



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0120777  
(43) 공개일자 2016년10월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 47/48* (2006.01) *A61K 38/08* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*A61K 47/48376* (2013.01)  
*A61K 38/08* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-7025612
- (22) 출원일자(국제) 2015년02월17일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2016년09월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/016185
- (87) 국제공개번호 WO 2015/123679  
국제공개일자 2015년08월20일
- (30) 우선권주장  
61/940,759 2014년02월17일 미국(US)  
61/947,368 2014년03월03일 미국(US)

- (71) 출원인  
시애틀 지네티스, 인크.  
미국 98021 워싱턴주 보델 30번 드라이브  
에스.이. 21823
- (72) 발명자  
도로니나 스베트라나  
미국 워싱턴 98021 보델 30 드라이브 사우스아이스트 21823  
라이언 로버트  
센터 피터  
미국 워싱턴 98021 보델 30 드라이브 사우스아이스트 21823
- (74) 대리인  
송봉식, 정삼영

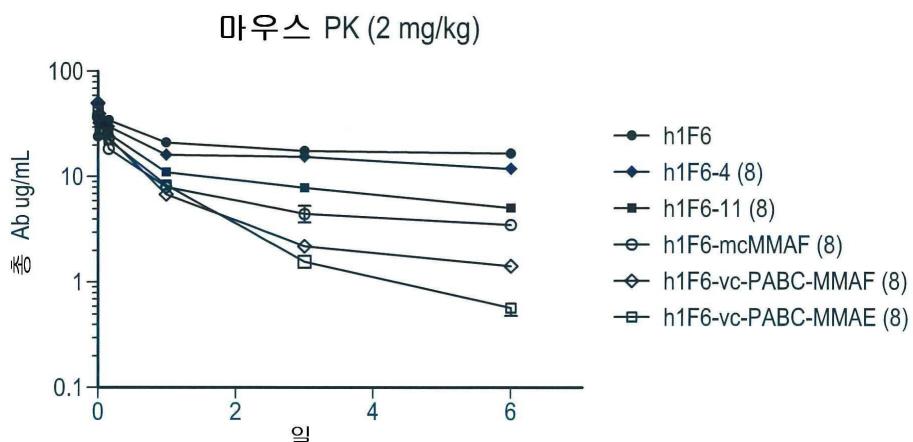
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 친수성 항체-약물 컨쥬게이트

### (57) 요 약

친수성 링커, 약물-링커 화합물, 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물 및 리간드-링커 및 이것들을 만들고 사용하는 방법이 제공된다.

### 대 표 도



(52) CPC특허분류  
**A61K 47/48715** (2013.01)

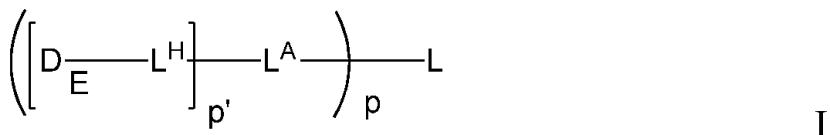
---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

다음 식을 가지는 친수성 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물:

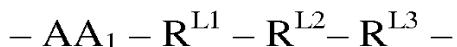


상기 식에서:

$L$ 은 표적에 특이적으로 결합하는 리간드이고;

$L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

$L^H$ 는 선택적으로 분지된 친수성 링커이며,  $L^H$ 의 각각의 분지는 다음 식을 갖고:



상기 식에서:

$AA_1$ 은 부착되는  $D_E$ 와 절단 가능 결합을 형성하는 친수성 아미노산이고;

$R^{L1}$ 은 선택적이고  $R^{L1}$ 이 존재하고  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$ 는 없을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌이고;

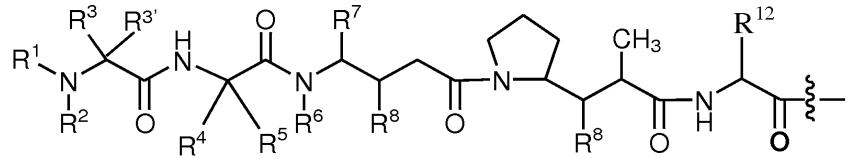
$R^{L2}$ 는 선택적이고  $R^{L2}$ 가 존재하고  $R^{L3}$ 는 없을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

$R^{L3}$ 는 선택적이고  $R^{L3}$ 가 존재할 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

아래 첨자  $p$ 는 약 4 내지 약 20의 정수이고;

아래 첨자  $p'$ 는 1 내지 4의 정수이고;

각각의  $D_E$ 는 다음 식을 가진 아우리스타틴 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물이며,



상기 식에서:

$R^1$  및  $R^2$ 는 각각 수소 (H) 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고; 단  $R^3$  및  $R^3'$  둘 다가 H가 아닌 경우 외에는,  $R^1$  및  $R^2$  둘 다는 H가 아니고;

$R^3$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고;

$R^3'$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,  $R^3$  및  $R^{3'}$  중 적어도 하나는 H가 아니고;

$R^4$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,

$R^5$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되거나, 또는  $R^4$  및  $R^5$ 는 공동으로 탄소환식 고리를 형성하고 식  $-(CR^aR^b)_n-$ 를 가지며,  $R^a$  및  $R^b$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고 n은 2, 3, 4, 5 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되고;

$R^6$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,

$R^7$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,

각각의  $R^8$ 은 H, -OH, 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬, 및 선택적으로 치환된  $-O-(C_1-C_8$  알킬)로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고;

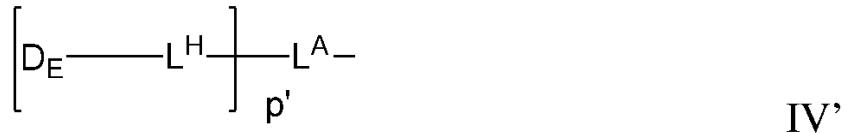
$R^{12}$ 는 트레오닌, 세린, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 호모세린, 하이드록시발린, 푸릴알라닌, 트레오닌( $PO_3H_2$ ), 피라졸릴 알라닌, 트리아졸릴 알라닌 및 티아졸릴 알라닌으로 구성된 군의 측쇄; 또는 이것들의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물로부터 선택되고;

$L^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 공유 결합에 의한 부착을 나타내고;

약물-리간드 컨쥬게이트는 2 미만의 친수성 지수를 가진다.

## 청구항 2

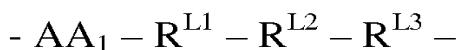
다음 식을 가지는 약물-링커 화합물 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물:



상기 식에서:

$L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

$L^H$ 는 다음 식을 가지는 선택적으로 분지된 친수성 링커이고:



상기 식에서:

$AA_1$ 은 부착되는  $D_E$  유닛과 절단 가능 결합을 형성하는 친수성 아미노산이고;

$R^{L1}$ 은 선택적이고  $R^{L3}$  및  $R^{L3}$ 이 존재하지 않을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

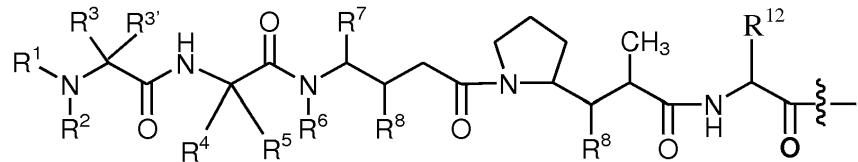
$R^{L2}$ 는 선택적이고  $R^{L2}$ 가 존재하고  $R^{L3}$ 가 존재하지 않을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

$R^{L3}$ 는 선택적이고  $R^{L3}$ 가 존재할 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

$L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

아래 첨자 p'는 1 내지 4의 정수이고;

각각의  $D_E$ 는 다음 식을 가지는 아우리스타틴 (Aur) 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물이며:



상기 식에서:

$R^1$  및  $R^2$ 는 각각 수소 (H) 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고; 단  $R^3$  및  $R^{3'}$  둘 다가 H가 아닌 경우에는,  $R^1$  및  $R^2$  둘 다는 H가 아니고;

$R^3$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고;

$R^{3'}$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,  $R^3$  및  $R^{3'}$  중 적어도 하나는 H가 아니고;

$R^4$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,

$R^5$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되거나, 또는  $R^4$  및  $R^5$ 는 공동으로 탄소환식 고리를 형성하고 식  $-(CR^aR^b)_n-$ 을 가지며,  $R^a$  및  $R^b$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고 n은 2, 3, 4, 5 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되고;

$R^6$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,

$R^7$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,

각각의  $R^8$ 은 H, -OH, 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬, 및 선택적으로 치환된  $-O-(C_1-C_8$  알킬)로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고;

$R^{12}$ 는 트레오닌, 세린, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 호모세린, 하이드록시발린, 푸릴알라닌, 트레오닌( $P0_3H_2$ ), 피라졸릴 알라닌, 트리아졸릴 알라닌 및 티아졸릴 알라닌으로 구성된 군의 측쇄; 또는 이것들의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물로부터 선택되고;

$L^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 공유 결합에 의한 부착을 나타낸다.

### 청구항 3

제1 항 또는 제2 항에 있어서,  $L^H$ 는 변형된 웨타이드를 포함하고, 적어도 하나의  $R^{L1}$ ,  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$ 는 측쇄 상의 반응기에 의해 인접한 기에 공유 결합되는 아미노산인 것을 특징으로 하는 화합물; 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 4

제1 항 내지 제3 항 중 어느 한 항에 있어서,  $R^{12}$ 는 L-트레오닌의 측쇄인 것을 특징으로 하는 화합물; 또는 이것

의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 5

제1 항 및 제3 항 및 제4 항 중 어느 한 항에 있어서, 약물-리간드 컨쥬게이트의 p는 적어도 8인 것을 특징으로 하는 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물; 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 6

제5 항에 있어서, 약물-리간드 컨쥬게이트의 p는 적어도 10인 것을 특징으로 하는 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물; 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 7

제5 항에 있어서, 약물-리간드 컨쥬게이트의 p는 적어도 16인 것을 특징으로 하는 화합물; 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 8

제1 항 내지 제7 항 중 어느 한 항에 있어서,  $L^A$ 는 석신이미드 또는 가수분해된 석신이미드인 것을 특징으로 하는 화합물; 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 9

다음 식을 가지는 화합물 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물:

$$(a) (L^H)_{p'} - L^A$$

상기 식에서:

$L^H$ 는 선택적으로 분지된 친수성 링커이며,  $L^H$ 의 각각의 분지는 다음 식을 갖고:

$$- AA_1 - R^{L1} - R^{L2} - R^{L3} -$$

$L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

$p'$ 는 1 내지 4의 정수이고;

$L^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타내거나; 또는

다음 식을 가지는 화합물 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물:

$$(b) ([L^H]_{p'} - L^A)_p - L$$

상기 식에서:

$L$ 은 표적에 특이적으로 결합하는 리간드이고;

$L^H$ 는 선택적으로 분지된 친수성 링커이며,  $L^H$ 의 각각의 분지는 다음 식을 갖고:

$$- AA_1 - R^{L1} - R^{L2} - R^{L3} -$$

$L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

아래 첨자  $p$ 는 약 4 내지 20의 정수이고;

아래 첨자 p'는 1 내지 4의 정수이고;

$L^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착 부위를 나타내고;

(a) 또는 (b)에서:

$AA_1$ 은 부착되는  $D_E$  유닛과 절단 가능 결합을 형성할 수 있는 친수성 아미노산이고;

$R^{L1}$ 은 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 이것들은  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$ 이 존재하지 않을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있고;

$R^{L2}$ 는 선택적이고  $R^{L2}$ 가 존재하고  $R^{L3}$ 가 존재하지 않을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

$R^{L3}$ 는 선택적이고  $R^{L3}$ 가 존재할 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택된다.

## 청구항 10

제1 항 내지 제9 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 식에서:

(a)  $AA_1$ 은 글리신 및 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라진, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 형으로 구성되는 군으로부터 선택된 친수성 아미노산이고;

(b)  $R^{L1}$ 이 존재할 때, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라진, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-NH - CH(R^a) - CO-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b -$  (여기에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$  및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CO-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO-$  및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO-$ 로부터 선택됨); 및

$-NH-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-COOH$ ,  $-N(C_1 - C_3$  알킬),  $-NH_2$  또는  $-NH(C_1 - C_3$  알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $C_1 - C_6$  알킬렌으로 구성된 군으로부터 선택되고;

(c)  $R^{L2}$ 가 존재할 때, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라진, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-NH - CH(R^a) - CO-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b -$  (여기에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$  및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CO-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO-$  및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO-$ 로부터 선택됨); 및

$-NH-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-COOH$ ,  $-N(C_1 - C_3$  알킬),  $-NH_2$  또는  $-NH(C_1 - C_3$  알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $C_1 - C_6$  알킬렌으로 구성된 군으로부터 선택되고;

(d)  $R^{L3}$ 가 존재할 때, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라진, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-NH - CH(R^a) - CO-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b -$  (여기에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$  및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CO-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO-$  및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO-$ 로부터 선택됨); 및

$-NH-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-COOH$ ,  $-N(C_1 - C_3$  알킬),  $-NH_2$  또는  $-NH(C_1 - C_3$  알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적

으로 치환된 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> 알킬렌으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 화합물, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 11

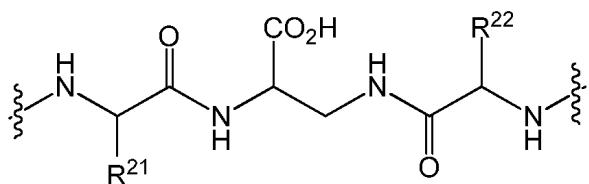
제1 항 내지 제10 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 식에서:

- (a) AA<sub>1</sub>은 존재하고 R<sup>L1</sup>, R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup>은 없고;
- (b) AA<sub>1</sub>은 존재하고, R<sup>L1</sup>은 존재하고 R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup>은 없고;
- (c) AA<sub>1</sub>은 존재하고, R<sup>L1</sup>은 존재하고, R<sup>L2</sup>는 존재하고 R<sup>L3</sup>은 없고;
- (d) AA<sub>1</sub>은 존재하고, R<sup>L1</sup>은 존재하고, R<sup>L2</sup>는 존재하고 R<sup>L3</sup>은 존재하고;
- (e) AA<sub>1</sub>은 존재하고 R<sup>L1</sup>, R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup> 중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이고;
- (f) AA<sub>1</sub>은 글루타메이트이고 R<sup>L1</sup>, R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup> 중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이고;
- (g) AA<sub>1</sub>은 글루타메이트이고, R<sup>L1</sup>은 친수성 아미노산이고 R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup> 중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이고;
- (h) AA<sub>1</sub> 및 R<sup>L1</sup>은 친수성 아미노산이고 R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup> 중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이고;
- (i) AA<sub>1</sub>은 친수성 아미노산이고 R<sup>L1</sup> 및 선택적으로 R<sup>L2</sup>는 선택적으로 치환된 알킬렌이고;
- (j) AA<sub>1</sub>은 존재하고 R<sup>L1</sup>, R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup> 중 적어도 하나는 존재하고 에틸렌디아민, -NH - CH(COOH) - CH<sub>2</sub> -NH - 및 -CO - CH(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) -로 구성된 군으로부터 선택되는 선택적으로 치환된 알킬렌이고;
- (k) AA<sub>1</sub>은 글루타메이트이고, R<sup>L1</sup>은 친수성 아미노산이고 R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup> 중 적어도 하나는 존재하고 에틸렌디아민, -NH - CH(COOH) - CH<sub>2</sub> -NH - 및 -CO - CH(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) -로 구성된 군으로부터 선택되는 선택적으로 치환된 알킬렌이고;
- (l) AA<sub>1</sub> 및 R<sup>L1</sup>은 친수성 아미노산이고 R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup> 중 적어도 하나는 존재하고 에틸렌디아민, -NH - CH(COOH) - CH<sub>2</sub> -NH - 및 -CO - CH(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) -로 구성된 군으로부터 선택되는 선택적으로 치환된 알킬렌이고; 또는
- (m) AA<sub>1</sub>은 친수성 아미노산이고 R<sup>L1</sup> 및 선택적으로 R<sup>L2</sup>는 에틸렌디아민, -NH - CH(COOH) - CH<sub>2</sub> -NH - 및 -CO - CH(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) -로 구성된 군으로부터 선택되는 선택적으로 치환된 알킬렌인 것을 특징으로 하는 화합물, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 12

제1 항 내지 제11 항 중 어느 한 항에 있어서, -L<sup>H</sup>-은 다음 식을 가지는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물:



상기 식에서:

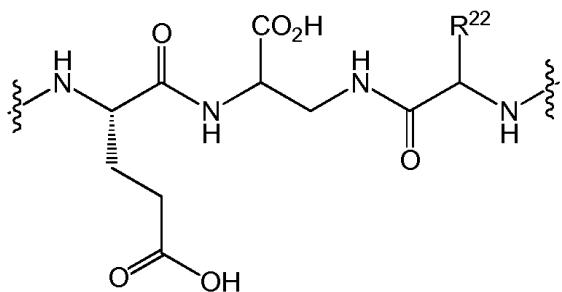
R<sup>21</sup>은 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로 구성된 군으로부터 선택되고;

R<sup>22</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>OH로 구성된 군으로부터 선택되고;

왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub>, H 또는 보호 기, 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

### 청구항 13

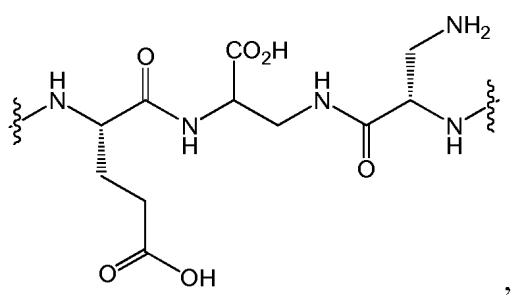
제1 항 내지 제12 항 중 어느 한 항에 있어서, -L<sup>H</sup>-는 다음 식을 가지는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물:

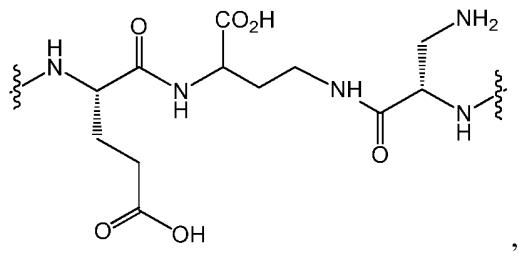


상기 식에서 R<sup>22</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH로부터 선택되고; 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub>, H 또는 보호 기, 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

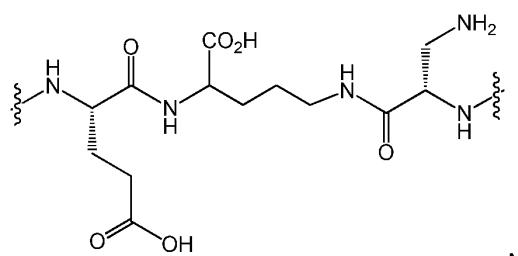
### 청구항 14

제1 항 내지 제13 항 중 어느 한 항에 있어서, -L<sup>H</sup>-는 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 식을 가지는 것을 특징으로 하는 화합물, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물:

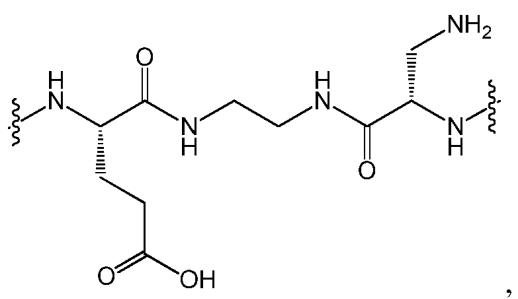




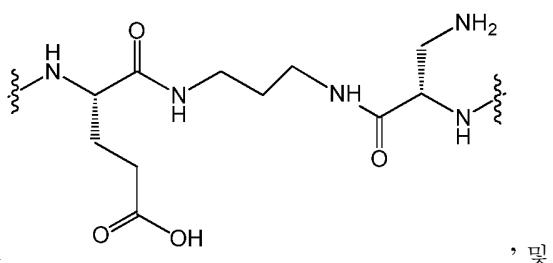
,



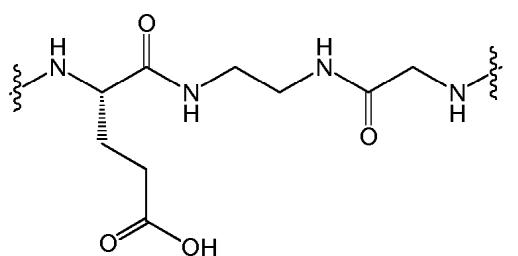
,



,



, 및

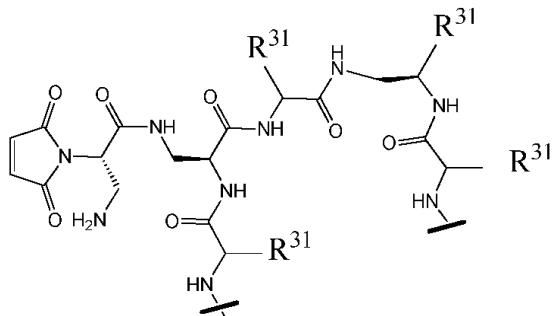


상기 식에서 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub>, H 또는 보호 기, 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

### 청구항 15

제1 항 내지 제14 항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) 약물-링커 화합물의  $L^A-L^H$ 는 다음 식을 가지며:

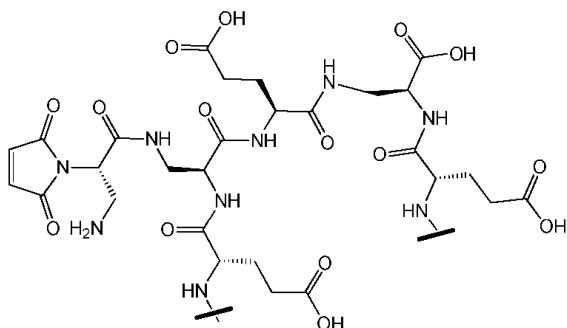


상기 식에서 각각의  $R^{31}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고; 각각의 막대는  $D_E$  유닛에 대한 부착 부위를 나타내거나; 또는

(b) (a)의  $L^A-L^H$ 는 말레이이미드 기가 리간드 유닛의 티올기에 공유 결합에 의해 부착되는 것을 특징으로 하는 화합물, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 16

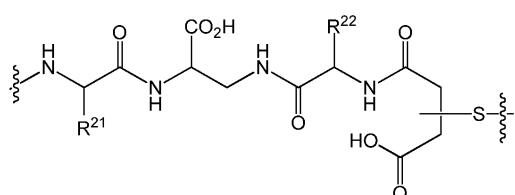
제1 항 내지 제15 항 중 어느 한 항에 있어서, 약물-링커 화합물의  $L^A-L^H$ 는 다음 식을 가지고:



각각의 막대는  $D_E$  유닛에 대한 부착을 나타내며, 말레이이미드 기는 선택적으로 리간드 유닛의 티올기에 공유 결합에 의해 부착되는 것을 특징으로 하는 화합물, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 17

제1 항 내지 제16 항 중 어느 한 항에 있어서, 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물의  $-L^A-L^H$ 는 다음 식을 가지는 것을 특징으로 하는 화합물, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물:



상기 식에서

$R^{21}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로 구성된 군으로부터 선택되고;

$R^{22}$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ 로 구성된 군으로부터 선택되고; 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  및 리간드 유닛 (L)으로의 부착을 나타내고; 황 원자는 리간드 유닛의 것이다.

### 청구항 18

제1 항 내지 제17 항 중 어느 한 항에 있어서, 약물-리간드 컨쥬제이트 또는 리간드-링커 화합물의 리간드 유닛 (L)은 단백질, 폴리펩타이드 또는 웨بت아이드인 것을 특징으로 하는 화합물.

### 청구항 19

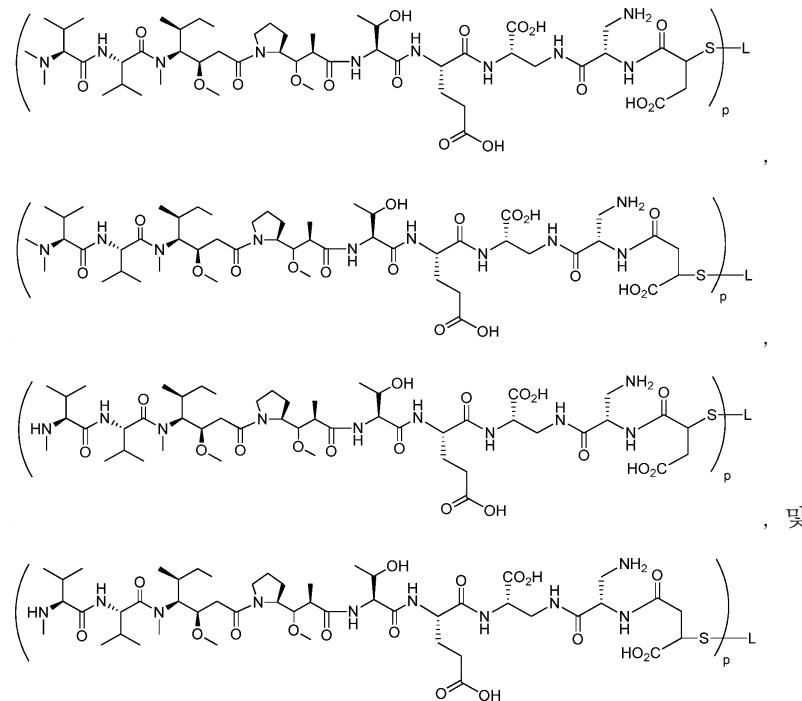
제1 항 내지 제18 항 중 어느 한 항에 있어서, 약물-리간드 컨쥬제이트 또는 리간드-링커 화합물의 리간드 유닛 (L)은 항체인 것을 특징으로 하는 화합물, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 20

제1 항 내지 제19 항 중 어느 한 항에 있어서,  $L^A$ 는 말레이미드 또는 말레이미도 디아미노프로파온산으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

### 청구항 21

제1 항에 있어서, 다음으로부터 선택된 식을 가지는 것을 특징으로 하는 친수성 약물-리간드 컨쥬제이트; 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물:



상기 식에서 S는 리간드의 황 원자이다.

### 청구항 22

제1 항 내지 제21 항 중 어느 한 항의 약물-리간드 컨쥬제이트 화합물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 필요로 하는 환자를 치료하는 방법으로서, 환자는 암, 자가면역 질환 또는 전염성 질환에 걸려 있고 약물-리간드 컨쥬제이트 화합물의 리간드는 암, 자가면역 질환 또는 전염성 질환과 관련된 표적 세포에 특이적으로 결합하는 방법.

### 청구항 23

제22 항에 있어서, 약물-리간드 컨쥬제이트 화합물은 0.1 내지 10 mg/kg의 용량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 24**

제22 항 또는 제23 항에 있어서,

(a) p는 적어도 8이고 환자에게 투여된 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물의 용량은 같은 약물 링커를 가진 2 로딩된 컨쥬게이트와 같거나 더 적고;

(b) p는 적어도 8이고 환자에게 투여된 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물의 용량은 같은 약물 링커를 가진 4 로딩된 컨쥬게이트와 같거나 더 적고;

약물-리간드 컨쥬게이트 화합물 및 2 또는 4 로딩된 컨쥬게이트는 비슷한 일정으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 25**

제22 항 내지 제24 항 중 어느 한 항에 있어서, 환자는 인간인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 26**

제1 항 내지 제21 항 중 어느 한 항의 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염의 유효량, 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 27**

제26 항에 있어서, 암, 자가면역 질환 또는 전염성 질환의 치료 방법에 사용되며, 선택적으로

(a) 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물은 단위 투약 주사 가능 형태로 제형화되거나;

(b) 환자에게 투여된 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물의 양은 약 0.1 내지 약 10 mg/kg 환자 체중의 범위에 있거나; 또는

(c) 약물-리간드 컨쥬게이트 화합물은 정맥 내로 투여되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

**발명의 설명****기술 분야**

[0001] 본 출원은 2014년 2월 17일에 출원한 미국 가특허 출원 번호 61/940,759, 및 2014년 3월 3일에 출원한 미국 가특허 출원 번호 61/947,368의 이익을 주장하며, 이것들 각각은 그 전문이 본원에 포함된다.

**배경 기술**

[0002] 많은 관심이 세포독성제의 암세포로의 표적화된 전달을 위한 단클론성 항체 (mAb)의 사용을 둘러싸고 있다. 전형적으로 링커를 통한 항체로의 세포독성제의 부착에 의한 항체 약물 컨쥬게이트의 디자인은 다양한 요인의 고려사항을 수반한다. 이러한 요인들은 세포독성제의 컨쥬게이션을 위한 화학 기(들)의 정체 및 위치, 세포독성제의 방출 메커니즘, 약제의 방출을 제공하는 (존재하면) 구조적 요소(들), 및, 존재하면, 방출된 유리 약제의 구조적 변형을 포함한다. 이에 더하여, 세포독성제가 항체 내재화 이후 방출되어야 하면, 약제 방출을 위한 구조적 요소 및 이것의 메커니즘은 컨쥬게이트의 세포 내 수송과 일치해야 한다.

[0003] 임상적 개발을 정당화하기 위해, 여러 가지 약물 클래스가 항체를 통한 전달에 대하여 평가되는 한편, 소수의 약물 클래스만이 적합한 독성 프로파일을 가지면서, 항체-약물 컨쥬게이트로서 충분히 활성인 것으로 입증된다. 이러한 하나의 클래스는 아우리스타틴이며, 천연물 돌라스타틴 10에 관한 것이다. 대표적인 아우리스타틴은 MMAE (N-메틸발린-발린-돌라이소류신-돌라프로인-노르에페드린) 및 MMAF (N-메틸발린-발린-돌라이소류신-돌라프로인-페닐알라닌)를 포함한다.

[0004] MMAE는 유리 약물로서 활성인 세포 독성제의 예이고, 단클론성 항체 (mAb)에 컨쥬게이션될 때 매우 강력하며, 세포로 내재화 이후 방출된다. MMAE는 MMAE의 N-말단 아미노산에서 말레이미도카프로일-발린-시트룰린 (mc-vc-) 및 자기-희생 기, p-아미노벤질-카바모일 (PABC)을 함유하는 카텝신 B 절단 가능 웹타이드-기반 링커를 통해 mAb에 성공적으로 컨쥬게이션되어 구조  $mAb-(mc-vc-PABC-MMAE)_p$ 의 항체 약물 컨쥬게이트를 생성하였다. (상기 식에서, p는 mAb 또는 항체 당 ( $mc-vc-PABC-MMAE$ ) 유닛의 수를 말한다). vc 웹타이드와 자기-희생 PABC 기

사이에서 결합의 절단시, PABC 군은 MMAE로부터 스스로를 방출하여, 유리 MMAE를 해방시킨다.

[0005] 또 다른 아우리스타틴, MMAF는 유리 약물로서 비교적 덜 활성이지만 (MMAE와 비교하여), 항체와 컨쥬게이션되고 내재화되어 세포로 방출된 후 매우 강력하다. MMAF는 MMAF의 N-말단 아미노산에서 말레이미도카프로일-발린-시트룰린 (mc-vc-) 및 자기-희생성 기 p-아미노벤질-카바모일 (PABC)을 함유하는 카텝신 B 절단 가능 웹타이드-기반 링커를 통해 단클론성 항체 (mAb)에 성공적으로 컨쥬게이션되어 구조, mAb-(mc-vc-PABC-MMAF)<sub>p</sub>의 항체-약물 컨쥬게이트를 생성한다. (p는 mAb 또는 항체 당 (mc-vc-PABC-MMAF) 유닛의 수를 말한다). 웹타이드와 PABC 서브 유닛 사이의 결합의 절단시, 자기-희생성 PABC 기는 MMAF로부터 스스로를 방출하여, 유리 MMAF를 해방시킨다.

[0006] MMAF는 또한 비-절단 가능 컨쥬게이트로서 활성이며, 약물-링커 말레이미도카프로일 MMAF (mcMMAF)를 함유한다. 이 컨쥬게이트, mAb-(mcMMAF)<sub>p</sub>가 세포로 내재화될 때, 방출된 활성종은 cys-mcMMAF이다. 링커는 절단 가능하지 않기 때문에, 말레이미도카프로일 및 항체의 시스테인 잔기는 MMAF의 N-말단에 부착된 채로 남아있다. MMAF는 또한 C-말단 컨쥬게이트로서 활성이며, 그것의 C-말단 아미노산, 페닐알라닌에서, 웹타이드-말레이미도카프로일 링커에 부착되는 것으로 보고되었다. 이 컨쥬게이트, (MMAF-웹타이드-mc)<sub>p</sub>-mAb가 세포로 내재화될 때, 활성종, MMAF는 MMAF(페닐알라닌)-웹타이드 결합의 절단 이후 방출된다.

[0007] 동물 모델에서, 이 MMAE 및 MMAF 컨쥬게이트는 일반적으로 약물동력학적 성질의 약물 로딩-의존적 감소를 나타낸다. 특히, 각 항체에 부착된 약물-링커 유닛의 수가 증가함에 따라, 컨쥬게이트의 약물동력학 (PK)이 감소하였다.

[0008] 그러므로, 항체-약물 컨쥬게이트의 설계에서 또 다른 중요한 인자는 표적화제 당 전달될 수 있는 약물의 양 (즉, 각 표적화제 (예를 들어, 항체)에 부착된 세포 독성제의 수, 약물 로드(load) 또는 약물 로딩/loading)으로 불립)이다. 역사적으로, 더 높은 약물 로드가 더 낮은 약물 로드보다 우수한 것으로 가정하였다 (예를 들어, 8-로드 대 4-로드). 그 근거는 더 높게 로딩된 컨쥬게이트가 표적화된 세포에 더 많은 약물 (세포 독성제)을 전달한다는 것이었다. 이 근거는 시험관 내에서 (*in vitro*) 더 높게 약물 로딩된 컨쥬게이트가 세포주에 더 활성이이라는 관찰에 의해 지지되었다. 하지만, 추후의 어떤 연구는 이 가정이 동물 모델에서는 확인되지 않았다는 것을 나타냈다. 특정 아우리스타틴의 4 또는 8의 약물 로드를 가진 컨쥬게이트는 마우스 모델에서 유사한 활성을 갖는 것으로 관찰되었다. 예를 들어, Hamblett *et al.*, *Clinical Cancer Res.* 10:7063-70 (2004) 참조. Hamblett *et al.*은 동물 모델에서 더 높게 로딩된 ADC가 더 빠르게 순환으로부터 제거된다고 추가로 보고하였다. 이러한 더 빠른 클리어런스 (clearance)는 더 낮게 로딩된 종과 비교하여 더 높게 로딩된 종에 대한 PK 책임 (PK liability)을 제안하였다. Hamblett *et al.* 참조. 이에 더하여, 마우스에서 더 높게 로딩된 컨쥬게이트는 더 낮은 MTD를 가지며, 결과로서 치료 지수가 더 좁게 보고되었다. *Id.* 그에 반해, 단클론성 항체의 조작된 부위에서 2의 약물 로딩을 가지는 ADC는 어떤 4-로딩된 ADC와 비교하여 같거나 더 양호한 PK 성질 및 치료 지수를 갖는 것으로 보고되었다. 예를 들어, Junutula *et al.*, *Clinical Cancer Res.* 16:4769 (2010) 참조. 따라서, 최근의 추세는 낮은 약물 로딩을 가진 ADC를 개발하는 것이다.

