실온에서 18시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 혼합물을 PTFE를 통해 여과하고, 여과물을 농축 건조시킨 다음, 디클로로메탄/펜탄 (1/4 혼합물, 50 mL)으로 연

화처리하였다. 침전물을 여과에 의해 회수하고, 건조시킨 후, 표제 화합물 (130 mg; 0.13 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 0.85-0.89 (m, 6H), 1.23-1.46 (m, 2H), 1.56-1.76 (m, 4H), 1.97-2.02 (m, 1H), 2.56-2.60 (m, 2H), 2.91-3.04 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 3.38-3.43 (m, 4H), 3.48-3.54 (m, 30H), 3.93 (dd, 1H, J = 8.9, 6.9 Hz), 4.21-4.31 (m, 3H), 4.38-4.41 (m, 1H), 4.45 (d, 2H, J = 5.3 Hz), 4.94 (t, 1H, J = 5.3 Hz), 5.37 (s, 2H), 5.95 (t, 1H, J = 5.8 Hz), 7.25 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 7.30-7.34 (m, 2H), 7.39-7.43 (s, 5H), 7.72-7.76 (m, 2H), 7.88 (d, 1H J = 7.5 Hz), 8.06 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 9.88 (s, 1H). UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1026.52

[2231] 단계 8: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(브로모메틸)-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로필]페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2232] THF (6.6 mL) 중 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(히드록시메틸)-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로필]페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (60 mg; 0.0584 mmol)의 용액에 0℃에서 PBr_3 (THF 중 1M 용액) (0.0877 mL; 0.0877 mmol)을 적가하였다. 이어서, 용액을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 브로모 목적 화합물을 반응시키기 위해 분취물 모르폴린을 첨가한 후 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 반응물을 수성 포화 NH_4Cl 용액 (50 μL)으로 후처리하였다. 5분 후, 혼합물을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, THF (2 ml)로 세척하여 브로모 표제 화합물을 THF 용액으로서 수득하였으며, 이를 후속 단계에 조 물질로 사용하였다. UPLC-MS 분석은 메탄올 및 모르폴린 첨가 후에 수행하였다.

[2233] 단계 9: (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로필]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트

[2234] 이전 단계로부터의 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(브로모메틸)-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로필]페닐]카르바모일]-4-우레이도-부틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (0.0584 mmol)의 THF 용액에 DMF (1.5 mL), (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 P1 (46.1 mg; 0.0527 mmol) 및 DIPEA (0.173 mL; 0.995 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 목적 표제 화합물 및 Fmoc-탈보호된 것 (단계 10에서 예상됨)을 함유하는 조 혼합물을 탈보호 다음 단계에 사용하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M-Fmoc+H+H]+ = 1660.99

[2235] 단계 10: (2R)-2-[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로필]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트; 2,2,2-트리플루오로아세트산

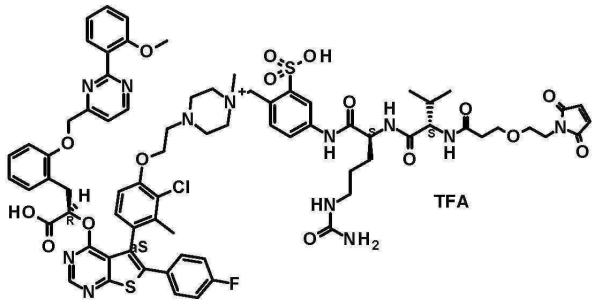
[2236] DMF 중 이전 단계에서 수득된 조 혼합물에 피페리딘 (11.6 μL; 0.117 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 반응이 완결된 후, 조 생성물을 C_{18} 역상 정제용 HPLC에 의해 TFA 방법을 사용하여 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 표제 화합물 (29.2 mg; 0.0155 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. IR: 3600-2300, 1672, 1602, 1541+1516. HR-ESI+: m/z [M-CF_3COO]+ = 1660.7574 (1660.7575 이론치)

[2237] 단계 11: (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로필]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트;2,2,2-트리플루오로아세테이트 L26-P1

[2238] DMF (1.28 mL) 중 (2R)-2-[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로필]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트;2,2,2-트리플루오로아세트산 (42.5 mg; 0.0225 mmol)의 용액에 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노에이트 (브로드팜 21854) (7.71 mg; 0.0247 mmol)의 용액 및 DIPEA (19.6 μL; 0.112 mmol)을 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 반응의 진행을 UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 조 생성물을 C_{18} 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L26-P1 (28 mg; 0.0151 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. HR-ESI+: m/z [M-CF_3COO]+ = 1855.8105 (1855.8106 이론치)

[2239] L27-P1의 제조:

[2240] (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]-3-메틸-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-숙포-페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산



[2241]

[2242] 단계 1: 2-(클로로메틸)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]벤젠술포네이트

[2243] 5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술폰산 (300 mg; 0.4263 mmol)을 실온에서 무수 NMP (6 mL) 중에 용해시켰다. 동시에, NMP (6 mL) 중 $SOCl_2$ (206 μL)의 용액을 제조하였다. 반응물에, $SOCl_2$ 용액 900 μL을 75분 기간에 걸쳐 6회 첨가하였다. 최종 첨가 후, 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 조 생성물을 TFA 방법을 사용하여 오아시스 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 표제 화합물 (138 mg; 0.1971 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6) δ ppm 10.15+8.1+7.42+6.0 (s+2d+m, 4H), 7.9 (m,HH), 7.75 (m, 3H), 7.42+7.31 (2m, 5H), 5.23 (s, 2H), 4.4 (m, 1H), 4.3-4.2 (m, 3H), 3.95 (dd, 1H), 3.0 (m, 2H), 2.0 (m, 1H), 1.7 + 1.6 (2m, 2H), 1.48 + 1.37 (2m, 2H), 0.88 (2d, 6H). HR-ESI+ : m/z [M+H]+ = 700.2199 / 700.2202 [측정치/이론치]

[2244] 단계 2: 5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[[4-[2-[2-클로로-4-[6-(4-플루오로페닐)-4-[(1R)-2-메톡시-1-[[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]메틸]-2-옥소-에톡시]티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]벤젠술폰산

[2245] 무수 NMP (2.5 mL) 중 2-(클로로메틸)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]벤젠술포네이트 (82.4 mg; 0.1177 mmol)의 용액에 DIEA (94 μL; 0.540 mmol)에 이어서 메틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (60 mg; 0.067 mmol) 및 TBAI (12.4 mg; 0.034 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 반응물을 80℃에서 4시간 동안 교반하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서, 2-(클로로메틸)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]벤젠술포네이트 (14 mg; 0.017 mmol)에 이어서 TBAI (17 μL; 0.0337 mmol)를 다시 첨가하고, 반응물을 80℃에서 4시간 동안 교반한 다음, 실온에서 밤

새 교반하였다. Fmoc 탈보호 단계는 DEA (53 μL; 0.515 mmol)를 반응물에 첨가하고, 실온에서 밤새 교반함으로써 실현되었다. 용액 A: $H_2O/CH_3CN/NH_4HCO_3$ (1960 ml/40/3.16 g)에서 용액 B: $CH_3CN/H_2O/NH_4HCO_3$ (1600 ml/400 ml/3.16 g)까지의 구배로 용리되는 오아시스 상에 혼합물을 직접 주입함으로써 정제를 실현하여 표제 화합물 (17 mg; 0.009 mmol)을 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M]+ = 1329

[2246] 단계 3: (2R)-2-[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-술포-페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

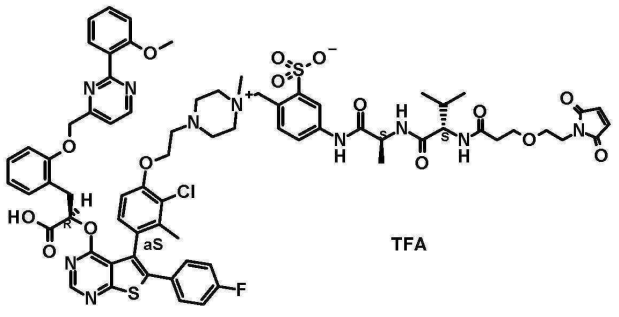
[2247] 디옥산/물 (1 mL/1 mL) 중 5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-[[4-[2-[2-클로로-4-[6-(4-플루오로페닐)-4-[(1R)-2-메톡시-1-[[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]메틸]-2-옥소-에톡시]티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸-페녹시]에틸]-1-메틸-피페라진-1-윰-1-일]메틸]벤젠술폰산 (18 mg; 0.014 mmol)의 혼합물에 $LiOH.H_2O$ (2.3 mg; 0.054 mmol)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. HCl 1N을 첨가하여 용액을 pH 6-7로 조정하고, 디옥산을 감압 하에 증발시켰다. 용액 A: $H_2O/CH_3CN/NH_4HCO_3$ (1960 ml/40/3.16 g)에서 용액 B: $CH_3CN/H_2O/NH_4HCO_3$ (1600 ml/400 ml/3.16 g)까지의 구배로 용리되는 오아시스 상에 혼합물을 직접 주입함으로써 정제를 실현하여 표제 화합물 (11mg; 0.008 mmol)을 수득하였다.

[2248] 단계 4: (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]-3-메틸-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-술포-페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 L27-P1

[2249] DMF (0.4 mL) 중 (2R)-2-[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]-2-술포-페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (10.5 mg; 0.007 mmol)의 용액에 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노에이트 (5.7 mg; 0.018 mmol)를 첨가하고, 용액을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 용액을 엑스-브리지 칼럼 C_{18}에 의해 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 L27-P1 (10 mg; 0.006 mmol)을 수득하였다. HR-ESI+: [M+H]+ 1511.5018 / 1511.5002 [측정치/이론치]

[2250] L28-P1의 제조:

[2251] (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-술포-페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트



[2252]

[2253] 단계 1: 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(클로로메틸)-3-메틸-아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트

[2254] NMP (5 mL) 중 5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술포네이트 (504.1 mg; 0.816 mmol)의 용액에 NMP (500 μL) 중 $SOCl_2$ (60 μL; 0.816 mmol)의 용액을 75분 기간에 걸쳐 6회 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 조 생성물을 TFA 방법을 사용하여 오아시스 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 70% 표제 화

합물 (384 mmol) 및 30% 출발 물질 (170 mmol)의 혼합물로서 (337 mg)을 백색 분말로서 수득하였다. IR (cm^{-1}): 3600 내지 2400, 1688+1648, 1599, 1518, 1022. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 614.17+616.18 (Cl)

[2255] 단계 2: (2R)-2-[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-메틸-페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-융-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트

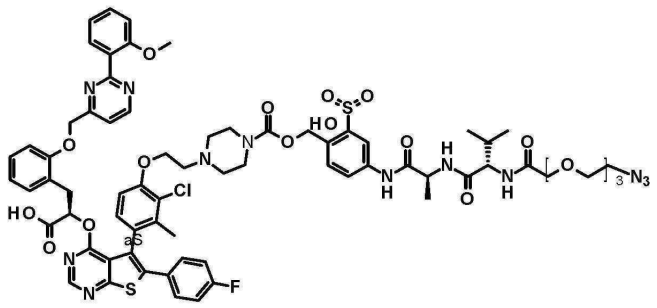
[2256] NMP (4.5 ml) 중 메틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (152 mg; 0.171 mmol)의 용액에 9H-플루오렌-9-일메틸 N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(클로로메틸)-3-메틸-아닐리노]-1-메틸-2-옥소-에틸]카르바모일]-2-메틸-프로필]카르바메이트 (150 mg; 0.171 mmol), DIPEA (238 μL; 1.37 mmol) 및 TBAI (76 mg; 0.205mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 80℃에서 28시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 물 (500 μl) 중 $LiOH.H_2O$ (13.7 mg, 0.342 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반하였다. 조 생성물을 C_{18} 역상 정제용 HPLC에 의해 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 및 TFA 방법을 사용하여 정제하여 표제 화합물 (40 mg; 0.0325 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M]+ = 1230.61+1232.61 (Cl)

[2257] 단계 3: (2R)-2-[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-술포-페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-융-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트 L28-P1

[2258] DMF (180 μL) 중 (2R)-2-[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-메틸-페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-융-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세테이트 (6.0 mg; 0.0049 mmol)의 용액에 (2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 3-[2-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]에틸카르바모일]옥세탄-3-카르복실레이트 (2.3 mg; 0.0073 mmol) 및 DIPEA (3.0 μL; 0.017 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반하고, UPLC-MS에 의해 모니터링하였다. 조 생성물을 TFA 방법을 사용하여 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 L28-P1 (2.9 mg; 0.0020 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1425.4534/ 1425.4527 [측정치/이론치]

[2259] L29-C3의 제조:

[2260] (2R)-2-[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-(2-아지도에톡시)아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-술포-페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산



[2261]

[2262] 단계 1: 나트륨; 5-[[(2S)-2-(tert-부톡시카르보닐아미노)프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술포네이트

[2263] DMF (38.6 mL) 중 Boc-L-Ala-OH (588 mg; 3.11 mmol)의 용액에 HATU (1.77 g; 4.67 mmol), 소듐 5-아미노-2-(히드록시메틸)벤젠술포네이트 (771 mg; 3.42 mmol) 및 DIPEA (1.29 mL; 7.78 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 다음, 농축 건조시키고, 물과 공증발시켜 조 반응 혼합물을 수득하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 에틸 아세테이트/메

탄올 95:5에서 80:20을 사용하여 정제하여 표제 화합물 (1.17 g; 2.95 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 1.24 (s, 9H), 1.38 (m, 3H), 4.05-1.44 (m, 1H), 4.73 (d, 2H, J = 4.8 Hz), 5.04 (t, 1H, J = 5.6 Hz); 6.97-7.02 (m, 1H), 7.33 (d, 1H, J = 8 Hz), 7.65-7.70 (m, 1H), 7.83 (s, 1H), 9.91 (s, 1H).

[2264] 단계 2: 5-[[(2S)-2-아미노프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술포네이트, 히드로클로라이드

[2265] 나트륨 5-[[(2S)-2-(tert-부톡시카르보닐아미노)프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술포네이트 (1.17 g; 2.95 mmol; 1 당량)를 디옥산 중 HCl 4N의 용액 (10 mL) 중에 현탁시켰다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반한 다음, 농축 건조시켜 조 혼합물 (982 mg; 2.95 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 1.45 (d, 3H, J = 5.6 Hz), 3.91-4.0 (m, 1H), 4.76 (s, 2H), 7.41 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 7.66 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 7.85 (s, 1H), 8.17 (s, 2H), 10.44 (s, 1H).

[2266] 단계 3: 5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술포네이트

[2267] DMF (34.5 mL) 중 5-[[(2S)-2-아미노프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술포네이트, 히드로클로라이드 (981 mg; 2.95 mmol)의 용액에 Fmoc-L-Val-Osu (1.29 g; 2.95 mmol; 1 당량) 및 DIPEA (975 μL; 5.9 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 다음, 농축 건조시키고, 물과 공증발시켜 조 혼합물을 수득하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 에틸 아세테이트 / 메탄올 95:5에서 80:20을 사용하여 정제하여 표제 화합물 (1.28 g; 2.072 mmol)을 무색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 0.80-0.92 (m, 6H), 1.30 (d, 3H, J = 6.4 Hz), 2.02-2.10 (m, 1H), 4.17-4.31 (m, 3H), 4.37-4.44 (m, 1H), 4.73 (d, 2H, J = 5.6 Hz), 5.04 (t, 1H, J = 6.4 Hz), 7.28-7.36 (m, 3H), 7.37-7.47 (m, 3H), 7.66 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 7.71-7.77 (m, 2H), 7.83-7.85 (m, 1H), 7.88 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 8.14 (d, 1H, J = 6.4 Hz), 9.99 (s, 1H).

[2268] 단계 4: 5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[(4-니트로페녹시)카르보닐옥시메틸]벤젠술폰산

[2269] THF (65 mL) 중 5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-(히드록시메틸)벤젠술포네이트 (1.28 g; 2.07 mmol)의 현탁액에 피리딘 (875 μL; 10.8 mmol)을 첨가한 다음, 이어서 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (1.09 g; 5.41 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서, 추가의 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (1.09 g; 5.41 mmol; 2.5 당량)를 첨가하였다. 실온에서 5시간 동안 교반한 후, 혼합물을 농축 건조시킨 다음, C_{18} 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 30분 내에 물/아세토니트릴 90/10에서 0/100을 사용하여 정제하였다. 합한 튜브의 아세토니트릴을 제거하고, 나머지를 동결건조시켜 표제 화합물 (650 mg; 0.83 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO): δ 0.88 (m, 6H), 1.31 (d, 3H, J = 4.8 Hz), 1.97-2.03 (m, 1H), 3.92 (t, 1H, J = 6.8 Hz), 4.23 (s, 2H), 4.24-4.34 (m, 1H), 4.42 (t, 1H J = 5.6 Hz), 5.69 (s, 2H), 7.30-7.48 (m, 6H), 7.62 (d, 2H, J = 8 Hz), 7.72-7.76 (m, 3H), 7.89 (d, 2H, J = 6.4 Hz), 7.94 (s, 1H), 8.18 (d, 1H, J = 5.6 Hz), 8.33 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 10.11 (s, 1H). ^{13}C NMR (DMSO): δ 18.01, 18.26, 19.21, 30.4, 46.66, 49.05, 59.91, 65.67, 67.82, 117.7, 119.1, 120.06, 122.66, 125.37, 126.33, 127.05, 127.62, 128.0, 138.06, 140.67, 143.77, 143.86, 145.1, 146.23, 151.96, 155.47, 156.12, 171.0, 171.15. LCMS (2-100 ACN/H_2O+0.05% TFA): 90.41 % Tr = 12.7분. 양성 모드 578.41 검출. 음성 모드 759.17 검출.

[2270] 단계 5: (2S)-2-[[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-술포-페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]메틸]-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2271] DMF (1.5 mL) 중 (2S)-2-[[5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]메틸]-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산;2,2,2-트리플루오로아세트산 (178.4 mg; 0.183 mmol)의 현탁액에 5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-[(4-니트로페녹시)카르보닐옥시메틸]벤젠술폰산 (150 mg; 0.192 mmol) 및 DIPEA (91 μL; 0.549 mmol)를 연속적으로 첨가하고, 혼합물을 실온에서 15분 동안 밤새 교반하였다.

조 생성물을 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 표제 화합물 (176 mg, 0.118 mmol)을 백색 고체로서 수득하였다. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1482.15+1484.56(Cl)

[2272] 단계 6: (2S)-2-[[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-술포-페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]메틸]-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2273] DMF (1.0 mL) 중 (2S)-2-[[5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-플루오렌-9-일메톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-술포-페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]메틸]-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (176 mg; 0.118 mmol)의 용액에 피페리딘 (24.17 μL; 0.237 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 조 생성물을 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 표제 화합물 (102 mg; 0.0809 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. IR (cm^{-1}): 3620-2680, 1683, 1235. UPLC-MS: MS (ESI) m/z [M+H]+ = 1260.37+1262.37(Cl). ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6) δ ppm 10.20 (m, NH), 8.90 (m, 2H), 8.90 (m, 1H), 8.60 (m, NH), 8.60 (s, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.78 (m, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.48 (t, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.3/7.2 (m, 4H), 7.20 (m, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.15 (t, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.05 (t, 1H), 7.00 (d, 1H), 6.7 (t, 1H), 6.2 (d, 1H), 5.48 (s, 2H), 5.50 (m,1H), 5.23 (s, 2H), 4.50 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.4 (m, 4H), 3.40 (m, 1H), 3.35 (m, 1H) 2.80 (m, 2H), 2.5 (m, 4H), 2.50 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 1.80 (s, 3H), 1.30 (d, 3H), 0.90 (dd, 6H)

[2274] 단계 7: (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세테이트

[2275] THF (500 μL) 중 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세트산 (74 mg; 0.317 mmol)의 용액에 THF (500 μL) 중 2,3,4,5,6-펜타플루오로페놀 (70 mg; 0.380 mmol)의 용액 및 THF (500 μL) 중 DCC (78.5 mg; 0.380 mmol)의 용액을 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 조 현탁액을 파스퇴르 피펫으로 면 패드를 통해 여과하고, 용액을 단계 8에서 추가의 후처리 없이 사용하였다.

[2276] 단계 8: (2R)-2-[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-(2-아지도에톡시)아세틸]아미노]-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-술포-페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 L29-C3

[2277] DMF (500 μL) 중 (2S)-2-[[5-[4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-아미노-3-메틸-부타노일]아미노]프로파노일]아미노]-2-술포-페닐]메톡시카르보닐]피페라진-1-일]에톡시]-3-클로로-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]메틸]-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (100 mg; 0.0793 mmol)의 용액에 단계 7로부터의 THF 중 (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]아세테이트의 용액 (0.317 mmol) 및 DIPEA (39.3 μL; 0.238 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 조 생성물을 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 엑스-브리지 칼럼 상에서 반응 혼합물의 직접 침착에 의해 정제하여 L29-C3 (43 mg, 0.0291 mmol)을 백색 분말로서 수득하였다. IR (cm^{-1}): 3257, 2102, 1663, 1236/1082, 834/756. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6) δ ppm 10.03 (s, NH), 8.87 (d, 1H), 8.59 (sNC, 1H), 8.35 (d, NH), 7.89 (df, 1H), 7.69 (dd, 1H), 7.66 (m, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.36 (d, 1H), 7.29 (dd, 2H), 7.21 (d, 1H), 7.20 (t, 2H), 7.19 (d, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.13 (m, 1H), 7.09 (m, NH), 7.03 (t, 1H), 7.00 (d, 1H), 6.72 (t, 1H), 6.24 (d, 1H), 5.48 (dNC, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.23 (AB, 2H), 4.40 (t, 1H), 4.30 (dd, 1H), 4.24 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.58 (m, 10H), 3.38 (m, 4H), 3.36 (t, 2H), 3.30 (NC, 1H), 2.75 (t, 2H), 2.50 (m, 4H), 2.50 (m, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.51 (s, 3H), 1.30 (d, 3H), 0.88/0.82 (2d, 6H). ^{13}C NMR (100/126 MHz, dmso-d6) δ ppm 158.2, 131.6, 131.1, 130.9, 130.9, 130.9, 130.9, 128.3, 126.7, 120.7, 120.4, 119.3, 117.9, 116.2, 112.5, 112.1, 110.8, 70.2, 70.2; 69.6, 67.7, 64.0, 56.7, 56.5, 55.8, 53.2, 50.4, 49.2, 43.8, 31.7, 19.7, 18.7, 18.4, 17.8.

^{19}F NMR (376/470 MHz, dmso-d6) δ ppm -112.0. HR-ESI+: m/z [M+H]+ = 1475.4643/1475.4638; [2M+H+Ca]3+ = 996.6289/996.6273; [M+2H]2+ = 738.2378/738.2355; [M+H+Na]2+ = 749.2255/749.2265.

[2278] 실시예 2. 추가의 링커, 링커-페이로드 및 그의 전구체의 합성 및 특징화.

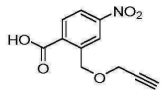
[2279] 예시적인 링커, 링커-페이로드 및 그의 전구체를 본 실시예에 기재된 예시적인 방법을 사용하여 합성하였다.

[2280] 2-(브로모메틸)-4-니트로벤조산의 합성

[2281] 

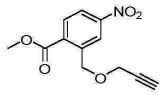
[2282] CCl_4 (3000 mL) 중 2-메틸-4-니트로벤조산 (300 g, 1.5371 mol)의 교반 용액에 NBS (300.93 g, 1.6908 mol) 및 AIBN (37.86 g, 0.2305 mol)을 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 80℃에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 TLC 분석에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 포화 $NaHCO_3$ 용액 (2 L)으로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2 x 2 L)로 추출하였다. 합한 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켰다. 조 화합물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 석유-에테르 중 에틸 아세테이트 2-3%를 사용하여 정제하고, 2-(브로모메틸)-4-니트로벤조산을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.35 (d, J=2.0 Hz, 1H), 8.20 (q, J=8.8, 2.4 Hz, 1H), 8.12 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.00 (s, 3H).

[2283] 4-니트로-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤조산의 합성

[2284] 

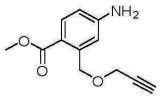
[2285] ACN (5000 mL) 중 2-(브로모메틸)-4-니트로벤조산 (250 g, 0.9122 mol)의 혼합물에 실온에서 프로프-2-인-1-올 (255.68 g, 265.50 mL, 4.5609 mol, d=0.963 g/mL) 및 Cs_2CO_3 (743.03 g, 2.2805 mol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 80℃로 16시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트 (2 L)로 세척하였다. 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 수득된 조 화합물에 포화 $NaHCO_3$ 용액 (1 L)을 첨가하고, 수성 층을 2N HCl (2 L)을 사용하여 PH 2로 산성화시켰다. 여과 진공 건조 후 4-니트로-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤조산을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ 13.61 (brs, 1H), 8.37 (d, J=2.4 Hz, 1H), 8.23 (dd, J=2.4, 8.4 Hz, 1H), 8.10 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.37 (d, J=2.4 Hz, 2H), 3.52 (t, J=2.4 Hz, 1H)

[2286] 메틸 4-니트로-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤조에이트의 합성

[2287] 

[2288] MeOH (1300 mL) 중 4-니트로-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤조산 (130 g, 0.5527 mol)의 교반 용액에 $SOCl_2$ (526.08 g, 320.78 mL, 4.4219 mol, d=1.64 g/mL)를 0℃에서 천천히 첨가하였다. 반응물을 70℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 용매를 감압 하에 증발시켰다. 수득된 잔류물을 에틸 아세테이트 (1000 mL)에 용해시키고 포화 $NaHCO_3$ (600 mL), 물 (500 mL) 및 염수 용액 (500 mL)으로 세척하였다. 분리된 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 증발시켜 메틸 4-니트로-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤조에이트를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.56 (t, J=0.8 Hz, 1H), 8.18 - 8.09 (m, 2H), 5.03 (s, 2H), 4.35 (d, J=2.4 Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 2.49 (t, J=2.4 Hz, 1H).

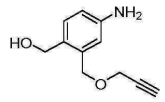
[2289] 메틸 4-아미노-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤조에이트의 합성



[2290]

[2291] EtOH (1100 mL) 및 H_2O (550 mL)의 혼합물 중 메틸 4-니트로-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤조에이트 (110 g, 0.4414 mol)의 용액에 실온에서 Fe 분말 (197.21 g, 3.5310 mol) 및 NH_4Cl (188.88 g, 3.5310 mol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 80℃에서 16시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 셀라이트®를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트 (2 L)로 세척하였다. 여과물을 감압 하에 부피의 절반까지 농축시켰다. 잔류물에, 에틸 아세테이트 (1.5 L)를 첨가하고, 2개의 층을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트 (2 L)로 추출하였다. 합한 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 조 생성물을 수득하였다. SiO_2 칼럼 크로마토그래피 (석유-에테르 중 에틸 아세테이트 15-20%)에 의해 정제하여 메틸 4-아미노-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤조에이트를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.67 (d, J=8.8 Hz, 1H), 6.78 (t, J=1.6 Hz, 1H), 6.48 (q, J=8.4, 2.4 Hz, 1H), 4.79 (s, 2H), 4.25 (d, J=2.4 Hz, 2H), 3.70 (d, J=4.0 Hz, 3H), 3.42 (t, J=2.4 Hz, 1H).

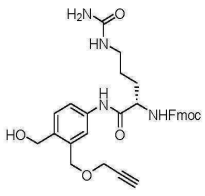
[2292] (4-아미노-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)메탄올의 합성



[2293]

[2294] THF (1000 mL)의 교반 용액에 $LiAlH_4$ (THF 중 1 M) (21.23 g, 798.2 mmol, 798.2 mL)를 0℃에서 천천히 첨가하였다. THF (800 mL) 중 메틸 4-아미노-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤조에이트 (70 g, 319.3 mmol)의 용액을 0℃에서 천천히 첨가하였다. 반응물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시킨 다음, 물 (22 mL)을 매우 천천히 첨가하고, 이어서 20% NaOH (22 mL) 및 물 (66 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 무수 황산나트륨을 첨가하여 과량의 물을 흡수시켰다. 혼합물을 셀라이트®를 통해 여과하였다. 필터 케이크를 에틸아세테이트 (1000 mL) 및 10% MeOH/DCM (500 mL)으로 세척하였다. 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 생성된 조 화합물을 SiO_2 칼럼 크로마토그래피 (용리액으로서 석유-에테르 중 에틸아세테이트 35-40%)에 의해 정제하여 (4-아미노-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)메탄올을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6.98 (d, J=8.0 Hz, 1H), 6.56 (d, J=2.4 Hz, 1H), 6.43 (dd, J=2.4, 8.0 Hz, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.64 (t, J=5.2 Hz, 1H), 4.47 (s, 2H), 4.34 (d, J=5.6 Hz, 2H), 4.15 (d, J=2.4 Hz, 2H), 3.46 (t, J=2.4 Hz, 1H).

[2295] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (S)-(1-((4-(히드록시메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)카르바메이트의 합성

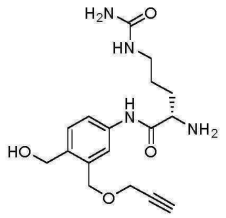


[2296]

[2297] DMF (10 mL) 중 (4-아미노-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)메탄올 (1.92 g, 10.04 mmol, 1.0 당량), (9H-플루오렌-9-일)메틸 (S)-(1-아미노-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)카르바메이트 (3.99 g, 10.04 mmol, 1.0 당량), 및 (1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥시드 헥사플루오로포스페이트 (4.20 g, 11.04 mmol, 1.1 당량)의 용액에 N,N-디이소프로필에틸아민 (2.62 mL, 15.06 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 주위 온도에서 1시간 동안 교반한 후, 혼합물을 물 (200 mL)에 부었다. 생성된 고체를 여과하고, 물로 헹구고, 진공 하에 건조시켜 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (S)-(1-((4-(히드록시메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=571.5; Rt=0.93분

(2분 산성 방법).

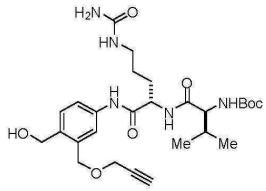
[2298] (S)-2-아미노-N-(4-(히드록시메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)-5-우레이도펜탄아미드의 합성



[2299]

[2300] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (S)-(1-((4-(히드록시메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)카르바메이트 (6.08 g, 10.65 mmol, 1.0 당량)에 디메틸아민 (THF 중 2 M, 21.31 mL, 42.62 mmol, 4 당량)을 첨가하였다. 주위 온도에서 1.5시간 동안 교반한 후, 상청액을 형성된 검-유사 잔류물로부터 가만히 따랐다. 잔류물을 에테르 (3 x 50 mL)로 연화처리하고, 생성된 고체를 여과하고, 에테르로 세척하고, 진공 하에 건조시켰다. (S)-2-아미노-N-(4-(히드록시메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)-5-우레이도펜탄아미드를 수득하였다. LCMS: MH+ 349.3; Rt=0.42분 (2분 산성 방법).

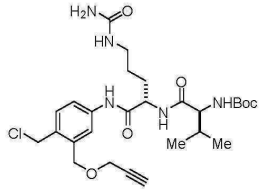
[2301] tert-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((4-(히드록시메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카르바메이트의 합성



[2302]

[2303] DMF (10 mL) 중 (S)-2-아미노-N-(4-(히드록시메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)-5-우레이도펜탄아미드 (3.50 g, 10.04 mmol, 1.0 당량), (tert-부톡시카르보닐)-L-발린 (2.62 g, 12.05 mmol, 1.2 당량), 및 (1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥시드 헥사플루오로포스페이트 (4.58 g, 12.05 mmol, 1.2 당량)의 용액에 N,N-디이소프로필에틸아민 (3.50 mL, 20.08 mmol, 2.0 당량)을 첨가하였다. 주위 온도에서 2시간 동안 교반한 후, 혼합물을 물 (200 mL)에 붓고, 생성된 현탁액을 EtOAc (3x100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 이스코 SiO_2 크로마토그래피에 (0-20% 메탄올/디클로로메탄)의한 정제 후, tert-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((4-(히드록시메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카르바메이트를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.00 (s, 1H), 7.96 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.55 (dq, J = 4.9, 2.2 Hz, 2H, 아릴), 7.32 (d, J = 8.9 Hz, 1H, 아릴), 6.76 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 5.95 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 5.38 (s, 2H), 5.01 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.45 (dd, J = 25.2, 5.3 Hz, 3H), 4.20 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 3.83 (dd, J = 8.9, 6.7 Hz, 1H), 3.49 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 2.97 (dh, J = 26.0, 6.5 Hz, 2H), 1.96 (h, J = 6.6 Hz, 1H), 1.74 - 1.50 (m, 2H), 1.39 (m, 11H), 0.84 (dd, J = 16.2, 6.7 Hz, 6H). LCMS: Mna+ 570.5; Rt=0.79분 (2분 산성 방법).

[2304] tert-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((4-(클로로메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카르바메이트의 합성

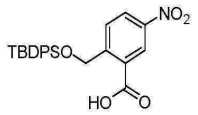


[2305]

[2306] 아세토니트릴 (13.3 mL) 중 tert-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((4-(히드록시메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카르바메이트 (2.00 그램, 3.65 mmol,

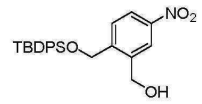
1.0 당량)의 용액에 0℃에서 티오닐 클로라이드 (0.53 mL, 7.30 mmol, 2.0 당량)를 첨가하였다. 빙조에서 1시간 동안 교반한 후, 용액을 물 (40 mL)로 희석하고, 생성된 백색 침전물을 여과, 공기 건조에 의해 수집하고, 고진공 하에 건조시켜 tert-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((4-(클로로메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: Mna+ 588.5; Rt=2.17분 (5분 산성 방법).

[2307] 2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤조산의 합성

[2308] 

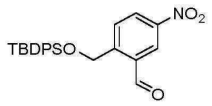
[2309] MeOH (1000 mL) 중 6-니트로이소벤조푸란-1(3H)-온 (90 g, 502.43 mmol, 1.00 당량)의 용액에 H_2O (150 mL) 중 KOH (28.19 g, 502.43 mmol, 1.00 당량)를 첨가하였다. 갈색 혼합물을 25℃에서 1.5시간 동안 교반하였다. 갈색 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하고, DCM (2000 mL) 중에 용해시켰다. 혼합물에 TBDPSCl (296.91 g, 1.08 mol, 277.49 mL, 2.15 당량) 및 이미다졸 (171.03 g, 2.51 mol, 5.00 당량)을 첨가하고, 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (석유 에테르/에틸 아세테이트=1/0, 1/1)에 의해 정제하고, 2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤조산을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, 메탄올-d4) δ ppm 1.13 (s, 9 H) 5.26 (s, 2 H) 7.34 - 7.48 (m, 6 H) 7.68 (br d, J=8 Hz, 4 H) 8.24 (br d, J=8 Hz, 1 H) 8.46 (br d, J=8 Hz, 1 H) 8.74 (s, 1 H).

[2310] (2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로페닐)메탄올의 합성

[2311] 

[2312] THF (205 mL) 중 2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤조산 (41 g, 94.14 mmol, 1 당량)의 혼합물에 BH_3.THF (1 M, 470.68 mL, 5 당량)를 첨가하였다. 황색 혼합물을 60℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물에 MeOH (400mL)를 첨가하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 이어서, H_2O (200mL) 및 DCM (300mL)을 첨가하고, DCM (3 x200 mL)으로 추출하고, 염수 (300mL)로 세척하고, 무수 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (석유 에테르/에틸 아세테이트=1/0, 1/1)에 의해 정제하였다. (2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로페닐)메탄올을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, 메탄올-d4) δ ppm 1.10 (s, 9 H) 4.58 (s, 2 H) 4.89 (s, 2 H) 7.32 - 7.51 (m, 6 H) 7.68 (dd, J=8, 1.38 Hz, 4 H) 7.76 (d, J=8 Hz, 1 H) 8.15 (dd, J=8 2.26 Hz, 1 H) 8.30 (d, J=2 Hz, 1 H).

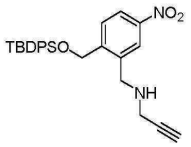
[2313] 2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤즈알데히드의 합성

[2314] 

[2315] DCM (450 mL) 중 (2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로페닐)메탄올 (34 g, 80.65 mmol, 1 당량)의 용액에 MnO_2 (56.09 g, 645.22 mmol, 8 당량)를 첨가하였다. 흑색 혼합물을 25℃에서 36시간 동안 교반하였다. 혼합물에 MeOH (400mL)를 첨가하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 이어서, H_2O (200mL) 및 DCM (300mL)을 첨가하고, DCM (3 x200 mL)으로 추출하고, 염수 (300mL)로 세척하고, 무수 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (CH_2Cl_2=100%)에 의해 정제하였다. 2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤즈알데히드를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ ppm 1.14 (s, 9 H) 5.26 (s, 2 H) 7.34 - 7.53 (m, 6 H) 7.60 - 7.73 (m, 4 H)

8.13 (d, J=8Hz, 1 H) 8.48 (dd, J=8, 2.51 Hz, 1 H) 8.67 (d, J=2 Hz, 1 H) 10.16 (s, 1 H).

[2316] N-(2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤질)프로프-2-인-1-아민의 합성

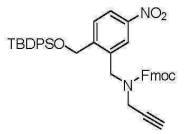


[2317]

[2318] DCM (130 mL) 중 2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤즈알데히드 (12.6 g, 30.03 mmol, 1 당량)의 용액에 프로프-2-인-1-아민 (4.14 g, 75.08 mmol, 4.81 mL, 2.5 당량) 및 $MgSO_4$ (36.15 g, 300.33 mmol, 10 당량)을 첨가한 다음, 현탁액 혼합물을 25℃에서 24시간 동안 교반하였다. 약간의 반응 용액을 취하고, $NaBH_4$로 처리하여, TLC는 하나의 새로운 점이 형성되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. (E)-N-[[2-[[tert-부틸(디페닐)실릴]옥시메틸]-5-니트로-페닐]메틸]프로프-2-인-1-이민을 황색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ ppm 1.11 (s, 9 H) 2.48 (t, J=2.38 Hz, 1 H) 4.52 (t, J=2.13 Hz, 2 H) 5.09 (s, 2 H) 7.35 - 7.49 (m, 6 H) 7.63 - 7.72 (m, 4 H) 7.79 (d, J=8.53 Hz, 1 H) 8.25 (dd, J=8.53, 2.51 Hz, 1 H) 8.68 (d, J=2.26 Hz, 1 H) 8.84 (t, J=1.88 Hz, 1 H).

[2319] (E)-N-[[2-[[tert-부틸(디페닐)실릴]옥시메틸]-5-니트로-페닐]메틸]프로프-2-인-1-이민 (12 g, 26.28 mmol, 1 당량)을 MeOH (100 mL) 및 THF (50 mL) 중에 용해시킨 다음, $NaBH_4$ (1.49 g, 39.42 mmol, 1.5 당량)을 첨가하고, 황색 혼합물을 -20℃에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS는 목적 화합물이 검출되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 -20℃에서 MeOH (200 mL)의 첨가에 의해 켄칭한 다음, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 EtOAc (500 mL)로 용해시키고, 염수 (150 mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 플래쉬 실리카 겔 크로마토그래피 (용리액: 0-10% 에틸 아세테이트/석유 에테르 구배)에 의해 정제하였다. N-(2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤질)프로프-2-인-1-아민을 연황색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ ppm 1.12 (s, 9 H) 2.13 (t, J=2.38 Hz, 1 H) 3.33 (d, J=2.51 Hz, 2 H) 3.80 (s, 2 H) 4.93 (s, 2 H) 7.36 - 7.49 (m, 6 H) 7.69 (dd, J=7.91, 1.38 Hz, 4 H) 7.77 (d, J=8.53 Hz, 1 H) 8.16 (dd, J=8.41, 2.38 Hz, 1 H) 8.24 (d, J=2.26 Hz, 1 H).

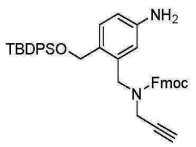
[2320] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트의 합성



[2321]

[2322] 디옥산 (90 mL) 중 N-(2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤질)프로프-2-인-1-아민 (9 g, 19.62 mmol, 1 당량) 및 FMOC-OSU (7.28 g, 21.59 mmol, 1.1 당량)의 용액에 포화 $NaHCO_3$ (90 mL)을 첨가하고, 백색 현탁액을 20℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O (150 mL)로 희석하고, EtOAc (150 mL x 2)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (200 mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 플래쉬 실리카 겔 크로마토그래피 (용리액: 0-30% 에틸 아세테이트/석유 에테르)에 의해 정제하였다. (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트 (7.7 g, 11.08 mmol, 56.48% 수율, 98% 순도)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ ppm 1.12 (s, 9 H) 2.17 (br d, J=14.31 Hz, 1 H) 3.87 - 4.97 (m, 9 H) 6.98 - 8.28 (m, 21 H).

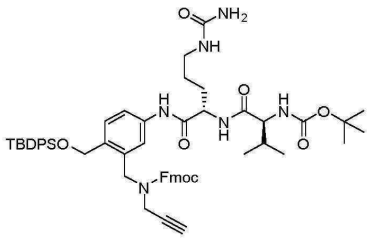
[2323] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-아미노-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트의 합성



[2324]

[2325] 10% AcOH/CH_2Cl_2 (100 mL) 중 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트 (5.0 g, 7.34 mmol, 1.0 당량)의 빙조 냉각된 용액에 Zn (7.20 g, 110 mmol, 15 당량)을 첨가하였다. 빙조를 제거하고, 생성된 혼합물을 2시간 동안 교반하였으며, 이때 이를 셀라이트®의 패드를 통해 여과하였다. 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 잔류물을 EtOAc 중에 용해시키고, $NaHCO_3$ (포화), NaCl (포화)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시키고, 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-75% EtOAc/헵탄) 후에 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-아미노-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=651.6; Rt=3.77분 (5분 산성 방법).

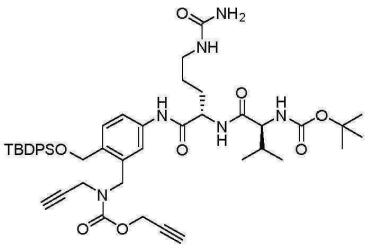
[2326] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트의 합성



[2327]

[2328] CH_2Cl_2 (40 mL) 중 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-아미노-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트 (2.99 g, 4.59 mmol, 1.0 당량) 및 (S)-2-(S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄산 (1.72 g, 4.59 mmol, 1.0 당량)에 에틸 2-에톡시퀴놀린-1(2H)-카르복실레이트 (2.27 g, 9.18 mmol, 2.0 당량)를 첨가하였다. 10분 동안 교반한 후, MeOH (1 mL)를 첨가하고, 용액은 균질해졌다. 반응물을 16시간 동안 교반하고, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-15% MeOH/CH_2Cl_2)에 의한 정제 후, (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=1008.8; Rt=3.77분 (5분 산성 방법).

[2329] 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트의 합성

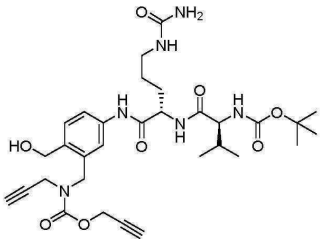


[2330]

[2331] MeOH 중 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트 (1.60 g, 1.588 mmol, 1.0 당량)에 2M 디메틸아민 (30 mL, 60 mmol, 37 당량) 및 THF (10 mL)를 첨가하였다. 3시간 동안 정치한 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 잔류물을 Et_2O로 연화처리하여 FMOC 탈보호 부산물을 제거하였다. 생성된 고체에 CH_2Cl_2 (16 mL) 및 피리딘 (4 mL)을 첨가하고, 불균질 용액에 프로파르길 클로로포르메이트 (155 uL, 1.588 mmol, 1.0 당량)를 첨가하였다. 30분 동안 교반한 후, 추가의 프로파르길 클로로포르메이트 (155 uL, 1.588 mmol, 1.0 당량)를 첨가하였다. 추가로 20분 동안 교반한 후, MeOH (1 mL)를 첨가하여 잔류 클로로포르메이트를 켄칭하고, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하였다. 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-15% MeOH/CH_2Cl_2)에

의한 정제 시, 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=867.8; Rt=3.40분 (5분 산성 방법).

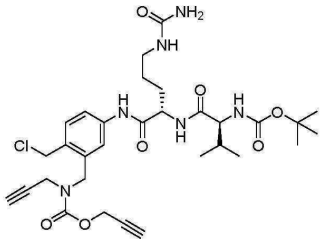
[2332] 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트의 합성



[2333]

[2334] THF (7.5 mL) 중 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트 (984 mg, 1.135 mmol, 1.0 당량)의 용액에 THF 중 1.0 M 테트라부틸암모늄 플루오라이드 (2.27 mL, 2.27 mmol, 2.0 당량)를 첨가하였다. 6시간 동안 정치한 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 잔류물을 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-40% MeOH/CH_2Cl_2)에 의해 정제하고, 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=629.6; Rt=1.74분 (5분 산성 방법).

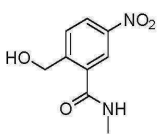
[2335] 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트의 합성



[2336]

[2337] CH_2Cl_2 (10 mL) 중 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트 (205 mg, 0.326 mmol, 1.0 당량)에 피리딘 (158 uL, 1.96 mmol, 5 당량)을 첨가하였다. 불균질 혼합물을 0℃ 빙조에서 냉각시키고, 티오닐 클로라이드 (71 uL, 0.98 mmol, 3 당량)를 첨가하였다. 빙조에서 3시간 동안 교반한 후, 반응물을 직접 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-30% MeOH/CH_2Cl_2)에 의해 정제하고, 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=647.6; Rt=2.54분 (5분 산성 방법).

[2338] 2-(히드록시메틸)-N-메틸-5-니트로벤즈아미드의 합성

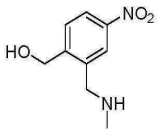


[2339]

[2340] MeOH (1500 mL) 중 6-니트로이소벤조푸란-1(3H)-온 (500 g, 2.79 mol)의 교반 현탁액에 $MeNH_2$ (3.00 kg, 29.94 mol, 600 mL, 31.0% 순도)를 25℃에서 첨가하고, 1시간 동안 교반하였다. 고체를 여과하고, 물로 2회 (600 mL) 세척하고, 고진공 하에 건조시켜 잔류물을 수득하였다. 생성물 2-(히드록시메틸)-N-메틸-5-니트로벤즈아미드를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS: Rt = 0.537분, MS m/z = 193.2. 1H NMR: 400 MHz DMSO δ 8.57 (br d, J = 4.4 Hz, 1H), 8.31 (dd, J = 2.4, 8.6 Hz, 1H), 8.21 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 8.8 Hz, 1H),

5.54 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.72 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.78 (d, J = 4.4 Hz, 3H).

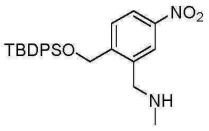
[2341] (2-((메틸아미노)메틸)-4-니트로페닐)메탄올의 합성



[2342]

[2343] THF (5000 mL) 중 2-(히드록시메틸)-N-메틸-5-니트로벤즈아미드 (560 g, 2.66 mol)의 용액을 0℃로 냉각시킨 다음, BH_3-Me_2S (506 g, 6.66 mol) (THF 중 2.0 M)를 60분 동안 적가하고, 70℃로 5시간 동안 가열하였다. LCMS는 출발 물질이 소모되었음을 나타냈다. 완결된 후, 메탄올 중 4M HCl (1200 mL)을 반응 혼합물에 0℃에서 첨가하고, 65℃에서 8시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, 고체를 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 생성물 (2-((메틸아미노)메틸)-4-니트로페닐)메탄올 (520 g)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS: Rt = 0.742분, MS m/z = 197.1 [M+H]+. ^{1}H NMR: 400 MHz DMSO δ 9.25 (br s, 2H), 8.37 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.14 (dd, J = 2.4, 8.5 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.72 (br s, 1H), 4.65 (s, 2H), 4.15 (br s, 2H), 2.55 - 2.45 (m, 3H)

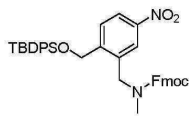
[2344] 1-(2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로페닐)-N-메틸메탄아미드의 합성



[2345]

[2346] DCM (2600 mL) 중 (2-((메틸아미노)메틸)-4-니트로페닐)메탄올 (520 g, 2.65 mol) 및 이미다졸 (721 g, 10.6 mol)의 용액을 0℃로 냉각시키고, TBDPS-CL (1.09 kg, 3.98 mol, 1.02 L)을 적가하고, 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 빙냉수 (1000 mL)에 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 증발시켜 조 생성물을 수득하였다. 조 생성물을 실리카 겔 상에서 크로마토그래피에 의해 에틸 아세테이트: 석유 에테르 (10/1에서 1)로 용리시키면서 정제하여 잔류물을 수득하였다. 생성물 1-(2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로페닐)-N-메틸메탄아민을 황색 액체로서 수득하였다. LCMS: 생성물: Rt = 0.910분, MS m/z = 435.2 [M+H]+. ^{1}H NMR: 400 MHz CDCl3 δ 8.23 (d, J=2.4 Hz, 1H), 8.15 (dd, J=2.4, 8.4 Hz, 1H), 7.76 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.71 - 7.66 (m, 4H), 7.50 - 7.37 (m, 6H), 4.88 (s, 2H), 3.65 (s, 2H), 2.39 (s, 3H), 1.12 (s, 9H)

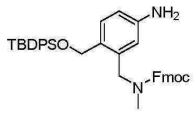
[2347] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤질)(메틸)카르바메이트의 합성



[2348]

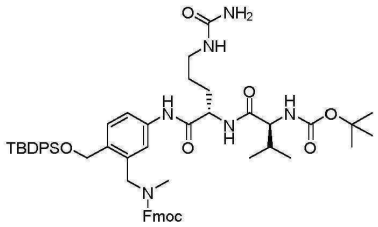
[2349] THF (4000 mL) 중 1-(2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로페닐)-N-메틸메탄아민 (400 g, 920.3 mmol)의 용액에 FMOC-OSU (341.5 g, 1.01 mol) 및 Et_3N (186.2 g, 1.84 mol, 256.2 mL)을 첨가하고, 혼합물을 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 (1600 mL)에 붓고, 에틸 아세테이트 (1000 mL x 2)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 증발시켜 조 생성물을 수득하였다. 조 생성물을 실리카 겔 상에서 크로마토그래피에 의해 석유 에테르: 에틸 아세테이트 (1/0에서 1/1)로 용리시키면서 정제하여 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤질)(메틸)카르바메이트를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS: Rt = 0.931분, MS m/z = 657.2 [M+H]+. ^{1}H NMR: EW16000-26-P1A, 400 MHz CDCl3 δ 8.21 - 7.96 (m, 1H), 7.87 - 7.68 (m, 3H), 7.68 - 7.62 (m, 4H), 7.62 - 7.47 (m, 2H), 7.47 - 7.28 (m, 9H), 7.26 - 7.05 (m, 2H), 4.81 (br s, 1H), 4.62 - 4.37 (m, 4H), 4.31 - 4.19 (m, 1H), 4.08 - 3.95 (m, 1H), 2.87 (br d, J = 5.2 Hz, 3H), 1.12 (s, 9H).

[2350] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-아미노-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트의 합성

[2351] 

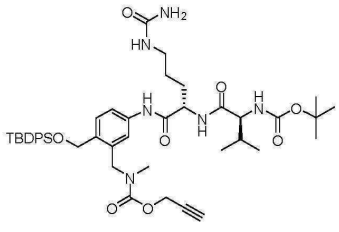
[2352] MeOH (90 mL) 및 EtOAc (30 mL) 중 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-5-니트로벤질)(메틸)카르바메이트 (3.0 g, 4.57 mmol, 1.0 당량)의 용액을 탈기하고, N_2의 풍선으로 3원 스톱콕을 통해 퍼징하였다. 탈기/N_2 퍼징을 2x 반복한 후, 10% Pd/C 데구사(deGussa)형 (0.486 g, 0.457 mmol, 0.1 당량)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 탈기하고, 3원 스톱콕을 통해 2 H_2의 풍선으로 퍼징하였다. 탈기/H_2 퍼징을 2x 반복한 후, 반응물을 H_2의 풍선 압력 하에 4시간 동안 교반하였다. 반응물을 탈기하고, N_2로 퍼징하고, MeOH로 추가로 용리시키면서 셀라이트의 패드를 통해 여과하였다. 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 고진공 하에 펌핑한 후 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-아미노-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=627.7; Rt=1.59분 (2분 산성 방법).

[2353] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트의 합성

[2354] 

[2355] 2:1 CH_2Cl_2/MeOH (60 mL) 중 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-아미노-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (2.86 g, 4.56 mmol, 1.0 당량) 및 (S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄산 (1.71 g, 4.56 mmol, 1.0 당량)에 에틸 2-에톡시퀴놀린-1(2H)-카르복실레이트 (2.256 g, 9.12 mmol, 2.0 당량)를 첨가하였다. 균질 용액을 16시간 동안 교반하였으며, 이때 추가의 (S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄산 (0.340 g, 0.2 당량) 및 에틸 2-에톡시퀴놀린-1(2H)-카르복실레이트 (0.452 g, 0.4 당량)를 첨가하여 반응을 완결시켰다. 추가로 5시간 동안 교반한 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-5% MeOH/CH_2Cl_2)에 의한 정제 후에 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=984.1; Rt=1.54분 (2분 산성 방법).

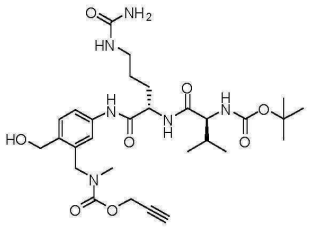
[2356] 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트의 합성

[2357] 

[2358] THF (10 mL) 중 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (2.05 g, 2.085 mmol, 1.0 당량)에 MeOH 중 2.0 M 디메틸 아민 (10.42 mL, 20.85 mmol, 10 당량)을 첨가하였다. 16시간 동안 교반한 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하였다. 잔류물을 CH_2Cl_2 (20 mL) 및 DIEA (0.533 mL, 4.17 mmol, 2 당량) 중에 용해시키고, 프로파르길 클로로포르메이트 (0.264 mL, 2.71 mmol, 1.3 당량)를 첨가하였다. 실온에서 16

시간 동안 교반한 후, 반응물을 CH_2Cl_2 (20 mL)로 희석하고, $NaHCO_3$ (포화), NaCl (포화)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시키고, 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-15% MeOH/CH_2Cl_2)에 의해 정제하여 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=843.8; Rt=1.35분 (2분 산성 방법).

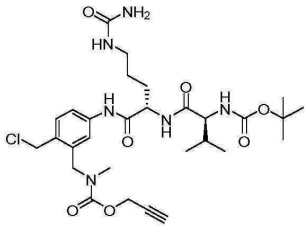
[2359] 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(메틸)카르바메이트의 합성



[2360]

[2361] THF (10.0 mL) 중 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (1.6 g, 1.90 mmol, 1.0 당량)의 0℃ 용액에 THF 중 1.0 M 테트라부틸암모늄 플루오라이드 (3.80 mL, 3.80 mmol, 2.0 당량)를 첨가하였다. 실온으로 가온하고 16시간 동안 교반한 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 잔류물을 EtOAc 중에 용해시키고, $NaHCO_3$ (포화), NaCl (포화)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시키고, 잔류물을 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-30% MeOH/CH_2Cl_2)에 의해 정제하여 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(메틸)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=605.7; Rt=0.81분 (2분 산성 방법).

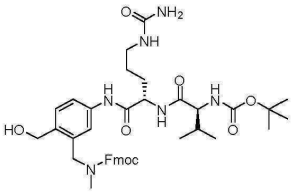
[2362] 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(메틸)카르바메이트의 합성



[2363]

[2364] CH_2Cl_2 (10 mL) 중 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (350 mg, 0.579 mmol, 1.0 당량)에 피리딘 (0.278 mL, 3.47 mmol, 6 당량)을 첨가하였다. 불균질 혼합물을 0℃ 빙조에서 냉각시키고, 티오닐 클로라이드 (0.126 mL, 1.73 mmol, 3 당량)를 첨가하였다. 빙조에서 3시간 동안 교반한 후, 반응물을 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-30% MeOH/CH_2Cl_2)에 의해 정제하고, 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH +=623.7; Rt=2.19분 (5분 산성 방법).

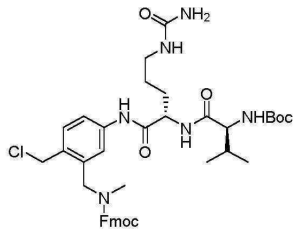
[2365] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(메틸)카르바메이트의 합성



[2366]

[2367] THF (20 mL) 중에 용해시킨 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (2.6 g, 2.64 mmol, 1.0 당량)에 아세트산 (0.757 mL, 13.22 mmol, 5.0 당량) 및 THF 중 1.0 M TBAF (2.91 mL, 2.91 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 용액을 72시간 동안 교반하고, 이때 휘발성 물질을 진공 하에 제거하였다. 이스코 SiO_2 크로마토그래피에 의한 정제 후 (0-30% MeOH/CH_2Cl_2)에 의해 정제 후, (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(메틸)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=745.5; Rt=1.07분 (2분 산성 방법).

[2368] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(메틸)카르바메이트의 합성

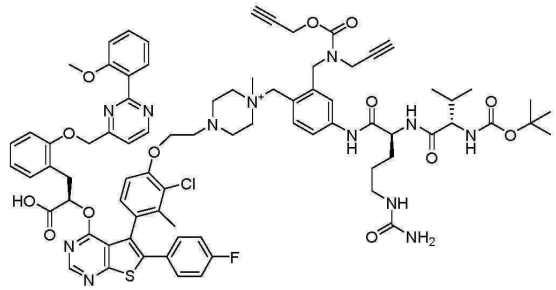


[2369]

[2370] CH_2Cl_2 (10 mL) 중 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (200 mg, 0.269 mmol, 1.0 당량)에 피리딘 (0.130 mL, 1.61 mmol, 6 당량)을 첨가하였다. 불균질 혼합물을 0℃ 빙조에서 냉각시키고, 티오닐 클로라이드 (0.059 mL, 0.806 mmol, 3 당량)를 첨가하였다. 빙조에서 잠시 교반한 후, 반응물을 교반하면서 실온으로 2시간 동안 가온하였다. 반응물을 이스코 SiO_2 크로마토그래피 (0-30% MeOH/CH_2Cl_2)에 의해 정제하고, (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(메틸)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=763.2; Rt=1.18분 (2분 산성 방법).

