



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년10월29일
(11) 등록번호 10-2722886
(24) 등록일자 2024년10월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 405/06 (2006.01) C07D 405/14 (2006.01)
C07K 5/062 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 405/06 (2013.01)
A61K 38/15 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7035740
(22) 출원일자(국제) 2018년05월09일
심사청구일자 2021년04월09일
(85) 번역문제출일자 2019년12월03일
(65) 공개번호 10-2020-0005580
(43) 공개일자 2020년01월15일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2018/061989
(87) 국제공개번호 WO 2018/206635
국제공개일자 2018년11월15일
(30) 우선권주장
17305531.0 2017년05월10일
유럽특허청(EPO)(EP)
(56) 선행기술조사문헌
Bioconjugate Chemistry, 2002, 제13권, 페이지
855-869*
KR1020120101981 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
사노피
프랑스 75017 파리 아브뉴 드 라 그랑 아르메 46
(72) 발명자
부샤르, 에르베
프랑스 94230 티에 알리 폴 아스테르 8
브윈, 마리-프리스유
프랑스 75015 파리 튀 바그 7
위베르, 필립
프랑스 94700 메종-알포르 튀 아서 달리데 27
(74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 24 항

심사관 : 이기철

(54) 발명의 명칭 신규한 펩티드 링커 및 크립토펙신 콘주게이트, 이들의 제조 및 이들의 치료적 용도

(57) 요약

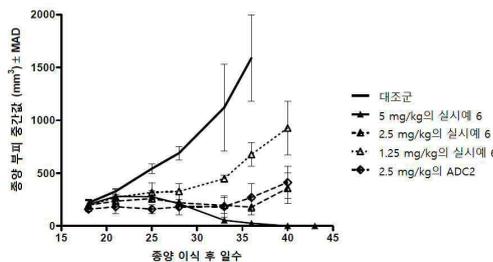
본 발명은 하기 화학식 I:

[화학식 I]

RCG1-L-P (여기서, RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며; P는 H, OH 또는 활성화 O를 나타내며; L은 특이적 링커를 나타냄)의 화합물에 관한 것이다. 또한 본 발명은 크립토펙신 페이로드와, 크립토펙신 콘주게이트, 이를 함유하는 조성물 및 특히 항암제로서의 이의 치료적 용도에 관한 것이다. 또한 본 발명은 이러한 콘주게이트의 제조 방법에 관한 것이다.

대표도

SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 6의 생체 내에서의 효능



(52) CPC특허분류

A61K 47/64 (2017.08)

A61K 47/65 (2017.08)

A61K 47/6829 (2017.08)

A61K 47/6889 (2017.08)

A61P 35/00 (2018.01)

C07D 405/14 (2013.01)

C07K 5/06052 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물:

[화학식 I]

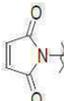
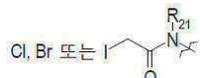
RCG1-L-P

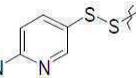
(여기서,

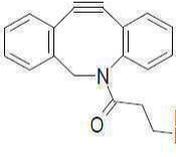
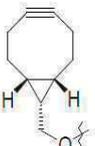
■ RCG1은 항체 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며,

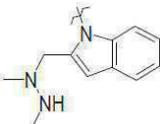
RCG1은 하기의 목록:

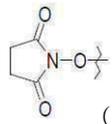
(i) $R_2Z_n-C(=O)$ 반응성 기(이때, Z_n 는 단일 결합, $-O-$ 또는 $-NH-$ 를 나타내며, R_n 는 수소 원자, (C_1-C_6) 알킬 기, (C_3-C_7) 시클로알킬 기, 알케닐 기, 아릴 기, 헤테로아릴 기 또는 (C_3-C_7) 헤테로시클로알킬 기를 나타내며, 상기 아릴 기, 헤테로아릴 기 또는 (C_3-C_7) 헤테로시클로알킬 기는 할로겐 원자, 알킬 기, 알콕시 기, 히드록실 기, 옥소 기, 니트로 기 및 시아노 기로부터 선택된 1 내지 5개의 원자/기로 치환될 수 있음); 또는

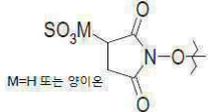
(ii) 하기 반응성 기 중 하나: 말레이미도  기; 할로아세트아미도  기(이때, R_{21} 은 수소

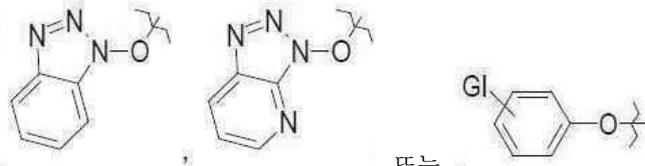
원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타냄); $Cl-$; N_3- ; $HO-$; $HS-$; H 또는 O_2N-  인 활성화 디설피드; H_2N- ; HC

$\equiv C-$ 기; DBCO-아민  또는 BCN  또는 MFCO  중 선택된 활성화 $C\equiv C$ 기;

O -알킬 히드록실아민; 또는  인 픽테트-스펜글러(Pictet-Spengler) 반응 기질로부터 선택되며;

■ P는 수소 원자, $-OH$ 또는 활성화 O 를 나타내며, 활성화 O 는  ($O-NHS$),

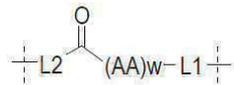
 (여기서, 양이온은 나트륨, 칼륨 또는 세슘을 나타냄); 또는



또는 기(여기서, GI는 -NO₂ 및 할로겐 원자 중에서 선택된 하나 이상의 전자유도 기를 나타냄)이며;

■ L은 하기 화학식 II의 링커를 나타내며,

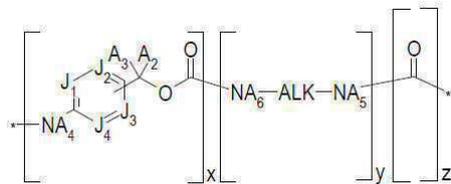
[화학식 II]



여기서,

● L1은 하기 화학식 III을 가지며,

[화학식 III]



여기서

■ P가 수소 원자를 나타내면, x = 0 또는 1이고, y = 1이고, z = 0이며;

■ P가 -OH를 나타내면, x = y = z = 0이며;

■ P가 활성화 O를 나타내면, x = 1이고 y = z = 0이거나, x = y = z = 1이며;

■ J₁, J₂, J₃ 및 J₄는 서로 독립적으로 CA₁ 및 N으로부터 선택되며;

■ ALK는 (C₁-C₁₂)알킬렌 기를 나타내며;

■ A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, 및 A₆는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;

● (AA)_w는 펩티드 결합을 통하여 함께 연결된 w개의 치환 아미노산 AA_s 또는 비치환 아미노산 AA_{ns}의 서열을 나타내며;

● w는 2 내지 12 범위의 정수를 나타내며;

● (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하면, L2는 단일 결합, (C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, (CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, (C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내

며;

● **(AA)_w**가 w개의 비치환 아미노산 **AA_{ns}**의 서열을 나타내면, **L2**는 $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기 또는 $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며;

■ **A₇**은 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화의, 치환될 수 있는 C_1-C_{160} 탄화수소 사슬(여기서 C_1-C_{160} 탄화수소 사슬은 -OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH(알킬) 및 -N(알킬)₂로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환체로 임의로 치환될 수 있음)을 나타내고, 여기서 하나 이상의 메틸렌 단위는 -NHC(=O)-, -C(=O)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -O-, -C(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, 또는 -S(=O)₂NH-, 또는 헤테로시클릭알킬 기(여기서 헤테로시클로알킬은 -OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, 및 -NH₂로부터 선택된 동일 또는 상이한 하나 이상의 치환체로 치환될 수 있음)로 독립적으로 대체될 수 있으며,

SO₃H를 포함하는 각각의 **A₇**은 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해되며;

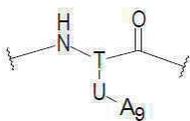
■ **A₈**은 수소 원자를 나타내며;

■ **i**는 1 내지 50 범위의 정수를 나타내고;

- 각각의 **(AA_{ns})**는 알라닌, γ-아미노부티르산, 2-아미노-2-시클로헥실아세트산, 2-아미노-2-페닐아세트산, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시트룰린, 시스테인, α, α-디메틸-γ-아미노부티르산, 3,3-디메틸-γ-아미노부티르산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 호모시스테인, 셀레노시스테인, 호모셀레노시스테인, 히스티딘, 이소류신, 류신, 라이신, ε-(아세틸)-라이신, 메티오닌, 오르니틴, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 천연 또는 비천연 아미노산이며;

- 각각의 **(AA_s)**는 독립적으로 하기 화학식 VI을 가지며,

[화학식 VI]



여기서

● **T**는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형의, (C_1-C_8) 3가 알킬 기를 나타내고;

● **U** 기는 -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, 또는 -O-P(=O)(OH)-O를 나타내고;

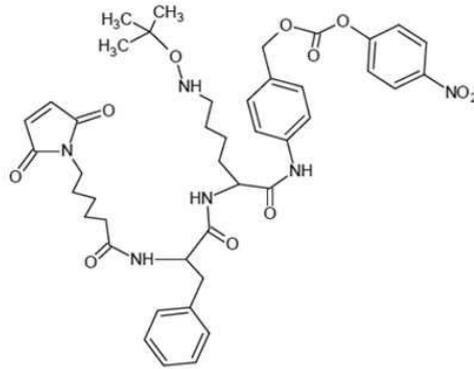
● **A₉**는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화의, 치환될 수 있는 C_1-C_{160} 탄화수소 사슬(여기서 C_1-C_{160} 탄화수소 사슬은 -OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH(알킬) 및 -N(알킬)₂로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환체로 임의로 치환될 수 있음)을 나타내고, 여기서 하나 이상의 메틸렌 단위는 -NHC(=O)-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -CH(O알킬)-, -CHF-, -CF₂-, -O-, -NH-, -C(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, 또는 -S(=O)₂NH-, 또는 헤테로시클릭알

킬 기(여기서 헤테로시클로알킬은 -OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, 및 -NH₂로부터 선택된 동일 또는 상이한 하나 이상의 치환체로 치환될 수 있음)로 독립적으로 대체될 수 있고,

SO₃H 를 포함하는 각각의 A₉는 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해되며,

단,

화학식 VI의 치환 아미노산 (AA)_s는 알라닌, γ-아미노부티르산, 2-아미노-2-시클로헥실아세트산, 2-아미노-2-페닐아세트산, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시트룰린, 시스테인, α, α-디메틸-γ-아미노부티르산, 3,3-디메틸-γ-아미노부티르산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 호모시스테인, 셀레노시스테인, 호모셀레노시스테인, 히스티딘, 이소류신, 류신, 라이신, ε-(아세틸)-라이신, 메티오닌, 오르니틴, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되지는 않으며;



화학식 I의 화합물에서 화학식

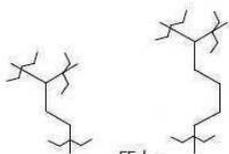
의 화합물은 제외됨).

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 비치환 아미노산 AA_n의 서열 (AA)_w는 하기의 목록: Gly-Gly, Phe-Lys, Val-Lys, Val-AcLys, Val-Cit, Phe-Phe-Lys, D-Phe-Phe-Lys, Gly-Phe-Lys, Ala-Lys, Val-Ala, Phe-Cit, Phe-Gly, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Ala, Ala-Phe, Gly-Gly-Gly, Gly-Ala-Phe, Gly-Phe-Gly, Gly-Val-Cit, Gly-Phe-Leu-Cit, Gly-Phe-Leu-Gly, 및 Ala-Leu-Ala-Leu으로부터 선택되는 것인 화학식 I의 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, 치환 아미노산 AA_s는 제1항에 정의된 바와 같은 화학식 VI을 가지며, 여기서

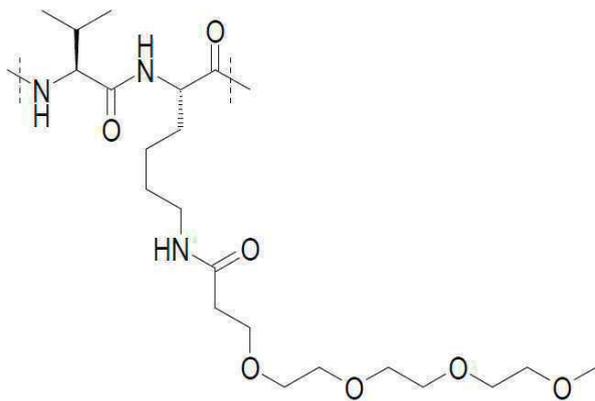
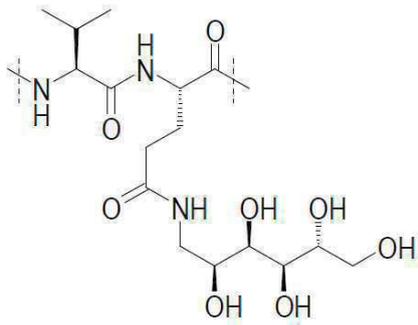
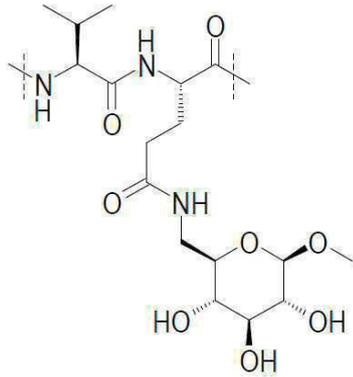
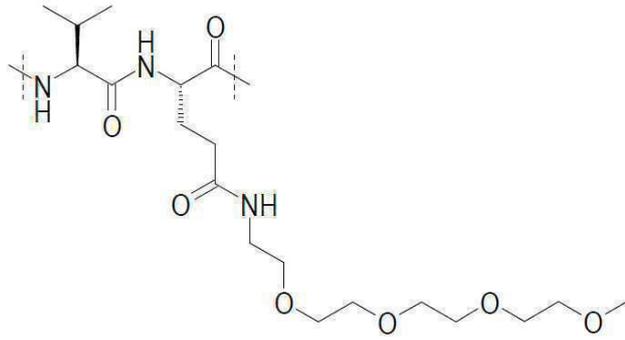


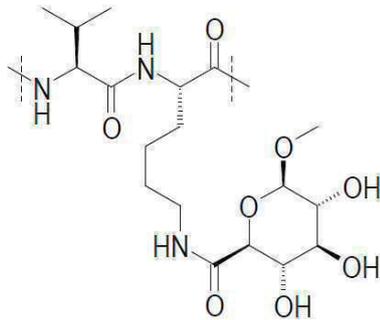
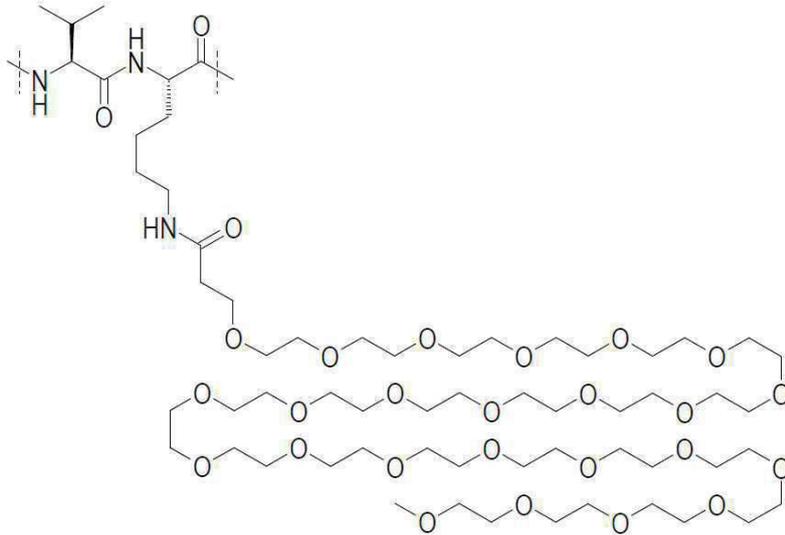
- T는 또는 를 나타내며;
- U 기는 -NH-C(=O)- 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;
- A₉는 -[(CH₂)₂-O]_b-CH₃을 나타내며, 여기서 b는 1 내지 50 범위의 정수를 나타내는 것인

화학식 I의 화합물.

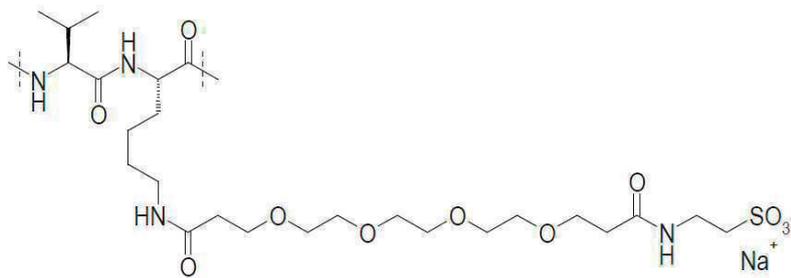
청구항 4

제1항에 있어서, 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하는 서열 (AA)_w는 하기의 목록으로부터 선택되는 것인 화학식 I의 화합물:





또는



청구항 5

제1항에 있어서,

(AA)_w는 하나 이상의 치환 아미노산 AA₈를 포함하며,

L2는

--(C₁-C₆)알킬- 기;

--C(=O)-(C₁-C₆)알킬- 기; 또는

--(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬- 기를 나타내며, 여기서, A₇은 -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기이며;

SO₃H를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해되는 것인

화학식 I의 화합물.

청구항 6

제1항에 있어서,

(AA)_w는 w개의 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하며,

L2는 -(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬- 기를 나타내며,

여기서, A₇은

- C(=O)-[(CH₂)₂-O]_a-CH₃ 기(여기서, "a"는 1 내지 50 범위의 정수를 나타냄);

- C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기; 또는

- C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]_a-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기(여기서, "a"는 1 내지 50 범위의 정수를 나타냄)를 나타내며,

SO₃H를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해되는 것인

화학식 I의 화합물.

청구항 7

제1항에 있어서,

A₇은 -C(=O)-[(CH₂)₂-O]₄-CH₃ 기; -C(=O)-[(CH₂)₂-O]₇-CH₃ 기; -C(=O)-[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃ 기; -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기; 또는 -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기를 나타내며;

SO₃H를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해되는 것인

화학식 I의 화합물.

청구항 8

제1항에 있어서,

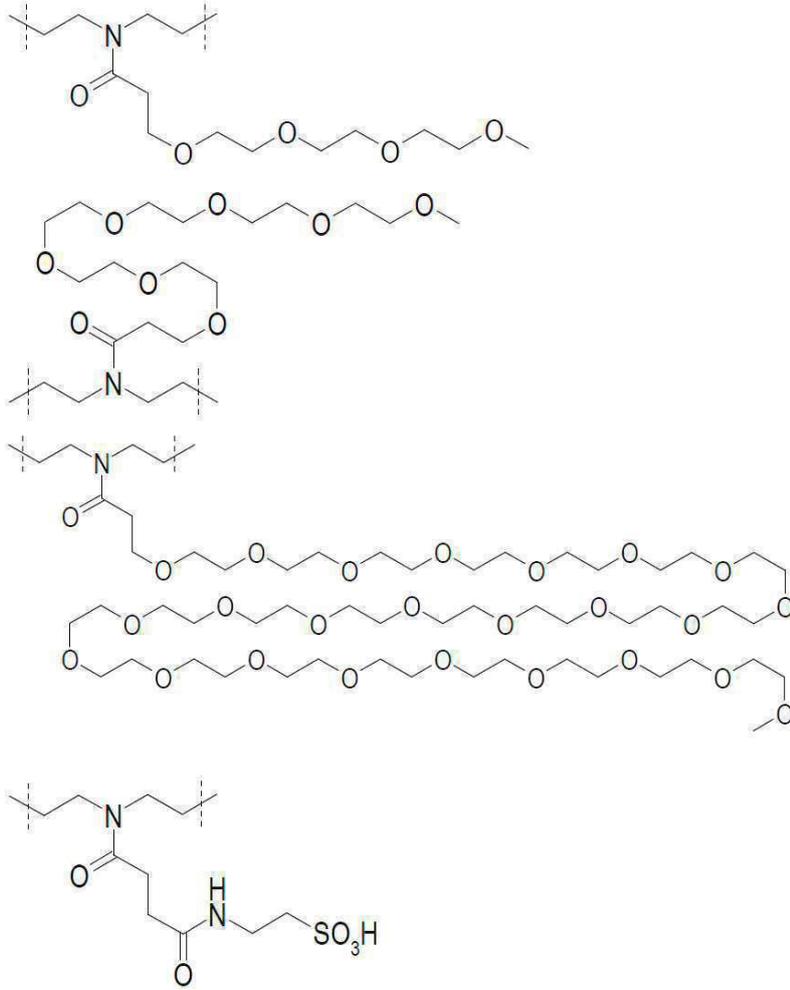
(AA)_w는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w개의 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하며,

L2는 NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내는 것인

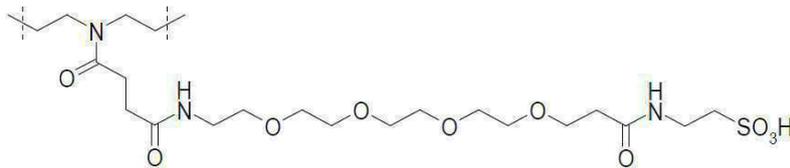
화학식 I의 화합물.

청구항 9

제1항에 있어서, (AA)_w는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w개의 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하며, L2는 하기를 나타내는 것인 화학식 I의 화합물:



또는



청구항 10

제1항에 있어서,

(AA)_w는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w개의 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하며,

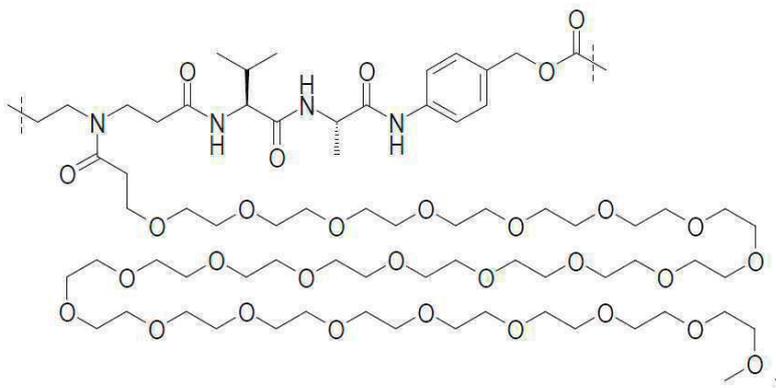
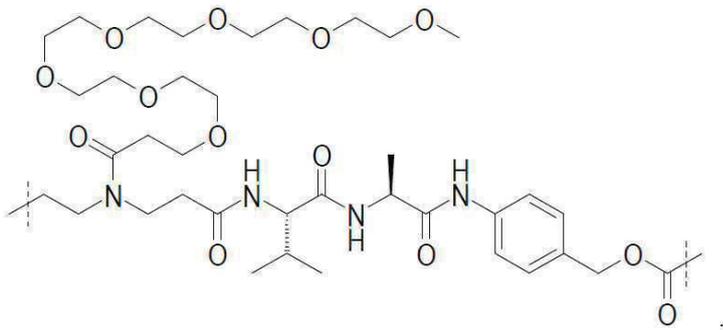
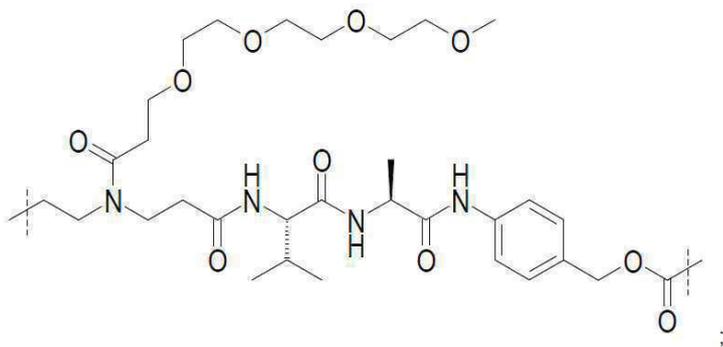
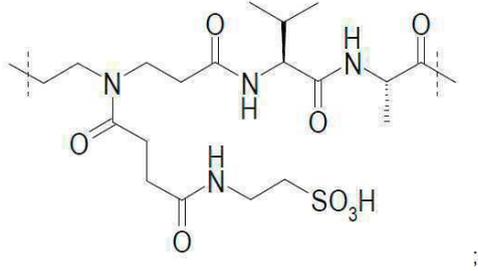
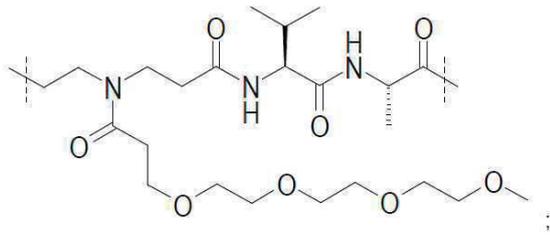
L₂는 -C(=O)-[(CH₂)₂-O]₄-CH₃ 기; -C(=O)-[(CH₂)₂-O]₇-CH₃ 기; -C(=O)-[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃ 기; -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기; 또는 -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기를 나타내는 A₇을 포함하며;

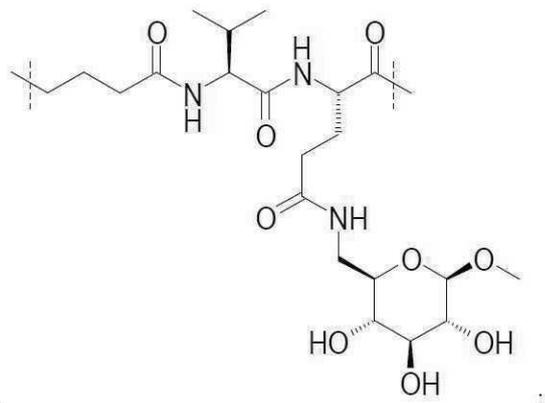
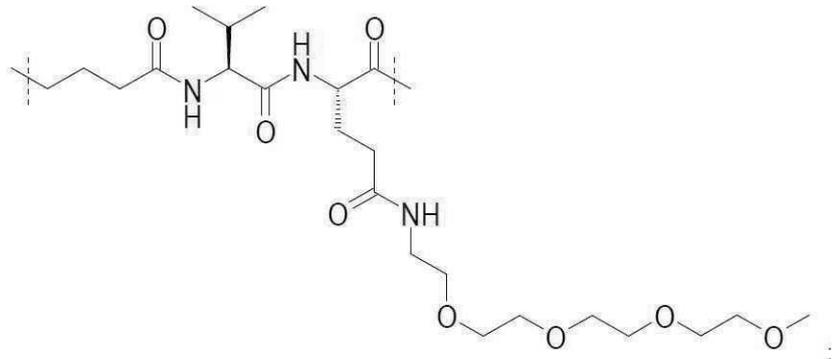
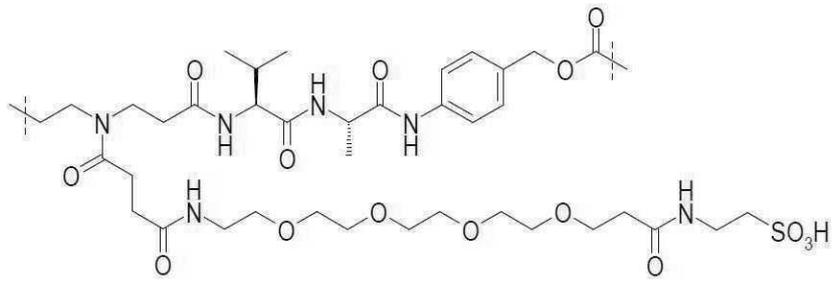
SO₃H를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해되는 것인

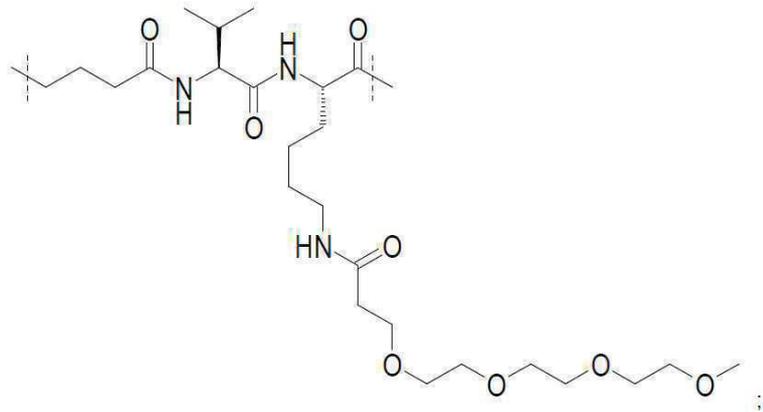
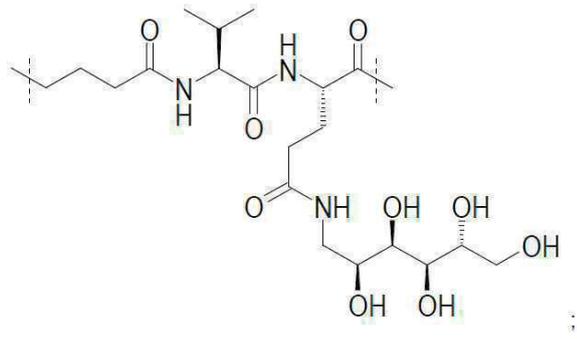
화학식 I의 화합물.

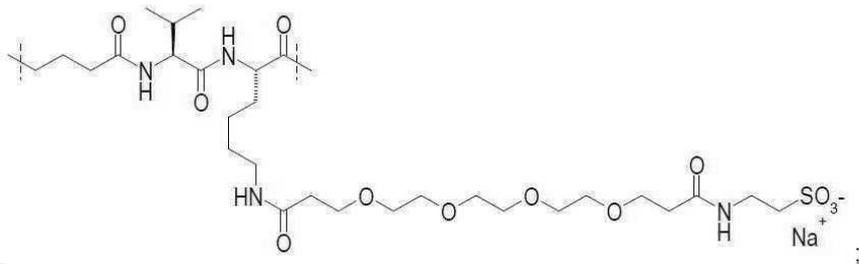
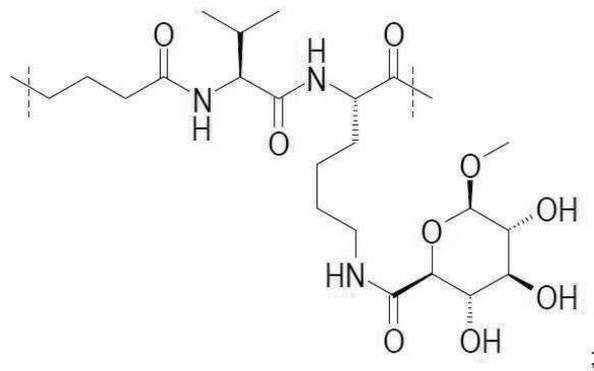
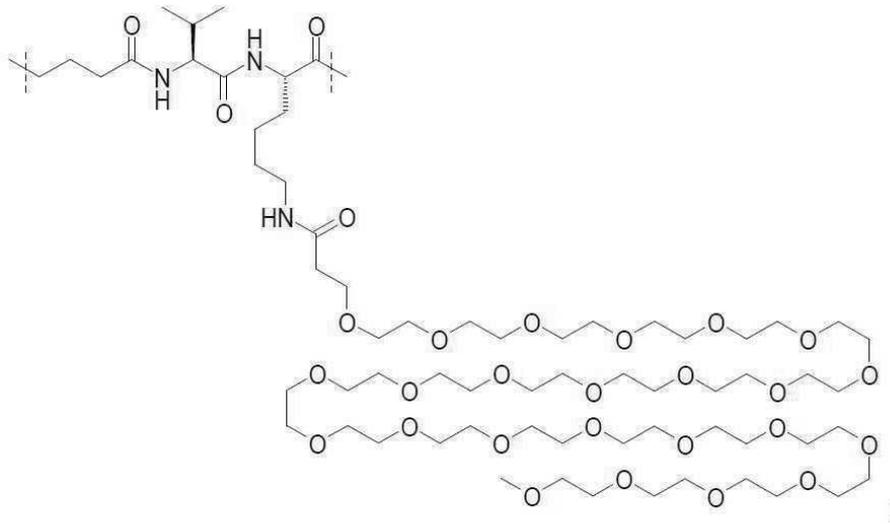
청구항 11

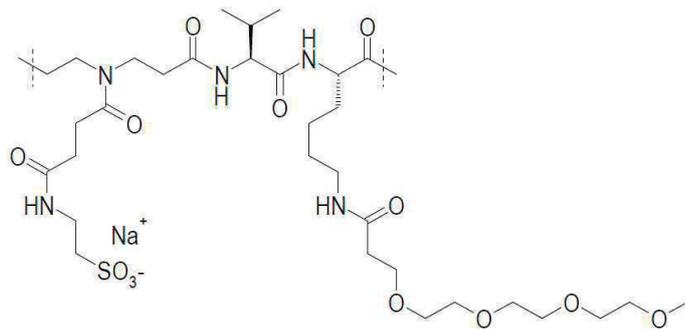
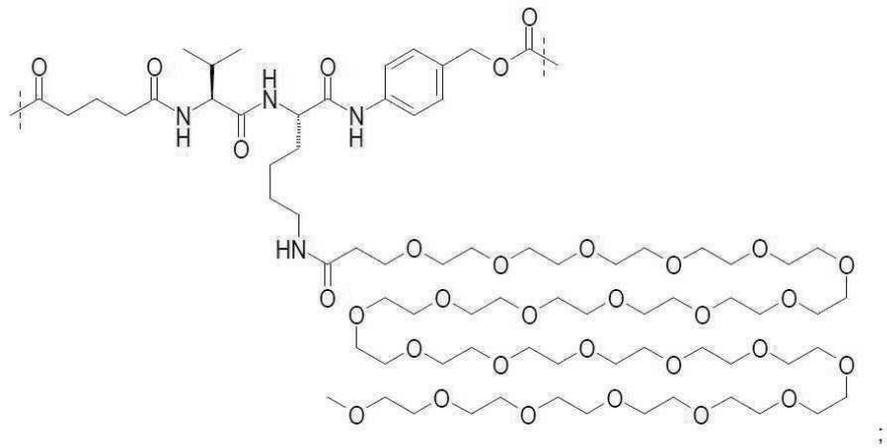
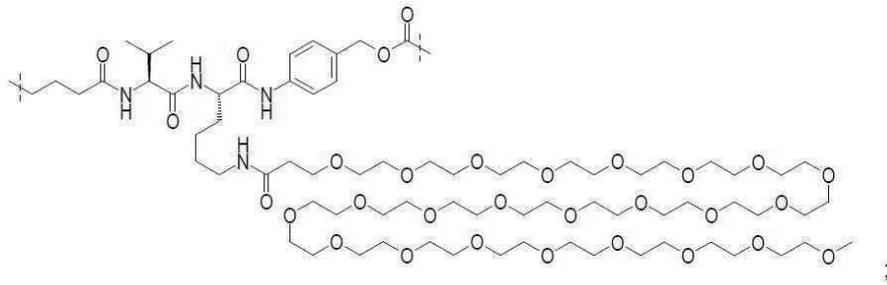
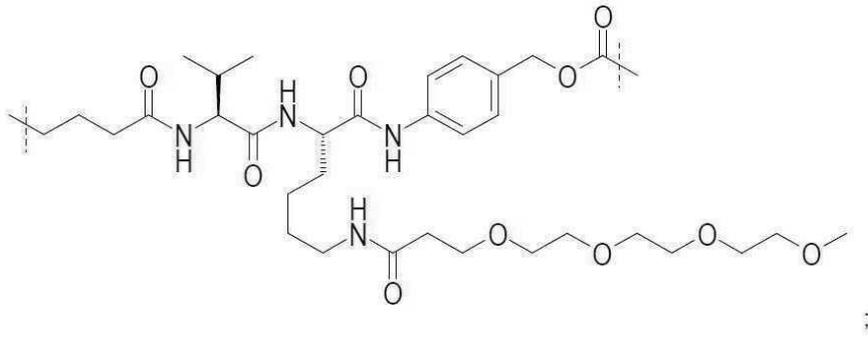
제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커 L은 하기의 목록으로부터 선택되는 것인 화학식 I의 화합물:



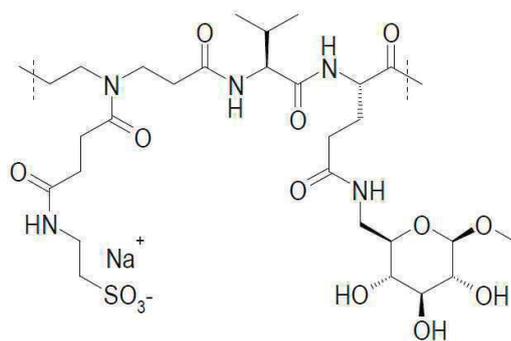








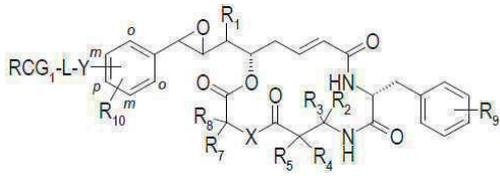
및



청구항 12

하기 화학식 IV의 크립토피신 페이로드:

[화학식 IV]



(여기서,

■ R_1 은 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타내며;

■ R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타내거나;

또는 대안적으로 R_2 및 R_3 은 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_3-C_6) 시클로알킬 또는 (C_3-C_6) 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;

■ R_4 및 R_5 은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기 또는 (C_1-C_6) 알킬- $NH(R_{12})$ 기 또는 (C_1-C_6) 알킬-OH 기 또는 (C_1-C_6) 알킬-SH 기 또는 (C_1-C_6) 알킬- CO_2H 기를 나타내거나;

또는 대안적으로 R_4 및 R_5 은 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_3-C_6) 시클로알킬 또는 (C_3-C_6) 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;

■ X 는 O 또는 $N(R_6)$ 을 나타내며;

■ R_6 은 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타내며;

■ R_7 및 R_8 은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기 또는 (C_1-C_6) 알킬- CO_2H 기 또는 (C_1-C_6) 알킬- $N(C_1-C_6)$ 알킬₂ 기를 나타내거나;

또는 대안적으로 R_7 및 R_8 은 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_3-C_6) 시클로알킬 기 또는 (C_3-C_6) 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;

■ R_9 은 서로 독립적으로 수소 원자, -OH, (C_1-C_4) 알콕시, 할로젠 원자, $-NH_2$, $-NH(C_1-C_6)$ 알킬 또는 $-N(C_1-C_6)$ 알킬₂ 또는 $-NH(C_1-C_6)$ 시클로알킬 또는 (C_3-C_6) 헤테로시클로알킬 기로부터 선택된, 페닐 핵의 하나 이상의 치환체를 나타내며;

■ R_{10} 은 수소 원자 및 (C_1-C_4) 알킬 기로부터 선택된, 페닐 핵의 하나 이상의 치환체를 나타내며;

■ Y 는

● $-NR_{11}-(C_1-C_6)$ 알킬-;

● $-O-(C_1-C_6)$ 알킬-; 또는

● $-S-(C_1-C_6)$ 알킬-를 나타내며;

Y 는 페닐 핵의 오르토(*o*), 메타(*m*) 또는 파라(*p*) 위치에 위치하며;

■ R_{11} 및 R_{12} 은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬를 나타내며;

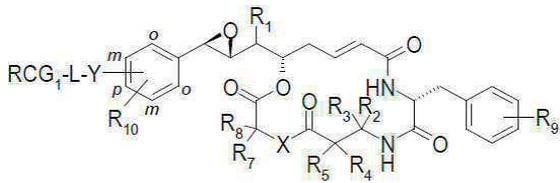
■ L 은 제1항에 따른 화학식 I에서와 같이 정의되어, 제1항에 정의된 바와 같은 화학식 II의 링커를 나타내며;

■ $RCG1$ 은 링커 L 의 말단에 존재하는 반응성 화학기를 나타내고, $RCG1$ 은 항체 상에 존재하는 화학기에 대하여

반응성을 가지며, RCG1은 제1항에서 정의된 바와 같음).

청구항 13

제12항에 있어서, 하기 구조를 갖는 화학식 IV의 크립토포신 페이로드:

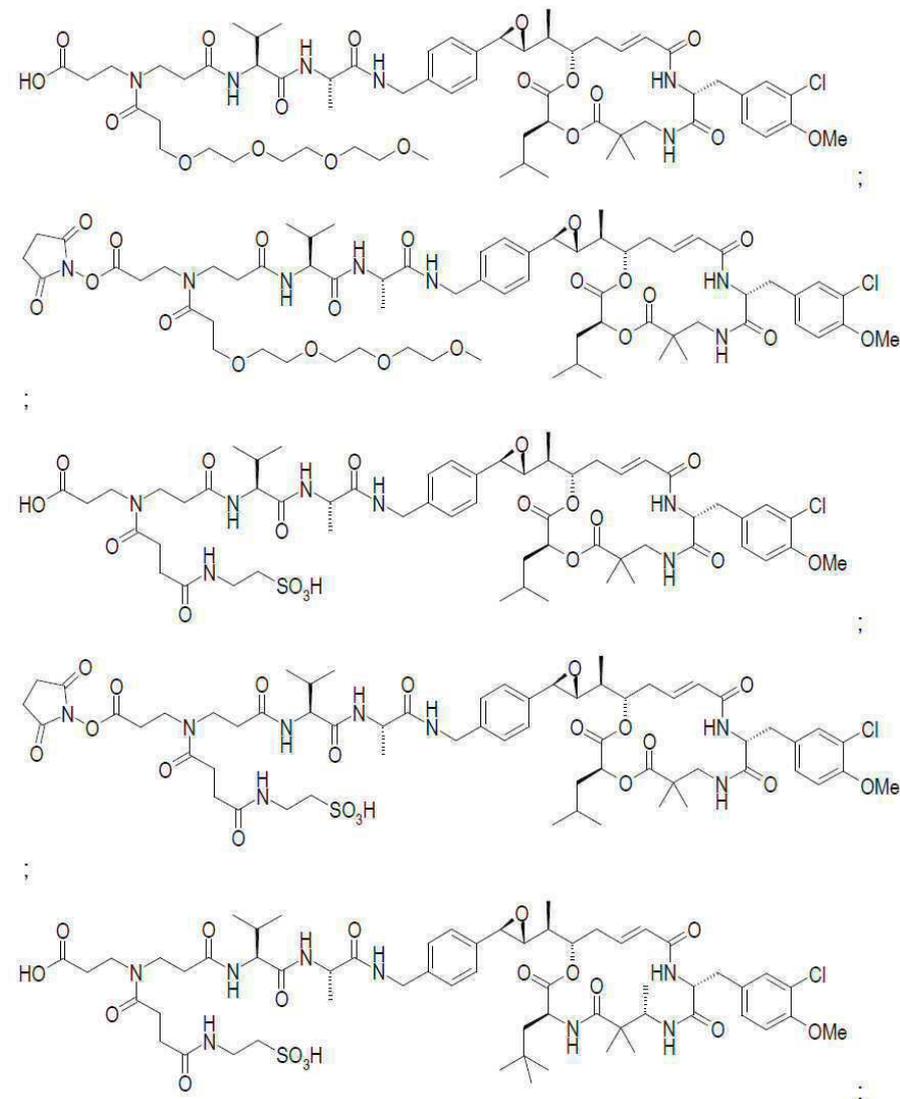


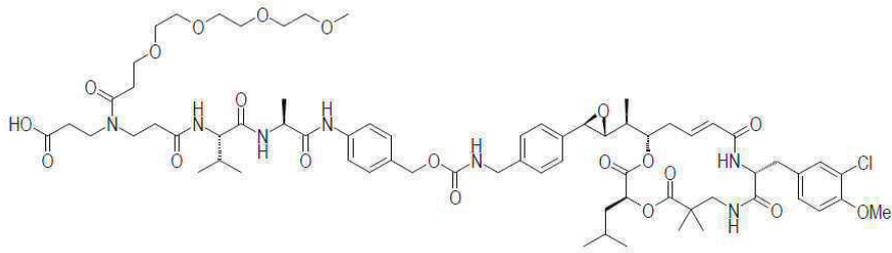
(여기서,

■ R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, RCG₁, X, Y 및 L은 제12항에 따른 화학식 IV에서 정의된 바와 같음).

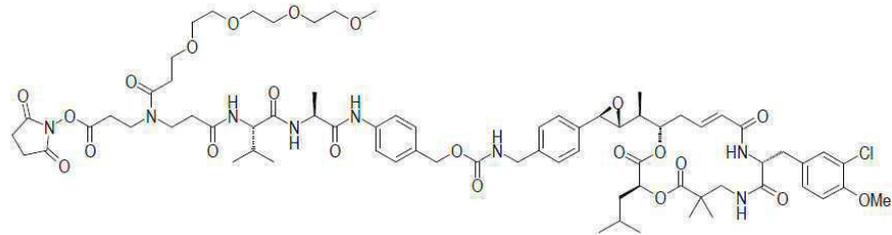
청구항 14

제12항에 있어서, 하기의 목록으로부터 선택되는 화학식 IV의 크립토포신 페이로드:

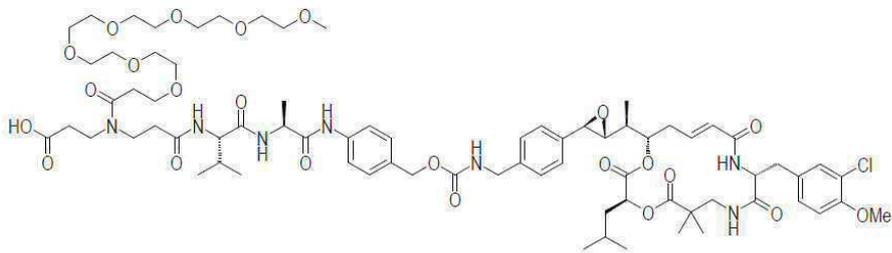




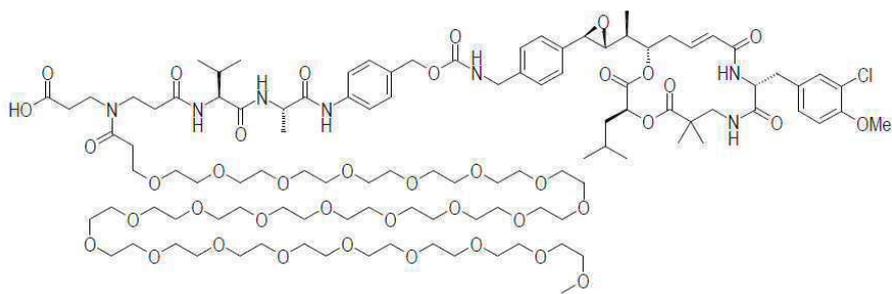
;

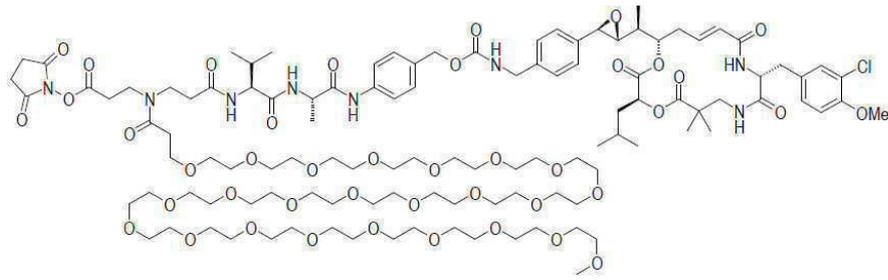


;

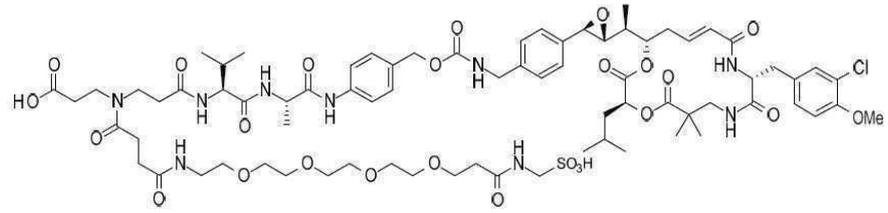


;

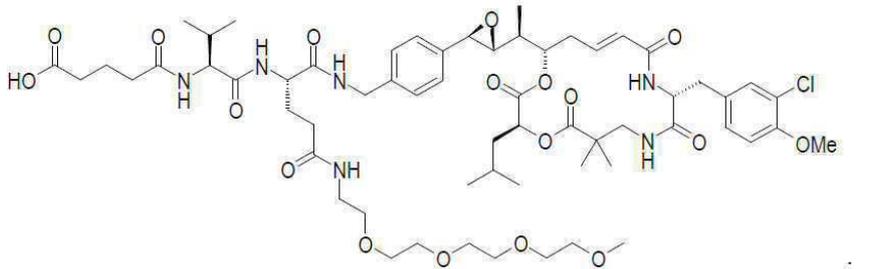




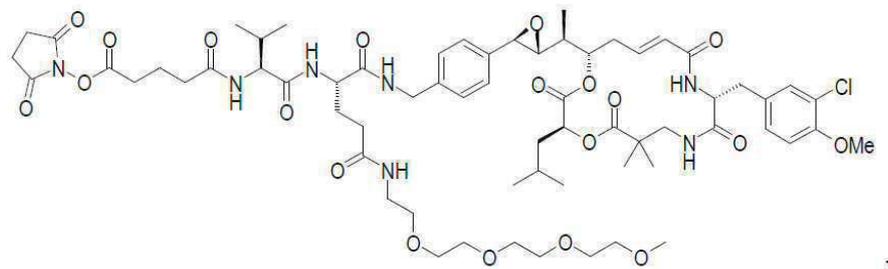
;



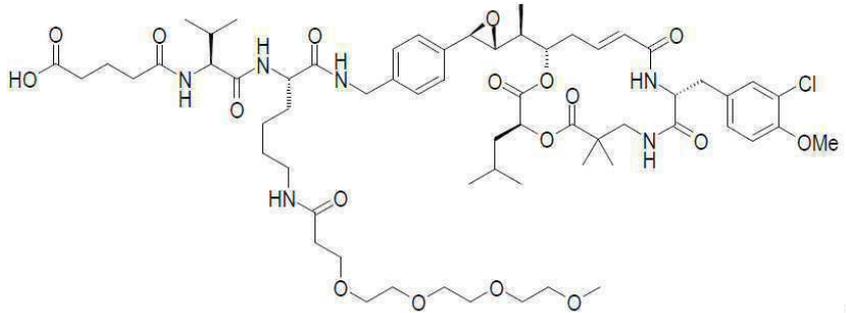
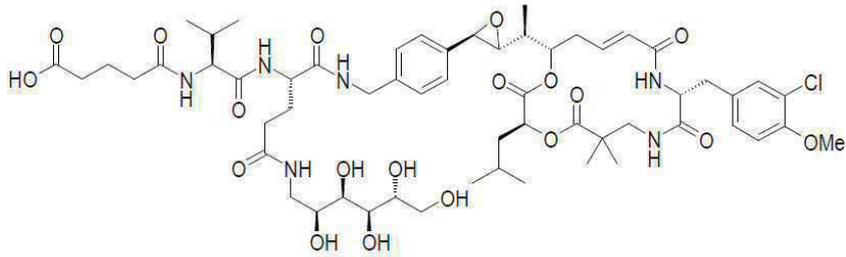
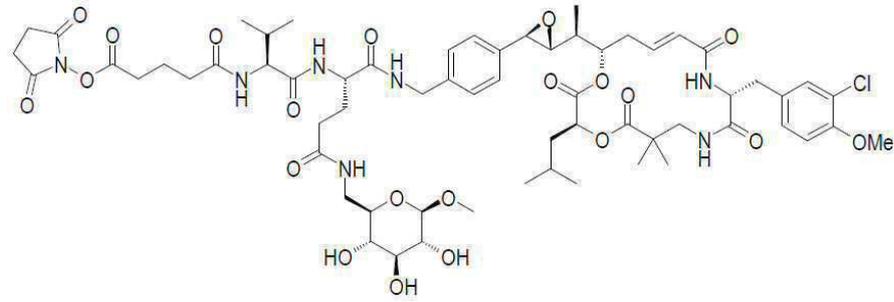
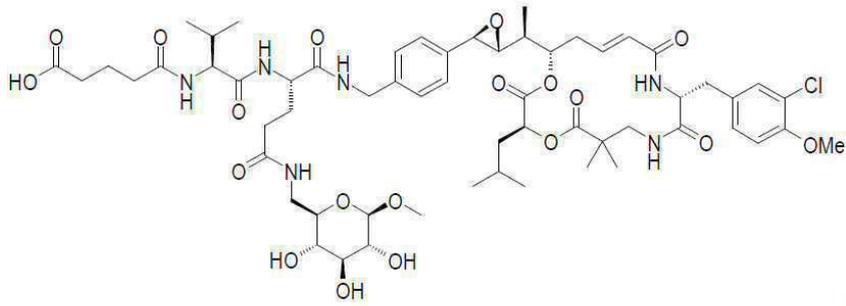
;

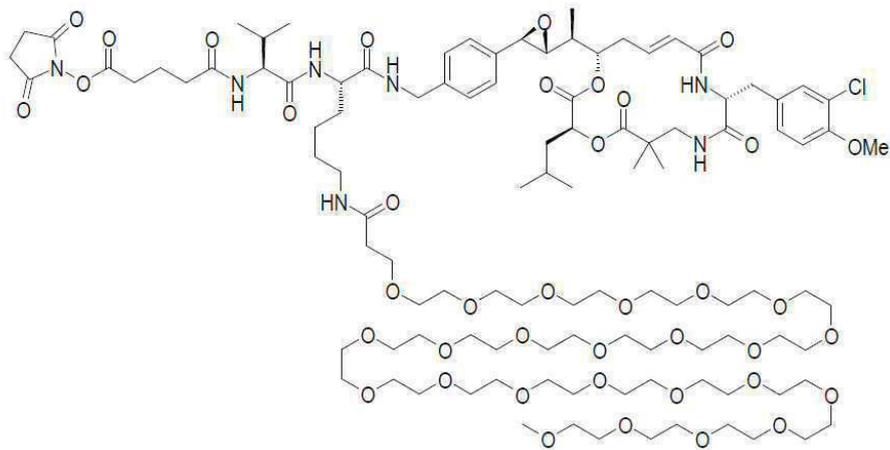
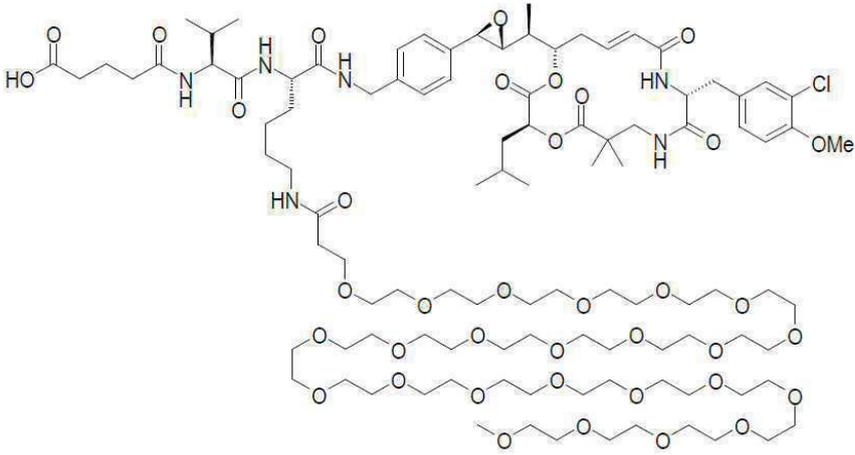
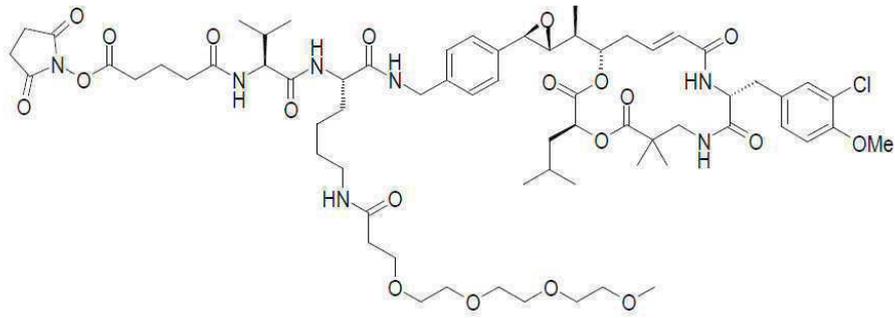


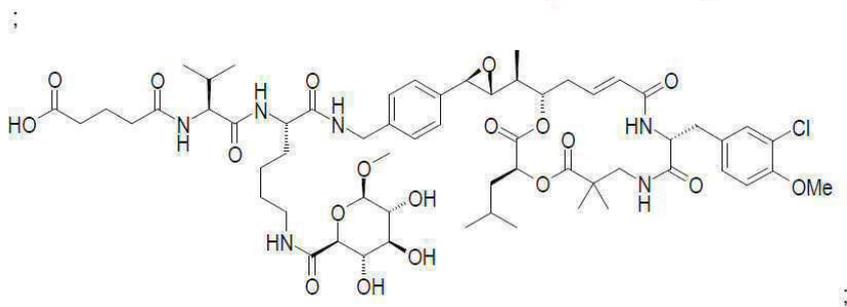
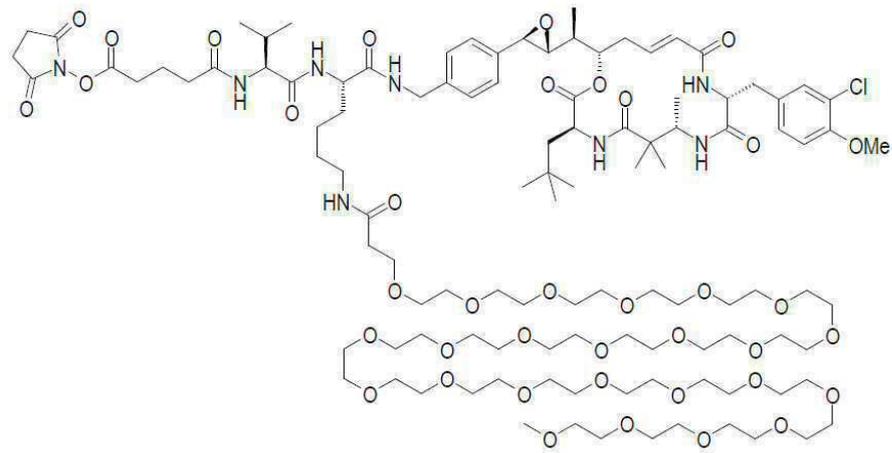
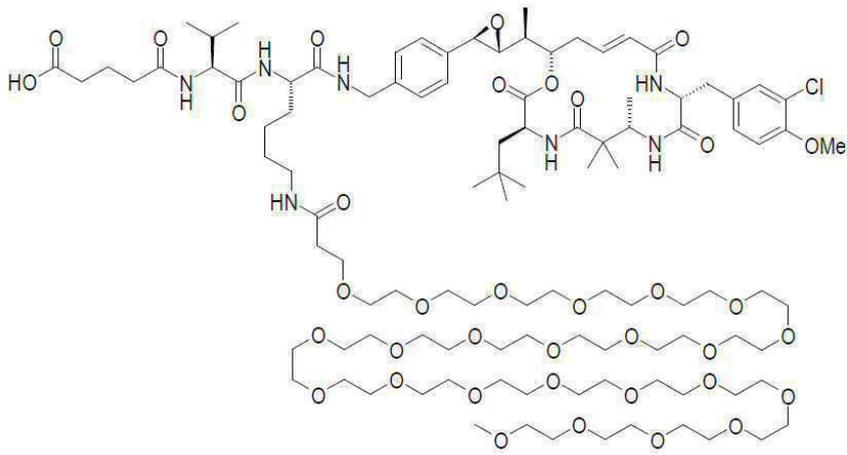
;

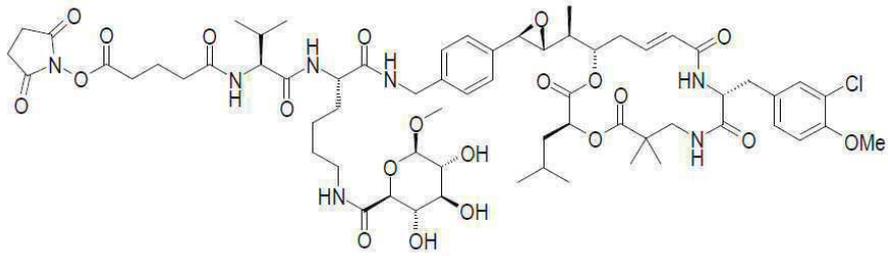


;

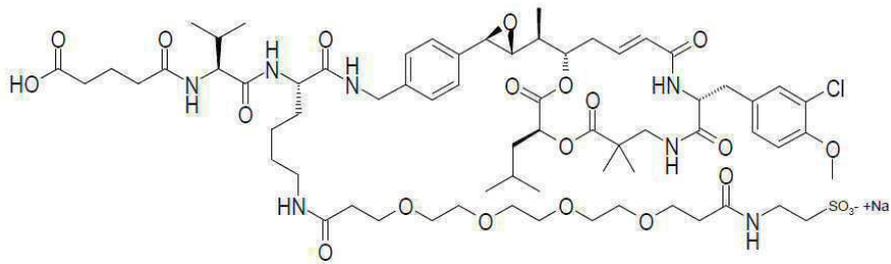




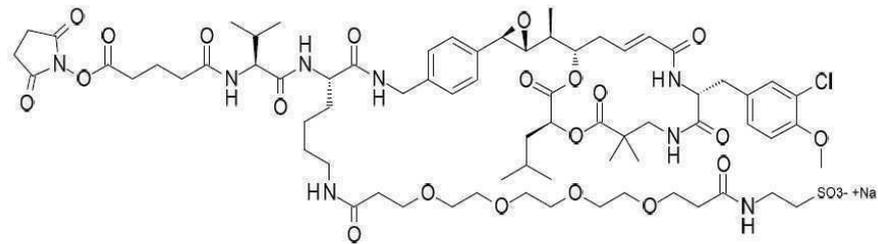




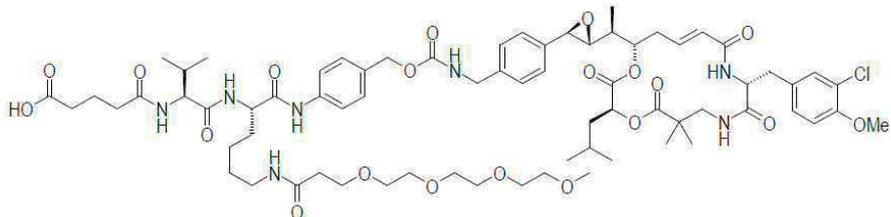
;

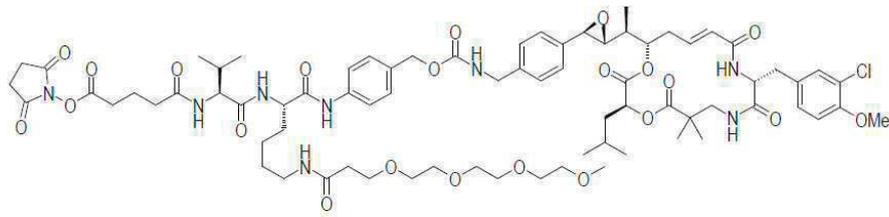


;

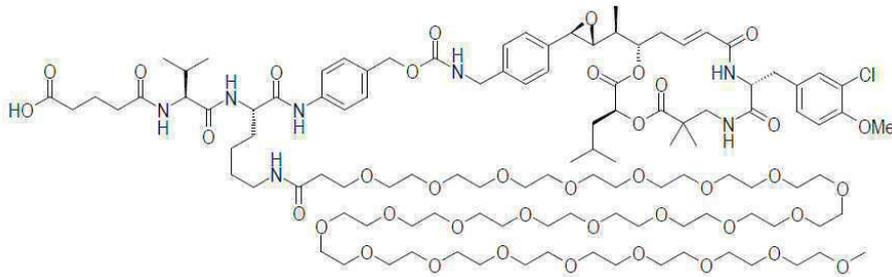


;

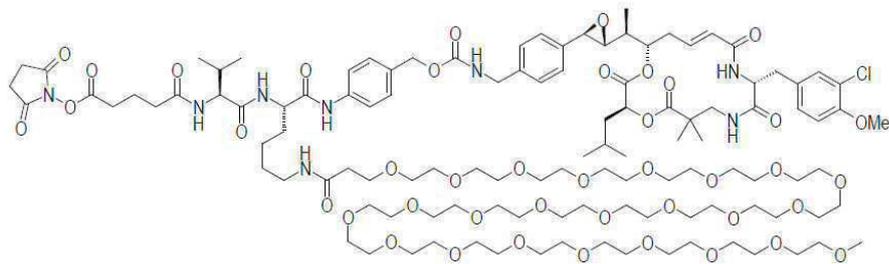




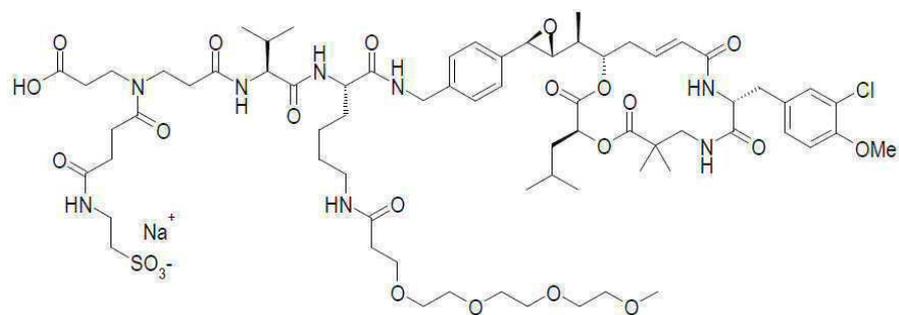
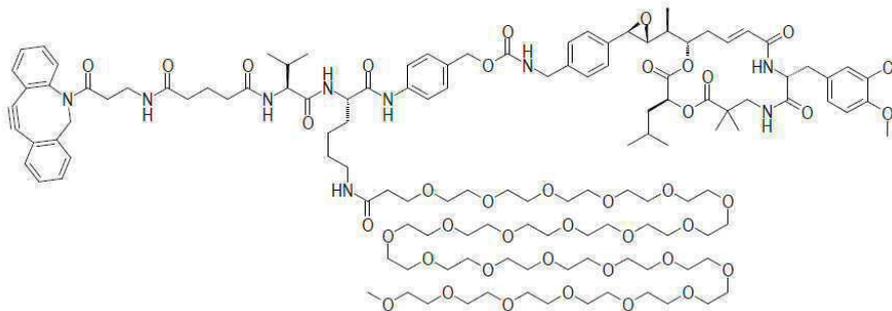
;



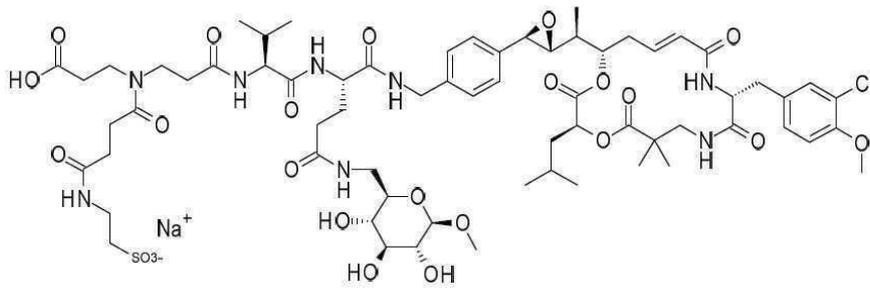
;



;



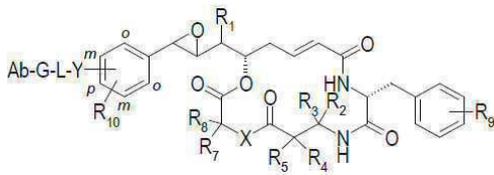
및



청구항 15

하기 화학식 V의 콘쥬게이트:

[화학식 V]

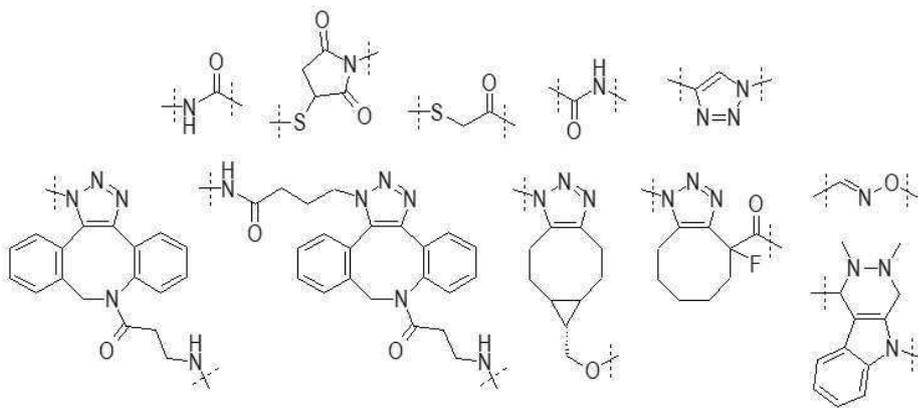


(여기서,

■ R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, X, Y 및 L은 제12항에 따른 화학식 IV에서 정의된 바와 같으며;

■ G는 제1항에서 정의된 화학식 II의 링커 L의 말단에 존재하는 반응성 화학기인 제1항에서 정의된 바와 같은 RCG1과, 항체(Ab) 상에 존재하는 오르토고날(orthogonal) 반응성 화학기인 RCG2 사이의 반응 생성물을 나타내며,

G는

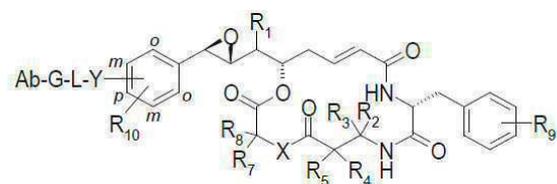


로부터 선택되고;

■ Ab는 항체를 나타냄).

청구항 16

제15항에 있어서, 하기 구조를 갖는 화학식 V의 콘쥬게이트:



(여기서,

■ $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}, X, Y, L, G, RCG1, RCG2$ 및 Ab 는 제15항에 따른 화학식 V에서와 같음).

청구항 17

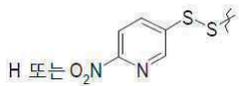
제15항에 있어서, $RCG2$ 는 하기로부터 선택되는 것인 화학식 V의 콘주게이트:

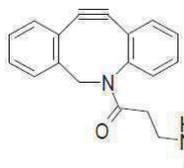
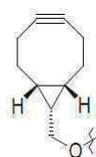
- (i) 항체의 표면에 존재하는 라이신 잔기의 측쇄가 갖는 ϵ -아미노 기;
- (ii) 항체의 중쇄 및 경쇄의 N-말단 아미노산의 α -아미노 기;
- (iii) 항체의 힌지 영역의 당(saccharide) 기;
- (iv) 항체의 사슬내 디설피드 결합의 환원에 의해 생성된 시스테인의 티올, 또는 항체의 조작된 시스테인의 티올;
- (v) 항체의 표면에 존재하는 글루타민 잔기의 측쇄가 갖는 아마이드 기; 및
- (vi) 포르밀글리신 생성 효소를 이용하여 항체에 도입된 알데히드 기.

청구항 18

제15항에 있어서,

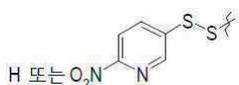
- $RCG1$ 이 N-히드록시숙신이미딜 에스테르를 나타낼 때, $RCG2$ 는 $-NH_2$ 기를 나타내며;

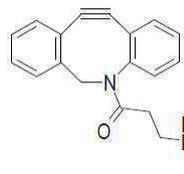
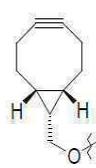
- $RCG1$ 이 말레이미도 작용체, 할로아세트아미도 작용체, 염소 원자 또는  인 활성화 디설피드를 나타낼 때, $RCG2$ 는 $-SH$ 기를 나타내며;

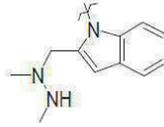
- $RCG1$ 이 N_3 기를 나타낼 때, $RCG2$ 는 $C\equiv CH$ 기 또는 DBCO-아민  또는 BCN  또는

 MFCO 중 선택된 활성화 $C\equiv C$ 기를 나타내며;

- $RCG1$ 이 OH 또는 NH_2 기를 나타낼 때, $RCG2$ 는 카르복실산 또는 아마이드 작용체를 나타내며;

- $RCG1$ 이 SH 기를 나타낼 때, $RCG2$ 는 말레이미도 작용체, 할로아세트아미도 작용체 또는  인 활성화 디설피드 작용체를 나타내며;

- $RCG1$ 이 $C\equiv CH$ 기, 또는 DBCO-아민  또는 BCN  또는 MFCO  중 선택된 활성화 $C\equiv C$ 기를 나타낼 때, $RCG2$ 는 N_3 기를 나타내며;

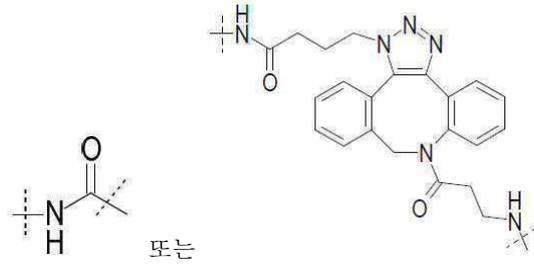


- RCG1이 0-알킬 히드록실아민 작용체 또는 알데히드 또는 케톤 작용체를 나타내는 것인 화학식 V의 콘주게이트.

인 픽테트-스팽글러 반응 기질을 나타낼 때, RCG2는

청구항 19

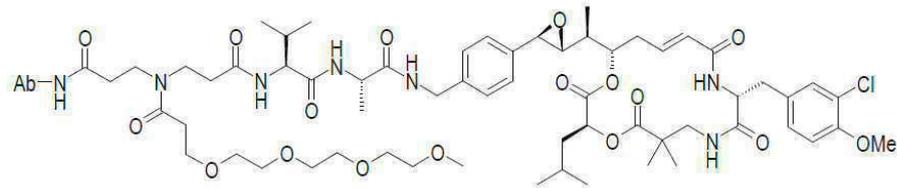
제15항에 있어서, G는



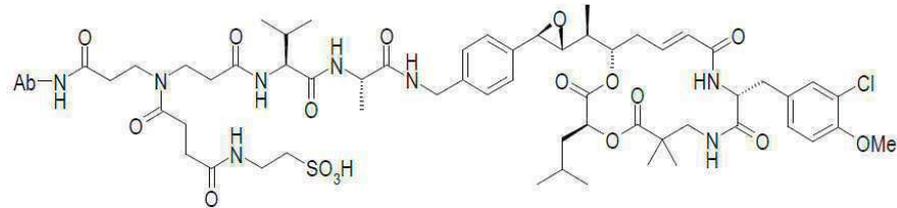
로부터 선택되는 것인,
화학식 V의 콘주게이트.

청구항 20

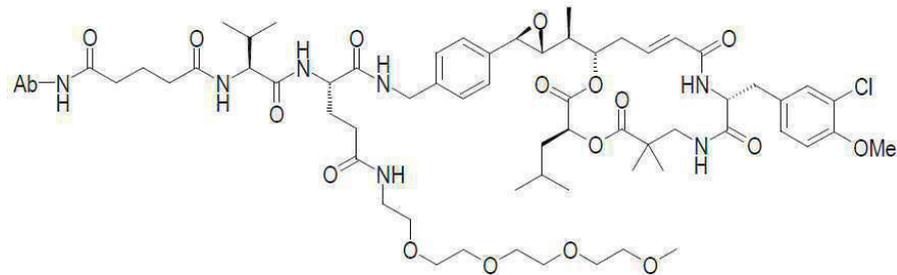
제15항에 있어서, 하기의 목록으로부터 선택되는 것인 화학식 V의 콘쥬게이트:



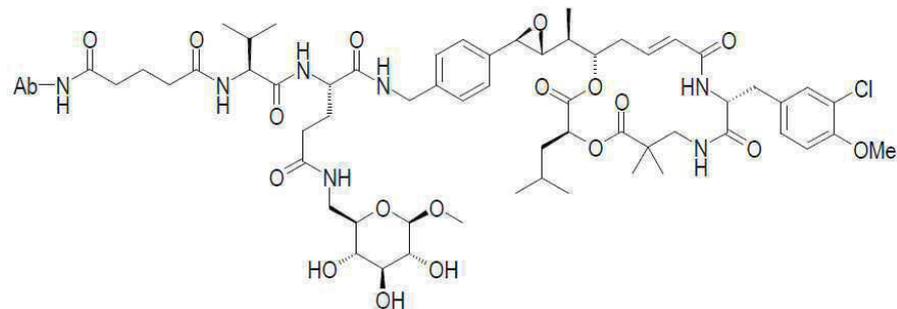
;

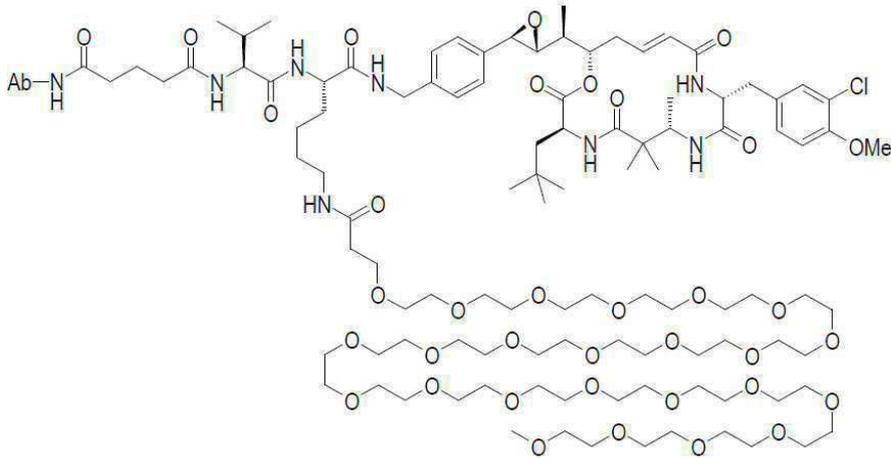


;

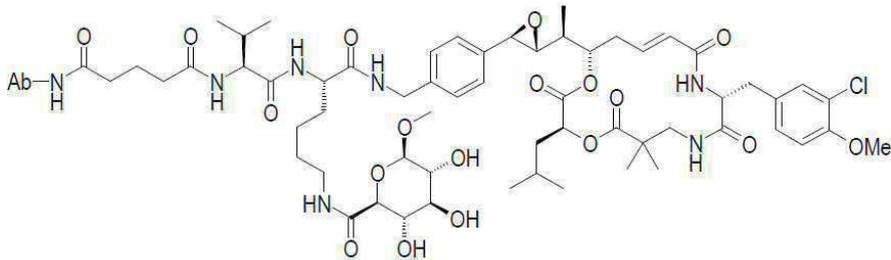


;

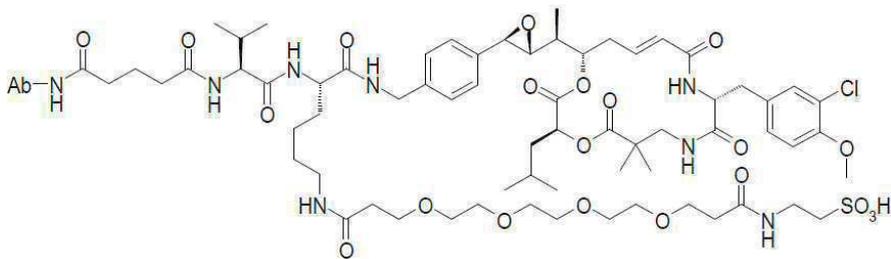




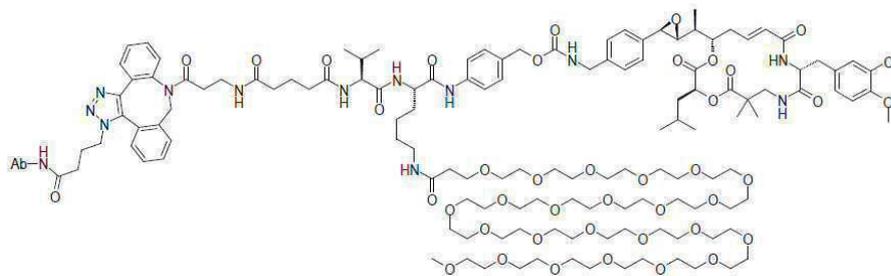
;



;



및



(여기서, Ab는 항체를 나타냄).

청구항 21

적어도 하기의 단계를 포함하는, 제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 화학식 V의 콘주게이트를 제조하는 방법:

(i)

- 변형제에 의해 선택적으로 변형된 항체의 선택적으로 완충된 수성 용액,

및

- 제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 화학식 IV의 크립토포신 페이로드의 용액

(화학식 IV의 크립토피신 페이로드의 화학기 RCG1은 항체 상에 존재하는 화학기 RCG2에 대하여 반응성을 가지며, 상기 화학기 RCG2는 변형체에 의해 도입되었음)

을 접촉시켜 반응하게 두어서,

화학식 IV의 크립토피신 페이로드가 공유 결합의 형성에 의해 항체에 부착되게 하는 단계; 및

(ii) 그 후 선택적으로, 단계 (i)에서 형성되는 화학식 V의 콘쥬게이트를 화학식 IV의 크립토피신 페이로드 및/또는 미반응 항체 및/또는 형성되었을 수 있는 임의의 응집체로부터 분리하는 단계.

청구항 22

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 화학식 V의 하나 이상의 콘쥬게이트를 포함하는, 암 치료에 사용하기 위한 의약.

청구항 23

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 화학식 V의 하나 이상의 콘쥬게이트, 및 또한 하나 이상의 제약상 허용가능한 부형제를 포함하는, 암 치료에 사용하기 위한 제약 조성물.

청구항 24

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 암 치료에 사용하기 위한 화학식 V의 콘쥬게이트.

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 새로운 펩티드 링커, 새로운 크립토피신 페이로드(payload), 새로운 크립토피신 콘쥬게이트, 이를 함유하는 조성물 및 항암제로서의 사용을 위한 것과 같은 이의 치료적 용도에 관한 것이다. 또한 본 발명은 이러한 콘쥬게이트의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 이러한 링커는 예를 들어 카텡신(Cathepsin) B와 같은 효소에 의해 세포의 리소솜에서 효소로 절단된다. 카텡신 B는 파파인 패밀리에 속하는 시스테인 프로테이나아제이며, 포유동물 사이에서 주요 리소솜 프로테이나아제 중 하나이다. 이것은 단백질의 턴오버(turnover) 및 세포 대사 유지와, 몇몇 다른 생리학적 또는 병리학적 과정, 예를 들어 종양 진행에 관여한다. 이의 과발현(유전자 수준 및 단백질 수준 둘 다)이 종양에서 입증되었으며, 단백질 증가는 효소 활성 증가를 또한 초래하였다. 이것은 화학요법제의 몇몇 프로드러그 접근법의 기반이었으며(문헌[Int J Oncology 2013, 42, 373-383]) 또한 항체-약물 콘쥬게이트(ADC)를 위한 절단성 링커의 구상의 기반이었다(문헌[Bioconj Chem 2002, 13, 855-869]). ADC에 있어서, 하나의 일반적으로 사용되는 펩티드 링커는 *p*-아미노벤질릭 알코올 자기-회생형 모이어티에 연결된 서열 발린-시트룰린(ValCit)으로 이루어져 있으며(문헌[J Org Chem 2002, 67, 1866-1872]), 이는 국제 공개 제2011/001052호에서 실시예 23에 의해 예시되는 바와 같다. 세포독성 약물에 결합될 경우, 후속적인 구축물은 상당히 소수성이며, 이는 특정한 약물 대 항체 비(DAR), 단량체 순도 및 ADC 안정성의 달성이 어려워지게 할 수 있다. 실제로, 광범위한 콘쥬게이션 최적화에도 불구하고, 국제 공개 제2011/001052호의 실시예 23은 만족스러운 DAR 및 단량체 순도, 즉, 2 초과인 DAR 및 95% 초과인 단량체를 갖는 ADC를 제공하도록 성공적으로 콘쥬게이션되는 것이 불가능하였다.

[0003] ADC에 사용되는 약물(예컨대 튜블린 또는 DNA 바인더)은 본질적으로 소수성이기 때문에, 페이로드의 용해도를 개선시키고(페이로드는 링커에 공유결합된 세포독성 약물을 포함하는 화합물임) 이에 따라 잠재적으로 항체 공유결합에 대한 그의 반응성 및 후속 ADC의 안정성을 개선시키기 위하여 더 친수성인 펩티드 링커가 필요하였다. 페이로드 용해도의 증가는 DAR, 단량체 순도 및 ADC 안정성(특히 응집 성향 면에서)이 증가되게 할 것이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물로부터 선택되는 새로운 펩티드 화합물에 관한 것이다:

[0005] [화학식 I]

[0006] RCG1-L-P

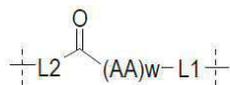
[0007] 여기서,

[0008] ■ RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며;

[0009] ■ P는 수소 원자, -OH 또는 활성화 O(여기서, 활성화 O는 하기에 정의됨)를 나타내며;

[0010] ■ L은 하기 화학식 II의 링커를 나타낸다:

[0011] [화학식 II]

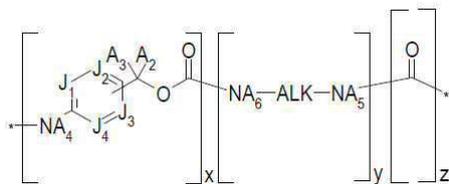


[0012]

[0013] 여기서,

[0014] ● L1은 하기 화학식 III:

[0015] [화학식 III]



[0016]

[0017] 의 것이며, 식 중,

[0018] ■ P가 수소 원자를 나타내면, x = 0 또는 1이고, y = 1이고, z = 0이며;

[0019] ■ P가 -OH를 나타내면, x = y = z = 0이며;

[0020] ■ P가 활성화 O를 나타내면, x = 1이고 y = z = 0이거나, x = y = z = 1이며;

[0021] ■ J₁, J₂, J₃ 및 J₄는 서로 독립적으로 CA₁ 및 N으로부터 선택되며;

[0022] ■ ALK는 (C₁-C₁₂)알킬렌 기, 예를 들어 (C₁-C₆)알킬렌, 예컨대 -(CH₂)_n- 형태의 것(n은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임)을 나타내며;

[0023] ■ A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, 및 A₆는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0024] ● (AA)_w는 w 치환 AA_s 또는 비치환된 아미노산들 AA_{ns}(펩티드 결합을 통하여 함께 연결됨)의 서열을 나타내며(여기서, 치환 AA_s 또는 비치환 AA_{ns}는 하기에 정의됨);

[0025] ● w는 1 내지 12, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수, 예컨대 2 또는 3을 나타내며;

[0026]

● (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하면, L2는 단일 결합, (C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, (CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, (C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;

[0027]

● (AA)_w가 w 비치환 아미노산 AA_{ns}의 서열을 나타내면, L2는 NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;

[0028] ■ A_7 은 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C_1-C_{160} 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 $-NHC(=O)-$, $-N(알킬)C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(알킬)-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(알킬)S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-SO_2N(알킬)-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)O-$ 또는 헤테로시클로알킬 기($-OH$, $-O$ 알킬, $-알킬$, 할로겐 원자, $-NH_2$, $-NH$ 알킬, 및 $-N(알킬)_2$ 로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되며;

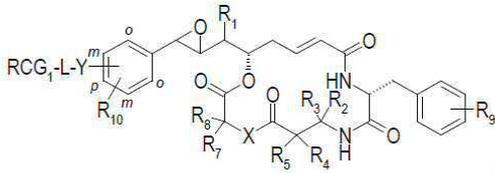
[0029] SO_3H 작용체를 포함하는 각각의 A_7 은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO_3^+Na)으로 존재할 수 있음이 이해되며;

[0030] ■ A_8 은 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기, 예를 들어 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0031] ■ i 는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 35의 범위의 정수를 나타낸다.

