



등록특허 10-2691114



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년08월01일
(11) 등록번호 10-2691114
(24) 등록일자 2024년07월30일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/00 (2006.01) *A61K 39/39* (2006.01)
C07H 15/04 (2006.01) *C07H 15/26* (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01) *C07K 16/44* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/0011 (2023.05)
A61K 39/39 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7023508
- (22) 출원일자(국제) 2015년08월21일
심사청구일자 2020년08월03일
- (85) 번역문제출일자 2017년08월23일
- (65) 공개번호 10-2017-0104617
- (43) 공개일자 2017년09월15일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/046420
- (87) 국제공개번호 WO 2016/118191
국제공개일자 2016년07월28일
- (30) 우선권주장
62/107,378 2015년01월24일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
PNAS, 제110권, 제7호, 2517-2522
면(2013.2.12.)*
American Chemical Society, 제136권,
16844-16853면(2014.11.5.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
아카데미아 시니카
대만 11529 타이페이 난강 셱션 2 아카데미아 로드 128
- (72) 발명자
우, 충-이
대만 221 뉴타이페이 시티, 시즈 디스트릭트, 동 시 스트리트, 넘버 78-1
웡, 치-휴이
미국 캘리포니아 92067 란초 산타페 퍼.오.박스 8154
- (74) 대리인
김혜중

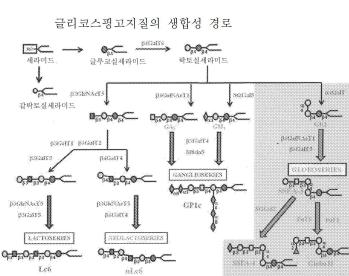
전체 청구항 수 : 총 25 항

심사관 : 조경주

(54) 발명의 명칭 신규한 글리칸 콘주케이트 및 이를 사용하는 방법

(57) 요약

본 발명은 글로보-계열 글리코스PING고지질 합성을 조절하는데 유용한 항체 및/또는 결합 단편 생성을 유도하는 SSEA3/SSEA4/GloboH 관련 에피토프(천연 및 개질됨)를 타겟화하는 백신, 항체 및/또는 면역원성 콘주케이트 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 글로보-계열 글리코스PING고지질 합성을 조절할 수 있는 방법 및 조성물에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 생합성 경로에서 글로보-계열 글리코스PING고지질 SSEA3/SSEA4/GloboH의 합성을 조절할 수 있는 글리코효소 억제제 화합물 및 조성물 및 이를 사용하는 방법에 관한 것이며; 특히, 글리코효소 억제제는 글로보-계열 합성 경로에서 알파-4GalT; 베타-4GalNAcT-I; 또는 베타-3GalT-V 효소를 타겟화한다. 또한, 본 발명은 또한 과증식성 질병 및/또는 질환의 치료 또는 검출을 위해 본원에 기술된 조성물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

대 표 도

(52) CPC특허분류

C07H 15/04 (2013.01)
C07H 15/26 (2013.01)
C07K 16/3076 (2013.01)
C07K 16/44 (2013.01)
A61K 2039/55511 (2013.01)
A61K 2039/6037 (2013.01)
A61K 2039/627 (2013.01)

명세서

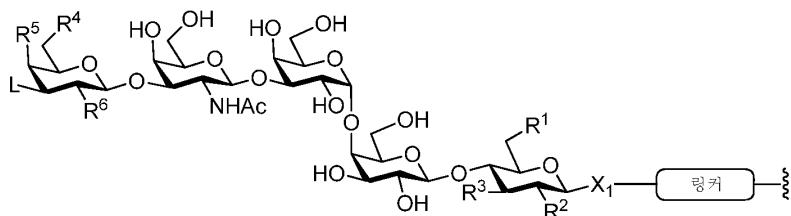
청구범위

청구항 1

(a) 파상풍 특소이드(tetanus toxoid: TT) 또는 CRM197인 담체(carrier) 및 하나 이상의 글리칸을 포함하는 글리칸 콘주게이트(glycan conjugate), 및 선택적으로,

(b) 애주번트(adjuvant)를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 면역원성 조성물로서,

하나 이상의 글리칸들 각각이 하기 화학식 (III)을 갖는 링커(linker)를 통해 담체와 콘주게이팅되고, 링커가 헤테로- 또는 호모-이작용성 링커인 면역원성 조성물:

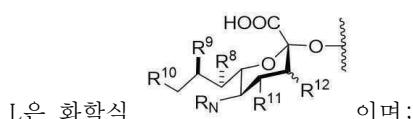


(III)

상기 식에서,

X_1 은 $-OR$ 또는 $-SR$ 이며, 여기서, R은 산소 또는 황 보호기, 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 아실, 또는 선택적으로 치환된 이미도일이며;

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 및 R^6 의 각 경우는 독립적으로 $-OH$ 이고;



R^8 , R^9 및 R^{11} 의 각 경우는 독립적으로 $-OH$ 이고;

R^{10} 의 각 경우는 독립적으로 $-N_3$ 및 $-OH$ 로부터 선택되고;

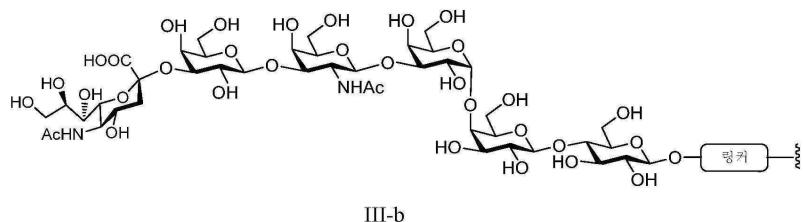
R^{12} 는 H이며;

R_N 은 $-N_3$, $-NO_2$, $-N(R^B)_2$, $-N(R^A)C(O)R^A$, $-OR^A$, $-OC(O)R^A$, $-SR^A$, $-C(O)N(R^B)_2$, $-CN$, $-C(O)R^A$, $-C(O)OR^A$, $-S(O)R^A$, $-SO_2R^A$, $-SO_2N(R^B)_2$, 및 $-HSO_2R^B$ 로부터 선택되고;

R^A 의 각 경우는 독립적으로, 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 및 선택적으로 치환된 알카닐로부터 선택되며;

R^B 의 각 경우는 독립적으로, 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 및 선택적으로 치환된 알카닐로부터 선택되며;

단, 글리칸 콘주게이트는 하기 화학식 (III-b)는 아니다:



III-b

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항에 있어서, R^{10} 및 R_N 중 적어도 하나의 경우가 $-N_3$ 인 면역원성 조성물.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

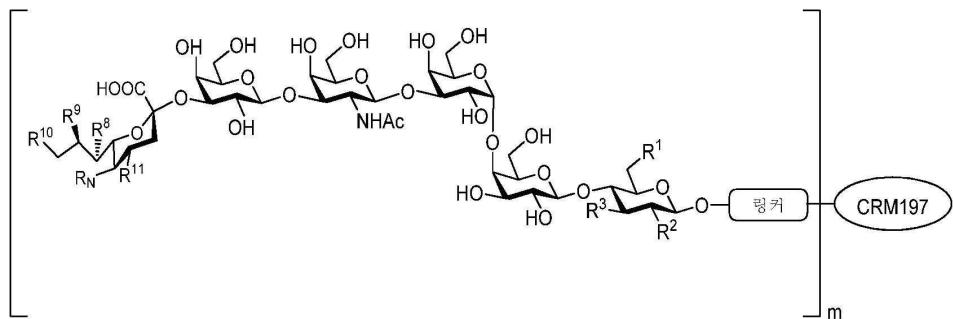
삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

제1항에 있어서, 글리칸 콘주케이트가 하기 학식 (IV-b)인 면역원성 조성물:



(IV-b)

상기 식에서, m 은 1 내지 40의 정수이며, 경계값은 포함한다.

청구항 13

삭제

청구항 14

제1항 또는 제7항에 있어서, 애주번트가 수지상 세포(dendritic cell) 상에서 CD 1d 분자와 결합할 수 있는 당지질인 면역원성 조성물.

청구항 15

제1항 또는 제7항에 있어서, 애주번트가 C34, 7DW8-5, C17, C23, 글루코-C34, 알루미늄 염, 스쿠알렌, MF59, 또는 QS-21인 면역원성 조성물.

청구항 16

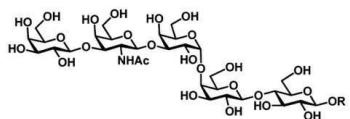
제1항 또는 제7항에 있어서, 면역원성 조성물이 암 세포에 대한 면역 반응을 유도할 수 있는 면역원성 조성물.

청구항 17

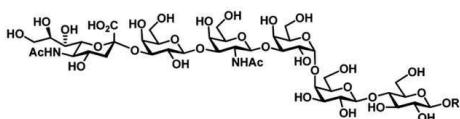
제16항에 있어서, 암 세포가 뇌암 세포, 폐암 세포, 유방암 세포, 구강암 세포, 식도암 세포, 위암 세포, 간암 세포, 담관암 세포, 췌장암 세포, 결장암 세포, 신장암 세포, 골암 세포, 피부암 세포, 자궁경부암 세포, 난소암 세포, 및 전립선암 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역원성 조성물.

청구항 18

제16항에 있어서, 면역 반응이 하기 화학식을 갖는 SSEA3 및 SSEA4로 이루어진 군으로부터 선택된 항원들 중 하나 이상에 특이적으로 결합하는 항체들의 발생을 포함하는 면역원성 조성물:



SSEA3



SSEA4

상기 식에서,

R은 세라마이드이다.

청구항 19

제18항에 있어서, 항체가 암 세포 또는 암 줄기 세포의 표면 상에서 발현된 SSEA3 및 SSEA4 항원 중 하나 이상

을 중성화시키는 면역원성 조성물.

청구항 20

제18항에 있어서, 항체가 IgG 항체를 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 21

암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 치료학적 유효량의 제1항 또는 제7항의 면역원성 조성물 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 암 백신.

청구항 22

제21항에 있어서, 암 백신이 피검체에서 항-암 면역 반응을 유발시킬 수 있는 암 백신.

청구항 23

삭제

청구항 24

암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 약제학적 조성물로서, 암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 제1항 또는 제7항의 면역원성 조성물 또는 제21항 또는 제22항의 암 백신을 포함하고, 백신이 다른 치료제와 함께 동시-투여되는 약제학적 조성물.

청구항 25

암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 약제학적 조성물로서, 암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 제1항 또는 제7항의 면역원성 조성물 또는 제21항 또는 제22항의 암 백신을 포함하고, 암이 뇌암, 폐암, 유방암, 구강암, 식도암, 위암, 간암, 담도암, 췌장암, 결장암, 신장암, 골암, 피부암, 자궁경부암, 난소암, 및 전립선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 약제학적 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서, 암 세포가 세포의 표면 상에서 SSEA3, SSEA4 또는 SSEA3과 SSEA4항원을 발현시키는 약제학적 조성물.

청구항 27

제26항에 있어서, 피검체가 인간인 약제학적 조성물.

청구항 28

제25항에 있어서, 면역원성 조성물 또는 암 백신이 피하로 투여되는 약제학적 조성물.

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

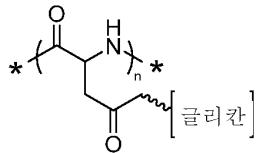
암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 제1항의 면역원성 조성물을 제조하는 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 방법이 담체를 제공하고; 콘주게이션 반응에 의해 하나 이상의 글리칸을 담체에 콘주게이팅시키는 것을 포함하며, 하나 이상의 글리칸 각각이 SSEA3 또는 SSEA4인 방법.

청구항 33

SSEA4 및 SSEA3 및 이들의 유사체 중 하나 이상을 타겟화하는 다가 작제물(multivalent construct)을 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 면역원성 조성물로서, 글리칸이 주형 및 담체에 연결되어 있는 면역원성 조성물:



상기 식에서, n 은 1 내지 10의 정수일 수 있으며;

여기서, 글리칸은 제1항에 정의된 화학식 (III)이며;

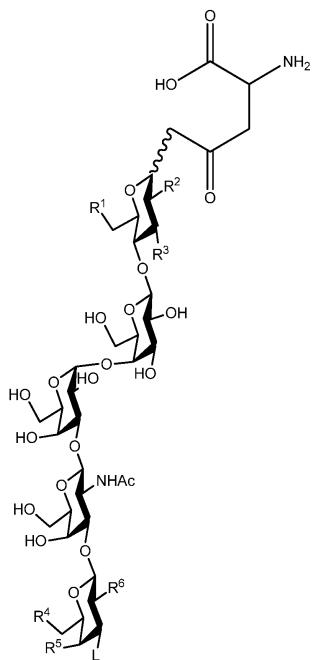
n 이 2 이상인 경우, 각 글리칸은 아스파르til 펩티드 상에서의 다른 글리칸과 동일할 수 있거나, 아스파르til 펩티드 상에서의 상이한 글리칸일 수 있다.

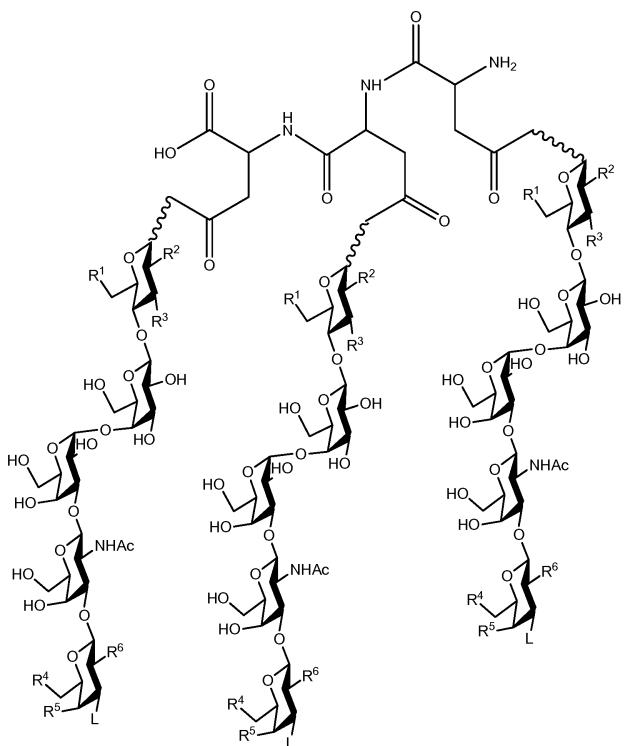
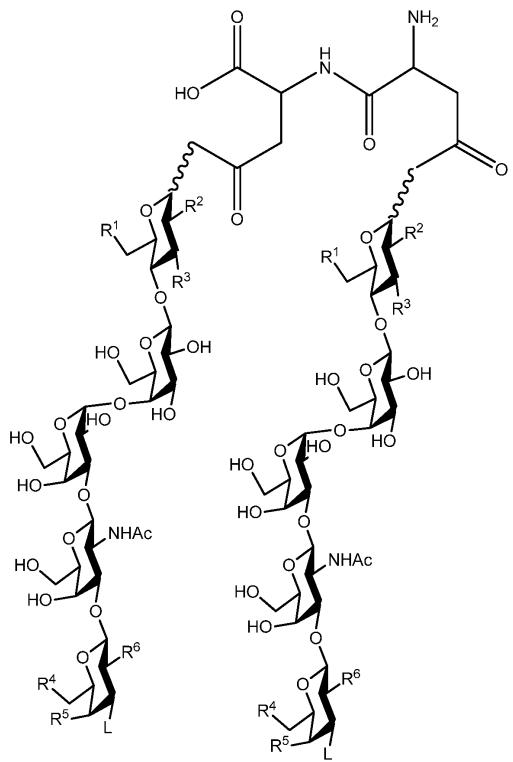
청구항 34

제33항에 있어서, 글리칸이 SSEA3 및 SSEA4로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역원성 조성물.

청구항 35

제33항에 있어서, 하기 구조의 다가 작제물들 중 어느 하나를 포함하는 면역원성 조성물:

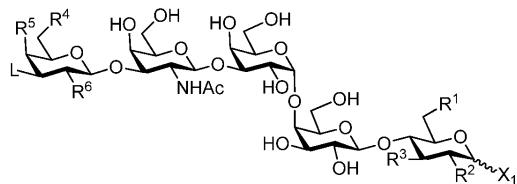




상기 식에서, 각 글리칸 모이에티(glycan moiety) 상에서 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 및 L 은 제1항에서 정의된 바와 같다.

청구항 36

하기 화학식 (I)을 갖는 화합물, 또는 이의 염:

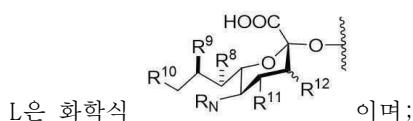


(I)

상기 식에서,

X_1 은 -OR 또는 -SR이며, 여기서, R은 수소, 산소 또는 황 보호기, 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 아실, 또는 선택적으로 치환된 이미도일이며;

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 및 R^6 의 각 경우는 독립적으로 $-OH$ 이며;



R^8 , R^9 및 R^{11} 의 각 경우는 독립적으로 $-OH$ 이며;

R10의 각 경우는 독립적으로 $-N_3$ 및 $-OR^A$ 로부터 선택되고, R^A 는 독립적으로 수소이고;

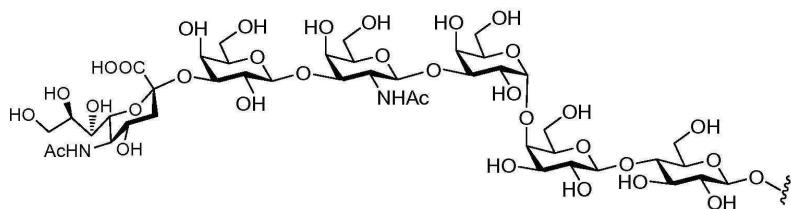
R^{12} 는 H^o 이며;

R_N 은 $-N_3$, $-NO_2$, $-N(R^B)_2$, $-N(R^A)C(O)R^A$, $-OR^A$, $-OC(O)R^A$, $-SR^A$, $-C(O)N(R^B)_2$, $-CN$, $-C(O)R^A$, $-C(O)OR^A$, $-S(O)R^A$, $-SO_2R^A$, $-SO_2N(R^B)_2$, 및 $-NHSO_2R^B$ 로부터 선택되고;

R^A 의 각 경우는 독립적으로, 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 및 선택적으로 치환된 알키닐로부터 선택되며;

R^B 의 각 경우는 독립적으로, 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 및 선택적으로 치환된 알키닐로부터 선택되며;

단, 화합물은 하기 화학식 (I-b)는 아니다:



(I-b)

청구항 37

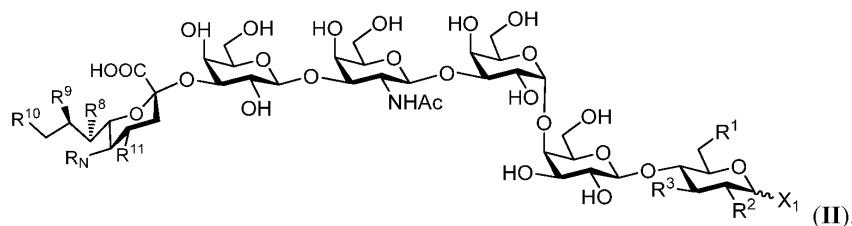
작제

청구항 38

삭제

청구항 39

제35항에 있어서, 화합물이 화학식 (II)인 면역원성 조성물:



상기 식에서,

X¹, R¹, R², R³, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, 및 R_N은 제1항에서 정의된 바와 같다.

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 제36항의 화합물 또는 제39항의 면역원성 조성물을 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 피검체에서 암을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 43

삭제

발명의 설명**기술 분야**

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 출원은 35 U.S.C. 119(e)에 따라 2015년 1월 24일에 출원되고 발명의 명칭이 "NOVEL GLYCAN CONJUGATES AND METHODS OF USE THEREOF"인 미국가특허출원번호 제60/107,378호의 이점을 청구하며, 이러한 문헌의 내용은 이의 전문이 기술된 것처럼 본원에 참고로 포함된다.

[0003]

분야

[0004]

본 발명은 글로보-계열 글리코스팡고지질 합성을 조절할 수 있는 방법 및 조성물에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 생합성 경로에서 글로보-계열 글리코스팡고지질 SSEA3/SSEA4/GloboH의 합성을 조절할 수 있는 글리코효소 억제제 화합물 및 조성물 및 이를 사용하는 방법에 관한 것이며, 특히, 글리코효소 억제제는 글로보-계열 합성 경로에서 알파-4GalT; 베타-4GalNAcT-I; 또는 베타-3GalT-V 효소를 타겟화한다. 추가적으로, 본 발명은 또한 글로보-계열 글리코스팡고지질 합성을 조절하기 위해 유용한 항체 및/또는 이의 결합 단편을 유도할 수 있는 SSEA3/SSEA4/GloboH 관련된 에피토프(천연 및 개질됨)를 타겟화하는 백신, 항체 및/또는 면역원성 콘주게이트에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 또한, 과증식성 질병(hyperproliferative disease) 및/또는 질환의 치료 또는 검출을 위해 본원에 기술된 조성물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005]

탄수화물 항원 GloboH, 단계-특이적 배아 항원-3(SSEA-3; stage-specific embryonic antigen-3), 및 단계-특이적 배아 항원-4(SSEA-4; stage-specific embryonic antigen-4)는 구조 또는 기능 중 어느 하나에 있어서 서로

밀접하게 관련이 있다. GloboH, SSEA-3 및 SSEA-4는 글로보계열 글리코스핑고리피드로서, SSEA-3은 GloboH의 비-푸코실화된 오당류 전구체 구조이며, SSEA-4는 SSEA-3의 갈락토오스의 비-환원 단부에 시알산 α 2-3 연결을 갖는 시알릴화된 SSEA-3이다.

[0006] 단계-특이적 배아 항원-3(SSEA-3)은 4-내지 8-세포 단계 마우스 배아로 면역화된 랫트에서 발생된 IgM 모노클로날 항체의 반응성에 의해 최초로 확인되고 정의되었다. 이러한 모노클로날 항체는 착상(implantation) 후 원시 내배엽에서, 난모세포 내지 최대 이의 발현이 더욱 제한되게 되는 초기 배반포 단계까지의 모든 마우스 착상 전 배아와 반응한다. SSEA-3 항원 결정인자는 당지질 및 당단백질 상에 존재하는 탄수화물인 것으로 결정되었으며, 이는 또한, 인간 기형암종 세포 및 인간 적혈구에서 발견되었다. 2102Ep 인간 기형암종 세포주로부터 단리된 구조물들의 패널에서, SSEA-3 항체는 Gal β (1-3)GalNAc β (1-3)Gal α (1-4)Gal β (1-4)Glc β (1)Cer에 대해 가장 높은 친화력을 갖는다. 이러한 구조는 또한 Gb5, 갈락토실-글로보사이드, 또는 글로보펜타오실세라마이드로서 알려져 있다.

[0007] SSEA-3의 합성은 β 1,3-갈락토오스전달효소 V(β 3GalT-V)가 Gb5 또는 갈락토실-글로보사이드를 형성시키기 위해 갈락토오스를 글로보사이드의 GalNAc로 전달할 때 일어난다. 보다 최근의 연구들에서, SSEA-3이 제대혈에서 줄기 세포들을 동정하기 위해 마커로서 사용될 수 있는지를 결정하기 위한 시도가 이루어졌다. SSEA-3이 조혈 또는 중간엽 줄기 세포에서 발현되지 않고 이에 따라, 좋은 다능성 세포의 마커가 아닌 것으로 결정되었다. Schrump 등은 원발성 폐암 환자들로부터 럼프절 럼프구들이 무한증식되고, 융합 세포(hybridoma)가 발생되고, 항체 분비 클론(antibody secreting clone)을 선택하는 것을 기술하고 있다. 모노클로날 항체는 이후에, 이러한 클론들 중 두 개, 즉 J309 및 D579로부터 발생되었는데, 이는 SSEA-3 항원 결정인자를 인식하였다. 이러한 항체들은 폐암 및 유방암 세포주, 및 기형암종 세포주를 포함하는 여러 종양 세포주들 상에서 SSEA-3을 인식하였다. 면역 부착 검정(immune adherence assay)에서, MC631에서도 지칭되는 설치류 모노클로날 SSEA-3 항체는 J309 및 D579 항체와 동일한 세포주들에 대해 반응하였다. SSEA-3은 또한, 고환 생식 세포 종양 상, 뿐만 아니라, 유방암 및 BCSC(breast cancer stem cell(유방암 줄기 세포))에서 발견되었다.

[0008] Chang 등은 암의 외측에서의 이의 위치 및 발달이 거의 알려져 있지 않기 때문에, 조직 마이크로어레이를 이용하여 정상 조직 상에서 SSEA-3 발현을 검토하였다. 이러한 그룹은 결장, 식도, 작은 창자, 신장, 전립선, 직장, 피부, 고환, 흉선, 및 자궁 경부의 정상 상피 상에서 발현되는 SSEA-3을 발견하였다. 발현은 오로지 상피 세포의 선단 상에 또는 세포질에 위치되었는데, 이는 면역계 제한되거나 접근 가능하지 않은 부위로 여겨진다. 마우스에서 KLH 콘주제이팅된 GloboH 1가 백신을 사용한 실험에서, 항체 반응은 오로지 GloboH 항원에 대해 이루어졌다. α -GalCer가 애주번트(adjuvant)로서 첨가되었을 때, 전체 항체 생산량이 증가하였으며, 마우스는 GloboH, SSEA-3 및 SSEA-4 항원 구조 모두에 대한 폴리클로날 항체를 만들었는데, 백신화(vaccination)는 애주번트의 부재 하에 발생할 수 없었다. 이러한 결과는, SSEA-3, GloboH 및 SSEA-4가 암 백신에 대한 유망한 타겟을 만들 수 있고, 동시에 타겟화될 수 있음을 나타내었다.

[0009] 그러나, 대부분의 종양 관련 탄수화물 항원들은 불량한 면역원성을 가지며, 비천연의 글리코시드 연결, 클러스터화된 항원, 일분자 다가 백신 또는 헤테로-글리칸 다가 백신을 사용하여 면역학적 애주번트와 함께 운반 단백질 투여와의 콘주제이션(conjugation)을 포함하는, 탄수화물-기반 백신의 면역 반응을 증가시키기 위한 여러 방법들이 개발되었다. 이러한 전략들을 사용하여, 타겟 글리칸 구조에 상당한 면역 반응을 유도할 수 있는 수 개의 탄수화물-기반 백신이 암 치료법을 위해 디자인되었고 임상 시험에 들어갔다. 이러한 것들 중에서, 애주번트 QS-21을 갖는 테라토프(Theratope) 및 GMK의 임상 시험은 시간-대-질병(time-to-disease)과 전체 생존율 간의 통계학적으로 유의미한 차이를 형성시키는데 실패하였다. 아마도, 이러한 두 가지 백신은 환자에서 강력한(robust) T 세포-의존적 면역 반응을 유도하지 못할 수 있다. 상세하게, 테라토프 및 GMK는 환자에서 보다 높은 수준의 IgM을 유발시켰지만, 강한 면역 IgG 반응을 유발시키지 못할 수 있는데, 이는 탄수화물-기반 백신 개발에서 주된 문제점이다.

[0010] 종래 연구들에서는, 탄수화물 항원 구조의 개질(MCAS; modification of carbohydrate antigen structure)이 보다 높은 수준의 면역 반응을 효과적으로 유도할 수 있다는 것을 나타내었다. 예를 들어, 그룹 B 메ning고코칼(meningococci)의 캡슐형 다당류의 개질 연구에서, α -(2,8)-연결된 폴리시알산(PSA; polysialic acid)의 N-아세틸 기들은 N-프로파이오닐 기로 대체되었으며, 이러한 개질은 N-프로파이오닐 PSA, 뿐만 아니라 천연 N-아세틸 PSA를 인식하기 위해 높은 항체 반응을 유도하였다. 개질된 형태 및 천연 형태에 대해 높은 항체 적가를 형성시키기 위한 유사한 방법들이 STn 및 GM3 항원에 적용되었다. 이러한 결과는, 글리칸 항원에 대한 N-페닐아세틸, N-플루오로아세틸, 또는 N-디플루오로아세틸 개질이 면역원성을 개선시킬 수 있다는 것을 지시하였다. 또한, Schultz 그룹에서는 종양 괴사 인자- α (TNF- α ; tumor necrosis factor- α)에 p-니트로페닐알라닌의 도입이 면

역 관용(immune tolerance)을 파괴하고 TNF- α 에 대한 보다 큰 항체 반응을 유발시킬 수 있다고 보고하였다. 항원으로서 글리칸을 사용하여, 약간의 진전이 달성되었지만, 대부분의 경우들은 이당류(STn), 삼당류(GM3) 및 폴리시알산(PSA)의 N-개질이며, 일부는 플루오르화된 MUC1 당펩타이드 항원을 기반으로 한 것이다.

발명의 내용

- [0011] 본 발명은 SSEA3 및 SSEA4를 각각 특이적으로 인식하기 위해 본원에 기술된 특정 기로의 단계-특이적 배아 항원들(SSEA3 및 SSEA4)의 개질이 강력한 IgG 항체 반응을 유도한다는 발견을 기초로 한 것이다. 이러한 비천연 글리칸 모이어티를 포함하는 면역원성 조성물에 의해 유도된 항체들은 종양 세포에 대한 보체-의존적 세포 세포독성을 조절할 수 있다.

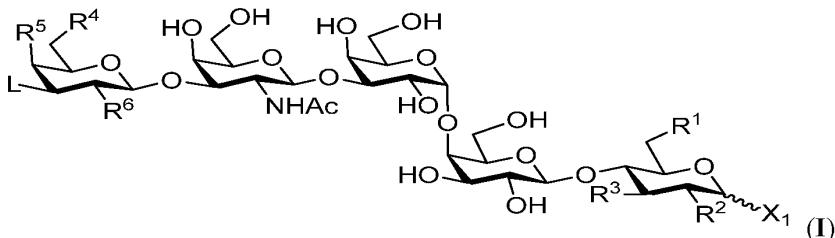
[0012] 이에 따라, 본 발명은 암을 치료하기 위한 SSEA3 및/또는 SSEA4에 대한 항체들의 설계를 특징으로 한다. 본 발명은 또한, 개질된 탄수화물 항원들(SSEA3 및 SSEA4), 이를 포함하는 글리칸 콘주케이트, 및 면역원성 조성물 및 이의 백신들로 이루어진 신규한 화합물들을 특징으로 한다.

[0013] 본 발명은 또한, 암과 같은 과증식성 질병을 치료하거나 감소시키기 위해 본원에 기술된 합성 글리칸 콘주케이트를 사용하는 방법을 제공한다.