[2371] 일반적 절차 1

[2372] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



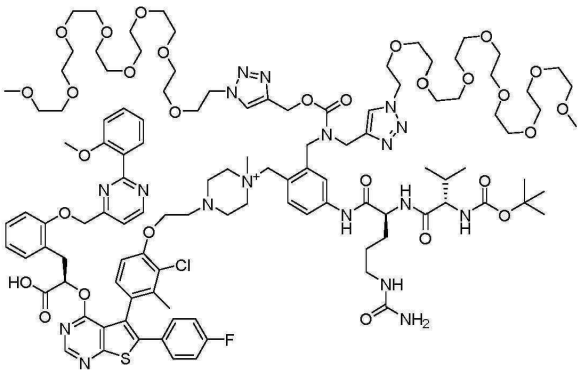
[2373]

[2374] DMF (0.5 mL) 중에 용해시킨 (R)-2-((5-(3-클로로-2-메틸-4-(2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시)페닐)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)프로판산 히드로클로라이드 (73.8 mg, 0.81 mmol, 1.0 당량) 및 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(프로프-2-인-1-일)카르바메이트 (78 mg, 0.122 mmol, 1.5 당량)에 DIEA (70 uL, 0.405 mmol, 5.0 당량)를 첨가한 다음, 이어서 테트라부틸암모늄 아이오다이드 (25.4 mg, 0.069 mmol, 0.85 당량)를 첨가하였다. 5시간 동안 교반한 후, 반응물을 DMSO (3 mL)로 희석하고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% NH_4OH 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-

2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. LCMS: M+=1486.3; Rt=2.70분 (5분 염기성 방법).

[2375] 일반적 절차 2

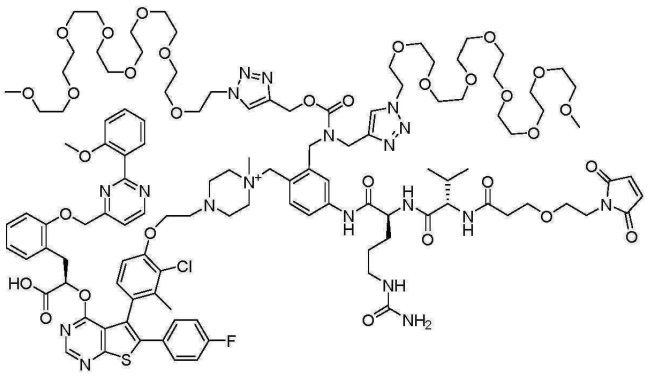
[2376] 1-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

[2377] 

[2378] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (24 mg, 0.016 mmol, 1.0 당량) 및 25-아지도-2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산 (26.5 mg, 0.065 mmol, 4 당량)에 t-BuOH (1 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 하우스 진공을 통해 탈기하고, 3-원 스톱콕을 통해 N_2의 풍선으로 퍼징하였다. 탈기/퍼징을 3회 반복하였다. 아스코르브산나트륨의 16 mg/mL 수용액 (297 uL, 0.024 mmol, 1.5 당량)을 첨가하고, 용액을 탈기하고, N_2로 3회 퍼징하였다. 황산구리의 4 mg/mL 수용액 (298 uL, 0.0048 mmol, 0.3 당량)을 첨가하고, 용액을 탈기하고, N_2로 3회 퍼징하였다. N_2 하에 3시간 동안 교반한 후, 반응물을 DMSO (3 mL)로 희석하고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS M+=2307.0730, Rt=2.69분 (5분 산성 방법).

[2379] 일반적 절차 3

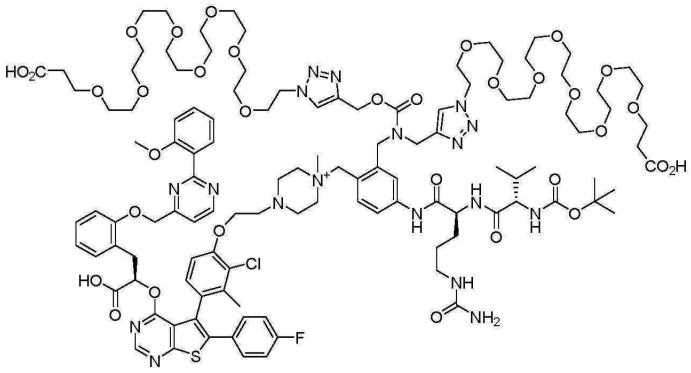
[2380] 1-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산--25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L1-P1)의 합성



[2381]

[2382] 1-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (19 mg, 0.0082 mmol, 1.0 당량)에 25% TFA/CH_2Cl_2 (2 mL)를 첨가하였다. 45분 동안 정치한 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, CH_2Cl_2를 첨가하고, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 펌핑하였다. 잔류물을 DMF (1 mL) 및 DIEA (22 uL, 0.124 mmol, 15 당량) 중에 용해시키고, 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로파노에이트 (5.1 mg, 0.016 mmol, 2 당량)를 첨가하였다. 18시간 동안 정치한 후, 용액을 DMSO (3 mL)로 희석하고, RP-이스코 골드 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L1-P1)을 수득하였다. HRMS: M+=2399.0797, Rt=2.43분 (5분 산성 실행). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0.83 (dd, J=13.82, 6.72 Hz, 6 H) 1.30 - 1.52 (m, 2 H) 1.55 - 1.76 (m, 2 H) 1.83 (s, 3 H) 1.88 - 2.08 (m, 1 H) 2.28 - 2.46 (m, 7 H) 2.73 - 2.84 (m, 4 H) 2.84 - 3.08 (m, 8 H) 3.15 - 3.27 (m, 3 H) 3.43 - 3.66 (m, 68 H) 3.73 - 3.83 (m, 7 H) 4.16 - 4.30 (m, 3 H) 4.32 - 4.43 (m, 2 H) 4.47 (br s, 6 H) 4.60 (br s, 3 H) 5.16 - 5.30 (m, 3 H) 5.40 (br s, 2 H) 5.44 - 5.52 (m, 1 H) 5.99 (br t, J=5.07 Hz, 1 H) 6.21 (d, J=6.48 Hz, 1 H) 6.71 (t, J=7.40 Hz, 1 H) 6.97 - 7.04 (m, 2 H), 7.00 (s, 2H) 7.12 - 7.23 (m, 5 H) 7.27 - 7.54 (m, 8 H) 7.63 (d, J=5.14 Hz, 1 H) 7.78 - 7.94 (m, 3 H) 7.99 (br s, 1 H) 8.05 - 8.23 (m, 2 H) 8.60 (s, 1 H) 8.88 (d, J=5.13 Hz, 1 H) 10.24 (br s, 1 H).

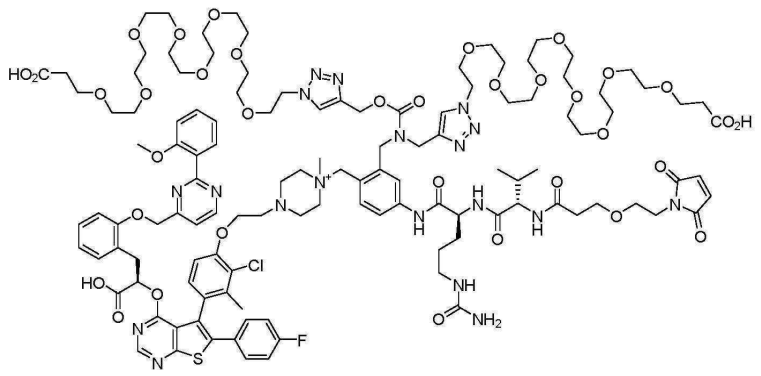
[2383] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2384]

[2385] 일반적 절차 2에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (30 mg, 0.020 mmol, 1.0 당량) 및 1-아지도-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헵타코산-27-산 (28.3 mg, 0.061 mmol, 3 당량)을 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=2420.0867, Rt=2.57분 (5분 산성 방법).

[2386] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L10-P1)의 합성

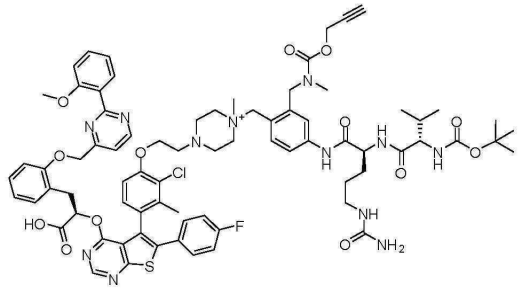


[2387]

[2388] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (30 mg, 0.012 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L10-P1))을 수득하였다. HRMS: M+=2515.0879, Rt=2.43분 (5분 산성 방법). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0.83 (dd, J=13.82, 6.72 Hz, 6 H) 1.30 - 1.52 (m, 2 H) 1.55 - 1.76 (m, 2 H) 1.83 (s, 3 H) 1.88 - 2.08 (m, 1 H) 2.28 - 2.46 (m, 7 H) 2.73 - 2.84 (m, 4 H) 2.84 - 3.08 (m, 8 H) 3.15 - 3.27 (m, 3 H) 3.43 - 3.66 (m, 68 H) 3.73 - 3.83 (m, 7 H) 4.16 - 4.30 (m, 3 H) 4.32 - 4.43 (m, 2 H) 4.47 (br s, 6 H) 4.60 (br s, 3 H) 5.16 - 5.30 (m, 3 H) 5.40 (br s, 2 H) 5.44 - 5.52 (m, 1 H) 5.99 (br t, J=5.07 Hz, 1 H) 6.21 (d, J=6.48 Hz, 1 H) 6.71 (t, J=7.40 Hz, 1 H) 6.97 - 7.04 (m, 2 H), 7.00 (s, 2H) 7.12 - 7.23 (m, 5 H) 7.27 - 7.54 (m, 8 H) 7.63 (d, J=5.14 Hz, 1 H) 7.78 - 7.94 (m, 3 H) 7.99 (br s, 1 H) 8.05 - 8.23 (m, 2 H) 8.60 (s, 1 H) 8.88 (d, J=5.13 Hz, 1 H) 10.24 (br s, 1 H).

[2389] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-

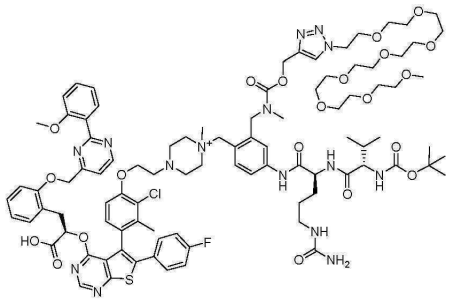
4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2390]

[2391] 일반적 절차 1에 따라, (R)-2-((5-(3-클로로-2-메틸-4-(2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시)페닐)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)프로판산 히드로클로라이드 (300 mg, 0.329 mmol, 1.0 당량) 및 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (246 mg, 0.395 mmol, 1.2 당량)를 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1461.5800, Rt=2.53분 (5분 산성 방법).

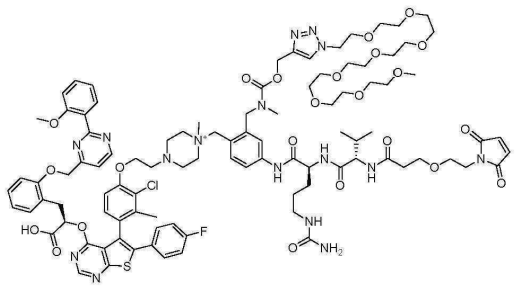
[2392] 1-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2393]

[2394] 일반적 절차 2에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (20 mg, 0.14 mmol, 1.0 당량) 및 25-아지도-2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산 (16.8 mg, 0.041 mmol, 3.0 당량)을 사용하여, 1-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1872.8359, Rt=2.56분 (5분 산성 방법).

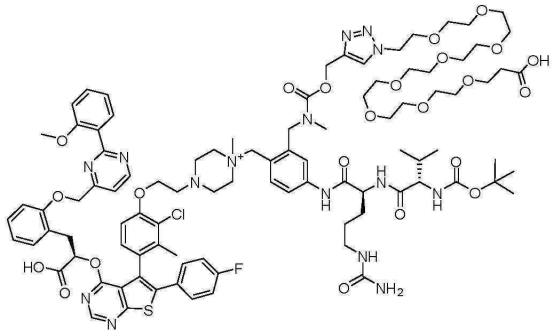
[2395] 1-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L4-P1)의 합성



[2396]

[2397] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (16.9 mg, 0.009 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 1-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L4-P1)을 수득하였다. HRMS: M+= 1967.8375, Rt=2.46분 (5분 산성 방법).

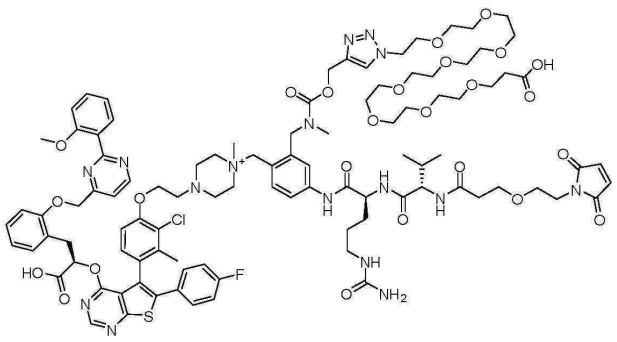
[2398] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2399]

[2400] 일반적 절차 2에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (12 mg, 0.0082 mmol, 1.0 당량) 및 1-아지도-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헵타코산-27-산 (11.5 mg, 0.025 mmol, 3.0 당량)을 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1928.8459, Rt=2.52분 (5분 산성 방법).

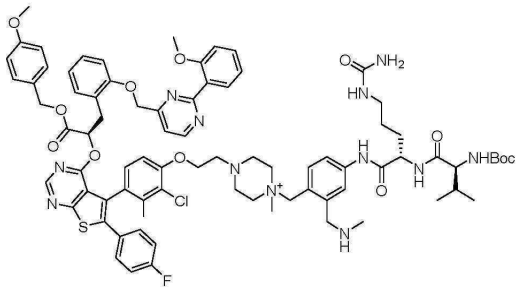
[2401] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L3-P1)의 합성



[2402]

[2403] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (12 mg, 0.006 mmol,1.00 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L3-P1)을 수득하였다. HRMS: M+=2024.8516, Rt=2.42분 (5분 산성 방법).

[2404] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

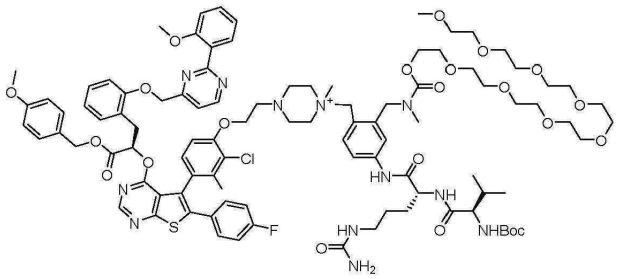


[2405]

[2406] DMF (2 mL) 중에 용해시킨 4-메톡시벤질 (R)-2-((5-(3-클로로-2-메틸-4-(2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시)페닐)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)프로파노에이트 (160 mg, 0.161 mmol, 1.0 당량) 및 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (153 mg, 0.201 mmol, 1.25 당량)에 DIEA (0.056 mL, 0.321 mmol, 2.0 당량)를 첨가한 다음, 이어서 테트라부틸암모늄 아이오다이드 (65.3 mg, 0.177 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 16시간 동안 정치한 후, THF 중 2.0 디메틸아민 (0.804 mL, 1.67 mmol, 10 당량)을 첨가하였다. 2시간 동안 정치한 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, DMSO (6 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1499.3700; Rt=2.59분 (5분 산성 방법).

[2407] 1-(4-((R)-2-((R)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3-옥소-4,7,10,13,16,19,22,25,28-노나옥사-2-아자노나코실)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥

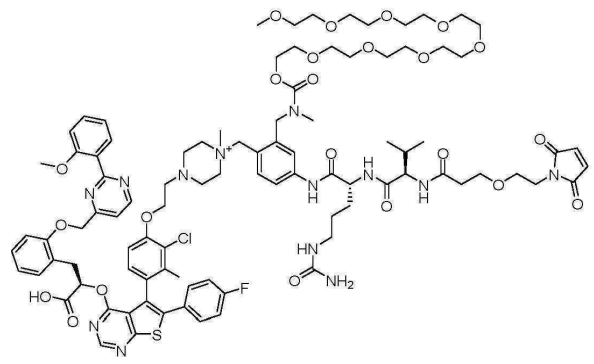
시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2408]

[2409] DMF (1.5 mL) 중에 용해시킨 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (40 mg, 0.027 mmol, 1.0 당량) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 (2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일) 카르보네이트 (30.8 mg, 0.059 mmol, 2.2 당량)에 DIEA (0.009 mL, 0.053 mmol, 2.0 당량)를 첨가하였다. 1시간 동안 정치한 후, DMSO (3 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((R)-2-((R)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3-옥소-4,7,10,13,16,19,22,25,28-노나옥사-2-아자노나코실)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1909.3800; Rt=2.92분 (5분 산성 방법).

[2410] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((R)-2-((R)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3-옥소-4,7,10,13,16,19,22,25,28-노나옥사-2-아자노나코실)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L2-P1)의 합성

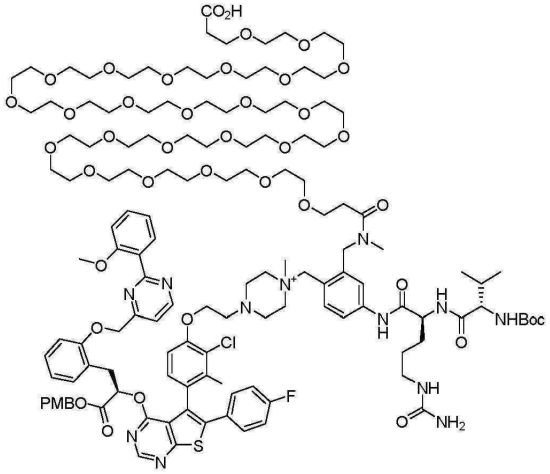


[2411]

[2412] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((R)-2-((R)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3-옥소-4,7,10,13,16,19,22,25,28-노나옥사-2-아자노나코실)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (25.3 mg, 0.013 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((R)-2-((R)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3-옥소-4,7,10,13,16,19,22,25,28-노나옥사-2-아자노나코실)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L2-P1)을 수득하였다. HRMS: M+= 1884.7900, Rt=2.50분 (5분 산성 방법).

[2413] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(80-카르복시-2-메틸-3-옥소-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-펜타코사옥사-2-아자옥타콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-

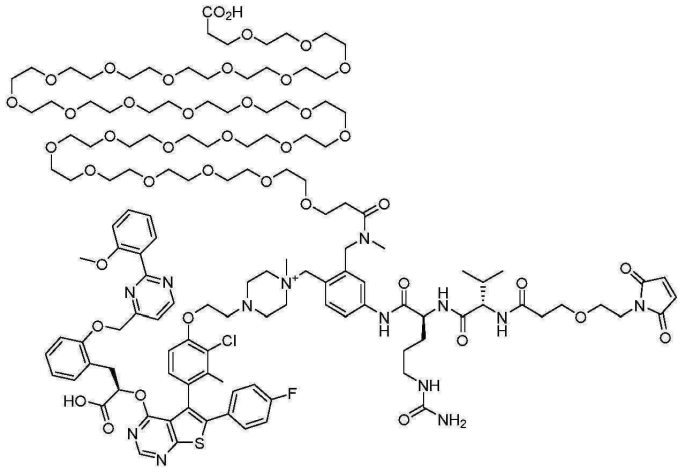
메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2414]

[2415] DMF (2 mL) 중에 용해시킨 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (150 mg, 0.093 mmol, 1.0 당량) 및 79-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-79-옥소-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-펜타코사옥사노나헵타콘탄산 (134 mg, 0.102 mmol, 1.1 당량)에 DIEA (0.081 mL, 0.464 mmol, 5.0 당량)를 첨가하였다. 18시간 동안 정치한 후, DMSO (6 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(80-카르복시-2-메틸-3-옥소-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-펜타코사옥사-2-아자옥타콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=2700.8701; Rt=2.83분 (5분 산성 방법).

[2416] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(80-카르복시-2-메틸-3-옥소-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-펜타코사옥사-2-아자옥타콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L11-P1)의 합성

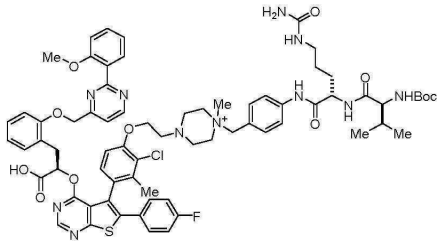


[2417]

[2418] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(80-카르복시-2-메틸-3-옥소-

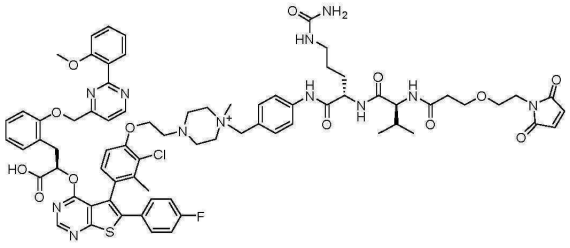
6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-펜타코사옥사-2-아자옥타콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(80-카르복시-2-메틸-3-옥소-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-펜타코사옥사-2-아자옥타콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L11-P1)을 수득하였다. HRMS: M+= 2674.8201, Rt=2.44분 (5분 산성 방법).

[2419] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

[2420] 

[2421] 일반적 절차 1에 따라, (R)-2-((5-(3-클로로-2-메틸-4-(2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시)페닐)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)프로판산 (50 mg, 0.057 mmol, 1.0 당량) 및 tert-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((4-(클로로메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카르바메이트 (34.1 mg, 0.069 mmol, 1.2 당량)를 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. LCMS: M+=1337.2, Rt=1.11분 (2분 산성 방법).

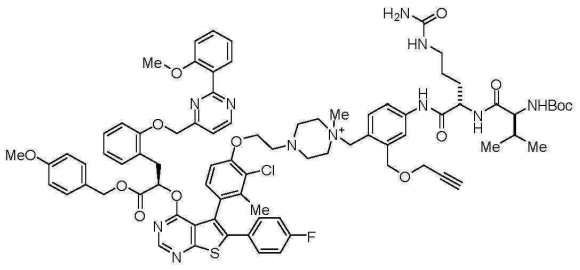
[2422] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 또는 (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-4-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-디옥소피롤-1-일)에톡시]프로파노일아미노]-3-메틸-부타노일메틸-부타노일]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸]-4-메틸-피페라진-4-윰-1-일]에톡시]-2-메틸-페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (L9-P1)의 합성

[2423] 

[2424] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (55 mg, 0.041 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L9-P1)을 수득하였다. HRMS: M+=1431.5400, Rt=2.50분 (5분 산성 방

법).

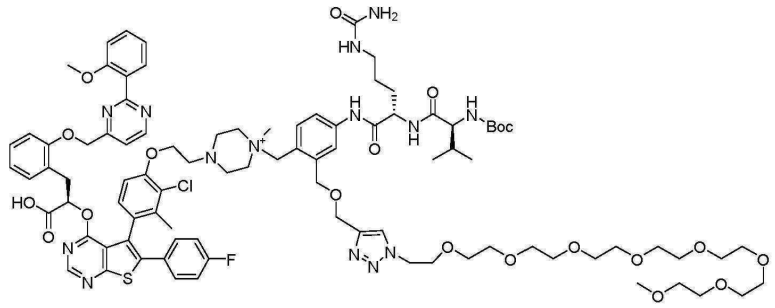
[2425] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2426]

[2427] 일반적 절차 1에 따라, 4-메톡시벤질 (R)-2-((5-(3-클로로-2-메틸-4-(2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시)페닐)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)프로파노에이트 (85 mg, 0.085 mmol, 1.0 당량) 및 tert-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((4-(클로로메틸)-3-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카르바메이트 (58 mg, 0.102 mmol, 1.2 당량)를 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1524.6200, Rt=2.95분 (5분 산성 방법).

[2428] 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

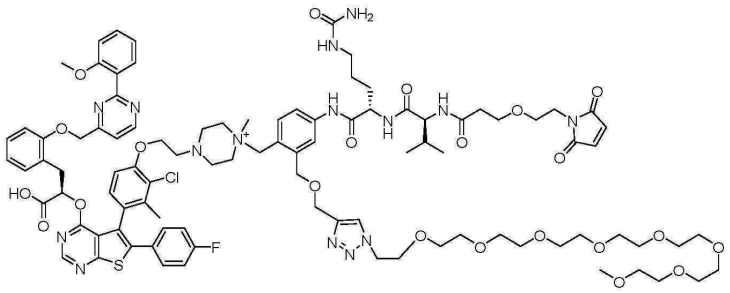


[2429]

[2430] 일반적 절차 2에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (20 mg, 0.014 mmol, 1.0 당량) 및 25-아지도-2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산 (5.8 mg, 0.014 mmol, 1 당량)을 사용하여, 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. LCMS: [(M+)+H+]+2/2=908.5, Rt=1.15분 (2분 산성 방법).

[2431] 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L8-P1)의 합

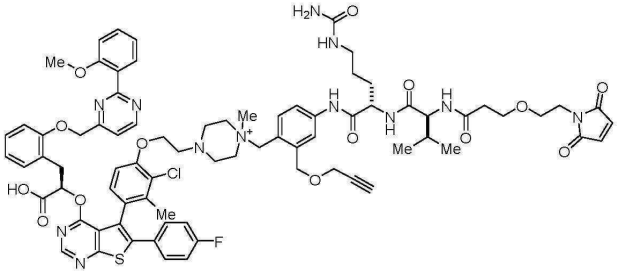
성



[2432]

[2433] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (20 mg, 0.010 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L8-P1) 을 수득하였다. HRMS: M+= 1908.8097, Rt=2.37분 (5분 산성 방법).

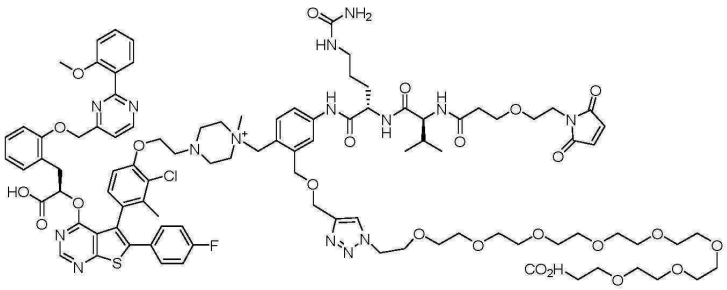
[2434] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2435]

[2436] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (123.1 mg, 0.075 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1499.5601, Rt=2.50분 (5분 산성 방법).

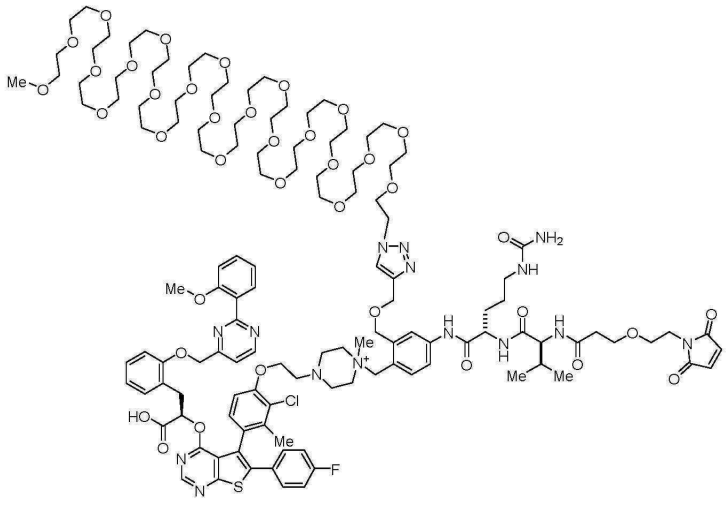
[2437] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L7-P1)의 합성



[2438]

[2439] 일반적 절차 2에 따라, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (40 mg, 0.027 mmol, 1.0 당량) 및 1-아지도-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헵타코산-27-산 (37.4 mg, 0.080 mmol, 3.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-(26-카르복시-3,6,9,12,15,18,21,24-옥타옥사헥사코실)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L7-P1)을 수득하였다. HRMS: M+=1965.5601, Rt=2.35분 (5분 산성 방법).

[2440] 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사트리헵타콘탄-73-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L5-P1)의 합성

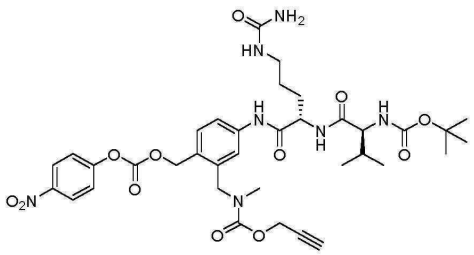


[2441]

[2442] 일반적 절차 2에 따라, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (20.4 mg, 0.014 mmol, 1.0 당량) 및 73-아지도-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사트리헵타콘탄 (28.1 mg, 0.025 mmol, 1.5 당량), 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사트리헵타콘탄-73-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메

틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L5-P1)을 수득하였다. HRMS: M+=2613.2100, Rt=2.44분 (5분 산성 방법).

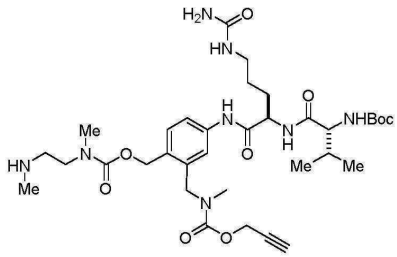
[2443] 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트의 합성



[2444]

[2445] 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(히드록시메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (249 mg, 0.412 mmol) 및 4-니트로페닐 (4-니트로소페닐) 카르보네이트 (356 mg, 1.24 mmol, 3.0 당량)의 용액을 DMF (2 mL) 중에서 균질해질 때까지 와류시키고, 16시간 동안 정치시켰다. 용액을 DMSO (6 mL)로 희석하고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 개질제 없음)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트를 수득하였다. LC/MS MH+=770.7, Rt=2.45분 (5분 산성 방법).

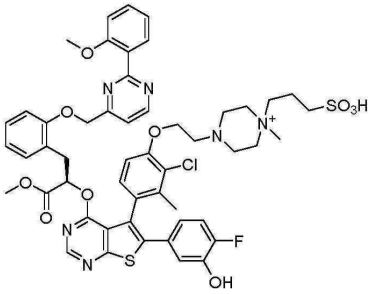
[2446] 프로프-2-인-1-일 (5-((R)-2-((R)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((메틸(2-(메틸아미노)에틸)카르바모일)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트의 합성



[2447]

[2448] DMF (1 ml) 중 프로프-2-인-1-일 (5-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (100mg, 0.130 mmol)의 용액에 N,N'-디메틸-에틸렌디아민 (22.90 mg, 0.260 mmol)을 첨가한 다음, 이어서 DIPEA (0.113 ml, 0.650 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 DMSO로 희석시키고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% NH_4OH 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 프로프-2-인-1-일 (5-((R)-2-((R)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((메틸(2-(메틸아미노)에틸)카르바모일)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트를 수득하였다. LCMS: MH+=719.9, Rt=0.73분 (2분 산성 방법).

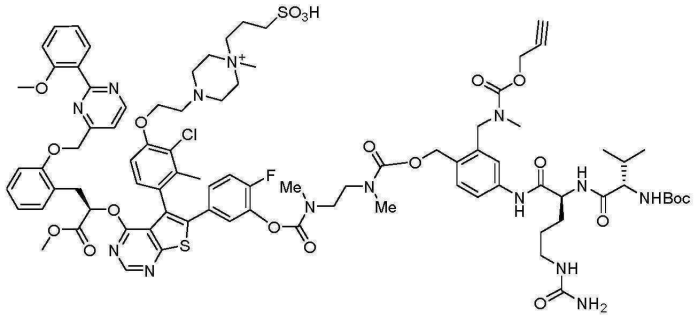
[2449] (R)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로-3-히드록시페닐)-4-((1-메톡시-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰의 합성



[2450]

[2451] MeOH (1.5 mL) 중 (R)-4-(2-(4-(4-(1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로-3-히드록시페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 또는 (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-[4-메틸-4-(3-술포프로필)피페라진-4-윰-1-일]에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-히드록시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (100 mg, 0.099 mmol)의 용액에 몇 방울의 H_2SO_4 (진한)를 첨가하였다. 밤새 교반한 후, MeOH를 진공 하에 제거하고, 잔류물을 DMSO 중에 용해시키고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, (R)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로-3-히드록시페닐)-4-((1-메톡시-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS M+=1027.2900, Rt=2.31분 (5분 산성 방법).

[2452] 4-(2-(4-(6-(3-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-메톡시-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰의 합성

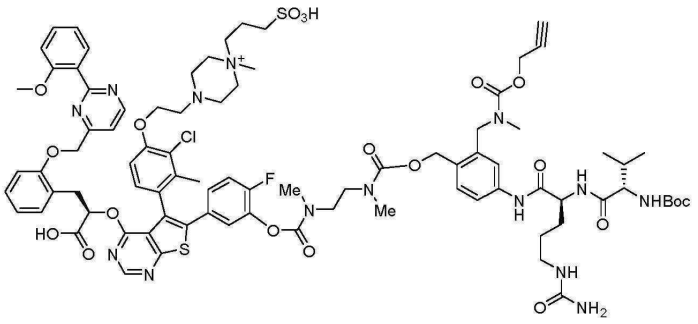


[2453]

[2454] 0℃에서 CH_2Cl_2 (1 mL) 중 (R)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로-3-히드록시페닐)-4-((1-메톡시-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (50 mg, 0.049 mmol, 1.0 당량)의 용액에 TEA (34 uL, 0.243 mmol, 5.0 당량)를 첨가한 다음, 이어서 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (10.8 mg, 0.054 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 15분 동안 교반한 후, DMF (1 mL) 중 프로프-2-인-1-일 (5-((R)-2-((R)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((메틸(2-(메틸아미노)에틸)카르바모일)옥시)메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (66.3 mg, 0.092 mmol, 2.0 당량)의 용액을 첨가한 다음, 이어서 DIEA (40 uL, 0.231 mmol, 5.0 당량)를 첨가하였다. 2시간 동안 교반한 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 용액을 DMSO (3 ml)로 희석하고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 4-(2-(4-(6-(3-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-메톡시-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS M+=1771.6700, Rt=2.57분 (5분 산성 방법).

[2455] 4-(2-(4-(6-(3-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄

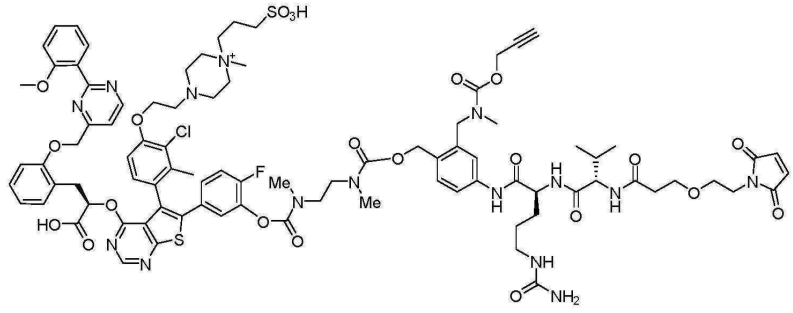
아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰의 합성



[2456]

[2457] THF (1 mL) 중 4-(2-(4-(6-(3-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-메톡시-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (23 mg, 0.013 mmol, 1.0 당량)의 용액에 2N LiOH (0.032 mL, 0.065 mmol, 5 당량)을 첨가하였다. 2시간 동안 교반한 후, 용액을 AcOH로 중화시키고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 4-(2-(4-(6-(3-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS M+=1757.6200, Rt=2.46분 (5분 산성 방법).

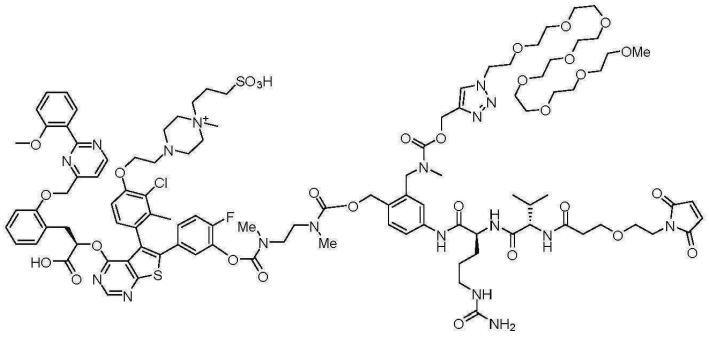
[2458] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(3-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰의 합성



[2459]

[2460] 일반적 절차 3에 따라, 4-(2-(4-(6-(3-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (17 mg, 0.0097 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(3-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1852.5200, Rt=2.29분 (5분 산성 방법).

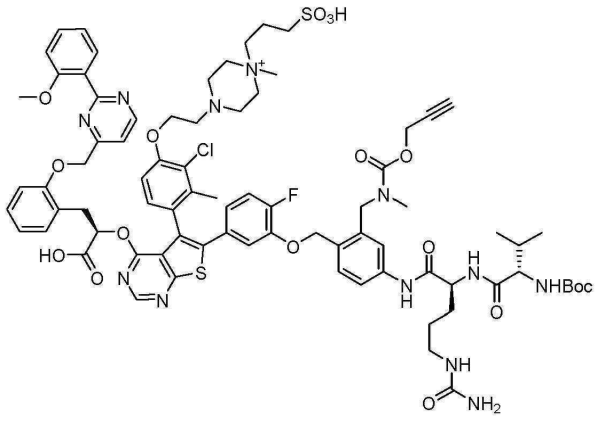
[2461] 4-(2-(4-(6-(3-(((2-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (L12-P2)의 합성



[2462]

[2463] 일반적 절차 2에 따라, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(3-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (10 mg, 0.0054 mmol, 1.0 당량) 및 25-아지도-2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산 (4.4 mg, 0.011 mmol, 2 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(6-(3-(((2-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)에틸)(메틸)카르바모일)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (L12-P2)을 수득하였다. HRMS: M+=2261.8601, Rt=2.24분 (5분 산성 방법).

[2464] 4-(2-(4-(6-(3-((4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰의 합성

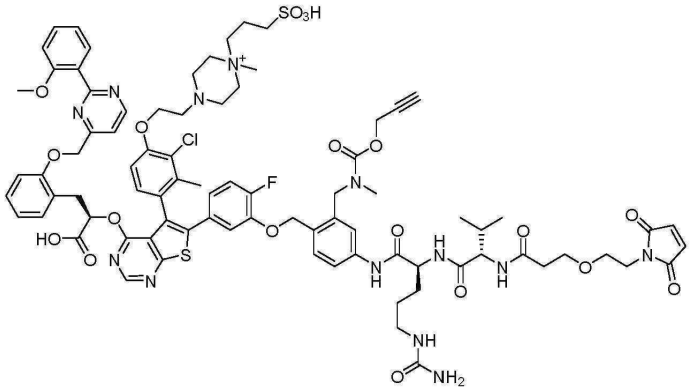


[2465]

[2466] 일반적 절차 1을 (R)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로-3-히드록시페닐)-4-((1-메톡시-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (40 mg, 0.039 mmol, 1.0 당량) 및 프로프-2-인-1-일 (5-((R)-2-((R)-2-((tert-부톡시카르보

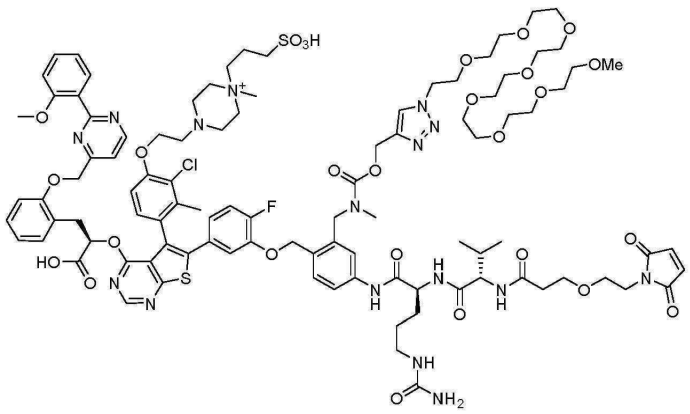
닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(클로로메틸)벤질)(메틸)카르바메이트 (36.4 mg, 0.058 mmol, 1.5 당량)을 사용하여 수행하고, 알킬화 후에 변형을 2N LiOH (0.097 mL, 0.195 mmol, 5.0 당량)를 첨가하여 완결하고, 2시간 동안 교반한 후 중화시키고, RP-HPLC에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 4-(2-(4-(6-(3-((4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1599.5856, Rt=1.34분 (2분 산성 방법).

[2467] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(3-((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)-4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰의 합성

[2468] 

[2469] 일반적 절차 3에 따라, 4-(2-(4-(6-(3-((4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (46 mg, 0.029 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(3-((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)-4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1694.5699, Rt=2.55분 (5분 산성 방법).

[2470] 4-(2-(4-(6-(3-((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (L4-P2)의 합성

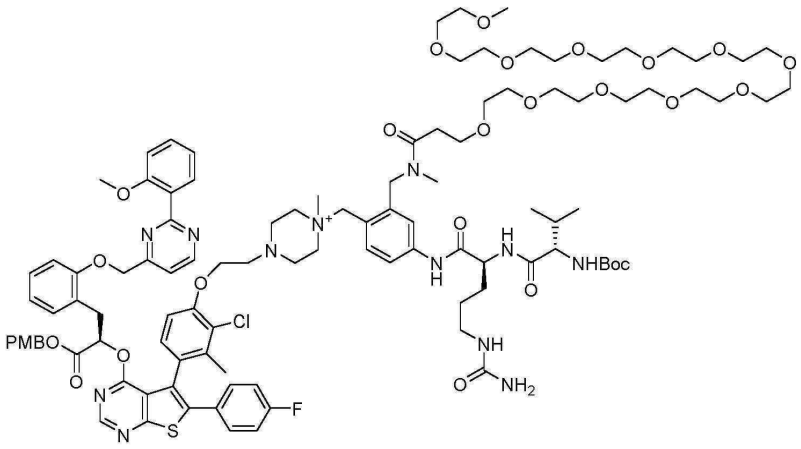
[2471] 

[2472] 일반적 절차 2에 따라,

4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(3-((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸((프로프-2-인-1-일옥시)카르보닐)아미노)메틸)벤질)옥시)-4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (44 mg, 0.026 mmol, 1.0 당량) 및 25-아지도-2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산 (21.2 mg, 0.052 mmol, 2 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(6-(3-((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-옥타옥사펜타코산-25-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)옥시)-4-플루오로페닐)-4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸-1-(3-술포프로필)피페라진-1-윰 (L4-P2)을 수득하였다. HRMS: M+=2103.8000, Rt=2.47분 (5분 산성 방법).

[2473] 일반적 절차 4:

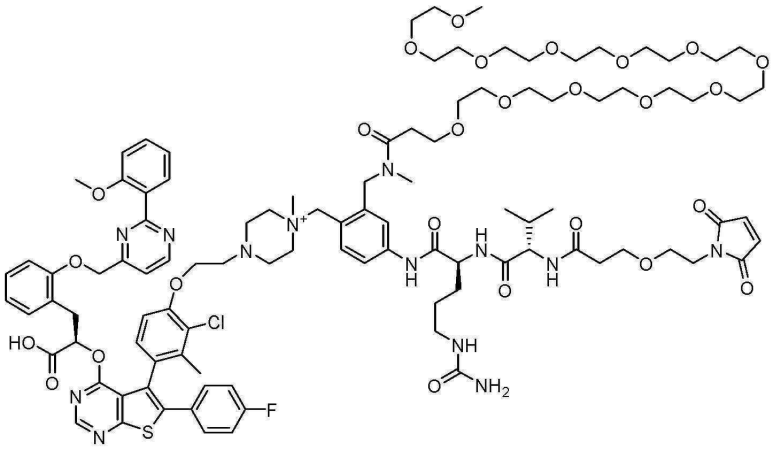
[2474] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(39-메틸-38-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39-아자테트라콘탄-40-일)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2475]

[2476] DMF (1 mL) 중에 용해시킨 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (60 mg, 0.040 mmol, 1.0 당량) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사옥타트리아콘탄-38-오에이트 (35.7 mg, 0.052 mmol, 1.3 당량)에 DIPEA (0.035 mL, 0.200 mmol, 5.0 당량)을 첨가하였다. 18시간 동안 정치한 후, DMSO (2 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(39-메틸-38-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39-아자테트라콘탄-40-일)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: [M+Na]+=2092.9399; Rt=2.88분 (5분 산성 방법).

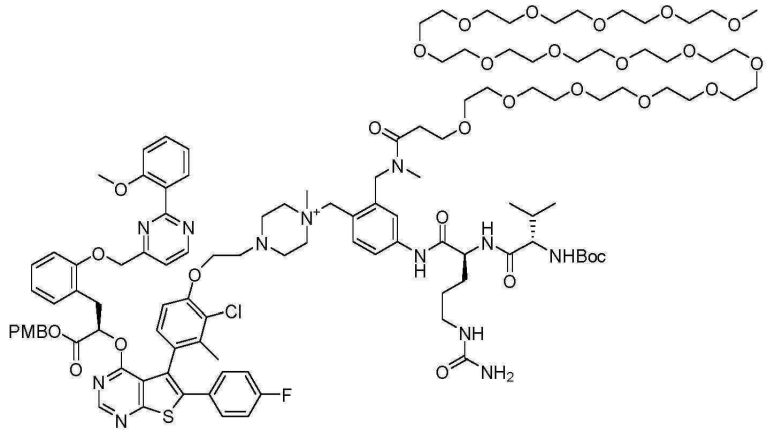
[2477] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(39-메틸-38-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39-아자테트라콘탄-40-일)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L32-P1)의 합성



[2478]

[2479] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(39-메틸-38-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39-아자테트라콘탄-40-일)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (43.4 mg, 0.021 mmol, 1 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(39-메틸-38-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39-아자테트라콘탄-40-일)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: [M+Na]+= 2066.8799; Rt=2.44분 (5분 산성 방법).

[2480] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(51-메틸-50-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47-헥사데카옥사-51-아자도펜타콘탄-52-일)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

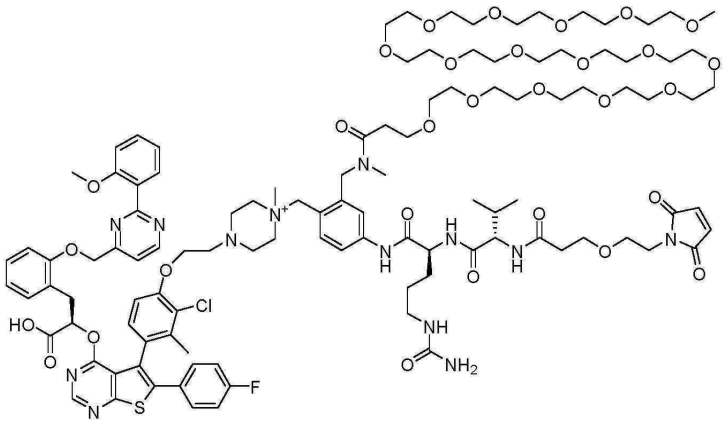


[2481]

[2482] 일반적 절차 4에 따라, 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47-헥사데카옥사펜타콘탄-50-오에이트 (44.8 mg, 0.021 mmol, 1 당량)을 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(51-메틸-50-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47-헥사데카옥사-51-아자도펜타콘탄-52-일)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 2246.0400; Rt=2.88분 (5분 산성 방법).

[2483] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(51-메틸-50-옥소-

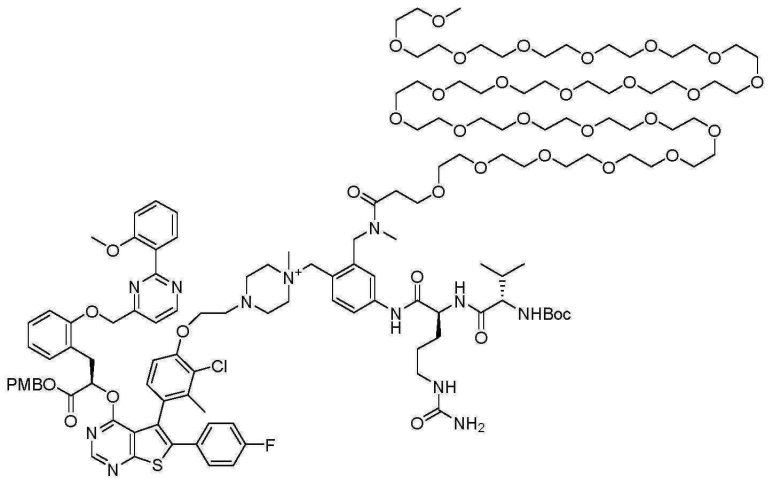
2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47-헥사데카옥사-51-아자도펜타콘탄-52-일)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L31-P1)의 합성



[2484]

[2485] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(51-메틸-50-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47-헥사데카옥사-51-아자도펜타콘탄-52-일)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (47.5 mg, 0.021 mmol, 1 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(51-메틸-50-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47-헥사데카옥사-51-아자도펜타콘탄-52-일)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 2221.0000; Rt=2.45분 (5분 산성 방법).

[2486] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(75-메틸-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자헥사헵타콘탄-76-일)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

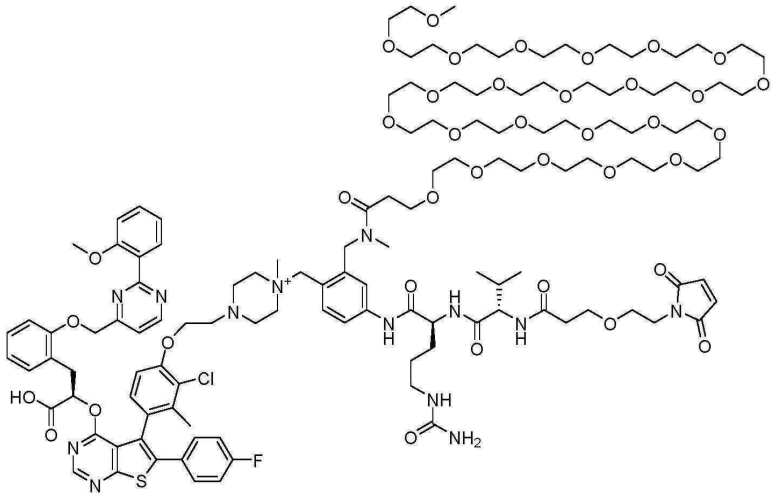


[2487]

[2488] 일반적 절차 4에 따라, 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사테트라헵타콘탄-74-오에이트 (52.6 mg, 0.043 mmol, 1.3 당량)을 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(75-메틸-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자헥사헵타콘탄-76-일)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페

닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 2598.2500; Rt=2.88분 (5분 산성 방법).

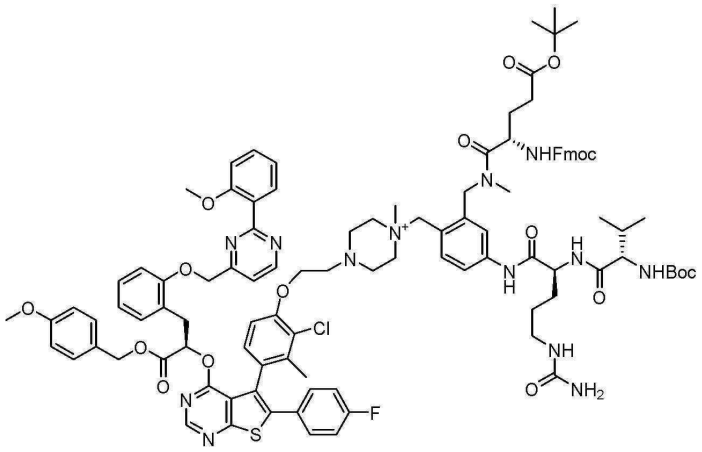
[2489] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(75-메틸-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자헥사헵타콘탄-76-일)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L30-P1)의 합성



[2490]

[2491] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(75-메틸-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자헥사헵타콘탄-76-일)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (38.8 mg, 0.014 mmol, 1 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(75-메틸-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자헥사헵타콘탄-76-일)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 2573.2000; Rt=2.47분 (5분 산성 방법).

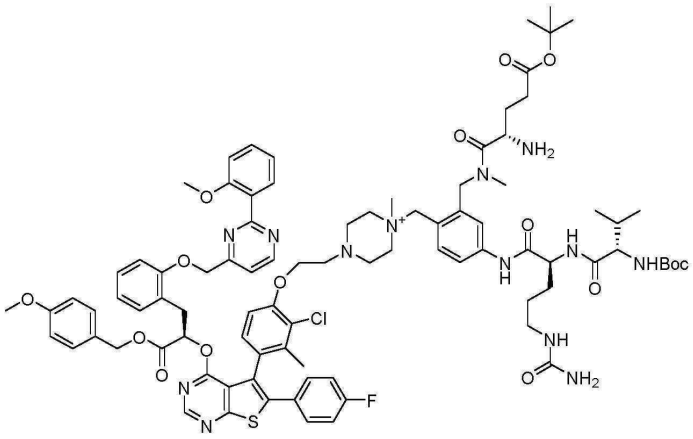
[2492] 1-(2-(((S)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2493]

[2494] 일반적 절차 4에 따라, 5-(tert-부틸) 1-(2,5-디옥소피롤리딘-1-일) (((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-L-글루타메이트 (39.0 mg, 0.075 mmol, 1.1 당량)을 사용하여, 1-(2-(((S)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1906.8101; Rt=3.03분 (5분 산성 방법).

[2495] 1-(2-(((S)-2-아미노-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

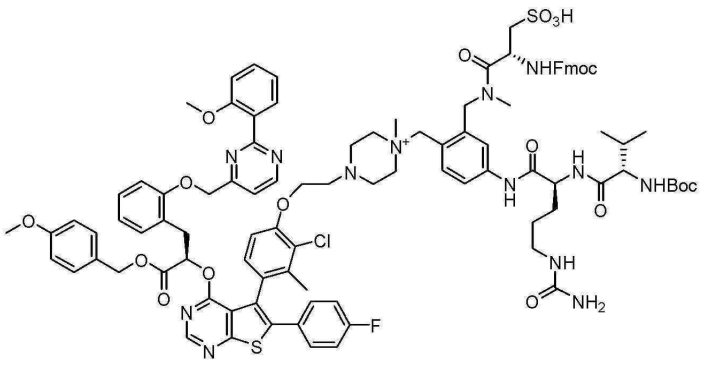


[2496]

[2497] DMSO (2 mL) 중에 용해시킨 11-(2-(((S)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (38.8 mg, 0.026 mmol, 1.0 당량)에 디메틸아민 (0.192 mL, 0.384 mmol, 20 당량)을 첨가하였다. 4시간 동안 정치한 후, DMSO (2 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(2-(((S)-2-아미노-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1684.4000; Rt=2.64분 (5분 산성 방법).

[2498] 일반적 절차 5

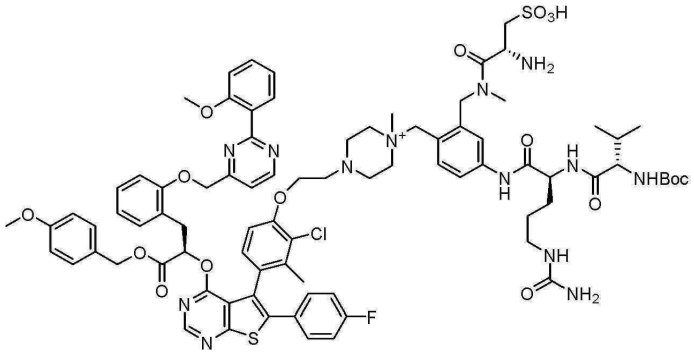
[2499] 1-(2-(((R)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-N-메틸-3-술포프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2500]

[2501] DMF (2 mL) 중에 용해시킨 (((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)(술포)-D-알라닌 (55.2 mg, 0.141 mmol, 1.3 당량) 및 2-(3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-b]피리딘-3-일)-1,1,3,3-테트라메틸이소우로늄 헥사플루오로포스페이트(V) (41.3 mg, 0.109 mmol, 1.0 당량)에 DIPEA (0.024 mL, 0.138 mmol, 8.0 당량)를 첨가하였다. 10분 동안 정치한 후, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (200 mg, 0.109 mmol, 1.0 당량)을 첨가하였다. 2.5시간 동안 정치한 후, DMSO (4 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(2-(((R)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-N-메틸-3-술포프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1872.7000; Rt=3.09분 (5분 산성 방법).

[2502] 1-(2-(((R)-2-아미노-N-메틸-3-술포프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

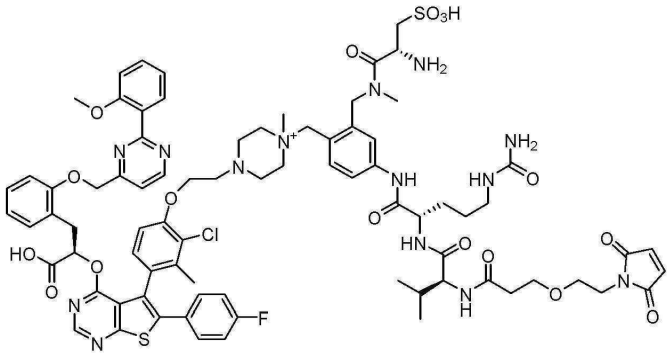


[2503]

[2504] THF (2 mL) 중에 용해시킨 1-(2-(((R)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-N-메틸-3-술포프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (173 mg, 0.087 mmol, 1.0 당량)에 디메틸아민 (0.870 mL, 1.740 mmol, 20 당량)을 첨가하였다. 5시간 동안 정치한 후, 휘발성 물질을 모두 진공 하에 제거하였다. 고체를 디에틸 에테르로 연화처리하였다. DMSO (2 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(2-(((R)-2-아미노-N-메틸-3-술포프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-

2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1650.5800; Rt=2.71분 (5분 산성 방법).

[2505] 1-(2-(((R)-2-아미노-N-메틸-3-술포프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L70-P1)의 합성

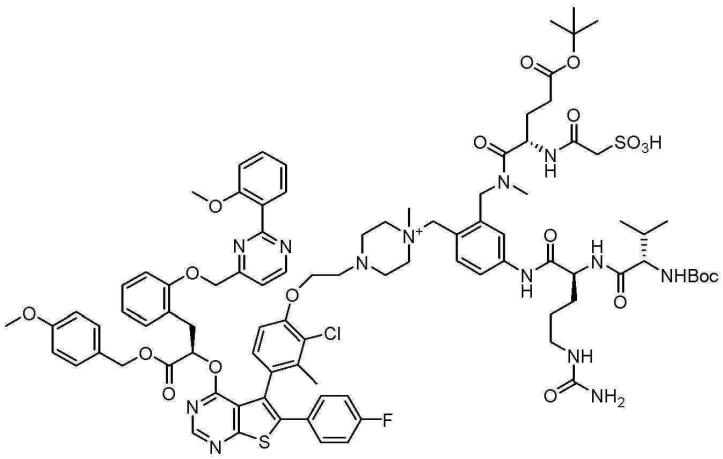


[2506]

[2507] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-(((S)-2-아미노-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (145 mg, 0.088 mmol, 1 당량)을 사용하여, 1-(2-(((R)-2-아미노-N-메틸-3-술포프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1625.5601; Rt=2.32분 (5분 산성 방법).