[0009] 더 높게 로딩된 ADC의 PK 책임을 극복하기 위한 대안의 접근법은 가용화 기를 ADC에 부착하는 것이었다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 폴리머 또는 다른 수용성 폴리머는 PK 책임을 극복하려는 시도로 링커에 포함되었다 (예를 들어, 약물 및 항체의 부착 부위 사이에). 또 다른 접근법은 약물-폴리머를 항체에 부착하는 것인데, 각각의 폴리머는 많은 약물을 함유한다. 하지만, 이 대안들이 반드시 원하는 결과를 달성하는 것은 아니었다. 이에 더하여, 가용화 기의 부착은 이러한 컨쥬게이트의 복합체의 제조를 증가시킬 수도 있다.

[0010] 그러므로, 항체 약물 컨쥬게이트 포맷 (및 더 일반적으로는 다른 컨쥬게이트에 대한 포맷)은 더 높은 약물 로딩을 허용하는 한편, 더 낮게 로딩된 컨쥬게이트의 다른 원하는 특징들, 예를 들어, 바람직한 PK 성질을 유지할 필요가 있다. 놀랍게도, 본 발명은 상기 요구들을 해결한다.

### 발명의 내용

[0011] 본 발명은, 그 중에서도, 친수성 리간드-링커-약물 컨쥬게이트를 제공한다. 컨쥬게이트를 컨쥬게이션되지 않은 표적화제 (예를 들어, 항체와 같은 리간드)와 유사한 친수성을 갖도록 설계함으로써, 컨쥬게이트는 생체 내에서 컨쥬게이션되지 않은 표적화제와 유사한 약물동력학적 (PK) 성질을 제공하는 능력을 보유한다. 컨쥬게이트는 또한, 더 낮게 로딩된 컨쥬게이트와 비교하여, 더 높은 약물 로딩 (즉, 표적화제 당 더 많은 수의 친수성 약물-링커)을 가질 수 있는 한편, 생체 내에서 바람직한 PK 성질을 보유하고 같거나 더 나은 활성을 갖는다. (예를 들어, 4-로딩된 또는 8-로딩된 컨쥬게이트는 각각 그것들의 2 또는 4 로딩된 대응물과 같거나 더 나은 PK 성질을

가질 수 있다; 이러한 4-로딩된 또는 8-로딩된 컨쥬케이트는 각각 그것들의 2 또는 4 로딩된 대응물과 같거나 더 나은 활성을 가질 수 있다). 따라서, 특정한 바람직한 성질을 기반으로 선택된 표적화제는 실질적으로 표적화제 단독의 PK 성질과 같은 바람직한 성질을 손상시키지 않으면서 약물 링커와 컨쥬케이션될 수 있다. 또한 이러한 컨쥬케이트를 만들고 사용하는 방법이 제공된다.

[0012] 또한 표적화제 (리간드)에 컨쥬케이션되는 링커 약물 화합물 및 이러한 화합물의 제조 및 사용 방법이 제공된다. 또한 약물 화합물이 부착될 수 있는 리간드-링커 화합물, 뿐만 아니라 이러한 화합물의 제조 및 사용 방법이 제공된다.

### 도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 본원에서 기술된 리간드-링커-약물 컨쥬케이트의 조립체에 대한 예시의 합성 계획을 도시한다.

도 2는 컨쥬케이션되지 않은 항체, 두 개의 친수성 ADC 및 세 개의 대조군 ADC의 약물동력학적 안정성을 비교하는 마우스 연구의 결과를 나타낸다. ADC는 위에서 아래의 순서로 나타난다.

도 3는 다섯 개의 친수성 ADC 및 대조군 ADC의 약물동력학적 안정성을 비교하는 마우스 연구의 결과를 나타낸다.

도 4는 항체 약물 컨쥬케이트의 HIC 크로마토그래피의 결과를 나타낸다.

도 5는 항체 약물 컨쥬케이트의 HIC 크로마토그래피의 결과를 나타낸다.

도 6은 4-로딩된 및 8-로딩된 ADC의 활성을 비교하는 마우스 이종 이식 연구의 결과를 나타낸다.

도 7은 4-로딩된 및 8-로딩된 ADC의 활성을 비교하는 마우스 이종 이식 연구의 결과를 나타낸다.

도 8은 4-로딩된 및 8-로딩된 ADC의 활성을 비교하는 마우스 이종 이식 연구의 결과를 나타낸다.

도 9는 4-로딩된 및 8-로딩된 ADC의 활성을 비교하는 마우스 이종 이식 연구의 결과를 나타낸다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

#### 약어 및 정의

[0015] 달리 진술되지 않으면, 다음 용어 및 구절은 본원에서 사용된 바와 같이 다음 의미를 갖도록 의도된다. 본원에서 상표명이 사용될 때, 문맥상 달리 지시되지 않으면, 상표명은 제품 제형, 제네릭(generic) 약물, 및 상표명 제품의 활성 약학적 성분(들)을 포함한다.

[0016] 용어 "친수성 지수"는 표적화제 단독 (즉, 리간드, 전형적으로 항체)의 친수성에 관하여 컨쥬케이트의 친수성의 측정치를 말한다. 친수성 지수는 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 조건 하에 해당하는 컨쥬케이션되지 않은 표적화제 (단독)의 체류 시간에 대한 컨쥬케이트의 체류 시간으로서 측정되며, 본원에서 추가로 기술된 바와 같다. 예를 들어, 컨쥬케이션되지 않은 리간드 (전형적으로 항체)의 체류 시간에 비례하여, 리간드-링커-약물 컨쥬케이트의 체류 시간이 결정될 수 있다. 선택된 구체예에서, 컨쥬케이트의 체류 시간은 컨쥬케이션되지 않은 리간드의 체류 시간보다 더 느린 2분보다 더 길지 않으며, 실시예에서 기술된 바와 같이 결정된다 (친수성 지수 2로 불림). 특정 구체예에서, 컨쥬케이트의 체류 시간은 컨쥬케이션되지 않은 리간드의 체류 시간보다 더 느린 1분보다 더 길지 않으며, 실시예에서 기술된 바와 같이 결정된다 (친수성 지수 1로 불림). 특정 구체예에서, 컨쥬케이트의 체류 시간은 컨쥬케이션되지 않은 리간드의 체류 시간보다 더 느린 0.5분보다 더 길지 않으며, 실시예에서 기술된 바와 같이 결정된다 (친수성 지수 0.5로 불림). 다른 소수성 상호작용 컬럼 및/또는 방법이 사용되면, 그것은 선택된 컬럼 및/또는 방법에서 참조 컨쥬케이트 이동성 (용출 시간)을 결정하기 위해 참조로 표 2의 컨쥬케이트를 사용하여 보정될 수 있다. 이어서 선택된 소수성 상호작용 컬럼 및/또는 방법에서 결정된 참조 이동성은 테스트 물품의 친수성 지수를 계산하는데 사용될 수 있다 (하기 실시예 3에서 결정된 바와 같음). 예를 들어, 아우리스타틴 T - Glu- Dpr - MA, mc-MMAF 및 mc-vc-PABC-MMAE 약물 링커는 참조로 사용하기 위해 컨쥬케이트를 형성하는데 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, 아우리스타틴 T-Glu-Dpr-MA-h1F6 ADC, h1F6-mc-MMAF 및 h1F6-mc-vc-PABC-MMAE ADC가 참조로 사용될 수 있다.

[0017] 용어 "알킬"은, 그 자체로 또는 또 다른 치환기의 일부로서, 달리 진술되지 않으면, 직쇄(straight chain) 또는 지쇄(branched chain) 탄화수소 라디칼을 의미하며, 지정된 수의 탄소 원자를 갖는다 (즉, C<sub>1-8</sub>은 1 내지 8 개의 탄소를 의미한다). 알킬 기의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 아이소프로필, n-부틸, t-부틸, 아이소부틸, sec-부

틸, n-펜틸, n-헥실, n-헵틸, n-옥틸, 등을 포함한다. 용어 "알케닐"은 하나 이상의 이중 결합을 가진 불포화 알킬 기를 말한다. 유사하게, 용어 "알ки닐"은 하나 이상의 삼중 결합을 가진 불포화 알킬 기를 말한다. 이러한 불포화 알킬 기의 예는 비닐, 2-프로페닐, 크로틸, 2-아이소펜테닐, 2-(부타디에닐), 2,4-펜타디에닐, 3-(1,4-펜타디에닐), 에티닐, 1- 및 3-프로파닐, 3-부티닐, 및 고등 상동체 및 이성질체를 포함한다. 용어 "사이클로알킬"은 표시된 수의 고리 원자를 갖고 고리 베텐스(ring vertex) 사이에서 완전히 포화되거나 하나 이하의 이중 결합을 가진 탄화수소 고리 (예를 들어, C<sub>3-6</sub>사이클로알킬)를 말한다. "사이클로알킬"은 또한 이환식 및 다환식 탄화수소 고리, 예를 들어, 바이사이클로[2.2.1]헵탄, 바이사이클로[2.2.2]옥탄, 등을 말하는 것을 의미한다. 용어 "헤테로사이클로알칸" 또는 "헤테로사이클로알킬"은 N, O, 및 S로부터 선택된 1 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 사이클로알킬 기를 말하며, 질소 및 황 원자는 선택적으로 산화되고, 질소 원자(들)는 선택적으로 4차화된다(quaternized). 헤테로사이클로알칸은 일환식, 이환식 또는 다환식 고리 시스템일 수도 있다. 헤테로사이클로알칸 기의 비 제한적 예는 피롤리딘, 이미다졸리딘, 피라졸리딘, 부티로락탐, 발레로락탐, 이미다졸리논, 히단토인, 디옥솔란, 프탈리미드, 피페리딘, 1,4-디옥산, 모르폴린, 티오모르폴린, 티오모르폴린-S-옥시드, 티오모르폴린-S,S-옥시드, 피페라진, 피란, 피리돈, 3-피롤린, 티오피란, 피론, 테트라하이드로푸란, 테트라하이드로티오펜, 퀴누클리딘, 등을 포함한다. 헤테로사이클로알칸 기는 고리 탄소 또는 헤테로원자를 통해 문자의 나머지에 부착될 수 있다.

[0018] 용어 "알킬렌"은 그 자체로 또는 또 다른 치환기의 일부로서 알칸으로부터 유래된 2가 라디칼을 의미하며, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-로 예시된다. 전형적으로, 알킬 (또는 알킬렌) 기는 1 내지 24개의 탄소 원자를 가질 것이며, 10개 이하의 탄소 원자를 가진 상기 기들이 본 발명에서 바람직하다. "저급 알킬" 또는 "저급 알킬렌"은 더 짧은 사슬의 알킬 또는 알킬렌 기이며, 일반적으로 네 개 이하의 탄소 원자를 가진다. 유사하게, "알케닐렌" 및 "알키닐렌"은 각각 이중 또는 삼중 결합을 가진 "알킬렌"의 불포화 형태를 말한다.

[0019] 본원에서 사용된 바와 같이, 본원에서 도시된 어떠한 화학 구조에서도 단일, 이중 또는 삼중 결합과 교차하는 물결선, "~~~~"은 분자의 나머지로의 단일, 이중, 또는 삼중 결합의 부착점을 나타낸다.

[0020] 용어 "알콕시", "알킬아미노" 및 "알킬티오" (또는 티오알콕시)는 그것들의 통상적인 의미로 사용되고, 각각 산소 원자, 아미노 기, 또는 황 원자를 통해 문자의 나머지에 부착된 상기 알킬 기를 말한다. 추가적으로, 디알킬 아미노 기에 대하여, 알킬 부분은 같거나 다를 수 있으며 또한 각각이 부착되는 질소 원자를 가진 3-7 원자 고리를 형성하기 위해 결합될 수 있다. 따라서, 디알킬아미노 또는 -NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>로 표현되는 기는 피페리디닐, 피롤리디닐, 모르폴리닐, 아제티디닐 등을 포함하는 것을 의미한다.

[0021] 용어 "할로" 또는 "할로겐"은, 그 자체로 또는 또 다른 치환기의 일부로서, 달리 진술되지 않으면, 불소, 염소, 브롬, 또는 요오드 원자를 의미한다. 추가적으로, "할로알킬"과 같은 용어는 모노할로알킬 및 폴리할로알킬을 포함하는 것을 의미한다. 예를 들어, 용어 "C<sub>1-4</sub> 할로알킬"은 트리플루오로메틸, 2,2,2-트리플루오로에틸, 4-클로로부틸, 3-브로모프로필, 등을 포함하는 것을 의미한다.

[0022] 용어 "아릴"은, 달리 진술되지 않으면, 다불포화, 전형적으로 방향족, 탄화수소 기를 의미하며, 함께 융합되거나 공유 결합에 의해 결합된 단일 고리 또는 다중 고리 (최대 3개의 고리)일 수 있다. 용어 "헤테로아릴"은 N, O, 및 S로부터 선택된 1 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 아릴 기 (또는 고리)를 말하며, 질소 및 황 원자는 선택적으로 산화되고, 질소 원자(들)는 선택적으로 4차화된다. 헤테로아릴 기는 헤테로원자를 통해 문자의 나머지에 부착될 수 있다. 아릴 기의 비-제한적 예는 페닐, 나프틸 및 비페닐을 포함하는 한편, 헤테로아릴 기의 비-제한적 기는 피리딜, 피리다지닐, 피라지닐, 피리민디닐, 트리아지닐, 퀴놀리닐, 퀴녹살리닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 프탈라지닐, 벤조트리아지닐, 푸리닐, 벤즈아미다졸릴, 벤조피라졸릴, 벤조트리아졸릴, 벤즈아이속사졸릴, 아이소벤조푸릴, 아이소인돌릴, 인돌리지닐, 벤조트리아지닐, 티에노피리디닐, 티에노피리미디닐, 피라졸로피리미디닐, 이미다조피리딘, 벤조티악솔릴, 벤조푸라닐, 벤조티에닐, 인돌릴, 퀴놀릴, 아이소퀴놀릴, 아이소티아졸릴, 피라졸릴, 인다졸릴, 프테리디닐, 이미다졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 옥사졸릴, 아이속사졸릴, 티아디아졸릴, 피롤릴, 티아졸릴, 푸릴, 티에닐 등을 포함한다. 상기 명시된 아릴 및 헤테로아릴 고리 시스템 각각에 대한 치환기는, '치환된'으로 기술될 때, 하기 기술된 허용 가능한 치환기의 군으로부터 선택된다.

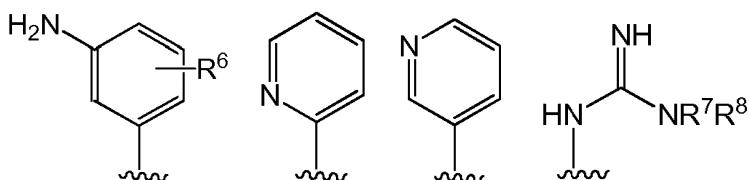
[0023] 용어 "아릴알킬"은 아릴 기가 알킬 기 (예를 들어, 벤질, 페네틸, 등)에 부착되는 상기 라디칼을 포함하는 것을 의미한다. 유사하게, 용어 "헤테로아릴-알킬"은 헤테로아릴 기가 알킬 기 (예를 들어, 피리딜메틸, 티아졸릴에틸, 등)에 부착되는 상기 라디칼을 포함하는 것을 의미한다.

[0024] 상기 용어 (예를 들어, "알킬", "아릴" 및 "헥테로아릴")은, 일부 구체예에서, 표시된 라디칼의 치환된 및 비치환된 형태 둘 다를 포함할 것이다. 각 유형의 라디칼에 대하여 바람직한 치환기는 하기 제공된다.

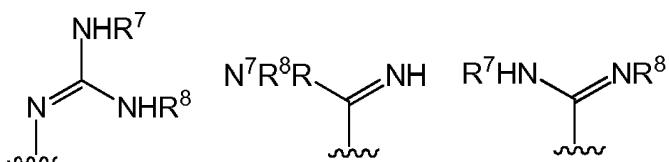
[0025] 문맥상 달리 지시되지 않으면, 알킬 라디칼에 대한 치환기 (종종 알킬렌, 알케닐, 알키닐 및 사이클로알킬로 불리는 상기 기를 포함함)는 0 내지 ( $m'+1$ )의 범위의 수로 -할로겐, -OR', -NR'R'', -SR', -SiR'R''R'', -OC(O)R', -C(O)R', -CO<sub>2</sub>R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR'C(O)R', -NR'-C(O)NR'R'', -NR''C(O)<sub>2</sub>R', -NH-C(NH<sub>2</sub>)=NH, -NR'C(NH<sub>2</sub>)=NH, -NH-C(NH<sub>2</sub>)=NR', -S(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -S(O)<sub>2</sub>NR'R'', -NR'S(O)<sub>2</sub>R'', -CN 및 -NO<sub>2</sub>로부터 선택된 다양한 군일 수 있으며,  $m'$ 는 이러한 라디칼에서 탄소 원자의 총 개수이다. R', R'' 및 R''' 각각은 독립적으로 수소, 비치환된 C<sub>1-8</sub> 알킬, 비치환된 아릴, 1-3개의 할로겐으로 치환된 아릴, 비치환된 C<sub>1-8</sub> 알킬, C<sub>1-8</sub> 할록시 또는 C<sub>1-8</sub> 티오알록시 기, 또는 비치환된 아릴-C<sub>1-4</sub> 알킬 기를 말한다. R' 및 R''가 같은 질소 원자에 부착될 때, 그것들은 3-, 4-, 5-, 6-, 또는 7-원자 고리를 형성하기 위해 질소 원자와 결합될 수 있다. 예를 들어, -NR'R''는 1-페롤리디닐 및 4-모르폴리닐을 포함하는 것을 의미한다.

[0026] 유사하게, 아릴 및 헥테로아릴 기에 대한 치환기는 다양하며 일반적으로 방향족 고리 시스템 상에서 0 내지 개방 원자가(open valences)의 총 수의 범위의 수로 -할로겐, -OR', -OC(O)R', -NR'R'', -SR', -R', -CN, -NO<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>R', -CONR'R'', -C(O)R', -OC(O)NR'R'', -NR'C(O)R', -NR''C(O)<sub>2</sub>R', -NR'-C(O)NR'R'', -NH-C(NH<sub>2</sub>)=NH, -NR'C(NH<sub>2</sub>)=NH, -NH-C(NH<sub>2</sub>)=NR', -S(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -S(O)<sub>2</sub>NR'R'', -NR'S(O)<sub>2</sub>R'', -N<sub>3</sub>, 퍼플루오로(C<sub>1-C</sub>4)알록시, 및 퍼플루오로(C<sub>1-C</sub>4)알킬로부터 선택되는데, 상기 식에서 R', R'' 및 R'''는 독립적으로 수소, C<sub>1-8</sub> 알킬, C<sub>1-8</sub> 할로알킬, C<sub>3-6</sub> 사이클로알킬, C<sub>2-8</sub> 알케닐, C<sub>2-8</sub> 알키닐, 비치환된 아릴 및 헥테로아릴, (비치환된 아릴)-C<sub>1-4</sub> 알킬, 및 비치환된 아릴옥시-C<sub>1-4</sub> 알킬로부터 선택된다. 다른 적합한 치환기는 1-4개의 탄소 원자의 알킬렌 테더(tether)에 의해 고리 원자에 부착된 상기 아릴 치환기 각각을 포함한다.

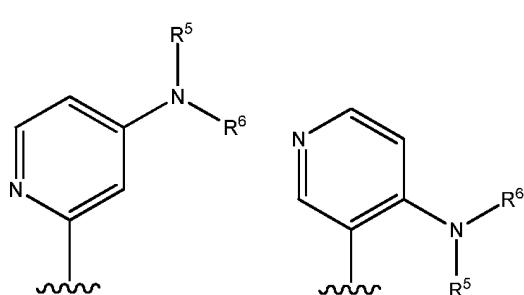
[0027] 용어 "염기"는 수산화 이온을 생성하기 위해 물을 탈양성자화하는 작용기를 말한다. 예시의 염기는 헥테로환을 함유하는 아민 및 질소이다. 대표적인 염기는 -N(R<sup>3</sup>)(R<sup>4</sup>)를 포함하는데 상기 식에서 R<sup>3</sup> 및 R<sup>4</sup>는 H 또는 C<sub>1-6</sub> 알킬, 아마도 H 또는 메틸,



[0028]



[0029]



[0030]

로부터 독립적으로 선택되고,

- [0032] 상기 식에서 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>은, 각각의 경우에, 수소 또는 C<sub>1-6</sub> 알킬, 바람직하게는 H 또는 메틸로부터 독립적으로 선택되고, e는 0-4이다. 일부 양태에서, 염기는 질소 염기이다.
- [0033] 용어 "항체"는 본원에서 광범위한 의미로 및 구체적으로 온전한 단클론성 항체, 다클론성 항체, 단일 특이적 항체, 다중 특이적 항체 (예를 들어, 이중 특이적 항체), 및 원하는 생물학적 활성 (즉, 표적 항원으로의 특이적 결합)을 나타내는 항체 단편을 커버한다. 온전한 항체는 주로 두 영역, 가변 영역 및 불변 영역을 갖는다. 가변 영역은 표적 항원에 특이적으로 결합하여 이것과 상호작용한다. 가변 영역은 특정 항원 상의 특이적 결합 부위를 인식하고 이것에 결합하는 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함한다. 불변 영역은 면역 시스템에 의해 인식되어 이것과 상호작용할 수도 있다 (예를 들어, Janeway *et al.*, 2001, *Immuno. Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York 참조). 항체는 어떠한 유형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, 및 IgA), 클래스 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 서브클래스도 될 수 있다. 항체는 어떠한 적합한 종으로부터 유래될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 또는 쥐 기원이다. 단클론성 항체는, 예를 들어, 인간, 인간화된 또는 키메라의 것일 수 있다.
- [0034] 용어 "단클론성 항체"는 본원에서 사용된 바와 같이 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 얻어진 항체를 말한다, 즉, 상기 집단을 포함하는 개개의 항체는 소량으로 존재할 수도 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 단클론성 항체는 매우 특이적이며, 단일 항원 부위로 유도된다. 수식어 "단클론성"은 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 얻어진 항체의 특징을 나타내고, 어떠한 특정 방법에 의한 항체의 생산이 필요한 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0035] "온전한 항체"는, 항체 클래스에 따라 적절하게, 항원-결합 가변 영역, 뿐만 아니라 경쇄 불변 도메인 (C<sub>L</sub>) 및 중쇄 불변 도메인, C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub>, C<sub>H3</sub> 및 C<sub>H4</sub>를 포함하는 것이다. 불변 도메인은 고유한 서열 불변 도메인 (예를 들어, 인간 고유한 서열 불변 도메인) 또는 이것의 아미노산 서열 변이체일 수도 있다.
- [0036] "항체 단편"은 온전한 항체의 일부를 포함하며, 이것의 항원-결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, 및 Fv 단편, 디아바디(diabody), 트리아바디(triabody), 테트라바디(tetrabody), 선형 항체, 단일-사슬 항체 분자, scFv, scFv-Fc, 항체 단편(들)으로부터 형성된 다중 특이적 항체 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편(들), 또는 표적 항원 (예를 들어, 암세포 항원, 바이러스 항원 또는 미생물 항원)에 특이적으로 결합하는 상기의 것들 중 어느 것의 에피토프-결합 단편을 포함한다.
- [0037] "항원"은 항체가 특이적으로 결합하는 실체물이다. 항원은, 예를 들어, 단백질성 (예를 들어, 단백질, 폴리펩타이드 또는 웹타이드), 비-단백질성 (예를 들어, 탄수화물), 또는 둘의 조합일 수 있다.
- [0038] 용어 "특이적으로 결합하는" 및 "특이적으로 결합하다"는 표적화제 또는 리간드, 예를 들어, 항체 또는 항원 결합 단편이 매우 선택적인 방식으로 그것의 해당하는 표적 항원과 결합하지만 다른 항원과는 결합하지 않는 것을 의미한다. 항체에 대하여, 항체 또는 항체 단편은 전형적으로 적어도 약 1x10<sup>-7</sup> M, 및 바람직하게는 10<sup>-8</sup> M 내지 10<sup>-9</sup> M, 10<sup>-10</sup> M, 10<sup>-11</sup> M, 또는 10<sup>-12</sup> M의 친화도로 결합하고 미리 결정된 항원 또는 같은 에피토프를 가지는 밀접하게 관련된 항원 외에 비-특이적 항원 (예를 들어, BSA, 카세인)으로의 결합에 대한 그것의 친화도보다 적어도 2배 더 큰 친화도로 미리 결정된 항원에 결합한다.
- [0039] 용어 "억제하다" 또는 "~의 억제"는 측정 가능한 양만큼 감소시키거나, 또는 완전히 방지하는 것을 의미한다.
- [0040] 용어 "치료적 유효량"은 포유동물에서 질환 또는 장애를 치료하는데 효과적인 컨쥬케이트 (예를 들어, 항체 약물 컨쥬케이트)의 양을 말한다. 암의 경우에, 컨쥬케이트의 치료적 유효량은 암세포의 수를 감소시키고; 종양 크기를 감소시키고; 말초 기관으로의 암세포 침투를 억제하고 (즉, 어느 정도 둔화시키고 바람직하게는 중단시키고); 종양 전이를 억제하고 (즉, 어느 정도 둔화시키고 바람직하게는 중단시키고); 종양 성장을 억제하고; 및/또는 암과관련된 증상 중 하나 이상을 완화시킬 수도 있다. 약물이 성장을 억제하고 기준의 암세포를 죽일 수도 있는 정도로, 그것은 세포 증식 억제성 및/또는 세포 독성을 수도 있다. 암 치료에 대하여, 효율은, 예를 들어, 질환 진행까지의 시간 (TTP)을 평가하고 및/또는 반응률 (RR)을 결정함으로써 측정될 수 있다.
- [0041] 용어 "실질적인" 또는 "실질적으로"는 혼합물 또는 샘플의 집단의 과반수, 즉 >50%, 바람직하게는 집단의 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98%, 또는 99% 이상을 말한다.

- [0042] 용어 "세포 내로 절단된" 및 "세포 내 절단"은 리간드-링커-약물 컨쥬게이트 (예를 들어, 항체 약물 컨쥬게이트 (ADC), 등)에 대한 세포 내부의 대사 공정 또는 반응을 말하며, 이에 의해 D<sub>E</sub> 모이어티와 리간드 유닛 (예를 들어, 항체 (Ab)) 사이에서 공유 결합에 의한 부착 (링커 유닛)이 깨어지며, 그 결과 D<sub>E</sub> 유닛이 방출된다. 따라서 리간드-링커-약물 컨쥬게이트의 절단된 모이어티는 세포 내 대사산물이다.
- [0043] 용어 "세포 독성 활성"은, 전형적으로 방출된 약물 유닛을 통한, 표적 세포에 대한 리간드-링커-약물 컨쥬게이트 화합물의 세포-살해 또는 세포 독성 효과를 말한다. 세포 독성 활성은 IC<sub>50</sub> 값 (반최대 억제 농도로도 불림)으로 표시될 수도 있으며, 이것은 컨쥬게이트에 노출시 세포의 절반이 생존하는 유닛 부피 당 농도 (몰 또는 질량)이다.
- [0044] 용어 "세포 독성제"는 본원에서 사용된 바와 같이 세포를 죽이거나 그렇지 않으면 세포의 파괴를 유발하는 물질을 말한다.
- [0045] 용어 "암" 및 "암성"은 전형적으로 비조절 세포 성장을 특징으로 하는, 포유동물의 생리학적 질병 또는 장애를 말하거나 또는 이것을 기술한다. "종양"은 암성 세포를 포함한다.
- [0046] "자가면역 질환"은 개체의 자체 조직 또는 단백질로부터 발생하고 이것들에 대항하는 질환 또는 장애이다.
- [0047] "환자"의 예는 인간, 래트, 마우스, 기니피그, 원숭이, 돼지, 염소, 소, 말, 개, 고양이, 조류 및 가금류를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 예시의 구체예에서, 환자는 인간이다.
- [0048] 용어 "치료하다" 또는 "치료"는, 문맥상 달리 지시되지 않으면, 재발을 방지하기 위한 치료적 처치 및 예방적 조치를 말하며, 그 목적은 원치않는 생리학적 변화 또는 장애, 예를 들어, 암의 발달 또는 확산을 억제하거나 둔화시키는 (줄이는) 것이다. 유익한 또는 원하는 임상적 결과는, 검출 가능하든 불가능하든, 증상의 경감, 질환의 정도의 절감, 질환의 안정화된 (즉, 악화되지 않은) 상태, 질환 진행의 지연 또는 둔화, 질환 상태의 개선 또는 일시적 완화, 및 차도 (부분적이든 전체적이든)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. "치료"는 또한 치료를 받지 않은 경우에 예상되는 생존과 비교하여 연장된 생존을 의미할 수 있다. 치료가 필요한 것들은 이미 질병 또는 장애에 걸린 것들을 포함한다.
- [0049] 암의 맥락에서, 용어 "치료하는"은 종양 세포, 암세포, 또는 종양의 성장의 억제; 종양 세포 또는 암세포의 복제의 억제, 전체적인 종양 존재량의 저하 또는 암성 세포 수의 감소, 및 질환과 관련된 하나 이상의 증상의 개선 중 일부 또는 모두를 포함한다.
- [0050] 자가면역 질환의 맥락에서, 용어 "치료하는"은 자가면역 항체를 생산하는 세포를 포함하지만, 이에 제한되지 않는, 자가면역 질환 상태와 관련된 세포의 복제의 억제, 자가면역-항체 존재량의 저하 및 자가면역 질환의 하나 이상의 증상의 개선 중 일부 또는 모두를 포함한다.
- [0051] 구절 "약학적으로 허용 가능한 염"은, 본원에서 사용된 바와 같이, 화합물 (예를 들어, 약물, 약물-링커, 또는 리간드-약물 컨쥬게이트)의 약학적으로 허용 가능한 유기 또는 무기 염을 말한다. 화합물은 적어도 하나의 아미노 기를 함유할 수 있고, 따라서 산 부가 염은 아미노 기로 형성될 수 있다. 예시의 염은 황산염, 트리플루오로아세트산염, 시트르산염, 아세트산염, 옥살산염, 염화물, 브롬화물, 요오드화물, 질산염, 중황산염, 인산염, 산성 인산염, 아이소니코틴산염, 젖산염, 살리실산염, 산성 시트르산염, 주석산염, 올레산염, 타닌산염, 판토텐산염, 중주석산염, 아스코르브산염, 석신산염, 말레인산염, 젠티시네이트, 푸마르산염, 글루콘산염, 글루쿠론산염, 당산염, 포름산염, 벤조산염, 글루타메이트, 메탄설폰산염, 에탄설폰산염, 벤젠설폰산염, p-톨루엔설폰산염, 및 팜산염 (즉, 1,1'-메틸렌-비스 -(2-하이드록시-3-나프토에이트)) 염을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 약학적으로 허용 가능한 염은 또 다른 문자, 예를 들어, 아세트산염 이온, 석신산염 이온 또는 다른 반대 이온의 포함을 수반할 수도 있다. 반대 이온은 모체 화합물 상에서 전하를 안정화시키는 어떠한 유기 또는 무기 모이어티일 수도 있다. 뿐만 아니라, 약학적으로 허용 가능한 염은 그것의 구조에서 하나 이상의 대전된 원자를 가질 수도 있다. 다수의 대전된 원자가 약학적으로 허용 가능한 염의 일부인 경우에는 다수의 반대 이온을 가질 수 있다. 이로 인해, 약학적으로 허용 가능한 염은 하나 이상의 대전된 원자 및/또는 하나 이상의 반대 이온을 가질 수 있다.
- [0052] 상세한 설명
- [0053] 일반
- [0054] 본 발명은, 부분적으로, 결합 기 및 세포독성제의 특정 조합이 컨쥬게이션되지 않은 리간드 (즉, 표적화제, 예

를 들어, 항체 또는 항원 결합 단편)와 유사한 친수성을 가진 리간드-링커-약물 컨쥬케이트, 예를 들어, 항체-약물 컨쥬케이트 (ADC)를 제조하는데 사용될 수 있다는 발견에 기초한다. 컨쥬케이트가 컨쥬케이션되지 않은 리간드와 유사한 친수성을 유지함으로써, 결과로 얻은 컨쥬케이트는 더 높은 약물 로딩 (예를 들어, 리간드 당 적어도 4 또는 8개의 약물 링커)를 갖는 한편, 리간드 단독의 특정 바람직한 특징, 예를 들어, 생체 내 감소한 클리어런스, 생체 내 증가한 약물동력학적 프로파일, 표적 세포(들)로의 컨쥬케이트의 증가한 노출, 등을 유지한다. 유리하게는, 이러한 친수성 컨쥬케이트는 추가적인 가용화 기, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 또는 다른 수용성 폴리머를 포함할 필요 없이 리간드와 유사한 친수성을 갖도록 설계될 수 있다. (리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 또한 본원에서 약물-리간드 컨쥬케이트, 리간드-약물 컨쥬케이트 또는 리간드 약물 컨쥬케이트로도 불림).

