(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0100607
(43) 공개일자 2021년08월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/54 (2017.01) *A61K 31/4745* (2006.01)
A61K 47/60 (2017.01) *A61K 47/65* (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/54 (2017.08)
A61K 31/4745 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7015569
(22) 출원일자(국제) 2019년10월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년05월24일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2019/079601
(87) 국제공개번호 WO 2020/094471
국제공개일자 2020년05월14일
(30) 우선권주장
18204423.0 2018년11월05일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
바이엘 파마 악티엔게젤샤프트
독일 베를린 뮬레르스트라쎄 178 (우편번호 : 데-13353)
(72) 발명자
러헨 한스-게오르그
독일 51375 레버쿠젠 쉐어더슈트라쎄 3
슈텔테-루트빅 베아트릭스
독일 42489 뷜프라트 괴르츠하이데 10에프
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **인테그린 리간드를 갖는 세포증식억제 콘쥬게이트**

(57) 요 약

본 발명은 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 길항제, 엘라스타제에 의하여 분해 가능한 L-Val-L-Pro-L-Asp를 포함하는 결합 단위, 폴리에틸렌글리콜(PEG) 스페이서 및 세포독성 엘리먼트를 포함하는 신규한 약학적 화합물, 그의 제조 방법, 인간 및 기타 포유동물에서 암과 같은 과다증식성 질환을 포함한 질환 및 병태의 치료, 예방 또는 관리를 위한 그의 용도에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
A61K 47/60 (2017.08)
A61K 47/65 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07D 491/22 (2013.01)
(72) 발명자
코피츠 샤를로테 크리스티네
독일 14612 팔켄제에 링슈트라쎄 33

켈데니히 외르그
(사망)

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 식 (I)의 화합물, 및 그의 염, 용매화물 및 염의 용매화물:

CT - LI - SP - IA (I)

상기 식에서,

CT는 각각 히드록실, 카르복실 또는 아미노 기를 추가적으로 지닐 수 있는, 세포독성 라디칼, 세포증식억제의 라디칼 및 세포증식억제 유도체의 라디칼의 군으로부터의 1가 라디칼이며,

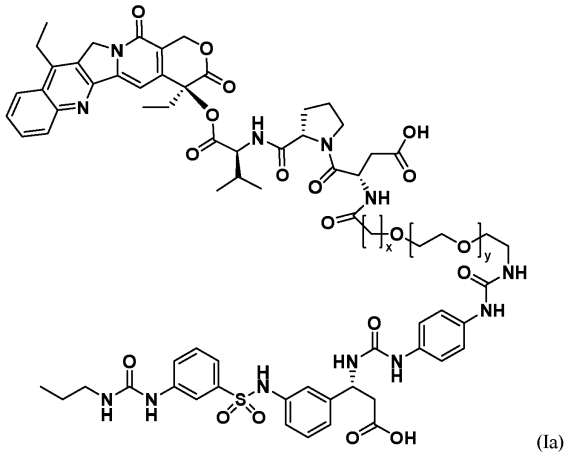
LI는 식 -L-Val-L-Pro-L-Asp-의 2가 펩티드 라디칼이며,

SP는 식 $-C=O-(CH_2)_x-O-(CH_2-CH_2-O)_y-CH_2-CH_2-(NH)_z-C=O-$의 기이며, 여기서 x=1～5, y=0～15 및 z=0～1이며,

IA는 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 수용체를 어드레싱(addressing)하는 1가 라디칼이다.

청구항 2

하기 식 (Ia)의 화합물, 및 그의 염, 용매화물 및 염의 용매화물:



(Ia)

상기 식에서, x는 1～5이며, y=0～15이다.

청구항 3

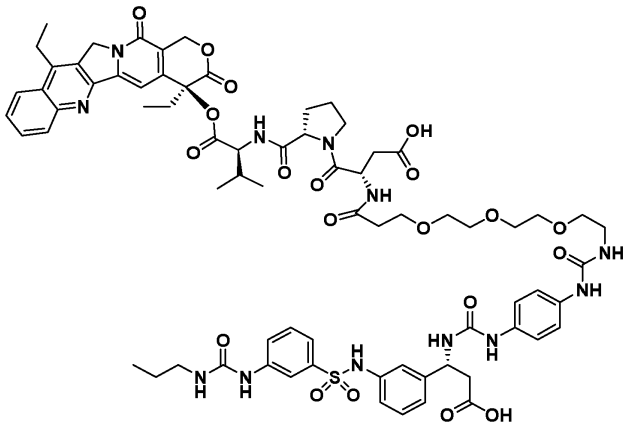
제1항 또는 제2항에 있어서, x=1～4이며, y=0～10인 화합물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, x=1～2이며, y=0～5인 화합물.

청구항 5

하기 식 (II)의 화합물, 및 그의 염, 용매화물 및 염의 용매화물:



(II)

청구항 6

제5항에 있어서, 그의 디나트륨 염의 형태인 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 화합물.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 과다증식성 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 화합물.

청구항 9

과다증식성 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 약제를 제조하기 위한 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 기재된 화합물의 용도.

청구항 10

하나 이상의 불활성, 비독성, 약학적으로 적절한 부형제와 조합된 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 기재된 화합물을 포함하는 약제.

청구항 11

제10항에 있어서, 과다증식성 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 약제.

청구항 12

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 기재된 하나 이상의 화합물 또는 제10항 또는 제11항에 기재된 약제의 유효량을 투여하는, 인간 및 동물에서 안과 질환 및 암 또는 종양의 치료 및/또는 예방 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

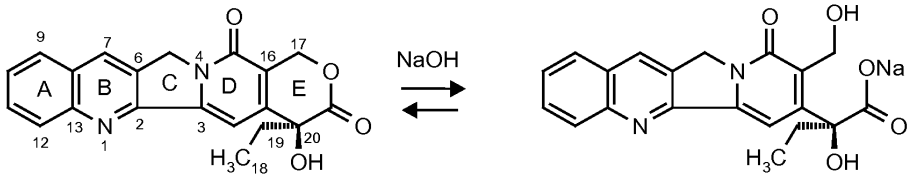
[0001] 본 발명은 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 길항제, 엘라스타제에 의하여 분해 가능한 L-Val-L-Pro-L-Asp를 포함하는 결합 단위, 폴리에틸렌글리콜(PEG) 스페이서 및 세포독성 엘리먼트를 포함하는 신규한 약학적 화합물, 그의 제조 방법, 인간 및 기타 포유동물에서 암과 같은 과다증식성 질환을 포함한 질환 및 병태의 치료, 예방 또는 관리를 위한 그의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 암에서의 화학요법은 종양 조직보다 기타 조직 유형의 증식성 세포에 대한 화학요법제의 독성 작용에 기인하게 되는 일반적으로 심각한 부작용을 수반한다. 수년 동안, 과학자들은 사용된 활성 화합물의 선택성을 개선시키는 문제점에 집중하였다. 자주 뒤따르는 접근법은 예를 들면 pH의 변화에 의하여(DE-A 42 29 903), 효소(예, 글루쿠로니다제; EP-A 511 917 및 595 133)에 의하여 또는 항체-효소 콘쥬게이트에 의하여(WO 88/07378; US 4 975 278; EP-A 595 133) 표적 조직에서 대략 선택적으로 방출되는 프로드러그의 합성이다. 상기 접근법에서의 문제는 특히 기타 조직 및 장기에서 콘쥬게이트의 안정성 부재, 특히 종양 조직에서의 활성 화합물의 세포외 방출을 따른 흔한 활성 화합물 분포이다.

[0003] 20(S)-캄프토테신은 문헌[Wall et al., *J. Am. Chem. Soc.* 88, 3888 (1966)]에 의하여 1966년에 단리된 펜타시클릭 알칼로이드이다. 이는 다양한 시험관내 및 생체내 시험에서 활성이 큰 항종양 가능성을 갖는다. 그러나, 불행하게도, 임상 연구 단계에서의 유망한 가능성의 실현은 독성 및 용해성 문제로 인하여 실패하였다.

[0004] E 고리 락톤의 개환 및 나트륨 염의 형성에 의하여 폐환 형태와의 pH 의존성 평형인 수용성 화합물을 얻었다. 여기서도 또한 임상적 연구는 아직까지 성공하지 못하였다.

[0005] 

[0006] 약 20년 후, 생물학적 활성은 토포이소머라제 I의 효소 억제에 기인하는 것으로 밝혀졌다. 그 후, 가용성이 더 크며, 더 허용 가능하며, 생체내 활성인 캄프토테신 유도체를 발견하기 위하여 연구 활동이 다시 증가되었다.

[0007] 수용성 개선의 경우, A 고리 및 B 고리 변형된 캄프토테신 유도체 및 이온성 기를 갖는 20-O-아실 유도체의 염이 기재되어 있다(US 4 943 579). 후자의 프로드러그 개념은 후에 변형된 캄프토테신 유도체로 전환되었다(WO 96/02546). 그러나, 기재된 20-O-아실 프로드러그는 생체내 매우 짧은 반감기를 가지며, 매우 신속하게 분해되어 모구조를 산출한다.

[0008] 인테그린은 세포가 세포외 기질에 부착되는 것에서 중요한 역할을 하는, 세포의 표면 상에서 발견되는 이종이중체 경막 단백질이다. 이들은 상기 단백질에서 발생하는 RGD 서열을 경유하여 세포외 기질 상의 세포외 당단백질, 예컨대 피브로넥틴 또는 비트로넥틴을 인지한다(RGD는 아미노산 서열 아르기닌-글리신-아스파르테이트에 대한 단일 문자 코드이다).

[0009] 일반적으로, 인테그린, 예컨대 $\alpha_v\beta_3$ 수용체로 지칭되는 비트로넥틴 수용체 또는 대안으로 $\alpha_v\beta_5$ 수용체 또는 GpIIb/IIIa 수용체는 생물학적 과정, 예컨대 세포 이동, 혈관신생 및 세포 기질 부착 및 상기 과정이 중요한 단계가 되는 질환에서 중요한 역할을 한다. 암, 골다공증, 동맥경화증, 재협착 및 안염은 예로서 언급될 수 있다.

[0010] $\alpha_v\beta_3$ 수용체는 예를 들면 다량으로 성장중인 내피 세포에서 발생하며, 세포외 기질로의 그의 부착을 가능케 한다. 그래서, $\alpha_v\beta_3$ 수용체는 혈관신생, 즉 암종 질환에서 종양 성장 및 전이 형성에 대한 중요한 전제 조건이 되는 새로운 혈관의 형성에 중요한 역할을 한다.

[0011] 상기 언급된 수용체의 차단은 상기 유형의 질환의 치료에 대한 중요한 출발점이 된다는 것을 나타낼 수 있었다. 성장 중인 내피 세포가 세포외 기질에 부착되는 것이 그의 해당 인테그린 수용체를 예를 들면 시클릭 펩티드 또는 모노클로날 항체에 의하여 차단시켜 억제될 경우 혈관신생은 발생하지 않으며, 이는 종양 성장의 정지 또는 회귀를 초래한다(예를 들면 Brooks et al., *Cell* 79, 1157-1164 (1994) 참조).

[0012] WO 98/10795에는 분자 표적 종양이 작용적 단위에 연결된 콘쥬게이트, 예컨대 세포증식억제 또는 검출 가능한 표지, 예컨대 방사성 핵종이 기재되어 있다. 특히, 인테그린 길항제, 예컨대 상기 기재된 RGD 서열을 갖는 펩티드는 종양 또는 종양 간질을 표적화하는 분자로서 기재되어 있다. 독소루비신은 종양을 어드레싱(addressing)하는 상기 유형의 분자에 연결된 세포증식억제의 예로서 기재되어 있다.

[0013] WO 98/10795의 화합물의 경우, 종양을 어드레싱하는 분자 및 작용적 단위가 그의 각각의 성질의 보유와 함께 서로 직접 결합되도록 결합(linkage)이 실시된다(예를 들면 제56면 제17행 내지 제58면 제10행 및 실시예 6 참조). 이는 상기 화합물이 사실상 종양을 어드레싱하는 실체의 결합에 의하여 종양 세포에 바로 인접하게 선택적으로 농축되지만(특히 혈관신생에 의하여 새로이 형성된 내피 세포 상에서 발현된 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 수용체에 결

합되어 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린-길항제 작용을 갖는 라디칼의 경우에서), 직접 조합으로 인하여 작용적 단위, 예컨대 세포증식억제는 종양 조직의 세포내 공간에 방출될 수 없다는 결과를 갖는다.

[0014] 근본적으로, 한편으로 콘쥬게이트에서 발견되는 $\alpha_v\beta_3$ 또는 $\alpha_v\beta_5$ 인테그린 수용체를 어드레싱하는 부분의 효과에 의하여 종양 조직에 선택적으로 농축되어 있으나, 다른 한편으로는 콘쥬게이트로부터 방출될 수 있는 세포증식억제를 포함하는 콘쥬게이트는 WO 98/10795에 기재된 콘쥬게이트에 비하여 종양 세포에 대한 세포증식억제의 더욱 직접적인 작용의 가능성으로 인하여 종양 조직에 대한 증가된 독성단 효과를 가져야만 한다. 특히, 세포증식억제의 방출이 종양 조직에 바로 인접하게 또는 심지어 종양 세포에서 발생될 경우 상기 독성단 효과 및 종양 선택성은 훨씬 더 높아야 한다.

