



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0057588
 (43) 공개일자 2012년06월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/48 (2006.01) **A61K 31/74** (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01) **C07D 491/147**
 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2011-7031373
 (22) 출원일자(국제) 2010년05월27일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2011년12월28일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2010/036413
 (87) 국제공개번호 WO 2010/138719
 국제공개일자 2010년12월02일
 (30) 우선권주장
 61/181,926 2009년05월28일 미국(US)

(71) 출원인
메르사나 테라퓨틱스, 인코포레이티드
 미국 매사추세츠 캄브리지 메모리얼 드라이브
 840 (우:02139)
 (72) 발명자
유르코베트스키 알렉산드르
 미국 01460 매사추세츠주 리틀턴 올드 팜 로드 2
인 마오
 미국 02492 매사추세츠주 니덤 메이플 스트리트
 183
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
강승욱, 김성기

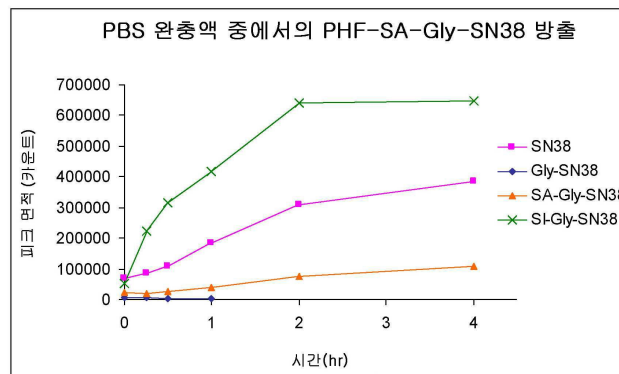
전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 **가변 속도 방출 링커를 포함하는 폴리알 약물 접합체**

(57) 요약

가변 속도 방출 링커를 포함하는 폴리알-약물 접합체와 이 접합체의 제조 방법을 개시한다. 이 폴리알-약물 접합체의 용도도 개시한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

리우 구이

미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 실비아 스트리트
39

아컬리언 로라 씨

미국 02478 매사추세츠주 벨몬트 스프링필드 스트
리트 36 아파트먼트 1

케인 존 제이

미국 11428 뉴욕주 퀸스 빌리지 219번 스트리트
92-31

스티븐슨 체리 에이

미국 01832 매사추세츠주 하버힐 올드 양키 로드
81

하몬드 찰스 이

미국 01821 매사추세츠주 빌리리카 이레네 애비뉴
22

피터 러셀 씨

미국 01775 매사추세츠주 스토우 로빈우드 레인
22

반 두저 존 에이치

미국 01833 매사추세츠주 조지타운 설로 스트리트
102

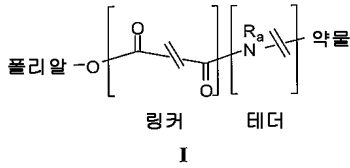
로왕거 티모시 비

미국 01741 매사추세츠주 칼리슬 스쿨 스트리트
352

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 접합체:



상기 식에서,

폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;

링커는 카보닐 사이에 2개 이상의 원자를 포함하는 디카복실산 모이어티이며;

테더는 2차 또는 3차 아민을 포함하는 이작용성 유기 모이어티이고;

R₃는 H 또는 알킬이거나, 또는 테더의 주쇄의 CH₂와 함께 5원 또는 6원 고리를 형성하며;

약물은, 테더에 공유 결합할 수 있는, 분자량 약 200 달톤~1,000 달톤의 임의의 유기 화합물이고;

여기서, 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소가 없는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 10 시간 내지 약 300 시간 초과이고;

링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함할 경우, 방출 반감기는 약 10 시간 미만이며;

링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함하지 않을 경우, 방출 반감기는 약 100 시간 초과이고;

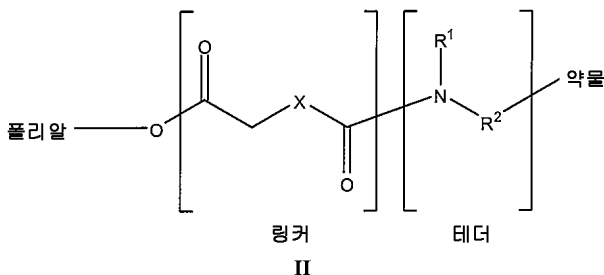
링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소를 갖는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 0.1 시간~약 24 시간이며;

여기서, 방출 반감기는 37°C에서 0.05 M 포스페이트 완충액, 0.9% 식염수, pH 7.4 중에서 측정되고;

단, 화학식 I의 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2-노넨-2-일)SA-Gly-CPT, PHF-SA-Gly-택솔, 또는 PHF-SA-Gly-일루딘이 아니다.

청구항 2

하기 화학식 II의 접합체:



상기 식에서,

X는 -CH₂-, -OCH₂-, 또는 -CH₂CH₂-이고, 여기서 CH₂ 중 하나 이상은 임의로 치환되고;

R₁은 H 또는 CH₃이며;

R_2 는 $N-R_1$ 과 약물 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, $-CH(Y)-C(O)-$ (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나, 또는 R_1 과 R_2 는 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하고;

폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;

약물은, 테더에 공유 결합할 수 있는, 분자량 약 200 달톤~1,000 달톤의 임의의 유기 화합물이고;

여기서, 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소가 없는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 10 시간 내지 약 300 시간 초과이고;

링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함할 경우, 방출 반감기는 약 10 시간 미만이며;

링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함하지 않을 경우, 방출 반감기는 약 100 시간 초과이고;

링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소를 갖는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 0.1 시간~약 24 시간이며;

여기서, 방출 반감기는 37°C에서 0.05 M 포스페이트 완충액, 0.9% 식염수, pH 7.4 중에서 측정되고;

단, 화학식 II의 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2-노렌-2-일)SA-Gly-CPT, PHF-SA-Gly-텍솔, 또는 PHF-SA-Gly-일루딘이 아니다.

청구항 3

제2항에 있어서, 폴리알이 아세탈인 접합체.

청구항 4

제2항에 있어서, 폴리알이 케탈인 접합체.

청구항 5

제3항에 있어서, 아세탈이 PHF인 접합체.

청구항 6

제2항에 있어서, R_1 이 H인 접합체.

청구항 7

제2항에 있어서, R_1 이 CH_3 인 접합체.

청구항 8

제2항에 있어서, R_2 가 $-CH(Y)-C(O)-$ 이고, 여기서 Y가 천연 아미노산의 측쇄 중 하나인 접합체.

청구항 9

제2항에 있어서, R_2 가 방향족 기인 접합체.

청구항 10

제2항에 있어서, R_2 가 지방족 고리인 접합체.

청구항 11

제2항에 있어서, R_2 가 지방족 사슬인 접합체.

청구항 12

제2항에 있어서, R_2 가 복소환 지방족 고리인 집합체.

청구항 13

제2항에 있어서, R_1 과 R_2 가 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하는 것인 집합체.

청구항 14

제2항에 있어서, R_1 과 R_2 가 형성하는 고리가 5원 고리인 집합체.

청구항 15

제13항에 있어서, R_1 과 R_2 가 형성하는 고리가 6원 고리인 집합체.

청구항 16

제2항에 있어서, X가 $-\text{CH}_2-$ 인 집합체.

청구항 17

제2항에 있어서, X가 $-\text{OCH}_2-$ 인 집합체.

청구항 18

제2항에 있어서, X가 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 인 집합체.

청구항 19

제2항에 있어서, X가 C_1-C_6 알킬기로 임의로 치환되는 것인 집합체.

청구항 20

제2항에 있어서, 테더가 아미노산, 디아민, 아미노알코올 또는 아미노티올로 이루어진 군에서 선택되는 것인 집합체.

청구항 21

제2항에 있어서, 약물이 푸마질롤인 집합체.

청구항 22

제2항에 있어서, 약물이 빈카 알칼로이드인 집합체.

청구항 23

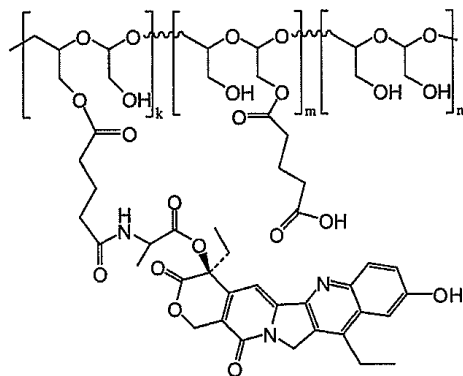
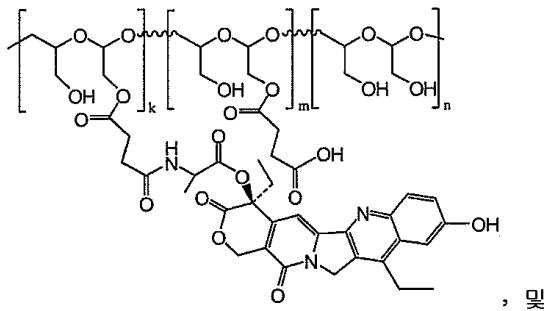
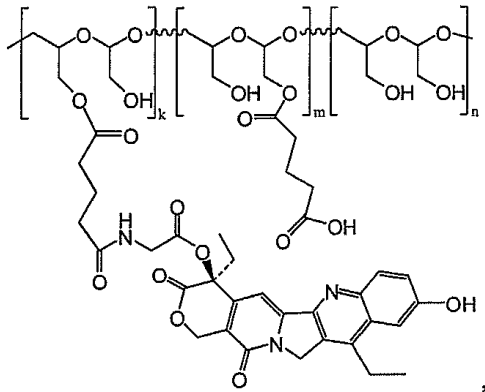
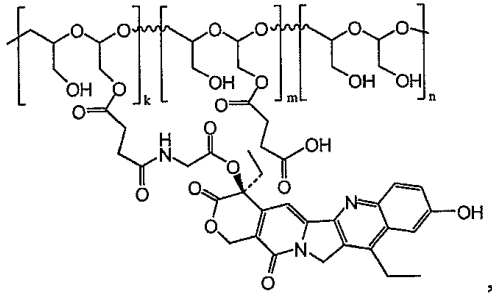
제2항에 있어서, 약물이 비천연 캄토테신인 집합체.

청구항 24

제23항에 있어서, 비천연 캄토테신이 SN38인 집합체.

청구항 25

제24항에 있어서, 접합체가



및 이들의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군에서 선택되며, 여기서 k 는 1?30이고, m 은 0?300이며, n 은 100?750이고, 폴리알은 괄호로 표시된 랜덤 분포의 공유 결합된 단량체 블록을 포함하는 것인 접합체.

청구항 26

37°C에서 PBS 완충액 중에서 측정할 때 약물 방출 반감기가 약 1 시간 미만 내지 300 시간 초과인 폴리알-약물 접합체를 확인하는 방법으로서,

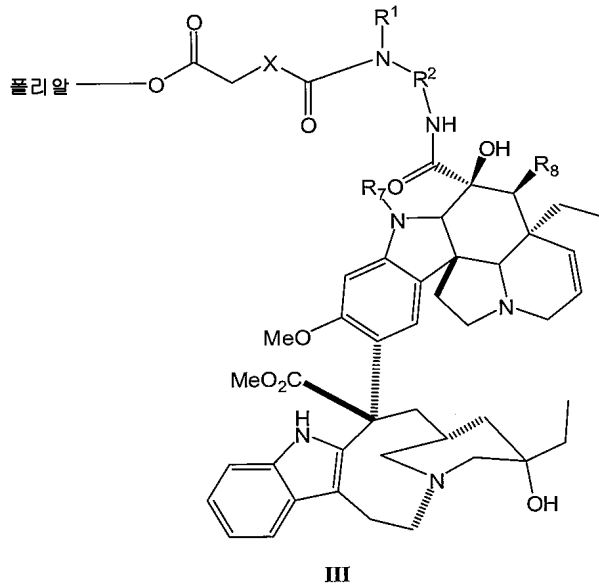
디카복실산 링커를 선택하는 단계;

상기 링커를 갖는 접합체를 얻는 단계로서, 상기 접합체는 폴리알, 약물 및 상기 링커를 포함하는 것인 단계;
및

상기 접합체로부터의 약물의 방출 반감기를 측정하는 단계
를 포함하는 방법.

청구항 27

하기 화학식 III의 접합체 및 이의 약학적으로 허용되는 염:



상기 식에서,

폴리알은 사이클로텍스트란으로부터 유도된 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;

X는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, 또는 $-CH_2CH_2-$ 이고, 여기서 $-CH_2-$ 중 하나 이상은 임의로 치환되며;

R_1 은 H 또는 CH_3 이고;

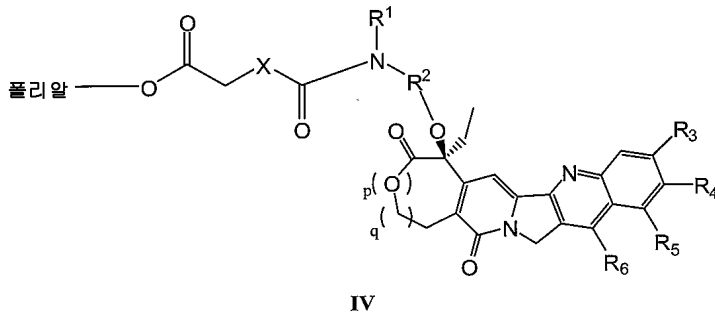
R_2 는 N- R_1 과 빈카 알칼로이드 유도체의 $-NHC(O)-$ 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, $-CH(Y)-C(O)-$ (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나; 또는 R_1 과 R_2 는 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하고;

R_7 은 $-CH_3$ 또는 $-CHO$ 이고;

R_8 은 $-OCOCH_3$ 또는 OH이다.

청구항 28

하기 화학식 IV의 접합체 및 이의 약학적으로 허용되는 염:



상기 식에서,

폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;

X는 -CH₂-, -OCH₂-, 또는 -CH₂CH₂-이고, 여기서 -CH₂- 중 하나 이상은 임의로 치환되며;

R₁은 H 또는 CH₃이고;

R₂는 N-R₁과 비천연 캄토테신 유도체의 -O- 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, -CH(Y)-C(O)- (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나; 또는 R₁과 R₂가 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하며;

R₃은 -H, -Cl, -F, -OH 또는 알킬이거나; 또는 R₃과 R₄가 함께 5원 또는 6원 고리를 형성할 수 있으며;

R₄는 -H, -F, -OH, -CH₃, -CH=N-O-t-부틸, -CH₂CH₂Si(CH₃)₃, 또는 -Si((CH₃)₂)-t-부틸이고;

R₅는 -CH₂-N(CH₃)₂, NH₂, 또는 NO₂이고;

R₆은 에틸, N-메틸 피페리딘, 사이클로알킬, -CH₂CH₂NHCH(CH₃)₂, 또는 -N-4-메틸사이클로헥실아민이거나; 또는

R₅와 R₆이 함께 임의로 치환된 6원 고리를 형성할 수 있으며;

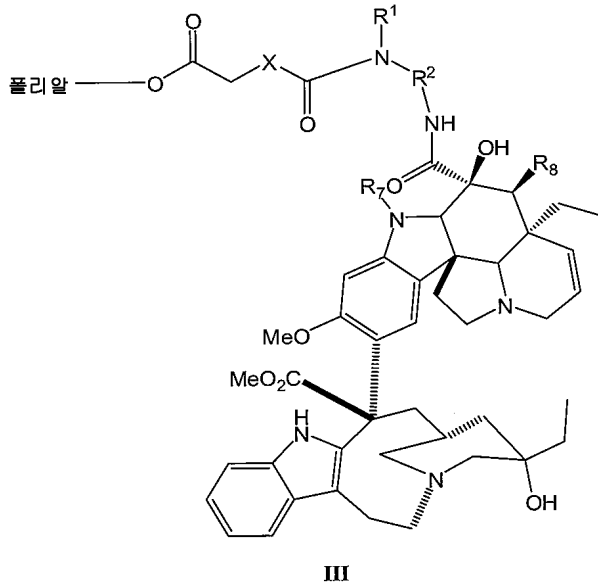
p는 0 또는 1이고;

q는 0 또는 1이며;

단, 상기 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, 또는 PHF-(2-노넨-2-일)SA-Gly-CPT가 아니다.

