



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

(11) 공개번호 10-2023-0122008  
(43) 공개일자 2023년08월22일

- |  |   |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/><i>A61K 47/68</i> (2017.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)<br/><i>C07H 15/26</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/><i>A61K 47/6889</i> (2017.08)<br/><i>A61K 47/6803</i> (2023.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-7019842</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2021년11월19일<br/>심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2023년06월13일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2021/060193</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2022/109335<br/>국제공개일자 2022년05월27일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>63/116,632 2020년11월20일 미국(US)<br/>63/139,685 2021년01월20일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/>알.피.쉐러 테크놀로지스 엘엘씨<br/>미국 네바다 89703 카슨 시티 노스 커리 스트리트 112</p> <p>(72) 발명자<br/>추프라코프 스테판<br/>미국 캘리포니아 94608 에메리빌 호튼 스트리트 5959 스위트 400<br/>오군코야 아요텔레 오.<br/>미국 캘리포니아 94703 버클리 루즈벨트 애비뉴 2112 아파트먼트 에이</p> <p>(74) 대리인<br/>특허법인와이에스장</p> |
|--|---|

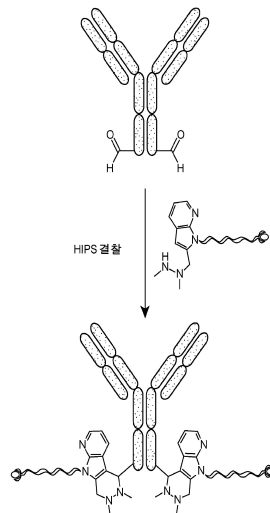
전체 청구항 수 : 총 51 항

(54) 발명의 명칭 **항체-약물 접합체를 위한 글리코시드 이중-절단 링커**

**(57) 요약**

본 개시물은 항체를 약물에 연결하고 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티 및 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로부터 선택되는 글리코시드를 포함하는 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 가지는 절단가능한 링커를 포함하는 항체-약물 접합체 구조를 제공한다. 본 개시물은 또한 이러한 접합체를 생성하기 위한 화합물 및 방법, 뿐만 아니라 접합체를 사용하는 방법도 포함한다.

**대표도 - 도2**



(52) CPC특허분류

*A61P 35/00* (2018.01)

*C07H 15/26* (2013.01)

---

명세서

청구범위

청구항 1

항체;

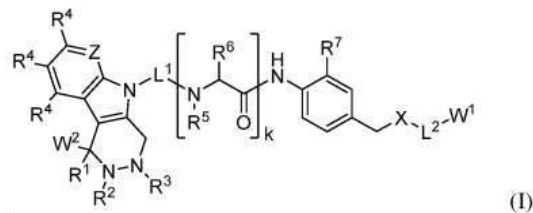
약물; 및

항체를 약물에 연결하고, 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티 및 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로 이루어진 군으로부터 선택되는 글리코시드를 포함하는 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함하는 절단가능한 링커

를 포함하는 접합체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 접합체가 화학식 (I)을 가지는 것인 접합체:



여기서

Z는 CR<sup>4</sup> 또는 N이고;

X는 O 또는 NR<sup>4</sup>이고;

R<sup>1</sup>은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되거나, 또는 R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 임의로 환식으로 연결되어 5원 또는 6원 헤테로시클릴을 형성하고;

각 R<sup>4</sup>는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

각 R<sup>5</sup>는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐 및 치환된 알킬닐로부터 선택되고;

각 R<sup>6</sup>는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터

선택되고;

k는 1 내지 10의 정수이고;

R<sup>7</sup>은 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함하고;

L<sup>1</sup>은 제1 링커이고;

L<sup>2</sup>는 제2 링커이고;

W<sup>1</sup>은 약물이고;

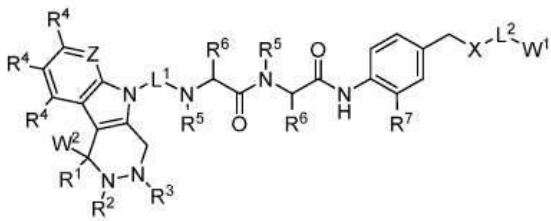
W<sup>2</sup>는 항체임.

**청구항 3**

제2항에 있어서,

k가 2이고;

상기 접합체가 화학식 (Ia)를 가지는 것인 접합체:



(Ia)

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티가 갈락토시드를 포함하는 것인 접합체.

**청구항 5**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티가 글루코시드를 포함하는 것인 접합체.

**청구항 6**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티가 만노시드를 포함하는 것인 접합체.

**청구항 7**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티가 푸코시드를 포함하는 것인 접합체.

**청구항 8**

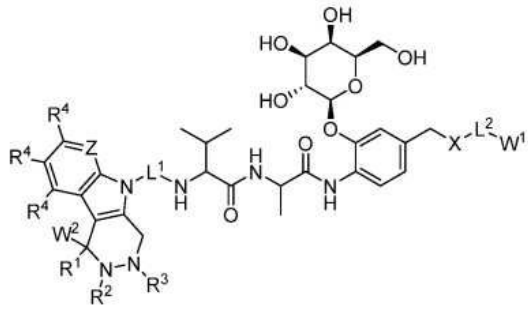
제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티가 O-GlcNAc를 포함하는 것인 접합체.

**청구항 9**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티가 O-GalNAc를 포함하는 것인 접합체.

**청구항 10**

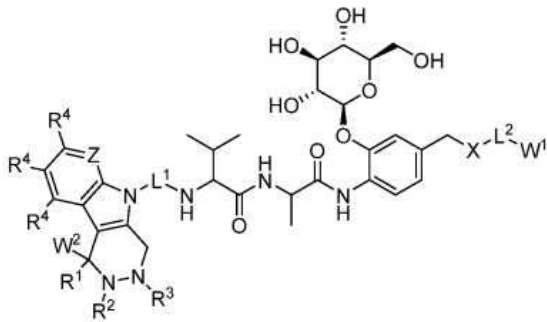
제3항에 있어서, 상기 접합체가 화학식 (Ib)를 가지는 것인 접합체:



(Ib)

청구항 11

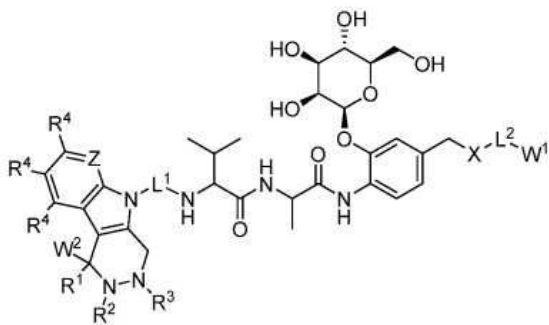
제3항에 있어서, 상기 접합체가 화학식 (Ic)를 가지는 것인 접합체:



(Ic)

청구항 12

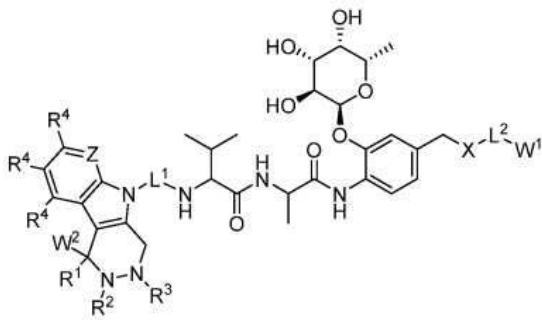
제3항에 있어서, 상기 접합체가 화학식 (Id)를 가지는 것인 접합체:



(Id)

청구항 13

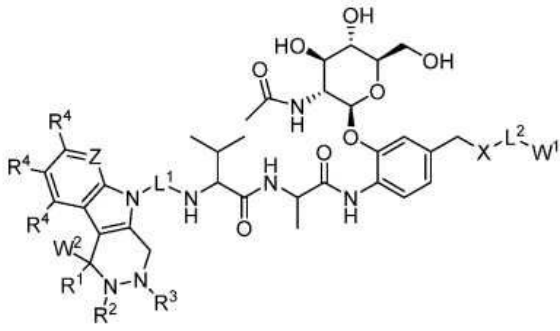
제3항에 있어서, 상기 접합체가 화학식 (Ie)를 가지는 것인 접합체:



(Ie)

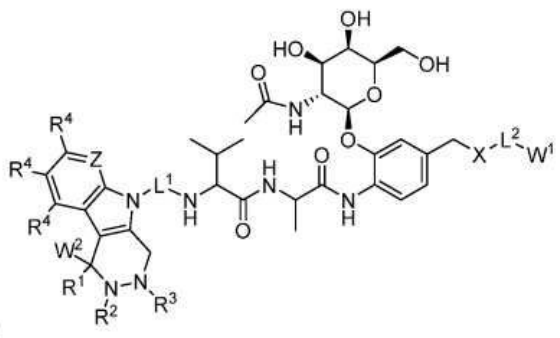
청구항 14

제3항에 있어서, 상기 접합체가 화학식 (If)를 가지는 것인 접합체:



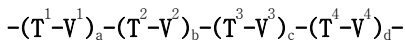
청구항 15

제3항에 있어서, 상기 접합체가 화학식 (Ig)를 가지는 것인 접합체:



청구항 16

제2항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, L<sup>1</sup>이



을 포함하고, 여기서

a, b, c 및 d가 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

T<sup>1</sup>, T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및 T<sup>4</sup>가 각각 독립적으로 공유결합, (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (AA)<sub>p</sub>, -(CR<sup>13</sup>OH)<sub>m</sub>-, 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진, 디설피드 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA는 에틸렌 디아민 모이어티이고, PEG는 폴리에틸렌 글리콜이고, AA는 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체이고, 여기서 각 w는 1 내지 20의 정수이고, 각 n은 1 내지 30의 정수이고, 각 p는 1 내지 20의 정수이고, 각 m은 1 내지 12의 정수이고;

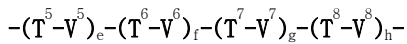
V<sup>1</sup>, V<sup>2</sup>, V<sup>3</sup> 및 V<sup>4</sup>가 각각 독립적으로 공유결합, -CO-, -NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-, -NR<sup>15</sup>(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)-, -CONR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>CO-, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>SO<sub>2</sub>- 및 -P(O)OH-로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각 q는 1 내지 6의 정수이고;

각 R<sup>13</sup>이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고;

각 R<sup>15</sup>이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되는 것인 접합체.

**청구항 17**

제2항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,  $L^2$ 가



을 포함하고, 여기서

e, f, g 및 h가 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

$T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및  $T^8$ 이 각각 독립적으로 공유결합,  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_m-$ , 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진, 디설피드 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA는 에틸렌 디아민 모이어티이고, PEG는 폴리에틸렌 글리콜이고, AA는 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체이고, 여기서 각 w는 1 내지 20의 정수이고, 각 n은 1 내지 30의 정수이고, 각 p는 1 내지 20의 정수이고, 각 m은 1 내지 12의 정수이고;

$V^5$ ,  $V^6$ ,  $V^7$  및  $V^8$ 이 각각 독립적으로 공유결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각 q는 1 내지 6의 정수이고;

각  $R^{13}$ 이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고;

각  $R^{15}$ 이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되는 것인 집합체.

**청구항 18**

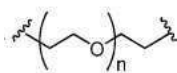
제16항에 있어서,

$T^1$ 이  $(C_1-C_{12})$ 알킬 및 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬로부터 선택되고;

$T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 가 각각 독립적으로 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_m-$ , 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진 및 에스테르로부터 선택되고;

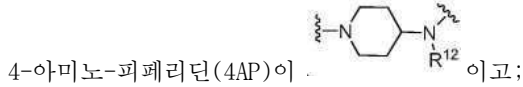
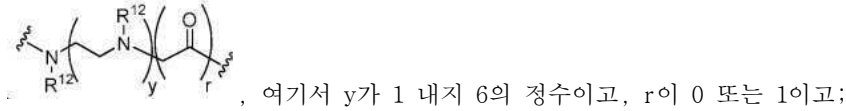
$V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 가 각각 독립적으로 공유결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고;

여기서:



$(PEG)_n$  이고, 여기서 n이 1 내지 30의 정수이고;

EDA가 다음 구조를 가지는 에틸렌 디아민 모이어티이고:



각  $R^{12}$  및  $R^{15}$ 이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고, 여기서 임의의 2개의 인접한  $R^{12}$  기가 환식으로 연결되어 피페라지닐 고리를 형성할 수 있고;

$R^{13}$ 이 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되는 것인 집합체.

#### 청구항 19

제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서,

$T^1$ 이  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 이  $-CO-$ 이고;

$T^2$ 가 아미노산 유사체이고,  $V^2$ 가  $-NH-$ 이고;

$T^3$ 가  $(PEG)_n$ 이고,  $V^3$ 가  $-CO-$ 이고;

$d$ 가 0인 집합체.

#### 청구항 20

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,

$T^5$ 가 공유결합이고,  $V^5$ 가  $-CO-$ 이고;

$f$ ,  $g$  및  $h$ 가 0인 집합체.

#### 청구항 21

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,

$T^5$ 가 공유결합이고,  $V^5$ 가  $-CONR^{15}-$ 이고;

$T^6$ 가  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^6$ 가  $-CO-$ 이고;

$g$  및  $h$ 가 0인 집합체.

#### 청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약물이 세포독소, 키나제 억제제, 면역자극제, 톨-유사 수용체(TLR) 효현제, 올리고뉴클레오티드, 앵타머, 사이토킨, 스테로이드 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 집합체.

#### 청구항 23

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약물이 아우리스타틴, 메이탄신 및 두오카르마이신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 집합체.

#### 청구항 24

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약물이 투블리신 M, 칼리키아미신, SN-38, 엑사테칸, STAT3 억제제, 알파-아마니틴, 아우로라 키나제 억제제, 벨로테칸, 9-아미노캄프토테신(9-AC) 및 안트라시클린으로 이

루어진 군으로부터 선택되는 것인 접합체.

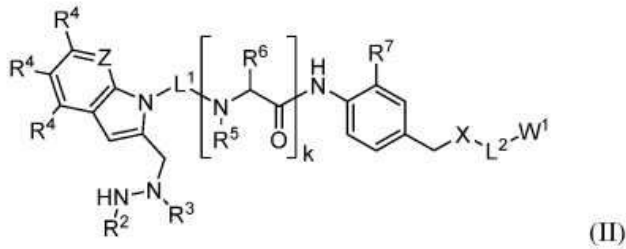
**청구항 25**

화합물로서,

항체를 약물에 연결하기 위한 절단가능한 링커를 포함하며, 절단가능한 링커가 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티 및 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로 이루어진 군으로부터 선택되는 글리코시드를 포함하는 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함하는 화합물.

**청구항 26**

제25항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 (II)를 가지는 것인 화합물:



여기서

Z는 CR<sup>4</sup> 또는 N이고;

X는 O 또는 NR<sup>4</sup>이고;

R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되거나, 또는 R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 임의로 환식으로 연결되어 5원 또는 6원 헤테로시클릴을 형성하고;

각 R<sup>4</sup>는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

각 R<sup>5</sup>는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

각 R<sup>6</sup>는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

k는 1 내지 10의 정수이고;

R<sup>7</sup>은 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함하고;

L<sup>1</sup>은 제1 링커이고;

L<sup>2</sup>는 제2 링커이고;

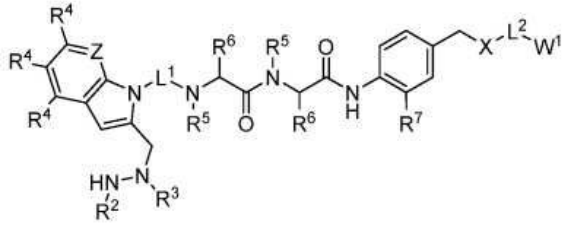
W<sup>1</sup>은 약물임.

**청구항 27**

제26항에 있어서,

k가 2이고;

상기 화합물이 화학식 (IIa)를 가지는 것인 화합물:



**청구항 28**

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 절단가능한 모이어티가 갈락토시드를 포함하는 것인 화합물.

**청구항 29**

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 절단가능한 모이어티가 글루코시드를 포함하는 것인 화합물.

**청구항 30**

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 절단가능한 모이어티가 만노시드를 포함하는 것인 화합물.

**청구항 31**

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 절단가능한 모이어티가 푸코시드를 포함하는 것인 화합물.

**청구항 32**

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 절단가능한 모이어티가 O-GlcNAc를 포함하는 것인 화합물.

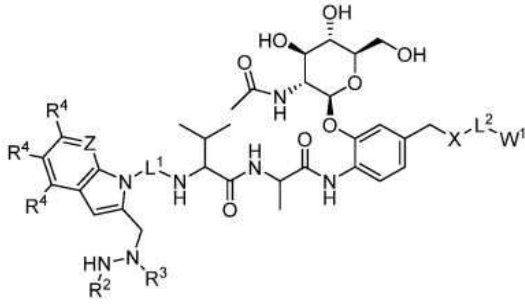
**청구항 33**

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 절단가능한 모이어티가 O-GalNAc를 포함하는 것인 화합물.

**청구항 34**

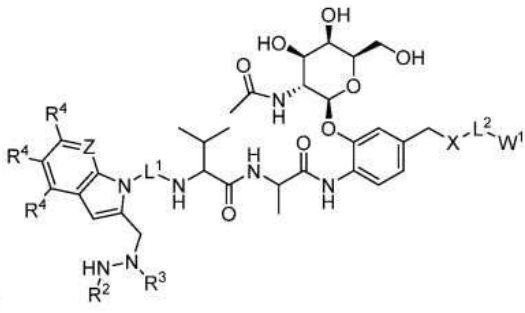
제27항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 (IIb)를 가지는 것인 화합물:





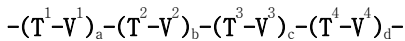
**청구항 39**

제27항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 (IIg)를 가지는 것인 화합물:



**청구항 40**

제26항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, L<sup>1</sup>이



을 포함하고, 여기서

a, b, c 및 d가 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

T<sup>1</sup>, T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및 T<sup>4</sup>가 각각 독립적으로 공유결합, (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (AA)<sub>p</sub>, -(CR<sup>13</sup>OH)<sub>m</sub>, 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진, 디설피드 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA는 에틸렌 디아민 모이어티이고, PEG는 폴리에틸렌 글리콜이고, AA는 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체이고, 여기서 각 w는 1 내지 20의 정수이고, 각 n은 1 내지 30의 정수이고, 각 p는 1 내지 20의 정수이고, 각 m은 1 내지 12의 정수이고;

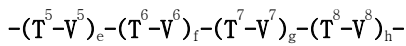
V<sup>1</sup>, V<sup>2</sup>, V<sup>3</sup> 및 V<sup>4</sup>가 각각 독립적으로 공유결합, -CO-, -NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-, -NR<sup>15</sup>(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)-, -CONR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>CO-, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>SO<sub>2</sub>- 및 -P(O)OH-로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각 q는 1 내지 6의 정수이고;

각 R<sup>13</sup>이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고;

각 R<sup>15</sup>이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되는 것인 화합물.

**청구항 41**

제26항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, L<sup>2</sup>가



을 포함하고, 여기서

e, f, g 및 h가 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

T<sup>5</sup>, T<sup>6</sup>, T<sup>7</sup> 및 T<sup>8</sup>이 각각 독립적으로 공유결합, (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (AA)<sub>p</sub>, -(CR<sup>13</sup>OH)<sub>m</sub>-, 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진, 디설피드 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA가 에틸렌 디아민 모이어티이고, PEG가 폴리에틸렌 글리콜이고, AA가 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체이고, 여기서 각 w가 1 내지 20의 정수이고, 각 n이 1 내지 30의 정수이고, 각 p가 1 내지 20의 정수이고, 각 m이 1 내지 12의 정수이고;

V<sup>5</sup>, V<sup>6</sup>, V<sup>7</sup> 및 V<sup>8</sup>이 각각 독립적으로 공유결합, -CO-, -NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-, -NR<sup>15</sup>(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)-, -CONR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>CO-, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>SO<sub>2</sub>- 및 -P(O)OH-로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각 q는 1 내지 6의 정수이고;

각 R<sup>13</sup>이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고;

각 R<sup>15</sup>이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되는 것인 화합물.

#### 청구항 42

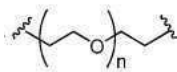
제40항에 있어서,

T<sup>1</sup>이 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬 및 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬로부터 선택되고;

T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및 T<sup>4</sup>가 각각 독립적으로 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, (AA)<sub>p</sub>, -(CR<sup>13</sup>OH)<sub>m</sub>-, 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진 및 에스테르로부터 선택되고;

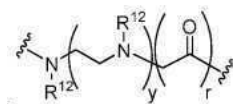
V<sup>1</sup>, V<sup>2</sup>, V<sup>3</sup> 및 V<sup>4</sup>가 각각 독립적으로 공유결합, -CO-, -NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-, -NR<sup>15</sup>(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)-, -CONR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>CO-, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>SO<sub>2</sub>- 및 -P(O)OH-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

여기서:

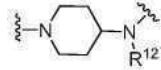


(PEG)<sub>n</sub>이 이고, 여기서 n이 1 내지 30의 정수이고;

EDA가 다음 구조를 가지는 에틸렌 디아민 모이어티이고:



, 여기서 y가 1 내지 6의 정수이고, r이 0 또는 1이고;



4-아미노-피페리딘(4AP)이  $\text{---N---}$  이고;

각  $R^{12}$  및  $R^{15}$ 이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고, 여기서 임의의 2개의 인접한  $R^{12}$  기가 환식으로 연결되어 피페라지닐 고리를 형성할 수 있고;

$R^{13}$ 이 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되는 것인 화합물.

**청구항 43**

제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서,

$T^1$ 이  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 이  $-CO-$ 이고;

$T^2$ 가 아미노산 유사체이고,  $V^2$ 가  $-NH-$ 이고;

$T^3$ 가  $(PEG)_n$ 이고,  $V^3$ 가  $-CO-$ 이고;

d가 0인 화합물.

**청구항 44**

제40항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서,

$T^5$ 가 공유결합이고,  $V^5$ 가  $-CO-$ 이고;

f, g 및 h가 0인 화합물.

**청구항 45**

제40항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서,

$T^5$ 가 공유결합이고,  $V^5$ 가  $-CONR^{15}-$ 이고;

$T^6$ 가  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^6$ 가  $-CO-$ 이고;

g 및 h가 0인 화합물.

**청구항 46**

제25항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약물이 세포독소, 키나제 억제제, 면역자극제, 톨-유사 수용체(TLR) 효현제, 올리고뉴클레오타이드, 앵타머, 사이토킨, 스테로이드 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

**청구항 47**

제25항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약물이 아우리스타틴, 메이탄신 및 두오카르마이신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

**청구항 48**

제25항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약물이 투블리신 M, 칼리키아미신, SN-38, 엑사테칸, STAT3 억제제, 알파-아마니딘, 아우로라 키나제 억제제, 벨로테칸, 9-아미노캄프토테신(9-AC) 및 안트라시클린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

**청구항 49**

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 접합체; 및

제약학적으로 허용되는 부형제  
를 포함하는 제약 조성물.

**청구항 50**

대상체에게 제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 접합체를 투여하는 단계를 포함하는 접합체를 대상체에게 투여하는 방법.

**청구항 51**

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서,  
대상체에게 제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 접합체를 포함하는 제약 조성물의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 투여하는 단계는 대상체에서 암을 치료하는 데 유효한 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] **관련 출원 상호참조**

[0002] 본 출원은 2020년 11월 20일에 출원된 미국 가출원 번호 63/116,632 및 2021년 1월 20일에 출원된 미국 가출원 번호 63/139,685의 우선권을 주장하고, 이들의 개시물은 본원에 참고로 포함된다.

**배경 기술**

[0003] **도입**

[0004] 단백질-소분자 치료적 접합체 분야는 크게 발전하여 앞으로 더 많은 것을 제공할 것이라는 전망과 함께 많은 임상적으로 유익한 약물을 제공한다. 단백질-접합체 치료제는 예를 들어 특이성, 기능의 다중성 및 상대적으로 낮은 비표적(off-target) 활성으로 인해 몇 가지 이점을 제공할 수 있고, 그 결과로 부작용이 더 적다. 단백질의 화학적 변형은 단백질을 더 효력있게 하거나 더 안정적이게 하거나 또는 더 다중모드(multimodal)이게 함으로써 이들 이점을 확장할 수 있다.

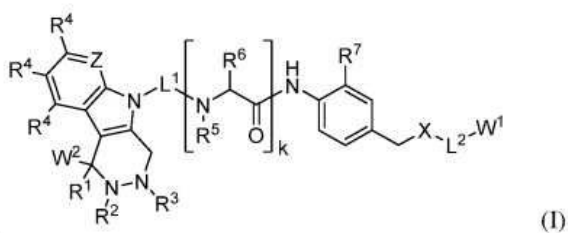
**발명의 내용**

[0005] **요약**

[0006] 본 개시물은 항체를 약물에 연결하고 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티 및 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로부터 선택되는 글리코시드를 포함하는 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 가지는 절단가능한 링커를 포함하는 항체-약물 접합체 구조를 제공한다. 본 개시물은 또한 이러한 접합체의 제조를 위한 화합물 및 방법 뿐만 아니라 그 접합체를 사용하는 방법을 포함한다.

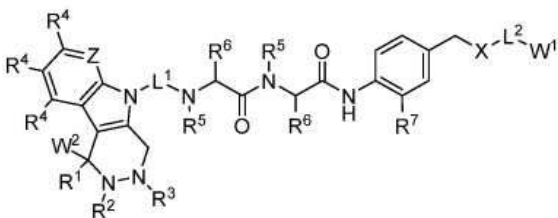
[0007] 본 개시물의 측면은 항체, 약물, 및 항체를 약물에 연결하고 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티 및 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로부터 선택되는 글리코시드를 포함하는 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 가지는 절단가능한 링커를 포함하는 접합체를 포함한다.

[0008] 일부 구현예에서, 접합체는 화학식 (I)을 가진다:



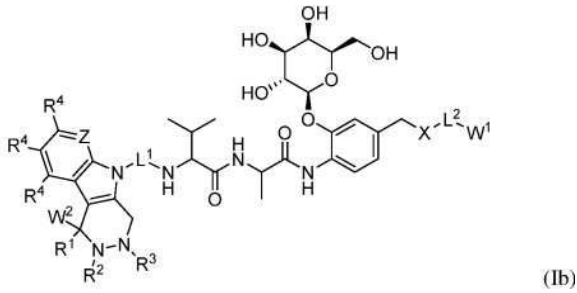
[0009] 여기서  
[0010]

- [0011] Z는 CR<sup>4</sup> 또는 N이고;
- [0012] X는 O 또는 NR<sup>4</sup>이고;
- [0013] R<sup>1</sup>은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;
- [0014] R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되거나, 또는 R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 임의로 환식으로 연결되어 5원 또는 6원 헤테로시클릴을 형성하고;
- [0015] 각 R<sup>4</sup>는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;
- [0016] 각 R<sup>5</sup>는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐 및 치환된 알키닐로부터 선택되고;
- [0017] 각 R<sup>6</sup>는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;
- [0018] k는 1 내지 10의 정수이고;
- [0019] R<sup>7</sup>은 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함하고;
- [0020] L<sup>1</sup>은 제1 링커이고;
- [0021] L<sup>2</sup>는 제2 링커이고;
- [0022] W<sup>1</sup>은 약물이고;
- [0023] W<sup>2</sup>는 항체이다.
- [0024] 일부 구현예에서, k는 2이고; 집합체는 화학식 (Ia)를 가진다:



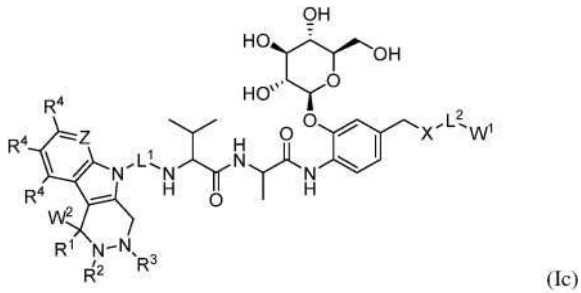
- [0025]
- [0026] 일부 구현예에서, 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티는 갈락토시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티는 글루코시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티는 만노시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티는 푸시소드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티는 O-GlcNAc를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티는 O-GalNAc를 포함한다.

[0027] 일부 구현예에서, 접합체는 화학식 (Ib)를 가진다:



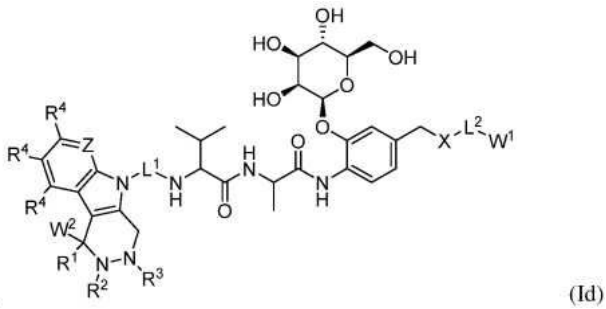
[0028]

[0029] 일부 구현예에서, 접합체는 화학식 (Ic)를 가진다:



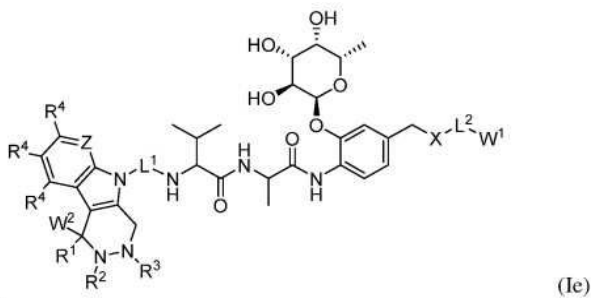
[0030]

[0031] 일부 구현예에서, 접합체는 화학식 (Id)를 가진다:



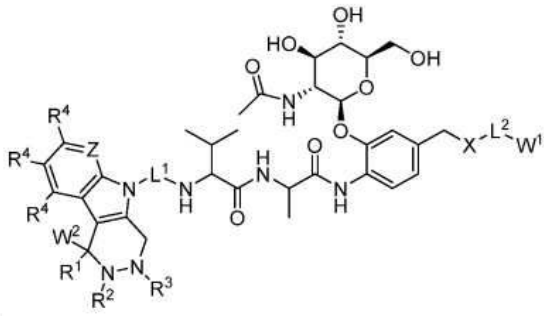
[0032]

[0033] 일부 구현예에서, 접합체는 화학식 (Ie)를 가진다:



[0034]

[0035] 일부 구현예에서, 접합체는 화학식 (If)를 가진다:

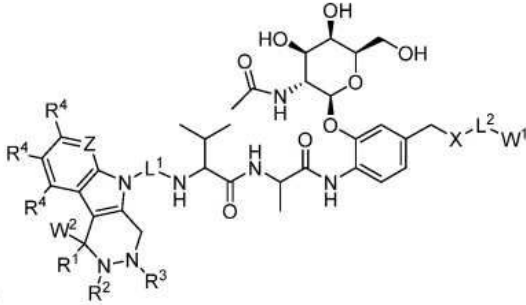


(If)

[0036]

[0037]

일부 구현예에서, 접합체는 화학식 (Ig)를 가진다:



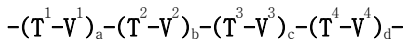
(Ig)

[0038]

[0039]

일부 구현예에서, L<sup>1</sup>은

[0040]



[0041]

을 포함하고, 여기서

[0042]

a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

[0043]

T<sup>1</sup>, T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및 T<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 공유결합, (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (AA)<sub>p</sub>, -(CR<sup>13</sup>OH)<sub>m</sub>-, 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진, 디설피드 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA는 에틸렌 디아민 모이어티이고, PEG는 폴리에틸렌 글리콜이고, AA는 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체이고, 여기서 각 w는 1 내지 20의 정수이고, 각 n은 1 내지 30의 정수이고, 각 p는 1 내지 20의 정수이고, 각 m은 1 내지 12의 정수이고;

[0044]

V<sup>1</sup>, V<sup>2</sup>, V<sup>3</sup> 및 V<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 공유결합, -CO-, -NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-, -NR<sup>15</sup>(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)-, -CONR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>CO-, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>SO<sub>2</sub>- 및 -P(O)OH-로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각 q는 1 내지 6의 정수이고;

[0045]

각 R<sup>13</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고;

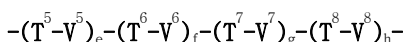
[0046]

각 R<sup>15</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다.

[0047]

일부 구현예에서, L<sup>2</sup>는

[0048]



[0049]

을 포함하고, 여기서

[0050] e, f, g 및 h는 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

[0051]  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및  $T^8$ 은 각각 독립적으로 공유결합,  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_m-$ , 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진, 디설피드 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA는 에틸렌 디아민 모이어티이고, PEG는 폴리에틸렌 글리콜이고, AA는 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체이고, 여기서 각 w는 1 내지 20의 정수이고, 각 n은 1 내지 30의 정수이고, 각 p는 1 내지 20의 정수이고, 각 m은 1 내지 12의 정수이고;

[0052]  $V^5$ ,  $V^6$ ,  $V^7$  및  $V^8$ 은 각각 독립적으로 공유결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각 q는 1 내지 6의 정수이고;

[0053] 각  $R^{13}$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고;

[0054] 각  $R^{15}$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다.

[0055] 일부 구현예에서,  $L^1$ 은 본원에 기술된 바와 같고, 여기서:

[0056]  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬 및 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬로부터 선택되고;

[0057]  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 는 각각 독립적으로 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_m-$ , 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진 및 에스테르로부터 선택되고;

[0058]  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 각각 독립적으로 공유결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0059] 여기서:

[0060]  $(PEG)_n$ 은 이고, 여기서 n은 1 내지 30의 정수이고;

[0061] EDA는 다음 구조를 가지는 에틸렌 디아민 모이어티이고:

[0062] , 여기서 y는 1 내지 6의 정수이고, r은 0 또는 1이고;

[0063] 4-아미노-피페리딘(4AP)은 이고;

[0064] 각  $R^{12}$  및  $R^{15}$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고, 여기서 임의의 2개의 인접한  $R^{12}$  기는 환식으로 연결되어 피페라지닐 고리를 형성할 수 있고;

[0065] R<sup>13</sup>은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택된다.

[0066] 일부 구현예에서, L<sup>1</sup>은 본원에 기술된 바와 같고, 여기서:

[0067] T<sup>1</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고, V<sup>1</sup>은 -CO-이고;

[0068] T<sup>2</sup>는 아미노산 유사체이고, V<sup>2</sup>는 -NH-이고;

[0069] T<sup>3</sup>는 (PEG)<sub>n</sub>이고, V<sup>3</sup>는 -CO-이고;

[0070] d는 0이다.

[0071] 일부 구현예에서, L<sup>2</sup>는 본원에 기술된 바와 같고, 여기서:

[0072] T<sup>5</sup>는 공유결합이고, V<sup>5</sup>는 -CO-이고;

[0073] f, g 및 h는 0이다.

[0074] 일부 구현예에서, L<sup>2</sup>는 본원에 기술된 바와 같고, 여기서:

[0075] T<sup>5</sup>는 공유결합이고, V<sup>5</sup>는 -CONR<sup>15</sup>-이고;

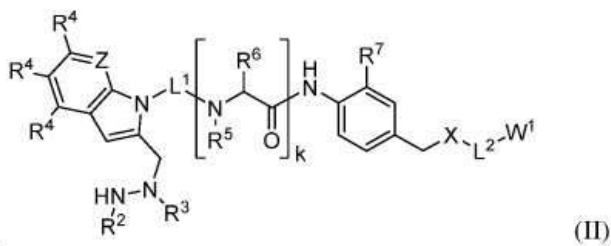
[0076] T<sup>6</sup>는 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고, V<sup>6</sup>는 -CO-이고;

[0077] g 및 h는 0이다.

[0078] 일부 구현예에서, 약물은 세포독소, 키나제 억제제, 면역자극제, 툴-유사 수용체(TLR) 효현제, 올리고뉴클레오티드, 앵타머, 사이토킨, 스테로이드 및 펩티드로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 약물은 아우리스타틴, 메이탄신 및 두오카르마이신으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 약물은 투블리신 M, 칼리키아미신, SN-38, 엑사테칸, STAT3 억제제, 알파-아마니틴, 아우로라 키나제 억제제, 벨로테칸, 9-아미노캅토테신(9-AC) 및 안트라시클린으로부터 선택된다.

[0079] 본 개시물의 측면은 항체를 약물에 연결하기 위한 절단가능한 링커를 포함하는 화합물을 포함하고, 여기서 절단가능한 링커는 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티 및 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로부터 선택되는 글리코시드를 가지는 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함한다.

[0080] 일부 구현예에서, 화합물은 화학식 (II)를 가진다:



[0081] 여기서

[0082] Z는 CR<sup>4</sup> 또는 N이고;

[0083] X는 O 또는 NR<sup>4</sup>이고;

[0084] R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되기

나, 또는 R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 임의로 환식으로 연결되어 5원 또는 6원 헤테로시클릴을 형성하고;

[0086] 각 R<sup>4</sup>는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

[0087] 각 R<sup>5</sup>는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

[0088] 각 R<sup>6</sup>는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

[0089] k는 1 내지 10의 정수이고;

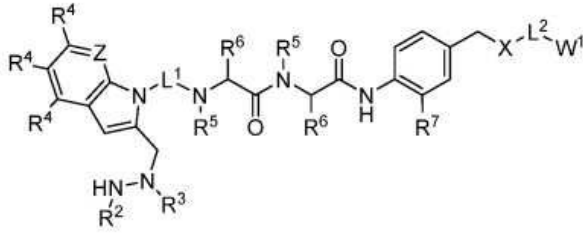
[0090] R<sup>7</sup>은 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함하고;

[0091] L<sup>1</sup>은 제1 링커이고;

[0092] L<sup>2</sup>는 제2 링커이고;

[0093] W<sup>1</sup>은 약물이다.

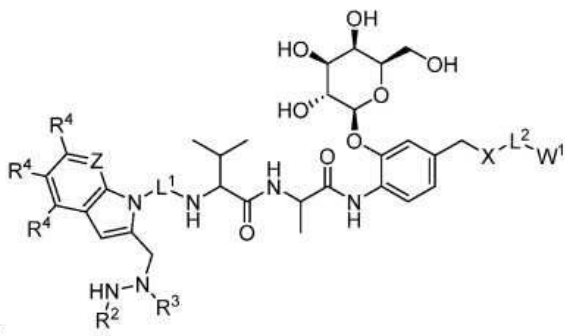
[0094] 일부 구현예에서, k는 2이고, 화합물은 화학식 (IIa)를 가진다:



[0095]

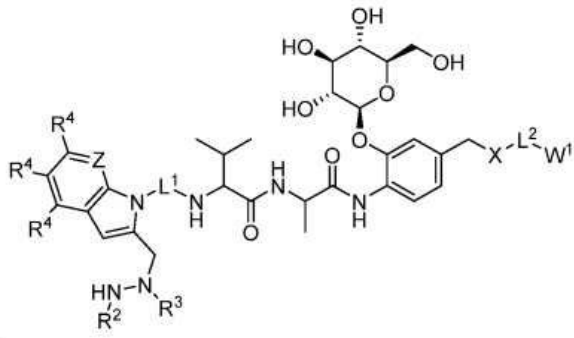
[0096] 일부 구현예에서, 제2 절단가능한 모이어티는 갈락토시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 절단가능한 모이어티는 글루코시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 절단가능한 모이어티는 만노시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티는 푸시소드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티는 O-GlcNAc를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티는 O-GalNAc를 포함한다.

[0097] 일부 구현예에서, 화합물은 화학식 (IIb)를 가진다:



[0098]

[0099] 일부 구현예에서, 화합물은 화학식 (IIc)를 가진다:

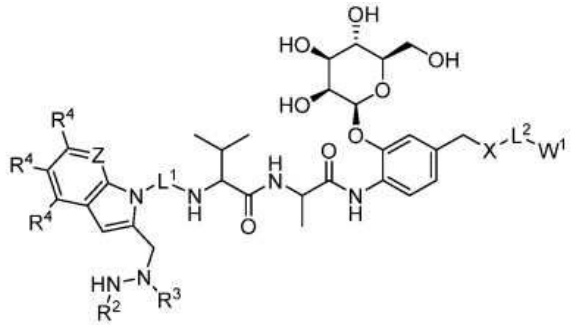


(IIc)

[0100]

[0101]

일부 구현예에서, 화합물은 화학식 (IIId)를 가진다:

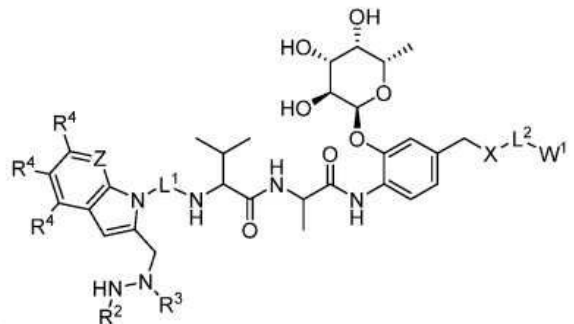


(IIId)

[0102]

[0103]

일부 구현예에서, 화합물은 화학식 (IIe)를 가진다:

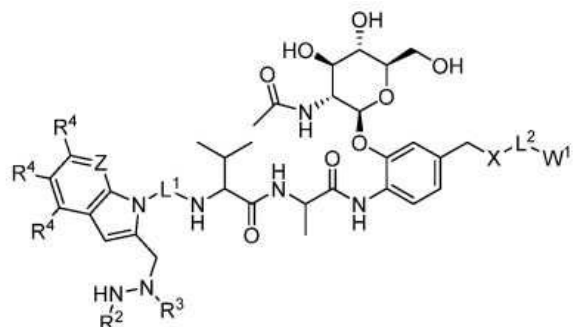


(IIe)

[0104]

[0105]

일부 구현예에서, 화합물은 화학식 (IIIf)를 가진다:

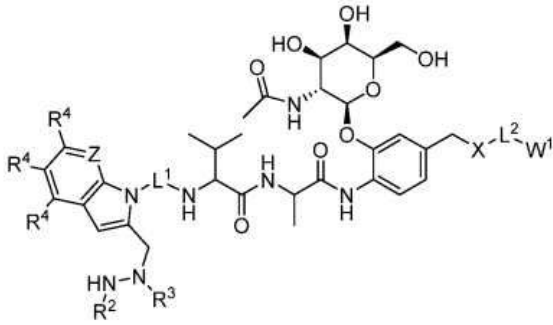


(IIIf)

[0106]

[0107]

일부 구현예에서, 화합물은 화학식 (IIg)를 가진다:



(IIg)

- [0108]
- [0109] 일부 구현예에서, L<sup>1</sup>은
- [0110]  $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$
- [0111] 을 포함하고, 여기서
- [0112] a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이고;
- [0113] T<sup>1</sup>, T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및 T<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 공유결합, (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (AA)<sub>p</sub>,  $-(CR^{13}OH)_m-$ , 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진, 디설피드 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA는 에틸렌 디아민 모이어티이고, PEG는 폴리에틸렌 글리콜이고, AA는 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체이고, 여기서 각 w는 1 내지 20의 정수이고, 각 n은 1 내지 30의 정수이고, 각 p는 1 내지 20의 정수이고, 각 m은 1 내지 12의 정수이고;
- [0114] V<sup>1</sup>, V<sup>2</sup>, V<sup>3</sup> 및 V<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 공유결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각 q는 1 내지 6의 정수이고;
- [0115] 각 R<sup>13</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고;
- [0116] 각 R<sup>15</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다.
- [0117] 일부 구현예에서, L<sup>2</sup>는
- [0118]  $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$
- [0119] 을 포함하고, 여기서
- [0120] e, f, g 및 h는 각각 독립적으로 0 또는 1이고;
- [0121] T<sup>5</sup>, T<sup>6</sup>, T<sup>7</sup> 및 T<sup>8</sup>는 각각 독립적으로 공유결합, (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (AA)<sub>p</sub>,  $-(CR^{13}OH)_m-$ , 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진, 디설피드 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA는 에틸렌 디아민 모이어티이고, PEG는 폴리에틸렌 글리콜이고, AA는 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체이고, 여기서 각 w는 1 내지 20의 정수이고, 각 n은 1 내지 30의 정수이고, 각 p는 1 내지 20의 정수이고, 각 m은 1 내지 12의 정수이고;
- [0122] V<sup>5</sup>, V<sup>6</sup>, V<sup>7</sup> 및 V<sup>8</sup>는 각각 독립적으로 공유결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,

-C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>SO<sub>2</sub>- 및 -P(O)OH-로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각 q는 1 내지 6의 정수이고;

[0123] 각 R<sup>13</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고;

[0124] 각 R<sup>15</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다.

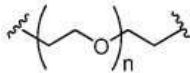
[0125] 일부 구현예에서, L<sup>1</sup>은 본원에 기술된 바와 같고, 여기서:

[0126] T<sup>1</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬 및 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬로부터 선택되고;

[0127] T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및 T<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, (AA)<sub>p</sub>, -(CR<sup>13</sup>OH)<sub>m</sub>-, 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 히드라진 및 에스테르로부터 선택되고;

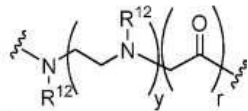
[0128] V<sup>1</sup>, V<sup>2</sup>, V<sup>3</sup> 및 V<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 공유결합, -CO-, -NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-, -NR<sup>15</sup>(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)-, -CONR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>CO-, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>SO<sub>2</sub>- 및 -P(O)OH-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0129] 여기서:

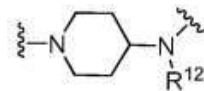


[0130] (PEG)<sub>n</sub>은 이고, 여기서 n은 1 내지 30의 정수이고;

[0131] EDA는 다음 구조를 갖는 에틸렌 디아민 모이어티이고:



[0132] 이고, 여기서 y는 1 내지 6의 정수이고, r은 0 또는 1이고;



[0133] 4-아미노-피페리딘(4AP)은 이고;

[0134] 각 R<sup>12</sup> 및 R<sup>15</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고, 여기서 임의의 2개의 인접한 R<sup>12</sup> 기는 환식 연결되어 피페라지닐 고리를 형성할 수 있고;

[0135] R<sup>13</sup>은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택된다.

[0136] 일부 구현예에서, L<sup>1</sup>은 본원에 기술된 바와 같고, 여기서:

[0137] T<sup>1</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고, V<sup>1</sup>은 -CO-이고;

[0138] T<sup>2</sup>는 아미노산 유사체이고, V<sup>2</sup>는 -NH-이고;

[0139] T<sup>3</sup>는 (PEG)<sub>n</sub>이고, V<sup>3</sup>는 -CO-이고;

[0140] d는 0이다.

- [0141] 일부 구현예에서, L<sup>2</sup>는 본원에 기술된 바와 같고, 여기서:
- [0142] T<sup>5</sup>는 공유결합이고, V<sup>5</sup>는 -CO-이고;
- [0143] f, g 및 h는 0이다.
- [0144] 일부 구현예에서, L<sup>2</sup>는 본원에 기술된 바와 같고, 여기서:
- [0145] T<sup>5</sup>는 공유결합이고, V<sup>5</sup>는 -CONR<sup>15</sup>-이고;
- [0146] T<sup>6</sup>는 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고, V<sup>6</sup>는 -CO-이고;
- [0147] g 및 h는 0이다.
- [0148] 일부 구현예에서, 약물은 세포독소, 키나제 억제제, 면역자극제, 톨-유사 수용체(TLR) 효현제, 올리고뉴클레오티드, 앵타머, 사이토킨, 스테로이드 및 펩티드로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 약물은 아우리스타틴, 메이탄신 및 두오카르마이신으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 약물은 투블리신 M, 칼리키아미신, SN-38, 엑사테칸, STAT3 억제제, 알파-아마니틴, 아우로라 키나제 억제제, 벨로테칸, 9-아미노캄프토테신(9-AC) 및 안트라시클린으로부터 선택된다.
- [0149] 본 개시물의 측면은 본원에 기술된 바와 같은 접합체 및 제약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물을 포함한다.
- [0150] 본 개시물의 측면은 본원에 기술된 바와 같은 접합체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 접합체를 대상체에게 투여하는 방법을 포함한다.
- [0151] 본 개시물의 측면은 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 방법이 본원에 기술된 바와 같은 접합체를 포함하는 제약 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 투여하는 것이 대상체에서 암을 치료하는 데 효과적인 방법을 포함한다.

**도면의 간단한 설명**

- [0152] 도면의 간단한 설명
- 도 1은 치료적 항체-약물 접합체를 생성하는 데 흔히 사용되는 세포독소를 나타낸다. 화살표는 염기-불안정성기를 지시한다.
- 도 2는 항체-약물 접합체(ADC)의 합성을 위한 HIPS 결찰을 나타낸다. 알데히드 모이어티를 보유하는 항체가 히드라지노-이소-픽테트-스켄글러(HIPS) 링커 및 페이로드와 반응하여 안정한 아자카르볼린 링키지(linkage)를 갖는 부위 특이적으로 접합된 ADC를 생성하였다.
- 도 3은 구조체 30 트라스투주맙 접합체의 소수성 상호작용 킬럼(HIC) 트레이스(trace)를 나타내고, 이는 HIC에 의해 결정된 바와 같이 1.7의 DAR을 산출하였다.
- 도 4는 구조체 30 트라스투주맙 접합체의 분석적 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 트레이스를 나타내고, 이는 접합체가 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같이 97.1% 단량체임을 지시하였다.
- 도 5는 구조체 33 트라스투주맙 접합체의 HIC 트레이스를 나타내고, 이는 HIC에 의해 결정된 바와 같이 1.66의 DAR을 산출하였다.
- 도 6는 구조체 33 트라스투주맙 접합체의 분석적 SEC 트레이스를 나타내고, 이는 접합체가 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같이 97.6% 단량체임을 지시하였다.
- 도 7은 구조체 30 폴라투주맙 접합체의 HIC 트레이스를 나타내고, 이는 HIC에 의해 결정된 바와 같이 1.78의 DAR을 산출하였다.
- 도 8은 구조체 30 폴라투주맙 접합체의 분석적 SEC 트레이스를 나타내고, 이는 접합체가 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같이 95.4% 단량체임을 지시하였다.
- 도 9는 구조체 33 폴라투주맙 접합체의 HIC 트레이스를 나타내고, 이는 HIC에 의해 결정된 바와 같이 1.6의 DAR

을 산출하였다.