[0015] WO 00/69472에서 콜라게나제(IV) 및 엘라스타제에 의하여 구체적으로 분해될 수 있는 효소 활성화된 항종양 프로드러그 화합물이 개시되어 있다. 엘라스타제에 의하여 분해 가능한 결합 단위에 관하여, 상기 출원은 특이성 테트라펩티드 서열 Ala-Ala-Pro-Val 및 Ala-Ala-Pro-Nva가 적절한 것으로 기재되어 있다. 더욱이, 상기 참조에서, $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 수용체 및 세포증식억제를 다루는 모이어티를 포함하는 콘쥬게이트는 언급되어 있지 않다.

[0016] 문헌[Y. Liu et al., *Mol. Pharmaceutics* 2012, 9, 168]에는 레구마인 분해 가능성 링커에 의하여 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 표적 모이어티에 결합된 아우리스타틴스(Auristatins)의 콘쥬게이트가 기재되어 있다.

[0017] EP 1 238 678에서 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린을 표적화하며, 엘라스타제에 의하여 특이적으로 분해될 수 있는 펩티드 링커를 갖는 세포독성제와의 콘쥬게이트가 개시되어 있다. 엘라스타제에 의하여 분해 가능한 결합 단위에 관하여, 상기 출원은 적절한 Pro-Val 및 Pro-Leu를 포함하는 펩티드 서열이 기재되어 있다. 독소단 모이어티로서 캄프토테신 및 퀴놀론 카르복실산이 예시된다.

[0018] 상기 콘쥬게이트의 특정한 과제는

[0019] · 적절한 비히클 중의 정맥내 투여를 가능케 하는 충분한 용해성,

[0020] · 무상해 콘쥬게이트의 높은 종양 투과,

[0021] · 전신 탈콘쥬게이션을 방지하기 위한 혈장 중의 높은 안정성,

[0022] · 종양 미세환경 중의 표적화된 수용체로의 효율적인 결합,

[0023] · 종양 미세환경 중에 존재하는 효소에 의한 효율적인 분해,

[0024] · 종양 세포 흡수 대 재분포를 향상시키기 위하여 분해된 독소단 모이어티의 높은 안정성 및 세포 투과성을 포함한다.

발명의 내용

[0025] 그러므로, 본 발명의 목적은 바람직하게는 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 수용체를 어드레싱하는 콘쥬게이트에서 모이어티가 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 수용체에 결합되는 그의 능력을 보유하며, 그리하여 상기 화합물에 대한 조직 선택성을 제공하는, 종양 미세환경 내에서 콘쥬게이트로부터 방출될 수 있는 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 수용체 및 세포증식억제를 어드레싱하는 모이어티를 포함하는 콘쥬게이트를 개발하고자 한다. 게다가, 콘쥬게이트의 분해 가능성 및 약물 방출은 종양 환경 내에 존재하며 활성인 효소, 예컨대 중성구 엘라스타제에 의하여 조정되어야 한다. 마지막으로, 독소단의 프로파일은 어떤 면에서는 세포외 분해 및 방출 기전이 부합되어야만 하며, 이는 종양 세포 및 조직으로의 높은 투과성을 지녀야만 하며, 약물 전달체의 기질이 되지 않아야 한다.

[0026] 본 발명은 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 길항제, 엘라스타제에 의하여 선택적으로 분해될 수 있는 결합 단위, 폴리에틸렌글리콜(PEG) 스페이서 및 세포독성 엘리먼트(독소단)를 포함하는 콘쥬게이트인 약학적 화합물에 관한 것이다. 콘쥬게이트는 엘라스타제에 의하여, 즉 특히 종양 간질에서 발견될 수 있는 효소에 의하여 선택적으로 분해될 수 있는 바람직한 결합 단위에 의하여 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 길항제로의 결합의 결과로서 종양 특이성 작용을 갖는다. 바람직한 결합 단위는 생물학적 매질, 예컨대 배양 매질 또는 혈청 중의 세포증식억제 및 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 길항제의 콘쥬게이트의 충분한 안정성 및 동시에 세포증식억제의 방출과 함께 그의 특이성 효소 및 가수분해 분해 가능성의 결과로서 종양 조직 내에서의 원하는 세포내 작용을 제공한다.

[0027] 특히, 본 발명의 화합물은 바람직한 특징을 나타낸다:

[0028] · 우레아 결합에 의한 티오 우레아의 대체 후 콘쥬게이트의 개선된 안정성,

[0029] · 특히 적절한 독소단 모이어티로서 7-에틸 캄프토테신의 채용

[0030] ° 예를 들면 락톤 고리 안정성에 대한 이로운 영향(*Drugs Fut* 2002, 27(9), 869)

[0031] ° (예를 들면 SN38에 비하여) 높은 세포 투과성 및 낮은 유출,

[0032] · 용해성, 인테그린 결합 친화성, 엘라스타제 분해 가능성에 대한 이로운 영향을 갖는 변형된 스페이서,

[0033] · 콘쥬게이트 투여 대 직접 투여 후 독소단의 종양 축적,

[0034] · 각종 종양 모델에서의 우수한 치료적 효능.

[0035] 상기 목적을 위하여, 7-에틸 캄프토테신은 상기 언급된 콘쥬게이트에서 독소단 모이어티로서 특히 바람직하다.

[0036] 본 발명은 하기 식 (I)의 화합물, 및 그의 염, 용매화물 및 염의 용매화물을 제공한다:

[0037] CT - LI - SP - IA (I)

[0038] 상기 식에서,

[0039] CT는 각각 히드록실, 카르복실 또는 아미노 기를 추가적으로 지닐 수 있는 세포독성 라디칼, 세포증식억제의 라디칼 및 세포증식억제 유도체의 라디칼의 군으로부터의 1가 라디칼이며,

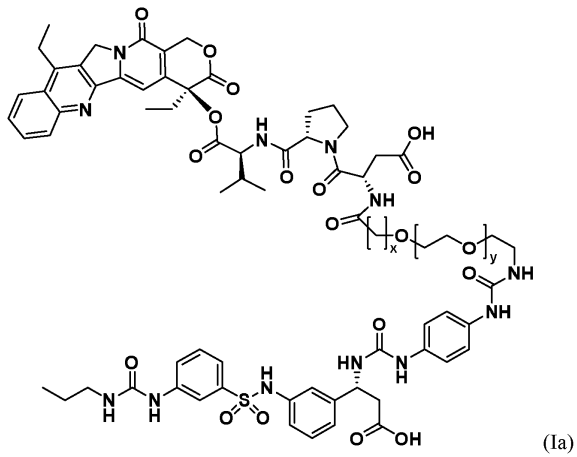
[0040] LI는 식 -L-Val-L-Pro-L-Asp-의 2가 펩티드 라디칼이며,

[0041] SP는 식 $-C=O-(CH_2)_x-O-(CH_2-CH_2-O)_y-CH_2-CH_2-NH-C=O-$의 기이며, 여기서 x=1～5이며, y=0～15이며,

[0042] IA는 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 수용체를 어드레싱하는 1가 라디칼이다.

[0043] 2가 펩티드 라디칼 LI는 그의 N-말단 또는 C-말단 위치에 의하여 CT 또는 SP에 결합될 수 있다. 바람직하게는 LI는 그의 C-말단 위치를 경유하여 CT에 및 그의 N-말단 위치를 경유하여 SP에 결합된다.

[0044] 본 발명은 하기 식 (Ia)의 화합물, 및 그의 염, 용매화물 및 염의 용매화물을 추가로 제공한다:

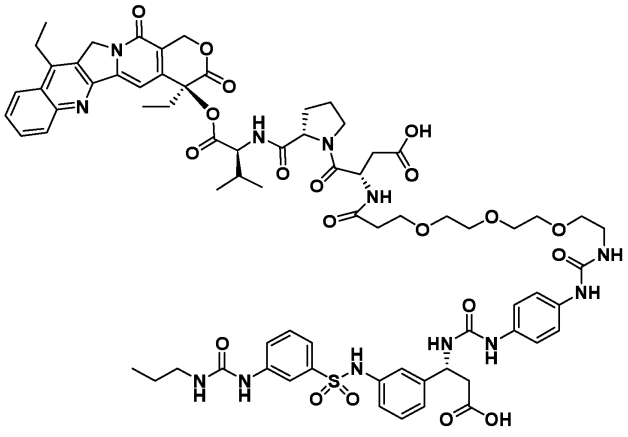
[0045] 
(Ia)

[0046] 상기 식에서, x는 1～5이며, y=0～15이다.

[0047] x가 1～4인 식 (I) 또는 (Ia)의 화합물이 바람직하며, x가 1～2인 식 (Ia)의 화합물이 더욱 바람직하며, x가 2인 식 (Ia)이 화합물이 가장 바람직하다.

[0048] y가 0～10인 식 (I) 또는 (Ia)의 화합물이 바람직하며, y가 0～5인 식 (Ia)의 화합물이 더욱 바람직하며, y가 2인 식 (Ia)의 화합물이 가장 바람직하다.

[0049] 하기 식 II의 화합물, 및 그의 염, 용매화물 및 염의 용매화물이 바람직하다:



(II)

[0050]

[0051] 본 발명의 문맥에서 바람직한 염은 본 발명의 화합물의 생리학적 허용 가능한 염이다. 또한 그 자체가 약학적 적용에에 적절하지는 않지만, 예를 들면 본 발명의 화합물의 단리, 정제 또는 저장에 사용될 수 있는 염이 포함된다.

[0052] 본 발명의 화합물의 생리학적 허용 가능한 염은 특히 미네랄 산, 카르복실산 및 술폰산의 산 부가 염, 예를 들면 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 벤젠술폰산, 톨루엔술폰산, 나프탈렌디술폰산, 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프로피온산, 숙신산, 푸마르산, 말레산, 락트산, 타르타르산, 말산, 시트르산, 글루콘산, 벤조산 및 엠본산의 염을 포함한다.

[0053] 게다가, 본 발명의 화합물의 생리학적 허용 가능한 염은 또한 예를 들면 통상의 염기로부터 유도된 염, 바람직하게는 알칼리 금속 염(예, 나트륨 및 칼륨 염), 알칼리 토금속 염(예, 칼슘 및 마그네슘 염), 아연 염 및, 암모니아 또는 1 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 유기 아민, 예를 들면 바람직하게는 에틸아민, 디에틸아민, 트리에틸아민, N,N-에틸디이소프로필아민, 모노에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 디메틸아미노에탄올, 디에틸아미노에탄올, 트리스(히드록시메틸)아미노메탄, 콜린, 벤잘코늄, 프로카인, 디벤질아민, 디시클로헥실아민, N-메틸모르폴린, N-메틸피페리딘, 아르기닌, 리신 및 1,2-에틸렌디아민으로부터 유도된 암모늄 염을 포함한다.

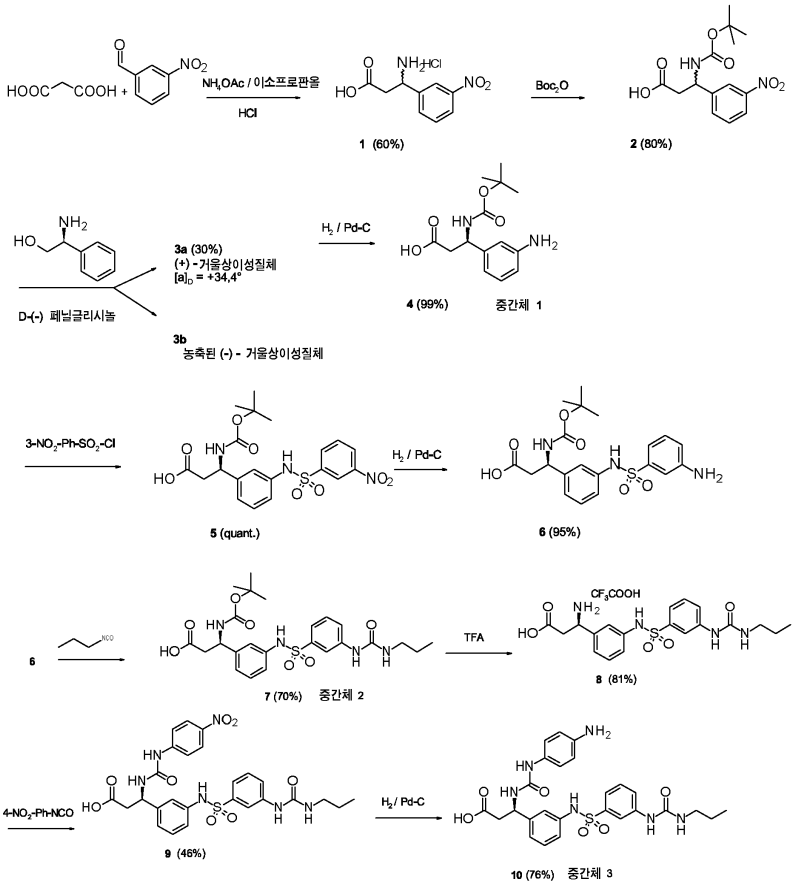
[0054] 바람직한 염은 식 (II)의 화합물의 디나트륨 염이다.

[0055] 본 발명의 문맥에서 용매화물은 용매 분자와의 배위에 의하여 고체 또는 액체 상태로 착체를 형성하는 본 발명의 화합물의 형태로서 기재된다. 수화물은 배위가 물을 사용한 용매화물의 특정한 형태이다. 본 발명의 문맥에서 바람직한 용매화물은 수화물이다.