청구항 29

하기 화학식 III의 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염과 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물:



상기 식에서,

폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;

X는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, 또는 $-CH_2CH_2-$ 이고, 여기서 $-CH_2-$ 중 하나 이상은 임의로 치환되며;

R_1 은 H 또는 CH_3 이고;

R_2 는 N- R_1 과 빈카 알칼로이드 유도체의 $-NHC(O)-$ 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, $-CH(Y)-C(O)-$ (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나; 또는 R_1 과 R_2 는 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하고;

R_7 은 $-CH_3$ 또는 $-CHO$ 이고;

R_8 은 $-OCOCH_3$ 또는 OH이다.

청구항 30

화학식 III의 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 암 치료에 유효한 양으로 암 치료가 필요한 피험체에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법.

청구항 31

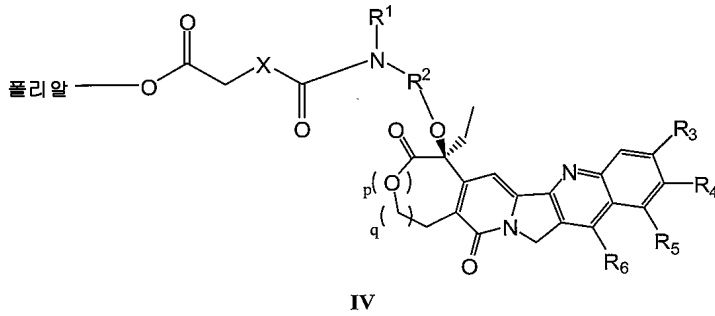
제30항에 있어서, 화학식 III의 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체가 PHF-빈카 알칼로이드 접합체인 치료 방법.

청구항 32

제30항에 있어서, 암이 항문암, 성상세포종, 백혈병, 림프종, 두경부암, 간암, 고환암, 자궁경부암, 육종, 혈관종, 식도암, 안암, 후두암, 구내암, 중피종, 피부암, 흑색종, 구강암, 직장암, 인후암, 방광암, 유방암, 자궁암, 난소암, 전립선암, 폐암, 결장암, 췌장암, 신장암 및 위암으로 이루어진 군에서 선택되는 것인 치료 방법.

청구항 33

하기 화학식 IV의 접합체 및 이의 약학적으로 허용되는 염과 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물:



상기 식에서,

폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;

X는 -CH₂-, -OCH₂-, 또는 -CH₂CH₂-이고, 여기서 -CH₂- 중 하나 이상은 임의로 치환되며;

R₁은 H 또는 CH₃이고;

R₂는 N-R₁과 비천연 캄토테신 유도체의 -O- 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, -CH(Y)-C(O)- (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나; 또는 R₁과 R₂가 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하며;

R₃은 -H, -Cl, -F, -OH 또는 알킬이거나; 또는 R₃과 R₄가 함께 5원 또는 6원 고리를 형성할 수 있으며;

R₄는 -H, -F, -OH, -CH₃, -CH=N-O-t-부틸, -CH₂CH₂Si(CH₃)₃, 또는 -Si((CH₃)₂)-t-부틸이고;

R₅는 -CH₂-N(CH₃)₂, NH₂, 또는 NO₂이고;

R₆은 에틸, N-메틸 피페리딘, 사이클로알킬, -CH₂CH₂NHCH(CH₃)₂, 또는 -N-4-메틸사이클로헥실아민이거나; 또는

R₅와 R₆이 함께 임의로 치환된 6원 고리를 형성할 수 있으며;

p는 0 또는 1이고;

q는 0 또는 1이며;

단, 상기 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, 또는 PHF-(2-노넨-2-일)SA-Gly-CPT가 아니다.

청구항 34

화학식 IV의 폴리알-비천연 캄토테신 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 암 치료에 유효한 양으로 암 치료가 필요한 피험체에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 화학식 IV의 폴리알-비천연 캄토테신이 PHF-비천연 캄토테신 접합체인 치료 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, PHF-비천연 캄토테신 접합체가 PHF-SN38인 치료 방법.

청구항 37

제34항에 있어서, 암이 항문암, 성상세포종, 백혈병, 림프종, 두경부암, 간암, 고환암, 자궁경부암, 육종, 혈관종, 식도암, 안암, 후두암, 구내암, 중피종, 피부암, 흑색종, 구강암, 직장암, 인후암, 방광암, 유방암, 자궁암, 난소암, 전립선암, 폐암, 결장암, 췌장암, 신장암 및 위암으로 이루어진 군에서 선택되는 것인 치료 방법.

명세서

기술 분야

- [0001] [우선권]
- [0002] 본 출원은 2009년 5월 28일에 출원된 미국 가출원 제61/181,926호를 기초로 우선권의 이익을 주장한다. 상기 가출원의 전체 개시내용은 본 출원에서 참고문헌으로서 인용되고 포함된다.
- [0003] [참고 문헌 인용]
- [0004] 본 출원 전반에 걸쳐 다양한 간행물이 인용되었다. 이들 간행물의 개시내용은 그 전체가, 본원에 기재되고 청구된 발명이 이루어진 그 날에 당업자에게 공지된 선행 기술을 더욱 충분히 설명하기 위해 본원에 참고로 인용된다.
- [0005] 본 특허 개시물은 저작권 보호를 받는 자료를 포함한다. 저작권 소유자는, 미국 특허상표청의 특허 파일이나 기록에서 그러한 것과 같이, 타인이 특허 문헌 또는 특허 개시물을 복사하는 것에 이익을 제기하지 않으나, 그 밖의 임의의 모든 저작권은 유지한다.
- [0006] [기술 분야]
- [0007] 본 출원은 중합체-약물 접합체에 관한 것이다. 특히, 본 출원은 가변 속도 방출 링커를 포함하는 폴리알-약물 접합체, 이것의 사용 방법 및 이것의 설계 방법에 관한 것이다.

배경 기술

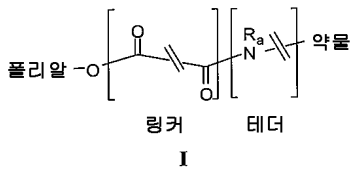
- [0008] 전통적으로, 약제는 (고체 환제 및 액제로서) 경구 투여되거나 주사제로서 투여되는 소분자로 주로 이루어졌다. 그러나, 지난 30년 동안, 서방형 제제(즉, 약물 전달 속도를 조절하여 필요한 부위에 치료제를 전달할 수 있게 하는 조성물)는 더욱 더 일반화되고 복잡해졌다. 그럼에도 불구하고, 새로운 치료제의 개발과 그 투여 메커니즘에 관한 많은 의문과 과제가 여전히 해결해야 할 숙제로 남아 있다.
- [0009] 이 분야에 있어서의 많은 연구 노력이 큰 진전을 가져왔음에도, 수년에 걸쳐 개발되어 현재 이용되고 있는 약물 전달 방법/시스템은 여전히 더 연구할 필요가 있는 특수한 문제점을 갖고 있다. 예를 들어, 많은 약물들이 일반적으로 체내의 원하는 표적에 도달하기 전에 부분 분해되기 때문에 제한된 또는 감소된 효능 및 치료 효과를 나타낸다. 일단 투여되면, 서방형 의약은 치료제를 단시간(수시간 수분)이 아니라, 지속적으로, 예를 들어 수일 또는 수주 동안 전달한다. 약물 전달 시스템 분야에 있어서의 한 가지 과제는 생리학적 또는 화학적 트리거를 사용함으로써 치료제의 투여 속도 및 시간을 조절할 수 있는 시스템을 통해 체내의 특이적으로 표적화된 부위에 의약을 온전한 상태로 전달하는 것이다. 중합체 접합체로부터의 약물의 방출 속도는, 방출된 약물의 전체 효능, 방출된 약물의 작용 지속 기간, 요구되는 투여 빈도, 방출된 약물의 독성, 방출된 약물의 생체분포 및 방출된 약물의 전체적인 약동학적 및 약력학적 특성에 영향을 미치는 것을 비롯하여 방출된 약물의 특성을 변경하는 데 있어서 매우 중요한 역할을 할 수 있다. 예를 들어, 중합체 접합체로부터의 약물의 지속적인 저속 방출은 약물의 지속적인 저속 주입을 모방할 수 있다. 이러한 전달은, 예를 들어, 본래 반감기가 짧아서, 바로 투여된다면 투여 빈도가 훨씬 더 잦아야 하는 약물 방출 제품에 있어서 유익하다. 또한, 약물 방출 제품의 중합체 접합체는 약물 방출 제품의 C_{max} 를 변경하도록 설계될 수 있으며, 적절한 방출 반감기를 갖는 중합체 접합체를 신중하게 설계함으로써, C_{max} 값이 원하는 치료창 내에 속하도록, 예를 들어 C_{max} 값이 약물 방출 제품의 치료 수준을 유지하면서도, 예를 들어 관련된 독성을 갖는 것으로 알려진 값보다는 작게 되도록 설정할 수 있다.
- [0010] 지난 십년에 걸쳐, 중합체 미소구, 중합체 미셀, 가용성 중합체 및 하이드로겔 타입의 재료와 같은 재료가 약물 표적화 효율을 향상시키고, 전신 약물 독성을 줄이고, 치료 흡수율을 향상시키고, 생화학적 분해로부터 약제를 보호한다는 것이 밝혀졌고, 따라서, 생체의학 분야에 있어서의 용도, 특히 약물 전달 디바이스의 성분으로서의 용도와 관련해 큰 잠재성을 보였다.
- [0011] 생체의학 중합체(예를 들어, 생리학적 조건 하에 사용하기 위한 중합체)의 설계 및 공학은 일반적으로 특수하고 엄격한 요건을 만족시켜야 한다. 특히, 이러한 중합체 재료는 이것이 사용되는 생물학적 환경에 적합성을 보여야 하는데, 이것은 때때로 이들 재료가 특정한 친수성 특성을 나타내야 한다는 것을 의미한다. 이들 재료는 또한 적당한 생분해성을 나타내어야 한다(즉, 이들 재료는 저분자량 중으로 분해되어야 하고, 중합체 단편은 체내에서 대사되거나 흔적을 남기지 않고 체외로 배설되어야 한다).

[0012] 생분해성은 일반적으로 주쇄에 가수분해 불안정성 결합을 갖는 중합체를 합성하거나 사용함으로써 얻는다. 이러한 특성을 갖는 가장 흔한 화학적 작용기로는 에스테르, 무수물, 오르토에스테르 및 아마이드가 있다. 가수분해 불안정성 주쇄의 화학적 가수분해는 중합체 분해의 주된 메커니즘이다. 생분해성 중합체는 천연 또는 합성 중합체일 수 있다. 의학 분야 및 생체의학 연구에서 흔히 사용되는 합성 중합체로는 폴리에틸렌글리콜(약동학적 특성 및 면역 반응 조절제), 폴리비닐 알코올(약물 담체) 및 폴리(하이드록시프로필메타크릴아미드)(약물 담체)를 들 수 있다. 또한, 생체의학 분야에서는 천연 중합체도 사용된다. 예를 들어, 텍스트란, 하이드록시에틸전분, 알부민 및 특히 가수분해된 단백질이 혈장 대용물에서부터 방사성 의약품, 비경구적 영양 요법에 이르는 용도에 사용된다. 일반적으로, 합성 중합체는 천연 공급원으로부터의 물질보다 더 광범위한 특성 및 예측성이 더 좋은 로트 간 균일성을 제공하도록 조정될 수 있다는 점에서 천연물보다 더 큰 이점을 제공할 수 있다. 또한, 합성 중합체는 더 믿을 만한 원료 공급원이기 때문에, 감염이나 면역원성의 우려로부터 해방된다. 중합체 재료의 제조 방법은 당업계에 공지되어 있다. 그러나, 생체의학 용도를 위한 적당한 생분해성, 생체적합성, 친수성 및 최소 독성을 나타내는 중합체 재료를 성공적으로 제조할 수 있는 합성 방법은 많지 않다. 현재 이용 가능한 생체중합체의 제한된 수와 다양성이 그 증거이다.

[0013] 따라서, 생체의학 분야에는, 상기에 언급된 문제점을 극복하거나 최소화하고 약물 카고(상응하는 약물 방출 제품)를 적절한 속도로 방출할 수 있는 약학적으로 유용한 변경체를 포함하는 저독성, 생분해성, 생체적합성, 친수성 중합체 접합체가 요구되고 있다. 이러한 중합체 접합체는 생체의학적 제제, 약학적 제제, 의료 장치, 임플란트, 및 치료제, 진단제 및 예방제의 포장/전달을 위한 성분을 비롯하여 다양한 용도에 사용될 수 있다.

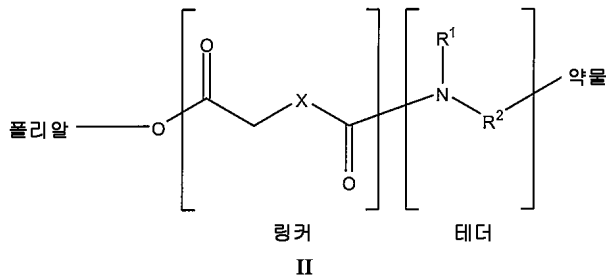
발명의 내용

[0014] 일 양태에서, 하기 화학식 I의 접합체를 개시한다:

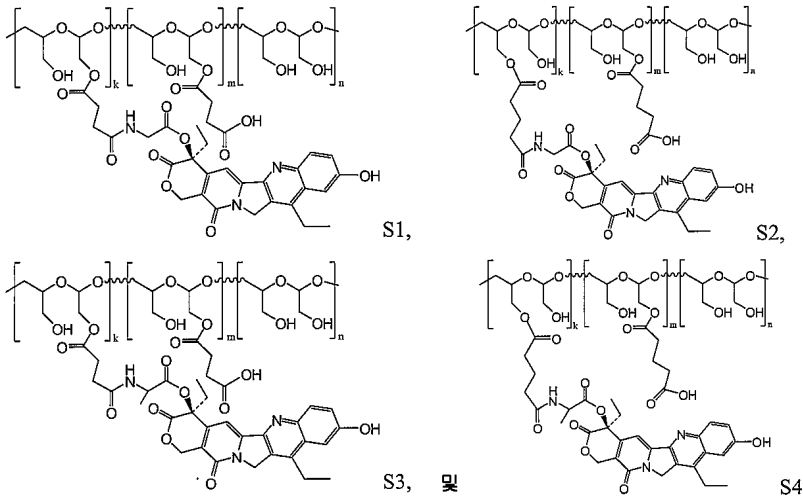


- [0015]
- [0016] 상기 식에서,
- [0017] 폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;
- [0018] 링커는 카보닐 사이에 2개 이상의 원자를 포함하는 디카복실산 모이어티이며;
- [0019] 테더(tether)는 2차 또는 3차 아민을 포함하는 이작용성 유기 모이어티이고;
- [0020] R_n는 H 또는 알킬이거나, 또는 테더의 주쇄의 CH₂와 함께 5원 또는 6원 고리를 형성하며;
- [0021] 약물은, 테더에 공유 결합할 수 있는, 분자량 약 200 달톤~1,000 달톤의 임의의 유기 화합물이고;
- [0022] 여기서, 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소가 없는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 10 시간 내지 약 300 시간 초과이고;
- [0023] 링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함할 경우, 방출 반감기는 약 10 시간 미만이며;
- [0024] 링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함하지 않을 경우, 방출 반감기는 약 100 시간 초과이고;
- [0025] 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소를 갖는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 0.1 시간~약 24 시간이며;
- [0026] 여기서, 방출 반감기는 37°C에서 0.05 M 포스페이트 완충액, 0.9% 식염수, pH 7.4 중에서 측정되고;
- [0027] 단, 화학식 I의 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2-노넨-2-일)SA-Gly-CPT, PHF-SA-Gly-택솔, 또는 PHF-SA-Gly-일루딘이 아니다.

