

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

**(51) Int. Cl.<sup>6</sup>**  
**A61K 47/48**

**(11) 공개번호** 특2000-0071039  
**(43) 공개일자** 2000년 11월 25일

(21) 출원번호	10-1999-7007306		
(22) 출원일자	1999년 08월 12일		
번역문제출일자	1999년 08월 12일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1998/02899	(87) 국제공개번호	WO 1998/35704
(86) 국제출원출원일자	1998년 02월 13일	(87) 국제공개일자	1998년 08월 20일
(81) 지정국	AP ARIP0특허 : 케냐 레소토 말라위 수단 스와질랜드 우간다 가나 감비아 짐바브웨	EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 독일 덴마크 스페인 프랑스 영국 그리스 아일랜드 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포르투 칼 스웨덴 핀란드	OA OAPI특허 : 부르키나파소 베냉 중앙아프리카 콩고 코트디브와르 카 메룬 가봉 기네 말리 모리타니 니제르 세네갈 차드 토고
	국내특허 : 아르메니아 오스트리아 오스트레일리아 바베이도스 불가리아 브라질 벨라루스 캐나다 스위스 중국 체코 독일 덴마크 에스토니아 스페인 핀란드 영국 그루지야 헝가리 아이슬란드 일본 케냐 키르기 즈 북한 대한민국 카자흐스탄 스리랑카 라이베리아 리투아니아 룩셈 부르크 라트비아 몰도바 마다가스카르 몽고 말라위 멕시코 노르웨이 뉴질랜드 슬로베니아 슬로바키아 타지키스탄 투르크메니스탄 트리니다 드토바고 우크라이나 우간다 미국 우즈베키스탄 베트남 폴란드 포르 투칼 루마니아 러시아 수단 스웨덴 싱가포르		

(30) 우선권주장	60/038,364 1997년 02월 13일 미국(US)
(71) 출원인	본 케어 인터내셔널, 인코포레이티드 비숍 찰스 더블유.
	미국 위스콘신주 53713 매디슨 웨스트 벨트라인 하이웨이 313
(72) 발명자	마제스리차드비 미국위스콘신주53711매디슨그레고리스트리트2526 비숍찰스더블유 미국위스콘신주53719매디슨라포인테테라스5
(74) 대리인	이병호

**심사청구 : 없음****(54) 비타민 D 화합물의 표적화된 치료학적 전달****요약**

본 발명은 비타민 D 하나 이상 및 표적화 분자 잔기 하나 이상을 포함하는 접합체, 접합체의 약제학적 조성물, 및 비타민 D를 필요로 하는 조직에 비타민 D 또는 이의 동족체를 표적-특이적으로 전달하기 위한 접합체의 사용 방법에 관한 것이다. 특히 바람직한 형태로 환자에게 투여되는 경우, 본 발명의 접합체의 표적화 분자 성분은 골 또는 종양 조직 같은 관심있는 조직을 찾아 결합하여, 이때 비타민 D는 치료 효능을 갖는다.

**대표도****도7****색인어**

비타민 D, 부위-특이적인 전달, 비타민 D 화합물, 표적화 분자, 골-치료학적 접합체, 항-종양 접합체, 이기능성 커넥터, 바이오팁-이비딘 결합

**명세서**

## 관련 출원의 상호 참조

본 출원은 35 U. S. C. § 119하에, 1997년 2월 13일에 출원된 미국 가출원 제60/038,364호의 우선일을 주장한다.

## 연방 지원 연구 또는 개발 관련 진술

적용 없음

### 배경기술

본 발명은 일반적으로 비타민 D 화합물의 표적화된 치료학적 전달 및 특히, 골 및 종양 조직으로의 전달과 관련된 것이다.

개업 임상의들은 종종 해결할 수 없는 딜레마에 직면한다. 질병을 효과적으로 치료하기 위해서는, 질병에 의해 야기되는 파괴와 이를 치료하기 위해서 사용된 약제에 의해 야기되는 유해한 효과의 균형을 유지하는 것이 필요하다. 치료는 투여 섭생에 대한 완전한 내성을 나타내야 하지만, 절대 용어에서, 이는 종종 타협 위치를 나타내며, 따라서 치료의 '허용할 만한' 정도를 성취할 뿐이다.

질병의 발병을 억제시키는 예방적인 조치의 부재시, 이상적인 차선책은 상기 질병의 기원을 특이적으로 인식하고 이를 바로잡는 약제를 디자인하는 것이다. 상기 소위 '마법의 탄환' 또는 부위-특이적인 약제 전달 개념은 신규한 개념이 아니다. 상기 개념은 약제의 작용을 특이적인 수용체-매개 사건에 결합시키는 것에 관한 것이다. 상기 개념들은 여전히 약제 및 항체의 지속적인 개발을 위한 근간으로서 기여하고 있다.

일부의 경우, 약제의 화학적 개질은 이의 표적 기관 특이성을 강화시킨다. 예를 들어, 디하이드로피리딘-피리디늄염 산화환원 상호 전환에 기초한 뇌-표적화된 전달 시스템이 에스트라디올 및 에티닐에스트라디올 같은 화합물에 대해 개발되어져 왔다[Brewster et al., 31 J. Med. Chem. (1988) 244]. 일부 당의 약제에 대한 공유 결합은 이의 간에 의한 흡수를 강화시킬 수 있다[Ponpinom et al., Receptor Mediated Targeting of Drugs (Gregoriadis et al., eds.) NATO ASI series, Plenum Press, New York, 1983, p. 53].

그러나, 대부분의 경우, 약제의 표적 조직으로의 수송 및 전달을 위해 디자인된 특정 담체가 필요하다. 상기 경우, 담체 특성이 약제가 표적 세포로 전달될 것인지를 결정하기 때문에, 약제 자체의 분포 특성은 관련이 없다. 그러나, 일단 표적 세포로 전달되면, 세포내 효과 부위에서 약제의 분포를 고려할 필요가 있다.

수 많은 입자들이 약제 담체 시스템으로서 제안되어져 왔다. 최근의 관심은 모노클로날 항체, 및 리포좀 및 중합체성 미소구(microsphere) 같은 콜로이드성 전달 시스템에 집중되고 있다. 문헌 참조[예를 들어, Davis et al., Site-Specific Drug Delivery (Tomlinson et al., eds.), John Wiley, New York, 1986, p. 93].

DNA, 렌틴, 폴리-L-리신, 비로좀(virosome), 인슐린, 덱스트란, HCG, 디펩타이드, 및 적혈구 및 혈유아세포 같은 세포성 시스템을 포함하는, 가용성 분자들 또한 약제 담체로서 제시되고 있다. 문헌 참조[예를 들어, Poznansky et al., 36 Pharmacol. Rev. (1984) 277]. 지단백질, 특히 저밀도 지단백질을 약제 담체로서 사용하기 위한 제안 및 시도가 있었다. 문헌 참조[예를 들어, Counsell et al., 25 J. Med. Chem. (1982) 1115].

명백히, 부위-특이적인 약제 전달의 필요성은 암 및 심각한 바이러스 감염 같은 발병 조건에서 가장 높다. 신생물 질환의 치료에서 사용되는 약제의 부작용은 종종 매우 심각하다. 골수 및 위장의 연 세포(border cell) 같은 빠르게 성장하는 기타 조직은 항신생물제에 의해 영향을 받으며, 치료는 종종 중단될 것이다.

부위-특이적인 약제 전달의 필요성은 골 질환, 특히 골다공증에서 또한 높다. 골다공증이 모든 폐경기 여성에서 어느 정도까지 발생한다는 인식하에, 골 제제의 무기율화된 골 매트릭스로의 부위-특이적인 전달이 제시되었다. 특정 제제는 골-탐색 특성 또는 골 친화도로 공지되어 있으며, 골-특이적인 약제 전달 제제를 제공하기 위해서 상기 골-탐색 제제와 효소, 스테로이드, 또는 호르몬의 결합이 제시되었다. 예를 들어, 퇴행성 골 질환의 치료 또는 예방을 위한 화합물을 제공하기 위해서 테트라사이클린 같은 골-탐색 제제를 가교 결합제를 통해 카보닉 안하이드라제 억제제에 결합시키는 것이 제안되었다. 문헌 참조[유럽 특허원 제201,057호].

추가로, 호르몬, 예를 들어 칼시토닌 또는 인슐린형 성장 인자를 아미노 메틸렌 비스포스포산에 결합시키는 것이 교시되어 있다. 문헌 참조[일본 특허원 제2104-593A호]. 문헌[미국 특허 제5,183,815호]는 스테로이드의 알킬 비스포스포산에의 결합이 골에서 국부적인 치료 효과를 나타낼 수 있다는 것을 기술하고 있다. 문헌[유럽 특허원 제0 512 844 A1호]은 국부적인 골-증강 형성제를 제공하기 위한 형질전환성 성장 인자-베타 같은 골 성장 인자를 테트라사이클린, 칼시토닌, 비스포스포네이트, 폴리아스파르트산, 폴리글루타민산, 아미노포스포당, 또는 에스트로겐에 결합시키는 것을 기술하고 있다.

비타민 D는 골 및 무기물 대사에서 중요한 생물학적 역할을 갖는 것으로서 오랫동안 확립되어져 왔다. 비타민 D가 칼슘 흡수를 촉진하고 칼슘 대사를 조절하는 중요한 역할을 수행한다는 것은 잘 공지되어 있다. 비타민 D의 활성형[M.F. Holick et al., 68 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 803-804 (1971); G. Jones et al., 14 Biochemistry, 1250-1256 (1975)] 및 활성 비타민 D 동족체[M.F. Holick et al., Science 180, 190-191 (1973); H.Y. Lam et al., Science 186, 1038-1040 (1974)]의 발견은 골 결핍 질환의 치료

에서 상기 비타민 D 화합물의 유용성에 대한 많은 흥분 및 전망을 야기했다.

상기 활성 비타민 D 화합물의 효과를 실험하는 동물 연구들은 칼슘 균형을 회복하는데 상기 제제가 유용하다는 것을 제시하였다. 추가로, 초기 임상 연구는 비타민 D<sub>3</sub>의 호르몬 활성 형태인 1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub> 0.5μg/일을 폐경기 여성 그룹에 투여하는 경우 여성의 칼슘 균형 뿐만 아니라 장내 칼슘 흡수를 개선시킨다는 것을 나타낸다. 상기에 기초하여, 문헌[미국 특허 제4,225,596호('596 특허')]은 칼슘 흡수 및 유지를 증가시키기 위한 1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub>의 용도를 기술하고 청구하였다. 상기 용도는 또한 1,25-디하이드록시비타민 D<sub>2</sub> 및 1α-하이드록시비타민 D<sub>2</sub>에 대해서도 동일한 특허에서 청구되었으며, 상기 문헌은 이들 화합물이 '매우 적합하며, 1,25-디하이드록시콜레칼시페를[1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub>]으로 용이하게 치환될 수 있음'을 교시하고 있다.

그러나, 골 결핍 질환의 예방 또는 치료에서 비타민 D 화합물의 효능에 대한 최선의 지표는 칼슘 흡수 또는 칼슘 균형이기 보다는 골 그 자체이다. 보다 최근의 임상 데이터는 '596 특허'에서 교시된 투여량 범위에서 1α,25-디하이드록시-비타민 D<sub>3</sub>이 골 질량 및 골 무기를 함량의 순실을 예방하거나 회복시키는데 기껏해야, 미온적인 효능만을 갖는다는 것을 나타낸다[S.M. Ott and C.H. Chesnut, Ann. Int. Med. 110:267-274 (1989); J.C. Gallagher et al., Ann. Int. Med. 113:649-655 (1990); J. Aloia et al., Amer. J. Med. 84:401-408 (1988)].

1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub>을 사용한 상기 임상 연구 및 1α-하이드록시비타민 D<sub>3</sub>을 사용한 또 다른 연구[M. Shiraki et al., Endocrinol. Japan 32, 305-315 (1985)]는 상기 두 개의 비타민 D 화합물이 상실된 골 질량 또는 골 무기를 함량을 회복하는 능력이 투여량과 관련이 있음을 나타낸다. 그러나, 상기 연구는 또한 상기 화합물 중 어느 하나가 효과적이기 위해 필요한 투여량 범위에서, 고칼슘혈증 및 고칼슘뇨 형태의 독성이 주요한 문제임을 나타낸다. 구체적으로, 1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub>의 양을 0.5μg/일 이상으로 증가시키고자 하는 시도는 종종 독성을 초래하였다. 0.5μg/일 이하의 투여량 수준에서는, 골 질량 또는 무기를 함량에서 어떠한 효과도 관찰되지 않는다[문헌 참조: G.F. Jensen et al., Clin. Endocrinol. 16, 515-524 (1982); C. Christiansen et al., Eur. J. Clin. Invest. 11, 305-309 (1981)]. 1α-하이드록시비타민 D<sub>3</sub> 2μg/일은 노인성 골다공증을 나타내는 환자에서 골 질량 증가에 효능이 있는 것으로 밝혀졌다[O.H. Sorensen et al., Clin. Endocrinol. 7, 169S-175S (1977)]. 저 칼슘 흡수를 보이는 일본의 한 집단 연구로부터의 데이터는 1α-하이드록시비타민 D<sub>3</sub>를 1μg/일로 투여하는 경우 효능이 있음을 나타낸다[M. Shiraki et al., Endocrinol. Japan. 32:305-315 (1985); H. Orimo et al., Bone and Mineral 3, 47-52 (1987)]. 그러나, 2μg/일에서, 1α-하이드록시비타민 D<sub>3</sub>을 사용시 독성은 환자의 약 67%에서 야기되며, 1μg/일에서, 상기 퍼센트는 약 20%이다.

보다 최근에, 비타민 D의 기타 역할들이 밝혀졌다. 1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub>에 대한 특이적인 핵 수용체가 칼슘 항상성과 관련이 없는 다양한 조직 세포로부터 발견되었다. 예를 들어, 문헌[Miller et al., 52 Cancer Res. (1992) 515-520]은 사람 전립선암 세포주 LNCaP에서 1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub>에 대한 생물학적으로 활성인 특이적인 수용체를 입증하였다.

보다 구체적으로, 특정 비타민 D 화합물 및 동족체가 악성 세포 증식의 강력한 억제제 및 세포 분화의 유도제/촉진제로 보고되었다. 예를 들어, 문헌[Suda 등의 미국 특허 제4,391,802호]은 1α-하이드록시비타민 D 화합물, 특히 1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub> 및 1α-하이드록시비타민 D<sub>3</sub>이 악성 세포(특히, 백혈병 세포)의 악성이 아닌 대식세포(단핵구 세포)로의 분화를 유도시키는 강력한 항백혈병 활성을 가지며, 백혈병 치료에 유용함을 기술하고 있다. 또 다른 예로서, 문헌[Skowronski et al., 136 Endocrinology (1995) 20-26]은 전립선암 세포주에서의 1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub> 및 기타 비타민 D<sub>3</sub> 동족체의 항증식 및 분화 작용을 보고하고 있다.