[2508] 일반적 절차 6

[2509] 1-(2-(((S)-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소-2-(2-술포아세트아미도)펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

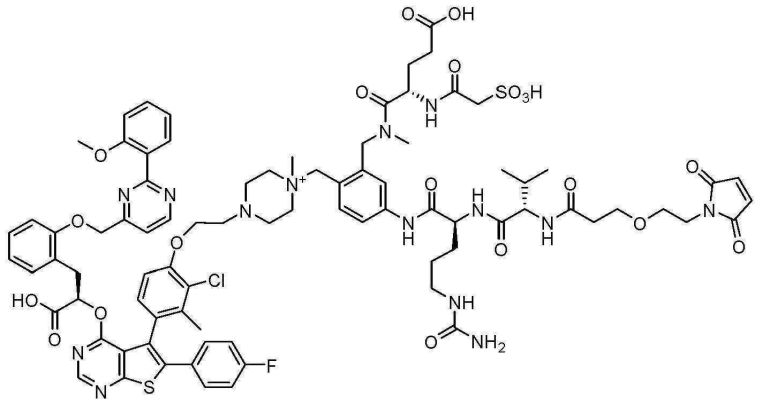


[2510]

[2511] DMF (1 mL) 중에 용해시킨 2-술포아세트산 (4.83 mg, 0.035 mmol, 2.0 당량) 및 2-(3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-b]피리딘-3-일)-1,1,3,3-테트라메틸이소우로늄 헥사플루오로포스페이트(V) (9.85 mg, 0.026 mmol, 1.5 당량)에 DIPEA (0.024 mL, 0.138 mmol, 8.0 당량)을 첨가하였다. 10분 동안 정치한 후, 1-(2-(((S)-2-아미노-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-

5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (29.1 mg, 0.017 mmol, 1.0)을 첨가하였다. 45분 동안 정치한 후, DMSO (2 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(2-(((S)-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소-2-(2-술포아세트아미도)펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1806.7000; Rt=3.10분 (5분 산성 방법).

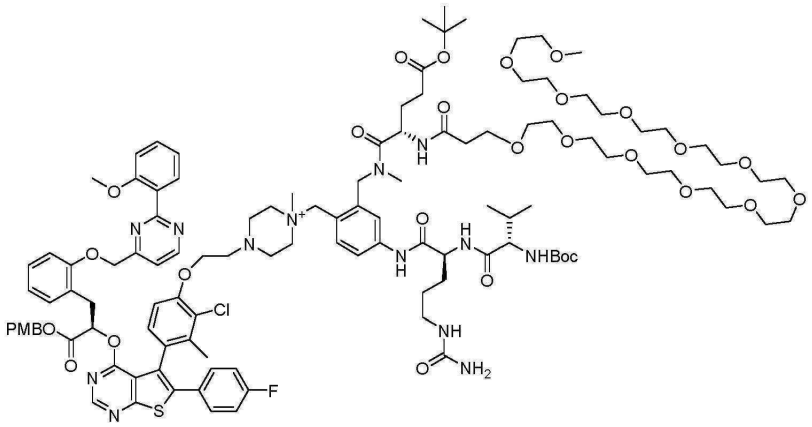
[2512] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-4-카르복시-N-메틸-2-(2-술포아세트아미도)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L71-P1)의 합성



[2513]

[2514] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-(((S)-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소-2-(2-술포아세트아미도)펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (23.7 mg, 0.011 mmol, 1 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-4-카르복시-N-메틸-2-(2-술포아세트아미도)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1725.5900; Rt=2.39분 (5분 산성 방법).

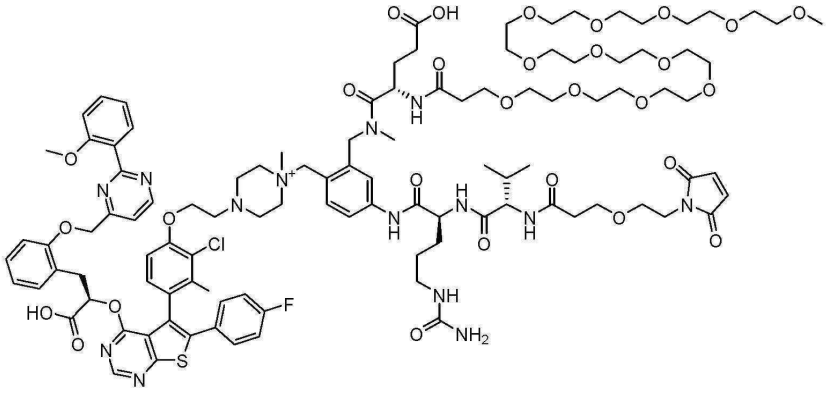
[2515] 1-(2-((S)-40-(3-(tert-부톡시)-3-옥소프로필)-42-메틸-38,41-디옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39,42-디아자트리테트라콘탄-43-일)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2516]

[2517] 일반적 절차 4에 따라, 1-(2-(((S)-2-아미노-5-(tert-부톡시)-N-메틸-5-옥소펜탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (30 mg, 0.018 mmol, 1.0 당량) 및 Mal-PEG12-NHS 에스테르 (18.31 mg, 0.027 mmol, 1.5 당량)을 사용하여, 1-(2-((S)-40-(3-(tert-부톡시)-3-옥소프로필)-42-메틸-38,41-디옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39,42-디아자트리테트라콘탄-43-일)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 2255.0400; Rt=2.97분 (5분 산성 방법).

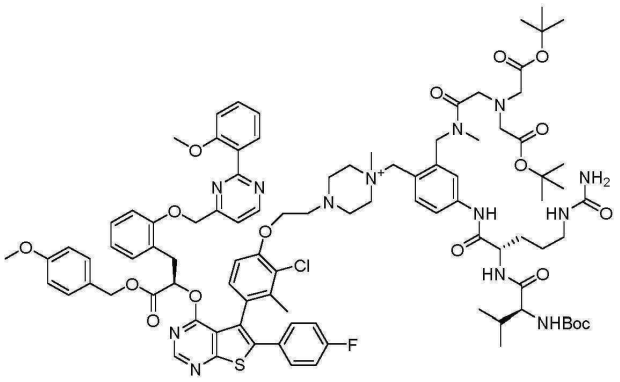
[2518] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-((S)-40-(2-카르복시에틸)-42-메틸-38,41-디옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39,42-디아자트리테트라콘탄-43-일)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L72-P1)의 합성



[2519]

[2520] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-((S)-40-(3-(tert-부톡시)-3-옥소프로필)-42-메틸-38,41-디옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39,42-디아자트리테트라콘탄-43-일)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (20.1 mg, 8.91 μmmol, 1 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-((S)-40-(2-카르복시에틸)-42-메틸-38,41-디옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사-39,42-디아자트리테트라콘탄-43-일)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: [M]+= 2173.9199; Rt=2.40분 (5분 산성 방법).

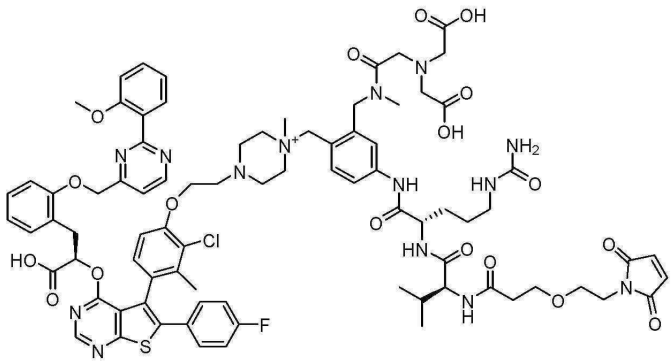
[2521] 1-(2-((2-(비스(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)아미노)-N-메틸아세트아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2522]

[2523] 일반적 절차 5에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (17.0 mg, 0.011 mmol, 1.0 당량) 및 비스(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)글리신 (10.97 mg, 0.017 mmol, 1.5 당량)을 사용하여, 1-(2-((2-(비스(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)아미노)-N-메틸아세트아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1784.8000; Rt=3.31분 (5분 산성 방법).

[2524] 1-(2-((2-(비스(카르복시메틸)아미노)-N-메틸아세트아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L67-P1)의 합성

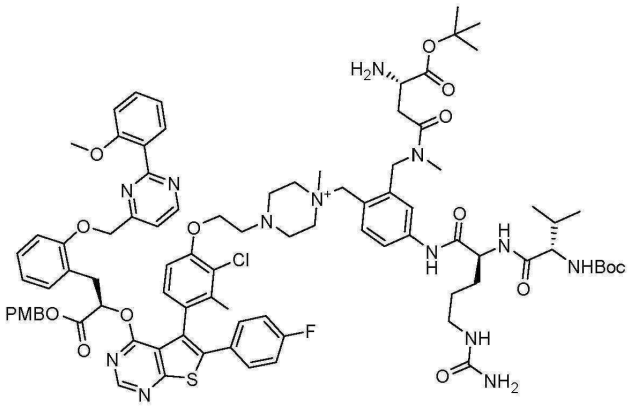


[2525]

[2526] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-((2-(비스(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)아미노)-N-메틸아세트아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (9.2 mg, 5.12 μmmol, 1 당량)을 사용하여, 1-(2-((2-(비스(카르복시메틸)아미노)-N-메틸아세트아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1647.6100; Rt=2.28분 (5분 산성 방법).

[2527] 일반적 절차 7

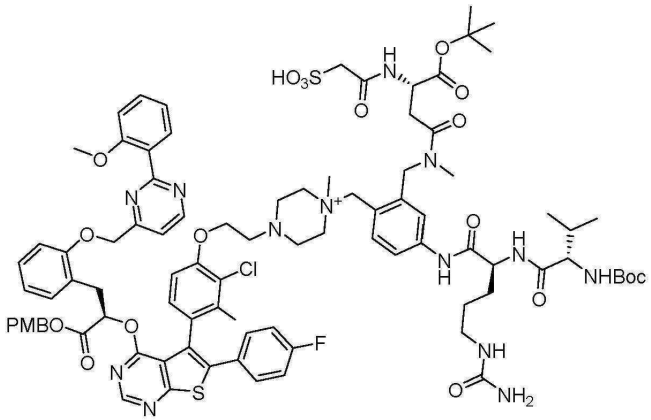
[2528] 1-(2-(((S)-3-아미노-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2529]

[2530] 시약을 DMF 원액으로서 사용하였다. (S)-3-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-4-(tert-부톡시)-4-옥소부탄산 (8.04 mg, 161 μL, 0.020 mmol, 1.2 당량) 및 2-(3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-b]피리딘-3-일)-1,1,3,3-테트라메틸이소우로늄 헥사플루오로포스페이트(V) (6.81 mg, 681 μL, 0.018 mmol, 1.1 당량)에 DIPEA (22.68 μL, 0.130 mmol, 8.0 당량)을 첨가하였다. 10분 동안 정치한 후, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (30 mg, 353 μL, 0.016 mmol, 1.0 당량)을 첨가하였다. 45분 동안 정치한 후, 디메틸 아민 (163 μl, 0.326 mmol)을 첨가하였다. 16시간 동안 정치한 후, DMSO (2 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(2-(((S)-3-아미노-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1670.2300; Rt=2.69분 (5분 산성 방법).

[2531] 1-(2-(((S)-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소-3-(2-술포아세트아미도)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

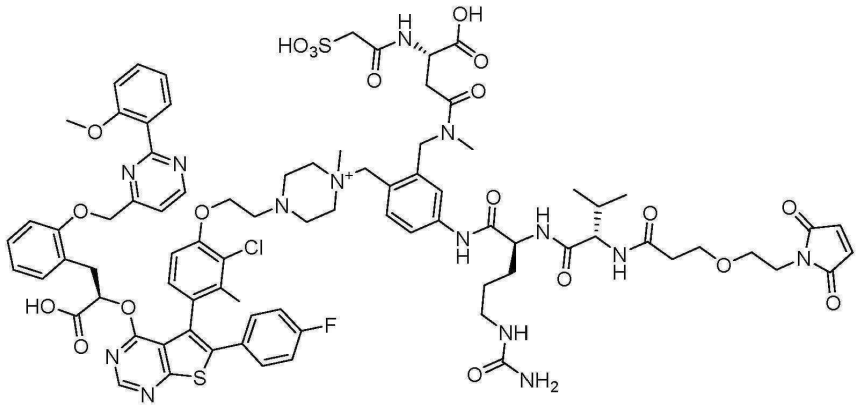


[2532]

[2533] 일반적 절차 6에 따라, 1-(2-(((S)-3-아미노-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-

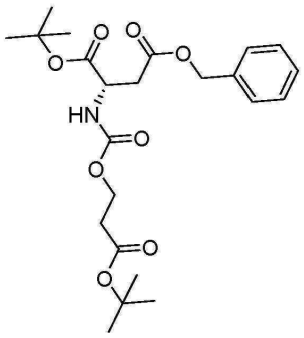
2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (20.6 mg, 10.23 μmol, 1 당량)을 사용하여, 1-(2-(((S)-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소-3-(2-술포아세트아미도)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1792.6899; Rt=3.17분 (5분 산성 방법).

[2534] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-(2-술포아세트아미도)프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L79-P1)의 합성

[2535] 

[2536] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-(((S)-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소-3-(2-술포아세트아미도)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (25.3 mg, 0.012 mmol, 1 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-(2-술포아세트아미도)프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1711.5699; Rt=2.48분 (5분 산성 방법).

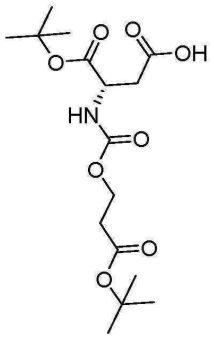
[2537] 4-벤질 1-(tert-부틸) ((3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)카르보닐)-L-아스파르테이트의 합성

[2538] 

[2539] DMF (2 mL) 중에 용해시킨 tert-부틸 3-히드록시프로파노에이트 (111 mg, 0.760 mmol, 1 당량) 및 비스(4-니트로페닐) 카르보네이트 (289 mg, 0.950 mmol, 1.2 당량)에 DIPEA (0.221 mL, 1.267 mmol, 2.0 당량)을 첨가하였다. 1시간 동안 정치한 후, 4-벤질 1-(tert-부틸) L-아스파르테이트 (200 mg, 0.633 mmol)를 첨가하였다. 16시간 동안 정치한 후, DMSO (4 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 4-벤질 1-(tert-부틸) ((3-(tert-부톡시)-

3-옥소프로폭시)카르보닐)-L-아스파르테이트를 수득하였다. HRMS: [M+H]+=452.4; Rt=2.68분 (5분 산성 방법).

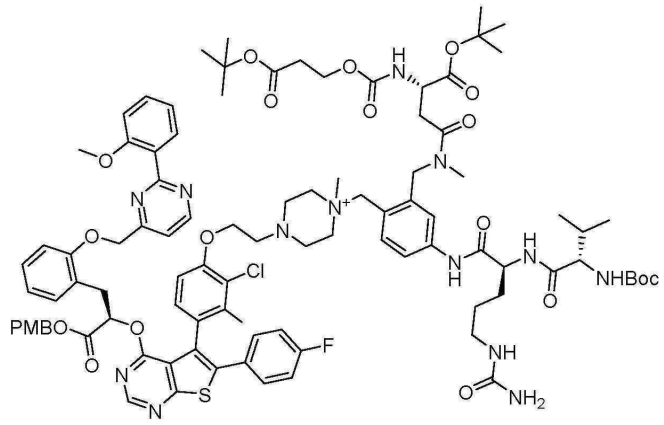
[2540] ((S)-4-(tert-부톡시)-3-(((3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)카르보닐)아미노)-4-옥소부탄산의 합성



[2541]

[2542] MeOH (2 mL) 중에 용해시킨 4-벤질 1-(tert-부틸) ((3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)카르보닐)-L-아스파르테이트 (52.7 mg, 0.117 mmol)에 수산화팔라듐 (8.20 mg, 0.012 mmol, 0.1 당량)을 첨가하였다. 반응 분위기를 수소로 변경시켰다. 16시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 여과물을 진공하에 제거하여 4-벤질 1-(tert-부틸) ((3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)카르보닐)-L-아스파르테이트를 수득하였다.

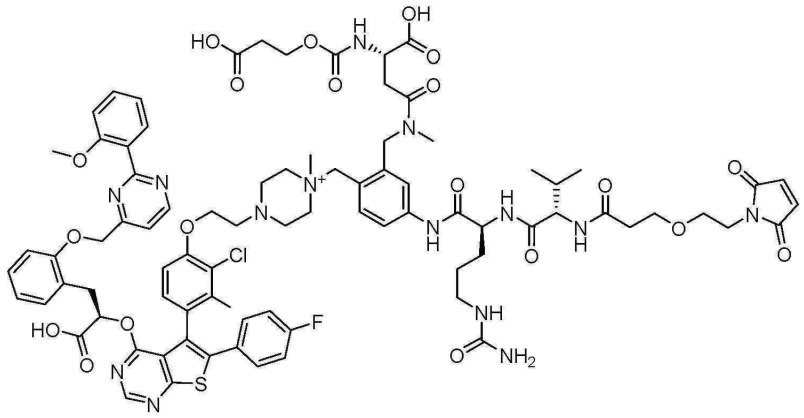
[2543] 1-(2-((S)-5-(tert-부톡시카르보닐)-2,13,13-트리메틸-3,7,11-트리옥소-8,12-디옥사-2,6-디아자테트라데실)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2544]

[2545] 일반적 절차 7에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (20 mg, 235 μL, 0.011 mmol, 1 당량) 및 4-벤질 1-(tert-부틸) ((3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)카르보닐)-L-아스파르테이트 (7.84 mg, 204 μL, 0.022 mmol, 2 당량)을 사용하여, 1-(2-((S)-5-(tert-부톡시카르보닐)-2,13,13-트리메틸-3,7,11-트리옥소-8,12-디옥사-2,6-디아자테트라데실)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1842.8000; Rt=3.23분 (5분 산성 방법).

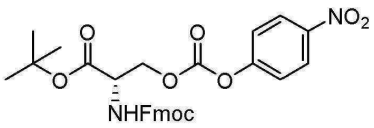
[2546] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-3-카르복시-3-(((2-카르복시에톡시)카르보닐)아미노)-N-메틸프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L102-P1)의 합성



[2547]

[2548] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-((S)-5-(tert-부톡시카르보닐)-2,13,13-트리메틸-3,7,11-트리옥소-8,12-디옥사-2,6-디아자테트라데실)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (17.6 mg, 0.008 mmol, 1 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-3-카르복시-3-(((2-카르복시에톡시)카르보닐)아미노)-N-메틸프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1705.6200; Rt=2.41분 (5분 산성 방법).

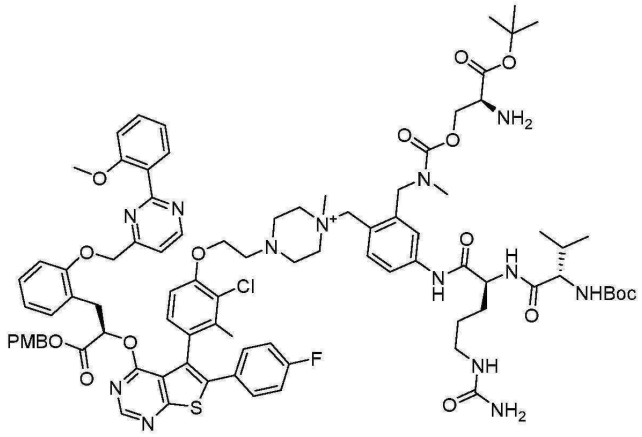
[2549] tert-부틸 N-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-O-((4-니트로페녹시)카르보닐)-L-세리네이트의 합성



[2550]

[2551] DMF (2 mL) 중에 용해시킨 tert-부틸 (((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-L-세리네이트 (300 mg, 0.782 mmol, 1 당량) 및 비스(4-니트로페닐) 카르보네이트 (357 mg, 1.174 mmol, 1.5 당량)에 DIPEA (0.136 mL, 0.782 mmol, 1.0 당량)을 첨가하였다. 16시간 동안 정치한 후, DMSO (4 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, tert-부틸 N-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-O-((4-니트로페녹시)카르보닐)-L-세리네이트를 수득하였다. HRMS: M+= 566.4; Rt=3.01분 (5분 산성 방법).

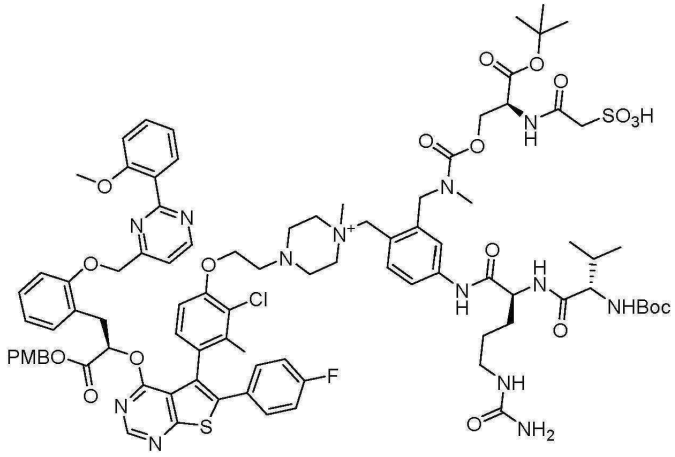
[2552] 1-(2-(((((S)-2-아미노-3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2553]

[2554] tert-부틸 N-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-O-((4-니트로페녹시)카르보닐)-L-세리네이트 (7.14 mg, 143 μL, 0.013mmol, 1.2 당량) 및 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (20 mg, 235 μL, 0.011 mmol, 1.0 당량)에 DIPEA (15.1 μL, 0.087 mmol, 8.0 당량)을 첨가하였다. 16시간 동안 정치한 후, 디메틸 아민 (109 μl, 0.217 mmol, 20 당량)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. DMSO (4 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조시, 1-(2-(((((S)-2-아미노-3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1686.7200; Rt=2.71분 (5분 산성 방법).

[2555] 1-(2-(((((S)-3-(tert-부톡시)-3-옥소-2-(2-술포아세트아미도)프로폭시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

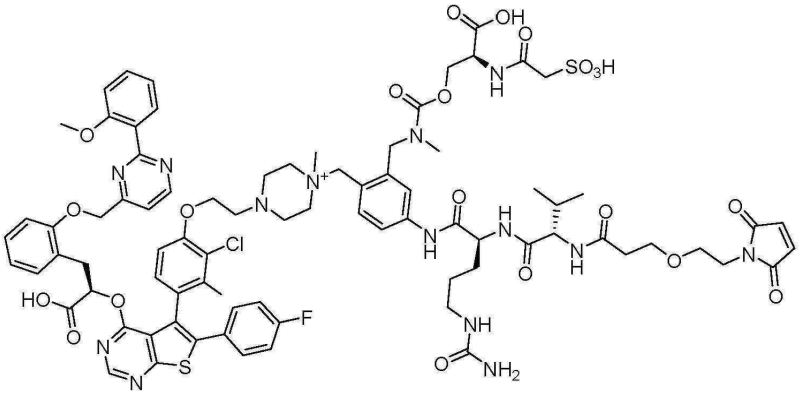


[2556]

[2557] 일반적 절차 6에 따라, 1-(2-(((((S)-2-아미노-3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (22.9 mg, 0.011 mmol, 1 당량)을 사용하여, 1-(2-(((((S)-3-(tert-부톡시)-3-옥소-2-(2-술포아세트아미도)프로폭시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄

아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1808.6899; Rt=3.18분 (5분 산성 방법).

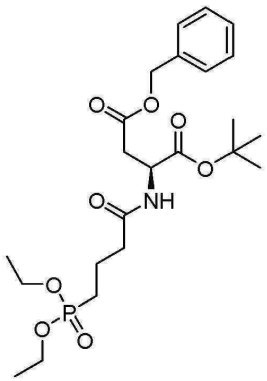
[2558] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((((S)-2-카르복시-2-(2-술포아세트아미도)에톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L77-P1)의 합성



[2559]

[2560] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-(((((S)-2-아미노-3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (15.3 mg, 7.11 μmol, 1 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((((S)-2-카르복시-2-(2-술포아세트아미도)에톡시)카르보닐)(메틸)아미노)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1727.5800; Rt=2.47분 (5분 산성 방법).

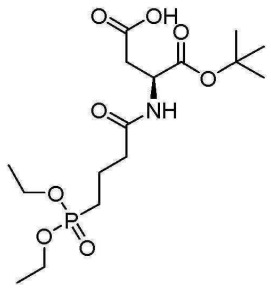
[2561] 4-벤질 1-(tert-부틸) (4-(디에톡시포스포릴)부타노일)-L-아스파르테이트의 합성



[2562]

[2563] DMF (2 mL) 중에 용해시킨 4-벤질 1-(tert-부틸) L-아스파르테이트 (200 mg, 0.633 mmol, 1.0 당량) 및 4-(디에톡시포스포릴)부탄산 (213 mg, 0.950 mmol, 1.5 당량)에 디시클로헥실메탄디이민 (157 mg, 0.760 mmol, 1.2 당량), 1H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-b]피리딘-1-올 수화물 (146 mg, 0.950 mmol, 1.5 당량) 및 DIPEA (0.110 mL, 0.633 mmol, 1.0 당량)를 첨가하였다. 16시간 동안 정치한 후, DMSO (4 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 4-벤질 1-(tert-부틸) (4-(디에톡시포스포릴)부타노일)-L-아스파르테이트를 수득하였다. HRMS: [M+H]+=486.4; Rt=2.15분 (5분 산성 방법).

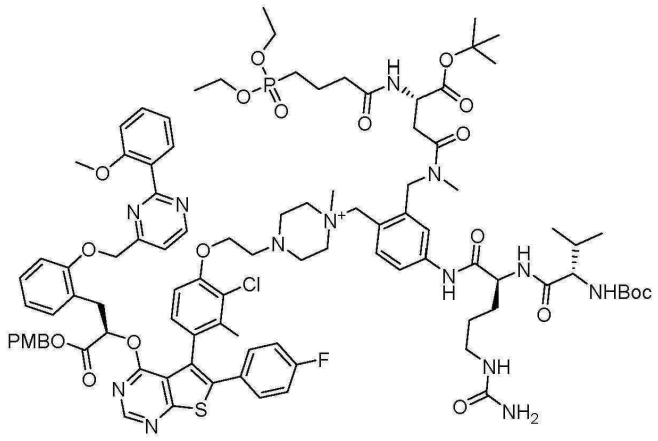
[2564] (S)-4-(tert-부톡시)-3-(4-(디에톡시포스포릴)부탄아미도)-4-옥소부탄산의 합성



[2565]

[2566] MeOH (2 mL) 중에 용해시킨 4-벤질 1-(tert-부틸) (4-(디에톡시포스포릴)부타노일)-L-아스파르테이트 (YUBI5-040-EXP082-001 (100 mg, 0.206 mmol, 1.0 당량)에 수산화팔라듐 (14.46 mg, 0.021 mmol, 0.1 당량)을 첨가하였다. 반응 분위기를 수소로 변경하였다. 16시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 여과물을 진공 하에 제거하여 (S)-4-(tert-부톡시)-3-(4-(디에톡시포스포릴)부탄아미도)-4-옥소부탄산을 수득하였다. HRMS: [M+H]+= 396.3; Rt=1.35분 (5분 산성 방법).

[2567] 1-(2-(((S)-4-(tert-부톡시)-3-(4-(디에톡시포스포릴)부탄아미도)-N-메틸-4-옥소부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

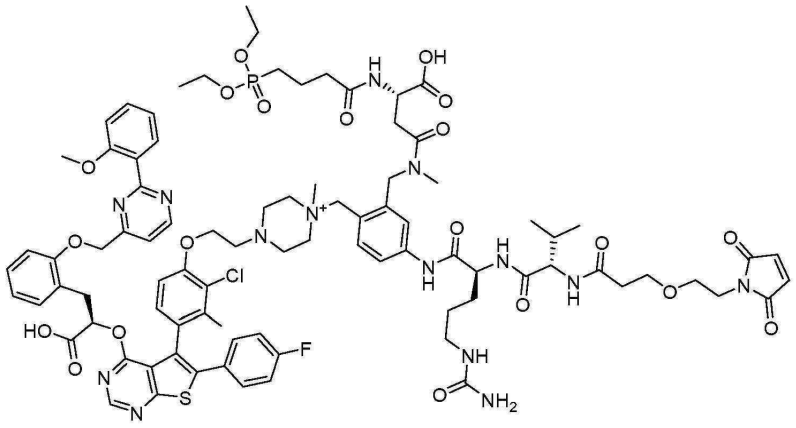


[2568]

[2569] 일반적 절차 7에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (30 mg, 353 μL, 0.016 mmol, 1 당량) 및 (S)-4-(tert-부톡시)-3-(4-(디에톡시포스포릴)부탄아미도)-4-옥소부탄산 (12.87 mg, 161 μl, 0.033 mmol, 2 당량)을 사용하여, 1-(2-(((S)-4-(tert-부톡시)-3-(4-(디에톡시포스포릴)부탄아미도)-N-메틸-4-옥소부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다.

[2570] MS: M/2+= 940.3; Rt=2.60분 (5분 산성 방법).

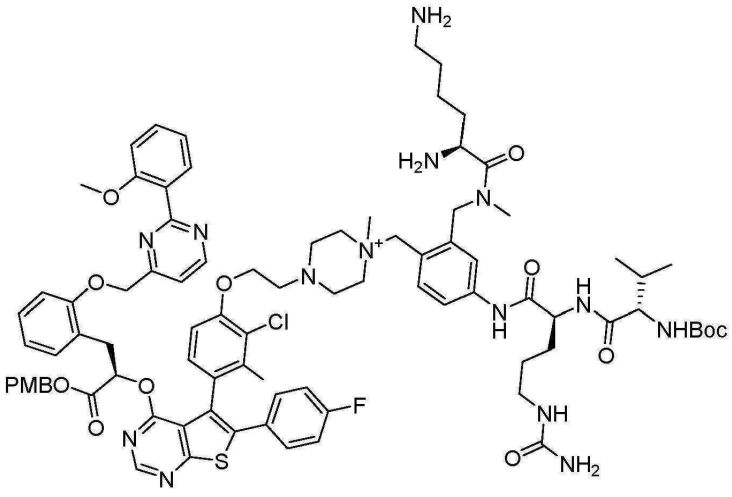
[2571] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-3-카르복시-3-(4-(디에톡시포스포릴)부탄아미도)-N-메틸프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L103-P1)의 합성



[2572]

[2573] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-(((S)-4-(tert-부톡시)-3-(4-(디에톡시포스포릴)부탄아미도)-N-메틸-4-옥소부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (20 mg, 0.009 mmol, 1 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-3-카르복시-3-(4-(디에톡시포스포릴)부탄아미도)-N-메틸프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1795.6700; Rt=2.44분 (5분 산성 방법).

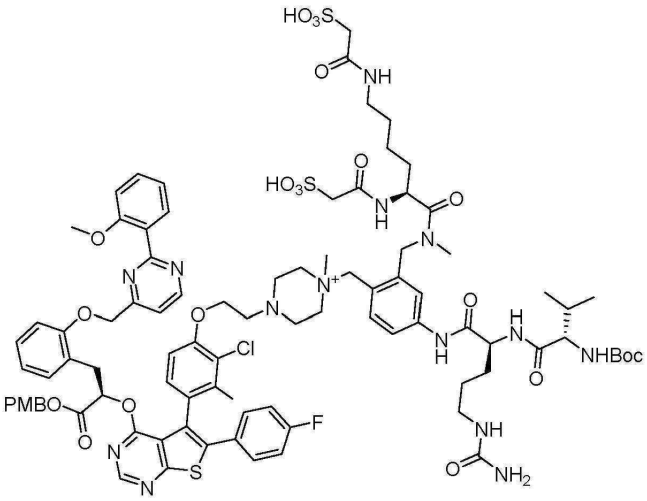
[2574] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-2,6-디아미노-N-메틸헥산아미도)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2575]

[2576] 일반적 절차 7에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (20 mg, 0.011 mmol, 1 당량) 및 (S)-2,5-비스((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)펜탄산 (7.51 mg, 0.013 mmol, 1.2 당량)을 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-2,6-디아미노-N-메틸헥산아미도)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1627.4000; Rt=2.48분 (5분 산성 방법).

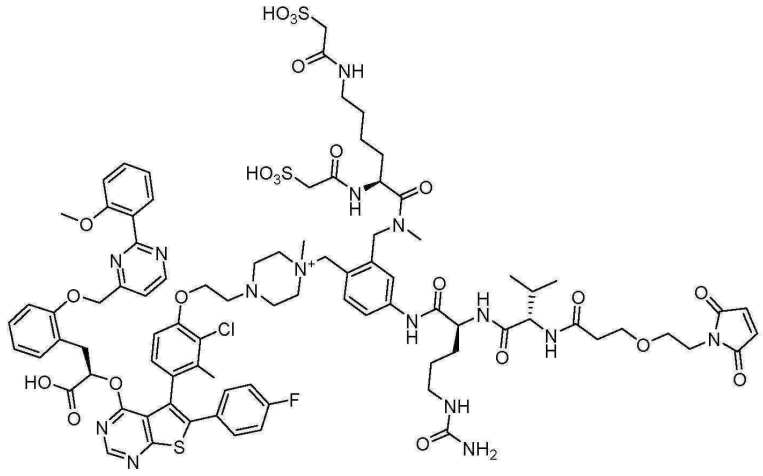
[2577] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-N-메틸-2,6-비스(2-술포아세트아미도)헥산아미도)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2578]

[2579] 일반적 절차 6에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-2,6-디아미노-N-메틸헥산아미도)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (9.7 mg, 0.0049 mmol, 1 당량)을 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-N-메틸-2,6-비스(2-술포아세트아미도)헥산아미도)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1871.6700; Rt=3.02분 (5분 산성 방법).

[2580] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-N-메틸-2,6-비스(2-술포아세트아미도)헥산아미도)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L78-P1)의 합성

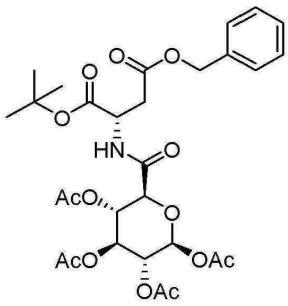


[2581]

[2582] 일반적 절차 3에 따라, -(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-N-메틸-2,6-비스(2-술포아세트아미도)헥산아미도)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (15 mg, 7.55 μmol, 1 당량)

을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-N-메틸-2,6-비스(2-술포아세트아미도)헥산아미도)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1846.6000; Rt=2.49분 (5분 산성 방법).

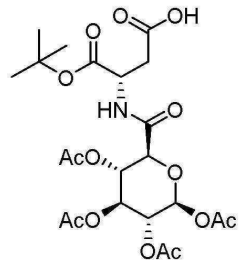
[2583] 4-벤질 1-(tert-부틸) ((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르보닐)-L-아스파르테이트의 합성



[2584]

[2585] DMF (3.2 mL) 중에 용해시킨 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복실산 (344 mg, 0.950 mmol) 및 4-벤질 1-(tert-부틸) L-아스파르테이트 (300 mg, 0.950 mmol)에 DIPEA (0.165 mL, 0.950 mmol, 1.0 당량), 1H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-b]피리딘-1-올 수화물 (154 mg, 0.997 mmol, 1.05 당량)을 첨가하고, 3-(((에틸이미노)메틸렌)아미노)-N,N-디메틸프로판-1-아민 히드로클로라이드 (191 mg, 0.997 mmol, 1.05 당량)을 첨가하였다. 16시간 동안 정치한 후, DMSO (4 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 4-벤질 1-(tert-부틸) ((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르보닐)-L-아스파르테이트를 수득하였다. HRMS: M+=641.5; Rt=2.55분 (5분 산성 방법).

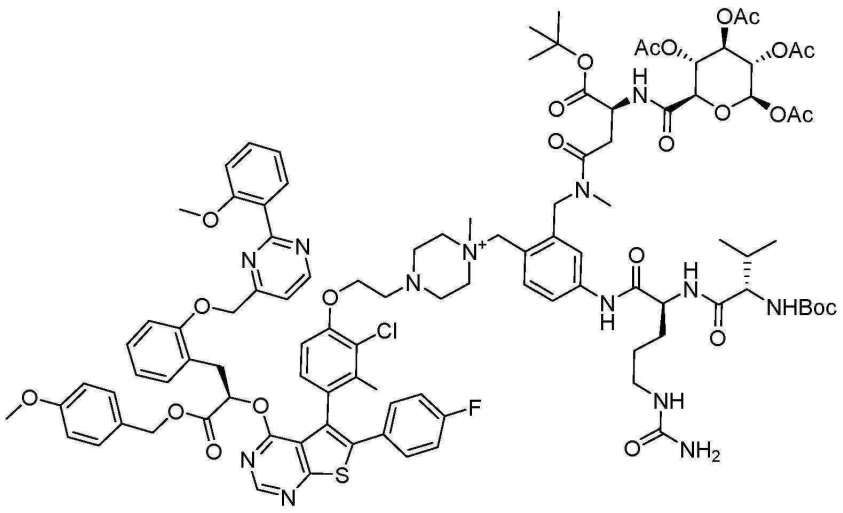
[2586] (S)-4-(tert-부톡시)-4-옥소-3-((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)부탄산의 합성



[2587]

[2588] MeOH (2 mL) 중에 용해시킨 4-벤질 1-(tert-부틸) ((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르보닐)-L-아스파르테이트 (100 mg, 0.160 mmol, 1.0 당량)에 수산화팔라듐 (11.26 mg, 0.016 mmol, 0.1 당량)을 첨가하였다. 반응 분위기를 수소로 변경하였다. 16시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 여과물을 진공 하에 제거하여 (S)-4-(tert-부톡시)-4-옥소-3-((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)부탄산을 수득하였다. HRMS: [M-H]-= 532.3, Rt=1.71분 (5분 산성 방법).

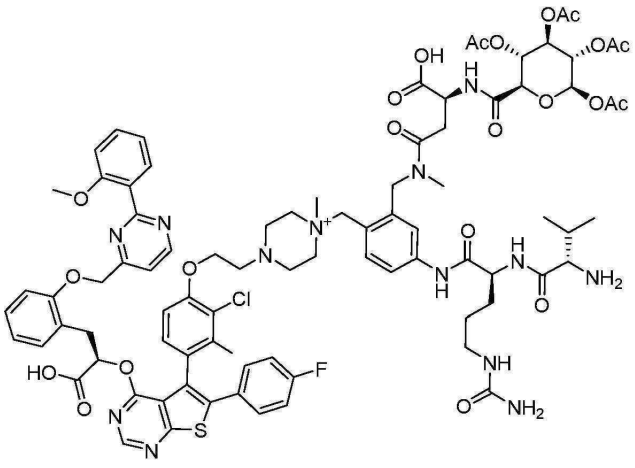
[2589] 1-(2-(((S)-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소-3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2590]

[2591] 일반적 절차 7에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (30 mg, 0.016 mmol, 1.0 당량) 및 (S)-4-(tert-부톡시)-4-옥소-3-((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)부탄산 (12.2 mg, 968 μL, 0.023 mmol, 1.4 당량)을 사용하여, 1-(2-(((S)-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소-3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=2014.7800; Rt=3.21분 (5분 산성 방법).

[2592] 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

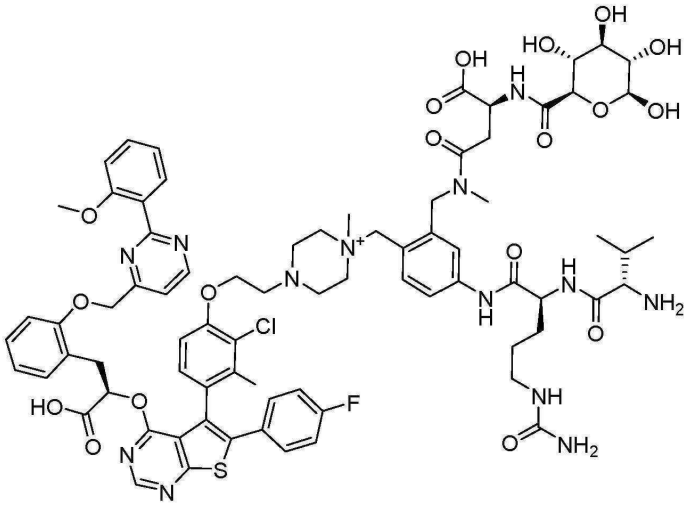


[2593]

[2594] DCM (32mL) 중에 용해시킨 1-(2-(((S)-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소-3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (22.7 mg, 0.009 mmol, 1.0 당량)에 TFA (0.67 mL)를 첨가하였다. 45분 동안 교반한 후, 용매를 진공 하에 제거하여 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-

5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1738.6200; Rt=2.30분 (5분 산성 방법).

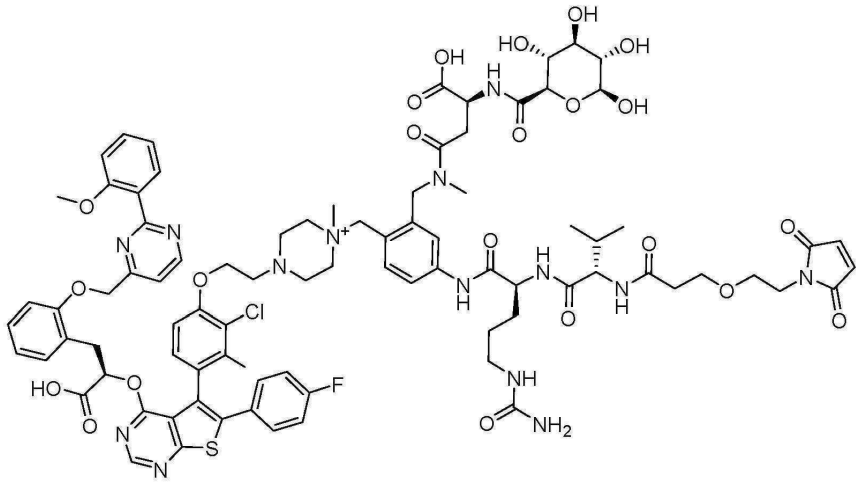
[2595] 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-((2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5,6-테트라히드록시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2596]

[2597] THF (1 mL) 및 MeOH (1 mL) 중에 용해시킨 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4,5,6-테트라아세톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (22.7 mg, 0.009 mmol, 1.0 당량)에 수산화리튬 (5.04 mg, 0.120 mmol, 10 당량)을 첨가하였다. 2시간 동안 교반한 후, 용매를 진공 하에 제거하였다. 물 (1 mL), TFA (0.2 mL), MeCN (1 mL) 및 DMSO (4 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-((2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5,6-테트라히드록시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1570.5900; Rt=2.02분 (5분 산성 방법).

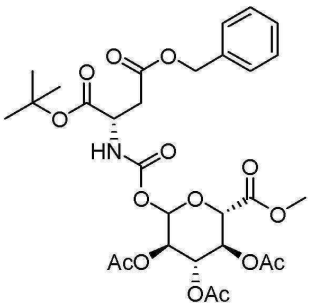
[2598] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-((2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5,6-테트라히드록시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L68-P1)의 합성



[2599]

[2600] DMF (1 mL) 중에 용해시킨 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-((2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5,6-테트라히드록시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (10.8 mg, 0.0056 mmol, 1.0 당량) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로파노에이트 (5.25 mg, 0.017 mmol, 3.5 당량)에 DIPEA (7.86 μL, 0.045 mmol, 8 당량)을 첨가하였다. 1.5시간 동안 정치한 후, DMSO (2mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((S)-3-카르복시-N-메틸-3-((2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5,6-테트라히드록시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1765.6500; Rt=2.31분 (5분 산성 방법).

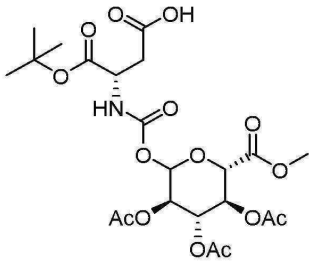
[2601] 4-벤질 1-(tert-부틸) ((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)-L-아스파르테이트의 합성



[2602]

[2603] DMF (2 mL) 중에 용해시킨 ((3R,4S,5S,6S)-2-히드록시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 (254 mg, 0.760 mmol, 1.2 당량) 및 비스(4-니트로페닐) 카르보네이트 (289 mg, 0.950 mmol, 1.5 당량)에 DIPEA (0.221 mL, 1.267 mmol, 2.0 당량)을 첨가하였다. 1시간 동안 정치한 후, 4-벤질 1-(tert-부틸) L-아스파르테이트 (200 mg, 0.633 mmol, 1.0 당량)을 첨가하였다. 16시간 동안 정치한 후, DMSO (6 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 4-벤질 1-(tert-부틸) ((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)-L-아스파르테이트를 수득하였다. HRMS: [M-H]-= 638.4; Rt=2.61분 (5분 산성 방법).

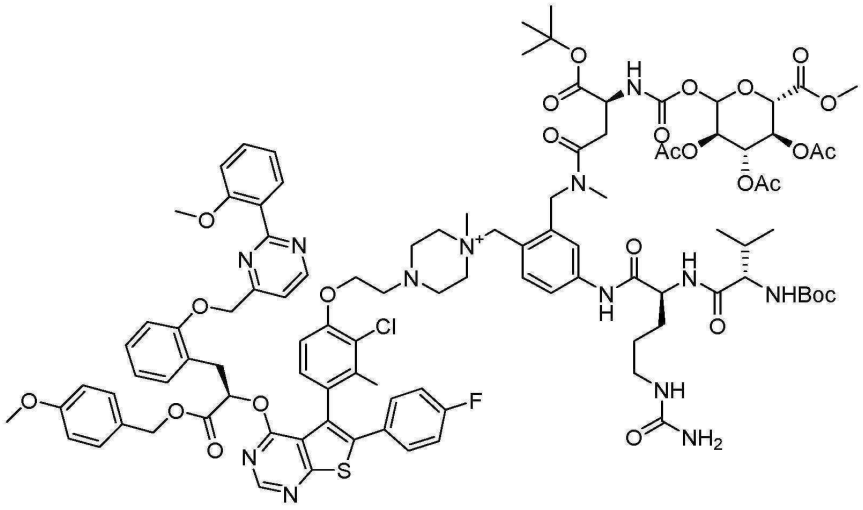
[2604] (3S)-4-(tert-부톡시)-4-옥소-3-(((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)부탄산의 합성



[2605]

[2606] MeOH (2 mL) 중에 용해시킨 4-벤질 1-(tert-부틸) ((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)-L-아스파르테이트 (50 mg, 0.078 mmol, 1.0 당량)에 수산화팔라듐 (5.49 mg, 7.82 μmol, 0.1 당량)을 첨가하였다. 반응 분위기를 수소로 변경하였다. 16시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 여과물을 진공 하에 제거하여 (3S)-4-(tert-부톡시)-4-옥소-3-(((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)부탄산을 수득하였다. HRMS: [M-H]-: 548.4, Rt=1.79분 (5분 산성 방법).

[2607] 1-(2-(((3S)-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소-3-(((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

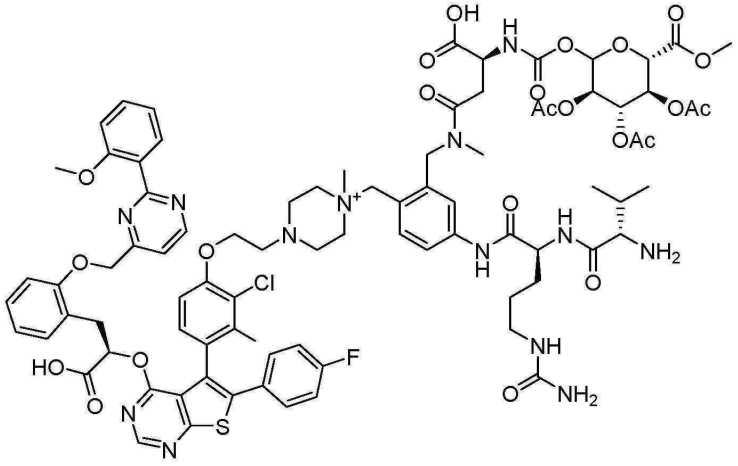


[2608]

[2609] 일반적 절차 7에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (30 mg, 0.016 mmol, 1.0 당량) 및 (3S)-4-(tert-부톡시)-4-옥소-3-(((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)부탄산 (12.5 mg, 0.250 mL, 0.023 mmol, 1.4 당량)을 사용하여, 1-(2-(((3S)-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소-3-(((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=2030.7900; Rt=3.19분 (5분 산성 방법).

[2610] 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((3S)-3-카르복시-N-메틸-3-(((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의

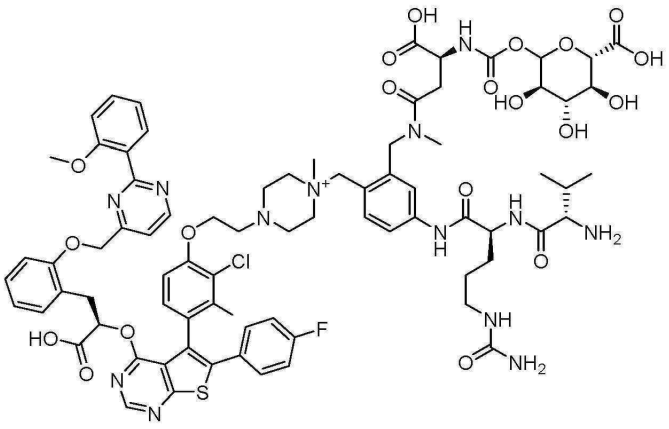
합성



[2611]

[2612] DCM (2 mL) 중에 용해시킨 1-(2-(((3S)-4-(tert-부톡시)-N-메틸-4-옥소-3-(((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (25.8 mg, 10.86 μmol, 1.0 당량)에 TFA (0.67 mL)를 첨가하였다. 2시간 동안 교반한 후, 용매를 진공 하에 제거하여 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((3S)-3-카르복시-N-메틸-3-(((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1754.6200; Rt=2.31분 (5분 산성 방법).

[2613] 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((3S)-3-카르복시-3-(((((3R,4S,5S,6S)-6-카르복시-3,4,5-트리히드록시테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)-N-메틸프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

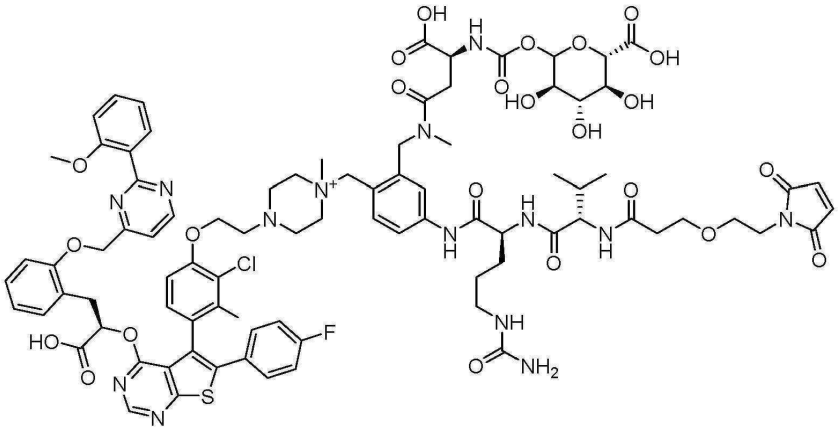


[2614]

[2615] THF (1 mL) 및 MeOH (1 mL) 중에 용해시킨 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((3S)-3-카르복시-N-메틸-3-(((((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-트리아세톡시-6-(메톡시카르보닐)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (26 mg, 0.012 mmol, 1.0 당량)에 수산화리튬 (5.20 mg, 0.124 mmol, 10 당량)을 첨가하였다. 2시간 동안 교반한 후, 용매를 진공 하에 제거하였다. 물 (1 mL), TFA (0.2 mL), MeCN (1 mL) 및 DMSO (4 mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질

제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((3S)-3-카르복시-3-(((((3R,4S,5S,6S)-6-카르복시-3,4,5-트리히드록시테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)-N-메틸프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1614.5800; Rt=2.04분 (5분 산성 방법).

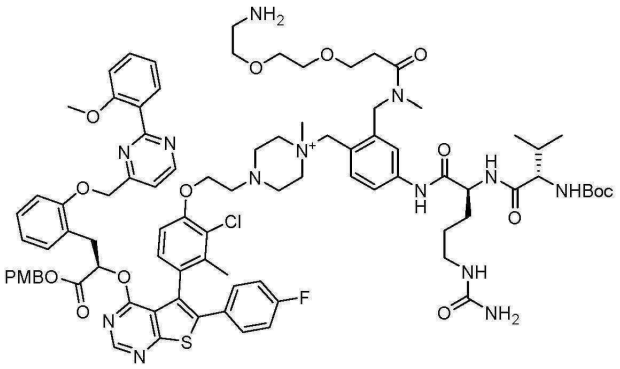
[2616] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((3S)-3-카르복시-3-(((((3R,4S,5S,6S)-6-카르복시-3,4,5-트리히드록시테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)-N-메틸프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L69-P1)의 합성



[2617]

[2618] DMF (1 mL) 중에 용해시킨 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((3S)-3-카르복시-3-(((((3R,4S,5S,6S)-6-카르복시-3,4,5-트리히드록시테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)-N-메틸프로판아미도)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (10 mg, 5.11 μmol, 1.0 당량) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로파노에이트 (4.75 mg, 0.015 mmol, 3.5 당량)에 DIPEA (7.12 μl, 0.041 mmol, 8 당량)을 첨가하였다. 1.5시간 동안 정치한 후, DMSO (2mL)를 첨가하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-70% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((3S)-3-카르복시-3-(((((3R,4S,5S,6S)-6-카르복시-3,4,5-트리히드록시테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르보닐)아미노)-N-메틸프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=1809.6300; Rt=2.32분 (5분 산성 방법).

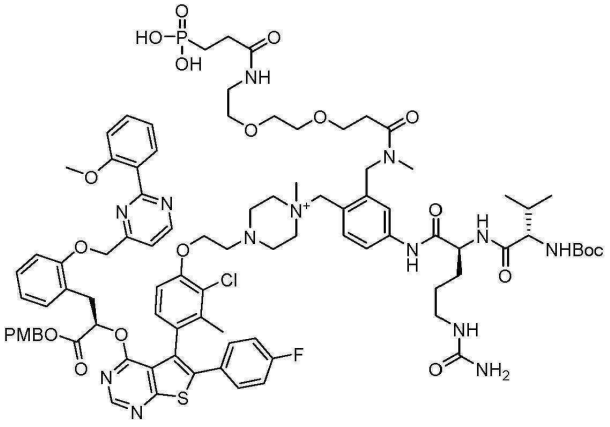
[2619] 1-(2-((3-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)-N-메틸프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2620]

[2621] DMF (1 mL) 중 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (45 mg, 0.026 mmol), 1-(9H-플루오렌-9-일)-3-옥소-2,7,10-트리옥사-4-아자트리데칸-13-산 (12 mg, 0.030 mmol), HBTU (12 mg, 0.032 mmol), 및 DIPEA (0.023 mL, 0.13 mmol)의 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. Me_2NH (THF 중 2M, 0.065 mL, 0.13 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 추가량의 Me_2NH (THF 중 2M, 0.1 mL, 0.2 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반을 계속하고, DMSO (3 mL)로 희석하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 ($MeCN/H_2O$, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(2-((3-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)-N-메틸프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1658.7200, Rt=2.57분 (5분 산성 방법).

[2622] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3,13-디옥소-15-포스포노-6,9-디옥사-2,12-디아자펜타데실)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

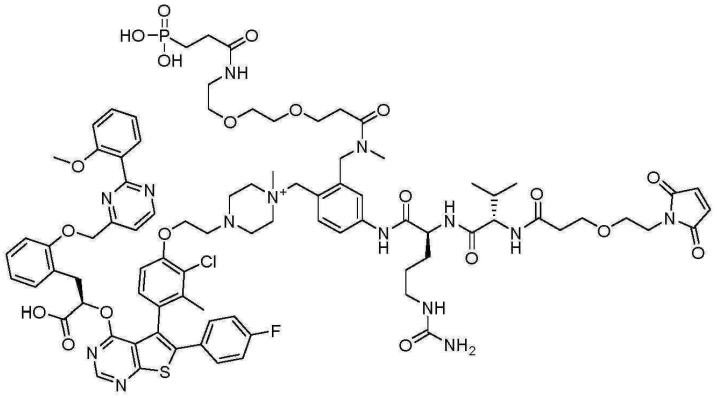


[2623]

[2624] DMF (0.5 mL) 중 3-포스포프로피온산 (11 mg, 0.071 mmol), HBTU (27 mg, 0.071 mmol), 및 DIPEA (0.060 mL, 0.34 mmol)의 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하였다. 이 혼합물을 DMF (0.5 mL) 중 1-(2-((3-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)-N-메틸프로판아미도)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (40 mg, 0.021 mmol) 및 DIPEA (0.010 mL, 0.057 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반하였다. 혼합물을 DMSO (3 mL)로 희석하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드

크로마토그래피 (MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3,13-디옥소-15-포스포노-6,9-디옥사-2,12-디아자펜타데실)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1794.7100, Rt=2.78분 (5분 산성 방법).

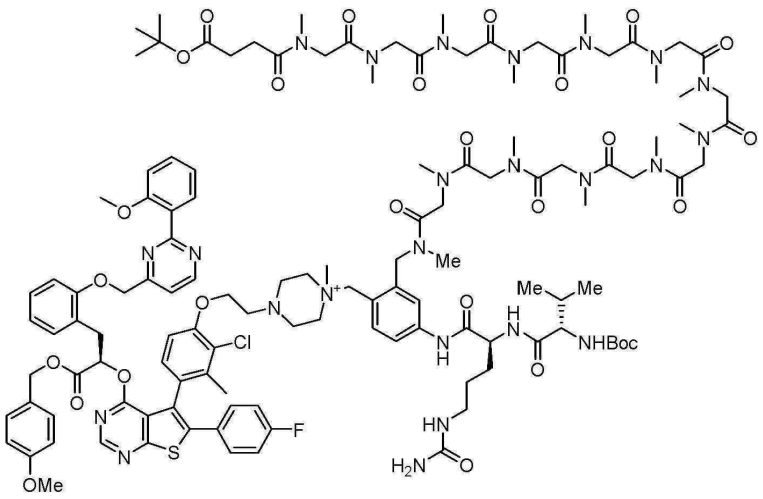
[2625] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3,13-디옥소-15-포스포노-6,9-디옥사-2,12-디아자펜타데실)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L41-P1)의 합성



[2626]

[2627] 일반적 절차 3 (TFA/CH_2Cl_2를 사용한 제1 단계 후의 생성물을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 [MeCN/H_2O, 0.1% NH_4OH 개질제]에 의해 정제한 것을 제외함)에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3,13-디옥소-15-포스포노-6,9-디옥사-2,12-디아자펜타데실)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2-메틸-3,13-디옥소-15-포스포노-6,9-디옥사-2,12-디아자펜타데실)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1769.4500, Rt=2.33분 (5분 산성 방법).