[0028] 또 다른 양태에서, 하기 화학식 II의 접합체를 개시한다:



- [0029]
- [0030] 상기 식에서,
- [0031] X는 $-CH_2-$, $-OCH_2-$, 또는 $-CH_2CH_2-$ 이고, 여기서 CH_2 중 하나 이상은 임의로 치환되고;
- [0032] R_1 은 H 또는 CH_3 이며;
- [0033] R_2 는 $N-R_1$ 과 약물 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, $-CH(Y)-C(O)-$ (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나, 또는 R_1 과 R_2 는 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하고;
- [0034] 폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;
- [0035] 약물은, 테더에 공유 결합할 수 있는, 분자량 약 200 달톤~1,000 달톤의 임의의 유기 화합물이고;
- [0036] 여기서, 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소가 없는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 10 시간 내지 약 300 시간 초과이고;
- [0037] 링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함할 경우, 방출 반감기는 약 10 시간 미만이며;
- [0038] 링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함하지 않을 경우, 방출 반감기는 약 100 시간 초과이고;
- [0039] 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소를 갖는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 0.1 시간~약 20 시간이며;
- [0040] 여기서, 방출 반감기는 37°C에서 0.05 M 포스페이트 완충액, 0.9% 식염수, pH 7.4 중에서 측정되고;
- [0041] 단, 상기 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2-노넨-2-일)SA-Gly-CPT, PHF-SA-Gly-택솔, 또는 PHF-SA-Gly-일루딘이 아니다.
- [0042] 몇몇 실시형태에서, 폴리알은 아세탈이다. 다른 실시형태에서, 폴리알은 케탈이다. 몇몇 실시형태에서, 아세탈은 PHF이다. 몇몇 실시형태에서, R_1 은 H이다. 다른 실시형태에서, R_1 은 CH_3 이다. 몇몇 실시형태에서, R_2 는 $-CH(Y)-C(O)-$ 이고, 여기서 Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나이다. 몇몇 실시형태에서, R_2 는 아릴기이다. 몇몇 실시형태에서, R_2 는 헤테로아릴기이다. 다른 실시형태에서, R_2 는 지방족 고리이다. 몇몇 실시형태에서, R_2 는 지방족 사슬이다. 몇몇 실시형태에서, R_2 는 복소환 지방족 고리이다. 몇몇 실시형태에서, R_1 과 R_2 는 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성한다. 몇몇 실시형태에서, R_1 과 R_2 가 형성하는 고리는 5원 고리이다. 몇몇 실시형태에서, R_1 과 R_2 가 형성하는 고리는 6원 고리이다. 몇몇 실시형태에서, X는 $-CH_2-$ 이다. 몇몇 실시형태에서, X는 $-OCH_2-$ 이다. 몇몇 실시형태에서, X는 $-CH_2CH_2-$ 이다. 몇몇 실시형태에서, X는 C_1-C_6 알킬기로 임의로 치환된다. 몇몇 실시형태에서, 테더는 아미노산, 디아민, 아미노알코올 및 아미노티올로 이루어진 군에서 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 약물은 푸마질롤 유사체이다. 몇몇 실시형태에서, 약물은 빈카 알칼로이드이다. 몇몇 실시형태에서, 약물은 비천연 캄토테신이다. 몇몇 실시형태에서, 비천연 캄토테신은 SN38이다. 몇몇 실시형태에서, 접합체는



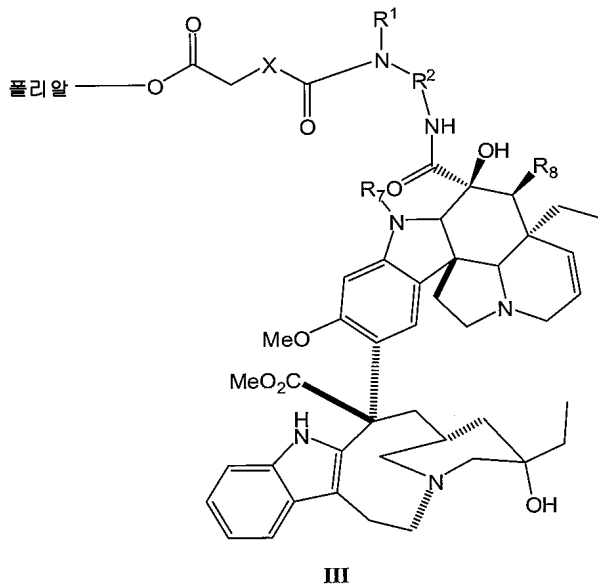
[0043]

[0044]

및 이들의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군에서 선택되며, 여기서 k는 1?30이고, m은 0?300이며, n은 100?750이고, 폴리알은 괄호로 표시된 랜덤 분포의 공유 결합된 단량체 블록을 포함한다.

[0045]

또 다른 양태에서, 하기 화학식 III의 접합체를 개시한다:



[0046]

상기 식에서,

[0047]

폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;

[0048]

X는 -CH₂-, -OCH₂-, 또는 -CH₂CH₂-이고, 여기서 -CH₂- 중 하나 이상은 임의로 치환되며;

[0049]

R₁은 H 또는 CH₃이고;

[0050]

R₂는 N-R₁과 빈카 알칼로이드 유도체의 -NHC(O)- 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, -CH(Y)-C(O)- (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나; 또는 R₁과 R₂는 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하고;

[0051]

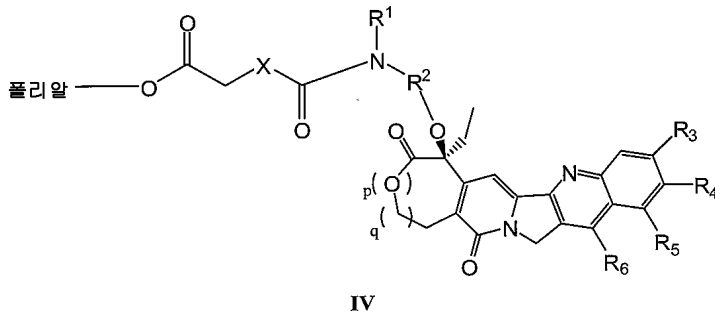
R₇은 -CH₃ 또는 -CHO이고;

[0052]

R₈은 -OCOCH₃ 또는 OH이다.

[0053]

[0054] 또 다른 양태에서, 하기 화학식 IV의 접합체를 개시한다:



- [0055]
- [0056] 상기 식에서,
- [0057] 폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;
- [0058] X는 -CH₂-, -OCH₂-, 또는 -CH₂CH₂-이고, 여기서 -CH₂- 중 하나 이상은 임의로 치환되며;
- [0059] R₁은 H 또는 CH₃이고;
- [0060] R₂는 N-R₁과 비천연 캄토테신 유도체의 -O- 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, -CH(Y)-C(O)- (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나; 또는 R₁과 R₂가 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하며;
- [0061] R₃은 -H, -Cl, -F, -OH 또는 알킬이거나; 또는 R₃과 R₄가 함께 5원 또는 6원 고리를 형성할 수 있으며;
- [0062] R₄는 -H, -F, -OH, -CH₃, -CH=N-O-t-부틸, -CH₂CH₂Si(CH₃)₃, 또는 -Si((CH₃)₂)-t-부틸이고;
- [0063] R₅는 -CH₂-N(CH₃)₂, NH₂, 또는 NO₂이고;
- [0064] R₆은 에틸, N-메틸 피페리딘, 사이클로알킬, -CH₂CH₂NHCH(CH₃)₂, 또는 -N-4-메틸사이클로헥실아민이거나; 또는
- [0065] R₅와 R₆이 함께 임의로 치환된 6원 고리를 형성할 수 있으며;
- [0066] p는 0 또는 1이고;
- [0067] q는 0 또는 1이며;
- [0068] 단, 상기 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, 또는 PHF-(2-노넨-2-일)SA-Gly-CPT가 아니다.
- [0069] 또 다른 양태에서, 37°C에서 포스페이트 완충 식염수(PBS) 중에서 측정할 때 약물 방출 반감기가 약 0.1 시간 내지 300 시간 초과인 폴리알-약물 접합체를 확인하는 방법을 개시하며, 이 방법은 디카복실산 링커를 선택하는 단계; 상기 링커를 갖는 접합체를 얻는 단계로서, 상기 접합체는 폴리알, 약물 및 상기 링커를 포함하는 것인 단계; 및 상기 접합체로부터의 약물의 방출 반감기를 측정하는 단계를 포함한다.
- [0070] 또 다른 양태에서, 폴리알-비천연 캄토테신 접합체 또는 폴리알-비천연 캄토테신 접합체의 약학적으로 허용되는 염과 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.
- [0071] 또 다른 양태에서, 폴리알-비천연 캄토테신 접합체 또는 폴리알-비천연 캄토테신 접합체의 약학적으로 허용되는 염을 암 치료에 유효한 양으로 암 치료가 필요한 피험체에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법을 개시한다.
- [0072] 몇몇 실시형태에서, 암 치료에 유용한 폴리알-비천연 캄토테신은 PHF-비천연 캄토테신 접합체이다. 또 다른 실시형태에서, 암 치료에 유용한 PHF-비천연 캄토테신 접합체는 PHF-SN38 접합체이다.
- [0073] 몇몇 실시형태에서, 암은 항문암, 성상세포종, 백혈병, 림프종, 두경부암, 간암, 고환암, 자궁경부암, 육종, 혈관종, 식도암, 안암, 후두암, 구내암(mouth cancer), 중피종, 피부암, 흑색종, 구강암(oral cancer), 직장암, 인후암, 방광암, 유방암, 자궁암, 난소암, 전립선암, 폐암, 결장암, 췌장암, 신장암 및 위암으로 이루어

진 군에서 선택된다.

[0074] 또 다른 양태에서, 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체의 약학적으로 허용되는 염과 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0075] 또 다른 양태에서, 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체의 약학적으로 허용되는 염을 암 치료에 유효한 양으로 치료가 필요한 피험체에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법을 개시한다.

[0076] 몇몇 실시형태에서, 암 치료에 유용한 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체는 PHF-빈카 알칼로이드 접합체이다.

[0077] 몇몇 실시형태에서, 암은 항문암, 성상세포종, 백혈병, 림프종, 두경부암, 간암, 고환암, 자궁경부암, 육종, 혈관종, 식도암, 안암, 후두암, 구내암, 중피종, 피부암, 흑색종, 구강암, 직장암, 인후암, 방광암, 유방암, 자궁암, 난소암, 전립선암, 폐암, 결장암, 췌장암, 신장암 및 위암으로 이루어진 군에서 선택된다.

도면의 간단한 설명

[0078] 도 1은 PBS 완충액 중에서의 PHF-SA-Gly-SN38의 방출을 도시한다.

도 2는 인간 혈장 중에서의 PHF-SA-Gly-SN38의 방출을 도시한다.

도 3은 마우스 혈장 중에서의 PHF-SA-Gly-SN38의 방출을 도시한다.

도 4는 PBS 완충액 중에서의 PHF-GA-Gly-SN38의 방출을 도시한다.

도 5는 인간 혈장 중에서의 PHF-GA-Gly-SN38의 방출을 도시한다.

도 6은 마우스 혈장 중에서의 PHF-GA-Gly-SN38의 방출을 도시한다.

도 7은 PBS 완충액 중에서의 PHF-SA-Ala-SN38의 방출을 도시한다.

도 8은 인간 혈장 중에서의 PHF-SA-Ala-SN38의 방출을 도시한다.

도 9는 마우스 혈장 중에서의 PHF-SA-Ala-SN38의 방출을 도시한다.

도 10은 PBS 완충액 중에서의 PHF-GA-Ala-SN38의 방출을 도시한다.

도 11은 인간 혈장 중에서의 PHF-GA-Ala-SN38의 방출을 도시한다.

도 12는 마우스 혈장 중에서의 PHF-GA-Ala-SN38의 방출을 도시한다.

도 13은, 식염수로 처리된 마우스와 비교한 PHF-비천연 캄토테신 접합체로 처리한 마우스에 대한 중간 생존 시간 내지 종점까지의 증가율(%)로서 정의된 종양 증식 지연율(%TGF)로서 나타낸, PHF-비천연 캄토테신 접합체로 처리된 HCT116 종양 세포의 반응성, 또는 식염수로 처리된 마우스와 비교한 제제로 처리된 마우스에 대한 평균 또는 중간 종양 용적을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0079] 정의

[0080] 가변 속도 방출 링커를 포함하는 폴리알-약물 접합체와 관련하여 하기의 정의가 사용된다:

[0081] "알킬"은 직쇄 또는 분지쇄일 수 있는 탄화수소 사슬을 의미한다. 이 사슬은 표시된 수의 탄소 원자를 포함할 수 있다. 예를 들어, C₁₋₆은 이 기가 그 안에 1?6개(경계값 포함)의 탄소 원자를 가질 수 있음을 나타낸다.

[0082] "아릴"은 6?18개의 탄소를 포함하는 환형 방향족 탄소 고리계를 의미한다. 아릴기의 예로는 페닐, 나프틸, 안트라세닐, 테트라세닐 및 페난트레닐을 들 수 있으나 이들에 한정되지 않는다. 아릴기는 하기 기 중 하나 이상으로 치환되거나 치환되지 않을 수 있다: H, 할로겐, CN, OH, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₁₋₃ 불화 알킬, C₃₋₆ 사이클로알킬, C₃₋₆사이클로알킬-C₁₋₃알킬, NO₂, NH₂, NHC₁₋₆ 알킬, N(C₁₋₆ 알킬)₂, NHC₃₋₆ 사이클로알킬, N(C₃₋₆ 사이클로알킬)₂, NHC(O)C₁₋₆ 알킬, NHC(O)C₃₋₆ 사이클로알킬, NHC(O)NHC₁₋₆ 알킬, NHC(O)NHC₃₋₆ 사이클로알킬, SO₂NH₂, SO₂NHC₁₋₆ 알킬, SO₂NHC₃₋₆ 사이클로알킬, SO₂N(C₁₋₆ 알킬)₂, SO₂N(C₃₋₆ 사이클로알킬)₂, NHSO₂C₁₋₆ 알킬, NHSO₂C₃₋₆ 사이클로알킬, CO₂C₁₋₆ 알킬,

CO₂C₃₋₆ 사이클로알킬, CONHC₁₋₆ 알킬, CONHC₃₋₆ 사이클로알킬, CON(C₁₋₆ 알킬)₂, CON(C₃₋₆ 사이클로알킬)₂OH, OC₁₋₃ 알킬, C₁₋₃ 불화 알킬, OC₃₋₆ 사이클로알킬, OC₃₋₆ 사이클로알킬-C₁₋₃ 알킬, SH, SO_xC₁₋₃ 알킬, C₃₋₆ 사이클로알킬, 또는 SO_xC₃₋₆ 사이클로알킬-C₁₋₃ 알킬(여기서, x는 0, 1 또는 2임).

[0083] "헤테로아릴"은 하나 이상의 헤테로원자를 포함하는 원자수 4?10의 단환 및 이환 방향족 기를 의미한다. 이 용어에서 사용되는 헤테로원자는 산소, 황 및 질소를 의미한다. 단환 헤테로아릴의 예로는 옥사지닐, 티아지닐, 디아지닐, 트리아지닐, 테트라지닐, 이미다졸릴, 테트라졸릴, 이속사졸릴, 푸라닐, 푸라자닐, 옥사졸릴, 티아졸릴, 티오펜릴, 피라졸릴, 트리아졸릴 및 피리미디닐을 들 수 있으나 이들에 한정되지 않는다. 이환 헤테로아릴의 예로는 벤즈이미다졸릴, 인돌릴, 이소퀴놀리닐, 인다졸릴, 퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 푸리닐, 벤즈이속사졸릴, 벤즈사졸, 벤즈티아졸릴, 벤조디아졸릴, 벤조트리아졸릴, 이소인돌릴 및 인다졸릴을 들 수 있으나 이들에 한정되지 않는다. 헤테로아릴기는 하기 기 중 하나 이상으로 치환될 수도 있고 치환되지 않을 수도 있다: H, 할로젠, CN, OH, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₁₋₃ 불화 알킬, C₃₋₆ 사이클로알킬, C₃₋₆ 사이클로알킬-C₁₋₃ 알킬, NO₂, NH₂, NHC₁₋₆ 알킬, N(C₁₋₆ 알킬)₂, NHC₃₋₆ 사이클로알킬, N(C₃₋₆ 사이클로알킬)₂, NHC(O)C₁₋₆ 알킬, NHC(O)C₃₋₆ 사이클로알킬, NHC(O)NHC₁₋₆ 알킬, NHC(O)NHC₃₋₆ 사이클로알킬, SO₂NH₂, SO₂NHC₁₋₆ 알킬, SO₂NHC₃₋₆ 사이클로알킬, SO₂N(C₁₋₆ 알킬)₂, SO₂N(C₃₋₆ 사이클로알킬)₂, NHSO₂C₁₋₆ 알킬, NHSO₂C₃₋₆ 사이클로알킬, CO₂C₁₋₆ 알킬, CO₂C₃₋₆ 사이클로알킬, CONHC₁₋₆ 알킬, CONHC₃₋₆ 사이클로알킬, CON(C₁₋₆ 알킬)₂, CON(C₃₋₆ 사이클로알킬)₂OH, OC₁₋₃ 알킬, C₁₋₃ 불화 알킬, OC₃₋₆ 사이클로알킬, OC₃₋₆ 사이클로알킬-C₁₋₃ 알킬, SH, SO_xC₁₋₃ 알킬, C₃₋₆ 사이클로알킬, 또는 SO_xC₃₋₆ 사이클로알킬-C₁₋₃ 알킬(여기서, x는 0, 1 또는 2임).

