(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0024875
(43) 공개일자 2025년02월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 47/68* (2017.01) *A61K 39/00* (2006.01)
*C07K 16/30* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 47/6851* (2017.08)
*A61K 47/68031* (2023.08)
(21) 출원번호 10-2024-7040730
(22) 출원일자(국제) 2023년05월10일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년12월09일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/066811
(87) 국제공개번호 WO 2023/220620
국제공개일자 2023년11월16일
(30) 우선권주장
63/341,957 2022년05월13일 미국(US)

(71) 출원인
**엑셀리시스, 인코포레이티드**
미국 94502 캘리포니아주 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851
(72) 발명자
**칸탁 시마**
미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내
**멘델슨 브라이언 앨런**
미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**김진희, 김태홍**

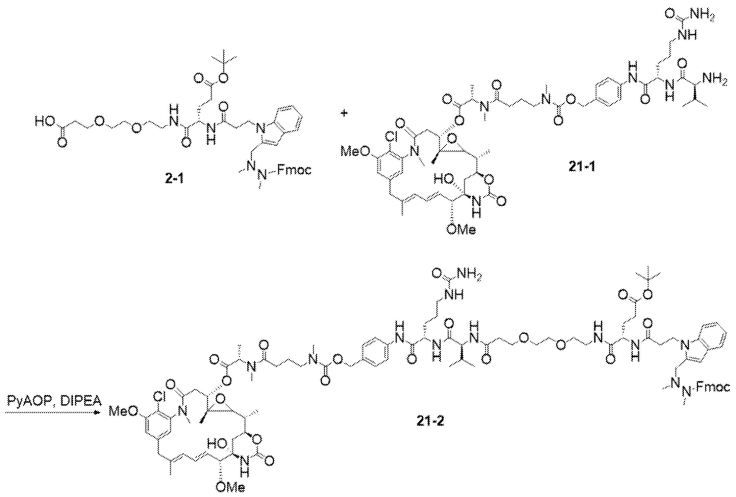
전체 청구항 수 : 총 54 항

(54) 발명의 명칭 **5T4 항체-약물 접합체 및 이의 용도**

## (57) 요 약

본 개시내용은 5T4 항체-약물 접합체 및 이의 용도를 제공한다.

*대 표 도* - 도1a



(52) CPC특허분류
*C07K 16/30* (2013.01)
*A61K 2039/505* (2013.01)
*C07K 2317/21* (2013.01)
*C07K 2317/33* (2013.01)
*C07K 2317/34* (2013.01)
*C07K 2317/55* (2013.01)
*C07K 2317/94* (2013.01)
(72) 발명자
**바필드 로빈 엠**
미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내
**추프라코프 스테판**
미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내
**드레이크 페넬로페 엠**
미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내
**오군코야 아요델**
미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내

# 명 세 서

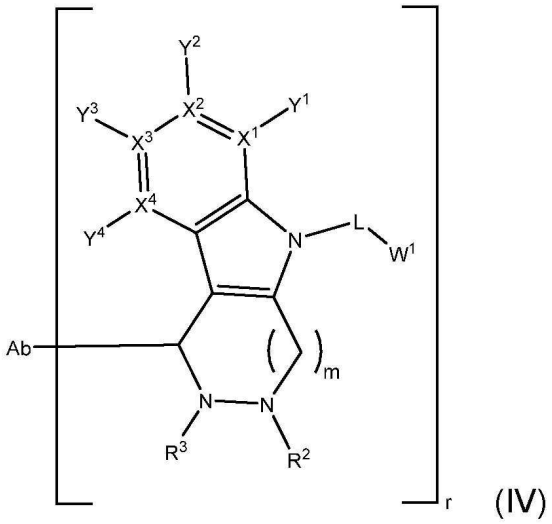
## 청구범위

### 청구항 1

식 (IV)의 항체-약물 접합체(ADC)로서,

a. 5T4에 결합하는 항체; 및

b. 링커를 통해 하나 이상의 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 접합된 하나 이상의 약물을 포함하고,




(IV)

여기서:

Ab는 5T4에 결합하는 항체를 나타내고;

r은 1-10의 정수이고;

m은 0 또는 1이고;

$R^2$ 및 $R^3$는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴로 구성된 군에서 선택되거나; 또는 $R^2$ 및 $R^3$는 고리적으로 연결되어 5- 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

$X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$는 각각 독립적으로 C, N, O 및 S로 구성된 군에서 선택되고;

$Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 및 $Y^4$는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴로 구성된 군에서 선택되거나, 또는 $Y^1$과 $Y^2$, $Y^2$와 $Y^3$ 또는 $Y^3$과 $Y^4$는 고리적으로 연결되고;

$W^1$은 약물이고;

L은 링커를 나타내고 $-(T^1V^1)_a-(T^2V^2)_b-(T^3V^3)_c-(T^4V^4)_d-(T^5V^5)_e-$이며, 여기서:

a, b, c, d 및 e는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, a, b, c, d 및 e의 합은 1-5이고;

$T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$는 각각 독립적으로 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 치환된 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_h$-, 피페리딘-4-아민(P4A-$R^{12}$), 메타-아미노벤질 카바메이트(MABC) 기, 메타-아미노벤질옥시(MABO) 기, 파라-아미노벤질옥시(PABO) 기, 파라-아미노벤질 카바메이트(PABC) 기, 파라-아미노벤질(PAB) 기, 아세탈, 디설파이드, 하이드라진, $(AA)_p$-MABC-$(AA)_p$, $(AA)_p$-MABO-$(AA)_p$, $(AA)_p$-PABO-$(AA)_p$, 또는 $(AA)_p$-PABC-$(AA)_p$를 포함하고;

w는 1-20의 정수이고;

n은 1-30의 정수이고;

각각의 p는 독립적으로 0 또는 1-20의 정수이고;

h는 1-12의 정수이고; 그리고

각각의 $R^{12}$는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

각각의 $R^{13}$은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 또는 치환된 아릴이고;

$V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$ 및 $V^5$는 각각 독립적으로 공유 결합, -C(=O)-, $-NR^{11}$-, $-C(=O)NR^{11}$-, $-NR^{11}C(=O)$-, -C(=O)O-, -OC(=O)-, -O-, -S-, -S(=O)-, $-SO_2$-, $-SO_2NR^{11}$-, $-NR^{11}SO_2$-, 및 -P(=O)OH-로 구성된 군에서 선택되고; 여기서 $R^{11}$은 수소, 알킬, 치환된 알킬, PEG, 아릴 및 치환된 아릴로 구성된 군에서 선택되는, 항체-약물 접합체(ADC).

**청구항 2**

제1항에 있어서, $W^1$은 메이탄시노이드 및 아우리스타틴으로 구성된 군에서 선택되는, ADC.

**청구항 3**

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 아우리스타틴은 MMAE인, ADC.

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 알킬인, ADC.

**청구항 5**

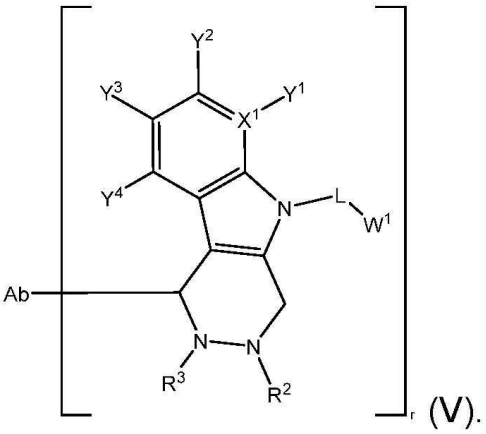
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 메틸인, ADC.

**청구항 6**

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 $X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$는 독립적으로 C 및 N에서 선택되는, ADC.

**청구항 7**

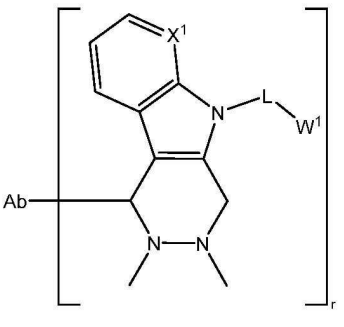
제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ADC는 식 (V)로 표시되는, ADC:




(V).

**청구항 8**

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ADC는 식 (VI)로 표시되는, ADC:




(VI),

여기서 $X^1$은 C 또는 N임.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$는 각각 독립적으로 $C_1$-$C_6$ 알킬, P4A-$R^{12}$, $(AA)_p$, $(AA)_p$-PABC, 및 $(PEG)_n$으로 구성된 군에서 선택되고, 여기서 p는 1-5의 정수이고, $R^{12}$는 폴리에틸렌 글리콜 또는 카복실산-변형된 폴리에틸렌 글리콜인, ADC.

**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

$T^1$은 $C_1$-$C_6$ 알킬이고;

$T^2$, $T^3$, $T^4$ 및 $T^5$는 각각 독립적으로 $(PEG)_n$, $C_1$-$C_6$ 알킬, $(AA)_p$, P4A-$R^{12}$, $(AA)_p$-(PABO-$R^{16}$)-$(AA)_p$, $(AA)_p$-(PABC-$R^{16}$)-$(AA)_p$, $(AA)_p$-(PABO-$R^{16}$), 및 $(AA)_p$-(PABC-$R^{16}$)에서 선택되고, 여기서 $R^{12}$는 카복실산-변형된 폴리에틸렌 글리콜이고 $R^{16}$은 수소이고; 그리고

$V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$ 및 $V^5$는 각각 독립적으로 -CO- 및 -$NR^{11}$에서 선택되고, 여기서 $R^{11}$은 수소 및 알킬에서 선택되는, ADC.

**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, L은:

$$-(C_1\text{-}C_6\ \text{알킬}\ )\text{-}(V^1)\text{-}(P4A\text{-}R^{12})\text{-}(V^2)\text{-}(C_1\text{-}C_6\ \text{알킬}\ )\text{-}(V^3)\text{-},$$

여기서:

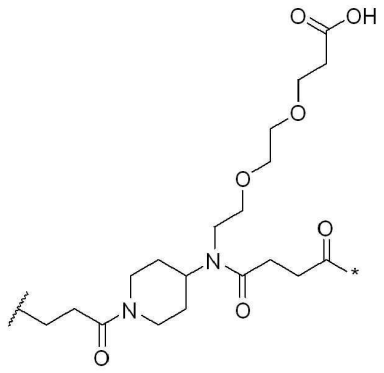
$V^1$, $V^2$ 및 $V^3$은 각각 독립적으로 -CO- 및 $-NR^{11}$로 구성된 군에서 선택되고;

각각의 $R^{11}$은 독립적으로 수소 및 $C_1$-$C_6$ 알킬로 구성된 군에서 선택되고; 그리고

$R^{12}$는 카복실산-변형된 폴리에틸렌 글리콜 모이어티인, ADC.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, L은:



이고,

여기서:

〰 는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티의 질소에 대한 부착을 나타내고; 그리고

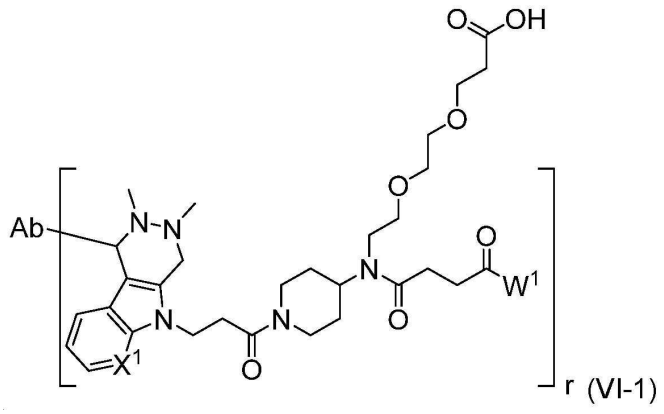
*는 $W^1$에 대한 부착을 나타내는, ADC.

**청구항 13**

식 (VI-1)의 항체-약물 접합체(ADC)로서,

a. 5T4에 결합하는 항체; 및

b. 링커를 통해 하나 이상의 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 접합된 하나 이상의 약물을 포함하고,



(VI-1)

여기서:

Ab는 5T4에 결합하는 항체를 나타내고;

r은 1-10의 정수이고;

$X^1$은 C 또는 N이고;

$W^1$은 약물인, 항체-약물 접합체(ADC).

**청구항 14**

제13항에 있어서, $W^1$은 메이탄시노이드 및 아우리스타틴으로 구성된 군에서 선택되는, ADC.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 상기 아우리스타틴이 MMAE인, ADC.

**청구항 16**

제13항 또는 제14항에 있어서, $X^1$은 C이고 $W^1$은 데아실화된 메이탄신인, ADC.

**청구항 17**

제14항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, $X^1$은 N이고 $W^1$은 MMAE인, ADC.

**청구항 18**

제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, L은

$(C_1-C_6$ 알킬$)-V^1-(AA)-V^2-(PEG)_n-V^3-((AA)_p-(PABC-R^{16}))-V^4-(C_1-C_6$ 알킬$)-V^5$이고,

여기서:

$R^{16}$은 수소이고;

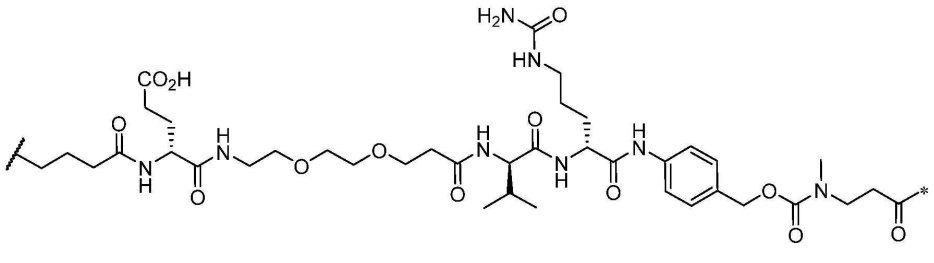
n 및 p는 각각 독립적으로 1-20의 정수이고;

$V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$ 및 $V^5$는 각각 독립적으로 -CO- 및 $-NR^{11}$로 구성된 군에서 선택되고;

각각의 $R^{11}$은 독립적으로 수소 및 $C_1-C_6$ 알킬로 구성된 군에서 선택되는, ADC.

**청구항 19**

제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, L은



이고,

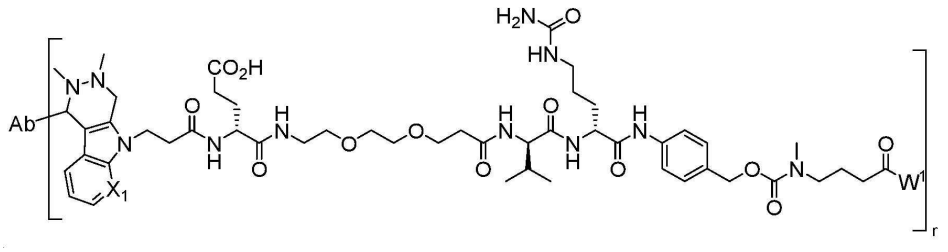
여기서:

..... 는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티의 질소에 대한 부착을 나타내고; 그리고

*는 $W^1$에 대한 부착을 나타내는, ADC.

**청구항 20**

하나 이상의 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 통해 하나 이상의 약물에 접합된 5T4에 결합하는 항체를 포함하는, 식 (VI-2)로 표시되는 항체-약물 접합체(ADC):



(VI-2)

여기서:

Ab는 5T4에 결합하는 항체를 나타내고;

r은 1-10의 정수이고;

$X^1$은 C 또는 N이고; 그리고

$W^1$은 약물임.

**청구항 21**

제20항에 있어서, $W^1$은 메이탄시노이드 및 아우리스타틴에서 선택되는, ADC.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 상기 아우리스타틴은 MMAE인, ADC.

**청구항 23**

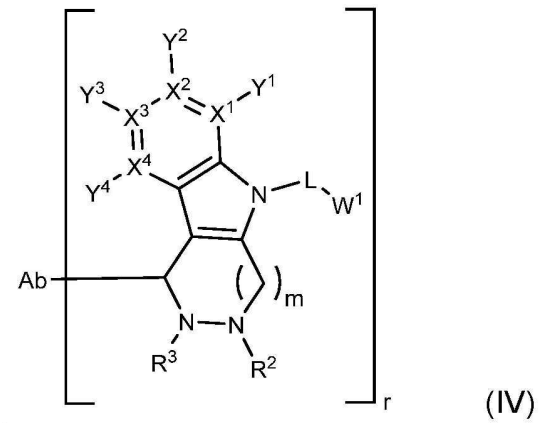
제20항 또는 제21항에 있어서, $X^1$은 C이고 $W^1$은 데아실화된 메이탄신인, ADC.

**청구항 24**

식 (IV)의 항체-약물 접합체(ADC)로서,

a. 5T4에 결합하는 항체; 및

b. 링커를 통해 하나 이상의 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 접합된 하나 이상의 약물을 포함하고,



(IV)

여기서:

Ab는 5T4에 결합하는 항체를 나타내고;

$W^1$은 약물이고;

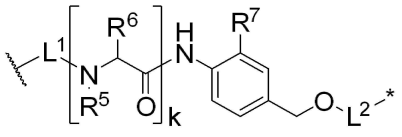
r은 1-10의 정수이고;

m은 0 또는 1이고;

$R^2$ 및 $R^3$는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로 구성된 군에서 선택되거나; 또는 $R^2$ 및 $R^3$는 고리적으로 연결되어 5- 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

$X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$는 각각 독립적으로 C, N, O 및 S로 구성된 군에서 선택되고;

$Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 및 $Y^4$는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로 구성된 군에서 선택되거나; 또는 $Y^1$과 $Y^2$, $Y^2$와 $Y^3$, 또는 $Y^3$과 $Y^4$는 고리적으로 연결되고;

L은  이고,

여기서:

〰 는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티의 질소에 대한 부착을 나타내고;

*는 $W^1$에 대한 부착을 나타내고;

각각의 $R^5$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

각각의 $R^6$는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴에서 선택되고;

$R^7$은 절단가능한 모이어티이고;

k는 1-10의 정수이고;

$L^1$은 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$를 포함하고;

$L^2$는 $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$를 포함하고;

각각의 a, b, c, d, e, f, g, 및 h는 독립적으로 1 또는 0이고;

$T^1$, $T^2$, $T^3$ $T^4$, $T^5$, $T^6$, $T^7$, 및 $T^8$은 각각 독립적으로 공유 결합, $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 치환된 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_m-$, P4A-$R^{12}$, 아세탈, 하이드라진, 디설파이드 및 에스테르로 구성된 군에서 선택되고;

각각의 w는 1-20의 정수이고;

각각의 n은 1-30의 정수이고;

각각의 p는 1-20의 정수이고;

각각의 m은 1-12의 정수이고;

$V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, $V^5$, $V^6$, $V^7$ 및 $V^8$은 각각 독립적으로 공유 결합, -CO-, $-NR^{15}-$, $-NR^{15}(CH_2)_q-$, $-NR^{15}(C_6H_4)-$, $-CONR^{15}-$, $-NR^{15}CO-$, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, $-SO_2-$, $-SO_2NR^{15}-$, $-NR^{15}SO_2-$, 및 -P(O)OH-로 구성된 군에서 선택되고;

각각의 q는 1-6의 정수이고;

$R^{12}$는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로 구성된 군에서 선택되고;

각각의 $R^{13}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로 구성된 군에서 선택되고; 그리고

각각의 $R^{15}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로 구성된 군에서 선택되는, 항체-약물 접합체(ADC).

**청구항 25**

제24항에 있어서, $W^1$은 메이탄시노이드 및 아우리스타틴에서 선택되는, ADC.

**청구항 26**

제25항에 있어서, 상기 아우리스타틴은 MMAE인, ADC.

**청구항 27**

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 알킬인, ADC.

**청구항 28**

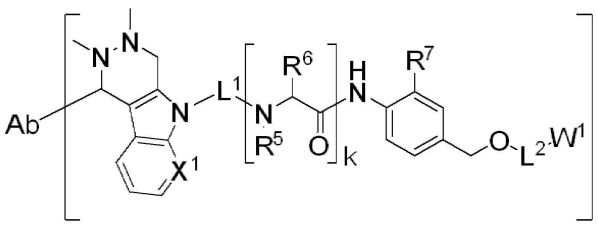
제27항에 있어서, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 메틸인, ADC.

**청구항 29**

제24항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 $X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$는 독립적으로 C 및 N에서 선택되는, ADC.

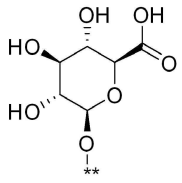
**청구항 30**

제24항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 식 (VI-3)으로 표시되는, ADC:




(VI-3).

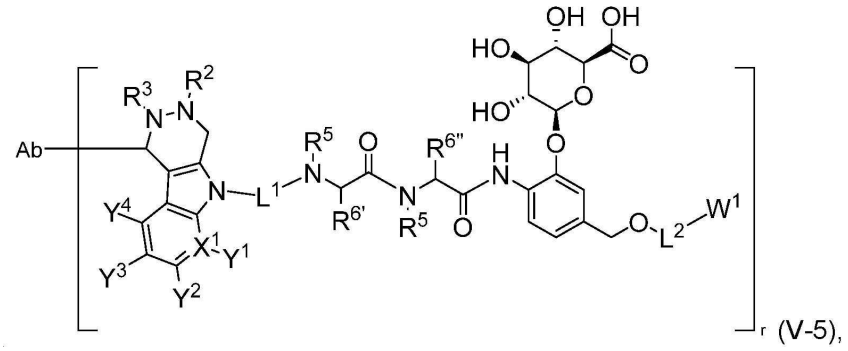
**청구항 31**



제30항에 있어서, $R^7$은 이고, 여기서 **는 식 (VI-3)에서 페닐기에 대한 부착 지점을 나타내는, ADC.

**청구항 32**

제24항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 식 (V-5)로 표시되는, ADC:

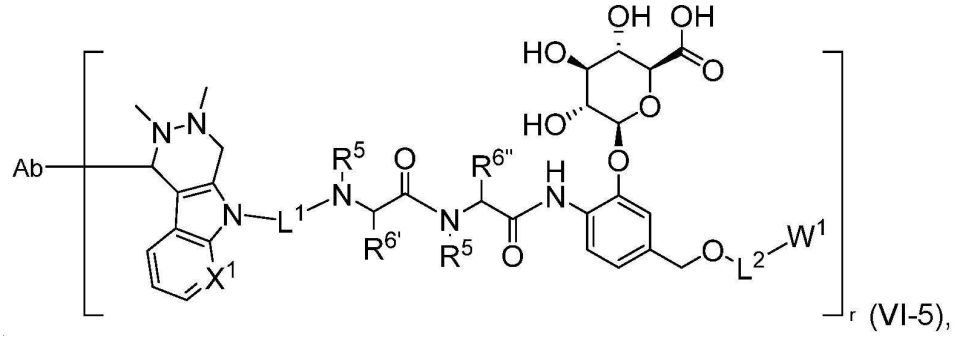


(V-5),

여기서 $R^{6'}$ 및 $R^{6''}$은 각각 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴임.

**청구항 33**

제24항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 식 (VI-5)로 표시되는, ADC:

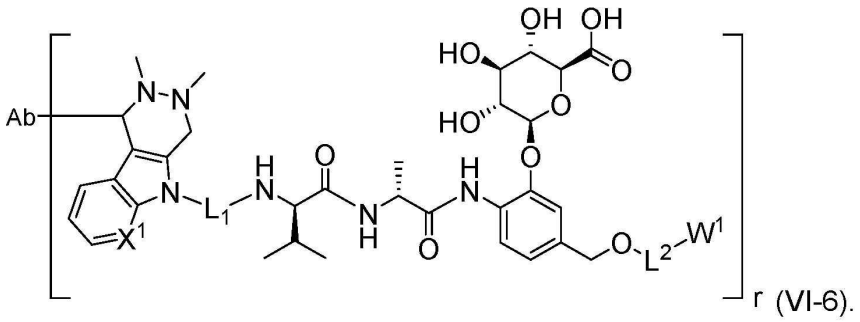


(VI-5),

여기서 $X^1$은 C 또는 N이고, 여기서 $R^{6'}$ 및 $R^{6''}$은 각각 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴임.

**청구항 34**

제24항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 식 (VI-6)으로 표시되는, ADC:



(VI-6).

**청구항 35**

제24항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

$L^1$은 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$를 포함하고;

a, b 및 c는 각각 1이고;

d는 0이므로 $T^4$ 및 $V^4$는 부재하고;

$T^1$, $T^2$ 및 $T^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, $(PEG)_n$ 및 $(AA)_p$로 구성된 군에서 선택되고;

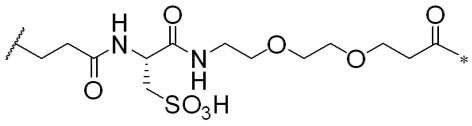
n은 1-10의 정수이고;

p는 1-10의 정수이고;

$V^1$, $V^2$ 및 $V^3$은 각각 독립적으로 -C(=O)- 및 $-NR^{11}$-로 구성된 군에서 선택되고; 그리고

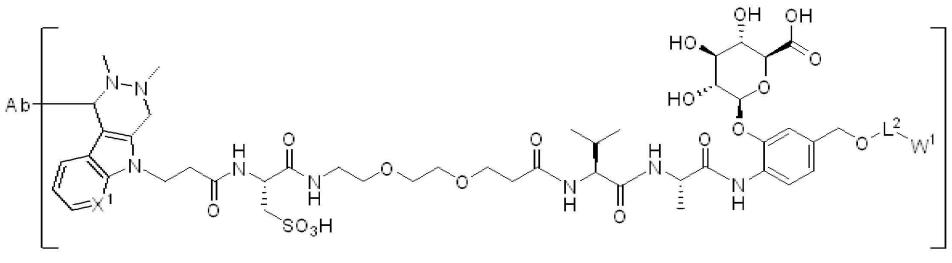
$R^{11}$은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아릴 및 치환된 아릴에서 선택되는, ADC.

**청구항 36**

제24항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, $L^1$은  이고, 여기서 ~~~ 는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티의 질소에 대한 부착 지점을 나타내고, 여기서 *는 링커의 나머지 부분에 대한 임의의 방향의 부착 지점을 나타내는, ADC.

**청구항 37**

제24항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 식 (VI-7)로 표시되는, ADC:



(VI-7), 여기서 $X^1$은 C 또는 N임.

**청구항 38**

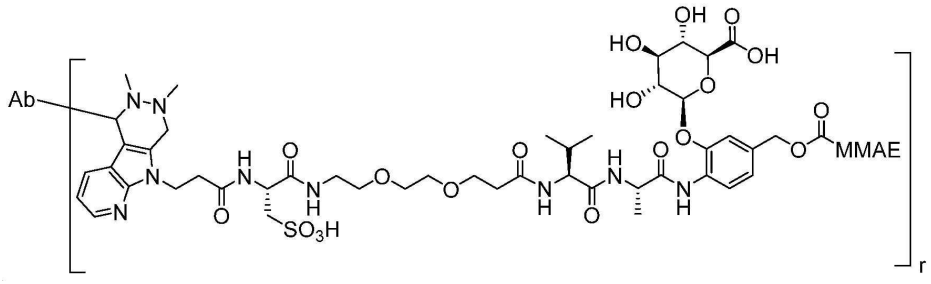
제24항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, $L^2$는 카보닐 기인, ADC.

**청구항 39**

제24항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, $X^1$은 N이고 $W^1$은 MMAE인, ADC.

**청구항 40**

제24항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, (VIb-82)로 표시되는, ADC:




**청구항 41**

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는:

(i) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH에 제시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 및 서열번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 VL에 제시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3; 또는

(ii) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH에 제시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 및 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL에 제시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3; 또는

(iii) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH에 제시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 및 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL에 제시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는, ADC.

**청구항 42**

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는:

(a) 다음을 포함하는 VH 영역:

(1) 서열번호:1, 7, 12, 13 및 18로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1;

(2) 서열번호:2, 8, 14, 19 및 24로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및

(3) 서열번호:3, 9, 15 및 20으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3;

및

(b) 다음을 포함하는 VL 영역:

(1) 서열번호:4, 10, 16 및 21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1;

(2) 서열번호:5, 11 및 22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및

(3) 서열번호:6, 17 및 23으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, ADC.

**청구항 43**

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는:

(i) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포

함하는 VL 영역; 또는

(ii) 서열번호:7의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:8의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:9의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(iii) 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(iv) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:14의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:15의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(v) 서열번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(vi) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함하는, ADC.

**청구항 44**

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는:

(a) 다음을 포함하는 VH 영역:

(1) 서열번호:27, 31, 34, 35 및 39로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1;

(2) 서열번호:28, 32, 36, 40 및 43으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및

(3) 서열번호:29, 33, 37 및 41로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및

(b) 다음을 포함하는 VL 영역:

(1) 서열번호:4, 10, 16 및 21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1;

(2) 서열번호:5, 11 및 22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및

(3) 서열번호:30, 38 및 42로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, ADC.

**청구항 45**

제1항 내지 제41항 및 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는:

(i) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(ii) 서열번호:31의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:33의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(iii) 서열번호:34의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및

서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(iv) 서열번호:35의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:36의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:37의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:38의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(v) 서열번호:39의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:40의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:41의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:42의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(vi) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:43의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함하는, ADC.

**청구항 46**

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는:

(a) 다음을 포함하는 VH 영역:

(1) 서열번호:46, 50, 53, 13 및 57로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1;

(2) 서열번호:47, 51, 54, 58 및 61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및

(3) 서열번호:48, 52, 55 및 59로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및

(b) 다음을 포함하는 VL 영역:

(1) 서열번호:4, 10, 16 및 21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1;

(2) 서열번호:5, 11 및 22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및

(3) 서열번호:49, 56 및 60으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, ADC.

**청구항 47**

제1항 내지 제41항 및 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는:

(i) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(ii) 서열번호:50의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:51의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:52의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(iii) 서열번호:53의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(iv) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:54의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:55의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:56의 아미노산 서열을 포함하는 VL

CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(v) 서열번호:57의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:58의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:59의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:60의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(vi) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:61의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함하는, ADC.

**청구항 48**

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 서열번호:25, 26, 44, 45, 62 및 63 중 어느 하나에 제시된 프레임워크 1(FR1), 프레임워크 2(FR2), 프레임워크 3(FR3) 및/또는 프레임워크 4(FR4) 서열을 추가로 포함하는, ADC.

**청구항 49**

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 인간 프레임워크 서열을 추가로 포함하는, ADC.

**청구항 50**

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는:

(i) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

(ii) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

(iii) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, ADC.

**청구항 51**

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항의 ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 52**

제51항에 있어서, 상기 항체-약물 접합체의 약물-대-항체 비율은 약 1 내지 약 4인, 약제학적 조성물.

**청구항 53**

제52항에 있어서, 상기 약물-대-항체 비율은 약 2인, 약제학적 조성물.

**청구항 54**

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항의 항체-약물 접합체 또는 제51항 내지 제53항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암 또는 종양을 치료하는 방법.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2022년 5월 13일에 출원된 미국 가특허 출원 번호 63/341,957의 이익을 주장하며, 이의 개시내용은 본원에 전체적으로 참조로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 본 출원과 함께 XML 파일 형식으로 제출된 컴퓨터 판독가능한 서열 목록을 포함하고 있으며, 그 전체 내용은 본원에 참조로 전체적으로 포함되어 있다. 본 출원과 함께 제출된 서열 목록 XML 파일은 "14529-099-

228_SEQ_LISTING.xml"이라는 제목이며, 2023년 5월 9일에 생성되었고 크기는 125,376바이트이다.

[0005] 기술 분야

[0006] 본 개시내용은 일반적으로 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 결합하는 항체-약물 접합체(ADC) 및 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.

