



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0107656
(43) 공개일자 2019년09월20일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 47/68</i> (2017.01) <i>A61K 31/454</i> (2006.01)
 <i>A61K 31/502</i> (2006.01) <i>A61K 31/5025</i> (2006.01)
 <i>A61K 31/55</i> (2006.01) <i>A61K 45/06</i> (2006.01)
 <i>A61P 35/02</i> (2006.01) <i>C07K 16/28</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 47/6803</i> (2017.08)
 <i>A61K 31/454</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2019-7015704
 (22) 출원일자(국제) 2017년11월01일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2019년05월31일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2017/059483
 (87) 국제공개번호 WO 2018/085359
 국제공개일자 2018년05월11일</p> <p>(30) 우선권주장
 62/416,383 2016년11월02일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 이뮤노젠 아이엔씨
 미국 02451-1477 메사추세츠주 월섬 윈터 스트리트 830
 헬스 리서치 인코포레이티드
 미국 뉴욕 14263 버팔로 엘름 앤드 칼턴 스트리트</p> <p>(72) 발명자
 왕, 유니스 수
 미국 14221 뉴욕주 윌리엄스빌 포레스트뷰 드라이브 342
 포트우드, 스콧 마이클
 미국 14127 뉴욕주 오차드 파크 앵글 로드 2988
 워커, 러셀
 미국 02026 메사추세츠주 데드햄 터너 스트리트 47</p> <p>(74) 대리인
 양영준, 이상남</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 35 항

(54) 발명의 명칭 **항체-약물 콘주게이트 및 PARP 억제제로 병용 치료**

(57) 요약

본 발명은 유효량의 CD33-표적 항체-약물 콘주게이트 (ADC) 및 유효량의 폴리-ADP 리보오스 중합효소 (PARP) 억제제를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 유효량의 CD33-표적화된 ADC 및 유효량의 PARP 억제제를 포함하는 약제학적 조성물이 또한 제공된다.

(52) CPC특허분류

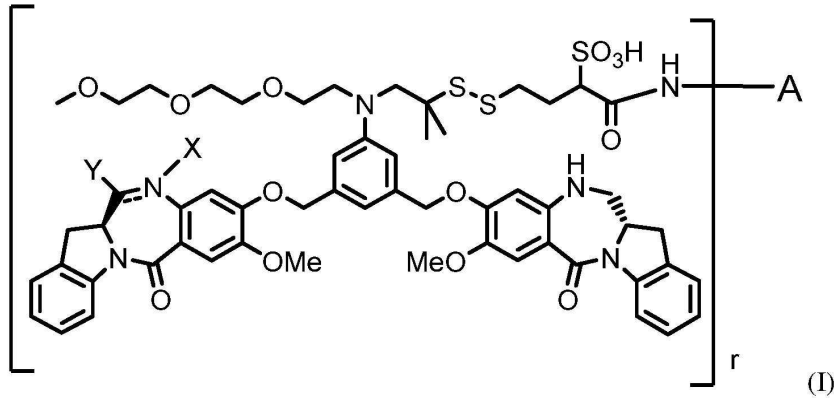
A61K 31/502 (2013.01)
A61K 31/5025 (2013.01)
A61K 31/55 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/6849 (2017.08)
A61K 47/6867 (2017.08)
A61P 35/02 (2018.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

하기를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서 암을 치료하는 방법: 유효량의 폴리-ADP 리보오스중합 효소 (PARP) 억제제 및 유효량의 식 (I)의 항체-약물 콘주게이트



또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 식 중:

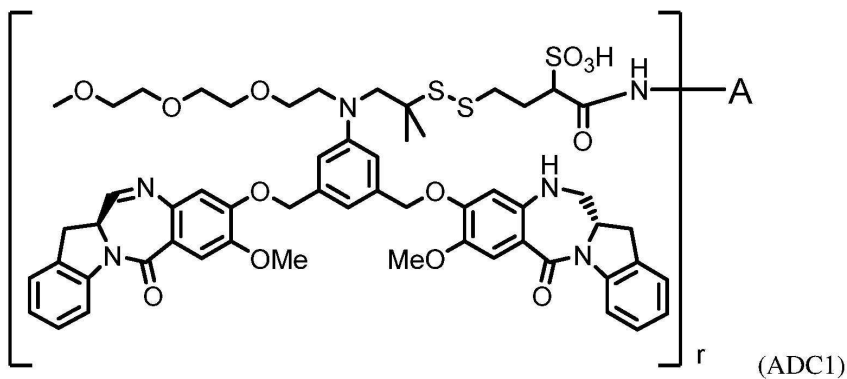
N과 C 사이의 이중선 == 은 단일결합 또는 이중결합을 나타내고, 단, 이것이 이중결합일 때, X는 부제하고 Y는 수소이며, 이것이 단일결합일 때, X는 수소이고 Y는 -SO₃H이고;

식 중, A는 서열번호:1의 중쇄 가변 영역 (VH) 상보적 결정 영역 (CDR)1 서열, 서열번호:2의 VH CDR2 서열, 및 서열번호:3의 VH CDR3 서열, 및 서열번호:4의 경쇄 가변 영역 (VL) CDR1 서열, 서열번호:5의 VL CDR2 서열, 및 서열번호:6의 VL CDR3 서열을 포함하는 CD33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고; 그리고

r은 정수 1 내지 10임.

청구항 2

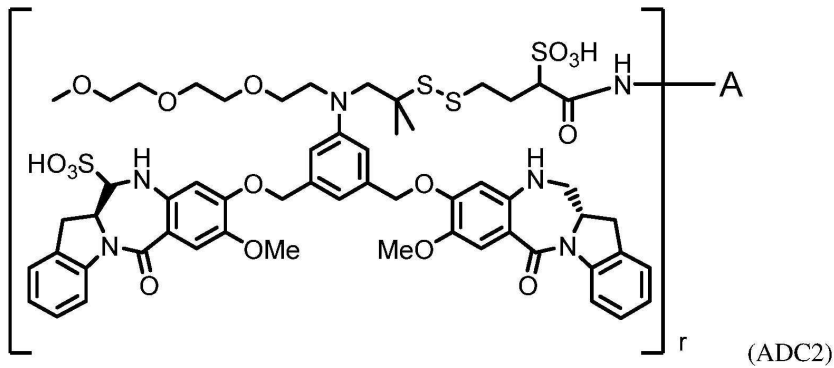
청구항 1에 있어서, 상기 항체-약물 콘주게이트는 하기의 것인, 방법: ADC1



또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 항체-약물 콘주게이트는 하기의 것인, 방법: ADC2



또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용가능한 염은 나트륨 또는 칼륨 염인, 방법.

청구항 5

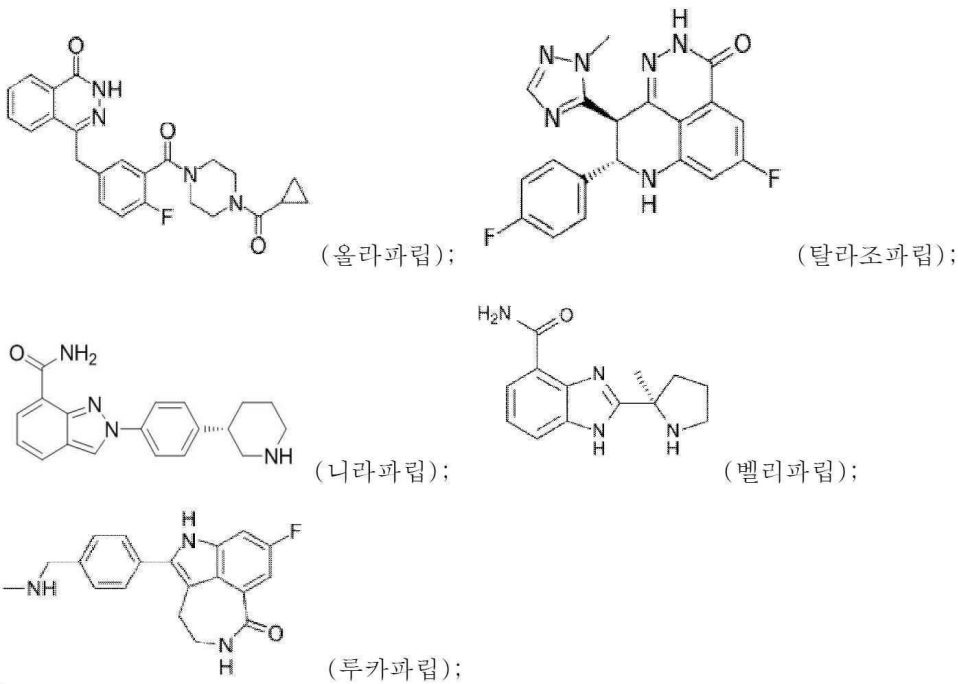
청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PARP 억제제는 PARP-1 억제제인, 방법.

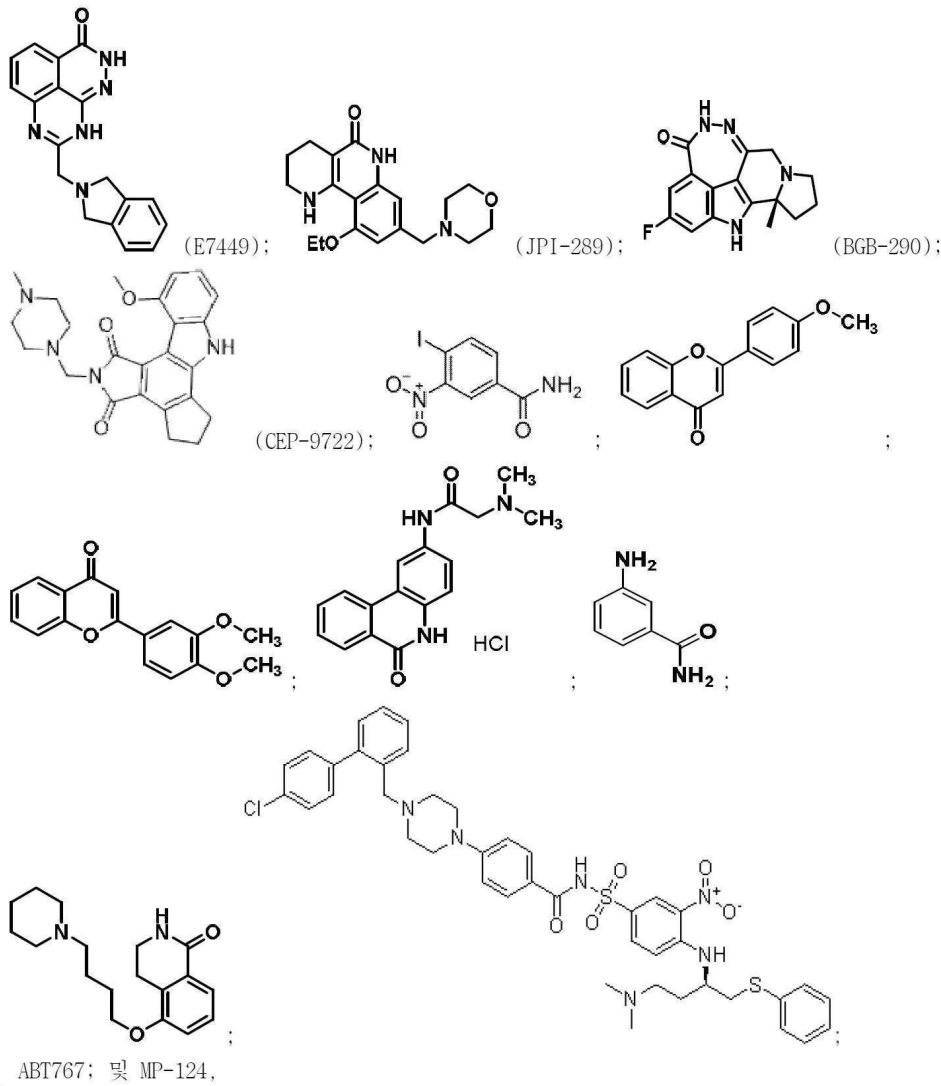
청구항 6

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PARP 억제제는 PARP-2 억제제인, 방법.

청구항 7

청구항 1 내지 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PARP 억제제는 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법:

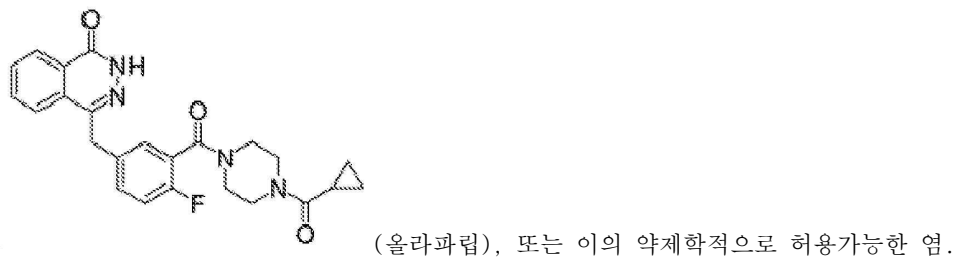




또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 PARP 억제제는 하기의 것인, 방법:



청구항 9

청구항 1 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:7 또는 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 10

청구항 1 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:8 또는 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 11

청구항 1 내지 10 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:9의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호:10의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 12

청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 huMy9-6인, 방법.

청구항 13

청구항 12에 있어서, 상기 항체는 CDR-그래프팅되거나 또는 재표면화된 항체인, 방법.

청구항 14

청구항 1 내지 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체-약물 콘주게이트는 IMGN779인, 방법.

청구항 15

청구항 1 내지 14 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 백혈병, 림프종 및 골수종으로 구성된 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 골수 백혈병 (CML), 급성 림프아구성 백혈병 (ALL), B-세포 계통 급성 림프아구성 백혈병 (B ALL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 모발세포 백혈병 (HCL), 골수이형성 증후군 (MDS), 기본적 형질세포양 DC 신생물 (BPDCN) 백혈병, 비-호지킨 림프종 (NHL), 외투세포 림프종, 및 호지킨 백혈병 (HL)으로 구성된 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML)인, 방법.

청구항 18

청구항 17에 있어서, 상기 급성 골수 백혈병 (AML)은 난치성 또는 재발 급성 골수 백혈병인, 방법.

청구항 19

청구항 17에 있어서, 상기 급성 골수 백혈병 (AML)은 P-당단백질의 과발현, EVI1의 과발현, p53 변경, DNMT3A 돌연변이, FLT3 내부 일렬 중복, 복합 핵형, BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서 감소된 발현, 또는 BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서 돌연변이를 특징으로 하는, 방법.

청구항 20

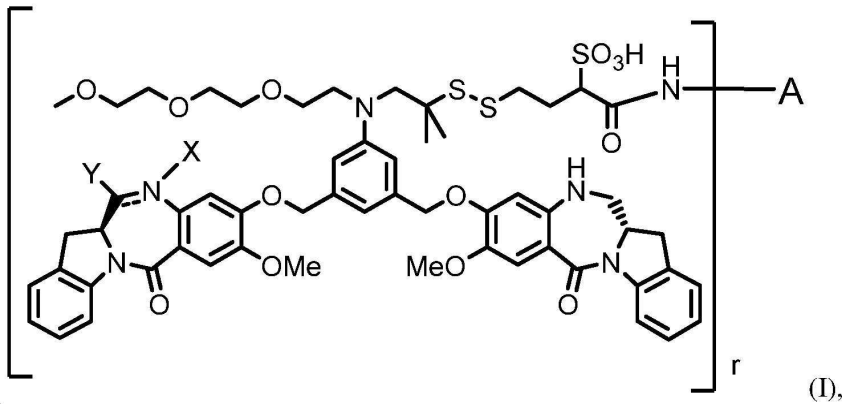
청구항 15 내지 19 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 화학요법 민감성인, 방법.

청구항 21

청구항 15 내지 20 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 화학요법 내성인, 방법.

청구항 22

하기를 포함하는 약제학적 조성물: i) 유효량의 PARP 억제제; ii) 유효량의 식 (I)의 항체-약물 콘주게이트:



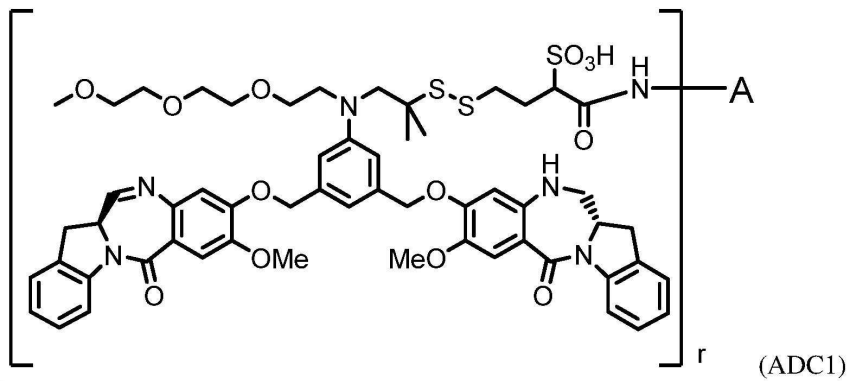
또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염; 및 iii) 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제; 식중:

N과 C 사이의 이중선 \equiv 은 단일결합 또는 이중결합을 나타내고, 단, 이것이 이중결합일 때, X는 부재하고 Y는 수소이며, 이것이 단일결합일 때, X는 수소이고 Y는 $-SO_3H$ 이고;

식중 A는 서열번호:1의 중쇄 가변 영역 (VH) 상보적 결정 영역 (CDR)1 서열, 서열번호:2의 VH CDR2 서열, 및 서열번호:3의 VH CDR3 서열, 및 서열번호:4의 경쇄 가변 영역 (VL) CDR1 서열, 서열번호:5의 VL CDR2 서열, 및 서열번호:6의 VL CDR3 서열을 포함하는 CD33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고; 그리고, r은 정수 1 내지 10임.

청구항 23

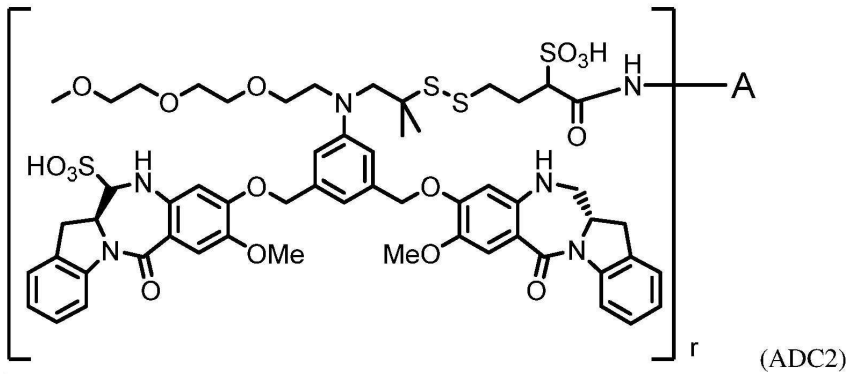
청구항 22에 있어서, 상기 항체-약물 콘주게이트는 하기의 것인, 약제학적 조성물: ADC1:



또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 24

청구항 22에 있어서, 상기 항체-약물 콘주게이트는 하기의 것인, 약제학적 조성물: ADC2:



또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 25

청구항 22 내지 24 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용가능한 염은 나트륨 또는 칼륨 염인, 약제학적 조성물.

청구항 26

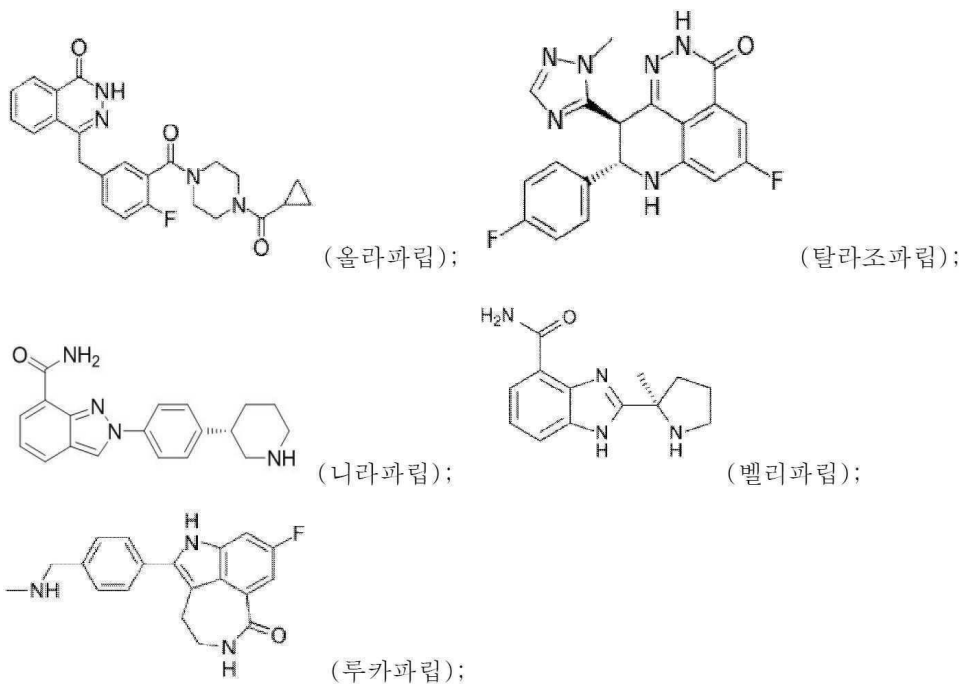
청구항 22 내지 25 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PARP 억제제는 PARP-1 억제제인, 약제학적 조성물.

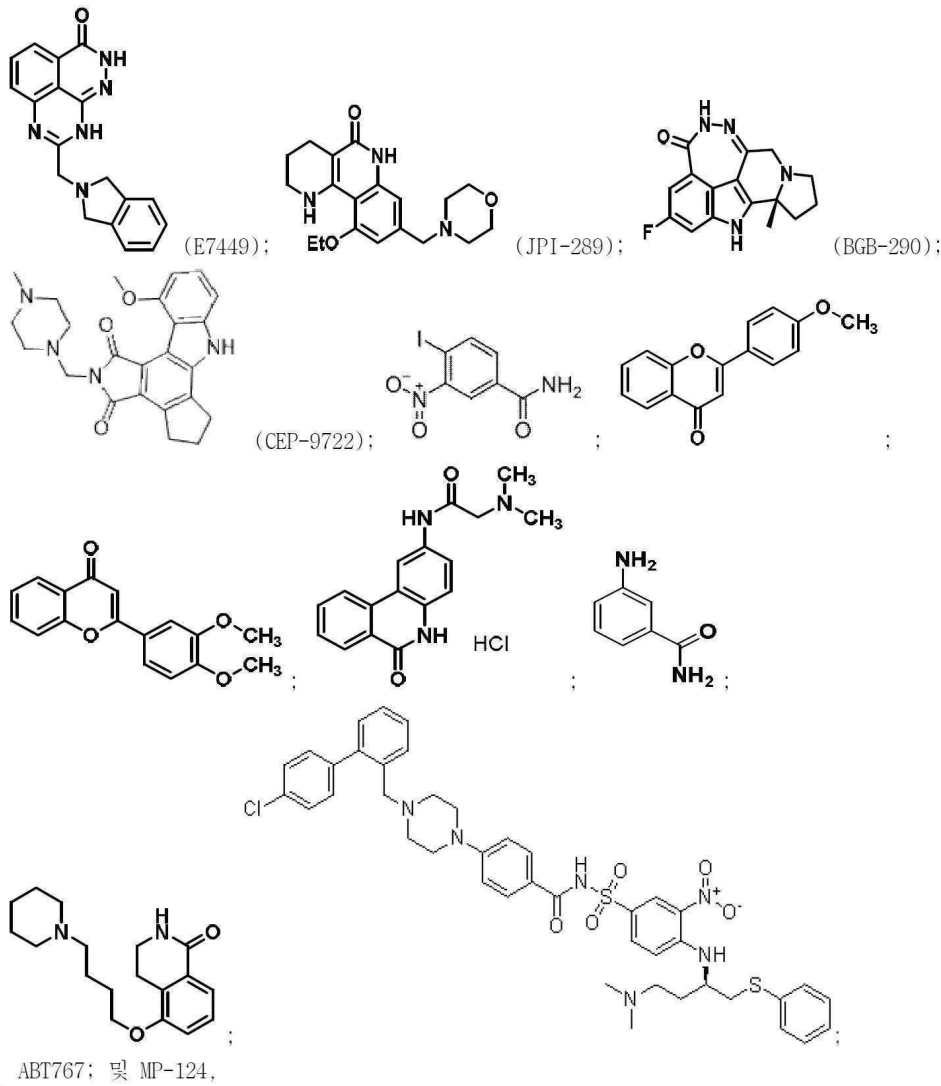
청구항 27

청구항 22 내지 25 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PARP 억제제는 PARP-2 억제제인, 약제학적 조성물.

청구항 28

청구항 22 내지 27 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PARP 억제제는 하기로 구성된 군으로부터 선택된, 약제학적 조성물:

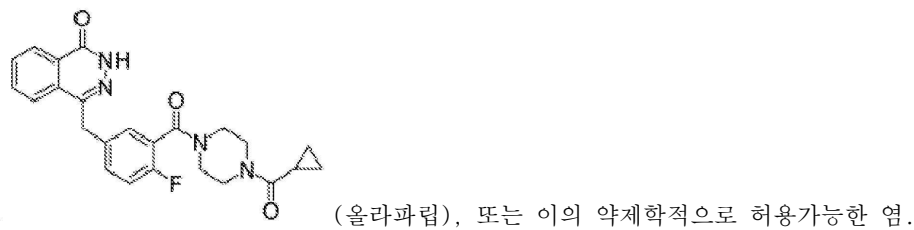




또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 29

청구항 28에 있어서, 상기 PARP 억제제는 하기의 것인, 약제학적 조성물:



청구항 30

청구항 22 내지 29 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:7 또는 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 31

청구항 22 내지 29 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:8 또는 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 32

청구항 22 내지 31 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:9의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호:10의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 33

청구항 22 내지 32 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 huMy9-6인, 약제학적 조성물.

청구항 34

청구항 22 내지 32 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 CDR-그래프팅되거나 또는 재표면화된 항체인, 약제학적 조성물.

청구항 35

청구항 22 내지 34 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체-약물 콘주게이트는 IMGN779인, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원
- [0002] 본원은 하기 미국특허에 대해 우선권을 주장한다: 2016년 11월 2일 출원된 특허 가출원 번호 62/416,383로, 그 전체내용은 명시적으로 본 명세서에 참고로 편입된다.
- [0003] 서열 목록
- [0004] 본원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출되었고 전체적으로 본 명세서에 참고로 통합되는 서열 목록을 포함한다. 2017년 10월 26일 만들어진 상기 ASCII 사본은 121162-03720_SL.txt로 명명되고 크기는 27,280 바이트이다.