[0032] 본 발명은 추가로, 하기 화학식 IV의 크립토펙신 페이로드에 관한 것이다:

[0033] [화학식 IV]



[0034] 여기서,

[0035] ■ R_1 은 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타내며;

[0036] ■ R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타내거나;

[0037] 또는 대안적으로 R_2 및 R_3 은 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_3-C_6) 시클로알킬 또는 (C_3-C_6) 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;

[0038] ■ R_4 및 R_5 는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기 또는 (C_1-C_6) 알킬- $NH(R_{12})$ 기 또는 (C_1-C_6) 알킬-OH 기 또는 (C_1-C_6) 알킬-SH 기 또는 (C_1-C_6) 알킬- CO_2H 기를 나타내거나;

[0039] 또는 대안적으로 R_4 및 R_5 는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_3-C_6) 시클로알킬 또는 (C_3-C_6) 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;

[0040] ■ X 는 O 또는 $N(R_6)$ 을 나타내며;

[0041] ■ R_6 은 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타내며;

[0042] ■ R_7 및 R_8 은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기 또는 (C_1-C_6) 알킬- CO_2H 기 또는 (C_1-C_6) 알킬- $N(C_1-C_6)$ 알킬₂ 기를 나타내거나;

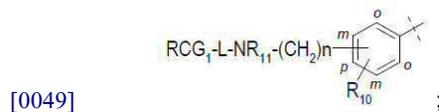
[0043] 또는 대안적으로 R_7 및 R_8 은 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_3-C_6) 시클로알킬 기 또는 (C_3-C_6) 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;

[0044] ■ R_9 는 서로 독립적으로 수소 원자, $-OH$, (C_1-C_4) 알콕시, 할로겐 원자, $-NH_2$, $-NH(C_1-C_6)$ 알킬, $-N(C_1-C_6)$ 알킬₂, $-NH(C_1-C_6)$ 시클로알킬 또는 (C_3-C_6) 헤테로시클로알킬로부터 선택되는 페닐 핵의 하나 이상의 치환체를 나타내며;

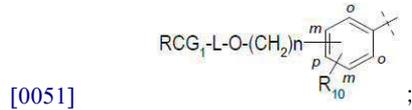
[0045] ■ R_{10} 은 수소 원자 및 (C_1-C_4) 알킬 기로부터 선택되는 페닐 핵의 하나 이상의 치환체를 나타내며;

[0046] ■ Y 는

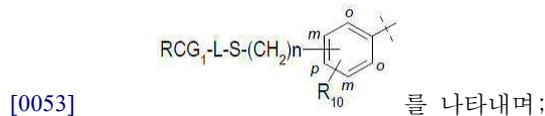
[0048] ● -NR₁₁-(C₁-C₆)알킬-, 예컨대 -NR₁₁-(CH₂)_n-, 예컨대



[0050] ● -O-(C₁-C₆)알킬-, 예컨대 -O-(CH₂)_n-, 예컨대



[0052] ● -S-(C₁-C₆)알킬-, 예컨대 -S-(CH₂)_n-, 예컨대



[0054] Y는 페닐 핵의 오르토(o), 메타(m) 또는 파라(p) 위치에 위치하며;

[0055] ■ R₁₁ 및 R₁₂는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

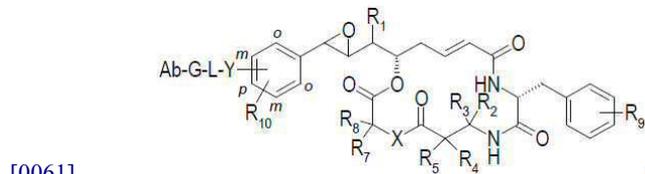
[0056] ■ n은 1 내지 6의 범위의 정수를 나타낸다.

[0057] ■ L은 화학식 I에서와 같이 정의되고, 화학식 II의 링커를 나타내며;

[0058] ■ RCG1은 링커의 말단에 존재하는 반응성 화학기를 나타내고, RCG2은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는다.

[0059] 본 발명은 추가로, 하기 화학식 V의 콘주게이트에 관한 것이다:

[0060] [화학식 V]



[0062] 여기서,

[0063] ■ R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ 및 R₁₂는 화학식 IV에서 정의된 바와 같으며;

[0064] ■ X, Y 및 L은 화학식 IV에서와 같이 정의된 바와 같으며;

[0065] ■ G는 링커의 말단에 존재하는 반응성 화학기인 RCG1과 항체(Ab) 상에 존재하는 오르토고날(orthogonal) 반응성 화학기인 RCG2 사이의 반응 생성물을 나타내며;

[0066] ■ Ab는 항체를 나타낸다.

[0067] 각각의 치환체 R₁ 내지 R₁₂는 예에 기술된 바와 같은 공간 배열(예를 들어 R 또는 S 또는 대안적으로 Z 또는 E) 중 하나를 또한 채택할 수 있다.

[0068] 화학식 I, II, III, IV 및 V의 화합물은 하나 이상의 비대칭 탄소 원자를 포함할 수 있다. 따라서, 이 화합물들은 거울상 이성질체 또는 부분입체 이성질체의 형태로 존재할 수 있다. 이러한 거울상 이성질체들 및 부분입체 이성질체들, 및 또한 이들의 혼합물(라세미 혼합물을 포함함)은 본 발명의 일부를 형성한다.

[0069] 화학식 I, II, IV의 화합물(예시된 것을 포함함)은 염기의 형태 또는 산 부가염의 형태, 예를 들어 제약상 허용 가능한 산의 형태로 존재할 수 있다. 예를 들어, 이러한 화합물이 SO₃H 작용체를 포함할 경우, 이것은 SO₃⁻ 알칼

리 금속 염, 예컨대 SO_3^- 나트륨 염(SO_3^-Na)의 형태로 존재할 수 있다.

[0070] 정의

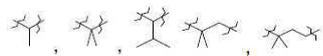
본 발명의 문맥에서, 특정 용어들은 다음의 정의를 갖는다:

● 알케닐 기: 알켄으로부터 하나의 수소 원자를 제거함으로써 취득되는 탄화수소 기. 알케닐 기는 선형 또는 분지형일 수 있다. 언급될 수 있는 예는 에테닐($-\text{CH}=\text{CH}_2$, 비닐로도 칭해짐) 및 프로페닐($-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$, 알릴로도 칭해짐)을 포함한다.

● 알콕시 기: 알킬기가 하기에 정의된 바와 같은 기 $-O-$ 알킬;

● 알킬 기: 알칸으로부터 수소 원자를 제거함으로써 취득되는 선형 또는 분지형 포화 지방족 탄화수소계 기. 언급될 수 있는 예는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, *tert*-부틸, 펜틸, 네오펜틸, 2,2-디메틸프로필 및 헥실 기를 포함한다;

● 알킬렌 기: 알칸으로부터 2개의 수소 원자를 제거함으로써 취득되는 경험식 $-\text{C}_n\text{H}_{2n}-$ 의 포화 2가 기. 알킬렌 기는 선형 또는 분지형일 수 있다. 언급될 수 있는 예는 메틸렌($-\text{CH}_2-$), 에틸렌($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 프로필렌($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 부틸렌($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) 및 헥실렌($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) 기 또는 하기 분지형 기:



; 예를 들어, 알킬렌 기는 화학식 $-(\text{CH}_2)_n-$ (n 은 정수를 나타냄)의 것이며; 값의 범위에서, 한계치가 포함된다(예를 들어 "1 내지 6의 범위의 n " 또는 "1 내지 6의 범위의"의 유형의 범위는 한계치 1 및 6을 포함한다);

● 항체: 생물학적 표적에 대하여 친화성을 갖는 항체, 예컨대 단클론 항체. 항체의 기능은 생물학적 활성 화합물을 생물학적 표적에 대한 세포독성 화합물로서 유도하는 것이다. 항체는 단클론, 다클론 또는 다중특이성일 수 있으며; 이것은 또한 항체 단편일 수 있으며; 이것은 또한 췌과, 키메라, 인간화 또는 인간 항체일 수 있다. "항체"는 두 중쇄가 디설피드 결합에 의해 서로 연결되고 각 중쇄가 디설피드 결합에 의해 경쇄에 연결된 천연 항체 또는 통상적인 항체일 수 있다("전장 항체"로도 지칭됨). 용어 "통상적인(또는 전장) 항체"는 신호 펩티드(또는, 만약 있다면, 프로-펩티드)를 포함하는 항체, 및 사슬(들)의 분비 및 단백질 분해적 프로세싱시에 취득되는 성숙 형태 둘 다를 지칭한다. 두 가지 유형의 경쇄, 람다(λ) 및 카파(κ)가 있다. 항체 분자의 기능적 활성을 결정하는 하기 5가지의 주요 중쇄 클래스(또는 이소타입)가 있다: IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE. 각각의 사슬은 별개의 서열 도메인을 함유한다. 경쇄는 두 개의 도메인 또는 영역인 가변 도메인(VL) 및 불변 도메인(CL)을 포함한다. 중쇄는 네 개의 도메인, 하나의 가변 도메인(VH)과 세 개의 불변 도메인(CH1, CH2 및 CH3, CH로 총칭됨)을 포함한다. 경쇄(VL) 및 중쇄(VH) 둘 다의 가변 영역은 항원에 대한 결합 인식 및 특이성을 결정한다. 경쇄(VL) 및 중쇄(CH)의 불변 영역 도메인은 항체 사슬 회합, 분비, 경태반 이동성, 보체 결합 및 Fc 수용체(FcR)와의 결합과 같은 중요한 생물학적 특성을 부여한다. Fv 단편은 면역글로불린의 Fab 단편의 N 말단 부분이고, 하나의 경쇄 및 하나의 중쇄의 가변부로 이루어진다. 항체의 특이성은 항체 결합 부위와 항원 결정기 사이의 구조적인 상보성에 있다. 항체 결합 부위는 주로 초가변 영역 또는 상보성 결정 영역(CDR)으로부터 유래하는 잔기들로 이루어진다. 때때로, 비초가변 영역 또는 프레임워크 영역(FR)으로부터의 잔기들은 전반적인 도메인 구조에 영향을 미치고, 따라서 결합 부위에 영향을 미친다. CDR은 자연적인 면역글로불린 결합 부위의 천연 Fv 영역의 결합 친화도 및 특이성을 함께 규정하는 아미노산 서열들을 지칭한다. 면역글로불린의 경쇄 및 중쇄 각각은 각각 CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L, 및 CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H로 표기되는 세 개의 CDR을 갖는다. 따라서, 통상적인 항체의 항원 결합 부위는 중쇄 및 경쇄 V 영역 각각으로부터의 CDR 세트를 포함하는, 여섯 개의 CDR을 포함한다.

본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 통상적인(전장) 항체 및 이의 단편과, 단일 도메인 항체 및 이의 단편, 예컨대 단일 도메인 항체의 가변 중쇄를 나타낸다. (통상적인) 항체의 "단편"은 전형적으로 온전한 항체의 일부분, 예컨대 온전한 항체의 항원 결합 영역 또는 가변 영역을 포함하며, 통상적인 항체의 생물학적 기능을 유지한다. 이러한 단편의 예는 Fv, Fab, F(ab')₂, Fab', dsFv, (dsFv)₂, scFv, sc(Fv)₂, 나노바디 및 디아바디를 포함한다.

항체의 기능은 생물학적 활성 화합물을 생물학적 표적에 대한 세포독성 화합물로서 유도하는 것이다.

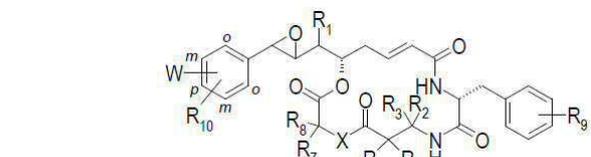
● 아릴 기: 5 내지 10개의 범위의 탄소 원자를 포함하는 환형 방향족 기. 아릴 기의 예는 페닐, 톨릴, 자일릴,

나프틸을 포함한다;

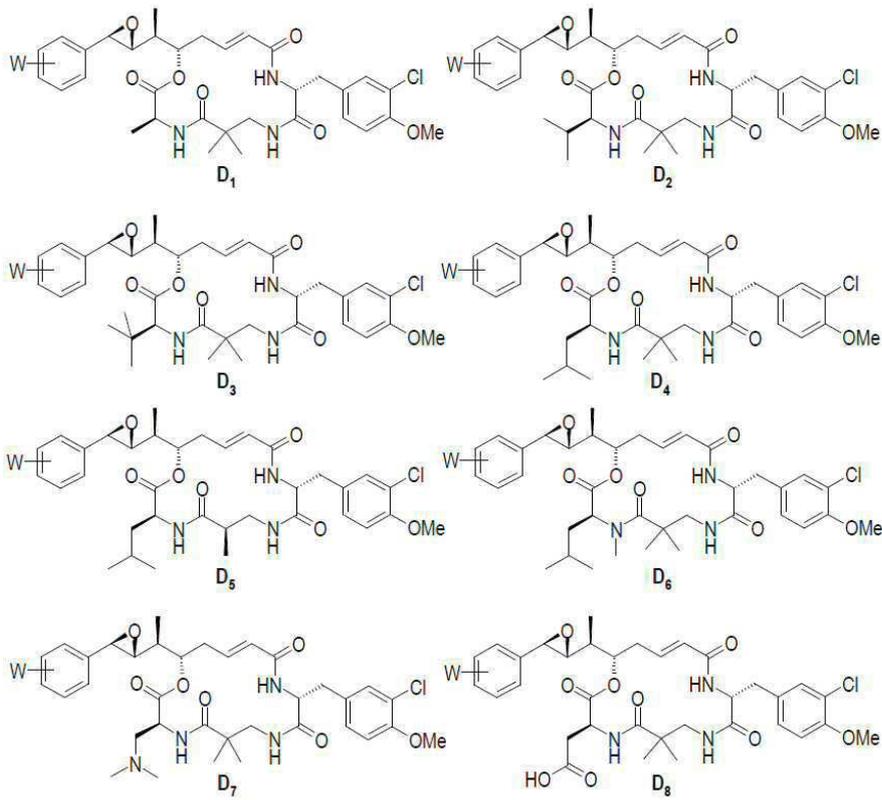
- [0080] ● 생물학적 표적: 예를 들어 암세포 또는 이 종양과 연관된 기질 세포의 표면에 위치하는 항원(또는 항원 군); 이러한 항원은 예를 들어 성장 인자 수용체, 암유전자 생성물 또는 돌연변이 "종양 억제" 유전자 생성물, 혈관 형성-관련 분자 또는 유착 분자일 수 있다;
- [0081] ● 콘주게이트: 항체-약물 콘주게이트 또는 ADC, 즉, 세포독성 화합물의 적어도 하나의 분자가 링커를 통하여 공유적으로 부착된 항체와 같은 폴리펩티드;
- [0082] ● 시클로알킬 기: 환형 구조에 관여된 3 내지 6개의 범위의 탄소 원자를 포함하는 환형 알킬 기. 언급될 수 있는 예는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸 및 시클로헥실 기를 포함한다;
- [0083] ● DAR(약물 대 항체 비): 링커를 통하여 항체에 부착된 세포독성 분자의 평균 수;
- [0084] ● 할로겐: 네 가지 원소, 즉 불소, 염소, 브롬 및 요오드 중 임의의 것;
- [0085] ● 헤테로아릴 기: 2 내지 10개의 범위의 탄소 원자 및 1 내지 5개의 범위의 헤테로원자, 예컨대 질소, 산소 또는 황(고리에 관여되고, 고리를 형성하는 탄소 원자에 연결됨)을 포함하는 아릴 기. 헤테로아릴 기의 예는 피리딜, 피리미딜, 티에닐, 이미다졸릴, 트리아졸릴, 인돌릴, 이미다조-피리딜, 피라졸릴을 포함한다;
- [0086] ● 헤테로시클로알킬 기: 2 내지 8개의 범위의 탄소 원자 및 1 내지 3개의 범위의 헤테로원자, 예컨대 질소, 산소 또는 황(고리에 관여되고, 고리를 형성하는 탄소 원자에 연결됨)을 포함하는 시클로알킬 기. 예는 아지리디닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로티오푸라닐, 테트라히드로피라닐, 아제티디닐, 옥세타닐 및 피라닐을 포함한다;
- [0087] ● 링커: 콘주게이트를 형성하도록 항체와 같은 폴리펩티드에 세포독성 화합물을 공유적으로 부착시킬 수 있는 단일 결합 또는 원자들의 군;
- [0088] ● 페이로드: 링커가 공유적으로 부착된 세포독성 화합물;
- [0089] ● 반응성 화학기: 화학 반응을 촉진하거나 겪을 수 있는 원자들의 군;
- [0090] 또한, 본 발명 전체에 걸쳐 기술된 바와 같이, SO₃H 작용체는 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁻Na)으로 존재할 수 있다.

[0091] **약어**

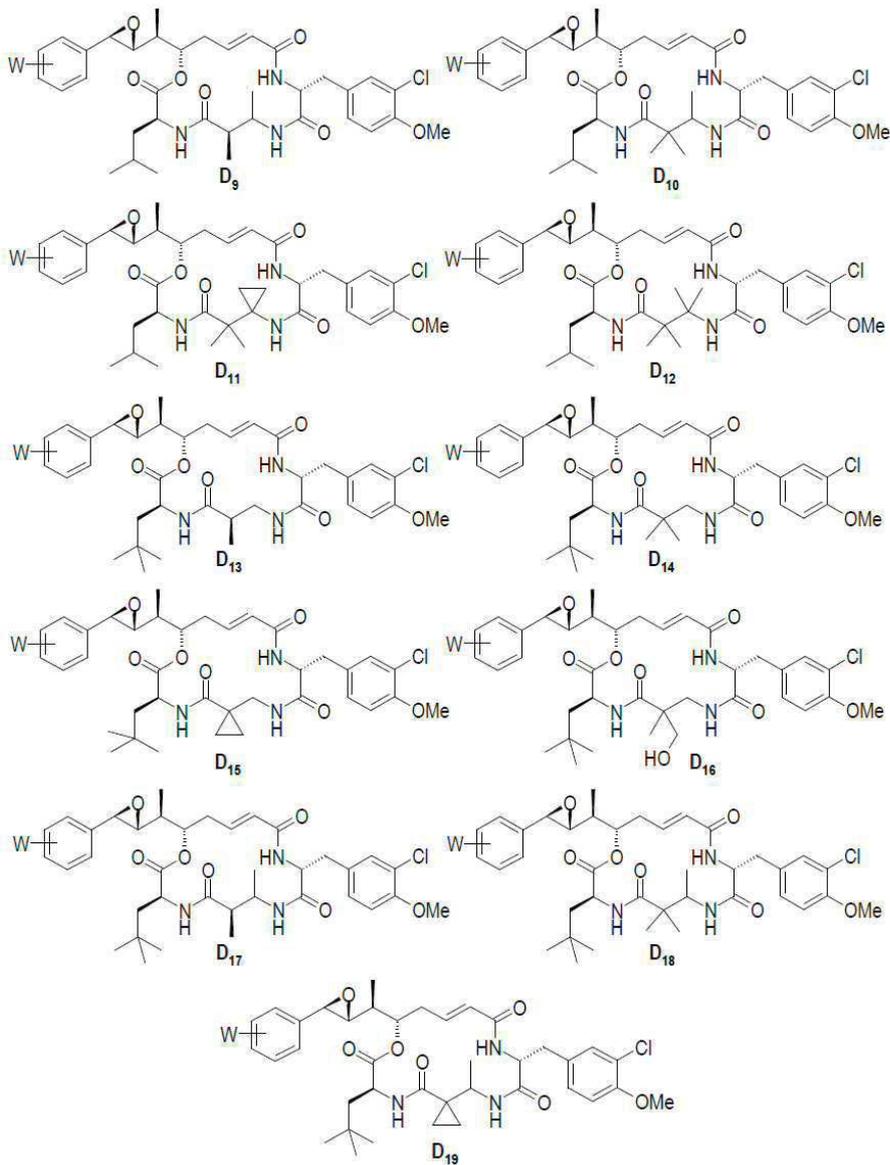
[0092] ADC: 항체-약물 콘주게이트; ALK:(C₁-C₁₂)알킬렌 기, 예를 들어 (C₁-C₆)알킬렌, 예컨대 -(CH₂)_{n-2})- 형태의 것(n은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임); aq.: 수성; Ar: 아르곤; AUC: 곡선하 면적; BCN:(1 α , 8 α , 9 β)-바이시클로[6.1.0]논-4-인-9-메탄올; CHCl₃: 클로로포름; CH₃CN: 아세토니트릴; CO₂: 이산화탄소; CR: 완전 관해; 크립토는 화학식



[0093] 의 단위를 나타냄, 크립토는 예를 들어 실시예의 크립토펙신 화합물, 국제 공개 제2011/001052호에 기술된 D₁-D₈ 크립토펙신 화합물 중 하나 또는 국제 특허 출원 PCT/EP2016/076603에 기술된 바와 같은 아래의 D₁-D₁₀크립토펙신 화합물 중 하나를 나타냄:



[0094]



- [0095]
- [0096] (여기서,
- [0097] ■ W는
- [0098] ● (C₁-C₆)알킬-NH(R₁₁), 예컨대 (CH₂)_nNHR₁₁;
- [0099] ● (C₁-C₆)알킬-OH, 예컨대 (CH₂)_nOH;
- [0100] ● (C₁-C₆)알킬-SH, 예컨대 (CH₂)_nSH;
- [0101] ● CO₂H 또는 C(=O)NH₂;
- [0102] ● (C₁-C₆)알킬-CO₂H 또는 (C₁-C₆)알킬-C(=O)NH₂; 또는
- [0103] ● (C₁-C₆)알킬-N₃을 나타내며,
- [0104] W는 페닐 핵의 오르토(*o*), 메타(*m*) 또는 파라(*p*) 위치에 위치하며;
- [0105] ■ R₁₁은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 기 (C₁-C₆)알킬, 예를 들어 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;
- [0106] ■ n은 1 내지 6의 범위의 정수를 나타냄);
- [0107] d: 일; DAR: 약물 대 항체 비(D1은 1의 DAR을 갖는 ADC를 지칭하며, D2는 2의 DAR을 갖는 ADC를 지칭하며, 기

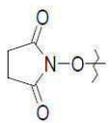
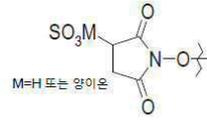
타 등등임); DBCO: 디벤질시클로옥틴; DCC:N,N'-디시클로헥실카르보다이미드; DCM: 디클로로메탄; DIEA:N,N-디이소프로필에틸아민; DMA: 디메틸아세트아미드; DMAP:4-(디메틸아미노)피리딘; DMEM:둘베코 변형 이글 배지 (Dulbecco's Modified Eagle Medium); DMEM/F12:둘베코 변형 이글 배지 영양소 혼합물 F-12; DMF: 디메틸포름아미드; DMSO: 디메틸설폭시드; DPBS:둘베코 인산염-완충 염수; DSC:N,N'-디숙신이미딜 카르보네이트; EDC:1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보다이미드; EDTA: 에틸렌디아민테트라아세트산; EEDQ:N-에톡시카르보닐-2-에톡시-1,2-디히드로퀴놀린; ELSD: 증기화 광 산란 검출기; eq.: 당량; ES: 전기분무; EtOAc: 에틸 아세테이트; Et₂O: 디에틸 에테르; Ex.: 실시예; FCS: 송아지 태아 혈청; Fmoc:9-플루오레닐메톡시카르보닐; GI: 전자유도(electroinductive) 기; h: 시간; H₂O: 물; Hal: 할로젠; HATU:1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리딘 3-옥시드 헥사플루오로포스페이트; HCl: 염산; HEPES:4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술포산; HIC: 소수성 상호작용 크로마토그래피; HOAt:1-히드록시-7-아자벤조트리아졸; HOBt:1-히드록시-벤조트리아졸; HPLC: 고성능 액체 크로마토그래피; HRMS: 고분해능 질량 분광법; IC₅₀: 중간 억제 농도; i.e.(*id est*): 즉을 의미함; IEC: 이온 교환 크로마토그래피; iPrOH:2-프로판올; iPr₂O: 디이소프로필 에테르; i.v.: 정맥내; MeCN: 아세토니트릴; MeOH: 메탄올; MeTHF:2-메틸-테트라히드로푸란; MFCO:1-플루오로-2-시클로옥틴-1-카르복실산; MgSO₄: 황산마그네슘; min: 분; MsCl: 메탄술포닐 클로라이드; MTBE: 메틸 *tert*-부틸 에테르; MTD: 최대 허용 용량(maximum tolerated dose); NaH: 수소화나트륨; NaCl: 염화나트륨; NaHCO₃: 탄산수소나트륨; n.d.: 결정되지 않음; NHS:N-히드록시숙신이미드; NMP:1-메틸-2-피롤리돈; NMR: 핵 자기 공명; PABA: *para*-아미노벤질 알코올; PBS: 인산염-완충 염수; PEG: 폴리에틸렌 글리콜; PNGase F:펩티드-N-글리코시다아제 F; ppm: 백만분율; PR: 부분 관해; QS:적당량(*quantum satis*)은 필요한 양을 의미함; Q-Tof: 사중극자 비행 시간형; quant.: 정량적 수율; RCG: 반응성 화학기; RT: 실온; sat.: 포화; s.c.: 피하; SCID: 중증 복합 면역결핍증; SEC: 크기 배제 크로마토그래피; T3P: 프로필포스폰산 무수물; TBAF: 테트라부틸암모늄 플루오라이드; TFA: 트리플루오로아세트산; TFS: 무중양 생존자; THF: 테트라히드로푸란; TLC: 박층 크로마토그래피; t_{1/2}: 반감기; t_R: 체류 시간; UPLC:초고성능 액체 크로마토그래피; UV: 자외선.

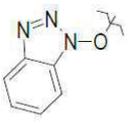
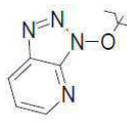
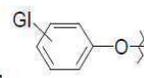
도면의 간단한 설명

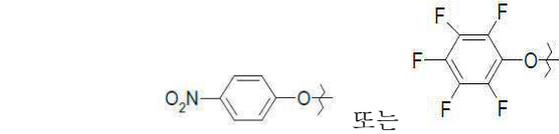
- [0108] 도 1: SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 6의 생체 내에서의 효능
- 도 2: 2.5 mg/kg에서 SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 16, 실시예 19, 실시예 23 및 실시예 32의 생체 내에서의 효능
- 도 3: 1.25 mg/kg에서 SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 16, 실시예 19, 실시예 23 및 실시예 32의 생체 내에서의 효능
- 도 4: SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 26의 생체 내에서의 효능
- 도 5: SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 29의 생체 내에서의 효능
- 도 6: SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 35의 생체 내에서의 효능
- 도 7: SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 41의 생체 내에서의 효능

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0109] 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물로부터 선택되는 새로운 펩티드 화합물에 관한 것이다:
- [0110] [화학식 I]
- [0111] RCG1-L-P
- [0112] 여기서,
- [0113] ■ RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며;
- [0114] ■ L은 하기에 정의된 바와 같은 화학식 II의 링커를 나타내며;
- [0115] ■ P는 수소 원자, -OH 또는 활성화 O를 나타낸다.

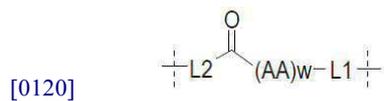
[0116] 언급될 수 있는 활성화 0의 예는  (O-NHS),  (여기서, 양이온은 예를 들어 나트륨, 칼륨 또는 세슘을 나타냄);

[0117] 또는 , ,  기(여기서, GI는 하나 이상의 전자유도 기, 예컨대 -NO₂ 또는 할로겐 원자(-Hal), 예를 들어 불소 원자(-F)를 나타냄)를 포함한다. 이들은 예를 들어 다음의 기일 수 있다:



[0118] 화학식 I에 존재하는 링커 L은 하기 화학식 II의 것이다:

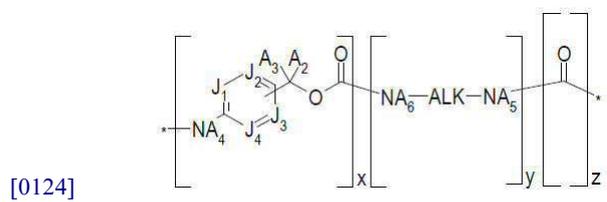
[0119] [화학식 II]



[0121] 여기서,

[0122] ● L1은 하기 화학식 III:

[0123] [화학식 III]



[0125] 의 것이며, 식 중,

[0126] ■ P가 수소 원자를 나타내면, x = 0 또는 1이고, y = 1이고, z = 0이며;

[0127] ■ P가 -OH를 나타내면, x = y = z = 0이며;

[0128] ■ P가 활성화 0를 나타내면, x = 1이고 y = z = 0이거나, x = y = z = 1이며;

[0129] ■ J₁, J₂, J₃ 및 J₄는 서로 독립적으로 CA₁ 및 N으로부터 선택되며;

[0130] ■ ALK는 (C₁-C₁₂)알킬렌 기, 예를 들어 (C₁-C₆)알킬렌, 예컨대 -(CH₂)_n- 형태의 것(n은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임)을 나타내며;

[0131] ■ A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, 및 A₆는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0132] ● (AA)_w는 w 치환 AA_s 또는 비치환된 아미노산들 AA_{ns}(펩티드 결합을 통하여 함께 연결됨)의 서열을 나타내며(여기서, 치환 AA_s 또는 비치환 AA_{ns}는 하기에 정의됨);

[0133] ● w는 1 내지 12, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수, 예컨대 2 또는 3을 나타내며;

[0134] ● (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하면, L2는 단일 결합, (C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, (CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-

C_6)알킬- $CH(SO_3H)$ 기, (C_1-C_6) 알킬-시클로헥실 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-CH(SO_3H)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $CH(SO_3H)$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬-시클로헥실 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $CH(SO_3H)$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $CH(SO_3H)$ 기, $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, NA_7 -아릴 기, NA_7 -헤테로아릴 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7$ -아릴 기, $C(=O)-NA_7$ -헤테로아릴 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며;

[0135]

● **(AA)_w**가 w 비치환 아미노산 **AA_{ns}**의 서열을 나타내면, **L2**는 $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, NA_7 -아릴 기, NA_7 -헤테로아릴 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7$ -아릴 기, $C(=O)-NA_7$ -헤테로아릴 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며;

[0136]

■ **A_r**은 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C_1-C_{160} 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 $-NHCO-$, $-N(알킬)C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(알킬)-$, $-OC(=O)-$,

-C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -O-, -C(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되며; SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁻Na)으로 존재할 수 있음이 이해되며;

[0137] ■ A₈은 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예를 들어 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0138] ■ i는 1 내지 50의 범위, 예컨대 1 내지 35의 범위의 정수를 나타낸다.

[0139] 특정 실시 형태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물에 관한 것이다:

[0140] [화학식 I]

[0141] RCG1-L-P

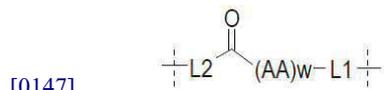
[0142] 여기서,

[0143] ■ RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며;

[0144] ■ P는 수소 원자, -OH 또는 활성화 O를 나타내며;

[0145] ■ L은 하기 화학식 II의 링커를 나타낸다:

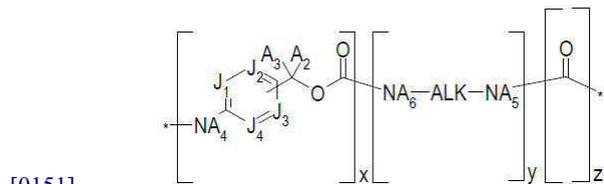
[0146] [화학식 II]



[0148] 여기서,

[0149] ● L1은 하기 화학식 III:

[0150] [화학식 III]



[0152] 의 것이며, 식 중,

[0153] ■ P가 수소 원자를 나타내면, x = 0 또는 1이고, y = 1이고, z = 0이며;

[0154] ■ P가 -OH를 나타내면, x = y = z = 0이며;

[0155] ■ P가 활성화 O를 나타내면, x = 1이고 y = z = 0이거나, x = y = z = 1이며;

[0156] ■ J₁, J₂, J₃ 및 J₄는 서로 독립적으로 CA₁ 및 N으로부터 선택되며;

[0157] ■ ALK는 (C₁-C₁₂)알킬렌 기, 예를 들어 (C₁-C₆)알킬렌, 예컨대 -(CH₂)_n- 형태의 것(n은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임)을 나타내며;

[0158] ■ A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, 및 A₆는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0159] ● (AA)_w는 w 치환 AA_s 또는 비치환된 아미노산들 AA_{ns}(펩티드 결합을 통하여 함께 연결됨)의 서열을 나타내며;

[0160] ● w는 1 내지 12, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수, 예컨대 2 또는 3을 나타내며;

[0161] ● (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하면, L2는 단일 결합, (C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, (CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, (C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;

[0162] ● (AA)_w가 w 비치환 아미노산 AA_{ns}의 서열을 나타내면, L2는 NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;

[0163] ■ A_7 은 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C_1-C_{160} 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 $-NHC(=O)-$, $-N(알킬)C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(알킬)-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(알킬)S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(알킬)-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)-O-$ 또는 헤테로시클로알킬 기($-OH$, $-O$ 알킬, $-알킬$, 할로겐 원자, $-NH_2$, $-NH$ 알킬, 및 $-N(알킬)_2$ 로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되며; SO_3H 작용체를 포함하는 각각의 A_7 은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO_3^+Na)으로 존재할 수 있음이 이해되며;

[0164] ■ A_8 은 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기, 예를 들어 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0165] ■ i 는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 35의 범위의 정수를 나타내며,

[0166] ■ 비치환 아미노산 AA_{ns} 는 다음의 것과 동일하거나 이로부터 유도된 배열 D 또는 L의 천연 또는 비천연 아미노산을 나타낸다: 알라닌(Ala), β -알라닌, γ -아미노부티르산, 2-아미노-2-시클로헥실아세트산, 2-아미노-2-페닐아세트산, 아르기닌(Arg), 아스파라긴(Asn), 아스파르트산(Asp), 시트룰린(Cit), 시스테인(Cys), α , α -디메틸- γ -아미노부티르산, β , β -디메틸- γ -아미노부티르산, 글루타민(Gln), 글루탐산(Glu), 글리신(Gly), 호모-시스테인, 셀레노시스테인, 호모-셀레노시스테인, 히스티딘(His), 이소류신(Ile), 류신(Leu), 라이신(Lys), ϵ -아세틸-라이신 (AcLys), 메티오닌(Met), 오르니틴(Orn), 페닐알라닌(Phe), 프롤린(Pro), 세린(Ser), 트레오닌(Thr), 트립토판(Trp), 티로신(Tyr), 및 발린(Val).

[0167] 또 다른 특정 실시 형태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물에 관한 것이다:

[0168] [화학식 I]

[0169] RCG1-L-P

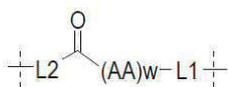
[0170] 여기서,

[0171] ■ RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며;

[0172] ■ P는 수소 원자, $-OH$ 또는 할성화 O를 나타내며;

[0173] ■ L은 하기 화학식 II의 링커를 나타낸다:

[0174] [화학식 II]

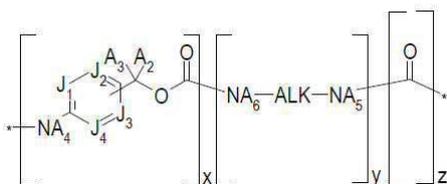


[0175]

[0176] 여기서,

[0177] ● L1은 하기 화학식 III:

[0178] [화학식 III]



[0179]

[0180] 의 것이며, 식 중,

[0181] ■ P가 수소 원자를 나타내면, $x = 0$ 또는 1이고, $y = 1$ 이고, $z = 0$ 이며;

[0182] ■ P가 $-OH$ 를 나타내면, $x = y = z = 0$ 이며;

[0183] ■ P가 할성화 O를 나타내면, $x = 1$ 이고 $y = z = 0$ 이거나, $x = y = z = 1$ 이며;

- [0184] ■ J_1, J_2, J_3 및 J_4 는 서로 독립적으로 CA_1 및 N 으로부터 선택되며;
- [0185] ■ ALK 는 (C_1-C_{12}) 알킬렌 기, 예를 들어 (C_1-C_6) 알킬렌, 예컨대 $-(CH_2)_n-$ 형태의 것(n 은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임)을 나타내며;
- [0186] ■ A_1, A_2, A_3, A_4, A_5 , 및 A_6 은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;
- [0187] ● $(AA)_w$ 는 w 치환 AA_s 또는 비치환된 아미노산들 AA_{ns} (펩티드 결합을 통하여 함께 연결됨)의 서열을 나타내며;
- [0188] ● w 는 1 내지 12, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수, 예컨대 2 또는 3을 나타내며;
- [0189] ● $(AA)_w$ 가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 를 포함하면, $L2$ 는 단일 결합, (C_1-C_6) 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ 알킬 기, $(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $CH(SO_3H)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $CH(SO_3H)$ 기, (C_1-C_6) 알킬-시클로헥실 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-CH(SO_3H)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $CH(SO_3H)$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬-시클로헥실 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $CH(SO_3H)$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $CH(SO_3H)$ 기, $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, NA_7 -아릴 기, NA_7 -헤테로아릴 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7$ -아릴 기, $C(=O)-NA_7$ -헤테로아릴 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며;
- [0190] ● $(AA)_w$ 가 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 의 서열을 나타내면, $L2$ 는 $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, NA_7 -아릴 기, NA_7 -헤테로아릴 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7$ -아릴 기, $C(=O)-NA_7$ -헤테로아릴 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며;

$-(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며;

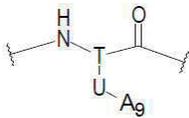
[0191] **■ A₇**은 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₆₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -O-, -C(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되며; SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁻Na)으로 존재할 수 있음이 이해되며;

[0192] **■ A₈**은 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예를 들어 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0193] **■ i**는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 35의 범위의 정수를 나타내며,

[0194] 상기 치환 아미노산 AA₉는 하기 화학식 VI을 갖는다:

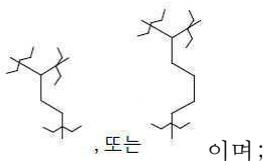
[0195] [화학식 VI]



[0196]

[0197] 여기서,

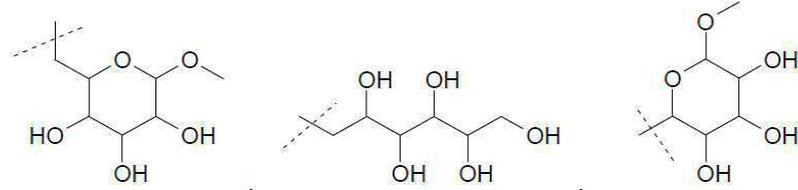
[0198] **● T**는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, (C₁-C₈) 3가 알킬 기를 나타내고, 바람직하게는 T는



[0199] **● U** 기는 단일 결합, -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, 또는 -O-P(=O)(OH)-O를 나타내고, 예컨대 U 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;

[0200] **● A₉**은 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₆₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NH-C(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -CH(O알킬)-, -CHF-, -CF₂-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -N⁺H(알킬)-, -N⁺(알킬)₂-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터

선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되고, 예를 들어 A₉는 -(CH₂)₂-



O]₄-CH₃, -[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃,

-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H이며;

, 또는

[0201] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₉는 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0202] 또 다른 특정 실시 형태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물에 관한 것이다:

[0203] [화학식 I]

[0204] RCG1-L-P

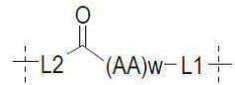
[0205] 여기서,

[0206] ■ RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며;

[0207] ■ P는 수소 원자, -OH 또는 활성화 O를 나타내며;

[0208] ■ L은 하기 화학식 II의 링커를 나타낸다:

[0209] [화학식 II]

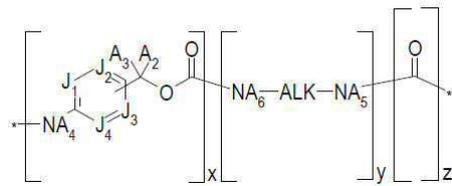


[0210]

[0211] 여기서,

[0212] ● L1은 하기 화학식 III:

[0213] [화학식 III]



[0214]

[0215] 의 것이며, 식 중,

[0216] ■ P가 수소 원자를 나타내면, x = 0 또는 1이고, y = 1이고, z = 0이며;

[0217] ■ P가 -OH를 나타내면, x = y = z = 0이며;

[0218] ■ P가 활성화 O를 나타내면, x = 1이고 y = z = 0이거나, x = y = z = 1이며;

[0219] ■ J₁, J₂, J₃ 및 J₄는 서로 독립적으로 CA₁ 및 N으로부터 선택되며;

[0220] ■ ALK는 (C₁-C₁₂)알킬렌 기, 예를 들어 (C₁-C₆)알킬렌, 예컨대 -(CH₂)_n- 형태의 것(n은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임)을 나타내며;

[0221] ■ A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, 및 A₆는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

- [0222] ● (AA)_w는 w 치환 AA_s 또는 비치환된 아미노산들 AA_{ns}(펩티드 결합을 통하여 함께 연결됨)의 서열을 나타내며;
- [0223] ● w는 1 내지 12, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수, 예컨대 2 또는 3을 나타내며;
- [0224] ● (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하면, L2는 단일 결합, (C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, (CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, (C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;
- [0225] ● (AA)_w가 w 비치환 아미노산 AA_{ns}의 서열을 나타내면, L2는 NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기,

C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;

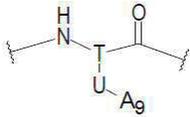
[0226] ■ A₇은 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₀₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -O-, -C(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되며; SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁻Na)으로 존재할 수 있음이 이해되며;

[0227] ■ A₈은 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예를 들어 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0228] ■ i는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 35의 범위의 정수를 나타내며,

[0229] 상기 치환 아미노산 AA₈는 하기 화학식 VI을 갖는다:

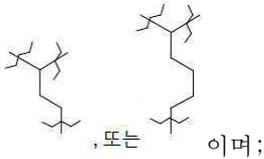
[0230] [화학식 VI]



[0231]

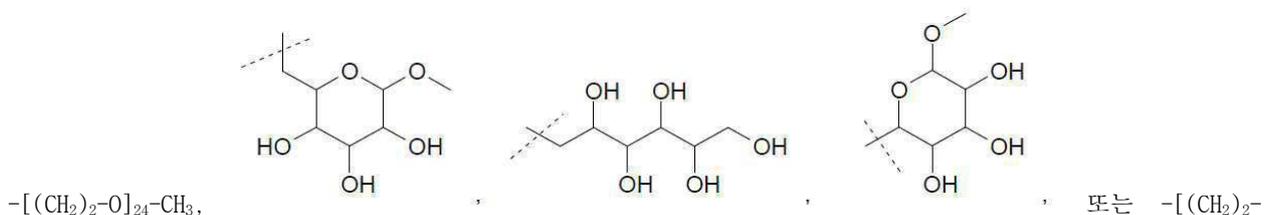
[0232] 여기서,

[0233] ● T는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, (C₁-C₈) 3가 알킬 기를 나타내고, 바람직하게는 T는



[0234] ● U 기는 단일 결합, -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, 또는 -O-P(=O)(OH)-O를 나타내고, 예컨대 U 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;

[0235] ● A₉는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₀₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NH-C(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -CH(O알킬)-, -CHF-, -CF₂-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -N⁺H(알킬)-, -N⁺(알킬)₂-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되고, 예를 들어 A₉는 -[(CH₂)₂O]₄-CH₃,



O)]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H이며;

[0236] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₀는 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0237] 또 다른 특정 실시 형태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물에 관한 것이다:

[0238] [화학식 I]

[0239] RCG1-L-P

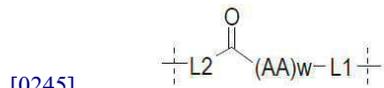
[0240] 여기서,

[0241] ■ RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며;

[0242] ■ P는 수소 원자, -OH 또는 활성화 O를 나타내며;

[0243] ■ L은 하기 화학식 II의 링커를 나타낸다:

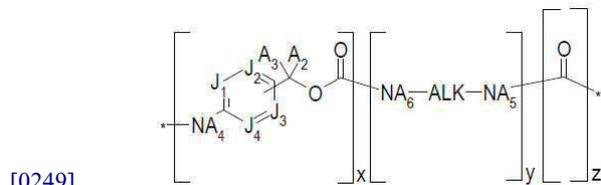
[0244] [화학식 II]



[0246] 여기서,

[0247] ● L1은 하기 화학식 III:

[0248] [화학식 III]



[0250] 의 것이며, 식 중,

[0251] ■ P가 수소 원자를 나타내면, x = 0 또는 1이고, y = 1이고, z = 0이며;

[0252] ■ P가 -OH를 나타내면, x = y = z = 0이며;

[0253] ■ P가 활성화 O를 나타내면, x = 1이고 y = z = 0이거나, x = y = z = 1이며;

[0254] ■ J₁, J₂, J₃ 및 J₄는 서로 독립적으로 CA₁ 및 N으로부터 선택되며;

[0255] ■ ALK는 (C₁-C₁₂)알킬렌 기, 예를 들어 (C₁-C₆)알킬렌, 예컨대 -(CH₂)_n- 형태의 것(n은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임)을 나타내며;

[0256] ■ A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, 및 A₆은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0257] ● (AA)_w는 w 치환 AA_s 또는 비치환된 아미노산들 AA_{ns}(펩티드 결합을 통하여 함께 연결됨)의 서열을 나타내며;

[0258] ● w는 1 내지 12, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수, 예컨대 2 또는 3을 나타내며;

[0259] ● (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하면, L2는 단일 결합, (C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, (CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, (C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기,

C(=O)-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;

[0260]

● (AA)_w가 w 비치환 아미노산 AA_{ns}의 서열을 나타내면, L₂는 NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;

[0261]

■ A_r은 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₆₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -O-, -C(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- 또는 헤테로시클

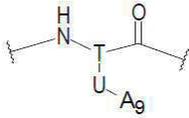
로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되며; SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해되며;

[0262] ■ A₈은 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예를 들어 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0263] ■ i는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 35의 범위의 정수를 나타내며,

[0264] 상기 치환 아미노산 AA₈는 하기 화학식 VI을 갖는다:

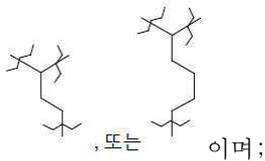
[0265] [화학식 VI]



[0266]

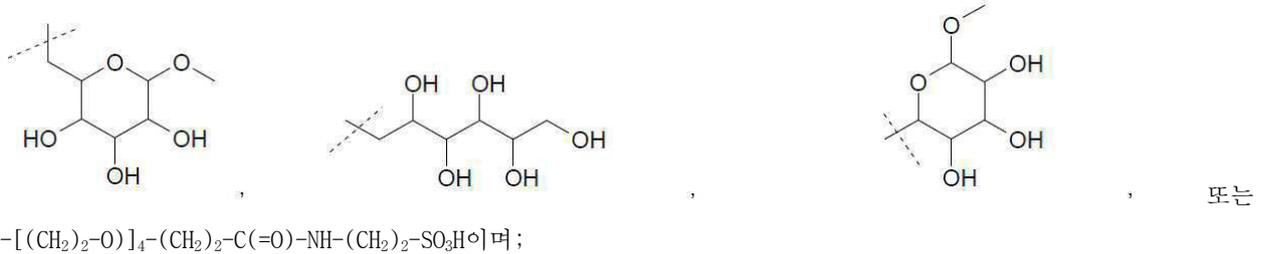
[0267] 여기서,

[0268] ● T는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, (C₁-C₈) 3가 알킬 기를 나타내고, 바람직하게는 T는



[0269] ● U 기는 단일 결합, -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, 또는 -O-P(=O)(OH)-O를 나타내고, 예컨대 U 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;

[0270] ● A₉는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₆₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NH-C(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -CH(O알킬)-, -CHF-, -CF₂-, -S-, -Se-, -O-, -N(알킬)-, -N⁺H(알킬)-, -N⁺(알킬)₂-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되고, 예를 들어 A₉는 -[(CH₂)₂-O]₄-CH₃, -[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃,



[0271] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₉는 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0272] 또 다른 특정 실시 형태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물에 관한 것이다:

[0273] [화학식 I]

[0274] RCG1-L-P

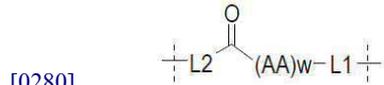
[0275] 여기서,

[0276] ■ RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며;

[0277] ■ P는 수소 원자, -OH 또는 활성화 O를 나타내며;

[0278] ■ L은 하기 화학식 II의 링커를 나타낸다:

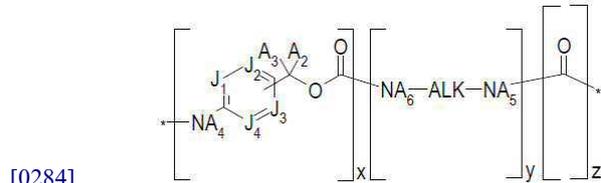
[0279] [화학식 II]



[0281] 여기서,

[0282] ● L1은 하기 화학식 III:

[0283] [화학식 III]



[0285] 의 것이며, 식 중,

[0286] ■ P가 수소 원자를 나타내면, x = 0 또는 1이고, y = 1이고, z = 0이며;

[0287] ■ P가 -OH를 나타내면, x = y = z = 0이며;

[0288] ■ P가 활성화 O를 나타내면, x = 1이고 y = z = 0이거나, x = y = z = 1이며;

[0289] ■ J₁, J₂, J₃ 및 J₄는 서로 독립적으로 CA₁ 및 N으로부터 선택되며;

[0290] ■ ALK는 (C₁-C₁₂)알킬렌 기, 예를 들어 (C₁-C₆)알킬렌, 예컨대 -(CH₂)_n- 형태의 것(n은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임)을 나타내며;

[0291] ■ A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, 및 A₆은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0292] ● (AA)_w는 w 치환 AA_s 또는 비치환된 아미노산들 AA_{ns}(펩티드 결합을 통하여 함께 연결됨)의 서열을 나타내며;

[0293] ● w는 1 내지 12, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수, 예컨대 2 또는 3을 나타내며;

[0294] ● (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하면, L2는 단일 결합, (C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, (CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, (C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-CH(SO₃H)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-시클로헥실 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-O(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-CH(SO₃H) 기, NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-

$\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$,
 $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-$
 $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7$ 기,
 $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7$ -아릴 기, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7$ -헤테로아릴 기, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-$
 $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}$
 기 , $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-$
 $\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7$
 기 , $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-$
 $\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-$
 $\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$,
 $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7$ 기, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-$
 $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-$
 $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-$
 $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기 또는 $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$ 를 나타내며;

[0295] ● $(\text{AA})_w$ 가 w 비치환 아미노산 AA_n 의 서열을 나타내면, L_2 는 $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7$ 기, NA_7-
 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, NA_7 -아릴 기, NA_7 -헤테로아릴 기, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-$
 $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-$
 $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-$
 $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7$ 기, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-$
 $\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7$ -아릴 기, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7$ -헤테로아릴 기, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-$
 $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-$
 $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-$
 $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7$ 기, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-$
 $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-$
 $\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-$
 $\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-$
 NA_7 기, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$
 기 , $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기,
 $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ 기 또는 $\text{C}(=\text{O})-$
 $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$ 를 나타내며;

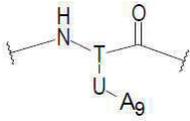
[0296] ■ A_7 은 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 $\text{C}_1-\text{C}_{160}$ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으
 로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{알킬})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{알킬})-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$,
 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{CH}(\text{OH})-$, $-\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-$, $-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{알킬})\text{S}(=\text{O})_2-$,
 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{알킬})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$ 또는 헤테로시클
 로알킬 기($-\text{OH}$, $-\text{O}$ 알킬, $-\text{알킬}$, 할로젠 원자, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}$ 알킬, 및 $-\text{N}(\text{알킬})_2$ 로부터 선택되는 동일하거나 상이한
 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되며; SO_3H 작용체를 포함하는 각각의 A_7 은 염 형태, 예컨대 알
 칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO_3^-Na^+)으로 존재할 수 있음이 이해되며;

[0297] ■ A_8 은 수소 원자 또는 $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬 기}$, 예를 들어 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;

[0298] ■ **i**는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 35의 범위의 정수를 나타내며,

[0299] 상기 치환 아미노산 **AA_s**는 하기 화학식 VI을 갖는다:

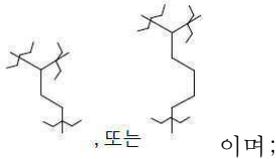
[0300] [화학식 VI]



[0301]

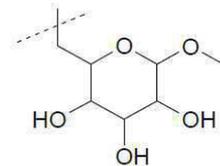
[0302] 여기서,

[0303] ● **T**는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, (C₁-C₈) 3가 알킬 기를 나타내고, 바람직하게는 T는

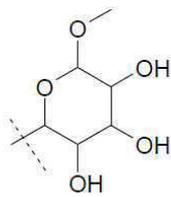
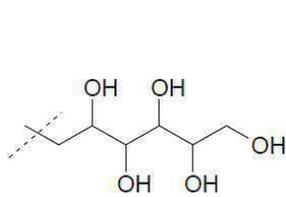


[0304] ● **U** 기는 단일 결합, -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, 또는 -O-P(=O)(OH)-O를 나타내고, 예컨대 **U** 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;

[0305] ● **A₉**는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₀₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NH-C(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -CH(O알킬)-, -CHF-, -CF₂-, -Se-, -O-, -N(알킬)-, -N⁺H(알킬)-, -N⁺(알킬)₂-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로



치환됨)로 대체되고, 예를 들어 **A₉**는 -[(CH₂)₂-O]₄-CH₃, -[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃,



, 또는 -[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H

이며;

[0306] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 **A₉**는 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0307] 또 다른 특정 실시 형태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물에 관한 것이다:

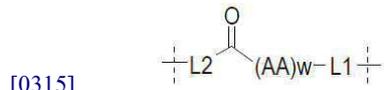
[0308] [화학식 I]

[0309] RCG1-L-P

[0310] 여기서,

- [0311] ■ RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는 반응성 화학기를 나타내며;
- [0312] ■ P는 수소 원자, -OH 또는 활성화 O를 나타내며;
- [0313] ■ L은 하기 화학식 II의 링커를 나타낸다:

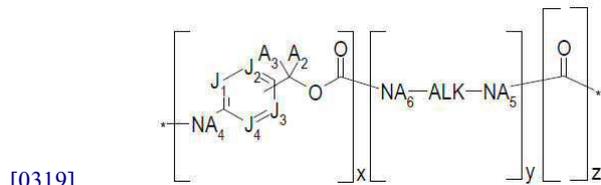
[0314] [화학식 II]



[0316] 여기서,

- [0317] ● L1은 하기 화학식 III:

[0318] [화학식 III]



[0320] 의 것이며, 식 중,

- [0321] ■ P가 수소 원자를 나타내면, x = 0 또는 1이고, y = 1이고, z = 0이며;
- [0322] ■ P가 -OH를 나타내면, x = y = z = 0이며;
- [0323] ■ P가 활성화 O를 나타내면, x = 1이고 y = z = 0이거나, x = y = z = 1이며;
- [0324] ■ J₁, J₂, J₃ 및 J₄는 서로 독립적으로 CA₁ 및 N으로부터 선택되며;
- [0325] ■ ALK는 (C₁-C₁₂)알킬렌 기, 예를 들어 (C₁-C₆)알킬렌, 예컨대 -(CH₂)_n- 형태의 것(n은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임)을 나타내며;
- [0326] ■ A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, 및 A₆은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타내며;
- [0327] ● (AA)_w는 w 치환 AA_s 또는 비치환된 아미노산들 AA_{ns}(펩티드 결합을 통하여 함께 연결됨)의 서열을 나타내며;
- [0328] ● w는 1 내지 12, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수, 예컨대 2 또는 3을 나타내며;
- [0329] ● (AA)_w는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2는 (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;
- [0330] ● A₇은 상기에 정의된 바와 같다.
- [0331] 적어도 하나의 실시 형태에 따르면, (AA)_w는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하며, L2는
- [0332] - (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₃ 기;
- [0333] - C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 C(=O)-(CH₂)₃ 기; 또는
- [0334] - (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂ 기를 나타내며, 여기서, A₇은 상기에 정의된 바와 같다.
- [0335] 적어도 하나의 실시 형태에 따르면, (AA)_w는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하며, L2는
- [0336] - (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₃ 기;

- [0337] - C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 C(=O)-(CH₂)₃ 기; 또는
- [0338] - (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂ 기를 나타내며, 여기서, A₇은 -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기이며;
- [0339] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇는 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁻Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.
- [0340] 또 다른 실시 형태에 따르면, (AA)_w는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하며, L₂는
- [0341] (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂ 기를 나타내며, 여기서, A₇은 상기에 정의된 바와 같다.
- [0342] 또 다른 실시 형태에 따르면, (AA)_w는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하며, L₂는
- [0343] (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂ 기를 나타내며, 여기서, A₇은
- [0344] - C(=O)-[(CH₂)₂-O]_a-CH₃ 기(여기서, "a"는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 24의 범위의 정수, 예컨대 4, 7 및 24를 나타내며, 예를 들어 A₇은 C(=O)-[(CH₂)₂-O]₄-CH₃ 기, C(=O)-[(CH₂)₂-O]₇-CH₃ 기, 또는 C(=O)-[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃ 기임);
- [0345] - -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기; 또는
- [0346] - C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]_a-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기(여기서, "a"는 1 내지 50의 범위, 예컨대 1 내지 24의 범위의 정수, 예를 들어 4를 나타내며, 예컨대 A₇은 -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기임)를 나타내며;
- [0347] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁻Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.
- [0348] 하나 이상의 실시 형태에 따르면, (AA)_w는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하며, L₂는
- [0349] NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며;

여기서, i , A_7 및 A_8 은 상기에 정의된 바와 같다.

[0350] 또 다른 실시 형태에 따르면, $(AA)_w$ 는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를 포함하며, $L2$ 는

[0351] $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, NA_7 -아릴 기, NA_7 -헤테로아릴 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7$ -아릴 기, $C(=O)-NA_7$ -헤테로아릴 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며; i , A_7 및 A_8 은 상기에 정의된 바와 같다.

[0352] 또 다른 실시 형태에 따르면, $(AA)_w$ 는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를 포함하며, $L2$ 는

[0353] $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며; 여기서, i , A_7 및 A_8 은 상기에 정의된 바와 같다.

[0354] 또 다른 실시 형태에 따르면, $(AA)_w$ 는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를 포함하며, $L2$ 는

[0355] $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며, 여기서, A_7 및 A_8 은 상기에 정의된 바와 같다.

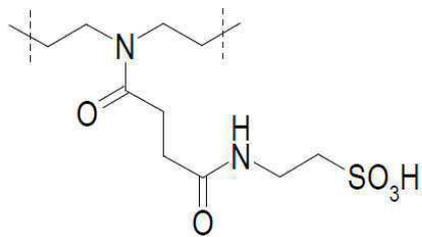
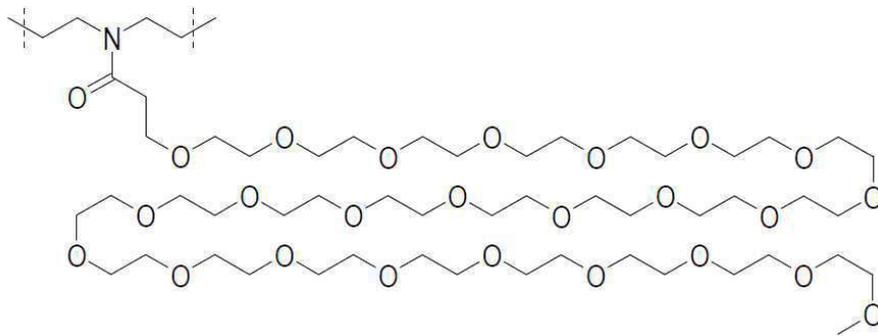
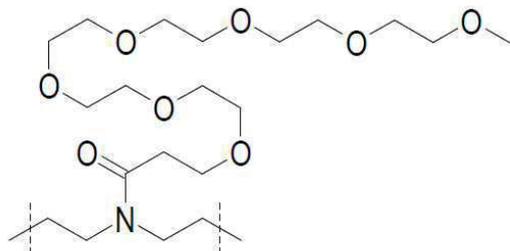
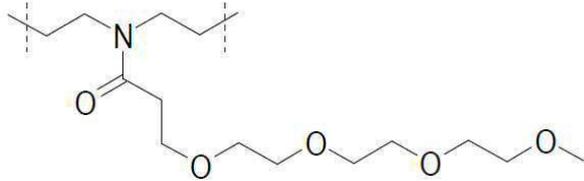
[0356] 적어도 또 다른 실시 형태에 따르면, $(AA)_w$ 는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를

포함하며, L2는

[0357] $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_4-CH_3$ 기; $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_7-CH_3$ 기; $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_{24}-CH_3$ 기; $C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$ 기; $C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-[(CH_2)_2-O]_4-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$ 기를 나타내는 A7을 포함하는 화합물로 구성되며;

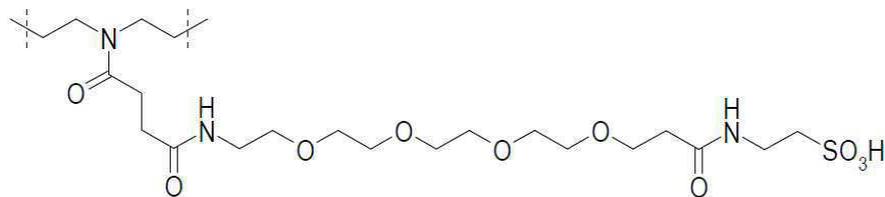
[0358] SO_3H 작용체를 포함하는 각각의 A7은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO_3^-Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0359] 적어도 또 다른 실시 형태에 따르면, (AA)_w는 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하며, L2는



[0361]

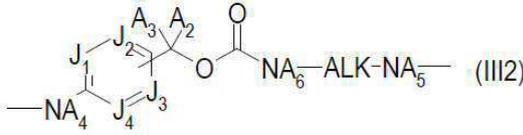
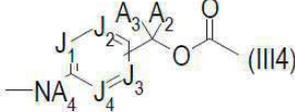
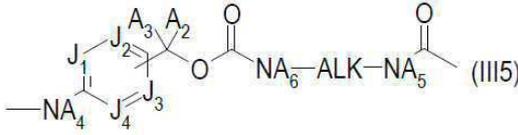
[0362] 또는



[0363]

를 나타내며,

[0364] L1은 다음의 (III1-5) 중 하나일 수 있다:

P	L1의 예
H	$\text{---NA}_6\text{---ALK---NA}_7\text{---} \quad (\text{III1})$  $\text{---NA}_4\text{---} \text{ (III2)}$
OH	$\text{---} \quad (\text{III3})$
활성화 O	 $\text{---NA}_4\text{---} \quad (\text{III4})$  $\text{---NA}_4\text{---} \quad (\text{III5})$

[0365]

[0366] 여기서,

[0367] ● J₁, J₂, J₃ 및 J₄는 서로 독립적으로 CA₁ 및 N으로부터 선택되며;

[0368] ● ALK는 (C₁-C₁₂)알킬렌 기, 예를 들어 (C₁-C₆)알킬렌, 예컨대 -(CH₂)_n- 형태의 것(n은 1 내지 12의 범위, 예를 들어 1 내지 6의 범위의 정수임)을 나타내며;

[0369] ● A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, 및 A₆는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 수소 원자 또는 메틸 기를 나타낸다.

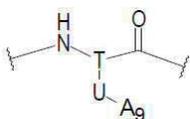
[0370] AA는 아미노산을 나타낸다. 아미노산은 화학식 NH₂-CHA₁₀-COOH의 화합물이며, 여기서, A₁₀은 AA의 측쇄를 나타낸다. AA는 치환 AA_s 또는 비치환 AA_{ns} 아미노산일 수 있다.

[0371] 비치환 아미노산 AA_{ns}는 다음의 것과 동일하거나 이로부터 유도된 배열 D 또는 L의 천연 또는 비치연 아미노산을 나타낸다: 알라닌(Ala), β-알라닌, γ-아미노부티르산, 2-아미노-2-시클로헥실아세트산, 2-아미노-2-페닐아세트산, 아르기닌(Arg), 아스파라긴(Asn), 아스파르트산(Asp), 시트룰린(Cit), 시스테인(Cys), α, α-디메틸-γ-아미노부티르산, β, β-디메틸-γ-아미노부티르산, 글루타민(Gln), 글루탐산(Glu), 글리신(Gly), 호모-시스테인, 셀레노시스테인, 호모-셀레노시스테인, 히스티딘(His), 이소류신(Ile), 류신(Leu), 라이신(Lys), ε-아세틸-라이신(AcLys), 메티오닌(Met), 오르니틴(Orn), 페닐알라닌(Phe), 프롤린(Pro), 세린(Ser), 트레오닌(Thr), 트립토판(Trp), 티로신(Tyr), 및 발린(Val).

[0372] 예를 들어, AA_{ns}는 알라닌(Ala), 시트룰린(Cit), 글리신(Gly), 이소류신(Ile), 류신(Leu), 라이신(Lys), ε-아세틸-라이신(AcLys), 페닐알라닌(Phe), 트립토판(Trp) 및 발린(Val)을 나타낸다.

[0373] 치환 아미노산 AA_s는 하기 화학식 VI을 갖는다:

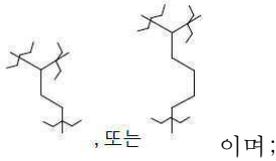
[0374] [화학식 VI]



[0375]

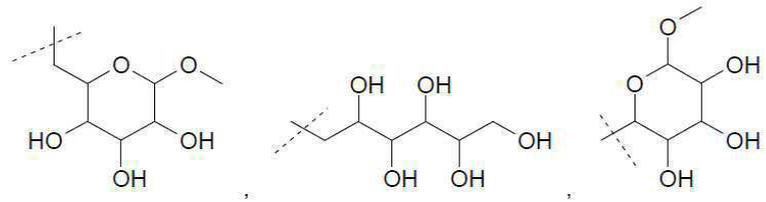
[0376] 여기서,

[0377] ● T는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, (C₁-C₈) 3가 알킬 기를 나타내고, 예를 들어 T는



[0378] ● U 기는 단일 결합, -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, 또는 -O-P(=O)(OH)-O를 나타내며, 예컨대 U 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;

[0379] ● A₀는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₆₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NH-C(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -CH(O알킬)-, -CHF-, -CF₂-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -N⁺H(알킬)-, -N⁺(알킬)₂-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂)로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되고, 예를 들어 A₀는 [(CH₂)₂-

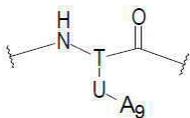


O]₄-CH₃, [(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃, 또는 [(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H이며;

[0380] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₀은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁻Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0381] 특정 실시 형태에 따르면, 치환 아미노산 AA_s는 하기 화학식 VI을 갖는다:

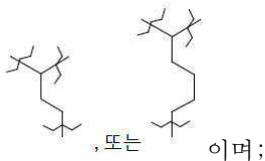
[0382] [화학식 VI]



[0383]

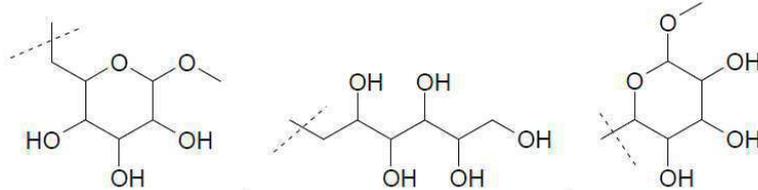
[0384] 여기서,

[0385] ● T는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, (C₁-C₈) 3가 알킬 기를 나타내고, 예를 들어 T는



[0386] ● U 기는 단일 결합, -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, 또는 -O-P(=O)(OH)-O를 나타내며, 예컨대 U 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;

[0387] ● **A₀**는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₆₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NH-C(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -CH(O알킬)-, -CHF-, -CF₂-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -N⁺H(알킬)-, -N⁺(알킬)₂-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되고, 예를 들어 **A₀**는 [(CH₂)₂-O]₄-CH₃,

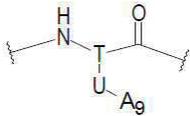


[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃, 또는 [(CH₂)₂-O]₄-CH₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H이며;

[0388] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 **A₀**은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁻Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

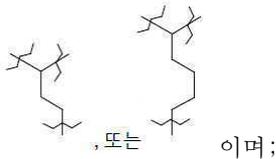
[0389] 또 다른 특정 실시 형태에 따르면, 치환 아미노산 **AA_s**는 하기 화학식 VI을 갖는다:

[0390] [화학식 VI]



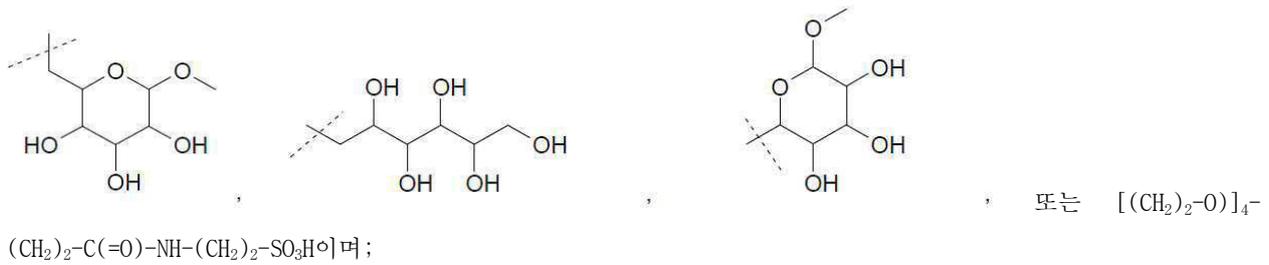
[0391] 여기서,
[0392]

[0393] ● **T**는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, (C₁-C₈) 3가 알킬 기를 나타내고, 예를 들어 **T**는



[0394] ● **U** 기는 단일 결합, -NHC(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(알킬)-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, 또는 -O-P(=O)(OH)O-를 나타내며, 예컨대 **U** 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;

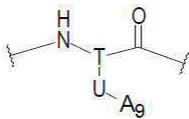
[0395] ● **A₀**는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₆₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NH-C(=O)-, -N(알킬)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(알킬)-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -CH(O알킬)-, -CHF-, -CF₂-, -S-, -Se-, -O-, -N(알킬)-, -N⁺H(알킬)-, -N⁺(알킬)₂-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(알킬)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(알킬)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬, 할로젠 원자, -NH₂, -NH알킬, 및 -N(알킬)₂로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되고, 예를 들어 **A₀**는 [(CH₂)₂-O]₄-CH₃, [(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃,



[0396] SO_3H 작용체를 포함하는 각각의 A_0 은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO_3^+Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0397] 또 다른 특정 실시 형태에 따르면, 치환 아미노산 AA_9 는 하기 화학식 VI을 갖는다:

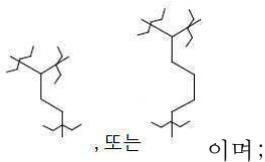
[0398] [화학식 VI]



[0399]

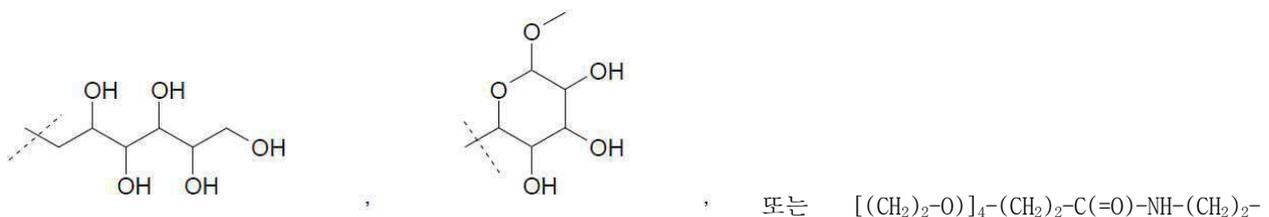
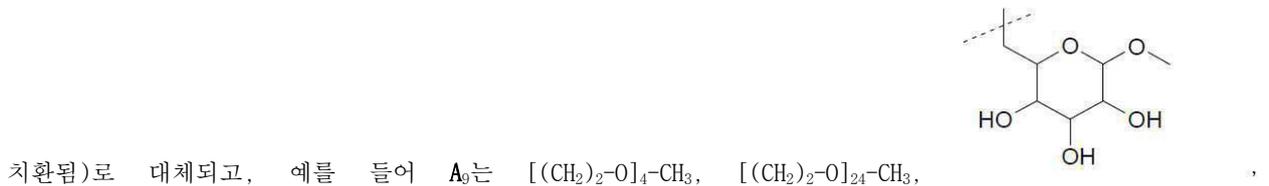
[0400] 여기서,

[0401] ● **T**는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, $(\text{C}_1\text{-C}_8)$ 3가 알킬 기를 나타내고, 예를 들어 T는



[0402] ● **U** 기는 단일 결합, -NHC(=O)- , -N(알킬)C(=O)- , -C(=O)NH- , -C(=O)N(알킬)- , -NHC(=O)NH- , -NHC(=NH)NH- , -OC(=O)- , -C(=O)O- , -OC(=O)O- , -S- , -Se- , -O- , -NH- , -N(알킬)- , -C(=O)- , -OP(=O)- , -S(=O)- , $\text{-S(=O)}_2\text{-}$, $\text{-NHS(=O)}_2\text{-}$, $\text{-N(알킬)S(=O)}_2\text{-}$, $\text{-S(=O)}_2\text{NH-}$, $\text{-S(=O)}_2\text{N(알킬)-}$, -P(=O)(OH)- , -P(=O)(OH)O- , -O-P(=O)(OH)- , 또는 -O-P(=O)(OH)O- 를 나타내며, 예컨대 **U** 기는 -NH-C(=O)- , 또는 -C(=O)NH- 를 나타내며;

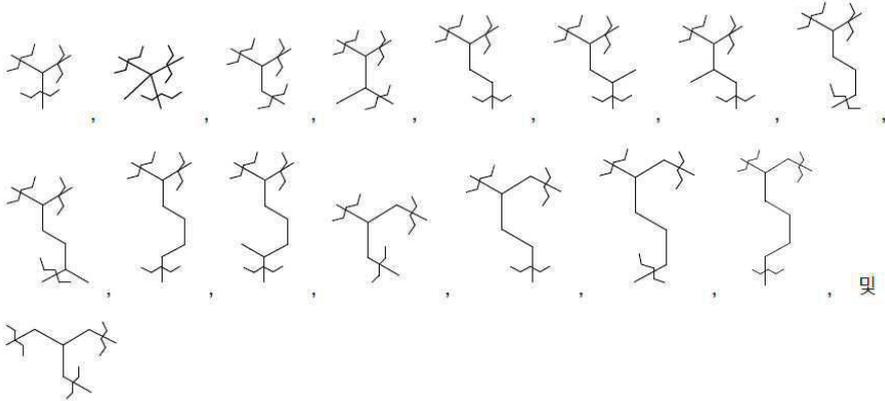
[0403] ● A_9 는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 $\text{C}_1\text{-C}_{160}$ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -NH-C(=O)- , -N(알킬)C(=O)- , -C(=O)NH- , -C(=O)N(알킬)- , -C(=O)O- , -OC(=O)O- , -CH(OH)- , $\text{-CH(SO}_3\text{H)-}$, -CH(O알킬)- , -CHF- , $\text{-CF}_2\text{-}$, -Se- , -O- , -N(알킬)- , $\text{-N}^+\text{H(알킬)-}$, $\text{-N}^+\text{(알킬)}_2\text{-}$, -OP(=O)- , -S(=O)- , $\text{-S(=O)}_2\text{-}$, $\text{-NHS(=O)}_2\text{-}$, $\text{-N(알킬)S(=O)}_2\text{-}$, $\text{-S(=O)}_2\text{NH-}$, $\text{-S(=O)}_2\text{N(알킬)-}$, -P(=O)(OH)- , -P(=O)(OH)O- , -O-P(=O)(OH)- , -O-P(=O)(OH)O- 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH , -O알킬 , -알킬 , 할로겐 원자, -NH_2 , -NH알킬 , 및 -N(알킬)_2 로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로



SO₃H이며;

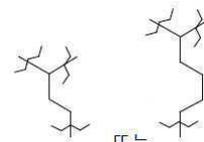
[0404] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₉은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0405] 언급될 수 있는 T의 예는 다음을 포함한다:



[0406]

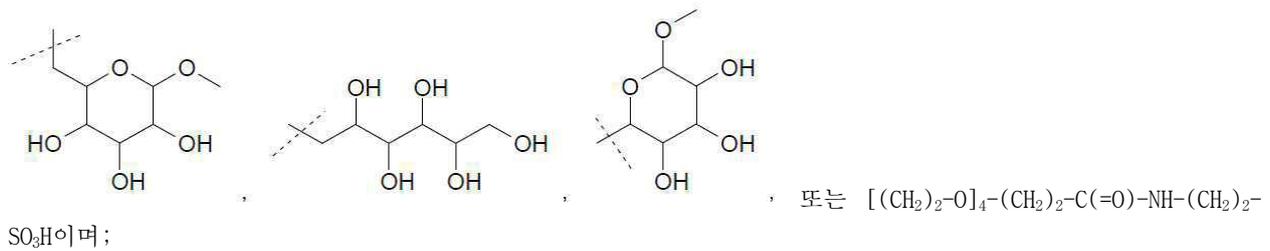
[0407] 하나 이상의 실시 형태에 따르면, 치환 아미노산 AA₈는 화학식 VI을 가지며, 여기서,



[0408] ● T는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, (C₁-C₈) 3가 알킬 기, 예컨대 , 또는 를 나타내며;

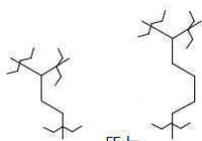
[0409] ● U 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;

[0410] ● A₉는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화, 선택적 치환 C₁-C₁₀₀ 탄화수소 사슬을 나타내고, 여기서, 선택적으로 하나 이상의 메틸렌 단위는 독립적으로 -C(=O)NH-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -O-, -NH-, 또는 -C(=O)-, 또는 헤테로시클로알킬 기(-OH, -O알킬, -알킬로부터 선택되는 동일하거나 상이한 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환됨)로 대체되고, 예컨대 A₉는 [(CH₂)₂-O]₄-CH₃, [(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃,



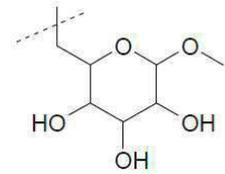
[0411] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₉은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0412] 또 다른 실시 형태에 따르면, 치환 아미노산 AA₈는 화학식 VI을 가지며, 여기서,

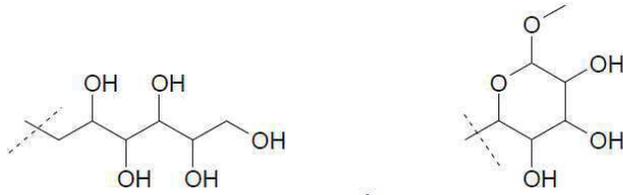


[0413] ● T는 , 또는 를 나타내며;

[0414] ● U 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;



[0415] ● A₉는 [(CH₂)₂-O]₄-CH₃, [(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃,

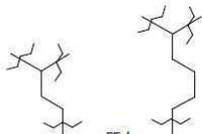


또는 [(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H를

나타내며;

[0416] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₀은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0417] 또 다른 실시 형태에 따르면, 치환 아미노산 AA_s는 화학식 VI을 가지며,

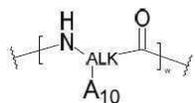


[0418] ● T는 , 또는 를 나타내며;

[0419] ● U 기는 -NH-C(=O)-, 또는 -C(=O)NH-를 나타내며;

[0420] ● A₉는 -[(CH₂)₂-O]_b-CH₃(여기서, "b"는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 24의 범위의 정수, 예컨대 4, 7 및 24, 예를 들어 4 또는 24를 나타냄)을 나타낸다.

[0421] 서열 (AA)_w는 화학식:

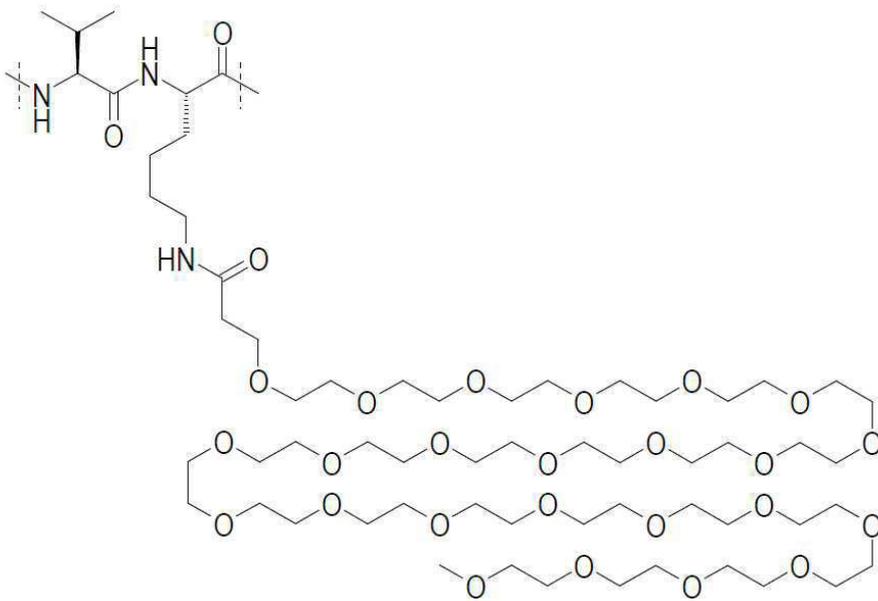
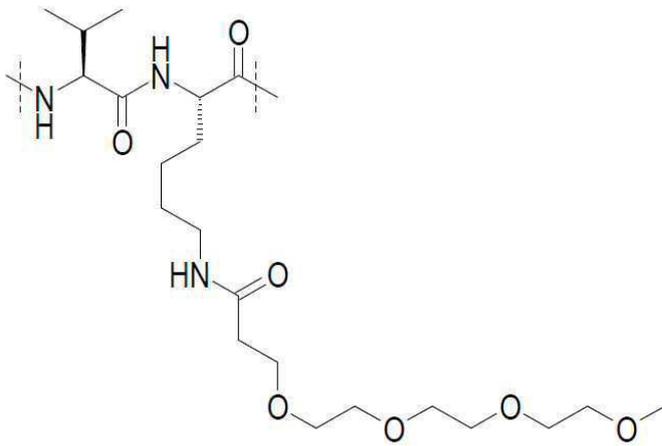


[0422] 를 가지며, 여기서, A₁₀은 상기에 기술된 치환 AA_s 또는 비치환 AA_{ns} 아미노산 중 하나의 측쇄를 나타낸다.

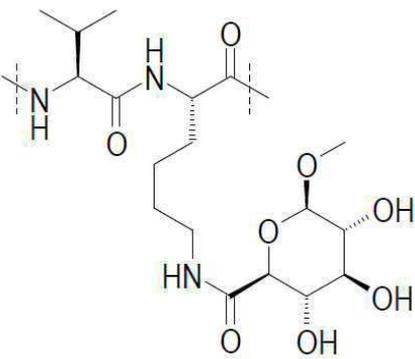
[0423] 비치환 아미노산 (AA_{ns})_w의 서열의 예로는 다음과 같은 것이 있다: Gly-Gly, Phe-Lys, Val-Lys, Val-AcLys, Val-Cit, Phe-Phe-Lys, D-Phe-Phe-Lys, Gly-Phe-Lys, Ala-Lys, Val-Ala, Phe-Cit, Phe-Gly, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Ala, Ala-Phe, Gly-Gly-Gly, Gly-Ala-Phe, Gly-Phe-Gly, Gly-Val-Cit, Gly-Phe-Leu-Cit(서열 번호 3), Gly-Phe-Leu-Gly(서열 번호 4), Ala-Leu-Ala-Leu(서열 번호 5).

[0424] 하나 이상의 실시 형태에 따르면, 비치환 아미노산 AA_{ns}의 서열 (AA_{ns})_w는 하기 목록으로부터 선택된다: Gly-Gly, Phe-Lys, Val-Lys, Val-AcLys, Val-Cit, Phe-Phe-Lys, D-Phe-Phe-Lys, Gly-Phe-Lys, Ala-Lys, Val-Ala, Phe-Cit, Phe-Gly, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Ala, Ala-Phe, Gly-Gly-Gly, Gly-Ala-Phe, Gly-Phe-Gly, Gly-Val-Cit, Gly-Phe-Leu-Cit(서열 번호 3), Gly-Phe-Leu-Gly(서열 번호 4), and Ala-Leu-Ala-Leu(서열 번호 5), 예컨대 Val-Ala 및 Val-Cit, 예를 들어 Val-Ala.