상기 인용된 바와 같은, 이전의 증식 연구는 주로 비타민 D<sub>3</sub> 화합물에 집중되어 있다. 상기 화합물이 진정 배양 중인 악성 세포의 분화에 매우 효과적일 수 있다고 할지라도, 항암제로서 분화 치료에서 이의 실질적인 용도는, 이의 칼슘 대사에 영향을 미치는 제제로서의 마찬가지로 높은 잠능으로 인해 매우 제한된다. 생체내에서 항백혈병제로서 효과적인 사용을 위해 필요한 수준에서, 이들 화합물은, 이의 내재적인 칼슘 활성으로 인해, 현저하게 상승되고 잠재적으로 위험한 혈중 칼슘 농도를 유도할 수 있다. 즉, 1α,25-디하이드록시비타민 D<sub>3</sub> 및 기타 비타민 D<sub>3</sub> 동족체의 항암제로서의 임상적인 용도는 고칼슘혈증의 위험으로 인해 배제되거나 매우 제한된다. 이는 보다 큰 특이적 활성 및 작용 선택성을 갖는 화합물, 즉 항증식 및 분화 효능을 가지면서 공지된 비타민 D의 화합물 또는 동족체의 치료학적 양보다 칼슘 활성이 더 적은 비타민 D 화합물에 대한 필요성을 나타낸다.

사실 당해 분야의 어느 것도 특이적인 표적 세포, 예를 들어, 골 또는 전립선암 세포 같은 악성 부위로 비타민 D 화합물의 표적화된 전달을 위한 물질이나 방법을 제시하지 못하고 있다.

#### 발명의 요약

본 발명은 비타민 D의 부위-특이적인 전달 능력을 갖는, 비타민 D 화합물 또는 동족체와 표적화 분자의 접합체를 제공한다. 특이적인 접합체는 골-치료학적 접합체 및 항-종양 접합체를 포함한다. 본 발명은 또한 상기 접합체의 약제학적 제형, 및 상기 접합체의 비타민 D 잔기의 환자의 관심있는 조직으로의 부위-특이적인 전달 방법을 제공한다. 본 발명은 놀랍게도 비타민 D 화합물, 동족체 또는 유도체의 관심있는 조직(즉, 표적 조직)으로의 전달을 위한 유용한 수단을 제공한다.

본 발명의 접합체는 표적 조직에 대한 친화도를 갖는 표적 분자 잔기와 결합된 비타민 D 잔기 하나 이상을 포함한다. 본 발명의 한 가지 양태에서, 상기 접합체는 비타민 D 잔기 및 표적 분자 잔기 사이의 결

합, 이기능성 커넥터, 또는 바이오틴-아비딘 결합 같은 기타 커넥터 같은 커넥팅 그룹 하나 이상을 통해 표적 분자 잔기와 결합되는 비타민 D 잔기 하나 이상을 포함한다. 또 다른 양태에서, 상기 접합체는 비타민 D 잔기 하나 이상 및 비타민 D 이외의 제2 치료제와 결합된, 관심있는 조직에 대한 친화도를 갖는 표적 분자 잔기를 포함한다.

본 발명의 약제학적 조성물은 표적 분자 잔기 하나 이상과 결합된 비타민 D 잔기 하나 이상의 접합체, 및 적합한 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다.

또 다른 양태에서, 본 발명은 약제학적으로 허용되는 담체 중의 치료학적으로 유효량의 접합체를 환자에게 투여함을 포함하는, 비타민 D 또는 비타민 D의 동족체의 부위-특이적인 전달 방법을 제공하며, 이때 상기 접합체는 커넥터를 통해 표적 분자 하나 이상과 결합된 비타민 D 잔기 하나 이상을 가지며, 표적 분자는 관심있는 조직에 대한 친화도를 갖는다. 상기 방법은 비타민 D 잔기를 환자의 관심있는 조직으로 부위-특이적으로 전달하기 위해서 디자인된다.

본 발명의 접합체, 약제학적 조성물 및 방법은 비타민 D 잔기를 환자의 특정 조직으로의 표적-특이적인 전달을 가능하게 한다. 비타민 D 화합물을 본 발명의 접합체의 일부로서 구체적으로 표적화하고 전달함으로써, 화합물 그 자체를 투여함으로써 동일한 양의 화합물을 전달하는 것과 비교해서 환자에서 상대적으로 소량의 상기 접합체를 투여함으로써 표적화된 조직으로 상기 화합물의 전달을 달성할 수 있다. 투여되는 비타민 D의 양을 감소시킴으로써, 본 발명은 통상적인 투여 방법을 사용한 환자에 대한 비타민 D 화합물 또는 동족체 투여의 고칼슘혈증 및 기타 부작용을 현저하게 감소시킨다.

기타 잇점 및 특정 적용, 조성 변화 및 물리적 특성에 대한 보다 충분한 이해는 도면의 그림과 연계하여 제시된, 바람직한 양태의 하기 상세한 기술의 설명에서 수득될 것이다. 본원의 도면은 예증 및 기술을 위한 목적이며, 본 발명의 한계를 정의하고자 하는 것은 아니다.

### 도면의 간단한 설명

본 발명의 바람직한 예증적 양태는 이하에서 첨부된 도면과 연계해서 기술되며, 이때 기호 등은 전체에 걸쳐 인자 등을 나타낸다:

도 1은  $1\alpha,24$ -디하이드록시비타민  $D_2$  (' $1\alpha,24-(OH)_2D_2$ ') 및 비타민 D 잔기의 C-24에 결합된 1,1-비스포스포네이트의 접합체의 제조를 위한 반응식을 예증하고;

도 2A 및 2B는  $1\alpha,24-(OH)_2D_2$  및 비타민 D 잔기의 C-1에 결합된 아미노알킬-1,1-비스포스포네이트의 접합체의 제조를 위한 반응식을 예증하고;

도 3은  $1\alpha,24-(OH)_2D_2$  및 비타민 D 잔기의 C-3에 결합된 아미노알킬-1,1-비스포스포네이트의 접합체의 제조를 위한 반응식을 예증하고;

도 4A 및 4B는  $1\alpha,25$ -디하이드록시비타민  $D_3$  ( $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ ) 및 비타민 D 잔기의 C-1에 결합된 아미노알킬-1,1-비스포스포네이트의 접합체의 제조를 위한 반응식을 예증하고;

도 5는  $1\alpha,25-(OH)_2D_3$  및 비타민 D 잔기의 C-3에 결합된 아미노알킬-1,1-비스포스포네이트의 접합체의 제조를 위한 반응식을 예증하고;

도 6은  $1\alpha,25-(OH)_2D_3$  및 비타민 D 잔기의 C-25에 결합된 아미노알킬-1,1-비스포스포네이트의 접합체의 제조를 위한 반응식을 예증하며;

도 7은 바이오틴-아비딘 커넥터를 사용한, 비타민 D 및 모노클로날 항체의 접합체의 제조를 위한 반응 도표이다.

### 발명의 상세한 설명

본 발명은 표적화 적용에서 비타민 D 제형의 용도에 관한 것이다. 그러나, 본 발명은 가장 특히, 골 및 종양 세포로의 비타민 D의 부위-특이적인 전달에서의 용도를 위한 것이다. 따라서, 본 발명은 상기 시도와 관련하여 상세히 기술된다. 그러나, 당해 분야의 숙련자는 본 발명의 상기 기술은 단지 예증적인 것이며 이의 전체 범위를 제한하는 것으로 판단되어서는 안된다는 것을 이해할 것이다.

본 발명은 비타민 D 및 관심있는 조직에 대한 친화도를 갖는 표적화 분자의 접합체를 사용한 비타민 D 화합물의 부위-특이적인 표적화 능력에 의해 특성화된다. 예를 들어, 비타민 D 및 골 친화제의 접합체는 비타민 D의 골로의 수송 및 전달을 위해서 디자인된다. 상기 특성은 신규한 물리적 및 화학적 특성의 혼합을 통해 달성된다.

본 발명의 하기 기술에서, 공정 단계는 구체적인 언급이 없는 한, 실온 및 대기압에서 수행된다.

본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 '표적 분자' 또는 '표적화 분자'는 관심있는 조직에 결합하거나 조직의 대사에 영향을 미치는 분자를 나타낸다. 예를 들어, 골-표적화제는 테트라사이클린, 칼시토닌, 비스포스포네이트, 퀄레이트화제, 포스페이트, 폴리아스파르트산, 폴리글루타민산, 아미노포스포당, 오스테오네틴, 골 시알로프로테인 및 오스테오픈틴 같은 골의 무기를 상과 결합하는 것으로 공지된 펩타이드, 및 골 무기를 결합 도메인을 갖는 단백질 등을 포함한다. 골-표적화 분자는 또한 비스포스포네이트, 에스트로겐 및 데하이드로에피안드로스테론(DHEA) 같은 기타 스테로이드 같은 골 흡수 및 골 형성율에 그 자체로 영향을 미치는 분자를 포함할 수 있다. 이들 골-탐색 분자는 또한 골 성장 치료학적 특성을 갖고/갖거나 골 흡수 또는 형성에서 비타민 D 화합물과 상승적인 또는 부가적인 효과를 가질 수 있다. 피부-탐색 분자는 특정 금속 이온-아미노산 퀄레이트화제를 포함하며; 전립선-탐색 분자는 DHEA 같은 특정 스테

로이드를 포함한다. 종양-탐색제는 특정 항체를 포함한다.

본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 '관심있는 조직' 또는 '표적 조직'은 비타민 D 화합물 또는 동족체의 치료 또는 배치를 위한 신체내 바람직한 표적 또는 위치를 나타낸다. 용어 '치료하다' 또는 '치료'는 세포의 과증식 같은 비정상적인 성장 억제 및 세포 분화의 촉진 뿐만 아니라 질병에 걸리거나 감염된 관심 있는 조직의 회복, 보호, 경감, 수정 및 예방을 의미한다.

본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 '치료제'는 관심있는 조직에 투여되거나 전달되는 경우 치료 능력을 갖거나 나타내는 물질을 나타낸다. 본원에서 사용되는 용어 '골-치료제'는 골에 전달되거나 투여되는 경우 골 질병 또는 질환을 개선시키는 특정 유형의 치료제를 나타낸다. 골 치료제의 예는 비타민 D 화합물, 복합 에스트로겐 또는 이의 등가물, 항에스트로겐, 칼시토닌, 비스포스포네이트, 칼슘 보충물, 코발라민, 백일해 독소, 봉소 및 형질전환성 성장 인자 베타, 액티빈 또는 골 형태형성 단백질 같은 기타 골 성장 인자를 포함한다.

본 발명에 따른 접합체는 표적 분자 잔기(본원에서 'T'로 표시) 하나 이상과 결합된 비타민 D 화합물, 동족체, 성분 또는 잔기(본원에서 'D'로 표시) 하나 이상을 포함하며, 화학식 I로 나타내는 것들을 포함한다.

### 화학식 I



상기식에서,

n 및 m은 1 또는 그 이상의 정수를 나타내며:

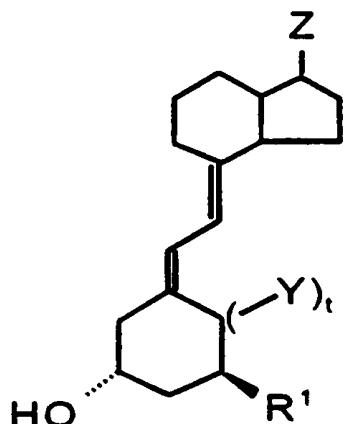
\*은 표적 분자 잔기(T)가 비타민 D 화합물, 동족체, 성분 또는 잔기(D)에 결합됨을 나타낸다.

본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 '비타민 D'는 A, C 및 D 환 및 C-17 측쇄의 통상적인 비타민 D 구조를 갖는 모든 화합물 뿐만 아니라 상응하는 비타민 D 형태의 열 이성체인 프리비타민 D 화합물을 포함하며, 이때 기초 구조는 치환되거나, 비치환되거나 개질(예를 들어, 19-노르 화합물)될 수 있는 것으로 이해된다. 또한 비타민 D 잔기는 접합체 중에서 이의 생물학적 효능, 예를 들어, 골과 관련하여 유익한 효과를 유지하거나, 프리비타민 D의 경우, 생물학적 효능을 갖는 상응하는 D 형태로 이성체화되는 것으로 이해된다.

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 '결합된' 또는 '결합'은 접합체의 한 성분(예를 들어, 비타민 D 잔기) 또는 비타민 D 잔기 및 커넥터가 접합체의 또 다른 성분, 예를 들어, 표적 분자 또는 표적 분자 및 커넥터로 공유 결합, 수소 결합, 금속 결합, 반 대르 발스 힘, 이온 결합, 쿠лон 힘, 소수성 또는 친수성 힘, 흡착 또는 흡수, 킬레이트 유형 결합 또는 이의 임의 혼합을 통해 부착 또는 결합함을 나타낸다. 비타민 D 또는 D와 관련하여, 또는 표적 분자 잔기 또는 T와 관련하여 사용된 용어 '잔기' 및 '성분'은 본원에서 기술된 접합체 형태에서 즉, 결합된 후의 비타민 D 또는 표적 분자를 나타낸다. 비타민 D 동족체 및 표적 분자 사이의 결합은 표적 분자의 기능성에 따라 비타민 D 동족체 분자의 임의 위치에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 비스포스포네이트 또는 아미드는 C-1, C-3, C-24 및 C-25 위치에서와 같이 하이드록실 그룹을 갖는 비타민 D 화합물 또는 비타민 D 동족체상의 위치에서 적합하게 결합할 수 있다.

본 발명에서 실시 가능한 비타민 D 화합물 및 동족체는 적합하게는 화학식 II로 나타낸다.

### 화학식 II



상기식에서,

$R^1$ 은 H 또는 OH이고;

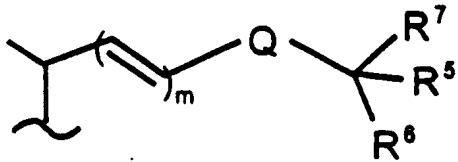
Z는 포화된 또는 불포화된 치환되거나 비치환된, 직쇄 또는 측쇄  $C_{1-C_{18}}$  탄화수소 그룹이고;

Y는  $=CH_2$  그룹이고;

t는 0 또는 1이며, t가 0인 경우, 화학식 II의 화합물은 19-노르 화합물이다.

바람직하게는 Z는 화학식 IIIA로 나타내는 측쇄이다.

### 화학식 IIIA



상기식에서,

m은 0 또는 1이고;

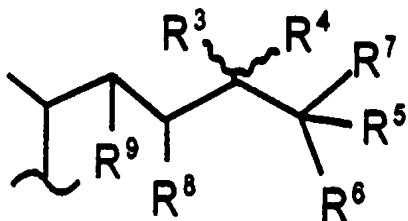
$R^5$ 은 H 또는 OH이고;

$R^6$  및  $R^7$ 은 독립적으로 H, OH, 저급 알킬, 저급 플루오로알킬, O-저급 알킬, O-저급 아실, O-방향족 알킬, 저급 사이클로알킬 또는 이들이 결합하는 탄소(즉, C-25)와 함께  $C_3-C_8$  사이클로탄화수소 환을 형성하며;



Q는  $-C=C-$ ,  $-C\equiv C-$ , 또는  $H$ 이며,  $R^4$ 는 H 또는 OH이다)이다. 예를 들어, Z는 화학식 IIIB로 나타내는 콜레스테롤 또는 에르고스테롤을 포함한다.

### 화학식 IIIB



상기식에서,

$R^8$  및  $R^9$ 는 각각 H 또는 함께 C-22 및 C-23 사이의 이중 결합을 형성하고

$R^3$ 은  $CH_3$  또는 H이고;

$R^4$  및  $R^5$ 는 독립적으로 H 또는 OH이며;

$R^6$  및  $R^7$ 은 독립적으로 H, OH, 저급 알킬, 저급 플루오로알킬, O-저급 알킬, O-저급 아실, O-방향족 아실, 저급 사이클로알킬 또는 이들이 결합되는 탄소(즉, C-25)와 함께  $C_3-C_8$  사이클로탄소 환을 형성한다.

