



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2018-0019592  
(43) 공개일자 2018년02월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 487/04 (2006.01) A61K 31/5513 (2006.01)  
A61K 31/5517 (2006.01) A61K 47/68 (2017.01)  
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/30 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07D 487/04 (2013.01)  
A61K 31/5513 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7036685  
(22) 출원일자(국제) 2016년06월22일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2017년12월20일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/038750  
(87) 국제공개번호 WO 2016/209951  
국제공개일자 2016년12월29일
- (30) 우선권주장  
62/183,350 2015년06월23일 미국(US)

- (71) 출원인  
브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니  
미국 뉴저지 (우편번호 08540-4000) 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 피.오. 박스 4000
- (72) 발명자  
장, 용  
미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니 내  
보르질레리, 로버트, 엠.  
미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니 내  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 심미성

전체 청구항 수 : 총 19 항

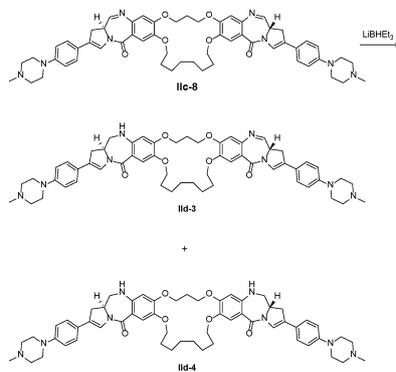
(54) 발명의 명칭 **마크로시클릭 벤조디아제핀 이량체, 그의 접합체, 제조법 및 용도**

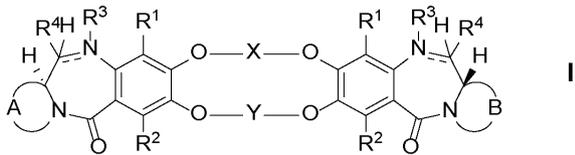
**(57) 요약**

화학식 I에 의해 나타내어진 구조를 갖는 마크로시클릭 벤조디아제핀 이량체.

(뒷면에 계속)

**대표도** - 도10





여기서 A 및 B는 독립적으로 화학식 Ia 또는 Ib에 따르고,



화학식 I, Ia, 및 Ib에서의 다른 가변기는 본 출원에 정의된 바와 같다. 이러한 이량체는 특히 항체-약물 접합체 (ADC)의 약물 성분으로서 사용 시에, 항암제로서 유용하다.

(52) CPC특허분류

- A61K 31/5517 (2013.01)
- A61K 47/6803 (2017.08)
- A61K 47/6857 (2017.08)
- A61K 47/6863 (2017.08)
- A61K 47/6889 (2017.08)
- A61P 35/00 (2018.01)
- C07K 16/30 (2013.01)
- C07K 16/3023 (2013.01)
- C07K 16/3046 (2013.01)

(72) 발명자

**테벤, 앤드류, 제이.**

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로  
빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스퀵 컴퍼니 내  
**스탕, 에릭, 엠.**

미국 22066 버지니아주 그레이트 폴즈 히든 크릭  
드라이브 9222

**도넬, 앤드류, 에프.**

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로  
빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스퀵 컴퍼니 내

**슈뢰더, 그레첸, 엠.**

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로  
빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스퀵 컴퍼니 내  
**페레즈, 하이드, 엘.**

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로  
빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스퀵 컴퍼니 내  
**웨이, 돈나, 디.**

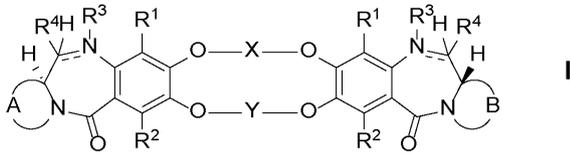
미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로  
빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스퀵 컴퍼니 내

명세서

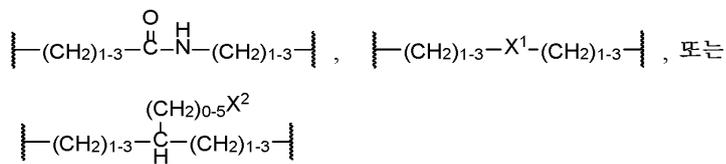
청구범위

청구항 1

화학식 I에 의해 나타내어진 구조를 갖는 벤조디아제핀 이량체 또는 그의 제약상 허용되는 염.



X는



이고;

X<sup>1</sup>은 CH<sub>2</sub>, O, NH, S(O)<sub>0-2</sub>, 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 3- 내지 7-원 시클로알킬렌 또는 헤테로시클로알킬렌, 또는 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 5- 내지 6-원 아릴렌 또는 헤테로아릴렌이고;

각각의 X<sup>2</sup>는 독립적으로 Me, CO<sub>2</sub>H, NH<sub>2</sub>, NH(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬), N(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬)<sub>2</sub>, SH, CHO, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬), N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH, NHNH<sub>2</sub>, 또는 C(=O)NHNH<sub>2</sub>이고;

Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>4-6</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>4-6</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>4-6</sub>X<sup>1</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>4-6</sub>, 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2-3</sub>이고;

각각의 R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>는 독립적으로 H, F, Cl, Br, OH, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, O(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬), 시아노, (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>NH<sub>2</sub>, 또는 NO<sub>2</sub>이고;

디아제핀 고리계 내의 각각의 이중선 ≡는 독립적으로 단일 결합 또는 이중 결합을 나타내고;

각각의 R<sup>3</sup>은, 이것이 부착되어 있는 N에 대한 이중선 ≡가 단일 결합인 경우에는 H이고, 상기 이중선이 이중 결합인 경우에는 부재하고;

각각의 R<sup>4</sup>는, 이것이 부착되어 있는 C에 대한 이중선 ≡가 단일 결합인 경우에는 H, OH, SO<sub>3</sub>Na, 또는 SO<sub>3</sub>K이고, 상기 이중선이 이중 결합인 경우에는 부재하고;

A 및 B는 독립적으로 화학식 Ia 또는 Ib에 따르고,

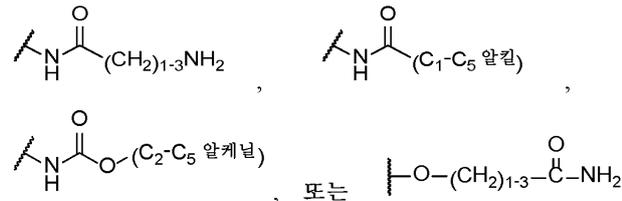


여기서, 화학식 Ia에서,

Y' 및 Y''는 독립적으로 부재하거나, CH<sub>2</sub>, C=O, 또는 CHR<sup>12</sup>이고; 여기서 각각의 R<sup>12</sup>는 독립적으로 F, Cl, Br, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬이며, 단 Y' 및 Y'' 둘 다가 부재하지는 않고;

각각의 G는 독립적으로 C 또는 N이며, 단 2개 이하의 G가 N이고;

각각의 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 및 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬, C≡C(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>X<sup>2</sup>, OH, O(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬), 시아노, NO<sub>2</sub>, F, Cl, Br, O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>1-8</sub>(C<sub>1-3</sub> 알킬), (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>, 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 3- 내지 7-원 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬, 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 5- 내지 6-원 아릴 또는 헤테로아릴,



이거나;

또는 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>이, N인 G에 부착되어 있는 경우에, 이러한 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>은 부재하고;

여기서, 화학식 Ib에서,

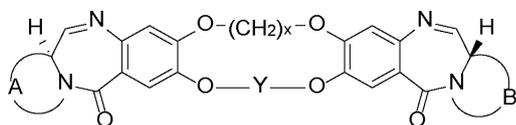
점선은 C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합의 임의적인 존재를 나타내고;

R<sup>10</sup>은 H, =O, =CH<sub>2</sub>, =CH(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬), CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>X<sup>2</sup>, C≡C(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>X<sup>2</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬, OH, O(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬), 시아노, NO<sub>2</sub>, F, Cl, Br, O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>1-8</sub>(C<sub>1-3</sub> 알킬), (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup>, 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 4- 내지 7-원 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬, O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>, 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 3- 내지 7-원 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬, 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 5- 내지 6-원 아릴 또는 헤테로아릴이고;

R<sup>9</sup>는, C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합이 존재하는 경우에는 부재하고, 다른 경우에는 H이다.

## 청구항 2

제1항에 있어서, 화학식 IIa에 의해 나타내어진 구조를 갖는 벤조디아제핀 이량체.



IIa

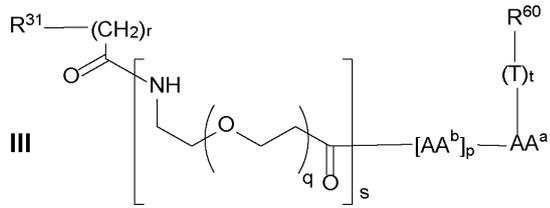
여기서

x는 3 또는 5이고;

Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>7-12</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub> 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>NH((CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>페닐)(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>이고, 여기서 페닐 기는 NH<sub>2</sub>로 임의로 치환되고;

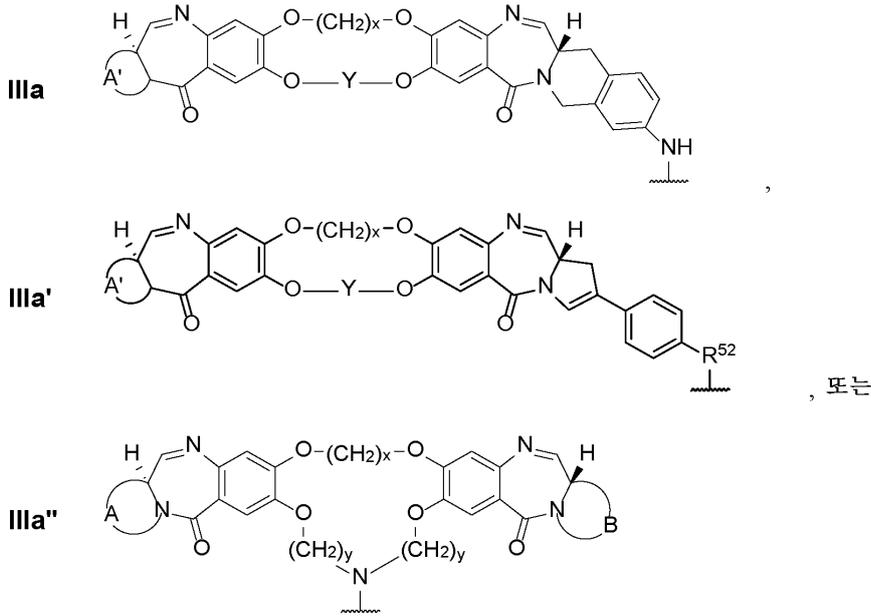


화학식 III에 의해 나타내어진 구조를 갖는 벤조디아제핀 이량체-링커 화합물.



여기서

R<sup>60</sup>은 화학식 IIIa, IIIa', 또는 IIIa"에 따르고,

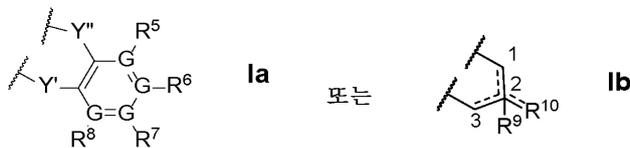


Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>6-10</sub>이고;

x는 3 또는 5이고;

각각의 y는 독립적으로 2, 3, 또는 4이고;

A 및 B는 독립적으로 화학식 Ia 또는 Ib에 따르고,



여기서, 화학식 Ia에서,

Y' 및 Y"는 독립적으로 부재하거나, CH<sub>2</sub>, C=O, 또는 CHR<sup>12</sup>이고; 여기서 각각의 R<sup>12</sup>는 독립적으로 F, Cl, Br, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬이며, 단 Y' 및 Y" 둘 다 부재하지는 않고;

각각의 G는 독립적으로 C 또는 N이며, 단 2개 이하의 G가 N이고;

각각의 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 및 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, NH<sub>2</sub>, O(C<sub>1-3</sub> 알킬), 또는 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O(C<sub>1-3</sub> 알킬)이거나;

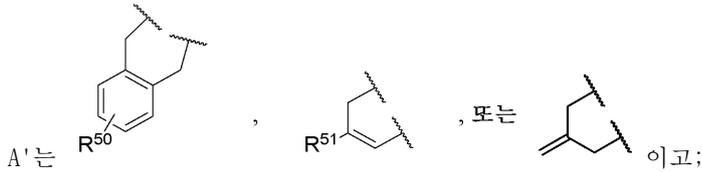
또는 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>이, N인 G에 부착되어 있는 경우에, 이러한 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>은 부재하고;

여기서, 화학식 Ib에서,

점선은 C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합의 임의적인 존재를 나타내고;

R<sup>9</sup>는, C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합이 존재하는 경우에는 부재하고, 다른 경우에는 H이고;

R<sup>10</sup>은 H, Cl, Br, =CH<sub>2</sub>, =CH(C<sub>1-5</sub> 알킬), C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, 또는 NH<sub>2</sub>이고;



R<sup>50</sup>은 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, NH<sub>2</sub>, O(C<sub>1-3</sub> 알킬), 또는 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O(C<sub>1-3</sub> 알킬) (바람직하게는 H)이고;

R<sup>51</sup>은 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, 또는 NH<sub>2</sub>이고;

T는 자기-회생 기이고;

t는 0 또는 1이고;

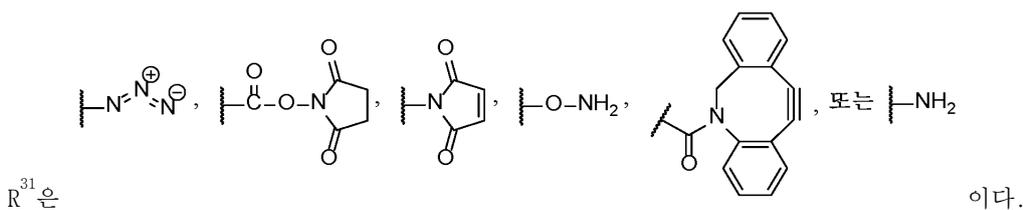
AA<sup>a</sup> 및 각각의 AA<sup>b</sup>는 독립적으로 알라닌, β-알라닌, γ-아미노부티르산, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, γ-카르복시글루탐산, 시트룰린, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 노르류신, 노르발린, 오르니틴, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

p는 1, 2, 3, 또는 4이고;

q는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고;

r은 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

s는 0 또는 1이고;



**청구항 7**

제6항에 있어서, R<sup>60</sup>이 IIIa인 벤조디아제핀 이량체-링커 화합물.

**청구항 8**

제6항에 있어서, R<sup>60</sup>이 IIIa'인 벤조디아제핀 이량체-링커 화합물.

**청구항 9**

제6항에 있어서, R<sup>60</sup>이 IIIa"인 벤조디아제핀 이량체-링커 화합물.

**청구항 10**

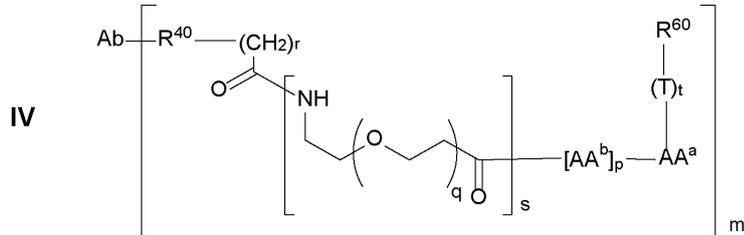
제6항에 있어서, 화학식 IIIa-1, IIIa-2, IIIa-3, IIIa-4, IIIa-5, IIIa-6, 또는 IIIa-7에 의해 나타내어진 구조를 갖는 벤조디아제핀 이량체-링커 화합물.

**청구항 11**

항체에 접합된 제1항에 따른 벤조디아제핀 이량체를 포함하는 접합체.

**청구항 12**

제11항에 있어서, 화학식 IV에 의해 나타내어진 구조를 갖는 접합체.

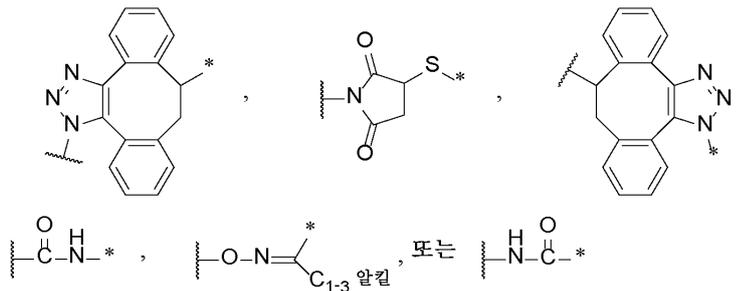


여기서

Ab는 항체이고;

m은 1, 2, 3, 또는 4이고;

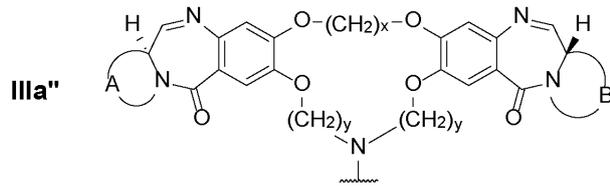
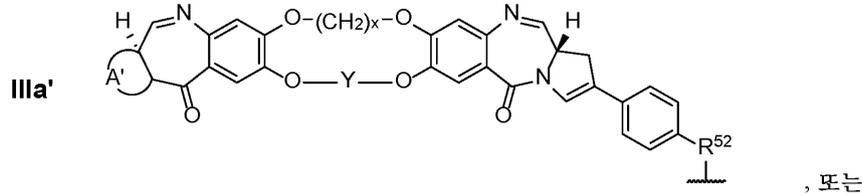
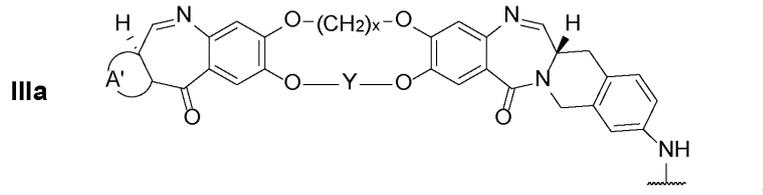
R<sup>40</sup>은



이고;

여기서 Ab에 결합된 R<sup>40</sup>의 개방 원자가는 별표 (\*)에 의해 표시되고, (CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>에 결합된 R<sup>40</sup>의 개방 원자가는 파상선 (~~~~)에 의해 표시되고;

R<sup>60</sup>은 화학식 IIIa, IIIa', 또는 IIIa"에 따르고,



Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>6-10</sub>이고;

x는 3 또는 5이고;

각각의 y는 독립적으로 2, 3, 또는 4이고;

A 및 B는 독립적으로 화학식 Ia 또는 Ib에 따르고,



여기서, 화학식 Ia에서,

Y' 및 Y"는 독립적으로 부재하거나, CH<sub>2</sub>, C=O, 또는 CHR<sup>12</sup>이고; 여기서 각각의 R<sup>12</sup>는 독립적으로 F, Cl, Br, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬이며, 단 Y' 및 Y" 둘 다가 부재하지는 않고;

각각의 G는 독립적으로 C 또는 N이며, 단 2개 이하의 G가 N이고;

각각의 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 및 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, NH<sub>2</sub>, O(C<sub>1-3</sub> 알킬), 또는 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O(C<sub>1-3</sub> 알킬) (바람직하게는 H)이거나;

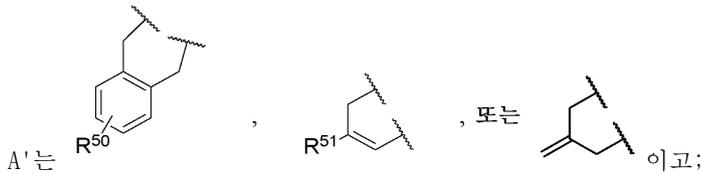
또는 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>이, N인 G에 부착되어 있는 경우에, 이러한 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>은 부재하고;

여기서, 화학식 Ib에서,

점선은 C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합의 임의적인 존재를 나타내고;

R<sup>9</sup>는, C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합이 존재하는 경우에는 부재하고, 다른 경우에는 H이고;

R<sup>10</sup>은 H, Cl, Br, =CH<sub>2</sub>, =CH(C<sub>1-5</sub> 알킬), C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, 또는 NH<sub>2</sub>이고;



$R^{50}$ 은 H, Cl, Br,  $C_{1-3}$  알킬,  $NO_2$ , CN,  $NH_2$ ,  $O(C_{1-3}$  알킬), 또는  $(OCH_2CH_2)_{1-2}O(C_{1-3}$  알킬)이고;

$R^{51}$ 은 H, Cl, Br,  $C_{1-3}$  알킬,  $NO_2$ , CN,  $NH_2$ 이고;

T는 자기-희생 기이고;

t는 0 또는 1이고;

$AA^a$  및 각각의  $AA^b$ 는 독립적으로 알라닌,  $\beta$ -알라닌,  $\gamma$ -아미노부티르산, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산,  $\gamma$ -카르복시글루탐산, 시트룰린, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 노르류신, 노르발린, 오르니틴, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

p는 1, 2, 3, 또는 4이고;

q는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고;

r은 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

s는 0 또는 1이다.

### 청구항 13

제12항에 있어서,  $R^{60}$ 이 IIIa인 집합체.

### 청구항 14

제12항에 있어서,  $R^{60}$ 이 IIIa'인 집합체.

### 청구항 15

제12항에 있어서,  $R^{60}$ 이 IIIa"인 집합체.

### 청구항 16

제11항 또는 제12항에 따른 집합체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 제제.

### 청구항 17

암을 앓고 있는 대상체에게 치료 유효량의 제1항에 따른 벤조디아제핀 이량체 또는 제11항 또는 제12항에 따른 그의 집합체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법.

### 청구항 18

제17항에 있어서, 제12항에 따른 벤조디아제핀 이량체의 집합체를 투여하는 것인 방법.

### 청구항 19

제18항에 있어서, 암이 폐암, 위암 또는 난소암인 방법.

## 발명의 설명

## 기술 분야

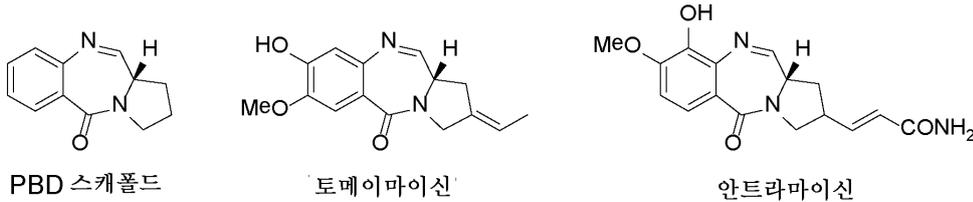
[0001] 관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 본 출원은 2015년 6월 23일에 출원된 미국 가출원 일련 번호 62/183,350의 35 U.S.C. § 119(e) 하의 이익을 청구하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 본 발명은 마크로시클릭 벤조디아제핀 이량체, 그로부터 유도된 이량체-링커 화합물, 및 그의 접합체, 및 그의 제조 방법 및 용도에 관한 것이다.

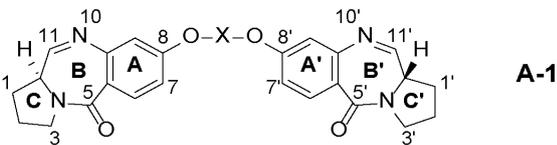
**배경 기술**

[0004] 일부 자연 발생 세포독소, 예컨대 토메이마이신 및 안트라마이신은 벤조디아제핀 고리계를 함유한다. 디아제핀 고리에 융합된 피롤리딘 고리의 추가의 존재를 반영하여, 이들 화합물은 종종 피롤로벤조디아제핀, 또는 PBD로 지칭된다.



[0005] PBD는 항생제 및 항종양 활성을 보유하며, 후자의 형질은 항암 약물로서 이들에서의 관심으로 이어진다. 기계론적으로, PBD는 서열 선택적 방식으로 DNA의 작은 홈에 결합하고, DNA를 알킬화시킨다. 상이한 치환기의 구조-활성 관계 (SAR)가 연구된 바 있다 (Antonow et al. 2010; Thurston et al. 1999).

[0007] 추가의 연구는 PBD 이량체가 또한 항암제로서의 특수한 유망성을 나타냄을 제시한 바 있다. 전형적인 PBD 이량체의 코어 구조는 화학식 A-1에 의해 나타내어질 수 있으며, 여기서 X는 2개의 이량체 반쪽을 연결시키는 가교기이다.



[0008] 단량체 PBD와 같이, 이량체는 DNA 작은 홈 결합체-알킬화제이다. 이관능성이므로, 알킬화는 가교된 DNA를 생성시켜 DNA 복구를 더 어렵게 한다. (DNA 알킬화는 이민 기를 통해 발생한다. 이민 기 중 1개가 환원된 PDB는 여전히 DNA를 알킬화시킬 수 있지만, 이를 가교시킬 수는 없다. 이들은 비록 일반적으로 더 적게 생물학적 활성이더라도 여전히 생물학적 활성이다.) 자연 발생 단량체 내지 합성 단량체로부터 합성 이량체로의, 항종양제로서의 PBD의 발생에 관한 종설에 대해, 문헌 [Hartley 2011]을 참조한다.

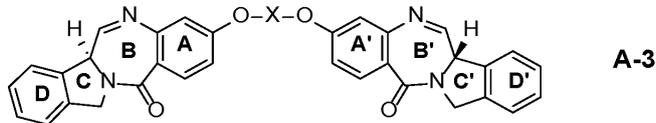
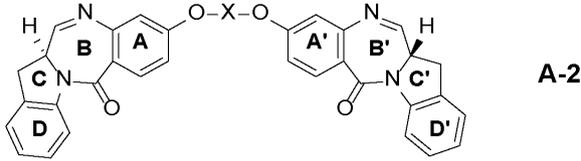
[0010] PBD 이량체의 SAR은 A/A' 및 C/C' 고리 상의 치환기, C/C' 고리 내의 불포화, 가교 기 X의 구조 및 길이, 및 고리 B/B' 내의 이민 이중 결합의 산화 또는 환원, 및 이러한 특색의 조합을 통해 연구된 바 있다. 문헌 [Bose et al. 1992, Gregson et al. 1999, Gregson et al. 2001a and 2001b, Gregson et al. 2004, Gregson et al. 2009, Hartley et al. 2012, Howard et al. 2007, Howard et al. 2009a, Howard et al. 2010, Howard et al. 2013a and 2013b, Liu et al. 2007, Thurston et al. 1996, Thurston et al. 2006, 및 Thurston et al. 2008]을 참조한다. 대부분의 PBD 이량체는 상기 제시된 바와 같은 8/8' 가교를 통해 연결되지만, 7/7' 가교가 또한 개시된 바 있다 (Howard et al. 2009b).

[0011] 강하게 관심받고 있는 항암제의 유형은 항체-약물 접합체 (ADC, 면역접합체로도 지칭됨)이다. ADC에서, 치료제 (약물, 페이로드, 또는 워헤드로도 지칭됨)는 그 항원이 암 세포에 의해 발현되는 것 (종양 연관 항원)인 항체에 공유 연결된다. 항체는 항원에 결합함으로써, ADC를 암 부위에 전달한다. 거기에서, 공유 연결 (링커로 지칭됨)의 절단 또는 항체의 분해는 치료제의 방출로 이어진다. 반대로, ADC는 혈액계를 순환하며, 치료제는 항체에 대한 그의 공유 연결 때문에 불활성으로 유지된다. 따라서, ADC에 사용되는 치료제는 그의 국한된 방출 때문에 통상의 화학요법제보다 훨씬 더 강력 (즉, 세포독성)할 수 있다. ADC에 관한 종설에 대해, 문헌 [Schrama et al. 2006]을 참조한다.

[0012] PBD 이량체는 ADC에서 약물로서 제안된 바 있다. 항체에 연결시키는 링커의 부착은 가교 기 X인 C/C' 고리에

위치하는 관능기를 통해, 또는 B/B' 고리 내의 이민 기를 가로지르는 부가에 의해 이루어질 수 있다. 문헌 [Bouchard et al. 2013, Commercon et al. 2013a and 2013b, Flygare et al. 2013, Gauzy et al. 2012, Howard 2104a-2014e, Howard et al. 2011, Howard et al. 2013c and 2013d, Howard et al. 2014a-2014d, Jeffrey et al. 2013, Jeffrey et al. 2014a and 2014b, 및 Zhao et al. 2014]을 참조한다.

[0013] 벤조디아제핀 이량체의 또 다른 유형은 또한 ADC에서의 약물로서 제안된 바 있다. 구조적으로, 이러한 유형은 PBD 이량체가 화학식 A-2 및 A-3에 제시된 바와 같이 각각의 C/C' 고리에 융합된 페닐 고리를 추가로 갖는 것으로 볼 수 있다. 문헌 [Chari et al. 2013, Li et al. 2013, Fishkin et al. 2014, Li et al. 2014]을 참조한다.



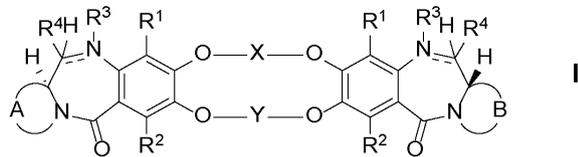
[0014]

[0015] 다른 고리계를 갖는 벤조디아제핀 화합물, 예컨대 테트라히드로이소퀴놀리노[2,1-c][1,4]벤조디아제핀이 또한 개시된 바 있다. 문헌 [Kothakonda et al. 2004].

[0016] 제1 저자 또는 발명자 및 연도에 의해 본원에 인용된 문헌에 대한 전체 인용은 본 명세서의 말미에 열거되어 있다.

**발명의 내용**

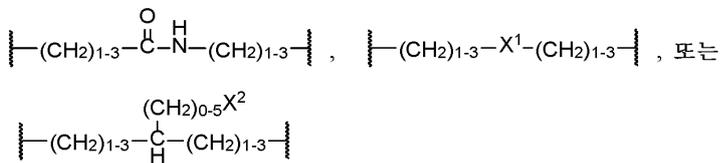
[0017] 본 발명은 화학식 I에 의해 나타내어진 바와 같은, 마크로시클릭 고리 구조를 형성하도록 8/8' 가교 및 7/7' 가교 둘 다를 갖는 신규 벤조디아제핀 이량체 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.



[0018]

[0019] 여기서

[0020] X는



[0021]

[0022] 이고;

[0023] X<sup>1</sup>은 CH<sub>2</sub>, O, NH, S(O)<sub>0-2</sub>, 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 3- 내지 7-원 시클로알킬렌 또는 헤테로시클로알킬렌, 또는 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 5- 내지 6-원 아릴렌 또는 헤테로아릴렌이고;

[0024] 각각의 X<sup>2</sup>는 독립적으로 Me, CO<sub>2</sub>H, NH<sub>2</sub>, NH(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬), N(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬)<sub>2</sub>, SH, CHO, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬), N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH, NHNH<sub>2</sub>, 또는 C(=O)NHNH<sub>2</sub>이고;

[0025] Y는  $(CH_2)_{4-6}CH=CH(CH_2)_{4-6}$ ,  $(CH_2)_{4-6}X^1(CH_2)_{4-6}$ , 또는  $(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_{2-3}$ 이고;

[0026] 각각의  $R^1$  및  $R^2$ 는 독립적으로 H, F, Cl, Br, OH, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, O(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬), 시아노,  $(CH_2)_{0-5}NH_2$ , 또는 NO<sub>2</sub>이고 (여기서,  $R^1$  및  $R^2$  둘 다가 바람직하게는 H임);

[0027] 디아제핀 고리계 내의 각각의 이중선  $\equiv$ 는 독립적으로 단일 결합 또는 이중 결합을 나타내고;

[0028] 각각의  $R^3$ 은, 이것이 부착 - 즉, 회합-되어 있는 N에 대한 이중선  $\equiv$ 가 단일 결합인 경우에는 H이고, 상기 이중선이 이중 결합인 경우에는 부재하고;

[0029] 각각의  $R^4$ 는, 이것이 부착 - 즉, 회합-되어 있는 C에 대한 이중선  $\equiv$ 가 단일 결합인 경우에는 H, OH, SO<sub>3</sub>Na, 또는 SO<sub>3</sub>K이고, 상기 이중선이 이중 결합인 경우에는 부재하고;

[0030] A 및 B는 독립적으로 화학식 Ia 또는 Ib에 따르고,



[0031]

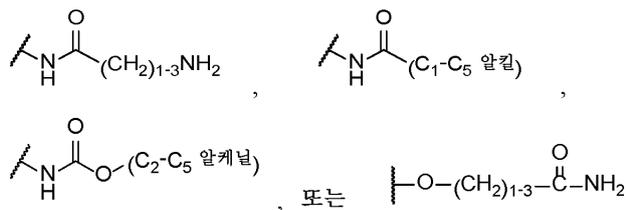
[0032] 여기서, 화학식 Ia에서,

[0033] Y' 및 Y''는 독립적으로 부재하거나, CH<sub>2</sub>, C=O, 또는 CHR<sup>12</sup>이고; 여기서 각각의 R<sup>12</sup>는 독립적으로 F, Cl, Br, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬이며, 단 Y' 및 Y'' 둘 다가 부재하지는 않고;

[0034] 각각의 G는 독립적으로 C 또는 N이며, 단 2개 이하의 G가 N이고;

[0035] 각각의 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 및 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬, C≡C(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>X<sup>2</sup>, OH, O(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬), 시아노, NO<sub>2</sub>, F, Cl, Br, O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>1-8</sub>(C<sub>1-3</sub> 알킬), (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>, 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 3- 내지 7-원 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬, 비치환되거나 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>0-5</sub>X<sup>2</sup> 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-5</sub>X<sup>2</sup>로 치환된 5- 내지 6-원 아릴 또는 헤테로아릴,

[0036]



[0037] 이거나;

[0038] 또는 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>이, N인 G에 부착 - 즉, 회합 -되어 있는 경우에, 이러한 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>은 부재하고;

[0039] 여기서, 화학식 Ib에서,

[0040] 점선은 C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합의 임의적인 존재를 나타내고;

[0041] R<sup>9</sup>는, C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합이 존재하는 경우에는 부재하고, 다른 경우에는 H이고;

[0042] R<sup>10</sup>은 H, =O, =CH<sub>2</sub>, =CH(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬), CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>X<sup>2</sup>, C≡C(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>X<sup>2</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬, OH, O(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬), 시아노,

$\text{NO}_2$ , F, Cl, Br,  $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{1-8}$ ( $\text{C}_{1-3}$  알킬),  $(\text{CH}_2)_{0-5}\text{X}^2$ , 비치환되거나 또는  $(\text{CH}_2)_{0-5}\text{X}^2$ 로 치환된 4- 내지 7-원 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬,  $\text{O}(\text{CH}_2)_{2-5}\text{X}^2$ , 비치환되거나 또는  $(\text{CH}_2)_{0-5}\text{X}^2$  또는  $\text{O}(\text{CH}_2)_{2-5}\text{X}^2$ 로 치환된 3- 내지 7-원 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬, 비치환되거나 또는  $(\text{CH}_2)_{0-5}\text{X}^2$  또는  $\text{O}(\text{CH}_2)_{2-5}\text{X}^2$ 로 치환된 5- 내지 6-원 아릴 또는 헤테로아릴이다.

[0043] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 표적 세포 상의 화학 물질에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 표적화 모이어티에 공유 결합된 화학식 I의 이량체를 포함하는 접합체를 제공하며, 이러한 표적 세포는 바람직하게는 암 세포이다. 바람직하게는, 표적화 모이어티는 항체 - 보다 바람직하게는 모노클로날 항체; 보다 더 바람직하게는 인간 모노클로날 항체 -이고, 화학 물질은 종양 연관 항원이다. 종양 연관 항원은 암 세포의 표면 상에서 나타나는 것, 또는 암 세포에 의해 주위의 세포의 공간으로 분비되는 것일 수 있다. 바람직하게는, 종양 연관 항원은 정상 세포와 비교하여 암 세포에 의해 과다-발현되는 것, 또는 암 세포에 의해 발현되지만 정상 세포에 의해서는 발현되지 않는 것이다.

[0044] 또 다른 실시양태에서, 표적화 모이어티에 대한 접합에 적합한, 반응성 관능기를 갖는 링커 모이어티에 공유 결합된 화학식 I에 따른 이량체가 제공된다.

[0045] 또 다른 실시양태에서, 암을 앓고 있는 대상체에게 치료 유효량의 본 발명의 이량체 또는 그와 표적화 모이어티의 접합체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 암을 앓고 있는 대상체에서 암을 치료하기 위한 의학의 제조를 위한 본 발명의 이량체 또는 그와 표적화 모이어티의 접합체의 용도가 제공된다. 본 발명의 이량체 또는 그와 표적화 모이어티의 접합체는 또한 시험관내, 생체의 또는 생체내에서 암 세포의 증식을 억제하는데 사용될 수 있다. 특히, 암은 폐암, 위암 또는 난소암이다.

### 도면의 간단한 설명

[0046] 도 1a-1b, 2, 3, 4a-4b, 5, 6, 7, 8, 9 및 10은 본 발명의 이량체의 합성을 위한 반응식을 제시한다.

도 11, 12, 13a-13b, 14 및 15는 ADC의 제조에 사용가능한 이량체-링커 화합물의 제조를 위한 반응식을 제시한다.

도 16a-16b는 조합하여, 본 발명의 또 다른 이량체의 합성을 제시한다.

도 17은 암 세포에 대한 본 발명의 2종의 ADC의 활성을 제시한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0047] 정의

[0048] "항체"는 전체 항체 및 그의 임의의 항원 결합 단편 (즉 "항원-결합 부분") 또는 단일쇄 변이체를 의미한다. 전체 항체는 디설피드 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 단백질이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 ( $V_H$ ), 및 3개의 도메인,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  및  $C_{H3}$ 을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 ( $V_L$  또는  $V_k$ ), 및 1개의 단일 도메인,  $C_L$ 을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다.  $V_H$  및  $V_L$  영역은 더 보존된 프레임워크 영역 (FR) 사이에 배치된 상보성 결정 영역 (CDR)으로 칭하는 추가변성의 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의  $V_H$  및  $V_L$ 은 아미노-말단으로부터 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, 및 FR4를 포함한다. 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)을 포함한 숙주 조직 또는 인자에 대한 항체의 결합을 매개할 수 있다. 항체는 항체가 항원 X에  $5 \times 10^{-8}$  M 이하, 보다 바람직하게는  $1 \times 10^{-8}$  M 이하, 보다 바람직하게는  $6 \times 10^{-9}$  M 이하, 보다 바람직하게는  $3 \times 10^{-9}$  M 이하, 보다 더 바람직하게는  $2 \times 10^{-9}$  M 이하의  $K_D$ 로 결합하는 경우에, 항원 X에 "특이적으로 결합하다"로 언급된다. 항체는 키메라 항체, 인간화 항체, 또는 바람직하게는 인간 항체일 수 있다. 중쇄 불변 영역은 글리코실화 유형 또는 정도에 영향을 미치거나, 항체 반감기를 연장시키거나, 이펙터 세포 또는 보체계와의 상호작용을 증진 또는 감소시키거나, 또는 일부 다른 특성을 조정하기 위해 조작될 수 있

다. 조작은 1개 이상의 아미노산의 대체, 부가, 또는 결실에 의해, 또는 도메인의 또 다른 이뮤노글로불린 유형으로부터의 도메인으로의 대체에 의해, 또는 상기의 조합에 의해 달성될 수 있다.

[0049] 항체의 "항원 결합 단편" 및 "항원 결합 부분" (또는 간단하게 "항체 부분" 또는 "항체 단편")은 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는, 항체의 1개 이상의 단편을 의미한다. 항체의 항원-결합 기능은 전장 항체의 단편, 예컨대 (i)  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  및  $C_{H1}$  도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디설피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인  $F(ab')_2$  단편; (iii) 본질적으로 힌지 영역의 일부를 갖는 Fab인 Fab' 단편 (예를 들어, 문헌 [Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 6th Ed., Saunders Elsevier 2007] 참조); (iv)  $V_H$  및  $C_{H1}$  도메인으로 이루어진 Fd 단편; (v) 항체의 단일 아암의  $V_L$  및  $V_H$  도메인으로 이루어진 Fv 단편, (vi)  $V_H$  도메인으로 이루어진 dAb 단편 (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546); (vii) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR); 및 (viii) 단일 가변 도메인 및 2개의 불변 도메인을 함유하는 중쇄 가변 영역인 나노바디에 의해 수행될 수 있는 것으로 제시된 바 있다. 바람직한 항원 결합 단편은 Fab,  $F(ab')_2$ , Fab', Fv, 및 Fd 단편이다. 게다가, Fv 단편의 2개의 도메인,  $V_L$  및  $V_H$ 는 별개의 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 재조합 방법을 사용하여, 이들을  $V_L$  및  $V_H$  영역이 쌍형성하여 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 쇠 (단일쇄 Fv, 또는 scFv로 공지됨)로서 제조되도록 할 수 있는 합성 링커에 의해 연결될 수 있으며; 예를 들어, 문헌 [Bird et al. (1988) Science 242:423-426; 및 Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883]을 참조한다. 이러한 단일 쇠 항체는 용어 항체의 "항원-결합 부분" 내에 또한 포괄된다.

[0050] "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체를 실질적으로 함유하지 않는 항체를 의미한다 (예를 들어, 항원 X에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 항원 X 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 실질적으로 함유하지 않음). 그러나, 항원 X에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 종으로부터의 항원 X 분자와 같은 다른 항원에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 단리된 항체는 인간 항원 X에 특이적으로 결합하고, 다른 (비-인간) 항원 X 항원과는 교차-반응하지 않는다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질을 실질적으로 함유하지 않을 수 있다.

[0051] "모노클로날 항체" 또는 "모노클로날 항체 조성물"은 특정한 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타내는, 단일 분자 조성의 항체 분자의 제제를 의미한다.

[0052] "인간 항체"는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다 (및 존재하는 경우에 불변 영역)가 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 것인 가변 영역을 갖는 항체를 의미한다. 인간 항체는 천연 또는 합성 변형을 포함한 후기 변형을 포함할 수 있다. 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열에 그라프트된 것인 항체는 포함하지 않는다.

[0053] "인간 모노클로날 항체"는 단일 결합 특이성을 나타내며, 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다가 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 것인 가변 영역을 갖는 항체를 의미한다. 한 실시양태에서, 인간 모노클로날 항체는 불멸화 세포에 융합된 인간 중쇄 트랜스진 및 경쇄 트랜스진을 포함하는 게놈을 갖는, 트랜스제닉 비인간 동물, 예를 들어 트랜스제닉 마우스로부터 수득된 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해 생산된다.

[0054] "지방족"은 명시된 수의 탄소 원자를 갖거나 (예를 들어, " $C_3$  지방족", " $C_{1-5}$  지방족", " $C_1-C_5$  지방족" 또는 " $C_1$  내지  $C_5$  지방족"에서와 같으며, 후자 3개의 어구는 1 내지 5개의 탄소 원자를 갖는 지방족 모이어티에 대한 동의어임) 또는 탄소 원자의 수가 명확하게 명시되지 않은 경우에는 1 내지 4개의 탄소 원자 (불포화 지방족 모이어티의 경우에는 2 내지 4개의 탄소)를 갖는 직쇄 또는 분지쇄, 포화 또는 불포화, 비-방향족 탄화수소 모이어티를 의미한다. 유사한 이해가  $C_{2-4}$  알켄,  $C_4-C_7$  시클로지방족 등에서와 같은 다른 유형에서의 탄소의 수에 적용된다. 유사한 맥락에서, " $(CH_2)_{1-3}$ "과 같은 용어는 이러한 용어가  $CH_2$ ,  $CH_2CH_2$ , 및  $CH_2CH_2CH_2$ 를 나타내도록 아래 첨자가 1, 2, 또는 3인 것에 대한 약칭인 것으로 이해되어야 한다.