[0425] 적어도 또 다른 실시 형태에 따르면, 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하는 서열 (AA_s)_w는 다음 목록으로부터 선택된다:



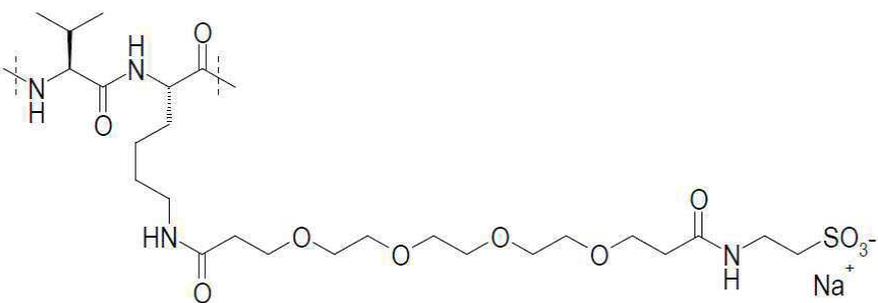
[0427]



[0428]

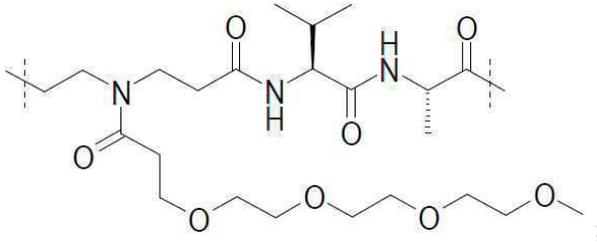
[0429]

또는

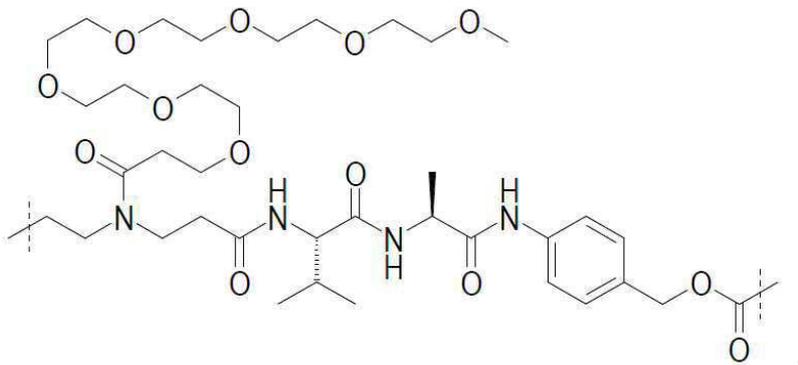
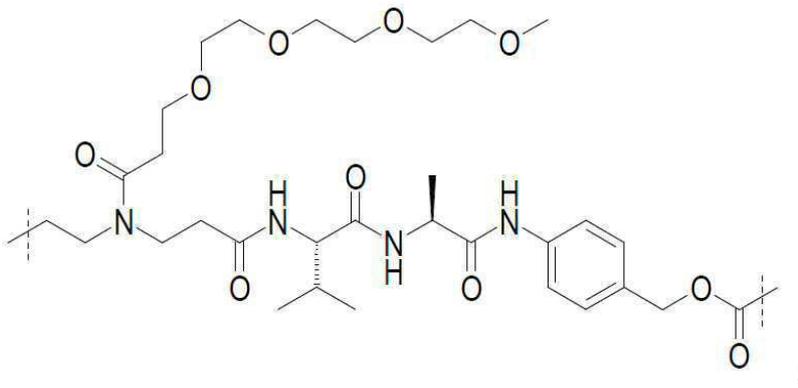
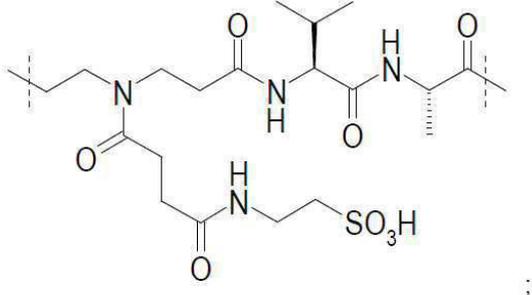


[0430]

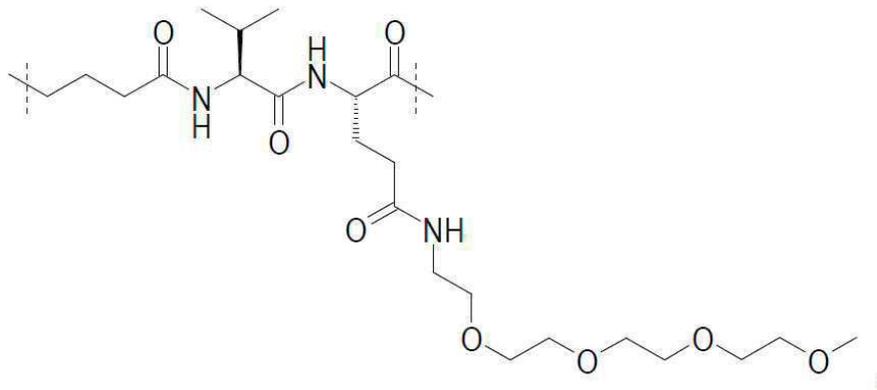
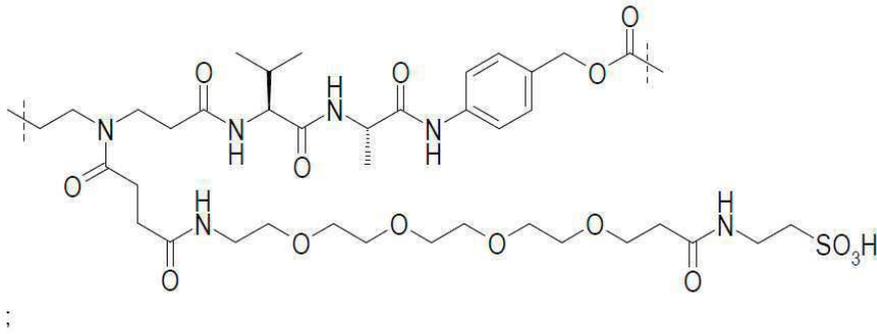
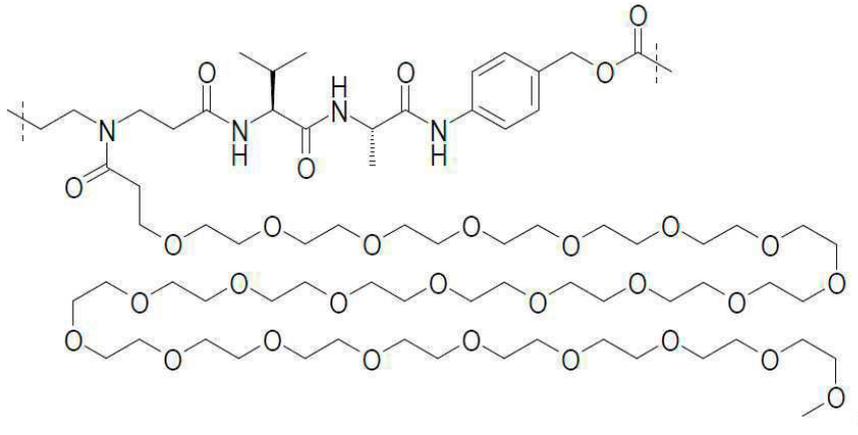
[0431] 본 발명의 주제인 화학식 II의 링커 L 중에서, 예를 들어 하기 화합물이 언급될 수 있다:



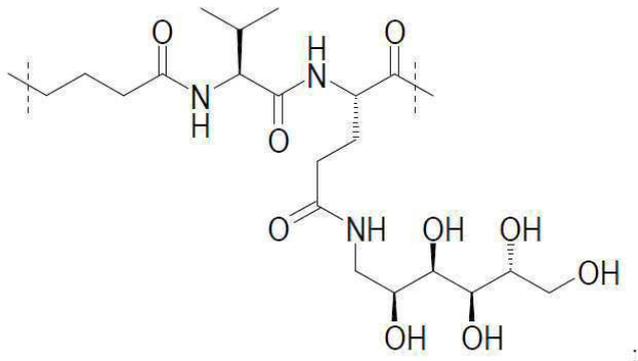
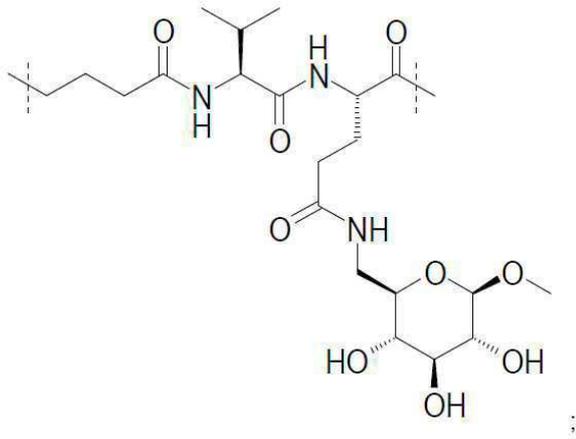
[0432]



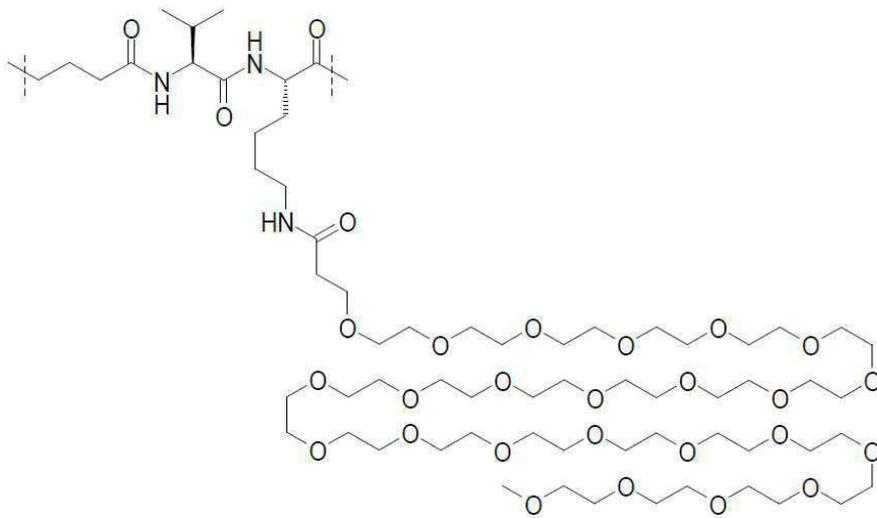
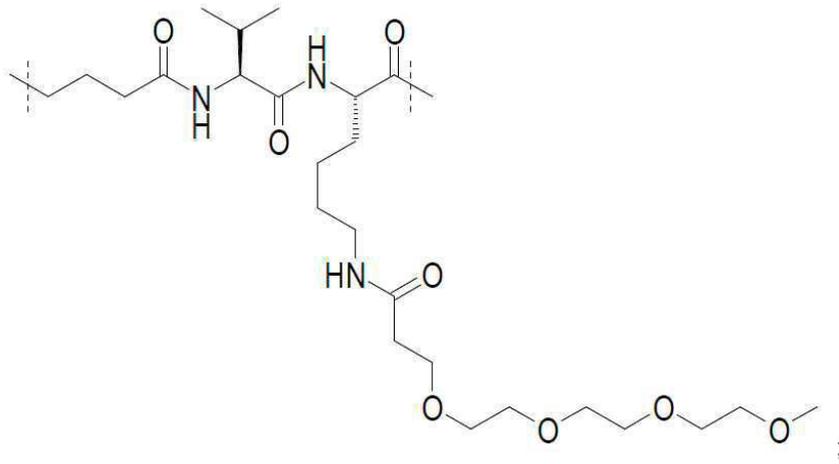
[0433]



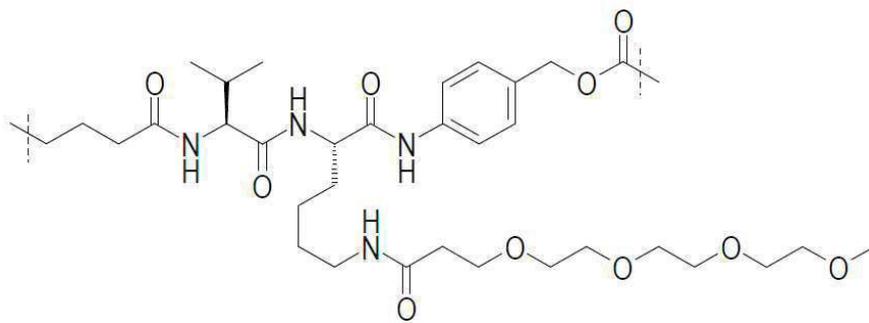
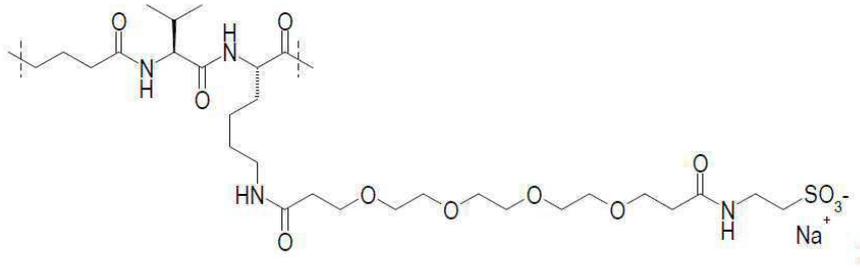
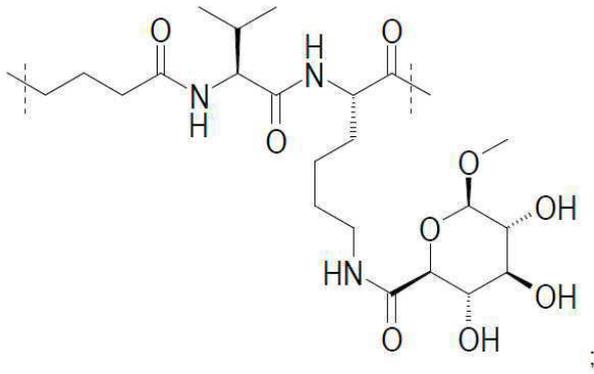
[0434]



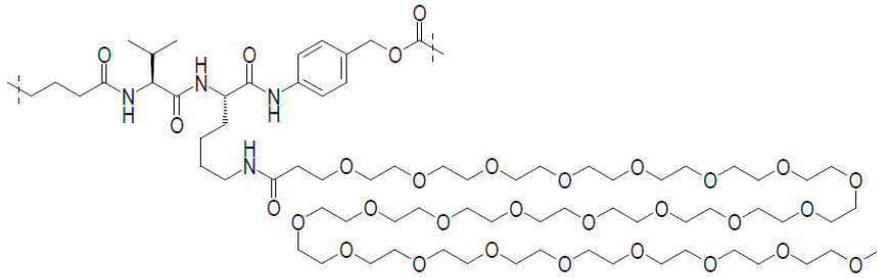
[0435]



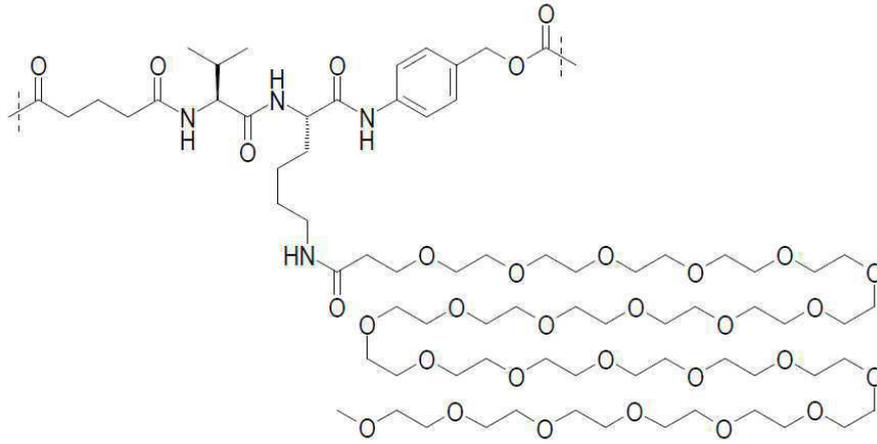
[0436]



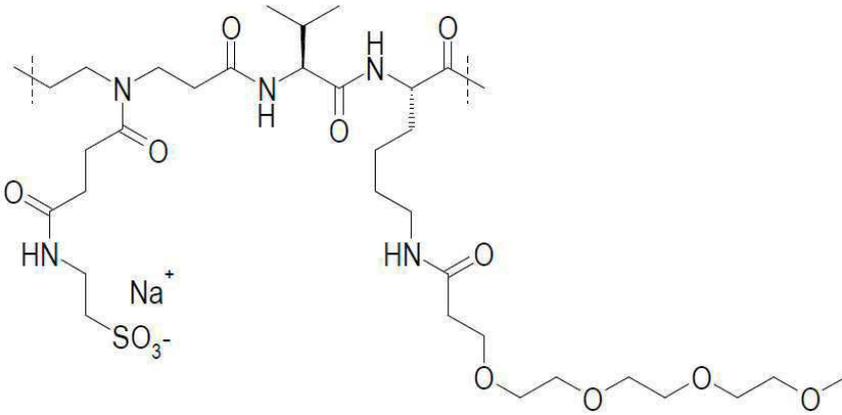
[0437]



;



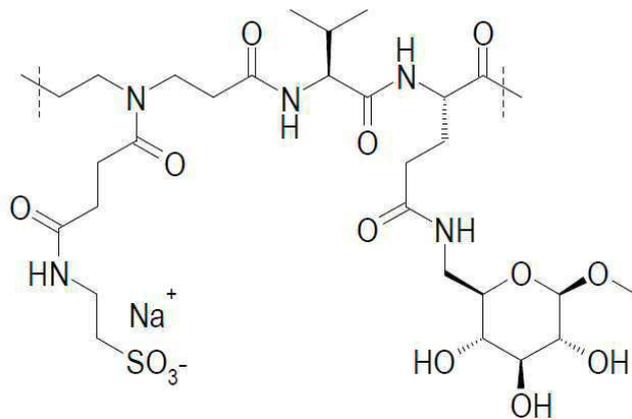
;



[0438]

[0439]

및



[0440]

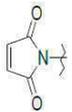
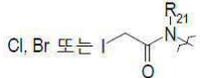
[0441]

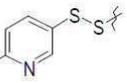
언급될 수 있는 RCG1의 예는 다음을 포함한다:

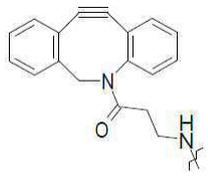
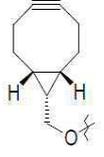
[0442] (i) $R_aZ_a-C(=O)-$ 반응성 기(이때,

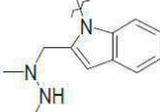
[0443] Z_a 는 단일 결합, $-O-$ 또는 $-NH-$, 예컨대 $-O-$ 를 나타내며,

[0444] R_a 는 수소 원자, (C_1-C_6) 알킬, (C_3-C_7) 시클로알킬, 알케닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 (C_3-C_7) 헤테로시클로알킬 기를 나타냄. 아릴 기, 헤테로아릴 기 및/또는 (C_3-C_7) 헤테로시클로알킬 기는 할로젠 원자, 예컨대 불소 원자, 알킬 기, 알콕시 기, 히드록실 기, 옥소 기, 니트로 기 및 시아노 기로부터 선택되는 1 내지 5개의 원자/기로 치환될 수 있음);

[0445] (ii) 하기 반응성 기 중 하나: 말레이미도  기; 할로아세트아미도  기(이때, R_{21} 은 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기, 예컨대 Me을 나타냄); $Cl-$; N_3- ; $HO-$; $HS-$; 활성화 디설피드, 예컨대

 ; H_2N- ; $HC\equiv C-$ 또는 활성화 $C\equiv C$, 예컨대 시클로옥틴 모이어티, 예를 들어 DBCO-아민

 또는 BCN  또는 MFCO  ; $O-$ 알킬 히드록실아민 또는 픽테트-스켈글러

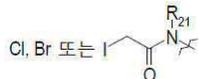
 (Pictet-Spengler) 반응 기질, 예컨대  (문헌[Agarwal P., et al., *Bioconjugate Chem* 2013, 24, 846-851]에 기술됨).

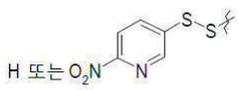
[0446] 특정 실시 형태에 따르면, RCG1은 다음의 것일 수 있다:

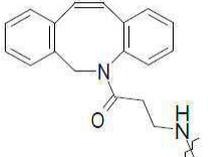
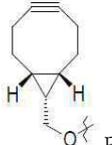
[0447] (i) $R_aZ_a-C(=O)-$ 반응성 기(이때,

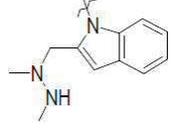
[0448] Z_a 는 단일 결합, $-O-$ 또는 $-NH-$, 예컨대 $-O-$ 를 나타내며,

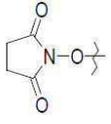
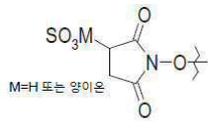
[0449] R_a 는 수소 원자, (C_1-C_6) 알킬, (C_3-C_7) 시클로알킬, 알케닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 (C_3-C_7) 헤테로시클로알킬 기를 나타냄. 아릴 기, 헤테로아릴 기 및/또는 (C_3-C_7) 헤테로시클로알킬 기는 할로젠 원자, 예컨대 불소 원자, 알킬 기, 알콕시 기, 히드록실 기, 옥소 기, 니트로 기 및 시아노 기로부터 선택되는 1 내지 5개의 원자/기로 치환될 수 있음);

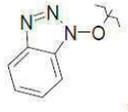
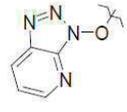
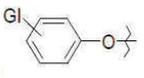
[0450] (ii) 하기 반응성 기 중 하나: 할로아세트아미도  기(이때, R_{21} 은 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬

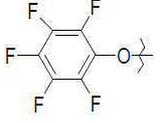
기, 예컨대 Me을 나타냄); $Cl-$; N_3- ; $HO-$; $HS-$; 활성화 디설피드, 예컨대  ; H_2N- ; $HC\equiv C-$

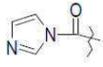
또는 활성화 $C\equiv C$, 예컨대 시클로옥틴 모이어티, 예를 들어 DBCO-아민  또는 BCN  또

는 MFCO  ; 0-알킬 히드록실아민 또는 픽테트-스팽글러 반응 기질, 예컨대  (문헌 [Agarwal P., et al., Bioconjugate Chem 2013, 24, 846-851]에 기술됨).

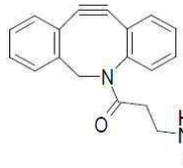
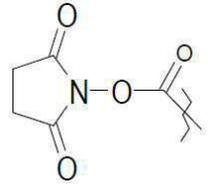
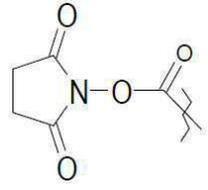
[0451] 예를 들어, R_aZ_a -는 $HO-$, CH_3O- , $CH_2=CH-CH_2O-$,  (O-NHS),  (여기서, 양이온은 예를

[0452] 들어 나트륨, 칼륨 세슘을 나타냄) 또는 , ,  기(여기서, **GI**는 하나 이상의 전자유도 기, 예컨대 $-NO_2$ 또는 할로젠 원자, 예컨대 불소 원자(F)를 나타냄)를 나타낼 수 있다. 이들은 예를 들어 다음의 기일 수 있다:

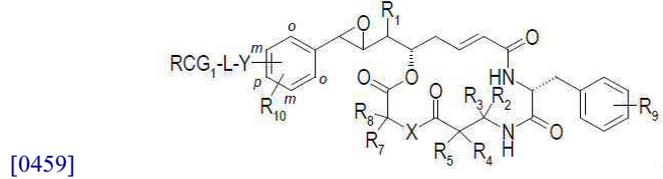
[0453]  또는 .

[0454] 또 다른 유형의 $R_aZ_a-C(=O)-$ 기로는 다음의 것이 있다: .

[0455] 예를 들어, **RCG1**은 예에 기술된 것 중 하나로부터 선택될 수 있으며, 즉, 하기 기로부터 선택될 수 있다:

[0456]  $COOH$,  및 .

[0457] 본 발명은 추가로, 하기 화학식 IV의 크립토펜신 페이로드에 관한 것이다:
 [화학식 IV]



- [0460] 여기서,
- [0461] ■ R_1 은 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타내며,
- [0462] ■ R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타내거나;
- [0463] 또는 대안적으로 R_2 및 R_3 은 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_3-C_6) 시클로알킬 또는 (C_3-C_6) 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;
- [0464] ■ R_4 및 R_5 는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기 또는 (C_1-C_6) 알킬-NH(R_{12}) 기 또는 (C_1-C_6) 알킬-OH 기 또는 (C_1-C_6) 알킬-SH 기 또는 (C_1-C_6) 알킬-C(=O) $_2$ H 기를 나타내거나;

[0465] 또는 대안적으로 R_4 및 R_5 는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_3-C_6)시클로알킬 또는 (C_3-C_6)헤테로시클로알킬기를 형성하며;

[0466] ■ X 는 O 또는 $N(R_6)$ 을 나타내며;

[0467] ■ R_6 은 수소 원자 또는 (C_1-C_6)알킬기를 나타내며;

[0468] ■ R_7 및 R_8 은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6)알킬기 또는 (C_1-C_6)알킬- $C(=O)_2H$ 기 또는 (C_1-C_6)알킬- $N(C_1-C_6)$ 알킬₂기를 나타내거나;

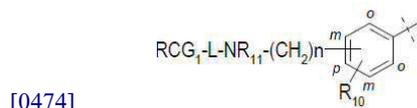
[0469] 또는 대안적으로 R_7 및 R_8 은 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_3-C_6)시클로알킬기 또는 (C_3-C_6)헤테로시클로알킬기를 형성하며;

[0470] ■ R_9 는 서로 독립적으로 수소 원자, -OH, (C_1-C_4)알콕시, 할로젠 원자, -NH₂, -NH(C_1-C_6)알킬 또는 -N(C_1-C_6)알킬₂ 또는 -NH(C_1-C_6)시클로알킬 또는 (C_3-C_6)헤테로시클로알킬기로부터 선택되는 페닐 핵의 하나 이상의 치환체를 나타내며;

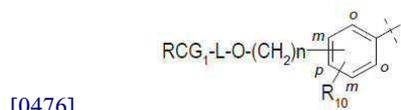
[0471] ■ R_{10} 은 수소 원자 및 (C_1-C_4)알킬기로부터 선택되는 페닐 핵의 하나 이상의 치환체를 나타내며;

[0472] ■ Y 는

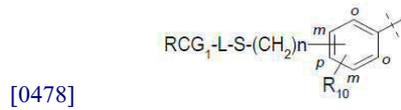
[0473] ● -NR₁₁-(C_1-C_6)알킬-, 예컨대 -NR₁₁-(CH₂)_n-, 예컨대



[0475] ● -O-(C_1-C_6)알킬-, 예컨대 -O-(CH₂)_n-, 예컨대



[0477] ● -S-(C_1-C_6)알킬-, 예컨대 -S-(CH₂)_n-, 예컨대



[0479] ■ Y 는 페닐 핵의 오르토(o), 메타(m) 또는 파라(p) 위치에 위치하며;

[0480] ■ R_{11} 및 R_{12} 는 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6)알킬, 예를 들어 수소 원자 또는 메틸기를 나타내며;

[0481] ■ n 은 1 내지 6의 범위의 정수를 나타냄);

[0482] ■ L 은 화학식 I에서와 같이 정의되고, 본 발명에서 정의된 바와 같은 화학식 II의 링커를 나타내며;

[0483] ■ RCG1은 링커 L의 말단에 존재하는 반응성 화학기를 나타내고, RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기에 대하여 반응성을 갖는다. RCG1은 상기에 정의되어 있다.

[0484] 각각의 치환체 R_1 내지 R_{12} 는 예에 기술된 바와 같은 공간 배열(예를 들어 R 또는 S 또는 대안적으로 Z 또는 E) 중 하나를 또한 채택할 수 있다. 화학식 IV의 화합물은 하나 이상의 비대칭 탄소 원자를 포함할 수 있다. 따라서, 이 화합물들은 거울상 이성질체 또는 부분입체 이성질체의 형태로 존재할 수 있다. 이러한 거울상 이성질체들 및 부분입체 이성질체들, 및 또한 이들의 혼합물(라세미 혼합물을 포함함)은 본 발명의 일부를 형성한다.

[0485] 일례로서, 화학식 IV의 크립토펜신 화합물은 국제 공개 제2011/001052호에 기술된 화학식 I의 크립토펜신 화합물 중 하나(예컨대 D₁-D₈ 중 하나) 또는 PCT/EP2016/076603에 기술된 화학식 I의 크립토펜신 화합물 중 하나(예

컨대 $D_1 \sim D_{10}$ 중 하나)일 수 있으며, 이는 상기에 언급된 바와 같다.

- [0486] 또는 크립토펬신 화합물은 실시예 중 하나에 기술된 등가의 단위일 수 있다.
- [0487] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_1 이 (C₁-C₆)알킬, 예컨대 메틸 기를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0488] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_2 및 R_3 각각이 수소 원자를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0489] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_2 및 R_3 중 하나가 (C₁-C₆)알킬, 예컨대 메틸 기를 나타내고, 다른 하나가 수소 원자를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0490] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_2 및 R_3 이, 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C₃-C₆)시클로알킬 기, 예컨대 시클로프로필 기를 형성하는 화합물로 구성된다.
- [0491] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_4 및 R_5 각각이 (C₁-C₆)알킬, 예컨대 메틸 기를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0492] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 X가 산소 원자, 즉, O를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0493] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 X가 NH를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0494] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_7 및 R_8 이 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 이소부틸 기 또는 네오펜틸 기를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0495] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_9 가 메톡시 기 및 염소 원자로부터 선택되는 2개의 치환체를 나타내며, 예컨대 상기 2개의 R_9 치환체가 3-CI 및 4-메톡시인 화합물로 구성된다. 예를 들어, 페닐 핵은 페닐 핵 상의 위치 3 및 위치 4에서 2개의 치환체를 포함한다.
- [0496] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_{10} 이 수소 원자를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0497] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 Y가 페닐 핵의 *para* 위치에 위치하는 화합물로 구성된다.
- [0498] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 Y가 NR₁₁-(C₁-C₆)알킬, 예컨대 NR₁₁-(C₁-C₃)알킬, 예를 들어 NH-CH₂를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0499] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L이 w 아미노산 (AA)_w의 서열에서 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하고, L1 및 L2가 화학식 II에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.
- [0500] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L이 w 비치환 아미노산 AA_{ns}의 서열을 포함하고, L1 및 L2가 화학식 II에서 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.
- [0501] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하고, L2가
- [0502] - (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₃ 기;
- [0503] - C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 C(=O)-(CH₂)₃ 기; 또는
- [0504] - (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂ 기를 나타내며, 여기서, A₇은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.
- [0505] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아

미노산 AA_s를 포함하고, L2가

- [0506] - (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₃ 기;
- [0507] - C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 C(=O)-(CH₂)₃ 기; 또는
- [0508] - (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂ 기를 나타내며, 여기서, A₇은 -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기인 화합물로 구성되며;
- [0509] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.
- [0510] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가
- [0511] (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂ 기를 나타내며, 여기서, A₇은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.
- [0512] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가
- [0513] (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂ 기를 나타내며, 여기서, A₇은
- [0514] - C(=O)-[(CH₂)₂-O]_a-CH₃ 기(여기서, "a"는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 24의 범위의 정수, 예컨대 4, 7 및 24를 나타내며, 예를 들어 A₇은 C(=O)-[(CH₂)₂-O]₄-CH₃ 기, C(=O)-[(CH₂)₂-O]₇-CH₃ 기, 또는 a C(=O)-[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃ 기임);
- [0515] - -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기; 또는
- [0516] - C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]_a-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기(여기서, "a"는 1 내지 50의 범위, 예컨대 1 내지 24의 범위의 정수, 예를 들어 4를 나타내며, 예컨대 A₇은 -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기임)를 나타내는 화합물로 구성되며;
- [0517] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.
- [0518] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가 다음을 나타내는 화합물로 구성된다:
- [0519] NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-

NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며; 여기서, **i**, **A₇** 및 **A₈** 은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.

[0520] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가

[0521] NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며; **i**, **A₇** 및 **A₈**은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.

[0522] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 더 바람직한 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가

[0523] NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며; **i**, **A₇** 및 **A₈**이 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.

[0524] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 더욱 더 바람직한 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가

[0525] NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬

기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며; A₇ 및 A₈은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.

[0526] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 가장 바람직한 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가

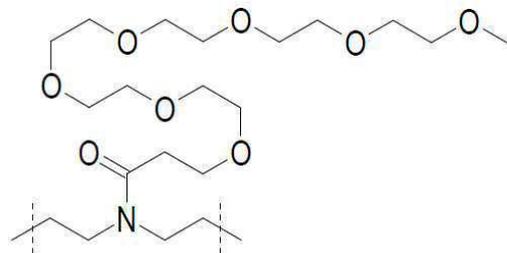
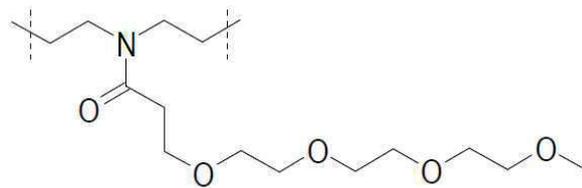
[0527] (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내고; 여기서, A₇은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.

[0528] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가

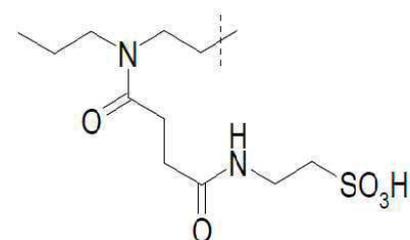
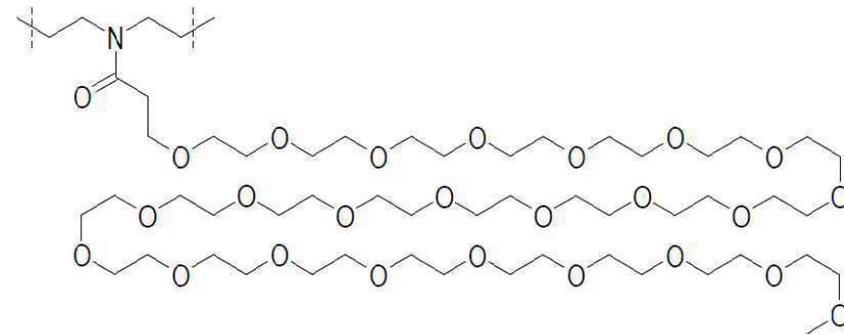
[0529] C(=O)-[(CH₂)₂-O]₄-CH₃ 기; C(=O)-[(CH₂)₂-O]₇-CH₃ 기; C(=O)-[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃ 기; C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기; C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기를 나타내는 A7을 포함하는 화합물로 구성되며;

[0530] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁺Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0531] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가 다음을 나타내는 화합물로 구성된다:

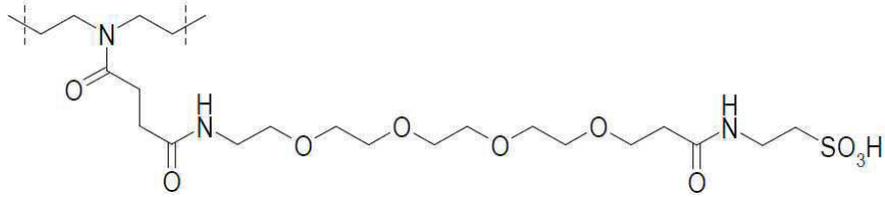


[0532]



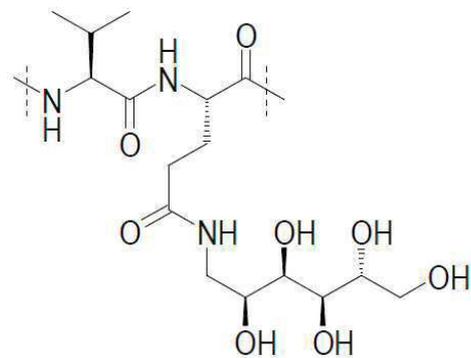
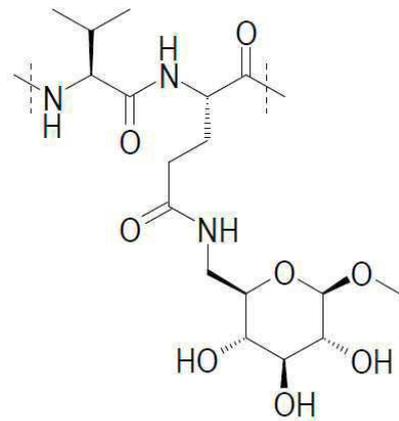
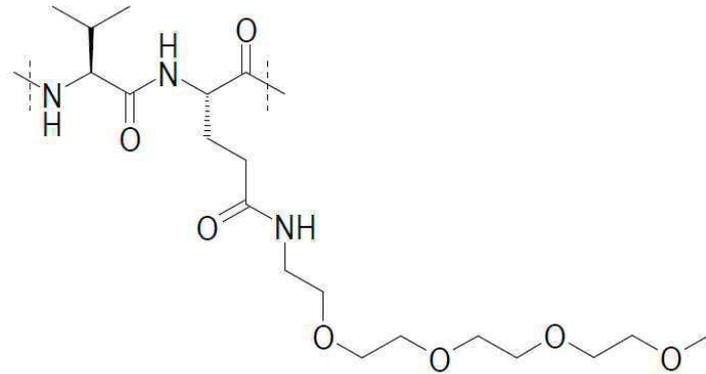
[0533]

[0534] 또는

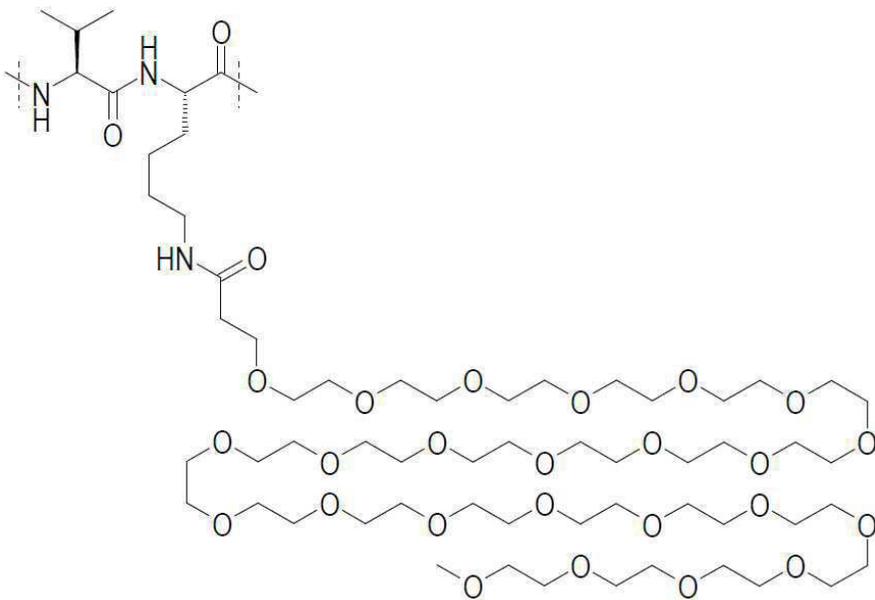
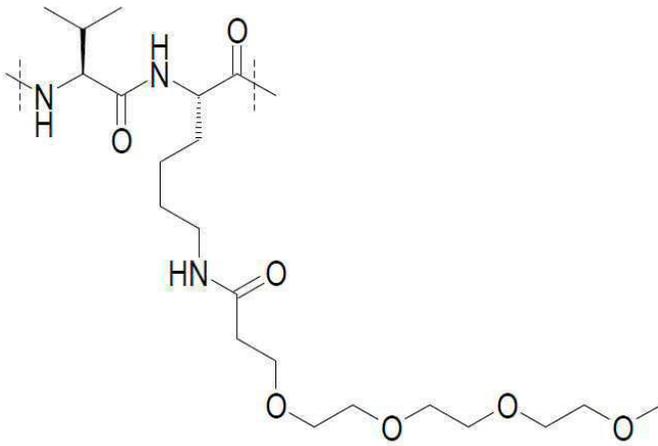


[0535]

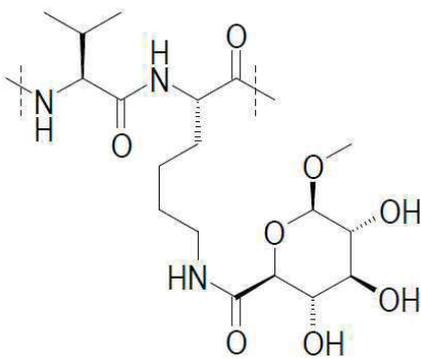
[0536] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s를 포함하는 서열 (AA_s)_w를 L 내에 포함하는 화합물로 구성되며, (AA_s)_w는 다음의 목록으로부터 선택된다:



[0537]



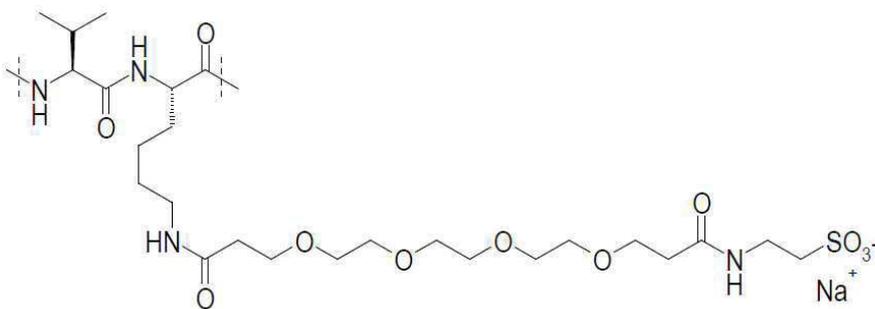
[0538]



[0539]

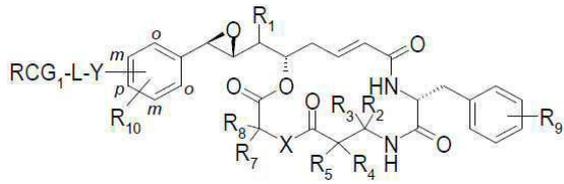
[0540]

또는



[0541]

[0542] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 화합물 군은 하기 구조(베타 에폭시드 배열)의 화합물로 구성된다:



[0543]

여기서,

[0544]

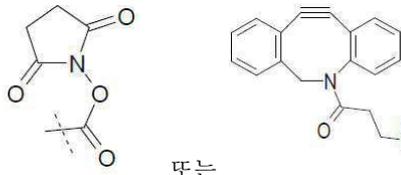
[0545] R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, n, RCG₁, X, Y 및 L은 화학식 IV에서 정의된 바와 같다.

[0546]

[0547] 단독으로 또는 조합되어 취해지는 모든 이러한 하위군들은 본 발명의 일부이다.

[0548]

[0549] 하나 이상의 실시 형태에 따르면, 본 발명은 화학식 IV의 화합물에 관한 것이며, 여기서,

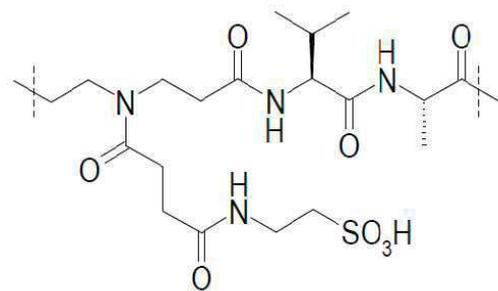
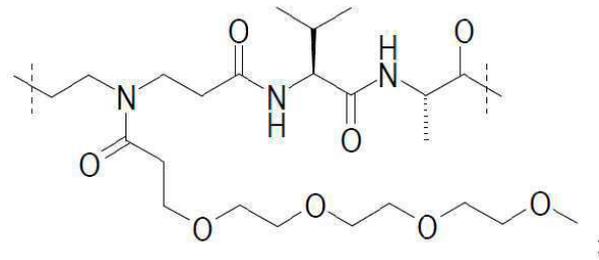


[0548]

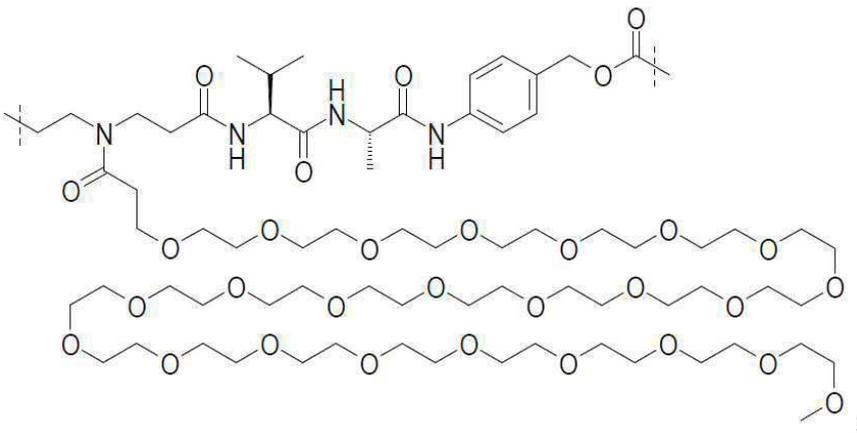
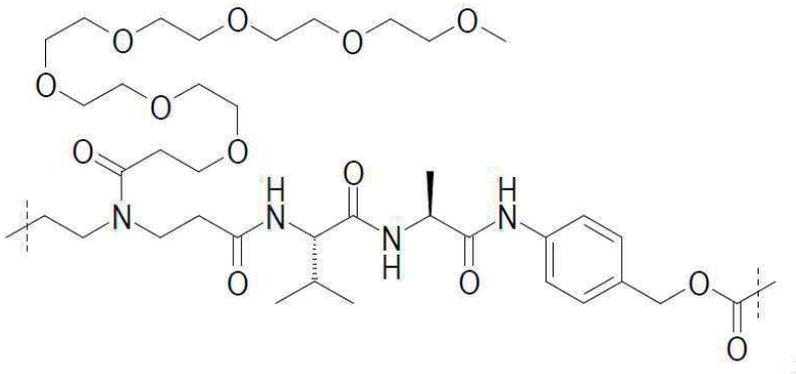
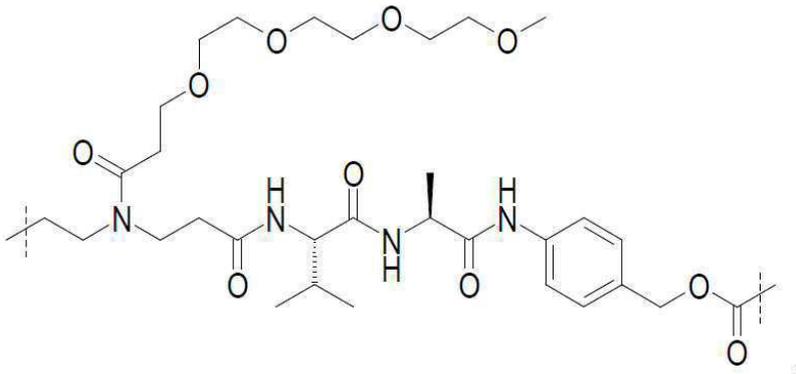
-RCG₁은 COOH, , 또는 이며;

[0549]

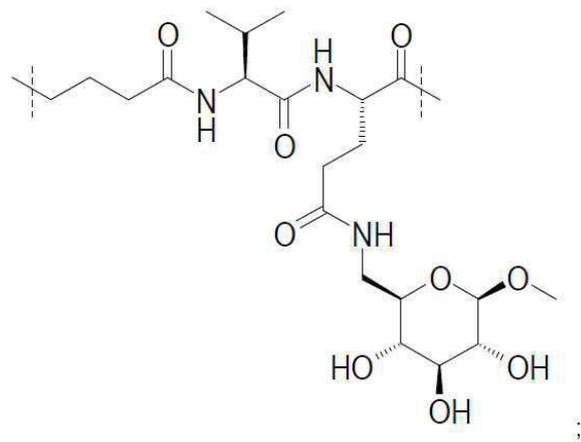
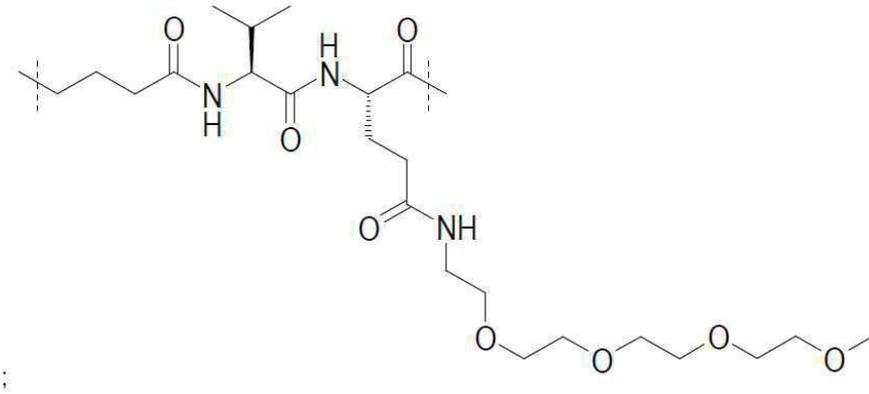
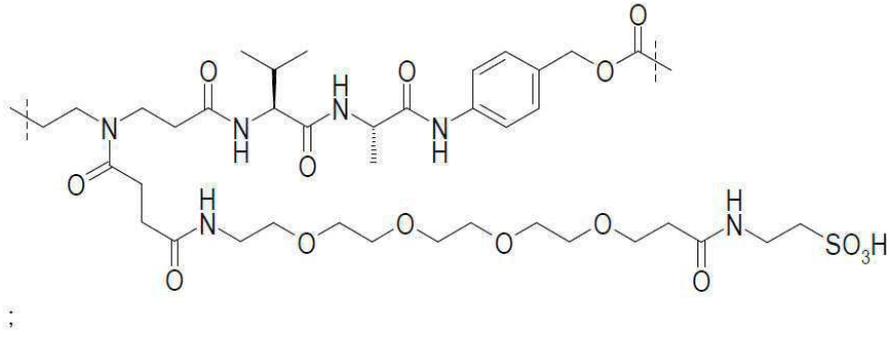
- L은 하기 화학식 II의 화합물:



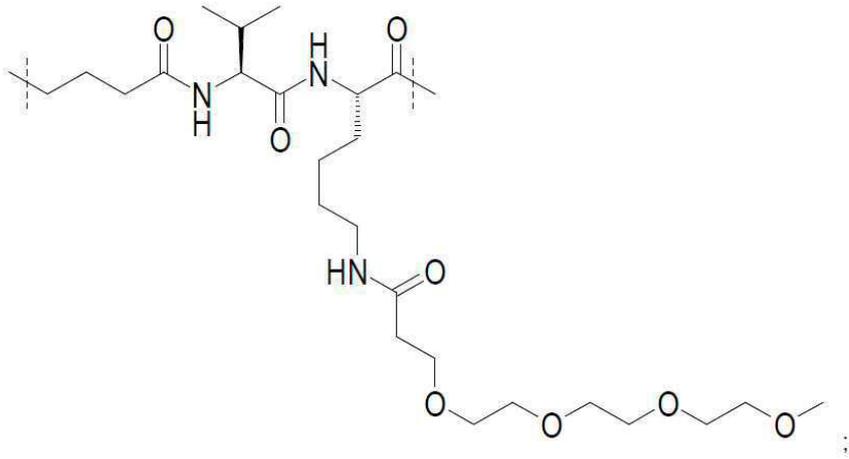
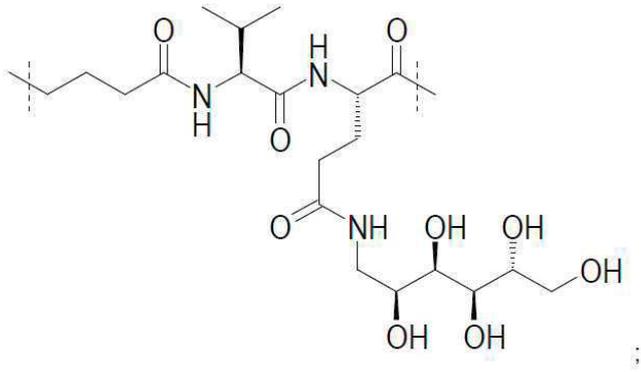
[0550]



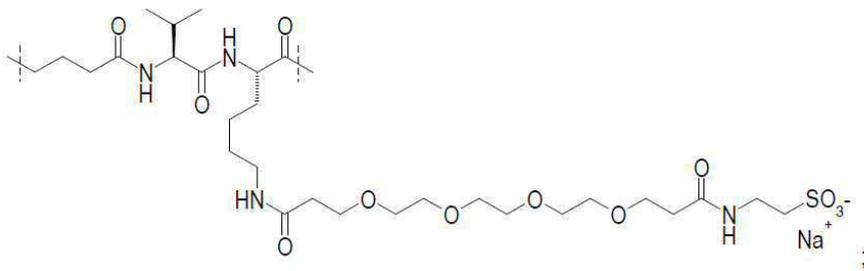
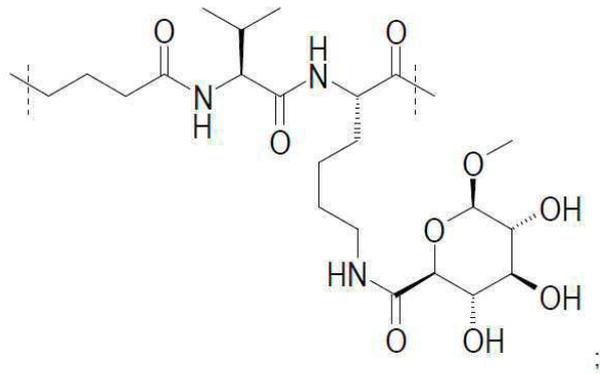
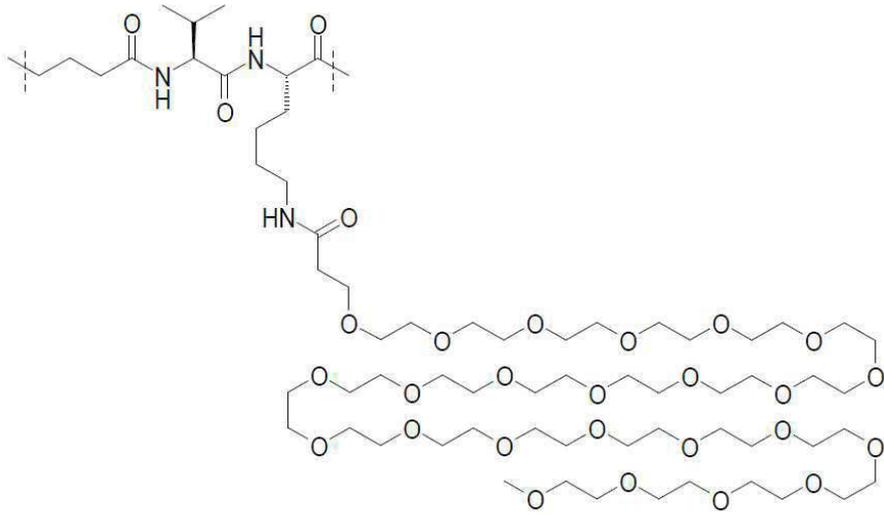
[0551]



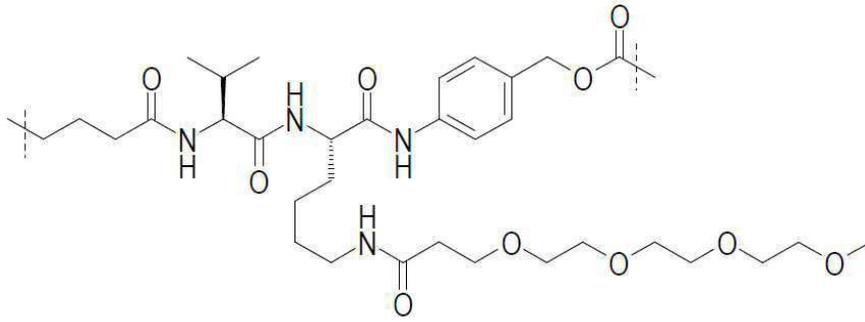
[0552]



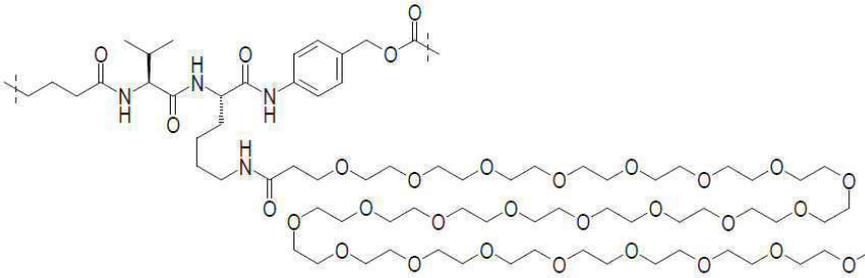
[0553]



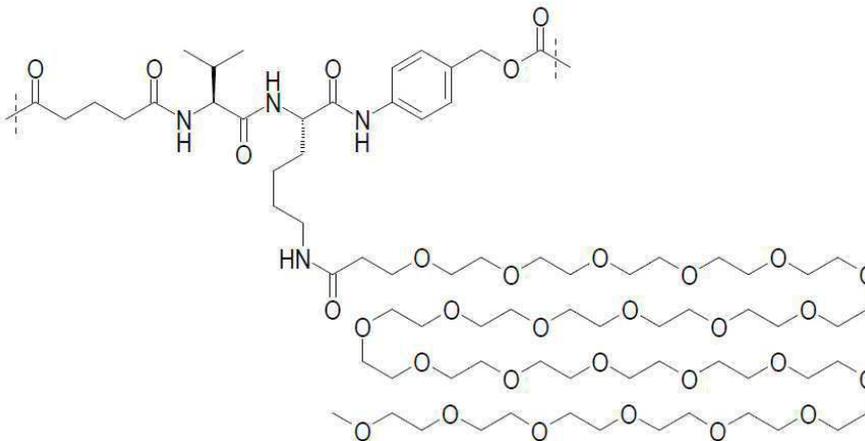
[0554]



;

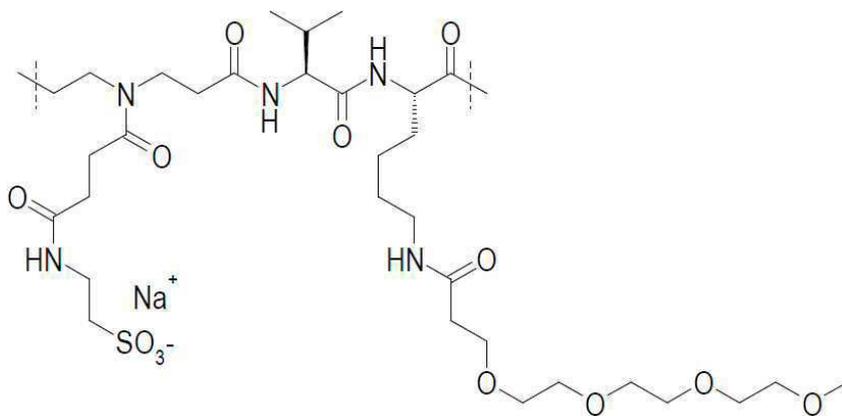


;



;

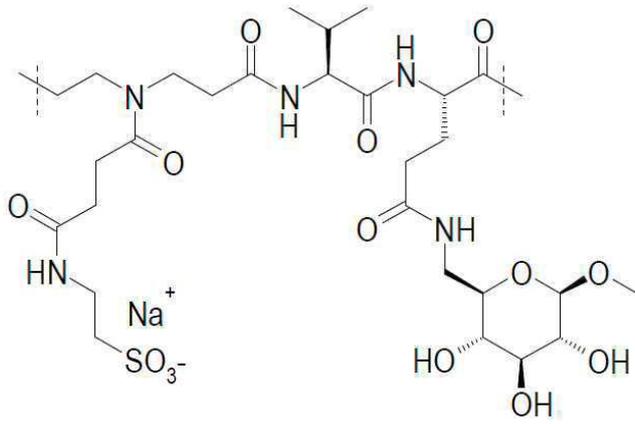
[0555]



[0556]

[0557]

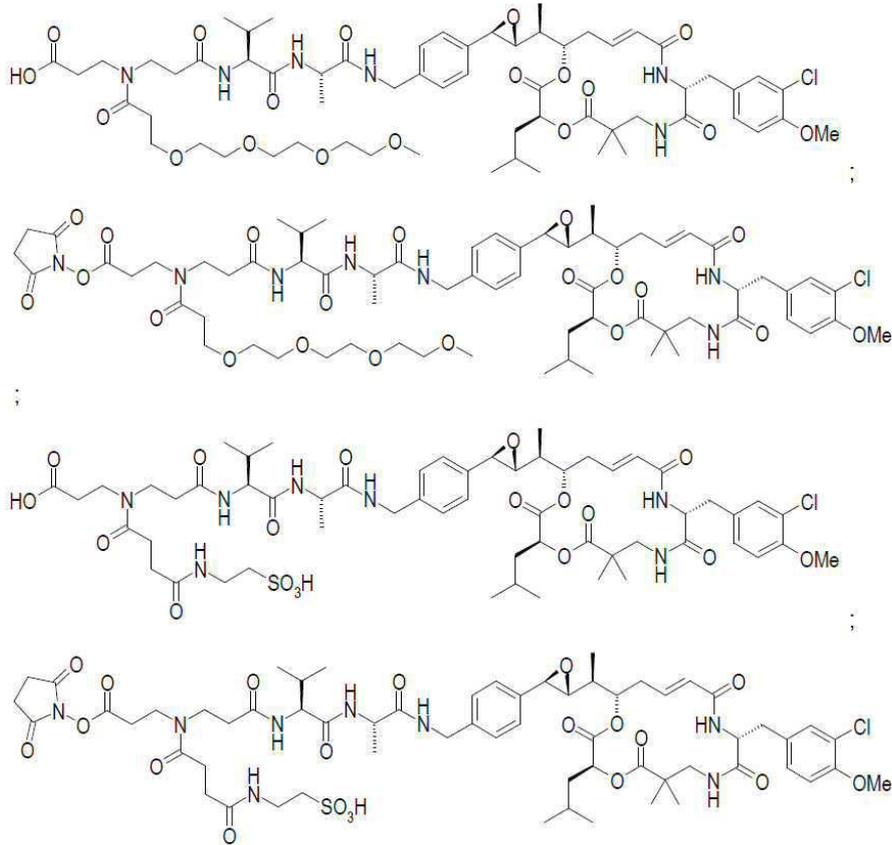
및



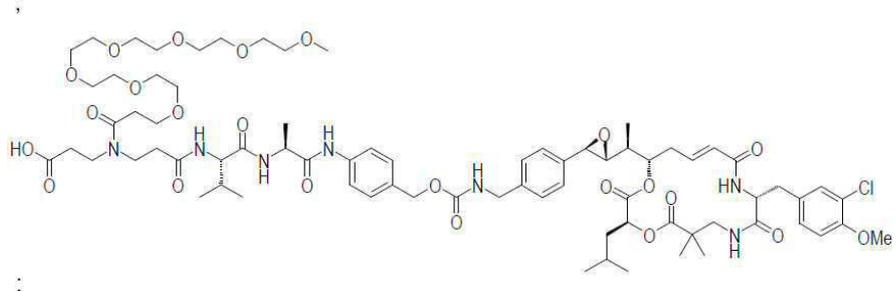
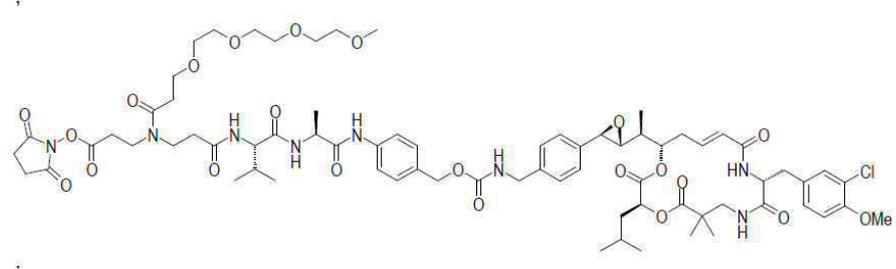
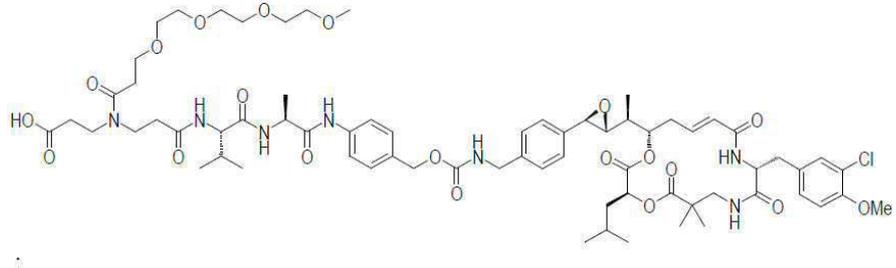
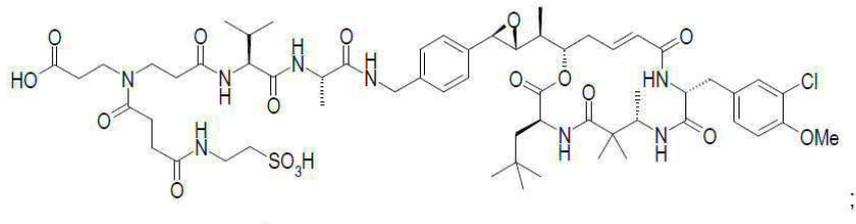
중 하나를 나타내며;

- [0558]
- [0559] - Y는 NR₁₁-(C₁₋₆)알킬(여기서, R₁₁은 수소 원자임)이고, 예컨대 Y는 NH-CH₂이며;
- [0560] - R₁은 (C₁₋₆)알킬 기, 예컨대 메틸 기를 나타내며;
- [0561] - R₂ 및 R₃은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁₋₆)알킬 기, 예컨대 메틸 기를 나타내며;
- [0562] - R₄ 및 R₅는 서로 독립적으로 (C₁₋₆)알킬 기, 예컨대 메틸 기를 나타내며;
- [0563] - R₇ 및 R₈은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁₋₆)알킬 기, 예컨대 이소부틸 기 또는 네오펜틸 기를 나타내며, 예를 들어 R₇ 및 R₈ 중 하나는 (C₁₋₆)알킬 기, 예를 들어 이소부틸 기 또는 네오펜틸 기를 나타내며, R₇ 및 R₈ 중 다른 하나는 수소 원자를 나타내며;
- [0564] - X는 산소 원자 또는 NH를 나타내며;
- [0565] - R₉는 (C₁₋₄)알콕시 기, 예컨대 메톡시 기, 및 할로젠 원자, 예를 들어 염소 원자로부터 선택되는 2개의 치환체를 나타내며, 예컨대 R₉는 3-Cl 및 4-메톡시를 나타내며;
- [0566] - R₁₀은 수소 원자를 나타낸다.

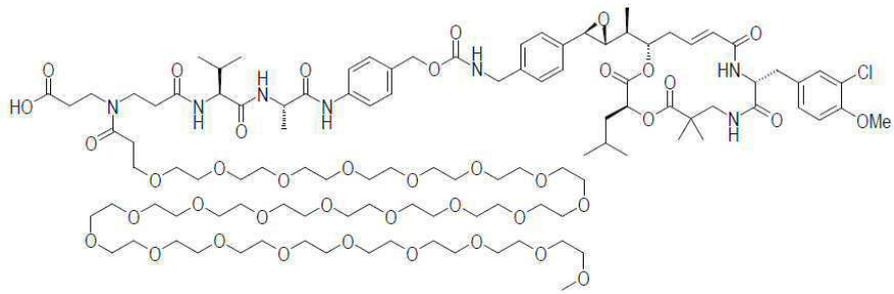
[0567] 본 발명의 주제인 화학식 IV의 화합물 중에서, 구체적으로 하기 화합물이 언급될 수 있다:



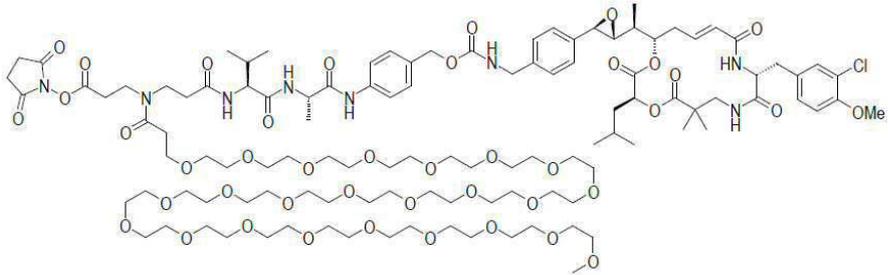
[0568]



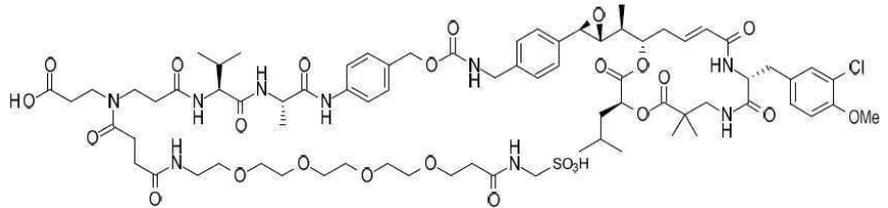
[0569]



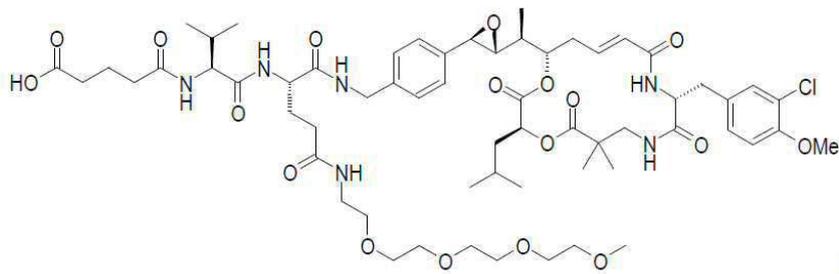
;



;

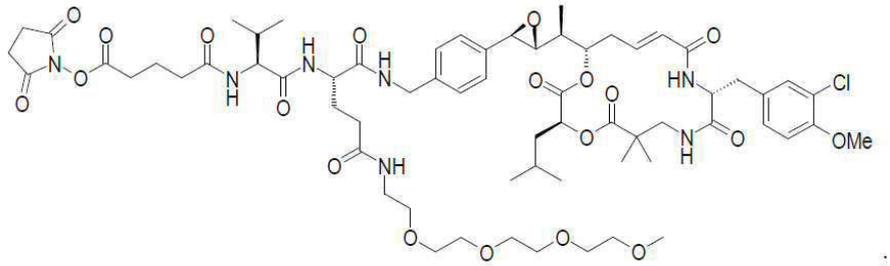


;

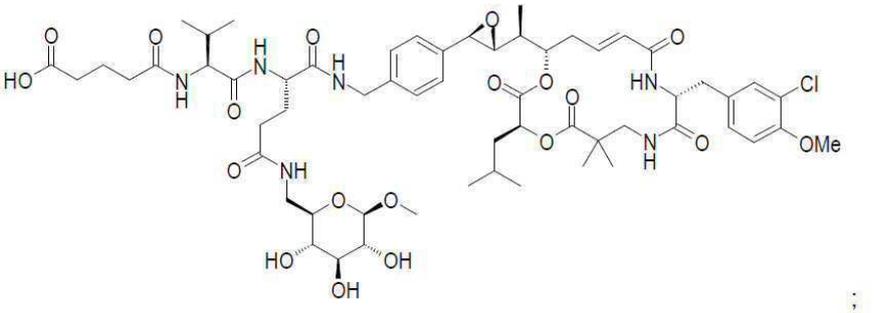


;

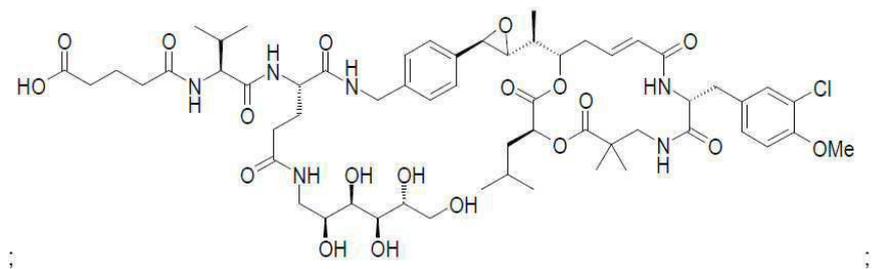
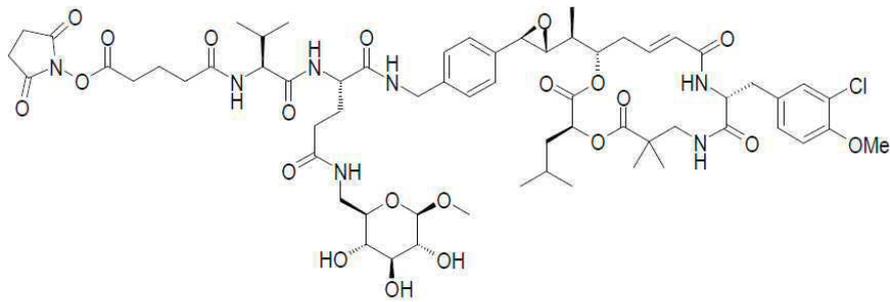
[0570]



;

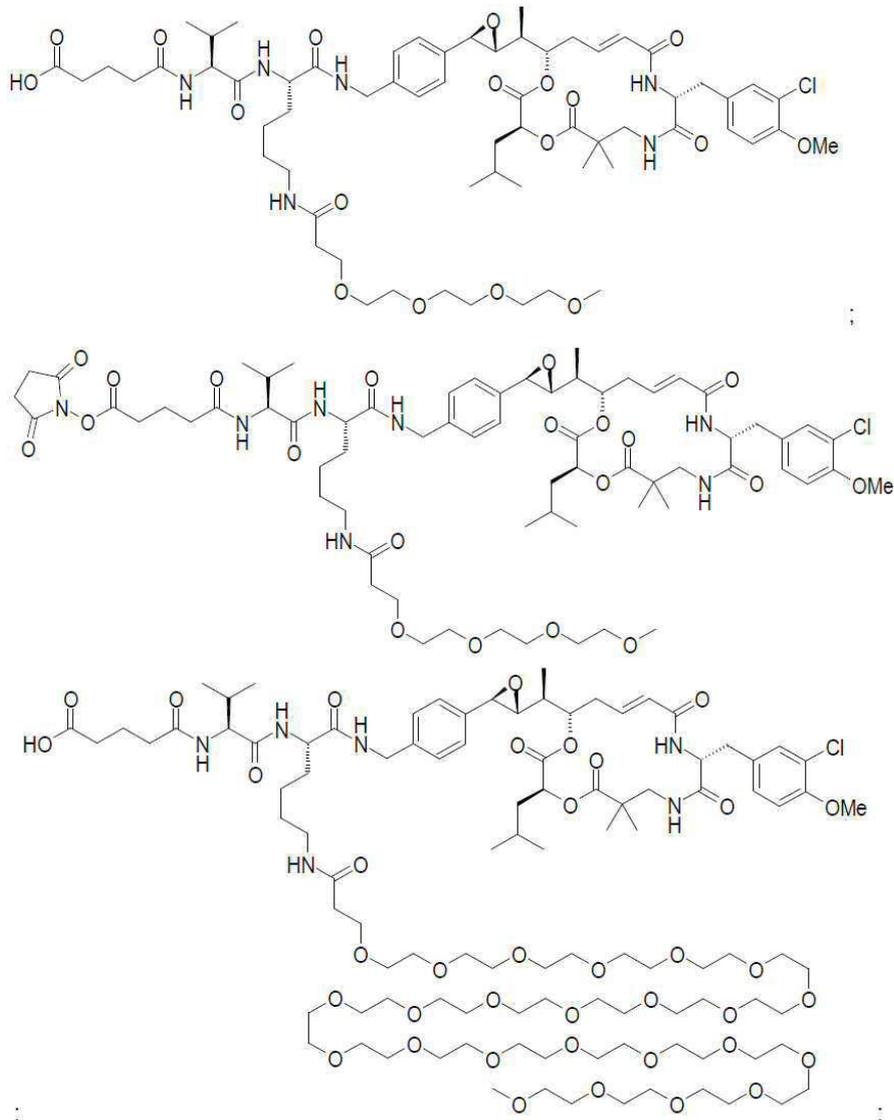


;

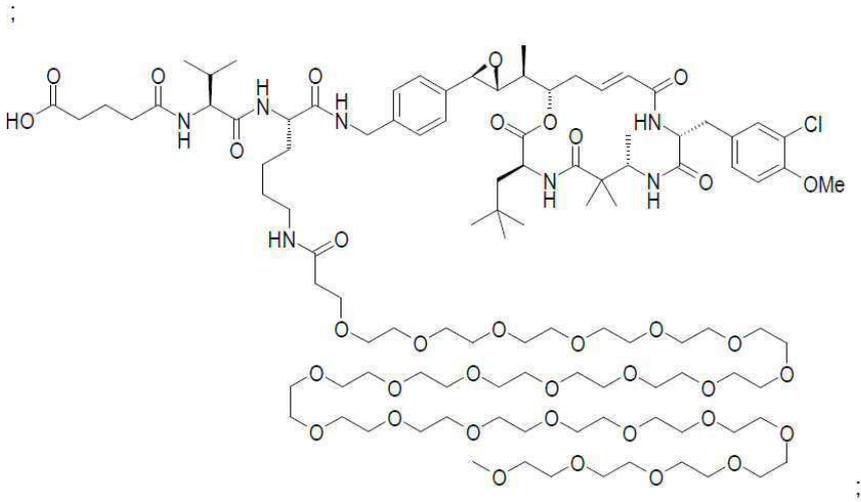
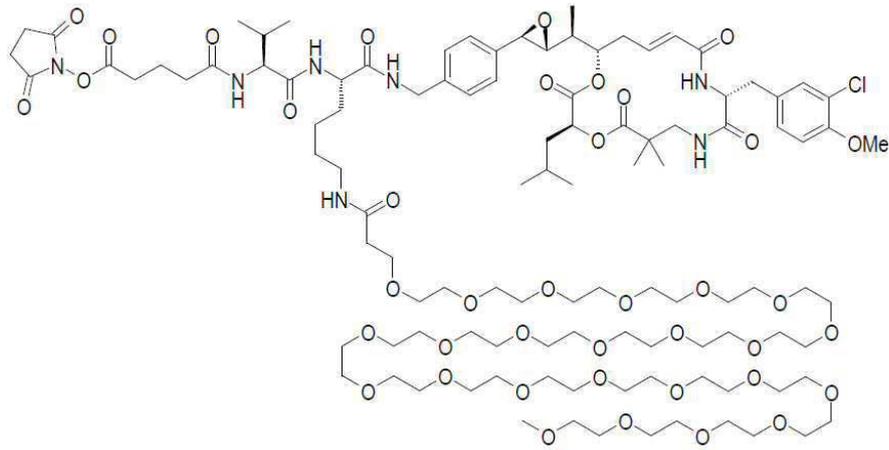


;

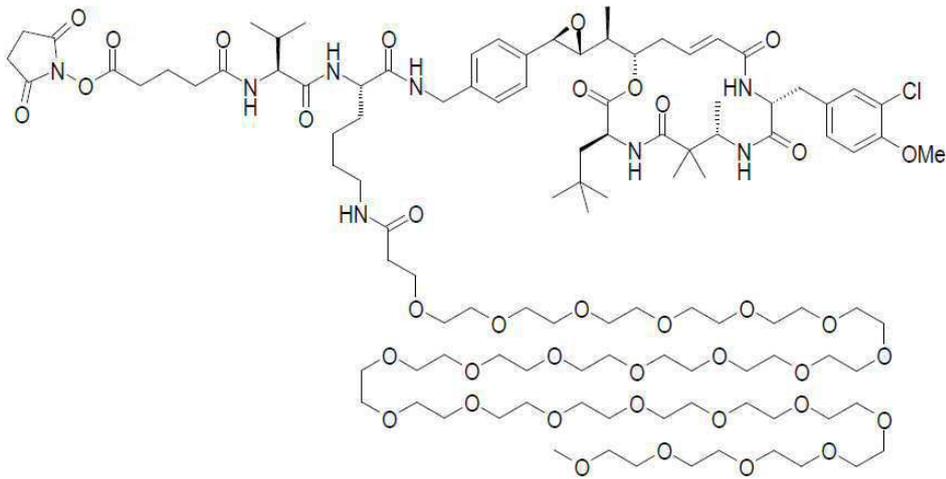
[0571]



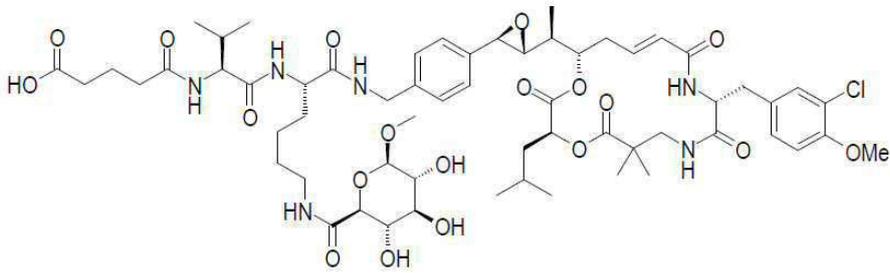
[0572]



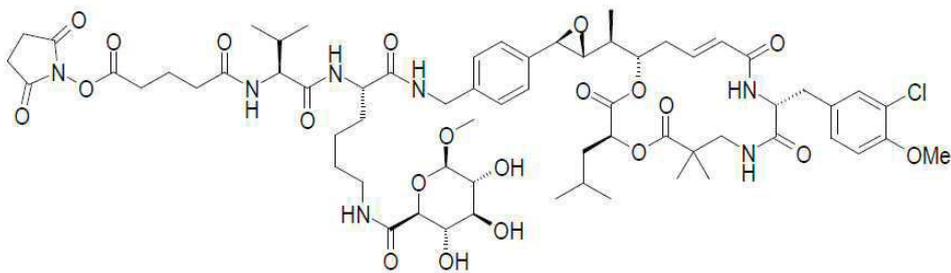
[0573]



;

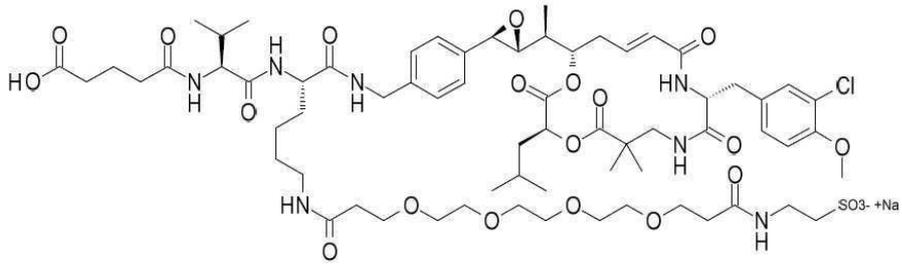


;

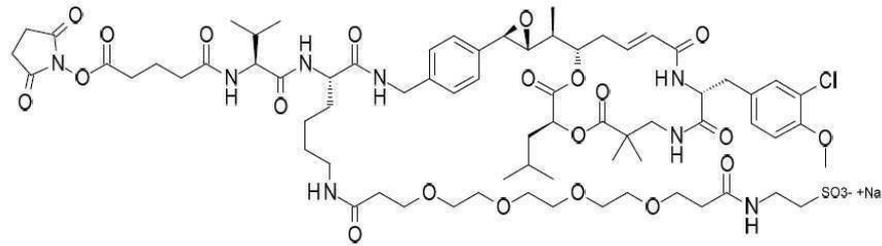


;

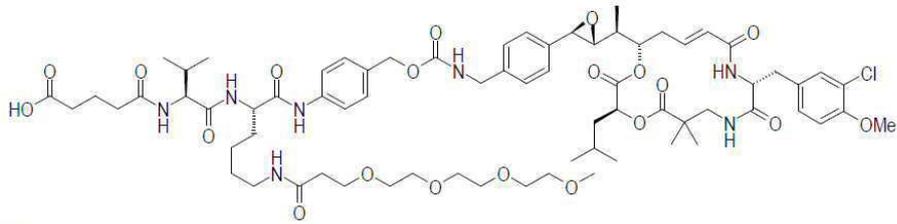
[0574]



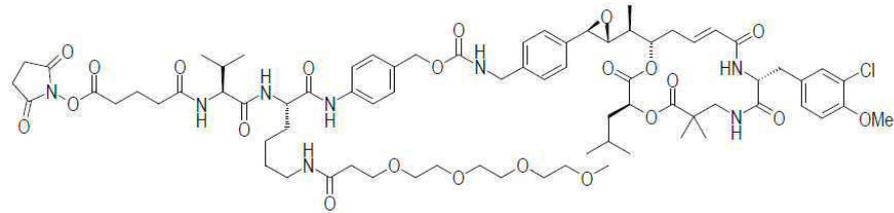
;



;

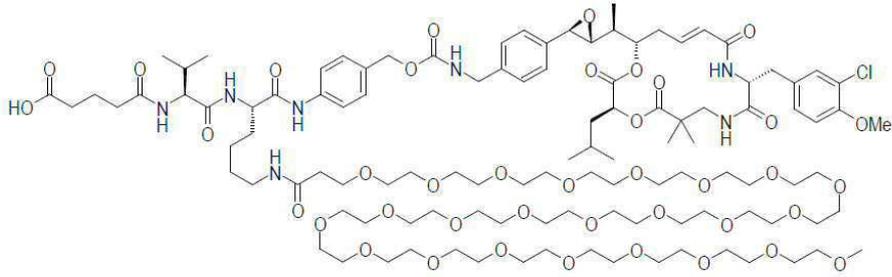


;

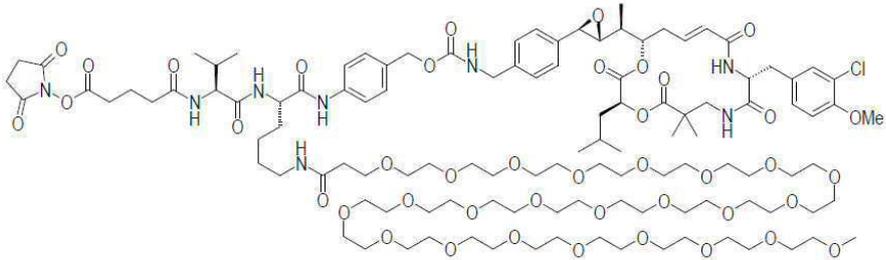


;

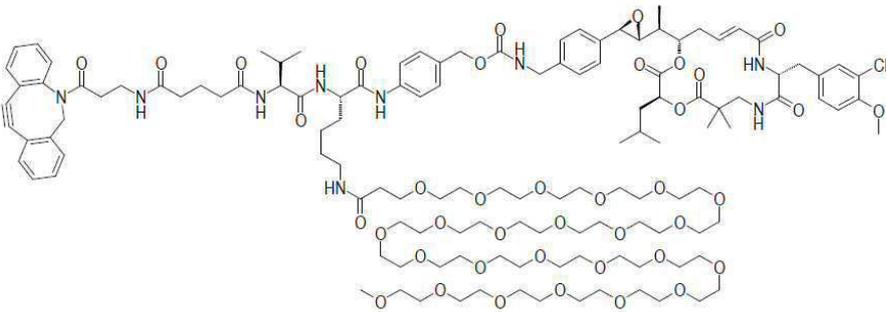
[0575]



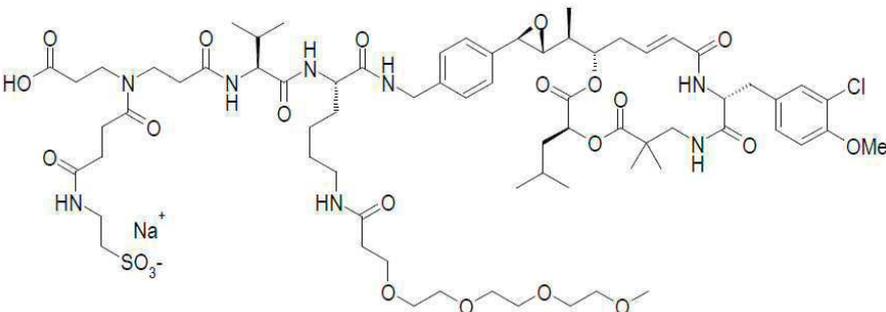
;



;



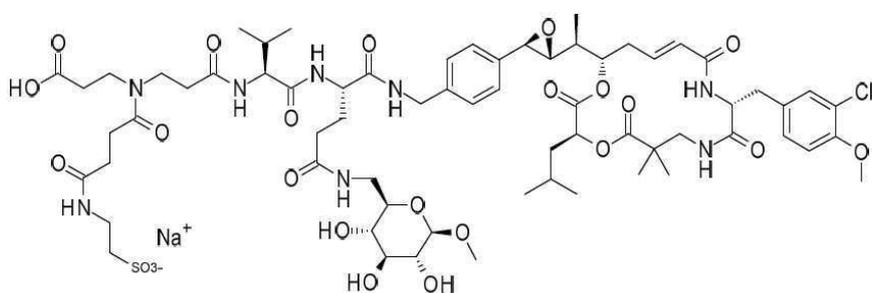
;



[0576]

[0577]

및

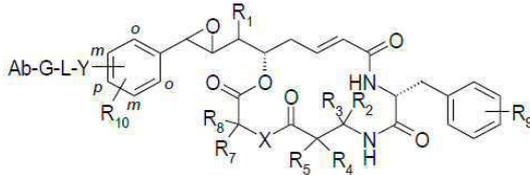


[0578]

[0579]

본 발명은 추가로, 하기 화학식 V의 콘쥬게이트에 관한 것이다:

[0580] [화학식 V]



[0581]

[0582] 여기서,

[0583] ■ R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ 및 R₁₂는 화학식 IV에서 정의된 바와 같으며;

[0584] ■ X, Y 및 L은 화학식 IV에서 정의된 바와 같으며;

[0585] ■ G는 화학식 II의 링커 L의 말단에 존재하는 반응성 화학기인 RCG1과 항체(Ab)와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 오르토고날 반응성 화학기인 RCG2 사이의 반응 생성물을 나타내며;

[0586] ■ Ab는 항체를 나타낸다.

[0587] 화학식 V의 콘주게이트를 수득하기 위한, 화학식 IV의 크립토펬신 페이로드와 항체 사이의 부착은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 반응성 기 RCG2에 대하여 반응성을 갖는 상기에 정의된 바와 같은 페이로드 상에 존재하는 반응성 화학기 RCG1의 반응에 의해 생성된다. RCG1과 RCG2의 반응은 공유 결합의 형성에 의해 항체에 화학식 IV의 화합물이 부착하는 것을 보장한다. 화학식 V의 콘주게이트에서, RCG1 및 RCG2의 일부가 남아서 링커와 항체 사이의 부착을 형성할 수 있다.

[0588] 언급될 수 있는 RCG2는 다음을 포함한다(문헌[Garnett M.C., et al., *Advanced Drug Delivery Reviews* 2001, 53, 171-216]):

[0589] (i) 항체의 표면에 존재하는 라이신 잔기의 측쇄가 갖고 있는 라이신의 ε-아미노 기;

[0590] (ii) 항체 중쇄 및 경쇄의 N-말단 아미노산의 α-아미노 기;

[0591] (iii) 헨지 영역의 당 기;

[0592] (iv) 사슬내 디설피드 결합의 환원에 의해 생성된 시스테인의 티올 또는 조작된 시스테인의 티올;

[0593] (v) 항체의 표면에 존재하는 일부 글루타민 잔기의 측쇄가 갖고 있는 아마이드 기;

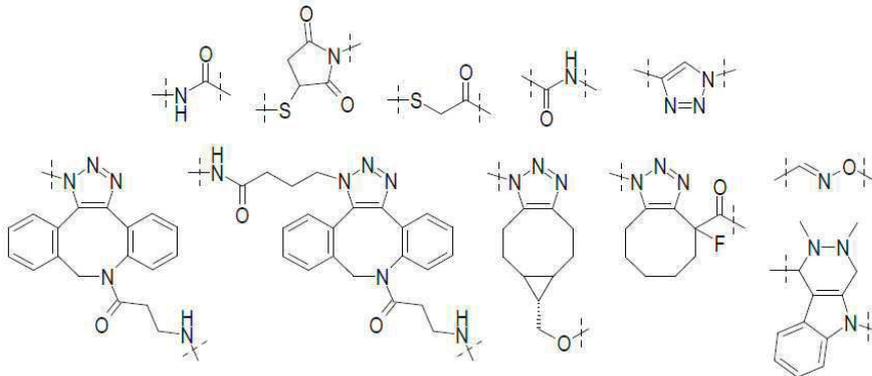
[0594] (vi) 포르밀글리신 생성 효소를 이용하여 도입된 알데히드 기.

[0595] 더 최근에, 다른 콘주게이션 접근법, 예를 들어, 돌연변이에 의한 시스테인의 도입(문헌[Junutula J.R., et al., *Nature Biotechnology* 2008, 26, 925-932]), 다른 유형의 케미스트리(chemistry)를 허용하는 비천연 아미노산의 도입(문헌[Axup J.Y., et al., *PNAS* 2012, 109, 40, 16101-16106]) 또는 항체 글리칸 상에서의 콘주게이션(문헌[Zhou Q., et al., *Bioconjugate Chem.* 2014, 25, 510-520])이 고려된 바 있다. 항체들을 가교결합시키기 위한 시스테인 가교 디브로모말레이미드(문헌[Behrens C.R., et al., *Mol. Pharmaceutics* 2015 3986-3998]) 및 비스-술폰 시약(문헌[Bryant P., et al., *Mol. Pharmaceutics* 2015 1872-1879])의 사용이 또한 기술된 바 있으며, 본 발명에 적용될 수 있다.