[0014] 추가적으로, 본 발명은 또한, 글로보-계열 글리코스팡고지질 합성을 조절하기 위해 유용한 항체 및/또는 결합 단편 생산을 유도할 수 있는 SSEA3/SSEA4/GloboH 관련 에피토프들(천연 및 개질됨)을 타겟화하는 백신 및/또는 면역원성 콘주케이트 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 또한, 과증식성 질병 및/또는 질환의 치료 또는 검출을 위해 본원에 기술된 조성물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0015] 이에 따라, 본 발명은 암을 치료하기 위한 SSEA3에 대한 항체들의 설계를 특징으로 한다. 본 발명은 또한, 개질된 탄수화물 항원들(SSEA3, SSEA4)로 이루어진 신규한 화합물들, 이를 포함하는 글리칸 콘주케이트들, 및 이의 면역원성 조성물들 및 백신들을 특징으로 한다.

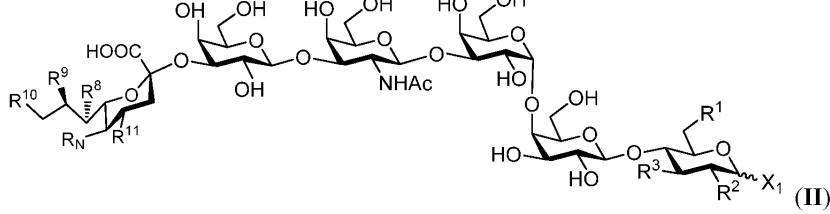
[0016] 일 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 염을 제공한다:



- [0017] (1)

[0018] 상기 식에서, X_1 , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 및 L은 본원에 기술된 바와 같다. 특정 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물은 암을 치료하기 위한 면역원성 조성물을 제조하는데 유용하다.

[0019] 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 (II)의 화합물, 또는 이의 염을 제공한다:



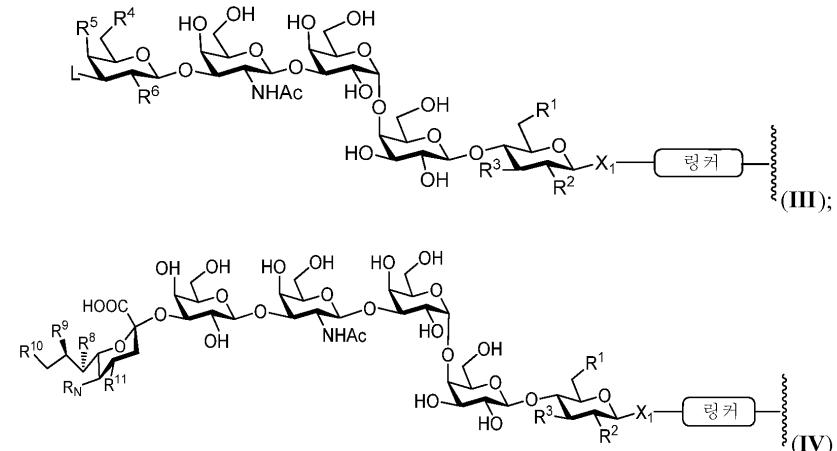
- [0020]

[0021] 상기 식에서, X_1 , R^1 , R^2 , R^3 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} 및 R_N 은 본원에 기술된 바와 같다. 특정 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물은 암을 치료하기 위한 면역원성 조성물을 제조하는데 유용하다.

[0022] 다른 양태에서, 본 발명은 (a) 담체 및 하나 이상의 글리칸을 포함하는 글리칸 콘주케이트, 및 선택적으로, (b) 애주번트를 포함하는, 면역원성 조성물을 제공한다.

[0023] 여기서, 하나 이상의 글리칸들 각각은 하기 화학식 (III) 또는 화학식 (IV)를 갖는 링커를 통해 담체와 콘주케이트를 결합하는 글리칸이다.

이팅된다:

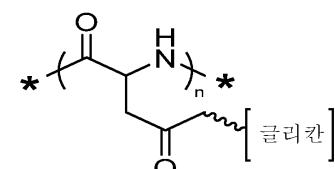


[0024]

[0025] 상기 식에서, X_1 , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , L 및 R_N 은 본원에 기술된 바와 같다.

[0026]

특정의 양태에서, 임의 비율의 세 가지 글리칸(SSEA3, SSEA4 및 GloboH) 및 이들의 유사체들 중 하나 이상의 조합물을 함유한 백신의 임의 작제물이 담체에 연결될 수 있는 것이 고려된다.



[0027]

[0028] 여기서, n은 1 내지 10의 정수일 수 있으며;

[0029]

여기서, 글리칸은 화학식 I, II, III, 및 IV으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으며;

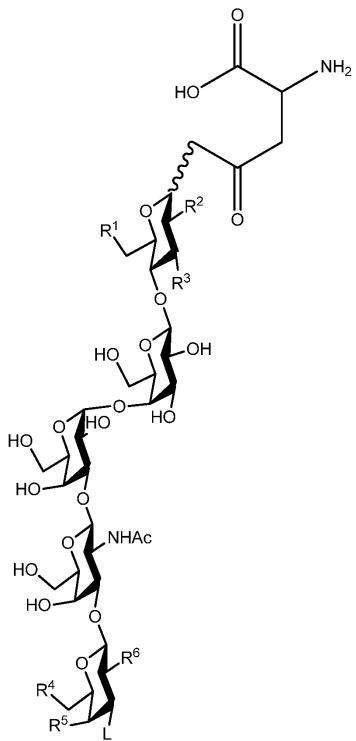
[0030]

여기서, n이 2 이상인 경우에, 각 글리칸은 아스파르틸 펩티드 상의 다른 글리칸과 동일하거나 아스파르틸 펩티드 상의 상이한 글리칸일 수 있다.

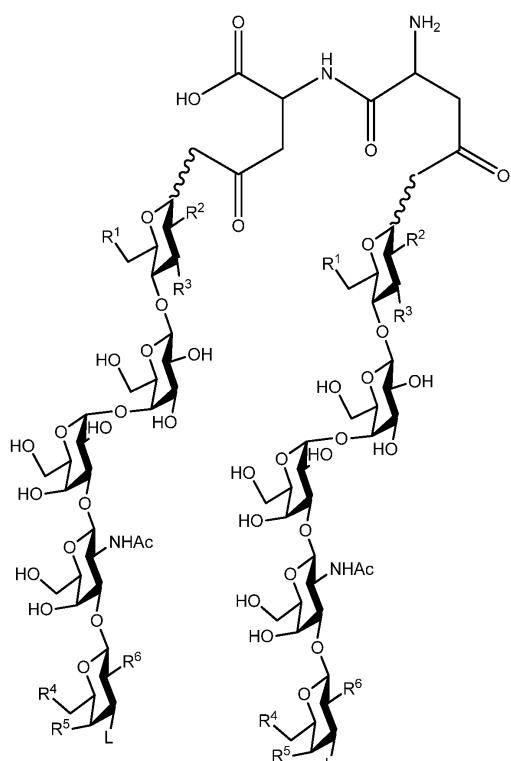
[0031]

일부 구현예에서, 글리칸은 SSEA3, SSEA4, 및 GloboH로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

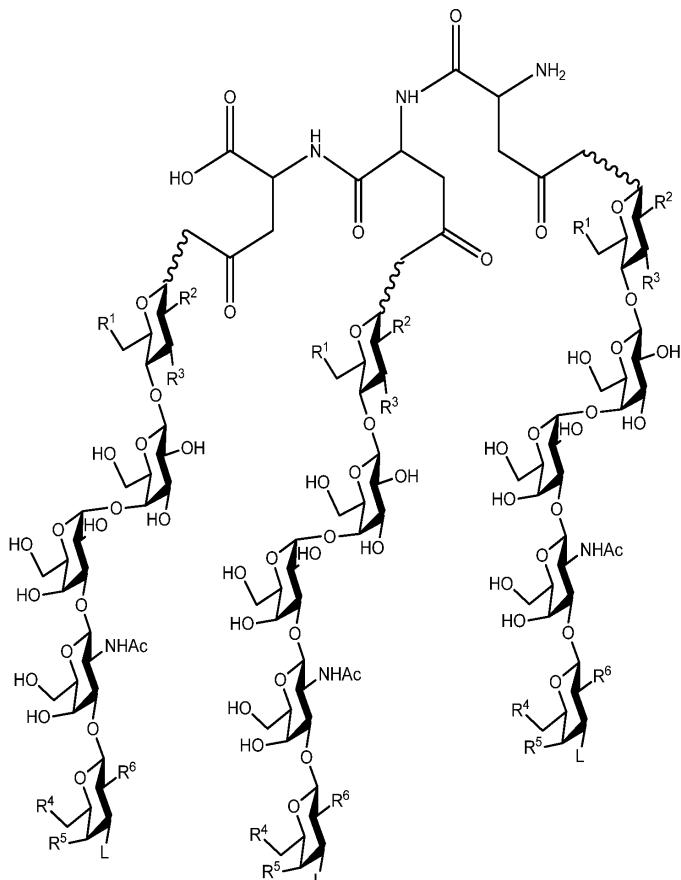
[0032] 일부 구현예에서, 대표적인 다가 작제물은 하기일 수 있다:



[0033]



[0034]



[0035]

[0036] 상기 식에서, 각 글리칸 모이아티 상에서 R1, R2, R3, R4, R5, R6, 및 L은 동일하거나 상이할 수 있다.

[0037]

[0037] 특정 구현예에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 애주번트를 포함한다. 본 발명에 대해 적합한 대표적인 애주번트는 본원에 기술된 바와 같다.

[0038]

[0038] 특정 구현예에서, 면역원성 조성물은 피검체에서 암 세포에 대한 면역 반응을 유도할 수 있다. 특정 구현예에서, 암 세포는 뇌암 세포, 폐암 세포, 유방암 세포, 구강암 세포, 식도암 세포, 위암 세포, 간암 세포, 담관암 세포, 췌장암 세포, 결장암 세포, 신장암 세포, 골암 세포, 피부암 세포, 자궁경부암 세포, 난소암 세포, 및 전립선암 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0039]

[0039] 특정 구현예에서, 면역 반응은 GloboH, SSEA3 및 SSEA4로 이루어진 군으로부터 선택된 항원들 중 하나 이상에 특이적으로 결합하는 항체들의 발생을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체들은 암 세포 또는 암 줄기 세포의 표면상에서 발현된 GloboH, SSEA3 및 SSEA4 중 하나 이상을 타겟화하고 이러한 세포들을 사멸시키도록 CDC 및/또는 ADCC를 촉발시키기 위해 개발된 것이다. 특정 구현예에서, 항체들은 주로, IgG 항체들을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 면역원성 조성물은 주로 IgG1, IgG2b, IgG2c 및 IgG3을 유도한다.

[0040]

[0040] 추가로, 본 발명은 본원에 기술된 면역원성 조성물에 대해 상승된 모노클로날 항체들 및 결합 단편들을 특징으로 한다.

[0041]

[0041] 일 구현예에서, 항체는 인간 항체이다.

[0042]

[0042] 일 구현예에서, 항체는 인간화된 항체이다.

[0043]

[0043] 일 구현예에서, 항체는 SSEA4, SSEA3, 또는 GloboH 중 하나 이상에 대해 특이적으로 타겟화된다.

[0044]

[0044] 일 구현예에서, 항체는 SSEA3에 대해 특이적으로 타겟화된다.

[0045]

[0045] 일 구현예에서, 항체는 SSEA4에 대해 특이적으로 타겟화된다.

[0046]

[0046] 일 구현예에서, 항체는 알파-2,6-연결에서 두 개의 시알산에 의해 종결된 바이안테너리 글리칸을 갖는 동종의 항체이다.

- [0047] 일 양태에서, 본 발명은 유효량의, SSEA4, SSEA3, 또는 GloboH 중 하나 이상에 대해 특이적으로 타겟화된 항체 또는 항원-결합 단편 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제 조성물을 제공한다.
- [0048] 일 구현예에서, 약제 조성물은 각각 독립적으로, SSEA4, SSEA3, 및/또는 GloboH 글리칸 중 하나 이상을 타겟화하는, 항체들 및/또는 이들의 결합 단편들의 조합물을 포함한다.
- [0049] 일 구현예에서, 약제 조성물은 암, 감염성 질병, 및/또는 항염증성 질병의 치료를 위해 유용하다.
- [0050] 일 구현예에서, 약제 조성물은 알파-2,6-연결에서 시알산으로 종결된 유니버설 바이안테너리 N-글리칸을 갖는 항체들 또는 이들의 결합 단편들을 포함한다.
- [0051] 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 면역원성 조성물 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 암 백신을 제공한다.
- [0052] 다른 양태에서, 본 발명은 암을 치료하고/거나 암에 대한 위험을 감소시키는 것을 필요로 하는 피검체에 치료학적 유효량의 본원에 기술된 바와 같은 면역원성 조성물 또는 암 백신을 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하고/거나 암에 대한 위험을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0053] 이러한 치료는 종양 크기의 감소, 악성 세포의 제거, 전이의 예방, 재발의 예방, 산재성 암(disseminated cancer)의 감소 또는 사멸, 생존의 연장 및/또는 종양 암 진행에 대한 시간의 연장을 야기시킨다.
- [0054] 일부 구현예에서, 이러한 치료는 본원에 기술된 면역원성 조성물 또는 암 백신의 투여 이전에, 투여 동안에 또는 투여 이후에 피검체에 추가적인 치료법을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 추가적인 치료법은 화학치료제로의 치료이다. 일부 구현예에서, 추가적인 치료법은 방사선 치료법이다.
- [0055] 본 발명의 다른 양태는 포유동물에 약리학적 유효량의 본원에 기술된 바와 같은 면역원성 조성물 또는 암 백신을 투여하는 것을 포함하여, 암에 대해 포유동물을 백신화하는 방법을 특징으로 한다.
- [0056] 일부 구현예에서, 포유동물은 인간이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 면역원성 조성물 또는 암 백신은 피하로 투여된다.
- [0057] 암의 예는 뇌암, 폐암, 유방암, 구강암, 식도암, 위암, 간암, 담도암, 췌장암, 결장암, 신장암, 자궁경부암, 난소암 및 전립선암을 포함한다. 일부 구현예에서, 암은 뇌암, 폐암, 유방암, 난소암, 전립선 암, 결장암, 또는 췌장암을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.
- [0058] 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 화합물들을 합성하는 방법을 제공한다.
- [0059] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 면역원성 조성물 또는 암 백신을 제조하는 방법을 특징으로 한다.
- [0060] 본 발명의 특정 구현예들의 세부사항들은 본원에 기술되어 있다. 본 발명의 다른 특징들, 목적들, 및 장점들은 상세한 설명, 도면, 실시예, 및 청구범위로부터 명백하게 될 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0061] 도 1: 글로보 계열의 글리코스풀고지질의 생합성 경로
- 도 2: 상이한 에피토프 비율의 SSE4-CRM197 또는 SSEA4-Gc-CRM197 면역화로부터 수집된 유도된 GloboH-IgG.
- 도 3a: 천연 SSEA4, 뿐만 아니라, 모두 8개의 SSEA4 유사체들은 Gal-C34의 사용을 조합할 때 SSEA4에 대한 IgG 항체를 유도할 수 있다.
- 도 3b: 천연 SSEA4, 뿐만 아니라, 모두 8개의 SSEA4 유사체들은 Gal-C34의 사용을 조합할 때 SSEA4에 대한 IgM 항체를 유도할 수 있다.
- 도 4a: 천연 SSEA4, 뿐만 아니라, 모두 8개의 SSEA4 유사체들은 Gal-C34의 사용을 조합할 때 SSEA4에 대한 IgG 항체를 유도할 수 있다.
- 도 4b: 천연 SSEA4, 뿐만 아니라, 모두 8개의 SSEA4 유사체들은 Gal-C34의 사용을 조합할 때 SSEA4에 대한 IgM 항체를 유도할 수 있다.
- 도 5: 글리칸-단백질 콘주게이션 방법은 면역 반응에 영향을 미친다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0062] 본 발명은 특정 기로의 단계-특이적 베아 항원들(SSEA3 및 SSEA4)의 개질이 SSEA3 및 SSEA4를 각각 특이적으로 인식하도록 강력한 IgG 항체 반응을 유도한다는 놀라운 발견을 기초로 한 것이다.
- [0063] 일부 예에서, SSEA3의 개질은 SSEA3의 글루코오스의 하나 이상의 위치에 플루오로, 아지도 또는 0-페닐기를 포함한다. 일부 예에서, SSEA3의 개질은 비-환원 단부 갈락토오스의 하나 이상의 위치에 플루오로, 아지도 또는 0-페닐기를 포함한다. 일부 예에서, SSEA4의 개질은 SSEA4의 글루코오스의 하나 이상의 위치에 플루오로, 아지도 또는 0-페닐기를 포함한다. 일부 예에서, SSEA4의 개질은 시알산 잔기의 하나 이상의 위치에 플루오로, 아지도 또는 0-페닐기를 포함한다.
- [0064] 본원에는 환원 및/또는 비-환원 단부에 개질을 갖는 SSEA3 및 SSEA4 유사체들이 기술된다. 이러한 SSEA3 및 SSEA4 유사체들은 천연 SSEA3 및 SSEA4와 비교하여 더 강한 면역 반응(예를 들어, SSEA3 및/또는 SSEA4에 대한 IgG 항체들의 유도)을 유도할 수 있다. 이러한 비천연 글리칸 모이어티를 포함하는 면역원성 조성물에 의해 유도된 항체들은 종양 세포에 대한 보체-의존적 세포 세포독성을 매개할 수 있다.
- [0065] **화학적 정의**
- [0066] 특정 작용기 및 화학적 용어의 정의는 하기에서 보다 상세히 기술된다. 화학 원소는 원소 주기율표, CAS 버전, "Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed.", 안쪽 커버에 따라 식별되며, 특정 작용기는 일반적으로 그 안에 기술된 바와 같이 정의된다. 추가적으로, 유기 화학의 일반적인 원리, 뿐만 아니라, 특정 작용성 모이어티 및 반응성은 문헌[Thomas Sorrell, Organic Chemistry, University Science Books, Sausalito, 1999; March's Advanced Organic Chemistry, 5th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., New York, 1989; 및 Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3rd Edition, Cambridge University Press, Cambridge, 1987]에 기술되어 있다. 또한, 예시적인 글리칸 및 항체 방법들은 US20100136042호, US20090317837호, 및 US20140051127호(Wong et al.)에 기재되어 있으며, 이러한 문헌 각각의 내용들은 본원에 참고로 포함된다.
- [0067] 본원에 기술된 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 포함할 수 있고, 이에 따라, 다양한 이성체 형태, 예를 들어, 거울상 이성질체 및/또는 부분 입체 이성질체로 존재할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기술된 화합물은 개별적인 거울상 이성질체, 부분 입체 이성질체 또는 기하 이성질체의 형태일 수 있거나, 라세미 혼합물 및 하나 이상의 입체 이성질체가 풍부한 혼합물을 포함하는 입체 이성질체의 혼합물 형태일 수 있다. 이성질체는 키랄 고압 액체 크로마토그래피(HPLC) 및 키랄 염의 형성 및 결정화를 포함하는, 당업자에게 공지된 방법에 의해 혼합물로부터 단리될 수 있거나, 바람직한 이성질체는 비대칭 합성에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Jacques et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen et al., Tetrahedron 33:2725 (1977); Eliel, Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); 및 Wilen, Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972)] 참조. 본 발명은 실질적으로 다른 이성질체가 없는 개별적 이성질체로서, 그리고 대안적으로 다양한 이성질체들의 혼합물로서 본원에 기술된 화합물을 추가적으로 포함한다.
- [0068] 값들의 범위를 열거하는 경우, 그러한 범위 내에 각각의 값 및 하위 범위를 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들어, "C1-6"은 C1, C2, C3, C4, C5, C6, C1-6, C1-5, C1-4, C1-3, C1-2, C2-6, C2-5, C2-4, C2-3, C3-6, C3-5, C3-4, C4-6, C4-5, 및 C5-6을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0069] "알킬"은 1 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지된 포화 탄화수소 기의 라디칼을 언급한다("C1-20 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 10개의 탄소 원자를 갖는다("C1-10 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 9개의 탄소 원자를 갖는다("C1-9 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 8개의 탄소 원자를 갖는다("C1-8 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 7개의 탄소 원자를 갖는다("C1-7 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는다("C1-6 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 5개의 탄소 원자를 갖는다("C1-5 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는다("C1-4 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 3개의 탄소 원자를 갖는다("C1-3 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 2개의 탄소 원자를 갖는다("C1-2 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 1개의 탄소 원자를 갖는다("C1 알킬"). 일부 구현예에서, 알킬기는 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖는다("C2-6 알킬"). C1-6 알킬 기의 예는 메틸(C1), 에틸(C2), n-프로필(C3), 이소-프로필(C3), n-부틸(C4), 3-급-부틸(C4), 2-차-부틸(C4), 이소-부틸(C4), n-펜틸(C5), 3-펜타닐(C5), 아밀(C5), 네오펜틸(C5), 3-메틸-2-부타닐(C5), 3-차 아밀(C5), 및 n-헥실(C6)을 포함한다.

함한다. 알킬 기의 추가의 예는 n-헵틸(C7), n-옥틸(C8) 등을 포함한다. 달리 기술하지 않는 한, 알킬 기의 각각의 예는 독립적으로 선택적으로 치환되는데, 즉, 치환되지 않거나("치환되지 않은 알킬") 1개 이상의 치환체로 치환된다("치환된 알킬"). 특정 구현예에서, 알킬 기는 치환되지 않은 C1-10 알킬(예를 들어, -CH₃)이다. 특정 구현예에서, 알킬 기는 치환된 C1-10 알킬이다.

[0070] "알케닐"은 2 내지 20개의 탄소 원자, 1개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 가지며 3중 결합을 갖지 않은 직쇄 또는 분지된 탄화수소 기의 라디칼을 언급한다("C2-20 알케닐"). 일부 구현예에서, 알케닐기는 2 내지 10개의 탄소 원자를 갖는다("C2-10 알케닐"). 일부 구현예에서, 알케닐기는 2 내지 9개의 탄소 원자를 갖는다("C2-9 알케닐"). 일부 구현예에서, 알케닐기는 2 내지 8개의 탄소 원자를 갖는다("C2-8 알케닐"). 일부 구현예에서, 알케닐기는 2 내지 7개의 탄소 원자를 갖는다("C2-7 알케닐"). 일부 구현예에서, 알케닐기는 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖는다("C2-6 알케닐"). 일부 구현예에서, 알케닐기는 2 내지 5개의 탄소 원자를 갖는다("C2-5 알케닐"). 일부 구현예에서, 알케닐기는 2 내지 4개의 탄소 원자를 갖는다("C2-4 알케닐"). 일부 구현예에서, 알케닐기는 2 개의 탄소 원자를 갖는다("C2 알케닐"). 1개 이상의 탄소-탄소 이중 결합은 내부에 있을 수 있거나(2-부테닐에서와 같이) 또는 말단에 있을 수 있다(1-부테닐에서와 같이). C2-4 알케닐기의 예는 에테닐(C2), 1-프로페닐(C3), 2-프로페닐(C3), 1-부테닐(C4), 2-부테닐(C4), 부타디에닐(C4) 등을 포함한다. C2-6 알케닐기의 예는 상기 언급된 C2-4 알케닐기, 뿐만 아니라, 펜테닐(C5), 웬타디에닐(C5), 헥세닐(C6) 등을 포함한다. 알케닐의 추가적인 예는 햅테닐(C7), 옥테닐(C8), 옥타트리에닐(C8) 등을 포함한다. 달리 기술하지 않는 한, 알케닐기의 각각의 경우는 독립적으로 선택적으로 치환되는데, 즉, 치환되지 않거나("치환되지 않은 알케닐") 1개 이상의 치환체로 치환된다("치환된 알케닐"). 특정 구현예에서, 알케닐기는 치환되지 않은 C2-10 알케닐이다. 특정 구현예에서, 알케닐기는 치환된 C2-10 알케닐이다.

[0071] "알키닐"은 2 내지 20개의 탄소 원자, 1개 이상의 탄소-탄소 삼중 결합, 및 선택적으로 1개 이상의 이중 결합을 갖는 직쇄 또는 분지된 탄화수소 기의 라디칼을 언급한다("C2-20 알키닐"). 일부 구현예에서, 알키닐기는 2 내지 10개의 탄소 원자를 갖는다("C2-10 알키닐"). 일부 구현예에서, 알키닐기는 2 내지 9개의 탄소 원자를 갖는다("C2-9 알키닐"). 일부 구현예에서, 알키닐기는 2 내지 8개의 탄소 원자를 갖는다("C2-8 알키닐"). 일부 구현예에서, 알키닐기는 2 내지 7개의 탄소 원자를 갖는다("C2-7 알키닐"). 일부 구현예에서, 알키닐기는 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖는다("C2-6 알키닐"). 일부 구현예에서, 알키닐기는 2 내지 5개의 탄소 원자를 갖는다("C2-5 알키닐"). 일부 구현예에서, 알키닐기는 2 내지 4개의 탄소 원자를 갖는다("C2-4 알키닐"). 일부 구현예에서, 알키닐기는 2 개의 탄소 원자를 갖는다("C2 알키닐"). 1개 이상의 탄소-탄소 삼중 결합은 내부에 있을 수 있거나(2-부티닐에서와 같이) 또는 말단에 있을 수 있다(1-부티닐에서와 같이). C2-4 알키닐기의 예는, 비제한적으로, 에티닐(C2), 1-프로피닐(C3), 2-프로피닐(C3), 1-부티닐(C4), 2-부티닐(C4) 등을 포함한다. C2-6 알케닐기의 예는 상기 언급된 C2-4 알키닐 그룹 뿐만 아니라 웬티닐(C5), 헥시닐(C6) 등을 포함한다. 알키닐의 추가적인 예는 햅티닐(C7), 옥티닐(C8) 등을 포함한다. 달리 기술하지 않는 한, 알키닐기의 각각의 경우는 독립적으로 임의로 치환되는데, 즉, 치환되지 않거나("치환되지 않은 알키닐") 1개 이상의 치환체로 치환된다("치환된 알키닐"). 특정 구현예에서, 알키닐기는 치환되지 않은 C2-10 알키닐이다. 특정 구현예에서, 알키닐기는 치환된 C2-10 알키닐이다.

[0072] "헤테로시클릴" 또는 "헤테로시클릭"은 고리 탄소 원자 및 1개 내지 4개의 고리 헤테로원자를 갖는 3원 내지 10원 비-방향족 고리 시스템의 라디칼을 지칭하며, 여기서 각 헤테로원자는 질소, 산소, 황, 붕소, 인 및 실리콘("3-10원 헤테로시클릴")으로부터 독립적으로 선택된다. 특정 구현예에서, 헤테로원자는 질소, 황 및 산소로부터 독립적으로 선택된다. 하나 이상의 질소 원자를 함유하는 헤테로시클릴 기에서, 부착점은 원자가가 허용하는 것처럼 탄소 또는 질소 원자일 수 있다. 헤테로시클릴기는 모노시클릭("모노시클릭 헤테로시클릴")이거나 또는 바이시클릭 시스템("바이시클릭 헤테로시클릴")과 같은 융합, 브릿징, 또는 스피로 고리 시스템일 수 있고, 포화되거나 부분적으로 불포화될 수 있다. 헤테로시클릴 바이시클릭 고리 시스템은 하나 또는 두 개의 고리에 하나 이상의 헤테로원자를 포함할 수 있다. "헤테로시클릴"은 또한, 헤테로시클릭 고리가, 부착점이 카보시클릴 또는 헤테로시클릭 고리 상에 있는 하나 이상의 카보시클릴기와 융합된 고리 시스템, 또는 상기에서 정의된 바와 같이 헤테로시클릭 고리가, 부착점이 카보시클릴 또는 헤테로시클릭 고리 상에 있는 하나 이상의 아릴 또는 헤테로아릴기와 융합된 고리 시스템을 포함하며, 이러한 경우, 고리원의 수는 헤테로시클릭 고리 시스템에서 고리원의 수를 계속 지정한다. 달리 기술하지 않는 한, 헤테로시클릴의 각 경우는 독립적으로 선택적으로 치환되거나, 즉 비치환("비치환된 헤테로시클릴") 또는 하나 이상의 치환체에 의해 치환된("치환된 헤테로시클릴")다. 특정 구현예에서, 헤테로시클릴기는 비치환된 3-10원 헤테로시클릴이다. 특정 구현예에서, 헤테로시클릴

기는 치환된 3-10원 헤테로시클릴이다.

[0073] "아릴"은 6 내지 14개의 고리 탄소 원자 및 방향족 고리 시스템에서 0개의 헤테로 원자를 가지는, 모노시클릭 또는 폴리시클릭(예를 들어, 바이시클릭 또는 트리시클릭) $4n+2$ 방향족 고리 시스템(예를 들어, 6, 10 또는 14 π 전자가 환형 배열에서 공유됨)의 라디칼을 나타낸다("C6-14 아릴"). 일부 구현예에서, 아릴 기는 6개의 고리 탄소 원자("C6 아릴", 예를 들어, 페닐)를 갖는다. 일부 구현예에서, 아릴 기는 10개의 고리 탄소 원자("C10 아릴", 예를 들어 1-나프틸 및 2-나프틸과 같은 나프틸)를 갖는다. 일부 구현예에서, 아릴 기는 14개의 고리 탄소 원자("C14 아릴"; 예를 들어, 안트라실)를 갖는다. "아릴"은 또한 상기에서 정의된 바와 같은 아릴 고리가 하나 이상의 카보시클릴 또는 헤�테로시클릴 기와 융합된 고리 시스템을 포함하며, 여기서 라디칼 또는 부착점은 아릴 고리 상에 존재하며, 이러한 경우에 탄소 원자의 수는 아릴 고리 시스템의 탄소 원자의 수를 계속해서 지정한다. 달리 기술하지 않는 한, 아릴 기의 각 경우는 독립적으로 선택적으로 치환되고, 즉 비치환된("비치환 아릴") 또는 하나 이상의 치환체로 치환("치환된 아릴")된다. 특정 구현예에서, 아릴 기는 비치환된 C6-14 아릴이다. 특정 구현예에서, 아릴 기는 치환된 C6-14 아릴이다.

[0074] 2가 브릿징 기인, 본원에서 정의된 바와 같은 알킬, 알케닐, 알키닐, 카보시클릴, 헤�테로시클릴, 아릴 및 헤테로아릴 기는 추가로 접미사 -엔(ene)을 이용하여, 예를 들어 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 카보시클릴렌, 헤테로시클릴렌, 아릴렌 및 헤테로아릴렌으로 나타낸다.

[0075] 용어 "알콕시" 또는 "알킬옥시"는 -0-알킬 라디칼을 의미하며, 여기서 알킬은 본원에서 정의된 바와 같은 선택적으로 치환된 알킬이다. 알콕시의 예는 메톡시, 에톡시, n-프로포시, 이소프로포시, n-부톡시, 이소-부톡시, sec-부톡시 및 3차-부톡시를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0076] 용어 "아릴옥시"는 -0-아릴을 의미하며, 아릴은 본원에서 정의된 바와 같은 선택적으로 치환된 아릴이다.

[0077] 본원에서 사용되는 용어 "선택적으로 치환된"은 치환되거나 비치환된 모이어티를 지칭한다.