도 10은 구조체 **33** 폴라투주맵 접합체의 분석적 SEC 트레이스를 나타내고, 이는 접합체가 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같이 96.8% 단량체임을 지시하였다.

도 11은 비교자 분자 **35**(단일-절단 메이탄신 구조체) 및 **34**(글루쿠로니드 이중-절단 MMAE 구조체)의 구조를 나타낸다.

도 12는 Granta-519 세포에 대한 단일-절단(**35**) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(**30**)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 13은 Ramos-RA 세포에 대한 단일-절단(**35**) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(**30**)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 14는 NCI-N87 세포에 대한 단일-절단(**35**) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(**30**)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 15는 Sk-Br-3 세포에 대한 단일-절단(**35**) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(**30**)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 16는 Ramos-RA 세포에 대한 글루쿠로니드로 변형된 이중-절단 링커(**34**) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(**33**)를 보유하는 MMAE-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 17은 NCI-N87 세포에 대한 글루쿠로니드로 변형된 이중-절단 링커(**34**) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(**33**)를 보유하는 MMAE-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 18은 Sk-Br-3 세포에 대한 글루쿠로니드로 변형된 이중-절단 링커(**34**) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(**33**)를 보유하는 MMAE-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 19는 구조체 **46** 항-FITC 접합체의 PLRP 트레이스를 나타내고, 이는 PLRP에 의해 결정된 바와 같이 1.70의 DAR을 산출하였다.

도 20은 구조체 **46** 항-FITC 접합체의 분석적 SEC 트레이스를 나타내고, 이는 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같이 95.9% 단량체였다.

도 21은 구조체 **46** 트라스투주맵 접합체의 PLRP 트레이스를 나타내고, 이는 PLRP에 의해 결정된 바와 같이 1.79의 DAR을 산출하였다.

도 22는 구조체 **46** 트라스투주맵 접합체의 분석적 SEC 트레이스를 나타내고, 이는 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같이 96.2% 단량체였다.

도 23은 구조체 **46** 사시투주맵 접합체의 PLRP 트레이스를 나타내고, 이는 PLRP에 의해 결정된 바와 같이 1.15의 DAR을 산출하였다.

도 24는 구조체 **46** 사시투주맵 접합체의 분석적 SEC 트레이스를 나타내고, 이는 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같이 94.4% 단량체였다.

도 25는 구조체 **44** 항-FITC 접합체의 PLRP 트레이스를 나타내고, 이는 PLRP에 의해 결정된 바와 같이 1.68의 DAR을 산출하였다.

도 26은 구조체 **44** 항-FITC 접합체의 분석적 SEC 트레이스를 나타내고, 이는 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같이 96.0% 단량체였다.

도 27은 구조체 **44** 트라스투주맵 접합체의 PLRP 트레이스를 나타내고, 이는 PLRP에 의해 결정된 바와 같이 1.78의 DAR을 산출하였다.

도 28은 구조체 **44** 트라스투주맵 접합체의 분석적 SEC 트레이스를 나타내고, 이는 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같이 96.0% 단량체였다.

도 29는 구조체 **44** 사시투주맵 접합체의 PLRP 트레이스를 나타내고, 이는 PLRP에 의해 결정된 바와 같이 1.16의 DAR을 산출하였다.

도 30은 구조체 **44** 사시투주맵 접합체의 분석적 SEC 트레이스를 나타내고, 이는 분석적 SEC에 의해 결정된 바와

같이 94.5% 단량체였다.

도 31은 MDA-MB-468 세포에 대한 글루코시드로 변형된(44) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(30)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 32는 BxPC3 세포에 대한 글루코시드로 변형된(44) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(30)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 33은 SKBR3 세포에 대한 글루코시드로 변형된(44) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(30)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 34는 NCI-N87 세포에 대한 글루코시드로 변형된(44) 또는 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(30)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 35는 MDA-MB-468 세포에 대한 글루쿠로니드로 변형된(34) 또는 글루코시드로 변형된 이중-절단 링커(46)를 보유하는 MMAE-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

도 36은 BxPC3 세포에 대한 글루쿠로니드로 변형된(34) 또는 글루코시드로 변형된 이중-절단 링커(46)를 보유하는 MMAE-접합된 ADC의 시험관내 효력의 그래프를 나타낸다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0153] **정의**
- [0154] 다음 용어는 달리 지시하지 않는 한 다음과 같은 의미를 가진다. 임의의 정의되지 않은 용어는 그 분야에서 인식되는 의미를 가진다.
- [0155] "알킬"은 1 내지 10개의 탄소 원자, 및 예컨대 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 5개, 또는 1 내지 4개, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 가지는 1가 포화 지방족 히드로카르빌 기를 지칭한다. 이 용어는 예를 들어 선형 및 분지쇄 히드로카르빌 기 예컨대 메틸(CH<sub>3</sub>-), 에틸(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-), n-프로필(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 이소프로필((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-), n-부틸(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 이소부틸((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>-), sec-부틸((CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)CH-), t-부틸((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-), n-펜틸(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-) 및 네오펜틸((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>-)을 포함한다.
- [0156] 용어 "치환된 알킬"은 (C<sub>1</sub> 탄소 원자를 제외한) 알킬 사슬의 1개 이상의 탄소 원자가 헤테로원자 예컨대 -O-, -N-, -S-, -S(O)<sub>n</sub>- (여기서 n은 0 내지 2임), -NR- (여기서 R은 수소 또는 알킬임)로 임의로 대체되고, 알콕시, 치환된 알콕시, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 히드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로시클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릴, 헤테로시클로옥시, 히드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴, -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴, 및 -NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 내지 5개의 치환체를 가지는 본원에서 정의된 바와 같은 알킬 기를 지칭하고, 여기서 R' 및 R"은 동일할 수 있거나 또는 상이할 수 있고, 수소, 임의로 치환된 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 시클로알케닐, 알킬닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로시클릭으로부터 선택된다.
- [0157] "알킬렌"은 2가 지방족 히드로카르빌 기를 지칭하고, 바람직하게는 1 내지 6개, 및 더 바람직하게는 1 내지 3개의 탄소 원자를 가지고, 직쇄 또는 분지쇄이고, 임의로 -O-, -NR<sup>10</sup>-, -NR<sup>10</sup>C(O)-, -C(O)NR<sup>10</sup>- 등으로부터 선택되는 1개 이상의 기로 단속된다. 이 용어는 예를 들어 메틸렌(-CH<sub>2</sub>-), 에틸렌(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), n-프로필렌(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 이소프로필렌(-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-), (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-), (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)NH-), (-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-) 등을 포함한다.
- [0158] "치환된 알킬렌"은 1 내지 3개의 수소가 아래의 "치환된"의 정의에서 탄소에 대해 기술된 바와 같은 치환체로 대체된 알킬렌 기를 지칭한다.
- [0159] 용어 "알칸"은 본원에서 정의된 바와 같은 알킬 기 및 알킬렌 기를 지칭한다.
- [0160] 용어 "알킬아미노알킬", "알킬아미노알케닐" 및 "알킬아미노알킬닐"은 R'NHR"- 기를 지칭하고, 여기서 R'은 본

원에서 정의된 바와 같은 알킬 기이고, R"은 본원에서 정의된 바와 같은 알킬렌, 알케닐렌 또는 알키닐렌 기이다.

- [0161] 용어 "알크아릴" 또는 "아랄킬"은 -알킬렌-아릴 및 -치환된 알킬렌-아릴 기를 지칭하고, 여기서 알킬렌, 치환된 알킬렌 및 아릴은 본원에서 정의된 것이다.
- [0162] "알콕시"는 -O-알킬 기를 지칭하고, 여기서 알킬은 본원에서 정의된 바와 같다. 알콕시는 예로서 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, n-부톡시, t-부톡시, sec-부톡시, n-펜톡시 등을 포함한다. 용어 "알콕시"는 또한 알케닐-O-, 시클로알킬-O-, 시클로알케닐-O- 및 알키닐-O- 기를 지칭하고, 여기서 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐 및 알키닐은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0163] 용어 "치환된 알콕시"는 치환된 알킬-O-, 치환된 알케닐-O-, 치환된 시클로알킬-O-, 치환된 시클로알케닐-O- 및 치환된 알키닐-O- 기를 지칭하고, 여기서 치환된 알킬, 치환된 알케닐, 치환된 시클로알킬, 치환된 시클로알케닐 및 치환된 알키닐은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0164] 용어 "알콕시아미노"는 -NH-알콕시 기를 지칭하고, 여기서 알콕시는 본원에서 정의된 것이다.
- [0165] 용어 "할로알콕시"는 알킬 기 상의 1개 이상의 수소 원자가 할로 기로 치환된 알킬-O-기를 지칭하고, 예로서 트리플루오로메톡시 등과 같은 기를 포함한다.
- [0166] 용어 "할로알킬"은 알킬 기 상의 1개 이상의 수소 원자가 할로 기로 치환된 위에서 기술된 바와 같은 치환된 알킬 기를 지칭한다. 이러한 기의 예는 플루오로알킬 기, 예컨대 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 트리플루오로에틸 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0167] 용어 "알킬알콕시"는 -알킬렌-O-알킬, 알킬렌-O-치환된 알킬, 치환된 알킬렌-O-알킬 및 치환된 알킬렌-O-치환된 알킬 기를 지칭하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알킬렌 및 치환된 알킬렌은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0168] 용어 "알킬티오알콕시"는 -알킬렌-S-알킬, 알킬렌-S-치환된 알킬, 치환된 알킬렌-S-알킬 및 치환된 알킬렌-S-치환된 알킬 기를 지칭하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알킬렌 및 치환된 알킬렌은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0169] "알케닐"은 2 내지 6개의 탄소 원자, 바람직하게는 2 내지 4개의 탄소 원자를 가지고 적어도 1개, 바람직하게는 1 내지 2개의 이중 결합 불포화 부위를 가지는 직쇄 또는 분지쇄 히드رو카르빌 기를 지칭한다. 이 용어는 예를 들어 바이비닐, 알릴 및 부트-3-엔-1-일을 포함한다. 이 용어에는시스 및 트랜스 이성질체 또는 이들 이성질체의 혼합물이 포함된다.
- [0170] 용어 "치환된 알케닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 히드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로시클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릴, 헤테로시클로옥시, 히드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴 및 -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체, 또는 1 내지 3개의 치환체를 가지는 본원에서 정의된 바와 같은 알케닐 기를 지칭한다.
- [0171] "알키닐"은 2 내지 6개의 탄소 원자, 및 바람직하게는 2 내지 3개의 탄소 원자를 가지고 적어도 1개, 및 바람직하게는 1 내지 2개의 삼중 결합 불포화 부위를 가지는 직쇄 또는 분지쇄 1가 히드رو카르빌 기를 지칭한다. 이러한 알키닐 기의 예는 아세틸레닐(-C≡CH), 및 프로파르길(-CH<sub>2</sub>C≡CH)을 포함한다.
- [0172] 용어 "치환된 알키닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 히드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로시클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릴, 헤테로시클로옥시, 히드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴 및 -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체, 또는 1 내지 3개의 치환체를 가지는 본원에서 정의된 바와 같은 알키닐 기를 지칭한다.
- [0173] "알키닐옥시"는 -O-알키닐 기를 지칭하고, 여기서 알키닐은 본원에서 정의된 바와 같다. 알키닐옥시는 예로서 에틸닐옥시, 프로피닐옥시 등을 포함한다.

- [0174] "아실"은 H-C(O)-, 알킬-C(O)-, 치환된 알킬-C(O)-, 알케닐-C(O)-, 치환된 알케닐-C(O)-, 알키닐-C(O)-, 치환된 알키닐-C(O)-, 시클로알킬-C(O)-, 치환된 시클로알킬-C(O)-, 시클로알케닐-C(O)-, 치환된 시클로알케닐-C(O)-, 아릴-C(O)-, 치환된 아릴-C(O)-, 헤테로아릴-C(O)-, 치환된 헤테로아릴-C(O)-, 헤테로시클릴-C(O)- 및 치환된 헤테로시클릴-C(O)- 기를 지칭하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴은 본원에서 정의된 바와 같다. 예를 들어, 아실은 "아세틸" 기  $\text{CH}_3\text{C(O)-}$ 를 포함한다.
- [0175] "아실아미노"는  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 알킬,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 알킬,  $\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 시클로알킬,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 시클로알킬,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 시클로알케닐,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 시클로알케닐,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 알케닐,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 알케닐,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 알키닐,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 알키닐,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 아릴,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 아릴,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 헤테로아릴,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 헤테로아릴,  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 헤테로시클릴, 및  $-\text{NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 헤테로시클릴 기를 지칭하고, 여기서  $\text{R}^{20}$ 은 수소 또는 알킬이고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0176] "아미노카르보닐" 또는 용어 "아미노아실"은  $-\text{C(O)NR}^{21}\text{R}^{22}$  기를 지칭하고, 여기서  $\text{R}^{21}$  및  $\text{R}^{22}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서  $\text{R}^{21}$  및  $\text{R}^{22}$ 는 임의로 그들에 결합된 질소와 함께 결합하여 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴 기를 형성하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0177] "아미노카르보닐아미노"는  $-\text{NR}^{21}\text{C(O)NR}^{22}\text{R}^{23}$  기를 지칭하고, 여기서  $\text{R}^{21}$ ,  $\text{R}^{22}$  및  $\text{R}^{23}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 아릴 또는 시클로알킬로부터 선택되거나, 또는 2개의 R 기가 결합하여 헤테로시클릴 기를 형성한다.
- [0178] 용어 "알콕시카르보닐아미노"는  $-\text{NRC(O)OR}$  기를 지칭하고, 여기서 각 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴이고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로시클릴은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0179] 용어 "아실옥시"는 알킬-C(O)O-, 치환된 알킬-C(O)O-, 시클로알킬-C(O)O-, 치환된 시클로알킬-C(O)O-, 아릴-C(O)O-, 헤테로아릴-C(O)O- 및 헤테로시클릴-C(O)O- 기를 지칭하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로시클릴은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0180] "아미노술포닐"은  $-\text{SO}_2\text{NR}^{21}\text{R}^{22}$  기를 지칭하고, 여기서  $\text{R}^{21}$  및  $\text{R}^{22}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릴, 치환된 헤테로시클릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서  $\text{R}^{21}$  및  $\text{R}^{22}$ 는 임의로 그들에 결합된 질소와 함께 결합하여 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴 기를 형성하고, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0181] "술포닐아미노"는  $-\text{NR}^{21}\text{SO}_2\text{R}^{22}$  기를 지칭하고, 여기서  $\text{R}^{21}$  및  $\text{R}^{22}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서  $\text{R}^{21}$  및  $\text{R}^{22}$ 는 임의로 그들에 결합된 원자와 함께 결합하여 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴 기를 형성하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴은 본원에서 정의된 바와 같다.

- [0182] "아릴" 또는 "Ar"은 단일의 고리(페닐 기에 존재하는 것 같은 것), 또는 다수의 축합된 고리를 가지고 이 축합된 고리가 방향족일 수 있거나 또는 방향족이 아닐 수 있는 고리 시스템(이러한 방향족 고리 시스템의 예는 나프틸, 안트릴 및 인다닐을 포함함)을 가지는 6 내지 18개의 탄소 원자의 1가 방향족 카르보시클릭 기를 지칭하고, 단 부착점은 방향족 고리의 원자를 통한다. 이 용어는 예로서 페닐 및 나프틸을 포함한다. 아릴 치환체에 대한 정의에 의해 달리 제한되지 않는 한, 이러한 아릴 기는 아실옥시, 히드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알키닐, 치환된 시클로알킬, 치환된 시클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알카릴, 아릴, 아릴옥시, 아지도, 카르복실, 카르복실알킬, 시아노, 할로젠, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릭, 헤테로시클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴, -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴 및 트리할로메틸로부터 선택되는 1 내지 5개의 치환체, 또는 1 내지 3개의 치환체로 임의로 치환될 수 있다.
- [0183] "아릴옥시"는 -O-아릴 기를 지칭하고, 여기서 아릴은 본원에서 정의된 바와 같고, 예로서 페녹시, 나프톡시 등을 포함하고, 또한 본원에서 정의된 바와 같은 임의로 치환된 아릴 기를 포함한다.
- [0184] "아미노"는 -NH<sub>2</sub> 기를 지칭한다.
- [0185] 용어 "치환된 아미노"는 -NRR 기를 지칭하고, 여기서 각 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로시클릭으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 단, 적어도 1개의 R은 수소가 아님).
- [0186] 용어 "아지도"는 -N<sub>3</sub> 기를 지칭한다.
- [0187] "카르복실", "카르복시" 또는 "카르복실레이트"는 -CO<sub>2</sub>H 또는 이의 염을 지칭한다.
- [0188] "카르복실 에스테르" 또는 "카르복시 에스테르" 또는 용어 "카르복시알킬" 또는 "카르복실알킬"은 -C(O)O-알킬, -C(O)O-치환된 알킬, -C(O)O-알케닐, -C(O)O-치환된 알케닐, -C(O)O-알키닐, -C(O)O-치환된 알키닐, -C(O)O-아릴, -C(O)O-치환된 아릴, -C(O)O-시클로알킬, -C(O)O-치환된 시클로알킬, -C(O)O-시클로알케닐, -C(O)O-치환된 시클로알케닐, -C(O)O-헤테로아릴, -C(O)O-치환된 헤테로아릴, -C(O)O-헤테로시클릭, 및 -C(O)O-치환된 헤테로시클릭 기를 지칭하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릭 및 치환된 헤테로시클릭은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0189] "(카르복실 에스테르)옥시" 또는 "카르보네이트"는 -O-C(O)O-알킬, -O-C(O)O-치환된 알킬, -O-C(O)O-알케닐, -O-C(O)O-치환된 알케닐, -O-C(O)O-알키닐, -O-C(O)O-치환된 알키닐, -O-C(O)O-아릴, -O-C(O)O-치환된 아릴, -O-C(O)O-시클로알킬, -O-C(O)O-치환된 시클로알킬, -O-C(O)O-시클로알케닐, -O-C(O)O-치환된 시클로알케닐, -O-C(O)O-헤테로아릴, -O-C(O)O-치환된 헤테로아릴, -O-C(O)O-헤테로시클릭, 및 -O-C(O)O-치환된 헤테로시클릭 기를 지칭하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릭 및 치환된 헤테로시클릭은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0190] "시아노" 또는 "니트릴"은 -CN 기를 지칭한다.
- [0191] "시클로알킬"은 융합, 다리 걸친 및 스피로 고리 시스템을 포함하여 단일의 또는 다수의 시클릭 고리를 가지는 3 내지 10개의 탄소 원자의 시클릭 알킬 기를 지칭한다. 적합한 시클로알킬 기의 예는 예를 들어 아다만틸, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로옥틸 등을 포함한다. 이러한 시클로알킬 기는 예로서 단일 고리 구조 예컨대 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로옥틸 등, 또는 다수 고리 구조 예컨대 아다만타닐 등을 포함한다.
- [0192] 용어 "치환된 시클로알킬"은 알킬, 치환된 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 히드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로시클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릭, 헤테로시클로옥시, 히드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로,

-SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴 및 -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴로부터 선택되는 1 내지 5개의 치환체, 또는 1 내지 3개의 치환체를 가지는 시클로알킬 기를 지칭한다.

[0193] "시클로알케닐"은 단일의 또는 다수의 고리를 가지고 적어도 1개의 이중 결합, 및 바람직하게는 1 내지 2개의 이중 결합을 가지는 3 내지 10개의 탄소 원자의 비방향족 시클릭 알킬 기를 지칭한다.

[0194] 용어 "치환된 시클로알케닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 히드록실, 케토, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로시클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릴, 헤테로시클로옥시, 히드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴 및 -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴로부터 선택되는 1 내지 5개의 치환체, 또는 1 내지 3개의 치환체를 가지는 시클로알케닐 기를 지칭한다.

[0195] "시클로알킬닐"은 단일의 또는 다수의 고리를 가지고 적어도 1개의 삼중 결합을 가지는 5 내지 10개의 탄소 원자의 비방향족 시클로알킬 기를 지칭한다.

[0196] "시클로알콕시"는 -O-시클로알킬을 지칭한다.

[0197] "시클로알케닐옥시"는 -O-시클로알케닐을 지칭한다.

[0198] "할로" 또는 "할로젠"은 플루오로, 클로로, 브로모 및 아이오도를 지칭한다.

[0199] "히드록시" 또는 "히드록실"은 -OH 기를 지칭한다.

[0200] "헤테로아릴"은 고리 내에 1 내지 15개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 10개의 탄소 원자 및 산소, 질소 및 황으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 10개의 헤테로원자의 방향족 기를 지칭한다. 이러한 헤테로아릴 기는 단일의 고리(예컨대 피리디닐, 이미다졸릴 또는 푸릴) 또는 고리 시스템 내의 다수의 축합된 고리(예를 들어 인돌리지닐, 퀴놀리닐, 벤조푸란, 벤즈이미다졸릴 또는 벤조티에닐과 같은 기에서처럼)를 가질 수 있고, 여기서 고리 시스템 내의 적어도 1개의 고리는 방향족이다. 원자가 요건을 충족시키기 위해, 이러한 헤테로아릴 고리 내의 임의의 헤테로원자는 H 또는 치환체 기, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 알킬 기 또는 다른 치환체에 결합될 수 있거나 또는 결합되지 않을 수 있다. 특정 구현예에서, 헤테로아릴 기의 질소 및/또는 황 고리 원자(들)는 임의로 산화되어 N-옥시드(N→O), 술폰, 또는 술폰릴 모이어티를 제공한다. 이 용어는 예로서 피리디닐, 피롤릴, 인돌릴, 티오펜 및 푸라닐을 포함한다. 헤테로아릴 치환체에 대한 정의에 의해 달리 제한되지 않는 한, 이러한 헤테로아릴 기는 아실옥시, 히드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알키닐, 치환된 시클로알킬, 치환된 시클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알카릴, 아릴, 아릴옥시, 아지도, 카르복실, 카르복실알킬, 시아노, 할로젠, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릴, 헤테로시클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴 및 -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴, 및 트리할로메틸로부터 선택되는 1 내지 5개의 치환체, 또는 1 내지 3개의 치환체로 임의로 치환될 수 있다.

[0201] 용어 "헤테로아릴알킬"은 -알킬렌-헤테로아릴 기를 지칭하고, 여기서 알킬렌 및 헤테로아릴은 본원에서 정의된 것이다. 이 용어는 예로서 피리딜메틸, 피리딜에틸, 인돌릴메틸 등을 포함한다.

[0202] "헤테로아릴옥시"는 -O-헤테로아릴을 지칭한다.

[0203] "헤테로시클", "헤테로시클릭", "헤테로시클로알킬" 및 "헤테로시클릴"은 융합, 다리 걸친 및 스피로 고리 시스템을 포함하여 단일의 고리 또는 다수의 축합된 고리를 가지고 1 내지 10개의 헤테로 원자를 포함하여 3 내지 20개의 고리 원자를 가지는 포화 또는 불포화 기를 지칭한다. 이들 고리 원자는 질소, 황 또는 산소로부터 선택되고, 여기서 융합 고리 시스템에서 고리들 중 1개 이상이 시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴일 수 있고, 단 부착점은 비방향족 고리를 통한다. 특정 구현예에서, 헤테로시클릭 기의 질소 및/또는 황 원자(들)는 임의로 산화되어 N-옥시드, -S(O)- 또는 -SO<sub>2</sub>- 모이어티를 제공한다. 원자가 요건을 충족시키기 위해, 이러한 헤테로시클릭 고리 내의 임의의 헤테로원자는 1개 이상의 H 또는 1개 이상의 치환체 기(들), 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 알킬 기 또는 다른 치환체에 결합될 수 있거나 또는 결합되지 않을 수 있다.

[0204] 헤테로시클 및 헤테로아릴의 예는 아제티딘, 피롤, 이미다졸, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리미딘, 피리다진, 인

돌리진, 이소인돌, 인돌, 디히드로인돌, 인다졸, 푸린, 퀴놀리진, 이소퀴놀린, 퀴놀린, 프탈라진, 나프틸피리딘, 퀴녹살린, 퀴나졸린, 신놀린, 프테리딘, 카르바졸, 카르볼린, 페난트리딘, 아크리딘, 페난트롤린, 이소티아졸, 페나진, 이속사졸, 페녹사진, 페노티아진, 이미다졸리딘, 이미다졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌린, 프탈이미드, 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린, 4,5,6,7-테트라히드로벤조[b]티오펜, 티아졸, 티아졸리딘, 티오펜, 벤조[b]티오펜, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐(또한 티아모르폴리닐이라고도 부름), 1,1-디옥소티오모르폴리닐, 피페리디닐, 피롤리딘, 테트라히드로푸라닐 등을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

- [0205] 헤테로시클릭 치환체에 대한 정의에 의해 달리 제한되지 않는 한, 이러한 헤테로시클릭 기는 알콕시, 치환된 알콕시, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 히드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로시클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릴, 헤테로시클로옥시, 히드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴, -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴 및 융합된 헤테로시클로부터 선택된 1 내지 5개 또는 1 내지 3개의 치환체로 임의로 치환될 수 있다.
- [0206] "헤테로시클릴옥시"는 -O-헤테로시클릴 기를 지칭한다.
- [0207] 용어 "헤테로시클릴티오"는 헤테로시클릭-S- 기를 지칭한다.
- [0208] 용어 "헤테로시클렌"은 본원에서 정의된 바와 같은 헤테로시클로부터 형성된 2가 라디칼 기를 지칭한다.
- [0209] 용어 "히드록시아미노"는 -NHOH 기를 지칭한다.
- [0210] "니트로"는 -NO<sub>2</sub> 기를 지칭한다.
- [0211] "옥소"는 원자(=O)를 지칭한다.
- [0212] "술포닐"은 -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-알케닐, -SO<sub>2</sub>-치환된 알케닐, -SO<sub>2</sub>-시클로알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 시클로알킬, -SO<sub>2</sub>-시클로알케닐, -SO<sub>2</sub>-치환된 시클로알케닐, -SO<sub>2</sub>-아릴, -SO<sub>2</sub>-치환된 아릴, -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-치환된 헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-헤테로시클릭, 및 -SO<sub>2</sub>-치환된 헤테로시클릭 기를 지칭하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릭 및 치환된 헤테로시클릭은 본원에서 정의된 바와 같다. 술포닐은 예로서 메틸-SO<sub>2</sub>-, 페닐-SO<sub>2</sub>- 및 4-메틸페닐-SO<sub>2</sub>-를 포함한다.
- [0213] "술포닐옥시"는 -OSO<sub>2</sub>-알킬, -OSO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -OSO<sub>2</sub>-알케닐, -OSO<sub>2</sub>-치환된 알케닐, -OSO<sub>2</sub>-시클로알킬, -OSO<sub>2</sub>-치환된 시클로알킬, -OSO<sub>2</sub>-시클로알케닐, -OSO<sub>2</sub>-치환된 시클로알케닐, -OSO<sub>2</sub>-아릴, -OSO<sub>2</sub>-치환된 아릴, -OSO<sub>2</sub>-헤테로아릴, -OSO<sub>2</sub>-치환된 헤테로아릴, -OSO<sub>2</sub>-헤테로시클릭, 및 -OSO<sub>2</sub>-치환된 헤테로시클릭 기를 지칭하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릭 및 치환된 헤테로시클릭은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0214] "술페이트" 또는 "술페이트 에스테르"는 -O-SO<sub>2</sub>-OH, -O-SO<sub>2</sub>-O-알킬, -O-SO<sub>2</sub>-O-치환된 알킬, -O-SO<sub>2</sub>-O-알케닐, -O-SO<sub>2</sub>-O-치환된 알케닐, -O-SO<sub>2</sub>-O-시클로알킬, -O-SO<sub>2</sub>-O-치환된 시클로알킬, -O-SO<sub>2</sub>-O-시클로알케닐, -O-SO<sub>2</sub>-O-치환된 시클로알케닐, -O-SO<sub>2</sub>-O-아릴, -O-SO<sub>2</sub>-O-치환된 아릴, -O-SO<sub>2</sub>-O-헤테로아릴, -O-SO<sub>2</sub>-O-치환된 헤테로아릴, -O-SO<sub>2</sub>-O-헤테로시클릭 및 -O-SO<sub>2</sub>-O-치환된 헤테로시클릭 기를 지칭하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릭 및 치환된 헤테로시클릭은 본원에서 정의된 바와 같다.
- [0215] 용어 "아미노카르보닐옥시"는 -OC(O)NRR 기를 지칭하고, 여기서 각 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭이고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로시클릭은 본원에서 정의된 바와 같다.

- [0216] "티올"은 -SH 기를 지칭한다.
- [0217] "티옥소" 또는 용어 "티오케토"는 원자(=S)를 지칭한다.
- [0218] "알킬티오" 또는 용어 "티오알콕시"는 -S-알킬 기를 지칭하고, 여기서 알킬은 본원에서 정의된 바와 같다. 특정 구현예에서, 황은 -S(O)-로 산화될 수 있다. 술폭시드는 1개 이상의 입체이성질체로서 존재할 수 있다.
- [0219] 용어 "치환된 티오알콕시"는 -S-치환된 알킬 기를 지칭한다.
- [0220] 용어 "티오아릴옥시"는 아릴-S- 기를 지칭하고, 여기서 아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같고, 또한 본원에서 정의된 임의로 치환된 아릴 기를 포함한다.
- [0221] 용어 "티오헤테로아릴옥시"는 헤테로아릴-S- 기를 지칭하고, 여기서 헤테로아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같고, 또한 본원에서 정의된 바와 같은 임의로 치환된 아릴 기를 포함한다.
- [0222] 용어 "티오헤테로시클로옥시"는 헤테로시클릴-S- 기를 지칭하고, 여기서 헤테로시클릴 기는 본원에서 정의된 바와 같고, 또한 본원에서 정의된 바와 같은 임의로 치환된 헤테로시클릴 기를 포함한다.
- [0223] 본원의 개시물 외에도, 용어 "치환된"은 명시된 기 또는 라디칼을 수식하는 데 사용되는 경우에는 또한 명시된 기 또는 라디칼의 1개 이상의 수소 원자가 각각 서로 독립적으로 아래에서 정의된 바와 같은 동일한 또는 상이한 치환체 기로 대체된다는 것을 의미할 수 있다.
- [0224] 본원의 개별 용어에 관해서 개시된 기들 외에도, 명시된 기 또는 라디칼에서 포화 탄소 원자 상의 1개 이상의 수소(단일의 탄소 상의 임의의 2개의 수소는 =O, =NR<sup>70</sup>, =N-OR<sup>70</sup>, =N<sub>2</sub> 또는 =S로 대체될 수 있음)를 치환하기 위한 치환체 기는 달리 명시되지 않는 한 -R<sup>60</sup>, 할로, =O, -OR<sup>70</sup>, -SR<sup>70</sup>, -NR<sup>80</sup>R<sup>80</sup>, 트리할로메틸, -CN, -OCN, -SCN, -NO, NO<sub>2</sub>, =N<sub>2</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sup>70</sup>, -SO<sub>2</sub>O<sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -SO<sub>2</sub>OR<sup>70</sup>, -OSO<sub>2</sub>R<sup>70</sup>, -OSO<sub>2</sub>O<sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -OSO<sub>2</sub>OR<sup>70</sup>, -P(O)(O<sup>-</sup>)<sub>2</sub>(M<sup>+</sup>)<sub>2</sub>, -P(O)(OR<sup>70</sup>)O<sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -P(O)(OR<sup>70</sup>)<sub>2</sub>, -C(O)R<sup>70</sup>, -C(S)R<sup>70</sup>, -C(NR<sup>70</sup>)R<sup>70</sup>, -C(O)O<sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -C(O)OR<sup>70</sup>, -C(S)OR<sup>70</sup>, -C(O)NR<sup>80</sup>R<sup>80</sup>, -C(NR<sup>70</sup>)NR<sup>80</sup>R<sup>80</sup>, -OC(O)R<sup>70</sup>, -OC(S)R<sup>70</sup>, -OC(O)O<sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -OC(O)OR<sup>70</sup>, -OC(S)OR<sup>70</sup>, -NR<sup>70</sup>C(O)R<sup>70</sup>, -NR<sup>70</sup>C(S)R<sup>70</sup>, -NR<sup>70</sup>CO<sub>2</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -NR<sup>70</sup>CO<sub>2</sub>R<sup>70</sup>, -NR<sup>70</sup>C(S)OR<sup>70</sup>, -NR<sup>70</sup>C(O)NR<sup>80</sup>R<sup>80</sup>, -NR<sup>70</sup>C(NR<sup>70</sup>)R<sup>70</sup> 및 -NR<sup>70</sup>C(NR<sup>70</sup>)NR<sup>80</sup>R<sup>80</sup>이고, 여기서 R<sup>60</sup>는 임의로 치환된 알킬, 시클로알킬, 헤테로알킬, 헤테로시클로알킬알킬, 시클로알킬알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴 및 헤테로아릴알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, 각 R<sup>70</sup>는 독립적으로 수소 또는 R<sup>60</sup>이고; 각 R<sup>80</sup>는 독립적으로 R<sup>70</sup>이거나, 또는 대안적으로, 2개의 R<sup>80</sup>가 이들이 결합된 질소 원자와 함께 취하여 5-, 6- 또는 7-원 헤테로시클로알킬을 형성하고, 이것은 O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 내지 4개의 동일한 또는 상이한 추가 헤테로원자를 임의로 포함할 수 있고, 이 중 N은 -H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬 치환체를 가질 수 있고; 각 M<sup>+</sup>은 순 단일 양전하를 갖는 반대 이온이다. 각 M<sup>+</sup>은 독립적으로 예를 들어 알칼리 이온, 예컨대 K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>; 암모늄 이온, 예컨대 <sup>+</sup>N(R<sup>60</sup>)<sub>4</sub>; 또는 알칼리토 이온, 예컨대 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>0.5</sub>, [Mg<sup>2+</sup>]<sub>0.5</sub>, 또는 [Ba<sup>2+</sup>]<sub>0.5</sub>일 수 있다("아래첨자 0.5는 이러한 2가 알칼리토 이온에 대한 반대 이온 중 하나는 본 발명의 화합물의 이온화된 형태일 수 있고 다른 하나는 대표적인 반대 이온 예컨대 클로라이드일 수 있거나, 또는 본원에 개시된 2개의 이온화된 화합물이 이러한 2가 알칼리토 이온에 대한 반대 이온으로 역할할 수 있거나, 또는 본 발명의 이중으로 이온화된 화합물이 이러한 2가 알칼리토 이온에 대한 반대 이온으로 역할할 수 있다는 것을 의미한다). 구체적인 예로서, -NR<sup>80</sup>R<sup>80</sup>은 -NH<sub>2</sub>, -NH-알킬, N-피롤리디닐, N-피페라지닐, 4N-메틸-피페라진-1-일 및 N-모르폴리닐을 포함하는 것을 의미한다.
- [0225] 본원의 개시물 외에도, "치환된" 알켄, 알킨, 아릴 및 헤테로아릴 기에서 불포화 탄소 원자 상의 수소에 대한 치환체 기는 달리 명시되지 않는 한 -R<sup>60</sup>, 할로, -O<sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -OR<sup>70</sup>, -SR<sup>70</sup>, -S<sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -NR<sup>80</sup>R<sup>80</sup>, 트리할로메틸, -CF<sub>3</sub>, -CN, -OCN, -SCN, -NO, -NO<sub>2</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sup>70</sup>, -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -SO<sub>3</sub>R<sup>70</sup>, -OSO<sub>2</sub>R<sup>70</sup>, -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -OSO<sub>3</sub>R<sup>70</sup>, -PO<sub>3</sub><sup>-2</sup>(M<sup>+</sup>)<sub>2</sub>, -P(O)(OR<sup>70</sup>)O<sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -P(O)(OR<sup>70</sup>)<sub>2</sub>, -C(O)R<sup>70</sup>, -C(S)R<sup>70</sup>, -C(NR<sup>70</sup>)R<sup>70</sup>, -CO<sub>2</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>70</sup>, -C(S)OR<sup>70</sup>, -C(O)NR<sup>80</sup>R<sup>80</sup>, -C(NR<sup>70</sup>)NR<sup>80</sup>R<sup>80</sup>, -OC(O)R<sup>70</sup>, -OC(S)R<sup>70</sup>, -OCO<sub>2</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -OCO<sub>2</sub>R<sup>70</sup>, -OC(S)OR<sup>70</sup>, -NR<sup>70</sup>C(O)R<sup>70</sup>, -NR<sup>70</sup>C(S)R<sup>70</sup>, -NR<sup>70</sup>CO<sub>2</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, -NR<sup>70</sup>CO<sub>2</sub>R<sup>70</sup>,

$-NR^{70}C(S)OR^{70}$ ,  $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ ,  $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$  및  $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$  이고, 여기서  $R^{60}$ ,  $R^{70}$ ,  $R^{80}$  및  $M^+$ 는 이전에 정의된 바와 같지만, 단 치환된 알켄 또는 알킨의 경우 치환체는  $-O\bar{M}^+$ ,  $-OR^{70}$ ,  $-SR^{70}$  또는  $-S\bar{M}^+$ 이 아니다.

[0226] 본원의 개별 용어와 관련하여 개시된 기 외에도, "치환된" 헤테로알킬 및 시클로헤테로알킬 기에서 질소 원자 상의 수소에 대한 치환체 기는 달리 명시되지 않는 한,  $-R^{60}$ ,  $-O\bar{M}^+$ ,  $-OR^{70}$ ,  $-SR^{70}$ ,  $-S\bar{M}^+$ ,  $-NR^{80}R^{80}$ , 트리할로메틸,  $-CF_3$ ,  $-CN$ ,  $-NO$ ,  $-NO_2$ ,  $-S(O)_2R^{70}$ ,  $-S(O)_2O\bar{M}^+$ ,  $-S(O)_2OR^{70}$ ,  $-OS(O)_2R^{70}$ ,  $-OS(O)_2O\bar{M}^+$ ,  $-OS(O)_2OR^{70}$ ,  $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ ,  $-P(O)(OR^{70})O\bar{M}^+$ ,  $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$ ,  $-C(O)R^{70}$ ,  $-C(S)R^{70}$ ,  $-C(NR^{70})R^{70}$ ,  $-C(O)OR^{70}$ ,  $-C(S)OR^{70}$ ,  $-C(O)NR^{80}R^{80}$ ,  $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ,  $-OC(O)R^{70}$ ,  $-OC(S)R^{70}$ ,  $-OC(O)OR^{70}$ ,  $-OC(S)OR^{70}$ ,  $-NR^{70}C(O)R^{70}$ ,  $-NR^{70}C(S)R^{70}$ ,  $-NR^{70}C(O)OR^{70}$ ,  $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ ,  $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ ,  $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$  및  $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$  이고, 여기서  $R^{60}$ ,  $R^{70}$ ,  $R^{80}$  및  $M^+$ 는 이전에 정의된 바와 같다.

[0227] 본원의 개시물 외에도, 특정 구현예에서, 치환된 기는 1, 2, 3 또는 4개의 치환체, 1, 2 또는 3개의 치환체, 1 또는 2개의 치환체 또는 1개의 치환체를 가진다.

[0228] 위에서 정의된 모든 치환된 기에서, 추가 치환체를 그 자체에 가지는 치환체를 정의함으로써 (예를 들어, 치환된 아릴이 치환체로서 치환된 아릴 기를 가지고, 이 치환된 아릴 기 자체가 치환된 아릴 기로 치환되고, 이 치환된 아릴 기가 치환된 아릴 기로 추가로 치환되는 등) 도달되는 중합체가 본원에 포함되는 것을 의도하지 않는다는 것을 이해한다. 이러한 경우, 이러한 치환의 최대 수는 3이다. 예를 들어, 본원에서 구체적으로 고려되는 치환된 아릴 기의 연이은 치환은 치환된 아릴-(치환된 아릴)-치환된 아릴로 제한된다.

[0229] 달리 지시하지 않는 한, 본원에서 명시적으로 정의되지 않은 치환체의 명명법은 작용기의 종말 부분을 명명하는 다음에 인접하는 작용기를 부착점 쪽으로 명명함으로써 도달된다. 예를 들어, 치환체 "아릴알킬옥시카르보닐"은 (아릴)-(알킬)-O-C(O)- 기를 지칭한다.

[0230] 1개 이상의 치환체를 함유하는 본원에 개시된 임의의 기에 관하여, 물론 이러한 기가 입체적으로 비실용적이고/거나 합성적으로 실현불가능한 임의의 치환 또는 치환 패턴을 함유하지 않는다는 것을 이해한다. 또한, 대상 화합물은 이들 화합물의 치환으로부터 발생하는 모든 입체화학적 이성질체를 포함한다.

[0231] 용어 "제약학적으로 허용되는 염"은 환자, 예컨대 포유류에게 투여하기에 허용되는 염을 의미한다(주어진 투여량 레지멘에 대해 허용되는 포유류 안전성을 가지는 반대이온을 갖는 염). 이러한 염은 제약학적으로 허용되는 무기 또는 유기 염기 및 제약학적으로 허용되는 무기 또는 유기 산으로부터 유래될 수 있다. "제약학적으로 허용되는 염"은 화합물의 제약학적으로 허용되는 염을 지칭하고, 이 염은 관련 분야에 잘 알려진 다양한 유기 및 무기 반대 이온으로부터 유래되고, 단지 예로서 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 암모늄, 테트라알킬암모늄 등; 및 분자가 염기성 작용기를 함유하는 경우, 유기 산 또는 무기 산의 염, 예컨대 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 포르메이트, 타르트레이트, 베실레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말레에이트, 옥살레이트 등을 포함한다.

[0232] 용어 "이의 염"은 산의 양성자가 양이온, 예컨대 금속 양이온 또는 유기 양이온 등으로 대체될 때 형성되는 화합물을 의미한다. 적용가능한 경우, 염은 제약학적으로 허용되는 염이지만, 이것은 환자에게 투여하는 것이 의도되지 않는 중간체 화합물의 염에는 요구되지 않는다. 예로서, 본 화합물의 염은 화합물이 무기 또는 유기 산에 의해 양성자화되어 양이온을 형성하고 이 무기 또는 유기 산의 짝염기가 염의 음이온 성분인 것들을 포함한다.

[0233] "용매화물"은 용매 분자와 용질의 분자 또는 이온과의 조합에 의해 형성된 복합체를 지칭한다. 용매는 유기 화합물, 무기 화합물, 또는 이들 둘 모두의 혼합물일 수 있다. 용매의 일부 예는 메탄올, N,N-디메틸포름아미드, 테트라히드로푸란, 디메틸술폰, 및 물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 용매가 물일 때, 형성된 용매화물은 수화물이다.

[0234] "입체이성질체" 및 "입체이성질체들"은 동일한 원자 연결성을 가지지만 공간에서 상이한 원자 배열을 가지는 화합물을 지칭한다. 입체이성질체는 시스-트랜스 이성질체, E 및 Z 이성질체, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체를 포함한다.

[0235] "호변이성질체"는 오직 원자의 전자 결합 및/또는 양성자의 위치만 상이한 분자의 교호(alternate) 형태, 예컨대 에놀-케토 및 이민-에나민 호변이성질체, 또는  $-N=C(H)-NH-$  고리 원자 배열을 함유하는 헤테로아릴 기의 호

변이성질체 형태, 예컨대 피라졸, 이미다졸, 벤즈이미다졸, 트리아졸 및 테트라졸을 지칭한다. 관련 분야의 통상의 기술을 가진 자는 다른 호변이성질체 고리 원자 배열이 가능하다는 것을 인식할 것이다.

- [0236] 용어 "또는 이의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체"는 염, 용매화물 및 입체이성질체의 모든 순열, 예컨대 대상 화합물의 입체이성질체의 제약학적으로 허용되는 염의 용매화물을 포함하는 것을 의도한다는 것을 인식할 것이다.
- [0237] "제약학적 유효량" 및 "치료적 유효량"은 명시된 장애 또는 질병 또는 하나 이상의 그의 증상을 치료하고/거나 질병 또는 장애의 발생을 예방하기에 충분한 화합물의 양을 지칭한다. 종양형성 증식성 장애와 관련하여, 제약학적 또는 치료적 유효량은 무엇보다도 종양이 수축하게 하거나 또는 종양의 성장 속도를 감소시키기에 충분한 양을 포함한다.
- [0238] "환자"는 인간 및 비인간 대상체, 특히 포유류 대상체를 지칭한다.
- [0239] 본원에서 사용되는 바와 같이 용어 "치료하는 것" 또는 "치료"는 환자, 예컨대 포유류(특히 인간)에서 질병 또는 의학적 병태를 치료하는 것 또는 이의 치료를 의미하고, 이는 (a) 질병 또는 의학적 병태가 발생하는 것을 예방하는 것, 예컨대 대상체의 예방적 치료; (b) 질병 또는 의학적 병태를 호전시키는 것, 예컨대 환자에서 질병 또는 의학적 병태를 제거하거나 또는 이의 퇴행을 야기하는 것; (c) 질병 또는 의학적 병태를, 예를 들어 환자에서 질병 또는 의학적 병태의 발달을 늦추거나 또는 저지함으로써, 억제하는 것; 또는 (d) 환자에서 질병 또는 의학적 병태의 증상을 완화하는 것을 포함한다.
- [0240] 용어 "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은 본원에서 호환가능하게 사용되어 임의의 길이의 아미노산의 중합체 형태를 지칭한다. 구체적으로 달리 지시하지 않는 한, "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은 유전적으로 코딩된 및 비코딩된 아미노산, 화학적으로 또는 생화학적으로 변형된 또는 유도체화된 아미노산, 및 변형된 펩티드 백본을 가지는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이 용어는 이중 아미노산 서열을 갖는 융합 단백질, 이중 및 동종 리더 서열과의 융합, 적어도 1개의 N-말단 메티오닌 잔기를 함유하는 단백질(예를 들어, 재조합 숙주 세포에서 생성을 촉진시키기 위해)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 융합 단백질; 면역학적으로 태그가 붙은 단백질 등을 포함한다.
- [0241] "원상태(native) 아미노산 서열" 또는 "모 아미노산 서열"은 본원에서 호환가능하게 사용되어 변형된 아미노산 잔기를 포함하도록 변형되기 전의 폴리펩티드의 아미노산 서열을 지칭한다.
- [0242] 용어 "아미노산 유사체", "비천연 아미노산" 등은 호환가능하게 사용될 수 있고, 천연 발생 단백질에서 흔히 발견되는 1개 이상의 아미노산(예를 들어, Ala 또는 A, Cys 또는 C, Asp 또는 D, Glu 또는 E, Phe 또는 F, Gly 또는 G, His 또는 H, Ile 또는 I, Lys 또는 K, Leu 또는 L, Met 또는 M, Asn 또는 N, Pro 또는 P, Gln 또는 Q, Arg 또는 R, Ser 또는 S, Thr 또는 T, Val 또는 V, Trp 또는 W, Tyr 또는 Y)과 구조 및/또는 전체 모양이 유사한 아미노산-유사 화합물을 포함한다. 아미노산 유사체는 또한 변형된 측쇄 또는 백본을 갖는 천연 아미노산을 포함한다. 아미노산 유사체는 또한 아미노산 유사체의 천연 발생 D-형 뿐만 아니라 L-형에서처럼 동일한 입체화학을 갖는 아미노산 유사체를 포함한다. 일부 경우에서, 아미노산 유사체는 하나 이상의 천연 아미노산의 백본 구조 및/또는 측쇄 구조를 공유하고, 차이점(들)은 분자 내의 1개 이상의 변형된 기이다. 이러한 변형은 관련 원자(예컨대 S) 대신 원자(예컨대 N) 치환, 기(예컨대 메틸, 또는 히드록실 등) 또는 원자(예컨대 Cl 또는 Br 등)의 첨가, 기의 결실, 공유 결합의 치환(이중 결합 대신 단일 결합 등), 또는 이들의 조합을 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 아미노산 유사체는  $\alpha$ -히드록시산, 및  $\alpha$ -아미노산 등을 포함할 수 있다.
- [0243] 용어 "아미노산 측쇄" 또는 "아미노산의 측쇄" 등은 천연 아미노산, 비천연 아미노산, 및 아미노산 유사체를 포함하여 아미노산 잔기의  $\alpha$ -탄소에 부착된 치환체를 지칭하는 데 사용될 수 있다. 아미노산 측쇄는 또한 본원에 기술된 변형된 아미노산 및/또는 접합체의 맥락에서 기술된 바와 같은 아미노산 측쇄를 포함할 수 있다.
- [0244] 용어 "탄수화물" 등은 단당류, 이당류, 올리고당류 및 다당류의 단량체 단위 및/또는 중합체를 지칭하는 데 사용될 수 있다. 당이라는 용어는 더 작은 탄수화물, 예컨대 단당류, 이당류를 지칭하는 데 사용될 수 있다. 용어 "탄수화물 유도체"는 관심 탄수화물의 1개 이상의 작용기가 치환되거나(임의의 편리한 치환체로 대체됨), 변형되거나(임의의 편리한 화학을 사용하여 다른 기로 전환됨) 또는 존재하지 않는(예를 들어, 제거되거나 또는 H로 대체됨) 화합물을 포함한다. 다양한 탄수화물 및 탄수화물 유도체가 입수가 가능하고, 대상 화합물 및 접합체에 사용하기 위해 개조될 수 있다.
- [0245] 용어 "글리코시드" 또는 "글리코실"은 글리코시드 결합을 통해 모이어티에 결합되는 당 분자 또는 기를 지칭한다. 예를 들어, 글리코시드가 결합되는 모이어티는 본원에 기술된 바와 같이 절단가능한 링커일 수 있다. 글리

코시드 결합은 다양한 유형의 결합, 예컨대 비제한적으로 O-글리코시드 결합(O-글리코시드), N-글리코시드 결합(글리코실아민), S-글리코시드 결합(티오글리코시드) 또는 C-글리코시드 결합(C-글리코시드 또는 C-글리코실)을 통해 다른 모이어티에 글리코시드를 연결할 수 있다. 일부 경우에서, 글리코시드는 그들이 부착된 모이어티로부터 예컨대 화학적으로 매개된 가수분해 또는 효소적으로 매개된 가수분해에 의해 절단될 수 있다.

[0246] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 단클론 항체(전체 길이 단클론 항체 포함), 다클론 항체, 및 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체), 인간화 항체, 단일사슬 항체, 키메릭 항체, 항체 단편(예를 들어, Fab 단편) 등을 포함한다. 항체는 표적 항원에 결합할 수 있다. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York). 표적 항원은 항체의 1개 이상의 가변 영역에 의해 형성된 상보성 결정 영역(CDR)에 의해 인식되는 에피토프라고도 부르는 1개 이상의 결합 부위를 가질 수 있다.