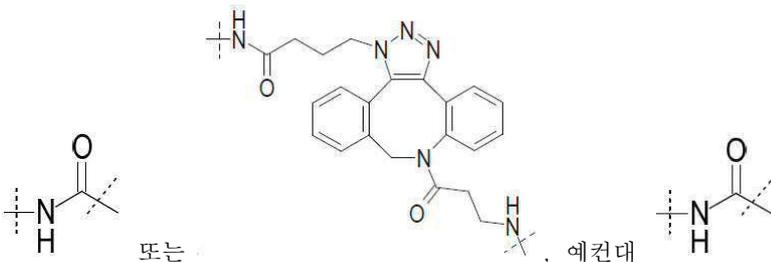
[0596] 항체의 부위-특이적 변형의 또 다른 접근법은 예를 들어 박테리아 트랜스글루타미나아제(문헌[Jeger S., et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 9995-9997]; 문헌[Strop P., et al., *Chem. Biol.* 2013, 20, 161-167]) 또는 포르밀글리신 생성 효소(문헌[Hudak J.E., et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012, 51, 4161-4165])를 사용한 효소 콘주게이션을 기반으로 한다. 부위-특이적 콘주게이션 전략에 대한 개관에 대해서는 문헌[Agarwal P. and Bertozzi C.R., *Bioconjugate Chem* 2015, 26, 176-192]을 참조한다. 또한 이러한 콘주게이션 기술은 본 발명에 기술된 크립토펬신 페이로드에 적용될 수 있다.

[0597] 신규한 반응성 화학기 RCG2를 도입하도록 항체와 같은 폴리펩티드를 화학적으로 변형시키는 것도 가능하다. 이와 같이, 변형제의 도움으로 항체를 변형시켜 예를 들어 활성화 디설피드, 티올, 말레이미도, 할로아세트아미도, 아지도, 알킨 또는 시클로알킨 기를 도입하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다(특히, **국제 공개 제2005/077090호**의 제14면 및 **국제 공개 제2011/001052호** 참조). 상기 변형은 콘주게이션 반응의 개선 및 더 광범위하게 다양한 RCG1 기의 사용을 가능하게 만든다.

- [0598] 예를 들어, RCG1이 상기 유형 (ii)의 것인 경우, 적당한 작용체 RCG2를 도입하도록 하나 이상의 비천연 아미노산을 도입하는 것 또는 적당한 변형제를 이용하여 항체를 화학적으로 변형시키는 것이 가능하다. 예를 들어,
- [0599] - RCG1이 N-히드록시스속신이미딜 에스테르를 나타낼 때, RCG2는 -NH₂ 기를 나타내며;
- [0600] - RCG1이 말레이미도 작용체, 할로아세트아미도 작용체, 염소 원자 또는 활성화 디설피드를 나타낼 때, RCG2는 SH 기일 수 있으며;
- [0601] - RCG1이 N₃ 기를 나타낼 때, RCG2는 C≡CH 작용체 또는 활성화 C≡C 작용체, 예컨대 시클로옥틴 모이어티일 수 있으며;
- [0602] - RCG1이 OH 기 또는 NH₂ 기를 나타낼 때, RCG2는 카르복실산 또는 아마이드 작용체일 수 있으며;
- [0603] - RCG1이 SH 기를 나타낼 때, RCG2는 말레이미도 작용체, 할로아세트아미도 작용체 또는 활성화 디설피드 작용체일 수 있으며;
- [0604] - RCG1이 C≡CH 작용체 또는 활성화 C≡C 작용체를 나타낼 때, RCG2는 N₃ 기일 수 있으며;
- [0605] - RCG1이 O-알킬 히드록실아민 작용체 또는 픽테트-스켄글러 반응 기질을 나타낼 때, RCG2는 알데히드 또는 케톤 작용체일 수 있다.
- [0606] 언급될 수 있는 G의 예는 다음을 포함한다:



- [0607]
- [0608] 예를 들어, G는 하기 기를 나타낸다:



- [0609] 또는, 예컨대
- [0610] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 R₁이 (C₁-C₆)알킬, 예컨대 메틸 기를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0611] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 R₂ 및 R₃ 각각이 수소 원자를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0612] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 R₂ 및 R₃ 중 하나가 (C₁-C₆)알킬, 예컨대 메틸 기를 나타내고, 다른 하나가 수소 원자를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0613] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 R₂ 및 R₃이, 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C₃-C₆)시클로알킬 기, 예컨대 시클로프로필 기를 형성하는 화합물로 구성된다.

- [0614] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_4 및 R_5 각각이 (C_1-C_6) 알킬, 구체적으로 메틸 기를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0615] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 X가 산소 원자, 즉, O를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0616] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 X가 NH를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0617] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_7 및 R_8 이 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C_1-C_6) 알킬 기, 예컨대 이소부틸 기 또는 네오펜틸 기를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0618] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_6 가 메톡시 기 및 염소 원자로부터 선택되는 2개의 치환체를 나타내는 화합물로 구성된다. 예를 들어, 페닐 핵은 페닐 핵 상의 위치 3 및 위치 4에서 2개의 치환체를 포함한다. 예를 들어 3-Cl 및 4-메톡시.
- [0619] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 R_{10} 이 수소 원자를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0620] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 Y가 페닐 핵의 *para* 위치에 위치하는 화합물로 구성된다.
- [0621] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 Y가 $NR_{11}-(C_1-C_6)$ 알킬, 예컨대 $NR_{11}-(C_1-C_3)$ 알킬, 예를 들어 $NH-CH_2$ 를 나타내는 화합물로 구성된다.
- [0622] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L이 w 아미노산 $(AA)_w$ 의 서열에서 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 를 포함하고, L1 및 L2가 화학식 II에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.
- [0623] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L이 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 의 서열을 포함하고, L1 및 L2가 화학식 II에서 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.
- [0624] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 $(AA)_w$ 가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 를 포함하고, L2가
- [0625] - (C_1-C_6) 알킬 기, 예컨대 $(CH_2)_3$ 기;
- [0626] - $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 예컨대 $C(=O)-(CH_2)_3$ 기; 또는
- [0627] - (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 예컨대 $(CH_2)_2-NA_7-(CH_2)_2$ 기를 나타내며, 여기서, A_7 은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.
- [0628] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 $(AA)_w$ 가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 를 포함하고, L2가
- [0629] - (C_1-C_6) 알킬 기, 예컨대 $(CH_2)_3$ 기;
- [0630] - $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 예컨대 $C(=O)-(CH_2)_3$ 기; 또는
- [0631] - (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 예컨대 $(CH_2)_2-NA_7-(CH_2)_2$ 기를 나타내며, 여기서, A_7 은 $-C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$ 기인 화합물로 구성되며;
- [0632] SO_3H 작용체를 포함하는 각각의 A_7 은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO_3^+Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.
- [0633] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 $(AA)_w$ 가 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를 포함하고, L2가
- [0634] (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 예컨대 $(CH_2)_2-NA_7-(CH_2)_2$ 기를 나타내며, 여기서, A_7 은 상기에 정의된 바와 같

은 화합물로 구성된다.

- [0635] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가
- [0636] (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂ 기를 나타내며, 여기서, A₇은
- [0637] - C(=O)-[(CH₂)₂-O]_a-CH₃ 기(여기서, "a"는 1 내지 50의 범위, 예를 들어 1 내지 24의 범위의 정수, 예컨대 4, 7 및 24를 나타내며, 예를 들어 A₇은 C(=O)-[(CH₂)₂-O]₄-CH₃ 기, C(=O)-[(CH₂)₂-O]₇-CH₃ 기, 또는 C(=O)-[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃ 기임);
- [0638] - C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기; 또는
- [0639] - C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]_a-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기(여기서, "a"는 1 내지 50의 범위, 예컨대 1 내지 24의 범위의 정수, 예를 들어 4를 나타내며, 예컨대 A₇은 -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H 기임)를 나타내는 화합물로 구성되며;
- [0640] SO₃H 작용체를 포함하는 각각의 A₇은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO₃⁻Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.
- [0641] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가
- [0642] NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-아릴 기, C(=O)-NA₇-헤테로아릴 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기 또는 C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기를 나타내며; 여기서, i, A₇ 및 A₈은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.
- [0643] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 (AA)_w가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns}를 포함하고, L2가
- [0644] NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇ 기, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)알킬 기, NA₇-아릴 기, NA₇-헤테로아릴 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, (C₁-C₆)알킬-NA₇-(C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i 기, (C₁-C₆)알킬-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)알킬 기, C(=O)-(C₁-

C_6 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7$ -아릴 기, $C(=O)-NA_7$ -헤테로아릴 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며; 여기서, i , A_7 및 A_8 은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.

[0645] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 더 바람직한 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 $(AA)_w$ 가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를 포함하고, L2가

[0646] $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, (C_1-C_6) 알킬- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬- $(OCH_2CH_2)_i$ 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며; 여기서, i , A_7 및 A_8 은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.

[0647] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 더욱 더 바람직한 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 $(AA)_w$ 가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를 포함하고, L2가

[0648] $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- NA_7 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- NA_7 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ 알킬 기, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기, 또는 $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내며; 여기서, A_7 및 A_8 은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.

[0649] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 가장 바람직한 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 $(AA)_w$ 가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를 포함하고, L2가

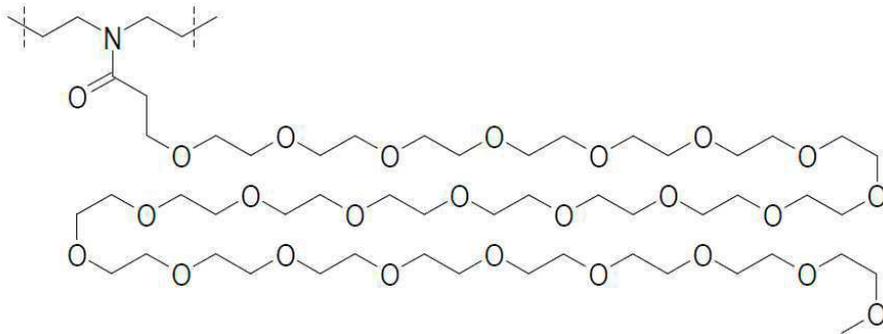
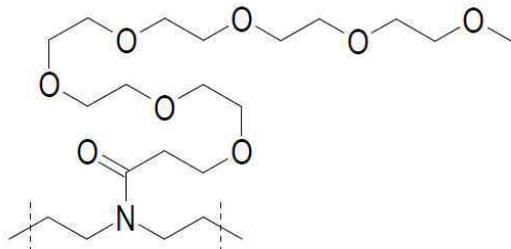
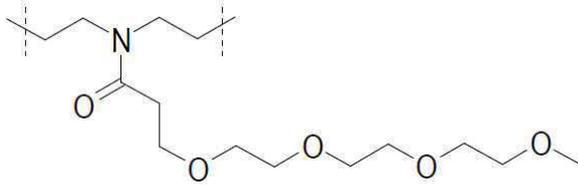
[0650] (C_1-C_6) 알킬- $NA_7-(C_1-C_6)$ 알킬 기를 나타내고; 여기서, A_7 은 상기에 정의된 바와 같은 화합물로 구성된다.

[0651] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 $(AA)_w$ 가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를 포함하고, L2가

[0652] $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_4-CH_3$ 기; $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_7-CH_3$ 기; $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_{24}-CH_3$ 기; $C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$ 기; $C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-[(CH_2)_2-O]_4-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$ 기를 나타내는 A_7 을 포함하는 화합물로 구성되며;

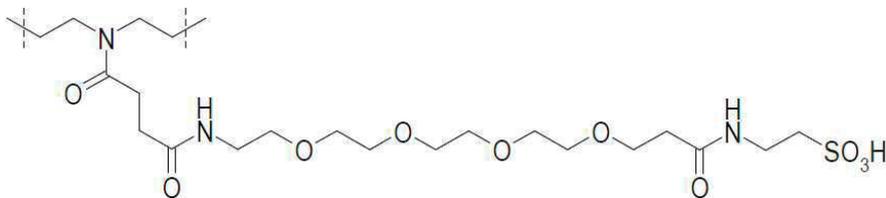
[0653] SO_3H 작용체를 포함하는 각각의 A_7 은 염 형태, 예컨대 알칼리 금속 염, 예를 들어 나트륨 염(SO_3^+Na)으로 존재할 수 있음이 이해된다.

[0654] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 화학식 II의 L에서의 $(\text{AA})_w$ 가 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 및/또는 w 비치환 아미노산 AA_{ns} 를 포함하고, L2가 다음을 나타내는 화합물로 구성된다:



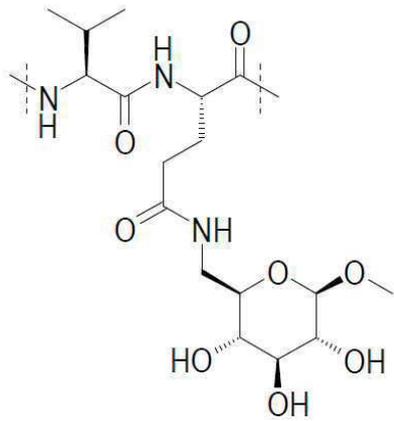
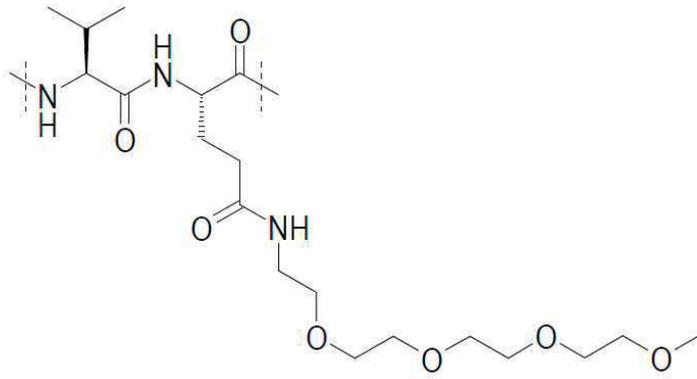
[0656]

[0657] 또는

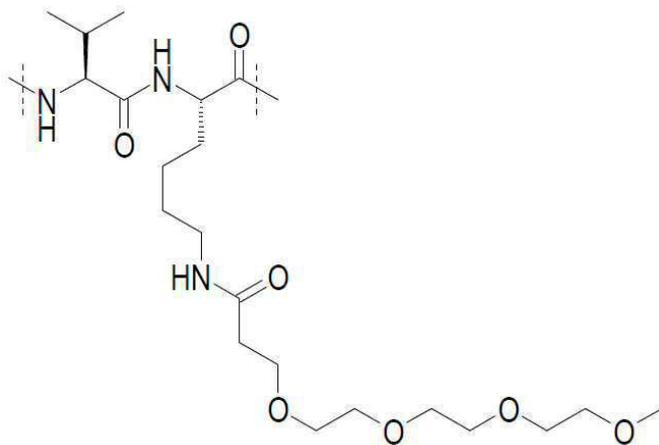
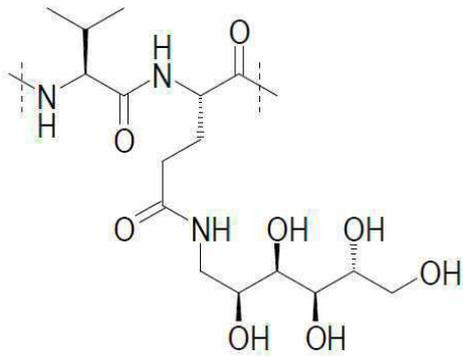


[0658]

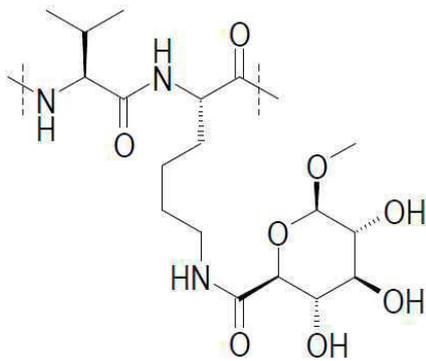
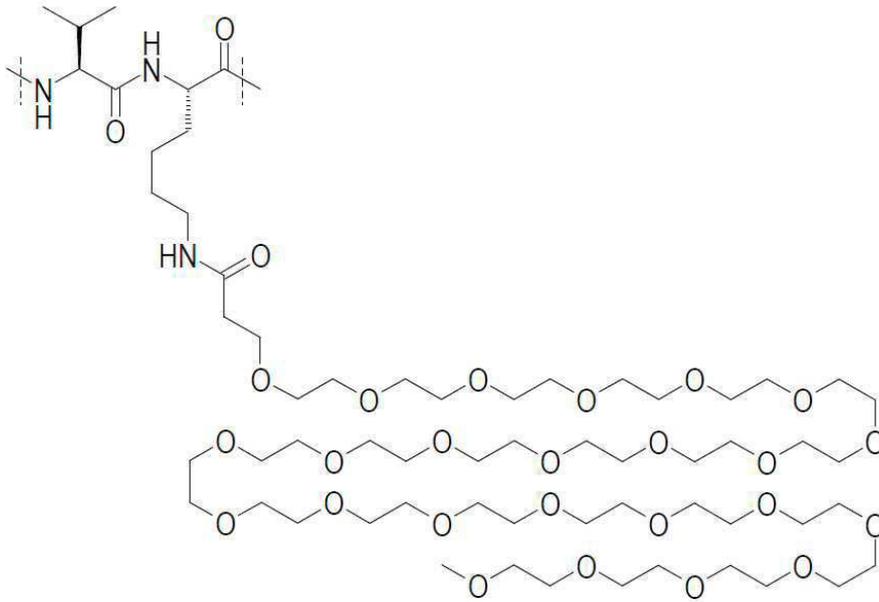
[0659] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 하나 이상의 치환 아미노산 AA_s 를 포함하는 서열 $(\text{AA}_s)_w$ 를 L 내에 포함하는 화합물로 구성되며, $(\text{AA}_s)_w$ 는 다음의 목록으로부터 선택된다:



[0660]



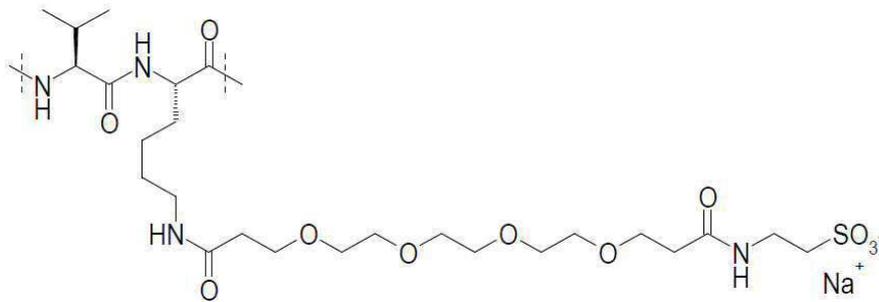
[0661]



[0662]

[0663]

또는



[0664]

[0665]

본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 **Ab**가 항-Epha2 항체, 예를 들어 hu2H11_R35R74 항체 (서열 번호 1(항체 hu2H11_R35R74의 경쇄) 및 서열 번호 2(항체 hu2H11_R35R74의 중쇄)(각각, 국제 공개 제 2011039724 A1호에 나타난 서열 번호 16 및 서열 번호 18에 상응함)로 나타난 바와 같음)인 화합물로 구성된다.

[0666]

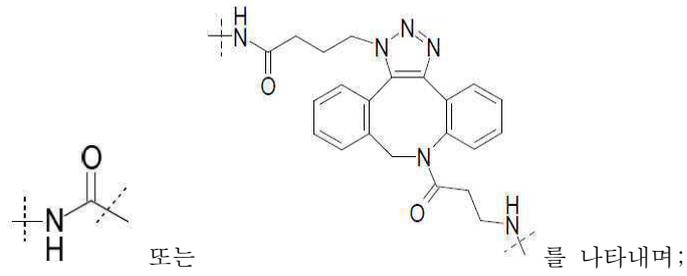
하나 이상의 실시 형태에 따르면, 본 발명은 화학식 V의 화합물에 관한 것이며, 여기서,

[0667]

- **Ab**는 항체를 나타내며;

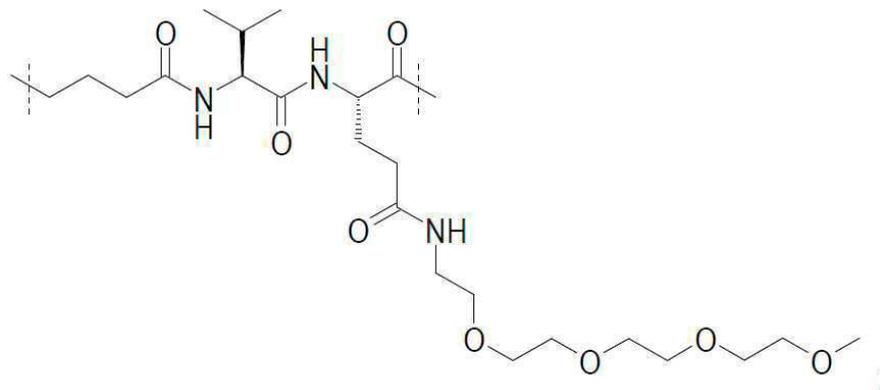
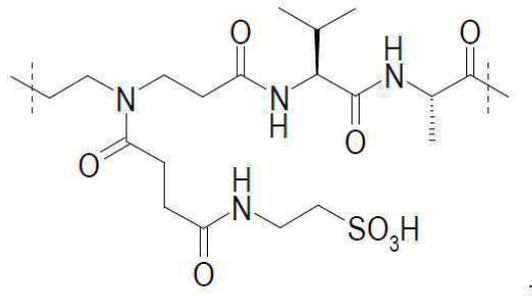
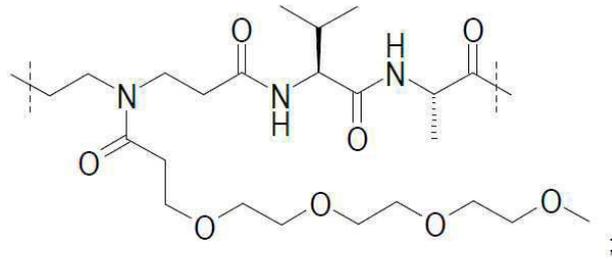
[0668]

- **G**는

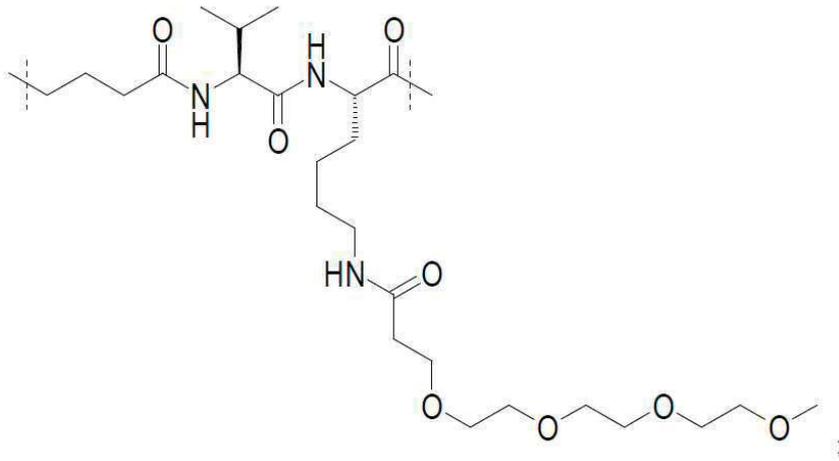
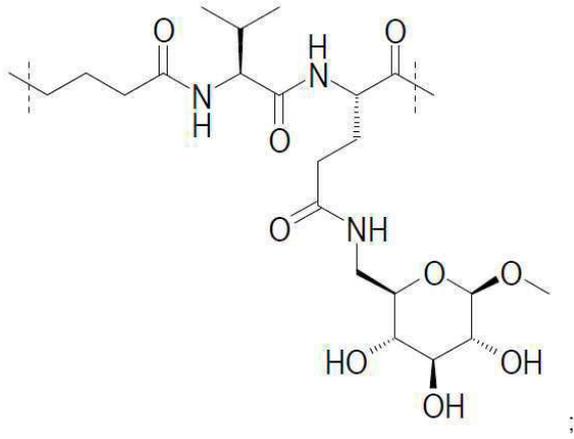


[0670] - Y는 NR₁₁-(C₁₋₆)알킬 기(여기서, R₁₁은 수소 원자임)이며, 예를 들어 Y는 NH-CH₂ 기이며;

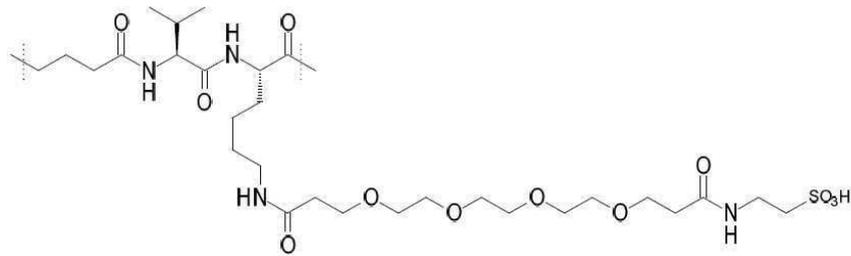
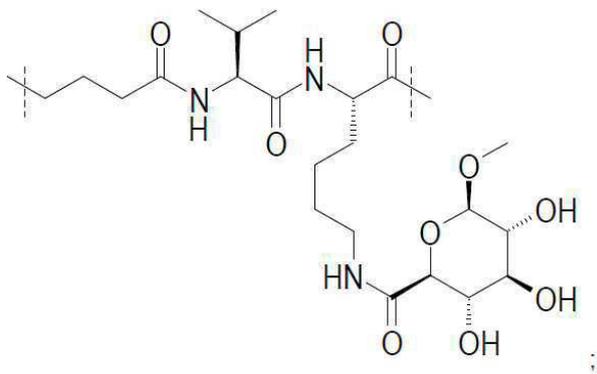
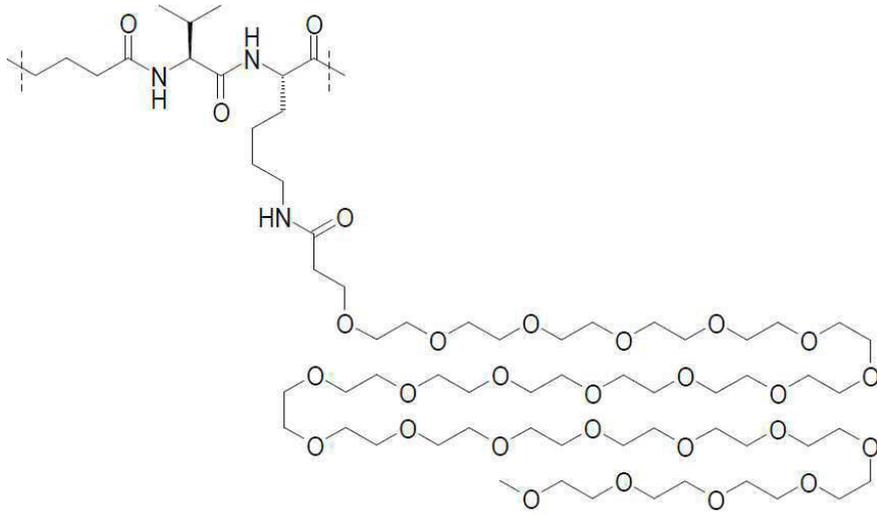
[0671] - L은



[0672]



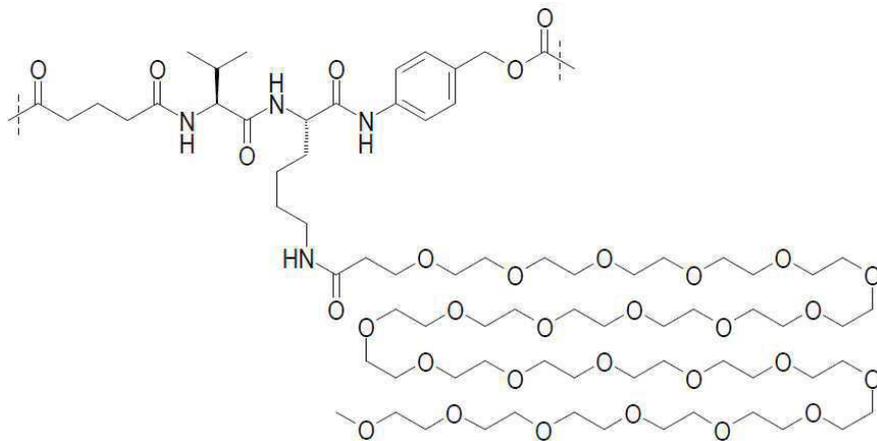
[0673]



[0674]

[0675]

및



[0676]

를 나타내며;

[0677]

- R₁은 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 메틸 기를 나타내며;

[0678]

- R₂ 및 R₃은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 메틸 기를 나타내며;

[0679] - R₄ 및 R₅는 서로 독립적으로 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 메틸 기를 나타내며;

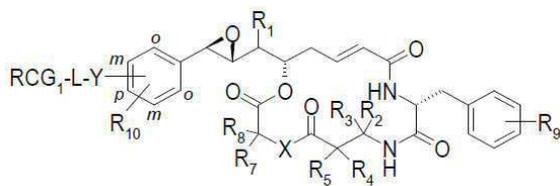
[0680] - R₇ 및 R₈은 서로 독립적으로 수소 원자 또는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 이소부틸 기 또는 네오펜틸 기를 나타내며, 예를 들어 R₇ 및 R₈ 중 하나는 (C₁-C₆)알킬 기, 예컨대 이소부틸 기 또는 네오펜틸 기를 나타내며, R₇ 및 R₈ 중 다른 하나는 수소 원자를 나타내며;

[0681] - X는 산소 원자 또는 NH를 나타내며;

[0682] - R₉는 (C₁-C₄)알콕시 기, 예컨대 메톡시 기, 및 할로젠 원자, 예컨대 염소 원자로부터 선택되는 2개의 치환체를 나타내며, 예를 들어 R₉는 3-Cl 및 4-메톡시를 나타내며;

[0683] - R₁₀은 수소 원자를 나타낸다.

[0684] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 화합물 군은 하기 구조(베타 에폭시드 배열)의 화합물로 구성된다:



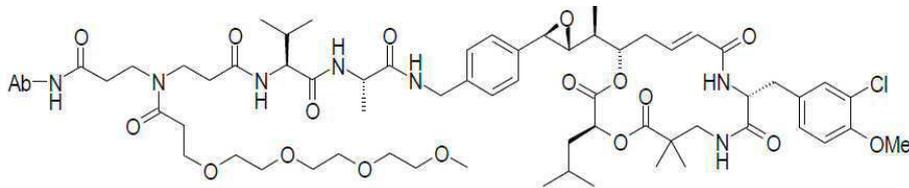
[0685]

[0686] 여기서,

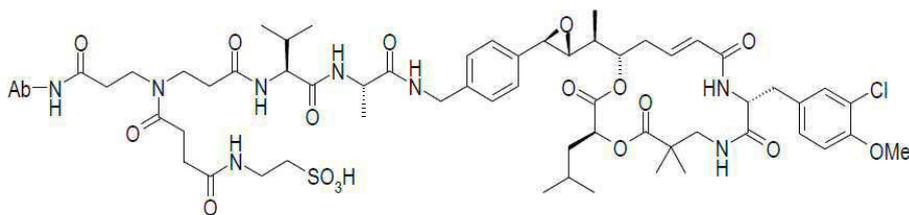
[0687] R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, n, RCG₁, X, Y 및 L은 화학식 IV에서 정의된 바와 같다.

[0688] 단독으로 또는 조합되어 취해지는 모든 이러한 하위군들은 본 발명의 일부이다.

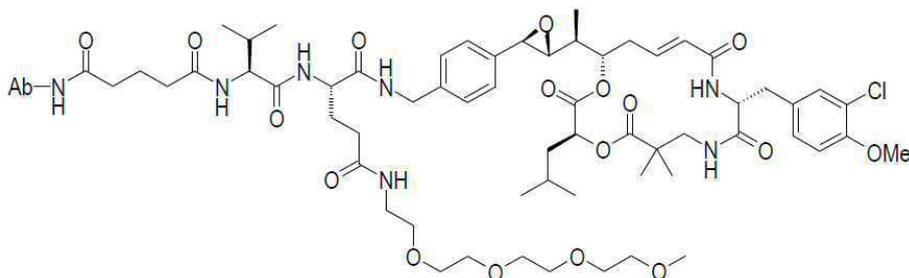
[0689] 본 발명의 주제인 화학식 V의 화합물 중에서, 하기 화합물이 언급될 수 있다:



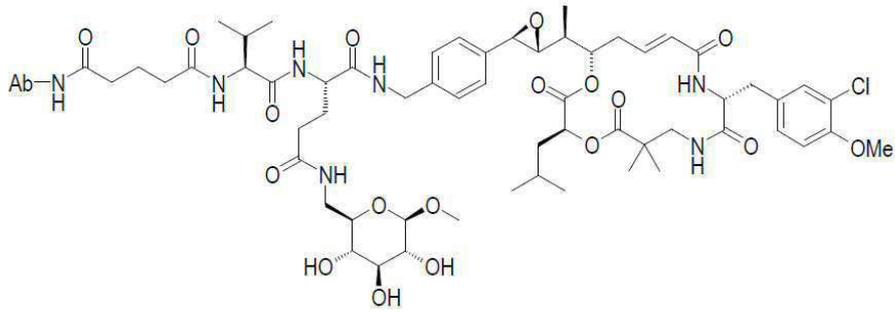
;



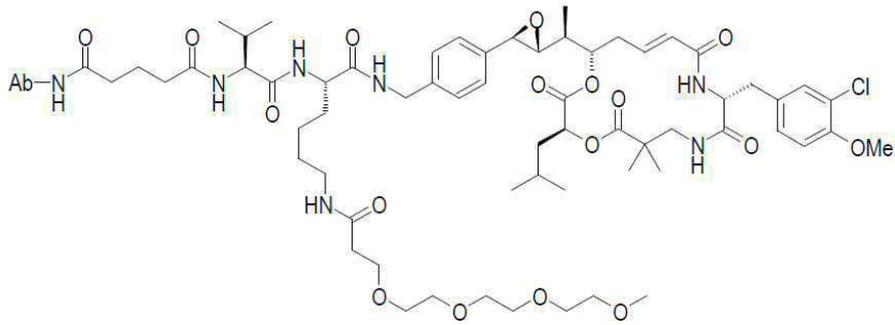
;



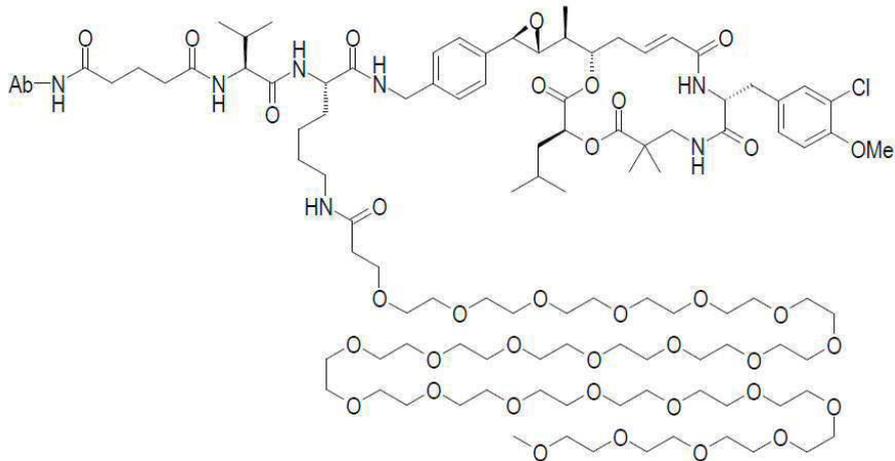
[0690]



;

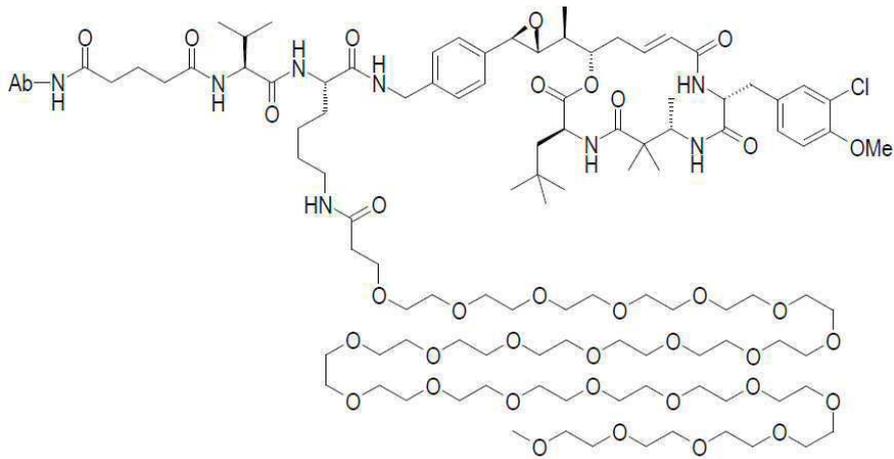


;

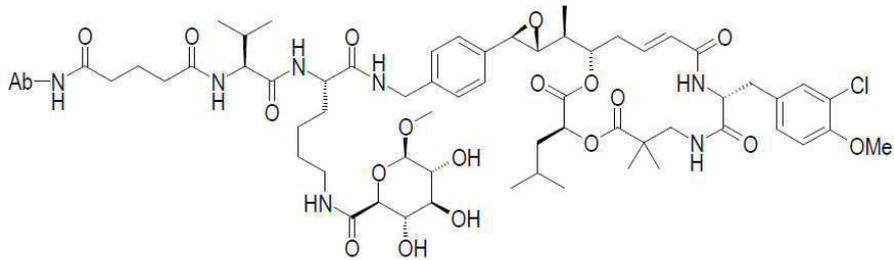


;

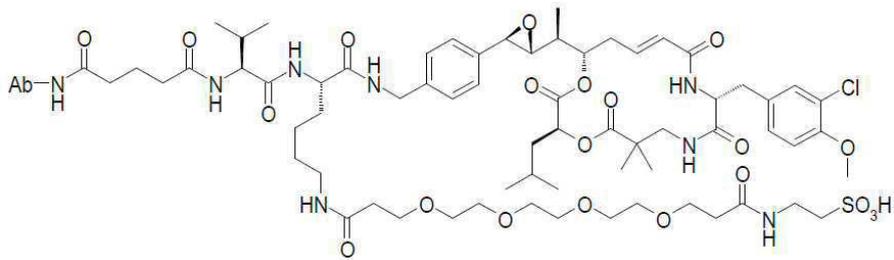
[0691]



;



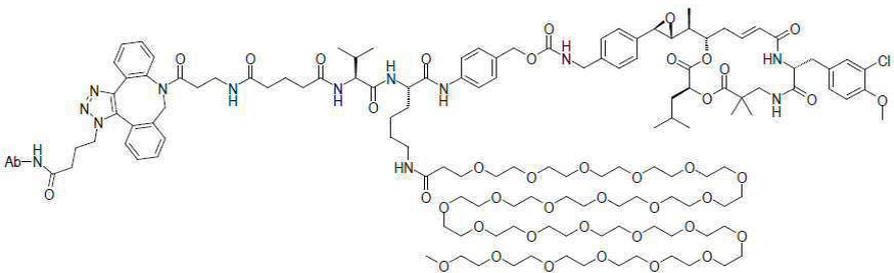
;



[0692]

[0693]

및



[0694]

[0695]

여기서, Ab는 본 발명의 화학식 V에 정의된 바와 같다.

[0696]

본 발명에 따르면, 화학식 I, II, III, IV 및 V의 화합물은 하기 방법에 의해 제조될 수 있다.

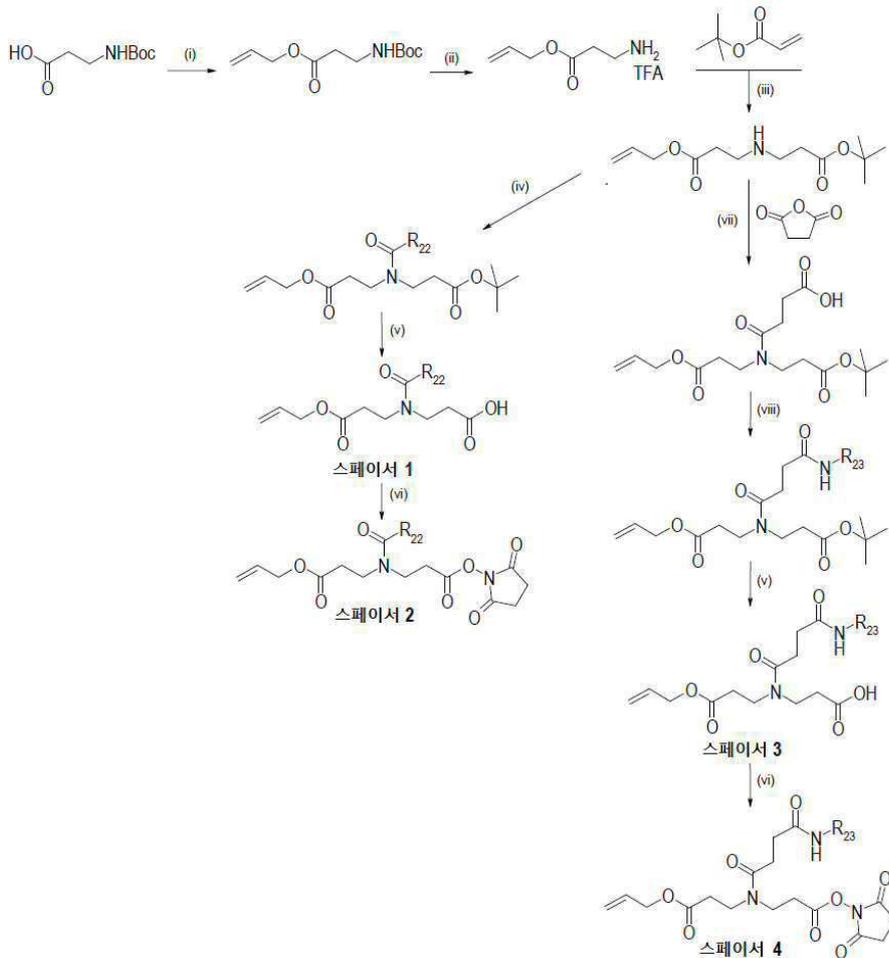
[0697]

화학식 II의 링커의 제조

[0698]

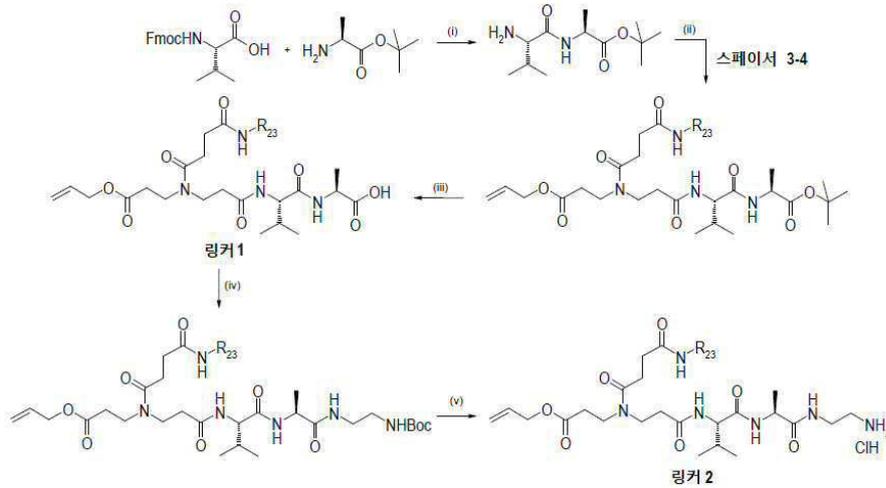
● **친수성이 향상된 스페이서의 제조**

[0699] [반응식 1]



- [0700]
- [0701] 단계 (i): 알릴 브로마이드 및 염기, 예를 들어 탄산세슘을 사용한 알릴 에스테르로서의 카르복실산의 보호;
- [0702] 단계 (ii): HCl의 용액(예를 들어 디옥산 중 용액) 또는 TFA의 용액을 사용한 Boc 아민의 탈보호;
- [0703] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 *tert*-부틸 아크릴레이트에의 아민의 부가;
- [0704] 단계 (iv): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 아민과 활성화 카르복실산, 예컨대 NHS 에스테르 또는 아실 클로라이드 사이의 커플링;
- [0705] 단계 (v): HCl의 용액(예를 들어 디옥산 중 용액) 또는 TFA의 용액을 사용한 *tert*-부틸 에스테르의 탈보호;
- [0706] 단계 (vi): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DCC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화;
- [0707] 단계 (vii): 숙신산 무수물에의 커플링;
- [0708] 단계 (viii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DCC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화 및 아민과의 커플링;
- [0709] 반응식 1은 Boc--Ala-OH(CAS 번호 [3303-84-2])로 시작되는 합성을 도시하지만, n이 3 내지 10의 범위인 것을 위하여 구매가능한 다른 Boc 보호 아미노-알킬 산에도 적용될 수 있다. 반응식 1은 숙신산 무수물을 사용한 합성을 도시하지만, n이 3 내지 10의 범위의 것을 위하여 구매가능한 알킬 이산 또는 글루타르산 무수물에도 적용될 수 있다.
- [0710] ● 친수성이 향상된 스페이서와 고전적인 디펩티드의 조합

[0711] [반응식 2]



[0712]

[0713] 단계 (i): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 펩티드 커플링 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0714] 단계 (ii): 스페이서 3에 있어서 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화 및 스페이서 3 및 스페이서 4와 디펩티드의 커플링;

[0715] 단계 (iii): HCl의 용액(예를 들어 디옥산 중 용액) 또는 TFA의 용액을 사용한 *tert*-부틸 에스테르의 탈보호;

[0716] 단계 (iv): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화 및 아민과의 커플링;

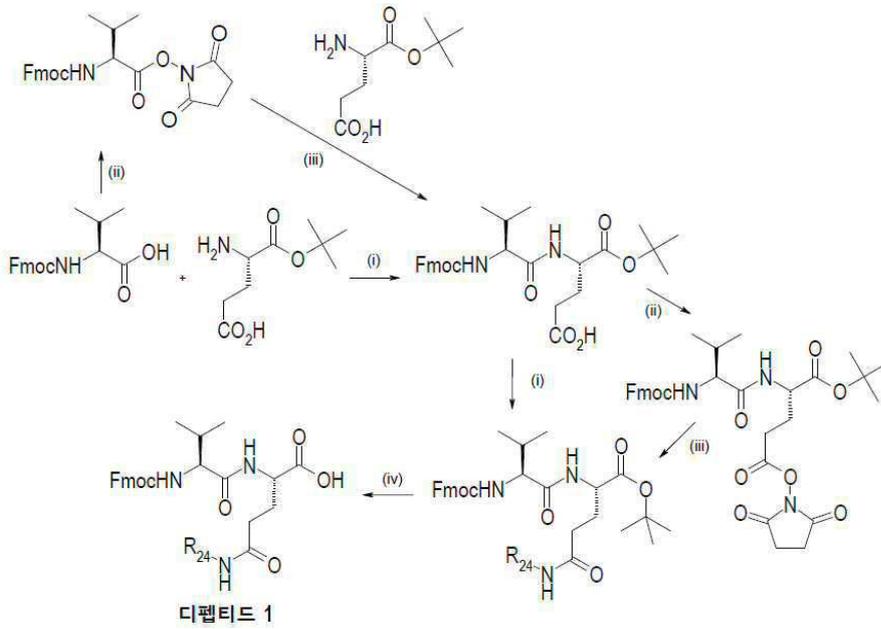
[0717] 단계 (v): HCl의 용액(예를 들어 디옥산 중 용액) 또는 TFA의 용액을 사용한 Boc 아민의 탈보호.

[0718] 반응식 2는 Val-Ala 디펩티드를 사용한 링커의 합성을 도시하지만, 다른 디펩티드에도 적용될 수 있으며; 반응식 2는 스페이서 3 또는 4를 사용한 합성을 도시하지만, 스페이서 1 또는 2에도 적용될 수 있으며; 반응식 2는 Boc-단일보호 에틸렌디아민을 사용한 합성을 도시하지만, n이 3 내지 10의 범위인 것을 위하여 구매가능한 다른 Boc-단일보호 디아민에도 적용될 수 있다.

[0719] ● 친수성이 향상된 디펩티드의 제조

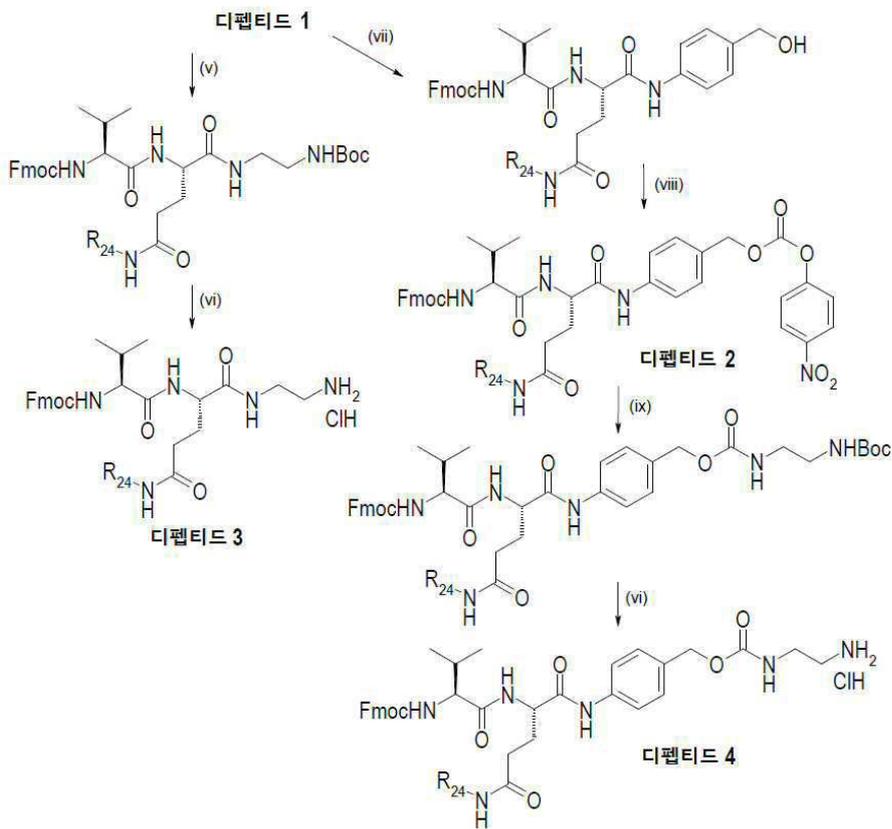
[0720] ■ 측쇄 상에 카르복실산 기를 갖는 아미노산을 기반으로 한, 친수성이 향상된 디펩티드의 제조

[0721] [반응식 3]



[0722]

[0723] [반응식 4]



[0724]

[0725] 단계 (i): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 카르복실산과 아민 사이의 펩티드 커플링;

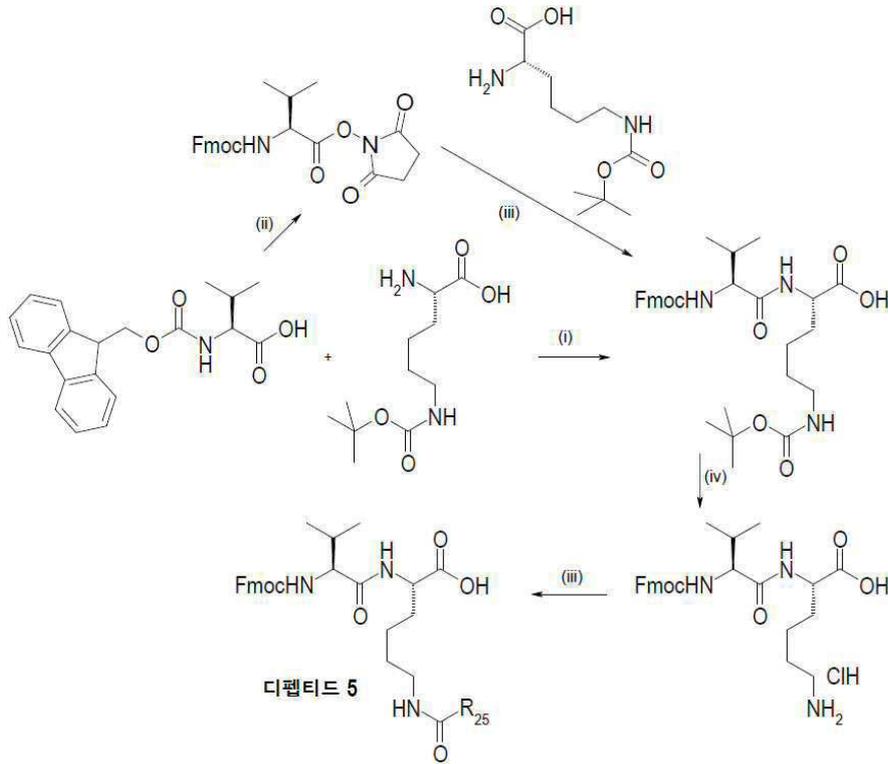
[0726] 단계 (ii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화;

[0727] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, 중탄산나트륨 또는 DIEA의 존재 하에서의 NHS 에스테르와 아민 사이의 펩티드 커플링;

[0728] 단계 (iv): HCl의 용액(예를 들어 디옥산 중 용액) 또는 TFA의 용액을 사용한 tert-부틸 에스테르의 탈보호;

- [0729] 단계 (v): 커플링 시약, 예를 들어, T3P를 사용한 디펩티드와 Boc-단일보호 에틸렌 디아민의 펩티드 커플링;
- [0730] 단계 (vi): HCl의 용액(예를 들어 디옥산 중 용액) 또는 TFA의 용액을 사용한 Boc 아민의 탈보호;
- [0731] 단계 (vii): 커플링 시약, 예를 들어, EEDQ를 사용한 디펩티드와 *p*-아미노벤질 알코올의 펩티드 커플링;
- [0732] 단계 (viii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 *p*-니트로페닐-클로로포르메이트를 이용한 처리에 의한 *p*-니트로페닐 카르보네이트로서의 벤질릭 알코올의 활성화;
- [0733] 단계 (ix): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 활성화 알코올과 아민 사이의 카르바메이트의 형성.
- [0734] **반응식 3**은 Val으로 시작되는 디펩티드의 합성을 도시하지만, 상기에 열거된 다른 아미노산에 적용될 수 있으며; 반응식 3은 L-Glu *tert*-부틸 에스테르(CAS 번호 [45120-30-7])를 사용한 합성을 도시하지만, 측쇄 상에 카르복실산을 갖는 다른 아미노산, 예를 들어, L-Asp *tert*-부틸 에스테르(CAS 번호 [4125-93-3]), D-Asp *tert*-부틸 에스테르(CAS 번호 [148823-36-3]), D-Glu *tert*-부틸 에스테르(CAS 번호 [25456-76-2]), 2-아미노-헥산디오익산 1-*tert*-부틸 에스테르(CAS 번호 [1245806-58-9]) 또는 2-아미노-헵탄디오익산 1-*tert*-부틸 에스테르(CAS 번호 [1888498-03-0])에도 적용될 수 있다. **반응식 4**는 *p*-아미노벤질 알코올(CAS 번호 [623-04-1])을 사용한 디펩티드의 합성을 도시하지만, 구매가능한 다른 아미노벤질 알코올 화합물, 예를 들어, 4-(1-히드록시에틸)-아닐린 (라세미(CAS 번호 [14572-89-5]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [210754-25-9]) 또는 (S)(CAS 번호 [500229-84-5])), 4-아미노- α , α -디메틸-벤젠-메탄올(CAS 번호 [23243-04-1]), 4-아미노- α -메톡시- α -메틸-벤젠메탄올(CAS 번호 [1379318-81-6]), 4-아미노- α -메틸--트리플루오로메틸-벤젠메탄올(CAS 번호 [851652-56-7]), 2-아미노-벤젠메탄올(CAS 번호 [5344-90-1]), 2-아미노- α -메틸-벤젠메탄올(라세미(CAS 번호 [10517-50-7]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [3205-21-8]) 또는 (S)(CAS 번호 [3205-21-8])), 6-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [113293-71-3]), 6-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1335054-83-5]), 6-아미노- α -에틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1355225-85-2]), 6-아미노- α , α -디메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [843646-03-8]), 5-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [873651-92-4]), 2-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [23612-57-9]), 2-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(라세미(CAS 번호 [869567-91-9]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [936718-01-3]) 또는 (S)(CAS 번호 [936718-00-2])), 2-아미노- α -에틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [914223-90-8]), 2-아미노- α , α -디메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [213666-96-7]), 3-아미노-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [152398-05-5]), 3-아미노- α -메틸-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [1242470-88-7]), 3-아미노- α , α -메틸-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [13357-81-8]), 4-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [138116-34-4]), 4-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [741223-49-4]), 4-아미노- α , α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1339013-26-1]), 3-아미노-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [52378-63-9]), 3-아미노- α -메틸-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [954240-54-1]), 3-아미노- α , α -메틸-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [899438-57-4])에도 적용될 수 있으며; 반응식 4는 Boc-단일보호 에틸렌디아민을 사용한 합성을 도시하지만, *n*이 3 내지 10의 범위인 것을 위하여 구매가능한 다른 Boc-단일보호 디아민에도 적용될 수 있다.
- [0735] **■ 측쇄 상에 아미노기를 갖는 아미노산을 기반으로 한, 친수성이 향상된 디펩티드의 제조**

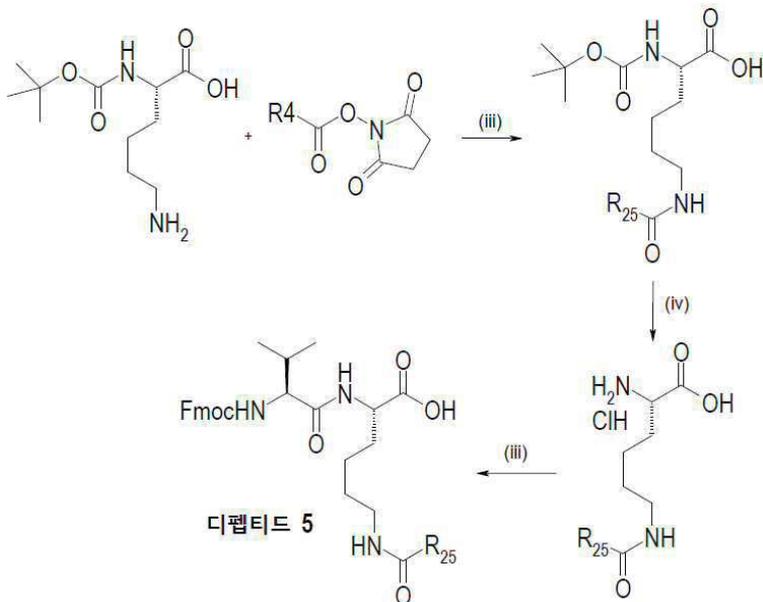
[0736] [반응식 5]



[0737]

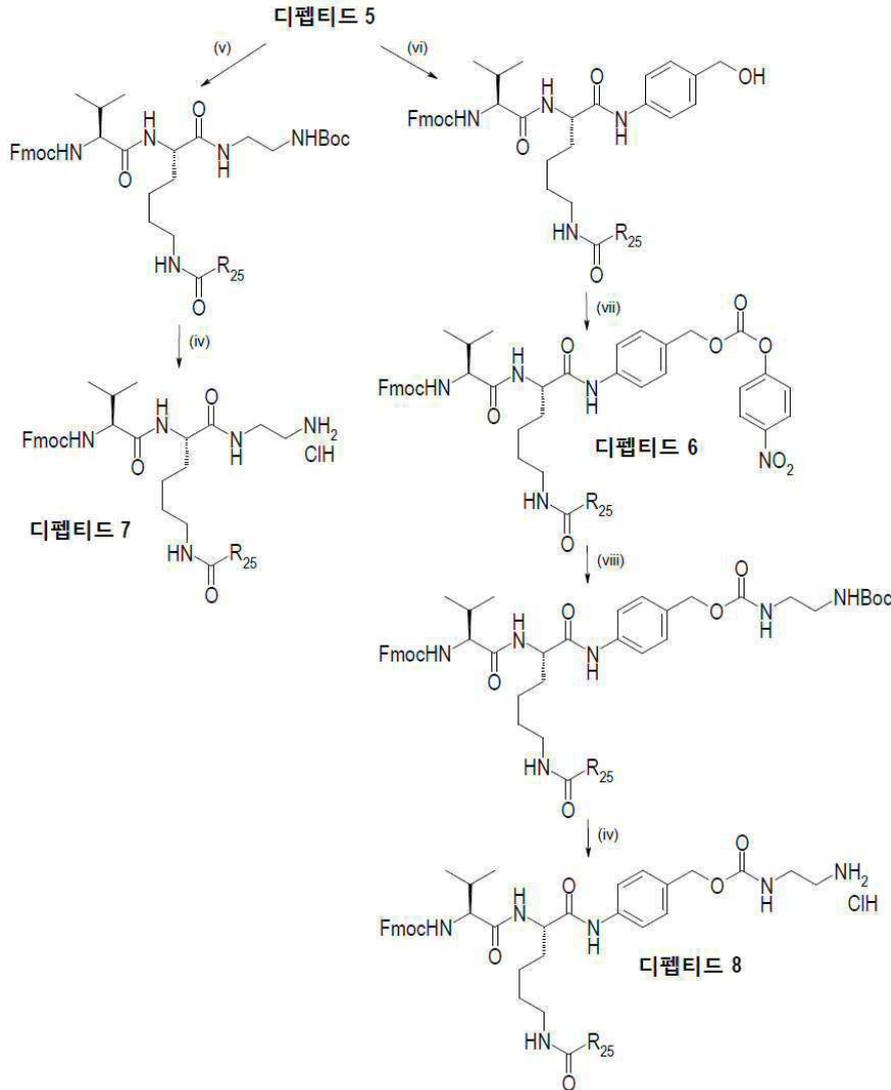
[0738] 또는 대안적으로, 디펩티드 5는 반응식 6에 설명된 합성법에 따라 제조될 수 있다.

[0739] [반응식 6]



[0740]

[0741] [반응식 7]



[0742]

[0743] 단계 (i): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 카르복실산과 아민 사이의 펩티드 커플링;

[0744] 단계 (ii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화;

[0745] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, 중탄산나트륨 또는 DIEA의 존재 하에서의 NHS 에스테르와 아민 사이의 펩티드 커플링;

[0746] 단계 (iv): HCl의 용액(예를 들어 디옥산 중 용액) 또는 TFA의 용액을 사용한 Boc 아민의 탈보호;

[0747] 단계 (v): 커플링 시약, 예를 들어, T3P를 사용한 디펩티드와 Boc-단일보호 에틸렌 디아민의 펩티드 커플링;

[0748] 단계 (vi): 커플링 시약, 예를 들어, EEDQ를 사용한 디펩티드와 *p*-아미노벤질 알코올의 펩티드 커플링;

[0749] 단계 (vii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 *p*-니트로페닐-클로로포르메이트를 이용한 처리에 의한 *p*-니트로페닐 카르보네이트로서의 벤질릭 알코올의 활성화;

[0750] 단계 (viii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 활성화 알코올과 아민 사이의 카르바메이트의 형성.

[0751] 반응식 5 및 반응식 6은 Val로 시작되는 디펩티드의 합성을 도시하지만, 상기에 열거된 다른 아미노산에 적용될 수 있다. 반응식 5는 측쇄가 Boc-보호된 L-Lys(CAS 번호 [2418-95-3])을 사용한 합성을 도시하지만, 측쇄 상에 아미노 기를 갖는 다른 아미노산, 예를 들어, (S)-3-아미노-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)프로판산(CAS 번호 [73259-81-1]), (S)-3-아미노-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)프로판산(CAS 번호 [76387-70-7]), (S)-4-아미노-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)부탄산(CAS 번호 [25691-37-6]), (R)-4-아미노-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)

부탄산(CAS 번호 [80445-78-9]), 측쇄가 Boc-보호된 L-오르니틴(CAS 번호 [21887-64-9]), 측쇄가 Boc-보호된 D-오르니틴(CAS 번호 [159877-12-0]), 측쇄가 Boc-보호된 D-Lys(CAS 번호 [106719-44-2]), (2S)-2-아미노-7-[[[(1,1-디메틸에톡시)카르보닐]아미노]헵탄산(CAS 번호 [1142814-17-2]) 또는 (2R)-2-아미노-7-[[[(1,1-디메틸에톡시)카르보닐]아미노]헵탄산(CAS 번호 [117833-90-6])에도 적용될 수 있다. **반응식 7**은 p-아미노벤질 알코올(CAS 번호 [623-04-1])을 사용한 디펩티드의 합성을 도시하지만, 구매가능한 다른 아미노벤질 알코올 화합물, 예를 들어, 4-(1-히드록시에틸)-아닐린(라세미(CAS 번호 [14572-89-5]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [210754-25-9]) 또는 (S)(CAS 번호 [500229-84-5])), 4-아미노- α , α -디메틸-벤젠-메탄올(CAS 번호 [23243-04-1]), 4-아미노- α -메톡시- α -메틸-벤젠메탄올(CAS 번호 [1379318-81-6]), 4-아미노- α -메틸--트리플루오로메틸-벤젠메탄올(CAS 번호 [851652-56-7]), 2-아미노-벤젠메탄올(CAS 번호 [5344-90-1]), 2-아미노- α -메틸-벤젠메탄올(라세미(CAS 번호 [10517-50-7]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [3205-21-8]) 또는 (S)(CAS 번호 [3205-21-8])), 6-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [113293-71-3]), 6-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1335054-83-5]), 6-아미노- α -에틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1355225-85-2]), 6-아미노- α , α -디메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [843646-03-8]), 5-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [873651-92-4]), 2-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [23612-57-9]), 2-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(라세미(CAS 번호 [869567-91-9]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [936718-01-3]) 또는 (S)(CAS 번호 [936718-00-2])), 2-아미노- α -에틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [914223-90-8]), 2-아미노- α , α -디메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [213666-96-7]), 3-아미노-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [152398-05-5]), 3-아미노- α -메틸-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [1242470-88-7]), 3-아미노- α , α -메틸-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [13357-81-8]), 4-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [138116-34-4]), 4-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [741223-49-4]), 4-아미노- α , α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1339013-26-1]), 3-아미노-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [52378-63-9]), 3-아미노- α -메틸-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [954240-54-1]), 3-아미노- α , α -메틸-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [899438-57-4])에도 적용될 수 있으며; 반응식 7은 Boc-단일보호 에틸렌디아민을 사용한 합성을 도시하지만, n이 3 내지 10의 범위인 것을 위하여 구매가능한 다른 Boc-단일보호 디아민에도 적용될 수 있다.

[0752] **크립토펙신 화합물의 제조**

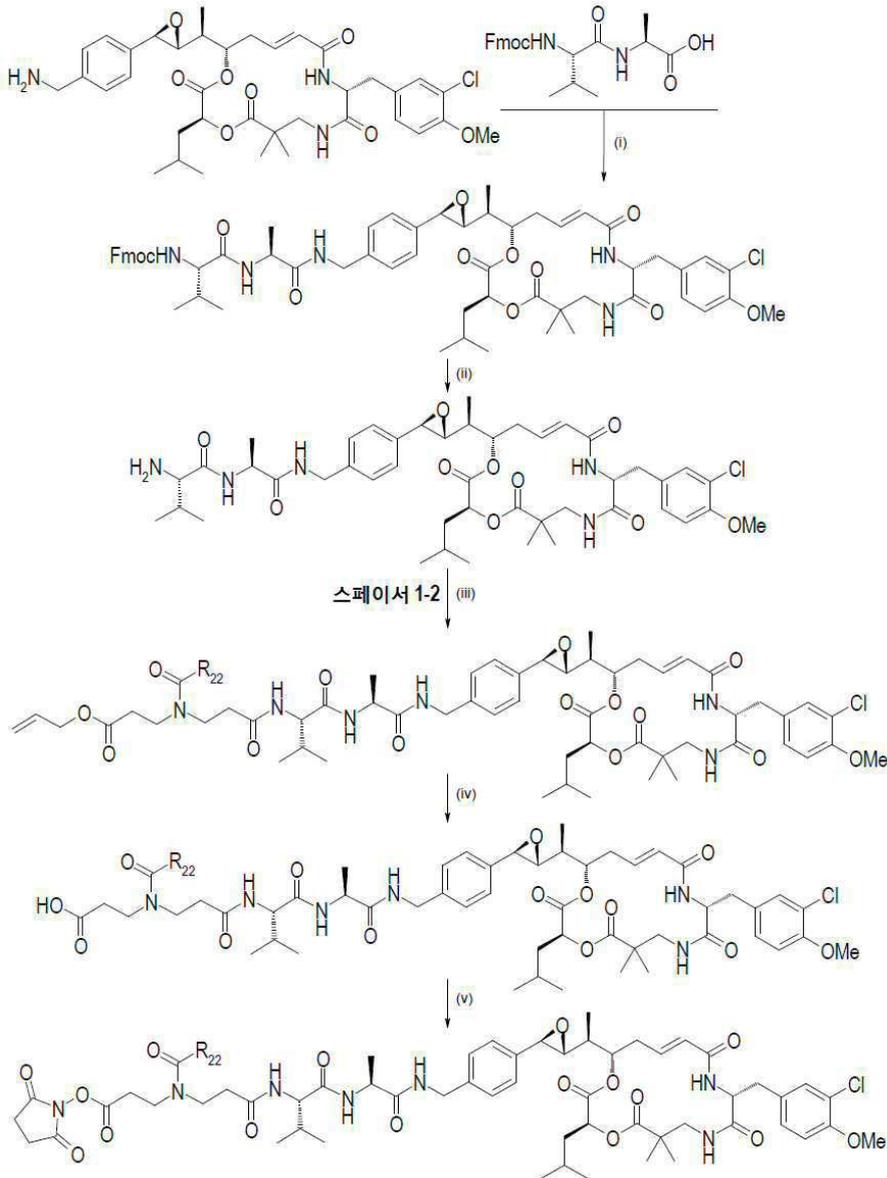
[0753] 크립토펙신 화합물은 X = O인 경우 **국제 공개 제2011/001052호**, 및 X = NH인 경우 **PCT/EP2016/076603**에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0754] **Y = NH-CH₂인 경우의 화학식 IV의 새로운 크립토펙신 페이로드의 제조**

[0755] ● **친수성이 향상된 스페이서를 갖는 새로운 크립토펙신 페이로드의 제조**

[0756] ■ **PABA 모이어티를 갖지 않는 경우**

[0757] [반응식 8]



[0758]

[0759] 단계 (i): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 크립토펙신 유도체와 디펩티드 사이의 펩티드 커플링;

[0760] 단계 (ii): 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

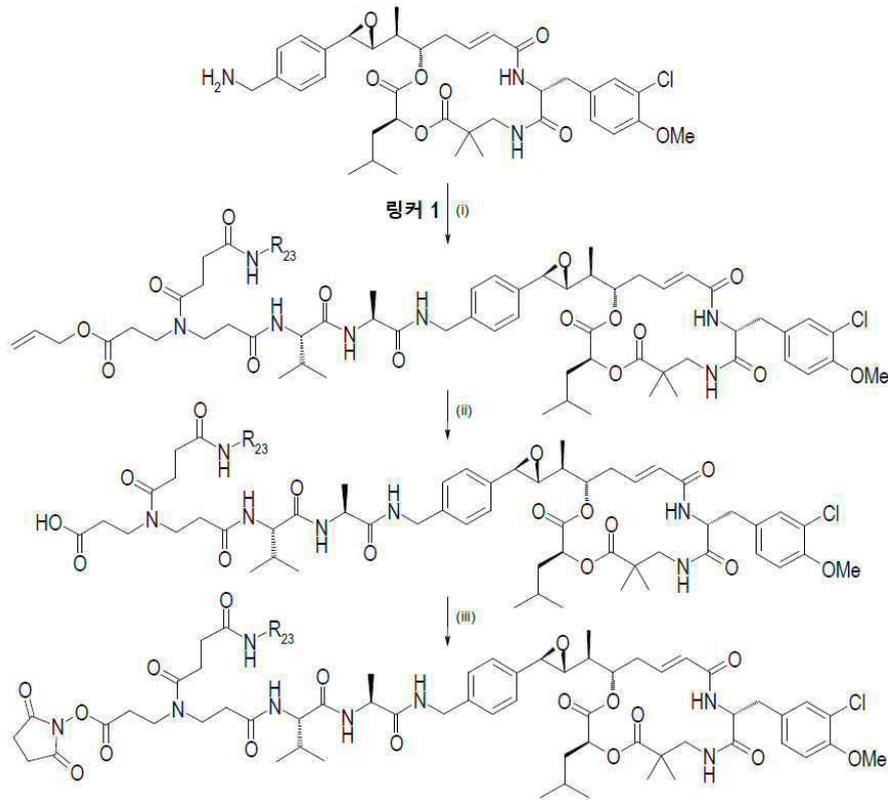
[0761] 단계 (iii): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 스페이스 1과의 펩티드 커플링, 또는 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 스페이스 2와의 커플링;

[0762] 단계 (iv): 촉매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호;

[0763] 단계 (v): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0764] 대안적으로, 친수성이 향상된 스페이스를 갖는 새로운 크립토펙신 페이로드는 또한 반응식 9에 도시된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0765] [반응식 9]



[0766]

[0767] 단계 (iv): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 링커 1의 카르복실산의 활성화 및 크립토펙신 아민과의 커플링.

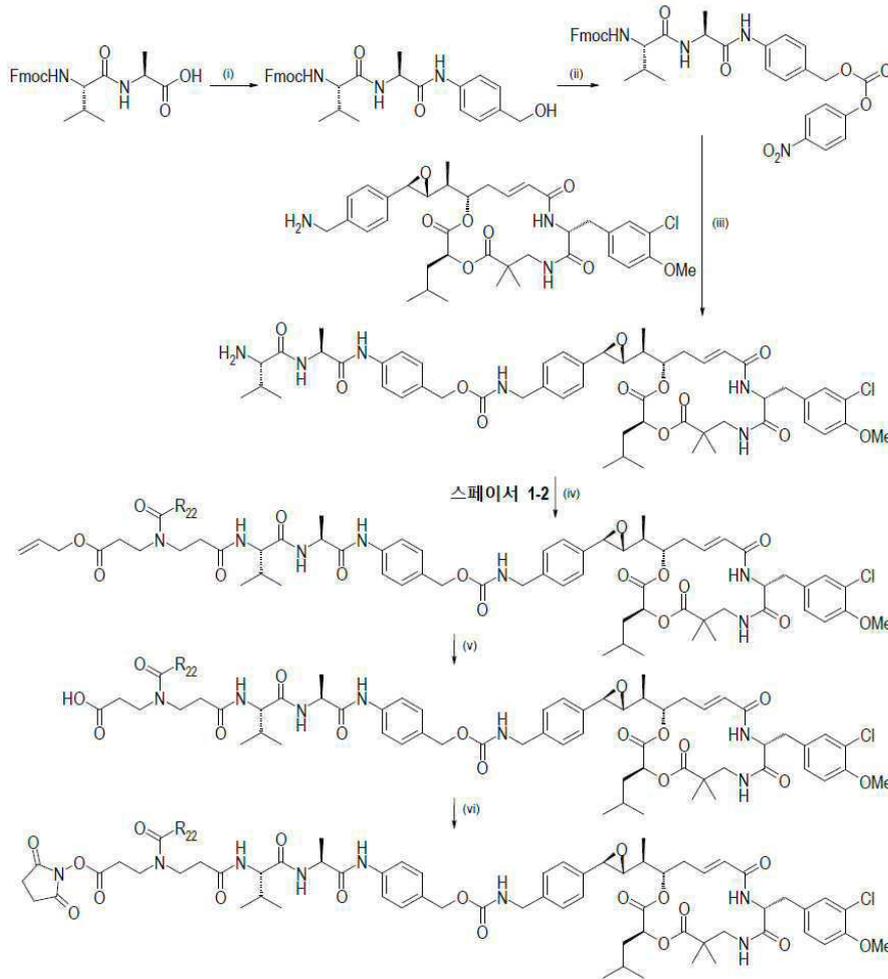
[0768] 단계 (ii): 축매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호;

[0769] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0770] 반응식 8 및 반응식 9는 C52의 *p*-벤질릭 아민을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토펙신 화합물에도 적용될 수 있으며; 이것은 Val-Ala 디펩티드를 사용한 합성을 도시하지만, 다른 디펩티드에도 적용될 수 있으며; 이것은 스페이서 1 또는 2를 사용한 합성을 도시하지만, 스페이서 3 또는 4에도 적용될 수 있다.

[0771] ■ PABA 모이어티를 갖는 경우

[0772] [반응식 10]



[0773]

[0774] 단계 (i): 커플링 시약, 예를 들어, EEDQ의 존재 하에서의 Fmoc-Val-Ala-OH와 4-아미노벤질 알코올 사이의 펩티드 커플링;

[0775] 단계 (ii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 *p*-니트로페닐-클로로포르메이트를 이용한 처리에 의한 *p*-니트로페닐 카르보네이트로서의 벤질릭 알코올의 활성화;

[0776] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 활성화 알코올과 크립토포신 아민 사이의 카르바메이트의 형성 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0777] 단계 (iv): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 스페이서 1과의 펩티드 커플링, 또는 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 스페이서 2와의 커플링;

[0778] 단계 (v): 촉매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호;

[0779] 단계 (vi): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

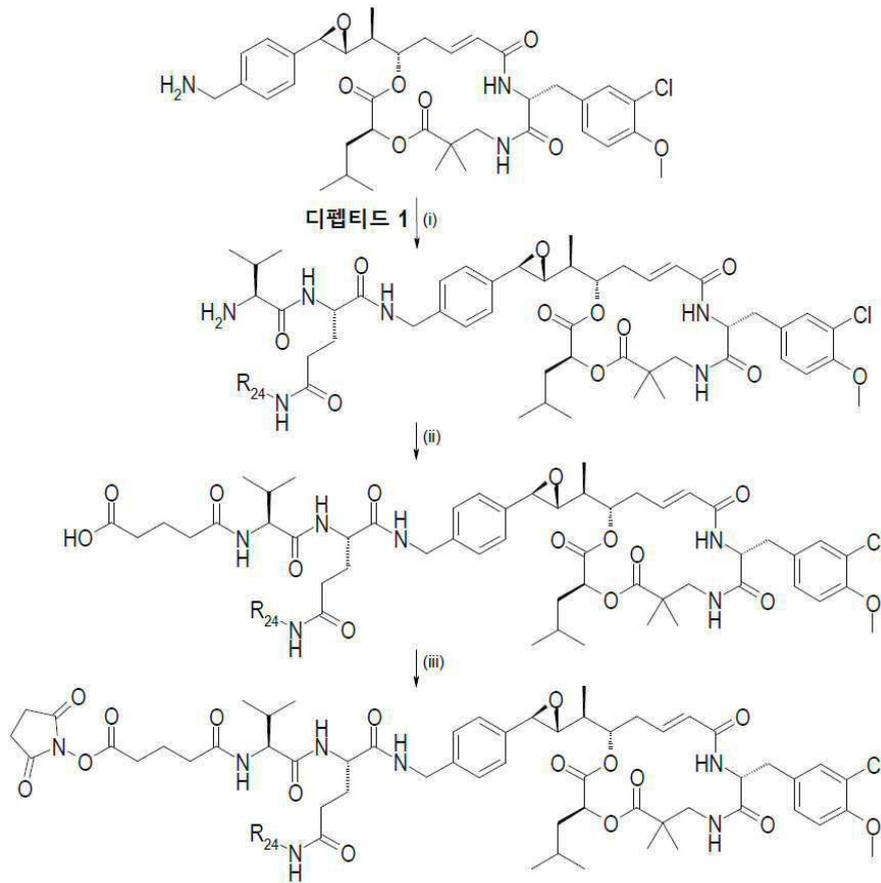
[0780] 반응식 10은 Val-Ala 디펩티드를 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 디펩티드에도 적용될 수 있으며; 반응식 10은 *p*-아미노벤질 알코올(CAS 번호 [623-04-1])을 사용한 합성을 도시하지만, 구매가능한 다른 아미노벤질 알코올 화합물, 예를 들어, 4-(1-히드록시에틸)-아닐린 (라세미(CAS 번호 [14572-89-5]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [210754-25-9]) 또는 (S)(CAS 번호 [500229-84-5])), 4-아미노- α , α -디메틸-벤젠-메탄올(CAS 번호 [23243-04-1]), 4-아미노- α -메톡시- α -메틸-벤젠메탄올(CAS 번호 [1379318-81-6]), 4-아미노- α -메틸--트리플루오로메틸-벤젠메탄올(CAS 번호 [851652-56-7]), 2-아미노-벤젠메탄올(CAS 번호 [5344-90-1]), 2-아미노- α -메틸-벤젠메탄올(라세미(CAS 번호 [10517-50-7]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [3205-21-8]) 또는 (S)(CAS 번호 [3205-21-8])), 6-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [113293-71-3]), 6-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1335054-83-5]), 6-아미노- α -에틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1355225-85-2]),

6-아미노- α, α -디메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [843646-03-8]), 5-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [873651-92-4]), 2-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [23612-57-9]), 2-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(라세미(CAS 번호 [869567-91-9]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [936718-01-3]) 또는 (S)(CAS 번호 [936718-00-2])), 2-아미노- α -에틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [914223-90-8]), 2-아미노- α, α -디메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [213666-96-7]), 3-아미노-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [152398-05-5]), 3-아미노- α -메틸-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [1242470-88-7]), 3-아미노- α, α -메틸-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [13357-81-8]), 4-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [138116-34-4]), 4-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [741223-49-4]), 4-아미노- α, α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1339013-26-1]), 3-아미노-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [52378-63-9]), 3-아미노- α -메틸-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [954240-54-1]), 3-아미노- α, α -메틸-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [899438-57-4])에도 적용될 수 있으며; 반응식 10은 C52의 *p*-벤질릭 아민을 사용한 합성을 도시하지만, 다른 크립토피신 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 10은 스페이서 1 또는 2를 사용한 합성을 도시하지만, 스페이서 3 또는 4에도 적용될 수 있다.

[0781] ● 친수성이 향상된 디펩티드를 갖는 화학식 IV의 새로운 크립토피신 페이로드의 제조

[0782] ■ PABA 모이어티를 갖지 않는 경우

[0783] [반응식 11]



[0784]

[0785] 단계 (i): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 크립토피신 유도체와 디펩티드 사이의 펩티드 커플링 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0786] 단계 (ii): 글루타르산 무수물에의 커플링; 치환 아미노산의 측쇄의 하나의 추가 탈보호 단계가 단계 (iii) 전에 요구될 수 있음;

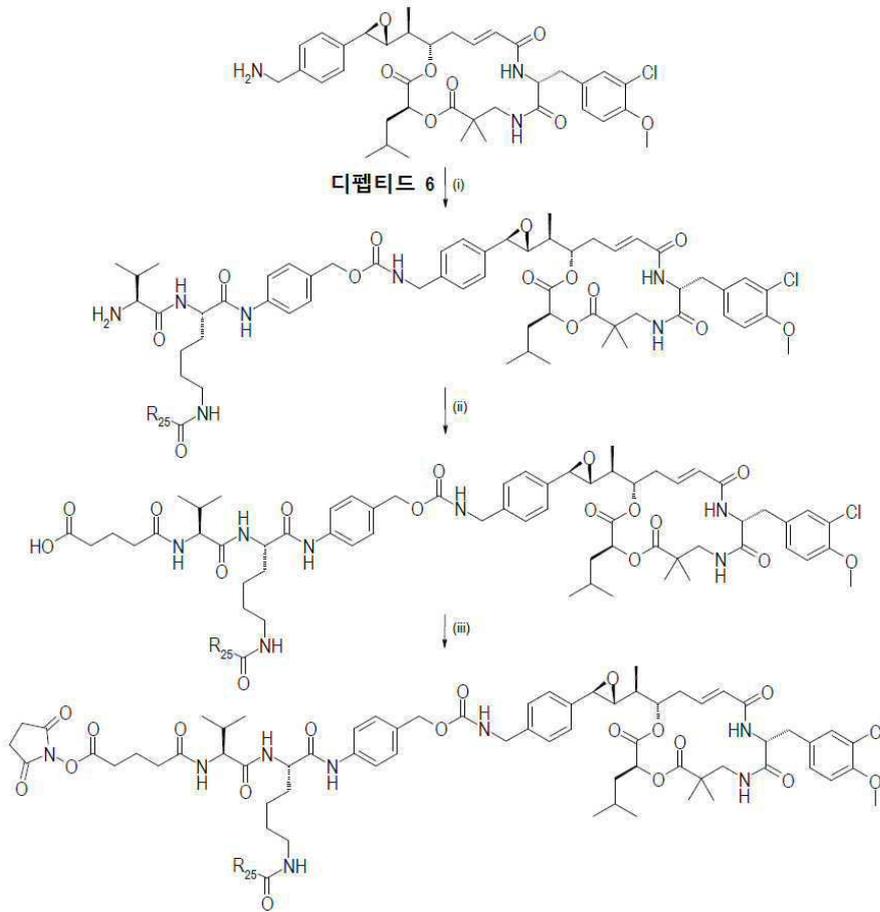
[0787] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0788] 반응식 11은 C52의 *p*-벤질릭 아민을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토피신 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 11은 디펩티드 1을 사용한 합성을 도시하지만, 디펩티드 5에도 적용될 수 있으며; 반응식 11은 글루타르산 무수물을 사용한 합성을 도시하지만, n이 3 내지 10의 범위인 것을 위하여 구매가능한 숙신산 무

수물 또는 알킬 이산에도 적용될 수 있다.

[0789] ■ **PABA 모이어티를 갖는 경우**

[0790] [반응식 12]



[0791]

[0792] 단계 (i): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 활성화 알코올과 크립토피신 아민 사이의 카르바메이트의 형성 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0793] 단계 (ii): 글루타르산 무수물에서의 커플링; 치환 아미노산의 측쇄의 하나의 추가 탈보호 단계가 단계 (iii) 전에 요구될 수 있음;

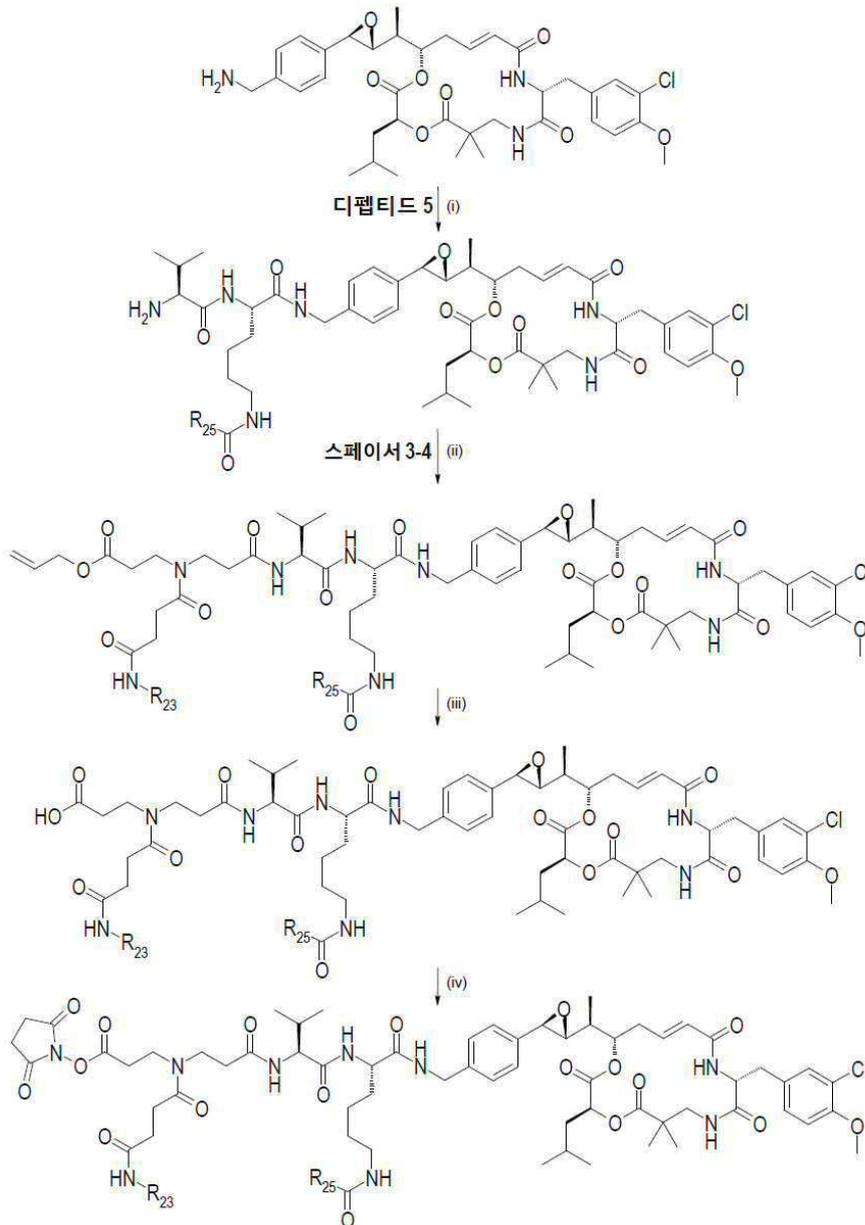
[0794] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0795] 반응식 12는 C52의 *p*-벤질릭 아민을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토피신 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 12는 디펩티드 6을 사용한 합성을 도시하지만, 디펩티드 2에도 적용될 수 있다.