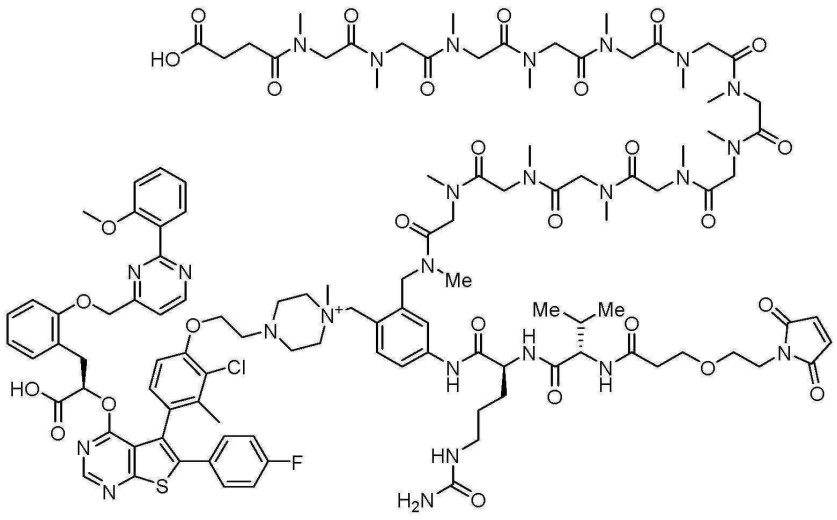
[2628] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,44,44-펜타데카메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42-테트라데카옥소-43-옥사-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-트리데카아자펜타테트라콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2629]

[2630] DMF (0.25 mL) 중 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (43.6 mg, 0.025 mmol, 1.0 당량), 3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,42,42-테트라데카메틸-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40-트리데카옥소-41-옥사-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-도데카아자트리테트라콘탄산 (25.9 mg, 0.025 mmol, 1.0 당량), 및 HATU (10.5 mg, 0.028 mmol, 1.1 당량)의 교반 용액에 DIPEA (22 μL, 0.126 mmol, 5.0 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 주위 온도에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 1 mL DMSO로 희석하고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,44,44-펜타데카메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42-테트라데카옥소-43-옥사-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-트리데카아자펜타테트라콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS M+ 2508.1499 Rt=2.78분 (5분 산성 방법).

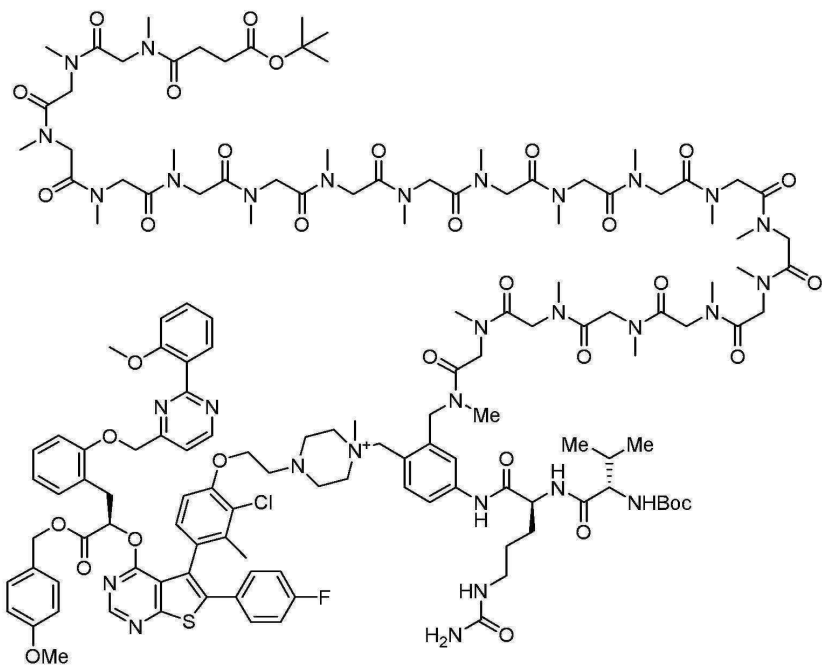
[2631] 1-(2-(41-카르복시-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-트리데카메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39-트리데카옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-트리데카아자헨테트라콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L35-P1)의 합성



[2632]

[2633] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,44,44-펜타데카메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42-테트라데카옥소-43-옥사-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-트리데카아자펜타테트라콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (50.4 mg, 0.019 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 1-(2-(41-카르복시-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-트리데카메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39-트리데카옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-트리데카아자헨테트라콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+ 2427.0400, rt = 2.30 분. (5분 산성 방법).

[2634] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,62,62-헤니코사메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60-이코사옥소-61-옥사-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-노나데카아자트리헥사콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

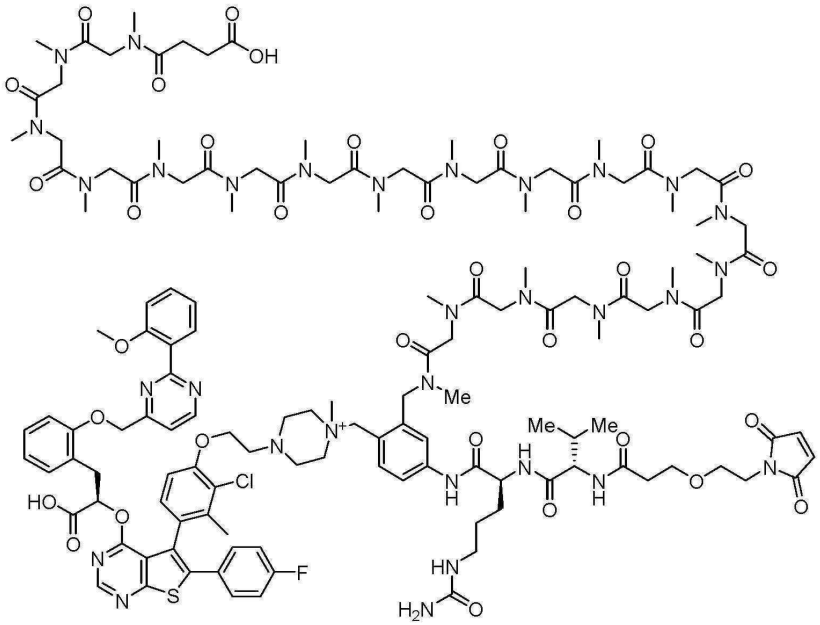


[2635]

[2636] DMF (0.25 mL) 중 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (31.9 mg, 0.018 mmol, 1.0 당량), 3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,60,60-이코사메틸-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58-노나데카옥소-59-옥사-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54-옥타데카아자헨헥사콘탄산 (26.8 mg, 0.018 mmol, 1.0 당량), 및 HATU (7.7 mg, 0.020 mmol, 1.1 당량)의 교반 용액에 DIPEA (16 μL, 0.092 mmol, 5.0 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 주위 온도에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 1 mL DMSO로 희석하고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,62,62-헤니코사메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60-이코사옥소-61-옥사-

2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-노나데카아자트리헥사콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS M+ 2934.3601 Rt=2.73분 (5분 산성 방법).

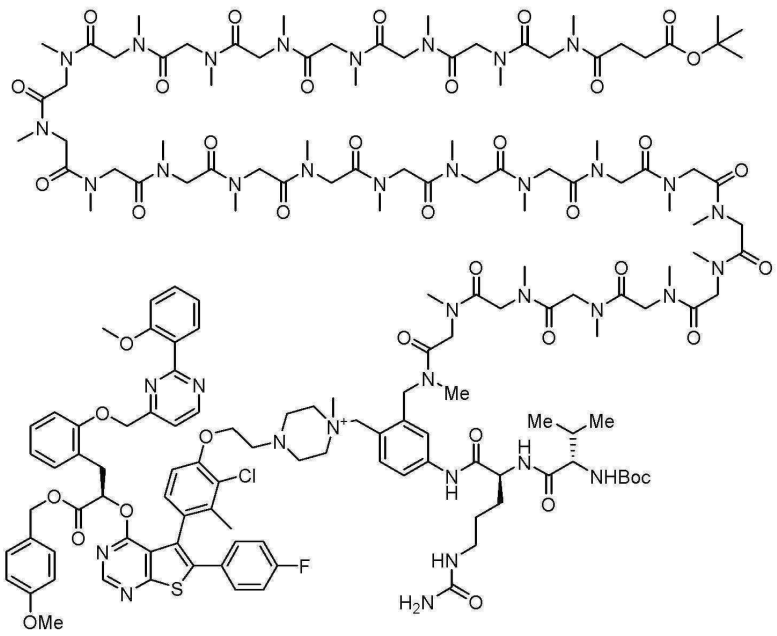
[2637] 1-(2-(59-카르복시-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-노나데카메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57-노나데카옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-노나데카아자노나펜타콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L36-P1)의 합성



[2638]

[2639] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,62,62-헤니코사메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60-이코사옥소-61-옥사-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-노나데카아자트리헥사콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (45.5 mg, 0.015 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 1-(2-(59-카르복시-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-노나데카메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57-노나데카옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-노나데카아자노나펜타콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+ 2853.2766, rt = 2.20분. (5분 산성 방법).

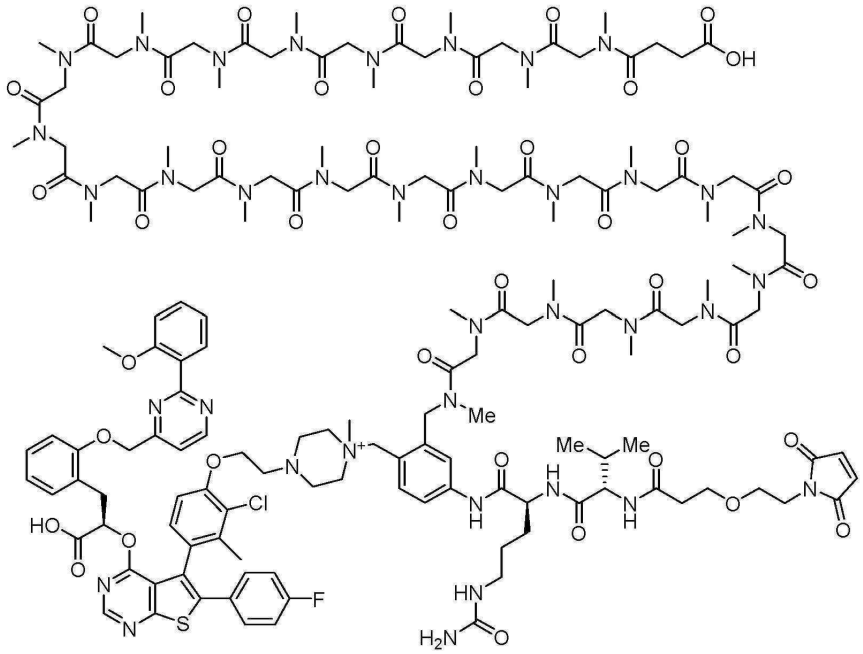
[2640] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,80,80-헵타코사메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-헥사코사옥소-79-옥사-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-펜타코사아자헨옥타콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2641]

[2642] DMF (0.25 mL) 중 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (27.8 mg, 0.016 mmol, 1.0 당량), 3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,78,78-헥사코사메틸-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-펜타코사옥소-77-옥사-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-테트라코사아자노나헵타콘탄산 (30.2 mg, 0.016 mmol, 1.0 당량), 및 HATU (6.7 mg, 0.018 mmol, 1.1 당량)의 교반 용액에 DIPEA (14 μL, 0.080 mmol, 5.0 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 주위 온도에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 1 mL DMSO로 희석하고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,80,80-헵타코사메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-헥사코사옥소-79-옥사-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-펜타코사아자헨옥타콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS M+ 3360.5798 Rt=2.68분 (5분 산성 방법).

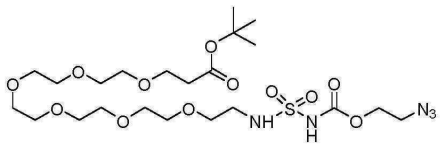
[2643] 1-(2-(77-카르복시-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-펜타코사메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75-펜타코사옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-펜타코사아자헵타헵타콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L37-P1)의 합성



[2644]

[2645] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,80,80-헵타코사메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-헥사코사옥소-79-옥사-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-펜타코사아자헨옥타콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (41.3 mg, 0.012 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 1-(2-(77-카르복시-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-펜타코사메틸-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75-펜타코사옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-펜타코사아자헵타헵타콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+ 3279.4678, rt = 2.21분. (5분 산성 방법).

[2646] tert-부틸 1-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-오에이트의 합성



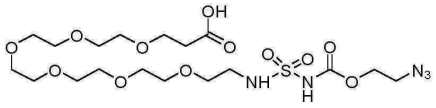
[2647]

[2648] CH_2Cl_2 (15 ml) 중 2-아지도에탄-1-올 (105 mg, 1.21 mmol)에 0℃에서 황이소시아네이티드산 클로라이드 (0.105 ml, 1.21 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반한 다음, CH_2Cl_2 (1 mL) 중 TEA (0.336 ml, 2.41 mmol) 및 tert-부틸 1-아미노-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-오에이트 (518 mg, 1.27 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 1시간 동안, 및 실온에서 2시간 동안 교반한 다음, 포화 NH_4Cl 및 1 N HCl (2.4 mL)로 켄칭하였다. 수층을 CH_2Cl_2 (5X)로 추출하였다. 유기 층을 무수 Na_2SO_4 상에거 건조시키고, 여과하고, 회전 증발을 통해 농축시켜 투명한 오일을 수득하였다. 플래쉬 크로마토그래피 (CH_2Cl_2 중 0-15% MeOH, ELSD 검출)에 의해 정제하여 tert-부틸 1-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-오에이트를 투명한 오일 (474 mg, 0.788 mmol)로서 수득하였다:

[2649] LCMS: M+NH4+=619.5, Rt=0.94분 (산성, 2분).

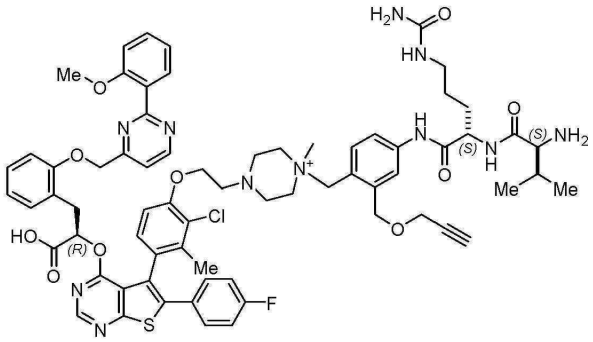
[2650] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.33 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 4.28 - 4.20 (m, 2H), 3.60 (td, J = 5.6, 5.0, 2.9 Hz, 4H), 3.55 - 3.45 (m, 22H), 3.16 - 3.04 (m, 2H), 2.46 - 2.38 (m, 2H), 1.41 (s, 9H).

[2651] 1-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-산의 합성

[2652] 

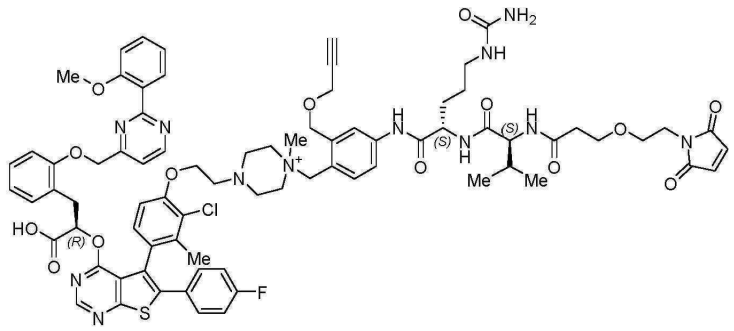
[2653] 0℃에서 CH_2Cl_2 (1 mL) 중 tert-부틸 1-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-오에이트 (145 mg, 0.241 mmol)에 TFA (1 mL, 12.98 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1.45시간 동안 교반하고, 이어서 25℃ 수조에서 회전 증발을 통해 농축시키고, 고진공 하에 30분 동안 건조시켰다. 잔류물을 무수 톨루엔 (3X 2 mL)과 공비혼합적으로 건조시키고, 진공 하에 밤새 건조시켜 1-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-산을 투명한 오일 (147 mg, 이론적 수율을 기준으로 89 중량%)로서 수득하였다: LCMS: M+=546.3, 0.65분 (산성, 2분, ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.30 (s, 1H), 7.77 - 7.71 (m, 1H), 4.25 - 4.19 (m, 2H), 3.63 - 3.55 (m, 4H), 3.54 - 3.45 (m, 22H), 3.07 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.47 - 2.40 (m, 2H).

[2654] 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트의 합성

[2655] 

[2656] 0℃에서 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (321 mg, 0.210 mmol)에 CH_2Cl_2 중 25% TFA (12.3 mL, 40.0 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 상승시키고, 1시간동안 교반한 다음, 이어서 고진공 하에 실온 수조에서 농축시켰다. 조 물질을 DMSO (3 mL)로 희석하고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (150 g, 10-80% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트를 백색 분말 (224 mg, 0.158 mmol)로서 수득하였다: HRMS: M+=1304.5100, Rt=2.15분 (5분 산성)

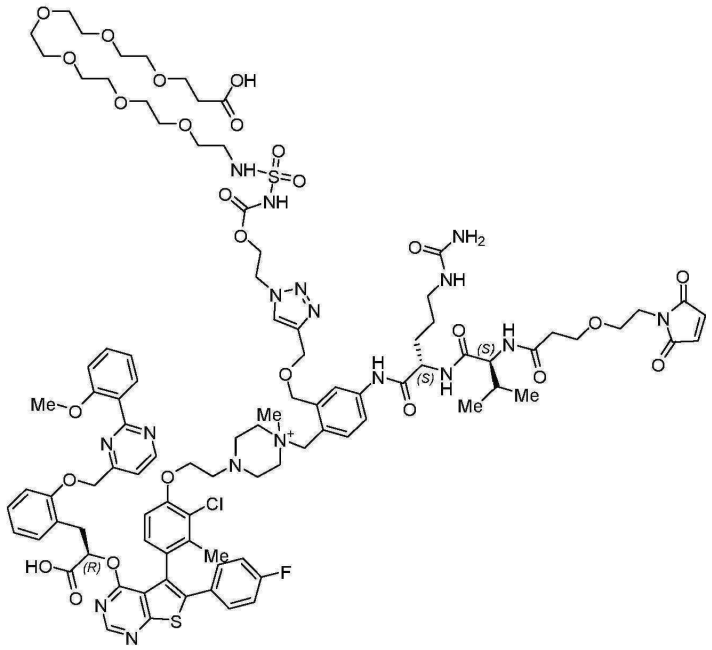
[2657] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트의 합성



[2658]

[2659] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (164 mg, 0.115 mmol) 및 Mal-Peg1-NHS 에스테르 (72 mg, 0.23 mmol)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트를 백색 분말 (170 mg, 0.105 mmol)로서 수득하였다: HRMS M+ =1499.5699, Rt=2.45분 (5분 산성); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.16 (s, 1H), 8.81 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.07 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 7.56 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.45 (dd, J = 7.5, 1.8 Hz, 1H), 7.42 - 7.29 (m, 3H), 7.24 (dd, J = 8.9, 5.4 Hz, 2H), 7.18 - 7.05 (m, 5H), 6.99 - 6.91 (m, 4H), 6.65 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.15 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 5.91 (s, 1H), 5.43 (dd, J = 9.8, 3.5 Hz, 1H), 5.23 - 5.12 (m, 2H), 4.54 (d, J = 11.2 Hz, 4H), 4.33 - 4.09 (m, 7H), 3.69 (s, 3H), 3.42 - 2.78 (m, 32H, DMSO와 중첩됨), 2.39 - 2.20 (m, 2H), 1.91 - 1.81 (m, 1H), 1.77 (s, 3H), 1.46 (dd, J = 93.8, 31.3 Hz, 3H), 0.76 (dd, J = 13.8, 6.7 Hz, 6H); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d_6): -112.18 ppm

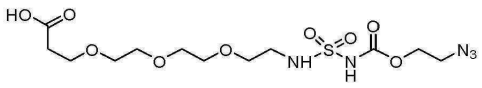
[2660] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-(2-(((N-(20-카르복시-3,6,9,12,15,18-헥사옥사이코실)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (L59-P1)의 합성



[2661]

[2662] 일반적 절차 2에 따라, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (32 mg, 0.021 mmol) 및 1-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-산 (26.2 mg, 0.043 mmol)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-(2-(((N-(20-카르복시-3,6,9,12,15,18-헥사옥사이코실)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트를 백색 분말로서 수득하였다: HRMS: M+ =2044.7700, Rt=2.36분 (5분 산성).

[2663] 3-(2-(2-(2-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)에톡시)에톡시)에톡시)프로판산의 합성



[2664]

[2665] CH_2Cl_2 (15 ml) 중 2-아지도에탄-1-올 (105 mg, 1.21 mmol)에 0℃에서 황이소시아네이티드산 클로라이드 (0.105 ml, 1.21 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 0℃에서, CH_2Cl_2 (1 mL) 중 TEA (0.336 ml, 2.41 mmol), 및 tert-부틸 3-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시) 프로파노에이트 (401 mg, >80% 공업적 순도, 1.447 mmol)을 첨가하였다. 0℃에서 1시간 동안, 이어서 실온에서 1시간 동안 교반한 후, 혼합물을 포화 NH_4Cl, 및 1 N HCl (2.4 mL)로 켄칭하였다. 수층을 CH_2Cl_2 (5X)로 추출하였다. 유기 층을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 회전 증발을 통해 농축시켜 투명한 오일을 수득하였다. 플래쉬 크로마토그래피 (CH_2Cl_2 중 0-15% MeOH, ELSD 검출)에 의한 정제 후, tert-부틸 3-(2-(2-(2-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)에톡시)에톡시)에톡시)프로파노에이트를 농후한 투명한 오일 (356 mg, 0.910 mmol)로서 수득하였다: LCMS: MS+NH4+=487.4, Rt=0.90분 (산성, 2분, ELSD);

[2666] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.31 (s, 1H), 7.78 - 7.70 (m, 1H), 4.26 - 4.19 (m, 2H), 3.58 (td, J = 5.6, 5.0, 3.7 Hz, 4H), 3.53 - 3.39 (m, 10H), 3.10 - 3.03 (m, 2H), 2.44 - 2.39 (m, 2H), 1.40 (s, 9H).

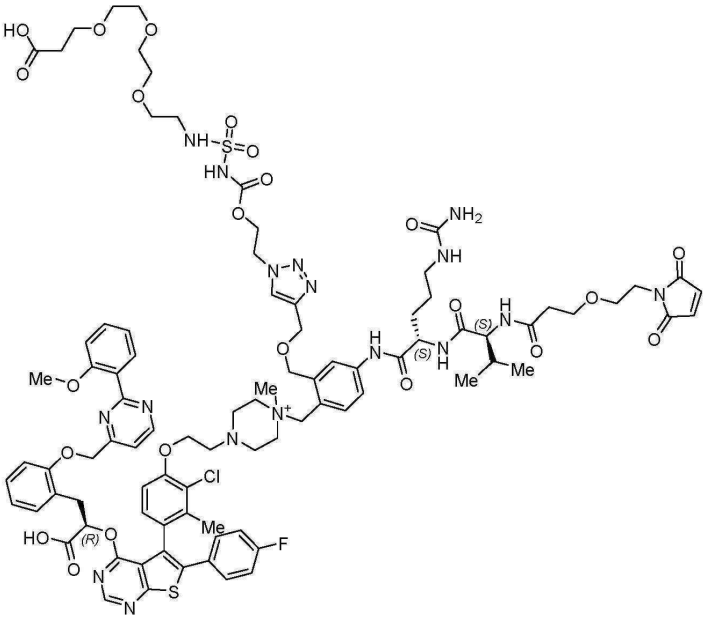
[2667] 0℃에서 CH_2Cl_2 (1 mL) 중 tert-부틸 3-(2-(2-(2-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)에톡시)에톡

시)에톡시)프로파노에이트 (162 mg, 0.345 mmol)에 TFA (1 mL, 13.0 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 2시간 동안 교반한 후, 혼합물을 수조로 25℃에서 회전 증발을 통해 농축시켰다. 잔류물을 고진공 하에 30분 동안, 무수 톨루엔 (3X 2 mL)과의 공비 증발에 의해, 및 회전 증발에 의해 진공 하에 밤새 건조시켜 3-(2-(2-(2-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)에톡시)에톡시)에톡시)프로판산을 농후한 오일 (139 mg, 0.335 mmol)로서 수득하였다.

[2668] LCMS: MS+NH4+=431.4, Rt=0.62분 (산성, 2분, ELSD):

[2669] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.32 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 7.78 - 7.69 (m, 1H), 4.27 - 4.15 (m, 2H), 3.67 - 3.54 (m, 8H), 3.49 - 3.42 (m, 4H), 3.07 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.47 - 2.39 (m, 4H).

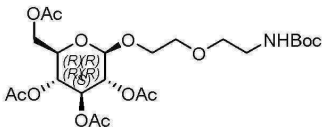
[2670] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-(2-(((N-(2-(2-(2-(2-카르복시에톡시)에톡시)에톡시)에틸)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (L60-P1)의 합성



[2671]

[2672] 일반적 절차 2에 따라, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (15 mg, 10 μmol) 및 3-(2-(2-(2-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)에톡시)에톡시)에톡시)프로판산 (12 mg, 0.029 mmol)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-(2-(((N-(2-(2-(2-(2-카르복시에톡시)에톡시)에톡시)에틸)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트를 백색 분말로서 수득하였다: HRMS: MS+=1912.7000, Rt=2.38분 (5분 산성).

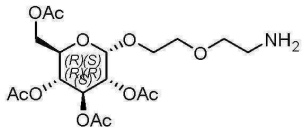
[2673] (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트의 합성



[2674]

[2675] CH_2Cl_2 (6 mL) 중 tert-부틸 (2-(2-히드록시에톡시)에틸)카르바메이트 (1535 mg, 7.48 mmol), Ag_2CO_3 (8248 mg, 14.96 mmol) 및 결정질 아이오딘의 조각의 혼합물을 분말 4A 분자 체 (1400 mg)와 함께 15분 동안 교반하였다. 혼합물에 CH_2Cl_2 (6.00 ml) 중 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-브로모테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 (2050 mg, 4.99 mmol)를 첨가하고, 또한 첨가 전에 분말 4A 분자 체 (1400 mg)와 함께 15분 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 알루미늄 호일로 덮고, 실온에서 60시간 동안 교반한 다음, 이어서 EtOAc 세척과 함께 셀라이트를 통해 여과하였다. 여과물을 농축시켜 투명한 오일을 수득하였으며, 이를 플래쉬 크로마토그래피 (CH_2Cl_2 중 0-10% MeOH, ELSD 검출)에 의해 정제하여, 적절한 분획의 농축 후, 농후한 오일 (640 mg)을 목적 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 및 (2S,3aR,5R,6R,7S,7aR)-5-(아세톡시메틸)-2-(2-(2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에톡시)에톡시)-2-메틸테트라히드로-5H-[1,3]디옥솔로[4,5-b]피란-6,7-디일 디아세테이트의 47/53% 혼합물로서 수득하였다: LCMS: MS+=536.4, Rt=0.96분 (2분, 산, ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 6.77 (s, 2H), 5.78 (s, 2H), 5.76 (s, 1H), 5.28 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 5.04 (t, J = 3.1 Hz, 1H), 4.91 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 4.87 - 4.74 (m, 3H), 4.38 (ddd, J = 5.2, 3.1, 0.9 Hz, 1H), 4.24 - 4.10 (m, 3H), 4.07 - 3.96 (m, 2H), 3.92 (dt, J = 8.8, 4.1 Hz, 1H), 3.80 (dt, J = 11.2, 4.4 Hz, 1H), 3.68 - 3.60 (m, 1H), 3.57 - 3.45 (m, 7H), 3.38 (td, J = 6.2, 1.5 Hz, 7H), 3.07 (dt, J = 6.1, 3.0 Hz, 4H), 2.08 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.04 (s, 6H), 2.01 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.65 (s, 3H), 1.39 (s, 19H).

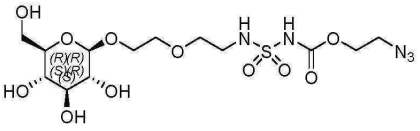
[2676] (2R,3R,4S,5R,6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트의 합성



[2677]

[2678] 0℃에서 CH_2Cl_2 (16 mL) 중 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 및 (2S,3aR,5R,6R,7S,7aR)-5-(아세톡시메틸)-2-(2-(2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에톡시)에톡시)-2-메틸테트라히드로-5H-[1,3]디옥솔로[4,5-b]피란-6,7-디일 디아세테이트 (622 mg, 1.161 mmol)의 47/53% 혼합물에 TFA (4.0 mL, 52 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 상승시키고, 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 진공 하에 60분 동안 건조시켜 담황색 오일을 수득하였다. 조 생성물을 DMSO (4 mL)로 희석하고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (5-60% MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제, ELSD 검출)에 의해 정제하였다. 적절한 분획의 동결건조 시, (2R,3R,4S,5R,6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트를 TFA 염으로서 백색 분말 (195 mg, 0.355 mmol)로서 수득하였다: LCMS: MS+=436.4, Rt=0.58분 (산성, 2분); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.72 (s, 3H), 5.27 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 4.92 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 4.86 - 4.75 (m, 2H), 4.22 - 4.15 (m, 1H), 4.07 - 3.94 (m, 3H), 3.89 - 3.53 (m, 14H, 혼합된 DMSO), 3.03 - 2.91 (m, 2H), 2.03 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.94 (s, 3H).

[2679] 2-아지도에틸 (N-(2-(2-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)에톡시)에틸)술파모일)카르바메이트의 합성

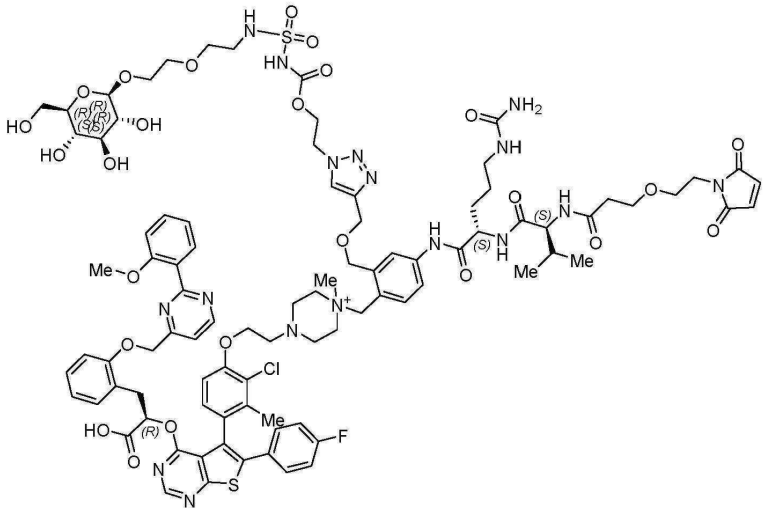


[2680]

[2681] CH_2Cl_2 (2.5 ml) 중 2-아지도에탄-1-올 (16 mg, 0.18 mmol)에 0℃에서 황이소시아네이티드산 클로라이드 (0.016 ml, 0.184 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반한 다음, CH_2Cl_2 (1.5 mL) 중 TEA (0.128 ml, 0.919 mmol) 및 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트를 TFA 염 (116 mg, 0.211 mmol)으로서 첨가하였다. 0℃에서 1시간에 이어서 실온에서 1시간 동안 교반한 후, 혼합물을 포화 NH_4Cl, 및 1 N HCl (0.919 mL, 0.919 mmol)로 켄칭하였다. 수층을 CH_2Cl_2 (5X)로 추출하였다. 유기 층을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 회전 증발을 통해 농축시켜 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트를 투명한 오일 (121 mg)로서 수득하였다: LCMS: MS+=628, Rt=0.85분 (산성, 2분, ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.32 (s, 1H), 7.79 - 7.71 (m, 1H), 5.26 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 4.90 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 4.85 - 4.73 (m, 2H), 4.25 - 4.14 (m, 3H), 4.06 - 3.94 (m, 2H), 3.79 (ddd, J = 11.3, 5.3, 3.8 Hz, 1H), 3.68 - 3.40 (m, 8H), 3.16 - 3.00 (m, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.94 (s, 3H).

[2682] 상기 생성물을 디옥산 (3 ml) 중에 용해시키고, 0℃에서 냉각시켰다. LiOH.H_2O (물 중 0.5 M, 2.94 ml, 1.47 mmol)을 첨가하였다. 생성된 투명한 용액을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, 0℃에서 HCl (5N, 0.147 mL, 0.735 mmol)로 켄칭하였다. 혼합물을 20℃ 수조에서 회전 증발을 통해 농축시켜 대부분의 디옥산을 제거하였다. 잔류 용액 (약 3 mL)을 정제용 HPLC (선파이어 5μm 30x50 mm 칼럼, 물 중 0.1% FA를 갖는 아세토니트릴 2-12%. 유량: 75 mL/분, MS 459.3, 476.3 검출)에 의해 정제하여, 적절한 분획의 용매를 동결건조를 통해 제거한 후, 2-아지도에틸 (N-(2-(2-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)에톡시)에톡시)에틸)술파모일)카르바메이트를 반고체 (64 mg, 0.14 mmol)로서 수득하였다: LCMS: M+NH4+=477.3, MS-=458 (산성, 2분, ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.32 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 4.96 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 4.89 (dd, J = 13.7, 4.8 Hz, 2H), 4.47 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.22 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 4.15 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.90 - 3.81 (m, 1H), 3.67 (ddd, J = 12.0, 5.7, 2.0 Hz, 1H), 3.62 - 3.39 (m, 8H), 3.19 - 2.90 (m, 6H).

[2683] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-(2-(((N-(2-(2-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)에톡시)에틸)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (L63-P1)의 합성

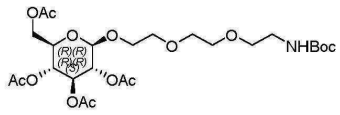


[2684]

[2685] 일반적 절차 2에 따라, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히

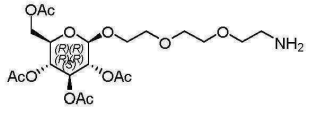
드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (36 mg, 0.022 mmol) 및 2-아지도에틸 (N-(2-(2-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)에톡시)에틸)술파모일)카르바메이트 (22 mg, 0.048 mmol)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-(2-(((N-(2-(2-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)에톡시)에틸)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트를 백색 분말로서 수득하였다: HRMS: MS+=1958.6899, Rt=2.31분 (5분 산성); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.17 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.81 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.07 (d, J = 13.5 Hz, 2H), 7.74 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.68 (q, J = 4.3, 2.7 Hz, 3H), 7.56 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.45 (dd, J = 7.6, 1.8 Hz, 1H), 7.42 - 7.28 (m, 3H), 7.23 (ddd, J = 8.5, 5.4, 2.6 Hz, 2H), 7.17 - 7.04 (m, 5H), 6.99 - 6.91 (m, 4H), 6.65 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.14 (dd, J = 7.6, 1.8 Hz, 1H), 5.93 (s, 1H), 5.43 (dd, J = 9.8, 3.6 Hz, 1H), 5.23 - 5.11 (m, 2H), 4.59 (dd, J = 11.3, 7.4 Hz, 8H), 4.42 - 4.06 (m, 12H), 3.53 - 3.17 (m, 27H, DMSO와 중첩됨), 3.09 - 2.80 (m, 17H, DMSO와 중첩됨), 2.39 - 2.20 (m, 3H), 1.86 (h, J = 6.9 Hz, 1H), 1.77 (s, 3H), 1.68 - 1.21 (m, 5H), 0.76 (dd, J = 13.8, 6.8 Hz, 6H); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d_6): -112.18 ppm.

[2686] (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-((2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11-트리옥사-5-아자트리데칸-13-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트의 합성

[2687] 

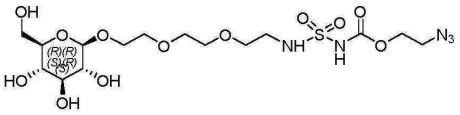
[2688] CH_2Cl_2 (3 mL) 중 tert-부틸 (2-(2-(2-히드록시에톡시)에톡시)에틸)카르바메이트 (1046 mg, 4.20 mmol), Ag_2CO_3 (4627 mg, 8.39 mmol) 및 결정질 아이오딘의 조각의 혼합물을 분말 4A 분자 체 (700 mg)와 함께 15분 동안 교반하였다. 혼합물에 CH_2Cl_2 (3.00 mL) 중 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-브로모테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 (1150 mg, 2.80 mmol) (또한 분말 4A 분자 체 (700 mg)와 함께 15분 동안 교반함)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 알루미늄 호일로 덮고, 실온에서 60시간 동안 교반하고, 이어서 EtOAc 세척과 함께 셀라이트를 통해 여과하였다. 여과물을 농축시켜 투명한 오일을 수득하였다. 플래쉬 크로마토그래피 (헵탄 중 20-100% EtOAc, ELSD 검출)에 의해 정제하여 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-((2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11-트리옥사-5-아자트리데칸-13-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 및 (2S,3aR,5R,6R,7S,7aR)-5-(아세톡시메틸)-2-((2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11-트리옥사-5-아자트리데칸-13-일)옥시)-2-메틸테트라히드로-5H-[1,3]디옥솔로[4,5-b]피란-6,7-디일 디아세테이트의 28/72% 혼합물 (307 mg, 0.529 mmol)을 농후한 투명한 오일로서 수득하였다: LCMS: MS+=580.4, Rt=0.96분 (산, 2분, 오직 ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 6.74 (s, 3H), 5.76 (s, 8H), 5.26 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 5.02 (t, J = 3.1 Hz, 3H), 4.90 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 4.84 - 4.72 (m, 5H), 4.37 (ddd, J = 5.2, 3.1, 0.9 Hz, 3H), 4.18 (dd, J = 12.2, 5.0 Hz, 1H), 4.11 (d, J = 4.5 Hz, 5H), 4.08 - 3.94 (m, 4H), 3.91 (dt, J = 8.6, 4.1 Hz, 3H), 3.85 - 3.75 (m, 1H), 3.66 - 3.58 (m, 1H), 3.58 - 3.51 (m, 7H), 3.42 - 3.31 (m, 14H), 3.06 (q, J = 5.9 Hz, 8H), 2.07 (s, 7H), 2.05 (s, 7H), 2.02 (s, 10H), 1.99 (d, J = 1.0 Hz, 6H), 1.99 (s, 3H), 1.94 (s, 3H), 1.63 (s, 7H), 1.38 (s, 36H), 1.18 (t, J = 7.1 Hz, 4H).

[2689] (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트의 합성

[2690] 

[2691] 0℃에서 CH_2Cl_2 (8 mL) 중 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-((2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11-트리옥사-5-아자트리데칸-13-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 및 (2S,3aR,5R,6R,7S,7aR)-5-(아세톡시메틸)-2-((2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11-트리옥사-5-아자트리데칸-13-일)옥시)-2-메틸테트라히드로-5H-[1,3]디옥솔로[4,5-b]피란-6,7-디일 디아세테이트 (323 mg, 0.557 mmol)의 혼합물에 TFA (1.9 mL, 25 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 45분 동안 교반한 후, 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 진공 하에 60분 동안 건조시켜 담황색 오일을 수득하였다. 플래쉬 크로마토그래피 (CH_2Cl_2 중 0-20% MeOH, MeOH 중 0.2% NH_4OH 개질제 포함, ELSD 검출)에 의해 정제하여 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트를 투명한 오일 (82 mg, 0.171 mmol)로서 수득하였다. LCMS: MS+=480.4, Rt=0.61분 (산성, 2분, ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.76 (s, 2H), 5.28 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 4.93 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 4.86 - 4.75 (m, 2H), 4.20 (dd, J = 12.2, 5.0 Hz, 1H), 4.08 - 3.95 (m, 2H), 3.88 - 3.79 (m, 1H), 3.67 - 3.53 (m, 11H, DMSO와 중첩됨), 3.00 (q, J = 5.5 Hz, 2H), 2.04 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.96 (s, 3H).

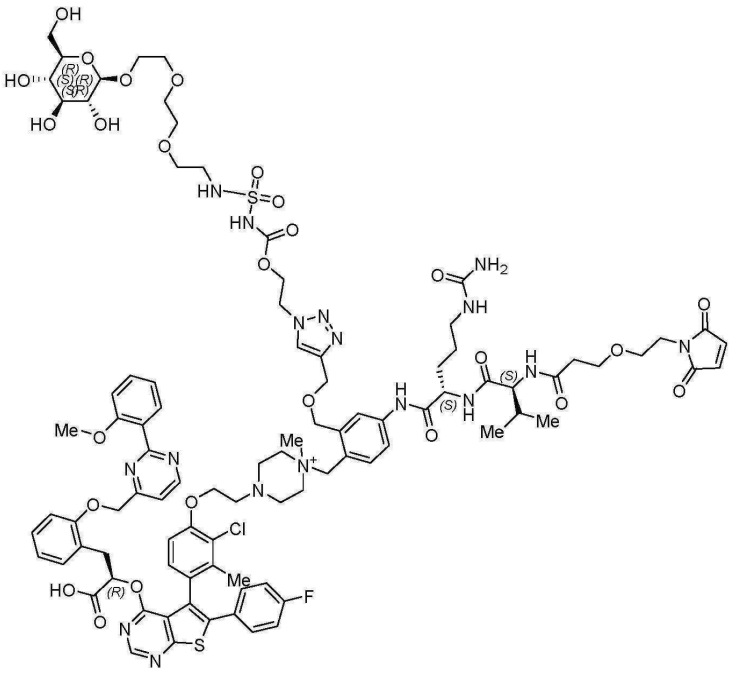
[2692] 2-아지도에틸 (N-(2-(2-(2-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)에톡시)에톡시)에틸)술파모일)카르바메이트의 합성

[2693] 

[2694] CH_2Cl_2 (2 mL) 중 2-아지도에탄-1-올 (12.5 mg, 0.144 mmol)에 0℃에서 황이소시아네이티드산 클로라이드 (0.012 ml, 0.14 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 45분 동안 교반한 다음, CH_2Cl_2 (1 mL) 중 TEA (0.040 ml, 0.29 mmol) 및 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 (77 mg, 0.16 mmol)를 첨가하였다. 0℃에서 1시간 동안, 이어서 실온에서 1시간 동안 교반한 후, 혼합물을 포화 NH_4Cl, 및 1 N HCl (0.29 mL)로 켄칭하였다. 수층을 CH_2Cl_2 (5X)로 추출하였다. 유기 층을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 회전 증발을 통해 농축시켜 (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-(2-(2-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)에톡시)에톡시)에톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트를 투명한 오일 (75 mg)로서 수득하였다: LCMS: 0.97분, MS+=672.4, 96, Rt-0.87분 (산성, 2분, ELSD).

[2695] 0℃에서 디옥산 (4 mL) 중 상기 생성물에 LiOH.H_2O (물 중 0.5 M, 3.45 ml, 1.72 mmol)을 첨가하였다. 생성된 투명한 용액을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음 20℃ 수조에서 회전 증발을 통해 농축시켰다. 잔류물을 정제용 HPLC (선파이어 5μm 30x50 mm 칼럼, 물 중 0.1% FA를 갖는 아세토니트릴 2-12%. 유량: 75 mL/분, MS 503.5, 520.3 검출)에 의해 정제하여 동결건조 후, 2-아지도에틸 (N-(2-(2-(2-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)에톡시)에톡시)에틸)술파모일)카르바메이트를 투명한 박막 (22 mg, 0.044 mmol)으로서 수득하였다: LCMS: MS+=504.3, Rt=0.52분 (산성, 2분, ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.31 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 4.96 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 4.89 (dd, J = 12.5, 4.8 Hz, 2H), 4.47 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.22 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 4.15 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.93 - 3.82 (m, 1H), 3.67 (dd, J = 11.2, 5.8 Hz, 1H), 3.62 - 3.40 (m, 12H), 3.17 - 2.90 (m, 6H).

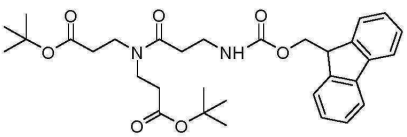
[2696] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-(2-(((N-(2-(2-(2-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)에톡시)에톡시)에틸)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (L62-P1)의 합성



[2697]

[2698] 일반적 절차 2에 따라, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (32 mg, 0.020 mmol) 및 2-아지도에틸 (N-(2-(2-(2-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2=일)옥시)에톡시)에톡시)에틸)술파모일)카르바메이트 (21 mg, 0.042 mmol)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-(2-(((N-(2-(2-(2-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)에톡시)에톡시)에틸)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트를 백색 분말로서 수득하였다: HRMS: MS+=2002.7100, Rt=2.37분 (5분 산성).

[2699] 디-tert-부틸 3,3'-((3-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)프로파노일)아잔디일)디프로피오네이트의 합성

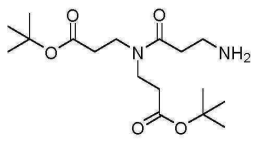


[2700]

[2701] CH_2Cl_2 (3 mL) 중 디-tert-부틸 3,3'-아잔디일디프로피오네이트 (403 mg, 1.47 mmol), 3-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)프로판산 (505 mg, 1.62 mmol) 및 DIPEA (0.309 mL, 1.77 mmol)의 혼합물에 N-(디메틸아미노프로필)-N'-에틸-카르보디이미드 히드로클로라이드.HCl (367 mg, 1.92 mmol)을 첨가하였다. 실온에서 2시간 동안 교반한 후, 혼합물을 포화 NH_4Cl로 켄칭하고, CH_2Cl_2 (3X)로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 생성된 조 생성물을 플래쉬 크로마토그래피 (헵탄 중 0-50% EtOAc)에 의해 정제하여 디-tert-부틸 3,3'-((3-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)프로파노일)아잔디일)디프로피오네이트를 백색 발포체 (290 mg, 0.511 mmol)로서 수득하였다: LCMS: MS+=567.5, Rt=1.32분 (산, 2분); PMR: ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.94 - 7.88 (m, 2H), 7.70 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.47 - 7.40 (m, 2H), 7.40 - 7.31 (m, 2H), 7.22

(t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.31 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 4.26 - 4.18 (m, 1H), 3.56 - 3.03 (m, 8H), 2.50 - 2.38 (m, 4H), 1.41 (s, 9H), 1.40 (s, 9H).

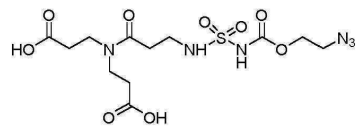
[2702] 디-tert-부틸 3,3'-((3-아미노프로파노일)아잔디일)디프로피오네이트, 1-(9H-플루오렌-9-일)-N,N-디메틸메탄아민의 합성



[2703]

[2704] CH_2Cl_2 (3 mL) 중 디-tert-부틸 3,3'-((3-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)프로파노일)아잔디일)디프로피오네이트 (288 mg, 0.508 mmol)에 디메틸아민 (THF 중 2 N, 1 mL, 2 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 추가의 디메틸아민 (THF 중 2 N, 1 mL, 2 mmol)을 첨가하였다. 추가로 4시간 동안 교반한 후, 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (CH_2Cl_2 중 0-25% MeOH, 37분, MeOH 중 0.2% NH_4OH 개질제, ELSD 검출)에 의해 정제하여 디-tert-부틸 3,3'-((3-아미노프로파노일)아잔디일)디프로피오네이트, 1-(9H-플루오렌-9-일)-N,N-디메틸메탄아민을 담갈색 오일 (62 mg, 0.472 mmol)로서 수득하였다: LCMS: MS+=345.4, Rt=0.76분 (산성, 2분, ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 4.05 (s, 2H), 3.51 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.43 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.31 (s, 2H), 2.79 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.55 - 2.45 (m,17H, DMSO와 중첩됨), 2.41 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.40 (s, 9H).

[2705] 3,3'-((3-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)프로파노일)아잔디일)디프로피온산의 합성



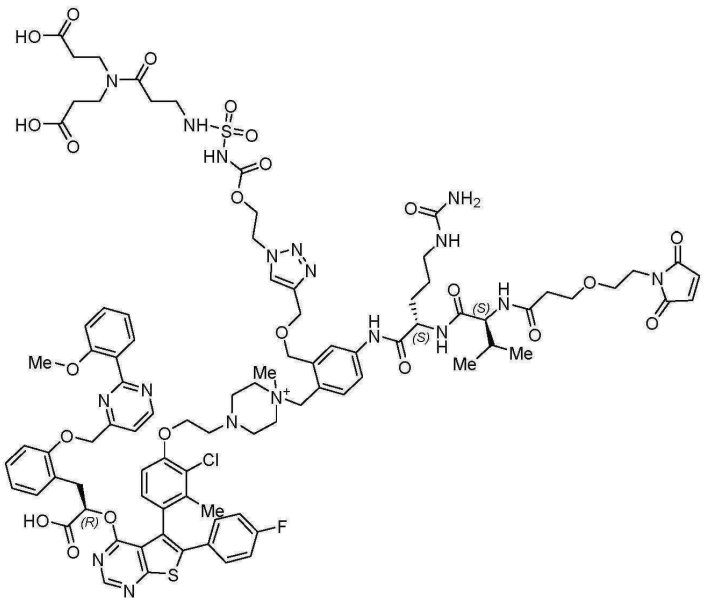
[2706]

[2707] CH_2Cl_2 (2.5 ml) 중 2-아지도에탄-1-올 (16 mg, 0.18 mmol)에 0℃에서 황이소시아네이티드산 클로라이드 (0.016 ml, 0.18 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하고, 이어서 TEA (0.051 ml, 0.37 mmol) 및 CH_2Cl_2 (1 mL) 중 디-tert-부틸 3,3'-((3-아미노프로파노일)아잔디일)디프로피오네이트 (73 mg, 0.21 mmol)를 첨가하였다. 0℃에서 1시간 동안, 이어서 실온에서 1시간 동안 교반한 후, 혼합물을 포화 NH_4Cl, 및 1 N HCl (0.37 mL)로 켄칭하였다. 수층을 CH_2Cl_2 (5X)로 추출하였다. 유기 층을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고 회전 증발을 통해 농축시켰다. 생성된 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (CH_2Cl_2 중 0-10% MeOH, ELSD 및 UV214 검출)에 의해 정제하여 디-tert-부틸 3,3'-((3-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)프로파노일)아잔디일)디프로피오네이트를 농후한 투명한 오일 (70 mg, 0.13 mmol)로서 수득하였다: LCMS MS+= 537.4, Rt=1.08분 (산성, 2분, ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.39 (s, 1H), 7.65 - 7.59 (m, 1H), 4.28 - 4.23 (m, 2H), 3.63 - 3.59 (m, 2H), 3.54 - 3.47 (m, 2H), 3.47 - 3.38 (m, 2H), 3.18 - 3.09 (m, 2H), 2.61 - 2.54 (m, 4H), 2.43 (dd, J = 8.5, 6.0 Hz, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.42 (s, 9H).

[2708] 0℃에서 CH_2Cl_2 중 생성물 상기 (2 ml)에 TFA (2 ml)를 첨가하였다. 실온에서 1.5시간 동안 교반한 후, 혼합물을 25℃ 수조에서 회전 증발을 통해 농축시켰다. 잔류물을 고진공 하에 30분 동안, 이어서 무수 톨루엔 (3X 3 mL)과의 공비 증류에 의해 건조시키고, 고진공 하에 밤새 추가로 건조시켜 3,3'-((3-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)프로파노일)아잔디일)디프로피온산을 백색 고체 (72 mg, 이론적 수율을 기준으로 77 중량%. 이를 후속 단계에 직접 사용함)로서 수득하였다: LCMS MS+=425.3, Rt=0.52분 (산성, 2분, ELSD); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.28 (s, 1H), 11.35 (s, 1H), 7.58 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 4.26 - 4.20 (m, 2H), 3.61 - 3.55 (m, 2H), 3.50 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.42 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.12 (q, J = 6.8 Hz, 2H), 2.56 (dd, J = 15.1, 7.4 Hz, 4H), 2.43 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.08 (s, 1H).

[2709] 1-(2-(((1-(2-(((N-(3-(비스(2-카르복시에틸)아미노)-3-옥소프로필)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프

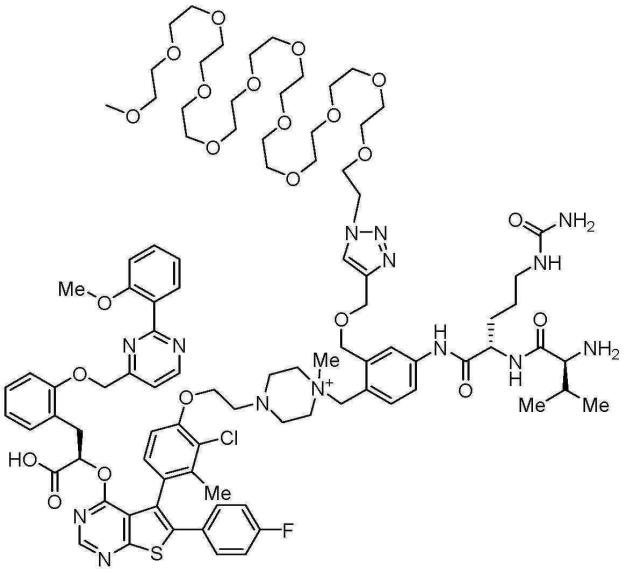
로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (L61-P1)의 합성



[2710]

[2711] 일반적 절차 2에 따라, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트 (20 mg, 0.012 mmol) 및 3,3'-((3-((N-((2-아지도에톡시)카르보닐)술파모일)아미노)프로파노일)아잔디일)디프로피온산 (15 mg, 0.027 mmol)을 사용하여, 1-(2-(((1-(2-(((N-(3-(비스(2-카르복시에틸)아미노)-3-옥소프로필)술파모일)카르바모일)옥시)에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 트리플루오로아세테이트를 백색 분말로서 수득하였다: HRMS: MS+=1923.6500 Rt=2.34분 (5분 산성); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.21 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.81 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.08 (d, J = 13.7 Hz, 2H), 7.77 - 7.50 (m, 5H), 7.47 - 7.20 (m, 6H), 7.18 - 7.04 (m, 5H), 6.99 - 6.90 (m, 4H), 6.65 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.14 (dd, J = 7.6, 1.7 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.43 (dd, J = 9.8, 3.5 Hz, 1H), 5.24 - 5.11 (m, 3H), 4.65 - 4.51 (m, 9H), 4.45 - 3.81 (m, 52H, DMSO와 중첩됨), 3.68 (s, 3H), 3.54 - 2.77 (m, 31H), 2.39 - 2.20 (m, 5H), 1.86 (q, J = 6.8 Hz, 1H), 1.77 (s, 3H), 1.69 - 1.00 (m, 6H), 0.76 (dd, J = 13.9, 6.8 Hz, 6H); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d_6): -112.16 ppm.

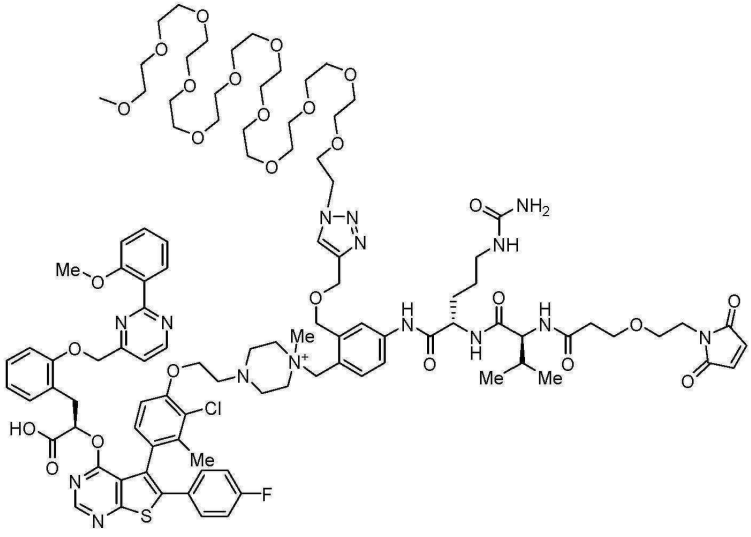
[2712] 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사헵타트리아콘탄-37-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2713]

[2714] 일반적 절차 2에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (87.5 mg, 0.063 mmol, 1.0 당량) 및 mPEG12-아지드 (73.3 mg, 0.125 mmol, 2 당량)를 사용하여, 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사헵타트리아콘탄-37-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1889.8544, Rt=2.19분 (5분 산성 방법).

[2715] 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사헵타트리아콘탄-37-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L104-P1)의 합성

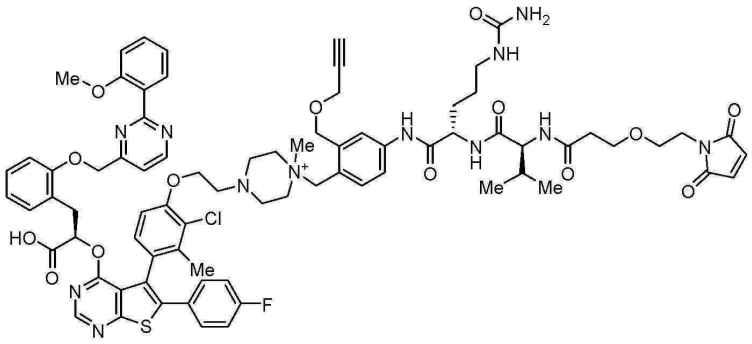


[2716]

[2717] 일반적 절차 3에 따라, 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사헵타트리아콘탄-37-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (22 mg, 0.011 mmol, 1.0 당

량)을 사용하여, 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-도데카옥사헵타트리아콘탄-37-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 2084.9099, Rt=2.45분 (5분 산성 방법).

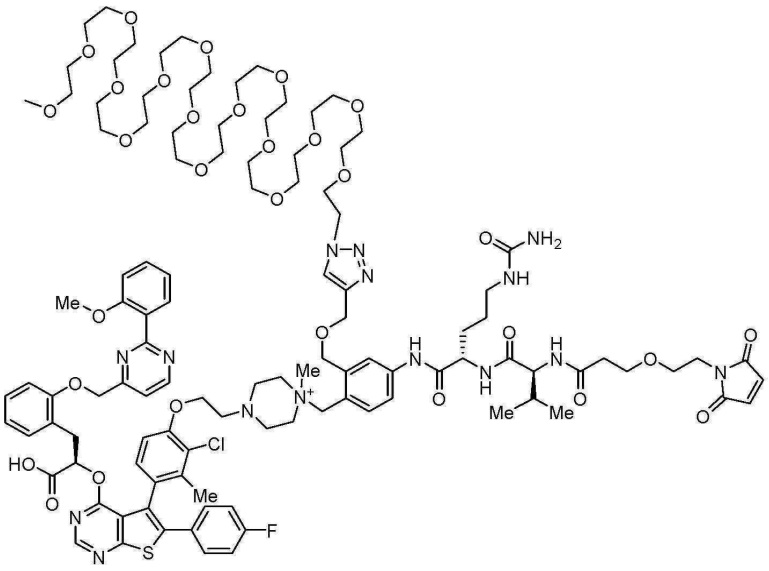
[2718] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2719]

[2720] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (155 mg, 0.119 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1499.5699, Rt=2.39분 (5분 산성 방법).