[0247] 용어 "천연 항체"는 항체의 중사슬 및 경사슬이 다세포 유기체의 면역계에 의해 만들어지고 쌍을 이루는 항체를 지칭한다. 비장, 림프절, 골수 및 혈청은 천연 항체를 생성하는 조직의 예이다. 예를 들어, 항원으로 면역화된 최초의 동물로부터 단리된 항체 생성 세포에 의해 생성된 항체는 천연 항체이다.

[0248] 용어 "인간화 항체" 또는 "인간화 면역글로불린"은 인간 항체로부터의 상응하게 위치하는 아미노산으로 치환된(예를 들어 프레임워크 영역, 불변 영역 또는 CDR에서의) 1개 이상의 아미노산을 함유하는 비인간(예를 들어 마우스 또는 토끼) 항체를 지칭한다. 일반적으로, 인간화 항체는 동일한 항체의 비인간화 버전과 비교할 때 인간 숙주에서 감소된 면역 반응을 생성한다. 항체는 예를 들어 CDR-그래프팅(EP 239,400; PCT 공개 WO 91/09967; 미국 특허 번호 5,225,539; 5,530,101; 및 5,585,089), 베니어링 또는 재표면화(EP 592,106, EP 519,596, Padlan, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498(1991); Studnicka 등, *Protein Engineering* 7(6):805-814(1994); Roguska 등, *PNAS* 91: 969-973(1994)), 및 사슬 서플링(미국 특허 번호 5,565,332)을 포함하여 관련 분야에 알려진 다양한 기술을 사용해서 인간화될 수 있다. 특정 구현예에서, 프레임워크 치환은 항원 결합에 중요한 프레임워크 잔기를 식별하기 위한 CDR 및 프레임워크 잔기의 상호작용의 모델링 및 특정 위치에서의 이례적 프레임워크 잔기를 식별하기 위한 서열 비교에 의해 식별된다(예를 들어, 미국 특허 번호 5,585,089; Riechmann 등, *Nature* 332:323(1988)). 본 발명에 사용하기 위해 고려되는 항체를 인간화하는 추가 방법은 미국 특허 번호 5,750,078; 5,502,167; 5,705,154; 5,770,403; 5,698,417; 5,693,493; 5,558,864; 4,935,496; 및 4,816,567, 및 PCT 공개 WO 98/45331 및 WO 98/45332에서 기술된다. 특정 구현예에서, 대상 토끼 항체는 US20040086979 및 US20050033031에 제시된 방법에 따라 인간화될 수 있다. 따라서, 위에서 기술된 항체는 관련 분야에 잘 알려진 방법을 사용하여 인간화될 수 있다.

[0249] 용어 "키메릭 항체"는 상이한 종에 속하는 항체 가변 및 불변 영역 유전자로부터 대표적으로 유전공학에 의해 경사슬 및 중사슬 유전자가 구축된 항체를 지칭한다. 예를 들어, 마우스 단클론 항체로부터의 유전자의 가변 세그먼트는 인간 불변 세그먼트, 예컨대 감마 1 및 감마 3에 결합될 수 있다. 치료적 키메릭 항체의 예는 마우스 항체로부터의 가변 또는 항원 결합 도메인 및 인간 항체로부터의 불변 또는 효과기 도메인으로 구성된 하이브리드 단백질이지만, 다른 포유류 종으로부터의 도메인이 사용될 수 있다.

[0250] 면역글로불린 폴리펩티드 면역글로불린 경사슬 또는 중사슬 가변 영역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"이라고도 부르는 3개의 초가변 영역에 의해 단속된 프레임워크 영역(FR)으로 구성된다. 프레임워크 영역 및 CDR의 범위는 정의되어 있다("Sequences of Proteins of Immunological Interest," E. Kabat 등, U.S. Department of Health and Human Services, 1991 참조). 항체의 프레임워크 영역, 즉 구성 경사슬 및 중사슬의 조합된 프레임워크 영역은 CDR을 배치하고 정렬하는 역할을 한다. CDR은 주로 항원의 에피토프와의 결합을 맡는다.

[0251] "모 Ig 폴리펩티드"는 본원에 기술된 바와 같은 알데히드 태그가 붙은 불변 영역이 결합된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드이다. 모 폴리펩티드는 원상태 서열 불변 영역을 포함할 수 있거나, 또는 기존의 아미노산 서열 변형(예컨대 첨가, 결실 및/또는 치환)을 갖는 불변 영역을 포함할 수 있다.

[0252] 본원에서 사용되는 바와 같이 용어 "단리된"은 화합물이 천연적으로 발생하는 환경과 상이한 환경에 있는 관심 화합물을 기술하는 것을 의도한다. "단리된"은 관심 화합물이 실질적으로 풍부하고/거나 관심 화합물이 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 샘플 내에 있는 화합물을 포함하는 것을 의도한다.

[0253] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "실질적으로 정제된"은 천연 환경으로부터 제거되고, 천연적으로 연관된 다른 화합물이 적어도 60% 없는, 적어도 75% 없는, 적어도 80% 없는, 적어도 85% 없는, 적어도 90% 없는, 적어도 95% 없는, 적어도 98% 없는 화합물을 지칭한다.

- [0254] 용어 "생리학적 조건"은 살아있는 세포와 상용성이 있는 조건, 예를 들어, 살아있는 세포와 상용성이 있는 온도, pH, 염도 등의 주요 수성 조건을 포함하는 것을 의도한다.
- [0255] "반응 파트너"는 또 다른 반응 파트너와 특이적으로 반응하여 반응 생성물을 생성하는 분자 또는 분자 모이어터를 의미한다. 전형적인 반응 파트너는 술과타제 모티프의 시스테인 또는 세린 및 포르밀글리신 생성 효소(FGE)를 포함하고, 이들은 반응하여 모티프의 시스테인 또는 세린 대신 포르밀글리신(FGly)을 함유하는 전환된 알데히드 태그의 반응 생성물을 형성한다. 다른 전형적인 반응 파트너는 전환된 알데히드 태그의 fGly 잔기의 알데히드(예를 들어, 반응성 알데히드 기), 및 알데히드 반응성 기 및 관심 모이어터를 포함하는 "알데히드 반응성 반응 파트너"를 포함하고, 이것은 반응하여 변형된 fGly 잔기를 통해 변형된 폴리펩티드에 접합된 관심 모이어터를 가지는 변형된 알데히드 태그가 붙은 폴리펩티드의 반응 생성물을 형성한다.
- [0256] "N-말단"은 유리 아민 기를 가지는 폴리펩티드의 말단 아미노산 잔기를 지칭하고, 비-N-말단 아미노산 잔기의 이 아민 기는 보통 폴리펩티드의 공유결합성 백본의 일부를 형성한다.
- [0257] "C-말단"은 유리 카르복실 기를 가지는 폴리펩티드의 말단 아미노산 잔기를 지칭하고, 비-C-말단 아미노산 잔기의 이 카르복실 기는 보통 폴리펩티드의 공유결합성 백본의 일부를 형성한다.
- [0258] 폴리펩티드 또는 폴리펩티드의 아미노산 서열과 관련하여 사용되는 "내부 부위"는 N-말단 또는 C-말단에 있지 않은 폴리펩티드의 영역을 의미한다.
- [0259] 본 발명을 추가로 기술하기 전에, 본 발명이 기술된 특정 구현예에 제한되지 않고, 물론 다양할 수 있음을 이해해야 한다. 또한 본 발명의 범위는 첨부된 청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문에, 본원에서 사용된 용어는 단지 특정 구현예를 기술하기 위한 것일 뿐이고 제한하려는 의도가 없음을 이해해야 한다.
- [0260] 값의 범위가 제공되는 경우, 그 범위의 상한과 하한 사이에 있는, 문맥이 분명히 달리 지시하지 않는 한 하한의 단위의 10분의 1까지의, 각 개재하는 값 및 그 언급된 범위 내의 임의의 다른 언급된 또는 개재하는 값이 본 발명에 포함된다는 것을 이해한다. 이들 더 작은 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 더 작은 범위에 포함될 수 있고, 또한 그 언급된 범위의 임의의 구체적으로 배제된 한계를 조건으로 본 발명 내에 포함된다. 그 언급된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 그 포함된 한계 중 하나 또는 둘 모두를 제외한 범위도 또한 본 발명에 포함된다.
- [0261] 명료함을 위해 별개의 구현예의 맥락에서 기술된 본 발명의 특정 특징들은 또한 조합되어 단일의 구현예에 제공될 수 있음을 인식한다. 역으로, 간결함을 위해 단일의 구현예의 맥락에서 기술된 본 발명의 다양한 특징은 또한 별개로 또는 임의의 적합한 하위조합으로 제공될 수 있다. 본 발명에 관한 구현예의 모든 조합은 본 발명에 구체적으로 포함되고, 그러한 조합이 예를 들어 안정한 화합물인 화합물(즉, 제조될 수 있고, 단리될 수 있고, 특성화될 수 있고, 생물학적 활성 시험을 할 수 있는 화합물)인 주제를 포함할 경우, 본원에서는 마치 각각의 모든 조합이 개별적으로 및 명시적으로 개시되는 것처럼 개시된다. 또한, 다양한 구현예 및 그의 요소(예를 들어, 이러한 변수를 기술하는 구현예에 열거된 화학적 기의 요소)의 모든 하위조합도 또한 본 발명에 의해 구체적으로 포함되고, 본원에서는 마치 각각의 모든 그러한 하위조합이 개별적으로 및 명시적으로 본원에 개시된 것처럼 개시된다.
- [0262] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 관련 분야의 통상의 기술을 가진 자가 흔히 이해하는 것과 동일한 의미를 가진다. 본원에서 기술된 것과 유사한 또는 동등한 임의의 방법 및 물질이 또한 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 이제부터는 바람직한 방법 및 물질을 기술한다. 본원에 언급된 모든 간행물은 간행물이 인용된 것과 관련된 방법 및/또는 물질을 개시하고 기술하기 위해 참고로 본원에 포함된다.
- [0263] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태 "a", "an" 및 "the"는 문맥이 명백하게 달리 지시하지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다는 점을 유의해야 한다. 청구범위는 임의의 선택적 요소를 배제하도록 작성될 수 있음을 추가로 유의한다. 이와 같이, 이 진술이 청구항 요소의 열거와 관련해서 "단지", "오직" 등과 같은 배타적 용어의 사용, 또는 "부정적" 제한의 사용을 위한 사전 근거로서 역할하는 것을 의도한다.
- [0264] 명료함을 위해 별개의 구현예의 맥락에서 기술된 본 발명의 특정 특징들은 또한 조합되어 단일의 구현예에 제공될 수 있음을 인식한다. 역으로, 간결함을 위해 단일의 구현예의 맥락에서 기술된 본 발명의 다양한 특징은 또한 별개로 또는 임의의 적합한 하위조합으로 제공될 수 있다.
- [0265] 본원에서 논의된 간행물은 단지 본 출원의 출원일 이전의 개시를 위해서만 제공된다. 본원의 어떤 것도 본 발명

이 선행 발명에 의해 그러한 간행물보다 선행할 자격이 없다는 것을 인정하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 또한 제공된 공개일은 실제 공개일과 상이할 수 있으며, 이는 독립적으로 확인할 필요가 있을 수 있다.

[0266] **상세한 설명**

[0267] 본 개시물은 항체를 약물에 연결하는 절단가능한 링커를 포함하는 항체-약물 접합체 구조를 제공한다. 절단가능한 링커는 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티 및 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로부터 선택된 글리코시드를 포함하는 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함한다. 본 개시물은 또한 그러한 접합체의 생성 방법 뿐만 아니라 이를 사용하는 방법을 포함한다.

[0268] **항체-약물 접합체**

[0269] 본 개시물은 접합체, 예를 들어 항체-약물 접합체(ADC)를 제공한다. "접합체"는 제1 모이어티(예를 들어, 항체)가 제2 모이어티(예를 들어, 약물 또는 활성제)와 안정적으로 회합됨을 의미한다. 예를 들어, 항체-약물 접합체는 또 다른 모이어티(예를 들어, 항체)와 안정적으로 회합된 약물 또는 활성제를 포함한다. "안정적으로 회합된"은 모이어티가 표준 조건 하에서 또 다른 모이어티 또는 구조에 결합됨을 의미한다. 특정 구현예에서, 제1 및 제2 모이어티는 1개 이상의 작용기 및 공유결합을 통해 서로 결합된다. 예를 들어, 1개 이상의 작용기 및 공유결합은 본원에 기술된 바와 같은 절단가능한 링커를 포함할 수 있다

[0270] 특정 구현예에서, 접합체는 제2 모이어티에 접합된 폴리펩티드(예를 들어, 항체)를 포함하는 폴리펩티드 접합체이다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드에 접합된 모이어티는 임의의 다양한 관심 모이어티 예컨대 비제한적으로 약물, 활성제, 검출가능한 표지자, 수용성 중합체, 또는 폴리펩티드를 막 또는 표면에 고정화하기 위한 모이어티일 수 있다. 특정 구현예에서, 접합체는 폴리펩티드가 항체인 약물 접합체이고, 따라서 항체-약물 접합체를 제공한다. 예를 들어, 접합체는 폴리펩티드가 약물 또는 활성제에 접합된 약물 접합체일 수 있다. 다양한 유형의 약물 또는 활성제가 접합체에 사용될 수 있으며 아래에 더 상세히 기술된다.

[0271] 특정 구현예에서, 접합체는 항체 및 약물이 링커에 의해 함께 연결된 항체-약물 접합체이다. 일부 경우에서, 링커는 절단가능한 링커이다. 절단가능한 링커는 1개 이상의 절단가능한 모이어티를 포함하는 링커이고, 여기서 절단가능한 모이어티는 특정 조건 하에서 해리될 수 있고, 따라서 절단가능한 링커를 2개 이상의 분리가능한 부분으로 분리하는 1개 이상의 결합을 포함한다. 예를 들어, 절단가능한 모이어티는 1개 이상의 공유결합을 포함할 수 있고, 이것은 특정 조건 하에서 해리되거나 또는 분해되어서 절단가능한 링커를 2개 이상의 부분으로 분리할 수 있다. 이와 같이, 절단가능한 링커는 항체-약물 접합체에 포함될 수 있고, 이렇게 해서 적절한 조건 하에서 절단가능한 링커가 절단되어 약물의 원하는 표적 작용 부위에서 항체로부터 약물을 분리하거나 또는 방출한다.

[0272] 일부 경우에서, 절단가능한 링커는 2개의 절단가능한 모이어티, 예컨대 제1 절단가능한 모이어티 및 제2 절단가능한 모이어티를 포함한다. 절단가능한 모이어티는 약물의 원하는 표적 작용 부위에서 항체로부터 약물을 분리하거나 또는 방출하기 위해 두 절단가능한 모이어티 모두의 절단이 필요하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 절단가능한 링커의 절단은 처음에 2개의 절단가능한 모이어티 중 하나를 절단하고, 그 다음에 2개의 절단가능한 모이어티 중 다른 하나를 절단함으로써 달성될 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능한 링커는 제1 절단가능한 모이어티 및 제1 절단가능한 모이어티의 절단을 방해하는 제2 절단가능한 모이어티를 포함한다. "절단을 방해한다"는 절단되지 않은 제2 절단가능한 모이어티의 존재가 제1 절단가능한 모이어티의 절단 가능성을 감소시키거나 또는 절단을 실질적으로 억제하고, 따라서 절단가능한 링커의 절단의 양을 실질적으로 감소시키거나 또는 절단을 방지함을 의미한다. 예를 들어, 절단되지 않은 제2 절단가능한 모이어티의 존재는 제1 절단가능한 모이어티의 절단을 방해할 수 있다. 제2 절단가능한 모이어티의 존재에 의한 제1 절단가능한 모이어티의 절단의 방해는 결국 항체로부터 약물의 방출 양을 실질적으로 감소시키거나 또는 약물의 방출을 방지한다. 예를 들어, 항체로부터 약물의 조기 방출이 항체-약물 접합체가 약물의 원하는 표적 작용 부위에 또는 그 근처에 있을 때까지 실질적으로 감소될 수 있거나 또는 방지될 수 있다.

[0273] 일부 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티가 제1 절단가능한 모이어티의 절단을 방해하기 때문에, 절단가능한 링커의 절단은 처음에 제2 절단가능한 모이어티를 절단하고, 그 다음에 제1 절단가능한 모이어티를 절단함으로써 달성될 수 있다. 제2 절단가능한 모이어티의 절단은 제1 절단가능한 모이어티의 절단에 대한 방해를 감소시킬 수 있거나 또는 제거할 수 있고, 따라서 제1 절단가능한 모이어티가 절단되는 것을 허용한다. 제1 절단가능한 모이어티의 절단은 절단가능한 링커가 위에서 기술된 바와 같이 해리되거나 또는 2개 이상의 부분으로 분리되어 항체-약물 접합체로부터 약물을 방출하는 결과를 초래할 수 있다. 일부 경우에서, 제1 절단가능한 모이어티의

절단은 절단되지 않은 제2 절단가능한 모이어티의 존재 하에서는 실질적으로 발생하지 않는다. 실질적으로라는 것은 절단되지 않은 제2 절단가능한 모이어티의 존재 하에서는 제1 절단가능한 모이어티의 약 10% 이하 절단이 발생하고, 예컨대 절단되지 않은 제2 절단가능한 모이어티의 존재 하에서는 제1 절단가능한 모이어티의 약 9% 이하, 또는 약 8% 이하, 또는 약 7% 이하, 또는 약 6% 이하, 또는 약 5% 이하, 또는 약 4% 이하, 또는 약 3% 이하, 또는 약 2% 이하, 또는 약 1% 이하, 또는 약 0.5% 이하, 또는 약 0.1% 이하 절단이 발생한다는 것을 의미한다.

[0274] 달리 말하면, 제2 절단가능한 모이어티는 제1 절단가능한 모이어티를 절단으로부터 보호할 수 있다. 예를 들어, 절단되지 않은 제2 절단가능한 모이어티의 존재는 제1 절단가능한 모이어티를 절단으로부터 보호할 수 있고, 따라서 항체-약물 접합체가 약물의 원하는 표적 작용 부위에 또는 그 근처에 있을 때까지 항체로부터 약물의 조기 방출을 실질적으로 감소시키거나 또는 방지한다. 이와 같이, 제2 절단가능한 모이어티의 절단은 제1 절단가능한 모이어티를 노출시키고(예를 들어, 제1 절단가능한 모이어티를 탈보호하고), 따라서 제1 절단가능한 모이어티가 절단되는 것을 허용하고, 이는 절단가능한 링커의 절단을 초래하고, 이는 결국 위에서 기술된 바와 같이 약물의 원하는 표적 작용 부위에서 항체로부터 약물을 분리하거나 또는 방출한다. 특정 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티의 절단은 제1 절단가능한 모이어티를 후속 절단에 노출시키지만, 제2 절단가능한 모이어티의 절단은 그 자체가 저절로 절단가능한 링커의 절단을 초래하지 않는다(즉, 절단가능한 링커를 절단하기 위해서는 제1 절단가능한 모이어티의 절단이 여전히 필요하다).

[0275] 절단가능한 링커에 포함된 절단가능한 모이어티는 각각 효소적으로 절단가능한 모이어티일 수 있다. 예를 들어, 제1 절단가능한 모이어티는 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티일 수 있고, 제2 절단가능한 모이어티는 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티일 수 있다. 효소적으로 절단가능한 모이어티는 효소의 효소적 작용을 통해 위에서 기술된 바와 같이 2개 이상의 부분으로 분리될 수 있는 절단가능한 모이어티이다. 효소적으로 절단가능한 모이어티는 효소의 효소적 작용을 통해 절단될 수 있는 임의의 절단가능한 모이어티, 예컨대 비제한적으로 펩티드, 글리코시드 등일 수 있다. 일부 경우에서, 효소적으로 절단가능한 모이어티를 절단하는 효소는 원하는 표적 작용 부위, 예컨대 항체-약물 접합체로부터 방출될 약물의 원하는 표적 작용 부위에 존재한다. 일부 경우에서는, 효소적으로 절단가능한 모이어티를 절단하는 효소가 다른 영역에는, 예컨대 전혈, 혈장 또는 혈청에는 상당한 양으로 존재하지 않는다. 이와 같이, 효소적으로 절단가능한 모이어티의 절단은 원하는 작용 부위에서는 실질적 절단이 발생하는 반면, 다른 영역에서는 또는 항체-약물 접합체가 원하는 작용 부위에 도달하기 전에는 절단이 상당히 발생하지 않도록 제어될 수 있다.

[0276] 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같이, 본 개시물의 항체-약물 접합체는 암 치료에, 예컨대 암 세포가 존재하는 원하는 작용 부위에 암 치료 약물을 전달하는 데 사용될 수 있다. 일부 경우에서, 효소, 예컨대 프로테아제 효소 카텡신 B는 암세포에서 과발현되는 암의 바이오마커일 수 있다. 암에서 특정 효소의 과발현, 및 따라서 국지화는 원하는 작용 부위(즉, 암 (및 과발현된 효소) 부위)에서 약물을 특이적으로 방출하기 위해 본 개시물의 항체-약물 접합체의 절단가능한 링커에 포함된 효소적으로 절단가능한 모이어티의 맥락에서 사용될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 효소적으로 절단가능한 모이어티는 암 세포에서 과발현되는 효소에 의해 절단될 수 있는 절단가능한 모이어티(예를 들어, 펩티드)이다. 예를 들어, 효소는 프로테아제 효소 카텡신 B일 수 있다. 이와 같이, 일부 경우에서, 효소적으로 절단가능한 모이어티는 프로테아제 효소, 예컨대 카텡신 B에 의해 절단될 수 있는 절단가능한 모이어티(예를 들어, 펩티드)이다.

[0277] 특정 구현예에서, 효소적으로 절단가능한 모이어티는 펩티드이다. 펩티드는 절단가능한 링커에 사용하기에 적합한 임의의 펩티드일 수 있고, 그것은 효소의 효소적 작용을 통해 절단될 수 있다. 효소적으로 절단가능한 모이어티로서 사용될 수 있는 펩티드의 비제한적 예는 예를 들어 Val-Ala, Phe-Lys 등을 포함한다. 예를 들어, 위에서 기술된 제1 절단가능한 모이어티(즉, 제2 절단가능한 모이어티에 의해 조기 절단으로부터 보호되는 절단가능한 모이어티)는 펩티드를 포함할 수 있다. 절단되지 않은 제2 절단가능한 모이어티의 존재는 제1 절단가능한 모이어티(펩티드)를 프로테아제 효소(예를 들어, 카텡신 B)에 의한 절단으로부터 보호할 수 있고, 따라서 항체-약물 접합체가 약물의 원하는 표적 작용 부위에 또는 그 근처에 있을 때까지 항체로부터 약물의 조기 방출을 실질적으로 감소시킬 수 있거나 또는 방지할 수 있다. 일부 경우에서, 제1 절단가능한 모이어티를 포함하는 펩티드의 아미노산 잔기 중 하나는 치환체에 연결되거나 또는 치환체를 포함하고, 여기서 치환체는 제2 절단가능한 모이어티를 포함한다. 일부 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티는 글리코시드를 포함한다.

[0278] 일부 구현예에서, 효소적으로 절단가능한 모이어티는 당 모이어티, 예컨대 글리코시드(또는 글리오실)이다. 일부 경우에서, 글리코시드는 글리코시드를 포함하지 않는 절단가능한 링커와 비교하여 절단가능한 링커의 친수성의 증가를 촉진할 수 있다. 글리코시드는 절단가능한 링커에 사용하기에 적합한 임의의 글리코시드일 수 있고,

그것은 효소의 효소적 작용을 통해 절단될 수 있다. 예를 들어, 제2 절단가능한 모이어티(즉, 제1 절단가능한 모이어티를 조기 절단으로부터 보호하는 절단가능한 모이어티)는 글리코시드일 수 있다. 예를 들어, 일부 구현 예에서, 제1 절단가능한 모이어티는 펩티드를 포함하고, 제2 절단가능한 모이어티는 글리코시드를 포함한다. 특정 구현예에서, 제2 절단가능한 모이어티는 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로부터 선택되는 글리코시드이다. 일부 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티는 갈락토시드이다. 일부 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티는 글루코시드이다. 일부 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티는 만노시드이다. 일부 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티는 푸코시드이다. 일부 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티는 O-GlcNAc이다. 일부 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티는 O-GalNAc이다.

[0279] 글리코시드는 글리코시드 결합을 통해 절단가능한 링커에 부착(공유결합)될 수 있다. 글리코시드 결합은 다양한 유형의 결합, 예컨대 비제한적으로 O-글리코시드 결합(O-글리코시드), N-글리코시드 결합(글리코실아민), S-글리코시드 결합(티오글리코시드) 또는 C-글리코시드 결합(C-글리코시드 또는 C-글리코실)을 통해 글리코시드를 절단가능한 링커에 연결할 수 있다. 일부 경우에는 글리코시드 결합이 O-글리코시드 결합(O-글리코시드)이다. 일부 경우에서, 글리코시드는 그것이 부착된 절단가능한 링커로부터 효소에 의해 (예를 들어, 글리코시드 결합의 효소적으로 매개되는 가수분해를 통해) 절단될 수 있다. 글리코시드는 절단가능한 링커에 글리코시드를 부착하는 글리코시드 결합의 절단(가수분해)을 수행할 수 있는 임의의 편리한 효소에 의해 절단가능한 링커로부터 제거될 수 있거나 또는 절단될 수 있다. 글리코시드를 절단가능한 링커에 부착하는 글리코시드 결합의 절단(가수분해)을 매개하는 데 사용될 수 있는 효소의 예는 글리코시다제, 예컨대 갈락토시다제, 글루코시다제, 만노시다제, 푸코시다제 등이다. 다른 적합한 효소가 또한 글리코시드를 절단가능한 링커에 부착하는 글리코시드 결합의 절단(가수분해)을 매개하는 데 사용될 수 있다. 일부 경우에서, 글리코시드를 절단가능한 링커에 부착하는 글리코시드 결합의 절단(가수분해)을 매개하는 데 사용되는 효소는 항체-약물 접합체의 약물의 원하는 작용 부위에서 또는 그 근처에서 발견된다. 예를 들어, 효소는 항체-약물 접합체의 약물의 원하는 작용 부위에서 또는 그 근처에서 세포에서 발견되는 리소좀 효소, 예컨대 리소좀 글리코시다제일 수 있다. 일부 경우에서, 효소는 제1 절단가능한 모이어티의 절단을 매개하는 효소가 발견되는 표적 부위에서 또는 그 근처에서 발견되는 효소이다.

[0280] 관심 모이어티(예를 들어, 약물 또는 활성제)는 폴리펩티드의 임의의 원하는 부위에서 폴리펩티드(예를 들어, 항체)에 접합될 수 있다. 따라서, 본 개시물은 예를 들어 폴리펩티드의 C-말단의 또는 그 근처의 부위에서 접합된 모이어티를 가지는 변형된 폴리펩티드를 제공한다. 다른 예는 폴리펩티드의 N-말단 또는 그 근처의 위치에서 접합된 모이어티를 가지는 변형된 폴리펩티드를 포함한다. 예는 또한 폴리펩티드의 C-말단과 N-말단 사이의 위치에서 (예를 들어, 폴리펩티드의 내부 부위에서) 접합된 모이어티를 가지는 변형된 폴리펩티드를 포함한다. 변형된 폴리펩티드가 2개 이상의 모이어티에 접합되는 경우에는 상기한 것의 조합이 또한 가능하다.

[0281] 특정 구현예에서, 본 개시물의 접합체는 아미노산 잔기의 α-탄소에서 폴리펩티드의 아미노산 잔기에 접합된 약물 또는 활성제를 포함한다. 달리 말하면, 접합체는 폴리펩티드 내의 1개 이상의 아미노산 잔기의 측쇄가 약물 또는 활성제에 부착되도록 (예를 들어, 본원에서 기술된 바와 같이 링커를 통해 약물 또는 활성제에 부착되도록) 변형된 폴리펩티드를 포함한다. 예를 들어, 접합체는 폴리펩티드에서의 1개 이상의 아미노산 잔기의 α-탄소가 약물 또는 활성제에 부착되도록 (예를 들어, 본원에서 기술된 바와 같이 링커를 통해 약물 또는 활성제에 부착되도록) 변형된 폴리펩티드를 포함한다.

[0282] 본 개시물의 구현예는 폴리펩티드가 1개 이상의 모이어티, 예컨대 2개의 모이어티, 3개의 모이어티, 4개의 모이어티, 5개의 모이어티, 6개의 모이어티, 7개의 모이어티, 8개의 모이어티, 9개의 모이어티, 또는 10개의 모이어티에 접합된 접합체를 포함한다. 모이어티는 폴리펩티드의 1개 이상의 부위에서 폴리펩티드에 접합될 수 있다. 예를 들어, 1개 이상의 모이어티가 폴리펩티드의 단일의 아미노산 잔기에 접합될 수 있다. 일부 경우에는, 1개의 모이어티가 폴리펩티드의 아미노산 잔기에 접합된다. 다른 구현예에서는, 2개의 모이어티가 폴리펩티드의 동일한 아미노산 잔기에 접합될 수 있다. 다른 구현예에서는, 제1 모이어티가 폴리펩티드의 제1 아미노산 잔기에 접합되고 제2 모이어티가 폴리펩티드의 제2 아미노산 잔기에 접합된다. 예를 들어, 폴리펩티드가 제1 아미노산 잔기에서 제1 모이어티에 접합되고 제2 아미노산 잔기에서 2개의 다른 모이어티에 접합되는 경우에는, 상기한 것의 조합도 또한 가능하다. 다른 조합, 예컨대 비제한적으로 제1 아미노산 잔기에서 제1 및 제2 모이어티에 접합되고 제2 아미노산 잔기에서 제3 및 제4 모이어티에 접합되는 폴리펩티드 등도 또한 가능하다.

[0283] 1개 이상의 모이어티에 접합된 폴리펩티드의 1개 이상의 아미노산 잔기는 천연 발생 아미노산, 비천연 아미노산 또는 이들의 조합일 수 있다. 예를 들어, 접합체는 폴리펩티드의 천연 발생 아미노산 잔기에 접합된 모이어티를 포함할 수 있다. 다른 경우에, 접합체는 폴리펩티드의 비천연 아미노산 잔기에 접합된 모이어티를 포함할 수 있

다. 1개 이상의 모이어티는 위에서 기술된 바와 같이 단일의 천연 또는 비천연 아미노산 잔기에서 폴리펩티드에 접합될 수 있다. 폴리펩티드 내의 1개 이상의 천연 또는 비천연 아미노산 잔기는 본원에 기술된 바와 같은 모이어티 또는 모이어티들에 접합될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드 내의 2개(또는 그 초과)의 아미노산 잔기(예를 들어, 천연 또는 비천연 아미노산 잔기)는 각각 1개 또는 2개의 모이어티에 접합될 수 있고, 이렇게 해서 폴리펩티드 내의 다수의 부위가 변형된다.

[0284] 본원에 기술된 바와 같이, 폴리펩티드는 1개 이상의 모이어티에 접합될 수 있다. 특정 구현예에서, 관심 모이어티는 화학적 실체, 예컨대 약물, 활성제 또는 검출가능한 표지자이다. 예를 들어, 약물(또는 활성제)이 폴리펩티드에 접합될 수 있거나, 또는 다른 구현예에서는, 검출가능한 표지자가 폴리펩티드에 접합될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 본 개시물의 구현예는 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: 폴리펩티드 및 약물의 접합체; 폴리펩티드 및 활성제의 접합체; 폴리펩티드 및 검출가능한 표지자의 접합체; 둘 이상의 약물 및 폴리펩티드의 접합체; 둘 이상의 검출가능한 표지자 및 폴리펩티드의 접합체 등.

[0285] 특정 구현예에서, 폴리펩티드(예를 들어, 항체) 및 관심 모이어티(예를 들어, 약물 또는 활성제)는 커플링 모이어티를 통해 접합된다. 예를 들어, 폴리펩티드 및 관심 모이어티가 각각 커플링 모이어티에 결합(예를 들어, 공유결합)될 수 있고, 따라서 폴리펩티드 및 관심 모이어티를 커플링 모이어티를 통해 간접적으로 함께 결합시킨다. 일부 경우에서, 커플링 모이어티는 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 화합물, 또는 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 화합물의 유도체를 포함한다. 예를 들어, 관심 모이어티를 폴리펩티드에 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 통해 커플링하기 위한 일반적인 반응식을 아래의 일반 반응식에 나타낸다. 히드라지닐-인돌릴 및 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티는 본원에서는 또한 각각 히드라지노-이소-픽테트-스켄글러(HIPS) 커플링 모이어티 및 아자-히드라지노-이소-픽테트-스켄글러(azaHIPS) 커플링 모이어티라고도 부른다.



[0286] 상기 반응식에서, R은 폴리펩티드에 접합되는 (예를 들어, 본원에 기술된 바와 같이 절단가능한 링커를 통해 폴리펩티드에 접합되는) 관심 모이어티(예를 들어, 약물 또는 활성제)를 포함한다. 위의 반응식에 나타낸 바와 같이, 2-포르밀글리신 잔기(fGly)를 포함하는 폴리펩티드를 커플링 모이어티(예를 들어, 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티)를 포함하도록 변형된 약물 또는 활성제와 반응시켜서 커플링 모이어티에 부착된 폴리펩티드 접합체를 생성하고, 따라서 약물 또는 활성제를 폴리펩티드에 커플링 모이어티를 통해 부착한다.

[0288] 본원에서 기술된 바와 같이, 모이어티는 임의의 다양한 모이어티, 예컨대 비제한적으로 화학적 실체, 예컨대 검출가능한 표지자, 또는 약물 또는 활성제일 수 있다. R' 및 R''은 각각 독립적으로 임의의 원하는 치환체, 예컨대 비제한적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬 아미드, 치환된 알킬아미드, 술포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴일 수 있다. Z는 CR<sup>21</sup>, NR<sup>22</sup>, N, O 또는 S일 수 있고, 여기서 R<sup>21</sup> 및 R<sup>22</sup>는 각각 독립적으로 위에서 R' 및 R''에 대해 기술된 임의의 치환체로부터 선택된다.

[0289] 본원에 기술된 접합체 및 화합물에 나타낸 바와 같이, 다른 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티도 또한 가능하다. 예를 들어, 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티는 링커에 부착(예를 들어, 공유 부착)되도록 변형될 수 있다. 이와 같이, 본 개시물의 구현예는 약물 또는 활성제에 링커를 통해 부착된 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 포함한다. 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 약물 또는 활성제에 커플링할 수 있는 링커의 다양한 구현예가 본원에서 상세히 기술된다. 예를 들어, 일부 경우에서, 링커는 절단가능한 링커, 예컨대 본원에 기술된 바와 같은 절단가능한 링커이다.

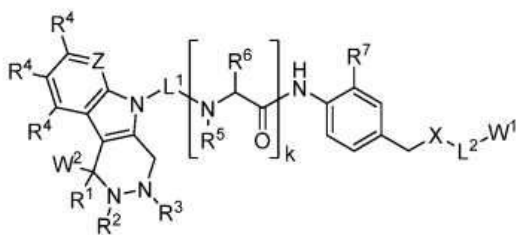
[0290] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 관심 모이어티에 접합될 수 있고, 여기서 폴리펩티드는 관심 모이어티에 접합되

기 전에 변형된다. 폴리펩티드의 변형은 관심 모이어티와 접합하기에 적합한 1개 이상의 반응성 기를 함유하는 변형된 폴리펩티드를 생성할 수 있다. 일부 경우에서, 폴리펩티드는 관심 모이어티(예를 들어, 커플링 모이어티, 예컨대 위에서 기술된 바와 같은 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 포함하는 모이어티)와 접합하기에 적합한 1개 이상의 반응성 기를 제공하도록 1개 이상의 아미노산 잔기에서 변형될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드는 반응성 알데히드 기(예를 들어, 반응성 알데히드)를 포함하도록 변형될 수 있다. 반응성 알데히드는 "알데히드 태그" 또는 "알드-태그"에 포함될 수 있고, 이것은 본원에서 사용되는 바와 같이 포르밀글리신 생성 효소(FGE)의 작용에 의해 전환되어 2-포르밀글리신 잔기(본원에서는 "FGly"라고 부름)를 함유하는 술포타제 모티프(예를 들어, L(C/S)TPSR)로부터 유래된 아미노산 서열을 지칭한다. FGE에 의해 생성된 FGly 잔기는 또한 "포르밀글리신"이라고 부를 수 있다. 달리 말하면, 용어 "알데히드 태그"는 본원에서는 "전환된" 술포타제 모티프(즉, 시스테인 또는 세린 잔기가 FGE의 작용에 의해 FGly로 전환된 술포타제 모티프, 예를 들어 L(FGly)TPSR)를 포함하는 아미노산 서열을 지칭하는 데 사용된다. 전환된 술포타제 모티프는 "비전환된" 술포타제 모티프(즉, 시스테인 또는 세린 잔기가 FGE에 의해 FGly로 전환되지 않았지만 전환될 수 있는 술포타제 모티프, 예를 들어, 서열: L(C/S)TPSR을 갖는 비전환된 술포타제 모티프)를 포함하는 아미노산 서열로부터 유래될 수 있다. 술포타제 모티프에 대한 포르밀글리신 생성 효소(FGE)의 작용과 관련하여 사용되는 "전환"은 술포타제 모티프의 시스테인 또는 세린 잔기로부터 포르밀글리신(FGly) 잔기로의 (예를 들어, Cys으로부터 FGly으로의, 또는 Ser으로부터 FGly으로의) 생화학적 변형을 지칭한다. 알데히드 태그의 추가의 측면 및 부위 특이적 단백질 변형에서의 그의 용도는 미국 특허 번호 7,985,783 및 미국 특허 번호 8,729,232에서 기술되고, 이들 각 문헌의 개시물은 본원에 참고로 포함된다.

[0291] 일부 경우에서, FGly 잔기를 함유하는 변형된 폴리펩티드는 FGly과 화합물(예를 들어, 위에서 기술된 바와 같이 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 함유하는 화합물)의 반응에 의해 관심 모이어티에 접합될 수 있다. 예를 들어, FGly 함유 폴리펩티드는 약물과 폴리펩티드의 접합을 제공하기에 적합한 조건 하에서 반응 파트너 함유 약물과 접촉할 수 있다. 일부 경우에서, 반응 파트너 함유 약물은 위에서 기술된 바와 같이 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 포함할 수 있다. 예를 들어, 약물 또는 활성제는 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 포함하도록 변형될 수 있다. 일부 경우에서, 약물 또는 활성제는 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐에 부착되고, 예컨대 링커, 예컨대 본원에서 상세히 기술된 바와 같은 절단가능한 링커를 통해 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐에 공유부착된다.

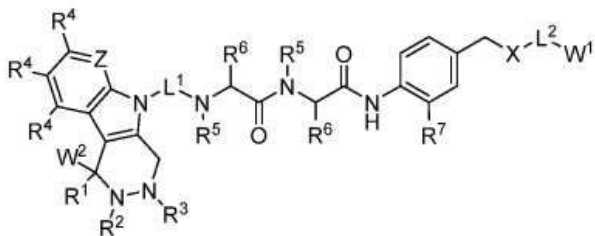
[0292] 특정 구현예에서, 본 개시물의 접합체는 적어도 1개의 변형된 아미노산 잔기를 갖는 폴리펩티드(예를 들어, 항체)를 포함한다. 폴리펩티드의 변형된 아미노산 잔기는 위에서 기술된 바와 같은 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 함유하는 약물 또는 활성제에 커플링될 수 있다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드(예를 들어, 항체)의 변형된 아미노산 잔기는 위에서 기술된 바와 같이 FGly 잔기로 전환된 시스테인 또는 세린 잔기로부터 유래될 수 있다. 특정 구현예에서, FGly 잔기는 위에서 기술된 바와 같은 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 함유하는 약물 또는 활성제에 접합되어 약물 또는 활성제가 폴리펩티드에 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 통해 접합된 본 개시물의 접합체를 제공한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 'FGly'는 관심 모이어티(예를 들어, 약물 또는 활성제)에 커플링되는 폴리펩티드(예를 들어, 항체)의 변형된 아미노산 잔기를 지칭한다.

[0293] 특정 구현예에서, 접합체는 본원에 기술된 바와 같은 적어도 1개의 변형된 아미노산 잔기를 포함하고, 여기서 변형된 아미노산 잔기는 본원에 기술된 바와 같은 링커(절단가능한 링커)에 부착되고, 이것은 결국 약물 또는 활성제에 부착된다. 예를 들어, 접합체는 위에서 기술된 바와 같은 적어도 1개의 변형된 아미노산 잔기(FGly')를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 접합체는 화학식 (I)을 가진다:

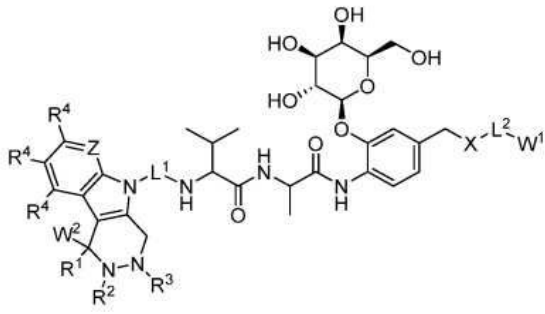


[0294] ...  
 [0295] 여기서

- [0296] Z는 CR<sup>4</sup> 또는 N이고;
- [0297] X는 O 또는 NR<sup>4</sup>이고;
- [0298] R<sup>1</sup>은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;
- [0299] R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되거나, 또는 R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 임의로 환식으로 연결되어 5원 또는 6원 헤테로시클릴을 형성하고;
- [0300] 각 R<sup>4</sup>는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;
- [0301] 각 R<sup>5</sup>는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐 및 치환된 알키닐로부터 선택되고;
- [0302] 각 R<sup>6</sup>는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;
- [0303] k는 1 내지 10의 정수이고;
- [0304] R<sup>7</sup>은 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함하고;
- [0305] L<sup>1</sup>은 제1 링커이고;
- [0306] L<sup>2</sup>는 제2 링커이고;
- [0307] W<sup>1</sup>은 약물이고;
- [0308] W<sup>2</sup>는 항체이다.
- [0309] 화학식 (I)의 특정 구현예에서, k는 2이고, 접합체는 화학식 (Ia)를 가진다:

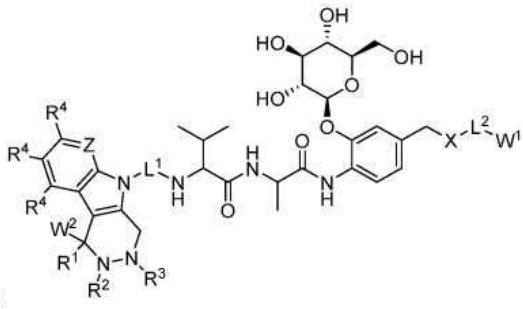


- [0310]
- [0311] 화학식 (I)의 특정 구현예에서, 접합체는 화학식 (Ib)를 가진다:



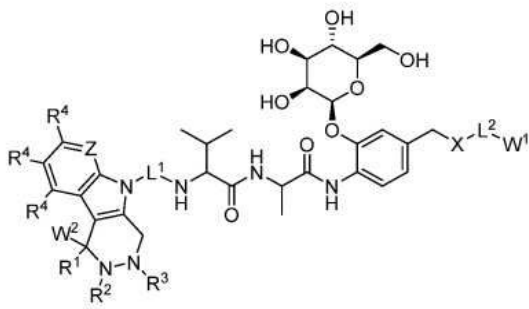
[0312]

[0313] 화학식 (I)의 특정 구현예에서, 접합체는 화학식 (Ic)를 가진다:



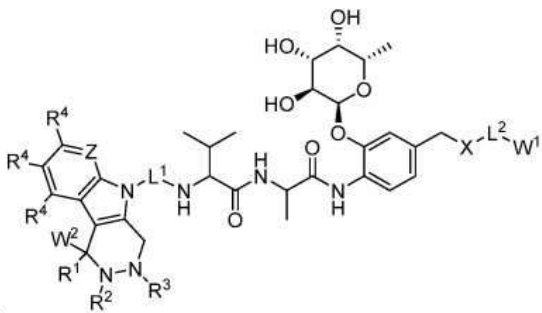
[0314]

[0315] 화학식 (I)의 특정 구현예에서, 접합체는 화학식 (Id)를 가진다:



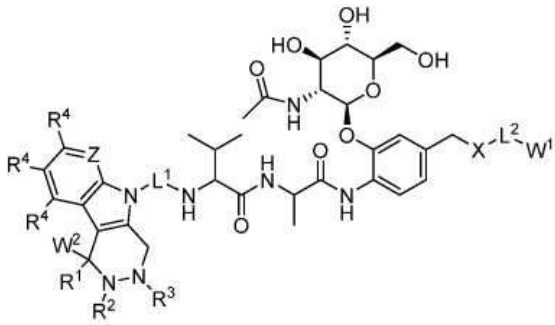
[0316]

[0317] 화학식 (I)의 특정 구현예에서, 접합체는 화학식 (Ie)를 가진다:



[0318]

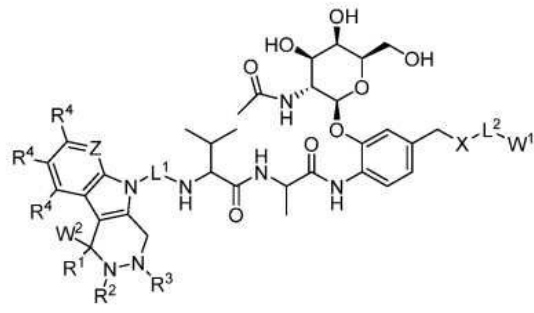
[0319] 화학식 (I)의 특정 구현예에서, 접합체는 화학식 (If)를 가진다:



[0320]

[0321]

화학식 (I)의 특정 구현예에서, 접합체는 화학식 (Ig)를 가진다:



[0322]

[0323]

화학식 (I)의 접합체와 관련된 치환체는 아래에서 더 상세히 기술된다. 화학식 (I)에 대한 언급은 또한 화학식 (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If) 및 (Ig)를 포함하는 것을 의도한다.

[0324]

특정 구현예에서, Z는 CR<sup>4</sup> 또는 N이다. 특정 구현예에서, Z는 CR<sup>4</sup>이다. 특정 구현예에서, Z는 N이다.

[0325]

특정 구현예에서, X는 O 또는 NR<sup>4</sup>이다. 일부 경우에서, X는 O이다. 일부 경우에서, X는 NR<sup>4</sup>이다. 일부 경우에서, X는 NH이다.

[0326]

특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 수소이다. 특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>1-6</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-4</sub> 알킬 또는 C<sub>1-4</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬 또는 C<sub>1-3</sub> 치환된 알킬이다. 특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 메틸이다. 특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대 C<sub>2-6</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-6</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-4</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-4</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-3</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-3</sub> 치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 알키닐 또는 치환된 알키닐, 예컨대 C<sub>2-6</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-6</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-4</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-4</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-3</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-3</sub> 치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대 C<sub>5-8</sub> 아릴 또는 C<sub>5-8</sub> 치환된 아릴, 예컨대 C<sub>5</sub> 아릴 또는 C<sub>5</sub> 치환된 아릴, 또는 C<sub>6</sub> 아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 아릴이다. 특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5-8</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5-8</sub> 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5</sub> 치환된 헤테로아릴, 또는 C<sub>6</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 시클로알킬 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 시클로알킬, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 시클로알킬 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 시클로알킬, 또는 C<sub>3-5</sub> 시클로알킬 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 시클로알킬이다. 특정 구현예에서, R<sup>1</sup>은 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 헤테로시클릴, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 헤테로시클릴, 또는 C<sub>3-5</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 헤테로시클릴이다.

[0327] 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되거나, 또는  $R^2$  및  $R^3$ 는 임의로 환식으로 연결되어 5원 또는 6원 헤테로시클릴을 형성한다.

[0328] 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 수소이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-4}$  알킬 또는  $C_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬 또는  $C_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 메틸이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알케닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-4}$  알케닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-3}$  알케닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 알키닐 또는 치환된 알키닐이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 술폰닐이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$  치환된 아릴, 또는  $C_6$  아릴 또는  $C_6$  치환된 아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_5$  헤테로아릴 또는  $C_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $C_6$  헤테로아릴 또는  $C_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-8}$  시클로알킬 또는  $C_{3-8}$  치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-6}$  시클로알킬 또는  $C_{3-6}$  치환된 시클로알킬, 또는  $C_{3-5}$  시클로알킬 또는  $C_{3-5}$  치환된 시클로알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-6}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-6}$  치환된 헤테로시클릴, 또는  $C_{3-5}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-5}$  치환된 헤테로시클릴이다.

[0329] 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 수소이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-4}$  알킬 또는  $C_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬 또는  $C_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 메틸이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알케닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-4}$  알케닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-3}$  알케닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 알키닐 또는 치환된 알키닐이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 술폰닐이다. 특정 구현예에서,

$R^3$ 는 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$  치환된 아릴, 또는  $C_6$  아릴 또는  $C_6$  치환된 아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_5$  헤테로아릴 또는  $C_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $C_6$  헤테로아릴 또는  $C_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-8}$  시클로알킬 또는  $C_{3-8}$  치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-6}$  시클로알킬 또는  $C_{3-6}$  치환된 시클로알킬, 또는  $C_{3-5}$  시클로알킬 또는  $C_{3-5}$  치환된 시클로알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 는 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-8}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-8}$  치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-6}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-6}$  치환된 헤테로시클릴, 또는  $C_{3-5}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-5}$  치환된 헤테로시클릴이다.

[0330] 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 는 임의로 환식으로 연결되어 5원 또는 6원 헤테로시클릴을 형성한다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 는 환식으로 연결되어 5원 또는 6원 헤테로시클릴을 형성한다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 는 환식으로 연결되어 5원 헤테로시클릴을 형성한다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 는 환식으로 연결되어 6원 헤테로시클릴을 형성한다.

[0331] 특정 구현예에서, 각  $R^4$ 는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다.