[0078] 본원에서 정의된 바와 같은 알킬, 알케닐, 알키닐, 카보시클릴, 헤�테로시클릴, 아릴 및 헤테로아릴 기는 선택적으로 치환된다(예를 들어, "치환된" 또는 "비치환된" 알킬, "치환된" 또는 "비치환된" 알케닐, "치환된" 또는 "비치환된" 알키닐, "치환된" 또는 "비치환된" 카르보시클릴, "치환된" 또는 "비치환된" 헤테로시클릴, "치환된" 또는 "비치환된" 아릴, 또는 "치환된" 또는 "비치환된" 헤테로아릴 기). 일반적으로, 용어 "선택적으로"에 선행하는지 여부와 무관하게, 용어 "치환된"은 기(예를 들어, 탄소 또는 질소 원자) 상에 존재하는 적어도 하나의 수소가 허용되는 치환체, 예를 들어, 치환에 기반하여 안정한 화합물, 예를 들어 재배열, 고리화, 제거 또는 다른 반응과 같은 구조 변형을 자발적으로 겪지 않는 화합물을 야기시키는 치환체로 대체됨을 의미한다. 달리 명시하지 않는 한, "치환된" 기는 상기 기의 하나 이상의 치환 가능한 위치에 치환체를 갖고, 임의 주어진 구조에서 하나 이상의 위치가 치환되는 경우, 상기 치환체는 각 위치에서 동일하거나 상이하다. 용어 "치환된"은 유기 화합물의 모든 허용 가능한 치환체로의 치환, 즉 안정한 화합물의 형성을 초래하는 본원에 기재된 임의의 치환체로의 치환을 포함하는 것으로 고려된다. 본 발명은 안정한 화합물에 도달하기 위해 임의 및 모든 이러한 조합을 고려한다. 본 발명의 목적을 위해, 질소와 같은 헤테로원자는 헤테로원자의 원자가를 충족시키고 안정한 모이어티를 형성하는, 본원에 기술된 바와 같은 수소 치환체 및/또는 임의의 적합한 치환체를 가질 수 있다.

[0079] "할로" 또는 "할로겐"은 불소(플루오로, -F), 염소(클로로, -Cl), 브롬(브로모, -Br) 또는 요오드(요오드, -I)를 지칭한다.

[0080] "아실"은 $-C(=O)Raa$, $-CHO$, $-CO_2Raa$, $-C(=O)N(Rbb)2$, $-C(=NRbb)Raa$, $-C(=NRbb)ORaa$, $-C(=NRbb)N(Rbb)2$, $-C(=O)NRbbSO_2Raa$, $-C(=S)N(Rbb)2$, $-C(=O)SRaa$, 및 $-C(=S)SRaa$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 모이어티를 지칭하며, 여기서 Raa 및 Rbb는 본원에서 정의된 바와 같다.

[0081] 질소 원자는 원자가가 허용하는 대로 치환되거나 비치환될 수 있고, 1 차, 2 차, 3 차 및 4 차 질소 원자를 포함한다. 예시적인 질소 원자 치환체는, 비제한적으로, 수소, $-OH$, $-ORaa$, $-N(Rcc)2$, $-CN$, $-C(=O)Raa$, $-C(=O)N(Rcc)2$, $-CO_2Raa$, $-SO_2Raa$, $-C(=NRbb)Raa$, $-C(=NRcc)ORaa$, $-C(=NRcc)N(Rcc)2$, $-SO_2N(Rcc)2$, $-SO_2Rcc$, $-SORaa$, $-C(=S)N(Rcc)2$, $-C(=O)SRcc$, $-C(=S)SRcc$, $-P(=O)2Raa$, $-P(=O)(Raa)2$, $-P(=O)2N(Rcc)2$, $-P(=O)(NRcc)2$, C1-10 알킬, C1-10 퍼할로알킬, C2-10 알케닐, C2-10 알키닐, C3-10 카보시클릴, 3-14원 헤테로시클릴, C6-14 아릴, 및 5-14원 헤테로아릴을 포함하거나, 이로 제한되지 않거나, 질소 원자에 부착된 2개의 Rcc 기가 결합되어 3-14원 헤테로시클릴 또는 5-14원 헤테로 아릴 고리를 형성하고, 여기서 각 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보시클릴, 헤테로시클릴, 아릴 및 헤�테로아릴은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 Rdd 기로 치

환되고, Raa, Rbb, Rcc 및 Rdd는 상기 정의된 바와 같다.

[0082] 특정 구현예에서, 산소 원자 상에 존재하는 치환체는 산소 보호기(또한, 히드록실 보호기로 지칭됨)이다. 산소 보호기는, 비제한적으로 -Raa, -N(Rbb)2, -C(=O)SRaa, -C(=O)Raa, -CO2Raa, -C(=O)N(Rbb)2, -C(=NRbb)Raa, -C(=NRbb)ORaa, -C(=NRbb)N(Rbb)2, -S(=O)Raa, -SO2Raa, -Si(Raa)3, -P(Rcc)2, -P(Rcc)3, -P(=O)2Raa, -P(=O)(Raa)2, -P(=O)(ORcc)2, -P(=O)2N(Rbb)2, 및 -P(=O)(NRbb)2를 포함하지만, 이로 제한되지 않으며, 여기서, Raa, Rbb 및 Rcc는 본원에서 정의된 바와 같다. 산소 보호기는 당해 기술 분야에 잘 알려져 있으며 본원에 참고로 인용된 문헌[Protective Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene 및 P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999]에 기재된 것들을 포함한다.

[0083] 예시적인 산소 보호기는, 비제한적으로, 메틸, 메톡시메틸(MOM), 메틸티오메틸(MTM), t-부틸티오메틸, (페닐디메틸실릴)메톡시메틸(SMOM), 벤질옥시메틸(BOM), p-메톡시벤질 옥시메틸(PMBM), (4-메톡시페녹시)메틸(p-AOM), 구아이아콜메틸(GUM), t-부톡시메틸, 4-펜테닐옥시메틸(POM), 실옥시메틸, 2-메톡시에톡시메틸(MEM), 2,2,2-트리클로로에톡시메틸, 비스(2-클로로에톡시)메틸, 2-(트리메틸실릴)에톡시메틸(SEMOR), 테트라하يد로파라닐(THP), 3-브로모테트라하يد로파라닐, 테트라하يد로티오피라닐, 1-메톡시사이클로헥실, 4-메톡시테트라하يد로파라닐(MTHP), 4-메톡시테트라하يد로티오피라닐, 4-메톡시테트라하يد로티오피라닐 S,S-디옥사이드, 1-[(2-클로로-4-메틸)페닐]-4-메톡시페리딘-4-일(CTMP), 1,4-디옥산-2-일, 테트라하يد로푸라닐, 테트라하يد로티오피라닐, 2,3,3a,4,5,6,7,7a-옥타하이드로-7,8,8-트리메틸-4,7-메타노벤조푸란-2-일, 1-에톡시에틸, 1-(2-클로로에톡시)에틸, 1-메틸-1-메톡시에틸, 1-메틸-1-벤질옥시에틸, 1-메틸-1-벤질옥시-2-플루오로에틸, 2,2,2-트리클로로에틸, 2-트리메틸실릴에틸, 2-(페닐셀레닐)에틸, t-부틸, 알릴, p-클로로페닐, p-메톡시페닐, 2,4-디 니트로페닐, 벤질(Bn), p-메톡시벤질, 3,4-디메톡시벤질, o-니트로벤질, p-니트로벤질, p-할로벤질, 2,6-디클로로벤질, p-시아노벤질, p-페닐벤질, 2-피콜릴, 4-피콜릴, 3-메틸-2-피콜릴 N-옥사이도, 디페닐메틸, p,p'-디니트로벤지드릴, 5-디벤조설베릴, 트리페닐메틸, α -나프틸디페닐메틸, p-메톡시페닐디페닐메틸, 디(p-메톡시페닐)페닐메틸, 트리(p-메톡시페닐)메틸, 4-(4'-브로모페나실옥시페닐)디페닐메틸, 4,4',4"-트리스(4,5-디클로로프탈이미도페닐)메틸, 4,4',4"-트리스(레볼리노일옥시페닐)메틸, 4,4',4"-트리스(벤조일옥시페닐)메틸, 3-(이미다졸-1-일)비스(4',4"-디메톡시페닐)메틸, 1,1-비스(4-메톡시페닐)-1'-피레닐메틸, 9-안트릴, 9-(9-페닐)크산테닐, 9-(9-페닐-10-옥소)안트릴, 1,3-벤조디티오란-2-일, 벤즈이소티아졸릴 S,S-디옥시도, 트리메틸실릴(TMS), 트리에틸실릴(TES), 트리이소프로필실릴(TIPS), 디메틸이소프로필실릴(IPDMS), 디에틸이소프로필실릴(DEIPS), 디메틸헵실실릴, t-부틸디메틸실릴(TBDMs), t-부틸디페닐실릴(TBDPS), 트리벤질실릴, 트리-p-크실릴실릴, 트리페닐실릴, 디페닐메틸실릴(DPMs), t-부틸메톡시페닐실릴(TBMPs), 포르메이트, 벤조일포르메이트, 아세테이트, 클로로아세테이트, 디클로로아세테이트, 트리클로로아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 메톡시아세테이트, 트리페닐메톡시아세테이트, 폐녹시아세테이트, p-클로로페녹시아세테이트, 3-페닐프로파오네이트, 4-옥소 펜타노에이트(레볼리네이트), 4,4-(에틸렌디티오)펜타노에이트(레볼리노일디티오아세탈), 폐발로에이트, 아다만토에이트, 크로토네이트, 4-메톡시크로토네이트, 벤조에이트, p-페닐벤조 에이트, 2,4,6-트리메틸벤조에이트(메시토에이트), 메틸카르보네이트, 9-플루오레닐메틸 카보네이트(Fmoc), 에틸 카보네이트, 2,2,2-트리클로로에틸 카보네이트(Troc), 2-(트리메틸실릴)에틸 카보네이트(TMSEC), 2-(페닐술포닐)에틸 카보네이트(Psec), 2-(트리페닐포스포니오)에틸 카보네이트(Peoc), 이소부틸 카보네이트, 비닐 카보네이트, 알릴 카보네이트, t-부틸 카보네이트(BOC), p-니트로페닐 카보네이트, 벤질 카보네이트, p-메톡시벤질 카보네이트, 3,4-디메톡시벤질 카보네이트, o-니트로벤질 카보네이트, p-니트로벤질 카보네이트, S-벤질티오 카보네이트, 4-에톡시-1-나프틸 카보네이트, 메틸 디티오카보네이트, 2-요오도벤조에이트, 4-아지도부티레이트, 4-니트로-4-메틸펜타노에이트, o-(디브로모메틸)벤조에이트, 2-포르밀 벤젠술포네이트, 2-(메틸티오메톡시)에틸, 4-(메틸티오메톡시)부티레이트, 2-(메틸티오메톡시)벤조 에이트, 2,6-디클로로-4-메틸페녹시아세테이트, 2,6-디클로로-4-(1,1,3,3-테트라메틸부틸) 폐녹시아세테이트, 2,4-비스(1,1-디메틸프로필)폐녹시아세테이트, 클로로디페닐아세테이트, 이소부티레이트, 모노숙시네이트, (E)-2-메틸-2-부테노에이트, o-(메톡시아실)벤조에이트, α -나프토에이트, 나이트레이트, 알킬 N,N,N',N'-테트라메틸포스포로디아미레이트, 알킬 N-페닐카르바메이트, 보레이트, 디메틸포스피노티올, 알킬 2,4-디니트로페닐설페네이트, 설페이트, 메탄설포네이트 (메실레이트), 벤질술포네이트 및 토실레이트(Ts)를 포함한다.

[0084] 본원에서 그리고 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태 및 "상기"는 문맥상 명확하게 달리 지시하지 않는 한 복수 인용 문헌을 포함하는 것으로 주지되어야 한다. 또한, 단수 형태의 용어, "하나 이상" 및 "적어도 하나"는 여기서 상호 교환하여 사용할 수 있다. 또한 "포함하는", "함유하는" 및 "갖는"이라는 용어는 서로 상호 교환하여 사용할 수 있는 것으로 주지되어야 한다.

- [0085] 본 발명의 실시는 달리 지시되지 않는 한, 분자 생물학, 미생물학, 재조합 DNA 및 면역학의 통상적인 기술을 사용하며, 이는 당업계의 기술 범위 내에 있다. 이러한 기술은 문헌에서 충분히 설명되어 있다[예를 들어, Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2nd Ed., ed. by Sambrook, Fritsch and Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989); DNA Cloning, Volumes I and II (D. N. Glover ed., 1985); Culture Of Animal Cells (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155 (Wu et al. eds.), Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Antibodies: A Laboratory Manual, by Harlow and Lane s (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988); 및 Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986].
- [0086] 본원에서 사용되는 용어 "글리칸"은 다당류 또는 올리고당을 의미한다. 본원에서, 글리칸은 또한 당단백질, 당지질, 당펩티드, 당단백질펩티드(glycoproteome), 펩티도글리칸, 지질다당류(lipopolysaccharid) 또는 프로테오글리칸과 같은 글리코콘주게이트의 탄수화물 부분을 지칭하기 위해 사용된다. 글리칸은 대개 단당류(monosaccharide)들 사이의 O-글리코시드 연결(O-glycosidic linkages)으로만 구성된다. 예를 들어, 셀룰로오스는 β -1,4-연결된 D-글루코오스로 구성된 글리칸(또는 보다 구체적으로 글루칸)이고, 키틴은 β -1,4-연결된 N-아세틸-D-글루코사민으로 구성된 글리칸이다. 글리칸은 단당류 잔기의 호모 또는 혜테로폴리며일 수 있고 선형 또는 분지형일 수 있다. 글리칸은 당단백질과 프로테오글리칸과 같은 단백질에 부착되어 발견된다. 그들은 일반적으로 세포의 외부 표면에서 발견된다. O- 및 N-연결된 글리칸은 진핵 생물에서 매우 흔하지만 원핵 생물에서는 덜 일반적으로 발견될 수 있다. N-결합된 글리칸은 시퀀(sequon)에서 아스파라긴의 R-그룹 질소(N)에 부착되어 발견된다. 상기 시퀀은 Asn-X-Ser 또는 Asn-X-Thr 서열이며, 여기서 X는 프랄린(praline)을 제외한 임의 아미노산이다.
- [0087] 본원에서 사용되는 용어 "항원"은 면역 반응을 유도할 수 있는 임의 물질로 정의된다.
- [0088] 본원에서 사용되는 용어 "면역원성"은 면역 반응을 자극하는 면역원, 항원 또는 백신의 능력을 의미한다.
- [0089] 본원에서 사용되는 용어 "CD1d"는 다양한 인간 항원-제시 세포의 표면 상에서 발현되는 당단백질의 CD1(분화의 클러스터 1) 패밀리의 구성원을 의미한다. CD1d 존재 지질 항원은 자연 살해 T 세포를 활성화시킨다. CD1d는 당지질 항원이 결합하는 깊은 항원-결합 그루브를 갖는다. 수지상 세포 상에서 발현되는 CD1d 분자는 당지질과 결합하여 존재할 수 있고, 이는 C34와 같은 α -GalCer 유사체를 포함한다.
- [0090] 본원에서 사용되는 용어 "에피토프"는 항체 또는 T 세포 수용체의 항원 결합 부위와 접촉하는 항원 분자의 부분으로 정의된다.
- [0091] 본원에서 사용되는 용어 "백신"은 유기체가 야기하는 질병에 대한 면역성을 부여하는 데 사용되는 단백질, 펩티드 또는 다당류와 같은, 전체 질병-유발 유기체 (사망하거나 약화된) 또는 그러한 유기체의 성분으로 구성된 항원을 포함하는 제제를 의미한다. 백신 제제는 천연, 합성 또는 재조합 DNA 기술에 의해 유래될 수 있다.
- [0092] 본원에서 사용되는 용어 "항원 특이성"은 특정 세포 증식을 일으키는 특정 항원 또는 항원 단편을 공급하도록 하는 세포 집단의 특성을 말한다.
- [0093] 본원에서 사용되는 용어 "특이적 결합"은 결합 쌍(예를 들어, 항체 및 항원) 간의 상호작용을 나타낸다. 다양한 경우에 있어서, 특이적 결합은 약 10^{-6} mole/liter, 약 10^{-7} mole/liter, 또는 약 10^{-8} mole/liter 이하의 친화력 상수에 의해 구현될 수 있다.
- [0094] 본원에서 사용되는 용어 당효소는 글리코제열 생합성 경로에서 효소를 적어도 일부 지칭하며, 예시적인 당효소는 알파-4GALT; 베타-4GalNAcT-I; 또는 베타-3GalT-V 효소를 포함한다.
- [0095] 본원에서 사용되는 용어 "글로보계열 경로"는 도 1에 도시된 생화학적 경로를 지칭한다.
- [0096] "단리된" 항체는 이의 천연 환경의 성분으로부터 동정되고/되거나 회수된 항체이다. 이의 천연 환경의 오염 성분들은 항체에 대한 연구, 진단학적 또는 치료학적 사용을 방해하고 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있는 물질이다. 일 구현예에서, 항체는 (1) 예를 들어, 로우리 방법에 의한 측정시 98 중량% 초과의 항체 및 일부 구현예에서 99 중량% 초과, (2) 예를 들어, 회전 컵 분리기를 사용하여 N-

말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개 잔기를 수득하기에 충분한 정도로 또는 (3) 예를 들어, 코마시블루 또는 은 염색을 사용한 환원 또는 비환원 조건하에 SDS-PAGE에 의한 균질물로 정제된다. 단리된 항체는 항체의 천연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않기 때문에 재조합 세포내 동일계 항체를 포함한다. 그러나, 통상적으로 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0097] "결합 친화력"은 일반적으로 분자(예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 이의 결합 파트너(예를 들어, 항원) 간의 비공유 상호작용 총합의 강도를 언급한다. 달리 지적되지 않는 경우, 본원에 사용된 바와 같은, "결합 친화력"은 결합 쌍(예를 들어, 항체와 항원)의 구성원 간의 1:1 상호작용을 반영하는 고유 결합 친화력을 언급한다. 이의 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화성을 일반적으로 해리 상수(Kd)로 나타낼 수 있다. 친화력은 본원에 기재된 것들을 포함하는 당업계에 공지된 통상의 방법에 의해 측정될 수 있다. 낮은 친화력 분자는 일반적으로 항원에 느리게 결합하고 신속히 해리하는 경향이 있는 반면, 고친화력 항체는 일반적으로 항원에 신속하게 결합하고 장기간 결합된 채로 유지되는 경향이 있다. 결합 친화력을 측정하는 다양한 방법은 당업계에 공지되어 있고, 이중 어느 하나는 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있다. 특정의 예시적인 구현에는 하기에 기재된다.

[0098] "항체 단편"은 온전한 항체의 일부만을 포함하고, 여기서, 상기 일부는 온전한 항체내 존재하는 경우 상기 부분과 정상적으로 관련된 기능들의 적어도 하나 및 대부분의 많은 또는 모든 기능들을 보유한다. 일 양태에서, 항체 단편은 온전한 항체의 항원 결합 부위를 포함하고 따라서 항원에 결합하는 능력을 보유한다. 다른 구현예에서, 항체 단편, 예를 들어, Fc 영역을 포함하는 단편은 온전한 항체에 존재하는 경우 Fc 영역과 정상적으로 관련된 생물학적 기능들, 예를 들어, FcRn 결합, 항체 반감기 조절, ADCC 기능 및 보체 결합 중 적어도 하나를 보유한다. 일 구현예에서, 항체 단편은 온전한 항체와 실질적으로 유사한 생체내 반감기를 갖는 1가 항체이다. 예를 들어, 상기 항체 단편은 상기 단편에 생체내 안정성을 부여할 수 있는 Fc 서열에 결합된 항원 결합 아암을 포함할 수 있다.

[0099] 본원에서 모노클로날 항체는 구체적으로 "키메라" 항체, 및 이들이 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한 상기 항체의 단편을 포함하고, 여기서, 중쇄 및/또는 경쇄 부분은 특정 종으로부터 유래된 항체에서 또는 특정 항체 부류 또는 서브부류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 이와 유사하지만 쇄(들)의 나머지는 또 다른 종으로부터 유래된 항체 또는 또 다른 항체 부류 또는 서브클래스에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 유사하다 (미국 특허 제4,816,567; 및 Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)).

[0100] "인간화된" 형태의 비-인간(예를 들어, 쥐) 항체는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 일 구현예에서, 인간화된 항체는 인간 면역글로불린(수용자 항체)이고, 여기서, 수용자의 초가변 영역 기원의 잔기는 목적하는 특이성, 친화성 및/또는 능력을 갖는 마우스, 랫트, 토끼 또는 비인간 영장류와 같은 비-인간 종(공여자 항체)의 초가변 영역 기원의 잔기에 의해 대체된다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 프레임워크 영역(FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기에 의해 대체된다. 추가로, 인간화된 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 수행능을 추가로 개선하기 위해 수행된다. 일반적으로, 인간화된 항체는 실질적으로 적어도 하나, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인 모두를 포함하고, 여기서, 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비-인간 면역글로불린의 루프에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 면역글로불린 서열의 루프이다. 상기 인간화된 항체는 임의로 또한 전형적으로 인간 면역글로불린의 것인 면역글로불린 불면 영역(Fc)의 적어도 일부를 포함한다. 추가의 세부사항에 대해, 문헌 [Jones et al., Nature 321 :522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); and Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)]을 참조한다. 또한 하기의 검토 문헌 및 참조문헌을 참조한다: Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1: 105-115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions 23: 1035-1038 (1995); Hurle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994).

[0101] "차단(blocking)" 항체 또는 "길항체" 항체는 이것이 결합하는 항원의 생물학적 활성을 억제하거나 감소시키는 항체이다. 특정 차단 항체 또는 길항체 항체는 실질적으로 또는 완전하게 항원의 생물학적 활성을 억제한다.

[0102] 본원에 사용된 바와 같은 "효능제 항체"는 목적하는 폴리펩타이드의 기능적 활성 중 적어도 하나를 모방하는 항체이다.

[0103] "장애"는 본 발명의 항체를 사용한 치료로부터 이득을 얻는 임의의 병태이다. 이것은 포유동물이 미지의 장애에 대한 성향을 갖는 병리학적 병태들을 포함하는 만성 및 급성 장애 또는 질환을 포함한다. 본원에서 치료될 장애의 비제한적인 예는 암을 포함한다.

- [0104] 용어 "세포 증식성 장애" 및 "증식성 장애"는 일부 정도의 비정상적 세포 증식과 관련된 장애를 언급한다. 일부 구현예에서, 세포 증식성 장애는 암이다.
- [0105] 본원에 사용된 바와 같은 "종양"은 악성이든 양성이든 모든 신생물 세포 성장 및 증식을 언급하고 모든 예비-암성 및 암성 세포 및 조직을 언급한다. 용어 "암", "암성", "세포 증식 장애", "증식성 장애" 및 "종양"은 본원에 언급된 바와 같이 상호 배타적이지 않다.
- [0106] 용어 "암" 및 "암성"은 전형적으로 비조절된 세포 성장/증식을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 병태를 언급하거나 기재한다. 암의 예는 암종, 림프종(예를 들어, 호지킨 및 비-호지킨 림프종), 모세포종, 육종 및 백혈병을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 상기 암의 보다 특정 예는 편평 세포 암, 소세포 폐 암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종, 폐의 편평 세포 암종, 배막의 암, 간세포 암, 위장암, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁암종, 침샘 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 간암종, 백혈병 및 다른 림프증식성 장애 및 다양한 유형의 두경부암을 포함한다.
- [0107] 용어 "글로보-계열-관련 장애"는 통상적으로 경로의 비정상적인 기능화(aberrant functioning) 또는 제시(presentation)에 의해 특징되거나 이에 의해 기여되는 장애를 지칭하거나 이러한 장애를 기술하는 것이다. 이러한 장애의 예는 암을 포함하는, 과증식성 질병을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.
- [0108] 면역결핍증후군의 예는 모세혈관 확장성 운동실조(ataxia telangiectasia), 백혈구-접합물질 결핍 증후군(leukocyte-adhesion deficiency syndrome), 림프구 감소증(lymphopenia), 이상감마글로불린혈증(dysgammaglobulinemia), HIV 또는 델타레트로바이러스 감염증(delta retrovirus infection), 공통 가변형 면역부전(common variable immunodeficiency), 중증 복합형 면역 부전증(severe combined immunodeficiency), 포식세포 살균 기능 장애(phagocyte bactericidal dysfunction), 감마글로불린혈증(agammaglobulinemia), 디조지증후군(DiGeorge syndrome), 및 비스코트-울드리치 증후군(Wiskott-Aldrich syndrome)을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 과민증의 예는 알레르기, 천식, 피부염, 두드러기, 과민증, 위슬러 증후군(Wissler's syndrome), 및 혈소판감소자색반(thrombocytopenic purpura)를 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.
- [0109] 본원에 사용된 바와 같은 "치료"는 치료받는 개체 또는 세포의 천연 과정을 변형시키는 시도에서의 임상적 중재를 언급하고 임상적 병리의 예방 또는 과정 동안에 수행될 수 있다. 치료의 목적하는 효과는 질환의 발병 또는 재발의 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적이거나 간접적인 병리학적 결과의 감소, 염증 및/또는 조직/기관 손상을 예방하거나 감소시키거나, 질환 진행율을 감소시키거나, 질환 상태를 개선 또는 완화시키고 예후의 개선 또는 차도를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 형태는 질환 또는 장애의 발병을 지연시키기 위해 사용된다.
- [0110] "개체" 또는 "피검체"는 척추동물이다. 특정 양태에서, 척추동물은 포유동물이다. 포유동물은 농장 동물(예를 들어, 소), 스포츠 동물, 애완동물(예를 들어, 고양이, 개 및 말), 영장류, 마우스 및 래트를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 구현예에서, 척추동물은 인간이다.
- [0111] 치료 목적을 위한 "포유동물"은 인간, 가정용 및 농장 동물, 및 동물원, 스포츠 또는 애완 동물, 예를 들어, 개, 말, 고양이, 소 등을 포함하는 포유동물로서 분류되는 임의의 동물을 언급한다. 특정 구현예에서, 포유동물은 인간이다.
- [0112] "유효량"은 목적하는 치료학적 또는 예방학적 결과를 성취하기 위해 필요한 기간 동안 및 투여에서 효과적인 양을 언급한다.
- [0113] 본 발명의 물질/분자의 "치료학적 유효량"은 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중 및 상기 개체에서 목적하는 반응을 유발하는 물질/분자의 능력과 같은 인자들에 따라 다양할 수 있다. 치료학적 유효량은 또한 치료학적으로 이로운 효과가 물질/분자의 임의의 독성 또는 해로운 효과를 능가하는 양이다. "예방학적 유효량"은 목적하는 예방학적 결과를 성취하기 위해 필요한 기간 동안 및 용량에서 효과적인 양을 언급한다. 전형적이지만 반드시 그럴 필요가 없이, 예방학적 용량은 질환의 발병 전 또는 조기 단계에서 대상체에 사용되기 때문에, 예방학적 유효량은 치료학적 유효량 미만이다.
- [0114] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "세포독성제"는 세포의 기능을 억제하거나 예방하고/하거나 세포의 파괴를 유발하는 물질을 언급한다. 상기 용어는 방사능활성 동위원소(예를 들어, At211, 1131, 1125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 및 Lu의 방사능활성 동위원소), 화학치료학적 제제(예를 들어, 메토트렉세이트, 아드

리아마이신, 빈카 알칼로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포사이드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 삽입 제제, 효소 및 이의 단편, 예를 들어, 핵산용해 효소, 항생제 및 독소, 예를 들어, 소분자 독소 또는 이의 단편 및/또는 변이체를 포함하는 세균, 진균류, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소, 및 하기에서 논의되는 다양한 항종양제 또는 항암제를 포함하는 것으로 의도된다. 다른 세포독성 제는 하기에 기재된다. 종양살생제는 종양 세포의 파괴를 유발한다.

[0115]

"화학치료학적 제제"는 암의 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학치료학적 제제의 예는 티오태파 및 CYTOXAN® 사이클로포스파미드와 같은 알킬화제; 부설판, 임프로설판 및 피포설판과 같은 알킬 설포네이트; 벤조도파, 카보쿠온, 메투레도파 및 우레도파와 같은 아지리딘; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 트리메틸롤로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸아멜라민; 아세토게닌스(특히, 불라타신 및 불라타시논); 엘타-9-테트라하이드로카나비놀 (드로나비놀, MARINOL®); 베타-라파콘; 라파콜; 콜키신; 베톨린산; 캄프토테신(합성 유사체 토포테칸 (HYC AMTIN®), CPT-11 (이리노테칸, CAMPTOSAR®), 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴 및 9-아미노캄프토테신을 포함하는); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (이의 아도젤레신, 카젤레신 및 비겔레신 합성 유사체를 포함하는); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포사이드; 크립토피신 (특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 두오카마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1을 포함하는); 엘레우트레오빈; 판크라티스타틴; 사코딕티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예를 들어, 클로람부실, 클로마파진, 클로로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비신, 웬에스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로우레아, 예를 들어, 카무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라니무스틴; 항생제, 예를 들어, 에네디인 항생제 (예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 가말 및 칼리케아미신 오메갈 (문현참조: 예를 들어, Agnew, Chem. Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)); 디네미신 A를 포함하는 디네미신; 에스페라미신; 및 네오카지노 스타틴 발색단 및 관련 크로모단백질 에네디인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캑티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카지노필린, 크로모마이시니스, 닉티노마이신, 다우노루비신, 테토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, ADRIAMYCIN® 독소루비신 (모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-파롤리노-독소루비신 및 테옥시 독소루비신을 포함하는), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예를 들어, 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 폐플로마이신, 포트피로마이신, 푸로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투버시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물, 예를 들어, 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 폴산 유사체, 예를 들어, 데노프테린, 메토트렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예를 들어, 플루다라빈, 6-머캅토퓨린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예를 들어, 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 폴록스우리딘; 안드로겐, 예를 들어, 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로페오네이트, 에피티오스탄올, 메피티오스탄, 테스톨라톤; 항-아드레날, 예를 들어, 아미노글루테티미드, 미토坦, 트릴로스탄; 폴산 첨가액, 예를 들어, 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 에니루라실; 아마사크린; 베스트라부실; 비스안트렌; 에다트락세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘리프티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예를 들어, 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단몰; 니트라에린; 웬토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸하이드라지드; 프로카바진; PSK® 폴리사카라이드 복합체 (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); 라족산; 리족신; 시조푸란; 스파로계르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테세네스(특히, T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신(ELDISINE®, FILDESIN®); 다카바진; 마노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 티오태파; 탁소이드, 예를 들어, TAXOL® 파클리탁셀(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE™ 크레모포르-부재, 파클리탁셀의 알부민-가공된 나노입자 제형 (American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, 111.), 및 TAXOTERE® 도세탁셀 (Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); 클로란부실; 겹시타빈 (GEMZAR®); 6-티오구아닌; 머캅토퓨린; 메토트렉세이트; 백금 유사체, 예를 들어, 시스플라틴 및 카보플라틴; 빈블라스틴(VELBAN®); 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴 (ONCOVIN®); 옥살리플라틴; 류코보빈; 비노렐빈(NAVELBINE®); 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸로르니틴(DMFO); 레티노이드, 예를 들어, 레티노산; 카페시타빈 (XELODA®); 상기 중 어느 하나의 약제학적으로 허용되는 염, 산 또는 유도체; 및 사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론의 병용 치료요법을 위한 약어인 CHOP, 및 5-FU 및 류코보빈과 조합된 옥살리플라틴(ELOXATIN™)과의 치료 용법을 위한 약어인 FOLFOX와 같은 상기 중 2개 이상의 병용제를 포함

한다.