[2721] 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47-헥사데카옥사노나테트라콘탄-49-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (L34-P1)의 합성

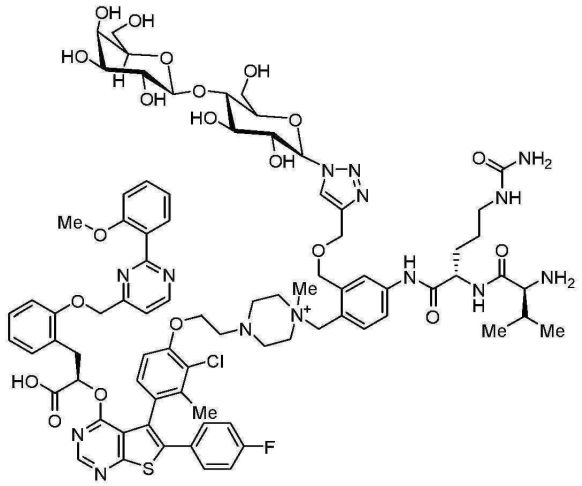


[2722]

[2723] 일반적 절차 2에 따라,

4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (50 mg, 0.033 mmol, 1.0 당량) 및 m-PEG16-아지드 (브로드팜 BP-23558) (50.8 mg, 0.067 mmol, 2 당량)를 사용하여, 1-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47-헥사데카옥사노나테트라콘탄-49-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸로부터임)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+=2261.0196, Rt=2.28분 (5분 산성 방법).

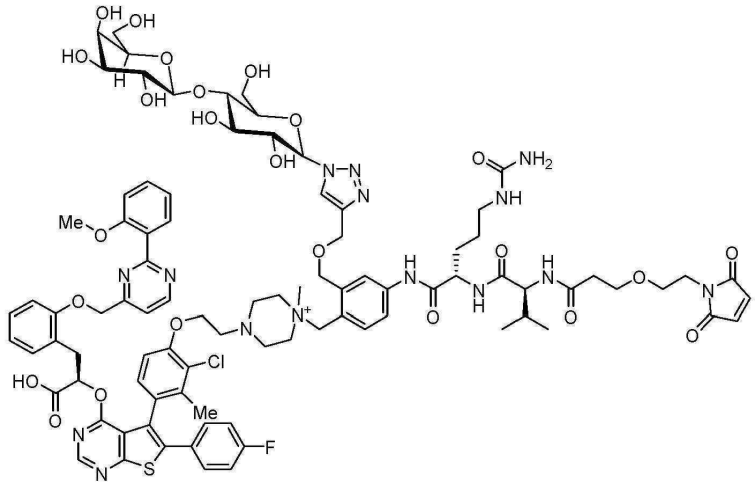
[2724] 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2725]

[2726] 일반적 절차 2에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (87.5 mg, 0.063 mmol, 1.0 당량) 및 1-아지도-1-데옥시-베타-D-락토피라노시드 (22.99 mg, 0.063 mmol, 1 당량)을 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1671.6400, Rt=1.95분 (5분 산성 방법).

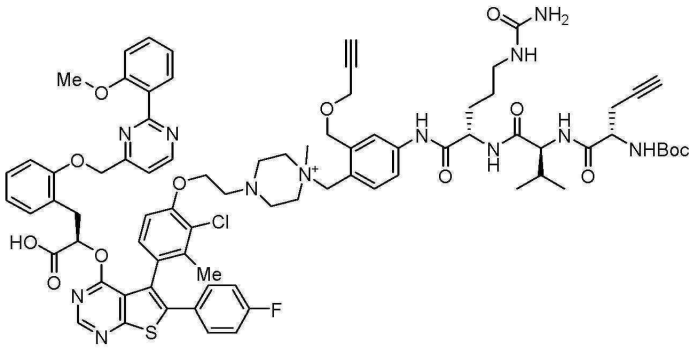
[2727] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L46-P1)의 합성



[2728]

[2729] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (35 mg, 0.020 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1866.6899, Rt=2.28분 (5분 산성 방법).

[2730] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((6S,9S,12S)-9-이소프로필-2,2-디메틸-4,7,10-트리옥소-6-(프로프-2-인-1-일)-12-(3-우레이도프로필)-3-옥사-5,8,11-트리아자트리데칸-13-아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성

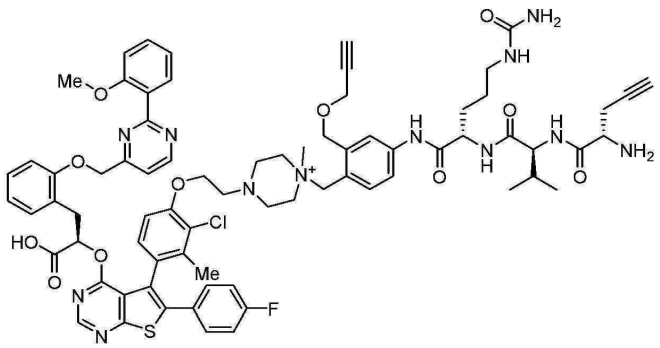


[2731]

[2732] DMF (0.5 ml) 중 Boc-프로파르길-Gly-OH (40 mg, 0.188 mmol, 1 당량) 및 HATU (71.3 mg, 0.188 mmol, 1 당량)의 혼합물에 DIPEA (65.5 μl, 0.375 mmol, 2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, DMF (1 ml) 중 1-(4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (245 mg, 0.188 mmol, 1 당량)의 용액을 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 조 혼합물을 C18 칼럼 (100 카트리지, MeCN/물, 0.1% 포름산 포함, 15CV에 걸쳐 0-100%)로 분리하여 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((6S,9S,12S)-9-이소프로필-2,2-디메틸-4,7,10-트리옥소-6-(프로프-2-인-1-일)-12-(3-우레이도프로필)-3-옥사-5,8,11-트리아자트리데칸-13-아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1499.6000, Rt= 2.91분 (5

분 산성 방법).

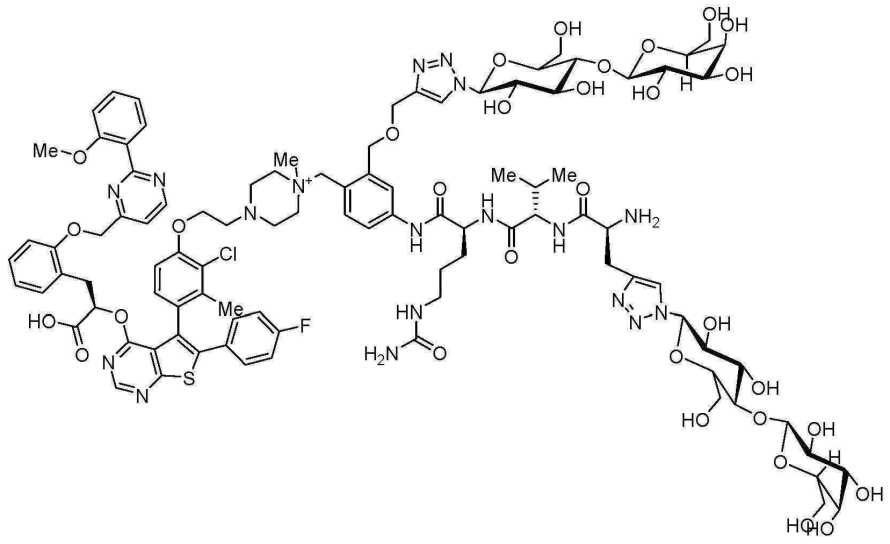
[2733] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-아미노펜트-4-인아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2734]

[2735] 0℃ 빙수조에서, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(4-((6S,9S,12S)-9-이소프로필-2,2-디메틸-4,7,10-트리옥소-6-(프로프-2-인-1-일)-12-(3-우레이도프로필)-3-옥사-5,8,11-트리아자트리데칸-13-아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (56 mg, 0.037 mmol)에 TFA (DCM 중 25%) 2 mL을 첨가하였다. 이어서, 반응 혼합물을 실온으로 상승시키고, 1시간 동안 교반하였다. 조 혼합물을 고진공 하에 농축시켰다. 이어서, 혼합물을 MeOH 중에 용해시키고, C-18 칼럼(50 g 카트리지, MeCN/물, 0.1% 포름산 포함, 16 CV에 걸쳐 0-100%)에 의해 정제하여 1-(4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-아미노펜트-4-인아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 1399.5400, Rt= 2.17분 (5분 산성 방법).

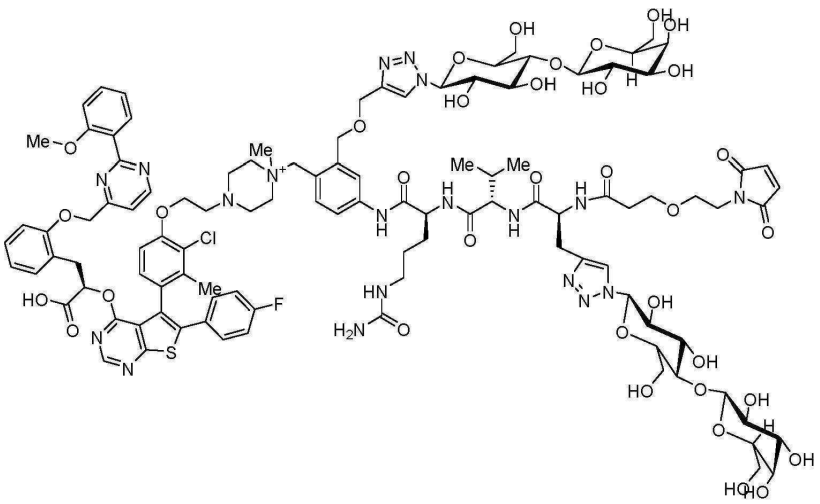
[2736] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-아미노-3-(1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2R,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰의 합성



[2737]

[2738] 일반적 절차 2에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-아미노펜트-4-인아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((프로프-2-인-1-일옥시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (44 mg, 0.031 mmol, 1.0 당량) 및 1-아지도-1-데옥시-베타-D-락토피라노시드 (69.2 mg, 0.188 mmol, 6 당량)을 사용하여, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-아미노-3-(1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2R,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 2133.7800, Rt= 1.95분 (5분 산성 방법).

[2739] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2R,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((2S,5S,8S)-8-((1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)-15-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)-5-이소프로필-4,7,10-트리옥소-2-(3-우레이도프로필)-13-옥사-3,6,9-트리아자펜타데칸아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L47-P1)의 합성

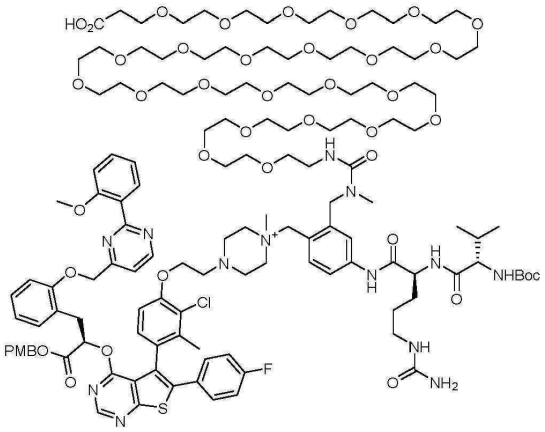


[2740]

[2741] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-아미노-3-(1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(((1-((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2R,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)벤질)-4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (19 mg, 0.009 mmol, 1.0 당량)을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(((1-((2S,3S,4S,5R,6S)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2R,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메톡시)메틸)-4-((2S,5S,8S)-8-((1-((2R,3R,4R,5S,6R)-3,4-디히드록시-6-(히드록시메틸)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)테트라히드로-2H-피란-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)-15-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)-5-이소프로필-4,7,10-트리옥소-2-(3-우레이도프로필)-13-옥사-3,6,9-트리아자펜타데칸아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 2328.8301, Rt=2.15분 (5분 산성

방법).

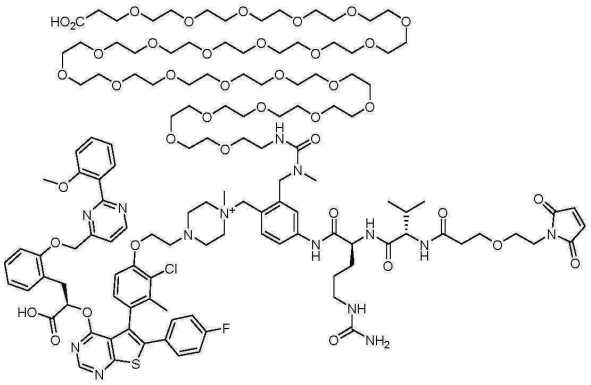
[2742] 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(78-카르복시-2-메틸-3-옥소-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-테트라코사옥사-2,4-디아자옥타헵타콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰



[2743]

[2744] THF (2 mL) 중 1-아미노-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-테트라코사옥사펜타헵타콘탄-75-산 (50 mg, 0.044 mmol), 비스(4-니트로페닐) 카르보네이트 (13 mg, 0.043 mmol), 및 DIPEA (20 μL, 0.12 mmol)의 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 질소 기체를 그 안에 불어넣어 농축시켰다. 생성된 고체 잔류물을 DMF (1 mL)에 녹였다. 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-((메틸아미노)메틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰 (50 mg, 0.029 mmol) 및 DIPEA (100 μL, 0.573 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다. 혼합물을 DMSO (2 mL)로 희석하고, 용액을 RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (MeCN/H_2O, 0.1% TFA 개질제 포함)에 의해 정제하였다. 동결건조 시, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(78-카르복시-2-메틸-3-옥소-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-테트라코사옥사-2,4-디아자옥타헵타콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 수득하였다. HRMS: M+= 2671.2700, Rt=2.88분 (5분 산성 방법).

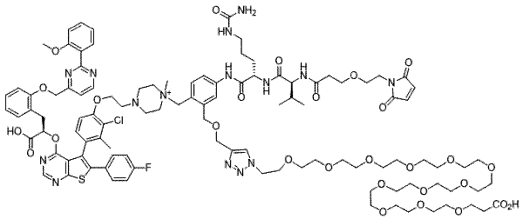
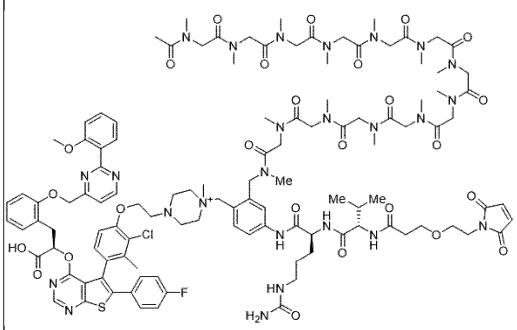
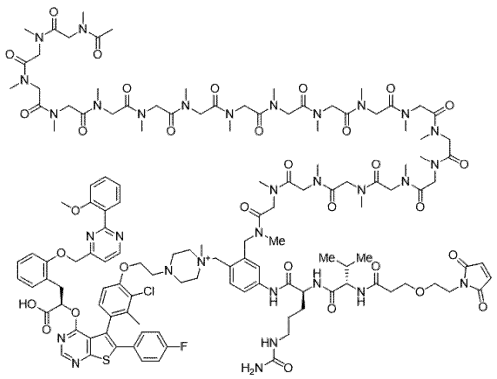
[2745] 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(78-카르복시-2-메틸-3-옥소-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-테트라코사옥사-2,4-디아자옥타헵타콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L42-P1)



[2746]

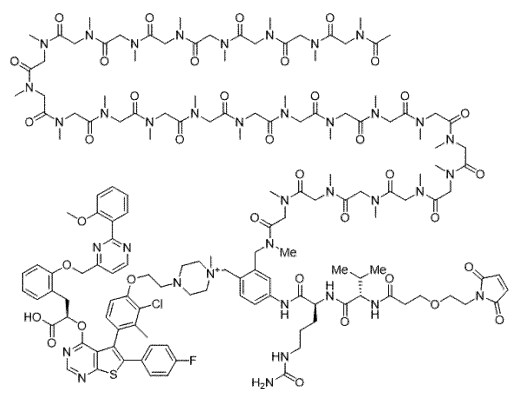
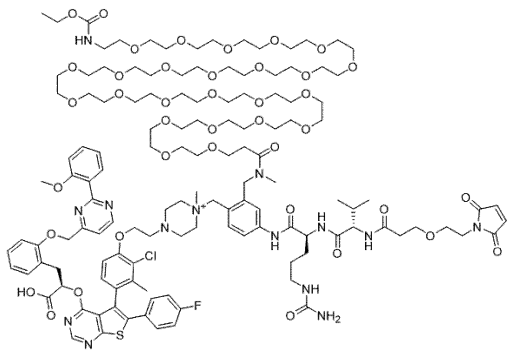
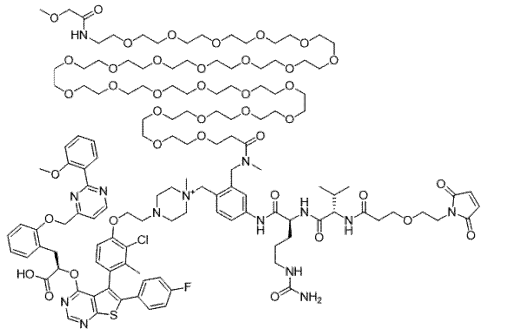
[2747] 일반적 절차 3에 따라, 1-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)-2-(78-카르복시-2-메틸-3-옥소-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-테트라코사옥사-2,4-디아자옥타헵타콘틸)벤질)-4-(2-(2-클로로-4-(6-(4-플루오로페닐)-4-(((R)-1-((4-메톡시벤질)옥시)-3-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)-1-옥소프로판-2-일)옥시)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-3-메틸페녹시)에틸)-1-메틸피페라진-1-윰을 사용하여, 4-(2-(4-(4-((R)-1-카르복시-2-(2-((2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일)메톡시)페닐)에톡시)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일)-2-클로로-3-메틸페녹시)에틸)-1-(2-(78-카르복시-2- 메틸-3-옥소-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-테트라코사옥사-2,4-디아자옥타헵타콘틸)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질)-1-메틸피페라진-1-윰 (L42-P1)을 수득하였다. HRMS: M+= 2646.7700, Rt=2.38분 (5분 산성 방법).

[2748] 하기 화합물을 상기 기재된 바와 유사한 절차를 사용하여 제조하였다.

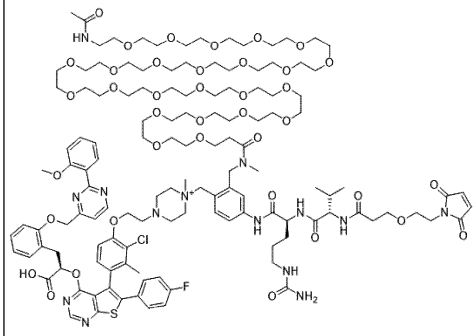
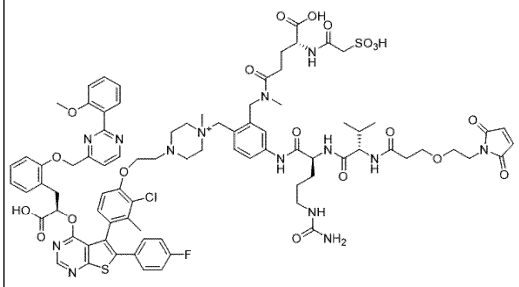
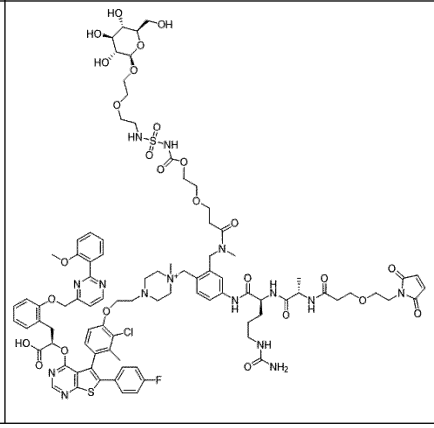
코드	링커 페이로드 구조	합성 방법	특성화
L33-P1		일반적 절차 2	HRMS: M+ 2142.9099, rt = 2.39분 (5분 산성 방법).
L38-P1		L35-P1의 합성과 유사 및 일반적 절차 3 사용	HRMS: M+ 2369.0400, rt = 2.11분 (5분 산성 방법).
L39-P1		L35-P1의 합성과 유사 및 일반적 절차 3 사용	HRMS: M+ 2795.2537, rt = 2.07분 (5분 산성 방법).

[2749]

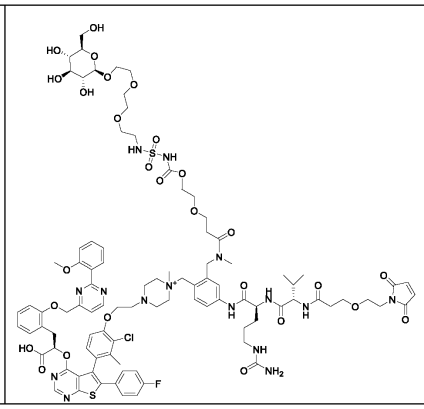
[2750]

L40-P1		L35-P1의 합성과 유사 및 일반적 절차 3 사용	HRMS: M+ 3221.4653, rt = 2.05분 (5분 산성 방법).
L43-P1		L35-P1의 합성과 유사 및 일반적 절차 3 사용	HRMS: M+ 2673.7827, rt = 2.46분 (5분 산성 방법).
L44-P1		L35-P1의 합성과 유사 및 일반적 절차 3 사용	HRMS: M+ 2673.7832, rt = 2.39분 (5분 산성 방법).

[2751]

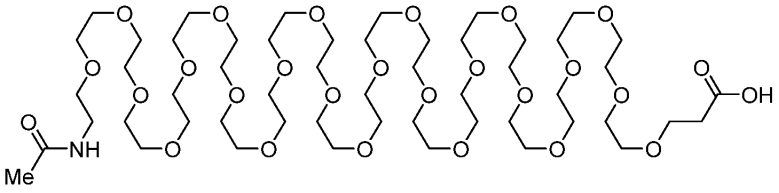
L45-P1		L35-P1의 합성과 유사 및 일반적 절차 3 사용	HRMS: M+ 2644.2253, rt = 2.50분 (5분 산성 방법).
L95-P1		L71-P1의 합성과 유사	HRMS: M+ 1725.6000 , rt = 2.32분 (5분 산성 방법)
L101-P1		L62-P1의 합성과 유사	HRMS: M+ 1962.7100, rt = 2.50분 (5분 산성 방법).

[2752]

L105-P1		L62-P1의 합성과 유사	HRMS: M+ 1962.7100, rt = 2.50분 (5분 산성 방법).

[2753] L43-P1, L44-P1 및 L45-P1에서 폴리에틸렌 글리콜을 제조하는 합성 방법은 하기에 기재된다.

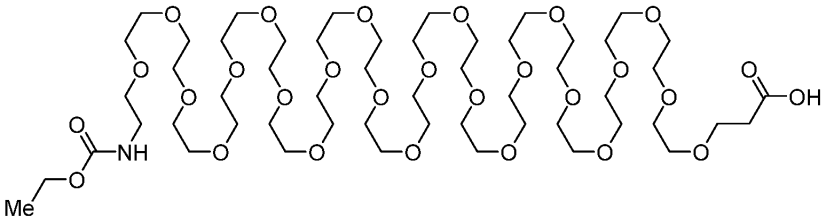
[2754] 2-옥소-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75-테트라코사옥사-3-아자옥타헵타콘탄-78-산의 합성



[2755]

[2756] 디클로로메탄 (0.5 mL) 중 1-아미노-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-테트라코사옥사펜타헵타콘탄-75-산 (100 mg, 0.087 mmol, 1.0 당량) 및 DIPEA (24.8 mg, 34 μL, 0.192 mmol, 2.2 당량)의 교반 용액에 아세트산 무수물 (8.9 mg, 8.25 μL, 1.0 당량)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 주위 온도에서 1.5시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하였다. 생성된 잔류물을 DMSO (1 mL)에 용해시키고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H2O, 0.1% TFA 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조시 2-옥소-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75-테트라코사옥사-3-아자옥타헵타콘탄-78-산 (62.3 mg, 0.052 mmol, 60% 수율)을 수득하였다. LC/MS [M-H]- 1187.3 Rt=0.75분 (2분 산성 방법). 1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.86 (s, 1H), 3.60 (t, J = 6.4 Hz, 3H), 3.50 (d, J = 4.9 Hz, 91H), 3.40 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.18 (q, J = 5.8 Hz, 2H), 2.44 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 1.80 (s, 3H).

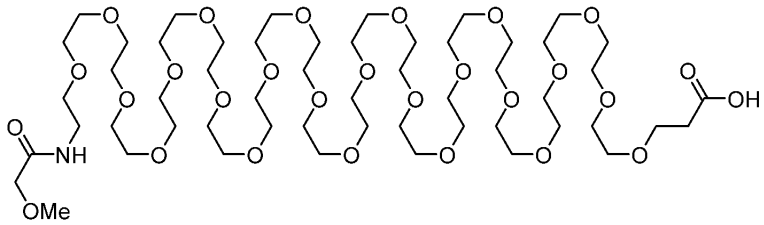
[2757] 4-옥소-3,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77-펜타코사옥사-5-아자옥타콘탄-80-산의 합성



[2758]

[2759] 디클로로메탄 (0.5 mL) 중 1-아미노-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-테트라코사옥사펜타헵타콘탄-75-산 (100 mg, 0.087 mmol, 1.0 당량) 및 DIPEA (24.8 mg, 34 μL, 0.192 mmol, 2.2 당량)의 교반 용액에 에틸 클로로포르메이트 (9.5 mg, 8.34 μL, 1.0 당량)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 주위 온도에서 1.5시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하였다. 생성된 잔류물을 DMSO (1 mL)에 용해시키고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H2O, 0.1% TFA 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조시 4-옥소-3,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77-펜타코사옥사-5-아자옥타콘탄-80-산 (75 mg, 0.062 mmol, 71% 수율)을 수득하였다. LC/MS [M-H]- 1217.3 Rt=0.81분 (2분 산성 방법). 1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.03 (s, 1H), 3.97 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.60 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.50 (d, J = 5.0 Hz, 92H), 3.40 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 3.11 (q, J = 5.9 Hz, 2H), 2.45 (q, J = 6.5 Hz, 2H), 1.15 (t, J = 7.1 Hz, 3H,).

[2760] 4-옥소-2,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77-펜타코사옥사-5-아자옥타콘탄-80-산의 합성



[2761]

[2762] 디클로로메탄 (0.5 mL) 중 1-아미노-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-테트라코사옥사펜타헵타콘탄-75-산 (100 mg, 0.087 mmol, 1.0 당량) 및 DIPEA (24.8 mg, 34 μL, 0.192 mmol, 2.2 당량)의 교반 용액에 메톡시아

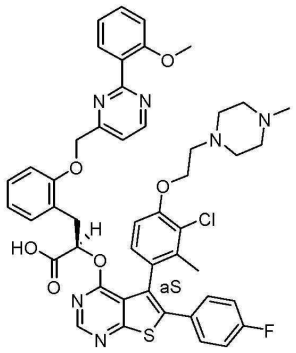
세틸 클로라이드 (11.36 mg, 9.57 μL, 1.2 당량)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 주위 온도에서 1.5시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하였다. 생성된 잔류물을 DMSO (1 mL)에 용해시키고, RP-HPLC 이스코 골드 크로마토그래피 (10-100% MeCN/H2O, 0.1% TFA 개질제)에 의해 정제하였다. 동결건조시 4-옥소-2,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77-펜타코사옥사-5-아자옥타콘탄-80-산 (69 mg, 0.057 mmol, 65% 수율)을 수득하였다. LC/MS [M-H]- 1217.4 Rt=0.75분 (2분 산성 방법). 1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.68 (s, 1H), 3.79 (s, 2H), 3.60 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.51 (s, 92H), 3.43 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.30 (s, 3H), 3.26 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.44 (t, J = 6.4 Hz, 2H).

[2763] 실시예 3. Mcl-1 페이로드의 합성 및 특징화

[2764] 예시적인 페이로드를 본 실시예에 기재된 예시적인 방법을 사용하여 합성하였다.

[2765] C1의 제조:

[2766] (2R)-2-{[(5S_a)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산

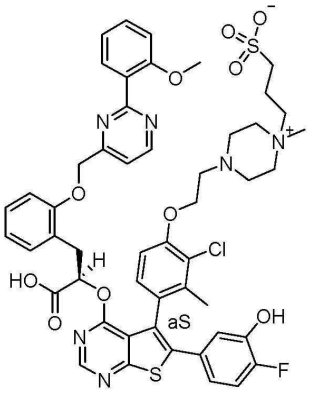


[2767]

[2768] C1을 WO 2015/097123의 실시예 30에 따라 제조하였다.

[2769] C2의 제조:

[2770] (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-[4-메틸-4-(3-술포프로필)피페라진-4-윰-1-일]에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-히드록시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산



[2771]

[2772] 단계 A: 5-브로모-4-클로로-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘

[2773] 4.49 g 5-브로모-4-클로로-6-아이오도-티에노[2,3-d]피리미딘 (11.96 mmol; WO 2015/097123, 제조예 1a에 따라 수득됨) 및 4.31 g (4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)보론산 (17.94 mmol)을 60 mL THF 중에 용해시킨 다음, 134 mg Pd (Oac)2 (0.60 mmol), 508 mg tBuXPhos (1.20 mmol), 11.69 g Cs2CO3 (35.88 mmol) 및 60 mL 물을 첨가하고, 혼합물을 추가의 전환이 관찰되지 않을 때까지 N2 분위기 하에 70℃에서 교반하였다. 이어서, 이를 물로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 용리액으로서 헵탄 및 EtOAc를 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 5-브로모-4-클로로-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-

페닐)티에노[2,3-d]피리미딘을 수득하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.02 (s, 1H), 7.64 (dd, J = 7.9, 2.1 Hz, 1H), 7.47 (dd, J = 11.0, 8.5 Hz, 1H), 7.36 (m, 1H), 5.63 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.61 (m, 1H), 1.94-1.78 (m, 3H), 1.69-1.50 (m, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ: 166.6, 153.9, 153.1, 152.7, 144.3, 139.2, 127.7, 126.6, 124.2, 119.9, 117.1, 100.7, 97.2, 61.6, 29.5, 24.5, 18.2. $C_{17}H_{13}N_2O_2SBrClF$에 대한 HRMS 계산치: 441.9554; 실측치 442.9624 (M+H).

[2774] 단계 B: 에틸 (2R)-2-[5-브로모-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트

[2775] 3.09 g 5-브로모-4-클로로-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘 (6.97 mmol), 3.28 g 에틸 (2R)-2-히드록시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (8.02 mmol; WO 2015/097123, 제조예 3bs에 따라 수득됨)를 70 mL tert-부탄올 중에 용해시킨 다음, 6.82 g Cs_2CO_3(20.9 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 N_2 분위기 하에 70℃에서 추가의 전환이 관찰되지 않을 때까지 교반하였다. 이어서, 이를 물로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 용리액으로서 헵탄 및 EtOAc를 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 에틸 (2R)-2-[5-브로모-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트를 부분입체이성질체의 혼합물로서 수득하였다. $C_{40}H_{36}N_4O_7SBrF$에 대한 HRMS 계산치: 814.1472; 실측치 815.1539 (M+H).

[2776] 단계 C: 에틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트

[2777] 3.65 g 에틸 (2R)-2-[5-브로모-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (4.47 mmol) 및 2.12 g 1-[2-[2-클로로-3-메틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페녹시]에틸]-4-메틸-피페라진 (5.36 mmol; WO 2015/097123, 제조예 5b에 따라 수득됨)을 22 mL 디옥산에 용해시킨 다음에, 315 mg $PdCl_2$xAtaPhos (0.45 mmol), 4.37 g Cs_2CO_3(13.41 mmol) 및 22 mL 물을 첨가하고, 혼합물을 완전히 전환될 때까지 N_2 분위기 하에 70℃에서 교반하였다. 이어서, 이를 물로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물 생성물을 용리액으로서 EtOAc 및 MeOH, 이어서 DCM 및 MeOH를 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 에틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트를 2종의 부분입체이성질체 쌍의 혼합물로서 수득하였다. $C_{54}H_{56}N_6O_8SClF$에 대한 HRMS 계산치: 1002.3553; 실측치 1003.3614 및 1003.3622 (M+H).

[2778] 단계 D: (2R)-2-[(5Sa)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

[2779] 3.47 g 에틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (3.46 mmol)를 35 mL 디옥산에 용해시킨 다음, 1.45 g LiOHxH_2O (34.6 mmol) 및 35 mL 물을 첨가하였다. 혼합물을 완전히 가수분해될 때까지 실온에서 교반하였다. 이어서, 이를 물로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액을 사용하여 pH 4로 산성화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 회전장애이성질체를 정제하고, 용리액으로서 25 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용 역상 크로마토그래피를 통해 분리하였다. 나중에 용리되는 회전장애이성질체 쌍은 (2R)-2-[(5Sa)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프

로판산으로서 단리되었다. $C_{52}H_{52}N_6O_8SClF$에 대한 HRMS 계산치: 974.3240; 실측치 975.3303 (M+H).

[2780] 단계 E: (4-메톡시페닐)메틸 (2R)-2-[(5Sa)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트

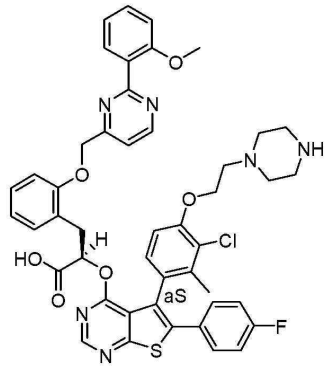
[2781] 2.39 g (2R)-2-[(5Sa)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (2.45 mmol), 1.13 g DTBAD (4.91 mmol) 및 1.29 g PPh_3(4.91 mmol)를 49 mL 톨루엔에 용해시킨 다음, 0.61 mL PMB-OH (4.91 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 완전히 전환될 때까지 50℃에서 교반하였다. 이어서, 혼합물을 DCM으로 희석한 다음, 감압 하에 농축시킨 다음, 용리액으로서 헵탄 및 EtOAc를 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 (4-메톡시페닐)메틸 (2R)-2-[(5Sa)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트를 부분입체이성질체의 혼합물로서 수득하였다. $C_{60}H_{60}N_6O_9SClF$에 대한 HRMS 계산치: 1094.3815; 실측치 1095.3880 (M+H).

[2782] 단계 F: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-[4-메틸-4-(3-술포프로필)피페라진-4-윰-1-일]에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-히드록시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산 (C2)

[2783] 600 mg (4-메톡시페닐)메틸 (2R)-2-[(5Sa)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로-3-테트라히드로피란-2-일옥시-페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (0.548 mmol)를 11 mL MeCN 중에 용해시킨 다음, 0.48 mL 옥사티올란 2,2-디옥시드 (5.48 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 완전히 전환될 때까지 N_2 분위기 하에 60℃에서 교반하였다. 이어서, 이를 감압 하에 농축시키고, 8 mL DCM 중에 용해시킨 다음, 2.2 mL TFA를 첨가하고, 혼합물을 THP 및 PMB가 완전히 분할될 때까지 실온에서 교반하였다. 이어서, 이를 농축시켰다 (가열 조를 제거함). 이를 10 mL THF 중에 용해시키고, 다시 감압 하에 30℃ 조에서 농축시켰다. 조 생성물을 용리액으로서 5 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 C2를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 13.19 (br s, 1H), 10.16 (br s, 1H), 8.89 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.68 (br s, 1H), 7.52 (dd, J = 7.5, 1.8 Hz, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.33 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.22-7.09 (m, 4H), 7.06-7.00 (m, 2H), 6.86 (dd, J = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 6.74 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.66 (m, 1H), 6.23 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 5.46 (dd, J = 9.8, 3.3 Hz, 1H), 5.27 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 5.22 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 4.23 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.46 (m, 2H), 3.41-3.23 (m, 5H), 2.97 (s, 3H), 2.94-2.77 (m, 6H), 2.48 (m, 1H), 2.45 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.00-1.90 (m, 2H), 1.86 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 170.8, 166.2, 165.9, 164.7, 157.7, 157.2, 155.4, 153.6, 152.7, 152.3, 149.9, 145.1, 137.0, 135.9, 131.0, 130.8, 130.3, 129.2, 128.34, 128.32, 128.2, 128.0, 122.0, 120.5, 120.1, 118.8, 118.2, 116.6, 115.6, 112.2, 111.9, 110.6, 73.3, 69.0, 67.3, 59.2, 59.1, 55.71, 55.68, 47.6, 46.1, 31.8, 18.1, 17.6. $C_{50}H_{50}N_6O_{10}S_2ClF$에 대한 HRMS 계산치: 1012.2703; 실측치 1013.2775 (M+H).

[2784] C3의 제조:

[2785] (2R)-2-{[(5Sa)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산

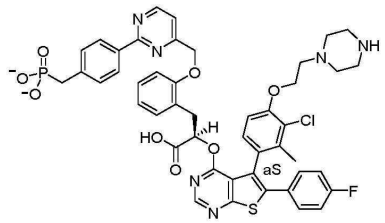


[2786]

[2787] C3을 WO 2015/097123의 실시예 744에 따라 제조하였다.

[2788] C4의 제조:

[2789] (2R)-2-{[(5Sa)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산



[2790]

[2791] 단계 1: 에틸 (2R)-2-[5-브로모-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐]프로파노에이트

[2792] THF (38 mL) 중 에틸 (2R)-3-[2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐]-2-히드록시-프로파노에이트 (25 g, 74.2 mmol)의 용액에 5-브로모-6-(4-플루오로페닐)-4-아이오도-티에노[2,3-d]피리미딘 (23 g, 67.5mmol) 및 탄산세슘 (67 g, 203 mmol)을 연속적으로 첨가하였다. 반응물을 환류 하에 밤새 가열하고, 휘발성 물질을 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트 및 물 (각각 500 및 400 mL)로 희석하고, 용액을 여과하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (석유 에테르 중 에틸 아세테이트의 구배)에 의해 정제하여 에틸 (2R)-2-[5-브로모-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐]프로파노에이트를 약간 오렌지색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 8.83 (d, 1H), 8.65 (s, 1H), 7.75 (m, 2H), 7.71 (d, 1H), 7.48 (d, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.25 (t, 1H), 7.06 (d, 1H), 6.95 (t, 1H), 5.75 (dd, 1H), 5.28 (2*d, 2H), 4.18 (q, 2H), 3.6/3.3 (2*dd, 2H), 1.12 (t, 3H). IR 파장 (cm^{-1}): 1749.

[2793] 단계 2: (4-브로모-2-클로로-3-메틸-페녹시)-트리이소프로필-실란

[2794] 디클로로메탄 (1.5 L) 중 4-브로모-2-클로로-3-메틸-페놀 (100 g, 482 mmol)의 용액에 이미다졸 (82 g, 1.2 mol)을 첨가하고, 1시간에 걸쳐 클로로(트리이소프로필)실란 (102 mL, 482 mmol)을 적가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 물 (500 mL)을 첨가하였다. 유기 층을 염수 (200 mL)로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 추가 정제 없이 사용하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.48 (s, 1H), 7.2 (dd, 1H), 6.7 (d, 1H), 1.3 (m, 3H), 1.1 (2s, 18H).

[2795] 단계 3: tert-부틸-[2-클로로-3-메틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페녹시]-디메틸-실란

[2796] 아르곤 하에 -78℃에서 THF (350 mL) 중 (4-브로모-2-클로로-3-메틸-페녹시)-트리이소프로필-실란 (27.2 g, 71.9 mmol)의 용액에 THF 중 n-부틸 리튬 1.6 M의 용액 (49.5 mL, 79.9 mmol)을 30분에 걸쳐 적가하였다. 반응물을 -78℃에서 2시간 동안 교반하고, THF (50 mL) 중 2-이소프로폭시-4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란 (16.1 g, 86.4 mmol)의 용액을 30분에 걸쳐 적가하였다. -78℃에서 2시간 교반한 후, 반응 혼합물을 물 (20 mL)의 느린 첨가에 의해 켄칭하고, 실온으로 가온하고, 물 (200 mL)로 희석하고, 에틸 아세테이트로

추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 추가 정제 없이 사용하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 7.5 (d, 1H), 6.82 (d, 1H), 2.52 (s, 3H), 1.32 (m, 3H), 1.3 (s, 12H), 1.08 (s, 18H).

[2797] 단계 4: 2-클로로-3-메틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페놀

[2798] THF (750 mL) 중 tert-부틸-[2-클로로-3-메틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페녹시]-디메틸-실란 (25.4 g, 59.8 mmol)의 용액에 THF 중 테트라부틸암모늄 플루오라이드 1 M의 용액 (90 mL, 90 mmol)을 실온에서 적가하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하고, 농축시키고, 에틸 아세테이트로 희석하고, 물로 분배하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 에탄올의 구배)에 의해 정제하여 2-클로로-3-메틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페놀을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, dmso-d6): δ 10.4 (m, 1H), 7.4 (d, 1H), 6.8 (d, 1H), 2.5 (s, 3H), 1.3 (s, 12H). IR 파장 (cm^{-1}): 3580-3185, 1591, 857, 827.

[2799] 단계 5: 에틸 (2R)-2-{[(5S_a)-5-(3-클로로-4-히드록시-2-메틸페닐)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-{2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐}프로파노에이트

[2800] THF/H_2O 1/1 (800 mL)의 혼합물 중 에틸 (2R)-2-[5-브로모-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐]프로파노에이트 (43.8 g, 61.2 mmol) 및 2-클로로-3-메틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페놀 (19.7 g, 73.5 mmol)의 용액에 탄산세슘 (40 g, 122 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 아르곤을 용액을 통해 20분 동안 버블링함으로써 탈기하고, 비스(디-tert-부틸(4-디메틸아미노페닐)포스핀)디클로로팔라듐 (II) (4.35g, 6.1 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤 하에 80℃에서 밤새 가열하였다. 반응물을 물로 희석하고, 에틸 아세테이트로 분배하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 에틸 (2R)-2-[5-(3-클로로-4-히드록시-2-메틸-페닐)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐]프로파노에이트를 부분입체이성질체 85/15의 혼합물 (aS/aR 또는 S_a/R_a)로서 수득하였다. 광학적으로 순수한 aS (또는 S_a)를 정제용 SFC 정제에 의해 수득하였다.

[2801] 단계 6: tert-부틸 4-(2-{2-클로로-4-[4-{[(2R)-3-{2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐}-1-에톡시-1-옥소프로판-2-일]옥시}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸페녹시}에틸)피페라진-1-카르복실레이트

[2802] THF 중 트리페닐포스핀 (2.66 g, 10 mmol)의 용액에 디이소프로필 아조디카르복실레이트 (2.33 g, 10 mmol)를 실온에서 아르곤 하에 첨가하였다. 15분 동안 교반한 후, THF (8 mL) 중 tert-부틸 4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-카르복실레이트 (2.33g, 10 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, THF (8 mL) 중 (2R)-2-[(5S_a)-5-(3-클로로-4-히드록시-2-메틸-페닐)-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐]프로판산 (3.57 g, 5 mmol)의 용액을 적가하였다. 반응물을 실온에서 96시간 동안 교반하고, 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올 (7 M 암모니아 함유)의 구배)에 의해 정제하여 tert-부틸 4-(2-{2-클로로-4-[4-{[(2R)-3-{2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐}-1-에톡시-1-옥소프로판-2-일]옥시}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸페녹시}에틸)피페라진-1-카르복실레이트를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.95 (d, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.32 (d, 2H), 7.58 (d, 1H), 7.41 (dd, 2H), 7.32 (d, 1H), 7.29 (dd, 2H), 7.22 (t, 2H), 7.21 (d, 1H), 7.19 (t, 1H), 7.05 (d, 1H), 6.75 (t, 1H), 6.31 (dd, 1H), 5.53 (dd, 1H), 5.29 (dd, 2H), 4.2 (m, 2H), 4.05 (q, 2H), 3.97 (m, 4H), 3.3 (m, 2H), 3.2 (t, 4H), 3.19/2.59 (m, 2H), 2.72 (t, 2H), 2.4 (t, 4H), 1.87 (s, 3H), 1.37 (s, 9H), 1.18 (t, 6H), 1.05 (t, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 158, 152, 131, 131, 130, 130, 128, 127, 120.5, 116, 116, 112, 110, 73, 68.5, 67, 62, 61, 56, 52, 43, 32, 32, 28, 17, 16, 14.

[2803] 단계 7: tert-부틸 4-(2-{2-클로로-4-[4-{[(2R)-3-{2-[(2-{4-[(디에톡시포스포릴)메틸]페닐}피리미딘-4-일)메톡시]페닐}-1-에톡시-1-옥소프로판-2-일]옥시}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸페녹시}에틸)피페라진-1-카르복실레이트

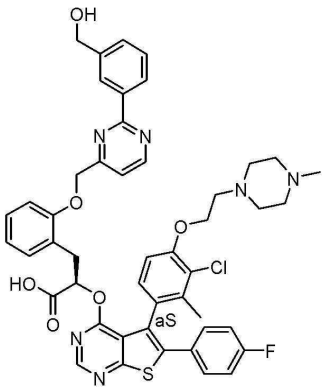
[2804] 디옥산 (2.5 mL) 중 tert-부틸 4-(2-{2-클로로-4-[4-{[(2R)-3-{2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐}-1-에톡시-1-옥소프로판-2-일]옥시}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸페녹시}에틸)피페라진-1-카르복실레이트 (337 mg, 0.367 mmol) 및 [4-(디에톡시포스포릴메틸)페닐]보론산 (200 mg, 0.735 mmol)의 용액에 물 (2.5 mL) 및 탄산세슘 (241 mg, 0.735 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 30분 동안 용액을 통해 아르곤을 버블링함으로써 탈기하고, 비스(트리페닐포스핀)팔라듐(II) 디클로라이드 (2.5 mg, 3.6 μmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 밀봉된 용기에서 마이크로웨이브 조사에 의해 90℃에서 3시간 동안 가열하였다. 반응물을 에틸 아세테이트 및 물로 희석하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 추출하고, 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 메탄올의 구배)에 의해 정제하여 tert-부틸 4-(2-{2-클로로-4-[4-{[(2R)-3-{2-[(2-{4-[(디에톡시포스포릴)메틸]페닐}피리미딘-4-일)메톡시]페닐}-1-에톡시-1-옥소프로판-2-일]옥시}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸페녹시}에틸)피페라진-1-카르복실레이트를 수득하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, dmso-d6): δ 8.95 (d, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.32 (d, 2H), 7.58 (d, 1H), 7.41 (dd, 2H), 7.32 (d, 1H), 7.29 (dd, 2H), 7.22 (t, 2H), 7.21 (d, 1H), 7.19 (t, 1H), 7.05 (d, 1H), 6.75 (t, 1H), 6.31 (dd, 1H), 5.53 (dd, 1H), 5.29 (2*d, 2H), 4.2 (m, 2H), 4.05 (q, 2H), 3.97 (m, 4H), 3.3 (m, 2H), 3.2 (t, 4H), 3.19/2.59 (2*dd, 2H), 2.72 (t, 2H), 2.4 (t, 4H), 1.87 (s, 3H), 1.37 (s, 9H), 1.18 (t, 6H), 1.05 (t, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, dmso-d6) δ 158, 152, 131, 131, 130, 130, 128, 127, 120.5, 116, 116, 112, 110, 73, 68.5, 67, 62, 61, 56, 52, 43, 32, 32, 28, 17, 16, 14

[2805] 단계 8: (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-(2-피페라진-1-일에톡시)페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-[4-(포스포노메틸)페닐]피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산의 합성

[2806] 디클로로메탄 (5 mL) 중 tert-부틸 4-(2-{2-클로로-4-[4-{[(2R)-3-{2-[(2-{4-[(디에톡시포스포릴)메틸]페닐}피리미딘-4-일)메톡시]페닐}-1-에톡시-1-옥소프로판-2-일]옥시}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-5-일]-3-메틸페녹시}에틸)피페라진-1-카르복실레이트 (540 mg, 0.486 mmol)의 용액에 브로모트리메틸실란 (186 μL, 1.46 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 환류하에 밤새 가열하였다. 브로모트리메틸실란의 또 다른 부분을 실온에서 첨가하고 (186 μL, 1.46 mmol), 반응물을 환류 하에 20시간 동안 가열하고, 농축 건조시켰다. 잔류물을 메탄올에 용해시키고, 실온에서 3시간 동안 교반하고, 농축시켜 갈색 점성 오일을 수득하였으며, 이를 디옥산 (4 mL) 및 물 (4 mL)로 희석하였다. 수산화리튬 1수화물 (100 mg, 24 mmol)을 조금씩 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 45℃에서 3시간 동안 가열하고, 농축시켰다. 잔류물을 물 (5 mL)로 희석하고, 수성 2 M HCl 용액을 적가하여 pH 2로 산성화시켰다. 침전물을 여과하고, THF로 세척하고, 엑스브리지 칼럼 상의 반응 혼합물의 직접 침착에 의한 C18 역상 정제용 HPLC에 의해 및 NH_4HCO_3 방법을 사용하여 정제하여 C4를 수득하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, dmso-d6): δ 8.88 (br d, 1 H), 8.25 (d, 2 H), 7.75 (t, 1 H), 7.59 (s, 1 H), 7.52 (d, 1 H), 7.35 (d, 2 H), 7.23 (dd, 2 H), 7.18 (d, 1 H), 7.15 (t, 2 H), 7.11 (t, 1 H), 7.02 (d, 1 H), 6.82 (d, 1 H), 6.64 (m, 1 H), 5.51 (d, 1 H), 5.28/5.07 (m, 2 H), 3.82/3.55 (2m, 2 H), 3.35/2.55 (br s, 2 H), 2.81 (d, 2 H), 2.55 (m, 4 H), 2.4/2.27 (2m, 2 H), 2.21 (m, 4 H), 1.65 (br s, 3 H). ^{13}C NMR (125 MHz, dmso-d6): δ 131.5, 130.2, 129.7, 127.4, 127.2, 120.3, 115.9, 115.3, 111.9, 110.3, 75.1, 69.2, 67.3, 56.4, 49.9, 42.4, 40, 38.9, 18.1. ^{31}P NMR (200 MHz, dmso-d6): δ 15 HR-ESI+ : m/z [M+H]+ = 925.2356 / 925.2346 (측정치/이론치)

[2807] C5의 제조:

[2808] (2R)-2-{[(5Sa)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(4-히드록시페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산

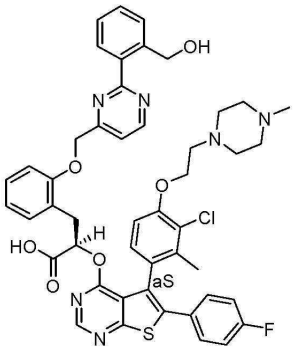


[2809]

[2810] C5를 WO 2016/207216의 실시예 3에 따라 제조하였다.

[2811] C6의 제조:

[2812] (2R)-2-{[(5S_a)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-[2-({2-[2-(히드록시메틸)페닐]피리미딘-4-일}메톡시)페닐]프로판산

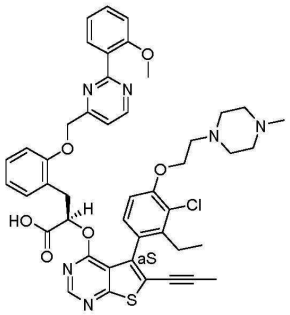


[2813]

[2814] C6을 WO 2015/097123의 실시예 728에 따라 제조하였다.

[2815] C7의 제조:

[2816] (2R)-2-[(5S_a)-5-[3-클로로-2-에틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산



[2817]

[2818] 단계 A: 에틸 (2R)-2-(5-아이오도-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트

[2819] 5.0 g 4-클로로-5-아이오도-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘 (15.0 mmol; WO 2015/097123, 제조예 2f에 따라 수득됨) 및 6.10 g 에틸 (2R)-2-히드록시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (15.0 mmol; WO 2015/097123, 제조예 3bs에 따라 수득됨)를 150 mL tert-부탄올 중에 용해시킨 다음, 14.7 g Cs_2CO_3(45.0 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 N_2 분위기 하에 50℃에서 추가의 전환이 관찰되지 않을 때까지 교반하였다. 이어서, 물 및 염수를 첨가하고, 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 용리액으로서 헵탄 및 EtOAc를 사용하여 플

래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 에틸 (2R)-2-(5-아이오도-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트를 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.89 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.62 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.55 (dd, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.51 (dd, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.26 (m, 1H), 7.11 (m, 2H), 7.02 (td, J = 7.5, 0.9 Hz, 1H), 6.94 (td, J = 7.4, 0.8 Hz, 1H), 5.79 (dd, J = 9.1, 4.6 Hz, 1H), 5.31 (d, J = 14.9 Hz, 1H), 5.26 (d, J = 14.9 Hz, 1H), 4.13 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.60 (dd, J = 13.8, 4.5 Hz, 1H), 3.33 (m, 1H), 2.21 (s, 3H), 1.10 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 169.4, 166.5, 165.7, 164.8, 161.3, 157.7, 155.8, 153.6, 132.2, 131.0, 130.8, 128.3, 124.0, 120.9, 120.1, 115.5, 112.2, 112.0, 110.5, 98.9, 79.5, 74.4, 74.3, 69.1, 61.1, 55.7, 13.9, 4.6.

[2820] 단계 B: 2-클로로-3-에틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페놀

[2821] 33.7 g [2-클로로-3-에틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페녹시]-트리이소프로필-실란 (76.9 mmol; WO 2015/097123, 제조예 5e에 따라 수득함)을 600 mL THF 중에 용해시키고, 0℃로 냉각시킨 다음, 92.3 mL TBAF (92.3 mmol, THF 중 1 M 용액)를 적가하고, 혼합물을 완전히 전환될 때까지 교반하였다. 이어서, 이를 염수로 희석하고, 시트르산으로 산성화시킨 다음, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 용리액으로서 헵탄 및 EtOAc를 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 2-클로로-3-에틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페놀을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.63 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.87 (s, 1H), 3.09 (q, J = 7.44 Hz, 2H), 1.33(s, 12H), 1.15 (t, J = 7.44 Hz, 3H).

[2822] 단계 C: 에틸 (2R)-2-[5-(3-클로로-2-에틸-4-히드록시-페닐)-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트

[2823] 353 mg 에틸 (2R)-2-(5-아이오도-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (0.50 mmol) 및 282 mg 2-클로로-3-에틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페놀 (0.55 mmol)을 2 mL 디옥산에 용해시킨 다음에, 35 mg $PdCl_2$xAtaPhos (0.05 mmol), 326 mg Cs_2CO_3(1.00 mmol) 및 1 mL 물을 첨가하고 혼합물을 N_2 분위기 하에 100℃에서 20분 동안 마이크로웨이브 반응기에서 교반하였다. 이어서, 이를 염수로 희석하고, 1 M 수성 HCl 용액을 사용하여 pH 5로 산성화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 용리액으로서 헵탄 및 EtOAc를 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 이어서, 이를 추가로 용리액으로서 5 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 에틸 (2R)-2-[5-(3-클로로-2-에틸-4-히드록시-페닐)-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트를 회전장애이성질체의 2:1 혼합물로서 수득하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 10.35/10.29 (s, 1H), 8.93 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.59/8.57 (s, 1H), 7.63/7.60 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.54-6.93 (m, 8 H), 6.84/6.74 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.43/6.18 (dd, J = 7.5, 1.4 Hz, 1H), 5.51/5.40 (m, 1H), 5.30-5.16 (m, 2H), 4.17-3.99 (m, 2H), 3.76/3.75 (s, 3H), 3.34-3.14 (m, 1H), 2.93-2.35 (m, 3H), 2.02/1.98 (s, 3H), 1.08/1.04 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 0.94/0.76 (t, J = 7.5 Hz, 3H).

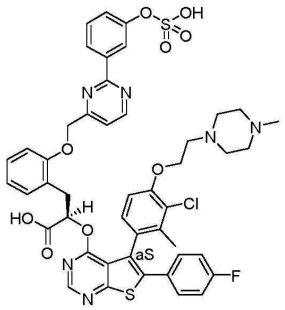
[2824] 단계 D: (2R)-2-[(5Sa)-5-[3-클로로-2-에틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산, C7

[2825] 322 mg 에틸 (2R)-2-[5-(3-클로로-2-에틸-4-히드록시-페닐)-6-프로프-1-이닐-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (0.44 mmol), 190 mg 2-(4-메틸피페라진-1-일)에탄올 (1.32 mmol) 및 346 mg PPh_3(1.32 mmol)을 10 mL 건조 톨루엔 중에 용해시킨 다음, 304 mg DTBAD (1.32 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 추가의 전환이 관찰되지 않을 때까지 N_2 분위기 하에 50℃에서 교반하였다. 이어서, 혼합물을 감압 하에 농축시키고, 잔류물을 용리액으로서 헵탄, EtOAc 및 MeOH를 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제한 다음, 추가로 용리액으로서 5 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 에스테르 중간체를 수득하였다. 이를 2 mL 디옥산 중에 용해시킨 다음, 84 mg

$LiOHxH_2O$ (2.00 mmol) 및 1 mL 물을 첨가하였다. 혼합물을 완전히 가수분해될 때까지 50℃에서 교반하였다. 이어서, 이를 염수로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 회전장애이성질체를 정제하고, 용리액으로서 5 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용 역상 크로마토그래피를 통해 분리하였다. 이후에 용리되는 회전장애이성질체를 C7로서 단리하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.88 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.76 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.54 (dd, J = 7.6, 1.8 Hz, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.26 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.20-7.13 (m, 3H), 7.04 (td, J = 7.5, 0.9 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.78 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.32 (dd, J = 7.4, 1.5 Hz, 1H), 5.48 (dd, J = 9.7, 2.9 Hz, 1H), 5.27 (d, J = 15.0 Hz, 1H), 5.19 (d, J = 15.0 Hz, 1H), 4.23 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.31 (m, 1H), 2.75 (m, 2H), 2.47 (m, 1H), 2.64-2.36 (m, 10H), 2.22 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 0.74 (t, J = 7.5 Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 165.95, 165.89, 164.7, 157.8, 157.2, 155.3, 154.0, 141.6, 135.6, 131.0, 130.8, 130.1, 128.4, 128.0, 127.2, 121.4, 120.1, 117.8, 112.2, 111.7, 97.2, 74.9, 68.9, 67.1, 56.1, 55.7, 54.0, 32.7, 24.4, 13.1, 4.4. $C_{45}H_{45}N_6O_6SCl$에 대한 HRMS 계산치: 832.2810; 실측치 833.2878 (M+H).

[2826] C8의 제조:

[2827] (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-술포옥시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

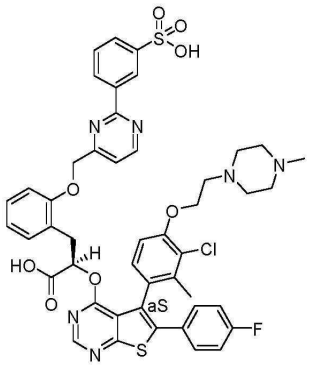


[2828]

[2829] 210 mg 에틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(3-히드록시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (0.24 mmol; WO 2016/207216, 제조예 2에 따라 수득됨)를 9.3 mL 피리딘 중에 용해시킨 다음, 0.38 mL SO_3x피리딘 (2.36 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 완전히 전환될 때까지 70℃에서 교반하였다. 이어서, 혼합물을 감압 하에 농축시키고, 잔류물을 2 mL 디옥산 중에 용해시킨 다음, 200 mg KOH (3.56 mmol) 및 1 mL 물을 첨가하였다. 혼합물을 Et 에스테르가 완전한 가수분해될 때까지 70℃에서 교반하였다. 이어서, 이를 5 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, 용리액으로서 25 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용 역상 크로마토그래피 (직접 주입)에 의해 정제하여 C8을 수득하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.93 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.27 (m, 1H), 8.13 (m, 1H), 7.61 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.43 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.32-7.27 (m, 3H), 7.23-7.13 (m, 4H), 7.05 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.73 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.31 (dd, J = 7.5, 1.3 Hz, 1H), 5.51 (dd, J = 9.8, 3.5 Hz, 1H), 5.34 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 5.27 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 4.24-4.08 (m, 2H), 3.26 (dd, J = 14.3, 3.4 Hz, 1H), 3.10-2.52 (m, 14H), 1.82 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ: 170.8, 166.5, 166.4, 162.8, 162.7, 158.3, 155.3, 154.0, 153.6, 152.9, 137.8, 136.8, 135.9, 131.12, 131.05, 130.4, 130.3, 129.1, 128.5, 128.2, 127.8, 124.4, 123.5, 122.7, 121.9, 120.5, 120.2, 118.8, 116.0, 115.9, 112.0, 110.5, 73.5, 69.1, 67.2, 55.4, 43.1, 31.8, 17.5. $C_{46}H_{42}N_6O_9S_2ClF$에 대한 HRMS 계산치: 940.2127; 실측치 941.2191 (M+H).