[0084] "C₁-C₆ 알킬"은 1?6개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄의 포화 탄화수소를 의미한다. C₁-C₆ 알킬기의 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸 및 헥실을 들 수 있으나 이들에 한정되지 않는다.

[0085] "C₁-C₆ 알콕시"는 1?6개의 탄소 원자를 포함하고 1개 이상의 산소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄의 포화 또는 불포화 탄화수소를 의미한다. C₁-C₆ 알콕시의 예로는 메톡시, 에톡시, 이소프로폭시, 부톡시, n-펜톡시, 이소펜톡시, 네오펜톡시 및 헥속시를 들 수 있으나 이들에 한정되지 않는다.

[0086] "사이클로알킬"은 환형 포화 탄화수소를 의미한다. 사이클로알킬기의 예로는 사이클로프로판, 사이클로부탄, 사이클로펜탄, 사이클로헥산, 사이클로헵탄 및 사이클로옥탄을 들 수 있으나 이들에 한정되지 않는다.

[0087] "복소환"은 탄소 중 하나 이상이 N, S 또는 O로 치환된 환형 포화 탄화수소를 의미한다. 복소환의 예로는 아제티딘, 옥세탄, 티에탄, 아졸리딘, 피롤리딘, 테트라하이드로푸란, 테트라하이드로티오펜, 이미다졸리딘, 옥사졸리딘, 티아졸리딘, 모르폴린, 피페리딘, 테트라하이드로피란, 티안, 피페라진, 옥사진 및 디옥산을 들 수 있으나 이들에 한정되지 않는다.

[0088] "할로젠"은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 원자를 의미한다.

[0089] "환형화 이미드" 및 "환형 이미드"는 질소 원자에 결합된 2개의 카보닐기로 이루어진 아미드 작용기를 포함하는 포화 또는 불포화 환형 또는 복소환 화합물을 의미한다. 환형 이미드는 추가로 다른 작용기로 치환될 수 있다. 환형 이미드의 예로는 피페리딘-2,6-디온, 모르폴린-3,5-디온 및 피롤리딘-2,5-디온을 들 수 있으나 이들에 한정되지 않는다.

[0090] 본원에서 사용될 때의 용어 "임의로 치환된 CH₂"는 하나 또는 2개의 수소 원자가 하기 기: OH, 할로젠, CN, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₃ 불화 알킬, NO₂, NH₂, NHC₁₋₆ 알킬, N(C₁₋₆ 알킬)₂, NHC(O)C₁₋₆ 알킬, NHC(O)NHC₁₋₆ 알킬, SO₂NH₂, SO₂NHC₁₋₆ 알킬, SO₂N(C₁₋₆ 알킬)₂, NHSO₂C₁₋₆ 알킬, C(O)OC₁₋₆ 알킬, CONHC₁₋₆ 알킬, CON(C₁₋₆ 알킬)₂, C₁-C₆ 알킬 중 하나 이상으로 치환될 수도 있고, 또는 2개의 수소 원자가 치환될 수도 있으며, 치환된 기는 이들이 결합된 탄소와 함께, 각각 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₁-C₆ 알콕시, CO₂C₁₋₆ 알킬, CN, OH, 사이클로알킬, CONH₂, 아릴, 헤테로아릴, CO아릴, 또는 트리플루오로아세틸로 치환된 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬을 형성한다는 것을 의미한다.

[0091] 용어 "약학적으로 허용되는 염"은, 예를 들어 수용성 및 수불용성 염, 예컨대 아세테이트, 암소네이트(4,4-디아미노스티벤-2,2-디설포네이트), 벤젠설포네이트, 벤조에이트, 비카보네이트, 비설페이트, 비타르트레이트, 보레이트, 브로마이드, 부티레이트, 칼슘 에데테이트, 캄실레이트, 카보네이트, 클로라이드, 시트레이트, 클라불라리에이트, 디하이드로클로라이드, 에데테이트, 에디실레이트, 에스톨레이트, 에실레이트, 푸마레이트, 글루세이트, 글루코네이트, 글루타메이트, 글리콜릴아르사닐레이트, 헥사플루오로포스페이트, 헥실레소르시네이트, 하이드라바민, 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 하이드록시나프토에이트, 요오다이드, 이소티오네이트, 락테이트, 락토비오네이트, 라우레이트, 말레이트, 말레에이트, 만델레이트, 메실레이트, 메틸브로마이드, 메틸니트레이트, 메틸설페이트, 무케이트, 납실레이트, 니트레이트, N-메틸글루카민 암모늄 염, 3-하이드록시-2-나프토에이트, 올레에이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트(1,1-메텐-비스-2-하이드록시-3-나프토에이트, 에인보네이트), 판토테네이트, 포스페이트/디포스페이트, 피크레이트, 폴리갈락투로네이트, 프로피오네이트, p-톨루엔설포네이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 수바세테이트, 숙시네이트, 설페이트, 설포살리실레이트, 수라메이트, 탄네이트, 타르트레이트, 테오클레이트, 토실레이트, 트리에티오다이드 및 발러레이트 염을 포함한다.

[0092] 용어 "PHF"는 [폴리-(1-하이드록시메틸에틸렌 하이드록시-메틸 포르말)]을 의미한다.

[0093] 용어 "비천연 캄토테신"은 천연 생물물 캄토테신(CPT)의 구조를 기초로 하는 화합물을 의미한다. 비천연 캄토테신의 예로는 토포테칸, SN-38, 9-아미노캄토테신, 루비테칸, 지마테칸, 카레니테신, 실라테칸, 루르토테칸, 엑사테칸, 디플로모테칸, 벨로테칸 및 S39625를 들 수 있으나 이들에 한정되지 않는다.

[0094] 용어 "푸마질롤 유사체"는 문헌[Rodeschini et al., *J. Org. Chem.*, 69, 357-373, 2004] 및 문헌[Liu, et al., *Science* 282, 1324-1327, 1998]에 기재된 것과 같이 단백질로부터 NH₂ 말단 메티오닌을 제거하는 MetAP-2의 능력을 억제하는, 푸마질라민을 비롯한 임의의 푸마질린 코어 구조를 의미한다. "푸마질롤 유사체"의 비한정적인 예는 문헌[*J. Org. Chem.*, 69, 357, 2004; *J. Org. Chem.*, 70, 6870, 2005]; 유럽 특허 출원 0 354 787; 문헌[*J. Med. Chem.*, 49, 5645, 2006]; 문헌[*Bioorg. Med. Chem.*, 11, 5051, 2003]; 문헌[*Bioorg. Med. Chem.*, 14, 91, 2004]; 문헌[*Tet. Lett.* 40, 4797, 1999]; WO 99/61432; U.S. 6,603,812; U.S. 5,789,405; U.S. 5,767,293; U.S. 6,566,541; 및 U.S. 6,207,704에 개시되어 있다.

[0095] 용어 "폴리알"은 주쇄 내에 위치하는 각각의 단량체 단위 내에 하나 이상의 아세탈 또는 케탈 산소 원자를 갖는 중합체를 의미한다. 폴리알의 예는 본원에서 참고로 인용하는 미국 특허 제5,811,510호, 제5,863,990호, 제5,958,398호 및 국제 출원 PCT/US2004/029130에서 찾아볼 수 있다. 특정 실시형태에서, 본원에 기재된 중합체 접합체의 제조에 유용한 생분해성 생체적합성 중합체 담체는 천연 폴리사카라이드, 글리코폴리사카라이드, 및 폴리글리코시드, 폴리아세탈, 폴리아미드, 폴리에테르 및 폴리에스테르 기원의 합성 중합체, 및 그 산화, 작용기화, 변형, 가교결합 및 접합 생성물이다. 폴리알의 단량체 단위가 본원에 도시될 때, 그 안의 2개의 유리 하이드록실은 유도체화 중에 동등한 반응성을 보이기 때문에, 어느 한 하이드록실은 실제로 유도체화될 수 있고 도시된 하나는 그렇지 않다.

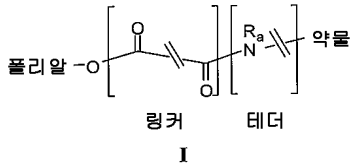
[0096] 하기 약어가 본원에서 사용되며 표시된 정의를 갖는다:

[0097] EDC(1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 하이드로클로라이드), ACN(아세토니트릴), CPT(캄토테신), Gly(글리신), Ala(알라닌), DMAP(디메틸아미노피리딘), PHF-GA(글루타르산에 접합된 폴리(1-하이드록시메틸에틸렌 하이드록시메틸-포르말)), PHF-SA(숙신산에 접합된 폴리(1-하이드록시메틸에틸렌 하이드록시메틸-포르말)), DMF(디메틸 포름아미드), HPLC(고압 액체 크로마토그래피), TBDPS(tert-부틸디페닐 실릴), TBAF(테트라-n-부틸암모늄 플루오라이드), FBS(소 태아 혈청), PBS(포스페이트 완충 식염수(0.05 M 포스페이트, 0.9% 식염수)), DCM(디클로로메탄), DIPIC(다이소프로필카보디이미드), DI(탈이온), RP(역상), SEC(크기 배제), r.t.(실온).

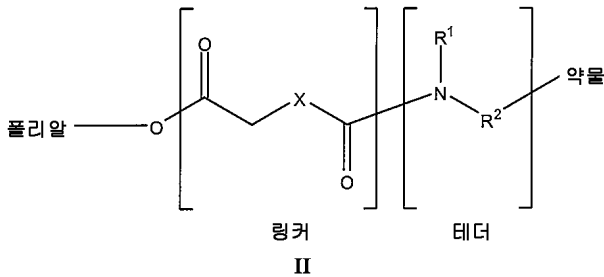
[0098] **가변 속도 방출 링커**

[0099] 본 발명자들은 중합체 담체를 약물에 결합시키는 데 이용되는 아미도에스테르 결합이 약물 또는 전구약물을 생리학적 조건 하에 pH 의존적으로 방출할 수 있다는 놀라운 사실을 발견하였다. 이러한 결합은, 에스테르 결합을 통해 예를 들어 폴리알과 같은 폴리하이드록시화 중합체 담체의 하이드록시 모이어티에 결합되는 디카복실산 및 아미드 결합을 통해 이작용성 테더를 포함하는 아미노기를 포함한다. 테더는 약물 접합 과정에서 디카복실산 모이어티를 갖는 아미드를 형성할 수 있는 아미노기를 도입할 수 있도록 약물의 작용기 변형을 제공할 수 있다.

[0100] 본원의 일 양태에서, 하기 화학식 I의 접합체를 개시한다:



- [0101] 상기 식에서,
- [0102] 폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리카탈이고;
- [0103] 링커는 카보닐 사이에 2개 이상의 원자를 포함하는 디카복실산 모이어티이며;
- [0104] 테더는 2차 또는 3차 아민을 포함하는 이작용성 유기 모이어티이고;
- [0105] R₃는 H 또는 알킬이거나, 또는 테더의 주쇄의 CH₂와 함께 5원 또는 6원 고리를 형성하며;
- [0106] 약물은, 테더에 공유 결합할 수 있는, 분자량 약 200 달톤~1,000 달톤의 임의의 유기 화합물이고;
- [0107] 여기서, 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소를 갖는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 10 시간 내지 약 300 시간 초과이고;
- [0108] 링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함할 경우, 방출 반감기는 약 10 시간 미만이며;
- [0109] 링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함하지 않을 경우, 방출 반감기는 약 100 시간 초과이고;
- [0110] 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소를 갖는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 0.1 시간~약 24 시간이며;
- [0111] 여기서, 방출 반감기는 37°C에서 0.05 M 포스페이트 완충액, 0.9% 식염수, pH 7.4 중에서 측정되고;
- [0112] 단, 화학식 I의 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2-노넨-2-일)SA-Gly-CPT, PHF-SA-Gly-택솔, 또는 PHF-SA-Gly-일루딘이 아니다.
- [0113] 또 다른 양태에서, 하기 화학식 II의 접합체를 개시한다:

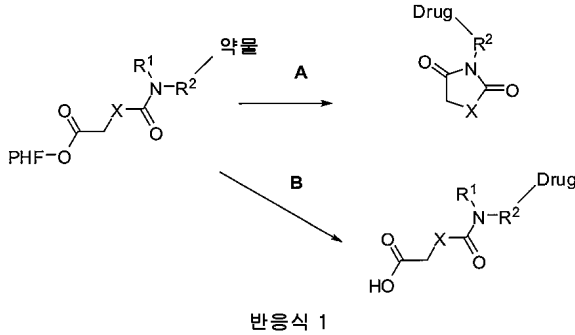


- [0115] 상기 식에서,
- [0116] X는 -CH₂-, -OCH₂-, 또는 -CH₂CH₂-이고, 여기서 CH₂ 중 하나 이상은 임의로 치환되고;
- [0117] R₁은 H 또는 CH₃이며;
- [0118] R₂는 N-R₁과 약물 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, -CH(Y)-C(O)- (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나, 또는 R₁과 R₂는 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하고;
- [0119] 폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리카탈이고;
- [0120] 약물은, 테더에 공유 결합할 수 있는, 분자량 약 200 달톤~1,000 달톤의 임의의 유기 화합물이고;

- [0122] 여기서, 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소가 없는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 10 시간 내지 약 300 시간 초과이고;
- [0123] 링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함할 경우, 방출 반감기는 약 10 시간 미만이며;
- [0124] 링커가 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 디카복실산이고, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 헤테로원자를 포함하지 않을 경우, 방출 반감기는 약 100 시간 초과이고;
- [0125] 링커가 카보닐 사이에 2개의 원자를 갖는 디카복실산이고, 테더가 반응성 수소를 갖는 질소를 포함할 경우, 약물의 방출 반감기는 약 0.1 시간?약 24 시간이며;
- [0126] 여기서, 방출 반감기는 37°C에서 0.05 M 포스페이트 완충액, 0.9% 식염수, pH 7.4 중에서 측정되고;
- [0127] 단, 상기 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2-노넨-2-일)SA-Gly-CPT, PHF-SA-Gly-택솔, 또는 PHF-SA-Gly-일루딘이 아니다.
- [0128] 몇몇 실시형태에서, 폴리알은 아세탈이다.
- [0129] 몇몇 실시형태에서, 폴리알은 케탈.
- [0130] 몇몇 실시형태에서, 아세탈은 PHF이다.
- [0131] 몇몇 실시형태에서, R₁은 H이다.
- [0132] 몇몇 실시형태에서, R₁은 CH₃이다.
- [0133] 몇몇 실시형태에서, R₂는 -CH(Y)-C(O)-이고, 여기서 Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나이다.
- [0134] 몇몇 실시형태에서, R₂는 방향족 기이다.
- [0135] 몇몇 실시형태에서, R₂는 헤테로아릴기이다.
- [0136] 몇몇 실시형태에서, R₂는 지방족기이다.
- [0137] 몇몇 실시형태에서, R₂는 지방족 사슬이다.
- [0138] 몇몇 실시형태에서, R₂는 복소환 지방족 고리이다.
- [0139] 몇몇 실시형태에서, R₁과 R₂는 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성한다.
- [0140] 몇몇 실시형태에서, R₁과 R₂가 형성하는 고리는 5원 고리이다.
- [0141] 몇몇 실시형태에서, R₁과 R₂가 형성하는 고리는 6원 고리이다.
- [0142] 몇몇 실시형태에서, X는 -CH₂-이다.
- [0143] 몇몇 실시형태에서, X는 -OCH₂-이다.
- [0144] 몇몇 실시형태에서, X는 -CH₂CH₂-이다.
- [0145] 몇몇 실시형태에서, X는 C₁-C₆ 알킬기로 임의로 치환된다.
- [0146] 몇몇 실시형태에서, 이작용성 테더 -(N-R₂)-는 아미노산, 디아민, 아미노알코올 또는 아미노티올이다.
- [0147] 몇몇 실시형태에서, 약물은 푸마질롤이다.
- [0148] 몇몇 실시형태에서, 약물은 빈카 알칼로이드이다.
- [0149] 몇몇 실시형태에서, 약물은 비천연 캄토테신이다.
- [0150] 또 다른 양태에서, 37°C에서 포스페이트 완충 식염수(PBS) 중에서 측정할 때 약물 방출 반감기가 약 0.1 시간 내지 300 시간 초과인 폴리알-약물 접합체를 확인하는 방법을 개시하며, 이 방법은 디카복실산 링커를 선택하

는 단계; 상기 링커를 갖는 접합체를 얻는 단계로서, 상기 접합체는 폴리알, 약물 및 상기 링커를 포함하는 것인 단계; 및 접합체로부터 약물의 방출 반감기를 측정하는 단계를 포함한다.