[0055] "알킬"은 포화 지방족 모이어티를 의미하며, 여기서 탄소 원자의 수의 지정에 대한 동일한 규정이 적용가능하다. 예시로서,  $C_1-C_4$  알킬 (또는 동의어로  $C_{1-4}$  알킬) 모이어티는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 이소부틸, t-부틸, 1-부틸, 2-부틸 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. "알킬렌"은 알킬 기의 2가

대응물, 예컨대  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ , 및  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ 를 의미한다.

- [0056] "알케닐"은 적어도 1개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 지방족 모이어티를 의미하며, 여기서 탄소 원자의 수의 지정에 대한 동일한 규정이 적용가능하다. 예시로서,  $\text{C}_2\text{-C}_4$  알케닐 모이어티는 에틸 (비닐), 2-프로펜일 (알릴 또는 프로프-2-에닐), 시스-1-프로펜일, 트랜스-1-프로펜일, E- (또는 Z-) 2-부테닐, 3-부테닐, 1,3-부타디에닐 (부트-1,3-디에닐) 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0057] "알킬닐"은 적어도 1개의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 지방족 모이어티를 의미하며, 여기서 탄소 원자의 수의 지정에 대한 동일한 규정이 적용가능하다. 예시로서,  $\text{C}_2\text{-C}_4$  알킬닐 기는 에틸닐 (아세틸레닐), 프로파르길 (프로프-2-이닐), 1-프로피닐, 부트-2-이닐 등을 포함한다.
- [0058] "시클로지방족"은 1 내지 3개의 고리를 가지며, 각각의 고리가 3 내지 8개 (바람직하게는 3 내지 6개)의 탄소 원자를 갖는 것인 포화 또는 불포화, 비-방향족 탄화수소 모이어티를 의미한다. "시클로알킬"은 각각의 고리가 포화된 것인 시클로지방족 모이어티를 의미한다. "시클로알케닐"은 적어도 1개의 고리가 적어도 1개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 것인 시클로지방족 모이어티를 의미한다. "시클로알킬닐"은 적어도 1개의 고리가 적어도 1개의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 것인 시클로지방족 모이어티를 의미한다. 예시로서, 시클로지방족 모이어티는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥센일, 시클로헥실, 시클로헥세닐, 시클로헵틸, 시클로옥틸, 및 아다만틸을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직한 시클로지방족 모이어티는 시클로알킬 모이어티, 특히 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 및 시클로헥실이다. "시클로알킬렌"은 시클로알킬 기의 2가 대응물을 의미한다.
- [0059] "헤테로시클로지방족"은 그의 적어도 1개의 고리 내에서, 최대 3개 (바람직하게는 1 내지 2개)의 탄소가 N, O, 또는 S로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자로 대체된 것인 시클로지방족 모이어티를 의미하며, 여기서 N 및 S는 임의로 산화될 수 있고, N은 임의로 4급화될 수 있다. 유사하게, "헤테로시클로알킬", "헤테로시클로알케닐", 및 "헤테로시클로알킬닐"은 각각 적어도 1개의 고리가 이렇게 하여 변형된 것인 시클로알킬, 시클로알케닐, 또는 시클로알킬닐 모이어티를 의미한다. 예시적인 헤테로시클로지방족 모이어티는 아지리디닐, 아제티디닐, 1,3-디옥사닐, 옥세타닐, 테트라히드로푸릴, 피롤리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 테트라히드로피라닐, 테트라히드로티오피라닐, 테트라히드로티오피라닐 술폰, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 티오모르폴리닐 술폰, 티오모르폴리닐 술폰, 1,3-디옥솔라닐, 테트라히드로-1,1-디옥소티에닐, 1,4-디옥사닐, 티에타닐 등을 포함한다. "헤테로시클로알킬렌"은 헤테로시클로알킬 기의 2가 대응물을 의미한다.
- [0060] "알콕시", "아릴옥시", "알킬티오", 및 "아릴티오"는 각각 -O(알킬), -O(아릴), -S(알킬), 및 -S(아릴)을 의미한다. 예는 각각 메톡시, 페녹시, 메틸티오, 및 페닐티오이다.
- [0061] "할로젠" 또는 "할로"는 플루오린, 염소, 브로민 또는 아이오딘을 의미한다.
- [0062] "아릴"은 각각의 고리가 3 내지 7개의 탄소 원자를 갖고 적어도 1개의 고리가 방향족인 모노시클릭, 비시클릭, 또는 트리시클릭 고리계를 갖는 탄화수소 모이어티를 의미한다. 고리계 내의 고리는 서로 융합될 수 있거나 (비페닐에서와 같음) 또는 서로 결합될 수 있으며 (나프틸에서와 같음), 비-방향족 고리에 융합 또는 결합될 수 있다 (인다닐 또는 시클로헥실페닐에서와 같음). 추가 예시로서, 아릴 모이어티는 페닐, 나프틸, 테트라히드로나프틸, 인다닐, 비페닐, 페난트릴, 안트라세닐, 및 아세나프틸을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. "아릴렌"은 아릴 기의 2가 대응물, 예를 들어 1,2-페닐렌, 1,3-페닐렌, 또는 1,4-페닐렌을 의미한다.
- [0063] "헤테로아릴"은 각각의 고리가 3 내지 7개의 탄소 원자를 갖고 적어도 1개의 고리가 N, O, 또는 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 방향족 고리인 모노시클릭, 비시클릭, 또는 트리시클릭 고리계를 갖는 모이어티를 의미하며, 여기서 N 및 S는 임의로 산화될 수 있고, N은 임의로 4급화될 수 있다. 이러한 적어도 1개의 헤테로원자 함유 방향족 고리는 다른 유형의 고리에 융합될 수 있거나 (페닐피리디닐 또는 2-시클로헥틸피리디닐에서와 같음) 또는 다른 유형의 고리에 직접 결합될 수 있다 (벤조푸라닐 또는 테트라히드로이소퀴놀릴에서와 같음). 추가 예시로서, 헤테로아릴 모이어티는 피롤릴, 푸라닐, 티오펜일 (티에닐), 이미다졸릴, 피라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 피리디닐, N-옥소피리디닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 퀴노잘리닐, 나프티리디닐, 벤조푸라닐, 인돌릴, 벤조티오펜일, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 페노디아졸릴, 벤즈이미다졸릴, 벤조트리아졸릴, 디벤조푸라닐, 카르바졸릴, 디벤조티오펜일, 아크리디닐 등을 포함한다. "헤테로아릴렌"은 헤테로아릴 기의 2가 대응물을 의미한다.

[0064] "비치환 또는 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬" 또는 "임의로 치환된 헤테로아릴"에서와 같은 "비치환 또는 치환된" 또는 "임의로 치환된" 어구의 사용에 의해서와 같이 모이어티가 치환될 수 있는 것으로 나타난 경우에, 이러한 모이어티는 1개 이상의 독립적으로 선택된 치환기, 바람직하게는 수에 있어서 1 내지 5개, 보다 바람직하게는 수에 있어서 1 또는 2개를 가질 수 있다. 치환기 및 치환 패턴은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해, 치환기가 부착되는 모이어티를 고려하여, 화학적으로 안정하고 관련 기술분야에 공지된 기술 뿐만 아니라 본원에 제시된 방법에 의해 합성될 수 있는 화합물을 제공하도록 선택될 수 있다.

[0065] "아릴알킬", "(헤테로시클로지방족)알킬", "아릴알케닐", "아릴알키닐", "비아릴알킬" 등은, 예를 들어 벤질, 페네틸, N-이미다조일에틸, N-모르폴리노에틸 등에서와 같이, 경우에 따라 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 모이어티에서 개방 (비충족) 원자가를 갖는, 경우에 따라 아릴, 헤테로시클로지방족, 비아릴 등의 모이어티로 치환된 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 모이어티를 의미한다. 반대로, "알킬아릴", "알케닐시클로알킬" 등은, 경우에 따라 예를 들어 메틸페닐 (톨릴) 또는 알릴시클로헥실에서와 같이, 경우에 따라 알킬, 알케닐 등의 모이어티로 치환된 아릴, 시클로알킬 등의 모이어티를 의미한다. "히드록시알킬", "할로알킬", "알킬아릴", "시아노아릴" 등은, 경우에 따라 확인된 치환기 (경우에 따라 히드록실, 할로 등) 중 1개 이상으로 치환된 알킬, 아릴 등의 모이어티를 의미한다.

[0066] 예를 들어, 허용되는 치환기는 알킬 (특히 메틸 또는 에틸), 알케닐 (특히 알릴), 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 시클로지방족, 헤테로시클로지방족, 할로 (특히 플루오로), 할로알킬 (특히 트리플루오로메틸), 히드록실, 히드록시알킬 (특히 히드록시에틸), 시아노, 니트로, 알콕시, -O(히드록시알킬), -O(할로알킬) (특히 -OCF<sub>3</sub>), -O(시클로알킬), -O(헤테로시클로알킬), -O(아릴), 알킬티오, 아릴티오, =O, =NH, =N(알킬), =NOH, =NO(알킬), -C(=O)(알킬), -C(=O)H, -CO<sub>2</sub>H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(알킬), -C(=O)O(히드록시알킬), -C(=O)NH<sub>2</sub>, -C(=O)NH(알킬), -C(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, -OC(=O)(알킬), -OC(=O)(히드록시알킬), -OC(=O)O(알킬), -OC(=O)O(히드록시알킬), -OC(=O)NH<sub>2</sub>, -OC(=O)NH(알킬), -OC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, 아지도, -NH<sub>2</sub>, -NH(알킬), -N(알킬)<sub>2</sub>, -NH(아릴), -NH(히드록시알킬), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)NH(알킬), -NHC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -OSO<sub>2</sub>(알킬), -SH, -S(알킬), -S(아릴), -S(시클로알킬), -S(=O)알킬, -SO<sub>2</sub>(알킬), -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NH(알킬), -SO<sub>2</sub>N(알킬)<sub>2</sub> 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0067] 치환될 모이어티가 지방족 모이어티인 경우에, 바람직한 치환기는 아릴, 헤테로아릴, 시클로지방족, 헤테로시클로지방족, 할로, 히드록실, 시아노, 니트로, 알콕시, -O(히드록시알킬), -O(할로알킬), -O(시클로알킬), -O(헤테로시클로알킬), -O(아릴), 알킬티오, 아릴티오, =O, =NH, =N(알킬), =NOH, =NO(알킬), -CO<sub>2</sub>H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(알킬), -C(=O)O(히드록시알킬), -C(=O)NH<sub>2</sub>, -C(=O)NH(알킬), -C(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, -OC(=O)(알킬), -OC(=O)(히드록시알킬), -OC(=O)O(알킬), -OC(=O)O(히드록시알킬), -OC(=O)NH<sub>2</sub>, -OC(=O)NH(알킬), -OC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, 아지도, -NH<sub>2</sub>, -NH(알킬), -N(알킬)<sub>2</sub>, -NH(아릴), -NH(히드록시알킬), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)NH(알킬), -NHC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -OSO<sub>2</sub>(알킬), -SH, -S(알킬), -S(아릴), -S(=O)알킬, -S(시클로알킬), -SO<sub>2</sub>(알킬), -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NH(알킬), 및 -SO<sub>2</sub>N(알킬)<sub>2</sub>이다. 보다 바람직한 치환기는 할로, 히드록실, 시아노, 니트로, 알콕시, -O(아릴), =O, =NOH, =NO(알킬), -OC(=O)(알킬), -OC(=O)O(알킬), -OC(=O)NH<sub>2</sub>, -OC(=O)NH(알킬), -OC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, 아지도, -NH<sub>2</sub>, -NH(알킬), -N(알킬)<sub>2</sub>, -NH(아릴), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)NH(알킬), -NHC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, 및 -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>이다. 페닐, 시아노, 할로, 히드록실, 니트로, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>알콕시, O(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> 알킬렌)OH, 및 O(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> 알킬렌)할로가 특히 바람직하다.

[0068] 치환될 모이어티가 시클로지방족, 헤테로시클로지방족, 아릴, 또는 헤테로아릴 모이어티인 경우에, 바람직한 치환기는 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로, 할로알킬, 히드록실, 히드록시알킬, 시아노, 니트로, 알콕시, -O(히드록시알킬), -O(할로알킬), -O(아릴), -O(시클로알킬), -O(헤테로시클로알킬), 알킬티오, 아릴티오, -C(=O)(알킬), -C(=O)H, -CO<sub>2</sub>H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(알킬), -C(=O)O(히드록시알킬), -C(=O)NH<sub>2</sub>, -C(=O)NH(알킬), -C(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, -OC(=O)(알킬), -OC(=O)(히드록시알킬), -OC(=O)O(알킬), -OC(=O)O(히드록시알킬), -OC(=O)NH<sub>2</sub>, -OC(=O)NH(알킬), -OC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, 아지도, -NH<sub>2</sub>, -NH(알킬), -N(알킬)<sub>2</sub>, -NH(아릴), -NH(히드록시알킬), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)NH(알킬), -NHC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -OSO<sub>2</sub>(알킬),

-SH, -S(알킬), -S(아릴), -S(시클로알킬), -S(=O)알킬, -SO<sub>2</sub>(알킬), -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NH(알킬), 및 -SO<sub>2</sub>N(알킬)<sub>2</sub>이다. 보다 바람직한 치환기는 알킬, 알케닐, 할로, 할로알킬, 히드록실, 히드록시알킬, 시아노, 니트로, 알콕시, -O(히드록시알킬), -C(=O)(알킬), -C(=O)H, -CO<sub>2</sub>H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(알킬), -C(=O)O(히드록시알킬), -C(=O)NH<sub>2</sub>, -C(=O)NH(알킬), -C(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, -OC(=O)(알킬), -OC(=O)(히드록시알킬), -OC(=O)O(알킬), -OC(=O)O(히드록시알킬), -OC(=O)NH<sub>2</sub>, -OC(=O)NH(알킬), -OC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(알킬), -N(알킬)<sub>2</sub>, -NH(아릴), -NHC(=O)(알킬), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)NH(알킬), -NHC(=O)N(알킬)<sub>2</sub>, 및 -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>이다. C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 시아노, 니트로, 할로, 및 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>알콕시가 특히 바람직하다.

[0069] "C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬" 또는 "5 내지 10%"에서와 같이 범위가 언급된 경우에, 이러한 범위는 첫 번째 경우에는 C<sub>1</sub> 및 C<sub>5</sub> 및 두 번째 경우에는 5% 및 10%에서와 같은 범위의 중점을 포함한다.

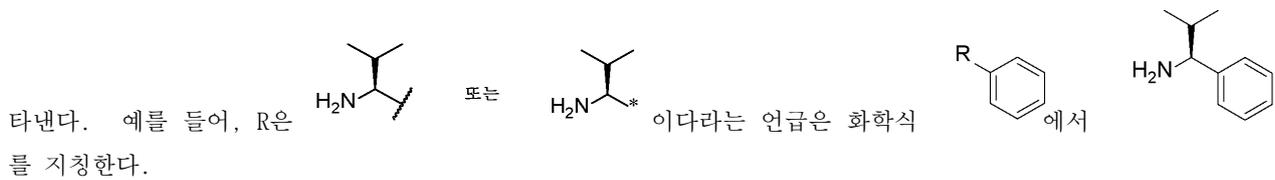
[0070] 특정한 입체이성질체가 구체적으로 (예를 들어, 구조 화학식에서의 관련 입체중심에서 굽은선 또는 파선 결합에 의해, 구조 화학식에서 E 또는 Z 배위를 갖는 것으로서의 이중 결합의 도시에 의해, 또는 입체화학-지정 명명법 사용에 의해) 나타내지 않는 한, 모든 입체이성질체는 순수한 화합물 뿐만 아니라 그의 혼합물로서, 본 발명의 범주 내에 포함된다. 달리 나타내지 않는 한, 개별 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 기하 이성질체, 및 그의 조합 및 혼합물은 모두 본 발명에 의해 포괄된다.

[0071] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 화합물이 구조 화학식에 도시된 것들과 등가인 호변이성질체 형태 (예를 들어, 케토 및 엔올 형태), 공명 형태, 및 쓰비터이온 형태를 가질 수 있고, 구조 화학식이 이러한 호변이성질체, 공명, 또는 쓰비터이온 형태를 포괄함을 인지할 것이다.

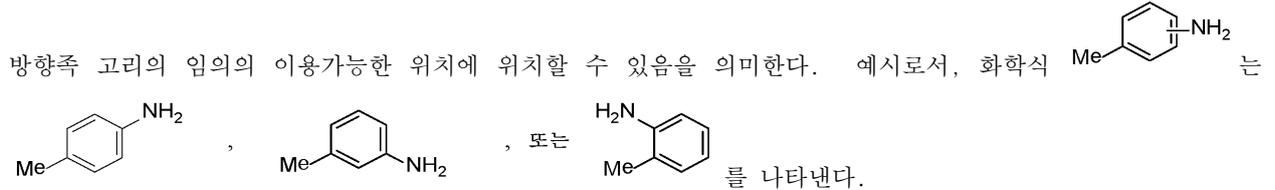
[0072] "제약상 허용되는 에스테르"는 생체내에서 (예를 들어 인간 신체에서) 가수분해되어 모 화합물 또는 그의 염을 생산하거나, 또는 그 자체로 모 화합물의 것과 유사한 활성을 갖는 에스테르를 의미한다. 적합한 에스테르는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> 알케닐 또는 C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> 알키닐 에스테르, 특히 메틸, 에틸 또는 n-프로필을 포함한다.

[0073] "제약상 허용되는 염"은 제약 제제에 적합한 화합물의 염을 의미한다. 화합물이 1개 이상의 염기성기를 갖는 경우에, 염은 산 부가염, 예컨대 술페이트, 히드로브로마이드, 타르트레이트, 메실레이트, 말레이트, 시트레이트, 포스페이트, 아세테이트, 파모에이트 (엠보네이트), 히드로아이오다이드, 니트레이트, 히드로클로라이드, 락테이트, 메틸술페이트, 푸마레이트, 벤조에이트, 숙시네이트, 메실레이트, 락토비오네이트, 수베레이트, 토실레이트 등일 수 있다. 화합물이 1개 이상의 산성기를 갖는 경우에, 염은 칼슘 염, 칼륨 염, 마그네슘 염, 메글루민 염, 암모늄 염, 아연 염, 피페라진 염, 트로메타민 염, 리튬 염, 콜린 염, 디에틸아민 염, 4-페닐시클로헥실아민 염, 벤자틴 염, 나트륨 염, 테트라메틸암모늄 염 등과 같은 염일 수 있다. 다형성 결정질 형태 및 용매화물은 본 발명의 범주 내에 또한 포괄된다.

[0074] 본 명세서의 화학식에서, 결합에 대한 파상선 (~~~~) 또는 결합의 말단에서의 별표 (\*)는 공유 부착 부위를 나타낸다.



[0075] 본 명세서의 화학식에서, 방향족 고리를 그의 2개의 탄소 사이에서 가로지르는 결합은 해당 결합에 부착된기가



[0076] 이량체

[0077] 바람직하게는, 화학식 I에서, X는 3 또는 5개 원자 길이의 C7/C7' 가교이고, Y는 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12개 원자 길이의 C8/C8' 가교이며, 여기서 각각의 가교 내의 원자는 C, O, N, 및 S로부터 선택되고, 특히 여기서 모든 가교 원자가 C이거나, 또는 1개의 O, N, 또는 S를 제외한 모두가 C이다. 보다 바람직하게는, X가 3개 원자

길이인 경우에, Y는 7, 8, 9, 또는 10개 원자 길이 (보다 더 바람직하게는 8 내지 10개 원자 길이)이고, X가 5개 원자 길이인 경우에, Y는 11 또는 12개 원자 길이이다.

[0078] 바람직한 실시양태에서, 화학식 I에서, X는 (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub> 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>이다.

[0079] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 화학식 I, IIa, IIb, 또는 IIc (후자 3개의 화학식은 하기 제시됨)에서, Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>7-12</sub>, 보다 바람직하게는 (CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>이다.

[0080] 화학식 I에서, X 및 Y의 바람직한 조합은 X가 (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>이며 Y가 (CH<sub>2</sub>)<sub>8-10</sub>인 것 및 X가 (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>이며 Y가 (CH<sub>2</sub>)<sub>11-12</sub>인 것이다. 보다 바람직한 조합은 X가 (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>이며 Y가 (CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>인 것이다.

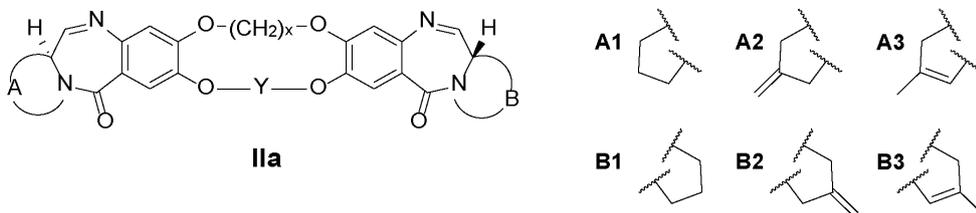
[0081] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 화학식 I, IIa, IIb, 또는 IIc에서, Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2-3</sub>, 특히 (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>이다.

[0082] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 화학식 I, IIa, IIb, 또는 IIc에서, Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N(CH<sub>2</sub>(p-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>))(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>이다.

[0083] 화학식에서 나타난 경우에 X<sup>2</sup>는 바람직하게는 NH<sub>2</sub>, SH, 또는 CO<sub>2</sub>H이다.

[0084] 바람직하게는, 화학식 I에서의 X가  $\text{---}(\text{CH}_2)_{1-3}\text{---X}^1\text{---}(\text{CH}_2)_{1-3}\text{---}$  이고, X<sup>1</sup>이 O 또는 NH인 경우에, X는  $\text{---}(\text{CH}_2)_{2-3}\text{---X}^1\text{---}(\text{CH}_2)_{2-3}\text{---}$  이다.

[0085] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 이량체는 화학식 IIa에 의해 나타내어진 구조를 가지며, 여기서 x는 3 또는 5 (바람직하게는 3)이고; Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>7-12</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub> 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>NH((CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>페닐)(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>이고, 여기서 페닐 기는 NH<sub>2</sub>로 임의로 치환되고; A는 하기 도시된 바와 같은 A1, A2, 또는 A3이고, B는 하기 도시된 바와 같은 B1, B2, 또는 B3이다. 대표적인 종은 표 1에 열거되어 있다.



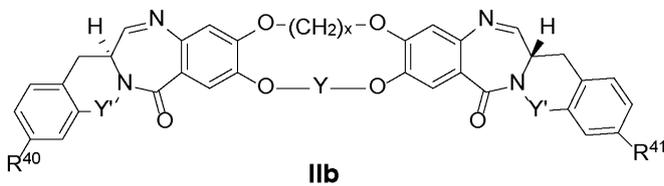
[0086]

표 1 - 화학식 IIa에 따른 이량체의 예				
이량체	x	Y	A	B
IIa-1	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub>	A1	B1
IIa-2	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub>	A1	A1
IIa-3	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub>	A1	A1
IIa-4	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub>	A1	B1
IIa-5	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub>	A1	A1
IIa-6	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub>	A1	A1
IIa-7	5	(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub>	A1	B1
IIa-8	5	(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub>	A1	A1
IIa-9	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -  -(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	A1	A1
IIa-10	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -  -(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	A2	B2
IIa-11	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub>	A3	B3
IIa-12	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub>	A2	B2
IIa-13	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	A2	B2
IIa-14	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	A2	B2

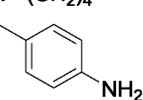
[0087]

[0088]

또 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 이량체는 화학식 IIb에 의해 나타내어진 구조를 가지며, 여기서 x는 3 또는 5 (바람직하게는 3)이고, 각각의 Y'는 독립적으로 부재하거나 또는 CH<sub>2</sub>이고, Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>7-12</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub> 또는 (CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>NH((CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>페닐)(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>이고, 여기서 페닐 기는 NH<sub>2</sub>로 임의로 치환되고; R<sup>40</sup> 및 R<sup>41</sup>은 독립적으로 H, Cl, Br, OH, O(C<sub>1-3</sub> 알킬), NH<sub>2</sub>, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬이다. 대표적인 종은 표 2에 열거되어 있다.

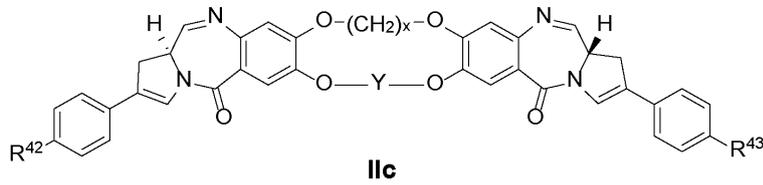


[0089]

표 2 - 화학식 IIb에 따른 이량체의 예					
이량체	x	Y'	Y	R <sup>40</sup>	R <sup>41</sup>
IIb-1	3	CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub>	H	H
IIb-2	3	CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub>	H	H
IIb-3	3	부재함	(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub>	H	H
IIb-4	3	CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	H	H
IIb-5	3	CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	H	H
IIb-6	3	CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub>	H	NH <sub>2</sub>
IIb-7	3	CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	H	NH <sub>2</sub>
IIb-8	3	CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> - 	H	H

[0090]

[0091] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 이량체는 화학식 IIc에 의해 나타내어진 구조를 가지며, 여기서 x는 3 또는 5 (바람직하게는 3)이고, Y는  $(CH_2)_{7-12}$ ,  $(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_{1-3}$ ,  $(CH_2)_{2-4}NH(CH_2)_{2-4}$  또는  $(CH_2)_{2-4}NH((CH_2)_{0-1}페닐)(CH_2)_{2-4}$ 이고, 여기서 페닐 기는 NH<sub>2</sub>로 임의로 치환되고; R<sup>42</sup> 및 R<sup>43</sup>은 독립적으로 H, OMe, NH<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)O, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)NMe, 또는 N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)NH이다. 대표적인 종은 표 3에 열거되어 있다.



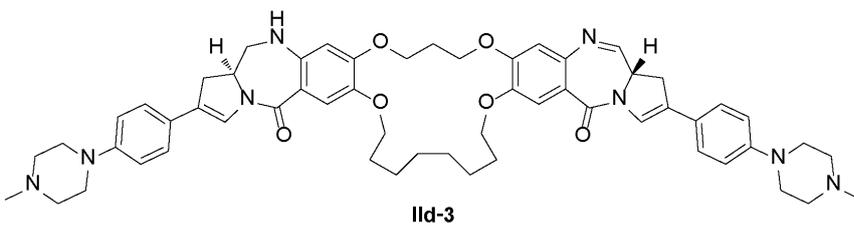
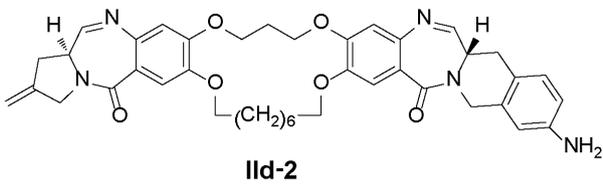
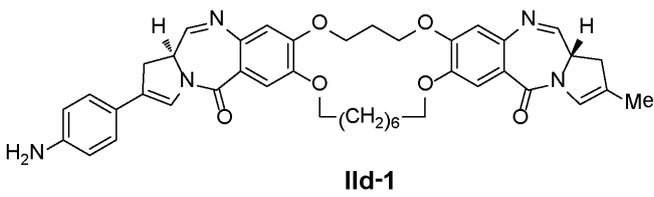
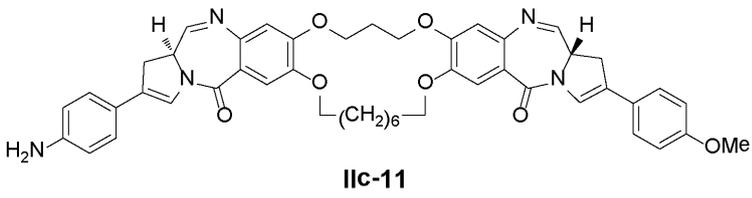
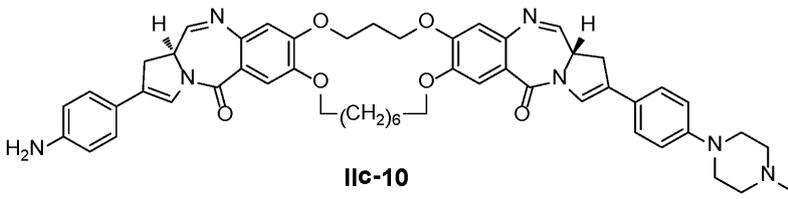
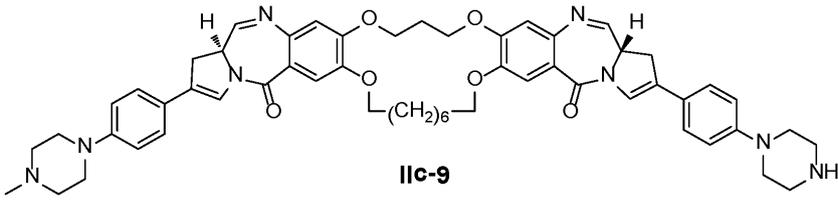
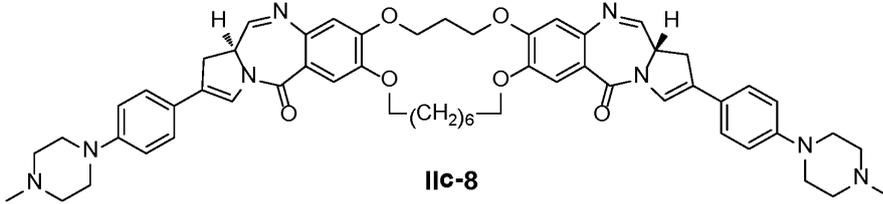
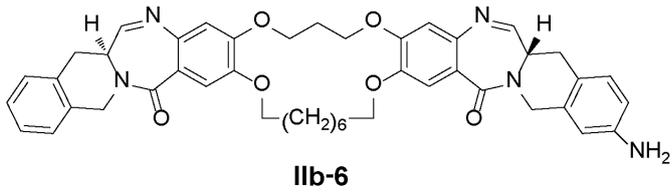
[0092]

표 3 - 화학식 IIc에 따른 이량체의 예

이량체	x	Y	R <sup>42</sup>	R <sup>43</sup>
IIc-1	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub>	H	H
IIc-2	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub>	OMe	OMe
IIc-3	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub>	OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe	OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe
IIc-4	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub>		
IIc-5	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub>		
IIc-6	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	H	H
IIc-7	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub>	OMe	OMe
IIc-8	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub>		
IIc-9	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub>		
IIc-10	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub>		NH <sub>2</sub>
IIc-11	3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub>	NH <sub>2</sub>	OMe

[0093]

[0094] 바람직하게는, 본 발명의 이량체는 이량체 IIb-6, IIc-8, IIc-9, IIc-10, IIc-11, IId-1, IId-2, 및 IId-3으로 이루어진 군으로부터 선택된다.



[0095]

[0096]

- [0097] 집합체
- [0098] 일반사항
- [0099] 본 발명의 이량체는 그 자체로 치료제로서 사용될 수 있지만, 바람직하게는 암 세포 상의 화학 물질에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 표적화 모이어티와의 집합체로서 사용된다. 바람직하게는, 표적화 모이어티는 항체 또는 그의 항원 결합 부분이고, 화학 물질은 종양 연관 항원이다.
- [0100] 따라서, 본 발명의 또 다른 실시양태는 화학식 II에 의해 나타내어진, 본 발명의 이량체 및 리간드를 포함하는 집합체이다.
- [0101]  $[D(X^D)_a(C)(X^Z)_b]_mZ$  (II)
- [0102] 여기서 Z는 리간드이고, D는 본 발명의 이량체이고,  $-(X^D)_aC(X^Z)_b-$ 는 이들이 Z 및 D를 연결시키기 때문에 집합적으로 "링커 모이어티" 또는 "링커"로 지칭된다. 링커 내에서, C는 이량체 D의 의도된 생물학적 작용 부위에서 또는 그 근처에서 절단되도록 설계된 절단가능한 기이고;  $X^D$  및  $X^Z$ 는 이들이 각각 D와 C 및 C와 Z를 이격시키기 때문에 스페이서 모이어티 (또는 "스페이서")로 지칭되고; 아래첨자 a, b, 및 c는 독립적으로 0 또는 1이다 (즉,  $X^D$ ,  $X^Z$ , 및 C의 존재는 임의적임). 아래첨자 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 (바람직하게는 1, 2, 3, 또는 4)이다. D,  $X^D$ , C,  $X^Z$ , 및 Z는 하기에 더 완전히 기재되어 있다.
- [0103] 리간드 Z - 예를 들어 항체 -는 표적화 기능을 수행한다. 항원 또는 수용체가 위치하는 표적 조직 또는 세포에 결합함으로써, 리간드 Z는 그곳에서 집합체를 유도한다. 리간드 Z가 항체인 경우에, 집합체는 때때로 항체-약물 집합체 (ADC) 또는 면역집합체로 지칭된다. 바람직하게는, 표적 조직 또는 세포는 암 조직 또는 세포이고, 항원 또는 수용체는 종양-연관 항원, 즉 암성 세포에 의해 특유하게 발현되거나 또는 비-암성 세포와 비교하여 암 세포에 의해 과다발현되는 항원이다. 표적 조직 또는 세포에서의 기 C의 절단은 이량체 D를 방출하여 그의 세포독성 효과를 국부로 표출한다. 일부 경우에, 집합체는 세포내이입에 의해 표적 세포에 내재화되고, 절단은 표적 세포 내에서 일어난다. 이러한 방식으로, 이량체 D의 정밀한 전달이 의도된 작용 부위에서 달성되어, 필요한 투여량이 감소된다. 또한, 이량체 D는 그의 집합된 상태에서 통상적으로 생물학적으로 불활성 (또는 유의하게 덜 활성)이고, 그에 의해 비-표적 조직 또는 세포에 대한 목적하지 않는 독성이 감소된다. 항암 약물은 일반적으로 세포에 대해 종종 고도로 독성이기 때문에, 이는 중요한 고려사항이다.
- [0104] 아래첨자 m에 의해 반영된 바와 같이, 리간드 Z의 각각의 분자는 리간드 Z가 갖는 집합에 이용가능한 부위의 수 및 사용되는 실험 조건에 따라, 1개 초과인 이량체 D와 결합할 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 리간드 Z의 각각의 개별 분자가 정수개의 이량체 D에 결합되며, 집합체의 제조가 통계적 평균을 반영하여 비-정수비의 이량체 D 대 리간드 Z에 대해 분석될 수 있음을 인지할 것이다. 이러한 비는 치환 비 (SR)로, 또는 동의어로 약물-항체 비 (DAR)로 지칭된다.
- [0105] 리간드 Z
- [0106] 바람직하게는, 리간드 Z는 항체이다. 편의성 및 간결성을 위해 및 제한 없이, 리간드 Z의 집합에 대한 본원의 상세한 후속 논의는 그것이 항체와 관련하여 기록되어 있지만, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 필요한 변경을 가하여 다른 유형의 리간드 Z가 결합될 수 있음을 이해할 것이다. 예를 들어, 리간드로서의 폴산과의 집합체는 그의 표면 상에 플레이트 수용체를 갖는 세포를 표적화할 수 있다 (Leamon et al., Cancer Res. 2008, 68 (23), 9839). 동일한 이유로, 하기 상세한 논의는 주로 1:1 비의 항체 Z 대 유사체 D (m = 1)의 관점에서 기록되어 있다.
- [0107] 바람직하게는, 리간드 Z는 암 세포의 선택적 표적화를 가능하게 하는, 종양 연관 항원에 대한 항체이다. 이러한 항원의 예는 메소텔린, 전립선 특이적 막 항원 (PSMA), CD19, CD22, CD30, CD70, B7H3, B7H4 (O8E로도 공지됨), 단백질 티로신 키나제 7 (PTK7), 글리피칸-3, RG1, 푸코실-GM1, CTLA-4, 및 CD44를 포함한다. 항체는 동물 항체 (예를 들어, 무린), 키메라 항체, 인간화 항체, 또는 바람직하게는 인간 항체일 수 있다. 항체는 바람직하게는 모노클로날, 특히 모노클로날 인간 항체이다. 상기 언급된 항원 중 일부에 대한 인간 모노클로날 항체의 제조는 문헌 [Korman et al., US 8,609,816 B2 (2013; B7H4, O8E로도 공지됨; 특히 항체 2A7, 1G11, 및 2F9); Rao-Naik et al., 8,097,703 B2 (2012; CD19; 특히 항체 5G7, 13F1, 46E8, 21D4, 21D4a, 47G4, 27F3, 및 3C10); King et al., US 8,481,683 B2 (2013; CD22; 특히 항체 12C5, 19A3, 16F7, 및 23C6); Keler et

al., US 7,387,776 B2 (2008; CD30; 특허 항체 5F11, 2H9, 및 17G1); Terrett et al., US 8,124,738 B2 (2012; CD70; 특허 항체 2H5, 10B4, 8B5, 18E7, 및 69A7); Korman et al., US 6,984,720 B1 (2006; CTLA-4; 특허 항체 10D1, 4B6, 및 1E2); Vistica et al., US 8,383,118 B2 (2013, 푸코실-GM1, 특허 항체 5B1, 5B1a, 7D4, 7E4, 13B8, 및 18D5) Korman et al., US 8,008,449 B2 (2011; PD-1; 특허 항체 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 4A11, 7D3, 및 5F4); Huang et al., US 2009/0297438 A1 (2009; PSMA. 특허 항체 1C3, 2A10, 2F5, 2C6); Cardarelli et al., US 7,875,278 B2 (2011; PSMA; 특허 항체 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5, 및 1C3); Terrett et al., US 8,222,375 B2 (2012; PTK7; 특허 항체 3G8, 4D5, 12C6, 12C6a, 및 7C8); Terrett et al., US 8,680,247 B2 (2014; 글리피칸-3; 특허 항체 4A6, 11E7, 및 16D10); Harkins et al., US 7,335,748 B2(2008; RG1; 특허 항체 A, B, C, 및 D); Terrett et al., US 8,268,970 B2 (2012; 메소텔린; 특허 항체 3C10, 6A4, 및 7B1); Xu et al., US 2010/0092484 A1 (2010; CD44; 특허 항체 14G9.B8.B4, 2D1.A3.D12, 및 1A9.A6.B9); Deshpande et al., US 8,258,266 B2 (2012; IP10; 특허 항체 1D4, 1E1, 2G1, 3C4, 6A5, 6A8, 7C10, 8F6, 10A12, 10A12S, 및 13C4); Kuhne et al., US 8,450,464 B2 (2013; CXCR4; 특허 항체 F7, F9, D1, 및 E2); 및 Korman et al., US 7,943,743 B2 (2011; PD-L1; 특허 항체 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7, 및 13G4)]에 개시되어 있으며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 각각의 상기 언급된 항체는 본 발명의 이량체와의 ADC에 사용될 수 있다.

[0108] 리간드 Z는 또한 항체 단편 또는 항체 모방체, 예컨대 아피바디, 도메인 항체 (dAb), 나노바디, 유니바디, DARPin, 안티칼린, 베르사바디, 듀오칼린, 리포칼린, 또는 아비머일 수 있다.

[0109] 리간드 Z의 여러 상이한 반응성 기 중 임의의 1개는 리신 잔기 내의 ε-아미노 기, 펜던트 탄수화물 모이어티, 카르복실산 기, 디설피드 기, 및 티올 기를 포함한 접합 부위일 수 있다. 각각의 유형의 반응성 기는 일부 이점 및 일부 단점을 갖는 트레이드-오프를 나타낸다. 접합에 적합한 항체 반응성 기에 대한 종설에 대해, 예를 들어 문헌 [Garnett, Adv. Drug Delivery Rev. 53 (2001), 171-216 및 Dubowchik and Walker, Pharmacology & Therapeutics 83 (1999), 67-123]을 참조하며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0110] 한 실시양태에서, 리간드 Z는 리신 ε-아미노 기를 통해 접합된다. 대부분의 항체는 다중 리신 ε-아미노 기를 가지며, 이는 관련 기술분야에 공지된 기술을 사용하여 아미드, 우레아, 티오우레아, 또는 카르바메이트 결합을 통해 접합될 수 있다. 그러나, 어떠한 및 얼마나 많은 ε-아미노 기가 반응하는지를 제어하는 것은 어려우며, 이는 접합체 제조에서 잠재적인 배치별 변동성으로 이어진다. 또한, 접합은 항체의 천연 입체형태를 유지하는데 중요한 양성자화된 ε-아미노 기의 중화를 일으킬 수 있거나, 또는 항원 결합 부위 근처 또는 그 부위의 리신에서 일어날 수 있으며, 어떠한 것도 바람직한 경우는 아니다.

[0111] 또 다른 실시양태에서, 많은 항체가 글리코실화되는 것과 같이, 리간드 Z는 탄수화물 측쇄를 통해 접합될 수 있다. 탄수화물 측쇄는 피아이오데이트를 사용하여 산화되어 알데히드 기를 생성시킬 수 있고, 이는 또한 아민과 반응하여 세미카르바존, 옥심 또는 히드라존에서와 같이 이민 기를 형성할 수 있다. 원하는 경우에, 이민 기는 소듐 시아노보로하이드라이드를 사용한 환원에 의해 더 안정한 아민 기로 전환될 수 있다. 탄수화물 측쇄를 통한 접합에 관한 추가의 개시내용에 대해, 예를 들어 문헌 [Rodwell et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83, 2632-2636 (1986)]을 참조하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 리신 ε-아미노 기와 같이, 접합 부위(들)의 위치의 재현성 및 화학량론에 대한 우려가 존재한다.

[0112] 또 다른 실시양태에서, 리간드 Z는 카르복실산 기를 통해 접합될 수 있다. 한 실시양태에서, 말단 카르복실산 기는 관능화되어 카르보히드라이드를 생성시키고, 이는 이어서 알데히드-보유 접합 모이어티와 반응한다. 문헌 [Fisch et al., Bioconjugate Chemistry 1992, 3, 147-153]을 참조한다.

[0113] 또 다른 실시양태에서, 항체 Z는 항체 Z 상의 시스테인 잔기 및 접합체의 다른 부분 상의 황을 가교하는 디설피드 기를 통해 접합될 수 있다. 일부 항체는 유리 티올 (설프히드릴) 기가 결여되어 있지만, 예를 들어 힌지 영역 내에 디설피드 기를 갖는다. 이러한 경우에, 유리 티올 기는 천연 디설피드 기의 환원에 의해 생성될 수 있다. 이렇게 하여 생성된 티올 기는 이어서 접합에 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Packard et al., Biochemistry 1986, 25, 3548-3552; King et al., Cancer Res. 54, 6176-6185 (1994); 및 Doronina et al., Nature Biotechnol. 21(7), 778-784 (2003)]을 참조하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 다시, 접합 부위 위치 및 화학량론, 및 항체 천연 입체형태의 가능한 파괴에 대한 우려가 존재한다.