배경 기술

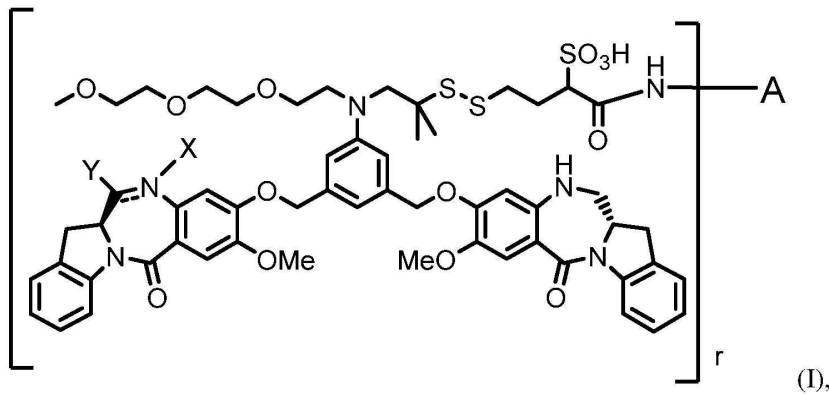
- [0005] 급성 골수 백혈병 (AML)은 골수에 비정상 아세포의 축적과 관련된다. 급성 골수 백혈병 (AML)은 성인들 사이에서 가장 보편적인 유형의 백혈병 중 하나이다. 미국에서만, 18,000명 이상의 신규한 사례의 AML이 매년 확인되고, 10,000명 초과 사망이 AML과 관련된다. 화학요법에 대한 높은 초기 반응 비율에도 불구하고, 많은 급성 골수 백혈병 (AML) 환자가 완전한 차도에 도달하지 못한다. 사실상, AML이 있는 다수의 환자는 진단부터 3-5년 이내에 재발한다.
- [0006] 백혈구 분화 항원 CD33은 수초-관련된 당단백질 및 CD22뿐만 아니라 시알로아드헤신 자체를 포함한, 시알로아드헤신 계열의 구성원에 대해 서열 상동성을 갖는 364 아미노산 막관통 당단백질이다(S.Peiper, 2002, Leucocyte Typing VII, White Cell Differentiation, Antigens, Proceedings of the Seventh International Workshop and Conference, Oxford University Press, p. 777).
- [0007] CD33의 발현은 골수 전구세포의 강한 발현과 함께, 조혈 구획에 고도로 특이적인 것으로 나타난다(S.Peiper, 2002). 이것은 비록 성숙 및 분화에 의해 감소된 발현을 갖지만 골수 전구세포 예컨대 CFU-GEMM, CFU-GM, CFU-G 및 BFU-E, 단핵구/대식세포, 과립구 전구체 예컨대 전골수구 및 골수구에 의해, 그리고 비록 낮은 발현 수준이지만 성숙한 과립구에 의해 발현된다 (S.Peiper, 2002). 항-CD33 단클론성 항체는 CD33이 인간 사례에서 80% 초과에서 클론원성, 급성 골수성 백혈병 (AML) 세포에 의해 발현되는 것으로 나타났다(LaRussa, V.F. et al., 1992, Exp. Hematol.20:442-448). 그에 반해서, 만능 조혈 줄기 세포는 다음과 같이 작용한다: 시험관내에서 "블라스트 콜로니"를 생기게 한다 (Leary, A.G. et al., 1987, Blood 69:953) 그리고 조혈 장기간 골수 배양을 유도한다 (Andrews R.G. et al., 1989, J. Exp. Med. 169:1721; Sutherland, H.J. et al., 1989, Blood 74:1563) 만능 조혈 줄기 세포는 CD33의 발현을 결하는 것으로 나타났다.
- [0008] CD33의 선택적 발현에 기인하여, 구체적으로 CD33을 인지하고 결합하는 단클론성 항체와 세포독성 약물을 조합하는 항체 약물 콘주게이트 (이하에서 "ADC")가 AML 세포의 선택적 표적화에서의 사용에 대해 제안되었다. 이러한 요법은 줄기 세포와 원시 조혈 전구세포를 그대로 유지할 것으로 기대된다. 최근에, 모노이민 모이어티를 함유한 인돌리노-벤조디아제핀 이량체를 포함하는 신규한 DNA 알킬화제인 DGN462를 이용하는 CD33-표적화된 ADC가

보고되며(참조, 예를 들어, 미국특허번호 8,765,740, 8,889,669, 9,169,272, 및 9,434,748) 이것은 시험관내 및 생체내 혈액성 암 모델에서 항암 활성을 나타낸다. 이 ADC는 큰 가능성을 보이지만, 암, 특히 혈액성 암, 예컨대, AML로 고통 받고 있는 환자를 치료함에 있어서 ADC를 사용하기 위한 개선된 방법에 대한 요구가 여전히 있다.

발명의 내용

[0009] 폴리-ADP 리보오스 중합효소 (PARP) 억제제는 고형 종양, 특히 DNA 회복 결함이 있는 고형 종양을 치료하는데 사용되는 것으로 공지되어 있다. 혈액성 암을 치료하는데 있어 그것의 효능은 잘 확립되어 있지 않았다. PARP 억제제와 함께 인돌리노-벤조디아제핀 이량체 세포독성 적재물을 함유하는 CD33-표적화된 ADC의 조합이 ADC 단독 및 PAPR 억제제 단독과 비교하여 시험관내 및 생체내 둘 모두에서 백혈병 세포에 대해 상승작용 효과를 갖는다는 것이 놀랍게도 이제 밝혀졌다. 예를 들어, 암세포 증식에서의 상승작용 감소가 인간 CD33+ 급성 골수 백혈병 세포 (HEL, MV4-11, 및 HL60)를 CD33-표적화된 ADC, IMGN779, 및 PARP 억제제, 올라파립의 조합으로 처리할 때 관측되었다(실시예 1 참조). 추가로, 올라파립과 IMGN779 조합은 i) 어느 하나의 약물 단독과 비교하여 급성 골수 백혈병 이종이식 동물 모델에서 종양 부담을 추가로 감소시켰고(실시예 2 참조); 그리고 ii) 복합 핵형 또는 FLT-3 돌연변이를 특징으로 하는 재발성/난치성 급성 골수 백혈병이 있는 환자로부터 일차 세포의 콜로니 형성을 억제하는데 효과적이었다(실시예 3 참조). 이들 놀라운 발견에 기초하여, 본 발명은 인돌리노-벤조디아제핀 이량체 세포독성 적재물을 함유하는 CD33-표적화된 ADC와 본 명세서에 기재된 PARP 억제제의 조합으로 암, 예를 들어, 혈액성 암 예컨대 AML을 치료하는 방법을 제공한다. 또한 인돌리노-벤조디아제핀 이량체 세포독성 적재물을 함유하는 CD33-표적화된 ADC와 PARP 억제제를 포함하는 약제학적 조성물이 개시된다.

[0010] 본 발명의 하나의 구현예는 대상체에서 암을 치료하는 방법이다. 일 구현예에서, 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 골수 백혈병 (CML), 급성 림프아구성 백혈병 (ALL), B-세포 계통 급성 림프아구성 백혈병 (B ALL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 모발세포 백혈병 (HCL), 골수이형성 증후군 (MDS), 기본적인 형질세포양 DC 신생물 (BPDCN) 백혈병, 비-호지킨 림프종 (NHL), 외투세포 림프종, 및 호지킨 백혈병 (HL)으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 화학요법 감수성이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 화학요법 저항성이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML)이다. 또 다른 구현예에서, AML은 난치성 또는 재발 급성 골수 백혈병이다. 여전히 또 다른 구현예에서, AML은 P-당단백질의 과발현, EVI1의 과발현, p53 변경, DNMT3A 돌연변이, FLT3 내부일렬중복, 복합 핵형, BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서의 감소된 발현, 또는 BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서 돌연변이를 특징으로 한다. 상기 방법은 유효량의 PARP 억제제 및 유효량의 식 (I)의 ADC를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다:



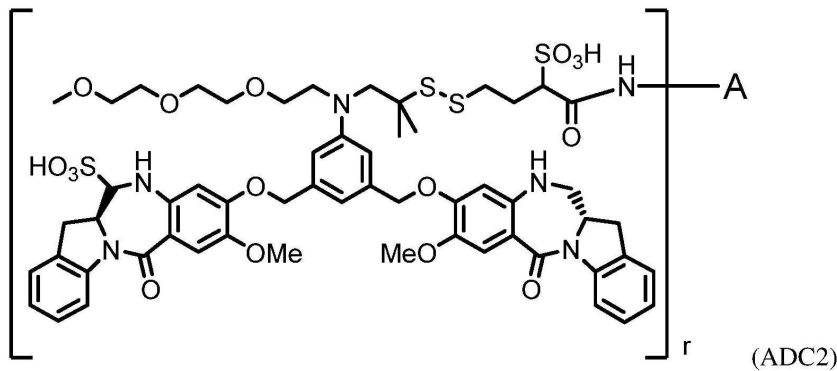
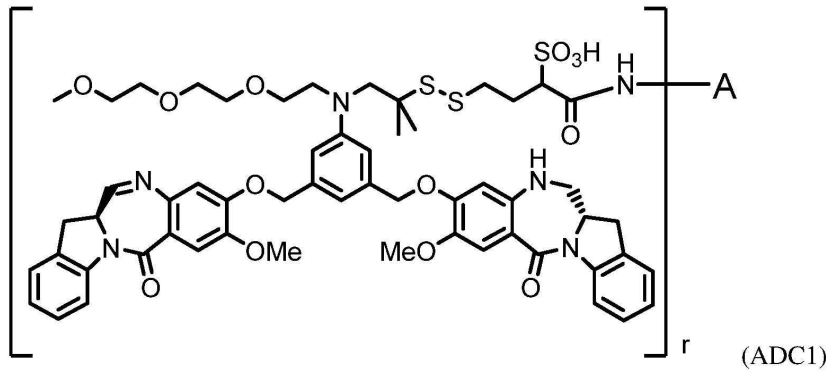
[0011]

[0012] 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염. N과 C 사이의 이중선 == 은 단일결합 또는 이중결합 중 하나를 나타내고, 단, 이것이 이중결합일 때, X는 부재하고 Y는 수소이며; 그리고 이것이 단일결합일 때, X는 수소이고 Y는 -SO₃H이다. 용어 "A"는 CD33에 결합하는 항체 또는 항원-결합 단편이다. 대안적으로, "A"는 서열번호:1의 중쇄 가변 영역 (VH) 상보적 결정 영역 (CDR)1 서열, 서열번호:2의 VH CDR2 서열, 및 서열번호:3의 VH CDR3 서열, 및 서열번호:4의 경쇄 가변 영역 (VL) CDR1 서열, 서열번호:5의 VL CDR2 서열, 및 서열번호:6의 VL CDR3 서열을 포함하는 CD33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 단편이다. 용어 "r"은 정수 1 내지 10이다.

[0013] 일 구현예에서, 본 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:7 또는 9의 아미노산 서열에 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 항체 또는 이의 항원-

결합 단편은 서열번호:8 또는 10의 아미노산 서열에 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:9의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호:10의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 항체는 huMy9-6이다. 또 다른 구현예에서, 본 항체는 CDR-그래프팅되거나 또는 재표면화된 항체이다.

[0014] ADC1, ADC2, IMGN779 (하기에 정의됨) 및 이들의 약제학적으로 허용가능한 염은 개시된 치료 방법에서 사용될 수 있는 ADC들의 특정한 예이다.



[0015] "A"는 식 (I)에 대해 정의된 바와 같다. 용어 "r"은 정수 1 내지 10이다. ADC1, ADC2, 및 IMGN779를 제조하는 방법은 하기에 제공되어 있다: 미국특허 번호 8,765,740 및 9,353,127, 이것의 전체 교시는 본 명세서에 참고로 편입된다.

[0017] 약제학적으로 허용가능한 염들은 과도한 독성, 자극, 및 알러지성 반응 없이 인간 및 동물에서 사용하기에 적합한 것들이다. 식 (I)의 ADC, ADC1, ADC2, 및 IMGN779에 대한 적합한 염들에 대한 예는 미국특허 번호 8,765,740에 개시되어 있으며, 이의 전체 교시내용은 본 명세서에 참고로 편입된다. 일 구현예에서, 식 (I)의 ADC들, ADC1, ADC2, 및 IMGN779에 대해 약제학적으로 허용가능한 염은 나트륨 또는 칼륨 염이다.

[0018] 본 발명의 또 다른 구현예는 하기를 포함하는 약제학적 조성물이다: i) 유효량의 PARP 억제제; ii) 유효량의 식 (I)의 항체-약물 콘주게이트, ADC1, ADC2, IMGN779 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염; 및 iii) 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제. 일 구현예에서, 식 (I)의 ADC들, ADC1, ADC2, 및 IMGN779에 대해 약제학적으로 허용가능한 염은 나트륨 또는 칼륨 염이다.

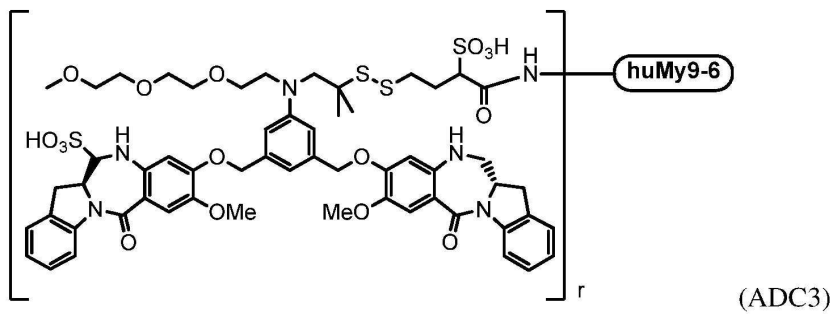
[0019] 본 발명의 또 다른 구현예는 PARP 억제제와 조합하여 암이 있는 대상체를 치료하기 위한 식 (I)의 항체-약물 콘주게이트, ADC1, ADC2, IMGN779 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다. 일 구현예에서, 식 (I)의 ADC들, ADC 1, ADC 2, 및 IMGN779에 대해 약제학적으로 허용가능한 염은 나트륨 또는 칼륨 염이다. 일 구현예에서 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 골수 백혈병 (CML), 급성 림프아구성 백혈병 (ALL), B-세포 계통 급성 림프아구성 백혈병 (B ALL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 모발세포 백혈병 (HCL), 골수이형성 증후군 (MDS), 기본적인 형질세포양 DC 신생물 (BPDCN) 백혈병, 비-호지킨 림프종 (NHL), 외투세포 림프종, 및 호지킨 백혈병 (HL)으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 화학요법 감수성이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 화학요법 저항성이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML)이다. 또 다른 구현예에서, AML은 난치성 또는 재발 급성 골수 백혈병이다. 여전히 다른 또 다른 구현예에서, AML은 P-당단백질의 과발현, EVI1의 과발현, p53 변경, DNMT3A 돌연변이, FLT3 내부일렬중복, 복합 핵형, BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서의 감소된 발

현, 또는 BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서 돌연변이를 특징으로 한다.

[0020] 본 발명의 여전히 또 다른 구현에는 PARP 억제제와 조합하여 암이 있는 대상체를 치료하기 위한 약제의 제조를 위해 식 (I)의 항체-약물 콘주게이트, ADC1, ADC2, IMGN779 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 사용이다. 일 구현예에서, 식 (I)의 ADC들, ADC1, ADC2, 및 IMGN779에 대해 약제학적으로 허용가능한 염은 나트륨 또는 칼륨 염이다. 또 다른 구현예에서 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 골수 백혈병 (CML), 급성 림프아구성 백혈병 (ALL), B-세포 계통 급성 림프아구성 백혈병 (B ALL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 모발세포 백혈병 (HCL), 골수이형성 증후군 (MDS), 기본적인 형질세포양 DC 신생물 (BPDCN) 백혈병, 비-호지킨 림프종 (NHL), 외투 세포 림프종, 및 호지킨 백혈병 (HL)으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 화학요법 감수성이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 화학요법 저항성이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML)이다. 또 다른 구현예에서, AML은 난치성 또는 재발 급성 골수 백혈병이다. 여전히 다른 또 다른 구현예에서, AML은 P-당단백질의 과발현, EVI1의 과발현, p53 변경, DNMT3A 돌연변이, FLT3 내부 일렬 중복, 복합 핵형, BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서의 감소된 발현, BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서 돌연변이를 특징으로 한다.

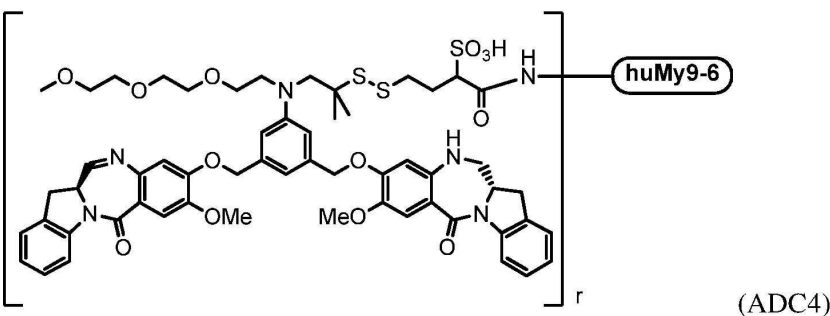
[0021] 정의

[0022] "IMGN779"는 절단가능 디설파이드 링커를 통해 DGN462에 접합된, huMy9-6 또는 Z4681A 항체 (즉, 각각 서열번호:1-3의 서열을 갖는 중쇄 CDR1-3 및 서열번호:4-6의 서열을 갖는 경쇄 CDR1-3을 포함하는 항체; 서열번호:9의 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호:10의 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체; 또는 서열번호:11의 서열을 갖는 중쇄 서열 및 서열번호:12의 서열을 갖는 경쇄 서열을 포함하는 항체)를 포함하는 CD33-표적화된 ADC를 의미한다. IMGN779는 이하에 묘사된 바와 같은 ADC3 과 같이 표시될 수 있다:



[0023]

[0024] 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염; 또는 IMGN779는 또한 다음과 같이 표시될 수 있다:이하에 묘사된 바와 같은 ADC4과 같이 표시될 수 있다:



[0025]

[0026] 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염; 또는 IMGN779는 ADC3과 ADC4의 조합 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염일 수 있다.

[0027] "P-당단백질"은 NCBI 수탁번호 NP_001035830으로 제공된 인간 서열에 적어도 약 85% 아미노산 서열 동일성을 가지고, 이것이 발현되는 세포에 대해 다중-약물 내성을 부여하는 폴리펩타이드 또는 이의 단편을 의미한다. 예시적인 인간 P-당단백질의 서열은 아래에 제공된다:

```

1 maaaeaggdd arcvrlsaer aqalladvdt llfdcdgvlw rgetavpgap ealralrarg
61 krlgfitnns sktraayaek lrrlgfggpa gpgaslevfg tayctalylr qrlagapapk
121 ayvlgspala aeleavgvas vgvgeplqg egpgdwlhap lepdvravvv gfdphfsymk
181 ltkalrylqq pgcllvgtm dnrlplengr fiagtgcivr avemaaqrqa diigkpsrifi
241 fdcvsqeygi npertvmvgd rldtdillga tcglktilt1 tgvstlgdvk nnqesdcvsk
301 kkmvpdfyvd siadllpalq g

```

[0028]

[0029]

"CD33 단백질"은 NCBI 수탁번호 CAD36509로 제공된 인간 서열에 적어도 약 85% 아미노산 서열 동일성을 가지고 항-CD33 항체 결합 활성을 갖는 폴리펩타이드 또는 이의 단편을 의미한다. 예시적인 인간 CD33 아미노산 서열이 아래에 제공된다:

```

1 mp11111p11 wagalamdpn fwlqvqesvt vqeglcvlvp ctffhpiipy dknsphvgyw
61 fregaiisrd spvatnkldq evqeetqgrf rllgdpsrnn cs1sivdarr rdngsyffrm
121 ergstkysyk spqlsvhvtd lthrpki1ip gt1epghskn ltcsvswace qgtp1pifsw1
181 saaptslgpr tthssvliit prpqdhgt1l tcqvkfagag vttert1q1n vtyvpqnptt
241 gifpgdgsqk qetravvvhg aiggagvtal lalclcliff ivkthrrkaa rtavgrndth
301 pttgsaspkh qkksklhgpt etsscsgaap tvemdeelhy aslnfhgmn1p skdtsteyse
361 vrtq

```

[0030]

[0031]

"FLT3 단백질", "FLT3 폴리펩타이드", "FLT3", "FLT-3 수용체" 또는 "FLT-3R"은 NCBI 수탁번호 NP_004110으로 제공된, 또한 일명 FLK-2 및 STK-1인 FLT3 티로신 키나제 수용체의 인간 서열에 적어도 약 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 가지고 수용체 티로신 키나제 활성을 비롯한 티로신 키나제 활성을 갖는 폴리펩타이드 또는 이의 단편을 의미한다. 일 구현예에서 FLT3 아미노산 서열은 아래에 제공된 인간 FLT3 아미노산 서열이다:

```

1 mpalardggq lp111v1fsam ifgtitnqdl pvikcvlinh knndssvgks ssypmvsesp
61 edl1calrpq ssgtvyeaaa vevdvsasit lqvlvdapgn isclwvfkhs slncqphfdl
121 qnrgvsvmvi lkmtetqage yllfiqseat nyt1lftvsi rnt1llytlrr pyfrkmenqd
181 alvcisesvp epivewvlcd sqgesckees pavvkkeekv lhelfgt1dir ccarnelgre
241 ctrlftidln qtpq1t1lpq1 flkvgeplwi rckavhvnhg fgltwelenk aleegnyfem

```

[0032]

```

301 stystnrtmi rilfafvssv arndtgyytc ssskhpsqsa lvtivekgfi natnssedye
361 idqyee1cfs vrfkayppqir ctwt1fsrksf pceqkgldng ysiskf1cnhk hqpgeyifha
421 enddaqftkm ftlnirrkpq vlaeasasqa scfsdgyplp swt1wkkcsdk spncteeite
481 gwnrkanrk vfgqwvsst lnmseaikgf lvkccaynsl gtscet1iln spgp1pfiqd
541 nisfyatigv cl1lfivvlt1 lichkykkqf ryesqlqmvq vtgssdne1yf yvdfreyeyd
601 lkwe1fprenl efgkvl1gsga fgkvmnatay g1sktgvs1iq vavkmlkeka dsserealm1s
661 elkmm1tqlgs henivn1llga ct1lsgpiy1li feyccygd1l nylrskrekf hrtwteifke
721 hnfsfypt1fq shpnssmpgs revqihpdsd q1sg1lhgnsf hsedeieyen qkrleeeed1l
781 nvl1tfed1lc fayqvakgme flefkscvhr dlaarnv1lv hgkvvki1cdf glardimsds
841 nyvvr1gnarl pvkwmapes1 fegi1ytiksd vwsy1gillwe ifslg1vnpyp g1pvdanfyk
901 liqng1fkmdq pfyateeyi1i imqscwafds rkrpsf1pnl1t sflgc1qlada eeamyqnv1dg
961 rvsecphtyq nrrpfsrem1d lg1llspqaqv eds

```

[0033]

[0034]

"FLT3-ITD"는 비제한적으로 단순 일렬 중복(들) 및/또는 삽입을 갖는 일렬 중복(들)을 포함하여 내부 일렬 중복(들)을 갖는 FLT3 폴리펩타이드를 의미한다. 다양한 구현예에서, 내부 일렬 중복(들)을 갖는 FLT3 폴리펩타이드는 활성화된 FLT3 변이체 (예를 들어, 구성적으로 자가인산화됨)이다. 일부 구현예에서, FLT3-ITD는 예를 들어, 엑손 11, 엑손 11 내지 인트론 11, 및 엑손 12, 엑손 14, 엑손 14 내지 인트론 14, 및 엑손 15를 포함하여, 임의의 엑손 또는 인트론에서 일렬 중복(들) 및/또는 삽입을 갖는 일렬 중복(들)을 포함한다. 내부 일렬 중복 돌연변이 (FLT3-ITD)는 AML 사례의 약 20-25%에서 존재하는 가장 흔한 FLT3 돌연변이이다. FLT3-ITD AML이 있는 환자는 화학요법에 대해 증가된 재발 비율 및 더 짧은 반응 기간으로, 야생형 (WT) FLT3이 있는 환자들보다 나쁜 예후를 갖는다.

[0035]

"유사체"는 동일하지는 않지만 유사한 기능적 또는 구조적 특징을 갖는 분자를 의미한다. 예를 들어, 폴리펩타이드 유사체는 자연발생 폴리펩타이드에 비하여 유사체의 기능을 증진하는 특정 생화학적 변형을 가지는 반면 상응하는 자연발생 폴리펩타이드의 생물학적 활성을 보유한다. 이러한 생화학적 변형은, 예를 들어, 리간드 결합을 변형함이 없이 유사체의 프로테아제 저항, 막 투과도, 또는 반감기를 증가시킬 수 있다. 유사체는 비천연

아미노산을 포함할 수 있다.