[0116] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 것들과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 재료가 이제 설명된다. 본 명세서에 구체적으로 언급된 모든 간행물 및 특허는 본 발명과 관련하여 사용될 수 있는 출판물에 보고된 화학 물질, 세포주, 박터, 동물, 도구, 통계 분석 및 방법론의 기술 및 개시를 포함하여 모든 목적을 위해 참고 문헌으로 통합된다. 본 명세서에 인용 된 모든 참고 문헌은 당해 기술 분야의 숙련도를 나타내는 것으로 간주된다. 본 발명이 선행 발명에 의해 그러한 개시보다 시기 적절할 자격이 없다는 것을 인정하는 것으로 해석되지 않는다.

[0117] 일 양태에서, 본 발명은 특정 기로의 단계-특이적 배아 항원(SSEA3 및 SSEA4)의 개질이 SSEA3 및 SSEA4를 각각 특이적으로 인식하기 위해 강력한 IgG 항체를 유도하였다는 놀라운 발견을 기초로 한 것이다.

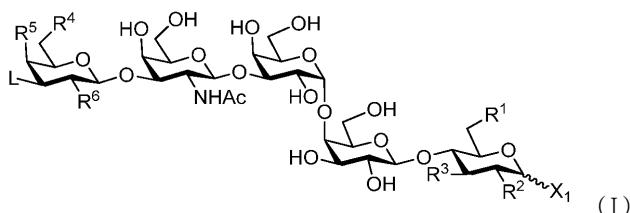
[0118] 일부 예에서, SSEA3의 개질은 SSEA3의 글루코오스의 하나 이상의 위치에서 플루오로, 아지도 또는 O-페닐기를 포함한다. 일부 예에서, SSEA3의 개질은 비-환원 단부 갈락토오스의 하나 이상의 위치에서 플루오로, 아지도 또는 O-페닐기를 포함한다. 일부 예에서, SSEA4의 개질은 SSEA4의 글루코오스의 하나 이상의 위치에서 플루오로, 아지도 또는 O-페닐기를 포함한다. 일부 예에서, SSEA4의 개질은 시알산 잔부의 하나 이상의 위치에서 플루오로, 아지도 또는 O-페닐기를 포함한다.

[0119] 특정 양태에서, 본 발명은 환원 및/또는 비-환원 단부에서 개질을 갖는 SSEA3 및 SSEA4 유사체를 제공한다. 이러한 SSEA3 및 SSEA4 유사체는 천연 SSEA3 및 SSEA4와 비교하여 더 강력한 면역 반응(예를 들어, SSEA3 및/또는 SSEA4에 대한 IgG 항체의 유도)을 유도할 수 있다. 이러한 비천연 글리칸 모이어티를 포함하는 면역원성 조성물에 의해 유도된 항체는 종양 세포에 대한 보체-의존적 세포 세포독성을 매개할 수 있다.

화합물

[0121] 이에 따라, 본 발명은 또한, 개질된 탄수화물 항원(SSEA3 및 SSEA4)으로 이루어진 신규한 화합물, 이를 포함하는 글리칸 콘주게이트, 및 이의 면역원성 조성물 및 백신을 특징으로 한다.

[0122] 일 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 염을 제공한다:



[0123]

[0124] 상기 식에서,

[0125] X1은 -OR 또는 -SR이며, 여기서, R은 수소, 산소 또는 황 보호기, 선택적으로 치환된 C1-10 알킬, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 아실, 또는 선택적으로 치환된 이미도일이며;

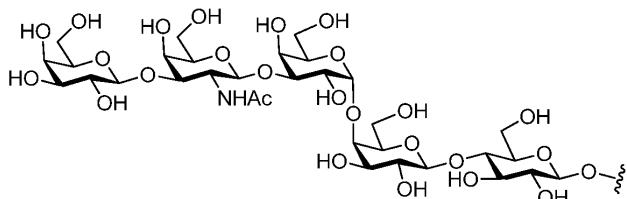
[0126] R1, R2, R3, R4, R5, R6 및 L 중 각 경우는 독립적으로, 수소, 할로겐, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알키닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클릴, 선택적으로 치환된 아릴, -N3, -NO2, -N(RB)2, -N(RA)C(O)RA, -ORA, -OC(O)RA, -SRA, -C(O)N(RB)2, -CN, -C(O)RA, -C(O)ORA, -S(O)RA, -SO2RA, -SO2N(RB)2, 및 -NHSO2RB로부터 선택되며;

[0127] RA의 각 경우는 독립적으로, 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알키닐, 선택적으로 치환된 헤�테로시클릴, 및 선택적으로 치환된 아릴로부터 선택되며;

[0128] RB의 각 경우는 독립적으로, 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알키닐, 선택적으로 치환된 헤�테로시클릴, 및 선택적으로 치환된 아릴로부터 선택되며;

[0129]

단, 화합물은 하기 화학식은 아니다:



[0130]

특정 구현예에서, X1은 알파 배열이다. 특정 구현예에서, X1은 베타 배열이다.

[0132]

일부 구현예에서, X1은 -ORA이다. 일부 구현예에서, X1은 -OH이다. 일부 구현예에서, X1은 -0(보호기)이다. 일부 구현예에서, X1은 -ORA이며, 여기서, RA는 비치환된 C1-10 알킬이다. 일부 구현예에서, X1은 -ORA이며, 여기서, RA는 치환된 C1-10 알킬이다. 일부 구현예에서, X1은 -ORA이며, 여기서, RA는 비치환된 아릴이다. 일부 구현예에서, X1은 -ORA이며, 여기서, RA는 치환된 아릴이다. 일부 구현예에서, X1은 -ORA이며, 여기서, RA는 비치환된 아실이다. 일부 구현예에서, X1은 -ORA이며, 여기서, RA는 치환된 아실이다. 일부 구현예에서, X1은 -ORA이며, 여기서, RA는 비치환된 이미도일이다. 일부 구현예에서, X1은 -ORA이며, 여기서, RA는 치환된 이미도일이다.

[0133]

일부 구현예에서, X1은 -SRA이다. 일부 구현예에서, X1은 -SH이다. 일부 구현예에서, X1은 -S(보호기)이다. 일부 구현예에서, X1은 -SRA이며, 여기서, RA는 비치환된 C1-10 알킬이다. 일부 구현예에서, X1은 -SRA이며, 여기서, RA는 치환된 C1-10 알킬이다. 특정 구현예에서, X1은 -SCH₃이다. 일부 구현예에서, X1은 -SRA이며, 여기서, RA는 비치환된 아릴이다. 일부 구현예에서, X1은 -SRA이며, 여기서, RA는 치환된 아릴이다. 일부 구현예에서, X1은 -SRA이며, 여기서, RA는 비치환된 아실이다. 일부 구현예에서, X1은 -SRA이며, 여기서, RA는 치환된 아실이다. 일부 구현예에서, X1은 -SRA이며, 여기서, RA는 비치환된 이미도일이다. 일부 구현예에서, X1은 -SRA이며, 여기서, RA는 치환된 이미도일이다.

[0134]

일부 구현예에서, X1은 C1-10 알콕시이다. 일부 구현예에서, X1은 C1-3 알콕시이다.

[0135]

일부 구현예에서, X1은 알파-티오메틸, 베타-티오메틸, 알파-티오크레실, 베타-티오크레실, 알파-t-부틸디페닐실릴옥시, 베타-t-부틸디페닐실릴옥시, 및 알파-메톡시로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0136]

일부 구현예에서, R1은 -N₃ 또는 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R1은 -N₃이다. 특정 구현예에서, R1은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R1은 -NH₂이다. 특정 구현예에서, R1은 -NHRW이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R1은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R1은 -N₃, -NH(Cbz), -NH(Boc), -NH(Fmoc), -NHC(O)CC13, -NHC(O)CH₃, 및 -N(C(O)CH₃)₂로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R1은 -NH(Cbz)이다. 특정 구현예에서, R1은 -NH(Fmoc)이다. 특정 구현예에서, R1은 -NHC(O)CC13이다. 특정 구현예에서, R1은 -NHC(O)CH₃이다. 특정 구현예에서, R1은 -N(C(O)CH₃)₂이다.

[0137]

일부 구현예에서, R2는 -N₃ 또는 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R2는 -N₃이다. 특정 구현예에서, R2는 -N(RW)₂이며, 여기서, R2는 -N₃, -NH(Cbz), -NH(Bo), -NH(Fmoc), -NHC(O)CC13, -NHC(O)CH₃, 및 -N(C(O)CH₃)₂로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R2는 -NH(Cbz)이다. 특정 구현예에서, R2는 -NH(Fmoc)이다. 특정 구현예에서, R2는 -NHC(O)CC13이다. 특정 구현예에서, R2는 -NHC(O)CH₃이다. 특정 구현예에서, R2는 -N(C(O)CH₃)₂이다.

[0138]

일부 구현예에서, R3은 -N₃ 또는 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R3은 -N₃이다. 특정 구현예에서, R3은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R3은 -NH₂이다. 특정 구현예에서, R3은 -NHRW이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R3은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R3은 -N₃, -NH(Cbz), -NH(Boc), -NH(Fmoc), -NHC(O)CC13, -NHC(O)CH₃, 및 -N(C(O)CH₃)₂로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R3은 -NH(Cbz)이다. 특정 구현예에서, R3은 -NH(Fmoc)이다. 특정 구현예에서, R3은 -NHC(O)CC13이다. 특정 구현예에서, R3은 -NHC(O)CH₃이다. 특정 구현예에서, R3은 -N(C(O)CH₃)₂이다.

[0139]

일부 구현예에서, R4는 -N₃ 또는 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R4는 -N₃이다. 특정 구현예에서, R4는 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소

보호기이다. 특정 구현예에서, R4는 $-NH_2$ 이다. 특정 구현예에서, R4는 $-NHRW$ 이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R4는 $-N(RW)_2$ 이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R4는 $-N_3$, $-NH(Cbz)$, $-NH(Boc)$, $-NH(Fmoc)$, $-NHC(O)CC13$, $-NHC(O)CH_3$, 및 $-N(C(O)CH_3)_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R4는 $-NH(Cbz)$ 이다. 특정 구현예에서, R4는 $-NH(Fmoc)$ 이다. 특정 구현예에서, R4는 $-NHC(O)CC13$ 이다. 특정 구현예에서, R4는 $-NHC(O)CH_3$ 이다. 특정 구현예에서, R4는 $-N(C(O)CH_3)_2$ 이다.

[0140] 일부 구현예에서, R5는 $-N_3$ 또는 $-N(RW)_2$ 이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R5는 $-N_3$ 이다. 특정 구현예에서, R5는 $-N(RW)_2$ 이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R5는 $-NH_2$ 이다. 특정 구현예에서, R5는 $-NHRW$ 이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R5는 $-N(RW)_2$ 이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R5는 $-N_3$, $-NH(Cbz)$, $-NH(Boc)$, $-NH(Fmoc)$, $-NHC(O)CC13$, $-NHC(O)CH_3$, 및 $-N(C(O)CH_3)_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R5는 $-NH(Cbz)$ 이다. 특정 구현예에서, R5는 $-NH(Fmoc)$ 이다. 특정 구현예에서, R5는 $-NHC(O)CC13$ 이다. 특정 구현예에서, R5는 $-NHC(O)CH_3$ 이다. 특정 구현예에서, R5는 $-N(C(O)CH_3)_2$ 이다.

[0141] 일부 구현예에서, R6은 $-N_3$ 또는 $-N(RW)_2$ 이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R6은 $-N_3$ 이다. 특정 구현예에서, R6은 $-N(RW)_2$ 이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R6은 $-NH_2$ 이다. 특정 구현예에서, R6은 $-NHRW$ 이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R6은 $-N(RW)_2$ 이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R6은 $-N_3$, $-NH(Cbz)$, $-NH(Boc)$, $-NH(Fmoc)$, $-NHC(O)CC13$, $-NHC(O)CH_3$, 및 $-N(C(O)CH_3)_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R6은 $-NH(Cbz)$ 이다. 특정 구현예에서, R6은 $-NH(Fmoc)$ 이다. 특정 구현예에서, R6은 $-NHC(O)CC13$ 이다. 특정 구현예에서, R6은 $-NHC(O)CH_3$ 이다. 특정 구현예에서, R6은 $-N(C(O)CH_3)_2$ 이다.

[0142] 일부 구현예에서, R1, R2 및 R3은 동일하다. 일부 구현예에서, R1, R2 및 R3은 $-OH$ 이다. 일부 구현예에서, R4, R5 및 R6은 동일하다. 일부 구현예에서, R4, R5 및 R6은 $-OH$ 이다.

[0143] 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이다.

[0144] 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R1은 $-N_3$ 이다. 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R1은 $-N_3$ 이며, R2, R3, R4, R5 및 R6의 각 경우는 $-OH$ 이다.

[0145] 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R2는 $-N_3$ 이다. 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R2는 $-N_3$ 이며, R1, R3, R4, R5 및 R6의 각 경우는 $-OH$ 이다.

[0146] 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R3은 $-N_3$ 이다. 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R3은 $-N_3$ 이며, R1, R2, R4, R5 및 R6의 각 경우는 $-OH$ 이다.

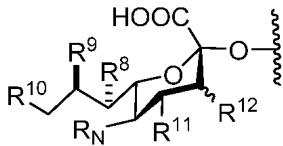
[0147] 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R4는 $-N_3$ 이다. 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R4는 $-N_3$ 이며, R1, R2, R3, R5 및 R6의 각 경우는 $-OH$ 이다.

[0148] 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R5는 $-N_3$ 이다. 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R5는 $-N_3$ 이며, R1, R2, R3, R4 및 R6의 각 경우는 $-OH$ 이다.

[0149] 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R6은 $-N_3$ 이다. 특정 구현예에서, L은 $-OH$ 이며, R6은 $-N_3$ 이며, R1, R2, R3, R4 및 R5의 각 경우는 $-OH$ 이다.

[0150] 특정 구현예에서, R1, R2, R3, R4, R5, R6 및 L의 각 경우는 $-F$ 이다. 특정 구현예에서, R1은 $-F$ 이다. 특정 구현예에서, R2는 $-F$ 이다. 특정 구현예에서, R3은 $-F$ 이다. 특정 구현예에서, R4는 $-F$ 이다. 특정 구현예에서, R5는 $-F$ 이다. 특정 구현예에서, R6은 $-F$ 이다. 특정 구현예에서, L은 $-F$ 이다.

[0151] 특정 구현예에서, L은 하기 구조를 갖는다:



[0152]

[0153] 상기 식에서,

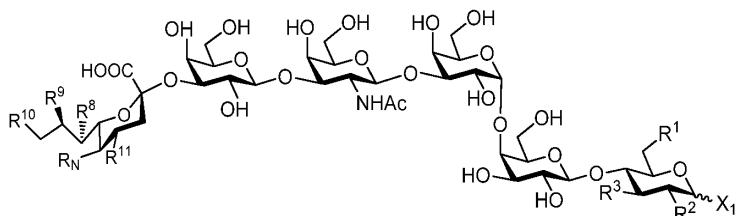
[0154] R8, R9, R10 및 R11의 각 경우는 독립적으로, 수소, 할로겐, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알키닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클릴, 선택적으로 치환된 아릴, -N3, -NO₂, -N(RB)₂, -N(RA)C(O)RA, -ORA, -OC(O)RA, -SRA, -C(O)N(RB)₂, -CN, -C(O)RA, -C(O)ORA, -S(O)RA, -SO₂RA, -SO₂N(RB)₂, 및 -NHSO₂RB로부터 선택되며;

[0155] RN은 -N3, -NO₂, -N(RB)₂, -N(RA)C(O)RA, -ORA, -OC(O)RA, -SRA, -C(O)N(RB)₂, -CN, -C(O)RA, -C(O)ORA, -S(O)RA, -SO₂RA, -SO₂N(RB)₂, 및 -NHSO₂RB로부터 선택되며;

[0156] RA의 각 경우는 독립적으로, 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 헤�테로시클릴, 및 선택적으로 치환된 아릴로부터 선택되며;

[0157] RB의 각 경우는 독립적으로, 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 헤�테로시클릴, 및 선택적으로 치환된 아릴로부터 선택된다.

[0158] 일부 구현예에서, 화합물은 하기 화학식 (II)이다:



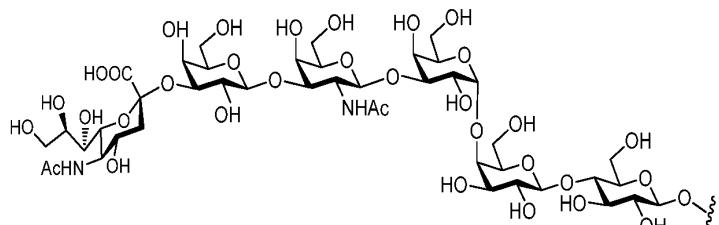
(II)

[0159]

상기 식에서, R1, R2, R3, R8, R9, R10, R11 및 RN 및 X1은 본원에 기술된 바와 같으며,

[0160]

단, 화합물은 하기 화학식은 아니다:



[0161]

일부 구현예에서, R8은 -N3 또는 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R8은 -N3이다. 특정 구현예에서, R8은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R8은 -NH₂이다. 특정 구현예에서, R8은 -NHRW이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R8은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R8은 -N3, -NH(Cbz), -NH(Boc), -NH(Fmoc), -NHC(O)CC13, -NHC(O)CH₃, 및 -N(C(O)CH₃)₂로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R8은 -NH(Cbz)이다. 특정 구현예에서, R8은 -NH(Fmoc)이다. 특정 구현예에서, R8은 -NHC(O)CC13이다. 특정 구현예에서, R8은 -NHC(O)CH₃이다. 특정 구현예에서, R8은 -N(C(O)CH₃)₂이다.

[0162]

일부 구현예에서, R9은 -N3 또는 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R9은 -N3이다. 특정 구현예에서, R9은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R9은 -NH₂이다. 특정 구현예에서, R9은 -NHRW이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R9은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R9은 -N3, -NH(Cbz), -NH(Boc), -NH(Fmoc), -NHC(O)CC13, -NHC(O)CH₃, 및 -N(C(O)CH₃)₂로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R9은 -NH(Cbz)이다. 특정 구현예에서, R9은 -NH(Fmoc)이다. 특정 구현예에서, R9은 -NHC(O)CC13이다. 특정 구현예에서, R9은 -NHC(O)CH₃이다. 특정 구현예에서, R9은 -N(C(O)CH₃)₂이다.

[0163]

일부 구현예에서, R10은 -N3 또는 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R10은 -N3이다. 특정 구현예에서, R10은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R10은 -NH₂이다. 특정 구현예에서, R10은 -NHRW이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R10은 -N(RW)₂이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R10은 -N3, -NH(Cbz), -NH(Boc), -NH(Fmoc), -NHC(O)CC13, -NHC(O)CH₃, 및 -N(C(O)CH₃)₂로 이루어진 군으로부터 선택된다.

특정 구현예에서, R10은 -NH(Cbz)이다. 특정 구현예에서, R10은 -NH(Fmoc)이다. 특정 구현예에서, R10은 -NHC(0)CC13이다. 특정 구현예에서, R10은 -NHC(0)CH3이다. 특정 구현예에서, R10은 -N(C(0)CH3)2이다.

[0166] 일부 구현예에서, R11은 -N3 또는 -N(RW)2이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R11은 -N3이다. 특정 구현예에서, R11은 -N(RW)2이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R11은 -NH2이다. 특정 구현예에서, R11은 -NHRW이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R11은 -N(RW)2이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R11은 -N3, -NH(Cbz), -NH(Boc), -NH(Fmoc), -NHC(0)CC13, -NHC(0)CH3, 및 -N(C(0)CH3)2로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R11은 -NH(Cbz)이다. 특정 구현예에서, R11은 -NH(Fmoc)이다. 특정 구현예에서, R11은 -NHC(0)CC13이다. 특정 구현예에서, R11은 -NHC(0)CH3이다. 특정 구현예에서, R11은 -N(C(0)CH3)2이다.

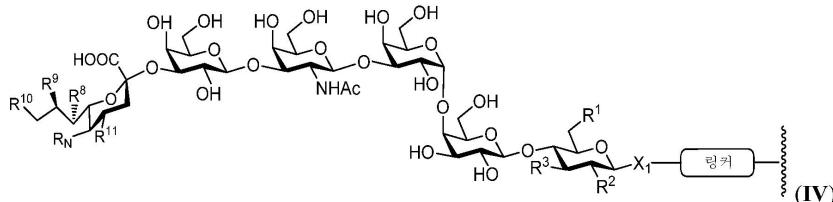
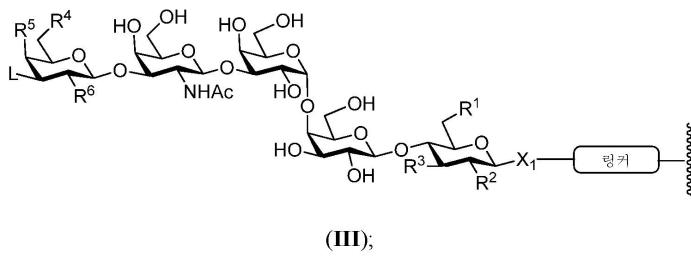
[0167] 일부 구현예에서, R12는 -N3 또는 -N(RW)2이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R12는 -N3이다. 특정 구현예에서, R12는 -N(RW)2이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R12는 -NH2이다. 특정 구현예에서, R12는 -NHRW이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R12는 -N(RW)2이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, R12는 -N3, -NH(Cbz), -NH(Boc), -NH(Fmoc), -NHC(0)CC13, -NHC(0)CH3, 및 -N(C(0)CH3)2로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R12는 -NH(Cbz)이다. 특정 구현예에서, R12는 -NH(Fmoc)이다. 특정 구현예에서, R12는 -NHC(0)CC13이다. 특정 구현예에서, R12는 -NHC(0)CH3이다. 특정 구현예에서, R12는 -N(C(0)CH3)2이다.

[0168] 일부 구현예에서, RN은 -N3 또는 -N(RW)2이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, RN은 -N3이다. 특정 구현예에서, RN은 -N(RW)2이며, 여기서, 각 RW는 독립적으로, 수소 또는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, RN은 -NH2이다. 특정 구현예에서, RN은 -NHRW이며, 여기서, RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, RN은 -N(RW)2이며, 여기서, 각 RW는 질소 보호기이다. 특정 구현예에서, RN은 -N3, -NH(Cbz), -NH(Boc), -NH(Fmoc), -NHC(0)CC13, -NHC(0)CH3, 및 -N(C(0)CH3)2로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, RN은 -NH(Cbz)이다. 특정 구현예에서, RN은 -NH(Fmoc)이다. 특정 구현예에서, RN은 -NHC(0)CC13이다. 특정 구현예에서, RN은 -NHC(0)CH3이다. 특정 구현예에서, RN은 -N(C(0)CH3)2이다.

[0169] 면역원성 조성물(immunogenic composition)

[0170] 다른 양태에서, 본 발명은 (a) 담체 및 하나 이상의 글리칸을 포함하는 글리칸 콘주케이트, 및 선택적으로 (b) 애주번트를 포함하는 면역원성 조성물을 제공하며,

[0171] 여기서, 하나 이상의 글리칸 각각은 하기 화학식 (III) 또는 (IV)를 갖는, 링커를 통해 담체와 콘주케이팅된다:



[0172]

[0173] 상기 식에서, X1, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R8, R9, R10, R11, L 및 RN은 본원에 기술된 바와 같다.

[0174] 특정 구현예에서, 링커는 헤테로- 또는 호모-이작용성 링커이다.

[0175] 특정 구현예에서, 링커는 호모-이작용성 p-니트로페닐 링커이다.

[0176] 특정 구현예에서, 링커는 적어도 하나의 황 원자, 카복실레이트 기, 아미드 기, 카바메이트 기, 카보네이트 기,

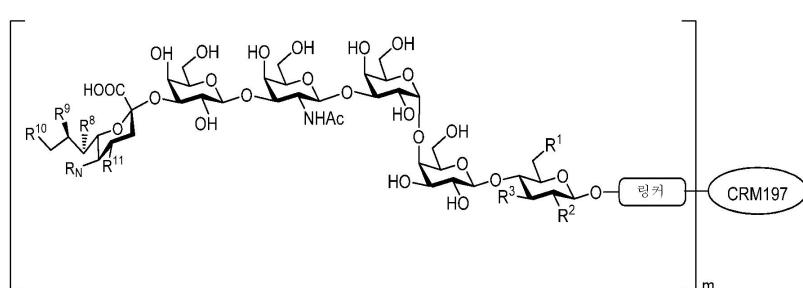
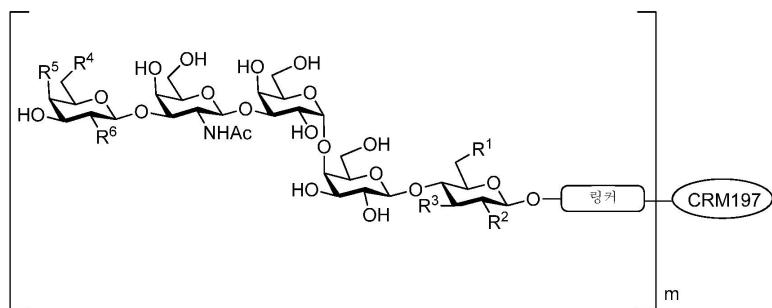
티오카바메이트 기, 티오카보네이트 기, 티오에테르 기, 숙신아미드 기, n-하이드록시 숙신아미드 기, 또는 이들의 임의 조합을 포함한다.

[0177] 특정 구현예에서, 링커는 $-L^1-L^2-$ 이며, 여기서, L1은 결합, $-O-$, $-S-$, $-NRL1a-$, $-C(=O)-$, $-NRL1aC(=O)-$, $-NRL1aC(=O)O-$, $-C(=O)NRL1a-$, $-OC(=O)NRL1a-$, $-SC(=O)-$, $-C(=O)S-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-NRL1aC(=S)-$, $-C(=S)NRL1a-$, 트랜스-CRL1b=CRL1b-, 시스-CL1b=CRL1b-, $-C\equiv C-$, $-OC(RL1b)2-$, $-C(RL1b)20-$, $-NRL1aC(RL1b)2-$, $-C(RL1b)2NRL1a-$, $-SC(RL1b)2-$, $-C(RL1b)2S-$, $-S(=O)20-$, $-OS(=O)2-$, $-S(=O)2NRL1a-$, $-NRL1aS(=O)2-$ 또는 선택적으로 치환된 C1-20 탄화수소 사슬이며, 선택적으로, 여기서, 탄화수소 사슬의 탄소 단위는 $-O-$, $-S-$, $-NRL1a-$, $-C(=O)-$, $NRL1aC(=O)-$, $-NRL1aC(=O)O-$, $-C(=O)NRL1a-$, $-OC(=O)NRL1a-$, $-SC(=O)-$, $-C(=O)S-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-NRL1aC(=S)-$, $-C(=S)NRL1a-$, 트랜스-CRL1b=CRL1b-, 시스-CRL1b=CRL1b-, $-C\equiv C-$, $-S(=O)20-$, $-OS(=O)2-$, $-S(=O)2NRL1a-$ 또는 $-NRL1aS(=O)2-$ 로 대체되며, 여기서, RL1a는 수소, 선택적으로 치환된 C1-6 알킬, 또는 질소 보호기이거나, RL1a는 선택적으로 치환된 헤테로시클릭 고리를 형성시키기 위해 인접한 탄소 원자와 결합하며, RL1b의 각 경우는 독립적으로, 수소, 할로겐, 선택적으로 치환된 C1-10 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알ки닐, 선택적으로 치환된 카보시클릴, 선택적으로 치환된 헤테로시클릴, 선택적으로 치환된 아릴, 및 선택적으로 치환된 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되거나, RL1b는 선택적으로 치환된 카보시클릭 또는 헤�테로시클릭 고리를 형성시키기 위해 인접한 탄소 또는 질소 또는 산소 원자와 결합되거나, 두 개의 RL1b 기는 선택적으로 카보시클릭 또는 선택적으로 치환된 헤�테로시클릭 고리를 형성시키기 위해 결합되며; L2는 담체 및 L1을 가교시킬 수 있는 가교 작용제로부터 유래된 모이어티이다.

[0178] 담체는 단백질, 지질, 지질화된 단백질, 바이러스, 패티드, 또는 당펩티드의 텐드리미일 수 있다. 특정 구현예에서, 담체는 T 세포 애피토프를 포함하는 패티드이다.

[0179] 본 발명에서 사용될 수 있는 담체 단백질의 예에는 파상풍 특소이드(TT), 디프테리아 특소이드(DT), 디프테리아 독소 교차-반응 물질 CRM 197(CRM 197), TT의 단편, 키홀 림펫 혈모시아닌(KLH), 소 혈청 알부민(BSA), 단백질 D, 외막 단백질(OMP) 및 폐렴구균용혈소, 디프테리아 독소 교차-반응 물질 CRM197 또는 다른 DT 포인트 돌연변이, 예를 들어, CRM176, CRM228, CRM45(Uchida et al J. Biol. Chem. 218; 3838-3844, 1973); CRM9, CRM45, CRM102, CRM103 및 CRM107 및 당해 분야에 기술된 다른 돌연변이들이 있다.

[0180] 특정 구현예에서, 글리칸 콘주게이트는 하기 화학식 (IV-a) 또는 (IV-b)이다:



[0181]

상기 식에서, m 은 1 내지 40의 정수이며, 경계값은 포함한다.

[0182]

특정 구현예에서, m 은 1 내지 30의 정수(경계값 포함)이다. 본원에서 일반적으로 규정되는 바와 같이, m 은 1 내

지 20의 정수(경계값 포함)이다. 특정 구현예에서, m 은 1이다. 특정 구현예에서, m 은 2이다. 특정 구현예에서, m 은 4이다. 특정 구현예에서, m 은 6이다. 특정 구현예에서, m 은 8이다. 특정 구현예에서, m 은 10이다. 특정 구현예에서, m 은 15이다. 특정 구현예에서, m 은 20이다. 특정 구현예에서, m 은 30이다. 특정 구현예에서, m 은 40이다.