[0151] 본 발명자들은, 링커와 테더의 적절한 선택에 의해, 약물이 폴리알-약물 접합체로부터 2개 이상의 독립적인 경로를 통해, 즉 (A) 약물 부위에서의 환형 아마이드의 형성을 수반하는 폴리알-에스테르 결합의 절단을 초래하는 아마도에스테르 결합의 분자내 재배열; 또는 (B) 약물-아미도산 유도체의 방출을 초래하는 폴리알과 아마도에스테르 링커 사이의 에스테르 결합의 가수분해를 통해 방출될 수 있다는 것을 발견하였다(하기 반응식 1 참조).



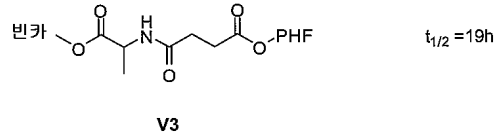
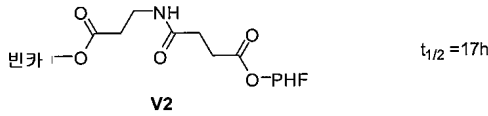
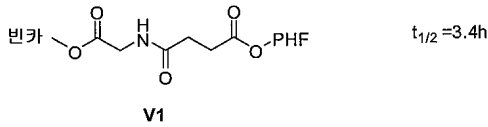
[0152] [0153] R₁이 H이고 X가 CH₂일 경우, 폴리알로부터의 약물의 절단은 프로세스 A를 통해 진행된다. 대부분의 다른 조건 하에서는, 결합의 에스테르 부분이 가수분해를 겪는다.

[0154] 아마도에스테르 결합의 안정성은 pH 의존적이며, 수용액의 pH가 증가할수록 아마도에스테르의 분자내 재배열과 폴리알-약물 접합체의 가수분해가 촉진된다. 폴리알-약물 접합체를 37°C에서 생리학적 조건 하에, 즉 0.05 M 포스페이트(pH 7.4 완충 식염수, 0.9% NaCl(PBS)에서 평가할 경우, 폴리알로부터 약물 방출의 주된 메커니즘(프로세스 A(분자내) 또는 프로세스 B(분자간 가수분해)) 및 방출 속도는, 약물에 결합된 디카복실산 링커 및 아민 함유 테더의 신중한 선택에 기초하여 아마도에스테르의 구조적 특성에 의해 영향을 받을 수 있다.

[0155] **분자내 방출(프로세스 A)**

[0156] 디카복실산 링커(예를 들어, 숙신산(SA)의 카보닐기 사이에 2개의 원자를 갖는 링커의 경우, 방출 생성물 조성과 방출 속도가 디카복실산 링커 및 아민 함유 테더의 입체적 영향과 전자적 영향의 조합에 의해 효과적으로 제어될 수 있다. 숙신산 유도체의 경우, (37°C, PBS 완충액(pH 7.4) 중에서의) 약물의 방출 반감기를 약 0.1 시간 내지 100 시간 초과로 조정할 수 있다. 방출 생성물 조성은, 주로, 분자내 방출 프로세스로부터 기인하는 환형 숙신이미드 약물 유도체에서부터 분자내 방출 프로세스로부터 기인하는 숙신산 아마이드 약물 유도체에 이르기까지 다양하다. 이들 두 프로세스는 이용되는 아민 함유 테더의 선택에 따라 달라진다.

[0157] 예를 들어, 숙신이미드 유도체의 방출을 원한다면(즉, 분자내 방출 프로세스 A), 폴리알-약물 접합체의 방출 반감기를 R₂ 기의 입체적 영향을 변경함으로써 조절할 수 있다. 이 입체적 영향을 증가시키는 것은 결합의 에스테르 말단의 카보닐기 상의 질소의 분자내 친핵성 공격을 방해한다. 아민 함유 테더가 각각 글리신, β-알라닌 및 알라닌인 접합체 V1, V2 및 V3(반응식 2)의 경우, R₂에서의 테더의 입체 장애의 증가(글리신<β-알라닌<알라닌)가, 37°C에서 PBS(pH 7.4) 중에서 테스트할 때, 약물의 방출 반감기를 각각 3.4 시간에서 17 시간 및 19 시간으로 증가시킨다.



반응식 2

[0158]

[0159]

방출 반감기는 또한 R₂ 모이어티의 전자적 특성에 의해서 약화될 수 있다. 예를 들어, R₂가 질소에 결합된 방향족 고리일 경우, 질소 상의 전자 밀도에 영향을 주는 그 방향족 고리 상의 치환기가 카보닐 상의 질소의 친핵성 공격물에 영향을 준다.

[0160]

분자간 방출(프로세스 B)

[0161]

아미도에스테르 결합의 에스테르 부분을 주요 접합체 약물 방출 생성물로서 표적화될 경우(즉, 분자간 방출 메커니즘에 의해), 약물의 방출 반감기는 디카복실산의 2개의 카보닐기 사이의 원자수, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치의 전자적 영향(예를 들어, 글루타르산(GA) 및 옥사글루타르산(OGA)), 및 링커/테더 조합(예를 들어, 숙신산-테더 유도체)이 서로 다른 링커를 사용함으로써 조절할 수 있다.

[0162]

숙신산 유도체의 경우, 접합체로부터의 해당 숙신산 아미드 유도체의 방출 반감기는 아민 함유 테더를 변경함으로써 약화시킬 수 있다. 2차 아민 테더(즉, 질소가 질소에 직접 결합된 반응성 수소를 갖지 않는 아민)의 사용은, 숙신이미드 형성(즉, 분자내 방출 프로세스) 가능성을 없애는 데 이용될 수 있고, R₂에서의 입체 장애는 분자간 메커니즘을 통한 약물의 방출 반감기를 제어한다. 예를 들어, 숙신산을 갖는 테더 사코신은 접합체 V8의 경우 약물의 방출 반감기를 81 시간이 되게 하는 반면, 접합체 V13의 경우 사코신 대신에 더 장애가 있는 테더 프롤린으로 인해 동일 조건에서(PBS, pH 7.4, 37°C) 약물을 375 시간의 반감기로 방출한다.

[0163]

디카복실산 링커 내의 카복실기를 연결하는 탄소 또는 헤테로원자 사슬 내의 3개 이상의 원자를 갖는 링커는 주로 분자간 메커니즘을 통해 에스테르 결합 가수분해에 의해 분해되어 약물-아미도산 유도체를 직접 방출한다(경로 B, 반응식 1). 예를 들어, 링커 글루타르산을 이용하는 접합체는 37°C, PBS(pH 7.4)에서 100 시간 초과 약물의 방출 반감기를 나타낸다. 이것은 서방형 링커로서 알려져 있다.

[0164]

디카복실산의 2개의 카보닐 사이에 3개 이상의 원자를 갖는 링커의 또 다른 예로는 옥사글루타르산(OGA)이 있다. 링커 옥사글루타르산을 이용하는 접합체는 분자간 프로세스를 통해 방출하며, 100 시간 미만의 약물 방출 반감기(37°C, PBS, pH 7.4)를 나타낸다. OGA를 속방형 링커라 한다. 어떠한 특정 이론에 구속되기를 원하는 것은 아니지만 설명을 하자면, 에스테르를 형성하는 카보닐에 대해 알파 위치에 있는 OGA 기 내의 산소 원자가 PHF와 OGA 사이의 에스테르 결합에 대해 전자 끄는 효과를 나타내기 때문에, 이것이 가수분해에 더 취약하게 되는 것으로 생각된다.

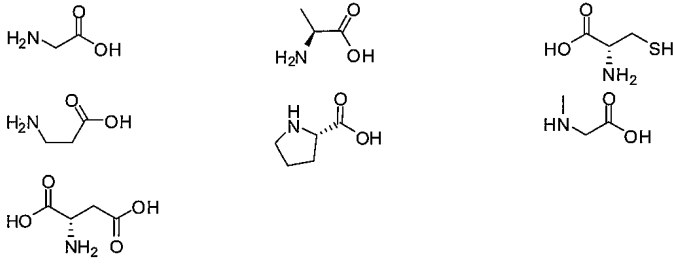
[0165]

테더:

[0166]

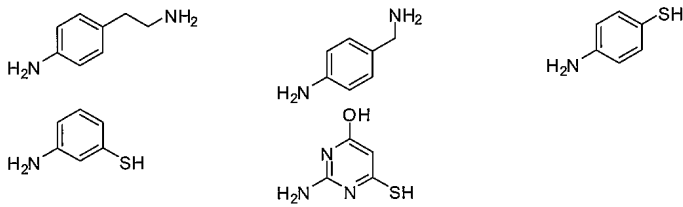
테더는, 2차 또는 3차 아민을 포함하는, 약 50 달톤?약 300 달톤의 이작용성 유기 모이어티이다. 이작용성 유기 모이어티는 2차 또는 3차 아민 이외에도 N, O 및 S 중에서 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하는 직쇄형, 분지쇄형 또는 환형 지방족 알킬기, 및 N, O 및 S 중에서 선택되는 하나 이상의 헤테로원자로 치환된 NH₂-아릴 및 NH₂-헤테로아릴 기이며, 상기 알킬기는 아릴기를 임의로 포함한다. 다양한 테더의 비한정적인 예를 이하에 열거하였다:

[0167] 1. 아미노산



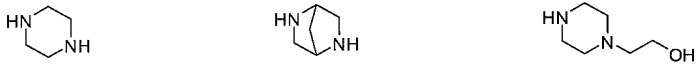
[0168]

[0169] 2. 아릴 및 헤테로아릴 기



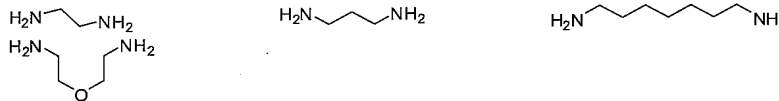
[0170]

[0171] 3. 복소환



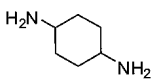
[0172]

[0173] 4. 알킬기



[0174]

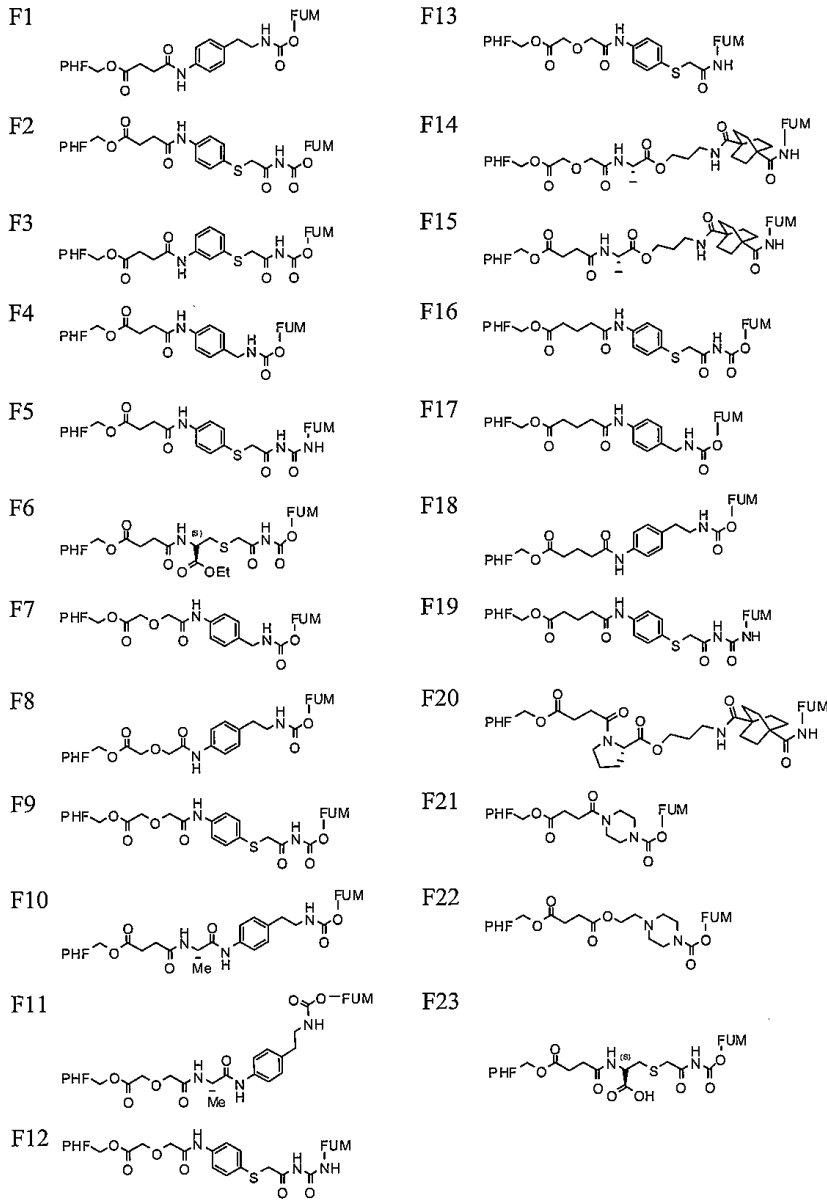
[0175] 5. 사이클로알킬기



[0176]

[0177] 다양한 가변 속도 방출 링커를 이용하는 폴리알-약물 접합체의 예시적인 비한정적인 예를 이하에 열거하였다:

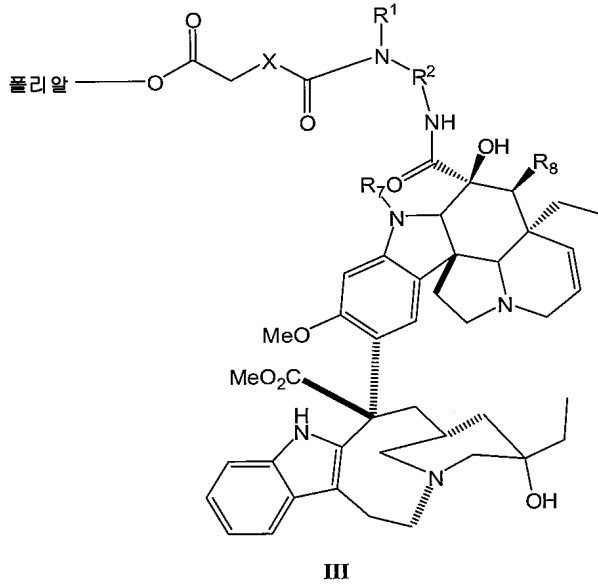
폴리알-푸마질롤 접합체



[0178]

[0179] 폴리알-빈카 접합체

[0180] 하기 화학식 III의 접합체를 개시한다:



[0181]

[0182] 상기 식에서,

[0183] 폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;

[0184] X는 -CH₂-, -OCH₂-, 또는 -CH₂CH₂-이고, 여기서 -CH₂- 중 하나 이상은 임의로 치환되며;

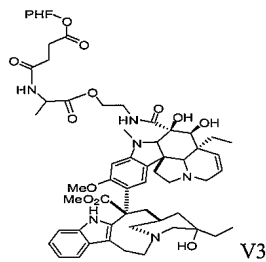
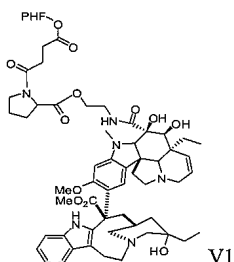
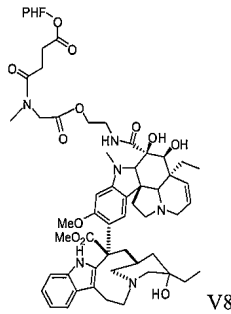
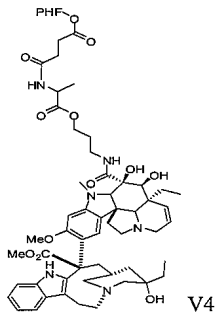
[0185] R₁은 H 또는 CH₃이고;

[0186] R₂는 N-R₁과 빈카 알칼로이드 유도체의 -NHC(O)- 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, -CH(Y)-C(O)- (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나; 또는 R₁과 R₂는 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하고;

[0187] R₇은 -CH₃ 또는 -CHO이고;

[0188] R₈은 -OCOCH₃ 또는 OH이다.