[0056] 또한, 본 발명은 본 발명의 화합물의 모든 적절한 동위원소 변형체를 포함한다. 여기서 본 발명의 화합물의 동위원소 변형체는 본 발명의 화합물에서 적어도 1종의 원자가 동일한 원자수를 갖지만 자연에서 일반적으로 또는 주로 발생하는 원자량과는 상이한 원자량을 갖는 또 다른 원자로 교환된 화합물을 의미하는 것으로 이해한다. 본 발명의 화합물에 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 황, 불소, 염소, 브롬 및 요오드의 것, 예컨대 ^{2}H(중수소), ^{3}H(삼중수소), ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{17}O, ^{18}O, ^{32}P, ^{33}P, ^{33}S, ^{34}S, ^{35}S, ^{36}S, ^{18}F, ^{36}Cl, ^{82}Br, ^{123}I, ^{124}I, ^{129}I 및 ^{131}I이다. 본 발명의 화합물의 특정한 동위원소 변형체, 특히 하나 이상의 방사성 동위원소가 혼입된 것은 예를 들면 체내에서의 작용 또는 활성 성분 분포의 기전의 검사를 위하여 이로울 수 있으며, 비교적 용이한 제조 가능성 및 검출 가능성으로 인하여 특히 ^{3}H, ^{14}C 및/또는 ^{18}F 동위원소로 표지된 화합물은 상기 목적에 적절하다. 게다가, 동위원소, 예를 들면 중수소의 혼입은 화합물의 더 큰 대사 안정성, 예를 들면 체내 반감기의 확장 또는 요구되는 활성 투여량의 감소의 결과로서 특정한 치료적 이득을 초래할 수 있으며, 그러므로 본 발명의 화합물의 상기 변형은 가능하게는 본 발명의 바람직한 실시양태를 구성할 수 있다. 본 발명의 화합물의 동위원소 변형체는 해당 기술분야의 기술자에게 공지된 통상적으로 사용되는 공정, 예를 들면 하기에 추가로 기재된 방법 및 작업예에 기재된 절차에 의하여, 각각의 시약 및/또는 출발 화합물의 해당 동위원소 변형을 사용하여 생성될 수 있다.

[0057] 본 발명의 콘쥬게이트의 합성(예, 실시예 1)은 하기 반응식에서 상술된다:

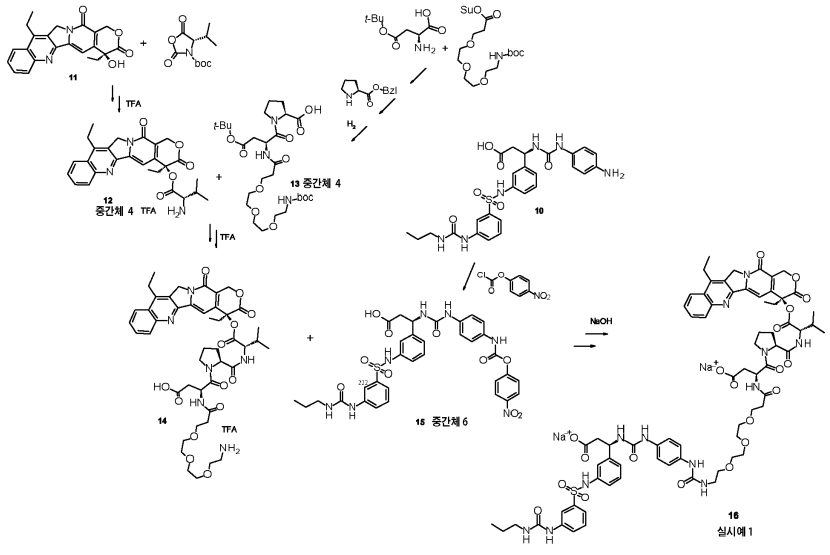
[0058] 반응식 1: $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 리간드의 합성:



[0059]

[0060] 거울상이성질체의 분리는 또한 상이한 단계로 키랄 컬럼을 사용하는 크로마토그래피에 의하여 달성될 수 있다.

[0061] 반응식 2: 7-에틸 캄프토테신을 사용한 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 콘쥬게이트의 합성



[0062]

[0063] 치료 방법

[0064] 본 발명은 또한 포유동물의 과다증식성 질환을 치료하기 위한 상기 화합물 및 그의 조성물의 사용 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 인간을 포함한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 질환을 치료하는데 효과적인 화합물의 양을 투여하는 것을 포함한다. 과다증식성 질환은 고형 종양, 예컨대 유방, 기도, 뇌, 생식 기관, 소화관, 요로, 눈, 간, 피부, 두경부, 갑상선, 부갑상선의 암 및 그의 원격 전이를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 상기 질환

은 또한 림프종, 육종 및 백혈병을 포함한다.

[0065] 유방암의 예는 침습성 유관암, 침습성 소엽성 암종, 유방 관상피내암 및 상피내 소엽성 암종을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0066] 기도의 암의 예는 소세포 및 비소세포 폐암뿐 아니라, 기관지 선종 및 흉막폐 아세포종을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0067] 뇌암의 예는 뇌간 및 시상하부 신경아교종, 소뇌 및 대뇌 성상세포종, 수모세포종, 뇌실막세포종뿐 아니라, 신경외배엽성 및 송과체 종양을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0068] 남성 생식 기관의 종양은 전립선암 및 고환암을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 여성 생식 기관의 종양은 자궁내막, 자궁경부, 난소, 질 및 외음부 암뿐 아니라, 자궁의 육종을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0069] 소화관의 종양은 항문, 결장, 직결장, 식도, 담낭, 위, 췌장, 직장, 소장 및 타액선 암을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0070] 요로의 종양은 방광, 음경, 신장, 신우, 요관 및 요도 암을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0071] 안암은 안내 멜라닌종 및 망막모세포종을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0072] 간암의 예는 간세포 암종(섬유층판 변형체를 갖거나 또는 없는 간 세포 암종), 담관암종(간내 담관 암종) 및 혼합 간세포 담관암종을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0073] 피부암은 편평 세포 암종, 카포시 육종, 악성 흑색종, 메르켈 세포 피부암 및 비흑색종 피부암을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0074] 두경부암은 후두/하인두암/비인두/구인두 암 및 구순 및 구강 암을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0075] 림프종은 AIDS 관련 림프종, 비호지킨 림프종, 피부 T 세포 림프종, 호지킨병 및 중추신경계의 림프종을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0076] 육종은 연조직의 육종, 골육종, 악성 섬유 조직구종, 림프육종 및 횡문근육종을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0077] 백혈병은 급성 골수성 백혈병, 급성 림프모구 백혈병, 만성 림프구 백혈병, 만성 골수성 백혈병 및 모발상 세포 백혈병을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0078] 상기 질환은 인간에서 잘 특징화되어 있으나 또한 기타 포유동물에서 유사한 병인으로 존재하며, 본 발명의 약학적 조성물을 투여하여 치료될 수 있다.

[0079] 과다증식성 질환의 치료에 유용한 화합물을 평가하기 위하여 공지된 표준 실험실 기술에 기초하여, 표준 독성 테스트에 의하여 및 포유동물에서 상기 확인된 병태의 치료의 결정을 위한 표준 약리학적 검정에 의하여 및 상기 결과와 상기 병태를 치료하는데 사용되는 공지의 약제의 결과의 비교에 의하여, 본 발명의 화합물의 유효 투여량은 각각의 원하는 징후의 치료를 위하여 쉽게 결정될 수 있다. 상기 병태 중 하나의 치료에서 투여되는 활성 성분의 양은 사용된 특정한 화합물 및 투여량 단위, 투여 방식, 치료 기간, 치료되는 환자의 연령 및 성별, 치료되는 병태의 성질 및 정도와 같은 고려사항에 따라 널리 변동될 수 있다.

[0080] 투여되는 활성 성분의 충량은 일반적으로 1일당 약 0.001 ㎎/㎏ 내지 약 200 ㎎/㎏ 체중, 바람직하게는 1일당 약 0.01 ㎎/㎏ 내지 약 20 ㎎/㎏ 체중 범위내일 것이다. 임상적으로 유용한 투여 스케쥴은 1일 1 내지 3회 투여 내지 4 주당 1회 투여 범위 내일 것이다. 게다가, 환자에게 약물을 특정 시간 동안 투여하지 않는 "휴약기"가 약리 효과 및 내약성 사이의 전체적인 균형에 이로울 수 있다. 단위 투여량은 약 0.5 ㎎ 내지 약 1,500 ㎎의 활성 성분을 함유할 수 있으며, 1일당 1회 이상 또는 1일 1회 미만으로 투여될 수 있다. 정맥내, 근육내, 피하 및 비경구 주사를 포함한 주사에 의한 투여를 위한 평균 1일 투여량 및 주입 기술의 사용은 바람직하게는 0.01 내지 200 ㎎/㎏ 총 체중일 것이다. 평균 1일 직장 투여량 섭생은 바람직하게는 0.01 내지 200 ㎎/㎏ 총 체중일 것이다. 평균 1일 질 투여 섭생은 바람직하게는 0.01 내지 200 ㎎/㎏ 총 체중일 것이다. 평균 1일 국소 투여 섭생은 바람직하게는 1일 1 내지 4회 투여된 0.1 내지 200 ㎎일 것이다. 경피 농도는 바람직하게는 0.01 내지 200 ㎎/㎏의 1일 투여량을 유지하는데 필요한 농도일 것이다. 평균 1일 흡입 투여 섭생은 바람직하게는 0.01 내지 100 ㎎/㎏의 총 체중일 것이다.

[0081] 물론, 각각의 환자에 대한 특정한 초기 및 연속 투여 섭생은 주치의에 의하여 판단되는 바와 같은 병태의 성질

및 중증도, 사용된 특정한 화합물의 활성도, 환자의 연령 및 일반적인 상태, 투여 시간, 투여 경로, 약물의 배출률, 약물 병용 등에 따라 변동될 것이다. 치료의 원하는 방식 및 본 발명의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 에스테르 또는 조성물의 투여의 횟수는 해당 기술분야의 기술자에 의하여 통상의 치료 테스트를 사용하여 확인될 수 있다.

[0082] 본 발명은 상기 언급된 질환의 치료를 위한 약학적 조성물의 제조를 위한 본 발명의 화합물의 용도를 추가로 제공한다.

[0083] 투여

[0084] 본 발명에 의한 화합물은 전신 및/또는 국소 활성을 가질 수 있다. 그러한 목적을 위하여, 적절한 방식으로, 예컨대 경구, 비경구, 폐, 코, 설하, 설측, 협측, 직장, 질, 피부, 경피, 결막, 귀 경로에 의하여 또는 이식체 또는 스텐트로서 투여될 수 있다.

[0085] 상기 투여 경로의 경우, 본 발명에 의한 화합물은 적절한 투여 형태로 투여될 수 있다.

[0086] 경구 투여의 경우, 본 발명에 의한 화합물을 신속하게 및/또는 변형된 방식으로 전달하는 해당 기술분야에 공지된 투여 형태, 예컨대 정제(미코팅된 또는 코팅된 정제, 예를 들면 늦게 용해되거나 또는 불용성인 장용 또는 제어 방출 코팅), 경구 붕해 정제, 막/웨이퍼, 막/동결건조물, 캡슐(예를 들면 경질 또는 연질 젤라틴 캡슐), 당의정, 과립, 펠릿, 분말, 에멀젼, 현탁액, 에어로졸 또는 액제로 본 발명에 의한 화합물을 제제화할 수 있다. 본 발명에 의한 화합물을 결정질 및/또는 무정형화된 및/또는 용해된 형태로 상기 투여 형태에 혼입될 수 있다.

[0087] 비경구 투여는 흡수 단계를 피하여(예를 들면 정맥내, 동맥내, 심장내, 척추내 또는 요추내) 또는 흡수의 포함으로(예를 들면 근육내, 피하, 피내, 경피 또는 복강내) 실시될 수 있다. 비경구 투여에 적절한 투여 형태는 특히 액제, 현탁액, 에멀젼, 동결건조물 또는 멸균 분말의 형태로 주사 및 주입을 위한 제제이다.

[0088] 기타 투여 경로에 적절한 예는 흡입을 위한 약학적 형태[특히 분말 흡입기, 네뷸라이저], 점비제, 비액, 코 분무; 설측, 설하 또는 협측 투여를 위한 정제/막/웨이퍼/캡슐; 좌제; 점안액, 안 연고, 아이 배쓰(eye bath), 눈 삽입물, 점이제, 귀 스프레이, 귀 파우더, 귀 세척액, 귀 탐폰; 질 캡슐, 수성 현탁액(로션, 진탕 혼합물(mixturae agitandae)), 친유성 현탁액, 에멀젼, 연고, 크림, 경피 치료계(예컨대 패취), 밀크, 페이스트, 폼, 더스팅 분말, 이식체 또는 스텐트이다.