## 배 경 기 술

[0007] 5T4는 8개의 류신-풍부한 반복을 함유하는 N-글리코실화된 막관통 72 kDa 당단백질이다. Wnt-활성화 억제 인자 1 또는 WAIF1로도 알려진 5T4는 태아 영양막(처음 발견된 곳) 또는 영양막 당단백질(TPBG)에서 발현되기 때문에 종종 종양태아 항원이라고 한다. 5T4는 대장직장, 난소 및 위 종양과 같은 종양에서 발견된다. 그 발현은 예후 보조제로 사용된다. 5T4는 정상 조직에서는 매우 제한적으로 발현되지만 악성 종양에서는 발달 과정 전반에 걸쳐 널리 퍼져 있다. 제한된 발현으로 인해 5T4가 암 치료의 표적이 될 가능성이 있는 것처럼 보이지만 5T4를 표적으로 하는 항체, ADC 및 백신을 사용한 치료적 성공은 아직 달성되지 않았다.

[0008] 5T4를 발현하는 종양 세포와 관련된 것과 같은 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태를 치료, 방지 또는 완화하기 위해 5T4를 표적으로 삼을 수 있는 ADC에 대한 필요성이 여전히 기술 분야에 남아 있다.

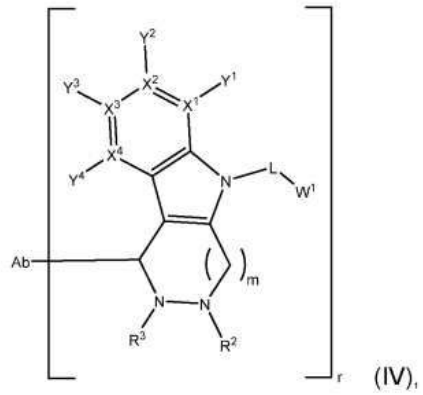
## 발명의 내용

[0009] 본 개시내용은 5T4에 결합하는 항체를 포함하는 ADC("5T4-ADC")를 제공한다. 이러한 5T4-ADC는 일부 구현양태에서, 본원에서 기술된 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항체와 동일한 인간 5T4의 에피토프에 결합한다.

[0010] 본 개시내용은 또한 5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편 및 이에 (직접 또는 간접적으로) 접합된 약물을 포함하는 5T4-ADC를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 이러한 약제학적 조성물은 일부 구현양태에서, 본원에서 기술된 VH 및 VL을 포함하는 항체와 본질적으로 동일한 인간 5T4의 에피토프에 결합하는 항체 또는 이의 단편을 포함하는 5T4-ADC를 포함한다.

[0011] 본 개시내용은 또한, 예를 들어 5T4에 결합하는 5T4-ADC로 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태의 하나 이상의 증상을 완화하는 것과 같은 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태를 치료, 방지 또는 완화하는 방법을 제공한다.

[0012] 보다 구체적으로, 본 개시내용은 (a) 5T4에 결합하는 항체 및 (b) 링커를 통해 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 접합된 약물을 포함하는 하나 이상의 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 포함하는 5T4-ADC를 제공한다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV)로 표시된다:

[0013]  (IV),

[0014] 여기서,

[0015] Ab는 5T4에 결합하는 항체를 나타내고;

[0016] $R^2$ 및 $R^3$는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나; 또

는 $R^2$ 및 $R^3$는 고리적으로 연결되어 5- 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0017] L은 링커이고 $-(T^1V^1)_a-(T^2V^2)_b-(T^3V^3)_c-(T^4V^4)_d-(T^5V^5)_e-$로 표현되고;

[0018] $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$는 각각 독립적으로 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 치환된 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_h-$, 피페리딘-4-아민(P4A-$R^{12}$), 메타-아미노벤질카바메이트(MABC) 기, 메타-아미노벤질옥시(MABO) 기, 파라-아미노벤질옥시(PABO) 기, 파라-아미노벤질카바메이트(PABC) 기, 파라-아미노벤질(PAB) 기, 아세탈, 디설파이드, 하이드라진, $(AA)_p$-MABC-$(AA)_p$, $(AA)_p$-MABO-$(AA)_p$, $(AA)_p$-PABO-$(AA)_p$, 또는 $(AA)_p$-PABC-$(AA)_p$이고;

[0019] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$ 및 $V^5$는 각각 독립적으로 공유 결합, $-C(=O)-$, $-NR^{11}-$, $-C(=O)NR^{11}-$, $-NR^{11}C(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)-$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-SO_2-$, $-SO_2NR^{11}-$, $-NR^{11}SO_2-$, 또는 $-P(=O)OH-$이고;

[0020] a, b, c, d 및 e는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 여기서 a, b, c, d 및 e의 합은 1-5이고;

[0021] h는 독립적으로 1-12의 정수이고;

[0022] m은 0 또는 1이고;

[0023] n은 독립적으로 1-30의 정수이고;

[0024] p는 독립적으로 0 또는 1-20의 정수이고;

[0025] r은 1-10의 정수이고;

[0026] w는 독립적으로 1-20의 정수이고;

[0027] $X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$는 각각 독립적으로 C, N, O 또는 S이고;

[0028] $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 및 $Y^4$는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나, $Y^1$과 $Y^2$, $Y^2$와 $Y^3$ 또는 $Y^3$과 $Y^4$는 고리적으로 연결되고;

[0029] $W^1$은 약물이고;

[0030] $R^{11}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, PEG, 아릴 또는 치환된 아릴이고; 그리고

[0031] $R^{12}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

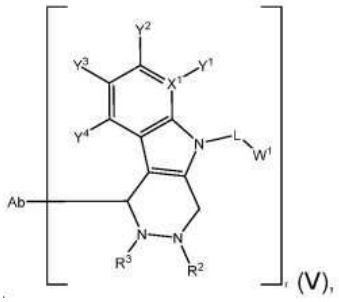
[0032] $R^{13}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 또는 치환된 아릴이다.

[0033] 일부 구현양태에서, 약물은 MMAE 또는 MMAF와 같은 메이탄시노이드 또는 아우리스타틴이다.

[0034] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV)로 표현될 수 있으며, 여기서 $R^2$ 및 $R_3$은 각각 알킬, 예를 들어 메틸이다.

일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV)로 표현될 수 있으며, 여기서 $X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$는 각각 독립적으로 C 또는 N이다.

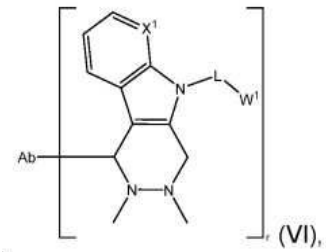
[0035] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (V)로 표현될 수 있고:

[0036] 

(V),

[0037] 여기서 $X^1$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, $Y^4$, $R^2$, $R^3$, L, 및 $W^1$은, 예를 들어 식 (IV)의 경우와 같이 본원에서 정의된 바와 같다.

[0038] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI)로 표현될 수 있고:

[0039] 

(VI),

[0040] 여기서 $X^1$은 C 또는 N이고, L 및 $W^1$은, 예를 들어 식 (IV)의 경우와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0041] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V) 또는 (VI)으로 표현될 수 있으며, 여기서:

[0042] L은 링커이고 $-(T^1V^1)_a-(T^2V^2)_b-(T^3V^3)_c-(T^4V^4)_d-(T^5V^5)_e-$로 표현되고;

[0043] $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$ 및 $T^5$는 각각 독립적으로 $C_1$-$C_6$ 알킬, P4A-$R^{12}$, $(AA)_p$, $(AA)_p$-PABC, 또는 $(PEG)_n$이고;

[0044] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$ 및 $V^5$는 각각 공유 결합, $-C(=O)-$, $-NR^{11}-$, $-C(=O)NR^{11}-$, $-NR^{11}C(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)-$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-SO_2-$, $-SO_2NR^{11}-$, $-NR^{11}SO_2-$ 및 $-P(=O)OH-$로 구성된 군에서 독립적으로 선택되고;

[0045] a, b, c, d 및 e는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 여기서 a, b, c, d 및 e의 합은 1-5이고;

[0046] p는 1-20의 정수이고;

[0047] n은 1-30의 정수이고;

[0048] $R^{11}$은 수소, 알킬, 치환된 알킬, PEG, 아릴 및 치환된 아릴로 구성된 군에서 선택되고; 그리고

[0049] $R^{12}$는 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 또는 카복실산-변형된 폴리에틸렌 글리콜이다.

[0050] 추가 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V) 또는 (VI)으로 표현될 수 있으며, 여기서:

[0051] a, b, c, d 및 e는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 여기서 a, b, c, d 및 e의 합은 1-5이고;

[0052] p는 1-20의 정수이고;

[0053] n은 1-30의 정수이고;

[0054] L은 링커이고 $-(T^1V^1)_a-(T^2V^2)_b-(T^3V^3)_c-(T^4V^4)_d-(T^5V^5)_e-$로 표현되고;

[0055] $T^1$은 $C_1$-$C_6$ 알킬이고;

[0056] $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$는 각각 독립적으로 $(PEG)_n$, $C_1$-$C_6$ 알킬, $(AA)_p$, P4A-$R^{12}$, $(AA)_p$-(PABO-$R^{16}$)-$(AA)_p$, $(AA)_p$-(PABC-$R^{16}$)-$(AA)_p$, $(AA)_p$-(PABO-$R^{16}$), 또는 $(AA)_p$-(PABC-$R^{16}$)이고;

[0057] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, 및 $V^5$는 각각 독립적으로 -CO- 또는 -$NR^{11}$이고;

[0058] $R^{11}$은 독립적으로 수소 또는 알킬이고;

[0059] $R^{12}$는 독립적으로 카복실산-변형된 폴리에틸렌 글리콜이고;

[0060] $R^{16}$은 수소이다.

[0061] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V) 또는 (VI)으로 표현될 수 있으며, 여기서:

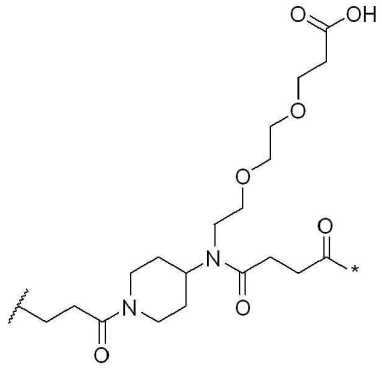
[0062] L은 -($C_1$-$C_6$ 알킬)-($V^1$)-(P4A-$R^{12}$)-($V^2$)-($C_1$-$C_6$ 알킬)-($V^3$)-이고;

[0063] $V^1$, $V^2$ 및 $V^3$은 각각 독립적으로 -CO- 또는 -$NR^{11}$이고;

[0064] $R^{11}$은 독립적으로 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이고;

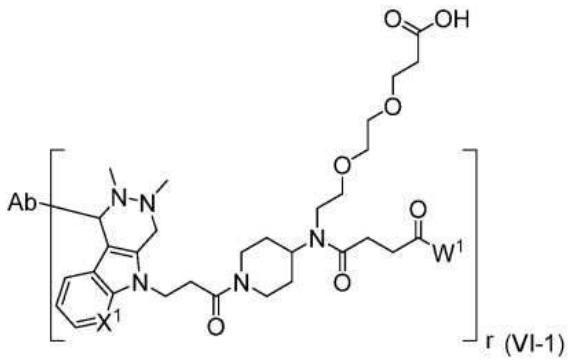
[0065] $R^{12}$는 카복실산-변형된 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다.

[0066] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V) 또는 (VI)으로 표현될 수 있으며, 여기서 L은:

[0067]  이고;

[0068] 여기서 ~~~ 는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티의 질소에 대한 부착 지점을 나타내고 *는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0069] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-1)로 표현될 수 있고:

[0070] 


[0071] 여기서:

[0072] Ab는 5T4에 결합하는 항체를 나타내고;

[0073] r은 1-10의 정수이고;

[0074] $X^1$은 C 또는 N이고; 그리고

[0075] $W^1$은 약물이다.

[0076] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 약물이 MMAE와 같은 메이탄시노이드 또는 아우리스타틴인 식 (VI-1)로 표현될 수 있다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 C이고 $W^1$이 메이탄신 또는 데아실화된 메이탄신인 식 (VI-1)로 표현될 수 있다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 N이고 $W^1$이 MMAE인 식 (VI-1)로 표현될 수 있다.

[0077] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V) 또는 (VI)으로 표현될 수 있으며, 여기서:

[0078] L은 ($C_1$-$C_6$ 알킬)-$V^1$-(AA)-$V^2$-$(PEG)_n$-$V^3$-$((AA)_p$-(PABC-$R^{16}$))-$V^4$-($C_1$-$C_6$ 알킬)-$V^5$이고;

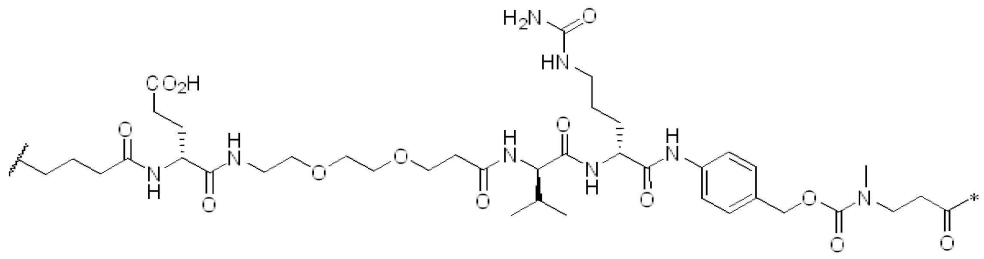
[0079] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$ 및 $V^5$는 각각 독립적으로 -CO- 및 $NR^{11}$로 구성된 군에서 선택되고;

[0080] $R^{11}$은 독립적으로 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이고;

[0081] $R^{16}$은 수소이고; 그리고

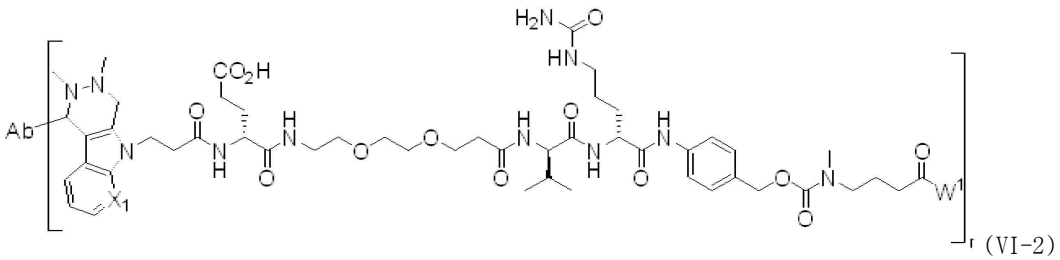
[0082] n 및 p는 각각 독립적으로 1-20의 정수이다.

[0083] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V) 또는 (VI)으로 표현될 수 있으며, 여기서 L은

[0084] 
이고;

[0085] 여기서 ~~~ 는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티의 질소에 대한 부착 지점을 나타내고; *는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0086] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-2)로 표현될 수 있고:

[0087] 
(VI-2)

[0088] 여기서:

[0089] Ab는 5T4에 결합하는 항체를 나타내고;

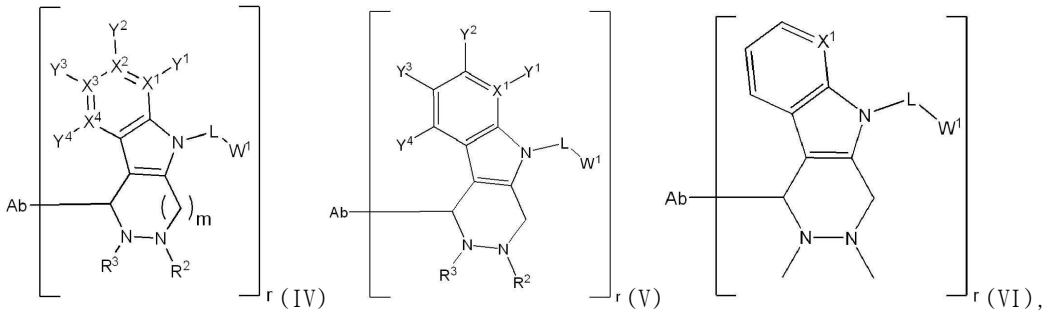
[0090] r은 1-10의 정수이고;

[0091] $X^1$은 C 또는 N이고; 그리고

[0092] $W^1$은 약물이다.

[0093] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 약물이 MMAE와 같은 메이탄시노이드 또는 아우리스타틴인 식 (VI-2)로 표현될 수 있다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 C이고 $W^1$이 메이탄신 또는 데아실화된 메이탄신인 식 (VI-2)로 표현될 수 있다.

[0094] 본 개시내용은 또한 식 (IV), (V), 및 (VI)의 5T4-ADC를 제공하며:

[0095] 

[0096] 여기서:

[0097] Ab는 5T4에 결합하는 항체를 나타내고;

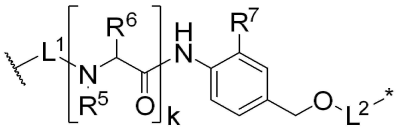
[0098] r은 1-10의 정수이고;

[0099] m은 0 또는 1;

[0100] $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나; $R^2$ 및 $R^3$은 고리적으로 연결되어 5- 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0101] $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$는 각각 독립적으로 C, N, O 및 S로 구성된 군에서 선택되고;

[0102] $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나; 또는 $Y^1$과 $Y^2$, $Y^2$와 $Y^3$, 또는 $Y^3$과 $Y^4$는 고리적으로 연결되고;

[0103] L은  이고,

[0104] 〰 는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티의 질소에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0105] * 는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0106] $R^5$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0107] $R^6$은 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0108] $R^7$은 절단가능한 모이어티이고;

[0109] k는 1-10의 정수이고;

[0110] $L^1$은 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$를 포함하고;

[0111] $L^2$는 $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$를 포함하고;

[0112] $T^1$, $T^2$, $T^3$ $T^4$, $T^5$, $T^6$, $T^7$, 및 $T^8$은 각각 독립적으로 공유 결합, $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 치환된 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_m-$, P4A-$R^{12}$, 아세탈, 하이드라진, 디설파이드 및 에스테르이고;

[0113] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, $V^5$, $V^6$, $V^7$, 및 $V^8$은 각각 독립적으로 공유 결합, -CO-, $-NR^{15}-$, $-NR^{15}(CH_2)_q-$, $-NR^{15}(C_6H_4)-$, $-CONR^{15}-$, $-NR^{15}CO-$, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-,

[0114] -S(O)-, $-SO_2-$, $-SO_2NR^{15}-$, $-NR^{15}SO_2-$, 및 -P(O)OH-이고;

[0115] a, b, c, d, e, f, g 및 h는 각각 독립적으로 1 또는 0이고;

[0116] m은 독립적으로 1-12의 정수이고;

[0117] n은 독립적으로 1-30의 정수이고;

[0118] p는 독립적으로 1-20의 정수이고;

[0119] q는 독립적으로 1-6의 정수이고;

[0120] w는 독립적으로 1-20의 정수이고;

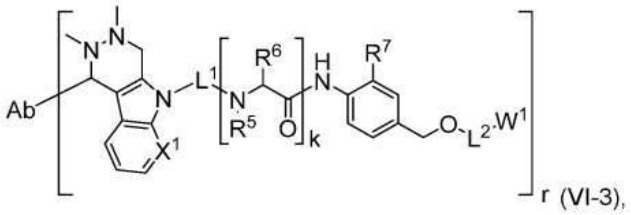
[0121] $R^{12}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0122] $R^{13}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴이고; 그리고

[0123] $R^{15}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0124] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $R^2$ 및 $R^3$가 각각 알킬, 예를 들어 메틸인 식 (IV)로 표현될 수 있다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$가 각각 독립적으로 C 또는 N인 식 (IV)로 표현될 수 있다.

[0125] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-3)으로 표현될 수 있고:




(VI-3),

[0126]

[0127] 여기서:

[0128] Ab는 5T4에 결합하는 항체를 나타내고;

[0129] $X^1$은 C, N, O 또는 S이고;

[0130] $R^5$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0131] $R^6$는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0132] $R^7$은 절단가능한 모이어티이고;

[0133] $L^1$은 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$를 포함하고;

[0134] $L^2$는 $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$를 포함하고;

[0135] $T^1$, $T^2$, $T^3$ $T^4$, $T^5$, $T^6$, $T^7$, 및 $T^8$은 각각 독립적으로 공유 결합, $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 치환된 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_m-$, P4A-$R^{12}$, 아세탈, 하이드라진, 디설파이드 또는 에스테르이고;

[0136] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, $V^5$, $V^6$, $V^7$, 및 $V^8$은 각각 독립적으로 공유 결합, -CO-, $-NR^{15}-$, $-NR^{15}(CH_2)_q-$, $-NR^{15}(C_6H_4)-$, $-CONR^{15}-$, $-NR^{15}CO-$, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-,

[0137] $-S(O)-$, $-SO_2-$, $-SO_2NR^{15}-$, $-NR^{15}SO_2-$, 또는 -P(O)OH-이고;

[0138] a, b, c, d, e, f, g 및 h는 각각 독립적으로 1 또는 0이고;

[0139] k는 1-10의 정수이고;

[0140] m은 독립적으로 1-12의 정수이고;

[0141] n은 독립적으로 1-30의 정수이고;

[0142] p는 독립적으로 1-20의 정수이고;

[0143] q는 독립적으로 1-6의 정수이고;

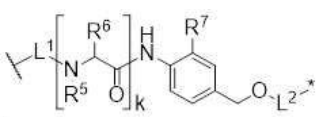
[0144] w는 독립적으로 1-20의 정수이고;

[0145] $R^{12}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

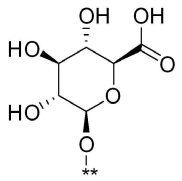
[0146] $R^{13}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 또는 치환된 아릴이고; 그리고

[0147] $R^{15}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0148] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V) 또는 (IV)으로 표현될 수 있으며, 여기서:

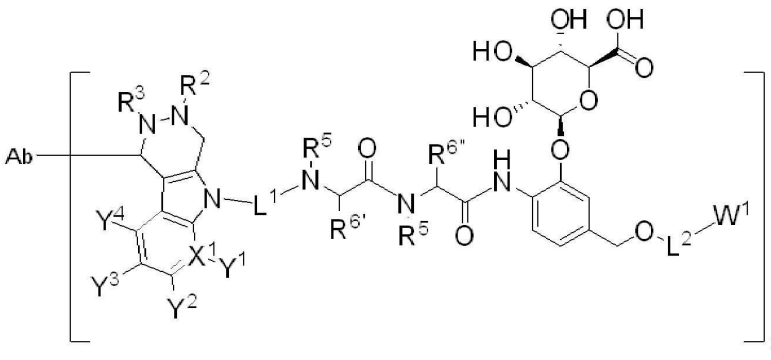
[0149] L은  이고.

[0150] $R^5$, $R^6$, $L^1$, $L^2$ 및 k는, 예를 들어 식 (VI-3)의 경우와 같이 본원에 정의된 바와 같고; 그리고



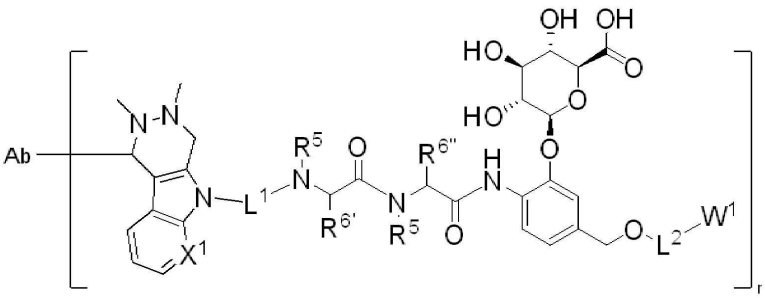
[0151] $R^7$은 이고, 여기서 **는, 예를 들어 식 (VI-3), (V-4) 또는 (VI-4)의 경우와 같이 본원에 기술된 페닐기에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0152] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (V-5)로 표현될 수 있고:



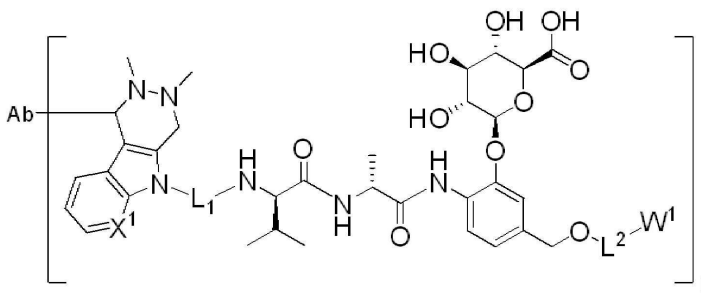
[0153] (V-5), 여기서 Ab, $L^1$, $L^2$, $R^2$, $R^3$, $R^5$, $X^1$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, $Y^4$, $W^1$, 및 r은 예를 들어, 식 (VI-3)의 경우와 같이 본원에서 정의된 바와 같고, $R^{6'}$ 및 $R^{6''}$은 각각 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0154] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-5)로 표현될 수 있고:



[0155] (VI-5), 여기서 Ab, $L^1$, $L^2$, $R^5$, $W^1$ 및 r은, 예를 들어, 식 (VI-3)의 경우와 같이 본원에 정의된 바와 같고, $R^{6'}$ 및 $R^{6''}$은 각각 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고, 여기서 $X^1$은 C 또는 N이다.

[0156] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-6)으로 표현될 수 있고:



[0157] (VI-6)), 여기서 Ab, $L^1$, $L^2$, $W^1$ 및 r은, 예를 들어 식 (VI-3)의 경우와 같이 본원에 정의된 바와 같고, $X^1$은 C 또는 N이다.

[0158] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-3), (V-5), (VI-5) 또는 (VI-6)으로 표현될 수 있으며, 여기서:

[0159] $L^1$은 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-$를 포함하고;

[0160] $T^1$, $T^2$ 및 $T^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, $(PEG)_n$ 및 $(AA)_p$로 구성된 군에서 선택되고;

[0161] $V^1$, $V^2$ 및 $V^3$은 각각 독립적으로 -C(=O)- 또는 $-NR^{11}-$이고;

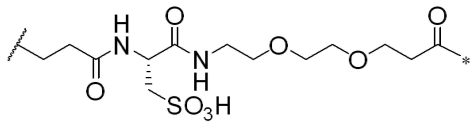
[0162] a, b 및 c는 각각 1이고;

[0163] n은 독립적으로 1-10의 정수이고;

[0164] p는 독립적으로 1-10의 정수이고;

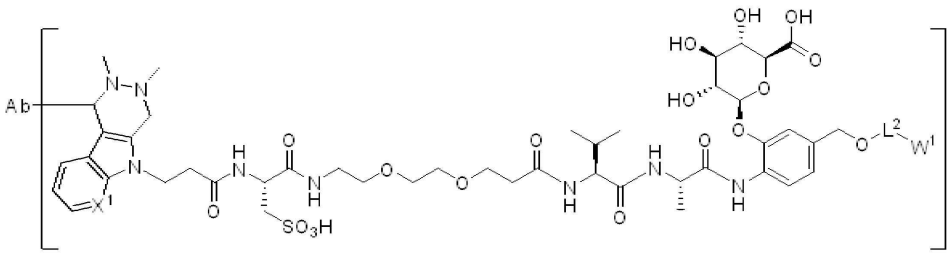
[0165] $R^{11}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아릴 또는 치환된 아릴이다.

[0166] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-3), (V-5), (VI-5) 또는 (VI-6)으로 표현될 수 있고; 여기서 $L^1$은



이고, 여기서 ⁓ 는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티의 질소에 대한 부착 지점을 나타내고, 여기서 *는, 예를 들어 식 (VI-6)에 표시된 바와 같이 본원에 기술된 바와 같이 링커에서 말단 질소에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0167] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-7)로 표현될 수 있고:

[0168] 

(VI-7), 여기서 Ab, $L^1$, $L^2$, $W^1$ 및 r은, 예를 들어 식 (VI-3)의 경우와 같이 본원에 정의된 바와 같고, $X^1$은 C 또는 N이다.

[0169] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-7)로 표현될 수 있으며, 여기서 $L^2$는 카보닐기이다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-7)로 표현될 수 있으며, 여기서 $X^1$은 N이고 $W^1$은 MMAE이다.

[0170] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6) 또는 (VI-7)로 표현될 수 있으며, 여기서 항체(Ab)는 다음을 포함한다: (i) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH에 제시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 및 서열번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 VL에 제시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3; (ii) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH에 제시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 및 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL에 제시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3; 또는 (iii) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH에 제시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 및 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL에 제시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3.

[0171] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6) 또는 (VI-7)로 표현될 수 있으며, 여기서 항체(Ab)는 다음을 포함한다: (a) (1) 서열번호:1, 7, 12, 13 및 18로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:2, 8, 14, 19 및 24로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3, 9, 15 및 20으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5, 11 및 22로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6, 17 및 23으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역.

[0172] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6) 또는 (VI-7)로 표현될 수 있으며, 여기서 항체(Ab)는 다음을 포함한다: (i) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (ii) 서열번호:7의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:8의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:9의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iii) 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iv) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:14의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:15의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (v) 서열번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (vi) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역.

[0173] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6), 또는 (VI-7)로 표현될 수 있으며, 여기서 항체(Ab)는 다음을 포함한다: (a) (1) 서열번호:27, 31, 34, 35 및 39로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:28, 32, 36, 40 및 43으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29, 33, 37 및 41로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3를 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5, 11 및 22로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30, 38 및 42로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역.

[0174] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6) 또는 (VI-7)로 표현될 수 있는데, 여기서 항체(Ab)는 다음을 포함한다: (i) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (ii) 서열번호:31의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:33의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iii) 서열번호:34의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iv) 서열번호:35의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:36의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:37의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:38의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (v) 서열번호:39의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:40의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:41의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:42의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (vi) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:43의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노

산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역.

[0175] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6), 또는 (VI-7)로 표현될 수 있으며, 여기서 항체(Ab)는 다음을 포함한다: (a) (1) 서열번호:46, 50, 53, 13 및 57로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:47, 51, 54, 58 및 61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48, 52, 55 및 59로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3를 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5, 11 및 22로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49, 56 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역.

[0176] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6) 또는 (VI-7)로 표현될 수 있는데, 여기서 항체(Ab)는 다음을 포함한다: (i) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (ii) 서열번호:50의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:51의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:52의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iii) 서열번호:53의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iv) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:54의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:55의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:56의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (v) 서열번호:57의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:58의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:59의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:60의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (vi) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:61의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역.

[0177] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6), 또는 (VI-7)로 표현될 수 있으며, 여기서 항체(Ab)는 서열번호:25, 26, 44, 45, 62, 및 63 중 어느 하나에 제시된 프레임워크 1(FR1), 프레임워크 2(FR2), 프레임워크 3(FR3) 및/또는 프레임워크 4(FR4) 서열을 포함한다.

[0178] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6), 또는 (VI-7)로 표현될 수 있으며, 여기서 항체(Ab)는 인간 프레임워크 서열을 포함한다.

[0179] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6) 또는 (VI-7)로 표현될 수 있는데, 여기서 항체(Ab)는 (i) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH와 서열번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 VL; (ii) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH와 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (iii) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH와 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0180] 본 개시내용은 또한 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공하며, 여기서 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6), 또는 (VI-7)로 표현될 수 있고, 여기서 항체(Ab)는 본원에 기술된 임의의 구현양태에 기술된 바와 같다. 일부 구현양태에 있어서, 이러한 약제학적 조성물은 5T4-ADC의 약물 대 항체 비율(DAR)이 약 1 내지 약 10, 예를 들어 약 1 내지 약 4, 약 1 내지 약 2, 약 1.5 내지 약 2, 또는 약 1.75 내지 약 1.9의 DAR일 수 있다.

[0181] 본 개시내용은 또한 대상체에게 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6), 또는

(VI-7)로 표현될 수 있는 5T4-ADC 또는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VI-2), (VI-3), (V-5), (VI-5), (VI-6), 또는 (VI-7)의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 암 또는 종양을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 항체(Ab)는 본원의 임의의 구현양태에 기술된 바와 같다.

## *도면의 간단한 설명*

[0182] 도 1은 반응식 1로서 식 VIa-21의 링커-약물의 예시적인 합성을 제공한다.

도 2는 반응식 2로서 식 VIa-11의 링커-약물의 예시적인 합성을 제공한다.