[0055] 친수성 결합 기 (링커 또는 링커 유닛으로도 불림)가 컨쥬케이트의 증가된 친수성을 위해 설계된다. 결합 기는 표적 세포에서 세포독성제 (약물 유닛 또는 약물로도 불림)의 효율적인 방출을 허용하며, 세포독성제의 경우에 세포 독성 또는 세포 증식 억제성 효과를 유도하기에 충분하다. 전형적으로, 친수성 링커는 컨쥬케이트가 표적 세포로 내재화된 경우 약물 유닛이 효율적인 방출을 위해 설계된다. 절단에 의한 약물 유닛의 방출에 적합한 인식 부위는 친수성 결합 기로부터 유닛의 효율적인 분리를 허용하는 것이다. 전형적으로, 인식 부위는 웹타이드 절단 부위이다 (예를 들어, 결합 기로의 부착 부위에서 아미노산 또는 웹타이드 특징을 가진 세포독성제와 결합하여 형성됨). 웹타이드 절단 부위의 예는 세포 내 프로테아제에 의해 인식된 것들, 예를 들어, 리소좀에 존재하는 것들을 포함한다. 구체예에서 결합 기가 반응기 모이어티 ( $D_E$ )의 아미노산에 부착되는 경우,  $AA_1$ 은  $D_E$  유닛과의 절단 가능한 웹타이드 결합을 형성한다. 절단 가능한 웹타이드 결합은 컨쥬케이트가 그것의 표적화된 부위에 도달할 때 프로테아제에 의한 절단에 민감하다. 다른 구체예에서,  $AA_1$ 은 컨쥬케이트가 그것의 표적화된 부위에 도달할 때 절단 (예를 들어, 프로테아제에 의한)에 민감한 반응기 모이어티 ( $D_E$ )의 부착 부위와 아미드 결합을 형성한다.

[0056] 일부 구체예에서, 약물 유닛은 친수성 링커 유닛과 결합하여 증가된 친수성을 갖도록 설계된 아우리스타틴이다. 약물 유닛은 유리하게는 친수성 치환기를 갖도록 설계될 수 있는 한편, 강력한 세포 독성 활성을 보유한다. 아우리스타틴 약물 유닛은 그것들의 C-말단 단부에서 링커 유닛에 부착되며, 본원에서 더 충분하게 기술된다.

[0057] 따라서, 일부 구체예에서  $L^H$ 는 1, 2, 3 또는 4개의 친수성 아미노산을 함유하는 친수성 링커인데, 제1 아미노산은 그것이 부착되는 약물 유닛의 일부를 가진 절단 부위를 형성한다. 일부 구체예에서,  $L^H$ 는 1 또는 2개의 친수성 아미노산을 포함하는 친수성 링커인데, 제1 아미노산은 그것이 부착되는 약물 유닛의 일부를 가진 절단 부위를 형성한다. 일부 구체예에서,  $L^H$ 는 부착되는 약물 유닛의 일부를 가진 절단 부위를 형성하는 아미노산을 포함하는 친수성 링커이다. 일부 구체예에서, 제2, 제3 및/또는 제4 친수성 아미노산은 선택적으로 치환된 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 기로 대체된다.

[0058] 컨쥬케이트 친수성은 컨쥬케이트의 친수성과 컨쥬케이션되지 않은 표적화제 (즉, 리간드 또는 리간드 유닛)의 친수성을 비교함으로써 결정될 수 있으며, 친수성 지수로 불린다. 특정 구체예에서, 컨쥬케이트의 체류 시간은 컨쥬케이션되지 않은 리간드의 체류 시간보다 더 느린 2분보다 더 길지 않으며, 실시예에서 기술된 바와 같이 결정된다. 다른 특정 구체예에서, 컨쥬케이트의 체류 시간은 컨쥬케이션되지 않은 리간드의 체류 시간보다 더 느린 1분보다 더 길지 않으며, 실시예에서 기술된 바와 같이 결정된다. 다른 특정 구체예에서, 컨쥬케이트의 체류 시간은 컨쥬케이션되지 않은 리간드의 체류 시간보다 더 느린 0.5분보다 더 길지 않으며, 실시예에서 기술된 바와 같이 결정된다. 실시예에 관하여, 실시예 3은 컨쥬케이트의 친수성 지수를 결정하기 위해 바람직한 방법을 개시한다. 대안으로, 다른 소수성 상호작용 컬럼 및/또는 방법은 선택된 컬럼 및/또는 방법에서 지시대상의 참조 컨쥬케이트 이동성 (용출 시간)을 결정하기 위해 참조로 표 2의 컨쥬케이트를 사용하여 보정될 수 있다. 이어서 선택된 소수성 상호작용 컬럼 및/또는 방법에서 결정된 참조 이동성은 테스트 물품의 친수성 지수를 계산하는데 사용될 수 있다 (하기 실시예 3에서 결정된 바와 같음). 예를 들어, 아우리스타틴 T - Glu- Dpr - MA, mc-MMAF 및 mc-vc-PABC-MMAE 약물 링커는 참조로 사용하기 위해 컨쥬케이트를 형성하는데 사용할 수 있다. 또 다른 예에서, 아우리스타틴 T-Glu-Dpr-MA-h1F6 ADC, h1F6-mc-MMAF 및 h1F6-mc-vc-PABC-MMAE ADC가 참조로 사용될 수 있다.

[0059] 상기를 고려하여, 구체예의 한 군에서 리간드 유닛 및 리간드 유닛에 부착된 다수의 링커-약물 유닛을 포함하는 리간드-링커-약물 컨쥬케이트가 제공된다. 링커 유닛은 친수성 링커 ( $L^H$ ) 조립체를 포함하며, 예를 들어, 티오에

테르 결합을 통한 리간드 부착 구성요소를 포함한다. 약물 유닛은 링커 유닛에 연결되는 부착 구성요소를 가진 세포독성체를 포함한다. 구체예의 또 다른 군에서, 리간드-링커-약물 컨쥬케이트가 제공되는데, 링커 부분은 친수성 링커 조립체를 포함하고 약물 유닛은 세포독성체를 포함한다.

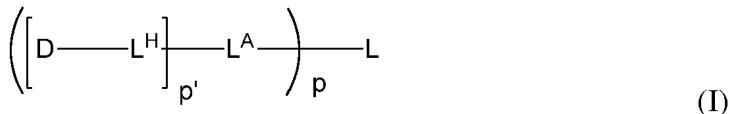
[0060] 관련된 구체예에서, 질환의 치료를 위해 환자에게 리간드-링커-약물 컨쥬케이트를 투여하는 방법이 제공된다. 질환은, 예를 들어, 암 또는 자가면역 질환일 수 있다. 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 치료적 유효량으로 및 치료적으로 유효한 일정으로 투여된다. 일부 양태에서, 컨쥬케이트 용량은 비슷한 두 개의 로딩된 컨쥬케이트와 같거나 더 적다 (비슷한 일정으로 투여됨). 일부 양태에서, 컨쥬케이트 용량은 비슷한 네 개의 로딩된 컨쥬케이트와 같거나 더 적다 (비슷한 일정으로 투여됨). 일부 양태에서, 컨쥬케이트 용량은 비슷한 두 개의 로딩된 컨쥬케이트와 같거나 더 적은 한편, 투여 일정은 같거나 덜 빈번하다. 일부 양태에서, 컨쥬케이트 용량은 비슷한 네 개의 로딩된 컨쥬케이트와 같거나 더 적은 한편, 투여 일정은 같거나 덜 빈번하다. 일부 추가의 양태에서, 컨쥬케이트 용량은 더 적고 투여 일정은 비슷한 두 개의 로딩된 컨쥬케이트와 같거나 덜 빈번하다. 일부 추가의 양태에서, 컨쥬케이트 용량은 더 적고 투여 일정은 비슷한 네 개의 로딩된 컨쥬케이트와 같거나 덜 빈번하다. 비교기 컨쥬케이트는, 예를 들어, 2 또는 4의 약물 로딩을 가진 같은 리간드-약물-링커 컨쥬케이트일 수 있다.

[0061] 구체예의 또 다른 군에서, 약물-링커 유닛이 제공되는데, 리간드와의 반응에 적합한, 링커 부분은 리간드 부착 구성요소 (예를 들어, 부착된 말레이미드 모이어티)를 가진, 친수성 링커 ( $L^H$ ) 조립체를 포함한다. 구체예의 또 다른 군에서, 리간드-링커 컨쥬케이트가 제공되는데, 링커 부분은 약물 유닛의 부착 및 방출에 적합한 특징을 가진 친수성 링커 ( $L^H$ ) 조립체를 포함한다.

[0062] 구체예의 또 다른 군에서, 리간드-링커-약물 컨쥬케이트를 만드는 방법이 제공된다. 일부 양태에서, 링커 부분은 리간드와의 반응에 적합한, 부착된 말레이미드 모이어티를 가진, 친수성 링커 ( $L^H$ ) 조립체를 포함한다. 추가의 양태에서, 링커 부분은 약물 유닛의 방출에 적합한 특징을 가진 친수성 링커 ( $L^H$ ) 조립체를 포함한다 (부착될 때).

### 리간드-링커 약물 컨쥬케이트

[0064] 한 양태에서, 다음 식을 가진 리간드-링커-약물 컨쥬케이트 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물이 제공된다:



[0065]

상기 식에서:

[0067]  $L$ 은 표적에 특이적으로 결합하는 리간드이고;

[0068]  $L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

[0069]  $L^H$ 는 선택적으로 분지된 친수성 링커이며,  $L^H$ 의 각각의 분지는 다음 식을 가지며:

$$- AA_1 - R^{L1} - R^{L2} - R^{L3} -$$

[0070]

상기 식에서:

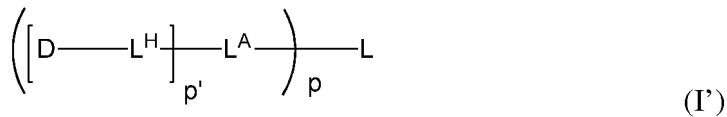
[0072]  $AA_1$ 은 부착되는 약물 유닛의 C-말단 단부를 가진 절단 가능 웨타이드 결합을 형성하는 친수성 아미노산이고;

[0073]  $R^{L1}$ 은 선택적이고  $R^{L1}$ 이 존재하고  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$ 는 없을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0074]  $R^{L2}$ 는 선택적이고  $R^{L2}$ 가 존재하고  $R^{L3}$ 는 없을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

- [0075]  $R^{L^3}$ 는 선택적이고  $R^{L^3}$ 가 존재할 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;
- [0076] 아래 첨자 p는 4 내지 약 20의 정수이고;
- [0077] 아래 첨자 p'는 1 내지 4의 정수이고;
- [0078] D는 다음 식을 가지며:
- 
- [0079]
- [0080] 상기 식에서:
- [0081]  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 수소 (H) 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되며; 단  $R^3$  및  $R^{3'}$  둘 다가 H가 아닌 경우 외에는,  $R^1$  및  $R^2$  둘 다는 H가 아니고;
- [0082]  $R^3$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,
- [0083]  $R^{3'}$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,  $R^3$  및  $R^{3'}$  중 적어도 하나는 H가 아니고;
- [0084]  $R^4$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,
- [0085]  $R^5$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되거나, 또는  $R^4$  및  $R^5$ 는 공동으로 탄소환식 고리를 형성하고  $-(CR^aR^b)_n-$ 을 가지며,  $R^a$  및  $R^b$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고 n은 2, 3, 4, 5 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되고;
- [0086]  $R^4$  및  $R^5$ 는 공동으로 탄소환식 고리를 형성하고 식  $-(CR^aR^b)_n-$ 을 가지며,
- [0087]  $R^6$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,
- [0088]  $R^7$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,
- [0089] 각각의  $R^8$ 은 H, -OH, 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬, 및 선택적으로 치환된  $-O-(C_1-C_8$  알킬)로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0090]  $R^{12}$ 는 H, 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된  $-X^1$ 아릴, 선택적으로 치환된  $-C_3-C_8$  탄소환, 선택적으로 치환된  $-X^1-(C_3-C_8$  탄소환), 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬렌-NH<sub>2</sub>, 선택적으로 치환된  $-C_3-C_8$  헤테로환 및 선택적으로 치환된  $-X^1-(C_3-C_8$  헤�테로환)으로부터 선택되고;
- [0091] 각각의  $X^1$ 은 독립적으로  $-C_1-C_{10}$  알킬렌이고;
- [0092] 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 2 이하의 친수성 지수를 갖고;
- [0093]  $L^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ 로의 공유 결합에 의한 부착을 나타내고; 각각의 D의 물결선은  $L^H$ 로의 공유 결합에 의한 부착을 나타낸다.
- [0094] 관련된 양태에서, 다음 식을 가진 리간드-링커-약물 컨쥬게이트 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는

용매 화합물이 제공된다:



[0095]

상기 식에서:

[0097]

$L$ 은 표적에 특이적으로 결합하는 리간드이고;

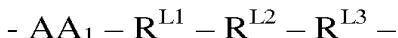
[0098]

$L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

[0099]

$L^H$ 는 선택적으로 분지된 친수성 링커이며,  $L^H$ 의 각각의 분지는 다음 식을 가지고:

[0100]



[0101]

상기 식에서:

[0102]

$AA_1$ 은 부착되는 약물 유닛의 C-말단 단부를 가진 절단 가능 웹타이드 결합을 형성하는 친수성 아미노산이고;

[0103]

$R^{L1}$ 은  $R^{L3}$  및  $R^{L3}$ 이 존재하지 않을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0104]

$R^{L2}$ 는 선택적이고  $R^{L2}$ 가 존재하고  $R^{L3}$ 는 없을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0105]

$R^{L3}$ 는 선택적이고  $R^{L3}$ 가 존재할 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0106]

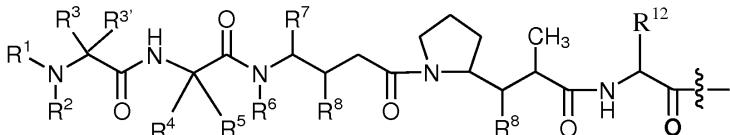
아래 첨자  $p$ 는 4 내지 약 20의 정수이고;

[0107]

아래 첨자  $p'$ 는 1 내지 4의 정수이고;

[0108]

$D$ 는 다음 식을 가지며:



[0109]

상기 식에서:

[0111]

$R^1$  및  $R^2$ 는 각각 수소 ( $H$ ) 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_4$  알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고; 단  $R^3$  및  $R^{3'}$  둘 다가  $H$ 가 아닌 경우 외에는,  $R^1$  및  $R^2$  둘 다는  $H$ 가 아니고;

[0112]

$R^3$ 는  $H$  및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_4$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,

[0113]

$R^{3'}$ 는  $H$  및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_4$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,  $R^3$  및  $R^{3'}$  중 적어도 하나는  $H$ 가 아니고;

[0114]

$R^4$ 는  $H$  및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_4$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고;

[0115]

$R^5$ 는  $H$  및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_4$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되거나; 또는  $R^4$  및  $R^5$ 는 공동으로 탄소환식 고리를 형성하고 식  $-(CR^aR^b)_n-$ 을 가지며,  $R^a$  및  $R^b$ 는  $H$  및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_4$  알킬로 구성된 군으로부터

독립적으로 선택되고 n은 2, 3, 4, 5 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되고;

[0116] R<sup>6</sup>은 H 및 선택적으로 치환된 -C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬로 구성된 군으로부터 선택되고;

[0117] R<sup>7</sup>은 H 및 선택적으로 치환된 -C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬로 구성된 군으로부터 선택되고;

[0118] 각각의 R<sup>8</sup>은 H, -OH, 선택적으로 치환된 -C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 및 선택적으로 치환된 -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬)로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0119] R<sup>12</sup>는 H, 선택적으로 치환된 -C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 -X<sup>1</sup>아릴, 선택적으로 치환된 -C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 탄소환, 선택적으로 치환된 -X<sup>1</sup>-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 탄소환), 선택적으로 치환된 -C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬렌-NH<sub>2</sub>, 선택적으로 치환된 -C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 헤테로환 및 선택적으로 치환된 -X<sup>1</sup>-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 헤�테로환)으로부터 선택되고;

[0120] 각각의 X<sup>1</sup>은 독립적으로 -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬렌이고;

[0121] 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 2 이하의 친수성 지수를 갖고;

[0122] L<sup>H</sup>의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각 약물 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 공유 결합에 의한 부착을 나타내고; 각각의 D의 물결선은 L<sup>H</sup>로의 공유 결합에 의한 부착을 나타낸다.

[0123] 식 I 및 I'의 리간드-링커-약물 컨쥬게이트의 다양한 구성요소들은 하기 더 상세히 제공된다.

[0124] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 리간드 유닛 및 적어도 네 개의 링커-약물 유닛을 포함하며, 리간드 유닛 및 각각의 약물 유닛(들)은 친수성 링커 (L<sup>H</sup>) 조립체를 포함하는 링커 유닛(들)에 의해 결합된다. 일부 추가의 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 각각의 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬게이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)를 더 포함한다.

[0125] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 리간드 유닛 및 적어도 6개의 링커-약물 유닛을 포함하며, 리간드 유닛 및 각각의 약물 유닛(들)은 친수성 링커 (L<sup>H</sup>) 조립체를 포함하는 링커 유닛(들)에 의해 결합된다. 일부 추가의 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 각각의 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬게이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)를 더 포함한다.

[0126] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 리간드 유닛 및 적어도 8개의 링커-약물 유닛을 포함하며, 리간드 유닛 및 각각의 약물 유닛(들)은 친수성 링커 (L<sup>H</sup>) 조립체를 포함하는 링커 유닛(들)에 의해 결합된다. 일부 추가의 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 각각의 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬게이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)을 더 포함한다.

[0127] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 리간드 유닛 및 적어도 10개의 링커-약물 유닛을 포함하며, 리간드 유닛 및 각각의 약물 유닛(들)은 친수성 링커 (L<sup>H</sup>) 조립체를 포함하는 링커 유닛(들)에 의해 결합된다. 일부 추가의 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 각각의 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬게이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)를 더 포함한다.

[0128] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 리간드 유닛 및 적어도 16개의 링커-약물 유닛을 포함하며, 리간드 유닛 및 각각의 약물 유닛(들)은 친수성 링커 (L<sup>H</sup>) 조립체를 포함하는 링커 유닛(들)에 의해 결합된다. 일부 추가의 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 각각의 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬게이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)를 더 포함한다.

[0129] 약물 유닛

[0130] 식 I 및 I'의 약물 유닛에 관하여, 일부 구체예에서 R<sup>12</sup>는 H, 선택적으로 치환된 -C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 -X<sup>1</sup>아릴, 선택적으로 치환된 -C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 탄소환, 선택적으로 치환된 -X<sup>1</sup>-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 탄소환), 선택적으로 치환된 -C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬렌-NH<sub>2</sub>, 선택적으로 치환된 -C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 헤테로환 및 선택적으로 치환된 -X<sup>1</sup>-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 헤테로환)으로부터 선택된다.

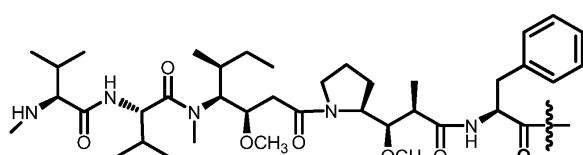
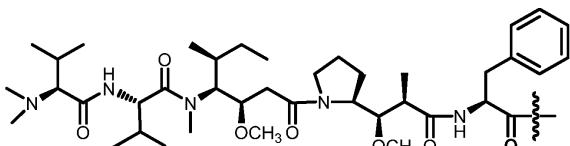
[0131] 일부 관련된 구체예에서, R<sup>12</sup>는 페닐알라닌 또는 프롤린의 측쇄가 아니다. 일부 추가의 관련된 구체예에서, R<sup>12</sup>는 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판 또는 프롤린의 측쇄가 아니다.

[0132] 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 프롤린, 및 글리신 이외의 천연 L-아미노산의 측쇄로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서, R<sup>12</sup>는 프롤린, 글리신 또는 페닐알라닌 이외의 천연 L-아미노산의 측쇄로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서, R<sup>12</sup>는 프롤린, 글리신, 트립토판, 메티오닌 또는 페닐알라닌 이외의 천연 L-아미노산의 측쇄로부터 선택된다.

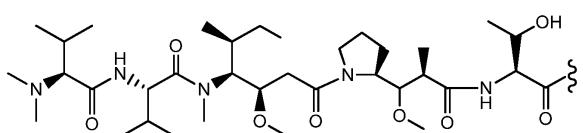
[0133] 일부 추가의 구체예에서, R<sup>12</sup>는 트레오닌, 세린, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 호모세린, 하이드록시발린, 푸릴 알라닌, 트레오닌(PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>), 피라졸릴 알라닌, 트리아졸릴 알라닌 및 티아졸릴 알라닌으로 구성된 친수성 아미노산의 군의 측쇄로부터 선택된다.

[0134] 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 트레오닌의 측쇄이다.

[0135] 예시의 약물 유닛은 다음 식, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염을 가지며, 물결선은 링커 유닛으로의 부착 부위를 나타낸다. 일부 예시의 유닛에서, 약물 유닛은 디메틸- 또는 모노메틸-아우리스타틴 F 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물이며, 하기 나타난 바와 같다:

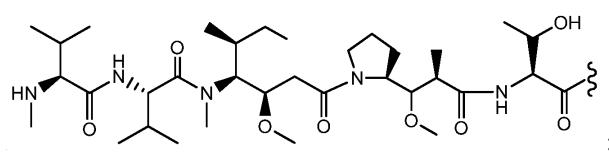


[0138] 다른 예시의 약물 유닛은 아우리스타틴 T의 디메틸- 또는 모노메틸 형태이다.



[0139]

[0140] 또는



[0142] 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물.

[0143] 링커 유닛

[0144] 식 I 및 I'의 링커 유닛에 관하여, 일부 구체예에서  $L^A$ 는 리간드의 황 원자에 공유 결합에 의해 결합된다. 일부 양태에서, 황 원자는 항체의 사슬 간 이황화 결합을 형성할 수 있는 시스테인 잔기의 것이다. 또 다른 양태에서, 황 원자는 리간드 유닛으로 도입된 시스테인 잔기의 것이다 (예를 들어, 부위 특이적 돌연변이 생성 (mutagenesis) 또는 화학 반응에 의해). 추가의 양태에서,  $L^A$ 가 부착되는 황 원자는 항체의 사슬 간 이황화 결합을 형성하는 시스테인 잔기 및 리간드 유닛으로 도입된 시스테인 잔기로부터 선택된다 (예를 들어, 부위 특이적 돌연변이 생성 또는 화학 반응에 의해).

[0145] AA<sub>1</sub>은 약물 유닛과 절단 가능한 결합을 형성한다. 구체예에서 AA<sub>1</sub>이 약물 유닛의 아미노산에 부착되는 경우, AA<sub>1</sub>은 약물 유닛과 절단 가능한 펩타이드 결합을 형성한다. 절단 가능 펩타이드 결합은 쿤杵계이트가 그것의 표적 부위에 도달할 때 프로테아제에 의한 절단에 민감하다. 일부 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 친수성 아미노산, 전형적으로 글리신 및 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 형으로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산이다. 일부 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 글루타메이트이다.

[0146] 구체예에서  $R^{L1}$ 이 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-NH - CH(R^a) - CO-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b$  -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2C(O)-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2C(O)-$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2C(O)-$ 로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서,  $R^{L1}$ 은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-NH - CH(R^a) - C(O)-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b$  -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2C(O)-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2C(O)-$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2C(O)-$ 로부터 선택된다.

[0147] 구체예에서  $R^{L1}$ 이 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-NH-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-COOH$ ,  $-N(C_1 - C_3$  알킬),  $-NH_2$  또는  $-NH(C_1 - C_3$  알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $C_1 - C_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $R^{L1}$ 은 에틸렌디아민,  $-NH - CH(COOH) - CH_2 - NH -$  또는  $-C(O) - CH(CH_2NH_2) - \circ$ 이다.

[0148] 구체예에서  $R^{L2}$ 가 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-NH - CH(R^a) - C(O)-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b$  -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2C(O)-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2C(O)-$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2C(O)-$ 로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서  $R^{L2}$ 가 존재할 때, 그것은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-NH - CH(R^a) - C(O)-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b$  -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2C(O)-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2C(O)-$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2C(O)-$ 로부터 선택된다.

[0149] 구체예에서  $R^{L2}$ 가 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-NH-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-COOH$ ,  $-N(C_1 - C_3$  알킬)-,

$-\text{NH}_2$  또는  $-\text{NH}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ 알킬})$ 로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $\text{C}_1 - \text{C}_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 에틸렌디아민,  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{CH}_2 - \text{NH} -$  또는  $-\text{C}(\text{O}) - \text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2) -$ 이다.

[0150] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}3}$ 가 존재하고, 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D;  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{R}^{\text{a}}) - \text{C}(\text{O}) -$ ; 및  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{R}^{\text{b}}$  -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며;  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 로부터 선택된다.

[0151] 일부 추가의 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}3}$ 가 존재할 때, 그것은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{R}^{\text{a}}) - \text{C}(\text{O}) -$ ; 및  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{R}^{\text{b}}$  -로부터 선택되며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 로부터 선택된다.

[0152] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}3}$ 가 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ 알킬})-$ ,  $-\text{NH}_2$  또는  $-\text{NH}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ 알킬})$ 로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $\text{C}_1 - \text{C}_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 에틸렌디아민,  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{CH}_2 - \text{NH} -$  또는  $-\text{C}(\text{O}) - \text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2) -$ 이다.

[0153] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고  $\text{R}^{\text{L}1}$ ,  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 없다.

[0154] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 존재하고  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 없다.

[0155] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 존재하고  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 없다.

[0156] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 존재하고  $\text{R}^{\text{L}3}$ 는 존재한다.

[0157] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L}1}$ ,  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0158] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 글루타메이트이고  $\text{R}^{\text{L}1}$ ,  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0159] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 글루타메이트이고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0160] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$  및  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 친수성 아미노산이고 적어도  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0161] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L}1}$  및 선택적으로  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

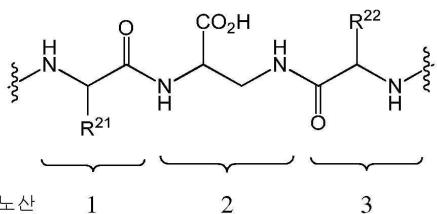
[0162] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{L}^{\text{H}}$ 는 글리신 디펩타이드 (Gly-Gly), 트리펩타이드 또는 테트라펩타이드를 포함하지 않는다. 일부 구체예에서,  $\text{L}^{\text{H}}$ 는 웨بت아이드 Asn - (D)Lys를 포함하지 않는다.

[0163] 일부 구체예에서,  $L^H$ 는 변형된 펩타이드를 포함할 것이며, 2 내기 4개의 아미노산을 가진다. 변형된 펩타이드는 약물 유닛의 방출을 최적화하도록 (예를 들어, 아미드 펩타이드 결합을 통한 프로테아제 절단에 의해) 선택된 1-위치 ( $AA_1$ )에서 아미노산을 가진다. 위치들 중 하나 또는 둘 다에서  $R^{L1}$  및  $R^{L2}$ 는 펩타이드의 전형적인 N 대 C 결합의 배향을 뒤바꾸고 (아미드 결합 형성) 리간드 유닛의 부착 전에, 말레이미드로서 보호된  $\alpha$ -아미노 기를 포함하는 마지막 아미노산 (예를 들어,  $R^{L2}$  또는  $R^{L3}$ )의 부착을 용이하게 하는 아미노산이다. 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산은 그것의 측쇄를 통해 다음 기에 부착된다. 일부 구체예에서, 이 아미노산은 알파 아미노산이다. 다른 구체예에서, 그것은 베타 또는 감마 아미노산일 수 있다. 이 구체예들 중 일부에서는, 측쇄는  $-CH_2NH_2-$ ,  $-CH_2CH_2NH_2-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2-$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$ 로부터 선택된다.

[0164]  $L^H$ 의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 ( $R^{L1}$ )은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라  $R^{L2}$  또는  $R^{L3}$ 에 부착되며,  $R^{L2}$  또는  $R^{L3}$ 은 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.

[0165]  $L^H$ 의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 ( $R^{L1}$ )은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라  $R^{L2}$ 에 부착되며,  $R^{L2}$ 는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.

[0166] 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 친수성, 절단 가능 링커이며, 각각의 분자는 다음 식을 가진다:

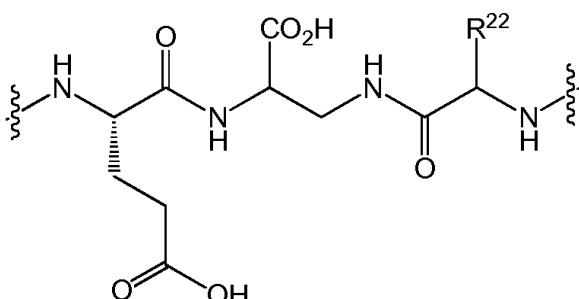


[0167]

[0168] 상기 식에서  $R^{21}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$  및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^{22}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ , 및  $-CH_2CH_2OH$ 로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

[0169]

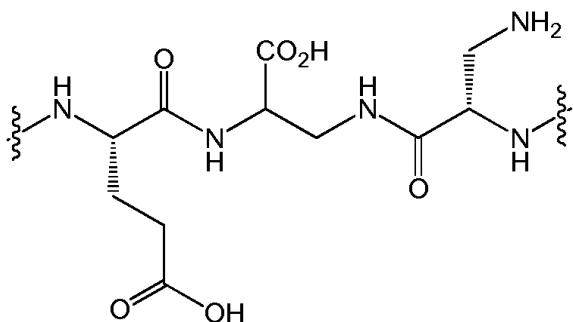
추가의 구체예에서  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0170]

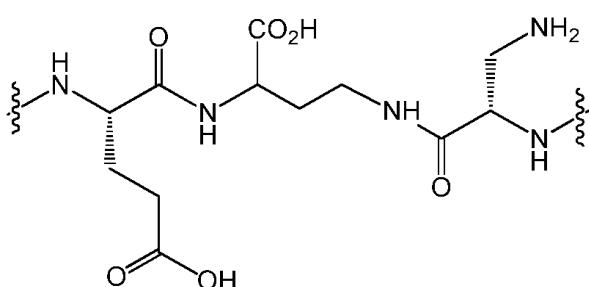
[0171] 상기 식에서  $R^{22}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ , 및  $-CH_2CH_2OH$ 로부터 선택된다. 일부 구체예에서,  $R^{22}$ 은  $-CH_2NH_2$  및  $-CH_2CH_2NH_2$ 로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

[0172] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



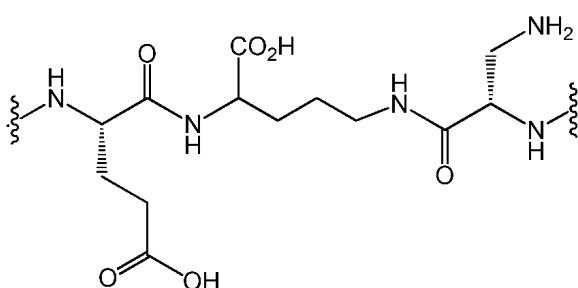
[0173] [0174] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

[0175] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



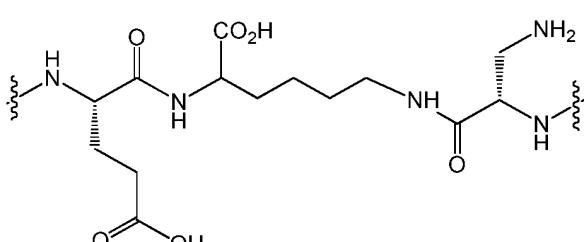
[0176] [0177] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

[0178] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



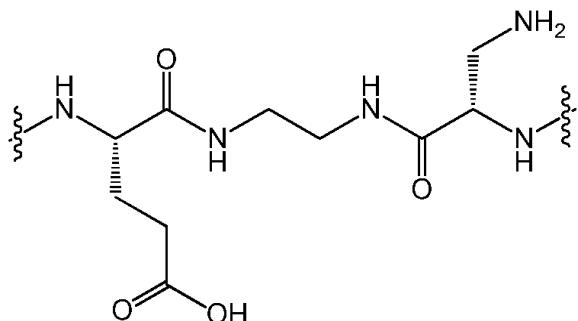
[0179] [0180] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

[0181] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0182] [0183] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

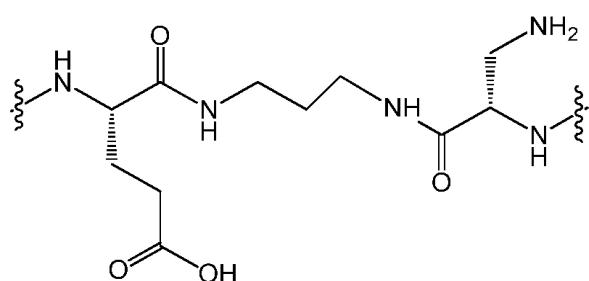
[0184] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0185]

[0186] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

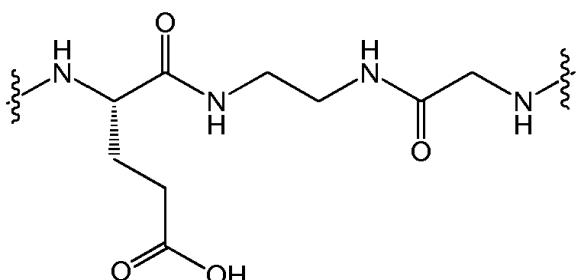
[0187] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0188]

[0189] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

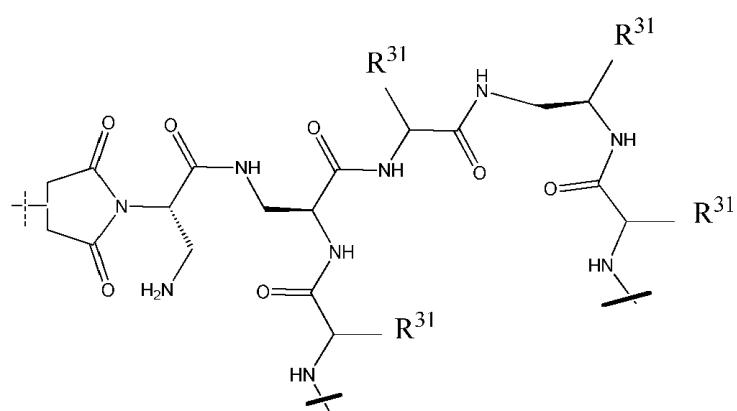
[0190] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0191]

[0192] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 약물 유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

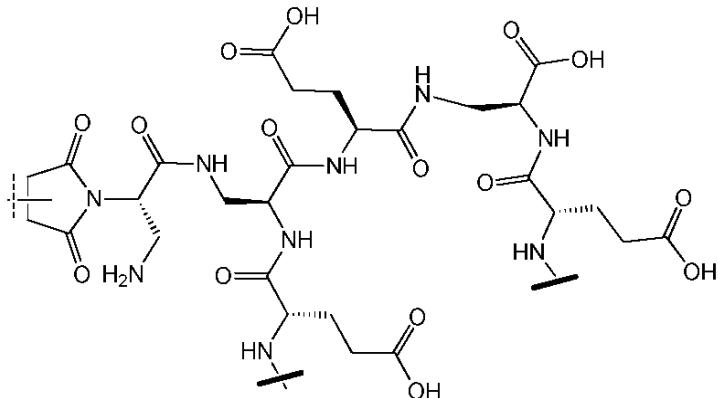
[0193] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분자로 친수성 링커이다:



[0194]

[0195] 상기 식에서 각각의  $R^{31}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^{31}$ 에 인접한 각각의 막대는  $D_E$  유닛으로의 부착을 나타내고, 수직 쇄선은 리간드 유닛으로의 부착을 나타낸다.