본 발명의 범위내에는 비타민 D 화합물로서 또한 프리비타민 D 화합물, 바람직하게는, 임의로 치환될 수 있는, 바람직하게는 예를 들어, C-24 또는 C-25에서 하이드록시 치환될 수 있는 통상적인 콜레스테롤 및 에르고스테롤을 측쇄를 포함할 수 있는  $1\alpha$ -하이드록시 프리비타민 D가 포함된다. 프리비타민 D 화합물은 상응하는 비타민 D 화합물의 열 이성체이고, 예를 들어,  $1\alpha$ -하이드록시 프리비타민 D<sub>3</sub>은  $1\alpha$ -하이드록시 비타민 D<sub>3</sub>의 열 이성체이며 동일한 열 평형으로 존재한다.

표적 분자 중 바람직한 것은 화학식 I의 접합체의 한 성분으로서 사용되는 경우, 접합체의 적어도 한 부분, 특히 접합체의 비타민 D 성분을 바람직한 표적(예를 들어, 표적화된 세포, 표적화된 기관, 종양 등)으로 전달시키는 것들이다. 바람직한 표적 분자는 표적 특이성을 나타내는 화학적 관능기, 호르몬(예를 들어, 생물학적 반응 개질제), 및 항체, 바람직하게는 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체, 또는 필수 불가결한 표적 특이성을 갖는 항체 단편을 포함한다. 골에 특이적인 친화도를 나타내는 바람직한 표적 분자 중에는 비스포스포네이트, 테트라사이클린, 폴리알로네이트 및 데하이드로에피안드로스테론이 포함된다.

화학식 I의 접합체는 특정 접합체 성분에 유해하지 않은 조건(특정 pH, 온도 또는 염 농도) 및 경우에 따라 적합한 용매의 존재하에 제조된다. pH를 조절하기 위해서, 완충액 또는 적합한 산 또는 염기의 부가를 사용한다. 반응 조건은 접합체를 제조하기 위해서 비타민 D 화합물 또는 동족체(D) 및 표적 분자 잔기(T) 사이에 형성되는 결합(\*)의 유형에 따른다.

화학식 I의 접합체에서 T:D의 몰비는 바람직하게 1:1이다.

또한, 본 발명의 범위내에는 D가 D 및 T 사이의 커넥터(본원에서 'G'로 표시)를 통해 T와 결합되는 접합체가 있으며; 이러한 바람직한 접합체는 화학식 IV로 나타낸다:

#### 화학식 IV

$$[(T)_n - (G')_f]_g * [(G'')_h - (D)_m]_k$$

상기식에서,

G' 각각은 동일하거나 상이한 커넥팅 그룹을 나타내고;

G' 각각은 동일하거나 상이한 커넥팅 그룹을 나타내고;

g 및 k 각각은 개별적으로 1 또는 그 이상의 정수를 나타내고;

f 및 h 각각은 개별적으로 0 또는 그 이상의 정수를 나타내고;

- 는 예를 들어, 커넥팅 그룹이 존재하는 경우, 결합을 나타내고;

n 및 m은 상기 정의한 바와 같으며;

\*은 표적 분자 성분이 커넥터 G' 또는 G''을 통해서, 또는 둘 모두가 존재하는 경우, 커넥터 둘 모두를 통해서 비타민 D 성분과 결합됨을 나타낸다.

D는 접합체에서 생물학적 효능을 유지하거나, 생물학적 효능을 갖는 상응하는 비타민 D 형태의 이성체인, 프리비타민 D인 경우, 이의 생물학적 효능을 유지하는 것으로 이해된다.

f 또는 h가 0(이며 g 및 k가 1이다)인 경우, 화학식 IV의 접합체는 간단히 화학식 V로 나타낸다.

#### 화학식 V

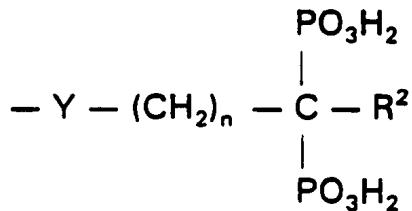
$$D_m - G - T_n$$

상기식에서,

G는 적합하게는 이기능성 커넥터, 예를 들어, 폴리글루타민산 또는 폴리아스파르트산이거나, D 및/또는 T의 변형에 따른 후속적인 결합 형성에 의해 형성되는 결합 그룹이다.

화학식 IV의 접합체를 형성시키는데 사용되는 적합한 커넥팅 그룹은 비타민 D의 생물학적 효능을 현저하게 손상시키지 않고, 접합체의 표적 분자 성분의 친화도를 현저하게 손상시키지 않으면서, 비타민 D 잔기를 표적 분자 잔기에 결합시키는 것이다. 커넥터는 적어도 접합체가 표적 인접 영역으로 전달될 때까지 온전하게 유지되도록 충분하게 안정해야만 하는 결합을 접합체의 표적 분자 잔기 및 비타민 D 잔기 사이에서 형성시킨다. 일부 환경하에서, 접합체의 일부로서 표적 영역에 전달된 비타민 D는 표적 분자 잔기 및 비타민 D를 결합시키는 커넥터 하나 이상이 절단된 후에 보다 효과적이다. 상기의 경우, 접합체가 표적 인근에 전달되면, 상기 커넥터 하나 이상이 바람직하게는 절단된다. 다시 말해서, 상기의 경우 커넥터를 절단함으로써, 본 발명의 일부 접합체에서 나타나는 비타민 D 및 표적 분자 잔기 사이의 입체구조적 방해를 예방할 수 있으며, 이때 상기 입체구조적 방해는 접합체의 비타민 D의 효능을 감소시킨다.

예증적인 양태에서, 본 발명의 접합체는 골 질환을 치료하는데 효과적인 제제를 포함하며, 즉, 접합체는 비타민 D 잔기 및 골-탐색 제제를 포함한다. 골 친화도를 갖는 제제 중 비스포스포네이트('BP')(또한 디포스포네이트로 인용됨)가 바람직하다. 예를 들어, 본 발명에서 적합하게 작동할 수 있는 특정 비스포스포네이트 잔기는 화학식 VI으로 나타낸다.

**화학식 VI**

상기식에서,

$\text{R}^2$ 는 H 또는 OH이고,

Y는 NH, O 또는 NR<sup>8</sup>(이때, R<sup>8</sup>은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이다)이며,

n은 1 내지 4의 정수이다.

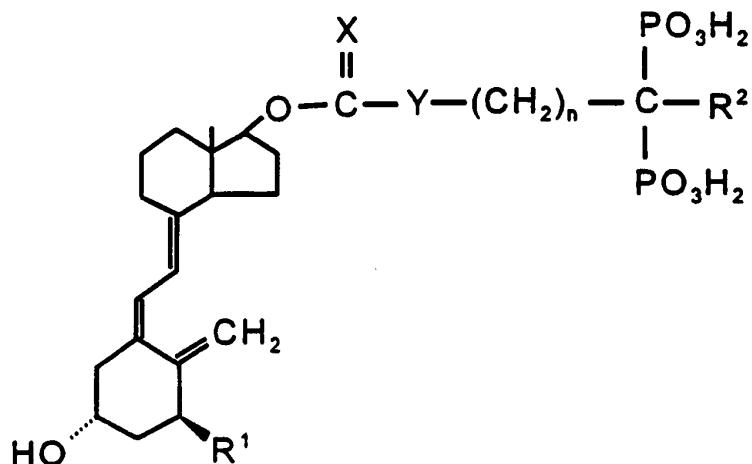
특히 바람직한 골-치료학적 접합체(이때, T는 BP이다)는 화학식 VII로 나타낸다.

**화학식 VII****D - BP**

상기식에서,

BP는 예를 들어, D 잔기의 C-1, C-3, C-17, C-24 또는 C-25 위치에서 적합하게 결합된다.

본 발명의 용도에 적합한 T가 비스포스포네이트인 특정 골-치료학적 접합체는 화학식 VIII의 접합체 및 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하며, 즉 비스포스포네이트는 C-17 위치에서 비타민 D에 결합한다.

**화학식 VIII**

상기식에서,

$\text{R}^1$ 은 H 또는 OH이고;

$\text{R}^2$ 는 H 또는 OH이고;

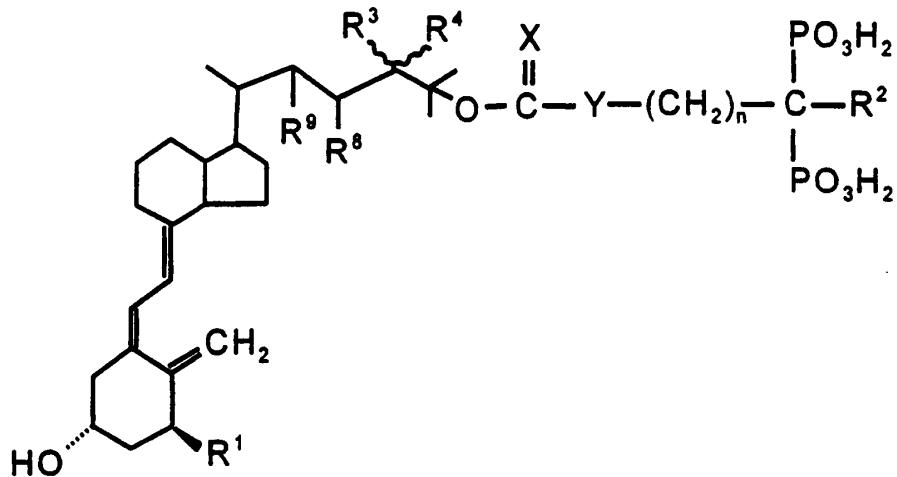
X는 O 또는 S이고;

Y는 NH, O 또는 NR(이때, R은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이다)이며;

$n$ 은 1 내지 4이다.

또한, 화학식 IX의 접합체 및 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되며, 즉 비스포스포네이트는 비타민 D 잔기의 C-25 위치에서 결합된다.

### 화학식 IX



상기식에서,

$R^1$ 은 H 또는 OH이고;

$R^2$ 는 H 또는 OH이고;

$R^3$ 은 CH<sub>3</sub> 또는 H이고;

$R^4$ 는 H 또는 OH이고,

X는 O 또는 S이고;

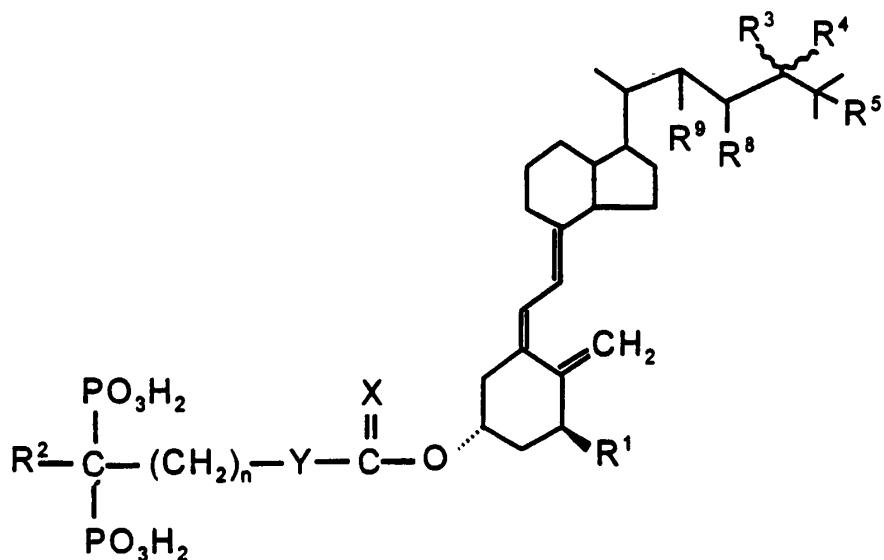
Y는 NH, O 또는 NR(이때, R은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이다)이고;

$n$ 은 1 내지 4의 정수이며;

$R^8$  내지  $R^9$ 는 각각 H이거나 함께 C-22 및 C-23 위치에서 이중 결합을 형성한다.

또한 화학식 X의 접합체 및 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되며, 즉, 비스포스포네이트는 C-3 위치에서 비타민 D에 결합된다.

화학식 X



상기식에서,

$R^1$ 은 H 또는 OH이고;

$R^2$ 는 H 또는 OH이고;

$R^3$ 은 CH<sub>3</sub> 또는 H이고;

$R^4$ 는 H 또는 OH이고,

X는 O 또는 S이고;

Y는 NH, O 또는 NR(이때, R은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이다)이고;

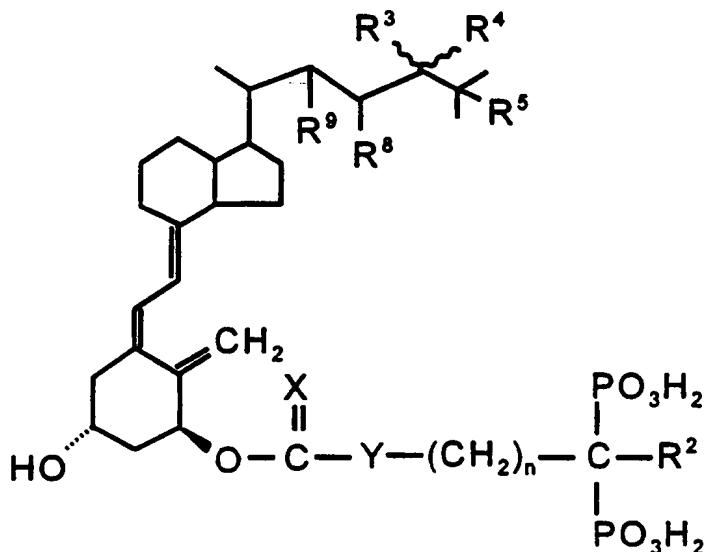
$R^5$ 는 H 또는 OH이고;

n은 1 내지 4의 정수이며;

$R^8$  및  $R^9$ 는 각각 H이거나 함께 C-22 및 C-23 사이에서 이중 결합을 형성한다.

또한, 화학식 X의 접합체 및 이의 약제학적으로 허용되는 염을 제공하며, 즉 비스포스포네이트 결합은 비타민 D 잔기의 C-1에 존재한다.

## 화학식 XI



상기식에서,

$\text{R}^2$ 는 H 또는 OH이고;

$\text{R}^3$ 은 CH<sub>3</sub> 또는 H이고;

$\text{R}^4$ 는 H 또는 OH이고,

X는 O 또는 S이고;

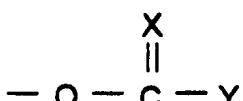
Y는 NH, O 또는 NR(이때, R은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이다)이고;

$\text{R}^5$ 는 H 또는 OH이고,

n은 1 내지 4의 정수이며,

$\text{R}^8$  및  $\text{R}^9$ 는 각각 H이거나 함께 C-22 및 C-23 사이에서 이중 결합을 형성한다.

전형적으로 비스포스포네이트 잔기 및 비타민 D 잔기 사이의 결합은 비타민 D 상의 하이드록실을 통해 존



재하며, 이때 상기 하이드록실은

그룹으로 전환되며 비스포스포네이트의 아민 또는 하이드록시 그룹, 즉 Y에 결합하여 카바메이트-유형 또는 카보네이트-유형 결합을 형성한다. X는 O 또는 S일 수 있다. 예를 들어, 하이드록실 그룹은 비타민 D 구조의 C-1, C-3, C-24 및 C-25 위치에서 함유될 수 있으며, 접합은 임의의 하이드록실 위치에서 일어날 수 있지만 적합하게는 상기 위치 중 하나이다.