도 3은 반응식 3으로서 식 VIb-11의 링커-약물의 예시적인 합성을 제공한다.

도 4는 반응식 4로서 식 VIb-82의 링커-약물 예시적인 합성을 제공한다.

도 5는 반응식 5로서 식 VIb-81의 링커-약물의 예시적인 합성을 제공한다.

도 6은 식 mAbA15-VIa-11 또는 mAbA17-VIa-11 ADC의 5T4-ADC로 처리한 MDA-MB-468 세포의 세포 생존율을 보고한다.

도 7은 식 mAbA15-VIa-11 또는 mAbA17-VIa-11 ADC의 5T4-ADC로 처리한 MCF-7 세포의 세포 생존율을 보고한다.

도 8은 식 mAbA15-VIb-82 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC로 처리한 MDA-MB-468 세포의 세포 생존율을 보고한다.

도 9는 식 mAbA15-VIb-82 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC로 처리한 MCF-7 세포의 세포 생존율을 보고한다.

도 10은 식 mAbA15-VIb-82 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC로 처리한 MDA-MB-231 세포의 세포 생존율을 보고한다.

도 11은 식 mAbA15-VIb-82 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC로 처리한 MCI-H226 세포의 세포 생존율을 보고한다.

도 12는 식 mAbA15-VIb-82 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC로 처리한 BxPC3 세포의 세포 생존율을 보고한다.

도 13은 식 mAbA15-VIa-11 또는 mAbA17-VIa-11의 5T4-ADC로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 14는 식 mAbA15-VIb-82 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 15는 식 mAbA15-VIb-82의 5T4-ADC 0.5 mg/kg, 2.5 mg/kg 또는 5.0 mg/kg의 단일 용량으로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 16은 식 mAbA15-VIb-82의 5T4-ADC 0.25 mg/kg, 1.25 mg/kg 또는 2.5 mg/kg의 두 가지 용량(1주일 간격)으로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 17은 식 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC 0.5 mg/kg, 2.5 mg/kg 또는 5.0 mg/kg의 단일 용량으로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 18은 식 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC 0.25 mg/kg, 1.25 mg/kg 또는 2.5 mg/kg의 두 용량(1주일 간격)으로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 19는 식 mAbA15-VIa-11, mAbA15-VIb-81 또는 mAbA15-VIb-82의 5T4-ADC로 처리한 MDA-MB-468 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 20은 식 mAbA15-VIb-82 또는 mAbA15-VIa-11의 5T4-ADC로 처리한 MDA-MB-231 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 21은 식 mAbA15-VIb-82 또는 mAbA15-VIa-11의 5T4-ADC로 처리한 NCI-H226 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 22는 식 mAbA15-VIb-82 또는 mAbA15-VIa-11의 5T4-ADC로 처리한 BxPC3 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 23은 식 mAbA15-VIb-82의 5T4-ADC로 처리한 Calu-6 이종이식 마우스의 평균 종양 부피를 보고한다.

도 24a-24c는 30 mg/kg(도 24a), 60 mg/kg(도 24b), 90 mg/kg(도 24c)에서 식 mAbA15-VIb-82의 5T4-ADC로 처리한 래트의 독성동태학(TK) 연구에서 두 가지 ELISA 방법으로 정량화된 전체 항체 및 전체 ADC 농도(μg/mL)를 보여준다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0183] 본 개시내용은 5T4에 결합하고 이에 접합된(직접 또는 간접적으로) 약물의 항체-약물 접합체(ADC)를 제공한다. 이러한 5T4-ADC는 질병, 장애 또는 상태의 하나 이상의 증상을 포함하여 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태를 치료, 방지 또는 완화하는 조성물 및 방법에 유용하다. 5T4-매개 질병, 장애 및 상태에는 종양 세포가 5T4를 발현하거나 과발현하는 임의의 암을 포함하되 이에 제한되지 않는 다양한 암이 포함된다. 또한, 5T4-ADC는 종양 세포의 사멸 및/또는 제거에 유용하다. 본원에 기술된 5T4-ADC는 암을 치료하는 조성물 및 방법에 유용하다.

[0184] 용어 "알킬"은 1개에서 12개까지의 탄소 원자, 예를 들어 1개에서 10개, 1개에서 6개, 1개에서 5개, 1개에서 4개 또는 1개에서 3개의 탄소 원자를 갖는 1가 포화 지방족 탄화수소기를 지칭한다. 이 용어에는, 예를 들어 메틸($-CH_3$), 에틸($-CH_2CH_3$), n-프로필(($-CH_2CH_2CH_3$), 이소프로필($-CH(CH_3)_2$), n-부틸($-CH_2CH_2CH_2CH_3$), 이소부틸($-CH_2CH(CH_3)_2$), sec-부틸($-CH(CH_3)(CH_3CH_2)$), t-부틸($-C(CH_3)_3$), n-펜틸($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 및 네오펜틸($-CH_2C(CH_3)_3$)과 같은 선형 및 분지형 탄화수소 기가 포함된다.

[0185] 용어 "치환된 알킬"은 본원에서 정의한 바와 같은 알킬 기를 지칭하고, 여기서 알킬 사슬($C_1$ 탄소 원자 제외)의 하나 이상의 탄소 원자가 임의로 -O-, -N-, S-, $-S(O)_n-$(여기서, n은 0-2), -NR-(여기서, R은 수소 또는 알킬)과 같은 헤테로원자로 대체되고 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, $-SO_2-$알킬, $-SO_2-$아릴, $SO_2-$헤테로아릴 및 $-NR^aR^b$ -여기서 $R^a$ 및 $R^b$는 동일하거나 다를 수 있으며 수소, 임의로 치환된 알킬, 사이클로알킬, 알케닐, 사이클로알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로사이클릭에서 선택됨-로 구성된 군에서 선택된 1 내지 5개의 치환기를 갖는다.

[0186] 용어 "알케닐"은 직쇄 또는 분지형이며, -O-, $-NR^{10}-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-C(O)NR^{10}-$ 등에서 선택된 하나 이상의 기로 임의로 치환된 1 내지 6개, 더 바람직하게는 1 내지 3개의 탄소 원자를 갖는 2가 지방족 탄화수소기를 지칭한다. 이 용어에는, 예를 들어 메틸렌($-CH_2-$), 에틸렌($-CH_2CH_2-$), n-프로필렌($-CH_2CH_2CH_2-$), 이소-프로필렌($-CH_2CH(CH_3)-$), ($-C(CH_3)_2CH_2CH_2-$), ($-C(CH_3)_2CH_2C(O)-$), ($-C(CH_3)_2CH_2C(O)NH-$), ($-CH(CH_3)CH_2-$) 등이 포함된다.

[0187] 용어 "치환된 알케닐"은 아래 "치환된"의 정의에서 탄소에 대해 기술된 치환기로 1-3개의 수소가 치환된 알킬렌기를 지칭한다.

[0188] 용어 "알크아릴" 또는 "아르알킬"은 -알킬렌-아릴 및 치환된 알킬렌-아릴 기를 말하며, 여기서 알킬렌, 치환된 알킬렌 및 아릴은 본원에서 정의된다.

[0189] 용어 "알콕시"는 -O-알킬 기를 지칭하며, 여기서 알킬은 본원에 정의된 바와 같다. 알콕시에는 예를 들어 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, n-부톡시, t-부톡시, sec-부톡시, n-펜톡시 등이 포함된다. 용어 "알콕시"는 또한 알케닐-O-, 사이클로알킬-O-, 사이클로알케닐-O- 및 알키닐-O-를 지칭하며, 여기서 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐 및 알키닐은 본원에 정의된 바와 같다.

[0190] 용어 "치환된 알콕시"는 치환된 알킬-O-, 치환된 알케닐-O-, 치환된 사이클로알킬-O-, 치환된 사이클로알케닐-O- 및 치환된 알키닐-O- 기를 지칭하며, 여기서 치환된 알킬, 치환된 알케닐, 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐 및 치환된 알키닐은 본원에 정의된 바와 같다.

[0191] 용어 "알콕시아미노"는 -NH-알콕시 기를 지칭하며, 여기서 알콕시는 본원에 정의된 바와 같다.

[0192] 용어 "알킬알콕시"는 -알킬렌-O-알킬, 알킬렌-O-치환된 알킬, 치환된 알킬렌-O-알킬 및 치환된 알킬렌-O-치환된 알킬 기를 지칭하며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알킬렌 및 치환된 알킬렌은 본원에 정의된 바와 같다.

[0193] 용어 "알케닐"은 2-6개의 탄소 원자, 예를 들어 2-4개의 탄소 원자를 갖고 적어도 하나, 바람직하게는 1-2개의 이중 결합 불포화 부위를 갖는 직쇄 또는 분지형 탄화수소기를 지칭한다. 이 용어에는, 예를 들어 바이-비닐, 알릴 및 부트-3-엔-1일이 포함된다. 이 용어에는 cis 및 trans 이성질체 또는 이들 이성질체의 혼합물이 포함된다.

[0194] 용어 "치환된 알케닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, $-SO_2$-알킬, $-SO_2$-치환된 알킬, $-SO_2$-아릴 및 $-SO_2$-헤테로아릴 중에서 선택된 1개 내지 5개의 치환기 또는 1개 내지 3개의 치환기를 갖는 본원에 정의된 알케닐 기를 지칭한다.

[0195] 용어 "알키닐"은 2-6개의 탄소 원자, 바람직하게는 2-3개의 탄소 원자를 갖고 적어도 1개, 바람직하게는 1-2개의 삼중 결합 불포화 부위를 갖는 직쇄 또는 분지형 1가 탄화수소기를 지칭한다. 이러한 알키닐기의 예로는 아세틸레닐(-C≡CH) 및 프로파르길($-CH_2C≡CH$)이 있다.

[0196] 용어 "치환된 알키닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, $-SO_2$-알킬, $-SO_2$-치환된 알킬, $-SO_2$-아릴 및 $-SO_2$-헤테로아릴 중 에서 선택된 1-5개 치환기, 또는 1-3개의 치환기를 갖는 갖는 본원에 정의된 알키닐 기를 지칭한다.

[0197] 용어 "아실아미노"는 $-NR^{20}C(O)$알킬, $-NR^{20}C(O)$치환된 알킬, $-NR^{20}C(O)$사이클로알킬, $-NR^{20}C(O)$치환된 사이클로알킬, $-NR^{20}C(O)$-사이클로알케닐, $-NR^{20}C(O)$-치환된 사이클로알케닐, $-NR^{20}C(O)$알케닐, $-NR^{20}C(O)$-치환된 알케닐, $-NR^{20}C(O)$알키닐, $-NR^{20}C(O)$-치환된 알키닐, $-NR^{20}C(O)$아릴, $-NR^{20}C(O)$-치환된 아릴, $-NR^{20}C(O)$-헤테로아릴, $-NR^{20}C(O)$-치환된 헤테로아릴, $-NR^{20}C(O)$-헤테로사이클릭 및 $-NR^{20}C(O)$-치환된 헤테로사이클릭에서 선택된 기를 지칭하며, 여기서 $R^{20}$은 수소 또는 알킬이고. 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의한 바와 같다.

[0198] 용어 "아실"은 H-C(O)-, 알킬-C(O)-, 치환된 알킬-C(O)-, 알케닐-C(O)-, 치환된 알케닐-C(O)-, 알키닐-C(O)-, 치환된 알키닐-C(O)-, 사이클로알킬-C(O)-, 치환된 사이클로알킬-C(O)-, 사이클로알케닐-C(O)-, 치환된 사이클로알케닐-C(O)-, 아릴-C(O)-, 치환된 아릴 -C(O)-, 헤테로아릴-C(O)-, 치환된 헤테로아릴-C(O)-, 헤테로사이클릴-C(O)- 및 치환된 헤테로사이클릴-C(O)-로부터 선택된 기를 지칭하며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의한 바와 같다. 예를 들어, 아실에는 "아세틸" 기 $CH_3C(O)$-가 포함된다.

[0199] 용어 "아미노카보닐" 또는 용어 "아미노아실"은 기 $-C(O)NR^{21}R^{22}$를 지칭하며, 여기서 $R^{21}$ 및 $R^{22}$는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 및 치환된 헤테로사이클릭으로 구성된 군에서 독립적으로 선택되고, 여기서 $R^{21}$ 및 $R^{22}$는 임의로 이에 결합된 질소와 함께 연결되어 헤테로사이클릭 또는 치환된 헤테로사이클릭 기를 형성하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0200] 용어 "아실옥시"는 알킬-C(O)O-, 치환된 알킬-C(O)O, 사이클로알킬-C(O)O-, 치환된 사이클로알킬-C(O)O-, 아릴-

C(O)O-, 헤테로아릴-C(O)O- 및 헤테로사이클릴-C(O)O-에서 선택된 기를 지칭하며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로사이클릴은 본원에 정의된 바와 같다.

[0201] 용어 "아미노설포닐"은 $-SO_2NR^{21}R^{22}$ 기를 지칭하며, 여기서 $R^{21}$ 및 $R^{22}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릴, 치환된 헤테로사이클릴으로 이루어진 군에서 선택되고, 여기서 $R^{21}$ 및 $R^{22}$는 임의로 이에 결합된 질소와 함께 연결되어 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴 기를 형성하고, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴은 본원에서 정의한 바와 같다.

[0202] 용어 "설포닐아미노"는 $-NR^{21}SO_2R^{22}$ 기를 지칭하며, 여기서 $R^{21}$ 및 $R^{22}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴으로 구성된 군에서 선택되고, 여기서 $R^{21}$ 및 $R^{22}$는 임의로 이에 결합된 원자와 함께 결합되어 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴 기를 형성하고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴은 본원에서 정의된 바와 같다.

[0203] 용어 "아릴"은 단일 고리(페닐 기에 존재하는 것과 같은)로 6-18개의 탄소 원자를 갖는 1가 방향족 탄소고리 기를 의미하거나, 다수의 축합 고리가 있는 고리 시스템(이러한 방향족 고리 시스템의 예로는 나프틸, 안트릴 및 인다닐이 포함됨)을 의미하며, 축합 고리는 방향족일 수도 있고 아닐 수도 있지만, 부착 지점이 방향족 고리의 원자를 통하는 경우에 한한다. 이 용어는, 예를 들어 페닐 및 나프틸이 포함된다. 아릴 치환기의 정의에 의해 달리 제한되지 않는 한, 이러한 아릴 기는 아실옥시, 하이드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알키닐, 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알크아릴, 아릴, 아릴옥시, 아지도, 카복실, 카복실알킬, 시아노, 할로겐, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, $-SO_2$-알킬, $-SO_2$-치환된 알킬, $-SO_2$-아릴, $-SO_2$-헤테로아릴 및 트리할로메틸 중에서 선택된 1-5개의 치환기 또는 1-3개의 치환기로 임의로 치환될 수 있다.

[0204] 용어 "아릴옥시"는 기 -O-아릴을 지칭하며, 여기서 아릴은 본원에 정의된 바와 같으며, 예를 들어 페녹시, 나프톡시 등을 포함하며, 본원에 정의된 바와 같이 임의로 치환된 아릴 기도 포함된다.

[0205] 용어 "아미노"는 기 $-NH_2$를 지칭한다.

[0206] 용어 "치환된 아미노"는 각각의 R이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로사이클릴로 구성된 군에서 선택되는 -NRR 기를 지칭하며, 단 적어도 하나의 R은 수소가 아니다.

[0207] 용어 "아지도"는 기 $-N_3$를 지칭한다.

[0208] 용어 "카복실", "카복시" 또는 "카복실레이트"는 $-CO_2H$ 또는 그 염을 지칭한다.

[0209] 용어 "카복실 에스테르" 또는 "카복시 에스테르" 또는 용어 "카복시알킬" 또는 "카복실알킬"은 -C(O)O-알킬, -C(O)O-치환된 알킬, -C(O)O-알케닐, -C(O)O-치환된 알케닐, -C(O)O-알키닐, -C(O)O-치환된 알키닐, -C(O)O-아릴, -C(O)O-치환된 아릴, -C(O)O-사이클로알킬, -C(O)O-치환된 사이클로알킬, -C(O)O-사이클로알케닐, -C(O)O-치환된 사이클로알케닐, -C(O)O-헤테로아릴, -C(O)O-치환된 헤테로아릴, -C(O)O-헤테로사이클릭 및 -C(O)O-치환된 헤테로사이클릭으로부터 선택된 기를 지칭하며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의한 바와 같다.

[0210] 용어 "시아노" 또는 "니트릴"은 기 -CN을 지칭한다.

[0211] 용어 "사이클로알킬"은 융합, 가교 및 스피로 고리 시스템을 포함하여 단일 또는 다중 사이클릭 고리를 갖는 3-10개의 탄소 원자의 사이클릭 알킬 기를 지칭한다. 적합한 사이클로알킬 기의 예로는 예를 들어 아다만틸, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로옥틸 등이 있다.

[0212] 용어 "치환된 사이클로알킬"은 1-5개의 치환기 또는 1-3개의 치환기를 갖는 사이클로알킬 기를 지칭하며, 여기서 치환기는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, $-SO_2$-알킬, $-SO_2$-치환된 알킬, $-SO_2$-아릴 및 $-SO_2$-헤테로아릴로부터 선택된다.

[0213] 용어 "사이클로알케닐"은 단일 또는 다중 고리를 갖고 적어도 하나의 이중 결합, 바람직하게는 하나 또는 두 개의 이중 결합을 갖는 3-10개의 탄소 원자의 비방향족 고리 알킬 기를 지칭한다.

[0214] 용어 "치환된 사이클로알케닐"은 1-5개의 치환기 또는 1-3개의 치환기를 갖는 사이클로알케닐 기를 지칭하며, 여기서 치환기는 독립적으로 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 케토, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, $-SO_2$-알킬, $-SO_2$-치환된 알킬, $-SO_2$-아릴 및 $-SO_2$-헤테로아릴로부터 선택된다.

[0215] 용어 "할로" 및 "할로겐"은 플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오드를 지칭한다.

[0216] 용어 "하이드록시" 및 "하이드록실"은 기 -OH를 지칭한다.

[0217] 용어 "헤테로아릴"은 고리 내에 1-15개의 탄소 원자, 예를 들어 1-10개의 탄소 원자와 산소, 질소 및 황으로 구성된 군에서 선택된 1-10개의 헤테로원자를 갖는 방향족 기를 지칭한다. 이러한 헤테로아릴 기은 단일 고리(피리디닐, 이미다졸릴 또는 푸릴과 같은 기) 또는 고리 시스템 내에 다수의 축합 고리(인돌리지닐, 퀴놀리닐, 벤조푸란, 벤즈이미다졸릴 또는 벤조티에닐과 같은 기)를 가질 수 있으며, 고리 시스템 내의 적어도 하나의 고리는 방향족이다. 원자가 요건을 충족시키기 위해, 이러한 헤테로아릴 고리 내의 임의의 헤테로원자는 H 또는 본원에서 기술된 바와 같은 알킬 기 또는 다른 치환기와 같은 치환기 기에 결합될 수도 있고 결합되지 않을 수도 있다. 일부 구현양태에서, 헤테로아릴 기의 질소 및/또는 황 고리 원자는 임의로 산화되어 N-산화물(N→O), 설피닐 또는 설포닐 모이어티를 제공한다. 이 용어에는, 예를 들어 피리디닐, 피롤릴, 인돌릴, 티오페닐 및 푸라닐이 포함된다. 헤테로아릴 치환기의 정의에 의해 달리 제한되지 않는 한, 이러한 헤테로아릴 기은 1-5개의 치환기 또는 1-3개의 치환기로 임의로 치환될 수 있으며, 여기서 치환기는 독립적으로 아실옥시, 하이드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알키닐, 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알크아릴, 아릴, 아릴옥시, 아지도, 카복실, 카복실알킬, 시아노, 할로겐, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, $-SO_2$-알킬, $-SO_2$-치환된 알킬, $-SO_2$-아릴, 및 $-SO_2$-헤테로아릴, 및 트리할로메틸 중에서 선택된다.

[0218] 용어 "헤테로아르알킬"은 헤테로아릴에 결합된 알킬렌을 포함하는 기를 지칭하며, 여기서 알킬렌 및 헤테로아릴은 본원에서 정의된다. 이 용어에는, 예를 들어 피리딜메틸, 피리딜에틸, 인돌릴메틸 등이 포함된다.

[0219] 용어 "헤테로아릴옥시"는 -O-헤테로아릴을 지칭한다.

[0220] 용어 "헤테로사이클", "헤테로사이클릭", "헤테로사이클로알킬" 및 "헤테로사이클릴"은 본원에서 상호 교환가능하게 사용되어 단일 고리 또는 다중 축합 고리, 융합된 가교 및 스피로 고리 시스템을 포함하고 1-10개의 헤테로 원자를 포함하여 3-20개의 고리 원자를 갖는 포화 또는 불포화 기를 지칭한다. 이러한 고리 원자는 질소, 황 및 산소에서 선택되며, 융합된 고리 시스템에서 하나 이상의 고리는 부착 지점이 비방향족 고리를 통한 경우 사

이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴일 수 있다. 일부 구현양태에서, 헤테로사이클릭 기의 질소 및/또는 황 원자는 임의로 산화되어 N-산화물, -S(O)- 또는 -$SO_2$- 모이어티를 제공한다. 원자가 요건을 충족시키기 위해, 이러한 헤테로사이클릭 고리 내의 임의의 헤테로원자는 하나 이상의 H 또는 본원에서 기술한 알킬 기 또는 기타 치환기와 같은 하나 이상의 치환기에 결합될 수도 있고 결합되지 않을 수도 있다.

[0221] 헤테로사이클 및 헤테로아릴의 예로는 아제티딘, 피롤, 이미다졸, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리미딘, 피리다진, 인돌리진, 이소인돌, 인돌, 디하이드로인돌, 인다졸, 퓨린, 퀴놀리진, 이소퀴놀린, 퀴놀린, 프탈라진, 나프틸피리딘, 퀴녹살린, 퀴나졸린, 신놀린, 프테리딘, 카르바졸, 카르볼린, 페난트리딘, 아크리딘, 페난트롤린, 이소티아졸, 페나진, 이속사졸, 페녹사진, 페노티아진, 이미다졸리딘, 이미다졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌린, 프탈이미드, 1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린, 4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜, 티아졸, 티아졸리딘, 티오펜, 벤조[b]티오펜, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐(티아모르폴리닐이라고도 함), 1,1-디옥소티오모르폴리닐, 피페리디닐, 피롤리딘, 테트라하이드로푸라닐 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0222] 헤테로사이클릭 치환기의 정의에 의해 달리 제한되지 않는 한, 이러한 헤테로사이클릭기는 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -$SO_2$-알킬, -$SO_2$-치환된 알킬, -$SO_2$-아릴, -$SO_2$-헤테로아릴 및 융합 헤테로사이클에서 선택된 1-5개, 또는 1-3개의 치환기로 임의로 치환될 수 있다.

[0223] 용어 "하이드록시아미노"는 기 -NHOH를 지칭한다.

[0224] 용어 "니트로"는 기 -$NO_2$를 지칭한다.

[0225] 용어 "옥소"는 이중 결합 산소 원자(=O)를 지칭한다.

[0226] 용어 "설포닐"은 -$SO_2$-알킬, -$SO_2$-치환된 알킬, -$SO_2$-알케닐, -$SO_2$-치환된 알케닐, -$SO_2$-사이클로알킬, -$SO_2$-치환된 사이클로알킬, -$SO_2$-사이클로알케닐, -$SO_2$-치환된 사이클로알케닐, -$SO_2$-아릴, -$SO_2$-치환된 아릴, -$SO_2$-헤테로아릴, -$SO_2$-치환된 헤테로아릴, -$SO_2$-헤테로사이클릭 및 -$SO_2$-치환된 헤테로사이클릭 기를 지칭하며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의한 바와 같다. 설포닐에는, 예를 들어 메틸-$SO_2$-, 페닐-$SO_2$-, 4-메틸페닐-$SO_2$-가 포함된다.

[0227] 용어 "티올"은 기 -SH를 지칭한다.

[0228] 용어 "티옥소" 또는 용어 "티오케토"는 이중 결합된 황 원자(=S)를 지칭한다.

[0229] 용어 "알킬티오" 또는 용어 "티오알콕시"는 기 -S-알킬을 지칭한다. 여기서 알킬은 본원에 정의된 바와 같다. 일부 구현양태에서, 황은 -S(O)-로 산화될 수 있다. 설폭사이드는 하나 이상의 입체이성질체로 존재할 수 있다.

[0230] 용어 "치환된 티오알콕시"는 기 -S-치환된 알킬을 지칭한다.

[0231] 용어 "티오아릴옥시"는 아릴기가 본원에 정의된 바와 같고 임의로 치환된 아릴기도 본원에 정의된 바와 같은 아릴-S- 기를 지칭한다.

[0232] 용어 "티오헤테로아릴옥시"는 헤테로아릴기가 본원에 정의된 바와 같고 임의로 치환된 아릴기도 본원에 정의된 바와 같은 헤테로아릴-S- 기를 지칭한다.

[0233] 용어 "티오헤테로사이클로옥시"는 헤테로사이클릴기가 본원에 정의된 바와 같고 임의로 치환된 헤테로사이클릴기도 본원에 정의된 바와 같은 헤테로사이클릴-S- 기를 지칭한다.

[0234] 본원에 개시된 내용 외에도, 용어 "치환된"은 지정된 기 또는 라디칼을 변형하는 데 사용될 때 지정된 기 또는 라디칼의 하나 이상의 수소 원자가 각각 서로 독립적으로 아래에 정의된 바와 같은 동일하거나 다른 치환기로

대체된다는 것을 의미할 수도 있다.

[0235] 본원의 개별 용어에 대해 개시된 기 외에도, 지정된 기 또는 라디칼의 포화 탄소 원자에서 하나 이상의 수소(단일 탄소의 두 수소는 =O, $=NR^{70}$, $=N-OR^{70}$, $=N_2$ 또는 =S로 대체될 수 있음)를 치환하기 위한 치환기는 달리 지정되지 않는 한, $-R^{60}$, 할로, =O, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-NR^{80}R^{80}$, 트리할로메틸, -CN, -OCN, -SCN, -NO, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-SO_2R^{70}$, $-SO_2O^-M^+$, $-SO_2OR^{70}$, $-OSO_2R^{70}$, $-OSO_2O^-M^+$, $-OSO_2OR^{70}$, $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$, $-P(O)(OR^{70})_2$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-C(O)O^-M^+$, $-C(O)OR^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)O^-M^+$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}CO_2^-M^+$, $-NR^{70}CO_2R^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$이고, 여기서 $R^{60}$은 임의로 치환된 알킬, 사이클로알킬, 헤테로알킬, 헤테로사이클로알킬알킬, 사이클로알킬알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴 및 헤테로아릴알킬로 구성된 군에서 선택되고, 각 $R^{70}$은 독립적으로 수소 또는 $R^{60}$이고; 각 $R^{80}$은 독립적으로 $R^{70}$이거나 또는 대안적으로, 두 개의 $R^{80}$은 이들이 결합된 질소 원자와 함께 5-, 6- 또는 7-원 헤테로사이클로알킬을 형성하며, 이는 임의로 O, N 및 S로 구성된 군에서 선택된 동일하거나 다른 추가 헤테로원자 1-4개를 포함할 수 있으며, 이 중 N은 -H 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬 치환을 가질 수 있고; 그리고 각 $M^+$는 순 단일 양전하를 갖는 반대 이온이다. 각 $M^+$는, 예를 들어 독립적으로 $K^+$, $Na^+$, $Li^+$와 같은 알칼리 이온; $^+N(R^{60})_4$와 같은 암모늄 이온; 또는 $[Ca^{2+}]_{0.5}$, $[Mg^{2+}]_{0.5}$ 또는 $[Ba^{2+}]_{0.5}$와 같은 알칼리 토금속 이온이다("첨자 0.5는 이러한 2가 알칼리 토금속 이온에 대한 반대 이온 중 하나가 본 발명의 화합물의 이온화된 형태이고 다른 반대 이온은 염화물과 같은 전형적인 반대 이온일 수 있음을 의미하거나, 본원에 개시된 두 개의 이온화된 화합물이 이러한 2가 알칼리 토금속 이온에 대한 반대 이온으로 작용할 수 있거나, 본 발명의 이중 이온화된 화합물이 이러한 2가 알칼리 토금속 이온에 대한 반대 이온으로 작용할 수 있음을 의미함). 구체적인 예로서, $-NR^{80}R^{80}$은 $-NH_2$, -NH-알킬, -N-피롤리디닐, -N-피페라지닐, 4N-메틸-피페라진-1-일 및 N-모르폴리닐을 포함하는 것을 의미한다.

[0236] 본원에 개시된 내용 외에도, "치환된" 알케닐, 알키닐, 아릴 및 헤테로아릴 기의 불포화 탄소 원자에 있는 수소의 치환기 기은 달리 명시되지 않는 한 $-R^{60}$, 할로, $-O^-M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-S^-M^+$, $-NR^{80}R^{80}$, 트리할로메틸, $-CF_3$, -CN, -OCN, -SCN, -NO, $-NO_2$, $-N_3$, $-SO_2R^{70}$, $-SO_3^-M^+$, $-SO_3R^{70}$, $-OSO_2R^{70}$, $-OSO_3^-M^+$, $-OSO_3R^{70}$, $-PO_3^{-2}(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$, $-P(O)(OR^{70})_2$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-CO_2^-M^+$, $-CO_2R^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OCO_2^-M^+$, $-OCO_2R^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}CO_2^-M^+$, $-NR^{70}CO_2R^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$이고, 여기서 $R^{60}$, $R^{70}$, $R^{80}$ 및 $M^+$는 본원에서 정의한 바와 같고, 치환된 알케닐 또는 알키닐의 경우 치환기는 $-O^-M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$ 또는 $-S^-M^+$가 아니다.

[0237] 본원의 개별 용어에 대해 개시된 기 외에도, "치환된" 헤테로알킬 및 사이클로헤테로알킬 기의 질소 원자에 있는 수소의 치환기 기은, 달리 명시되지 않는 한, $-R^{60}$, $-O^-M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-S^-M^+$, $-NR^{80}R^{80}$, 트리할로메틸, $-CF_3$, -CN, -NO, $-NO_2$, $-S(O)_2R^{70}$, $-S(O)_2O^-M^+$, $-S(O)_2OR^{70}$, $-OS(O)_2R^{70}$, $-OS(O)_2O^-M^+$, $-OS(O)_2OR^{70}$, $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$, $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-C(O)OR^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}C(O)OR^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$이고, 여기서 $R^{60}$, $R^{70}$, $R^{80}$ 및 $M^+$는 본원에 정의된 바와 같다.

[0238] 치환된 기는 1, 2, 3 또는 4개의 치환기, 예를 들어 1, 2 또는 3개의 치환기, 또는 1 또는 2개의 치환기, 또는

1개의 치환기를 가질 수 있다.

[0239] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 명시적으로 정의되지 않은 치환기의 명명법은 부착 지점을 향해 인접한 작용기 뒤에 작용기의 말단 부분을 명명하여 도출된다. 예를 들어, 치환기 "아릴알킬옥시카보닐"은 기 (아릴)-(알킬)-O-C(O)-를 나타낸다.

[0240] 하나 이상의 치환기를 함유하는 본원에 개시된 임의의 기에 대해, 이러한 기은 공간적으로 비실용적이고/또는 합성적으로 실행 불가능한 치환 또는 치환 패턴을 포함하지 않는다는 것은 물론 이해된다. 또한, 주제 화합물에는 이러한 화합물의 치환에서 발생하는 모든 입체화학적 이성질체가 포함된다.

[0241] 용어 "대상체"는 인간 및 비-인간 대상체, 특히 포유류 대상체를 나타낸다.