[0089] 본 발명에 의한 화합물은 명시된 투여 형태로 혼입될 수 있다. 이는 그 자체로 공지된 방식으로 약학적으로 적절한 부형제와 혼합하여 수행될 수 있다. 약학적 적절한 부형제는 특히

[0090] ·충전제 및 담체(예를 들면 셀룰로스, 미정질 셀룰로스(예컨대 아비셀(Avicel)®), 락토스, 만니톨, 전분, 인산칼슘(예컨대 디-카포스(Di-Cafos)®)),

[0091] ·연고 베이스(예를 들면 페트롤리움 젤리, 파라핀, 트리글리세리드, 왁스, 울 왁스, 울 왁스 알콜, 라놀린, 친수성 연고, 폴리에틸렌 글리콜),

[0092] ·좌제용 베이스(예를 들면 폴리에틸렌 글리콜, 카카오 버터, 경화유),

[0093] ·용매(예를 들면 물, 에탄올, 이소프로판올, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 중쇄 길이 트리글리세리드 지방유, 액체 폴리에틸렌 글리콜, 파라핀),

[0094] ·계면활성제, 유화제, 분산제 또는 습윤제(예를 들면 소듐 도데실 술페이트), 레시틴, 인지질, 지방 알콜(예컨대 라네트(Lanette)®), 소르비탄 지방산 에스테르(예컨대 스팬(Span)®), 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르(예컨대 트윈(Tween)®), 폴리옥시에틸렌 지방산 글리세리드(예컨대 크레모포르(Cremophor)®), 폴리옥세틸렌 지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌 지방 알콜 에테르, 글리세롤 지방산 에스테르, 폴록사머(예컨대 플루로닉(Pluronic)®),

[0095] ·완충제, 산 및 염기(예를 들면 인산염, 탄산염, 시트르산, 아세트산, 염산, 수산화나트륨 용액, 탄산암모늄, 트로메타몰, 트리에탄올아민),

[0096] ·등장화제(예를 들면 글루코스, 염화나트륨),

[0097] ·흡착제(예를 들면 고 분산 실리카),

[0098] ·점도 증가제, 겔 형성제, 농조화제 및/또는 결합제(예를 들면 폴리비닐피롤리돈, 메틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스-소듐, 전분, 카르보머, 폴리아크릴산(예컨대

카르보폴(Carbopol)®); 알기네이트, 젤라틴),

[0099] ·붕해제(예를 들면 변형된 전분, 카르복시메틸셀룰로스-소듐, 소듐 전분 글리콜레이트(예컨대 엑스플로탭(Explotab)®), 가교된 폴리비닐피롤리돈, 크로스카르멜로스-소듐(예컨대 악디솔(AcDiSol)®)),

[0100] ·유동 조절제, 윤활제, 활택제 및 이형제(예를 들면 스테아르산마그네슘, 스테아르산, 탈크, 고 분산 실리카(예컨대 에어로실(Aerosil)®)),

[0101] ·코팅재(예를 들면 당, 셸락) 및 막을 위한 성막제 또는, 신속하게 또는 변형된 방식으로 용해되는 확산 막(예를 들면 폴리비닐피롤리돈(예컨대 콜리돈(Kollidon)®), 폴리비닐 알콜, 히드록시프로필메틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 에틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트, 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴이트, 예컨대 유드라짓(Eudragit)®)),

[0102] ·캡슐재(예를 들면 젤라틴, 히드록시프로필메틸셀룰로스),

[0103] ·합성 중합체(예를 들면 폴리락티드, 폴리글리콜리드, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트(예컨대 유드라짓®), 폴리비닐피롤리돈(예컨대 콜리돈®), 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 아세테이트, 폴리에틸렌 옥시드, 폴리에틸렌 글리콜 및 그의 공중합체 및 블록 공중합체),

[0104] ·가소제(예를 들면 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 글리세롤, 트리아세틴, 트리아세틸 시트레이트, 디부틸 프탈레이트),

[0105] ·투과 향상제,

[0106] ·안정화제(예를 들면 산화방지제, 예컨대 아스코르브산, 아스코르빌 팔미테이트, 아스코르브산나트륨, 부틸히드록시아니솔, 부틸히드록시톨루엔, 프로필 갈레이트),

[0107] ·방부제(예를 들면 파라벤, 소르브산, 티오메살, 염화벤잘코늄, 클로르헥시딘 아세테이트, 벤조산나트륨),

[0108] ·착색제(예를 들면 무기 안료, 예컨대 철 산화물, 이산화티타늄),

[0109] ·풍미제, 감미제, 맛 및/또는 냄새 차폐제.

[0110] 본 발명은 더욱이 통상적으로 하나 이상의 약학적으로 적절한 부형제(들)와 함께 본 발명에 의한 적어도 1종의 화합물을 포함하는 약학 조성물 및 본 발명에 의한 그의 용도에 관한 것이다.

[0111] 조합

[0112] 또 다른 측면에 의하면, 본 발명은 특히 과다증식성 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 본 발명의 식 (I) 또는 (Ia)의 적어도 1종의 화합물 및 적어도 하나 이상의 추가의 활성 성분을 포함하는 약학적 조합, 특히 약제에 관한 것이다.

[0113] 본 발명에서 용어 "조합"은 해당 기술분야의 기술자에게 공지된 바와 같이 사용되며, 상기 조합은 고정 조합, 비고정 조합 또는 키트-오브-파츠(kit-of-parts)일 수 있다.

[0114] 본 발명에서 "고정 조합"은 해당 기술분야의 기술자에게 공지된 바와 같이 사용되며, 예를 들면 제1의 활성 성분, 예컨대 본 발명의 식 (I)의 하나 이상의 화합물 및 추가로 활성 성분이 함께 1개의 단위 투여로 또는 1개의 단일 실체로 존재하는 조합으로서 정의된다. "고정 조합"의 일례는 제1의 활성 성분 및 추가의 활성 성분이 동시 투여용 혼합물 중에, 예컨대 제제 중에 존재하는 약학 조성물이다. "고정 조합"의 또 다른 예는 제1의 활성 성분 및 추가의 활성 성분이 혼합되지 않고 1개의 단위로 존재하는 약학 조합이다.

[0115] 본 발명에서 비고정 조합 또는 "키트-오브-파츠"는 해당 기술분야의 기술자에게 공지된 바와 같이 사용되며, 제1의 활성 성분 및 추가의 활성 성분이 1개 초과의 단위로 존재하는 조합으로서 정의된다. 비고정 조합 또는 키트-오브-파츠의 일례는 제1의 활성 성분 및 추가의 활성 성분이 별도로 존재하는 조합이다. 비고정 조합 또는 키트-오브-파츠의 성분은 별도로, 순차적으로, 동시에, 함께 또는 연대순으로 시차를 두어 투여될 수 있다.

[0116] 본 발명의 화합물은 단독 약제로서 또는 조합이 허용 불가한 부작용을 유발하지 않는 하나 이상의 기타 약학적 활성 성분과의 조합으로서 투여될 수 있다. 본 발명은 또한 상기 약학적 조합을 포함한다. 예를 들면, 본 발명의 화합물은 과다증식성 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 공지의 활성 성분과 조합될 수 있다.

[0117] 과다증식성 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 활성 성분의 예는 131I-chTNT, 아바렐릭스, 아베마시클립, 아비라테론, 아칼라브루티닙, 아클라루비신, 아달리무맙, 아도-트라스투주맙, 엠탄신, 아파티닙, 아플리베르셉트, 알

데슬류킨, 알렉티넙, 알렘투주맙, 알렌드론산, 알리트레티노인, 알트레타민, 아미포스틴, 아미노글루테티미드, 헥실 아미노레불리네이트, 암루비신, 암사크린, 아나스트로졸, 안세스팀, 아네톨 디티올레티온, 아네투맙, 라브탄신, 안지오텐신 II, 안티트롬빈 III, 아팔루타미드, 아프레피탄트, 아르시투모맙, 아르글라빈, 삼산화비소, 아스파라기나제, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 악시캅타겐, 실로류셀, 악시티넙, 아자시티딘, 바실릭시맙, 벨로테칸, 벤다무스틴, 베실레소맙, 벨리노스타트, 베바시주맙, 벡사로텐, 비칼루타미드, 비산트렌, 블레오마이신, 블리나투모맙, 보르테조밉, 보수티넙, 부세렐린, 브렌툭시맙, 베도틴, 브리가티넙, 부술판, 카바지탁셀, 카보잔티넙, 칼시토닌, 칼슘 폴리네이트, 칼슘 레보폴리네이트, 카페시타빈, 카프로맙, 카르바마제핀 카르보플라틴, 카르보쿠온, 카르필조밉, 카르모푸르, 카르무스틴, 카투막소맙, 셀레콕시브, 셀모류킨, 세리티넙, 세툭시맙, 클로람부실, 클로르마디논, 클로르메틴, 시도포비르, 시나칼세트, 시스플라틴, 클라드리빈, 클로드론산, 클로파라빈, 코비메티넙, 코판리십, 크리산타스파제, 크리조티닙, 시클로포스파미드, 시프로테론, 시타라빈, 다카르바진, 닥티노마이신, 다라투무맙, 다르베포에틴 알파, 다브라페닙, 다사티닙, 다우노루비신, 데시타빈, 데가렐릭스, 데니류킨 디프티톡스, 데노수맙, 데프레오티드, 데슬로렐린, 디안히드로갈락티톨, 덱스라족산, 디브로스피듐 클로라이드, 디안히드로갈락티톨, 디클로페낙, 디누툭시맙, 도세탁셀, 돌라세트론, 독시플루리딘, 독소루비신, 독소루비신+에스트론, 드로나비놀, 두르발루맙, 에쿨리주맙, 에드레콜로맙, 엘럽티늄 아세테이트, 엘로투주맙, 엘트롬보팍, 에나시데닙, 엔도스타틴, 에노시타빈, 엔잘루타미드, 에피루비신, 에피티오스타놀, 에포에틴 알파, 에포에틴 베타, 에포에틴 제타, 엡타플라틴, 에리불린, 에를로티닙, 에소메프라졸, 에스트라디올, 에스트라무스틴, 에티닐에스트라디올, 에토포시드, 에베롤리무스, 엑세메스탄, 파드로졸, 펜타닐, 필그라스팀, 플루옥시메스테론, 플록수리딘, 플루다라빈, 플루오로우라실, 플루타미드, 폴린산, 포르메스탄, 포사프레피탄트, 포테무스틴, 풀베스트란트, 가도부트롤, 가도테리돌, 가도테르산 메글루민, 가도베르세타미드, 가독세트산, 질산갈륨, 가니렐릭스, 게피티닙, 겜시타빈, 겜투주맙, 글루카르피다제, 글루톡심, GM-CSF, 고세렐린, 그라니세트론, 과립 세포군 촉진 인자, 히스타민 디히드로클로라이드, 히스트렐린, 히드록시카르바미드, I-125 씨드, 란소프라졸, 이반드론산, 이브리투모맙 티욱세탄, 이브루티닙, 이다루비신, 이포스파미드, 이마티닙, 이미퀴모드, 임프로술판, 인디세트론, 인카드론산, 인게놀 메부테이트, 이노투주맙 오조가미신, 인터페론 알파, 인터페론 베타, 인터페론 감마, 이오비트리돌, 이오벤구안(123I), 이오메프롤, 이필리무맙, 이리노테칸, 이트라코나졸, 익사베필론, 익사조밉, 란레오티드, 란소프라졸, 라파티닙, 라소콜린, 레날리도미드, 렌바티닙, 레노그라스팀, 렌티난, 레트로졸, 류프로렐린, 레바미솔, 레보노르게스트렐, 레보티록신 소듐, 리수라이드, 로바플라틴, 로무스틴, 로니다민, 루테티움 Lu 177 도타테이트, 마소프로콜, 메드록시프로게스테론, 메게스트롤, 멜라르소프롤, 멜팔란, 메피티오스탄, 메르캅토푸린, 메스나, 메타돈, 메토트렉세이트, 메톡스살렌, 메틸아미노레불리네이트, 메틸프레드니솔론, 메틸테스토스테론, 메티로신, 미도스타우린, 미파무르티드, 밀테포신, 미리플라틴, 미토브로니톨, 미토구아존, 미토락톨, 미토마이신, 미토탄, 미톡산트론, 모가물리주맙, 몰그라모스팀, 모피다몰, 모르핀 히드로클로라이드, 모르핀 술페이트, 엠바시, 나빌론, 나빅시몰, 나파렐린, 날록손+펜타조신, 날트렉손, 나르토그라스팀, 네시투무맙, 네다플라틴, 넬라라빈, 네라티닙, 네리드론산, 네투피탄트/팔로노세트론, 니볼루맙, 펜테트레오티드, 닐로티닙, 닐루타미드, 니모라졸, 니모투주맙, 니무스틴, 닌테다닙, 니라파립, 니트라크린, 니볼루맙, 오비누투주맙, 옥트레오티드, 오파투무맙, 올라파립, 올라라투맙, 오마세탁신 메페숙시네이트, 오메프라졸, 온단세트론, 오프렐베킨, 오르고테인, 오릴로티모드, 오시메르티닙, 옥살리플라틴, 옥시코돈, 옥시메톨론, 오조가미신, p53 유전자 요법, 팍클리탁셀, 팔보시클립, 팔리페르민, 팔라듐-103 씨드, 팔로노세트론, 파미드론산, 파니투무맙, 파노비노스타트, 판토프라졸, 파조파닙, 페가스파르가제, PEG-에포에틴 베타(메톡시 PEG-에포에틴 베타), 펨브롤리주맙, 페그필그라스팀, 페긴터페론 알파-2b, 펨브롤리주맙, 페메트렉세드, 펜타조신, 펜토스타틴, 펩플로마이신, 페르플루부탄, 페르포스파미드, 페르투주맙, 피시바닐, 필로카르핀, 피라루비신, 픽산트론, 플레릭사포르, 플라카마이신, 폴리글루삼, 폴리에스트라디올 포스페이트, 폴리비닐피롤리돈+소듐 히알루로네이트, 다당류-K, 포말리도미드, 포나티닙, 포르피머 소듐, 프랄라트렉세이트, 프레드니무스틴, 프레드니손, 프로카르바진, 프로코다졸, 프로프라놀롤, 퀴나골리드, 라베프라졸, 라코투모맙, 라듐-223 클로라이드, 라도티닙, 랄록시펜, 랄티트렉세드, 라모세트론, 라무시루맙, 라니무스틴, 라스부리카제, 라족산, 레파메티닙, 레고라페닙, 리보시클립, 리세드론산, 레늄-186 에티드로네이트, 리툭시맙, 롤라피탄트, 로미뎁신, 로미플로스팀, 로무르티드, 루카파립, 사마륨(153Sm) 렉시드로남, 사르그라모스팀, 사릴루맙, 사투모맙, 세크레틴, 실툭시맙, 시풀류셀-T, 시조피란, 소부족산, 소듐 글리시디다졸, 소니데깁, 소라페닙, 스타노졸롤, 스트렙토조신, 수니티닙, 탈라포르핀, 탈리모겐, 라헤르파렙벡, 타미바로텐, 타목시펜, 타펜타돌, 타소네르민, 테세류킨, 테크네튬(99mTc) 노페투모맙 메르펜탄, 99mTc-HYNIC-[Tyr3]-옥트레오티드, 테가푸르, 테가푸르+기메라실+오테라실, 테모포르핀, 테모졸로미드, 템시롤리무스, 테니포시드, 테스토스테론, 테트로포스민, 탈리도미드, 티오테파, 티말파신, 티로트로핀 알파, 티오구아닌, 티사겐레클류셀, 토실리주맙, 토포테칸, 토레미펜, 토시투모맙, 트라벡테딘, 트라메티닙, 트라마돌, 트라스투주맙, 트라스투주맙 엠타신, 트레오술판, 트레티노인,

트리플루리딘+티피라실, 트릴로스탄, 트립토렐린, 트라메티닙, 트로포스파미드, 트롬보포이에틴, 트립토판, 우베니멕스, 발라티닙, 발루비신, 반데타닙, 바프레오티드, 베무라페닙, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌, 비노렐빈, 비스모데깁, 보리노스타트, 보로졸, 이트륨-90 유리 소체, 지노스타틴, 지노스타틴 스티말라메르, 졸레드론산, 조루비신을 포함한다.