[0114] 천연 디설피드 결합을 파괴하지 않으면서 유리 티올 기를 항체에 도입하기 위한 다수의 방법이 공지되어 있으며, 이러한 방법은 본 발명의 리간드 Z를 사용하여 실시될 수 있다. 사용되는 방법에 따라, 미리 결정된 위치에 예측가능한 수의 유리 설프히드릴을 도입하는 것이 가능할 수 있다. 한 접근법에서는, 시스테인이 또

다른 아미노산 대신에 치환된 돌연변이된 항체를 제조한다. 예를 들어, 문헌 [Eigenbrot et al., US 7,521,541 B2 (2009); Chilkoti et al., Bioconjugate Chem. 1994, 5, 504-507; Urnovitz et al., US 4,698,420 (1987); Stimmel et al., J. Biol. Chem., 275 (39), 30445-30450 (2000); Bam et al., US 7,311,902 B2 (2007); Kuan et al., J. Biol. Chem., 269 (10), 7610-7618 (1994); Poon et al., J. Biol. Chem., 270 (15), 8571-8577 (1995)]을 참조한다. 또 다른 접근법에서는, 여분의 시스테인을 C-말단에 부가한다. 예를 들어, 문헌 [Cumber et al., J. Immunol., 149, 120-126 (1992); King et al., Cancer Res., 54, 6176-6185 (1994); Li et al., Bioconjugate Chem., 13, 985-995 (2002); Yang et al., Protein Engineering, 16, 761-770 (2003); 및 Olafson et al., Protein Engineering Design & Selection, 17, 21-27 (2004)]을 참조한다. 유리 시스테인을 도입하기 위한 바람직한 방법은 문헌 [Liu et al., WO 2009/026274 A1]에 교시된 것이며, 여기서는 시스테인 보유 아미노산 서열을 항체 중쇄의 C-말단에 부가한다. 이러한 방법은 공지된 수의 시스테인 잔기 (중쇄당 1개)를 항원 결합 부위로부터 멀리있는 공지된 위치에 도입한다. 본 단락에 인용된 문헌의 개시내용은 모두 본원에 참조로 포함된다.

[0115] 또 다른 실시양태에서, 리신  $\epsilon$ -아미노기를 시약 예컨대 2-이미노티올란 또는 N-숙신이미딜-3-(2-피리디디티오)프로피오네이트 (SPDP)를 사용하여 변형시켜,  $\epsilon$ -아미노기를 티올 또는 디설피드기로 전환시킬 수 있으며 - 이를테면 시스테인 대용물을 생성시킬 수 있다. 그러나, 이러한 방법은 적절한  $\epsilon$ -아미노기와 연관된 동일한 접합 위치 및 화학량론 제한을 겪는다.

[0116] 링커 성분

[0117] 상기 나타낸 바와 같이, 본 발명의 접합체의 링커 부분은 최대 3종의 요소: 절단가능한 기 C 및 임의적인 스페이서  $X^Z$  및  $X^D$ 를 포함한다.

[0118] 절단가능한 기 C는 생리학적 조건 하에 절단가능한 기이며, 바람직하게는 접합체가 혈장 내에서 일반적으로 순환되는 동안에는 비교적 안정하지만, 일단 접합체가 그의 의도된 작용 부위, 즉 표적 세포 근처에, 표적 세포에 또는 표적 세포 내에 도달하면 용이하게 절단되도록 선택된다. 바람직하게는, 접합체는 표적 세포의 표면 상에 나타난 항원에 대한 항체 Z의 결합 시에 표적 세포에 의해 내재화된다. 후속적으로, 기 C의 절단이 표적 세포의 소포체 (초기 엔도솜, 후기 엔도솜, 또는 특히 리소솜)에서 발생한다.

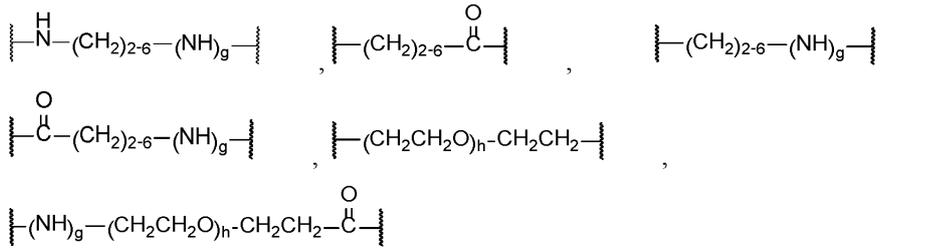
[0119] 한 실시양태에서, 기 C는 pH 감수성 기이다. 혈장 내의 pH는 중성을 약간 초과하며, 리소솜 내부의 pH는 약 5인 산성이다. 따라서, 절단이 산 촉매되는 것인 기 C는 혈장 내 속도보다 리소솜 내부에서 여러 자릿수 더 빠른 속도로 절단될 것이다. 적합한 산-감수성 기의 예는 문헌 [Shen et al., US 4,631,190 (1986); Shen et al., US 5,144,011 (1992); Shen et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 102, 1048-1054 (1981) 및 Yang et al., Proc. Natl Acad. Sci (USA), 85, 1189-1193 (1988)]에 기재된 바와 같은 시스-아코니틸 아미드 및 히드라존을 포함하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0120] 또 다른 실시양태에서, 기 C는 디설피드이다. 디설피드는 티올-디설피드 교환 메커니즘에 의해, 주위 티올 농도에 의존적인 속도로 절단될 수 있다. 글루타티온 및 다른 티올의 세포내 농도는 그의 혈청 농도보다 더 높기 때문에, 디설피드의 절단 속도는 세포내에서 더 높을 것이다. 추가로, 티올-디설피드 교환의 속도는 디설피드의 입체 및 전자 특성의 조정 (예를 들어, 알킬-아릴 디설피드 대 알킬-알킬 디설피드; 아릴 고리 상에서의 치환 등)에 의해 조정될 수 있으며, 이는 증진된 혈청 안정성 또는 특정한 절단 속도를 갖는 디설피드 연결의 설계를 가능하게 한다. 접합체 내의 디설피드 절단가능한 기에 관한 추가의 개시내용에 대해, 예를 들어 문헌 [Thorpe et al., Cancer Res. 48, 6396-6403 (1988); Santi et al., US 7,541,530 B2 (2009); Ng et al., US 6,989,452 B2 (2006); Ng et al., WO 2002/096910 A1; Boyd et al., US 7,691,962 B2; 및 Sufi et al., US 2010/0145036 A1]을 참조하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0121] 바람직한 절단가능한 기는, 혈청 내의 프로테아제에 의한 것과 대조적으로, 표적 세포 내부의 프로테아제에 의해 선택적으로 절단되는 펩티드이다. 전형적으로, 절단가능한 펩티드 기는 1 내지 20개의 아미노산, 바람직하게는 1 내지 6개의 아미노산, 보다 바람직하게는 1 내지 3개의 아미노산을 포함한다. 아미노산(들)은 천연 및/또는 비-천연  $\alpha$ -아미노산일 수 있다. 천연 아미노산은 유전자 코드에 의해 코딩되는 것들, 뿐만 아니라 그로부터 유래된 아미노산, 예를 들어 히드록시프롤린,  $\gamma$ -카르복시글루타메이트, 시트룰린, 및 O-포스포세린이다. 이와 관련하여, 용어 "아미노산"은 아미노산 유사체 및 모방체를 또한 포함한다. 유사체는 R기가 천연 아미노산 중에서 발견되는 것이 아닌 것을 제외하고는, 천연 아미노산의 동일한 일반적  $H_2N(R)CHCO_2H$  구조를 갖는 화합물이다. 유사체의 예는 호모세린, 노르류신, 메티오닌-술폰사이드, 및 메티오닌 메틸 술폰늄을 포함한다. 아미

노산 모방체는 α-아미노산의 일반적 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만, 그와 유사한 방식으로 기능하는 화합물이다. 아미노산은 유전자 코딩되는 아미노산의 "L" 입체화학, 뿐만 아니라 거울상이성질체 "D" 입체화학의 것일 수 있다.

- [0122] 바람직하게는, 기 C는 프로테아제에 대한 절단 인식 서열인 아미노산 서열을 함유한다. 많은 절단 인식 서열이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Matayoshi et al. Science 247: 954 (1990); Dunn et al. Meth. Enzymol. 241: 254 (1994); Seidah et al. Meth. Enzymol. 244: 175 (1994); Thornberry, Meth. Enzymol. 244: 615 (1994); Weber et al. Meth. Enzymol. 244: 595 (1994); Smith et al. Meth. Enzymol. 244: 412 (1994); 및 Bouvier et al. Meth. Enzymol. 248: 614 (1995)]을 참조하며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.
- [0123] 세포에 의해 내재화되도록 의도된 것이 아닌 접합체의 경우, 기 C는 표적 조직의 부근에서 세포의 매트릭스에 존재하는 프로테아제, 예를 들어 근처의 사멸 중인 세포에 의해 방출되는 프로테아제 또는 종양-연관 프로테아제에 의해 절단되도록 선택될 수 있다. 예시적인 세포의 종양-연관 프로테아제는 매트릭스 메탈로프로테아제 (MMP), 티메트 올리고펩티다제 (TOP) 및 CD10이다.
- [0124] 세포에 의해 내재화되도록 설계된 접합체의 경우, 기 C는 바람직하게는 엔도솜 또는 리소솜 프로테아제, 특히 후자에 의한 절단을 위해 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 이러한 프로테아제의 비제한적 예는 카텡신 B, C, D, H, L 및 S, 특히 카텡신 B를 포함한다. 카텡신 B는 서열  $-AA^2-AA^1-$  (여기서  $AA^1$ 은 염기성 또는 강한 수소 결합 아미노산 (예컨대 리신, 아르기닌, 또는 시트룰린)이고,  $AA^2$ 는 소수성 아미노산 (예컨대 페닐알라닌, 발린, 알라닌, 류신, 또는 이소류신)임), 예를 들어 Val-Cit (여기서 Cit는 시트룰린을 나타냄) 또는 Val-Lys에서의 펩티드를 우선적으로 절단한다. (여기서, 아미노산 서열은 문맥상 달리 명백하게 나타내지 않는 한,  $H_2N-AA^2-AA^1-CO_2H$ 에서와 같이 N에서 C 방향으로 기록되어 있음.) 일부 경우에 절단 속도가 더 느릴 수는 있지만, Lys-Val-Ala, Asp-Val-Ala, Val-Ala, Lys-Val-Cit, 및 Asp-Val-Cit가 또한 카텡신 B에 대한 기질 펩티드 모티프이다. 카텡신-절단가능한 기에 관한 추가의 정보에 대해, 문헌 [Dubowchik et al., Biorg. Med. Chem. Lett. 8, 3341-3346 (1998); Dubowchik et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 8 3347-3352 (1998); 및 Dubowchik et al., Bioconjugate Chem. 13, 855-869 (2002)]을 참조하며; 그의 개시내용은 참조로 포함된다. 펩티딜 링커를 절단하기 위해 이용될 수 있는 또 다른 효소는 Ala-Ala-Asn에서 우선적으로 절단하는 리소솜 시스템인 프로테아제인 레구마인이다.
- [0125] 한 실시양태에서, 기 C는 2개-아미노산 서열  $-AA^2-AA^1-$  (여기서  $AA^1$ 은 리신, 아르기닌, 또는 시트룰린이고,  $AA^2$ 는 페닐알라닌, 발린, 알라닌, 류신, 또는 이소류신임)을 포함하는 펩티드이다. 또 다른 실시양태에서, C는 Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Cit-Cit, Val-Lys, Ala-Ala-Asn, Lys, Cit, Ser, 및 Glu로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 3개의 아미노산의 서열로 이루어진다.
- [0126] 단일 아미노산으로 이루어진 절단가능한 기 C의 제조 및 설계는 문헌 [Chen et al., US 8,664,407 B2 (2014)]에 개시되어 있으며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.
- [0127] 기 C는 또한 광절단가능한 것, 예를 들어 광에 노출 시에 절단되는 니트로벤질 에테르일 수 있다.
- [0128] 기 C는 항체 Z 또는 유사체 D에 직접 결합될 수 있으며; 즉, 스페이서  $X^Z$  및  $X^D$ 는 경우에 따라 부재할 수 있다. 예를 들어, 기 C가 디설피드인 경우에, 2개의 황 중 1개는 항체 Z 상의 시스테인 잔기 또는 그의 대응물일 수 있다. 또는, 기 C는 항체의 탄수화물 측쇄 상의 알데히드에 결합된 히드라존일 수 있다. 또는, 기 C는 항체 Z의 리신 ε-아미노기로 형성된 펩티드 결합일 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 이량체 D는 이량체 D 내의 카르복실 또는 아민 기에 대한 펩티딜 결합을 통해 기 C에 직접 결합된다.
- [0129] 존재하는 경우에, 스페이서  $X^Z$ 는 기 C와 항체 Z 사이의 공간적 분리를 제공하여, 전자가 후자에 의한 항원 결합을 입체적으로 방해하거나 또는 후자가 전자의 절단을 입체적으로 방해하지 않도록 한다. 추가로, 스페이서  $X^Z$ 는 상승된 용해도 또는 감소된 응집 특성을 접합체에 부여하는데 사용될 수 있다. 스페이서  $X^Z$ 는 1개 이상의 모듈 세그먼트를 포함할 수 있으며, 이는 임의의 수의 조합으로 조립될 수 있다. 스페이서  $X^Z$ 에 대한 적절한 세그먼트의 예는



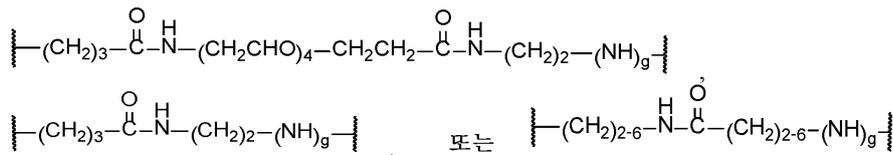
[0130]

[0131]

및 그의 조합이며,

[0132]

여기서 아래첨자  $g$ 는 0 또는 1이고, 아래첨자  $h$ 는 1 내지 24, 바람직하게는 2 내지 4이다. 이들 세그먼트는 하기 예시된 바와 같이 조합될 수 있다.



[0133]

[0134]

스페이스  $X^D$ 는 존재하는 경우에 기 C와 이량체 D 사이의 공간적 분리를 제공하여, 후자가 전자의 절단을 입체적으로 또는 전자적으로 방해하지 않도록 한다. 스페이스  $X^D$ 는 또한 추가의 분자 질량 및 화학적 관능기를 접합체에 도입하도록 기능할 수 있다. 일반적으로, 추가의 질량 및 관능기는 접합체의 혈청 반감기 및 다른 특성에 영향을 미칠 것이다. 따라서, 스페이스 기의 신중한 선택을 통해, 접합체의 혈청 반감기는 조정될 수 있다. 스페이스  $X^D$ 는 또한 스페이스  $X^Z$ 와 관련하여 상기 기재된 바와 같이 모듈 세그먼트로부터 조립될 수 있다.

[0135]

스페이스  $X^Z$  및/또는  $X^D$ 는 존재하는 경우에 바람직하게는 각각 Z와 C 또는 D와 C 사이에 4 내지 25개의 원자, 보다 바람직하게는 4 내지 20개의 원자의 선형 분리를 제공한다.

[0136]

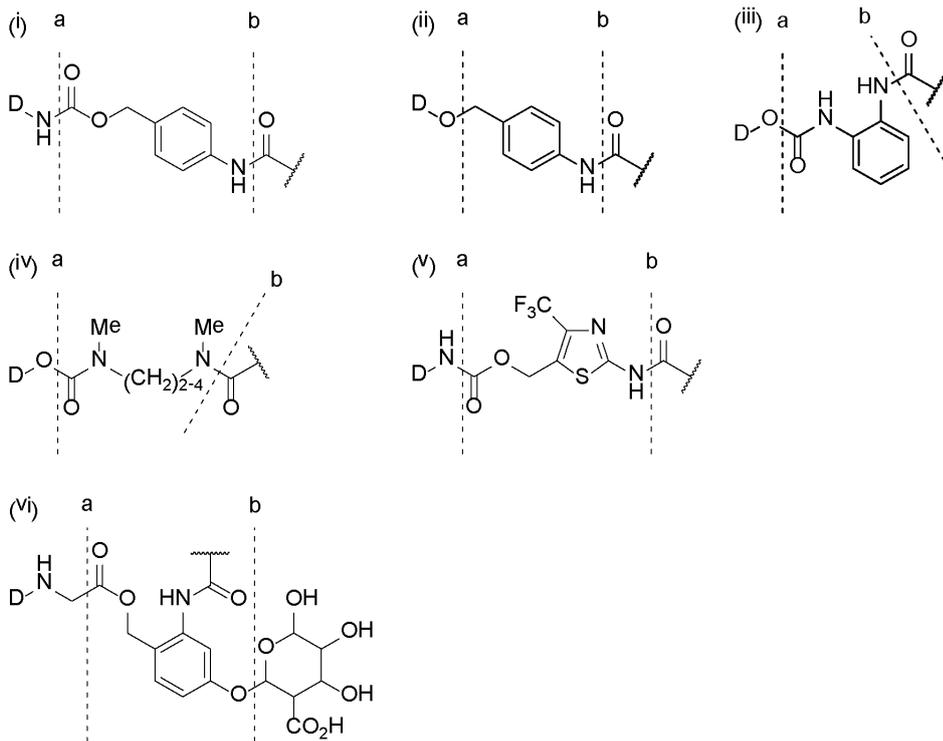
링커는 항체 및 약물을 공유 연결시키는 것 이외에도 다른 기능을 수행할 수 있다. 예를 들어, 링커는 폴리(에틸렌 글리콜) (PEG) 기를 함유할 수 있으며, 이는 접합 화학 수행 동안 또는 최종 ADC 생성물에서 용해도를 증진시킨다. PEG 기가 존재하는 경우에, 이는 스페이스  $X^Z$  또는  $X^D$  중 어느 하나 또는 둘 다에 혼입될 수 있다. PEG 기 내의 반복 단위의 수는 2 내지 20개, 바람직하게는 4 내지 10개일 수 있다.

[0137]

스페이스  $X^Z$  또는  $X^D$  중 어느 하나 또는 둘 다는 자기-희생 모이어티를 포함할 수 있다. 자기-희생 모이어티는 (1) 기 C 및 항체 Z 또는 이량체 D에 결합되고, (2) 기 C로부터의 절단이 경우에 따라 항체 Z 또는 이량체 D로부터의 자기-희생 모이어티 결합분리 그 자체를 생성시키는 반응 순서를 개시하도록 하는 구조를 갖는 모이어티이다. 다시 말해서, 항체 Z 또는 이량체 D로부터의 원위 부위에서의 반응 (기 C로부터의 절단)은  $X^Z-Z$  또는  $X^D-D$  결합이 또한 파열되도록 한다. 자기-희생 모이어티의 존재는 스페이스  $X^D$ 의 경우에 바람직하며, 이는 접합체의 절단 후, 스페이스  $X^D$  또는 그의 일부가 계속 이량체 D에 부착되도록 유지되어야 하는 경우에, 후자의 생물학적 활성이 손상될 수 있기 때문이다. 자기-희생 모이어티의 사용은 절단가능한 기 C가 폴리펩티드인 경우에 특히 바람직하며, 이러한 경우에 자기-희생 모이어티는 전형적으로 그에 인접하게 위치한다.

[0138]

파트너 분자 D 상의 히드록실 또는 아미노 기에 결합된 예시적인 자기-희생 모이어티 (i)-(v)는 하기 제시되어 있다.



[0139]

[0140]

자기-희생 모이어티는 점선 a와 b 사이의 구조이며, 여기서 인접한 구조적 특색부는 맥락을 제공하도록 제시되어 있다. 자기-희생 모이어티 (i) 및 (v)는 이량체 D-NH<sub>2</sub>에 결합되며 (즉, 이량체 D는 아미노 기를 통해 접합됨), 자기-희생 모이어티 (ii), (iii), 및 (iv)는 이량체 D-OH에 결합된다 (즉, 이량체 D는 히드록실 또는 카르복실 기를 통해 접합됨). 점선 b에서의 (예를 들어, 펩티다제에 의한) 아마이드 결합의 절단은 아마이드 질소를 아민 질소로서 방출하여, 점선 a에서의 결합의 절단 및 경우에 따라 D-OH 또는 D-NH<sub>2</sub>의 결과적 방출을 생성시키는 반응 순서를 개시한다. 대안적으로, 자기-희생 반응을 촉발하는 절단은 구조 (vi)의 경우에서와 같이, 다양한 유형의 효소에 의해, 예를 들어 β-글루쿠로니다제에 의해 이루어질 수 있다. 자기-희생 모이어티에 관한 추가의 개시내용에 대해, 문헌 [Carl et al., J. Med. Chem., 24 (3), 479-480 (1981); Carl et al., WO 81/01145 (1981); Dubowchik et al., Pharmacology & Therapeutics, 83, 67-123 (1999); Firestone et al., US 6,214,345 B1 (2001); Toki et al., J. Org. Chem. 67, 1866-1872 (2002); Doronina et al., Nature Biotechnology 21 (7), 778-784 (2003) (erratum, p. 941); Boyd et al., US 7,691,962 B2; Boyd et al., US 2008/0279868 A1; Sufi et al., WO 2008/083312 A2; Feng, US 7,375,078 B2; Jeffrey et al., US 8039,273; 및 Senter et al., US 2003/0096743 A1]을 참조하며; 그의 개시내용은 참조로 포함된다. 바람직한 자기-희생 기는 구조 (i)에 제시된 바와 같은 p-아미노벤질 옥시카르보닐 (PABC) 기이다.

[0141]

또 다른 실시양태에서, 항체 표적화 모이어티 및 이량체 D는 비-절단가능한 링커에 의해 연결되며, 즉 요소 C는 부재한다. 항체의 분해는 결국 링커를 이량체 D의 생물학적 활성을 방해하지 않는 작은 첨부된 모이어티로 감소시킨다.

[0142]

접합 기술

[0143]

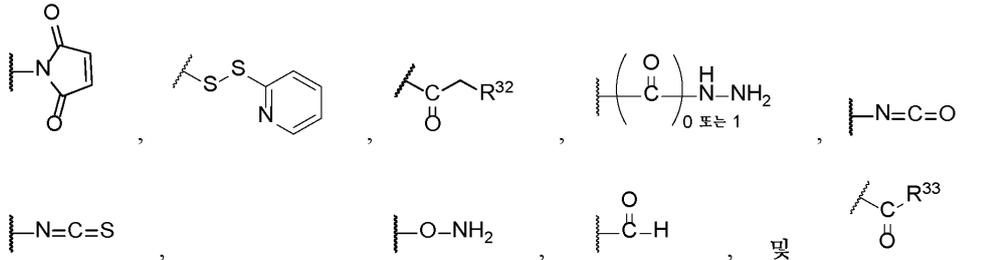
본 발명의 접합체는 바람직하게는 먼저 본 발명의 유사체 (하기 화학식에서 D에 의해 나타내어짐) 및 링커 (X<sup>D</sup>)<sub>a</sub>(C)<sub>c</sub>(X<sup>Z</sup>)<sub>b</sub> (여기서 X<sup>D</sup>, C, X<sup>Z</sup>, a, b, 및 c는 화학식 II에 대해 정의된 바와 같음)를 포함하는 화합물을 제조하여 화학식 III에 의해 나타내어진 유사체-링커 조성물을 형성함으로써 제조된다.

[0144]



[0145]

여기서 R<sup>31</sup>은 항체 Z 상의 상보적 관능기와 반응하여 접합체를 형성하기에 적합한 관능기이다. 적합한 기 R<sup>31</sup>의 예는 아미노, 아지드, 시클로옥탄,



[0146]

[0147]

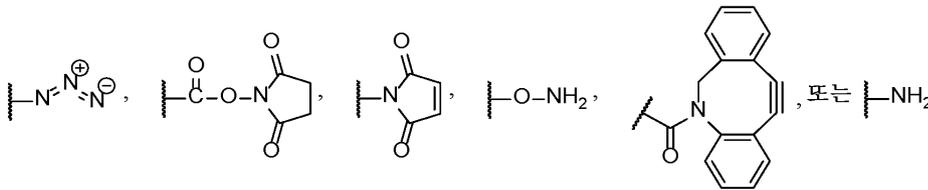
를 포함하고,

[0148]

여기서  $R^{32}$ 는 Cl, Br, F, 메실레이트, 또는 토실레이트이고,  $R^{33}$ 은 Cl, Br, I, F, OH, -O-N-숙신이미딜, -O-(4-니트로페닐), -O-펜타플루오로페닐, 또는 -O-테트라플루오로페닐이다. 적합한 모이어티  $D-(X^D)_aC(X^Z)_b-R^{31}$ 의 제조에 일반적으로 사용가능한 화학은 문헌 [Ng et al., US 7,087,600 B2 (2006); Ng et al., US 6,989,452 B2 (2006); Ng et al., US 7,129,261 B2 (2006); Ng et al., WO 02/096910 A1; Boyd et al., US 7,691,962 B2; Chen et al., US 7,517,903 B2 (2009); Gangwar et al., US 7,714,016 B2 (2010); Boyd et al., US 2008/0279868 A1; Gangwar et al., US 7,847,105 B2 (2010); Gangwar et al., US 7,968,586 B2 (2011); Sufi et al., US 2010/0145036 A1; 및 Chen et al., US 2010/0113476 A1]에 개시되어 있으며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0149]

바람직하게는 반응성 관능기  $-R^{31}$ 은  $-NH_2$ ,  $-OH$ ,  $-CO_2H$ ,  $-SH$ , 말레이미도, 시클로옥탄, 아지도 ( $-N_3$ ), 히드록실아미노 ( $-ONH_2$ ) 또는 N-히드록시숙신이미도이다. 특히 바람직한 관능기  $-R^{31}$ 은 하기이다.



[0150]

[0151]

-OH 기는 향체 상의, 예를 들어 아스파르트산 또는 글루탐산 측쇄 상의 카르복시 기로 에스테르화될 수 있다.

[0152]

$-CO_2H$  기는 -OH 기로 에스테르화되거나 또는 향체 상의 (예를 들어 리신 측쇄 상의) 아미노 기로 아마이드화될 수 있다.

[0153]

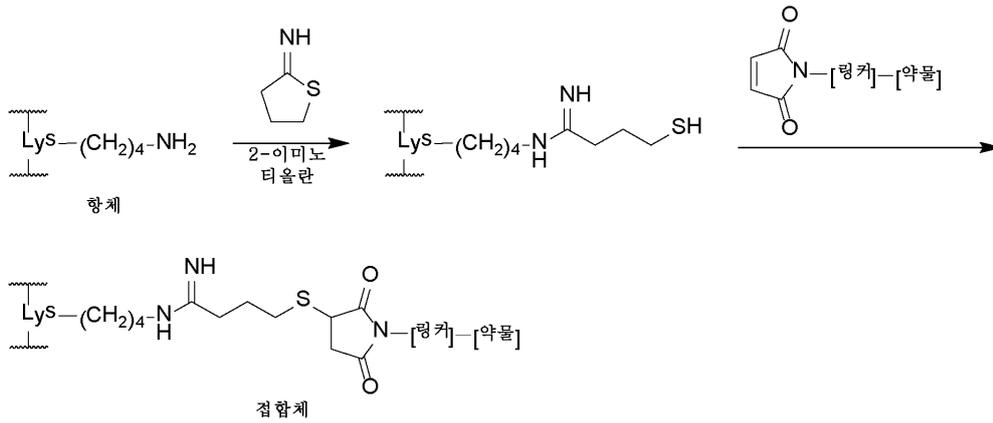
N-히드록시숙신이미드 기는 기능적으로 활성화된 카르복실 기이고, (예를 들어, 리신으로부터의) 아미노 기와의 반응에 의해 편리하게 아마이드화될 수 있다.

[0154]

말레이미드 기는 마이클 부가 반응에서, (예를 들어, 시스테인으로부터의, 또는 술포히드릴 관능기를 도입하기 위한 향체의 화학적 변형으로부터의) 향체 상의  $-SH$  기와 접합될 수 있다.

[0155]

$-SH$  기를 향체에 도입하는 다양한 기술이 존재할 수 있다. 바람직한 것에서, 향체 내의 리신 잔기의 측쇄에서의  $\epsilon$ -아미노 기를 2-이미노티올란과 반응시켜 유리 티올 ( $-SH$ ) 기를 도입한다. 티올 기를 말레이미드 또는 다른 친핵체 수용자 기와 반응시켜 접합을 실시할 수 있다.



[0156]

[0157]

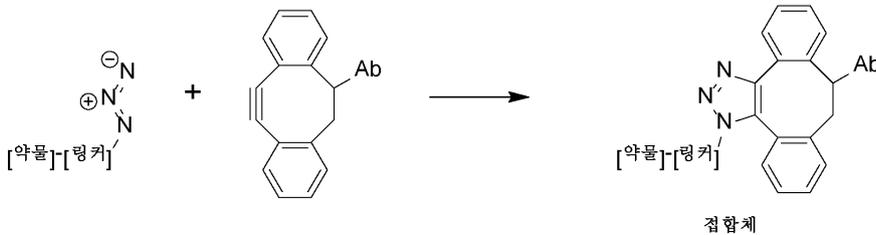
전형적으로, 항체당 2 내지 3개의 티올의 티올화 수준이 달성된다. 대표적인 절차에 대해, 문헌 [Cong et al. 2014]을 참조하며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 이량체에 대한 접합을 위한 항체는 이미노티올란과의 반응에 의해 변형된 1개 이상의 리신 잔기 (바람직하게는 2 또는 3 개)를 갖는다.

[0158]

-SH 기는 또한 상기 기재된 것의 "거울상"인 마이클 부가 반응에서 항체가 말레이미드 기를 그에 도입하도록 변형되는 접합에 사용될 수 있다. 항체는 N-숙신이미드 4-(말레이미도메틸)-시클로헥산카르복실레이트 (SMCC) 또는 그의 술폰화 변이체 술폰-SMCC를 사용하여 말레이미드 기를 갖도록 변형될 수 있으며, 이들 둘 다의 시약은 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)로부터 입수가 가능하다.

[0159]

대안적 접합 기술은 아지드 기를 시클로옥탄의 스트레인드 알킨 결합을 가로질러 부가하여 1,2,3-트리아졸 고리를 형성하는 구리-무함유 "클릭 화학"을 사용한다. 예를 들어, 문헌 [Agard et al., J. Amer. Chem. Soc. 2004, 126, 15046; Best, Biochemistry 2009, 48, 6571]을 참조하며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 아지드는 항체 상에 위치하고, 시클로옥탄은 약물 모이어티 상에 위치할 수 있거나, 또는 그 반대의 경우일 수 있다. 바람직한 시클로옥탄 기는 디벤조시클로옥탄 (DIBO)이다. DIBO 기를 갖는 다양한 시약은 오레곤주 유진 소재의 인비트로젠/몰레큘라 프로브스로부터 입수가 가능하다. 하기 반응은 DIBO 기가 항체 (Ab)에 부착된 경우에 대한 클릭 화학 접합을 예시한다.



[0160]

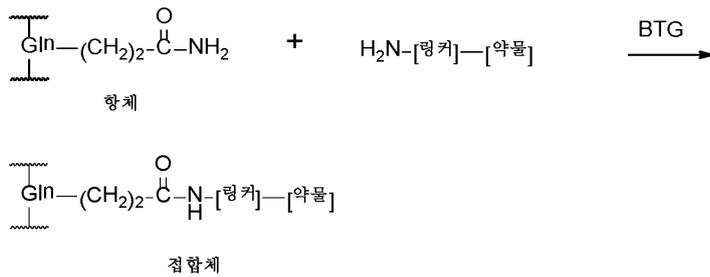
[0161]

또 다른 접합 기술은 비-천연 아미노산을 항체에 도입하는 것을 수반하며, 여기서 비-천연 아미노산은 약물 모이어티 내의 반응성 관능기와 접합을 위한 관능기를 제공한다. 예를 들어, 비-천연 아미노산인 p-아세틸페닐알라닌은 문헌 [Tian et al., WO 2008/030612 A2 (2008)]에 교시된 바와 같이 항체 또는 다른 폴리펩티드에 혼입될 수 있다. p-아세틸페닐알라닌 내의 케톤 기는 링커-약물 모이어티 상의 히드록실아미노 기와의 옥심의 형성을 통한 접합 부위일 수 있다. 대안적으로, 비-천연 아미노산인 p-아지도페닐알라닌은 항체에 혼입되어 상기 논의된 바와 같은 클릭 화학을 통한 접합을 위해 아지드 관능기를 제공할 수 있다. 비-천연 아미노산은 또한 문헌 [Goerke et al., US 2010/0093024 A1 (2010) 및 Goerke et al., Biotechnol. Bioeng. 2009, 102 (2), 400-416]에 교시된 바와 같은 무세포 방법을 사용하여, 항체 또는 다른 폴리펩티드에 혼입될 수 있다. 상기 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 이량체와의 접합체를 제조하는데 사용되는 항체는 바람직하게는 p-아세틸페닐알라닌 또는 p-아지도페닐알라닌, 보다 바람직하게는 p-아세틸페닐알라닌인 비-천연 아미노산에 의해 대체된 1개 이상의 아미노산을 갖는다.

[0162]

또 다른 접합 기술은 문헌 [Jeger et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 9995]에 따라, 효소 트랜스글루타미나제 (바람직하게는 박테리아 트랜스글루타미나제 또는 BTG)를 사용한다. BTG는 글루타민의 측쇄 카르복사미드 (아민 수용자)와, 예를 들어 리신의 ε-아미노 기 또는 5-아미노-n-펜틸 기일 수 있는 알킬렌아미노 기

(아민 공여자) 사이의 아마이드 결합을 형성한다. 전형적 접합 반응에서, 하기 제시된 바와 같이, 글루타민 잔기는 항체 상에 위치하며, 알킬렌아미노 기는 링커-약물 모이어티 상에 위치한다.



[0163]

[0164]

폴리펩티드쇄 상의 글루타민 잔기의 위치설정은 BTG 매개 아마이드교환에 대한 그의 감수성에 대해 큰 효과를 갖는다. 항체 상의 어떠한 글루타민 잔기도 통상적으로 BTG 기질이 아니다. 그러나, 항체가 탈글리코실화되는 경우 - 글리코실화 부위는 아스파라긴 297 (N297)임 -에, 근처의 글루타민 295 (Q295)가 BTG 감수성이게 된다. 항체는 PNGase F (펩티드-N-글리코시다제 F)로의 처리에 의해 효소적으로 탈글리코실화될 수 있다. 대안적으로, 항체는 N297A 돌연변이를 불변 영역에 도입하여 N297 글리코실화 부위를 제거함으로써 글리코시드 무함유로 합성될 수 있다. 추가로, 항체에서의 N297Q 치환은 글리코실화를 제거할 뿐만 아니라, 또한 아민 수용자인 제2 글루타민 잔기 (위치 297)를 도입하는 것으로 제시된 바 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 이량체에 접합되는 항체는 탈글리코실화된다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 N297Q 치환을 갖는다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 합성후 변형에 의한 또는 N297A 돌연변이를 도입하는 것에 의한 탈글리코실화가 항체당 2개의 BTG-반응성 글루타민 잔기 (위치 295에서, 중쇄당 1개)를 생성시키며, N297Q 치환을 갖는 항체가 4개의 BTG-반응성 글루타민 잔기 (위치 295 및 297에서, 중쇄당 2개)를 가질 것임을 인지할 것이다.

[0165]

접합은 또한 문헌 [Levary et al., PLoS One 2011, 6(4), e18342; Proft, Biotechnol. Lett. 2010, 32, 1-10; Ploegh et al., WO 2010/087994 A2 (2010); 및 Mao et al., WO 2005/051976 A2 (2005)]에 교시된 바와 같이 효소 소르타제 A를 사용하여 실시될 수 있다. 소르타제 A 인식 모티프 (전형적으로 LPXTG, 여기서 X는 임의의 천연 아미노산임)는 리간드 Z 상에 위치할 수 있고, 친핵성 수용자 모티프 (전형적으로 GGG)는 화학식 III에서의 기 R<sup>31</sup>일 수 있거나, 또는 그 반대의 경우일 수 있다.

[0166]

항체는 또한 문헌 [Zhu et al., mAbs 2014, 6, 1]에 교시된 바와 같이 옥심 형성에 의해 접합 부위로서 기능하는 케토 기가 도입되도록 그의 글리코실 기를 변형함으로써 접합에 적합화될 수 있다. 또 다른 당조작 변형에서, 항체의 글리코실 기는 "클릭 화학"에 의한 접합을 위해 아지드 기가 도입되도록 변형될 수 있다. 문헌 [Huang et al., J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 12308 및 Wang, US 8,900,826 B2 (2014) 및 US 7,807,405 B2 (2010)]을 참조한다.

[0167]

또 다른 접합 기술은 일반적으로 디설피드 가교로서 지칭될 수 있다: 항체에서의 디설피드 결합을 절단하여, 한 쌍의 티올 (-SH) 기를 생성시킨다. 이어서, 항체를 2개의 티올-반응성 부위를 함유하는 약물-링커 화합물로 처리한다. 티올 기와 2개의 부위의 반응은 재가교를 실시하며, 이는 원래의 디설피드 가교를 일정 방식으로 재생성시켜, 항체 3차 구조를 보존하고, 약물-링커 모이어티를 부착시킨다. 예를 들어, 문헌 [Burt et al., WO 2013/190292 A2 (2013) 및 Jackson et al., US 2013/0224228 A1 (2013)]을 참조한다.

[0168]

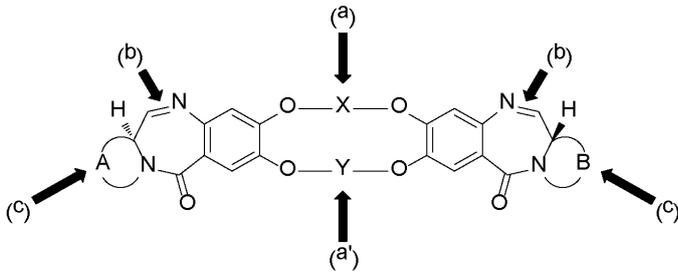
이량체-링커 화합물

[0169]

일반적으로, 본 발명의 이량체의 ADC는 이량체 상의 관능기에 부착된 링커를 포함하며, 이러한 링커는 항체에 부착된다. 이용가능한 접합 기술의 다양성을 반영하여, 본 발명의 이량체는 항체에 대한 접합에 적합한 많은 상이한 이량체-링커 화합물로 정교화될 수 있다.

[0170]

일반적으로, 하기 도면 (이는 단순성을 위해 일부 가변기가 제시되지 않은 화학식 I의 단순화된 버전임)에 예시된 바와 같이 본 발명의 이량체에 대한 링커의 부착에는 3종의 상이한 부착 방식이 존재한다.



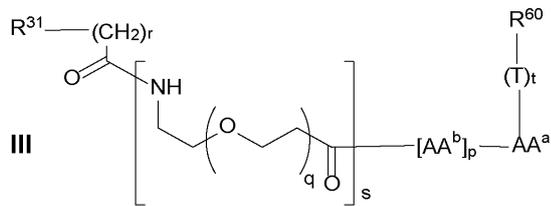
[0171]

[0172]

유형 (a) 및 (a') 이량체-링커 화합물에서, 링커의 부착을 위한 관능기는 2개의 이량체 반쪽 사이의 가교 X 또는 Y에 위치한다. 유형 (b) 이량체-링커 화합물에서, 링커는 이민 이중 결합을 가로지르는 부가 생성물로서 부착된다. 유형 (c) 이량체-링커 화합물에서, 링커의 부착을 위한 관능기는 A 또는 B에 위치한다.

[0173]

바람직한 이량체-링커 화합물은 화학식 III에 따른 구조를 갖는다.



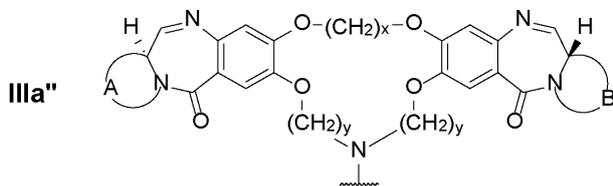
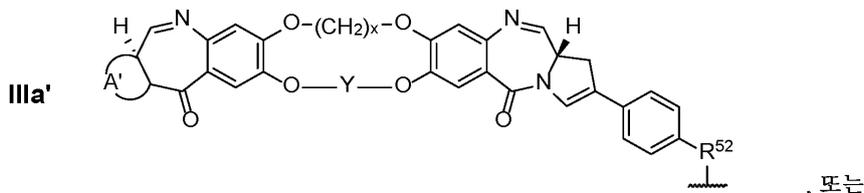
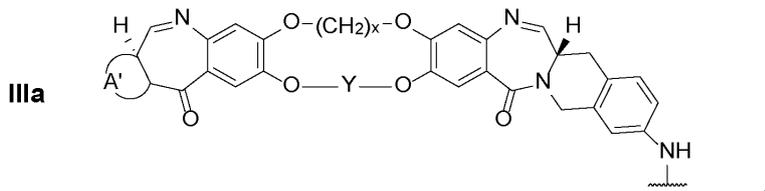
[0174]

[0175]

여기서

[0176]

R<sup>60</sup>은 화학식 IIIa, IIIa' 또는 IIIa''에 따르고,



[0177]

[0178]

Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>6-10</sub> (바람직하게는 (CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>)이고;

[0179]

x는 3 또는 5 (바람직하게는 3)이고;

[0180]

각각의 y는 독립적으로 2, 3, 또는 4이고 (바람직하게는 둘 다 4임);

[0181] A 및 B는 독립적으로 화학식 Ia 또는 Ib에 따르고,



[0182]

[0183] 여기서, 화학식 Ia에서,

[0184] Y' 및 Y''는 독립적으로 부재하거나, CH<sub>2</sub>, C=O, 또는 CHR<sup>12</sup>이고; 여기서 각각의 R<sup>12</sup>는 독립적으로 F, Cl, Br, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬이며, 단 Y' 및 Y'' 둘 다 부재하지는 않고;

[0185] 각각의 G는 독립적으로 C 또는 N이며, 단 2개 이하의 G가 N이고;

[0186] 각각의 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 및 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, NH<sub>2</sub>, O(C<sub>1-3</sub> 알킬), 또는 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O(C<sub>1-3</sub> 알킬) (바람직하게는 H)이거나;

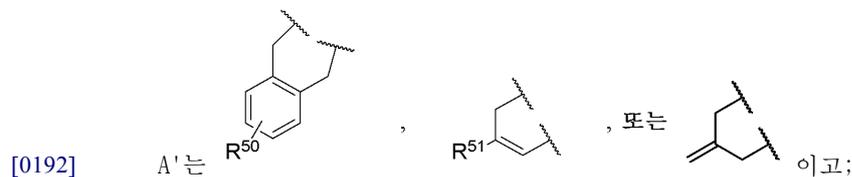
[0187] 또는 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>이, N인 G에 부착 - 즉, 회합 -되어 있는 경우에, 이러한 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>은 부재하고;

[0188] 여기서, 화학식 Ib에서,

[0189] 점선은 C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합의 임의적인 존재를 나타내고;

[0190] R<sup>9</sup>는, C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합이 존재하는 경우에는 부재하고, 다른 경우에는 H이고;

[0191] R<sup>10</sup>은 H, Cl, Br, =CH<sub>2</sub>, =CH(C<sub>1-5</sub> 알킬), C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, 또는 NH<sub>2</sub> (바람직하게는 H)이고;



[0192]

[0193] R<sup>50</sup>은 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, NH<sub>2</sub>, O(C<sub>1-3</sub> 알킬), 또는 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O(C<sub>1-3</sub> 알킬) (바람직하게는 H)이고;

[0194] R<sup>51</sup>은 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, 또는 NH<sub>2</sub> (바람직하게는 H)이고;

[0195] T는 자기-회생 기이고;

[0196] t는 0 또는 1이고;

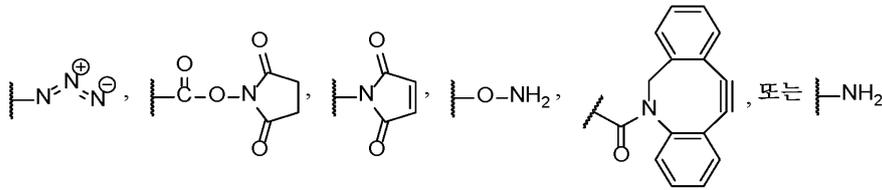
[0197] AA<sup>a</sup> 및 각각의 AA<sup>b</sup>는 독립적으로 알라닌, β-알라닌, γ-아미노부티르산, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, γ-카복시글루탐산, 시트룰린, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 노르류신, 노르발린, 오르니틴, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0198] p는 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0199] q는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 (바람직하게는 2, 3, 4, 또는 8)이고;

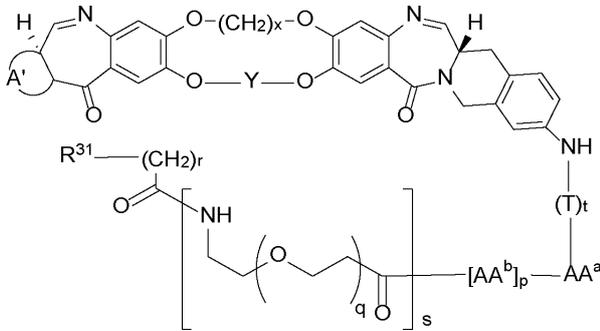
[0200] r은 1, 2, 3, 4, 또는 5 (바람직하게는 2, 3, 4, 또는 5)이고;

[0201] s는 0 또는 1이고;



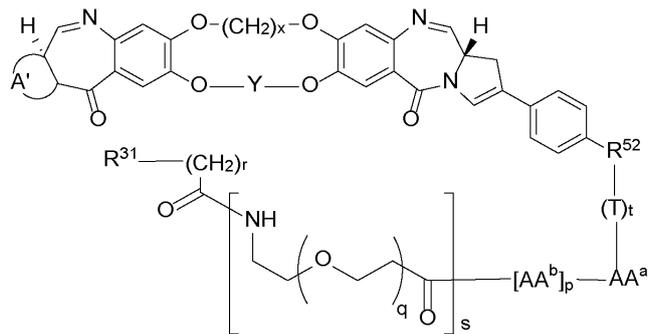
[0202] R<sup>31</sup>은 이다.