[0184] 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 글리칸 콘주케이트들 중 적어도 두 개를 포함하는 글리칸 콘주케이트 혼합물을 제공한다. 특정 구현예에서, 글리칸 혼합물에서 w 의 평균값은 약 1.0 내지 약 40.0이다. 특정 구현예에서, 글리칸 혼합물에서 w 의 평균값은 약 1.0 내지 10.0이다. 특정 구현예에서, 글리칸 혼합물에서 w 의 평균값은 약 5.7, 4.9, 2.9, 2.8, 또는 3.1이다. 특정 구현예에서, 글리칸 혼합물에서 w 의 평균값은 약 4.9, 2.9, 2.8, 또는 3.1이다.

[0185] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 면역원성 조성물은 면역학적 유효량의 본 발명의 글리칸 콘주케이트를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역원성 조성물은 약제학적 유효량의 본 발명의 글리칸 콘주케이트를 포함한다.

[0186] 본 발명의 화합물은 당해 분야에 공지되거나 본원에 기술된 절차를 이용하여 합성될 수 있다. 또한, US20140051127호 참조.

[0187] 본 발명의 면역원성 콘주케이트는 동일하거나 상이한 SSEA-3 및/또는 SSEA-4 유도체의 하나 이상의 분자(예를 들어, 1-40, 1-20, 1-25, 1-30)를 포함할 수 있다. 글리칸 콘주케이트를 생성시키기 위한 추가적인 설명 및 관련 절차는 하기에 기재되어 있다. 또한 미국특허번호 제8,268,969호가 참조되며, 이러한 문헌의 내용은 본원에 참고로 포함된다.

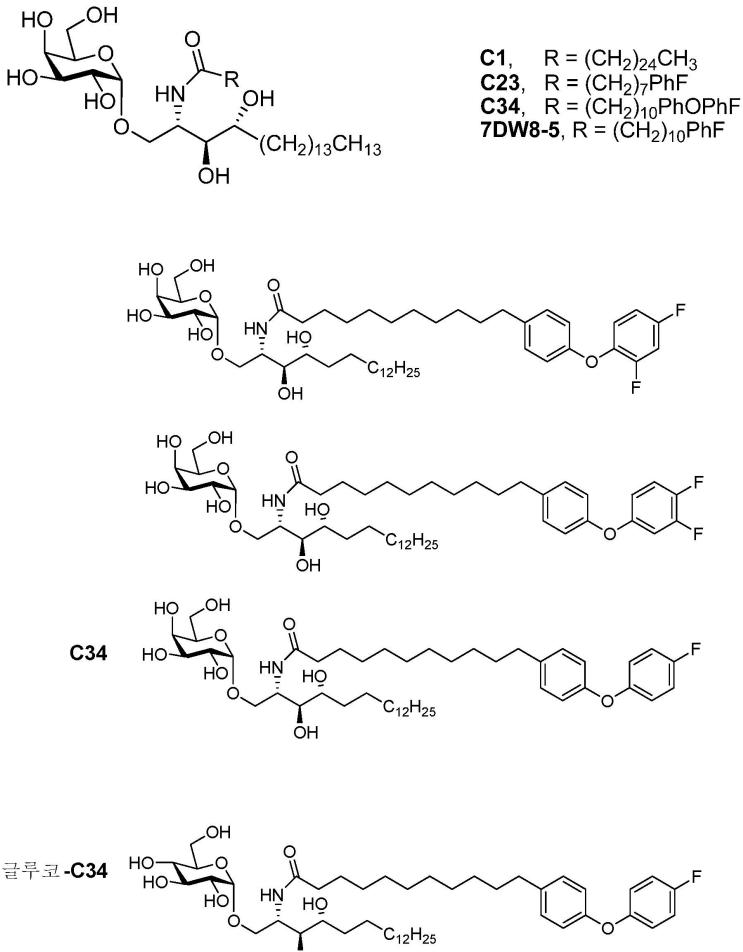
[0188] 특정 구현예에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하나 이상의 애주번트를 포함할 수 있다. 적합한 애주번트는 예를 들어, C34, 7DW8-5, C17, C23, C-30, 알파-갈락토세라미드, 글루코-C34, 알루미늄 염, 스쿠알렌, MF59, 및 QS-21을 포함할 수 있다.

[0189] 본원에서 사용되는 용어 "알룸 애주번트(alum adjuvant)"는 면역 애주번트 활성을 갖는 알루미늄 염을 지칭한다. 이러한 제제는 용액 중에 단백질 항원을 흡수하고 침전시키며, 얹어진 침전물은 접종 부위에서 형성된 백신 데포으로부터 항원의 서방출을 촉진시킴으로써 백신 면역원성을 개선시킨다.

[0190] 본원에서 사용되는 용어 "면역학적 애주번트"는 면역원에 대한 면역 반응을 향상시키거나 개질시키는 면역원과 함께 사용되는 물질을 지칭한다. 본 발명의 α -GalCer 유사체는 백신에 더욱 격렬하게 반응하기 위해 백신이 투여된 환자의 면역계를 자극시킴으로써 백신의 효과를 개질시키거나 증가시키기 위해 면역학적 애주번트로서 사용된다. 예시적인 실행에서, 유사체 C34는 애주번트로서 사용된다. C34 및 다른 알파-갈락토실 세라미드 유사체의 구조, 및 애주번트로서의 이의 용도는 미국특허번호 제7,928,077호에서 상세히 기술되어 있다.

[0191] 본원에서 사용되는 용어 "당지질"은 세포 인식을 위한 마커로 역할을 하는 탄수화물-부착된 지질을 지칭한다.

[0192] 당지질 C34, 글루코-C34, C23 및 7DW8-5는 하기 구조들을 갖는다:



[0193]

[0194] 면역원성 조성물은 약제학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 기술된 면역원성 조성물은 약제학적 유효량의 본 발명의 글리칸 콘주케이트를 포함한다.

[0195]

다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 면역원성 조성물, 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 암 백신을 제공한다.

[0196]

본 발명의 암 백신은 단일 용량 또는 다중 용량의 본 발명의 글리칸 콘주케이트, 이들의 글리칸 콘주케이트 혼합물, 또는 이들의 면역원성 조성을 포함할 수 있다. 제공된 암 백신은 암을 치료하거나 암의 위험을 감소시키는데 유용할 수 있다. 암 백신은 또한, 피검체 또는 건강 케어 전문가를 위한 용도를 기술하거나 정보를 처방하는 패키징 정보를 포함할 수 있다. 이러한 정보는 미국 식품의약국(U.S. Food and Drug Administration; FDA)과 같은 규제 기관(regulatory agency)에 의해 요구될 수 있다. 암 백신은 또한, 선택적으로, 화합물 또는 조성물의 투여를 위한 디바이스, 예를 들어, 비경구 투여를 위한 시린지를 포함할 수 있다.

[0197]

약제 제형

[0198]

면역 조성물은 투약 제형과 혼화 가능한 방식으로 그리고, 치료학적으로 유효하고 보호하고 면역원성인 양으로 투여된다. 투여되는 양은 예를 들어, 항체를 합성하는 개체의 면역계의 능력, 및 필요한 경우에, 세포-매개된 면역 반응을 형성시키는 개체의 면역계의 능력을 포함하는 치료될 피검체에 따른다. 투여되도록 요구되는 활성 성분의 정확한 양은 의사의 판단에 따른다. 그러나, 적합한 투여량 범위는 당업자에 의해 용이하게 결정 가능하다. 초기 투여 및 상승 용량을 위한 적합한 요법들이 또한 변경 가능하지만, 초기 투여 이후에 후속 투여를 포함할 수 있다. 백신의 투여량은 또한, 투여 경로에 따른 수 있고 숙주의 크기에 따라 달라진다.

[0199]

본 발명의 면역 조성물은 또한, 항체의 생산을 위한 동물에서 항체들을 생성시키기 위해 사용될 수 있으며, 이는 암 치료 및 암 진단 둘 모두에서 사용될 수 있다. 동물(예를 들어, 마우스, 토끼, 염소, 양, 또는 말)에서 모노클로날 및 폴리클로날 항체 및 이의 단편을 제조하는 방법은 당해 분야에 널리 알려져 있다[예를 들어, 문

현[Harlow and Lane, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York] 참조]. 용어 "항체"는 온전한 면역글로빈 분자, 뿐만 아니라, 이의 단편, 예를 들어, Fab, F(ab')₂, Fv, scFv (단쇄 항체) 및 dAb(도메인 항체; Ward, et. al. (1989) *Nature*, 341, 544)를 포함한다.

[0200] 본원에 기술된 조성물은 추가적인 활성체, 담체, 비히클, 부형체, 또는 본 발명의 독서 시에 당업자에 의해 식별될 수 있는 보조제와 함께 약제 조성물에 포함될 수 있다.

[0201] 약제 조성물은 바람직하게, 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 이러한 약제 조성물에서, 본원에 기술된 조성물은 "활성제"로서도 지칭되는 "활성 화합물"을 형성시킨다. 본원에서 사용되는 언어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 약제학적 투여와 혼화 가능한, 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아 및 항진균제, 등 장성 및 흡수 지연제, 등을 포함한다. 보충적 활성 화합물이 또한, 조성물에 도입될 수 있다. 약제 조성물은 이의 의도된 투여 경로와 상용화되도록 제형화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예를 들어, 정맥내, 피부내, 피하, 경구(예를 들어, 흡입), 경피(국소), 점막경유, 및 직장 투여를 포함한다. 비경구, 피부내 또는 피하 적용을 위해 사용되는 용액 또는 혼탁액은 하기 성분들을 포함할 수 있다: 멸균 희석제, 예를 들어, 주사용 물, 염수 용액, 고정 오일, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 또는 다른 합성 용매들; 항박테리아제, 예를 들어, 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤; 항산화제, 예를 들어, 아스코르브산 또는 소듐 비설파이트; 퀼레이트제, 예를 들어, 에틸렌디아민테트라아세트산; 완충제, 예를 들어, 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트, 및 긴 장성의 조절을 위한 작용제, 예를 들어, 소듐 클로라이드 또는 텍스트로오스. pH는 산 또는 염기, 예를 들어, 염산 또는 소듐 히드록사이드로 조절될 수 있다. 비경구 제조물은 유리 또는 플라스틱으로 제조된 앰플, 일회성 시린지, 또는 다중 용량 바이알에 동봉될 수 있다.

임상 적용

[0203] 본 발명은 피검체에서 증식성 질병, 예를 들어, 암(예를 들어, 폐암, 대장암, 췌장암, 담도암, 또는 자궁내막암), 양성 신생물, 또는 혈관신생(angiogenesis)의 치료를 위해 유용한 글리칸 콘주케이트, 면역원성 조성물, 또는 백신을 제공한다.

[0204] 본원에 기술된 면역원성 조성물 또는 백신은 또한, 항체의 생산을 위한 인간 또는 동물에서 항체를 발생시키기 위해 사용될 수 있으며, 이는 암 치료 및 진단 둘 모두에서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 면역원성 조성물 또는 백신은 또한, GloboH, SSEA-3 및/또는 SSEA-4 항체의 생산을 위한 항체를 발생시키기 위해 사용될 수 있다. 인간 및/또는 동물(예를 들어, 마우스, 토끼, 염소, 양, 또는 말)에서 모노클로날 및 폴리클로날 항체 및 이의 단편을 제조하는 방법은 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York] 참조. 용어 "항체"는 선천 면역글로불린 분자, 뿐만 아니라, 이의 단편, 예를 들어, Fab, F(ab')₂, Fv, scFv (단쇄 항체), 및 dAb(도메인 항체; Ward, et. al. (1989) *Nature*, 341, 544)을 포함한다.

[0205] 적어도 하나의 항-SSEA-3/SSEA-4/GloboH 항체 또는 항-SSEA-3/SSEA-4/GloboH 항체를 엔코딩하는 서열을 포함하는 적어도 하나의 폴리누클레오티드를 포함하는 조성물이 제공된다. 특정 구현예에서, 조성물은 약제 조성물일 수 있다. 본원에서 사용되는 조성물은 하나 이상의 SSEA-3/SSEA-4/GloboH에 결합하는 하나 이상의 항체 및/또는 하나 이상의 SSEA-3/SSEA-4/GloboH에 결합하는 하나 이상의 항체를 엔코딩하는 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리누클레오티드를 포함한다. 이러한 조성물은 적합한 담체, 예를 들어, 완충제를 포함하는 약제학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함할 수 있으며, 이는 당해 분야에서 널리 알려져 있는 것이다.

[0206] 단리된 항체 및 폴리누클레오티드가 또한 제공된다. 특정 구현예에서, 단리된 항체 및 폴리누클레오티드는 실질적으로 순수하다.

[0207] 일 구현예에서, 항-SSEA-3/SSEA-4/GloboH 항체는 모노클로날이다. 다른 구현예에서, 항-SSEA-3/SSEA-4/GloboH 항체의 단편(예를 들어, Fab, Fab'-SH 및 F(ab')₂ 단편)이 제공된다. 이러한 항체 단편은 전통적인 수단, 예를 들어, 효소적 소화에 의해 생성될 수 있거나, 재조합 기술에 의해 발생될 수 있다. 이러한 항체 단편은 키메라, 인간화된, 또는 인간일 수 있다. 이러한 단편은 하기에 기술되는 진단 및 치료 목적을 위해 유용하다.

약제학적 제형

[0209] 본 발명의 항체를 포함하는 치료학적 제형은 수용액, 동결건조되거나 다른 건조된 제형 형태로 임의의 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제와 목적하는 정도의 순도를 갖는 항체를 혼합함에 의해 저장을 위해 제조된다 (문헌참조: Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)). 허용되는 담

체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 용량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고 포스페이트, 시트레이트, 히스티딘 및 다른 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제 (예를 들어, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 폐놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예를 들어, 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 사이클로헥산을; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 잔기 미만)의 폴리펩티드; 단백질, 예를 들어, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 폴리머, 예를 들어, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예를 들어, 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 라이신; 모노사카라이드, 디사카라이드 및 글루코스, 만노스 또는 덱스트란을 포함하는 다른 탄수화물; EDTA와 같은 칼레이트제; 슈크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당; 나트륨과 같은 염-형성 카운터 이온; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예를 들어 TWEEN™, PLURONICS™ 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다.

[0210] 본원의 제형은 또한 치료될 특정 정후에 필요한 하나 이상의 활성 화합물을 포함하고, 서로 불리한 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 상기 분자는 의도된 목적을 위해 효과적인 양으로 조합적으로 적합하게 존재한다.

[0211] 활성 성분들은 예를 들어, 코아세르베이션(coacervation) 기술 또는 계면 중합화에 의해 제조된 마이크로캡슐 중에 포집될 수 있고, 예를 들어, 각각 콜로이드 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포좀, 알부민 미소구, 마이크로에멀젼, 나노입자 및 나노캡슐) 중에서 또는 마크로에멀젼 중에 하이드록시메틸셀룰로스, 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐이 있다. 상기 기술은 문헌[참조: Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 기재되어 있다.

[0212] 생체내 투여를 위해 사용되어야 하는 제형은 멸균되어야 한다. 이것은 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 성취된다.

[0213] 자연 방출 제제를 제조할 수 있다. 자연 방출 제제의 적합한 예는 본 발명의 면역글로불린을 함유하는 고체 소수성 폴리머의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 상기 매트릭스는 예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐의 성형 제품 형태로 있다. 자연 방출 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 하이드로겔 (예를 들어, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드 (미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산 및 γ-에틸-L-글루타메이트의 공폴리머, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공폴리머, 예를 들어, LUPRON DEPOT™ (락트산-글리콜산 공폴리머 및 류프롤리드 아세테이트로 구성된 주사가능한 미소구), 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산을 포함한다. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 폴리머 100일 이상 동안 분자를 방출시킬 수 있고, 특정 하이드로겔은 보다 짧은 기간 동안 단백질을 방출한다. 캡슐화된 면역글로불린이 장시간 동안 체내에 유지되어 있는 경우, 이들은 37°C에서 수분에 노출 결과로서 변성되거나 응집할 수 있어 생물학적 활성이 상실되고 면역원성에서의 가능한 변화가 유도될 수 있다. 이상적인 전략은 관련된 메카니즘에 의존하여 안정화를 위해 고안될 수 있다. 예를 들어, 응집 메카니즘이 티오-디설파이드 상호교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성인 것으로 밝혀진 경우, 안정화는 설프하이드릴 잔기를 변형시키고, 산성 용액으로부터 동결건조시키고, 수분 함량을 조절하고, 적당한 첨가제를 사용하고 특이적 폴리머 매트릭스 조성물을 개발함에 의해 성취될 수 있다.

[0214] 본 발명의 약제 조성물은 암, 근육 장애, 유비퀴틴-경로 관련 유전학적 장애, 면역/염증 장애, 신경학적 장애 및 다른 유비퀴틴 경로 관련 장애를 포함하지만 이에 제한되지 않는 SSEA3/SSEA4/GloboH 및 SSEA3/SSEA4/GloboH 관련 단백질(Hated protein)의 비정상적 발현 및/또는 활성과 관련된 질환, 장애 또는 병태를 치료하거나, 억제하거나 이의 진행을 지연시키거나, 이의 재발을 예방하고/지연시키거나, 완화시키거나, 예방하기 위해 사용될 수 있다.

[0215] 일 양태에서, 본 발명의 차단 항체는 SSEA-3/SSEA-4/GloboH에 대해 특이적이다.

[0216] 본 발명의 약제 조성물은 치료요법에서 단독으로 또는 다른 조성물과 배합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 또 다른 항체 및/또는 보조제/치료학적 제제(예를 들어, 스테로이드)와 함께 동시 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 치료 계획, 예를 들어, 암, 근육 장애, 유비퀴틴 경로 관련 유전학적 장애, 면역/염증 장애, 신경학적 장애 및 다른 유비퀴틴 경로 관련 장애를 포함하는 임의의 질환을 치료하는데 있어서 소염제 및/또는 소독제와 배합될 수 있다. 상기된 그러한 배합 치료제는 배합 투여(2개 이상의 제제가 동일하거나 별도의 제형으로 포함된다) 및 별도의 투여(이 경우에 본 발명의 항체의 투여는 보조 투여요법 또는 치료요법들의 투여 전, 및/또는 투여 후에 일어날 수 있다)를 포함한다.

- [0217] 본 발명의 약제 조성물(및 보조 치료학적 제제)은 비경구, 피하, 복강내, 폐내 및 비강내 및 국소 투여를 위해 요구되는 경우, 병변내 투여를 포함하는 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 추가로, 약제 조성물은 특히 감소하는 항체 용량과 함께 적합하게 펠스 주입에 의해 투여된다. 투여는 부분적으로 투여가 간략하거나 만성인자에 의존하여 예를 들어, 정맥내 또는 피하 주사와 같은 주사에 의한 임의의 적합한 경로에 의한 것일 수 있다.
- [0218] 본 발명의 항체의 결합 표적의 위치는 항체 제조 및 투여에서 고려될 수 있다. 결합 표적이 세포내 분자인 경우, 본 발명의 특정 양태는 결합 표적이 위치하는 세포로 도입될 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 하나의 양태에서, 본 발명의 항체는 인트러바디로서 세포내 발현될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "인트러바디"는 세포내 발현되고 문헌[참조: Marasco, Gene Therapy 4: 11-15 (1997); Kontermann, Methods 34: 163-170 (2004); U.S. Pat. Nos. 6,004,940 and 6,329,173; U.S. Patent Application Publication No. 2003/0104402, and PCT Publication No. WO2003/077945]에 기재된 바와 같이 표적 분자에 선택적으로 결합할 수 있는 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 언급한다. 인트러바디의 세포내 발현은 목적하는 항체 또는 이의 항원 결합부 (상기 항체 또는 항원 결합 단편과 통상적으로 관련된 야생형 리더 서열 및 분비 시그널이 없는)를 표적 세포로 도입함에 의해 수행된다. 미세주사, 탄도 주사, 전기천공, 인산칼슘 침전, 리포좀 및 목적하는 핵산을 함유하는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노 관련 바이러스 및 백시니아 백터로의 형질감염을 포함하지만 이에 제한되지 않는 핵산을 세포로 도입하는 임의의 표준 방법이 사용될 수 있다.
- [0219] 본 발명의 약제 조성물은 양호한 의학적 수행과 일치하는 양상으로 제형화되고 용량화되고 투여된다. 이와 관련하여 고려할 인자들은 치료될 특정 장애, 치료될 특정 포유동물, 개별 환자의 임상적 조건, 장애의 원인, 제제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄 및 의학적 수행자에게 공지된 다른 인자들을 포함한다. 항체는 그럴 필요는 없지만 미지의 장애를 예방하거나 치료하기 위해 현재 사용되는 하나 이상의 제제와 임의로 제형화된다. 상기 다른 제제의 유효량은 제형에 존재하는 발명의 항체의 양, 장애 또는 치료의 타입 및 상기 논의된 인자에 의존한다. 이들은 일반적으로 본원에 기재된 바와 같은 동일한 용량으로 및 투여 경로로 사용되거나 본원에 기재된 용량의 1 내지 99% 또는 적당히 경험적으로/임상적으로 결정된 임의의 경로로 사용된다.
- [0220] 질환의 예방 또는 치료를 위해, 본 발명의 약제 조성물의 적당한 용량(단독으로 사용되거나 화학치료학적 제제와 같은 다른 제제와 배합하여 사용되는 경우)은 치료될 질환의 타입, 항체의 타입, 질환의 중증도 및 과정, 항체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지, 이전의 치료요법, 환자의 임상적 병력 및 항체에 대한 반응 및 담당 의의 판단에 의존한다. 상기 항체는 1회째 또는 일련의 치료 동안 환자에게 적합하게 투여된다. 질환의 타입 및 중증도에 의존하여, 약 1 µg/kg 내지 15 mg/kg (예를 들어, 0.1 mg/kg - 10 mg/kg)의 항체는 예를 들어, 하나 이상의 별도의 투여 또는 연속 주입에 의해서든 상관 없이 환자에게 투여하기 우한 초기 후보 용량일 수 있다. 하나의 전형적인 하루 용량은 상기 언급된 인자에 따라 약 1µg/kg 내지 100 mg/kg 이상 범위일 수 있다. 수일 이상 동안 반복적인 투여를 위해, 조건에 따라 치료는 일반적으로 질환 증상의 억제가 일어날 때까지 지연된다. 항체의 하나의 예시적 용량은 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위이다. 따라서, 약 0.5 mg/kg, 2.0 mg/kg, 4.0 mg/kg 또는 10 mg/kg (또는 이의 조합)중 하나 이상의 용량이 환자에게 투여될 수 있다. 상기 용량은 간헐적으로, 예를 들어, 매주 또는 3주마다 (예를 들어, 환자가 항체의 약 2 내지 약 20회 용량 또는 예를 들어, 약 6회 용량을 수용하도록) 투여될 수 있다. 초기에 높은 로딩 용량에 이어서 하나 이상의 적은 용량이 투여될 수 있다. 예시적 투여 용법은 약 4 mg/kg의 초기 로딩 용량을 투여함에 이어서 주마다 약 2mg/kg의 항체 용량을 유지시킴을 포함한다. 그러나, 다른 투여 계획이 유용할 수 있다. 상기 치료요법의 진행은 통상적인 기술 및 검정에 의해 모니터링된다.
- [0221] 제품
- [0222] 발명의 다른 구현예에서, 상기된 장애의 치료, 예방 및/또는 진단을 위해 유용한 물질을 함유하는 제품이 제공된다. 제품은 컨테이너 및 컨테이너 상에 또는 연합된 표지 또는 팩키지 삽입체를 포함한다. 적합한 컨테이너는 예를 들어, 병, 바이엘, 시린지 등을 포함한다. 컨테이너는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 물질로부터 형성될 수 있다. 컨테이너는 그 자체로 또는 병태의 치료, 예방 및/또는 진단을 위해 효과적인 또 다른 조성물과 배합되는 조성물을 유지하고 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 컨테이너는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘에 의해 관통될 수 있는 스토퍼를 갖는 바이엘일 수 있다). 조성물 중 적어도 하나의 활성제는 본 발명의 항체이다. 표지 또는 팩키지 삽입체는 조성물이 선택 병태를 치료하기 위해 사용됨을 지적한다. 더욱이, 제품은 (a) 여기에 함유된 조성물을 갖는 제1 컨테이너 (여기서, 상기 조성물은 본 발명의 항체를 포함한다); 및 (b) 여기에 함유된 조성물을 갖는 제2 컨테이너 (여기서, 상기 조성물은 추가의 세포독성 또는 다른 치료학적 제제를 포함한다)를 포함할 수 있다. 본 발명의 상기 양태에서 제품은 조성물이 특정 병태를 치료하기 위해

사용될 수 있음을 지적하는 팩키지 삽입체를 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 제품은 세균 증식 억제성 주사용수(BWF1), 표스페이트 완충 식염수, 링거액 및 엑스트로스 용액과 같은 약제학적으로 허용되는 완충액을 포함하는 제2(또는 제3) 컨테이너를 추가로 포함할 수 있다. 다른 완충제, 희석제, 여과제, 니들 및 시린지를 포함하는 상업적 및 사용자 견지로부터 바람직할 수 있는 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0223] 하기는 본 발명의 방법 및 조성물의 예이다. 다양한 다른 구현예들이 실행될 수 있는 것으로 이해되며, 단, 일반적인 설명은 상기에 제공된 바와 같다.

[0224] 일부 구현예에서, 제공된 글리칸 콘주케이트, 면역원성 조성물 또는 백신은 음향 신경종, 선암, 부신암, 항문암, 혈관 육종(예를 들어, 림프관 육종, 림프관 종양 육종, 혈관육종), 충수암, 양성 단클론성 간질병증, 담도암(예: 담도암), 방광암, 유방암(예: 유방선암, 유두암, 유방암, 유암종), 뇌암(예를 들어 수막종(meningioma), 신경아 교종, 예를 들어 성상 세포종, 회소 돌기 종, 수 모세포종), 기관지암, 유암종, 자궁경부암(예를 들어, 자궁 경부 선암종), 융모막암종(choriocarcinoma), 척삭종(chordoma), 두개 인두종(craniopharyngioma), 결장 직장암(예를 들어, 대장암, 직장암, 결장 직장 선암), 상피 암종, 상피 세포종, 내피 육종 피종(예: 카포시 육종, 다발성 특발성 난소 암종), 자궁 내막암(자궁암, 자궁 육종), 식도암(예: 식도 선암, 바렛 선암), 유익 육종(Ewing sarcom), 안암(예를 들어, 안구 흑색 종, 망막 모세포종), 익숙한 과호산구증가증, 담낭암, 위암(위 선암), 위장관 간질 종양(GIST), 두경부암(예: 두경부 편평 상피암), 구강암(예: 경구 편평 세포 암종(OSCC), 인후암(예: 후두암, 인두암, 비 인두암, 구강 인두암)), 조혈암(예, 급성 림프구성 백혈병(ALL)와 같은 백혈병(예: B 세포 ALL, T 세포 ALL), 급성 골수성 백혈병(AML)(예: B 세포 AML, T 세포 AML), 만성 골수성 백혈병(CML)(예: B 세포 CML, T 세포 CML) 및 만성 림프구성 백혈병(CLL)(예: B 세포 CLL, T 세포 CLL), 호지킨 림프종(HL)(예, B 세포 HL, T 세포 HL) 및 비호지킨 림프종(NHL)(예: 확산성 대세포 림프종(DLCL) 같은 B 세포 NHL(예: 광범위큰B세포림프종(DLBCL)), 여포성 림프종, 만성 림프구성 백혈병 / 소 림프구성 림프종(CLL/SLL), 맨틀 세포 림프종(MCL), 변연부(marginal zone) B 세포 림프종(예, 점막 관련 림프성 조직(MALT) 림프종, 마디 변연부 B 세포 림프종, 비성의 변연부(splenic marginal zone) B세포 림프종, 일차 종격동(primary mediastinal) B-세포 림프종, 베켓 림프종, 림프성 세포성(lymphoplasmacytic) 림프종(예, "윌데스트 럼의 매크로 글로불린 혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia)), 텔세포 백혈병(HCL), 면역 모세포성 대형세포 림프종(immunoblastic large cell lymphoma), 전구체 B- 림프모 종양 림프종 및 원발 중심부(primary central) 신경계(CNS) 림프종; 및 전구체 T 세포 림프모 림프종/백혈병, 말초 T 세포 림프종(PTCL)(예, 피부T세포 림프종(CTCL)(예, 사상균병(mycosis fungoides), Sezary 증후군), 혈관 면역모구 T 세포 림프종, 외안핵 자연 살해 세포 T 림프종, 장 질환 T 세포 림프종, 피하 지방층염 유사 T 세포 림프종, 역형성 큰 세포 림프종)과 같은 T 세포 NHL; 상기 서술한 바와 같은 하나 이상의 백혈병/림프종의 혼합; 대발성 골수종(MM), 중쇄 질환(예를 들어, 알파 사슬 질환, 감마 연쇄 질환, 뮤 체인병), 혈관모 세포종, 염증성 근섬유 아세포종, 면역세포성 아밀로이드증, 신장암(예, 월름즈종양으로 알려진 신장 모세포종, 신세포 암종), 폐암(예, 기관지 암종, 소세포 폐암(SCLC), 비소 세포 폐암(NSCLC), 폐의 선암종), 평활근 육종(LMS), 비만 세포증(예, 전신성 비만 세포증), 골수이 형성 증후군(MDS), 중피종, 골수 증식 성 질환(MPD), (예, 진성다혈구증(polyctyhemia Vera) (PV), 특발성 혈소판 증가증(ET), 원인불명골수화생(agnogenic myeloid metaplasia), 골수 섬유증(myelofibrosis) (MF), 만성 특발성 골수 섬유증(chronic idiopathic myelofibrosis), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 호중성 백혈병(CNL), 호산 증가 증후군(HES), 신경 섬유종(neurofibroma)(예를 들어, 신경 섬유종증(NF) 1형 또는 2형, 슈너 노마증), 신경내분비 암(예를 들어, 위장관 췌 신경 내분비 종양(GEP-NET), 카르시노이드 종양), 골육종, 난소암(예를 들어, 낭선암종, 난소 배아암종, 난소 선암), 유두 선암, 췌장암(예, 췌장 선암종, 유두상 점액성 종양 유관(IPMN), 췌도 세포 종양), 음경암(예를 들어, 음경과 음낭의 파제트 병), 송파체종(pinealoma), 원시 신경 외배엽 종양(PNT), 전립선암(예, 전립선 선암종), 직장암, 횡문근 육종, 타액선암, 피부암(예, 편평 상피 세포 암(SCC)), 다발각질가시세포종(keratoacanthoma, KA), 흑색 종, 기저 세포 암(BCC)), 소장 암(예를 들어, 충수암), 연조직 육종(예: 악성 섬유성 조직 구종(MFH), 지방 육종, 악성말초신경초종양(MPNST), 연골 육종, 섬유 육종, 점액 육종), 피지선 암종, 땀샘 암종, 유후막종(synovioma), 고환암(예, 정상피종, 고환 태생성 암종), 갑상선암(예, 갑상선의 유두암, 유두 갑상선암(PTC), 갑상선 수질암), 요도암, 질암 및 외음부 암(예, 외음부의 폐제병(Paget's disease)을 포함하지만 이에 한정되지 않는 암을 치료하거나 진단하는데 유용할 수 있다. 특정 실시 양태에서, 제공된 글리칸 콘주케이트, 면역원성 조성물 또는 백신은 뇌암, 폐암, 유방암, 구강암, 식도암, 위암, 간암, 담도암, 췌장암, 대장암, 신장암, 골암, 피부암, 자궁 경부암, 난소 암 및 전립선암의 치료에 유용하다.