[0196] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분지된 친수성 링커이다:

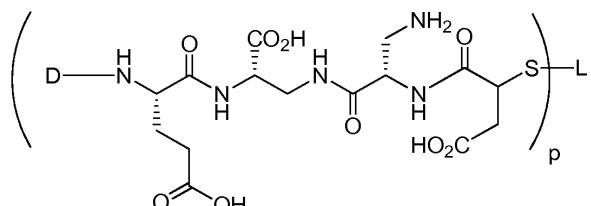


[0197]

[0198] 상기 식에서 각각의 막대는 약물 유닛으로의 부착을 나타내고, 수직 쇄선은 리간드 유닛으로의 부착을 나타낸다.

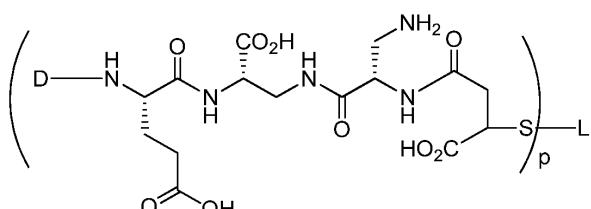
[0199]  $L^A$  서브유닛은 하기 더 상세히 기술된다.

[0200] 다시 식 I 및 I'의 리간드-링커-약물 컨쥬게이트에 관하여, 일부 추가의 구체예에서, 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 다음으로부터 선택된 식을 가진다:



[0201]

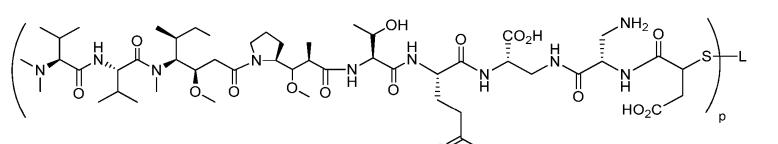
및



[0202]

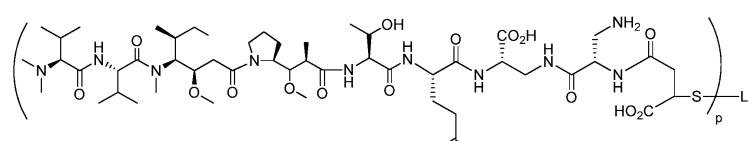
[0203] 상기 식에서 S는 리간드의 황 원자를 말한다.

[0204] 특정 구체예는 다음을 포함한다:



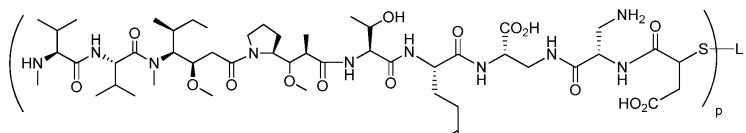
[0205]

(Ia),



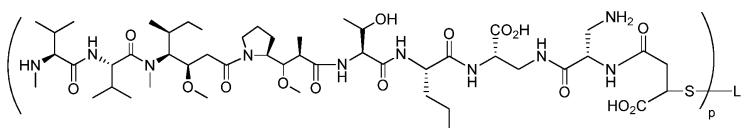
[0206]

(Ib),



[0207]

(Ic), 및

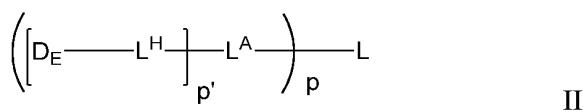


[0208]

(Id)

[0209] 상기 식에서 S는 리간드, 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물의 황 원자를 말한다.

[0210] 또 다른 양태에서, 다음 식을 가진 리간드-링커-약물 컨쥬게이트가 제공된다:



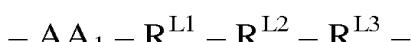
[0211]

[0212] 상기 식에서:

[0213] L은 표적에 특이적으로 결합하는 리간드이고;

[0214]  $L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

[0215]  $L^H$ 는 선택적 친수성 링커이며,  $L^H$ 의 각각의 분지는 다음 식을 가지고:



[0216]

[0217] 상기 식에서

[0218]  $AA_1$ 은  $D_E$ 와 절단 가능 결합을 형성하는 친수성 아미노산이고;

[0219]  $R^{L1}$ 은 선택적이고  $R^{L1}$ 이 존재하고  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$ 은 존재하지 않을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0220]  $R^{L2}$ 는 선택적이고  $R^{L2}$ 가 존재하고  $R^{L3}$ 은 존재하지 않을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0221]  $R^{L3}$ 는 선택적이고  $R^{L3}$ 가 존재할 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0222]  $L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

[0223] 아래 첨자 p는 4 내지 약 20의 정수이고;

[0224] 아래 첨자 p'는 1 내지 4의 정수이고;

[0225] 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 2 이하의 친수성 지수를 갖고;  $L^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 공유 결합에 의한 부착을 나타내고;

[0226]  $D_E$ 는 반응기 모이어티이며, 본원에서 추가로 기술된 바와 같다.

[0227] 식 II의 리간드-링커-약물 컨쥬게이트의 다양한 구성요소는 하기 더 상세히 제공된다.

[0228] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 리간드 유닛 및 적어도 4개의 링커- $D_E$  유닛을 포함하고, 리간드 유닛 및 각각의  $D_E$  유닛(들)은 친수성 링커 ( $L^H$ ) 조립체를 포함하는 링커 유닛에 의해 결합된다. 일부 추가의 양

태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬케이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)를 더 포함한다.

[0229] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 리간드 유닛 및 적어도 6개의 링커- D<sub>E</sub> 유닛을 포함하고, 리간드 유닛 및 각각의 D<sub>E</sub> 유닛(들)은 친수성 링커 (L<sup>H</sup>) 조립체를 포함하는 링커 유닛에 의해 결합된다. 일부 추가의 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬케이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)를 더 포함한다.

[0230] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 리간드 유닛 및 적어도 8개의 링커- D<sub>E</sub> 유닛을 포함하고, 리간드 유닛 및 각각의 D<sub>E</sub> 유닛(들)은 친수성 링커 (L<sup>H</sup>) 조립체를 포함하는 링커 유닛에 의해 결합된다. 일부 추가의 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬케이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)를 더 포함한다.

[0231] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 리간드 유닛 및 적어도 10개의 링커- D<sub>E</sub> 유닛을 포함하고, 리간드 유닛 및 각각의 D<sub>E</sub> 유닛(들)은 친수성 링커 (L<sup>H</sup>) 조립체를 포함하는 링커 유닛에 의해 결합된다. 일부 추가의 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬케이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)를 더 포함한다.

[0232] 일부 양태에서, 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 리간드 유닛 및 적어도 16개의 링커- D<sub>E</sub> 유닛을 포함하고, 리간드 유닛 및 각각의 D<sub>E</sub> 유닛(들)은 친수성 링커 (L<sup>H</sup>) 조립체를 포함하는 링커 유닛에 의해 결합된다. 일부 추가의 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 부착된다. 일부 관련된 양태에서, 링커 유닛은 티오에테르 결합을 통해 리간드 유닛에 직접적으로 컨쥬케이션된 가수분해된 석신이미드 고리 (또는 석신산)를 더 포함한다.

[0233] 식 II의 링커 유닛에 관하여, 일부 구체예에서 L<sup>A</sup>는 리간드의 황 원자에 공유 결합에 의해 결합된다. 일부 양태에서, 황 원자는 항체의 사슬 간 이화오하 결합을 형성하는 시스테인 잔기의 것이다. 또 다른 양태에서, 황 원자는 리간드 유닛으로 도입된 (예를 들어, 부위 특이적 돌연변이 생성 또는 화학 반응에 의해) 시스테인 잔기의 것이다. 추가의 양태에서, L<sup>A</sup>가 부착되는 황 원자(들)는 항체의 사슬 간 이황화 결합을 형성하는 시스테인 잔기 및 리간드 유닛으로 도입된 (예를 들어, 부위 특이적 돌연변이 생성 또는 화학 반응에 의해) 시스테인 잔기로부터 선택된다.

[0234] AA<sub>1</sub>은 D<sub>E</sub> 유닛과 절단 가능 결합을 형성한다. 구체예에서 AA<sub>1</sub>이 D<sub>E</sub> 유닛의 아미노산에 부착되는 경우, AA<sub>1</sub>은 D<sub>E</sub> 유닛과 절단 가능 펩타이드 결합을 형성한다. 절단 가능 펩타이드 결합은 컨쥬케이트가 그것의 표적 부위에 도달할 때 프로테아제에 의한 절단에 민감하다. 다른 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 컨쥬케이트가 그것의 표적 부위에 도달할 때 절단 (예를 들어, 프로테아제에 의한)에 민감한 반응기 모이어티 (D<sub>E</sub>)의 부착 부위와 아미드 결합을 형성한다. 식 II의 일부 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 친수성 아미노산, 전형적으로 글리신 및 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-,

[0235] 구체예에서 R<sup>L1</sup>이 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-,

$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ 로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^{\text{a}})-\text{C(O)}-$ ; 및  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{R}^{\text{b}}$ -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ 로부터 선택된다.

[0236] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}1}$ 이 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{C(O)}-$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_3\text{ 알킬})-$ ,  $-\text{NH}_2$  또는  $-\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_3\text{ 알킬})$ 로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 에틸렌디아민,  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{CH}_2-\text{NH}-$  또는  $-\text{C(O)}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2)-$ 이다.

[0237] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}2}$ 가 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^{\text{a}})-\text{C(O)}-$ ; 및  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{R}^{\text{b}}$ -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ 로부터 선택된다.

[0238] 일부 추가의 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}2}$ 가 존재할 때, 그것은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^{\text{a}})-\text{C(O)}-$ ; 및  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{R}^{\text{b}}$ -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고; 및  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ 로부터 선택된다.

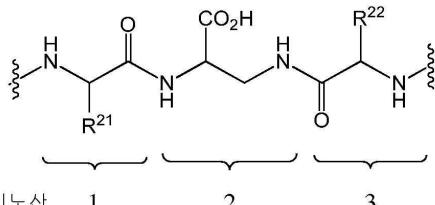
[0239] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}2}$ 가 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{C(O)}-$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_3\text{ 알킬})-$ ,  $-\text{NH}_2$  또는  $-\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_3\text{ 알킬})$ 로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 에틸렌디아민,  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{CH}_2-\text{NH}-$  또는  $-\text{C(O)}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2)-$ 이다.

[0240] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}3}$ 가 존재하고, 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^{\text{a}})-\text{C(O)}-$ ; 및  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{R}^{\text{b}}$ -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ 로부터 선택된다.

[0241] 일부 추가의 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}3}$ 가 존재할 때, 그것은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^{\text{a}})-\text{C(O)}-$ ; 및  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{R}^{\text{b}}$ -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$  및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)}-$ 로부터 선택된다.

- [0242] 구체예에서  $R^{L3}$ 가 존재하고, 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-NH-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-COOH$ ,  $-N(C_1 - C_3$  알킬) $-$ ,  $-NH_2$  또는  $-NH(C_1 - C_3$  알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $C_1 - C_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $R^{L3}$ 는 에틸렌디아민,  $-NH - CH(COOH) - CH_2 - NH -$  또는  $-C(O) - CH(CH_2NH_2) -$ 이다.
- [0243] 상기의 일부 구체예에서,  $AA_1$ 은 존재하고  $R^{L1}$ ,  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$ 은 없다.
- [0244] 상기의 일부 구체예에서,  $AA_1$ 은 존재하고,  $R^{L1}$ 은 존재하고  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$ 은 없다.  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$ 은 없다.
- [0245] 상기의 일부 구체예에서,  $AA_1$ 은 존재하고,  $R^{L1}$ 은 존재하고,  $R^{L2}$ 는 존재하고  $R^{L3}$ 은 없다.
- [0246] 상기의 일부 구체예에서,  $AA_1$ 은 존재하고,  $R^{L1}$ 은 존재하고,  $R^{L2}$ 는 존재하고  $R^{L3}$ 은 존재한다.
- [0247] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $AA_1$ 은 친수성 아미노산이고  $R^{L1}$ ,  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.
- [0248] 상기의 일부 구체예에서,  $AA_1$ 은 글루타메이트이고  $R^{L1}$ ,  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.
- [0249] 상기의 일부 구체예에서,  $AA_1$ 은 글루타메이트이고,  $R^{L1}$ 은 친수성 아미노산이고  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.
- [0250] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $AA_1$  및  $R^{L1}$ 은 친수성 아미노산이고  $R^{L2}$  및  $R^{L3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.
- [0251] 상기의 일부 구체예에서,  $AA_1$ 은 친수성 아미노산이고  $R^{L1}$  및 선택적으로  $R^{L2}$ 는 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.
- [0252] 상기의 일부 구체예에서,  $L^H$ 는 글리신 디펩타이드 (Gly-Gly), 트리펩타이드 또는 테트라펩타이드를 포함하지 않는다. 일부 구체예에서,  $L^H$ 는 웨타이드 Asn - (D)Lys를 포함하지 않는다.
- [0253] 일부 구체예에서,  $L^H$ 는 변형된 웨타이드를 포함할 것이며, 2 내지 4개의 아미노를 가진다. 변형된 웨타이드는 D<sub>E</sub> 유닛의 방출 (예를 들어, 아미드 웨타이드 결합을 통한 프로테아제 절단에 의해)을 최적화하도록 선택되는 1-위치 ( $AA_1$ )에서 아미노산을 가진다. 위치들 중 하나 또는 둘 다에서  $R^{L1}$  및  $R^{L2}$ 는 웨타이드의 전형적인 N 대 C 결합의 배향을 뒤바꾸고, 리간드 유닛의 부착 전에, 말레이미드로서 보호된  $\alpha$ -아미노 기를 포함하는 마지막 아미노산 (예를 들어,  $R^{L2}$  또는  $R^{L3}$ )의 부착을 용이하게 하는 아미노산이다. 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산은 그 것의 측쇄를 통해 다음 기에 부착된다. 일부 구체예에서, 이 아미노산은 알파 아미노산이다. 다른 구체예에서, 그것은 베타 또는 감마 아미노산일 수 있다. 일부 구체예에서, 측쇄는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ 로부터 선택된다.
- [0254]  $L^H$ 의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 ( $R^{L1}$ )은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라  $R^{L2}$  또는  $R^{L3}$ 에 부착되며,  $R^{L2}$  또는  $R^{L3}$ 은 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.
- [0255]  $L^H$ 의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 ( $R^{L1}$ )은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라  $R^{L2}$ 에 부착되며,  $R^{L2}$ 는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.

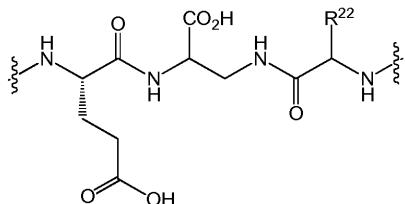
[0256] 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 친수성, 절단 가능 링커이며, 각각의 분자는 다음 식을 가진다:



[0257]

[0258] 상기 식에서  $R^{21}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^{22}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ , 및  $-CH_2CH_2OH$ 로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

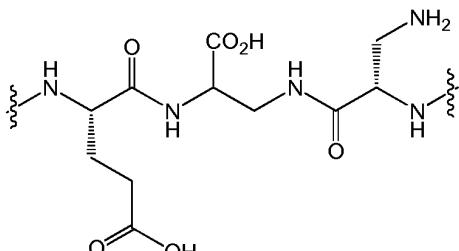
[0259] 추가의 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0260]

[0261] 상기 식에서  $R^{22}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ , 및  $-CH_2CH_2OH$ 로부터 선택된다. 일부 구체예에서,  $R^2 -CH_2NH_2$  및  $-CH_2CH_2NH_2$ 로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

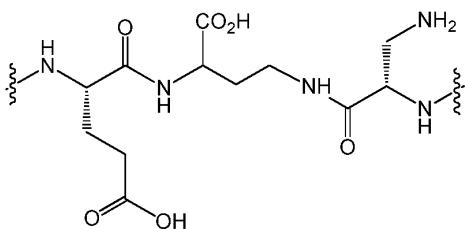
[0262] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0263]

[0264] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

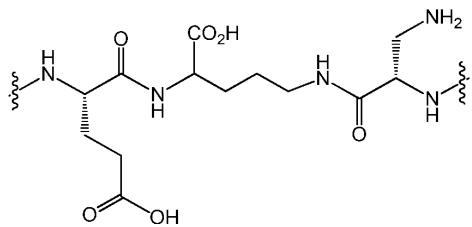
[0265] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0266]

[0267] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

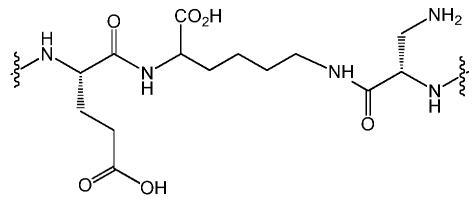
[0268] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0269]

[0270] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

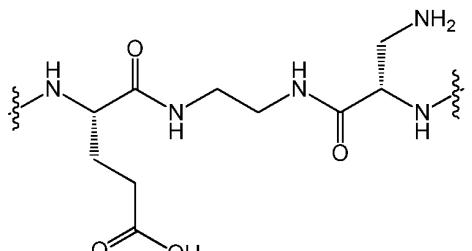
[0271] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0272]

[0273] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

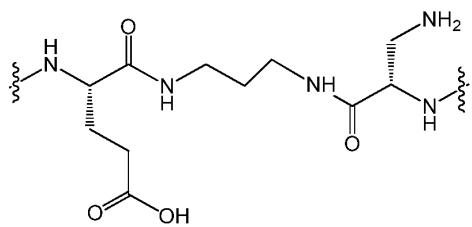
[0274] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0275]

[0276] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

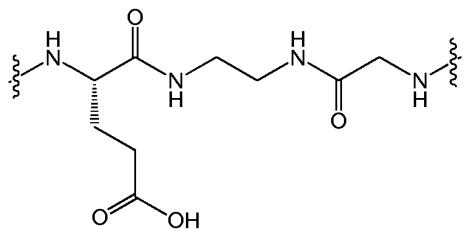
[0277] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0278]

[0279] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

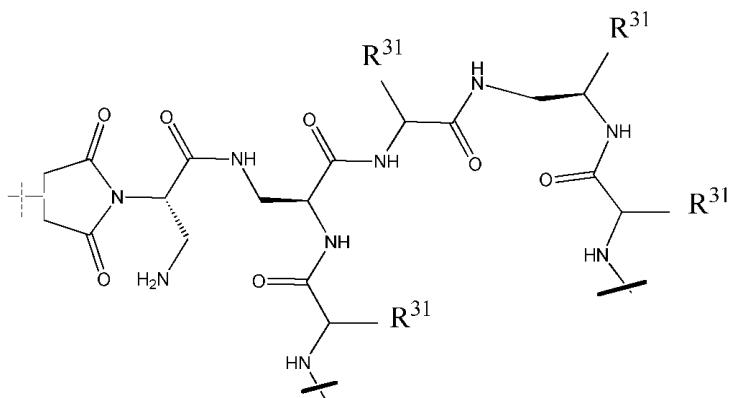
[0280] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0281]

[0282] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ , 또는  $L^H$ 의 분자로의 부착을 나타낸다.

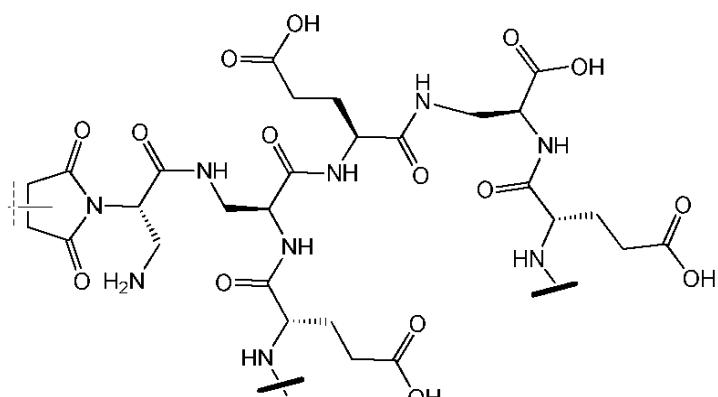
[0283] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분지된 친수성 링커이다:



[0284]

[0285] 상기 식에서 각각의  $R^{31}$ 은  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^{31}$ 에 인접한 각각의 막대는  $D_E$  유닛으로의 부착을 나타내고 수직 쇄선은 리간드 유닛으로의 부착을 나타낸다.

[0286] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분지된 친수성 링커이다:

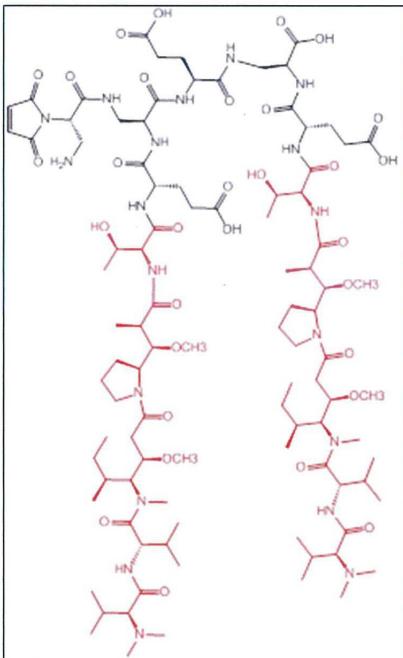


[0287]

[0288] 상기 식에서 각각의 막대는  $D_E$  유닛으로의 부착을 나타내고, 수직 쇄선은 리간드 유닛으로의 부착을 나타낸다.

[0289]

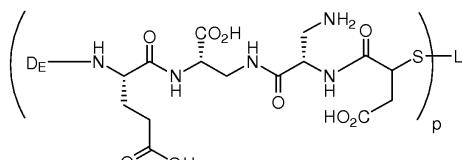
상기의 일부 추가의 구체예에서, 분지된 친수성 링커는 다음 식을 가진다:



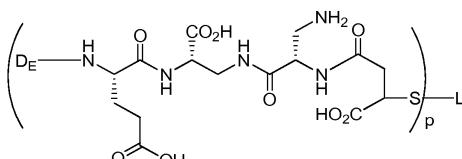
[0290]

[0291]

다시 식 II의 리간드-링커-약물 컨쥬게이트에 관하여, 일부 추가의 구체예에서, 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 다음으로부터 선택된 식을 가진다:



[0292]



[0293]

[0294]

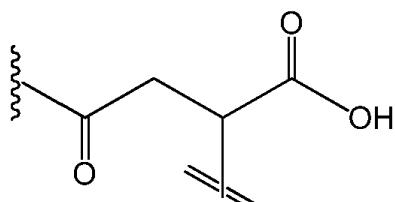
상기 식에서 S는 리간드의 황 원자를 말한다.

[0295]

## L<sup>A</sup> - 리간드 부착 구성요소

[0396]

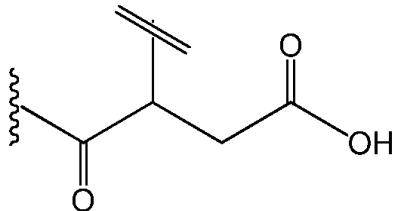
다시 식 I, I' 및 II (상기)에 관하여,  $L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이다. 일부 구체예에서,  $L^A$ 는 말레이미드 또는 가수분해된 말레이미드 또는 석신이미드 기 (하기 석신산 모이어티로서 예시됨)일 수 있다. 일부 구체예에서,  $L^A$ 가 리간드 유닛에 부착되는 경우, 그것은 가수분해된 말레이미드 또는 석신이미드 기 (석신산 모이어티로서 예시됨)이다. 따라서, 일부 구체예에서,  $L^A$ 는 다음 식을 갖는다:



[0297]

[0298] 상기 식에서 물결선은  $L^H$ 로의 부착점을 나타내고  $\text{W}$ 는 L, 리간드 유닛으로의 부착점을 나타낸다.

[0299] 다른 구체예에서,  $L^A$ 는 다음 식을 갖는다:



[0300]

[0301] 상기 식에서 물결선은  $L^H$ 로의 부착점을 나타내고  $\text{W}$ 는 L, 리간드 유닛으로의 부착점을 나타낸다.

[0302]

본 발명의 맥락에서, 일부 구체예에서 (상기 나타난 바와 같음)  $L^A$ 는 리간드 부분의 부착에 사용된 말레이미드 기의 흔적이다.  $L^H$  및  $L^A$ 의 디자인은 리간드유닛의 용이한 첨가를 허용할 뿐만 아니라, 리간드-약물 컨쥬게이트의 친수성을 증가시키는 추가적인 카르복시산 기를 제공한다. 더욱이, 말레이미드 질소는 아미노산 3의  $\alpha$ -아민이 된다 ( $L^H$ 에 관하여).

[0303]

### L - 리간드

[0304]

다시 식 I, I' 및 II에 관하여, 리간드 유닛 ( $L^-$ )은 표적 모이어티에 특이적으로 결합하는 표적화제이다. 리간드는 원하는 세포 구성요소 또는 다른 표적 분자에 특이적으로 결합할 수 있다. 표적 모이어티, 또는 표적은 전형적으로 세포 표면 상에 있다. 일부 양태에서, 리간드 유닛은 리간드 유닛이 상호작용하는 특정 표적 세포 집단에 약물 유닛을 전달하는 작용을 한다. 리간드는 단백질, 폴리펩타이드 및 웨بت아이드, 뿐만 아니라 탄수화물과 같은 비-단백질성 약제를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 적합한 리간드 유닛은, 예를 들어, 항체, 예를 들어, 진장 (온전한) 항체, 뿐만 아니라 이것의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0305]

구체예에서 리간드 유닛이 비-항체 표적화제인 경우, 그것은 웨بت아이드 또는 폴리펩타이드, 또는 비-단백질성 분자일 수 있다. 이러한 표적화제의 예는 인터페론, 텁포카인, 호르몬, 성장 인자 및 콜로니-자극 인자, 비타민, 영양소-수송 분자 (제한되는 것은 아니지만, 예를 들어, 트랜스페린), 또는 어떤 다른 세포 결합 분자 또는 물질을 포함한다.

[0306]

일부 구체예에서,  $L^A$ 는 리간드의 황 원자에 공유 결합에 의해 결합된다. 일부 양태에서, 황 원자는 항체의 사슬 간 이황화 결합을 형성하는 세스테인 잔기의 것이다. 또 다른 양태에서, 황 원자는 리간드 유닛으로 도입된 (예를 들어, 부위 특이적 돌연변이 생성 또는 화학 반응에 의해) 시스테인 잔기의 것이다. 추가의 양태에서,  $L^A$ 에 부착된 황 원자는 항체의 사슬 간 이황화 결합을 형성하는 시스테인 잔기 및 리간드 유닛으로 도입된 (예를 들어, 부위 특이적 돌연변이 생성 또는 화학 반응에 의해) 시스테인 잔기로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 시스테인 잔기는 Kabat (Kabat E. A. et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edition, NIH Publication No 91 3242)에서와 같이 EU 지수 넘버링(numbering) 시스템에 따르는 위치 239에서 Fc 영역으로 도입된다.

[0307]

일부 양태에서, 리간드 유닛은 티오-치환된 석신이미드를 형성하기 위해 리간드의 설프히드릴 기를 통해  $L^H$  상에 존재하는 말레이미드와의 결합을 형성한다. 설프히드릴 기는 리간드의 천연 상태에서 리간드, 예를 들어, 자연 발생 항체 상에 존재할 수도 있거나, 또는 화학적 변형을 통해 리간드로 도입될 수 있다. 잔류 석신이미드의 가수분해는  $L^A$  부분을 생성한다.

[0308]

한 양태에서, 리간드 유닛은 하나 이상의 설프히드릴 기를 도입하기 위해 화학적으로 변형될 수 있는 하나 이상의 리신 잔기를 가진다. 리신을 변형시키는데 사용될 수 있는 시약은 N-석신이미딜 S-에세틸티오아세트산염 (SATA) 및 2-이미노티올란 염산염 (트라웃 시약(Traut's Reagent))을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0309]

또 다른 구체예에서, 리간드 유닛은 하나 이상의 설프히드릴 기를 갖도록 화학적으로 변형될 수 있는 하나 이상의 탄수화물 기를 가질 수 있다.