- [0036] 본 개시내용에서, "포함한다", "포함하는", "함유하는" 및 "갖는" 및 기타 동종의 것은 미국에서 이들에 대해 간주되는 의미를 가질 수 있다. 특허법 등에 "포함하다", "포함하는", 및 기타 동종의 것; "로 본질적으로 구성되는" 또는 "본질적으로 구성된"은 마찬가지로 미국에서 간주되는 의미를 가질 수 있다. 특허법 및 용어는 개방형으로, 인용된 것의 기본적 또는 신규한 특성이 인용된 것보다 많은 존재에 의해 변화되지 않는 한 인용된 것보다 많은 존재를 허용하지만, 선행 기술의 구현에는 배제한다.
- [0037] "실질적으로 동일한"은 기준 아미노산 서열 (예를 들어, 본 명세서에 기재된 아미노산 서열 중 임의의 하나) 또는 핵산 서열 (예를 들어, 본 명세서에 기재된 핵산 서열 중 임의의 하나)에 적어도 50% 동일성을 나타내는 폴리펩타이드 또는 핵산 분자를 의미한다. 바람직하게는, 그와 같은 서열은 비교를 위해 사용된 서열에 대해 아미노산 수준 또는 핵산에서 적어도 60%, 더 바람직하게는 80% 또는 85%, 그리고 더 바람직하게는 90%, 95% 또는 심지어 99% 동일한 것이다.
- [0038] 서열 동일성은 전형적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정된다 (예를 들어, 위스콘신주 매디슨 1710 유니버시티 애비뉴 소재의 위스콘신 대학 생명공학 센터의 유전적 컴퓨터 그룹의 서열 분석 소프트웨어 패키지, 53705, BLAST, BESTFIT, GAP, 또는 PILEUP/PRETTYBOX 프로그램). 이러한 소프트웨어는 다양한 치환, 결실, 및/또는 다른 변형의 상동성의 정도를 할당함에 의해 동일 또는 유사한 서열을 매칭한다. 보존적 치환은 전형적으로 하기 군 내에서의 치환을 포함한다: 글리신, 알라닌; 발린, 이소류신, 류신; 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민; 세린, 트레오닌; 라이신, 아르기닌; 및 페닐알라닌, 티로신. 동일성의 정도를 결정하기 위한 예시적인 접근법에 있어서, 밀접하게 관련된 서열을 나타내는 e^{-3} 내지 e^{-100} 사이의 개연성 스코어를 갖는 BLAST 프로그램이 사용될 수 있다.
- [0039] "특이적으로 결합한다"는 본 발명의 폴리펩타이드를 당연히 포함하는 샘플, 예를 들어, 생물학적 샘플에서의 관심 있는 폴리펩타이드를 인지하고 결합하지만, 다른 분자는 실질적으로 인지하지 않고 결합하지 않는 항체 또는 이의 단편을 의미한다.
- [0040] "대상체"는 포유동물, 바람직하게는 인간이지만, 그러나 또한 수의과 치료를 필요로 하는 동물, 예를 들어, 반려 동물 (예를 들어, 개, 고양이, 및 기타 동종의 것), 농장 동물 (예를 들어, 소, 양, 돼지, 말, 및 기타 동종의 것) 및 실험실 동물 (예를 들어, 랫트, 마우스, 기니아 피그, 및 기타 동종의 것)일 수 있다.
- [0041] "유효량"은 대상체에서 원하는 생물학적 반응을 도출하는 ADC 또는 PARP 억제제의 양을 의미한다. 이러한 반응은 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 경감, 질환 또는 질환자체의 증상의 재발에서의 억제 또는 지연, 치료없는 것과 비교하여 대상체의 수명에서의 증가, 또는 질환 또는 질환자체의 증상의 진행에서의 억제 또는 지연을 포함한다. ADC 또는 PARP 억제제의 독성 및 치료적 효능은 세포 배양물 및 실험적 동물에서 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 대상체에 투여되는 ADC 또는 PARP 억제제의 유효량은 다발성 골수종의 단계, 카테고리 및 상태와 대상체의 특성, 예컨대 일반적인 건강, 연령, 성별, 체중 및 약물 내성에 의존할 것이다. 투여되는 ADC 또는 PARP 억제제의 유효량은 또한 투여 경로 및 투약 형태에 의존할 것이다. 투약량 및 간격은 원하는 치료적 효과를 유지하기에 충분한 활성 화합물의 혈장 수준을 제공하도록 개별적으로 조정될 수 있다.
- [0042] 용어들 "치료", "치료하다" 및 "치료하는"은 본 명세서에서 기재된 바와 같이 암, 또는 이들의 하나 이상의 증상의 진행을 역전, 경감, 또는 억제하는 것을 지칭한다.
- [0043] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어들 "투여한다", "투여하는", "투여", 및 동종의 것은 원하는 생물학적 작용 부위에 ADC 및 PARP 억제제의 전달을 가능하도록 하기 위해 사용될 수 있는 방법을 지칭한다. 이들 방법은, 비제한적으로, 관절내 (관절 안으로), 정맥내, 근육내, 종양내, 진피내, 복강내, 피하, 경구로, 국소적으로, 척추강내로, 흡입으로, 경피로, 직장으로, 및 기타 동종의 것을 포함한다. 본 명세서에서 기재된 제제 및 방법과 함께 이용될 수 있는 투여 기술은 하기 문헌에서 발견된다: 예를 들어, Goodman and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 현재 판:Pergamon; and Remington's, *Pharmaceutical Sciences* (현재 판), Mack Publishing Co., Easton, Pa. 일 양태에서, ADC 및/또는 PARP 억제제는 정맥 내로 투여된다.
- [0044] 구체적으로 언급되지 않거나 또는 본 명세서에서 사용된 바와 같은 문맥으로부터 명백하지 않는 한, 용어 "또는"은 포괄적인 것으로 이해된다. 구체적으로 언급되지 않거나 또는 본 명세서에서 사용된 바와 같은 문맥으로부터 명백하지 않는 한, 용어들 "a", "an", 및 "the"는 단수 또는 복수인 것으로 이해된다.
- [0045] 구체적으로 언급되지 않거나 또는 본 명세서에서 사용된 바와 같은 문맥으로부터 명백하지 않는 한, 용어 "약"

은 당 업계에서의 정상적인 허용 오차, 예를 들어 평균의 2 표준 편차 이내로 이해된다. 약은 언급된 값의 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.1%, 0.05%, 또는 0.01% 이내로 이해될 수 있다. 문맥으로부터 달리 명확하지 않으면, 본 명세서에서 제공된 모든 수치는 용어 약에 의해 변형된다.

[0046] 본 명세서에서 변수의 임의의 정의에서 화학 기의 열거한 것의 인용은 임의의 단일 기 또는 열거된 군의 조합으로서의 그 변수의 정의를 포함한다. 본 명세서에서 변수 또는 양태에 대한 구현예의 인용은 임의의 단일 구현예로서 또는 임의의 다른 구현예 또는 그의 일부와 조합하여 그 구현예를 포함한다.

[0047] 본 명세서에 제공된 임의의 조성물 또는 방법은 본 명세서에 제공된 다른 조성물 및 방법의 어느 하나 이상과 조합될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0048] 도 1a는 500pM IMGN779, 50 μ M 올라파립 (O1a), 또는 500pM IMGN779 + 50 μ M 올라파립으로 처리된 HEL CD33+ AML 세포 및 WST-8 시약에 의해 측정될 때 증식에 대한 효과를 도시한다.

도 1b는 Compusyn 소프트웨어를 사용하여 계산된 HEL 세포에서 IMGN779 + 올라파립의 조합에 대한 동반상승효과/부가적 효과를 도시한다. 라인 아래 데이터 포인트는 약물 쌍들 사이에서 동반상승효과를 나타낸다.

도 2a는 750pM IMGN779, 12 μ M 올라파립 (O1a), 또는 750pM IMGN779 + 12 μ M 올라파립으로 처리된 MV4-11 CD33+ AML 세포 및 WST-8 시약에 의해 측정될 때 증식에 대한 효과를 도시한다.

도 2b는 Compusyn 소프트웨어를 사용하여 계산된 MV4-11 세포에서 IMGN779 + 올라파립의 조합에 대한 동반상승효과/부가적 효과를 도시한다. 라인 아래 데이터 포인트는 약물 쌍들 사이에서 동반상승효과를 나타낸다.

도 3a는 25pM IMGN779, 10 μ M 올라파립 (O1a), 또는 25pM IMGN779 + 10 μ M 올라파립으로 처리된 HL60 CD33+ AML 세포 및 WST-8 시약에 의해 측정될 때 증식에 대한 효과를 도시한다.

도 3b는 Compusyn 소프트웨어를 사용하여 계산된 HL 60 세포에서 IMGN779 + 올라파립의 조합에 대한 동반상승효과/부가적 효과를 도시한다. 라인 아래 데이터 포인트는 약물 쌍들 사이에서 동반상승효과를 나타낸다.

도 4는 유세포측정에 의해 평가될 때 500pM IMGN779, 50 μ M 올라파립, 또는 500pM IMGN779 + 50 μ M 올라파립으로 처리된 HEL 세포에서 세포 생존력 및 세포주기 효과를 도시한다.

도 5는 500pM IMGN779, 50 μ M 올라파립, 또는 500pM IMGN779 + 50 μ M 올라파립으로 처리된 HEL 세포에서 세포 자멸사 백분율을 도시한다.

도 6a는 올라파립의 단계적인 농도로 처리된 HEL 세포 및 0.5 Gy 방사선에서 DNA-손상 방사선 노출 후 세포사에 대한 효과를 도시한다.

도 6b는 올라파립의 단계적인 농도로 처리된 HEL 세포 및 0.75 Gy 방사선에서 DNA-손상 방사선 노출 후 세포사에 대한 효과를 도시한다.

도 7a는 전신 HEL AML 이종이식 모델에서 가변농도 (30 μ g/kg, 60 μ g/kg, 및 100 μ g/kg (적재물에 의함))에서 IMGN779의 항-백혈병성 활성을 도시한다.

도 7b는 가변농도 (30 μ g/kg, 60 μ g/kg, 및 100 μ g/kg (적재물에 의함))에서 비히클 또는 IMGN779를 투약 후 마우스에서 14일째에 백혈병성 부하를 도시한다.

도 7c는 IMGN779 (30 μ g/kg, 60 μ g/kg, 및 100 μ g/kg (적재물에 의함))의 가변농도로 처리된 전신 HEL AML 이종이식 모델에서 전반적인 생존을 도시한다.

도 8a는 전신 HEL AML 이종이식 모델에서 IMGN779 (15 μ g/kg), 올라파립 (100mg/kg), 및 IMGN779 (15 μ g/kg) + 올라파립 (100mg/kg)의 항-백혈병성 활성을 도시한다.

도 8b는 비히클, IMGN779 단독 (15 μ g/kg), 올라파립 단독 (100mg/kg)으로 투약, 또는 IMGN779 ((15 μ g/kg) + 올라파립 (100mg/kg)으로 병용 치료 후 마우스에서 22일째에 백혈병성 부하를 도시한다.

도 8c는 IMGN779 (15 μ g/kg), 올라파립 (100mg/kg), 및 IMGN779 ((15 μ g/kg) + 올라파립 (100mg/kg))으로 처리된 전신 HEL AML 이종이식 모델에서 전반적인 생존을 도시한다.

도 9a는 SPOT-페이직 이미징형성 소프트웨어를 갖는 도립 현미경에 실장된 Spot-RT3 카메라를 사용하여 도말 후

15일째에 정량화된 CFU 검정으로부터의 결과를 도시한다. 각각의 조건에 대한 대표적인 샘플이 포착되었고 트리플리케이트 웰들이 평균되고 보고되었다 (+/- 표준 편차).

도 9b는 하기의 효과를 도시한다: 1 μM 올라파립, 10pM IMGN779, 및 올라파립 (1 μM)+ IMGN779 (10pM)으로 재발성/난치성 AML이 있는 환자의 골수 샘플로부터 세포의 콜로니 형성에 대한 효과. 세포는 37C에서 15일 동안 인큐베이션되었고 그런 다음 SPOT-메이직 이미지형성 소프트웨어를 갖는 도립 현미경에 실장된 Spot-RT3 카메라를 사용하여 정량화되었다. 각각의 처리 조건에 대한 대표적인 샘플 이미지가 도시되어 있다.

도 10a 및 10b는 다양한 농도에서 루카파립, 벨파립, 니라파립, 탈라조파립, 및 올라파립로 처리 후 (A) HEL-luc 및 (B) HL60 세포주의 증식을 도시한다.

도 11a, 11b 및 11c는 하기로 처리된 HEL-luc 세포를 도시한다: 800 pM IMGN779, 0.8 μM 탈라조파립 (Tal), 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM Tal (도 11a); 800 pM IMGN779, 0.8 μM 올라파립 (Ola), 800 pM IMGN779 + 0.8 μM Ola (도 11b); 800 pM IMGN779, 0.8 μM 니라파립 (Nir), 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM Nir (도 11c), 및 WST-8 시약에 의해 측정될 때 증식에 대한 효과.

도 12a 및 12b는 Compusyn 소프트웨어를 사용하여 계산될 때 HEL-luc 세포에서 IMGN779 + 니라파립 (도 12a)의 조합 및 IMGN779 + 탈라조파립 (도 12b)의 조합에 대한 동반상승효과/부가적 효과를 도시한다라인 아래 데이터 포인트는 약물 쌍들 사이에서 동반상승효과를 나타낸다.

도 13a, 13b 및 13c는 유세포측정에 의해 측정될 때, 800 pM IMGN779, 0.8 μM 올라파립, 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM 올라파립 (도 13a); 800 pM IMGN779, 0.8 μM 탈라파립, 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM 탈라파립 (도 13b); 및 800 pM IMGN779, 0.8 μM 니라파립, 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM 니라파립 (도 13c)으로 처리된 HEL-luc 세포에서의 세포자멸사 백분율을 도시한다.

도 14a, 14b 및 14c는 유세포측정에 의해 측정될 때, 800 pM IMGN779, 0.8 μM 탈라파립, 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM 탈라파립 (도 14a); 800 pM IMGN779, 0.8 μM 올라파립, 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM 올라파립 (도 14b); 및 800 pM IMGN779, 0.8 μM 니라파립, 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM 니라파립 (도 14c)으로 처리된 HEL-luc 세포에서의 세포 생존력 및 세포 주기 효과를 도시한다.

도 15a, 15b 및 15c는 하기로 처리된 HEL-luc 세포에서 인산화된 H2AX 염색에 대한 양성 %에 의해 측정된 DNA 손상의 정도를 도시한다: 800 pM IMGN779, 0.8 μM 탈라파립, 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM 탈라파립 (도 15a); 800 pM IMGN779, 0.8 μM 올라파립, 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM 올라파립 (도 15b); 및 800 pM IMGN779, 0.8 μM 니라파립, 또는 800 pM IMGN779 + 0.8 μM 니라파립 (도 15c).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0049] 본 발명은 인돌리노-벤조디아제핀 이량체 세포독성 적재물을 함유하는 CD33-표적화된 ADC, 특히, 식 (I)의 ADC 및 PARP 억제제의 조합을 투여함에 의해 암 환자, 예를 들어, 혈액성 암, 예컨대 AML을 치료하는 방법을 특징으로 한다.

[0050] 본 발명은 절단가능 디설파이드 링커를 통해 신규한 DNA-알킬화제인 DGN462에 접합된, huMy9-6 또는 Z4681A로도 공지된, 항-huCD33 항체를 포함하는 CD33-표적 항체 약물 콘주게이트인 IMGN779와 올라파립의 조합이 개별 제제 단독보다 일차 환자 AML 세포에 대해 시험관내 및 마우스에서 AML 이종이식에 대해 생체내에서 보다 활성이라는 발견에 적어도 부분적으로 기초된다.

[0051] **항-CD33 항체**

[0052] 일 구현예에서, 식 (I)의 ADC, ADC1, 또는 ADC2에서의 항체는 항-CD33 항체, 특히, huMy9-6 항체이다.

[0053] "My9-6", "컷과 My9-6" 및 "muMy9-6"는 huMy9-6이 유래되어 지는 컷과 항-CD33 항체이다. My9-6는 경쇄 및 중쇄 가변 영역 둘 모두의 생식계열 아미노산 서열, 경쇄 및 중쇄 가변 영역 둘 모두의 아미노산 서열, CDR들의 확인, 표면 아미노산의 확인 및 재조합 형태로 그것의 발현에 대한 수단에 관하여 완전하게 특성 규명되어 있다. 예를 들어, 미국특허 번호 7,557,189; 7,342,110; 8,119,787; 8,337,855 및 미국특허공보 번호 20120244171를 참고하고, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입된다. muMy9-6의 아미노산 서열은 또한 하기 표 1에 도시되어 있다. My9-6 항체는 또한 기능적으로 특성 규명되었고 CD33-양성 세포의 표면 상의 CD33에 대해 고친화도로 결합하는 것으로 나타났다.

[0054] 용어 "가변 영역"은 항체 중에서 서열이 다르고 그것의 항원에 대한 각각의 특정 항체의 결합 및 특이성에서 협

동하는 항체 중쇄 및 경쇄의 특정 부분을 기술하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 가변성은 일반적으로 항체 가변 영역 전반에 걸쳐 고르게 분포되지 않는다. 이것은 전형적으로 경쇄 및 중쇄 가변 영역 둘 모두에서 상보성-결정 영역 (CDR) 또는 초가변성 영역으로 불리는 가변 영역의 3개 분절 내에 집중되어 있다. 가변 영역의 보다 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역으로 불린다. 중쇄 및 경쇄의 가변영역은 베타-시트 구조를 연결하고, 일부 경우에 베타-시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성하는 3개 CDR들에 의해 연결된, 각각의 프레임워크 영역을 갖는 베타-시트 배치형태를 주로 채택하는, 4개의 프레임워크 영역을 포함한다. 각각의 사슬에서 CDR들은 프레임워크 영역에 의해 가깝게 근접하여 유지되고, 그리고 다른 사슬로부터의 CDR들과 함께 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다 (E.A.Kabat *et al.* Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, 1991, NIH). "불변" 영역은 항원에 항체를 결합하는데 직접적으로 관여하지는 않지만, 다양한 효과기 기능, 예컨대 항체-의존적 세포독성에 항체의 참여를 나타낸다.

	아미노산 서열
중쇄 가변 영역 상보적 결정 영역 CDR1 (젓과 및 인간화된 것)	SYIYH (서열번호:1)
중쇄 가변 영역 상보적 결정 영역 CDR2 (젓과 및 인간화된 것)	VIYPGNDDISYNQKFXG (서열번호:2), 여기서 X는 K 또는 Q 임
중쇄 가변 영역 상보적 결정 영역 CDR3 (젓과 및 인간화된 것)	EVRLRYFDV (서열번호:3)
경쇄 가변 영역 상보적 결정 영역 CDR1 (젓과 및 인간화된 것)	KSSQSVFFSSSQKNYLA (서열번호:4)
경쇄 가변 영역 상보적 결정 영역 CDR2 (젓과 및 인간화된 것)	WASTRES (서열번호:5)
경쇄 가변 영역 상보적 결정 영역 CDR3 (젓과 및 인간화된 것)	HQYLSSRT (서열번호:6)
젓과 중쇄 가변 영역	QVQLQQPGAEEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYIHWIKQTPGQGLEWVGVYIYPGNDDISYNQKFKGKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAREVRLRYFDVWGAGTTVTVSS (서열번호:7)
젓과 경쇄 가변 영역	NIMLTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSVFFSSSQKNYLAWYQQIPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGGTDFTLTITSSVQSEDLAIYYCHQYLSSRTFGGGTKLEIKR (서열번호:8)

[0055]

본 명세서에서 "huMy9-6" 및 "인간화된 My9-6"로 다양하게 지정된, My9-6의 인간화된 버전이 또한 기재된다.

[0056]

[0057]

인간화의 목표는 항체의 전체 항원 결합 친화도 및 특이성을 유지하면서, 인간 안으로 도입을 위해 이종 항체, 예컨대 젓과 항체의 면역원성에서의 감소이다. 인간화된 항체는 몇 개의 기술, 예컨대 재표면화 및 CDR 이식을 사용하여 생산될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 재표면화 기술은 표적 숙주의 공지된 항체의 표면을 닮도록 항체 가변 영역의 비-CDR 표면을 변형하는 분자 모델링, 통계적인 분석 및 돌연변이유발의 조합을 사용한다.

[0058]

항체의 재표면화에 대한 전략 및 방법, 및 상이한 숙주 내에 항체의 면역원성을 감소시키기 위한 다른 방법이 미국특허 번호 5,639,641 (Pedersen *et al.*)에 개시되어 있으며, 이것은 이로써 전체적으로 참고로 편입된다. 간단히, 바람직한 방법에 있어서, (1) 항체 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 풀의 위치 정렬이 생성되어 모든 가변 영역에 대한 정렬 위치가 적어도 약 98% 동일한 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 위치의 세트를

제공하고; (2) 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트는 설치류 항체 (또는 이의 단편)에 대해 정의되고; (3) 설치류 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트에 가장 밀접하게 동일한 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트가 확인되고; (4) 단계 (2)에서 정의된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트가, 설치류 항체의 상보성-결정 영역 중 임의의 잔기 중 임의의 원자의 5 옹스트롬 이내인 이들 아미노산 잔기를 제외하고, 단계 (3)에서 확인된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트로 치환되고; 그리고 (5) 결합 특이성을 갖는 인간화된 설치류 항체가 생산된다.

[0059] 항체는 하기를 포함하는 다양한 다른 기술을 사용하여 인간화될 수 있다: CDR-그래프팅 (EP 0 239 400; WO 91/09967; 미국특허 번호 5,530,101; 및 5,585,089), 베니어링 또는 재표면화 (EP 0 592 106; EP 0 519 596; Padlan E.A., 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498; Studnicka G.M. *et al.*, 1994, *Protein Engineering* 7(6):805-814; Roguska M.A. *et al.*, 1994, *PNAS* 91:969-973), 및 사슬 셔플링 (미국특허 번호 5,565,332). 인간 항체는 파아지 디스플레이 방법을 포함하여 당해 분야에서 공지된 다양한 방법에 의해 만들어질 수 있다. 또한 하기를 참조한다: 미국특허 번호 4,444,887, 4,716,111, 5,545,806, 및 5,814,318; 및 국제특허 출원 공개 번호 WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, 및 WO 91/10741 (상기 참조문헌은 그것의 전체로 참고로 편입됨).

[0060] 본 명세서에 추가로 기재된 바와 같이, My9-6의 CDR들은 모델링에 의해 확인되었고 그것의 분자 구조가 예상되었다. 인간화된 My9-6 항체가 그런 다음, 예를 들어 하기에 기재된 바와 같이 제조되었고 그리고 완전하게 특징화되었다: 미국특허 번호 7,342,110 및 7,557,189, 이것은 본 명세서에 참고로 편입된다. 수 많은 huMy9-6 항체의 경쇄 및 중쇄의 아미노산 서열은, 예를 들어, 하기에 기재되어 있다: 미국특허 번호 8,337,855 및 미국특허 공보 번호 8,765,740, 이들 각각은 본 명세서에 참고로 편입된다. 표 2에 나타난 아미노산 서열은 본 발명의 huMy9-6 항체를 기술한다.

	아미노산 서열
인간화된 중쇄 가변 영역	QVQLQQPGEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYIHWIKQTPGQGLEWVGVYIPGN DDISYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYY CAREVRLRYFDVWGGTTVTSS (서열번호:9)
인간화된 경쇄 가변 영역	EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSQKNYLAWYQQIPGQSPRLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTISVQPEDLAIYYCHQYLS SRTFGQGTKLEIKR (서열번호:10)
전장 인간화된 중쇄 영역	QVQLQQPGEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYIHWIKQTPGQGLEWVGVYIPGN DDISYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAREVRLRYFDVWGG GTTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKS CDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQK SLSLSPG (서열번호:11)
전장 인간화된 경쇄 영역	EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSQKNYLAWYQQIPGQSPRLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTISVQPEDLAIYYCHQYLSRRTFGQGTKLE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호:12)

[0061]

[0062] 비록 컷과 My9-6 항체 및 인간화된 My9-6 항체의 에피토프-결합 단편이 컷과 My9-6 항체 및 이들의 인간화된 버전과 별도로 본 명세서에서 논의되었지만, 본 발명의 용어 "항체" 또는 "항체들"은 전장 muMy9-6 및 huMy9-6 항

체 양자뿐만 아니라 이들 항체의 에피토프-결합 단편을 포함할 수 있다고 해석된다.

- [0063] 추가 구현예에서, 서열번호:1-6으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지고 CD33에 결합하는 능력을 갖는 적어도 하나의 상보성-결정 영역을 포함하는 항체 또는 이들의 에피토프-결합 단편이 제공된다.
- [0064] 추가 구현예에서, 적어도 하나의 중쇄 가변 영역 및 적어도 하나의 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 이들의 에피토프-결합 단편이 제공되고, 여기서 상기 중쇄 가변 영역은 각각 서열번호:1-3에 의해 표시되는 아미노산 서열을 갖는 3개 상보성-결정 영역을 포함하고, 그리고 여기서 상기 경쇄 가변 영역은 각각 서열번호:4-6에 의해 표시되는 아미노산 서열을 갖는 3개 상보성-결정 영역을 포함한다.
- [0065] 추가 구현예에서, 서열번호:7에 의해 표시되는 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성, 더 바람직하게는 서열번호:7과 95% 서열 동일성, 가장 바람직하게는 서열번호:7과 100% 서열 동일성을 공유하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 갖는 항체가 제공된다.
- [0066] 유사하게, 서열번호:8에 의해 표시되는 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성, 더 바람직하게는 서열번호:8과 95% 서열 동일성, 가장 바람직하게는 서열번호:8과 100% 서열 동일성을 공유하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 갖는 항체가 제공된다.
- [0067] 추가 구현예에서, 서열번호:9에 의해 표시되는 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성, 더 바람직하게는 서열번호:9와 95% 서열 동일성, 가장 바람직하게는 서열번호:9와 100% 서열 동일성을 공유하는 인간화된 (예를 들어, 재표면화된, CDR-그래프팅된) 중쇄 가변 영역을 갖는 항체가 제공된다.
- [0068] 유사하게, 서열번호:10에 상응하는 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성, 더 바람직하게는 서열번호:10과 95% 서열 동일성, 가장 바람직하게는 서열번호:10과 100% 서열 동일성을 공유하는 인간화된 (예를 들어, 재표면화된, CDR-그래프팅된) 경쇄 가변 영역을 갖는 항체가 제공된다. 특정 구현예에서, 항체는 CDR들의 프레임워크 영역 외측에 보존적 돌연변이를 포함한다.
- [0069] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "항체 단편"은, 일반적으로 "에피토프-결합 단편"으로 명명되는, CD33에 결합하는 능력을 보유하는 임의의 항체 부분을 포함한다. 항체단편의 예는 바람직하게는, 비제한적으로, Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, 단일-사슬 Fvs (scFv), 단일-사슬 항체, 디설파이드-연결된 Fvs (sdFv) 및 V_L 또는 V_H 도메인 중 어느 하나를 포함하는 단편을 포함한다. 단일-사슬 항체를 포함한 에피토프-결합 단편은 단독으로 또는 하기 중 전체 또는 일부와 조합하여 가변영역(들)을 포함할 수 있다: 힌지 영역, C_{H1}, C_{H2}, 및 C_{H3} 도메인. 이러한 단편은 하나 또는 둘 모두의 Fab 단편 또는 F(ab')₂ 단편을 함유할 수 있다. 바람직하게는, 항체 단편은 전체 항체의 6개의 CDR들 모두를 함유하지만, 이러한 영역의 모두보다 적은, 예컨대 3개, 4개 또는 8개 CDR들을 함유하는 단편도 또한 기능적이다. 또한, 기능적 등가물은 하기 면역글로불린 부류 중 임의의 하나의 구성원일 수 있거나 또는 조합할 수 있다: IgG, IgM, IgA, IgD, 또는 IgE, 및 이들의 서브클래스. Fab 및 F(ab')₂ 단편은 효소 예컨대 파파인 (Fab 단편) 또는 펩신 (F(ab')₂ 단편)을 사용한 단백질분해 절단에 의해 생산될 수 있다. 단일-사슬 FVs (scFvs) 단편은 항체 경쇄 가변 영역 (V_L)의 적어도 하나의 단편에 연결된 항체 중쇄 가변 영역 (V_H)의 적어도 하나의 단편을 함유하는 에피토프-결합 단편이다. 링커는 (V_L) 및 (V_H) 영역의 적절한 3차원 폴딩이 단일-사슬 항체 단편이 유래되는 전체 항체의 표적 분자 결합-특이성을 유지하도록 하기 위해 일단 이들이 연결되면 발행하는 것을 보장하기 위해 선택된 짧은, 가요성 펩타이드일 수 있다. (V_L) 또는 (V_H) 서열의 카복실 말단은 상보적 (V_L) 및 (V_H) 서열의 아미노산 말단에 링커에 의해 공유결합될 수 있다. 단일-사슬 항체 단편은 분자 클로닝, 항체 파아지 디스플레이 라이브러리 또는 숙련자에게 잘 알려진 유사한 기술에 의해 생성될 수 있다. 이들 단백질은, 예를 들어, 박테리아를 포함하여, 진핵 세포 또는 원핵 세포에서 생산될 수 있다.
- [0070] 본 발명의 에피토프-결합 단편은 또한 당해 분야에서 공지된 다양한 파아지 디스플레이 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 파아지 디스플레이 방법에서, 기능적 항체 도메인은 이들을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 담지하는 파아지 입자의 표면 상에 디스플레이된다. 특히, 이러한 파아지는 레퍼토리 또는 조합 항체 라이브러리 (예를 들어, 인간 또는 쥐)로부터 발현된 에피토프-결합 도메인을 디스플레이하기 위해 이용될 수 있다. 관심 있는 항원에 결합하는 에피토프-결합 도메인을 발현하는 파아지는, 예를 들어 단단한 표면 또는 비드에 결합 또는 포착된 CD33 또는 표지된 CD33을 사용한 항원으로 선택되거나 또는 확인될 수 있다. 이들 방법에서 사용된 파아지는 전형적으로 파아지 유전자 III 또는 유전자 VIII 단백질 중 어느 하나에 재조합으로 융합된 Fab, Fv 또는 디설파이드-안정화된 Fv 항체 도메인을 갖는 파아지로부터 발현된 fd 및 M13 결합 도메인을 포함한 섬유상

파아지이다.