T가 비스포스포네이트인 화학식 I의 접합체의 합성은 도 1 내지 6에 나타낸 반응식에 따라서 달성된다. 일반적인 용어로, 합성은 비타민 D 중 하이드록실 그룹을 할로포르메이트(예를 들어, 클로로포르메이트) 또는 티오포르메이트 그룹으로 전환시킨 후 비스포스포네이트의 적합한 아미노 또는 하이드록실 그룹과의 후속적인 반응으로 카바메이트, 티오카바메이트, 카보네이트 또는 티오카보네이트 결합을 형성시키는 것을 포함한다.  $\text{R}^2$ 가 하이드록시이거나 비타민 D 화합물이 바람직한 하이드록실 그룹에 부가적으로 하나 이상의 하이드록실 그룹을 포함하는 경우, 상기는 바람직한 하이드록실을 할로포르메이트 또는 티오포르메이트 그룹으로 전환시키는 반응에 앞서, 벤질, 실릴옥시 등과 같은 통상적인 하이드록시-보호 그룹으로 보호할 수 있다.

구체적으로, 예증적인 양태에서, 출발 비타민 D 화합물 또는 동족체(적합한 경우, 하이드록실 보호됨)를 포스겐(phosgene)과 반응시켜 클로로포르메이트를 형성시키고, 상기 클로로포르메이트를 아미노부틸-1,1-비스포스포네이트와 반응시켜 카바메이트 결합을 형성시킨다. 이후, 임의의 보호된 하이드록실은 탈보호 시킨다.

도 1은 1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>-아미노알킬 및 1,1-비스포스포네이트의 접합체의 합성에 대한 예증적인 반응도이다. 도 1에서 나타낸 바와 같이, 1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 출발 물질은 C-1 및 C-3 위치에서 실릴옥실 그

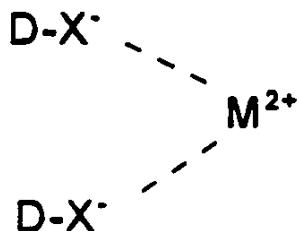
룹으로 보호된다. 보호된 D 화합물(1)을 툴루엔 중 포스겐과 반응시켜 클로로포르메이트(2)를 형성시킨다. 클로로포르메이트(2)를 디클로로메탄 중 테트라이소프로필 4-아미노부틸-1,1-비스포스포네이트(즉, 하이드록실-보호됨)와 반응시키고, 반응 혼합물을 성광 크로마토그래피로 정제하여 보호된 접합체(4)를 수득한다. 보호된 접합체(4)를 테트라하이드로포름(THF) 및 테트라부틸암모늄 플루오라이드(TBAF)와 반응시켜 C-1 및 C-3 하이드록실을 탈보호시켜 상기 접합체의 테트라이소프로필 에스테르(5)를 수득한다. 상기 테트라이소프로필 에스테르(5)를 트리메틸실릴브로마이드로 가수분해시켜 접합체 비스포스폰산 구조(6)를 형성시킨다. 메탄올 중 상기 화합물(6) 및 9-아세틸안트라센을 방사선 조사시키고, 여과하고, 농축한 후 동결 건조시켜 접합체(7)를 수득한다.

도 2 내지 6에서 예증되는 합성은 하기 실시예 부분에서 상세히 기술된다.

또한, 화학식 I의 접합체 중 바람직한 것은 T가 DHEA인 것이다. DHEA의 통상적인 스테로이드성 구조는 17-케토 그룹 및 1-하이드록시 그룹을 갖는다. 상기 그그룹 중 하나는 적합하게는 비타민 D 상의 하이드록실화된 위치, 예를 들어, 에테르 또는 에스테르-유형 결합을 통해 결합될 수 있다. 상기 결합을 위한 반응은 잘 공지되어 있다.

또한, 화학식 I의 접합체 중 바람직한 것은 T가 금속 이온(M)인 것이다. 금속 이온은 많은 조직 부위를 표적화하는 것, 예를 들어, 스트론튬 이온은 골을 표적화하는 것으로 공지되어 있다. 접합체는 비타민 D 잔기 및 금속 이온 사이의 직접적인 착물을 형성할 수 있으며, 이때, 상기 잔기는 음전하로 하전된 말단 그룹, 예를 들어, C-24, C-25 위치 등에서 하나 이상의 카복실 그룹을 갖는 것이며, 일반적으로  $D-X^-$ 를 갖는다. 상기 접합체는 화학식 XII로 나타낼 수 있다.

### 화학식 XII



상기식에서,

X는 카복실,  $-CO_2^-$  같은 음으로 하전된 그룹이고,

M은 이가 금속 이온이다.

대안으로, 접합체는 D 및 M이 커넥터, 예를 들어, 아미노산에 의해 결합되는 화학식 V의 형태로 존재할 수 있다. 예를 들어, 금속 이온-아미노산 킬레이트 화합물은 조직 부위 전달을 표적화하는 능력이 있는 것으로 기술되어 있다. 문현 참조[미국 특허 제4,863,898호; 제4,176,564호; 및 제4,172,072호, 이들 각각은 본원에 참조로 인용된다]. 예를 들어, 마그네슘-리신 킬레이트 화합물은 골을 표적화하며; 아연 및



메티오닌은 피부를 표적화하는 것으로 나타난다. 상기 킬레이트 화합물은 [여기서, M은 금속 이온이고 (AA)는 아미노산 잔기(예를 들어, 리신, 아르기닌 등)이며 \*은 아미노산 잔기(AA)와 금속 이온(M)의 결합을 나타낸다]의 형태이다. 본 발명의 접합체에서, 금속-아미노산 킬레이트 화합물의 아미노산은 T가 비스포스포네이트인 경우 상기에서 나타낸 아미드-유형 결합을 통해 비타민 D 잔기에 결합된다. 상기 접합체는 화학식 XIII로 나타낸다.

### 화학식 XIII



상기식에서,

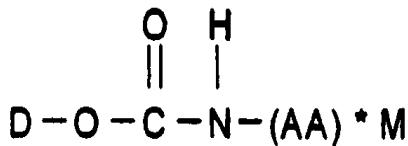
D는 아미노산에 대해 결합을 형성할 수 있는 그룹, 예를 들어, 하이드록시 그룹을 갖는 비타민 D 잔기이고;

(AA)는 아미노산 잔기이며;

M은 금속 이온, 바람직하게는  $Sr^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cr^{2+}$  또는  $Mo^{2+}$  같은 이가 금속 이온이다.

보다 구체적으로, 접합체는 화학식 XIV의 형태로 제공된다.

## 화학식 XIV



상기식에서,

D, M, AA 및 \*은 상기 정의한 바와 같다.

또한, 화학식 I의 접합체 중에서 바람직한 것은 T가 항체인 것이다. 상기 바람직한 접합체에서 사용될 수 있는 항체 및 항체 단편은 당해 분야에 널리 공지된 기술에 의해 제조할 수 있다. 적합한 항체의 예는 IgG, IgA, IgD 및 IgE 같은 면역글로빈이다. 특이성이 큰 모노클로날 항체는 당해 분야에 널리 공지된 하이브리드화 기술로 제조할 수 있다. 문헌 참조[예를 들어, Kohler et al., 245 Nature (1975) 495-497; and 6 Eur. J. Immunol. (1976) 511-519, 둘 모두는 본원에 참조로 인용된다]. 상기 항체는 일반적으로 매우 특이적인 반응성을 갖는다. 폴리클로날 항체는 또한 상기 접합체의 표적 분자 성분으로서 사용하기에 적합하다. 그러나, 표적 분자 잔기가 항체인 경우, 모노클로날 항체(Mab)가 가장 바람직하다.

선택된 모노클로날 항체는 단독 에피토프에 매우 특이적이며, 이는 모노클로날 항체를 본 발명의 접합체의 표적화 분자 성분으로서 특히 유용하게 만든다. 비타민 D 및 모노클로날 항체의 접합체는 암 조직 또는 골 조직 표면의 특이적인 비타민 D 수용체 같은 표적 영역내의 특이적인 부위에 표적화될 수 있다. 선택된 표적 조직 또는 특이적인 표적 단백질에 대한 항체 같은 특이적인 항원에 대한 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체의 분리 및 제조 방법은 공지되어 있다. 문헌 참조[예를 들어, Molecular Cloning, 2n ed., Sambrook et al., eds., Cold Spring Harbor Lab. Press 1989, § 18.3 et seq]. 폴리클로날 항체가 또한 사용될 수 있으며 모노클로날 항체 보다 더 저렴하게 제조될 수 있다. 그러나, 폴리클로날 항체는 내재적으로 보다 덜 특이적인 표적화 분자이다. 그럼에도 불구하고, 조직 배양(하이브리도마 세포주)으로 본 발명의 접합체에서 사용하기에 적합한 다량의 모노클로날 항체를 제조하는 것이 가능하다.

상기 항체 표적화 분자를 사용하여 제조된 본 발명의 접합체는 예를 들어, 세포, 기관, 종양, 분화 및 기타 세포 막 항원, DNA 및 RNA 같은 폴리핵산, 또는 모든 생물학적으로 활성인 분자에 대해 지시될 수 있다. 관심있는 표적 세포의 비타민 D 수용체에 대한 항체는 본 발명의 접합체에서 사용하기에 적합할 수 있다.



본 발명에 따른 접합체에 있어서, T가 모노클로날 항체인 경우, 결합은 커넥터 'G' 예를 들어, 당해 분야에 공지되어 있는 바이오틴-아비딘 방법론을 이용하여, G'-G'으로 나타내는 바이오틴-아비딘 결합을 통해서 적합하게 수행된다. 커넥터, 예를 들어, 비타민 D-바이오틴-아비딘-항체에 기초한 상기 접

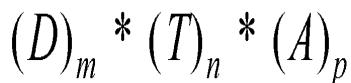


합체는 적합하게는 로 나타낸다. 항체를 예를 들어, 바이오틴-아비딘 접합체를 사용하여 비타민 D 화합물을 또는 동족체에 커플링시키는 반응식은 도 7에서 나타낸다.

도 7과 관련하여, 아비딘은 조효소 바이오틴에 대해 높은 친화도를 갖는다. 이는 다양한 화합물에 대한 항체의 결합에 대해 개발되어진 강한, 비공유 상호작용이다. 바이오틴 또는 아비딘은 비타민 D 화합물 또는 항체 성분 중 하나에 적합하게 커플링된다. 상기와 같이, 수 많은 상이한 반응식이 비타민 D 화합물과 항체를 결합시킬 수 있다. 예를 들어, 바이오틴은 적합하게 항체에 결합되어 바이오틴화된 항체 복합체를 형성시키는 반면, 아비딘은 적합하게 비타민 D 화합물에 결합되어 아비딘 비타민 D 복합체를 형성시킨다. 상기 두 복합체는 후속적으로 반응하여 항체-바이오틴-아비딘-비타민 D 접합체를 형성시킨다. 비타민 D-바이오틴-아비딘-항체 접합체도 도 7에 나타낸 바와 같이 유사한 방식으로 형성된다.

호르몬 또는 기타 제제('A'로 표시)를 화학식 I의 접합체에 결합시켜 화학식 XV의 이기능성 접합체를 형성시키는 것이 바람직할 수 있다.

## 화학식 XV



상기식에서,

A는 비타민 D 이외의 치료제를 나타내고,

p는 1 또는 그 이상의 정수를 나타내고,

D, T, m 및 n은 상기 정의한 바와 같으며, 단 D 및 A는 이의 생물학적 효능을 유지하고,

\*은 표적 분자 잔기가 비타민 D와 결합되며 비타민 D 이외의 치료제와 결합됨을 나타낸다.

예를 들어, 화학식 XV의 이기능성 접합체는 비타민 D를 골로 전달하는 능력 뿐만 아니라 에스트로겐 같은 또 다른 골 형성제를 전달하는 능력을 갖는다.

따라서, 본 발명의 범위내에는 A가 골 질병 또는 질환을 개선시키는 것으로 공지된 흐르몬 또는 기타 제제인 골-치료학적 접합체인 화학식 XV의 접합체가 포함된다. 상기 골 제제는 복합 에스트로겐 또는 이의 등가물, 향에스트로겐, 칼시토닌, 비스포스포네이트, 칼슘 보충물, 코발라민, 백일해 독소, 농소, DHEA 및 형질전환성 성장 인자 베타, 액티빈 또는 골 형태형성 단백질 같은 기타 골 성장 인자를 포함할 수 있다.

또한, 본 발명은 A가 세포 독성제인 항증식성 접합체인 화학식 XV의 접합체를 제공한다. 상기 제제는 에스트로무스텐, 포스페이트, 프레드니무스틴, 시스플라틴, S-플루오로우라실, 멜菲尔란, 하이드록시우레아, 미토마이신, 이다루비신, 메토트렉세이트, 아드리아마이신 및 다우노마이신을 포함한다.

본 발명의 범위내에는 광학 이성체성을 나타내는 본 발명의 모든 접합체의 모든 가능한 거울상 이성체 및 이중 결합에서 시스-트랜스 배위로 인한 모든 가능한 기하학적 이성체가 포함된다. 부가적으로, 상기 화합물의 나트륨, 칼륨, 리튬, 암모늄 염 등과 같은, 본원에서 기술된 화합물의 모든 약제학적으로 허용되는 염이 포함된다.

본 발명에 따른 접합체의 예방학적 또는 치료학적 투여량의 정도는 치료하고자 하는 상태의 특성 및 심각도, 특정 조성을 및 투여 경로에 따라 다양하다. 일반적으로, 골 질환에서 사용되는 1일 투여량 범위는 약 0.025nmol/체중 kg 내지 약 2.5nmol/체중 kg의 범위이다. 암 같은 과증식성 질환을 치료하기 위한 1일 투여량은 약 0.025nmol/체중 kg 내지 약 5nmol/체중 kg이다.

화학식 I의 접합체는 비타민 D<sub>3</sub>의 활성 형태의 공지된 동족체와 비교해 볼때 부작용이 적고 독성이 낮은 약제학적 조성을 중의 활성 성분으로서 유용하다.

본 발명의 약제학적으로 활성인 접합체는 환자, 예를 들어, 사람을 포함하는 포유동물에게 투여하기 위한 약제를 제조하는 통상적인 조제법에 따라서 가공할 수 있다. 모든 적합한 투여 경로를 사용하여 유효량의 상기 접합체를 제공할 수 있다. 예를 들어, 경구내, 직장내, 국소적, 비경구적, 정맥내, 근육내, 피하, 안내, 비내 및 구강내 등으로 사용될 수 있다.

본 발명의 약제학적 조성물은 본 발명의 접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 활성 성분으로 포함하며, 또한 약제학적으로 허용되는 담체 및 임의로 기타 치료학적 성분을 포함할 수 있다. 임의의 경우에 가장 적합한 경로는 치료하고자 하는 상태의 특성 및 심각도 및 활성 성분의 특성에 따르겠지만, 상기 조성물은 본원에서 기술된 다양한 경로용으로 적합하다. 이들은 편리하게는 단위 투여량 형태로 존재한다.