[0332] 각  $R^4$ 에 대한 다양한 가능성은 아래에서 더 상세히 기술된다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 수소이다. 특정 구현예에서, 각  $R^4$ 는 수소이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 할로젠, 예컨대 F, Cl, Br 또는 I이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 F이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 Cl이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 Br이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 I이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-4}$  알킬 또는  $C_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬 또는  $C_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 메틸이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알케닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-4}$  알케닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-3}$  알케닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 알킬닐 또는 치환된 알킬닐이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 술폰닐이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$  치환된 아릴, 또는  $C_6$  아릴 또는  $C_6$  치환된 아릴(예를 들어, 페닐 또는 치환된 페닐)이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_5$  헤테로아릴 또는  $C_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $C_6$  헤테로아릴 또는  $C_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-8}$  시클로알킬 또는  $C_{3-8}$  치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-6}$  시클로알킬 또는  $C_{3-6}$  치환된 시클로알킬, 또는  $C_{3-5}$  시클로알킬 또는  $C_{3-5}$  치환된 시클로알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-8}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-8}$  치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-6}$  헤테

테로시클릴 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 헤테로시클릴, 또는 C<sub>3-5</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 헤테로시클릴이다.

[0333] 특정 구현예에서, 각 R<sup>5</sup>는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐 및 치환된 알키닐로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 수소이다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>1-6</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-4</sub> 알킬 또는 C<sub>1-4</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬 또는 C<sub>1-3</sub> 치환된 알킬이다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 메틸이다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 에틸이다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 프로필(예를 들어, n-프로필 또는 이소프로필)이다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 부틸(예를 들어, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸 또는 t-부틸)이다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 펜틸(예를 들어, n-펜틸 또는 네오펜틸 등)이다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 네오펜틸이다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대 C<sub>2-6</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-6</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-4</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-4</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-3</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-3</sub> 치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서, R<sup>5</sup>는 알키닐 또는 치환된 알키닐이다.

[0334] 특정 구현예에서, 각 R<sup>6</sup>는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 수소이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>1-6</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-4</sub> 알킬 또는 C<sub>1-4</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬 또는 C<sub>1-3</sub> 치환된 알킬이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 메틸이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 에틸이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 프로필(예를 들어, n-프로필 또는 이소프로필)이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 부틸(예를 들어, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸 또는 t-부틸)이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 펜틸(예를 들어, n-펜틸 또는 네오펜틸 등)이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 네오펜틸이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대 C<sub>2-6</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-6</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-4</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-4</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-3</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-3</sub> 치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 알키닐 또는 치환된 알키닐이다.

[0335] 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대 C<sub>5-8</sub> 아릴 또는 C<sub>5-8</sub> 치환된 아릴, 예컨대 C<sub>5</sub> 아릴 또는 C<sub>5</sub> 치환된 아릴, 또는 C<sub>6</sub> 아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 아릴(예를 들어, 페닐 또는 치환된 페닐)이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5-8</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5-8</sub> 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5</sub> 치환된 헤테로아릴, 또는 C<sub>6</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 시클로알킬 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 시클로알킬, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 시클로알킬 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 시클로알킬, 또는 C<sub>3-5</sub> 시클로알킬 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 시클로알킬이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 헤테로시클릴, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 헤테로시클릴, 또는 C<sub>3-5</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 헤테로시클릴이다.

[0336] 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 아미노산의 측쇄를 나타낸다. 예를 들어, R<sup>6</sup>는 천연 아미노산, 비천연 아미노산 및 아미노산 유사체를 포함하는 아미노산 잔기의 α-탄소에 부착된 치환체를 나타낼 수 있다. 일부 경우에서, R<sup>6</sup>는 천연 발생 단백질에서 발견되는 아미노산의 측쇄(예를 들어, Ala 또는 A, Cys 또는 C, Asp 또는 D, Glu 또는 E, Phe 또는 F, Gly 또는 G, His 또는 H, Ile 또는 I, Lys 또는 K, Leu 또는 L, Met 또는 M, Asn 또는 N, Pro 또는 P, Gln 또는 Q, Arg 또는 R, Ser 또는 S, Thr 또는 T, Val 또는 V, Trp 또는 W, Tyr 또는 Y의 측쇄)를 나타낸다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 발린(Val)의 측쇄를 나타내고; 즉, R<sup>6</sup>는 이소프로필이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 알라닌(Ala)의 측쇄를 나타내고; 즉, R<sup>6</sup>는 메틸이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 페닐알라닌(Phe)의 측쇄를 나타내고; 즉, R<sup>6</sup>는 벤질이다. 특정 구현예에서, R<sup>6</sup>는 리신(Lys)의 측쇄를 나타내고; 즉, R<sup>6</sup>는 4-아미노-부틸이다.

- [0337] 특정 구현예에서,  $k$ 는 1 내지 10의 정수이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 1이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 2이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 3이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 4이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 5이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 6이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 7이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 8이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 9이다. 특정 구현예에서,  $k$ 는 10이다.
- [0338] 특정 구현예에서, 괄호-아래첨자  $k$ 로 둘러싸인 화학식 (I)의 모이어티는 1개 이상의 아미노산(예를 들어, 펩티드)을 나타낸다. 예를 들어, 위에서 기술된 바와 같이, 본 개시물의 접합체는 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함할 수 있고, 여기서 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티는 펩티드이다. 화학식 (I)에 나타난 바와 같이, 1개 이상의 아미노산은 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함하는 펩티드일 수 있다.
- [0339] 특정 구현예에서,  $R^7$ 은 본원에 기술된 바와 같은 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티이다. 예를 들어,  $R^7$ 은 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로부터 선택되는 글리코시드를 포함할 수 있다. 일부 경우에서,  $R^7$ 은 갈락토시드를 포함한다. 일부 경우에서,  $R^7$ 은 글루코시드를 포함한다. 일부 경우에서,  $R^7$ 은 만노시드를 포함한다. 일부 경우에서,  $R^7$ 은 푸코시드를 포함한다. 일부 경우에서,  $R^7$ 은 O-GlcNAc를 포함한다. 일부 경우에서,  $R^7$ 은 O-GalNAc를 포함한다.
- [0340] 특정 구현예에서,  $L^1$ 은 제1 링커이다.  $L_1$ 에 적합한 링커는 아래에서 더 상세히 기술된다.
- [0341] 특정 구현예에서,  $L^2$ 는 제2 링커이다.  $L^2$ 에 적합한 링커는 아래에서 더 상세히 기술된다.
- [0342] 특정 구현예에서,  $W^1$ 은 약물(또는 활성제)이다. 본원에 기술된 접합체 및 화합물에 사용하기에 적합한 약물 및 활성제에 대한 추가 설명은 아래에서 더 상세히 발견된다.
- [0343] 특정 구현예에서,  $W^2$ 는 항체이다. 대상 접합체에서의 용도가 발견된 항체에 대한 추가 설명은 본원의 개시물에서 발견된다.
- [0344] 특정 구현예에서, 화학식 (I)의 접합체는 1개 이상의 링커를 포함한다. 링커는 커플링 모이어티를 1개 이상의 관심 모이어티 및/또는 1개 이상의 폴리펩티드에 결합시키는 데 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 커플링 모이어티를 폴리펩티드 또는 화학적 실체 예컨대 약물에 결합시킨다. 링커는 커플링 모이어티(예를 들어, 본원에서 기술된 바와 같음)에 임의의 편리한 위치에서 결합(예를 들어, 공유결합)될 수 있다. 예를 들어, 링커는 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 약물(예를 들어, 메이탄신 또는 아우리스타틴)에 부착할 수 있다. 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티는 링커(및 따라서 약물)를 폴리펩티드, 예컨대 항체에 접합시키는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 커플링 모이어티는 링커(및 따라서 약물)를 폴리펩티드의 변형된 아미노산 잔기, 예컨대 항체의 FGly 잔기에 접합시키는 데 사용될 수 있다.
- [0345] 특정 구현예에서, 링커는 1개 이상의 링커, 예컨대 제1 링커  $L^1$  및 제2 링커  $L^2$ 를 포함한다. 또한, 링커는 본원에 기술된 바와 같이 1개 이상의 절단가능한 모이어티(예를 들어, 제1 절단가능한 모이어티 및 제2 절단가능한 모이어티)를 포함할 수 있다. 일부 경우에서, 링커는 1개 이상의 링커, 예컨대 제1 링커  $L^1$  및 제2 링커  $L^2$ 를 포함한다. 예를 들어, 링커는 제1 절단가능한 모이어티를 커플링 모이어티(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티)에 연결하는 제1 링커( $L^1$ ), 및 제1 절단가능한 모이어티를 화학적 실체, 예컨대 본원에 기술된 바와 같은 약물 또는 활성제에 연결하는 제2 링커( $L^2$ )를 포함할 수 있다. 이와 같이, 링커는 제1 절단가능한 모이어티를 항체에 (예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 통해) 연결하는 제1 링커( $L^1$ ), 및 제1 절단가능한 모이어티를 화학적 실체, 예컨대 본원에 기술된 바와 같은 약물 또는 활성제에 연결하는 제2 링커( $L^2$ )를 포함할 수 있다.
- [0346] 예를 들어, 상기 화학식 (I)에 나타난 바와 같이,  $L^1$ 은  $W^2$ 에 커플링 모이어티를 통해 부착되고, 따라서  $W^2$ 는 제1 링커  $L^1$ 에 커플링 모이어티를 통해 간접적으로 결합된다. 위에서 기술된 바와 같이,  $W^2$ 는 항체이고, 따라서  $L^1$ 은

커플링 모이어티를 통해 항체에 부착되고, 예를 들어 제1 링커  $L^1$ 은 항체에 커플링 모이어티를 통해(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링을 통해) 간접적으로 결합된다. 또한, 상기 화학식 (I)에 나타낸 바와 같이,  $L^1$ 은  $L^2$ 에 (간접적으로) 부착되고,  $L^2$ 는  $W^2$ 에 부착된다. 위에서 기술된 바와 같이,  $W^1$ 은 약물이고, 따라서 제2 링커  $L^2$ 는 약물을 항체  $W^2$ 에 제1 링커  $L^1$  및 커플링 모이어티(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티)를 통해 부착시킨다.

[0347] 임의의 편리한 링커가 대상 집합체 및 화합물의 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )에 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실 아미노, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되는 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 알킬 또는 치환된 알킬 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 알케닐 또는 치환된 알케닐 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 알키닐 또는 치환된 알키닐 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 알콕시 또는 치환된 알콕시 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 아미노 또는 치환된 아미노 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 카르복실 또는 카르복실 에스테르 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 아실 아미노 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 아릴 또는 치환된 아릴 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬 기를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴 기를 포함할 수 있다.

[0348] 특정 구현예에서, 제1 링커( $L^1$ ) 및 제2 링커( $L^2$ )는 각각 독립적으로 중합체를 포함할 수 있다. 예를 들어, 중합체는 폴리에틸렌 글리콜, 메톡시폴리에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 단일중합체, 폴리프로필렌 글리콜 단일중합체, 에틸렌 글리콜과 프로필렌 글리콜의 공중합체(예를 들어, 단일중합체 및 공중합체가 비치환되거나 또는 한쪽 단부에서 알킬 기로 치환되는 경우), 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 에틸 에테르, 폴리비닐피롤리돈, 이들의 조합 등을 포함하여 폴리알킬렌 글리콜 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 중합체는 폴리알킬렌 글리콜이다. 특정 구현예에서, 중합체는 폴리에틸렌 글리콜이다. 아래에서 더 상세히 기술된 집합체 및 화합물에 나타낸 바와 같이, 다른 링커도 또한 가능하다.

[0349] 일부 구현예에서,  $L^1$ 은 화학식  $-(L^{11})_a-(L^{12})_b-(L^{13})_c-(L^{14})_d-$ 로 기술되는 제1 링커이고, 여기서  $L^{11}$ ,  $L^{12}$ ,  $L^{13}$  및  $L^{14}$ 는 각각 독립적으로 제1 링커 하위단위이고, a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 여기서 a, b, c 및 d의 합은 1 내지 4이다.

[0350] 특정 구현예에서, a, b, c 및 d의 합은 1이다. 특정 구현예에서, a, b, c 및 d의 합은 2이다. 특정 구현예에서, a, b, c 및 d의 합은 3이다. 특정 구현예에서, a, b, c 및 d의 합은 4이다. 특정 구현예에서, a, b, c 및 d는 각각 1이다. 특정 구현예에서, a, b 및 c는 각각 1이고, d는 0이다. 특정 구현예에서, a 및 b는 각각 1이고, c 및 d는 각각 0이다. 특정 구현예에서, a는 1이고, b, c 및 d는 각각 0이다.

[0351] 특정 구현예에서,  $L^{11}$ 은 (예를 들어, 상기 화학식 (I)에 나타낸 바와 같이) 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{12}$ 는 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티

에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{13}$ 은 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{14}$ 은 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다.

[0352] 임의의 편리한 링커 하위단위가 제1 링커  $L^1$ 에 이용될 수 있다. 관심 링커 하위단위는 중합체, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 및 폴리아크릴레이트, 아미노산 잔기(들), 탄수화물 기반 중합체 또는 탄수화물 잔기 및 이의 유도체, 폴리뉴클레오티드, 알킬 기, 아릴 기, 헤테로시클릭 기, 이들의 조합 및 이들의 치환된 버전의 단위를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서,  $L^{11}$ ,  $L^{12}$ ,  $L^{13}$  및  $L^{14}$  각각은 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬 기, 치환된 알킬, 아릴 기, 치환된 아릴 기 및 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결기)으로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 기를 포함한다.

[0353] 일부 구현예에서,  $L^{11}$ 은 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬 기, 치환된 알킬, 아릴 기, 치환된 아릴 기 또는 디아민을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{11}$ 은 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{11}$ 은 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{11}$ 은 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{11}$ 은 알킬 기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{11}$ 은 아릴 기 또는 치환된 아릴 기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{11}$ 은 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0354] 일부 구현예에서,  $L^{12}$ 는 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬 기, 치환된 알킬, 아릴 기, 치환된 아릴 기 또는 디아민을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{12}$ 는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{12}$ 는 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{12}$ 는 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{12}$ 는 알킬 기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{12}$ 는 아릴 기 또는 치환된 아릴 기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{12}$ 는 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0355] 일부 구현예에서,  $L^{13}$ 은 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬 기, 치환된 알킬, 아릴 기, 치환된 아릴 기 또는 디아민을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{13}$ 은 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{13}$ 은 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{13}$ 은 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{13}$ 은 알킬 기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{13}$ 은 아릴 기 또는 치환된 아릴 기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{13}$ 은 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0356] 일부 구현예에서,  $L^{14}$ 은 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬 기, 치환된 알킬, 아릴 기, 치환된 아릴 기 또는 디아민을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{14}$ 은 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{14}$ 은 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{14}$ 은 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{14}$ 은 알킬 기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{14}$ 은 아릴 기 또는 치환된 아릴 기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{14}$ 은 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0357] 일부 구현예에서,  $L^1$ 은  $-(L^{11})_a-(L^{12})_b-(L^{13})_c-(L^{14})_d$ -를 포함하는 제1 링커이고, 여기서:

[0358]  $-(L^{11})_a$ -는  $-(T^1-V^1)_a$ -이고;

[0359]  $-(L^{12})_b$ -는  $-(T^2-V^2)_b$ -이고;

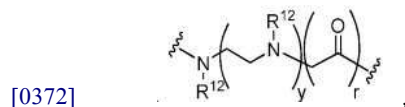
[0360]  $-(L^{13})_c$ -는  $-(T^3-V^3)_c$ -이고;

- [0361]  $-(L^{14})_d^-$ 는  $-(T^4-V^4)_d^-$ 이고,
- [0362] 여기서  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 는 존재하는 경우 테더 기이고;
- [0363]  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 (존재하는 경우) 공유결합 또는 연결 작용기이고;
- [0364] a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 여기서 a, b, c 및 d의 합은 1 내지 4이다.
- [0365] 위에서 기술된 바와 같이, 특정 구현예에서,  $L^{11}$ 은 (예를 들어, 상기 화학식 (I)에 나타난 바와 같이) 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^1$ 은 (예를 들어, 상기 화학식 (I)에 나타난 바와 같이) 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서,  $V^1$ 은 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{12}$ 는 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^2$ 는 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티에 부착되거나, 또는  $V^2$ 는 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{13}$ 은 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^3$ 는 (존재하는 경우) 제1 절단가능한 모이어티에 부착되거나, 또는  $V^3$ 는 (존재하는 경우) 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{14}$ 은 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^4$ 는 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티에 부착되거나, 또는  $V^4$ 는 존재하는 경우 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다.
- [0366] 테더 기  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 와 관련하여, 임의의 편리한 테더 기가 대상 링커에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 는 각각  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_h^-$ , 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세트알 기, 디술퍼드, 히드라진, 및 에스테르로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 기를 포함하고, 여기서 w는 1 내지 20의 정수이고, n은 1 내지 30의 정수이고, p는 1 내지 20의 정수이고, h는 1 내지 12의 정수이다.
- [0367] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는  $(C_1-C_{12})$ 알킬 또는 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬을 포함한다. 특정 구현예에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 1 내지 12개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1 내지 8개의 탄소 원자, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 5개의 탄소 원자 또는 1 내지 4개의 탄소 원자 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 알킬 기이다. 일부 경우에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_1-C_{12}$  알킬, 또는  $C_1-C_{10}$  알킬, 또는  $C_1-C_6$  알킬, 또는  $C_1-C_3$  알킬일 수 있다. 일부 경우에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은  $C_2$ -알킬이다. 예를 들어,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 알킬렌 또는 치환된 알킬렌, 예컨대  $C_1-C_{12}$  알킬렌, 또는  $C_1-C_{10}$  알킬렌, 또는  $C_1-C_6$  알킬렌, 또는  $C_1-C_3$  알킬렌일 수 있다. 일부 경우에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은  $C_2$ -알킬렌(예를 들어,  $CH_2CH_2$ )이다.
- [0368] 특정 구현예에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 1 내지 12개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1 내지 8개의 탄소 원자, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 5개의 탄소 원자, 또는 1 내지 4개의 탄소 원자, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 치환된 알킬 기이다. 일부 경우에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된 알킬, 예컨대 치환된  $C_1-C_{12}$  알킬, 또는 치환된  $C_1-C_{10}$  알킬, 또는 치환된  $C_1-C_6$  알킬, 또는 치환된  $C_1-C_3$  알킬일 수 있다. 일부 경우에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된  $C_2$ -알킬이다. 예를 들어, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된 알킬렌, 예컨대 치환된  $C_1-C_{12}$  알킬렌, 또는 치환된  $C_1-C_{10}$  알킬렌, 또는 치환된  $C_1-C_6$  알킬렌, 또는 치환된  $C_1-C_3$  알킬렌일 수 있다. 일부 경우에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된  $C_2$ -알킬렌이다.
- [0369] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로

아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴을 포함한다. 일부 경우에서, 테더 기(예를 들어,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 아릴 또는 치환된 아릴을 포함한다. 예를 들어, 아릴은 페닐일 수 있다. 일부 경우에서, 치환된 아릴은 치환된 페닐이다. 치환된 페닐은 ( $C_1-C_{12}$ )알킬, 치환된 ( $C_1-C_{12}$ )알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되는 1개 이상의 치환체로 치환될 수 있다. 일부 경우에서, 치환된 아릴은 치환된 페닐이고, 여기서 치환체는 본원에 기술된 바와 같은 제2 절단가능한 모이어티(예를 들어, 효소적으로 절단가능한 모이어티, 예컨대 글리코시드)를 포함한다.

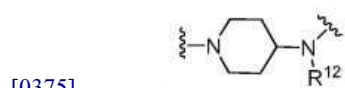
[0370] 일부 경우에서, 테더 기(예를 들어,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴을 포함한다. 일부 경우에서, 테더 기(예를 들어,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬을 포함한다. 일부 경우에서, 테더 기(예를 들어,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴을 포함한다. 일부 경우에서, 치환된 헤테로아릴, 치환된 시클로알킬 또는 치환된 헤테로시클릴 상의 치환체는 본원에 기술된 바와 같은 제2 절단가능한 모이어티(예를 들어, 효소적으로 절단가능한 모이어티, 예컨대 글리코시드)를 포함한다.

[0371] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 에틸렌 디아민(EDA) 모이어티, 예를 들어 EDA 함유 테더를 포함한다. 특정 구현예에서, (EDA)<sub>w</sub>는 1개 이상의 EDA 모이어티를 포함하고, 예컨대 여기서 w는 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6의 정수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다). 연결된 에틸렌 디아민(EDA) 모이어티는 1개 이상의 편리한 위치에서 임의의 편리한 치환체로, 예를 들어 알킬, 치환된 알킬, 아실, 치환된 아실, 아릴 또는 치환된 아릴로 임의로 치환될 수 있다. 특정 구현예에서, EDA 모이어티는 다음 구조로 기술되고:



[0373] 여기서 y는 1 내지 6의 정수이거나, 또는 0 또는 1이고, 각  $R^{12}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서, y는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다. 특정 구현예에서, y는 1이고, r은 0이다. 특정 구현예에서, y는 1이고, r은 1이다. 특정 구현예에서, y는 2이고, r은 0이다. 특정 구현예에서, y는 2이고, r은 1이다. 특정 구현예에서, 각  $R^{12}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서, EDA의 임의의 2개의 인접한  $R^{12}$  기는 환식으로 연결되어 예를 들어 피페라지닐 고리를 형성할 수 있다. 특정 구현예에서, y는 1이고, 2개의 인접한  $R^{12}$  기는 알킬 기이고, 환식으로 연결되어 피페라지닐 고리를 형성한다. 특정 구현예에서, y는 1이고, 인접한  $R^{12}$  기는 수소, 알킬(예를 들어, 메틸) 및 치환된 알킬(예를 들어, 저급 알킬-OH, 예컨대 에틸-OH 또는 프로필-OH)로부터 선택된다.

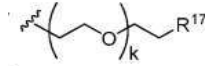
[0374] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 4-아미노-피페리딘(4AP) 모이어티(또한 본원에서는 피페리딘-4-아미노, P4A라고도 부름)를 포함한다. 4AP 모이어티는 1개 이상의 편리한 위치에서 임의의 편리한 치환체로, 예를 들어 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아실, 치환된 아실, 아릴 또는 치환된 아릴로 임의로 치환될 수 있다. 특정 구현예에서, 4AP 모이어티는 다음 구조로 기술되고:



[0376] 여기서  $R^{12}$ 는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜), 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된

아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>12</sup>는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다. 특정 구현예에서, R<sup>12</sup>는 카르복시로 변형된 폴리에틸렌 글리콜이다.

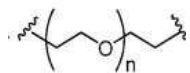
[0377] 특정 구현예에서, R<sup>12</sup>는 다음 구조로 나타낼 수 있는 화학식 (PEG)<sub>k</sub>로 기술되는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함하고:



[0378]

[0379] 여기서 k는 1 내지 20, 예컨대 1 내지 18, 또는 1 내지 16, 또는 1 내지 14, 또는 1 내지 12, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 4, 또는 1 또는 2의 정수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 경우에서, k는 2이다. 특정 구현예에서, R<sup>17</sup>은 OH, COOH, 또는 COOR로부터 선택되고, 여기서 R은 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>17</sup>은 COOH이다.

[0380] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어, T<sup>1</sup>, T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및/또는 T<sup>4</sup>)는 (PEG)<sub>n</sub>을 포함하고, 여기서 (PEG)<sub>n</sub>은 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜 연결 단위이다. 특정 구현예에서, (PEG)<sub>n</sub>은 다음 구조로 기술되고:



[0381]

[0382] 여기서 n은 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6의 정수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 경우에서, n은 2이다. 어떤 경우에서, n은 3이다. 일부 경우에서, n은 6이다. 일부 경우에서, n은 12이다.

[0383] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어, T<sup>1</sup>, T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및/또는 T<sup>4</sup>)는 (AA)<sub>p</sub>를 포함하고, 여기서 AA는 아미노산 잔기이다. 임의의 편리한 아미노산이 이용될 수 있다. 관심 아미노산은 L- 및 D-아미노산, 천연 발생 아미노산 예컨대 20개의 1차 알파-아미노산 및 베타-알라닌 중 임의의 것, 비천연 발생 아미노산(예를 들어, 아미노산 유사체), 예컨대 비천연 발생 알파-아미노산 또는 비천연 발생 베타-아미노산 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 구현예에서, p는 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6의 정수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 특정 구현예에서, p는 1이다. 특정 구현예에서, p는 2이다.

[0384] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어, T<sup>1</sup>, T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및/또는 T<sup>4</sup>)는 화학식 -(CR<sup>13</sup>OH)<sub>h</sub>-로 기술되는 모이어티를 포함하고, 여기서 h는 0이거나 또는 n은 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6의 정수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12이다. 특정 구현예에서, h는 1이다. 특정 구현예에서, h는 2이다. 특정 구현예에서, R<sup>13</sup>은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>13</sup>은 수소이다. 특정 구현예에서, R<sup>13</sup>은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>1-6</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-4</sub> 알킬 또는 C<sub>1-4</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬 또는 C<sub>1-3</sub> 치환된 알킬이다. 특정 구현예에서, R<sup>13</sup>은 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대 C<sub>2-6</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-6</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-4</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-4</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-3</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-3</sub> 치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서, R<sup>13</sup>은

알킬닐 또는 치환된 알킬닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 술포닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$  치환된 아릴, 또는  $C_6$  아릴 또는  $C_6$  치환된 아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_5$  헤테로아릴 또는  $C_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $C_6$  헤테로아릴 또는  $C_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-8}$  시클로알킬 또는  $C_{3-8}$  치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-6}$  시클로알킬 또는  $C_{3-6}$  치환된 시클로알킬, 또는  $C_{3-5}$  시클로알킬 또는  $C_{3-5}$  치환된 시클로알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-8}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-8}$  치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-6}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-6}$  치환된 헤테로시클릴, 또는  $C_{3-5}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-5}$  치환된 헤테로시클릴이다.

[0385] 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택된다. 이들 구현예에서, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴은  $R^{13}$ 에 대해 위에서 기술된 바와 같다.

[0386] 연결 작용기  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 와 관련하여, 임의의 편리한 연결 작용기가 제1 링커  $L^1$ 에서 사용될 수 있다. 관심 연결 작용기는 아미노, 카르보닐, 아미도, 옥시카르보닐, 카르복시, 술포닐, 술포시드, 술포닐아미노, 아미노술포닐, 티오, 옥시, 포스포, 포스포아미데이트, 티오포스포라이데이트 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서,  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 각각 독립적으로 공유결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로부터 선택되고, 여기서  $q$ 는 1 내지 6의 정수이다. 특정 구현예에서,  $q$ 는 1 내지 6의 정수(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6)이다. 특정 구현예에서  $q$ 는 1이다. 특정 구현예에서  $q$ 는 2이다.

[0387] 일부 구현예에서, 각  $R^{15}$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다.

[0388] 각  $R^{15}$ 의 다양한 가능성은 다음과 같이 더 상세히 기술된다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 수소이다. 특정 구현예에서, 각  $R^{15}$ 은 수소이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-4}$  알킬 또는  $C_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬 또는  $C_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알케닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-4}$  알케닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-3}$  알케닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알킬닐 또는 치환된 알킬닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 술포닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$

치환된 아릴, 또는 C<sub>6</sub> 아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 아릴이다. 특정 구현예에서, R<sup>15</sup>은 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5-8</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5-8</sub> 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5</sub> 치환된 헤테로아릴, 또는 C<sub>6</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서, R<sup>15</sup>은 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 시클로알킬 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 시클로알킬, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 시클로알킬 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 시클로알킬, 또는 C<sub>3-5</sub> 시클로알킬 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 시클로알킬이다. 특정 구현예에서, R<sup>15</sup>은 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 헤테로시클릴, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 헤테로시클릴, 또는 C<sub>3-5</sub> 헤테로시클릴 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 헤테로시클릴이다.

[0389] 특정 구현예에서, 각 R<sup>15</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴, 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 이들 구현예에서, 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴 치환체는 R<sup>15</sup>에 대해 위에서 기술된 바와 같다.

[0390] 특정 구현예에서, 테더 기는 아세탈 기, 디설피드, 히드라진 또는 에스테르를 포함한다. 일부 구현예에서, 테더 기는 아세탈 기를 포함한다. 일부 구현예에서, 테더 기는 디설피드를 포함한다. 일부 구현예에서, 테더 기는 히드라진을 포함한다. 일부 구현예에서, 테더 기는 에스테르를 포함한다.

[0391] 위에서 기술된 바와 같이, 일부 구현예에서, L<sup>1</sup>은 -(T<sup>1</sup>-V<sup>1</sup>)<sub>a</sub>-(T<sup>2</sup>-V<sup>2</sup>)<sub>b</sub>-(T<sup>3</sup>-V<sup>3</sup>)<sub>c</sub>-(T<sup>4</sup>-V<sup>4</sup>)<sub>d</sub>-를 포함하는 제1 링커이고, 여기서 a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 여기서 a, b, c 및 d의 합은 1 내지 4이다.

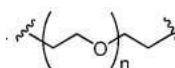
[0392] 일부 구현예에서, 제1 링커 L<sup>1</sup>에서:

[0393] T<sup>1</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬 및 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬로부터 선택되고;

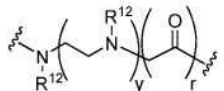
[0394] T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및 T<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (AA)<sub>p</sub>, -(CR<sup>13</sup>OH)<sub>h</sub>-, 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 디설피드, 히드라진 및 에스테르로부터 선택되고;

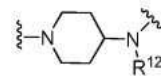
[0395] V<sup>1</sup>, V<sup>2</sup>, V<sup>3</sup> 및 V<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 공유결합, -CO-, -NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-, -NR<sup>15</sup>(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)-, -CONR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>CO-, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>NR<sup>15</sup>-, -NR<sup>15</sup>SO<sub>2</sub>- 및 -P(O)OH-로부터 선택되고, 여기서 q는 1 내지 6의 정수이고;

[0396] 여기서:

[0397]  (PEG)<sub>n</sub>은 이고, 여기서 n은 1 내지 30의 정수이고;

[0398] EDA는 다음 구조를 갖는 에틸렌 디아민 모이어티이고:

[0399]  , 여기서 y는 1 내지 6의 정수이고, r은 0 또는 1이고;

[0400] 4-아미노-피페리딘(4AP)은  이고;

- [0401] AA는 아미노산 잔기이고, 여기서 p는 1 내지 20의 정수이고;
- [0402] 각  $R^{15}$  및  $R^{12}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고, 여기서 임의의 2개의 인접한  $R^{12}$  기는 환식으로 연결되어 피페라지닐 고리를 형성할 수 있고;
- [0403]  $R^{13}$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택된다.
- [0404] 특정 구현예에서,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$  및  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 다음으로부터 선택된다:
- [0405]  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이고;
- [0406]  $T^2$ 는 아미노산 유사체이고,  $V^2$ 는  $-NH-$ 이고;
- [0407]  $T^3$ 는  $(PEG)_n$ 이고,  $V^3$ 는  $-CO-$ 이고;
- [0408] d는 0이다(즉,  $T^4$  및  $V^4$ 가 존재하지 않는다).
- [0409] 특정 구현예에서, 상기 링커 구조의 좌측은 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이머티에 부착되고, 상기 링커 구조의 우측은 제1 절단가능한 모이머티에 부착된다. 예를 들어, 제1 절단가능한 모이머티가 펩티드를 포함하는 경우, 상기 링커 구조의 우측은 제1 절단가능한 모이머티를 포함하는 펩티드의 아미노산에 부착될 수 있다. 일부 경우에서, 상기 링커 구조의 우측의 카르보닐 기는 제1 절단가능한 모이머티를 포함하는 펩티드의 아미노산과 아미드 결합을 형성할 수 있다.
- [0410] 일부 구현예에서,  $L^2$ 는 화학식  $-(L^{21})_e-(L^{22})_f-(L^{23})_g-(L^{24})_h-$ 로 기술되는 제2 링커이고, 여기서  $L^{21}$ ,  $L^{22}$ ,  $L^{23}$  및  $L^{24}$ 는 각각 독립적으로 제2 링커 하위단위이고, e, f, g 및 h는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, e, f, g 및 h의 합은 0 내지 4이다.
- [0411] 특정 구현예에서, e, f, g 및 h의 합은 0이다. 이 경우에서, 제2 링커  $L^2$ 는 존재하지 않는다. 달리 말하면, e, f, g 및 h의 합이 0일 때, 제2 링커  $L^2$ 는 공유결합이다. 특정 구현예에서, e, f, g 및 h의 합은 1이다. 특정 구현예에서, e, f, g 및 h의 합은 2이다. 특정 구현예에서, e, f, g 및 h의 합은 3이다. 특정 구현예에서, e, f, g 및 h의 합은 4이다. 특정 구현예에서, e, f, g 및 h는 각각 1이다. 특정 구현예에서, e, f 및 g는 각각 1이고, h는 0이다. 특정 구현예에서, e 및 f는 각각 1이고, g 및 h는 각각 0이다. 특정 구현예에서, e는 1이고, f, g 및 h는 각각 0이다.
- [0412] 특정 구현예에서,  $L^{21}$ 은 약물(예를 들어, 상기 화학식 (I)에 나타낸 바와 같은  $W^1$ )에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{22}$ 는 존재하는 경우 약물에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{23}$ 은 존재하는 경우 약물에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{24}$ 는 존재하는 경우 약물에 부착된다.
- [0413] 임의의 편리한 링커 하위단위가 제2 링커  $L^2$ 에서 사용될 수 있다. 관심 링커 하위단위는 중합체 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 및 폴리아크릴레이트, 아미노산 잔기(들), 탄수화물 기반 중합체 또는 탄수화물 잔기 및 이의 유도체, 폴리뉴클레오티드, 알킬 기, 아릴 기, 헤테로시클릭 기, 이들의 조합 및 이들의 치환된 버전의 단위를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서,  $L^{21}$ ,  $L^{22}$ ,  $L^{23}$  및  $L^{24}$  각각은 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬 기, 치환된 알킬, 아릴 기, 치환된 아릴 기 및 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결기)으로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 기를 포함한다.
- [0414] 일부 구현예에서,  $L^{21}$ 은 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬 기, 치환된 알킬, 아릴 기, 치환된 아릴 기 또는 디아민을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{21}$ 은 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{21}$ 은 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{21}$ 은 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{21}$ 은 알킬 기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{21}$ 은 아릴 기 또는 치환된 아릴 기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{21}$ 은 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결

기)을 포함한다.

[0415] 일부 구현예에서,  $L^{22}$ 는 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬기, 치환된 알킬, 아릴기, 치환된 아릴기 또는 디아민을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{22}$ 는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{22}$ 는 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{22}$ 는 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{22}$ 는 알킬기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{22}$ 는 아릴기 또는 치환된 아릴기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{22}$ 는 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0416] 일부 구현예에서,  $L^{23}$ 는 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬기, 치환된 알킬, 아릴기, 치환된 아릴기 또는 디아민을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{23}$ 는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{23}$ 는 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{23}$ 는 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{23}$ 는 알킬기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{23}$ 는 아릴기 또는 치환된 아릴기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{23}$ 는 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0417] 일부 구현예에서,  $L^{24}$ 는 (존재하는 경우) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬기, 치환된 알킬, 아릴기, 치환된 아릴기 또는 디아민을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{24}$ 는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{24}$ 는 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{24}$ 는 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{24}$ 는 알킬기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{24}$ 는 아릴기 또는 치환된 아릴기를 포함한다. 일부 구현예에서,  $L^{24}$ 는 디아민(예를 들어, 알킬렌 디아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0418] 일부 구현예에서,  $L^2$ 는  $-(L^{21})_e-(L^{22})_f-(L^{23})_g-(L^{24})_h-$ 를 포함하는 제2 링커이고, 여기서:

[0419]  $-(L^{21})_e-$ 는  $-(T^5-V^5)_e-$ 이고;

[0420]  $-(L^{22})_f-$ 는  $-(T^6-V^6)_f-$ 이고;

[0421]  $-(L^{23})_g-$ 는  $-(T^7-V^7)_g-$ 이고;

[0422]  $-(L^{24})_h-$ 는  $-(T^8-V^8)_h-$ 이고,

[0423] 여기서  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및  $T^8$ 은 존재하는 경우 테더 기이고;

[0424]  $V^5$ ,  $V^6$ ,  $V^7$  및  $V^8$ 은 존재하는 경우 공유결합 또는 연결 작용기이고;

[0425] e, f, g 및 h는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, e, f, g 및 h의 합은 0 내지 4이다.

[0426] 특정 구현예에서,  $L^{21}$ 은 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^5$ 는 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서,  $V^5$ 는 약물(예를 들어, 상기 화학식 (I)에 나타난 바와 같은  $W^1$ )에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{22}$ 는 존재하는 경우 약물에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^6$ 는 존재하는 경우 약물에 부착되거나, 또는  $V^6$ 는 존재하는 경우 약물에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{23}$ 는 존재하는 경우 약물에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^7$ 은 존재하는 경우 약물에 부착되거나, 또는  $V^7$ 은 존재하는 경우 약물에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{24}$ 는 존재하는 경우 약물에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^8$ 은 존재하는 경우 약물에 부착되거나, 또는  $V^8$ 은 존재하는 경우 약물에 부착된다.

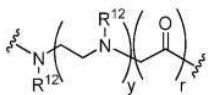
[0427] 테더 기  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및  $T^8$ 과 관련하여, 임의의 편리한 테더 기가 대상 링커에서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및  $T^8$ 은 각각  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_h-$ , 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 디설피드, 히드라진, 및 에스테르로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 기를 포함하고, 여기서  $w$ 는 1 내지 20의 정수이고,  $n$ 은 1 내지 30의 정수이고,  $p$ 는 1 내지 20의 정수이고,  $h$ 는 1 내지 12의 정수이다.

[0428] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는  $(C_1-C_{12})$ 알킬 또는 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬을 포함한다. 특정 구현예에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 1 내지 12개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1 내지 8개의 탄소 원자, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 5개의 탄소 원자, 또는 1 내지 4개의 탄소 원자, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 알킬 기이다. 일부 경우에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_1-C_{12}$  알킬, 또는  $C_1-C_{10}$  알킬, 또는  $C_1-C_6$  알킬, 또는  $C_1-C_3$  알킬일 수 있다. 일부 경우에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은  $C_2$ -알킬이다. 예를 들어,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 알킬렌 또는 치환된 알킬렌, 예컨대  $C_1-C_{12}$  알킬렌, 또는  $C_1-C_{10}$  알킬렌, 또는  $C_1-C_6$  알킬렌, 또는  $C_1-C_3$  알킬렌일 수 있다. 일부 경우에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은  $C_2$ -알킬렌(예를 들어,  $CH_2CH_2$ )이다. 일부 경우에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은  $C_1$ -알킬렌(예를 들어,  $CH_2$ )이다.

[0429] 특정 구현예에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 1 내지 12개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1 내지 8개의 탄소 원자, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 5개의 탄소 원자, 또는 1 내지 4개의 탄소 원자, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 치환된 알킬 기이다. 일부 경우에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된 알킬, 예컨대 치환된  $C_1-C_{12}$  알킬, 또는 치환된  $C_1-C_{10}$  알킬, 또는 치환된  $C_1-C_6$  알킬, 또는 치환된  $C_1-C_3$  알킬일 수 있다. 일부 경우에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된  $C_2$ -알킬이다. 예를 들어, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된 알킬렌, 예컨대 치환된  $C_1-C_{12}$  알킬렌, 또는 치환된  $C_1-C_{10}$  알킬렌, 또는 치환된  $C_1-C_6$  알킬렌, 또는 치환된  $C_1-C_3$  알킬렌일 수 있다. 일부 경우에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된  $C_2$ -알킬렌이다. 일부 경우에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된  $C_1$ -알킬렌이다.

[0430] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴을 포함한다. 일부 경우에서, 테더 기는 아릴 또는 치환된 아릴을 포함한다. 예를 들어, 아릴은 페닐 또는 치환된 페닐일 수 있다. 일부 경우에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴을 포함한다. 일부 경우에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬을 포함한다. 일부 경우에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴을 포함한다.

[0431] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는 에틸렌 디아민(EDA) 모이어티, 예를 들어 위에서 기술된 바와 같은 EDA 모이어티, 예컨대 다음 구조로 기술되는 EDA 모이어티를 포함하고:

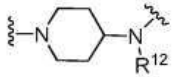


[0432] ,

[0433] 여기서  $y$ 는 1 내지 6의 정수이거나, 또는 0 또는 1이고, 각  $R^{12}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $y$ 는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다. 특정 구현예에서,  $y$ 는 1이고,  $r$ 은 0이다. 특정 구현예에서,  $y$ 는 1이고,  $r$ 은 1이다. 특정 구현예에서,  $y$ 는 2이고,  $r$ 은 0이다. 특정 구현예에서,  $y$ 는 2이고,  $r$ 은 1이다. 특정 구현예에서, 각  $R^{12}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬,

아릴 및 치환된 아릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서, EDA의 임의의 2개의 인접한  $R^{12}$  기는 환식으로 연결되어 예를 들어 피페라지닐 고리를 형성할 수 있다. 특정 구현예에서,  $y$ 는 1이고, 2개의 인접한  $R^{12}$  기는 알킬 기이고, 환식으로 연결되어 피페라지닐 고리를 형성한다. 특정 구현예에서,  $y$ 는 1이고, 인접한  $R^{12}$  기는 수소, 알킬(예를 들어, 메틸) 및 치환된 알킬(예를 들어, 저급 알킬-OH, 예컨대 에틸-OH 또는 프로필-OH)로부터 선택된다.

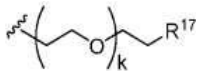
[0434] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는 위에서 기술된 바와 같은 4-아미노-피페리딘 (4AP) 모이어티, 예컨대 다음 구조로 기술되는 4AP 모이어티를 포함하고:



[0435]

[0436] 여기서  $R^{12}$ 는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜), 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^{12}$ 는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다. 특정 구현예에서,  $R^{12}$ 는 카르복시로 변형된 폴리에틸렌 글리콜이다.

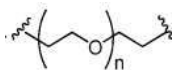
[0437] 특정 구현예에서,  $R^{12}$ 는 다음 구조로 나타낼 수 있는 화학식 (PEG)<sub>k</sub>로 기술되는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함하고:



[0438]

[0439] 여기서  $k$ 는 1 내지 20, 예컨대 1 내지 18, 또는 1 내지 16, 또는 1 내지 14, 또는 1 내지 12, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 4, 또는 1 또는 2의 정수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 경우에서,  $k$ 는 2이다. 특정 구현예에서,  $R^{17}$ 은 OH, COOH, 또는 COOR로부터 선택되고, 여기서 R은 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^{17}$ 은 COOH이다.

[0440] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는 위에서 기술된 바와 같은 폴리에틸렌 글리콜 모이어티(PEG)<sub>n</sub>, 예컨대 다음 구조로 기술되는 (PEG)<sub>n</sub> 모이어티를 포함하고:



[0441]

[0442] 여기서  $n$ 은 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6의 정수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 경우에서,  $n$ 은 2이다. 일부 경우에서,  $n$ 은 3이다. 일부 경우에서,  $n$ 은 6이다. 일부 경우에서,  $n$ 은 12이다.

[0443] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는 (AA)<sub>p</sub>를 포함하고, 여기서 AA는 아미노산 잔기이다. 임의의 편리한 아미노산이 이용될 수 있다. 관심을 끄는 아미노산은 L- 및 D-아미노산, 천연 발생 아미노산 예컨대 20개의 1차 알파-아미노산 및 베타-알라닌 중 임의의 것, 비천연 발생 아미노산(예를 들어, 아미노산 유사체), 예컨대 비천연 발생 알파-아미노산 또는 비천연 발생 베타-아미노산 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 구현예에서,  $p$ 는 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6의 정수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 특정 구현예에서,  $p$ 는 1이다. 특정 구현예에서,  $p$ 는 2이다.

[0444] 특정 구현예에서, 테더 기(예를 들어,  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및/또는  $T^8$ )는 화학식  $-(CR^{13}OH)_h-$ 로 기술되는 모이어티를 포함하고, 여기서  $h$ 는 0이거나 또는  $n$ 은 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6의 정수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12이다. 특정 구현예에서,  $h$ 는 1이다. 특정 구현예에서,  $h$ 는 2이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 수소이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-4}$  알킬 또는  $C_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬 또는  $C_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알케닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-4}$  알케닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-3}$  알케닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 알키닐 또는 치환된 알키닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 술폰일이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$  치환된 아릴, 또는  $C_6$  아릴 또는  $C_6$  치환된 아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_5$  헤테로아릴 또는  $C_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $C_6$  헤테로아릴 또는  $C_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-8}$  시클로알킬 또는  $C_{3-8}$  치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-6}$  시클로알킬 또는  $C_{3-6}$  치환된 시클로알킬, 또는  $C_{3-5}$  시클로알킬 또는  $C_{3-5}$  치환된 시클로알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-8}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-8}$  치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-6}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-6}$  치환된 헤테로시클릴, 또는  $C_{3-5}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-5}$  치환된 헤테로시클릴이다.

[0445] 특정 구현예에서,  $R^{13}$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택된다. 이들 구현예에서, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴은  $R^{13}$ 에 대해 위에서 기술된 바와 같다.

[0446] 연결 작용기  $V^5$ ,  $V^6$ ,  $V^7$  및  $V^8$ 과 관련하여, 임의의 편리한 연결 작용기가 제2 링커  $L^2$ 에서 사용될 수 있다. 관심 연결 작용기는 아미노, 카르보닐, 아미도, 옥시카르보닐, 카르복시, 술폰일, 술폰시드, 술폰일아미노, 아미노술폰일, 티오, 옥시, 포스포, 포스포르아미데이트, 티오포스포라이데이트 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서,  $V^5$ ,  $V^6$ ,  $V^7$  및  $V^8$ 은 각각 독립적으로 공유결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로부터 선택되고, 여기서  $q$ 는 1 내지 6의 정수이다. 특정 구현예에서,  $q$ 는 1 내지 6의 정수(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6)이다. 특정 구현예에서  $q$ 는 1이다. 특정 구현예에서,  $q$ 는 2이다.

[0447] 일부 구현예에서, 각  $R^{15}$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다.

[0448] 각  $R^{15}$ 의 다양한 가능성이 다음과 같이 상세히 기술된다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 수소이다. 특정 구현예에서, 각  $R^{15}$ 은 수소이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-4}$  알킬 또는  $C_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬 또는  $C_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알케닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-4}$  알케닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-3}$  알케닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알킬닐 또는 치환된 알킬닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 술폰닐이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$  치환된 아릴, 또는  $C_6$  아릴 또는  $C_6$  치환된 아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_5$  헤테로아릴 또는  $C_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $C_6$  헤테로아릴 또는  $C_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-8}$  시클로알킬 또는  $C_{3-8}$  치환된 시클로알킬, 예컨대  $C_{3-6}$  시클로알킬 또는  $C_{3-6}$  치환된 시클로알킬, 또는  $C_{3-5}$  시클로알킬 또는  $C_{3-5}$  치환된 시클로알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^{15}$ 은 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-8}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-8}$  치환된 헤테로시클릴, 예컨대  $C_{3-6}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-6}$  치환된 헤테로시클릴, 또는  $C_{3-5}$  헤테로시클릴 또는  $C_{3-5}$  치환된 헤테로시클릴이다.

[0449] 특정 구현예에서, 각  $R^{15}$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴, 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다. 이들 구현예에서, 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴 치환체는  $R^{15}$ 에 대해 위에서 기술된 바와 같다.

[0450] 특정 구현예에서, 테더 기는 아세탈 기, 디술포드, 히드라진 또는 에스테르를 포함한다. 일부 구현예에서, 테더 기는 아세탈 기를 포함한다. 일부 구현예에서, 테더 기는 디술포드를 포함한다. 일부 구현예에서, 테더 기는 히드라진을 포함한다. 일부 구현예에서, 테더 기는 에스테르를 포함한다.

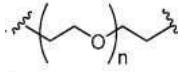
[0451] 위에서 기술된 바와 같이, 일부 구현예에서,  $L^2$ 는  $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h$ -를 포함하는 제2 링커이고, 여기서 e, f, g 및 h는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 여기서 e, f, g 및 h의 합은 0 내지 4이다.

[0452] 일부 구현예에서, 제2 링커  $L^2$ 에서:

[0453]  $T^5$ ,  $T^6$ ,  $T^7$  및  $T^8$ 은 각각 독립적으로  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 또는 치환된 헤테로시클릴,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_h-$ , 4-아미노-피페리딘(4AP), 아세탈 기, 디술포드, 히드라진 및 에스테르로부터 선택되고;

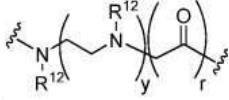
[0454]  $V^5$ ,  $V^6$ ,  $V^7$  및  $V^8$ 은 각각 독립적으로 공유결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로부터 선택되고, 여기서 q는 1 내지 6의 정수이고;

[0455] 여기서:

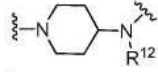


[0456] (PEG)<sub>n</sub>은 이고, 여기서 n은 1 내지 30의 정수이고;

[0457] EDA는 다음 구조를 가지는 에틸렌 디아민 모이어티이고:



[0458] 여기서 y는 1 내지 6의 정수이고, r은 0 또는 1이고;



[0459] 4-아미노-피페리딘(4AP)은 이고;

[0460] AA는 아미노산 잔기이고, 여기서 p는 1 내지 20의 정수이고;

[0461] 각 R<sup>13</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되고;

[0462] 각 R<sup>15</sup>은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택된다.

[0463] 특정 구현예에서, T<sup>5</sup>, T<sup>6</sup>, T<sup>7</sup> 및 T<sup>8</sup> 및 V<sup>5</sup>, V<sup>6</sup>, V<sup>7</sup> 및 V<sup>8</sup>은 존재하지 않는다(즉, e, f, g 및 h의 합이 0이다).

[0464] 특정 구현예에서, T<sup>5</sup>, T<sup>6</sup>, T<sup>7</sup> 및 T<sup>8</sup> 및 V<sup>5</sup>, V<sup>6</sup>, V<sup>7</sup> 및 V<sup>8</sup>은 다음으로부터 선택된다:

[0465] T<sup>5</sup>는 공유결합이고, V<sup>5</sup>는 -C(O)-이고;

[0466] f는 0이고(즉, T<sup>6</sup> 및 V<sup>6</sup>가 존재하지 않고);

[0467] g는 0이고(즉, T<sup>7</sup> 및 V<sup>7</sup>이 존재하지 않고);

[0468] h는 0이다(즉, T<sup>8</sup> 및 V<sup>8</sup>이 존재하지 않는다).