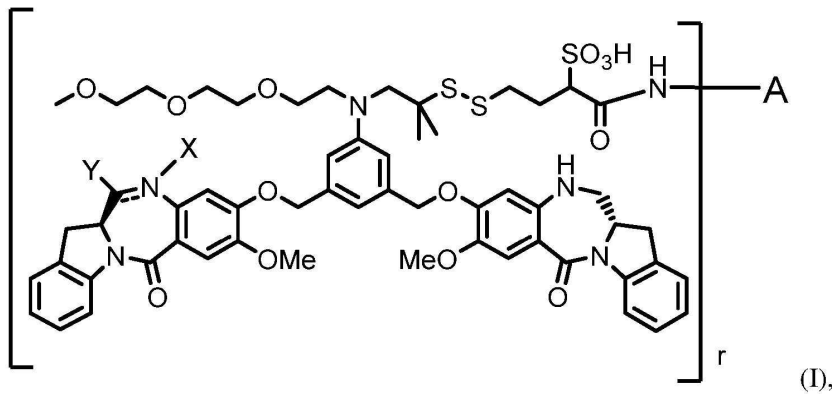
- [0071] 본 발명의 에피토프-결합 단편을 제조하기 위해 사용될 수 있는 파아지 디스플레이 방법의 예는 하기 참조문헌들에 개시된 것들을 포함한다: Brinkman *et al.*, 1995, *J. Immunol. Methods* 182:41-50; Ames *et al.*, 1995, *J. Immunol. Methods* 184:177-186; Kettleborough *et al.*, 1994, *Eur.J. Immunol.* 24:952-958; Persic *et al.*, 1997, *Gene* 187:9-18; Burton *et al.*, 1994, *Advances in Immunology* 57:191-280; PCT 출원번호 PCT/GB91/01134; PCT 공개 WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401; 및 미국특허 번호 5,698,426; 5,223,409; 5,403,484; 5,580,717; 5,427,908; 5,750,753; 5,821,047; 5,571,698; 5,427,908; 5,516,637; 5,780,225; 5,658,727; 5,733,743 및 5,969,108; 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입된다.
- [0072] 파아지 선택 후, 단편을 인코딩하는 파아지의 영역은, 예를 들어, 아래에 상세히 기재된 바와 같이, 재조합 DNA 기술을 사용하여 포유동물 세포, 곤충 세포, 식물 세포, 효모, 및 박테리아를 포함한 선택된 숙주에서 발현을 통해 에피토프-결합 단편을 생성하기 위해 단리되고 사용될 수 있다. 예를 들어, 당해 분야에서 공지된 방법 예컨대 PCT 공개 WO 92/22324; Mullinax *et al.*, 1992, *BioTechniques* 12(6):864-869; Sawai *et al.*, 1995, *AJRI*34:26-34; 및 Better *et al.*, 1988, *Science* 240:1041-1043에 개시된 것들을 사용하는 Fab, Fab' 및 F(ab')₂ 단편을 재조합으로 생산하는 기술이 이용될 수 있고; 상기 참조문헌들은 그것의 전체로 참고로 편입된다. 단일-사슬 Fvs 및 항체들을 생산하기 위해 사용될 수 있는 기술의 예는 하기에 기재된 것들을 포함한다: 미국특허 번호 4,946,778 및 5,258,498; Huston *et al.*, 1991, *Methods in Enzymology* 203:46-88; Shu *et al.*, 1993, *PNAS* 90:7995-7999; Skerra *et al.*, 1988, *Science* 240:1038-1040.
- [0073] My9-6 항체 및 인간화된 My9-6 항체의 기능적 등가물이 또한 본 발명의 범위 내에 포함된다. 용어 "기능적 등가물"은, 예를 들어, 상동성 서열, 키메라성 항체, 변형된 항체 및 인공 항체를 갖는 항체들을 포함하고, 여기서 각각의 기능적 등가물은 CD33에 결합하는 그것의 능력에 의해 정의된다. 숙련가는 "항체 단편"으로 명명된 분자군 및 "기능적 등가물"로 명명된 군에서 중첩이 있음을 이해할 것이다.
- [0074] 상동성 서열을 갖는 항체는 본 발명의 쫓과 My9-6 및 인간화된 My9-6 항체의 아미노산 서열과 서열 동일성 또는 상동성을 갖는 아미노산 서열이 있는 이들 항체이다. 바람직하게는 동일성은 본 발명의 쫓과 My9-6 및 인간화된 My9-6 항체의 가변 영역의 아미노산 서열과의 것이다. 본 명세서에서 아미노산 서열에 적용된 것으로 "서열 동일성" 및 "서열 상동성"은, 예를 들어, Pearson 및 Lipman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 2444-2448 (1988)에 따른 FASTA 조사 방법에 의해 결정될 때 또 다른 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 또는 94% 서열 동일성, 그리고 더 바람직하게는 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 서열로 정의된다.
- [0075] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 키메라성 항체는 항체의 상이한 부분이 상이한 동물 종으로부터 유래된 것이다. 예를 들어, 쫓과 단클론성 항체로부터 유래된 가변 영역을 갖는 항체는 인간 면역글로불린 불변 영역과 쌍으로 된다. 키메라성 항체를 생산하는 방법은 당해 기술에 공지되어 있다. 예를 들어, Morrison, 1985, *Science* 229:1202; Oi *et al.*, 1986, *BioTechniques* 4:214; Gillies *et al.*, 1989, *J. Immunol. Methods* 125:191-202; 미국특허 번호 5,807,715; 4,816,567; 및 4,816,397을 참고하며, 이것은 그것의 전체로 본 명세서에 참고로 편입된다.
- [0076] CDR들은 에피토프 인식 및 항체 결합에 대해 일차적으로 중요한 것이다. 그러나, 그것의 동족 에피토프를 인식하고 결합하는 항체의 능력을 방해함이 없이 CDR들을 포함하는 잔기에 대해 변형이 이루어질 수 있다. 예를 들어, 에피토프 인식에 영향을 주지 않지만 에피토프에 대한 항체의 결합 친화도를 증가시키는 변형이 이루어질 수 있다.
- [0077] 따라서, 바람직하게는 증가된 친화성으로 또한 구체적으로 CD33를 인식하고 결합하는 쫓과 및 인간화된 항체 둘 모두의 개선된 버전이 또한 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0078] 몇 개의 연구는 일차 항체 서열의 인지 및 그것의 특성 예컨대 결합 및 발현 수준에 기초하여 항체의 서열에서의 다양한 위치에서 1개 이상의 아미노산 변화를 도입한 효과를 조사했다 (Yang, W.P. *et al.*, 1995, *J. Mol. Biol.*, 254, 392-403; Rader, C. *et al.*, 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 8910-8915; Vaughan, T.J. *et al.*, 1998, *Nature Biotechnology*, 16, 535-539).
- [0079] 이들 연구에서, 일차 항체의 등가물은 올리고뉴클레오타이드-매개된 부위 지향적 돌연변이유발, 카세트 돌연변이유발, 오류유발 PCR, DNA 서플링, 또는 E. 콜리의 돌연변이-균주의 방법을 사용하여, CDR1, CDR2, CDR3, 또는

프레임워크 영역에서의 중쇄 및 경쇄 유전자의 서열을 변형함에 의해 생성되었다(Vaughan, T.J. *et al.*, 1998, Nature Biotechnology, 16, 535-539; Adey, N.B. *et al.*, 1996, Chapter 16, pp. 277-291, "Phage Display of Peptides and Proteins", Eds. Kay, B.K. *et al.*, Academic Press). 일차 항체의 서열을 변형하는 이들 방법은 이차 항체의 개선된 친화성을 초래했다(Gram, H. *et al.*, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 3576-3580; Boder, E.T. *et al.*, 2000, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97, 10701-10705; Davies, J. and Riechmann, L., 1996, Immunotechnology, 2, 169-179; Thompson, J. *et al.*, 1996, J. Mol. Biol., 256, 77-88; Short, M.K. *et al.*, 2002, J. Biol. Chem., 277, 16365-16370; Furukawa, K. *et al.*, 2001, J. Biol. Chem., 276, 27622-27628).

[0080] 항체의 1개 이상의 아미노산 잔기를 변형하는 유사한 지향된 전략에 의해, 본 명세서에 기재된 항체 서열 (*e.g.*, 표 1 및 2)은 CD33에 대한 개선된 친화성을 포함하여, 개선된 기능을 갖는 항-CD33 항체를 개발하기 위해 사용될 수 있다. 개선된 항체는 또한 동물 면역화, 하이브리도마 형성 및 특이적 특성을 갖는 항체 선택의 표준 기술에 의해 제조된 개선된 특성을 갖는 이들 항체를 포함한다.

[0081] **CD33-표적 항체 약물 운주게이트**

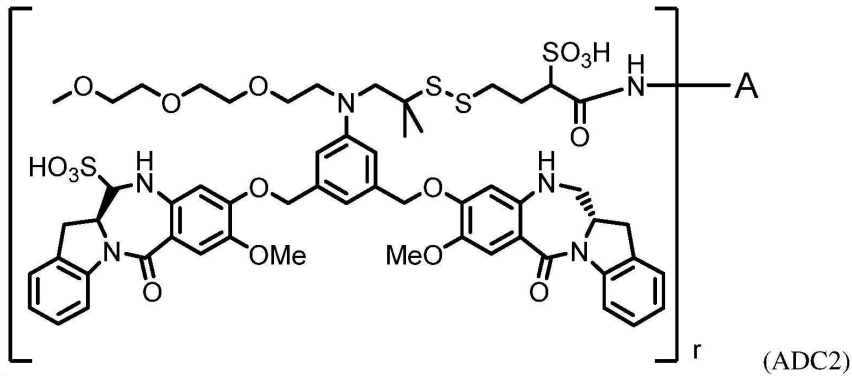
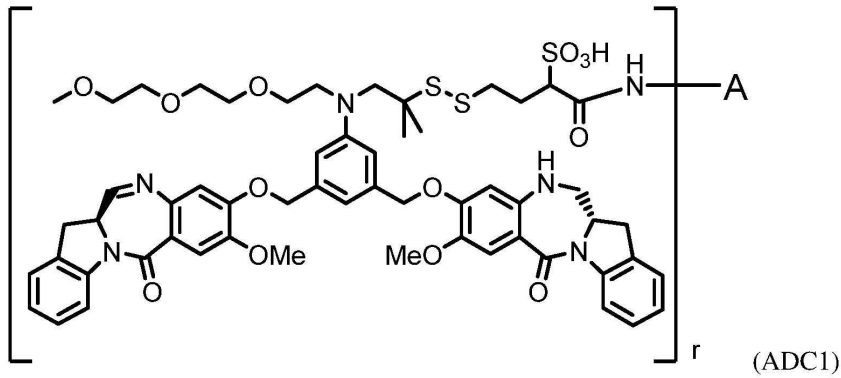
[0082] 특정 구현예에서, 본 발명은 하기를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 상기 대상체에서 암, 예를 들어, 혈액성 암을 치료하는 방법을 제공한다: 유효량의 올라파립 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 유효량의 식 (I)의 ADC:



[0083] 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염. N과 C 사이의 이중선 == 은 단일결합 또는 이중결합 중 하나를 나타내고, 단, 이것이 이중결합일 때, X는 부재하고 Y는 수소이며; 그리고 이것이 단일결합일 때, X는 수소이고 Y는 -SO₃H이다. 용어 "A"는 서열번호:1의 중쇄 가변 영역 (VH) 상보적 결정 영역 (CDR)1 서열, 서열번호:2의 VH CDR2 서열, 및 서열번호:3의 VH CDR3 서열, 및 서열번호:4의 경쇄 가변 영역 (VL) CDR1 서열, 서열번호:5의 VL CDR2 서열, 및 서열번호:6의 VL CDR3 서열을 포함하는 CD33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 용어 "r"은 정수 1 내지 10이다.

[0085] 일 구현예에서, 본 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:7 또는 9의 아미노산 서열에 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:8 또는 10의 아미노산 서열에 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일 구현예에서, 본 항체는 huMy9-6이다. 또 다른 구현예에서, 본 항체는 CDR-그래프팅되거나 또는 재표면화된 항체이다.

[0086] ADC1, ADC2, IMGN779, 및 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 개시된 치료 방법에서 사용될 수 있는 ADC들의 특정 예이다.



[0087]

[0088]

"A"은 식 (I)에 대해 정의된 바와 같다. 용어 "r"은 정수 1 내지 10이다. ADC1, ADC2, 및 IMGN779를 제조하는 방법은 하기에 제공되어 있다: 미국특허 번호 8,765,740 및 9,353,127, 이것의 전체 교시는 본 명세서에 참고로 편입된다.

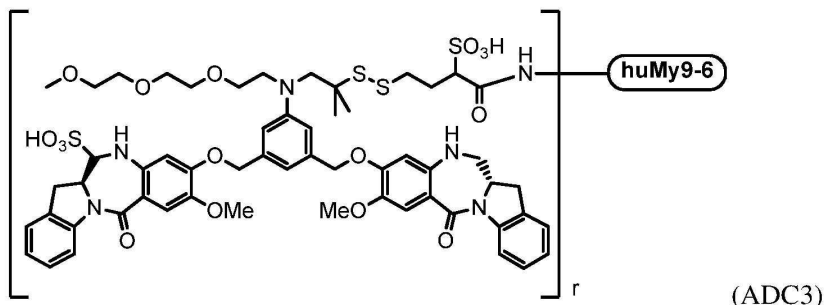
[0089]

다른 구현예에서, 다음의 항체 부분, 즉 식 (I)의 ADC, ADC1, 또는 ADC2의 것은 다음의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD33 항체이다: 서열번호:9에 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 또는 94% 서열 동일성, 그리고 더 바람직하게는 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호:10에 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 또는 94% 서열 동일성, 그리고 더 바람직하게는 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역.

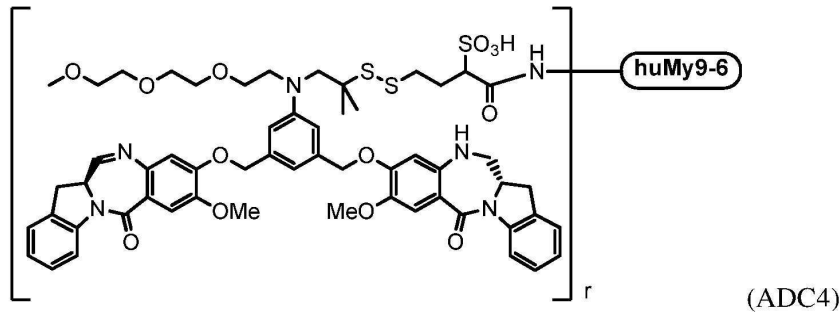
[0090]

특정 구현예에서, 식 (I)의 ADC, ADC1 또는 ADC2의 항체 부분은 huMy9-6 항체로, 또한 "Z4681A"로 명명된다. 특정 구현예에서, CD33-표적화된 ADC는 IMGN779이다. IMGN779는 절단가능 디설파이드 링커를 통해 DGN462에 접합된, huMy9-6 또는 Z4681A 항체를 포함한다. IMGN779는 이하에 묘사된 바와 같이 표시될 수 있다: ADC3:

[0091]



[0092] 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염; 또는 IMGN779는 또한 ADC4로서 이하에 나타낼 수 있다:



[0093] 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염; 또는 IMGN는 또한 ADC3과 ADC4의 조합일 수 있다.

[0095] 특정 구현예에서, 본 명세서에 기재된 콘주게이트는 1-10 세포독성 벤조디아제핀 이량체 화합물, 2-9 세포독성 벤조디아제핀 이량체 화합물, 3-8 세포독성 벤조디아제핀 이량체 화합물, 4-7 세포독성 벤조디아제핀 이량체 화합물, 또는 5-6 세포독성 벤조디아제핀 이량체 화합물을 포함할 수 있다.

[0096] 특정 구현예에서, 본 명세서에 기재된 콘주게이트를 포함하는 조성물은 항체 분자당 평균 1-10 세포독성 벤조디아제핀 이량체 분자를 포함할 수 있다. 항체 분자당 세포독성 벤조디아제핀 이량체 분자의 평균 비는 본 명세서에서 약물 항체 비 (DAR)로 언급된다. 일 구현예에서, DAR은 2-8, 3-7, 3-5 또는 2.5-3.5 사이이다.

[0097] 본 명세서에 기재된 세포독성 벤조디아제핀 이량체 화합물 및 콘주게이트는 하기에 기재된 방법에 따라 제조될 수 있다: 미국특허 번호 8,765,740 및 9,353,127, 예를 들어, 비제한적으로, 하기의 단락 [0395]-[0397] 및 [0598]-[0607], 도 1, 15, 22, 23, 38-41, 43, 48, 55 및 60, 및 실시예 1, 6, 12, 13, 20, 21, 22, 23, 26-30 및 32로서, 미국특허 번호 8,765,740의 것 및 하기의 단락 [0007]-[0105], [0197]-[0291], 도 1-11, 16, 28 및 실시예 1-7, 9-13, 15 및 16의 것으로 미국특허 번호 9,353,127의 것.

[0098] 용어 "양이온"은 양전하를 갖는 이온을 지칭한다. 양이온은 1가 (예를 들어, Na⁺, K⁺, 등.), 2가 (예를 들어, Ca²⁺, Mg²⁺, 등.) 또는 다가 (예를 들어, Al³⁺ 등.)일 수 있다. 바람직하게는, 양이온은 1가이다.

[0099] 어구 "약제학적으로 허용가능한"은 서브스텐스 또는 조성물이 제형을 포함하는 다른 성분과 및/또는 이들로 치료되는 포유동물과 화학적으로 및/또는 독물학적으로 양립 가능해야 한다는 것을 나타낸다.

[0100] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 어구 "약제학적으로 허용가능한 염"은 본 발명의 화합물의 약제학적으로 허용가능한 유기 또는 무기 염을 지칭한다. 예시적인 염은, 비제한적으로, 설페이트, 시트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 염화물, 브로마이드, 아이오다이드, 니트레이트, 바이설페이트, 포스페이트, 산 포스페이트, 이소니코티네이트, 락테이트, 살리실레이트, 산 시트레이트, 타르트레이트, 올레에이트, 탄네이트, 판토테네이트, 바이타르트레이트, 아스코르베이트, 석시네이트, 말레에이트, 겐티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄설포네이트 "메실레이트", 에탄설포네이트, 벤젠설포네이트, p-톨루엔설포네이트, 파모에이트 (즉, 1,1'-메틸렌-비스-(2-하이드록시-3-나프토포네이트)) 염, 알칼리 금속 (예를 들어, 나트륨 및 칼륨) 염, 알칼리토금속 (예를 들어, 마그네슘) 염, 및 암모늄염을 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 염은 또 다른 분자 예컨대 아세테이트 이온, 석시네이트 이온 또는 다른 반대 이온의 봉입을 포함할 수 있다. 반대 이온은 모 화합물의 전하를 안정화시키는 임의의 유기 또는 무기 모이어티일 수 있다. 게다가, 약제학적으로 허용가능한 염은 그것의 구조에 1 초과와 하전된 원자를 가질 수 있다. 다중 하전된 원자가 약제학적으로 허용가능한 염의 일부인 사례는 다중 반대 이온을 가질 수 있다. 그러므로, 약제학적으로 허용가능한 염은 1개 이상의 하전된 원자 및/또는 1개 이상의 반대 이온을 가질 수 있다. 특정 구현예에서, 약제학적으로 허용가능한 염은 나트륨 또는 칼륨 염이다.

[0101] 본 발명의 화합물이 염기인 경우, 원하는 약제학적으로 허용가능한 염은 당 업계에서 이용가능한 임의의 적합한 방법, 예를 들어, 무기산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 메탄설포산, 인산 및 동종의 것으로, 또는 유기산, 예컨대 아세트산, 말레산, 석신산, 만델산, 푸마르산, 말론산, 피루브산, 옥살산, 글라이콜산, 살리실산, 피라노시딜산, 예컨대 글루쿠론산 또는 갈락투론산, 알파하이드록시산, 예컨대 시트르산 또는 타르타르산, 아미노산, 예컨대 아스파르트산 또는 글루탐산, 방향산, 예컨대 벤조산 또는 신남산, 설페산, 예컨대 p-톨루엔설포산 또는 에탄설포산, 등으로 유리 염기의 처리에 의해 제조될 수 있다.

[0102] 본 발명의 화합물이 산인 경우, 원하는 약제학적으로 허용가능한 염은 염의 적합한 방법, 예를 들어, 무기 또는 유기 염기, 예컨대 아민 (일차, 이차 또는 삼차), 알칼리금속 하이드록사이드 또는 알칼리토금속 하이드록사이드, 등으로 유리 산의 처리에 의해 제조될 수 있다. 적합한 염의 예시적 예는, 비제한적으로, 아미노산, 예컨대 글리신 및 아르기닌, 암모니아, 일차, 이차, 및 3차 아민, 및 환형 아민, 예컨대 피페리딘, 모폴린 및 피페라진으로부터 유래된 유기 염, 및 나트륨, 칼슘, 칼륨, 마그네슘, 망간, 철, 구리, 아연, 알루미늄 및 리튬으로부터 유래된 무기 염을 포함한다.

[0103] **PARP 억제제**

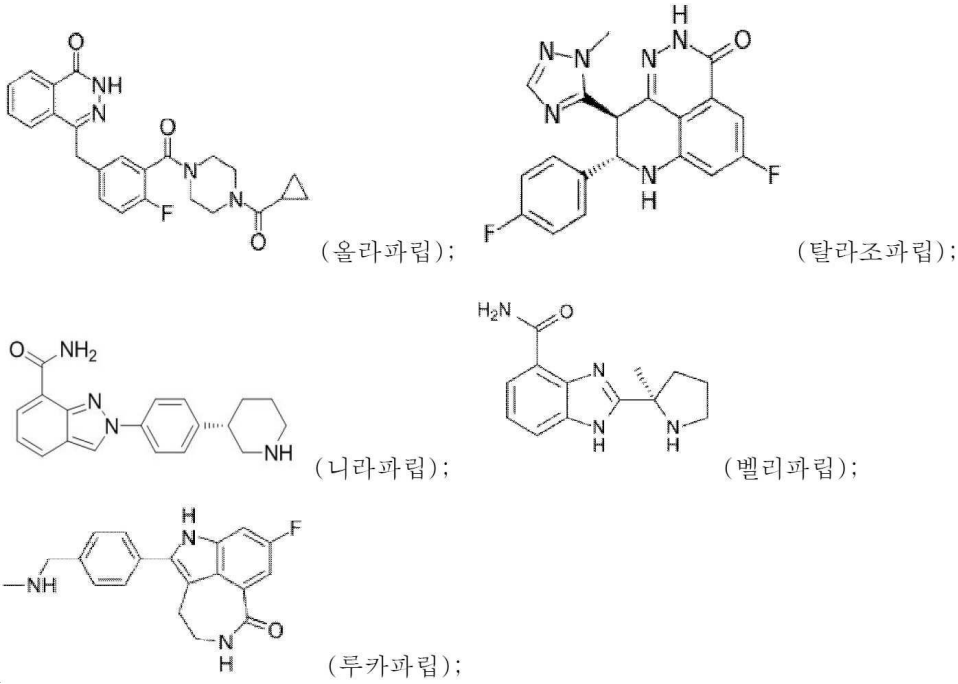
[0104] PARP는 세포 증식, 분화, 세포자멸사, DNA 회복을 포함하는 다양한 DNA 관련된 기능에 참여하고, 또한 말단소체 길이 및 염색체 안정성에 대해 효과를 가지는 폴리-ADP 리보오스 중합효소의 계열을 지칭한다 (d'Adda di Fagagna *et al.*, 1999, *Nature Gen.*, 23(1):76-80). "PARP 억제제"는 폴리-ADP 리보오스 중합 효소에 선택적으로 결합하고 그것의 활성을 감소시키는 서브스טר스를 지칭한다. 일 양태에서, 개시된 방법에서 사용된 PARP 억제제는 하기를 억제한다: PARP-1 또는 PARP-2. PARP-1은 PARP-1 유전자에 의해 인코딩된 폴리-ADP 리보오스 중합 효소이다. (다음 참고: NCBI, 2016, *PARP1 폴리(ADP-리보오스) 중합효소 1, [호모사피엔스 (인간)]*. PARP-2는 PARP-1 유전자에 의해 인코딩된 폴리-ADP 리보오스 중합효소이다. (다음 참고: NCBI, 2016, *PARP2 폴리(ADP-리보오스) 중합효소 2, [호모사피엔스 (인간)]*. PARP 억제제는 당해 분야에서 공지된 방법을 사용하여 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌 Cheung, *et al.* "A scintillation proximity assay for poly(ADP-ribose) polymerase," *Anal. Biochem.* 2000, Vol. 282, pp. 24-28을 참고한다.

[0105] 적합한 PARP 억제제는 PARP의 촉매 부위에서 천연 기질 NAD⁺와 경쟁적으로 결합하는 벤즈아미드의 유사체로서 설계된 것들을 포함한다. 이들 PARP 억제제는, 비제한적으로, 벤즈아미드, 퀴놀론 및 이소퀴놀론, 벤조피론, 메틸 3,5-디아이오도-4-(4'-메톡시-3',5'-디아이오도-페녹시) 벤조에이트 (US 5,464,871, US 5,670,518, US 5,922,775, US 6,017,958, US 5,736,576, 및 US 5,484,951, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입됨)를 포함한다. 다른 적합한 PARP 억제제는 NAD⁺ 부위에서 강력한 억제제인 다양한 환형 벤즈아미드 유사체 (예를 들어, 락탐)를 포함한다. 다른 PARP 억제제는, 비제한적으로, 벤즈이미다졸 및 인돌을 포함한다(예를 들어, EP 841924, EP 127052, US 6,100,283, US 6,310,082, US 2002/156050, US 2005/054631, WO 05/012305, WO 99/11628, 및 US 2002/028815 참고, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입됨).