[0796] ● **친수성이 향상된 디펩티드 및 스페이서 둘 다를 갖는 화학식 IV의 새로운 크립토피신 페이로드의 제조**

[0797] ■ **PABA 모이어티를 갖지 않는 경우**

[0798] [반응식 13]



[0799]

[0800] 단계 (i): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 크립토펬신 유도체와 디펩티드 사이의 펩티드 커플링 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0801] 단계 (ii): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 스페이서 3과의 펩티드 커플링, 또는 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 스페이서 4와의 커플링;

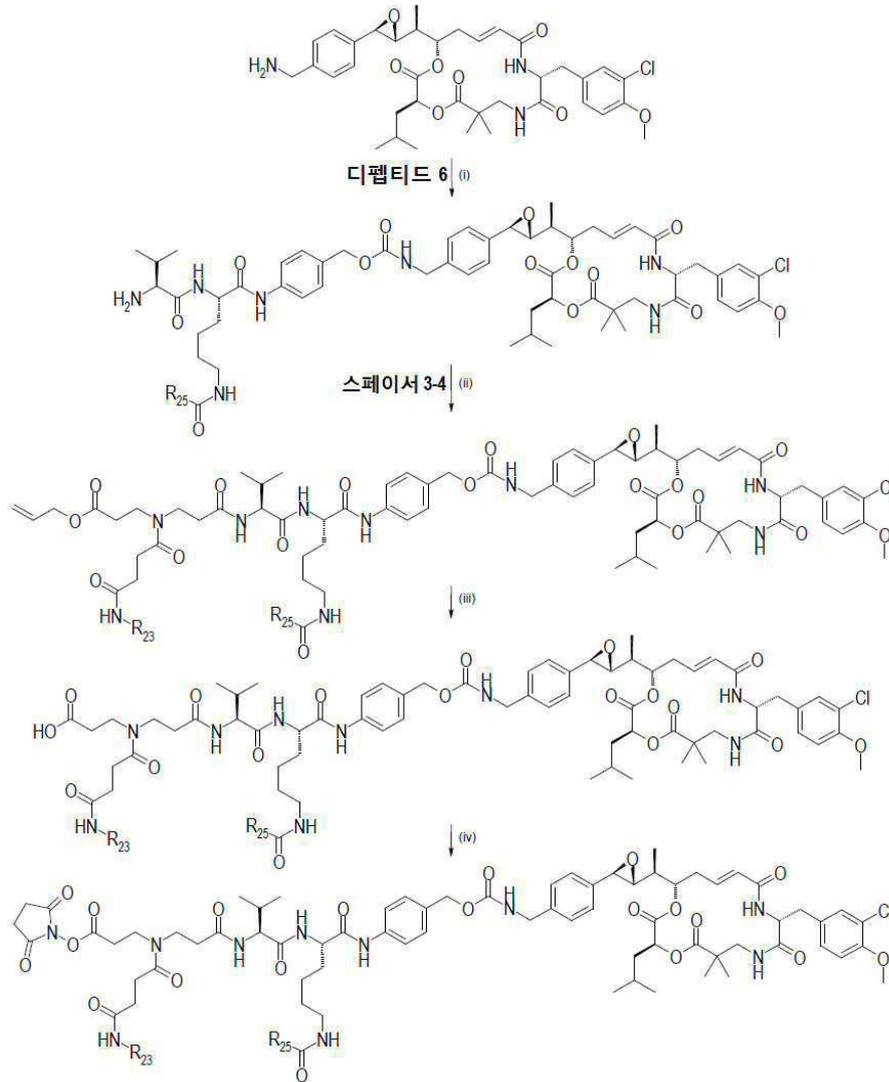
[0802] 단계 (iii): 축매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호; 치환 아미노산의 축매의 하나의 추가 탈보호 단계가 단계 (iv) 전에 요구될 수 있음;

[0803] 단계 (iv): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0804] 반응식 13은 C52의 *p*-벤질릭 아민을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토펬신 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 13은 디펩티드 5를 사용한 합성을 도시하지만, 디펩티드 1에도 적용될 수 있으며; 반응식 13은 스페이서 3 또는 4를 사용한 합성을 도시하지만, 스페이서 1 또는 2에도 적용될 수 있다.

[0805] ■ PABA 모이어티를 갖는 경우

[0806] [반응식 14]



[0807]

[0808] 단계 (i): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 활성화 알코올과 크립토펙신 아민 사이의 카르바메이트의 형성 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0809] 단계 (ii): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 스페이스 3과의 펩티드 커플링, 또는 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 스페이스 4와의 커플링;

[0810] 단계 (iii): 촉매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호; 치환 아미노산의 촉매의 하나의 추가 탈보호 단계가 단계 (iv) 전에 요구될 수 있음;

[0811] 단계 (iv): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

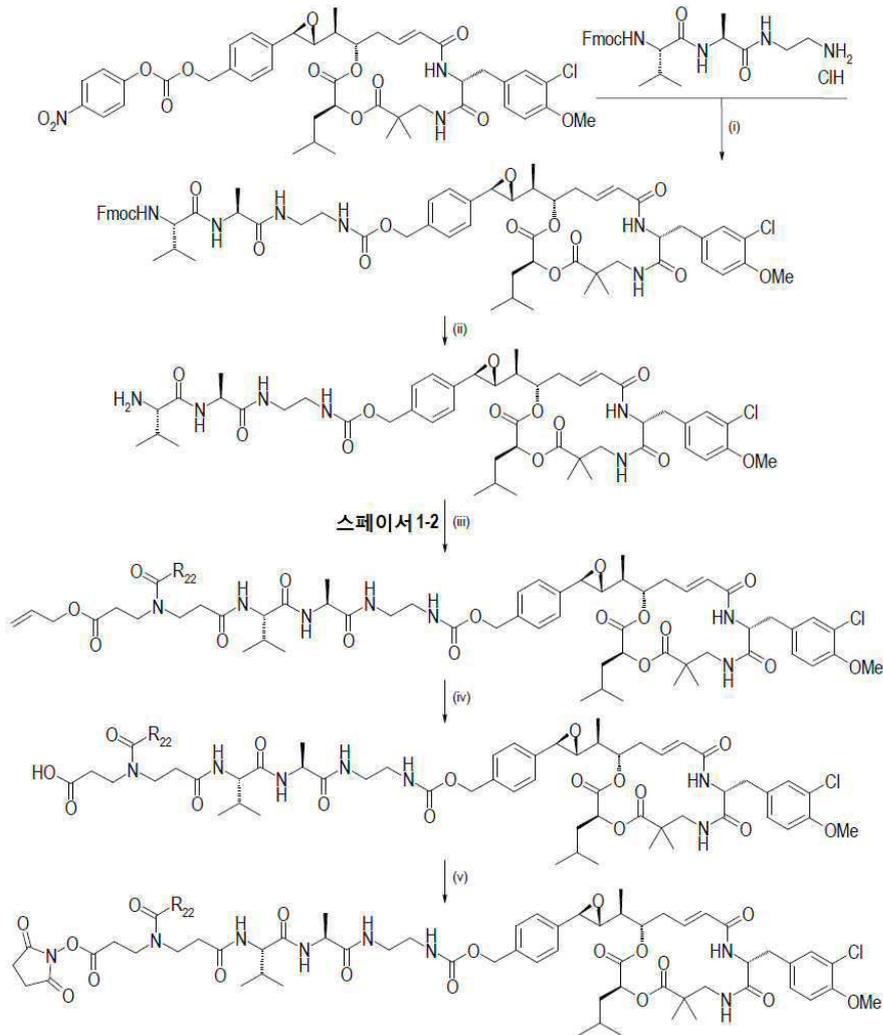
[0812] 반응식 14는 C52의 *p*-벤질릭 아민을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토펙신 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 14는 디펩티드 6을 사용한 합성을 도시하지만, 디펩티드 2에도 적용될 수 있으며; 반응식 14는 스페이스 3 또는 4를 사용한 합성을 도시하지만, 스페이스 1 또는 2에도 적용될 수 있다.

[0813] Y = O-CH₂ 또는 S-CH₂인 경우의 화학식 IV의 새로운 크립토펙신 페이로드의 제조

[0814] ● 친수성이 향상된 스페이스를 갖는 새로운 크립토펙신 페이로드의 제조

[0815] ■ PABA 모이어티를 갖지 않는 경우

[0816] [반응식 15]



[0817]

[0818] 단계 (i): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 크립토피신 활성화 알코올과 아민 사이의 카르바메이트의 형성;

[0819] 단계 (ii): 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0820] 단계 (iii): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 스페이서 1과의 펩티드 커플링, 또는 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 스페이서 2와의 커플링;

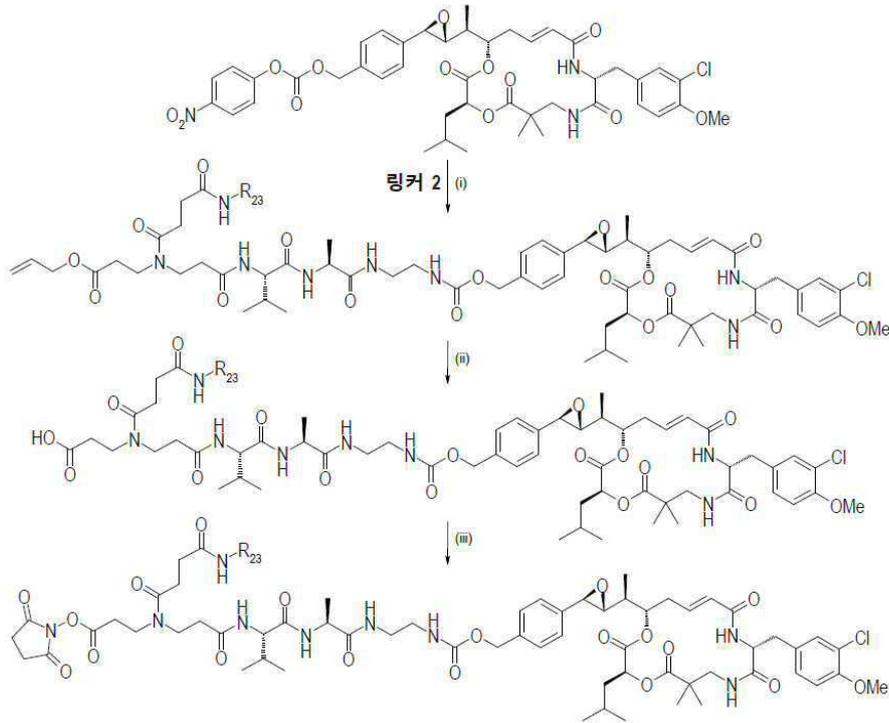
[0821] 단계 (iv): 촉매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호;

[0822] 단계 (v): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0823] 반응식 15는 C52의 활성화 *p*-벤질릭 알코올을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토피신 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 15는 Val-Ala 디펩티드를 사용한 합성을 도시하지만, 다른 디펩티드에도 적용될 수 있으며; 반응식 15는 Boc-단일보호 에틸렌디아민을 사용한 합성을 도시하지만, *n*이 3 내지 10의 범위인 것을 위하여 구매가능한 다른 Boc-단일보호 디아민에도 적용될 수 있으며; 반응식 15는 스페이서 1 또는 2를 사용한 합성을 도시하지만, 스페이서 3 또는 4에도 적용될 수 있다.

[0824] 대안적으로, 친수성이 향상된 스페이서를 갖는 화학식 IV의 새로운 크립토피신 페이로드는 또한 반응식 16에 도시된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0825] [반응식 16]



[0826]

[0827] 단계 (i): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 크립토피신 활성화 알코올과 링커 2 사이의 카르바메이트의 형성;

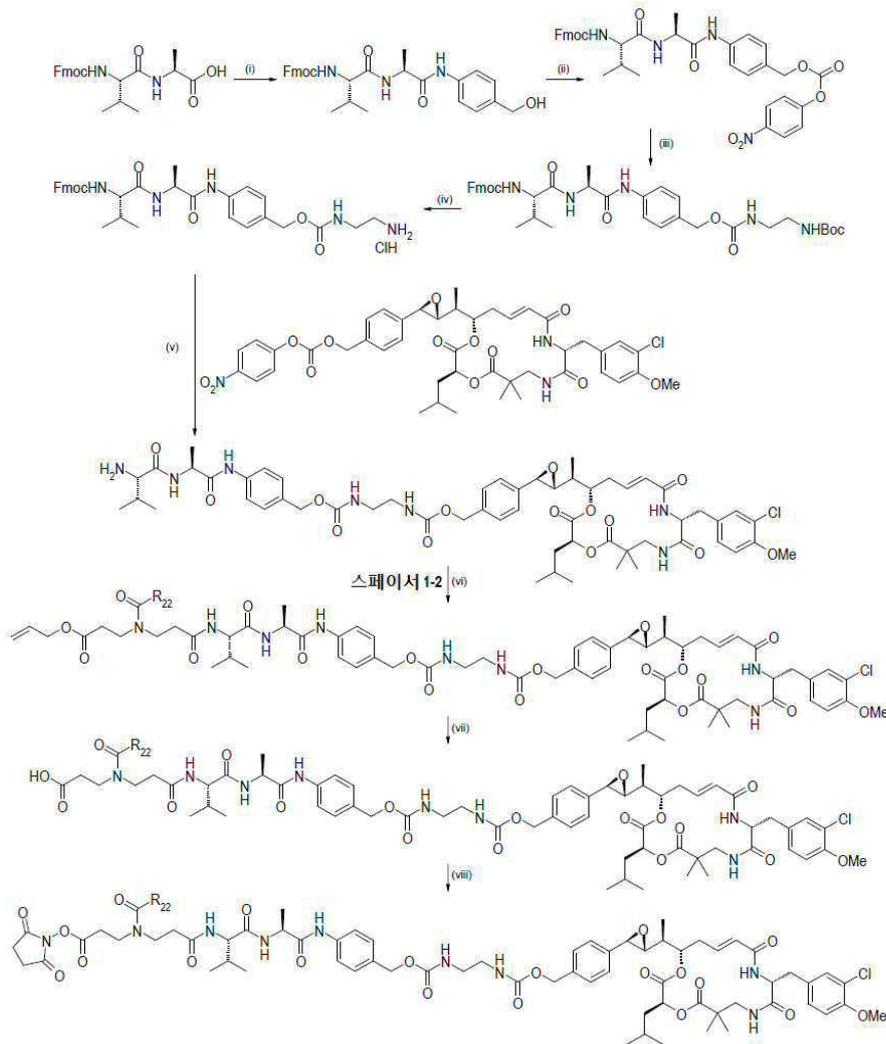
[0828] 단계 (ii): 촉매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호;

[0829] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0830] **반응식 16**은 C52의 활성화 *p*-벤질 알코올을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토피신 화합물에도 적용될 수 있다.

[0831] ■ **PABA 모이어티를 갖는 경우**

[0832] [반응식 17]



[0833]

[0834] 단계 (i): 커플링 시약, 예를 들어, EEDQ의 존재 하에서의 Fmoc-Val-Ala-OH와 4-아미노벤질 알코올 사이의 펩티드 커플링;

[0835] 단계 (ii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 *p*-니트로페닐-클로로포르메이트를 이용한 처리에 의한 *p*-니트로페닐 카르보네이트로서의 벤질릭 알코올의 활성화;

[0836] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 활성화 알코올과 Boc-단일보호 에틸렌 디아민 사이의 카르바메이트의 형성;

[0837] 단계 (iv): HCl의 용액(예를 들어 디옥산 중 용액) 또는 TFA의 용액을 사용한 Boc 아민의 탈보호;

[0838] 단계 (v): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 크립토피신 활성화 알코올과 아민 사이의 카르바메이트의 형성 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0839] 단계 (vi): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 스페이서 1과의 펩티드 커플링, 또는 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 스페이서 2와의 커플링;

[0840] 단계 (vii): 촉매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호;

[0841] 단계 (viii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

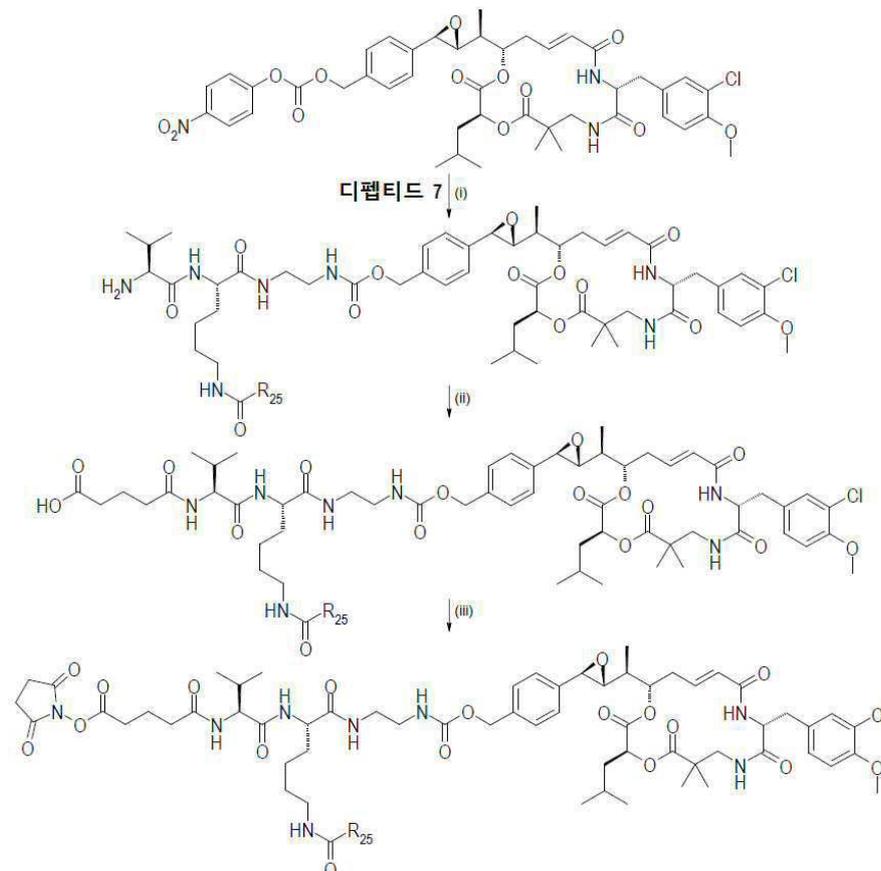
[0842] 반응식 17은 Val-Ala 디펩티드를 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 디펩티드에도 적용될 수 있으며; 반응식 17은 *p*-아미노벤질 알코올(CAS 번호 [623-04-1])을 사용한 합성을 도시하지만, 구매가능한 다른 아미노벤질 알코올 화합물, 예를 들어, 4-(1-히드록시에틸)-아닐린 (라세미(CAS 번호 [14572-89-5]) 또는 순수 거울상

이성질체 (R)(CAS 번호 [210754-25-9]) 또는 (S)(CAS 번호 [500229-84-5]), 4-아미노- α , α -디메틸-벤젠-메탄올(CAS 번호 [23243-04-1]), 4-아미노- α -메톡시- α -메틸-벤젠메탄올(CAS 번호 [1379318-81-6]), 4-아미노- α -메틸- α -트리플루오로메틸-벤젠메탄올(CAS 번호 [851652-56-7]), 2-아미노-벤젠메탄올(CAS 번호 [5344-90-1]), 2-아미노- α -메틸-벤젠메탄올(라세미(CAS 번호 [10517-50-7]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [3205-21-8]) 또는 (S)(CAS 번호 [3205-21-8])), 6-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [113293-71-3]), 6-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1335054-83-5]), 6-아미노- α -에틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1355225-85-2]), 6-아미노- α , α -디메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [843646-03-8]), 5-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [873651-92-4]), 2-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [23612-57-9]), 2-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(라세미(CAS 번호 [869567-91-9]) 또는 순수 거울상 이성질체 (R)(CAS 번호 [936718-01-3]) 또는 (S)(CAS 번호 [936718-00-2])), 2-아미노- α -에틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [914223-90-8]), 2-아미노- α , α -디메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [213666-96-7]), 3-아미노-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [152398-05-5]), 3-아미노- α -메틸-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [1242470-88-7]), 3-아미노- α , α -메틸-4-피리딘메탄올(CAS 번호 [13357-81-8]), 4-아미노-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [138116-34-4]), 4-아미노- α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [741223-49-4]), 4-아미노- α , α -메틸-3-피리딘메탄올(CAS 번호 [1339013-26-1]), 3-아미노-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [52378-63-9]), 3-아미노- α -메틸-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [954240-54-1]), 3-아미노- α , α -메틸-2-피리딘메탄올(CAS 번호 [899438-57-4])에도 적용될 수 있으며; 반응식 17은 Boc-단일보호 에틸렌디아민을 사용한 합성을 도시하지만, n이 3 내지 10의 범위인 것을 위하여 구매가능한 다른 Boc-단일보호 디아민에도 적용될 수 있으며; 반응식 17은 C52의 활성화 p-벤질 알코올을 사용한 합성을 도시하지만, 다른 크립토펬신 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 17은 스페이서 1 또는 2를 사용한 합성을 도시하지만, 스페이서 3 또는 4에도 적용될 수 있다.

[0843] ● **친수성이 향상된 디펩티드를 갖는 화학식 IV의 새로운 크립토펬신 페이로드의 제조**

[0844] ■ **PABA 모이어티를 갖지 않는 경우**

[0845] [반응식 18]



[0846]

[0847] 단계 (i): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 크립토펬신 활성화 알코올과 디펩티드 사이의 카르바메이트의 형성 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

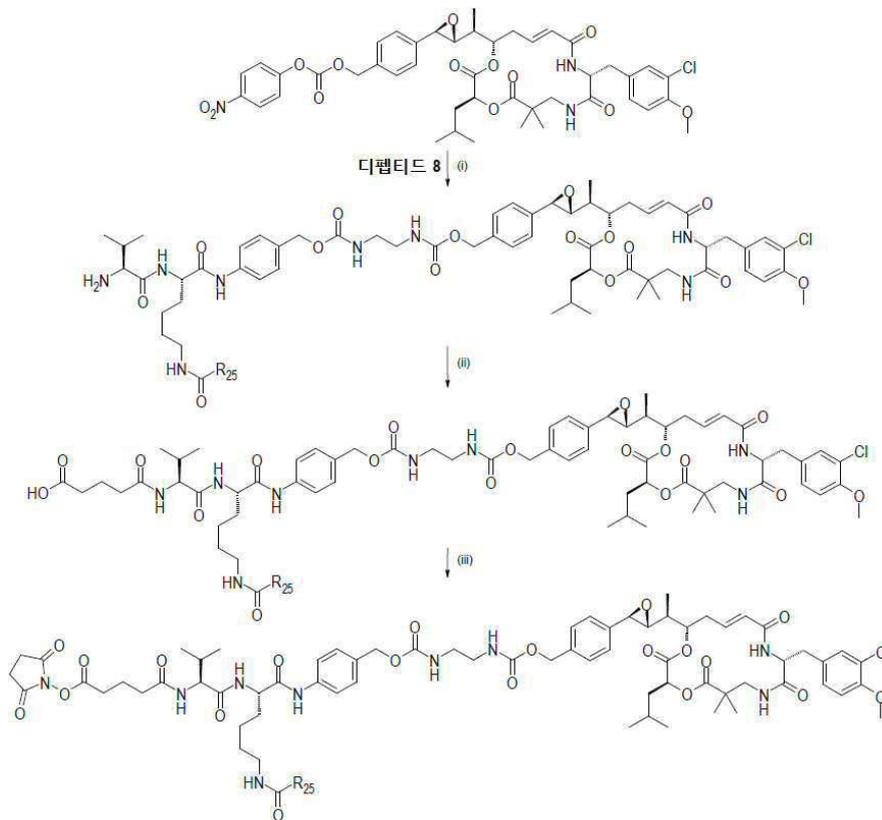
[0848] 단계 (ii): 글루타르산 무수물과의 커플링; 치환 아미노산의 측쇄의 하나의 추가 탈보호 단계가 단계 (iii) 전에 요구될 수 있음;

[0849] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0850] 반응식 18은 C52의 활성화 *p*-벤질릭 알코올을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토피신 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 18은 디펩티드 7을 사용한 합성을 도시하지만, 디펩티드 3에도 적용될 수 있으며; 반응식 18은 글루타르산 무수물을 사용한 합성을 도시하지만, *n*이 3 내지 10의 범위인 것을 위하여 구매가능한 숙신산 무수물 또는 알킬 이산에도 적용될 수 있다.

[0851] **■ PABA 모이어티를 갖는 경우**

[0852] [반응식 19]



[0853]

[0854] 단계 (i): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 크립토피신 활성화 알코올과 디펩티드 사이의 카르바메이트의 형성 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0855] 단계 (ii): 글루타르산 무수물과의 커플링; 치환 아미노산의 측쇄의 하나의 추가 탈보호 단계가 단계 (iii) 전에 요구될 수 있음;

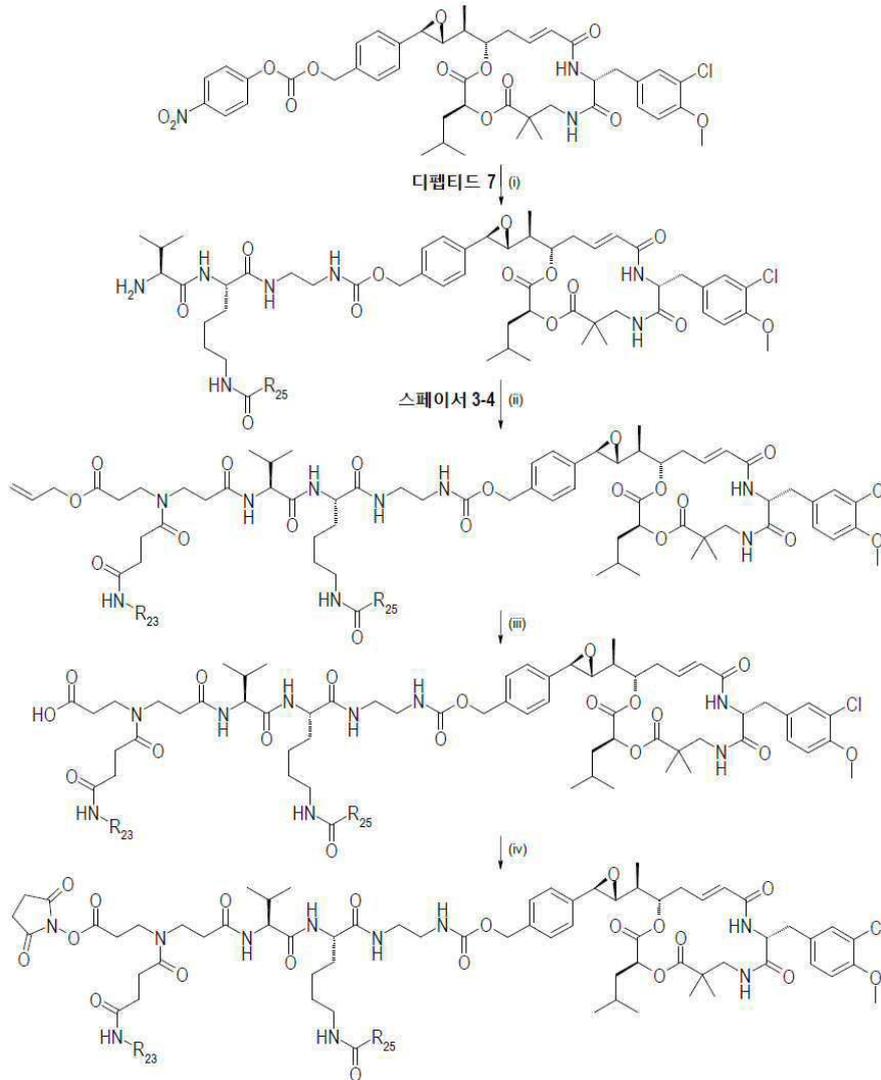
[0856] 단계 (iii): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0857] 반응식 19는 C52의 활성화 *p*-벤질릭 알코올을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토피신 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 19는 디펩티드 8을 사용한 합성을 도시하지만, 디펩티드 4에도 적용될 수 있으며; 반응식 19는 글루타르산 무수물을 사용한 합성을 도시하지만, *n*이 3 내지 10의 범위인 것을 위하여 구매가능한 숙신산 무수물 또는 알킬 이산에도 적용될 수 있다.

[0858] **● 친수성이 향상된 디펩티드 및 스페이서 둘 다를 갖는 화학식 IV의 새로운 크립토피신 페이로드의 제조**

[0859] **■ PABA 모이어티를 갖지 않는 경우**

[0860] [반응식 20]



[0861]

[0862] 단계 (i): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 크립토펜 활성화 알코올과 디펩티드 사이의 카르바메이트의 형성 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0863] 단계 (ii): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 스페이서 3과의 펩티드 커플링, 또는 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 스페이서 4와의 커플링;

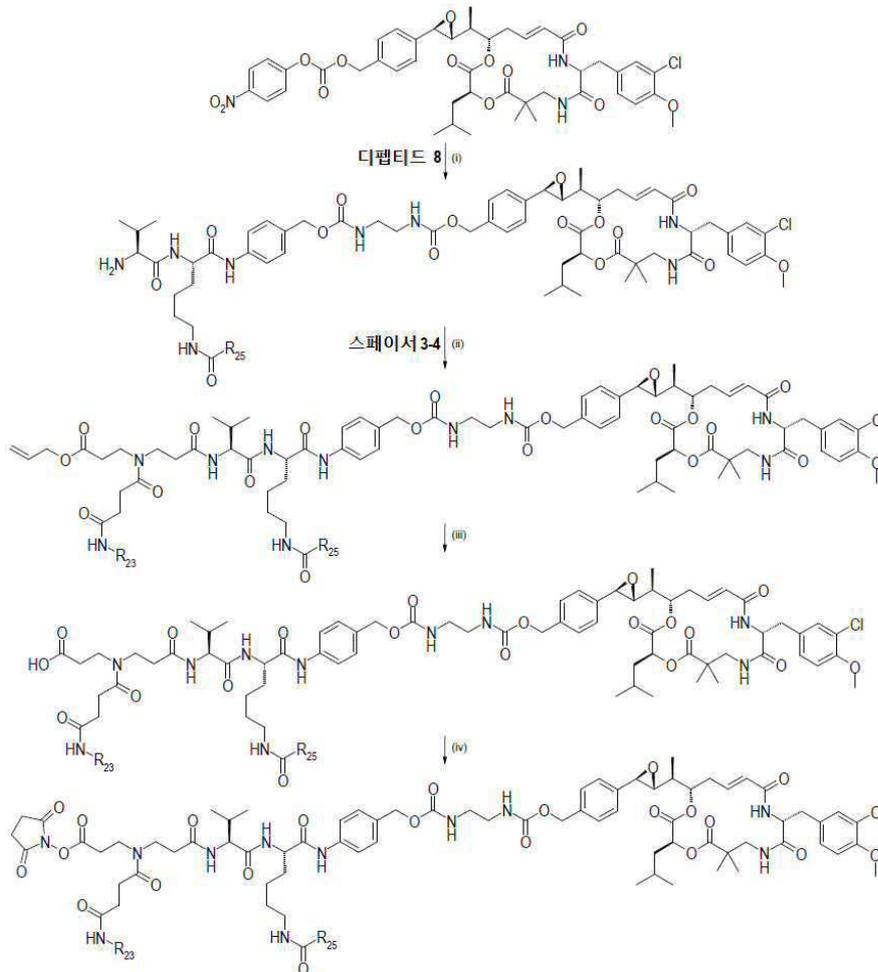
[0864] 단계 (iii): 촉매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호; 치환 아미노산의 측쇄의 하나의 추가 탈보호 단계가 단계 (iv) 전에 요구될 수 있음;

[0865] 단계 (iv): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0866] 반응식 20은 C52의 *p*-벤질릭 아민을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토펜 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 20은 디펩티드 7을 사용한 합성을 도시하지만, 디펩티드 3에도 적용될 수 있으며; 반응식 20은 스페이서 3 또는 4를 사용한 합성을 도시하지만, 스페이서 1 또는 2에도 적용될 수 있다.

[0867] ■ PABA 모이어티를 갖는 경우

[0868] [반응식 21]



[0869]

[0870] 단계 (i): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 크립토펜 활성화 알코올과 디펩티드 사이의 카르바메이트의 형성 및 염기, 예를 들어, 피페리딘의 존재 하에서의 Fmoc 아민의 탈보호;

[0871] 단계 (ii): 커플링 시약, 예를 들어, EDC 및 HOBt를 사용한 스페이서 3과의 펩티드 커플링, 또는 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 스페이서 4와의 커플링;

[0872] 단계 (iii): 축매, 예를 들어, 테트라키스-(트리페닐포스핀)팔라듐의 존재 하에서의 알릴 에스테르의 탈보호; 치환 아미노산의 축매의 하나의 추가 탈보호 단계가 단계 (iv) 전에 요구될 수 있음;

[0873] 단계 (iv): 염기, 예를 들어, DIEA의 존재 하에서의 DSC를 이용한 처리에 의한 NHS 에스테르로서의 카르복실산의 활성화.

[0874] 반응식 21은 C52의 *p*-벤질릭 아민을 사용한 페이로드의 합성을 도시하지만, 다른 크립토펜 화합물에도 적용될 수 있으며; 반응식 21은 디펩티드 8을 사용한 합성을 도시하지만, 디펩티드 4에도 적용될 수 있으며; 반응식 21은 스페이서 3 또는 4를 사용한 합성을 도시하지만, 스페이서 1 또는 2에도 적용될 수 있다.

[0875] **화학식 V의 콘주게이트의 제조**

[0876] 본 발명의 화학식 V의 콘주게이트는 적어도 다음의 단계를 포함하는 방법을 통하여 획득될 수 있다:

[0877] (i)

[0878] - 변형체에 의해 선택적으로 변형된 항체의 선택적으로 완충된 수성 용액,

[0879] 및

[0880] - 본 발명에 정의된 바와 같은 화학식 IV의 크립토펜 페이로드의 용액

[0881] (화학식 IV의 크립토펜 페이로드의 화학기 RCG1은 항체와 같은 폴리펩티드 상에 존재하는 화학기 RCG2에 대해

여, 특히 항체 상에 존재하는 아미노 기에 대하여 반응성을 가지며, 상기 화학기 RCG2는 적절할 경우 변형체에 의해 도입되었음을) 접촉하게 두어 반응하게 내버려 두어서,

- [0882] 화학식 IV의 크립토피신 페이로드가 공유 결합의 형성에 의해 항체에 부착되게 하는 단계; 및
- [0883] (ii) 그 후 선택적으로, 단계 (i)에서 형성된 화학식 V의 콘쥬게이트를 화학식 IV의 크립토피신 페이로드로부터 및/또는 미반응 항체로부터 및/또는 형성되었을 수 있는 임의의 응집체로부터 분리하는 단계.
- [0884] 예를 들어 하나의 변이형에 따르면 단계 (ii)에서 단계 (i)로부터의 화학식 V의 콘쥬게이트는 단지 화학식 IV의 미반응 크립토피신 페이로드로부터 및 형성된 임의의 응집체로부터 분리되며, 임의의 미반응 항체는 용액 내에 남겨진다.
- [0885] 상기 접촉하게 두는 단계의 기능은, 화학식 IV의 크립토피신 페이로드가 공유 결합의 형성에 의해 항체와 같은 폴리펩티드에 부착하는 것을 보장하기 위하여 화학기 RCG1 및 RCG2를 반응시키는 것이며; 예컨대 다음과 같다:
- [0886] ■ RCG1이 RaZa-C(=O)를 나타낼 때, 반응은 바람직하게는 항체의 아미노 작용체, 예컨대 항체의 라이신(Lys) 잔기의 측쇄가 갖고 있는 -아미노 기 및 항체 중쇄 및 경쇄의 N-말단 아미노산의 α-아미노 기에서 일어난다. 이 경우 하기 화학식의 콘쥬게이트가 수득된다: mAb-[NH-C(=O)-L*-Y-Crypto]d(이때 L*은 RCG1로서 RaZa-C(=O) 기를 포함하는 링커 L의 단편을 나타내며, d는 약물 대 항체 비 또는 DAR을 나타냄);
- [0887] ■ RCG1이 염소 원자 또는 말레이미도 또는 할로아세트아미도 기를 나타낼 때, 항체는 티올 화학기를 포함할 수 있다;
- [0888] ■ RCG1이 아지도 기를 나타낼 때, 항체는 C≡CH 모이어티 또는 활성화 삼중 결합, 예컨대 시클로옥틴 기를 포함할 수 있다;
- [0889] ■ RCG1이 NH₂ 기를 나타낼 때, 반응은 효소적 촉매 작용을 사용하여 항체의 아미드 작용체, 예컨대 항체의 글루타민(Gln) 잔기의 측쇄가 갖고 있는 아미드 기에서 일어날 수 있다. 이 경우 하기 화학식의 콘쥬게이트가 수득된다: mAb-[C(=O)-NH-L*-Crypto]d(이때 L*은 L이 L*NH₂ 기를 나타내도록 RCG1로서 NH₂ 기를 포함하는 링커 L의 단편을 나타내며, d는 약물 대 항체 비 또는 DAR을 나타냄);
- [0890] ■ RCG1이 C≡CH 기 또는 활성화 C≡C 기, 예컨대 시클로옥틴 모이어티를 나타낼 때, 항체는 아지도 기를 포함할 수 있다.
- [0891] 용어 "응집체"는 2가지 이상의 항체들 사이에 형성될 수 있는 회합물을 의미하며, 항체는 가능하게는 콘쥬게이션에 의해 변형되었다. 응집체는 용액 중 항체의 높은 농도, 용액의 pH, 높은 전단력, 그래프팅된 약물의 수 및 그의 소수성 성질, 그 온도(문헌[J. Membrane Sci. 2008, 318, 311-316]의 도입부에 인용된 참고 문헌을 참조)와 같은 매우 다양한 파라미터의 영향 하에 형성되기 쉽지만, 이들 중 일부의 영향은 명백하게 밝혀진 적이 없다. 단백질 또는 항체의 경우, 문헌[AAPS Journal, "Protein Aggregation and Bioprocessing" 2006, 8(3), E572-E579]이 참고될 수 있다. 응집체 함량은 공지된 기술, 예컨대 SEC를 통하여 결정될 수 있다(이와 관련하여, 문헌[Analytical Biochemistry 1993, 212 (2), 469-480] 참조).
- [0892] 항체의 수성 용액은 완충제, 예를 들어 인산칼륨 또는 HEPES 또는 이후에 설명되는 완충제 A와 같은 완충제 혼합물을 이용하여 완충될 수 있다. 완충제는 항체의 성질에 따라 달라진다. 화학식 IV의 크립토피신 페이로드는 극성 유기 용매, 예컨대 DMSO 또는 DMA에 용해된다.
- [0893] 반응은 일반적으로 20℃ 내지 40℃의 범위의 온도에서 일어난다. 반응 시간은 1 내지 24시간의 범위일 수 있다. 항체와 화학식 IV의 크립토피신 페이로드 사이의 반응은 그의 진행 정도를 결정하기 위하여 HRMS 및/또는 굴절률 측정 및/또는 자외선 검출기를 갖춘 SEC에 의해 모니터링될 수 있다. 치환 정도가 불충분한 경우, 반응은 더 오랫동안 남겨질 수 있고/있거나 크립토피신 회합물이 첨가될 수 있다. 특정 조건과 관련한 추가의 상세 사항에 대해서는 실시예 섹션을 참고할 수 있다. 특정 실시 형태가 실시예 3, 6, 16, 19, 23, 26, 29, 32, 35 및 41에 기술되어 있다.
- [0894] 당업자는 다음과 같이 단계 (ii)의 분리를 위하여 다양한 크로마토그래피 기술을 마음대로 갖는다: 콘쥬게이트는 예를 들어 입체 배제 크로마토그래피(SEC)에 의해, 흡착 크로마토그래피(예를 들어 이온 교환, IEC)에 의해, 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC)에 의해, 친화성 크로마토그래피에 의해, 세라믹 히드록시아파타이트와 같은 혼합 지지체에서의 크로마토그래피에 의해, 또는 HPLC에 의해 정제될 수 있다. 투석 또는 정용여과에 의한 정제도 사용될 수 있다.

[0895] 단계 (i) 또는 단계 (ii) 후, 콘주게이트의 용액은 한외여과 및/또는 정용여과 단계 (iii)을 겪을 수 있다. 이러한 단계 후, 수성 용액 중 콘주게이트가 그에 따라 수득된다.

[0896] **항체**

[0897] 항체는 쥐과, 키메라, 인간화 및 인간 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 단클론 항체일 수 있다.

[0898] 일 실시 형태에서, 항체는 단일특이성 항체, 즉, 하나의 단일 표적에 특이적으로 결합하는 항체이다. 대안적으로, 항체는 다중특이성 항체일 수 있다.

[0899] 일 실시 형태에서, 항체는 IgG 항체, 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄ 항체이다.

[0900] 본 발명에 따른 항체는 표적에 특이적으로 결합함으로써, 생물학적 활성 화합물을 상기 표적에 대한 세포독성 화합물로서 유도한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "특이적으로 결합하다" 또는 "~에 특이적으로 결합하다" 또는 "~에 결합하다" 등은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 생리학적 조건 하에서 상대적으로 안정한 항원과 복합체를 형성함을 의미한다. 특이적 결합은 적어도 약 1×10^{-8} M 이하의 평형 해리 상수(K_d)를 특징으로 할 수 있다(예를 들어, 더 작은 K_d는 더 단단한 결합을 나타낸다). 두 분자가 특이적으로 결합하는지를 결정하는 방법은 본 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들어, 평형 투석, 표면 플라즈몬 공명 등을 포함한다. 본원에 기술된 바와 같이, 항체는 표면 플라즈몬 공명, 예를 들어, 비아코어(BIACORE)TM를 사용한 표적 및/또는 표적 항원에의 그의 특이적 결합성에 의해 특성화되었다.

[0901] 전형적으로 표적은 세포 표면에서 발견되는 단백질, 예를 들어 종양 세포의 표면에서 발견되는 단백질에 상응한다.

[0902] 일 실시 형태에서, 표적은 EphA2 수용체이다. EphA2 수용체는 에프린(Ephrin) 수용체이며, "Eph 수용체 A2" 또는 "상피 세포 수용체 단백질-티로신 키나아제"로도 지칭된다. EphA2 수용체에 특이적으로 결합하는 항체는 예를 들어 국제 공개 제2008/010101호 또는 국제 공개 제2011/039724호에 기술된 항체 중 하나에 상응할 수 있다.

[0903] 항체는 이전에 기술된 바와 같이 크립토피신 페이로드의 부착을 촉진하도록 변형제로 선택적으로 변형될 수 있다. 항체는 특히 단클론, 다클론 또는 다중특이성 항체일 수 있다. 이것은 또한 항체 단편일 수 있다. 이것은 또한 쥐과, 인간, 인간화 또는 키메라 항체일 수 있다. 본 발명의 실시예에서 사용된 항체는 EphA2 수용체에 대한 길항제 항체인 hu2H11_R3574이다. The sequence of hu2H11_R3574 is represented by SEQ ID NO: 1(항체 hu2H11_R3574의 경쇄) 및 서열 번호 2(항체 hu2H11_R3574의 중쇄)(이는 각각 국제 공개 제2011039724 A1호에 나타낸 서열 번호 16 및 서열 번호 18에 상응함)로 나타낸다.

[0904] **콘주게이트**

[0905] 일반적으로 콘주게이트는 항체에 공유적으로 부착된 약 1 내지 10개의 크립토피신 화합물을 포함한다(이것은 그 래프팅 정도 또는 "약물 대 항체 비" 또는 "DAR"이다). 이 수는 크립토피신 화합물 및 항체의 성질과, 또한 콘주게이션 공정에서 사용되는 작업 조건(예를 들어, 항체에 대한 크립토피신 화합물의 당량수, 반응 시간, 용매의 성질 및 임의의 공용매의 성질)의 함수로서 달라진다. 항체와 크립토피신 화합물을 접촉하게 두면 상이한 DAR에 의해 개별적으로 서로 구별되는 몇몇 콘주게이트; 선택적으로 미반응 혼합물; 선택적으로 응집체를 포함하는 혼합물이 초래된다. 따라서 최종 용액에서 결정되는 DAR은 평균 DAR에 상응한다. DAR은 콘주게이트의 SEC-HRMS 스펙트럼의 디콘볼루션(deconvolution)으로부터 계산될 수 있다. DAR(HRMS)은 예를 들어 0.5 초과, 예를 들어 1 내지 10의 범위, 예컨대 2 내지 7의 범위이다.

[0906] 콘주게이트는 항암제로 사용될 수 있다. 항체의 존재 때문에, 콘주게이트는 건강한 세포보다는 종양 세포에 대하여 고도로 선택적이게 된다. 이것은 크립토피신 화합물을 그와 유사한 환경에서 또는 직접적으로 그 내부에서 유도하는 것을 가능하게 한다. 이것은 고형 또는 액상 암의 치료가 가능하다. 콘주게이트는 단독으로 또는 적어도 하나의 다른 항암제와 조합되어 사용될 수 있다.

[0907] 콘주게이트는 일반적으로 1 내지 10 mg/mL의 범위의 농도로 완충 수성 용액의 형태로 제형화된다. 이 용액은 그 자체로 관류 형태로 주사될 수 있거나 관류 용액을 형성하도록 재희석될 수 있다.

[0908] **실시예**

[0909] 다음의 실시예는 본 발명에 따른 특정 화합물의 제조법을 설명한다. 이러한 실시예는 제한적인 것이 아니고, 단

순히 본 발명을 예시하는 것이다.

- [0910] 사용한 분석 방법
- [0911] 고압 액체 크로마토그래피 - 질량 분광 분석법(LCMS)
- [0912] 방법 A
- [0913] 스펙트럼을 워터스(Waters) UPLC-SQD 시스템에서 포지티브 및/또는 네가티브 전기분무 모드(ES+/-)에서 획득하였다. 크로마토그래피 조건은 다음과 같았다:
- [0914] 컬럼: 어퀴티 BEH C18 - 1.7 μm - 2.1 x 50 mm; 용매: A: H₂O(0.1% 포름산), B: CH₃CN(0.1% 포름산); 컬럼 온도: 50°C; 유량: 0.8 mL/분; 구배(2.5분): 1.8분 내에 5%로부터 100%까지의 B; 2.4분: 100%의 B; 2.45분: 0.05분 내에 100%로부터 5%까지의 B.
- [0915] 방법 B
- [0916] 스펙트럼을 워터스 UPLC-SQD 시스템에서 포지티브 및/또는 네가티브 전기분무 모드(ES+/-)에서 획득하였다. 크로마토그래피 조건은 다음과 같았다:
- [0917] 컬럼: 어퀴티 BEH C18 - 1.7 μm - 2.1 x 50 mm; 용매: A: H₂O(0.1% 포름산), B: CH₃CN(0.1% 포름산); 컬럼 온도: 50°C; 유량: 0.6 mL/분; 구배 (2분): 1분 내에 5%로부터 50%까지의 B; 0.3분 내에 50%로부터 100%까지의 B; 0.15분 동안 100%의 B; 0.3분 내에 100%로부터 5%까지의 B 및 0.25분 동안 5%의 B.
- [0918] 방법 C
- [0919] 스펙트럼을 워터스 UPLC-SQD 시스템에서 포지티브 및/또는 네가티브 전기분무 모드(ES+/-)에서 획득하였다. 크로마토그래피 조건은 다음과 같았다:
- [0920] 컬럼: 어퀴티 BEH C18 - 1.7 μm - 2.1 x 50 mm; 용매: A: H₂O(0.1% 포름산), B: CH₃CN(0.1% 포름산); 컬럼 온도: 50°C; 유량: 0.8 mL/분; 구배 (5분): 4.2분 내에 5%로부터 100%까지의 B; 4.6분: 100%의 B; 4.8분: 5%의 B.
- [0921] 방법 D
- [0922] 스펙트럼을 워터스 XeVo - Qtof 시스템에서 포지티브 전기분무 모드(ES+)에서 획득하였다. 크로마토그래피 조건은 다음과 같았다:
- [0923] 컬럼: 어퀴티 BEH C18 - 1.7 μm - 2.1 x 100 mm; 용매: A: H₂O(0.1% 포름산), B: CH₃CN(0.1% 포름산); 컬럼 온도: 45° C; 유량: 0.6 mL/분; 구배 (5.3분): 0분으로부터 0.3분까지 5%의 B, 4분: 100%의 B; 4.6분: 100%의 B; 5.3분: 5%의 B.
- [0924] 방법 E
- [0925] 스펙트럼을 워터스 UPLC-SQD 시스템에서 포지티브 및/또는 네가티브 전기분무 모드(ES+/-)에서 획득하였다. 크로마토그래피 조건은 다음과 같았다:
- [0926] 컬럼: 어퀴티 BEH C18 - 1.7 μm - 2.1 x 50 mm; 용매: A: H₂O(0.1% 포름산), B: CH₃CN(0.1% 포름산); 컬럼 온도: 45° C; 유량: 0.8 mL/분; 구배 (10분): 8.6분 내에 5%로부터 100%까지의 B; 9.6분: 100%의 B; 9.8분: 5%의 B.
- [0927] ¹H 핵 자기 공명(NMR)
- [0928] ¹H NMR 스펙트럼을 모델 DRX-300, DRX-400 또는 DRX-500 중 어느 하나의 브루커 아반스(Bruker Avance) 분광계에서 획득하였다. 화학적 이동(δ)을 ppm 단위로 제공한다.
- [0929] 크기 배제 크로마토그래피 - 고분해능 질량 분광 분석법(SEC-HRMS)
- [0930] 크로마토그래피 분석을 애질런트(Agilent) HP1100 기계 및 워터스 BEH SEC 200 1.7 μm (2.1 x 150 mm) 컬럼에서 30°C에서 0.5 mL/분의 유량 및 (A) 25 mM 포름산암모늄 + 1% 포름산/(B) CH₃CN + 0.1% 포름산(70/30)의 등용매 용출을 이용하여 15분 동안 수행하였다. 질량 분광 분석법을 포지티브 모드(ES+)의 전기분무 이온화를 이

용하여 워터스 QTOF-II 기계에서 수행하였다. 질량 스펙트럼을 워터스 MaxEnt1 소프트웨어를 이용하여 디콘볼루션하였다.

[0931] 분석용 크기 배제 크로마토그래피(SEC)

[0932] 워터스 얼라이언스(Alliance) HPLC 시스템 또는 히타치 라크롬(Hitachi Lachrom) HPLC 시스템(포토다이오드 어레이 검출기 및 토소 바이오사이언스(Tosoh Bioscience) TSKgel G3000 SWXL 5 μm 컬럼(7.8 × 300 mm)이 갖추어짐)에서, 0.2 M의 KCl, 0.052 M의 KH₂PO₄, 0.107 M의 K₂HPO₄ 및 20 부피%의 이소프로판올을 함유하는 pH 7 완충제를 이용하여 30분의 등용매 용출 및 0.5 mL/분의 유량을 이용하여 분석을 수행하였다.

[0933] 완충제

[0934] ➤ 완충제 (pH 6.5): NaCl (50 mM), 인산칼륨 완충제 (50 mM), EDTA (2 mM)

[0935] ➤ 완충제 B (pH 6.5): NaCl (140 mM), 포타슘 및 소듐 포스페이트 (9.6 mM)

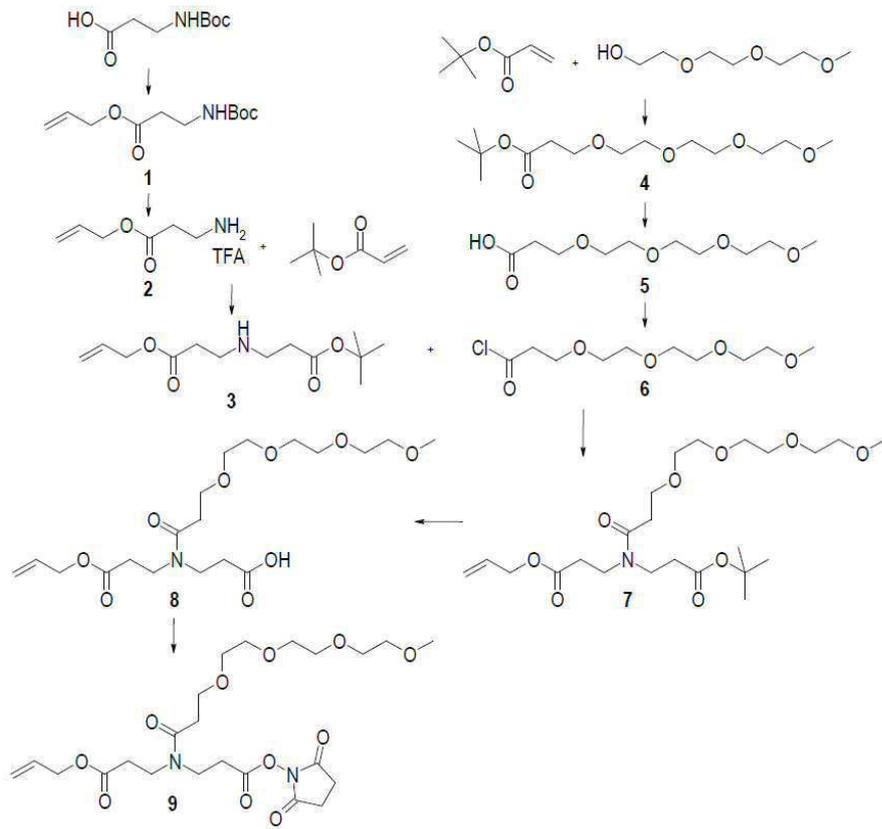
[0936] ➤ DPBS (pH 7.2): KCl (2.7 mM), NaCl (137 mM), KH₂PO₄ (1.47 mM), Na₂HPO₄ (8.10 mM)

[0937] ➤ PBS (pH 7.4): KH₂PO₄ (1.06 mM), NaCl (155.17 mM), Na₂HPO₄·7H₂O (2.97 mM)

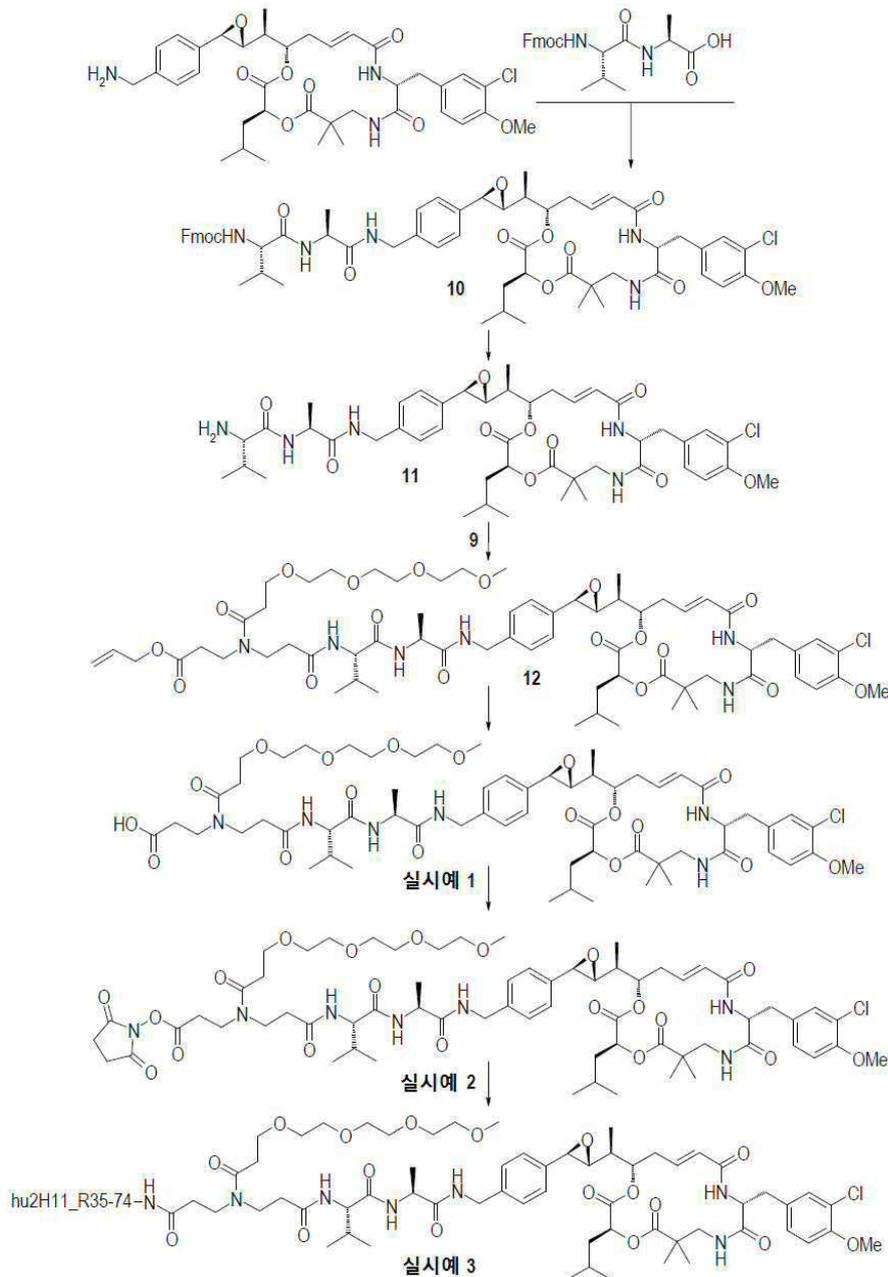
[0938] 항체-약물 콘주게이트(ADC)의 제조에 사용한 일반적인 방법

[0939] 완충제 A와 1 N HEPES의 96:4 혼합물로 구성된 수성 완충제 중 항체의 용액을, 최종 항체 농도가 3 mg/mL이고 수성 완충제 중 DMA의 백분율이 20%이도록 과량(5 내지 10 당량)의, DMA 중 대략 10 mM의 크립토포신 페이로드의 용액으로 처리하였다. 1 내지 4시간 동안 교반시킨 후, 상기 혼합물을 SEC-HRMS로 분석하여 단량체성 항체의 집단에서의 DAR을 결정하였다. DAR이 불충분한 것으로 밝혀지면(< 3.5~4), 상기 혼합물을 교반 하에 실온에서 2 내지 4시간의 추가 시간 동안, 추가의 과량(1 내지 5 당량)의, DMA 중 크립토포신 용액으로 처리하였다. 상기 혼합물은 10 내지 20%의 NMP를 함유하는 pH 6.5의 수성 완충제(완충제 또는 DPBS)에서 사전 평형시킨 슈퍼덱스(Superdex) 200 pg 매트릭스(하이로드(HiLoad) 16/60 또는 26/60 탈염 컬럼, 지이헬스케어(GEHealthcare)), 또는 5 내지 10%의 NMP를 함유하는 pH 6.5의 수성 완충제(완충제 B 또는 DPBS)에서 사전 평형시킨 세파덱스(Sephadex)TM G25 매트릭스(하이프랩(Hiprep) 26/10 탈염 컬럼, 지이헬스케어)를 사용한 겔 여과에 의해 정제하였다. 단량체성의 콘주게이션된 항체를 함유하는 분획을 모으고, 2 내지 5 mg/mL의 농도까지 아미콘(Amicon) 울트라(Ultra)-15 (10k 또는 50k 울트라셀(Ultracel) 막, 밀리포어(Millipore))에서 농축시켰다. 그 후, 적절한 완충제에서의 완충제 교환 또는 희석을 수행하여 최종 완충제 중에 콘주게이트를 제형화하였다. 완충제 교환의 경우, 이것은 최종 수성 완충제(이의 조성 및 pH는 각각의 콘주게이트에 적합함)로 사전 평형화된 세파덱스TM G25 매트릭스(NAP-5, NAP-10, NAP-25/PD-10 또는 하이프랩 26/10 탈염 컬럼, 지이헬스케어)를 사용한 겔 여과에 의해 실현하였다. 콘주게이트를 최종적으로 스테리플립(Steriflip)[®] 필터 유닛(0.22 μm 듀라포어(Durapore)[®] PVDF 막, 밀리포어)을 통하여 여과시켰다. 최종 콘주게이트를 UV 분광 분석법 또는 SEC-HPLC로 분석하여서 콘주게이트 농도를 측정하고, SEC-HPLC로 분석하여서 단량체 순도를 결정하고, SEC-HRMS로 분석하여 콘주게이트의 질량 스펙트럼의 디콘볼루션으로부터 DAR을 결정하였다.

[0940] 실시예 1 내지 3: PEG4-Val-Ala-C52 벤질릭 아민, PEG4-Val-Ala-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르 및 상응하는 ADC의 합성



[0941]



[0942]

[0943] **화합물 1:** 알릴 3-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)프로파노에이트

[0944] DMF (50 mL) 중 Boc--Ala-OH (CAS number [3303-84-2], 2 g, 10.04 mmol)의 용액에 탄산세슘 (6.88 g, 21.09 mmol) 및 알릴 브로마이드 (965.52 μ L, 11.05 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 그 후 톨루엔으로 희석시키고, 진공에서 수 회 농축시켰다. 조 생성물을 물 (100 mL)로 희석시키고, EtOAc (3 x 300 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 90 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 1.5 g의 **화합물 1** (65%)을 제공하였다.

[0945] ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 1.37 (s, 9 H); 2.45 (t, J = 6.9 Hz, 2 H); 3.17 (q, J = 6.9 Hz, 2 H); 4.54 (m, 2 H); 5.20 (qd, J = 1.5 및 10.6 Hz, 1 H); 5.29 (qd, J = 1.9 및 17.3 Hz, 1 H); 5.91 (m, 1 H); 6.85 (브로드 t, J = 6.9 Hz, 1 H).

[0946] **화합물 2:** 알릴 3-아미노프로파노에이트 2,2,2-트리플루오로아세테이트

[0947] DCM (30 mL) 중 **화합물 1** (1.5 g, 6.54 mmol)의 용액에 TFA (5.09 mL, 65.42 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 그 후 톨루엔으로 희석시키

고, 진공에서 2회 농축시켜 1.6 g의 **화합물 2** (정량적)를 생성하였다.

- [0948] **화합물 3**: 알릴 3-((3-(*tert*-부톡시)-3-옥소프로필)아미노)프로파노에이트
- [0949] DMSO (15 mL) 중 **화합물 3** (1.6 g, 6.58 mmol)의 용액에 DIEA (2.30 mL, 13.16 mmol) 및 *tert*-부틸 아크릴레이트 (973.49 μ L, 6.58 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 마이크로웨이브를 이용하여 60°C에서 1시간 동안 가열하였다. 이때, 상기 반응 매질을 H₂O (10 mL)로 희석시키고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 80 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 678 mg의 **화합물 3** (40%)을 제공하였다.
- [0950] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 1.39 (s, 9 H); 1.73 (브로드 m, 1 H); 2.29 (t, J = 6.9 Hz, 2 H); 2.44 (t, J = 6.9 Hz, 2 H); 2.68 (t, J = 6.9 Hz, 2 H); 2.73 (t, J = 6.9 Hz, 2 H); 4.53 (m, 2 H); 5.20 (qd, J = 1.5 및 10.6 Hz, 1 H); 5.30 (qd, J = 1.9 및 17.3 Hz, 1 H); 5.91 (m, 1 H).
- [0951] **화합물 4**: *tert*-부틸 2,5,8,11-테트라옥사테트라데칸-14-오에이트
- [0952] 아르곤 하에, THF (9 mL) 중 트리에틸렌 글리콜 모노메틸 에테르(CAS 번호 [112-35-6], 3 g, 17.36 mmol) 및 소듐 (3.99 mg, 173.57 μ mol)의 혼합물을 50°C에서 2시간 동안, 그 후 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이때, *tert*-부틸 아크릴레이트 (3.08 ml, 20.83 mmol)를 첨가하고, 40°C에서 2시간 동안, 그 후 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 그 후, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 그 후 H₂O로 희석시키고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 90 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: 헵탄/EtOAc)에 의해 정제하여 3.3 g의 **화합물 4** (65%)를 제공하였다.
- [0953] **화합물 5**: 2,5,8,11-테트라옥사테트라데칸-14-오익산
- [0954] DCM (30 mL) 중 **화합물 4** (2.5 g, 8.55 mmol)의 용액에 TFA (6.65 mL, 85.51 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 그 후 톨루엔으로 희석시키고, 진공에서 3회 농축시켜 3 g의 **화합물 5** (정량적)를 제공하였다.
- [0955] **화합물 6**: 2,5,8,11-테트라옥사테트라데칸-14-오일 클로라이드
- [0956] **화합물 5** (800 mg, 3.39 mmol)에 디오닐 클로라이드 (3.68 mL, 50.79 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 60°C에서 3시간 가열하였다. 냉각 후, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, DCM으로 희석시키고, 진공에서 2회 농축시켜 870 mg의 **화합물 6** (정량적)을 제공하였다.
- [0957] **화합물 7**: 알릴 15-(3-(*tert*-부톡시)-3-옥소프로필)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자옥타데칸-18-오에이트
- [0958] 0°C에서, 아르곤 하에, DCM (10 mL) 중 **화합물 3** (678 mg, 2.63 mmol) 및 DIEA (533.21 μ L, 3.16 mmol)의 용액에 DCM (3 mL) 중 **화합물 6** (738.21 mg, 2.90 mmol)의 용액을 첨가하였다. 2시간 후, 상기 반응 매질을 H₂O (10 mL), 그 후 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 40 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 410 mg의 **화합물 7** (33%)을 제공하였다.
- [0959] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 50/50의 형태체 혼합물; 1.39 (s, 4.5 H); 1.40 (s, 4.5 H); 2.39 (t, J = 7.2 Hz, 1 H); 2.47 내지 2.60 (부분 차폐 m, 4 H); 2.66 (t, J = 7.2 Hz, 1 H); 3.23 (s, 1.5 H); 3.24 (s, 1.5 H); 3.38 내지 3.65 (m, 18 H); 4.54 (m, 2 H); 5.19 내지 5.34 (m, 2 H); 5.85 내지 5.97 (m, 1 H).
- [0960] **화합물 8**: 15-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자옥타데칸-18-오익산
- [0961] TFA (236.66 μ L, 3.15 mmol) 및 DCM (3 mL) 중 **화합물 7** (150 mg, 315.41 μ mol)의 용액을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 톨루엔으로 희석시키고, 진공에서 3회 농축시켜 130 mg의 **화합물 8** (98%)을 제공하였다.
- [0962] **화합물 9**: 알릴 15-(3-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-3-옥소프로필)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자옥타데칸-18-오에이트
- [0963] THF (5 mL) 중 **화합물 8** (130 mg, 309.92 μ mol)의 용액에 DIEA (104.53 μ L, 619.83 μ mol) 및 DSC (97.21 mg, 371.90 μ mol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공

에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 107 mg의 **화합물 9** (67%)를 제공하였다.

- [0964] **화합물 10**: (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((2S)-1-(((2S)-1-((4-((2R,3S)-3-(1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카르바메이트
- [0965] DCM 중 (3S,10R,16S,E)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-(아미노메틸)페닐)-옥시란-2-일)에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 **국제 공개 제2011001052호**에 기술되어 있음, 화합물 77, 150 mg, 214.82 μmol)의 용액에 HOBt (31.93 mg, 236.31 μmol), EDC (41.83 μL , 236.31 μmol) 및 Fmoc-Val-Ala-OH(CAS 번호 [150114-97-9], 79.36 mg, 193.34 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 그 후 H₂O (20 mL)를 첨가하고, 혼합물을 DCM (2 x 15 mL)DMFH CNCNFGKDUtEK. 함한 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 200 mg의 **화합물 10** (85%)을 제공하였다.
- [0966] **화합물 11**: (2S)-2-아미노-N-((2S)-1-((4-((2R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1-옥소프로판-2-일)-3-메틸부탄아미드
- [0967] 피페리딘 (183.39 μL , 1.83 mmol) 및 DCM (10 mL) 중 **화합물 10** (200 mg, 183.37 μmol)의 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, DCM에 용해시킨 후 Et₂O를 첨가하였다. 침전물을 여과시키고, Et₂O로 세척하고, 건조시켜 180 mg의 조 물질을 제공하고, 이를 10 g의 아미노-프로필 변형 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 136 mg의 **화합물 11** (85%)을 제공하였다.
- [0968] **화합물 12**: 알릴 15-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3S)-3-(1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자옥타데칸-18-오에이트
- [0969] THF (5 mL) 중 **화합물 11** (60 mg, 69.09 μmol)의 용액에 **화합물 9** (42.82 mg, 82.91 μmol) 및 DIEA (17.48 μL , 103.63 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 이때, 이것을 진공에서 농축시키고, 10 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 60 mg의 **화합물 12** (68%)를 제공하였다.
- [0970] RMN ¹H (MHz, δ ppm, DMSO-*d*6):60/40의 형태체 혼합물; 0.78 (d, J = 7.0 Hz, 6 H); 0.80 내지 0.87 (m, 6 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.24 (분할 d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.30 (m, 1 H); 1.51 내지 1.63 (m, 2 H); 1.75 내지 1.83 (m, 1 H); 1.95 (m, 1 H); 2.26 (m, 1 H); 2.30 내지 2.73 (m, 8 H); 2.95 내지 3.05 (m, 3 H); 3.23 (s, 3 H); 3.31 (차폐 m, 1 H); 3.40 내지 3.64 (m, 18 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.1 Hz, 1 H); 4.12 내지 4.33 (m, 5 H); 4.53 (m, 1.2 H); 4.55 (m, 0.8 H); 4.91 (m, 1 H); 5.11 (m, 1 H); 5.21 (m, 1 H); 5.28 (qd, J = 1.9 및 17.3 Hz, 0.6 H); 5.31 (qd, J = 1.9 및 17.3 Hz, 0.4 H); 5.78 (분할 d, J=15.7 Hz, 1 H); 5.85 내지 5.95 (m, 1 H); 6.47 (ddd, J = 4.2, 11.5 및 15.7 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.7 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 2.3 및 8.7 Hz, 1 H); 7.19 내지 7.26 (m, 5 H); 7.28 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 7.94 (d, J = 9.2 Hz, 0.4 H); 8.04 (m, 1 H); 8.10 (d, J = 7.6 Hz, 0.6 H); 8.32 (m, 1 H); 8.35 (d, J = 8.2 Hz, 1 H).
- [0971] **실시예 1**: 15-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자옥타데칸-18-오익산
- [0972] 아르곤 하에, DCM (5 mL) 중 **화합물 12** (60 mg, 47.25 μmol)의 용액에 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (2.76 mg, 2.36 μmol) 및 1,3-디메틸바르비투르산 (22.58 mg, 141.74 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시켰다. 조 생성물을 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래

피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 31 mg의 **실시예 1** (53%)을 제공하였다.

[0973] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.79 (d, J = 7.0 Hz, 6 H); 0.80 내지 0.88 (m, 6 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.23 (m, 3 H); 1.31 (m, 1 H); 1.51 내지 1.62 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.95 (m, 1 H); 2.27 (m, 1 H); 2.35 내지 2.60 (부분 차폐 m, 6 H); 2.62 내지 2.73 (m, 2 H); 2.93 내지 3.06 (m, 3 H); 3.23 (s, 3 H); 3.28 내지 3.35 (차폐 m, 1 H); 3.36 내지 3.65 (m, 18 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.0 Hz, 1 H); 4.11 내지 4.34 (m, 5 H); 4.91 (m, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.5 Hz, 1 H); 6.48 (ddd, J = 3.8, 11.3 및 15.5 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.7 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 2.0 및 8.7 Hz, 1 H); 7.24 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.0 Hz, 1 H); 7.95 내지 8.18 (m, 2 H); 8.30 내지 8.46 (m, 2 H); 12.27 (브로드 m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 615 [M+2H]²⁺; m/z = 1227 [M-H]⁻; m/z = 1229 [M+H]⁺; t_R = 1.26분.

[0974] **실시예 2: 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 15-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자옥타데칸-18-오에이트**

[0975] THF (5 mL) 중 **실시예 1** (30 mg, 24.39 μmol)의 용액에 DSC (7.65 mg, 29.27 μmol) 및 DIEA (9.88 μL, 58.54 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시키고, 5 g의 디올 변형 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 17 mg의 **실시예 2** (53%)를 제공하였다.

[0976] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 70/30의 형태체 혼합물; 0.79 (d, J = 7.0 Hz, 6 H); 0.80 내지 0.87 (m, 6 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.21 내지 1.34 (m, 4 H); 1.51 내지 1.62 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.93 (m, 1 H); 2.27 (m, 1 H); 2.35 내지 2.72 (부분 차폐 m, 6 H); 2.81 (큰 s, 4 H); 2.88 내지 3.06 (m, 5 H); 3.23 (s, 3 H); 3.28 내지 3.37 (차폐 m, 1 H); 3.40 내지 3.79 (m, 18 H); 3.81 (s, 3 H); 3.88 (s, 1 H); 4.13 내지 4.33 (m, 5 H); 4.90 (m, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.5 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J = 3.8, 11.5 및 15.5 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.7 Hz, 1 H); 7.17 (브로드 s, 1 H); 7.24 (m, 5 H); 7.29 (브로드 s, 1 H); 7.94 (d, J = 8.8 Hz, 0.3 H); 8.06 (m, 1 H); 8.12 (d, J = 8.1 Hz, 0.7 H); 8.32 (m, 1 H); 8.36 (d, J = 8.1 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 663.5 [M+2H]²⁺; m/z = 1324 [M-H]⁻; m/z = 1326 [M+H]⁺; m/z = 1374 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.3분.

[0977] **실시예 3: hu2H11_R35-74-Ex2**

[0978] 이전에 설명한 일반적인 방법을 **실시예 3**의 제조에 사용하였다. 15 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 **실시예 2**의 9.1 mM 용액 (10 당량) 55.2 μL와 3 h 30 동안 반응시켰다. 완충제 B (pH 6.5) + 10% NMP에서의 수퍼텍스 200 pg에서의 정제, 아미콘 울트라-15에서의 농축, 완충제 B (pH 6.5) + 5% NMP에서의 Nap-10에서의 완충제 교환 및 0.22 μm PVDF 필터에서의 여과 후, 3.36 mg의 **실시예 3**을 2.24 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로 수득하였으며, 이때 DAR은 3.4 (HRMS)이고, 단량체 순도는 99.8%이고, 전체 수율은 22%였다.

[0979] SEC-HRMS: m/z = 149354 (네이키드(naked) mAb); m/z = 150563 (D1); m/z = 151774 (D2); m/z = 152966 (D3); m/z = 154169 (D4); m/z = 155410 (D5); m/z = 156623 (D6); m/z = 157835 (D7); m/z = 159051 (D8).

[0980] **실시예 4 내지 6: 술폰-Val-Ala-C52 벤질릭 아민, 술폰-Val-Ala-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르 및 상응하는 ADC의 합성**

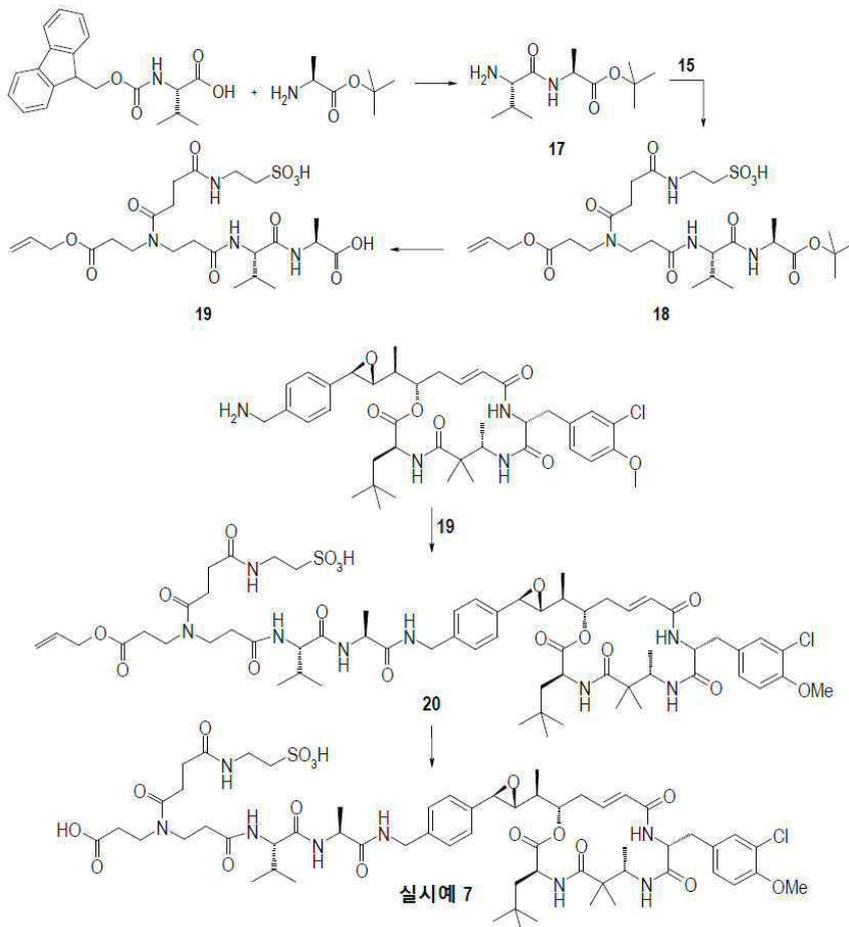
- [0987] DIEA (1.84 mL, 10.91 mmol) 및 DSC (1.14 g, 4.36 mmol) 및 THF (12 mL) 중 **화합물 13** (1.3 g, 3.64 mmol)의 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반시켰다. 이 시간 후, 물 (9 mL) 중 타우린 (718.75 mg, 5.46 mmol)의 용액을 첨가하고, 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이 때, DSC (1.14 g, 4.36 mmol) 및 DIEA (1.84 mL, 10.91 mmol)를 첨가하고, 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이때, 물 (5 mL) 중 타우린 (2.4 g, 18.2 mmol)을 첨가하고, 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 그 후 농축시키고, 70 g의 C18-그래프팅 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: CH₃CN/H₂O)에 의해 정제하여 1.28 g의 **화합물 14** (76%)를 제공하였다.
- [0988] ¹H NMR (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 50/50의 형태체 혼합물; 1.39 (s, 4.5 H); 1.40 (s, 4.5 H); 2.26 (t, J = 7.2 Hz, 2 H); 2.38 (t, J = 7.5 Hz, 1 H); 2.47 내지 2.55 (부분 차폐 m, 6 H); 2.69 (t, J = 7.5 Hz, 1 H); 3.28 (m, 2 H); 3.40 (t, J = 7.5 Hz, 1 H); 3.44 (t, J = 7.5 Hz, 1 H); 3.52 (t, J = 7.5 Hz, 1 H); 3.58 (t, J = 7.5 Hz, 1 H); 4.53 (m, 1 H); 4.58 (m, 1 H); 5.19 내지 5.35 (m, 2 H); 5.91 (m, 1 H); 7.70 (큰 t, J = 6.5 Hz, 1 H).
- [0989] **화합물 15**: 3-(N-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-4-옥소-4-((2-술포에틸)-아미노)부탄아미도)프로판산
- [0990] TFA (484.57 μL, 6.46 mmol) 및 DCM (5 mL) 중 **화합물 14** (300 mg, 645.81 μmol)의 용액을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이때, TFA (250 μL)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 수 시간 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 그 후 톨루엔으로 희석시키고, 진공에서 2회 농축시켜 260 mg의 **화합물 15** (99%)를 제공하였다.
- [0991] ¹H NMR (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 50/50의 형태체 혼합물; 2.27 (t, J = 7.2 Hz, 2 H); 2.40 (t, J = 7.6 Hz, 1 H); 2.48 내지 2.56 (부분 차폐 m, 6 H); 2.68 (t, J = 7.6 Hz, 1 H); 3.28 (m, 2 H); 3.40 (t, J = 7.6 Hz, 1 H); 3.46 (t, J = 7.6 Hz, 1 H); 3.50 (t, J = 7.6 Hz, 1 H); 3.59 (t, J = 7.6 Hz, 1 H); 4.54 (m, 1 H); 4.57 (m, 1 H); 5.18 내지 5.35 (m, 2 H); 5.91 (m, 1 H); 7.65 (브로드 t, J = 6.5 Hz, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 409 [M+H]⁺; t_R = 1.49분.
- [0992] **화합물 16**: (4S,7S)-12-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)페닐)-7-이소프로필-4-메틸-3,6,9,13,16-펜타옥소-2,5,8,12,17-펜타아자노나데칸-19-술포산
- [0993] 아르곤 하에, DMF (3 mL) 중 **화합물 15** (28.22 mg, 69.09 μmol)의 용액에 DIEA (23.30 μL, 138.18 μmol), HOBt (9.72 mg, 69.09 μmol), EDC (12.49 μL, 69.09 μmol); 및 DMF (2 mL) 중 **화합물 11** (60 mg, 69.09 μmol)의 용액을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 반응을 완료하기 위하여, **화합물 15** (28.22 mg, 69.09 μmol), DIEA (23.30 μL, 138.18 μmol), HOBt (9.72 mg, 69.09 μmol), EDC (12.49 μL, 69.09 μmol)를 첨가하고, 상기 반응 매질을 실온에서 1일 동안 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 70 g의 C18-그래프팅 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: CH₃CN/H₂O)에 의해 정제하여 24 mg의 **화합물 16** (24%)를 제공하였다.
- [0994] ¹H NMR (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 60/40의 형태체 혼합물; 0.79 (d, J = 7.0 Hz, 6 H); 0.80 내지 0.87 (m, 6 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.23 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.30 (m, 1 H); 1.52 내지 1.63 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.95 (m, 1 H); 2.27 (m, 3 H); 2.34 내지 2.58 (부분 차폐 m, 6 H); 2.63 내지 2.73 (m, 2 H); 2.93 내지 3.03 (m, 3 H); 3.25 내지 3.59 (부분 차폐 m, 9 H); 3.81 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 1.4 Hz, 1 H); 4.10 내지 4.33 (m, 5 H); 4.53 (m, 1.2 H); 4.56 (m, 0.8 H); 4.91 (m, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.20 (m, 1 H); 5.29 (qd, J = 1.8 및 17.3 Hz, 0.6 H); 5.31 (qd, J = 1.8 및 17.3 Hz, 0.4 H); 5.79 (dd, J = 1.8 및 15.4 Hz, 1 H); 5.90 (m, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.8, 11.8 및 15.4 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.7 Hz, 1 H); 7.18 (dd, J = 2.4 및 8.7 Hz, 1 H); 7.24 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.4 Hz, 1 H); 7.69 (t, J = 5.8 Hz, 1 H); 7.97 (d, J = 8.8 Hz, 0.4 H); 8.04 (d, J = 7.7 Hz, 0.4 H); 8.07 (d, J = 8.8 Hz, 0.6 H); 8.11 (d, J = 7.7 Hz, 0.6 H); 8.31 (t, J = 6.3 Hz, 1 H); 8.38 (d, J = 8.3 Hz, 1 H); 11.83 (브로드 m, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 1256 [M-H]⁻; t_R = 2.58분.
- [0995] **실시예 4**: (4S,7S)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메

틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)페닐)-7-이소프로필-4-메틸-3,6,9-트리옥소-12-(4-옥소-4-((2-술포에틸)아미노)부타노일)-2,5,8,12-테트라아자펜타데칸-15-오익산

- [0996] 아르곤 하에, CH₃CN (2 mL) 중 **화합물 16** (24 mg, 19.06 μmol)의 용액에 DMF (0.5 mL), 1,3-디메틸바르비투르산 (9.11 mg, 57.19 μmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (1.11 mg, 0.953 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시키고, 10 g의 C18-그래프팅 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: CH₃CN/H₂O)에 의해 정제하여 16 mg의 **실시예 4** (70%)를 제공하였다.
- [0997] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 60/40의 형태체 혼합물; 0.79 (d, J = 7.0 Hz, 6 H); 0.80 내지 0.86 (m, 6 H); 0.99 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.24 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.31 (m, 1 H); 1.52 내지 1.62 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.95 (m, 1 H); 2.21 내지 2.31 (m, 3 H); 2.34 내지 2.59 (부분 차폐 m, 8 H); 2.62 내지 2.75 (m, 2 H); 2.94 내지 3.05 (m, 3 H); 3.25 내지 3.58 (부분 차폐 m, 7 H); 3.81 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 1.9 Hz, 1 H); 4.09 내지 4.33 (m, 5 H); 4.90 (m, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.5 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 4.0, 11.4 및 15.5 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.7 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 2.2 및 8.7 Hz, 1 H); 7.21 내지 7.26 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.2 Hz, 1 H); 7.69 (m, 1 H); 7.97 (d, J = 9.0 Hz, 0.4 H); 8.04 (d, J = 7.7 Hz, 0.4 H); 8.08 (d, J = 9.0 Hz, 0.6 H); 8.12 (d, J = 7.7 Hz, 0.6 H); 8.31 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 8.38 (d, J = 8.2 Hz, 1 H); 12.2 (브로드 m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 609.5 [M+2H]²⁺; m/z = 1216 [M-H]⁻; m/z = 1218 [M+H]⁺; t_R = 1.72분.
- [0998] **실시예 5: (4S,7S)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)페닐)-12-(3-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-3-옥소프로필)-7-이소프로필-4-메틸-3,6,9,13,16-펜타옥소-2,5,8,12,17-펜타아자노나데칸-19-술포산**
- [0999] 아르곤 하에, DMF (1 mL), DSC (4.12 mg, 15.75 μmol) 및 DIEA (2.66 μL, 15.75 μmol) 중 **실시예 4** (16 mg, 13.13 μmol)의 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 5 g의 C18-그래프팅 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: CH₃CN/H₂O)에 의해 정제하여 12.5 mg의 **실시예 5** (73%)를 제공하였다.
- [1000] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 60/40의 형태체 혼합물; 0.79 (d, J = 7.0 Hz, 6 H); 0.80 내지 0.86 (m, 6 H); 0.99 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.23 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.31 (m, 1 H); 1.51 내지 1.62 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.93 (m, 1 H); 2.21 내지 2.31 (m, 3 H); 2.35 내지 2.59 (부분 차폐 m, 6 H); 2.62 내지 2.74 (m, 2 H); 2.81 (브로드 s, 4 H); 2.85 내지 3.05 (m, 4 H); 3.20 내지 3.68 (부분 차폐 m, 8 H); 3.81 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 1.9 Hz, 1 H); 4.10 내지 4.33 (m, 5 H); 4.90 (m, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.5 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J = 4.0, 11.4 및 15.5 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.7 Hz, 1 H); 7.18 (dd, J = 2.2 및 8.7 Hz, 1 H); 7.21 내지 7.26 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.2 Hz, 1 H); 7.69 (m, 1 H); 7.97 (d, J = 9.0 Hz, 0.4 H); 8.05 (d, J = 7.7 Hz, 0.4 H); 8.08 (d, J = 9.0 Hz, 0.6 H); 8.12 (d, J = 7.7 Hz, 0.6 H); 8.31 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 8.38 (d, J = 8.2 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 658 [M+2H]²⁺; m/z = 1313 [M-H]⁻; m/z = 1315 [M+H]⁺; t_R = 1.82분.
- [1001] **실시예 6: hu2H11_R35-74-Ex5**
- [1002] 이전에 설명한 일반적인 방법을 **실시예 6**의 제조에 사용하였다. 15 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 **실시예 5**의 10 mM 용액 (4 당량) 42 μL와 1 h 20 동안 반응시키고, 그 후 연속적으로, DMA 중 **실시예 5**의 10 mM 용액 (4 당량) 42 μL (1 h 20 동안), DMA 중 **실시예 5**의 10 mM 용액 (5 당량) 53 μL (1 h 30 동안) 및 마지막으로 DMA 중 **실시예 5**의 10 mM 용액 (4 당량) 42 μL (1 h 동안)를 첨가하였다. 완충제 B (pH 6.5) + 20% NMP에서의 수퍼텍스 200 pg에서의 정제, 아미콘 울트라-15에서의 농축, 완충제 B (pH 6.5) + 5% NMP에서의 Pd-10에서의 완충제 교환 및 0.22 μm PVDF 필터에서의 여과 후, 3.33 mg의 **실시예 6**을 1.33 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로 수득하였으며, 이때 DAR은 4.05 (HRMS)이고, 단량체 순도는 99%이고, 전체 수율은 22%였다.
- [1003] SEC-HRMS: m/z = 150568 (D1); m/z = 151768 (D2); m/z = 152971 (D3); m/z = 154172 (D4); m/z = 155375

(D5); m/z = 156574 (D6); m/z = 157944 (D7); m/z = 158984 (D8).