[0118] 약어

[0119] 하기 표는 본원에 사용된 약어를 제시한다.

[0120] Abu - γ-아미노 부티르산

[0121] ACN - 아세토니트릴

[0122] Boc - tert.-부틸옥시카르보닐

[0123] Bzl - 벤질

[0124] DCM - 디클로로메탄

[0125] DIEA - 디이소프로필 에틸 아민(휴니그 염기)

[0126] DMAP - 디메틸아미노 피리딘

[0127] DMF - 디메틸 포름아미드

[0128] DMSO - 디메틸 술폭시드

[0129] EDCI - 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드

[0130] ee - 거울상이성질체 과량

[0131] FCS - 태아 소 혈청

[0132] Fmoc - 플루오레닐-9-메톡시카르보닐

[0133] HATU - 2-(1H-7-아자벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트

[0134] HPLC - 고 성능 액체 크로마토그래피

[0135] MTBE - 메틸 tert.-부틸 에테르

[0136] NMP - N-메틸 피롤리돈

[0137] RP - 역상

[0138] rt - 실온

[0139] RTV - 상대적 종양 부피

[0140] TFA - 트리플루오로아세트산

[0141] THF - 테트라히드로푸란

[0142] TLC - 박층 크로마토그래피

[0143] 본원에 기재된 본 발명의 다양한 측면은 본 발명을 어떠한 방식으로도 제한하지 않는 하기 실시예에 의하여 예시된다.

[0144] 본원에 기재된 실시예 테스트 실험은 본 발명을 예시하고자 하며, 본 발명은 제시된 실시예로 제한되지 않는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0145] 실시예 부문

[0146] 합성이 실험 부분에 기재되지 않은 모든 시약은 상업적으로 입수 가능하거나 또는 공지된 화합물이거나 또는 해당 기술분야의 기술자에 의하여 공지된 방법에 의하여 공지된 화합물로부터 형성될 수 있다.

[0147] 본 발명이 방법에 따라 생성된 화합물 및 중간체는 정제를 필요로 할 수 있다. 유기 화합물의 정제는 해당 기술

분야의 기술자에게 널리 공지되어 있으며, 동일한 화합물을 정제하는 수개의 방법이 존재할 수 있다. 일부 사례에서, 정제가 필요하지 않을 수 있다. 일부 사례에서, 화합물은 결정화에 의하여 정제될 수 있다. 일부 사례에서, 불순물은 적절한 용매를 사용하여 교반될 수 있다. 일부 사례에서, 화합물은 크로마토그래피, 특히 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의하여 사전패킹된 실리카 겔 카트리지, 예를 들면 바이오테이지(Biotage) 자동정제계(SP4® 또는 이솔레라 포(Isolera Four)®) 및 용출제, 예컨대 헥산/에틸 아세테이트 또는 DCM/메탄올의 구배와 조합된 바이오테이지 SNAP 카트리지 KP-Sil® 또는 KP-NH®를 사용하여 정제될 수 있다. 일부 사례에서, 화합물은 정제용 HPLC에 의하여 예를 들면 다이오드 어레이 검출기가 장착된 워터스(Waters) 자동정제기 및/또는 적절한 사전패킹된 역상 컬럼 및 용출제, 예컨대 트리플루오로아세트산, 포름산 또는 수성 암모니아와 같은 첨가제를 함유할 수 있는 물 및 아세토니트릴의 구배와 조합된 온라인 전기분무 이온화 질량 분광계를 사용하여 정제될 수 있다.

[0148] 일부 사례에서, 상기 기재된 바와 같은 정제 방법은 염의 형태로 충분히 염기성 또는 산성인 작용기를 갖는 본 발명의 화합물, 예컨대 충분히 염기성인 본 발명의 화합물의 경우 예를 들면 트리플루오로아세테이트 또는 포르메이트 염 또는 충분히 산성인 본 발명의 화합물의 경우 예를 들면 암모늄 염을 제공할 수 있다. 상기 유형의 염은 해당 기술분야의 기술자에게 공지된 다양한 방법에 의하여 각각 그의 유리 염기 또는 유리 산 형태로 전환될 수 있거나 또는 후속 생물학적 검정으로 염으로서 사용될 수 있다. 본원에서 기재된 바와 같이 및 단리된 바와 같은 본 발명의 화합물의 특정한 형태(예, 염, 유리 염기 등)는 특정한 생물학적 활성을 정량화하기 위하여 생물학적 검정에 상기 화합물이 적용될 수 있는 유일한 형태일 필요는 없는 것으로 이해하여야 한다.

[0149] UPLC-MS 표준 절차:

[0150] 분석 UPLC-MS는 하기 기재된 바와 같이 수행하였다. 질량(m/z)은 네가티브 모드(ESI-)를 나타내지 않는다면 포지티브 모드 전기분무 이온화로부터 보고한다. 대부분의 사례에서 방법 1을 사용한다. 그렇지 않은 경우 표시된다.

[0151] HPLC- 및 LC-MS-방법:

[0152] 방법 0:

[0153] 질량 측정은 고 성능 액체 크로마토그래피-질량 분석(HPLC-MS)에 의하여 전자 분무 이온화(ESI) 방법을 사용하거나 또는 FAB 또는 MALDI 질량 분석에 의하여 실시하였다.

[0154] 방법 1(LC-MS):

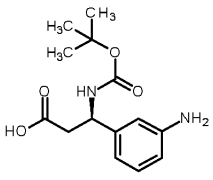
[0155] 기기: 워터스 애쿠어티(Waters ACQUITY) SQD UPLC 시스템; 컬럼: 워터스 애쿠어티 UPLC HSS T3 1.8 μ 50×1 mm; 용출제: A: 1 ℓ 물+0.25 mℓ 99%ige 포름산, 용출제: B: 1 ℓ 아세토니트릴+0.25 mℓ 99% 포름산; 구배: 0.0 min 90% A → 1.2 min 5% A → 2.0 min 5% A 스토브: 50℃; 유량: 0.40 mℓ/min; UV-검출: 208 - 400 nm.

[0156] **실시예:**

[0157] **출발 물질 및 중간체:**

[0158] **중간체 1**

[0159] (3R)-3-(3-아미노페닐)-3-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]프로판산

[0160] 

[0161] 151 g의 3-니트로벤즈알데히드, 94 g의 아세트산암모늄, 127 g의 말론산 및 1 ℓ의 2-프로판올의 혼합물을 환류하에서 5 시간 동안 가열하였다. 용액을 여과하고, 침전물을 0.7 ℓ의 고온 2-프로판올로 세정하였다. 미정제 생성물을 진공 하에서 건조시키고, 1.5 ℓ의 물 중에 현탁시키고, 1 N 염산으로 처리하고, 여과하였다. 여과액을 농축시켜 146 g을 얻었다.

[0162] NMR (400 MHz, D_4-메탄올): δ= 3.09 (m, 2 H), 4.88 (m, 1 H), 7.74 (t, 1 H), 7.90 (d, 1 H), 8.33 (d, 1

H), 8.43 (s, 1 H).

[0163] 20 g(95 mmol)의 상기 중간체 및 31.2 g의 디-tert-부틸 디카르보네이트를 150 ㎖의 디옥산/물 혼합물(1:1) 중에 용해시키고, 33 ㎖의 DIEA를 첨가하였다. 혼합물을 약 90 분 동안 완전 용해가 관찰될 때까지 교반하였다. 용매 기화 후, 잔존하는 잔류물을 1 ℓ DCM 중에 용해시키고, 500 ㎖의 5% 시트르산으로 3회 추출하였다. 유기 상을 농축시키고, 생성물을 DCM/디에틸에테르/석유 에테르 1:1:1의 혼합물로 침전시키고, 여과하였다. 건조 후, 23.5 g(80%)의 원하는 생성물을 얻었다.

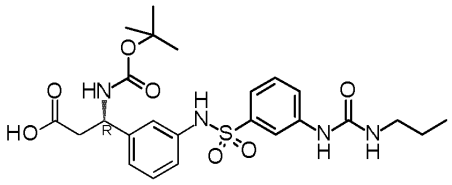
[0164] 5 g(16.1 mmol)의 상기 중간체 및 3.095 g(23 mmol) (2R)-2-아미노-2-페닐에탄올을 아세토니트릴 중에 용해시키고, 0℃에서 3 일 동안 방치하였다. 침전물을 여과하고, DCM 중에 용해시키고, 5% 시트르산으로 2회 추출하였다. 유기 상을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 증발시켰다. 상기 절차를 2회 반복하였다. 1.52 g(30%)의 원하는 생성물을 95%의 ee 및 $[\alpha]_D^{25}$=+34.4° /메탄올로 얻었다.

[0165] 1,500 ㎎(0.243 mmol)의 상기 중간체를 100 ㎖ 메탄올 중에 용해시키고, 팔라듐/탄소 상에서 30 분 동안 정상 압력 하에서 수소화시켰다. 촉매를 분리 제거하고, 용액을 농축시키고, 디에틸 에테르로 소화시키고, 여과하고, 잔류물을 진공 하에서 건조시켰다. 1,334 ㎎(98%)의 표제 화합물을 얻었다.

[0166] [DC: (디클로로메탄/메탄올/암모니아 (17%ig) (15:4:0.5); R_f = 0.18].

[0167] **중간체 2**

[0168] (3R)-3-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]-3-{3-[({3-[(프로필카르바모일)아미노]페닐}술포닐)아미노]페닐}프로판산



[0169]

[0170] 8,300 ㎎(29.6 mmol)의 중간체 1 및 9,843 ㎎(44.4 mmol)의 3-니트로벤젠술포닐 클로라이드를 400 ㎖ DCM/DMF 1:1 중에 용해시키고, 7.2 ㎖ 피리딘을 첨가하였다. 혼합물을 밤새 실온에서 교반하였다. 그 후, 혼합물을 200 ㎖ DCM으로 희석하고, 50 ㎖의 5% 시트르산으로 3회 추출하였다. 유기 상을 농축시켰다. 나머지 잔류물을 건조시킨 후, 13.8 g(quant.)의 (3R)-3-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]-3-(3-{[(3-니트로페닐) 술포닐]아미노} 페닐)프로판산을 얻었다.

[0171] [DC: (디클로로메탄/메탄올/암모니아 (17%ig) (15:4:0.5); R_f = 0.2].

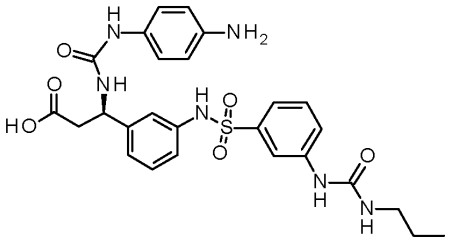
[0172] 13,800 ㎎(29.65 mmol)의 상기 중간체를 1,000 ㎖ 메탄올 중에 용해시키고, 팔라듐/탄소 상에서 5 시간 동안 정상 압력에서 수소화시켰다. 촉매를 분리 제거하고, 용액을 농축시키고, 잔류물을 디에틸 에테르로 2회 세정한 후, 진공 하에서 건조시켰다. 12,240 ㎎(95%)의 (3R)-3-(3-{[(3-아미노페닐)술포닐]아미노}페닐)-3-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]프로판산을 얻었다.

[0173] 12,200 ㎎(28 mmol)의 상기 중간체를 600 ㎖ 디옥산 중에 용해시키고, 5,722 ㎎(67 mmol)의 1-이소시아나토프로판을 첨가하고, 혼합물을 밤새 교반하였다. 용액을 진공 하에서 농축시키고, 잔존하는 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피에 의하여 DCM/메탄올/NH_4OH(17%) 15/4/0.5의 용출 혼합물로 정제하였다. 관련 분획을 수집하고, 진공 하에서 농축시켰다. 잔류물을 진공 하에서 건조시킨 후, 11,220 ㎎(67%)의 표제 화합물을 얻었다.

[0174] LC-MS (방법 1): Rt=0.9 min; MS (ESIpos): m/z=521 $(M+H)^+$.