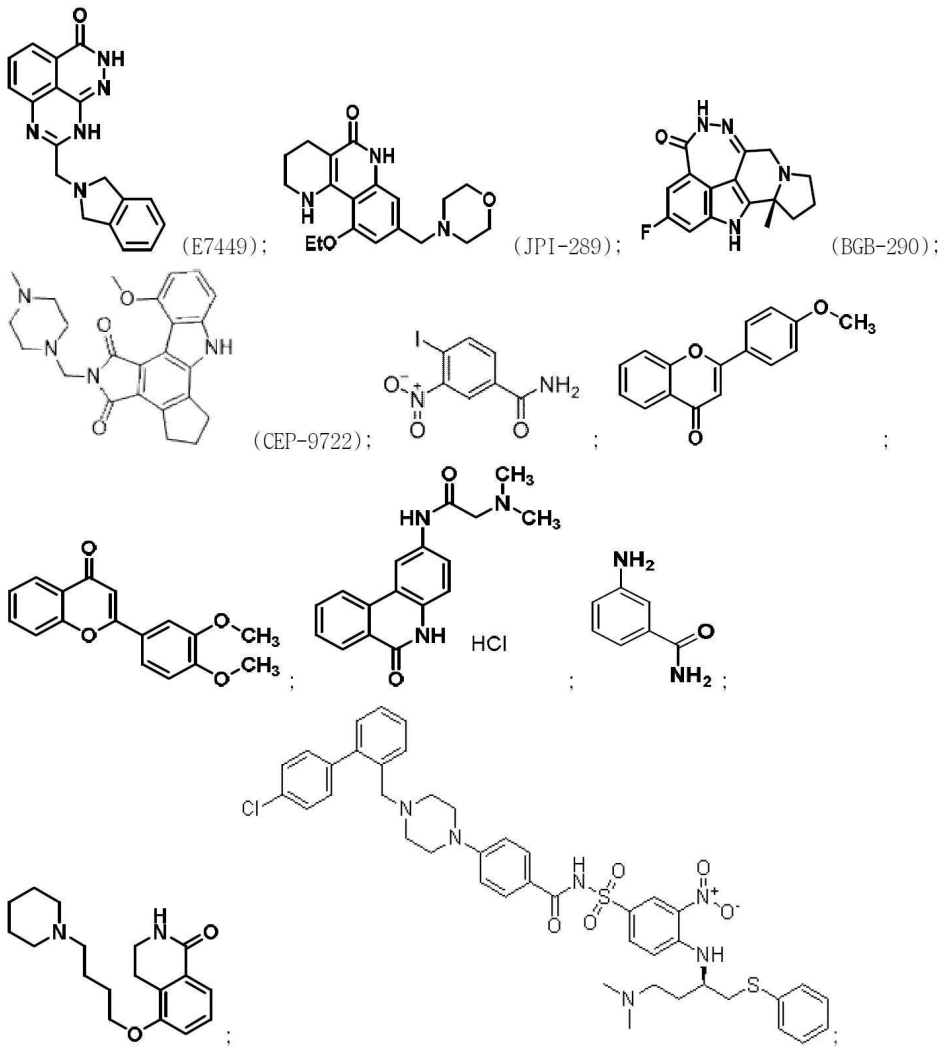
[0106] PARP 억제제는 하기 구조적 특성을 보유할 수 있다: 1) 아미드 또는 락탐 작용기; 2) 이 아미드 또는 락탐 작용기의 NH 양성자는 효과적인 결합을 위해 보존될 수 있다; 3) 방향족 고리에 부착된 아미드 기 또는 방향족 고리 융합된 락탐 기; 4) 방향족 평면에서 아미드의 최적의 시스-배치형태; 및 5) 헤테로폴리환형 락탐으로 모노-아릴 카복사미드의 구속 (Costantino *et al.*, 2001, *J Med Chem.*, 44:3786-3794; Virag *et al.*, 2002, *Pharmacol Rev.*, 54:375-29, 그것의 후자는 다양한 PARP 억제제를 요약하고, 그리고 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입된다. PARP 억제제의 일부 예는, 비제한적으로, 하기를 포함한다: 이소퀴놀리논 및 디하이드로이소퀴놀리논 (예를 들어, US 6,664,269, 및 WO 99/11624, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입됨), 니코틴아미드, 3-아미노벤즈아미드, 모노아릴아미드 및 비-, 트리-, 또는 테트라사이클릭 락탐, 페난트리디논 (Perkins *et al.*, 2001, *Cancer Res.*, 61 :4175-4183, 이것은 전체적으로 참고로 본 명세서에 편입됨), 3,4-디하이드로-5-메틸-이소퀴놀린-1(2H)-온 및 벤즈옥사졸-4-카복사미드 (Griffin *et al.*, 1995, *Anticancer Drug Des.*, 10:507-514; Griffin *et al.*, 1998, *J Med Chem.*, 41:5247-5256; 및 Griffin *et al.*, 1996, *Pharm Sci.*, 2:43-48, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입됨), 디하이드로이소퀴놀린-1(2H)-논, 1,6-나프티리딘-5(6H)-온, 퀴나졸린-4(3H)-온, 티에노[3,4-c]피리딘-4(5H)온 및 티에노[3,4-d]피리미딘-4(3H)-온, 1,5-디하이드록시이소퀴놀린, 및 2-메틸-퀴나졸린-4[3H]-온 (Yoshida *et al.*, 1991, *J Antibiot (Tokyo.)* 44:111-112; Watson *et al.*, 1998, *Bioorg Med Chem.*, 6:721-734; 및 White *et al.*, 2000, *J Med Chem.*, 43:4084-4097, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입됨), 1,8-나프탈리마이드 (Banasik *et al.*, 1992, *J Biol Chem.*, 267:1569-1575; Watson *et al.*, 1998, *Bio 2001, Nat Med.*, 7:108-1 13; Li *et al.*, 2001, *Bioorg Med Chem Lett.*, 11 :1687-1690 30:1071-1082, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입됨), 테트라사이클릭 락탐, 1,11b-디하이드로-[1]벤조피라노-[4,3,2-데]이소퀴놀린-3[2H]-온, 1-메틸-4-페닐-1,2,3,6-테트라하이드로피리딘 (MPTP) (Zhang *et al.*, 2000, *Biochem Biophys Res Commun.*, 278:590-598; 및 Mazzon *et al.*, 2001, *Eur J Pharmacol.*, 415:85-94, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입됨). PARP 억제제의 다른 예는, 비제한적으로, 하기 특허에 상세히 된 것들을 포함한다: US 5,719,151, US 5,756,510, US 6,015,827, US 6,100,283, US 6,156,739, US 6,310,082, US 6,316,455, US 6,121,278, US 6,201,020, US

6,235,748, 6,306,889, US 6,346,536, US 6,380,193, US 6,387,902, US 6,395,749, US 6,426,415, US 6,514,983, US 6,723,733, US 6,448,271, US 6,495,541, US 6,548,494, US 6,500,823, US 6,664,269, US 6,677,333, US 6,903,098, US 6,924,284, US 6,989,388, US 6,277,990, US 6,476,048, 및 US 6,531,464, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입된다. PARP 억제제의 추가의 예는, 비제한적으로, 하기 특허 출원 공개공보에 상세히 된 것들을 포함한다: US 2004198693 A1, US 2004034078A1, US 2004248879A1, US 2004249841A 2005080096A1, US 2005171101A1, US 2005054631A1, WO 05054201A1, WO 05054209A1, WO 05054210A1, WO 05058843A1, WO 06003146A1, WO 06003147A1, WO 06003148A1, WO 06003150A1, 및 WO 05097750A1, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입된다.

[0107] 하기는 개시된 발명에서 사용될 수 있는 PARP 억제제의 특정한 예이다:



[0108]



[0109] ABT767; 및 MP-124,

[0110] 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염. 특정 구현예에서, 본 발명은 PARP 억제제가 올라파립, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 암을 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 특정 구현예에서, 본 발명은 PARP 억제제가 탈라조파립, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0111] **치료적 적용**

[0112] 본 발명은 CD33-표적화된 ADC 및 PARP 억제제의 조합을 투여함에 의해 암 환자, 특히 혈액성 암, 예컨대 AML을 치료하는 방법을 제공한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "혈액성 암"은 혈액-형성 조직, 예컨대 골수에서, 또는 면역계의 세포에서 시작하는 암이다. 혈액성 암의 예는 백혈병, 림프종 및 다발성 골수종이다.

[0113] 개시된 방법을 사용하여 치료될 수 있는 암은 다음을 포함한다: 백혈병, 림프종 및 골수종. 암은 화학요법 민감성일 수 있다; 대안적으로, 암은 화학요법 내성일 수 있다. 더 구체적으로, 개시된 방법을 사용하여 치료될 수 있는 암은 급성 림프아구성 백혈병 (ALL), 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수성 백혈병 (CML), 급성 전-골수구성 백혈병 (APL), 골수이형성 증후군 (MDS), 급성 단구성 백혈병 (AMOL), 모발세포 백혈병 (HCL), T-세포 전림프구성 백혈병 (T-PLL), 큰과립림프구성 백혈병, 성인 T-세포 백혈병, 소림프구성 림프종 (SLL), 호지킨 림프종 (결절성경화증, 혼합된 세포질, 림프구-풍부, 림프구 감소된 또는 감소되지 않은, 그리고 결절성인 림프구-우세한 호지킨 림프종), 비-호지킨 림프종 (모든 하위유형), 만성 림프구성 백혈병/소림프구성 림프종, B-세포 전림프구성 백혈병, 림프형질세포 림프종 (예컨대 발덴스트롬 거대글로불린혈증), 비장변연부 림프종, 형질세포 신생물 (형질세포 골수종, 형질세포종, 단클론성 면역글로불린 침착 질환, 중쇄 질환), 결절외변연부 B 세포 림프종 (MALT 림프종), 결절변연부 B 세포 림프종 (NMZL), 여포성 림프종, 외투세포 림프종, 미만성 큰 B 세포 림프종, 중격 (흉선) 큰 B 세포 림프종, 혈관내 큰 B 세포 림프종, 원발성 삼출 림프종, 버킷 림프종/백혈병, T 세포 전림프구성 백혈병, T 세포 큰과립림프구성 백혈병, 공격적인 NK 세포 백혈병, 성인 T 세포 백혈병/림프종, 결절외 NK/T 세포 림프종 (비강 유형), 장병증-유형 T 세포 림프종, 간비장 T 세포

림프종, 아구성 NK 세포 림프종, 균상식육종 / 세자리 증후군, 원발성 피부 CD30-양성 T 세포 림프증식성 장애, 원발성 피부 역형성 대세포 림프종, 림프종모양구진증, 혈관면역모세포 T 세포 림프종, 주변 T 세포 림프종 (불특정됨), 역형성대세포 림프종), 및 다발성 골수종 (형질세포 골수종 칼러(Kahler) 병)을 포함한다.

[0114] 또 다른 구현예에서, 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 골수 백혈병 (CML), 급성 림프아구성 백혈병 (ALL), B-세포 계통 급성 림프아구성 백혈병 (B ALL), 만성림프구성 백혈병 (CLL), 모발세포 백혈병 (HCL), 골수이형성 증후군, 기본적인 형질세포양 DC 신생물 (BPDCN) 백혈병, 비-호지킨 림프종 (NHL), 외투세포 림프종, 및 호지킨 백혈병 (HL)으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 급성 골수 백혈병 (AML)이다. 또 다른 구현예에서, 상기 급성 골수 백혈병은 난치성 또는 재발 급성 골수 백혈병이다. 다른 구현예에서, 본 발명은 다중-약물 내성 AML이 있는 환자의 치료를 제공한다. MDR1로도 공지된, P-당단백질 (PGP)은 170 kD의 ATP-의존적 약물 유출 펌프이다. 이것은 ABC 상과의 구성원이고 다중약물 내성 (MDR) 세포에서 풍부하게 발현되고 그리고 ABCB1 유전자에 의해 생산된다. PGP를 발현하는 AML 세포는 종래의 화학 치료제로의 치료에 대해 적어도 어느 정도까지 내성이 있다. 따라서, 본 발명은 또한 PGP-발현 AML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0115] 본 발명은 또한 적어도 하나의 음성 예후 인자, 예를 들어, P-당단백질의 과발현, EVI1의 과발현, p53 변형, DNMT3A 돌연변이, FLT3 내부 일렬 중복, 및/또는 복합 핵형을 갖는 혈액성 암을 치료하는 방법을 제공한다. 다른 구현예에서, 본 발명은 또한 BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서의 감소된 발현 또는 BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서의 돌연변이를 갖는 혈액성 암을 치료하는 방법을 제공한다. CD-33 표적화된 ADC와 PARP 억제제의 조합의 투여 이전에 적어도 하나의 음성 예후 인자 및/또는 BRCA1, BRCA2, 또는 PALB2에서의 감소된 발현 또는 돌연변이를 갖는 환자의 선택이 또한 본 발명의 범위 내에 있다.

[0116] 특정 구현예에서, CD33-표적화된 ADC는 약제학적으로 허용가능한 투약 형태로 대상체에게 투여된다. ADC는 볼러스로서 정맥내로 또는 일정 기간에 걸쳐 연속적 주입에 의해, 근육내, 피하, 관절내, 활막내, 척추강내, 경구, 국소, 또는 흡입 경로에 의해 투여될 수 있다. ADC를 함유하는 약제학적 조성물은 국소뿐만 아니라 전신 치료적 효과를 발휘하도록 종양내, 종양주위, 병소내, 또는 병변주위 경로에 의해 투여된다.

[0117] 약제학적으로 허용가능한 투약 형태는 일반적으로 약제학적으로 허용가능한 제제 예컨대 담체, 희석제, 및 부형제를 포함할 것이다. 이들 제제들은 잘 알려져 있고 가장 적절한 제제는 임상 상황 보증으로 당해 분야의 숙련가에 의해 결정될 수 있다. 적합한 캐리어, 희석제 및/또는 부형제의 예는 하기를 포함한다:(1) 약 1 mg/ml 내지 25 mg/ml 인간 혈청 알부민을 함유한, 돌베코 포스페이트 완충식염수, pH 약 7.4, (2) 0.9% 염수 (0.9% w/v NaCl), 및 (3) 5% (w/v) 텍스트로스.

[0118] 동결 건조되기 보다는 수성 투약 형태로 존재할 때, CD33-표적화된 ADC는 전형적으로 약 0.1 mg/ml 내지 100 mg/ml의 농도로 제형화될 것이지만, 이들 범위를 벗어난 폭 넓은 변형도 허용된다. 질환의 치료를 위해, CD33-표적화된 ADC의 적절한 투약량은 상기에서 정의된 바와 같이, 치료되는 질환의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 이전의 요법의 경과, 항체에 대한 환자의 임상 이력 및 반응, 및 주치의의 재량에 의존할 것이다. 항체는 환자에게 한꺼번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 적합하게 투여된다.

[0119] 개시된 방법에서, ADC와 PARP 억제제는 조합하여 투여된다. 병용 요법은 단일 대상체에게 2개 또는 그 초과 치료제의 투여를 포괄하는 것으로 의미되고, 제제가 동일 또는 상이한 투여 경로에 의해 또는 동일 또는 상이한 시간에 투여되는 치료 요법을 포함하는 것으로 의도된다. 이들 용어들은 대상체에게 2개 또는 그 초과 제제의 투여를 포괄하고 그래서 제제 및/또는 그것의 대사물 양자는 상기 대상체에게 동시에 존재한다. 이들은 별개의 조성물로 동시 투여, 동일한 조성물로 동시 투여 및 별개의 조성물로 상이한 시간에 투여를 포함한다.

[0120] 개시된 방법 및 약제학적 조성물에 사용된 ADC는 멸균 및 내독소 수준을 위해 시험된 용액 또는 동결 건조된 분말로 공급될 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용가능한 캐리어, 희석제, 및 부형제는 임상 상황 보증으로 당해 분야의 숙련가에 의해 결정될 수 있다.

[0121] 적합한 캐리어, 희석제 및/또는 부형제의 예는 하기를 포함한다:(1) 약 1 mg/ml 내지 25 mg/ml 인간 혈청 알부민을 함유하거나 또는 함유하지 않은, 돌베코 포스페이트 완충 식염수, pH 약 7.4, (2) 0.9% 염수 (0.9% w/v NaCl), 및 (3) 5% (w/v) 텍스트로스; 그리고 또한 산화방지제 예컨대 트립타민 및 안정화제 예컨대 트윈 20을 함유할 수 있다.

[0122] ADC, PARP 억제제, 및 전형적으로 적어도 하나의 추가의 서브스틴스, 예컨대 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약제학적 조성물이 개시된다. 본 발명의 약제학적 조성물은 그것의 의도된 투여 경로와 양립가능하게 되도록 제형화된다. 일 구현예에서, 본 조성물은 인간에게 정맥내, 피하, 근육내, 경구, 비강내,

또는 국소 투여에 적합한 약제학적 조성물로 일상적인 절차에 따라 제형화된다.

- [0123] 하기 실시예는 당해 분야의 숙련가에게 본 발명의 검증, 스크리닝 및 치료 방법을 이루고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시내용 및 설명을 제공하기 위해 제시된 것이며, 본 발명자들이 그들의 발명으로 간주하는 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다.
- [0124] 실시예
- [0125] **실시예 1. IMGN779와 올라파립의 조합은 향상된 항-백혈병성 활성을 보이고, 세포 생존력을 감소시키고, S-상 정지를 유도하고, 그리고 시험관내 세포의 세포자멸사를 증가시킨다.**
- [0126] 인간 CD33+ AML 세포 주 (HEL, MV4-11, 및 HL60)가 시험관내 대조군, IMGN779, 올라파립, 또는 IMGN779와 올라파립으로 처리되었다. 증식은 WST-8 시약으로 측정되었다. 상승작용/부가적 효과는 Compusyn 소프트웨어를 사용하여 계산되었다. 유세포측정이 수행되어 세포자멸사, 세포 생존력, 및 세포 주기가 평가되었다.
- [0127] IMGN779 처리는 용량 의존적인 시험된 모든 CD33+ 인간 AML 세포 주에서 시험관내 상당한 성장 억제를 유도했다. 인간 AML 세포 주는 고도로 발현된 인간 CD33을 시험하였고, IMGN779 세포 살상은 CD33에 의존적인 것으로 관측되었다. 올라파립은 또한 시험된 모든 CD33+ 인간 AML 세포 주에서 시험관내 용량-의존적 성장을 발휘하고 DNA 손상 회복 기전의 역전을 통해 인간 AML 세포 주에서 세포 사멸을 유도했다(테이터 도시되지 않음). IMGN779 (25pM-750pM)와 올라파립 (10-50 μM)으로의 병용 치료는 동일한 세포 주에서의 단일 요법에 비하여 항-백혈병성 효과를 상당히 향상시켰다(도 1a, 2a, 및 3a). IMGN779와 올라파립 요법에 대한 조합 지수는 상승작용 효과와 일치하는 0.7-0.9의 범위였다(도 1b, 2b, 및 3b). IMGN779와 올라파립의 조합은 대조군 및 단일-제제 처리와 비교하여 전체적인 세포 생존력을 현저하게 감소시키고, 세포자멸사를 증가시키고, 그리고 거의 완전한 S-상 세포 주기 정지를 유도했다(도 4 및 도 5). 올라파립이 단독으로 존재하는 경우 DNA-손상 방사선 노출 후 세포사멸에 대한 효과는 PARP 억제제의 작용 기전을 뒷받침하는 올라파립의 농도에서의 증가와 함께 세포사멸 및 세포자멸사를 증가시키는데 있어 상관관계를 나타내는 것으로 또한 평가되었다(도 6a 및 6b).
- [0128] **실시예 2. IMGN779와 올라파립의 조합은 AML 부하를 감소시키고 전신 AML 이종이식 모델에서의 생존을 연장시켰다.**
- [0129] 이들 실험에서, 높은 hCD33 발현수준을 특징으로 하는 안정적으로 형질감염된 루시페라아제-양성 인간 AML 세포 (HEL)가 꼬리정맥을 통해 입술 밑으로 조사된 6-8 주령 SCID 마우스 안으로 주사되었다. 백혈병-접목된 동물은 비히클 대조군, IMGN779 (15 mcg/kg), 올라파립 (100 mg/kg), 또는 IMGN779 + 올라파립 (동일 용량)으로 구성된 처리 군으로 분할되었다. 생체내 전신 백혈병 질환 부하가 작은 동물 생물발광 이미징형성에 의해 매주 평가되었다. 독성은 실험 전반에 걸쳐 임상 시험 및 체중 측정에 의해 결정되었다. 전체적인 연구 중점은 (a) 전체적인 이환율/사망률에 대한 시간 및/또는 (b) 비히클-처리된 마우스 또는 단일 제제 요법으로 처리된 마우스와 비교할 때 백혈병 질환 부하에서의 변화였다. 8-10 마우스가 Cox-Mandel 테스트를 사용하여 통계적 유의도를 결정하는데 필요한 최소수의 동물이라는 것이 밝혀졌기 때문에 이것이 대조군과 실험군에 사용되었다. Stat Prism 통계적 소프트웨어를 이용하여 간단한 통계적인 분석이 수행될 것이다.
- [0130] 적재물 (항체에 의해 0.5mg/kg 내지 5mg/kg)에 의해 30 μg/kg 내지 100 μg/kg의 범위인 단일 용량으로 투여된 IMGN779는 전신 인간 CD33+ AML (HEL-루시페라아제) 이종이식을 보유한 SCID 마우스에서 전체적으로 양호한 내성을 나타냈다. 감소된 백혈병 부하 및 연장된 전체적인 생존에 의해 반영된 바와 같이 상당한 용량-의존적 항-백혈병성 활성이 관측되었다 (도 7a-7c). 도 8a-8c에서 나타난 바와 같이, 인간 AML 세포 (HEL-루시페라아제)가 접목되고 조합 IMGN779 및 올라파립 요법으로 처리된 마우스는 비히클-처리된 것 (중앙 35.3일, p 0.0189), IMGN779 단독 (중앙 40.2일, p 0.0283) 또는 올라파립 단독 (중앙 33.7일, p 0.0009) 요법과 비교하여 상당히 연장된 전체적인 생존 (접종일로부터 중앙 46.2일)을 가졌다. 처리 22일째에, 비히클 또는 단일요법과는 대조적으로 병용 치료 군 마우스에서 전체의 바디 생물발광 유출에 의해 결정될 때 전체적인 백혈병 질환 부하에서 상당한 감소가 있었다. 이들 연구의 결과는 IMGN779와 올라파립의 조합이 HEL-루시페라아제 전신 AML 이종이식에서 항종양 활성을 증진한다는 것을 입증한다.
- [0131] **실시예 3. IMGN779와 올라파립의 조합은 일차 AML 콜로니 형성의 억제를 증진한다**
- [0132] 요법 (있다면)에 대한 공지된 CD33 발현 수준, 질환 상태 (새로운 것 대 이차 대 난치성/재발성), 핵형, 분자 수차 (즉 FLT-3 및 NPM-1 돌연변이 상태), 및 반응이 있는 최대 50명의 임상적으로 주석을 단 환자 AML 샘플에 대한 IMGN779의 시험관내 효능이 평가되었다.

[0133] 단기 콜로니 형성 단위 (CFU) 검정이 일차 AML 샘플에서 IMG779의 전임상 효능을 평가하기 위해 다중 환자로부터 수득된 세포를 사용하여 수행되었다. 동결 보존된 AML 환자 샘플은 Roswell Park 혈액 조달 공유 자원으로부터 IRB-승인된 프로토콜 하에서 수득되었다. 세포는 검정 일에 해동되었다. 인간 CD33 분자의 표면 발현의 정량화가 같은 날에 Quantibright 비드 분석을 사용하여 환자 AML 샘플에 대해 수행되었다. 해동된 세포는 전체적인 생존력에 대해 평가되었다; >50% 생존가능 세포를 갖는 샘플은 추가로 정량화되고 그리고 13-15일 동안 반고체 메틸셀룰로스 배지에 도말하기 이전 24시간 동안 시험관내에서 비히클 (PBS) 또는 가변 농도의 IMG779 및/또는 올라파립에 노출되었다. CFU 검정은 SPOT-베이직 이미지형성 소프트웨어를 갖는 도립 현미경에 실장된 Spot-RT3 카메라를 사용하여 메소컬트 도말 13-15일 후에 정량화되었다. 각각의 상태에 대한 대표적인 샘플이 포착되고 트리플리케이트 웰들 평균화되고 그리고 도 9a에서 나타낸 바와 같이 보고되었다 (+/- 표준 편차).

[0134] 비히클 및 다양한 농도의 단일 제제 IMG779 CFU들로 처리된 일차 AML 샘플로 CFU 검정이 개시되었다. 임상 특성에 대한 정보 (구체적으로 진단 세포유전적 및 FLT-3 돌연변이 상태)가 IRB-승인된 프로토콜 하에서 RPCI 혈액 조달 공유 자원 설비에 의해 제공되고 공급되었다. IMG779는 총 15개 일차 AML 샘플에서 용량 의존 방식으로 일차 AML 샘플 콜로니 형성을 억제한다는 것이 밝혀졌다. IMG779는 일차 AML 샘플에서 조합의 상승작용 특성을 검증하기 위해 올라파립과 조합되었다. 조합 용량은 3중으로 수행되었다. 각각의 처리 상태에 대한 대표적인 샘플 이미지는 도 9b에 도시되어 있다. 처리 군들 중에서 유의성을 결정하기 위해 쌍으로 되지 않은 T 테스트가 사용되었다. IMG779와 올라파립의 조합에 노출은 재발성/난치성, FLT3-ITD, 및/또는 복합 핵형 AML이 있는 환자의 골수 샘플 (n=7)로부터 확립된 선조세포의 CFU 성장을 상당히 억제시켰다. 도 9b에서 나타낸 바와 같이, 생존가능한 CFU의 통계적으로 상당한 억제가 단일요법 또는 비히클 대조군과 비교할 때 조합 IMG779 (10pM) 및 올라파립 (1 μM) 요법에 따라 관측되었다 (p<0.001). 이들 결과는 IMG779와 올라파립의 조합은 임상적으로 화학-저항성 질환 설정에서 효과적일 수 있다는 것을 입증한다.

[0135] **실시예 4. IMG779와 니라파립 및 IMG779와 탈라조파립의 조합은 향상된 항-백혈병성 활성을 보이고, S-상 정지를 유도하고, 그리고 시험관내 세포의 세포자멸사와 DNA 손상을 증가시킨다.**

[0136] 인간 CD33+ AML 세포 주 (HEL-luc 및 HL60)가 시험관내 가변성 용량 범위 (100pM -1nM)에서 IMG779 단독으로 그리고 각각의 하기 PARP 억제제: 루카파립, 벨리파립, 탈라조파립, 및 니라파립과의 조합으로 처리되었다. 증식은 WST-8 시약으로 인큐베이션에 이어 측정되었다. 상승작용/부가적 효과는 다양한 약물 농도에서 Compusyn 소프트웨어를 사용하여 계산되었다. 조합 대 단일약물 처리에 따른 세포자멸사, 생존력, DNA 손상/회복, 및 세포 주기 효과에 대한 유세포측정이 또한 수행되었다.

[0137] HEL-luc 및 HL60 세포 주에서 루카파립, 벨리파립, 니라파립, 탈라조파립, 및 올라파립의 치료는 탈라조파립이 시험된 세포 주에서 가장 강력한 PARP 억제제인 것으로 나타났다 (도10a-10b, 표 3). 탈라조파립 (0.8 μM) 단독 및 IMG779 (800 pM)와 조합으로 병용 치료는 동일한 농도에서 올라파립 및 니라파립으로 병용 치료에 비교할 때 동일한 세포 주에서 세포의 생존한 분획에서의 가장 큰 감소를 초래했다 (도11a-11c). Compusyn에 의해 계산될 때 IMG779 + 탈라조파립 및 IMG779 + 니라파립 요법에 대한 조합 지수는 상승작용 효과와 일치하는 1 미만이다 (도12a-12b). 또한, 시험된 농도에서 IMG779 + 탈라조파립의 조합은 하기에서 가장 큰 증가를 초래했다: 세포자멸사 (도13a-13c), S-상 세포 주기 정지 (도14a-14c), 및 DNA 손상 (도15a-15c), 이것은 HEL-luc 세포 주에서 IMG779 + 니라파립 및 IMG779 + 올라파립의 조합에 대해 비교된 것이다. 이들 실험의 결과는 암의 치료에 대해 IMG779와 조합하여 PARP 억제제의 작용기전과 PARP 억제제의 사용을 뒷받침하는 것을 추가로 지지한다.