[0469] 특정 구현예에서, T<sup>5</sup>, T<sup>6</sup>, T<sup>7</sup> 및 T<sup>8</sup> 및 V<sup>5</sup>, V<sup>6</sup>, V<sup>7</sup> 및 V<sup>8</sup>은 다음으로부터 선택된다:

[0470] T<sup>5</sup>는 공유결합이고, V<sup>5</sup>는 -CONR<sup>15</sup>-이고;

[0471] T<sup>6</sup>는 알킬이고, V<sup>6</sup>는 -CO-이고;

[0472] g는 0이고(즉, T<sup>7</sup> 및 V<sup>7</sup>이 존재하지 않고);

[0473] h는 0이다(즉, T<sup>8</sup> 및 V<sup>8</sup>이 존재하지 않는다).

[0474] 특정 구현예에서, 상기 링커 구조의 좌측은 제1 절단가능한 모이어티에 부착되고, 상기 링커 구조의 우측은 약물에 부착된다.

[0475] 상기 구조에 제시된 임의의 화학적 실체, 링커 및 커플링 모이어티는 대상 화합물 및 접합체에 사용하기 위해 개조될 수 있다.

[0476] 히드라지닐-인돌릴 및 히드라지닐-피롤로-피리디닐 화합물, 및 접합체 생성 방법에 관한 추가 개시물은 미국 특허 번호 9,310,374 및 미국 특허 번호 9,493,413에서 발견되고, 이들 각각의 개시물은 본원에 참고로 포함된다.

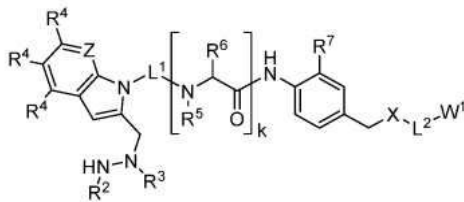
[0477] **접합체 생성에 유용한 화합물**

[0478] 본 개시물은 본원에 기술된 접합체를 생성하는 데 유용한 히드라지닐-인돌릴 및 히드라지닐-피롤로-피리디닐 화합물을 제공한다. 특정 구현예에서, 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 화합물은 항체 및 약

물 또는 활성제의 접합에 유용한 커플링 모이어티일 수 있다. 예를 들어, 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 화합물은 항체에 결합될 수 있고 또한 약물에 결합될 수 있으며, 따라서 간접적으로 항체 및 약물을 함께 결합시킬 수 있다.

[0479] 특정 구현예에서, 화합물은 항체를 약물에 연결하기 위한 절단가능한 링커를 포함하고, 여기서 절단가능한 링커는 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티 및 갈락토시드, 글루코시드, 만노시드, 푸코시드, O-GlcNAc 및 O-GalNAc로 이루어진 군으로부터 선택되는 글리코시드를 포함하는 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함한다.

[0480] 특정 구현예에서, 화합물은 화학식 (II)의 화합물이다:



[0481]

[0482] 여기서

[0483] Z는 CR<sup>4</sup> 또는 N이고;

[0484] X는 O 또는 NR<sup>4</sup>이고;

[0485] R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되거나, 또는 R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>는 임의로 환식으로 연결되어 5원 또는 6원 헤테로시클릴을 형성하고;

[0486] 각 R<sup>4</sup>는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 술폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

[0487] 각 R<sup>5</sup>는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

[0488] 각 R<sup>6</sup>는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클릴 및 치환된 헤테로시클릴로부터 선택되고;

[0489] k는 1 내지 10의 정수이고;

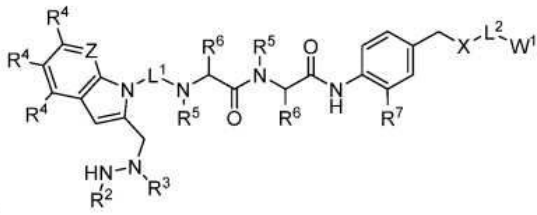
[0490] R<sup>7</sup>은 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티이고;

[0491] L<sup>1</sup>은 제1 링커이고;

[0492] L<sup>2</sup>는 제2 링커이고;

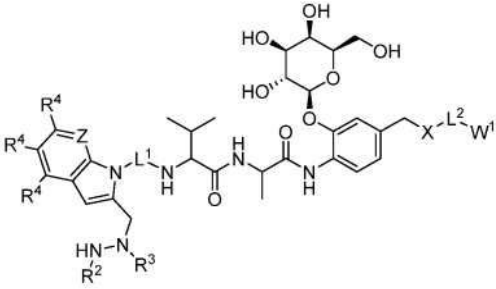
[0493] W<sup>1</sup>은 약물이다.

[0494] 일부 경우에서, k는 2이고, 화합물은 화학식 (IIa)의 화합물이다:



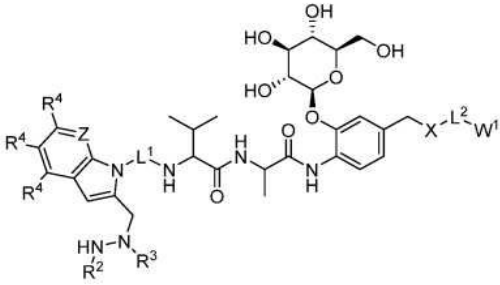
[0495] (IIa)

[0496] 예를 들어, 화합물은 화학식 (IIb)의 화합물일 수 있다:



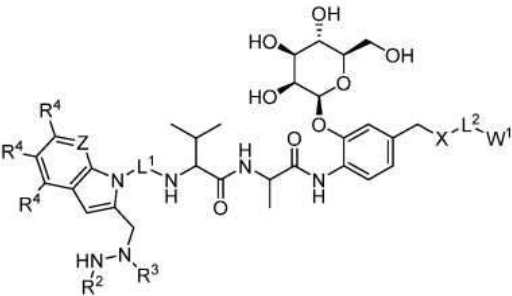
[0497] (IIb)

[0498] 일부 경우에서, 화합물은 화학식 (IIc)의 화합물일 수 있다:



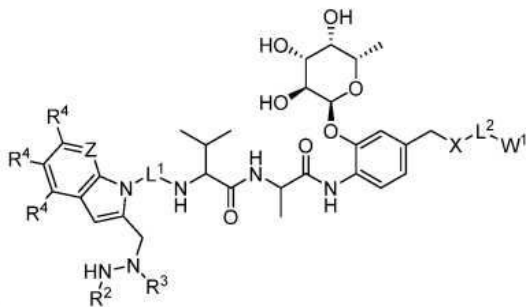
[0499] (IIc)

[0500] 일부 경우에서, 화합물은 화학식 (IId)의 화합물일 수 있다:



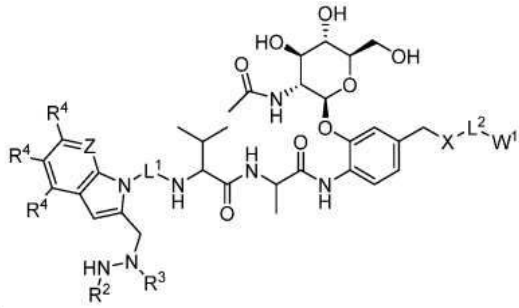
[0501] (IId)

[0502] 일부 경우에서, 화합물은 화학식 (IIe)의 화합물일 수 있다:



[0503] (IIe)

[0504] 일부 경우에서, 화합물은 화학식 (IIf)의 화합물일 수 있다:

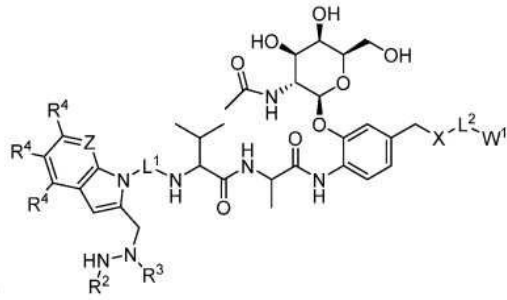


[0505]

(IIf)

[0506]

일부 경우에서, 화합물은 화학식 (IIg)의 화합물일 수 있다:



[0507]

(IIg)

[0508]

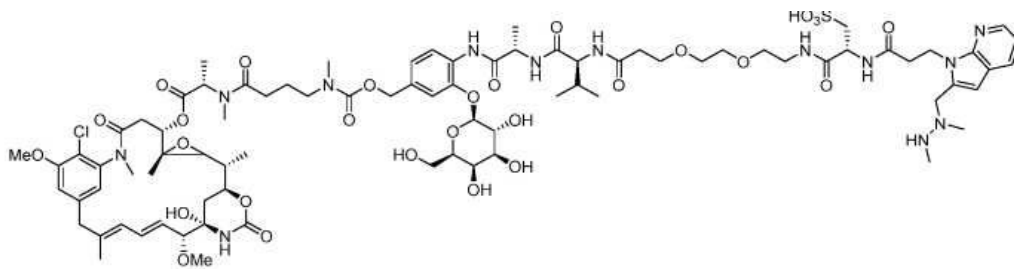
화학식 (II)의 접합체와 관련된 치환체는 본원에서 기술된다. 화학식 (II)에 대한 언급은 또한 화학식 (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIe), (IIf) 및 (IIg)도 포함하는 것을 의도한다.

[0509]

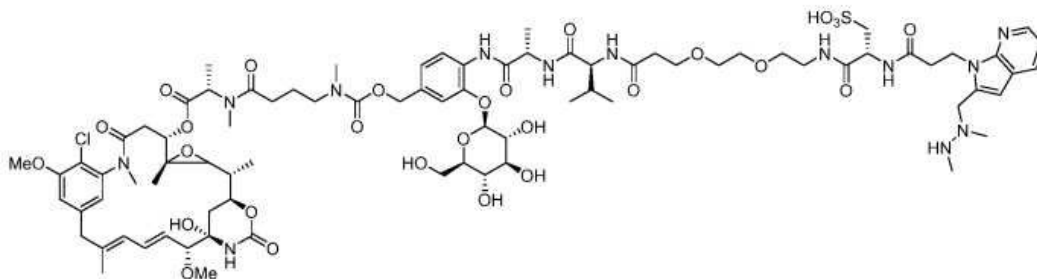
화학식 (II)의 화합물과 관련하여, 치환체 Z, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, L<sup>1</sup>, L<sup>2</sup> 및 W<sup>1</sup>은 화학식 (I)의 접합체와 관련하여 위에서 기술된 바와 같다. 마찬가지로, 화학식 (II)의 제1 링커 L<sup>1</sup> 및 제2 링커 L<sup>2</sup>와 관련하여, T<sup>1</sup>, T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup>, T<sup>4</sup>, V<sup>1</sup>, V<sup>2</sup>, V<sup>3</sup>, 및 V<sup>4</sup> 및 T<sup>5</sup>, T<sup>6</sup>, T<sup>7</sup>, T<sup>8</sup>, V<sup>5</sup>, V<sup>6</sup>, V<sup>7</sup> 및 V<sup>8</sup> 치환체는 화학식 (I)의 접합체와 관련하여 위에서 기술된 바와 같다.

[0510]

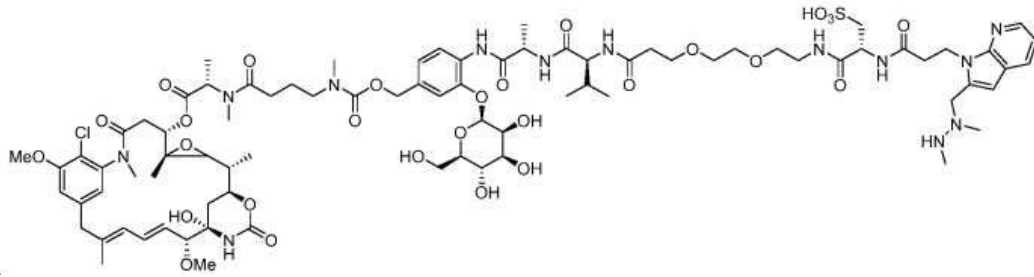
특정 구현예에서, 화합물은 다음 구조를 가진다:



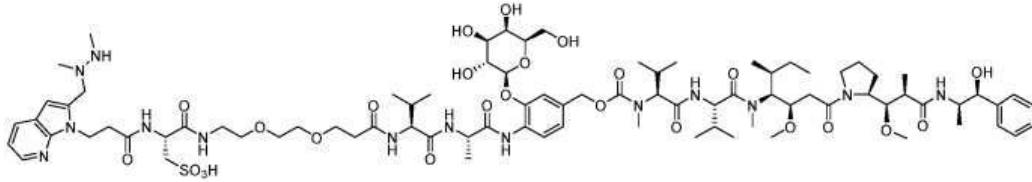
[0511]



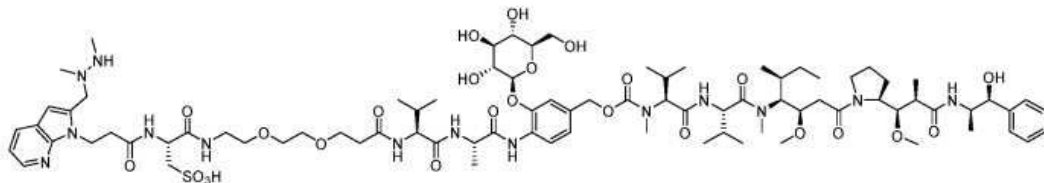
[0512]



[0513]



[0514]



[0515]

[0516]

**항체**

[0517]

위에서 언급된 바와 같이, 대상 접합체는 치환체 W<sup>2</sup>로서 항체를 포함할 수 있고, 여기서 항체는 2-포르밀글리신 (FGly) 잔기를 포함하도록 변형되었다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 아미노산은 그의 표준 명칭, 그의 표준 세 글자 약어 및/또는 그의 표준 한 글자 약어로 지칭될 수 있다: 예컨대 알라닌 또는 Ala 또는 A; 시스테인 또는 Cys 또는 C; 아스파르트산 또는 Asp 또는 D; 글루탐산 또는 Glu 또는 E; 페닐알라닌 또는 Phe 또는 F; 글리신 또는 Gly 또는 G; 히스티딘 또는 His 또는 H; 이소류신 또는 Ile 또는 I; 리신 또는 Lys 또는 K; 류신 또는 Leu 또는 L; 메티오닌 또는 Met 또는 M; 아스파라긴 또는 Asn 또는 N; 프롤린 또는 Pro 또는 P; 글루타민 또는 Gln 또는 Q; 아르기닌 또는 Arg 또는 R; 세린 또는 Ser 또는 S; 트레오닌 또는 Thr 또는 T; 발린 또는 Val 또는 V; 트립토판 또는 Trp 또는 W; 및 티로신 또는 Tyr 또는 Y.

[0518]

특정 구현예에서, 항체의 아미노산 서열은 생체내에서(예를 들어, 세포 내에서 알데히드 태그 함유 단백질의 번역 시) 또는 시험관내에서(예를 들어, 세포 유리 시스템에서 알데히드 태그 함유 단백질을 FGE와 접촉시킴으로써) 포르밀글리신 생성 효소(FGE)의 작용에 의해 2-포르밀글리신(FGly) 잔기로 전환(산화)될 수 있는 세린 또는 시스테인 잔기를 함유하는 술포타제 모티프를 포함하도록 변형된다. 이러한 술포타제 모티프는 또한 본원에서는 FGE-변형 부위라고 부를 수 있다.

[0519]

술포타제 모티프

[0520]

알데히드 태그의 최소 술포타제 모티프는 보통 5 또는 6개 아미노산 잔기의 길이를 가지고, 보통 6개 이하 아미노산 잔기의 길이를 가진다. Ig 폴리펩티드에 제공된 술포타제 모티프는 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7 또는 6개 미만 아미노산 잔기의 길이의 술포타제 모티프를 정의하기 위해 적어도 5 또는 6개 아미노산 잔기의 길이를 가지고, 예를 들어 5 내지 16, 6-16, 5-15, 6-15, 5-14, 6-14, 5-13, 6-13, 5-12, 6-12, 5-11, 6-11, 5-10, 6-10, 5-9, 6-9, 5-8 또는 6-8개 아미노산 잔기의 길이를 가질 수 있다.

[0521]

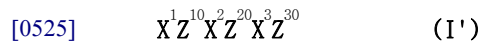
특정 구현예에서, 관심 폴리펩티드는 원상태 아미노산 서열 대비 1개 이상의 아미노산 잔기, 예컨대 2개 이상, 또는 3개 이상, 또는 4개 이상, 또는 5개 이상, 또는 6개 이상, 또는 7개 이상, 또는 8개 이상, 또는 9개 이상,

또는 10개 이상, 또는 11개 이상, 또는 12개 이상, 또는 13개 이상, 또는 14개 이상, 또는 15개 이상, 또는 16개 이상, 또는 17개 이상, 또는 18개 이상, 또는 19개 이상, 또는 20개 이상의 아미노산 잔기가 삽입, 결실, 치환(대체)되어 폴리펩티드에 술포타제 모티프의 서열을 제공한 것들을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 폴리펩티드의 원상태 아미노산 서열 대비 아미노산 서열의 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2개 미만의 아미노산 잔기의 변형(삽입, 첨가, 결실, 및/또는 치환/대체)을 포함한다. 폴리펩티드(예를 들어, 항체)의 원상태 아미노산 서열이 원하는 술포타제 모티프의 1개 이상의 잔기를 함유하는 경우, 잔기의 총 변형 수는 예를 들어 원상태 아미노산 잔기 양측에 있는 아미노산 잔기의 부위 지정 변형(삽입, 첨가, 결실, 치환/대체)에 의해 감소되어 원하는 술포타제 모티프의 서열을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 표적 항체의 원상태 아미노산 서열의 변형 정도는 삽입되거나, 결실되거나, 치환(대체)되거나 또는 첨가되는(예를 들어, N- 또는 C-말단에) 아미노산 잔기의 수를 최소화하기 위해 최소화된다. 표적 항체의 아미노산 서열 변형 정도를 최소화하면 이러한 변형이 항체 기능 및/또는 구조에 미칠 수 있는 영향을 최소화할 수 있다.

[0522] 특히 관심을 끄는 알데히드 태그는 적어도 최소 술포타제 모티프(또한 "공통 술포타제 모티프"라고도 부름)를 포함하는 것이지만, 더 긴 알데히드 태그가 고려될 뿐만 아니라 본 개시물에 포함되고, 본 개시물의 조성물 및 방법에서 용도가 발견된다는 것을 쉽게 인식할 것이다. 따라서 알데히드 태그는 5개 또는 6개 잔기의 최소 술포타제 모티프를 포함할 수 있거나, 또는 더 길 수 있고, 모티프의 N- 및/또는 C-말단 측에서 추가의 아미노산 잔기가 양측에 있을 수 있는 최소 술포타제 모티프를 포함할 수 있다. 예를 들어, 5개 또는 6개 아미노산 잔기의 알데히드 태그 뿐만 아니라 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 초과 아미노산 잔기의 더 긴 아미노산 서열도 고려된다.

[0523] 알데히드 태그는 Ig 중사슬의 C-말단에 또는 그 근처에 존재할 수 있고, 예를 들어, 알데히드 태그는 원상태 야생형 Ig 중사슬의 C-말단의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 내에 존재할 수 있다. 알데히드 태그는 Ig 중사슬의 CH1 도메인 내에 존재할 수 있다. 알데히드 태그는 Ig 중사슬의 CH2 도메인 내에 존재할 수 있다. 알데히드 태그는 Ig 중사슬의 CH3 도메인 내에 존재할 수 있다. 알데히드 태그는 Ig 중사슬 불변 영역에, 예를 들어 카파 중사슬 불변 영역 또는 람다 중사슬 불변 영역에 존재할 수 있다.

[0524] 특정 구현예에서, 사용된 술포타제 모티프는 화학식:



[0526] 로 기술될 수 있고, 여기서

[0527]  $Z^{10}$ 은 시스테인 또는 세린(이것은 또한 (C/S)로도 나타낼 수 있음)이고;

[0528]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기(이것은 또한 (P/A)로도 나타낼 수 있음)이고;

[0529]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산(예를 들어, 아르기닌(R)이고, 리신(K) 또는 히스티딘(H), 예를 들어 리신일 수 있음), 또는 지방족 아미노산(알라닌(A), 글리신(G), 류신(L), 발린(V), 이소류신(I) 또는 프롤린(P), 예를 들어 A, G, L, V 또는 I)이고;

[0530]  $X^1$ 은 존재하거나 또는 존재하지 않고, 존재하는 경우에는 임의의 아미노산, 예를 들어 지방족 아미노산, 황 함유 아미노산, 또는 극성 비하전된 아미노산(즉, 방향족 아미노산 또는 하전된 아미노산이 아닌 것), 예를 들어 L, M, V, S 또는 T, 예를 들어 L, M, S 또는 V일 수 있고, 단 술포타제 모티프가 표적 폴리펩티드의 N-말단에 있을 때는  $X^1$ 이 존재하고;

[0531]  $X^2$  및  $X^3$ 은 독립적으로 임의의 아미노산일 수 있지만, 통상적으로 지방족 아미노산, 극성 비하전된 아미노산 또는 황 함유 아미노산(즉, 방향족 아미노산 또는 하전된 아미노산이 아닌 것), 예를 들어 S, T, A, V, G 또는 C, 예를 들어 S, T, A, V 또는 G이다.

[0532] 항체 중사슬 및/또는 경사슬의 아미노산 서열은 화학식  $XZ^{1,10}XZ^{2,20}XZ^{3,30}$ 의 적어도 5개 아미노산의 서열을 제공하도록 변형될 수 있고, 여기서

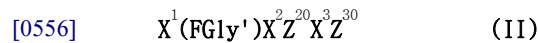
[0533]  $Z^{10}$ 은 시스테인 또는 세린이고;

- [0534]  $Z^{20}$ 는 프롤린 또는 알라닌 잔기이고;
- [0535]  $Z^{30}$ 는 지방족 아미노산 또는 염기성 아미노산이고;
- [0536]  $X^1$ 은 존재하거나 또는 존재하지 않고, 존재하는 경우에는 임의의 아미노산이고, 단 이중 술포타제 모티프가 폴리펩티드의 N-말단에 있을 때는  $X^1$ 이 존재하고;
- [0537]  $X^2$  및  $X^3$ 는 각각 독립적으로 임의의 아미노산이다.
- [0538] 술포타제 모티프는 일반적으로 선택된 FGE, 예를 들어 알데히드 태그가 붙은 폴리펩티드가 발현되는 숙주 세포에 존재하는 FGE 또는 세포유리 시험관내 방법에서 알데히드 태그가 붙은 폴리펩티드와 접촉할 FGE에 의해 전환될 수 있도록 선택된다.
- [0539] 예를 들어, FGE가 진핵 FGE(예를 들어, 인간 FGE를 포함하는 포유류 FGE)인 경우, 술포타제 모티프는 화학식:
- [0540]  $X^1CX^2PX^3Z^{30}$  (I'')
- [0541] 을 가질 수 있고, 여기서
- [0542]  $X^1$ 은 존재할 수 있거나 또는 존재하지 않을 수 있고, 존재하는 경우에는 임의의 아미노산, 예를 들어 지방족 아미노산, 황 함유 아미노산, 또는 극성 비하전된 아미노산(즉, 방향족 아미노산 또는 하전된 아미노산이 아닌 것), 예를 들어 L, M, S 또는 V일 수 있고, 단 술포타제 모티프가 표적 폴리펩티드의 N-말단에 있을 때는  $X^1$ 이 존재하고;
- [0543]  $X^2$  및  $X^3$ 는 독립적으로 임의의 아미노산, 예를 들어, 지방족 아미노산, 황 함유 아미노산, 또는 극성 비하전된 아미노산(즉, 방향족 아미노산 또는 하전된 아미노산이 아닌 것), 예를 들어, S, T, A, V, G 또는 C, 예를 들어 S, T, A, V 또는 G일 수 있고;
- [0544]  $Z^{30}$ 는 염기성 아미노산(예를 들어, 아르기닌(R)이고, 리신(K) 또는 히스티딘(H), 예를 들어 리신일 수 있음), 또는 지방족 아미노산(알라닌(A), 글리신(G), 류신(L), 발린(V), 이소류신(I) 또는 프롤린(P), 예를 들어 A, G, L, V 또는 I일 수 있다.
- [0545] 술포타제 모티프의 구체적인 예는 LCTPSR(서열번호://), MCTPSR(서열번호://), VCTPSR(서열번호://), LCSPSR(서열번호://), LCAPSR(서열번호://), LCVPSR(서열번호://), LCGPSR(서열번호://), ICTPAR(서열번호://), LCTPSK(서열번호://), MCTPSK(서열번호://) VCTPSK(서열번호://), LCSPSK(서열번호://), LCAPSK(서열번호://), LCVPSK(서열번호://), LCGPSK(서열번호://), LCTPSA(서열번호://), ICTPAA(서열번호://), MCTPSA(서열번호://), VCTPSA(서열번호://), LCSPSA(서열번호://), LCAPSA(서열번호://), LCVPSA(서열번호://) 및 LCGPSA(서열번호://)를 포함한다.
- [0546] FGly 함유 서열
- [0547] 변형된 항체 중사슬 및/또는 경사슬에 FGE가 작용할 때, 술포타제 모티프의 세린 또는 시스테인이 FGly로 변형된다. 따라서, FGly 함유 술포타제 모티프는 화학식:
- [0548]  $X^1(\text{FGly})X^2Z^{20,30}X^3Z^{30}$  (I''')
- [0549] 을 가질 수 있고, 여기서
- [0550] FGly는 포르밀글리신 잔기이고;
- [0551]  $Z^{20}$ 는 프롤린 또는 알라닌 잔기(이것은 또한 (P/A)로도 나타낼 수 있음)이고;
- [0552]  $Z^{30}$ 는 염기성 아미노산(예를 들어, 아르기닌(R)이고, 리신(K) 또는 히스티딘(H), 통상적으로 리신일 수 있음), 또는 지방족 아미노산(알라닌(A), 글리신(G), 류신(L), 발린(V), 이소류신(I) 또는 프롤린(P), 예를 들어 A, G, L, V 또는 I)이고;
- [0553]  $X^1$ 은 존재할 수 있거나 또는 존재하지 않을 수 있고, 존재하는 경우에는 임의의 아미노산, 예를 들어 지방족 아

미노산, 황 함유 아미노산 또는 극성 비하전된 아미노산(즉, 방향족 아미노산 또는 하전된 아미노산이 아닌 것), 예를 들어 L, M, V, S 또는 T, 예를 들어 L, M 또는 V일 수 있고, 단 술파타제 모티프가 표적 폴리펩티드의 N-말단에 있을 때는  $X^1$ 이 존재하고;

[0554]  $X^2$  및  $X^3$ 는 독립적으로 임의의 아미노산, 예를 들어, 지방족 아미노산, 황 함유 아미노산, 또는 극성 비하전된 아미노산(즉, 방향족 아미노산 또는 하전된 아미노산이 아닌 것), 예를 들어, S, T, A, V, G 또는 C, 예를 들어 S, T, A, V 또는 G일 수 있다.

[0555] 위에서 기술된 바와 같이, FGly 잔기를 함유하는 변형된 폴리펩티드는 FGly과 약물(예를 들어, 위에서 기술된 바와 같은 히드라지닐-인돌릴 또는 히드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 함유하는 약물)이 반응하여 FGly' 함유 술파타제 모티프를 생성함으로써 약물(예를 들어, 메이탄시노이드)에 접합될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 FGly'는 약물, 예컨대 메이탄신 또는 아우리스타틴에 커플링되는 술파타제 모티프의 변형된 아미노산 잔기를 지칭한다. 따라서, FGly' 함유 술파타제 모티프는 화학식:



[0557] 을 가질 수 있고, 여기서

[0558] FGly'는 화학식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;

[0559]  $Z^{20}$ 는 프롤린 또는 알라닌 잔기(이것은 또한 (P/A)로도 나타낼 수 있음)이고;

[0560]  $Z^{30}$ 는 염기성 아미노산(예를 들어, 아르기닌(R)이고, 리신(K) 또는 히스티딘(H), 통상적으로 리신일 수 있음) 또는 지방족 아미노산(알라닌(A), 글리신(G), 류신(L), 발린(V), 이소류신(I) 또는 프롤린(P), 예를 들어 A, G, L, V 또는 I)이고;

[0561]  $X^1$ 은 존재할 수 있거나 또는 존재하지 않을 수 있고, 존재하는 경우에는 임의의 아미노산, 예를 들어 지방족 아미노산, 황 함유 아미노산 또는 극성 비하전된 아미노산(즉, 방향족 아미노산 또는 하전된 아미노산이 아닌 것), 예를 들어 L, M, V, S 또는 T, 예를 들어 L, M 또는 V일 수 있고, 단 술파타제 모티프가 표적 폴리펩티드의 N-말단에 있을 때는  $X^1$ 이 존재하고;

[0562]  $X^2$  및  $X^3$ 는 독립적으로 임의의 아미노산, 예를 들어, 지방족 아미노산, 황 함유 아미노산, 또는 극성 비하전된 아미노산(즉, 방향족 아미노산 또는 하전된 아미노산이 아닌 것), 예를 들어, S, T, A, V, G 또는 C, 예를 들어 S, T, A, V 또는 G일 수 있다.

[0563] 변형 부위

[0564] 위에서 언급한 바와 같이, 항체의 아미노산 서열은 생체내에서(예를 들어, 세포에서 알데히드 태그 함유 단백질의 번역 시) 또는 시험관내에서(예를 들어, 세포유리 시스템에서 알데히드 태그 함유 단백질을 FGE와 접촉시킴으로써) FGE의 작용에 의해 FGly 잔기로 전환(산화)될 수 있는 세린 또는 시스테인 잔기를 함유하는 술파타제 모티프를 포함하도록 변형된다. 본 개시물의 접합체를 생성하는 데 사용되는 항체는 적어도 Ig 불변 영역, 예를 들어 Ig 중사슬 불변 영역(예를 들어, 적어도 CH1 도메인; 적어도 CH1 및 CH2 도메인; CH1, CH2 및 CH3 도메인; 또는 CH1, CH2, CH3 및 CH4 도메인), 또는 Ig 경사슬 불변 영역을 포함한다. 이러한 Ig 폴리펩티드는 본원에서는 "표적 Ig 폴리펩티드" 또는 "표적 항체"라고 부른다.

[0565] 술파타제 모티프가 도입되는 항체의 부위는 임의의 편리한 부위일 수 있다. 위에서 언급한 바와 같이, 일부 경우에는 삽입되고/거나, 결실되고/거나, 치환(대체)되고/거나, 첨가되는(예를 들어, N- 또는 C-말단에) 아미노산 잔기의 수를 최소화하기 위해 표적 폴리펩티드의 원상태 아미노산 서열의 변형 정도가 최소화된다. 표적 항체의 아미노산 서열 변형 정도를 최소화하면 이러한 변형이 항체 기능 및/또는 구조에 미칠 수 있는 영향을 최소화할 수 있다.

[0566] 항체 중사슬 불변 영역은 임의의 중사슬 이소형의 Ig 불변 영역, 비천연 발생 Ig 중사슬 불변 영역(공통 Ig 중사슬 불변 영역 포함)을 포함할 수 있다. Ig 불변 영역은 알데히드 태그를 포함하도록 변형될 수 있고, 여기서 알데히드 태그는 Ig 불변 영역의 용매-접근가능 루프 영역에 또는 그 영역에 인접하여 존재한다. Ig 불변 영역은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16개 아미노산, 또는 16개 초과 아미노산의 삽입

및/또는 치환에 의해 변형되어 위에서 기술된 바와 같은 술파타제 모티프의 아미노산 서열을 제공한다.

[0567] 일부 경우에서, 알데히드 태그가 붙은 항체는 알데히드 태그가 붙은 Ig 중사슬 불변 영역(예를 들어, 적어도 CH1 도메인; 적어도 CH1 및 CH2 도메인; CH1, CH2 및 CH3 도메인; 또는 CH1, CH2, CH3 및 CH4 도메인)을 포함한다. 알데히드 태그가 붙은 Ig 중사슬 불변 영역은 FGE에 의해 변형되어 FGly으로 변형된 Ig 폴리펩티드를 생성할 수 있는 적어도 하나의 술파타제 모티프를 포함하도록 변형되는 IgA, IgM, IgD, IgE, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소형 중사슬 또는 이의 임의의 동종이형 변이체의 중사슬 불변 영역 서열, 예를 들어 인간 중사슬 불변 영역 서열 또는 마우스 중사슬 불변 영역 서열, 하이브리드 중사슬 불변 영역, 합성 중사슬 불변 영역, 또는 공통 중사슬 불변 영역 서열 등을 포함할 수 있다. Ig 중사슬의 동종이형 변이체는 관련 분야에 알려져 있다. 예를 들어, Jefferis and Lefranc (2009) MAbs 1:4 를 참조한다.

[0568] 일부 경우에서, 알데히드 태그가 붙은 항체는 알데히드 태그가 붙은 Ig 경사슬 불변 영역을 포함한다. 알데히드 태그가 붙은 Ig 경사슬 불변 영역은 FGE에 의해 변형되어 FGly으로 변형된 항체를 생성할 수 있는 적어도 하나의 술파타제 모티프를 포함하도록 변형된 카파 경사슬, 람다 경사슬의 불변 영역 서열, 예를 들어 인간 카파 또는 람다 경사슬 불변 영역, 하이브리드 경사슬 불변 영역, 합성 경사슬 불변 영역 또는 공통 경사슬 불변 영역 등을 포함할 수 있다. 전형적인 불변 영역은 인간 감마 1 및 감마 3 영역을 포함한다. 술파타제 모티프를 제외하고, 변형된 불변 영역은 야생형 아미노산 서열을 가질 수 있거나, 또는 그것은 야생형 아미노산 서열과 적어도 70% 일치하는(예를 들어, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 일치하는) 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0569] 일부 구현예에서 술파타제 모티프는 Ig 폴리펩티드 중사슬의 C-말단이 아닌 위치에 있거나, 또는 C-말단에 더하여 추가의 위치에도 있다. 위에서 언급된 바와 같이, 단리된 알데히드 태그가 붙은 항체는 위에서 기술된 바와 같은 술파타제 모티프를 포함하도록 변형된 중사슬 불변 영역을 포함할 수 있고, 여기서 술파타제 모티프는 항체 중사슬 불변 영역의 표면-접근가능한 루프 영역 내에 또는 그 영역에 인접하여 있다.

[0570] 술파타제 모티프는 Ig 중사슬의 이러한 변형 부위의 이들 아미노산 서열 중 하나 이상 내에 또는 그에 인접하여 제공될 수 있다. 예를 들어, Ig 중사슬 폴리펩티드를 이들 아미노산 서열 중 하나 이상에서 변형해서(예를 들어, 변형이 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하는 경우) 이들 변형 부위에 인접하여 및 N-말단에 및/또는 인접하여 및 C-말단에 술파타제 모티프를 제공할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, Ig 중사슬 폴리펩티드를 이들 아미노산 서열 중 하나 이상에서 변형해서(예를 들어, 변형이 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하는 경우) Ig 중사슬 변형 부위의 임의의 두 잔기 사이에 술파타제 모티프를 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, Ig 중사슬 폴리펩티드는 2개의 모티프를 포함하도록 변형될 수 있고, 이 두 모티프는 서로 인접할 수 있거나 또는 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 초과(예를 들어, 약 1 내지 약 25개, 약 25 내지 약 50개, 또는 약 50 내지 약 100개, 또는 그 초과)의 아미노산에 의해 분리될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 원상태 아미노산 서열이 술파타제 모티프 서열의 1개 이상의 아미노산 잔기를 제공하는 경우, Ig 중사슬 폴리펩티드 아미노산 서열의 변형 부위의 선택된 아미노산 잔기를 변형해서(예를 들어, 변형이 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하는 경우) 변형 부위에 술파타제 모티프를 제공할 수 있다.

[0571] 본 개시물의 항체-약물 접합체에 사용되는 항체는 예를 들어 암세포에 존재하는 항원; 자가면역 세포에 존재하는 항원; 병원성 미생물에 존재하는 항원; 바이러스에 감염된 세포(예를 들어, 인간 면역결핍 바이러스에 감염된 세포)에 존재하는 항원; 질병 세포에 존재하는 항원 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 다양한 항원-결합 특이성을 가질 수 있다. 예를 들어, 항체 접합체는 항원에 결합할 수 있고, 여기서 항원은 세포 표면에 존재한다. 본 개시물의 항체 접합체는 적합한 결합 친화성, 예를 들어  $5 \times 10^{-6}$  M 내지  $10^{-7}$  M,  $10^{-7}$  M 내지  $5 \times 10^{-7}$  M,  $5 \times 10^{-7}$  M 내지  $10^{-8}$  M,  $10^{-8}$  M 내지  $5 \times 10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M 내지  $10^{-9}$  M, 또는  $10^{-9}$  M 초과)의 결합 친화성으로 항원에 결합할 수 있다.

[0572] 비제한적 예로서, 대상 항체 접합체는 암 세포에 존재하는 항원(예를 들어, 종양-특이적 항원; 암 세포에서 과발현되는 항원 등)에 결합할 수 있고, 접합된 모이어티는 약물, 예컨대 세포독성 화합물(예를 들어, 세포독성 소분자, 세포독성 합성 펩티드 등)일 수 있다. 예를 들어, 대상 항체 접합체는 암 세포 상의 항원에 특이적일 수 있고, 여기서 접합된 모이어티는 약물, 예컨대 세포독성 화합물(예를 들어, 세포독성 소분자, 세포독성 합성 펩티드 등)이다.

[0573] 추가의 비제한적 예로서, 대상 항체 접합체는 바이러스로 감염된 세포에 존재하는 항원에 결합할 수 있고(예를

들어, 항원이 바이러스에 의해 암호화되는 경우; 항원이 바이러스에 의해 감염된 세포 유형에서 발현되는 경우 등), 접합된 모이어티는 약물, 예컨대 바이러스 융합 억제제일 수 있다. 예를 들어, 대상 항체 접합체는 바이러스로 감염된 세포에 존재하는 항원에 결합할 수 있고, 접합된 모이어티는 약물, 예컨대 바이러스 융합 억제제일 수 있다.

**[0574] 폴리펩티드와의 접합을 위한 약물**

**[0575]** 본 개시물은 약물-폴리펩티드 접합체(예를 들어, 항체-약물 접합체)를 제공한다. 임의의 많은 약물이 항체에 접합하기 위한 반응 파트너로서 사용하기에 적합하거나, 또는 그렇게 사용하기에 적합하게 되도록 변형될 수 있다. 약물의 예는 소분자 약물 및 펩티드 약물을 포함한다.

**[0576]** 본원에서 사용되는 바와 같은 "소분자 약물"은 관심 제약 활성을 나타내고 일반적으로 800 Da 이하 또는 2000 Da 이하의 분자량을 갖지만, 최대 5 kDa의 분자를 포함할 수 있고, 10 kDa만큼의 크기일 수 있는 화합물, 예를 들어 유기 화합물을 지칭한다. 작은 무기 분자는 탄소 원자를 함유하지 않는 분자를 지칭하는 반면, 작은 유기 분자는 적어도 1개의 탄소 원자를 함유하는 화합물을 지칭한다.

**[0577]** 예를 들어, 약물 또는 활성제는 메이탄신일 수 있다. "메이탄신", "메이탄신 모이어티", "메이탄신 활성제 모이어티" 및 "메이탄신노이드"는 메이탄신 및 이의 유사체 및 유도체, 및 제약학적 활성 메이탄신 모이어티 및/또는 이의 부분을 지칭한다. 폴리펩티드에 접합된 메이탄신은 임의의 다양한 메이탄신노이드 모이어티, 예컨대 비제한적으로 본원에 기술된 바와 같은 메이탄신 및 이의 유사체 및 유도체(예를 들어, 테아실메이탄신)일 수 있다. 다른 경우에, 약물 또는 활성제는 아우리스타틴, 또는 이의 유사체 또는 유도체, 또는 제약학적 활성 아우리스타틴 모이어티 및/또는 이의 부분일 수 있다. 폴리펩티드에 접합되는 아우리스타틴은 임의의 다양한 아우리스타틴 모이어티 예컨대 비제한적으로 본원에 기술된 바와 같은 아우리스타틴 및 이의 유사체 및 유도체일 수 있다. 다른 경우에, 약물 또는 활성제는 두오카르마이신, 또는 이의 유사체 또는 유도체, 또는 제약학적 활성 두오카르마이신 모이어티 및/또는 이의 부분일 수 있다. 폴리펩티드에 접합되는 두오카르마이신은 임의의 다양한 두오카르마이신 모이어티, 예컨대 비제한적으로 본원에 기술된 바와 같은 두오카르마이신 및 이의 유사체 및 유도체일 수 있다.

**[0578]** 특정 구현예에서, 약물은 세포독소, 키나제 억제제, 면역자극제, 톨-유사 수용체(TLR) 효현제, 올리고뉴클레오타이드, 앵타머, 사이토킨, 스테로이드 및 펩티드로부터 선택된다.

**[0579]** 예를 들어, 세포독소는 세포 죽음(예를 들어, 괴사 또는 세포자멸) 또는 세포 생존도 감소를 유발하는 임의의 화합물을 포함할 수 있다.

**[0580]** 키나제 억제제는 아다보세르티프, 아파티닙, 악시티닙, 보수티닙, 세톡시맵, 코비메티닙, 크리조티닙, 카보잔티닙, 다코미티닙, 다사티닙, 엔트렉티닙, 에르다피티닙, 에를로티닙, 포스타마티닙, 게피티닙, 이브루티닙, 이마티닙, 라파티닙, 렌바티닙, 무브리티닙, 닐로티닙, 파조파닙, 페갑타닙, 록솔리티닙, 소라페닙, 수니티닙, 투카티닙, 반데타닙, 베무라페닙 등을 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다.

**[0581]** 면역자극제는 백신(예를 들어, 세균 또는 바이러스 백신), 콜로니 자극 인자, 인터페론, 인터루킨 등을 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다. TLR 효현제는 이미퀴모드, 레시퀴모드 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

**[0582]** 올리고뉴클레오타이드 약물은 포미비르센, 페갑타닙, 미포메르센, 에테플리르센, 데피브로티드, 누시네르센, 골로디르센, 빌토라르센, 볼라네소르센, 이노테르센, 토페르센, 토미네르센 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

**[0583]** 앵타머 약물은 페갑타닙, AS1411, REG1, ARC1779, NU172, ARC1905, E10030, NOX-A12, NOX-E36 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

**[0584]** 사이토킨은 알빈테르페론 알파-2B, 알데스루킨, ALT-801, 아나킨라, 안세스탐, 아보테르민, 발루그라스탐, 뱀페갈데스루킨, 비네트라킨, 신트레데킨 베수도독스, CTCE-0214, 다르베포에틴 알파, 데니루킨 디프티독스, 둘라네르민, 에도데킨 알파, 엠필레르민, 에포에틴 델타, 에리트로포이에틴, 인간 인터루킨-2, 인터페론 알파, 인터페론 알파-2c, 인터페론 알파-n1, 인터페론 알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마-1b, 인터페론 카파, 인터루킨-1 알파, 인터루킨-10, 인터루킨-7, 레노그라스탐, 레리디스탐, 리페그필그라스탐, 로루카푸스프 알파, 맥시-G34, 메톡시 폴리에틸렌 글리콜-에포에틴 베타, 몰그라모스탐, 무플레스탐, 나그레스티펜, 오프렐베킨, 페그필그라스탐, 페그일로테카킨, 페그인터페론 알파-2a, 페그인터페론 알파-2b, 페그인터페론 베타-1a, 페그인터페론 람다-1a, 재조합 CD40-리간드, 레그라모스탐, 로미플로스탐, 사르

그라모스팀, 트롬보포이에틴, 투코투주맙 셀모루킨, 바이러스성 대식세포 염증성 단백질 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

- [0585] 스테로이드 약물은 프레드니솔론, 베타메타손, 텍사메타손, 히드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 데플라자코트 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0586] 본원에서 사용되는 바와 같은 "펩티드 약물"은 아미노산 함유 중합체 화합물을 지칭하고, 천연 발생 및 비천연 발생 펩티드, 올리고펩티드, 시클릭 펩티드, 폴리펩티드 및 단백질 뿐만 아니라 펩티드 모방체를 포함하는 것을 의도한다. 펩티드 약물은 화학적 합성에 의해 얻을 수 있거나 또는 유전적으로 암호화된 공급원(예를 들어, 재조합 공급원)으로부터 생성될 수 있다. 펩티드 약물은 분자량이 다양할 수 있으며 분자량이 200 Da 내지 10 kDa 또는 그 초과일 수 있다. 적합한 펩티드는 세포독성 펩티드; 혈관신생 펩티드; 항혈관신생 펩티드; B 세포를 활성화하는 펩티드; T 세포를 활성화하는 펩티드; 항바이러스 펩티드; 바이러스 용해를 억제하는 펩티드; 하나 이상의 림프구 집단의 생성을 증가시키는 펩티드; 항미생물 펩티드; 성장인자; 성장 호르몬 방출 인자; 혈관활성 펩티드; 항염증성 펩티드; 포도당 대사를 조절하는 펩티드; 항혈전성 펩티드; 항통각성 펩티드; 혈관확장제 펩티드; 혈소판 응집 억제제; 진통제 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0587] 본원에서 기술된 접합체 및 화합물에서 용도가 발견되는 약물의 예는 투불리신 M, 칼리키아미신, SN-38, 엑사테칸, STAT3 억제제, 알파-아마니틴, 아우로라 키나제 억제제, 벨로테칸, 9-아미노캄프토테신(9-AC), 및 안트라시클린을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0588] 약물의 다른 예는 소분자 약물, 예컨대 암 화학요법제를 포함한다. 예를 들어, 폴리펩티드가 종양 세포에 특이성을 갖는 항체(또는 이의 단편)인 경우, 항체는 변형된 아미노산을 포함하도록 본원에 기술된 바와 같이 변형될 수 있고, 이것은 후속해서 암 화학요법제에 접합될 수 있다. 암 화학요법제는 암 세포의 증식을 감소시키는 비펩티드성(즉, 비단백질성) 화합물을 포함하고, 세포독성제 및 세포증식억제제를 포함한다. 화학요법제의 비제한적 예는 알킬화제, 니트로소우레아, 항대사제, 항종양 항생제, 식물 (빈카) 알칼로이드 및 스테로이드 호르몬을 포함한다. 펩티드성 화합물도 또한 사용될 수 있다.
- [0589] 적합한 암 화학요법제는 둘라스타틴 및 이의 활성 유사체 및 유도체; 및 아우리스타틴 및 이의 활성 유사체 및 유도체(예를 들어, 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD), 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF) 등)를 포함한다. 예를 들어, WO 96/33212, WO 96/14856 및 U.S. 6,323,315를 참조한다. 예를 들어, 둘라스타틴 10 또는 아우리스타틴 PE가 본 개시물의 항체-약물 접합체에 포함될 수 있다. 적합한 암 화학요법제는 또한 메이탄시노이드 및 이의 활성 유사체 및 유도체(예를 들어, EP 1391213; 및 Liu 등(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623 참조); 두오카르마이신 및 이의 활성 유사체 및 유도체(예를 들어, 합성 유사체, KW-2189 및 CB 1-TM1 포함); 및 벤조디아제핀 및 이의 활성 유사체 및 유도체(예를 들어, 피롤로벤조디아제핀 (PBD)를 포함한다.
- [0590] 세포 증식을 감소시키는 작용을 하는 작용제는 관련 분야에 알려져 있고 널리 사용된다. 이러한 작용제는 알킬화제, 예컨대 메클로레타민, 시클로포스파미드(Cytosan™), 멜팔란(L-사르콜리신), 카르무스틴(BCNU), 로무스틴(CCNU), 세무스틴(메틸-CCNU), 스트렙토조신, 클로로조토신, 우라실 머스타드, 클로르메틴, 이포스파미드, 클로람부실, 피포브로만, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌티오포스포라민, 부술판, 다카르바진 및 테모졸로미드를 포함하지만 이에 제한되지 않는 질소 머스타드, 니트로소우레아, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트 및 트리아젠을 포함한다.
- [0591] 항대사제는 시타라빈(CYTOSAR-U), 시토신 아라비노사이드, 플루오로우라실(5-FU), 플록수리딘(FudR), 6-티오구아닌, 6-메르캅토프린(6-MP), 펜토스타틴, 5-플루오로우라실(5-FU), 메토티렉세이트, 10-프로파르길-5,8-디데아자폴레이트(PDDF, CB3717), 5,8-디데아자테트라히드로폴산(DDATHF), 류코보린, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴 및 겐시타빈을 포함하지만 이에 제한되지 않는 폴산 유사체, 피리미딘 유사체, 푸린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제를 포함한다.
- [0592] 적합한 천연 생성물 및 이의 유도체(예를 들어, 빈카 알칼로이드, 항종양 항생제, 효소, 림포킨 및 에피도도필로톡신)는 Ara-C, 파클리탁셀(Taxol®), 도세탁셀(Taxotere®), 테옥시코포르마이신, 미토마이신-C, L-아스파라기나제, 아자티오프린; 브레퀴나르; 알칼로이드, 예를 들어 빈크리스틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈데신 등; 포도필로톡신, 예를 들어 에토포시드, 테니포시드 등; 항생제, 예를 들어 안트라시클린, 다우노루비신 히드로클로라이드(다우노마이신, 루비도마이신, 세루비딘), 이다루비신, 독소루비신, 에피루비신 및 모르폴리노 유도체 등; 폐녹시존 비스시클로펩티드, 예를 들어 닥티노마이신; 염기성 당펩티드, 예를 들어 블레오마이신; 안트라퀴

논 글리코시드, 예를 들어 폴리카마이신(미트라마이신); 안트라센디온, 예를 들어 미톡산트론; 아지리노피롤로 인돌레디온, 예를 들어 미토마이신; 마크로시클릭 면역억제제, 예를 들어 시클로스포린, FK-506(타크롤리무스, 프로그라프), 라파마이신 등; 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0593] 다른 항증식성 세포독성제는 나벨벤, CPT-11, 아나스트라졸, 레트라졸, 카페시타빈, 텔록사핀, 시클로포스파미드, 이포사미드 및 드롤록사핀이다.