본 발명의 조성을 또는 방법에서 사용하기에 적합한 약제학적으로 허용되는 담체는 물, 염 용액, 알콜, 아라비아 검, 식물성 오일(예를 들어, 옥수수 오일, 면화유, 낙화생유, 올리브유, 코코넛 오일), 물고기 간유, 폴리솔베이트 80 같은 오일성 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 가보하이드레이트(예를 들어, 락토오스, 아밀로오스 또는 전분), 마그네슘 스테아레이트, 활석, 규산, 점성 파라핀, 지방산 모노글리세라이드 및 디글리세라이드, 펜타에리트리톨 지방산 에스테르, 하이드록시 메틸셀룰로오스, 폴리비닐 피클리돈 등을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

약제학적 제제는 멸균될 수 있고, 경우에 따라, 보조제 예를 들어, 윤활제, 방부제, 안정화제, 습윤제, 에멀션화제, 삼투압에 영향을 주는 염, 완충액, 착색제 및 방향제와 혼합될 수 있다. 부가적으로, 본 발명의 접합체는 예를 들어, 간에 의한 면역원성 또는 망내계(reticuloendothelial, RES) 반응을 예방하기 위해서 제피되거나 보호될 수 있다. 본 목적을 위해서 사용할 수 있는 제제는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 당해분야에 공지된 다른 것들을 포함한다.

또 다른 양태에서, 본 발명은 (1) 약제학적으로 허용되는 담체 중 비타민 D 잔기 및 표적 분자 잔기 하나 이상을 제공하며; (2) 본원에 기술된 본 발명의 치료학적으로 유효량의 접합체를 투여함을 포함하는, 환자의 관심있는 조직으로 비타민 D 잔기를 부위-특이적으로 전달하는 방법에 관한 것이다. 그러나, 상기 접합체는 바람직하게는, 특정한 투여 방법에 따라 하기 형태들 중 하나의 형태로 전달된다.

비경구 적용에 있어서, 특히 적합한 것은 주사용 멸균 용액, 바람직하게는 오일성 또는 수성 용액 뿐만 아니라 혼탁제, 에멀션화제, 좌제를 포함하는 삽입제이다. 앰풀은 편리한 단위 투여량이다.

장내 적용에 있어서, 특히 적합한 것은 정제, 당의정, 액제, 점적제, 좌제, 함당정제, 산제 또는 캡슐제가 있다. 시럽제, 엘릭서제 등은 해당 담체가 바람직한 경우 사용될 수 있다. 이의 투여 용이성으로 인해, 정제 및 캡슐제가 가장 유익한 경우 투여 단위이다.

직장 투여를 위해서, 접합체는 카카오 오일 또는 기타 트리글리세라이드 같은 좌제를 함유하는 약제학적 조성물내로 제형화된다. 저장 수명을 연장시키기 위해서, 조성물은 유리하게는 아스코르브산, 부틸화 하이드록시아미콜 또는 하이드로퀴논 같은 항산화제를 포함한다.

적합한 국부 제형은 경피 장치, 에어로졸, 크림, 연고제, 로션, 살포제 등을 포함할 수 있다.

본 발명의 약제학적 조성물의 경구 투여가 바람직하다. 본 발명에 따르는 화합물의 1일 투여량은 일반적으로 약 0.025 내지 약 2.5nmol/kg, 바람직하게는 약 0.025 내지 약 1nmol/kg이다. 일반적으로, 본 발명의 접합체는 약제학적으로 허용되는 담체 중에 단위 용량형으로 조제된다. 종양같은 과증식성 질환을 치료하기 위해서, 화학식 I의 접합체의 장내 투여량은 단위 용량 당 약 1nmol 내지 약 100nmol이며; 골 질

환의 경우, 단위 용량 당 약 0.5nmol 내지 50nmol이다.

부가적으로, 당해 분야의 숙련자는, 상기 용량형은 시간 방출, 예를 들어, 리포증 전달 시스템, 서방성 메카니즘을 나타내는 폴리사카라이드, 살리스틱(salistic) 또는 기타 중합체 삽입물, 또는 미소구 같은 지속성, 지연성 또는 직접성 방출 전달 시스템으로 캡슐화될 수 있을 뿐만 아니라 활성 성분이 예를 들어, 미세캡슐화, 장용피, 다발성 제피제 등에 의해 상이한 분해성 제피제 하나 이상으로 적합하게 보호되는 것일 수 있으며, 상기 수단은 이에 함유된 조성물이 지속적으로 투여되도록 한다는 것을 또한 이해할 것이다. 예를 들어, 장용피는 위액 중 분해에 내성이 있는 것이 적합하다. 또한 활성 성분을 동결-건조시켜 수득된 동결 건조물을 예를 들어, 주사용 제품의 제조에 사용하는 것이 가능하다.

추가로, 특정의 경우, 실질적으로 바람직한 양의 활성 화합물을 사용하는 특정 화합물의 효능, 제형화된 특정 조성물, 적용 형태, 및 치료하고자 하는 특정 신체 부위 및 유기체에 따라 다양할 것이라는 것을 이해할 것이다. 예를 들어, 특정 환자에 대한 특정 투여량은 연령, 성별, 체중, 전반적인 건강 상태, 식이, 투여 시기 및 형태, 분비율 및 혼합 사용하는 약제 및 치료가 적용되는 특정 질환의 심각도에 따른다. 당해 숙주에 대한 투여량은 통상적인 고려사항, 예를 들어, 적합한 통상적인 약제학적 프로토콜을 사용함으로써, 당해 화합물 및 공지된 제제의 상이한 활성에 대한 통상적인 비교를 통해서 결정할 수 있다.

본 발명은 하기 실시예에 의해 추가로 설명되지만 본 발명의 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

#### 실시예 1:

##### 1α-(OH)-24-아미노알킬-1,1-비스포스포네이트-D<sub>2</sub> 접합체(7)의 합성

도 1의 반응식을 참조한다. 톨루엔(5mℓ) 중 공지된 알콜(1)(1.0g, 1.52mmol) 용액을 톨루엔 중 12.5% 포스겐 용액 22mℓ를 가하고 상기 용액을 실온에서 20시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 감압하에 농축하여 클로로포르메이트(2)를 제조한다.

피리딘(0.18mℓ, 2.2mmol)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(12mℓ) 중 (2)(1.1g, 1.53mmol) 및 테트라이소프로필 4-아미노부틸-1,1-비스포스포네이트 3[문헌 참조: Saari et al., 미국 특허 제5,183,815호](0.92g, 2.2mmol) 용액에 가하고 상기 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반한다. 반응 혼합물을 감압하에 농축시키고, 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔 상에서 성광 크로마토그래피하여 화합물(4)를 수득한다.

테트라하이드로푸란(THF)(10mℓ) 중 화합물(4)(0.80g, 0.74mmol) 및 테트라부틸암모늄 플루오라이드(TBAF)(1.0M THF 용액 2.2mℓ, 2.2mmol) 용액을 실온에서 24시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 물(30mℓ)로 희석하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 40mℓ)로 추출한다. 혼합한 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후 여액을 감압하에 농축시킨다. 잔사를 메탄올/클로로포름을 용출제로 사용하여 실리카 겔 상에서 성광 크로마토그래피로 정제하여 테트라이소프로필 에스테르 화합물(5)을 수득한다.

트리메틸실릴브로마이드(0.39mℓ, 2.92mmol)를 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(6mℓ) 중 테트라이스프로필 에스테르 화합물(5)(0.5g, 0.58mmol) 용액에 가하고 상기 혼합물을 실온에서 불활성 대기하에서 24시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 감압하에 농축시키고 잔사를 물(15mℓ)로 희석한다. 상기 혼합물을 여과하고 여액을 동결 건조시켜 화합물(6)을 수득한다.

메탄올(93mℓ) 중 화학식(6)(250mg, 0.36mmol) 및 9-아세틸안트라센(21mg) 용액을 ACE 500mℓ 광 반응기 중에 위치시키고 질소를 사용하여 15분 동안 퍼징한다. 반응 혼합물을 0°C로 냉각시키고 유라닐 유리를 통해 여과된 400W 하노비아 램프(Hanovia lamp)로 2시간 동안 조사한다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 감압하에 농축시킨다. 잔사를 물(10mℓ)로 희석시킨다. 상기 혼합물을 여과하고 여액을 동결 건조시켜 상기 표제의 접합체(7)를 수득한다.

#### 실시예 2:

##### 1-아미노알킬-1,1-비스포스포네이트-24-(OH)-D<sub>2</sub>(16)의 합성

도 2A 및 2B에서 나타낸 반응식을 참조한다. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(25mℓ) 중 화학식(1)의 0°C 용액(2.0g, 3.04mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(0.78g, 6.1mmol)에 클로로메틸 메틸 에테르(0.29g, 3.6mmol)를 부가한다. 생성된 반응 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반하고, 실온에서 7시간 동안 교반한 후 물(30mℓ)로 희석한다. 분리된 수성 상을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 25mℓ)로 추출하고, 혼합한 유기상을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고 여과한 후, 여액을 진공에서 농축시킨다. 잔사를 실리카 겔 상에서 성광 크로마토그래피로 정제하여 화합물(8)을 수득한다.

THF(38mℓ) 중 화합물(8)(1.99g, 2.84mmol) 및 TBAF(1.0M THF 8.4mℓ) 용액을 실온에서 24시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 물(100mℓ)로 희석하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 100mℓ)로 추출한다. 혼합한 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 상을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고 여과한 후, 여액을 감압하에 농축시킨다. 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔 상에서 성광 크로마토그래피로 정제하여 디올 화합물(9)을 수득한다.

디올(9)의 용액(1.25g, 2.64mmol), N,N-디메틸포름아미드(20mℓ), 및 이미다졸(0.54g, 7.93mmol)에 3급-부틸디메틸실릴 클로라이드(0.40g, 2.64mmol)를 가한다. 반응 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반한 후, 물(60mℓ)로 희석하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 70mℓ)로 추출한다. 혼합한 유기상을 염수(50mℓ)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고 여과한 후, 여액을 감압하에 농축시킨다. 잔사를 실리카 겔 상에서 성광 크로마토그래피하여 각각 2개의 생성물을 수득한다. 이들은 도 2A에서 알콜(10) 및 알콜(11)로 식별된다.

도 2B의 상단에서 예증되는 바와 같이, 톨루엔(2.5mℓ) 중 알콜(10)의 용액(0.5g, 0.85mmol)을 톨루엔 중

12.5% 포스겐 용액 12.3mℓ에 가하고, 상기 용액을 실온에서 20시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 감압하에 농축하여 클로로포르메이트(12)를 수득한다.

파리딘(0.09mℓ, 1.1mmol)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(6mℓ) 중 클로로포르메이트(12)(0.5g, 0.77mmol) 및 테트라이소프로필-4-아미노부틸-1,1-비스포스포네이트(3)(0.46g, 1.1mmol) 용액에 가하고 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반한다. 반응 혼합물을 감압하에 농축하고, 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 화합물(13)을 수득한다.

THF(7mℓ) 중 화합물(13)(0.50g, 0.49mmol) 및 TBAF(1.0M THF 용액 0.74mℓ, 0.74mmol) 용액을 실온에서 24시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 물(20mℓ)로 희석하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 30mℓ)로 추출한다. 혼합한 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고 여과한 후, 여액을 감압하에서 농축한다. 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 화합물(14)을 수득한다.

트리메틸실릴브로마이드(0.26mℓ, 1.96mmol)를 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(4mℓ) 중 테트라이소프로필 에스테르(14)의 용액(0.35g, 0.39mmol)에 가하고 혼합물을 실온에서 불활성 대기하에서 24시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축시키고 잔사를 물(15mℓ) 및 메탄올(3mℓ)로 희석하고 8시간 동안 교반한다. 상기 혼합물을 여과하고 여액을 동결 건조시켜 화합물(15)을 수득한다.

메탄올(80mℓ) 중 화합물(15)(0.21g, 0.31mmol) 및 9-아세틸안트라센(18mg) 용액을 ACE 500mℓ 광 반응기에 위치시키고, 상기 용액을 질소로 15분 동안 퍼징한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, 우라닐 유리를 통해 여과된 400W 하노비아 램프로 2시간 동안 조사한다. 반응 혼합물을 여과한 후, 감압하에서 여액을 농축시킨다. 잔사를 물(10mℓ)로 희석한다. 혼합물을 여과하고 여액을 동결 건조하여 상기 표제의 접합체(16)를 수득한다.

### 실시예 3:

#### 1α,24-(OH)<sub>2</sub>-3-아미노알킬-1,1-비스포스포네이트-D<sub>2</sub>(21)의 합성

도 3을 참조한다. 툴루엔(2.5mℓ) 중 알콜(11)의 용액(0.5g, 0.85mmol)을 툴루엔 중 12.5% 포스겐 용액 12.3mℓ에 가하고 상기 용액을 실온에서 20시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축시켜 클로로포르메이트(17)를 수득한다.

파리딘(0.081mℓ, 1mmol)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(5mℓ) 중 (17)(0.45g, 0.69mmol) 및 테트라이소프로필 4-아미노부틸-1,1-비스포스포네이트(0.41g, 1mmol) 용액에 가하고, 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반한다. 상기 반응 혼합물을 감압하에서 농축하고 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 화합물(18)을 수득한다.

THF(6.5mℓ) 중 화합물(18)(0.47g, 0.46mmol) 및 TBAF(1.0M THF 용액 0.7mℓ, 0.7mmol) 용액을 실온에서 24시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 물(20mℓ)로 희석하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 30mℓ)로 추출한다. 혼합한 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고 여과한 후, 여액을 감압하에서 농축한다. 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 화합물(19)을 수득한다.

트리메틸실릴브로마이드(0.23mℓ, 1.74mmol)를 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(4mℓ) 중 테트라이소프로필 에스테르(19) 용액에 부가하고 상기 혼합물을 실온에서 불활성 대기하에서 24시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 잔사를 물(15mℓ) 및 메탄올(3mℓ)로 희석시키고 8시간 동안 교반시킨다. 혼합물을 여과하고, 여액을 동결 건조시켜 화합물(20)을 수득한다.

메탄올(80mℓ) 중 화합물(20)(0.21g, 0.31mmol) 및 9-아세틸안트라센(18mg) 용액을 ACE 500-mℓ 광 반응기 내에 위치시키고, 상기 용액을 질소를 사용하여 15분 동안 퍼징시킨다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고 우라닐 유리를 통해 여과시킨 400-W 하노비아 램프로 2시간 동안 조사한다. 반응 혼합물을 여과시키고, 여액을 감압하에서 농축시킨다. 잔사를 물(10mℓ)로 희석한다. 혼합물을 여과시킨 후, 여액을 동결 건조시켜 상기 표제의 접합체(21)를 수득한다.

### 실시예 4:

#### 1α-아미노알킬-1,1-비스포스포네이트-25-(OH)-D<sub>3</sub>(32)의 합성

도 4A 및 4B의 반응식을 참조한다. 공지된 케톤(22)(3.1g, 11.1mmol)[본원에 참조로 인용된 문헌 참조: Baggioolini et al., 51 J. Org. Chem. (1986), 3098-3108], 3,4-디하이드로-2H-피란(1.52mℓ, 16.7mmol) 및 피리디늄 p-톨루엔설포네이트(0.1g, 0.4mmol)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(50mℓ) 중에 용해시키고, 실온에서 24시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 물(30mℓ)로 세척하고, 유기 상을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에서 농축시킨다. 잔사를 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 케톤 화합물(23)을 수득한다.

무수 THF 35mℓ 중 공지된 포스핀 옥사이드(24)(1.35g, 2.32mmol) 용액을 -78℃로 냉각시키고 m-부틸리튬(헥산 중 1.6M 용액 1.45mℓ)을 적가한다. 상기 음이온 용액을 -78℃에서 5분 동안 교반시키고 10 내지 15분 동안 무수 THF(10mℓ) 중에서 용해시킨 케톤(23)(0.57g, 1.56mmol)에 부가한다. 반응 혼합물을 -78℃에서 2시간 동안 교반시킨 후, 2N 나트륨 칼륨 타르타레이트(6mℓ) 및 2N 중탄산 칼륨(6mℓ)으로 희석시킨다. 상기 용액을 실온으로 승온시키고 에틸 아세테이트(4x 25mℓ)로 추출한다. 혼합한 유기 분획을 염수(30mℓ)로 세척하고 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고 여과하여 감압하에서 농축시킨다. 잔사를 용출

제로서 에틸 아세테이트/헥сан을 사용하여 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 화합물(25)을 수득한다.