[0175] **중간체 3**

[0176] (3R)-3-{[(4-아미노페닐)카르바모일]아미노}-3-{3-[({3-[(프로필카르바모일)아미노]페닐}술포닐)아미노]페닐}프로판산



[0177]

[0178] 400 mg(0.768 mmol)의 중간체 2를 10 mℓ DCM 중에 용해시키고, 2 mℓ의 트리플루오로아세트산을 첨가하였다. 90 분 동안 실온에서 교반한 후, 반응 혼합물을 진공 하에서 농축시켰다. 잔류물을 탄산이나트륨의 5% 용액으로 처리한 후, DCM/메탄올 중에 용해시켰다. 디에틸 에테르로 침전시킨 후, 여과하고, 진공 하에서 건조시켜 260 mg (81%)의 (3R)-3-아미노-3-{3-[({3-[(프로필카르바모일)아미노]페닐}술포닐)아미노]페닐}프로판산을 얻었다.

[0179] LC-MS (방법 0): Rt=4.11 min; MS: m/z=421=$(M+H)^+$

[0180] 250 mg(0.595 mmol)의 상기 중간체를 15 mℓ DMF 중에 용해시키고, 117 mg(0.713 mmol)의 1-이소시아나토-4-니트로벤젠을 첨가하고, 용액을 30 분 동안 실온에서 교반하였다. 또 다른 30 mg의 1-이소시아나토-4-니트로벤젠을 첨가하고, 교반을 30 분 동안 지속하였다. 용액을 진공 하에서 농축시키고, 잔존하는 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피에 의하여 정제하였다. 관련 분획을 진공 하에서 농축시킨 후, 160 mg(46%)의 (3R)-3-{[(4-니트로페닐)카르바모일]아미노}-3-{3-[({3-[(프로필 카르바모일)아미노]페닐}술포닐)아미노]페닐}프로판산을 얻었다.

[0181] LC-MS (방법 0) : Rt=5.61 min; MS: m/z=585=$(M+H)^+$

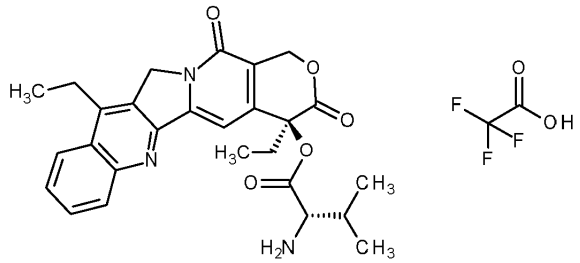
[0182] 142 mg(0.243 mmol)의 상기 중간체를 20 mℓ 메탄올/DCM 10:1 중에 용해시키고, 팔라듐/탄소 상에서 30 분 동안 정상 압력 하에서 수소화시켰다. 촉매를 분리 제거하고, 용액을 농축시키고, 디에틸 에테르로 소화시키고, 여과하고, 잔류물을 진공 하에서 건조시켰다. 103 mg(76%)의 표제 화합물을 얻었다.

[0183] LC-MS (방법 0): Rt=4.31 min; MS: m/z=555=$(M+H)^+$

[0184] ^{1}H-NMR (500 MHz, D_4-메탄올): δ = 0.93 (t, 3 H), 1.5 (m, 2 H), 2.74 (d, 2 H), 3.1 (dt, 2 H), 5.15 (t, 1 H), 6.68 (d, 2 H), 6.85 (d, 1 H), 7.05 (d, 1 H), 7.1 (d, 1 H), 7.13 (t, 1 H), 7.28-7.4 (m, 3H), 7.6 (s, 1 H), 7.66 (d, 1 H).

[0185] **중간체 4**

[0186] (4S)-4,11-디에틸-3,14-디옥소-3,4,12,14-테트라히드로-1H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일 L-발리네이트 트리플루오로아세테이트 (1:1)



[0187]

[0188] 2.59 g(10.6 mmol)의 N-(tert-부톡시카르보닐)-발린-N-카르복시안히드라이드 및 0.5 g의 4-(N,N-디메틸아미노)-피리딘을 150 mℓ의 무수 디클로로메탄 중의 2 g(5.3 mmol)의 (4S)-4,11-디에틸-4-히드록시-1H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-3,14(4H,12H)-디온(문헌[S. Sawada et al., *Chem. Phar. Bull* 1991-39(6)-1445]에 기재된 바와 같이 합성한 7 에틸 캄프토테신)의 교반된 현탁액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 20 시간 동안 교반한 후, 진공 하에서 농축시켰다. 8 mℓ ACN을 잔류물에 첨가한 후, 5 mℓ 디에틸 에테르를 첨가하였다. 혼합물을 여과하고, 잔존하는 잔류물을 진공 하에서 건조시켰다. 2,964 mg(92%)의 보호된 중간체를 얻었다.

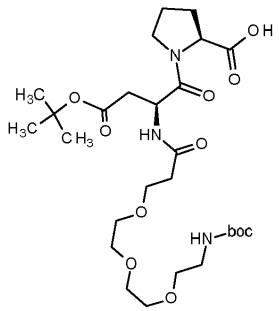
[0189] LC-MS (방법 1): Rt=1.19 min; MS (ESIpos): m/z=576 $(M+H)^+$.

[0190] 6 ml의 디클로로메탄 및 60 ml의 무수 트리플루오로아세트산 중의 2,964 mg(5.15 mmol)의 상기 Boc-보호된 중간체 화합물을 30 분 동안 실온에서 교반한 후, 1 시간 동안 음파 처리하였다. 진공 하에서 농축시킨 후, 생성물을 아세토니트릴/물의 혼합물로부터 동결건조시켰다. 3.622 g(quant)의 표제 화합물을 얻었다.

[0191] LC-MS (방법 1): Rt=0.68 min; MS (ESIpos): m/z=476 $(M+H)^+$.

[0192] **중간체 5**

[0193] (2S)-1-[(19S)-19-(2-tert-부톡시-2-옥소에틸)-2,2-디메틸-4,17,20-트리옥소-3,8,11,14-테트라옥사-5,18-디아자이코산-20-일]피롤리딘-2-카르복실산

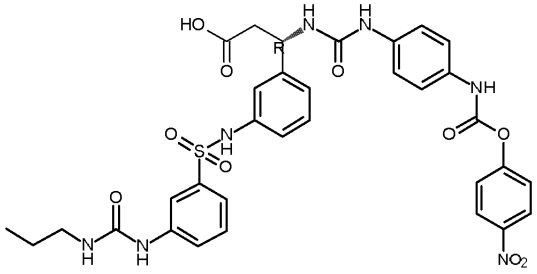
[0194] 

[0195] 상기 중간체 5는 펩티드 화학에서 공지된 전통적인 방법에 따라 DIEA의 존재하에서 DMF 중의 4-tert-부틸 1-(2,5-디옥소피롤리딘-1-일) N-(tert-부톡시카르보닐)-L-아스파르테이트를 벤질 L-프롤리네이트 히드로클로라이드로(1:1) 커플링시켜 출발하고, 그 후 팔라듐/탄소 상에서의 수소화에 의하여 벤질에스테르의 분해에 의하여 합성하였다. 그 후, (2S)-1-{(2S)-4-tert-부톡시-2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]-4-옥소부타노일}피롤리딘-2-카르복실산의 용액을 15 시간 동안 15 ml TFA 및 100 ml DCM의 혼합물 중에서 교반한 후, 용출제로서 DCM/메탄올 3:1을 사용한 플래쉬 크로마토그래피에 의하여 정제하여 tert.-부톡시카르보닐 보호기를 제거하였다. 상기 중간체를 DMF 중에 용해시키고, DIEA의 존재하에서 tert-부틸 {2-[2-(2-{3-[(2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시]-3-옥소프로폭시}에톡시)에톡시]에틸}카르바메이트(1-히드록시 피롤리딘-2,5-디온 및 EDCI를 사용하여 2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11,14-테트라옥사-5-아자헵타데칸-17-산을 DMF 중의 활성화된 에스테르로 전환시켜 미리 얻었음)로 커플링시켰다.

[0196] LC-MS (방법 1): Rt=0.86 min; MS (ESIpos): m/z= 590 $(M+H)^+$.

[0197] **중간체 6**

[0198] (3R)-3-{[(4-{[(4-니트로펜옥시)카르보닐]아미노}페닐)카르바모일]아미노}-3-{3-[({3-[(프로필카르바모일)아미노]페닐}술포닐)아미노]페닐}프로판산

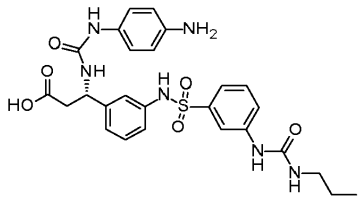
[0199] 

[0200] 8.99 g(43.3 mmol) 4-니트로페닐 카르보노클로리데이트를 1,300 ml THF 중에 용해시키고, 12 g(21.64 mmol)의 (3R)-3-{[(4-아미노페닐)카르바모일]아미노}-3-{3-[({3-[(프로필카르바모일)아미노]페닐}술포닐)아미노]페닐}프로판산을 첨가하였다. 혼합물을 가열하고, 45 분 동안 환류 하에서 교반한 후, 실온으로 냉각시키고, 여과하였다. 여과액을 감압 하에서 100 ml의 부피로 농축시켰다. 상기 용액을 디에틸 에테르에 붓고, 침전물을 여과하였다. 밤새 진공 하에서 건조시킨 후, 11.6 g의 표제 화합물을 얻었다.

[0201] LC-MS (방법 1): Rt=0.97 min; MS (ESIpos): m/z=720 $(M+H)^+$.

[0202] **중간체 7: 인테그린 리간드에 대한 참조 화합물(중간체 3의 S-에피머):**

[0203] (3S)-3-{[(4-아미노페닐)카르바모일]아미노}-3-{3-[({3-[(프로필카르바모일)아미노]페닐}술포닐)아미노]페닐}프로판산

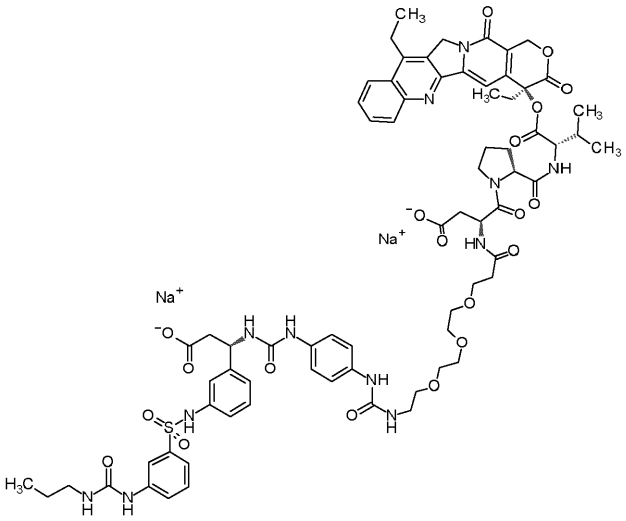


[0204]

[0205] 상기 화합물은 광학 분해 단계 중에 모액 중에 존재하는 중간체 1의 에피머를 사용하는 상기 언급된 중간체 3과 유사하게 합성하였다.

[0206] **실시예 1: $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 콘쥬게이트**

[0207] 디나트륨 (4S)-4,11-디에틸-3,14-디옥소-3,4,12,14-테트라히드로-1H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일 1-{(2S)-2-(카르복실라토메틸)-17-[4-({[(1R)-2-카르복실라토-1-{3-[({3-[(프로필카르바모일)아미노]페닐}술포닐)아미노]페닐}에틸]카르바모일}아미노)아닐리노]-4,17-디옥소-7,10,13-트리옥사-3,16-디아자헵타데칸-1-오일}-L-프롤릴-L-발리네이트



[0208]

[0209] 40 mg(68 μmol)의 중간체 4 및 48 mg(81 μmol)의 중간체 5를 6.4 mℓ DMF 중에 용해시키고, 33.5 mg(88 μmol) HATU 및 35 μℓ DIEA를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 30 분 동안 교반하였다. 혼합물을 증발시키고, 잔존하는 잔류물을 HPLC에 의하여 정제하였다. 28 mg(39%)의 보호된 중간체를 얻었다.

[0210] LC-MS (방법 1): Rt=1.15 min; MS (ESIpos): m/z=1047 $(M+H)^+$.

[0211] 28 mg의 상기 중간체를 2 mℓ의 디클로로메탄 중에 용해시켰다. 2 mℓ의 무수 트리플루오로아세트산을 첨가하고, 혼합물을 30 분 동안 실온에서 교반한 후, 1 시간 동안 음파 처리하였다. 진공 하에서 농축시킨 후, 생성물을 아세토니트릴/물의 혼합물로부터 동결건조시켰다. 30 mg(quant.)의 탈보호된 중간체를 오렌지색 고체로서 얻었다.

[0212] LC-MS (방법 1): Rt=0.72 min; MS (ESIpos): m/z=891 $(M+H)^+$.

[0213] 1,900 mg(1.89 mmol)의 상기 중간체를 60 mℓ DMF 중에 용해시키고 1,361 mg(1.89 mmol)의 중간체 6을 첨가하고, 혼합물을 2 시간 동안 실온에서 교반하였다. 용액을 진공 하에서 농축시키고, 잔존하는 잔류물을 물 및 5% 시트르산으로 처리하고, 여과하였다. 잔존하는 잔류물을 DCM/메탄올 중에 용해시키고, 디에틸 에테르를 첨가하였다. 침전물을 여과하고, 플래쉬-크로마토그래피에 의하여 DCM/메탄올/NH_4OH(17%) 15/2/0.2→15/4/0.4의 용출제 혼합물로 정제하였다. 관련 분획을 수집하고, 진공 하에서 농축시켰다. 잔류물을 진공 하에서 건조시킨

후, 942 mg(34%)의 표제 화합물을 얻었다.