[0203] 화학식 III에 따른 바람직한 이량체-링커 화합물에서, R<sup>60</sup>은 하기 구조의 이량체-링커에 상응하는 IIIa이다.



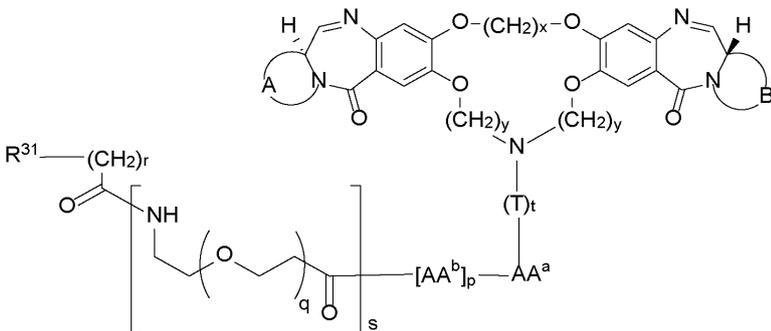
[0204]

[0205] 화학식 III에 따른 또 다른 바람직한 이량체-링커 화합물에서, R<sup>60</sup>은 하기 구조의 이량체-링커에 상응하는 III a"이다.



[0206]

[0207] 화학식 III에 따른 또 다른 바람직한 이량체-링커 화합물에서, R<sup>60</sup>은 하기 구조의 이량체-링커에 상응하는 III a"이다.



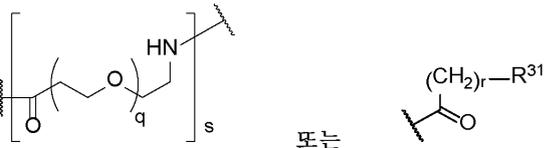
[0208]

[0209] 화학식 III에서의 R<sup>31</sup>은 상기 기재된 바와 같은, 항체 상의 상보적 관능기와 반응하여 접합을 실시할 수 있는 반응성 관능기이다.

[0210] 화학식 III에서, -AA<sup>a</sup>-[AA<sup>b</sup>]<sub>p</sub>-는 p의 값에 의해 길이가 결정되는 폴리펩티드를 나타낸다 (p가 1인 경우에는 디펩티드, p가 3인 경우에는 테트라펩티드 등). AA<sup>a</sup>는 폴리펩티드의 카르복시 말단에 있으며, 그의 카르복실 기는 이량체의 아민 질소와의 펩티드 (아미드) 결합을 형성한다. 반대로, 마지막 AA<sup>b</sup>는 폴리펩티드의 아미노 말단에

있으며, 그의 α-아미노 기는 s가 1인지 또는 0인지에 따라 각각 하기와의 펩티드 결합을 형성한다.

[0211]



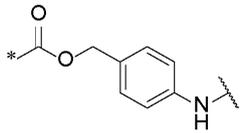
[0212]

바람직한 폴리펩티드 -AA<sup>a</sup>-[AA<sup>b</sup>]<sub>p</sub>-는 H<sub>2</sub>N-Val-Cit-CO<sub>2</sub>H에서와 같이 통상적인 N에서 C 방향으로 기록하여, Val-Cit, Val-Lys, Lys-Val-Ala, Asp-Val-Ala, Val-Ala, Lys-Val-Cit, Ala-Val-Cit, Val-Gly, Val-Gln, 및 Asp-Val-Cit이다. 보다 바람직하게는, 폴리펩티드는 Val-Cit, Val-Lys, 또는 Val-Ala이다. 바람직하게는, 폴리펩티드 -AA<sup>a</sup>-[AA<sup>b</sup>]<sub>p</sub>-는 표적 (암) 세포 내부에서 발견되는 효소, 예를 들어 카텝신, 특히 카텝신 B에 의해 절단가능하다.

[0213]

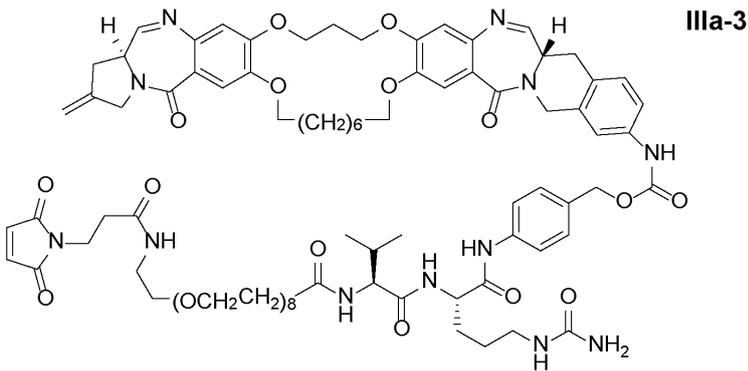
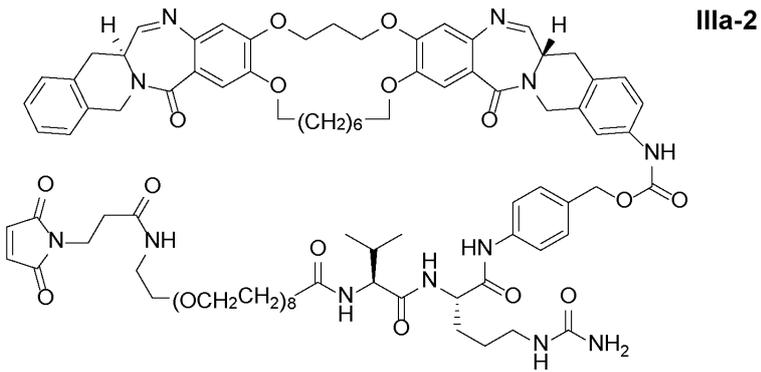
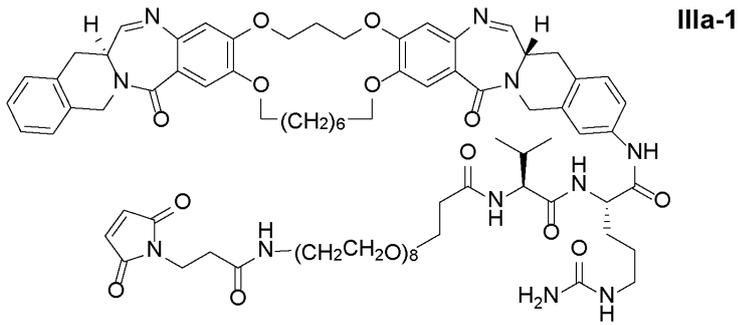
0 또는 1인 아래첨자 t에 의해 제시된 바와 같이, 자기-희생 기 T는 화학식 III의 이량체-링커 화합물에 임의로 존재한다. 존재하는 경우에, 자기-희생 기 T는 바람직하게는 그 구조가 하기 제시된 것인 p-아미노벤질 옥시카르보닐 (PABC) 기이며, 여기서 별표 (\*)는 이량체의 아민 질소에 결합된 PABC의 말단을 나타내고, 파상선 (~~~~)은 폴리펩티드 -AA<sup>a</sup>-[AA<sup>b</sup>]<sub>p</sub>-에 부착된 말단을 나타낸다.

[0214]

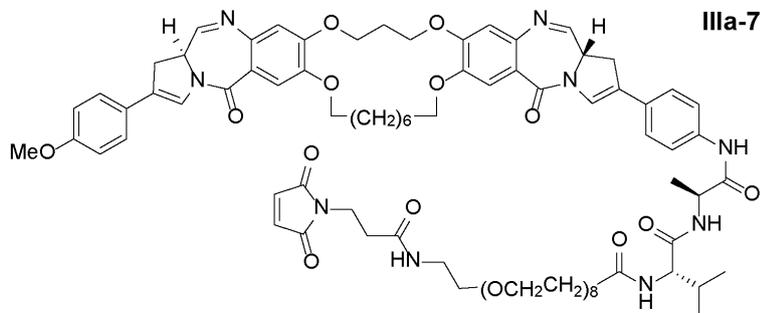
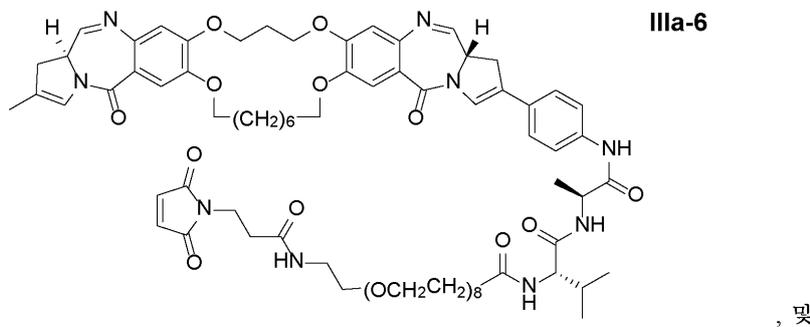
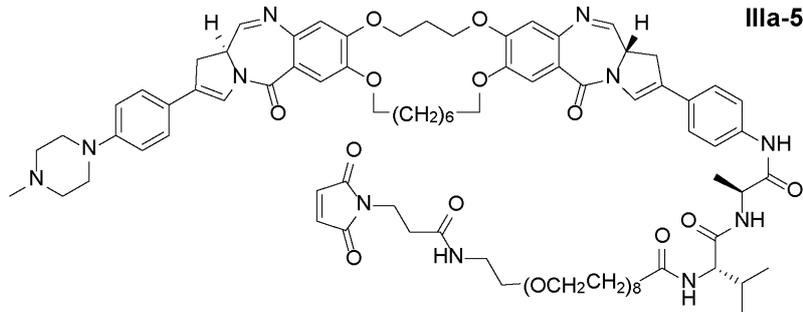
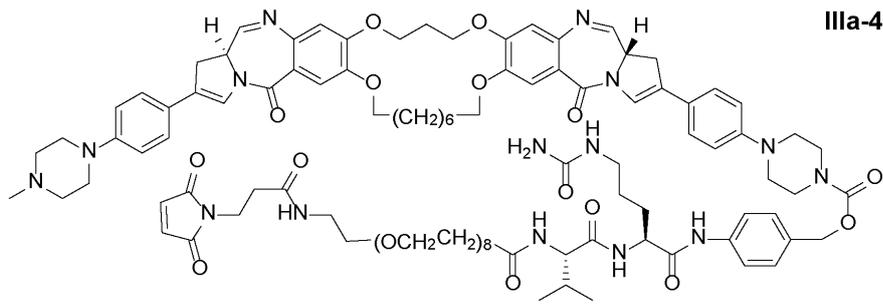


[0215]

바람직한 이량체-링커 화합물은 화학식 IIIa-1, IIIa-2, IIIa-3, IIIa-4, IIIa-5, IIIa-6, 및 IIIa-7에 의해 나타내어진 구조를 갖는 군으로부터 선택된다.



[0216]



[0217]

[0218]

[0219]

접합체의 제조

이러한 일반적 절차는 리신 ε-아미노기와 2-이미노티올란의 반응, 이어서 상기 기재된 바와 같은 말레이미드-함유 약물-링커 모이어티와의 반응에 의해 유리 티올기를 항체에 도입하는 것을 기반으로 한다. 처음에, 항체를 50 mM NaCl 및 2 mM 디에틸렌 트리아민 펜타아세트산 (DTPA)을 함유하는 0.1 M 포스페이트 완충제 (pH 8.0)로 완충제 교환하고, 5-10 mg/mL로 농축시킨다. 티올화는 항체에 대한 2-이미노티올란의 첨가를 통해 달성된다. 첨가될 2-이미노티올란의 양은 예비 실험에 의해 결정될 수 있고, 항체마다 달라진다. 예비 실험에서, 증가하는 양의 2-이미노티올란의 적정액을 항체에 첨가하고, RT (실온, 약 25°C)에서 1시간 동안 항체와 함께 인큐베이션한 후, 항체를 세파덱스(SEPHADEX)<sup>TM</sup> G-25 칼럼을 사용하여 50 mM HEPES, 5 mM 글리신, 2 mM DTPA, pH 5.5로 탈염시키고, 도입된 티올기의 수를 디티오디피리딘 (DTDP)과의 반응에 의해 신속하게 결정한다. 티올기와 DTDP의 반응은 티오피리딘의 유리를 생성시키며, 이를 324 nm에서 분광학적으로 모니터링할 수 있다. 단백질 농도 0.5-1.0 mg/mL의 샘플을 전형적으로 사용한다. 280 nm에서의 흡광도를 사용하여 샘플 중 단백질의 농도를 정확하게 결정할 수 있고, 이어서 각각의 샘플의 분취물 (0.9 mL)을 실온에서 10분 동안 0.1 mL DTDP (에탄올 중 5 mM 용액)와 함께 인큐베이션한다. 완충제 단독 플러스 DTDP의 블랭크 샘플을 또한 나란히 인큐베

이션한다. 10분 후, 324 nm에서의 흡광도를 측정하고, 티올 기의 수를 19,800 M<sup>-1</sup>의 티오피리딘에 대한 흡광 계수를 사용하여 정량화한다.

[0220] 전형적으로 항체당 약 2 내지 3개의 티올 기의 티올화 수준이 바람직하다. 예를 들어, 일부 항체 하에, 이는 15배 몰 과량의 2-이미노티올란을 첨가하고, 이어서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션함으로써 달성된다. 이어서, 항체를 목적 물비의 2-이미노티올란과 함께 인큐베이션한 다음, 접합 완충제 (50 mM HEPES, 5 mM 글리신, 2 mM DTPA, pH 5.5)로 탈염시킨다. 티올화된 물질을 얼음 상에서 유지하면서, 도입된 티올의 수를 상기 기재된 바와 같이 정량화한다.

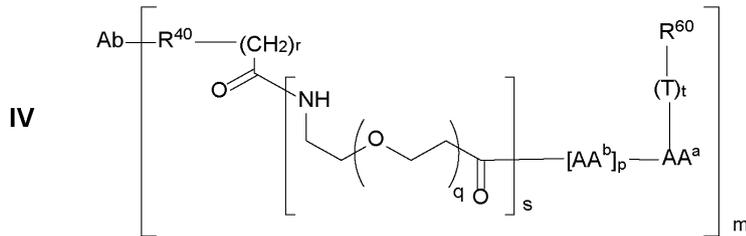
[0221] 도입된 티올의 수의 확인 후, 약물 (이량체)-링커 모이어티를 티올당 2.5배 몰 과량으로 첨가한다. 접합 반응이 최종 농도 25% 프로필렌 글리콜 및 5% 트레할로스를 함유하는 접합 완충제 중에서 진행되도록 한다. 흔히, 약물-링커 원액을 100% DMSO 중에 용해시킨다. 원액을 티올화된 항체에 직접 첨가한다.

[0222] 접합 반응 혼합물을 완만하게 교반하면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션한다. 이어서, 10배 몰 과량의 N-에틸 말레이미드 (DMSO 중 100 mM 원액)를 접합 혼합물에 첨가하고, 추가로 1시간 동안 교반하여 임의의 미반응 티올을 차단한다.

[0223] 이어서, 샘플을 0.2 μ 필터를 통해 여과한다. 물질을 TFF 비바플로우(VivaFlow) 50 사토리우스(Sartorius) 30 MWCO PES 막을 통해 10 mg/mL 글리신, 20 mg/mL 소르비톨, 15% 아세토니트릴 (MeCN) pH 5.0 (5X TFF 완충제 교환 부피)로 완충제 교환하여 임의의 미반응 약물을 제거한다. 최종 제제화를 TFF에 의해 20 mg/mL 소르비톨, 10 mg/mL 글리신, pH 5.0로 수행한다.

[0224] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 상기 기재된 조건 및 방법론이 예시적이고 비제한적이며, 접합을 위한 다른 접근법이 관련 기술분야에 공지되어 있고 본 발명에 사용가능함을 이해할 것이다.

[0225] 본 발명의 바람직한 접합체는 화학식 IV에 의해 나타내어진 구조를 갖는다.



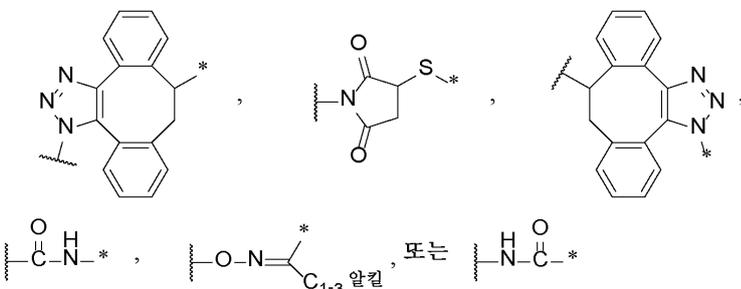
[0226]

[0227] 여기서

[0228] Ab는 항체이고;

[0229] m은 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0230] R<sup>40</sup>은

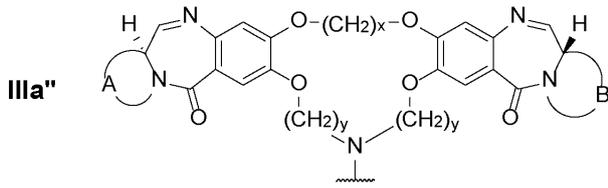
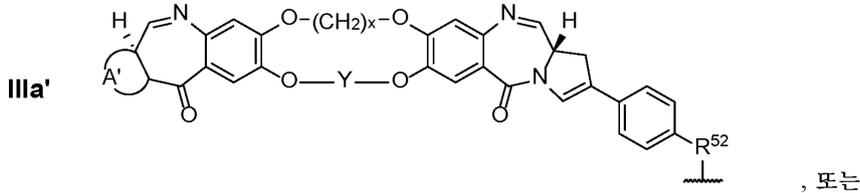
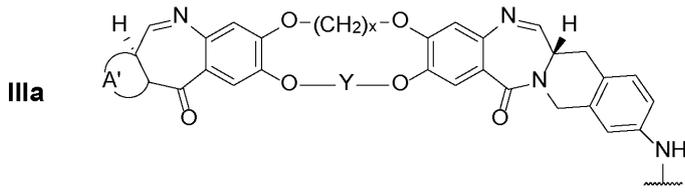


[0231]

[0232] 이고;

[0233] 여기서 Ab에 결합된 R<sup>40</sup>의 개방 원자가는 별표 (\*)에 의해 표시되고, R<sup>60</sup>의 개방 원자가는 (CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>에 결합된 파상선 (~~~~)에 의해 표시되고;

[0234] R<sup>60</sup>은 화학식 IIIa, IIIa', 또는 IIIa''에 따르고,



[0235]

[0236] Y는 (CH<sub>2</sub>)<sub>6-10</sub> (바람직하게는 (CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>)이고;

[0237] x는 3 또는 5 (바람직하게는 3)이고;

[0238] 각각의 y는 독립적으로 2, 3, 또는 4이고 (바람직하게는 둘 다 4임);

[0239] A 및 B는 독립적으로 화학식 Ia 또는 Ib에 따르고,



[0240]

[0241] 여기서, 화학식 Ia에서,

[0242] Y' 및 Y''는 독립적으로 부재하거나, CH<sub>2</sub>, C=O, 또는 CHR<sup>12</sup>이고; 여기서 각각의 R<sup>12</sup>는 독립적으로 F, Cl, Br, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬이며, 단 Y' 및 Y'' 둘 다 부재하지는 않고;

[0243] 각각의 G는 독립적으로 C 또는 N이며, 단 2개 이하의 G가 N이고;

[0244] 각각의 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 및 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, NH<sub>2</sub>, O(C<sub>1-3</sub> 알킬), 또는 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O(C<sub>1-3</sub> 알킬) (바람직하게는 H)이거나;

[0245] 또는 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>이, N인 G에 부착 - 즉, 회합 -되어 있는 경우에, 이러한 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, 또는 R<sup>8</sup>은 부재하고;

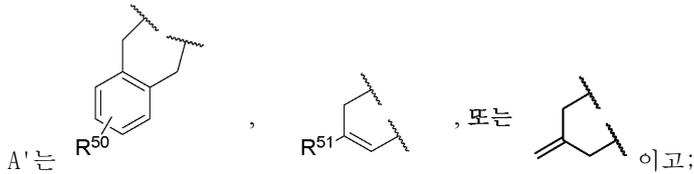
[0246] 여기서, 화학식 Ib에서,

[0247] 점선은 C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합의 임의적인 존재를 나타내고;

[0248] R<sup>9</sup>는, C1-C2, C2-C3, 또는 C2-R<sup>10</sup> 이중 결합이 존재하는 경우에는 부재하고, 다른 경우에는 H이고;

[0249] R<sup>10</sup>은 H, Cl, Br, =CH<sub>2</sub>, =CH(C<sub>1-5</sub> 알킬), C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, 또는 NH<sub>2</sub> (바람직하게는 H)이고;

[0250]



[0251]

R<sup>50</sup>은 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, NH<sub>2</sub>, O(C<sub>1-3</sub> 알킬), 또는 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>O(C<sub>1-3</sub> 알킬) (바람직하게는 H)이고;

[0252]

R<sup>51</sup>은 H, Cl, Br, C<sub>1-3</sub> 알킬, NO<sub>2</sub>, CN, NH<sub>2</sub> (바람직하게는 H)이고;

[0253]

T는 자기-희생 기이고;

[0254]

t는 0 또는 1이고;

[0255]

AA<sup>a</sup> 및 각각의 AA<sup>b</sup>는 독립적으로 알라닌, β-알라닌, γ-아미노부티르산, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, γ-카르복시글루탐산, 시트룰린, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 노르류신, 노르발린, 오르니틴, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0256]

p는 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0257]

q는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 (바람직하게는 2, 3, 4, 또는 8)이고;

[0258]

r은 1, 2, 3, 4, 또는 5 (바람직하게는 2, 3, 4, 또는 5)이고;

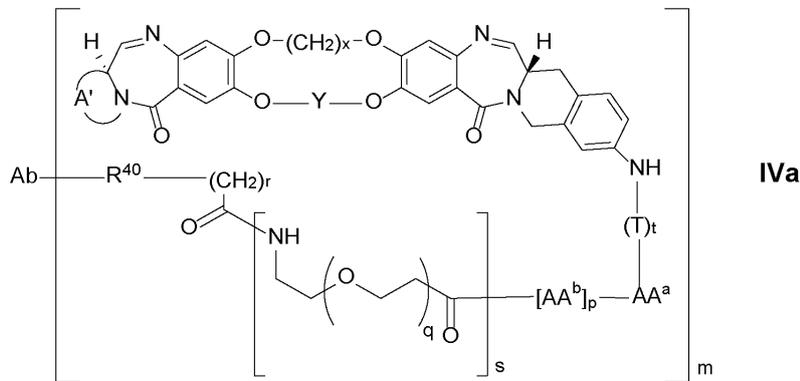
[0259]

s는 0 또는 1이다.

[0260]

화학식 IV에 따른 바람직한 접합체에서, R<sup>60</sup>은 IIIa이어서, 화학식 IVa에 의해 나타내어진 구조를 갖는 접합체에 상응한다.

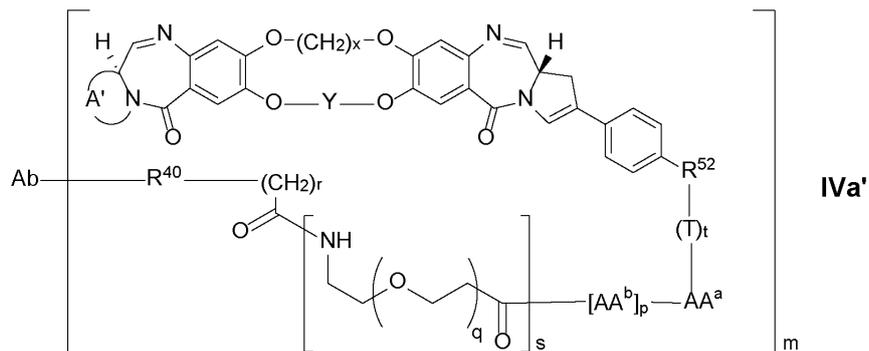
[0261]



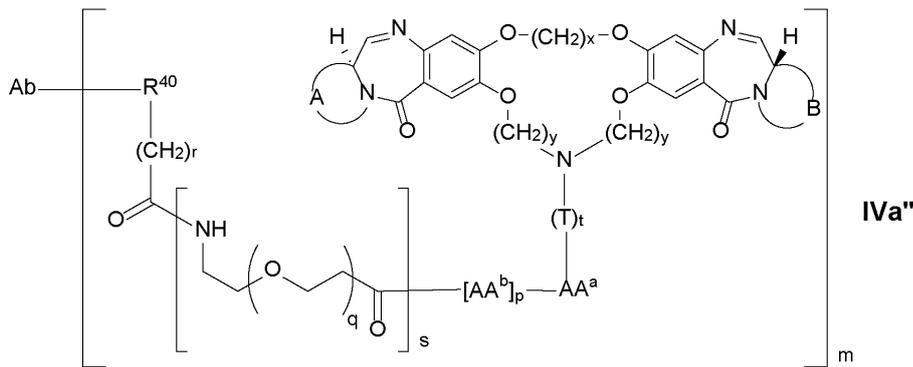
[0262]

화학식 IV에 따른 또 다른 바람직한 접합체에서, R<sup>60</sup>은 IIIa'이어서, 화학식 IVa'에 의해 나타내어진 구조를 갖는 접합체에 상응한다.

[0263]



[0264] 화학식 IV에 따른 또 다른 바람직한 접합체에서, R<sup>60</sup>은 IIIa"이어서, 화학식 IVa"에 의해 나타내어진 구조를 갖는 접합체에 상응한다.



[0265]

[0266] 제약 조성물

[0267] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 제약상 허용되는 담체 또는 부형제와 함께 제제화된 본 발명의 화합물 또는 그의 접합체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 이는 1종 이상의 추가의 제약 활성 성분, 예컨대 항체 또는 또 다른 약물을 임의로 함유할 수 있다. 제약 조성물은 또 다른 치료제, 특히 또 다른 항암제와의 조합 요법으로 투여될 수 있다.

[0268] 제약 조성물은 1종 이상의 부형제를 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 부형제는 담체, 표면 활성제, 증점제 또는 유화제, 고체 결합제, 분산 또는 현탁 보조제, 가용화제, 착색제, 향미제, 코팅, 봉해제, 윤활제, 감미제, 보존제, 등장화제, 및 그의 조합을 포함한다. 적합한 부형제의 선택 및 사용은 문헌 [Gennaro, ed., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 2003)]에 교시되어 있으며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0269] 바람직하게는, 제약 조성물은 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의한) 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척수 또는 표피 투여에 적합하다. 투여 경로에 따라, 활성 화합물은 이를 불활성화시킬 수 있는 산 및 다른 천연 조건의 작용으로부터 이를 보호하기 위한 물질로 코팅될 수 있다. 어구 "비경구 투여"는 통상적으로 주사에 의한, 경장 및 국소 투여 이외의 다른 투여 방식을 의미하며, 비제한적으로 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다. 대안적으로, 제약 조성물은 비-비경구 경로, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어 비강내로, 경구로, 질로, 직장으로, 설하로 또는 국소로 투여될 수 있다.

[0270] 제약 조성물은 멸균 수용액 또는 분산액 형태일 수 있다. 이들은 또한 마이크로에멀전, 리포솜, 또는 높은 약물 농도를 달성하기에 적합한 다른 정렬된 구조로 제제화될 수 있다. 조성물은 또한 투여 전에 물 중 재구성을 위해, 동결건조물 형태로 제공될 수 있다.

[0271] 단일 투여 형태를 제조하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료될 대상체 및 특정한 투여 방식에 따라 달라질 것이며, 일반적으로 치료 효과를 생성시키는 조성물의 양일 것이다. 일반적으로, 100 퍼센트 중, 이러한 양은 제약상 허용되는 담체와 조합하여 약 0.01 퍼센트 내지 약 99 퍼센트의 활성 성분, 바람직하게는 약 0.1 퍼센트 내지 약 70 퍼센트, 가장 바람직하게는 약 1 퍼센트 내지 약 30 퍼센트의 활성 성분 범위일 것이다.

[0272] 투여 요법은 치료 반응을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 단일 볼루스가 투여될 수 있거나, 여러 분할 용량이 시간 경과에 따라 투여될 수 있거나, 또는 용량이 상황의 위급성에 의해 지시된 바와 같이 비례적으로 감소 또는 증가될 수 있다. 비경구 조성물을 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. "투여 단위 형태"는 치료될 대상체에 대한 단일 투여량으로서 적합화된 물리적 이산 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 목적하는 치료 반응을 생성시키도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을, 필요한 제약 담체와 함께 함유한다.

[0273] 투여량은 숙주 체중의 약 0.0001 내지 100 mg/kg, 보다 통상적으로 0.01 내지 5 mg/kg 범위이다. 예를 들어 투여량은 0.3 mg/kg 체중, 1 mg/kg 체중, 3 mg/kg 체중, 5 mg/kg 체중 또는 10 mg/kg 체중 또는 1-10 mg/kg, 또는 대안적으로 0.1 내지 5 mg/kg 범위 내일 수 있다. 예시적인 치료 요법은 1주에 1회, 2주마다 1회, 3주마다

1회, 4주마다 1회, 1개월에 1회, 3개월마다 1회, 또는 3 내지 6개월마다 1회 투여이다. 바람직한 투여 요법은 하기 투여 스케줄: (i) 6회 투여에 대해 4주마다, 이어서 3개월마다; (ii) 3주마다; (iii) 3 mg/kg 체중으로 1회, 이어서 3주마다 1 mg/kg 체중 중 1종을 사용하여, 1 mg/kg 체중 또는 3 mg/kg 체중을 정맥내 투여하는 것을 포함한다. 일부 방법에서, 투여량은 약 1-1000 µg/mL, 및 일부 방법에서는 약 25-300 µg/mL의 혈장 항체 농도가 달성되도록 조정된다.

[0274] "치료 유효량"의 본 발명의 화합물은 바람직하게는 질환 증상의 중증도에서의 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간에서의 증가, 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 예방을 생성시킨다. 예를 들어, 종양-보유 대상체의 치료를 위해, "치료 유효량"은 바람직하게는 종양 성장을 비치료 대상체에 비해 적어도 약 20%, 보다 바람직하게는 적어도 약 40%, 보다 더 바람직하게는 적어도 약 60%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 약 80% 억제한다. 치료 유효량의 치료 화합물은 전형적으로 인간이지만 또 다른 포유동물일 수 있는 대상체에서 종양 크기를 감소시키거나 또는 증상을 달리 호전시킬 수 있다.

[0275] 제약 조성물은 임플란트, 경피 패치, 및 마이크로캡슐화 전달 시스템을 포함한 제어 또는 지속 방출 제제일 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]을 참조한다.

[0276] 치료 조성물은 의료 디바이스 예컨대 (1) 무바늘 피하 주사 디바이스 (예를 들어, US 5,399,163; 5,383,851; 5,312,335; 5,064,413; 4,941,880; 4,790,824; 및 4,596,556); (2) 마이크로-주입 펌프 (US 4,487,603); (3) 경피 디바이스 (US 4,486,194); (4) 주입 장치 (US 4,447,233 및 4,447,224); 및 (5) 삼투 디바이스 (US 4,439,196 및 4,475,196)를 통해 투여될 수 있으며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0277] 특정 실시양태에서, 제약 조성물은 생체내에서 적절한 분포가 보장되도록 제제화될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 치료 화합물이 혈액-뇌 장벽을 가로지르는 것을 보장하기 위해, 이들은 리포솜 중에 제제화될 수 있으며, 이는 특이적 세포 또는 기관에 대한 선택적 수송을 증진하기 위한 표적화 모이어티를 추가적으로 포함할 수 있다. 예를 들어, US 4,522,811; 5,374,548; 5,416,016; 및 5,399,331; 문헌 [V.V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685; Umezawa et al., (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038; Bloeman et al. (1995) FEBS Lett. 357:140; M. Owais et al. (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180; Briscoe et al. (1995) Am. J. Physiol. 1233:134; Schreier et al. (1994) J. Biol. Chem. 269:9090; Keinanen and Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346:123; 및 Killion and Fidler (1994) Immunomethods 4:273]을 참조한다.

[0278] 용도

[0279] 본 발명의 화합물 또는 그의 접합체는 질환 예컨대 비제한적으로 두부, 경부, 비강, 부비동, 비인두, 구강, 구인두, 후두, 하인두, 타액선, 및 부신경절종의 종양을 포함한 두경부암; 간 및 담도계의 암, 특히 간세포성 암종; 장암, 특히 결장직장암; 난소암; 소세포 및 비소세포 폐암 (SCLC 및 NSCLC); 유방암 육종, 예컨대 섬유육종, 악성 섬유성 조직구종, 배아성 횡문근육종, 평활근육종, 신경섬유육종, 골육종, 활막 육종, 지방육종, 및 폐포 연부 육종; 백혈병 예컨대 급성 전골수구성 백혈병 (APL), 급성 골수 백혈병 (AML), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 및 만성 골수 백혈병 (CML); 중추 신경계의 신생물, 특히 뇌암; 다발성 골수종 (MM), 림프종 예컨대 호지킨 림프종, 림프형질세포양 림프종, 여포성 림프종, 점막-연관 림프성 조직 림프종, 외투 세포 림프종, B-계통 대세포 림프종, 버킷 림프종, 및 T-세포 역형성 대세포 림프종을 포함한 과다증식성 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. 임상적으로, 본원에 기재된 방법의 실시 및 조성물의 사용은 암성 성장의 크기 또는 수에서의 감소 및/또는 연관 증상에서의 감소 (적용가능한 경우)를 생성시킬 것이다. 병리학적으로, 본원에 기재된 방법의 실시 및 조성물의 사용은 병리학적 관련 반응, 예컨대 암 세포 증식의 억제, 암 또는 종양의 크기에서의 감소, 추가 전이의 예방, 및 종양 혈관신생의 억제를 생성시킬 것이다. 이러한 질환을 치료하는 방법은 대상체에게 치료 유효량의 본 발명의 조합물을 투여하는 것을 포함한다. 방법은 필요에 따라 반복될 수 있다. 특히, 암은 신암, 폐암, 위암, 또는 난소암일 수 있다.

[0280] 본 발명의 화합물 또는 그의 접합체는 항체, 알킬화제, 혈관신생 억제제, 항대사물, DNA 절단제, DNA 가교제, DNA 삽입제, DNA 작은 홈 결합제, 에네디인, 열 쇼크 단백질 90 억제제, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 면역조절제, 미세관 안정화제, 뉴클레오시드 (퓨린 또는 피리미딘) 유사체, 핵 유출 억제제, 프로테아솜 억제제, 토포이소머라제 (I 또는 II) 억제제, 티로신 키나제 억제제, 및 세린/트레오닌 키나제 억제제를 포함한 다른 치료제와 조합되어 투여될 수 있다. 구체적 치료제는 아달리무맙, 안사미토신 P3, 아우리스타틴, 벤다무스틴, 베바시주맙, 비칼루타미드, 블레오마이신, 보르테조미, 부숴판, 칼리스타틴 A, 캄프토테신, 카페시타빈, 카르보플라틴,

카르무스틴, 세톡시맵, 시스플라틴, 클라드리빈, 시타라빈, 크립토피신, 다카르바진, 다사티닙, 다우노루비신, 도세탁셀, 독소루비신, 두오카르마이신, 디네마이신 A, 에포틸론, 에토포시드, 플록수리딘, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 게피티닙, 겐시타빈, 이필리무맵, 히드록시우레아, 이마티닙, 인플릭시맵, 인터페론, 인터류킨,  $\beta$ -라파곤, 레날리도미드, 이리노테칸, 메이탄신, 메클로레타민, 멜팔란, 6-메르캅토피린, 메토티렉세이트, 미토마이신 C, 닐로티닙, 옥살리플라틴, 파클리타셀, 프로카르바진, 수베로일아닐리드 히드록삼산 (SAHA), 6-티오구아니딘, 티오테파, 테니포시드, 토포테칸, 트라스투주맵, 트리코스타틴 A, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 및 빈데신을 포함한다.

- [0281] 실시예
- [0282] 본 발명의 실시는 하기 실시예를 참조하여 더욱 이해될 수 있으며, 이는 제한이 아니라 예시로서 제공된다. 하기 일반적 절차는 예시적이며, 여기서 관련 기술분야의 통상의 기술자는 대안적이지만 등가인 방법이 사용될 수 있음을 이해한다.
- [0283] 실시예 1 - 이량체 IIa-9
- [0284] 본 실시예는 도 1a-1b 및 이량체 IIa-9의 합성에 관한 것이다.
- [0285] 4-(벤질옥시)-5-메톡시-2-니트로벤조일 클로라이드 1을 상응하는 메틸 에스테르로부터 하기와 같이 제조하였다: 테트라히드로푸란 (THF, 350 mL) 중 메틸 4-(벤질옥시)-5-메톡시-2-니트로벤조에이트 (하베 켐(Harve Chem), 15 g, 47.3 mmol)의 용액에 수성 NaOH의 용액 (56.7 mL, 142 mmol, 2.5M)을 첨가하였다. 반응물을 50°C에서 5시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온 (RT)으로 냉각시킨 다음, 진공 하에 농축시켜 THF를 제거하였다. 나머지 수성 층을 수성 HCl (6 N)을 사용하여 pH 2로 산성화시켰다. 생성된 황색 침전물을 여과하고, 물로 세척하고, 진공 하에 건조시켜 4-(벤질옥시)-5-메톡시-2-니트로벤조산 (14.32 g, 100% 수율)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 304.08;  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, 메탄올- $d_4$ )  $\delta$  7.60 (s, 1H), 7.53 - 7.45 (m, 2H), 7.45 - 7.31 (m, 3H), 7.29 (s, 1H), 5.23 (s, 2H), 3.98 (s, 3H).
- [0286] THF (30 mL) 중 상기 니트로벤조산 (1.2 g, 3.96 mmol)의 용액에 옥살릴 클로라이드 (0.416 mL, 4.75 mmol)에 이어서 N,N-디메틸포름아미드 (DMF, 20  $\mu\text{L}$ )를 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 35시간 동안 교반한 후, 이를 진공 하에 농축시켜 산 클로라이드 1을 황색 고체로서 수득하였다.
- [0287] 산 클로라이드 1을 THF (20 mL) 중에 용해시키고, 0°C에서 THF (10 mL) 중 S-메틸 피롤리딘-2-카르복실레이트 2 히드로클로라이드 (0.768 g, 4.75 mmol) 및 트리에틸아민 ( $\text{NEt}_3$ , 1.65 mL, 11.87 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 가온하고, 실온에서 1시간 동안 교반한 후, 수성 LiCl로 켄칭하고, 농축시켜 THF를 제거하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 수성  $\text{NaHCO}_3$ 에 이어서 염수로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 조 생성물 혼합물을 이스코(ISCO) 실리카 겔 크로마토그래피 (80 g 칼럼, 15분 내에 0%에서 100% EtOAc/디클로로메탄 (DCM)로의 구배)를 사용하여 정제하여 에스테르 3 (1.18 mg, 72% 수율)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 415.4;  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, 클로로포름- $d$ )  $\delta$  7.77 (s, 1H), 7.51 - 7.32 (m, 5H), 6.92 - 6.80 (m, 1H), 5.25 - 5.20 (m, 2H), 4.80 - 4.73 (m, 1H), 4.03 - 3.93 (m, 3H), 3.82 (s, 2H), 3.56 (s, 1H), 3.38 - 3.30 (m, 1H), 3.21 (s, 1H), 2.41 - 2.30 (m, 1H), 2.16 - 2.07 (m, 1H), 2.04 - 1.87 (m, 2H).
- [0288] EtOH (15 mL) 중 에스테르 3 (900 mg, 2.172 mmol) 및  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  (탄소 상 20%, 90 mg)의 현탁액을  $\text{H}_2$  (50 psi) 하에 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트(CELITE)<sup>TM</sup>의 패드를 통해 여과하고, EtOAc로 세척하였다. 합한 여과물을 농축시키고, MeOH (10 mL) 중에 용해시켰다. 한 방울의 AcOH를 첨가한 후, 반응물을 80°C에서 5시간 동안 가열하였다. 이어서, 반응물을 실온으로 냉각시키고, 농축시켰다. 잔류물을 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (40 g 칼럼, 0-100% EtOAc/헥산 구배)를 사용하여 정제하여 화합물 4를 수득하였다. LCMS (M+H) = 263;  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, 클로로포름- $d$ )  $\delta$  10.18 (s, 1H), 9.89 (br. s., 1H), 7.22 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 4.17 - 3.96 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.63 - 3.37 (m, 2H), 1.96 - 1.63 (m, 4H).
- [0289] DMSO (8 mL) 중 화합물 4 (0.8 g, 3.05 mmol) 및 1,3-브로모프로판 4a (0.308 g, 1.525 mmol) 및  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (527 mg, 3.81 mmol)의 현탁액을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 수성  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 로 희석하고, 클로로포름 (3x)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 진공 하에

농축시켰다. 조 생성물 혼합물을 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (0%에서 10% MeOH/DCM으로의 구배)를 사용하여 정제하여 화합물 5 (670 mg, 78% 수율)를 수득하였다. LCMS (M+H) = 565; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.45 (s, 2H), 6.54 (s, 2H), 4.19 (d, J=7.5 Hz, 4H), 4.03 (d, J=5.9 Hz, 2H), 3.89 (s, 6H), 3.82 - 3.72 (m, 2H), 3.64 - 3.55 (m, 2H), 2.73 (br. s., 2H), 2.37 - 2.32 (m, 2H), 2.07 - 1.95 (m, 6H).