THF(17mℓ) 중 화합물(25)(0.95g, 1.3mmol) 및 TBAF(1.0M THF 용액 중 3.9mℓ, 3.9mmol) 용액을 실온에서 24시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 물(50mℓ)로 희석시키고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 60mℓ)로 추출한다. 혼합한 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후, 감압하에서 여액을 농축시킨다. 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여, 실리카 겔상에서 섬광 크로마토그래피하여 디올 화합물(26)을 수득한다.

디올 화합물(26)(0.55g, 1.1mmol), N,N-디메틸포름아미드(8mℓ) 및 이마다졸(0.255g, 3.3mmol) 용액에 3급-부틸디메틸실릴 클로라이드(0.166g, 1.1mmol)를 부가한다. 반응 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반시킨 후, 물(30mℓ)로 희석하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 40mℓ)로 추출한다. 혼합한 유기 상을 염수(30mℓ)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후 감압하에서 농축시킨다. 잔사를 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피하여 2개의 개별적인 생성물을 수득한다. 이들을 도 4A의 하단에서 알콜(27) 및 알콜(28)로 분리한다.

톨루엔(3mℓ) 중 알콜(27)(0.25g, 0.41mmol)을 톨루엔 중 12.5% 포스겐 용액 6mℓ에 부가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축하여 도 4B 상단에서 나타낸 바와 같이, 클로로포르메이트(29)를 수득한다.

피리딘(0.047mℓ, 0.57mmol)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(4mℓ) 중 화합물(29)(0.27g, 0.4mmol) 및 테트라이소프로필 4-아미노부틸-1,1-비스포스포네이트(0.24g, 0.57mmol) 용액에 부가하고 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여, 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 화합물(30)을 수득한다.

THF(5mℓ) 중 화합물(30)(0.36g, 0.35mmol) 및 TBAF(1.0M THF 용액 0.52mℓ, 0.52mmol) 용액을 실온에서 24시간 동안 교반시킨다. 상기 반응 혼합물을 물(15mℓ)로 희석하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 25mℓ)로 추출한다. 혼합한 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하여 감압하에서 농축시킨다. 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 화합물(31)을 수득한다.

트리메틸실릴브로마이드(0.20mℓ, 0.30mmol)를 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4mℓ) 중 테트라이소프로필 에스테르(31)(0.28g, 0.30mmol) 용액에 부가하고, 혼합물을 불활성 대기하에서 24시간 동안 실온에서 교반시킨다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축시키고 잔사를 물(15mℓ) 및 메탄올(3mℓ)로 희석시키고 0.5시간 동안 교반시킨다. 혼합물을 여과하고, 여액을 동결 건조시켜 상기-표제의 접합체(32)를 수득한다.

#### 실시예 5:

##### 1α,25-(OH)<sub>2</sub>-3-아미노알킬-1,1-비스포스포네이트-D<sub>3</sub>(36)의 합성

도 5를 참조한다. 톨루엔(3mℓ) 중 알콜(28)(0.26g, 0.43mmol) 용액을 톤루엔 중 12.5% 포스겐 용액 6.2mℓ에 부가하고 반응물을 실온에서 20시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축시켜 클로로포르메이트(33)를 수득한다.

피리딘(0.049mℓ, 0.59mmol)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(5mℓ) 중 클로로포르메이트(33)(0.28g, 0.42mmol) 및 테트라이소프로필 4-아미노부틸-1,1-비스포스포네이트(0.25g, 0.59mmol) 용액에 부가하고 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여, 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 화합물(34)을 수득한다.

THF(5mℓ) 중 화합물(34)(0.37g, 0.36mmol) 및 TBAF(1.0M THF 용액 0.54mℓ, 0.54mmol) 용액을 실온에서 24시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 물(15mℓ)로 희석하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 25mℓ)로 추출한다. 혼합한 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후 감압하에 농축시킨다. 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 테트라이소프로필 에스테르(35)를 수득한다.

트리메틸실릴브로마이드(0.21mℓ, 1.60mmol)를 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5mℓ) 중 테트라이소프로필 에스테르(35)(0.29g, 0.31mmol) 용액에 부가하고, 혼합물을 불활성 대기하에서 24시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축하고, 잔사를 물(15mℓ) 및 메탄올(3mℓ)로 희석하고 0.5시간 동안 교반시킨다. 혼합물을 여과하고, 여액을 동결 건조시켜 상기-표제의 접합체(36)를 수득한다.

#### 실시예 6:

##### 1α-(OH)-25-아미노알킬-1,1-비스포스포네이트-D<sub>3</sub>(41)의 합성

도 6을 참조한다. 메탄올(10mℓ) 및 물(2mℓ) 중 에테르(25)(1.31g, 1.8mmol) 용액을 피리디늄 p-톨루엔설포네이트 수화물(0.034g, 0.18mmol)에 부가한다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시킨다, 물(20mℓ)로 희석하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3x 30mℓ)로 추출한다. 혼합한 유기 상을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고 진공하에서 농축한다. 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 알콜(37)을 수득한다.

톨루엔(9mℓ) 중 알콜(37)(1.09g, 1.7mmol)을 톤루엔 중 12.5% 포스겐 용액 25mℓ에 부가하고, 반응물을 실

온에서 20시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 강압하에 농축하여 클로로포르메이트(38)를 수득한다.

파리딘(0.19㎖, 2.32mmol)을  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (20㎖) 중 클로로포르메이트(38)(1.17g, 1.65mmol) 및 테트라이소프로필 4-아미노알킬-1,1-비스포스포네이트(0.98g, 2.32mmol) 용액에 부가하고 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 강압하에 농축시키고, 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 알콜(39)을 수득한다.

THF(20㎖) 중 알콜(39)(1.61g, 1.5mmol) 및 TBAF(1.0M THF 용액 4.5㎖, 4.5mmol) 용액을 실온에서 24시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 물(60㎖)로 희석시키고  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (3x 60㎖)로 추출한다. 혼합한  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  상을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 강압하에서 농축시킨다. 잔사를 용출제로서 메탄올/클로로포름을 사용하여, 실리카 겔 상에서 섬광 크로마토그래피로 정제하여 테트라이소프로필 에스테르 화합물(40)을 수득한다.

트리메틸실릴브로마이드(0.75㎖, 5.68mmol)을  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (20㎖) 중 테트라이소프로필 에스테르 화합물(40)(0.93g, 1.1mmol) 용액에 부가하고, 혼합물을 실온에서 불활성 대기하에서 24시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 강압하에서 농축시키고 잔사를 물(30㎖)로 희석시킨다. 혼합물을 여과하고 여액을 동결건조시켜 상기-표제의 화합물(41)을 수득한다.

요약하면, 본 발명은 표적화 적용에 유용한 비타민 D 접합체를 제공한다. 상기 접합체는 비타민 D 잔기 및 관심있는 조직에 대한 친화도를 갖는 표적화 분자 잔기를 포함한다. 상기 접합체는 비타민 D 화합물의 부위-특이적인 표적화 능력으로 특성화되며, 예를 들어, 비타민 D 및 골 친화제의 접합체는 비타민 D를 골 조직으로 수송하고 전달하도록 디자인된다.

본 발명을 일부 특성을 사용하여 기술하고 예증하였지만, 당해 분야의 숙련자는 기술된 내용으로부터, 변형, 부가 및 생략을 포함하는 다양한 변형을 이해할 것이다.

### (57) 청구의 범위

#### 청구항 1

관심있는 조직에 대한 친화성을 갖는 표적 분자 잔기와 결합된 비타민 D 잔기 하나 이상을 포함하는 접합체.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 하나 이상의 비타민 D 잔기 대 하나 이상의 표적 분자 잔기의 몰비가 1:1인 접합체.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 비타민 D 잔기가 커넥팅(connecting) 그룹을 통해서 표적 분자 잔기에 결합되는 접합체.

#### 청구항 4

제3항에 있어서, 커넥팅 그룹이 비타민 D 잔기 및 표적 분자 잔기 사이에 결합을 형성시키기 위한 변형에 의해 형성되는 결합 그룹인 접합체.

#### 청구항 5

제3항에 있어서, 커넥팅 그룹이 이기능성 커넥터인 접합체.

#### 청구항 6

제3항에 있어서, 비타민 D 잔기가 커넥팅 그룹 및 하나 이상의 부가적인 커넥팅 그룹을 통해 표적 분자 잔기에 결합되는 접합체.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 표적 분자 잔기가 비스포스포네이트 잔기인 접합체.

#### 청구항 8

제1항에 있어서, 표적 분자 잔기가 데하이드로에피안드로스테론 잔기인 접합체.

#### 청구항 9

제7항에 있어서, 비스포스포네이트가 비타민 D 잔기상의 C-1, C-3, C-24 또는 C-25 위치에서 비타민 D 잔기에 결합되는 접합체.

#### 청구항 10

제1항에 있어서, 표적 분자 잔기가 금속 이온인 접합체.

#### 청구항 11

제5항에 있어서, 이기능성 커넥터가 표적 분자 잔기에 칼레이트화되고 아미드 결합을 통해 비타민 D 잔기에 결합되는 아미노산인 접합체.

#### 청구항 12

제10항에 있어서, 금속 이온이  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{2+}$ , 또는  $\text{Mo}^{2+}$ 로 이

루어진 그룹으로부터 선택되는 이가 금속 이온인 접합체.

### 청구항 13

제1항에 있어서, 표적 분자 잔기가 항체인 접합체.

### 청구항 14

제13항에 있어서, 항체 표적 분자 잔기가, 바이오틴이 항체에 결합되고 아비딘이 비타민 D 잔기에 결합되는 바이오틴-아비딘 결합을 통해 비타민 D 잔기에 결합되는 접합체.

### 청구항 15

제13항에 있어서, 표적 분자 잔기가 모노클로날 항체인 접합체.

### 청구항 16

제13항에 있어서, 표적 분자 잔기가 폴리클로날 항체인 접합체.

### 청구항 17

제1항에 있어서, 비타민 D 잔기 이외에 접합되는 치료제 하나 이상을 추가로 포함하는 접합체.

### 청구항 18

제17항에 있어서, 치료제가 복합 에스트로겐 또는 이의 등가물, 향에스트로겐, 칼시토닌, 비스포스포네이트, 칼슘 보충물, 코발라민, 백일해 독소, 봉소, 데하이드로에피안드로스테론, 형질전환성 골 성장 인자 베타, 액티빈, 및 골 형태형성 단백질로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 골-치료제인 접합체.

### 청구항 19

제17항에 있어서, 치료제가 에스트로마스텐, 포스페이트, 프레드니무스틴, 시스플라틴, S-플루오로우라실, 멜팔란, 하이드록시우레아, 미토마이신, 이다루비신, 메토트렉세이트, 아드리아마이신 및 다우노마이신으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 세포독성제인 접합체.

### 청구항 20

관심있는 조직에 대한 친화성을 갖는 표적 분자 잔기 하나 이상과 결합되는 비타민 D 잔기 하나 이상을 포함하는 접합체 및 적합한 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

### 청구항 21

제20항에 있어서, 접합체의 시간 방출성 전달을 위해 접합체를 캡슐화시키는 상이하게 봉해될 수 있는 피복제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

### 청구항 22

제21항에 있어서, 피복제가 장용피인 약제학적 조성물.

### 청구항 23

- 약제학적으로 허용되는 담체 중, 관심있는 조직에 대한 친화성을 갖는 표적 분자 잔기 하나 이상과 결합된 비타민 D 잔기 하나 이상을 포함하는 접합체를 제공하는 단계 및,
- 치료학적 유효량의 접합체를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 비타민 D 잔기를 환자의 관심있는 조직에 부위-특이적으로 전달하는 방법.

### 청구항 24

제23항에 있어서, 접합체를 단위 투여량 당 0.5nmol 내지 50nmol로 골 질환을 앓고 있는 환자에게 경구적으로 투여하는 방법.

### 청구항 25

제23항에 있어서, 접합체를 단위 투여량 당 약 1nmol 내지 약 100nmol로 과증식성 질환의 치료를 위해 환자에게 경구적으로 투여하는 방법.

### 청구항 26

제23항에 있어서, 접합체가 환자에게 투여된 후 관심있는 조직으로 전달되는 방법.

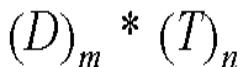
### 청구항 27

제26항에 있어서, 접합체가 관심있는 조직으로 전달된 후 표적 분자 잔기가 절단되어, 접합체의 비타민 D 잔기의 효능을 강화시키는 방법.

### 청구항 28

화학식 1의 접합체.

화학식 1



상기식에서,

D 각각은 비타민 D 잔기를 나타내고;

T 각각은 표적 분자 잔기를 나타내고;

n 및 m은 1 또는 그 이상의 정수를 나타내며;

\*은 비타민 D 잔기에 표적 분자 잔기가 결합함을 나타낸다.

### 청구항 29

T가 종양 세포의 비타민 D 수용체 탐색 능력을 갖는 제제인, 제28항의 접합체를 포함하는 항증식성 조성물.

### 청구항 30

제28항에 있어서, T가 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체 또는 이의 단편, 금속 이온, 골-탐색 제제 또는 종양-탐색 제제인 접합체.

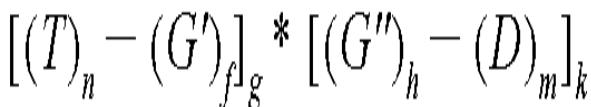
### 청구항 31

제30항에 있어서, 골-탐색 제제가 비스포스포네이트, 테트라사이클린, 폴리말로네이트 또는 데하이드로에피안드로스테론인 접합체.

### 청구항 32

화학식 IV의 접합체.

화학식 IV



상기식에서,

G' 각각은 커넥팅 그룹을 나타내고;

G'' 각각은 G'와 동일하거나 상이한 커넥팅 그룹을 나타내고;

D 각각은 비타민 D 잔기를 나타내고;

T 각각은 표적 분자 잔기를 나타내고;

g, k, n 및 m은 1 또는 그 이상의 정수를 나타내고;

f 및 h는 0 또는 그 이상의 정수를 나타내고;

- 는 커넥팅 그룹이 존재하는 경우 결합을 나타내며;

\*은 D 각각이 커넥터 G' 또는 G''를 통해서 또는 커넥터 둘 모두가 존재하는 경우 커넥터 G' 및 G''를 통해서 T 각각과 결합함을 나타낸다.

### 청구항 33

제32항에 있어서, G'이 바이오틴이고; G''이 아비딘이며 이때, \*은 바이오틴-아비딘 결합인 접합체.

### 청구항 34

화학식 XV의 접합체.

화학식 XV



상기식에서,

D 각각은 비타민 D 잔기를 나타내고;

T 각각은 표적 분자 잔기를 나타내고;

A 각각은 비타민 D 이외의 치료제를 나타내고;

m, n 및 p는 1 또는 그 이상의 정수를 나타내며;

\*은 표적 분자 잔기가 비타민 D 잔기 및 비타민 D 잔기 이외의 치료제와 결합함을 나타낸다.

#### 청구항 35

제34항에 있어서, A가 세포독성제 또는 골 치료제인 접합체.

#### 청구항 36

제35항에 있어서, T가 골-탐색제인 접합체.