[0594] 항증식 활성을 가지는 미세소관 침범제(affecting agent)가 또한 사용하기에 적합하고, 알로콜키신(NSC 406042), 할리콘드린 B(NSC 609395), 콜키신(NSC 757), 콜키신 유도체(예를 들어, NSC 33410), 돌스타틴 10(NSC 376128), 메이탄신(NSC 153858), 리족신(NSC 332598), 파클리탁셀(Taxol®), Taxol® 유도체, 도세탁셀(Taxotere®), 티오콜키신(NSC 361792), 트리틸 시스템린, 빈블라스틴 술페이트, 빈크리스틴 술페이트, 에포틸론 A, 에포틸론 B, 디스코더몰리드를 포함하지만 이에 제한되지 않는 천연 및 합성 에포틸론; 에스트라무스틴, 노코다졸 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0595] 사용하기에 적합한 호르몬 조절제 및 스테로이드(합성 유사체 포함)는 아드레노코르티코스테로이드, 예를 들어 프레드니손, 텍사메타손 등; 에스트로겐 및 프레게스틴, 예를 들어 히드록시프로게스테론 카프로에이트, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 메게스트롤 아세테이트, 에스트라디올, 클로미펜, 타목시펜; 등; 및 부신피질 억제제, 예를 들어 아미노글루테티미드; 17 $\alpha$ -에티닐에스트라디올; 디에틸stil베스트롤, 테스토스테론, 플루옥시메스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 테스토라톤, 메틸프레드니솔론, 메틸-테스토스테론, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 클로로트리아니센, 히드록시프로게스테론, 아미노글루테티미드, 에스트라무스틴, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 류플로리드, Flutamide(Drogenil), Toremifene(Fareston) 및 Zoladex®를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 에스트로겐은 증식 및 분화를 자극하고; 따라서 에스트로겐 수용체에 결합하는 화합물은 이 활성을 차단하는 데 사용된다. 코르티코스테로이드는 T 세포 증식을 억제할 수 있다.

[0596] 다른 적합한 화학요법제는 금속 착물, 예를 들어 시스플라틴(cis-DDP), 카르보플라틴 등; 우레아, 예를 들어 히드록시우레아; 및 히드라진, 예를 들어 N-메틸히드라진; 에피도필로톡신; 토포이소머라제 억제제; 프로카르바진; 미톡산트론; 류코보린; 테가푸르 등을 포함한다. 관심을 끄는 다른 항증식제는 면역억제제, 예를 들어 미코페놀산, 탈리도마이드, 데스옥시시페르구알린, 아자스포린, 레플루노마이드, 미조리빈, 아자스피란(SKF 105685); Iressa® (ZD 1839, 4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-메톡시-6-(3-(4-모르폴리닐)프로폭시)퀴나졸린) 등을 포함한다.

[0597] 탁산이 사용하기에 적합하다. "탁산"은 파클리탁셀 뿐만 아니라 임의의 활성 탁산 유도체 또는 전구약물을 포함한다. "파클리탁셀"(본원에서는 이것이 유사체, 제제 및 유도체, 예컨대 예를 들어 도세탁셀, TAXOL™, TAXOTERE™(도세탁셀의 제제), 파클리탁셀의 10-데스아세틸 유사체 및 파클리탁셀의 3'-N-데스벤조일-3'-N-t-부톡시카르보닐 유사체를 포함한다는 것을 이해해야 함)은 관련 분야의 숙련된 자에게 알려진 기술(또한 WO 94/07882, WO 94/07881, WO 94/07880, WO 94/07876, WO 93/23555, WO 93/10076; 미국 특허 번호 5,294,637; 5,283,253; 5,279,949; 5,274,137; 5,202,448; 5,200,534; 5,229,529; 및 EP 590,267 참조)을 이용하여 쉽게 제조될 수 있거나, 또는 예를 들어, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. (*Taxus brevifolia*로부터의 T7402; 또는 *Taxus yunnanensis*로부터의 T-1912)를 포함하여 다양한 상업적 공급처로부터 얻을 수 있다.

[0598] 파클리탁셀은 혼한 화학적으로 입수가능한 형태의 파클리탁셀 뿐만 아니라 유사체 및 유도체(예를 들어, 위에서 언급한 바와 같은 Taxotere™ 도세탁셀) 및 파클리탁셀 접합체(예를 들어, 파클리탁셀-PEG, 파클리탁셀-텍스트란 또는 파클리탁셀-크실로스)를 지칭한다는 것을 이해해야 한다.

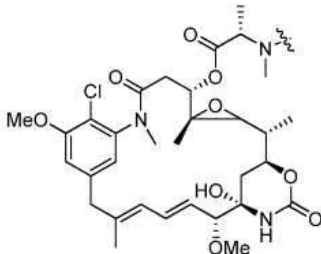
[0599] 친수성 유도체 및 소수성 유도체 둘 모두를 포함하여 다양한 알려진 유도체도 또한 용어 "탁산"에 포함된다. 탁산 유도체는 국제 특허 출원 번호 WO 99/18113에 기술된 갈락토스 및 만노스 유도체; WO 99/14209에 기술된 피페라지노 및 다른 유도체; WO 99/09021, WO 98/22451 및 미국 특허 번호 5,869,680에 기술된 탁산 유도체; WO 98/28288에 기술된 6-티오 유도체; 미국 특허 번호 5,821,263에 기술된 술펜아미드 유도체; 및 미국 특허 번호 5,415,869에 기술된 탁술 유도체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 그것은 WO 98/58927; WO 98/13059; 및 미국 특허 번호 5,824,701에 기술된 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않는 파클리탁셀의 전구약물을 추가로 포함한다.

[0600] 사용하기에 적합한 생물학적 반응 조절물질은 (1) 티로신 키나제(RTK) 활성 억제제; (2) 세린/트레오닌 키나제 활성 억제제; (3) 중앙 관련 항원 길항제, 예컨대 중앙 항원에 특이적으로 결합하는 항체; (4) 세포자멸 수용체 효현제; (5) 인터루킨-2; (6) IFN- $\alpha$ ; (7) IFN- $\gamma$ ; (8) 콜로니 자극 인자; 및 (9) 혈관신생 억제제를 포함하지

만 이에 제한되지 않는다.

[0601] 약물의 예는 소분자 약물, 예컨대 암 화학요법제를 포함한다. 예를 들어, 폴리펩티드가 종양 세포에 특이성을 가지는 항체(또는 이의 단편)인 경우, 항체는 변형된 아미노산을 포함하도록 본원에 기술된 바와 같이 변형될 수 있고, 이것은 후속해서 암 화학요법제, 예컨대 미세소관 침범제에 접합될 수 있다. 특정 구현예에서, 약물은 항증식 활성을 가지는 미세소관 침범제, 예컨대 메이탄시노이드이다.

[0602] 특정 구현예에서, 약물은 다음 구조와 같은 메이탄시노이드이다:

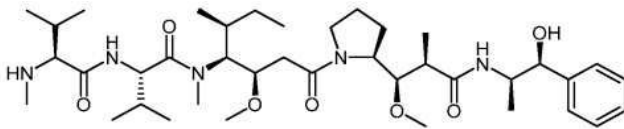


[0603]

[0604] 여기서 ~~~~ 은 본원에 기술된 접합체 및 화합물에서 메이탄시노이드와 제2 링커 L<sup>2</sup> 사이의 부착점을 지시한다.

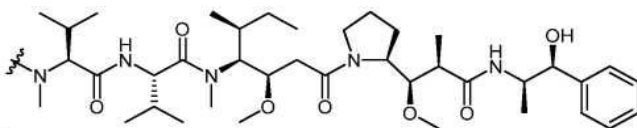
"부착점"은 ~~~~ 기호가 본원에 기술된 접합체 및 화합물에서 메이탄시노이드의 N와 제2 링커 L<sup>2</sup> 사이의 결합을 지시한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 화학식 (I)에서, W<sup>1</sup>은 메이탄시노이드, 예컨대 상기 구조의 메이탄시노이드일 수 있고, 여기서 ~~~~ 은 메이탄시노이드와 제2 링커 L<sup>2</sup> 사이의 부착점을 지시한다. 일부 경우에서, 상기 구조의 메이탄시노이드는 테아실 메이탄신이라고 부를 수 있다.

[0605] 특정 구현예에서, 약물은 항유사분열제, 예컨대 아우리스타틴 또는 활성 아우리스타틴 유사체 또는 이의 유도체(예를 들어, 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD), 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF) 등)이다. 특정 구현예에서, 약물은 다음 구조를 가지는 MMAE이다:



[0606]

[0607] 예를 들어, MMAE 활성제는 다음과 같이 항체-약물 접합체에 포함될 수 있다:

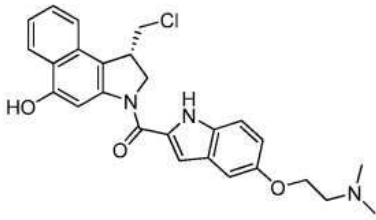


[0608]

[0609] 여기서 ~~~~ 은 본원에 기술된 접합체 및 화합물에서 아우리스타틴과 제2 링커 L<sup>2</sup> 사이의 부착점을 지시한다. 예를 들어, ~~~~ 기호는 예를 들어 화학식 (I)에 나타낸 바와 같이 아우리스타틴의 N와 제2 링커 L<sup>2</sup> 사이의 결합을 지시한다. 예를 들어, 화학식 (I)에서, W<sup>1</sup>은 아우리스타틴, 예컨대 MMAE일 수 있고, 여기서 상기 구조에서 ~~~~ 은 MMAE와 제2 링커 L<sup>2</sup> 사이의 부착점을 지시한다.

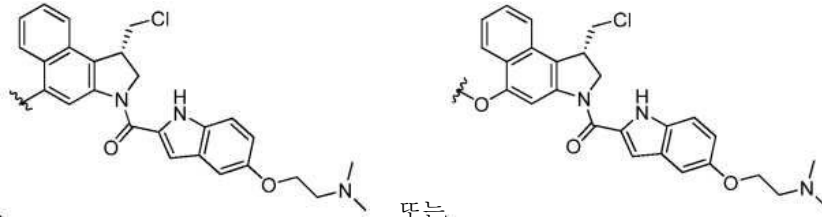
[0610] 특정 구현예에서, 약물은 DNA 알킬화제, 예컨대 듀오카르마이신이다. 듀오카르마이신의 예는 듀오카르마이신 A, 듀오카르마이신 B1, 듀오카르마이신 B2, 듀오카르마이신 C1, 듀오카르마이신 C2, 듀오카르마이신 D, 듀오카르마이신 SA 및 CC-1065를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 듀오카르마이신은 듀오카르마이신 유사체, 예컨대 비체질적으로 아도젤레신, 비젤레신 또는 카르젤레신이다.

[0611] 일부 경우에서, 듀오카르마이신은 다음 구조를 가지는 화합물이다:



[0612]

[0613] 예를 들어, 듀오카르마이신 활성제는 다음과 같이 항체-약물 접합체에 포함될 수 있다:



[0614]

[0615] 여기서  $\sim$  은 본원에 기술된 접합체 및 화합물에서 듀오카르마이신과 제2 링커  $L^2$  사이의 부착점을 지시한다. 예를 들어,  $\sim$  기호는 예를 들어 화학식 (I)에 나타난 바와 같이 듀오카르마이신과 제2 링커  $L^2$  사이의 결합을 지시한다. 예를 들어, 화학식 (I)에서,  $W^1$ 은 듀오카르마이신, 예컨대 위에서 나타난 듀오카르마이신일 수 있고, 여기서  $\sim$  은 듀오카르마이신과 제2 링커  $L^2$  사이의 부착점을 지시한다.

[0616] 위에서 기술된 바와 같이, 특정 구현예에서,  $L^2$ 는 화학식  $-(L^{21})_e-(L^{22})_f-(L^{23})_g-(L^{24})_h-$ 로 기술되는 제2 링커이고, 여기서  $L^{21}$ ,  $L^{22}$ ,  $L^{23}$  및  $L^{24}$ 는 각각 독립적으로 제2 링커 하위단위이다. 특정 구현예에서,  $L^{21}$ 은 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{21}$ 은 존재하는 경우 또한  $W^1$ (약물)에도 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{22}$ 는 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{23}$ 는 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착된다. 특정 구현예에서,  $L^{24}$ 는 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착된다.

[0617] 위에서 기술된 바와 같이, 특정 구현예에서, 제2 링커  $-(L^{21})_e-(L^{22})_f-(L^{23})_g-(L^{24})_h-$ 는 화학식  $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$ 으로 기술되고, 여기서 e, f, g 및 h는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 여기서 e, f, g 및 h의 합은 0 내지 4이다. 특정 구현예에서는, 위에서 기술된 바와 같이,  $L^{21}$ 이 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^5$ 는 제1 절단가능한 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서,  $V^5$ 는  $W^1$ (약물)에 부착된다. 특정 구현예에서는, 위에서 기술된 바와 같이,  $L^{22}$ 가 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^6$ 는 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착되거나, 또는  $V^6$ 는 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착된다. 특정 구현예에서는, 위에서 기술된 바와 같이,  $L^{23}$ 가 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서,  $T^7$ 은 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착되거나, 또는  $V^7$ 은 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착된다. 특정 구현예에서, 위에서 기술된 바와 같이,  $L^{24}$ 는 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착된다. 이와 같이, 특정 구현예에서는,  $T^8$ 이 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착되거나, 또는  $V^8$ 이 존재하는 경우  $W^1$ (약물)에 부착된다.

[0618] 본 개시물의 구현예는 항체가 1개 이상의 약물 모이어티, 예컨대 2개의 약물 모이어티, 3개의 약물 모이어티, 4개의 약물 모이어티, 5개의 약물 모이어티, 6개의 약물 모이어티, 7개의 약물 모이어티, 8개의 약물 모이어티, 9개의 약물 모이어티, 또는 10개 또는 그 초과인 약물 모이어티에 접합된 접합체를 포함한다. 약물 모이어티는 본원에 기술된 바와 같이 항체의 1개 이상의 부위에서 항체에 접합될 수 있다. 특정 구현예에서, 접합체는 0.1 내지 10, 또는 0.5 내지 10, 또는 1 내지 10, 예컨대 1 내지 9, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 7, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 5, 또는 1 내지 4, 또는 1 내지 3, 또는 1 내지 2의 범위의 평균 약물-대-항체 비(DAR)(몰비)를

가진다. 특정 구현예에서, 접합체는 1 내지 2, 예컨대 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9 또는 2의 평균 DAR을 가진다. 특정 구현예에서, 접합체는 1 내지 1.5의 평균 DAR을 가진다. 특정 구현예에서, 접합체는 1.5 내지 2의 평균 DAR을 가진다. 평균은 산술 평균을 의미한다.

[0619] 폴리펩티드에 접합될 약물은 폴리펩티드와의 반응을 위한 반응 파트너를 포함하도록 변형될 수 있다. 약물이 펩티드 약물인 경우, 반응성 모이어티(예를 들어, 아미노옥시 또는 히드라지드는 N-말단 영역, N-말단, C-말단 영역, C-말단에 또는 펩티드의 내부에 있는 위치에 위치할 수 있다. 예를 들어, 방법의 예는 아미노옥시 기를 가지는 펩티드 약물을 합성하는 것을 수반한다. 이 예에서, 펩티드는 Boc-보호된 전구체로부터 합성된다. 펩티드의 아미노 기는 카르복실산 기 및 옥시-N-Boc 기를 포함하는 화합물과 반응할 수 있다. 예로서, 펩티드의 아미노 기는 3-(2,5-디옥소피롤리딘-1-일옥시)프로판산과 반응한다. 카르복실산 기 및 옥시-N-보호기를 포함하는 화합물에 대한 다른 변화는 알킬렌 링커 내의 상이한 탄소 수 및 알킬렌 링커 상의 치환체를 포함할 수 있다. 펩티드의 아미노 기와 카르복실산 기 및 옥시-N-보호기를 포함하는 화합물 사이의 반응은 표준 펩티드 커플링 화학을 통해 발생한다. 사용될 수 있는 펩티드 커플링 시약의 예는 DCC(디시클로헥실카르보디이미드), DIC(디이소프로필카르보디이미드), 디-p-톨루오일카르보디이미드, BDP(1-벤조트리아졸 디에틸포스페이트-1-시클로헥실-3-(2-모르폴리닐에틸)카르보디이미드), EDC(1-(3-디메틸아미노프로필-3-에틸-카르보디이미드 히드로클로라이드), 시아누릭 플루오라이드, 시아누릭 클로라이드, TFFH(테트라메틸 플루오로포름아미디늄 헥사플루오로포스페이트), DPPA(디페닐포스포르아지데이트), BOP(벤조트리아졸-1-일옥시트리스(디메틸아미노) 포스포늄 헥사플루오로포스페이트), HBTU(O-벤조트리아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트), TBTU(O-벤조트리아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트), TSTU(O-(N-숙신이미딜)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트), HATU(N-[(디메틸아미노)-1-H-1,2,3-트리아졸로[4,5,6]-피리딘-1-일메틸렌]-N-메틸메탄아미늄 헥사플루오로포스페이트 N-옥시드), BOP-Cl(비스(2-옥소-3-옥사졸리디닐)포스피닉 클로라이드), PyBOP((1-H-1,2, 3-벤조트리아졸-1-일옥시)-트리스(피롤리디노)포스포늄 테트라플루오로포스페이트), BrOP(브로모트리스(디메틸아미노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트), DEPBT(3-(디에톡시포스포틸옥시)-1,2,3-벤조트리아진-4(3H)-온) PyBrOP(브로모트리스(피롤리디노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 비제한적 예로서, HOBt 및 DIC는 펩티드 커플링 시약으로 사용될 수 있다.

[0620] N-보호기를 포함하는 펩티드에 대해 아미노-옥시 작용기를 노출시키는 탈보호를 수행한다. N-옥시숙신이미드 기의 탈보호는 예를 들어 시클릭 아미드 기에 대한 표준 탈보호 조건에 따라 발생한다. 탈보호 조건은 Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Chemistry, 3rd Ed., 1999, John Wiley & Sons, NY and Harrison 등에서 발견할 수 있다. 특정 탈보호 조건은 히드라진 시약, 아미노 시약 또는 수소화붕소나트륨을 포함한다. Boc 보호기의 탈보호는 TFA로 발생할 수 있다. 탈보호를 위한 다른 시약은 히드라진, 메틸히드라진, 페닐히드라진, 수소화붕소나트륨 및 메틸아민을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 생성물 및 중간체는 통상적인 수단, 예컨대 HPLC 정제로 정제할 수 있다.

[0621] 통상의 숙련된 기술자는 pH 및 입체장애(즉, 관심 반응 파트너와의 반응으로의 아미노산 잔기의 접근성)와 같은 인자가 중요하다는 것을 인식할 것이다. 반응 조건을 변경하여 최적 접합 조건을 제공하는 것은 통상의 장인의 기술이며 관련 분야에서는 일상적이다. 접합이 살아있는 세포 내에 또는 살아있는 세포 상에 존재하는 폴리펩티드로 수행되는 경우, 조건은 생리학적으로 상용성이 있도록 선택된다. 예를 들어, 반응이 일어나는 것을 허용하기에 충분한 시간 동안에, 하지만 세포가 허용하는 기간(예를 들어, 약 30 분 내지 1 시간) 내에 일시적으로 pH가 떨어질 수 있다. 세포 표면 상에서 폴리펩티드의 변형을 수행하기 위한 생리학적 조건은 세포 표면 아지드를 보유하는 세포의 변형에서 케톤-아지드 반응에 사용되는 것과 유사할 수 있다(예를 들어, U.S. 6,570,040 참조).

[0622] 본원에 개시된 화합물 또는 접합체와의 반응 파트너의 역할을 하는 α-친핵성 기를 함유하거나 또는 그를 함유하도록 변형된 소분자 화합물은 또한 본 개시물의 폴리펩티드-약물 접합체에서 약물로서 사용하기 위해 고려된다. 관심 화합물을 합성하는 데 유용한 화학적 합성 반응식 및 조건에 대한 일반적인 방법은 관련 분야에 알려져 있다(예를 들어, Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Fifth Edition, Wiley-Interscience, 2001; 또는 Vogel, A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis, Fourth Edition, New York: Longman, 1978).

[0623] **제제**

[0624] 본 개시물의 접합체는 다양한 상이한 방식으로 제제화될 수 있다. 일반적으로, 접합체가 항체-약물 접합체인 경

우, 접합체는 약물, 항체, 치료할 병태 및 사용할 투여 경로와 상용성이 있는 방식으로 제제화된다.

- [0625] 일부 구현예에서는, 본 개시물의 임의의 접합체 및 제약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 제공된다.
- [0626] 접합체(예를 들어, 항체-약물 접합체)는 임의의 적합한 형태, 예를 들어 제약학적으로 허용되는 염의 형태로 제공될 수 있고, 임의의 적합한 투여 경로, 예를 들어 경구, 국소 또는 비경구 투여를 위해 제제화될 수 있다. 접합체가 주사가능한 액체로 제공되는 경우(예컨대 그들이 정맥내로 또는 직접적으로 조직 내로 투여되는 구현예에서), 접합체는 즉시 사용가능한 투여 형태로서 또는 제약학적으로 허용되는 담체 및 부형제로 구성되는 재구성가능한 저장안정성 분말 또는 액체로서 제공될 수 있다.
- [0627] 접합체를 제제화하는 방법은 쉽게 입수가 가능한 것들로부터 개조될 수 있다. 예를 들어, 접합체는 치료적 유효량의 접합체 및 제약학적으로 허용되는 담체(예를 들어, 식염수)를 포함하는 제약 조성물에 제공될 수 있다. 제약 조성물은 임의로 다른 첨가제(예를 들어, 완충제, 안정제, 방부제 등)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 제제는 포유류에게 투여하기에 적합하고, 예컨대 인간에게 투여하기에 적합한 것들이다.
- [0628] **치료 방법**
- [0629] 본 개시물의 항체-약물 접합체는 모 약물(즉, 항체에 접합되기 전의 약물)의 투여에 의해 치료할 수 있는 대상체에서의 병태 또는 질병의 치료에서 용도가 발견된다.
- [0630] 일부 구현예에서, 대상체에게 유효량(예를 들어, 치료적 유효량)의 본 개시물의 임의의 접합체를 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.
- [0631] 특정 측면에서, 대상체의 표적 부위에 약물을 전달하는 방법이 제공되고, 이 방법은 대상체에게 본 개시물의 임의의 접합체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 투여하는 것은 대상체의 표적 부위에서 접합체로부터 치료적 유효량의 약물을 방출하는 데 효과적이다. 예를 들어, 본원에서 기술된 바와 같이, 본 개시물의 항체-약물 접합체는 절단가능한 링커, 예컨대 제1 효소적으로 절단가능한 모이어티 및 제2 효소적으로 절단가능한 모이어티를 포함하는 효소적으로 절단가능한 링커를 포함할 수 있다. 일부 경우에서, 절단가능한 링커는 약물의 원하는 표적 작용 부위에서 항체로부터 약물을 분리하거나 또는 방출하기에 적절한 조건 하에서 절단될 수 있다. 예를 들어, 제1 절단가능한 링커를 절단으로부터 보호하는 제2 절단가능한 링커는 제1 절단가능한 모이어티가 절단되는 것을 허용하기 위해 절단될 수 있고, 그 결과로 절단가능한 링커가 둘 이상의 부분으로 절단되고, 따라서 약물을 원하는 작용 부위에서 항체-약물 접합체로부터 방출한다.
- [0632] 특정 구현예에서, 제1 절단가능한 모이어티는 효소적으로 절단가능한 모이어티일 수 있다. 일부 경우에서, 제1 절단가능한 모이어티의 절단을 촉진하는 효소는 치료될 대상체에게 투여되는(즉, 치료될 대상체에게 외인성인) 효소이다. 예를 들어, 제1 효소는 본원에 기술된 항체-약물 접합체의 투여 전, 투여와 동시에 또는 투여 후에 투여될 수 있다.
- [0633] 특정 구현예에서, 제2 절단가능한 모이어티는 효소적으로 절단가능한 모이어티일 수 있다. 일부 경우에서, 제2 절단가능한 모이어티의 절단을 촉진하는 효소는 치료될 대상체에게 투여되는(즉, 치료될 대상체에게 외인성인) 효소이다. 예를 들어, 제2 효소는 본원에 기술된 항체-약물 접합체의 투여 전, 투여와 동시에 또는 투여 후에 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 효소 및 제2 효소는 상이한 효소이다.
- [0634] 다른 경우에서, 제1 절단가능한 모이어티의 절단을 촉진하는 제1 효소는 치료될 대상체에 존재하는(즉, 치료될 대상체에게 내인성인) 효소이다. 예를 들어, 제1 효소는 항체-약물 접합체의 약물의 원하는 작용 부위에 존재할 수 있다. 항체-약물 접합체의 항체는 원하는 작용 부위에 특이적으로 표적화될 수 있고(예를 들어, 원하는 작용 부위에 존재하는 항원에 특이적으로 결합할 수 있고), 여기서 원하는 작용 부위는 또한 제1 효소의 존재를 포함한다. 일부 경우에서, 제1 효소는 치료될 대상체의 체내의 다른 영역과 비교하여 원하는 작용 부위에 과잉으로 존재한다. 예를 들어, 제1 효소는 치료될 대상체의 체내의 다른 영역과 비교하여 원하는 작용 부위에서 과발현될 수 있다. 일부 경우에서, 제1 효소는 특정 영역 또는 위치에서 제1 효소의 국지화로 인해 원하는 작용 부위에 과잉으로 존재한다. 예를 들어, 제1 효소는 원하는 작용 부위 내의 특정 구조 예컨대 리소솜과 연관될 수 있다. 일부 경우에서, 제1 효소는 대상체의 체내의 다른 영역에 비해 리소솜에 과잉으로 존재한다. 일부 구현예에서, 제1 효소를 포함하는 리소솜은 항체-약물 접합체의 약물의 원하는 작용 부위에서, 예컨대 약물로 치료될 암 또는 종양의 부위에서 발견된다. 특정 구현예에서, 제1 효소는 프로테아제, 예컨대 인간 프로테아제 효소(예를 들어, 카텝신 B)이다.

- [0635] 특정 구현예에서, 제2 절단가능한 모이어티의 절단을 촉진하는 제2 효소는 치료될 대상체에 존재하는(즉, 치료될 대상체에게 내인성인) 효소이다. 예를 들어, 제2 효소는 항체-약물 접합체의 약물의 원하는 작용 부위에 존재할 수 있다. 항체-약물 접합체의 항체는 원하는 작용 부위에 특이적으로 표적화될 수 있으며(예를 들어, 원하는 작용 부위에 존재하는 항원에 특이적으로 결합할 수 있으며), 여기서 원하는 작용 부위는 또한 제2 효소의 존재를 포함한다. 일부 경우에서, 제2 효소는 치료될 대상체의 체내의 다른 영역과 비교하여 원하는 작용 부위에 과잉으로 존재한다. 예를 들어, 제2 효소는 치료될 대상체의 체내의 다른 영역과 비교하여 원하는 작용 부위에서 과발현될 수 있다. 일부 경우에서, 제2 효소는 특정 영역 또는 위치에서 제2 효소의 국지화로 인해 원하는 작용 부위에 과잉으로 존재한다. 예를 들어, 제2 효소는 원하는 작용 부위 내의 특정 구조 예컨대 리소솜과 연관될 수 있다. 일부 경우에서, 제2 효소는 대상체 체내의 다른 영역과 비교하여 리소솜에 과잉으로 존재한다. 일부 구현예에서, 제2 효소를 포함하는 리소솜은 항체-약물 접합체의 약물의 원하는 작용 부위에서, 예컨대 약물로 치료될 암 또는 종양의 부위에서 발견된다. 특정 구현예에서, 제2 효소는 글리코시다제, 예컨대 갈락토시다제, 글루코시다제, 만노시다제, 푸코시다제 등이다.
- [0636] 임의의 적합한 효소가 본원에 기술된 항체-약물 접합체의 제1 절단가능한 모이어티 및 제2 절단가능한 모이어티의 절단에 사용될 수 있다. 다른 효소, 예컨대 비제한적으로 다른 척추동물(예를 들어, 영장류, 마우스, 래트, 고양이, 돼지, 메추라기, 염소, 개 등)로부터의 효소도 또한 본원에 기술된 항체-약물 접합체의 제1절단가능한 모이어티 및 제2 절단가능한 모이어티의 절단에 사용하기에 적합할 수 있다.
- [0637] 특정 구현예에서, 항체-약물 접합체는 표준 조건 하에서 실질적으로 안정하다. 실질적으로 안정하다는 것은 항체-약물 접합체의 절단가능한 링커가 위에서 기술된 바와 같은 제1 효소 및 제2 효소의 부재 하에서 상당한 양의 절단을 겪지 않는다는 것을 의미한다. 예를 들어, 위에서 기술된 바와 같이, 제2 절단가능한 모이어티는 제1 절단가능한 모이어티가 절단되는 것을 방지할 수 있고, 이와 같이 항체-약물 접합체의 절단가능한 링커는 위에서 기술된 바와 같은 제2 효소의 부재 하에서는 상당한 양의 절단을 겪지 않는다. 예를 들어, 항체-약물 접합체의 절단가능한 링커는 실질적으로 안정할 수 있고, 이렇게 해서 제1 효소 및/또는 제2 효소의 부재 하에서는 항체-약물 접합체의 25% 이하, 예컨대 20% 이하, 또는 15% 이하, 또는 10% 이하, 또는 5% 이하, 또는 4% 이하, 또는 3% 이하, 또는 2% 이하, 또는 1% 이하가 절단된다. 일부 경우에서, 항체-약물 접합체는 실질적으로 안정하고, 이렇게 해서 항체-약물 접합체의 절단가능한 링커가 제1 효소 및/또는 제2 효소의 부재 하에서는 상당한 양의 절단을 겪지 않지만, 제1 효소 및 제2 효소가 존재할 때는 절단될 수 있다. 예를 들어, 항체-약물 접합체는 대상체에게 투여된 후 실질적으로 안정할 수 있다. 일부 경우에서, 항체-약물 접합체는 대상체에게 투여된 후 실질적으로 안정하고, 그 다음에, 항체-약물 접합체가 원하는 작용 부위에서 제2 효소의 존재 하에 있을 때, 제2 절단가능한 모이어티가 절단가능한 링커로부터 절단될 수 있고, 따라서 제1 절단가능한 모이어티를 제1 효소에 의한 후속 절단에 노출시키고, 이것은 결국 원하는 작용 부위에서 약물을 방출한다. 특정 구현예에서, 대상체에게 투여한 후 항체-약물 접합체는 제1 효소 및/또는 제2 효소의 부재 하에서는 연장된 기간 동안, 예컨대 1 시간 이상, 또는 2 시간 이상, 또는 3 시간 이상, 또는 4 시간 이상, 또는 5 시간 이상, 또는 6 시간 이상, 또는 7 시간 이상, 또는 8 시간 이상, 또는 9 시간 이상, 또는 10 시간 이상, 또는 15 시간 이상, 또는 20 시간 이상, 또는 24 시간(1 일) 이상, 또는 2일 이상, 또는 3일 이상, 또는 4일 이상, 또는 5일 이상, 또는 6일 이상, 또는 7일(1주) 이상 동안 안정하다. 특정 구현예에서, 항체-약물 접합체는 제1 효소 및/또는 제2 효소의 부재 하에서 연장된 기간 동안 어느 범위의 pH 값, 예컨대 2 내지 10, 또는 3 내지 9, 또는 4 내지 8, 또는 5 내지 8, 또는 6 내지 8, 또는 7 내지 8의 범위의 pH에서 안정하다.
- [0638] 위에서 기술된 바와 같이, 본 개시물의 항체-약물 접합체는 모 약물의 투여에 의해 치료할 수 있는 대상체의 병태 또는 질병의 치료에서 용도가 발견된다. "치료"는 적어도 숙주를 괴롭히는 병태와 관련된 증상의 호전이 달성됨을 의미하고, 여기서 호전은 넓은 의미로 사용되어 적어도 치료 중인 병태와 관련된 매개변수, 예를 들어 증상의 크기의 감소를 지칭한다. 이와 같이, 치료는 또한 병리학적 병태, 또는 적어도 그와 관련된 증상이 완전히 억제되거나, 예를 들어 발생하는 것이 방지되거나, 또는 중지되고, 예를 들어 종결되고, 이렇게 해서 숙주가 병태, 또는 적어도 병태를 특징짓는 증상으로 더 이상 고통받지 않는 상황을 포함한다. 따라서 치료는 다음을 포함한다: (i) 예방, 즉, 임상 증상이 발달하지 않게 하는 것, 예를 들어 질병이 유해한 상태로 진행되는 것을 방지하는 것을 포함하여 임상 증상의 발달 위험을 감소시키는 것; (ii) 억제, 즉 임상 증상의 발달 또는 추가 발달을 정지시키는 것, 예를 들어 활성 질병을 완화하거나 또는 완전히 억제하는 것; 및/또는 (iii) 경감, 즉 임상 증상의 퇴행을 야기하는 것.
- [0639] 치료될 대상체는 요법을 필요로 하는 대상체일 수 있고, 여기서 치료될 대상체는 모 약물을 사용하여 치료될 수 있는 대상체이다. 따라서, 다양한 대상체가 본원에 개시된 항체-약물 접합체를 사용하여 치료될 수 있다. 일반

적으로 이러한 대상체는 "포유류"이고, 인간이 관심을 끈다. 다른 대상체는 집에서 기르는 애완동물(예를 들어, 개 및 고양이), 가축(예를 들어, 소, 돼지, 염소, 말 등), 설치류(예를 들어, 마우스, 기니피그 및 래트, 예를 들어 질병의 동물 모델에서처럼), 뿐만 아니라 비인간 영장류(예를 들어, 침팬지 및 원숭이)를 포함할 수 있다.

[0640] 투여되는 항체-약물 접합체의 양은 처음에 모 약물의 용량 및/또는 투여량 레지멘의 지침에 기초하여 결정될 수 있다. 일반적으로, 항체-약물 접합체는 결합된 약물의 표적화된 전달 및/또는 향상된 혈청 반감기를 제공할 수 있고, 따라서 투여량 레지멘에 감소된 용량 또는 감소된 투여 중 적어도 하나를 제공한다. 따라서, 항체-약물 접합체는 본 개시물의 항체-약물 접합체로 접합되기 전의 모 약물에 비해 투여량 레지멘에 감소된 용량 및/또는 감소된 투여를 제공할 수 있다.

[0641] 또한, 위에서 언급된 바와 같이, 항체-약물 접합체가 약물 전달의 제어된 화학량론을 제공할 수 있기 때문에, 항체-약물 접합체의 투여량은 항체-약물 접합체 기준으로 제공되는 약물 분자의 수에 기초하여 계산할 수 있다.

[0642] 일부 구현예에서, 항체-약물 접합체의 다수의 용량이 투여된다. 항체-약물 접합체의 투여 빈도는 임의의 다양한 인자, 예를 들어 증상의 중증도, 대상체의 병태 등에 의존하여 달라질 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 항체-약물 접합체는 월 1회, 월 2회, 월 3회, 격주, 주 1회(qwk), 주 2회, 주 3회, 주 4회, 주 5회, 주 6회, 격일, 매일(qd/od), 1일 2회(bds/bid), 또는 1일 3회(tds/tid) 등으로 투여된다.

[0643] **암 치료 방법**

[0644] 본 개시물은 본 개시물의 접합체를 암을 앓는 개체에게 전달하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 이 방법은 암종, 육종, 백혈병 및 림프종을 포함한 폭넓은 다양한 암을 치료하는 데 유용하다. 암과 관련하여, 용어 "치료하는 것"은 다음 중 하나 이상(예를 들어, 각각)을 포함한다: 고형 종양의 성장을 감소시키는 것, 암세포의 복제를 억제하는 것, 전체 종양 부담을 감소시키는 것, 및 암과 관련된 하나 이상의 증상을 호전시키는 것.

[0645] 대상 방법을 사용하여 치료할 수 있는 암종은 식도 암종, 간세포 암종, 기저 세포 암종(피부암의 형태), 편평세포 암종(다양한 조직), 전이 세포 암종(방광의 악성 신생물)을 포함한 방광 암종, 기관지원성 암종, 결장 암종, 결장직장 암종, 위 암종, 폐의 소세포 암종 및 비소세포 암종을 포함한 폐 암종, 부신피질 암종, 갑상선 암종, 췌장 암종, 유방 암종, 난소 암종, 전립선 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 낭포선암종, 수질 암종, 신세포 암종, 관상피내암종 또는 담관 암종, 용모막암종, 정상피종, 배아 암종, 율름 종양, 자궁경부 암종, 자궁 암종, 고환 암종, 골형성 암종, 상피 암종, 및 비인두 암종 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0646] 대상 방법을 사용하여 치료될 수 있는 육종은 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 척색종, 골원성 육종, 골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 중피종, 유잉 육종, 평활근육종, 횡문근육종, 및 다른 연조직 육종을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0647] 대상 방법을 사용하여 치료될 수 있는 다른 고형 종양은 신경아교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 뿔지교종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종 및 망막모세포종을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0648] 대상 방법을 사용하여 치료될 수 있는 백혈병은 a) 만성 골수증식 증후군(다능성 조혈 줄기 세포의 신생물성 장애); b) 급성 골수성 백혈병(다능성 조혈 줄기 세포 또는 제한된 혈통 잠재력의 조혈 세포의 신생물성 형질전환); c) B-세포 CLL, T-세포 CLL 전림프구성 백혈병, 및 털세포 백혈병을 포함한 만성 림프구성 백혈병 (CLL; 면역학적으로 미성숙하고 기능적으로 무능한 작은 림프구의 클론 증식); 및 d) 급성 림프모세포성 백혈병 (림프모세포의 축적을 특징으로 함)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 대상 방법을 사용하여 치료될 수 있는 림프종은 B-세포 림프종(예를 들어, 버킷 림프종); 호지킨 림프종; 비호지킨 B 세포 림프종 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0649] 특정 측면에서, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 이러한 방법은 대상체에게 본 개시물의 임의의 접합체를 포함하는 제약 조성물의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 투여하는 것은 대상체에서 암을 치료하는 데 효과적이다.

[0650] **실시예**

[0651] 다음 실시예는 본 발명을 만들고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 관련 분야의 통상의 기술을 가진 자에게 제공하기 위해 제시되고, 발명자가 그들의 발명으로 간주하는 것의 범위를 제한하는 것을 의도하지 않고 아래 실험이 수행된 모든 실험 또는 유일한 실험임을 나타내는 것을 의도하지도 않는다. 사용된 숫자(예를 들어

양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 보장하기 위해 노력했지만, 약간의 실험 오차 및 편차를 고려해야 한다. 달리 지시하지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도이고, 압력은 대기압이거나 또는 대기압에 가깝다. "평균"은 산술 평균을 의미한다. 표준 약어, 예를 들어 bp, 염기쌍(들); kb, 킬로베이스(들); pl, 피코리터(들); s 또는 sec, 초(들); min, 분(들); h 또는 hr, 시간(들); aa, 아미노산(들); kb, 킬로베이스(들); bp, 염기쌍(들); nt, 뉴클레오티드(들); i.m., 근육내(로); i.p., 복강내(로); s.c., 피하(로) 등이 사용될 수 있다.

[0652] **일반 합성 절차**

[0653] 개시된 화합물을 합성하는 데 유용한 흔하게 알려진 화학 합성 반응식 및 조건을 제공하는 많은 일반 참고문헌이 입수가능하다(예를 들어, Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Fifth Edition, Wiley-Interscience, 2001; 또는 Vogel, A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis, Fourth Edition, New York: Longman, 1978 참조).

[0654] 본원에 기술된 바와 같은 화합물은 크로마토그래피, 예컨대 HPLC, 분취용 박층 크로마토그래피, 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 및 이온 교환 크로마토그래피를 포함하여 관련 분야에 알려진 임의의 정제 프로토콜에 의해 정제될 수 있다. 순상 및 역상 뿐만 아니라 이온성 수지를 포함하여 임의의 적합한 고정상이 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 개시된 화합물은 실리카 겔 및/또는 알루미나 크로마토그래피를 통해 정제된다. 예를 들어, Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2nd Edition, ed. L. R. Snyder and J. J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; 및 Thin Layer Chromatography, ed E. Stahl, Springer-Verlag, New York, 1969를 참조한다.

[0655] 대상 화합물의 임의의 제조 방법 동안에는, 임의의 관련 분자의 민감성 또는 반응성 기를 보호하는 것이 필요할 수 있고/거나 바람직할 수 있다. 이것은 표준 연구물, 예컨대 J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973에, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999에, "The Peptides"; Volume 3(editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981에, "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4<sup>th</sup> edition, Vol. 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974에, H.-D. Jakubke and H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982에, 및/또는 Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974에 기술된 바와 같은 통상적인 보호기에 의해 달성될 수 있다. 보호기는 관련 분야로부터 알려진 방법을 사용하여 편리한 후속 단계에서 제거될 수 있다.

[0656] 대상 화합물은 상업적으로 입수가능한 출발 물질 및/또는 통상적인 합성 방법에 의해 제조된 출발 물질을 사용하여 다양한 상이한 합성 경로를 통해 합성될 수 있다. 본원에 개시된 화합물을 합성하는 데 사용될 수 있는 합성 경로의 다양한 예를 아래 반응식에서 기술한다.

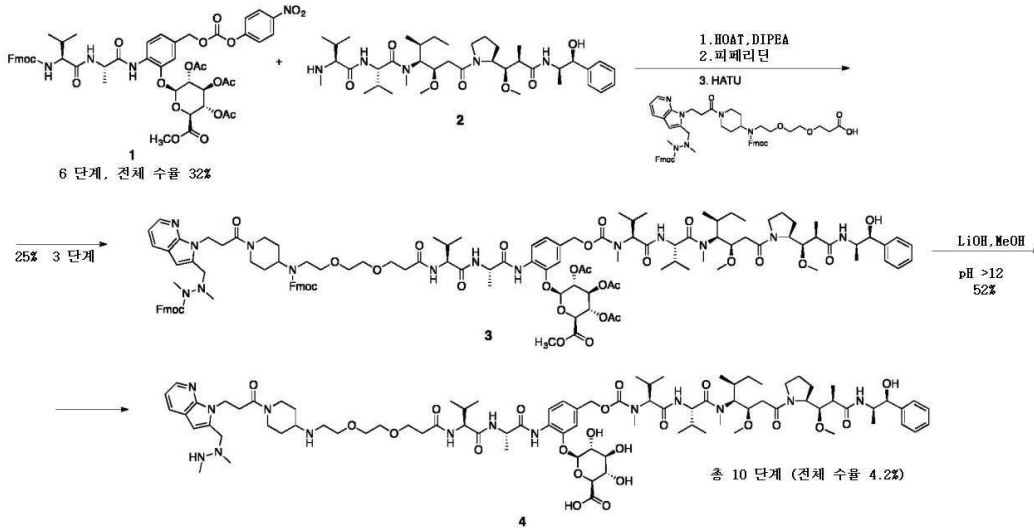
[0657] **실시예 1**

[0658] **항체-약물 접합체를 위한 갈락토시드 및 글루코시드 이중-절단 링커**

[0659] **도입**

[0660] 글루쿠로니드-디펩티드 이중-절단 링커의 유용성을 예를 들어 하기 반응식 1에서 입증하였고, 여기서 자가-희생 단위에 부착된 글루쿠로니드 모이어티를 갖는 Val-Ala-PABC 링커를 보유하는 MMAE 구조체 4는 항체와의 접합 시에 제네릭 디펩티드 MMAE 약물-링커와 비교해서 생체내에서 우수한 안정성을 갖지만 유사한 효능을 갖는 항체-약물 접합체(ADC)를 제공하였다. 글루쿠로니드 기반 MMAE 구조체는 반응식 1에 나타낸 바와 같이 10개의 합성 단계 및 양호한 전체 수율로 합성되었다. 이 합성은 상업적으로 입수가능한 완전히 보호된 β-글루쿠론산 브로마이드로부터 출발하였다. 중간체 3의 글루쿠로니드 모이어티에서 모든 아세테이트 기의 요구되는 전체적인 탈보호, 뿐만 아니라 메틸 에스테르의 절단이 강한 염기성 조건(메탄올 중 LiOH) 하에서 가수분해에 의해 달성되었다.

[0661] 반응식 1. P1'-글루쿠로니드 이중-절단 MMAE 구조체 4.



[0662]

[0663]

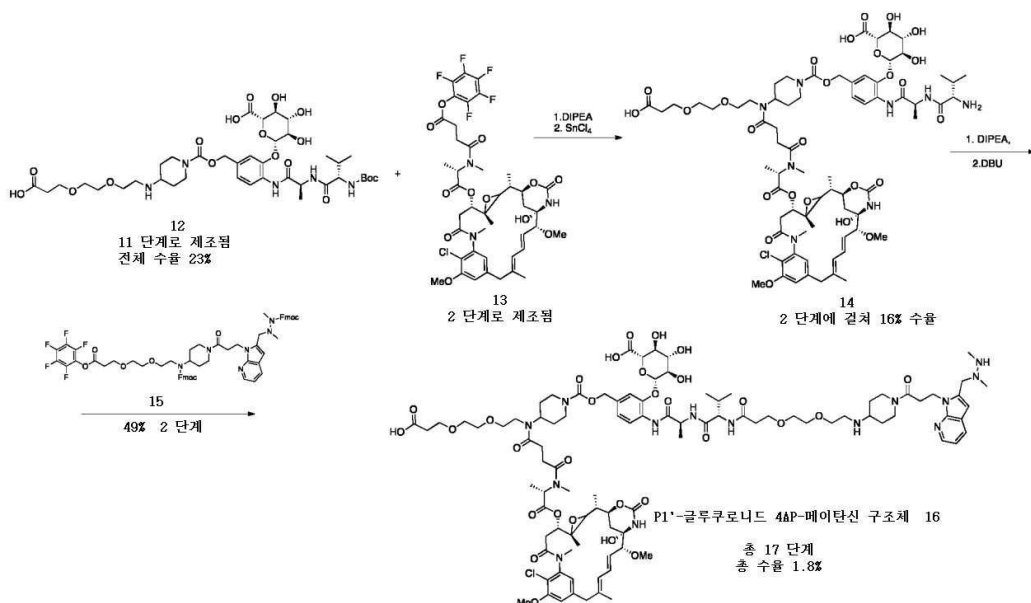
이들 강한 염기성 조건은 MMAE 약물(이것은 강염기에 특별히 민감하지는 않음)과 상용성이 있지만, 합성의 마지막 단계에서 염기성 가수분해의 요건은 글루쿠로니드 기반 이중-절단 링커의 응용을 상당히 제한하였다. 실제로, 항체-약물 접합체를 생성하기 위해 자주 사용되는 다양한 세포독소는 염기 불안정성 작용기를 함유한다 (도 1). 예를 들어, 두오카르마이신 DM 5의 1차 알킬 클로라이드 및 아마이드 기는 투블리신 M 6의 아세테이트 기 및 칼리키아미신 7의 에스테르 작용기와 마찬가지로 염기성 가수분해에 매우 민감하다. 메이탄시노이드 8 및 9는 그들의 구조가 에스테르 및 에폭시드를 함유하기 때문에 염기성 조건 하에서 특히 불안정하다. 마찬가지로, DNA 토포이소머라제 I 억제제, 예컨대 SN-38 10 및 액사테칸 11의 락톤은 경미한 염기성 조건 하에서조차도 가수분해되는 것으로 알려져 있다.

[0664]

앞서 언급한 상용성 쟁점에도 불구하고, 본 발명자들은 이전에 특정 메이탄시노이드, 예컨대 4AP-메이탄신 9(도 1)이 여전히 글루쿠로니드 기반 링커와 쌍을 이룰 수 있음을 보여주었지만, 이러한 구조체에 이르는 합성은 힘들고 비효율적이었다(17 단계, 전체 수율 1.8%, 반응식 2). 이 합성 경로에서는, 글루쿠로니드 링커 12가 별도로 제조되어 합성 순서의 나중 단계로 완전히 탈보호된 형태로 이동되어서 별도로 합성된 메이탄신 유도체 13과 반응해야 하였다.

[0665]

반응식 2. P1'-글루쿠로니드 4AP-메이탄신 구조체 16의 합성.



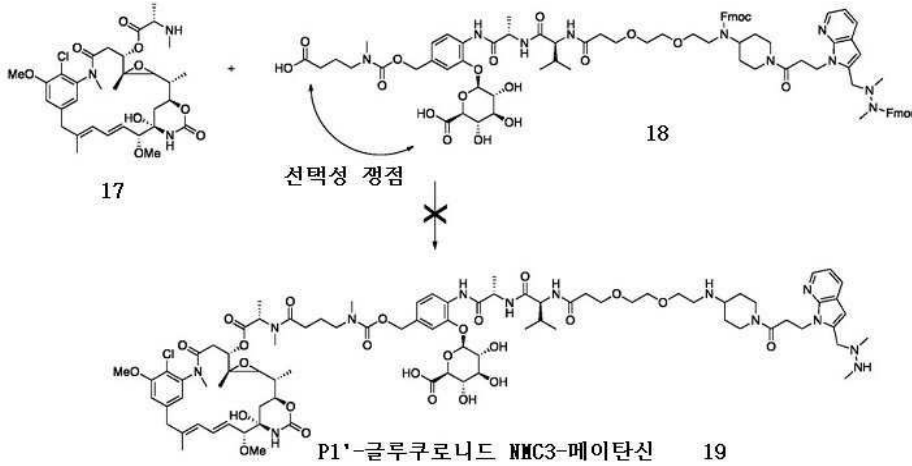
[0666]

[0667]

이 특정 메이탄시노이드(9)는 합성 변형에 다소 순응적이지만, 더 매력적인 NMC3-메이탄신(8)은 그의 구조적 요소로 인해 유사한 방식으로 사용할 수 없을 것이다. 9에 대해 사용된 합성 전략(반응식 2)을 8에 사용한다면,

합성의 나중 단계에서 글루쿠론산 중간체 18에서 두 카르복실기를 구별하는 선택성 문제(반응식 3)에 불가피하게 직면할 것이고 대안적인 장황한 보호-탈보호 접근법을 요구할 것이다.