[0242] 본원에서 사용되는 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 포유류(특히 인간)와 같은 대상체의 질병 또는 의학적 상태를 치료 또는 치료하는 것을 의미하며, 본원에는 다음이 포함된다: (a) 질병 또는 의학적 상태가 발생하지 않도록 방지하는 것, 예를 들어 대상체의 예방적 치료; (b) 질병 또는 의학적 상태를 개선하는 것, 예를 들어 대상체의 질병 또는 의학적 상태를 제거하거나 퇴행시키는 것; (c) 질병 또는 의학적 상태를 억제하는 것, 예를 들어 대상체의 질병 또는 의학적 상태의 발달을 늦추거나 멈추는 것; 또는 (d) 대상체의 질병 또는 의학적 상태의 증상을 완화하는 것. 일부 구현양태에서, 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 예방적 치료를 제외한다.

[0243] 본원에서 사용되는 용어 "천연 아미노산 서열"은 변형된 아미노산 잔기를 포함하도록 변형되기 전의 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 지칭한다.

[0244] 용어 "아미노산 유사체", "비천연적 아미노산" 등은 상호 교환 가능하게 사용되며, 자연적으로 발생하는 단백질에서 일반적으로 발견되는 하나 이상의 아미노산(예를 들어, Ala 또는 A, Cys 또는 C, Asp 또는 D, Glu 또는 E, Phe 또는 F, Gly 또는 G, His 또는 H, Ile 또는 I, Lys 또는 K, Leu 또는 L, Met 또는 M, Asn 또는 N, Pro 또는 P, Gln 또는 Q, Arg 또는 R, Ser 또는 S, Thr 또는 T, Val 또는 V, Trp 또는 W, Tyr 또는 Y)과 구조 및/또는 전체 모양이 유사한 아미노산-유사 화합물을 포함한다. 아미노산 유사체에는 또한 변형된 측쇄 또는 백본을 갖는 천연 아미노산이 포함된다. 아미노산 유사체에는 또한 천연적으로 발생하는 D-형태와 동일한 입체 화학을 가진 아미노산 유사체와 L- 형태의 아미노산 유사체도 포함된다. 일부 구현양태에서, 아미노산 유사체는 하나 이상의 천연 아미노산의 백본 구조 및/또는 측쇄 구조를 공유하며, 차이점은 분자 내의 하나 이상의 변형된 기이다. 이러한 변형에는 원자(예를 들어, N)를 관련 원자(예를 들어, S)로 치환, 기(예를 들어, 메틸 또는 하이드록실 등) 또는 원자(예를 들어, Cl 또는 Br 등)를 첨가, 기 삭제, 공유 결합(단일 결합을 이중 결합으로 치환 등)의 치환 또는 이들의 조합이 포함될 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 아미노산 유사체에는 α-하이드록시산 및 α-아미노산 등이 포함될 수 있다.

[0245] 용어 "아미노산 측쇄"는 천연 아미노산, 비천연 아미노산 및 아미노산 유사체를 포함하여 아미노산 잔기의 α-탄소에 부착된 치환기를 지칭하는 데 사용된다. 아미노산 측쇄는 또한 본원에서 기술된 변형된 아미노산 및/또는 접합체의 맥락에서 기술된 바와 같이 아미노산 측쇄를 포함할 수 있다.

[0246] 용어 "탄수화물"은 단당류, 이당류, 올리고당류 및 다당류의 단량체 단위 및/또는 중합체를 지칭하기 위해 사용된다. 용어 "당"은 단당류, 이당류와 같은 더 작은 탄수화물을 지칭하는 데 사용된다. 용어 "탄수화물 유도체"에는 관심 있는 탄수화물의 하나 이상의 작용기가 치환(편리한 치환기로 대체), 변형(편리한 화학을 사용하여 다른 기으로 전환) 또는 부재(예를 들어, 제거 또는 H로 대체)된 화합물이 포함된다. 다양한 탄수화물 및 탄수화물 유도체가 이용 가능하며 대상체 화합물 및 접합체에서 사용하도록 조정할 수 있다.

[0247] 용어 "글리코사이드" 또는 "글리코실"은 글리코시드 결합을 통해 모이어티에 결합된 당 분자 또는 기를 지칭한다. 예를 들어, 글리코사이드가 결합된 모이어티는 본원에 기술된 바와 같이 절단가능한 링커일 수 있다. 글리코사이드 결합은 다양한 유형의 결합을 통해 글리코사이드를 다른 모이어티에 연결할 수 있으며, 예를 들어 O-글리코사이드 결합(O-글리코사이드), N-글리코사이드 결합(글리코실아민), S-글리코사이드 결합(티오글리코사이드), 또는 C-글리코사이드 결합(C-글리코사이드 또는 C-글리코실)이 있지만 이에 제한되지 않는다. 어떤 경우에는 글리코사이드가 화학적으로-매개된 가수분해 또는 효소적으로-매개된 가수분해와 같이 부착된 모이어티에서 절단될 수 있다.

[0248] 용어 "5T4"는 달리 표시되지 않는 한, 영장류(예를 들어, 인간, 시노몰구스 원숭이(시노)), 개 및 설치류(예를 들어, 마우스 및 래트)와 같은 포유류를 포함한 임의의 척추동물 출처의 폴리펩타이드("폴리펩타이드" 및 "단백질"은 본원에서 상호 교환 가능하게 사용됨) 또는 임의의 천연 5T4를 지칭한다. "5T4 종양태아 영양막 당단백질" 또는 "Wnt-활성화 억제 인자 1" 또는 "5T4 종양영양막 당단백질" 또는 "5T4 종양태아 항원" 또는

"WAIF1" 또는 "M6P1" 또는 "5T4-AG" 또는 "5T4AG" 또는 "TPBG"로도 알려진 5T4는 TPBG 유전자에 의해 코딩된 당단백질이다. 용어 5T4는 "전장" 5T4와 세포에서 처리된 결과인 5T4의 임의의 형태 또는 그 단편을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4는 신호 서열을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4는 신호 서열을 포함하지 않는다. 일부 구현양태에서, 용어 5T4는 5T4 세포외 도메인을 포함하는 전장 5T4의 단편을 지칭한다. 용어 5T4는 또한 SNP 변이체, 스플라이스 변이체 및 대립 유전자 변이체와 같은 5T4의 자연 발생 변이체를 포함한다. 인간 5T4의 전장 아미노산 서열은 아래와 같다(예시적인 신호 서열 = 기울임체 글씨; 예시적인 세포외 도메인 = 밑줄 글씨):

[0249] *MPGGCSRGPA AGDGRLRLAR LALVLLGWVS S*SSPTSSASS FSSSAPFLAS AVSAQPPLPD

[0250] QCPALCECSE AARTVKCVNR NLTEVPTDLP AYVRNLFLTG NQLAVLPAGA FARRPPLAEL

[0251] AALNLSGSRL DEVRAGAFEH LPSLRQLDLS HNPLADLSPF AFSGSNASVS APSPLVELIL

[0252] NHIVPPEDER QNRSFEGMVV AALLAGRALQ GLRRLELASN HFLYLPRDVL AQLPSLRHLD

[0253] LSNNSLVSLT YVSFRNLTHL ESLHLEDNAL KVLHNGTLAE LQGLPHIRVF LDNNPWVCDC

[0254] HMADMVTWLK ETEVVQGKDR LTCAYPEKMR NRVLLELNSA DLDCDPILPP SLQTSYVFLG

[0255] IVLALIGAIF LLVLYLNRKG IKKWMHNIRD ACRDHMEGYH YRYEINADPR LTNLSSNSDV

[0256] (서열번호:64)

[0257] 시노몰구스 원숭이(시노) 5T4의 전장 아미노산 서열은 아래와 같다(예시적인 신호 서열 = 기울임체 글씨, 예시적인 세포외 도메인 = 밑줄 글씨):

[0258] *MPGGCSRGPA AGDGRLRLAR LALVLLGWVS S*SSSTSSASS SSSSAPFLAS AASAQPPLPD

[0259] QCPALCECSE AARTVKCVNR NLTEVPTDLP LYVRNLFLTG NQLAVLPAGA FARRPPLAEL

[0260] AALNLSGSRL DEVRGGAFEH LPSLRQLDLS HNPLAYLSPF AFSGSNASIS APSPLVELIL

[0261] NHIVPPDDKR QNRSFEGMVA AALVAGRALQ GLHLLELASN HFLYLPRDVL AQLPSLRYLD

[0262] LSNNSLVSLT YVSFRNLTHL ESLHLEDNAL KVLHNGTLAE LQGLPHVRVF LDNNPWVCDC

[0263] HMADMVTWLK QTGVVQGKDR LTCAFPEKMR NRVLLELNSA DLDCDPILPP SLQTSYVFLG

[0264] IVLALIGAIF LLVLYLNRKG IKKWMHNIRD ACRDHMEGYH YRYEINADPR LTNLSSNSDV

[0265] (서열번호:65)

[0266] 마우스 5T4의 전장 아미노산 서열은 아래와 같다(예시적인 신호 서열 = 기울임체 글씨, 예시적인 세포외 도메인 = 밑줄 글씨):

[0267] *MPGAGSRGPS AGDGRLRLAR LALVLLGWVS A*SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE

[0268] RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL

[0269] EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL

[0270] NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP

[0271] SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN

[0272] PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT

[0273] SYVFLGIVLA LIGAIFLLVL YLNRKGIKKW MHNIRDACRD HMEGYHYRYE INADPRLTNL

[0274] SSNSDV

[0275] (서열번호:66)

[0276] 용어 "항체", "면역글로불린" 또는 "Ig"는 본원에서 상호 교환적으로 사용되고 가장 광범위한 의미로 사용되며, 예를 들어 다클론 항체, 단일클론 항체(작용제, 길항제, 중화 항체, 전장 단일클론 항체 포함), 폴리에피토프 또는 모노에피토프 특이성을 갖는 항체 조성물, 재조합적으로 생성된 항체, 단일 도메인 항체, 단일특이적 항체, 다중특이적 항체(이중특이적 항체 포함), 합성 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 전장 중쇄 및/또는

경쇄를 갖는 항체의 인간 버전을 구체적으로 포함한다. 항체에는 또한 단일 항체 도메인과 5T4 결합 특성을 유지하는 항체 단편(및/또는 항체 단편을 포함하는 폴리펩타이드)이 포함된다. 항체 단편의 비-제한적 예로는 항체의 항원-결합 영역 및/또는 이펙터 영역, 예를 들어 Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, scFv, $(scFv)_2$, 단일-사슬 항체 분자, 이중 가변 도메인 항체, 단일 가변 도메인 항체, 선형 항체, V 영역, 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체, $F(ab)_2$, Fd, Fc, 디아바디, 디-디아바디, 디설파이드-연결된 Fv(dsFv), 단일-도메인 항체(예를 들어, 나노바디) 또는 기타 단편(예를 들어, 비-공유 커플링된 중쇄 및 경쇄의 가변 영역으로 구성된 단편)이 있다. 일반적으로 가변(V) 영역은 면역글로불린 중쇄(VH) 및/또는 경쇄(VL) 가변 영역의 임의의 적합한 배열일 수 있다. 예를 들어, 항체에는 또한 두 개의 중쇄와 두 개의 경쇄 분자, 항체 경쇄 단량체 및 항체 중쇄 단량체를 포함하는 사량체 항체가 포함된다. 따라서 예를 들어, V 영역은 이량체일 수 있으며 5T4를 결합하는 VH-VH, VH-VL 또는 VL-VL 이량체를 포함할 수 있다. 임의의 구현양태에서, VH 영역과 VL 영역은 직접 또는 링커를 통해 공유 커플링되어 단일-사슬 Fv(scFv)를 형성할 수 있다. 참조의 편의를 위해, scFv 단백질은 본원에서 "항체 단편" 범주에 포함된 것으로 언급된다. 항체 단편의 또 다른 형태는 항체의 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 펩타이드이다. CDR(또한 "최소 인식 단위" 또는 "초가변 영역"이라고 함)은 관심 있는 하나 이상의 CDR을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 구성하여 얻을 수 있다. 이러한 폴리뉴클레오타이드는, 예를 들어 항체 생성 세포의 mRNA를 주형으로 사용하여 가변 영역을 합성하기 위해 중합효소 연쇄 반응을 사용하여 제조된다(예를 들어, Larrick et al., Methods: A Companion to Methods in Enzymology, 2:106 (1991); Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in Monoclonal Antibodies Production, Engineering and Clinical Application, Ritter et al. (eds.), page 166, Cambridge University Press (1995); and Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," in Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Birch et al., (eds.), page 137, Wiley-Liss, Inc. (1995) 참조). 항체 단편은, 예를 들어 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 신규 항원 수용체(v-NAR)의 가변 영역 및 비스-단일-사슬 Fv 영역에 통합될 수 있다(예를 들어, Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology, 23(9):1126-1136, 2005 참조). 일부 구현양태에서, VH 및/또는 VL을 포함하는 항체는, 예를 들어 하나 이상의 IgG1, IgG2, IgG3 및/또는 IgG4 불변 영역을 포함하여 하나 이상의 불변 영역과 같은 경쇄 및/또는 중쇄 불변 영역을 함유한다. 일부 구현양태에서, 항체는 상기의 임의의 에피토프-결합 단편을 포함할 수 있다. 본원에 기술된 항체는 면역글로불린 분자의 임의의 부류(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD 및 IgA) 또는 임의의 하위부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2)일 수 있다.

[0277] 본원에서 사용되는 용어 "단일특이적"은 각각 동일한 항원의 동일한 에피토프에 결합하는 하나 이상의 결합 부위를 갖는 항체를 나타낸다.

[0278] 용어 "이중특이적"은 항체가 적어도 두 개의 별개의 항원 결정인자, 예를 들어 항체 중쇄 가변 영역(VH)과 항체 경쇄 가변 영역(VL)의 쌍이 서로 다른 항원 또는 동일한 항원의 서로 다른 에피토프에 결합함으로써 형성되는 두 개의 결합 부위에 특이적으로 결합할 수 있음을 의미한다. 이러한 이중특이적 항체는 1+1 형식(첫 번째 항원 또는 에피토프에 대한 하나의 결합 부위와 두 번째 항원 또는 에피토프에 대한 하나의 결합 부위를 포함함)을 가질 수 있다. 다른 이중특이적 항체 형식은 2+1 또는 1+2 형식(첫 번째 항원 또는 에피토프에 대한 두 개의 결합 부위와 두 번째 항원 또는 에피토프에 대한 하나의 결합 부위로 구성됨) 또는 2+2 형식(첫 번째 항원 또는 에피토프에 대한 두 개의 결합 부위와 두 번째 항원 또는 에피토프에 대한 두 개의 결합 부위로 구성됨)일 수 있다. 이중특이적 항체가 두 개의 항원 결합 부위로 구성되는 경우, 각각은 다른 항원 결정인자에 결합할 수 있다. 이러한 이중특이적 항체는 동일한 항원의 두 개의 다른 에피토프(예를 들어, 5T4의 에피토프)에 결합할 수 있다.

[0279] 두 개 이상의 핵산 또는 폴리펩타이드의 맥락에서 "동일한" 또는 퍼센트 "동일성"이라는 용어는 최대 대응성을 위해 비교 및 정렬(필요한 경우 갭 도입)할 때 동일하거나 지정된 백분율의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기를 갖는 두 개 이상의 서열 또는 하위 서열을 말하며, 서열 동일성의 일부로서 보수적 아미노산 치환을 고려하지 않는다. 퍼센트 동일성은 서열 비교 소프트웨어 또는 알고리즘을 사용하거나 시각적 검사를 통해 측정할 수 있다. 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열의 정렬을 얻는 데 사용할 수 있는 다양한 알고리즘 및 소프트웨어는 해당 기술 분야에서 잘 알려져 있다. 본원에는 기본 로컬 정렬 검색 도구(BLAST), ALIGN, MegAlign, BestFit, GCG 위스콘신 패키지 및 그 변형이 포함되지만 이에 제한되지 않다. 일부 구현양태에서, 두 핵산 또는 폴리펩타이드가 실질적으로 동일하다는 것은 서열 비교 알고리즘을 사용하거나 시각적 검사를 통해 측정할 때 최대 대응성을 위해 비교 및 정렬할 때 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85% 또는 적어도 90%, 일부 구현양태에서 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기 동일성을 갖는다는 것을 의

미한다. 일부 구현양태에서 동일성은 길이가 적어도 약 10개, 적어도 약 20개, 적어도 약 40-60개, 적어도 약 60-80개인 아미노산 서열의 영역 또는 그 사이의 정수 값에 존재한다. 일부 구현양태에서 동일성은 길이가 약 60-80개 이상인 영역, 예를 들어 적어도 약 80-100개인 영역에 존재하고, 일부 구현양태에서 서열은 비교되는 서열의 전체 길이, 예를 들어 표적 단백질 또는 항체의 코딩 영역에 걸쳐 실질적으로 동일하다. 일부 구현양태에서 동일성은 길이가 적어도 약 10개 염기, 적어도 약 20개 염기, 적어도 약 40-60개 염기, 적어도 약 60-80개 염기 또는 그 사이의 정수 값인 뉴클레오타이드 서열의 영역에 존재한다. 일부 구현양태에서 동일성은 60-80개 염기보다 긴 영역, 예를 들어 적어도 약 80-1000개 염기 이상에 걸쳐 존재하고, 일부 구현양태에서 서열은, 예를 들어 관심 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열과 같은 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 실질적으로 동일하다.

[0280] "보존적 아미노산 치환"이란 한 아미노산 잔기가 유사한 화학적 특성을 갖는 측쇄를 갖는 다른 아미노산 잔기로 대체되는 치환을 지칭한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기 계열은 일반적으로 기술 분야에서 정의되어 있으며, 본원에는 염기성 측쇄(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 무전하 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프로린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분기 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)가 포함된다. 예를 들어, 티로신에 대한 페닐알라닌의 치환은 보존적 치환이다. 일반적으로, 본 개시내용의 폴리펩타이드, 가용성 단백질 및/또는 항체의 서열에서의 보존적 치환은 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 가용성 단백질 또는 항체의 표적 결합 부위에 대한 결합을 폐지하지 않는다. 결합을 제거하지 않는 아미노산 보존적 치환을 식별하는 방법은 당해 기술 분야에서 잘 알려져 있다.

[0281] 용어 "폴리펩타이드"는 임의의 길이의 아미노산 중합체를 지칭한다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있으며, 변형된 아미노산을 포함할 수 있으며, 비-아미노산을 포함할 수 있다(예를 들어, 비아미노산으로 치환될 수 있음). 이 용어는 또한 자연적으로 또는 개입에 의해, 예를 들어 디설파이드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화 또는 표지 성분 또는 약물(예를 들어, 독소)과 같은 모이어티에 대한 연결 또는 접합(직접 또는 간접)과 같은 기타 조작 또는 변형에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포함한다. 또한 정의에는, 예를 들어 아미노산의 하나 이상의 유사체(예를 들어, 비천연 아미노산 포함)를 함유하는 폴리펩타이드와 당해 기술 분야에 알려진 기타 변형이 포함된다. 본 개시내용의 폴리펩타이드는 항체 또는 면역글로불린 슈퍼계열의 다른 구성원을 기반으로 할 수 있기 때문에, 일부 구현양태에서 폴리펩타이드는 단일 사슬 또는 단일 사슬의 이량체로 발생할 수 있다.

[0282] 본원에서 사용되는 "항원"은 항체가 결합할 수 있는 에피토프를 함유하는 모이어티 또는 분자이다. 따라서 항원은 항체에 의해 결합될 수 있다. 일부 구현양태에서, 본원에서 기술하는 항체가 결합하는 항원은 5T4(예를 들어, 인간 5T4) 또는 그 단편, 예를 들어 5T4의 하나 이상의 영역을 포함하는 단편이다.

[0283] 본원에서 사용되는 "에피토프"는 당해 기술 분야의 용어이며 항체가 결합할 수 있는 항원의 국소 영역을 의미한다. 에피토프는 선형 에피토프 또는 구조적, 비-선형 또는 불연속적 에피토프일 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드 항원의 경우, 에피토프는 폴리펩타이드의 연속된 아미노산("선형" 에피토프)일 수 있거나, 에피토프는 폴리펩타이드의 두 개 이상의 비연속적 영역의 아미노산, 예를 들어, 인간 5T4을 포함할 수 있다("구조적", "비-선형" 또는 "불연속적" 에피토프). 당업자라면 일반적으로 선형 에피토프가 2차, 3차 또는 4차 구조에 의존할 수도 있고 그렇지 않을 수도 있다는 것을 알 수 있을 것이다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, 항체는 천연 3차원 단백질 구조로 접혀 있는지 여부에 관계없이 아미노산 기에 결합한다. 다른 구현양태에서, 항체는 에피토프를 인식하고 결합하기 위해 에피토프를 구성하는 아미노산 잔기가 특정 구조(예를 들어, 굽힘, 꼬임, 회전 또는 접힘)를 나타내야 한다.

[0284] 항체는 참조 항체와 "에피토프", "본질적으로 동일한 에피토프" 또는 "동일한 에피토프"에 결합한다. 두 항체가 3차원 공간에서 동일하거나 겹치거나 인접한 에피토프에 결합하는지 여부를 결정하는 데 가장 널리 사용되고 빠른 방법은 경쟁 검정으로, 예를 들어 표지된 항원 또는 표지된 항체를 사용하여 여러 가지 다른 형식으로 구성할 수 있다. 일부 검정에서는 항원을 96웰 플레이트에 고정하거나 세포 표면에 발현시키고 표지되지 않은 항체가 표지된 항체의 결합을 차단하는 능력을 방사성, 형광 또는 효소 표지를 사용하여 측정한다.

[0285] "에피토프 비닝"은 항체가 인식하는 에피토프를 기반으로 항체를 그룹화하는 과정이다. 보다 구체적으로, 에피토프 비닝은 경쟁 검정과 에피토프 인식 특성을 기반으로 항체를 클러스터링하고 고유한 결합 특이성을 갖는 항체를 식별하기 위한 계산 과정을 결합하여 다양한 항체의 에피토프 인식 특성을 구별하는 방법 및 시스템을 포

함한다. 에피토프 비닝 및 항체의 에피토프 결합을 결정하는 방법에 대한 추가 세부 사항은 실시예 5에 표시된 바와 같이 본원에 기술되어 있다.

[0286] 본원에 사용된 용어 "특이적으로 결합하다", "특이적으로 인식하다", "면역특이적으로 결합하다", "선택적으로 결합하다", "면역특이적으로 인식하다" 및 "면역특이적"은 항체의 맥락에서 유사한 용어이며, 당업자가 이해하는 바와 같이 항원(예를 들어, 에피토프)에 결합하는 분자를 지칭한다.

[0287] 일부 구현양태에서, "특이적으로 결합한다"는 것은, 예를 들어 폴리펩타이드 또는 분자가 관련 및 비관련 단백질을 포함한 대체 물질보다 에피토프, 단백질 또는 표적 분자에 대해 더 자주, 더 빠르게, 더 오래 지속되고, 더 큰 친화도으로, 또는 상기의 조합으로 상호 작용한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 다른 펩타이드 또는 폴리펩타이드에, 일반적으로 면역 검정법, BIACORE™, KinExA 3000 기기(Sapidyne Instruments, Boise, ID), OctetQK384 시스템(ForteBio, Menlo Park, CA) 또는 당해 기술 분야에 알려진 다른 검정법에 의해 결정된 바와 같이 더 낮은 친화도로 결합할 수 있다. 일부 구현양태에서, 항체 또는 항원 결합 영역은 방사면역검정법(RIA) 및 효소결합면역흡착검정법(ELISA)과 같은 실험 기법을 사용하여 결정된 교차 반응 항원보다 더 높은 친화도로 항원에 결합할 때 항원에 결합하거나 특이적으로 결합한다. 일반적으로, 특이적 또는 선택적 반응은 배경 신호 또는 노이즈의 적어도 2배가 될 것이고 배경의 10배가 넘을 수 있다. 예를 들어, 결합 특이성에 대한 논의는 Fundamental Immunology 332-36(Paul ed., 2d ed. 1989)을 참조. 일부 구현양태에서, 항체 또는 항원 결합 영역이 "비-표적" 단백질에 결합하는 정도는 항체 또는 항원 결합 영역이 표적 항원에 결합하는 것의 약 10% 미만이며, 예를 들어 형광 활성화 세포 분류(FACS) 분석 또는 RIA에 의해 결정된다. 일부 구현양태에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 분자가 다른 항원에 결합할 때보다 $K_A$가 적어도 2 log, 2.5 log, 3 log, 4 log 이상으로 항원에 결합한다. 일부 구현양태에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 다른 단백질과 교차 반응하지 않는다. 다른 구체적인 구현양태에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 다른 비-5T4 단백질과 교차 반응하지 않는다. 일부 구현양태에서, "특이적으로 결합한다"는, 예를 들어 폴리펩타이드 또는 분자가 약 0.1 mM 이하, 보다 일반적으로 약 1 μM 미만의 $K_D$로 단백질 또는 표적에 결합한다는 것을 의미한다. 일부 구현양태에서, "특이적으로 결합한다"는 폴리펩타이드 또는 분자가 적어도 약 0.1 μM, 적어도 약 0.01 μM 또는 적어도 약 1 nM의 $K_D$로 표적에 결합한다는 것을 의미한다. 서로 다른 종의 상동 단백질 간의 서열 동일성 때문에, 특이적 결합에는 1종 이상의 단백질 또는 표적을 인식하는 폴리펩타이드 또는 분자가 포함될 수 있다. 마찬가지로, 서로 다른 단백질의 폴리펩타이드 서열의 특정 영역 내의 상동성 때문에, 특이적 결합은 1개 이상의 단백질 또는 표적을 인식하는 폴리펩타이드 또는 분자를 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 첫 번째 표적에 특이적으로 결합하는 폴리펩타이드 또는 분자는 두 번째 표적에 특이적으로 결합할 수도 있고 그렇지 않을 수도 있다는 것이 이해된다. 따라서 "특이적 결합"은 반드시 배타적 결합, 예를 들어 단일 표적에 대한 결합을 필요로 하지 않는다(포함할 수는 있지만). 따라서 일부 구현양태에서, 폴리펩타이드 또는 분자는 1개 이상의 표적에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 구현양태에서, 여러 표적은 폴리펩타이드 또는 분자의 동일한 항원 결합 부위에 의해 결합될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, 항체는 두 개의 동일한 항원 결합 부위를 포함할 수 있으며, 각각은 두 개 이상의 단백질의 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 다른 구현양태에서, 항체는 이중특이적일 수 있으며, 특이성이 다른 적어도 두 개의 항원 결합 부위를 포함할 수 있다. 일반적으로, 반드시 그런 것은 아니지만, "결합"에 대한 언급은 "특이적 결합"을 의미한다.

[0288] 용어 "결합 친화도"는 일반적으로 분자(예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 결합 파트너(예를 들어, 5T4와 같은 항원) 간의 비공유 상호작용의 합계의 강도를 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에서 사용되는 "결합 친화도"는 결합 쌍(예를 들어, 항체와 항원)의 구성원 간의 1:1 상호작용을 반영하는 내재적 결합 친화도를 지칭한다. 결합 분자 X의 결합 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수($K_D$)로 표현할 수 있다. 친화도는 본원에서 기술하는 방법을 포함하여 해당 기술 분야에 알려진 일반적인 방법으로 측정할 수 있다. 낮은 친화도 항체는 일반적으로 항원에 느리게 결합하고 쉽게 해리되는 경향이 있는 반면, 높은 친화도 항체는 일반적으로 항원에 더 빨리 결합하고 더 오래 결합된 상태를 유지하는 경향이 있다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 해당 기술 분야에 알려져 있으며, 이 중 어떤 것이든 본 개시내용의 목적을 위해 사용될 수 있다. 한 구현양태에서, "$K_D$" 또는 "$K_D$ 값"은 예를 들어 OctetQK384 시스템(ForteBio, Menlo Park, CA)을 사용하여 생물층 간섭계(BLI)로 측정할 수 있다. 또는, $K_D$는 또한 예를 들어 관심 항체의 Fab 버전과 그 항원(Chen et al., (1999) J. Mol Biol 293:865-881)으로 수행되는 방사성 표지 항원 결합 검정(RIA)에서 측정하거나, 예를 들어 BIACORE™-2000 또는 BIACORE™-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)을 사용하여 BIACORE™의 표면 플라스몬 공명(SPR) 검정을 사용하여 측정할 수 있다. "온-레이트(on-rate)" 또는 "결합의 속도(rate of association)" 또는 "결합

속도(association rate)" 또는 "$k_{on}$" 뿐만 아니라 "오프-레이트(off-rate)" 또는 "해리의 속도(rate of dissociation)" 또는 "해리 속도(dissociation rate)" 또는 "$k_{off}$"도 본원에 기술된 동일한 SPR 또는 BLI 기술로 결정할 수 있으며, 예를 들어 OctetQK384 시스템(ForteBio, Menlo Park, CA) 또는 BIACORE™-2000 또는 BIACORE™-3000(BIACORE™, Inc., Piscataway, NJ)을 각각 사용한다.

[0289] 5T4 항체의 맥락에서 사용될 때 "경쟁하다"라는 용어는 다른 결합제의 존재 하에 다른 결합제의 결합으로 인해 에피토프 또는 결합 부위에 결합하는 것이 적어도 부분적으로 억제되는 결합제를 기술한다. 경쟁은 연구 중인 결합제가 참조 분자(예를 들어, 참조 리간드 또는 참조 항체와 같은 참조 항원 결합 단백질)가 공통 항원(예를 들어, 5T4)에 특이적으로 결합하는 것을 방지하거나 억제하는 검정을 통해 결정할 수 있다. 다양한 유형의 경쟁적 결합 검정을 사용하여 테스트 결합제가 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 결합하기 위해 참조 분자와 경쟁하는지 결정할 수 있다. 사용될 수 있는 검정의 예로는 고체상 직접 또는 간접 방사면역검정법(RIA); 고체상 직접 또는 간접 효소면역검정법(EIA), 샌드위치 경쟁 검정(예를 들어, Stahli et al., (1983) Methods in Enzymology 9:242-253 참조); 고체상 직접 비오틴-아비딘 EIA(예를 들어, Kirkland et al., (1986) J. Immunol. 137:3614-3619 또는 Cheung et al., (1990) Virology 176:546-552 참조); 고체상 직접 표지 검정, 고체상 직접 표지된 샌드위치 검정(예를 들어, Harlow and Lane, (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press 참조); I-125 표지를 사용하는 고체상 직접 표지 RIA(예를 들어, Morel et al., (1988) Molec. Immunol. 25:7-15 참조); 및 직접 표지된 RIA(Moldenhauer et al., (1990) Scand. J. Immunol. 32:77-82)가 있다. 일반적으로 이러한 검정에는 표지되지 않은 테스트 항원 결합 단백질(예를 들어, 테스트 5T4 항체 또는 ADC) 또는 표지된 참조 항원 결합 단백질(예를 들어, 참조 5T4 항체 또는 ADC)을 보유하는 고체 표면 또는 세포에 결합된 정제된 항원(예를 들어, 인간 5T4와 같은 5T4)의 사용이 포함된다. 경쟁적 억제는 테스트 항원 결합 단백질의 존재 하에 고체 표면 또는 세포에 결합된 표지의 양을 결정하여 측정할 수 있다. 일반적으로 테스트 항원 결합 단백질은 과량으로 존재한다. 경쟁 검정(경쟁 항체)에 의해 식별된 항체에는 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체 및/또는 항체 입체 장애가 발생하도록 참조 항체에 의해 결합된 에피토프에 충분히 근접한 인접 에피토프(예를 들어, 유사한 에피토프 또는 중복 에피토프)에 결합하는 항체가 포함된다. 일반적으로 경쟁 항체가 과량으로 존재하는 경우, 공통 항원에 대한 참조 항체의 특이적 결합을 적어도 20%, 예를 들어 적어도 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 또는 75%로 억제한다. 일부 구현양태에서 결합은 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상으로 억제된다.

[0290] 용어 "불변 영역" 및 "불변 도메인"은 본원에서 상호 교환 가능하게 사용되고, 잘 알려진 항체 용어이며, 항체 부분, 예를 들어 항체가 항원에 결합하는 데 직접 관여하지 않지만 Fc 수용체와의 상호 작용과 같은 다양한 이펙터 기능을 나타낼 수 있는 경쇄 및/또는 중쇄의 카복실 말단 부분을 지칭한다. 이 용어에는 면역글로불린 가변 영역에 비해 일반적으로 더 보존된 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 분자 부분이 포함된다.