- [0310] 또 다른 구체예에서, 설프히드릴 기는 사슬 간 이황화물의 환원에 의해 생성될 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, 링커 유닛은 환원된 사슬 간 이황화물의 시스테인 잔기에 컨쥬게이션된다.
- [0311] 또 다른 구체예에서, 설프히드릴 기는, 예를 들어, 시스테인 잔기의 도입에 의해, 항체에 화학적으로 도입된다. 따라서, 일부 구체예에서, 링커 유닛은 도입된 시스테인 잔기에 컨쥬게이션된다.
- [0312] 유용한 비-면역반응성 단백질, 폴리펩타이드, 또는 펩타이드 리간드는 트랜스페린, 표피 성장 인자 ("EGF"), 봄 베신, 가스트린, 가스트린-방출 펩타이드, 혈소판-유래 성장 인자, IL-2, IL-6, 형질전환 성장 인자 ("TGF"), 예를 들어, TGF- $\alpha$  및 TGF- $\beta$ , 우두(vaccinia) 성장 인자 ("VGF"), 인슐린 및 인슐린-유사 성장 인자 I 및 II, 소마토스타틴, 렉틴 및 저밀도 지질 단백질의 아포단백질(apoprotein)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0313] 특히 바람직한 리간드는 항체이다. 유용한 다클론성 항체는 면역화된 동물의 혈청으로부터 유래된 항체 분자의 비균질한 집단이다. 유용한 단클론성 항체는 특정한 항원성 결정요인 (예를 들어, 암세포 항원, 바이러스 항원, 미생물 항원, 단백질, 펩타이드, 탄수화물, 화학물질, 핵산, 또는 이것들의 단편)에 대한 항체의 균질한 집단이다. 원하는 항원에 대한 단클론성 항체 (mAb)는 배양시 연속적 세포주에 의한 항체 분자의 생성을 제공하는, 업계에 공지된 어떠한 기술을 사용하여 제조될 수 있다.
- [0314] 유용한 단클론성 항체는 인간 단클론성 항체, 인간화된 단클론성 항체, 또는 키메라 인간-마우스 (또는 다른 종) 단클론성 항체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 항체는 전장 항체 및 이것의 항원 결합 단편을 포함한다. 인간 단클론성 항체는 업계에 공지된 많은 기술 중 어느 것에 의해서도 만들어질 수 있다 (예를 들어, Teng *et al.*, 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80:7308-7312; Kozbor *et al.*, 1983, *Immunology Today* 4:72-79; 및 Olsson *et al.*, 1982, *Meth. Enzymol.* 92:3-16).
- [0315] 항체는 표적 세포 (예를 들어, 암세포 항원, 바이러스 항원, 또는 미생물 항원)에 면역 특이적으로 결합하는 항체의 항원 결합 단편, 유도체 또는 유사체 또는 종양 세포 또는 매트릭스에 결합된 다른 항체일 수 있다. 이 점에 있어서, "항원 결합"은 단편, 유도체 또는 유사체가 표적 모이어티에 특이적으로 결합할 수 있다는 것을 의미한다. 구체적으로, 예시의 구체예에서 면역글로불린 분자의 유전물질형의 항원성은 항원을 특이적으로 인식하는 CDR 서열에 대하여 C-말단인 프레임워크 서열 및 CDR 서열의 결실에 의해 향상될 수 있다. CDR 서열이 항원에 결합하는지 결정하기 위해, CDR 서열을 함유하는 합성 펩타이드는 업계에 공지된 어떠한 결합 검정 방법 (예를 들어, BIA 코어 검정)에 의해 항원과의 결합 검정에 사용될 수 있다 (예를 들어, Kabat *et al.*, 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md; Kabat E *et al.*, 1980, *J. Immunology* 125(3):961-969 참조).
- [0316] 다른 유용한 항체는 항체의 항원 결합 단편, 제한되는 것은 아니지만, 예를 들어, F(ab')<sub>2</sub> 단편, Fab 단편, Fvs, 단일 사슬 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, scFv, scFv-FV, 또는 항체로부터 유래되고 항체와 같은 특이성을 가진 어떠한 다른 분자도 포함한다.
- [0317] 추가적으로, 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 만들어질 수 있는 재조합 항체, 예를 들어, 인간 및 비-인간 부분을 포함하는 키메라 및 인간화된 단클론성 항체가 유용한 항체이다. 키메라 항체는 다른 부분이 다른 동물 종으로부터 유래되는 분자, 예를 들어, 쥐 단클론성 및 인간 면역글로불린 불변 영역로부터 유래된 가변 영역을 가진 것들이다. (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567; 및 미국 특허 번호 4,816,397 참조, 이것들은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다). 인간화된 항체는 비-인간 종의 하나 이상의 상보성 결정 영역 (CDR) 및 인간 면역글로불린 분자로부터 유래된 프레임워크 영역을 가진 비-인간 종의 항체 분자이다. (예를 들어, 미국 특허 번호 5,585,089 참조, 이것은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다). 이러한 키메라 및 인간화된 단클론성 항체는 업계에 공지된 재조합 DNA 기술에 의해, 예를 들어, 국제 공개 번호 WO 87/02671; 유럽 특허 공개 번호 0 184 187; 유럽 특허 공개 번호 0 171 496; 유럽 특허 공개 번호 0 173 494; 국제 공개 번호 WO 86/01533; 미국 특허 번호 4,816,567; 유럽 특허 공개 번호 012 023; Berter *et al.*, 1988, *Science* 240:1041-1043; Liu *et al.*, 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-3443; Liu *et al.*, 1987, *J. Immunol.* 139:3521-3526; Sun *et al.*, 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-218; Nishimura *et al.*, 1987, *Cancer. Res.* 47:999-1005; Wood *et al.*, 1985, *Nature* 314:446-449; 및 Shaw *et al.*, 1988, *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559; Morrison, 1985, *Science* 229:1202-1207; Oi *et al.*, 1986, *BioTechniques* 4:214; 미국 특허 번호 5,225,539; Jones *et al.*, 1986, *Nature* 321:552-525; Verhoeyan *et al.*, 1988, *Science* 239:1534; 및 Beidler *et al.*, 1988, *J. Immunol.* 141:4053-4060에서 기술된 방법을 사용하여 생산될 수 있으며; 이것들 각각은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

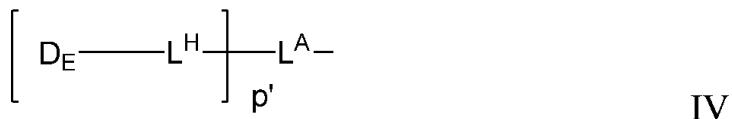
- [0318] 완전한 인간 항체가 특히 바람직하며 내인성 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자를 발현할 수 없지만, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자를 발현할 수 있는 트랜스제닉(transgenic) 마우스를 사용하여 생산될 수 있다.
- [0319] 항체는 Fc 수용체와 상호작용하는 아미노산 잔기에서의 변형 (예를 들어, 치환, 결실 및/또는 첨가)을 가질 수 있다. 특히, 항체는 항-Fc 도메인과 FcRn 수용체 간의 상호작용에 수반된 것으로 확인된 아미노산 잔기의 변형을 가질 수 있다 (예를 들어, 국제 공개 번호 WO 97/34631 참조, 이것은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다). 항체는 또한 항-Fc 도메인과 Fc 감마 수용체 III 간의 상호작용에 수반된 것으로 확인된 아미노산 잔기의 변형을 가질 수 있다.
- [0320] 암세포 항원에 면역 특이적인 항체는 상업적으로 얻어지거나 또는 당업자에게 공지된 어떠한 방법, 예를 들어, 화학적 기술 또는 재조합 발현 기술에 의해 생산될 수 있다. 암세포 항원에 면역 특이적인 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은, 예를 들어, GenBank 데이터베이스 또는 그것과 유사한 데이터베이스, 문헌 간행물로부터, 또는 일상적인 클로닝 및 시퀀싱에 의해 얻어질 수 있다.
- [0321] 특정 구체예에서, 암 치료용 항체가 사용될 수 있다. 암세포 항원에 면역 특이적인 항체는 상업적으로 얻어지거나 또는 당업자에게 공지된 어떠한 방법, 예를 들어, 재조합 발현 기술에 의해 생산될 수 있다. 암세포 항원에 면역 특이적인 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은, 예를 들어, GenBank 데이터베이스 또는 그것과 유사한 데이터베이스, 문헌 간행물로부터, 또는 일상적인 클로닝 및 시퀀싱에 의해 얻어질 수 있다.
- [0322] 또 다른 특이적 구체예에서, 자가면역 질환 치료용 항체는 본 발명의 조성물 및 방법에 따라 사용된다. 자가면역 항체 생산의 원인이 되는 세포의 항원에 면역 특이적인 항체는 어떠한 단체 (예를 들어, 대학교 과학자 또는 회사)로부터 얻어지거나 또는 당업자에게 공지된 어떠한 방법, 예를 들어, 화학적 합성 또는 재조합 발현 기술에 의해 생산될 수 있다.
- [0323] 특정 구체예에서, 유용한 항체는 수용체 또는 수용체 복합체에 결합할 수 있다. 수용체 또는 수용체 복합체는, 예를 들어, 면역글로불린 유전자 슈퍼페밀리 멤버, TNF 수용체 슈퍼페밀리 멤버, 인테그린, 사이토카인 수용체, 케모카인 수용체, 주요 조직 적합성 단백질, 랙틴, 또는 보체 조절 단백질을 포함한다.
- [0324] 일부 구체예에서, 항체는 인간화된 CD70 항체 (예를 들어, US 2009/0148942 참조), 인간화된 CD19 항체 (예를 들어, US 2009/0136526 참조), 키메라 또는 인간화된 CD30 항체 (예를 들어, US 2010/0239571 참조), 인간화된 CD33 항체 (US 2013/0309223), 인간화된 Beta6 항체 (예를 들어, WO 2013/123152 참조), 또는 인간화된 Liv-1 항체 (예를 들어, US 2013/0259860 참조)이다.
- [0325] **약물 로딩 - "p"**
- [0326] 다시 일반적으로 식 I, I' 및 II의 리간드-링커-약물 컨쥬케이트에 관하여, 리간드 당 약물-링커 유닛의 수는 p로 표현된다. (이 맥락에서, 약물-링커의 약물은 세포독성제일 수 있다). 구체예에서 링커가 분지되지 않은 경우, p는 리간드 (예를 들어, 항체) 당 약물-링커 문자의 수를 나타낸다. 개개의 컨쥬케이트를 언급할 때, p는 리간드 당 약물-링커 문자의 수를 나타내는 정수이다. 다수의 컨쥬케이트를 함유하는 조성물을 언급할 때, p는 리간드 당 약물-링커의 평균 수를 나타낸다 (또는 구체예에서 링커가 분지되지 않은 경우, 리간드 (예를 들어, 항체) 당 약물-링커 문자의 평균 수). 변수 p는 4 내지 20, 전형적으로 6 내지 12, 8 내지 12 또는 8 내지 16의 범위, 또는 최대 20이다.
- [0327] 컨쥬케이션 반응의 조제물에서 리간드 유닛 당 약물-링커 유닛의 평균 수는 통상적인 수단, 예를 들어, 질량 분광법, ELISA 검정, HIC 및 HPLC에 의해 특성화될 수도 있다. p에 관하여 리간드-링커-약물 컨쥬케이트의 양적 분포가 또한 결정될 수도 있다. 일부 예에서, p가 다른 약물 로딩된 리간드-약물 컨쥬케이트의 특정 값인 경우, 균질한 리간드-약물 컨쥬케이트의 분리, 정제, 및 특성화는 역상 HPLC 또는 전기영동과 같은 수단에 의해 달성될 수도 있다.
- [0328] **활성 검정**
- [0329] 많은 다른 검정들이 리간드-약물 컨쥬케이트가 세포주에 대하여 세포 독성 효과를 발휘하는지 결정하는데 사용될 수 있다. 리간드-약물 컨쥬케이트가 세포주에 대하여 세포 독성을 발휘하는지 결정하기 위한 한 예에서, 티미딘 통합 검정이 사용된다. 예를 들어, 96-웰 플레이트의 5,000 세포/웰의 밀도의 세포가 72시간의 기간 동안 배양되고 72시간 기간 중 마지막 8시간 동안  $0.5 \mu\text{Ci}$ 의  $^3\text{H}$ -티미딘에 노출되고, 배양 중인 세포로  $^3\text{H}$ -티미딘의 통합은 리간드-약물 컨쥬케이트의 존재 및 부재시 측정된다. 리간드-약물 컨쥬케이트는 배양 중인 세포가 같은

조건 하에 배양되지만 리간드-약물 컨쥬게이트와 접촉되지 않은 같은 세포와 비교하여  $^3\text{H}$ -티미딘 통합이 감소되었으면 세포에 대하여 세포 독성 효과를 가진다. (또한 Klussman *et al.*, *Bioconjugate Chemistry* 15: 765-773 (2004); Doronina *et al.*, *Bioconjugate Chemistry* 17:114-124 (2006) 참조).

[0330] 또 다른 예에서, 리간드-약물 컨쥬게이트가 세포주에 대하여 세포 독성 효과를 발휘하는지 결정하기 위해서, 세포에서 뉴트럴 레드(neutral red), 트리판 블루(trypan blue), 또는 ALAMAR<sup>TM</sup> 블루와 같은 염료의 흡수율을 결정함으로써 세포 생존률이 측정된다. (예를 들어, Page *et al.*, 1993, *Int'l. J. of Oncology* 3:473-476 참조). 이러한 검정에서, 세포는 염료를 함유하는 배지에서 배양되고, 세척되어, 염료의 세포 흡수율을 반영하는 잔류 염료가 분광 광도법을 사용하여 측정된다. 단백질-결합 염료 설포로다민 B (SRB)는 또한 세포 독성을 측정하는데 사용될 수 있다 (Skehan *et al.*, 1990, *J. Nat'l Cancer Inst.* 82:1107-12). 바람직한 리간드-약물 컨쥬게이트는 세포주에서 1000 ng/ml 미만, 바람직하게는 500 ng/ml 미만, 더 바람직하게는 100 ng/ml 미만, 가장 바람직하게는 50 ng/ml 미만 또는 10 ng/ml 미만의 IC<sub>50</sub> 값 (50% 세포 살해를 제공하는 mAb 농도로 한정됨)을 가진 것들을 포함한다.

#### 약물-링커 화합물

[0332] 또 다른 양태에서, 다음 식을 가진 약물-링커 화합물 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물이 제공된다:



[0333]

상기 식에서:

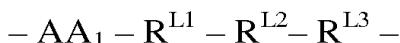
[0335]

$\text{L}^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

[0336]

$\text{L}^H$ 는 선택적으로 분지된 친수성 링커이며, 각각의 분지는 다음 식을 가지고:

[0337]



[0338]

상기 식에서:

[0339]

$\text{AA}_1$ 은 그것이 부착되는  $\text{D}_E$  유닛의 C-말단 단부와 절단 가능 결합을 형성하는 친수성 아미노산이고;

[0340]

$\text{R}^{L1}$ 은 선택적이고  $\text{R}^{L1}$ 이 존재하고  $\text{R}^{L2}$  및  $\text{R}^{L3}$ 는 없을 때,  $\text{L}^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌이고;

[0341]

$\text{R}^{L2}$ 는 선택적이고  $\text{R}^{L2}$ 가 존재하고  $\text{R}^{L3}$ 는 없을 때  $\text{L}^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0342]

$\text{R}^{L3}$ 는 선택적이고  $\text{R}^{L3}$ 가 존재할 때  $\text{L}^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0343]

아래 첨자  $p'$ 는 1 내지 4의 정수이고;

[0344]

$\text{D}_E$ 는 반응기 모이어티이고 (본원에서 기술됨);

[0345]

약물-링커로 형성된 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 2 이하의 친수성 지수를 갖고;

[0346]

$\text{L}^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각  $\text{D}_E$  유닛 및  $\text{L}^A$ 로의 공유 결합에 의한 부착을 나타낸다.

[0347]

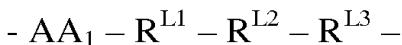
관련된 양태 IV'에서, 다음 식을 가진 약물-링커 화합물 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물이 제공된다:



[0349] 상기 식에서:

[0350]  $L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

[0351]  $L^H$ 는 다음 식을 가지는 선택적으로 분지된 친수성 링커이며:



[0353] 상기 식에서:

[0354]  $AA_1$ 은 그것이 부착되는  $D_E$  유닛의 C-말단 단부와 절단 가능 결합을 형성하는 친수성 아미노산이고;

[0355]  $R^{L1}$ 은  $R^{L3}$  및  $R^{L2}$ 가 존재하지 않을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌이고;

[0356]  $R^{L2}$ 는 선택적이고  $R^{L2}$ 가 존재하고  $R^{L3}$ 가 존재하지 않을 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0357]  $R^{L3}$ 는 선택적이고  $R^{L3}$ 가 존재할 때  $L^A$ 와 원자를 공유할 수도 있는, 친수성 아미노산 및 선택적으로 치환된 알킬렌으로부터 선택되고;

[0358]  $L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

[0359] 아래 첨자  $p'$ 는 1 내지 4의 정수이고;

[0360]  $D_E$ 는 반응기 모이어티이고 (본원에서 기술됨);

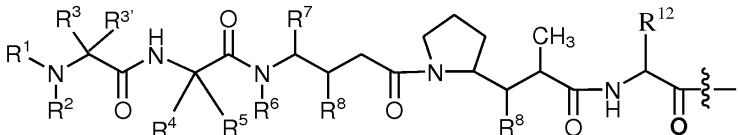
[0361] 약물-링커로 형성된 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 2 이하의 친수성 지수를 갖고;

[0362]  $L^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 공유 결합에 의한 부착을 나타낸다.

[0363] 식 IV 및 IV'의 리간드-링커-약물 컨쥬게이트의 다양한 구성요소가 하기 더 상세히 제공된다.

[0364] 약물 유닛,  $D_E$

[0365] 식 IV 및 IV'에 관하여, 약물 유닛,  $D_E$ 는 다음 식을 가진 반응기 모이어티이다:



[0367] 상기 식에서:

[0368]  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 수소 (H) 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고; 단  $R^3$  및  $R^{3'}$  둘 다가 H가 아닌 경우 외에는,  $R^1$  및  $R^2$  둘 다는 H가 아니고;

[0369]  $R^3$ 은 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,

[0370]  $R^{3'}$ 은 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,  $R^3$  및  $R^{3'}$  중 적어도 하나는 H가 아니고;

- [0371]  $R^4$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,
- [0372]  $R^5$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되거나, 또는  $R^4$  및  $R^5$ 는 공동으로 탄소환식 고리를 형성하고 식  $-(CR^aR^b)_n-$ 를 가지며,  $R^a$  및  $R^b$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고 n은 2, 3, 4, 5 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되고;
- [0373]  $R^6$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,
- [0374]  $R^7$ 는 H 및 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬로 구성된 군으로부터 선택되고,
- [0375] 각각의  $R^8$ 은 H, -OH, 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬, 및 선택적으로 치환된  $-O-(C_1-C_8$  알킬)로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0376]  $R^{12}$ 는 H, 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된  $-X^1$ 아릴, 선택적으로 치환된  $-C_3-C_8$  탄소환, 선택적으로 치환된  $-X^1-(C_3-C_8$  탄소환), 선택적으로 치환된  $-C_1-C_8$  알킬렌-NH<sub>2</sub>, 선택적으로 치환된  $-C_3-C_8$  헤테로환 및 선택적으로 치환된  $-X^1-(C_3-C_8$  헤�테로환)으로부터 선택되고,
- [0377] 각각의  $X^1$ 는 독립적으로  $-C_1-C_{10}$  알킬렌이다.
- [0378] 일부 관련된 구체예에서,  $R^{12}$ 는 폐닐알라닌 또는 프롤린의 측쇄가 아니다. 일부 추가의 관련된 구체예에서,  $R^{12}$ 는 폐닐알라닌, 메티오닌, 트립토판 또는 프롤린의 측쇄가 아니다.
- [0379] 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 천연 L-아미노산 (프롤린 외에) 및 글리신의 측쇄들로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서,  $R^{12}$ 는 프롤린, 글리신 또는 폐닐알라닌 이외의 천연 L-아미노산의 측쇄로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서,  $R^{12}$ 는 프롤린, 글리신, 트립토판, 메티오닌 또는 폐닐알라닌 이외의 천연 L-아미노산의 측쇄로부터 선택된다.
- [0380] 일부 추가의 구체예에서,  $R^{12}$ 는 트레오닌, 세린, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 호모세린, 하이드록시발린, 푸릴 알라닌, 트레오닌( $PO_3H_2$ ), 피라졸릴 알라닌, 트리아졸릴 알라닌 및 티아졸릴 알라닌으로 구성된 친수성 아미노산의 군의 측쇄로부터 선택된다.
- [0381] 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 트레오닌의 측쇄이다.
- [0382] 링커 유닛
- [0383] 식 IV 및 IV'의 링커 유닛에 관하여, 일부 구체예에서,  $L^A$ 는 리간드의 황 원자에 공유 결합에 의해 결합된다. 일부 양태에서, 황 원자는 항체의 사슬 간 이황화 결합을 형성하는 시스테인 잔기의 것이다. 또 다른 양태에서, 황 원자는 리간드 유닛으로 도입된 (예를 들어, 부위 특이적 돌연변이 생성 또는 화학 반응에 의해) 시스테인 잔기의 것이다. 추가의 양태에서,  $L^A$ 가 부착되는 황 원자는 항체의 사슬 간 이황화 결합을 형성하는 시스테인 잔기 및 리간드 유닛으로 도입된 (예를 들어, 부위 특이적 돌연변이 생성 또는 화학 반응에 의해) 시스테인 잔기로부터 선택된다.
- [0384] AA<sub>1</sub>은 반응기 모이어티, D<sub>E</sub>, 예를 들어, 약물 유닛과 절단 가능 결합을 형성한다. 구체예에서 AA<sub>1</sub>이 D<sub>E</sub>의 아미노산에 부착되는 경우, AA<sub>1</sub>은 D<sub>E</sub>와 절단 가능 웨타이드 결합을 형성한다. 절단 가능 웨타이드 결합은 컨쥬게이트가 그것의 표적 부위에 도달할 때 프로테아제에 의한 절단에 민감하다. 다른 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 컨쥬게이트가 그것의 표적 부위에 도달할 때 절단 (예를 들어, 프로테아제에 의한)에 민감한 반응기 모이어티의 부착 부위와 아미드 결합을 형성한다. 일부 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 친수성 아미노산, 전형적으로 글리신 및 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 형으로 구성된 군으로부터 선택된

천연 아미노산이다. 일부 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 글루타메이트이다.

[0385] 구체예에서 R<sup>L1</sup>이 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O) -로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서, R<sup>L1</sup>은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -으로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O) -로부터 선택된다.

[0386] 구체예에서 R<sup>L1</sup>이 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은 -NH-, -C(O)-, -COOH, -N(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> 알킬)-, -NH<sub>2</sub> 또는 -NH(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> 알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> 알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서, R<sup>L1</sup>은 에틸렌디아민, -NH - CH(COOH) - CH<sub>2</sub> -NH - 또는 -C(O) - CH(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) -이다.

[0387] 구체예에서 R<sup>L2</sup>가 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O) -로부터 선택된다.

[0388] 일부 추가의 구체예에서 R<sup>L2</sup>가 존재할 때, 그것은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O) -로부터 선택된다.

[0389] 구체예에서 R<sup>L2</sup>가 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은 -NH-, -C(O)-, -COOH, -N(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> 알킬)-, -NH<sub>2</sub> 또는 -NH(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> 알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> 알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서, R<sup>L2</sup>는 에틸렌디아민, -NH - CH(COOH) - CH<sub>2</sub> -NH - 또는 -C(O) - CH(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) -이다.

[0390] 구체예에서 R<sup>L3</sup>이 존재하고, 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O) -로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서 R<sup>L3</sup>가 존재할 때, 그것은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘,

리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^{\text{a}})-\text{C}(0)-$ ; 및  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{R}^{\text{b}}$ -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(0)-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(0)-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(0)-$ 로부터 선택된다.

[0391] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}3}$ 이 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(0)-$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_3\text{ 알킬})-$ ,  $-\text{NH}_2$  또는  $-\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_3\text{ 알킬})$ 로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $\text{R}^{\text{L}3}$ 는 에틸렌디아민,  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{CH}_2-\text{NH}-$  또는  $-\text{C}(0)-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2)-$ 이다.

[0392] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고  $\text{R}^{\text{L}1}$ ,  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 없다.

[0393] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 존재하고  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 없다.

[0394] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 존재하고  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 없다.

[0395] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 존재하고  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 존재한다.

[0396] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L}1}$ ,  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0397] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 글루타메이트이고  $\text{R}^{\text{L}1}$ ,  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0398] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 글루타메이트이고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0399] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$  및  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0400] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L}1}$  및 선택적으로  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0401] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{L}^{\text{H}}$ 는 글리신 디펩타이드 (Gly-Gly), 트리펩타이드 또는 테트라펩타이드를 포함하지 않는다. 일부 구체예에서,  $\text{L}^{\text{H}}$ 는 펩타이드 Asn - (D)Lys를 포함하지 않는다.

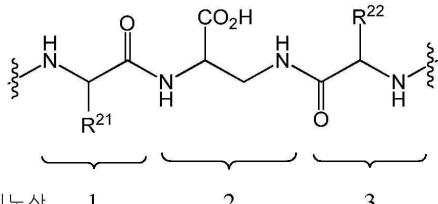
[0402] 일부 구체예에서,  $\text{L}^{\text{H}}$ 는 변형된 펩타이드를 포함할 것이며, 2 내지 4개의 아미노산을 가질 것이다. 변형된 펩타이드는  $\text{D}_{\text{E}}$  유닛의 방출 (예를 들어, 아미드 펩타이드 결합을 통한 프로테아제 절단에 의해)을 최적화하도록 선택되는 1-위치 ( $\text{AA}_1$ )에서 아미노산을 갖는다. 위치들 중 하나 또는 둘 다에서  $\text{R}^{\text{L}1}$  및  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 위치들 중 하나 또는 둘 다에서  $\text{R}^{\text{L}1}$  및  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 펩타이드의 전형적인 N 대 C 결합의 배향을 뒤바꾸고, 리간드 유닛의 부착 전에, 말레이미드로서 보호된  $\alpha$ -아미노 기를 포함하는 마지막 아미노산 (예를 들어,  $\text{R}^{\text{L}2}$  또는  $\text{R}^{\text{L}3}$ )의 부착을 용이하게 하는 아미노산이다. 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산은 그것의 측쇄를 통해 다음 기에 부착된다. 일부 구체예에서, 이 아미노산은 알파 아미노산이다. 다른 구체예에서, 그것은 베타 또는 감마 아미노산일 수 있다. 이 구체예들 중 일부에서, 측쇄는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$ 로부터 선택된다.

[0403]  $\text{L}^{\text{H}}$ 의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 ( $\text{R}^{\text{L}1}$ )은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라

$R^{L^2}$  또는  $R^{L^3}$ 에 부착되며,  $R^{L^2}$  또는  $R^{L^3}$ 은 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.

[0404]  $L^H$ 의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 ( $R^{L^1}$ )은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라  $R^{L^2}$ 에 부착되며,  $R^{L^2}$ 는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.

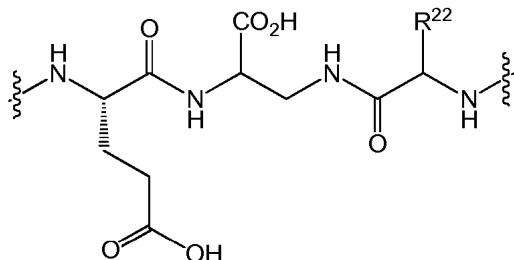
[0405] 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 친수성, 절단 가능 링커이며, 각 분자는 다음 식을 가진다:



[0406] 아미노산 1 2 3

[0407] 상기 식에서  $R^{21}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^{22}$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ , 및  $-CH_2CH_2OH$ 로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

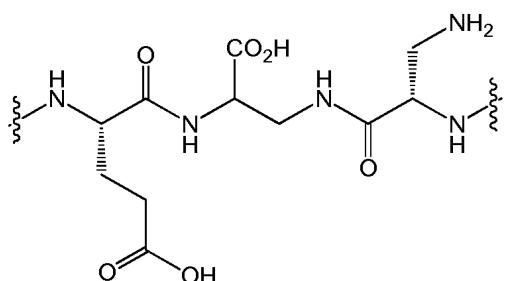
[0408] 추가의 구체예에서  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0409]

[0410] 상기 식에서  $R^{22}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ , 및  $-CH_2CH_2OH$ 로부터 선택된다. 일부 구체예에서,  $R^{22}$ 는  $-CH_2NH_2$  및  $-CH_2CH_2NH_2$ 로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

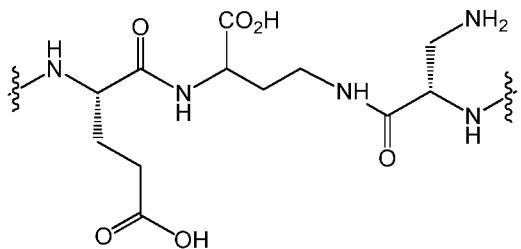
[0411] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0412]

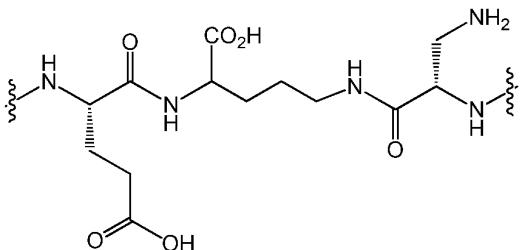
[0413] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

[0414] 특정 구체예에서, L<sup>H</sup>, 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



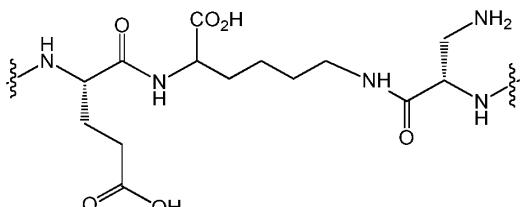
[0415] [0416] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

[0417] 특정 구체예에서, L<sup>H</sup>, 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



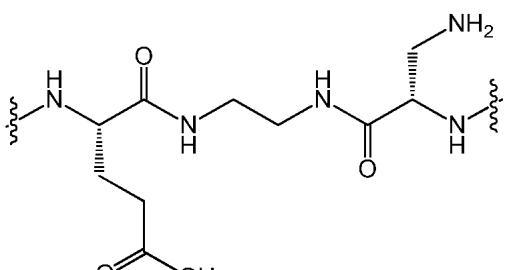
[0418] [0419] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

[0420] 특정 구체예에서, L<sup>H</sup>, 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



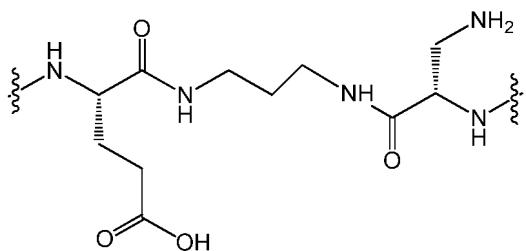
[0421] [0422] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

[0423] 특정 구체예에서, L<sup>H</sup>, 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0424] [0425] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

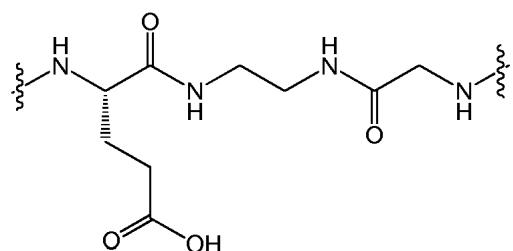
[0426] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0427]

[0428] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

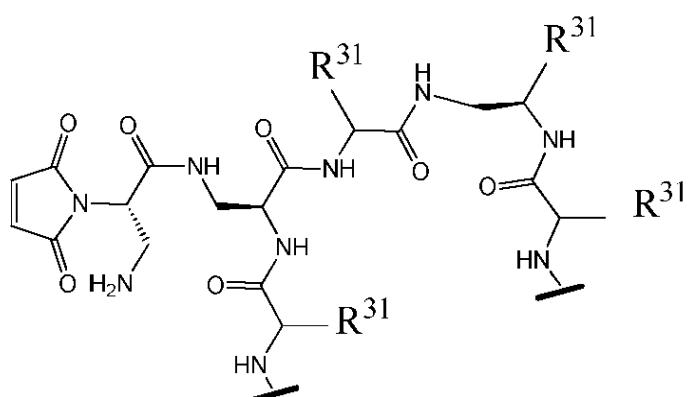
[0429] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0430]

[0431] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

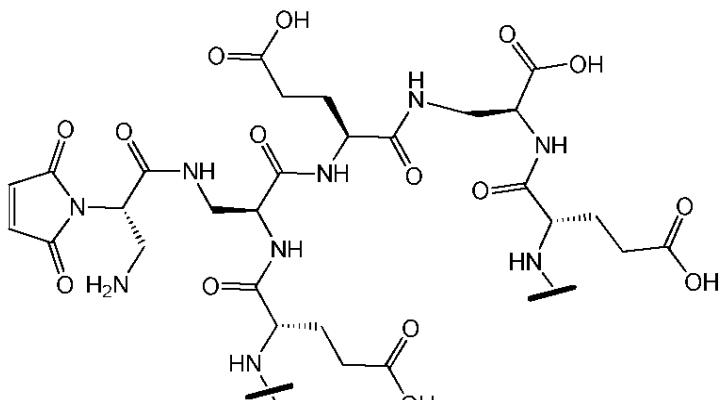
[0432] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분자된 친수성 링커이다:



[0433]

[0434] 상기 식에서 각각의  $R^{31}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고; 각각의 막대는  $D_E$  유닛에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0435] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분지된 친수성 링커이다:



[0436]

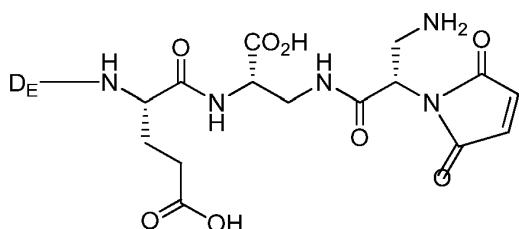
[0437] 상기 식에서 각각의 막대는  $D_E$  유닛으로의 부착을 나타낸다.

[0438]

$L^A$  서브유닛은 상기 더 상세히 기술된다.

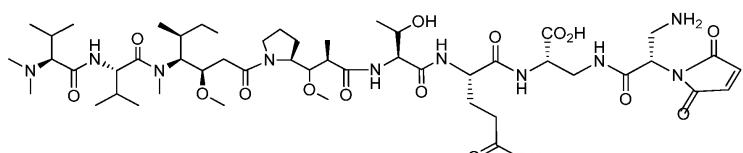
[0439]

다시 식 IV 및 IV'의 약물 링커 컨쥬게이트에 관하여, 일부 추가의 구체예에서, 약물-링커는 다음으로부터 선택된 식을 가진다:



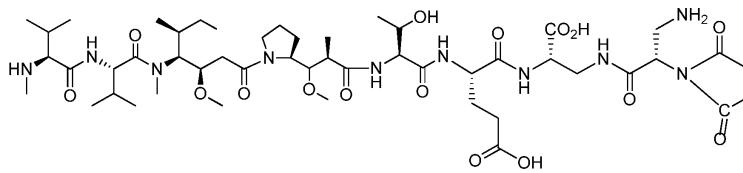
[0440]

[0441] 특정 구체예는



[0442]

(IVa), 및



[0443]

[0444] 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물을 포함한다.

### 링커

[0446]

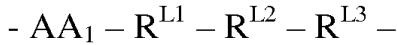
또 다른 양태에서, 다음 식을 가진 친수성 링커가 제공된다:



[0447]

[0448] 상기 식에서:

[0449]  $L^H$ 는 다음 식을 가진 선택적으로 분지된 친수성 링커이고;



[0450]  $L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

[0451]  $p'$ 는 1 내지 4의 정수이고;

[0452]  $L^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위; 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물을 나타낸다.

[0453] [0454] 식 VII에 관하여, 일부 구체예에서,  $L^A$ 는 리간드의 황 원자에 공유 결합에 의해 결합된다.  $L^A$ 는, 예를 들어, 황 원자로의 부착에 적합한 말레이미드 또는 석신이미드일 수 있다.

[0455]  $AA_1$ 은 반응기 모이어티  $D_E$ , 예를 들어, 약물 유닛과 절단 가능 결합을 형성할 수 있다. 구체예에서  $AA_1$ 이  $D_E$ 의 아미노산에 부착되는 경우,  $AA_1$ 은  $D_E$ 와 절단 가능 웨타이드 결합을 형성한다. 절단 가능 웨타이드 결합은 컨쥬게이트가 그것의 표적 부위에 도달할 때 프로테아제에 의한 절단에 민감하다. 다른 구체예에서,  $AA_1$ 은 컨쥬게이트가 그것의 표적 부위에 도달할 때 절단 (예를 들어, 프로테아제에 의한)에 민감한 반응기 모이어티의 부착 부위와 아미드 결합을 형성한다. 일부 구체예에서,  $AA_1$ 은 친수성 아미노산, 전형적으로 글리신 및 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 형으로 구성된 군으로부터 선택된 천연 아미노산이다. 일부 구체예에서,  $AA_1$ 은 글루타메이트이다.

[0456] 구체예에서  $R^{L1}$ 이 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-NH - CH(R^a) - C(O)-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b$ 로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2C(O)-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2C(O)-$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2C(O)$ 로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서,  $R^{L1}$ 은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-NH - CH(R^a) - C(O)-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b$ 로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2C(O)-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2C(O)-$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2C(O)$ 로부터 선택된다.

[0457] 구체예에서  $R^{L1}$ 이 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-NH-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-COOH$ ,  $-N(C_1 - C_3$  알킬),  $-NH_2$  또는  $-NH(C_1 - C_3$  알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $C_1 - C_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $R^{L1}$ 은 에틸렌디아민,  $-NH - CH(COOH) - CH_2 - NH -$  또는  $-C(O) - CH(CH_2NH_2) -$ 이다.

[0458] 구체예에서  $R^{L2}$ 가 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-NH - CH(R^a) - C(O)-$ ; 및  $-NH - CH(COOH) - R^b$ 로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서  $R^a$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^b$ 는  $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2C(O)-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2C(O)-$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2C(O)$ 로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서  $R^{L2}$ 가 존재할 때, 그것은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민,

히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{R}^{\text{a}}) - \text{C}(\text{O})-$ ; 및  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{R}^{\text{b}}$  -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 로부터 선택된다.

[0459] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}2}$ 가 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ 알킬})-$ ,  $-\text{NH}_2$  또는  $-\text{NH}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ 알킬})$ 로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $\text{C}_1 - \text{C}_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 에틸렌디아민,  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{CH}_2 - \text{NH} -$  또는  $-\text{C}(\text{O}) - \text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2) -$ 이다.

[0460] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}3}$ 이 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형;  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{R}^{\text{a}}) - \text{C}(\text{O})-$ ; 및  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{R}^{\text{b}}$  -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 로부터 선택된다.

[0461] 일부 추가의 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}3}$ 가 존재할 때, 그것은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{R}^{\text{a}}) - \text{C}(\text{O})-$ ; 및  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{R}^{\text{b}}$  -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 로부터 선택된다.