[0290] DCM (2 mL) 중 화합물 5 (650 mg, 1.151 mmol)의 용액에, -78℃에서 삼브로민화붕소의 용액 (10.04 mL, 10.4 mmol, DCM 중 1M)을 적가하였다. 반응물을 -5℃로 천천히 가온하고, 30분 동안 교반하였다. 이어서, 반응물을 수성 이염기성 인산칼륨 완충제 (5 mL)로 킨칭한 다음, 농축시켜 DCM을 제거하였다. 나머지 슬러리를 여과하여 회색 고체를 수득하였으며, 이를 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (120 g 칼럼, 0%에서 10% MeOH/DCM으로의 구배)를 사용하여 정제하여 화합물 6 (202 mg, 33% 수율)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 537; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.10 (br. s., 2H), 9.44 - 9.01 (m, 2H), 7.17 (s, 2H), 6.66 (s, 2H), 4.13 (br. s., 5H), 4.03 (d, J=6.4 Hz, 2H), 3.51 (br. s., 6H), 2.46 (br. s., 1H), 2.32 - 2.16 (m, 2H), 2.06 - 1.66 (m, 7H).

[0291] DMF (1.5 mL) 중 화합물 6 (86mg, 0.160 mmol), 6-브로모헥스-1-엔 6a (52.3 mg, 0.321 mmol), 및 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (66.5 mg, 0.481 mmol)의 현탁액을 실온에서 15시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (40 g 칼럼, 0%에서 10% MeOH/DCM으로의 구배)를 사용하여 정제하여 화합물 7 (55 mg, 49% 수율)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 701.7.

[0292] 바이알에 화합물 7 (52 mg, 0.074 mmol)을 충전하였다. 이어서, DCE (10 mL) 중 그럽스(Grubbs)-II 촉매 (6.30 mg, 7.42 μmol)의 용액을 첨가하였다. 생성된 용액을 탈기하고, 75℃로 1시간 동안 가열하였다. 이어서, 반응 혼합물을 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (12 g 칼럼, 구배 0%에서 10% MeOH/DCM)을 사용하여 정제하여 21-원 마크로사이클 8 (44 mg, 88%, ~10% 20-원 마크로사이클 부산물 9와 함께)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 673.7.

[0293] 0℃에서 DMF (1 mL) 중 화합물 8 및 9의 혼합물 (18mg, 0.027 mmol)의 용액에 NaH (4.01 mg, 0.067 mmol)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 0℃에서 30분 동안 교반한 후, 2-(클로로메톡시)에틸)트리메틸실란 (SEM-Cl, 0.014 mL, 0.080 mmol)을 첨가하였다. 이어서, 반응물을 0℃에서 1시간 동안 교반한 후, 염수로 킨칭하였다. 혼합물을 EtOAc (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (12 g 칼럼, 0%에서 100% MeOH/DCM으로의 구배)를 사용하여 정제하여 화합물 10을 수득하였다. LCMS (M+H) = 933; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.37 (s, 2H), 7.22 (s, 2H), 5.48 (m, 2H), 5.43 (t, J=3.5 Hz, 2H), 4.70 (m, 2H), 4.29 - 4.21 (m, 4H), 4.14 - 4.03 (m, 6H), 3.84 - 3.65 (m, 7H), 3.62 - 3.50 (m, 2H), 2.79 - 2.67 (m, 2H), 2.35 (m, 2H), 2.12 - 1.96 (m, 10H), 1.80 (m, 4H), 1.58 - 1.47 (m, 2H), 0.98 (m, 4H), 0.04 - 0.02 (s, 18H).

[0294] 0℃에서 THF/EtOH (1:1, 1 mL) 중 화합물 10의 용액에 수소화붕소리튬의 용액 (0.268 mL, 0.535 mmol, THF 중 2M)을 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃에서 1시간 동안 교반한 후, 이를 실온으로 가온하고, 5분 동안 교반하였다. 이어서, 반응물을 염수로 킨칭하고, CHCl<sub>3</sub> (3x)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 이어서, 잔류물을 CHCl<sub>3</sub>/ EtOH (1:1, 2 mL)에 녹였다. 실리카 겔 (0.9 g)을 첨가하고, 이어서 물 (1 mL)을 첨가하였다. 생성된 현탁액을 실온에서 48시간 동안 교반한 다음, 10% MeOH/CHCl<sub>3</sub>으로 세척하면서 여과하였다. 여과물을 농축시키고, 역상 HPLC (칼럼: 페노메닉스(Phenomenex) 루나(Luna) C18 20x100mm; 이동상 A: 10:90 MeCN:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 (TFA) 포함; 이동상 B: 90:10 MeCN:물, 0.1% TFA 산 포함; 구배: 15분에 걸쳐 0-80% B; 유량: 20 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV)를 사용하여 정제하여 목적 분획을 함유하는 분획을 수득하고, 합하고, 수성 NaHCO<sub>3</sub>으로 중화시킨 다음, 클로로포름으로 추출하고, 건조시키고, 농축시켜 이량체 IIa-9 (7.1 mg, 2 단계에 걸쳐 39%)를 수득하였다. LCMS (M+H) = 641.3; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.53 (s, 2H), 6.85 (s, 2H), 5.46 (m, 2H), 4.36 - 4.23 (m, 4H), 4.20 - 4.12 (m, 2H), 4.11 - 4.03 (m, 2H), 3.87- 3.82 (m, 2H), 3.75 (dt, J=7.5, 4.0 Hz, 2H), 3.60 (dt, J=11.8, 7.8 Hz, 2H), 2.41 - 2.30 (m, 6H), 2.14 - 2.01 (m, 8H), 1.88 - 1.77 (m, 4H), 1.67 - 1.58 (m, 4H).

[0295] 실시예 2 - 이량체 IIa-3 및 IIa-4

- [0296] 본 실시예는 도 2 및 이량체 IIa-3 및 IIa-4의 합성에 관한 것이다.
- [0297] MeOH (3 mL) 중 화합물 8 및 9의 혼합물 (24 mg, 0.036 mmol) 및 10% Pd/C (6 mg)의 현탁액을 H<sub>2</sub>의 풍선 하에 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 N<sub>2</sub>로 퍼징하고, EtOAc로 세척하면서 셀라이트™의 패드를 통해 여과하였다. 합한 여과물을 농축시켜 21-원 마크로사이클 11 (24 mg, 100% 수율, ~10% 마크로사이클 12와 함께)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 675.4.
- [0298] 0°C에서 DMF (1 mL) 중 마크로사이클 11 및 12의 혼합물 (24mg, 0.036 mmol)의 용액에 NaH (5.33 mg, 0.089 mmol)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 0°C에서 30분 동안 교반한 후, SEM-Cl (0.019 mL, 0.107 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 0°C에서 1시간 동안 교반한 후, 이를 염수로 켄칭하였다. 혼합물을 EtOAc (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (12 g 칼럼, 0%에서 100% MeOH/DCM으로의 구배)를 사용하여 정제하여 SEM-마크로사이클의 혼합물을 수득하였다 (21-원 마크로사이클: LCMS (M+H) = 935. 20-원 마크로사이클: LCMS (M+H) = 921).
- [0299] 0°C에서 THF/EtOH (1:1, 1 mL) 중 상기 SEM-마크로사이클의 혼합물의 용액에 LiBH<sub>4</sub>의 용액 (0.356 mL, 0.71 mmol, THF 중 2M)을 첨가하였다. 생성된 용액을 0°C에서 1시간 동안 교반한 후, 실온으로 가온하고, 15분 동안 교반하였다. 반응물을 염수로 켄칭하고, CHCl<sub>3</sub> (3x)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 CHCl<sub>3</sub>/EtOH (1:1, 2 mL)에 녹였다. 실리카 겔 (0.9 g)을 첨가하고, 이어서 물 (1 mL)을 첨가하였다. 생성된 현탁액을 실온에서 48시간 동안 교반하고, 10% MeOH/CHCl<sub>3</sub>으로 세척하면서 여과하였다. 여과물을 농축시키고, 역상 HPLC (칼럼: 페노메넥스 루나 C18 20x100mm; 이동상 A: 10:90 MeCN:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 (TFA) 포함; 이동상 B: 90:10 MeCN:물, 0.1% TFA 산 포함; 구배: 15분에 걸쳐 0-80% B; 유량: 20 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV)를 사용하여 정제하여 이량체 IIa-4 및 IIa-3을 수득하였다.
- [0300] 이량체 IIa-4: (7.5 mg, 31% 수율); LCMS (M+H) = 643.4; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.53 (s, 2H), 6.84 (s, 2H), 4.33 - 4.16 (m, 6H), 4.13 - 4.06 (m, 2H), 3.88 - 3.80 (m, 2H), 3.79 - 3.71 (m, 2H), 3.64 - 3.57 (m, 2H), 2.44 - 2.30 (m, 6H), 2.15 - 2.04 (m, 4H), 1.85 - 1.77 (m, 4H), 1.61 - 1.52 (m, 4H), 1.44 - 1.38 (m, 8H).
- [0301] 이량체 IIa-3: (1 mg, 4% 수율); LCMS (M+H) = 629.4; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.55 (s, 2H), 6.86 (s, 2H), 4.37 - 4.24 (m, 4H), 4.21 - 4.14 (m, 2H), 4.12 - 4.06 (m, 2H), 3.87-3.80 (m, 2H), 3.79 - 3.70 (m, 4H), 3.63 - 3.56 (m, 2H), 2.42 - 2.31 (m, 6H), 2.14 - 2.06 (m, 4H), 1.83-1.78 (m, 4H), 1.61 - 1.52 (m, 4H), 1.43 - 1.33 (m, 6H).
- [0302] 실시예 3 - 이량체 IIa-1
- [0303] 본 실시예는 도 3 및 이량체 IIa-1의 합성에 관한 것이다.
- [0304] DMF (1.5 mL) 중 화합물 6 (29mg, 0.054 mmol) 및 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.47 mg, 0.054 mmol)의 현탁액에 1,7-디브로모헵탄 (14.64 mg, 0.057 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 2시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시켰다. 반응 혼합물을 여과하고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (12 g 칼럼, 0에서 10% MeOH/DCM으로의 구배)를 사용하여 정제하여 마크로사이클 13을 수득하였다. LCMS (M+H) = 633.5.
- [0305] 0°C에서 DMF (0.8 mL) 중 마크로사이클 13의 용액에 NaH (4.32 mg, 0.108 mmol)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 0°C에서 30분 동안 교반한 후, SEM-Cl (0.019 mL, 0.11 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 0°C에서 1시간 동안 교반한 후, 이를 염수로 켄칭하였다. 혼합물을 EtOAc (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (12 g 칼럼, 0%에서 100% MeOH/DCM으로의 구배)를 사용하여 정제하여 SEM-마크로사이클 14 (9 mg, 10.08 μmol, 2 단계에 걸쳐 18.6% 수율)를 수득하였다. LCMS (M+H) = 893.4.
- [0306] 0°C에서 THF/EtOH (1:1, 1 mL) 중 SEM-마크로사이클 14 (9 mg, 10.08 μmol)의 용액에 LiBH<sub>4</sub>의 용액 (101 μL, 0.202 mmol, THF 중 2M)을 첨가하였다. 생성된 용액을 0°C에서 1시간 동안 교반한 후, 실온으로 가온하고, 15분 동안 교반하였다. 반응물을 염수로 켄칭하고, CHCl<sub>3</sub> (3x)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서

건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$  (1:1, 2 mL)에 녹였다. 실리카 겔 (0.7 g)을 첨가하고, 이어서 물 (0.6 mL)을 첨가하였다. 생성된 현탁액을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 여과하고, 10%  $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ 으로 세척하였다. 여과물을 농축시키고, 역상 HPLC (칼럼: 페노메닉스 루나 C18 20x100mm; 이동상 A: 10:90  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ , 0.1% 트리플루오로아세트산 (TFA) 포함; 이동상 B: 90:10  $\text{MeCN}:\text{물}$ , 0.1% TFA 산 포함; 구배: 15분에 걸쳐 0-70% B; 유량: 20 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV)를 사용하여 정제하여 이량체 IIa-1 (1.8 mg, 2.70  $\mu\text{mol}$ , 26.8% 수율)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 601.2;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 클로로포름-d)  $\delta$  7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.54 (s, 2H), 6.90 (s, 2H), 4.35 - 4.25 (m, 4H), 4.18 (dt, J=9.5, 5.7 Hz, 2H), 4.15 - 4.05 (m, 2H), 3.86 - 3.78 (m, 2H), 3.77 - 3.72 (m, 2H), 3.65 - 3.54 (m, 2H), 2.42 - 2.28 (m, 6H), 2.14 - 2.03 (m, 4H), 1.91 - 1.80 (m, 4H), 1.70 - 1.61 (m, 4H), 1.49 - 1.41 (m, 2H).

[0307] 실시예 4 - 이량체 IIb-5

[0308] 본 실시예는 도 4a-4b 및 이량체 IIb-5의 합성에 관한 것이다.

[0309] DMSO (300 mL) 중 메틸 4-히드록시-3-메톡시벤조에이트 14 (18 g, 99 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (20.48 g, 148 mmol) 및 1,3-디브로모프로판 15 (5.04 mL, 49.4 mmol)의 현탁액을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물에 물을 첨가하고, 생성된 용액을 실온에서 20분 동안 교반하였다. 생성된 침전물을 여과하고, 물로 세척하고, 진공하에 건조시켰다. 생성된 백색 고체를  $\text{EtOAc}/\text{DCM}$ 으로 연화처리하고, 여과하여 화합물 16 (10.45 g, 52.4%) 및 암갈색 여과물을 수득하였다. 여과물을 이스코 (15분 내에  $\text{EtOAc}/\text{DCM}$  0% - 50%, 120 g 칼럼)에 의해 정제하여 추가의 화합물 16 (3.55 g, 17.7%)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 405;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  7.58 (dd, J=8.4, 2.0 Hz, 2H), 7.46 (d, J=2.0 Hz, 2H), 7.12 (d, J=8.6 Hz, 2H), 4.22 (t, J=6.2 Hz, 4H), 3.83 (s, 6H), 3.81 (s, 6H), 2.24 (t, J=6.2 Hz, 2H);

[0310] 0°C에서 염화주석(IV)의 용액 (19.91 mL, 19.91 mmol, DCM 중 1M)에 진한 질산 (1.375 mL, 27.7 mmol)을 적가하였다. 생성된 혼합물을 -25°C에서 DCM (15 mL) 중 화합물 16 (3.5 g, 8.65 mmol)의 용액에 적가하였다. 반응물을 -25°C에서 30분 동안 교반한 후, 이를 물 (100 mL)로 켄칭하였다. 유기 층을 분리하였다. 수성 층을  $\text{EtOAc}$  (2x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 농축시켜 조 생성물을 수득하였으며, 이를 뜨거운  $\text{DCM}/\text{헥산}$ 으로부터 재결정화시켜 화합물 17 (3.5 g, 82% 수율)을 회백색 결정으로서 수득하였다. LCMS (M+H) = 495;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  7.68 (s, 2H), 7.32 (s, 2H), 4.29 (t, J=6.2 Hz, 4H), 3.91 (s, 6H), 3.83 (s, 6H), 2.35 - 2.13 (m, 2H).

[0311] 플라스크에 화합물 17 (3.1 g, 6.27 mmol) 및 수성 NaOH (25.08 mL, 62.7 mmol, 2.5 M)를 충전하였다. 반응 혼합물을 100°C에서 16시간 동안 가열하였다. 불균질 혼합물은 반응의 종료 시에 적색빛 용액이 되었다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 수성 HCl로 pH2로 산성화시켰다. 생성된 침전물을 여과하고, 물로 세척하고, 건조시켜 화합물 18 (2.65 g, 6.05 mmol, 96% 수율)을 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  13.41 (br. s., 2H), 10.62 (br. s., 2H), 7.59 (s, 2H), 7.10 (s, 2H), 4.31 (t, J=6.2 Hz, 4H), 2.25 (quin, J=6.1 Hz, 2H).

[0312] 실온에서 THF (5 mL) 중 화합물 18 (2.9 g, 6.62 mmol)의 용액에 옥살릴 클로라이드 (1.390 mL, 15.88 mmol)에 이어서 2 방울의 DMF를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반한 후, 이를 농축시키고,  $\text{MeOH}$  (20 mL) 중에 용해시켰다. 생성된 용액을 실온에서 30분 동안 교반하고, 농축시켰다. 조 생성물을 물로 연화처리하고, 여과하고, 건조시켜 화합물 19 (3 g, 6.43 mmol, 97% 수율)를 수득하였다. LCMS (M+H) = 467;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  10.80 (br. s., 2H), 7.65 (s, 2H), 7.10 (s, 2H), 4.33 (t, J=5.9 Hz, 4H), 3.80 (s, 6H), 2.39 - 2.15 (m, 2H).

[0313] DMF (1 mL) 중 화합물 19 (1g, 2.144 mmol) 및  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.889 g, 6.43 mmol)의 현탁액에 1,4-디브로모부탄 19a (3.70 g, 17.15 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 80°C로 2시간 동안 가열한 후, 이를 실온으로 냉각시키고, 물로 희석하고,  $\text{EtOAc}$  (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (40 g 칼럼, 0%에서 50%  $\text{EtOAc}/\text{헥산}$ 으로의 구배)를 사용하여 정제하여 화합물 20 (0.95 g, 60.2% 수율)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 521;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 클로로포름-d)  $\delta$  7.47 (s, 2H), 7.04 (s, 2H), 4.31 (s, 5H), 4.11

(s, 4H), 3.89 (s, 6H), 3.51 (t, J=6.3 Hz, 4H), 2.42 (s, 2H), 2.14 - 1.92 (m, 8H).

- [0314] DMF (20 mL) 중 화합물 20 (0.95 g, 1.290 mmol), 2-니트로벤젠술폰아미드 21a (0.261 g, 1.290 mmol) 및  $K_2CO_3$  (0.535 g, 3.87 mmol)의 현탁액을 80°C에서 2시간 동안 가열하였다. 반응물을 물로 희석하고, EtOAc (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (80 g 칼럼, 0%에서 80% EtOAc/헥산으로의 구배)를 사용하여 정제하여 마크로사이클 21 (330 mg, 32.9% 수율)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 777.5;  $^1H$  NMR (400MHz, 클로로포름-d)  $\delta$  7.97 (dd, J=7.6, 1.7 Hz, 1H), 7.74 - 7.64 (m, 2H), 7.63 - 7.56 (m, 1H), 7.51 (s, 2H), 7.07 (s, 2H), 4.36 - 4.28 (m, 4H), 4.17 - 4.07 (m, 4H), 3.90 (s, 6H), 3.36 (br. s., 4H), 2.31 (t, J=6.1 Hz, 2H), 1.86 - 1.80 (m., 8H)
- [0315] DMF (3mL) 중 마크로사이클 21 (320mg, 0.412 mmol)의 용액에 2-메르캅토에탄올 (322 mg, 4.12 mmol) 및 1,8-디아자비시클로[5.4.0]운데스-7-엔 (DBU, 310  $\mu$ L, 2.060 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, DCM으로 희석하고, 물에 이어서 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM (4 mL)에 녹이고, 0°C로 냉각시켰다. 이어서, 트리에틸아민 (115  $\mu$ L, 0.824 mmol)을 첨가하고, 이어서 클로로 알릴포르메이트 (Alloc-Cl, 99 mg, 0.824 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반한 후, 이를 물로 켄칭하고, DCM으로 추출하고, 건조시키고, 농축시켰다. 조 생성물을 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (40 g 칼럼, 0%에서 70% EtOAc/헥산으로의 구배)를 사용하여 정제하여 마크로사이클 22 (140 mg, 0.207 mmol, 50.3% 수율)를 수득하였다. LCMS (M+H) = 676.2
- [0316] MeOH (1mL) 및 THF (6 mL) 중 마크로사이클 22의 현탁액에 수성 NaOH (1M, 1 mL)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시켜 THF 및 MeOH를 제거하였다. 잔류물을 수성 HCL (1N)을 사용하여 산성화시키고, EtOAc (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 건조시키고, 농축시켜 산 23 (135 mg, 0.208 mmol, 97% 수율)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 485.
- [0317] THF (2 mL) 중 산 23 (135 mg, 0.208 mmol)의 용액에 옥살릴 클로라이드 (45.6  $\mu$ L, 0.521 mmol)에 이어서 DMF (5  $\mu$ L)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 농축시켰다. 잔류물을 THF (10 mL) 중에 용해시키고, 0°C로 냉각시켰다. THF (5 mL) 중 (S)-벤질 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린-3-카르복실레이트 p-톨루엔술폰산 염 23a (액셀라(Accela), 275 mg, 0.625 mmol) 및  $NEt_3$  (0.29 mL, 2.09 mmol)의 용액을 적가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 천천히 가온하고, 15분 동안 교반한 후, 물로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고, 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (12 g 칼럼, 0%에서 100% EtOAc/헥산으로의 구배)를 사용하여 정제하여 화합물 24 (190 mg, 0.166 mmol, 80% 수율)를 수득하였다. LCMS (M+H) = 1146.8.
- [0318] MeOH (4 mL) 중 화합물 24 (190mg, 0.166 mmol), 아연 분말 (108 mg, 1.658 mmol), 및  $NH_4Cl$  (133 mg, 2.486 mmol)의 현탁액을 50°C로 가열하고, 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, MeOH로 희석하고, MeOH에 이어서 EtOAc로 세척하면서 셀라이트™의 패드를 통해 여과하였다. 합한 여과물을 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (24 g 칼럼, 0%에서 10% MeOH/DCM으로의 구배)를 사용하여 정제하여 화합물 25 (125 mg, 0.144 mmol, 87% 수율)를 수득하였다. LCMS (M+H) = 870.1;  $^1H$  NMR (400MHz, 클로로포름-d)  $\delta$  7.40-7.36 (m, 3H), 7.35 - 7.21 (m, 9H), 6.52 (br. s., 2H), 6.01 - 5.76 (m, 1H), 5.25 (dd, J=17.2, 1.5 Hz, 1H), 5.16 (dd, J=10.5, 1.4 Hz, 1H), 5.06 (d, J=15.2 Hz, 2H), 4.55 (d, J=5.5 Hz, 2H), 4.45 (d, J=15.4 Hz, 2H), 4.24 - 4.05 (m, 4H), 4.00 (br. s., 2H), 3.49 (dd, J=15.4, 7.0 Hz, 2H), 3.31 (br. s., 4H), 3.01 (dd, J=15.4, 6.4 Hz, 2H), 2.19 (d, J=5.5 Hz, 2H), 1.84-1.76 (m., 8H).
- [0319] 0°C에서 DMF (5 mL) 중 화합물 25 (120mg, 0.138 mmol)의 용액에 NaH (9.93 mg, 0.414 mmol)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 30분 동안 교반한 후, SEM-Cl (0.073 mL, 0.414 mmol)을 첨가하였다. 이어서, 반응 혼합물을 실온으로 천천히 가온하고, 2시간 동안 교반한 후, 염수로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고, 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (24 g 칼럼, 0%에서 100% EtOAc/헥산으로의 구배)를 사용하여 정제하여 중간체 SEM-마크로사이클 (82 mg, 0.073 mmol, 52.6% 수율)을 수득하였다.
- [0320] 이전 중간체 SEM 마크로사이클 (82 mg, 0.073 mmol)을 DCM (5 mL) 중에 용해시켰다. 용액을  $N_2$ 로 퍼징한 후,  $Pd(Ph_3P)_4$  (7.97 mg, 6.90  $\mu$ mol) 및 모르폴린 (0.060 mL, 0.690 mmol)을 순차적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후, 이를 농축시키고, 이스코 실리카 겔 크로마토그래피 (12 g 칼럼, 0%에서 20%

MeOH/DCM으로의 구배)를 사용하여 정제하여 마크로사이클 26 (56 mg, 0.054 mmol, 38.8% 수율)을 수득하였다. LCMS (M+H) = 1046.3; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.40 - 7.27 (m, 12H), 5.51 (d, J=10.1 Hz, 2H), 5.11 (d, J=15.4 Hz, 2H), 4.66 (d, J=10.1 Hz, 2H), 4.45 (d, J=15.4 Hz, 2H), 4.35 - 4.24 (m, 6H), 4.21 - 4.14 (m, 2H), 4.08 - 3.99 (m, 2H), 3.79 (d, J=6.8 Hz, 2H), 3.73 - 3.62 (m, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.32 - 3.13 (m, 4H), 3.04 (s, 2H), 2.30 (br. s., 2H), 2.18 (d, J=6.2 Hz, 4H), 1.95 (br. s., 4H), 1.65 (br. s., 4H), 0.97 (dd, J=4.2, 3.1 Hz, 4H), 0.03 (s, 18H).

[0321] -78℃에서 THF (1 mL) 중 마크로사이클 26 (46 mg, 44 μmol)의 용액에 리튬 트리에틸보로하이드라이드의 용액 (슈퍼-하이드라이드(SUPER-HYDRIDE)®, 0.13 mL, 0.123 mmol, THF 중 1M)을 첨가하였다. 생성된 용액을 -78℃에서 2시간 동안 교반한 후, 염수로 킨칭하고, CHCl<sub>3</sub> (3x)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 이어서, 잔류물을 CHCl<sub>3</sub>/EtOH (1:1, 2 mL)에 녹였다. 실리카 겔 (0.8 g)을 첨가하고, 이어서 물 (0.6 mL)을 첨가하였다. 생성된 현탁액을 실온에서 24시간 동안 교반한 다음, 10% MeOH/CHCl<sub>3</sub>으로 세척하면서 여과하였다. 여과물을 농축시키고, 역상 HPLC (칼럼: 페노메넥스 루나 C18 20x100mm; 이동상 A: 10:90 MeCN:물, 0.1% TFA 포함; 이동상 B: 90:10 MeCN:물, 0.1% TFA 포함; 구배: 15분에 걸쳐 10-70% B; 유량: 20 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV)를 사용하여 정제하여 이량체 IIb-5 (20 mg, 24 μmol, 54.3% 수율)를 수득하였다. LCMS (M+H) = 754.2; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.54 (s, 2H), 7.49 (d, J=5.3 Hz, 2H), 7.42 - 7.30 (m, 8H), 6.84 (s, 2H), 5.03 (d, J=15.6 Hz, 2H), 4.56 (d, J=15.4 Hz, 2H), 4.37 - 4.20 (m, 4H), 4.15 - 4.07 (m, 2H), 4.02 - 3.94 (m, 2H), 3.36 - 3.25 (m, 2H), 3.23 - 3.13 (m, 2H), 3.05 - 2.95 (m, 6H), 2.42 - 2.30 (m, 2H), 1.96 (br. s., 8H).

[0322] 실시예 5 - 중간체 화합물 48

[0323] 본 실시예는 도 5 및 중간체 화합물 48의 합성에 관한 것이다.

[0324] DMF (178 mL) 중 화합물 19 (10.36 g, 22.21 mmol)의 실온 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (12.28 g, 89 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 100℃로 가열한 다음, DMF (44.4 mL) 중 1,8-디아이오도옥탄 19b (5.30 mL, 26.7 mmol)의 용액을 1.5시간에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 100℃에서 3시간 동안 추가로 교반하고, 실온으로 냉각시키고, H<sub>2</sub>O (2000 mL)의 교반된 플라스크에 천천히 첨가하였다. 생성된 침전물을 진공 여과에 의해 수집 (H<sub>2</sub>O로 세척)하였다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (220 g 실리카 겔; 선형 구배 0-10% EtOAc-DCM)에 의해 정제하여 마크로사이클 43 (5.994 g, 47%)을 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 594 [M+18]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.53 (s, 2H), 7.08 (s, 2H), 4.33 (t, J=6.1 Hz, 4H), 4.15 (t, J=5.3 Hz, 4H), 3.91 (s, 6H), 2.36 (quin, J=6.0 Hz, 2H), 1.86 - 1.78 (m, 4H), 1.61 - 1.52 (m, 4H), 1.49 - 1.42 (m, 4H).

[0325] THF (78 mL) 중 마크로사이클 43 (5.994 g, 10.40 mmol)의 실온 현탁액에 MeOH (26.0 mL)에 이어서 1 M 수성 NaOH (104 mL, 104 mmol)를 첨가하였다. 황색 현탁액을 50℃에서 4시간 동안 교반하였으며, 서서히 투명한 황색 용액이 되었다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 부분적으로 농축시키고, 1 M 수성 HCl을 사용하여 산성화시켰다. 생성된 고체를 진공 여과에 의해 수집 (H<sub>2</sub>O로 세척)하여 마크로사이클 44 (5.41 g, 95%)를 황색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 566 [M+18]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13.58 (br s, 2H), 7.64 (s, 2H), 7.30 (s, 2H), 4.27 (t, J=6.2 Hz, 4H), 4.16 (t, J=5.1 Hz, 4H), 2.20 (quin, J=6.1 Hz, 2H), 1.74 - 1.65 (m, 4H), 1.53 - 1.44 (m, 4H), 1.42 - 1.32 (m, 4H).

[0326] THF (94 mL) 중 마크로사이클 44 (5.144 g, 9.38 mmol)의 실온 용액에 옥살릴 클로라이드 (2.140 mL, 22.51 mmol)에 이어서 DMF (7.29 μL, 0.094 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 THF (94 mL)에 녹이고, 0℃로 냉각시켰다. NEt<sub>3</sub> (7.84 mL, 56.3 mmol) 및 화합물 44a (5.84 g, 22.51 mmol)를 첨가하였다. 냉각 조를 제거하고, 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 NH<sub>4</sub>Cl (250 mL) 및 H<sub>2</sub>O (250 mL)의 혼합물의 첨가에 의해 킨칭하고, EtOAc (2 x 250 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 수성 NaCl (250 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (120 g 실리카 겔; 선형 구배 0-100% EtOAc-헥산)에 의해 정제하여 화합물 45 (9.274 g, 96%)를 황색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1031 [M+H]<sup>+</sup>.

- [0327] MeOH (56.2 mL) 및 THF (56.2 mL) 중 화합물 45 (9.274 g, 8.99 mmol)의 0°C 용액에 NH<sub>4</sub>Cl (9.62 g, 180 mmol) 및 아연 분진 (11.76 g, 180 mmol)을 첨가하였다. 생성된 현탁액을 50°C에서 22시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 셀라이트™를 통해 여과 (300 mL EtOAc로 세척)하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 DCM (400 mL)에 녹이고, H<sub>2</sub>O (400 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 화합물 46 (8.2 g, 정량적 수율)을 황색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 907 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.25 (s, 2H), 7.27 (s, 2H), 6.73 (s, 2H), 4.46 (quin, J=5.2 Hz, 2H), 4.24 - 4.12 (m, 6H), 4.06 - 3.96 (m, 4H), 3.60 - 3.53 (m, 2H), 3.50 - 3.43 (m, 2H), 2.69 - 2.56 (m, 2H), 2.26 - 2.16 (m, 2H), 1.98 - 1.89 (m, 2H), 1.72 - 1.62 (m, 4H), 1.54 - 1.43 (m, 4H), 1.41 - 1.32 (m, 4H), 0.87 - 0.83 (m, 18H), 0.08 (s, 12H).
- [0328] DMF (90 mL) 중 화합물 46 (8.16 g, 8.99 mmol)의 0°C 용액에 NaH (1.798 g, 미네랄 오일 중 60% w/w, 45.0 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반하고, SEM-Cl (6.38 mL, 36.0 mmol)을 적가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 NH<sub>4</sub>Cl의 적가에 의해 켄칭하고, 이어서 실온으로 가온하고, EtOAc (400 mL)로 희석하고, H<sub>2</sub>O (2 x 400 mL) 및 포화 수성 NaCl (200 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (220 g 실리카 겔; 선형 구배 0-100% EtOAc-헥산)에 의해 정제하여 화합물 47 (7.980 g, 76%)을 백색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1168[M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.36 (s, 2H), 7.24 (s, 2H), 5.48 (d, J=10.0 Hz, 2H), 4.69 (d, J=9.9 Hz, 2H), 4.58 (quin, J=5.7 Hz, 2H), 4.31 - 4.21 (m, 6H), 4.19 - 4.06 (m, 4H), 3.82 - 3.63 (m, 6H), 3.56 (dd, J=11.9, 5.6 Hz, 2H), 2.90 - 2.81 (m, 2H), 2.33 (quin, J=6.0 Hz, 2H), 2.07 - 1.98 (m, 2H), 1.84 - 1.75 (m, 4H), 1.62 - 1.54 (m, 4H), 1.50 - 1.40 (m, 4H), 1.01 - 0.95 (m, 4H), 0.88 (s, 18H), 0.10 (s, 12H), 0.04 (s, 18H).
- [0329] THF (68.3 mL) 중 화합물 47 (7.979 g, 6.83 mmol)의 실온 용액에 테트라부틸암모늄 플루오라이드 (TBAF, 17.08 mL, THF 중 1 M 용액, 17.08 mmol)을 첨가하였다. 투명한 황색 용액을 실온에서 15시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM (400 mL)으로 희석하고, H<sub>2</sub>O (400 mL) 및 포화 수성 NaCl (400 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (120 g 실리카 겔과, 25 g 사전 패키징된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)에 의해 정제하여 화합물 48 (5.360 g)을 백색 발포체로서 수득하였다. 후처리로부터의 합한 수성 층을 DCM (250 mL)으로 추출하였다. 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 이 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (3 x) (80 g 실리카 겔과, 25 g 사전 패키징된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)에 의해 정제하여 추가의 0.617 g 화합물 48을 수득하였다. 2종의 단리물을 합하여 화합물 48 (5.997 g, 93%)을 백색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 939 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.37 (s, 2H), 7.25 (s, 2H), 5.48 (d, J=10.0 Hz, 2H), 4.70 (d, J=10.0 Hz, 2H), 4.69 - 4.64 (m, 2H), 4.33 - 4.25 (m, 6H), 4.16 - 4.03 (m, 4H), 3.85 (dd, J=12.7, 2.1 Hz, 2H), 3.78 (td, J=9.6, 7.1 Hz, 2H), 3.72 - 3.63 (m, 4H), 2.97 (dt, J=13.6, 5.5 Hz, 2H), 2.32 (quin, J=6.1 Hz, 2H), 2.16 - 2.07 (m, 2H), 1.95 - 1.87 (m, 2H), 1.84 - 1.74 (m, 4H), 1.63 - 1.53 (m, 4H), 1.48 - 1.42 (m, 4H), 0.99 (ddd, J=9.5, 6.9, 2.3 Hz, 4H), 0.08 - -0.01 (m, 18H).
- [0330] 실시예 6 - 이량체 IIc-7 및 IIc-8
- [0331] 본 실시예는 도 6 및 이량체 IIc-7 및 IIc-8의 합성에 관한 것이다.
- [0332] DCM (31.9 mL) 및 DMSO (31.9 mL) 중 화합물 48 (5.997 g, 6.38 mmol)의 0°C 용액에 NEt<sub>3</sub> (8.90 mL, 63.8 mmol)에 이어서 SO<sub>3</sub>-피리딘 착물 (4.06 g, 25.5 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 16시간 동안 교반함에 따라 실온으로 가온되도록 하였다. 반응물을 DCM (400 mL)으로 희석하고, 포화 수성 NH<sub>4</sub>Cl (400 mL), H<sub>2</sub>O (2 x 400 mL), 및 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (400 mL)으로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (120 g 실리카 겔과, 25 g 사전 패키징된 로드 카트리지; 선형 구배 0-100% EtOAc-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)에 의해 정제하여 화합물 54 (4.822 g, 81%)를 백색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 935

[M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.36 (s, 2H), 7.28 (s, 2H), 5.52 (d, J=10.1 Hz, 2H), 4.76 (d, J=10.0 Hz, 2H), 4.65 (dd, J=9.8, 3.0 Hz, 2H), 4.36 - 4.28 (m, 4H), 4.28 - 4.20 (m, 2H), 4.18 - 4.06 (m, 4H), 3.94 - 3.86 (m, 2H), 3.78 (td, J=9.8, 6.7 Hz, 2H), 3.69 (td, J=9.8, 6.6 Hz, 2H), 3.58 (dd, J=19.1, 2.9 Hz, 2H), 2.85 - 2.73 (m, 2H), 2.39 - 2.31 (m, 2H), 1.86 - 1.77 (m, 4H), 1.64 - 1.53 (m, 4H), 1.50 - 1.42 (m, 4H), 0.99 (ddd, J=9.8, 6.6, 4.7 Hz, 4H), 0.04 (s, 18H).

[0333] DCM (129 mL) 중 화합물 54 (4.822 g, 5.16 mmol)의 -78℃ 용액에 2,6-루티딘 (3.72 mL, 32.0 mmol) 및 트리플루오로메탄술폰산 무수물 (Tf<sub>2</sub>O, 30.9 mL, DCM 중 1 M 용액, 30.9 mmol)을 30분에 걸쳐 적가하였다. 밝은 황색 용액을 -20℃로 1.5시간에 걸쳐 가온되도록 한 다음, 이를 -20℃에서 추가로 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (400 mL)으로 희석하고, DCM (2 x 200 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 H<sub>2</sub>O (200 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (2x) (120 g 실리카 겔과, 25 g 사전 패키징 로드 카트리지; 선형 구배 0-100% EtOAc-헥산)에 의해 정제하여 화합물 55 (4.018 g, 65%)를 오렌지색 발포체로서 수득하였다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.38 (t, J=2.0 Hz, 2H), 7.28 (s, 2H), 7.25 (s, 2H), 5.33 - 5.26 (m, 2H), 5.21 (d, J=10.5 Hz, 2H), 4.91 (dd, J=10.8, 3.5 Hz, 2H), 4.31 - 4.18 (m, 4H), 4.10 - 4.03 (m, 4H), 3.65 - 3.57 (m, 2H), 3.53 - 3.38 (m, 4H), 3.18 (ddd, J=16.3, 11.0, 2.1 Hz, 2H), 2.26 - 2.18 (m, 2H), 1.75 - 1.66 (m, 4H), 1.55 - 1.46 (m, 4H), 1.44 - 1.35 (m, 4H), 0.85 - 0.70 (m, 4H), -0.08 (s, 18H).

[0334] 화합물 55 (65 mg, 0.054 mmol), (4-메톡시페닐)보론산 (18.12 mg, 0.119 mmol), 및 [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]디클로로팔라듐(II) (PdCl<sub>2</sub>(dppf), 1.983 mg, 2.71 μmol)의 혼합물을 배기시키고, N<sub>2</sub>에 이어서 THF (1084 μL)를 재충전하고, 삼염기성 인산칼륨 (542 μL, H<sub>2</sub>O 중 0.5 M 용액, 0.271 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub>로 5분 동안 폭기한 다음, 실온에서 1.5시간 동안 교반하였다. 반응물을 EtOAc (50 mL)로 희석하고, 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (50 mL) 및 포화 수성 NaCl (50 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (24 g 실리카 겔과, 5 g 사전 패키징 로드 카트리지; 선형 구배 0-100% EtOAc-헥산)에 의해 정제하여 화합물 56a (50.3 mg, 83%)를 백색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1116 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.42 (s, 2H), 7.40 - 7.36 (m, 4H), 7.34 - 7.32 (m, 2H), 7.29 (s, 2H), 6.91 - 6.87 (m, 4H), 5.53 (d, J=10.1 Hz, 2H), 4.76 (d, J=10.1 Hz, 2H), 4.65 (dd, J=10.5, 3.4 Hz, 2H), 4.32 (t, J=6.2 Hz, 4H), 4.19 - 4.06 (m, 4H), 3.98 - 3.91 (m, 2H), 3.83 (s, 6H), 3.84 - 3.77 (m, 2H), 3.71 (td, J=9.6, 7.0 Hz, 2H), 3.15 (ddd, J=16.1, 10.7, 2.1 Hz, 2H), 2.35 (quin, J=5.9 Hz, 2H), 1.85 - 1.77 (m, 4H), 1.64 - 1.55 (m, 4H), 1.50 - 1.42 (m, 4H), 1.00 (ddd, J=9.5, 7.0, 2.2 Hz, 4H), 0.04 (s, 18H).

[0335] THF (1503 μL) 중 화합물 56a (50.3 mg, 0.045 mmol)의 -78℃ 용액에 리튬 트리에틸보로하이드라이드 (225 μL, THF 중 1 M 용액, 0.225 mmol)를 적가하였다. 반응 혼합물을 -78℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O (10 mL)로 희석하고, DCM (2 x 10 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 CHCl<sub>3</sub> (1.0 mL) 및 EtOH (1.0 mL)에 녹인 다음, 실리카 겔 (0.50 g) 및 H<sub>2</sub>O (0.50 mL)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 3일 동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트™를 통해 여과 (CHCl<sub>3</sub>으로 세척)하고, 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 정제용 HPLC (3회 주입, 각각 DMSO 2 mL 중; 페노메릭스 루나 C18 21.2 × 100 mm; 선형 구배 12분에 걸쳐 42-90% MeCN-H<sub>2</sub>O, 0.1% v/v TFA 포함; 20 mL/분; 220 nm 검출)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 즉시 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (100 mL)으로 희석하고, CHCl<sub>3</sub> (2 x 50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 이량체 IIc-7 (6.0 mg, 15%)을 오렌지색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 823 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.89 (d, J=4.0 Hz, 2H), 7.54 (s, 2H), 7.40 (s, 2H), 7.37 - 7.33 (m, 4H), 6.94 - 6.89 (m, 4H), 6.88 (s, 2H), 4.47 - 4.40 (m, 2H), 4.39 - 4.25 (m, 4H), 4.22 - 4.16 (m, 2H), 4.14 - 4.05 (m, 2H), 3.84 (s, 6H), 3.59 (ddd, J=16.3, 11.5, 1.9 Hz, 2H), 3.43 - 3.34 (m, 2H), 2.42 - 2.29 (m, 2H), 1.86 - 1.76 (m, 4H), 1.64 - 1.55 (m, 4H), 1.49 - 1.43 (m, 4H).