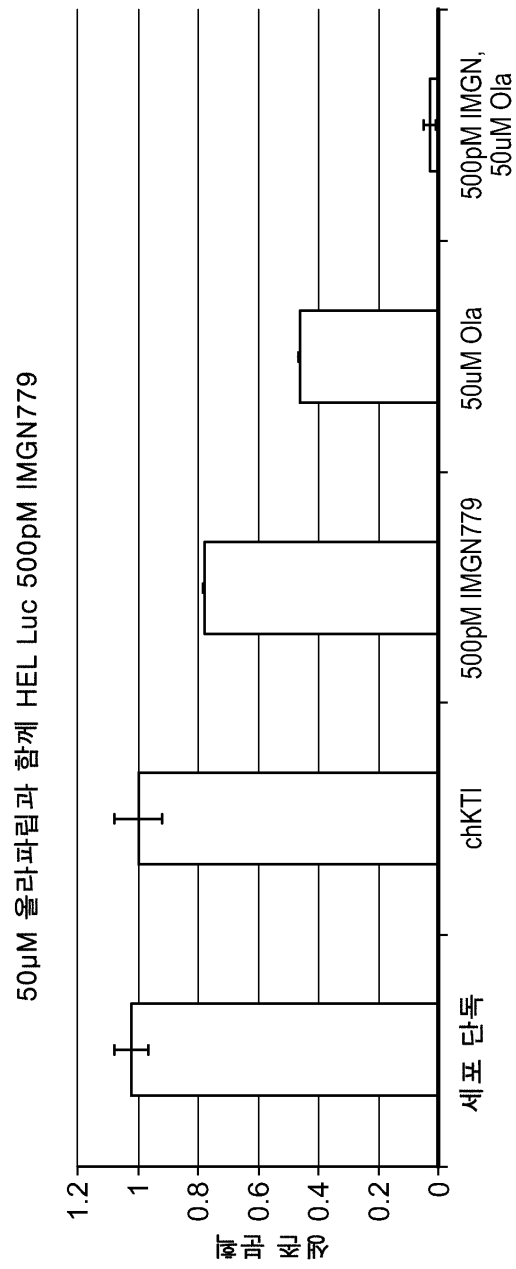
[0138] 표 3. AML 세포 주에서 PARP 억제제에 대한 IC50 값

	벨리파립 (μM)	루카파립 (μM)	올라파립 (μM)	니라파립 (μM)	탈라조파립 (μM)
HELluc	>100	39	7.4	7.3	0.4
HL60	88	75	8.9	2.5	0.2

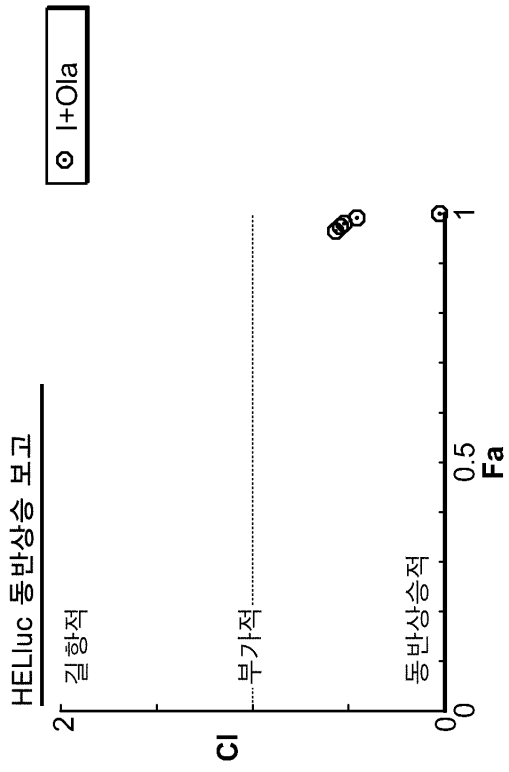
[0139]

도면

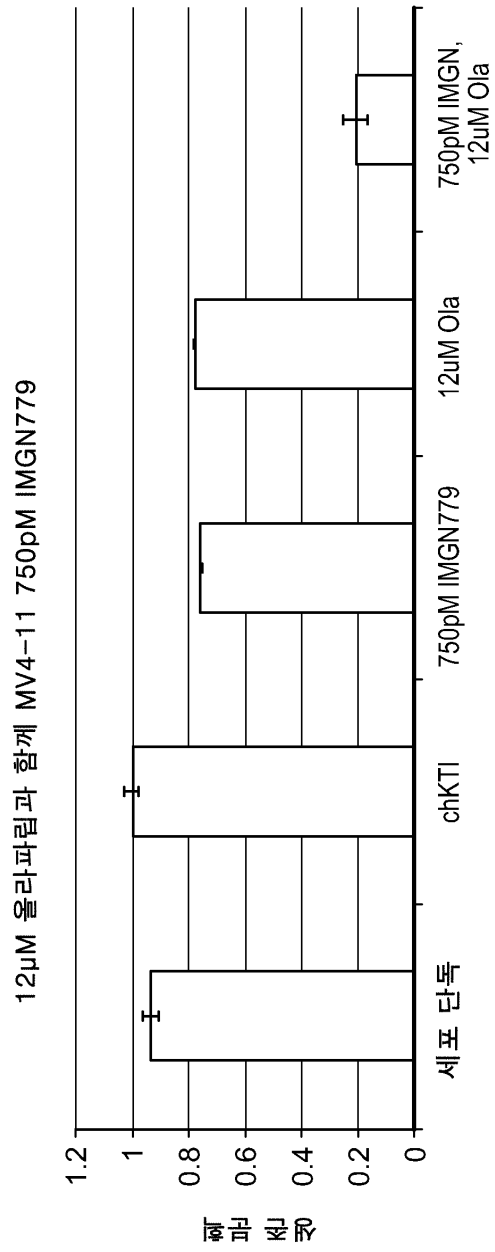
도면1a



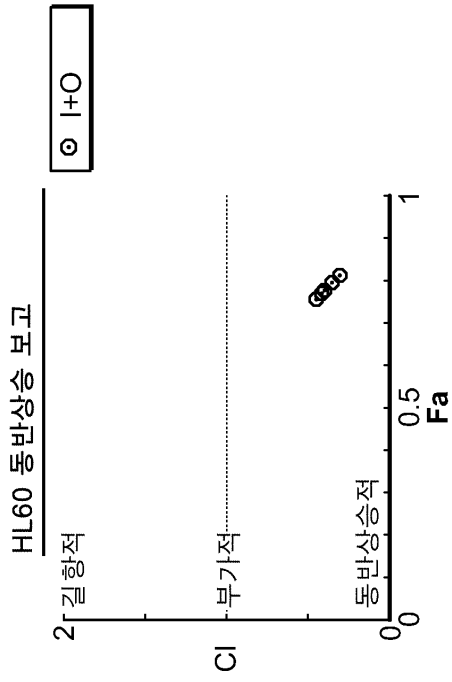
도면1b



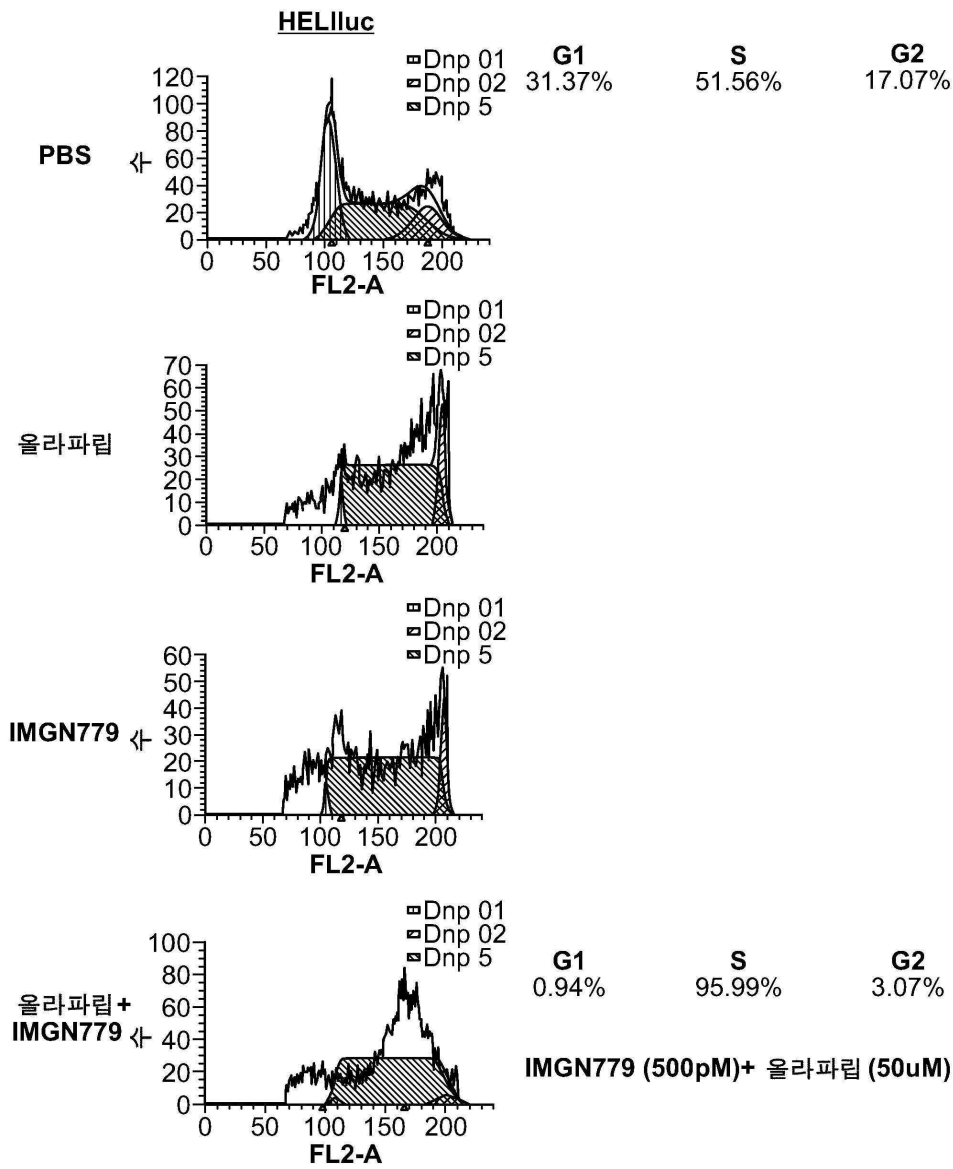
도면2a



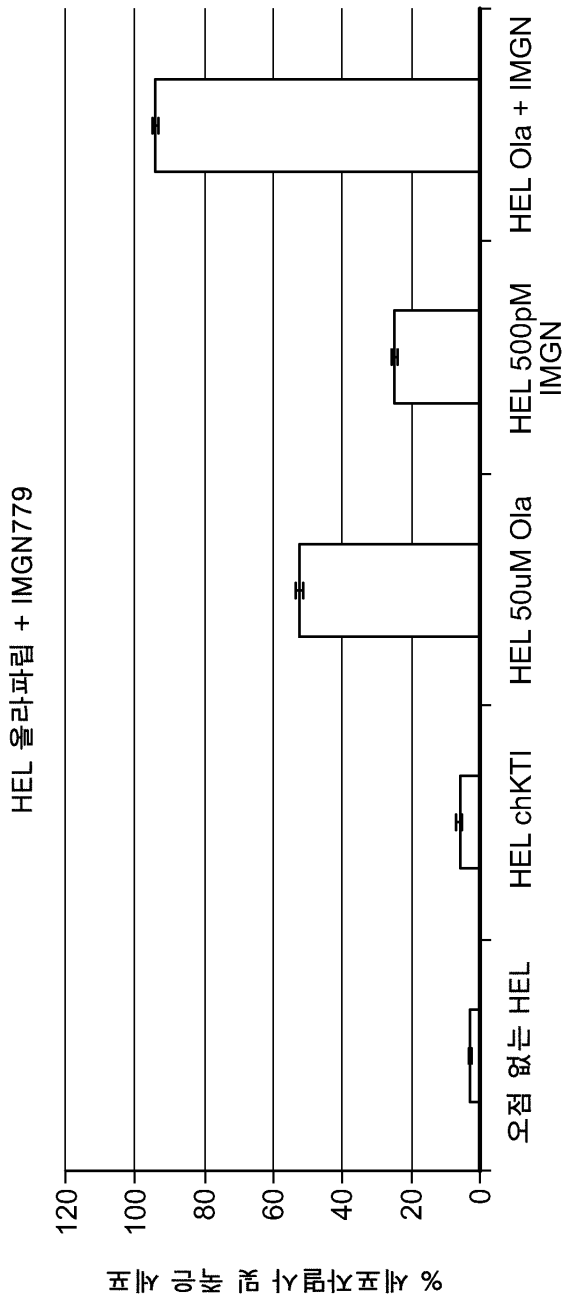
도면3b



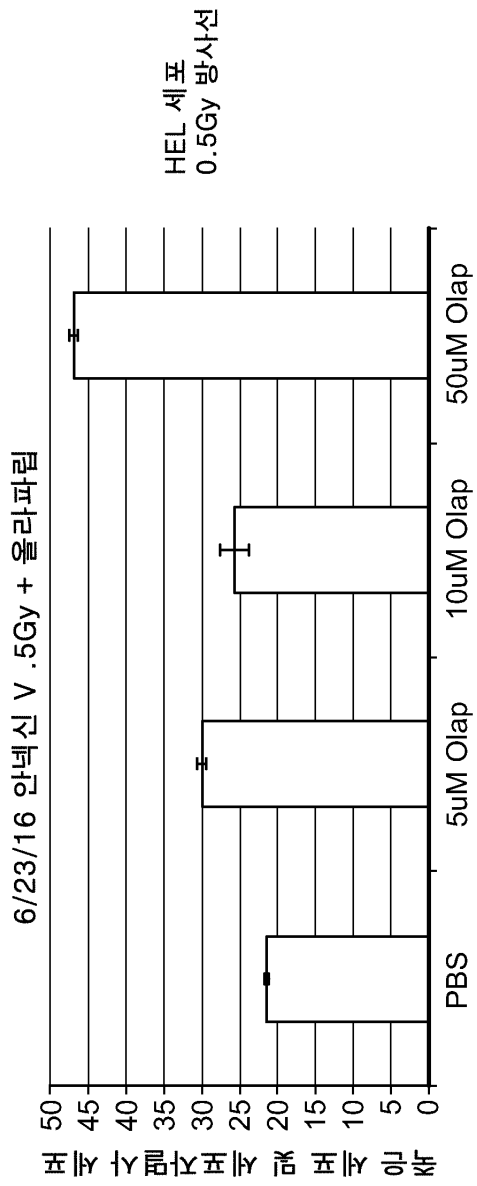
도면4



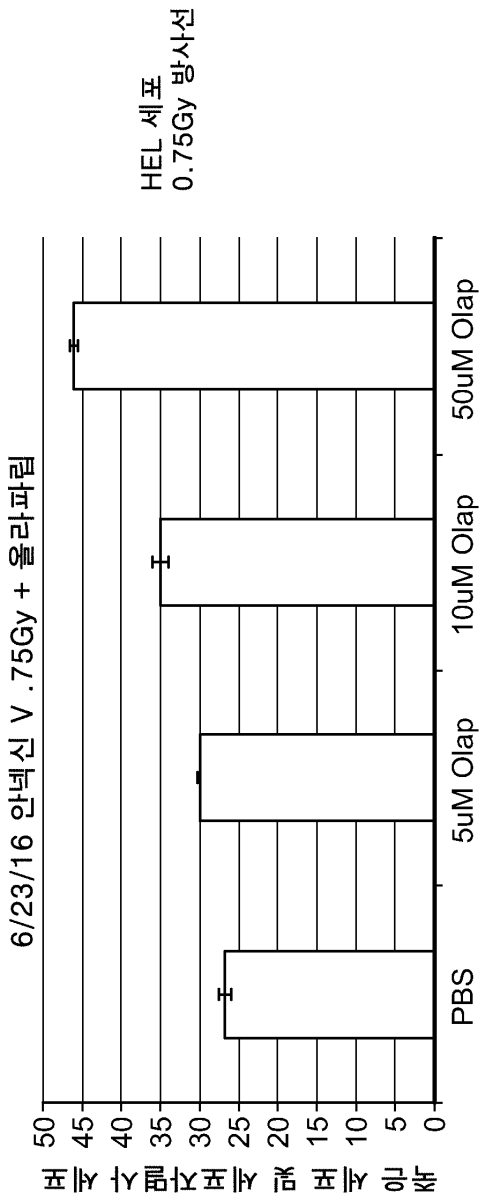
도면5



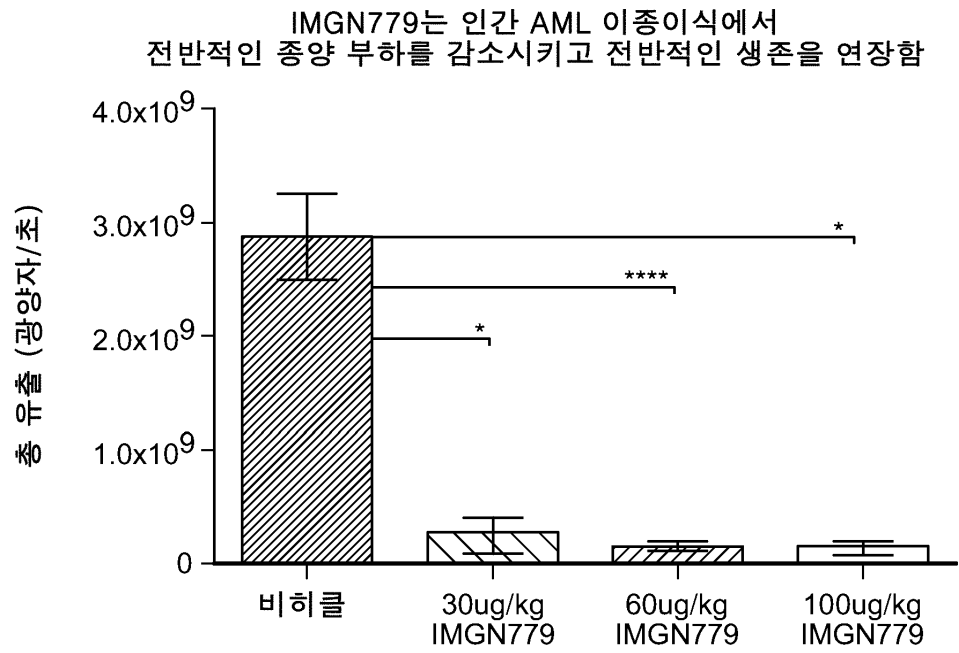
도면6a



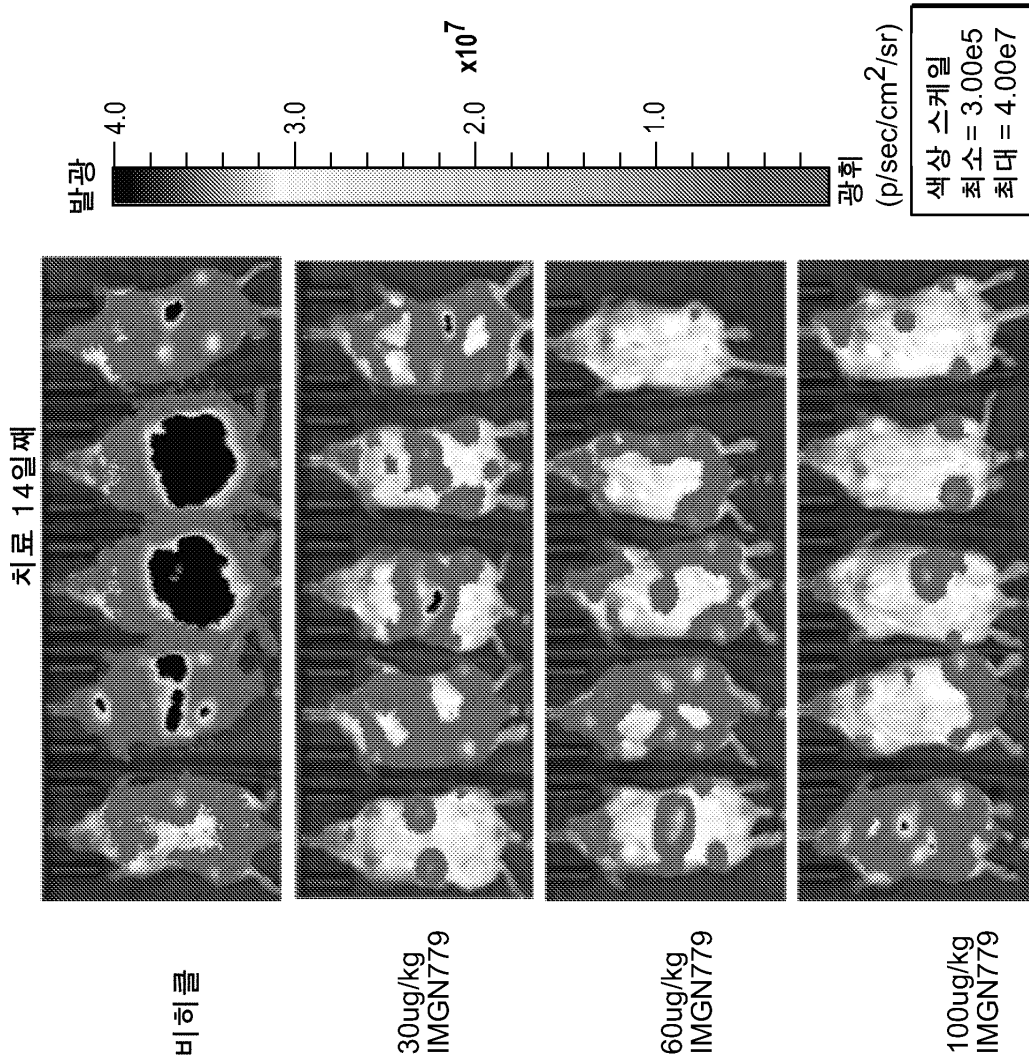
도면6b



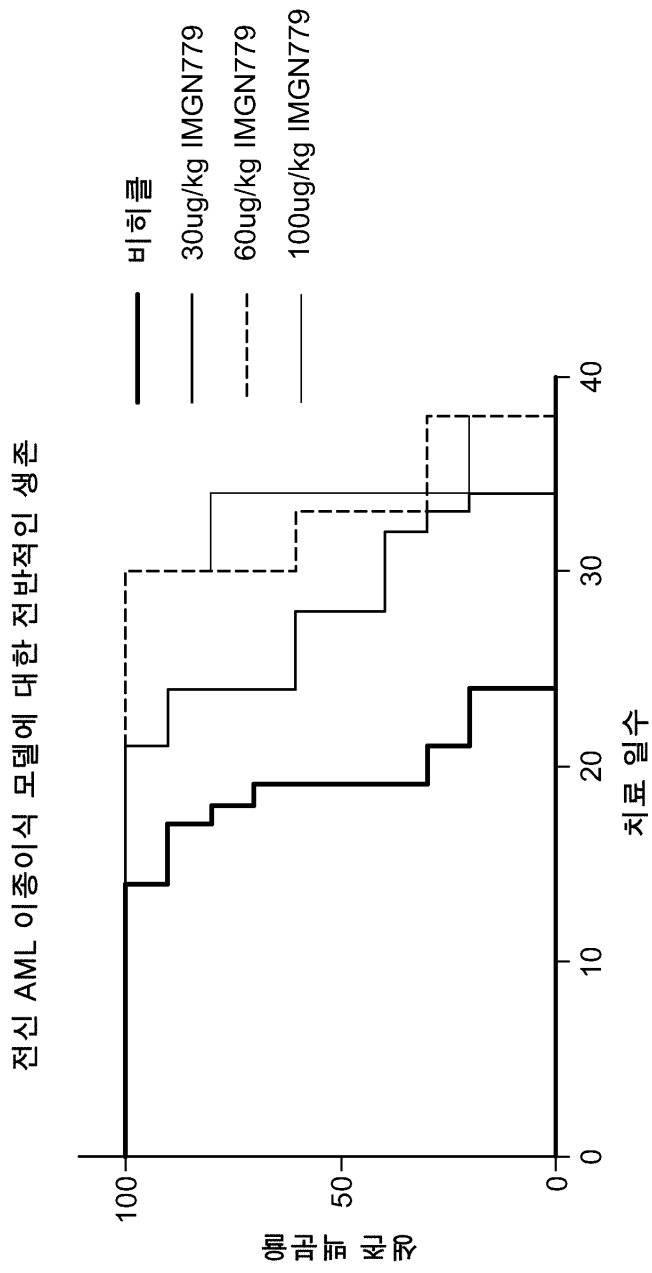
도면7a



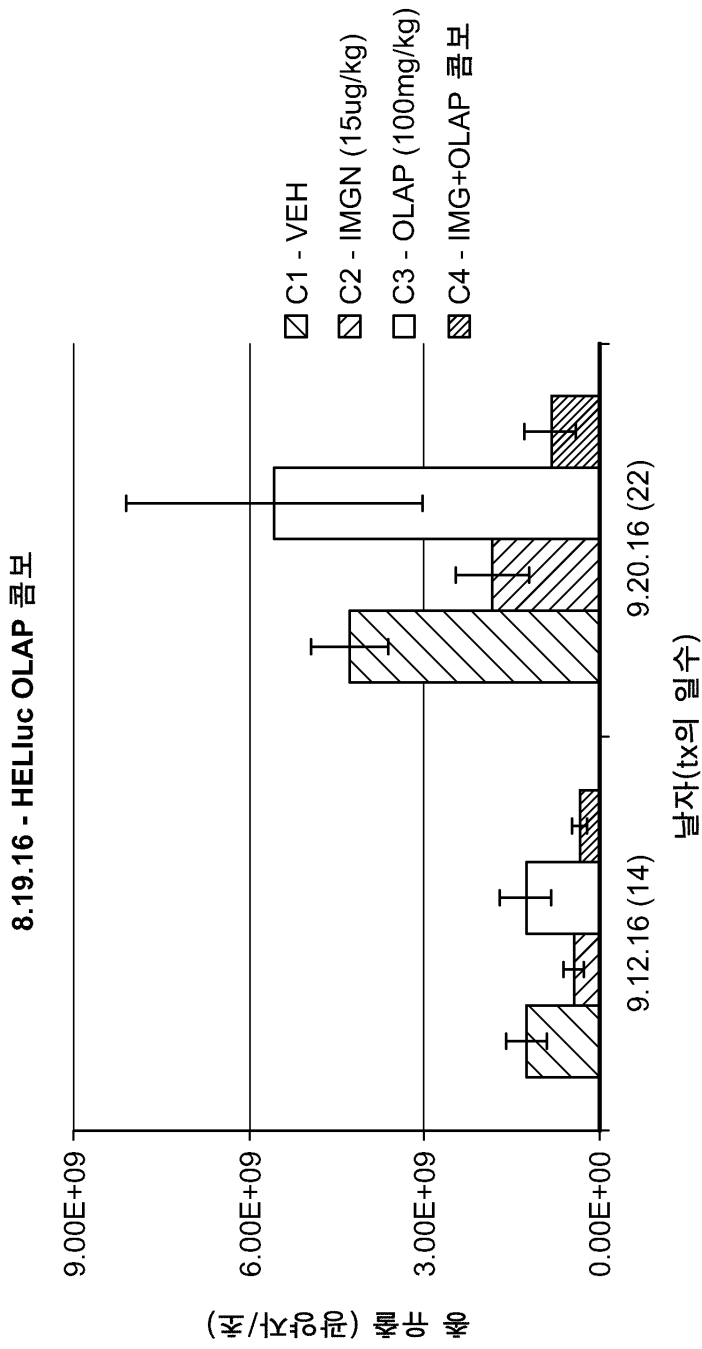
도면7b



도면7c

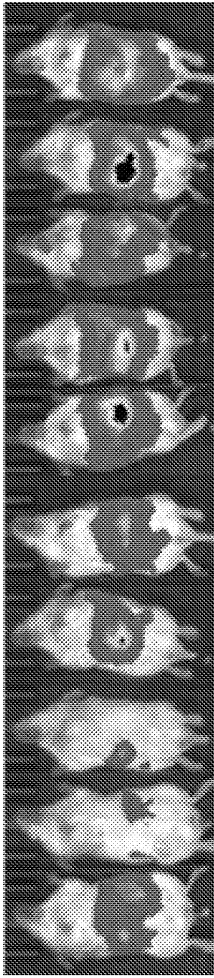


도면8a



도면8b

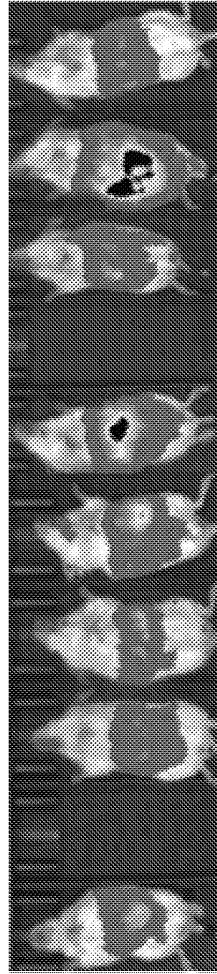
치료 22일째



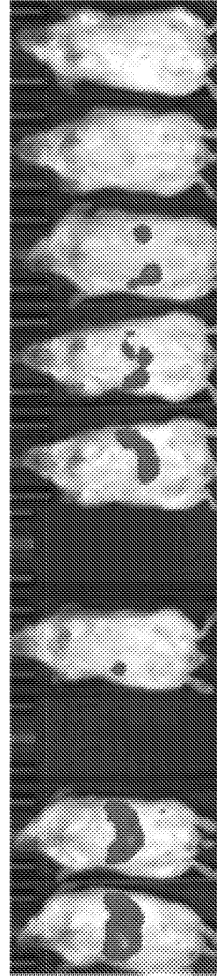
비히클



15ug/kg
IMGN779



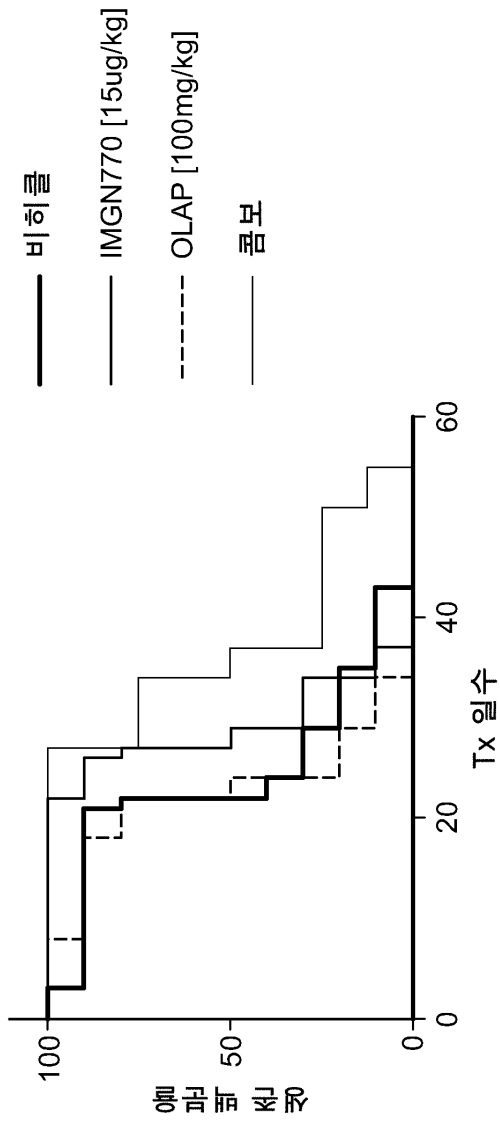
100mg/kg
올라파림



IMGN779 +
올라파림

도면8c

8.19.16 - HELIuc (IMGN+OLAP)