#### 청구항 37

환자에게 치료학적 유효량의 제36항의 접합체를 투여함을 포함하는, 사람 환자에서 골 질환을 치료하는 방법.

#### 청구항 38

제34항에 있어서, T가 골-탐색제이고 A가 골-탐색제인 접합체.

#### 청구항 39

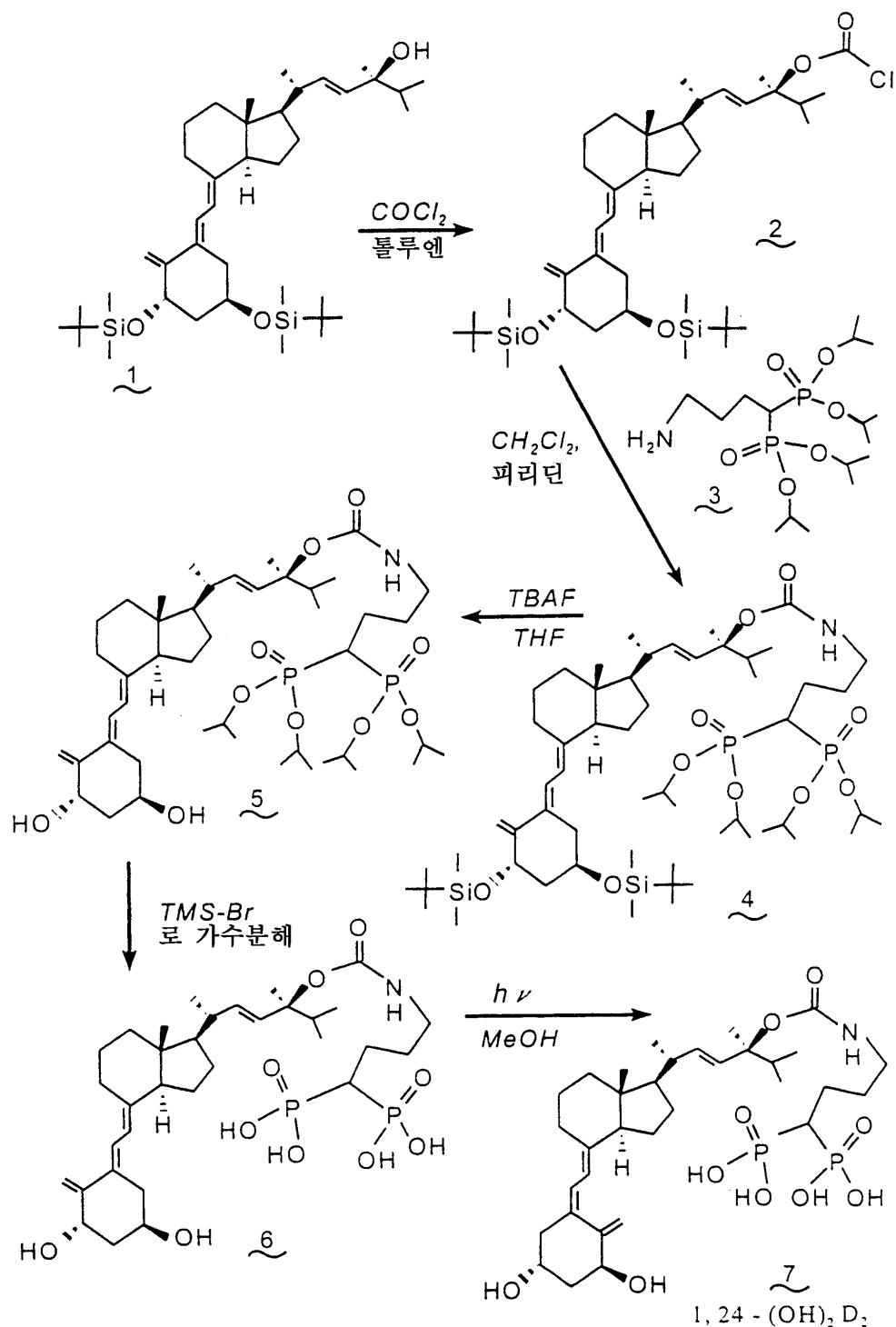
환자에게 치료학적 유효량의 제38항의 접합체를 투여함을 포함하는, 사람 환자에서 골 질환을 치료하는 방법.

#### 청구항 40

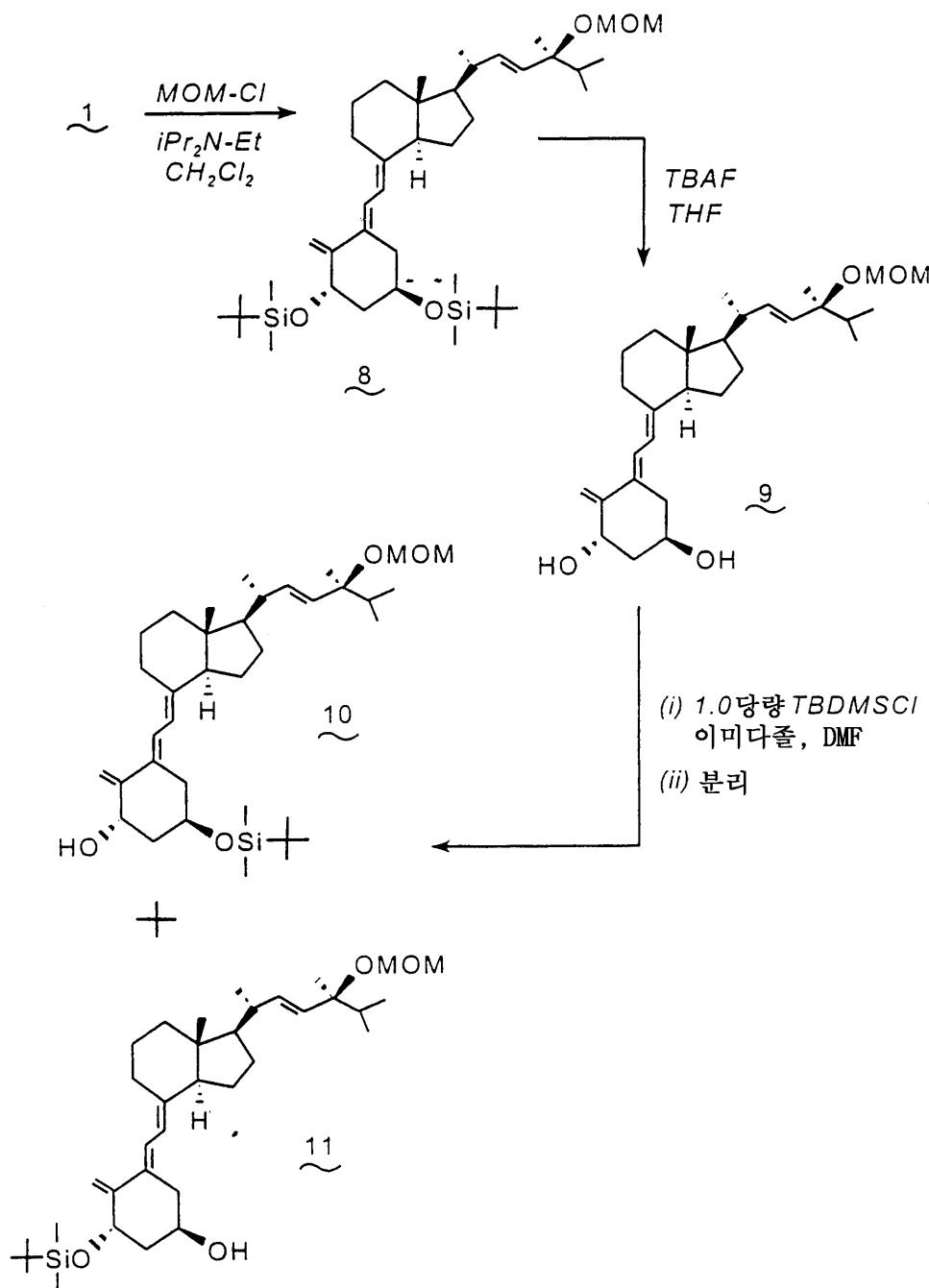
T가 종양 세포의 비타민 D 수용체 탐색 능력을 갖는 제제이고 A가 세포독성제인 제34항의 접합체를 포함하는 항종식성 조성을.