[0462] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L}3}$ 이 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 그것은  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ 알킬})-$ ,  $-\text{NH}_2$  또는  $-\text{NH}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ 알킬})$ 로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $\text{C}_1 - \text{C}_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $\text{R}^{\text{L}3}$ 는 에틸렌디아민,  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{CH}_2 - \text{NH} -$  또는  $-\text{C}(\text{O}) - \text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2) -$ 이다.

[0463] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고  $\text{R}^{\text{L}1}$ ,  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 없다.

[0464] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 존재하고  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 없다.

[0465] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 존재하고  $\text{R}^{\text{L}3}$ 은 없다.

[0466] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L}2}$ 는 존재하고  $\text{R}^{\text{L}3}$ 는 존재한다.

[0467] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L}1}$ ,  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0468] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 글루타메이트이고  $\text{R}^{\text{L}1}$ ,  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0469] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 글루타메이트이고,  $\text{R}^{\text{L}1}$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L}2}$  및  $\text{R}^{\text{L}3}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0470] 상기의 일부 구체예에서, AA<sub>1</sub> 및 R<sup>L1</sup>은 친수성 아미노산이고 R<sup>L2</sup> 및 R<sup>L3</sup> 중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0471] 상기의 일부 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 친수성 아미노산이고 R<sup>L1</sup> 및 선택적으로 R<sup>L2</sup>는 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

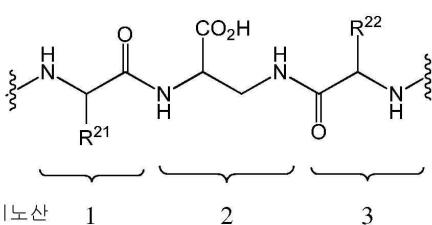
[0472] 상기의 일부 구체예에서, L<sup>H</sup>는 글리신 디펩타이드 (Gly-Gly), 트리펩타이드 또는 테트라펩타이드를 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, L<sup>H</sup>는 펩타이드 Asn - (D)Lys를 포함하지 않는다.

[0473] 일부 구체예에서, L<sup>H</sup>는 변형된 펩타이드를 포함할 것이며, 2 내지 4개의 아미노산을 가진다. 변형된 펩타이드는 D<sub>E</sub> 유닛의 방출 (예를 들어, 아미드 펩타이드 결합을 통한 프로테아제 절단에 의해)을 최적화하도록 선택되는 1-위치 (AA<sub>1</sub>)에서 아미노산을 가진다. 위치들 중 하나 또는 둘 다에서 R<sup>L1</sup> 및 R<sup>L2</sup>는 펩타이드의 전형적인 N 대 C 결합의 배향을 뒤바꾸고, 리간드 유닛의 부착 전에, 말레이미드로서 보호된 α-아미노 기를 포함하는 마지막 아미노산 (예를 들어, R<sup>L2</sup> 또는 R<sup>L3</sup>)의 부착을 용이하게 하는 아미노산이다. 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산은 그것의 측쇄를 통해 다음 기에 부착된다. 일부 구체예에서, 이 아미노산은 알파 아미노산이다. 다른 구체예에서, 그것은 베타 또는 감마 아미노산일 수 있다. 이 구체예들 중 일부에서, 측쇄는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>- 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-로부터 선택된다.

[0474] L<sup>H</sup>의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 (R<sup>L1</sup>)은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라 R<sup>L2</sup> 또는 R<sup>L3</sup>에 부착되며, R<sup>L2</sup> 또는 R<sup>L3</sup>은 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.

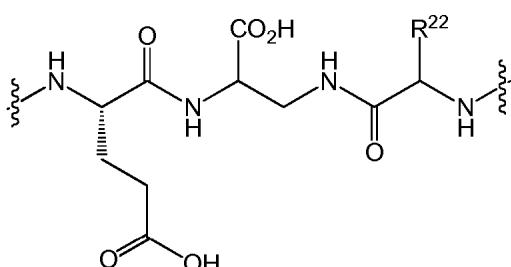
[0475] L<sup>H</sup>의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 (R<sup>L1</sup>)은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라 R<sup>L2</sup>에 부착되며, R<sup>L2</sup>는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.

[0476] 일부 추가의 구체예에서, L<sup>H</sup>는 친수성, 절단 가능 링커이며, 각각의 분자는 다음 식을 가진다:



[0477] [0478] 상기 식에서 R<sup>21</sup>은 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>22</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>에 대한 부착 부위를 나타낸다.

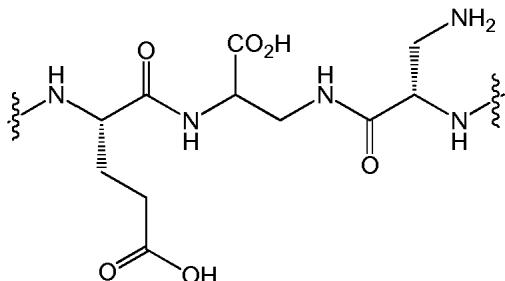
[0479] 추가의 구체예에서 L<sup>H</sup>, 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0480]

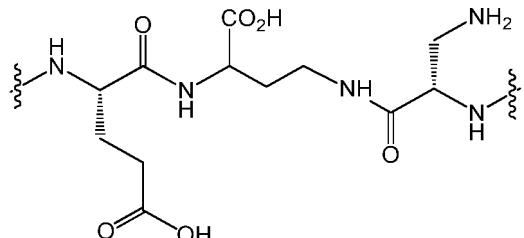
[0481] 상기 식에서  $R^{22}$ 는  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ , 및  $-CH_2CH_2OH$ 로부터 선택된다. 일부 구체예에서,  $R^{22}$ 는  $-CH_2NH_2$  및  $-CH_2CH_2NH_2$ 로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0482] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



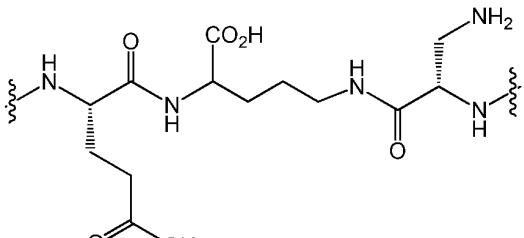
[0483] [0484] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0485] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



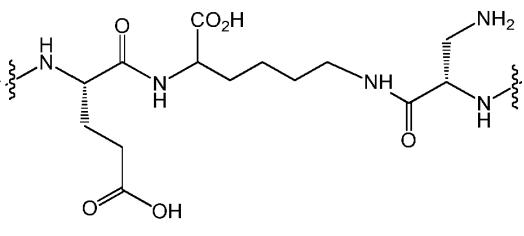
[0486] [0487] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0488] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



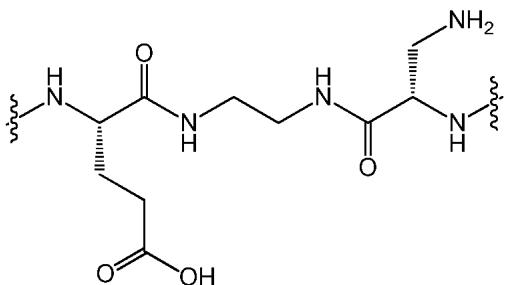
[0489] [0490] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0491] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0492] [0493] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타낸다.

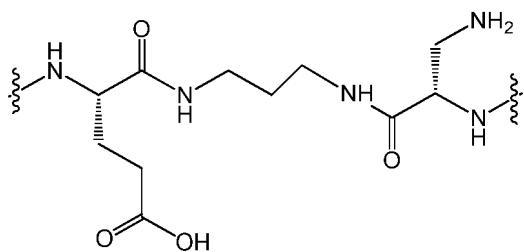
[0494] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0495]

[0496] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타낸다.

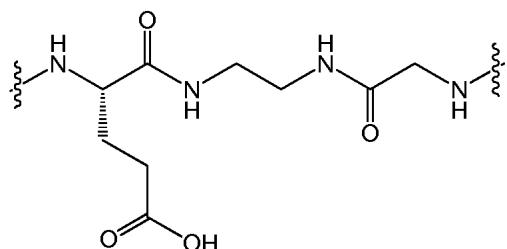
[0497] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0498]

[0499] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타낸다.

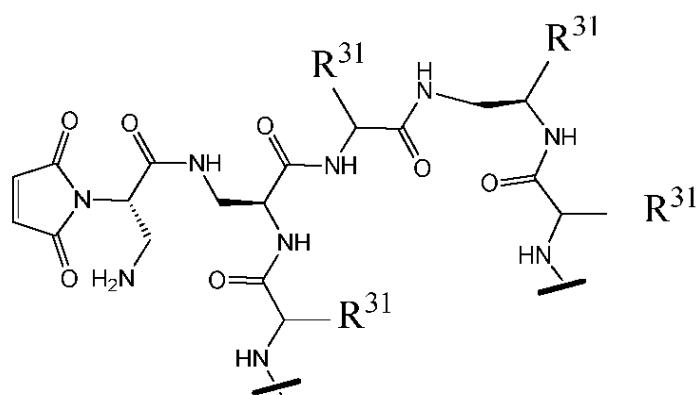
[0500] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0501]

[0502] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0503] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분자된 친수성 링커이다:

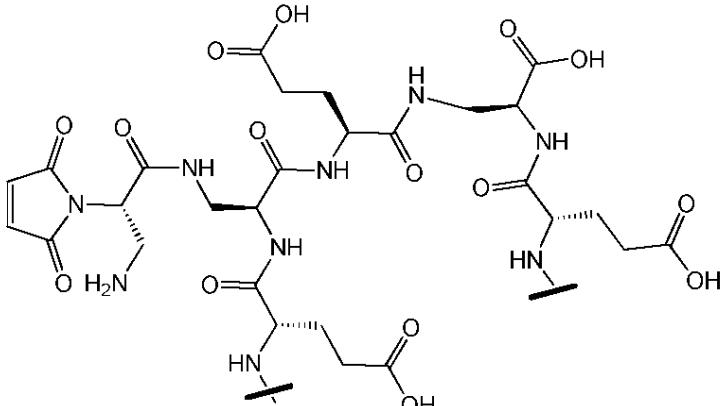


[0504]

[0505] 상기 식에서 각각의 R<sup>31</sup>은 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및

$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고; 각각의 막대는  $D_E$  유닛에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0506] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분지된 친수성 링커이다:



[0507]

[0508] 상기 식에서 각각의 막대는 각각의 막대는  $D_E$  유닛에 대한 부착 부위를 나타내고, 수직 쇄선은 리간드 유닛에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0509]

$L^A$  서브유닛은 본원에서 더 상세히 기술된다.

[0510]

상기 나타난 각각의 구체예에서, 아민, 하이드록실 및 카르복시산 기 각각은 선택적으로 보호된 형태로 되어 있다. 적합한 보호 기는, 예를 들어, Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, J. Wiley & Sonsand에서 제공되고 일반적으로는 서로 독립적으로 제거 가능하도록 선택된다.

[0511]

### 링커-리간드 컨쥬게이트

[0512]

또 다른 양태에서, 다음으로부터 선택된 식을 가진 링커-리간드 컨쥬게이트 또는 이것의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매 화합물이 제공된다:

$$([L^H]_{p'} - L^A)_p - L \quad (\text{X})$$

[0513]

상기 식에서:

[0514]

$L$ 은 표적에 특이적으로 결합하는 리간드이고;

[0515]

$L^H$ 는 선택적으로 분지된 친수성 링커이며,  $L^H$ 의 각각의 분지는 다음 식을 갖고:

$$- \text{AA}_1 - \text{R}^{L1} - \text{R}^{L2} - \text{R}^{L3} -$$

[0516]

$L^A$ 는 리간드 부착 구성요소이고;

[0517]

아래 첨자  $p$ 는 약 4 내지 20의 정수이고;

[0518]

아래 첨자  $p'$ 는 1 내지 4의 정수이고;

[0519]

$L^H$ 의 왼쪽 및 오른쪽 선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0520]

$AA_1$ 은 반응기 모이어티  $D_E$ , 예를 들어, 약물 유닛과 절단 가능 결합을 형성할 수 있다. 구체예에서  $AA_1$ 이  $D_E$ 의 아미노산에 부착되는 경우,  $AA_1$ 은  $D_E$ 와 절단 가능 웹타이드 결합을 형성한다. 절단 가능 웹타이드 결합은 컨쥬게이트가 그것의 표적 부위에 도달할 때 프로테아제에 의한 절단에 민감하다. 다른 구체예에서,  $AA_1$ 은 컨쥬게이트가 그것의 표적 부위에 도달할 때 절단 (예를 들어, 프로테아제에 의한)에 민감한 반응기 모이어티의 부착 부위

와 아미드 결합을 형성한다. 일부 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 친수성 아미노산, 전형적으로 글리신 및 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 형으로 구성된 군으로부터 선택된 천연 아미노산이다. 일부 구체예에서, AA<sub>1</sub>은 글루타메이트이다.

[0523] 일부 구체예에서, L<sup>A</sup>는 리간드의 황 원자에 공유 결합에 의해 결합된다. L<sup>A</sup>는, 예를 들어, 말레이미드 또는 석신이미드일 수 있으며, 황 원자로의 부착에 적합하다.

[0524] 구체예에서 R<sup>L1</sup>이 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O) -로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서, R<sup>L1</sup>은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O) -로부터 선택된다.

[0525] 구체예에서 R<sup>L1</sup>이 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은 -NH-, -C(O)-, -COOH, -N(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> 알킬)-, -NH<sub>2</sub> 또는 -NH(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> 알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> 알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서, R<sup>L1</sup>은 에틸렌디아민, -NH - CH(COOH) - CH<sub>2</sub> -NH - 또는 -C(O) - CH(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) -이다.

[0526] 구체예에서 R<sup>L2</sup>가 존재하고 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고; 및 R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O) -로부터 선택된다.

[0527] 일부 추가의 구체예에서 R<sup>L2</sup>가 존재할 때, 그것은 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH - CH(COOH) - R<sup>b</sup> -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서 R<sup>a</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H로부터 선택되고, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H; 및 R<sup>b</sup>는 -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O) -로부터 선택된다.

[0528] 구체예에서 R<sup>L2</sup>가 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은 -NH-, -C(O)-, -COOH, -N(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> 알킬)-, -NH<sub>2</sub> 또는 -NH(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> 알킬)로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> 알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서, R<sup>L2</sup>는 에틸렌디아민, -NH - CH(COOH) - CH<sub>2</sub> -NH - 또는 -C(O) - CH(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) -이다.

[0529] 구체예에서 R<sup>L3</sup>이 존재하고, 친수성 아미노산인 경우, 그것은 글리신; 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 L 또는 D 형; -NH - CH(R<sup>a</sup>) - C(O)-; 및 -NH -

$\text{CH}(\text{COOH}) - \text{R}^{\text{b}}$  -로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고; 및  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ - $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 로부터 선택된다. 일부 추가의 구체예에서  $\text{R}^{\text{L3}}$ 가 존재할 때, 아스파르트산염, 글루타메이트, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린 및 알라닌의 D 아미노산; 글리신;  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{R}^{\text{a}}) - \text{C}(\text{O})-$ ; 및  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{R}^{\text{b}}$  -로 구성된 군으로부터 선택되며; 상기 식에서  $\text{R}^{\text{a}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로부터 선택되고;  $\text{R}^{\text{b}}$ 는  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 로부터 선택된다.

[0530] 구체예에서  $\text{R}^{\text{L3}}$ 이 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌인 경우, 그것은  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ 알킬})-$ ,  $-\text{NH}_2$  또는  $-\text{NH}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ 알킬})$ 로부터 선택된 1-4개의 치환기로 선택적으로 치환된  $\text{C}_1 - \text{C}_6$  알킬렌일 수 있다. 일부 구체예에서,  $\text{R}^{\text{L3}}$ 는 에틸렌디아민,  $-\text{NH} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{CH}_2 - \text{NH} -$  또는  $-\text{C}(\text{O}) - \text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2) -$ 이다.

[0531] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고  $\text{R}^{\text{L1}}$ ,  $\text{R}^{\text{L2}}$  및  $\text{R}^{\text{L3}}$ 은 없다.

[0532] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L1}}$ 은 존재하고  $\text{R}^{\text{L2}}$  및  $\text{R}^{\text{L3}}$ 은 없다.

[0533] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L1}}$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L2}}$ 는 존재하고  $\text{R}^{\text{L3}}$ 은 없다.

[0534] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L1}}$ 은 존재하고,  $\text{R}^{\text{L2}}$ 는 존재하고  $\text{R}^{\text{L3}}$ 은 존재한다.

[0535] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L1}}$ ,  $\text{R}^{\text{L2}}$  및  $\text{R}^{\text{L3}}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0536] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 글루타메이트이고  $\text{R}^{\text{L1}}$ ,  $\text{R}^{\text{L2}}$  및  $\text{R}^{\text{L3}}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0537] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 글루타메이트이고,  $\text{R}^{\text{L1}}$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L2}}$  및  $\text{R}^{\text{L3}}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0538] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$  및  $\text{R}^{\text{L1}}$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L2}}$  및  $\text{R}^{\text{L3}}$  중 적어도 하나는 존재하고 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0539] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{AA}_1$ 은 친수성 아미노산이고  $\text{R}^{\text{L1}}$  및 선택적으로  $\text{R}^{\text{L2}}$ 는 선택적으로 치환된 알킬렌이며, 상기 제시된 바와 같다.

[0540] 상기의 일부 구체예에서,  $\text{L}^{\text{H}}$ 는 글리신 디펩타이드 (Gly-Gly), 트리펩타이드 또는 테트라펩타이드를 포함하지 않는다. 일부 구체예에서,  $\text{L}^{\text{H}}$ 는 웨타이드 Asn - (D)Lys를 포함하지 않는다.

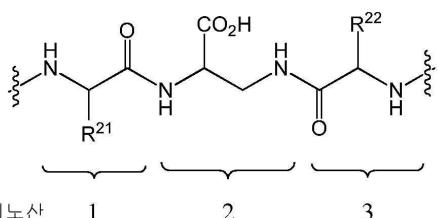
[0541] 일부 구체예에서,  $\text{L}^{\text{H}}$ 는 변형된 웨타이드를 포함할 것이며, 2 내지 4개의 아미노산을 가진다. 변형된 웨타이드는  $\text{D}_{\text{E}}$  유닛의 빙출 (예를 들어, 아미드 웨타이드 결합을 통한 프로테아제 절단에 의해)을 최적화하도록 선택된 1-위치 ( $\text{AA}_1$ )에서 아미노산을 가진다. 위치들 중 하나 또는 둘 다에서  $\text{R}^{\text{L1}}$  및  $\text{R}^{\text{L2}}$ 는 웨타이드의 전형적인 N 대 C 결합의 배향을 뒤바꾸고, 리간드 유닛의 부착 전에, 말레이미드로서 보호된  $\alpha$ -아미노 기를 포함하는 마지막 아미노산 (예를 들어,  $\text{R}^{\text{L2}}$  또는  $\text{R}^{\text{L3}}$ )의 부착을 용이하게 하는 아미노산이다. 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산은 그

것의 측쇄를 통해 다음 기에 부착된다. 일부 구체예에서, 이 아미노산은 알파 아미노산이다. 다른 구체예에서, 그것은 베타 또는 감마 아미노산일 수 있다. 이 구체예들 중 일부에서, 측쇄는  $-CH_2NH_2-$ ,  $-CH_2CH_2NH_2-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2NH_2-$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$ 로부터 선택된다.

[0542]  $L^H$ 의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 ( $R^{L1}$ )은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라  $R^{L2}$  또는  $R^{L3}$ 에 부착되며,  $R^{L2}$  또는  $R^{L3}$ 은 친수성 아미노산 또는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.

[0543]  $L^H$ 의 일부 구체예에서, 역방향 N 대 C 결합을 가진 아미노산 ( $R^{L1}$ )은 상기 기술된 구체예들 중 어느 것에 따라  $R^{L2}$ 에 부착되며,  $R^{L2}$ 는 선택적으로 치환된 알킬렌이다.

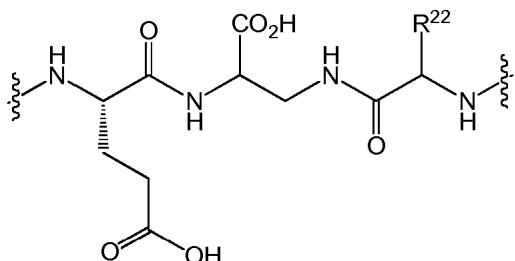
[0544] 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 친수성, 절단 가능 링커이며, 각각이 분지는 다음 식을 가진다:



[0545]

상기 식에서  $R^{21}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CO_2H$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$ , 및  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CO_2H$ 로부터 선택되고;  $R^{22}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ , 및  $-CH_2CH_2OH$ 로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

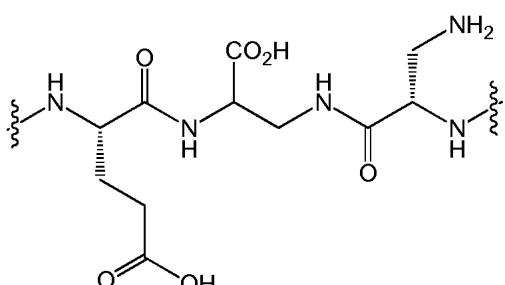
[0547] 추가의 구체예에서  $L^H$ , 또는 이것의 분지는 다음 식을 가진다:



[0548]

상기 식에서  $R^{22}$ 은  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$ ,  $-CH_2OH$ , 및  $-CH_2CH_2OH$ 로부터 선택된다. 일부 구체예에서,  $R^{22}$ 은  $-CH_2NH_2$  및  $-CH_2CH_2NH_2$ 로부터 선택된다. 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

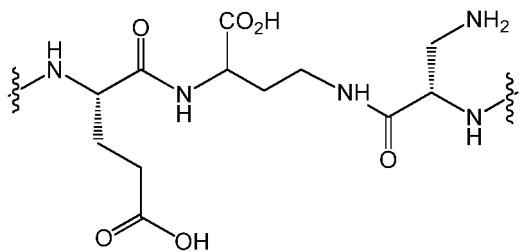
[0550] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분지는 다음 식을 가진다:



[0551]

왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각 D<sub>E</sub> 유닛 및 L<sup>A</sup>로의 부착을 나타낸다.

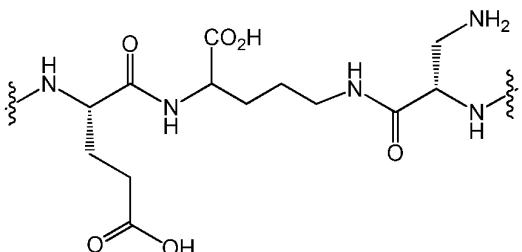
[0553] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0554]

[0555] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

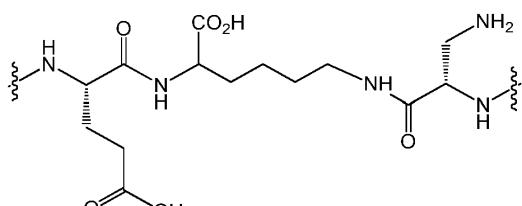
[0556] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0557]

[0558] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

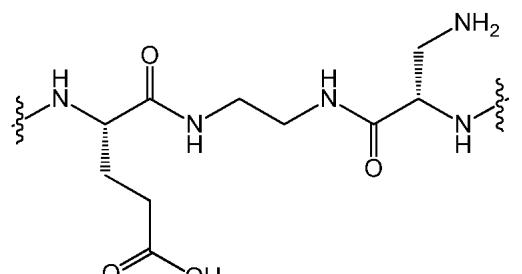
[0559] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0560]

[0561] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

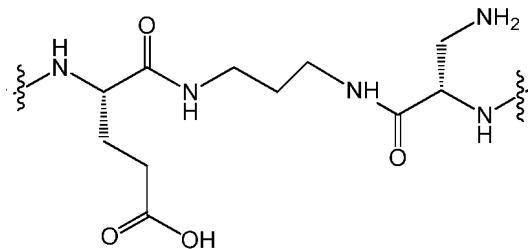
[0562] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0563]

[0564] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

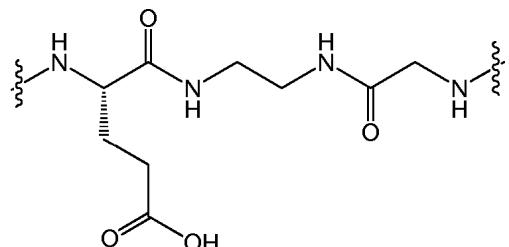
[0565] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0566]

[0567] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

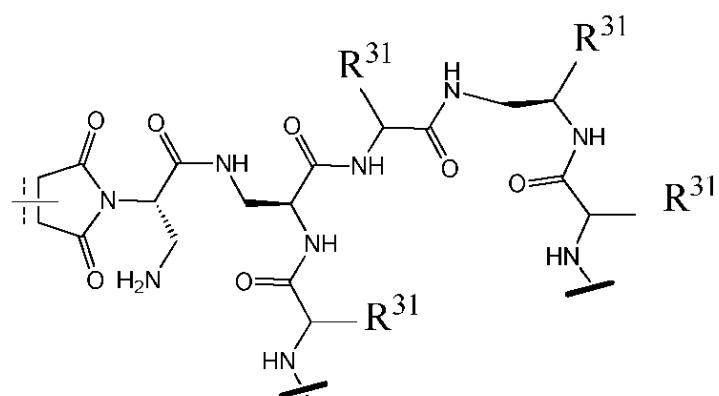
[0568] 특정 구체예에서,  $L^H$ , 또는 이것의 분자는 다음 식을 가진다:



[0569]

[0570] 왼쪽 및 오른쪽 물결선은 각각  $D_E$  유닛 및  $L^A$ 로의 부착을 나타낸다.

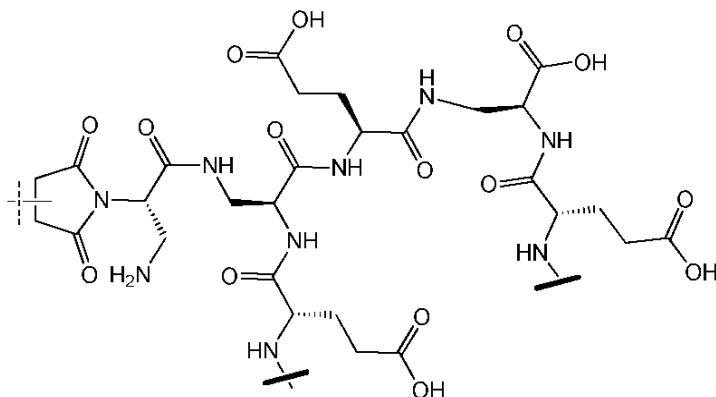
[0571] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분지된 친수성 링커이다:



[0572]

[0573] 상기 식에서 각각의  $R^{31}$ 은  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 및  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되고; 각각의 막대는  $D_E$  유닛에 대한 부착 부위를 나타내고, 수직 쇄선은 리간드 유닛에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0574] 상기의 일부 추가의 구체예에서,  $L^H$ 는 다음 식을 가진 분지된 친수성 링커이다:



[0575]

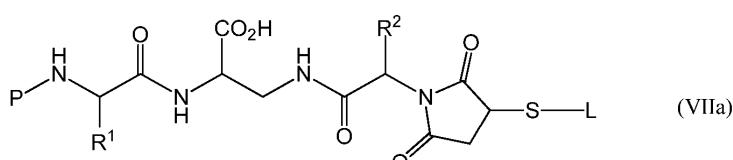
[0576] 상기 식에서 각각의 막대는  $D_E$  유닛으로의 부착을 나타내고, 수직 쇄선은 리간드 유닛에 대한 부착 부위를 나타낸다.

[0577]

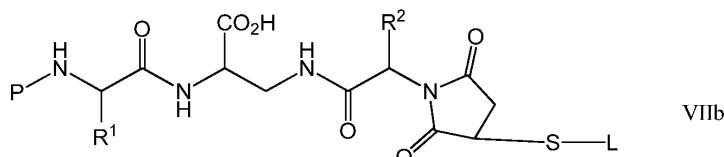
$L^A$  서브유닛은 상기 더 상세히 기술된다.

[0578]

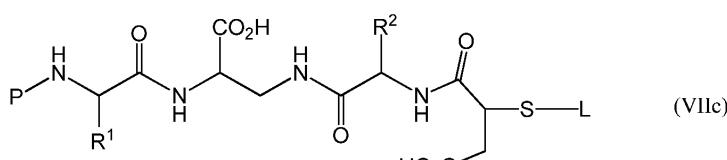
상기 나타난 각각의 구체예에서, 아민, 하이드록실 및 카르복시산 기 각각은 선택적으로 보호된 형태로 되어 있다. 적합한 보호 기는 Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, J. Wiley & Sons에서 제공되고 일반적으로는 서로 독립적으로 제거 가능하도록 선택된다.



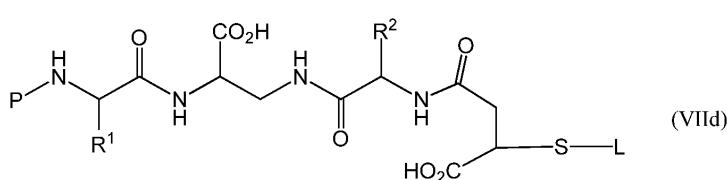
[0579]



[0580]



[0581]



[0582]

[0583] 상기 식에서 P는 H 또는 보호 기이고, 각각의 잔류 작용기는  $R^1$ ,  $R^2$ 에 존재하고, 나타난 카르복시산은 선택적으로 보호되고 S는 리간드의 황 원자이다.

[0584]

### 질환의 치료

[0585]

본원에서 기술된 식 중 어느 것의 리간드-링커-약물 컨쥬케이트를 사용하는 질환의 치료 방법이 추가로 제공된다. 질환은, 예를 들어, 암 또는 자가면역 질환일 수 있다. 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 치료적 유효량으로

및 치료적으로 유효한 일정으로 투여된다. 일부 양태에서, 컨쥬게이트 용량은 비슷한 두 개의 로딩된 컨쥬게이트와 같거나 더 적다. 일부 양태에서, 일부 양태에서, 컨쥬게이트 용량은 비슷한 네 개의 로딩된 컨쥬게이트와 같거나 더 적다. 일부 양태에서, 컨쥬게이트 용량은 비슷한 두 개의 로딩된 컨쥬게이트와 같거나 더 적은 한편, 투여 일정은 같거나 덜 빈번하다. 일부 양태에서, 컨쥬게이트 용량은 비슷한 네 개의 로딩된 컨쥬게이트와 같다 더 적은 한편, 투여 일정은 같거나 덜 빈번하다. 일부 추가의 양태에서, 컨쥬게이트 용량은 더 많고 투여 일정은 비슷한 두 개의 로딩된 컨쥬게이트와 같거나 덜 빈번하다 일부 추가의 양태에서, 컨쥬게이트 용량은 더 적고 투여 일정은 비슷한 네 개의 로딩된 컨쥬게이트와 같거나 덜 빈번하다. 비교기 컨쥬게이트는, 예를 들어, 2 또는 4의 약물 로딩을 가진 같은 리간드-약물-링커 컨쥬게이트일 수 있다.

#### [0586] 암의 치료

리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 종양 세포 또는 암세포의 증식을 억제하여, 종양 또는 암세포의 아폽토시스(apoptosis)를 유발하거나, 환자에서 암을 치료하는데 유용하다. 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 따라서 암 치료를 위해 다양한 설정으로 사용될 수 있다. 리간드-약물 컨쥬게이트는 종양 세포 또는 다른 암세포에 약물을 전달하는데 사용될 수 있다. 어떠한 이론에도 결부되지 않으면서, 한 구체예에서, 리간드-링커-약물 컨쥬게이트의 리간드 유닛은 표적(예를 들어, 암세포 상의 항원)에 특이적으로 결합하고, 리간드-약물 컨쥬게이트는 수용체-매개 엔도시토시스(endocytosis) 또는 다른 내재화 메커니즘을 통해 종양 세포 또는 암세포 내부로 흡수(내재화)될 수 있다. 항원은 종양 세포 또는 암세포에 부착될 수 있거나 종양 세포 또는 암세포와 관련된 세포 외 매트릭스 단백질일 수 있다. 세포 내부로 들어가면, 약물(세포독성제)은 세포 내로 방출된다. 대안의 구체예에서, 약물 또는 약물 유닛은 종양 세포 또는 암세포 외부의 리간드-링커-약물 컨쥬게이트로부터 절단되고, 그 이후 약물 또는 약물 유닛은 세포에 침투한다.

[0588] 리간드-링커-약물 컨쥬게이트는 컨쥬게이션-특이적 종양 또는 암 약물 표적화를 제공하고, 따라서 약물의 일반적인 독성을 감소시킬 수 있다(단독으로 투여되면).

[0589] 한 구체예에서, 리간드 유닛은 종양 세포 또는 암세포에 특이적으로 결합한다.

[0590] 또 다른 구체예에서, 리간드 유닛은 종양 세포 또는 암세포의 표면 상에 있는 종양 세포 또는 암세포 항원에 특이적으로 결합한다.

[0591] 또 다른 구체예에서, 리간드 유닛은 종양 세포 또는 암세포와 관련된 세포 외 매트릭스 단백질인 종양 세포 또는 암세포 항원에 특이적으로 결합한다.

[0592] 특정 종양 세포 또는 암세포에 대한 리간드 유닛의 특이성은 가장 효과적으로 치료되는 상기 종양 또는 암을 결정하는데 중요한 것일 수 있다.

[0593] 리간드-링커-약물 컨쥬게이트로 치료될 수 있는 암의 특정 타입은 고체 종양(예를 들어, 신장 세포 암, 간암 및 피부암) 및 혈액-매개 암(예를 들어, 급성 골수아구성 백혈병(acute myeloblastic leukemia; AML), 만성 골수성 백혈병(chronic myelocytic leukemia; CML), 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia; CLL) 및 다발성 골수종(multiple myeloma))을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 급성 및 만성 백혈병(leukemia) 및 림프종(lymphoma)(예를 들어, 호지킨 림프종(Hodgkin lymphoma) 및 비-호지킨 림프종)이 치료될 수 있다.

[0594] 암은, 종양, 전이, 또는 제어되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 다른 질환 또는 장애를 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 리간드-링커 약물 컨쥬게이트의 투여에 의해 치료 또는 억제될 수 있다.