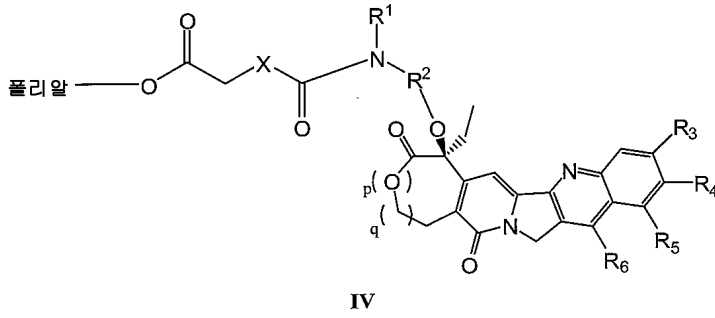
[0189] 화학식 III의 화합물의 예시적인 비한정적인 예를 이하에 열거하였다:



[0190]

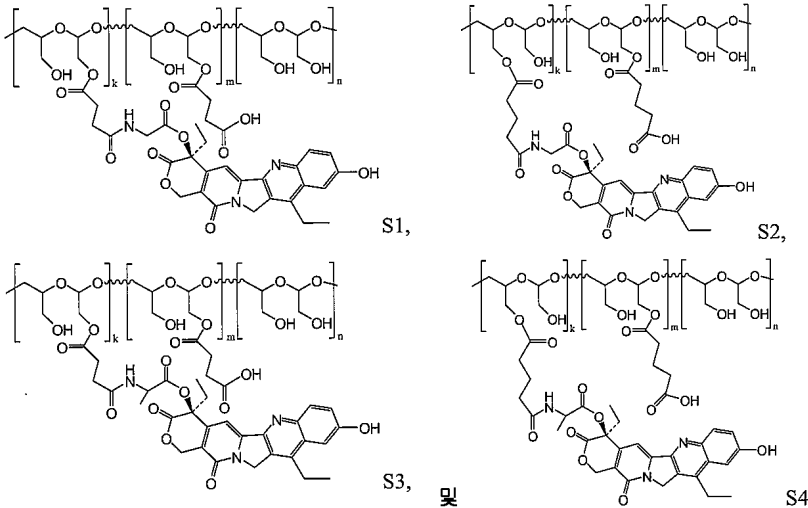
[0191] 폴리알-비천연 캄토테신 접합체

[0192] 하기 화학식 IV의 접합체를 개시한다:



- [0193]
- [0194] 상기 식에서,
- [0195] 폴리알은 폴리아세탈 또는 폴리케탈이고;
- [0196] X는 $-\text{CH}_2-$, $-\text{OCH}_2-$, 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 이고, 여기서 $-\text{CH}_2-$ 중 하나 이상은 임의로 치환되며;
- [0197] R_1 은 H 또는 CH_3 이고;
- [0198] R_2 는 $\text{N}-\text{R}_1$ 과 비천연 캄토테신 유도체의 $-\text{O}-$ 둘 다에 결합되는 아릴기, 헤테로아릴기, 사이클로알킬, 알킬기, $-\text{CH}(\text{Y})-\text{C}(\text{O})-$ (여기서, Y는 천연 아미노산의 측쇄 중 하나임), 또는 복소환이거나; 또는 R_1 과 R_2 가 이들이 결합된 질소와 함께 고리를 형성하며;
- [0199] R_3 은 $-\text{H}$, $-\text{Cl}$, $-\text{F}$, $-\text{OH}$ 또는 알킬이거나; 또는 R_3 과 R_4 가 함께 5원 또는 6원 고리를 형성할 수 있으며;
- [0200] R_4 는 $-\text{H}$, $-\text{F}$, $-\text{OH}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{N}-\text{O}-t$ -부틸, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, 또는 $-\text{Si}((\text{CH}_3)_2)-t$ -부틸이고;
- [0201] R_5 는 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, NH_2 , 또는 NO_2 이고;
- [0202] R_6 은 에틸, N-메틸 피페리딘, 사이클로알킬, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_3)_2$, 또는 N-4-메틸사이클로헥실아민이거나; 또는
- [0203] R_5 와 R_6 이 함께 임의로 치환된 6원 고리를 형성할 수 있으며;
- [0204] p는 0 또는 1이고;
- [0205] q는 0 또는 1이며;
- [0206] 단, 상기 접합체는 PHF-SA-Gly-CPT, PHF-(메틸)SA-Gly-CPT, PHF-(2,2-디메틸)SA-Gly-CPT, 또는 PHF-(2-노넨-2-일)SA-Gly-CPT가 아니다.
- [0207] 화학식 IV의 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염의 예시적인 비한정적인 예를 이하에 열거하였다:

[0208] PHF-SN38 접합체



[0209]

[0210] 여기서 k는 1?30이고, m은 0?300이며, n은 100?750이고, 폴리알은 괄호로 표시된 랜덤 분포의 공유 결합된 단량체 블록을 포함한다.

[0211] 가변 속도 방출 링커를 포함하는 폴리알-약물 접합체의 사용 방법

[0212] 중합체 접합체로부터의 약물의 방출 속도는, 방출된 약물의 전체 효능, 방출된 약물의 작용 지속 기간, 요구되는 투여 빈도, 방출된 약물의 독성, 방출된 약물의 생체분포 및 방출된 약물의 전체적인 약동학적 및 약력학적 특성에 영향을 미치는 것을 비롯하여 방출된 약물의 특성을 변경하는 데 있어서 매우 중요한 역할을 할 수 있다. 예를 들어, 중합체 접합체로부터의 약물의 지속적인 저속 방출은 약물의 지속적인 저속 주입을 모방할 수 있다. 이러한 전달은, 예를 들어, 본래 반감기가 짧아서, 중합체에 접합시키지 않고서는 바로 투여된다면 투여 빈도가 훨씬 더 잦아야 하는 약물 방출 제품에 있어서 유익하다. 또한, 약물 방출 제품의 중합체 접합체는 약물 방출 제품의 C_{max} 를 변경하도록 설계될 수 있으며, 적절한 방출 반감기를 갖는 중합체 접합체를 신중하게 설계함으로써, C_{max} 값이 원하는 치료창 내에 속하도록, 예를 들어 C_{max} 값이 약물 방출 제품의 치료 수준을 유지하면서도, 예를 들어 관련된 독성을 갖는 것으로 알려진 값보다는 작게 되도록 설정할 수 있다.

[0213] 또 다른 양태에서, 폴리알-비천연 캄토테신 접합체 또는 폴리알-비천연 캄토테신 접합체의 약학적으로 허용되는 염과 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0214] 또 다른 양태에서, 폴리알-비천연 캄토테신 접합체 또는 폴리알-비천연 캄토테신 접합체의 약학적으로 허용되는 염을 암 치료에 유효한 양으로 암 치료가 필요한 피험체에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법을 개시한다.

[0215] 몇몇 실시형태에서, 암 치료에 유용한 폴리알-비천연 캄토테신은 PHF-비천연 캄토테신 접합체이다. 또 다른 실시형태에서, 암 치료에 유용한 PHF-비천연 캄토테신 접합체는 PHF-SN38 접합체이다.

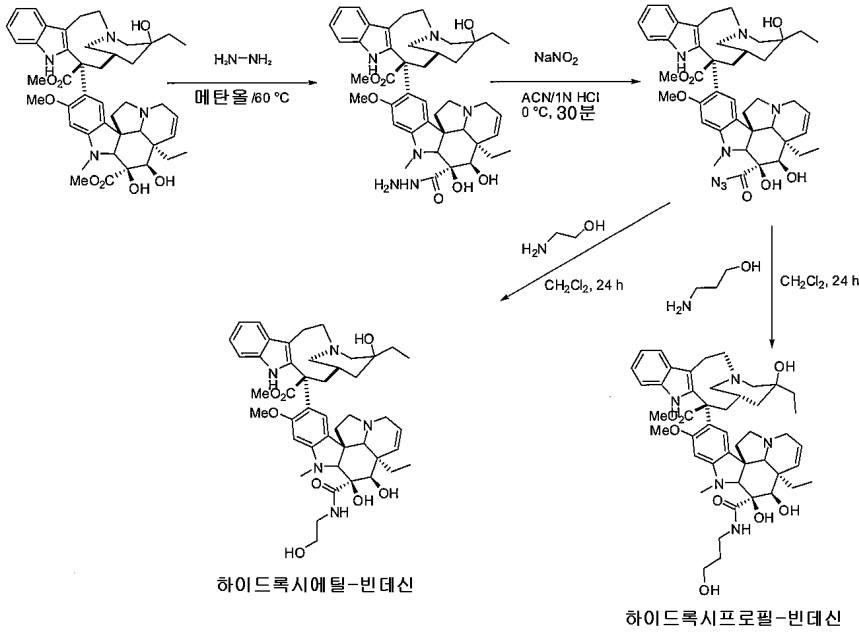
[0216] 몇몇 실시형태에서, 암은 항문암, 성상세포종, 백혈병, 림프종, 두경부암, 간암, 고환암, 자궁경부암, 육종, 혈관종, 식도암, 안암, 후두암, 구내암, 중피종, 피부암, 흑색종, 구강암, 직장암, 인후암, 방광암, 유방암, 자궁암, 난소암, 전립선암, 폐암, 결장암, 췌장암, 신장암 및 위암으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0217] 폴리알-비천연 캄토테신 접합체의 치료적 투여

[0218] 피험체에게 투여될 때, 폴리알-비천연 캄토테신 또는 폴리알-비천연 캄토테신의 약학적으로 허용되는 염은 생리학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 조성물의 성분으로서 투여될 수 있다, 본원에 기재된 조성물은 폴리알-비천연 캄토테신 접합체 또는 폴리알-비천연 캄토테신 접합체의 약학적으로 허용되는 염 및 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 혼합하는 단계를 포함하는 방법을 이용함으로써 제조될 수 있다. 혼합은, 폴리알-비천연 캄토테신 접합체 또는 폴리알-비천연 캄토테신 접합체의 약학적으로 허용되는 염 및 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 혼합하기 위한 잘 알려진 방법을 이용하여 수행할 수 있다.

- [0219] 폴리알-비천연 캄토데신 접합체 또는 폴리알-비천연 캄토데신 접합체의 약학적으로 허용되는 염은, 임의의 편리한 경로를 통해, 예를 들어, 주입 또는 볼루스 주사에 의해 투여될 수 있고, 다른 치료제와 함께 투여될 수 있다. 폴리알-비천연 캄토데신을 투여하면, 비천연 캄토데신이 혈류로 방출된다.
- [0220] 일 실시형태에서, 폴리알-비천연 캄토데신 접합체 또는 폴리알-비천연 캄토데신 접합체의 약학적으로 허용되는 염을 정맥내 투여한다.
- [0221] 또 다른 양태에서, 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체의 약학적으로 허용되는 염과 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.
- [0222] 또 다른 양태에서, 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체의 약학적으로 허용되는 염을 암 치료에 유효한 양으로 암 치료가 필요한 피험체에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법을 개시한다.
- [0223] 몇몇 실시형태에서, 암 치료에 유용한 폴리알-빈카 알칼로이드는 PHF-빈카 알칼로이드 접합체이다.
- [0224] 몇몇 실시형태에서, 암은 항문암, 성상세포종, 백혈병, 림프종, 두경부암, 간암, 고환암, 자궁경부암, 육종, 혈관종, 식도암, 안암, 후두암, 구내암, 중피종, 피부암, 흑색종, 구강암, 직장암, 인후암, 방광암, 유방암, 자궁암, 난소암, 전립선암, 폐암, 결장암, 췌장암, 신장암 및 위암으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0225] **폴리알-빈카알칼로이드 접합체의 치료적 투여**
- [0226] 피험체에게 투여될 때, 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체의 약학적으로 허용되는 염은 생리학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 조성물의 성분으로서 투여될 수 있다. 본원에 기재된 조성물은 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체의 약학적으로 허용되는 염 및 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 혼합하는 단계를 포함하는 방법을 이용함으로써 제조될 수 있다. 혼합은, 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체의 약학적으로 허용되는 염 및 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 혼합하기 위한 잘 알려진 방법을 이용하여 수행할 수 있다.
- [0227] 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체의 약학적으로 허용되는 염은, 임의의 편리한 경로를 통해, 예를 들어, 주입 또는 볼루스 주사에 의해 투여될 수 있고, 다른 치료제와 함께 투여될 수 있다. 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체를 투여하면, 빈카 알칼로이드가 혈류로 방출된다.
- [0228] 일 실시형태에서, 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체 또는 폴리알-빈카 알칼로이드 접합체의 약학적으로 허용되는 염을 정맥내 투여한다.
- [0229] **가변 속도 방출 링커를 포함하는 다양한 폴리알-약물 접합체의 제조 방법**
- [0230] 가변 속도 방출 링커를 포함하는 폴리알-약물 접합체 및 이의 약학적으로 허용되는 염은 상업적으로 이용 가능한 화합물, 공지 화합물, 또는 공지 방법에 의해 제조된 화합물로부터 출발하여 다양한 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 가변 속도 방출 링커를 포함하는 폴리알-약물 접합체는 상업적으로 이용 가능한 화합물, 공지 화합물, 또는 공지 방법에 의해 제조된 화합물로부터 출발하여 다양한 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 기재된 화합물 중 다수 화합물에 대한 일반적 합성 경로는 하기 반응식에 포함된다. 당업자라면, 반응식에 도시되지 않은 보호 및 탈보호 단계가 이들 합성에 필요할 수도 있고, 단계의 순서는 목적 분자의 작용성에 맞게 변경될 수 있다는 것을 이해할 것이다.
- [0231] 가변 속도 방출 링커를 포함하는 폴리알-약물 접합체의 제조에 유용한 방법을 하기 실시예에 기재하고 하기 반응식으로 일반화한다.

반응식 3

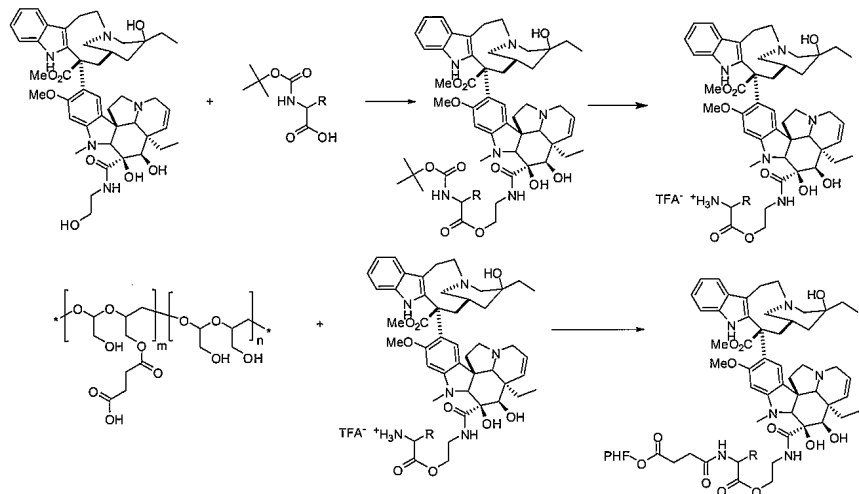


[0232]

[0233]

빈카 알칼로이드의 C₂₃ 에스테르와 하이드라진의 반응 후에, 얻어진 생성물을 NaNO₂로 처리하면, 활성 아지도 에스테르가 형성된다. 아지도 에스테르와 아미노 테더(예컨대 에탄올아민 또는 프로판올아민)의 반응에 의해 작용기화된 하이드록실을 갖는 빈카 알칼로이드 유도체가 얻어지고, 이것을 디카복실산을 통해 폴리알에 접합하기 위한 아미노 함유 테더로 추가로 유도체화할 수 있다(반응식 2 참조).