[0291] 항체 "이펙터 기능"은 항체의 Fc 영역(예를 들어, 천연 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인하는 생물학적 활성을 지칭하며 항체 이소타입에 따라 다르다. 항체 이펙터 기능의 예는 다음과 같다: C1q 결합 및 보체 의존적 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절 및 B 세포 활성화.

[0292] 본원에서 "Fc 영역"이라는 용어는, 예를 들어 천연 서열 Fc 영역, 재조합 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는 데 사용된다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 다를 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 종종 위치 Cys226(EU 넘버링 시스템)의 아미노산 잔기 또는 Pro230(EU 넘버링 시스템)에서 카복실 말단까지 뻗어 있는 것으로 정의된다. Fc 영역의 C-말단 라이신(EU 넘버링 시스템의 잔기 447)은, 예를 들어 항체의 생산 또는 정제 중에 또는 항체의 중쇄를 코딩하는 핵산을 재조합적으로 조작하여 제거할 수 있다. 예시적인 Fc 영역 서열은 아래에 제공된다(CH2 도메인 = 굵은 글씨; CH3 도메인 = 밑줄 글씨):

[0293] CPPCP**APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK**GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:67).

[0294] "기능적 Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역의 "이펙터 기능"을 갖는다. 예시적인 "이펙터 기능"에는 C1q 결합; 보체 의존적 세포독성(CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향조절 등이 포함된다. 이러한 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 영역 또는 결합 도메인(예를 들어, 항체 가변 영역 또는 도메인)과 결합되어야 하며, 개시된 바와 같은 다양한

검정을 사용하여 평가할 수 있다.

[0295] "천연 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 인간에 의해 조작, 변형 및/또는 변경(예를 들어, 분리, 정제, 선택, 포함 또는 가변 영역 서열과 같은 다른 서열과 결합)되지 않는다. 천연 서열 인간 Fc 영역은 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역(비-A 및 A 알로타입); 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역을 포함하며; 자연적으로 발생하는 이들의 변이체도 포함한다.

[0296] "변이체 Fc 영역"은 적어도 하나의 아미노산 변형(예를 들어, 치환, 첨가 또는 결실)으로 인해 천연 서열 Fc 영역과 다른 아미노산 서열을 포함하며, 바람직하게는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현양태에서, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 또는 모체 폴리펩타이드의 Fc 영역과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환을 갖는데, 예를 들어, 약 1-약 10개의 아미노산 치환, 바람직하게는 천연 서열 Fc 영역 또는 모체 폴리펩타이드의 Fc 영역에서 약 1-약 5개의 아미노산 치환을 갖는다. 본원에 기술된 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 및/또는 모체 폴리펩타이드의 Fc 영역과 적어도 약 80%의 상동성을 가질 수 있거나, 적어도 약 90%의 상동성, 예를 들어 적어도 약 95%의 상동성을 가질 수 있다. 본원에 기술된 변이체 Fc 영역은 이펙터 기능의 손실(예를 들어, 침묵 Fc)을 가질 수 있다. 예시적인 변이체 Fc 영역("침묵 Fc") 서열은 아래에 제공된다(CH2 도메인 = 아미노산 변화에 밑줄이 그어진 굵은 글씨; CH3 도메인 = 밑줄이 그어진 글씨):

[0297] CPPCP**APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALKAPIEKTISKAK**GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:68).

[0298] 항체와 관련하여 사용될 때 용어 "중쇄"는 약 50-70 kDa의 폴리펩타이드 사슬을 지칭하며, 여기서 아미노-말단 부분은 약 120-130개 이상의 아미노산으로 구성된 가변 영역을 포함하고, 카복시-말단 부분은 하나 이상의 불변 영역을 포함한다. "중쇄"는 불변 영역의 아미노산 서열을 기반으로, 예를 들어 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ε), 감마(ɣ) 및 뮤(μ)와 같은 임의의 별개의 유형을 지칭할 수 있으며, 이는 각각 항체의 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM 부류를 생성하며, 본원에는 IgG의 하위 부류, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4가 포함된다.

[0299] 본원에서 사용되는 용어 "경쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때 약 25 kDa의 폴리펩타이드 사슬을 지칭할 수 있으며, 여기서 아미노 말단 부분은 약 100-약 110개 이상의 아미노산으로 구성된 가변 영역을 포함하고, 카복시-말단 부분은 불변 영역을 포함한다. 경쇄의 대략적인 길이는 211-217개 아미노산이다. 불변 영역의 아미노산 서열을 기반으로 카파(κ) 또는 람다(λ)와 같은 두 가지 뚜렷한 유형이 있다. 경쇄 아미노산 서열은 당해 기술 분야에서 잘 알려져 있다.

[0300] 용어 "항원 결합 단편", "항원 결합 도메인", "항원 결합 영역" 및 유사한 용어는 항원과 상호 작용하고 항원에 대한 특이성 및 친화도를 결합 단편 또는 영역에 부여하는 아미노산 잔기를 포함하는 항체의 일부를 지칭한다(예를 들어, CDR). 본원에서 사용되는 "항원 결합 단편"에는 항체의 항원 결합 또는 가변 영역과 같은 하나 이상의 CDR을 포함하는 항체의 일부를 포함하는 "항체 단편"이 포함된다.

[0301] 본원에서 기술하는 항체에는 합성 항체, 단일클론 항체, 재조합적으로 생산된 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체 포함), 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 인트라바디, 단일 사슬 Fv(scFv)(예를 들어, 단일특이적, 이중특이적 등 포함), 낙타화된 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, 디설파이드-연결 Fv(sdFv), 항-이디오타입(항-Id) 항체 및 상기의 임의의 것의 에피토프-결합 단편이 포함되지만 이에 제한되지 않다.

[0302] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인 부분, 예를 들어 5T4에 결합하는 하나 이상의 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 포함한다.

[0303] 본원에 기술된 5T4 항체는 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY), 임의의 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2) 또는 임의의 하위 부류(예를 들어, IgG2a 또는 IgG2b)의 면역글로불린 분자일 수 있다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 항체는 IgG 항체(예를 들어, 인간 IgG) 또는 부류(예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4) 또는 그 하위부류이다.

[0304] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 두 개의 중쇄(H)/경쇄(L) 쌍을 포함하는 4-사슬 항체 단위로, 여기서 H 사슬의 아미노산 서열은 동일하고 L 사슬의 아미노산 서열은 동일하다. 일부 구현양태에서, H 및/또는 L 사슬는 불변 영역, 예를 들어 인간 불변 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체의 L 사슬 불변 영역은 카파 또는 람다 경쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 카파 또는 람다 경쇄 불변 영역이다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체의 H 사슬 불변 영역은 감마 중쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 감마 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서,

5T4 항체는 IgG 불변 영역, 예를 들어 인간 IgG 불변 영역(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 및/또는 IgG4 불변 영역)을 포함한다.

[0305] 본원에서 사용되는 "5T4 항체" 및 "5T4에 결합하는 항체"는 상호 교환 가능하게 사용되며 5T4에 우선적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 항체 또는 그 단편은 인간 5T4와 같은 5T4에 우선적으로 결합할 수 있으며, 이는 항체 또는 그 단편이 관련 없는 대조 단백질에 결합하는 것보다 더 큰 친화도로 인간 5T4와 같은 5T4에 결합한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 항체 또는 그 단편은 5T4 또는 그 일부를 특이적으로 인식하고 결합할 수 있다. "특이적 결합"은 5T4 항체 또는 그 단편이 관련 없는 대조 단백질(예를 들어, 암탉 알 흰자 리소자임)에 대한 친화도보다 적어도 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 또는 10,000배 더 큰 친화도로 5T4에 결합한다는 것을 의미한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체 또는 그 단편은 5T4에 실질적으로 독점적으로 결합할 수 있다(예를 들어, 결합 친화도의 측정 가능한 차이에 의해 5T4를 다른 알려진 폴리펩타이드와 구별할 수 있음). 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 인간 5T4 서열 이외의 5T4 서열(예를 들어, 시노몰구스 5T4 서열)과 반응할 수 있다.

[0306] 용어 "가변 영역" 및 "가변 도메인"은 일반적으로 경쇄 및 중쇄의 아미노-말단에 위치하는 항체의 경쇄 및 중쇄의 일부를 지칭하기 위해 상호 교환 가능하게 사용되며, 중쇄에서 약 120-130개 아미노산, 경쇄에서 약 100-110개 아미노산의 길이를 갖고 각 항체의 항원에 대한 결합 및 특이성에 사용된다. 중쇄의 가변 영역은 본원에서 "VH"로 지칭된다. 경쇄의 가변 영역은 본원에서 "VL"로 지칭된다. 용어 "가변"은 가변 영역의 특정 세그먼트가 항체 간에 서열이 크게 다르다는 사실을 지칭한다. V 영역은 항원 결합을 매개하고 특정 항체의 항원에 대한 특이성을 정의한다. 그러나 가변성은 가변 영역의 110개 아미노산 범위에 걸쳐 고르게 분포되지 않는다. 대신, V 영역은 "초가변 영역" 또는 "상보성 결정 영역"이라고 하는 더 큰 가변성(예를 들어, 극도의 가변성)의 짧은 영역으로 분리된 약 15-30개 아미노산의 프레임워크 영역(FR)이라고 하는 덜 가변적인(예를 들어, 비교적 불변적인) 스트레치로 구성되어 있다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 각각 4개의 프레임워크(FR1, FR2, FR3 및 FR4)로 구성되며, 대체로 β 시트 구성을 채택하고, β 시트 구조를 연결하는 루프를 형성하고, 어떤 경우에는 그 일부를 형성하는 3개의 초가변 영역으로 연결된다. 각 사슬의 초가변 영역은 프레임워크에 의해 근접하여 함께 유지되고, 다른 사슬의 초가변 영역과 함께 항체의 항원 결합 부위 형성에 기여한다(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, (1991) 참조). 불변 영역은 항체를 항원에 결합하는 데 직접적으로 관여하지 않지만, 항체 의존성 세포 세포독성(ADCC) 및 보체 의존성 세포독성(CDC)에 대한 항체의 참여와 같은 다양한 이펙터 기능을 나타낸다. 가변 영역은 서로 다른 항체 간에 서열이 크게 다르다. 서열의 가변성은 CDR에 집중되어 있는 반면, 가변 영역에서 덜 가변적인 부분은 프레임워크 영역(FR)이라고 한다. 경쇄 및 중쇄의 CDR은 주로 항체와 항원의 상호작용을 담당한다. 특정 구현양태에서 가변 영역은 인간 가변 영역이다.

[0307] 본원에서 사용될 때 용어 "초가변 영역", "HVR", "HV", "상보성 결정 영역" 및 "CDR"은 서열에서 초가변적이고/이거나 구조적으로 정의된 루프를 형성하는 항체 가변 영역의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 초가변 영역을 포함한다: VH에 3개(H1 또는 VH CDR1, H2 또는 VH CDR2 및 H3 또는 VH CDR3) 및 VL에 3개(L1 또는 VL CDR1, L2 또는 VL CDR2 및 L3 또는 VL CDR3). 여러 초가변 영역 구분이 사용되고 있으며 본원에 포함된다. 카바트(Kabat) CDR은 서열 가변성을 기반으로 하며 가장 많이 사용된다(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991) 참조). 코티아(Chothia)는 대신 구조적 루프의 위치를 나타낸다(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917(1987) 참조). 카바트 넘버링 규칙을 사용하여 넘버링할 때 코티아 CDR-H1 루프의 단부는 루프 길이에 따라 H32와 H34 사이에서 변한다(카바트 넘버링 체계는 삽입을 H35A와 H35B에 배치하기 때문이고; 35A도 35B도 없으면 루프는 32에서 끝나고; 35A만 있으면 루프는 33에서 끝나고; 35A와 35B가 모두 있으면 루프는 34에서 끝난다). AbM 초가변 영역은 카바트 CDR과 코티아 구조 루프 사이의 절충안을 나타내며 Oxford Molecular의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에서 사용된다(Martin, Antibody Engineering, Vol. 2, Chapter 3, Springer Verlag 참조). "콘택트" 초가변 영역은 사용가능한 컴플렉스 결정 구조의 분석을 기반으로 한다. 이러한 각 초가변 영역 또는 CDR의 잔기는 아래에 나와 있다.

[0308] 범용 넘버링 시스템이 개발되어 널리 채택되었으며, ImMunoGeneTics(IMGT®) 정보 시스템(Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77(2003))이다. IMGT®는 인간과 다른 척추동물의 면역글로불린(IG), T 세포 수용체(TR) 및 주요 조직 적합성 복합체(MHC)를 전문으로 하는 통합 정보 시스템이다. 본원에서 CDR은 아미노산 서열과 경쇄 또는 중쇄 내의 위치라는 두 가지 측면에서 언급된다. 면역글로불린 가변 영역 구조 내의 CDR의 "위치"는 종 간에 보존되고 루프라고 불리는 구조에 존재하므로 구조적 특징의 가변 영역 서열을 정렬하는 넘버링

시스템을 사용하여 CDR 및 프레임워크 잔기를 쉽게 식별할 수 있다. 이 정보는 일반적으로 인간 항체의 수용체 프레임워크에 한 종의 면역글로불린의 CDR 잔기를 접목하고 대체하는 데 사용할 수 있다. 추가 넘버링 시스템(AHon)은 호네거와 플룩툰에 의해 개발되었다(Honegger and Pluckthun, J. Mol. Biol. 309: 657-670(2001)). 예를 들어, 카바트 넘버링과 IMGT® 고유 넘버링 시스템을 포함한 넘버링 시스템 간의 대응 관계는 해당 분야의 숙련자에게 잘 알려져 있으며(Kabat, *supra*; Chothia and Lesk, *supra*; Martin, *supra*; Lefranc et al., *supra* 참조) 아래에도 설명되어 있다. 해당 분야에서 알려져 있거나 본원에 기술된 다양한 시스템은 CDR을 구분하는 다양한 방식을 나타내며, 동일한 항체를 정의하는 데 사용되는 경우, 종종 동등한 것으로 간주된다. 본원에 표시된 예시적인 시스템은 카바트와 코티아를 결합한 것이다.

[0309]

| | 예시적인 | IMGT® | 카바트 | AbM | 코티아 | 콘택트 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $V_H$ CDR1 | 26-35 | 27-38 | 31-35 | 26-35 | 26-32 | 30-35 |
| $V_H$ CDR2 | 50-65 | 56-65 | 50-65 | 50-58 | 53-55 | 47-58 |
| $V_H$ CDR3 | 95-102 | 105-117 | 95-102 | 95-102 | 96-101 | 93-101 |
| $V_L$ CDR1 | 24-34 | 27-38 | 24-34 | 24-34 | 26-32 | 30-36 |
| $V_L$ CDR2 | 50-56 | 56-65 | 50-56 | 50-56 | 50-52 | 46-55 |
| $V_L$ CDR3 | 89-97 | 105-117 | 89-97 | 89-97 | 91-96 | 89-96 |

[0310] 초가변 영역은 다음과 같이 "확장된 초가변 영역"을 포함할 수 있다: VL에서 24-36 또는 24-34(L1), 46-56 또는 50-56(L2) 및 89-97 또는 89-96(L3) 및 VH에서 26-35 또는 26-35A(H1), 50-65 또는 49-65(H2) 및 93-102, 94-102 또는 95-102(H3). 본원에서 사용되는 용어 "초가변 영역", "HVR", "HV", "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 상호 교환 가능하게 사용된다.

[0311] 용어 "벡터"는 핵산 서열을 운반하거나 포함하는 데 사용되는 물질을 지칭하며, 예를 들어 핵산 서열을 숙주 세포에 도입하는 데 사용된다. 벡터의 예로는 발현 벡터, 플라스미드, 파지 벡터, 바이러스 벡터, 에피솜 및 인공 염색체가 있으며, 숙주 세포의 염색체에 안정적으로 통합되도록 작동할 수 있는 선택 서열 또는 마커가 포함될 수 있다. 또한, 벡터에는 하나 이상의 선택 가능한 마커 유전자와 적절한 발현 제어 서열이 포함될 수 있다. 예를 들어, 포함될 수 있는 선택 가능한 마커 유전자는 항생제 또는 독소에 대한 내성을 제공하거나, 영양 요구 결핍을 보완하거나, 배양 배지에 없는 중요한 영양소를 공급한다. 발현 제어 서열에는 구성적 및 유도적 프로모터, 전사 인핸서, 전사 종결자 등이 포함될 수 있으며, 이는 당업계에 잘 알려져 있다. 두 개 이상의 핵산 분자를 공동 발현시킬 경우(예를 들어, 항체 중쇄 및 경쇄 또는 항체 VH 및 VL 영역 모두) 두 핵산 분자를, 예를 들어 단일 발현 벡터 또는 별도의 발현 벡터에 삽입할 수 있다. 단일 벡터 발현의 경우, 코딩 핵산은 하나의 공통 발현 제어 서열에 작동적으로 연결되거나, 하나의 유도성 프로모터 및 하나의 구성적 프로모터와 같은 다른 발현 제어 서열에 연결될 수 있다. 숙주 세포로의 핵산 분자의 도입은 당해 기술 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 확인할 수 있다. 이러한 방법에는 예를 들어, 노던 블롯 또는 mRNA의 중합효소 연쇄 반응(PCR) 증폭과 같은 핵산 분석, 또는 유전자 생성물의 발현을 위한 면역블로팅 또는 도입된 핵산 서열 또는 그에 상응하는 유전자 생성물의 발현을 테스트하기 위한 다른 적합한 분석 방법이 포함된다. 당해 기술 분야의 숙련자는 핵산 분자가 원하는 생성물(예를 들어, 5T4 항체)을 생산하기에 충분한 양으로 발현된다는 것을 알고 있으며, 또한 당해 기술 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 발현 수준을 최적화하여 충분한 발현을 얻을 수 있다는 것을 알고 있다.

[0312] 용어 "5T4-매개 질병", "5T4-매개 장애" 및 "5T4-매개 상태"는 상호 교환적으로 사용되며 5T4 발현 세포, 예를 들어 5T4-발현 종양 세포와 관련되거나 특징지어지는 임의의 질병, 장애 또는 상태를 지칭한다. 5T4-매개 질병에는 5T4를 발현하거나 과발현하는 암을 포함하되 이에 제한되지 않는 암이 포함된다.

[0313] 본원의 임의의 구현양태에서 용어 "종양"은 악성이든 양성이든 모든 신생물 세포 성장 또는 증식과 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다.

[0314] 용어 "암" 및 "암성"은 일반적으로 조절되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 포유류의 생리적 상태를 지칭하거나 기술한다.

[0315] 용어 "ADC"는 항체-약물 접합체를 의미하며, 본 발명의 맥락에서 이는 본원에서 기술된 바와 같이 약물을 포함하는 다른 모이어티에 커플링된 5T4 항체를 지칭한다.

[0316] 본원에서 사용되는 "약물"은 세포독성 화합물(예를 들어, 세포독성 소분자, 세포독성 합성 펩타이드 등)과 같이 생물학적 활성을 갖는 화합물을 지칭한다.

[0317] 약물의 예로는 소분자 약물, 예를 들어 암 화학 요법제가 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드가 종양 세포에 대한 특이성을 갖는 항체(또는 그 단편)인 경우, 항체는 본원에 기술된 바와 같이 변형되어 변형된 아미노산을 포함할 수 있으며, 이는 이후 암 화학 요법제에 접합될 수 있다. 암 화학 요법제는 암 세포의 증식을 감소시키는 비-펩타이드성(즉, 비-단백질성) 화합물을 포함하며, 세포독성제와 세포증식 억제제를 포함한다. 화학요법제의 비-제한적인 예로는 알킬화제, 니트로소우레아, 항대사제, 항종양 항생제, 식물(빈카) 알칼로이드 및 스테로이드 호르몬이 있다. 펩타이드성 화합물도 사용할 수 있다.

[0318] 적합한 암 화학요법제는 돌라스타틴 및 그 활성 유사체 및 유도체; 및 아우리스타틴 및 이의 활성 유사체 및 유도체(예를 들어, 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD), 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF) 등)를 포함한다. 예를 들어, WO 96/33212, WO 96/14856 및 미국 특허 6,323,315를 참조한다. 예를 들어, 돌라스타틴 10 또는 아우리스타틴 PE는 본 개시내용의 5T4-ADC에 포함될 수 있다. 적합한 암 화학요법제에는 또한 메이탄시노이드 및 이의 활성 유사체 및 유도체가 포함된다(예를 들어, EP 1391213; 및 Liu et al(1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:8618-8623 참조). 듀오카마이신 및 이의 활성 유사체 및 유도체(예를 들어, 합성 유사체 KW-2189 및 CB 1-TM1 포함); 및 벤조디아제핀 및 이의 활성 유사체 및 유도체(예를 들어, 피롤로벤조디아제핀(PBD))가 포함된다.

[0319] 세포 증식을 감소시키는 작용제는 당해 기술 분야에 알려져 있으며 널리 사용되고 있다. 이러한 제제에는 질소 머스타드, 니트로소우레아, 에틸렌이민 유도체, 알킬 설포네이트 및 트리아젠과 같은 알킬화제가 포함되며, 메클로레타민, 사이클로포스파마이드(CYNOTAN™), 멜팔란(L-사르콜리신), 카르무스틴(BCNU), 로무스틴(CCNU), 세무스틴(메틸-CCNU), 스트렙토조신, 클로로조토신, 우라실 머스타드, 클로르메틴, 이포스파마이드, 클로람부실, 피포브로만, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌티오포스포라민, 부설판, 다카르바진 및 테모졸로미드가 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0320] 항대사제에는 엽산 유사체, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제가 포함되며, 시타라빈(CYTOSAR-U®), 시토신 아라비노사이드, 플루오로우라실(5-FU), 플록스우리딘(FudR), 6-티오구아닌, 6-머캅토퓨린(6-MP), 펜토스타틴, 5-플루오로우라실(5-FU), 메토트렉세이트, 10-프로파르길-5,8-디데아자폴레이트(PDDF, CB3717), 5,8-디데아자테트라하이드로엽산(DDATHF), 류코보린, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴 및 젬시타빈이 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0321] 적합한 천연물 및 그 유도체(예를 들어, 빈카 알칼로이드, 항종양 항생제, 효소, 림포카인 및 에피포도필로톡신)에는 Ara-C, 파클리탁셀(TAXOL®), 도세탁셀(TAXOTERE®), 데옥시코포르마이신, 미토마이신-C, L-아스파라기나제, 아자티오프린; 브레퀴나르; 알칼로이드, 예를 들어, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈데신 등; 포도필로톡신, 예를 들어, 에토포사이드, 테니포사이드 등; 항생제, 예를 들어, 안트라사이클린, 다우노루비신 염산염(다우노마이신, 루비도마이신, 세루비딘), 이다루비신, 독소루비신, 에피루비신 및 모르폴리노 유도체 등; 페녹시존 비스사이클로펩타이드, 예를 들어 닥티노마이신; 염기성 글리코펩타이드, 예를 들어 블레오마이신; 안트라퀴논 글리코사이드, 예를 들어 플리카마이신(미트라마이신); 안트라세네디온, 예를 들어 미톡산트론; 아지리노피롤로 인돌레디온, 예를 들어 미토마이신; 거대고리 면역억제제, 예를 들어 사이클로스포린, FK-506(타크롤리무스, 프로그라프), 라파마이신 등; 및 이와 유사한 것이 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0322] 기타 항증식성 세포독성제는 나벨벤, CPT-11, 아나스트라졸, 레트라졸, 카페시타빈, 렐록사핀, 사이클로포스파마이드, 이포사미드 및 드롤록사핀이다.

[0323] 항증식 활성을 갖는 미세소관 영향제도 사용하기에 적합하며, 알로콜히신(NSC 406042), 할리콘드린 B(NSC 609395), 콜히신(NSC 757), 콜히신 유도체(예를 들어, NSC 33410), 돌스타틴 10(NSC 376128), 메이탄신(NSC 153858), 리조신(NSC 332598), 파클리탁셀(TAXOL®), TAXOL® 유도체, 도세탁셀(TAXOTERE®), 티오콜히신(NSC 361792), 트리틸 시스테린, 빈블라스틴 황산염, 빈크리스틴 황산염, 에포틸론 A, 에포틸론 B를 포함하되 이에 제한되지 않는 천연 및 합성 에포틸론, 디스코데르몰리드; 에스트라무스틴, 노코다졸 등을 포함한다.

[0324] 사용에 적합한 호르몬 조절제 및 스테로이드(합성 유사체 포함)에는 아드레노코르티코스테로이드, 예를 들어 프레드니손, 덱사메타손 등; 에스트로겐 및 프레게스틴, 예를 들어 하이드록시프로게스테론 카프로에이트, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 메게스트롤 아세테이트, 에스트라디올, 클로미펜, 타목시펜 등; 아드레노코르티칼 억제제, 예를 들어 아미노글루테티미드; 17α-에티닐에스트라디올; 디에틸스틸베스트롤, 테스토스테론, 플루옥시메스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 테스토락톤, 메틸프레드니솔론, 메틸-테스토스테론, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 클로로트리아니센, 하이드록시프로게스테론, 아미노글루테티미드,

에스트라무스틴, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 류프롤리드, 플루타미드(DROGENIL®), 토레미펜(FARESTON®), 고세렐린(ZOLADEX®) 등이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 에스트로겐은 증식과 분화를 자극하고; 따라서 에스트로겐 수용체에 결합하는 화합물을 사용하여 이 활동을 차단한다. 코르티코스테로이드는 T 세포 증식을 억제할 수 있다.

[0325] 다른 적합한 화학요법제로는 금속 착물, 예를 들어 시스플라틴(cis-DDP), 카르보플라틴 등; 우레아, 예를 들어 하이드록시우레아; 하이드라진, 예를 들어 N-메틸하이드라진; 에피도필로톡신; 토포이소머라제 억제제; 프로카바진; 미톡산트론; 류코보린; 테가푸르; 등이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 관심 있는 다른 항증식제로는 면역억제제, 예를 들어 미코페놀산, 탈리도마이드, 데속시스페르구알린, 아자스포린, 레플루노마이드, 미조리빈, 아자스피란(SKF 105685); 게피티닙(IRESSA®, ZD 1839, 4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-메톡시-6-(3-(4-모르폴리닐)프로폭시)퀴나졸린) 등이 포함된다.

[0326] 탁산은 사용에 적합하다. "탁산"에는 파클리탁셀뿐만 아니라 임의의 활성 탁산 유도체 또는 전구약물가 포함된다. "파클리탁셀"(본원에서는 유사체, 제형 및 유도체, 예를 들어 도세탁셀, TAXOL®, TAXOTERE®(도세탁셀 제형), 파클리탁셀의 10-데아세틸 유사체 및 파클리탁셀의 3'N-데스벤조일-3'N-t-부톡시카보닐 유사체를 포함하는 것으로 이해되어야 함)은 당업자에게 알려진 기술을 이용하여 쉽게 제조할 수 있고(WO 94/07882, WO 94/07881, WO 94/07880, WO 94/07876, WO 93/23555, WO 93/10076; U.S. Pat. Nos. 5,294,637; 5,283,253; 5,279,949; 5,274,137; 5,202,448; 5,200,534; 5,229,529; 및 EP 590,267), 또는 예를 들어, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.(T7402 from *Taxus brevifolia*; or T-1912 from *Taxus yannanensis*)를 포함한 다양한 상업적 공급원에서 얻을 수 있다. 파클리탁셀은 파클리탁셀의 일반적인 화학적으로 이용 가능한 형태뿐만 아니라 유사체 및 유도체(예를 들어, 본원에 언급된 TAXOTERE® 도세탁셀) 및 파클리탁셀 접합체(예를 들어, 파클리탁셀-PEG, 파클리탁셀-덱스트란 또는 파클리탁셀-자일로스)를 의미하는 것으로 이해해야 한다.

[0327] 또한 용어 "탁산"에는 친수성 유도체와 소수성 유도체를 모두 포함한 다양한 알려진 유도체가 포함된다. 탁산 유도체에는 국제 특허 출원 번호 WO 99/18113에 기술된 갈락토스 및 만노스 유도체; WO 99/14209에 기술된 피페라지노 및 기타 유도체; WO 99/09021, WO 98/22451 및 미국 특허 번호 5,869,680에 기술된 탁산 유도체; WO 98/28288에 기술된 6-티오 유도체; 미국 특허 번호 5,821,263에 기술된 술펜아마이드 유도체; 및 미국 특허 번호 5,415,869에 기술된 탁솔 유도체가 포함되지만 이에 제한되지 않다. 또한 WO 98/58927, WO 98/13059 및 미국 특허 번호 5,824,701에 기술된 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않는 파클리탁셀의 전구약물도 포함된다.

[0328] 사용에 적합한 생물학적 반응 조절제는 다음을 포함하되, 이에 제한되지 않다: (1) 티로신 키나제(RTK) 활성 억제제; (2) 세린/트레오닌 키나제 활성 억제제; (3) 종양 항원에 특이적으로 결합하는 항체와 같은 종양-관련 항원 길항제; (4) 아폽토시스 수용체 작용제; (5) 인터루킨-2; (6) IFN-α; (7) IFN-γ; (8) 집락-자극 인자; 및 (9) 혈관생성 억제제.

[0329] "유효량"은 일반적으로 증상의 심각도 및/또는 빈도를 줄이고, 증상 및/또는 근본 원인을 제거하고, 증상 및/또는 근본 원인의 발생을 방지하고, 및/또는 질병, 장애 또는 상태로 인해 발생하거나 관련된 손상을 개선 또는 치료하기에 충분한 양이다. 일부 구현양태에서, 유효량은 치료적으로 유효한 양이다.

[0330] 본원에서 사용되는 용어 "치료적 유효량"은 본원에서 기술된 항체 또는 ADC의 양이 주어진 질병, 장애 또는 상태 및/또는 이와 관련된 증상의 심각성 및/또는 지속 기간을 감소 및/또는 개선하는 데 충분한 양을 지칭한다. 치료제를 포함한 제제의 치료적 유효량은 (i) 주어진 질병, 장애 또는 상태의 발전 또는 진행을 감소 또는 개선하고, (ii) 주어진 질병, 장애 또는 상태의 재발, 전개 또는 발병을 감소 또는 개선하고, (iii) 다른 요법(예를 들어, 본원에서 기술된 항체 또는 ADC의 투여 이외의 요법)의 치료 효과를 개선 또는 강화하는 데 필요한 양일 수 있다. 본 개시내용의 물질/분자/제제(예를 들어, 5T4 항체 또는 ADC)의 "치료적 유효량"은 질병 상태, 연령, 성별 및 개체의 체중과 물질/분자/제제가 개체에게 원하는 반응을 이끌어낼 수 있는 능력과 같은 여러 요인에 따라 달라질 수 있다. 치료적 유효량은 물질/분자/제제의 독성 또는 해로운 효과가 치료적 유익한 효과에 의해 능가되는 양을 포함한다. 일부 구현양태에서, 용어 "치료적 유효량"은 대상체 또는 포유류에서 질병, 장애 또는 상태를 "치료"하는 데 효과적인 항체 또는 기타 제제(예를 들어, 약물)의 양을 지칭한다.

[0331] 일부 구현양태에서, 약물은 메이탄시노이드와 같이 항증식 활성을 갖는 미세소관 영향제이다. 일부 구현양태에서, 약물은 항유사분열제, 예를 들어 아우리스타틴 또는 활성 아우리스타틴 유사체 또는 그 유도체이다. 일부 구현양태에서, 약물은 DNA 알킬화제이다.

[0332] 본원에서 사용되는 용어 "약제학적으로 허용되는"은 연방 또는 주 정부의 규제 기관에서 승인되었거나, 미국 약전, 유럽 약전 또는 기타 일반적으로 인정된 약전에 동물, 특히 인간에게 사용하도록 나열되어 있음을 의미한다.