[0225] 본원에 기술된 치료 방법을 수행하기 위하여, 유효량의 본 발명의 글리칸 콘주케이트 또는 면역원성 조성물 또는 백신은 상기 전술한 바와 같은 적절한 경로를 통한 치료를 필요로 하는 대상에게 투여될 수 있다. 사람과 같

은 대상은 암을 앓고 있거나, 암에 걸린 것으로 의심되거나 암에 걸리기 쉬운 환자일 수 있다. 유효량은 콘주케이트 또는 조성물에서 글리칸 모이어티에 특이적인 면역 반응을 유도하는데 효과적 일 수 있거나, 암 성장 억제 및/또는 종양 질량 감소를 유도하는 면역 반응을 유도하기에 충분할 수 있거나, 또는 암의 발병을 지연시키거나 암 발달 위험을 감소시키는데 효과적일 수 있다. 필요한 정확한 양은 예를 들어, 대상의 종, 연령 및 일반적인 상태, 부작용 또는 장애의 중증도, 특정 화합물(들)의 동일성, 투여 방식 등에 따라, 개체마다 다를 것이다. 바람직한 용량은 하루 3 회, 하루 2 회, 하루에 한 번, 격일마다, 매 3 일마다, 매주, 매 2 주마다, 매 3 주마다 또는 매 4 주마다 전달될 수 있다. 다중 투여(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 그 이상 투여)를 사용하여 전달될 수 있다.

[0226] 특정 구현예에서, 70 kg 성인 인간에 대한 본 발명의 글리칸 콘주케이트, 면역원성 조성물 또는 백신의 유효량은 약 0.0001 mg 내지 약 3000 mg, 약 0.0001 mg 내지 약 2000 mg, 약 0.0001 mg 내지 약 1000 mg, 약 0.001 mg 약 1000mg, 약 0.01mg 내지 약 1000mg, 약 0.1mg 내지 약 1000mg, 약 1mg 내지 약 1000mg, 약 1mg 내지 약 100mg, 약 10mg 내지 약 1000mg 또는 약 100mg 내지 약 1000mg의 단위 투약 형태 당 화합물을 함유 할 수 있다.

[0227] 특정 구현예에서, 제공된 글리칸 콘주케이트, 면역원성 조성물 또는 백신은 원하는 치료 효과를 얻기 위해 하루에 1 회 이상, 하루에 대상 체중의 약 0.001 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 약 0.1 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 바람직하게는 약 0.5 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 보다 바람직하게는 약 1 mg/kg 내지 약 25 mg/kg 투여할 수 있다

[0228] 본원에 기재된 투여량 범위는 성인에게 본 발명의 글리칸 콘주케이트, 면역원성 조성물 또는 백신의 투여에 대한 지침을 제공함을 알 것이다. 어린이 또는 청소년에게 투여되는 양은 의사 또는 당업자가 결정할 수 있으며, 성인에게 투여되는 양보다 낮거나 동일할 수 있다.

[0229] 본 발명의 글리칸 콘주케이트, 면역원성 조성물 또는 백신은 하나 이상의 추가의 치료학적 활성제와 조합하여 투여될 수 있다. 이들은 그들의 생체 이용률을 개선시키고, 그들의 대사를 감소 및/또는 변형시키며, 그들의 배설을 억제하고, 및/또는 신체 내의 분포를 변형시키는 추가의 치료학적 활성제와 조합하여 투여될 수 있다. 또한, 사용된 치료법은 동일한 질환에 대해 원하는 효과를 달성할 수 있고, 및/또는 상이한 효과를 달성할 수 있음을 이해할 것이다.

[0230] 제공된 글리칸 콘주케이트, 면역원성 조성물 또는 백신은 하나 이상의 추가의 치료학적 활성제와 동시에, 투여하기 전에 또는 투여 후에 투여될 수 있다. 일반적으로, 각각의 약제는 그 약제에 대해 결정된 투여량 및/또는 시간 스케줄로 투여 될 것이다. 조합에서 이용되는 추가의 치료학적 활성제는 단일 조성물로 함께 투여되거나 상이한 조성물로 개별적으로 투여될 수 있다. 치료 요법에서 사용하는 특정 조합은 본 발명의 화합물과 추가의 치료학적 활성 약제와의 양립가능성 및/또는 달성되는 바람직한 치료 효과를 고려할 것이다. 병용 요법에서 추가적인 치료학적 활성제는 이들이 개별적으로 이용되는 수준을 초과하지 않는 수준에서 이용될 것으로 예상된다. 어떤 경우에는 조합하여 활용되는 수준이 개별적으로 활용되는 수준보다 낮을 수 있다.

[0231] 특정 구현예에서, 제공된 글리칸 콘주케이트, 면역원성 조성물 또는 백신은 하나 이상의 본원에 기술된 추가적인 약제학적 제제와 함께 투여된다. 특정 구현예에서, 추가적인 약제학적 제제는 항암제이다. 항암제는 생물학적 치료용 항암제 뿐만 아니라 화학적 치료제를 포함한다.

[0232] 생물학적 치료용 항암제에는 인터페론, 사이토카인 (예 : 종양 괴사 인자, 인터페론 α , 인터페론 γ), 백신, 조혈 성장 인자, 단일 클론 혈청 치료제, 면역 자극제 및/또는 면역 조절제(예, IL-1, 2, 4, 6, 또는 12), 면역 세포 성장 인자(예: GM-CSF) 및 항체 (예, HERCEPTIN(trastuzumab), T-DM1, AVASTIN(bevacizumab), ERBITUX(cetuximab), VECTIBIX(panitumumab), RITUXAN(rituximab), BEXXAR(tositumomab))를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0233] 화학적 치료제는 항-에스트로겐(예, 타목시펜, 랄록시펜 및 메게스트롤), LHRH 아고니스트 (예. 고세 렐린 및 루프로라이드), 항-안드로겐 (예, 플루타미드 및 비칼루타미드), 광역학요법 (예, 베르토포르핀(vertoporfin, BPD-MA), 프탈로시아닌, 감광제 Pca4, 및 데메톡시-하이포클린 A (2BA-2-DMHA)), 질소 머스터드 (예: 시클로포스파미드, 이포스파마이드, 트로포스파미드, 클로람부실, 에스트라스무스틴 및 멜팔란), 니트로소 요소(예, 카르무스틴(CCNU) 및 로무스틴(CCNU)), 알킬설포네이트(예, 부설판 및 트레오설판), 트리아젠(예, 다카르바진, 테모졸로미드), 백금 함유 화합물(예, 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴), 빈카 알칼로이드(예, 빈크리스틴,

빈블라스틴, 빈데신 및 비노렐빈), 탁소이드(예, 파클리탁셀 또는 파클리탁셀 균등물, 예를 들어, 나노 입자 알부민-결합 파클리탁셀(Abraxane) 도코사 헥사엔산 결합-파클리탁셀(DHA-파클리탁셀, Taxoprexin), 폴리글루타메이트 결합-파클리탁셀(PG-파클리탁셀, 파클리탁셀 폴리글루멕스, CT-2103, XYOTAX), 종양 활성화된 프로드러그(tumor-activated prodrug, TAP) ANG1005 (파클리탁셀의 3분자에 결합된 안지오펩-2), 파클리탁셀-EC-1(erbB2-인자 웨티드EC-1에 결합된 파클리탁셀), 및 글루코스-컨쥬게이트된 파클리탁셀, 예를 들어, 2'-파클리탁셀 메틸- 2-글루코파라노실 숙시네이트; 도세탁셀, 탁솔), 에피포도필린(예, 에토포사이드, 에토포사이드 포스페이트, 테니포사이드, 토포테칸, 9-아미노캄토테신(aminocamptothecin), 캄토이리노테칸, 이리노테칸, 크리스타놀, 마이토마이신 C), 항 대사제, DHFR 억제제(예, 메토트렉세이트, 디클로로메토 트랙세이트, 트리메트렉세이트, 에다트렉세이트), IMP 탈수소 효소 억제제(예, 미코페놀산, 티아조퓨린, 리바비린 및 EICAR), 리보누클레오티드 환원 효소 저해제(예, 히드록시우레아 및 데페록사민), 우라실 유사체(예, 5-플루오로우라실(5-FU), 플록스우리딘, 독시플루리딘, 라티트렉세드(ratitrexed), 테가푸르-우라실, 카페시타빈), 시토신 유사체 (예, 시타라빈 (araC), 시토신 아라비노사이드 및 플루다라빈), 퓨린 유사체(예, 머캅토퓨린 및 티오구아닌), 비타민 D3 유사체(예, EB 1089, CB 1093, 및 KH 1060), 단백지질화(isoprenylation) 억제제 (예, 로바스타틴), 도파민 성 신경독(dopaminergic neurotoxins) (예, 1-메틸-4-페닐피리디니움 이온), 세포 주기 억제제 (예, 스타우로스포린), 액티노마이신(예, 액티노마이신 D, 닥티노마이신), 블레오마이신(예, 블레오마이신 A2, 블레오마이신 B2, 폐풀로마이신), 안트라사이클린(예, 다우노루비신, 독소루비신, 폐길화 리포좀성 독소루비신, 이데루비신, 에피루비신, 피라루비 신, 조루비신, 미톡산트론), MDR 억제제 (예, 베라파밀), Ca²⁺ ATPase 억제제 (예, 탑시 가르긴(thapsigargin)), 이마티닙, 탈리도미드, 레나리도미드, 티로신 키나아제 억제제 (예,, 액시티닙(AG013736), 보수티닙 (SKI-606), 세디라닙 (RECENTINTM, AZD2171), 다사티닙(SPRYCEL®, BMS-354825), 엘로티닙(TARCEVA®), 제피티닙(IRESSA®), 이마티닙(Gleevec®, CGP57148B, STI-571), 라파티닙(TYKERB®, TYVERB®), 레스타우르티닙(CEP-701), 네라티닙 (HKI-272), 닐로티닙 (TASIGNA®), 세마키닙 (세마키닙, SU5416), 수니티닙(SUTENT®, SU11248), 토세라닙 (PALLADIA®), 반데타닙(ZACTIMA®, ZD6474), 바타라닙(PTK787, PTK/ZK), 트拉斯투주맙(HERCEPTIN®), 베바시주맙 (AVASTIN®), 리툭시맙(RITUXAN®), 세툭시맙(ERBITUX®), 파니투무맙(VECTIBIX®), 라니비주맙(Luentis®), 닐로티닙(TASIGNA®), 소라페닙(NEXAVAR®), 에베로니무스(AFINITOR®), 알렘투주맙(CAMPATH®), 쟈투주맙 오조가마이신 (MYLOTARG®), 템시로리무스(TORISEL®), ENMD-2076, PCI-32765, AC220, 도비티닙 락테이트(TKI258, CHIR-258), BIBW 2992 (TOVOKTM), SGX523, PF-04217903, PF-02341066, PF-299804, BMS-777607, ABT-869, MP470, BIBF 1120 (VARGATEF®), AP24534, JNJ-26483327, MGCD265, DCC-2036, BMS-690154, CEP-11981, 티보자닙(AV-951), OSI-930, MM-121, XL-184, XL-647, 및/또는 XL228), 프로테아좀 억제제(예,, 보르테조닙(Velcade)), mTOR 억제제(예,, 라파마이신, 템시로리무스(CCI-779), 에베로리무스(RAD-001), 리다포로리무스, AP23573 (Ariad), AZD8055 (AstraZeneca), BEZ235 (Novartis), BGT226 (Norvartis), XL765 (Sanofi Aventis), PF-4691502 (Pfizer), GDC0980 (Genetech), SF1126 (Semafoe) 및 OSI-027 (OSI)), 오블리메르센(oblimersen), 쟈시타빈(gemcitabine), 카르미노마이신, 류코보린, 페메트렉스트(pemetrexed), 시클로포스파미드, 다카르바진, 프로카르비진, 프레드니솔론, 텍사메타손, 캠파테신, 필카마이신(plicamycin), 아스파라기나아제, 아미노프 테린(aminopterin), 메토프테린(methotepatin), 포르피로마이신(porfirromycin), 멜파란(melphalan), 류로시дин(leurosidine), 류로신(leurosine), 클로람부실(chlorambucil), 트라벡테딘(trabectedin), 프로카바진(procarbazine), 디스코데몰라이드(discothermolidide), 카르미노마이신(carminomycin), 아미노프테린(aminopterin), 및 헥사메틸 멜라민(hexamethyl melamine)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0234]

특정 구현예에서, 치료되는 피검체는 포유동물이다. 특정 구현예에서, 피검체는 인간이다. 특정 구현예에서, 피검체는 가축화된 동물, 예를 들어, 개, 고양이, 소, 돼지, 말, 양, 또는 염소이다. 특정 구현예에서, 피검체는 반려 동물, 예를 들어, 개 또는 고양이이다. 특정 구현예에서, 피검체는 가축 동물, 예를 들어, 소, 돼지, 말, 양 또는 염소이다. 특정 구현예에서, 피검체는 동물원 동물이다. 다른 구현예에서, 피검체는 연구 동물, 예를 들어, 설치류, 개, 또는 비-인간 영장류이다. 특정 구현예에서, 피검체는 비-인간 형질전환 동물, 예를 들어, 형질전환 마우스 또는 형질전환 돼지이다.

[0235]

실시예

[0236]

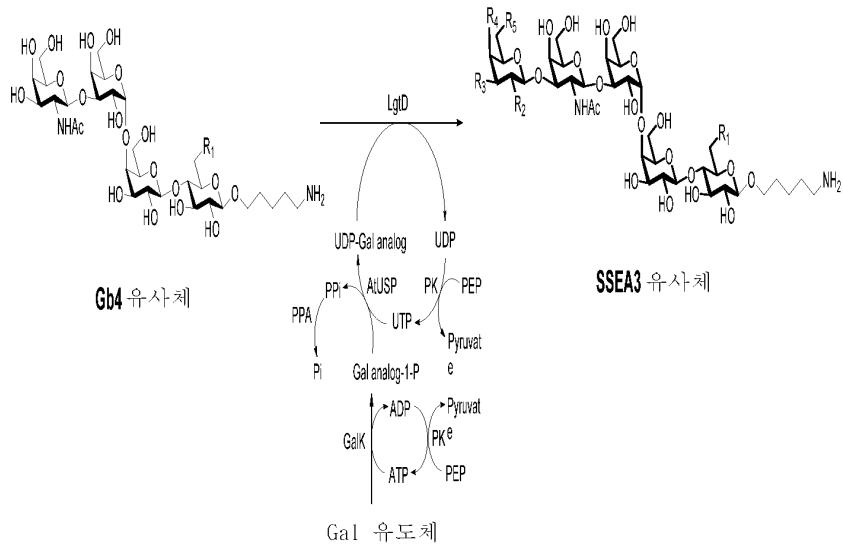
하기 실시예는 본 발명의 바람직한 구현예를 입증하기 위해 포함된다. 하기 실시예에 기재된 기술들이 본 발명의 실행에서 잘 가능하도록 본 발명자들에 의해 발견된 기술을 나타내고, 이에 따라, 이의 실행을 위한 바람직한 모드를 구성하는 것으로 고려될 수 있다는 것이 당업자에 의해 인식되어야 한다. 그러나, 당업자는, 본 발명을 고려하여, 여러 변형들이 기재된 특정 구현예에서 이루어질 수 있고 또한, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나

지 않으면서 같은 또는 유사한 결과를 얻을 수 있다는 것을 인식하여야 한다.

[0237] 실시예 1 : SSEA3 유사체의 대표적인 합성

[0238] A: SSEA3 유사체-NH₂의 화학-효소적 합성

[0239] 반응식 1. 재생 시스템에 의한 SSEA3 유사체-NH₂의 합성



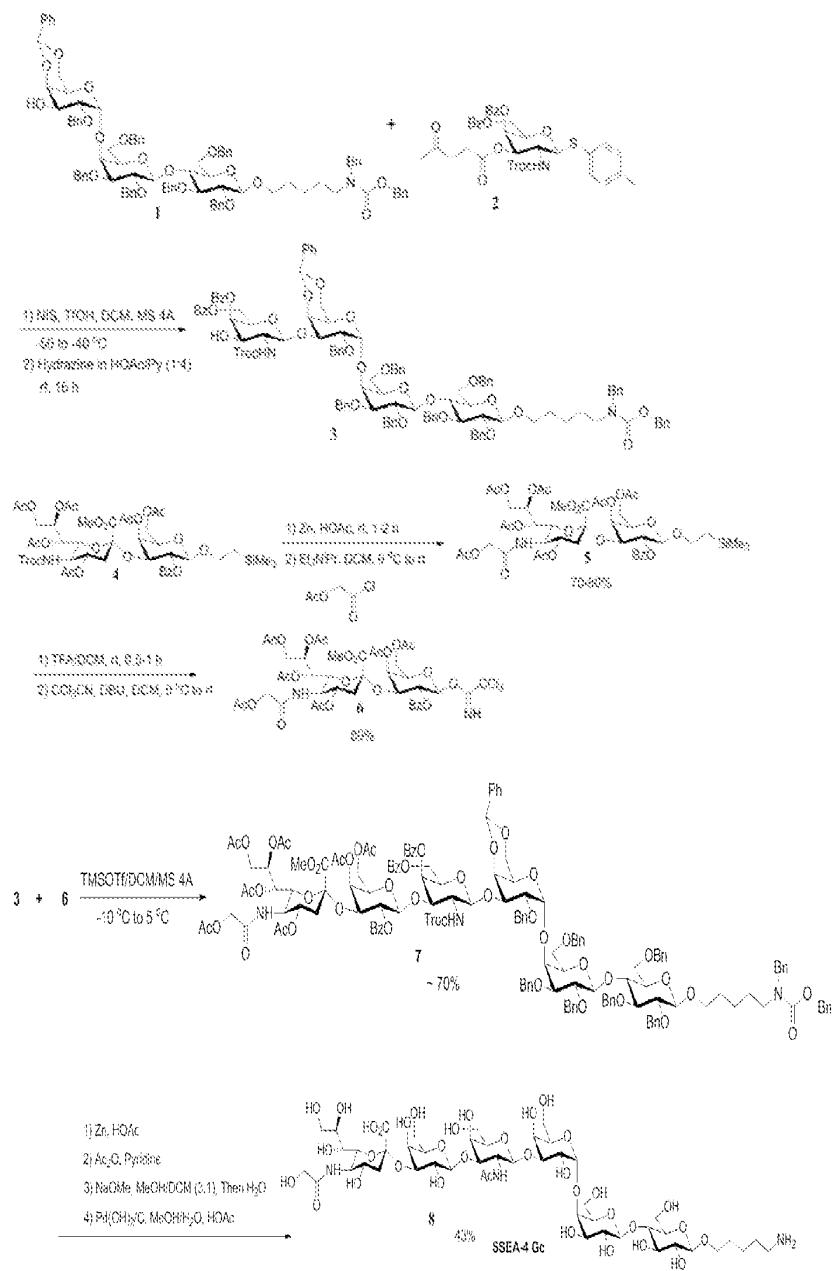
[0240]

용액 중에서 화합물 Gb4 유사체, ATP, UTP, 갈락토오스 유사체, 포스포에놀피루베이트, MgCl₂를 효소 갈락토키나아제(GalK), UDP-당 피로포스포릴라아제(AtUSP), 베타-1,3-갈락토실트랜스퍼라아제(LgtD), 피루베이트 키나아제(PK), 및 무기 피로포스파타아제(PPA)와 조합하고, 반응을 7.0에서 조절된 pH와 함께 실온에서 개시하고, 더 이상 생성물이 관찰되지 않을 때까지 반응을 TLC에 의해 모니터링하였다. 반응의 종료 후에, 반응 혼합물 중에서 단백질을 30분 동안 가열, 이후 원심분리 및 0.22 μM 필터로의 여과에 의해 제거하였다. 이후에, 여액을 C-18 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 분획을 수집하고, TLC에 의해 모니터링하였다.

[0241] 실시예 2: SSEA4 유사체의 대표적인 합성

[0242] A: SSEA4-Gc-NH₂의 화학적 합성

[0244]

반응식 2: 화학적 합성에 의한 SSEA4-Gc-NH₂의 합성

[0245]

[0246]

분말화된 분자체(4Å, 0.5 g)를 6 mL의 디클로로메탄(CH_2Cl_2) 중 수용체(3)(93 mg, 0.045 mmol) 및 이미데이트(6)(76 mg, 0.068 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. -10°C로 냉각시킨 후에, TMSOTf(5 μl , 0.03 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 5°C(냉장실)에서 밤새 교반하였다. 트리에틸아민(0.5 mL)의 첨가에 의해 반응 혼합물을 켄칭하고, CH_2Cl_2 로 회석시키고, 세라이트의 패드를 통해 여과하였다. 여액을 소듐바이카보네이트 포화수용액(NaHCO_3)로 세척하고, 소듐 설페이트(Na_2SO_4)로 건조시키고, 여과하고, 농축하였다. 잔부를 플래시 실리카 젤 크로마토그래피(flash silica gel chromatography)(헥산 중 50 내지 100% EtOAc)에 의해 정제하여 이당류 이미데이트(6)로부터의 불순물로 오염된 육당류(7)를 수득하였다. 수율은 NMR에 의해 측정하였다(90 mg, 68%).

[0247]

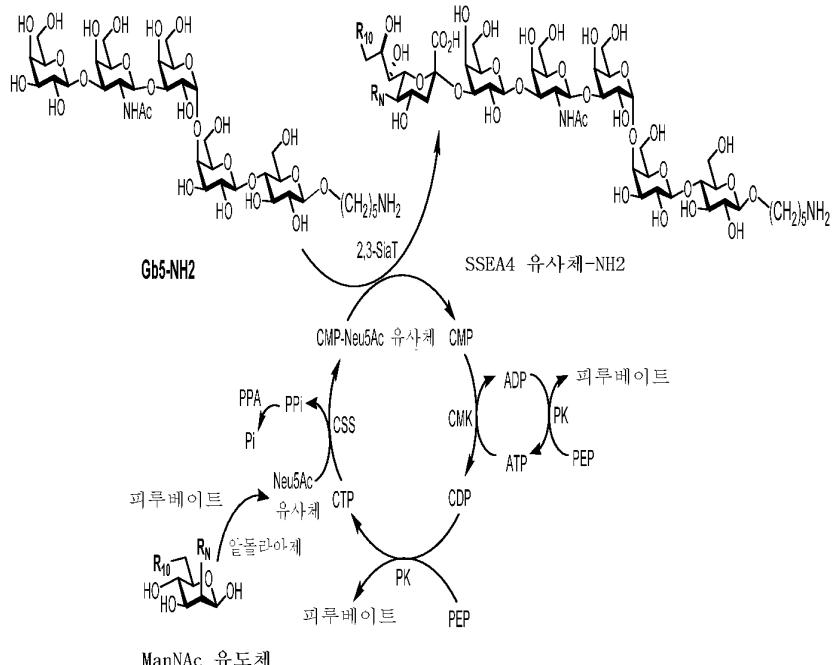
아연 더스트(Zinc dust)(1 g)를 빙초산(5.0 mL) 중 육당류(7)(90 mg, 0.03 mmol)의 용액에 첨가하고, TLC 분석에 의해 화합물(7)이 소비될 때까지 1 내지 2시간 동안 혼합물을 교반하였다. 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 로 회석시키고, 세라이트의 패드를 통해 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 잔부를 피리딘/ Ac_2O (1:1, 2.0 mL)에 용해시키고, 1시간 동안 교반하고, 농축하였다. 잔부를 플래시 실리카 젤 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 아실화된 물질

을 무수 CH_2Cl_2 및 MeOH (2:8, 10 mL)에 용해시키고, NaOMe (45 mg)로 처리하였다. 실온에서 4시간 동안 교반한 후에, 물(0.2 mL)을 첨가하고, 얻어진 혼합물을 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 *amberlyst IR-120*으로 중화시키고, 여과하고, 농축하였다. 잔부를 역상 크로마토그래피(RP-18)에 의해 정제하였다.

[0248] 팔라듐 하이드록사이드(차콜(Charcoal) 중 20%, 50 mg)를 메탄올/물/아세트산(10:10:0.5, 6 mL)의 혼합물 중부가물에 첨가하고, 반응 혼합물을 수소의 양압 하, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고, 농축하였다. 잔부를 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물(8)(17 mg, 43%)을 수득하였다.

[0249] B : SSEA4 유사체-NH₂의 화학효소적 합성

[0250] 반응식 3. 재생 시스템에 의한 SSEA4 유사체-NH₂의 합성 경로



[0251]

[0252] SSEA4 유사체-NH₂를 반응식 3에 기술된 바와 같은 효소적 재생 전략(enzymatic regeneration strategy)을 통해 합성하였다. 이러한 시스템에서, ManNAc 유도체를 피루베이트와 반응시키고, 알돌라아제 촉매작용에 의해 Neu5Ac 유사체로 변형시키고, 이후에, 재생 시스템[J. Am. Chem. Soc. 2013, 135, 14831-14839]에서 Gb5-NH₂를 도입하여 예시적인 SSEA4 유사체-NH₂를 수득하였다.

[0253] 반응 조건의 세부사항은 하기와 같이 기술된다: Gb5-NH₂(18 μmol), CTP(5 μmol), ManNAc 유도체(27 μmol), 소듐 피루베이트(81 μmol), PEP(55 μmol), 및 ATP(5 μmol)를 50 mM 트리스-HCl 완충제(pH 8.0)에 용해시켰다. 효소 알파-(2,3)-시알릴트랜스퍼라아제(20 유닛), 시알산 알돌라아제(20 유닛), CMK(10 유닛), Pykf(10 유닛), PPA(10 유닛), 및 Pmcss(10 유닛)를 용액에 첨가하고, 반응을 37°C에서 8시간 동안 인큐베이션하고, TLC 플레이트에 의해 모니터링하였다. 반응의 종료 시에, 100°C에서 5분 동안 가열에 의해 효소를 변성시켰다. 요망되는 SSEA4 유사체-NH₂를 G25, DEAE, 및 SP 컬럼(80%)에 의해 정제하였다.

[0254] SSEA4유사체-NH₂의 ¹H NMR

[0255] B-1. SSEA4-펜틸아민($R = \text{NHAc}$, $R_{10} = \text{OH}$)

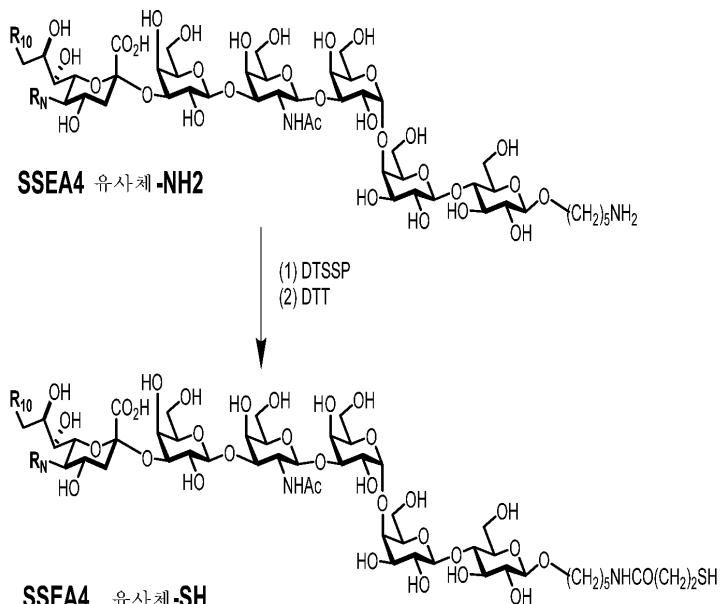
[0256] ¹H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.94 (d, $J=3.8\text{Hz}$, 1H), 4.72 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 4.54-4.50 (m, 3H), 4.40 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 4.27 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 4.20 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 4.10-3.54 (m, 37 H), 3.34-3.31 (m, 1H), 3.02 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 2.78 (dd, $J=12.4$, 4.6Hz, 1H), 2.05 (m, 6H), 1.80 (t, 12.2Hz, 1H), 1.74-1.67 (m, 4H), 1.51-1.45 (m, 2H)

[0257] B-2. Neu5Gc_SSEA4-펜틸아민($R_N = \text{NHGc}$, $R_{10} = \text{OH}$)

- [0258] ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.89 (d, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 4.66 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H), 4.52–4.45 (m, 3H), 4.37 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 4.23 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 4.15 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 4.10–3.48 (m, 35H), 3.27 (m, 1H), 2.98 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 2.73 (dd, $J=4.8$, 12.4Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.77 (t, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 1.72–1.61 (m, 4H), 1.48–1.39 (m, 2H).
- [0259] B-3. Ac-알카닐_SSEA4-펜틸아민(RN = $\text{NHCOC}_2\text{H}_4\text{C}\equiv\text{CH}$, R10 = OH)
- [0260] ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.89 (d, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 4.67 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.52–4.45 (m, 3H), 4.37 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 4.23 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 4.08–3.54 (m, 38H), 3.28 (m, 1H), 2.99 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 2.53–2.4 (m, 4H), 2.37 (s, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.77 (t, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 1.72–1.62 (m, 4H), 1.49–1.41 (m, 2H).
- [0261] B-4. Ac-플루오라아이드_SSEA4-펜틸아민(RN = NHCOCH_2F , R10 = OH)
- [0262] ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.90 (d, $J=46.4\text{Hz}$, 2H), 4.90 (d, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 4.67 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 4.53–4.46 (m, 3H), 4.37 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 4.24 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 2H), 4.16 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 4.09–3.51 (m, 34H), 3.28 (m, 1H), 2.99 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 2.75 (dd, $J=4.8$, 12.4Hz, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.79 (t, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 1.72–1.62 (m, 4H), 1.48–1.40 (m, 2H).
- [0263] B-5. Ac-페닐_SSEA4-펜틸아민(R = NHCOCH_2Ph , R10 = OH)
- [0264] ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7.39–7.30 (m, 5H), 4.90 (d, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 4.66 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.52–4.46 (m, 3H), 4.37 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 4.23 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 4.15 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 4.08–3.47 (m, 38H), 3.36(dd, $J=1.6$, 9.2Hz, 1H), 3.28 (m, 1H), 2.99 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 2.73 (dd, $J=4.8$, 12.4Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.76 (t, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 1.72–1.61 (m, 4H), 1.51–1.40 (m, 2H).
- [0265] B-6. Ac-아지도_SSEA4-펜틸아민(RN = $\text{NHCOCH}_2\text{N}_3$, R10 = OH)
- [0266] ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.88 (d, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 4.66 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.52–4.44 (m, 3H), 4.36 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 4.23 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 4.08–3.54 (m, 35H), 3.27 (m, 1H), 2.98 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 2.73 (dd, $J=4.8$, 12.4Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.77 (t, $J=12.4\text{Hz}$, 1H), 1.72–1.60 (m, 4H), 1.48–1.39 (m, 2H).
- [0267] B-7. 5'-아지도_SSEA4-펜틸아민(RN = N_3 , R10 = OH)
- [0268] ^1H NMR (400 MHz, D_2O): δ 4.90 (d, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 4.67 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.51–4.47 (m, 3H), 4.37 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 4.23 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 4.15 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 4.08–3.44 (m, 35H), 3.31–3.27 (m, 1H), 2.99 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 2.73 (dd, $J=4.8$, 12.4Hz, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.76 (t, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 1.72–1.63 (3, 4H), 1.48–1.41 (m, 2H); $\text{C}_{46}\text{H}_{78}\text{N}_5\text{O}_{33}$ -에 대한 HRMS(ESI-TOF, M-H $^-$) 이론치 1228.4579, 실험치 1228.4621.
- [0269] B-8. 9'-아지도_SSEA4-펜틸아민(RN = NHAc , R10 = N_3)
- [0270] ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.85 (d, $J=3.8\text{Hz}$, 1H), 4.67 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.51–4.44 (m, 3H), 4.37 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 4.23 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 4.10–3.40 (m, 33 H), 3.27 (m, 1H), 2.98 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 2.72 (dd, $J=4.8$, 12.8Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.75 (t, $J=12.4\text{Hz}$, 1H), 1.72–1.60 (m, 4H), 1.58–1.38 (m, 2H).
- [0271] B-9. NHBz_SSEA4-펜틸아민(RN = HBz, R10 = OH)
- [0272] ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7.80–7.73 (m, 2H), 7.63 (m, 1H), 7.56–7.51 (m, 2H), 4.92 (d, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 4.70 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.58–4.47 (m, 3H), 4.40 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 4.26 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 4.19 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 4.15–3.53 (m, 36H), 3.31 (m, 1H), 3.01 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 2.82 (dd, $J=4.4$, 12.4Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.87 (t, $J=12.0\text{Hz}$, 1H), 1.72–1.60 (m, 4H), 1.48–1.39 (m, 2H).