[0595] 다른 구체예에서, 암을 치료하는 방법이 제공되는데, 리간드-약물 컨쥬게이트 및 화학치료제의 유효량을 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서 화학치료제는 이것으로의 암 치료가 난치성이 아닌 것으로 발견된 것이다. 또 다른 구체예에서, 화학치료제는 이것으로의 암 치료가 난치성인 것으로 발견된 것이다. 리간드-약물 컨쥬게이트는 암에 대한 치료로서 수술을 받은 환자에게도 투여될 수 있다.

[0596] 일부 구체예에서, 환자는 또한 추가적인 치료, 예를 들어, 방사선 요법을 받는다. 특정 구체예에서, 리간드-약물 컨쥬게이트는 화학치료제 또는 방사선 요법과 동시에 투여된다. 또 다른 특정 구체예에서, 화학치료제 또는 방사선 요법은 리간드 약물 컨쥬게이트의 투여 이전 또는 이후에 투여된다.

[0597] 화학치료제는 일련의 기간에 걸쳐 또는 1회 용량으로서 투여될 수 있다. 화학치료제 중 어느 하나 또는 이것들의 조합, 예를 들어, 케어(care) 화학치료제(들)의 표준이 투여될 수 있다.

[0598] 추가적으로, 리간드-약물 컨쥬케이트를 이용한 암 치료 방법은 화학 요법 또는 방사선 요법이 너무 독성인 것으로 입증되었거나 입증될 수 있는 경우, 예를 들어, 치료되는 대상체에게 허용 불가능한 또는 참을 수 없는 부작용을 초래하는 경우 화학 요법 또는 방사선 요법에 대한 대안으로서 제공된다. 치료되는 환자는, 어떤 치료가 허용 가능하거나 참을 수 있는 것으로 발견되는지에 따라, 선택적으로, 또 다른 암 치료, 예를 들어, 수술, 방사선 요법 또는 화학 요법으로 치료될 수 있다.

#### [0599] 자가면역 질환의 치료

[0600] 리간드-약물 컨쥬케이트는 자가면역 질환을 치료하기 위해서 자가면역 질환을 생성하거나 이것에 수반되는 세포(들)를 죽이거나 상기 세포의 복제를 억제하는데 유용하다. 리간드-약물 컨쥬케이트는 따라서 환자에서 자가면역 질환의 치료를 위한 다양한 설정으로 사용될 수 있다. 리간드-약물 컨쥬케이트는 약물을 표적 세포에 전달하는데 사용될 수 있다. 어떠한 이론에도 결부되지 않으면서, 한 구체예에서, 리간드-약물 컨쥬케이트는 표적 세포의 표면 상에서 항원에 특이적으로 결합한 다음, 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 수용체-매개 엔도시토시스 또는 다른 내재화 메커니즘을 통해 표적-세포 내부로 흡수된다. 세포 내부로 들어가면, 약물 유닛이 방출된다. 방출된 약물 유닛은 시토졸에서 자유롭게 이동하고 세포 독성 또는 세포 증식 억제성 활성을 유도한다. 대안의 구체예에서, 약물은 표적 세포 외부의 리간드-약물 컨쥬케이트로부터 절단되고, 그 이후 약물 또는 약물 유닛은 세포에 침투한다.

[0601] 한 구체예에서, 리간드 유닛은 자가면역 항원에 결합한다. 한 양태에서, 항원은 자가면역 질병에 수반된 세포의 표면 상에 있다.

[0602] 또 다른 구체예에서, 리간드 유닛은 세포의 표면 상에 있는 자가면역 항원에 결합한다.

[0603] 한 구체예에서, 리간드 유닛은 자가면역 질환 상태와 관련된 활성화된 림프구에 결합한다.

[0604] 추가의 구체예에서, 리간드-약물 컨쥬케이트는 특정 자가면역 질환에 관련된 자가면역 항체를 생산하는 세포를 죽이거나 상기 세포의 증식을 억제한다.

[0605] 리간드 약물 컨쥬케이트로 치료될 수 있는 자가면역 질환의 특정 타입은 Th2 림프구 관련 장애 (예를 들어, 아토피성 피부염(atopic dermatitis), 아토피성 천식(atopic asthma), 결막염(rhinoconjunctivitis), 알레르기성 비염(allergic rhinitis), 오멘 증후군(Omenn's syndrome), 전신성 경화증(systemic sclerosis), 및 이식편대 숙주 병(grat versus host disease)); Th1 림프구-관련 장애 (예를 들어, 류마티스성 관절염(rheumatoid arthritis), 다발성 경화증(multiple sclerosis), 건선(psoriasis), 쇼그렌 증후군(Sjögren's syndrome), 하시모토 갑상선염(Hashimoto's thyroiditis), 그레이브 병(Grave's disease), 원발성 담즙성 간경화증(primary biliary cirrhosis), 베게너 육아종증(Wegener's granulomatosis), 및 결핵(tuberculosis)); 활성화된 B 림프구-관련 장애 (예를 들어, 전신성 홍반성 루푸스(systemic lupus erythematosus), 굿파스튜어 증후군(Goodpasture's syndrome), 류마티스성 관절염, 및 I형 당뇨병(type I diabetes))을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0606] 자가면역 질환을 치료하는 방법이 또한 개시되며 리간드-링커-약물 컨쥬케이트 및 자가면역 질환의 치료를 위해 공지된 또 다른 치료제의 유효량을 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

#### [0607] 전염성 질환의 치료

[0608] 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 전염성 질환을 생성하는 세포를 죽이거나 상기 세포의 증식을 억제하거나 또는 전염성 질환을 치료하는데 유용하다. 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 따라서 환자에서 전염성 질환의 치료를 위해 다양한 설정으로 사용될 수 있다. 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 표적 세포에 약물 (예를 들어, 항생제)을 전달하는데 사용될 수 있다. 한 구체예에서, 리간드 유닛은 전염성 질환 세포에 결합한다.

[0609] 한 구체예에서, 컨쥬케이트는 특정 전염성 질환을 생성하는 세포를 죽이거나 상기 세포의 증식을 억제한다.

[0610] 전염성 질환을 치료하는 방법이 개시되며 리간드-링커-약물 컨쥬케이트 및 항-전염성 질환제인 또 다른 치료제를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

#### [0611] 조성물 및 투여 방법

[0612] 본 발명은 본원에서 기술된 리간드-링커-약물 컨쥬케이트 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 추가로 제공한다. 리간드-링커-약물 컨쥬케이트는 리간드 유닛이 특이적으로 결합하는 항원의 발현과 관련된 장애의 치료를 위해 화합물이 환자에게 투여되게 하는 어떠한 형태일 수도 있다. 예를 들어, 컨쥬케이트

는 액체 또는 고체의 형태일 수도 있다. 바람직한 투여 경로는 비경구적인 것이다. 비경구 투여는 피하, 정맥내, 근육내, 흉골내 주사 또는 투입 기술을 포함한다. 한 양태에서, 조성물은 비경구로 투여된다. 또 다른 양태에서, 화합물은 정맥내로 투여된다.

[0613] 리간드-링커-약물 컨쥬케이트의 약학적 조성물은 화합물이 환자에게 컨쥬케이트의 투여시 생물학적으로 이용 가능해지도록 제형화될 수 있다. 예를 들어, 바이알이 1회 투약 유닛일 수 있는 경우에, 조성물은 하나 이상의 투약 유닛의 형태를 취할 수 있다.

[0614] 약학적 조성물을 제조하는데 사용된 재료는 사용된 양으로는 비-독성일 수 있다. 약학적 조성물에서 활성 성분(들)의 최적의 투약량이 다양한 인자에 따른다는 것은 당업자에게 명백할 것이다. 적절한 인자는, 제한 없이, 동물의 유형(예를 들어, 인간), 화합물의 특정 형태, 투여 방식, 및 이용된 조성을 포함한다.

[0615] 약학적 조성물은, 예를 들어, 액체의 형태일 수 있다. 액체는 주사에 의한 전달에 유용할 수 있다. 주사에 의한 투여 또는 정맥내 투여를 위한 조성물에서, 계면활성제, 보존제, 습윤제, 분산제, 혼탁화제, 완충제, 안정화제 및/또는 등장화제 중 하나 이상이 또한 포함될 수 있다.

[0616] 액체 조성물은 또한, 그것들이 용액, 혼탁액 또는 다른 유사한 형태이든 아니든, 다음 중 하나 이상을 포함한다: 멸균 희석제, 예를 들어, 주사용수, 식염수 용액, 바람직하게는 생리식염수, 링거 용액(Ringer's solution), 등장성 염화 나트륨, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 용매; 항균제, 예를 들어, 벤질 알콜 또는 메틸 파라벤; 항산화제, 예를 들어, 아스코르브산 또는 아황산 수소 나트륨; 퀼레이트제, 예를 들어, 에틸렌디아민테트라아세트산; 완충제, 예를 들어, 아미노산, 아세트산염, 시트르산염 또는 인산염; 세제, 예를 들어, 비이온성 계면활성제, 폴리올; 및 장성 조절용 약제, 예를 들어, 염화 나트륨 또는 텍스트로스. 비경구 조성물은 유리, 플라스틱 또는 다른 재료로 만들어진 앰플, 1회용 주사기 또는 1회 또는 다회수-용량 바이알에 동봉될 수 있다. 생리식염수는 예시의 보조제이다. 주사 가능 조성물은 바람직하게는 멸균 상태이다.

[0617] 특정 장애 또는 질병의 치료에 유효한 컨쥬케이트의 양은 장애 또는 질병의 특성에 따를 것이며, 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 이에 더하여, 시험관내 또는 생체내 검정은 선택적으로 최적의 투약 범위의 확인을 돋는데 이용될 수 있다. 약학적 조성물에서 이용되는 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질환 또는 장애의 심각도에 따를 것이며, 의사의 판단 및 각 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다.

[0618] 조성물은 적합한 투약량이 얻어지도록 화합물의 양을 포함한다. 전형적으로, 이 양은 조성물의 중량 기준으로 화합물의 적어도 약 0.01%이다.

[0619] 정맥내 투여를 위해서, 조성물은 동물 체중 kg 당 약 0.01 내지 약 10 mg의 리간드-링커-약물 컨쥬케이트를 포함할 수 있다. 한 양태에서, 조성물은 동물 체중 kg 당 약 0.01 내지 약 10 mg의 리간드-약물 컨쥬케이트를 포함할 수 있다. 또 다른 양태에서, 투여되는 양은 화합물의 화합물의 약 0.1 내지 약 7.5 mg/kg 체중의 범위일 것이다.

[0620] 일반적으로, 환자에게 투여되는 화합물의 투약량은 전형적으로 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 대상체 체중이다. 일부 구체예에서, 환자에게 투여된 투약량은 약 0.01 mg/kg 내지 약 7.5 mg/kg 대상체 체중이다. 일부 구체예에서, 환자에게 투여되는 투약량은 약 0.1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg 대상체 체중이다. 일부 구체예에서, 투여되는 투약량은 약 0.1 mg/kg 내지 약 3 mg/kg 또는 약 0.1 mg/kg 내지 약 2 mg/kg 대상체 체중이다. 일부 구체예에서, 투여되는 투약량은 약 0.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg 대상체 체중이다. 일부 구체예에서, 투여되는 투약량은 약 1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg 대상체 체중이다. 일부 구체예에서, 투여되는 투약량은 치료 주기에 걸쳐 약 0.1 내지 4 mg/kg, 더 바람직하게는 0.1 내지 3.2 mg/kg, 또는 더 바람직하게는 0.1 내지 2.7 mg/kg 대상체 체중이다.

[0621] 리간드-링커 약물 컨쥬케이트는 어떠한 편리한 경로에 의해, 예를 들어, 투입 또는 볼루스(bolus) 주사에 의해, 상피 또는 점막 피부 라이닝(lining) (예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있다. 투여는 전신성 또는 국소적일 수 있다. 다양한 전달 시스템, 예를 들어, 리포솜, 극미립자, 마이크로캡슐, 캡슐에서의 캡슐화가 공지되어 있으며, 화합물을 투여하는데 사용될 수 있다. 특정 구체예에서, 하나 이상의 화합물 또는 조성물이 환자에게 투여된다.

[0622] 용어 "담체"는 희석제, 보조제 또는 부형제를 말하며, 화합물은 이것들과 함께 투여된다. 이러한 약학적 담체는 액체, 예를 들어, 물일 수 있다. 담체는 식염수, 겸 아카시아(gum acacia), 젤라틴, 전분 페이스트(starch paste), 탈크(talc), 케라틴, 콜로이드 규산, 요소일 수 있다. 이에 더하여, 보제, 안정화제, 증점제, 윤활제

및 착색제가 사용될 수 있다. 한 구체예에서, 환자에게 투여될 때, 화합물 또는 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 담체는 멸균 상태이다. 물은 화합물이 정맥 내로 투여될 때 예시의 담체이다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액은 또한, 특히 주사 가능 용액에 대하여, 액체 담체로서 이용될 수 있다. 적합한 약학적 담체는 또한 부형제, 예를 들어, 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악(chalk), 실리카 젤, 스테아르산 나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화 나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올을 포함한다. 본 조성물은 또한, 요구되면, 소량의 습윤제 또는 에멀젼화제, 또는 pH 완충화제를 함유할 수 있다.

[0623] 구체예에서, 컨쥬게이트는 일상적인 과정에 따라 동물, 특히 인간으로의 정맥 내 투여에 적합한 약학적 조성물로서 제형화된다. 전형적으로, 정맥 내 투여용 담체 또는 비히클(vehicle)은 멸균 등장성 수성 완충 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 또한 가용화제를 포함할 수 있다. 정맥 내 투여용 조성물은 주사 부위에서 통증을 완화하기 위해 선택적으로 국소 마취제, 예를 들어, 리그노카인을 포함할 수 있다. 일반적으로, 성분들은, 예를 들어, 활성제의 양을 나타내는 밀봉된 용기, 예를 들어, 앰플 또는 사세(sachette) 내 동결 건조된 분말 또는 수분이 없는 농축물로서 별도로 공급되거나 또는 단위 투약 형태로 함께 혼합된다. 컨쥬게이트가 투입에 의해 투여되어야 하는 경우, 그것은, 예를 들어, 멸균 약학적 등급의 물 또는 식염수를 함유하는 투입용 보틀(bottle)에 분배될 수 있다. 컨쥬게이트가 주사에 의해 투여되는 경우, 성분들이 투여 전에 혼합될 수 있도록 멸균 주사 용수 또는 식염수의 앰플이 제공될 수 있다.

[0624] 약학적 조성물은 일반적으로 멸균, 실질적으로 등장성으로 및 미국 식품 의약국(U.S. Food and Drug Administration)의 모든 우수 의약품 제조관리 기준 (Good Manufacturing Practice; GMP) 규제를 철저히 준수하면서 제형화된다.

[0625] 본 발명의 약학적 조성물은 본 발명의 리간드 약물 컨쥬게이트 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다. 일부 바람직한 구체예에서, 약학적 조성물에 존재하는 리간드 약물 컨쥬게이트의 모두, 또는 실질적으로 모두, 또는 50% 이상은 가수분해된 티오-치환된 석신이미드를 포함한다. 일부 바람직한 구체예에서, 약학적 조성물에 존재하는 리간드 약물 컨쥬게이트의 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 이상이 가수분해된 티오-치환된 석신이미드를 포함한다.

#### 리간드-약물 컨쥬게이트의 제조 방법

[0627] 또 다른 양태에서, 본 발명은 리간드-약물 컨쥬게이트, 링커, 약물-링커 및 링커-리간드 컨쥬게이트를 제조하는 방법을 제공한다.

[0628] 일부 구체예에서, 본 발명의 방법은 본원에서 개시된 바와 같이 약물-링커 또는 링커 유닛을 제공하며, 상기 약물-링커 또는 링커 유닛을 리간드 유닛의 설프히드릴기에 컨쥬게이션하여 컨쥬게이트를 형성하는 단계 포함한다. 일부 추가의 구체예에서, 컨쥬게이트의 티오-치환된 말레이미드 또는 석신이미드 기(들)는 가수분해 반응을 거칠 수도 있다.

[0629] 티오-치환된 석신이미드 가수분해의 비율은 리간드에 약물-링커의 컨쥬게이션 후 반응 조건을 조정함으로써, 예를 들어, pH 또는 온도를 조정함으로써 조작될 수 있다. 본 발명의 일부 구체예에서, 모든, 실질적으로 모든, 또는 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90% 또는 95%의 티오-치환된 석신이미드는 반응 조건의 조작 없이 가수분해된다, 즉, 가수분해 반응은 컨쥬게이션 반응과 같은 반응 조건 하에서 일어난다. 일부 구체예에서, 모든, 실질적으로 모든, 또는 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90% 또는 95%의 티오-치환된 석신이미드는 컨쥬게이션 후 20분에서 4시간까지, 바람직하게는 컨쥬게이션 후 20분에서 2시간까지 가수분해된다. 예시의 구체예에서, 컨쥬게이션 조건은 약 7.4의 pH 및 약 22°C의 온도이다.

[0630] 일부 구체예에서, 리간드-약물 컨쥬게이트를 제조하는 방법은 약물-링커 또는 링커 유닛을 제조하는 단계; 상기 약물-링커 또는 링커 유닛을 리간드의 설프히드릴기에 컨쥬게이션하여 비-가수분해된 티오-치환된 석신이미드를 포함하는 리간드-약물 컨쥬게이트를 형성하는 단계; 비-가수분해된 티오-치환된 석신이미드가 가수분해 반응을 거치게 하는 단계를 포함하며, 모든, 실질적으로 모든, 또는 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 85%의 석신이미드는 컨쥬게이션 후 10분에서 4시간까지 가수분해된다. 일부 구체예에서, 모든, 실질적으로 모든, 또는 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90% 또는 95 %의 석신이미드는 컨쥬게이션 후 10분까지, 20분까지, 40분 60분, 90분 또는 120분까지 가수분해된다. 일부 구체예에서, 가수분해 반응은 컨쥬게이션 반응과 같은 반응 조건 하에서 일어난다. 예시의 구체예에서, 컨쥬게이션 조건은 약 7.4의 pH 및 약 22°C의 온도이다.

#### 리간드-약물 컨쥬게이트의 조립

- [0632] 본 발명의 리간드-약물 컨쥬게이트는 도 1에서 요약된 일반적인 계획에 따라 조립될 수 있다.
- [0633] **실시예**
- [0634] **일반**
- [0635] 달리 명시되지 않으면, 재료를 상업적 공급업체로부터 이용 가능한 가장 높은 순도 등급으로 얻었고 추가의 정제 없이 사용하였다. 무수 DMF 및  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 를 Aldrich에서 구입하였다. Fmoc-돌라프로인-OH를 Albany Molecular Research, Inc. (Albany, NY)에 의해 주문 합성하였다. 돌라발린-Val-Dil-OH를 다른 곳에서 기술된 바와 같이 제조하였다. Fmoc-Dpr(ivDde)-OH 및 2-클로로트리틸 염화물 레진 (200-300 메쉬, 1% DVB, 치환 1 mmol/그램)을 Novabiochem에서 구입하였다. 고체상 합성을 프릿 도기(fritware) PE 중간 등급 다공성 시트 (Scienceware)에서 잘라낸 필터가 장착된 플라스틱 주사기 (National Scientific Company)에서 수행하였다. Burrell wrist action® 세이커 (Burrell Scientific, Pittsburg, PA)를 교반에 사용하였다. 보고된 모든 고체상 수율은 레진의 초기 치환 수준에 기초하며 달리 진술되지 않으면, 단리된 순수 재료의 물질 수지를 구성한다.
- [0636] 예비 HPLC 정제를 C12 Phenomenex Synergy MAX-RP 4  $\mu$  역상 컬럼, 250 x 10 mm가 장착된 Varian 기구 상에서 수행하였으며, 물-아세토니트릴 구배에서 0.05% TFA로 용출하였다.
- [0637] 질량 스펙트럼 데이터를 C12 Phenomenex Synergi 2.0 x 150 mm, 4  $\mu$ m, 80 Å 역상 컬럼이 장착된 Waters 2795 HPLC에 연결된 XEVO TOF MS 상에서 얻었다. 용리제는 0.4 mL/분의 유속으로 10분 동안 0.1% 수성 포름산 중 5% 내지 95%의 아세토니트릴에 이어서, 5분 동안 등용매 95% 아세토니트릴의 선형 구배로 구성된다.
- [0638] 인간화된 h1F6 항체는 인간 CD70 항원에 특이적으로 결합한다 (Cancer Res 2006, 66(4), p. 2328; 미국 특허 번호 8,067,546). 인간화된 hBU12 항체는 인간 CD19 항원에 특이적으로 결합한다 (Blood, 2009, 113(18), p. 4362; 미국 특허 번호 7,968,687). 인간 CD70을 발현하는 인간 신장 세포 암종 세포주 786-O 및 Caki-1, 및 인간 CD19를 발현하는 인간 형질전환된 여포성 림프종(follicular lymphoma) DOHH2 세포를 American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, Virginia)에서 구입하였다. 모든 세포주를 공급업체의 권장사항에 따라 성장시켰고 일상적으로 마이코플라스마 오염에 대하여 점검하였다.
- [0639] 약어: DPR은 디아미노프로피온산을 의미하고; ivDde는 1-(4,4-디메틸-2,6-디옥소사이클로헥스-1-일리덴)-3-메틸부틸-이다.
- [0640] 실시예 1 - 합성을 위한 일반적인 과정
- [0641] **말레이이미도-Dpr(Boc)-OH의 합성**
- [0642]  $N_{\beta}\text{-Boc-L-2,3-디아미노프로피온산}$  (1 mmol) 및 말레산 무수물 (98 mg, 1 mmol)을 50 mL 등근 바닥 플라스크에서 아세트산 (1 mL)에 용해시켰고, 용액을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 이어서 용액을 갑암 하에 오일로 농축하였다. ~10 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /헥산, 1/1, v/v을 첨가하여 말레산 중간물을 침전시켰고, 침전물을 진공 여과에 의해 수거하였다. 이어서 이 재료를 톨루엔 (9 mL)에서 혼탁한 후 이어서, DMA (0.3 mL), 및 트리에틸아민 (0.42 mL, 3 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 모든 재료가 용해될 때까지  $\text{N}_2$  하에 40-60°C에서 교반하였다. 이어서 플라스크에 콘덴서를 장착하였고 용액을 120°C로 가열하였으며 분자 체(molecular sieve) 위에서 4시간 동안 환류하였다. 반응 혼합물을 소결 유리(sintered glass) 깔때기를 통해 여과하였고 건조 상태에 가까워지도록 갑암 하에 농축하였다. 잔류물을 에틸 아세트산염 (10 mL)에 용해시켰고, 분별 깔때기로 옮겨서 물 (2 x 10 mL) 및 소금물 (2 x 10 mL) 중 10% 시트르산으로 세척하였다. 유기층을 황산 마그네슘 위에서 건조하였고, 갑암 하에 농축하였고, 고진공 하에서 하룻밤 동안 건조하여 흰색 분말로서 생성물을 72% 수율로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}$ ):  $\delta$  1.29 (s, 9H), 3.41 (m, 1H), 3.52 (m, 1H) 4.57 (dd, 1H). 6.97 (t, 1H), 7.07 (s, 2H). LCMS (ESI) ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup>에 대한 계산치 307.09; 실측치,  $m/z$  307.17.
- [0643] **아우리스타틴-AA<sub>1</sub>-MDpr 합성을 위한 일반적인 과정**
- [0644] 도 1은 아우리스타틴-(AA<sub>2</sub>)-AA<sub>1</sub>-MDpr 약물-링커의 예시의 합성을 예시한다.
- [0645] **레진 로딩.** 20 mL 고체상 반응 용기 (PET 프릿을 구비한 플라스틱 주사기)에서 2-클로로트리틸 염화물 레진 1 g (제조사의 라벨에 기초하여 1 mmol)에 이어서 건조  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ , 1/1, v/v 10 mL 중 Fmoc-Dpr(ivDde)-OH 또는 Fmoc-Lys(ivDde)-OH (1.5 mmol, 1.5 equiv), 및 DIEA (1 mmol, 1 equiv)의 용액을 첨가하였다. 용기를 분 동안

흔든 다음, 더 많은 DIEA (1.5 mmol, 1.5 equiv)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 추가로 2시간 동안 흔들었다. 메탄올 (2.5 mL)을 첨가하여 미반응 부위를 퀸칭하였다(quench). 30분 후에, 레진을 DMF (5 x 10 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 x 10 mL), 에틸 에테르 (5 x 10 mL)로 세척하였고, 진공에서 건조하였다.

[0646] **로딩**을 부피 측정 플라스크 (10 또는 20 mL)에서 2시간 동안 소량의 레진 (2-4 mg)에 20% 피페리딘/DMF (2 mL)을 처리함으로써 결정하였다. 부피를 DMF로 조정하였다; 301 nm에서 흡광도를 측정하였다. 로딩을 다음 방정식으로 계산하였다:

$$\text{로딩 (mmol/g)} = (\text{플라스크 부피} \times A_{301}) / (7800 \times \text{mg}) \times 1000$$

평균 로딩은 ~ 0.6 mmol/g였다.

[0649] **Fmoc 제거 단계.** Fmoc-보호된 웨타이드를 함유하는 레진에 실온에서 2시간 동안 DMF 중 20% 피페리딘 (레진 그램 당 10 mL)을 처리하였다. 이어서 레진을 DMF (레진 그램 당 5 x 1 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (레진 그램 당 5 x 1 mL), 에틸 에테르 (레진 그램 당 5 x 1 mL)로 세척하였고, 진공에서 건조하였다.

[0650] **커플링 단계.** 탈보호된 N-말단 아미노산 (AA)을 함유하는 레진 (1 equiv)에, DMF 중 Fmoc-AA-OH (2 equiv), HATU (2 equiv), 및 DIEA (4 equiv)의 용액 (레진 그램 당 1 mL)을 첨가하였다. 반응 용기를 3-4 h 동안 교반하였다. 이어서 레진을 DMF (레진 그램 당 5 x 1 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (레진 그램 당 5 x 1 mL), 에틸 에테르 (레진 그램 당 5 x 1 mL)로 세척하였고, 진공에서 건조하였다. 반응 완료를 적절한 경우 음성 카이저 테스트(negative Kaiser test)로 확인하였다.

[0651] N-말단 돌라발린-Val-Dil-OH의 커플링을 유사한 방식으로 수행하였다.

[0652] **ivDde 탈보호 및 MDpr(Boc)-OH의 커플링.** 돌라발린-Val-Dil-OH 트리웨타이드의 커플링 후, 레진에 실온에서 2시간 동안 2% 히드라진/DMF (레진 그램 당 1 mL)을 처리하였다. 이어서 레진을 DMF (레진 그램 당 5 x 1 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (레진 그램 당 5 x 1 mL), 에틸 에테르 (레진 그램 당 5 x 1 mL)로 세척하였고, 진공에서 건조하였다. DMF 중 Fmoc-MDpr(Boc)-OH (2 equiv), HATU (2 equiv), 및 DIEA (4 equiv)의 용액 (레진 그램 당 1 mL)을 레진에 첨가하였고 혼합물을 실온 (RT)에서 3시간 동안 흔들었다. 반응 완료를 음성 카이저 테스트로 확인하였다. 레진을 DMF (레진 그램 당 5 x 1 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (레진 그램 당 5 x 1 mL), 에틸 에테르 (레진 그램 당 5 x 1 mL)로 세척하였고, 진공에서 건조하였다.

[0653] **레진의 절단 및 탈보호.** 웨타이드-함유 레진에 20% TFA/ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (레진 그램 당 2 mL)를 실온에서 10분 동안 처리하였고, 용액을 둥근 바닥 플라스크에서 수거하였다. 레진을 20% TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (레진 그램 당 2 x 0.5 mL)로 세척하였다. 모아진 용액을 실온에서 3시간 동안 놔두었다. 탈보호 후, 완료를 LC-MS로 확인하였다. 휘발성 물질을 감압 하에 Rotavap 상에서 제거하였고, 최종 생성물을 역상 예비 HPLC로 정제하였다. 모든 약물-링커를 215nm에서 역상 HPLC에 의해 >95%의 순도로 얻었다.

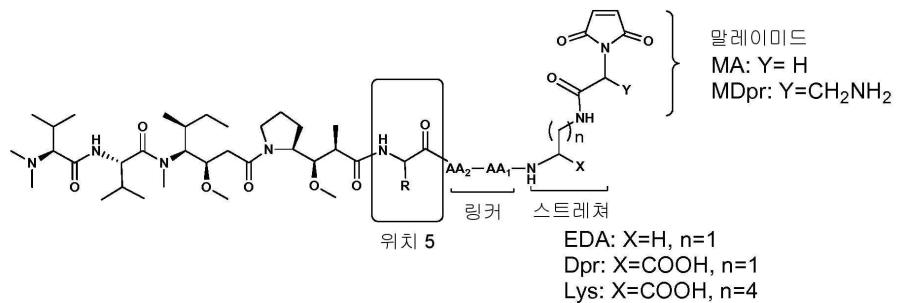
[0654] MA 말레이미드를 가진 약물-링커를 MDpr(Boc)-OH 대신에 α-말레이미도아세트산-NHS (Molecular Biosciences, Boulder CO)를 사용하여 상기 기술된 바와 유사한 방식으로 제조하였다.

[0655] 에틸렌 디아민 (EDA) 스트레처(stretcher)를 가진 약물-링커를 앞서 보고된 것과 유사한 과정으로 제조하였다 (Bioconjugate Chem. 2008, 19, 1960-1963).

[0656] 실시예 2 - 약물 링커

[0657]

약물 링커를 상기 기술된 바와 같이 합성하였다. 일반식은 다음과 같다:



[0658]

[0659]

(o) 식에서, AA<sub>2</sub> 및 AA<sub>1</sub>의 명칭이 뒤바뀐 것에 주목해야 한다. R은 R<sup>12</sup>에 해당한다).

[0660]

하기 표 1은 다양한 약물 링커의 합성 및 특성화를 요약한다. 표에서, 제1 컬럼 (왼쪽)은 화합물 번호를 나타낸다. 제2 컬럼 (왼쪽)은 아우리스타틴의 C-말단에서 아미노산을 나타낸다. 제3, 제4 및 제5 컬럼은 링커의 구성 요소를 나타낸다. 컬럼 3에서는, 링커의 아미노산 구성요소가 확인된다. 컬럼 4에서는, 링커의 추가적인 아미노산 및/또는 비-아미노산 구성요소가 확인된다. 컬럼 5에서는, 링커의 말레이미드 모이어티의 조성이 확인된다. 제6 컬럼은 약물-링커의 수율을 나타낸다. 제7 및 제8 컬럼은 약물-링커의 계산된 질량 및 관찰된 질량을 나타내며, 질량 분광법에 의해 결정된다. 마지막 컬럼 (오른쪽에서)은 8 로드로서 약물 링커를 함유하는 ADC의 HIC 체류 시간을 나타낸다 (일반적으로 실시예 3에서 기술된 바와 같이 결정됨).

**표 1**

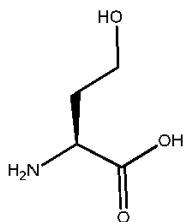
[0661]

#	아우리스타틴의 위치 5	링커	수율, %	MS: 계산 치 (MH) <sup>+</sup>	MS: 실측치, m/z	HIC 체류시간 (분)
		아미노산 (들)	아미노산 또는 다른 스트레쳐	말레이미드 (MA 또는 MDpr)		

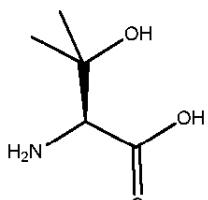
1	Phe	없음	Dpr	MA	14	969.6	969.7	NT
2	Phe	Glu	Dpr	MA	11	1098.6	1098.8	NT
3	Thr	없음	Dpr	MA	7.3	923.5	923.7	NT
4	Thr	Glu	Dpr	MA	8.1	1052.6	1052.8	5
5	Phe	Glu	Dpr	MDpr	20	1127.6	1127.4	NT
6	Thr	Glu	Dpr	MDpr	20	1081.6	1081.7	4.5
7	Thr	Glu	Lys	MDpr	36	1123.7	562.5 Dbl chrgd	4.6
8	티아졸	Glu	Lys	MDpr	28	1176.6	588.9 Dbl chrgd	NT
9	Phe	Glu	EDA	MDpr	30	1083.6	1083.9	5.8
10	Thr	Glu	EDA	MDPr	23	1037.6	1037.8	NT
11	Phe	Ile	EDA	MDPr	25	1067.7	1067.9	6.9
12	Thr	Ile	EDA	MDPr	20	1021.7	511.5 Dbl chrgd	5.2
13	티아졸	Glu	EDA	MDPr	43	1090.6	1091.6	4.9
14	Asp	Ala	Lys	MDPr	70	1079.6	1079.9	4.98
15	Glu	Ala	Lys	MDPr	81	1093.6	1093.8	5.02
16	PhosphoThr	Ala	Lys	MDPr	4.5	1145.6	1145.9	4.81
17	Asn	AlaGlu	Dpr	MDPr	70	1165.6	1165.5	5
18	Gln	AlaGlu	Dpr	MDPr	40	1179.7	1180.09	5.1
19	Asp	AlaGlu	Dpr	MDPr	67	1166.6	1167.3	4.95
20	Glu	Alaglu	Dpr	MDPr	72	1180.6	1180.96	4.98
21	hSer	AlaGlu	Dpr	MDPr	71	1152.6	1152.7	5.1
22	ValOH	AlaGlu	Dpr	MDPr	21	1166.7	1167.1	5.2
23	PhosphoThr	AlaGlu	Dpr	MDPr	13	1232.6	1232.78	4.8
24	파라졸	Glu	Dpr	MDPr	73	1117.6	1117.5	5.2
25	트리아졸	Glu	Dpr	MDPr	85	1118.6	1118.7	5
26	Asn	Glu	Dpr	MDPr	91	1108.6	1108.5	4.9
27	Asp	Glu	Dpr	MDPr	90	1095.6	1095.4	4.8
28	Fur	Glu	Dpr	MDPr	11	1117.6	1117.6	5.6
29	ValOH	Glu	Dpr	MDPr	22	1095.6	1095.7	5.1
30	Ser	Glu	Dpr	MDPr	86	1067.6	1068.3	4.9
31	hSer	Glu	Dpr	MDPr	68	1081.6	1081.5	4.96
32	Thr	IleLeu	Dpr	MDPr	30-50	1178.7	1178.8	6.1
33	Phe	IleLeu	Dpr	MDPr	30-50	1224.7	1224.9	7.4
34	Glu	PheLeu	Dpr	MDPr	30-50	1240.7	1241.1	5.9
35	Thr	LeuPhe	Dpr	MDPr	30-50	1212.7	1212.8	6.7
36	Phe	LeuPhe	Dpr	MDPr	30-50	1258.7	1258.9	7.8
37	Glu	PhePhe	Dpr	MDPr	30-50	1274.7	1274.8	6.1
38	Thr	LysAla	Dpr	MDPr	30-50	1151.7	1151.9	4.9
39	Thr	Lys	Dpr	MDPr	30-50	1080.6	1181.1	4.8
	mc-MMAF							7.0
	mc-vc-PABC-MMAF							8.2
	mc-vc-PABC-MMAE							9.8

[0662] 약어:

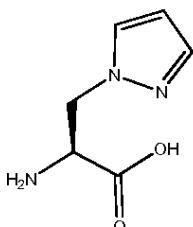
[0663] Ala는 L-알라닌을 말한다; Asn은 아스파라긴을 말한다; Asp는 L-아스파르트산염을 말한다; Gln은 L-글루타민을 말한다; Glu는 L-글루타메이트를 말한다; Ile는 L-아이소류신을 말한다; Leu는 L-류신을 말한다; Lys는 L-리신을 말한다; Phe는 L-페닐알라닌을 말한다; PhosphoThr은 L-포스포트레오닌을 말한다; Thr은 L-트레오닌을 말한다;



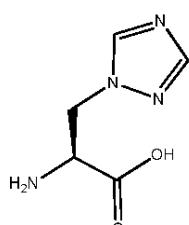
[0664] hSer은 L-하이드록시세린을 말한다:



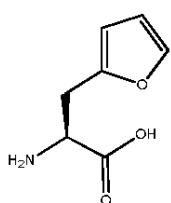
[0665] ValOH는 L-하이드록시발린을 말한다:



[0666] 피라졸은 \_\_\_\_\_을 말한다;



[0667] 트리아졸은 \_\_\_\_\_을 말한다;



[0668] Fur은 \_\_\_\_\_을 말한다.