[0333] "부형제"에는 사용된 투여량 및 농도에서 노출되는 세포 또는 포유류에 무독성인 담체, 부형제, 방부제 또는 안정제가 포함되며, 예를 들어 안정성에 영향을 미치거나, 제형을 벌크업하거나, 최종 투여 형태의 활성 성분에 치료적 향상을 부여하기 위해 포함될 수 있다(예를 들어, 흡수를 용이하게 하거나, 점도를 감소시키거나, 용해도를 증가시킨다). "부형제"는 대상체에게 활성 성분을 투여하는 것과 같은 활성 성분의 사용을 용이하게 하기 위해 활성 성분과 조합되는 유기 또는 무기 성분, 천연 또는 합성일 수 있다. 부형제의 예로는 인산염, 시트레이트 및 기타 유기산과 같은 완충액; 아스코르브산과 같은 항산화제; 저분자량(예를 들어, 약 10개 미만의 아미노산 잔기) 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라진, 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산; 글루코스, 만노스 또는 덱스트린과 같은 단당류, 이당류 및 기타 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 만니톨 또는 소르비톨과 같은 당 알코올; 나트륨과 같은 염 형성 반대 이온; 및/또는 TWEEN™, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 PLURONICS™와 같은 비이온성 계면활성제가 포함된다. 용어 "부형제"는 또한 치료제가 투여되는 희석제, 보조제(예를 들어, 프로인트 보조제(완전 또는 불완전)), 부형제 또는 비히클을 지칭할 수 있다. 이러한 부형제는 물 및 오일, 땅콩 기름, 대두 기름, 미네랄 오일, 참기름 등과 같은 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 기원의 오일과 같은 멸균 액체일 수 있다. 물은 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)이 정맥 내로 투여될 때 예시적인 부형제이다. 식염수 용액 및 수성 덱스트로스와 글리세롤 용액도 액체 부형제, 특히 주사 용액으로 사용할 수 있다. 적합한 부형제(예를 들어, 약제학적 부형제)에는 전분, 글루코스, 락토오스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 분필, 실리카겔, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등이 있다. 임의의 구현양태에서 조성물은 또한 소량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 조성물은 용액, 현탁액, 에멀전, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 지속 방출 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 경구 조성물, 예를 들어 제형은 만니톨, 락토오스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 사카린, 셀룰로오스, 탄산마그네슘 등과 같은 표준 부형제를 포함할 수 있다. 적합한 부형제의 예는 문헌(Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2020)(Elsevier Science, Amsterdam, Netherlands))에 기술되어 있으며, 약제학적 화합물을 포함하여 유효량 또는 치료적으로 유효량의 5T4-ADC를 포함할 수 있으며, 예를 들어 분리된 또는 정제된 형태와 함께 적절한 양의 부형제를 함께 사용하여 대상체에게 적절하게 투여할 수 있는 형태를 제공할 수 있다. 제형은 투여 방식에 적합해야 한다.

[0334] 5T4 항체

[0335] 본원에 기술된 5T4-ADC는 약물 및 이에 접합된 5T4 항체를 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 5T4 단백질, 5T4 폴리펩타이드, 5T4 폴리펩타이드 단편, 5T4 펩타이드 또는 5T4 에피토프와 같이 5T4에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 5T4에 결합하는 인간 또는 인간화 항체(예를 들어, 인간 불변 영역 포함)이다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 5T4-발현하는 종양 세포를 포함한 포유류(예를 들어, 인간) 세포의 표면에 발현되는 5T4에 결합할 수 있다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 종양 세포와 같은 세포에 발현되는 5T4 세포외 에피토프(예를 들어, 세포외 5T4 에피토프)에 결합한다. 일부 구현양태에서, 5T4는 인간 5T4이다. 인간 5T4의 예시적인 아미노산 서열이 본원에 기술되어 있다.

[0336] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 예를 들어, 표 1-3 중 하나에 기술된 VH 영역, VL 영역, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3의 아미노산 서열과 같은 본원에 기술되어 있는 항체 중 하나의 VH 영역, VL 영역, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 참조 5T4 항체와 5T4에 대한 결합을 위해 경쟁한다. 따라서, 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 5T4에 대한 결합을 위해 (a) mAbA4로 지정된 항체; 또는 (b) mAbA15로 지정된 항체; 또는 (c) mAbA17로 지정된 항체로부터 1, 2, 및/또는 3개의 VH CDR 및/또는 1, 2, 및/또는 3개의 VL CDR을 포함하는 참조 5T4 항체와 경쟁한다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4 항체에 (직접 또는 간접적으로) 접합된 약물을 포함하며, 이는 5T4에 대한 결합을 위해 (a) mAbA4로 지정된 항체; 또는 (b) mAbA15로 지정된 항체; 또는 (c) mAbA17로 지정된 항체로부터 1, 2, 및/또는 3개의 VH CDR 및 1, 2, 및/또는 3개의 VL CDR을 포함하는 참조 5T4 항체와 경쟁한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 5T4에 대한 결합을 위해 (a) mAbA4로 지정된 항체; 또는 (b) mAbA15로 지정된 항체; 또는 (c) mAbA17로 지정된 항체로부터 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는 참조 5T4 항체와 경쟁한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 5T4에 대한 결합을 위해 (a) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역; 또는 (b) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL

영역; 또는 (c) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 참조 5T4 항체와 경쟁한다.

[0337] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 본원에 기술된 항체 중 하나의 VH 영역, VL 영역, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3, 예를 들어 표 1-3 중 하나에 기술된 VH 영역, VL 영역, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3의 아미노산 서열을 포함한다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 다음으로부터 1, 2 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및/또는 1, 2 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함한다: (a) mAbA4로 지정된 항체; 또는 (b) mAbA15로 지정된 항체; 또는 (c) mAbA17로 지정된 항체. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 (a) mAbA4로 지정된 항체; 또는 (b) mAbA15로 지정된 항체; 또는 (c) mAbA17로 지정된 항체로부터 1개, 2개 및/또는 3개의 중쇄 CDR과 1개, 2개 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0338] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 본원에서, 예를 들어 표 1-3 중 하나에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 중 하나 이상(예를 들어, 1, 2 또는 3개)을 포함하는 VH 영역; 및/또는 본원에서, 예를 들어 표 1-3 중 하나에 기술된 바와 같은 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 중 하나 이상(예를 들어, 1, 2 또는 3개)을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 이중특이적이며, 표 1-3 중 하나에 기술된 바와 같이 1, 2, 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및/또는 1, 2, 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함하는 제1 결합 영역과, 5T4가 아닌 제2 표적 항원에 결합하는 결합제로부터 1, 2, 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및/또는 1, 2, 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함하는 제2 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 이중특이적이며, 표 1-3 중 하나에 기술된 바와 같이 1, 2, 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및/또는 1, 2, 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함하는 제1 결합 도메인과, 제2 5T4 에피토프에 결합하는 결합제로부터 1, 2, 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및/또는 1, 2, 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함하는 제2 결합 도메인을 포함한다.

[0339] mAbA4로 지정된 항체는 서열번호:25의 VH 아미노산 서열과 서열번호:26의 VL 아미노산 서열을 포함한다.

[0340] mAbA15로 지정된 항체는 서열번호:44의 VH 아미노산 서열과 서열번호:45의 VL 아미노산 서열을 포함한다.

[0341] mAbA17로 지정된 항체는 서열번호:62의 VH 아미노산 서열과 서열번호:63의 VL 아미노산 서열을 포함한다.

[0342] **표 1: 항체 mAbA4**

| | | 예시적 | IMGT® | 카바트 | 코티아 | 콘택트 | AbM |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VH CDR Seq. | VH CDR1 | GFTFSRYYIH (서열번호:1) | GFTFSRYY (서열번호:7) | RYYIH (서열번호:12) | GFTFSRY (서열번호:13) | SRYYIH (서열번호:18) | GFTFSRYYIH (서열번호:1) |
| | VH CDR2 | FISPGGSYTYYADSVKG (서열번호:2) | ISPGGSYT (서열번호:8) | FISPGGSYTYYADSVKG (서열번호:2) | PGGS (서열번호:14) | WVAFISPGGSYTY (서열번호:19) | FISPGGSYTY (서열번호:24) |
| | VH CDR3 | EYYSMGVLDY (서열번호:3) | AREYYSMGVLDY (서열번호:9) | EYYSMGVLDY (서열번호:3) | YYSMGVLD (서열번호:15) | AREYYSMGVLD (서열번호:20) | EYYSMGVLDY (서열번호:3) |
| VL CDR Seq. | VL CDR1 | RASQSVSSAVA (서열번호:4) | QSVSSA (서열번호:10) | RASQSVSSAVA (서열번호:4) | SQSVSSA (서열번호:16) | SSAVAWY (서열번호:21) | RASQSVSSAVA (서열번호:4) |
| | VL CDR2 | SASSLYS (서열번호:5) | SAS (서열번호:11) | SASSLYS (서열번호:5) | SAS (서열번호:11) | LLIYSASSLY (서열번호:22) | SASSLYS (서열번호:5) |
| | VL CDR3 | QQAYESPYT (서열번호:6) | QQAYESPYT (서열번호:6) | QQAYESPYT (서열번호:6) | AYESPY (서열번호:17) | QQAYESPY (서열번호:23) | QQAYESPYT (서열번호:6) |
| VH 아미노산 서열: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYYIHWVRQAPGKGLEWVAFISPGGSYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYYSMGVLDYWGQGTLVTVSS (서열번호:25) | | | | | | | |
| VL 아미노산 서열: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYESPYTFGQGTKVEIK (서열번호:26) | | | | | | | |

[0343]

[0344] **표 2: 항체 mAbA15**

| | | 예시적 | IMGT® | 카바트 | 코티아 | 콘택트 | AbM |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VH CDR Seq. | VH CDR1 | GFTFSSYYIH (서열번호:27) | GFTFSSYY (서열번호:31) | SYYIH (서열번호:34) | GFTFSSY (서열번호:35) | SSYYIH (서열번호:39) | GFTFSSYYIH (서열번호:27) |
| | VH CDR2 | YITSTGSYTEYADSVKG (서열번호:28) | ITSTGSYT (서열번호:32) | YITSTGSYTEYADSVKG (서열번호:28) | STGS (서열번호:36) | WVAYITSTGSYTE (서열번호:40) | YITSTGSYTE (서열번호:43) |
| | VH CDR3 | YDRSTRYSGLDY (서열번호:29) | ARYDRSTRYSGLDY (서열번호:33) | YDRSTRYSGLDY (서열번호:29) | DRSTRYSGLD (서열번호:37) | ARYDRSTRYSGLD (서열번호:41) | YDRSTRYSGLDY (서열번호:29) |
| VL CDR Seq. | VL CDR1 | RASQSVSSAVA (서열번호:4) | QSVSSA (서열번호:10) | RASQSVSSAVA (서열번호:4) | SQSVSSA (서열번호:16) | SSAVAWY (서열번호:21) | RASQSVSSAVA (서열번호:4) |
| | VL CDR2 | SASSLYS (서열번호:5) | SAS (서열번호:11) | SASSLYS (서열번호:5) | SAS (서열번호:11) | LLIYSASSLY (서열번호:22) | SASSLYS (서열번호:5) |
| | VL CDR3 | QQAYATPVT (서열번호:30) | QQAYATPVT (서열번호:30) | QQAYATPVT (서열번호:30) | AYATPV (서열번호:38) | QQAYATPV (서열번호:42) | QQAYATPVT (서열번호:30) |
| VH 아미노산 서열: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYIHWVRQAPGKGLEWVAYITSTGSYTEYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDRS TRYSGLDYWGQGTLVTVSS (서열번호:44) | | | | | | | |
| VL 아미노산 서열: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYATPVTFGQGTK VEIK (서열번호:45) | | | | | | | |

[0345]

[0346] **표 3: 항체 mAbA17**

| | | 예시적 | IMGT® | 카바트 | 코티아 | 콘택트 | AbM |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VH CDR Seq. | VH CDR1 | GFTFSRYWIH (서열번호:46) | GFTFSRYW (서열번호:50) | RYWIH (서열번호:53) | GFTFSRY (서열번호:13) | SRYWIH (서열번호:57) | GFTFSRYWIH (서열번호:46) |
| | VH CDR2 | AIFPYSGSTLYADSVKG (서열번호:47) | IFPYSGST (서열번호:51) | AIFPYSGSTLYADSVKG (서열번호:47) | PYSG (서열번호:54) | WVAAIFPYSGSTL (서열번호:58) | AIFPYSGSTL (서열번호:61) |
| | VH CDR3 | SPSRSILPSGLDY (서열번호:48) | ARSPSRSILPSGLDY (서열번호:52) | SPSRSILPSGLDY (서열번호:48) | PSRSILPSGLD (서열번호:55) | ARSPSRSILPSGLD (서열번호:59) | SPSRSILPSGLDY (서열번호:48) |
| VL CDR Seq. | VL CDR1 | RASQSVSSAVA (서열번호:4) | QSVSSA (서열번호:10) | RASQSVSSAVA (서열번호:4) | SQSVSSA (서열번호:16) | SSAVAWY (서열번호:21) | RASQSVSSAVA (서열번호:4) |
| | VL CDR2 | SASSLYS (서열번호:5) | SAS (서열번호:11) | SASSLYS (서열번호:5) | SAS (서열번호:11) | LLIYSASSLY (서열번호:22) | SASSLYS (서열번호:5) |
| | VL CDR3 | QQGDGSPYT (서열번호:49) | QQGDGSPYT (서열번호:49) | QQGDGSPYT (서열번호:49) | GDGSPY (서열번호:56) | QQGDGSPY (서열번호:60) | QQGDGSPYT (서열번호:49) |
| VH 아미노산 서열: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWIHWVRQAPGKGLEWVAAIFPYSGSTLYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPSR SILPSGLDYWGQGTLVTVSS (서열번호:62) | | | | | | | |
| VL 아미노산 서열: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDGSPYTFGQGTK VEIK (서열번호:63) | | | | | | | |

[0347]

[0348] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 VH 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 VL 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 (i) VH 영역; 및 (ii) VL 영역의 조합을 갖는다.

[0349] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 (i) 표 1-3 중 하나와 같이 본원에서 기술된 바와 같은 VH 및 (ii) 하나 이상의 중쇄 불변 영역(예를 들어, CH1, 힌지, CH2 및 CH3)의 조합을 갖는 중쇄를 포함한다. 예시적인 IgG 중쇄는 본원에서 기술된 바와 같은 임의의 VH 아미노산 서열 및 다음의 CH1, 힌지, CH2 및 CH3 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0350] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:69).

[0351] 또 다른 예시적인 IgG 중쇄는 본원에 기술된 바와 같은 임의의 VH 아미노산 서열과 다음의 CH1, 힌지, CH2 및

CH3 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0352] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALKAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:70).

[0353] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 (i) 예를 들어, 표 1-3 중 하나와 같은 본원에 기술된 바와 같은 VL 영역; 및 (ii) 경쇄 불변 영역(CL)의 조합을 갖는 경쇄를 포함한다. 예시적인 경쇄(예를 들어, IgG 중쇄와 페어링하기 위한 것)는 본원에 기술된 임의의 VL 아미노산 서열과 다음의 CL 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0354] RTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (서열번호:71).

[0355] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 (a) (i) 예를 들어, 표 1-3 중 하나와 같은 본원에 기술된 바와 같은 VH 및 (ii) 하나 이상의 중쇄 불변 영역(예를 들어, CH1, 힌지, CH2 및 CH3)의 조합을 갖는 중쇄; 및 (b) (i) 예를 들어, 표 1-3 중 하나와 같은 본원에 기술된 바와 같은 VL, 및 (ii) IgG 포맷(CL1)의 경쇄 불변 영역의 조합을 갖는 경쇄를 포함한다.

[0356] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 다음 아미노산 서열을 갖는 중쇄:

[0357] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYYIHWVRQAPGKGLEWVAFISPGGSYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYYS MGVLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSLCTPSRGS (서열번호:90); 및 다음 아미노산 서열을 갖는 경쇄: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYESPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC (서열번호:91)를 포함할 수 있다.

[0358] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 포르밀 글리신 잔기를 포함하도록 변형된 중쇄일 수 있으며 따라서 다음 아미노산 서열을 갖는다: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYYIHWVRQAPGKGLEWVAFISPGGSYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYYS MGVLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSL(fGly)TPSRGS (서열번호:92), 여기서 f(Gly)는 포르밀 글리신 잔기이다.

[0359] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 다음 아미노산 서열을 갖는 중쇄를 포함한다:

[0360] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYYIHWVRQAPGKGLEWVAFISPGGSYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYYS MGVLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSL*n*TPSRGS (서열번호:93), 여기서 n은 본원에 개시된 바와 같이 링커-약물, 예를 들어 식 (XIV), (XV) 또는 (XVI)의 링커-약물로 대체된 측쇄를 갖는 아미노산이다.

[0361] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 다음 아미노산 서열을 갖는 중쇄:

[0362] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYIHWVRQAPGKGLEWVAYITSTGSYTEYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDRS TRYSGLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSLCTPSRGS (서열번호:94), 및 다음 아미노산 서열을 갖는 경쇄: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYATPVTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP

VTKSFNRGEC (서열번호:95)를 포함한다.

[0363] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 포르밀 글리신 잔기를 포함하도록 변형된 중쇄일 수 있으며 따라서 다음 아미노산 서을 갖는다:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYIHWVRQAPGKGLEWVAYITSTGSYTEYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDRS
TRYSGLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSL(*fGly*)TPSRGS (서열번호:96), 여기서 f(Gly)는 포르밀 글리신 잔기이다.

[0364] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 다음 아미노산 서열을 갖는 중쇄를 포함한다:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYIHWVRQAPGKGLEWVAYITSTGSYTEYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDRS
TRYSGLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSL*n*TPSRGS (서열번호:97), 여기서 n은 본원에서 개시된 바와 같이 링커-약물, 예를 들어, 식 (XIV), (XV) 또는 (XVI)의 링커-약물로 대체된 측쇄를 갖는 아미노산이다.

[0365] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 다음 아미노산 서열을 갖는 중쇄:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWIHWVRQAPGKGLEWVAAIFPYSGSTLYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPSR
SILPSGLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSLCTPSRGS (서열번호:98), 및 다음 아미노산 서열을 갖는 경쇄:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDGSPYTFGQGT
KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC (서열번호:99)를 포함한다.

[0366] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 포르밀 글리신 잔기를 포함하도록 변형된 중쇄일 수 있으며 따라서 다음 아미노산 서열을 갖는다:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWIHWVRQAPGKGLEWVAAIFPYSGSTLYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPSR
SILPSGLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSL*(fGly)*TPSRGS (서열번호:100), 여기서 f(Gly)는 포르밀 글리신 잔기이다.

[0367] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 다음 아미노산 서열을 갖는 중쇄를 포함한다:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWIHWVRQAPGKGLEWVAAIFPYSGSTLYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPSR
SILPSGLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSL*n*TPSRGS (서열번호:101), 여기서 n은 본원에 개시된 바와 같이 링커-약물, 예를 들어, 식 (XIV), (XV) 또는 (XVI)의 링커-약물로 대체된 측쇄를 갖는 아미노산이다.

[0368] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR), 예를 들어 표 1에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR), 예를 들어 표 2에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR), 예를 들어 표 3에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다.

[0369] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 하나, 둘 또는 세 개의 VH CDR), 예를 들어, 표 1에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의

CDR(예를 들어, 하나, 둘 또는 세 개의 VL CDR), 예를 들어, 표 1에 기술된 바와 같은 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 하나, 둘 또는 세 개의 VH CDR), 예를 들어, 표 1에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 하나 이상의 CDR(예를 들어, 1개, 2개 또는 3개의 VL CDR), 예를 들어 표 1에 기술된 바와 같은 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다.

[0370] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 하나, 둘 또는 세 개의 VH CDR), 예를 들어, 표 2에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 하나, 둘 또는 세 개의 VL CDR), 예를 들어, 표 2에 기술된 바와 같은 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 하나, 둘 또는 세 개의 VH CDR), 예를 들어 표 2에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 하나 이상의 CDR(예를 들어, 1개, 2개 또는 3개의 VL CDR), 예를 들어 표 2에 기술된 바와 같은 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다.

[0371] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 하나, 둘 또는 세 개의 VH CDR), 예를 들어 표 3에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 하나, 둘 또는 세 개의 VL CDR), 예를 들어 표 3에 기술된 바와 같은 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 하나 이상의 CDR(예를 들어, 하나, 둘 또는 세 개의 VH CDR), 예를 들어 표 3에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 하나 이상의 CDR(예를 들어, 1개, 2개 또는 3개의 VL CDR), 예를 들어 표 3에 기술된 바와 같은 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다.

[0372] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 표 1-3과 같은 본원에서 기술된 바와 같이 하나 이상(예를 들어, 하나, 둘 또는 셋)의 VH CDR을 포함한다. 다른 구현양태에서, 5T4 항체는 표 1-3과 같은 본원에서 기술된 바와 같이 하나 이상(예를 들어, 하나, 둘 또는 셋)의 VL CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 표 1-3과 같은 본원에서 기술된 바와 같이 하나 이상(예를 들어, 하나, 둘 또는 셋)의 VH CDR 및 표 1-3과 같은 본원에서 기술된 바와 같이 하나 이상(예를 들어, 하나, 둘 또는 셋)의 VL CDR을 포함한다. 따라서, 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 서열번호:1, 7, 12, 13, 18, 27, 31, 34, 35, 39, 46, 50, 53 및 57 중 하나를 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 서열번호:2, 8, 14, 19, 24, 28, 32, 36, 40, 43, 47, 51, 54, 58 및 61 중 하나를 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2를 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 서열번호:3, 9, 15, 20, 29, 33, 37, 41, 48, 52, 55 및 59 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 표 1-3 중 하나에 기술된 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 중에서 독립적으로 선택된 VH CDR1 및/또는 VH CDR2 및/또는 VH CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 서열번호:6, 17, 23, 30, 38, 42, 49, 56 및 60 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 본원에서 기술된 바와 같이, 예를 들어 표 1-3 중 하나에 있는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3 중에서 독립적으로 선택된 VL CDR1 및/또는 VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다.

[0373] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는: (1)(i) 서열번호:1, 27 또는 46, (ii) 서열번호:7, 31 또는 50, (iii) 서열번호:12, 34 또는 53, (iv) 서열번호:13 또는 53, 및 (v) 서열번호:18, 39 또는 57 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) (i) 서열번호:2, 28 또는 47, (ii) 서열번호:8, 32 또는 51, (iii) 서열번호:14, 36 또는 54, (iv) 서열번호:19, 40 또는 58, 및 (v) 서열번호:24, 43 또는 61 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:3, 29 또는 48, (ii) 서열번호:9, 33 또는 52, (iii) 서열번호:15, 37 또는 55, 및 (iv) 서열번호:20, 41 또는 59중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 및/또는 (1) (i) 서열번호:4, (ii) 서열번호:10, (iii) 서열번호:16, 및 (iv) 서열번호:21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (2) (i) 서열번호:5, (ii) 서열번호:11, 및 (iii) 서열번호:22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:6, 30, 또는 49, (ii) 서열번호:17, 38, 또는 56, 및 (iii) 서열번호:23, 42, 또는 60 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0374] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 (1)(i) 서열번호:1, 27 또는 46, (ii) 서열번호:7, 31 또는 50, (iii) 서열번호:12, 34 또는 53, (iv) 서열번호:53, 및 (v) 서열번호:18, 39 또는 57 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) (i) 서열번호:2, 28 또는 47, (ii) 서열번호:8, 32 또는 51, (iii) 서열번호:14, 36 또는 54, (iv) 서열번호:19, 40 또는 58, 및 (v) 서열번호:24, 43 또는 61 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:3, 29 또는 48, (ii) 서열번호:9, 33 또는 52, (iii) 서열번호:15, 37 또는 55, 및 (iv) 서열번호:20, 41 또는 59중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역을 포함한다.

[0375] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 (1) (i) 서열번호:4, (ii) 서열번호:10, (iii) 서열번호:16, 및 (iv) 서열번호:21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (2) (i) 서열번호:5, (ii) 서열번호:11, 및 (iii) 서열번호:22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:6, 30, 또는 49, (ii) 서열번호:17, 38, 또는 56, 및 (iii) 서열번호:23, 42, 또는 60 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0376] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH): (1)(i) 서열번호:1, 27 또는 46, (ii) 서열번호:7, 31 또는 50, (iii) 서열번호:12, 34 또는 53, (iv) 서열번호:53, 및 (v) 서열번호:18, 39 또는 57 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) (i) 서열번호:2, 28 또는 47, (ii) 서열번호:8, 32 또는 51, (iii) 서열번호:14, 36 또는 54, (iv) 서열번호:19, 40 또는 58, 및 (v) 서열번호:24, 43 또는 61 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:3, 29 또는 48, (ii) 서열번호:9, 33 또는 52, (iii) 서열번호:15, 37 또는 55, 및 (iv) 서열번호:20, 41 또는 59 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3; 및/또는 (b) 다음을 포함하는 VL 영역: (1) (i) 서열번호:4, (ii) 서열번호:10, (iii) 서열번호:16, 및 (iv) 서열번호:21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (2) (i) 서열번호:5, (ii) 서열번호:11, 및 (iii) 서열번호:22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:6, 30, 또는 49, (ii) 서열번호:17, 38, 또는 56, 및 (iii) 서열번호:23, 42, 또는 60 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함한다.

[0377] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는 (1)(i) 서열번호:1, 27 또는 46, (ii) 서열번호:7, 31 또는 50, (iii) 서열번호:12, 34 또는 53, (iv) 서열번호:13, 35 또는 53, 및 (v) 서열번호:18, 39 또는 57 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) (i) 서열번호:2, 28 또는 47, (ii) 서열번호:8, 32 또는 51, (iii) 서열번호:14, 36 또는 54, (iv) 서열번호:19, 40 또는 58, 및 (v) 서열번호:24, 43 또는 61 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:3, 29 또는 48, (ii) 서열번호:9, 33 또는 52, (iii) 서열번호:15, 37 또는 55, 및 (iv) 서열번호:20, 41 또는 59 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역을 포함한다.

[0378] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는 (1) (i) 서열번호:4, (ii) 서열번호:10, (iii) 서열번호:16, 및 (iv) 서열번호:21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (2) (i) 서열번호:5, (ii) 서열번호:11, 및 (iii) 서열번호:22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:6, 30, 또는 49, (ii) 서열번호:17, 38, 또는 56, 및 (iii) 서열번호:23, 42, 또는 60 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0379] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는 다음으로부터의 세 개의 중쇄 CDR 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 모두 포함한다: (a) 서열번호:25의 VH 아미노산 서열 및 서열번호:26의 VL 아미노산 서열을 포함하는 mAbA4로 지정된 항체; 또는 (b) 서열번호:44의 VH 아미노산 서열 및 서열번호:45의 VL 아미노산 서열을 포함하는 mAbA15로 지정된 항체; 또는 (c) 서열번호:62의 VH 아미노산 서열 및 서열번호:63의 VL 아미노산 서열을 포함하는 mAbA17로 지정된 항체. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4 항체를 포함하며, 여기서 5T4 항체는 mAbA4로 지정된 항체의 모든 3개의 중쇄 CDR 및/또는 모든 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4 항체를 포함하며, 여기서 5T4 항체는 mAbA15로 지정된 항체의 모든 3개의 중쇄 CDR 및/또는 모든 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4 항체를 포함하며, 여기서 5T4 항체는 mAbA17로 지정된 항체의 모든 3개의 중쇄 CDR 및/또는 모든 3개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0380] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 예를 들어, 표 1-3에서와 같은 본원에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및/또는 (b) 예를 들어, 표 1-3에서와 같은 본원에 기술된 바와 같은 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: 예를 들어, 표 1-3에서와 같은 본원에 기술된 바와 같은 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는 예를 들어, 표 1-3에서와 같은 본원에 기술된 바와 같이 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0381] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함한다.

[0382] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0383] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0384] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (1) 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0385] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0386] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0387] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0388] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:7의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0389] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 서열번호:7의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0390] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16, 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0391] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0392] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0393] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 서열번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0394] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0395] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (1) 서열번호:27의 아미노산

서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0396] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:31의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0397] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 서열번호:31의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0398] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:34의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11, 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0399] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 서열번호:34의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0400] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:35의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11, 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0401] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:35의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0402] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:39의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11, 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0403] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 서열번호:39의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0404] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11, 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0405] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0406] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:50의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11, 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0407] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 서열번호:50의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0408] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:53의 아미노

산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11, 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0409] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 서열번호:53의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0410] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:57의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11, 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0411] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) 서열번호:57의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0412] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:1, 7, 12, 13 및 18 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:2, 8, 14, 19 및 24 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3, 9, 15 및 20 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6, 17 및 23 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0413] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0414] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:7의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:8의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:9의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0415] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0416] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:14의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:15의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0417] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0418] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL

CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0419] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:27, 31, 34, 35 및 39 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:28, 32, 36, 40 및 43 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29, 33, 37 및 41 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30, 38 및 42 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0420] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0421] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:31의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:33의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0422] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:34의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0423] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:35의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:36의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:37의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:38의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0424] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:39의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:40의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:41의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:42의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0425] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:43의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0426] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:13, 46, 50, 53 및 57 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:47, 51, 54, 58 및 61 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48, 52, 55 및 59 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49, 56 및 60 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0427] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL

CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0428] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:50의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:51의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:52의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0429] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:53의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0430] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:54의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:55의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:56의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0431] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:57의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:58의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:59의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:60의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0432] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: (a) (1) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:61의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0433] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는: 서열번호:27, 31, 34, 35 및 39로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함하는 VH 영역; 및 (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; 및 (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0434] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 5T4에 결합하는 항체를 포함하며, 여기서 항체는 본원에서 기술된 VH 영역 및/또는 VL 영역을 포함하고, 여기서 VH 및/또는 VL은 인간 프레임워크 서열을 포함한다. 일부 구현양태에서, VH 영역 및/또는 VL 영역은 프레임워크 1(FR1), 프레임워크 2(FR2), 프레임워크 3(FR3) 및/또는 프레임워크 4(FR4) 서열, 예를 들어 인간 FR1, 인간 FR2, 인간 FR3 및/또는 인간 FR4를 포함한다.

[0435] 일부 구현양태에서, 5T4 항체의 CDR은 카바트 시스템(Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 and, Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)에 의해 결정될 수 있다.

[0436] 일부 구현양태에서, 5T4 항체의 CDR은 코티아 시스템에 의해 결정될 수 있으며, 이는 본원에서 "코티아 CDR"로 지칭된다(Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol., 196:901-917; Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948; Chothia et al., 1992, J. Mol. Biol., 227:799-817; Tramontano A. et al., 1990, J. Mol. Biol. 215(1):175-82; and U.S. Patent No. 7,709,226 참조).

[0437] 일부 구현양태에서, 5T4 항체의 CDR은 ImMunoGeneTics(IMGT®) 시스템에 의해 결정될 수 있으며, 예를 들어 문헌에 기술된 바와 같다(Lefranc, M.-P., 1999, The Immunologist, 7:132-136 and Lefranc, M.-P. et al., 1999, Nucleic Acids Res., 27:209-212 ("IMGT® CDRs")).

[0438] 일부 구현양태에서, 5T4 항체의 CDR은 AbM 시스템에 의해 결정될 수 있으며, 이는 본원에서 "AbM CDR"로 지칭되며, 예를 들어 문헌에 기술된 바와 같다(MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745; 및 Martin, A., "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)).

[0439] 일부 구현양태에서, 5T4 항체의 CDR은 콘택트(Contact) 시스템에 의해 결정될 수 있으며, 이는 본원에서 "콘택트 CDR"로 지칭된다(MacCallum RM et al., 1996, J Mol Biol 5: 732-745 참조). 콘택트 CDR은 이용 가능한 컴플렉스 결정 구조의 분석을 기반으로 한다.