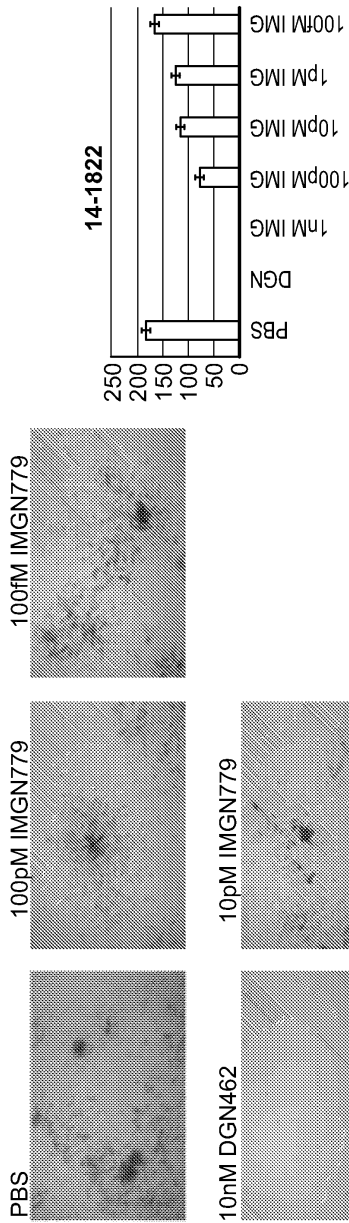
중양의 전반적인 생존	접종 (일)	치료 (일)
Veh	35.3	24.3
IMGN	40.2	29.2
OLAP	33.7	22.7
콤보	46.2	35.2

P 값
 VEH 대 IMGN - 0.48 (NS)
 VEH 대 OLAP - 0.52 (NS)
 VEH 대 콤보 - 0.0189 (*)
 OLAP 대 IMGN - 0.0291 (*)
 OLAP 대 콤보 - 0.0009 (***)
 IMGN 대 콤보 - 0.0283 (*)

도면9a

환자 샘플 콜로니와 정량화의 대표적인 샘플

7.6.16 Pt. 샘플 CFU (15일째)

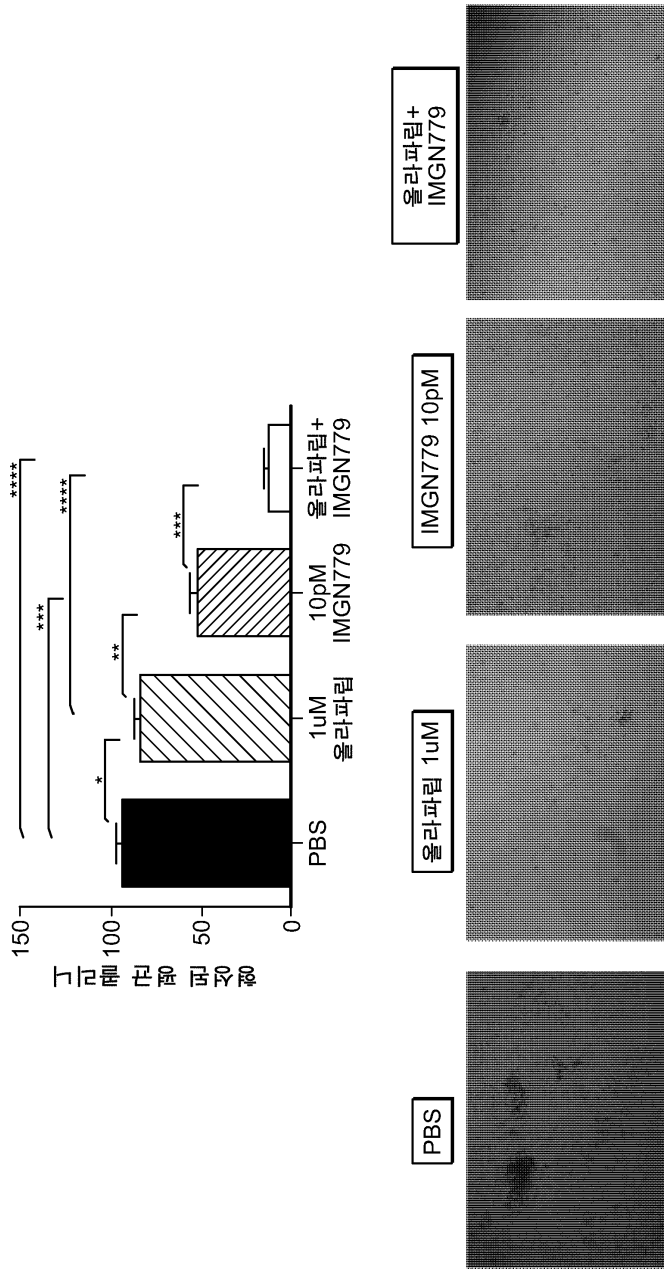


14-1822	웰 #1	웰 #2	웰 #3	평균	표준 편차
PBS	198	174	183	185	9.899495
DGN	0	0	0	0	0
1nM IMG	0	0	0	0	0
100pM IMG	71	84	81	78.66667	5.557777
10pM IMG	113	114	121	116	3.559026
1pM IMG	123	121	134	126	5.715476
100nM IMG	164	163	171	166	3.559026

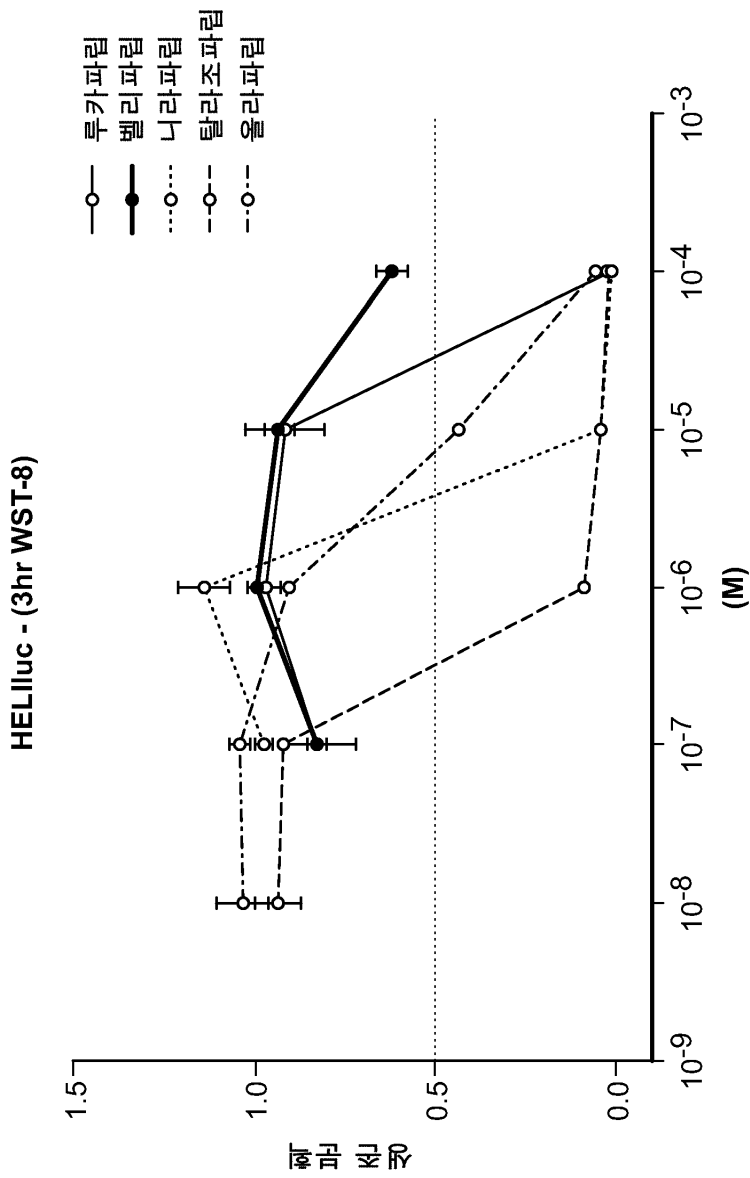
샘플	CD33 분자/세포
14-1822	3667.42

도면9b

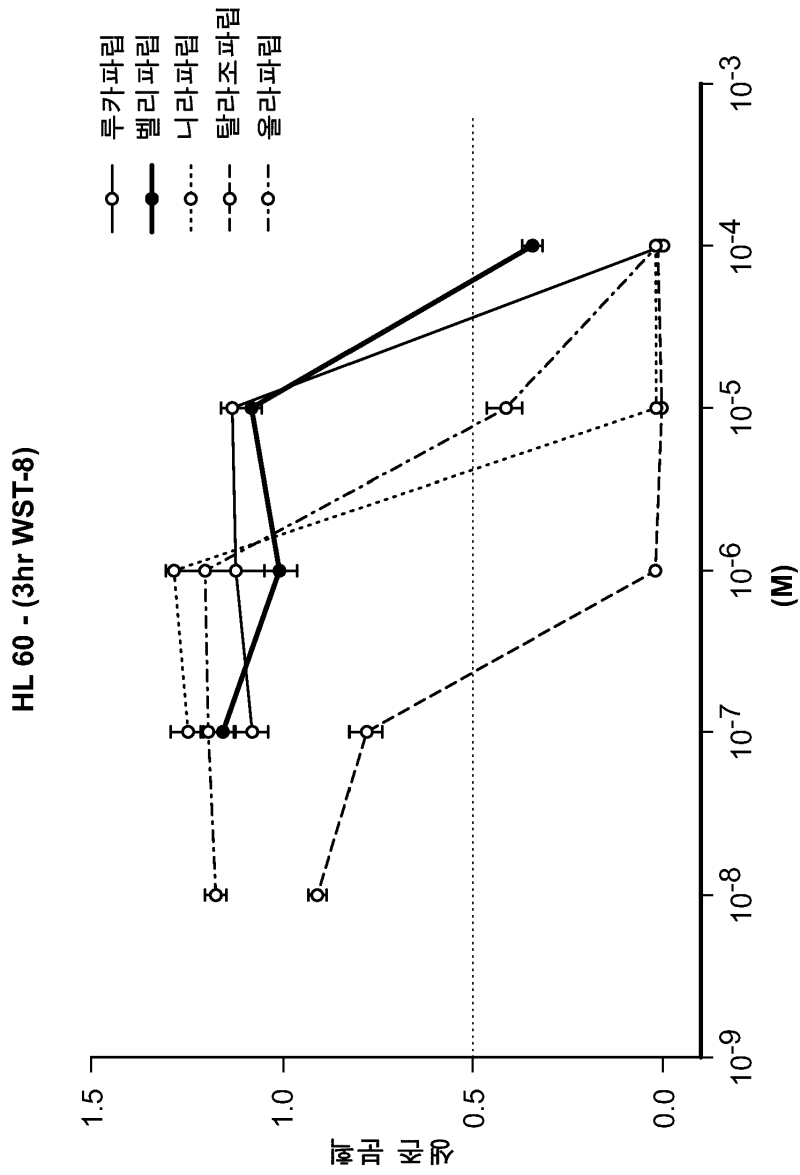
재발성 난치성 일차 환자 샘플에 대한
IMGN779와 올라파림 병용 요법