[0669] MA는 말레이미도 에세틸을 말한다; Dpr은 디아미노프로피온산을 말한다; MDpr은 말레이미도 디아미노프로피온산을 말한다; EDA는 에틸렌 디아민을 말한다; mc-MMAF는 링커 말레이미도카프로일 MMAF를 말한다; mc-vc-PABC-MMAF는 말레이미도카프로일-발린-시트룰린-p-아미노벤질-카바모일 MMAF를 말한다; mc-vc-PABC-MMAF는 말레이미도카프로일-발린-시트룰린-p-아미노벤질-카바모일 MMAE를 말한다.

## 표 2

번호	(아우리스타틴의 AA5) - AA1-AA2-MDpr	HIC RT (분) h1F6 8-로드
4967	(Asp)-Ala-Lys(MDpr)	4.98
4968	(Glu)-Ala-Lys(MDpr)	5.02
4969	(Phospho-Thr)-Ala-Lys(MDpr)	4.81
4970	(Asn)-Ala-Glu-MDpr	5.0
4971	(Gln)-Ala-Glu-MDpr	5.1
4972	(Asp)-Ala-Glu-MDpr	4.95
4973	(Glu)-Ala-Glu-MDpr	4.98
4974	(homoSer)-Ala-Glu-MDpr	5.1

4975	(ValOH)-Ala-Glu-MDpr	5.2
4976	(Phospho-Thr)-Ala-Glu-MDpr	4.8
4977	(Pyrrozol)-Glu-MDpr	5.2
4978	(Tiazol)-Glu-MDpr	5.0
4979	(Asn)-Glu-MDpr	4.9
4980	(Asp)-Glu-MDpr	4.8
4981	(프릴)-Glu-MDpr	5.6
4982	(ValOH)-Glu-MDpr	5.1
4983	(Ser)-Glu-MDpr	4.9
4984	(homoSer)-Glu-MDpr	4.96
4830	(Thr)-Glu-MDpr	4.5
4808	(Thr)-Glu-MA	5.0
4851	(Thr)-Glu-Lys(MDpr)	4.6
4854	(Thr)-Glu-EDA-MDpr	NT
4856	(Thr)-Ile-EDA-MDpr	5.2
4853	(Phe)-Glu-EDA-MDpr	5.8
4855	(Phe)-Ile-EDA-MDpr	6.9
4882	(티아졸)-Glu-EDA-MDpr	4.9
4883	(Met)-Asn-(D)Lys-EDA-MDpr	4.8
1006	MC-vc-PABC-MMAE	9.8
1251	MC-vc-PABC-MMAF	8.2
1269	MC-MMAF	7.0

[0671] 실시예 3 - 항체 약물 컨쥬게이트

[0672] 항체-약물 컨쥬게이트의 제조. h1F6 ADC에 대한 예시.

[0673] 항체 당 8개의 약물을 가진 h1F6 항체-약물 컨쥬게이트 (ADC)를 항체의 충분한 환원에 이어서 원하는 약물-링커 와의 반응에 의해 제조하였다. 항체 ( $10 \text{ mg/mL}$ )를  $1 \text{ mM}$  디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA)이 들어있는 인산 염 완충된 식염수 (PBS) pH 7.4 (Invitrogen, Carlsbad, CA)에서 트리스(2-카르복시에틸)포스핀 (TCEP)의 10몰 동등물의 첨가 후 이어서,  $37^\circ\text{C}$ 에서 ~1시간 동안 배양하여 충분히 환원시켰다. 초과량의 TCEP를 PBS로의 10X 희석 및 항체의 농축에 의해 제거하였고, 30 KD MWCO 스판 필터 (EMD Millipore, Billerica, MA)를 사용하여 2번 반복하였다. 경쇄 및 중쇄가 비활원 항체로부터 완전히 용해된 경우 항체의 충분한 환원을 역상 HPLC 분석으로 확인하였다. 이어서 약물-링커 ( $10 \text{ 당량}$ )를 DMSO ( $10 \text{ mM}$ )에서 제조된 스톡 용액으로부터 첨가하였다. 반응을 컨쥬게이션 및 추후의 티오석신이미드 고리 가수분해 (MDpr)를 허용하기 위해 실온에서 대략 2시간 동안 방치하였다. 반응 혼합물을 PD-10 탈염 컬럼 (GE Healthcare, Piscataway, NJ)을 사용하여 정제하였고 PBS로 완충제를 교체하였다. 최종 생성물의 약물/Ab 비율을 PLRP-MS 분석으로 추정하였고  $7.8 - 8.0$  약물/Ab의 범위에 있다. 이에 더하여, HMW 종이  $0.5 - 2.0\%$ 의 범위에 있는 경우 각각의 ADC를 크기 배제 크로마토그래피로 분석하였다.

[0674] 소수성 상호작용 크로마토그래피

[0675] 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC)를 사용하여 ADC의 분석을 수행하였다. 이동상 A (MPA)는  $1.5 \text{ M}$  암모늄 황산염,  $25 \text{ mM}$  칼륨 인산염, pH 7.0으로 구성되고, MPB는 75%  $25 \text{ mM}$  칼륨 인산염, pH 7.0, 25% 아이소프로판을로 구성되는 경우 0-100% 이동상 B (MPB)의 선형 구배를 실행하여 HIC를 수행한다.  $25^\circ\text{C}$ 로 가열된 Tosoh t-Butyl 컬럼 (TSK-Gel Butyl-NPR 4.6 x 35mm, PN: 14947)을 사용하여 분리를 달성하였다.  $100 \mu\text{L}$ 의 총 부피에서 총 염 농도가  $1.0 \text{ M}$  암모늄 황산염보다 높거나 같아지도록  $70 \mu\text{g}$ 의 ADC를 MPA에 희석함으로써 테스트 물품을 제조하였다. 샘플에  $90 \mu\text{L}$ 로 주사하였고 12분 구배를 사용하여 용출하였다.  $\lambda=280 \text{ nm}$ 에서 모니터링하였다. 더 큰 소수성, 또는 분자 당 더 많은 수의 약물을 가진 ADC를 차후 체류 시간에 용출하였다.

[0676] 도 4 및 5는 다양한 8 로딩된 ADC의 HIC 분석의 결과를 나타내며, 모체, 컨쥬게이션되지 않은 항체 (h1F6)와 비교하였다. ADC를 상기 기술된 바와 같이 제조하였다. 결과는 일반적으로 친수성 링커와 결합하여, 아우리스타틴의 친수성을 증가시키는 것이 컨쥬게이트의 분명한 소수성을 감소시킨다는 것을 나타낸다.

[0677] 하기 표 2는 표 1의 다양한 약물 링커의 조성물을 요약하고 항체 h1F6으로 결과로 생긴 8-로딩된 항체 약물 컨쥬게이트를 분석한다. HIC 체류 시간 (HIC RT)을 상기 기술된 바와 같이 결정하였다. 약물 링커 MC-vc-PABC-MMAE, MC-vc-PABC-MMAF 및 MC-MMAF를 함유하는 h1F6 ADC를 대조군으로서 사용하였다.

[0678] 실시예 4 - 시험관 내 활성 검정

[0679] 시험관 내 세포독성 검정을 일반적으로 이전에 기술된 바와 같이 수행하였다 (상기 참조, 활성 검정). 간략히 말하면, 세포의 로그상 배양물을 수거하여 세포를 미리 결정된 조건에 따라 500 - 10,000 세포/웰의 범위의 분주 밀도로 평판 배양하였다. 표면 단백질 복원을 허용하기 위해 24시간을 배양한 후, 테스트 컨쥬게이트의 단계 회석물을 첨가하였고 배양물을 추가로 4일 동안 배양하였다. IC<sub>50</sub> 값을 발생시키기 위한 세포 성장 및 염료 환원의 평가를 Alamar Blue (Biosource International, Camarillo, CA) 염료 환원 검정을 사용하여 실시하였다. 간략히 말하면, Alamar Blue의 40% 용액 (wt/vol)을 배양물이 첨가되기 직전에 완전 배지에서 신선하게 제조하였다. 약물 노출 후 92시간에, Alamar Blue 용액을 10% 배양물 부피를 차지하도록 세포에 첨가하였다. 세포를 4시간 동안 배양하였고, 염료 환원을 Fusion HT 형광 플레이트 리더 (Packard Instruments, Meriden, CT) 상에서 측정하였다.

[0680] 786-0 신장 세포 및 Caki-1 투명세포 신장암 세포주를 사용하였다. 이 세포주들은 각각 세포 당 대략 190,000 및 135,000개의 인간 CD70 분자를 발현하였다. h1F6 항체에 부착된 약물 렉커는 표 1 및 2에서 기술된다. 하기 표 3A-C에 관하여, h1F6 ADC는 달리 지시되지 않으면 8 약물/항체의 평균 약물 로딩을 가진다. 테스트된 친수성 h1F6 ADC는 이 연구에서 대조군, h1F6-mcMMAF (1269)와 비슷하거나, 또는 더 나은 활성 (IC<sub>50</sub> 값)을 나타냈다.

**표 3**[표 3a] 아우리스타틴-기반 ADC에 대한 IC<sub>50</sub> 요약

ADC	Dr/Ab	Caki-1	786-0
h1F6-1	4	21	21
	8	8	7
h1F6-2	4	17	21
	8	7	7
h1F6-3	4	27	28
	8	13	13
h1F6-4	4	20	21
	8	11	9
h1F6-5	4	39	32
	8	22	19
h1F6-6	4	23	26
	8	7	9
h1F6-7	4	80	10
	8	24	4
h1F6-8	8	19	4
h1F6-9	8	21	3
h1F6-10	8	57	5
h1F6-11	8	9	1
h1F6-12	8	12	4
h1F6-13	8	60	5

[0681] DR/Ab는 평균 약물 로딩을 말한다; IC<sub>50</sub>은 ng/mL 단위로 보고된다.

[표 3b] 아우리스타틴-기반 ADC에 대한 IC50 요약

아우리스타틴-기반 ADC	Dr/Ab	786-O	Caki-1
h1F6-14	8.0	6	19
h1F6-15	8.0	6	16
h1F6-16	8.0	9	12
h1F6-17	8.0	6	14
h1F6-18	8.0	8	18
h1F6-19	8.0	7	20
h1F6-20	8.0	7	9
h1F6-21	8.0	12	22
h1F6-22	8.0	24	21
h1F6-23	8.0	11	18
h1F6-24	8.0	11	33
h1F6-25	8.0	14	34
h1F6-26	8.0	9	19
h1F6-27	8.0	7	15
h1F6-28	8.0	7	21
h1F6-29	8.0	31	33
h1F6-30	8.0	12	18
h1F6-31	8.0	13	20
h1F6-6	8.0	11	12
h1F6-mcMMAF	4.0	44	42

[0682]

[표 3c]

h1F6-ADC에 대한 IC50, ng/mL

아우리스타틴-기반 ADC	Dr/Ab	786-O 투명 RCC	Caki-1 투명 RCC
h1F6-32	8.0	5	3
h1F6-33	8.0	0.8	0.8
h1F6-34	8.0	3	6
h1F6-35	8.0	3	3
h1F6-36	8.0	0.7	0.5
h1F6-37	8.0	4	4
h1F6-38	8.0	3	3
h1F6-39	8.0	3	3
h1F6-6	8.0	7	5
h1F6-mcMMAF	4.0	34	12

[0683]

실시예 5 - 약물동력학적 연구

[0684]

항체 및 ADC 방사성 동위원소 라벨링

[0685]

약물동력학 (PK) 실험을 방사성 동위원소로 라벨링된 항체 또는 ADC를 사용하여 수행하였다. PK 테스트 물품을 하기 과정을 사용하여 방사성 동위원소 라벨링하였다. 500 mM 칼륨 인산염 (pH 8.0) 및 500 mM 염화 나트륨 중 항체 또는 ADC의 용액에 항체 또는 ADC mg 당 55  $\mu$ Ci N-석신이미딜 프로피오네이트, [프로피오네이트-2,3- $^3$ H]- (Moravek Biochemicals, 제품 번호: MT 919, 80 Ci/mmol, 1 mCi/mL, 9:1 헥산:에틸 아세트산염 용액)를 첨가하였다. 결과로 생긴 혼합물을 보텍싱하였고(vortex) 실온에서 2시간 동안 놔두었다. 혼합물을 5분 동안 4,000 x g로 원심분리하였고 수성 하부층을 제거하였고 Amicon Ultra-15 Centrifugal Filter Units (Millipore, 제품 번호: UFC903024, 30 kDa MWCO)으로 분리하였다. 컨쥬케이션되지 않은 방사성을 4라운드의 회석 및 4,000 x g로의 원심분리로 제거하였다. 결과로 생긴 생성물을 멀균 0.22  $\mu$ m Ultrafree-MC Centrifugal Filter Units (Millipore, 제품 번호: UFC30GV0S)을 통해 여과하였고 최종 항체 또는 ADC 농도를 분광 광도법을 사용하여 측정하였다. 각 생성물의 특이적 활성 ( $\mu$ Ci/mg)을 액체 신틸레이션 계수법(liquid scintillation counting)으로

결정하였다.

#### [0687] 약물동력학 연구

[0688] 친수성이션되지 않은 항체 및 상기 항체의 다양한 ADC (8의 약물 로딩)의 약물동력학적 성질을 여러 설치류 모델에서 검사하였다. 각 실험에서, kg 동물 체중 당 방사성 동위원소 표지된 항체 또는 ADC 3 mg을 꼬리 정맥을 통해 주사하였다. 각 테스트 물품을 3마리의 복제 동물에 한 번 투여하였다. 혈액을 다양한 시점에 복제 정맥을 통해 또는 말단 혈액에 대한 심장 천자에 의해 K2EDTA 튜브로 뽑아냈다. 혈장을 10,000 x g로 10분 동안 원심분리하여 분리하였다. 각 시점에 대한 혈장 샘플 10 μL를 4 mL Ecoscint-A 액체 신틸레이션 칵테일 (National Diagnostics)에 첨가하였고 총 방사성을 액체 신틸레이션 계수법으로 측정하였다. 결과로 발생한 분당 봉괴 값을 μCi로 전환하였고 방사성 동위원소 표지된 테스트 물품의 특이적 활성을 사용하여 각 시점에 혈장에 남아있는 항체 또는 ADC의 농도를 계산하였다.

[0689] 도 2에 관하여, h1F6 및 이것의 두 개의 친수성 ADC의 약물동력학적 성질을 세 개의 대조군 ADC의 성질과 비교하였다. 친수성 ADC는 h1F6-4 (8-로딩된 (아우리스타틴-T)-Glu-Dpr-MA)<sub>8</sub> - h1F6) 및 h1F6-11 ((아우리스타틴 F)-Ile-EDA-MDpr)<sub>8</sub> - h1F6)이었다. 결과는 친수성 ADC가 이 마우스 연구의 과정에 걸쳐 개선된 약물동력학적 안정성을 나타냈다는 것을 보여준다. 아우리스타틴-T를 가진 친수성 아우리스타틴은 친수성이션되지 않은 항체와 가까운 안정성을 나타냈다. ADC h1F6-11의 친수성 디자인은 대조군과 비교하여 개선된 pK 안정성을 나타냈으며, 이것들 중 둘은 같은 아우리스타틴의 모노메틸 형태를 포함한다 (아우리스타틴 F 대 모노메틸 아우리스타틴 F).

[0690] 도 3에 관하여, 또 다른 단클론성 항체의 친수성 친수성이트의 약물동력학적 성질을 대조군 친수성이트, mAb-mcMMAF의 성질과 비교하였다. 모든 ADC는 8의 평균 약물 로딩을 갖는다. 각각의 친수성 ADC는 대조군 ADC와 비교하여 개선된 약물동력학적 안정성을 나타낸다.

[0691] 이것의 두 개의 친수성 ADC를 세 개의 대조군 ADC의 성질과 비교하였다. 친수성 ADC는 h1F6-8 (8-로딩된 (아우리스타틴-티아졸)-Glu-Lys-MDpr)<sub>8</sub> - h1F6) 및 h1F6-11 ((아우리스타틴 F)-Ile-EDA-MDpr)<sub>8</sub> - h1F6)이었다. 결과는 친수성 ADC가 이 마우스 연구의 과정에 걸쳐 개선된 약물동력학적 안정성을 나타냈다는 것을 보여준다. 특히, h1F6-11의 친수성 디자인은 대조군과 비교하여 개선된 안정성을 나타냈으며, 이것들 중 둘은 같은 아우리스타틴의 모노메틸 형태를 포함한다 (아우리스타틴 F 대 모노메틸 아우리스타틴 F).

#### [0692] 실시예 6 - 생체 내 치료 실험

[0693] 786-0 세포를 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA)로부터 얻어서 ATCC에 의해 권장된 배양 조건에서 증식시켰다. 786-0 종양을 확립하기 위해, 5 x 10<sup>6</sup>개의 세포를 무흉선(athymic) nu/nu 암컷 기증자 마우스 (Harlan, Indianapolis, IN)의 우측방으로 이식하였다. 기증자 종양이 대략 500 mm<sup>3</sup>일 때, 마우스를 안락사시켰고 종양을 무균적으로 절제하였고 ~0.5 x 0.5 mm 단편을 nu/nu 마우스로의 이식을 위해 살균된 13-케이지 투관침으로 로딩하였다. 종양이 ~100 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때, 마우스를 무작위로 치료군으로 할당하였다.

[0694] DOHH2 종양을 확립하기 위해, 5 x 10<sup>6</sup>개의 세포를 C.B.-17 SCID 마우스 (Harlan, Indianapolis, IN)의 우측방으로 이식하였다. 종양이 대략 ~100 mm<sup>3</sup>일 때, 마우스를 무작위로 치료군으로 할당하였다.

[0695] 실험군에 복강 내 주사를 통해 지시된 용량 및 일정으로 화합물을 처리하거나 대안으로 처리하지 않은 채로 두었다. 종양을 주기적으로 측정하였고 식 V= ((L x W<sup>2</sup>)/2)를 사용하여 부피를 계산하였다. 어느 것이 먼저이든, 종양이 1000 mm<sup>3</sup>의 부피에 도달했을 때 또는 연구의 끝에 동물을 안락사시켰다.

[0696] 종양 4배화 시간을 종점까지의 시간 (time to endpoint; TTE)으로서 선택하였으며, 이것을 각 실험 동물의 개개의 종양 성장 데이터 세트의 지수 성장에 대한 비-선형 회귀 분석을 사용하여 결정하였다. 중간 종양 4배화 시간을 치료 시작시 종양 부피에 기초하여 계산하였다. 종점에 도달하지 못한 동물들을 연구의 마지막 날과 동일한 TTE 값으로 할당하였다.

[0697] 통계적 분석을 윈도우용 Prism (GraphPad) 소프트웨어를 사용하여 실행하였다. TTE의 로그랭크 테스트(Logrank test)를 사용하여 두 군 간의 차이의 유의성을 분석하였으며, 차이는 0.01 ≤ P ≤ 0.05에서 유의하고, P ≤ 0.01에서 매우 유의한 것으로 생각된다.

[0698]

도 6에 관하여, 4-로딩된 및 8-로딩된 ADC (각각 4d/Ab 및 8d/Ab)의 활성을 1회 용량, 마우스 이종 이식 연구에서 테스트하였다. 먼저, 대조군에 관하여, h1F6-mc-vc-PABC-MMAF, 4-로딩된 ADC는 8-로딩된 ADC보다 더 나은 활성을 제공하였다. 그에 반해, 친수성 h1F6-6 (아우리스타틴 T-Glu-Dpr-MDPr) 및 h1F6-13 (아우리스타틴 티아졸-Glu-EDA-MDPr)의 8-로딩된 ADC는 4-로딩된 대응물보다 더 큰 활성을 나타냈다.

[0699]

도 7에 관하여, 다른 4-로딩된 및 8-로딩된 ADC의 활성을 1회 용량, 마우스 이종 이식 연구에서 테스트하였다. 다시 이 모델에서, hBU12-6 (아우리스타틴 T-Glu-Dpr-MDPr)의 8-로딩된 친수성 ADC는 4-로딩된 대응물보다 더 큰 활성을 나타냈다.

[0700]

도 8에 관하여, 다양한 4-로딩된 및 8-로딩된 ADC의 활성을 1회 용량, 마우스 이종 이식 연구에서 테스트하였다. 이 모델에서, h1F6-12 (아우리스타틴 T-Ile-EDA-MDPr) 및 h1F6-5 (아우리스타틴 F-Glu-Dpr-MDPr)의 8-로딩된 ADC는 둘 다 4-로딩된 대응물보다 더 큰 활성을 나타냈다. 8-로딩된 ADC h1F6-11 (아우리스타틴 F-Ile-EDA-MDPr)은 반대의 경향을 나타냈다.

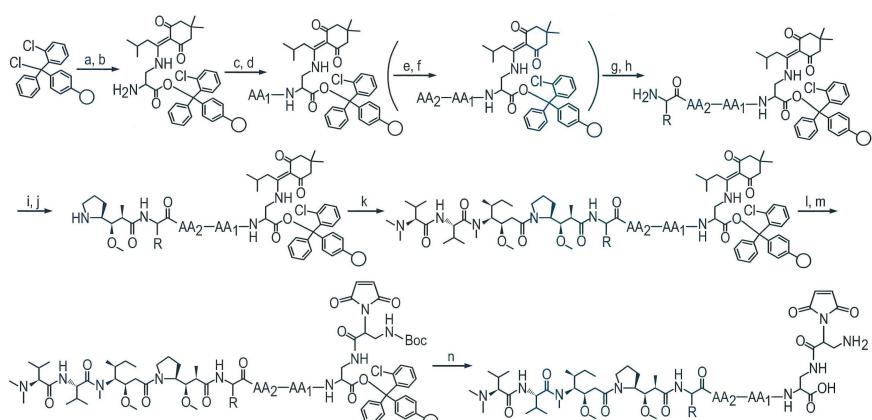
[0701]

도 9에 관하여, 다양한 4-로딩된 및 8-로딩된 ADC의 활성을 1회 용량, 마우스 이종 이식 연구에서 테스트하였다. 이 모델에서, h1F6-17, h1F6-20, h1F6-24 및 h1F6-29의 8-로딩된 ADC는 4-로딩된 대응물보다 더 큰 활성을 나타냈다.

## 도면

### 도면1

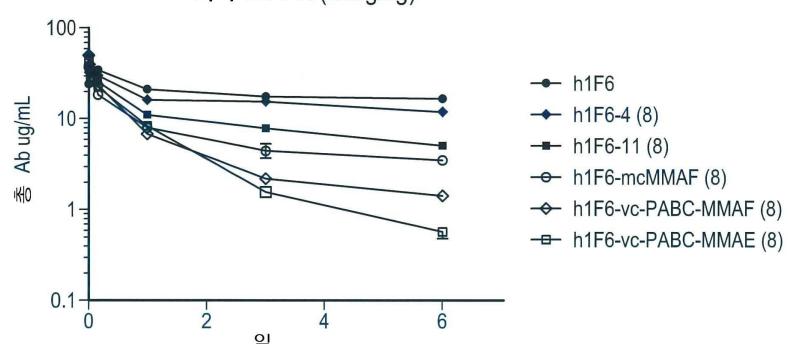
#### 아우리스타틴-(AA<sub>1</sub>)-AA<sub>2</sub>-MDpr 약물-링커의 예시의 합성

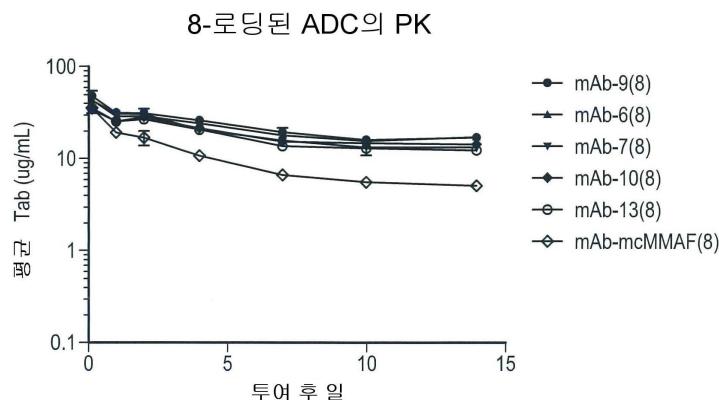
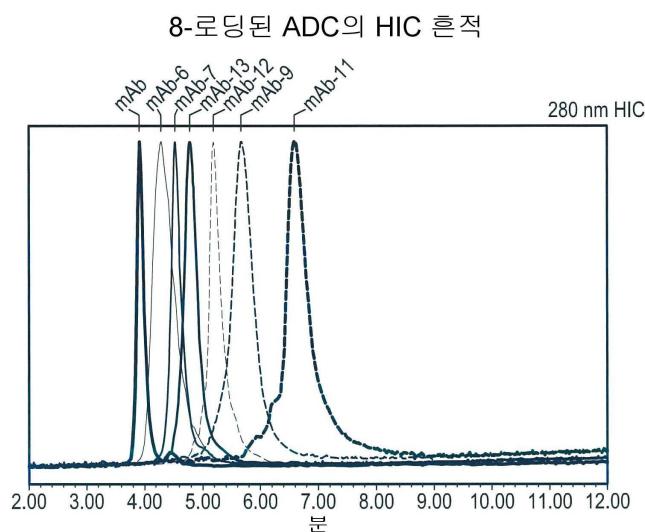
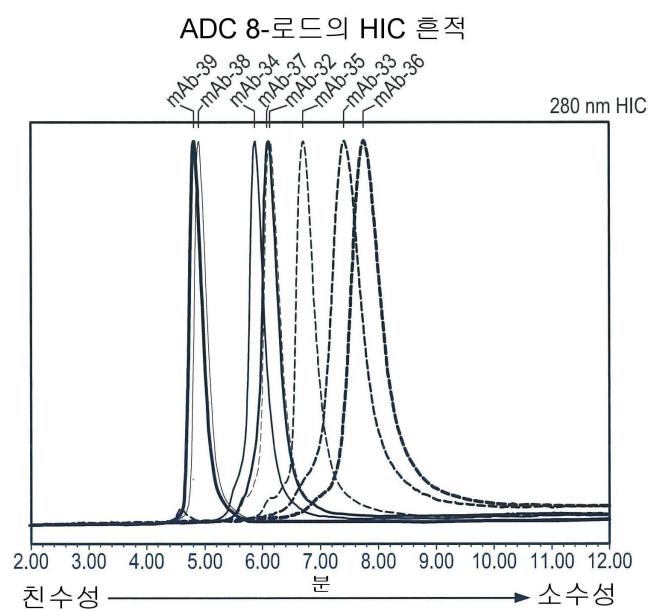


반응 조건 (a) Fmoc-Dpr(ivDde)-OH (1.5 equiv), DIEA (2.5 equiv),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /DMF, 2 h; (b) 20% 피페리딘/DMF, 2 h; (c) Fmoc-AA<sub>1</sub>-OH (2 equiv), HATU (2 equiv), 및 DIEA (4 equiv), DMF, 3 h; (d) 20% 피페리딘/DMF, 2 h; (e, 선택적) Fmoc-AA<sub>2</sub>-OH (2 equiv), HATU (2 equiv), 및 DIEA (4 equiv), DMF, 3 h; (f, 선택적) 20% 피페리딘/DMF, 2 h; (g) Fmoc-Phe-OH, 및 Fmoc-Met-OH 또는 Fmoc-Trp(Boc)-OH (2 equiv), HATU (2 equiv), 및 DIEA (4 equiv), DMF, 3 h; (h) 20% 피페리딘/DMF, 2 h; (i) Fmoc-Dap-OH (2 equiv), HATU (2 equiv), 및 DIEA (4 equiv), DMF, 3 h; (j) 20% 피페리딘/DMF, 2 h; (k) Dov-Val-Dil-OH (2 equiv), HATU (2 equiv), 및 DIEA (4 equiv), DMF, 2 h; (l) 2% 힐드래진/DMF, 2 h; (m) MDpr(Boc)-OH (2 equiv), DIEA (4 equiv),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 2 h; (n) 20% TFA/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 2 h.

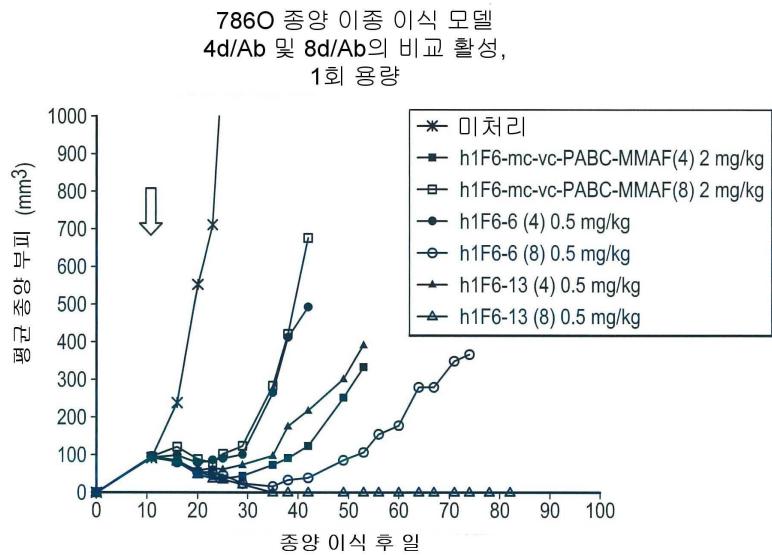
### 도면2

#### 마우스 PK (2 mg/kg)

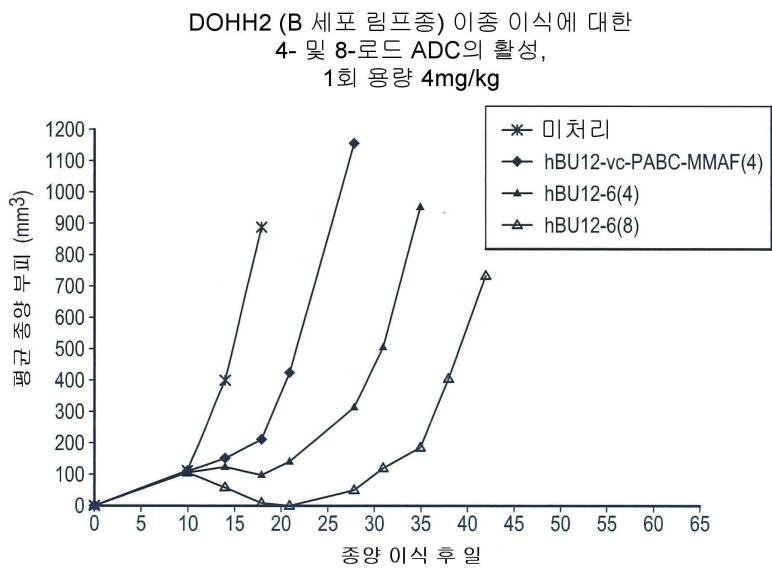


**도면3****도면4****도면5**

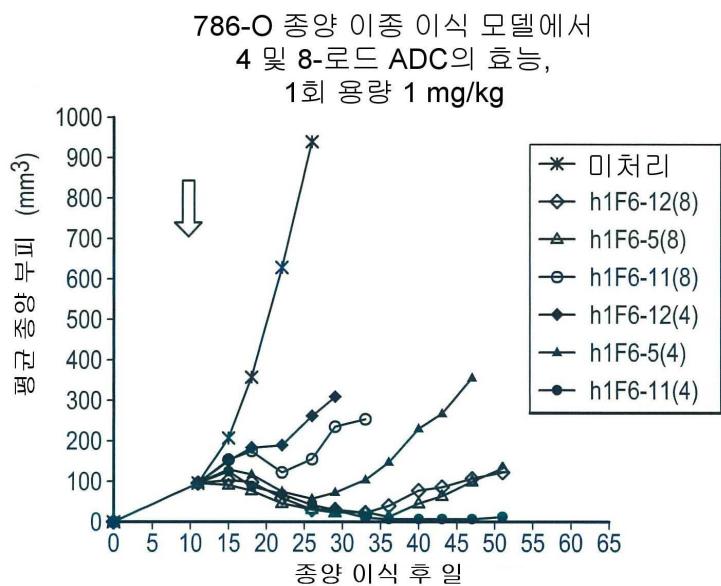
## 도면6



## 도면7



## 도면8



## 도면9