[0440] 일부 구현양태에서, 5T4 항체의 VH(예를 들어, CDR1, CDR2 또는 CDR3) 및/또는 VL(예를 들어, CDR1, CDR2 또는 CDR3) 영역을 따라 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3)의 CDR의 위치는, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)와의 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다), 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 위치만큼 달라질 수 있다. 예를 들어, 일부 구현양태에서 표 1, 2 또는 3의 CDR을 정의하는 위치는, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)와의 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다), 현재 CDR 위치에 비해 CDR의 N 말단 및/또는 C 말단 경계를 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개 아미노산만큼 이동시킴으로써 달라질 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 구현양태에서, 본원에서 기술되는 5T4 항체(예를 들어, 인간 5T4 항체)의 VH(예를 들어, CDR1, CDR2 또는 CDR3) 및/또는 VL(예를 들어, CDR1, CDR2 또는 CDR3) 영역을 따라 있는 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3)의 CDR의 길이는, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)와의 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다), 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 아미노산만큼 달라질 수 있다(예를 들어, 더 짧거나 더 길 수 있다). 예를 들어, 일부 구현양태에서, VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3은, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)와의 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다), 서열번호:1-24, 27-43 또는 46-61에 의해 기술된 하나 이상의 CDR보다 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 아미노산이 더 짧을 수 있다. 다른 구현양태에서, VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3은, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)와의 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다), 서열번호:1-24, 27-43 또는 46-61에 의해 기술된 하나 이상의 CDR보다 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상의 아미노산 더 길 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 구현양태에서, VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3의 아미노 말단은, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)와의 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다), 서열번호:1-24, 27-43 또는 46-61에 의해 기술된 하나 이상의 CDR과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상의 아미노산만큼 연장될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 구현양태에서, VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3의 카복시 말단은, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)와의 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다), 서열번호:1-24, 27-43 또는 46-61에 의해 기술된 하나 이상의 CDR과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상의 아미노산만큼 연장될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 구현양태에서, VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3의 아미노 말단은, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)와의 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다), 서열번호:1-24, 27-43 또는 46-61에 의해 기술된 하나 이상의 CDR과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상의 아미노산만큼 단축될 수 있다. 일부 구현양태에서, VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3의 카복시 말단은, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)와의 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다), 서열번호:1-24, 27-43 또는 46-61에 의해 기술된 하나 이상의 CDR과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상의 아미노산만큼 단축될 수 있다. 당업계에 알려진 임의의 방법을 사용하여 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합이 유지되는지 확인할 수 있으며, 예를 들어, 본원에서 기술된 "실시예" 섹션에 기술된 결합 검정 및 조건을 사용할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기술된 실시예 2는 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합을 측정하기 위한 검정법을 기술한다.

[0441] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 그 이상)의 보존적 서열 변형을 포함하는 5T4 항체를 포함할 수 있다. 인간 5T4 항체와 같은 5T4 항체인 폴리펩타이드와 관련하여, 보존적 서열 변형에는 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 보존적 아미노산 치환이 포함된다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 계열은 당해 기술 분야에서 정의되어 있다. 이러한 계열은 본원에 개시되어 있다. 따

라서 일부 구현양태에서, 5T4 항체에서 예측된 비필수 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 계열의 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 항원 결합 및 이를 코딩하는 뉴클레오타이드를 제거하지 않는 아미노산 보존적 치환을 식별하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다(Brummell et al., Biochem. 32:1180-1187 (1993); Kobayashi et al. Protein Eng. 12(10):879-884 (1999); 및 Burks et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:412-417 (1997) 참조). 일부 구현양태에서, 본원에서 기술하는 보존적 서열 변형은 5T4 항체(예를 들어, 인간 5T4 항체)의 아미노산 서열을 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 변형한다. 일부 구현양태에서, 아미노산 서열 변형은 CDR에 대한 최대 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환을 말하며, 예를 들어 표 1-3 중 하나에 기술된 것과 같다. 따라서, 예를 들어, 이러한 각 CDR은 최대 5개의 보존적 아미노산 치환, 예를 들어 최대 4개의 보존적 아미노산 치환, 최대 3개의 보존적 아미노산 또는 최대 2개의 보존적 아미노산 치환, 또는 최대 1개의 보존적 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 mAbA4, mAbA15 또는 mAbA17의 CDR(예를 들어, 표 1, 2 또는 3 참조)과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR)을 포함하는 5T4 항체를 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 mAbA4, mAbA15 또는 mAbA17의 CDR(예를 들어, 표 1, 2 또는 3 참조)과 동일한 CDR을 포함하는 VH 및 VL을 함유하는 5T4 항체를 포함한다. 일부 구현양태에서, 아미노산 서열 변형은 특이성 결정 잔기(SDR) 내의 어떠한 변형도 포함하지 않는다. 일부 구현양태에서, 아미노산 서열 변형은 CDR(예를 들어, CDR1, CDR2, CDR3 또는 이들의 조합) 내의 어떠한 변형도 포함하지 않는다. 추가 구현양태에서, 아미노산 서열 변형은 프레임워크 또는 불변 영역에 있다.

[0442] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC의 항체는 서열번호:25와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와 서열번호:26과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 항체의 결합은 유지된다(예를 들어, 실질적으로 유지되고, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다).

[0443] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC의 항체는 서열번호:44와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와 서열번호:45와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 항체의 결합은 유지된다(예를 들어, 실질적으로 유지되고, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지된다).

[0444] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC의 항체는 서열번호:62와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와 서열번호:63과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 항체의 5T4(예를 들어, 인간 5T4) 결합은 유지된다(예를 들어, 실질적으로 유지되고, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 유지된다).

[0445] 또한, 본원에 개시된 바와 같은 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 항체 단편) 또는 융합 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산, 이에 상보적인 핵산, 본원에 개시된 바와 같은 핵산을 포함하는 벡터, 본원에 개시된 바와 같은 핵산 또는 벡터를 포함하는 세포가 제공된다. 일부 구현양태에서, 세포는 5T4 결합제를 발현한다. 일부 구현양태에서, 세포는 핵산 또는 벡터를 복제한다. 일부 구현양태에서, ADC 제조에 유용한 인간 5T4 항체를 포함한 5T4 항체를 생성하기 위한 재료가 추가로 제공된다. 이와 관련하여, 세포(예를 들어, 분리된 세포)는 본원에 기술된 바와 같은 VH 및 VL을 포함하는 항체를 생산할 수 있다. 일부 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 5T4 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 하나 이상의 핵산 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 분리되고/되거나 재조합된 폴리뉴클레오타이드이다. 일부 구현양태에서, 분리된 폴리뉴클레오타이드는 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및/또는 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 여기서 VH 및 VL은 본원에서 기술한 CDR과 동일한 CDR을 포함한다.

[0446] 일부 구현양태에서, 하나 이상의 벡터(예를 들어, 발현 벡터)는 적합한 숙주 세포에서 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 발현하기 위한 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 이러한 벡터는, 예를 들어 숙주 세포에서 폴리뉴클레오타이드를 증폭하여 유용한 양을 생성하고, 재조합 기술을 사용하여 항체 또는 항체 단편과 같은 결합제를 발현하는 데 유용하다.

[0447] 일부 구현양태에서, 하나 이상의 벡터는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드가 발현 제어 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드에 작동적으로 연결된 발현 벡터이다. 플라스미드 및 바이러스 DNA 벡터와 같이 5T4에

결합하는 항체 서열을 코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 통합하는 자율 복제 재조합 발현 구성물이 구체적으로 고려된다. 발현 제어 DNA 서열에는 프로모터, 인핸서 및 오퍼레이터가 포함되며 일반적으로 발현 구성물이 활용될 발현 시스템에 따라 선택된다. 프로모터 및 인핸서 서열은 일반적으로 유전자 발현을 증가시키는 능력에 따라 선택되고, 오퍼레이터 서열은 일반적으로 유전자 발현을 조절하는 능력에 따라 선택된다. 발현 구성물에는 또한 구성물을 보유하는 숙주 세포의 식별을 허용하는 하나 이상의 선택 가능한 마커를 코딩하는 서열 포함될 수 있다. 발현 구성물에는 또한 숙주 세포에서 상동 재조합을 용이하게 하는, 예를 들어 촉진하는 서열이 포함될 수 있다. 일부 구현양태에서, 발현 구성물에는 또한 숙주 세포에서 복제에 필요한 서열이 포함된다.

[0448] 일부 구현양태에서, 발현 제어 서열은 포유류 세포에서 발현을 위해 프로모터/인핸서 서열, 예를 들어, 거대세포바이러스 프로모터/인핸서(Lehner et al., *J. Clin. Microbiol.*, 29: 2494-2502, 1991; Boshart et al., *Cell*, 41: 521-530, 1985); 루스(Rous) 육종 바이러스 프로모터(Davis et al., *Hum. Gene Ther.*, 4: 151, 1993); 타이(Tie) 프로모터(Korhonen et al., *Blood*, 86(5): 1828-1835, 1995); 유인원 바이러스 40 프로모터; DRA(선종에서 하향조절됨; Alrefai et al., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 293: G923-G934, 2007); MCT1(모노카복실레이트 수송체 1; Cuff et al., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, G977-G979. 2005); 및 Math1(마우스 아토날 동족체 1; Shroyer et al., *Gastroenterology*, 132: 2477-2478, 2007)을 포함할 수 있으며, 프로모터는 폴리펩타이드 코딩 서열의 업스트림(예를 들어, 5')에 작동적으로 연결된다. 일부 구현양태에서, 프로모터는 상피-특이적 프로모터 또는 내피-특이적 프로모터일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한 폴리펩타이드 코딩 서열의 다운스트림(예를 들어, 3')에 작동적으로 연결된 적합한 폴리아데닐화 서열(예를 들어, SV40 또는 인간 성장 호르몬 유전자 폴리아데닐화 서열)을 임의로 포함할 수 있다.

[0449] 임의의 구현양태에서, 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드는 임의로 폴리펩타이드 서열과 프레임 내에서 융합된 하나 이상의 분비 신호 펩타이드를 코딩하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함할 수 있다. 하나 이상의 분비 신호 펩타이드는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 발현하는 세포에 의한 항체 폴리펩타이드의 분비를 지시할 수 있으며, 분비된 폴리펩타이드로부터 세포에 의해 절단될 수 있다. 임의의 구현양태에서, 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드는 임의로 벡터의 대량 생산을 용이하게 하는 것이 유일한 의도된 기능인 하나 이상의 서열을 추가로 포함할 수 있다.

[0450] 발현 벡터는, 예를 들어 문헌에 기술된 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 제조할 수 있다(Sambrook et al., *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*, 2d edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); 및 Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, New York, N.Y. (1994)). 임의로, 바이러스 벡터는, 예를 들어 바이러스 복제에 필요한 특정 유전자를 삭제하거나 파괴하여 복제 결핍 상태로 만든다.

[0451] 세포는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 및/또는 하나 이상의 벡터를 포함할 수 있다. 예를 들어, 임의의 구현양태에서 세포는 5T4 항체(예를 들어, 인간 5T4 항체)를 코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 5T4 항체(예를 들어, 인간 5T4 항체)를 코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 하나 이상의 벡터로 형질전환되거나 형질감염될 수 있다. 일부 구현양태에서, 세포는 본원에서 기술된 CDR, 예를 들어 mAbA4, mAbA15 및/또는 mAbA17(예를 들어, 표 1, 2 및/또는 3 참조)과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개)의 CDR을 함유하는 5T4 항체(예를 들어, 인간 5T4 항체)를 발현할 수 있다. 일부 구현양태에서, 세포는 본원에서 기술된 바와 같은 mAbA4, mAbA15 및/또는 mAbA17(예를 들어, 표 1, 2 및/또는 3 참조)의 CDR과 동일한 VH 영역 및 VL 영역을 함유하는 5T4 항체(예를 들어, 인간 5T4 항체)를 발현할 수 있다. 본원에 기술된 5T4 항체를 생성하기에 적합한 세포에는 *대장균*(Pluckthun et al., *Methods Enzymol.*, 178: 497-515, 1989 참조)과 같은 원핵 세포, 동물 세포(예를 들어, 골수종 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 하이브리도마 세포), 효모(예를 들어, *사카로미세스 세레비시아에*) 또는 식물 세포(예를 들어, 담배, 옥수수, 대두 또는 벼 세포)와 같은 진핵 세포가 포함된다. 포유류 숙주 세포를 사용하면 재조합 발현 생성물에 최적의 생물학적 활성을 부여하는 데 바람직할 수 있는 번역 변형(예를 들어, 글리코실화, 절단, 지질화 및 인산화)을 제공할 수 있다. 마찬가지로, 임의의 구현양태에서, 폴리펩타이드(예를 들어, 인간 5T4 항체 포함하여 5T4 항체)는 글리코실화되거나 비-글리코실화될 수 있고/있거나 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜과 같은 하나 이상의 수용성 중합체 부착을 포함하도록 공유 결합으로 변형될 수 있다.

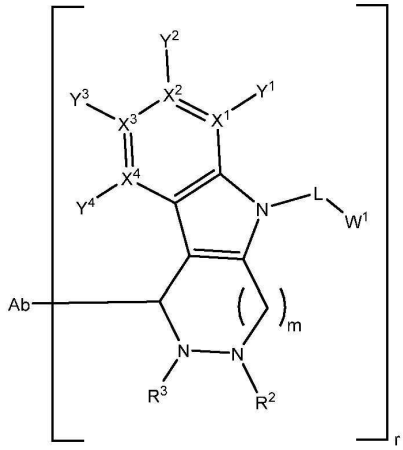
[0452] 숙주 세포에 DNA 또는 RNA를 도입하는 방법은 잘 알려져 있으며, 이에 제한되지는 않지만, 형질전환, 형질감염, 전기천공, 핵 주입 및 리포좀, 미셀, 고스트 세포 및 원형질체와 같은 담체와의 융합을 포함한다. 이러한 숙주 세포는 폴리뉴클레오타이드를 증폭하고 폴리뉴클레오타이드에 의해 코딩된 폴리펩타이드를 발현하는 데 유용하

다. 이와 관련하여, 5T4 항체를 생산하는 공정은 본원에서 기술하는 바와 같이 5T4 항체를 코딩하는 RNA 또는 DNA를 숙주 세포에 도입하고, 숙주 세포를 배양하고, 이렇게 생성된 5T4 항체를 분리하는 것을 포함할 수 있다.

[0453] 폴리뉴클레오타이드로부터 항체를 생산하는 다양한 방법은 일반적으로 잘 알려져 있다. 예를 들어, 기본적인 분자생물학 과정은 문헌에 기술되어 있다: Maniatis et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1989; Maniatis et al, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 2001. 또한, 수많은 출판물에서 DNA 조작, 발현 벡터 생성, 적절한 세포의 형질전환 및 배양을 통한 항체 제조에 적합한 기술을 설명한다(Mountain and Adair, Chapter 1 in *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, Tombs ed., Intercept, Andover, UK, 1992); *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel ed., Wiley Interscience, New York, 1999).

[0454] 5T4-ADCS

[0455] 5T4와 약물에 결합하는 항체는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 통해 직접 또는 간접적으로 서로 연결되어 본원에서 기술된 바와 같이 5T4-ADC를 형성할 수 있다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV)로 표현될 수 있다:




(IV)

[0456]

[0457] 여기서:

[0458] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0459] r은 1-10의 정수이고;

[0460] m은 0 또는 1이고;

[0461] $R^2$ 및 $R^3$는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R^2$ 및 $R^3$는 고리적으로 연결되어 5- 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0462] $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$는 각각 독립적으로 C, N, O 또는 S이고;

[0463] $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 및 $Y^4$는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나, $Y^1$과 $Y^2$, $Y^2$와 $Y^3$ 또는 $Y^3$과 $Y^4$는 고리적으로 연결되고;

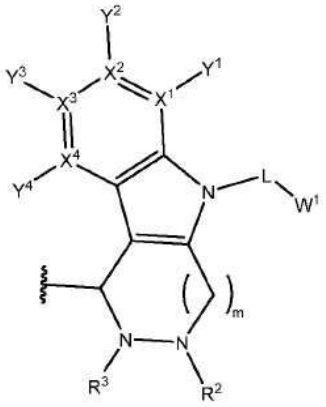
[0464] L은 본원에 기술된 링커이고;

[0465] $W^1$은 약물이다.

[0466] 식 (IV)는 WO 2015/081282에 이전에 기술되었으며, 이는 본원에 참조로 전체적으로 포함된다.

[0467] 일부 구현양태에서, m은 0 또는 1이고, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 알킬이다. 예를 들어, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_{10}$ 알킬(예를 들어, $C_1$-$C_6$ 알킬)일 수 있다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소부틸 또는 t-부틸이다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$ 중 적어도 하나는 메틸이다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$은 둘 다 메틸이다. 일부 구현양태에서, $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$은 각각 독립적으로 C 또는 N이다. 일부 구현양태에서, $X^1$은 C이다. 일부 구현양태에서, $X^1$은 N이다. 일부 구현양태에서, $X^2$는 C 또는 N이다. 일부 구현양태에서, $X^2$는 C이다. 일부 구현양태에서, $X^3$은 C 또는 N이다. 일부 구현양태에서, $X^3$은 C이다. 일부 구현양태에서, $X^4$는 C 또는 N이다. 일부 구현양태에서, $X^4$는 C이다. $X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$의 다양한 조합이 가능한다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, $X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$ 각각은 C이다. 다른 구현양태에서, $X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$ 중 세 개는 C이고 $X^1$, $X^2$, $X^3$ 및 $X^4$ 중 하나는 N이다. 일부 구현양태에서, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$ 각각은 수소이다.

[0468] 식(IV)의 5T4-ADC의 맥락에서, 식(IV)의 링커-약물은 아래 식(XIV)으로 표현될 수 있다:

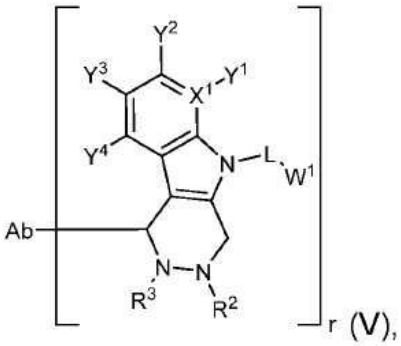


(XIV),

[0469]

[0470] 여기서 ..... 는 5T4에 결합하는 항체에 대한 부착 지점을 나타내는데, 예를 들어 서열번호:93, 97 또는 101의 잔기 n이다. 식 (XIV)의 링커-약물의 모든 다른 변수는 식 (IV)의 경우와 같이 본원에 정의된 대로 및/또는 본원에 기술된 대로일 수 있다.

[0471] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (V)로 표현될 수 있다:



(V),

[0472]

[0473] 여기서:

[0474] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0475] r은 1-10의 정수이고;

[0476] $R^2$ 및 $R^3$는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R^2$ 및 $R^3$는 고리적으로 연결되어 5- 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0477] $X^1$은 C 또는 N이고;

[0478] $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 및 $Y^4$는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나, $Y^1$과 $Y^2$, $Y^2$와 $Y^3$ 또는 $Y^3$과 $Y^4$는 고리적으로 연결되고;

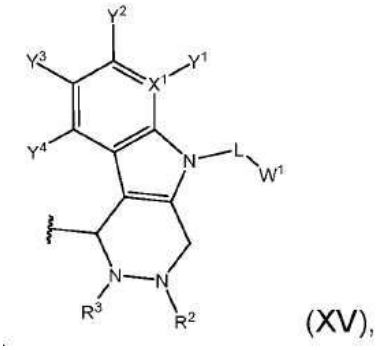
[0479] L은 본원에 기술된 링커이고;

[0480] $W^1$은 약물이다.

[0481] 식 (V)는 WO 2015/081282에 이전에 기술되었으며, 이는 본원에 참조로 전체적으로 포함된다.

[0482] 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 알킬이다. 예를 들어, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_{10}$ 알킬(예를 들어, $C_1$-$C_6$ 알킬)일 수 있다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소부틸 또는 t-부틸이다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$ 중 적어도 하나는 메틸이다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$은 둘 다 메틸이다. 일부 구현양태에서, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 및 $Y^4$는 각각 수소이다.

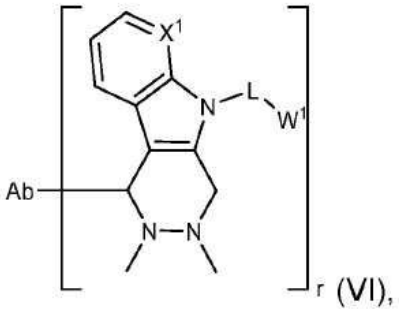
[0483] 식 (V)의 5T4-ADC의 맥락에서, 식 (V)의 링커-약물은 하기 식 (XV)로 표현될 수 있다:

[0484] 

(XV),

[0485] 여기서 ..... 는 5T4에 결합하는 항체에 대한 부착 지점을 나타내는데, 예를 들어 서열번호:93, 97 또는 101의 잔기 n이다. 식 (XV)의 링커-약물의 모든 다른 변수는 식 (V)의 경우와 같이 본원에 정의된 대로 및/또는 본원에 기술된 대로일 수 있다.

[0486] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI)로 표현될 수 있다:



[0487] (VI),

[0488] 여기서:

[0489] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0490] r은 1-10의 정수이고;

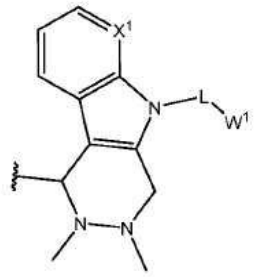
[0491] $X^1$은 C 또는 N이고;

[0492] L은 본원에 기술된 링커이고;

[0493] $W^1$은 약물이다.

[0494] 식 (IV)는 WO 2015/081282에 이전에 설명되었으며, 이는 본원에 전체적으로 참조로 포함된다.

[0495] 식 (VI)의 5T4-ADC의 맥락에서, 식 (VI)의 링커-약물은 아래 식 (XVI)로 표현될 수 있다:



[0496] (XVI),

[0497] 여기서 ..... 는 5T4에 결합하는 항체에 대한 부착 지점을 나타내는데, 예를 들어 서열번호:93, 97 또는 101의 잔기 n이다. 식 (XVI)의 링커-약물의 모든 다른 변수는 식 (VI) 및/또는 본원에 기술된 바와 같이 본원에 정의된 대로 될 수 있다.

[0498] **링커**

[0499] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 본원에 기술된 바와 같이 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 약물에 연결하는 링커(L) 모이어티를 포함할 수 있다. 임의의 구현양태에서, 링커 L은 다음 구조로 표현될 수 있다:

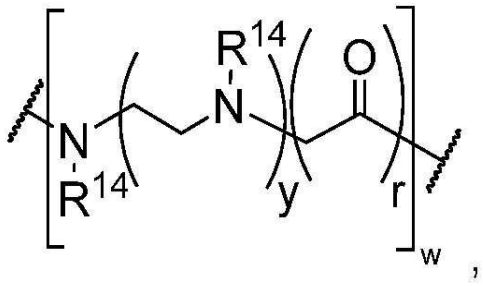
[0500] $$-(T^1V^1)_a-(T^2V^2)_b-(T^3V^3)_c-(T^4V^4)_d-(T^5V^5)_e-,$$

[0501] 여기서 a, b, c, d 및 e는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, a, b, c, d 및 e의 합은 1-5이다. 일부 구현양태에서, a, b, c, d 및 e의 합은 3이다. 일부 구현양태에서, a, b, c, d 및 e의 합은 5이다.

[0502] 링커 L에서, $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$는 각각 독립적으로 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 치환된 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_h-$, 피페리딘-4-아민(P4A), 메타-아미노벤질 카바메이트(MABC) 기, 메타-아미노벤질옥시(MABO) 기, 파라-아미노벤질옥시(PABO) 기, 파라-아미노벤질 카바메이트(PABC) 기, 파라-아미노벤질(PAB) 기, 아세탈, 디설파이드, 하이드라진, 프로테아제-절단가능한 모이어티, 글루쿠로니다제 절단가능한 모이어티, 베타-락타마제 절단가능한 모이어티, 에스테르, $(AA)_p$-MABC-$(AA)_p$, $(AA)_p$-MABO-$(AA)_p$, $(AA)_p$-PABO-$(AA)_p$, 또는

$(AA)_p$-PABC-$(AA)_p$이고, 여기서 w는 1-20의 정수이고, n은 1-30의 정수이고, 각 p는 독립적으로 0 또는 1-20의 정수이고, h는 1-12의 정수이고, 각 $R^{13}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 또는 치환된 아릴이다.

[0503] 본원에서 사용되는 "$(EDA)_w$"는 다음 구조를 갖는 에틸렌 디아민 모이어티이다:

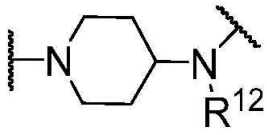


,

[0504]

[0505] 여기서 y는 1-6의 정수이고, r은 0 또는 1이고, w는 1-20의 정수이고, 각 $R^{14}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, PEG, 아릴 또는 치환된 아릴이고, 임의의 두 개의 인접한 $R^{14}$ 기는 고리적으로 연결되어 피페라지닐 고리를 형성할 수 있으며, 각각의 〰 은 인접한 화학적 모이어티에 대한 임의의 방향의 부착점을 나타낸다.

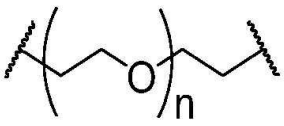
[0506] 피페리딘-4-아민 모이어티는 임의로 하나 이상의 위치에서 임의의 치환기, 예를 들어 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아실, 치환된 아실, 아릴 또는 치환된 아릴로 치환될 수 있다. 따라서, 본원에서 사용되는 바와 같이, 본원에서 사용되는 피페리딘-4-아민은 다음 구조에 해당하는 용어 "P4A-$R^{12}$"로 기술될 수 있다:



[0507]

[0508] 여기서 $R^{12}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜), 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이며, 각각의 〰 은 인접한 화학적 모이어티에 대한 임의의 방향의 부착 지점을 나타낸다.

[0509] 본원에서 사용되는 바와 같이, $(PEG)_n$은 다음 구조를 갖는 폴리에틸렌 글리콜이다:



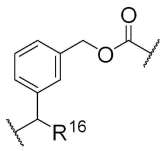
,

[0510]

[0511] 여기서 n은 1-50, 예를 들어 1-40, 1-30, 1-20, 1-12 또는 1-6, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20의 정수이며, 각각의 〰 은 인접한 화학적 모이어티에 대한 모든 방향의 부착 지점을 나타낸다.

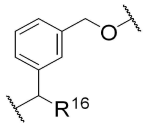
[0512] 본원에서 사용되는 "AA"는 본원에서 기술된 아미노산을 지칭하며, 본원에는 자연적으로 발생하는 아미노산, 자연적으로 발생하는 아미노산 유사체, 자연적으로 발생하는 아미노산의 거울상 이성질체 및 비-자연적으로 발생하는 아미노산이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. $(AA)_p$에서 각 아미노산 잔기는 본원에 기술된 것 중에서 독립적으로 선택될 수 있으며, p는 1-50, 예를 들어 1-40, 1-30, 1-20, 1-12 또는 1-6, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20일 수 있다.

[0513] 본원에 사용된 MABC 기는 용어 "MABC-$R^{16}$" 및 다음 구조로 설명될 수 있다:

[0514] 

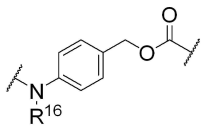
.

[0515] 본원에서 사용되는 MABO 기는 용어 "MABO-$R^{16}$" 및 다음 구조로 설명될 수 있다:

[0516] 

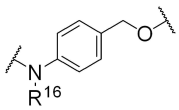
.

[0517] 본원에서 사용되는 PABC 기는 용어 "PABC-$R^{16}$" 및 다음 구조로 설명될 수 있다:

[0518] 

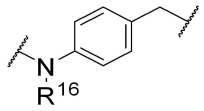
.

[0519] 본원에서 사용되는 PABO 기는 용어 "PABO-$R^{16}$" 및 다음 구조로 설명될 수 있다:

[0520] 

.

[0521] 본원에서 사용되는 바와 같이, 파라-아미노벤질(PAB) 기은 용어 "PAB-$R^{16}$" 및 다음 구조로 설명될 수 있다:

[0522] 

.

[0523] MABC-$R^{16}$, MABO-$R^{16}$, PABC-$R^{16}$, PABO-$R^{16}$ 및 PAB-$R^{16}$에서 각각의 〰 은 인접한 화학적 모이어티에 대한 임의의 방향의 부착 지점을 나타내고, $R^{16}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

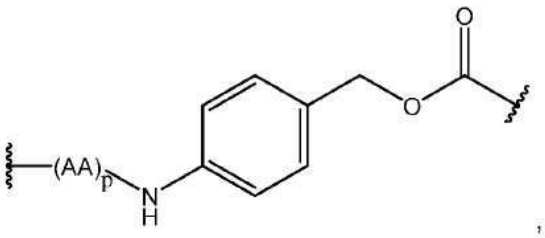
[0524] 일부 구현양태에서, $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$ 중 하나 이상은 $C_1$-$C_6$ 알킬이다. 일부 구현양태에서, $T^1$은 독립적으로 $C_1$-$C_6$ 알킬이다. 일부 구현양태에서, $T^1$은 에틸이다. 일부 구현양태에서, $T^1$ 및 $T^3$ 각각은 $C_1$-$C_6$ 알킬이다. 일부 구현양태에서, $T^1$ 및 $T^3$ 각각은 에틸이다.

[0525] 일부 구현양태에서, $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$ 중 하나 이상은 P4A-$R^{12}$이다. 일부 구현양태에서, 각 $R^{12}$는 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다. 일부 구현양태에서, 각 $R^{12}$는 독립적으로 카복실산-변형된 폴리에틸렌 글리콜이다. 일부 구현양태에서, $T^2$는 P4A-$R^{12}$이고, 여기서 $R^{12}$는 카복실산-변형된 폴리에틸렌 글리콜이다.

[0526] 일부 구현양태에서, $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$ 중 하나 이상은 $(PEG)_n$이다. 일부 구현양태에서, n은 2이다. 일부 구현양태에서, $T^3$은 $(PEG)_n$이고, 여기서 n은 2이다.

[0527] 일부 구현양태에서, $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$ 중 하나 이상은 $(AA)_p$이다. 일부 구현양태에서, p는 1이다. 일부 구현양태에서, $T^2$는 $(AA)_p$이고, 여기서 p는 1이다. 일부 구현양태에서, $(AA)_p$의 AA는 극성 비전하 측쇄(예를 들어, 세린, 트레오닌, 아스파라긴 또는 글루타민)를 갖는 아미노산이다. 일부 구현양태에서, $(AA)_p$의 AA는 글루타민이다.

[0528] 일부 구현양태에서, $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$ 중 하나 이상은 $(AA)_p$-(PABC-$R^{16}$)-$(AA)_p$이다. 일부 구현양태에서, $R^{16}$은 수소이다. 일부 구현양태에서, p는 0이다. 일부 구현양태에서, $R^{16}$은 수소이고, p는 0이다. 따라서 일부 구현양태에서, $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$ 중 하나 이상은 다음 구조로 기술되는 AA-PABC이다:

[0529] 


[0530] 여기서 각각의 〰 은 링커에서 인접한 화학적 모이어티에 대한 임의의 방향의 부착점을 나타낸다.

[0531] 일부 구현양태에서, AA-PABC의 p는 2이다. 일부 구현양태에서, $T^4$는 AA-PABC이고, 여기서 p는 2이다. 일부 구현양태에서, $(AA)_2$의 두 아미노산은 발린 및 시트룰린이다.

[0532] 링커 L의 $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, 및 $V^5$는 각각 독립적으로 공유 결합, 아미노, 카보닐, 아미도, 옥시카보닐, 카복시, 설포닐, 설폭사이드, 설포닐아미노, 아미노설포닐, 티오, 옥시, 포스포, 포스포라미데이트 또는 티오포스포라데이트일 수 있다. 일부 구현양태에서, $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, 및 $V^5$는 각각 독립적으로 공유 결합, -C(=O)-, -$NR^{11}$-, -C(=O)$NR^{11}$-, -$NR^{11}$C(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)-, -O-, -S-, -S(=O)-, -$SO_2$-, -$SO_2NR^{11}$-, -$NR^{11}SO_2$-, 및 -P(=O)OH-이며, 여기서 $R^{11}$은 수소, 알킬, 치환된 알킬, PEG, 아릴 또는 치환된 아릴이다. 일부 구현양태에서, $V^1$, $V^2$ 및 $V^3$은 독립적으로 C(=O) 또는 -$NR^{11}$-이며, 여기서 $R^{11}$은 독립적으로 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이다.