[1004] **실시예 7: 술폰-Val-Ala-아자-크립토 벤질릭 아민의 합성**



[1005]

[1006] **화합물 17:** *tert*-부틸 L-발릴-L-알라니네이트

[1007] Ar 하에, DCM (60 mL) 중 Fmoc-Val-OH(CAS 번호 [68858-20-8], 3 g, 8.66 mmol)의 용액에 EDC (2.02 g, 12.99 mmol), HOBT (1.46 g, 10.40 mmol) 및 L-알라닌 *tert*-부틸 에스테르 히드록로라이드(CAS 번호 [13404-22-3], 1.61 g, 8.66 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1일 동안 교반시키고, H₂O (30 mL)로 켄칭하고, DCM (3 x 30 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켜 5 g의 Fmoc-보호 디펩티드를 백색 고형물로서 제공하였다 (정량적). DCM (50 mL) 중 이 중간체 (5 g, 8.66 mmol)의 용액에 피페리딘 (8.64 mL, 86.63 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시켰다. 조 생성물을 Et₂O로 희석시키고, 여과시켜 1.77 g의 고형물을 제공하고, 이를 120 g 및 50 g의 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 추가로 정제하여 500 mg의 **화합물 17**을 백색 고형물로서 제공하였다 (24%).

[1008] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.79 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.89 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.24 (d, J = 7.3 Hz, 3 H); 1.40 (s, 9 H); 1.62 (브로드 s, 2 H); 1.86 (m, 1 H); 2.95 (d, J = 5.2 Hz, 1 H); 4.15 (m, 1 H); 8.09 (브로드 d, J = 7.3 Hz, 1 H).

[1009] **화합물 18:** (5S,8S)-13-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-8-이소프로필-2,2,5-트리메틸-4,7,10,14,17-펜타옥소-3-옥사-6,9,13,18-테트라아자이코산-20-술폰산

[1010] Ar 하에, DMF (6 mL) 중 **화합물 15** (250 mg, 612.1 μmol)의 용액에 DIEA (309.7 μL, 1.84 mmol) 및 DSC (163.34 mg, 612.1 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 그 후 DMF (1 mL) 중 **화합물 17** (149.56 mg, 612.1 μL)의 용액을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 5 μm C18 컬럼 30 x 100 mm에서 역상 크로마토그래피 (구배 용출: MeCN + 0.07% TFA/H₂O + 0.07% TFA)

에 의해 정제하여 215 mg의 **화합물 18**을 백색 폼으로서 제공하였다 (55%).

- [1011] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 60/40의 형태체 혼합물; 0.84 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.87 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.12 (d, J = 7.3 Hz, 3 H); 1.39 (s, 9 H); 1.92 (m, 1 H); 2.20 내지 2.70 (부분 차폐 m, 10 H); 3.28 (m, 2 H); 3.34 내지 3.60 (m, 4 H); 4.10 (m, 1 H); 4.20 (m, 1 H); 4.53 (td, J = 1.6 및 5.5 Hz, 1.2 H); 4.57 (td, J = 1.6 및 5.5 Hz, 0.8 H); 5.20 (m, 1 H); 5.30 (m, 1 H); 5.90 (m, 1 H); 7.69 (브로드 t, J = 6.4 Hz, 1 H); 7.91 (d, J = 9.6 Hz, 0.4 H); 8.04 (d, J = 9.6 Hz, 0.6 H); 8.23 (d, J=7.2 Hz, 0.4 H); 8.30 (d, J=7.2 Hz, 0.6 H).
- [1012] **화합물 19**: (3-(N-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-4-옥소-4-((2-술포에틸)아미노)-부탄아미도)-프로파노일)-L-발릴-L-알라닌
- [1013] DCM (5 mL) 중 **화합물 18** (215 mg, 338.72 μmol)의 용액에 TFA (508.3 μL, 6.77 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1일 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 톨루엔과 함께 공동-증발시켜 (3회), 200 mg의 **화합물 19**를 백색 폼으로서 제공하였다 (정량적).
- [1014] **화합물 20**: (4S,7S)-12-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-6,6,7-트리메틸-3-네오펜틸-2,5,9,12-테트라옥소-1-옥사-4,8,11-트리아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)페닐)-7-이소프로필-4-메틸-3,6,9,13,16-펜타옥소-2,5,8,12,17-펜타아자노나-데칸-19-술포산
- [1015] DMF (9 mL) 중 **화합물 19** (200 mg, 345.6 μmol)의 용액에 DSC (108 mg, 413.2 μmol) 및 DIEA (200 μL, 1.185 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 6시간 동안 교반시키고, 그 후 DSC (108 mg, 413.2 μmol) 및 DIEA (200 μL, 1.185 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 DSC (50 mg, 191.3 μmol) 및 DIEA (100 μL, 592.5 μmol)를 첨가하고, 교반을 실온에서 1시간 동안 계속하였다. 3 mL의 활성화 에스테르 용액에 (3S,7S,10R,16S,E)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-(아미노메틸)페닐)옥시란-2-일)에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-6,6,7-트리메틸-3-네오펜틸-1-옥사-4,8,11-트리아자시클로-헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이는 메틸 (3S)-3-아미노-2,2-디메틸부타노에이트, [MFCD09256689]로부터 출발하여 **PCT/EP2016/076603**에 기술된 바와 같이 합성될 수 있음, 70 mg, 96.51 μmol), EDC (17 μL, 77.8 μmol) 및 HOBt (19 mg, 124 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 10 g의 C18-변형 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: MeCN/H₂O)에 의해 정제하여 30 mg의 **화합물 20**을 백색 래커로서 제공하였다 (24%).
- [1016] RMN ¹H (600 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.79 내지 0.90 (m, 15 H); 0.98 (m, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.03 (d, J = 7.3 Hz, 3 H); 1.19 (s, 3 H); 1.24 (분할 d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.34 (d, J = 14.1 Hz, 1 H); 1.81 (m, 1 H); 1.91 (m, 1 H); 1.98 (dd, J = 9.3 및 14.1 Hz, 1 H); 2.25 (m, 3 H); 2.38 (m, 1 H); 2.50 (부분 차폐 m, 5 H); 2.60 (m, 1 H); 2.68 (m, 1 H); 2.91 (m, 1 H); 2.96 (m, 2 H); 3.25 내지 3.58 (부분 차폐 m, 9 H); 3.80 (s, 3 H); 3.91 (m, 1 H); 4.00 내지 4.35 (m, 6 H); 4.53 (m, 2 H); 5.03 (m, 1 H); 5.20 (m, 1 H); 5.30 (m, 1 H); 5.89 (d, J = 16.1 Hz, 1 H); 5.91 (m, 1 H); 6.44 (ddd, J = 5.0, 10.5 및 16.1 Hz, 1 H); 7.03 (d, J = 8.7 Hz, 1 H); 7.19 내지 7.28 (m, 5 H); 7.31 (s, 1 H); 7.69 (m, 1 H); 7.86 (d, J = 8.2 Hz, 1 H); 7.91 (m, 1 H); 7.95 내지 8.17 (m, 2 H); 8.32 (m, 1 H); 8.39 (m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 1283 [M-H]⁻; m/z = 1285 [M+H]⁺; m/z = 1307 [M+Na]⁺; t_R = 1.93분.
- [1017] **실시예 7**: (4S,7S)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-6,6,7-트리메틸-3-네오펜틸-2,5,9,12-테트라옥소-1-옥사-4,8,11-트리아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)-옥시란-2-일)페닐)-7-이소프로필-4-메틸-3,6,9-트리옥소-12-(4-옥소-4-((2-술포에틸)아미노)부타노일)-2,5,8,12-테트라아자펜타데칸-15-오익산
- [1018] Ar 하에, DCM (2 mL) 및 DMF (0.3 mL) 중 **화합물 20** (30 mg, 23.33 μmol)의 용액에 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (1.38 mg, 1.17 μmol) 및 1,3-디메틸-바르비투르산 (11.15 mg, 69.99 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 1 g의 C18-변형 실리카 겔에서 역상 크로마토그래피 (구배 용출: MeCN/H₂O)에 의해 정제하여 15 mg의 백색 분말을 제공하고, 이를 실리카 겔 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에서 추가로 정제하여 7 mg의 **실시예 7**을 백색 래커로서 제공하였다 (24%).

1-옥소부탄-2-일)카르바메이트

- [1025] Ar 하에, DMF (10 mL) 중 **화합물 21** (1.3 g, 2.52 mmol) 의 용액에 DIEA (2.55 mL, 15.13 mmol)를 첨가하고, 용액을 0°C에서 냉각시킨 후 4-니트로페닐 클로로포르메이트 (1.57 g, 7.56 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 20 mL의 H₂O를 첨가하고, 매질을 EtOAc (10 mL)로 2회 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 120 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 600 mg의 **화합물 22**를 고형물로서 제공하였다 (35%).
- [1026] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.89 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.31 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.99 (m, 1 H); 3.91 (m, 1 H); 4.18 내지 4.35 (m, 3 H); 4.43 (m, 1 H); 5.24 (s, 2 H); 7.31 (t, J = 7.9 Hz, 2 H); 7.35 내지 7.44 (m, 5 H); 7.56 (d, J = 9.1 Hz, 2 H); 7.63 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 7.74 (m, 2 H); 7.88 (d, J = 7.9 Hz, 2 H); 8.19 (d, J = 7.3 Hz, 1 H); 8.31 (d, J = 9.1 Hz, 2 H); 10.07 (s, 1 H).
- [1027] **화합물 23**: 4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질카르바메이트
- [1028] 아르곤 하에, THF (5 mL) 중 (3S,10R,16S,E)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-(아미노메틸)페닐)옥시란-2-일)에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 국제 공개 제2011001052호에 기술되어 있음, 화합물 77, 100 mg, 143.2 μmol)의 용액에 **화합물 22** (117 mg, 171.9 μmol) 및 DIEA (60.4 μL, 358 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 Ar 하에 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 그 후 피페리딘 (142.9 μL, 1.43 mmol)을 첨가하고, 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 진공에서 농축시킨 후, 조 매질을 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 100 mg의 **화합물 23**을 백색 고형물로서 제공하였다 (73%).
- [1029] **화합물 24**: 알릴 15-(3-(((S)-1-(((S)-1-(((4-(((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로-헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)-메틸)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자옥타데칸-18-오에이트
- [1030] Ar 하에, THF (5 mL) 중 **화합물 23** (100 mg, 98.3 μmol)의 용액에 **화합물 9** (50.8 mg, 98.3 μmol) 및 DIEA (24.9 μL, 147.4 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 128 mg의 **화합물 24**를 백색 고형물로서 제공하였다 (91%).
- [1031] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 60:40의 형태체 혼합물; 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.82 (d, J = 7.0 Hz, 1.8 H); 0.84 (d, J = 7.0 Hz, 1.2 H); 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 1.8 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 1.2 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.30 (m, 4 H); 1.57 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.95 (m, 1 H); 2.26 (m, 1 H); 2.40 (m, 2 H); 2.52 내지 2.72 (m, 6 H); 2.95 내지 3.04 (m, 3 H); 3.22 (s, 3 H); 3.30 (m, 1 H); 3.38 내지 3.63 (m, 18 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.15 내지 4.28 (m, 4 H); 4.40 (m, 1 H); 4.51 내지 4.57 (m, 2 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.98 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.20 (m, 1 H); 5.30 (m, 1 H); 5.80 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 5.91 (m, 1 H); 6.47 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.5 및 8.6 Hz, 1 H); 7.29 내지 7.32 (m, 8 H); 7.58 (m, 2 H); 7.76 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 7.92 (d, J = 9.0 Hz, 0.4 H); 8.04 (d, J = 9.0 Hz, 0.6 H); 8.15 (d, J = 7.0 Hz, 0.4 H); 8.21 (d, J = 7.0 Hz, 0.6 H); 8.32 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 9.88 (s, 0.4 H); 9.93 (s, 0.6 H). LCMS (A): ES m/z = 677; m/z = 1418 [M+H]⁺; m/z = 1462 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.21분.
- [1032] **실시예 8**: 15-(3-(((S)-1-(((S)-1-(((4-(((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)메틸)-페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-

3-옥소프로필)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자옥타데칸-18-오익산

[1033] Ar 하에, DCM (20 mL) 중 **화합물 24** (58 mg, 40.9 μmol)의 용액에 1,3-디메틸피리미딘-2,4,6(1H, 3H, 5H)-트리온 (19.5 mg, 122.6 μmol) 및 테트라키스 (트리페닐포스핀)팔라듐 (0) (2.4 mg, 2.0 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 53 mg의 **실시예 8**을 백색 고형물로서 제공하였다 (94%).

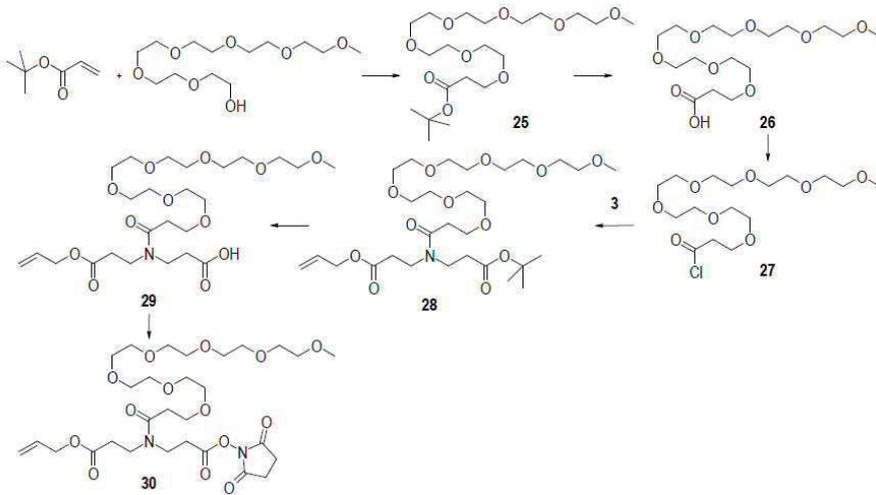
[1034] RMN ^1H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6):의 형태체 혼합물; 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.86 (m, 6 H); 0.99 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.30 (m, 1 H); 1.38 (m, 3 H); 1.57 (m, 2 H); 1.79 (m, 1 H); 2.04 (m, 1 H); 2.10 내지 2.59 (부분 차폐 m, 7 H); 2.69 (m, 2 H); 2.93 내지 3.03 (m, 3 H); 3.22 (s, 3 H); 3.30 (차폐 m, 1 H); 3.40 내지 3.64 (m, 18 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.05 내지 4.27 (m, 4 H); 4.36 (m, 1 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.97 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.80 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 5.90 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.5 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.68 (m, 2 H); 7.82 (m, 1 H); 8.40 내지 8.65 (m, 2 H); 9.21 (m, 1 H); 10.20 (s, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 637; m/z = 1376 [M-H]⁻; m/z = 1378 [M+H]⁺; t_R = 1.3분.

[1035] **실시예 9**: 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 15-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)메틸)-페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자옥타데칸-18-오에이트

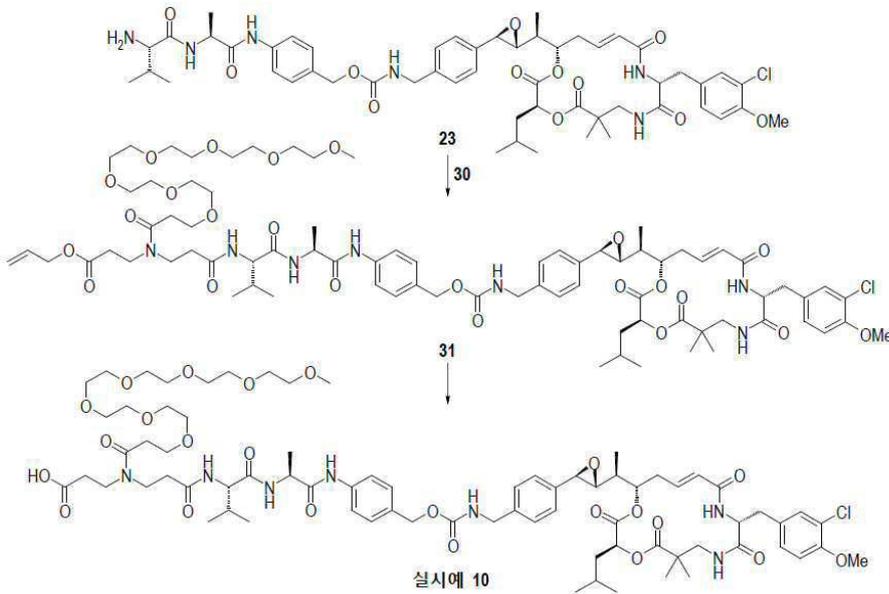
[1036] Ar 하에, DMF (2 mL) 중 **실시예 8** (49 mg, 35.5 μmol)의 용액에 DSC (13.9 mg, 53.3 μmol) 및 DIEA (9.0 μL , 53.3 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 추가의 DSC (13.9 mg, 53.3 μmol) 및 DIEA (9.0 μL , 53.3 μmol)를 첨가하고, 교반을 8시간에 걸쳐 계속하였다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 10 g의 디올-변형 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 20 mg의 **실시예 9**를 백색 고형물로서 제공하였다 (38%).

[1037] RMN ^1H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 70:30의 형태체 혼합물; 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.,82 (d, J = 7.0 Hz, 2.1 H); 0.84 (d, J = 7.0 Hz, 0.9 H); 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 2.1 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 0.9 H); 1.00 (s, 3 H); 1.05 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.27 (m, 1 H); 1.30 (m, 3 H); 1.57 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.95 (m, 1 H); 2.25 (m, 1 H); 2.40 (m, 1 H); 2.52 내지 2.75 (m, 7 H); 2.80 (s, 4 H); 2.87 내지 3.08 (m, 3 H); 3.22 (s, 3 H); 3.32 (차폐 m, 1 H); 3.40 내지 3.68 (m, 18 H); 3.80 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.16 내지 4.28 (m, 4 H); 4.38 (m, 1 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.97 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.5 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.31 (m, 8 H); 7.58 (m, 2 H); 7.78 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.94 (d, J = 9.0 Hz, 0.3 H); 8.08 (d, J = 9.0 Hz, 0.7 H); 8.19 (d, J = 7.0 Hz, 0.3 H); 8.25 (d, J = 7.0 Hz, 0.7 H); 8.35 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 9.90 (s, 0.3 H); 9.95 (s, 0.7 H). LCMS (A): ES m/z = 698; m/z = 1475 [M+H]⁺; t_R = 1.35분.

[1038] 실시예 10: PEG7-Val-Ala-PABA-C52 벤질릭 아민의 합성



[1039]



[1040]

[1041] 화합물 25: *tert*-부틸 2,5,8,11,14,17,20-헵타옥사트리코산-23-오에이트

[1042] Ar 하에, THF (3 mL) 중 헥사에틸렌 글리콜 모노메틸 에테르 (926.0 μ L, 3.24 mmol)의 용액에 Na (0.7 mg, 32.4 μ mol)를 첨가하였다. Na가 완전히 용해될 때까지 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 그 후 *tert*-부틸 아크릴레이트 (570 μ L, 3.89 mmol)를 첨가하고, 교반을 실온에서 하룻밤 계속하였다. 그 후 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, H₂O로 희석시키고, EtOAc로 추출하였다 (3회). 합한 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켜 1.04 g의 화합물 25를 무색 오일로서 제공하였다 (76%).

[1043] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 1.40 (s, 9 H); 2.40 (t, J = 6.4 Hz, 2 H); 3.23 (s, 3 H); 3.43 (m, 2 H); 3.47 내지 3.54 (m, 22 H); 3;59 (t, J = 6.4 Hz, 2 H).

[1044] 화합물 26: 2,5,8,11,14,17,20-헵타옥사트리코산-23-오익산

[1045] DCM (15 mL) 중 화합물 25 (1.04 g, 2.45 mmol)의 용액에 TFA (1.84 mL, 24.5 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 진공에서 농축시키고, DCM으로 희석시키고, 톨루엔과 함께 공동-증발시켜 (3회), 1 g의 화합물 26을 무색 오일로서 제공하였다 (정량적).

[1046] 화합물 27: 2,5,8,11,14,17,20-헵타옥사트리코산-23-오일 클로라이드

[1047] 화합물 26 (400 mg, 1.09 mmol)에 MsCl (1.27 mL, 16.3 mmol)을 첨가하고; 상기 반응 매질을 60°C에서 3시간

동안 가열하고, 진공에서 농축시키고, DCM으로 희석시키고, 진공에서 농축시켜 (3회), 420 mg의 **화합물 27**을 무색 오일로서 제공하였다 (정량적).

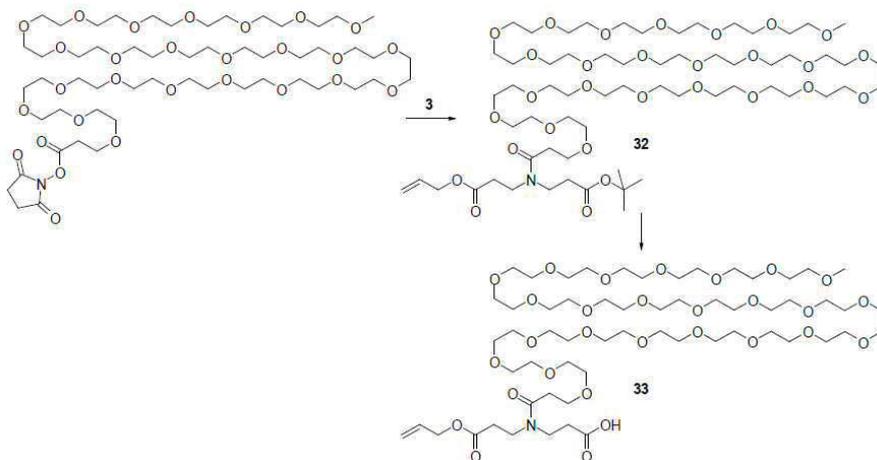
- [1048] **화합물 28**: 알릴 24-(3-(*tert*-부톡시)-3-옥소프로필)-23-옥소-2,5,8,11,14,17,20-헵타옥사-24-아자헵타코산-27-오에이트
- [1049] DCM (5 mL) 중 **화합물 3** (200 mg, 777.2 μmol)의 용액에 DIEA (262 μL , 1.55 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 0°C에서 냉각시키고, DCM (2 mL) 중 **화합물 27** (360.8 mg, 932.7 μmol)의 용액을 0°C에서 적가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시켰다. 조 생성물을 12 g 및 10 g의 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 72 mg의 **화합물 28** (15%)을 제공하였다.
- [1050] ^1H NMR (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 50:50의 형태체 혼합물; 1.39 (s, 4.5 H); 1.40 (s, 4.5 H); 2.22 내지 2.75 (부분 차폐 m, 6 H); 3.23 (s, 3 H); 3.38 내지 3.63 (m, 30 H); 4.55 (m, 2 H); 5.19 내지 5.36 (m, 2 H); 5.90 (m, 1 H).
- [1051] **화합물 29**: 24-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-23-옥소-2,5,8,11,14,17,20-헵타옥사-24-아자헵타-코산-27-오익산
- [1052] DCM (3 mL) 중 **화합물 28** (72 mg, 118.5 μmol)의 용액에 TFA (100 μL , 1.33 mmol)를 첨가하고; 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 추가의 TFA (100 μL , 1.33 mmol)를 첨가하고, 교반을 1일 동안 계속하였다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, DCM으로 희석시키고, 톨루엔과 함께 공동-증발시켜 (3회), 66 mg의 **화합물 29** (정량적)를 제공하였다.
- [1053] **화합물 30**: 알릴 24-(3-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-3-옥소프로필)-23-옥소-2,5,8,11,14,17,20-헵타옥사-24-아자헵타코산-27-오에이트
- [1054] Ar 하에, THF (2 mL) 중 **화합물 29** (66 mg, 119.7 μmol)의 용액에 DIEA (20.2 μL , 119.9 μmol) 및 DSC (34.4 mg, 131.6 μmol)를 첨가하고; 상기 반응 매질을 실온에서 4일 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 900 mg의 디올-변형 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 35 mg의 **화합물 30** (45%)을 제공하였다.
- [1055] **화합물 31**: 알릴 24-(3-(((S)-1-(((S)-1-(((4-(((2R,3R)-3-(((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로-헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)-메틸)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-23-옥소-2,5,8,11,14,17,20-헵타옥사-24-아자헵타코산-27-오에이트
- [1056] THF (5 mL) 중 **화합물 23** (45 mg, 44.2 μmol)의 용액에 **화합물 30** (28.7 mg, 44.2 μmol) 및 DIEA (11.2 μL , 66.3 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, H₂O (10 mL)로 희석시키고, EtOAc (3 x 10 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 35 mg의 **화합물 31**을 백색 고형물로서 제공하였다 (51%).
- [1057] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 60:40의 형태체 혼합물; 0.80 (분할 d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.82 (d, J = 7.0 Hz, 1.8 H); 0.84 (d, J = 7.0 Hz, 1.2 H); 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 1.8 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 1;2 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.28 (m, 1 H); 1.30 (m, 3 H); 1.56 (m, 2 H); 1.79 (m, 1 H); 1.95 (m, 1 H); 2.27 (m, 1 H); 2.35 내지 2.60 (부분 차폐 m, 6 H); 2.62 내지 2.73 (m, 2 H); 2.93 내지 3.05 (m, 3 H); 3.23 (s, 3 H); 3.33 (차폐 m, 1 H); 3.38 내지 3.64 (m, 30 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.15 내지 4.27 (m, 4 H); 4.38 (m, 1 H); 4.52 내지 4.58 (m, 2 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.97 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.50 (m, 1 H); 5.30 (m, 1 H); 5.80 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 5.90 (m, 1 H); 6.47 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.15 (dd, J = 2.5 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.59 (m, 2 H); 7.78 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 7.95 (d, J = 9.0 Hz, 0.4 H); 8.07 (d, J = 9.0 Hz, 0.6 H); 8.18 (d, J = 7.0 Hz, 0.4 H); 8.27 (d, J = 7.0 Hz, 0.6 H); 8.36 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 9.90 (s, 0.4 H); 9.95 (s, 0.6 H). LCMS (A): ES m/z = 698; m/z = 1552 [M+H]⁺; m/z = 1595 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.39분.

[1058] **실시예 10:** 24-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)메틸)-페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-23-옥소-2,5,8,11,14,17,20-헵타옥사-24-아자헵타코산-27-오익산

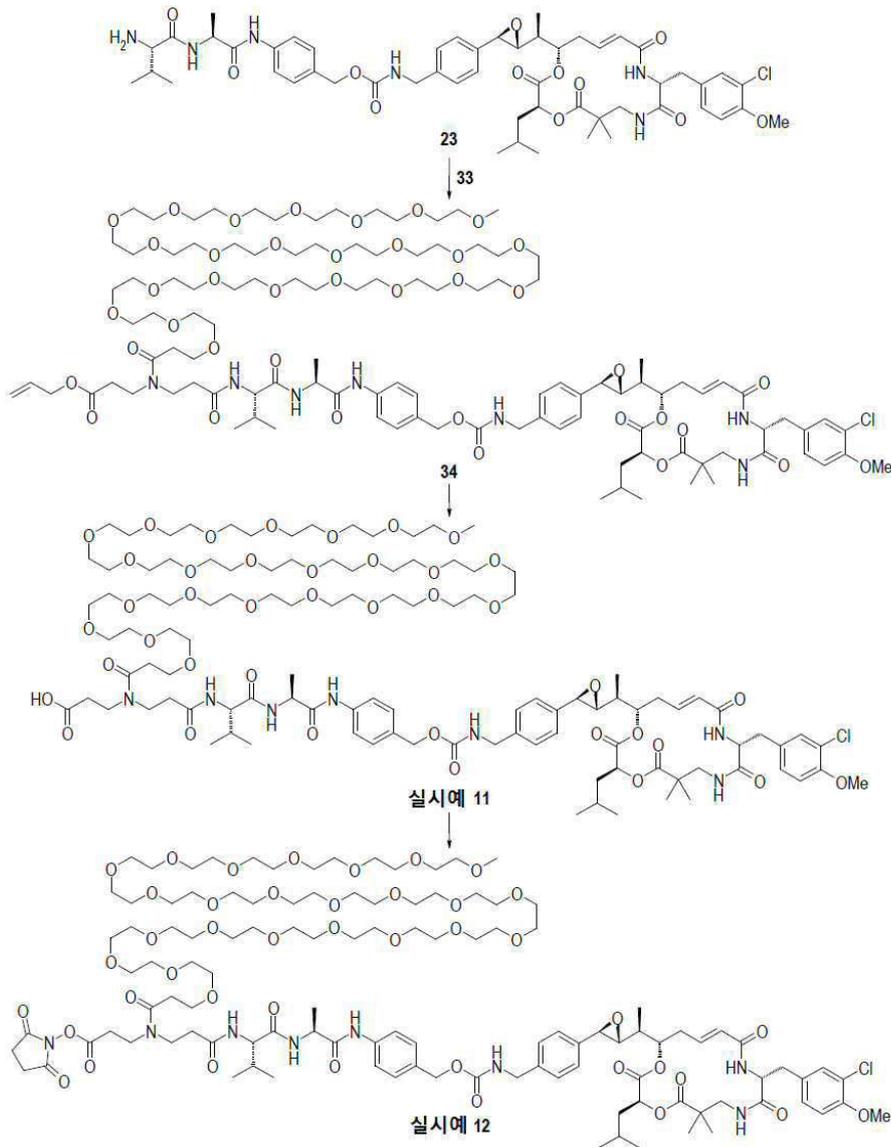
[1059] Ar 하에, DCM (5 mL) 중 **화합물 31** (30 mg, 19.3 μmol)의 용액에 디메틸바르비투르산 (9.24 mg, 58.0 μmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (0) (1.13 mg, 0.97 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3 시간 동안 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시키고, 5 g 및 0.9 g의 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 14 mg의 **실시예 10**을 백색 고형물로서 제공하였다 (50%).

[1060] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 50:50의 형태체 혼합물; 0.78 (분할 d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.81 내지 0.89 (m, 6 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.28 (m, 1 H); 1.30 (d, J = 7.0 Hz, 1.5 H); 1.32 (d, J = 7.0 Hz, 1.5 H); 1.51 내지 1.62 (m, 2 H); 1.79 (m, 1 H); 1.96 (m, 1 H); 2.26 (m, 1 H); 2.33 내지 2.60 (부분 차폐 m, 6 H); 2.61 내지 2.73 (m, 2 H); 2.93 내지 3.03 (m, 3 H); 3.22 (s, 3 H); 3.30 (차폐 m, 1 H); 3.38 내지 3.62 (m, 30 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.12 내지 4.29 (m, 4 H); 4.39 (m, 1 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.96 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.78 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.5 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.59 (m, 2 H); 7.79 (m, 1 H); 8.04 (m, 0.5 H); 8.10 (d, J = 9.0 Hz, 0.5 H); 8.25 내지 8.41 (m, 2 H); 9.95 (s, 0.5 H); 9.98 (s, 0.5 H); 12.20 (m, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 769; m/z = 1511 [M+H]⁺; tR = 3.16분.

[1061] **실시예 11 및 실시예 12: PEG24-Val-Ala-PABA-C52 벤질릭 아민 및 PEG24-Val-Ala-PABA-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르의 합성**



[1062]



[1063]

[1064] **화합물 32:** 알릴 75-(3-(tert-부톡시)-3-옥소프로필)-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자옥타헵타콘탄-78-오에이트

[1065] Ar 하에, THF (5 mL) 중 **화합물 3** (45 mg, 174.9 μmol)의 용액에 MEO-DPEG(24)-NHS (212.4 mg, 174.9 μmol) 및 DIEA (44.2 μL , 262.3 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시키고, 20 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DMC/MeOH)에 의해 정제하여 **화합물 32** (60%)와 MEO-DPEG(24)-NHS (40%)의 혼합물 125 mg을 제공하였다. 이 혼합물을 THF (3 mL)에 희석시키고, 15 mg의 **화합물 3** 및 20 μL 의 DIEA를 첨가하고; 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시키고, 12 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 105 mg의 **화합물 32** (44%)를 제공하였다.

[1066] RMN ^1H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 1.40 (s, 9 H); 2.25 내지 2.78 (m, 6 H); 3.22 (s, 3 H); 3.32 내지 3.70 (m, 98 H); 4.52 (m, 2 H); 5.20 (m, 1 H); 5.30 (m, 1 H); 5.90 (m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 679 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; m/z = 1356 $[\text{M}+\text{H}]^+$; m/z = 1400 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCO}_2\text{H}]^-$; t_R = 1.15분.

[1067] **화합물 33:** 75-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자옥타헵타콘탄-78-오익산

[1068] DCM (2 mL) 중 **화합물 32** (105 mg, 77.4 μmol)의 용액에 TFA (116.2 μL , 1.55 mmol)를 첨가하고; 상기 반응

매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 150 μ L의 TFA를 첨가하고, 반응을 하루 더 계속하였다. 그 후 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, DCM으로 희석시키고, 톨루엔과 함께 공동-증발시켜 (3회), 110 mg의 조 생성물을 제공하고, 이를 5 μ m C18 선파이어(SunFire) 컬럼에서 RP-HPLC (워터스, 30 x 100 mm, 구배 용출: MeCN + 0.07% TFA/H₂O + 0.07% TFA)에 의해 정제하여 60 mg의 **화합물 33** (60%)을 제공하였다.

[1069] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 50:50의 형태체 혼합물; 2.37 내지 2.60 (부분 차폐 m, 6 H); 3.23 (s, 3 H); 3.32 내지 3.44 (부분 차폐 m, 38 H); 3.47 내지 3.52 (m, 58 H); 3.60 (m, 2 H); 4.54 (m, 2 H); 5.22 (dm, J = 10.5 Hz, 1 H); 5.30 (dm, J = 17.3 Hz, 1 H); 5.84 내지 5.98 (m, 1 H); 12.32 (브로드 m, 1 H).

[1070] **화합물 34**: 알릴 75-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로-헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)-메틸)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자옥타헵타콘탄-78-오에이트

[1071] Ar 하에, THF (5 mL) 중 **화합물 33** (30 mg, 23.1 μ mol)의 용액에 DIEA (11.7 μ L, 69.2 μ mol) 및 DSC (6.03 mg, 23.1 μ mol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시키고, 그 후 **화합물 23** (23.5 mg, 23.1 μ mol)을 첨가하고, 교반을 1시간 계속하였다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 23 mg의 **화합물 34** (40%)를 제공하였다.

[1072] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 60:40의 형태체 혼합물: 0.80 (분할 d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.82 (d, J = 7.0 Hz, 1.8 H); 0.84 (d, J = 7.0 Hz, 1.2 H); 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 1.8 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 1.2 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.28 (m, 1 H); 1.30 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.51 내지 1.62 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.96 (m, 1 H); 2.26 (m, 1 H); 2.38 (m, 1 H); 2.45 내지 2.61 (부분 차폐 m, 5 H); 2.61 내지 2.72 (m, 2 H); 2.93 내지 3.05 (m, 3 H); 3.23 (s, 3 H); 3.32 (차폐 m, 1 H); 3.40 내지 3.77 (m, 98 H); 3.80 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.14 내지 4.27 (m, 4 H); 4.39 (m, 1 H); 4.51 내지 4.60 (m, 2 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.97 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.18 내지 5.33 (m, 2 H); 5.78 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 5.90 (m, 1 H); 6.45 (m, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.5 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.59 (m, 2 H); 7.77 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 7.95 (d, J = 9.0 Hz, 0.4 H); 8.07 (d, J = 9.0 Hz, 0.6 H); 8.19 (d, J = 7.0 Hz, 0.4 H); 8.25 (d, J = 7.0 Hz, 0.6 H); 8.36 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 9.90 (s, 0.4 H); 9.96 (s, 0.6 H).

[1073] **실시예 11**: 75-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)메틸)-페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65, 68,71-테트라코사옥사-75-아자옥타헵타콘탄-78-오익산

[1074] Ar 하에, DCM 중 **화합물 34** (37 mg, 161 μ mol)의 용액에 1,3-디메틸바르비투르산 (5.13 mg, 32.2 μ mol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (0.94 mg, 0.80 μ mol)를 첨가하고, 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시키고, 5 g의 디올-변형 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 16 mg의 **실시예 11** (44%)을 제공하였다.

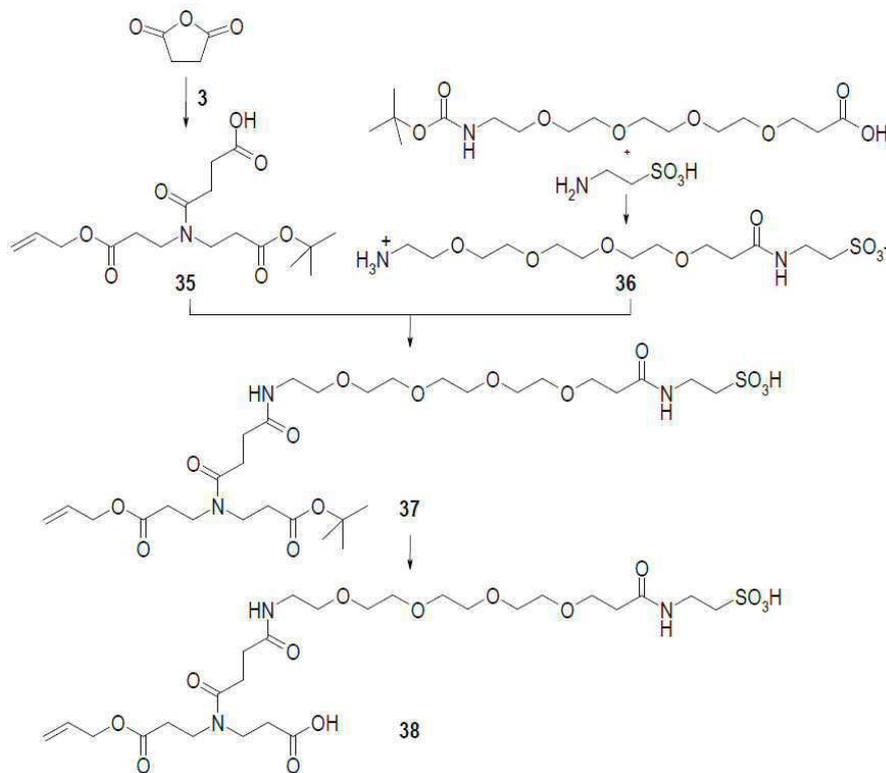
[1075] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 0.77 (d, J = 7.0 Hz, 6 H); 0.80 내지 0.90 (m, 6 H); 0.99 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.28 (m, 1 H); 1.30 (d, J = 7.0 Hz, 1.5 H); 1.32 (d, J = 7.0 Hz, 1.5 H); 1.52 내지 1.61 (m, 2 H); 1.79 (m, 1 H); 1.98 (m, 1 H); 2.22 내지 2.58 (부분 차폐 m, 7 H); 2.68 (m, 2 H); 2.92 내지 3.04 (m, 3 H); 3.21 (s, 3 H); 3.30 (부분 차폐 m, 1 H); 3.37 내지 3.67 (m, 98 H); 3.81 (s, 3 H); 3.88 (s, 1 H); 4.08 내지 4.28 (m, 4 H); 4.39 (m, 1 H); 4.90 (m, 1 H); 4.98 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.80 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 6.48 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 7.04 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (브로드 d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.57 내지 7.67 (m, 2 H); 7.80 (m, 1 H); 8.20 (m, 1 H); 8.35 내지 8.70 (m, 2 H); 10.08 (m, 1 H); 12.30 (브로드 m, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 698; m/z = 2259 [M+H]⁺; t_R = 3.14분.

[1076] **실시예 12:** 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 75-(3-(((S)-1-(((S)-1-(((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)-카르바모일)옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자옥타헵타콘탄-78-오에이트

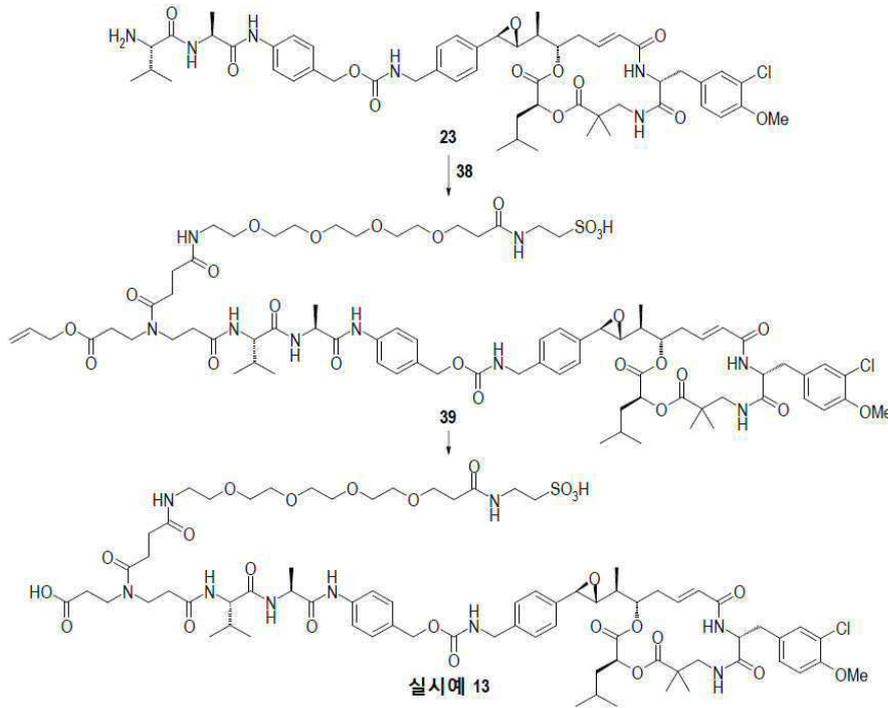
[1077] DCM 중 실시예 11 (16 mg, 7.1 μmol)의 용액에 DIEA (1.2 μL, 7.1 μmol) 및 DSC (1.8 mg, 7.1 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시키고, 1.3 g의 디올-변형 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 실시예 12 (30%)와 실시예 11 (70%)의 혼합물 5 mg을 제공하였다.

[1078] LCMS (D): ES m/z = 698; m/z = 2356 [M+H]⁺; t_R = 3.2분.

[1079] **실시예 13: 술폰-PEG4-Val-Ala-PABA-C52 벤질릭 아민의 합성**



[1080]



[1081]

[1082] **화합물 35**: 4-((3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)(3-(*tert*-부톡시)-3-옥소프로필)아미노)-4-옥소부탄산

[1083] DCM (5 mL) 중 **화합물 3** (100 mg, 388.6 μmol)의 용액에 숙신산 무수물 (78.6 mg, 777.2 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 102 mg의 **화합물 35**를 무색 오일로서 제공하였다 (73%).

[1084] **화합물 36**: 1-암모니오-15-옥소-3,6,9,12-테트라옥사-16-아자옥타데칸-18-술포네이트

[1085] Ar 하에, THF (5 mL) 중 15-(Boc-아미노)-4,7,10,13-테트라옥사펜타데칸산 (500 mg, 1.3 mmol)의 용액에 DIEA (438.4 μL , 2.6 mmol) 및 DSC (381.6 mg, 1.43 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 6시간 동안 교반시키고, 그 후 50 mg의 DSC를 첨가하고, 교반을 실온에서 하룻밤 계속하였다. 이때, 타우린 (821.6 mg, 6.5 mmol) 및 H₂O (1 mL)를 상기 반응 매질에 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 5 μm C18 선파이어 컬럼에서 분취용 LCMS (워터스, 30 x 100 mm, 구배 용출: MeCN + 0.07% TFA/H₂O + 0.07% TFA)에 의해 정제하여 341 mg의 **화합물 36** (70%)을 제공하였다.

[1086] ^1H NMR (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 2.28 (t, J = 6.5 Hz, 2 H); 2.60 (m, 2 H); 2.99 (m, 2 H); 3.32 (m, 2 H); 3.45 내지 3.65 (m, 16 H); 7.77 (브로드 m, 4 H). KBr 펠렛으로서의 IR 스펙트럼; cm⁻¹의 단위의 주요 흡광 밴드: 3000; 1780; 1648; 1556; 1200-1170; 1200; 1100; 1040.

[1087] **화합물 37**: 24-(3-(*tert*-부톡시)-3-옥소프로필)-4,20,23,27-테트라옥소-7,10,13,16,28-펜타옥사-3,19,24-트리아자헵트리아콘트-30-엔-1-술포네이트

[1088] THF 중 **화합물 35** (100 mg, 279.8 μmol)의 용액에 DIEA (141.6 μL , 839.4 μmol) 및 DSC (73.1 mg, 279.8 μmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 그 후 DMF 중 **화합물 36** (104.2 mg, 279.8 μmol)의 용액 및 DIEA (141.6 μL , 839.4 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 5 μm C18 선파이어 컬럼에서 분취용 LCMS (워터스, 30 x 100 mm, 구배 용출: MeCN + 0.07% TFA/H₂O + 0.07% TFA)에 의해 정제하여 118 mg의 **화합물 37** (60%)을 제공하였다.

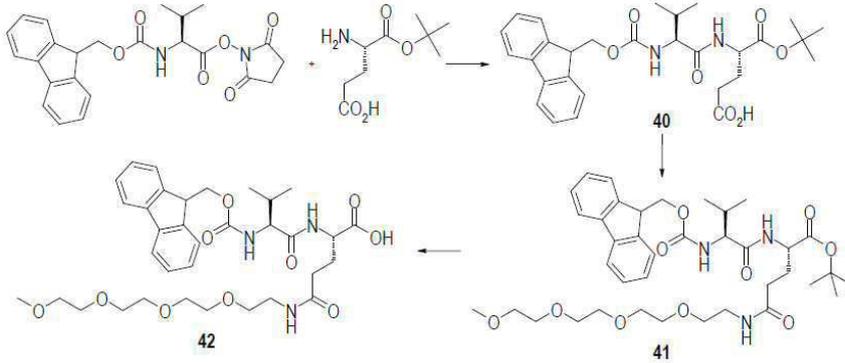
[1089] ^1H NMR (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 50:50의 형태체 혼합물; 1.39 (s, 4.5 H); 1.40 (s, 4.5 H); 2.27 (t, J = 6.5 Hz, 2 H); 2.31 (t, J = 7.0 Hz, 2 H); 2.38 (t, J = 7.0 Hz, 1 H); 2.45 내지 2.56 (차폐 m, 6 H); 2.68 (m, 1 H); 3.18 (q, J = 6.0 Hz, 2 H); 3.29 (m, 2 H); 3.36 내지 3.60 (m, 20 H); 4.51 내지 4.59 (m, 2 H); 5.17 내지 5.25 (m, 2 H); 5.85 내지 5.95 (m, 1 H); 7.75 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.88 (t, J = 6.0

Hz, 1 H).

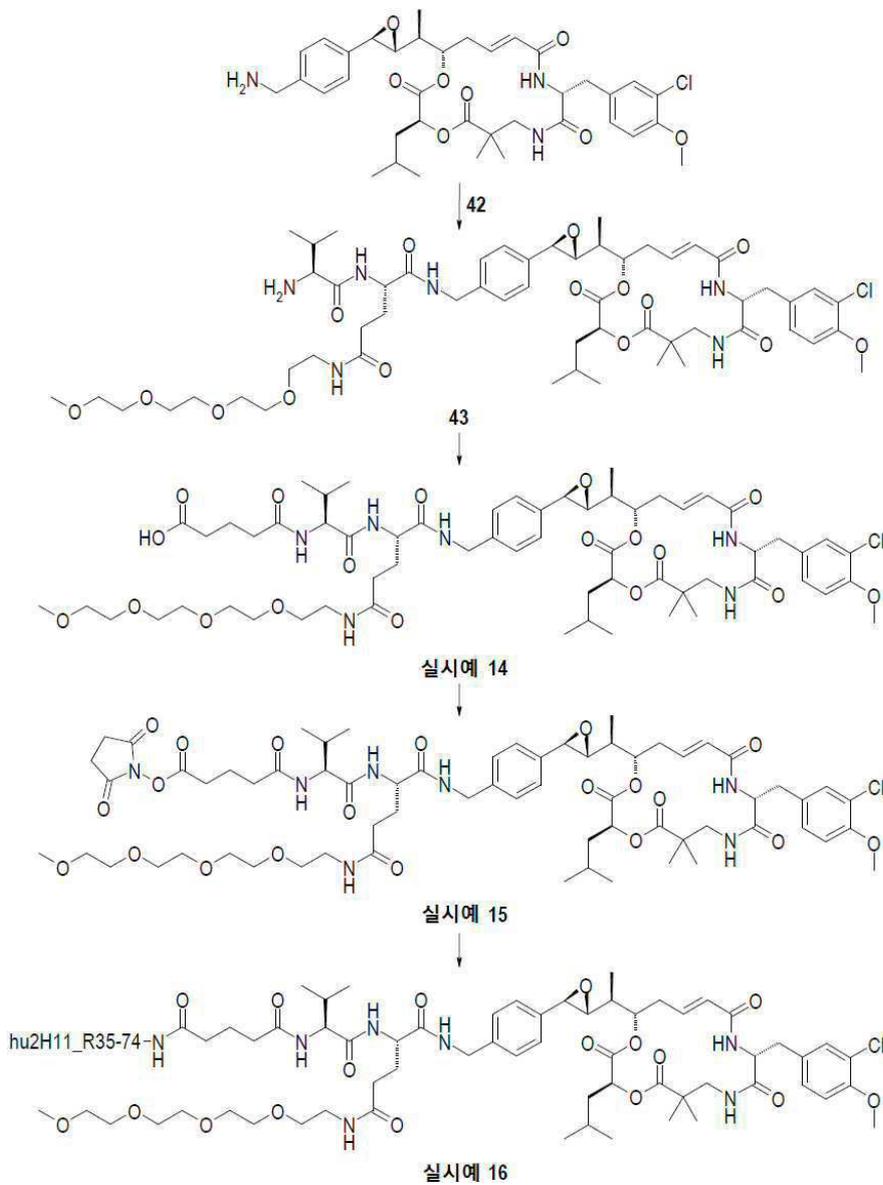
- [1090] **화합물 38**: 24-(2-카르복시에틸)-4,20,23,27-테트라옥소-7,10,13,16,28-펜타옥사-3,19,24-트리아자헨트리아콘트-30-엔-1-술포네이트
- [1091] DCM (5 mL) 중 **화합물 37** (118 mg, 166.0 μmol)의 용액에 TFA (249 μL , 3.32 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 진공에서 농축시키고, DCM으로 희석시키고, 톨루엔과 함께 공동-증발시켜 (3회), 100 mg의 **화합물 38**을 무색 오일로서 제공하였다 (92%).
- [1092] **화합물 39**: (2S,5S)-10-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)메틸)페닐)아미노)-5-이소프로필-2-메틸-1,4,7,11,14,30-헥사옥소-18,21,24,27-테트라옥사-3,6,10,15,31-펜타아자트리트리아-콘탄-33-술포산
- [1093] THF (3 mL) 및 DMF (1 mL) 중 **화합물 38** (100 mg, 152.7 μmol)의 용액에 DIEA (77 μL , 458.2 μmol) 및 DSC (39.9 mg, 152.7 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시킨 후 THF (1 mL) 및 DMF (0.5 mL) 중 **화합물 23** (124 mg, 121.9 μmol)의 용액 및 DIEA (100 μL)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 75 g의 C18-변형 실리카 겔에서 역상 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$)에 의해 정제하여 60 mg의 **화합물 39**를 백색 고형물로서 제공하였다 (24%).
- [1094] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, $\text{DMSO}-d_6$): 60:40의 형태체 혼합물; 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.82 (d, J = 7.0 Hz, 1.8 H); 0.84 (d, J = 7.0 Hz, 1.2 H); 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 1.8 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 1.2 H); 0.99 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.28 (m, 1 H); 1.30 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.50 내지 1.62 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.96 (m, 1 H); 2.20 내지 2.55 (부분 차폐 m, 11 H); 2.61 내지 2.75 (m, 2 H); 2.94 내지 3.05 (m, 3 H); 3.10 내지 3.65 (부분 차폐, 27 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.13 내지 4.28 (m, 4 H); 4.38 (m, 1 H); 4.53 (m, 1.2 H); 4.56 (m, 0.8 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.97 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.18 내지 5.33 (m, 2 H); 5.80 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 5.90 (m, 1 H); 6.47 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.5 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.59 (m, 2 H); 7.72 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 7.79 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.89 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 7.95 (d, J = 9.0 Hz, 0.4 H); 8.08 (d, J = 9.0 Hz, 0.6 H); 8.19 (d, J = 7.0 Hz, 0.4 H); 8.25 (d, J = 7.0 Hz, 0.6 H); 8.36 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 9.90 (s, 0.4 H); 9.95 (s, 0.6 H). LCMS (D): ES m/z = 913; m/z = 1654 $[\text{M}+\text{H}]^+$; t_R = 3.87분.
- [1095] **실시예 13**: 24-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-4,20,23-트리옥소-1-술포-7,10,13,16-테트라옥사-3,19,24-트리아자헨트라이코산-27-오익산
- [1096] DMF (5 mL) 중 **화합물 39** (60 mg, 36.3 μmol)의 용액에 1,3-디메틸바르비투르산 (17.3 mg, 108.8 μmol) 및 테트라키스 (트리페닐포스핀)팔라듐(0) (2.1 mg, 1.8 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 30 g 및 20 g의 C18-변형 실리카 겔에서 두 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 2개의 배치의 6 mg의 **실시예 13**을 백색 고형물로서 제공하였다 (20%의 전체 수율).
- [1097] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, $\text{DMSO}-d_6$): 60:40의 형태체 혼합물; 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.81 내지 0.89 (m, 6 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.28 (m, 1 H); 1.30 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.58 (m, 2 H); 1.80 (m, 1 H); 1.96 (m, 1 H); 2.21 내지 2.58 (부분 차폐 m, 11 H); 2.69 (m, 2 H); 2.93 내지 3.68 (부분 차폐 m, 28 H); 3.80 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.11 내지 4.28 (m, 4 H); 4.38 (m, 1 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.98 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 2.5 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.59 (m, 2 H); 7.72 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 7.79 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.89 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 7.97 (d, J = 9.0 Hz, 0.4 H); 8.08 (d, J = 9.0 Hz, 0.6 H); 8.19 (d, J = 7.0 Hz, 0.4 H); 8.25 (d, J = 7.0 Hz, 0.6 H); 8.36 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 9.90 (s, 0.4 H); 9.94 (s, 0.6 H); 12.15 (브로드 m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 807.5 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; m/z = 1612 $[\text{M}-\text{H}]^-$; m/z = 1614

[M+H]⁺; t_R = 1.72분.

[1098] **실시예 14 내지 16: 글루타릴-Val-PEG4Gln-C52 벤질릭 아민, 글루타릴-Val-PEG4Gln-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르 및 상응하는 ADC의 합성**



[1099]



[1100]

[1101] **화합물 40:** (S)-4-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-(tert-부톡시)-5-옥소펜탄산

[1102] 자기 교반 하에 H₂O (80 mL) 중 H-Glu-OtBu (CAS 번호 [45120-30-7], 959 mg, 4.7 mmol) 및 NaHCO₃ (400 mg,

4.77 mmol)의 용액에 THF (80 mL) 중 (S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)-카르보닐)아미노)-3-메틸부탄오에이트 (2 g, 4.6 mmol)의 용액을 적가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 상기 매질을 진공에서 농축시키고, 그 후 포화 수성 NaHCO₃ (1 L)을 첨가하고, 이어서 Et₂O (2 x 250 mL)로 추출하고, 유기 상들을 배제시켰다. 수성 상을 적당량의 수성 1 N HCl로 산성화하여 pH 2에 도달하게 하고, DCM (3 x 250 mL)으로 추출하고, 합한 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켜 2.05 g의 **화합물 40** (85%)을 제공하였다.

[1103] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.87 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.90 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.38 (s, 9 H); 1.73 내지 2.02 (m, 3 H); 2.24 내지 2.30 (m, 2 H); 3.90 (dd, J = 7.3 및 9.0 Hz, 1 H); 4.14 (m, 1 H); 4.19 내지 4.32 (m, 3 H); 7.27 내지 7.45 (m, 5 H); 7.75 (t, J = 7.6 Hz, 2 H); 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2 H); 8.22 (브로드 d, J = 7.0 Hz, 1 H); 12.05 (브로드 s, 1 H).

[1104] **화합물 41**: (S)-*tert*-부틸 18-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-15-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-14-아자노나데칸-19-오에이트

[1105] 자기 교반 하에, DCM (6 mL) 중 **화합물 40** (200 mg, 381 μmol)의 용액에 PEG4-NH₂(CAS 번호 [85030-56-4], 115 mg, 554.9 μmol), HOBt (82 mg, 606.8 μmol) 및 EDC (100 μL, 565 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 조 매질을 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 2회 정제하여 190 mg의 **화합물 41** (70%)을 제공하였다.

[1106] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.87 (d, J = 6.8 Hz, 3 H); 0.90 (d, J = 6.8 Hz, 3 H); 1.38 (s, 9 H); 1.72 내지 1.93 (m, 2 H); 1.99 (m, 1 H); 2.14 (t, J = 7.8 Hz, 2 H); 3.18 (m, 2 H); 3.23 (s, 3 H); 3.37 (t, J = 6.0 Hz, 2 H); 3.41 (m, 2 H); 3.46 내지 3.53 (m, 10 H); 3.92 (dd, J = 7.1 및 8.8 Hz, 1 H); 4.09 (m, 1 H); 4.17 내지 4.34 (m, 3 H); 7.32 (m, 3 H); 7.41 (t, J = 7.6 Hz, 2 H); 7.70 내지 7.81 (m, 3 H); 7.88 (d, J = 7.6 Hz, 2 H); 8.18 (d, J = 7.3 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 714 [M+H]⁺; m/z = 758 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.41분.

[1107] **화합물 42**: (S)-18-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-15-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-14-아자노나데칸-19-오익산

[1108] 자기 교반 하에, **화합물 41** (190 mg, 266 μmol)에 1,4-디옥산 중 4 M HCl 용액 (5 mL)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 15 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/NH₄OH)에 의해 정제하여 70 mg의 **화합물 42** (40%)를 제공하였다.

[1109] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.84 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 0.86 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 1.70 내지 1.90 (m, 2 H); 2.01 내지 2.15 (m, 3 H); 3.15 (m, 2 H); 3.23 (s, 3 H); 3.36 (t, J = 6.4 Hz, 2 H); 3.42 (m, 2 H); 3.45 내지 3.53 (m, 10 H); 3.80 (브로드 m, 1 H); 3.83 (dd, J = 6.8 및 8.7 Hz, 1 H); 4.19 내지 4.34 (m, 3 H); 7.33 (m, 2 H); 7.41 (t, J = 7.6 Hz, 2 H); 7.59 (브로드 m, 2 H); 7.73 (d, J = 7.6 Hz, 1 H); 7.76 (d, J = 7.6 Hz, 1 H); 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2 H); 8.00 (브로드 m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 656 [M-H]⁻; m/z = 658 [M+H]⁺; RT= 1.19분.

[1110] **화합물 43**: (S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-N1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)-N5-(2,5,8,11-테트라옥사트리데칸-13-일)펜탄디아미드

[1111] 자기 교반 하에, DMF (5 mL) 중 (E)-(3S,10R,16S)-16-((S)-1-[(2R,3R)-3-(4-아미노메틸-페닐)-옥시라닐]-에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자-시클로헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 국제 공개 제2011001052호에 기술되어 있음, 화합물 77, 58 mg, 83 μmol)의 용액에 **화합물 42** (70 mg, 106 μmol), HOBt (20 mg, 148 μmol) 및 EDC (23 μL, 130 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 24시간 동안 교반시켰다. 이때, 피페리딘 (80 μL, 810 μmol)을 상기 매질에 첨가하고, 교반을 1시간 동안 유지하였다. 그 후, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 20 g의 실리카 겔에서 플

래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 60 mg의 **화합물 43** (65%)을 제공하였다.

- [1112] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.77 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.79 (d, J = 6.3 Hz, 6 H); 0.87 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 6.4 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.31 (m, 1 H); 1.52 내지 1.63 (m, 2 H); 1.72 내지 1.98 (m, 4 H); 2.05 내지 2.15 (m, 2 H); 2.26 (m, 1 H); 2.62 내지 2.73 (m, 2 H); 2.94 내지 3.04 (m, 4 H); 3.18 (q, J = 5.9 Hz, 2 H); 3.23 (s, 3 H); 3.33 (부분 차폐 m, 1 H); 3.39 (t, J = 5.9 Hz, 2 H); 3.42 (m, 2 H); 3.47 내지 3.52 (m, 10 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 1.4 Hz, 1 H); 4.21 내지 4.36 (m, 4 H); 4.91 (dd, J = 3.6 및 9.6 Hz, 1 H); 5.10 (dd, J = 5.5 및 11.8 Hz, 1 H); 5.79 (d, J = 15.3 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J = 3.8, 11.6 및 15.3 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 1.9 및 8.5 Hz, 1 H); 7.21 내지 7.25 (m, 5 H); 7.28 (d, J = 1.9 Hz, 1 H); 7.89 (t, J = 5.5 Hz, 1 H); 8.07 (큰 m, 1 H); 8.37 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.45 (t, J = 5.9 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 558 [M+2H]²⁺; m/z = 1115 [M+H]⁺; m/z = 1159 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 0.96분.
- [1113] **실시예 14**: (18S,21S)-18-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-21-이소프로필-15,20,23-트리옥소-2,5,8,11-테트라옥사-14,19,22-트리아자헵타코산-27-오익산
- [1114] DMF (3 mL) 중 **화합물 43** (55 mg, 49.3 μmol)의 용액에 글루타르산 무수물 (9 mg, 79 μmol)을 첨가하고, 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 이때, 상기 매질을 진공에서 농축시키고, 10 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 38 mg의 **실시예 14** (62%)를 제공하였다.
- [1115] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.81 (분할 d, J = 6.6 Hz, 6 H); 0.85 (d, J = 6.3 Hz, 3 H); 0.87 (d, J = 6.3 Hz, 3 H); 0.98 (s, 3 H); 1.03 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.35 (m, 1 H); 1.52 내지 2.34 (m, 15 H); 2.71 (m, 2 H); 2.89 내지 3.02 (m, 3 H); 3.09 내지 3.21 (m, 2 H); 3.23 (s, 3 H); 3.30 내지 3.40 (부분 차폐 m, 3 H); 3.42 (m, 2 H); 3.46 내지 3.51 (m, 10 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (s, 1 H); 4.03 내지 4.24 (m, 4 H); 4.37 (m, 1 H); 4.96 (m, 1 H); 5.11 (m, 1 H); 5.81 (d, J = 15.3 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J = 3.3, 11.4 및 15.3 Hz, 1 H); 7.04 (d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.19 (dd, J = 1.9 및 8.5 Hz, 1 H); 7.22 (d, J = 8.3 Hz, 2 H); 7.27 (d, J = 8.3 Hz, 2 H); 7.30 (d, J = 1.9 Hz, 1 H); 7.32 (m, 1 H); 7.85 내지 8.99 (브로드 m, 5 H); 12.12 (브로드 m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 615 [M+2H]²⁺; m/z = 1227 [M-H]⁻; m/z = 1229 [M+H]⁺; t_R = 1.26분.
- [1116] **실시예 15**: (18S,21S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일 18-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-21-이소프로필-15,20,23-트리옥소-2,5,8,11-테트라옥사-14,19,22-트리아자헵타코산-27-오에이트
- [1117] 자기 교반 하에, DMF (3 mL) 중 **실시예 14** (32 mg, 26 μmol)의 용액에 DSC (8 mg, 31.2 μmol) 및 DIEA (8.6 μL, 52 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 그 후, 4 mg의 DSC를 첨가하고, 실온에서의 교반을 1시간 동안 유지하였다. 이때, 상기 반응 매질을 MeTHF (10 mL)로 희석시키고, H₂O (5 mL)로 세척하였다. 수성 상을 MeTHF (3 x 5 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켰다. 상기 매질을 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 28 mg의 **실시예 15** (81%)를 제공하였다.
- [1118] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.78 (d, J = 6.6 Hz, 6 H); 0.83 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.85 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 6.4 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.30 (m, 1 H); 1.52 내지 1.64 (m, 2 H); 1.75 내지 1.93 (m, 5 H); 1.98 (m, 1 H); 2.12 (m, 2 H); 2.22 내지 2.34 (m, 3 H); 2.62 내지 2.72 (m, 4 H); 2.81 (s, 4 H); 2.93 내지 3.04 (m, 3 H); 3.18 (q, J = 6.0 Hz, 2 H); 3.23 (s, 3 H); 3.33 (부분 차폐 m, 1 H); 3.39 (t, J = 6.0 Hz, 2 H); 3.42 (m, 2 H); 3.47 내지 3.52 (m, 10 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 1.6 Hz, 1 H); 4.15 (dd, J = 6.6 및 8.2 Hz, 1 H); 4.19 내지 4.32 (m, 4 H); 4.91 (dd, J = 3.6 및 9.6 Hz, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.3 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.7, 11.3 및 15.3 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 2.2 및 8.5 Hz, 1 H); 7.21 내지 7.26 (m, 5 H); 7.28 (d, J = 2.2 Hz, 1 H); 7.85 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.92 (d, J = 8.2 Hz, 1 H); 8.08 (d, J = 7.7 Hz, 1

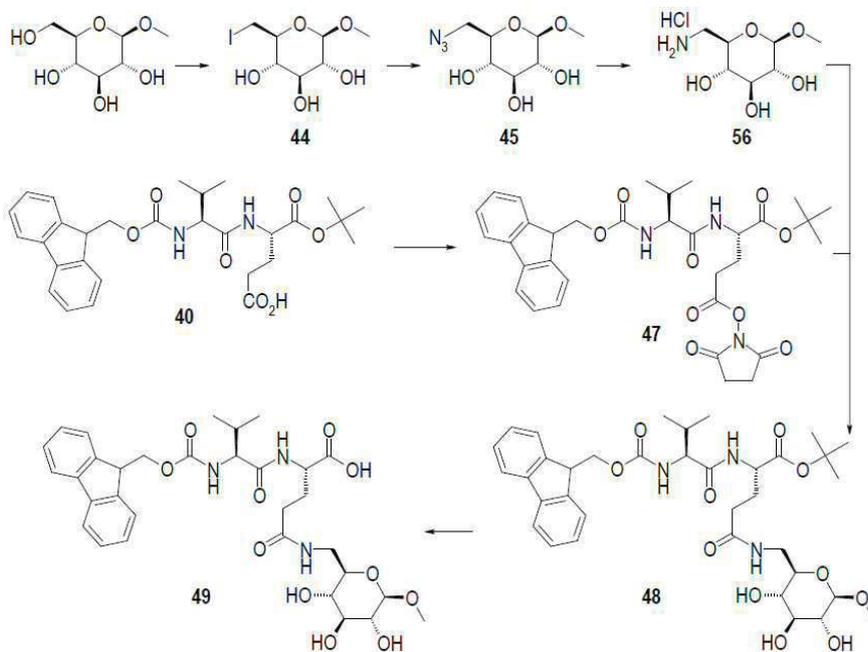
H); 8.32 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 8.37 (d, J = 8.0 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 1326 [M+H]⁺; m/z = 1348 [M+Na]⁺; m/z = 1370 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.31분.

[1119] **실시예 16: hu2H11_R35-74-Ex15**

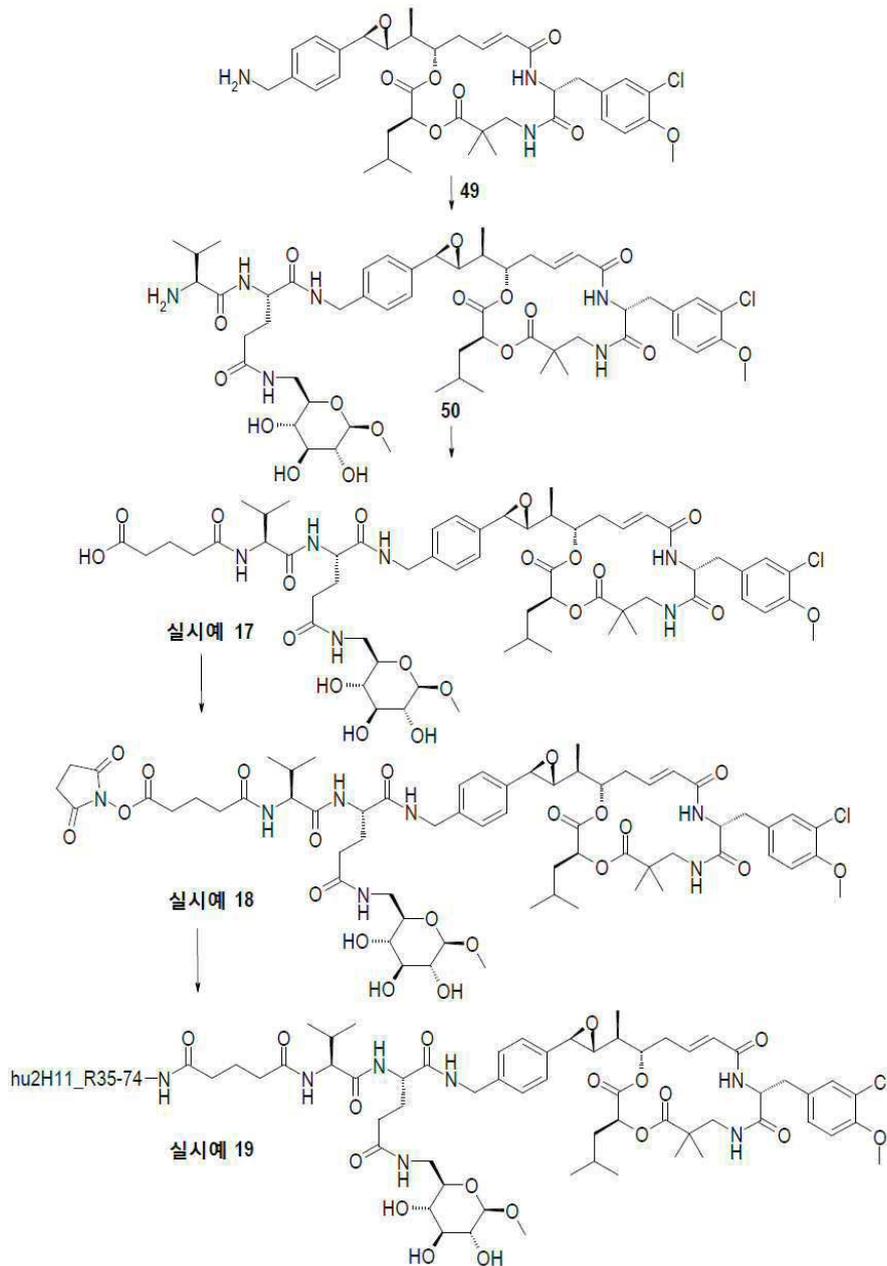
[1120] 이전에 설명한 일반적인 방법을 실시예 16의 제조에 사용하였다. 28.8 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 실시예 15의 10.05 mM 용액 (6 당량) 115.2 μL와 2 h 30 동안 반응시켰다. 완충제 B (pH 6.5) + 10% NMP 중 수퍼텍스 200 pg에서의 정제, 아미콘 울트라-15에서의 농축, 5%의 NMP의 최종 농도까지의 완충제 B (pH 6.5)에서의 희석 및 0.22 μm PVDF 필터에서의 여과 후, 16.12 mg의 ADC를 수득하였으며, 이는 2.2%의 잔여 실시예 14를 함유하였다. 이 배치를 아미콘 울트라-15에서 농축시키고, 세파텍스 G25에서 정제하여 13.16 mg의 실시예 16을 무색 투명 용액으로서 1.4 mg/mL의 농도로 제공하였으며, 이때 DAR은 2.8 (HRMS)이고, 단량체 순도는 99.7%이고, 전체 수율은 43%였다.

[1121] SEC-HRMS: m/z = 149398 (네이키드 mAb); m/z = 150610 (D1); m/z = 151822 (D2); m/z = 153035 (D3); m/z = 154248 (D4); m/z = 155458 (D5); m/z = 156672 (D6); m/z = 157881 (D7).

[1122] **실시예 17 내지 19: 글루타릴-Val-글루코스Gln-C52 벤질릭 아민, 글루타릴-Val-글루코스Gln-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르 및 상응하는 ADC의 합성**



[1123]



[1124]

[1125] **화합물 44:** (2S,3S,4S,5R,6R)-2-(요오도메틸)-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리올

[1126] 환류에서 교반되는 THF (50 mL) 중 메틸 -D-글루코피라노시드 반수화물 (CAS 번호 [7000-27-3], 1 g, 4.67 mmol), 이미다졸 (642 mg, 9.34 mmol) 및 트리페닐포스핀 (2.47 g, 9.33 mmol)의 용액에 THF (10 mL) 중 요오드 (2.37 g, 9.33 mmol)의 용액을 적가하였다. 환류를 3시간 동안 유지하였다. 0℃에서 냉각시킨 후, 상기 반응 매질을 여과시키고, 여과액을 진공에서 농축시켰다. 상기 혼합물을 150 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 DCM/MeOH)에 의해 정제하여 1 g의 **화합물 44** (63%)를 제공하였다.

[1127] **화합물 45:** (2R,3S,4S,5R,6R)-2-(아지도메틸)-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리올

[1128] 자기 교반 하에, DMF (10 mL) 중 **화합물 44** (1g, 3.29 mmol)의 용액에 NaN₃ (322 mg, 4.93 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 50℃에서 16시간 동안 가열하였다. 이때, 실온에서 냉각시킨 후, 상기 매질을 진공에서 농축시키고, 80 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 550 mg의 **화합물 45** (76%)를 제공하였다.

[1129] **화합물 46:** (2R,3S,4S,5R,6R)-2-(아미노메틸)-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리올 히드로클로라이드

[1130] 1,4-디옥산 (12 mL) 및 MeOH (3 mL) 중 **화합물 45** (550 mg, 2.51 mmol) 및 트리페닐포스핀 (1.33 g, 5.02 mmol)의 용액을 실온에서 30분 동안 교반시켰다. 이때, 물 (1.5 mL)을 상기 반응 매질에 첨가하고, 실온에서의

교반을 하룻밤 유지하였다. 조 매질을 진공에서 농축시키고, 그 후 DCM (10 mL) 및 수성 1 N HCl (5 mL)로 희석시키고, 수성 상을 DCM (2 x 10 mL)으로 추출하였다. 수성 상을 진공에서 농축시키고, 그 후 MeOH로 희석시키고, 진공에서 농축시켜 560 mg의 **화합물 46** (97%)을 생성하였다.

- [1131] **화합물 47**: (S)-1-*tert*-부틸 5-(2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)펜탄디오에이트
- [1132] 자기 교반 하에, THF (100 mL) 중 **화합물 40** (2 g, 3.81 mmol)의 용액에 DIEA (1.29 mL, 7.62 mmol), DSC (1.95 g, 7.62 mmol) 및 DMF (20 mL)를 연속적으로 첨가하였다. 상기 반응 매질을 Ar 하에 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 진공에서 농축시킨 후, 상기 혼합물을 150 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (용출 DCM/EtOAc)에 의해 정제하여 1.67 g의 **화합물 47** (71%)을 제공하였다.
- [1133] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.89 (d, J = 6.8 Hz, 3 H); 0.91 (d, J = 6.8 Hz, 3 H); 1.39 (s, 9 H); 1.84 내지 2.10 (m, 3 H); 2.65 내지 2.77 (m, 2 H); 2.80 (s, 4 H); 3.88 (dd, J = 7.2 및 8.7 Hz, 1 H); 4.18 내지 4.31 (m, 4 H); 7.32 (m, 2 H); 7.41 (m, 3 H); 7.73 (d, J = 7.6 Hz, 1 H); 7.75 (d, J = 7.6 Hz, 1 H); 7.88 (d, J = 7.6 Hz, 2 H); 8.31 (브로드 d, J = 7.1 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 566; m/z = 622 [M+H]⁺; m/z = 666 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.49분.
- [1134] **화합물 48**: (S)-*tert*-부틸 2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-옥소-5-(((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-일)메틸)아미노)펜타노에이트
- [1135] 자기 교반 하에, DMF (10 mL) 중 **화합물 47** (500 mg, 804 μmol)의 용액에 **화합물 46** (185 mg, 805 μmol) 및 DIEA (165 μL, 978 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 이때, 37 mg의 **화합물 46** 및 35 μL의 DIEA를 상기 반응 매질에 첨가하고, 교반을 1시간 동안 유지하였다. 그 후, 상기 매질을 진공에서 농축시키고, 50 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 480 mg의 **화합물 48** (85%)을 제공하였다.
- [1136] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.87 (d, J = 6.7 Hz, 3 H); 0.89 (d, J = 6.7 Hz, 3 H); 1.38 (s, 9 H); 1.70 내지 2.04 (m, 3 H); 2.19 (t, J = 7.9 Hz, 2 H); 2.86 내지 2.98 (m, 2 H); 3.01 내지 3.16 (m, 3 H); 3.35 (s, 3 H); 3.52 (m, 1 H); 3.92 (dd, J = 7.2 및 8.4 Hz, 1 H); 3.99 (d, J = 7.6 Hz, 1 H); 4.09 (m, 1 H); 4.16 내지 4.36 (m, 3 H); 4.95 (브로드 d, J = 4.6 Hz, 1 H); 4.99 (d, J = 5.1 Hz, 1 H); 5.03 (d, J = 4.9 Hz, 1 H); 7.27 내지 7.37 (m, 3 H); 7.41 (t, J = 7.6 Hz, 2 H); 7.75 (분할 d, J = 7.0 Hz, 2 H); 7.85 (브로드 m, 1 H); 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2 H); 8.23 (브로드 d, J = 7.1 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 700 [M+H]⁺; m/z = 744 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.22분.
- [1137] **화합물 49**: (S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-옥소-5-(((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-일)메틸)아미노)펜탄산
- [1138] 자기 교반 하에, **화합물 48** (480mg, 686 μmol)에 1,4-디옥산 중 4 M HCl 용액 (30 mL)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 이때, 상기 매질을 진공에서 농축시키고, 30 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (용출 DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 260 mg의 **화합물 49** (59%)를 제공하였다.
- [1139] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.83 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 0.85 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 1.69 내지 1.90 (m, 2 H); 2.01 내지 2.15 (m, 3 H); 2.86 내지 2.97 (m, 2 H); 2.99 내지 3.16 (m, 3 H); 3.35 (s, 3 H); 3.51 (m, 1 H); 3.82 (m, 2 H); 3.99 (d, J = 7.8 Hz, 1 H); 4.20 내지 4.33 (m, 3 H); 4.95 (브로드 d, J = 3.7 Hz, 1 H); 5.03 (d, J = 4.9 Hz, 1 H); 5.06 (브로드 d, J = 4.6 Hz, 1 H); 7.33 (m, 2 H); 7.40 (t, J = 7.6 Hz, 2 H); 7.52 (브로드 d, J = 6.4 Hz, 1 H); 7.61 (브로드 d, J = 9.3 Hz, 1 H); 7.73 (d, J = 7.6 Hz, 1 H); 7.76 (d, J = 7.6 Hz, 1 H); 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2 H); 8.10 (브로드 m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 642 [M-H]⁻; m/z = 644 [M+H]⁺; t_R = 1.01분.
- [1140] **화합물 50**: (S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-N1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)-N5-(((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-

일)메틸)펜탄디아미드

- [1141] 자기 교반 하에, DMF (6 mL) 중 (E)-(3S,10R,16S)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-아미노메틸-페닐)-옥시라닐)-에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자-시클로헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 국제 공개 제2011001052호에 기술되어 있음, 화합물 77, 110 mg, 157 μmol)의 용액에 **화합물 49** (122 mg, 189 μmol), HOBt (34 mg, 252 μmol) 및 EDC (43 μL , 236 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 그 후, 25 mg의 **화합물 49** 및 25 μL 의 EDC를 상기 매질에 첨가하고, 교반을 1시간 동안 유지하였다. 이때, 피페리딘 (160 μL , 1.58 mmol)을 상기 매질에 첨가하였다. 2시간 후, 상기 매질을 진공에서 농축시키고, 20 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 78 mg의 **화합물 50** (45%)을 제공하였다.
- [1142] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.76 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.79 (d, J = 6.3 Hz, 6 H); 0.87 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.30 (m, 1 H); 1.50 내지 1.98 (m, 8 H); 2.12 (m, 2 H); 2.26 (m, 1 H); 2.68 (m, 2 H); 2.86 내지 3.14 (m, 9 H); 3.32 (부분 차폐 m, 1 H); 3.38 (s, 3 H); 3.52 (m, 1 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (s, 1 H); 4.01 (d, J = 7.4 Hz, 1 H); 4.20 내지 4.36 (m, 4 H); 4.90 (m, 1 H); 4.98 (브로드 d, J = 3.6 Hz, 1 H); 5.02 (d, J = 4.9 Hz, 1 H); 5.06 (d, J = 4.7 Hz, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.6 Hz, 1 H); 6.47 (m, 1 H); 7.05 (d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.17 (브로드 d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.21 내지 7.26 (m, 5 H); 7.29 (브로드 s, 1 H); 7.90 (m, 1 H); 8.08 (큰 m, 1 H); 8.37 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.48 (m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 551 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; m/z = 1099 $[\text{M}-\text{H}]^-$; m/z = 1101 $[\text{M}+\text{H}]^+$; m/z = 1145 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCO}_2\text{H}]^-$; t_R = 0.9분.
- [1143] **실시예 17**: 5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1,5-디옥소-5-(((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-일)메틸)아미노)펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-5-옥소펜탄산
- [1144] 자기 교반 하에, DMF (4 mL) 중 **화합물 50** (77 mg, 69.9 μmol)의 용액에 글루타르산 무수물 (14 mg, 125.8 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 그 후, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 10 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 54 mg의 **실시예 17** (64%)을 제공하였다.
- [1145] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.80 (d, J = 6.0 Hz, 6 H); 0.86 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 0.88 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 0.99 (s, 3 H); 1.03 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.34 (m, 1 H); 1.53 내지 1.85 (m, 6 H); 1.90 내지 2.33 (m, 9 H); 2.65 내지 2.76 (m, 2 H); 2.87 내지 3.14 (m, 8 H); 3.32 (부분 차폐 m, 1 H); 3.35 (s, 3 H); 3.53 (m, 1 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 1.9 Hz, 1 H); 4.00 (d, J = 7.9 Hz, 1 H); 4.03 내지 4.26 (m, 4 H); 4.33 (m, 1 H); 4.93 (m, 1 H); 5.02 (브로드 m, 3 H); 5.10 (m, 1 H); 5.80 (d, J = 15.3 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J = 3.5, 11.0 및 15.3 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.18 (dd, J = 2.2 및 8.5 Hz, 1 H); 7.22 (d, J = 8.2 Hz, 2 H); 7.26 (d, J = 8.2 Hz, 2 H); 7.30 (m, 2 H); 7.98 내지 8.65 (브로드 m, 5 H). LCMS (A): ES m/z = 608 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; m/z = 1213 $[\text{M}-\text{H}]^-$; m/z = 1215 $[\text{M}+\text{H}]^+$; t_R = 1.15분.
- [1146] **실시예 18**: 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1,5-디옥소-5-(((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-일)메틸)아미노)펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-5-옥소펜타노에이트
- [1147] **실시예 17** (45 mg, 37 μmol)을 톨루엔에서 회석시키고, 진공에서 농축시켰다. 그 후, 자기 교반 하에, THF (5 mL), DCM (2 mL) 및 DMF (1mL) 중 **실시예 17**의 용액에 DSC (11.4 mg, 44.4 μmol) 및 DIEA (19 μL , 112.6 μmol)를 첨가하였다. Ar 하에 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 그 후, DMF 및 DSC를 반응이 완료될 때까지 상기 매질에 첨가하였다. 3시간 후, 상기 매질을 물 (5 mL)로 회석시키고, MeTHF (3 x 10 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 MgSO_4 로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켰다. 상기 혼합물을 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 21 mg의 **실시예 18** (43%)을 제공하

였다.

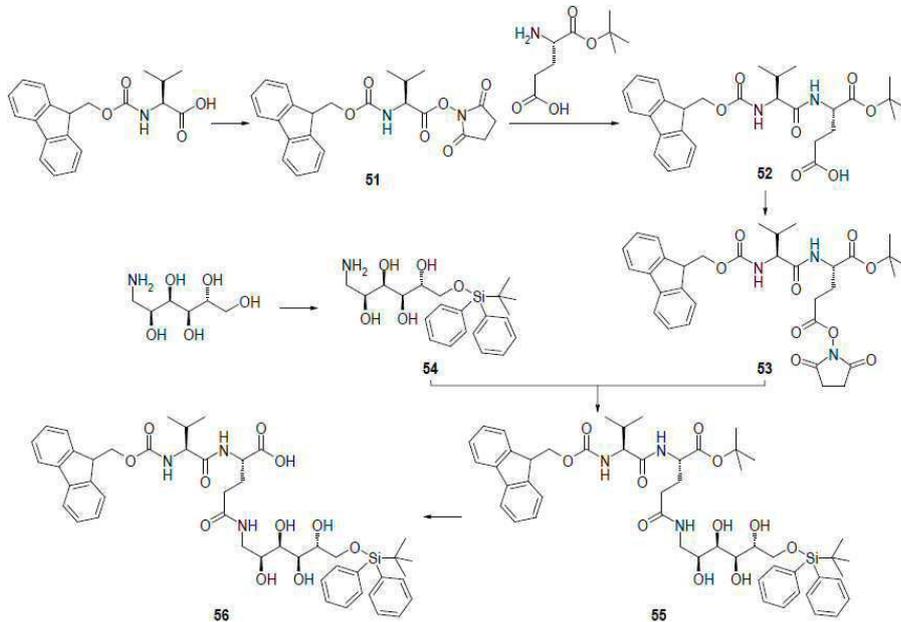
[1148] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.78 (d, J = 6.0 Hz, 6 H); 0.83 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.85 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 6.3 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.30 (m, 1 H); 1.52 내지 1.63 (m, 2 H); 1.75 내지 2.02 (m, 6 H); 2.09 내지 2.34 (m, 5 H); 2.68 (m, 4 H); 2.81 (s, 4 H); 2.88 내지 3.18 (m, 7 H); 3.32 (부분 차폐 m, 1 H); 3.38 (s, 3 H); 3.51 (m, 1 H); 3.81 (s, 3 H); 3.88 (s, 1 H); 4.01 (d, J = 7.7 Hz, 1 H); 4.16 (dd, J = 7.1 및 7.7 Hz, 1 H); 4.19 내지 4.35 (m, 5 H); 4.90 (m, 1 H); 4.97 (d, J = 4.1 Hz, 1 H); 5.01 (d, J = 4.9 Hz, 1 H); 5.06 (d, J = 4.9 Hz, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.3 Hz, 1 H); 6.47 (m, 1 H); 7.05 (d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.17 (큰 d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.26 (m, 5 H); 7.28 (브로드 s, 1 H); 7.86 (브로드 t, J = 5.6 Hz, 1 H); 7.91 (d, J = 7.9 Hz, 1 H); 8.08 (d, J = 7.4 Hz, 1 H); 8.33 (t, J = 5.8 Hz, 1 H); 8.38 (d, J = 8.2 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 1310 [M-H]⁻; m/z = 1356 [M-H+HCO₂H]⁻; m/z = 1312 [M+H]⁺; m/z = 656.5 [M+2H]²⁺; t_R = 1.2분.