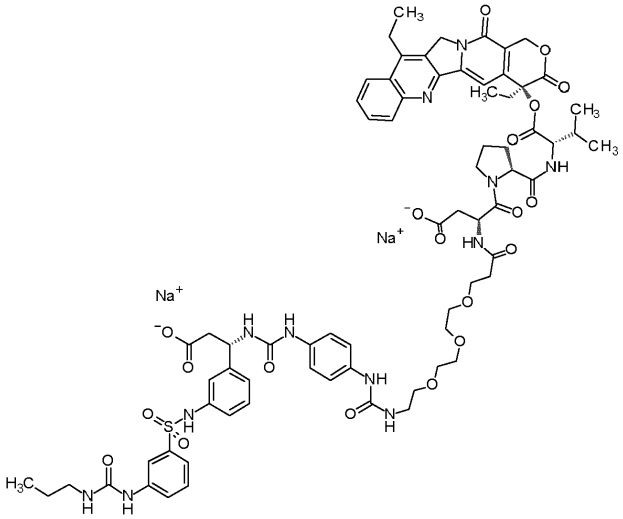
[0214] LC-MS (방법 1): Rt=0.97 min; MS (ESIpos): m/z=1471 $(M+H)^+$.

[0215] 20 mg(14 μmol)의 상기 중간체를 4 mℓ 디옥산/물 1:1 중에 용해시키고, 30 μℓ(30 μmol)의 수산화나트륨의 1 n 수용액을 첨가하고, 혼합물을 5 분 동안 실온에서 음파 처리하고, 동결건조시켰다. 21 mg(quant)의 표제 화합물을 얻었다.

[0216] LC-MS (방법 1): Rt=0.97 min; MS (ESIpos): m/z=1471 $(M- 2Na^+ + 2H^+ +H)^+$.

[0217] **실시예 2: 실시예 1의 대조 화합물(S-에피머):**

[0218] 디나트륨 (4S)-4,11-디에틸-3,14-디옥소-3,4,12,14-테트라히드로-1H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-4-일 1-{(2S)-2-(카르복실라토메틸)-17-[4-({[(1S)-2-카르복실라토-1-{3-[({3-[(프로필카르바모일)아미노]페닐}술포닐)아미노]페닐}에틸]카르바모일}아미노)아닐리노]-4,17-디옥소-7,10,13-트리옥사-3,16-디아자헵타데칸-1-오일}-L-프롤릴-L-발리네이트

[0219] 

[0220] 상기 화합물은 중간체 7의 $\alpha_v\beta_3$ 리간드의 에피머를 사용하여 실시예 1과 유사하게 합성하였다.

[0221] **바람직한 독소단 7-에틸 캄프토테신 및 실시예 1의 콘쥬게이트의 생물학적 평가**

[0222] 세포 투과성을 측정하기 위한 시험관내 시험

[0223] Caco-2:

[0224] 물질의 세포 투과성은 유동(flux) 검정으로 Caco-2 세포를 사용하여 시험관내 시험에 의하여 조사할 수 있다[M.D. Troutman and D.R. Thakker, *Pharm. Res.* 20 (8), 1210-1224 (2003)]. 이를 위하여, 세포를 15-16 일 동안 24웰 여과판 상에서 배양하였다. 투과를 측정하기 위하여, 각각의 테스트 물질을 HEPES 완충액 중에서 세포에 정점(A) 또는 기부(B)에 적용하고, 2 시간 동안 인큐베이션하였다. 0 시간 후 및 2 시간 후, 샘플을 시스 및 트랜스 구획으로부터 취하였다. 샘플을 HPLC(아질런트(Agilent) 1200, 독일 뵈블링엔 소재)에 의하여 역상 컬럼을 사용하여 분리하였다. HPLC 시스템을 삼중 사중극자 질량분석기 API 4000에 대한 터보 이온 스프레이 인터페이스(에이비 시엑스 도이치란트 게엠베하(AB SCIEX Deutschland GmbH), 독일 다름슈타트 소재)를 경유하여 커플링하였다. 투과율은 Schwab et al.의 문헌에 의하여 발표된 식을 사용하여 계산한 P_{app} 값에 기초하여 평가하였다[D. Schwab et al., *J. Med. Chem.* 46, 1716-1725 (2003)]. 물질은 P_{app}(A-B)에 대한 P_{app}(B-A)의 비(유출비)가 >2 또는 <0.5일 때 능동적으로 수송된 것으로 분류하였다.

[0225] 상기 검정에서, 실시예 1의 콘쥬게이트에 사용된 독소단 (4S)-4,11-디에틸-4-히드록시-1H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-3,14(4H,12H)-디온(7-에틸-캄프토테신)은 P_{app} A→B=171 nm/s의 매우 우수한 투과율 및 1의 낮은 유출비를 나타낸다. 이는 바람직하게는 P_{app} A→B=8 nm/s의 상당히 더 낮은 투과율 및 36의 유출비를 나타내는 이리노테칸으로부터 방출된 독소단인 SN38의 프로파일과 비교한다. SN38에 대한 새로운 데이타: P_{app} A→

B=20 nm/s의 투과율 및 9의 유출비.

[0226] **P-당단백질(p-GP) 검정:**

[0227] 다수의 종양 세포는 약물에 대한 전달체 단백질을 발현시키며, 이는 종종 세포증식억제에 대한 내성의 발생을 수반한다. 그러므로, 상기 전달체 단백질, 예컨대 P-당단백질(P-gp) 또는 BCRP의 기질이 아닌 물질은 개선된 활성 프로파일을 나타낸다.

[0228] P-gp(ABCB1)에 대한 물질의 기질 성질은 유동 검정에 의하여 P-gp를 과발현시키는 LLC-PK1 세포(L-MDR1 세포)를 사용하여 결정하였다[A.H. Schinkel et al., *J. Clin. Invest*. 96, 1698-1705 (1995)]. 이를 위하여, LLC-PK1 세포 또는 L-MDR1 세포는 96웰 여과판 상에서 3-4 일 동안 배양하였다. 투과의 측정을 위하여 개개의 테스트 물질을 단독으로 또는 억제제(예컨대 이베르멕틴 또는 베라파밀)의 존재하에서 HEPES 완충액 중에서 세포에 정점(A) 또는 기부(B)에 적용하고, 2 시간 동안 인큐베이션하였다. 0 시간 후 및 2 시간 후, 샘플을 시스 및 트랜스 구획으로부터 취하였다. 샘플을 역상 컬럼을 사용하여 분리하였다. HPLC 시스템을 삼중 사중극자 질량분석기 API 3000에 대한 터보 이온 스프레이 인터페이스(어플라이드 바이오시스템즈 애플레라(Applied Biosystems Applera), 독일 다름슈타트 소재)를 경유하여 커플링하였다. 투과율은 Schwab et al.의 문헌에 의하여 발표된 식을 사용하여 계산한 P_{app} 값에 기초하여 평가하였다[D. Schwab et al., *J. Med. Chem*. 46, 1716-1725 (2003)]. 물질은 P_{app}(A-B)에 대한 P_{app}(B-A)의 유출비가 >2일 때 P-gp 기질로서 분류하였다.

[0229] 상기 검정에서, 실시예 1의 콘쥬게이트에 사용된 독소단 (4S)-4,11-디에틸-4-히드록시-1H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-3,14(4H,12H)-디온(7-에틸-캄프토테신)은 P_{app} A→B=196 nm/s의 매우 우수한 투과율 및 0.6의 낮은 유출비를 나타낸다. 이는 바람직하게는 P_{app} A→B=10 nm/s의 상당히 더 낮은 투과율 및 16의 유출비를 나타내는 이리노테칸으로부터 방출된 독소단인 SN38의 프로파일과 비교한다.

[0230] NCI-H1975 및 그의 전달체 변이체에 대한 시험관내 세포독성

[0231] 7-에틸 캄프토테신의 세포독성 활성은 종양 세포 NCI-H1975가 약물 전달체 p-당단백질(P-gp) 및 유방암 내성 단백질(BCRP)로 트랜스펙션시 부정적으로 영향을 받지 않으며, 이는 SN38과는 상당히 대조적이다.

표 1: NCI-H1975 및 그의 전달체 변이체에 대한 시험관내 세포독성

[0232]

화합물	NCI-H1975 IC_{50} [nM]	NCI-H1975-P-gp IC_{50} [nM]	NCI-H1975-BCRP IC_{50} [nM]
7Et-CPT	19	34	27
SN38	45	141	512

[0233] $\alpha_v\beta_3$ 결합 테스트

[0234] 인간 A375 세포로부터의 $\alpha_v\beta_3$은 문헌[Wong et al., *Molecular Pharmacology* 50, 529-537 (1996)]에 기재된 절차와 유사하게 정제하였다. 각각의 사례에서, TBS pH 7.6 중의 10 ㎕의 $\alpha_v\beta_3$(5 ng), 2 mM $CaCl_2$, 1 mM $MgCl_2$, 1% n-옥틸글루코피라노시드(시그마(Sigma)); TBS pH 7.6 중의 10 ㎕의 테스트 물질, 0.1% DMSO 및 45 ㎕의 TBS pH 7.6, 2 mM $CaCl_2$, 1 mM $MgCl_2$, 1 mM $MnCl_2$를 실온에서 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 각각의 사례에서, 25 ㎕의 WGA SPA 비드(애머샴(Amersham), 4 mg/mℓ) 및 10 ㎕의 에키스타틴(0.1 μCi, 애머샴, 클로라민-T 표지됨)을 첨가하였다. 실온에서 16 시간 후, 샘플은 신틸레이션 측정 장치(월락(Wallac) 1450)로 측정하였다. 테스트 결과는 하기 표 2에 제시한다.

표 2: $\alpha_v\beta_3$ 수용체에 대한 결합의 IC_{50} 값

[0235]

실시예	IC_{50} [nM]
1	29
2	700

[0236] 엘라스타제 분해 가능성

[0237] 엘라스타제의 존재 및 부재하의 시험관내 세포독성

[0238] 세포의 배양은 표준 절차에 따라 공급업자가 추천하는 배지를 사용하여 수행하였다. 100 ㎕의 총 부피 중의 세포를 백색 바닥을 갖는 96웰 평판(#3610) 내에 파종하였다. 37℃ 및 5% CO_2에서 24 시간 인큐베이션 기간 후, 90 ㎕ 새로운 배지를 첨가하여 배지를 교체하였다. 처리는 테스트 화합물을 10 ㎕의 배양 배지 중의 세포에 첨가하여 시작한다. 10^{-5} M 내지 10^{-13} M의 농도 3개를 선택한 후, 37℃ 및 5% 이산화탄소에서 인큐베이션하였다. 샘플 중 1 세트는 테스트 화합물로만 처리한 반면, 샘플 중 달리 동일하게 처리한 제2의 세트에는 또한 10 nM 엘라스타제를 피펫팅하였다. 72 시간 후, MTT 검정(ATCC)을 사용하여 증식을 검출한다. 인큐베이션 기간의 종료 후 MTT 시약을 모든 샘플에 4 시간 동안 첨가한 후, 세제를 첨가하여 세포를 밤새 용해시킨다. 형성된 염료는 570 ㎚에서 검출되었다. 테스트 물질로 처리하지는 않았으나, 달리 동일하게 처리한 세포의 증식을 100% 값으로 정의하였다. 투여량 반응 곡선은 각각의 IC_{50} 값을 측정하였으며, 이를 하기 표 3에 요약한다(도 1 및 표 4).

표 3 엘라스타제 존재 및 부재하의 실시예 1 및 2의 IC_{50} 값 요약

[0239]

실시예	786-O 세포주 IC50 [nM]		HT29 세포주 IC50 [nM]	
	엘라스타제 부재	엘라스타제 존재	엘라스타제 부재	엘라스타제 존재
1	188	1.1	245	8.7
2	268	0.17	>500	32

표 4 실시예 1 및 EP 1 238 678의 실시예 1의 엘라스타제의 존재 및 부재하에 대비적 비교에서의 IC_{50} 값 (사용된 더 높은 효소 활성을 갖는 엘라스타제)

[0240]

실시예	786-O 세포주 IC50 [nM]		특이성 인자
	엘라스타제 부재	엘라스타제 존재	
1	28	0.17	165
1/EP 1 238 678	63	1.7	37

[0241] 중성구 엘라스타제의 존재는 신장암 세포주 786-0를 사용하여 화합물의 세포독성의 상당한 개선을 이끌어냈다. 그러한 화합물은 또한 결장암 세포주 HT29를 사용하여 엘라스타제에 대한 상당한 의존성을 밝혀낸다. 다시, 엘라스타제 유도된 분해는 화합물의 세포독성 효과의 극적인 증가를 일으킨다.

[0242] EP 1 238 678의 실시예 1의 콘쥬게이트에 비하여 실시예 1에서의 콘쥬게이트의 용해도

[0243] 방법: 테스트하는 각각의 비히클의 경우, 0.5-1.0 ㎎ 테스트 화합물을 2 ㎖ 에펜도르프 바이알에 계량하였다. 2-3 유리 펄(Glas perls)(∅ 3 ㎜) 및 1.0 ㎖ 비히클을 첨가하였다. 바이알을 1,400 rpm에서 24 시간 동안 실온(25℃)에서 진탕시켰다. 이 기간 후, 상청액(약 230 ㎕)을 원심분리관에 옮겼다. 42,000 rpm에서 30분 후, 용질을 또 다른 바이알에 옮기고, DMSO(1:5 및 1:50)로 희석하였다. 이들 2개의 희석액을 HPLC에 의하여 분석하였다(판독: 면적).