반응식 4



[0234]

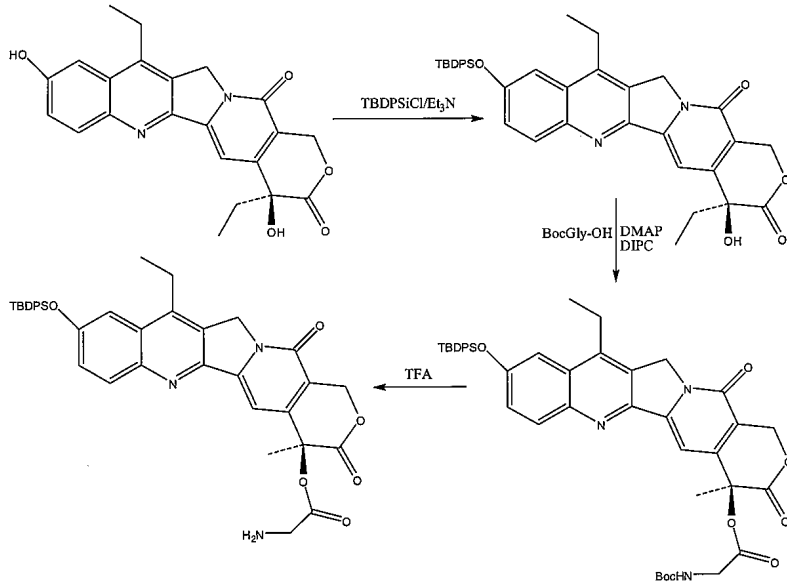
[0235]

[0236]

여기서, m 및 n은 각각 0?300 및 100?750이다.

빈카 알칼로이드의 하이드록실 유도체를 t-부톡시 에스테르화 아미노산과 같은 아미노 함유 테더로 처리한 후 에스테르를 TFA 가수분해하면 빈카 알칼로이드의 트리플레이트 염이 얻어진다. U.S. 2007/019008에 기재된 바와 같이 디카복실산으로 미리 유도체화한 폴리알에 빈카 알칼로이드를 접합하는 것은 용매로서의 물/아세트니트릴 중의 EDC와 같은 활성화제를 사용하여 수행한다. 완료 후, ACN이 총 부피의 10%가 되도록 증류수를 첨가하고 겔 여과 컬럼(세파텍스 G-25, 용리제로서 물을 사용)에 의해 생성물을 정제하였다.

반응식 5

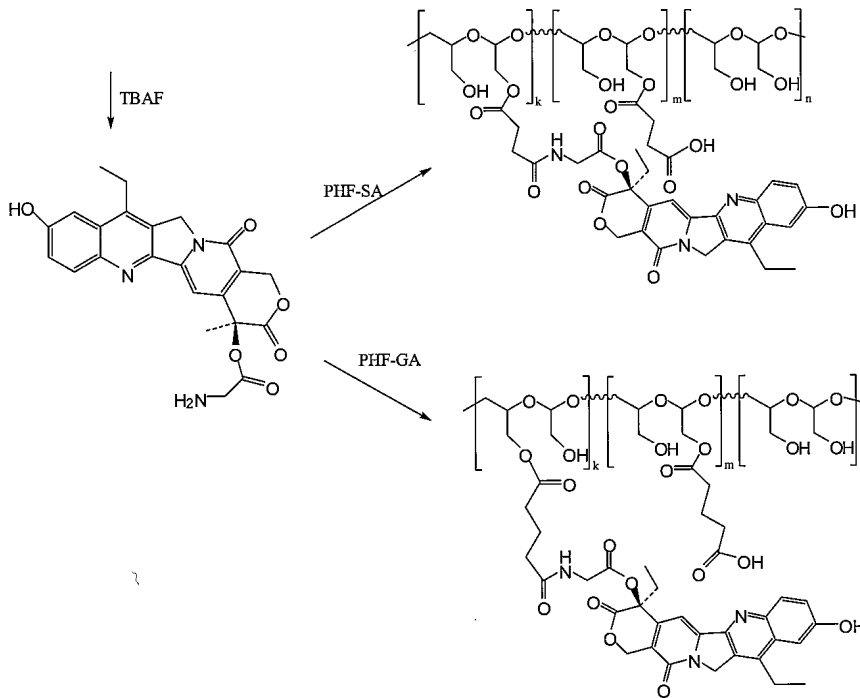


[0237]

[0238]

비천연 캠포테신 유도체, 예를 들어, SN38의 10-하이드록시기를, 이 유도체를 트리에틸아민 존재 하에 tert-부틸디페닐실릴 클로라이드와 반응시킴으로써 선택적으로 보호한다. t-부틸카보닐-글리신과의 반응에 의해 20-하이드록시기를 후속 글리신화하여 유도체의 글리시네이트를 형성하는 것은 문헌[Sapra, P. *et al.*, Clin. Cancer Res., 14: 1888-1896 (2008)]에 따라 수행한다. 대안으로, 폴리알로부터의 방출 민감기를 늦추는 다른 아미노산, 예를 들어 알라닌을 사용할 수 있다. 주요 아민은, 트리플루오로아세트산을 사용한 처리에 의해 Boc 보호기를 제거하고, 그 후 TBDPS 보호기를 테트라부틸암모늄 플루오라이드로 제거함으로써 노출시킨다(하기 반응식 6 참조).

반응식 6



[0239]

[0240]

여기서, k, m 및 n은 각각 1?30, 0?300 및 100?750의 정수이다.

[0241]

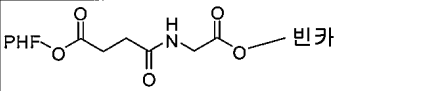
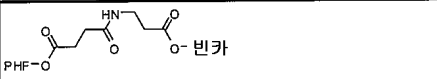
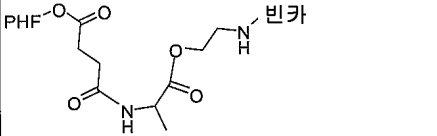
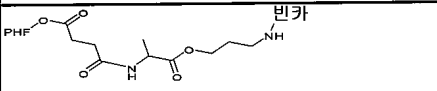
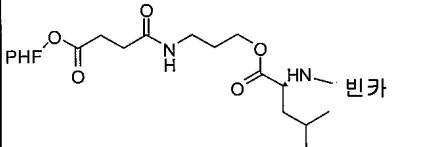
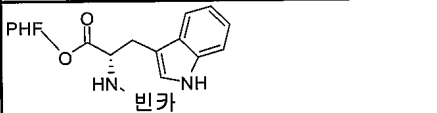
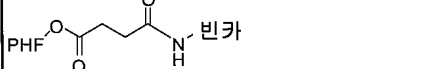
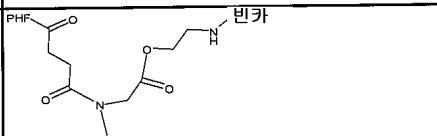
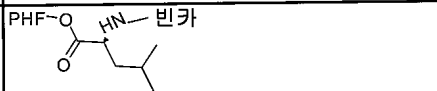
그 후, 얻어진 비천연 캠포테신-Gly 유도체를 SA, GA 또는 OGA와 같은 디카복실산으로 활성화된 폴리알 PHF와 커플링하여 목적하는 폴리알-비천연 캠포테신 접합체 PHF-SN38을 형성한다.

[0242]

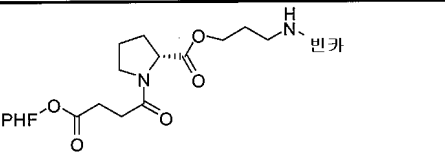
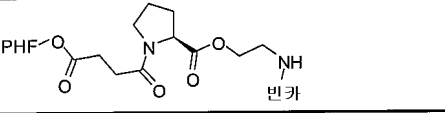
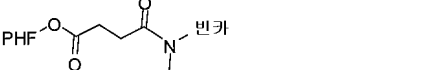
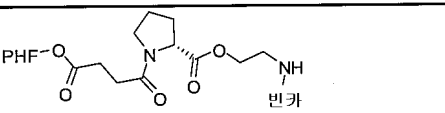
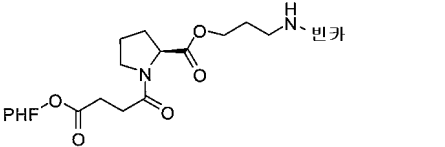
PHF-푸마질롤 접합체

- [0243] 가변 방출 링커를 포함하는 다양한 폴리알-푸마질을 접합체의 제조 방법은 본원에서 그 전체를 참고로 인용하는 U.S.S.N. 12/276,856으로부터 참조할 수 있다.
- [0244] **실시예**
- [0245] **실시예 1**
- [0246] **PHF-빈카 접합체(접합체 V4)**
- [0247] **하이드록실프로필빈데신-알라닌-BOC**
- [0248] 문헌[Conrad et al., *J. Med. Chem.* 22, 391, (1979)]에 따라 제조된 하이드록실프로필빈데신(0.227 g, 0.280 mmol), Boc-알라닌(0.058 g, 0.308 mmol) 및 DMAP(3.42 mg, 0.028 mmol)를 5 mL의 무수 DCM(5 ml)에 용해시키고 0°C로 냉각시켰다. 그 후, DIPC(0.056 ml, 0.363 mmol)를 첨가하고 0°C에서 3 시간 동안 교반하였다. 그 후, 반응 혼합물을 진한 NaHCO₃ 용액과 물로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 마지막으로 농축시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔 컬럼에 첨가하여 에틸 아세테이트 트리에틸아민 구배(A. 에틸 아세테이트, B. 메탄올 중 1% 트리에틸아민, - 구배: 100% A로 3분, 0 내지 40% B로 10분)(콤비플래시 시스템, 40 g 실리카 컬럼)로 용리시켰다.
- [0249] **하이드록실프로필빈데신-알라닌-TFA**
- [0250] 하이드록실프로필빈데신-알라닌-BOC(0.227 g, 0.231 mmol)을 2 mL의 50/50 DCM/TFA에 용해시키고, 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 그 후, 이 용액에 디에틸에테르를 첨가하여 생성물을 침전시켰다. 생성물을 원심분리로 수집하고 용매를 경사 분리하였다.
- [0251] **접합체 V4**
- [0252] PHF-SA(1.600 g, 6.05 mmol)를 20 mL의 증류수 및 4 mL의 ACN에 용해시키고 0°C로 냉각시켰다. 하이드록실프로필빈데신-알라닌-TFA(0.21 g, 0.242 mmol)을 2 mL의 ACN에 용해시켜 이 용액에 첨가하였다. pH를 약 6으로 조절한 후, EDC(0.116 g, 0.605 mmol)를 첨가하였다. 이 용액을 0°C에서 30분 동안 교반한 후 실온으로 가온하였다. 반응 진행을 HPLC(SEC 및 RP 둘 다)로 모니터링하였다. 완료 후, ACN이 총 부피의 10% 미만인 되도록 증류수를 첨가하고, 생성물을 겔 여과 컬럼(Sephadex G-25, 용리제로서 물을 사용함)으로 정제하였다.
- [0253] **실시예 2**
- [0254] **시험관내에서의 PHF-약물 접합체로부터의 약물 방출 측정 방법**
- [0255] PHF-약물 접합체로부터의 약물 방출 과정의 평가를 시험관내에서 생리학적 조건 하에 수행하였다. 테스트는 37°C에서 포스페이트 완충 식염수(0.05 M 포스페이트, pH 7.4, NaCl 0.9%) 중에서 일반적으로 24 시간 동안 행하였다. 접합된 약물의 농도를 고압 크기 배제 크로마토그래피로 모니터링하였고, 약물 방출 생성물(들)의 농도를 약물 접합체, 약물 방출 생성물, 또는 이들 둘의 조합에 대해 특이적인 파장에서 분광분석적 검출을 이용하여 역상 HPLC로 모니터링하였다. 약물 접합체 링커 분해율(K, h^{-1})은 접합된 약물의 반대수(semilogarithmic) 농도 감소 프로파일의 선형 회귀 분석에 의해 추정하였다. 링커 안정성은 약물 방출 반감기로서 기록된다($t_{1/2}, h$, 여기서 $t_{1/2}$ 는 $\ln(2)/K$ 로서 계산됨).

표 1: 다양한 PHF-빈카 알칼로이드 약물 접합체의 방출 반감기

##	빈카 알칼로이드 접합체	T 1/2, h
V1		3.4
V2		17
V3		19
V4		24
V5		26
V6		65
V7		75
V8		81
V9		200

[0256]

V10		250
V11		360
V12		500
V13		375
V14		

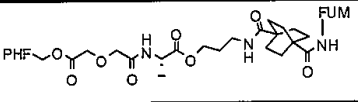
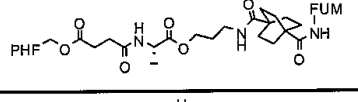
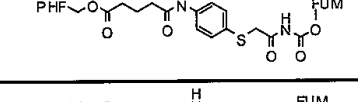
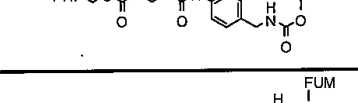
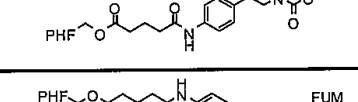
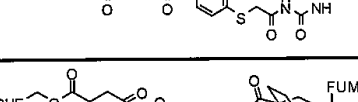
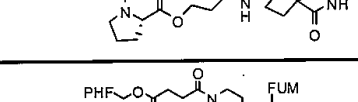
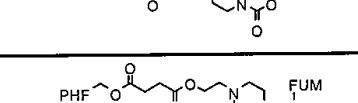
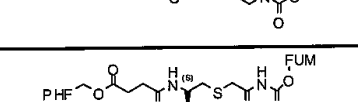
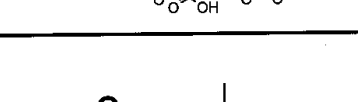
[0257]

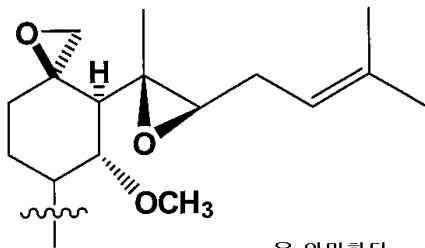
[0258] 빈카는 빈카 알칼로이드의 C-23 위치의 카복실산을 통해 NH에 결합된 빈카 알칼로이드를 나타낸다.

표 2: 다양한 PHF-푸마질을 유사체 접합체의 방출 반감기

	푸마질을 유사체 접합체	T _{1/2} h
F1		0.6
F2		1.0
F3		1.2
F4		1.2
F5		1.4
F6		1-4
F7		5.5
F8		5.5
F9		7.5
F10		8.1
F11		8.1
F12		9.1
F13		9.5

[0259]

F14		7-10
F15		20
F16		100
F17		>100
F18		500
F19		>>200
F20		>100
F21		>100
F22		>100
F23		9.1



[0260]

표 3: 다양한 SN38 접합체의 방출 반감기

##	SN38 접합체	T 1/2, h
S1	PHF-SA-Gly-SN38	2.0
S2	PHF-GA-Gly-SN38	18.5
S3	PHF-SA-Ala-SN38	36.9
S4	PHF-GA-Ala-SN38	54.2

[0261]

[0262]

시험관내에서의 PHF-약물 접합체로부터의 약물 방출의 측정 방법

[0263]

혈장 인큐베이션은 마우스 또는 인간으로부터 얻은 완충된 혈장 중에서 수행하였다. 혈장을 5:1(v/v, 혈장:완충액)의 비로 0.5 M 포스페이트 완충액(pH 7.2)을 사용하여 pH 7.4로 완충시켰다. 혈장 중의 PHF-약물 접합체의 혼합물을 0.8 mg/ml로 제조하여 50 μ l 샘플로 분액하여 마이크로원심분리 바이알에 넣고, 이 샘플을 37°C의 수조로 옮겼다. 0분, 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분, 140분, 160분, 180분, 200분, 220분 및 240분의 시점에, 분액을 해당 시점에 꺼내어 200 μ l의 아세토니트릴로 추출하고 RP-HPLC/MS(Column Gemini C18, 150x2.0 mm, 3 μ m, 실온에서 작동됨, LC 유속 350 μ l/min; 이동상은 0.1% 포름산 수용액(A) 및 아세토니트릴

중 0.1% 포름산이었고, 선형 구배는 10 내지 50% B에서 9.5분, 50 내지 90% B에서 0.5분이었으며, 90% B에서 1분 동안 중지하고, 10% B로 5분 동안 재평형화함)로 분석하였다.