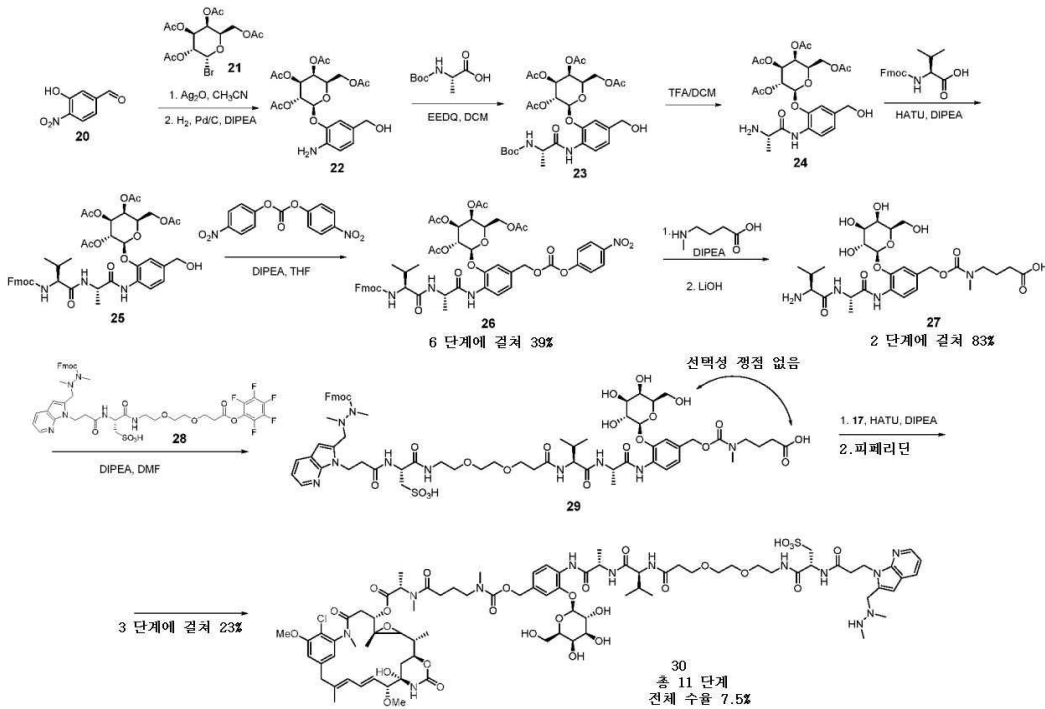
[0668] **반응식 3.** P1'-글루쿠로니드 NMC3-메이탄신 구조체 19에 이르는 합성 접근법(글루쿠로니드 모이어티에 유리 카르복실산이 존재하기 때문에 실행불가능함).



[0669] 결과 및 논의

[0671] 도입에 기술된 예와 대조적으로, 상이한 생물학적으로 관련된 글리코시드가 이중-절단 링커에 사용된 경우, 더 넓은 범위의 세포독소가 합성에 성공적으로 사용될 수 있다. 따라서, 글루쿠로니드 대신 갈락토시드의 사용은 NMC3-메이탄신(8, 도 1)의 사용 및 11개의 합성 단계에서 우수한 전체 수율(7.5%)로 P1'-갈락토시드 구조체 30의 생성을 허용하였다(반응식 4). 완전히 비보호된 형태의 갈락토시드 모이어티는 카르복실릭 기의 부재로 인해(반응식 4의 화합물 29에서와 같이) 화학선택성 문제를 제기하지 않았고 많은 염기 민감성 ADC 페이로드와 함께 성공적으로 활용될 수 있다. 구조가 갈락토시드와 상당히 다르지 않기 때문에 글루코시드 및 만노시드도 마찬가지로 지일 것으로 예상된다.

[0672] **반응식 4.** P1'-갈락토시드 NMC3-메이탄신 구조체 30의 합성.

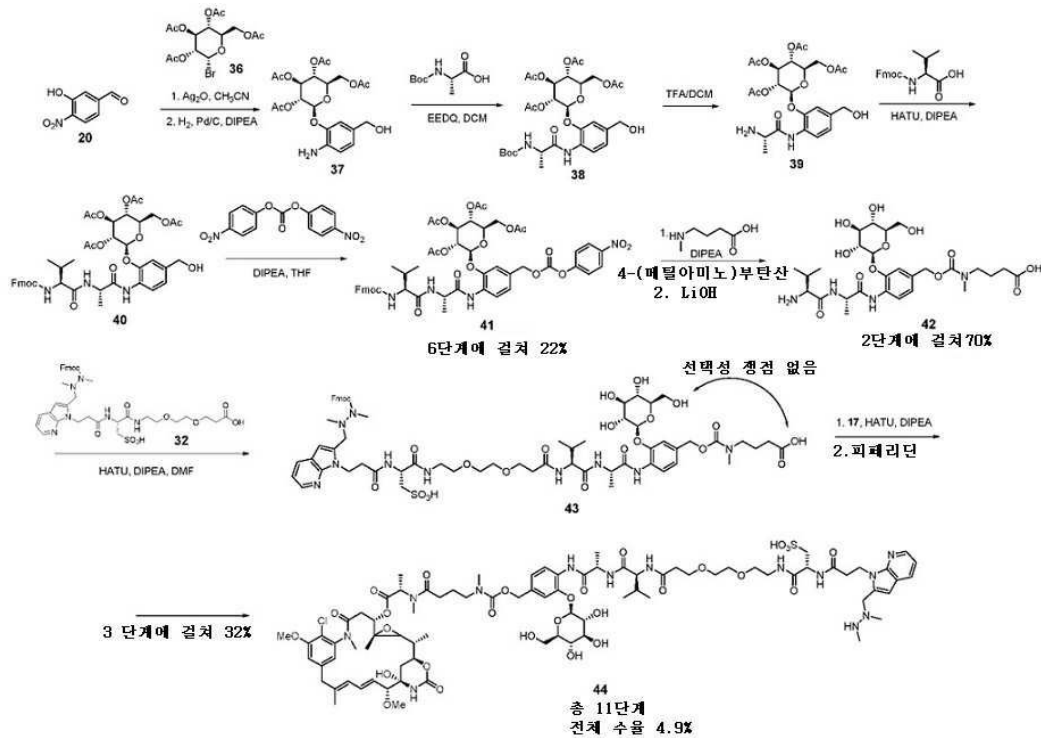


[0673]

[0674] 실제로, 갈락토시드와 유사하게, ADC 생성에 유용한 염기 민감성 페이로드의 다른 당류 유도체를 제조할 수 있다. 따라서, 반응식 5에 나타난 바와 같이 이중-절단 글루코시드 링커는 NMC3-메이탄신 페이로드와 성공적으로

로 쌍을 이루어서 상응하는 구조체 44를 양호한 전체 수율(11 단계에 걸쳐 4.9%)로 제공하였다.

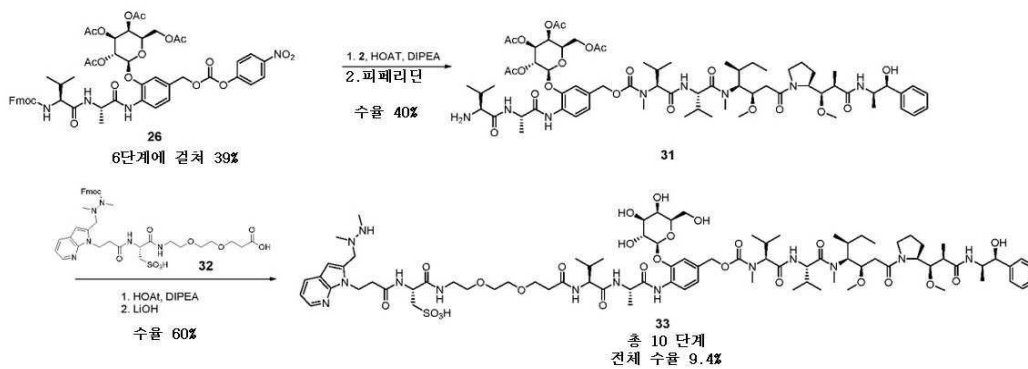
[0675] 반응식 5. P1'-글루코시드 NMC3-메이탄신 구조체 44의 합성.



[0676]

[0677] 또한, 갈락토시드 또는 글루코시드를 사용하는 것은 글루쿠로니드 대응물과 비교하여 약물-링크의 일관되게 더 효율적인 고수율 합성을 허용한다는 것을 발견하였다. 따라서, 반응식 6에 나타낸 P1'-갈락토시드 MMAE 구조체 33에 이르는 합성 경로는 원하는 화합물을 우수한 전체 수율로 생성하였다(9.4% 대 글루쿠로니드 구조체의 경우 4.2%, 표 1).

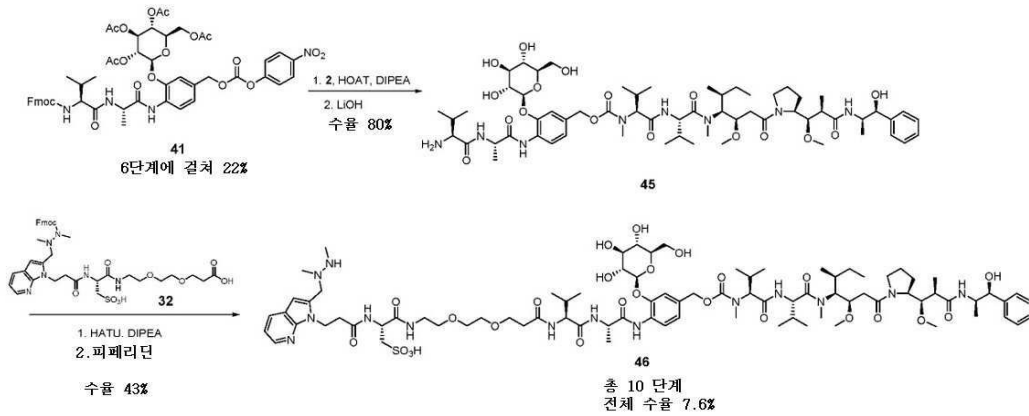
[0678] 반응식 6. P1'-갈락토시드 MMAE 구조체 33의 합성.



[0679]

[0680] 유사하게, 글루코시드 동질체 46은 글루쿠로니드 함유 화합물 4와 비교할 때 더 효율적인 방식으로 상응하는 당류 유도체 41로부터 출발하는 변경된 합성 경로(반응식 7)에 따라 제조되었다(7.6% 수율 대 글루쿠로니드 구조체의 경우 4.2%, 표 1).

[0681] 반응식 7. 글루코시드 MMAE 구조체 46의 합성.



[0682]

[0683] 또한, 물질 비용의 비교는 요구되는 갈락토스 및 글루코스 유도체가 상응하는 글루쿠론산 유도체보다 평균 10-20배 덜 비싸다는 것을 밝혔다(표 1 참조).

표 1

사용된 글리코시드 유형에 의존한 합성 효율 및 비용 비교

진입 번호	구조체	세포독소	글리코시드 유형	합성 단계 수	전체 수율 %	글리코시드 비용*
1	4	MMAE	글루쿠로니드	10	4.2	25g/\$740
2	16	4AP-메이탄신	글루쿠로니드	17	1.8	25g/\$740
3	19	NMC3-메이탄신	글루쿠로니드	실행 불가능		25g/\$740
4	30	NMC3-메이탄신	갈락토시드	11	7.5	100g/\$280
5	33	MMAE	갈락토시드	10	9.4	100g/\$280
6	44	NMC3-메이탄신	글루코시드	11	4.9	500g/\$800
7	46	MMAE	글루코시드	10	7.6	500g/\$800

\* 글루쿠론산, 갈락토스, 및 글루코스의 아세테이트로 보호된 브로마이드 유도체의 비용 (AK Scientific catalog, September 2020)

[0684]

[0685] 효소적으로 절단가능한 디펩티드에 근접하여 링커에 통합될 때, 글리코시드는 순환 시에 항체-약물 접합체 디펩티드 링커의 조기 절단을 방지하는 임시 보호기 역할을 할 수 있다. 일단 ADC가 세포의 리소좀 구획으로 수송되면, 글리코시드 모이어티가 리소좀 글리코시다제에 의해 절단되어 디펩티드 링커를 노출시켜야 하고, 이것은 결국 효소 매개 절단을 겪어서 페이로드를 방출한다. 상이한 기질 선호도 및 구별되는 세포 및 조직 발현 패턴을 가진 많은 인간 글리코시다제가 있다. 본 발명자들은 이전에 글루쿠로니드 모이어티가 페이로드 유리를 달성하는 제1 단계로서 다양한 세포 유형에서 효율적으로 제거될 수 있음을 보여주었지만, 갈락토시드 또는 글루코시드 모이어티가 유사하게 처리되는지 여부는 명확하지 않았다. 이 문제를 다루기 위해, 구조체 30 및 33은 HIPS 결찰을 사용하여 알데히드 태그가 붙은 항-HER2 및 항-CD79b 항체와 접합되었고, 구조체 44 및 46은 HIPS 결찰을 사용하여 알데히드 태그가 붙은 항-FITC, 항-HER2, 및 항-TROP-2 항체와 접합되었다(도 2). 결과적으로 얻은 접합체의 분석적 특성화를 도 3-10 및 19-30에 나타낸다.

[0686] 결과적으로 얻은 접합체의 시험관내 활성을 HER2+(NCI-N87, Sk-Br-3), CD79b+(Granta-519, Ramos-RA) 및 TROP-2+(MDA-MB-468, BxPC3) 암 세포주를 사용하여 시험하였다. 일부 연구에서, 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(30)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 효력을 단일-절단 링커-페이로드(35)로부터 생성된 상응하는 ADC의 활성과 비교하였다(도 11에 나타난 구조체 35, 도 12-15에 나타난 시험관내 효력 데이터). 다른 연구에서는, 갈락토시드로 변형된 이중-절단 링커(30)를 보유하는 메이탄신-접합된 ADC의 효력을 글루코시드로 변형된 이중-절단 링커 44를 사용하여 생성된 상응하는 ADC의 활성과 비교하였다(도 31-34에 나타난 시험관내 효력 데이터). MMAE-접합된 ADC와 관련하여, 갈락토시드로 변형된(33) 또는 글루코시드로 변형된(46) 이중-절단 링커의 시험관

내 효력을 글루쿠로니드로 변형된 이중-절단 링커 **34**의 시험관내 효력과 비교하였다(도 11에 나타난 구조체 **34**, 도 16-18, 35 및 36에 나타난 시험관내 효력 데이터). 종합적으로, 그 결과는 고형(위압, 체장압 및 유방압) 및 혈액 종양 적응증 둘 모두를 나타내는 세포주 전체에 걸쳐 단일- 및 이중-절단 링커 - 글루쿠로니드, 갈락토시드 및 글루코시드 변이체를 포함함 - 로 제조된 ADC는 유사한 수준의 효력을 제공한다는 것을 보여주었다. 데이터는 - 글리코시다제 발현 패턴 및 기질 특이성이 알려지지 않았음에도 불구하고 - 갈락토시드 및 글루코시드 모이어티의 제거가 강력하고 효율적이며, 전체 ADC 이화작용 및 페이로드 방출이 시험된 모든 링커에서 비슷하다는 것을 시사한다.

[0687] **물질 및 방법**

[0688] **일반**

[0689] 합성 시약은 Sigma-Aldrich, Acros, AK Scientific 또는 다른 상업적 공급처로부터 구입하였고, 정제 없이 사용하였다. 무수 용매는 상업적 공급처로부터 밀봉된 병으로 얻었다. 아세트브로모- $\alpha$ -D-갈락토스 **21**, 아세트브로모- $\alpha$ -D-글루코스 **36**, MMAE **2** 및 메이탄신 **17**은 상업적 공급처로부터 구입하였다. HIPS 링커 화합물 **32**는 Shanghai Medicilon으로부터 상업적으로 얻었고, 정제 없이 사용하였다. 펜타플루오로-에스테르 **28**은 표준 문헌 절차를 사용하여 **32**로부터 합성하였다. 화합물 **34** 및 **35**의 합성은 이전에 기술되었다. 모든 경우에서, 용매는 Buchi V-700 진공 펌프가 장착된 Buchi Rotovapor R-114로 감압 하에 제거되었다. 컬럼 크로마토그래피는 Biotage Isolera 크로마토그래피 시스템으로 수행되었다. 분취 HPLC 정제는 Phenomenex Kinetex 5  $\mu$ m EVO C18 150 x 21.2 mm 컬럼이 장착된 Waters 분취 HPLC 유닛을 사용하여 수행하였다. HPLC 분석은 Model G1322A Degasser, Model G1311A Quarternary Pump, Model G1329A Autosampler, Model G1314 Variable Wavelength Detector, Agilent Poroshell 120 SB C18, 4.6 mm x 50 mm 컬럼이 장착된 Agilent 1100 시리즈 Analytical HPLC로 실온에서 0.1% 포름산을 함유하는 물 및 아세트니트릴 10-100% 구배를 사용하여 수행하였다. HPLC는 254 nm에서 모니터링되었다.

[0690] **구조체 30 및 33의 합성**

[0691] *(2R, 3S, 4S, 5R, 6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(5-포르밀-2-니트로페녹시)테트라히드로-2H-피란-3, 4, 5-트리일 트리아세테이트 (21a)의 제조*

[0692] 50 mL 둥근 바닥 플라스크에 204 mg(1.22 mmol)의 3-히드록시-4-니트로벤즈알데히드 **20** 및 아세트브로모- $\alpha$ -D-갈락토스 **21**(500 mg, 1.22 mmol)을 넣은 다음, 20 mL의 무수 아세트니트릴을 넣었다. 용액을 산화은(I)(986 mg, 4.3 mmol)으로 처리하고, 결과적으로 얻은 혼합물을 실온에서 어두운 곳에서 24 시간 동안 격렬하게 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에서 농축한 후, 잔류물을 에틸 아세테이트-헥산 혼합물을 용리액(0-100% 구배)으로 사용하여 실리카 겔 상에서 정제하여 420 mg(0.85 mmol, 70% 수율)의 생성물을 담황색 고체로 얻었다. LRMS(ESI): m/z 520.0 [M+Na]<sup>+</sup>, C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>13</sub>에 대한 계산치 m/z 520.1.

[0693] *(2R, 3S, 4S, 5R, 6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-아미노-5-(히드록시메틸)페녹시)테트라히드로-2H-피란-3, 4, 5-트리일 트리아세테이트 (22)의 제조*

[0694] 3 mL의 에틸 아세테이트 중의 아세테이트로 보호된 갈락토시드 중간체 **21a**(350 mg, 0.70 mmol)의 용액에 30 mg의 탄소 상 팔라듐(10% wt.) 및 30  $\mu$ L의 트리에틸아민을 첨가하였다. 공기를 제거한 후, 플라스크에 수소 풍선을 장착하고, 반응 혼합물을 실온에서 48 시간 동안 교반하였다. 셀라이트 패드를 통해 여과한 후, 용매를 진공 하에 제거하고, 잔류물을 고진공 하에 건조시켜 300 mg의 조 생성물 **22**를 백색 고체로서 제공하였고, 이것을 추가 정제 없이 합성에 추가로 사용하였다. LRMS(ESI): m/z 470.1 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>11</sub>에 대한 계산치 m/z 470.2.

[0695] *(2R, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)-5-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페녹시)-6-(아세톡시메틸)테트라히드로-2H-피란-3, 4, 5-트리일 트리아세테이트 (26)의 제조*

[0696] Boc-L-알라닌(220 mg, 1.11 mmol) 및 아닐린 유도체 **22**(520 mg, 1.16 mmol)를 5 mL의 무수 디클로로메탄 및 0.50 mL의 무수 메탄올에 합쳤다. 결과적으로 얻은 용액을 실온에서 EEDQ(280 mg, 1.13 mmol)로 처리하였다. 반응 혼합물을 어두운 곳에서 1시간 동안 교반한 다음, 용매를 진공에서 제거하였다. 결과적으로 얻은 조 화합물 **23**을 고진공 하에 1 시간 동안 건조시키고 실온에서 6 mL의 1:1 TFA-DCM 혼합물에 용해하였다. 용액이 1 시간 동안 가만히 있는 것을 허용한 다음, 용매를 제거하고, 결과적으로 얻은 조 아민 **24**를 몇 시간 동안 고진공 하

에 유지하였다.

- [0697] 별도의 20 mL 신틸레이션 바이알에서 Fmoc-L-발린(375 mg, 1.1 mmol)을 3 mL의 무수 DMF 에서 HATU(420 mg, 1.1 mmol) 및 DIPEA(375  $\mu$ L, 2.15 mmol)와 혼합하였다. 혼합물을 실온에서 30 분 동안 교반하고, 조 화합물 **24**와 합하고, LCMS 분석에 의해 반응이 완료된 것으로 판단될 때까지 밤새 계속 교반하였다. 반응 혼합물을 역상 C18 컬럼(CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O/0.05% TFA, 0-80% 구배)에서 직접 정제하여 화합물 **25**를 미량의 불순물을 갖는 혼합물로서 제공하였다. 생성물을 고진공 하에서 완전히 건조시키고 추가 정제 없이 다음 단계를 수행하였다.
- [0698] 화합물 **25**를 6 mL의 무수 DCM에 용해하고, DIPEA(375  $\mu$ L, 2.15 mmol)로, 이어서 686 mg(2.26 mmol)의 비스(4-엔트로페닐)카르보네이트로 한번에 실온에서 처리하였다. 반응 혼합물을 1 시간 동안 교반한 다음, 용매를 진공 하에 제거하고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(EtOAc-헥산, 10-100% 구배)로 정제하여 p-니트로페닐 카르보네이트 생성물 **26**(640 mg, 0.62 mmol, 4 단계에 걸쳐 56% 수율)을 황색 고체로서 수득하였다. LRMS(ESI): m/z 1049.3 [M+Na]<sup>+</sup>, C<sub>51</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>19</sub>에 대한 계산치 m/z 1049.3.
- [0699] 4-(((4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)-3-(((2R,3R,4S,5R,6S)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)부탄산 (**27**)의 제조
- [0700] 20 mL 신틸레이션 바이알에 4-(메틸아미노)부탄산(61 mg, 0.52 mmol), 61  $\mu$ L(0.35 mmol)의 DIPEA 및 1 mL의 무수 DMF를 첨가하였다. 결과적으로 얻은 용액을 실온에서 180 mg(0.175 mmol)의 PNP-카르보네이트 **26**과 합하였다. LCMS 분석에 의해 PNP-카르보네이트가 완전히 소비될 때까지 반응 혼합물을 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공 하에서 제거하고, 잔류물을 3 mL의 메탄올에 용해하였다. 얻은 용액을 0 °C로 냉각시키고 3 mL의 1M 수산화리튬 수용액으로 처리하였다. 반응 혼합물을 30 분 동안 교반한 다음, 실온으로 가온하고 진공 하에 농축하였다. 잔류물을 역상 C18 컬럼(CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O/0.05% TFA, 0-50% 구배)에서 직접 정제하여 90 mg(0.146 mmol, 2 단계에 걸쳐 83% 수율)의 화합물 **27**을 황색 오일로 얻었다. LRMS(ESI): m/z 615.3 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>에 대한 계산치 m/z 615.3.
- [0701] (2S,5S,18R)-1-((4-(((4-(((S)-1-(((1<sup>S</sup>,1<sup>S</sup>,3<sup>R</sup>,3<sup>R</sup>,2R,4S,10E,12E,14R)-8<sup>β</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-히드록시-8<sup>β</sup>,14-디메톡시-3<sup>β</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-디옥소-7-아자-1(6,4)-옥사지나나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠나시클로테트라 데카판-10,12-디엔-4-일)옥시)-1-옥소프로판-2-일)(메틸)아미노)-4-옥소부틸)(메틸)카르바모일)옥시)메틸)-2-(((2R,3R,4S,5R,6S)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)페닐)아미노)-18-(3-(2-((1,2-디메틸히드라지닐)메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-1-일)프로판아미도)-5-이소프로필-2-메틸-1,4,7,17-테트라옥소-10,13-디옥사-3,6,16-트리아자노나데칸-19-술폰산(**30**)의 제조
- [0702] 20 mL 신틸레이션 바이알에 화합물 **27**(84 mg, 0.14 mmol), 1 mL의 무수 DMF 및 DIPEA(48  $\mu$ L, 0.28 mmol)를 첨가한 다음, 130 mg(0.14 mmol)의 펜타플루오로 에스테르 **28**을 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 커플링이 완료된 것으로 판단될 때까지(LCMS) 30 분 동안 교반하였다. 메이탄산 **17**(89 mg, 0.14 mmol)을 0.5 mL의 DMF 중의 용액으로서 반응 혼합물에 직접 첨가한 후, HATU(52 mg, 0.14 mmol)를 첨가하였다. 30분 후, 반응 혼합물을 역상 C18 컬럼(CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O/0.05% TFA, 10-95% 구배)에서 정제하였다. 용매를 완전히 제거한 후, 결과적으로 얻은 중간체 **29**를 3 mL의 DMF에 용해하고 실온에서 150  $\mu$ L의 피페리딘으로 처리하였다. 30 분 후, 반응 혼합물을 역상 분취 HPLC(C18 컬럼, CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O/0.05% TFA, 0-50% 구배)에서 직접 정제하였다. 순수한 분획을 동결건조 하여 58 mg(0.032 mmol, 3 단계에 걸쳐 23% 수율)의 화합물 **30**을 제공하였다. LRMS(ESI): m/z 1801.8 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>82</sub>H<sub>118</sub>C<sub>1</sub>N<sub>13</sub>O<sub>28</sub>S에 대한 계산치 m/z 1800.8.
- [0703] (2R,3S,4S,5R,6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)-5-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-sec-부틸)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-히드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-5,8-디이소프로필-4,10-디메틸-3,6,9-트리옥소-2,13-디옥사-4,7,10-트리아자테트라데실)페녹시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 (**31**)의 제조
- [0704] 4 mL 유리 바이알에서 MMAE **2**(13.4 mg의 TFA 염, 0.016 mmol), DIPEA(3.8  $\mu$ L, 0.022 mmol), 및 1 mL의 무수 DMF를 혼합하였다. 결과적으로 얻은 용액을 PNP-카르보네이트 **26**(15 mg, 0.015 mmol) 및 HOAt(1.0 mg, 0.008 mmol)로 처리하였다. 실온에서 밤새 교반한 후, 피페리딘(30  $\mu$ L)을 반응 혼합물에 직접 첨가하였다. 30 분 후,

반응 혼합물을 역상 분취 HPLC(C18 컬럼, CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O/0.05% TFA, 0-50% 구배)에서 정제하였다. 순수한 분획을 동결건조하여 8 mg(0.006 mmol, 2 단계에 걸쳐 40% 수율)의 화합물 **31**을 회백색 고체로 얻었다. LRMS(ESI): m/z 1383.5 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>69</sub>H<sub>106</sub>N<sub>8</sub>O<sub>21</sub>에 대한 계산치 m/z 1383.8.

[0705] (2S, 5S, 18R)-1-((4-((5S, 8S, 11S, 12R)-11-((S)-sec-부틸)-12-(2-((S)-2-((1R, 2R)-3-(((1S, 2R)-1-히드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-5, 8-다이소프로필-4, 10-디메틸-3, 6, 9-트리옥소-2, 13-디옥사-4, 7, 10-트리아자테트라테실)-2-(((2R, 3R, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)페닐)아미노)-18-(3-(2-((1, 2-디메틸히드라지닐)메틸)-1H-피롤로[2, 3-b]피리딘-1-일)프로판아미도)-5-이소프로필-2-메틸-1, 4, 7, 17-테트라옥소-10, 13-디옥사-3, 6, 16-트리아자노나테칸-19-술폰산 (**33**)의 제조

[0706] 4 mL 유리 바이알에서 화합물 **31**(8 mg, 0.006 mmol), HIPS 링커 화합물 **32**(4.5 mg, 0.006 mmol), DIPEA(1.5 μL, 0.009 mmol) 및 2.3 mg(0.06 mmol)의 HATU를 1 mL DMF에서 합쳤다. 반응 혼합물을 실온에서 30 분 동안 교반한 다음, DMF를 진공에서 제거하고, 잔류물을 1 mL의 메탄올에 용해하였다. 이 용액에 1 mL의 1M 수산화리튬 수용액을 첨가하고, 결과적으로 얻은 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 역상 분취 HPLC(C18 컬럼, CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O/0.05% TFA, 10-60% 구배)에서 직접 정제하고, 순수한 분획을 동결건조하여 6 mg(0.0033 mmol, 2단계에 걸쳐 60% 수율)의 화합물 **33**을 회백색 분말로 제공하였다. LRMS(ESI): m/z 1770.9 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>84</sub>H<sub>132</sub>N<sub>14</sub>O<sub>25</sub>S에 대한 계산치 m/z 1769.9.

[0707] 구조체 44 및 46의 합성

[0708] (2R, 3R, 4S, 5R, 6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-아미노-5-(히드록시메틸)페녹시)테트라히드로-2H-피란-3, 4, 5-트리일 트리아세테이트 (**37**)의 제조

[0709] 무수 아세트니트릴(100 mL) 중의 화합물 **20**(5.0 g, 29.9 mmol, 1.7 당량) 및 화합물 **36**(7.23 g, 17.6 mmol, 1 당량)의 혼합물에 산화은(I)(15.6 g, 87.9 mmol, 5 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 어두운 곳에서 24 시간 동안 질소 하에 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc(100 mL)로 희석하고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(0-30% hexan-EtOAc)로 정제하였다. EtOAc(80 mL) 중의 중간체 알데히드(5.61 g, 11.3 mmol) 및 트리에틸아민(2.5 mL)의 혼합물에 탄소 상의 팔라듐(10 wt.%, 800 mg, 0.75 mmol)을 한번에 첨가하였다. 반응 혼합물을 25°C에서 24 h 동안 H<sub>2</sub> 분위기 하에서 교반하였다. 고체를 여과 제거하고, 결과적으로 얻은 여액을 농축하여 5.2 g(11.1 mmol, 98% 수율)의 생성물 **37**을 백색 고체로 제공하였고, 이것을 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0710] (2R, 3R, 4S, 5R, 6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)프로판아미도)-5-(히드록시메틸)페녹시)테트라히드로-2H-피란-3, 4, 5-트리일 트리아세테이트 (**38**)의 제조

[0711] 무수 DCM(40 mL) 및 MeOH(4 mL) 중의 화합물 **37**(5.20 g, 11.1 mmol), Boc-L-Ala-OH(1.75 g, 9.25 mmol) 및 EEDQ(2.3 g, 9.25 mmol)의 혼합물을 실온에서 어두운 곳에서 1 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축하여 5.5 g의 조 생성물 **38**을 황색 고체로 제공하였다. 조 생성물을 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0712] (2R, 3R, 4S, 5R, 6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-((S)-2-아미노프로판아미도)-5-(히드록시메틸)페녹시)테트라히드로-2H-피란-3, 4, 5-트리일 트리아세테이트 (**39**)의 제조.

[0713] 조 화합물 **38**(5.5 g, 8.6 mmol)을 TFA(23 mL)에 용해하였다. 결과적으로 얻은 용액을 실온에서 10 분 동안 교반하고 진공에서 농축하였다. 잔류물을 역상 크로마토그래피(C18 컬럼, 0.05% TFA를 갖는 아세트니트릴-물 0-75%)로 정제하였다. 순수한 분획을 합하고 농축하여 4.0 g의 생성물 아민 **39**를 황색 오일(7.5 mmol, 3단계에 걸쳐 66% 수율)로 제공하였다.

[0714] (2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-2-(2-((S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)-5-(히드록시메틸)페녹시)-6-(아세톡시메틸)테트라히드로-2H-피란-3, 4, 5-트리일 트리아세테이트 (**40**)의 제조.

[0715] 무수 DMF(20 mL) 중의 Fmoc-L-발린(3.1 g, 9.2 mmol) 및 DIPEA(3.9 mL, 22.2 mmol)의 혼합물에 HATU(3.5 g, 9.2 mmol)를 실온에서 한번에 첨가하였다. 결과적으로 얻은 용액을 실온에서 30 분 동안 교반한 다음 아민 **39**(4.0 g, 7.5 mmol)와 합하였다. 반응 혼합물을 16 시간 동안 교반하고 진공에서 농축하였다. 잔류물을 실리카

겔 크로마토그래피(헥산:EtOAc, 0-100%)로 정제하여 화합물 **40**(4.5 g, 5.2 mmol, 70% 수율)을 백색 고체로 제공하였다.

- [0716] (2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-2-(2-((S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)-5-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페녹시)-6-(아세톡시메틸)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트 (**41**)의 제조.
- [0717] 무수 THF(20 mL) 중의 알콜 **40**(4.5 g, 5.2 mmol) 및 DIPEA(4.5 mL, 26.1 mmol, 5 당량)의 혼합물에 비스(4-니트로페닐)카르보네이트(7.9 g, 26.1 mmol, 5 당량)를 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 실온에서 24 h 동안 교반하고 진공하에 농축하였다. 잔류물을 역상 크로마토그래피(0.05% TFA를 갖는 아세토니트릴-물 0-70%)로 정제하여 4-니트로페닐 카르보네이트 생성물 **41**을 백색 고체(3.9 g, 73% 수율)로 제공하였다. LRMS(ESI): m/z 1027.3 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>51</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>19</sub>에 대한 계산치 m/z 1027.3.
- [0718] 4-(((4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)-3-((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)부탄산 (**42**)의 제조.
- [0719] 무수 DMF(2 mL) 중의 p-니트로페닐 카르보네이트 **41**(380 mg, 0.37 mmol, 1 당량) 및 4-(메틸아미노)부탄산(55 mg, 0.47 mmol, 1.25 당량)의 혼합물에 DIPEA(190 μL, 1.11 mmol, 3 당량)를 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 16 h 동안 교반하고, 진공 하에 농축하고, 잔류물을 THF(2 mL)에 재용해하였다. THF 용액에 2 mL의 1M 수성 LiOH를 실온에서 첨가하고, HPLC 분석에 의해 가수분해가 완료된 것으로 판단될 때까지 2 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 1M HCl(2 mL)로 키텡하고, DMF(1 mL)로 희석하고, 역상 크로마토그래피(C18 컬럼, MeCN 및 0.05% TFA를 갖는 아세토니트릴-물 0-75%)로 정제하였다. 순수한 분획을 수집하고, 감압 하에 농축하고, 동결건조하여 화합물 **42**를 백색 고체(160 mg, 0.26 mmol, 2 단계에 걸쳐 70% 수율)로 제공하였다. LRMS(ESI): m/z 615.3 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>에 대한 계산치 m/z 615.3.
- [0720] 4-(((4-((2S, 5S, 18R)-5-이소프로필-2-메틸-4,7,17,20-테트라옥소-18-(술포메틸)-22-(2-((1,2,2-트리메틸히드라진일)메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-1-일)-10,13-디옥사-3,6,16,19-테트라아자도코산아미도)-3-(((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)벤질)옥시)카르보닐)(메틸)아미노)부탄산 (**43**)의 제조.
- [0721] DMF(2 mL) 중의 화합물 **32**(97 mg, 0.12 mmol, 1 당량)의 용액에 HATU(40 mg, 0.1 mmol, 0.85 당량), 이어서 DIPEA(63 μL, 0.36 mmol, 3 당량)를 실온에서 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 1 h 동안 교반한 다음, DMF 중의 화합물 **42**의 0.1M 용액(1.22 mL, 0.12 mmol, 1 당량)과 합하였다. 반응 혼합물을 HPLC 분석으로 판단할 때 모든 출발 물질이 소비될 때까지 30 분 동안 교반하였다. 혼합물을 역상 크로마토그래피(C18 컬럼, MeCN 및 0.05% TFA를 갖는 아세토니트릴-물 0-75%)로 직접 정제하였다. 순수한 분획을 수집하고 동결건조하여 생성물 **43**을 백색 고체(107 mg, 0.08 mmol, 67% 수율)로 제공하였다. LRMS(ESI): m/z 1391.6 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>65</sub>H<sub>86</sub>N<sub>10</sub>O<sub>22</sub>S에 대한 계산치 m/z 1391.6.
- [0722] (2S, 5S, 18R)-1-((4-(((4-((S)-1-(((14S, 16S, 32R, 33R, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-86-클로로-14-히드록시-85, 14-디메톡시-33,2,7,10-테트라메틸-12,6-디옥소-7-아자-1(6,4)-옥사지나나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠나시클로테트라테카판-10,12-디엔-4-일)옥시)-1-옥소프로판-2-일)(메틸)아미노)-4-옥소부틸)(메틸)카르바모일)옥시)메틸)-2-(((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)페닐)아미노)-18-(3-(2-((1,2-디메틸히드라진일)메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-1-일)프로판아미도)-5-이소프로필-2-메틸-1,4,7,17-테트라옥소-10,13-디옥사-3,6,16-트리아자노나데칸-19-술포산 (**44**)의 제조.
- [0723] DMF (2 mL) 중의 화합물 **43**(35 mg, 25 μmol) 및 메이탄신 **17**(16 mg, 25 μmol)의 혼합물에 HATU(19 mg, 51 μmol, 2 당량)를 실온에서 첨가한 다음, DIPEA(13 μL, 76 μmol, 3 당량)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 HPLC 분석으로 판단할 때 모든 출발 물질이 소모될 때까지 30 분 동안 교반하였다. 그 다음에 피페르딘(49 μL, 0.5 mmol, 20 당량)을 실온에서 한번에 용액에 직접 첨가하고, 반응 혼합물을 30 분 동안 교반하였다. 혼합물을 분취 HPLC(C18 컬럼, MeCN 및 0.05% TFA를 갖는 아세토니트릴-물 0-75%)로 정제하였다. 순수한 분획을 합하고 동결건조하여 화합물 **44**를 백색 고체로 제공하였다(21 mg, 12 μmol, 48% 수율). LRMS(ESI): m/z 1800.7 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>82</sub>H<sub>118</sub>C<sub>1</sub>N<sub>13</sub>O<sub>28</sub>S에 대한 계산치 1800.8.

[0724] 4-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)-3-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-히드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카바메이트 (**45**)의 제조.

[0725] 무수 DMF(2 mL) 중의 모노메틸 아우리스타틴 A **2**(50 mg, 70 μmol)의 용액을 실온에서 HOAt(9.5 mg, 70 μmol) 및 DIPEA(36 μL, 209 μmol)로 처리하였다. 이 혼합물에 화합물 **41**(72 mg, 70 μmol, 1 당량)을 고체로서 실온에서 한번에 첨가하였다. 반응 혼합물을 LCMS 분석으로 판단할 때 모든 출발 물질이 소모될 때까지 4시간 동안 교반하였다. 용매를 진공에서 제거하고 잔류물을 THF(2 mL)에 재용해하였다. THF 용액을 실온에서 1M LiOH 수용액(2 mL)으로 처리하고, 가수분해가 완료될 때까지 2 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 1M HCl(2 mL)로 킨칭하고, DMF(1 mL)로 희석하고, 역상 크로마토그래피(C18 컬럼, MeCN 및 0.05% TFA를 갖는 아세토니트릴-물 0-75%)로 정제하였다. 순수한 분획을 합하고, 감압 하에 농축하고, 동결건조하여 생성물 **45**를 백색 고체로 제공하였다(68 mg, 56 μmol, 80% 수율).

[0726] (2S,5S,18R)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-sec-부틸)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-히드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-5,8-디이소프로필-4,10-디메틸-3,6,9-트리옥소-2,13-디옥사-4,7,10-트리아자테트라테실)-2-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)페닐)아미노)-18-(3-(2-((1,2-디메틸히드라진일)메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-1-일)프로판아미도)-5-이소프로필-2-메틸-1,4,7,17-테트라옥소-10,13-디옥사-3,6,16-트리아자노나데칸-19-술폰산 (**46**)의 제조.

[0727] DMF(2 mL) 중의 카르복실산 **32**(50 mg, 63 μmol)의 용액에 HATU(24 mg, 63 μmol), 이어서 DIPEA(33 μL, 189 μmol)를 실온에서 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 1 h 동안 교반하고 화합물 **45**(68 mg, 63 μmol)와 혼합하였다. 반응 혼합물을 HPLC 분석에 의해 판단할 때 모든 출발 물질이 소모될 때까지 5 시간 동안 교반하였다. 그 다음에 피페리딘(110 μL, 20 당량)을 실온에서 한번에 용액에 첨가하고, 반응 혼합물을 30 분 동안 교반하고, 용액이 산성이 될 때까지 pH 4.7의 0.5M 아세테이트 완충액으로 희석하고, 분취 HPLC(C18 컬럼, MeCN 및 0.05% TFA를 갖는 아세토니트릴-물 0.75%)로 정제하였다. 순수한 분획을 수집하고 동결건조하여 화합물 **46**을 백색 고체(47 mg, 43% 수율)로 제공하였다. LRMS(ESI): m/z 1769.9 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>84</sub>H<sub>132</sub>N<sub>14</sub>O<sub>25</sub>S에 대한 계산치 1769.9.

[0728] **실시예 2**

[0729] **생체접합, 정제 및 HPLC 분석**

[0730] **방법**

[0731] C-말단에 알데히드 태그가 붙은 항체(15 mg/mL)를 0.85% DMA를 함유하는 20 mM 시트르산나트륨, 50 mM NaCl pH 5.5(20/50 완충제)에서 37 °C에서 72 h 동안 0.85 mM(8 mol 당량 약물:항체)에서 링커-페이로드 **30**, **33**, **44** 및 **46**에 접합하였다. 유리 약물을 30 kD MWCO 0.5 mL Amicon 스핀 농축기를 사용하여 제거하였다. 샘플을 스핀 농축기에 첨가하고, 15,000 x g에서 7 분 동안 원심분리한 다음, 450 μL 20 mM 시트르산나트륨, 50 mM NaCl pH 5.5로 희석하고, 다시 원심분리하였다. 이 과정을 10회 반복하였다. 최종 생성물의 DAR을 결정하기 위해, ADC를 이동상 A: 1.5 M 황산암모늄, 25 mM 인산나트륨 pH 7.0 및 이동상 B: 25% 이소프로판올, 18.75 mM 인산나트륨 pH 7.0을 사용하여 분석용 HIC(Tosoh #14947)로 검사하였다. 응집을 결정하기 위해, 300 mM NaCl, 25 mM 인산나트륨 pH 6.8의 이동상을 이용하여 분석적 크기 배제 크로마토그래피(SEC; Tosoh #08541)를 사용해서 샘플을 분석하였다.

[0732] **결과**

[0733] 중사슬 C-말단(CT)에 알데히드 태그를 함유하도록 변형된 αHER2(트라스투주맵) 및 αCD79b(폴라투주맵) 항체가 각각 메이탄신- 및 MMAE-함유 링커-페이로드 **30** 및 **33**에 접합하였다. 이들 반응은 거의 정량적 접합 효율 및 >95% 총 수율로 높은 수율을 보였다. 결과적으로 얻은 ADC는 1.79-1.89의 약물-대-항체 비(DAR)를 가지고 주로 단량체였다. 도 3 내지 10은 HIC에 의해 결정되는 DAR 및 SEC에 의해 결정된 단량체 무결성에 관한 대표 ADC를 나타낸다.

[0734] αHER2(트라스투주맵), αTROP-2(사시투주맵) 및 중사슬 C-말단(CT)에 알데히드 태그를 함유하도록 변형된 항-FITC 항체가 각각 메이탄신- 및 MMAE-함유 링커-페이로드 **44** 및 **46**에 접합하였다. 이들 반응은 일반적으로 높은

수율이었다. 결과적으로 얻은 ADC는 1.15-1.79의 약물-대-항체 비(DAR)를 가졌고, 주로 단량체였다. 도 19-30은 PLRP에 의해 결정되는 DAR 및 SEC에 의해 결정된 단량체 무결성에 관한 대표 ADC를 상세히 기록한다.

[0735] **실시예 3**

[0736] **시험관내 세포 독성**

[0737] **방법**

[0738] CD79b-양성 B 세포 림프종 세포주(Granta 519 및 Ramos-RA), HER2+ 위암 및 유방암 세포주(NCI-N87 및 SKBR3), 및 TROP-2+ 췌장암 및 유방암 세포주(BxPC3 및 MDA-MB-468)는 DSMZ 및 ATCC 세포 은행으로부터 얻었다. 세포를 판매자가 권장하는 대로 성장 배지에서 유지하였다. 플레이팅하기 24 h 전에, 세포를 계대배양하여 대수기 성장을 보장하였다. 플레이팅 당일, 5000개 세포/웰을 96-웰 플레이트 상에 100  $\mu$ L 정상 성장 배지에 시딩하였다. 세포를 20  $\mu$ L의 희석된 분석물로 다양한 농도로 처리하고, 플레이트를 5% CO<sub>2</sub> 분위기에서 37°C에서 인큐베이션하였다. 5 d 후, 100  $\mu$ L/웰의 Cell Titer-Glo 시약(Promega)을 첨가하고, Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 관독기를 사용하여 발광을 측정하였다. GraphPad Prism 소프트웨어를 데이터 분석에 사용하였다.

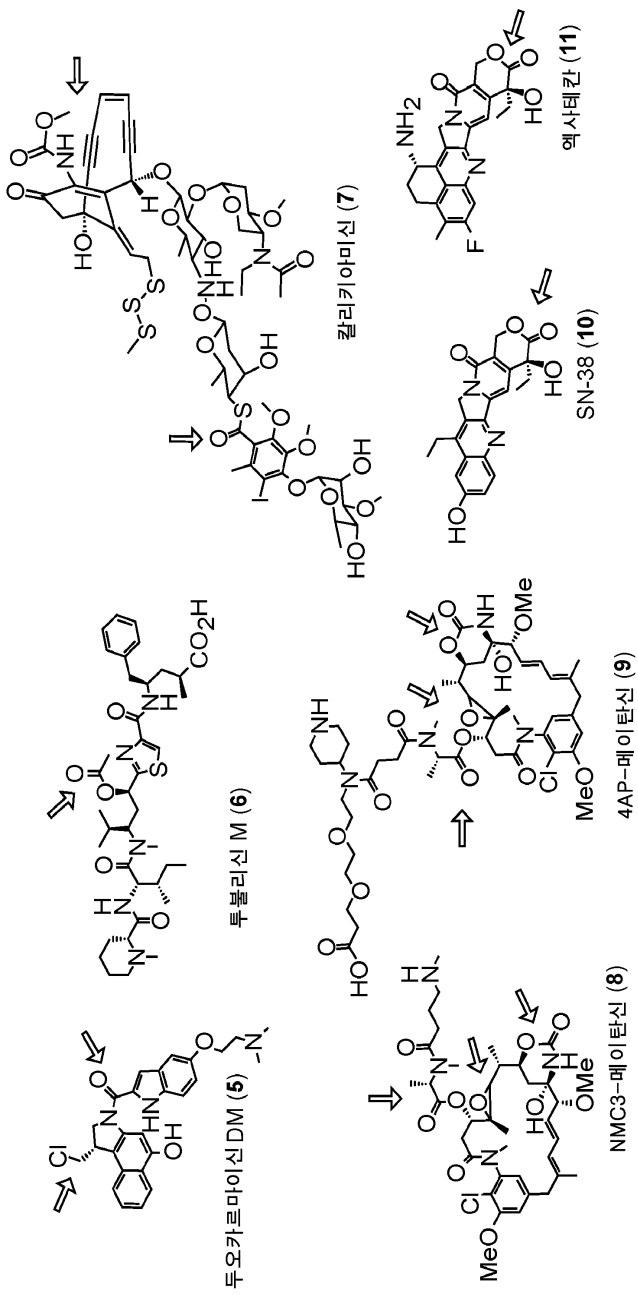
[0739] **결과**

[0740] 갈락토시드 및 글루코시드로 변형된 이중-절단 링커는 항원 양성 세포주에 대해 효력있는 (나노몰 이하) 시험관내 세포독성을 나타냈고, 유리 페이로드의 활성 및 단일-절단 링커 또는 글루쿠로니드로 변형된 이중-절단 링커를 보유하는 ADC의 활성과 비슷한 활성을 가졌다(도 12-18 및 31-36).

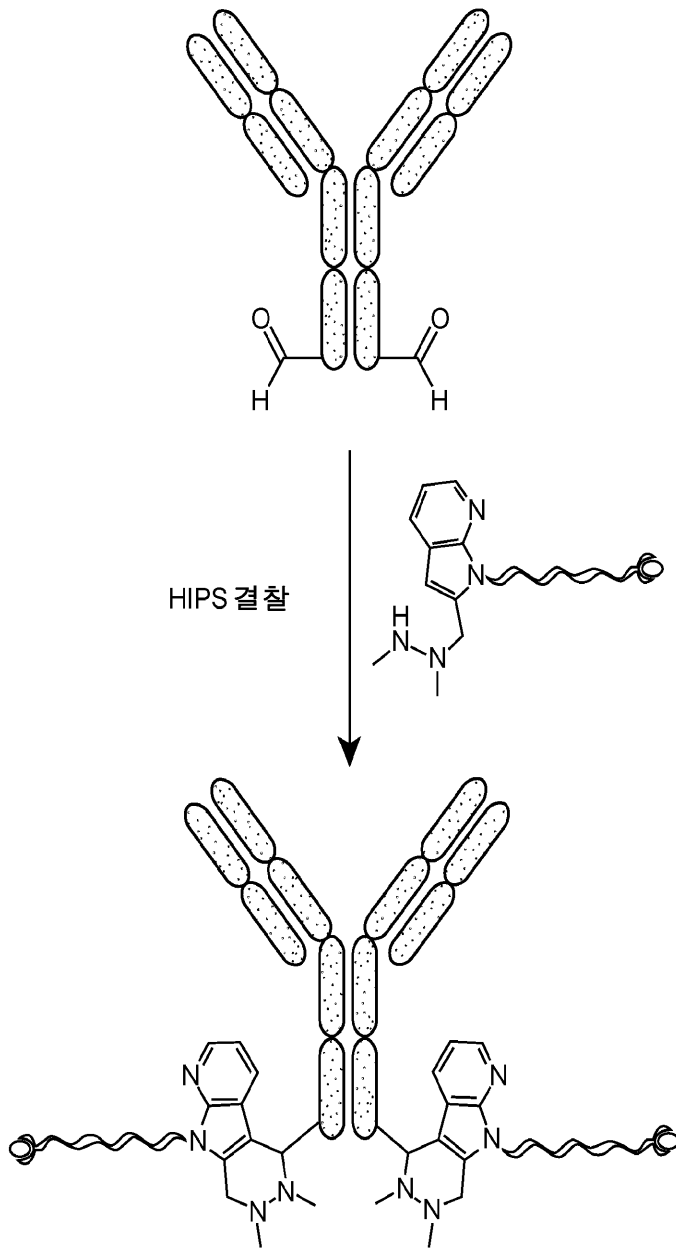
[0741] 본 발명을 그의 구체적인 구현예를 참고하여 기술하였지만, 관련 분야의 숙련된 자는 본 발명의 진정한 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다양한 변화가 이루어질 수 있고 등가물로 치환될 수 있음을 이해해야 한다. 또한, 특정 상황, 물질, 물질의 조성, 방법, 방법 단계 또는 단계들을 본 발명의 목적, 사상 및 범위에 맞추기 위해 많은 변형이 이루어질 수 있다. 그러한 모든 변형이 본원에 첨부된 청구 범위 내에 있다는 것을 의도한다.