[0273] C : SSEA4 유사체-SH의 가교반응

[0274] 반응식 4: DTSSP 가교반응을 통한 SSEA4 유사체-SH의 합성



[0275]

[0276] 특정 구현예에서, DTSSP(2.0 eq) 및 SSEA4 유사체-NH2(1.0 eq)를 0.1M 포스페이트 완충제, pH 7.4(~3 mg/ml)에 혼합하였다. 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후에, 반응 혼합물을 40°C로 가온시키고, DTT(9.0 eq)를 첨가하였다. 40°C에서 1.5시간 동안 교반한 후에, 반응 혼합물을 진공 중에 농축하고, 잔부를 LH-20 컬럼에 의해 정제하여 백색 고체의 SSEA4 유사체-SH를 수득하였다(반응식 4).

[0277] SSEA4 유사체-SH의 ¹H NMR

[0278] C-1 : SSEA4-SH (RN = NHAc, R10 = OH)

[0279] ¹H NMR (400Hz, D₂O) δ 4.88 (d, J=4.0Hz, 1H), 4.65 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.50-4.44 (m, 3H), 4.36 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.22 (d, J=2.9Hz, 1H), 4.14 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.04-3.55 (m, 35H), 3.26 (t, J=8.5Hz, 1H), 3.18 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.74-2.70 (m, 3H), 2.49 (t, J=6.8Hz, 2H), 1.994 (s, 3H), 1.992 (s, 3H), 1.75 (t, J=12.2Hz, 1H), 1.61 (tt, J=6.7, 6.7Hz, 2H), 1.52 (tt, J=7.1, 7.1Hz, 2H), 1.40-1.36 (m, 2H);

[0280] C-2: Neu5Gc_SSEA4-SH (RN = NHGc, R10 = OH)

[0281] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.89 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.66 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.53- 4.43 (m, 3H), 4.36 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.22 (d, J=3.0Hz, 1H), 4.15 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.1 1-3.48 (m, 38H), 3.27 (t, J=8.4Hz, 1H), 3.19 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.78-2.71 (m, 3H), 2.51 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.78 (t, J=12.1Hz, 1H), 1.61 (q, J=7.1Hz, 2H), 1.52 (q, J=7.1Hz, 2H), 1.39 (q, J=8.0Hz, 2H).

[0282] C-3 : Ac-알키닐_SSEA4-SH (RN = NHCOC₂H₄C≡CH, R10 = OH)

[0283] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.94 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.72 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.58- 4.48 (m, 3H), 4.41 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.30-4.26 (m, 1H), 4.21 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.14 -3.54 (m, 37H), 3.32 (t, J=8.6Hz, 1H), 3.24 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.83-2.74 (m, 3H), 2.59-2.49 (m, 5H), 2.43 (s, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.82 (t, J=12.1Hz, 1H), 1.67 (p, J=6.9Hz, 2H), 1.58 (p, J=6.9Hz, 2H), 1.48 - 1.38 (m, 2H).

[0284] C-4: Ac-플루오라이드_SSEA4-SH (RN = NHCOCH₂F, R10 = OH)

[0285] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.90 (d, J=46.4Hz, 2H), 4.95 (d, J=4.0Hz, 1H), 4.72 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.59- 4.48 (m, 3H), 4.41 (t, J=6.6Hz, 1H), 4.31- 4.26 (m, 1H), 4.23 -4.18 (m, 1H), 4.14-3.54 (m, 36H), 3.36-

3.29 (m, 1H), 3.25 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.80 (m, 3H), 2.57 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.06 (s, 3H), 1.84 (t, J=12.2Hz, 1H), 1.67 (p, J=6.9Hz, 2H), 1.58 (p, J=7.0Hz, 2H), 1.43 (q, J=8.3Hz, 2H).

[0286] C-5: Ac-페닐 SSEA4-SH (RN = NHCOCH₂Ph, R10 = OH)

[0287] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7.48-7.32 (m, 5H), 4.94 (d, J=3.6Hz, 1H), 4.73-4.68 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.52 (m, 3H), 4.41 (t, J=6.4Hz, 1H), 4.29-4.26 (m, 1H), 4.20 (d, J=3.0Hz, 1H), 4.13-3.51 (m, 37H), 3.39 (dd, J=9.0, 1.8Hz, 1H), 3.32 (t, J=8.6Hz, 1H), 3.25 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.83-2.74 (m, 3H), 2.56 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.04 (s, 3H), 1.80 (t, J=12.1Hz, 1H), 1.67 (q, J=7.2Hz, 2H), 1.57 (q, J=7.1Hz, 2H), 1.48-1.38 (m, 2H).

[0288] C-6: Ac-σ-지도_SSEA4-SH (RN = NHCOCH₂N₃, R10 = OH)

[0289] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.88 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.66 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.52-4.43 (m, 3H), 4.36 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.22 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.14 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.08-3.47 (m, 38H), 3.26 (t, J=8.4Hz, 1H), 3.19 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.74 (m, 3H), 2.51 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.76 (t, J=12.1Hz, 1H), 1.61 (q, J=7.1Hz, 2H), 1.53 (p, J=7.0Hz, 2H), 1.38 (q, J=8.3Hz, 2H).

[0290] C-7: 5'-σ-지도_SSEA4-SH (RN = N₃, R10 = OH)

[0291] ¹H NMR (400Hz, D₂O) δ 4.90 (d, J=4.0Hz, 1H), 4.67 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.51-4.46 (m, 3H), 4.37 (t, J=6.4Hz, 1H), 4.24 (d, J=2.8Hz, 1H), 4.15 (d, J=2.8Hz, 1H), 4.01-3.44 (m, 35H), 3.28 (t, J=8.4Hz, 1H), 3.21 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.78-2.72 (m, 3H), 2.52 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.02 (s, 3H), 1.77 (t, J=12.0Hz, 1H), 1.67-1.60 (m, 2H), 1.58-1.50 (m, 2H), 1.43-1.37 (m, 2H)

[0292] C-8: 9'-σ-지도_SSEA4-SH (RN = NHAc, R10 = N₃)

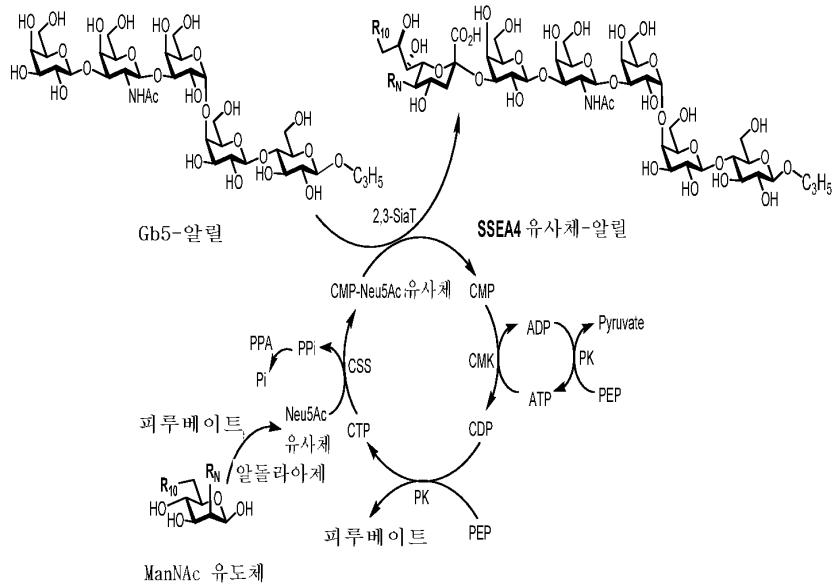
[0293] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.90 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.68 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.48 (dd, J=13.2, 7.9Hz, 3H), 4.37 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.26-4.22 (m, 1H), 4.16 (d, J=3.3Hz, 1H), 4.09-3.44 (m, 36H), 3.31-3.24 (m, 1H), 3.20 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.79-2.70 (m, 3H), 2.52 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.02 (d, J=2.0Hz, 6H), 1.76 (t, J=12.1Hz, 1H), 1.63 (p, J=6.9Hz, 2H), 1.54 (p, J=6.9Hz, 2H), 1.39 (q, J=8.3Hz, 2H).

[0294] C-9: NHBz_SSEA4-SH (R = HBz, R10 = OH)

[0295] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7.80-7.73 (m, 2H), 7.66-7.58 (m, 1H), 7.52 (dd, J=8.4, 7.0Hz, 2H), 4.91 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.69 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.57-4.44 (m, 3H), 4.38 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.27-4.22 (m, 1H), 4.18 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.16-3.52 (m, 36H), 3.29 (t, J=8.5Hz, 1H), 3.20 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.84-2.72 (m, 3H), 2.52 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.03 (s, 3H), 1.89 (t, J=12.2Hz, 1H), 1.63 (p, J=6.8Hz, 2H), 1.53 (q, J=7.1Hz, 2H), 1.40 (q, J=8.2Hz, 2H).

[0296] D : SSEA4 유사체-알릴의 화학효소적 합성

[0297] 반응식 5. 재생 시스템에 의한 SSEA4 유사체-알릴의 합성 경로



[0298]

[0299] SSEA4 유사체-알릴을 반응식 5에 기술된 바와 같은 효소 재생 전략을 통해 합성하였다. 이러한 시스템에서, ManNAc 유도체를 피루베이트와 반응시키고, 알돌라아제 촉매작용에 의해 Neu5Ac 유사체로 변형시키고, 이후에, 재생 시스템에서 Gb5-알릴을 도입하여(J. Am. Chem. Soc. 2013, 135, 14831-14839) 예시적인 SSEA4 유사체-알릴을 수득하였다(반응식 5).

[0300]

반응 조건의 세부사항은 하기와 같이 기술된다: Gb5-알릴($18 \mu\text{mol}$), CTP($5 \mu\text{mol}$), ManNAc 유도체($27 \mu\text{mol}$), 소듐 피루베이트($81 \mu\text{mol}$), PEP($55 \mu\text{mol}$), 및 ATP($5 \mu\text{mol}$)를 50 mM 트리스-HCl 완충제(pH 8.0)에 용해시켰다. 효소 알파-(2,3)-시알릴트랜스페라아제(20 유닛), 시알산 알돌라아제(20 유닛), CMK(10 유닛), Pykf(10 유닛), PPA(10 유닛), 및 Pmcss(10 유닛)를 용액에 첨가하고, 반응을 37°C 에서 8시간 동안 인큐베이션하고, TLC 플레이트에 의해 모니터링하였다. 반응의 종료 시에, 100°C 에서 5분 동안 가열시킴으로써 효소를 변성시켰다. 요망되는 SSEA4-유사체-알릴을 G25, DEAE, 및 SP 컬럼(80%)에 의해 정제하였다.

[0301]

SSEA4 유사체-알릴의 ^1H NMR

[0302]

D-1. SSEA4-알릴 ($\text{R}_1 = \text{OH}$, $\text{R}_N = \text{NHAc}$, $\text{R}_{10} = \text{OH}$)

[0303]

^1H NMR (400 MHz , D_2O) δ 6.00 (m, 1H), 5.40-5.37 (d, $J=17.3\text{Hz}$, 1H), 5.30-5.28 (d, $J=10.4\text{Hz}$, 1H), 4.92 (d, $J=3.9\text{Hz}$, 1H), 4.70 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 4.54-4.51 (m, 3H), 4.40-4.38 (m, 2H), 4.25-4.18 (m, 3H), 4.10-3.52 (m, 34 H), 3.35-3.32 (t, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 2.77 (dd, $J=12.5$, 4.6Hz, 1H), 2.03 (s, 6H), 1.80 (t, $J=12.1\text{Hz}$, 1H)

[0304]

D-2. Neu5Gc_SSEA4-알릴($\text{R}_1 = \text{OH}$, $\text{R}_N = \text{NHGc}$, $\text{R}_{10} = \text{OH}$)

[0305]

^1H NMR (400 MHz , D_2O) δ 5.99 (m, 1H), 5.38 (dd, $J=1.2$, 17.2Hz, 1H), 5.29 (dd, $J=1.2$, 10.0Hz, 1H), 4.93 (d, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 4.69 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.58-4.51 (m, 3H), 4.43-4.37 (m, 2H), 4.28-4.17 (m, 3H), 4.14-3.52 (m, 34 H), 3.33 (t, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 2.77 (dd, $J=4.8$, 12.4Hz, 1H), 2.03 (s, 3H), 1.81 (t, $J=12.0\text{Hz}$, 1H).

[0306]

D-3. Ac-플루오라이드_SSEA4-알릴 ($\text{R}_1 = \text{OH}$, $\text{R}_N = \text{NHCOCH}_2\text{F}$, $\text{R}_{10} = \text{OH}$)

[0307]

^1H NMR (400 MHz , D_2O) δ 5.96 (m, 1H), 5.36 (dd, $J=1.6$, 17.2Hz, 1H), 5.25 (dd, $J=1.6$, 10.4Hz, 1H), 4.89 (d, $J=46.4\text{Hz}$, 2H), 4.88 (d, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 4.65 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.53-4.45 (m, 3H), 4.39-4.32 (m, 2H), 4.22-3.51 (m, 37H), 3.30 (t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 2.73 (dd, $J=4.4$, 12.4Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.85 (t, $J=12.4\text{Hz}$, 1H).

[0308] D-4. Ac-페닐_SSEA4-알릴 (R1 = OH, RN = NHCOCH₂Ph, R10 = OH)

[0309] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7.45–7.34 (m, 5H), 6.02 (m, 1H), 5.42 (dd, J=1.2, 17.2Hz, 1H), 5.32 (dd, J=1.2, 10.4Hz, 1H), 4.94 (d, J=4.0Hz, 1H), 4.72 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.59–4.52 (m, 3H), 4.46–4.38 (m, 2H), 4.30–3.50 (m, 38H), 3.42–3.32 (m, 4H), 2.77 (dd, J=4.4, 12.8Hz, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.90 (t, J=12.0Hz, 1H).

[0310] D-5. Ac-아지도_SSEA4-알릴 (R1 = OH, RN = NHCOCH₂N₃, R10 = OH)

[0311] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.95 (m, 1H), 5.35 (dd, J=1.6, 17.2Hz, 1H), 5.25 (dd, J=1.2, 10.4Hz, 1H), 4.88 (d, J=3.6Hz, 1H), 4.65 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.52–4.46 (m, 3H), 4.40–4.32 (m, 2H), 4.23–4.18 (m, 3H), 4.12–3.50 (m, 36 H), 3.30 (t, J=5.6Hz, 1H), 2.72 (dd, J=4.8, 12.8Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.84 (t, J=12.4Hz, 1H).

[0312] D-6. 5'-아지도_SSEA4-알릴(R1 = OH, RN = N₃, R10 = OH)

[0313] ¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 5.99 (m, 1H), 4.40 (dd, J=1.6, 17.2Hz, 1H), 5.29 (d, J=10.4Hz, 1H), 4.92 (d, J=3.6Hz, 1H), 4.70 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.56–4.51 (m, 3H), 4.43–4.38 (m, 2H), 4.26 (d, J=3.6Hz, 2H), 4.22 (d, J=6.4Hz, 1H), 4.10–3.46 (m, 35H), 3.36–3.32 (m, 1H), 2.74 (dd, J=4.8, 12.4Hz, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.79 (t, J=12.4 Hz); C₄₄H₇₁N₄O₃₃에 대한 HRMS(ESI-TOF, M-H-) 이론치 1183.4001, 실험치 1183.4056.

[0314] D-7. 9'-아지도_SSEA4-알릴(R1 = OH, RN = NHAc, R10 = N₃)

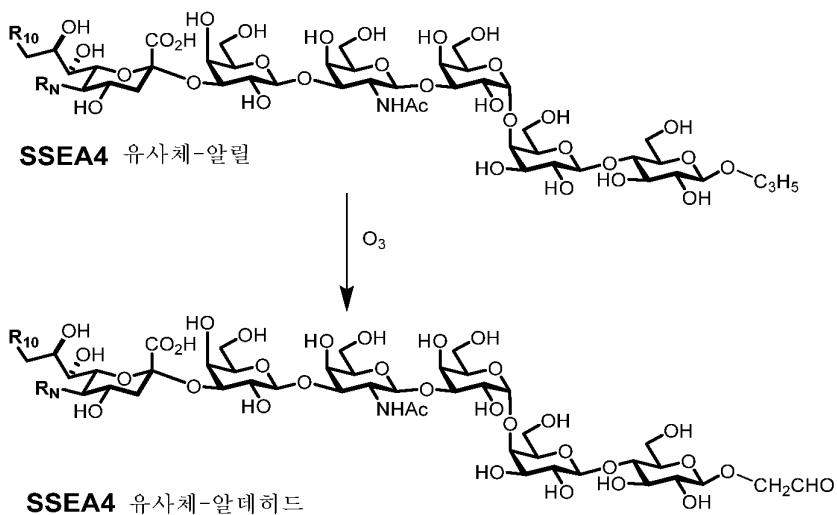
[0315] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.96 (m, 1H), 5.36 (dd, J=1.6, 17.3Hz, 1H), 5.26 (dd, J=1.6, 10.4Hz, 1H), 4.90 (d, J=3.6Hz, 1H), 4.68 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.55–4.47 (m, 3H), 4.41–4.35 (m, 2H), 4.25–4.14 (m, 3H), 4.10–3.41 (m, 34 H), 3.31 (t, J=6.8Hz, 1H), 2.72 (dd, J=4.8, 12.8Hz, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.79 (t, J=12.0Hz, 1H).

[0316] D-8. NHBz_SSEA4-알릴(R1 = OH, RN = HBz, R10 = OH)

[0317] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7.76–7.73 (m, 2H), 7.59 (m, 1H), 7.51–7.46 (m, 2H), 5.90 (m, 1H), 5.30 (dd, J=1.6, 17.2Hz, 1H), 5.25 (dd, J=1.6, 10.8Hz, 1H), 4.89 (d, J=3.6Hz, 1H), 4.67 (d, J=8.8Hz, 1H), 4.55–4.45 (m, 3H), 4.39–4.38 (m, 2H), 4.24–3.50 (m, 34H), 3.30 (t, J=8.0Hz, 1H), 2.77 (dd, J=4.4, 12.4Hz, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.90 (t, J=12.4Hz, 1H).

[0318] E : SSEA4 유사체-알데히드에 대한 산화 반응

[0319] 반응식 6

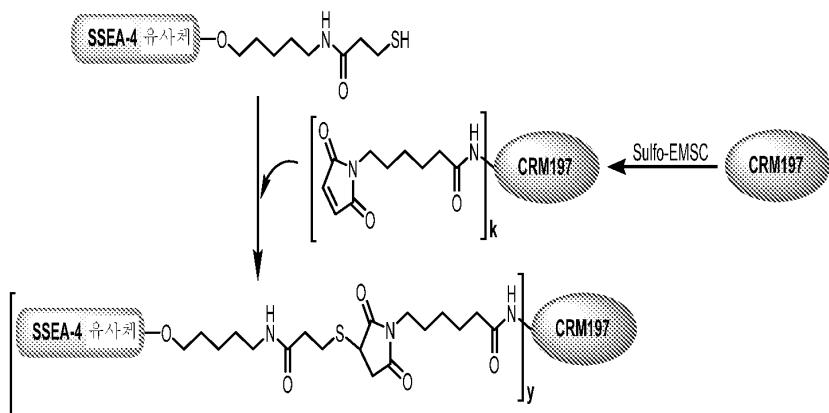


[0320]

- [0321] 특정의 예시적인 구현예에서, 메탄올 및 H₂O 중 SSEA4 유사체-알릴의 교반 용액을 -70°C에서 O₃ 가스 대기 하에서 15분 동안 오존분해하였다. 반응 혼합물을 디메틸 살파이드(Me₂S)에 의해 켄칭시키고, 이후에, 용액을 진공 중에 증발시켰다. 이후에, G15에 의해 요망되는 SSEA4 유사체-알데히드를 정제하였다(반응식 6).
- [0322] SSEA4 유사체-알데히드의 ¹H NMR
- [0323] E-1 : SSEA4-알데히드(RN = NHAc, R10 = OH)
- [0324] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.19 (t, J=4.9Hz, 1H), 4.89 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.66 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.54-4.45 (m, 3H), 4.36 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 4.15 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.08-3.47 (m, 32H), 3.37-3.30 (m, 1H), 2.73 (dd, J=12.4, 4.6Hz, 1H), 2.00 (d, J=0.9Hz, 6H), 1.76 (t, J=12.1Hz, 1H).
- [0325] E-2: Neu5Gc_SSEA4-알데히드(RN = NHGc, R10 = OH)
- [0326] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.20 (t, J=4.9Hz, 1H), 4.91 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.68 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.52 (dt, J=8.5, 4.5Hz, 3H), 4.38 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.27-4.22 (m, 1H), 4.17 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.13-3.51 (m, 34H), 3.38-3.32 (m, 1H), 2.76 (dd, J=12.4, 4.6Hz, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.80 (t, J=12.1Hz, 1H).
- [0327] E-3: Ac-플루오라아이드_SSEA4-알데히드(RN = NHCOCH₂F, R10 = OH)
- [0328] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.21 (t, J=4.9Hz, 1H), 4.90 (d, J=46.4Hz, 2H), 4.69 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.52 (t, J=8.0Hz, 3H), 4.38 (t, J=6.4Hz, 1H), 4.24 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.17 (d, J=3.2Hz, 1H), 4.10-3.45 (m, 33H), 3.40-3.32 (m, 1H), 2.78 (dd, J=12.4, 4.6Hz, 1H), 2.03 (s, 3H), 1.81 (t, J=12.2Hz, 1H).
- [0329] E-4: Ac-페닐_SSEA4-알데히드(RN = NHCOCH₂Ph, R10 = OH)
- [0330] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7.48-7.27 (m, 5H), 5.22 (t, J=4.9Hz, 1H), 4.92 (d, J=4.0Hz, 1H), 4.69 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.56-4.49 (m, 3H), 4.39 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.10-3.45 (m, 34H), 3.43-3.34 (m, 1H), 2.76 (dd, J=12.4, 4.6Hz, 1H), 2.03 (s, 3H), 1.78 (t, J=12.3Hz, 1H).
- [0331] E-5: Ac-아지도_SSEA4-알데히드(RN = NHCOCH₂N₃, R10 = OH)
- [0332] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.20 (t, J=4.9Hz, 1H), 4.90 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.68 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.54-4.48 (m, 3H), 4.38 (t, J=6.4Hz, 1H), 4.24 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.17 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.13-3.51 (m, 34H), 3.39-3.32 (m, 1H), 2.75 (dd, J=12.4, 4.6Hz, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.79 (t, J=12.2Hz, 1H).
- [0333] E-6: 9'-아지도_SSEA4-알데히드(R = NHAc, R10 = N₃)
- [0334] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.20 (t, J=4.9Hz, 1H), 4.91 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.69 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.52 (t, J=8.0Hz, 3H), 4.38 (t, J=6.4Hz, 1H), 4.24 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.17 (d, J=3.2Hz, 1H), 4.10-3.45 (m, 32H), 3.39-3.32 (m, 1H), 2.74 (dd, J=12.5, 4.6Hz, 1H), 2.03 (d, J=2.1Hz, 6H), 1.77 (t, J=12.1Hz, 1H).
- [0335] E-7: NHBz_SSEA4-알데히드(RN = NHBz, R10 = OH)
- [0336] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7.83-7.76 (m, 2H), 7.63 (t, J=7.3Hz, 1H), 7.53 (t, J=7.7Hz, 2H), 5.21 (t, J=4.9Hz, 1H), 4.92 (d, J=3.8Hz, 1H), 4.70 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.57-4.49 (m, 3H), 4.39 (t, J=6.5Hz, 1H), 4.26 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.19 (d, J=3.3Hz, 1H), 4.16-3.52 (m, 32H), 3.40-3.34 (m, 1H), 2.82 (dd, J=12.4, 4.6Hz, 1H), 2.04 (d, J=4.7Hz, 3H), 1.87 (t, J=12.1Hz, 1H).
- [0337] 실시예 3: 설포-EMCS 가교를 통한 SSEA3/SSEA4 유사체 CRM197-콘주게이트의 합성

[0338]

반응식 7



[0339]

[0340]

일반적인 방법:

[0341]

단계 A: SSEA3 유사체-NH₂ 또는 SSEA4-유사체-NH₂를 SSEA3-유사체-SH 또는 SSEA4-유사체-SH로 개질시킴

[0342]

SSEA3/4 유사체 CRM197-콘주게이트를 합성하기 위해, 아민-종결된 SSEA3/4 유사체를 실온에서 PBS 완충제(pH 7.4) 중에서 DTSSP 링커와 반응시켰다. pH 페이퍼에 의해 용액의 pH 값을 모니터링하기 위해, 용액이 중성 또는 산이 될 때까지 용액에 약간의 NaOH 용액을 첨가하였다. 반응을 실온에서 12시간 동안 교반한 후에, DTT를 실온에서 용액에 첨가하였다. 용액을 40°C에서 교반하면서 유지시키고, 이후에, 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔부를 LH-20 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 SSEA3/4 유사체-SH를 수득하였다.

[0343]

단계 B: CRM197을 CRM197-말레이미드로 개질시킴

[0344]

상업적 CRM197의 염(1.0 mg)을 교대로 수중에서의 용해 및 투석(Amicon Ultra-0.5, 10 kDa,)을 통해 제거한 후에, 잔부를 PBS 완충제(pH 6.5, 1.0 mL)에 용해시키고, 샘플 바이알로 옮겼다. 설포-EMCS(1.0 mg, 8.22×10^{-6} mol)를 용액에 첨가하고, 이후에, 반응을 실온에서 2시간 동안 교반하면서 유지시켰다. 혼합물을 Amicon Ultra-0.5(10 kDa)에 의해 정제하였다. 분자량을 체크하기 위한 MALDI-TOF를 사용하고 단백질의 양을 계산하기 위한 BCA 검정을 사용한 후에, CRM197-말레이미드를 다음 단계를 위하여 PBS 완충제(pH 7.2, 1.0 mg/mL) 중에서 저장하였다. MALDI-TOF의 데이터에 따르면, 말레이미드 작용기의 양을 계산할 수 있다. 예를 들어, CRM197-말레이미드의 분자량이 61841일 때, CRM197-말레이미드 상의 말레이미드 작용기의 수는 $(61841 - 58326)/193 = 18.2$ 이었다.

[0345]

단계 C: SSEA3/4 유사체-CRM197 콘주게이트의 합성

[0346]

CRM197-말레이미드를 PBS 완충제(pH 7.2, 농도는 1.0 mg/mL임)에 용해시키고, 상이한 양의 SSEA3/4 유사체-SH(PBS 완충제 중 5.0 mg/mL, pH 7.2)를 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. SSEA3/4 유사체-CRM197 콘주게이트를 Amicon Ultra-0.5(10 kDa)를 이용함으로써 정제하여 투석을 통해 비반응성 SSEA3/4 유사체-SH 및 소듐 포스페이트 염을 제거하였다. 탄수화물 도입 속도를 결정하기 위해 수득된 SSEA3/4 유사체-CRM197 콘주게이트는 MALDI-TOF 분석에 의해 특징분석될 수 있다. DTT와 반응시키고 LH-20 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제함으로써 비반응성 SSEA3/4 유사체-SH가 회수될 수 있다.

[0347]

표 1. 설포-EMCS를 통한 CRM-197과 함께 SSEA4 유사체의 탄수화물 도입 속도

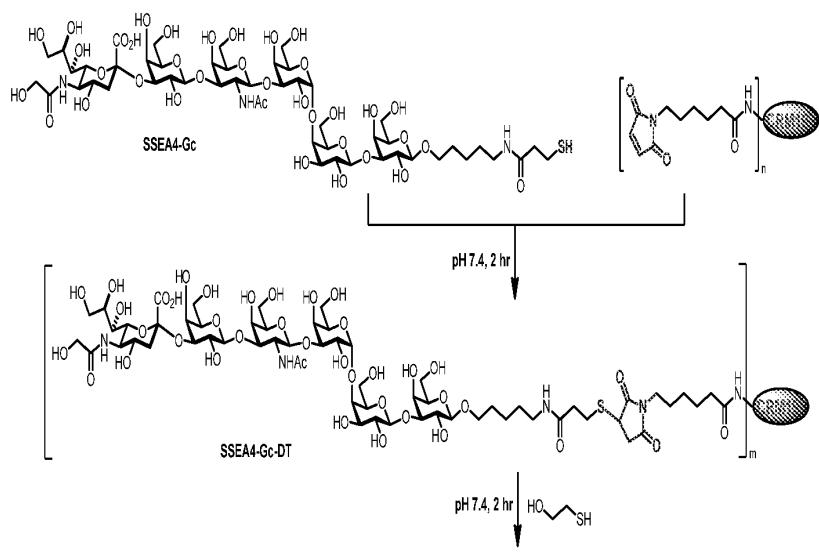
코드	당	글리코실화 후 분자량	(y) 평균 도입 속도
M1	SSEA4	75465	8.84
M2	Neu5Gc_SSEA4	70750	5.83
M3	Ac-알키닐_SSEA4	68965	5.94
M4	Ac-플루오라이드_SSEA4	69190	4.59
M5	Ac-페닐_SSEA4	75454	8.10
M6	Ac- α -지도_SSEA4	70274	5.30
M7	$9'$ - α -지도_SSEA4	76596	9.87
M8	Glc- α -지도_SSEA4	73047	8.00

[0348]

[0349] 실시예 4: 설포-EMCS 가교를 통한 SSEA4-Gc-CRM197 콘주게이트의 합성

[0350]

반응식 8.