- [0336] 이량체 IIc-8을 이량체 IIc-7에 대해 상기 기재된 합성 절차에 따라 유사하게 제조하였다. 이량체 IIc-8에 대한 분석 데이터는 하기와 같았다: LC-MS m/z 960 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.88 (d, J=4.0 Hz, 2H), 7.55 - 7.52 (m, 2H), 7.39 - 7.36 (m, 2H), 7.34 - 7.30 (m, 4H), 6.94 - 6.90 (m, 4H), 6.89 - 6.87 (m, 2H), 4.45 - 4.38 (m, 2H), 4.37 - 4.25 (m, 4H), 4.21 - 4.15 (m, 2H), 4.14 - 4.05 (m, 2H), 3.62 - 3.53 (m, 2H), 3.42 - 3.33 (m, 2H), 3.29 - 3.22 (m, 8H), 2.62 - 2.56 (m, 8H), 2.37 (s, 6H), 2.38 - 2.30 (m, 2H), 1.84 - 1.76 (m, 4H), 1.62 - 1.52 (m, 4H), 1.48 - 1.40 (m, 4H).
- [0337] 실시예 7 - 이량체 IIc-9, IIc-10, IIc-11, 및 IIId-1
- [0338] 본 실시예는 도 7 및 이량체 IIc-9, IIc-10, IIc-11 및 IIId-1의 합성에 관한 것이다.
- [0339] 화합물 55 (0.51g, 0.425 mmol), (4-아미노페닐)보론산 (58 mg, 0.425mmol), 및 PdCl<sub>2</sub>(dppf) (16 mg, 21 μmol)의 혼합물을 배기시키고, N<sub>2</sub>를 재충전하였다. THF (8.5 mL) 및 삼염기성 인산칼륨 (4.25 mL, H<sub>2</sub>O 중 0.5 M 용액, 2.126 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub>로 5분 동안 폭기한 다음, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM (30 mL)으로 희석하고, 포화 수성 NaCl (30 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (40 g 칼럼; 선형 구배 0-100% EtOAc-헥산)에 의해 정제하여 화합물 57b (205 mg, 42%)를 황색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1142 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0340] 화합물 57b (70 mg, 0.061 mmol), (4-메톡시페닐)보론산 (12.1 mg, 0.080 mmol), 및 PdCl<sub>2</sub>(dppf) (2.24 mg, 3.1 μmol)의 혼합물을 배기시키고, N<sub>2</sub>를 재충전하였다. THF (1226 μL) 및 삼염기성 인산칼륨 (613 μL, H<sub>2</sub>O 중 0.5 M 용액, 0.306 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub>로 5분 동안 폭기한 다음, 실온에서 30분 동안 교반하였다. 반응물을 EtOAc (30 mL)로 희석하고, 포화 수성 NaCl (30 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (40 g 칼럼; 선형 구배 0-100% EtOAc-헥산)에 의해 정제하여 화합물 58a (60 mg, 89%)를 황색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1100.8 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0341] 보론산을 사용하는 것에 대해 대안적으로, 화합물 57b로부터의 화합물 58d의 합성에 의해 하기 예시된 바와 같이, 그리냐르(Grignard) 시약이 사용될 수 있다: THF (1334 μL) 및 NMP (66.7 μL) 중 화합물 57b (112 mg, 0.098 mmol) 및 철(III) 아세틸아세토네이트 (3.46 mg, 9.80 μmol)의 -30°C 용액에 메틸마그네슘 브로마이드 (131 μL, Et<sub>2</sub>O 중 3.0 M 용액, 0.392 mmol)를 천천히 적가하였다. 반응물을 -30°C에서 10분 동안 교반한 다음, 이를 포화 수성 NH<sub>4</sub>Cl (30 mL)의 첨가에 의해 퀸칭하고, EtOAc (2 x 30 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 수성 NaCl (30 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (12 g 실리카 겔과, 5 g 사전 패키징된 로드 카트리지; 선형 구배 0-100% EtOAc-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)에 의해 정제하여 화합물 58d (50 mg, 51%)를 황색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1008 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.42 - 7.38 (m, 2H), 7.29 - 7.24 (m, 5H), 6.70 - 6.64 (m, 3H), 5.55 - 5.48 (m, 2H), 4.77 - 4.71 (m, 2H), 4.62 (dd, J=10.6, 3.2 Hz, 1H), 4.48 (dd, J=10.4, 3.3 Hz, 1H), 4.35 - 4.27 (m, 4H), 4.18 - 4.05 (m, 4H), 3.95 - 3.88 (m, 1H), 3.84 - 3.64 (m, 6H), 3.49 - 3.42 (m, 1H), 3.12 (ddd, J=16.1, 10.5, 2.0 Hz, 1H), 2.83 - 2.72 (m, 1H), 2.34 (quin, J=6.0 Hz, 2H), 1.84 (d, J=1.1 Hz, 3H), 1.83 - 1.76 (m, 4H), 1.63 - 1.56 (m, 4H), 1.49 - 1.43 (m, 4H), 0.99 (ddd, J=9.6, 6.9, 2.4 Hz, 4H), 0.04 (s, 18H).
- [0342] THF (1 mL) 중 조 화합물 58a (30 mg, 0.027 mmol)의 -78°C 용액에 리튬 트리에틸보로히드라이드 (273 μL, THF 중 1 M 용액, 0.273 mmol)를 적가하였다. 반응물을 -78°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 염수로 희석하고, EtOAc (3x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 EtOH/THF (1:1, 2 mL) 및 수성 포름산 (0.055, 1 mL)에 녹였다. 생성된 용액을 실온에서 2시간 동안 교반한 후, 이를 수성 NaHCO<sub>3</sub>으로 중화시켰다. 생성된 혼합물을 클로로포름 (3x)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 이어서, 조 생성물을 플래쉬 크로마토그래피 (12 g 칼럼, 0-10% MeOH/DCM)에 의해 정제하여 이량체 IIc-11 (11 mg, 45%)을 수득하였다. LC-MS

m/z 808.4 [M+H]<sup>+</sup>.

- [0343] 이량체 IIc-9, IIc-10, 및 IId-1을 이량체 IIc-11에 대해 상기 기재된 합성 절차에 따라 유사하게 제조하였다. 그들의 분석 데이터는 하기와 같았다.
- [0344] 이량체 IIc-9: LC-MS m/z 876 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC1<sub>3</sub>) δ 7.90 - 7.86 (m, 2H), 7.56 - 7.52 (m, 2H), 7.39 - 7.36 (m, 1H), 7.35 - 7.33 (m, 1H), 7.31 (d, J=8.6 Hz, 2H), 7.22 (d, J=8.6 Hz, 2H), 6.92 (d, J=9.0 Hz, 2H), 6.88 (s, 2H), 6.68 (d, J=8.6 Hz, 2H), 4.45 - 4.37 (m, 2H), 4.36 - 4.25 (m, 4H), 4.22 - 4.15 (m, 2H), 4.13 - 4.06 (m, 2H), 3.79 - 3.69 (m, 2H), 3.63 - 3.52 (m, 2H), 3.41 - 3.32 (m, 2H), 3.31 - 3.23 (m, 4H), 2.65 - 2.57 (m, 4H), 2.38 (s, 3H), 2.41 - 2.30 (m, 2H), 1.84 - 1.76 (m, 4H), 1.62 - 1.54 (m, 4H), 1.49 - 1.40 (m, 4H).
- [0345] 이량체 IIc-10: LC-MS m/z 946 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC1<sub>3</sub>) δ 7.88 (d, J=4.0 Hz, 2H), 7.56 - 7.51 (m, 2H), 7.39 - 7.36 (m, 2H), 7.35 - 7.29 (m, 4H), 6.94 - 6.90 (m, 4H), 6.89 - 6.86 (m, 2H), 4.45 - 4.38 (m, 2H), 4.37 - 4.24 (m, 4H), 4.22 - 4.15 (m, 2H), 4.13 - 4.05 (m, 2H), 3.62 - 3.52 (m, 2H), 3.42 - 3.33 (m, 2H), 3.29 - 3.22 (m, 4H), 3.22 - 3.15 (m, 4H), 3.07 - 3.02 (m, 4H), 2.61 - 2.55 (m, 4H), 2.39 - 2.29 (m, 6H), 1.84 - 1.76 (m, 4H), 1.64 - 1.51 (m, 4H), 1.48 - 1.40 (m, 4H).
- [0346] 이량체 IIId-1: LC-MS 716 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC1<sub>3</sub>) δ 7.87 (d, J=4.0 Hz, 1H), 7.80 (d, J=4.0 Hz, 1H), 7.55 - 7.50 (m, 2H), 7.35 - 7.32 (m, 1H), 7.24 - 7.20 (m, 2H), 6.88 - 6.84 (m, 2H), 6.76 - 6.73 (m, 1H), 6.70 - 6.66 (m, 2H), 4.44 - 4.36 (m, 1H), 4.35 - 4.22 (m, 5H), 4.22 - 4.14 (m, 2H), 4.13 - 4.05 (m, 2H), 3.84 - 3.69 (m, 2H), 3.61 - 3.48 (m, 1H), 3.40 - 3.31 (m, 1H), 3.23 - 3.11 (m, 1H), 3.00 - 2.91 (m, 1H), 2.34 (quin, J=6.1 Hz, 2H), 1.84 (d, J=1.1 Hz, 3H), 1.82 - 1.75 (m, 4H), 1.63 - 1.53 (m, 4H), 1.48 - 1.40 (m, 4H).
- [0347] 실시예 8 - 이량체 IIb-6
- [0348] 본 실시예는 도 8 및 이량체 IIb-6의 합성에 관한 것이다.
- [0349] DMF (12.23 mL) 중 화합물 44 (1.006 g, 1.834 mmol)의 실온 용액에 N,N,N',N'-테트라메틸-0-(7-아자벤조트리아졸-1-일)우로늄 헥사플루오로포스페이트 (HATU, 1.743 g, 4.59 mmol)에 이어서 (S)-에틸 7-니트로-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린-3-카르복실레이트 44b (0.459 g, 1.834 mmol)를 조금씩 첨가한 다음, N,N-디이소프로필에틸아민 (DIEA, 1.917 mL, 11.00 mmol)을 적가하였다. 생성된 투명한 갈색 용액을 실온에서 30분 동안 교반한 다음, (S)-벤질 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린-3-카르복실레이트 4-메틸벤젠술포네이트 44c (0.806 g, 1.834 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 추가로 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O (125 mL)의 교반된 플라스크에 0°C에서 천천히 첨가하고, 생성된 침전물을 진공 여과에 의해 수집 (H<sub>2</sub>O로 세척)하였다. 고체를 EtOAc (200 mL) 중에 용해시키고, 포화 수성 NaCl (150 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (220 g 레디셉(RediSep) 골드 (Gold) 실리카 겔과, 25 g 사전 패키징 로드 카트리지; 선형 구배 0-100% EtOAc-헥산)에 의해 정제하여 화합물 67 (538 mg, 29%)을 갈색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1030 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0350] MeOH (3264 μL) 및 THF (3264 μL) 중 화합물 67 (538 mg, 0.522 mmol)의 실온 용액에 NH<sub>4</sub>Cl (559 mg, 10.45 mmol), 아연 분진 (683 mg, 10.45 mmol), 및 HOAc (1 방울)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 60°C에서 18시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 셀라이트™를 통해 여과 (EtOAc, DCM, MeOH, 및 DCM 중 %5 v/v Et<sub>3</sub>N으로 세척)하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 DCM (200 mL)에 녹이고, 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (200 mL) 및 H<sub>2</sub>O (200 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 화합물 68 (250 mg, 61%)을 오렌지색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 786 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0351] DMF (3181 μL) 중 화합물 68 (250 mg, 0.318 mmol)의 0°C 용액에 NaH (63.6 mg, 미네랄 오일 중 60% w/w, 1.591 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 0°C에서 30분 동안 교반한 다음, SEM-Cl (226 μL, 1.272 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 0°C에서 30분 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 NH<sub>4</sub>Cl의 첨가에 의해 퀴칭한 다음, 이

를 실온으로 가온하고, EtOAc (100 mL)로 희석하고, H<sub>2</sub>O (100 mL) 및 포화 수성 NaCl (100 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (40 g 실리카 겔과, 5 g 사전 패키징된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)에 의해 정제하여 화합물 69 (289 mg, 87%)를 황색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1047 [M+H]<sup>+</sup>.

[0352] THF (1398 μL) 중 화합물 69 (43.9 mg, 0.042 mmol)의 -78°C 용액에 리튬 트리에틸보로하이드라이드 (210 μL, THF 중 1 M 용액, 0.210 mmol)를 적가하였다. 반응물을 -78°C에서 1.5시간 동안 교반하였다. 반응물을 H<sub>2</sub>O (10 mL)로 희석하고, CHCl<sub>3</sub> (2 x 10 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 CHCl<sub>3</sub> (1 mL) 및 EtOH (1 mL)에 녹인 다음, 실리카 겔 (0.5 g) 및 H<sub>2</sub>O (0.5 mL)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2일 동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트™를 통해 여과 (아세톤, CHCl<sub>3</sub>, 및 10% MeOH-CHCl<sub>3</sub>으로 세척)하고, 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 이 물질을 CHCl<sub>3</sub> 및 H<sub>2</sub>O에 녹이고, 층을 분리하였다. 수성 층을 CHCl<sub>3</sub>으로 추출하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 정제용 HPLC (2회 주입, 각각 1:1 MeCN-DMSO 2 mL 중; 페노메닉스 루나 C18 21.2 x 100 mm; 선형 구배 12분에 걸쳐 26-90% MeCN-H<sub>2</sub>O, 0.1% v/v TFA 포함; 20 mL/분; 220 nm 검출)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 즉시 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (100 mL)으로 희석하고, CHCl<sub>3</sub> (2 x 50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 이량체 IIb-6 (6.6 mg, 19%)을 희백색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 754 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.54 - 7.52 (m, 2H), 7.49 - 7.45 (m, 2H), 7.39 - 7.29 (m, 4H), 7.13 (d, J=8.1 Hz, 1H), 6.86 - 6.83 (m, 2H), 6.66 - 6.62 (m, 2H), 5.01 (d, J=15.6 Hz, 1H), 4.90 (d, J=15.6 Hz, 1H), 4.56 (d, J=15.6 Hz, 1H), 4.44 (d, J=15.4 Hz, 1H), 4.35 - 4.23 (m, 4H), 4.22 - 4.15 (m, 2H), 4.08 (dt, J=9.6, 4.9 Hz, 2H), 3.98 - 3.93 (m, 1H), 3.92 - 3.87 (m, 1H), 3.78 - 3.65 (m, 2H), 3.31 - 3.24 (m, 1H), 3.20 - 3.12 (m, 2H), 3.05 - 2.99 (m, 1H), 2.33 (quin, J=6.1 Hz, 2H), 1.84 - 1.74 (m, 4H), 1.62 - 1.50 (m, 4H), 1.48 - 1.39 (m, 4H).

[0353] 실시예 9 - 이량체 II d-2

[0354] 본 실시예는 도 9 및 이량체 II d-2의 합성에 관한 것이다.

[0355] 도 9에 제시된 반응식에 따라, 이량체 II d-2를 상기 실시예의 절차와 유사하게 합성하였다. LC-MS m/z 704 [M+H]<sup>+</sup>.

[0356] 실시예 10 - 이량체 II d-3 및 II d-4

[0357] 본 실시예는 도 10 및 이량체 II d-3 및 II d-4의 합성에 관한 것이다.

[0358] THF (482 μL) 중 이량체 II c-8 (46.2 mg, 0.048 mmol)의 -78°C 현탁액에 LiBHET<sub>3</sub> (48.2 μL, THF 중 1 M 용액, 0.048 mmol)을 적가하였다. 반응 혼합물을 -78°C에서 15분 동안 교반하였다. 이어서, 이를 H<sub>2</sub>O의 첨가에 의해 킨칭하고, 실온으로 가온하고, 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (25 mL) 및 H<sub>2</sub>O (25 mL)로 희석하고, 10% MeOH-CHCl<sub>3</sub> (2 x 50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 정제용 HPLC (DMSO 중 4회 1-mL 주입; 페노메닉스 루나 C18 21.2 × 100 mm; 선형 구배 25분에 걸쳐 0-50% MeCN-H<sub>2</sub>O w/ 0.05% v/v HCO<sub>2</sub>H; 20 mL/분; 220 nm 검출)에 의해 정제하였다. 모노- 및 비스-환원된 생성물을 함유하는 분획을 개별적으로 동결건조시킨 다음, 정제용 HPLC에 의해 재정제하여 이량체 II d-3 (2.7 mg, 6%)을 담황색 고체로서 수득하고, 이량체 II d-4 (1.24 mg, 3%)를 또한 담황색 고체로서 수득하였다. 그들의 분석 데이터는 하기 제시되어 있다.

[0359] 이량체 II d-3: LC-MS m/z 961 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.87 (d, J=4.0 Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.54 - 7.52 (m, 1H), 7.52 - 7.50 (m, 1H), 7.39 - 7.37 (m, 1H), 7.34 - 7.29 (m, 4H), 6.94 - 6.86 (m, 5H), 6.13 (s, 1H), 4.41 (dt, J=11.1, 4.7 Hz, 1H), 4.37 - 4.22 (m, 5H), 4.18 (dt, J=9.8, 5.1 Hz, 1H), 4.13 - 3.96 (m, 3H), 3.62 - 3.52 (m, 3H), 3.41 - 3.32 (m, 2H), 3.31 - 3.24 (m, 8H), 2.75 - 2.69 (m, 1H), 2.70 - 2.64 (m, 8H), 2.41 (s, 6H), 2.35 - 2.28 (m, 2H), 1.84 - 1.70 (m, 4H), 1.62 - 1.51 (m, 4H),

1.47 - 1.38 (m, 4H).

[0360] 이량체 IIId-4: LC-MS m/z 963 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.56 (s, 2H), 7.51 - 7.50 (m, 2H), 7.30 - 7.26 (m, 4H), 6.90 (d, J=8.8 Hz, 4H), 6.10 (s, 2H), 4.36 - 4.29 (m, 2H), 4.24 - 4.17 (m, 4H), 4.10 - 3.97 (m, 4H), 3.59 - 3.50 (m, 4H), 3.40 - 3.32 (m, 2H), 3.27 - 3.21 (m, 8H), 2.72 (dd, J=16.0, 3.4 Hz, 2H), 2.62 - 2.55 (m, 8H), 2.36 (s, 6H), 2.34 - 2.26 (m, 2H), 1.77 - 1.68 (m, 4H), 1.64 - 1.50 (m, 4H), 1.43 - 1.36 (m, 4H).

[0361] 실시예 11 - 이량체-링커 IIIa-1

[0362] 본 실시예는 도 11 및 이량체-링커 IIIa-1의 합성에 관한 것이다.

[0363] 디펩티드 69a (70.4 mg, 0.142 mmol) 및 HATU (53.9 mg, 0.142 mmol)의 0°C 혼합물에 DMF (945 μL)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반하고, 2,6-루티딘 (22.02 μL, 0.189 mmol)을 첨가하였다. 이 혼합물을 0°C에서 바이알 내의 화합물 69 (98.9 mg, 0.095 mmol)에 적가하였다. 반응물을 22시간 동안 교반함에 따라 실온으로 가온되도록 하였다. 이어서, 이를 0°C 조 내의 H<sub>2</sub>O (20 mL)의 교반된 플라스크에 적가하였다. 침전물을 진공 여과에 의해 수집 (H<sub>2</sub>O로 세척)하고, DCM (50 mL)에 녹이고, H<sub>2</sub>O (50 mL)로 세척하였다. 수성 층을 DCM (50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (24 g 실리카 겔과, 5 g 사전 패킹된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH-DCM)에 의해 정제하였다. 혼합된 분획을 플래쉬 크로마토그래피 (24 g 레디셉 골드 실리카 겔과, 5 g 사전 패킹된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)에 의해 재정제하고, 2개 칼럼의 생성물을 합하여 화합물 70 (68.8 mg, 48%)을 수득하였다. LC-MS m/z 1525 [M+H]<sup>+</sup>.

[0364] DMF (1047 μL) 중 화합물 70 (39.9 mg, 0.026 mmol)의 실온 용액에 실리카-지지된 피페라진 (575 mg, 0.91 mmol/g 로딩, 0.523 mmol)을 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 18시간 동안 교반한 다음, 이를 여과 (~2 mL DMF로 세척)하고, 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 이 조 화합물 71을 또 다른 배치 (0.019 mmol 규모)로부터의 조 화합물 71과 합하고, 추가 정제 없이 사용하였다. LC-MS m/z 1303 [M+H]<sup>+</sup>.

[0365] THF (1356 μL) 중 조 화합물 71의 -78°C 용액에 LiBHEt<sub>3</sub> (203 μL, THF 중 1 M 용액, 0.203 mmol)을 적가하였다. 반응물을 -78°C에서 1.5시간 동안 교반한 다음, 이를 포화 수성 NaCl (50 mL)로 희석하고, DCM (2 x 50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 CHCl<sub>3</sub> (1 mL) 및 EtOH (1 mL)에 녹인 다음, 실리카 겔 (0.5 g) 및 H<sub>2</sub>O (0.5 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반한 다음, 이를 셀라이트™를 통해 여과 (10% EtOH-CHCl<sub>3</sub>으로 세척)하고, 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 정제용 HPLC (2회 주입, 각각 DMSO 2 mL 중; 페노메넥스 루나 C18 21.2 x 100 mm; 선형 구배 12분에 걸쳐 18-90% MeCN-H<sub>2</sub>O, 0.1% v/v TFA 포함; 20 mL/분; 220 nm 검출)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 PL-HCO<sub>3</sub> MP 수지가 패킹된 SPE 카트리지 (애질런트(Agilent), 500 mg, 1.8 mmol/g 로딩)를 통해 중력 하에 여과 (1:1 MeCN-H<sub>2</sub>O 3 mL로 세척)하고, 용리액을 동결건조시켜 화합물 72 (4.9 mg, 12%)를 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1011 [M+H]<sup>+</sup>.

[0366] DMSO (129 μL) 중 화합물 72 (4.9 mg, 4.85 μmol)의 실온 용액에 DMSO (64.7 μL) 중 화합물 71a (6.69 mg, 9.70 μmol)의 용액에 이어서 2,6-루티딘 (1.130 μL, 9.70 μmol)을 첨가하였다. 투명한 무색 용액을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응물을 정제용 HPLC (1회 주입; 페노메넥스 루나 C18 21.2 x 100 mm; 선형 구배 12분에 걸쳐 18-90% MeCN-H<sub>2</sub>O, 0.1% v/v TFA 포함; 20 mL/분; 220 nm 검출)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 PL-HCO<sub>3</sub> MP 수지가 패킹된 SPE 카트리지 (애질런트, 200 mg, 1.8 mmol/g 로딩)를 통해 중력 하에 여과 (1:1 MeCN-H<sub>2</sub>O 2 mL로 세척)하고, 용리액을 동결건조시켜 이량체-링커 화합물 IIIa-1 (2.4 mg, 31%)을 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1585 [M+H]<sup>+</sup>.

[0367] 실시예 12 - 이량체-링커 IIIa-2, IIIa-3, 및 IIIa-4

[0368] 본 실시예는 도 12 및 이량체-링커 IIIa-2, IIIa-3, 및 IIIa-4의 합성에 관한 것이다.

- [0369] DMF (93  $\mu$ L) 중 이량체 IIb-6 (7 mg, 9.29  $\mu$ mol)의 실온 용액에 DMF (93  $\mu$ L) 중 화합물 72a (12.47 mg, 0.011 mmol)의 용액에 이어서 DIEA (4.85  $\mu$ L, 0.028 mmol)를 첨가하였다. 투명한 오렌지색 용액을 실온에서 15분 동안 교반하고; 이어서 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸 (1.517 mg, 0.011 mmol)을 첨가하였다. 이어서, 반응 혼합물을 실온에서 29시간 동안 교반하고, DMSO로 희석하고, 정제용 HPLC (1회 주입; 페노메넥스 루나 C18 21.2 x 100 mm; 선형 구배 15분에 걸쳐 18-90% MeCN-H<sub>2</sub>O, 0.1% v/v TFA 포함; 20 mL/분; 220 nm 검출)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 PL-HCO<sub>3</sub> MP 수지가 패킹된 SPE 카트리지 (애질런트, 200 mg, 1.8 mmol/g 로딩)를 통해 중력 하에 여과 (1:1 MeCN-H<sub>2</sub>O 2 mL로 세척)하고, 용리액을 동결건조시켜 이량체-링커 IIIa-2 (4.43 mg, 28%)를 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1734 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0370] 이량체-링커 IIIa-3 및 IIIa-4를 유사하게 제조하였다. 이량체-링커 IIIa-3: LC-MS m/z 1684 [M+H]<sup>+</sup>. 이량체-링커 IIIa-4: LC-MS m/z 1925 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0371] 실시예 13 - 이량체-링커 IIIa-11
- [0372] 본 실시예는 도 13a-13b 및 이량체-링커 IIIa-11의 합성에 관한 것이다.
- [0373] DMF (25.7 mL) 중 화합물 44e (2.065 g, 8.09 mmol)의 0°C 용액에 화합물 44 (2.114 g, 3.85 mmol)에 이어서 DIEA (5.37 mL, 30.8 mmol) 및 HATU (3.22 g, 8.48 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 반응물을 0°C에서 5분 동안 및 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, 이를 0°C 조 내의 H<sub>2</sub>O (200 mL)의 교반된 플라스크에 천천히 첨가하였다. 생성된 침전물을 진공 여과에 의해 수집 (H<sub>2</sub>O 세척)하고, EtOAc (200 mL) 중에 용해시키고, 포화 수성 NaCl (200 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (40 g 레디셍 골드 실리카 겔과, 25 g 사전 패킹된 로드 카트리지; 선형 구배 0-100% EtOAc-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)에 의해 정제하여 화합물 76 (3.1 g, 정량적)을 오렌지색 필름으로서 수득하였다. LC-MS m/z 795 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0374] THF (39.0 mL) 중 화합물 76 (3.1 g, 3.90 mmol)의 0°C 용액에 LiBH<sub>4</sub> (5.85 mL, THF 중 2.0 M 용액, 11.70 mmol)를 적가하였다. 반응물을 0°C에서 30분 동안 교반한 다음, 실온으로 가온되도록 하고, 추가로 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 0°C로 냉각시키고, 1 M 수성 HCl (100 mL)의 첨가에 의해 킨칭하고, H<sub>2</sub>O (400 mL)로 희석하고, 10% MeOH-EtOAc (400 mL) 및 EtOAc (400 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 수성 NaCl (200 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 생성물 77을 추가 정제 없이 사용하였다. LC-MS m/z 739 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0375] DCM (77 mL) 중 조 생성물 77의 0°C 용액에 NEt<sub>3</sub> (1.607 mL, 11.53 mmol)에 이어서 아세틸 클로라이드 (0.713 mL, 9.99 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 20시간 동안 교반함에 따라 실온으로 가온되도록 하고, DCM (400 mL)로 희석하고, H<sub>2</sub>O (400 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (80 g 실리카 겔과, 25 g 사전 패킹된 로드 카트리지; 선형 구배 0-100% EtOAc-헥산)에 의해 정제하여 화합물 78 (1.59 g, 50%)을 백색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 823 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0376] EtOH (61.8 mL) 중 화합물 78 (1.59 g, 1.932 mmol)의 실온 용액에 AcOH (15.46 mL)에 이어서 아연 분진 (3.79 g, 58.0 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 환류 하에 1시간 동안 교반한 다음, 이를 실온으로 냉각시키고, 셀라이트™를 통해 여과 (DCM 400 mL로 세척)하였다. 여과물을 H<sub>2</sub>O (400 mL), 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (400 mL), 및 H<sub>2</sub>O (400 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (40 g 실리카 겔과 2.5 g 사전 패킹된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)에 의해 정제하였다. 혼합된 분획을 플래쉬 크로마토그래피 (12 g 실리카 겔과, 2.5 g 사전 패킹된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH-DCM)에 의해 재정제하고, 둘 다의 칼럼으로부터의 생성물을 합하여 화합물 79 (1.162 g, 79%)를 백색 발포체로서 수득하였다. LC-MS m/z 763 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.80 (s, 2H), 6.27 (s, 2H), 5.04 - 5.00 (m, 2H), 4.99 - 4.95 (m, 2H), 4.86 - 4.75 (m, 2H), 4.37 (br s, 4H), 4.24 - 4.08 (m, 12H), 3.94 (t, J=5.5 Hz, 4H), 2.83 - 2.72 (m, 2H), 2.50 - 2.42 (m, 2H), 2.31 (quin, J=6.4 Hz, 2H),

2.04 (s, 6H), 1.76 - 1.65 (m, 4H), 1.61 - 1.52 (m, 4H), 1.44 - 1.37 (m, 4H).

[0377] THF (3695  $\mu$ L) 중 트리포스젠 (117 mg, 0.396 mmol) 및  $\text{NEt}_3$  (487  $\mu$ L, 3.49 mmol)의 0°C 용액에 THF (3695  $\mu$ L) 중 화합물 79 (444 mg, 0.582 mmol)의 용액을 적가하였다. 탁한 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반한 다음, THF (5543  $\mu$ L) 중 화합물 79a (231 mg, 0.611 mmol)의 현탁액에 이어서 알릴 알콜 (41.7  $\mu$ L, 0.611 mmol)을 적가하였다. 현탁액을 0°C에서 1시간 동안 교반한 다음, 이를 5시간 동안 교반함에 따라 실온으로 가온되도록 하였다. 반응물을  $\text{H}_2\text{O}$  (125 mL)로 희석하고,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 125 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (80 g 레디셍 골드 실리카 겔과, 5 g 사전 패키징된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH-DCM)에 의해 정제하여 화합물 80 (214 mg, 29%)을 회백색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1250  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  9.98 (s, 1H), 9.13 - 9.02 (m, 2H), 8.14 (d, J=6.8 Hz, 1H), 7.58 (d, J=8.6 Hz, 2H), 7.31 (d, J=8.7 Hz, 2H), 7.23 (d, J=8.7 Hz, 1H), 7.20 - 7.12 (m, 2H), 6.99 - 6.89 (m, 2H), 5.98 - 5.85 (m, 2H), 5.36 - 5.26 (m, 2H), 5.22 - 5.13 (m, 2H), 5.06 - 4.93 (m, 6H), 4.62 - 4.50 (m, 4H), 4.50 - 4.46 (m, 2H), 4.45 - 4.38 (m, 1H), 4.22 - 3.80 (m, 17H), 2.78 - 2.67 (m, 2H), 2.44 - 2.35 (m, 2H), 2.21 - 2.13 (m, 2H), 2.04 - 1.90 (m, 7H), 1.69 - 1.62 (m, 4H), 1.54 - 1.46 (m, 4H), 1.40 - 1.35 (m, 4H), 1.30 (d, J=7.0 Hz, 3H), 0.88 (d, J=6.8 Hz, 3H), 0.83 (d, J=6.6 Hz, 3H).

[0378] MeOH (3097  $\mu$ L) 중 화합물 80 (213 mg, 0.170 mmol)의 실온 용액에  $\text{H}_2\text{O}$  (310  $\mu$ L) 및  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (118 mg, 0.852 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하고,  $\text{H}_2\text{O}$  (100 mL)로 희석하고, EtOAc (2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 수성 NaCl (100 mL)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (40 g 실리카 겔과, 5 g 사전 패키징된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )에 의해 정제하여 화합물 81 (159 mg, 80%)을 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1166  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  9.99 (s, 1H), 9.17 - 8.86 (m, 2H), 8.15 (d, J=7.0 Hz, 1H), 7.58 (d, J=8.6 Hz, 2H), 7.32 (d, J=8.7 Hz, 2H), 7.27 - 7.16 (m, 3H), 7.03 - 6.96 (m, 2H), 5.98 - 5.85 (m, 2H), 5.35 - 5.26 (m, 2H), 5.23 - 5.14 (m, 2H), 5.07 - 4.76 (m, 8H), 4.56 - 4.52 (m, 2H), 4.50 - 4.46 (m, 2H), 4.45 - 4.39 (m, 1H), 4.37 - 4.30 (m, 1H), 4.18 - 4.11 (m, 4H), 4.08 - 3.80 (m, 10H), 3.57 - 3.46 (m, 1H), 3.39 - 3.26 (m, 2H), 3.22 - 3.03 (m, 1H), 2.65 - 2.46 (m, 4H), 2.21 - 2.12 (m, 2H), 2.03 - 1.93 (m, 1H), 1.70 - 1.61 (m, 4H), 1.55 - 1.46 (m, 4H), 1.42 - 1.34 (m, 4H), 1.30 (d, J=7.0 Hz, 3H), 0.88 (d, J=6.8 Hz, 3H), 0.84 (d, J=6.7 Hz, 3H).

[0379]  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3365  $\mu$ L) 중 화합물 81 (157 mg, 0.135 mmol)의 실온 용액에 데스-마르틴(Dess-Martin) 피아이오디난 (DMP, 120 mg, 0.283 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 4시간 동안 교반하고, 포화 수성  $\text{NaHCO}_3$  (50 mL)으로 희석하고,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (40 g 실리카 겔과, 5 g 사전 패키징된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )에 의해 정제하였다. 혼합된 분획을 플래쉬 크로마토그래피 (40 g 레디셍 실리카 겔과, 5 g 사전 패키징된 로드 카트리지; 선형 구배 0-10% MeOH- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )에 의해 재정제하고, 둘 다의 칼럼으로부터의 생성물을 합하여 화합물 82 (115 mg, 74%)를 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1162  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0380] DCM (1661  $\mu$ L) 중 화합물 82 (96.5 mg, 0.083 mmol)의 실온 현탁액에 모르폴린 (36.5  $\mu$ L, 0.415 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (4.80 mg, 4.15  $\mu$ mol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하고,  $\text{N}_2$ 의 스트림 하에 농축시키고, 플래쉬 크로마토그래피 (12 g 실리카 겔; 선형 구배 0-10% MeOH-DCM)에 의해 정제하였다. 혼합된 분획을 플래쉬 크로마토그래피 (12 g 실리카 겔; 선형 구배 0-10% MeOH- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )에 의해 재정제하고, 둘 다의 칼럼으로부터의 생성물을 합하여 화합물 83 (54.9 mg, 68%)을 수득하였다. LC-MS m/z 976  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0381] DMF (867  $\mu$ L) 중 화합물 83 (42.3 mg, 0.043 mmol)의 실온 용액에 2,6-루티딘 (15.14  $\mu$ L, 0.130 mmol)에 이어서 화합물 83a (20.04 mg, 0.065 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2일 동안 교반하고, DMSO로 희석하고, 정제용 HPLC (5회 1-mL 주입; 페노메넥스 루나 C18 21.2 x 100 mm; 선형 구배 25분에 걸쳐 20-80% MeCN-

H<sub>2</sub>O, 0.05% v/v HCO<sub>2</sub>H 포함; 20 mL/분; 220 nm 검출)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 동결건조시키고, 플래쉬 크로마토그래피 (12 g 레디셉 골드 실리카 겔; 선형 구배 0-20% MeOH-DCM)에 의해 정제하여 이량체-링커 IIIa-11 (3.67 mg, 7%)을 회백색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1170 [M+H]<sup>+</sup>.

[0382] 실시예 14 - 이량체-링커 IIIa-5

[0383] 본 실시예는 도 14 및 이량체-링커 IIIa-5의 합성에 관한 것이다.

[0384] 화합물 57a (82.5 mg, 0.067 mmol), 화합물 84 (45.3 mg, 0.074 mmol), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (2.463 mg, 3.37 μmol), 및 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (35.7 mg, 0.337 mmol)의 혼합물을 배기시키고, N<sub>2</sub>를 재충전하였다. THF (898 μL) 및 H<sub>2</sub>O (449 μL)를 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub>로 5분 동안 폭기하고, 실온에서 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O (50 mL)로 희석하고, DCM (2 x 50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (24 g 실리카 겔과, 5 g 사전 패킹된 로드 카트리지; 선형 구배 0-20% MeOH-DCM)에 의해 정제하여 화합물 85 (98.9 mg, 94%)를 오렌지색 필름으로서 수득하였다. LC-MS m/z 1561 [M+H]<sup>+</sup>.

[0385] THF (2112 μL) 중 화합물 85 (98.9 mg, 0.063 mmol)의 -78°C 용액에 LiBHEt<sub>3</sub> (317 μL, THF 중 1 M 용액, 0.317 mmol)을 적가하였다. 반응 혼합물을 -78°C에서 1시간 동안 교반하고, H<sub>2</sub>O (50 mL)로 희석하고, CHCl<sub>3</sub> (50 mL) 및 10% MeOH-CHCl<sub>3</sub> (50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 THF (4217 μL), MeCN w/ 0.05% v/v HCO<sub>2</sub>H (2109 μL), 및 H<sub>2</sub>O w/ 0.05% v/v HCO<sub>2</sub>H (2109 μL)의 혼합물에 녹이고, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (50 mL)의 첨가에 의해 켄칭하고, CHCl<sub>3</sub> (2 x 50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (24 g 염기성 알루미늄; 선형 구배 0-20% MeOH-CHCl<sub>3</sub>)에 의해 정제하여 화합물 86 (54.6 mg, 68%)을 오렌지색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1286 [M+18]<sup>+</sup>.

[0386] THF (457 μL) 중 화합물 86 (29.0 mg, 0.023 mmol)의 실온 용액에 피페리딘 (45.3 μL, 0.457 mmol)을 첨가하였다. 투명한 오렌지색 용액을 실온에서 45분 동안 교반한 다음, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 MeCN (2 mL) 및 MeOH (2 mL)의 혼합물에 녹이고, 헵탄 (4 x 2 mL)으로 세척하였다. MeCN-MeOH 층을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 CHCl<sub>3</sub>에 녹이고 농축 (2x)시켜 화합물 87을 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다. LC-MS m/z 1065 [M+H]<sup>+</sup>.

[0387] DMSO (457 μL) 중 조 87 및 화합물 71a (23.65 mg, 0.034 mmol)의 실온 용액에 2,6-루티딘 (6.66 μL, 0.057 mmol)을 첨가하였다. 투명한 황색 용액을 실온에서 1.5시간 동안 교반하고, DMSO로 희석하고, 정제용 HPLC (3 회 1-mL 주입; 페노메닉스 루나 C18 21.2 x 100 mm; 선형 구배 25분에 걸쳐 20-60% MeCN-H<sub>2</sub>O w/ 0.05% v/v HCO<sub>2</sub>H; 20 mL/분; 220 nm 검출)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 동결건조시켜 이량체-링커 IIIa-5 (6.97 mg, 19%)를 담황색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1621 [M+H]<sup>+</sup>.

[0388] 실시예 15 - 이량체-링커 IIIa-6

[0389] 본 실시예는 도 15 및 이량체-링커 IIIa-6의 합성에 관한 것이다.

[0390] DMF (496 μL) 중 화합물 58d (50.0 mg, 0.050 mmol) 및 화합물 88 (24.42 mg, 0.060 mmol)의 0°C 용액에 HATU (22.62 mg, 0.060 mmol)에 이어서 2,6-루티딘 (14.44 μL, 0.124 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 10분 동안 및 실온에서 2시간 동안 교반하고, 0°C 조 내의 H<sub>2</sub>O (20 mL)의 교반된 플라스크에 적가하였다. 생성된 침전물을 진공 여과에 의해 수집 (H<sub>2</sub>O로 세척)한 다음, DCM (50 mL) 및 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (50 mL)에 녹였다. 층을 분리하고, 수성 층을 DCM (50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 생성물을 플래쉬 크로마토그래피 (12 g 실리카 겔; 선형 구배 0-10% MeOH-DCM)에 의해 정제하여 화합물 89 (61.5 mg, 89%)를 황색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1401 [M+H]<sup>+</sup>.

- [0391] THF (1463  $\mu$ L) 중 화합물 89 (61.5 mg, 0.044 mmol)의  $-78^{\circ}\text{C}$  용액에  $\text{LiBHEt}_3$  (220  $\mu$ L, THF 중 1 M 용액, 0.220 mmol)을 적가하였다. 반응 혼합물을  $-78^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 동안 교반하고,  $\text{H}_2\text{O}$ 의 첨가에 의해 퀘칭하고, 실온으로 가온하고, 포화 수성  $\text{NaHCO}_3$  (25 mL) 및  $\text{H}_2\text{O}$  (25 mL)의 혼합물로 희석하고, 10%  $\text{MeOH-CHCl}_3$  (2 x 50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 이 잔류물을 THF (5867  $\mu$ L), EtOH (5867  $\mu$ L), 및  $\text{H}_2\text{O}$  w/ 0.05% v/v  $\text{HCO}_2\text{H}$  (2933  $\mu$ L)의 혼합물에 녹이고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성  $\text{NaHCO}_3$  (50 mL)으로 희석하고,  $\text{CHCl}_3$  (50 mL)에 이어서 10%  $\text{MeOH-CHCl}_3$  (50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 생성물을 플래쉬 크로마토그래피 (12 g 실리카 겔; 선형 구배 0-20%  $\text{MeOH-DCM}$ )에 의해 정제하여 화합물 90 (49 mg, 정량적)을 황색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1109  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
- [0392] THF (884  $\mu$ L) 중 화합물 90 (49 mg, 0.044 mmol)의 실온 용액에 피페리딘 (88  $\mu$ L, 0.884 mmol)을 첨가하였다. 투명한 오렌지색 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 생성물을 MeCN (2 mL) 및 MeOH (2 mL)의 혼합물에 녹이고, 헵탄 (4 x 2 mL)으로 세척하였다. MeCN-MeOH 층을 진공 하에 농축시켰다. 이 생성물 91을  $\text{CHCl}_3$ 에 녹이고, 농축 (2x)시킨 다음, 추가 정제 없이 사용하였다. LC-MS m/z 887  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
- [0393] DMSO (440  $\mu$ L) 중 조 생성물 91 및 화합물 71a (22.76 mg, 0.033 mmol)의 실온 용액에 2,6-루티딘 (6.41  $\mu$ L, 0.055 mmol)을 첨가하였다. 투명한 황색 용액을 실온에서 30분 동안 교반하였다. DMSO (0.220 mL) 중 화합물 71a (3.2  $\mu$ L, 0.027 mmol)의 추가의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 추가로 1.5시간 동안 교반하고, DMSO로 희석하고, 정제용 HPLC (3회 1-mL 주입; 페노메넥스 루나 C18  $21.2 \times 100$  mm; 선형 구배 25분에 걸쳐 20-60%  $\text{MeCN-H}_2\text{O}$  w/ 0.05% v/v  $\text{HCO}_2\text{H}$ ; 20 mL/분; 220 nm 검출)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 동결건조시켜 이량체-링커 IIIa-6 (6.51 mg, 20%)을 황색 고체로서 수득하였다. LC-MS m/z 1461  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
- [0394] 실시예 16 - 이량체 IIb-8
- [0395] 본 실시예는 도 16a 및 16b 및 이량체 IIb-8의 합성에 관한 것이다.
- [0396] 아세톤 (80 mL) 중 화합물 19 (10 g, 21.44 mmol)의 용액에 벤질 브로마이드 (5.23 mL, 44.0 mmol, 알드리치 (Aldrich))에 이어서  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (11.85 g, 86 mmol, 알드리치)을 첨가하였다. 생성된 밝은 황색 반응 혼합물을  $80^{\circ}\text{C}$ 에서 밤새 교반하였다. 황색 반응 혼합물을 냉수 200 mL에 부었다. 고체 침전물을 여과에 의해 수집하고, 물 및 에테르로 세척하고, 진공 하에 건조시켜 담황색 고체 (12.8 g, 92%)를 수득하였다.
- [0397] THF (75 mL) 및 MeOH (25 mL) 중 이전 단계로부터의 침전물 (12.8 g, 19.80 mmol)의 현탁액에 NaOH (39.6 mL, 119 mmol, 3.0 N)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하여 담갈색 균질 용액을 수득하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시켜 대부분의 유기 용매를 제거하였다. 잔류물을 pH 2-3으로 1.0 N HCl을 사용하여 중화시켰다. 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 물 및 에테르로 세척하여 회백색 고체를 수득하였다. 고체를 진공 하에 밤새 건조시켜 화합물 92 (10.21 g, 83%)를 백색 고체로서 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.47 (s, 2H), 7.42 - 7.36 (m, 10H), 7.16 (s, 2H), 5.18 (s, 4H), 4.31 (t, J = 5.9 Hz, 4H), 2.41 (t, J = 5.9 Hz, 2H). MS (ESI $^+$ ) m/z 619.5 (M + H) $^+$ .
- [0398] 실시예 14 및 도 4a에 기재된 절차에 따라 화합물 93 및 94를 통해 진행시켜, 화합물 92를 화합물 95로 전환시켰다.
- [0399] 탄소 상 Pd(OH) $_2$  (0.060 g, 0.085 mmol, 알드리치)가 들은 압력 플라스크에 MeOH (10 mL) 및 EtOAc (10 mL) 중 화합물 95 (0.94 g, 0.853 mmol)의 용액을 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을  $\text{H}_2$  하에 20 psi 압력에서 2시간 동안 및 40 psi 압력에서 추가로 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc로 세척하면서 셀라이트 $^{\text{TM}}$ 의 패드를 통해 여과하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켜 650 mg의 화합물 96 (650 mg, 83%)을 희미한 오렌지색 고체로서 수득하였다. MS (ESI $^+$ ) m/z 921.6 (M + H) $^+$ .
- [0400] DMF (1 mL) 중 화합물 96 (101 mg, 0.110 mmol) 및 1,4-디브로모부탄 96a (189 mg, 0.877 mmol, 알드리치)의

용액에  $K_2CO_3$  (45.5 mg, 0.329 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 물로 희석하였다. 형성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 97 (110 mg, 84%)을 반고체로서 수득하였다. MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 1191.6 (M + H)<sup>+</sup>.