도면

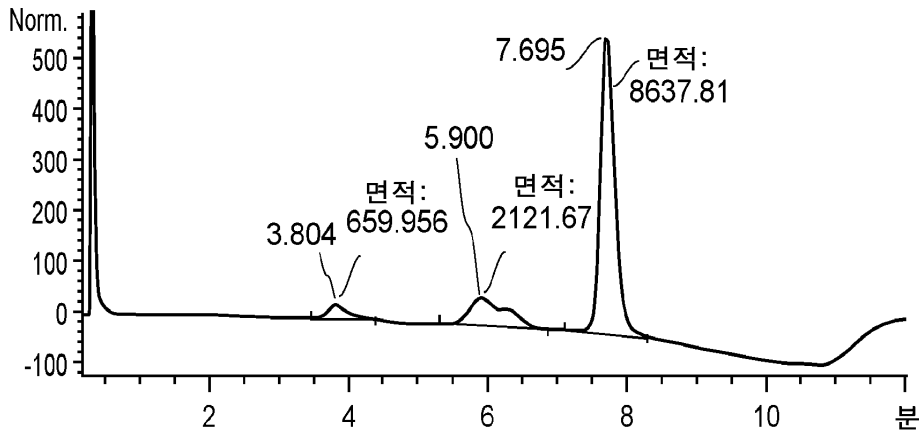
도면1



도면2

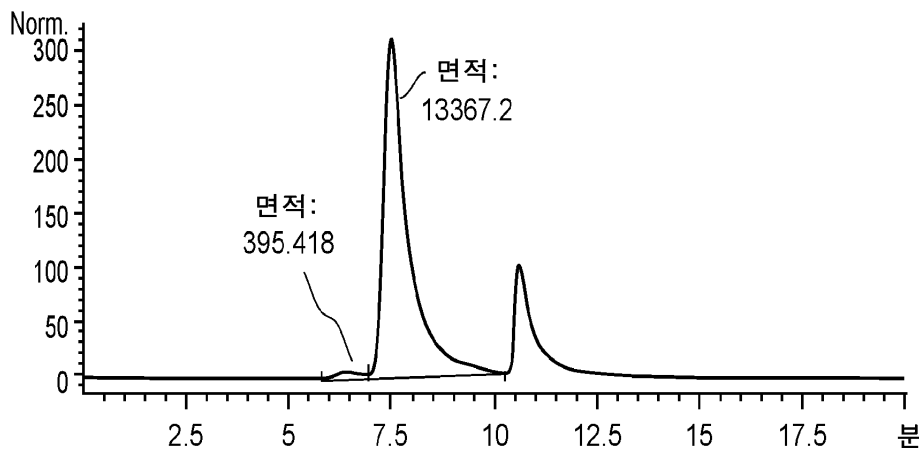


도면3



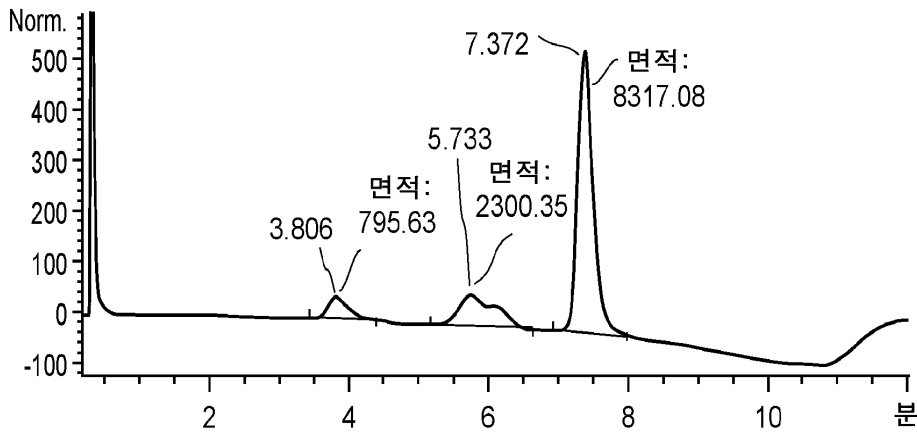
#	시간	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	3.804	660	29.2	0.3762	5.779	0.683
2	5.9	2121.7	53.4	0.6624	18.579	0.446
3	7.695	8637.8	583.8	0.2466	75.641	0.742

도면4



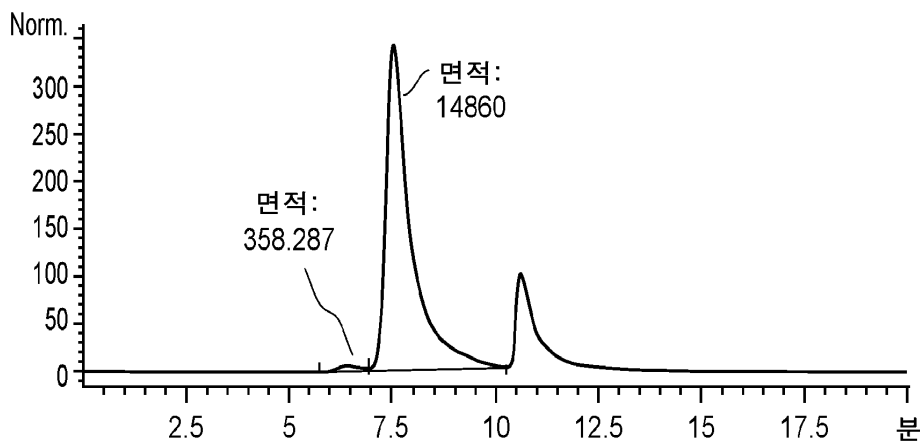
#	시간	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	6.398	395.4	8.4	0.7888	2.873	0
2	7.497	13367.2	314.4	0.7086	97.127	0.432

도면5



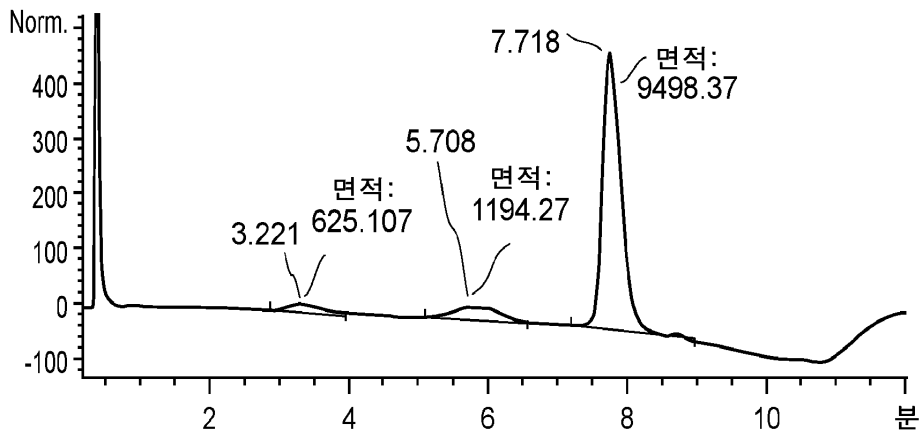
#	시간	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	3.806	795.6	40.6	0.3269	6.971	0.617
2	5.733	2300.4	61	0.6287	20.155	0.512
3	7.372	8317.1	524.7	0.2642	72.873	0.748

도면6



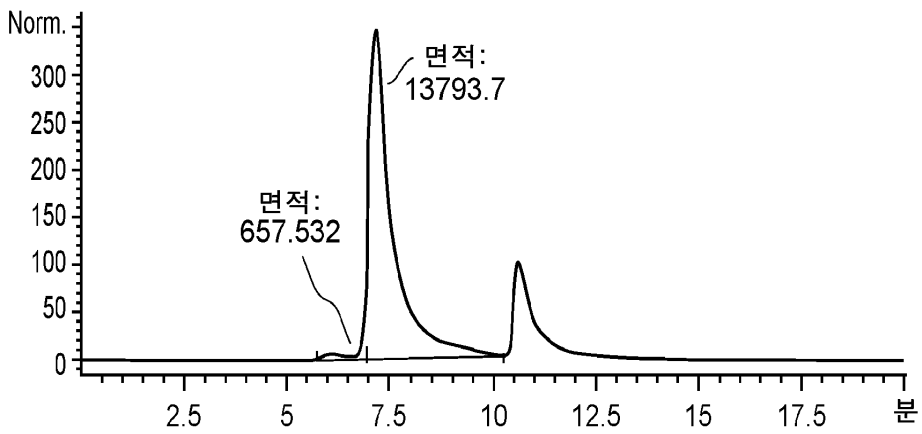
#	시간	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	6.424	358.3	8.1	0.7355	2.354	0
2	7.564	14860	345.8	0.7161	97.646	0.43

도면7



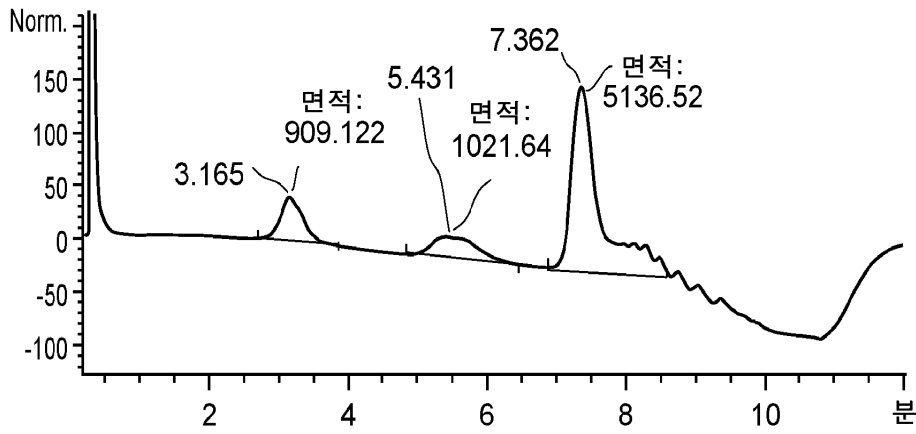
#	시간	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	3.221	625.1	17.3	0.6009	5.523	0.563
2	5.708	1194.3	23.3	0.8552	10.552	0.471
3	7.718	9498.4	492.9	0.3212	83.925	0.662

도면8



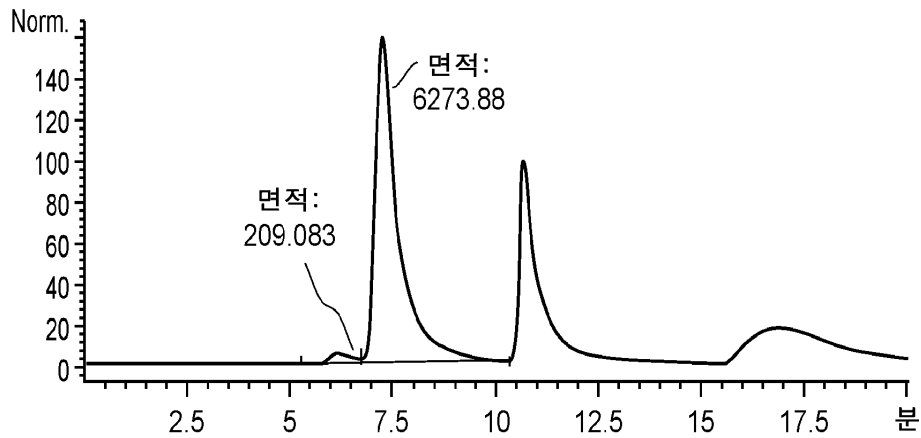
#	시간	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	6.062	657.5	14.5	0.7576	4.550	0
2	7.151	13793.7	354.8	0.6479	95.450	0.416

도면9



#	시간	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	3.165	909.1	40.7	0.3727	12.864	0.707
2	5.431	1021.6	20.4	0.8343	14.456	0.389
3	7.362	5136.5	173.1	0.4947	72.680	0.49

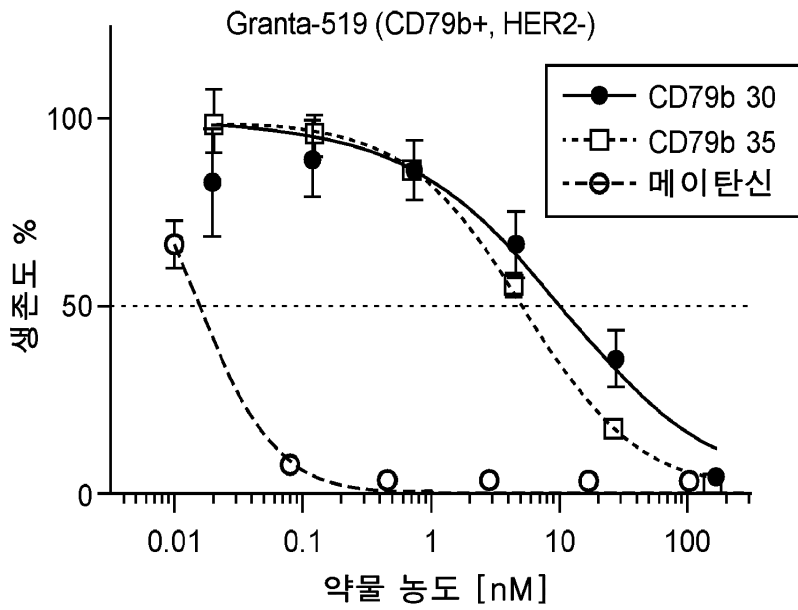
도면10



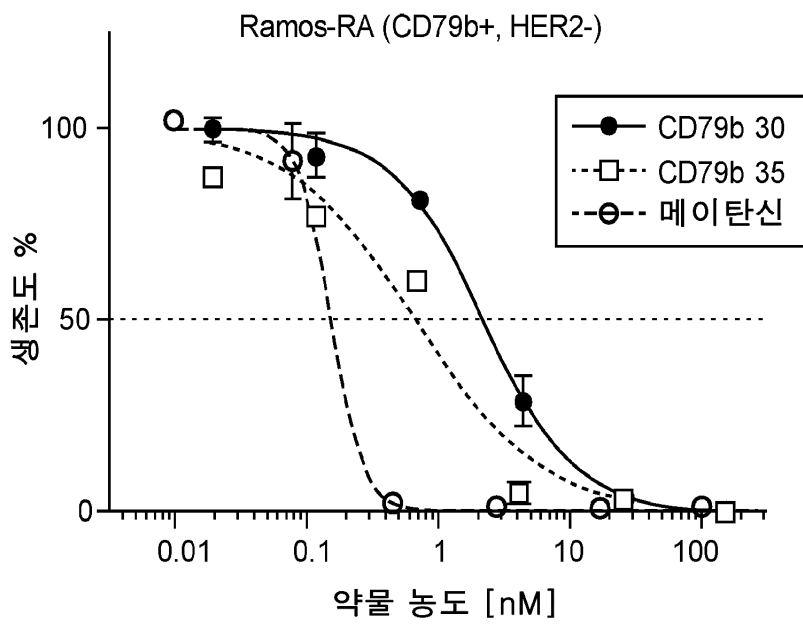
#	시간	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	6.11	209.1	5.6	0.6202	3.225	0
2	7.201	6273.9	161.7	0.6465	96.775	0.424



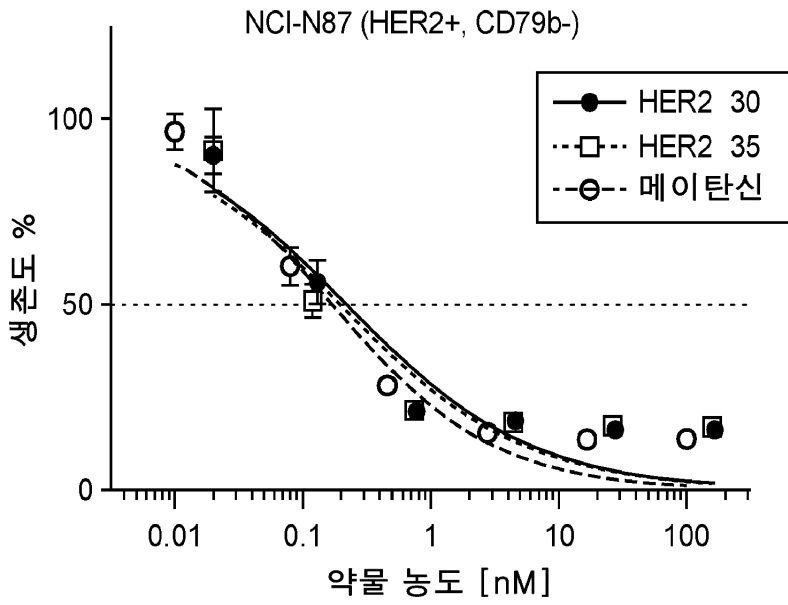
도면12



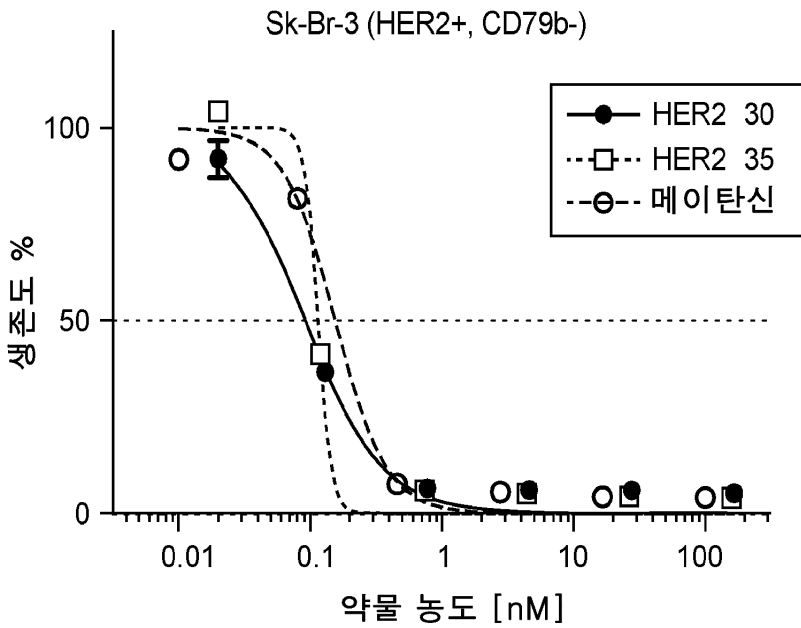
도면13



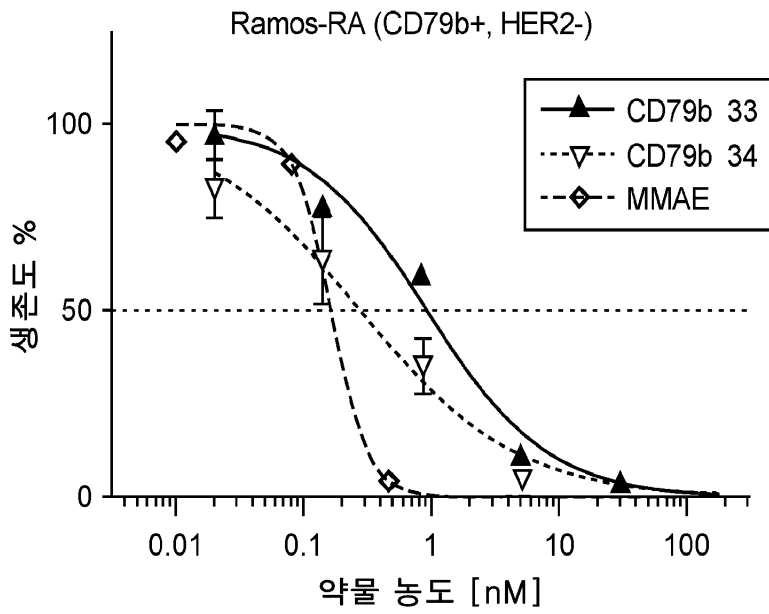
도면14



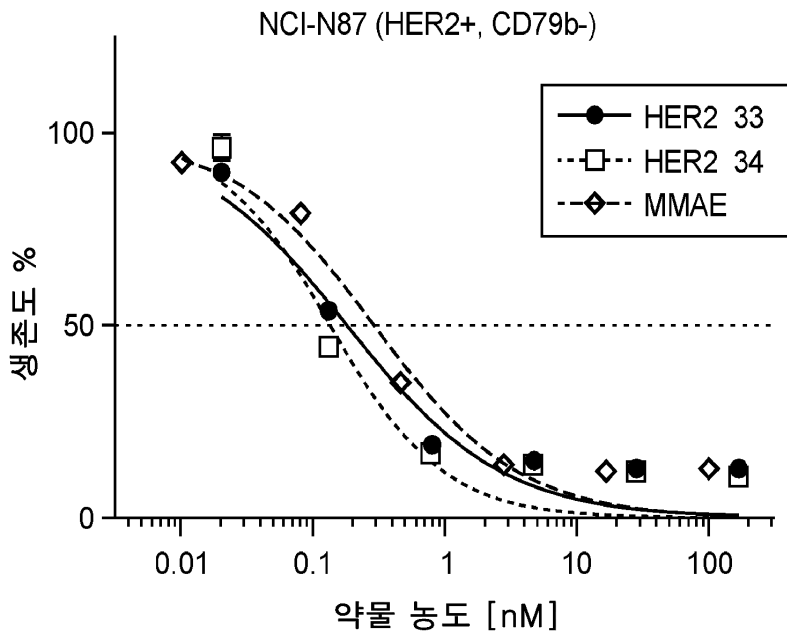
도면15



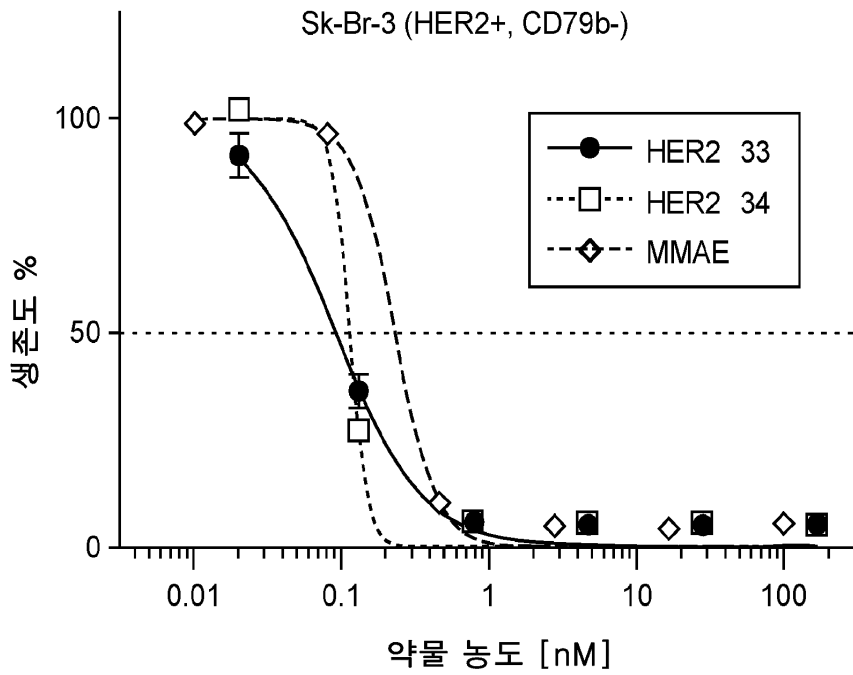
도면16



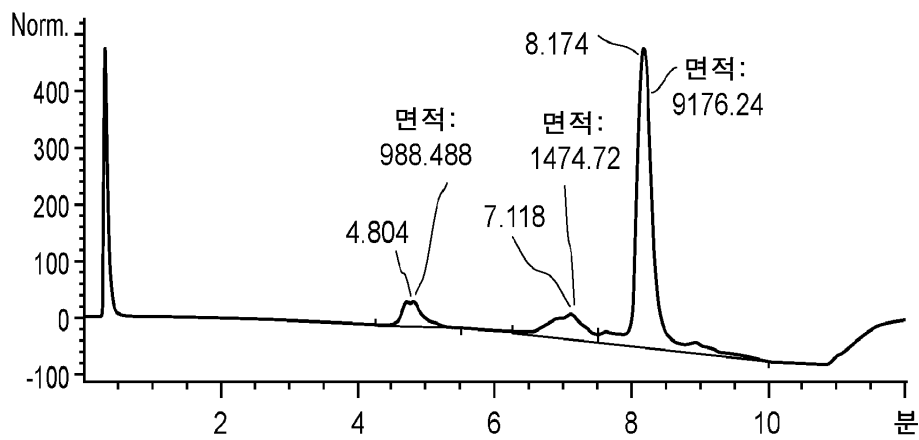
도면17



도면18

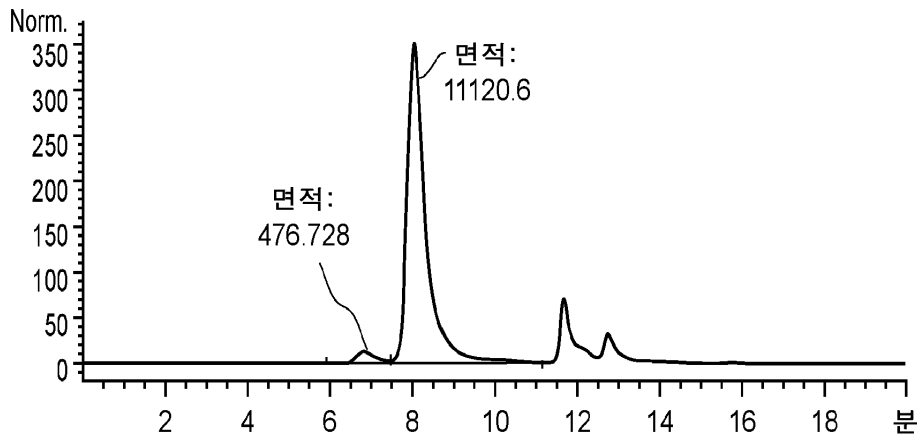


도면19



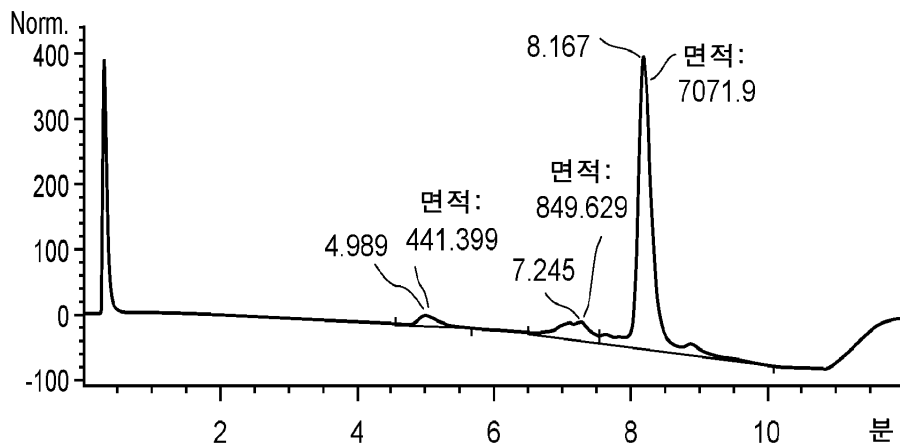
#	시간	유형	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	4.804	MM	988.5	43.2	0.381	8.493	0.39
2	7.118	MF	1474.7	43.2	0.5685	12.670	1.385
3	8.174	FM	9176.2	531.8	0.2876	78.837	0.716

도면20



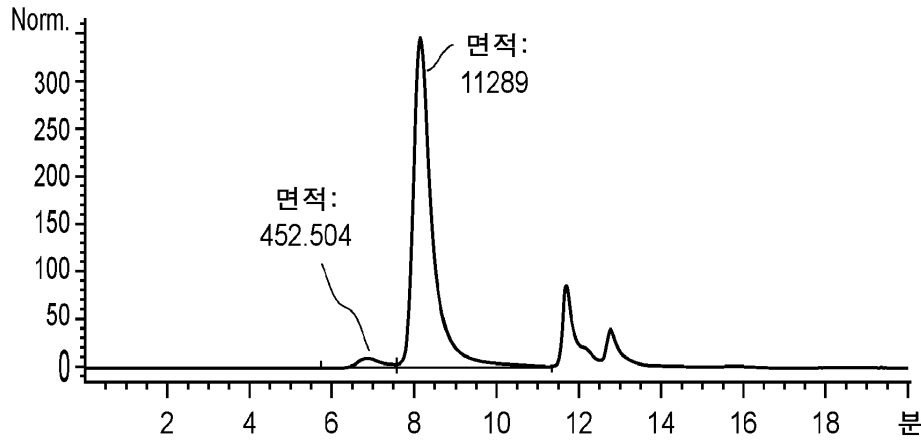
#	시간	유형	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	6.826	MF	476.7	13.2	0.6022	4.111	0
2	8.049	FM	11120.6	350.7	0.5285	95.889	0.564

도면21



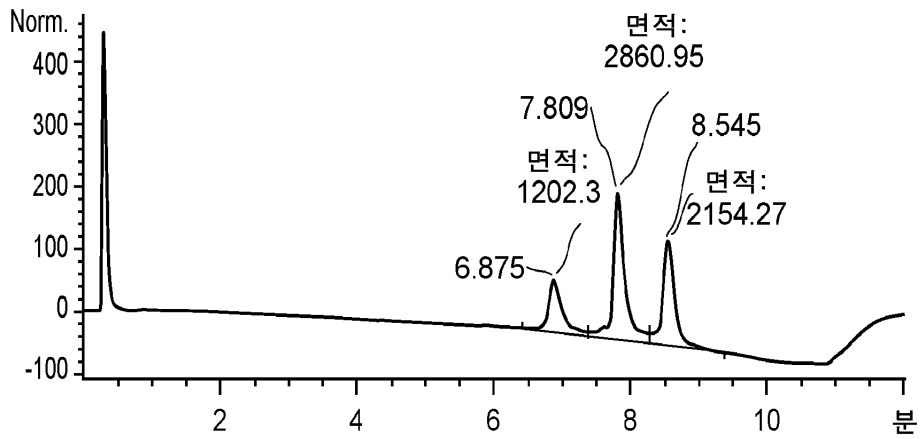
#	시간	유형	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	4.989	MM	441.4	17.8	0.4125	5.278	0.532
2	7.245	MF	849.6	26.6	0.5321	10.159	1.814
3	8.167	FM	7071.9	453.2	0.2601	84.562	0.623

도면22



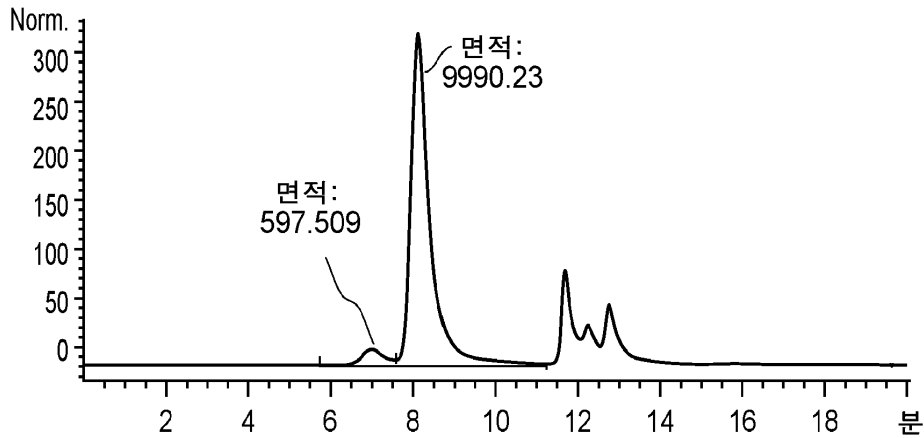
#	시간	유형	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	6.808	MF	452.5	10.3	0.7353	3.854	0
2	8.14	FM	11289	347.2	0.542	96.146	0.56

도면23



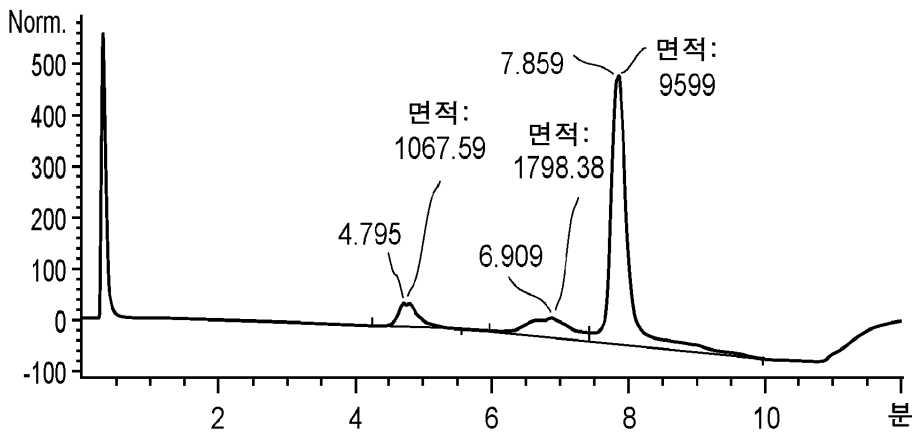
#	시간	유형	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	6.875	MF	1202.3	82.4	0.2432	19.337	0.589
2	7.809	FM	2861	235.1	0.2028	46.014	0.621
3	8.545	FM	2154.3	167.9	0.2139	34.648	0.75

도면24



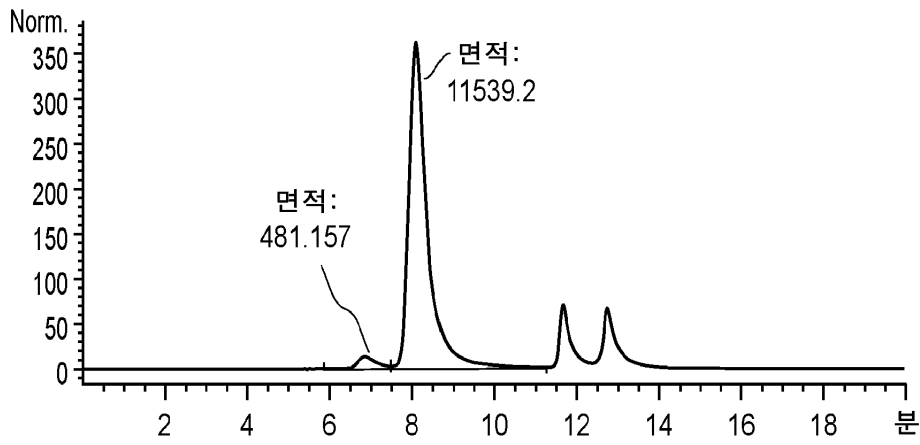
#	시간	유형	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	6.986	MF	597.5	15	0.6651	5.643	0.809
2	8.118	FM	9990.2	302.1	0.5511	94.357	0.551

도면25



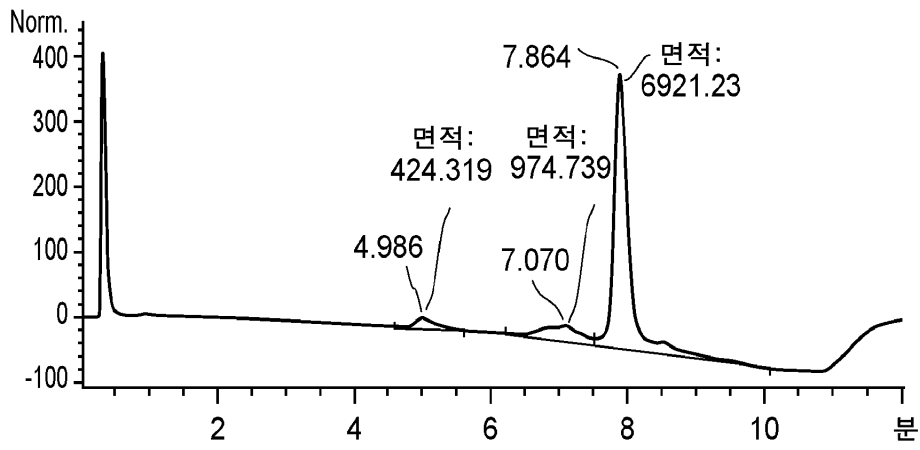
#	시간	유형	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	4.795	MM	1067.6	46.6	0.3817	8.565	0.985
2	6.909	MF	1798.4	39.3	0.7635	14.427	1.256
3	7.859	FM	9599	532.4	0.3005	77.008	0.744

도면26



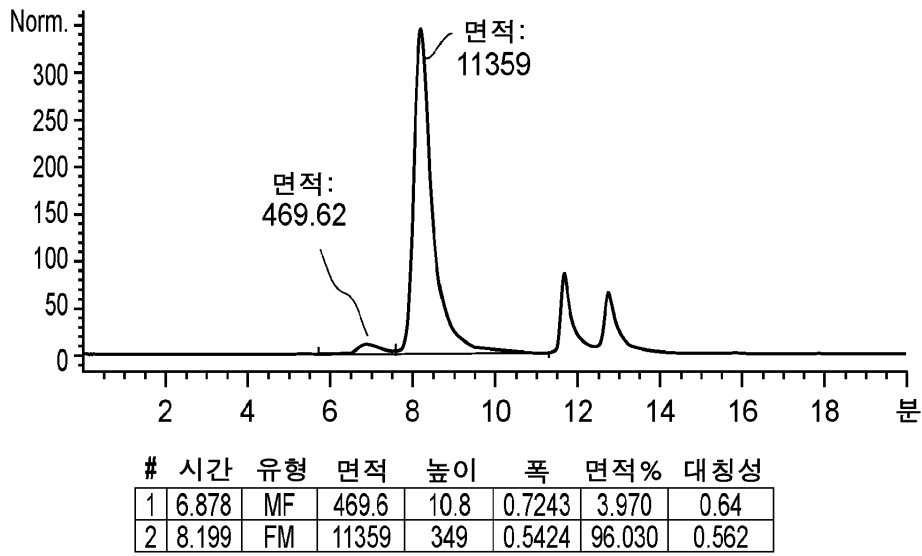
#	시간	유형	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	6.864	MF	481.2	13.8	0.5818	4.003	0.705
2	8.102	FM	11539.2	363.2	0.5296	95.997	0.555

도면27

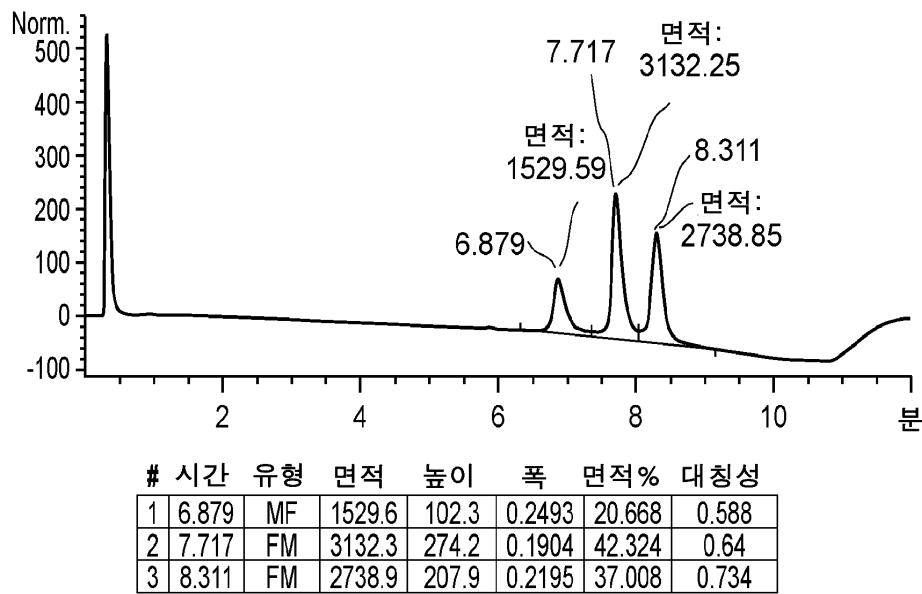


#	시간	유형	면적	높이	폭	면적%	대칭성
1	4.986	MM	424.3	17.4	0.4069	5.100	0.493
2	7.07	MF	974.7	24.1	0.6737	11.715	1.216
3	7.864	FM	6921.2	422	0.2733	83.185	0.552

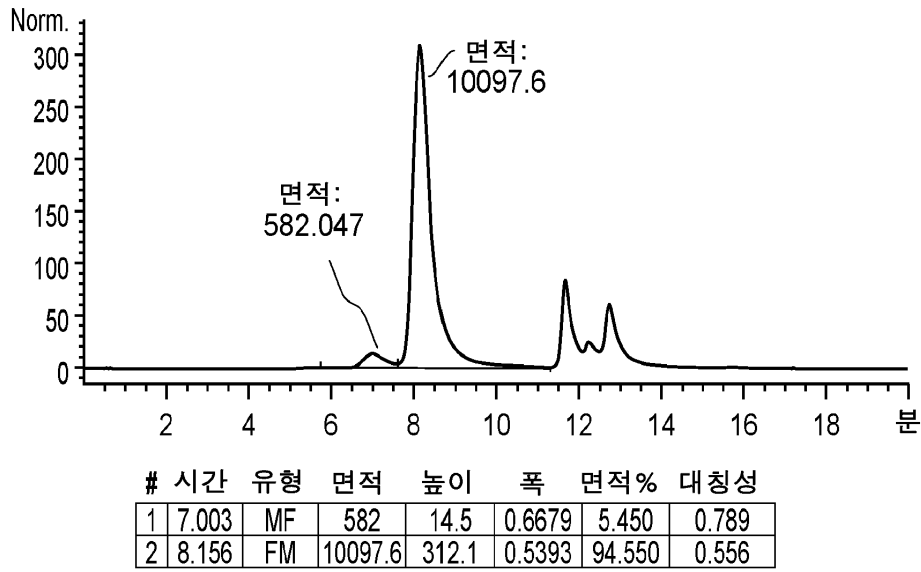
도면28



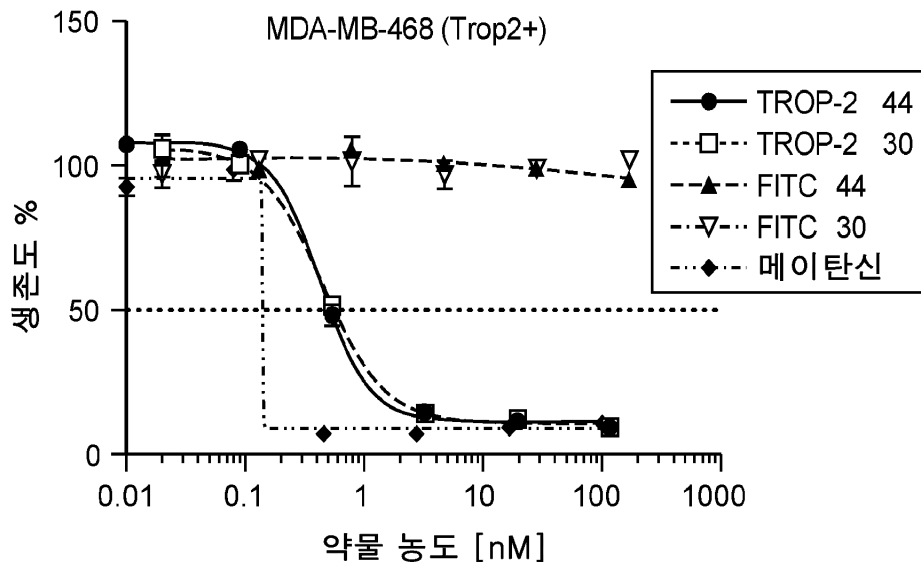
도면29



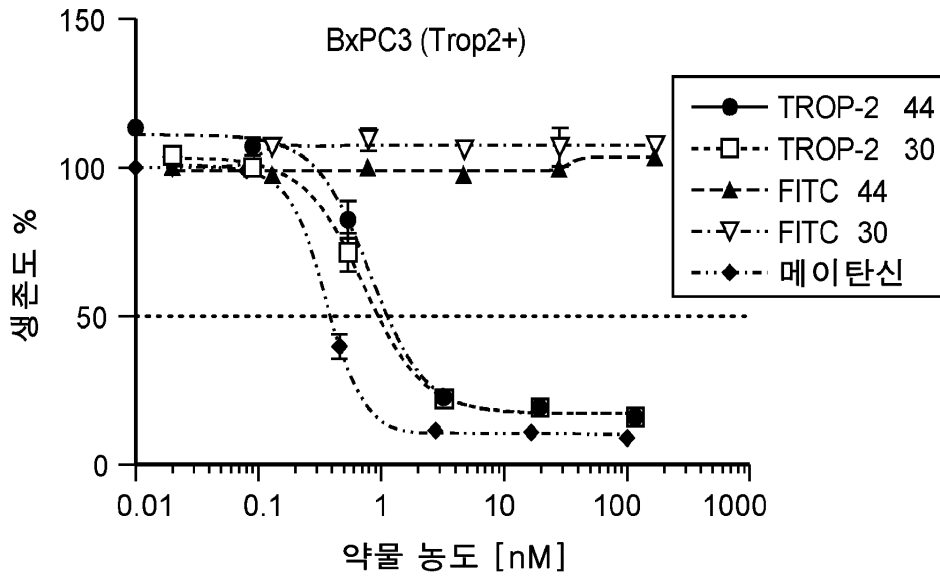
도면30



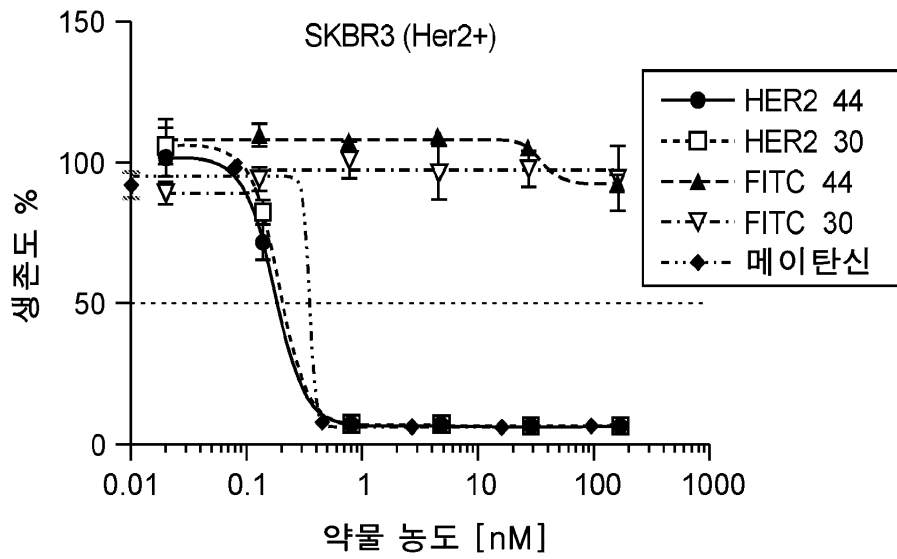
도면31



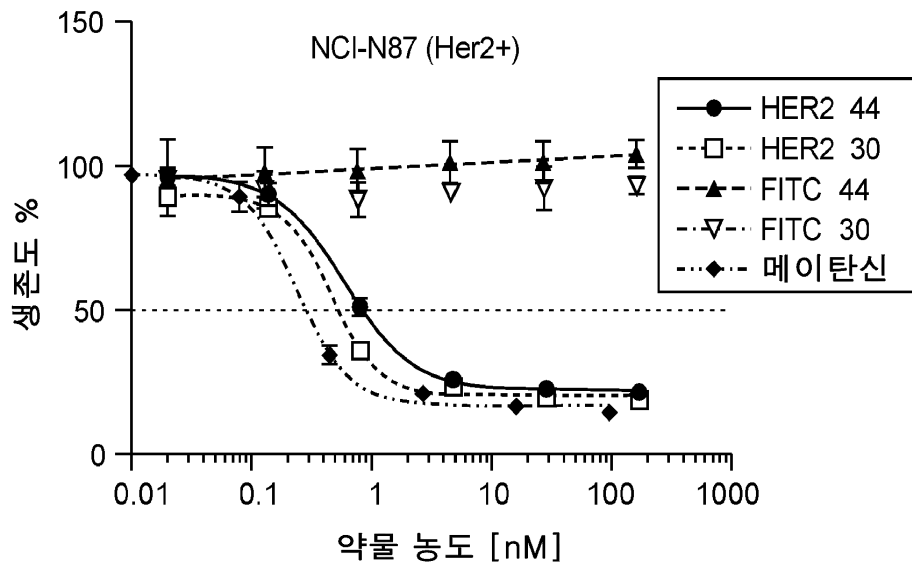
도면32



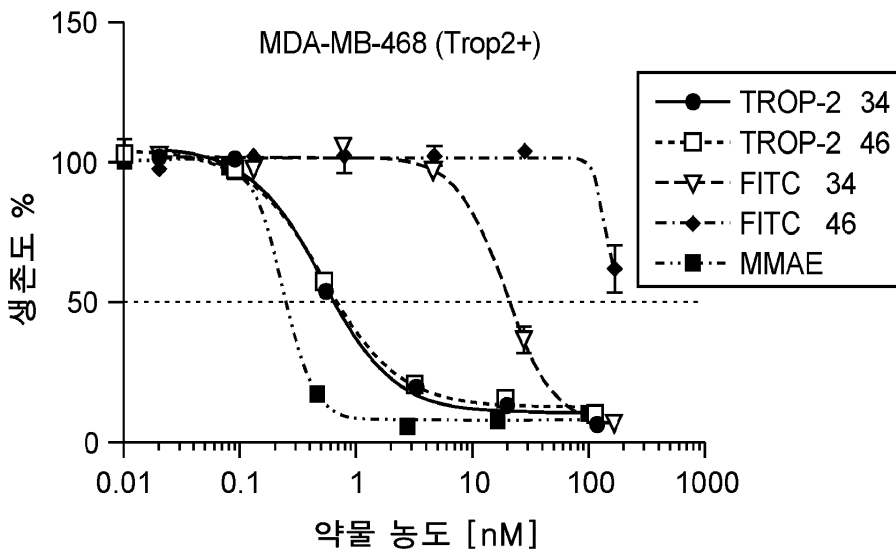
도면33



도면34



도면35



도면36