[2830] C9의 제조:

[2831] 2R)-2-{[5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(3-술포페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산

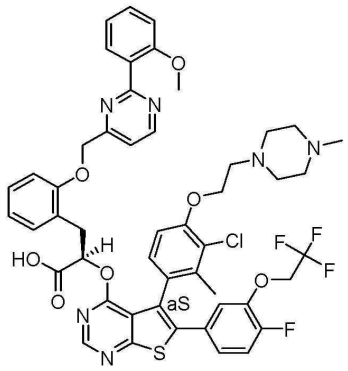


[2832]

[2833] 750 mg 에틸 (2R)-2-[(5Sa)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[(2-메틸술파닐피리미딘-4-일)메톡시]페닐]프로파노에이트 (0.89 mmol; WO 2015/097123, 제조예 10a에 따라 수득됨)를 9 mL THF에 용해시킨 다음에, 726 mg [3-(2,2-디메틸프로폭시술포닐)페닐]보론산 (2.67 mmol), 62 mg $Pd(PPh_3)_4$(0.05 mmol) 및 509 mg 티오펜-2-카르보닐옥시구리 (2.67 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 완전히 전환될 때까지 75℃에서 교반하였다. 이어서, 이를 감압 하에 농축시키고, 용리액으로서 헵탄, EtOAc 및 MeOH 중 0.7 M NH_3 용액을 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 이어서, 이를 20 mL 1,1,1,3,3,3-헥사플루오로프로판-2-올 중에 용해시키고, 4.5 mL TFA를 첨가하고, 혼합물을 술폰산 에스테르가 완전히 가수분해될 때까지 80℃에서 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시킨 다음, 5 mL 디옥산 중에 용해시키고, 이어서 210 mg $LiOHxH_2O$ (5.00 mmol) 및 2 mL 물을 첨가하였다. 혼합물을 완전히 가수분해될 때까지 실온에서 교반하였다. 이어서, 이를 염수로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 형성된 회전장애이성질체를 정제하고, 용리액으로서 25 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용 역상 크로마토그래피에 의해 분리한 다음, 용리액으로서 0.1% 수성 TFA 용액 및 MeCN을 사용하여 추가로 정제하여 C9를 수득하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 13.19 (br s, 1H), 9.48 (br s, 1H), 8.94 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.74 (t, J = 1.6 Hz, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.37 (dt, J = 7.8, 2.9 Hz, 1H), 7.78 (dt, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.51 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.29 (m, 3H), 7.22-7.14 (m, 3H), 7.13-7.05 (m, 2H), 6.74 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.38 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.53 (dd, J = 9.6, 3.6 Hz, 1H), 5.37 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 5.31 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 4.2 (m, 2H), 3.50-2.88 (m, 11H), 2.76 (s, 3H), 2.61 (dd, J = 14.2, 9.7 Hz, 1H), 1.79 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ: 170.8, 166.5, 163.0, 162.7, 161.1, 158.4, 155.4, 153.3, 152.9, 148.6, 136.6, 136.0, 131.1, 130.1, 129.0, 128.5, 128.3, 128.1, 127.9, 125.3, 124.4, 121.9, 120.5, 118.8, 116.2, 116.0, 115.9, 112.1, 110.5, 73.2, 69.1, 66.5, 55.0, 51.7, 49.7, 42.1, 31.5, 17.5. $C_{46}H_{42}N_6O_8S_2ClF$에 대한 HRMS 계산치: 924.2178; 실측치 925.2274 (M+H).

[2834] C10의 제조:

[2835] (2R)-2-[($5S_a$)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-[4-플루오로-3-(2,2,2-트리플루오로에톡시)페닐]티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산

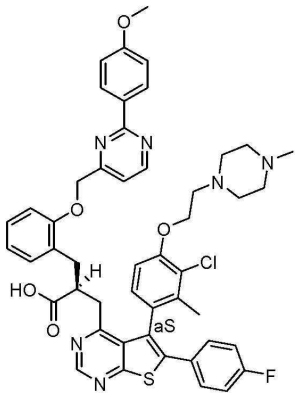


[2836]

[2837] 250 mg 에틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-아이오도-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (0.27 mmol; WO 2015/097123, 제조예 30에 따라 수득함) 및 79 mg [4-플루오로-3-(2,2,2-트리플루오로에톡시)페닐]보론산 (0.40 mmol)을 1 mL THF 중에 용해시킨 다음, 3.0 mg $PdOAc_2$ (0.013 mmol), 5.7 mg tBuXPhos (0.013 mmol), 174 mg Cs_2CO_3 (0.53 mmol) 및 0.27 mL 물을 첨가하고, 혼합물을 N_2 분위기 하에 70℃에서 2시간 동안 교반하였다. 이어서, 이를 염수로 희석하고, 2-MeTHF로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 에스테르 생성물을 용리액으로서 헵탄, EtOAc 및 MeOH 중 0.7 M NH_3 용액을 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 이어서, 이를 5.3 mL 디옥산 중에 용해시킨 다음, 64 mg $LiOHxH_2O$ (1.52 mmol) 및 1.3 mL 물을 첨가하였다. 혼합물을 완전히 가수분해될 때까지 실온에서 교반하였다. 이어서, 이를 염수로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 회전장애이성질체를 정제하고, 용리액으로서 25 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용 역상 크로마토그래피를 통해 분리하였다. 이후에 용리되는 회전장애이성질체를 C10으로서 단리하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.91 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.57 (s, 1H), 7.82 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.53 (dd, J = 7.5, 1.7 Hz, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.27 (dd, J = 11.0, 8.6 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.16-7.09 (m, 3H), 7.03 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.92 (m, 1H), 6.69 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.16 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 5.47 (dd, J = 10.3, 2.6 Hz, 1H), 5.25 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 5.19 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 4.75-4.53 (m, 2H), 4.21 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.41 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 2.77-2.30 (m, 12H), 2.24 (s, 3H), 1.81 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ: 171.3, 166.2, 166.0, 164.6, 163.5, 157.9, 157.2, 155.3, 153.7, 153.1, 152.1, 150.5, 144.6, 135.8, 131.0, .130.8, 130.7, 129.6, 129.1, 128.4, 128.1, 127.8, 125.4, 123.7, 122.0, 120.4, 120.1, 118.8, 117.0, 116.7, 115.6, 112.2, 111.7, 110.5, 74.8, 68.9, 67.2, 65.6, 56.0, 55.7, 53.8, 52.0, 44.6, 32.7, 17.5. $C_{49}H_{45}N_6O_7SClF_4$에 대한 HRMS 계산치: 972.2695; 실측치 973.2761 (M+H).

[2838] C11의 제조:

[2839] (2R)-2-{[(5Sa)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(4-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산

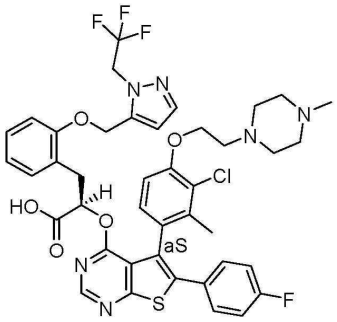


[2840]

[2841] C11을 WO 2015/097123의 실시예 107에 따라 제조하였다.

[2842] C12의 제조

[2843] (2R)-2-{[(5S_a)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸-5-일]메톡시}페닐)프로판산

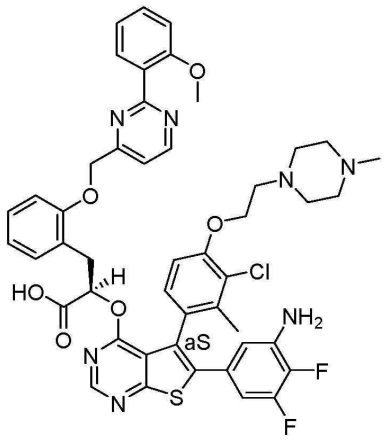


[2844]

[2845] C12는 WO 2015/097123의 실시예 77에 따라 제조하였다.

[2846] C13의 제조

[2847] (2R)-2-[(5S_a)-6-(3-아미노-4,5-디플루오로-페닐)-5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로판산



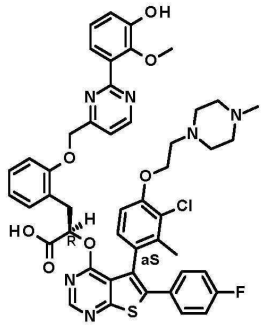
[2848]

[2849] 250 mg 에틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-아이오도-티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]페닐]프로파노에이트 (0.27 mmol; WO 2015/097123, 제조예 30에 따라 수득함) 및 102 mg 2,3-디플루오로-5-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)아닐린 (0.41 mmol)을 1 mL THF 중에 용해시킨 다음, 3.0 mg $PdOAc_2$ (0.013 mmol), 5.7 mg tBuXPhos (0.013 mmol), 174 mg Cs_2CO_3 (0.53 mmol) 및 0.27 mL 물을 첨가하고, 혼합물을 N_2 분위기 하에 70℃에서 2시간

동안 교반하였다. 이어서, 이를 염수로 희석하고, 2-MeTHF로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 에스테르 생성물을 용리액으로서 헵탄, EtOAc 및 MeOH 중 0.7 M NH_3 용액을 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 이어서, 이를 0.7 mL 디옥산 중에 용해시킨 다음, 60 mg $LiOHxH_2O$ (1.43 mmol) 및 0.18 mL 물을 첨가하였다. 혼합물을 완전히 가수분해될 때까지 실온에서 교반하였다. 이어서, 이를 염수로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 회전장애이성질체를 정제하고, 용리액으로서 25 mM 수성 NH_4HCO_3 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용 역상 크로마토그래피를 통해 분리하였다. 이후에 용리되는 회전장애이성질체를 C13으로서 단리하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.89 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.76 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.53 (dd, J = 7.6, 1.8 Hz, 1H), 7.45 (m, 1H), 7.36 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.13 (m, 2H), 7.03 (td, J = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.71 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.62 (m, 1H), 6.21 (d, J = 7.5, 1.3 Hz, 1H), 6.12 (m, 1H), 5.73 (s, 2H), 5.46 (dd, J = 10.1, 3.1 Hz, 1H), 5.25 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 5.19 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 4.22 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.35 (m, 1H), 2.73 (m, 2H), 2.65-2.35 (m, 9H), 2.22 (s, 3H), 1.85 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ: 171.1, 166.0, 165.3, 163.3, 157.8, 157.2, 155.3, 153.7, 152.9, 149.0, 138.9, 137.1, 135.8, 131.0, 130.8, 130.4, 128.7, 128.4, 128.1, 127.8, 125.2, 122.0, 120.4, 120.1, 118.9, 115.6, 112.2, 111.9, 110.6, 103.2, 74.5, 68.9, 67.1, 56.0, 55.7, 53.9, 52.1, 44.7, 32.6, 17.6. $C_{47}H_{44}N_7O_6SClF_2$에 대한 HRMS 계산치: 907.2730; 실측치 908.2803 (M+H).

[2850] C14의 제조

[2851] (2R)-2-{[(5Sa)-5-{3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐}-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시}-3-(2-{[2-(3-히드록시-2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시}페닐)프로판산

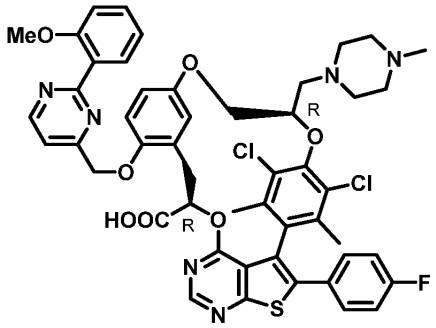
[2852] 

[2853] 210 mg 에틸 (2R)-2-[5-[3-클로로-2-메틸-4-[2-(4-메틸피페라진-1-일)에톡시]페닐]-6-(4-플루오로페닐)티에노[2,3-d]피리미딘-4-일]옥시-3-[2-[(2-클로로피리미딘-4-일)메톡시]페닐]프로파노에이트 (0.25 mmol, WO2016/207216 제조예 1) 및 84 mg (3-히드록시-2-메톡시-페닐)보론산 (0.50 mmol)을 3.8 mL 1,4-디옥산 중에 용해시킨 다음, 18 mg $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (0.025 mmol), 240 mg Cs_2CO_3 (0.75 mmol) 및 3.8 mL 물을 첨가하고, 혼합물을 완전히 전환될 때까지 N_2 분위기 하에 70℃에서 교반하였다. 이어서, 이를 물로 희석하고, 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 조 에스테르를 용리액으로서 헵탄, EtOAc 및 MeOH 중 0.7 M NH_3 용액을 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 부분입체이성질체의 혼합물을 수득하였다. 이를 2 mL 디옥산 중에 용해시킨 다음, 245 mg $LiOHxH_2O$ (5.85 mmol) 및 1 mL 물을 첨가하였다. 혼합물을 완전히 가수분해될 때까지 실온에서 교반하였다. 이어서, 이를 2 M 수성 HCl 용액으로 중화시키고, 용리액으로서 0.1% 수성 TFA 용액 및 MeCN을 사용하여 정제용-RP-HPLC 상에 직접 주입하였다. 이후에 용리된 부분입체이성질체를 C14로서 수집하였다. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.53 (brs, 1H), 8.91 (d, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.26 (m, 2H), 7.19 (d, 1H), 7.18 (m, 2H), 7.12 (t, 1H), 7.06 (dd, 1H), 6.98 (m, 1H), 6.98 (m, 1H), 6.97 (d, 1H), 6.68 (t, 1H), 6.16 (d, 1H), 5.47 (m, 1H), 5.27/5.20 (d+d, 2H), 4.26/4.19 (m+m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.38/2.42 (dd+dd, 2H), 2.74 (m, 2H), 2.55 (br., 4H), 2.47 (br., 4H), 2.25 (s, 3H), 1.80 (s,3 H).

$C_{47}H_{44}N_6O_7SClF$에 대한 HRMS 계산치: 890.2665; 실측치 891.2721 (M+H).

[2854] P15의 제조

[2855] (11R,20R)-23,26-디클로로-3-(4-플루오로페닐)-14-[[2-(2-메톡시페닐)피리미딘-4-일]메톡시]-24,25-디메틸-20-[(4-메틸피페라진-1-일)메틸]-10,18,21-트리옥사-4-티아-6,8-디아자펜타시클로[20.2.2.12,5.113,17.09,28]옥타코사-1(25),2,5 (28),6,8,13,15,17(27),22(26),23-데카엔-11-카르복실산

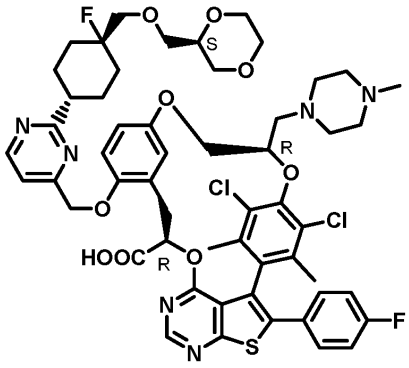


[2856]

[2857] P15를 WO 2019/035914의 실시예 116에 따라 제조하였다.

[2858] P16의 제조

[2859] (11R,20R)-23,26-디클로로-14-[[2-[4-[[(2S)-1,4-디옥산-2-일]메톡시메틸]-4-플루오로-시클로헥실]피리미딘-4-일]메톡시]-3-(4-플루오로페닐)-24,25-디메틸-20-[(4-메틸피페라진-1-일)메틸]-10,18,21-트리옥사-4-티아-6,8-디아자펜타시클로[20.2.2.12,5.113,17.09,28]옥타코사-1(24),2,5(28),6,8,13,15,17(27),22,25-데카엔-11-카르복실산

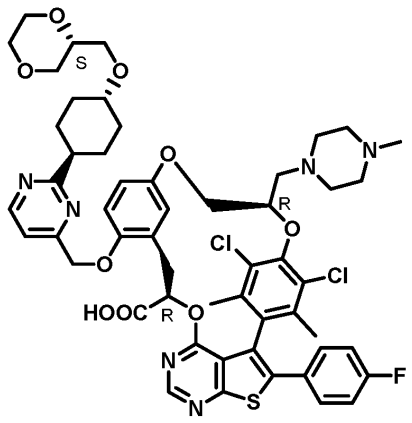


[2860]

[2861] P16을 WO 2019/035911의 실시예 28에 따라 제조하였다.

[2862] P17의 제조

[2863] (11R,20R)-23,26-디클로로-14-[[2-[4-[[(2S)-1,4-디옥산-2-일]메톡시]시클로헥실]피리미딘-4-일]메톡시]-3-(4-플루오로페닐)-24,25-디메틸-20-[(4-메틸피페라진-1-일)메틸]-10,18,21-트리옥사-4-티아-6,8-디아자펜타시클로[20.2.2.12,5.113,17.09,28]옥타코사-1(24),2,5(28),6,8,13,15,17(27),22,25-데카엔-11-카르복실산



[2864]

[2865] P17은 WO 2019/035911의 실시예 44에 따라 제조하였다.

[2866] 실시예 4: 항-CD48 항체의 생성

[2867] 면역원으로서의 인간 CD48-마우스 IgG1 융합 단백질의 생성

[2868] 인간 CD48을 시판 벡터 "트루클론(Trueclone), CD48 (태그부착되지 않은)-인간 CD48 분자 (오리진(Origene), NM_001778.2)로부터 증폭시켰다. 증폭된 DNA 단편을 적절한 발현 벡터 내로 클로닝하였다.

[2869] HEK293T 세포를 6-웰 세포 배양 플레이트에서 미리 가온된 DMEM (깁코(Gibco), 32430-027) 및 10% FBS (깁코, 10082-137) 중에 $1x10^6$ 세포/웰로 시딩하였다. 다음날, 각각의 웰에 대해, 개별적으로 3μg의 DNA 구축물을 150μL의 Opti-MEM (깁코, 31985070) 중에 그리고 12μL의 리포펙타민(Lipofectamine)™ 2000 (써모피셔 사이언티픽(Thermofischer Scientific), 1051561)을 150μL의 Opti-MEM 중에 희석하였다. 희석된 DNA를 희석된 리포펙타민™ 2000 형질감염 시약의 각각의 상응하는 튜브에 첨가하고, RT에서 5분 동안 인큐베이션하였다. 웰당 250μL의 DNA/리포펙타민™ 2000 시약 복합체를 첨가하고, 37℃, 5% CO2의 배양 배지에서 6시간 동안 인큐베이션하였다. 6시간 후, 배양 배지를 미리 가온된 DMEM + 10% FBS로 교체하고, 세포를 37℃, 5% CO2에서 추가로 72시간 동안 인큐베이션하였다.

[2870] 인간 CD48-마우스 IgG 재조합 단백질을 "혈청 항체 정제 키트-단백질 G" (압캠(Abcam) #ab128751)를 사용하여 정제하였다. 공급업체의 권고에 따라, 조건화 배지를 결합 완충제와 혼합하고, RT에서 2시간 동안 단백질 G 수지와 함께 인큐베이션한 후, 칼럼을 패킹하였다. 칼럼을 세척하여 미결합 단백질을 제거하고, huCD48-마우스 IgG 단백질을 낮은 pH에서 용리시키고, 즉시 중화시켰다. 용리 분획 중 단백질의 존재를 A280 OD 결정에 의해 확인하였다. 용리 분획을 풀링하고, 아미콘 울트라-15 원심분리 필터 장치 (30K)를 사용하여 탈염시키고, 농축시켰다.

[2871] CD48 발현 Raji 및 U266 세포주의 배양

[2872] 고 CD48 발현 Raji, ATCC® CCL-86™ 및 U266 ATCC® TIB-196™을 10% FCS (깁코,16000-044)으로 보충된 글루타맥스 (깁코,11835-063), 10 mM HEPES (깁코,15630080) 및 페니실린/스트렙토마이신 (깁코,15140-122) 함유 RPMI 중에서 37℃에서 5% CO2 및 충분한 습도 하에 성장시켰다.

[2873] CD48 발현은 Raji 세포에서 고도로 가변적이었다. 세포를 α-CD48-PE (인비트로젠(Invitrogen) A-15768) 및 α-CD45-APC (비디 파밍겐(BD Pharmingen), 555485)로 염색하였다. CD48을 고도로 발현하는 세포를 FACS ARIA에서 분류하고, 후속적으로 5% CO2 및 충분한 습도 하에 37℃에서 젤쉴드, 미네르바 바이오랩스 (ZellShield, Minerva Biolabs) 13-0150을 첨가하여 상기 언급된 배지 중 상이한 시딩 농도, 즉 저농도 및 고농도에서 Raji-CD48high로서 배양하였다. 확장 후, 저밀도 및 고밀도 시딩된 Raji CD48high+ 세포 둘 다가 동일한 높은 CD48 발현을 나타냈다.

[2874] 마우스 면역화 및 하이브리도마 생산

[2875] 각각 3마리 수컷 및 3마리 암컷의 BALB/c 및 Biozzi ABH/RjiHSD 마우스를 125 μg/ml 재조합 인간 CD48 (R&D, 3644-CD-050) 또는 $200x10^6$ 세포/ml로 Raji 또는 U266 세포주를 함유하는 PBS 중에 제조된 항원 용액으로 프라이밍하고 2회 부스팅하였다. 4마리의 마우스를 융합을 위해 선택하여 하이브리도마를 생성하였다. 융합에 사

용되지 않은 비장을 단일 세포 현탁액으로서 동결시켰다.

[2876] CD48 면역화된 마우스 비장의 단일 세포 용액을 제조하였다. 융합을 PEG 하이브리맥스(Hybrimax) 용액 (시그마(Sigma), P7181)을 사용하여 수행하고, 세포를 96-웰 플레이트 (100 μl/웰) 상에 50μl 마우스 복막 세포 (BALB/c, 리퀘스트 ID107701)의 피더 세포 층을 함유하는 HAT 배지 (글루타맥스 및 25 mM HEPES, 50μM β-메르캅토에탄올, 100μM 하이포크산틴, 400 nM 아미노프테린, 16μM 티미딘, 10% 초저 IgG FCS 및 100μg/ml 노르모신 함유 RPMI 1640) 중에 플레이팅하였다. 융합된 세포를 3가지 상이한 농도: $10x10^4$, $3x10^4$, 및 $5x10^3$ 세포/웰로 시딩하였다.

[2877] 융합 후 제13일에 ELISA 및 FACS를 적용하여 스크리닝을 시작하였다. 제15일에, HAT 배지를 아미노프테린이 없는 HT 배지로 교환하였다.

[2878] 항체 스크리닝에 사용된 인간 재조합 인간 및 시노몰구스 CD48 단백질의 생성

[2879] 인간 및 시노몰구스 단백질을 아미노산 서열에 기초하여 유전자 합성하였다 (진아트(GeneArt), 스위스) (표 6 참조). 모든 합성된 DNA 단편을 상이한 C-말단 태그 (hFc1P, APP6-Avi, His)를 갖는 적절한 발현 벡터 내로 클로닝하여 정제 및 표지를 가능하게 하였다.

[2880] 표 6: CD48 단백질 서열

명칭	설명	서열	서열식별번호
인간 CD48	인간CD48(aa29-220)	MCSRGWDSCLALELLLLPLSLLVTSIQGHLVHMTVVSGSNVTLNISESLPENYKQLTWFYTFDQKIVEWDSRKSKYFESKFKGRVDPQSGALYISKVQKEDNSTYIMRVLKKGNEQEWKIKLQVLDPVPKPVIKIEKIEDDNCYLKLSCVIPGESVNYTWYGDKRPFPKELQNSVLETTLMPHNYSRCYTCQVNSVSSKNGTVCLSPPCTLARSFGVEWIASWLVVTVPTILGLLLT	63
인간 CD48	Fab-복합체 결정화에 대한 Met-인간CD48(aa29-130)-APP6-Avi-His	MHLVHMTVVSGSNVTLNISESLPENKQLTWFYTFDQKIVEWDSRKSKYFESKFKGRVRLDPQSGALYISKVQKEDNSTIMRVLKKTGNEQEWKIKLQVLDPGLNDIFEAQKIEWHEHHHHHH	64
시노몰구스 원숭이 CD48	시노CD48(aa29-217)	MGSRGWNRCLALELLLLSLSLLAISIQGRLVHMTVVSGSNVTLNISESLPENYKQLTWFYTFDQKIVEWDSGKSKYFESKFKGRVRLDPQSGALYISKVQKEDNSTYVMRVLKDGYEQEWKIKLQVLDPVPKPVIKIEKDVDDNCYLKLSCVIPGESVNYTWYGELPKEIQNSVLETTLKPHKHSRCYTCQVSVSSKNGTFCFSPPCTAARSFGVEWIASWLVVTVPIILGLLLI	65

[2881]

[2882] HEK293T 세포를 6-웰 세포 배양 플레이트에서 미리 가온된 DMEM (깁코, 32430-027) 및 10% FBS (깁코, 10082-137) 중에 $1x10^6$ 세포/웰로 시딩하였다. 다음날, 각각의 웰에 대해, 2μg의 DNA 구축물을 100μL의 Opti-MEM

(깁코, 31985070) 중에 개별적으로 희석하고, 7μL의 FuGENE HD (프로메가(Promega), 104810)를 첨가하였다. 믹스를 실온에서 15분 동안 인큐베이션하고, 세포에 첨가하였다. 플레이트를 37℃, 5% CO_2에서 배양 배지에서 72시간 동안 인큐베이션하였다.

[2883] 인간 및 시노몰구스 CD48-huIgG-Fc 및 APP 태그부착된 재조합 단백질을 항-APP 또는 단백질-A 칼럼에 의해 정제하였다. 칼럼을 세척하고, PBS, pH 7.4로 평형화시켜 미결합 단백질을 제거하였다. 결합된 단백질을 0.1 M 글리신, pH 2.7. pH로 용리시키고, 즉시 중화시켰다. 단백질 농도를 A280 OD 측정에 의해 결정하였다.

[2884] 항체 스크리닝을 위한 인간 및 시노몰구스 원숭이 CD48 단백질 과다발현 세포주의 생성

[2885] CHO 및 300.19 세포를 GFP 마커와 조합하여 인간 CD48을 발현하도록 조작하였다. HKB11 세포를 인간 또는 시노몰구스 CD48 발현 벡터로 형질감염시켰다. $2.5x10^5$ 세포를 큐벳 내 플라스미드 DNA 함유 20μl 4D뉴클레오펙터(Nucleofector)™ 용액 (론자(Lonza), V4XC-9064) 중에 현탁시켰다. 전기천공 후, 큐벳을 실온에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 미리 가온된 배양 배지 (RPMI 1640, (깁코, 72400-021), 10% FBS (깁코, 16000044), 페니실린-스트렙토마이신 (깁코, 15140122) 및 2-메르캅토에탄올 (깁코, 31350010) 중에 현탁시키고, 가습 37℃/5% CO_2 인큐베이터에서 인큐베이션하였다. 선택을 위해, G418 (깁코, 10131-027)을 1mg/ml의 최종 농도로 첨가하였다. 세포를 형광 표지된 항-인간 CD48 항체, CD48A-PE (클론 MEM102-PE, 몰레큘라 프로브스(Molecular Probes), A15768)로 염색하고, CD48-음성 대조군 세포로서 비-형질감염된 300.19 또는 CHO 세포를 사용하여, 세포 풀을 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. 세포주 둘 다에 대해, 각각의 표적 단백질의 높고 균질한 발현을 보이는 하나의 풀을 확인하였다. 이 풀의 바이알을 동결시키고; 2주에 걸쳐 G418-함유 세포 배양 배지에서 세포를 계속 배양한 후에 재조합 CD48 과다발현의 안정성을 확인하였다.

[2886] 과다발현 HKB11 세포주의 경우, 인간 전장 CD48을 유니프롯(Uniprot) 데이터베이스로부터의 아미노산 서열에 기초하여 유전자 합성하였다. 시노몰구스 원숭이 전장 CD48을 코딩하는 서열을 다양한 시노 조직으로부터 단리된 mRNA를 사용하여 생성된 아미노산 서열 정보에 기초하여 유전자 합성하였다. 모든 서열은 진아트 (스위스)에 의해 합성되었다. HKB11 세포주를 조작하기 위해, 합성된 DNA 단편을 pD2529-CMVa 립-인(Leap-In) 트랜스포손 벡터 (아툼(Atum), 미국 캘리포니아주 뉴어크) 내로 클로닝하였다. HKB11 (ATCC, CRL-12568) 세포를 제트메신저 (JetMessenger) 형질감염 시약 (폴리플러스(Polyplus), 150-07)을 사용하여 삼중으로 형질감염시켰다. 트랜스포손 벡터를 립-인 트랜스포사제 효소 (아툼, 미국 캘리포니아주 뉴어크)를 코딩하는 mRNA와 함께 세포 내로 공동-형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 항생제 퓨로마이신의 존재 하에 배양 배지에서 4주에 걸쳐 배양하여 안정하게 형질감염된 세포를 선택하였다. 세포를 항-CD48 1차 항체 (MEM-102, 인비트로젠 A15768) 및 형광 표지된 2차 항체로 염색한 후, CD48-음성 대조군 세포로서 비-형질감염된 HKB11 세포를 사용하여 세포 풀을 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. 인간 및 시노 CD48 둘 다에 대해, 각각의 표적 단백질의 높고 균질한 발현을 나타내는 하나의 풀을 확인하였다. 이 풀의 바이알을 동결시키고; 2주에 걸쳐 퓨로마이신-함유 세포 배양 배지에서 세포를 계속 배양한 후에 재조합 CD48 과다발현의 안정성을 확인하였다.

[2887] 표 7: 과다발현 세포주를 조작하기 위해 적용된 구축물

명칭 (유니프롯 ID)	서열
인간 CD48-*IRES*_EGFP (P09326- n/a) (서열식별번호: 71)	MCSRGWDSCLALELLLLPLSLLVTSIQGHLVHMTVVSGSNVTLNISE SLPENYKQLTWFYTFDQKIVEWDSRKSKYFESKFKGRVRLDPQSGA LYISKVQKEDNSTYIMRVLKKTGNEQEWKIKLQVLDPVPKPVIKIEKIE DMDDNCYLKLSCVIPGESVNYTWYGDKRPFPKELQNSVLETTLMPH NYSRCYTCQVSNSVSSKNGTVCLSPPCTLARSFGVEWIASWLVVTV PTILGLLLT -*IRES*- MVSKGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVSGEGEGDATYGKLTLK FICTTGKLPVPWPTLVTTLTYGVQCFSRYPDHMKQHDFFKSAMPEG YVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNILGH KLEYNYNSHNVYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNT PIGDGPVLLPDNHYLSTQSALSKDPNEKRDHMVLLEFVTAAGITLGM DELYKSGSDYKDDDDKSGSDYKDDDDKSG
인간 CD48 (P09326) (서열식별번호: 53)	MCSRGWDSCLALELLLLPLSLLVTSIQGHLVHMTVVSGSNVTLNISE SLPENYKQLTWFYTFDQKIVEWDSRKSKYFESKFKGRVRLDPQSGA LYISKVQKEDNSTYIMRVLKKTGNEQEWKIKLQVLDPVPKPVIKIEKIE DMDDNCYLKLSCVIPGESVNYTWYGDKRPFPKELQNSVLETTLMPH NYSRCYTCQVSNSVSSKNGTVCLSPPCTLARSFGVEWIASWLVVTV PTILGLLLT

[2888]

[2889] ELISA 및 FACS에 의한 혈청 항체 결정 및 하이브리도마 스크리닝

[2890] ELISA에 의한 스크리닝에서, F96 센트 맥시소르프 눈크(Maxisorp Nunc) 이뮤노 플레이트 (써모 사이언티픽(Thermo Scientific), 439454)를 코팅 완충제 (바이오레전드(Biolegend), 421701) 중 1 μg/ml의 재조합 인간 CD48로, 100 μl/웰로 코팅하고, 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 뮤린 α-인간 CD48, 클론 CD48A (MEM-102 인비트로젠, MA-19119S) 및 마우스 α-인간 CD48, 클론 156-4H9 (이바이오사이언스(eBioscience), 16-0489-85)를 캘리브레이터로서 사용하고, 검정 희석제 (2% FCS 및 0.05% 트윈(Tween) 20 함유 PBS) 중에 1:3 연속 희석률로 희석하여 1000 ng/ml 내지 1.37 ng/ml의 농도를 수득하였다. 코팅된 웰 상의 항체는 배경으로서 사용하지 않았다. 비-특이적 결합 효과를 배제하기 위해, 항체 희석물 함유 비-단백질-코팅된 웰을 음성 대조군으로서 사용하였다.

[2891] 100 μl/웰의 캘리브레이터 항체, 면역화된 마우스 혈청 또는 하이브리도마 상청액 (1:10 희석됨)을 코팅된 플레이트에 이중으로 적용하고, 오비탈 진탕기 상에서 300xrpm으로 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에, 플레이트를 플리킹하여 상청액을 제거하고, 각각의 웰을 300 μl 세척 완충제로 5회 세척하였다. 2차 항체, 염소 α-마우스 IgG (H+L) HRP (인비트로젠, 31430)를 검정 희석제 중에 1:10000으로 희석하고, 웰당 100 μl를 적용하였다. 플레이트를 RT에서 1시간 동안 오비탈 진탕기 상에서 300xrpm으로 인큐베이션하였다. 다시, 플레이트를 플리킹하여 상청액을 제거하고, 각각의 웰을 300 μl 세척 완충제로 7회 세척하였다. 검출 반응은 웰당 100 μl 기질 용액 (라이프 테크놀로지(Life Technology), 002023)을 첨가함으로써 시작하였다. 플레이트를 암소에서 교반 없이 RT에서 15-30분 동안 인큐베이션하였다. 발색의 동역학에 따라, 검정을 100 μl/웰 정지 용액 (라이프 테크놀로지, SS04)의 첨가에 의해 정지시켰다. 스펙트라맥스 (SpectraMax)로 반응을 정지시킨지 30분 이내에 450 nm 및 570 nm에서 흡광도를 판독하였다.

[2892] FACS에 의한 혈청 스크리닝에서, 면역화에 사용된 세포주인 RajiCD48high+ 및 U266와 함께 인큐베이션 및 FACS 분석에 의해 혈청을 천연 CD48 단백질에 대한 특이성에 대해 분석하였다. CD48 음성 T 세포주 CEM (ATCC, CCL-119™)이 대조군으로서의 역할을 하였다. 각각의 마우스의 비희석, 1:10 및 1:100 희석 혈청 1 μl를 FACS 완충제 (AutoMACS 헹굼 완충제, 밀테니(Milteny); 130-091-222 및 1:20 희석 BSA 원액; 밀테니; 130-091-376) 중에 $0.5x10^6$ 세포/웰의 상응하는 세포주와 함께 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에, 샘플을 FACS 완충제로 2회 세척하고, 2차 항체 α-마우스 IgG-FITC; 비디 파밍겐, 554001 (FACS 완충제 중 1:50 희석)로 염색하고, 암소에서 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 세포를 FACS 완충제로 2

회 세척하고, 세포 펠릿을 FACS 완충제 중에 현탁시키고, FACS CANTO II 상에서 측정하였다.

[2893] FACS에 의한 하이브리도마 스크리닝에서, 100㎕의 하이브리도마 상청액 (순수 또는 1:10 희석)을 1.5 x 10^5 야생형 300-19 세포 또는 0.5 x 10^5 인간-CD48- 및 -GFP-과다발현 300-19 세포와 함께 인큐베이션하였다. 대조군으로서 0.2㎕/웰 비표지된 MEM-102 (인비트로젠, A-15768)를 적용하였다. 0.1㎕/웰 항-마우스 IgG APC (BD 바이오사이언스, 550826)로 검출을 수행하였다.

[2894] ELISA 및 FACS 양성 클론을 피더 무함유 클로닝 및 확장 배지 (글루타맥스 및 25 mM HEPES, 10% 초저 IgG FCS, 50㎕M β-메르캅토에탄올, 100㎕g/ml 노르모신, HT 보충물 (깁코, 41056-012) 및 조건화 H1 하이브리도마 클로닝 보충물; 로슈 다이아그노스틱스(Roche Diagnostics) 11088947001) 함유 RPMI 1640) 중에 서브클로닝하고, 각각의 하이브리드에 대해 2개의 96-웰 플레이트 상에 2.5개 세포/ml의 세포 농도로 플레이팅하였다.

[2895] 선택된 하이브리도마 클론의 클로닝

[2896] 펠릿화된 하이브리도마 세포의 RNA 단리를 제조업체의 프로토콜에 따라 RNeasy 미니 키트 (퀴아젠(Qiagen), 74104)로 수행하였다. RNA 수율을 나노드롭(NanoDrop) (써모 피셔(Thermo Fischer))을 사용하여 결정하였다. RNA를 제조업체의 지침에 따라 라이프테크놀로지스로부터의 RT PCR을 위한 슈퍼스크립트(Superscript) III 제1-가닥 합성 시스템 (180880-051)을 사용하여 cDNA로 전환시켰다. 합성된 cDNA의 증폭을 노바젠(Novagen)으로부터의 마우스 Ig-프라이머 세트 (69831-3) 및 퍼멘타스(Fermentas)로부터의 Taq 폴리머라제 (K0171)를 제조업체의 지침에 따라 적용하여 수행하였다. 25㎕의 PCR 반응물을 1.2% 아가로스 겔 상에서 분석하고, 브로민화에티듐으로 염색하였다. 스칼펠을 사용하여 밴드를 절제하고, 퀴아젠으로부터의 퀴아퀵(QIAquick) 겔 추출 키트 (28704)를 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 DNA의 겔 추출을 수행하였다. 추출된 DNA를 제조업체의 지침에 따라 퀴아젠으로부터의 PCR 클로닝 키트 (231122)를 사용하는 PCR 클로닝에 사용하고, 최종 플라스미드 생성물을 TOP10 화학적 적격 세포 (인비트로젠, C-404010)의 형질전환에 사용하였다. 형질전환된 세포를 X-gal (인비트로젠, R-0402)로 처리된 LB-카나마이신 플레이트 상에서 확산시켰다. PCR 산물을 함유하지 않는 pDrive 클로닝 벡터에 의해 형질전환된 세포는 LacZ α-펩티드를 발현할 것이고, X-gal의 존재 하에 성장시 청색 콜로니를 형성할 것이다. 따라서, 백색 콜로니만을 골라내고, 제조업체의 프로토콜에 따라 퀴아프렙 스핀 미니프렙 키트(QIAprep Spin Miniprep Kit) (퀴아젠 27106)를 사용하여 플라스미드 제조를 위해 배양하였다.

[2897] 항체 발현을 위한 HEK 세포의 형질감염 뿐만 아니라 정제를 CD48 면역원 생성에 대해 기재된 바와 같이 수행하였다.

[2898] 인간화 항체의 생성

[2899] 호모 사피엔스(homo sapiens)에 대한 코돈 최적화를 포함하는 인간화 VL 및 VH 도메인을 코딩하는 DNA 서열을 진아트 (라이프 테크놀러지즈 인크(Life Technologies Inc.), 독일 레겐스부르크)에서 수득하였다. VL 및 VH 도메인을 코딩하는 서열을 진아트 유래 벡터로부터 포유동물 세포에서의 분비에 적절한 발현 벡터 내로 잘라 붙였다. 중쇄 및 경쇄를 동시-형질감염을 허용하는 개별 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 발현 벡터의 요소는 프로모터 (시토메갈로바이러스 (CMV) 인핸서-프로모터), 분비를 용이하게 하는 신호 서열, 폴리아데닐화 신호 및 전사 종결인자 (소 성장 호르몬 (BGH) 유전자), 에피솜 복제 및 원핵생물에서의 복제를 허용하는 요소 (예를 들어 SV40 기원 및 ColE1 또는 관련 기술분야에 공지된 다른 것) 및 선택을 허용하는 요소 (암피실린 내성 유전자)를 포함한다.

[2900] CAP-T® 세포 (인간 양막세포; 세벡 파마슈티칼스 게엠베하(CEVEC Pharmaceuticals GmbH), 독일 쾰른)를 유전자 전달 비히클로서 40 kDa 선형 PEI (PEI 맥스, 폴리사이언시스(Polyscience), VWR, POLS24765-2)를 사용하여 프리스타일(FreeStyle)293™ 발현 배지 (인비트로젠, 12338)에서 적절한 중쇄 및 경쇄 발현 플라스미드로 일시적으로 형질감염시켰다. 간략하게, 1ml OptiMEM 배지 (인비트로젠, 51985) 중 30ug의 경쇄 및 중쇄 플라스미드 DNA를 18ml 프리스타일 배지 중 1E+8 세포를 함유하는 250 ml 진탕 플라스크에 적가하고, 이어서 진탕하면서 1ml 페이 맥스(Pei Max) 용액을 적가하였다. 그 후, 플라스크를 37℃, 6% CO_2, 85% 습도, 100rpm에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 후속적으로, 4 mM L-글루타민 및 5ug/ml 블라스티시딘 (인비트로젠 R21001), 뿐만 아니라 발프로산 (시그마-알드리치, P4543)을 함유하는 20ml의 미리 가온된 단백질 발현 배지 (PEM, 인비트로젠, 12661)를 4mM의 최종 농도로 배양물에 첨가하였다. 세포 배양을 37℃, 6% CO_2, 85% 습도, 115 rpm에서 7일 동안 계속하였다.

[2901] 상청액을 스테리-플립(Steri-Flip)으로 여과하고, 항체를 200㎕ 수지 상에서 테칸 로봇 맙셀렉트 슈어(Tecan

robot MabSelect Sure)로 정제하였다. 간략하게, 칼럼을 10 부피의 물 및 PBS (노파르티스)로 세척하였다. 샘플을 로딩하고, 10 부피의 물로 다시 세척하였다. 항체 용리를 3 부피의 50 mM 시트레이트, 70 mM NaCl pH 3.2로 수행한 후, 140μl 1M 트리스 pH 9.0으로 중화시키고, 0.22μm 막 (밀리포어 스테리플립(Millipore Steriflip))을 통해 여과하였다.

[2902] 농도의 결정을 위해, 항체를 분광광도계 ND-1000 (나노드롭)에서 280nm에서 측정하고, 단백질 농도를 서열 데이터에 기초하여 계산하였다. 용리액을 응집에 대해 시험하였다 (SEC-MALS).

[2903] 노파르티스 팔라스(Novartis Pallas) 파지 라이브러리 패닝에 의한 항체 다양화

[2904] 합성 인간 Fab 파지미드 라이브러리 (노파르티스 인스티튜트 오브 바이오메디칼 리서치(Novartis Institute of BioMedical Research))를 파지 디스플레이 선택에 사용하였다. 배선 프레임워크 조합 IGHV3-23 및 IGKV1-39, IGHV3-23 및 IGLV3-9, IGHV1-46 및 IGKV1-39, IGHV3-15 및 IGLV1-47을 코딩하는 유전자 단편을 진아트 (라이프 테크놀로지스 인크., 스위스 주그)에 의해 Fab 포맷으로 합성하고, 베이스 주형으로서 작용하는 파지미드 벡터 내로 클로닝하였다. 이들 인간 배선을 파지 디스플레이 라이브러리에 대한 디스플레이 유리한 프레임워크 조합으로서 사용하였다. 파지미드 벡터는 암피실린 내성, CilE1 기원, M13 기원, 및 OmpA-경쇄에 이은 phoA-중쇄-Flag-6xHis-앰버 정지-말단절단된 pIII (서열식별번호: 72로서 개시된 "6xHis") (아미노산 231-406)을 갖는 lac 프로모터 하의 비시스트론 발현 카세트로 이루어진다.

[2905] 단지 HCDR3만이 다양화되었고, 프라이머는 11개 이하의 아미노산: 아스파르트산, 글루탐산, 아르기닌, 히스티딘, 세린, 글리신, 알라닌, 프롤린, 발린, 티로신 및 트립토판을 그의 자연 발생을 모방하는 규정된 비로 혼입하도록 설계되었다. 류신 및 페닐알라닌은 또한 HCDR3의 특정 위치에서 허용되었다. 잠재적인 번역후 변형 부위를 제거하기 위해 특정 잔기를 생략하였다. 정지 코돈, 메티오닌, 시스테인, 및 아스파라긴을 배제하기 위해 트리뉴클레오티드 기술 (ELLA 바이오테크)을 사용하여 무작위화 프라이머 합성을 수행하였다.

[2906] 8, 10, 12, 14, 16 및 20개 아미노산 사이의 길이가 허용되었고, 여기서 마지막 2개의 아미노산은 길이 8-16의 경우 서열 Asp-Tyr 및 길이 20의 경우 Asp-Val로 일정하게 유지되었다. 최종 2개의 HCDR3 아미노산의 설계는 인간 VDJ 재조합을 반영한다. 짧은 HCDR3은 보다 종종 HCDR3의 말단에 "DY"를 갖는 J-단편 IGHJ4를 사용하는 반면, 보다 긴 HCDR3 (여기서 20개 aa)은 보다 종종 HCDR3의 말단에 "DV"를 갖는 IGHJ6을 사용한다. 퓨전 하이-피델리티(Phusion High-Fidelity) DNA 폴리머라제 (NEB 바이오랩스)를 사용하여 PCR에 의해 라이브러리 삽입물을 생성하였다. 생성된 HCDR3 라이브러리 삽입물을 베이스 주형 내로 라이게이션하고, HCDR3 길이당 3E+08 형질전환체의 최소 라이브러리 크기로 이. 콜라이 TG1F+ DUO (루시젠(Lucigen) 내로 형질전환시키고, 표준 프로토콜을 사용하여 VCSM13 헬퍼 파지 (애질런트 테크놀로지스(Agilent Technologies))를 사용하여 파지를 생산하였다.

[2907] 인간 CD48을 인식하는 항체의 단리를 위해 전세포 패닝을 사용하였다. 파지 라이브러리를 실온에서 2시간 동안 1 ml PBS/5%FBS (깁코,16000044) 중에서 차단시킨 후, 1E+07 CHO 야생형 세포를 첨가하였다. 혼합물을 4℃, 30rpm에서 밤새 인큐베이션한 다음, 300 g, 4℃에서 5분 원심분리하였다. 사전-흡착된 파지 상청액을 표적 세포에 첨가하였다.

[2908] 야생형 및 인간 CD48-과다발현 CHO 세포를 상이한 형광색소 (비브란트 셀-라벨링 솔루션즈(Vibrant Cell-Labelling Solutions), 인비트로젠, #V22885, #V22886, #V22887)로 표지하고, 패닝 라운드에 따라 상이한 WT:CD48+ 세포 비 (제1 라운드에서 8:2, 제2 라운드에서 5:5 및 마지막 라운드에서 2:8)로 혼합하였다. 패닝을 4℃에서 4시간 동안 회전기 상에서 진행하였다. 세포를 5 ml 5% FBS/PBS 중에서 3회 세척하고, 300 g, 4℃에서 원심분리하였다. 세포를 FACS 완충제 (PBS, 0.5% FBS) 중에 현탁시키고, FACS 튜브 내로 여과하였다. 세포는 색상에 따라 BD 아리아 II 상에서 2개의 튜브, WT CHO 및 CD48+ CHO 세포로 FACS 분류하였다.

[2909] 결합된 파지를 용리하기 위해, 세포 펠릿을 1ml 100 mM 글리신-HCl, 500 mM NaCl pH 2.2 (지이 헬스케어(GE Healthcare), BR-1003-55) 중에 현탁시켰다. 실온에서 10분 동안 인큐베이션하고, 300 g에서 2분 동안 원심분리하고, 용리된 파지 (상청액)를 중화를 위해 110μl의 1 M 트리스 pH 8 (플루카, 93350)을 함유하는 새로운 튜브로 옮겼다.

[2910] 용리된 파지를 사용하여 지수적으로 성장하는 앰버(Amber) 억제자 TG1F+ 세포 (루비오 사이언스(Lubio Science))를 감염시켰다. 감염된 박테리아를 2YT (16 g/l 박토트립톤; 벡톤-디킨슨(Becton-Dickinson) 211699, 10 g/l 박토이스트 추출물; 벡톤-디킨슨 212720), 5 g/l NaCl; 머크(Merck) 6404), 100μg/ml 암피실린 (시그마, A0166) 및 1% 글루코스 (시그마, G8270) 배지 중에서 37℃, 200 rpm에서 밤새 배양하고, VCSM13

헬퍼 파지로 중복감염시켰다.

[2911] 이어서, 파지 입자의 생산을 0.25 mM 이소프로필 b-D-1-티오갈락토피라노시드 (IPTG, 로슈(Roche), 11 411 446 001)를 함유하는 2YT/암피실린/카나마이신 (칼바이오켐(Calbiochem), 420411) 배지에서 22℃, 180 rpm에서 중복감염된 박테리아를 밤새 배양함으로써 유도하였다. 밤샘 배양물로부터의 파지 함유 상청액을 PEG/NaCl 침전에 의해 정제하고, 적정하고, 후속 라운드에서 선택하였다.

[2912] 패닝 후 차세대 서열분석 (NGS) 스크리닝에 의한 풍부화된 항체 서열의 회수

[2913] 각각의 라운드의 파지 선택 후에, 야생형 및 CD48 발현 CHO 세포에 대한 회수된 결합체의 폴리클로날 플라스미드 DNA를 퀴아프렙 스핀 미니프렙 키트 (퀴아젠)를 사용하여 제조하였다. 제1 PCR에서, CDR-H3을 연속 단계에서 표준 TruSeq 프라이머의 어닐링을 허용하는 오버행 프라이머로 9 사이클에 걸쳐 증폭시켰다. 제2 PCR에서, TruSeq 범용 정방향 어댑터 및 24 TrueSeq 인덱스 역방향 프라이머 중 하나를 갖는 프라이머를 12 사이클에 걸쳐 사용하였다. 생성된 단편을 1.5% 아가로스 겔 및 위자드(Wizard) SV 겔 및 PCR 클린-업 시스템 (프로메가, A9282)을 사용하여 정제하였다. DNA 농도를 큐비트(Qubit) DNA 고감도 키트 (인비트로젠, Q32B54)를 사용하여 측정하였다. 샘플을 MiSeq 상에서 MiSeq 시약 5 키트 v3 (일루미나(Illumina))을 사용하여 150회 정방향 사이클로 분석하였다.

[2914] NGS FastQ 출력 파일의 데이터 분석을 기재된 바와 같이 수행하였다 (Liu et al, 2019, BMC Bioinformatics, 20, 401). 각각의 패닝 산출물에 대해, HCDR3 서열의 위치를 찾아내고 이를 절편화하기 위해 주형으로서 가변 영역의 경계 상의 고정된 플랭킹 서열을 사용하여 100,000개의 서열을 분석하였다. 패닝 산출물 풀에 따라 ~40,000 내지 70,000개의 HCDR3 서열을 확인하고, CSV 포맷으로 빈도 보고에 포함시켰다. 항체 발현을 위해, 2% 초과 발생률을 갖는 클론을 선택하였다.

[2915] 파지 및 하이브리도마 유래/인간화 항체의 친화도 성숙

[2916] 팔라스 파지 패닝 선택된 항체 NOV3731을, HCDR1, HCDR2 및 모든 경쇄 CDR에서 다양화를 갖는 친화도 성숙 카세트 라이브러리 (노파르티스)를 사용함으로써 친화도를 개선시키기 위해 Fab 포맷으로 추가로 조작하였다. CDR을 재배열된 인간 CDR 서열의 자연 발생 레퍼토리에 따라 다양화하였다. 프라이머는 그의 자연 발생 아스파르트산, 글루탐산, 아르기닌, 히스티딘, 트레오닌, 세린, 글리신, 알라닌, 류신, 발린 및 티로신을 모방하는 규정된 비로 각각의 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산을 혼입하도록 설계되었다. 글루타민, 프롤린 및 트립토판을 또한 LCDR3의 특정 위치에서 허용하였다.

[2917] CDR 성숙 카세트의 경우, 정지 코돈인 메티오닌, 시스테인 및 아스파라긴을 배제하기 위해 트리뉴클레오티드 기술 (엘라 바이오테크(ELLA Biotech))을 사용하여 무작위화된 프라이머의 합성을 수행하였다. 퓨전 하이-피델리티 DNA 폴리머라제 (NEB 바이오랩스)를 사용하여 2개의 PCR 단계에 의해 CDR의 무작위화를 수행하였다. 먼저, 무작위화 PCR을 수행한 후, 양 말단에 제한 부위를 도입하는 프라이머를 적용하여 무작위화된 단편을 증폭시켰다. 이어서, 상기 증폭 PCR을 적절한 제한 부위를 사용하여 베이스 주형 파지미드 벡터 내로 라이게이션하고, 1E+08개 형질전환체의 최소 라이브러리 크기로 이. 콜라이 TG1F+DUO (루시젠) 내로 형질전환시켰다.

[2918] 중쇄 및 경쇄 CDR 특이적 친화도 성숙 라이브러리를 관련 효소로 제한하고, 모 CDR을 다양화된 서열의 무작위화된 카세트로 대체하여 모 항체 내로 개별적으로 클로닝하였다. 라이브러리를 TG1F+ 적격 세포 (인비트로젠) 내로 형질전환시켰다. 파지 입자를 VCSM13 헬퍼 파지로의 중복감염에 의해 생산한 다음, PEG/NaCl에 의해 침전시켰다.

[2919] 하이브리도마 유래 및 인간화 항체 NY258을 LCDR1 및 LCDR3 뿐만 아니라 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3에 대한 NNK 라이브러리를 생성함으로써 Fab 포맷으로 추가로 조작하였다. 증폭된 라이브러리를 적절한 제한 부위를 통해 파지미드 벡터 내로 클로닝하고, 1E+08개 형질전환체의 최소 라이브러리 크기로 이. 콜라이 TG1F+DUO (루시젠) 내로 형질전환시켰다. VCSM13 헬퍼 파지로의 중복감염에 의해 파지 입자를 생산한 다음, PEG/NaCl에 의해 침전시켰다.

[2920] 각각의 후보, NOV3731 및 NY258에 대한 이들 5종의 친화도 성숙 라이브러리를 재조합 인간 (아크로바이오시스템즈(Acrobiosystems), BC1-H5255) 및 시노몰구스 (사내 iProt 112617) CD48-huIgG-FC 상에서 2회 라운드의 고체상 패닝에 적용하였다.

[2921] 라이브러리당 $5x10^9$개의 아미노산 파지를 PBS (판레악 어플리켐(PanReac AppliChem), A0830), 0.05% 트윈 (시그마, P9416) 중 500 μL 2.5% 분유의 부피로 밤새 차단하였다. 96-웰 맥시소르브 플레이트 (눈크(Nunc),

442404)를 PBS 중 5ug/ml의 비관련 FC 단백질 300ul로 코팅하였다. 플레이트를 300 μL PBS로 3회 세척하고, 차단된 파지 라이브러리를 요동시키면서 실온에서 30분 동안 250 μL/웰로 잠재적 인간 IgG-FC 결합 파지를 사전-흡착시키기 위해 인큐베이션하였다.

[2922] 그 후, 사전-흡착된 파지를 인간 또는 시노몰구스 CD48 코팅된 플레이트로 옮기고, 요동시키면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 300 μL CD48-IgGFc 단백질로 5 μL/ml로 코팅하고, PBS로 3회 세척하였다. 추가로, 파지 라이브러리를 비관련 단백질 및 BSA와 함께 인큐베이션하였다. 파지는 또한 모의 패닝에 의해 라운드에서 라운드로 단지 캐리 오버되었다. 선택 라운드 동안 2 사이클 (3x 신속 및 2x 5분)로, 신속 세척을 위해 0.05% 트윈20 함유 PBS 및 5분 세척을 위해 PBS를 사용하고, 이어서 제2 라운드에서 2 사이클 (5x 신속 및 4x 5분)로 세척 요법을 강화하였다.

[2923] 파지를 10mM 글리신/HCl pH 2.0으로 용리시켰다. 이. 콜라이 TG1F+를 용리된 파지로 감염시켰으며, 이를 1M 트리스/HCl, pH 8.0을 사용하여 미리 중화시켰다. VCSM13 헬퍼 파지 (애질런트)를 사용하여 라운드 사이의 파지의 증식을 수행하였다.

[2924] 패닝의 제2 라운드 후에, DNA 미니프렙을 NGS 스크리닝에 사용하였다. 선택된 서열을 진아트에서 개별 중쇄 및 경쇄 발현 벡터에 정렬 클로닝하였다. IgG 발현을 HEK293 세포에서 수행하고, 항체를 200 μl 수지 상에서 테칸 로봇 맙셀렉트 슈어로 정제하였다.

[2925] 인간 및 시노몰구스 CD48에 대한 NGS 스크리닝된 항체-교차 결합의 분석

[2926] 정제된 항체를 재조합 인간 및 시노몰구스 CD48에 대한 결합에 대해 ELISA에서 시험하였다. 블랙 맥시소르프 (Black Maxisorp)™ (눈크) 384 웰 플레이트 (써모피셔, 460518)를 PBS 중에 5 μg/mL로 희석된 20 μl의 huCD48-huFc, cyCD48-huFc, huCD48-bio, 또는 대조군으로서의 BSA (시그마, A7906)로 4℃에서 밤새 코팅하였다. 다음날, 플레이트를 TBST (TBS-0.05% 트윈20)로 120 μL/웰로 3회 세척하였다. 플레이트를 실온에서 3시간 동안 120 μL/웰의 5% 분유/PBS로 차단하고, TBST로 120 μL/웰로 3회 세척하였다. 항체를 100nM에서 45pM까지 1:3 희석하고, 20 μL/웰을 첨가하였다. 실온에서 1시간 인큐베이션한 후, 플레이트를 TBST로 120 μL/웰로 3회 세척하였다. 검출을 위해, 0.25% 분유/PBS + 0.05% 트윈20 중 20 μl AP 접합된 항-huIgG, Fab 단편 특이적 (잭슨, 109-055-097)을 1:5000 희석률로 웰마다 첨가하였다. 실온에서 1시간 인큐베이션한 후, 플레이트를 TBST로 120 μL/웰로 3회 세척하였다. 아토포스(Attophos) 형광 기질 (로슈, 11681982001)을 물 중에 1:5로 희석하고, 20 μL/웰을 첨가하고, 10분 동안 인큐베이션하고, 흡광도를 405 nm에서 측정하였다. ELISA를 사용하여, 인간 및 시노몰구스 CD48에 대한 후보 항체 NY920 및 NY938의 특이적 결합을 검출하였다.