#### 도면

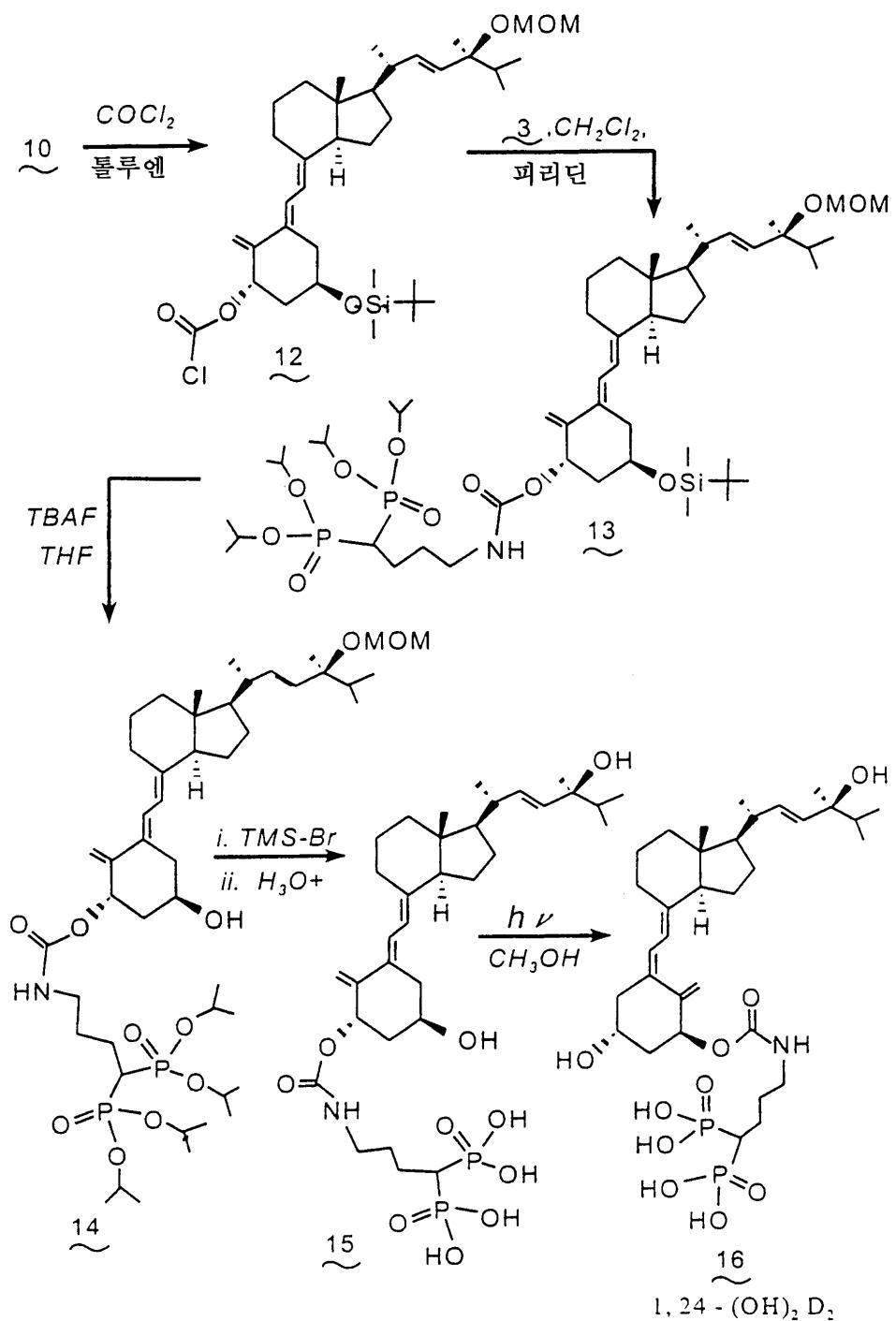
도면1



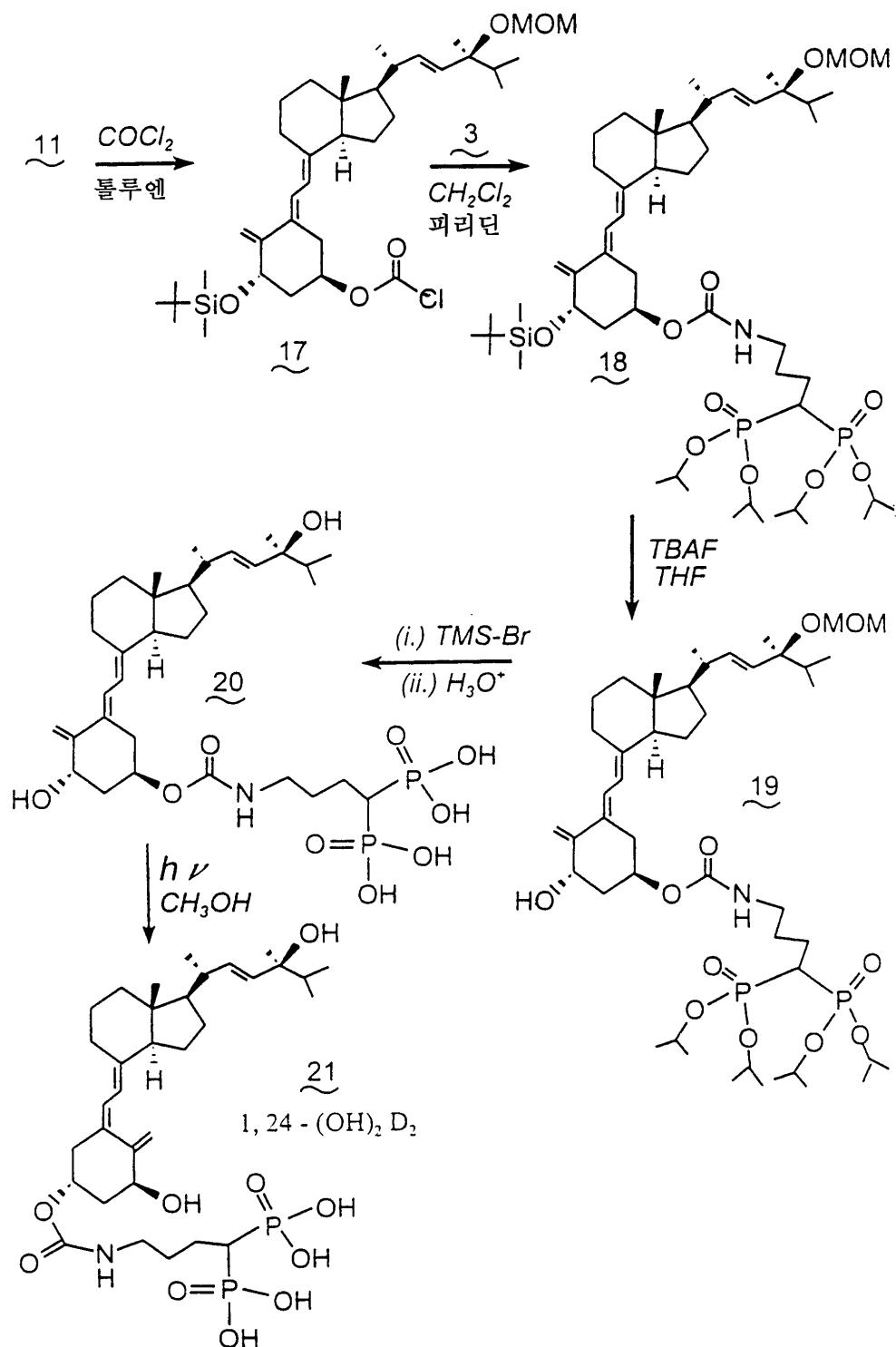
## 도면2A



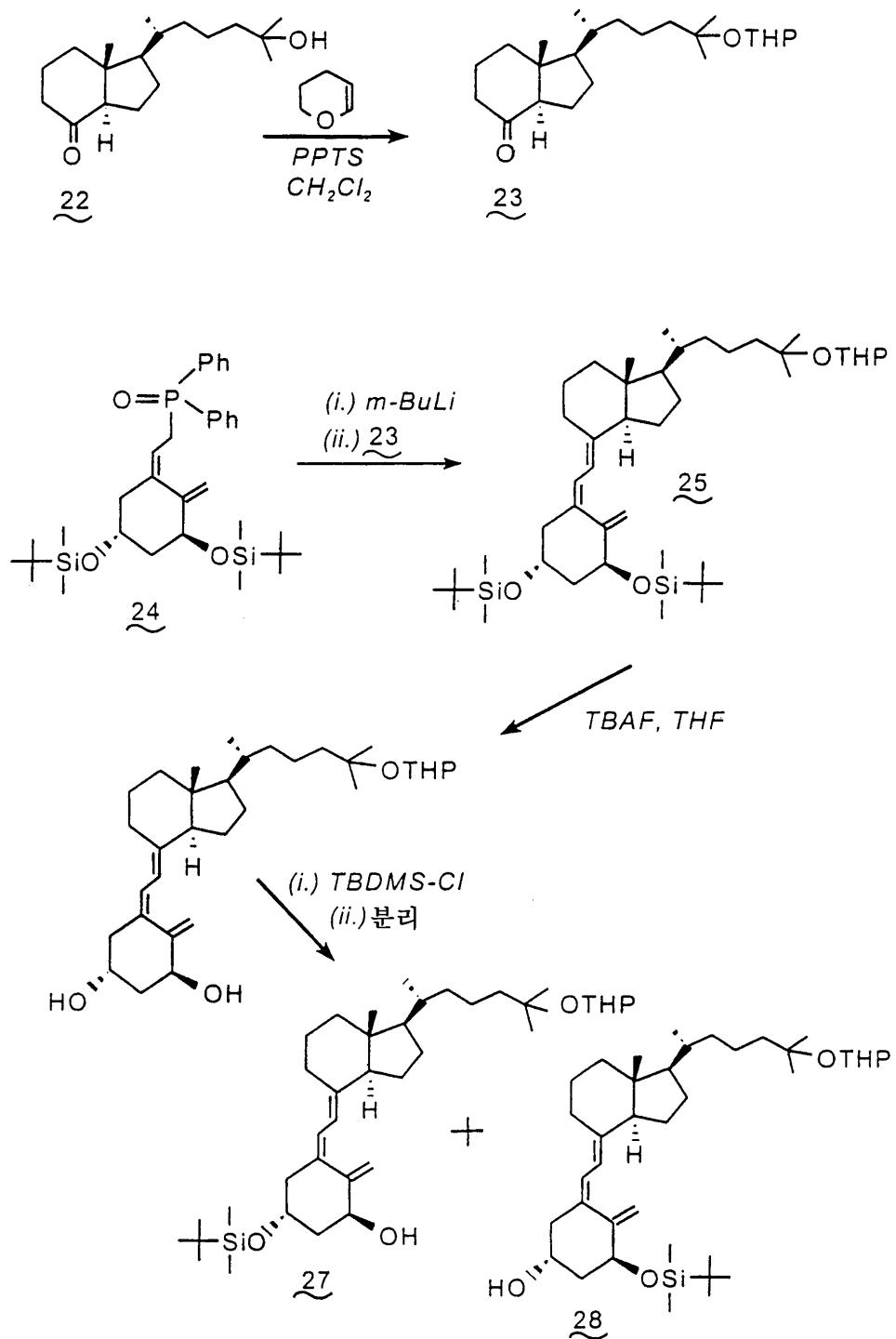
## 도면2B



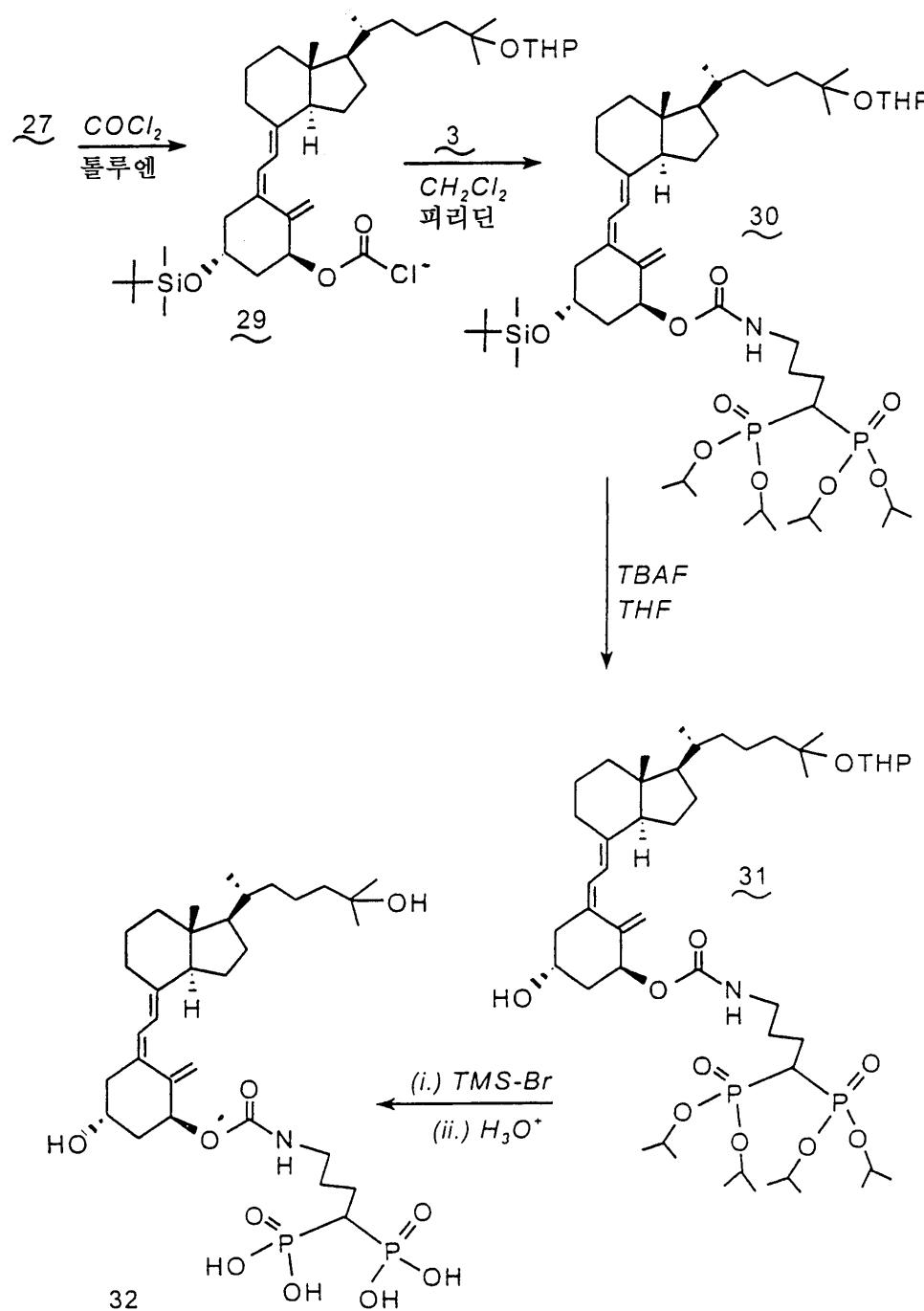
도면3



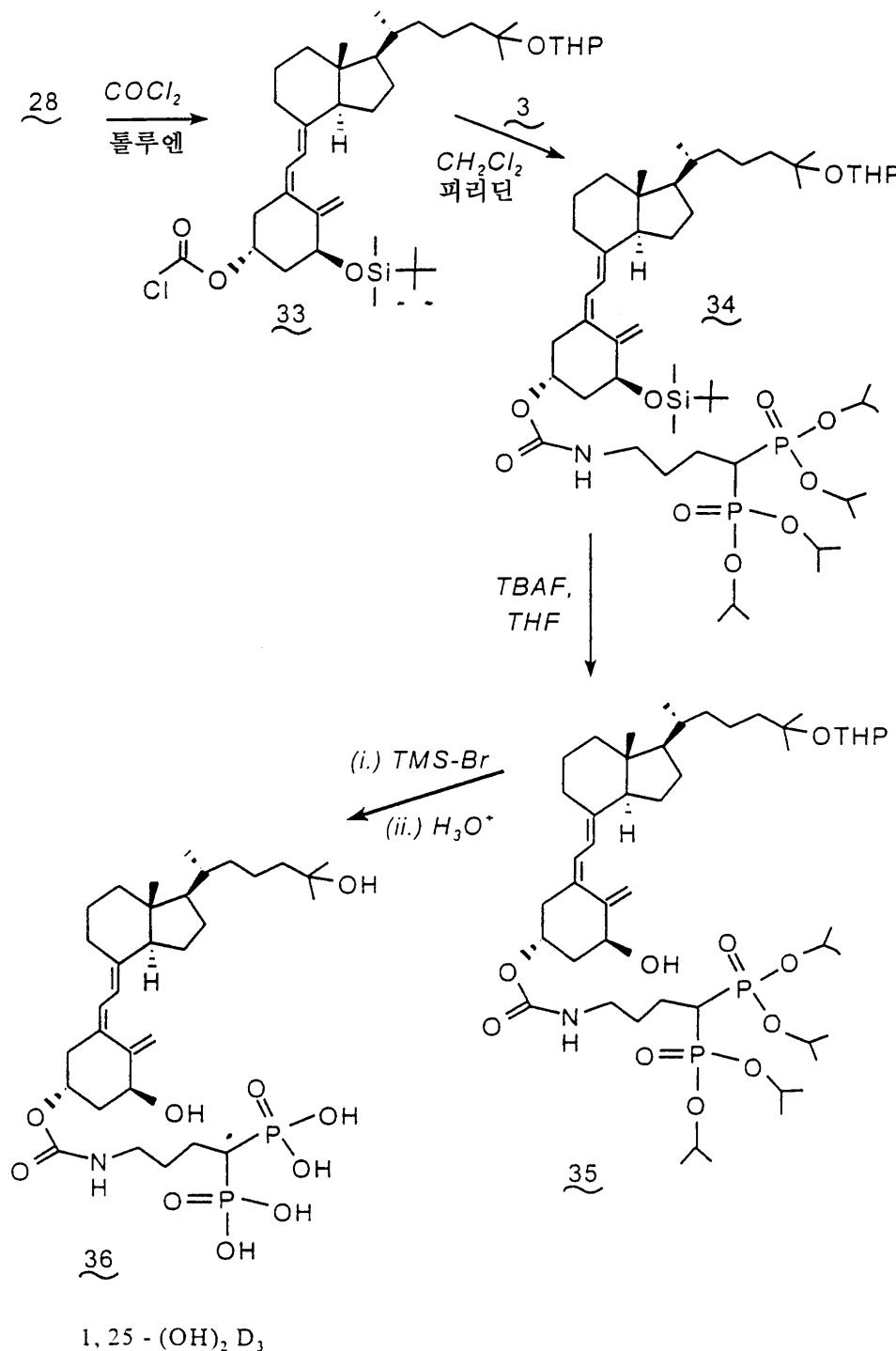
도면4A



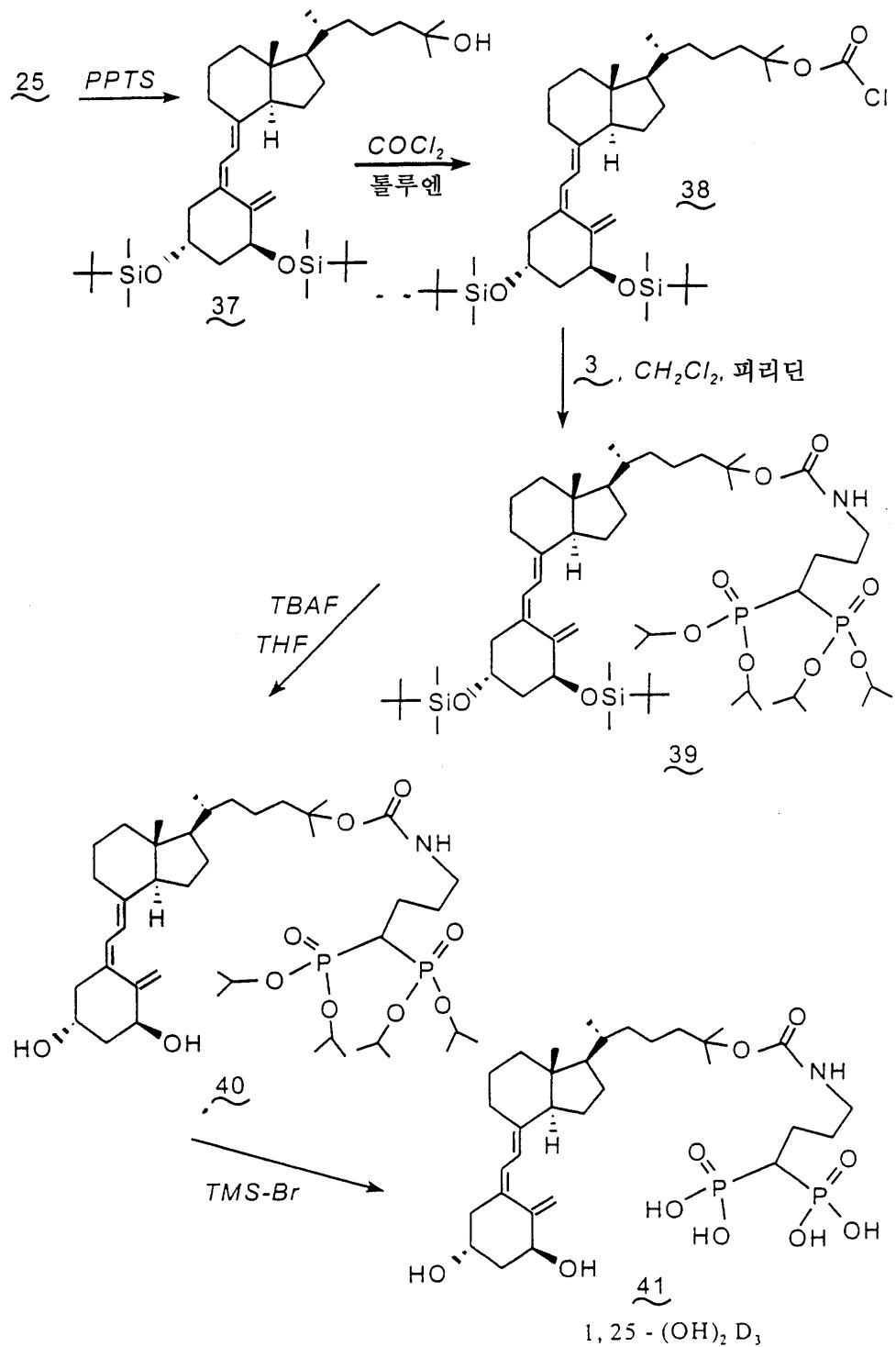
도면4B

1, 25 - (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>

도면5



도면6



## 도면7