[0401] DMF (4 mL) 중 화합물 97 (470 mg, 0.395 mmol) 및 tert-부틸 (4-(아미노메틸)페닐)카르바메이트 97a (88 mg, 0.395 mmol, 알드리치)의 용액에  $K_2CO_3$  (164 mg, 1.184 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 85°C에서 3시간 동안 가열하였다. 반응물을 물로 희석하고, DCM (3x)으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 건조시키고, 농축시키고, 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 98 (175 mg, 35%)을 반고체로서 수득하였다. MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 1251.5 (M + H)<sup>+</sup>.

[0402] 실온에서 DCM (1.0 mL) 중 화합물 98 (78.5 mg, 0.063 mmol) 및 2,6-루티딘 (0.022 mL, 0.188 mmol, 알드리치)의 용액에 트리메틸실릴 트리플루오로메탄 술포네이트 (TMS-OTf, 0.034 mL, 0.188 mmol, 알드리치)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM으로 희석하고, 수성 포화  $NaHCO_3$ 으로 세척하였다. 유기 상을 건조시키고, 농축시키고, 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 99 (23 mg, 32%)를 반고체로서 수득하였다. MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 1152.6 (M + H)<sup>+</sup>.

[0403] THF (1 mL) 중 화합물 99 (46 mg, 0.040 mmol)의 -78°C 용액에 슈퍼-히드라이드®의 용액 (0.399 mL, 0.399 mmol, THF 중 1M, 알드리치)을 첨가하였다. 반응물을 -78°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 물로 켄칭하고, 클로로포름 (2x)에 이어서 클로로포름 중 10% MeOH (2x)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 건조시키고, 농축시키고, 정제용 HPLC에 의해 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을  $NaHCO_3$ 으로 중화시키고, 클로로포름 (2x) 및 클로로포름 중 10% MeOH (2x)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을  $MgSO_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 이어서, 생성물을 고진공 하에 주말에 걸쳐 방치하여 이량체 IIb-8 (12 mg, 32%)을 백색 고체로서 수득하였다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ) δ 7.61 - 7.55 (m, 4H), 7.49 (d, J=7.9 Hz, 2H), 7.42 - 7.31 (m, 6H), 7.09 (d, J=7.9 Hz, 2H), 6.86 - 6.82 (m, 2H), 6.55 (s, 2H), 5.03 (d, J=15.5 Hz, 2H), 4.57 (d, J=15.5 Hz, 2H), 4.37 - 4.29 (m, 8H), 4.01 - 3.88 (m, 4H), 3.37 - 3.07 (m, 4H), 2.52 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 1.93 - 1.85 (m, 6H), 1.71 - 1.60 (m, 8H). MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 859.2 (M + H)<sup>+</sup>.

[0404] 실시예 17 - 추가의 이량체 및 이량체-링커

[0405] 상기 기재된 합성 원리에 따라, 하기 추가의 이량체 및 이량체 링커를 제조하였다:

[0406] 이량체 IIa-2: LCMS (M+H) = 615.2 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.54 (s, 2H), 6.88 (s, 2H), 4.39 - 4.25 (m, 4H), 4.23 - 4.15 (m, 2H), 4.14 - 4.06 (m, 2H), 3.83 (ddd, J=11.7, 7.2, 4.3 Hz, 2H), 3.76 (dt, J=7.6, 4.0 Hz, 2H), 3.65 - 3.55 (m, 2H), 2.40 - 2.29 (m, 6H), 2.13 - 2.01 (m, 4H), 1.84 - 1.7 (m, 4H), 1.64-1.52 (m., 4H), 1.48 - 1.42 (m, 4H).

[0407] 이량체 IIa-5: LCMS (M+H) = 657.4 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.69 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.55 (s, 2H), 6.84 (s, 2H), 4.36 - 4.17 (m, 6H), 4.15 - 4.08 (m, 2H), 3.84 (ddd, J=11.7, 7.2, 4.3 Hz, 2H), 3.78 - 3.72 (m, 2H), 3.67 - 3.56 (m, 2H), 2.46 - 2.30 (m, 6H), 2.16 - 2.03 (m, 4H), 1.88 - 1.78 (m, 4H), 1.65 - 1.50 (m, 6H), 1.48 - 1.34 (m, 8H).

[0408] 이량체 IIa-6: LCMS (M+H) = 671.4 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.53 (s, 2H), 6.84 (s, 2H), 4.34 - 4.15 (m, 6H), 4.12 - 4.05 (m, 2H), 3.84 (ddd, J=11.7, 7.2, 4.3 Hz, 2H), 3.78 - 3.73 (m, 2H), 3.66 - 3.56 (m, 2H), 2.52 - 2.30 (m, 6H), 2.17 - 2.02 (m, 4H), 1.92 - 1.77 (m, 4H), 1.65 - 1.50 (m, 6H), 1.43 - 1.27 (m, 10 H).

[0409] 이량체 IIa-7: LCMS (M+H) = 685.3 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.54 (s, 2H), 6.83 (s, 2H), 4.22 - 4.03 (m, 10H), 3.84 (ddd, J=11.7, 7.1, 4.5 Hz, 3H), 3.76 (dt, J=7.5, 4.0 Hz, 2H), 3.61 (dt, J=11.8, 7.8 Hz, 2H), 2.34 (td, J=6.7, 2.6 Hz, 4H), 2.08 (d, J=5.1 Hz, 4H), 1.99 - 1.92 (m, 5H), 1.88 - 1.76 (m, 8H), 1.59 - 1.50 (m, 14H), 1.47 - 1.38 (m, 7H).

- [0410] 이량체 IIa-8. LCMS (M+H) = 699.5  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 클로로포름-d)  $\delta$  7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.52 (s, 2H), 6.81 (s, 2H), 4.23 - 4.01 (m, 10H), 3.84 (ddd, J=11.7, 7.2, 4.3 Hz, 2H), 3.78 - 3.71 (m, 2H), 3.61 (dt, J=11.9, 7.6 Hz, 2H), 2.34 (td, J=6.7, 2.9 Hz, 4H), 2.09 (dd, J=6.9, 4.7 Hz, 4H), 2.00 - 1.92 (m, 5H), 1.88 - 1.72 (m, 8H), 1.58 (br. s., 13H), 1.39 (d, J=6.2 Hz, 12H).
- [0411] 이량체 IIa-10: LC-MS m/z 665 [M+H] $^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.50 (s, 2H), 6.84 (s, 2H), 5.47 - 5.43 (m, 2H), 5.23 - 5.14 (m, 4H), 4.34 - 4.20 (m, 8H), 4.18 - 4.11 (m, 2H), 4.10 - 4.02 (m, 2H), 3.93 - 3.86 (m, 2H), 3.18 - 3.08 (m, 2H), 2.99 - 2.90 (m, 2H), 2.40 - 2.29 (m, 2H), 2.09 - 2.01 (m, 4H), 1.87 - 1.76 (m, 4H), 1.64 - 1.56 (m, 4H).
- [0412] 이량체 IIa-11: LC-MS m/z 667 [M+H] $^+$ .
- [0413] 이량체 IIa-12: LC-MS m/z 639 [M+H] $^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.68 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.51 (s, 2H), 6.86 (s, 2H), 5.22 - 5.15 (m, J=4.0 Hz, 4H), 4.36 - 4.23 (m, 8H), 4.21 - 4.14 (m, 2H), 4.12 - 4.05 (m, 2H), 3.93 - 3.87 (m, 2H), 3.17 - 3.07 (m, 2H), 2.99 - 2.90 (m, 2H), 2.34 (quin, J=6.2 Hz, 2H), 1.84 - 1.75 (m, 4H), 1.63 - 1.54 (m, 4H), 1.48 - 1.40 (m, 4H).
- [0414] 이량체 IIa-13: LC-MS m/z 643 [M+H] $^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.67 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.49 (s, 2H), 6.86 (s, 2H), 5.22 - 5.13 (m, 4H), 4.40 - 4.25 (m, 10H), 4.23 - 4.17 (m, 2H), 3.94 - 3.85 (m, 6H), 3.84 - 3.77 (m, 4H), 3.18 - 3.05 (m, 2H), 2.97 - 2.89 (m, 2H), 2.32 (quin, J=6.0 Hz, 2H).
- [0415] 이량체 IIa-14: LC-MS m/z 672.5 [M+H $_2$ O+H] $^+$ .
- [0416] 이량체 IIb-1: LC-MS m/z 739 [M+H] $^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.55 (s, 2H), 7.49 (d, J=5.3 Hz, 2H), 7.41 - 7.30 (m, 8H), 6.87 (s, 2H), 5.02 (d, J=15.6 Hz, 2H), 4.57 (d, J=15.6 Hz, 2H), 4.38 - 4.24 (m, 4H), 4.24 - 4.16 (m, 2H), 4.10 (dt, J=9.7, 5.1 Hz, 2H), 4.01 - 3.94 (m, 2H), 3.34 - 3.24 (m, 2H), 3.22 - 3.11 (m, 2H), 2.35 (quin, J=6.1 Hz, 2H), 1.91 - 1.74 (m, 4H), 1.59 (d, J=5.9 Hz, 6H), 1.50 - 1.40 (m, 4H), 0.97 - 0.82 (m, 2H).
- [0417] 이량체 IIb-2: LC-MS m/z 767 [M+H] $^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.53 (s, 2H), 7.47 (d, J=5.3 Hz, 2H), 7.39 - 7.29 (m, 8H), 6.81 (s, 2H), 5.01 (d, J=15.6 Hz, 2H), 4.56 (d, J=15.6 Hz, 2H), 4.33 - 4.14 (m, 6H), 4.11 - 4.04 (m, 2H), 3.99 - 3.93 (m, 2H), 3.31 - 3.24 (m, 2H), 3.19 - 3.13 (m, 2H), 2.39 (quin, J=6.7 Hz, 2H), 1.83 - 1.75 (m, 4H), 1.62 - 1.52 (m, 4H), 1.41 - 1.32 (m, 8H).
- [0418] 이량체 IIb-3: LC-MS m/z 739 [M+H] $^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.27 (d, J=7.9 Hz, 2H), 7.88 (d, J=4.4 Hz, 2H), 7.56 (s, 2H), 7.32 - 7.20 (m, 4H), 7.14 - 7.08 (m, 2H), 6.86 (s, 2H), 4.50 (dt, J=10.9, 4.2 Hz, 2H), 4.38 - 4.05 (m, 8H), 3.78 - 3.67 (m, 2H), 3.55 - 3.46 (m, 2H), 2.47 - 2.36 (m, 2H), 1.83 - 1.76 (m, 4H), 1.59 (s, 4H), 1.42 - 1.31 (m, 8H).
- [0419] 이량체 IIb-4: LC-MS m/z 743.2 (M + H) $^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ -d)  $\delta$  7.53 (s, 2H), 7.47 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 7.40 - 7.29 (m, 8H), 6.86 (s, 2H), 5.01 (d, J = 15.6 Hz, 2H), 4.54 (d, J = 15.6 Hz, 2H), 4.37 - 4.27 (m, 6H), 4.24 - 4.18 (m, 2H), 3.97 - 3.88 (m, 6H), 3.82 (d, J = 1.1 Hz, 4H), 3.31 - 3.23 (m, 2H), 3.19 - 3.11 (m, 2H), 2.37 - 2.29 (m, 2H).
- [0420] 이량체 IIb-7. LC-MS m/z 758.6 (M + H) $^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.48 (s, 2H), 7.43 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 7.36 - 7.26 (m, 4H), 7.04 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.87 (s, 2H), 6.52 (br. s., 2H), 4.91 (d, J = 15.3 Hz, 2H), 4.53 (d, J = 15.0 Hz, 2H), 4.30 - 4.20 (m, 6H), 4.20 - 4.16 (m, 2H), 3.91 - 3.88 (m, 6H), 3.65 (s, 4H), 3.46 - 3.45 (m, 2H), 3.10 - 3.06 (m., 2H), 2.25 - 2.17 (m, 2H).

[0421] 이량체 IIc-1: LC-MS m/z 791 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.91 (d, J=3.7 Hz, 2H), 7.56 - 7.51 (m, 4H), 7.49 - 7.32 (m, 10H), 6.86 (s, 2H), 4.51 - 4.42 (m, 2H), 4.37 - 3.84 (m, 8H), 3.68 - 3.58 (m, 2H), 3.48 - 3.38 (m, 2H), 2.49 - 2.36 (m, 2H), 1.87 - 1.74 (m, 4H), 1.69 - 1.20 (m, 12H).

[0422] 이량체 IIc-2: LC-MS m/z 907 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.89 (d, J=4.0 Hz, 2H), 7.53 (s, 2H), 7.41 - 7.39 (m, 2H), 7.37 - 7.33 (m, 4H), 6.94 - 6.89 (m, 4H), 6.82 (s, 2H), 4.47 - 4.38 (m, 2H), 4.21 - 3.96 (m, 8H), 3.84 (s, 6H), 3.59 (ddd, J=16.2, 11.4, 1.9 Hz, 2H), 3.39 (ddd, J=16.4, 5.2, 1.5 Hz, 2H), 2.03 - 1.92 (m, 4H), 1.86 - 1.70 (m, 6H), 1.62 - 1.51 (m, 4H), 1.45 - 1.30 (m, 12H).

[0423] 이량체 IIc-3: LC-MS m/z 996 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.89 (d, J=4.0 Hz, 2H), 7.52 (s, 2H), 7.42 - 7.38 (m, 2H), 7.35 - 7.32 (m, 4H), 6.97 - 6.91 (m, 4H), 6.82 (s, 2H), 4.46 - 4.38 (m, 2H), 4.20 - 4.03 (m, 12H), 3.80 - 3.75 (m, 4H), 3.63 - 3.54 (m, 2H), 3.48 - 3.47 (m, 6H), 3.42 - 3.34 (m, 2H), 2.04 - 1.92 (m, 4H), 1.86 - 1.71 (m, 6H), 1.60 - 1.51 (m, 4H), 1.45 - 1.29 (m, 12H).

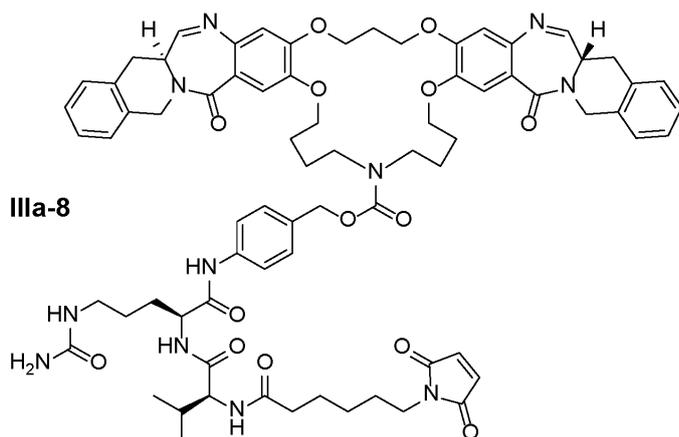
[0424] 이량체 IIc-4: LC-MS m/z 1017 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.88 (d, J=4.0 Hz, 2H), 7.52 (s, 2H), 7.39 (s, 2H), 7.33 (d, J=8.6 Hz, 4H), 6.91 (d, J=9.0 Hz, 4H), 6.82 (s, 2H), 4.46 - 4.37 (m, 2H), 4.21 - 4.01 (m, 8H), 3.91 - 3.85 (m, 8H), 3.63 - 3.53 (m, 2H), 3.42 - 3.35 (m, 2H), 3.23 - 3.16 (m, 8H), 1.97 (quin, J=6.9 Hz, 4H), 1.86 - 1.72 (m, 6H), 1.56 (s, 4H), 1.44 - 1.22 (m, 12H).

[0425] 이량체 IIc-5: LC-MS m/z 1061 [M+H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 7.88 (d, J=4.0 Hz, 2H), 7.55 - 7.51 (m, 2H), 7.38 (s, 2H), 7.31 (d, J=8.8 Hz, 4H), 6.92 (d, J=8.8 Hz, 4H), 6.81 (s, 2H), 4.45 - 4.37 (m, 2H), 4.20 - 4.01 (m, 8H), 3.62 - 3.52 (m, 2H), 3.43 - 3.33 (m, 2H), 3.30 - 3.23 (m, 8H), 2.63 - 2.57 (m, 8H), 2.37 (s, 6H), 1.97 (quin, J=7.0 Hz, 4H), 1.87 - 1.71 (m, 6H), 1.66 - 1.48 (m, 4H), 1.43 - 1.22 (m, 12H).

[0426] 이량체 IIc-6: LC-MS m/z 767 [M+H]<sup>+</sup>.

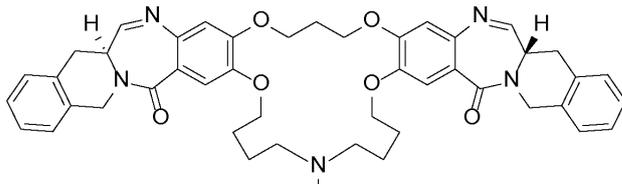
[0427] 이량체-링커 IIIa-7: LC-MS m/z 777 [M+2H]<sup>+</sup>.

[0428] 이량체-링커 IIIa-8: LC-MS m/z 1352.8 [M+H]<sup>+</sup>.

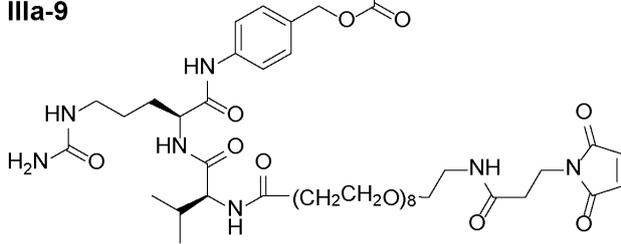


[0429]

[0430] 이량체-링커 IIIa-9: LC-MS m/z 1734.2 [M+H]<sup>+</sup>.

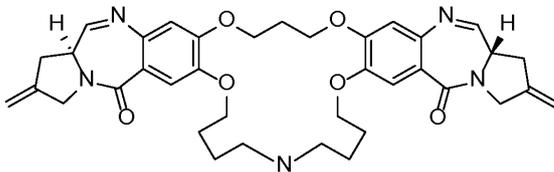


**IIIa-9**

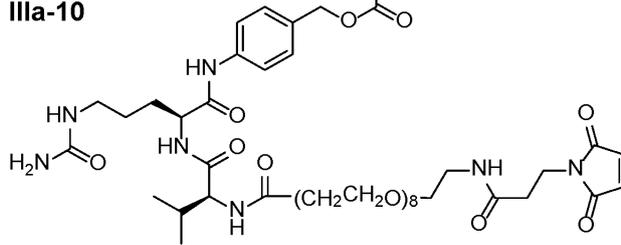


[0431]

[0432] 이량체-링커 IIIa-10: LC-MS m/z 1633 [M+H]<sup>+</sup>.

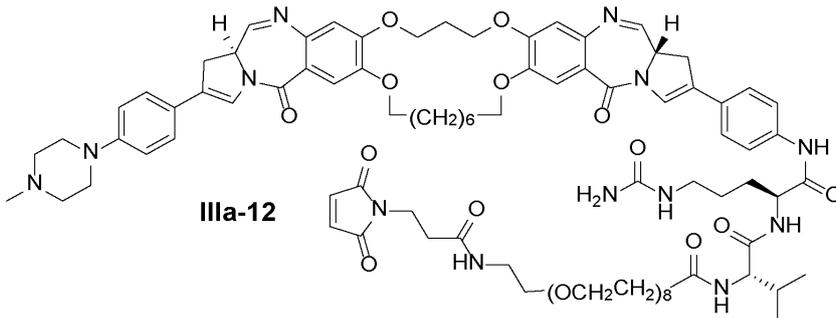


**IIIa-10**



[0433]

[0434] 이량체-링커 IIIa-12: LC-MS m/z 1707 [M+H]<sup>+</sup>.



**IIIa-12**

[0435]

[0436] 실시예 18 - 생물학적 활성 (이량체)

[0437] 다양한 상이한 암 세포주에 대한 본 발명의 이량체의 세포독성 활성은 표 4에 제시되어 있다. H226은 인간 폐암 세포주이다. N87은 인간 위암 세포주이다. OVCAR3은 인간 난소암 세포주이다. HCT116은 인간 결장암 세포주이다. HCT116/VM46은 다중-약물 및 파클리탁셀 내성인 인간 결장암 세포주이다.

표 4 - 이량체의 세포독성 활성					
이량체	세포주 (IC <sub>50</sub> , nM)				
	H226	N87	OVCAR3	HCT116	HCT116/ VM46
IIa-1	8.1	4.6	3.4	-	74
IIa-2	1.6	2.7	1.2	-	-
IIa-3	8.7	8.3	7.3	-	-
IIa-4	12	22	20	-	-
IIa-5	69	150	78	-	-
IIa-6	110	310	140	-	-
IIa-7	12	87	14	-	-
IIa-8	10	15	9.9	-	-
IIa-9	12	13	12	-	-
IIa-10	2.0	2.3	0.47	-	11
IIa-11	13	18	8.6	-	48
IIa-12	0.32	0.89	0.52	-	4.8
IIa-13	29	40	20	32	85
IIa-14	21	23	50	38	170
IIb-1	0.22	0.53	0.33	-	1.3
IIb-2	3.0	2.5	1.3	-	17
IIb-3	5.9	11	3.5	-	13
IIb-4	0.15	0.14	0.20	0.068	2.0
IIb-5	0.45	0.35	0.60	0.077	7.3
IIb-6	0.21	0.25	0.21	0.016	0.66
IIb-7	0.56	0.40	0.56	0.19	3.5
IIb-8	0.13	0.27	0.25	0.015	1.2
IIc-1	12	12	7.6	-	30
IIc-2	220	230	>250	48	>250
IIc-3	32	29	104	13	58
IIc-4	-	-	-	-	-
IIc-5	-	-	-	-	-
IIc-6	1.1	1.5	1.7	0.13	6.4

[0438]

표 4 (계속) - 이량체의 세포독성 활성					
이량체	세포주 (IC <sub>50</sub> , nM)				
	H226	N87	OVCAR3	HCT116	HCT116/ VM46
IIc-7	0.99	0.62	1.8	0.17	1.1
IIc-8	0.047	0.034	0.35	0.006	0.076
IIc-9	0.33	0.68	1.0	0.063	0.16
IIc-10	0.044	0.36	0.36	0.022	0.071
IIc-11	0.36	0.56	0.31	0.063	0.36
IId-1	0.66	1.4	1.2	0.14	1.2
IId-2	0.56	1.1	0.71	0.11	2.8
IId-3	0.035	0.072	0.26	0.045	0.033
IId-4	8.1	12	20	2.0	4.8

[0439]

[0440]

실시예 19 - 생물학적 활성 (ADC)

[0441]

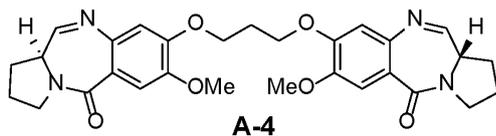
도 17은 이량체-링커 IIIa-7로 제조된 2종의 ADC의 활성을 제시하며, 여기서 1종은 항-CD70 항체를 갖고, 1종은 항-메소텔린 항체를 갖는다. ADC를 일반적으로 상기 기재된 절차에 따라 제조하였다. 각각은 약 2의 약물-항체 비를 가졌다. 활성은 <sup>3</sup>H 티미딘 혼입 검정을 사용하여 측정하였으며, 여기서 방사성표지된 티미딘의 혼입의 감소는 세포 증식의 억제를 나타낸다 (Cong et al., US 8,980,824 B2 (2015)). 도면에서 볼 수 있는 바와 같이, 둘 다의 ADC는 나노몰 이하 범위의 EC<sub>50</sub> 값으로 활성이었다.

[0442]

실시예 20 - 비교 활성

[0443]

표 5는 본 발명의 이량체의 세포독성 활성을 화학식 A-4에 의해 제시된 구조를 갖는 비-마크로시클릭 PBD의 것에 대해 비교하고 있다. 비슷한, 일부 경우에는 우수한 세포독성 효력에 의한 증거로서, 마크로시클릭 고리가 DNA 작은 홈 내로 슬라이딩되는 둘 다의 벤조디아제핀 고리의 능력을 방해하는 입체형태적 제약조건을 도입하는 것으로 보이지는 않는다는 것에 유의한다.



[0444]

표 5 - 비교 활성			
이량체	세포주 (EC <sub>50</sub> , nM)		
	H226	N87	OVCAR3
A-4	70	63	56
IIa-1	8.1	4.6	3.4
IIa-2	1.6	2.7	1.2
IIa-3	8.7	8.3	7.3
IIa-4	12	22	20
IIa-5	69	150	78
IIa-6	110	310	140
IIa-7	12	87	14
IIa-8	10	15	9.9
IIa-9	12	13	12

[0445]

- [0446] 상기 본 발명의 상세한 설명은 본 발명의 특정한 부분 또는 측면과 주로 또는 배타적으로 관련된 구절을 포함한다. 이는 명료성 및 편의성을 위한 것이고, 특정한 특색은 단지 개시된 구절보다 많은 것과 관련될 수 있으며, 본원의 개시내용은 상이한 구절에서 발견되는 정보의 모든 적절한 조합을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 유사하게, 본원의 다양한 도면 및 설명은 본 발명의 구체적 실시양태에 관한 것이지만, 구체적 특색이 특정한 도면 또는 실시양태와 관련하여 개시된 경우에, 이러한 특색은 또한 적절한 정도로, 또 다른 도면 또는 실시양태와 관련하여, 또 다른 특징과 조합하여, 또는 일반적으로 본 발명에 사용될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.
- [0447] 추가로, 본 발명은 특히 특정의 바람직한 실시양태의 관점에서 기재되어 있지만, 본 발명은 이러한 바람직한 실시양태에 제한되지는 않는다. 오히려, 본 발명의 범주는 첨부된 청구범위에 의해 정의된다.
- [0448] 참고문헌
- [0449] 본 명세서에 이전에 제1 저자 (또는 발명자) 및 날짜에 의해 요약된 방식으로 인용된 하기 참고문헌에 대한 전체 인용은 하기 제공되어 있다. 각각의 이들 참고문헌은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.
- Antonow *et al.*, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 2927.
- Bose *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114(12), 4939.
- Bouchard *et al.*, US 8,404,678 B2 (2013).
- Chari *et al.*, WO 2013/177481 A1 (2013).
- Commercon *et al.*, US 8,481,042 B2 (2013) [2013a].
- Commercon *et al.*, US 2013/0137659 A1 (2013) [2013b].
- Fishkin *et al.*, US 8,765,740 B2 (2014).
- Flygare *et al.*, US 2013/0266595 A1 (2013).
- Gauzy *et al.*, US 8,163,736 B2 (2012).
- Gregson *et al.*, *Chem. Comm.* **1999** (9), 797.
- Gregson *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 2859 [2001a].
- Gregson *et al.*, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 737 [2001b].
- Gregson *et al.*, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 1161.
- Gregson *et al.*, US 7,612,062 B2 (2009).
- Hartley, *Exp. Opin. Investigational Drugs* **2011**, 20(6), 733.
- Hartley *et al.*, *Investigational New Drugs* **2012**, 30, 950.
- Howard, US 2014/0120118 A1 (2014) [2014a].
- Howard, US 2014/0127239 A1 (2014) [2014b].
- Howard, WO 2014/096365 A1 (2014) [2014c].
- Howard, WO 2014/096368 A1 (2014) [2014d].
- Howard, WO 2014/140174 A1 (2014) [2014e].
- Howard *et al.*, US 2007/0191349 A1 (2007).
- Howard *et al.*, US 7,528,126 B2 (2009) [2009a].
- Howard *et al.*, US 7,557,099 B2 (2009) [2009b].
- Howard *et al.*, US 7,741,319 B2 (2010).
- Howard *et al.*, US 2011/0256157 A1 (2011).

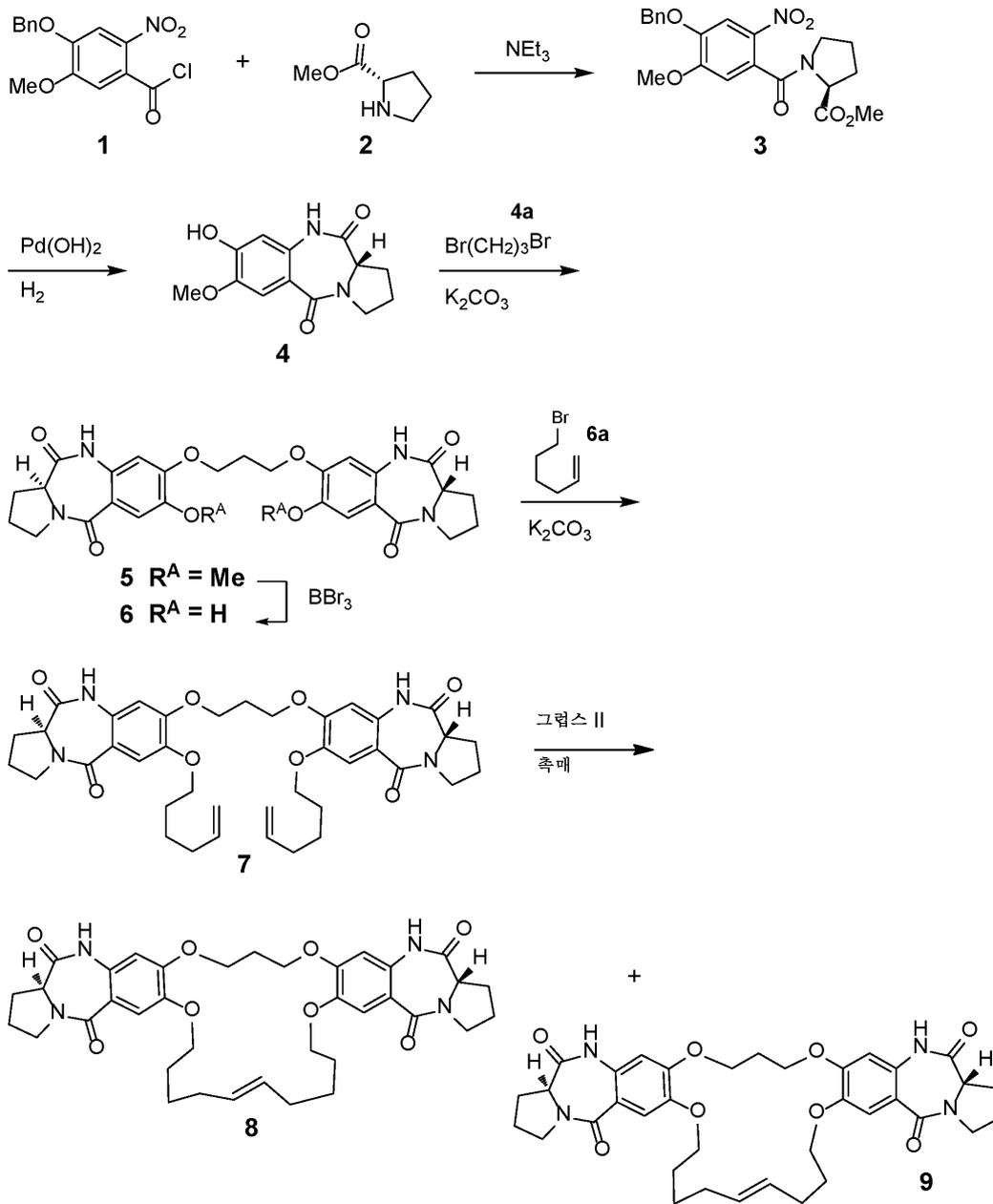
[0450]

- Howard *et al.*, US 8,501,934 B2 (2013) [2013a].
- Howard *et al.*, US 8,592,576 B2 (2013) [2013b].
- Howard *et al.*, US 2013/0028919 A1 (2013) [2013c].
- Howard *et al.*, WO 2013/041606 A1 (2013) [2013e].
- Howard *et al.*, US 8,697,688 B2 (2014) [2014a].
- Howard *et al.*, US 2014/0234346 A1 (2014) [2014b].
- Howard *et al.*, US 2014/0274907 A1 (2014) [2014c].
- Howard *et al.*, WO 2014/140862 A2 (2014) [2014d].
- Jeffrey *et al.*, *Bioconj. Chem.* **2013**, 24, 1256.
- Jeffrey *et al.*, US 2014/0286970 A1 (2014) [2014a].
- Jeffrey *et al.*, US 2014/0302066 A1 (2014) [2014b].
- Kothakonda *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 4371.
- Li *et al.*, US 8,426,402 B2 (2013).
- Li *et al.*, WO 2014/031566 A1 (2014).
- Liu *et al.*, US 7,244,724 B2 (2007).
- Schrama *et al.*, *Nature Rev. Drug Disc.* **2006**, 5, 147.
- Thurston *et al.*, *J. Org. Chem.* **1996**, 61(23), 8141.
- Thurston *et al.*, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1951.
- Thurston *et al.*, US 7,049,311 B1 (2006).
- Thurston *et al.*, US 7,407,951 B1 (2008).
- Zhao *et al.*, WO 2014/080251 A1 (2014)

[0451]

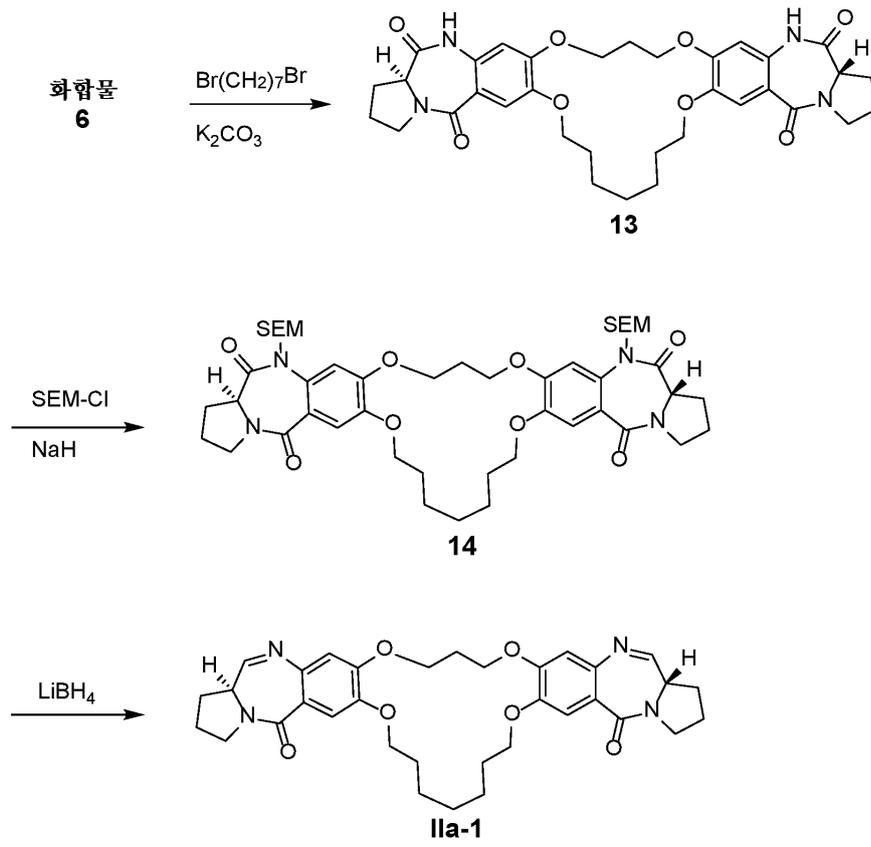
도면

도면1a

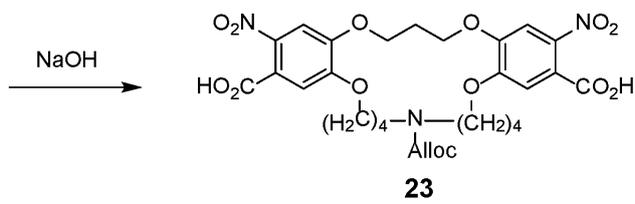
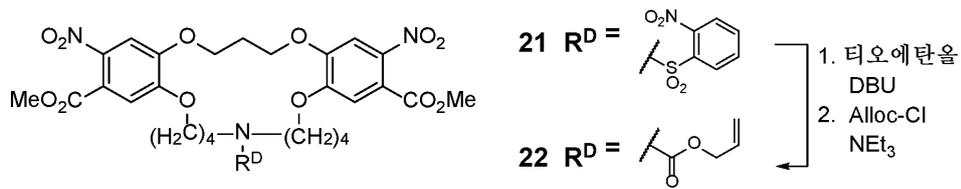
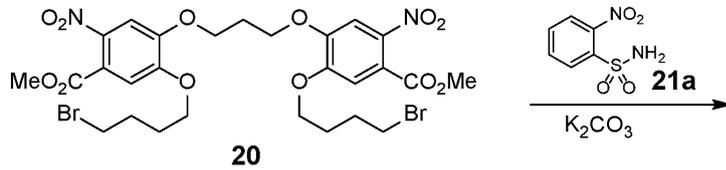
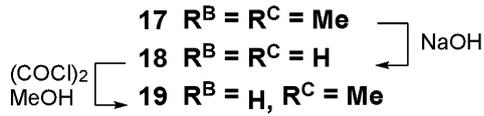
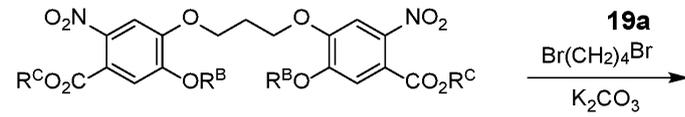
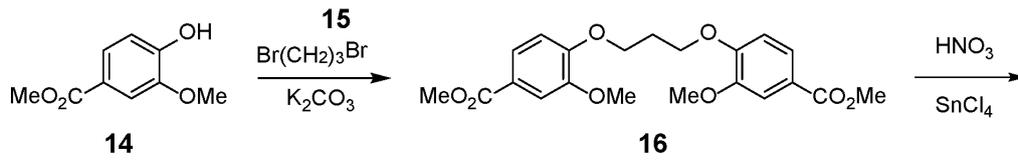