[2927] 정제된 항체를 또한 세포 상에서 발현된 인간 및 시노몰구스 CD48에 대한 결합에 대해 시험하였다. $5x10^5$ 인간 또는 시노몰구스 CD48 과다발현 HKB11 세포 뿐만 아니라 야생형 세포를 96 웰 플레이트 (써모 피셔 (Thermo Fischer), 눈클론 델타 서피스(Nunclon Delta Surface) 163320)의 1개의 웰에 염색마다 적용하였다. 항체를 3가지 농도, 100, 10, 및 1 μg/ml로 적용하였다. 항체를 웰마다 50 μl PBS/1% FCS (FACS 완충제) 중에 희석하고, 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 웰을 300g에서 2분 동안 원심분리에 의해 250 μl FACS 완충제로 2회 세척하고, 플레이트를 뒤집고 종이 상에 두드려 상청액을 제거하였다. 검출을 위해, FACS 완충제 희석된 마우스 항-인간 Fab, PE-접합 (잭슨-109-116-097) 중 50 μl 1:2000을 웰마다 첨가하고, 암소에서 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 250 μl FACS 완충제로 2회 세척하고, FACS 분석을 위해 웰마다 200 μl FACS 완충제 중에 현탁시켰다. 세포를 BD 칼리버(Calibur) 상에서 분석하였다. FACS 분석은 인간 및 시노몰구스 CD48에 대한 후보 항체 NY920 및 NY938의 특이적 결합을 밝혀내었다.

[2928] 실시예 5: 인간 및 시노몰구스 CD48 단백질에 대한 항-CD48 항체의 친화도 및 다른 특성

[2929] 인간 CD48 및 그의 마카카 파시쿨라리스(Macaca fascicularis) 오르토로그에 대한 다양한 항체의 친화도를 단백질 A 센서 칩 (시티바(Cytiva), 주문 # 29-1275-56)이 장착된 비아코어(Biacore) T200 기기 (시티바)를 사용하여 SPR 기술을 사용하여 결정하였다.

[2930] 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA 및 0.05% (v/v) 계면활성제 P20 (테크노바(Teknova), 주문 # H8022)을 함유하는 HBS-EP+ pH 7.4를 구동 완충제로서 뿐만 아니라 샘플 희석을 위해 사용하였다.

[2931] 항-CD48 항체를 5 μg/ml로 희석하고, 유동 세포 2 및 4 상에 20초 동안 10 μl/분으로 주입하였다. 모든 항체에 대한 포획 수준은 370-440 RU였다. 유동 세포 1 및 3을 블랭크로 두고 (포획된 항체 없음), 참조 표면으로서 사용하였다. 인간 및 시노몰구스 CD48은 용액 중에서 분석물로서의 역할을 하였다. 동역학적 데이터를 모든

유동 세포에 대해 180초 동안 50μl/분으로 분석물 1:2 희석 시리즈 (인간 CD48: 100-0.8 nM, 시노몰구스 CD48: 500-3.9 nM)의 후속 주입에 이어서 360초의 해리 시간에 의해 획득하였다. 항체 포획 및 분석물 주입의 각각의 사이클 후에, 칩 표면을 10 mM 글리신-HCl pH 1.5 (시티바, 주문 # BR100354)로 2x 30초 동안 50μl/분의 유량으로 재생시켰다. 이중 측정 및 완충제 블랭크 주입를 사용한 3회 실행을 수행하였다. 측정을 25℃에서 수행하고, 데이터를 10 Hz의 속도로 수집하였다.

[2932] 비아코어 8K 평가 소프트웨어를 사용하여 데이터를 평가하였다. 미가공 데이터를 이중 참조하였고, 즉 측정 유동 세포의 반응을 참조 유동 세포 (포획된 항체 없음)의 반응에 대해 보정하고, 제2 단계에서 블랭크 주입 (완충제)의 반응을 차감하였다. 마지막으로, RI (0)의 상수 피트 및 R_{max}에 대한 글로벌 피트로 1:1 상호작용 모델을 적용함으로써 센서그램을 피팅하였다. 동역학적 속도 상수 (k_a, k_d) 및 평형 해리 상수 (K_D)를 계산하였다. 데이터를 각각의 실행에 대해 개별적으로 처리하였다. 생성된 값을 사용하여 각각의 평형 해리 상수 및 동역학적 속도 상수의 평균 값 및 표준 편차를 계산하였다.

[2933] 표 8: 인간 및 시노몰구스 CD48에 대한 항-CD48 항체의 친화도

항-CD48 항체	분석물	k_a [1/Ms]	k_d [1/s]	K_D [M]
NY920	시노 CD48	$1.7E^{4}$	$1.6E^{-3}$	$9.4E^{-8}$
	인간 CD48	$7.2E^{4}$	$7.4E^{-4}$	$1.0E^{-8}$
NY938	시노 CD48	$2.5E^{5}$	$3.7E^{-4}$	$1.5E^{-9}$
	인간 CD48	$2.5E^{5}$	$1.3E^{-4}$	$5.0E^{-10}$

[2934]

[2935] 돌연변이된 인간 CD48 단백질 구축물에 대한 항체 결합

[2936] CD48 단백질의 3D 구조 모델에 기초하여, 단백질의 3개의 노출된 루프를 선택하고, PCR을 이용하는 부위 지정 돌연변이유발에 의해 변화시켰다. 항체 결합 에피토프를 ELISA에 의해 결정하였다.

[2937] 돌연변이된 부위는 GSSKQ (서열식별번호: 74) (구축물 #2248)로 변형된 잔기 50-55 ENYKQ (서열식별번호: 73), AAGK (서열식별번호: 76) (구축물 #2249)로 변형된 잔기 70-74 DSRK (서열식별번호: 75), 및 KKDASG (서열식별번호: 78) (구축물 #2250)로 변형된 잔기 103-108 KKTGNE (서열식별번호: 77)이었다.

[2938] 주형 구축물, hCD48EC:마우스-Ig는 시판 벡터 "트루클론, CD48 (태그부착되지 않은)-인간 CD48 분자 (오리진, NM_001778.2)로부터 증폭된 면역화를 위한 인간 CD48-마우스 IgG1 융합 단백질을 발현하도록 생성된 발현 플라스미드로부터 유래되었다. 부위 지정 돌연변이유발을 위한 프라이머는 마이크로신쓰(Microsynth) (스위스)에 의해 합성하였다.

[2939] 에피토프 비닝을 위한 ELISA를 HEKT293 배양 상청액 및 항-CD48 항체의 1:10 희석물로 500, 250 및 25 ng/ml에서 수행하였다. 비-돌연변이된 CD48-마우스 IgG 융합 펩티드는 양성 대조군으로서 기능하였고, 비-형질감염된 세포 상청액은 음성 대조군으로서 기능하였다. 검출은 염소 α-마우스 IgG (H+L) HRP (인비트로젠, 31430)를 사용하여 수행하였다.

[2940] 도 1에 제시된 바와 같이, 후보 항체 NOV3731 및 NY258은 구축물 #2250에 대한 결합을 상실하였고, 구축물 #2248에 대한 감소된 결합을 나타내었는데, 따라서 NY258은 구축물 #2248에서의 아미노산 50-55의 돌연변이에 의해 보다 강한 영향을 받는다. 대조군 항체인 인간화 CD48A는 비-돌연변이된 CD48 단백질과 동일한 범위로 구축물 #2250에 대한 결합을 나타냈고, 구축물 #2248에는 결합하지 않았다.

[2941] 이들 분석은 항체 NOV3731 및 NY258이 CD48A와 비교하여 상이한 에피토프에 결합한다는 것을 나타내었다.

[2942] NY938 IgG와 복합체화된 인간 CD48 EC 도메인의 X선 결정학적 구조 결정을 위한 시약의 생성

[2943] 인간 CD48의 3차원 구조는 지금까지 알려지지 않았다. 항-CD48 NY938-hIgG1_카파 (a-fuc)와 복합체화된 인간 CD48 세포외 도메인 단편의 결정 구조를 결정하였다. 하기 상술된 바와 같이, 인간 CD48, 아미노산 29-130을 발현시키고, 정제하고, 항-CD48-NY938-hIgG1_카파 (a-fuc)와 혼합하여 복합체를 형성하고, 이를 후속적으로 결정화하였다. 이어서, 단백질 결정학을 이용하여 NY938에 결합된 인간 CD48에 대한 원자 해상도 데이터를 생성하여 에피토프를 정의하였다.

[2944] 표 9: 결정학을 위해 생산된 인간 CD48 및 항-CD48-NY938-hIgG1_카파 (a-fuc)의 아미노산 서열

NY938 복합체 형성 및 결정화에 대한 Met-인간CD48(aa29-130)-APP6-Avi-His (서열식별번호:66)	MHLVHMTVVSGSNVTLNISESLPENKQLTWFYTFDQKI VEWDSRKSKYFESKFKGRVRLDPQSGALYISKVQKED NSTYIMRVLKKTGNEQEWKIKLQVLDPGLNDIFEAQKIE WHEHHHHHH
중쇄 항-CD48-NY938-hIgG1_카파 (a-fuc) (서열식별번호:70)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEYTM HWVRQAPGQGLEWMGGINPDTGDTSYNQKFTGR ATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAQF WTTPRFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
경쇄 항-CD48-NY938-hIgG1_카파 (a-fuc) (서열식별번호:51)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVAWYQ QKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDVATYYCQQYSTYPITFGQGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[2945]

[2946] NY938-hIgG1 생성을 위해, HEK293T 세포를 PeiMAX (폴리사이언스(Polyscience), 24765)를 적용하는 발현 구축물로 일시적으로 형질감염시켰다. 간략하게, 세포를 M11V3 무혈청 배지 (바이오컨셉트(Bioconcept), CH, Cat: V3K)에서 배양하고, 최종 부피의 36%로 $2.8x10^6$ 세포/ml로 조정하였다. 0.8 mg/l 최종 부피의 DNA를 7% 최종 부피의 M11V3 중에 희석하고, 부드럽게 혼합함으로써 DNA 용액 (용액 1)을 제조하였다. 배양물의 오염을 방지하기 위해, 이 용액을 0.22μm 필터 (예를 들어 밀리포어 스테리컵(Millipore Stericup))를 사용하여 여과할 수 있다. 이어서, 2.4 mg/l 최종 부피의 PEI 용액을 7% 최종 부피의 M11V3 중에 희석하고, 부드럽게 혼합하였다 (용액 2). 두 용액을 실온에서 5 내지 10분 동안 인큐베이션하였다. 그 후에, 용액 2를 완만하게 혼합하면서 용액 1에 첨가하고, 실온에서 추가로 5 내지 15분 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 형질감염 믹스를 세포에 첨가하고, 배양물을 4 내지 6시간 동안 배양하였다. 마지막으로, 잔류 50% 배양 부피에 대해 조정하기 위해, ExCell VPRO 배지 (시그마알드리치(SigmaAldrich), Cat: 14561C)를 첨가하였다. 세포 배양을 7일 동안 계속하였다. 상청액을 4500rpm, 20분, 4℃에서 원심분리하고 (헤라에우스(Heraeus), 멀티퓨즈(Multifuge) 3 SR), 멸균 필터, 0.22μm (스테리컵 필터)를 통해 여과하였다. 950 ml의 세포 배양 상청액 (2.6mg/ml)을 25 ml Mab 셀렉트 슈어 칼럼 (2 CV의 0.1 M NaOH로 스트리핑됨; PBS, pH 7.4로 평형화됨) 상에 1 ml/분으로 밤새 로딩하였다. PBS, pH 7.4로 기준선 세척한 후, 결합된 물질을 50 mM 시트레이트/140 mm NaCl, pH 2.7로 용리시키고, pH를 5 M NaOH를 사용하여 7.2로 조정하고, 멸균 여과하였다. 분석은 14.3%의 단백질 응집을 나타내었다. Mab 셀렉트 슈어 용리액을 아미콘 교반 셀, MWCO 30 kDa (밀리포어; # PLTK04310)를 사용하여 10 ml로 농축시키고, 농축된 물질을 10 ml 샘플 루프를 통해 하이로드 XK26/600 슈퍼덱스(Superdex) 200 프렙그레이드 칼럼에 주입하였다. 구동 완충제: PBS, pH 7.4; 유량: 1.0 ml/분; 5 ml 분획을 수집하였다. 단백질을 함유하는 분획을 풀링하고 2.48mg/ml에서 34ml를 나타냈다.

[2947] Met-인간CD48 (aa29-130)-APP6-Avi-His를 이. 콜라이에서 1 리터 규모로 발현시켰다. 먼저, 단백질 단편을 코

딩하는 플라스미드를 화학적으로 적격인 TG1F$^-$ 이. 콜라이 세포 내로 형질전환시켰다. 37℃에서 LB/한천/1% 글루코스/25μg/ml 카나마이신 플레이트 상에서 박테리아를 밤새 성장시킨 후, 하나의 콜로니를 사용하여 3 ml 사전-배양물 (2xYT/1.0% 글루코스/34μg/ml 카나마이신)에 접종하였다. 배양물을 OD600nm=2에 도달할 때까지 220 rpm에서 진탕하면서 37℃에서 인큐베이션하였다. 이어서, 사전-배양물을 100mL 사전배양물 (2xYT/1.0% 글루코스/25μg/ml 카나마이신)로 옮겼다. 이 배양물을 OD600nm=2에 도달할 때까지 220 rpm에서 진탕하면서 37℃에서 인큐베이션하였다. 다음날, 10mL 사전-배양물을 1000ml 발현 배양물 (2xYT/0.1% 글루코스/25μg/ml 카나마이신)로 옮겼다. 발현 배양물을 1.0-1.2의 OD_{600nm}에 도달할 때까지 200 rpm에서 진탕하면서 37℃에서 인큐베이션하였다. IPTG를 1 mM의 최종 농도로 첨가하여 발현을 유도하였다. 발현을 20℃ 및 200 rpm에서 밤새 수행하였다. 다음날, 세포를 펠릿화하고, -80℃에서 동결시켰다.

[2948] 박테리아 펠릿을 1 그램 팔레트당 10ml 용해 완충제 (0.1M 트리스/HCl, 0.1M NaCl, 1mM EDTA, 3mM 메티오닌, 0.1% 리소자임) 중에 현탁시키고, 4℃에서 30분 동안 완만하게 교반하면서 인큐베이션하였다. 10 mM MgCl2 및 10 U/ml 벤조나제를 첨가하고, 세포를 다시 4℃에서 30분 동안 부드럽게 교반하였다. 용해된 세포는 프렌치 프레스를 통해 800 bar에서 2회 계대배양하였다. 0.5 부피의 60 mM EDTA, 1.5 M NaCl, 5% (v/v) 트리톤 X-100 용액을 첨가한 후, 교반하면서 4℃에서 60분 동안 인큐베이션하였다. 세포 파편을 10,000 g에서 30분 동안 원심분리에 의해 제거하였다. 펠릿을 1 부피의 50mM 트리스/HCl, 0.8M NaCl, 30mM EDTA, 3mM 메티오닌으로 2회 및 50mM 트리스/HCl, 0.3M NaCl, 10mM EDTA, 3mM 메티오닌으로 3회 세척하였다.

[2949] 봉입체 (IB)를 실온에서 밤새 각각의 그램에 대해 10 ml의 6M 구아니딘 pH 8.5, 20 mM 트리스, 1 mM EDTA, 및 5 mM DTT 중에 가용화시켰다. 가용화된 IB에 20 mM DTT를 보충하고, 리폴딩에 적용하였다. 4℃의 50 mM 트리스 pH 8.5, 0.5 M Arg, 5 mM EDTA, 4 mM, GSH, 1.5 mM GSSG 중에서 리폴딩을 수행하고, 리폴딩을 TFF 장치 (컷오프, 5 kDA) 상에서 농축시켰다. 농축된 리폴드를 10 mM Hepes, 100 mM NaCl pH 7로 미리 평형화시킨 5 mL HisTrap 엑셀 칼럼 상에 로딩하였다. 칼럼을 동일한 완충제로 기준선까지 세척하고, 20 mL 완충제 중 0에서 100% 500 mM 이미다졸의 선형 구배에 의해 용리를 수행하였다. 단백질을 함유하는 분획을 풀링하고, 10 mM Hepes, 100 mM NaCl pH 7에 대해 투석하여 이미다졸을 제거하였다. 단백질을 -80℃에서 동결시켰다.

[2950] NY938 IgG-CD48 복합체의 결정화 및 구조 결정

[2951] 인간 CD48과 NY938-IgG의 복합체는 단백질을 1.4mg/ml의 총 농도를 갖는 25mM Hepes pH 7, 150mM NaCl 중 1.5:1.0 몰비 평형으로 혼합함으로써 제조하였다. 결정을 시팅 드롭 증기 확산 방법에 의해 스위스시(Swissci) 96-웰 2-드롭 MRC 결정화 플레이트에서 성장시켰다. 상세하게, 0.2μl의 단백질을 0.2μl의 저장 용액과 혼합하고, 드롭을 20℃에서 80μl의 동일한 저장 용액에 대해 평형화시켰다. X선 회절 분석에 적합한 결정을 0.1M 아세트산나트륨 3수화물, 40%w/v PEG200으로 제조된 저장 용액으로 10일 내에 수득하였다. 데이터 수집을 위해, 하나의 항-CD48 (29-130)-Avi-His// 항-CD48 (NY938)-hIgG1_카파 결정을 동결-루프에 탑재하고, 액체 질소 중에서 직접 플래쉬 냉각시켰다.

[2952] 회절 데이터를 스위스 라이트 소스(Swiss Light Source) (폴 쉐러 인스티튜트(Paul Scherrer Institute), 스위스)의 빔라인 X10SA (PX-II)에서 필라투스 (Pilatus) 픽셀 검출기 및 0.99984Å 파장의 X선으로 수집하였다. 총, 각각 0.25도 진동의 720개의 영상이 430mm의 결정에서 검출기까지의 거리에서 기록되었다. 데이터를 처리하고, autoPROC 툴박스를 사용하여 2.38Å 해상도에서 스케일링하였다 (Vonrhein, C., Flensburg, C., Keller, P., Sharff, A., Smart, O., Paciorek, W., Womack, T. & Bricogne, G. (2011)). 결정은 셀 치수 a= 60.58Å, b= 85.25Å, c= 246.62Å, 알파=90°, 베타=90.0°, 감마=90°를 갖는 공간군 $P2_12_12_1$에 있었다. 인간 CD48 잔기 29-130/NY938 Fab 복합체 구조를 페이저(Phaser)를 사용하여 분자 대체에 의해 해석하였다 (McCoy et al., (2007) J. Appl. Cryst. 40:658-674). 최종 모델을 COOT에서 구축하고 (Emsley et al., (2010) Acta Crystallogr. Sect. D: Biol. Crystallogr. 66:486-501] 참조), 부스터(Buster) (글로벌 페이징, 리미티드(Global Phasing, LTD))를 사용하여 각각 20.1% 및 24.8%의 R_{work} 및 R_{free} 값으로 정밀화하였고, 결합 길이 및 결합 각에 대해 각각 0.007Å의 rmsd 및 1.11° 이었다. NY938 Fab 내의 임의의 원자의 4.0Å 내에 있는 원자를 함유하는 인간 CD48 잔기 29-130 중의 잔기는 CCP4 프로그램 스위트의 프로그램 Ncont (Collaborative Computing Project, Number 4 (1994) Acta Crystallogr. Sect. D: Biol. Crystallogr. 50:760-763)에 의해 확인되었고 표 10 및 11에 열거되어 있다.

[2953] CD48-NY938 IgG 복합체의 결정 구조를 사용하여 NY938 IgG에 대한 CD48 에피토프를 확인하였다. NY938 IgG에 의한 인간 CD48 상의 상호작용 표면은 아미노산 잔기 54 내지 64, 및 잔기 105 내지 121을 포괄하는 2개의 불연

속 (즉, 비인접) 서열에 의해 형성된다. 이들 중에서, 표 10 및 11에 상세된 바와 같이, 잔기 54, 58, 60, 61, 62, 64, 105, 107, 119, 111, 114, 115, 117, 119 및 121이 (비-수소 원자 사이의) 4.0Å보다 더 짧은 직접 분자간 접촉에 의해 맵핑될 수 있다.

[2954] 표 10. 인간 CD48과 NY938-IgG 중쇄 (H) 사이의 상호작용. CD48 잔기는 인간 CD48 서열 (서열식별번호: 53)에 기초하여 넘버링된다. NY938-IgG 중쇄 잔기는 서열식별번호: 65의 아미노산 서열에 기초하여 넘버링된다. 제시된 CD48 잔기는 NY938 IgG 내의 원자의 4.0Å 내에 적어도 1개의 원자를 갖는다.

인간 **CD48**		**NY938 중쇄**		
아미노 산	잔기 번호	아미노 산	잔기 번호	쇄
Phe	58	Thr	103	H
Thr	60	Asp	57	H
Phe	61	Thr	33	H
		Gly	50	H
		Asn	52	H
		Asp	57	H
		Thr	103	H
Asp	62	Ser	59	H
Thr	105	Trp	102	H
Ile	107	Trp	102	H
		Thr	103	H
Arg	109	Thr	103	H
		Thr	104	H
Glu	117	Gln	100	H
		Phe	101	H
		Thr	104	H
		Arg	106	H
Glu	119	Phe	101	H
		Trp	102	H
		Thr	103	H
Lys	121	Trp	102	H

[2955]

[2956] 표 11. 인간 CD48과 NY938-IgG 경쇄 (H) 사이의 상호작용. CD48 잔기는 인간 CD48 (서열식별번호: 53)에 기초하여 넘버링된다. NY938 IgG 경쇄 잔기는 서열식별번호: 51의 아미노산 서열에 기초하여 넘버링된다. 제시된 CD48 잔기는 NY938 IgG 내의 원자의 4.0Å 내에 적어도 1개의 원자를 갖는다.

인간 **CD48**		**NY938 경쇄**		
잔기	번호	잔기	번호	쇄
Gln	54	Thr	31	L
		Trp	50	L
Phe	61	Tyr	94	L
Asp	62	Tyr	94	L
Lys	64	Ser	92	L
Arg	109	Trp	50	L
Leu	111	Trp	50	L
Thr	114	Thr	53	L
Gly	115	Tyr	49	L
		Trp	50	L
		Thr	53	L
Glu	117	Trp	50	L

[2957]

[2958] NY938을 모 항체 NY258에 기초하여 친화도 성숙시켰다. 돌연변이된 인간 CD48 단백질 구축물을 사용한 에피토프 비닝 (도 1)은 CD48에 대한 NY258의 주요 접촉이 CD48 단백질 아미노산 50-55, 및 105-108의 영역 내에 있음을 보여주었다. 이러한 결과는 NY938 IgG-CD48 복합체의 결정화 및 구조 결정과 일치한다.

[2959] 실시예 6: 항-CD48 ADC의 접합 및 분석 특징화

[2960] 예시적인 항체-약물 접합체 (ADC)를 하기 기재된 예시적인 방법을 사용하여 합성하였다. 예시적인 ADC의 제조에 사용된 항-CD48 항체는 NY920 CysMab 및 NY938 CysMab였다 (표 12). 용어 "CysmAb" 또는 "CysMab"는 말레이미드 기를 통해 항체에 링커-페이로드를 접합시키는 데 사용되는 항체의 중쇄 내의 시스테인 돌연변이를 지칭한다. 본원에 사용된 모든 전장, 접합된 CD48 Ab는 조작된 시스테인 돌연변이 E152C 및 S375C (EU 시스템에 따라 넘버링됨)를 함유한다.

[2961] 표 12. 예시된 ADC의 합성에 사용된 항체

항체	서열 (중쇄/경쇄)
NY920 CysMab	서열식별번호: 12, 25
NY938 CysMab	서열식별번호: 38, 51

[2962]

[2963] CD48 mAb의 모노-MCL1 링커-페이로드에의 접합

[2964] ADC는 그의 전체 내용이 본원에 참조로 포함되는 PCT/US2020/033602에 기재된 접합 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 예시적인 ADC NY920 CysMab-L5-P1 및 NY938 Cys-Mab-L5-P1을 하기 항체-L5-P1 방법을 사용하여 제조하였다.

[2965] 항체-L5-P1 (NY920 CysMab-L5-P1 및 NY938 Cys-Mab-L5-P1):

[2966] 인간화 CD48A-CysMab 항체 (중쇄 서열: QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTFTGEPSYGNVFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARRHGN GNVFDSWGQGTLVTVSSATKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열식별번호: 55); 경쇄 서열 EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSNIHWYQQKPDQSPKLLIKYTSESISGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQSNSWPLTFGGGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC (서열식별번호: 56)), NY920 CysMab 중쇄 및 경쇄, 및 NY938 CysMab 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 발현 벡터를 폴리에틸렌이민을 사용하여 현탁액 HEK293 세포 내로 형질감염시키고, 5일 동안 배양하였다. 배양 상청액을 원심분리에 의해 수확하고, 여과하고, 항체를 단백질 A 친화성 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 필요한 경우에, 응집체를 크기 배제 크로마토그래피에 의해 제거하였다. 친화성 크로마토그래피 후의 항체 순도를 분석용 크기 배제 크로마토그래피에 의해 결정하였고, 이는 >98% 단량체였다. 항체를 포스페이트 완충 염수 pH 7.2 중에서 완충시켰다. 20 mg의 각각의 항체 (0.136 μmol, 1.0 당량)를 2 ml의 침강된 RMP 단백질 A 수지 (지이 라이프사이언시스(GE Lifesciences), 17513803)와 함께 인큐베이션하고, 15분 동안 교반하였다. 시스테인 HCl 1수화물을 20 mM의 최종 농도로 첨가하고, 실온에서 30분 동안 교반하면서 인큐베이션하여 반응성 시스테인이 탈차단되도록 하였다. 수지를 진공 매니폴드 상에서 50 칼럼 부피의 PBS로 신속하게 세척하였다. 이어서, 수지를 250 nM $CuCl_2$를 함유하는 동등 부피 PBS 중에 재현탁시켰다. 항체 쇄간 디술피드의 재형성을 시점을 취함으로써 모니터링하였다. 각각의 시점에, 25 μL의 수지 슬러리를 제거하고, 1 μL의 20 mM MC-valcit-PAB-MMAE를 첨가하고, 튜브를 수회 플리킹하였다. 수지를 스핀 다운시키고, 상청액을 제거한 다음, 50 μL 항체 용리 완충제 (써모 사이언티픽, 21004)로 용리시켰다. 수지를 펠릿화하고, 상청액을 애질런트 PLRP-S 4000A 5 μm, 4.6x50mm 칼럼 (완충제 A는 물, 0.1% TFA, 완충제 B 아세토니트릴, 0.1% TFA, 칼럼은 80℃에서 유지됨, 유량 1.5 ml/분; 구배 0분 - 30%B, 5분 - 45%B, 6.5분 - 100%B, 8분 - 100%B, 10분 - 30%)을 사용하여 역상 크로마토그래피에 의해 분석하였다. $CuCl_2$ 첨가 60분 후, 진공 매니폴드 상에서 50 칼럼 부피의 PBS로 세척함으로써 $CuCl_2$를 제거한 다음, 2 ml의 PBS를 첨가하여 재현탁시켰다. 상기 수지 및 항체의 슬러리에, L5-P1 (DMSO 중 20 mM 용액 55 μl, 1.088 μmol, 8 당량)을 첨가하였다. 이어서, 생성된 혼합물을 주위 온도에서 3시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 수지를 50 칼럼 부피의 PBS로 세척하였다. ADC를 항체 용리 완충제 (써모 사이언

티픽, 21004)를 사용하여 수지로부터 용리시켰다. 이어서, ADC를 투석에 의해 1X PBS (20X PBS, 테크노바(Teknova)P0191)로 완충제 교환하고, 응집체를 제거하기 위해 둘베코 PBS pH 7.2 (하이클론(Hyclone) SH30028.03) 중에 용리되는 정제용 크기 배제 크로마토그래피를 하이로드(HiLoad) 16/600 슈퍼덱스(Superdex) 200 pg (지이 헬스케어, 28989335)을 사용하여 수행하였다. 이어서, 물질을 아미콘 울트라-15, 50KDa, 재생 셀룰로스 (밀리포어, UFC0905024)를 사용하는 원심 농축기를 사용하여 4.5 mg/ml로 농축시키고, 0.22μm 멸균 PVDF 필터, 25mm (밀라포어, SLGV013SL)를 통해 멸균 여과하고, 4℃에서 저장하였다. 최종 수율은 14 mg (0.093 μmol)이었다. 하기 분석을 수행하였다: 퍼센트 단량체를 결정하기 위한 분석용 크기-배제 크로마토그래피 (SEC), DAR을 결정하기 위한 질량 분광분석법 (MS), 내독소 로드를 결정하기 위한 LAL 시험, 및 항체의 흡광 계수 및 분자량을 이용하여 A280에 의해 결정된 단백질 농도. HRMS 데이터 (단백질 방법)는 중쇄+2 종의 우세한 질량을 나타내었고, DAR 4.2 (NY920 CysMab-L5-P1) 및 4.0 (NY938 CysMab-L5-P1)을 DAR1 DAR2 및 DAR3 종에 대한 피크의 MS 강도를 비교함으로써 계산하였다. SEC는 210 및 280 nm에서의 고분자량 피크 흡광도의 면적과 단량체 ADC에 대한 피크 흡광도의 면적의 비교에 의해 결정된 바와 같이 1.8% 응집을 나타내었다.

[2967] 분석 방법

[2968] 예시적인 ADC의 약물-대-항체 비 (DAR)는 PCT/US2020/033602 (그의 전체 내용이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 방법에 따라 액체 크로마토그래피-질량 분광측정법 (LC/MS)에 의해 결정될 수 있다.

[2969] 일반적 방법론 (1): 예시적인 ADC의 약물-대-항체 비 (DAR)를 하기 방법에 따라 액체 크로마토그래피-질량 분광측정법 (LC/MS)에 의해 결정하였다. 모든 LC 방법에 대해, 이동상 A는 정제된 MS 등급 물 (허니웰(Honeywell), LC015-1)이었고, 이동상 B는 MS 등급 80% 이소프로판올 (허니웰 LC323-1): 20% 아세토니트릴 (허니웰, LC015-1), LC323-1) (1%의 포름산 (FA) (써모 사이언티픽 (Thermo Scientific), 85178)으로 보충됨)이었다. 칼럼 온도를 80℃로 설정하였다. 일반적 MS 방법은 합성된 모든 ADC에 대해 최적화되었다. 분석에 사용된 칼럼은 애질런트 PLRP-S 4000 A; 2.1x150mm, 8um (애질런트, PL1912-3803)였다. 사용된 유량은 0.3 ml/분이었다. 사용된 구배는 액퀴티 바이오 H-클래스 사원 UPLC (워터스) 상에서 0-0.75분 95%A, 0.76-1.9분 75%A, 1.91-11.0분 50%A, 11.01-11.50 10%A, 11.51-13.50분 95%A, 13.51-18분 95%A였다. MS 시스템은 제보 (Xevo) G2-XS QToF ESI 질량 분광계 (워터스(Waters))였고, 데이터를 1.5-11분으로부터 획득하고, 질량은 15000-80000 달톤 사이에서 분석되었다. DAR은 비접합된 및 접합된 주어진 종 (mAb 또는 회합된 단편)의 적분된 MS (총 이온 전류) 또는 UV (280 nm) 피크 면적을 합하여 디컨볼루션된 스펙트럼 또는 UV 크로마토그램으로부터 결정하였고, 각각의 면적에 부착된 약물의 수를 곱하여 가중하였다. 합산된 가중 면적을 총 면적의 합으로 나누고, 결과는 전체 ADC에 대한 최종 평균 DAR 값을 산출하였다.

[2970] 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) (1)

[2971] 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)를 수행하여 ADC의 품질 및 정제 후의 응집 백분율 (%)을 결정하였다. 분석은 분석 칼럼 슈퍼덱스 200 인크리즈 5/150 GL (지이 헬스케어, 28990945) 상에서 150 mM NaCl 및 1 mM EDTA으로 보충된 등용매 조건 PBS pH 7.2 ((하이클론 SH30028.03)), 유량 0.45 ml/분에서 8분 동안 수행하였다. ADC 샘플의 % 응집체 분획을 280 nm에서의 피크 면적 흡광도를 기준으로 하여 정량화하였다. 계산은 280 nm에서의 고분자량 용리액을 고분자량 및 단량체 용리액의 동일한 파장에서의 피크 면적 흡광도의 합으로 나눈 비에 100%를 곱한 것에 기초하였다. 데이터는 와이어트(Wyatt) 미니DAWN 광 산란 및 트레오스(Treos) 굴절률 검출기가 장착된 애질런트 바이오-이너트(Agilent Bio-Inert) 1260 HPLC (와이어트 테크놀로지스(Wyatt Technologies), 캘리포니아주 산타 바바라) 상에서 획득하였다.

[2972] 실시예 7: CD48 MCL-1 ADC의 시험관내 평가

[2973] CD48 MCL-1 항체 약물 접합체를 3종의 내인성 암 세포주: NCI-H929 (RPMI-1640 + 10% FBS + 0.05 mM 2-메르캅토에탄올 중에서 배양된 ATCC 번호 CRL-9068), KMS-21BM (RPMI-1640 + 10% FBS 중에서 배양된 JCRB 번호 JCRB1185) 및 KMS-27 (RPMI-1640 + 10% FBS 중에서 배양된 JCRB 번호 JCRB1188)에 대해 시험하였다.

[2974] 세포 증식 및 생존의 억제

[2975] 세포 증식 및 생존을 억제하는 MCL-1 항체 약물 접합체의 능력을 프로메가 셀타이터-글로(Promega CellTiter-Glo)® 증식 검정을 사용하여 평가하였다. ADC는 일반적으로 실시예 6에 기재된 바와 같이 생성하였다. 세포주를 조직 배양 인큐베이터에서 5% CO_2, 37℃에서 그의 성장에 최적인 배지에서 배양하였다. 증식 검정을 위한 시딩 전에, 세포를 검정 적어도 2일 전에 분할하여 최적 성장 밀도를 보장하였다. 시딩일에, 세포 생존율 및 세포 밀도를 세포 계수기 (비-셀(Vi-Cell) XR 세포 생존율 분석기, 베크만 쿨터(Beckman Coulter))를 사용하여

결정하였다. 85% 초과의 생존율을 갖는 세포를 백색 투명 바닥 384-웰 TC 처리된 플레이트 (코닝(Corning) cat. # 3765)에 시딩하였다. 세포를 45μL의 표준 성장 배지 중에 웰당 1,000개 세포의 밀도로 시딩하였다. 플레이트를 조직 배양 인큐베이터에서 5% CO_2, 37℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 다음날, 유리 MCL-1 페이로드 (P1), 표적화 MCL-1 ADC, 및 비-표적화 이소형 (IgG) ADC를 표준 성장 배지에서 10X로 제조하였다. 이어서, 제조된 MCL-1 페이로드 (P1) 처리를 세포에 첨가하여 0.005-100 nM의 최종 농도 및 웰당 50 uL의 최종 부피를 생성하였다. 제조된 CD48 표적화 및 이소형 매칭된 비-표적화 대조군 ADC 처리를 세포에 첨가하여 0.015-300 nM의 최종 농도 및 웰당 50 uL의 최종 부피를 생성하였다. 각각의 약물 농도를 4중으로 시험하였다. 플레이트를 조직 배양 인큐베이터에서 5% CO_2, 37℃에서 5일 동안 인큐베이션한 후, 세포를 용해시키고 총 아데노신 트리포스페이트 (ATP) 함량을 측정하는 시약인 셀타이터 글로® (프로메가, cat# G7573) 25μL의 첨가를 통해 세포 생존율을 평가하였다. 플레이트를 실온에서 10분 동안 인큐베이션하여 발광 신호를 안정화시킨 후, 발광 판독기 (엔비전 멀티라벨 플레이트 판독기, 퍼킨엘머)를 사용하여 판독하였다. 약물 처리의 효과를 평가하기 위해, 비처리된 세포를 함유하는 웰로부터의 발광 카운트 (100% 생존율)를 사용하여 처리된 샘플을 정규화하였다. 가변 기울기 모델을 적용하여 그래프패드 프리즘(GraphPad PRISM) 버전 7.02 소프트웨어에서 비선형 회귀 곡선을 데이터에 피팅하였다. IC50 및 Amax 값을 생성된 곡선으로부터 외삽하였다.

[2976] 대표적인 암 세포주의 용량 반응 곡선이 도 2에 제시된다. 세포 성장 또는 생존의 50%를 억제하는 데 요구되는 처리 농도 (IC50)를 시험된 세포주의 대표적인 IC50 값으로 계산하였고, 표 13에 요약된다.

[2977] 대표적인 암 세포주는 1.16-11.17 nM 활성 범위의 IC50 값으로 MCL-1 페이로드, P1에 감수성인 것으로 나타났다. NCI-H929 및 KMS-21-BM에 대해 시험된 CD48 표적화 MCL-1 ADC는 이소형 매칭된 비-표적화 대조군 ADC인 IgG-L7-P1에 비해 0.159-0.440 nM 범위의 IC50으로 시험관내 효능을 입증하였다. 모든 CD48 표적화 MCL-1 ADC는 NCI-H929 및 KMS-21-BM에 대해 동등한 시험관내 효능을 입증하였다. MCL-1 페이로드, P1에 대한 감수성에도 불구하고, CD48 표적화 MCL-1 ADC는 KMS-27에 대해 시험한 경우에 세포 증식의 억제를 유도하지 않았고, 이소형 매칭된 비-표적화 대조군 ADC, IgG-L7-P1과 유사하였다.

[2978] 표 13. CD48 MCL-1 ADC의 세포독성

ADC	KMS-21-BM		KMS-27		NCI-H929	
	IC50 (nM)	Amax (스팬)	IC50 (nM)	Amax (스팬)	IC50 (nM)	Amax (스팬)
CD48A CysMab-L7-P1	0.440	82.6	--	--	0.168	99.2
NY938 CysMab-L5-P1	0.271	88.5	--	--	0.159	105.5
NY920 CysMab-L5-P1	0.241	83.5	--	--	0.317	94.0
IgG-L7-P1	--	--	--	--	--	--
P1	1.16	100.9	11.17	99	4.73	110.3

[2979]

[2980] 이들 연구는 MCL-1 ADC가 CD48을 발현하는 다양한 암 세포주에 대해 세포 증식을 억제할 수 있음을 나타낸다. 시험된 암 세포주에 대해 이소형 매칭된 비-표적화 대조군에 의한 어떠한 세포독성 활성도 관찰되지 않았다.

[2981] 실시예 8: CD48 MCL-1 ADC 및 Bcl-2 억제제의 시험관내 평가

[2982] 조합물

[2983] CD48 MCL-1 항체 약물 접합체 및 BCL2 억제제 조합을 3종의 내인성 암 세포주에 대해 시험하였다: RPMI-1640 + 10% FBS + 0.05 mM 2-메르캅토에탄올 중에서 배양된 NCI-H929: ATCC 번호 CRL-9068, RPMI-1640 + 10% FBS 중에서 배양된 KMS-21-BM: JCRB 번호 JCRB1185, 및 RPMI-1640 + 10% FBS 중에서 배양된 KMS-27: JCRB 번호 JCRB1188.

[2984] 세포 증식 및 생존의 억제

[2985] 세포 증식 및 생존을 억제하는 CD48 표적화 MCL-1 항체 약물 접합체의 능력을 프로메가 셀타이터-글로® 증식 검정을 사용하여 평가하였다. ADC는 일반적으로 실시예 6에 기재된 바와 같이 생성하였다. 세포주를 조직 배

양 인큐베이터에서 5% CO_2, 37℃에서 그의 성장에 최적인 배지에서 배양하였다. 증식 검정을 위한 시딩 전에, 세포를 검정 적어도 2일 전에 분할하여 최적 성장 밀도를 보장하였다. 시딩일에, 세포 생존율 및 세포 밀도를 세포 계수기 (비-셀 XR 세포 생존율 분석기, 베크만 쿨터)를 사용하여 결정하였다. 85% 초과의 생존율을 갖는 세포를 백색 투명 바닥 384-웰 TC 처리된 플레이트 (코닝 cat. # 3765)에 시딩하였다. 세포를 40 μL의 표준 성장 배지 중에 웰당 1,000개 세포의 밀도로 시딩하였다. 플레이트를 조직 배양 인큐베이터에서 5% CO_2, 37℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 다음날, CD48 표적화 MCL-1 ADC 및 비-표적화 이소형 ADC를 표준 성장 배지에서 10X로 제조하였다. 제조된 CD48 표적화 및 이소형 매칭된 비-표적화 대조군 ADC 처리물을 세포에 첨가하여 0.015-300 nM의 최종 농도 및 웰당 50 μL의 최종 부피를 생성하였다. 각각의 화합물에 대해 3가지 조건을 평가하였다. 화합물을 단일 작용제로서, 베네토클락스와의 조합으로 및 BCL2 억제제 화합물 A1과의 조합으로 평가하였다. 베네토클락스 및 BCL2 억제제 화합물 A1을 100 nM 최종 농도로 투여하였다. 각각의 약물 농도를 4중으로 시험하였다. 플레이트를 조직 배양 인큐베이터에서 5% CO_2, 37℃에서 5일 동안 인큐베이션한 후, 세포를 용해시키고 총 아데노신 트리포스페이트 (ATP) 함량을 측정하는 시약인 셀타이터 글로® (프로메가, cat# G7573) 25 μL의 첨가를 통해 세포 생존율을 평가하였다. 플레이트를 실온에서 10분 동안 인큐베이션하여 발광 신호를 안정화시킨 후, 발광 판독기 (엔비전 멀티라벨 플레이트 판독기, 퍼킨엘머)를 사용하여 판독하였다. 약물 처리의 효과를 평가하기 위해, 비처리된 세포를 함유하는 웰로부터의 발광 카운트 (100% 생존율)를 사용하여 처리된 샘플을 정규화하였다. 가변 기울기 모델을 적용하여 그래프패드 프리즘 (GraphPad PRISM) 버전 7.02 소프트웨어에서 비선형 회귀 곡선을 데이터에 피팅하였다. IC50 및 Amax 값을 생성된 곡선으로부터 외삽하였다.

[2986] 대표적인 암 세포주의 용량 반응 곡선이 도 3-4에 제시된다. 세포 성장 또는 생존의 50%를 억제하는 데 요구되는 처리 농도 (IC50)를 시험된 세포주의 대표적인 IC50 값으로 계산하였고, 표 14-16에 요약된다.

[2987] 대표적인 암 세포주는 NCI-H929 및 KMS-21-BM에 대해 시험된 CD48 표적화 MCL-1 ADC에 감수성인 것으로 나타났으며, 이는 이소형 매칭된 비-표적화 대조군 ADC, IgG-L42-P1에 비해 시험관내 효능을 입증하였고, IC50은 0.181 nM-0.260 nM 범위였다. 베네토클락스 또는 BCL2 억제제 화합물 A1과 조합된 CD48 표적화 MCL-1 ADC는 0.039 nM만큼 낮은 IC50으로 시험관내 효능의 증가를 입증하였다. KMS-27 암 세포주는 CD48 표적화 MCL-1 ADC의 단일 작용제 활성에 비감수성이었다. 그러나, 이 모델에서, 베네토클락스 및 BCL2 억제제 화합물 A1과 조합된 CD48 표적화 MCL-1 ADC는 이소형 매칭된 비-표적화 대조군 ADC에 비해 0.030 nM만큼 낮은 IC50으로 시험관내 효능을 입증하였다.

[2988] 표 14: NY920-L42-P1 시험관내 활성

	NY920-L42-P1		NY920-L42-P1 + 100 nM 베네토클락스		NY920-L42-P1 + 100 nM BCL2 억제제 화합물 A1	
	IC50 (nM)	Amax (스퀜)	IC50 (nM)	Amax (스퀜)	IC50 (nM)	Amax (스퀜)
KMS-21-BM	0.232	77.9	0.148	98.6	0.200	77.4
NCI-H929	0.260	55.8	0.322	65.1	0.202	79.6
KMS-27	--	--	0.030	133.6	<1*	--

[2989]

[2990] 주: *를 갖는 결과는 억제 곡선이 수렴할 수 없었음을 나타낸다.

[2991] 표 15: NY938-L42-P1 시험관내 활성

	NY938-L42-P1		NY938-L42-P1 + 100 nM 베네토클락스		NY938-L42-P1 + 100 nM BCL2 억제제 화합물 A1	
	IC50 (nM)	Amax (스퀜)	IC50 (nM)	Amax (스퀜)	IC50 (nM)	Amax (스퀜)
KMS-21-BM	<0.5*	--	0.039	115.6	0.086	77.3
NCI-H929	0.181	52.7	0.132	67.7	0.148	77.3
KMS-27	--	--	<5*	--	<5*	--

[2992]

[2993] 주: *를 갖는 결과는 억제 곡선이 수렴할 수 없었음을 나타낸다.

[2994] 표 16. IgG1-L42-P1 시험관내 활성

	IgG1-L42-P1		IgG1-L42-P1 + 100 nM 베네토클락스		IgG1-L42-P1 + 100 nM BCL2 억제제 화합물 A1	
	IC50 (nM)	Amax (스팬)	IC50 (nM)	Amax (스팬)	IC50 (nM)	Amax (스팬)
KMS-21-BM	49.1	103.0000	44.8	114.1	33.7	98.2
NCI-H929	58.6	55.1	70.4	64.3	53.8	68.8
KMS-27	--	--	19.0	66.3	25.9	98.8

[2995]

[2996] 이들 연구는 CD48 표적화 MCL-1 ADC가 CD48을 발현하는 다양한 암 세포주에서 세포 증식을 억제할 수 있음을 나타낸다. 대표적인 암 세포주의 세포 증식은 또한 CD48 표적화 MCL-1 ADC 플러스 다양한 BCL2 억제제: 베네토클락스 및 BCL2 억제제 화합물 A1의 조합에 의해 억제되었다.

[2997] 실시예 9: 정맥내 (IV) 투여 후 H929 다발성 골수종 모델에서 CD48-표적화 MCL-1 ADC의 생체내 치료 효과

[2998] 포스페이트-완충 염수 (PBS) 중에 제제화된 3종의 CD48-표적화 MCL-1 ADC의 생체내 치료 효과를 H929 다발성 골수종 모델에서 정맥내 (IV) 투여 후 결정하였다.

[2999] 물질 및 방법

[3000] 하기 표의 ADC를 본 생체내 검정에서 시험하였다.

IgG1-링커-페이로드 Fc 침묵
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1
항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1
항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1

[3001]

[3002] 대조군 ADC IgG1-링커-페이로드 Fc 침묵은 IgG1-L42-P1 DAPA이다. NY920_CysmAb Fc 침묵 (또한 NY920 Cysmab DAPA로 표지됨)은 서열식별번호: 14의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 25의 경쇄 아미노산 서열을 갖는다. NY920_CysmAb Fc WT (또한 NY920 Cysmab로 표지됨)는 서열식별번호: 12의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 25의 경쇄 아미노산 서열을 갖는다. NY938_CysmAb Fc 침묵 (또한 NY938 Cysmab DAPA로서)은 서열식별번호: 40의 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 51의 경쇄 아미노산 서열을 갖는다. ADC를 실시예 6에 기재된 절차에 따라 제조하였다.

[3003] ATCC로부터 입수한 H929 세포를 10% FBS가 보충된 RPMI에서 배양하였다. 세포를 100% 매트리겔 (BD 바이오사이언시스) 중에 재현탁시키고, $5x10^6$ 세포를 함유하는 0.1ml를 찰스 리버(Charles River)에 의해 제공된 암컷 SCID 마우스의 우측 측복부에 피하로 접종하였다. 종양이 적절한 부피에 도달하였을 때, 마우스를 이지 스타트 소프트웨어를 사용하여 군당 6마리의 동물로 무작위화하였다. IgG1-링커-페이로드 Fc 침묵, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵_L42-P1, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1 및 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 (15 및 30 mg/kg)을 PBS 중에서 1회 IV 주사하였다. 마우스 체중을 주 3회 모니터링하고, 종양 크기를 전자 캘리퍼를 사용하여 측정하였다. 종양 부피를, 최소 및 최대 종양 직경을 측정하고 하기 식을 사용하여 추정하였다: (최소 직경)^2(최대 직경)/2. 대조군 동물의 적어도 절반이 연구에 여전히 존재하는 마지막 날 (d11), 종양 성장 억제를 하기 식을 사용하여 계산하였다:

$$\left(1-\frac{\text{중앙값 (치료군 중 Dx에서의 DTV)}}{\text{중앙값 (대조군 중 Dx에서의 DTV)}}\right)\times 100$$

[3004]

[3005] Dx시의 DTV (델타 종양 부피)는, Dx시의 TV - 무작위화시의 TV로 계산하였다. 종양 부피가 2000 mm^3를 초과하는 제1 측정에서 또는 동물 건강 악화의 제1 징후에서 마우스를 희생시켰다. 모든 실험은 서비어 리서치 인스티튜트(Servier Research Institute) (IdRS) 윤리 위원회에 의한 승인 후에 2018년에 시행 중인 프랑스 규정에 따라 수행하였다. SCID 마우스를 기관 가이드라인에 따라 유지하였다.

[3006] 결과

[3007] H929 이종이식편에 대한 상이한 항-CD48 표적화 MCL-1 ADC의 효능을 도 5에 예시한다. 치료는 종양 세포 접종 11일 후에 시작하였다 (중앙 크기: 165 mm^3). IgG1-링커-페이로드 Fc 침묵 (비-표적화 ADC FS), 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵_L42-P1, 항-CD48 NY920_CysmAb WT_L42-P1 및 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 (CD48-표적화 ADC FS 또는 WT)을 15 또는 30mg/kg으로 1회 IV 투여하였다. 제11일에, 도 5 및 표 17에 도시된 바와 같이, 비-표적화 ADC FS를 사용한 치료 시 매우 제한된 종양 성장 억제 (%TGI)가 관찰되었다 (TGI = 31.3%). CD48-표적화 ADC NY938 FS에 의해 보다 높은 억제가 유도되었지만, 용량-의존성은 없었다 (각각 15 및 30mg/kg에서 TGI = 60.86% 및 59.34%). CD48-표적화 MCL-1 ADC NY920 FS를 사용한 치료 시 용량-의존성 효과가 관찰되었고 (15 및 30mg/kg에서 TGI =36.36% 및 80.01%), 가장 강한 항종양 활성은 CD48-표적화 MCL-1 ADC NY920 WT에 의해 부여되어, 최고 시험 용량에서 완전 퇴행을 유도하였다 (각각 15 및 30mg/kg에서 TGI =89.99% 및 101%, 대조군과 비교하여 $p \leq 0.001$). 치료로 인한 임상적으로 관련된 체중 감소 또는 다른 임상 징후는 관찰되지 않았다.

[3008] 표 17: IgG1-링커-페이로드 Fc 침묵, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵_L42-P1, 항-CD48 NY920_CysmAb WT_L42-P1 및 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 (15 또는 30 mg/kg, IV 1회 투여, n=6)을 사용한 치료 시의 H929 종양 성장 억제.

[3009]

치료	용량 (mg/kg) /스케줄	%TGI (d11)
IgG1-링커-페이로드 Fc 침묵	30 QD, IV	31.3
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1	15 QD, IV	36.36
항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1	15 QD, IV	89.99
항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_ L42-P1	15 QD, IV	60.86
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵_ L42-P1	30 QD, IV	80.01
항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_ L42-P1	30 QD, IV	101
항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1	30 QD, IV	59.34

[3010] 실시예 10: 정맥내 (IV) 투여 후 KMS-21-BM 다발성 골수종 모델에서 CD48-표적화 MCL-1 ADC의 생체내 치료 효과

[3011] 포스페이트-완충 염수 (PBS) 중에 제제화된 CD48-표적화 MCL-1 ADC의 생체내 치료 효과를 KMS-21-BM 다발성 골수종 모델에서 정맥내 (IV) 투여 후에 결정하였다.

[3012] 물질 및 방법

[3013] 보르테조밉을 셀렉켐(Selleckchem)에서 구입하였다. 하기 표의 ADC를 이 생체내 검정에서 시험하였다.

[3014]

IgG1-링커-페이로드 Fc WT
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc WT
항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1

[3015] 대조군 ADC IgG1-링커-페이로드 Fc WT는 IgG1-L42-P1임.

[3016] JCRB로부터 입수한 KMS-21-BM 세포를 10% FBS이 보충된 RPMI에서 배양하였다. 세포를 100% 매트리겔 (BD 바이오사이언시스) 중에 재현탁시키고, $10x10^6$ 세포를 함유하는 0.1ml를 Jax에 의해 제공된 암컷 NSG 마우스의 우측 측복부에 피하로 접종하였다. 종양이 적절한 부피에 도달하였을 때, 마우스를 이지 스타트 소프트웨어를 사용하여 군당 6마리의 동물로 무작위화하였다. IgG1-링커-페이로드 Fc WT, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1 (10 및/또는 30 mg/kg) 및 보르테조밉 (0.5 mg/kg)을 단독으로 또는 조합으로 각각 PBS 및 NaCl 0.9% 중에서 1회 IV 주사하였다. 마우스 체중을 주 3회 모니터링하고, 종양 크기를 전자 캘리퍼를 사용하여 측정하였다. 종양 부피를, 최소 및 최대 종양 직경을 측정하고 하기 식을 사용하여 추정하였다: (최소 직경)^2(최대 직경)/2. 제21일에 종양 성장 억제를 하기 식을 사용하여 계산하였다:

[3017] $$\left(1-\frac{\text{중앙값 (치료군 중 Dx에서의 DTV)}}{\text{중앙값 (대조군 중 Dx에서의 DTV)}}\right)\times 100$$

[3018] Dx시의 DTV (델타 종양 부피)는, Dx시의 TV - 무작위화시의 TV로 계산하였다. 종양 성장 지연 (TGD)은 각각의 군에서 중앙 종양 부피가 500 mm^3에 도달하는 데 요구되는 일수로서 계산하였다. 종양 부피가 2000 mm^3를 초과하는 제1 측정에서 또는 동물 건강 악화의 제1 징후에서 마우스를 희생시켰다. 모든 실험은 서비어 리서치 인스티튜트 (IdRS) 윤리 위원회에 의한 승인 후에 2018년에 시행 중인 프랑스 규정에 따라 수행하였다. NSG 마우스를 기관 가이드라인에 따라 유지하였다.

[3019] 결과

[3020] KMS-21-BM 이종이식편에 대한 항-CD48 표적화 MCL-1 ADC (단독으로 또는 보르테조밉과 조합하여)의 효능을 도 6에 예시한다. 치료는 종양 세포 접종 17일 후에 시작하였다 (중앙 크기: 190 mm^3). IgG1-링커-페이로드 Fc WT (비-표적화 ADC WT), 항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT (CD48-표적화 네이키드 mAb WT), 항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1 (CD48-표적화 ADC WT)을 단독으로 및/또는 보르테조밉 (0.5 mg/kg, 1회 IV)과 조합하여 10 및/또는 30mg/kg으로 1회 IV 투여하였다. 도 6 및 표 18에 도시된 바와 같이, 단일 작용제로서의 보르테조밉은 완전 퇴행을 유도하였고, 제21일에 88.09%의 종양 성장 억제 (%TGI)를 가졌다. CD48-표적화 ADC WT를 사용한 치료 시에 매우 유사한 항종양 활성이 수득되었다 (TGI = 107.11%). 조합 시에, 비-표적화 ADC는 훨씬 열등한 종양 성장 지연에 의해 입증된 바와 같이 보르테조밉의 효과를 추가로 개선시키지 않았다 (TGD = 24.81일 vs 42.53일, 표 18). 반대로, CD48-표적화 네이키드 mAb WT (TGD = 60.29일) 또는 CD48-표적화 ADC WT (각각 10 및 30mg/kg에서 TGD = 45.76 및 >120일)와의 조합은 보다 높은 항종양 활성을 유도하였고, 상기 ADC는 네이키드 mAb에 비해 우수하였다. 치료로 인한 임상적으로 관련된 체중 감소 또는 다른 임상 징후는 관찰되지 않았다.

[3021] 표 18. IgG1-링커-페이로드 Fc WT, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1 (10 및/또는 30 mg/kg) 및 보르테조밉 (0.5 mg/kg) (단독으로 또는 조합으로 IV 1회 투여됨, n=6)을 사용한 치료 시의 KMS-21-BM 종양 성장 억제.

[3022]

치료	용량 (mg/kg) /스케줄	%TGI (d21)	TGD (일)
보르테조밉 (BTZ)	0.5 QD, IV	88.09	42.53
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc WT_L42-P1	30 QD, IV	107.11	49.99
IgG1-링커-페이로드 Fc WT + BTZ	30+0.5 QD, IV	98.24	24.81
항-CD48 NY938_CysmAb Fc WT + BTZ	30+0.5 QD, IV	110.95	60.29
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc WT_L42-P1 + BTZ	10+0.5 QD, IV	112.36	45.76
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc WT_L42-P1 + BTZ	30+0.5 QD, IV	115.96	>120

[3023] 실시예 11: 정맥내 (IV) 투여 후 KMS27 다발성 골수종 모델에서 2종의 CD48-표적화 ADC의 생체내 치료 효과.

[3024] 포스페이트-완충 염수 (PBS) 중에 제제화된 2종의 CD48-표적화 MCL-1 ADC의 생체내 치료 효과를 KMS27 다발성 골수종 모델에서 정맥내 (IV) 투여 후에 결정하였다.

[3025] 물질 및 방법

[3026] ABT-199 (베네토클락스로도 공지됨)는 우시(Wuxi)에서 구입하였다. 하기 표의 ADC를 본 생체내 검정에서 시험하였다.

[3027]

항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1
항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵
항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1

[3028] JCRB로부터 입수한 KMS27 세포를 10% FBS가 보충된 RPMI에서 배양하였다. 세포를 50% 매트리겔 (BD 바이오사이언시스) 중에 재현탁시키고, $10x10^6$ 세포를 함유하는 0.1ml를 Jax에 의해 제공된 암컷 NSG 마우스의 우측 측복

부에 피하로 접종하였다. 종양이 적절한 부피에 도달하였을 때, 마우스를 이지 스타트 소프트웨어를 사용하여 군당 6마리의 동물로 무작위화하였다. 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵, 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 및 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 (2.5 및/또는 5 mg/kg)을 ABT-199 (50 mg/kg, 3 연속일 동안 PO = QD3, PEG/에탄올/포살 중)와 조합하여 PBS 중에서 1회 IV 주사하였다. 마우스 체중을 주 3회 모니터링하고, 종양 크기를 전자 캘리퍼를 사용하여 측정하였다. 종양 부피를, 최소 및 최대 종양 직경을 측정하고 하기 식을 사용하여 추정하였다: (최소 직경)^2 (최대 직경)/2. 제21일에 종양 성장 억제를 하기 식을 사용하여 계산하였다:

[3029] $$\left(1-\frac{\text{중앙값 (치료군 중 Dx에서의 DTV)}}{\text{중앙값 (대조군 중 Dx에서의 DTV)}}\right)\times 100$$

[3030] Dx시의 DTV (델타 종양 부피)는, Dx시의 TV - 무작위화시의 TV로 계산하였다. 종양 성장 지연 (TGD)은 각각의 군에서 중앙 종양 부피가 출발 종양 부피(무작위화시)에 다시 도달하는 데 요구되는 일수로서 계산하였다. 종양 부피가 2000 mm^3를 초과하는 제1 측정에서 또는 동물 건강 악화의 제1 징후에서 마우스를 희생시켰다. 모든 실험은 서비어 리서치 인스티튜트 (IdRS) 윤리 위원회에 의한 승인 후에 2018년에 시행 중인 프랑스 규정에 따라 수행하였다. NSG 마우스를 기관 가이드라인에 따라 유지하였다.