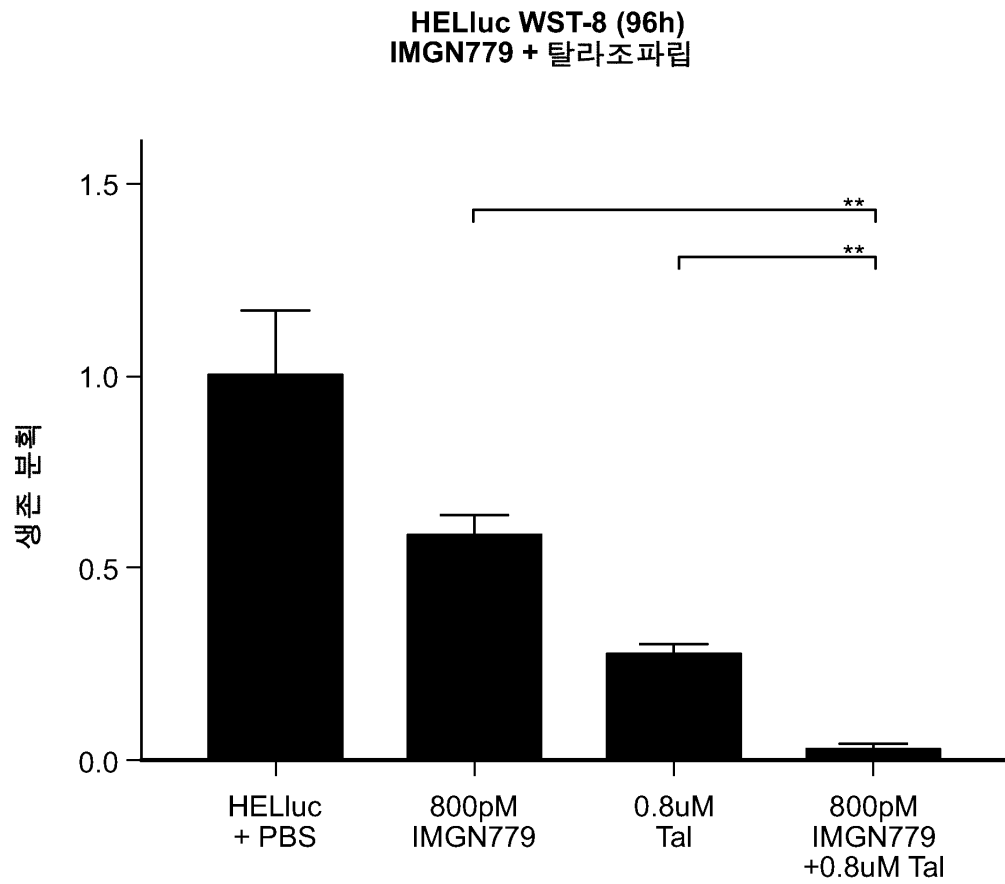
도면10a



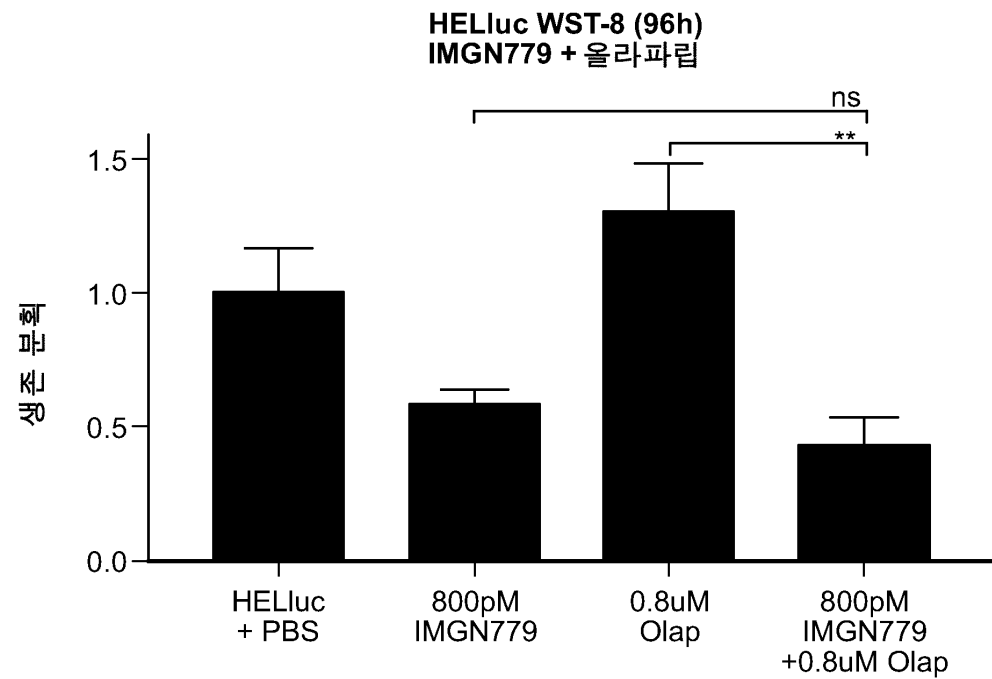
도면10b



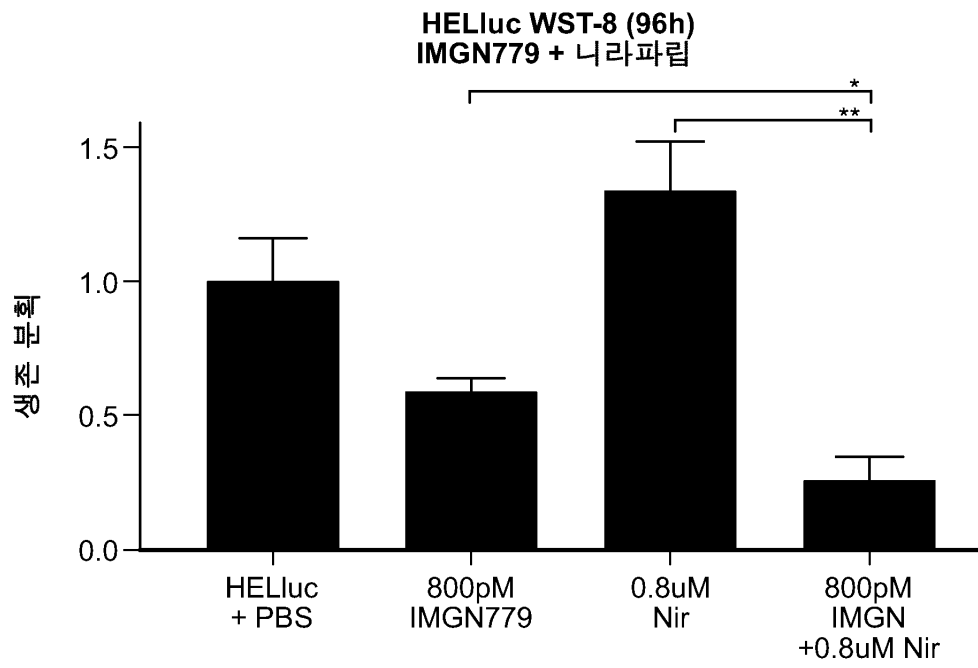
도면11a



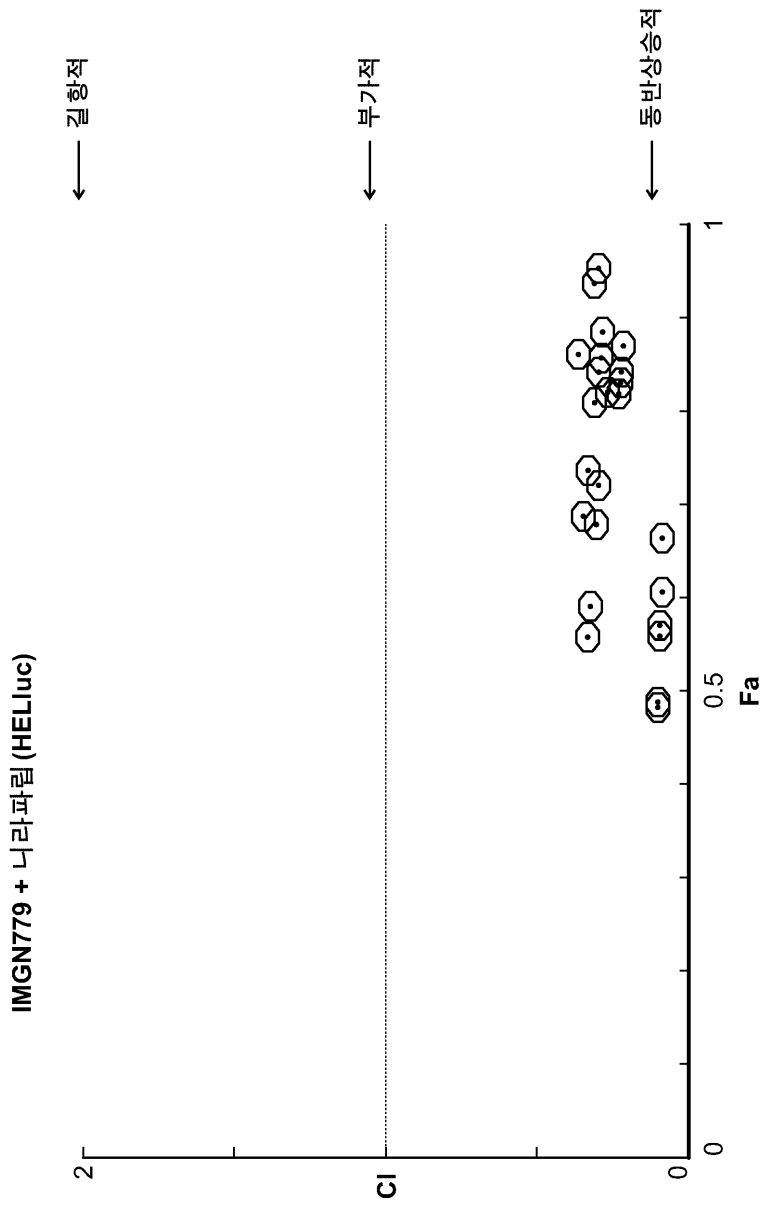
도면11b



도면11c

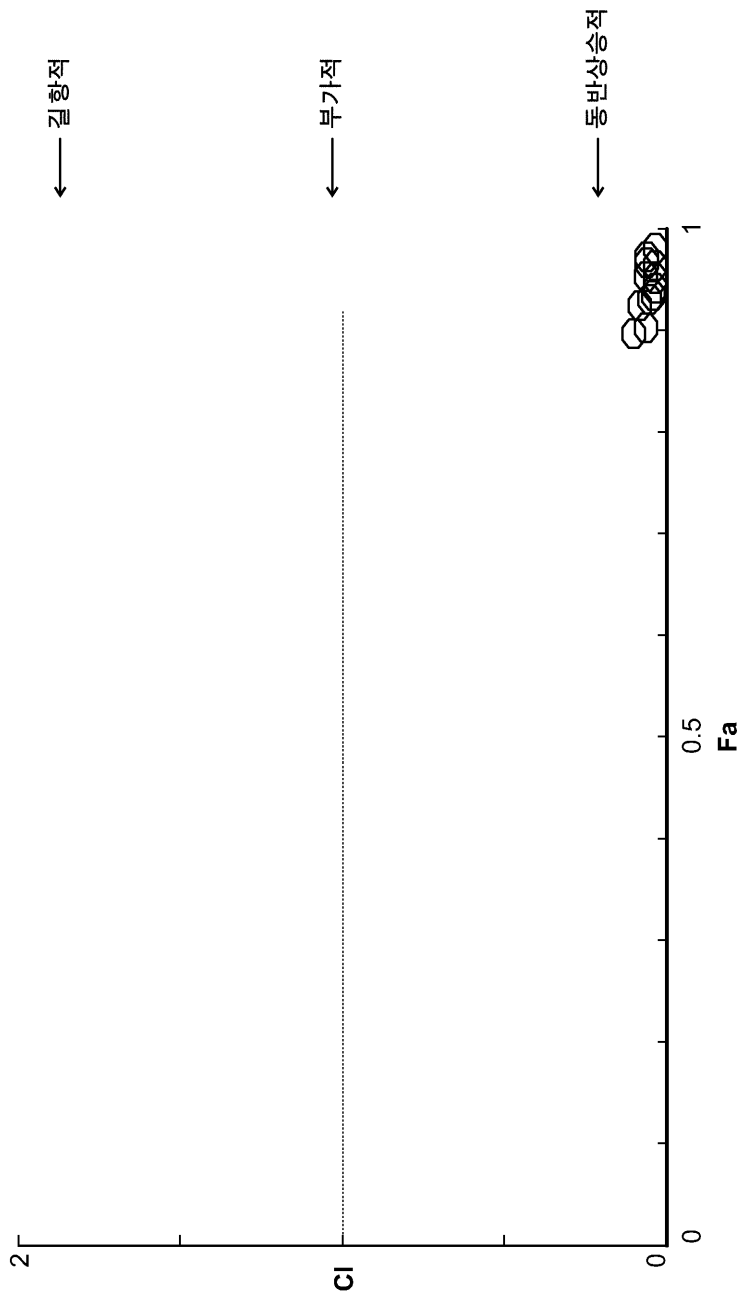


도면12a

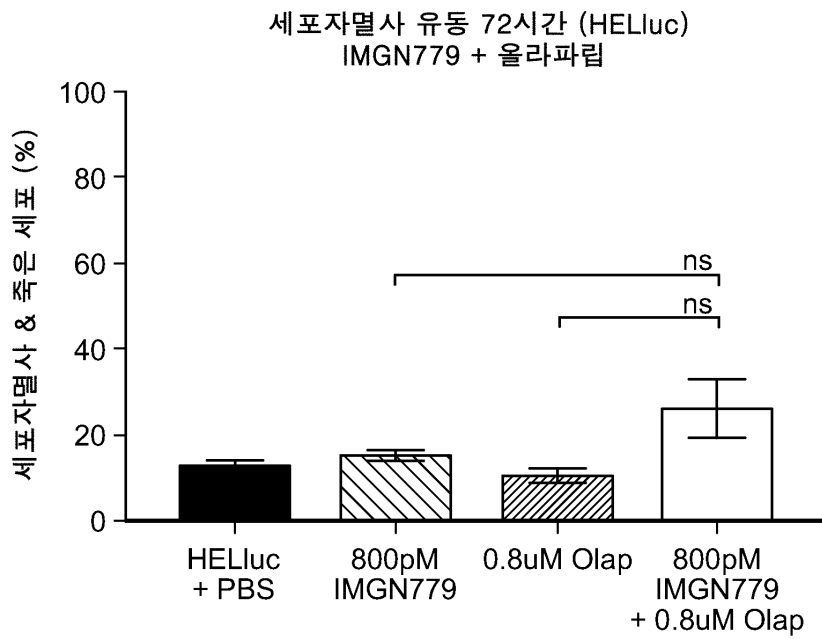


도면12b

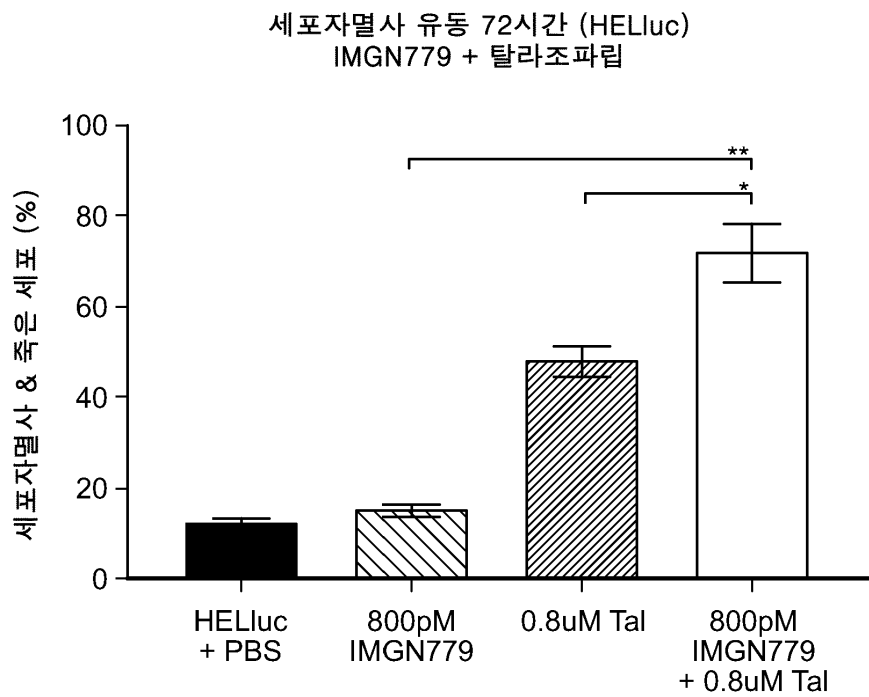
IMGN779 + 탈라조파린 (HELIuc)



도면13a

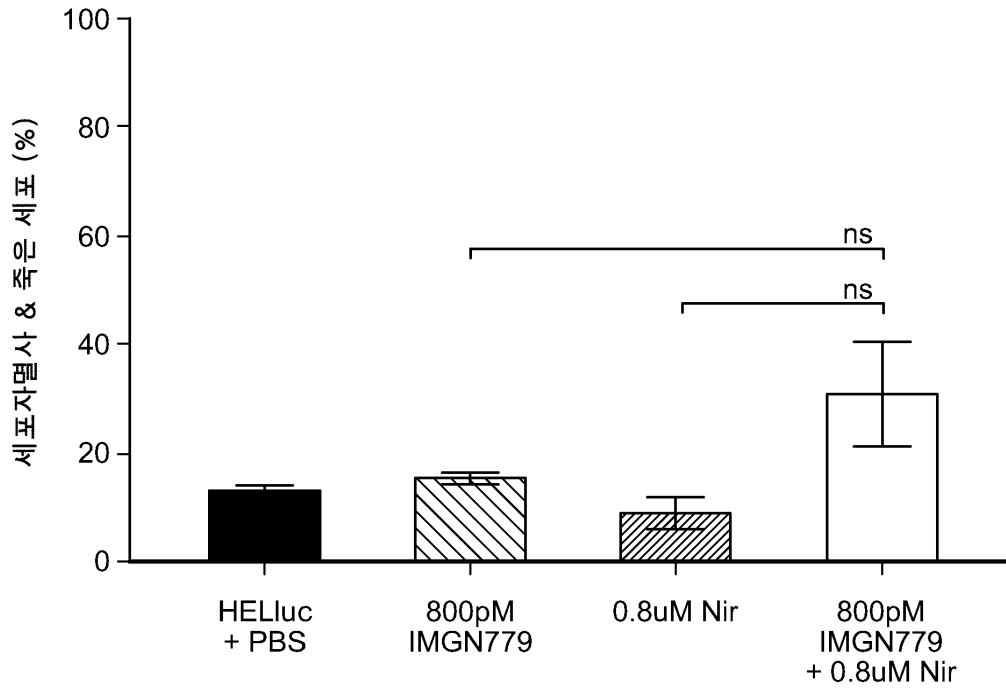


도면13b

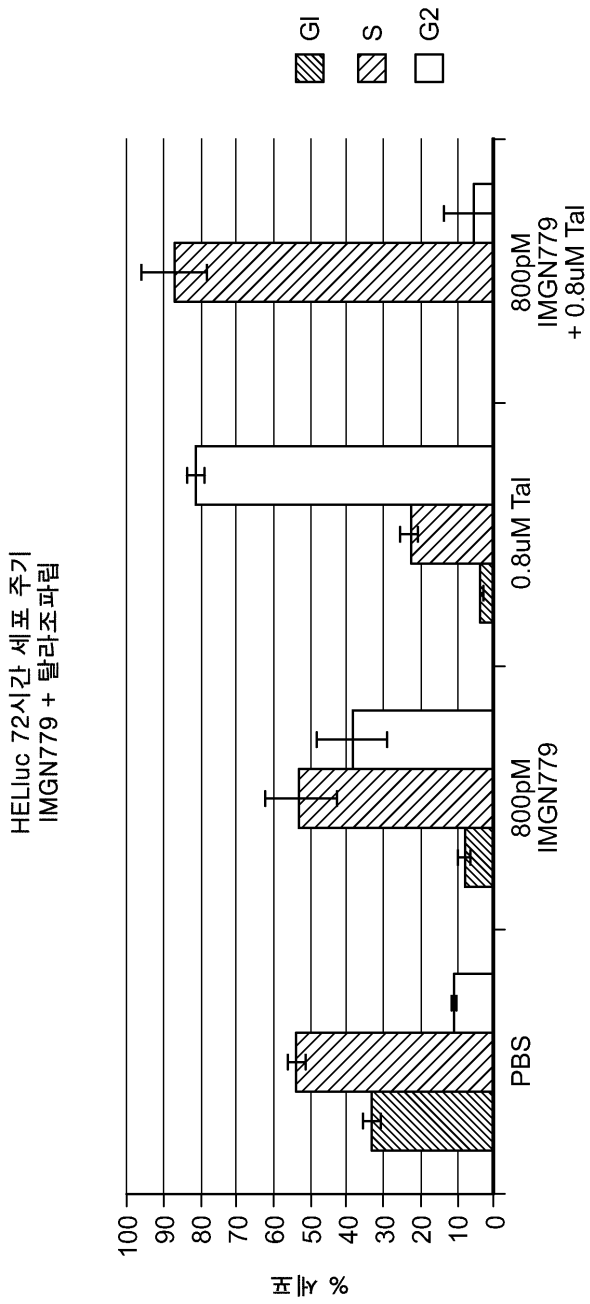


도면13c

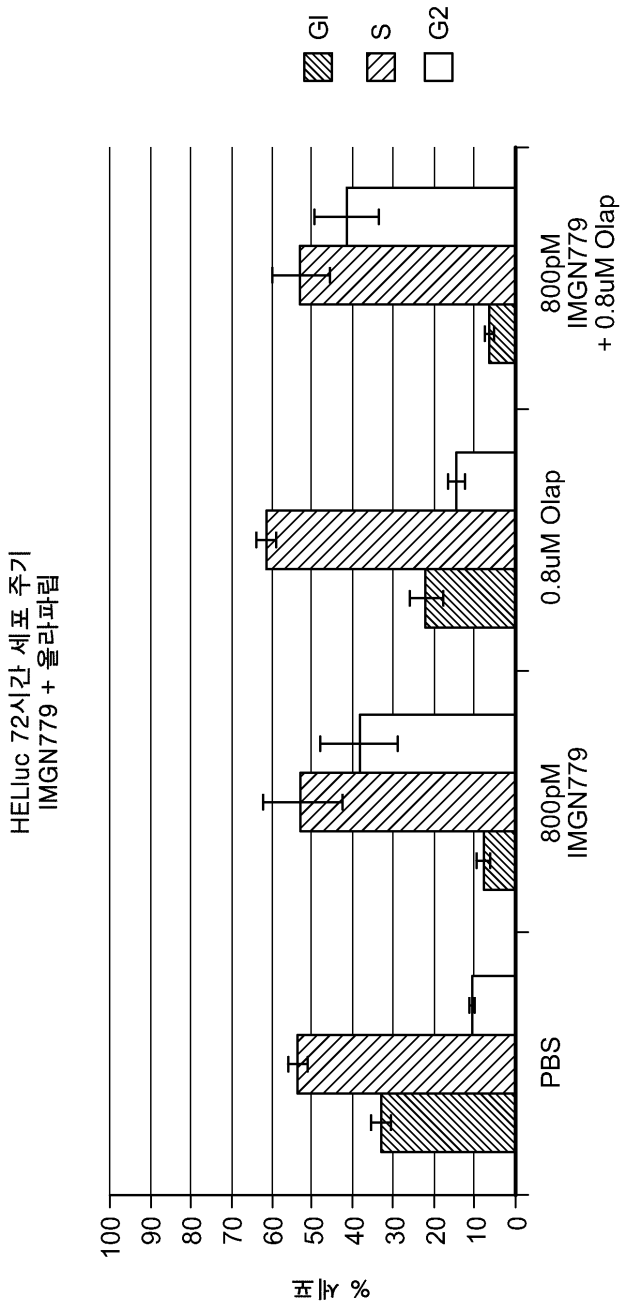
세포자멸사 유도 72시간 (HELLuc)
 IMGN779 + 니라파립



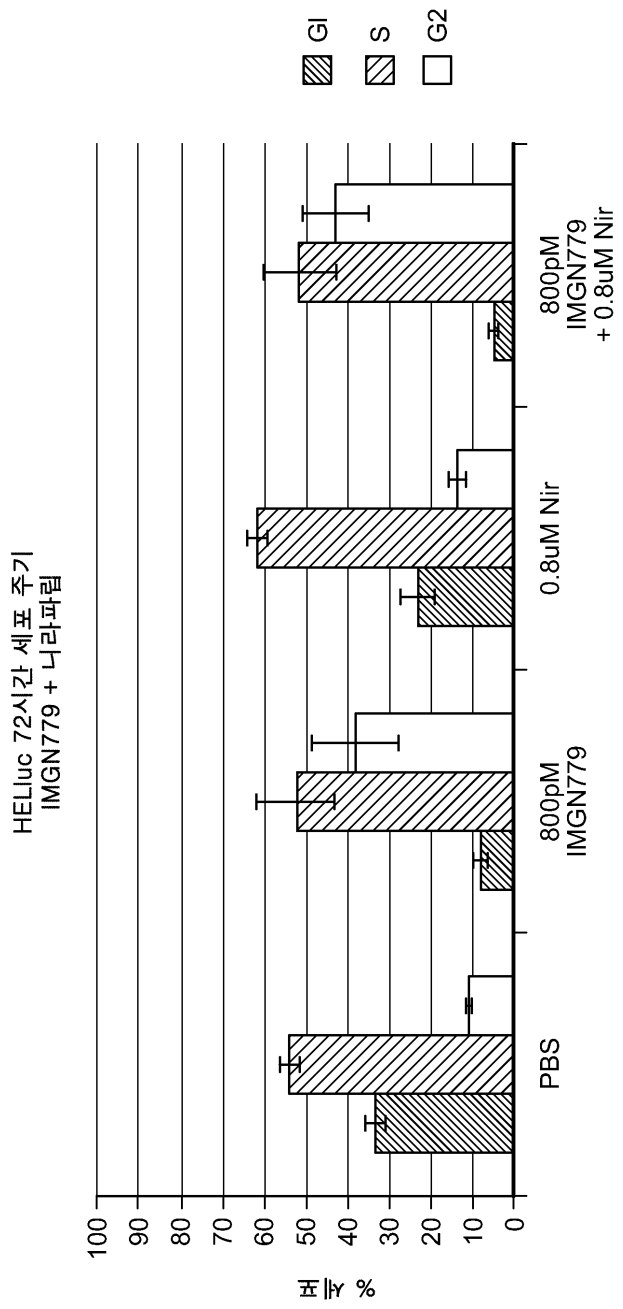
도면14a



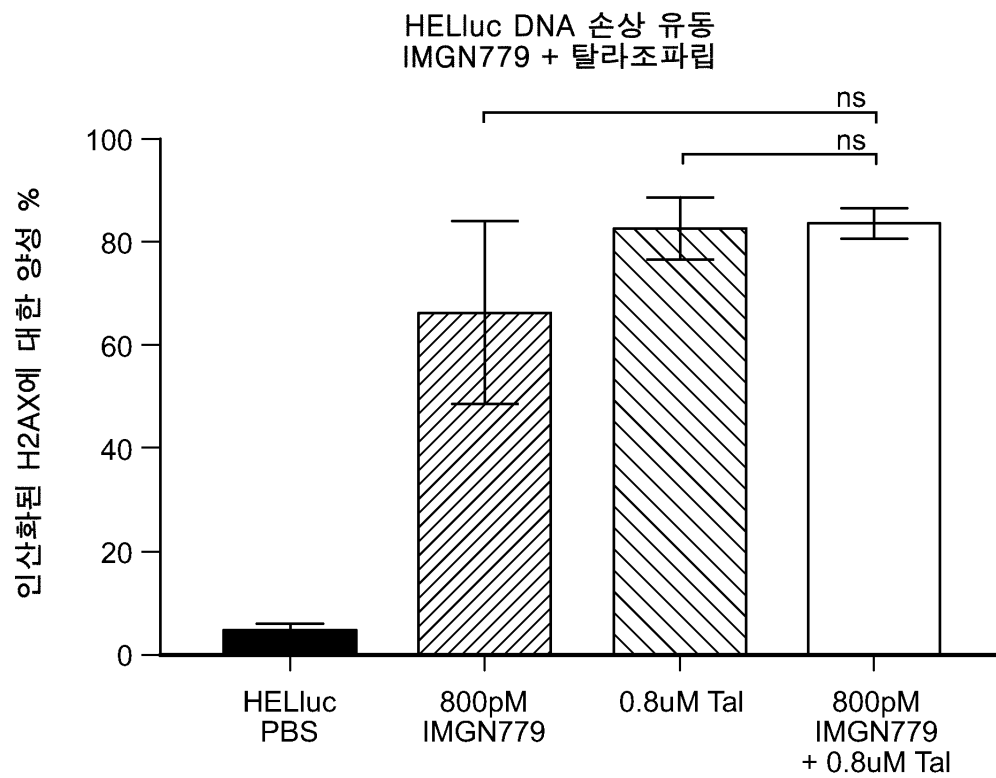
도면14b



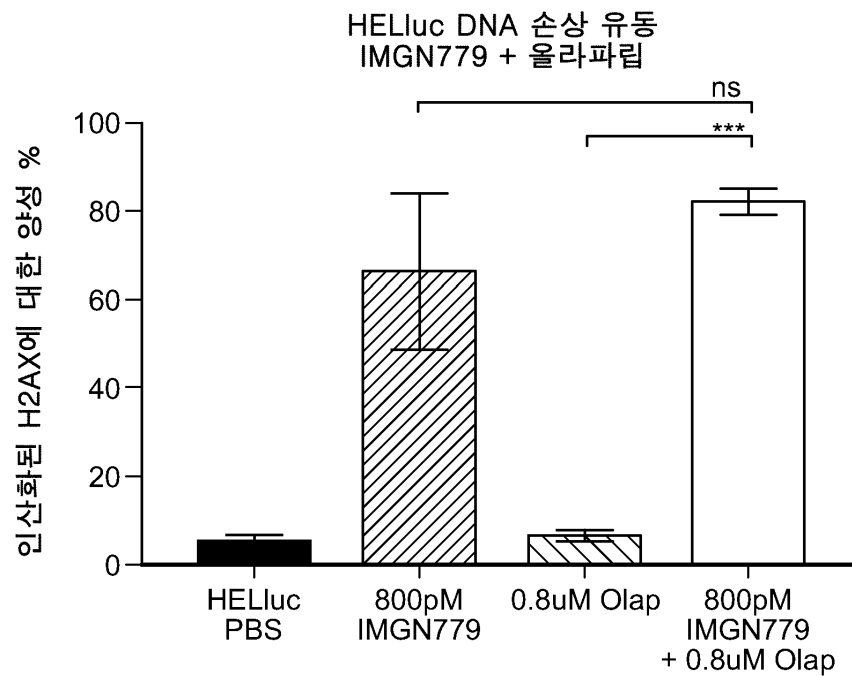
도면14c



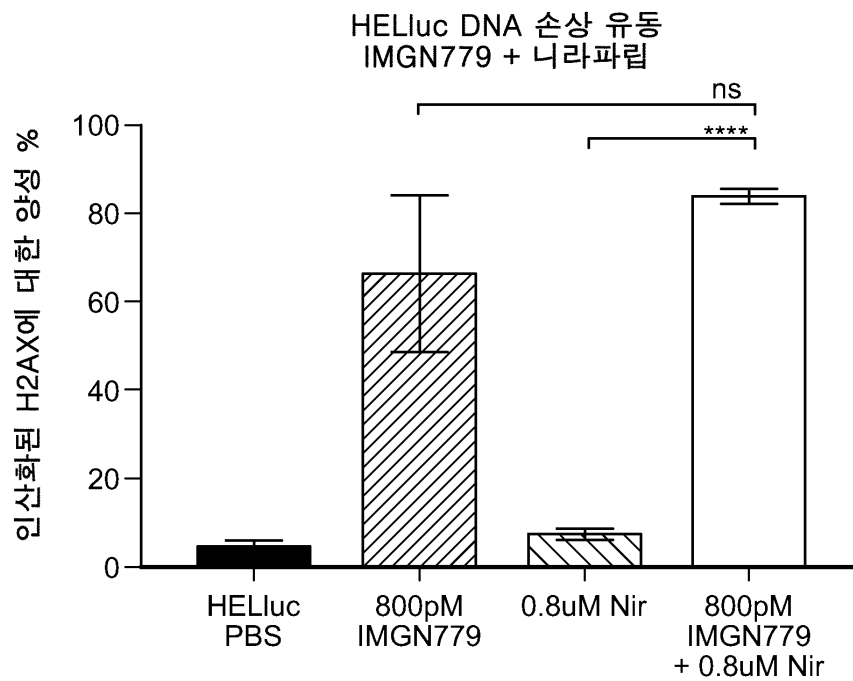
도면15a



도면15b



도면15c



서열목록

- <110> IMMUNOGEN, INC.
HEALTH RESEARCH, INC.
- <120> COMBINATION TREATMENT WITH ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND PARP
INHIBITORS
- <130> 121162-03720
- <150> 62/416,383
- <151> 2016-11-02
- <160> 15
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
- <400> 1
- Ser Tyr Tyr Ile His
- 1 5
- <210> 2
- <211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (16)

<223> /replace="Gln"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(17)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 2

Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 3

Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 4

Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 5
 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5
 <210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 6
 His Gln Tyr Leu Ser Ser Arg Thr
 1 5
 <210> 7
 <211> 118
 <212> PRT
 <213>
 > Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
 <400> 7
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 8

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 8

Asn Ile Met Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser
 20 25 30

Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
 85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg

<

210> 9

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 9

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 10

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 10

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser

20 25 30

Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln

35 40 45

Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
 85 90 95
 Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg

<210> 11

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 11

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190

 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335

 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445

<210> 12

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 12

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser

20 25 30

Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln

35 40 45

Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln

85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 13
 <211> 321
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 13

Met Ala Ala Ala Glu Ala Gly Gly Asp Asp Ala Arg Cys Val Arg Leu
 1 5 10 15
 Ser Ala Glu Arg Ala Gln Ala Leu Leu Ala Asp Val Asp Thr Leu Leu
 20 25 30
 Phe Asp Cys Asp Gly Val Leu Trp Arg Gly Glu Thr Ala Val Pro Gly
 35 40 45
 Ala Pro Glu Ala Leu Arg Ala Leu Arg Ala Arg Gly Lys Arg Leu Gly
 50 55 60
 Phe Ile Thr Asn Asn Ser Ser Lys Thr Arg Ala Ala Tyr Ala Glu Lys
 65 70 75 80
 Leu Arg Arg Leu Gly Phe Gly Gly Pro Ala Gly Pro Gly Ala Ser Leu
 85 90 95
 Glu Val Phe Gly Thr Ala Tyr Cys Thr Ala Leu Tyr Leu Arg Gln Arg
 100 105 110
 Leu Ala Gly Ala Pro Ala Pro Lys Ala Tyr Val Leu Gly Ser Pro Ala
 115 120 125
 Leu Ala Ala Glu Leu Glu Ala Val Gly Val Ala Ser Val Gly Val Gly
 130 135 140

Pro Glu Pro Leu Gln Gly Glu Gly Pro Gly Asp Trp Leu His Ala Pro
 145 150 155 160
 Leu Glu Pro Asp Val Arg Ala Val Val Val Gly Phe Asp Pro His Phe
 165 170 175
 Ser Tyr Met Lys Leu Thr Lys Ala Leu Arg Tyr Leu Gln Gln Pro Gly
 180 185 190
 Cys Leu Leu Val Gly Thr Asn Met Asp Asn Arg Leu Pro Leu Glu Asn
 195 200 205
 Gly Arg Phe Ile Ala Gly Thr Gly Cys Leu Val Arg Ala Val Glu Met
 210 215 220
 Ala Ala Gln Arg Gln Ala Asp Ile Ile Gly Lys Pro Ser Arg Phe Ile
 225 230 235 240
 Phe Asp Cys Val Ser Gln Glu Tyr Gly Ile Asn Pro Glu Arg Thr Val
 245 250 255
 Met Val Gly Asp Arg Leu Asp Thr Asp Ile Leu Leu Gly Ala Thr Cys
 260 265 270

 Gly Leu Lys Thr Ile Leu Thr Leu Thr Gly Val Ser Thr Leu Gly Asp
 275 280 285
 Val Lys Asn Asn Gln Glu Ser Asp Cys Val Ser Lys Lys Lys Met Val
 290 295 300
 Pro Asp Phe Tyr Val Asp Ser Ile Ala Asp Leu Leu Pro Ala Leu Gln
 305 310 315 320
 Gly

- <210> 14
- <211> 364
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 14

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala

 1 5 10 15
 Met Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln

Phe Ser Val Arg Phe Lys Ala Tyr Pro Gln Ile Arg Cys Thr Trp Thr
 370 375 380
 Phe Ser Arg Lys Ser Phe Pro Cys Glu Gln Lys Gly Leu Asp Asn Gly
 385 390 395 400
 Tyr Ser Ile Ser Lys Phe Cys Asn His Lys His Gln Pro Gly Glu Tyr
 405 410 415

 Ile Phe His Ala Glu Asn Asp Asp Ala Gln Phe Thr Lys Met Phe Thr
 420 425 430
 Leu Asn Ile Arg Arg Lys Pro Gln Val Leu Ala Glu Ala Ser Ala Ser
 435 440 445
 Gln Ala Ser Cys Phe Ser Asp Gly Tyr Pro Leu Pro Ser Trp Thr Trp
 450 455 460
 Lys Lys Cys Ser Asp Lys Ser Pro Asn Cys Thr Glu Glu Ile Thr Glu
 465 470 475 480
 Gly Val Trp Asn Arg Lys Ala Asn Arg Lys Val Phe Gly Gln Trp Val
 485 490 495
 Ser Ser Ser Thr Leu Asn Met Ser Glu Ala Ile Lys Gly Phe Leu Val
 500 505 510
 Lys Cys Cys Ala Tyr Asn Ser Leu Gly Thr Ser Cys Glu Thr Ile Leu
 515 520 525
 Leu Asn Ser Pro Gly Pro Phe Pro Phe Ile Gln Asp Asn Ile Ser Phe
 530 535 540
 Tyr Ala Thr Ile Gly Val Cys Leu Leu Phe Ile Val Val Leu Thr Leu
 545 550 555 560

 Leu Ile Cys His Lys Tyr Lys Lys Gln Phe Arg Tyr Glu Ser Gln Leu
 565 570 575
 Gln Met Val Gln Val Thr Gly Ser Ser Asp Asn Glu Tyr Phe Tyr Val
 580 585 590
 Asp Phe Arg Glu Tyr Glu Tyr Asp Leu Lys Trp Glu Phe Pro Arg Glu
 595 600 605
 Asn Leu Glu Phe Gly Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Lys Val
 610 615 620

865 870 875 880
 Ile Phe Ser Leu Gly Val Asn Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Asp Ala
 885 890 895
 Asn Phe Tyr Lys Leu Ile Gln Asn Gly Phe Lys Met Asp Gln Pro Phe
 900 905 910
 Tyr Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Ile Ile Met Gln Ser Cys Trp Ala Phe

 915 920 925
 Asp Ser Arg Lys Arg Pro Ser Phe Pro Asn Leu Thr Ser Phe Leu Gly
 930 935 940
 Cys Gln Leu Ala Asp Ala Glu Glu Ala Met Tyr Gln Asn Val Asp Gly
 945 950 955 960
 Arg Val Ser Glu Cys Pro His Thr Tyr Gln Asn Arg Arg Pro Phe Ser
 965 970 975
 Arg Glu Met Asp Leu Gly Leu Leu Ser Pro Gln Ala Gln Val Glu Asp
 980 985 990

Ser