[0244] HPLC-방법:

[0245] 용출제 A: 1 ㎖ 트리플루오로아세트산/ℓ 물

[0246] 용출제 B: 1 ㎖ 트리플루오로아세트산/ℓ 아세토니트릴

[0247] 구배:

[0248]

시간 [min]	A [%]	B [%]	유속: [ml/min]
0.0	98	2	1.5
0.2	98	2	1.5
3.3	10	90	1.5
4.0	10	90	1.5
4.1	98	2	2.5
4.7	98	2	2.5
5.0	98	2	1.5

[0249] 컬럼: 조박스 익스텐드(ZORBAX Extend)-C18, 3.0×50 ㎜, 3.5 ㎛

[0250] 오븐 온도: 30℃

[0251] 검출: 214 및 254 ㎚

[0252] 주입량: 20 ㎕

[0253] 정량화의 경우 보정 곡선은 동일한 HPLC 방법을 사용하여 테스트 화합물의 DMSO 용액(100 ㎕/㎖, 20 ㎍/㎖ 및 2.5 ㎍/㎖)으로부터 얻었다.

표 5: 실시예 1 및 EP 1 238 678의 실시예 1의 용해도

[0254]

화합물	5% D-만니톨	H_2O 중의 0.9% NaCl
실시예 1	>500 mg/mL	465
EP 1 238 678의 실시예 1	200 mg/mL	200

[0255] EP 1 238 678의 실시예 1의 콘쥬게이트에 비하여 실시예 1의 콘쥬게이트의 pH 4에서 시트르산 완충액 중의 안정성:

[0256] 방법: 0.15 ㎎의 테스트 화합물을 0.1 ㎖ 디메틸술폭시드 및 0.4 ㎖ 아세토니트릴 중에 용해시켰다. 완전 용해를 위하여, 샘플 용액을 갖는 HPLC 바이알을 진탕시키고, 음파 처리하였다. 그 후, 1.0 ㎖의 각각의 완충 용액(시트레이트 완충액 pH 4; 시트르산/수산화나트륨/염화나트륨 플루카(Fluka) 33643)을 첨가하고, 샘플을 와류 처리하였다. 샘플 용액을 HPLC에 의하여 분석하여 테스트 화합물 및 2종 이하의 부산물의 양을 특정한 시간(0, 1, 2 4, 24 시간)에서 24 시간의 기간에 걸쳐 37℃에서 측정하였다. t(0) 값은 완충액과 함께 실온에서 와류 처리한 후 즉시 취한 샘플로부터 발생하였다. 피크 면적(%)을 정량화에 사용하였다.

[0257] LC & LC/MS 순도 분석: 출발 물질을 LC에 의하여 순도에 대하여 분석하고; 24 시간 샘플을 LC/MS(워터스의 콰트로 마이크로(Quattro Micro))에 의하여 추가적으로 분석하였다.

[0258]

HPLC 조건	아질런트
DAD	G4212B
컬럼 오븐	G1316C
온도조절기	G1330B
오토샘플러	G1367E
2액 펌프	G1312B

용출제:	A=1 ml 포름산/L 물 B=1 ml 포름산/L ACN		구배:	시간 (min)	A (%)	B (%)	유속 (ml/min)
컬럼:	뉴클레오듀르 100 C18ec 3µm 50*2mm			0,0	98	2	0,75
온도:	37	°C		1,0	98	2	0,75
검출:	214	nm		15,0	5	95	0,75
유속:	0,75	ml/min		17,5	5	95	0,75
주입:	8	µl		17,7	98	2	1,50
				18,2	98	2	1,50
				18,5	98	2	1,00
				19,0	98	2	0,75

표 6: pH 4에서 시트르산 완충액 중의 실시예 1 및 EP 1 238 678의 실시예 1의 안정성

[0259]

화합물	4h	24h
실시예 1	100%	95%
EP 1 238 678의 실시예 1	100%	74%

[0260] 실시예 1의 콘쥬게이트의 혈장 안정성

[0261] 래트 혈장 중의 모화합물 방출의 측정:

[0262] 실시예 1의 테스트 화합물 1 ㎎을 1.5 ㎖ 디메틸술폭시드 및 1 ㎖ 물의 혼합물 중에 용해시켰다. 완전한 용해를 위하여, HPLC 바이알을 진탕시키고, 초음파로 처리하였다. 500 ㎕의 상기 용액을 0.5 ㎖의 래트 혈장에 와류 처리하면서 37℃의 온도에서 첨가하였다. 분액(10 ㎕ 각각)을 각각의 시점에서 취하고, HPLC에 의하여 분석하여 테스트 화합물의 양을 결정하였다. 모든 데이타는 t0에서 초기 화합물의 면적 비율로 제시한다.

[0263] 실시예 1의 화합물은 래트 혈장 중에서 >24 시간 동안 안정하다.

[0264] 인간 혈장 중에서 7-에틸 캄프토테신(실시예 1의 독소단) 및 캄프토테신(EP 1 238 678의 실시예 1의 독소단)의 안정성:

[0265] 1 mg의 테스트 화합물을 0.5 ㎖ 아세토니트릴/디메틸술폭시드 1:1 중에 용해시켰다. 완전 용해를 위하여, HPLC 바이알을 진탕시키고, 음파 처리하였다. 와류 처리하면서 20 ㎕의 상기 용액을 1 ㎖ 37℃ 따뜻한 혈장에 첨가하였다. 0.17, 0.5, 1, 1.5, 2 및 4 시간 후, 100 ㎕의 화합물 혈장 용액을 300 ㎕ 아세토니트릴/완충제 pH3(80:20)를 함유하는 바이알에 실온에서 첨가하여 효소 반응을 중지시켰다. 혼합물을 5,000 rpm에서 10 분 동안 원심분리하였다. 상청액을 HPLC에 의하여 분석하여 테스트 화합물 및 2종 이하의 부산물의 양을 측정하였다. t(0) 값은 혈장과 함께 실온에서 와류 처리한 후 즉시 취한 처리된 샘플로부터 발생한다. 피크 면적(%)은 정량화에 사용하였다.

[0266] 검정 조건 하에서 7-에틸 캄프토테신은 적어도 4 시간 동안 안정한 반면, 동시에 캄프토테신은 약 50% 정도로 분해된다.

[0267] 약동학

[0268] 실시예 1의 콘쥬게이트 4 mg을 염수 중에 용해시키고, 786-O 종양을 갖는 NMRI nu/nu 마우스 암컷에게 정맥내 투여하였다. 종양 및 혈장 샘플을 상이한 시점에서 수집하고, 무상해 콘쥬게이트 및, 콘쥬게이트로부터 분해된 독소단 7-에틸-캄프토테신의 레벨을 측정하였다.

[0269] 비교를 위하여, 1 mg/kg의 7-에틸 캄프토테신을 5% 수성 덱스트로스/솔루톨/DMSO 85/10/5의 혼합물 중에 용해시키고, 786-O 종양을 갖는 NMRI nu/nu 마우스 암컷에게 정맥내 투여하였다. 다시 종양 및 혈장 샘플을 상이한 시점에서 수집하고, 7-에틸-캄프토테신의 레벨을 측정하였다.

[0270] 마지막으로, 비교를 위하여 실시예 23의 4 mg의 에피머 대조 콘쥬게이트(약한 $\alpha_v\beta_3$ 결합 친화도를 지님)를 염수 중에 용해시키고, 786-O 종양을 지닌 NMRI nu/nu 마우스 암컷에게 정맥내 투여하였다. 종양 및 혈장 샘플을 상이한 시점에서 수집하고, 무상해 콘쥬게이트 및, 콘쥬게이트로부터 분해된 독소단 7-에틸-캄프토테신의 레벨을 측정하였다.

[0271] 하기 표 4에서, 상기 실험 각각에서 검출된 7-에틸 캄프토테신의 종양/혈장 비를 요약한다. $\alpha_v\beta_3$ 인테그린 콘쥬게이트를 경유한 종양으로의 7-에틸 캄프토테신의 향상된 전달은 독소단의 직접 투여 및 약하게 결합하는 에피머 대조 콘쥬게이트의 투여와 비교하여 입증된다.

표 4:

투여된 화합물	7-에틸 캄프토테신의 종양/혈장 비	종양/혈장 농축 인자 (비/비)
실시예 1	6.5	10.8
실시예 2 (참조)	1.2	2
7-에틸 캄프토테신	0.6	1

[0272]

[0273] 생체내 이종이식 실험

[0274] 실시예 1의 항종양 활성은 인간 암의 쥐과 이종이식에서 조사하였다. 이를 위하여, 면역손상된 마우스에게 종양 세포 또는 종양 분절을 피하 이식하였다. 20-40 ㎟의 평균 종양 크기에서 동물을 처치군 및 대조군(n=8 동물/군)으로 무작위로 나누고, 비히클 단독 또는 실시예 1로 처치를 시작하였다(제제: 인산염 완충 염수("PBS"); 적용 경로: 꼬리 정맥에 정맥내("i.v.")). 정맥내 처치를 연속 3 일로 1일 1회에 이어서 4일의 처치가 없는 휴약으로 수행하였다. 종양 크기 및 체중은 적어도 매주 측정하였다. 종양 면적은 전자 캘리퍼에 의하여 검출하였다[길이(㎜)×폭(㎜)]. 실험군이 독일 및 유럽 동물 복지 규칙에 기초하여 사전결정된 윤리적 종점에 도달할 때 실험군을 종료하였다. 생체내 항종양 효능은 비히클 대조군이 시험 중에 남아 있는 최종일에 처치군 및 대조군에 대하여 측정한 평균 종양 면적의 T/C 비(처치군/대조군; 처치군의 평균 종양 면적/ 대조군의 평균 종양 면적)로서 제시한다. 0.5 미만의 T/C를 갖는 화합물은 활성(즉, 유효)인 것으로 정의한다. 통계적 분석은 시그마스태트(SigmaStat) 소프트웨어를 사용하여 평가하였다. 분산의 1원 분석을 수행하고, 대조군에 대한 차이는 쌍대 비교 절차(Dunn's 방법)에 의하여 비교하였다.

[0275] 결과:

[0276] 실시예 1은 단독요법 처치시 인간 종양의 상이한 이종이식 모델에서 강력한 항종양 효능을 나타냈다. 구체적으로, 실시예 1은 유방암, 결장암, 폐암 및 신장암의 모델에서 종양 면적의 감소에 효과적이다.

표 5: 마우스의 상이한 인간 암 이종이식 모델에서의 실시예 1의 항종양 활성

이종이식 모델	암 환자로부터 단리된 세포주	화합물	투여량 및 스케줄	T/C
MX1	유방암	실시예 1	36 mg/kg 3일 투약, 4일 휴약, 3회 사이클	0.03*
SW-480	결장암	실시예 1	36 mg/kg 3일 투약, 4일 휴약, 3회 사이클	0.1*
NCI-H69	폐암	실시예 1	40 mg/kg 3일 투약, 4일 휴약, 3회 사이클	0.06*
786-O	신장암	실시예 1	36 mg/kg 3일 투약, 4일 휴약, 3회 사이클	0.19*

* P < 0.05 (비히클 처치 대조군과 비교함)

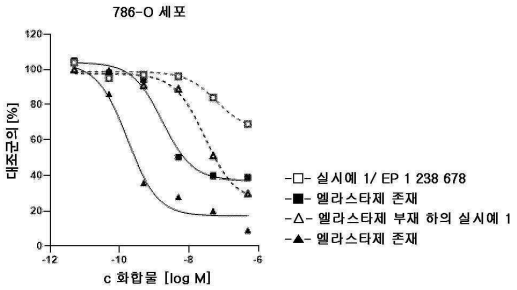
[0277]

[0278] T/C=대조군이 시험 내에 잔존하는 최종일에서 대조군의 평균 종양 면적에 대한 처치군의 평균 종양 면적의 비

도면

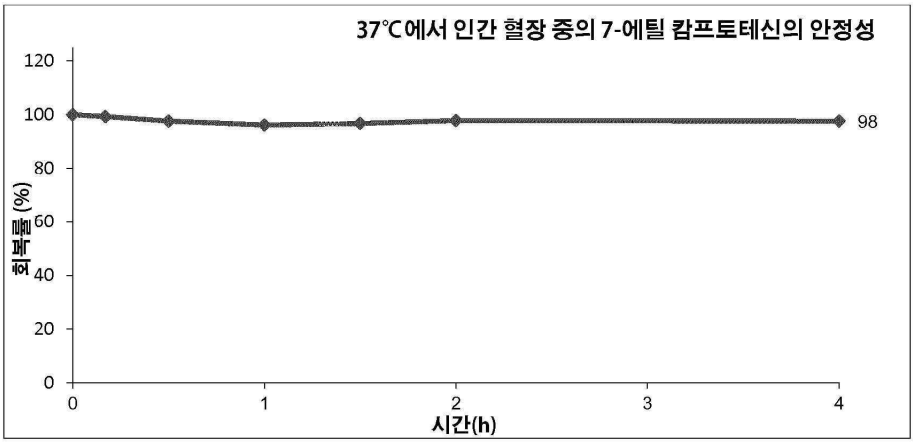
도면1

엘라스타제 치료의 존재 또는 부재 하에 신장암 세포주 786-O를 사용한, EP 1 238 678의 실시예 1 대비 실시예 1의 투여량 반응 곡선



도면2

37℃에서 인간 혈장 중의 7-에틸 캄프토테신의 안정성



도면3

37℃에서 인간 혈장 중의 캄프토테신의 안정성