[1149] **실시예 19: hu2H11_R35-74-Ex18**

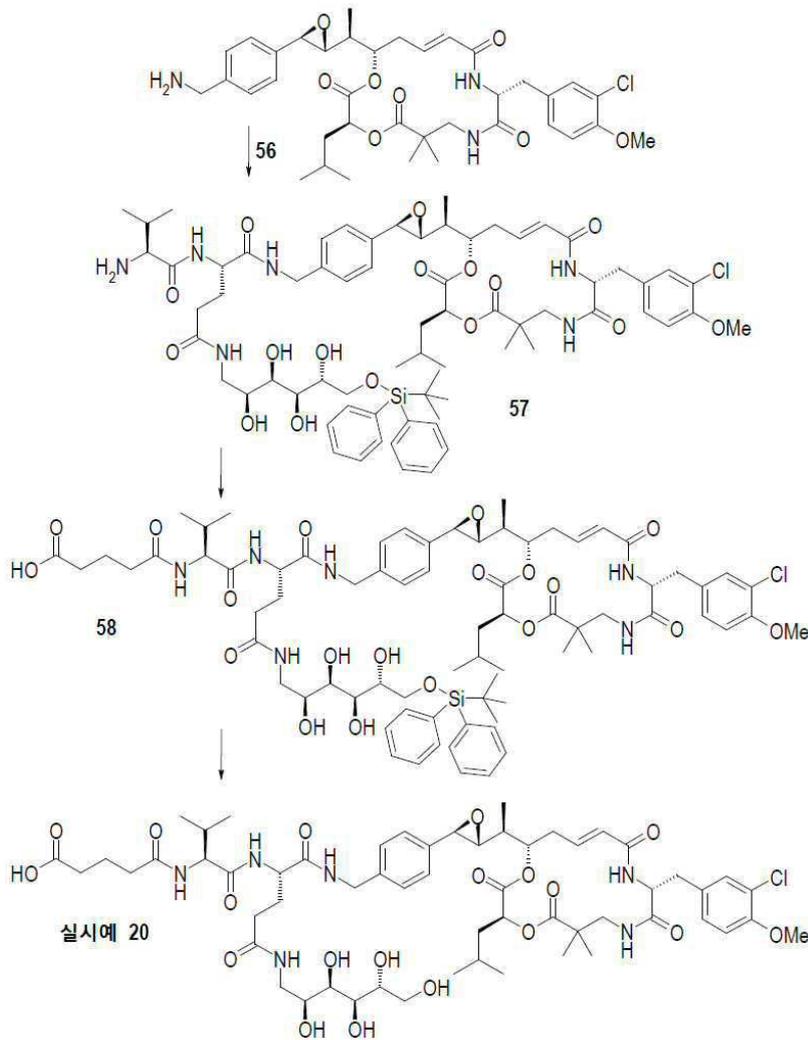
[1150] 이전에 설명한 일반적인 방법을 실시예 19의 제조에 사용하였다. 29.02 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 실시예 18의 10 mM 용액 (6 당량) 116.6 μL와 2 h 30 동안 반응시켰다. 완충제 B (pH 6.5) + 10% NMP에서의 수퍼텍스 200 pg에서의 정제, 아미콘 울트라-15에서의 농축, 완충제 B (pH 6.5)에서의 5%의 NMP의 최종 농도까지의 희석 및 0.22 μm PVDF 필터에서의 여과 후, 23.1 mg의 실시예 19를 2.2 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로 수득하였으며, 이때 DAR은 2.8 (HRMS)이고, 단량체 순도는 99.9%이고, 전체 수율은 78%였다. 유리-약물 수준은 1%의 역치보다 높았으며: ADC를 아미콘 울트라-15에서 농축시키고, 완충제 B (pH 6.5) + 5% NMP에서 세파텍스 G25에서 정제하고, 0.22 μm PVDF 필터에서 여과시켜 17.25 mg의 실시예 19를 1.50 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로서 제공하였으며, 이때 DAR은 2.55 (HRMS)이고, 단량체 순도는 99.7%이고, 전체 수율은 59%였다.

[1151] SEC-HRMS: m/z = 149405 (네이키드 mAb); m/z = 150602 (D1); m/z = 151800 (D2); m/z = 152997 (D3); m/z = 154196 (D4); m/z = 155393 (D5); m/z = 156589 (D6); m/z = 157791 (D7).

[1152] **실시예 20: 글루타릴-Val-글루카민Gln-C52 벤질릭 아민의 합성**



[1153]



[1154]

[1155] **화합물 51:** (S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트

[1156] THF (40 mL) 중 Fmoc-Val-OH(CAS 번호 [68858-20-8], 5 g, 14.44 mmol)의 용액에 NHS (1.71 g, 14.44 mmol) 및 DCC (2.98 g, 14.44 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 5시간 동안 교반시키고, 그 후 0.2 당량의 NHS 및 DCC를 첨가하고, 교반을 실온에서 4시간 동안 계속하였다. 상기 매질을 여과시키고, 고형물을 THF (2 x 25 mL)로 2회 세척하고, 여과액을 진공에서 농축시켜 6.5 g의 **화합물 51**을 백색 머랭으로서 제공하였다 (정량적).

[1157] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 1.03 (d, J = 6.9 Hz, 6 H); 2.20 (m, 1 H); 2.81 (s, 4 H); 4.18 내지 4.39 (m, 4 H); 7.32 (m, 2 H); 7.42 (m, 2 H); 7.74 (m, 2 H); 7.90 (d, J = 7.6 Hz, 2 H); 8.12 (d, J = 8.5 Hz, 1 H).

[1158] **화합물 52:** (S)-4-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-(*tert*-부톡시)-5-옥소펜탄산

[1159] H₂O (60 mL) 중 H-Glu-OtBu(CAS 번호 [45120-30-7], 3.14 g, 15.16 mmol) 및 중탄산나트륨 (1.40 g, 16.46 mmol)의 용액에 THF (240 mL) 중 **화합물 51** (6.3 g, 14.43 mmol)의 용액을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 16시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시켰다. 조 생성물을 H₂O (700 mL)에서 희석시켜 겔을 형성하고, 이를 15분 동안 교반시키고, 그 후 Et₂O (200 mL)로 2회 추출하였다. 상기 수성 현탁물을 5 N HCl을 이용하여 pH 3까지 산성화하고, DCM (4 x 200 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켜 7.98 g의 **화합물 52**를 백색 머랭으로 제공하였다 (정량적).

[1160] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.87 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.90 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.38 (s, 9

H); 1.77 (m, 1 H); 1.91 (m, 1 H); 1.98 (m, 1 H); 2.28 (m, 2 H); 3.90 (dd, J = 7.1 및 9.1 Hz, 1 H); 4.10 내지 4.37 (m, 4 H); 7.32 (m, 2 H); 7.38 (d, J = 9.1 Hz, 1 H); 7.41 (m, 2 H); 7.73 (m, 2 H); 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2 H); 8.20 (d, J = 7.5 Hz, 1 H); 12.21 (브로드 m, 1 H).

- [1161] **화합물 53**: (S)-1-*tert*-부틸 5-(2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시) 카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)펜탄디오에이트
- [1162] THF (30 mL) 중 **화합물 52** (500 mg, 953.1 μ mol)의 용액에 DIEA (320 μ L, 1.9 mmol), DSC (498.3 mg, 1.91 mmol) 및 DMF (6 mL)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 30 mg의 DSC 를 상기 매질에 첨가하고, 교반을 24시간 계속하였다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 톨루엔과 함께 2회 공동-증발시키고, 50 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 506 mg의 **화합물 53**을 백색 오일로서 제공하였다 (85%).
- [1163] RMN 1 H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.89 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.91 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.39 (s, 9 H); 1.75 내지 2.11 (m, 3 H); 2.73 (m, 2 H); 2.80 (s, 4 H); 3.89 (dd, J = 7.3 및 9.1 Hz, 1 H); 4.20 내지 4.38 (m, 4 H); 7.32 (m, 2 H); 7.42 (m, 3 H); 7.75 (m, 2 H); 7.80 (m, 2 H); 8.31 (d, J = 7.5 Hz, 1 H).
- [1164] **화합물 54**: (2S,3R,4R,5R)-1-아미노-6-((*tert*-부틸디페닐실릴)옥시)헥산-2,3,4,5-테트라올
- [1165] DMF (2 mL) 중 D-글루카민(CAS 번호 [488-43-7], 200 mg, 1.10 mmol)의 현탁물을 0°C에서 냉각시키고, 그 후 이미다졸 (82.0 mg, 1.19 mmol) 및 *tert*-부틸클로로디페닐실란 (334.4 mg, 1.19 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 0°C에서 1시간 동안 교반시키고, H₂O (20 mL)로 쉐킷하고, 교반을 10분간 계속하였다. 상기 매질을 EtOAc (3 x 50 mL)로 추출하고, 합한 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 톨루엔과 함께 2회 공동-증발시키고, 31 g의 C18-변형 실리카 겔에서 역상 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: H₂O/MeCN)에 의해 정제하여 218 mg의 **화합물 54**를 백색 폼으로서 제공하였다 (47%).
- [1166] RMN 1 H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 1.00 (s, 9 H); 2.62 (dd, J = 6.3 및 12.7 Hz, 1 H); 2.74 (dd, J = 4.5 및 12.7 Hz, 1 H); 3.40 (부분 차폐 m, 1 H); 3.49 (m, 1 H); 3.55 내지 3.72 (m, 3 H); 3.88 (m, 1 H); 4.48 (브로드 m, 4 H); 7.42 (m, 6 H); 7.69 (m, 4 H).
- [1167] **화합물 55**: (S)-*tert*-부틸 2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-(((2S,3R,4R,5R)-6-((*tert*-부틸디페닐실릴)옥시)-2,3,4,5-테트라히드록시헥실)아미노)-5-옥소펜타노에이트
- [1168] DMF (2 mL) 중 **화합물 53** (300 mg, 482.6 μ mol)의 용액에 DMF (3 mL) 중 **화합물 54** (214.6 mg, 511.5 μ mol)의 용액을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 톨루엔과 함께 공동-증발시키고 (3회), 25 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 270 mg의 **화합물 55**를 백색 폼으로서 제공하였다 (60%).
- [1169] RMN 1 H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.87 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.90 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 0.99 (s, 9 H); 1.38 (s, 9 H); 1.80 (m, 1 H); 1.90 (m, 1 H); 1.98 (m, 1 H); 2.17 (t, J = 7.7 Hz, 2H); 3.03 (m, 1 H); 3.26 (m, 1 H); 3.49 (m, 1 H); 3.52 내지 3.60 (m, 4 H); 3.83 (m, 1 H); 3.92 (dd, J = 7.3 및 9.2 Hz, 1 H); 4.08 (m, 1 H); 4.18 내지 4.31 (m, 4 H); 4.33 (d, J = 6.4 Hz, 1 H); 4.63 (d, J = 5.8 Hz, 1 H); 4.78 (d, J = 4.7 Hz, 1 H); 7.31 (m, 2 H); 7.36 (d, J = 9.2 Hz, 1 H); 7.41 (m, 8 H); 7.67 (m, 4 H); 7.69 내지 7.76 (m, 3 H); 7.89 (m, 2 H); 8.23 (d, J = 7.5 Hz, 1 H).
- [1170] **화합물 56**: (S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-5-(((2S,3R,4R,5R)-6-((*tert*-부틸디페닐실릴)옥시)-2,3,4,5-테트라히드록시헥실)아미노)-5-옥소펜탄산
- [1171] **화합물 55**를 DCM에서 희석시켜 겔을 형성하고, 이를 0°C에서 냉각시킨 후, 0°C에서, DCM/TFA의 1:1 혼합물을 서서히 첨가하였다. 상기 반응 매질을 0°C에서 30분 동안, 그 후 실온에서 5시간 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 톨루엔과 함께 공동-증발시켜 (3회) 백색 고형물을 제공하고, 이를 iPr₂O에서 미분화하고, 여과시키고, Et₂O (5 mL)로 2회 세척하고, 건조시키고, 마지막으로, 15 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 149 mg의 **화합물 56**를 백색 고형물로서 제공하였다 (59%).

- [1172] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.84 (d, J = 6.8 Hz, 3 H); 0.86 (d, J = 6.8 Hz, 3 H); 0.99 (s, 9 H); 1.82 (m, 1 H); 1.90 (m, 1 H); 2.03 내지 2.14 (m, 3 H); 3.00 (m, 1 H); 3.25 (m, 1 H); 3.48 (m, 1 H); 3.65 (m, 4 H); 3.82 내지 3.92 (m, 3 H); 4.20 내지 4.37 (m, 3 H); 4.40 (d, J = 6.0 Hz, 1 H); 4.45 (d, J = 6.0 Hz, 1 H); 4.80 (m, 1 H); 5.12 (m, 1 H); 7.32 (m, 2 H); 7.41 (m, 8 H); 7.55 (m, 2 H); 7.65 내지 7.82 (m, 7 H); 7.89 (d, J = 8.0 Hz, 2 H). LCMS (A): m/z = 868 [M-H]⁻; m/z = 870 [M+H]⁺; t_R = 1.55분.
- [1173] **화합물 57**: (S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-N5-((2S,3R,4R,5R)-6-((*tert*-부틸디페닐실릴)옥시)-2,3,4,5-테트라히드록시헥실)-N1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로-헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)-펜탄디아미드
- [1174] DMF 및 DCM (10 mL) 중 **화합물 56** (67.3 mg, 77.3 μmol) and (3S,10R,16S,E)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-(아미노메틸)페닐)옥시란-2-일)에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 **국제 공개 제2011001052호**에 기술되어 있음, 화합물 77, 45 mg, 64.5 μmol)의 용액에 HOBt (11.5 mg, 85.1 μmol) 및 EDC (11.4 mg, 70.9 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시키고, 그 후 H₂O (15 mL)로 켄칭하고, 교반을 10분간 계속하였다. 수성 상을 DCM (3 x 20 mL)으로 추출하고, 합한 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 64 mg의 Fmoc-보호 디펩티드-크립토포신 중간체를 백색 고형물로서 제공하였다 (64%).
- [1175] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.76 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.82 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.99 (s, 12 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.10 (s, 3 H); 1.30 (m, 1 H); 1.55 (m, 2 H); 1.80 (m, 2 H); 1.90 (m, 1 H); 2.00 (m, 1 H); 2.14 (m, 2 H); 2.26 (m, 1 H); 2.68 (m, 2 H); 2.92 내지 3.08 (m, 4 H); 3.22 내지 3.38 (부분 차폐 m, 2 H); 3.49 (m, 1 H); 3.58 내지 3.69 (m, 4 H); 3.81 (s, 3 H); 3.82 (m, 1 H); 3.87 (d, J = 2.0 Hz, 1 H); 3.91 (m, 1 H); 4.18 내지 4.38 (m, 9 H); 4.68 (m, 1 H); 4.82 (m, 1 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (브로드 d, J = 16.0 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 16.0 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.0 Hz, 1H); 7.17 (dd, J = 2.5 및 8.0 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.27 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2 H); 7.34 내지 7.48 (m, 7 H); 7.65 내지 7.79 (m, 9 H); 7.90 (d, J = 7.8 Hz, 2 H); 8.10 (d, J = 8.3 Hz, 1 H); 8.38 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.41 (t, J = 6.5 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 775 [M+2H]²⁺; m/z = 1549 [M+H]⁺; m/z = 1593 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.78분.
- [1176] DCM (8 mL) 중 이 중간체 (62 mg, 40.0 μmol)의 용액에 피페리딘 (59.8 μL, 600.0 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 4시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 49 mg의 **화합물 57**을 백색 래커로서 제공하였다 (92%).
- [1177] **화합물 58**: (6R,7R,8R,9S,15S,18S)-15-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-6,7,8,9-테트라히드록시-18-이소프로필-2,2-디메틸-12,17,20-트리옥소-3,3-디페닐-4-옥사-11,16,19-트리아자-3-실라테트라코산-24-오익산
- [1178] DCM (3 mL) 중 **화합물 57** (23 mg, 17.3 μmol)의 용액에 DCM (2 mL) 중 글루타르산 무수물 (2.22 mg, 19.1 μmol)의 용액을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시키고, 진공에서 부분적으로 농축시키고 (2 mL까지), 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 17 mg의 **화합물 58**을 백색 래커 (68%)로서 제공하였다.
- [1179] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.80 (분할 d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.6 (분할 d, J = 7.0 Hz, 6 H); 0.99 (s, 12 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.32 (m, 1 H); 1.52 내지 1.60 (m, 2 H); 1.72 내지 2.00 (m, 7 H); 2.08 (m, 1 H); 2.13 (m, 1 H); 2.20 내지 2.37 (m, 3 H); 2.69 (m, 2 H); 2.92 내지 3.07 (m, 4 H); 3.20 (m, 1 H); 3.30 (차폐 m, 1 H); 3.45 (m, 1 H); 3.55 내지 3.70 (m, 4 H); 3.80 (s, 3

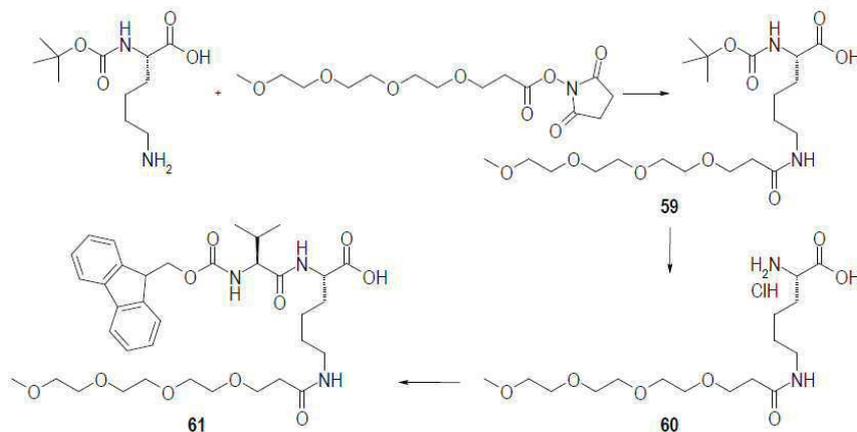
H); 3.83 (m, 1 H); 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.07 내지 5.00 (m, 11 H); 5.10 (m, 1 H); 5.80 (dd, J = 2.0 및 15.8 Hz, 1 H); 6.47 (m, 1 H); 7.04 (d, J = 8.6 Hz, 1H); 7.18 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.28 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 7.41 (m, 6 H); 7.68 (m, 4 H); 8.05 (d, J = 7.9 Hz, 1 H); 8.23 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 8.30 내지 8.60 (m, 3 H). LCMS (A): ES m/z = 721 [M+2H]²⁺; m/z = 1439 [M-H]⁻; m/z = 1441 [M+H]⁺; t_R = 1.52분.

[1180] **실시예 20:** 5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1,5-디옥소-5-(((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-펜타히드록시헥실)-아미노)펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-5-옥소펜탄산

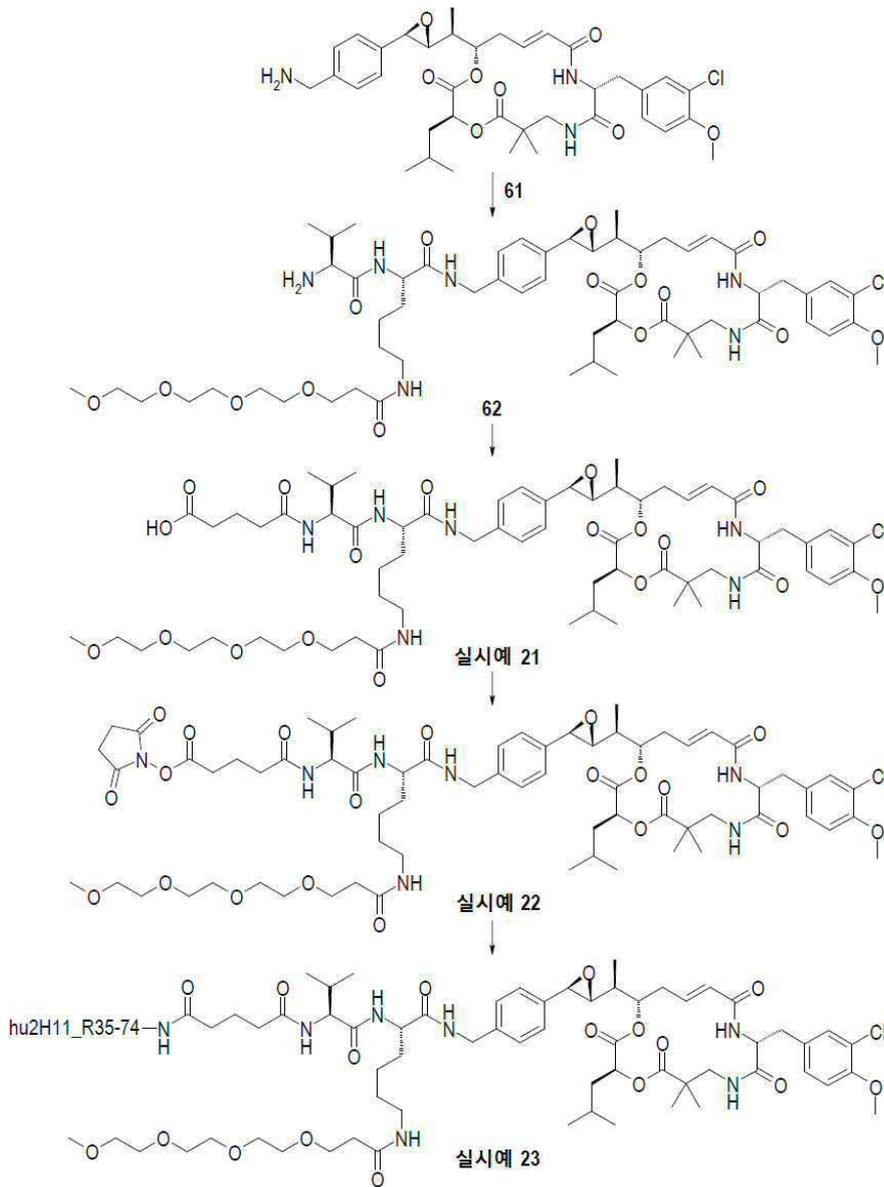
[1181] THF (3 mL) 중 **화합물 57** (46 mg, 31.9 μmol)의 용액을 0°C에서 냉각시키고, 그 후 0°C에서, THF 중 1 M TBAF 용액 (35.1 μL, 35.1 μmol)을 적가하였다. 상기 반응 매질을 0°C에서 2시간 동안 교반시키고, H₂O (100 μL)로 켄칭하고, 10분 동안 교반시키고, DCM (5 mL)으로 추출하였다. 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켰다. LCMS 분석은 잔여 출발 물질의 존재를 나타냈다. 조 생성물을 DCM (3 mL)에 용해시키고, 용액을 0°C에서 냉각시킨 후, 0°C에서, THF 중 1 M TBAF 용액 (35.1 μL, 35.1 μmol)을 적가하였다. 상기 반응 매질을 0°C에서 3시간 동안 교반시키고, H₂O (100 μL)로 켄칭하고, 10분 동안 교반시키고, DCM (20 mL)으로 추출하였다. 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O에서 MeOH까지)에 의해, 그 후 3 g의 C18-변형 실리카 겔에서 역상 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: H₂O/MeCN)에 의해 정제하여 17 mg의 **실시예 20**을 백색 래커로서 제공하였다 (44%).

[1182] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.80 (분할 d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.6 (분할 d, J = 7.0 Hz, 6 H); 0.99 (s, 12 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.32 (m, 1 H); 1.52 내지 1.60 (m, 2 H); 1.72 내지 2.00 (m, 7 H); 2.08 (m, 1 H); 2.13 (m, 1 H); 2.20 내지 2.37 (m, 3 H); 2.69 (m, 2 H); 2.92 내지 3.07 (m, 4 H); 3.20 (m, 1 H); 3.30 (차폐 m, 1 H); 3.45 (m, 1 H); 3.55 내지 3.70 (m, 4 H); 3.80 (s, 3 H); 3.83 (m, 1 H); 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.07 내지 5.00 (m, 11 H); 5.10 (m, 1 H); 5.80 (dd, J = 2.0 및 15.8 Hz, 1 H); 6.47 (m, 1 H); 7.04 (d, J = 8.6 Hz, 1H); 7.18 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.28 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 7.41 (m, 6 H); 7.68 (m, 4 H); 8.05 (d, J = 7.9 Hz, 1 H); 8.23 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 8.30 내지 8.60 (m, 3 H). LCMS (A): ES m/z = 602 [M+2H]²⁺; m/z = 1201 [M-H]⁻; m/z = 1203 [M+H]⁺; t_R = 1.1분.

[1183] **실시예 21 내지 23: 글루타릴-Val-PEG4Lys-C52 벤질릭 아민, 글루타릴-Val-PEG4Lys-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르 및 상응하는 ADC의 합성**



[1184]



[1185]

[1186] **화합물 59:** (S)-20-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자헨니코산-21-오익산

[1187] 자기 교반 하에, THF (300 μ L) 중 (S)-6-아미노-2-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)헥산산 (CAS 번호 [13734-28-6], 73.9 mg, 300 μ mol)의 용액에 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2,5,8,11-테트라옥사테트라데칸-14-오에이트 (CAS 번호 [622405-78-1], 100 mg, 300 μ mol), DIEA (53.3 μ L, 300 μ mol) 및 H₂O (100 μ L)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시켰다. 조 매질을 5 g의 C18-그래프팅 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: H₂O/CH₃CN)에 의해 정제하여 81 mg의 **화합물 59** (58%)를 제공하였다. LCMS (B): ES m/z = 463 [M-H]⁻; m/z = 465 [M+H]⁺; t_R = 0.86분.

[1188] **화합물 60:** (S)-20-아미노-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자헨니코산-21-오익산 히드록로라이드

[1189] 자기 교반 하에, **화합물 59** (150.6 mg, 324.2 μ mol)에 1,4-디옥산 중 4 M HCl 용액 (1 mL)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시켰다. EtOAc를 첨가하고, 상기 혼합물을 진공에서 농축시켜 156 mg의 **화합물 60** (정량적)을 제공하였다.

[1190] LCMS (B): ES m/z = 508 [M-H]⁻; m/z = 510 [M+H]⁺; t_R = 1.23분.

[1191] **화합물 61:** (S)-20-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자헨니코산-21-오익산

- [1192] 자기 교반 하에, 물 (0.5 mL) 중 **화합물 60** (130 mg, 275 μmol)의 용액에 NaHCO_3 (55.6 mg, 661 μmol), 이어서 THF (1.5 mL) 중 (S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트(CAS 번호 [130878-68-1], 144.4 mg, 330.8 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 그 후, NaHCO_3 (30 mg), THF (500 μL), H_2O (200 μL) 및 (S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트 (28 mg)를 상기 반응 매질에 첨가하였다. 3시간 후, 상기 매질을 진공에서 농축시키고, 그 후 H_2O (20 mL) 및 대략 2~3 mL의 수성 포화 Na_2CO_3 으로 희석시켰다. 수성 상을 EtOAc (20 mL)로 2회 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고 (20 mL), MgSO_4 로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켰다. 상기 혼합물을 15 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (용출: 85:1:0.5 (v/v)의 EtOAc/MeOH/ H_2O)에 의해 정제하였다. 농축 후, 조 생성물을 톨루엔으로 희석시키고, 진공에서 농축시켜 75.6 mg의 **화합물 61** (40%)을 제공하였다.
- [1193] ^1H NMR (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.85 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 0.87 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.21 내지 1.40 (m, 4 H); 1.50 내지 1.73 (m, 2 H); 2.01 (m, 1 H); 2.27 (t, J = 6.6 Hz, 2 H); 2.98 (m, 2 H); 3.23 (s, 3 H); 3.41 (m, 2 H); 3.43 내지 3.52 (m, 10 H); 3.57 (t, J = 6.6 Hz, 2 H); 3.88 (m, 1 H); 4.01(m, 1 H); 4.19 내지 4.34 (m, 3 H); 7.31 (m, 2 H); 7.38 내지 7.46 (m, 3 H); 7.70 내지 7.91 (m, 6 H); 12.51 (m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 684 [M-H]⁻; m/z = 686 [M+H]⁺; t_R = 1.2분.
- [1194] **화합물 62**: N-((S)-5-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-
- [1195] ((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-6-옥소헥실)-2,5,8,11-테트라옥사테트라데칸-14-아미드
- [1196] 자기 교반 및 Ar 하에, **화합물 61** (70 mg, 102.1 μmol)에 THF (3 mL) 중 (E)-(3S,10R,16S)-16-((S)-1-[(2R,3R)-3-(4-아미노메틸-페닐)-옥시라닐]-에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자-시클로헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 **국제 공개 제2011001052호**에 기술되어 있음, 화합물 77, 76.2 mg, 109.1 μmol)의 용액, 이어서 HOBt (17.7 mg, 131 μmol) 및 EDC (23 μL , 131 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 그 후, 피페리딘 (32.8 μL , 327.4 μmol)을 상기 매질에 첨가하고, 교반을 4h 30 동안 유지하였다. 이때, 상기 매질을 진공에서 농축시키고, DMA로 희석시키고, 15 g의 C18-그래프팅 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$)에 의해 정제하여 66 mg의 **화합물 62**(53%)를 제공하였다.
- [1197] LCMS (B): ES m/z = 572; m/z = 1187 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R =1.18분.
- [1198] **실시예 21**: (20S,23S)-20-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-23-이소프로필-14,22,25-트리옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15,21,24-트리아자노나코산-29-오익산
- [1199] 자기 교반 하에, DMF (4 mL) 중 **화합물 62** (66 mg, 57.7 μmol)의 용액에 글루타르산 무수물 (11.85 mg, 103.8 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 이때, 상기 매질을 진공에서 농축시키고, 10 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 48.6 mg의 **실시예 21** (80%)을 제공하였다.
- [1200] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.81 (m, 6 H); 0.85 (d, J = 7.5 Hz, 3 H); 0.87 (d, J = 7.5 Hz, 3 H); 0.98 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.10 (s, 3 H); 1.16 내지 1.44 (m, 5 H); 1.55 내지 1.79 (m, 7 H); 1.90 내지 2.10 (m, 3 H); 2.14 내지 2.29 (m, 3 H); 2.31 (t, J = 6.7 Hz, 2 H); 2.66 내지 2.78 (m, 2 H); 2.85 내지 2.99 (m, 4 H); 3.05 (m, 1 H); 3.23 (s, 3 H); 3.32 (부분 차폐 m, 1 H); 3.42 (m, 2 H); 3.44 내지 3.51 (m, 10 H); 3.57 (m, 2 H); 3.81 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 1.6 Hz, 1 H); 4.04 내지 4.25 (m, 4 H); 4.35 (m, 1 H); 4.94 (m, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.80 (d, J = 15.0 Hz, 1 H); 6.45 (ddd, J = 4.0, 11.2 및 15.0 Hz, 1 H); 7.04 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.19 (dd, J = 1.7 및 8.6 Hz, 1 H); 7.22 (d, J = 8.4 Hz, 2 H); 7.28 (d, J = 8.4 Hz, 2 H); 7.30 (d, J = 1.7 Hz, 1 H); 7.32 (브로드 m, 1 H); 7.75 내지

9.42 (브로드 m, 5 H); 12.06 (브로드 m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 629 [M+2H]²⁺; m/z = 1255 [M-H]⁻; m/z = 1257 [M+H]⁺; t_R = 1.26분.

[1201] **실시예 22**: (20S,23S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일 20-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-23-이소프로필-14,22,25-트리옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15,21,24-트리아자노나코산-29-오에이트

[1202] 툴루엔 (10 mL)을 **실시예 21** (46 mg, 36.6 μmol)에 첨가하고, 진공에서 농축시키고, 이어서 THF (5 mL), DCM (2 mL) 및 DMF (200 μL)로 희석시켰다. 그 후, DSC (11.5 mg, 43.9 μmol), 이어서 DIEA (18.5 μL, 109.7 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 이때, MeTHF (7 mL) 및 H₂O (3 mL)를 첨가하고, 수성 상을 MeTHF (5 mL)로 2회 추출하였다. 합한 유기 상을 H₂O (3 mL)로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켰다. 조 매질을 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 33.3 mg의 **실시예 22** (67%)를 제공하였다.

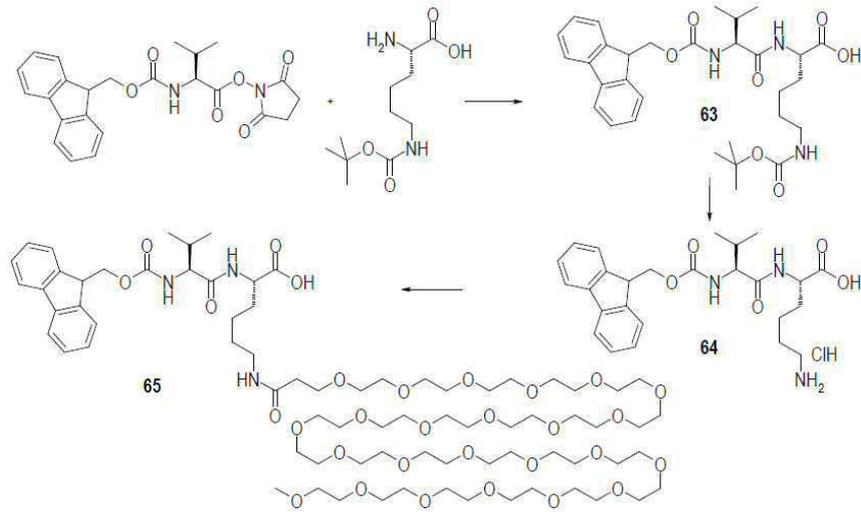
[1203] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.78 (d, J = 6.6 Hz, 6 H); 0.83 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 0.84 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 6.9 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.20 내지 1.43 (m, 5 H); 1.50 내지 1.69 (m, 4 H); 1.76 내지 1.87 (m, 3 H); 1.98 (m, 1 H); 2.21 내지 2.35 (m, 5 H); 2.62 내지 2.73 (m, 4 H); 2.81 (s, 4 H); 2.94 내지 3.04 (m, 5 H); 3.23 (s, 3 H); 3.32 (부분 차폐 m, 1 H); 3.42 (m, 2 H); 3.44 내지 3.51 (m, 10 H); 3.58 (t, J = 6.4 Hz, 2 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 1.1 Hz, 1 H); 4.17 (dd, J = 7.3 및 7.8 Hz, 1 H); 4.21 내지 4.31 (m, 4 H); 4.90 (m, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.1 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.5, 11.5 및 15.1 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 1.6 및 8.5 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.25 (m, 5 H); 7.28 (d, J = 1.6 Hz, 1 H); 7.79 (t, J = 5.7 Hz, 1 H); 7.91 (d, J = 8.5 Hz, 1 H); 7.95 (d, J = 8.3 Hz, 1 H); 8.37 (m, 2 H). LCMS (C): ES m/z = 677.5 [M+2H]²⁺; m/z = 1354 [M+H]⁺; m/z = 1399 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 4.41분.

[1204] **실시예 23**: hu2H11_R35-74-Ex22

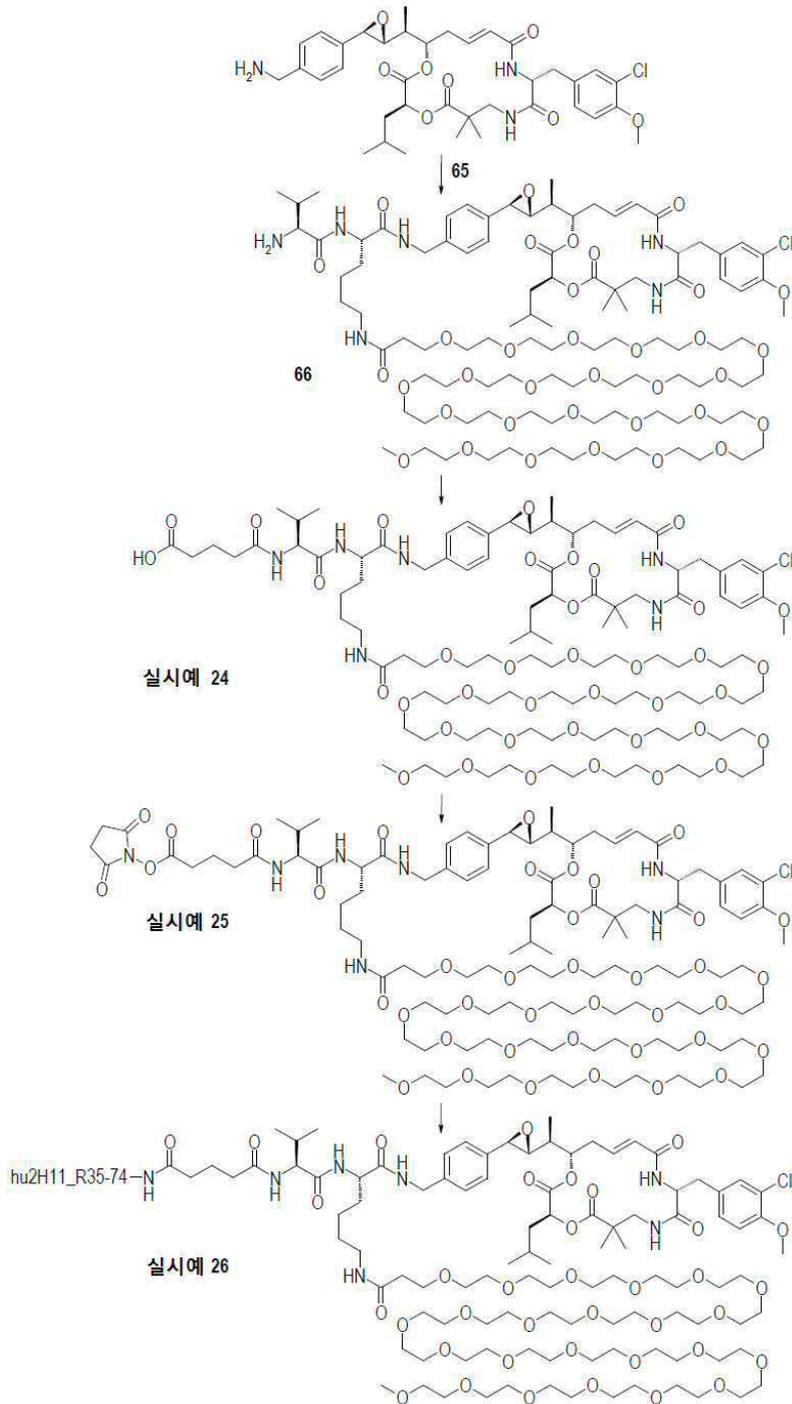
[1205] 이전에 설명한 일반적인 방법을 **실시예 23**의 제조에 사용하였다. 44.64 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 **실시예 22**의 10 mM 용액 (7 당량) 209.2 μL와 3 h 30 동안 반응시켰다. 완충제 B (pH 6.5) + 5% NMP에서의 세파텍스 G25에서의 정제 및 아미콘 울트라-15에서의 농축 후, 36.6 mg의 **실시예 23**을 1.83 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로 수득하였으며, 이때 DAR은 3.6 (HRMS)이고, 단량체 순도는 98.8%이고, 전체 수율은 82%였다. 유리-약물 수준은 1%의 역치보다 높았으며: ADC를 아미콘 울트라-15에서 농축시키고, 완충제 B (pH 6.5) + 5% NMP에서 세파텍스 G25에서 정제하고, 0.22 μm PVDF 필터에서 여과시켜 32.6 mg의 **실시예 23**을 1.63 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로서 제공하였으며, 이때 DAR은 3.3 (HRMS)이고, 단량체 순도는 98.3%이고, 전체 수율은 73%였다.

[1206] SEC-HRMS: m/z = 149411 (네이키드 mAb); m/z = 150649 (D1); m/z = 151889 (D2); m/z = 153129 (D3); m/z = 154369 (D4); m/z = 155608 (D5); m/z = 156850 (D6); m/z = 158091 (D7); m/z = 159331 (D8); m/z = 160583 (D9).

[1207] **실시예 24 내지 26**: 글루타릴-Val-PEG24Lys-C52 벤질릭 아민, 글루타릴-Val-PEG24Lys-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르 및 상응하는 ADC의 합성



[1208]



[1209]

[1210] **화합물 63**: (S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-6-((tert-부톡시 카르보닐)아미노)헥산산

[1211] 자기 교반 하에, 물 (5 mL) 및 THF (5 mL) 중 H-Lys(Boc)-OH(CAS 번호 [2418-95-3], 310 mg, 1.26 mmol) 및 NaHCO₃ (105 mg, 1.25 mmol)의 용액에 THF (15 mL) 중 (S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄오에이트(CAS 번호 [68858-20-8], 310 mg, 1.15 mmol)의 용액을 적가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 그 후 물 (200 mL)로 희석시키고, 적당량의 수성 5 N HCl로 산성화하고, DCM (2 x 200 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시켜 510 mg의 **화합물 63** (53%)을 생성하였다.

[1212] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 0.85 (d, J = 6.8 Hz, 3 H); 0.87 (d, J = 6.8 Hz, 3 H); 1.20 내지 1.39 (m, 4 H); 1.34 (s, 9 H); 1.48 내지 1.73 (m, 2 H); 1.99 (m, 1 H); 2.86 (m, 2 H); 3.89 (dd, J = 7.7 및 8.4 Hz, 1 H); 4.08 (m, 1 H); 4.17 내지 4.32 (m, 3 H); 6.72 (브로드 m, 1 H); 7.32 (m, 2 H); 7.38

내지 7.46 (m, 3 H); 7.74 (m, 2 H); 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2 H); 8.00 (브로드 m, 1 H); 12.54 (브로드 s, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 344; m/z = 468; m/z = 566 [M-H]⁻; m/z = 568 [M+H]⁺; t_R = 1.41분.

- [1213] **화합물 64**: (S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-6-아미노헥산산 히드로클로라이드
- [1214] **화합물 63** (340 mg, 599 μmol)에 1,4-디옥산 중 4 M HCl의 용액을 첨가하고, 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 이때, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 이어서 Et₂O를 첨가하고, 여과시켰다. 수득된 백색 고형물을 15 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (용출: 12:3:0.5 (v/v/v)의 DCM/MeOH/NH₄OH)에 의해 정제하여 190 mg의 **화합물 64** (63%)를 제공하였다.
- [1215] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.83 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 0.85 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 1.21 내지 1.70 (m, 6 H); 2.04 (m, 1 H); 2.71 (t, J = 7.1 Hz, 2 H); 3.84 (dd, J = 6.7 및 8.7 Hz, 1 H); 3.91 (m, 1 H); 4.18 내지 4.35 (m, 3 H); 7.22 (브로드 m, 3 H); 7.33 (m, 2 H); 7.42 (t, J = 7.6 Hz, 2 H); 7.54 (d, J = 9.0 Hz, 1 H); 7.69 (브로드 m, 1 H); 7.74 (m, 2 H); 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2 H). LCMS (A): ES m/z = 244 ; m/z = 466 [M-H]⁻; m/z = 468 [M+H]⁺; t_R = 0.81분.
- [1216] **화합물 65**: (S)-80-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자헥사콘탄-81-오익산
- [1217] THF (20 mL) 중 **화합물 64** (130 mg, 258.0 μmol)의 용액에 H₂O (8 mL) 중 중탄산나트륨 (50 mg, 589.2 μmol)의 용액 및 MEO-DPEG(24)-NHS(CAS 번호 [756525-94-7], 400 mg, 329.4 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 진공에서 부분적으로 농축시키고, 그 후 H₂O (10 mL)로 희석시키고, IR-120 (H) 앰버라이트(Amberlite) 수지(CAS 번호 [78922-04-0])를 이용하여 pH 3까지 산성화하고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 40 g, 25 g 및 12 g의 실리카 겔에서 3회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 214 mg의 **화합물 65**를 백색 래커로서 제공하였다 (53%).
- [1218] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.89 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.22 내지 1.40 (m, 4 H); 1.58 (m, 1 H); 1.67 (m, 1 H); 1.99 (m, 1 H); 2.28 (t, J = 6.6 Hz, 2 H); 2.99 (m, 2 H); 3.23 (s, 3 H); 3.40 내지 3.70 (m, 92 H); 3.56 (t, J = 6.6 Hz, 2 H); 3.90 (m, 1 H); 4.08 (브로드 m, 1 H); 4.19 내지 4.31 (m, 3 H); 7.31 (브로드 t, J = 7.8 Hz, 2 H); 7.41 (브로드 t, J = 7.8 Hz, 3 H); 7.73 (t, J = 7.8 Hz, 2 H); 7.76 (m, 1 H); 7.89 (d, J = 7.8 Hz, 2 H); 8.00 (m, 1 H); 12.53 (m, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 794 [M+H+Na]²⁺; m/z = 1567 [M+H]⁺; t_R = 2.9분.
- [1219] **화합물 66**: N-((S)-5-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)-아미노)-6-옥소헥실)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사테트라헵타콘탄-74-아미드
- [1220] DMF (5 mL) 중 (E)-(3S,10R,16S)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-아미노메틸-페닐)-옥시라닐)-에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자-시클로헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 국제 공개 제2011001052호에 기술되어 있음, 화합물 77, 71 mg, 101.7 μmol)의 용액에 DMF (5 mL) 중 **화합물 65** (214 mg, 136.6 μmol)의 용액, HOBt (22 mg, 156.3 μmol) 및 EDC (27 μL, 152.5 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시킨 후, 피페리딘 (91 μL, 915.3 μmol)을 첨가하였다. 교반을 실온에서 1 h 30 동안 계속하고, 그 후 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 25 g 및 12 g의 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 58 mg의 **화합물 66**을 무색 래커로서 제공하였다 (28%).
- [1221] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.76 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.99 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.25 내지 1.41 (m, 5 H); 1.51

내지 1.70 (m, 4 H); 1.80 (m, 1 H); 1.93 (m, 1 H); 2.25 (m, 1 H); 2.28 (t, J = 6.7 Hz, 2 H); 2.55 (브로드 m, 2 H); 2.68 (m, 2 H); 2.99 (m, 5 H); 3.23 (s, 3 H); 3.32 (차폐 m, 1 H); 3.40 내지 3.55 (m, 92 H); 3.58 (t, J = 6.7 Hz, 2 H); 3.80 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.20 내지 4.35 (m, 4 H); 4.91 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.80 (dd, J = 2.0 및 15.8 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 15.8 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 2.4 et 8.6 Hz, 1 H); 7.22 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.4 Hz, 1 H); 7.79 (t, J = 6.7 Hz, 1 H); 8.00 (d, J = 8.8 Hz, 1 H); 8.36 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.47 (t, J = 6.2 Hz, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 1013 [M+2H]²⁺; m/z = 2025 [M+H]⁺; t_R = 2.64/2.62분 (85/15의 이성질체 혼합물).

[1222] **실시예 24**: (80S,83S)-80-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-83-이소프로필-74,82,85-트리옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65, 68,71-테트라코사옥사-75,81,84-트리아자노나옥타콘탄-89-오익산

[1223] DCM (7 mL) 중 **화합물 66** (58 mg, 28.7 μmol)의 용액에 글루타르산 무수물 (5.85 mg, 48.7 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 35 mg의 **실시예 24**를 백색 래커로서 제공하였다 (57%).

[1224] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.82 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.84 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.18 내지 1.41 (m, 5 H); 1.50 내지 1.75 (m, 6 H); 1.80 (m, 1 H); 1.98 (m, 1 H); 2.15 내지 2.27 (m, 5 H); 2.30 (t, J = 6.7 Hz, 2 H); 2.69 (m, 2 H); 2.98 (m, 5 H); 3.23 (s, 3 H); 3.32 (차폐 m, 1 H); 3.40 내지 3.65 (m, 94 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J=2,3 Hz, 1 H); 4.14 (m, 1 H); 4.20 내지 4.33 (m, 4 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.8 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 15.8 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.24 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.4 Hz, 1 H); 7.80 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.86 (d, J = 8.8 Hz, 1 H); 7.92 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.37 (m, 2 H); 12.10 (브로드 m, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 1069.5 [M+2H]²⁺; m/z = 2138 [M+H]⁺; t_R = 2.96/2.93분 (85/15의 이성질체 혼합물).

[1225] **실시예 25**: (80S,83S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일 80-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로-헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-83-이소프로필-74,82,85-트리옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35, 38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75,81,84-트리아자노나-옥타콘탄-89-오에이트

[1226] THF (3 mL) 중 **실시예 24** (35 mg, 16.4 μmol)의 용액에 DSC (4.28 mg, 16.4 μmol) 및 DIEA (2.7 μL, 16.4 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 12.0 mg의 **실시예 25**를 백색 래커로서 제공하였다 (33%).

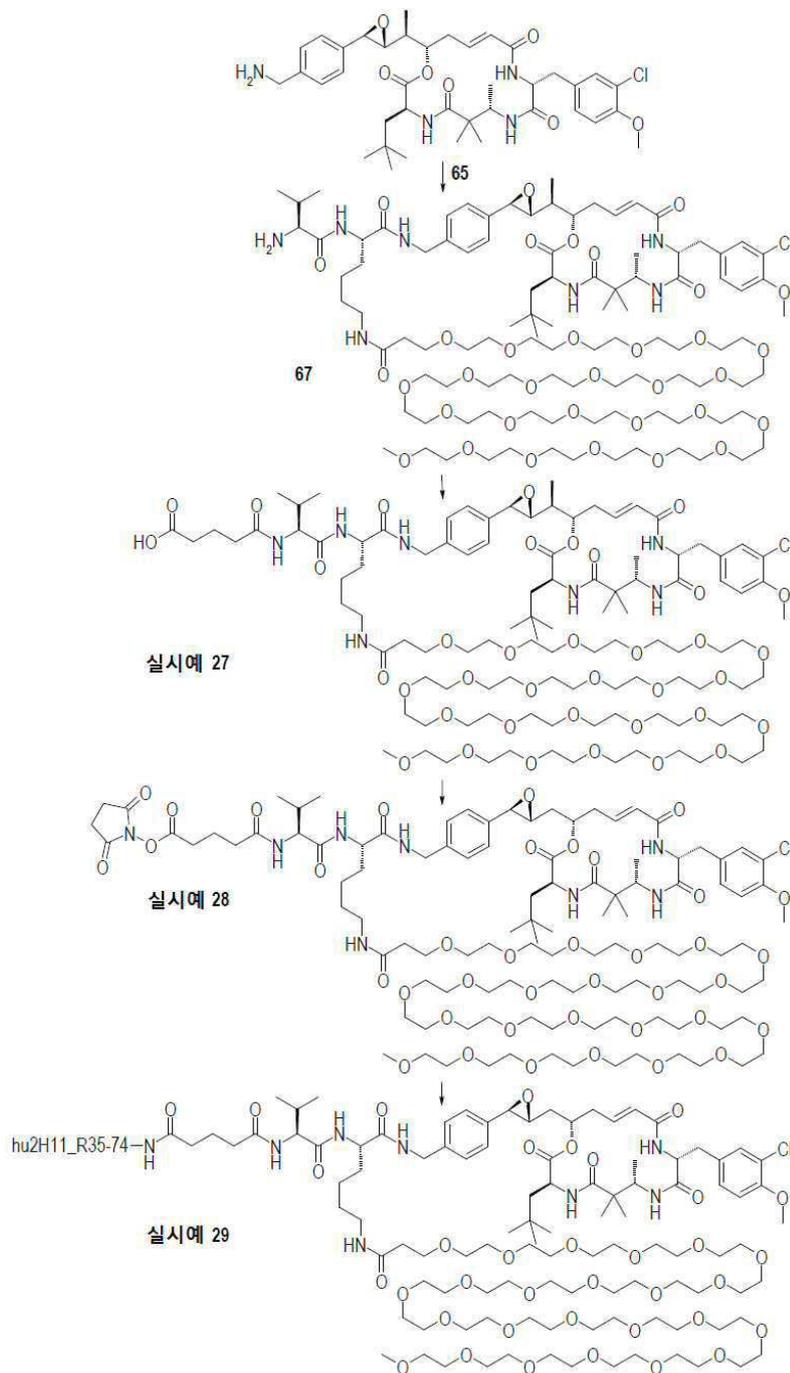
[1227] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.82 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.84 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.15 내지 1.40 (m, 5 H); 1.50 내지 1.71 (m, 4 H); 1.75 내지 1.86 (m, 3 H); 1.97 (m, 1 H); 2.18 내지 2.32 (m, 5 H); 2.67 (m, 4 H); 2.80 (s, 4 H); 2.98 (m, 5 H); 3.22 (s, 3 H); 3.32 (차폐 m, 1 H); 3.40 내지 3.77 (m, 94 H); 3.80 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.16 (m, 1 H); 4.20 내지 4.32 (m, 4 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.78 (dd, J = 2.0 및 15.8 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 15.8 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.24 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.4 Hz, 1 H); 7.79 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.90 (d, J = 8.8 Hz, 1 H); 7.94 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.36 (m, 2 H). LCMS (D): ES m/z = 746; m/z = 2235 [M+H]⁺; t_R = 3.08/3.06분 (89/11의 이성질체 혼합물).

[1228] **실시예 26**: hu2H11_R35-74-Ex25

[1229] 이전에 설명한 일반적인 방법을 **실시예 26**의 제조에 사용하였다. 55.8 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 **실시예 25**의 10 mM 용액 (7 당량) 261.6 μL 와 3 h 15 동안 반응시키고, 그 후 DMA 중 **실시예 25**의 10 mM 용액 (3.5 당량) 131 μL 를 5 h 30 동안 첨가하였다. 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서의 하룻밤 보관, 완충제 B (pH 6.5) + 20% NMP에서의 수퍼텍스 200 pg에서의 정제, 아미콘 울트라-15에서의 농축, 완충제 B (pH 6.5) + 5% NMP에서의 세파텍스 G25 에서의 완충제 교환, 아미콘 울트라-15에서의 농축 및 0.22 μm PVDF 필터에서의 여과 후, 33.35 mg의 **실시예 26**을 2.9 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로 수득하였으며, 이때 DAR은 3.9 (HRMS)이고, 단량체 순도는 100%이고, 전체 수율은 60%였다.

[1230] SEC-HRMS: $m/z = 151487$ (D1); $m/z = 153615$ (D2); $m/z = 155740$ (D3); $m/z = 157863$ (D4); $m/z = 159981$ (D5); $m/z = 162112$ (D6); $m/z = 164240$ (D7); $m/z = 166356$ (D8).

[1231] **실시예 27 내지 29: 글루타릴-Val-PEG24Lys-아자-크립토 벤질릭 아민, 글루타릴-Val-PEG24Lys-아자-크립토 벤질릭 아민의 NHS 에스테르 및 상응하는 ADC의 합성**



[1232]

[1233] **화합물 67:** N-((S)-5-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S, 10R,16S,E)-10-

(3-클로로-4-메톡시벤질)-6,6,7-트리메틸-3-네오펜틸-2,5,9,12-테트라옥소-1-옥사-4,8,11-트리아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-6-옥소핵실)-
2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53, 56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사테트라헵타콘탄-74-아미드

[1234] DMF (5 mL) 중 (3S,7S,10R,16S,E)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-(아미노메틸)페닐)-옥시란-2-일)에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-6,6,7-트리메틸-3-네오펜틸-1-옥사-4,8,11-트리아자시클로-헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이는 메틸 (3S)-3-아미노-2,2-디메틸부타노에이트로부터 출발하여 PCT/EP2016/076603에 기술된 바와 같이 합성 될수 있음, [MFCD09256689], 75 mg, 103.4 μmol)의 용액에 DMF (5 mL) 중 **화합물 65** (211 mg, 134.7 μmol) 의 용액, HOBt (21 mg, 155.4 μmol) 및 EDC (20 μL 123.0 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 4시간 동안 교반시킨 후 피페리딘 (95 μL, 961.9 μmol)을 첨가하고; 교반을 실온에서 2시간 동안 계속하고, 그 후 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 25 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 132 mg의 **화합물 67**을 무색 오일로서 제공하였다 (62%).

[1235] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.76 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.87 (m, 15 H); 1.00 (s, 3 H); 1.03 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.15 내지 1.40 (m, 5 H); 1.18 (s, 3 H); 1.46 내지 2.00 (m, 8 H); 2.25 (m, 1 H); 2.28 (t, J = 6.7 Hz, 2 H); 2.60 (m, 1 H); 2.69 (dd, J = 11.2 및 14.5 Hz, 1 H); 2.91 (dd, J = 2.3 및 7.5 Hz, 1 H); 2.92 내지 3.04 (m, 4 H); 3.23 (s, 3 H); 3.34 내지 3.77 (m, 95 H); 3.80 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.08 (m, 2 H); 4.20 내지 4.34 (m, 3 H); 5.04 (m, 1 H); 5.78 (dd, J = 2.0 및 15.8 Hz, 1 H); 6.44 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 15.8 Hz, 1 H); 7.02 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.17 내지 7.25 (m, 5 H); 7.32 (d, J = 2.4 Hz, 1 H); 7.78 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.85 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 7.92 (d, J = 7.0 Hz, 1 H); 8.00 (d, J = 8.8 Hz, 1 H); 8.40 (t, J = 7.5 Hz, 1 H); 8.46 (t, J = 6.0 Hz, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 2051 [M+H]⁺; t_R = 2.57/2.55분 (95/5의 이성질체 혼합물).

[1236] **실시예 27**: (80S,83S)-80-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-6,6,7-트리 메틸-3-네오펜틸-2,5,9,12-테트라옥소-1-옥사-4,8,11-트리아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2- 일)벤질)카르바모일)-83-이소프로필-74,82,85-트리옥소-
2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65, 68,71-테트라코사옥사-75,81,84-트리아자 노나옥타콘탄-89-오익산

[1237] DCM (10 mL) 중 **화합물 67** (132 mg, 64.3 μmol)의 용액에 글루타르산 무수물 (9 mg, 78.9 μmol)을 첨가하였 다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g 및 12 g의 실리카 겔에서 2 회씩의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 71 mg의 **실시예 27**을 백색 래 커로서 제공하였다 (51%).

[1238] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.80 내지 0.90 (m, 18 H); 1.00 (s, 3 H); 1.03 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.15 내지 1.42 (m, 5 H); 1.18 (s, 3 H); 1.51 내지 1.74 (m, 4 H); 1.80 (m, 1 H); 1.98 (m, 2 H); 2.15 내 지 2.32 (m, 7 H); 2.60 (m, 1 H); 2.70 (dd, J = 11.2 및 14.5 Hz, 1 H); 2.91 (dd, J = 2.3 및 7.5 Hz, 1 H); 2.95 (dd, J = 3.4 및 14.5 Hz, 1 H); 3.00 (m, 2 H); 3.24 (s, 3 H); 3.40 내지 3.67 (m, 95 H); 3.80 (s, 3 H); 3.90 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.00 내지 4.34 (m, 6 H); 5.04 (m, 1 H); 5.80 (dd, J = 2.0 및 15.8 Hz, 1 H); 6.44 (ddd, J = 4.7, 10.5 및 15.8 Hz, 1 H); 7.02 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.17 내지 7.25 (m, 5 H); 7.32 (d, J = 2.4 Hz, 1 H); 7.80 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.86 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 7.92 (t, J = 6.5 Hz, 2 H); 8.37 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 8.41 (t, J = 7.5 Hz, 1 H); 12.00 (m, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 722; m/z = 2165 [M+H]⁺; t_R = 2.95/2.92분 (95/5의 이성질체 혼합물).

[1239] **실시예 28**: 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 (80S,83S)-80-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S,10R,16S,E)-10-(3-클로로- 4-메톡시벤질)-6,6,7-트리메틸-3-네오펜틸-2,5,9,12-테트라옥소-1-옥사-4,8,11-트리아자-시클로헥사데스-13-엔- 16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-83-이소프로필-74,82,85-트리옥소-
2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35, 38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75,81,84-트리아자 노나옥타콘탄-89-오에이트

[1240] THF (3 mL) 중 **실시예 27** (33 mg, 15.2 μmol)의 용액에 DSC (4 mg, 15.6 μmol) 및 DIEA (2.55 μL, 15.4 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 그 후 DSC (1 mg, 3.9 μmol) 및

DIEA (1 μ L, 6.0 μ mol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH/MeCN)에 의해 정제하여 11 mg의 실시예 28을 백색 래커로서 제공하였다 (32%).

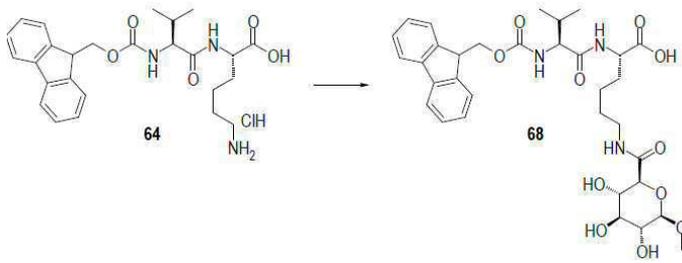
[1241] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.80 내지 0.90 (m, 18 H); 1.00 (s, 3 H); 1.03 (d, $J = 7.1$ Hz, 3 H); 1.12 내지 1.42 (m, 5 H); 1.19 (s, 3 H); 1.55 (m, 1 H); 1.65 (m, 1 H); 1.82 (m, 3 H); 1.96 (m, 2 H); 2.28 (m, 3 H); 2.67 (m, 4 H); 2.80 (s, 4 H); 2.91 (dd, $J = 2.3$ 및 14.5 Hz, 1 H); 2.95 (dd, $J = 3.4$ 및 14.5 Hz, 1 H); 3.00 (m, 2 H); 3.23 (s, 3 H); 3.35 내지 3.67 (m, 95 H); 3.80 (s, 3 H); 3.90 (d, $J = 2.3$ Hz, 1 H); 4.03 내지 4.32 (m, 6 H); 5.03 (m, 1 H); 5.90 (dd, $J = 2.0$ 및 15.8 Hz, 1 H); 6.44 (ddd, $J = 4.7, 10.5$ 및 15.8 Hz, 1 H); 7.03 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H); 7.17 내지 7.25 (m, 5 H); 7.32 (d, $J = 2.4$ Hz, 1 H); 7.79 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H); 7.85 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H); 7.90 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H); 7.93 (m, 2 H); 8.35 (t, $J = 6.5$ Hz, 1 H); 8.40 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H).

[1242] **실시예 29: hu2H11_R35-74-Ex28**

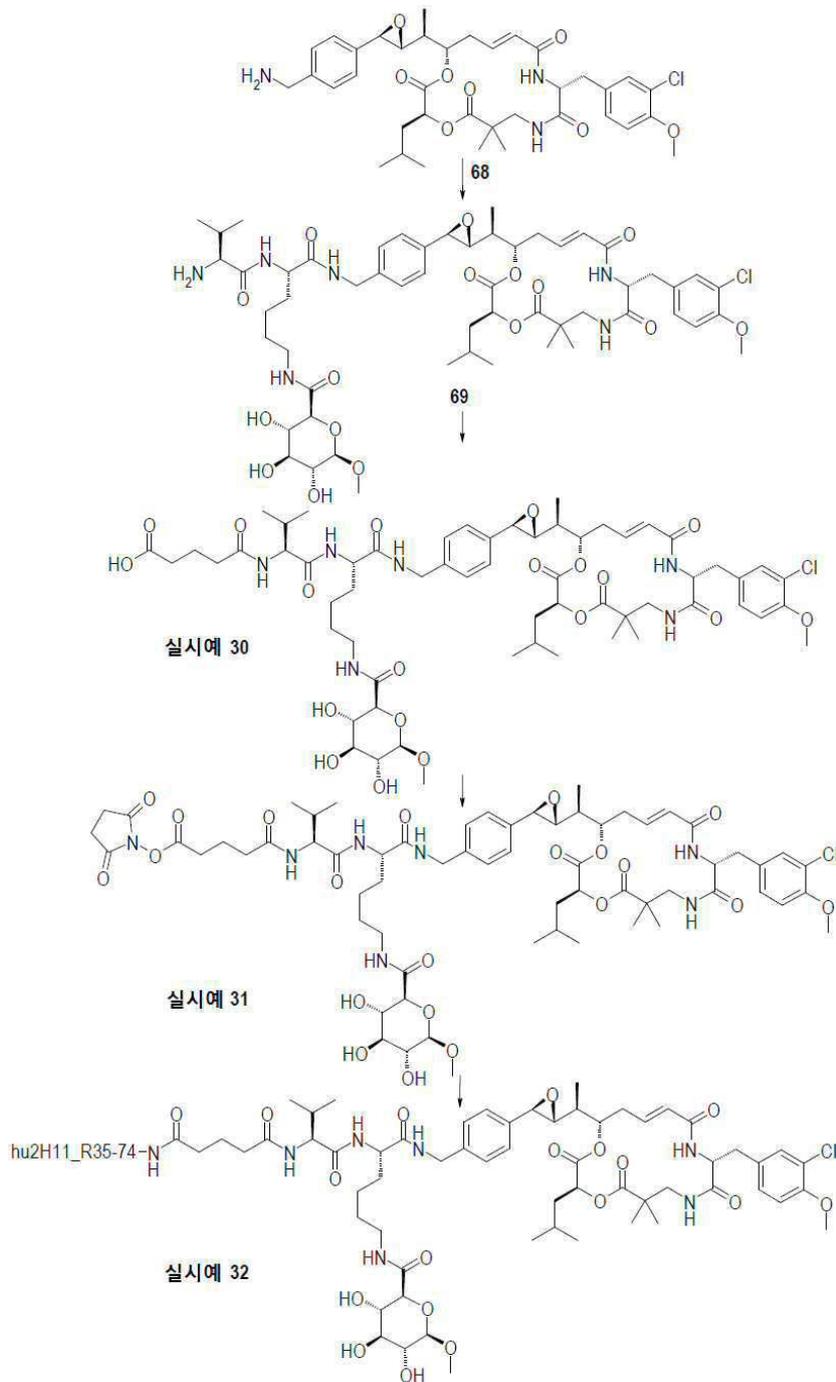
[1243] 이전에 설명한 일반적인 방법을 실시예 29의 제조에 사용하였다. 44.64 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 실시예 28의 10 mM 용액 (7 당량) 210 μ L와 2시간 동안 반응시키고, 그 후 연속적으로, DMA 중 실시예 28의 10 mM 용액 (7 당량) 210 μ L (2 h 30 동안) 및 DMA 중 실시예 28의 10 mM 용액 (3 당량) 90 μ L (2 h 동안)를 첨가하였다. 4°C에서의 하룻밤 보관, 완충제 B (pH 6.5) + 20% NMP에서의 수퍼텍스 200 pg에서의 정제, 아미콘 울트라-15에서의 농축, 완충제 B (pH 6.5) + 5% NMP에서의 세파텍스 G25에서의 완충제 교환 및 0.22 μ m PVDF 필터에서의 여과 후, 30.1 mg의 실시예 29를 2.51 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로 수득하였으며, 이때 DAR은 4 (HRMS)이고, 단량체 순도는 98.4%이고, 전체 수율은 67%였다.

[1244] SEC-HRMS: $m/z = 151502$ (D1); $m/z = 153649$ (D2); $m/z = 155798$ (D3); $m/z = 157939$ (D4); $m/z = 160100$ (D5); $m/z = 162262$ (D6).

[1245] **실시예 30 내지 32: 글루타릴-Val-글루쿠로닉Lys-C52 벤질릭 아민, 글루타릴-Val-글루쿠로닉Lys-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르 및 상응하는 ADC의 합성**



[1246]



[1247]

[1248] **화합물 68:** (S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)-6-((2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)헥산산

[1249] 자기 교반 하에, 둥근 바닥 플라스크 내에 1-O-메틸--D-글루쿠론산, 나트륨 염(CAS 번호 [58189-74-5], 100 mg, 434 μmol)을 도입하고, 이어서 물 (5 mL) 및 적당량의 앰버라이트(CAS 번호 [9037-24-5])를 도입하여 pH 2에 도달하도록 하고, 상기 매질을 여과시켰다.

[1250] 자기 교반 하에, 둥근 바닥 플라스크 내에, 물 (5 mL) 중 NaHCO_3 (43 mg, 511 μmol)을 THF (4 mL) 중 **화합물 64** (50 mg, 99 μmol)의 용액에 첨가하고; 상기 반응 매질을 실온에서 5분 동안 교반시켰다. 그 후, 상기에 설명된 글루쿠론산 용액을 반응 매질에 첨가하고, 이어서 4-(4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진-2-일)-4-메틸모르폴리늄 클로라이드 N-수화물(CAS 번호 [3945-69-5], 67 mg, 242 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시켰다. 조 매질을 5 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/ H_2O)에 의해 정제하여 23 mg의 **화합물 68** (35%)을 제공하였다.

[1251] ^1H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.84 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H); 0.86 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H); 1.13 내지 1.42 (m, 4 H); 1.52 내지 1.72 (m, 2 H); 2.05 (m, 1 H); 2.96 내지 3.08 (m, 2 H); 3.14 (m, 1 H); 3.30 (부분 차폐 m, 1 H); 3.38 (s, 3 H); 3.53 (m, 1 H); 3.78 내지 3.97 (m, 2 H); 4.09 (dd, $J = 2.3$ 및 7.8 Hz, 1 H); 4.19 내지 4.34 (m, 3 H); 5.01 내지 5.08 (브로드 m, 1 H); 5.13 (브로드 m, 1 H); 5.27 (m, 1 H); 7.33 (m, 2 H); 7.42 (t, $J = 7.6$ Hz, 2 H); 7.52 내지 7.62 (브로드 m, 2 H); 7.75 (m, 2 H); 7.89 (d, $J = 7.6$ Hz, 2 H); 7.93 (브로드 m, 1 H); 12.00 (m, 1 H). LCMS (A): ES $m/z = 656$ [M-H]⁻; $m/z = 658$ [M+H]⁺; $t_R = 1.05$ 분.

[1252] **화합물 69**: (2S,3S,4S,5R,6R)-N-((S)-5-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사테스-13-엔-16-일)에틸)-옥시란-2-일)벤질)아미노)-6-옥소헥실)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미드

[1253] 자기 교반 하에, (E)-(3S,10R,16S)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-아미노메틸-페닐)-옥시라닐)-에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자-시클로헥사테스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 **국제 공개 제2011001052호**에 기술되어 있음, 화합물 77, 90 mg, 129 μmol)의 용액에 DMF (5 mL) 중 **화합물 68** (135 mg, 205 μmol)의 용액, 이어서 HOBt (30 mg, 222 μmol) 및 EDC (36 μL , 203 μmol)를 첨가 하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 이때, DMA (1 mL)를 첨가하고, 교반을 하룻밤 유지 하였다. 그 후, EDC (20 μL)를 첨가하고, 상기 반응 매질을 2시간 더 교반시켰다. 그 후 피페리딘 (12.9 μL , 129 μmol)을 상기 매질에 첨가하였다. 1 h 30의 교반 후, 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 실리카 겔에서 3회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (등용매 용출: 40:5:0.5 (v/v/v)의 DCM/MeOH/H₂O 및 12:3:0.5 (v/v/v)의 DCM/MeOH/NH₄OH)에 의해 47 mg의 **화합물 69** (33%)를 제공하였다.

[1254] ^1H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.77 내지 0.81 (m, 9 H); 0.88 (d, $J = 6.6$ Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, $J = 6.6$ Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.20 내지 1.71 (m, 9 H); 1.80 (m, 1 H); 1.93 (m, 1 H); 2.28 (m, 1 H); 2.62 내지 2.73 (m, 2 H); 2.93 내지 3.14 (m, 9 H); 3.28 내지 3.36 (부분 차폐 m, 2 H); 3.39 (s, 3 H); 3.53 (d, $J = 9.5$ Hz, 1 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (d, $J = 1.7$ Hz, 1 H); 4.09 (m, 1 H); 4.19 내지 4.36 (m, 4 H); 4.91 (m, 1 H); 5.00 내지 5.15 (m, 4 H); 5.79 (d, $J = 15.9$ Hz, 1 H); 6.48 (m, 1 H); 7.05 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H); 7.17 (dd, $J = 2.1$ 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.25 (m, 5 H); 7.28 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H); 7.92 (브로드 t, $J = 5.9$ Hz, 1 H); 8.02 (브로드 m, 1 H); 8.35 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H); 8.46 (브로드 t, $J = 6.2$ Hz, 1 H). LCMS (A): ES $m/z = 558$ [M+2H]²⁺; $m/z = 1113$ [M-H]⁻; $m/z = 1115$ [M+H]⁺; $m/z = 1159$ [M-H+HCO₂H]⁻; $t_R = 0.9$ 분.

[1255] **실시예 30**: 5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1-옥소-6-((2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복스아미도)헥산-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-5-옥소펜탄산

[1256] **화합물 69** (47 mg, 42.1 μmol)에 DMF (4 mL) 및 (자기 교반 하에) 글루타르산 무수물 (8.5 mg, 74.5 μmol)을 첨가하고; 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 이때, 조 매질을 진공에서 농축시키고, 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O 및 DCM/MeOH/NH₄OH)에 의해 정제하여 17 mg의 **실시예 30** (33%)을 제공하였다.

[1257] ^1H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.81 (분할 d, $J = 6.4$ Hz, 6 H); 0.84 (d, $J = 6.6$ Hz, 3 H); 0.86 (d, $J = 6.6$ Hz, 3 H); 0.98 (s, 3 H); 1.04 (d, $J = 6.6$ Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.17 내지 2.32 (브로드 m, 18 H); 2.66 내지 2.74 (m, 2 H); 2.91 내지 3.03 (m, 5 H); 3.10 (큰 m, 1 H); 3.18 (t, $J = 8.8$ Hz, 1 H); 3.28 내지 3.36 (부분 차폐 m, 2 H); 3.37 (s, 3 H); 3.60 (m, 1 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (d, $J = 1.6$ Hz, 1 H); 4.07 (m, 2 H); 4.14 내지 4.26 (m, 3 H); 4.31 (m, 1 H); 4.92 (m, 1 H); 5.06 내지 5.13 (m, 2 H); 5.35 (m, 2 H); 5.80 (d, $J = 15.3$ Hz, 1 H); 6.45 (ddd, $J = 3.6, 11.1$ 및 15.3 Hz, 1 H); 7.05 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H); 7.18 (dd, $J = 2.1$ 및 8.5 Hz, 1 H); 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 2 H); 7.25 (d, $J = 8.4$ Hz, 2 H);

7.29 (d, J = 2.1 Hz, 1 H); 7.31 (m, 1 H); 7.77 내지 8.81 (m, 5 H). LCMS (A): ES m/z = 1227 [M-H]⁻; m/z = 1229 [M+H]⁺; m/z = 615; t_R = 1.16분.

[1258] **실시예 31**: 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)아미노)-1-옥소-6-((2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-카르복시아미도)헥산-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-5-옥소펜타노에이트

[1259] 자기 교반 하에, **실시예 30** (14 mg, 11.4 μmol)에 DMF (3 mL), DSC (4.2 mg, 15.6 μmol) 및 DIEA (6 μL, 34.5 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 이때, 상기 매질을 MeTHF (10 mL)로 희석시키고, H₂O (5 mL)로 세척하였다. 수성 상을 MeTHF (10 mL)로 추출하고, 합한 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 3.5 mg의 **실시예 31** (23%)을 제공하였다.

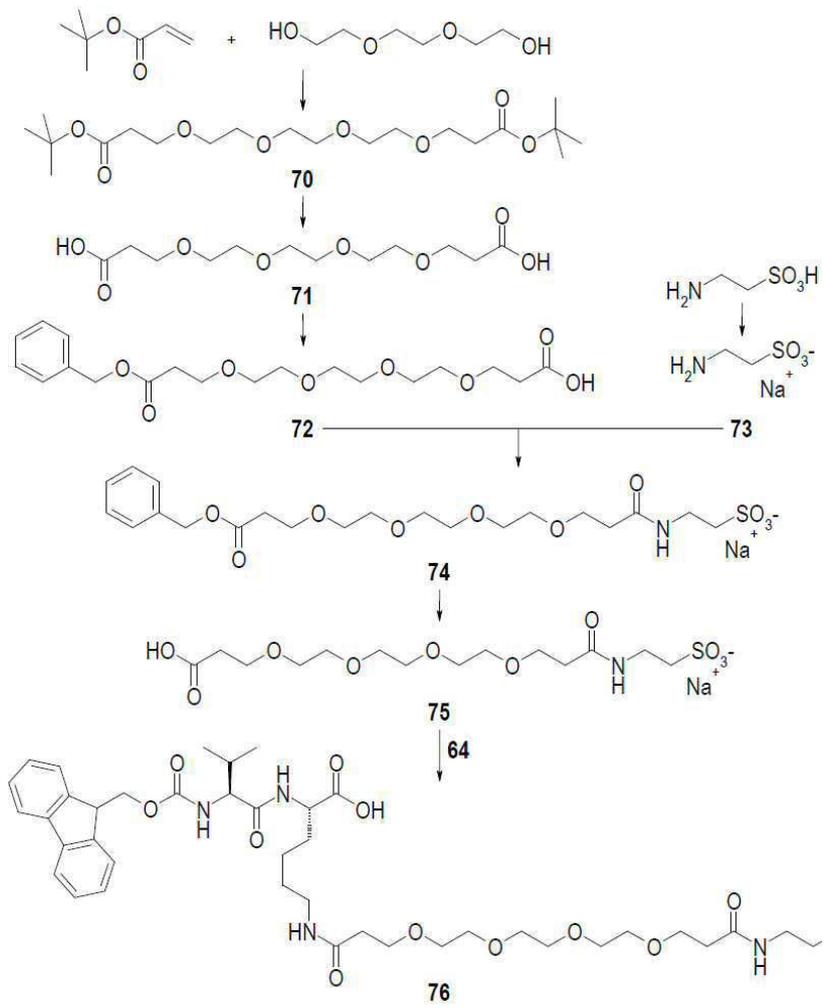
[1260] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.78 (d, J = 6.6 Hz, 6 H); 0.82 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 0.84 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 0.99 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 6.6 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.17 내지 1.70 (m, 9 H); 1.77 내지 1.87 (m, 3 H); 1.98 (m, 1 H); 2.23 내지 2.32 (m, 3 H); 2.65 내지 2.70 (m, 4 H); 2.81 (s, 4 H); 2.93 내지 3.07 (m, 6 H); 3.15 (m, 1 H); 3.28 내지 3.38 (부분 차폐 m, 2 H); 3.40 (s, 3 H); 3.53 (d, J = 9.6 Hz, 1 H); 3.81 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 1.4 Hz, 1 H); 4.09 (d, J = 7.7 Hz, 1 H); 4.17 (dd, J = 6.9 및 8.2 Hz, 1 H); 4.20 내지 4.33 (m, 4 H); 4.90 (dd, J = 3.4 및 9.5 Hz, 1 H); 5.04 (m, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.14 (d, J = 5.2 Hz, 1 H); 5.79 (dd, J = 0.8 및 15.3 Hz, 1 H); 6.47 (m, 1 H); 7.05 (d, J = 8.8 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 1.6 및 8.8 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.25 (m, 5 H); 7.28 (d, J = 1.6 Hz, 1 H); 7.86 내지 7.99 (m, 3 H); 8.37 (m, 2 H). LCMS (A): ES m/z = 1370 [M-H+HCO₂H]⁻; ESm/z = 1326 [M+H]⁺; m/z = 663.5; t_R = 1.21분.

[1261] **실시예 32**: hu2H11_R35-74-Ex31

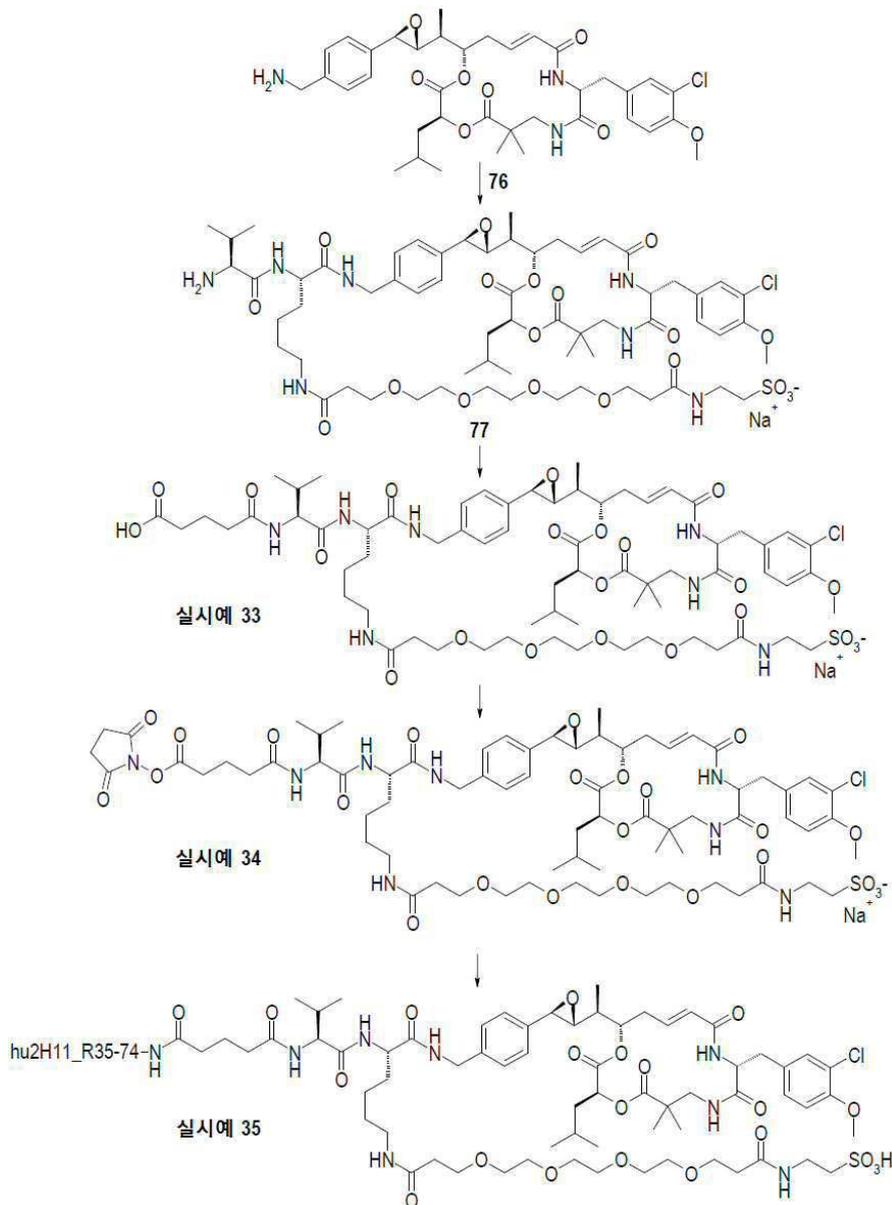
[1262] 이전에 설명한 일반적인 방법을 **실시예 32**의 제조에 사용하였다. 27.9 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 **실시예 31**의 10.5 mM 용액 (6 당량) 107 μL와 2 h 30 동안 반응시키고, 그 후 DMA 중 **실시예 31**의 10.5 mM 용액 (6 당량) 107 μL를 4 h 30 동안 첨가하였다. 완충제 B (pH 6.5) + 10% NMP에서의 수퍼텍스 200 pg에서의 정제, 아미콘 울트라-15에서의 농축, 완충제 B (pH 6.5)에서의 5%의 NMP의 최종 농도까지의 희석 및 0.22 μm PVDF 필터에서의 여과 후, 16.7 mg의 **실시예 32**를 2.23 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로 수득하였으며, 이때 DAR은 3 (HRMS)이고, 단량체 순도는 100%이고, 전체 수율은 60%였다.

[1263] SEC-HRMS: m/z = 149407 (네이키드 mAb); m/z = 150619 (D1); m/z = 151831 (D2); m/z = 153044 (D3); m/z = 154256 (D4); m/z = 155468 (D5); m/z = 156685 (D6); m/z = 157899 (D7); m/z = 159014 (D8).

[1264] **실시예 33 내지 35**: 글루타릴-Va1-술포PEG4Lys-C52 벤질릭 아민, 글루타릴-Va1-술포PEG4Lys-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르 및 상응하는 ADC의 합성



[1265]



[1266]

[1267] **화합물 70:** 디-*tert*-부틸 4,7,10,13-테트라옥사헥사데칸-1,16-디오에이트

[1268] THF (15 mL) 중 트리에틸렌 글리콜 (5 mL, 37.5 mmol)의 용액에 나트륨 (18 mg, 783.0 μ mol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 그 후 5분에 걸쳐 *tert*-부틸 아크릴레이트 (14 mL, 95.58 mmol)를 적가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 그 후 염수 (300 mL)로 켄칭하고, EtOAc (300 mL)로 2회 추출하였다. 합한 유기 상을 $MgSO_4$ 로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 200 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: 헵탄/EtOAc)에 의해 정제하여 8.05 g의 **화합물 70**을 무색 오일로서 제공하였다 (53%).

[1269] 1H NMR (400 MHz, δ ppm, $DMSO-d_6$): 1.40 (s, 18 H); 2.40 (t, $J = 6.5$ Hz, 4 H); 3.48 (m, 12 H); 3.58 (t, $J = 6.5$ Hz, 4 H). LCMS (A): ES $m/z = 407 [M+H]^+$; $m/z = 429 [M+Na]^+$; $t_R = 1.32$ 분.

[1270] **화합물 71:** 4,7,10,13-테트라옥사헥사데칸-1,16-디오익산

[1271] **화합물 70** (8.05 g, 19.8 mmol)에 포름산 (40 mL, 1.04 mol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1일 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, EtOAc (20 mL)와 함께 공동-증발시켜 5.9 g의 **화합물 71**을 무색 오일로서 제공하였다 (정량적).

[1272] 1H NMR (300 MHz, δ ppm, $DMSO-d_6$): 2.44 (t, $J = 6.5$ Hz, 4 H); 3.48 (s, 8 H); 3.50 (s, 4 H); 3.59 (d, J

= 6.5 Hz, 4 H); 12.25 (브로드 m, 2 H).

- [1273] **화합물 72:** 3-옥소-1-페닐-2,6,9,12,15-펜타옥사옥타데칸-18-오익산
- [1274] DMF (50 mL) 중 **화합물 71** (5.9 g, 20.05 mmol)의 용액에 DIEA (3.6 mL, 20.67 mmol)를 첨가하고, DMF (50 mL) 중 벤질 브로마이드 (2.43 mL, 20.05 mmol)의 용액을 적가하였다 (10분에 걸쳐). 상기 반응 매질을 실온에서 20 시간 동안 교반시키고, 1 N HCl (500 mL)로 켄칭하고, EtOAc (200 mL)로 2회 추출하였다. 합한 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 400 g 및 100 g의 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 2.7 g의 **화합물 72**를 얻은 녹색의 오일로서 제공하였다 (35%).
- [1275] RMN ¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 2.42 (m, 2 H) ; 2.60 (t, J = 6.5 Hz, 2 H); 3.47 (s, 6 H); 3.49 (s, 6 H); 3.59 (m, 2 H); 3.66 (d, J = 6.5 Hz, 2 H); 5.10 (s, 2 H); 7.29 내지 7.41 (m, 5 H).
- [1276] **화합물 73:** 소듐 2-아미노에탄술포네이트
- [1277] H₂O (30 mL) 중 타우린 (2 g, 15.98 mmol)의 용액에 탄산수소나트륨 (1.34 g, 15.98 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 그 후 진공에서 농축시켰다. 조 생성물을 H₂O (100 mL)에 용해시키고, 동결건조시켜 2.5 g의 **화합물 73**을 백색 분말로서 제공하였다 (정량적).
- [1278] KBr 펠렛으로서의 IR 스펙트럼; cm⁻¹의 단위의 주요 흡광 밴드: 1458; 1344; 1212; 1184; 1046; 1037; 742; 737; 598; 576; 533 및 523.
- [1279] **화합물 74:** 소듐 3,18-디옥소-1-페닐-2,6,9,12,15-펜타옥사-19-아자헥사코산-21-술포네이트
- [1280] DMF (40 mL) 중 **화합물 72** (1 g, 2.69 mmol)의 용액에 NHS (367 mg, 3.13 mmol) 및 EDC (565 μL, 3.12 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 그 후 H₂O (20 mL) 중 **화합물 73** (1.9 g, 12.91 mmol)의 용액 및 중탄산나트륨 (219 mg, 2.61 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 그 후 앰버라이트 IR-120 (H)(CAS 번호 [78922-04-0])을 이용하여 pH 3까지 산성화하고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 150 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 824 mg의 **화합물 74**를 무색 고형물로서 제공하였다 (61%).
- [1281] LCMS (A): ES m/z = 490 [M-H]⁻; m/z = 492 [M+H]⁺; t_R = 1.1분.
- [1282] **화합물 75:** 소듐 1-카르복시-15-옥소-3,6,9,12-테트라옥사-16-아자옥타데칸-18-술포네이트
- [1283] 8:2의 MeOH/H₂O (30 mL) 중 **화합물 74** (820 mg, 1.60 mmol)의 용액을 0.22 μm에서 여과시키고, 20°C에서 H-큐브 시스템을 사용하여 10% Pd/C 카트리지에서 수소 첨가 분해를 가하였다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시켜 530 mg의 **화합물 75**를 황색 검으로 제공하였다 (78%).
- [1284] RMN ¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 2.27 (t, J = 6.6 Hz, 2 H); 2.40 (t, J = 6.6 Hz, 2 H); 2.52 (부분 차폐 m, 2 H); 3.28 (부분 차폐 m, 2 H); 3.49 (m, 12 H); 3.59 (m, 4 H); 7.72 (브로드 t, J = 6.4 Hz, 1 H); 12.08 (브로드 m, 1 H).
- [1285] **화합물 76:** 소듐 (5S,8S)-8-카르복시-1-(9H-플루오렌-9-일)-5-이소프로필-3,6,14,29-테트라옥소-2,17,20,23,26-펜타옥사-4,7,13,30-테트라아자도트리아콘탄-32-술포네이트
- [1286] DMF (15 mL) 중 **화합물 75** (300 mg, 708.5 μmol)의 용액에 NHS (98 mg, 851.5 μmol) 및 EDC (150 μL, 855.1 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 그 후 DMF (15 mL) 중 **화합물 64** (416 mg, 825.4 μmol)의 용액 및 H₂O (10 mL) 중 중탄산나트륨 (180 mg, 2.13 mmol)의 용액을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 앰버라이트 IR-120 (H)(CAS 번호 [78922-04-0])을 이용하여 pH 3까지 산성화하고, 여과시키고, DMF (5 mL)로 세척하고, 진공에서 농축시키고, 100 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/아세트산)에 의해 정제하여 447 mg의 무색 래커를 제공하였다. 이 래커를 2:1의 THF/H₂O (120 mL)에 용해시키고, 0.1 N HCl (약 4 mL)을 이용하여 pH 3.3까지 산성화하고, 진공에서 농축시켜 354 mg의 **화합물 76**을 백색 반투명 고형물로서 제공하였다 (57%).