[0264] **완충액 및 혈장 중에서 질량 분광분석법에 의한 시험관내 방출 생성물의 확인**

[0265] PBS 완충액과 인간 및 마우스 혈장 중에서의 PHF-SN38의 방출 생성물을, 전술한 바와 같이 인큐베이션 매질 중에서 중합체를 아세트니트릴을 침전한 후, 아세트니트릴 추출물 중에서 질량 분광분석법에 의해 확인하였다. 결과를 도 1 및 2에 도시하였다.

[0266] **실시예 3**

[0267] **폴리알-SN38 접합체 및 유사체가 세포 성장에 미치는 억제 효과**

[0268] HT-29 세포를 사용하여 폴리알-SN38 접합체가 세포 성장에 미치는 영향을 평가하였다.

[0269] 세포를 10% FBS가 보충된 1.5 mM L-글루타민을 함유하는 McCoy's 5a 배지에서 증식시켰다. (지수 성장) 세포를 24웰 배양 플레이트(약 10,000개 세포/웰)에 시딩하여 24 시간 동안 배양한 후, 다양한 희석률의 테스트 화합물로 처리하였다. 성장 억제는 처리한 지 72 시간 후 평가한다(MTT 분석). 그 결과를 하기 4에 기재하였다.

표 4

화합물	HT29 IC50 (uM)	HCT116 IC50 (uM)
SN38-ALA-GA	0.121	0.024
SN38-ALA-SI	0.457	0.12
SN38-ALA-SA	0.187	0.055
SN38-GLY-SA	0.117	0.032
SN38-GLY-SI	0.097	0.02
SN38-GLY-GA	0.126	0.02
SN38	0.025	0.009
캄토테신 (CPT)	0.083	0.023
CPT-SI	0.101	0.039
이리노테칸	4.426	4.654

[0270]

[0271] **실시예 4**

[0272] **PHF-빈카 알칼로이드 접합체에 대한 인간 폐 이종이식편 연구**

[0273] 옆구리 피하에 H460 종양 세포가 이식된 HRLN 암컷 마우스를 PHF-빈카 알칼로이드 접합체로 처리하였다. 종양 증식을 각각 양성 및 음성 대조군으로서의 파클리탁셀과 식염수를 함께 사용하여 모니터링하였다. 종양이 평균 크기 80 내지 120 mg에 도달하였을 때 처리를 시작하고, 마우스의 종점 종양 크기가 2 g이 될 때 또는 45 일째 중 먼저 도래하는 때까지 주당 2회 종양 용적을 측정하였다. 다양한 스케줄로 (약물 등량으로 환산한) 5 내지 50 mg/kg의 용량 수준으로 식염수 용액으로서 접합체를 정맥내 투여하였다. 처리 결과는, 식염수로 처리된 마우스와 비교한 제제로 처리된 마우스에 대한 중간 생존 시간 내지 종점까지의 증가율(%)로서 정의된 종양 증식 지연율(%TGD), 또는 식염수로 처리된 마우스와 비교한 제제로 처리된 마우스에 대한 평균 또는 중간 종양 용적으로서 평가하였다.

[0274] **실시예 5**

[0275] **PHF-비천연 캄토테신에 대한 인간 결장 이종이식편 연구**

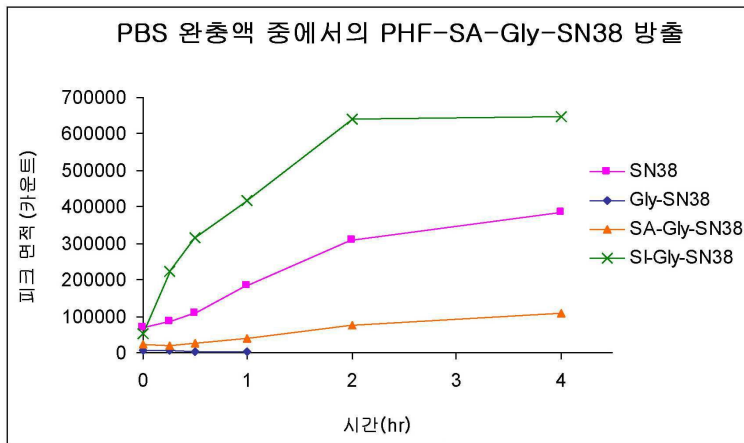
[0276] 옆구리 피하에 HCT116 종양 세포가 이식된 HRLN 암컷 마우스를 PHF-비천연 캄토테신 접합체로 처리하였다. 종양 증식을 각각 양성 및 음성 대조군으로서의 이리노테칸과 식염수를 함께 사용하여 모니터링하였다. 종양이 평균 크기 80 내지 120 mg에 도달하였을 때 처리를 시작하고, 마우스의 종점 종양 크기가 1.5 g이 될 때 또는 100일째 중 먼저 도래하는 때까지 주당 2회 종양 용적을 측정하였다. biwk x 5의 스케줄로 (약물 등량으로 환

산한) 10 내지 25 mg/kg의 용량 수준으로 식염수 용액으로서 접합체를 정맥내 투여하였다. 처리 결과는, 식염수로 처리된 마우스와 비교한 제제로 처리한 마우스에 대한 중간 생존 시간 내지 종점까지의 증가율(%)로서 정의된 종양 증식 지연율(%TGD), 또는 식염수로 처리된 마우스와 비교한 제제로 처리된 마우스에 대한 평균 또는 중간 종양 용적으로서 평가하였다. 결과를 도 13에 도시하였다.

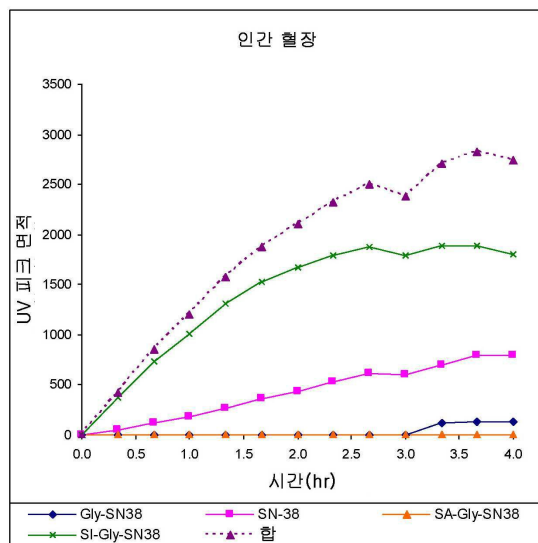
[0277] 지금까지 본원에 개시된 특정 실시형태를 예시하고 설명하였지만, 당업자에게는 본 발명의 사상 및 범위로 부터 벗어나지 않도록 다른 변경 및 수정이 이루어질 수 있음이 명백할 것이다. 따라서, 첨부된 특허청구범위에 서는 본 출원의 범위에 속하는 그러한 모든 변경 및 수정을 포괄한다.

도면

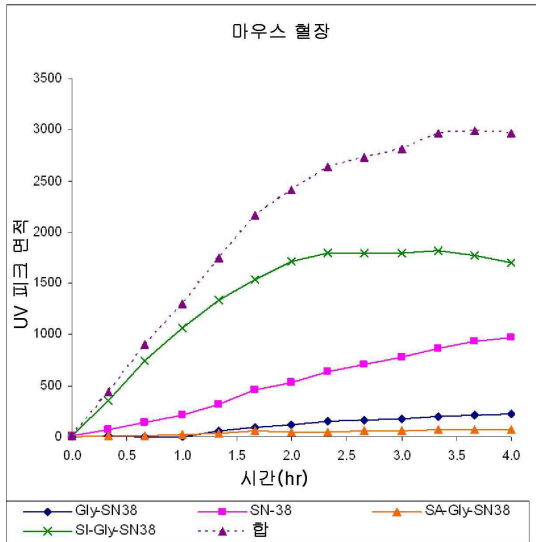
도면1



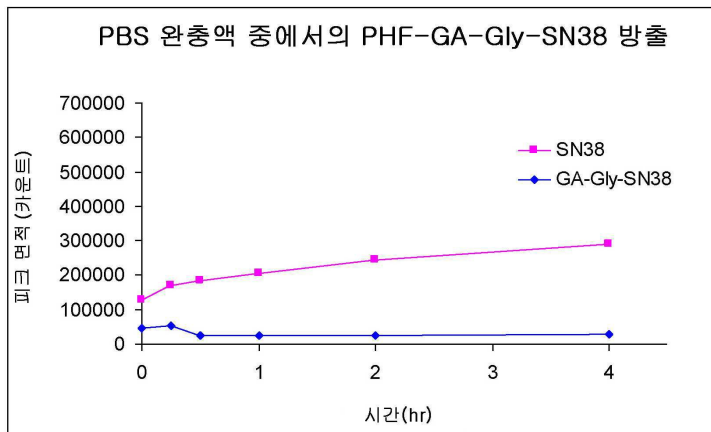
도면2



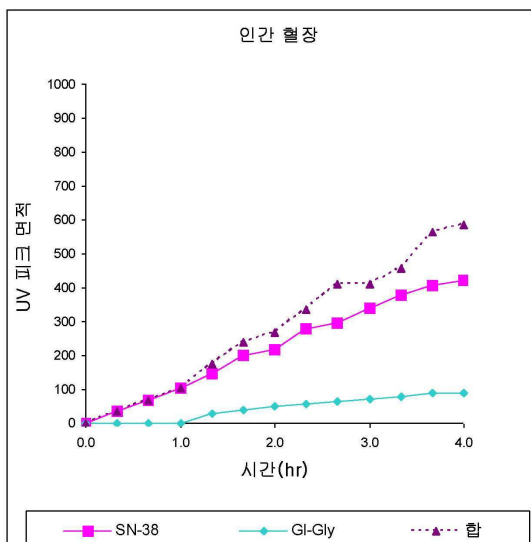
도면3



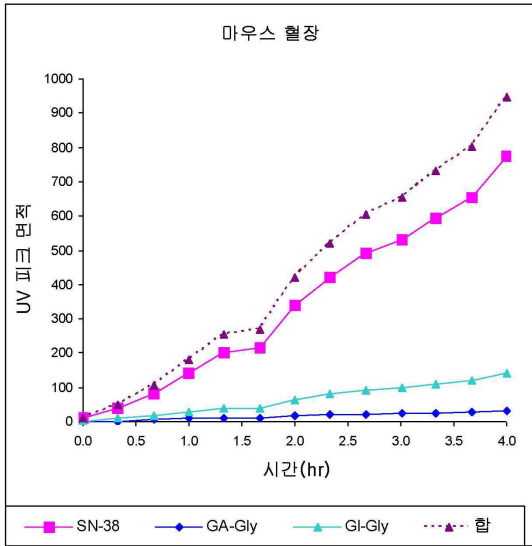
도면4



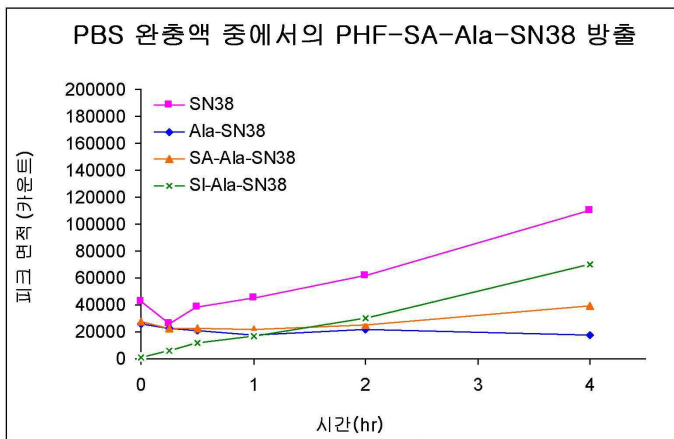
도면5



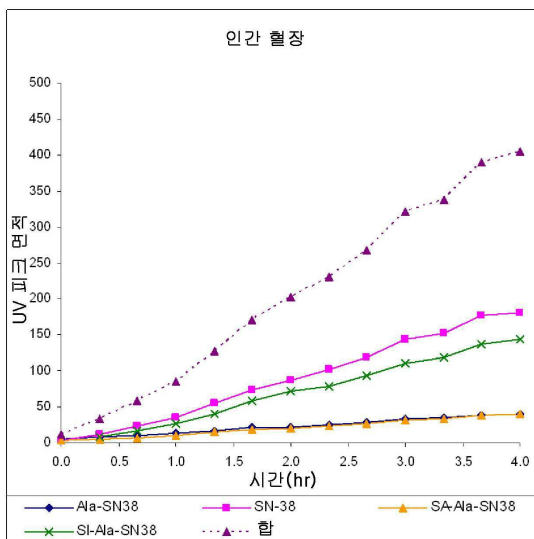
도면6



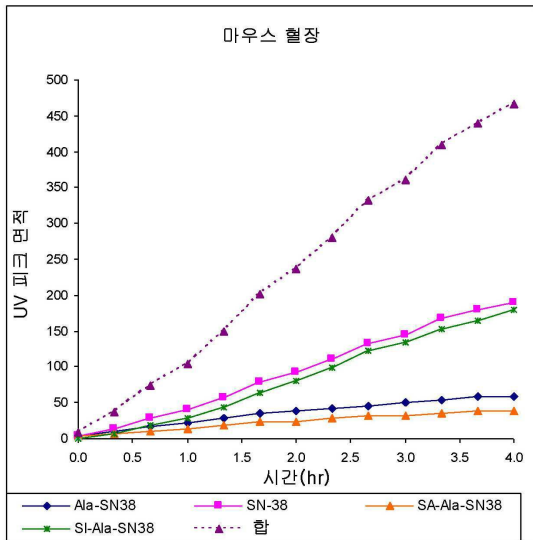
도면7



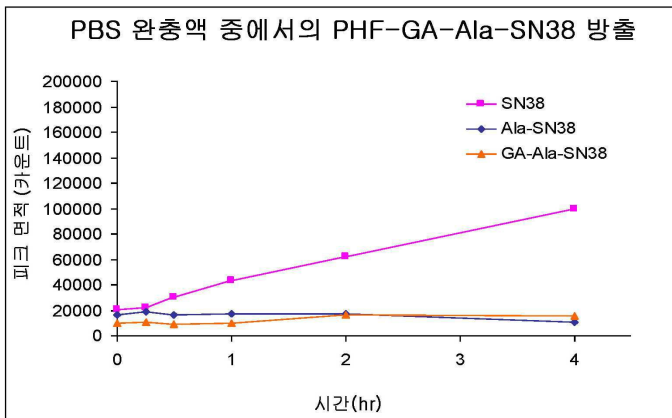
도면8



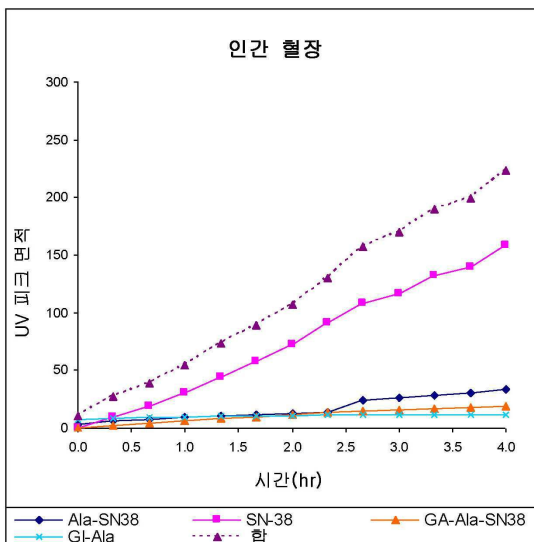
도면9



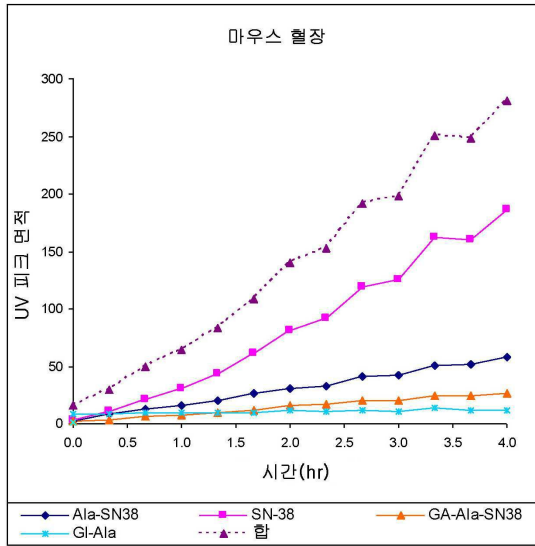
도면10



도면11



도면12



도면13

AQ70=SA-ala; AQ71=GA-ala; AQ72=GA-gly; AQ73=SA-gly