[0351]

[0352] 단계 A: SSEA4-Gc-NH₂를 SSEA4-Gc-SH로 개질시킴

[0353] DTSSP(5.0 mg , $8.22 \times 10^{-6} \text{ mol}$)를 실온에서 PBS 완충제(pH 7.4, 1.0 mL) 중의 SSEA4-Gc-NH₂(5.0 mg , $4.01 \times 10^{-6} \text{ mol}$)의 플라스크에 첨가하였다. pH 페이퍼에 의해 용액의 pH 값을 모니터링하기 위해, 용액이 중성이거나 산이 될 때까지 NaOH(1M/몰)를 용액에 첨가하였다. 반응을 실온에서 12시간 동안 교반한 후에, DTT(5.0 mg , $32.41 \times 10^{-6} \text{ mol}$)를 실온에서 용액에 첨가하였다. 용액을 40°C에서 1시간 동안 교반하면서 유지시키고, 이후에, 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔부를 LH-20 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 SSEA4-Gc-SH(5.0 mg , 93%)를 수득하였다.

[0354]

단계 B: CRM197을 CRM197-말레이미드로 개질시킴

[0355] 상업적 CRM197의 염(1.0 mg)을 교대로 수중에서의 용해 및 투석(Amicon Ultra-0.5, 10 kDa,)을 통해 제거한 후에, 잔부를 PBS 완충제(pH 6.5, 1.0 mL)에 용해시키고, 샘플 바이알로 옮겼다. 설포-EMCS(1.0 mg , $8.22 \times 10^{-6} \text{ mol}$)를 용액에 첨가하고, 이후에, 반응을 실온에서 2시간 동안 교반하면서 유지시켰다. 혼합물을 Amicon Ultra-

0.5(10 kDa)에 의해 정제하였다. 분자량을 체크하기 위한 MALDI-TOF를 사용하고 단백질의 양을 계산하기 위한 BCA 검정을 사용한 후에, CRM197-말레이미드를 다음 단계를 위하여 PBS 완충제(pH 7.2, 1.0 mg/mL) 중에서 저장하였다. MALDI-TOF의 데이터에 따르면, 말레이미드 작용기의 양을 계산할 수 있다. 예를 들어, CRM197-말레이미드의 분자량이 61841일 때, CRM197-말레이미드 상의 말레이미드 작용기의 수는 $(61841 - 58326) / 193 = 18.2$ 이었다.

[0356] CRM197-말레이미드를 PBS 완충제(pH 7.2, 농도는 1.0 mg/mL임)에 용해시키고, 상이한 양의 SSEA4-Gc-SH(PBS 완충제 중 5.0 mg/mL, pH 7.2)를 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. SSEA4-Gc-CRM197 콘주게이트를 Amicon Ultra-0.5(10 kDa)를 이용함으로써 정제하여 투석을 통해 비반응성 SSEA4-Gc-SH 및 소듐포스페이트 염을 제거하였다. 표 2에 나타낸 바와 같이 탄수화물 도입 속도를 결정하기 위해 수득된 SSEA4-Gc-CRM197 콘주게이트는 MALDI-TOF 분석에 의해 특징분석될 수 있다. DTT와 반응시키고 LH-20 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제함으로써 비반응성 SSEA4-Gc-SH가 회수될 수 있다.

[0357] 단계 C: CRM197-말레이미드의 비반응성 말레이미드를 트랩(trap)시킴

[0358] SSEA4-Gc-CRM197 콘주게이트를 PBS 완충제(pH 7.2, 농도는 1.0 mg/mL임)에 용해시키고, 10.0 당량의 2-머캅토에탄올(5 mg/mL, PBS 완충제, pH 7.2)을 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 투석을 통해 비반응성 2-머캅토에탄올 및 소듐 포스페이트를 제거하기 위해 Amicon Ultra-0.5(10 kDa)를 사용함으로써 SSEA4-Gc-CRM197 콘주게이트를 정제하고, 이후에 백색 분말로 동결건조시켰다.

[0359] 표 2

CRM197과 SSEA4-Gc의 콘주게이션

	CRM197 [μg]	링커의 수	링커의 양 [nmol]	PBS 완충제 [mM/100 μL]	SSEA4-Gc-SH [5 mg/mL]	반응 시간	당의 수	HSC-H2O2 [1 mg/mL] 10 μL	CRM197 [μg]
1	1388	21.9	5.21×10^{-7}	1000	28.1 μL (0.2 eq.)	2 hr	2.0	81.4 μL	1550.4
2	694	21.9	2.61×10^{-7}	500	28.2 μL (0.4 eq.)	2 hr	4.2	40.8 μL	657.4
3	694	21.9	2.61×10^{-7}	500	56.4 μL (0.8 eq.)	2 hr	6.5	40.8 μL	665.0
4	694	21.9	2.61×10^{-7}	500	84.5 μL (1.2 eq.)	2 hr	6.9	40.8 μL	627.0
5	694	21.9	2.61×10^{-7}	500	140.9 μL (2.0 eq.)	2 hr	7.1	40.8 μL	615.6
6	694	21.9	2.61×10^{-7}	500	281.8 μL (4.0 eq.)	2 hr	7.0	40.8 μL	665.0
7	694	21.9	2.61×10^{-7}	500	704.4 μL (10.0 eq.)	2 hr	6.8	40.8 μL	695.4

a) CRM197의 M.W = 58326 \rightarrow 1000 μg = 0.1715×10^{-7} mol

b) SSEA4-Gc-SH의 M.W = 1349.479 \rightarrow 5 mg/mL = 37.051×10^{-7} mol/mL

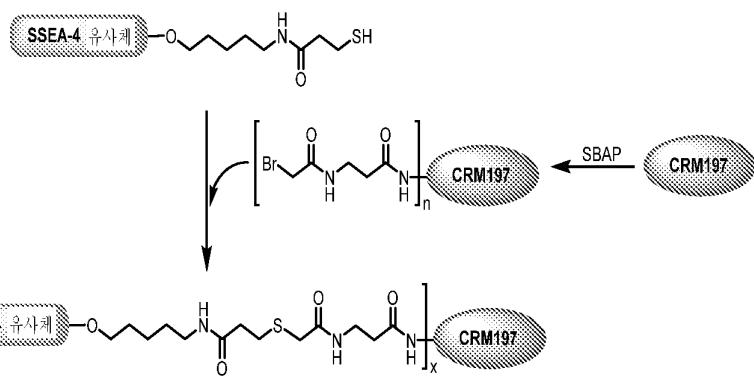
c) 2-머캅토에탄올의 M.W = 78.13 \rightarrow 5 mg/mL = 639.91×10^{-7} mol/mL

[0360]

[0361] 실시예 5. SBAP 가교를 통한 SSEA4 유사체-CRM197 콘주게이트

[0362]

반응식 9.



[0363]

[0364]

CRM-197을 0.1M 포스페이트 완충제 pH 7.4(~1 mg/ml)에 용해시키고, SBAP(1.0 mg)를 용액에 첨가하였다. 용액을 실온에서 2시간 동안 온화하게 교반하였다. 혼합물을 이후에 PBS 완충제로 희석시키고, Amicon Ultra-0.5(10 kDa, 2X)에 의해 0.1M 포스페이트 완충제 pH 7.4의 5 변화(change)에 대해 원심분리하였다. SBAPO 도입 속도를 결정하기 위해 수득된 개질된 CRM-197을 MALDI-TOF(포지티브 모드, 매트릭스는 시나핀산임, FLO) 분석에 의해 특징분석하였다.

[0365]

개질된 CRM-197을 0.1M 포스페이트 완충제 pH 8.0(~1 mg/ml)에 용해시키고, SSEA4-SH 유사체를 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1일 동안 교반하였다. 이후에, 혼합물을 PBS 완충제로 희석시키고, Amicon Ultra-0.5(10 kDa, 2X)에 의해 0.1M 포스페이트 완충제 pH 7.4의 5 변화에 대해 원심분리하였다. 탄수화물 도입 속도를 결정하기 위해 수득된 당-단백질 콘주게이트를 MALDI-TOF(포지티브 모드, 매트릭스는 시나핀산임, FLO) 분석에 의해 특징분석하였다(반응식 9).

[0366]

표 3. SBAP를 통한 CRM-197과 함께 SSEA4 유사체의 탄수화물 도입 속도

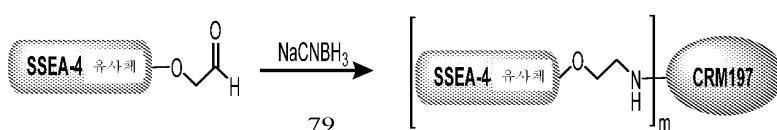
코드	당	글리코실화-후 분자량	(x) 평균 도입 속도
S1	SSEA4	68212	4.79
S2	Neu5Gc_SSEA4	67651	4.84
S3	Ac-알기닐_SSEA4	70308	5.70
S4	Ac-플루오라이드_SSEA4	69309	5.01
S5	Ac-페닐_SSEA4	68891	5.05
S6	Ac-α-지도_SSEA4	68359	4.50
S7	5'-α-지도_SSEA4	71638	7.06
S8	9'-α-지도_SSEA4	72545	7.90
S9	Glc-아지도_SSEA4	67131	3.9
S10	NHBz_SSEA4	69636	5.50

[0367]

실시예 6 : 환원성 아민화 가교(reductive amination crosslink)를 통한 SSEA4 유사체-CRM197 콘주게이트

[0369]

반응식 10



[0370]

[0371] 특정 구현예에서, CRM197을 0.1M 포스페이트 완충제(pH 6-9)(~1 mg/ml)에 용해시키고, 충분한 양의 SSEA4-알데히드 유사체 및 NaCNBH₃을 용액에 첨가하였다. 용액을 실온에서 3일 동안 온화하게 교반하였다. 이후에, 혼합물을 탈이온수로 희석시키고, Amicon Ultra-0.5(10 kDa, 2X)에 의해 0.1M 포스페이트 완충제 pH 7.4의 5 변화에 대해 원심분리하였다. 탄수화물 도입 속도를 결정하기 위해 수득된 당-단백질 콘주게이트를 MALDI-TOF(포지티브 모드, 매트릭스는 시나핀산임, FLO) 분석에 의해 특징분석하였다(반응식 10).

[0372] 표 4. 환원성 아민화를 통한 CRM-197과 함께 SSEA4 유사체의 탄수화물 도입 속도

코드	당	글리코실화후 분자량	(m) 평균 도입 속도
R1	SSEA4	69025	8.89
R2	Neu5Gc_SSEA4	65154	5.6
R3	Ac-플루오라이드_SSEA4	69315	9
R4	Ac-페닐_SSEA4	71329	10.1
R5	Ac-α-지도_SSEA4	67765	7.6
R6	9'-아지도_SSEA4	67635	7.58
R7	NHBz_SSEA4	67124	6.95

[0373]

실시예 7 : SSEA4 유사체-CRM197 콘주게이트의 면역화 결정

대표적인 방법

[0374] SSEA4 유사체 CRM197 콘주게이트(S1-S10)의 효능/면역원성을 입증하기 위하여, 암컷 C57BL/6 마우스(각 그룹 당 n=5)에 2.0 µg의 당지질 애주번트의 사용과 조합하여 0.5 µg의 SSEA4 유사체 CRM197-콘주게이트로 근육내 백신화하였다. 대조군 마우스에는 오로지 2.0 µg의 당지질 애주번트를 함유한 포스페이트 완충제를 제공하였다. 백신화를 2달 동안 격주 간격으로 수행하고, 면역화된 마우스로부터의 항혈청을 각 백신화 후 1주일째에 수집하였다. SSEA4에 대한 항체 역가를 ELISA에 의해 SSEA4 고정된 96-웰 역가 플레이트를 이용하여 시험하였다. ELISA를 SSEA4 고정된 96-웰 역가 플레이트를 이용하여 수행하였다. 간단하게, 희석된 항혈청을 실온에서 2시간 동안 고정된 SSEA4와 함께 인큐베이션하였다. 세척 사이클 후에, 캡쳐된 항-SSEA4 항체를 이후에, HPR-콘주게이팅된 항-IgG 또는 IgM 특이적 항체를 사용하여 검출하였다.

[0375] 글리칸-단백질 콘주게이션 방법이 면역 반응을 방해하는 지의 여부를 결정하기 위하여, 천연 SSEA4를 EMCS 링커(M1), SBAP 링커(S1) 또는 환원성 아민화(R1)를 통해 CRM197과 콘주게이팅시키고, 상술된 바와 같은 면역원성 연구를 위해 사용하였다.

대표적인 결과

[0376] 4회의 면역화 후에, 천연 SSEA4, 뿐만 아니라, 모두 8개의 SSEA4 유사체들은 Ga1-C34 애주번트의 사용과 결합할 때, SSEA4에 대해 IgG(도 3a) 및 IgM(도 3b) 항체 둘 모두를 포지티브하게 유도할 수 있었다. 상이한 유사체 그룹들 중에서 항-SSEA4 IgG 및 IgM 항체의 역가에서 유의미한 차이가 존재하지 않는다. 또한, G1c-C34는 또한, 천연 SSEA4 및 다른 유사체들과 동시투여할 때, SSEA4에 대한 IgG(도 4a) 및 IgM(도 4b) 둘 모두를 유도하기 위한 백신 애주번트로서 사용될 수 있다.

[0377] 또한, 도 5에 도시된 결과는, 글리칸-단백질 콘주게이션 방법이 면역 반응에 영향을 미칠 수 있음을 지시하였다. SSEA4-SBAP-CRM197(S1) 및 SSEA4-CRM197(환원성 아민화를 통해 콘주게이션됨, R1)과 비교할 때 Ga1-C34, SSEA4-EMCS-CRM197(M1)의 사용을 결합은 더 높은 항-SSEA4 IgG 항체 역가를 유도하였다.

실시예 8: SSEA4 유사체 CRM197-콘주게이트의 면역원성 연구

[0378] SSEA4 유사체 CRM197-콘주게이트의 면역원성을 입증하기 위하여, 5마리의 암컷 BALB/c 마우스를 2 µg의 SSEA4 유사체 CRM197-콘주게이트 및 2 µg의 당지질 애주번트 C34로 격주 간격으로 3회 근육내 면역화하였다. 이전 연구에서, 항-GH 항체 역가는 어떠한 애주번트도 없는 SSEA4 유사체-단백질 콘주게이트에서 낮았다. 각 면역원의

항혈청을 세번째 면역화 후 10일째에 수득하고, 글로보 계열 글리칸을 포함하는 94개의 화학적을 합성된 글리칸 및 다른 종양-관련 탄수화물 항원을 함유한 글리칸 마이크로어레이 상에서 시험하였다. 일부 화학적 개질이 글리칸 상에서 수행되었기 때문에, 교차 반응성을 체크하기 위해 일부 작용성 링커들은 또한, 글리칸 어레이에 포함되었다.

[0383] SSEA4-Gc CRM197-콘주케이트에 의해 유도된 항체를 다른 TACA 및 작용성 링커에 의한 것이 아닌 SSEA4-Gc, 천연 SSEA4 또는 SSEA4 사당류 단편들에 의해 특이적으로 인식하였다. 글리콘콘주케이트로부터 수득된 혈청은 IgG 항체 적가를 유도하였는데, 이는 T-세포-의존 면역 반응을 지시하는 것이다. 흥미롭게도, SSEA4-Gc 또는 천연 SSEA4에 대해 유의미한 IgM 생성이 관찰되지 않았다. Globotriose에 대한 IgG 수준과 관련하여, SSEA4-Gc CRM197에 의해 유도된 항체 역가는 천연 형태의 천연 SSEA4-CRM197 콘주케이트 보다 훨씬 더 높았다. 이러한 것들 중에서, 1분자의 CRM197과 콘주케이팅된 6.9분자의 SSEA4-Gc는 가장 높은 항체 역가를 유도할 수 있다.

[0384] 마우스 복용량 및 면역화 스케줄

[0385] SSEA4 유사체 CRM197의 면역원성을 비교하기 위해, 5 마리 마우스(8 주령 암컷 Balb/c 마우스, BioLASCO, 대만)의 10 그룹을 당지질 C34로 근육 내 면역시켰다. 2주 간격으로 3회의 면역화를 실시하였다. 각 백신 접종에는 2 µg SSEA4 유사체 및 2 µg C34를 포함하였다. 대조군 마우스에는 포스페이트 완충 염수(PBS)를 주사하였다. 마우스는 첫 번째 면역화(면역전) 이전 및 세 번째 면역화 후 10일째에 피를 뽑았다. 4,000×g에서 10 분간 원심 분리하여 모든 혈청을 얻었다. 상기 혈청학적 반응은 글리칸 마이크로어레이로 분석하였다.

[0386] 글리칸 어레이를 이용한 혈청 학적 검사

[0387] 마우스 혈청을 1% BSA/PBST 완충액(PBST 완충액: PBS 및 0.05 % Tween-20, pH 7.4)으로 희석시켰다. 상기 글리칸 마이크로어레이는 수퍼블럭 블로킹 버퍼(Superblock blocking buffer)(Pierce)로 4°C에서 1 시간 동안 블로킹하고 사용하기 전에 PBST 완충액으로 3회 세척하였다. 그런 다음, 혈청 희석액을 글리칸 마이크로어레이에 넣고 4°C에서 1시간 동안 배양하였다. 과량의 혈청 항체를 세척하고, Alexa Fluor 647- 접합 염소 항-마우스 IgG 항체 또는 DyLight 649-콘주케이팅된 염소 항-마우스 IgM 항체를 2 차 항체로 4°C에서 암실에서 1 시간 동안 상기 마이크로어레이를 개별 배양하였다. 이어서, 상기 슬라이드를 PBST로 3회 세척하고, 마이크로어레이 형광 칩 리더(GenePix 4300A; Molecular Devices Corporation)로 635 nm 광장에서 스캐닝하고, 스캐닝된 이미지를 GenePix Pro-6.0 분석 소프트웨어 (Axon Instruments, Union City, CA, 미국)로 분석하였다.

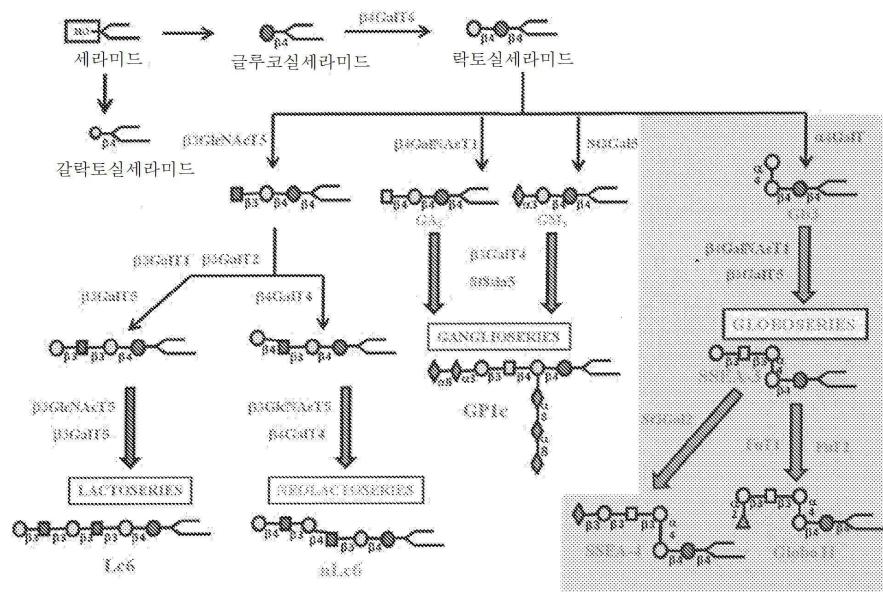
[0388] 기타 실시예

[0389] 본 명세서에 개시된 모든 특징은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 이 명세서에 개시된 각각의 특징은 동일하거나 동등하거나 유사한 목적을 위한 대안적인 특징으로 대체될 수 있다. 따라서, 달리 명시적으로 언급되지 않는 한, 개시된 각 특징은 동등하거나 유사한 특징의 일반적인 계열의 예일 뿐이다. 전술한 설명으로부터, 당업자는 설명된 실시예의 본질적인 특성을 쉽게 확인할 수 있으며, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고, 실시예의 다양한 변화 및 변경으로 다양한 용도 및 조건에 적응시킬 수 있다. 따라서, 다른 실시예도 또한 청구범위 내에 있다.

도면

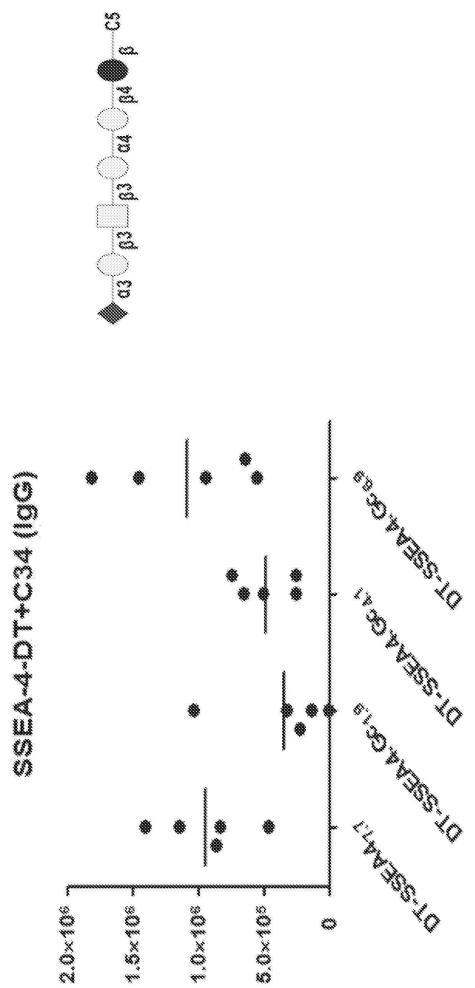
도면1

글리코스핑고지질의 생합성 경로

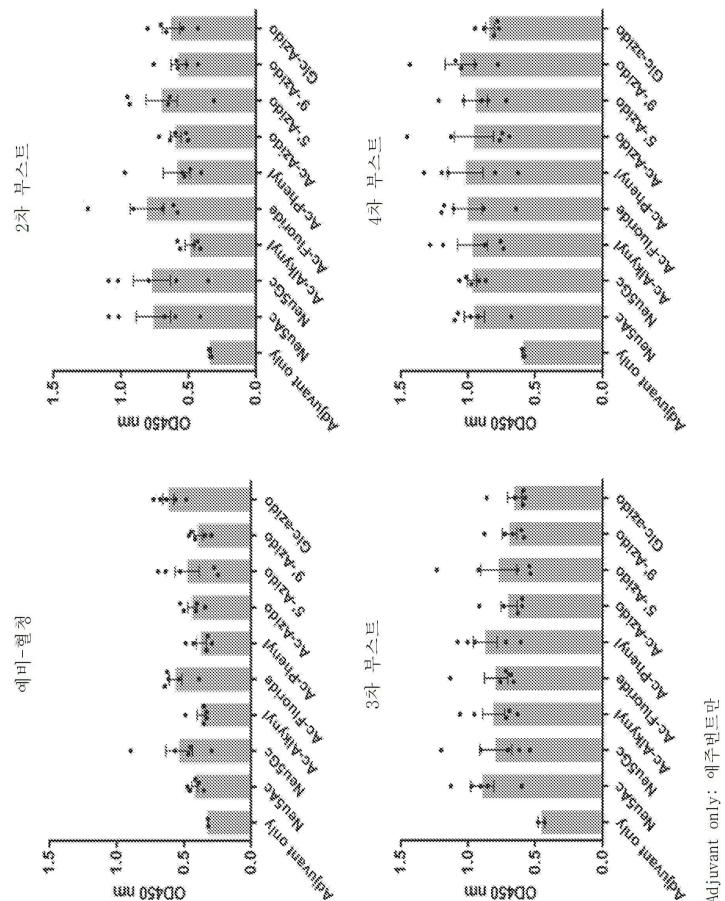


도면2

상이한 에피토프 비율의 SSEA4-DT 또는 SSEA4-Gc 면역화된
취로부터 수집된 유도된 GH-IgG

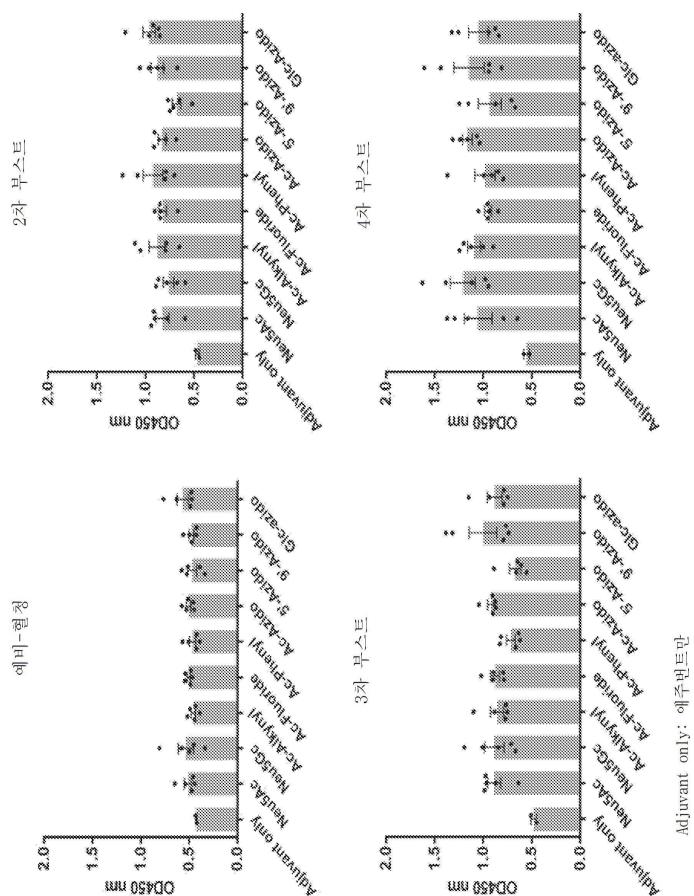


도면3a



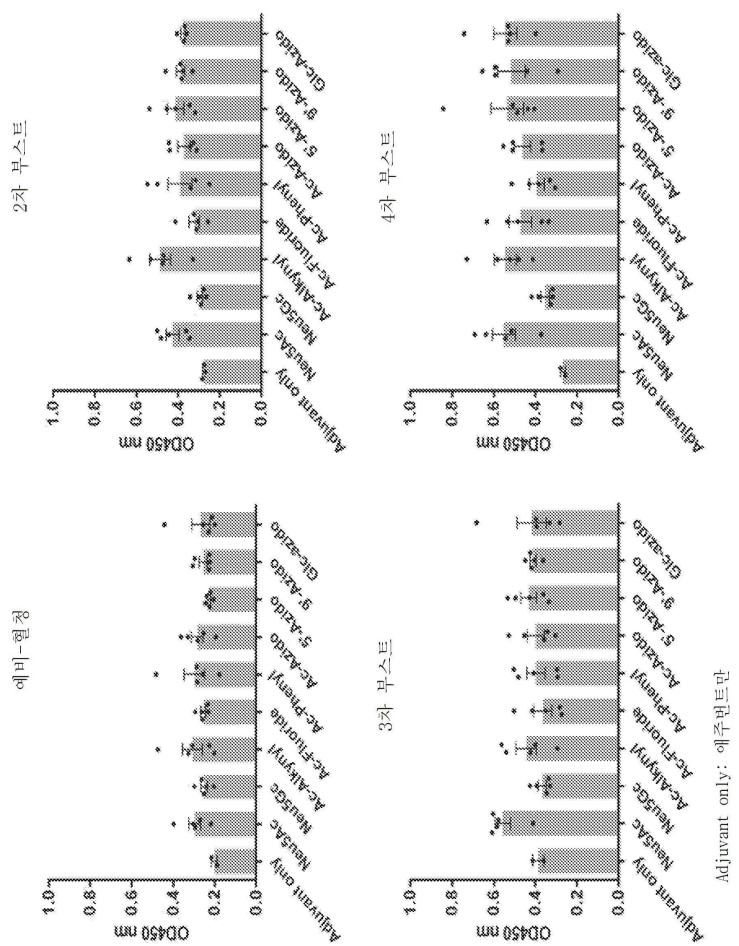
Adjuvant only: 예주변트만

도면3b

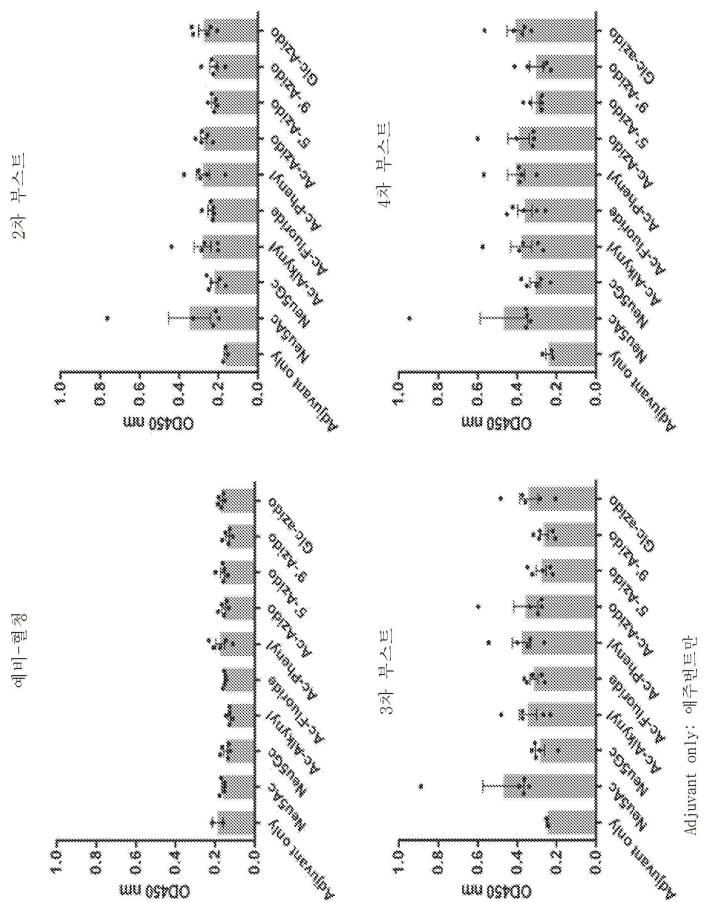


Adjuvant only : 에주먼트단

도면4a



도면4b



Adjuvant only: 애주반트만

도면5