- [1287] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.89 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.20 내지 1.41 (m, 4 H); 1.50 내지 1.74 (m, 2 H); 1.98 (m, 1 H); 2.26 (t, J = 6.8 Hz, 2 H); 2.28 (t, J = 6.8 Hz, 2 H); 2.52 (차폐 m, 2 H); 3.00 (m, 2 H); 3.28 (부분 차폐 m, 2 H); 3.45 (m, 12 H); 3.58 (t, J = 6.8 Hz, 4 H); 3.91 (dd, J = 7.0 및 9.2 Hz, 1 H); 4.14 (m, 1 H); 4.19 내지 4.31 (m, 3 H); 7.32 (m, 2 H); 7.37 (d, J = 9.2 Hz, 1 H); 7.41 (dt, J = 1.0 및 7.8 Hz, 2 H); 7.75 (m, 3 H); 7.80 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.89 (d, J = 7.8 Hz, 2 H); 8.07 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 12.49 (m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 849 [M-H]⁻; m/z = 851 [M+H]⁺; t_R = 1.44분.
- [1288] **화합물 77**: 소듐 (25S,28S)-28-아미노-25-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로-헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-29-메틸-4,19,27-트리옥소-7,10,13,16-테트라옥사-3,20,26-트리아자트리아콘탄-1-술포네이트
- [1289] DMF (5 mL) 중 (E)-(3S,10R,16S)-16-((S)-1-[(2R,3R)-3-(4-아미노메틸-페닐)-옥시라닐]-에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자-시클로헥사테스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이 합성은 국제 공개 제2011001052호에 기술되어 있음, 화합물 77, 106 mg, 151.8 μmol)의 용액에 DMF (5 mL) 중 **화합물 76** (225 mg, 257.7 μmol)의 용액, HOBt (30 mg, 213.1 μmol) 및 EDC (40 μL, 226.0 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 그 후 피페리딘 (134 μL, 1.36 mmol)을 첨가하고, 교반을 2시간 동안 계속하였다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 50 g 및 4 g의 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 73 mg의 **화합물 77**을 백색 고형물로서 제공하였다 (36%).
- [1290] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.91 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.93 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.18 내지 1.45 (m, 5 H); 1.51 내지 1.72 (m, 4 H); 1.80 (m, 1 H); 2.05 (m, 1 H); 2.23 내지 2.35 (m, 5 H); 2.56 (m, 2 H); 2.68 (m, 2 H); 2.95 내지 3.04 (m, 5 H); 3.32 (m, 3 H); 3.48 (m, 12 H); 3.57 (t, J = 6.7 Hz, 2 H); 3.59 (t, J = 6.7 Hz, 2 H); 3.66 (d, J = 6.0 Hz, 1 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.20 내지 4.36 (m, 4 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 5.12 (m, 1 H); 5.80 (dd, J = 2.0 및 15.2 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.8, 11.3 및 15.2 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.24 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.4 Hz, 1 H); 7.76 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.86 (t, J = 8.0 Hz, 1 H); 7.93 (브로드 m, 3 H); 8.38 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.49 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.59 (t, J = 6.0 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 655 [M+2H]²⁺; m/z = 1306 [M-H]⁻; m/z = 1308 [M+H]⁺; t_R = 1.07분.
- [1291] **실시예 33**: 소듐 (25S,28S)-33-카르복시-25-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로-헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-28-이소프로필-4,19,27,30-테트라옥소-7,10,13,16-테트라옥사-3,20,26,29-테트라아자트리아콘탄-1-술포네이트
- [1292] DMF 중 **화합물 77** (73 mg, 54.9 μmol)의 용액에 글루타르산 무수물 (11 mg, 96.4 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 40 mg의 **실시예 33**을 백색 래커로서 제공하였다 (50%).
- [1293] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.81 (s, 9 H); 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.38 (s, 9 H); 1.50 (dd, J = 3.0 및 14.5 Hz, 1 H); 1.58 (dd, J = 9.1 및 14.5 Hz, 1 H); 2.38 내지 2.48 (부분 차폐 m, 3 H); 4.04 (m, 1 H); 4.19 (m, 2 H); 4.30 (m, 1 H); 4.49 (s, 2 H); 4.91 (m, 1 H); 5.80 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 6.17 (dd, J = 8.4 및 16.0 Hz, 1 H); 6.43 (d, J = 16.0 Hz, 1 H); 6.70 (m, 1 H); 7.23 내지 7.44 (m, 8 H); 7.68 (m, 2 H); 7.79 (d, J = 8.3 Hz, 1 H); 7.88 (d, J = 7.8 Hz, 2 H). LCMS (A): ES m/z = 712 [M+2H]²⁺; m/z = 1420 [M-H]⁻; m/z = 1422 [M+H]⁺; t_R = 1.57분.
- [1294] **실시예 34**: 소듐 (25S,28S)-25-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부

틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-34-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-28-이소프로필-4,19,27,30,34-펜타옥소-7,10,13,16-테트라옥사-3,20,26,29-테트라아자테트라트리아콘탄-1-술포네이트

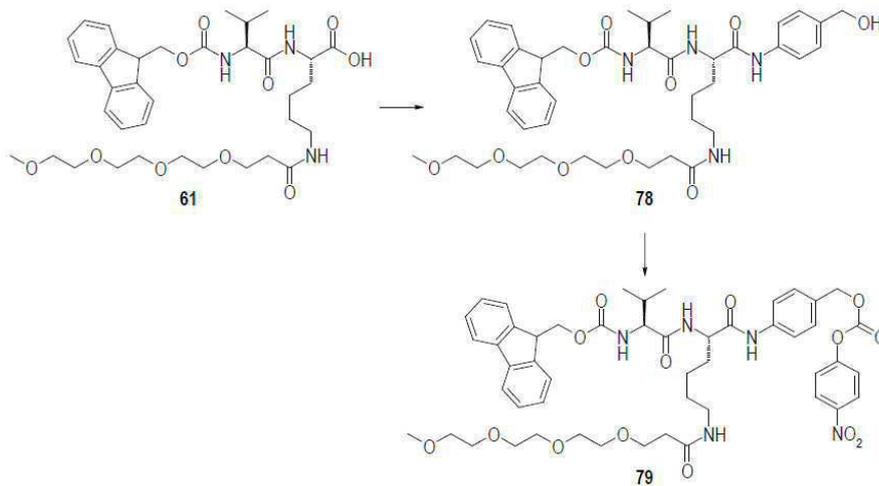
[1295] DMA (93 μ L) 중 실시예 33 (3.57 mg, 2.47 μ mol)의 용액에 NHS (27.2 μ L, 2.72 μ mol) 및 EDC (111 μ L, 2.22 μ mol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 48시간 동안 교반시켰다. LCMS 분석은 잔여 실시예 33을 5%로 하여 95%의 예상 실시예 34의 존재를 나타냈다. 이 용액을 크로마토그래피 및 실시예 35의 제조에 그대로 사용하였다.

[1296] **실시예 35: hu2H11_R35-74-Ex34**

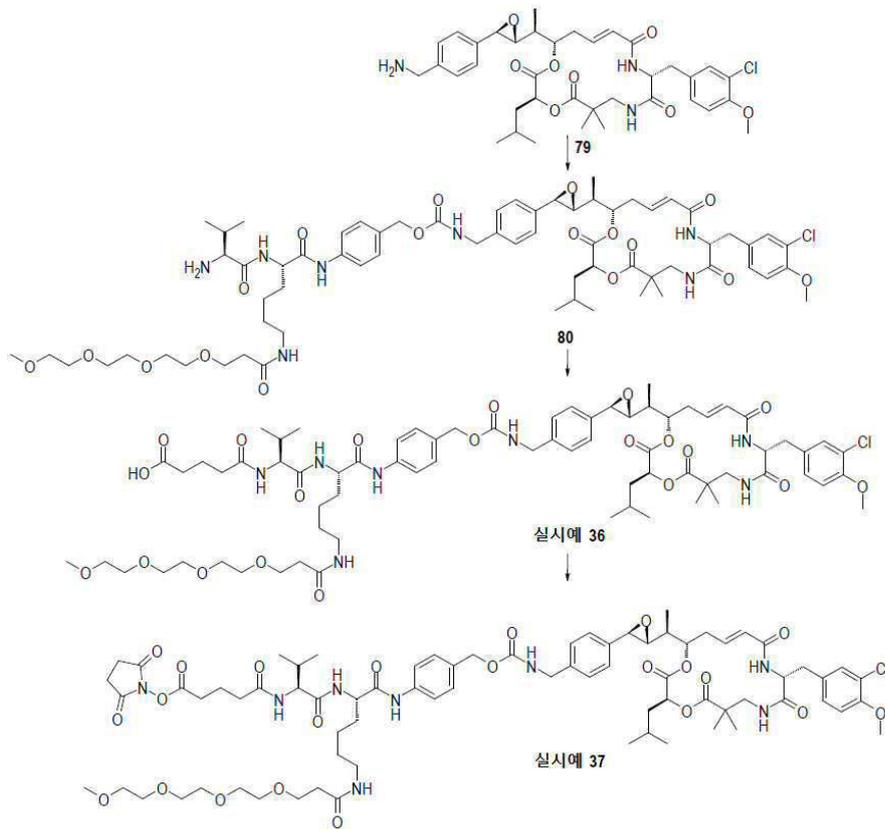
[1297] 이전에 설명한 일반적인 방법을 실시예 35의 제조에 사용하였다. 11.16 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 실시예 34의 10 mM 용액 (7 당량) 53 μ L와 2 h 30 동안 반응시키고, 그 후 DMA 중 실시예 34의 10 mM 용액 (2 당량) 15 μ L를 2 h 30 동안 첨가하였다. 완충제 B (pH 6.5) + 5% NMP에서의 PD-10 및 Nap-10 컬럼에서의 정제 후, 9.5 mg의 실시예 34를 1.9 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로 수득하였으며, 이때 DAR은 3.8 (HRMS)이고, 단량체 순도는 97.5%이고, 전체 수율은 82%였다.

[1298] SEC-HRMS: m/z = 149330 (네이키드 mAb); m/z = 150744 (D1); m/z = 152147 (D2); m/z = 153554 (D3); m/z = 154959 (D4); m/z = 156366 (D5); m/z = 157771 (D6); m/z = 159172 (D7); m/z = 160578 (D8).

[1299] **실시예 36 및 37: 글루타릴-Val-PEG4Lys-PABA-C52 벤질릭 아민 및 글루타릴-Val-PEG4Lys-PABA-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르의 합성**



[1300]



[1301]

[1302] **화합물 78**: (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((20S,23S)-20-((4-(히드록시메틸)페닐)카르바모일)-24-메틸-14,22-디옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15,21-디아자펜타코산-23-일)카르바메이트

[1303] Ar 하에, MeCN (35 mL) 중 **화합물 61** (180 mg, 257.2 μmol)의 용액에 DIEA (130 μL , 771.7 μmol), 4-아미노벤질 알코올 (48 mg, 385.8 μmol), HOAt (41 mg, 295.8 μmol), HATU (147 mg, 385.8 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 17시간 동안 교반시키고, 그 후 MeOH (30 mL) 및 실리카를 첨가하고, 상기 혼합물을 진공에서 농축시키고, 30 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 94 mg의 **화합물 78**을 베이지색 고형물로서 제공하였다 (46%).

[1304] ^1H RMN (300 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.85 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.18 내지 1.45 (m, 4 H); 1.52 내지 1.70 (m, 2 H); 1.99 (m, 1 H); 2.27 (m, 2 H); 3.00 (m, 2 H); 3.22 (s, 3 H); 3.35 내지 3.51 (m, 12 H); 3.55 (t, J = 6.8 Hz, 2 H); 3.90 (dd, J = 7.2 및 9.1 Hz, 1 H); 4.18 내지 4.56 (m, 4 H); 4.42 (d, J = 5.9 Hz, 2 H); 5.07 (t, J = 5.9 Hz, 1 H); 7.22 (d, J = 8.9 Hz, 2 H); 7.31 (dt, J = 1.8 및 7.8 Hz, 2 H); 7.40 (m, 3 H); 7.53 (d, J = 8.9 Hz, 2 H); 7.73 (m, 3 H); 7.88 (d, J = 7.8 Hz, 2 H); 8.02 (d, J = 8.2 Hz, 1 H); 9.92 (s, 1 H).

[1305] **화합물 79**: (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((20S,23S)-24-메틸-20-((4-(((4-니트로페녹시)-카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바모일)-14,22-디옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15,21-디아자펜타코산-23-일)카르바메이트

[1306] DMF 중 **화합물 78** (94 mg, 118.9 μmol)의 용액에 비스 (4-니트로페닐) 카르보네이트 (112 mg, 357.1 μmol) 및 DIEA (40 μL , 237.2 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 교반시키고, 진공에서 농축시키고, DCM (10 mL)으로 희석시키고, H₂O (10 mL)로 세척하였다. 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 12 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 55 mg의 **화합물 79**를 갈색 고형물로서 제공하였다 (48%).

[1307] ^1H RMN (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.18 내지 1.45 (m, 4 H); 1.55 내지 1.77 (m, 2 H); 1.99 (m, 1 H); 2.27 (t, J = 6.8 Hz, 2 H); 3.00 (m, 2 H); 3.21 (s, 3 H); 3.40 내지 3.52 (m, 12 H); 3.57 (t, J = 6.8 Hz, 2 H); 3.91 (m, 1 H); 4.20 내지 4.41 (m, 4 H); 5.24 (s, 2 H); 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2 H); 7.35 내지 7.48 (m, 5 H); 7.58 (d, J = 9.2 Hz, 2 H); 7.63

(d, J = 8.8 Hz, 2 H); 7.74 (m, 2 H); 7.80 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.90 (d, J = 7.8 Hz, 2 H); 8.10 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.32 (d, J = 9.2 Hz, 2 H); 10.12 (s, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 956 [M+H]⁺; m/z = 978 [M+Na]⁺; m/z = 1000 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.45분.

[1308] **화합물 80**: 4-((S)-20-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-14-옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15-아자헩니코산아미도)벤질 4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16일)에틸)-옥시란-2-일)벤질카르바메이트

[1309] DCM (2.5 mL) 중 (E)-(3S,10R,16S)-16-((S)-1-[(2R,3R)-3-(4-아미노메틸-페닐)-옥시라닐]-에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자-시클로헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 **국제 공개 제2011001052호**에 기술되어 있음, 화합물 77, 19 mg, 27.2 μmol)의 용액에 DCM (2.5 mL) 중 **화합물 79** (58 mg, 60.7 μmol)의 용액 및 DIEA (15 μL, 86.6 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 38 mg의 Fmoc-보호 중간체를 무색 래커로서 제공하였다 (92%).

[1310] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.79 (d, J = 6.7 Hz, 6 H); 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.03 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.20 내지 1.45 (m, 5 H); 1.50 내지 1.75 (m, 4 H); 1.80 (m, 1 H); 2.00 (m, 1 H); 2.27 (m, 3 H); 2.69 (m, 2 H); 2.92 내지 3.04 (m, 5 H); 3.21 (s, 3 H); 3.32 (차폐 m, 1 H); 3.35 내지 3.51 (m, 12 H); 3.56 (t, J = 6.6 Hz, 2 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.2 Hz, 1 H); 3.91 (dd, J = 7.1 및 9.1 Hz, 1 H); 4.15 내지 4.42 (m, 7 H); 4.90 (dd, J = 3.7 및 9.8 Hz, 1 H); 4.97 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (dd, J = 2.0 및 15.2 Hz, 1 H); 6.48 (ddd, J = 3.8, 11.1 및 15.2 Hz, 1 H); 7.04 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.34 (m, 10 H); 7.41 (m, 3 H); 7.58 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 7.70 내지 7.80 (m, 4 H); 7.89 (d, J = 7.8 Hz, 2 H); 8.06 (d, J = 7.6 Hz, 1 H); 8.35 (d, J = 8.3 Hz, 1 H); 10.03 (s, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 698; m/z = 1514 [M+H]⁺; m/z = 1558 [M-H+HCO₂H]⁻; t_R = 1.56분.

[1311] DCM (5 mL) 중 이 중간체 (35 mg, 23.1 μmol)의 용액에 피페리딘 (20 μL, 201.5 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1 h 30 동안 교반시키고, 그 후 DMF (1 mL)를 첨가하고, 교반을 1 h 30 동안 계속하였다. 그 후 피페리딘 (2 μL)을 첨가하고; 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 25 mg의 **화합물 80**을 무색 래커로서 제공하였다 (83%).

[1312] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.78 (d, J = 6.7 Hz, 6 H); 0.82 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.89 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.22 내지 1.48 (m, 5 H); 1.51 내지 1.75 (m, 6 H); 1.80 (m, 1 H); 1.98 (m, 1 H); 2.28 (m, 3 H); 2.69 (m, 2 H); 2.92 내지 3.05 (m, 7 H); 3.15 (m, 1 H); 3.21 (s, 3 H); 3.32 (차폐 m, 1 H); 3.35 내지 3.51 (m, 12 H); 3.57 (t, J = 6.7 Hz, 2 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.2 Hz, 1 H); 4.19 (d, J = 6.4 Hz, 2 H); 4.23 (ddd, J = 3.9, 8.3 및 11.8 Hz, 1 H); 4.43 (m, 2 H); 4.90 (dd, J = 3.7 및 9.8 Hz, 1 H); 4.98 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.80 (dd, J = 2.0 및 15.2 Hz, 1 H); 6.48 (ddd, J = 3.9, 11.3 및 15.2 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.18 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.59 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 7.79 (t, J = 6.0 Hz, 1 H); 7.82 (t, J = 6.4 Hz, 1 H); 8.21 (m, 1 H); 8.39 (d, J = 8.3 Hz, 1 H); 10.13 (s, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 646.5; m/z = 1292 [M+H]⁺; t_R = 1.05분.

[1313] **실시예 36**: (20S,23S)-20-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)메틸)-페닐)카르바모일)-23-이소프로필-14,22,25-트리옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15,21,24-트리아자노나코산-29-오익산

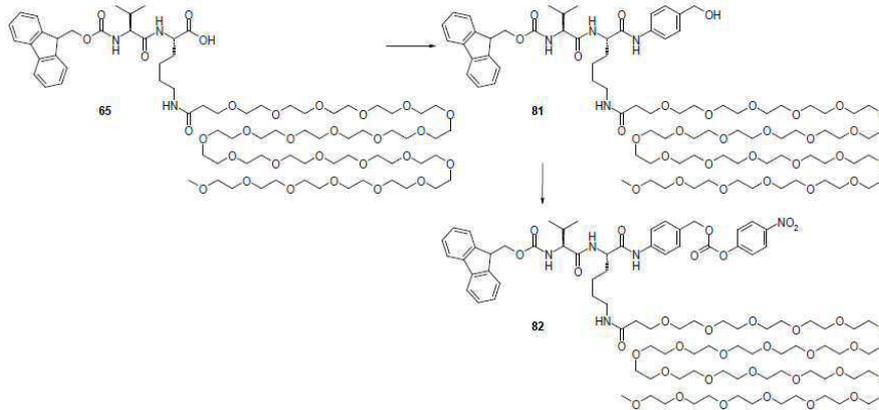
[1314] DCM (5 mL) 중 **화합물 80** (25 mg, 19.3 μmol)의 용액에 글루타르산 무수물 (4 mg, 19.3 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2 h 30 동안 교반시키고, 그 후 글루타르산 무수물 (4 mg, 19.3 μmol) 및 DMF (0.5 mL)를 첨가하고, 교반을 26시간 동안 계속하였다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 10 mg의 **실시예 36**을 백색

래커로서 제공하였다 (37%).

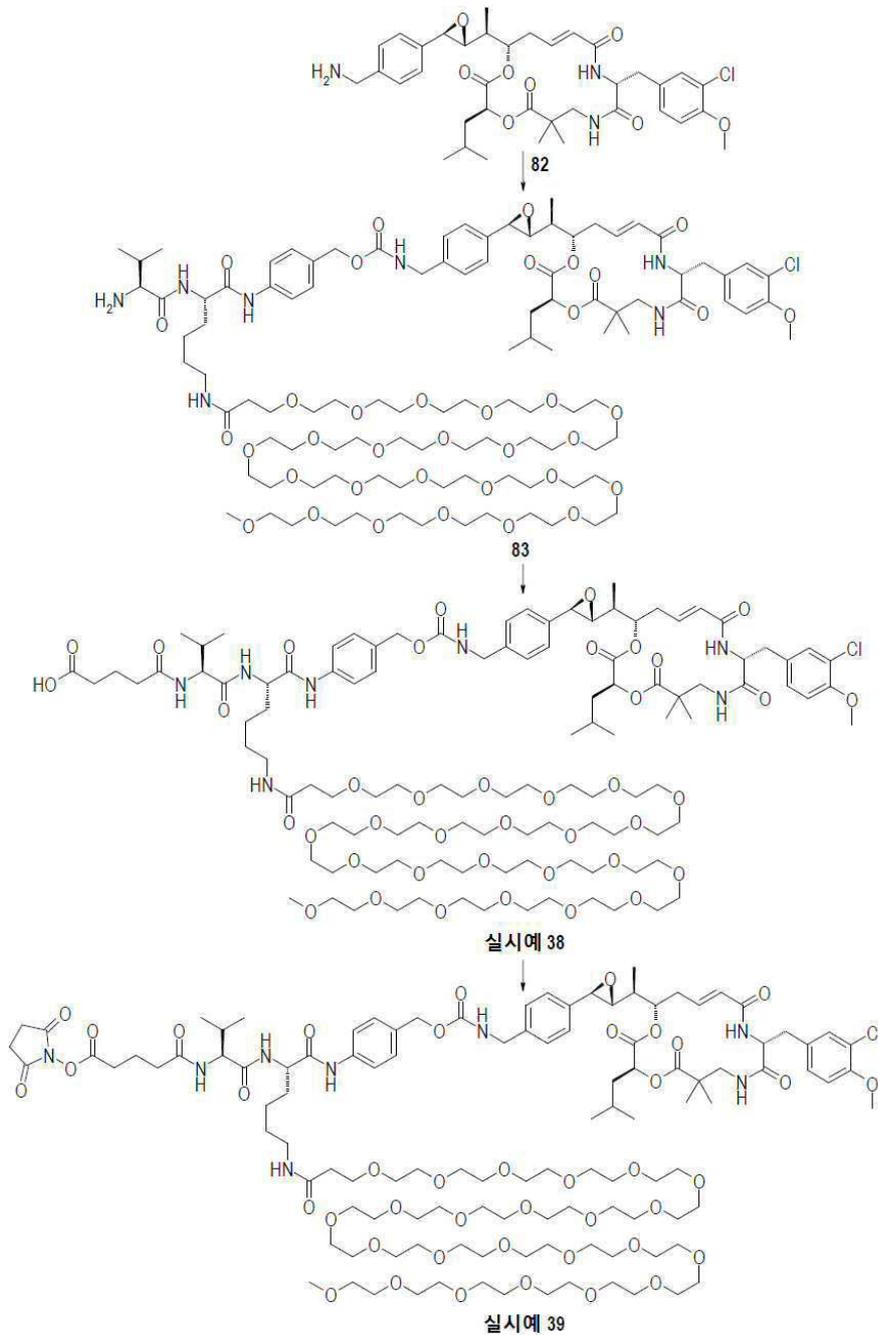
[1315] **실시예 37:** (20S,23S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일 20-(((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사테스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)-카르바모일)옥시)메틸)페닐)-카르바모일)-23-이소프로필-14,22,25-트리옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15,21,24-트리아자노나코산-29-오에이트

[1316] THF (2 mL) 중 **실시예 36** (10 mg, 7.11 μmol)의 용액에 DSC (2 mg, 7.65 μmol) 및 DIEA (1.2 μL, 7.26 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 0.6 g 및 2 g의 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 3.3 mg의 **실시예 37**을 백색 래커로서 제공하였다 (31%).

[1317] **실시예 38 및 39: 글루타릴-Val-PEG24Lys-PABA-C52 벤질릭 아민 및 글루타릴-Val-PEG24Lys-PABA-C52 벤질릭 아민의 NHS 에스테르의 합성**



[1318]



[1319]

[1320] **화합물 81**: (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((80S,83S)-80-((4-(히드록시메틸)페닐)카르바모일)-84-메틸-74,82-디옥소 2,5,8,11,14,17,20,23,26, 29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75,81-디아자펜타옥 타콘탄-83-일)카르바메이트

[1321]

MeCN (70 mL) 중 **화합물 65** (360 mg, 229.8 μmol)의 용액에 DIEA (77 μL , 456.6 μmol), 4-아미노벤질 알코올 (43 mg, 342.2 μmol), HOAt (36 mg, 264.5 μmol) 및 HATU (109 mg, 278.1 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 25 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 307 mg의 **화합물 81**을 백색 고형물로서 제공하였다 (80%).

[1322]

^1H RMN (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*₆): 0.85 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.21 내지 1.42 (m, 4 H); 1.54 내지 1.78 (m, 2 H); 1.99 (m, 1 H); 2.27 (t, J = 6.8 Hz, 2 H); 3.00 (m, 2 H); 3.22 (s, 3 H); 3.40 내지 3.52 (m, 92 H); 3.54 (t, J = 6.8 Hz, 2 H); 3.91 (dd, J = 6.9 및 9.0 Hz, 1 H); 4.18 내지 4.32 (m, 3 H); 4.39 (m, 1 H); 4.42 (d, J = 5.9 Hz, 2 H); 5.08 (t, J = 5.9 Hz, 1 H); 7.22 (d, J = 8.9 Hz, 2 H); 7.32 (dt, J = 1.2 및 7.8 Hz, 2 H); 7.41 (m, 3 H); 7.53 (d, J = 8.9 Hz, 2 H); 7.75 (m, 3 H); 7.89 (d, J = 7.8 Hz, 2 H); 8.02 (d, J = 8.2 Hz, 1 H); 9.92 (s, 1 H). LCMS (d): ES m/z =

827; m/z = 1671 [M+H]⁺; t_R = 2.94분.

- [1323] **화합물 82**: (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((80S,83S)-84-메틸-80-((4-(((4-니트로페녹시)-카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바모일)-74,82-디옥소-2,5,8,11,14,17, 20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75,81-디아자헩타옥타콘탄-83-일)카르바메이트
- [1324] DCM (10 mL) 중 **화합물 81** (300 mg, 179.4 μmol)의 용액에 비스 (4-니트로페닐) 카르보네이트 (450 mg, 1.48 mmol) 및 DIEA (60 μL, 361.2 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 비스 (4-니트로페닐) 카르보네이트 (80 mg, 263.1 μmol)를 첨가하고, 교반을 4시간 동안 계속하였다. 이때 비스 (4-니트로페닐) 카르보네이트 (80 mg, 263.1 μmol)를 첨가하고, 교반을 하룻밤 계속하였다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 80 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 325 mg의 **화합물 82**를 백색 래커로서 제공하였다 (98%).
- [1325] RMN ¹H (400 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.86 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.89 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.20 내지 1.45 (m, 4 H); 1.58 내지 1.76 (m, 2 H); 1.99 (m, 1 H); 2.27 (t, J = 6.8 Hz, 2 H); 3.00 (m, 2 H); 3.22 (s, 3 H); 3.40 내지 3.70 (m, 94 H); 3.91 (dd, J = 7.2 및 9.1 Hz, 1 H); 4.19 내지 4.32 (m, 3 H); 4.39 (m, 1 H); 5.24 (s, 2 H); 7.31 (dt, J = 1.2 및 7.8 Hz, 2 H); 7.40 (m, 4 H); 7.57 (d, J = 9.2 Hz, 2 H); 7.62 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 7.73 (m, 3 H); 7.89 (d, J = 7.8 Hz, 2 H); 8.07 (d, J = 7.8 Hz, 1 H); 8.31 (d, J = 9.2 Hz, 2 H); 10.10 (s, 1 H). LCMS (d): ES m/z = 827; m/z = 1836 [M+H]⁺; t_R = 3.38분.
- [1326] **화합물 83**: 4-((S)-80-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-74-옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75-아자헩옥타콘탄아미도)-벤질 4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질-카르바메이트
- [1327] DCM (5 mL) 중 (E)-(3S,10R,16S)-16-((S)-1-[(2R,3R)-3-(4-아미노메틸-페닐)-옥시라닐]-에틸)-10-(3-클로로-4-메톡시-벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-1,4-디옥사-8,11-디아자-시클로헥사데스-13-엔-2,5,9,12-테트라온 (이의 합성은 **국제 공개 제2011001052호**에 기술되어 있음, 화합물 77, 79 mg, 113.1 μmol)의 용액에 DCM (5 mL) 중 **화합물 82** (325 mg, 177.5 μmol)의 용액 및 DIEA (63 μL, 365.6 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 그 후 **화합물 82** (34 mg, 18.6 μmol)를 첨가하고, 교반을 4시간 동안 계속하였다. 상기 반응 매질을 진공에서 농축시키고, 25 g의 실리카 겔 및 15 g의 디올-변형 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 152 mg의 조 생성물을 제공하고, 이를 10 μm C18 컬럼 (250 x 40 mm)에서 역상 크로마토그래피 (구배 용출: MeCN/H₂O)에 의해 정제하여 78 mg의 Fmoc-보호 중간체 (16%의 **화합물 83**을 함유함)를 백색 분말로서 제공하였다 (29%).
- [1328] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.85 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.20 내지 1.43 (m, 5 H); 1.50 내지 1.74 (m, 4 H); 1.79 (m, 1 H); 1.99 (m, 1 H); 2.25 (m, 3 H); 2.68 (m, 2 H); 2.93 내지 3.04 (m, 5 H); 3.22 (s, 3 H); 3.32 (차폐 m, 2 H); 3.40 내지 3.76 (m, 94 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.0 Hz, 1 H); 3.90 (dd, J = 7.5 및 9.1 Hz, 1 H); 4.19 (d, J = 6.5 Hz, 2 H); 4.20 내지 4.33 (m, 4 H); 4.39 (m, 1 H); 4.90 (dd, J = 3.9 및 9.9 Hz, 1 H); 4.93 (s, 2 H); 5.11 (m, 1 H); 5.79 (dd, J = 1.8 및 15.2 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.8, 11.4 et 15.2 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.36 (m, 10 H); 7.41 (m, 3 H); 7.48 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 7.70 내지 7.80 (m, 5 H); 7.89 (d, J = 7.8 Hz, 2 H); 8.08 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 8.35 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 10.04 (s, 1 H).
- [1329] DMF (5 mL) 중 이 중간체 (75 mg, 31.3 μmol)의 용액에 피페리딘 (25 μL, 253.2 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1 h 30 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 58 mg의 **화합물 83**을 백색 래커로서 제공하였다 (85%).
- [1330] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.78 (d, J = 6.9 Hz, 9 H); 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.05 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.15 내지 1.50 (m, 7 H); 1.52 내지 1.73 (m, 4 H); 1.80

(m, 1 H); 1.93 (m, 1 H); 2.27 (m, 3 H); 2.69 (m, 2 H); 2.95 내지 3.04 (m, 6 H); 3.23 (s, 3 H); 3.32 (m, 1 H); 3.40 내지 3.55 (m, 92 H); 3.57 (t, J = 6.8 Hz, 2 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.2 Hz, 1 H); 4.20 (d, J = 6.5 Hz, 2 H); 4.24 (ddd, J = 3.9, 8.2 및 12.0 Hz, 1 H); 4.42 (m, 1 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.98 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.8 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.8, 6.0 및 11.5 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.31 (m, 8 H); 7.58 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 7.78 (m, 2 H); 8.10 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 8.36 (d, J = 8.1 Hz, 1 H); 10.10 (s, 1 H). LCMS (d): ES m/z = 725; m/z = 1087 [M+2H]²⁺; t_R = 1.07분.

[1331] **실시예 38**: (80S,83S)-80-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)메틸)-페닐)카르바모일)-83-이소프로필-74,82,85-트리옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35, 38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75,81,84-트리아자노나옥타콘탄-89-오익산

[1332] DCM (2 mL) 중 **화합물 83** (58 mg, 26.7 μmol)의 용액에 글루타르산 무수물 (5.5 mg, 48.2 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g 및 12 g의 실리카 겔에서 2회의 연이은 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 71 mg의 **실시예 38**을 백색 래커로서 제공하였다 (61%).

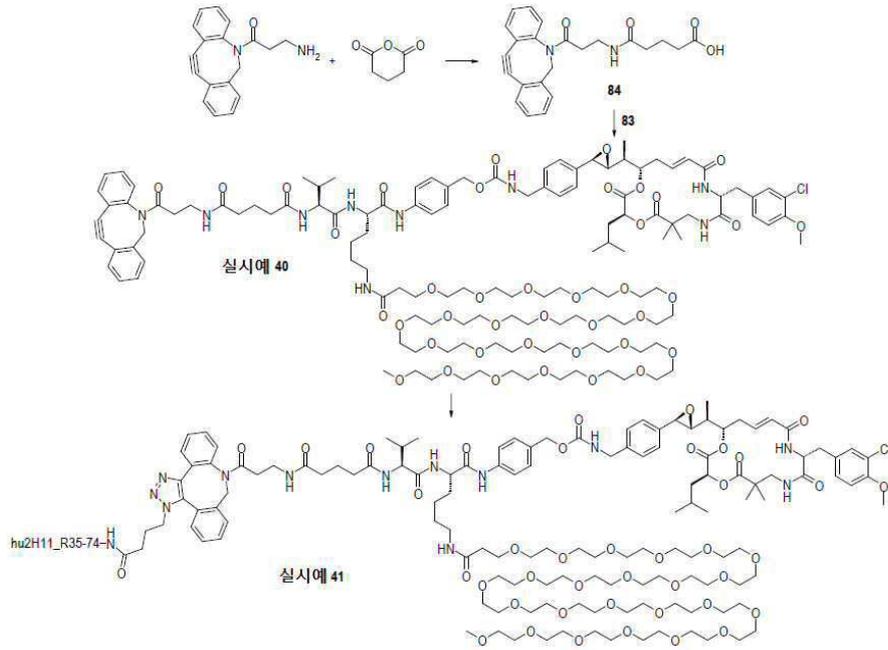
[1333] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.79 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.93 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.97 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.20 내지 1.45 (m, 5 H); 1.51 내지 1.75 (m, 6 H); 1.80 (m, 1 H); 2.00 (m, 1 H); 2.13 내지 2.33 (m, 7 H); 2.69 (m, 2 H); 2.95 내지 3.05 (m, 5 H); 3.23 (s, 3 H); 3.32 (m, 1 H); 3.40 내지 3.58 (m, 94 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.2 Hz, 1 H); 4.15 내지 4.38 (m, 4 H); 4.32 (m, 1 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.98 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.2 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.8, 11.4 및 15.2 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.16 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.60 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 7.78 (t, J = 6.5 Hz, 1 H); 7.90 (브로드 d, J = 8.6 Hz, 2 H); 8.20 (m, 1 H); 8.38 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 10.08 (m, 1 H); 12.10 (m, 1 H). LCMS (d): ES m/z = 698; m/z = 2287 [M+H]⁺; t_R = 3.13분.

[1334] **실시예 39**: (80S,83S)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일 80-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자-시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)옥시)메틸)페닐)카르바모일)-83-이소프로필-74,82,85-트리옥소-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-테트라코사옥사-75,81,84-트리아자노나옥타콘탄-89-오에이트

[1335] THF (3 mL) 중 **실시예 38** (29 mg, 12.7 μmol)의 용액에 DSC (3.6 mg, 13.8 μmol) 및 DIEA (2.1 μL, 12.9 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 20시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/iPrOH)에 의해 정제하여 6.9 mg의 **실시예 39**를 무색 래커로서 제공하였다 (23%).

[1336] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 0.79 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.93 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 0.97 (d, J = 7.0 Hz, 3 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J=7,1 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.13 내지 1.42 (m, 5 H); 1.52 내지 1.88 (m, 7 H); 1.98 (m, 1 H); 2.28 (m, 5 H); 2.53 내지 2.72 (m, 4 H); 2.80 (s, 4 H); 2.96 내지 3.05 (m, 5 H); 3.23 (s, 3 H); 3.32 (m, 1 H); 3.60 내지 3.65 (m, 94 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.2 Hz, 1 H); 4.15 내지 4.28 (m, 4 H); 4.33 (m, 1 H); 4.90 (dd, J = 3.8 및 9.8 Hz, 1 H); 4.98 (s, 2 H); 5.10 (m, 1 H); 5.79 (d, J = 15.8 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.8, 11.4 및 15.2 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.17 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 8 H); 7.60 (d, J = 8.6 Hz, 2 H); 7.78 (m, 2 H); 7.90 (d, J = 8.5 Hz, 1 H); 8.07 (m, 2 H); 8.37 (d, J = 8.5 Hz, 2 H); 9.95 (s, 1 H). LCMS (D): ES m/z = 698; m/z = 2384 [M+H]⁺; t_R = 3.19분.

[1337] 실시예 40 및 실시예 41: DBCO-글루타릴-Val-PEG24Lys-PABA-C52 벤질릭 아민 및 상응하는 ADC의 합성



[1338]

[1339] **화합물 84:** 5-[[3-(11,12-디테히드로디벤즈[b,f]아조신-5(6H)-일)-3-옥소프로필]아미노]-5-옥소펜탄산

[1340] DCM (2 mL) 중 DBCO-아민 (50 mg, 180.9 μmol)의 용액에 글루타르산 무수물 (21.1 mg, 180.9 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH)에 의해 정제하여 32.6 mg의 **화합물 84**를 제공하였다 (45%).

[1341] ^1H RMN (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 1.59 (m, 2 H); 1.81 (m, 1 H); 1.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 2 H); 2.11 (t, $J = 7.4$ Hz, 2 H); 2.40 (m, 1 H); 2.91 (m, 1 H); 3.09 (m, 1 H); 3.62 (d, $J = 14.2$ Hz, 1 H); 5.13 (d, $J = 14.2$ Hz, 1 H); 7.38 내지 7.53 (m, 6 H); 7.56 내지 7.67 (m, 3 H); 12.05 (브로드 m, 1 H).

[1342] **실시예 40:** DBCO-글루타릴-Val-PEG24Lys-PABA-C52 벤질릭 아민

[1343] DCM (2 mL) 중 **화합물 83** (22 mg, 10.1 μmol)의 용액에 **화합물 84** (5.14 mg, 13.2 μmol), EDC (1.8 μL , 10.1 μmol) 및 HOBt (1.4 mg, 10.1 μmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 진공에서 농축시키고, C18-변형 5 μm 컬럼 150 mm x 30 mm에서 역상 크로마토그래피 (구배 용출: MeCN/0.2 N 아세트산암모늄 (pH 5.6))에 의해 정제하여 9.2 mg의 **실시예 40**을 백색 분말로서 제공하였다 (36%).

[1344] ^1H RMN (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.78 (d, $J = 6.8$ Hz, 6 H); 0.80 내지 0.90 (m, 6 H); 1.00 (s, 3 H); 1.05 (d, $J = 7.1$ Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.20 내지 1.41 (m, 5 H); 1.52 내지 1.72 (m, 6 H); 1.75 내지 2.00 (m, 5 H); 2.09 (m, 2 H); 2.27 (m, 3 H); 2.40 (m, 1 H); 2.68 (m, 2 H); 2.88 내지 3.12 (m, 7 H); 3.23 (s, 3 H); 3.28 내지 3.58 (부분 차폐 m, 95 H); 3.60 (d, $J = 11.0$ Hz, 1 H); 3.80 (s, 3 H); 3.88 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H); 4.11 내지 4.28 (m, 4 H); 4.33 (m, 1 H); 4.90 (dd, $J = 3.8$ 및 9.8 Hz, 1 H); 4.97 (s, 2 H); 5.04 (d, $J = 11.0$ Hz, 1 H); 5.11 (m, 1 H); 5.80 (d, $J = 15.2$ Hz, 1 H); 6.47 (ddd, $J = 3.8, 11.4$ 및 15.2 Hz, 1 H); 7.05 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H); 7.17 (dd, $J = 2.4$ 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.31 (m, 6 H); 7.32 내지 7.50 (m, 6 H); 7.53 내지 7.70 (m, 4 H); 7.80 (m, 3 H); 8.08 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H); 8.36 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H); 9.95 (s, 1 H). LCMS (D): ES $m/z = 849$ [$M+3H$] $^{3+}$; $m/z = 1273$ [$M+2H$] $^{2+}$; $t_R = 5.29$ 분.

[1345] **실시예 41:** hu2H11_R35-74-Ex40

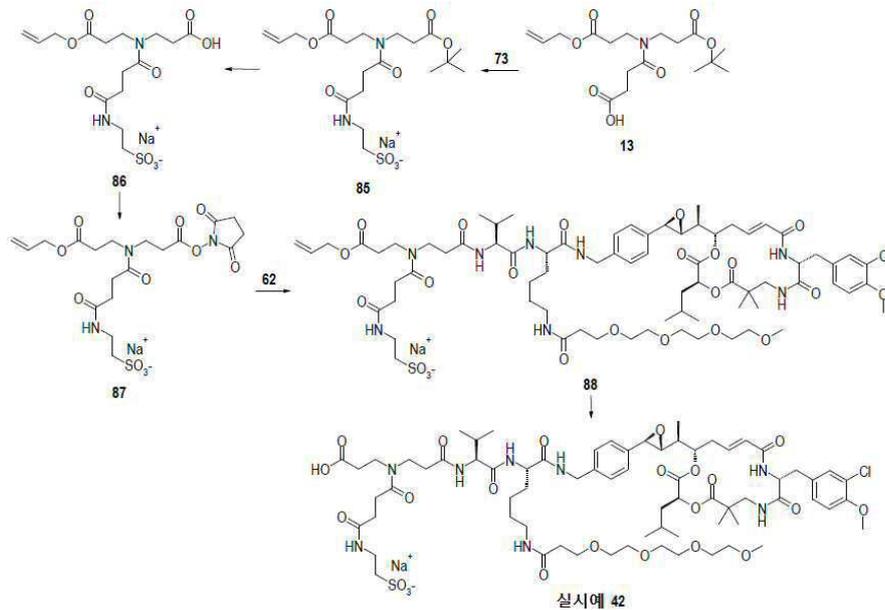
[1346] 완충제 A 중 194 mg의 hu2H11_R35-74를 DMA 중 22.0 mM의 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 4-아지도부타노에이트(CAS 번호 [943858-70-6])의 용액 (10 당량) 627 μL 와 반응시켰다(예컨대 최종 항체 농도는 10.5 mg/mL이고 완충제 A 중 DMA의 백분율은 5%였다). 실온에서 2시간 동안 교반시킨 후, 상기 혼합물을 완충제 A에서 사전 평형화한 세파텍스™ G25 매트릭스 (하이프랩 26/10 탈염 컬럼, 지이헬스케어)를 사용하여 겔 여과에 의해 정제하였다. 단

량체성 변형 항체를 함유하는 분획을 모으고, 스테리플립(Steriflip)® 필터 유닛 (0.22 μm 듀라포어 (Durapore)® PVDF 막, 밀리포어)을 통하여 여과시켜 5.75 mg/mL의 농도의 변형 항체 173 mg을 제공하였으며, 이때 항체당 링커의 비는 5.2 (HRMS)이고, 단량체 순도는 97%이고, 전체 수율은 89%였다.

[1347] 이전에 설명한 일반적인 방법을 **실시예 41**의 제조에 사용하였다. 45 mg의 변형 hu2H11_R35-74를 DMA 중 **실시예 40**의 6.89 mM 용액 (14 당량) 604 μL와 4 h 30 동안 반응시키고, 그 후 DMA 중 **실시예 40**의 10 mM 용액 (14 당량) 604 μL를 첨가하고, 교반을 실온에서 하룻밤 계속하였다. 완충제 B (pH 6.5) + 20% NMP에서의 수퍼텍스 200 pg에서의 정제, 아미콘 울트라-15에서의 농축, 완충제 B (pH 6.5) + 5% NMP에서의 PD-10에서의 겔 여과 및 0.22 μm PVDF 필터에서의 여과 후, 28 mg의 **실시예 41**을 1.6 mg/mL의 농도로 무색 투명 용액으로 수득하였으며, 이때 DAR은 3.44 (HRMS)이고, 단량체 순도는 99.6%이고, 수율은 62%였다.

[1348] SEC-HRMS: m/z = 152041 (D1); m/z = 154678 (D2); m/z = 157332 (D3); m/z = 159992 (D4); m/z = 162648 (D5); m/z = 165303 (D6); m/z = 168004 (D7).

[1349] **실시예 42: 술폰-Val-PEG4Lys-C52 벤질릭 아민의 합성**



[1350] **화합물 85**: 소듐 2-(4-((3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)(3-(tert-부톡시)-3-옥소프로필)아미노)-4-옥소부탄아미도)에탄-1-술포네이트

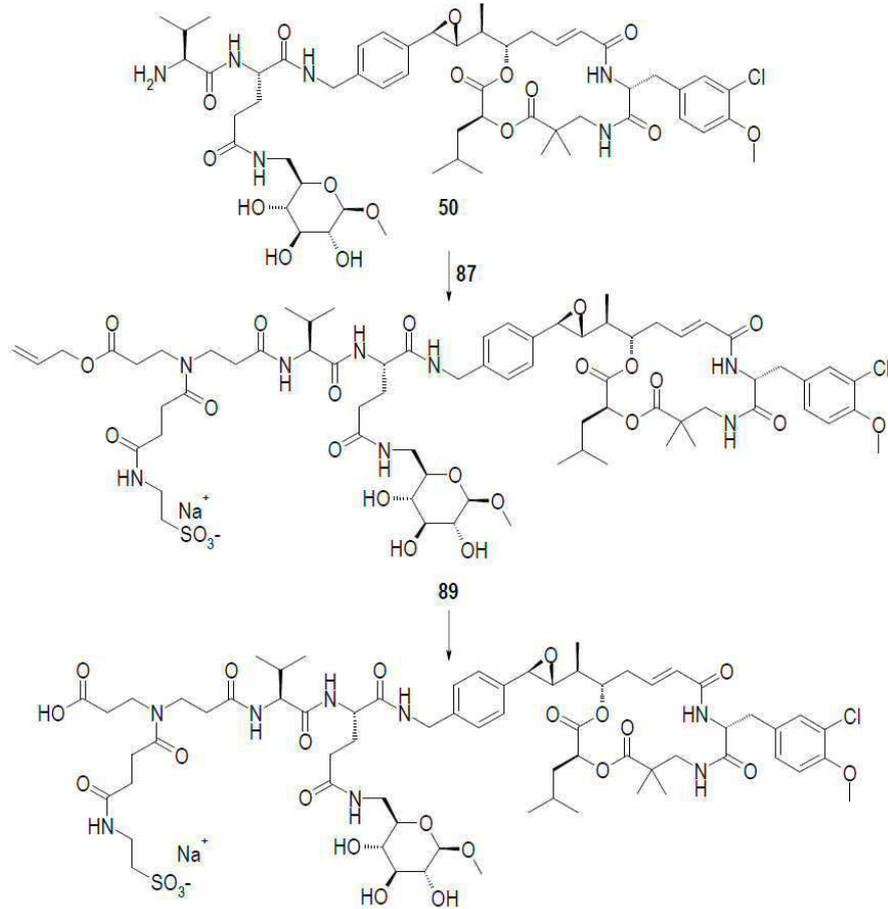
[1352] DMF (5 mL) 중 **화합물 13** (0.958 g, 2.68 mmol)의 용액에 NHS (390.3 mg, 3.32 mmol) 및 EDC (604.2 μL, 3.4 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 그 후 -20°C에서 2일간 보관하였다. 실온으로 되돌린 후, 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 그 후, EDC (60 μL, 340 μmol), 및 DMF (3 mL) 중 NHS (20 mg, 170.3 μmol)의 용액을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, 그 후 H₂O (10 mL) 중 **화합물 73** (1.96 g, 13.3 mmol)의 용액 및 탄산수소나트륨 (225.2 mg, 2.68 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, H₂O (6 mL)로 희석시키고, 앰버라이트 IR-120 (H)(CAS 번호 [78922-04-4])을 이용하여 pH 3까지 산성화하고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 270 mg의 **화합물 85**를 무색 폼으로서 제공하였다 (21%).

[1353] ¹H NMR (400 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 50:50의 형태체 혼합물; 1.39 (s, 4.5 H); 1.40 (s, 4.5 H); 2.27 (t, J = 7.0 Hz, 4 H); 2.38 (t, J = 7.0 Hz, 2 H); 3.53 (m, 3 H); 2.68 (t, J = 7.0 Hz, 1 H); 3.25 내지 3.61 (m, 6 H); 4.55 내지 4.58 (m, 2 H); 5.18 내지 5.36 (m, 2 H); 5.90 (m, 1 H); 7.70 (t, J = 6.8 Hz, 1 H); 10.53 (브로드 m, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 409; m/z = 463 [M-H]⁻; m/z = 465 [M+H]⁺; t_R = 1.13분.

[1354] **화합물 86**: 소듐 2-(4-((3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)(2-카르복시에틸)아미노)-4-옥소부탄아미도)에탄-1-술포네이트

- [1355] DCM (4 mL) 중 **화합물 85** (60 mg, 123.3 μmol)의 용액에 TFA (100 μL , 1.25 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 그 후 TFA (100 μL , 1.25 mmol)를 첨가하고, 교반을 실온에서 2일 동안 계속하였다. 그 후 TFA (50 μL , 0.625 mmol)를 첨가하고, 상기 반응 매질을 실온에서 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 톨루엔과 함께 공동-증발시켜 (3회), 60 mg의 **화합물 86**을 무색 래커로서 제공하였다 (정량적).
- [1356] **화합물 87**: 소듐 2-(4-((3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)(3-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-3-옥소프로필)아미노)-4-옥소부탄아미도)에탄-1-술포네이트
- [1357] DCM (5 mL) 중 **화합물 86** (52.94 mg, 123 μmol)의 용액에 EDAC (26.0 μL , 147.6 μmol), NHS (14.75 mg, 123 μmol) 및 DMF (0.5 mL)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시키고, 그 후 EDC (10 μL , 45.7 μmol)를 첨가하고, 교반을 실온에서 하룻밤 계속하였다. 상기 반응 매질을 -20°C 에서 보관하고, 화합물 88의 합성에 그대로 사용하였다.
- [1358] **화합물 88**: 소듐 (20S,23S)-28-(2-알릴옥시-2-카르복시에틸)-20-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-23-이소프로필-14,22,25,29,32-펜타옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15,21,24,28,33-펜타아자펜타트리아콘탄-35-술포네이트
- [1359] Ar 하에, DCM (4 mL) 중 **화합물 62** (50 mg, 43.7 μmol)의 용액에 **화합물 87** (23.06 mg, 43.7 μmol)을 함유하는 반응 매질을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 15분 동안 교반시키고, 진공에서 농축시키고, 15 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DMC/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 26 mg의 **화합물 88**을 백색 래커로서 제공하였다 (38%).
- [1360] **실시예 42**: 소듐 (20S,23S)-28-(2-카르복시에틸)-20-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-23-이소프로필-14,22,25,29,32-펜타옥소-2,5,8,11-테트라옥사-15,21,24,28,33-펜타아자펜타트리아콘탄-35-술포네이트
- [1361] THF 중 **화합물 88** (14 mg, 9 μmol)의 용액에 디메돈 (2.57 mg, 18.0 μmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (0) (5.3 mg, 4.5 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 그 후 디메돈 (2.57 mg, 18.0 μmol) 및 테트라키스(트리페닐-포스핀)팔라듐 (0) (5.3 mg, 4.5 μmol)을 첨가하고, 교반을 실온에서 하룻밤 계속하였다. 이때, 디메돈 (2.57 mg, 18.0 μmol) 및 테트라키스(트리페닐-포스핀)팔라듐 (0) (5.3 mg, 4.5 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 4시간 동안 교반시키고, 여과시키고, 진공에서 농축시키고, 4 g의 실리카 겔에서 플래시 크로마토그래피 (구배 용출: DCM/MeOH/H₂O)에 의해 정제하여 7 mg의 **실시예 42**를 백색 래커로서 제공하였다 (51%).
- [1362] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 50:50의 형태체 혼합물; 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.81 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.86 (m, 6 H); 1.00 (s, 3 H); 1.04 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.15 내지 1.41 (m, 5 H); 1.53 내지 1.70 (m, 4 H); 1.80 (m, 1 H); 2.00 (m, 1 H); 2.11 내지 2.58 (부분 차폐 m, 13 H); 2.70 (m, 2 H); 2.92 내지 3.05 (m, 5 H); 3.23 (s, 3 H); 3.25 내지 3.58 (부분 차폐 m, 23 H); 3.81 (s, 3 H); 3.88 (d, J = 2.0 Hz, 1 H); 4.10 내지 4.32 (m, 5 H); 4.91 (dd, J = 3.8 및 9.9 Hz, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.80 (d, J = 15.2 Hz, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.8, 11.4 및 15.2 Hz, 1 H); 7.06 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.18 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.20 내지 7.32 (m, 6 H); 7.67 내지 7.93 (m, 3 H); 8.18 내지 8.60 (m, 4 H). LCMS (E): ES m/z = 747.5 [M+2H]²⁺; m/z = 1491 [M-H]⁻; m/z = 1493 [M+H]⁺; t_R = 4.74분.

[1363] 실시예 43: 술폰-Val-글루코스Gln-C52 벤질릭 아민의 합성



실시예 43

[1364]

[1365] **화합물 89**: 소듐 (6S,9S)-14-(3-(알릴옥시)-3-옥소프로필)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R, 16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-9-이소프로필-3,8,11,15,18-펜타옥소-1-((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-일)-2,7,10,14, 19-펜타아자헵타코산-21-술폰네이트

[1366] DMF (3 mL) 중 **화합물 50** (55 mg, 49.9 μmol)의 용액에 DMF 중 **화합물 87**의 용액 (1.66 mL, 30 mM, 49.9 μmol)을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 18시간 동안 교반시키고, 0.45 μm에서 여과시키고, DMF (0.8 mL)로 2회 세척하고, 5 μm C18 컬럼 30 x 150 mm에서 역상 크로마토그래피 (구배 용출: MeCN/0.2 N 아세트산 암모늄 (pH 5.6))에 의해 정제하여 19.8 mg의 **화합물 89**를 백색 고형물로서 제공하였다 (26%).

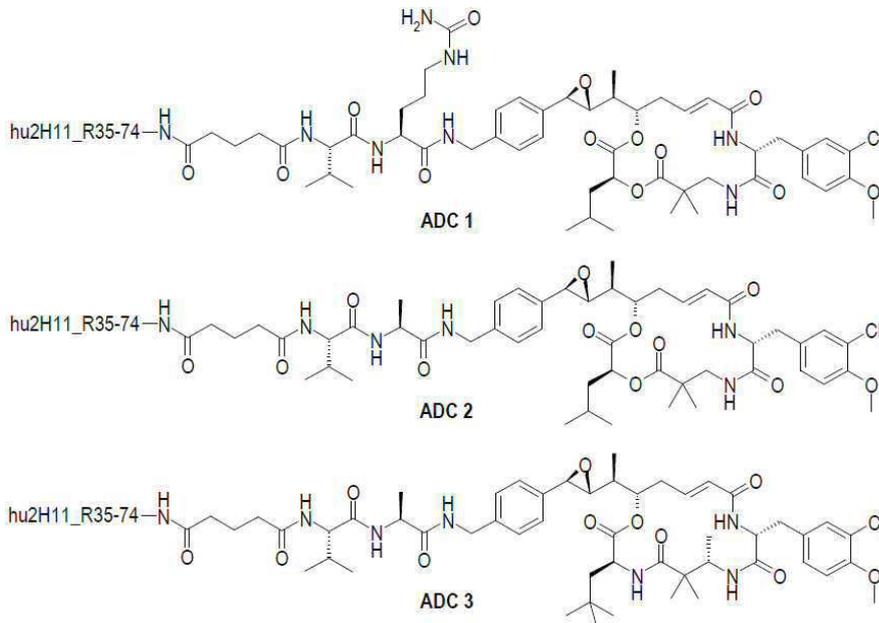
[1367] RMN ¹H (500 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): 60:40의 형태체 혼합물; 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.81 (d, J = 6.8 Hz, 6 H); 0.81 내지 0.87 (m, 6 H); 0.99 (s, 3 H); 1.03 (d, J = 7.1 Hz, 3 H); 1.12 (s, 3 H); 1.30 (m, 1 H); 1.52 내지 1.62 (m, 2 H); 1.80 (m, 3 H); 1.85 내지 2.00 (m, 3 H); 2.10 내지 2.30 (m, 5 H); 2.35 내지 2.48 (m, 2 H); 2.53 (m, 6 H); 2.68 (m, 2 H); 2.88 내지 3.15 (m, 9 H); 3.28 (m, 3 H); 3.38 (m, 3 H); 3.40 내지 3.58 (m, 5 H); 3.80 (s, 3 H); 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 1 H); 4.01 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); 4.10 내지 4.24 (m, 6 H); 4.55 (m, 1.2 H); 4.57 (0.8 H); 4.91 (dd, J = 3.8 et 9.9 Hz, 1 H); 4.95 (d, J = 5.0 Hz, 1 H); 5.01 (d, J = 5.0 Hz, 1 H); 5.06 (d, J = 5.0 Hz, 1 H); 5.10 (m, 1 H); 5.18 내지 5.35 (m, 2 H); 5.80 (dd, J = 2.0 및 15.2 Hz, 1 H); 5.92 (m, 1 H); 6.47 (ddd, J = 3.8, 11.4 및 15.2 Hz, 1 H); 7.06 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.18 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.23 (m, 5 H); 7.29 (d, J = 2.4 Hz, 1 H); 7.69 (t, J = 6.8 Hz, 1 H); 7.88 (t, J = 6.8 Hz, 1 H); 7.98 (d, J = 9.0 Hz, 0.4 H); 8.04 (d, J = 7.0 Hz, 0.4 H); 8.08 (d, J = 9.0 Hz, 0.6 H); 8.14 (d, J = 7.0 Hz, 0.6 H); 8.32 (t, J = 7.0 Hz, 1 H); 8.38 (d, J = 8.0 Hz, 1 H). LCMS (A): ES m/z = 746.5 [M+2H]²⁺; m/z = 1490 [M-H]⁻; m/z = 1492 [M+H]⁺; t_R = 1.4분.

[1368] **실시예 43**: 소듐 (6S,9S)-14-(2-카르복시에틸)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-클로로-4-메톡시벤질)-3-이소부틸-6,6-디메틸-2,5,9,12-테트라옥소-1,4-디옥사-8,11-디아자시클로헥사데스-13-엔-16-일)에틸)옥시란-2-일)벤질)카르바모일)-9-이소프로필-3,8,11,15,18-펜타옥소-1-((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-메톡시테트라히드로-2H-피란-2-일)-2,7,10,14,19-펜타아자헵타코산-21-술포네이트

[1369] DMF (1 mL) 중 **화합물 89** (19 mg, 12.6 μmol)의 용액에 바르비투르산 (5.94 mg, 37.7 μmol) 및 DMF (0.5 mL) 중 테트라키스 (트리페닐포스핀)팔라듐(0) (0.74 mg, 0.63 μmol)의 용액을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 3시간 동안 교반시키고, 그 후 바르비투르산 (5.94 mg, 37.7 μmol), 및 DMF (0.5 mL) 중 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (0.74 mg, 0.63 μmol)의 용액을 첨가하였다. 상기 반응 매질을 실온에서 하룻밤 교반시키고, DMF로 희석시키고, 0.45 μm 에서 여과시키고, 5 μm C18 컬럼 30 x 150 mm에서 2회의 연이은 역상 크로마토그래피 (구배 용출: MeCN/0.2 N 아세트산암모늄 (pH 5.6))에 의해 정제하여 4.7 mg의 **실시예 43**을 백색 고형물로서 제공하였다 (25%).

[1370] ^1H NMR (500 MHz, δ ppm, DMSO-*d*6): 0.80 (m, 6 H); 0.85 (m, 6 H); 0.99 (s, 3 H); 1.03 (d, J = 7.3 Hz, 3 H); 1.11 (s, 3 H); 1.33 (m, 1 H); 1.58 (m, 2 H); 1.78 (m, 2 H); 1.90 (m, 2 H); 2.03 내지 2.55 (부분 차폐 m, 11 H); 2.70 (m, 2 H); 2.90 내지 3.58 (부분 차폐 m, 19 H); 3.18 (s, 3 H); 3.81 (s, 3 H); 3.88 (s, 1 H); 4.00 내지 4.40 (m, 8 H); 4.90 (m, 1 H); 4.99 (m, 1 H); 5.80 (d, J = 15.2 Hz, 1 H); 6.46 (ddd, J=3.8, 11.4 및 15.2 Hz, 1 H); 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H); 7.18 (dd, J = 2.4 및 8.6 Hz, 1 H); 7.22 (m, 4 H); 7.29 (d, J = 2.4 Hz, 1 H); 7.31 (m, 1 H); 8.30 내지 8.70 (m, 5 H). LCMS (A): ES m/z = 1448 [M-H]⁻; m/z = 1450 [M+H]⁺; t_R = 1.58분.

[1371] 예시 목적을 위하여, **국제 공개 제2011/001052호**로부터 유도된 2가지 콘주게이트, ADC1 및 ADC2(아래에 도시됨), 및 **PCT/EP2016/076603**에 기술된 1가지의 콘주게이트, ADC3(아래에 도시됨)을 또한 테스트하였다.



[1372]
[1373] **물리화학적 결과**

[1374] 화학식 V의 콘주게이트의 안정성을 연구하여, 가속화 스트레스 조건(40°C에서 10일간의 가열) 하에서 제형화에 사용한 유기 공용매의 제거시에 DAR의 손실 및 응집(단량체 순도를 봄)을 평가하였다.

[1375] **NMP의 부재 하에서의 안정성**

[1376] 10 mM 포스페이트, 140 mM NaCl (pH6.5), 5% NMP에서 보관한 ADC를 SEC 컬럼에서 여과시켜 NMP를 제거하고, 10 mM 포스페이트, 70 mM NaCl, 5% 수크로스 (pH6.5)에서 제형화하고, HRMS 및 SEC HPLC에 의해 분석하여 DAR 및 단량체 순도를 결정하였다.

[1377] [표 I]

	5% NMP		NMP 없음		ΔDAR (%)	Δ%단량체 (%)	단백질 회수율
	DAR	%단량체	DAR	%단량체			
ADC1	4.1	99	3.25	88.7	-21%	-10%	정량적
ADC3	3.5	99.7	3.5	99.5	0%	-0.2%	n.d.
실시예 3	3.4	99.8	3.2	99.7	-6%	-0.1%	88%
실시예 6	4.05	99	3.4	99	-16%	0%	75%
실시예 16*	2.5	99.8	2.3	99.8	-8%	0%	73%
실시예 19	2.8	97.9	2.4	97.8	-14%	-0.1%	72%
실시예 23*	2.9	100	2.4	100	-17%	0%	76%
실시예 26	3.9	100	3.9	100	0%	0%	n.d.
실시예 29	4	98.4	3.9	100	-2.5%	0%	76%
실시예 32	2.8	95.1	2.9	94.1	0	-11%	82%

[1378]

[1379] *4℃에서 10개월 후, 유의한 응집이 실시예 6 및 실시예 23에 대하여 관찰되었으며 (단량체 순도 면에서 각각 -22% 및 -19%), 따라서 상기 둘 다의 배치는 수퍼텍스 200 pg에서 겔 여과에 의해 정제한 후 안정성 연구를 수행함.

[1380] 포스페이트 완충제에서의 40℃에서의 10일 후 안정성

[1381] 10 mM 포스페이트, 70 mM NaCl, 5% 수크로스(pH6.5) 중 ADC를 40℃에서 10일 동안 가열하고, HRMS 및 SEC HPLC에 의해 분석하여 DAR 및 단량체 순도를 결정하였다.

[1382] [표 II]

	t0		40℃에서 10일 후		ΔDAR (%)	Δ%단량체 (%)	단백질 회수율
	DAR	%단량체	DAR	%단량체			
ADC1	3.25	88.7	3.0	85.7%	-8%	-3%	56%
ADC3	3.5	99.5	3	85	-14%	-15%	46%
실시예 3	3.2	99.7	2.9	92	-9%	-8%	96%
실시예 6	3.4	99	3.3	97	-3%	-2%	91%
실시예 16	2.3	99.8	1.8	93.8	-22%	-6%	89%
실시예 19	2.4	97.8	1.8	92.9	-25%	-5%	정량적
실시예 23	2.4	100	2.4	91.6	0%	-8%	91%
실시예 26	3.9	100	3.6	100	-8%	0%	n.d.
실시예 29	3.9	100	3.9	98.7	0%	-1%	97%
실시예 32	2.9	94.1	2.7	89.8	-7%	-5%	95%
실시예 41	3.3	97.9	3.05	75.3	-7.5%	-23%	정량적

[1383]

[1384] 카텡신 B에 의한 화학식 V의 콘쥬게이트의 처리 후의 약물 방출의 평가

[1385] 카텡신 B에 의한 약물 방출은, 아세테이트 완충제(pH 5)에서 인간 카텡신 B(칼바이오켄(Calbiochem) #219362, 40 μg/mL)의 존재 하에 37℃에서 24시간 동안 ADC (1.5 μg/mL)를 인큐베이션하고, UPLC-MS-SIR-DAD-ELSD에 의해 상기 약물을 검출함으로써 시험관 내에서 평가하였다. 슬로프는 처음 1시간에 걸친 동역학을 기반으로 하여 결정하였으며, 반감기는 24시간의 동역학을 기반으로 하여 결정하였다.

[1386] [표 III]

	슬로프	t _{1/2} (h)
ADC1	34.3	2
ADC2	14.1	15
실시예 16	12.8	> 24
실시예 19	22.3	3.5
실시예 23	19.3	6
실시예 32	33.5	2

[1387]

[1388] 화학식 V의 크립토피신 콘주게이트를 인간 카텡신 B에 의해 절단하였으며, 이때 동역학은 기준 ADC들 중 하나와 유사하였다.

[1389] **약리학적 결과**

[1390] 화학식 V의 콘주게이트는 이의 항종양 활성의 결정을 위하여 생리학적 테스트를 하였다.

[1391] **화학식 V의 콘주게이트에 의한 MDA-MB-231 세포주 증식 억제의 평가**

[1392] 대수 성장기의 MDA-MB-231 세포를 트립신 처리하고, 그의 배양 배지 (DMEM/F12 (깁코(Gibco) #21331), 10% FCS (깁코 #10500-056), 2 nM 글루타민 (깁코 #25030))에 재현탁시켰다. 상기 세포 현탁물을 사이토스타(Cytostar) 96웰 배양 플레이트(지이 헬스케어 유럽, #RPNQ0163)에, 혈청을 함유하는 전체 배양 배지 중에 5000개의 세포/웰의 밀도로 접종하였다. 4시간 동안 인큐베이션한 후, ADC의 연속 희석물을 10⁻⁷ M로부터 10⁻¹² M까지 감소하는 농도로(각 농도에 대해 삼중으로) 상기 웰에 첨가하였다. 세포를 ADC의 존재 하에 5% CO₂를 함유하는 분위기에 서 37°C에서 3일 동안 배양하였다. 제4일에, 10 μL의 ¹⁴C-티미딘 용액 (0.1 μCi/웰, 퍼킨 엘머 #NEC56825000)을 각각의 웰에 첨가하였다. 마이크로베타 방사능 계수기(퍼킨 엘머)를 이용하여 실험을 시작한지 96시간 후에 ¹⁴C-티미딘의 혼입을 측정하였다. ADC로 처리한 세포에서 얻어진 감소 카운트와 (배양 배지만으로 처리한) 대조 웰의 세포에서 얻어진 카운트 사이의 비를 결정함으로써, 데이터를 생존 백분율의 형태로 표현하였다. 특정 실험에서, 네이키드 항체를 실험 시작시에 1 μM의 농도로 웰에 첨가하고, 증식 억제를 이전에 설명한 바와 같이 측정하였다.

[1393] [표 IV]

	IC ₅₀ (pM), MDA-MB-231		선택성 비
	ADC 단독	네이키드 항체의 존재 하에	
ADC1	42	4571	109
ADC2	46	9377	204
실시예 3	19	5602	295
실시예 6	22	7417	337
실시예 16	39	13908	357
실시예 19	29	18243	629
실시예 23	37	9022	243
실시예 26	27	33689	1248
실시예 29	67	> 100000	> 1493
실시예 32	25	7953	318
실시예 35	25	11272	451
실시예 41	34	5043	148

[1394]

[1395] 화학식 V의 크립토피신 콘쥬게이트와, ADC1 및 ADC2는 MDA-MB-231 세포주의 증식을 억제하는 것으로 밝혀졌으며, 이때 IC₅₀은 19 pM 내지 67 pM의 범위이고, ADC 단독 대 ADC + 네이키드 항체의 선택성 비는 109와 > 1493 사이였다.

[1396] SCID 마우스에서 단회 정맥내 투여 후 화학식 V의 콘쥬게이트의 MTD의 결정

[1397] MTD는 개별 마우스에 있어서 3 연속일 동안 15%의 체중 손실 또는 1일 동안 20%의 체중 손실 또는 사망을 유도하지 않는 최대 용량으로 결정되었다. 이것은 3마리의 암컷 SCID 마우스 마우스에서의 단회 정맥내(i.v.) 볼루스 주사 후 및 처리 후 28일의 기간 동안 평가하였다.

[1398] [표 V]

	MTD (mg/kg)
ADC1	20
ADC2	30
실시예 3	30
실시예 6	> 40
실시예 16	n.d.
실시예 19	n.d.
실시예 23	n.d.
실시예 26	30
실시예 29	40
실시예 32	n.d.
실시예 35	n.d.
실시예 41	30

[1399]

[1400] 테스트한 화학식 V의 크립토피신 콘쥬게이트는 SCID 마우스에서 30 mg/kg으로부터 ≥ 40 mg/kg까지의 범위의 MTD를 나타냈다.

[1401] 단회 정맥내 투여 후 SCID 마우스에서 MDA-MB-231에 대한 화학식 V의 콘쥬게이트의 생체 내 항종양 활성의 평가

[1402] 생체 내 항종양 활성은 암컷 SCID 마우스에서 피하 이식된 측정가능 유방 MDA-MB-231 이종이식편에 대하여 3가지의 용량-수준에서 평가하였다. 대조군은 처리하지 않은 채로 두었다. 콘주게이트를 단회 정맥내 볼루스 주사에 의해 투여하고, 처리일을 각각의 그래프에서 화살표 (▼)로 표시하였다.

[1403] 콘주게이트의 항종양 활성 평가를 위해, 동물들의 체중을 매주 2회 측정하고, 종양을 캘리퍼스로 매주 2회 측정하였다. 동물 체중은 종양 중량을 포함하였다. 종양 부피는 다음 식을 이용하여 계산하였다: $\text{매스 (mm}^3\text{)} = [\text{길이 (mm)} \times \text{폭 (mm)}^2] / 2$. 제1 효능 종말점은 $\Delta T / \Delta C$, 퍼센트 중간 퇴행(percent median regression), 부분 및 완전 관해(PR 및 CR)였다. 각각의 치료군(T)과 대조군(C)의 종양 부피의 변화는 각 종양에 대해, 특정 관찰일의 종양 부피로부터 제1 처리일(병기 결정일)의 종양 부피를 감산하여 계산하였다. ΔT 중간값을 치료군에 대해 계산하였고, ΔC 중간값을 대조군에 대해 계산하였다. 그 후, $\Delta T / \Delta C$ 비를 계산하고, 백분율로 표현하였다: $\Delta T / \Delta C = (\text{델타 T} / \text{델타 C}) \times 100$.

[1404] 종양 퇴행 백분율은 제1 치료의 제1일(t_0)의 종양 부피와 비교하여, 특정 관찰일(t)에서의 치료군에서의 종양 부피 감소의 %로 정의되었다. 특정 시점에서의 각 동물에 대한 퇴행 %를 계산하였다. 그 후, 퇴행 % 중간값을 상기 군에 대해 계산하였다. 퇴행%(t에서) = $[(\text{부피}_{t_0} - \text{부피}_t) / \text{부피}_{t_0}] \times 100$. 퇴행은, 종양 부피가 처리 시작 시 종양 부피의 50%까지 감소하는 경우, 부분적인(PR) 것으로 정의되었으며, 종양 부피가 측정될 수 없는 경우(0 mm^3), 완전한(CR) 것으로 정의되었다. 종양이 없는 생존자 (TFS)는 연구 종료시에(마지막 처리 후 >100일) 검출 가능하지 않은 종양을 갖는 동물로 정의되었다.

[1405] [표 VI]

단회 정맥내 투여 후 SCID 마우스에서 MDA-MB-231에 대한 실시예 6의 생체 내 항종양 활성의 평가

	용량 (mg/kg)	$\Delta T / \Delta C$ 중간값 (%) (D36)	퇴행 % 중간값	퇴행		
				PR	CR	TFS
대조군	-	-	-	-	-	-
ADC2	2.5	8	-	1	1	1
실시예 6	5	< 0	100%	5	4	-
	2.5	< 0	4%	2	1	-
	1.25	33	-	-	-	-

[1406]

[1407] [표 VII]

2.5 mg/kg 으로 단회 정맥내 투여 후 SCID 마우스에서 MDA-MB-231에 대한 실시예 16, 실시예 19, 실시예 23 및 실시예 32의 생체 내 항종양 활성의 평가

	용량 (mg/kg)	$\Delta T / \Delta C$ 중간값 (%) (D59)	퇴행 % 중간값	퇴행		
				PR	CR	TFS
대조군	-	-	-	-	-	-
ADC2	2.5	< 0	14%	-	-	-
실시예 16	2.5	< 0	92%	6	3	-
실시예 19	2.5	< 0	100%	6	5	2
실시예 23	2.5	< 0	100%	6	6	1
실시예 32	2.5	< 0	100%	6	6	2

[1408]

[1409] [표 VIII]

1.25 mg/kg 으로 단회 정맥내 투여 후 SCID 마우스에서 MDA-MB-231에 대한 실시예 16, 실시예 19, 실시예 23 및 실시예 32의 생체 내 항종양 활성의 평가

	용량 (mg/kg)	$\Delta T/\Delta C$ 중간값 (%) (D50)	퇴행 % 중간값	퇴행		
				PR	CR	TFS
대조군	-	-	-	-	-	-
ADC2	1.25	14	-	-	-	-
실시예 16	1.25	7	-	-	-	-
실시예 19	1.25	1	-	1	1	-
실시예 23	1.25	0	-	1	-	-
실시예 32	1.25	9	-	2	1	-

[1410]

[1411] [표 IX]

단회 정맥내 투여 후 SCID 마우스에서 MDA-MB-231에 대한 실시예 26의 생체 내 항종양 활성의 평가

	용량 (mg/kg)	$\Delta T/\Delta C$ 중간값 (%) (D36)	퇴행 % 중간값	퇴행		
				PR	CR	TFS
대조군	-	-	-	-	-	-
ADC2	2.5	8	-	1	-	1
실시예 26	5	< 0	100%	6	6	2
	2.5	< 0	100%	6	4	1
	1.25	10	-	1	-	-

[1412]

[1413] [표 X]

단회 정맥내 투여 후 SCID 마우스에서 MDA-MB-231에 대한 실시예 29의 생체 내 항종양 활성의 평가

	용량 (mg/kg)	$\Delta T/\Delta C$ 중간값 (%) (D27)	퇴행 % 중간값	퇴행		
				PR	CR	TFS
대조군	-	-	-	-	-	-
실시예 29	4	< 0	100%	6	6	6
	2	< 0	100%	6	6	4
	1	0	-	-	-	-

[1414]

[1415] [표 XI]

단회 정맥내 투여 후 SCID 마우스에서 MDA-MB-231에 대한 실시예 35의 생체 내 항종양 활성의 평가

	용량 (mg/kg)	$\Delta T/\Delta C$ 중간값 (%) (D27)	퇴행 % 중간값	퇴행		
				PR	CR	TFS
대조군	-	-	-	-	-	-
실시예 35	4	< 0	100%	6	6	4
	2	< 0	100%	6	4	1
	1	3	-	-	-	-

[1416]

[1417] [표 XII]

단회 정맥내 투여 후 SCID 마우스에서 MDA-MB-231에 대한 실시예 41의 생체 내 항종양 활성의 평가

	용량 (mg/kg)	$\Delta T/\Delta C$ 중간값 (%) (D49)	퇴행 % 중간값	퇴행		
				PR	CR	TFS
대조군	-	-	-	-	-	-
실시예 26	4	< 0	100%	6	6	6
	2	< 0	100%	6	6	4
	1	< 0	51%	3	2	1
실시예 41	4	< 0	100%	6	4	2
	2	< 0 (D46)	25%	2	-	-
	1	20	-	-	-	-

[1418]

[1419] 모든 테스트한 본 발명의 크립토펬신 ADC와, ADC2는 1 mg/kg 내지 5 mg/kg의 범위의 용량에서 항종양 활성을 나타냈다.

[1420] 따라서, 본 발명의 화합물 (V)는 항암 활성을 가짐이 명백하다.

[1421] 따라서, 본 발명의 양태의 또 다른 것에서, 본 발명은 또한 항암제로서의 화학식 V의 크립토펬신 콘쥬게이트의 용도에 관한 것이다.

[1422] 따라서, 본 발명의 양태의 또 다른 것에서, 본 발명은 암, 예를 들어 유방암의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서의 화학식 V의 크립토펬신 콘쥬게이트의 용도에 관한 것이다.

[1423] 본 발명의 양태의 또 다른 것에 따르면, 본 발명은 또한 암의 치료에서 사용하기 위한 본 발명에 따른 화학식 V의 콘쥬게이트를 제공한다.

[1424] 본 발명의 양태의 또 다른 것에 따르면, 본 발명은 화학식 V의 적어도 하나의 콘쥬게이트를 포함하는 의약을 또한 제공한다.

[1425] 이러한 의약은 치료적으로, 특히 암, 예를 들어 유방암의 치료에 이용된다.

[1426] 본 발명의 양태의 또 다른 것에 따르면, 본 발명은 활성 성분으로서 본 발명에 따른 화학식 V의 콘쥬게이트를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다. 이러한 제약 조성물은 유효 용량의 본 발명에 따른 화학식 V의 적어도 1가지의 콘쥬게이트 및 또한 적어도 1가지의 제약상 허용가능한 부형제를 포함한다.

[1427] 따라서, 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 본 발명에 따른 화학식 V의 적어도 1가지의 콘쥬게이트, 및 또한 적어도 1가지의 제약상 허용가능한 부형제를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

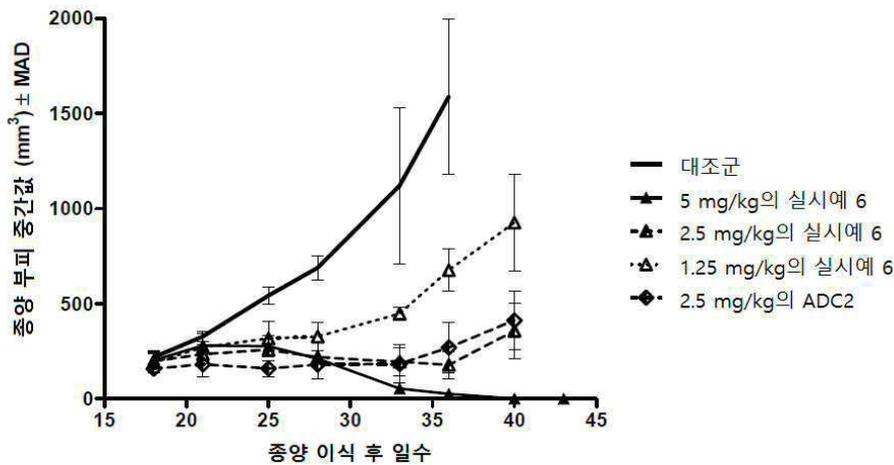
[1428] 상기 부형제는 당업자에게 공지된 통상적인 부형제로부터 원하는 제약적 형태 및 투여 방법에 따라 선택된다.

[1429] 본 발명의 양태의 또 다른 것에 따르면, 본 발명은 암, 예를 들어 유방암과 같은 상기에 나타난 병상을 치료하는 방법을 또한 제공하며, 이는 유효 용량의 본 발명에 따른 화학식 V의 콘주게이트를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

도면

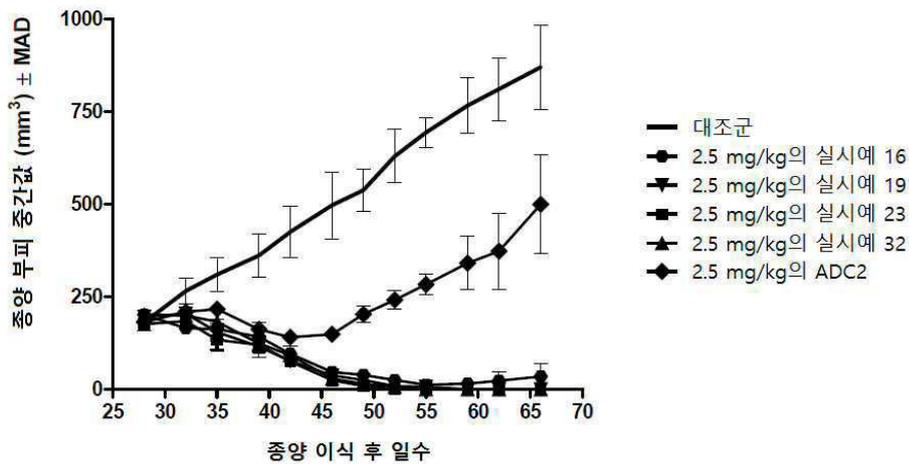
도면1

SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 6의 생체 내에서의 효능



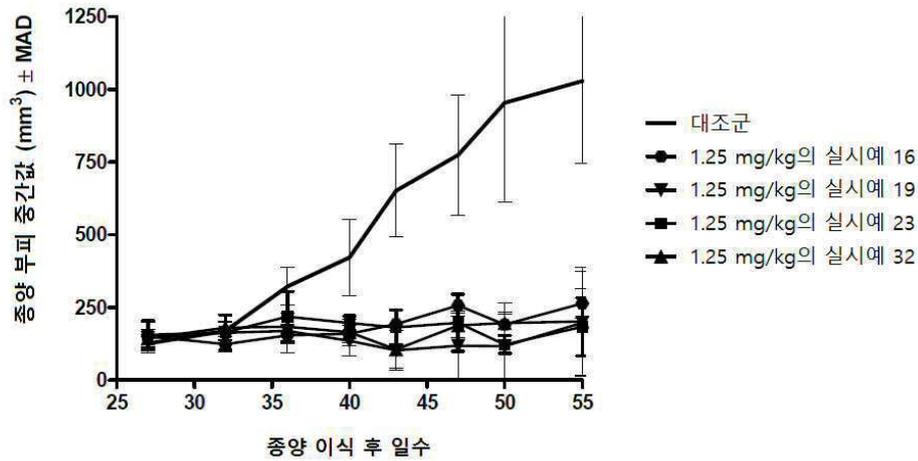
도면2

2.5 mg/kg에서 SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 16, 실시예 19, 실시예 23 및 실시예 32의 생체 내에서의 효능



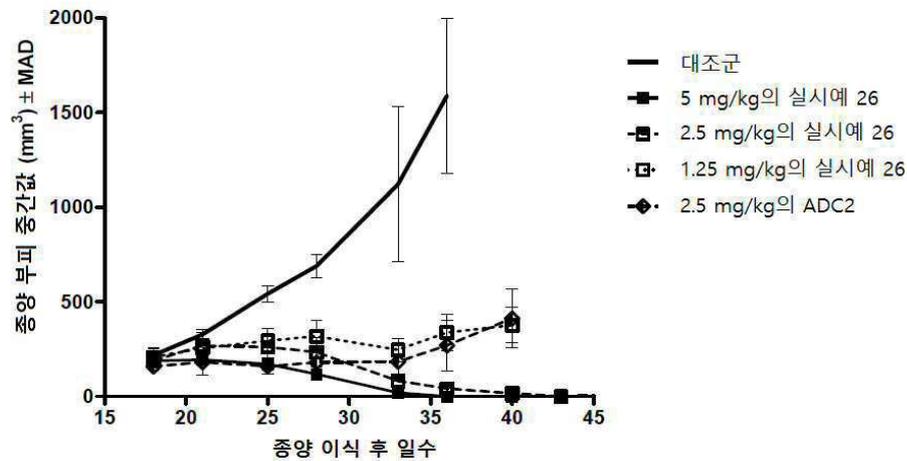
도면3

1.25 mg/kg에서 SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 16, 실시예 19, 실시예 23 및 실시예 32의 생체 내에서의 효능



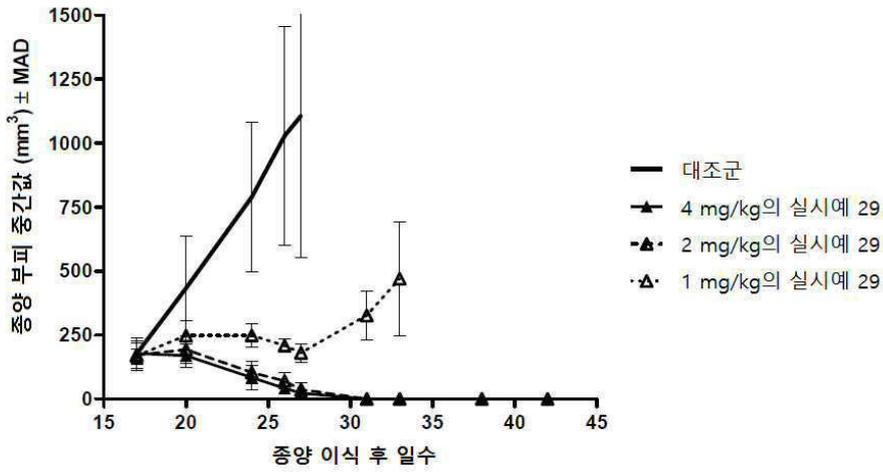
도면4

SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 26의 생체 내에서의 효능



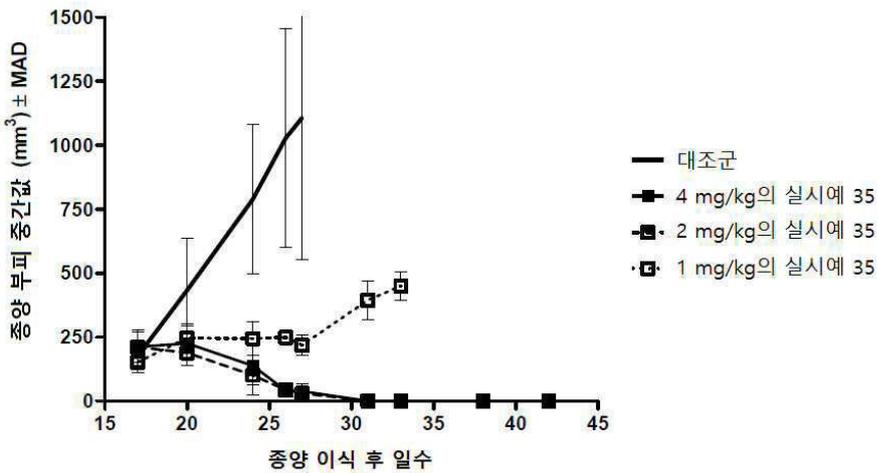
도면5

SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 29의 생체 내에서의 효능



도면6

SCID 마우스에서 MDA-MB-231 이종이식편에 대한 실시예 35의 생체 내에서의 효능



Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45
 Ile His Ser Asp Gly Arg Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro
 50 55 60
 Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Arg Leu Asp Ser
 65 70 75 80

 Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
 100 105 110
 Trp Gln Gly Ser His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 115 120 125
 Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 130 135 140

 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
 145 150 155 160
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 165 170 175
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
 180 185 190
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
 195 200 205

 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 210 215 220
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235
 <210> 2
 <211> 467
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> Heavy chain of antibody hu2H11_R35R74

<220>

<223> Heavy chain of antibody hu2H11_R35R74

<400> 2

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Val Gln Ser Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Leu Val Asn Pro Tyr Asn Gly Phe Ser Ser Tyr Asn
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Gln Gly Lys Ala Ser Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu His Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Phe Tyr Gly Tyr Arg Tyr Phe Asp Val Trp
 115 120 125

Gly Gln Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 225 230 235 240
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 245 250 255
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 260 265 270

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 275 280 285
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 290 295 300
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 305 310 315 320
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 325 330 335

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 340 345 350
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 355 360 365
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 370 375 380
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 405 410 415
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 420 425 430
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 435 440 445
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 450 455 460

Ser Pro Gly

465

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Possible AAns

<220>

<223> Possible AAns

<220>

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa represents a citrulline

<400> 3

Gly Phe Leu Xaa

1

<210> 4

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Possible AAns

<220>

<223> Possible AAns

<400> 4

Gly Phe Leu Gly

1

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Possible AAns

<220>

<223> Possible AAns

<400> 5

Ala Leu Ala Leu

1