[3031] 결과

[3032] KMS27 이종이식편에 대한 2종의 항-CD48 MCL-1 ADC (ABT-199와 조합하여)의 효능을 도 7에 예시한다. 치료는 종양 세포 접종 18일 후에 시작하였다 (중앙 크기: 734 mm^3). 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵, 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵 (CD48-표적화 네이키드 mAb Fc 침묵), 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 및 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 (CD48-표적화 ADC Fc 침묵)을 ABT-199 (50 mg/kg, PO QD3)와 조합하여 2.5 및/또는 5mg/kg으로 1회 IV 투여하였다. 제4일에, 단일 작용제로서의 ABT-199에 의해 유도된 종양 성장 억제 (%TGI)는 120.82%였다 (도 7 및 표 19). 이는 CD48-표적화 네이키드 mAb와의 조합에 의해 실제로 개선되지 않았다 (NY920 및 NY938에 대해 각각 TGI = 119.18 및 130.5%). 대조적으로, 2.5 또는 5 mg/kg의 CD48-표적화 ADC와의 조합은 보다 강한 종양 퇴행을 유도하였다 (146.24 내지 151.38% 범위의 TGI, ABT-199 단독과 비교하여 $p<0.001$). 보다 상세하게, 용량-의존성 항종양 활성을 CD48-표적화 NY938 ADC는 나타내지 않은 반면 (각각 2.5 및 5 mg/kg에서 TGD= 14.21 및 14.22일), CD48-표적화 NY920 ADC는 나타내었다 (각각 2.5 및 5 mg/kg에서 TGD= 11.65 및 19.71일). 따라서, 가장 높은 시험된 용량에서 CD48-표적화 NY920 ADC는 CD48-표적화 NY938 1종에 비해 우수한 것으로 입증되었다. 치료로 인한 임상적으로 관련된 체중 감소 또는 다른 임상 징후는 관찰되지 않았다.

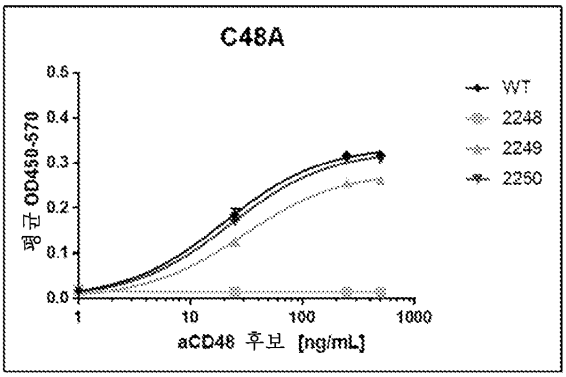
[3033] 표 19: 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵, 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵, 항-CD48 NY920_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 및 항-CD48 NY938_CysmAb Fc 침묵_L42-P1 (2.5 및/또는 5 mg/kg, IV 1회) 및 ABT-199 (50 mg/kg, PO QD3)를 단독 또는 조합으로 사용한 치료 시의 KMS27 종양 성장 억제 (n=6).

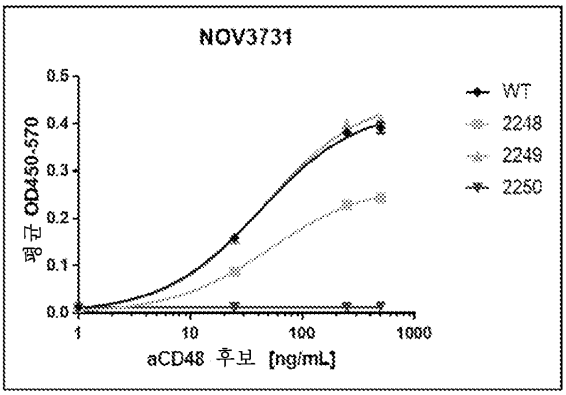
[3034]

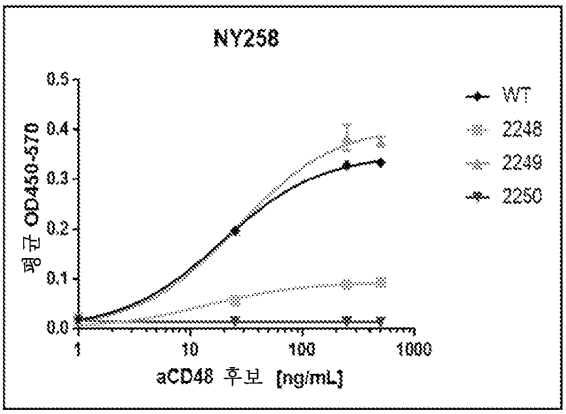
치료	용량 (mg/kg) /스케줄	%TGI (d4)	TGD (일)
ABT-199	50 QD3, PO	120.82	6.27
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵 + ABT-199	5+50 QD+QD3, IV+PO	119.18	3.83
항-CD48 NY938_ CysmAb Fc 침묵 + ABT-199	5+50 QD+QD3, IV+PO	130.5	4.69
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1 + ABT-199	2.5+50 QD+QD3, IV+PO	147.84	11.65
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1 + ABT-199	5+50M QD+QD3, IV+PO	151.38	19.71
항-CD48 NY938_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1 + ABT-199	2.5+50 QD+QD3, IV+PO	151.07	14.21
항-CD48 NY938_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1 + ABT-199	5+50M QD+QD3, IV+PO	146.24	14.22

도면

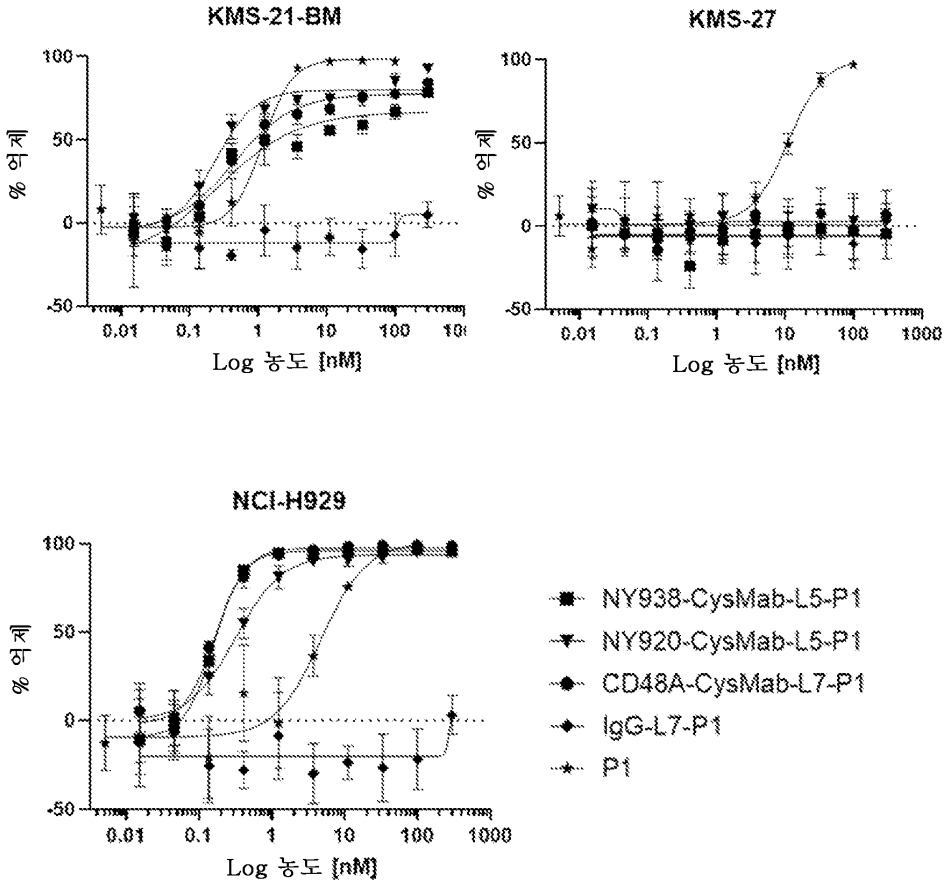
도면1


C48A
평균 OD450-570
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
1
10
100
1000
aCD48 후보 [ng/mL]
WT
2248
2249
2250

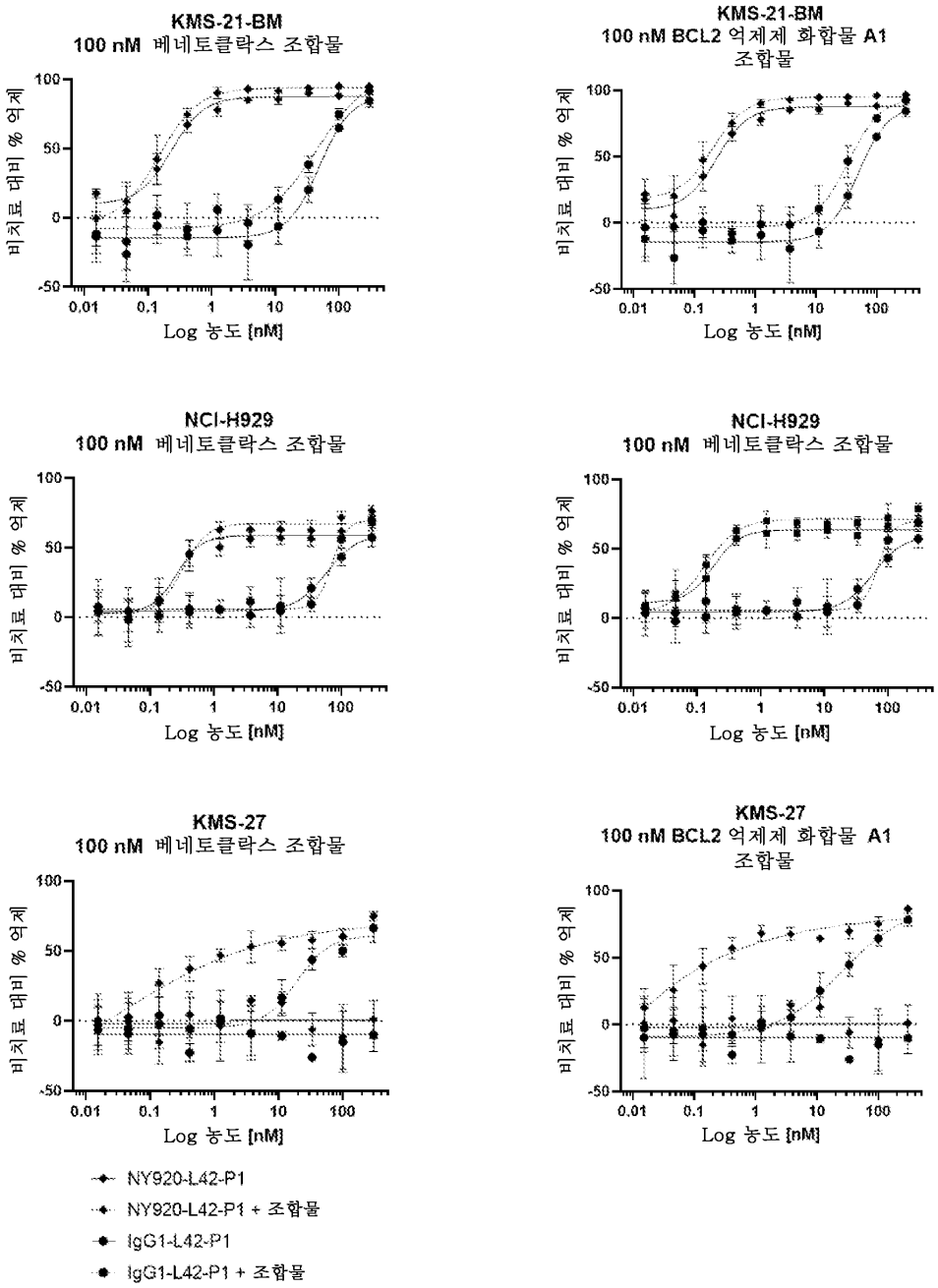

NOV3731
평균 OD450-570
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
1
10
100
1000
aCD48 후보 [ng/mL]
WT
2248
2249
2250


NY258
평균 OD450-570
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
1
10
100
1000
aCD48 후보 [ng/mL]
WT
2248
2249
2250

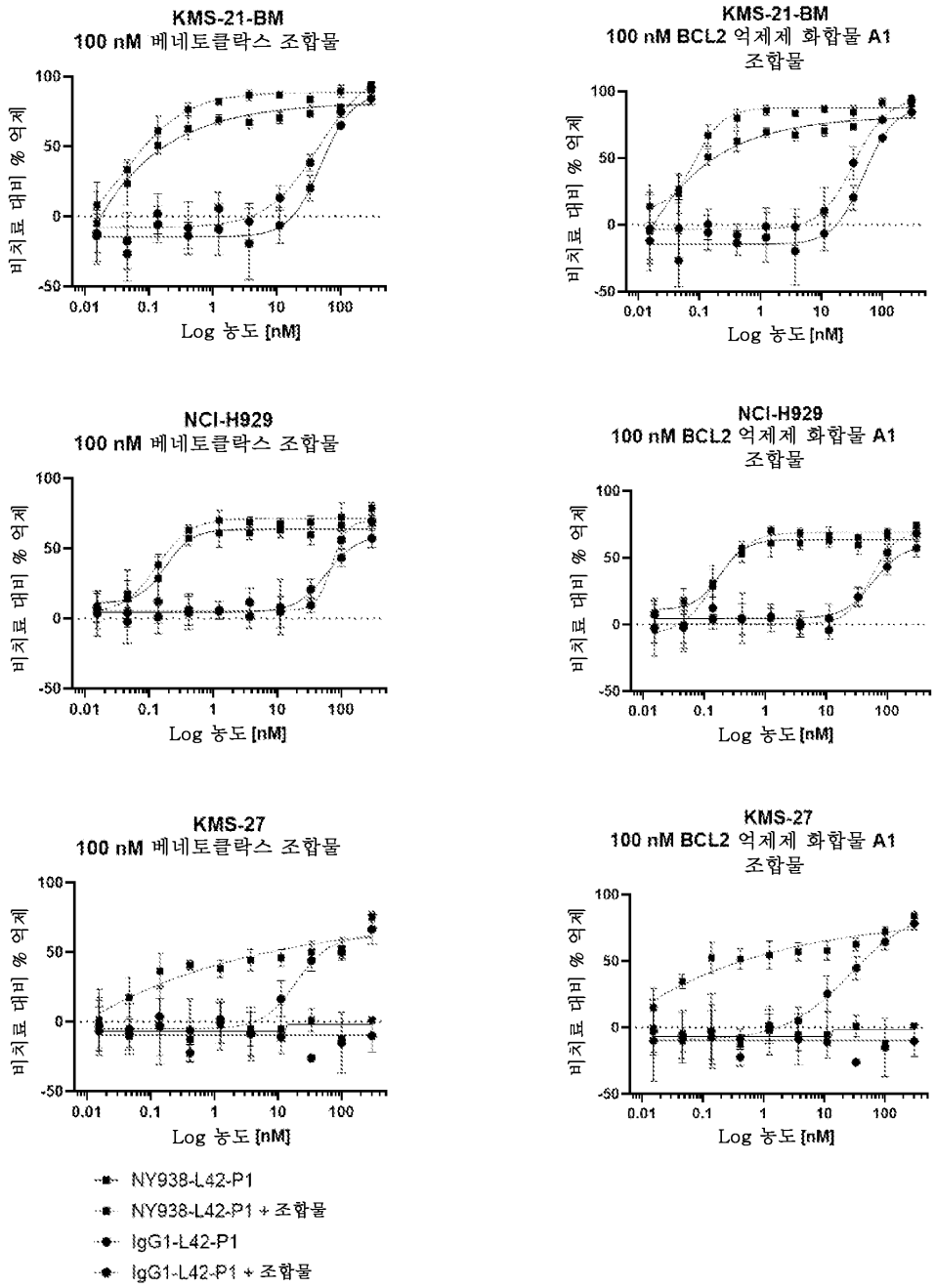
도면2


KMS-21-BM
KMS-27
NCI-H929
% 억제
Log 농도 [nM]
NY938-CysMab-L5-P1
NY920-CysMab-L5-P1
CD48A-CysMab-L7-P1
IgG-L7-P1
P1

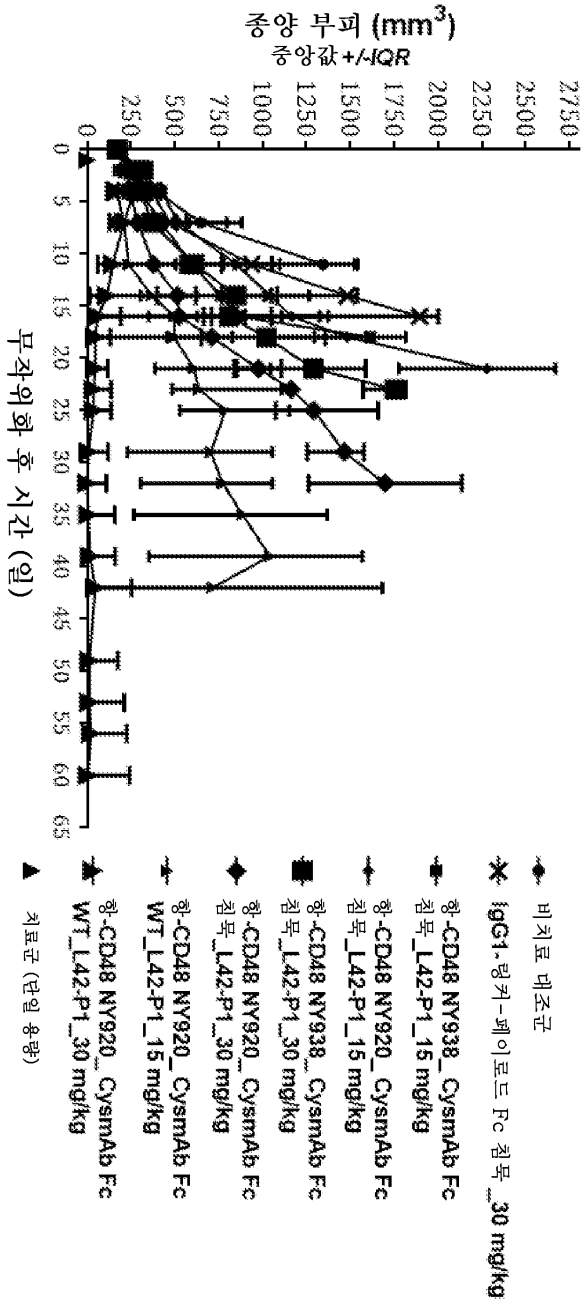
도면3


KMS-21-BM
100 nM 베네토클락스 조합물
비치료 대비 % 억제
Log 농도 [nM]
KMS-21-BM
100 nM BCL2 억제제 화합물 A1
조합물
NCI-H929
100 nM 베네토클락스 조합물
KMS-27
100 nM 베네토클락스 조합물
KMS-27
100 nM BCL2 억제제 화합물 A1
조합물
NY920-L42-P1
NY920-L42-P1 + 조합물
IgG1-L42-P1
IgG1-L42-P1 + 조합물

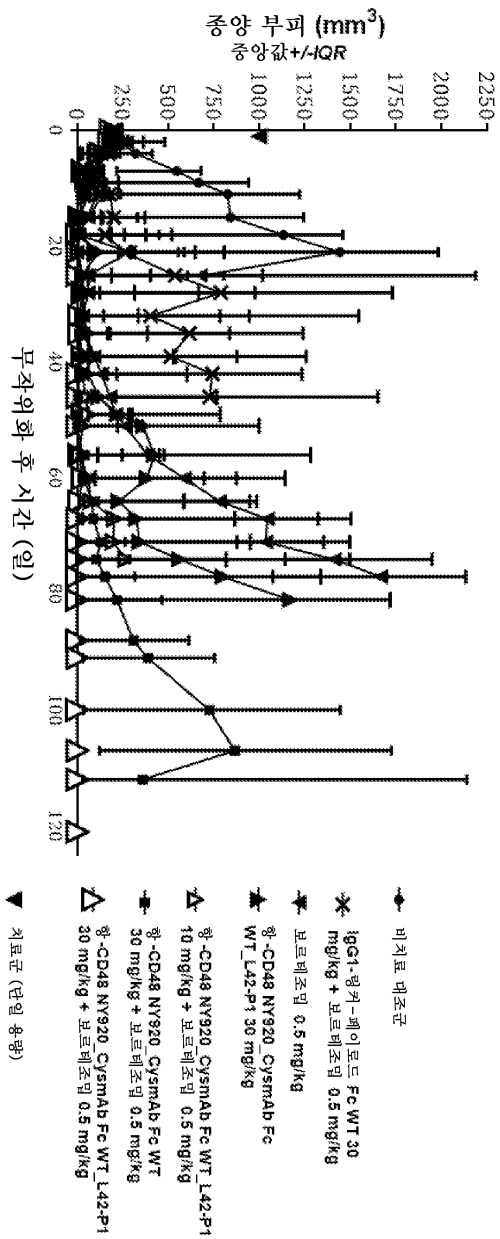
도면4


KMS-21-BM
100 nM 베네토클락스 조합물
KMS-21-BM
100 nM BCL2 억제제 화합물 A1
조합물
NCI-H929
100 nM 베네토클락스 조합물
NCI-H929
100 nM BCL2 억제제 화합물 A1
조합물
KMS-27
100 nM 베네토클락스 조합물
KMS-27
100 nM BCL2 억제제 화합물 A1
조합물
비치료 대비 % 억제
Log 농도 [nM]
NY938-L42-P1
NY938-L42-P1 + 조합물
IgG1-L42-P1
IgG1-L42-P1 + 조합물

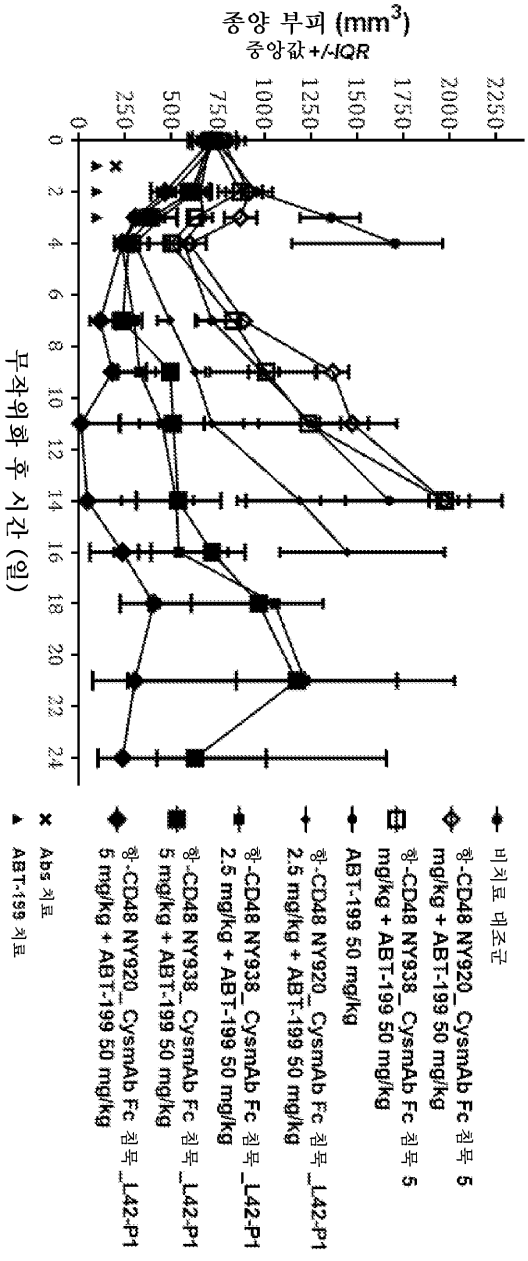
도면5


종양 부피 (mm3)
중앙값+/-IQR
0
250
500
750
1000
1250
1500
1750
2000
2250
2500
2750
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
무작위화 후 시간 (일)
비치료 대조군
IgG1-링커-페이로드 Fc 침묵 _30 mg/kg
항-CD48 NY938_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1_15 mg/kg
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1_15 mg/kg
항-CD48 NY938_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1_30 mg/kg
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc 침묵_L42-P1_30 mg/kg
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc WT_L42-P1_15 mg/kg
항-CD48 NY920_ CysmAb Fc WT_L42-P1_30 mg/kg
치료군 (단일 용량)

도면6


종양 부피 (mm3)
중앙값+/-IQR
0
250
500
750
1000
1250
1500
1750
2000
2250
무작위화 후 시간 (일)
0
20
40
60
80
100
120
비치료 대조군
IgG1-링커-페이로드 Fc WT 30 mg/kg + 보르테조밉 0.5 mg/kg
보르테조밉 0.5 mg/kg
항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1 30 mg/kg
항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1 10 mg/kg + 보르테조밉 0.5 mg/kg
항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT 30 mg/kg + 보르테조밉 0.5 mg/kg
항-CD48 NY920_CysmAb Fc WT_L42-P1 30 mg/kg + 보르테조밉 0.5 mg/kg
치료군 (단일 용량)

도면7



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> NOVARTIS AG

LES LABORATOIRES SERVIER

<120> MCL-1 INHIBITOR ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND METHODS OF USE

<130> 132043-00320

<140><141><150> 63/117,724

<151> 2020-11-24

<160> 79

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala Met Ser

1 5 10

<210

> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

Ala Ile Ser Gly Phe Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 3

Gln Phe Trp Glu Asp Gln Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 4

Ser Phe Ala Met Ser

1 5

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe

1 5

<210> 6

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 6

Ser Gly Phe Gly Gly Ser

1 5

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 7

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala

1 5

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 8

Ile Ser Gly Phe Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 9

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 9

Ala Arg Gln Phe Trp Glu Asp Gln Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 10

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

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

polypeptide"

<400> 10

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Phe Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 11

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 11

gaagtgcagc tgctggagtc cgggggtgga ctggtgcagc ccggaggttc cctgcggttg 60

tcttgtgccg cctcgggatt caccttctcg tccttcgcga tgagctgggt ccgccaagct 120

cctggaaaag ggctcgaatg ggtgtccgcg atcagcggat ttggcggctc cacctactac 180

gccgattcag tgaagggccg gttcaccatc tcacgggaca acagcaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga actccctgcg cgctgaggac accgcagtgt actactgcgc gagacagttc 300

tgggaggacc agccgttcta cttcgactac tggggacagg ggaccctcgt gactgtctcc 360

tcc 363

<210> 12

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 12

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Phe Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 13

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 13

gaagtgcagc tgctggagtc cgggggtgga ctggtgcagc ccggaggttc cctgcggttg 60

tcttgtgccg cctcgggatt caccttctcg tccttcgcga tgagctgggt ccgccaagct 120

cctggaaaag ggctcgaatg ggtgtccgcg atcagcggat ttggcggctc cacctactac 180

gccgattcag tgaagggccg gttcaccatc tcacgggaca acagcaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga actccctgcg cgctgaggac accgcagtgt actactgcgc gagacagttc 300

tgggaggacc agccgttcta cttcgactac tggggacagg ggaccctcgt gactgtctcc 360

tccgcctcca ctaagggccc atccgtgttc cctctggccc cttccagcaa gtccacctct 420

ggcggcaccg ccgctctggg ctgcctggtc aaggactact tcccctgtcc cgtgaccgtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacctccggc gtgcacacct tccctgccgt gctgcagtcc 540

tccggcctgt actccctgtc ctccgtcgtg accgtgccct ccagctctct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc tccaacacca aagtggacaa gcgggtggaa 660

cccaagtcct gcgacaagac ccacacctgt cctccctgcc ctgcccctga gctgctgggc 720

ggaccctccg tgttcctgtt ccctccaaag cccaaggaca ccctgatgat ctcccggacc 780

cctgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg atcccgaagt gaagttcaat 840

tggtacgtgg acggcgtgga agtgcacaac gccaagacca agcccagaga ggaacagtac 900

aactccacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960

aaagagtaca agtgcaaagt gtccaacaag gccctgcctg ccccaatcga aaagaccatc 1020

tccaaggcca agggccagcc ccgcgagccc caagtgtaca cactgcctcc cagccgggaa 1080

gagatgacca agaaccaagt gtccctgacc tgcctcgtga agggcttcta cccctgcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagtc caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc attcttcctg tactccaagc tgaccgtgga caagtcccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt ctcctgctcc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgtccct gagccccggc aag 1353

<210> 14

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 14

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Phe Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 15

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 15

gaagtgcagc tgctggagtc cgggggtgga ctggtgcagc ccggaggttc cctgcggttg 60

tcttgtgccg cctcgggatt caccttctcg tccttcgcga tgagctgggt ccgccaagct 120

cctggaaaag ggctcgaatg ggtgtccgcg atcagcggat ttggcggctc cacctactac 180

gccgattcag tgaagggccg gttcaccatc tcacgggaca acagcaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga actccctgcg cgctgaggac accgcagtgt actactgcgc gagacagttc 300

tgggaggacc agccgttcta cttcgactac tggggacagg ggaccctcgt gactgtctcc 360

tccgcctcca ctaagggccc tagcgtgttc ccactggcgc cttcctcgaa atcgactagc 420

gggggtaccg ccgctctggg atgcttggtg aaagactact ttccgtgtcc ggtgaccgtg 480

agctggaact ccggggcact cacctccggt gtgcatactt tccctgctgt cttgcagtcc 540

tcgggcctgt acagcctgtc ctccgtggtg accgtgcctt cgtcgtccct gggaacccag 600

acgtacatct gcaacgtgaa ccacaagccg agcaacacca aagtcgataa gagagtcgag 660

cccaagagct gcgataagac ccacacttgt ccgccttgtc ctgcccctga gcttctgggt 720

ggcccatcgg tgtttctgtt tcccccgaag cccaaagaca ccctgatgat ctcgcgcact 780

ccggaggtca cttgcgtggt cgtggcggtg tcccacgagg acccagaagt gaagtttaac 840

tggtacgtgg acggagtgga agtccacaac gcgaaaacta agccccggga ggaacaatac 900

aactccacct accgcgtcgt gtccgtgctc actgtgctgc accaggattg gctgaacggt 960

aaagagtaca agtgtaaggt gtcgaacaaa gccctcgccg cccctatcga aaagactatt 1020

tcgaaagcta agggccagcc gcgagaaccc caagtgtata ccctgccccc ttcacgggaa 1080

gagatgacta agaatcaggt gtcgctcacc tgtctggtga agggatttta tccctgcgac 1140

attgccgtgg agtgggaatc gaacggccag cctgagaaca actacaagac cactccgccg 1200

gtgcttgaca gcgacggttc gttcttcctc tactctaagc tcaccgtgga caagtcacgg 1260

tggcaacagg gcaacgtgtt ctcgtgctct gtgatgcacg aagctctcca caaccattac 1320

acccagaagt ccctcagcct cagcccgggg aag 1353

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 18

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 19

Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 20

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 20

Ala Ala Ser

1

<210> 21

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 21

Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

1 5

<210> 22

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 24

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

gatattcaga tgacccagtc cccgtcgtcg ctgagcgcca gcgtgggaga cagagtgacc 60

attacctgtc gggccagcca gtcgatctcc tcctaccttа actggtatca gcagaagcca 120

ggaaaggcac cgaaactgct gatctacgcc gcgtcctcct tgcaatccgg agtgccctca 180

aggttctccg ggtcgggttc tggcactgac tttaccctga ccatcagcag cctccagccc 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tcatactcca ccctctgac attcggccaa 300

gggaccaagg tcgaaatcaa g 321

<210> 25

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 26

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 26

gatattcaga tgacccagtc cccgtcgtcg ctgagcgcca gcgtgggaga cagagtgacc 60

attacctgtc gggccagcca gtcgatctcc tcctacctta actggtatca gcagaagcca 120

ggaaaggcac cgaaactgct gatctacgcc gcgtcctcct tgcaatccgg agtgccctca 180

aggttctccg ggtcgggttc tggcactgac tttaccctga ccatcagcag cctccagccc 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tcatactcca cccctctgac attcggccaa 300

gggaccaagg tcgaaatcaa gcgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttcccccca 360

agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Thr Met His

1 5 10

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 28

Gly Ile Asn Pro Asp Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Thr

1 5 10 15

Gly

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 29

Ala Gln Phe Trp Thr Thr Pro Arg Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 30

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 30

Glu Tyr Thr Met His

1 5

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 31

Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

1 5

<210> 32

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 32

Asn Pro Asp Thr Gly Asp

1 5

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 33

Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Thr

1 5

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 34

Ile Asn Pro Asp Thr Gly Asp Thr

1 5

<210> 35

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

Ala Arg Ala Gln Phe Trp Thr Thr Pro Arg Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 36

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Asp Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Gln Phe Trp Thr Thr Pro Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 37

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

caagtgcagc tcgtgcagtc cggagcggaa gtgaaaaagc ccggagcctc agtgaaagtg 60

tcctgcaaag cctcggggta caccttcacc gagtacacta tgcattgggt ccgccaagct 120

cctggtcaag gcctcgaatg gatgggcggc atcaatcccg acaccggcga caccagctat 180

aaccagaagt tcaccggacg cgccactctg actgtcgata agagcacaag caccgcctac 240

atggaactgt cgtccttgcg gtccgaggat accgccgtgt actactgcgc gagagcgcag 300

ttttggacta ccccgcggtt cgcctactgg ggacagggca ctctcgtgac tgtgtcatcg 360

<210> 38

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 38

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Asp Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ala Gln Phe Trp Thr Thr Pro Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 39

<211> 1350

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 39

caagtgcagc tcgtgcagtc cggagcggaa gtgaaaaagc ccggagcctc agtgaaagtg 60

tcctgcaaag cctcggggta caccttcacc gagtacacta tgcattgggt ccgccaagct 120

cctggtcaag gcctcgaatg gatgggcggc atcaatcccg acaccggcga caccagctat 180

aaccagaagt tcaccggacg cgccactctg actgtcgata agagcacaag caccgcctac 240

atggaactgt cgtccttgcg gtccgaggat accgccgtgt actactgcgc gagagcgcag 300

ttttggacta ccccgcggtt cgcctactgg ggacagggca ctctcgtgac tgtgtcatcg 360

gcgtccacca agggcccatc cgtgttccct ctggcccctt ccagcaagtc cacctctggc 420

ggcaccgccg ctctgggctg cctggtcaag gactacttcc cctgtcccgt gaccgtgtcc 480

tggaactctg gcgccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc 540

ggcctgtact ccctgtcctc cgtcgtgacc gtgccctcca gctctctggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaacca caagccctcc aacaccaaag tggacaagcg ggtggaaccc 660

aagtcctgcg acaagaccca cacctgtcct ccctgccctg cccctgagct gctgggcgga 720

ccctccgtgt tcctgttccc tccaaagccc aaggacaccc tgatgatctc ccggacccct 780

gaagtgacct gcgtggtggt ggacgtgtcc cacgaggatc ccgaagtgaa gttcaattgg 840

tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagaccaagc ccagagagga acagtacaac 900

tccacctacc gggtggtgtc cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaaa 960

gagtacaagt gcaaagtgtc caacaaggcc ctgcctgccc caatcgaaaa gaccatctcc 1020

aaggccaagg gccagccccg cgagccccaa gtgtacacac tgcctcccag ccgggaagag 1080

atgaccaaga accaagtgtc cctgacctgc ctcgtgaagg gcttctaccc ctgcgatatc 1140

gccgtggagt gggagtccaa cggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcatt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccggtgg 1260

cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc 1320

cagaagtccc tgtccctgag ccccggcaag 1350

<210> 40

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 40

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Asp Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ala Gln Phe Trp Thr Thr Pro Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu

260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu

325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 41

<211> 1350

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 41

caagtgcagc tcgtgcagtc cggagcggaa gtgaaaaagc ccggagcctc agtgaaagtg 60

tcctgcaaag cctcggggta caccttcacc gagtacacta tgcattgggt ccgccaagct 120

cctggtcaag gcctcgaatg gatgggcggc atcaatcccg acaccggcga caccagctat 180

aaccagaagt tcaccggacg cgccactctg actgtcgata agagcacaag caccgcctac 240

atggaactgt cgtccttgcg gtccgaggat accgccgtgt actactgcgc gagagcgcag 300

ttttggacta ccccgcggtt cgcctactgg ggacagggca ctctcgtgac tgtgtcatcg 360

gcgtccacca agggccctag cgtgttccca ctggcgcctt cctcgaaatc gactagcggg 420

ggtaccgccg ctctgggatg cttggtgaaa gactactttc cgtgtccggt gaccgtgagc 480

tggaactccg gggcactcac ctccggtgtg catactttcc ctgctgtctt gcagtcctcg 540

ggcctgtaca gcctgtcctc cgtggtgacc gtgccttcgt cgtccctggg aacccagacg 600

tacatctgca acgtgaacca caagccgagc aacaccaaag tcgataagag agtcgagccc 660

aagagctgcg ataagaccca cacttgtccg ccttgtcctg cccctgagct tctgggtggc 720

ccatcggtgt ttctgtttcc cccgaagccc aaagacaccc tgatgatctc gcgcactccg 780

gaggtcactt gcgtggtcgt ggcggtgtcc cacgaggacc cagaagtgaa gtttaactgg 840

tacgtggacg gagtggaagt ccacaacgcg aaaactaagc cccgggagga acaatacaac 900

tccacctacc gcgtcgtgtc cgtgctcact gtgctgcacc aggattggct gaacggtaaa 960

gagtacaagt gtaaggtgtc gaacaaagcc ctcgccgccc ctatcgaaaa gactatttcg 1020

aaagctaagg gccagccgcg agaaccccaa gtgtataccc tgcccccttc acgggaagag 1080

atgactaaga atcaggtgtc gctcacctgt ctggtgaagg gattttatcc ctgcgacatt 1140

gccgtggagt gggaatcgaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac tccgccggtg 1200

cttgacagcg acggttcgtt cttcctctac tctaagctca ccgtggacaa gtcacggtgg 1260

caacagggca acgtgttctc gtgctctgtg atgcacgaag ctctccacaa ccattacacc 1320

cagaagtccc tcagcctcag cccggggaag 1350

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 44
Gln Gln Tyr Ser Thr Tyr Pro Ile Thr
1 5

<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 45
Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
1 5
<210> 46
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 46
Trp Ala Ser
1
<210> 47
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223
> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 47

Tyr Ser Thr Tyr Pro Ile

1 5

<210> 48

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 48

Gln Asp Val Gly Thr Ala

1 5

<210> 49

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Tyr Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 50

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 50

gacatccaaa tgacccagag cccttcgagc ctgtcagcct ccgtgggcga cagagtgacc 60

attacttgca aagccagcca ggacgtggga actgcagtcg cctggtatca gcagaagcca 120

ggaaaggtcc ccaagctcct gatctactgg gcttccaccc ggcacactgg cgtgccgtca 180

aggttttcgg gatcgggttc cgggactgat ttcaccctga ccatttcctc cctccaaccc 240

gaggatgtgg ccacctacta ctgccagcag tactccacct acccgatcac attcggacag 300

ggcaccaagc tcgaaatcaa g 321

<210> 51

<211> 214

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 51

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Tyr Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 52

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 52

gacatccaaa tgacccagag cccttcgagc ctgtcagcct ccgtgggcga cagagtgacc 60

attacttgca aagccagcca ggacgtggga actgcagtcg cctggtatca gcagaagcca 120

ggaaaggtcc ccaagctcct gatctactgg gcttccaccc ggcacactgg cgtgccgtca 180

aggttttcgg gatcgggttc cgggactgat ttcaccctga ccatttcctc cctccaaccc 240

gaggatgtgg ccacctacta ctgccagcag tactccacct acccgatcac attcggacag 300

ggcaccaagc tcgaaatcaa gcgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttccccccc 360

agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 53

<211> 243

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Met Cys Ser Arg Gly Trp Asp Ser Cys Leu Ala Leu Glu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Leu Pro Leu Ser Leu Leu Val Thr Ser Ile Gln Gly His Leu Val His
20 25 30

Met Thr Val Val Ser Gly Ser Asn Val Thr Leu Asn Ile Ser Glu Ser
35 40 45

Leu Pro Glu Asn Tyr Lys Gln Leu Thr Trp Phe Tyr Thr Phe Asp Gln
50 55 60

Lys Ile Val Glu Trp Asp Ser Arg Lys Ser Lys Tyr Phe Glu Ser Lys
65 70 75 80

Phe Lys Gly Arg Val Arg Leu Asp Pro Gln Ser Gly Ala Leu Tyr Ile
85 90 95

Ser Lys Val Gln Lys Glu Asp Asn Ser Thr Tyr Ile Met Arg Val Leu
100 105 110

Lys Lys Thr Gly Asn Glu Gln Glu Trp Lys Ile Lys Leu Gln Val Leu
115 120 125

Asp Pro Val Pro Lys Pro Val Ile Lys Ile Glu Lys Ile Glu Asp Met
130 135 140

Asp Asp Asn Cys Tyr Leu Lys Leu Ser Cys Val Ile Pro Gly Glu Ser
145 150 155 160

Val Asn Tyr Thr Trp Tyr Gly Asp Lys Arg Pro Phe Pro Lys Glu Leu
165 170 175
Gln Asn Ser Val Leu Glu Thr Thr Leu Met Pro His Asn Tyr Ser Arg
180 185 190
Cys Tyr Thr Cys Gln Val Ser Asn Ser Val Ser Ser Lys Asn Gly Thr
195 200 205
Val Cys Leu Ser Pro Pro Cys Thr Leu Ala Arg Ser Phe Gly Val Glu
210 215 220

Trp Ile Ala Ser Trp Leu Val Val Thr Val Pro Thr Ile Leu Gly Leu
225 230 235 240
Leu Leu Thr

<210> 54
<211> 252
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 54
Met Cys Ser Arg Gly Trp Asp Ser Cys Leu Ala Leu Glu Leu Leu Leu
1 5 10 15
Leu Pro Leu Ser Leu Leu Val Thr Ser Ile Gln Gly His Leu Val His
20 25 30
Met Thr Val Val Ser Gly Ser Asn Val Thr Leu Asn Ile Ser Glu Ser

35 40 45
Leu Pro Glu Asn Tyr Lys Gln Leu Thr Trp Phe Tyr Thr Phe Asp Gln
50 55 60
Lys Ile Val Glu Trp Asp Ser Arg Lys Ser Lys Tyr Phe Glu Ser Lys
65 70 75 80
Phe Lys Gly Arg Val Arg Leu Asp Pro Gln Ser Gly Ala Leu Tyr Ile
85 90 95
Ser Lys Val Gln Lys Glu Asp Asn Ser Thr Tyr Ile Met Arg Val Leu

100 105 110
Lys Lys Thr Gly Asn Glu Gln Glu Trp Lys Ile Lys Leu Gln Val Leu

115 120 125

Asp Pro Val Pro Lys Pro Val Ile Lys Ile Glu Lys Ile Glu Asp Met

130 135 140

Asp Asp Asn Cys Tyr Leu Lys Leu Ser Cys Val Ile Pro Gly Glu Ser

145 150 155 160

Val Asn Tyr Thr Trp Tyr Gly Asp Lys Arg Pro Phe Pro Lys Glu Leu

165 170 175

Gln Asn Ser Val Leu Glu Thr Thr Leu Met Pro His Asn Tyr Ser Arg

180 185 190

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

195 200 205

Val Cys Leu Ser Pro Pro Cys Thr Leu Gly Lys Lys Asp Pro Trp Glu

210 215 220

Leu Arg Gly Ala Gln Gly Asn Trp Ser Cys Phe Glu Gln Arg Lys Ala

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ile Gln Pro Pro Cys Thr Val Trp Trp

245 250

<210> 55

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Ser Tyr Gly Asn Val Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg His Gly Asn Gly Asn Val Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

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

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445
<210> 56
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 56
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys

1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Asn
20 25 30
Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Thr Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 57

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 57

Gly Leu Phe Gly

1

<210> 58

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 58

Ala Leu Ala Leu

1

<210> 59

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

Gly Gly Gly Gly

1

<210> 60

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

Gly Phe Val Gly

1

<210> 61

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 61
Gly Val Phe Gly
1
<210> 62
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 62
Gly Phe Leu Gly
1
<210> 63
<211> 237
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 63
Met Cys Ser Arg Gly Trp Asp Ser Cys Leu Ala Leu Glu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Leu Pro Leu Ser Leu Leu Val Thr Ser Ile Gln Gly His Leu Val His
20 25 30
Met Thr Val Val Ser Gly Ser Asn Val Thr Leu Asn Ile Ser Glu Ser
35 40 45
Leu Pro Glu Asn Tyr Lys Gln Leu Thr Trp Phe Tyr Thr Phe Asp Gln
50 55 60
Lys Ile Val Glu Trp Asp Ser Arg Lys Ser Lys Tyr Phe Glu Ser Lys
65 70 75 80

Phe Lys Gly Arg Val Asp Pro Gln Ser Gly Ala Leu Tyr Ile Ser Lys

85 90 95

Val Gln Lys Glu Asp Asn Ser Thr Tyr Ile Met Arg Val Leu Lys Lys

100 105 110

Gly Asn Glu Gln Glu Trp Lys Ile Lys Leu Gln Val Leu Asp Pro Val

115 120 125

Pro Lys Pro Val Ile Lys Ile Glu Lys Ile Glu Asp Asp Asn Cys Tyr

130 135 140

Leu Lys Leu Ser Cys Val Ile Pro Gly Glu Ser Val Asn Tyr Thr Trp

145 150 155 160

Tyr Gly Asp Lys Arg Pro Phe Pro Lys Glu Leu Gln Asn Ser Val Leu

165 170 175

Glu Thr Thr Leu Met Pro His Asn Tyr Ser Arg Cys Tyr Thr Cys Gln

180 185 190

Val Asn Ser Val Ser Ser Lys Asn Gly Thr Val Cys Leu Ser Pro Pro

195 200 205

Cys Thr Leu Ala Arg Ser Phe Gly Val Glu Trp Ile Ala Ser Trp Leu

210 215 220

Val Val Thr Val Pro Thr Ile Leu Gly Leu Leu Leu Thr

225 230 235

<210> 64

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 64

Met His Leu Val His Met Thr Val Val Ser Gly Ser Asn Val Thr Leu

1 5 10 15

Asn Ile Ser Glu Ser Leu Pro Glu Asn Lys Gln Leu Thr Trp Phe Tyr

20 25 30

Thr Phe Asp Gln Lys Ile Val Glu Trp Asp Ser Arg Lys Ser Lys Tyr

35 40 45

Phe Glu Ser Lys Phe Lys Gly Arg Val Arg Leu Asp Pro Gln Ser Gly

50 55 60

Ala Leu Tyr Ile Ser Lys Val Gln Lys Glu Asp Asn Ser Thr Ile Met

65 70 75 80

Arg Val Leu Lys Lys Thr Gly Asn Glu Gln Glu Trp Lys Ile Lys Leu

85 90 95

Gln Val Leu Asp Pro Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile

100 105 110

Glu Trp His Glu His His His His His His

115 120

<210> 65

<211> 235

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 65

Met Gly Ser Arg Gly Trp Asn Arg Cys Leu Ala Leu Glu Leu Leu Leu

1 5 10 15

Leu Ser Leu Ser Leu Leu Ala Ile Ser Ile Gln Gly Arg Leu Val His

20 25 30

Met Thr Val Val Ser Gly Ser Asn Val Thr Leu Asn Ile Ser Glu Ser

35 40 45

Leu Pro Glu Asn Tyr Lys Gln Leu Thr Trp Phe Tyr Thr Phe Asp Gln

50 55 60

Lys Ile Val Glu Trp Asp Ser Gly Lys Ser Lys Tyr Phe Glu Ser Lys

65 70 75 80

Phe Lys Gly Arg Val Arg Leu Asp Pro Gln Ser Gly Ala Leu Tyr Ile

85 90 95

Ser Lys Val Gln Lys Glu Asp Asn Ser Thr Tyr Val Met Arg Val Leu

100 105 110

Lys Asp Gly Tyr Glu Gln Glu Trp Lys Ile Lys Leu Gln Val Leu Asp

115 120 125

Pro Val Pro Lys Pro Val Ile Lys Ile Glu Lys Asp Val Asp Asp Asn
130 135 140

Cys Tyr Leu Lys Leu Ser Cys Val Ile Pro Gly Glu Ser Val Asn Tyr
145 150 155 160
Thr Trp Tyr Gly Glu Leu Pro Lys Glu Ile Gln Asn Ser Val Leu Glu
165 170 175
Thr Thr Leu Lys Pro His Lys His Ser Arg Cys Tyr Thr Cys Gln Val
180 185 190
Ser Val Ser Ser Lys Asn Gly Thr Phe Cys Phe Ser Pro Pro Cys Thr
195 200 205

Ala Ala Arg Ser Phe Gly Val Glu Trp Ile Ala Ser Trp Leu Val Val
210 215 220
Thr Val Pro Ile Ile Leu Gly Leu Leu Leu Ile
225 230 235
<210> 66
<211> 123
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 66
Met His Leu Val His Met Thr Val Val Ser Gly Ser Asn Val Thr Leu
1 5 10 15

Asn Ile Ser Glu Ser Leu Pro Glu Asn Lys Gln Leu Thr Trp Phe Tyr
20 25 30
Thr Phe Asp Gln Lys Ile Val Glu Trp Asp Ser Arg Lys Ser Lys Tyr
35 40 45
Phe Glu Ser Lys Phe Lys Gly Arg Val Arg Leu Asp Pro Gln Ser Gly
50 55 60
Ala Leu Tyr Ile Ser Lys Val Gln Lys Glu Asp Asn Ser Thr Tyr Ile

65 70 75 80

Met Arg Val Leu Lys Lys Thr Gly Asn Glu Gln Glu Trp Lys Ile Lys
85 90 95

Leu Gln Val Leu Asp Pro Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys
100 105 110

Ile Glu Trp His Glu His His His His His His
115 120

<210> 67

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 67

caggtccaat tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg 60

tcctgtaaag ccagcggcta cacctttacc gagtacacca tgcactgggt ccgacaggct 120

ccaggacaag gactcgagtg gatgggcggc atcaatcctg ataccggcga caccagctac 180

aaccagaagt tcacaggcag agccacactg accgtggaca agagcacaag caccgcctac 240

atggaactga gcagcctgag aagcgaggac accgccgtgt attattgcgc gcgtgcccag 300

ttttggacca cacctagatt tgcctactgg ggccagggca ccctggtcac agttagctca 360

gctagcacca agggccccag cgtgttcccc ctggccccca gcagcaagag caccagcggc 420

ggcacagccg ccctgggctg cctggtgaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc 480

tggaacagcg gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagcagc 540

ggcctgtaca gcctgtccag cgtggtgaca gtgcccagca gcagcctggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agtggagccc 660

aagagctgcg acaagaccca cacatgcccc ccctgcccgg cgccagagct gctgggcgga 720

ccctccgtgt tcctgttccc ccccaagccc aaggacaccc tgatgatcag caggaccccc 780

gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaggacc cagaggtgaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ccagagagga gcagtacaac 900

agcacctaca gggtggtgtc cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag 960

gaatacaagt gcaaggtctc caacaaggcc ctgccagccc ccatcgaaaa gaccatcagc 1020

aaggccaagg gccagccacg ggagccccag gtgtacaccc tgcccccctc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa cggccagccc gagaacaact acaagaccac cccccagtg 1200

ctggacagcg acggcagctt cttcctgtac agcaagctga ccgtggacaa gtccaggtgg 1260

cagcagggca acgtgttcag ctgcagcgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc 1320

cagaagagcc tgagcttaag ccccggcaag 1350

<210> 68

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Phe Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

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

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 69
<211> 1353
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 69
gaggtccaat tgctggaatc tggcggagga ctggttcagc ctggtggctc tctgagactg 60
tcttgtgccg ccagcggctt caccttcagc agctttgcca tgtcctgggt tcgacaggcc 120
cctggaaaag gactcgagtg ggtgtccgct atctctggct ttggcggcag cacatattac 180
gccgatagcg tgaagggcag attcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acagccgtgt attactgcgc gcgtcagttc 300
tgggaagatc agcccttcta cttcgactac tggggccagg gcacactggt cacagttagc 360
tcagctagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg 480
tcctggaaca gcggagccct gacctccggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540
agcggcctgt acagcctgtc cagcgtggtg acagtgccca gcagcagcct gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagtggag 660
cccaagagct gcgacaagac ccacacatgc ccccctgcc cggcgccaga gctgctgggc 720
ggaccctccg tgttcctgtt ccccccccaag cccaaggaca ccctgatgat cagcaggacc 780

cccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg agccacgagg acccagaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaac gccaagacca agcccagaga ggagcagtac 900

aacagcacct acagggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960

aaggaataca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgccag ccccatcga aaagaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc acgggagccc caggtgtaca ccctgccccc ctcccgggag 1080

gagatgacca agaaccaggt gtccctgacc tgtctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccca 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagtccagg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaaga gcctgagctt aagccccggc aag 1353

<210> 70

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Asp Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ala Gln Phe Trp Thr Thr Pro Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

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

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 71
<211> 506
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 71
Met Cys Ser Arg Gly Trp Asp Ser Cys Leu Ala Leu Glu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Leu Pro Leu Ser Leu Leu Val Thr Ser Ile Gln Gly His Leu Val His
20 25 30

Met Thr Val Val Ser Gly Ser Asn Val Thr Leu Asn Ile Ser Glu Ser
35 40 45

Leu Pro Glu Asn Tyr Lys Gln Leu Thr Trp Phe Tyr Thr Phe Asp Gln
50 55 60

Lys Ile Val Glu Trp Asp Ser Arg Lys Ser Lys Tyr Phe Glu Ser Lys
65 70 75 80

Phe Lys Gly Arg Val Arg Leu Asp Pro Gln Ser Gly Ala Leu Tyr Ile
85 90 95
Ser Lys Val Gln Lys Glu Asp Asn Ser Thr Tyr Ile Met Arg Val Leu
100 105 110
Lys Lys Thr Gly Asn Glu Gln Glu Trp Lys Ile Lys Leu Gln Val Leu
115 120 125

Asp Pro Val Pro Lys Pro Val Ile Lys Ile Glu Lys Ile Glu Asp Met
130 135 140
Asp Asp Asn Cys Tyr Leu Lys Leu Ser Cys Val Ile Pro Gly Glu Ser
145 150 155 160
Val Asn Tyr Thr Trp Tyr Gly Asp Lys Arg Pro Phe Pro Lys Glu Leu
165 170 175
Gln Asn Ser Val Leu Glu Thr Thr Leu Met Pro His Asn Tyr Ser Arg
180 185 190

Cys Tyr Thr Cys Gln Val Ser Asn Ser Val Ser Ser Lys Asn Gly Thr
195 200 205
Val Cys Leu Ser Pro Pro Cys Thr Leu Ala Arg Ser Phe Gly Val Glu
210 215 220
Trp Ile Ala Ser Trp Leu Val Val Thr Val Pro Thr Ile Leu Gly Leu
225 230 235 240
Leu Leu Thr Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val
245 250 255

Pro Ile Leu Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser
260 265 270
Val Ser Gly Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu
275 280 285
Lys Phe Ile Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu
290 295 300
Val Thr Thr Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp
305 310 315 320

His Met Lys Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr

325 330 335

Val Gln Glu Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr

340 345 350

Arg Ala Glu Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu

355 360 365

Leu Lys Gly Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys

370 375 380

Leu Glu Tyr Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys

385 390 395 400

Gln Lys Asn Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu

405 410 415

Asp Gly Ser Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile

420 425 430

Gly Asp Gly Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln

435 440 445

Ser Ala Leu Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu

450 455 460

Leu Glu Phe Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu

465 470 475 480

Tyr Lys Ser Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ser Gly Ser

485 490 495

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ser Gly

500 505

<210> 72

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

6xHis tag"

<400> 72

His His His His His His

1 5

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Glu Asn Tyr Lys Gln

1 5

<210> 74

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

Gly Ser Ser Lys Gln

1 5

<210> 75

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Asp Ser Arg Lys

1

<210> 76

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 76

Ala Ala Gly Lys

1

<210> 77

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Lys Lys Thr Gly Asn Glu

1 5

<210> 78

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 78

Lys Lys Asp Ala Ser Gly

1 5

<210> 79

<211> 350

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Met Phe Gly Leu Lys Arg Asn Ala Val Ile Gly Leu Asn Leu Tyr Cys

1 5 10 15

Gly Gly Ala Gly Leu Gly Ala Gly Ser Gly Gly Ala Thr Arg Pro Gly

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Gly Glu Ala Gly Ala Val Ile Gly Gly Ser Ala Gly Ala Ser

50 55 60

Pro Pro Ser Thr Leu Thr Pro Asp Ser Arg Arg Val Ala Arg Pro Pro

65 70 75 80

Pro Ile Gly Ala Glu Val Pro Asp Val Thr Ala Thr Pro Ala Arg Leu
85 90 95
Leu Phe Phe Ala Pro Thr Arg Arg Ala Ala Pro Leu Glu Glu Met Glu

100 105 110
Ala Pro Ala Ala Asp Ala Ile Met Ser Pro Glu Glu Glu Leu Asp Gly
115 120 125
Tyr Glu Pro Glu Pro Leu Gly Lys Arg Pro Ala Val Leu Pro Leu Leu
130 135 140
Glu Leu Val Gly Glu Ser Gly Asn Asn Thr Ser Thr Asp Gly Ser Leu
145 150 155 160
Pro Ser Thr Pro Pro Pro Ala Glu Glu Glu Glu Asp Glu Leu Tyr Arg

165 170 175
Gln Ser Leu Glu Ile Ile Ser Arg Tyr Leu Arg Glu Gln Ala Thr Gly
180 185 190
Ala Lys Asp Thr Lys Pro Met Gly Arg Ser Gly Ala Thr Ser Arg Lys
195 200 205
Ala Leu Glu Thr Leu Arg Arg Val Gly Asp Gly Val Gln Arg Asn His
210 215 220
Glu Thr Ala Phe Gln Gly Met Leu Arg Lys Leu Asp Ile Lys Asn Glu

225 230 235 240
Asp Asp Val Lys Ser Leu Ser Arg Val Met Ile His Val Phe Ser Asp
245 250 255
Gly Val Thr Asn Trp Gly Arg Ile Val Thr Leu Ile Ser Phe Gly Ala
260 265 270
Phe Val Ala Lys His Leu Lys Thr Ile Asn Gln Glu Ser Cys Ile Glu
275 280 285
Pro Leu Ala Glu Ser Ile Thr Asp Val Leu Val Arg Thr Lys Arg Asp

290 295 300
Trp Leu Val Lys Gln Arg Gly Trp Asp Gly Phe Val Glu Phe Phe His
305 310 315 320
Val Glu Asp Leu Glu Gly Gly Ile Arg Asn Val Leu Leu Ala Phe Ala

325 330 335

Gly Val Ala Gly Val Gly Ala Gly Leu Ala Tyr Leu Ile Arg

340 345 350