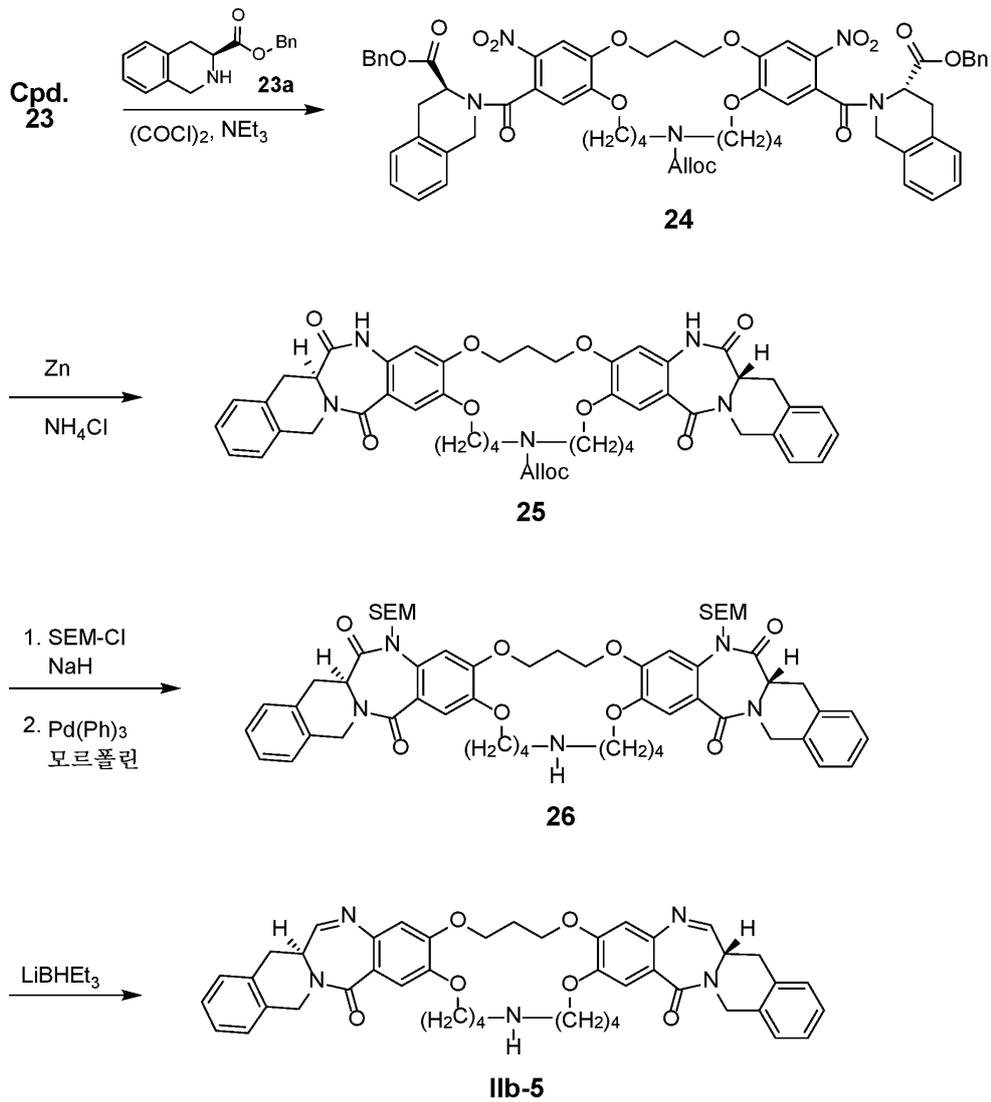
도면3



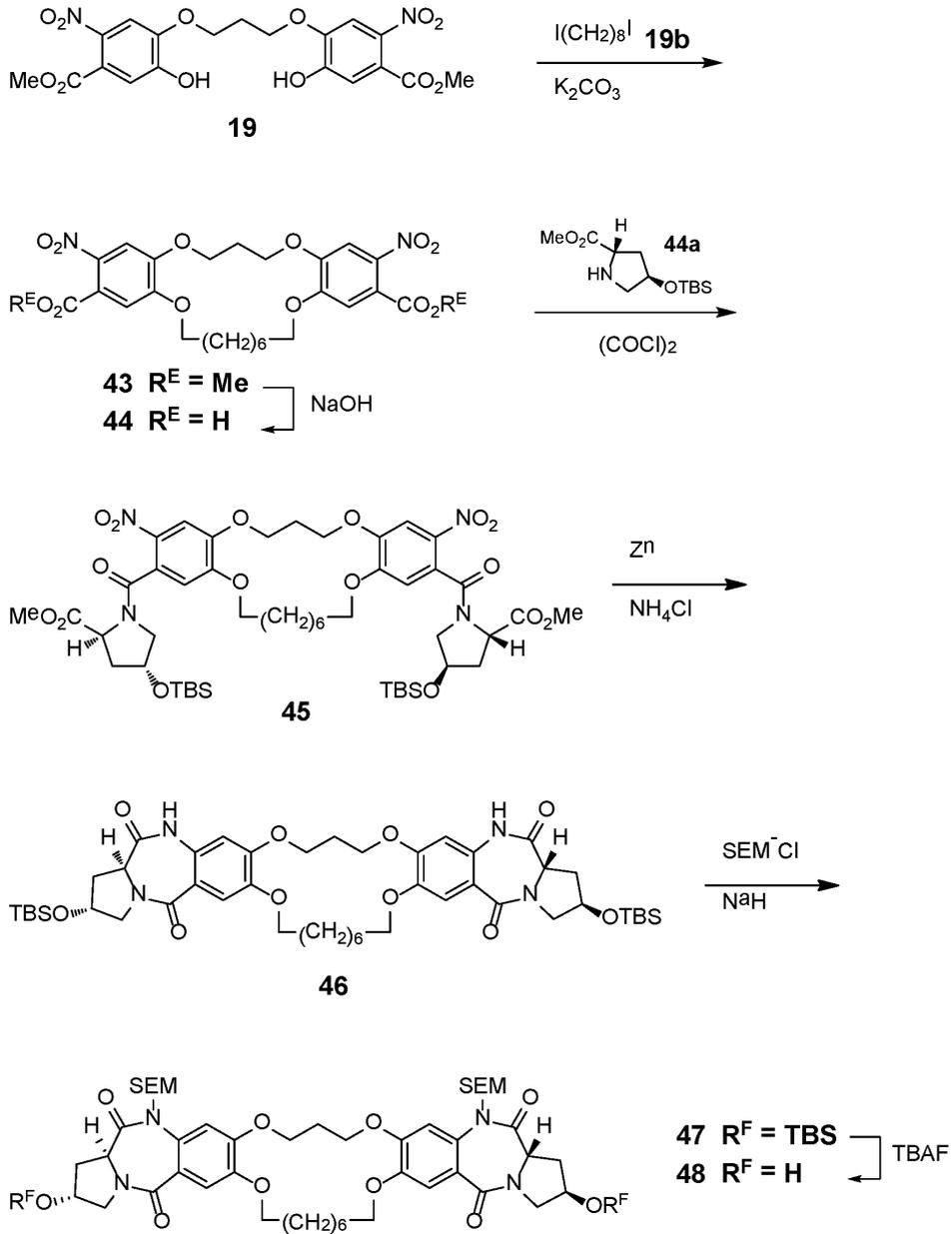
도면4a



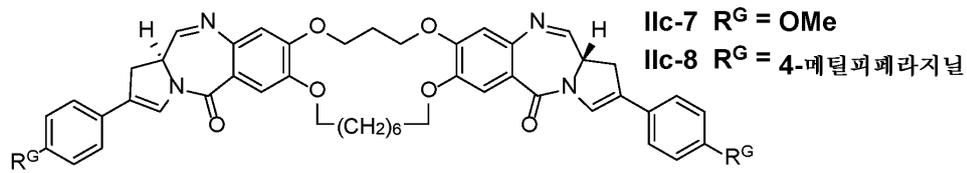
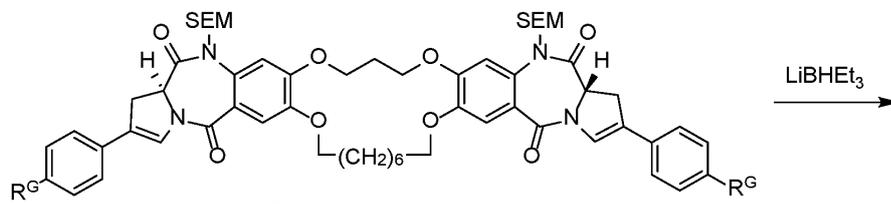
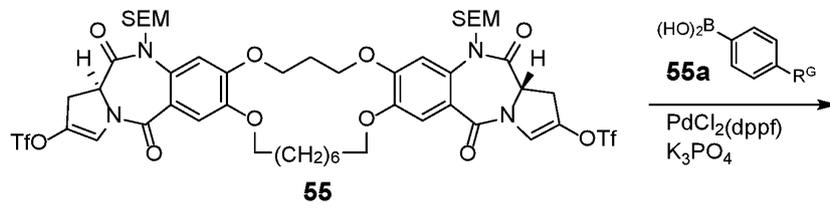
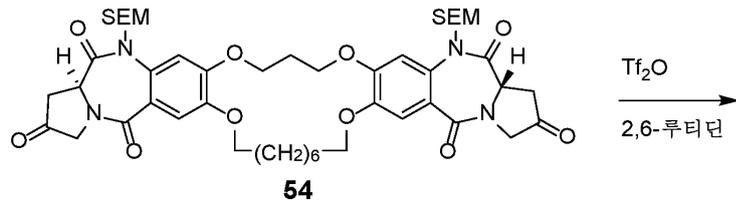
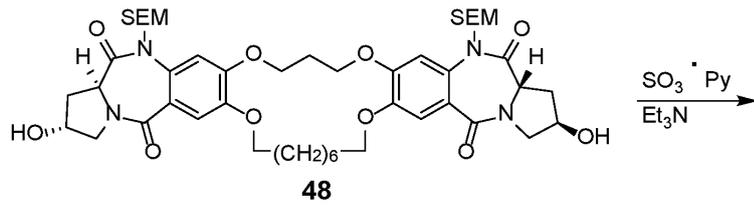
도면4b



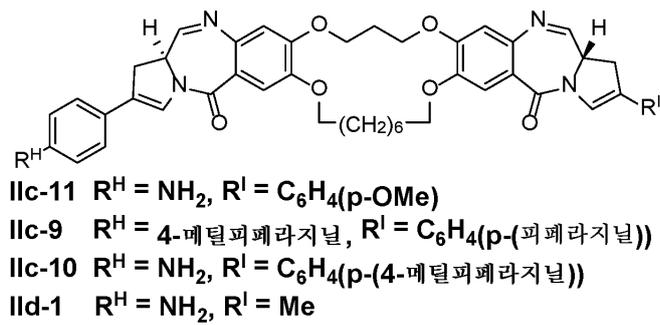
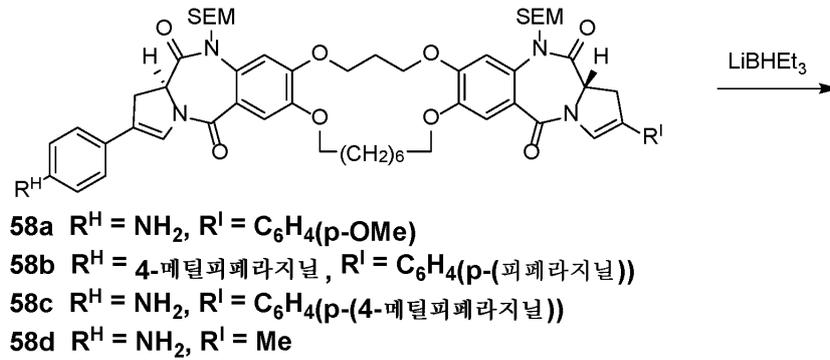
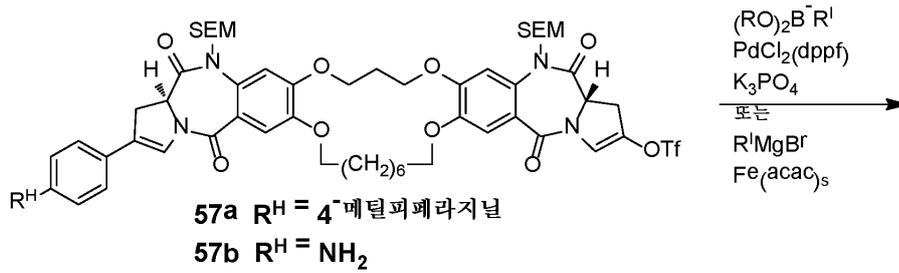
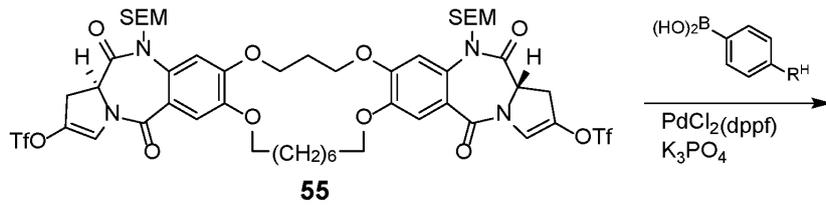
도면5



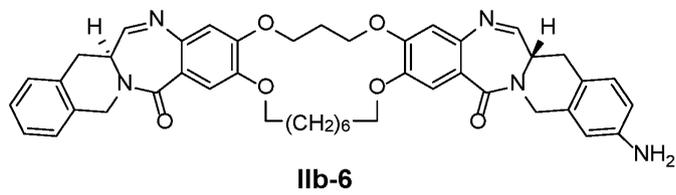
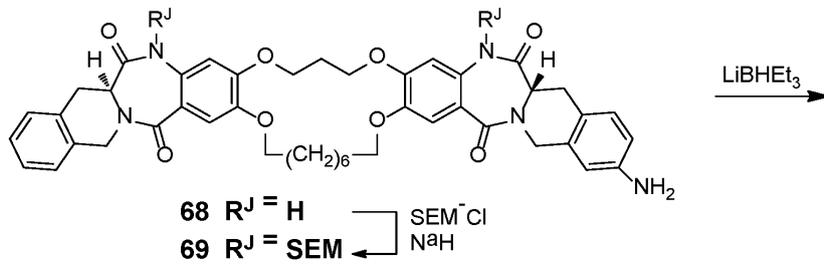
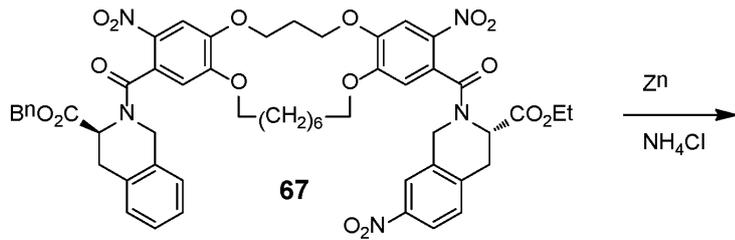
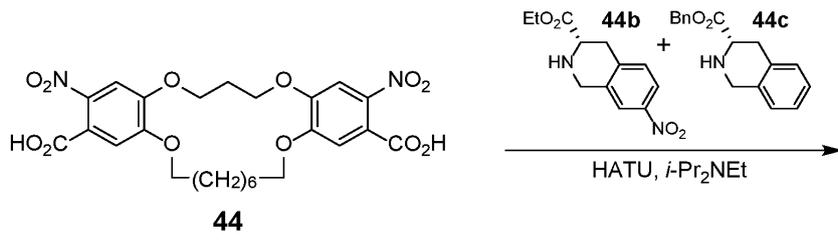
도면6



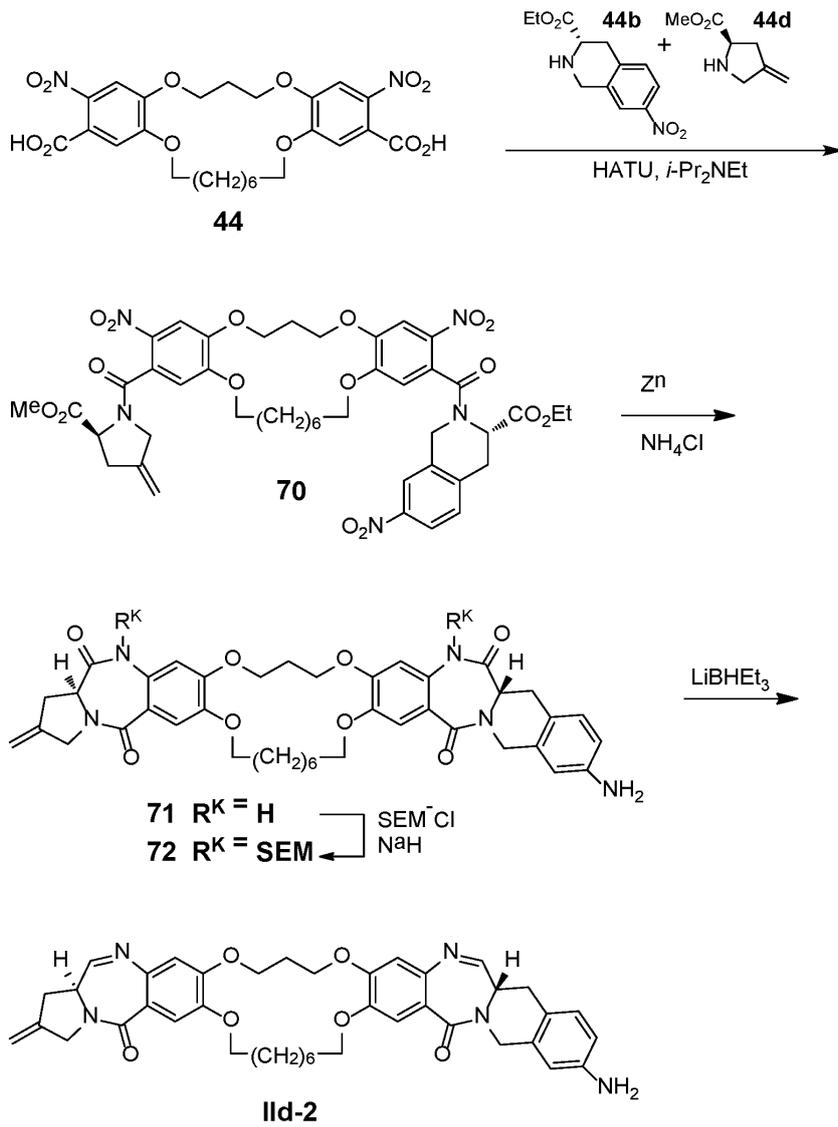
도면7



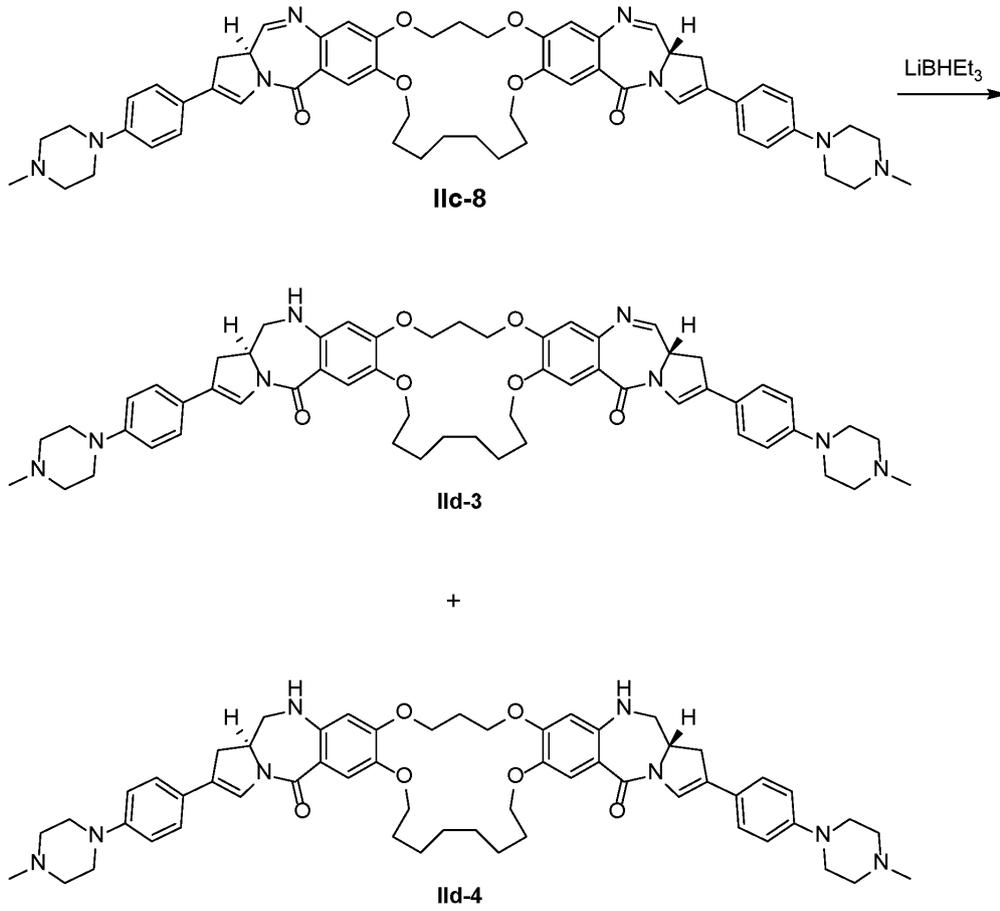
도면8



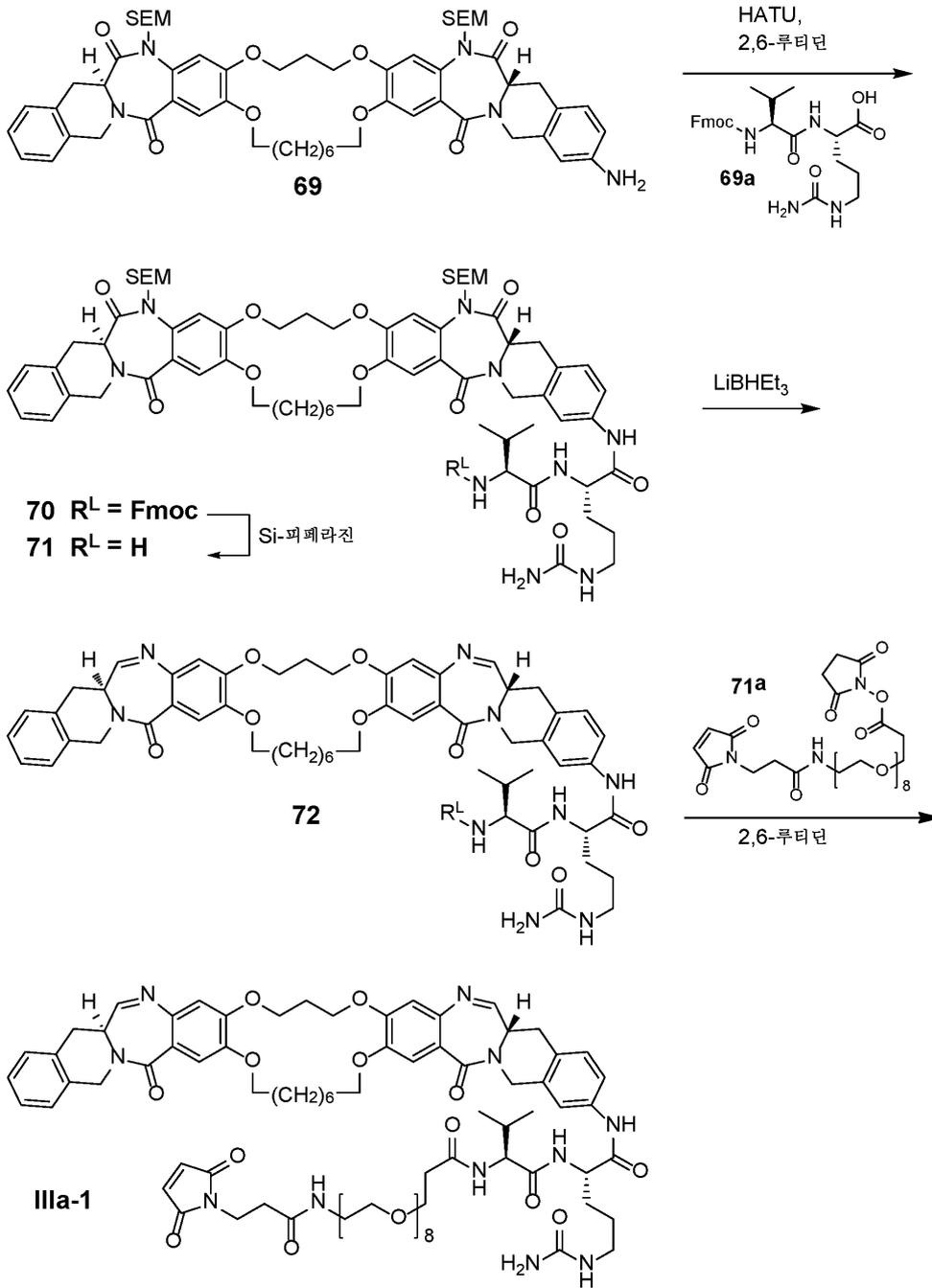
도면9



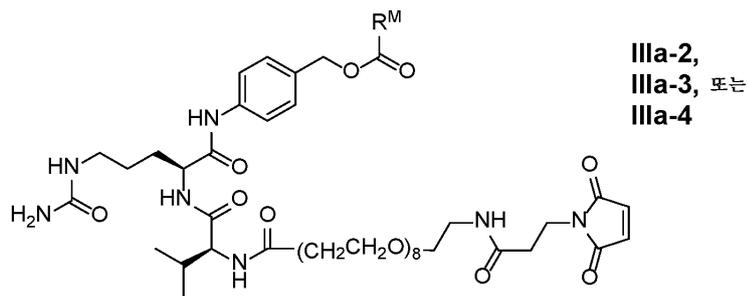
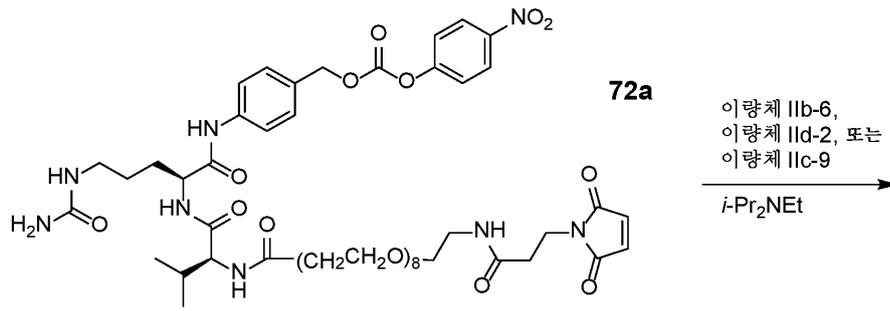
도면10



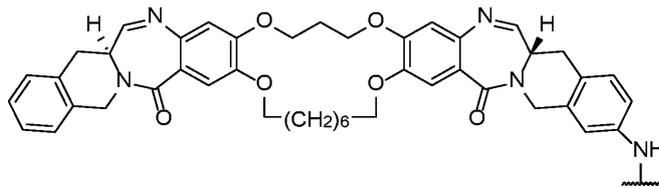
도면11



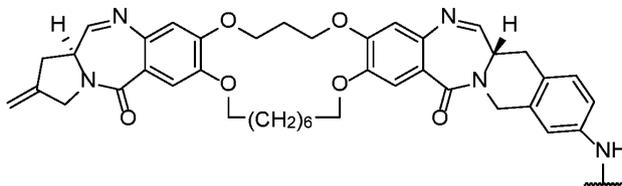
도면12



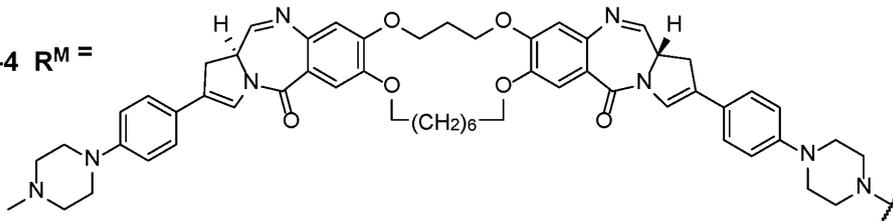
IIIa-2 R<sup>M</sup> =



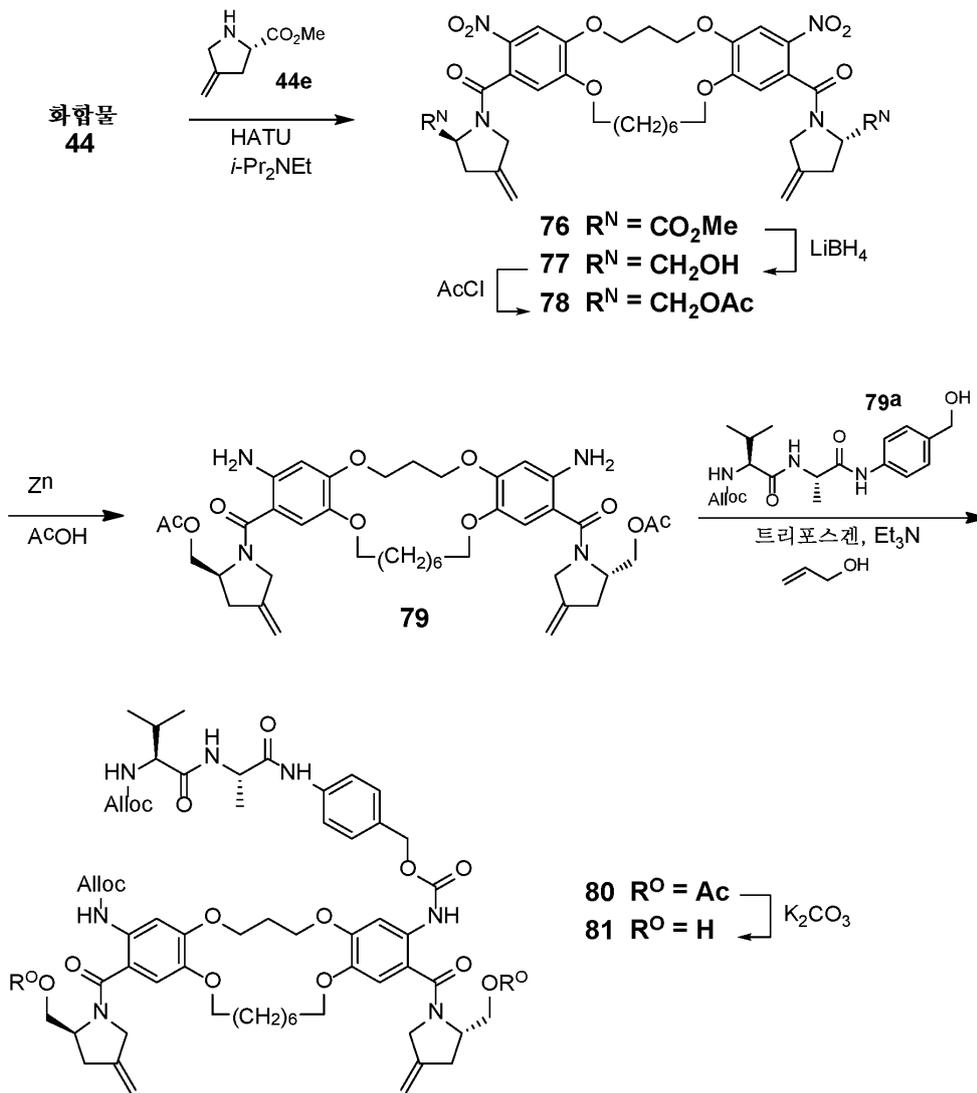
IIIa-3 R<sup>M</sup> =



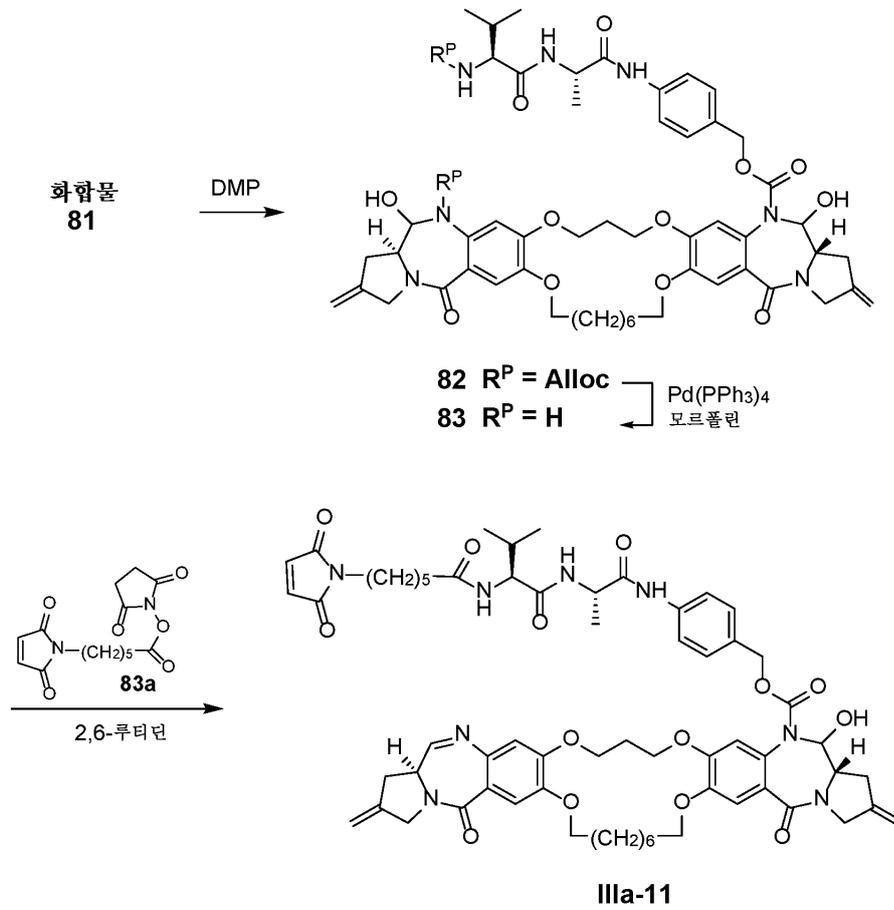
IIIa-4 R<sup>M</sup> =



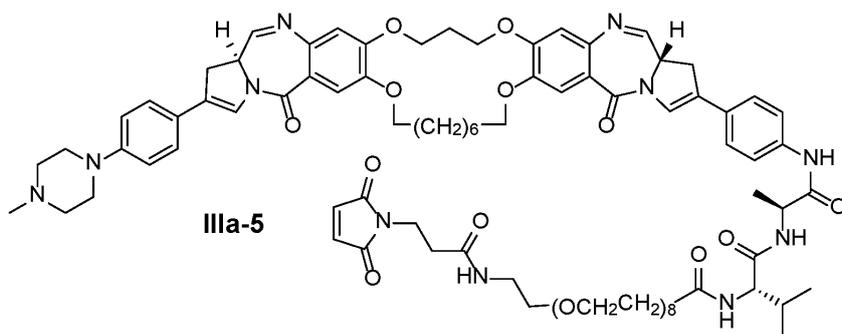
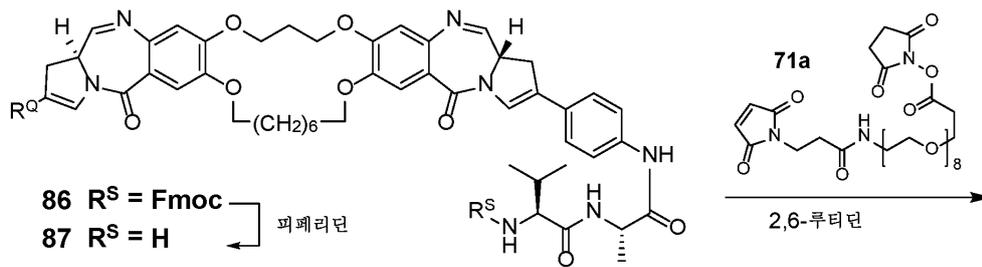
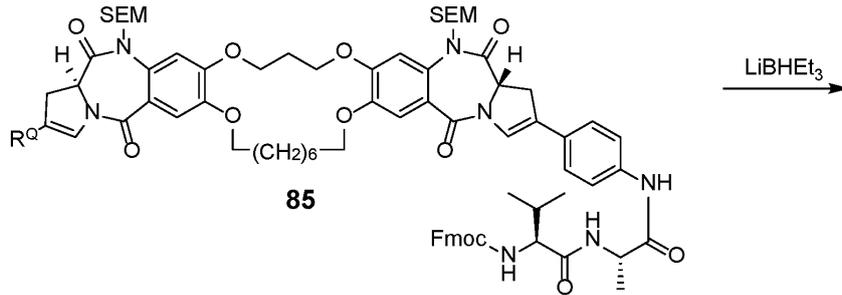
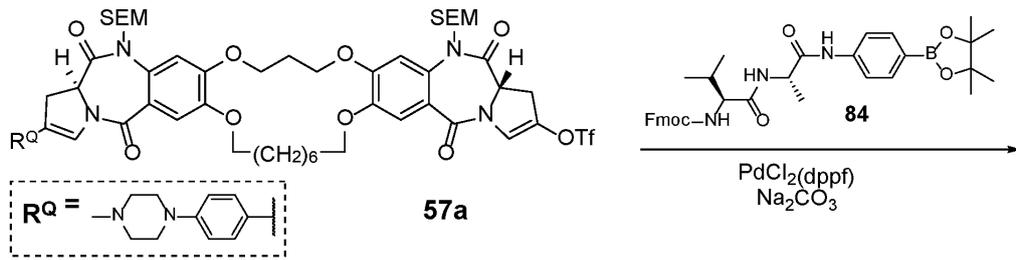
도면13a



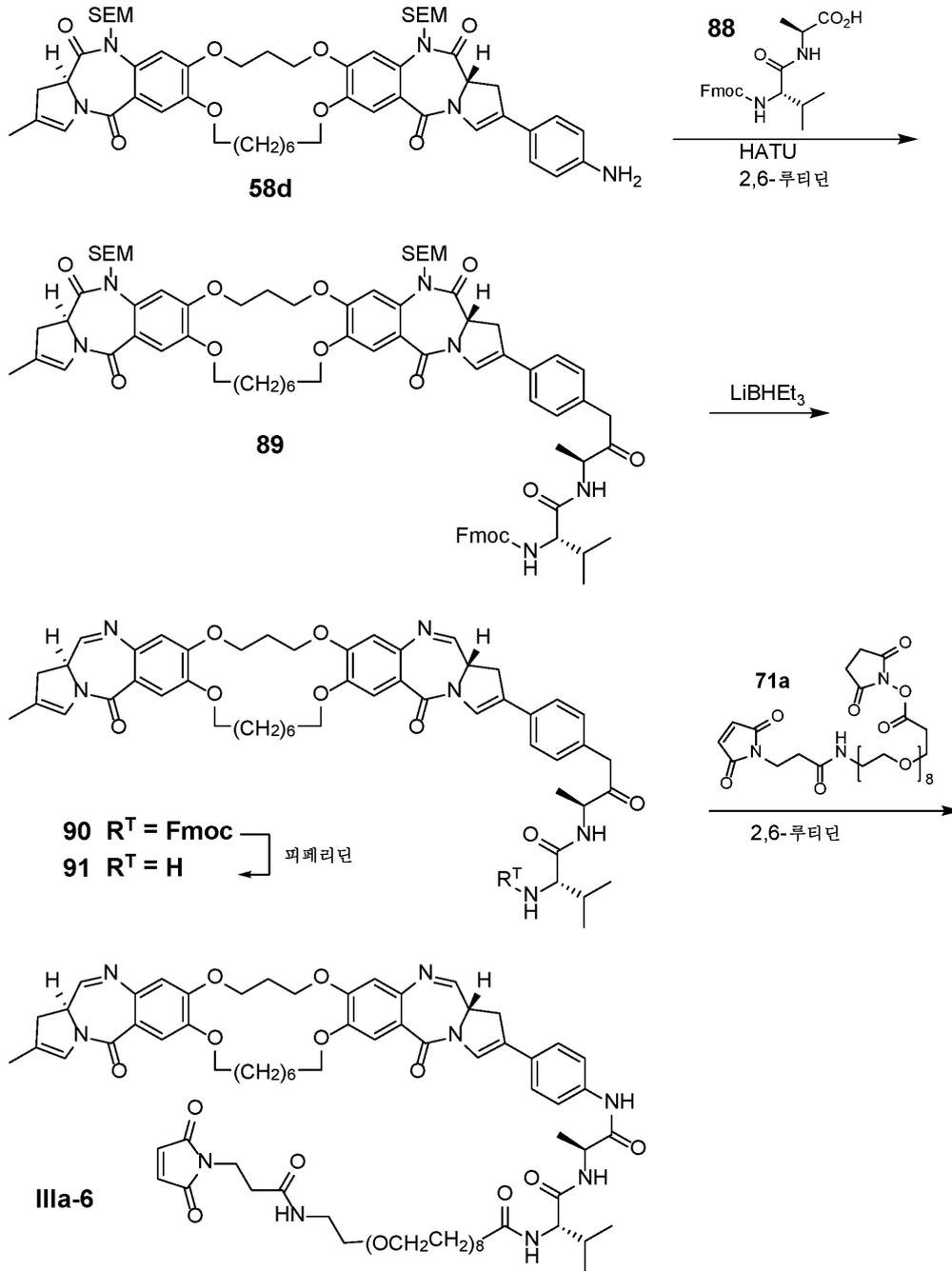
도면13b



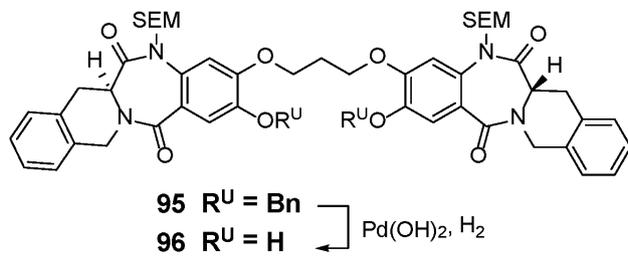
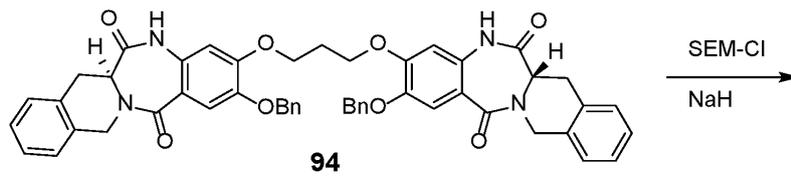
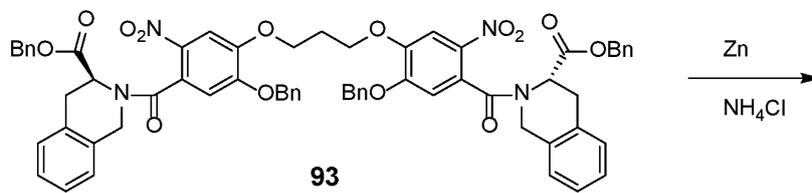
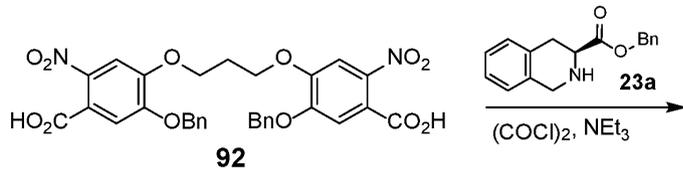
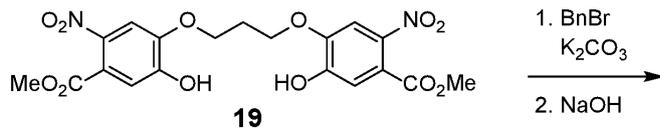
도면14



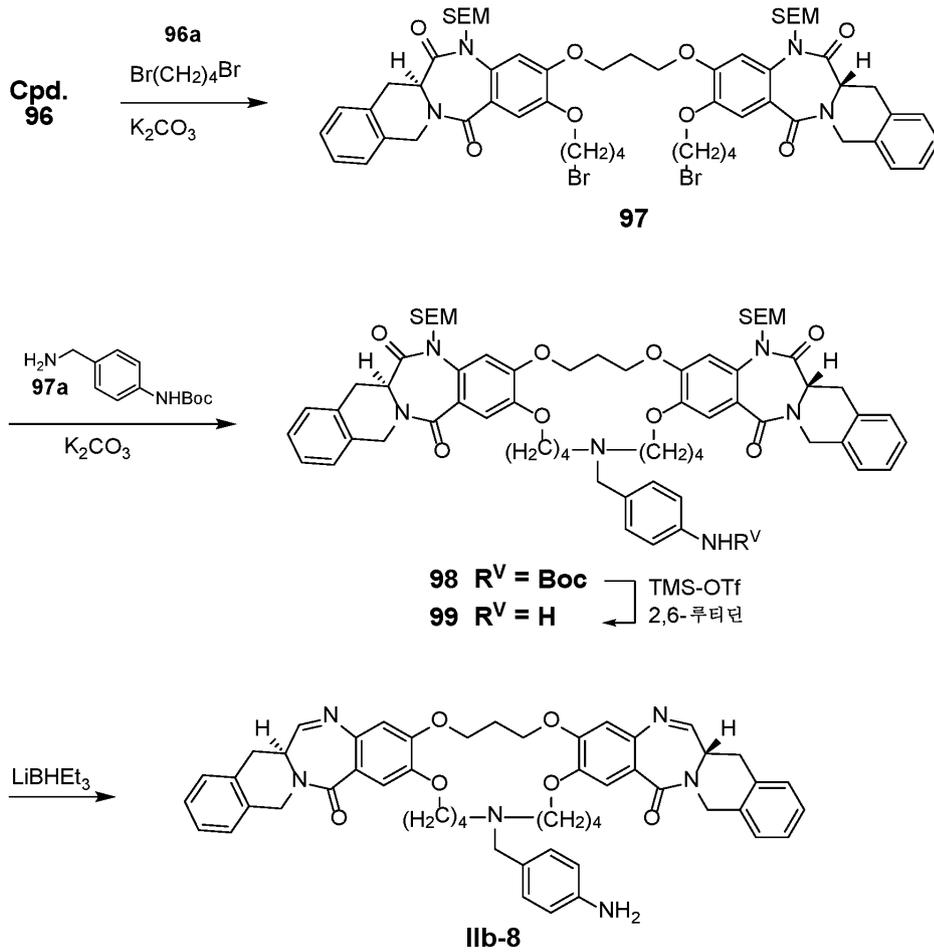
도면15



도면16a

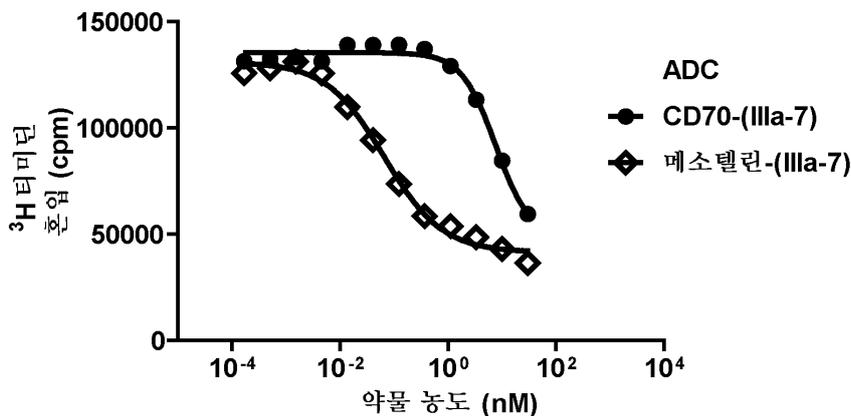


도면16b



도면17

N87 위암 세포에 대한 ADC의 활성



ADC	CD70-(IIIa-7)	메소텔린-(IIIa-7)
EC <sub>50</sub> (nM)	7.6	0.066