[0533] 일부 구현양태에서, 링커 L은 다음 구조로 표현될 수 있다:

[0534] $$-(T^1V^1)_a-(T^2V^2)_b-(T^3V^3)_c-(T^4V^4)_d-(T^5V^5)_e-,$$

[0535] 여기서:

[0536] a, b, c, d 및 e는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, a, b, c, d 및 e의 합은 1-5이고;

[0537] $T^1$은 $C_1$-$C_6$ 알킬이고;

[0538] $T^2$, $T^3$, $T^4$, 및 $T^5$는 각각 독립적으로 $(PEG)_n$, $C_1$-$C_6$ 알킬, $(AA)_p$, P4A-$R^{12}$, $(AA)_p$-(PABO-$R^{16}$)-$(AA)_p$, $(AA)_p$-(PABC-$R^{16}$)-$(AA)_p$, $(AA)_p$-(PABO-$R^{16}$), 또는 $(AA)_p$-(PABC-$R^{16}$)이고;

[0539] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, 및 $V^5$는 각각 독립적으로 공유 결합, -CO- 또는 -$NR^{11}$이고;

[0540] 각 $R^{11}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜, 아릴 또는 치환된 아릴이고;

[0541] 각 $R^{12}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬 또는 변형되거나 변형되지 않은 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이고;

[0542] $R^{16}$은 수소이고;

[0543] n은 1-30의 정수이고;

[0544] p는 1-20의 정수이다.

[0545] 일부 구현양태에서, $R^{12}$는 $(PEG)_n$이다. 일부 구현양태에서, $R^{12}$는 카복실산으로 말단 변형된 $(PEG)_n$이다. 일부 구현양태에서, $R^{11}$은 수소 또는 $C_1$-$C_{12}$ 알킬이다. 일부 구현양태에서, p는 1이다. 일부 구현양태에서, p는 2이다. 일부 구현양태에서, p는 링커의 한 위치에서 1이고 p는 링커의 다른 위치에서 2이다. 일부 구현양태에서, n은 1-5의 정수이다. 일부 구현양태에서, n은 2이다.

[0546] **비-절단가능한 링커**

[0547] 일부 구현양태에서, 링커 L은 다음 구조로 표현될 수 있다:

[0548] $(T^1V^1)_a$-$(T^2V^2)_b$-$(T^3V^3)_c$-$(T^4V^4)_d$-$(T^5V^5)_e$-,

[0549] 여기서:

[0550] a, b, c, d 및 e는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, a, b, c, d 및 e의 합은 1-5이고;

[0551] $T^1$은 $C_1$-$C_6$ 알킬이고;

[0552] $T^2$ 및 $T^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_6$ 알킬 또는 P4A-$R^{12}$이고;

[0553] $T^4$ 및 $T^5$는 각각 독립적으로 $(PEG)_n$, $C_1$-$C_6$ 알킬, $(AA)_p$, P4A-$R^{12}$, $(AA)_p$-(PABO-$R^{16}$)-$(AA)_p$, $(AA)_p$-(PABC-$R^{16}$)-$(AA)_p$, $(AA)_p$-(PABO-$R^{16}$), 또는 $(AA)_p$-(PABC-$R^{16}$)이고;

[0554] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, 및 $V^5$는 각각 독립적으로 공유 결합, -CO- 또는 -$NR^{11}$이고;

[0555] 각 $R^{11}$은 독립적으로 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이고; 그리고

[0556] 각 $R^{12}$는 독립적으로 변형되거나 변형되지 않은 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다.

[0557] 일부 구현양태에서, $T^1$ 및 $T^3$ 각각은 독립적으로 $C_1$-$C_6$ 알킬, 예를 들어 독립적으로 메틸, 에틸 또는 프로필이다. 일부 구현양태에서, $T^1$ 및 $T^3$ 각각은 에틸이다. 일부 구현양태에서, $T^2$는 P4A-$R^{12}$이고, 여기서 $R^{12}$는 변형되거나 변형되지 않은 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다. 일부 구현양태에서, d 및 e는 0이다.

[0558] 일부 구현양태에서, 링커 L은 다음 구조로 표현될 수 있다:

[0559] -($C_1$-$C_6$ 알킬 )-($V^1$)-(P4A-$R^{12}$)-($V^2$)-($C_1$-$C_6$ 알킬 )-($V^3$)-,

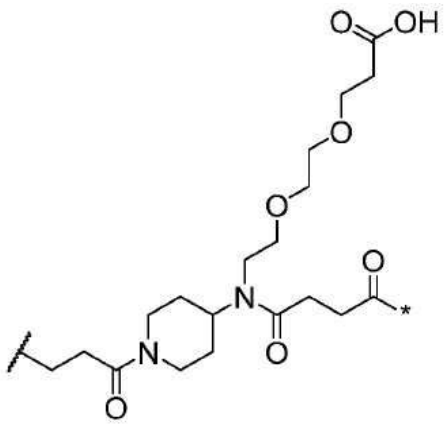
[0560] 여기서:

[0561] $V^1$, $V^2$ 및 $V^3$은 각각 독립적으로 -CO- 또는 -$NR^{11}$이고;

[0562] 각 $R^{11}$은 독립적으로 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이고; 그리고

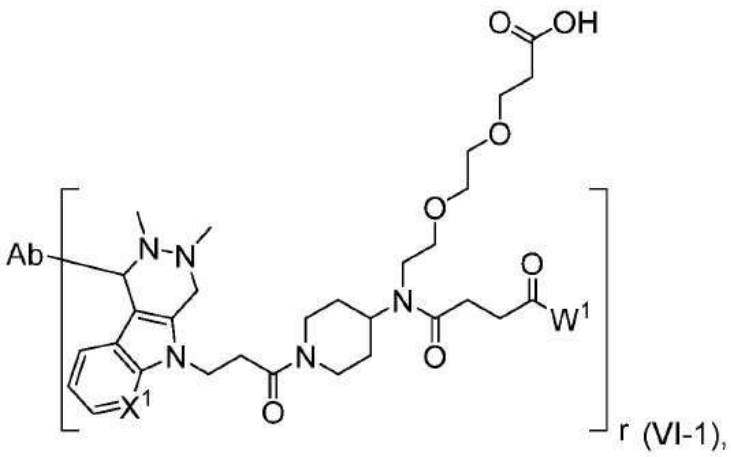
[0563] 각 $R^{12}$는 독립적으로 카복실산-변형 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다.

[0564] 일부 구현양태에서, 링커 L은 링커(L-1)이다:

[0565] 
(L-1),

[0566] 여기서 ..... 는 본원에 기술된 바와 같이 피리다진-피롤로 커플링 모이어티의 질소에 대한 부착 지점을 나타내고, *는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0567] 따라서 일부 구현양태에서 5T4-ADC는 식 (VI-1)로 표현될 수 있다:

[0568] 
r (VI-1),

[0569] 여기서:

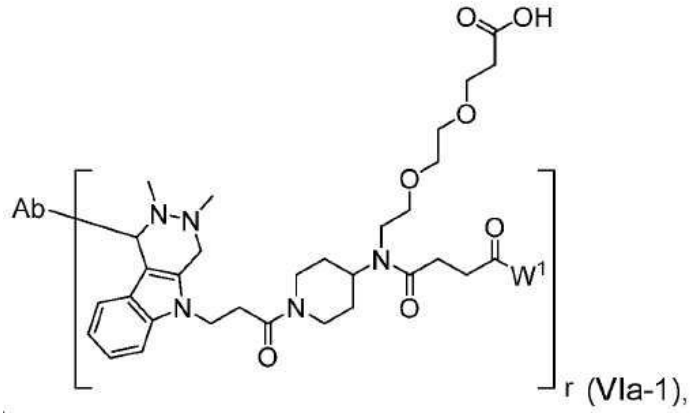
[0570] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0571] r은 1-10의 정수이고;

[0572] $W^1$은 약물이다.

[0573] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0574] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 C인 식 (VI-1)로 표현될 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VIa-1)로 표현될 수 있다:

[0575] 


[0576] 여기서:

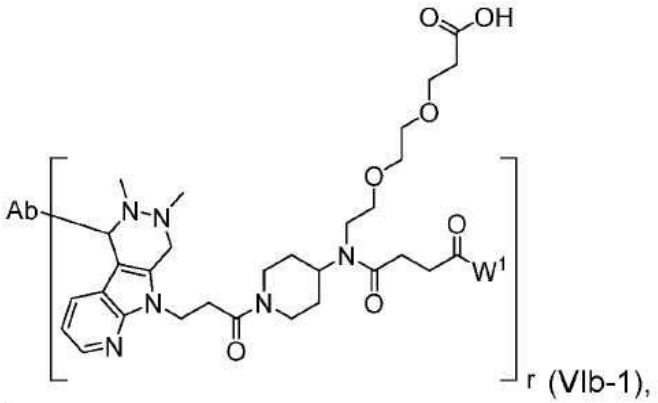
[0577] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0578] r은 1-10의 정수이고;

[0579] $W^1$은 약물이다.

[0580] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0581] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 N인 식 (VI-1)로 표현될 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VIb-1)로 표현될 수 있다:

[0582] 


[0583] 여기서:

[0584] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0585] r은 1-10의 정수이고;

[0586] $W^1$은 약물이다.

[0587] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0588] **절단가능한 링커**

[0589] 일부 구현양태에서, 항체와 약물은 절단가능한 링커를 통해 서로 접합된다. 절단가능한 링커는 하나 이상의 절단가능한 모이어티를 포함하는 링커이며, 여기서 절단가능한 모이어티는 일부 조건에서 해리될 수 있는 하나 이상의 결합을 포함하여, 절단가능한 링커를 두 개 이상의 절단가능한 부분으로 분리한다. 예를 들어, 절단가능한 모이어티는 하나 이상의 공유 결합을 포함할 수 있으며, 일부 조건에서, 이는 해리되거나 분해되어 절단가능한 링커를 두 개 이상의 부분으로 분리할 수 있다. 따라서, 절단가능한 링커는 5T4-ADC에 포함될 수 있으며, 특정 조건 하에서 절단가능한 링커가 절단되어 약물의 원하는 표적 작용 부위에서 항체로부터 약물을 분리하거나 방출한다.

[0590] 일부 구현양태에서, 절단가능한 링커는 효소적으로 절단가능한 링커일 수 있다. 효소적으로 절단가능한 링커는 효소의 효소 작용을 통해 상기 설명한 바와 같이 두 개 이상의 부분으로 분리될 수 있다. 효소적으로 절단가능한 링커는 펩타이드, 글리코사이드 등과 같이 효소의 효소 작용을 통해 절단될 수 있는 모든 절단가능한 모이어티를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않다. 어떤 경우에는 효소적으로 절단가능한 링커를 절단하는 효소가 항체-약물 접합체로부터 방출될 약물의 원하는 표적 작용 부위와 같은 원하는 표적 작용 부위에 존재한다. 일부 경우에, 효소적으로 절단가능한 링커를 절단하는 효소는 전혈, 혈장 또는 혈청과 같은 다른 영역에 상당한 양으로 존재하지 않는다. 따라서 효소적으로 절단가능한 모이어티의 절단은 원하는 작용 부위에서 상당한 절단이 발생하는 반면, 다른 영역에서 또는 항체-약물 접합체가 원하는 작용 부위에 도달하기 전에 절단이 크게 발생하지 않도록 제어할 수 있다.

[0591] 일부 구현양태에서, 효소적으로 절단가능한 링커는 펩타이드를 포함한다. 펩타이드는 절단가능한 링커에서 사용하기에 임의의 적합한 펩타이드일 수 있으며 효소의 효소 작용을 통해 절단될 수 있다. 효소적으로 절단가능한 모이어티로 사용할 수 있는 펩타이드의 비-제한적 예로는 예를 들어 Val-Ala; Phe-Lys 등이 있다.

[0592] 일부 구현양태에서, 링커 L은 절단가능하며 다음 구조로 표현될 수 있다:

[0593] $-(T^1V^1)_a-(T^2V^2)_b-(T^3V^3)_c-(T^4V^4)_d-(T^5V^5)_e-$,

[0594] 여기서:

[0595] a, b, c, d 및 e는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, a, b, c, d 및 e의 합은 1-5이고;

[0596] $T^1$ 및 $T^5$는 각각 $C_1$-$C_6$ 알킬이고;

[0597] $T^2$, $T^3$ 및 $T^4$는 각각 독립적으로 $(PEG)_n$, $(AA)_p$ 또는 $(AA)_p$-PABC-$R^{16}$이고;

[0598] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, 및 $V^5$는 각각 독립적으로 공유 결합, -CO- 또는 -$NR^{11}$이고;

[0599] $R^{11}$은 본원에서 기술된 바와 같고;

[0600] $R^{16}$은 본원에서 기술된 바와 같고;

[0601] 각 n은 독립적으로 1-30의 정수이고; 그리고

[0602] 각 p는 독립적으로 1-20까지의 정수이다.

[0603] 일부 구현양태에서, n은 1-5의 정수이다. 일부 구현양태에서, n은 2이다.

[0604] 일부 구현양태에서, p는 1이다. 일부 구현양태에서, p는 2이다. 일부 구현양태에서, 링커 L의 한 위치에서, p는 1이고, 링커 L의 다른 위치에서, p는 2이다.

[0605] 일부 구현양태에서, $T^2$는 아미노산 잔기이다. 일부 구현양태에서, $T^2$는 극성 무전하 측쇄를 갖는 아미노산 잔기이다. 일부 구현양태에서, $T^2$는 글루타민 잔기이다.

[0606] 일부 구현양태에서, $T^3$는 $(PEG)_n$이고, 여기서 n은 1-30, 예를 들어 1-5의 정수이다. 일부 구현양태에서, n은 2이다.

[0607] 일부 구현양태에서, $T^4$는 $(AA)_p$-PABC-$R^{16}$이고, 여기서 p는 1-20, 예를 들어 1-5의 정수이고, $R^{16}$은 수소이다. 일부 구현양태에서, p는 2이다. 일부 구현양태에서, 아미노산(AA)은 발린 및 시트룰린이다.

[0608] 일부 구현양태에서, 링커 L은 다음 구조로 표현될 수 있다:

[0609] -($C_1$-$C_6$ 알킬)-$V^1$-(AA)-$V^2$-$(PEG)_n$-$V^3$-((AA)$_p$-(PABC-$R^{16}$))-$V^4$-($C_1$-$C_6$ 알킬)-$V^5$-,

[0610] 여기서:

[0611] $R^{16}$은 수소이고;

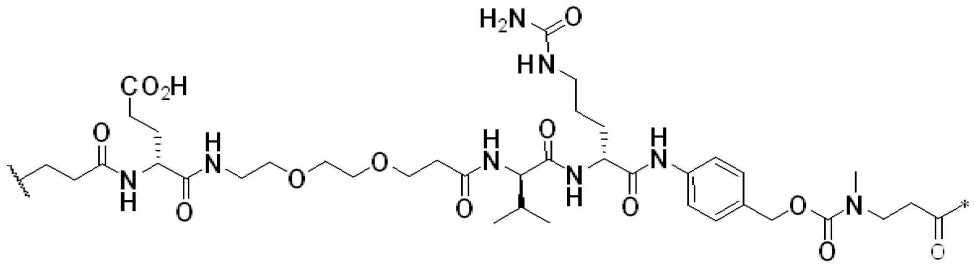
[0612] n 및 p는 각각 독립적으로 1-30, 1-20 또는 1-5의 정수이고;

[0613] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$ 및 $V^5$는 각각 독립적으로 공유 결합, -CO- 또는 $-NR^{11}$-이고;

[0614] 각 $R^{11}$은 독립적으로 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이다.

[0615] 일부 구현양태에서, n 및 p는 모두 2이다.

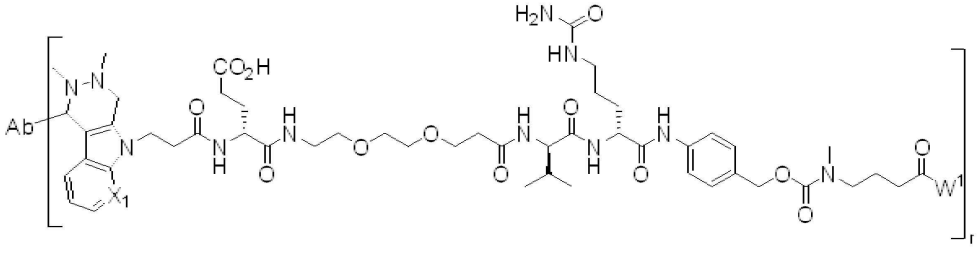
[0616] 일부 구현양태에서, 링커 L은 링커(L-2)일 수 있다:



[0617] (L-2),

[0618] 여기서 〰 는 본원에 기술된 바와 같이 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 대한 부착을 나타내고 *는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0619] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-2)로 표현될 수 있다:



[0620] (VI-2),

[0621] 여기서:

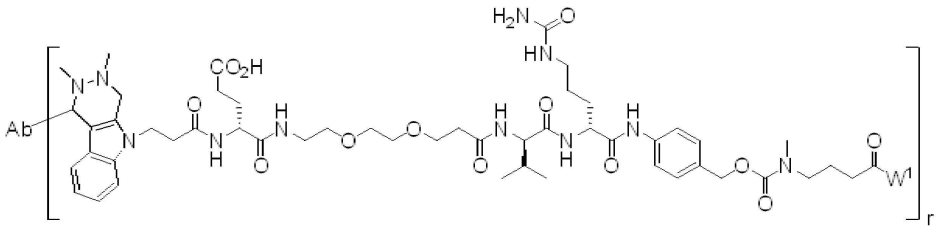
[0622] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0623] r은 1-10의 정수이고; 그리고

[0624] $W^1$은 약물이다.

[0625] 일부 구현양태에서, $X^1$은 N 또는 C이다. 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0626] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 C인 식 (VI-2)로 표현될 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VIa-2)로 표현될 수 있다:



(VIa-2),

[0627] 여기서:

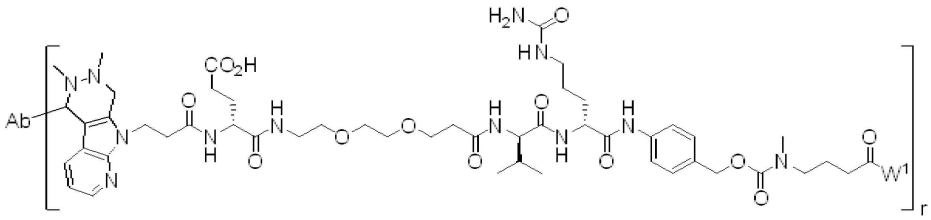
[0628] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0629] r은 1-10의 정수이고; 그리고

[0630] $W^1$은 약물이다.

[0631] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0632] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 N인 식 (VI-2)로 표현될 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VIb-2)로 표현될 수 있다:

[0633]  (VIb-2),

[0634] 여기서:

[0635] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0636] r은 1-10의 정수이고;

[0637] $W^1$은 약물이다.

[0638] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0639] **이중 절단가능한 링커**

[0640] 일부 구현양태에서, 절단가능한 링커는 첫 번째 절단가능한 모이어티와 두 번째 절단가능한 모이어티와 같은 두 개의 절단가능한 모이어티를 포함한다. 절단가능한 모이어티는 약물을 항체로부터, 예를 들어 약물의 원하는 표적 작용 부위에서 분리하거나 방출하기 위해 두 절단가능한 모이어티의 절단이 필요하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 절단가능한 링커의 절단은 두 절단가능한 모이어티 중 하나를 먼저 절단한 다음 두 절단가능한 모이어티 중 다른 것을 절단하여 달성할 수 있다. 일부 구현양태에서, 절단가능한 링커는 첫 번째 절단가능한 모이어티와 첫 번째 절단가능한 모이어티의 절단을 방해하는 두 번째 절단가능한 모이어티를 포함한다. "절단을 방해한다"는 것은 절단되지 않은 두 번째 절단가능한 모이어티의 존재가 첫 번째 절단가능한 모이어티의 절단가능성을 줄이거나 실질적으로 억제하여 절단가능한 링커의 절단 양을 실질적으로 줄이거나 절단을 방지한다는 것을 의미한다. 구현양태에서, 절단되지 않은 두 번째 절단가능한 모이어티의 존재는 첫 번째 절단가능한 모이어티의 효소적 및/또는 화학적 절단을 방해할 수 있다. 두 번째 절단가능한 모이어티의 존재로 인해 첫 번째 절단가능한 모이어티의 절단을 방해하는 것은 항체로부터 약물의 방출을 상당히 감소시키거나 방지한다. 예를 들어, 항체로부터 약물의 조기 방출은 5T4-ADC가 약물의 원하는 표적 작용 부위에 있거나 그 근처에 있을 때까지 상당히 감소되거나 방지될 수 있다.

[0641] 일부 구현양태에서, 두 번째 절단가능한 모이어티는 첫 번째 절단가능한 모이어티의 절단을 방해하고, 절단가능한 링커의 절단은 두 번째 절단가능한 모이어티를 먼저 절단한 다음 첫 번째 절단가능한 모이어티를 절단함으로써 달성될 수 있다. 두 번째 절단가능한 모이어티의 절단은 첫 번째 절단가능한 모이어티의 절단에 대한 방해를 감소시키거나 제거할 수 있으므로 첫 번째 절단가능한 모이어티가 절단될 수 있다. 첫 번째 절단가능한 모이어티의 절단은 절단가능한 링커가 본원에서 기술된 바와 같이 두 개 이상의 부분으로 해리되거나 분리되어 5T4-ADC에서 약물을 방출할 수 있다. 일부 구현양태에서, 첫 번째 절단가능한 모이어티의 절단은 절단되지 않은 두 번째 절단가능한 모이어티의 존재 하에서는 실질적으로 발생하지 않다. 이 맥락에서 "실질적으로"라는 용어는 첫 번째 절단가능한 모이어티의 약 10% 이하의 절단이 절단되지 않은 두 번째 절단가능한 모이어티의 존재 하에서 발생한다는 것을 의미하는데, 예를 들어 약 9% 이하, 또는 약 8% 이하, 또는 약 7% 이하, 또는 약 6% 이하, 또는 약 5% 이하, 또는 약 4% 이하, 또는 약 3% 이하, 또는 약 2% 이하, 또는 약 1% 이하, 또는 약 0.5% 이하, 또는 약 0.1% 이하의 첫 번째 절단가능한 모이어티의 절단이 절단되지 않은 두 번째 절단가능한 모이어티의 존재 하에서 발생한다.

[0642] 다른 방식으로 말하면, 두 번째 절단가능한 모이어티는 첫 번째 절단가능한 모이어티를 절단으로부터 보호할 수 있다. 구현양태로서, 절단되지 않은 두 번째 절단가능한 모이어티의 존재는 첫 번째 절단가능한 모이어티를 절

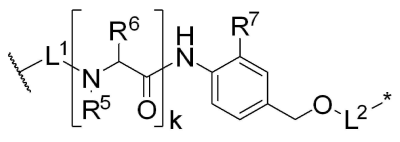
단으로부터 보호할 수 있고, 따라서 5T4-ADC가 약물의 원하는 표적 작용 부위에 있거나 그 근처에 있을 때까지 5T4 항체에서 약물의 조기 방출을 실질적으로 감소시키거나 방지할 수 있다. 따라서 두 번째 절단가능한 모이어티의 절단은 첫 번째 절단가능한 모이어티를 노출시키고(예를 들어, 첫 번째 절단가능한 모이어티의 보호를 해제함), 따라서 첫 번째 절단가능한 모이어티가 절단되도록 하여, 절단가능한 링커가 절단되고, 이는 차례로 본원에서 기술된 바와 같이 약물의 원하는 표적 작용 부위에서 항체에서 약물을 분리하거나 방출한다. 일부 구현양태에서, 두 번째 절단가능한 모이어티의 절단은 첫 번째 절단가능한 모이어티를 후속 절단에 노출시키지만, 두 번째 절단가능한 모이어티의 절단 자체가 절단가능한 링커의 절단을 초래하지는 않는다(예를 들어, 절단가능한 링커를 절단하기 위해서는 첫 번째 절단가능한 모이어티의 절단이 여전히 필요하다).

[0643] 절단가능한 링커에서 사용하기에 적합한 절단가능한 모이어티의 예로는 화학적으로 절단가능한 모이어티와 효소적으로 절단가능한 모이어티가 있다. 예를 들어, 첫 번째 절단가능한 모이어티는 화학적으로 절단가능한 모이어티이고 두 번째 절단가능한 모이어티는 화학적으로 절단가능한 부분이고, 이는 첫 번째 절단가능한 모이어티와 동일하거나 다를 수 있다. 다른 구현양태에서, 첫 번째 절단가능한 모이어티는 효소적으로 절단가능한 모이어티이고 두 번째 절단가능한 모이어티는 화학적으로 절단가능한 모이어티가 될 수 있다. 다른 구현양태에서, 첫 번째 절단가능한 모이어티는 화학적으로 절단가능한 모이어티이고 두 번째 절단가능한 모이어티는 효소적으로 절단가능한 모이어티가 될 수 있다. 다른 구현양태에서, 첫 번째 절단가능한 모이어티는 효소적으로 절단가능한 모이어티가 될 수 있고 두 번째 절단가능한 모이어티는 효소적으로 절단가능한 모이어티가 될 수 있으며, 이는 첫 번째 절단가능한 모이어티와 동일하거나 다르다.

[0644] 화학적으로 절단가능한 모이어티에는 특정 화학적 조건의 존재 하에 절단될 수 있는 절단가능한 모이어티가 포함된다. 일부 구현양태에서, 화학적으로 절단가능한 모이어티에는 특정 화학적 조건의 존재 하에 해리될 수 있는 하나 이상의 결합이 포함되어 절단가능한 모이어티를 두 개 이상의 분리가능한 부분으로 분리한다. 예를 들어, 화학적으로 절단가능한 모이어티는 산성 조건 또는 알칼리 조건과 같은 화학적 조건의 존재 하에 절단될 수 있으며, 이는 화학적으로 절단가능한 모이어티의 가수분해로 이어질 수 있다. 일부 구현양태에서, 화학적으로 절단가능한 모이어티가 절단되는 화학적 조건은 5T4-ADC에서 방출될 약물의 원하는 표적 작용 부위와 같은 원하는 표적 작용 부위에 존재할 수 있다. 일부 구현양태에서, 화학적으로 절단가능한 모이어티의 원하는 절단 부위에서 발견되는 화학적 조건은 전혈, 혈장 또는 혈청과 같은 다른 영역에는 상당히 존재하지 않는다. 따라서 화학적으로 절단가능한 모이어티의 절단은 원하는 작용 부위에서 상당한 절단이 발생하고, 다른 영역에서는 절단이 크게 발생하지 않거나 5T4-ADC가 원하는 작용 부위에 도달하기 전에 발생하지 않도록 제어할 수 있다.

[0645] 일부 구현양태에서, 절단가능한 모이어티는 효소적으로 절단가능한 모이어티일 수 있다. 효소적으로 절단가능한 모이어티는 효소의 효소 작용을 통해 본원에 기술된 바와 같이 두 개 이상의 부분으로 분리될 수 있는 절단가능한 모이어티이다. 효소적으로 절단가능한 모이어티는 효소의 효소 작용을 통해 절단될 수 있는 임의의 절단가능한 모이어티일 수 있으며, 예를 들어 펩타이드, 글리코사이드 등이 있지만 이에 제한되지 않다. 일부 구현양태에서, 효소적으로 절단가능한 모이어티를 절단하는 효소는 5T4-ADC에서 방출될 약물의 원하는 표적 작용 부위와 같은 원하는 표적 작용 부위에 존재한다. 일부 구현양태에서, 효소적으로 절단가능한 모이어티를 절단하는 효소는 전혈, 혈장 또는 혈청과 같은 다른 영역에 상당한 양으로 존재하지 않는다. 따라서 효소적으로 절단가능한 모이어티의 절단은 원하는 작용 부위에서 상당한 절단이 발생하고, 5T4-ADC가 원하는 작용 부위, 예를 들어 암세포에 도달하기 전에는 절단이 다른 영역에서 크게 발생하지 않도록 제어할 수 있다.

[0646] 일부 구현양태에서, 링커 L은 링커(L-3)일 수 있다:

[0647]  (L-3),

[0648] 여기서:

[0649] 〰 는 본원에 기술된(예를 들어, 식 IV, V 및 VI 중 하나) 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0650] *는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0651] 각각의 $R^5$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환

된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0652] 각각의 $R^6$는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0653] $R^7$은 절단가능한 모이어티이고;

[0654] k는 1-10의 정수이고;

[0655] $L^1$은 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$를 포함하고,

[0656] $L^2$는 $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$를 포함하고;

[0657] $T^1$, $T^2$, $T^3$, $T^4$, $T^5$, $T^6$, $T^7$, 및 $T^8$은 각각 독립적으로 공유 결합, $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 치환된 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_m-$, P4A-$R^{12}$, 아세탈, 하이드라진, 디설파이드 또는 에스테르이고;

[0658] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, $V^5$, $V^6$, $V^7$, 및 $V^8$은 각각 독립적으로 공유 결합, -CO-, $-NR^{15}-$, $-NR^{15}(CH_2)_q-$, $-NR^{15}(C_6H_4)-$, $-CONR^{15}-$, $-NR^{15}CO-$, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, $-SO_2-$, $-SO_2NR^{15}-$, $-NR^{15}SO_2-$, 또는 -P(O)OH-이고;

[0659] 각각의 a, b, c, d, e, f, g 및 h는 독립적으로 1 또는 0이고;

[0660] m은 독립적으로 1-12의 정수이고;

[0661] n은 독립적으로 1-30의 정수이고;

[0662] p는 독립적으로 1-20의 정수이고;

[0663] q는 독립적으로 1-6의 정수이고;

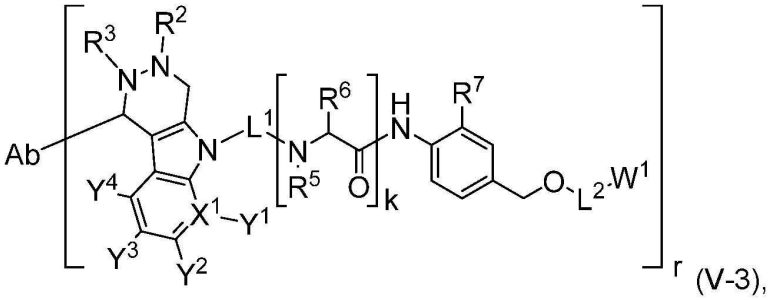
[0664] w는 독립적으로 1-20의 정수이고;

[0665] 각각의 $R^{12}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜), 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0666] 각각의 $R^{13}$은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 또는 치환된 아릴이고; 그리고

[0667] 각각의 $R^{15}$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0668] 일부 구현양태에서, 식 (V)의 5T4-ADC는 링커 (L-3)을 포함한다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (V-3)으로 표현될 수 있다.



(V-3),

[0669]

[0670] 여기서:

[0671] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0672] r은 1-10의 정수이고;

[0673] $X^1$은 C 또는 N이고;

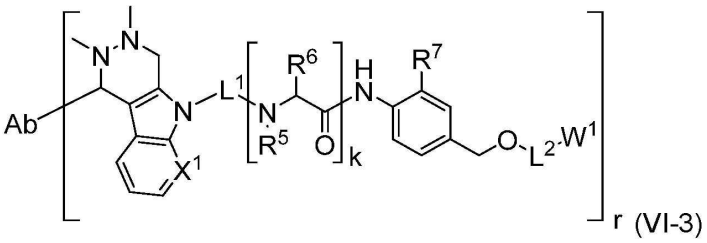
[0674] $W^1$은 약물이고;

[0675] $R^2$, $R^3$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$는, 예를 들어 식(V)에서와 같이 본원에 정의된 바와 같고;

[0676] $L^1$, $L^2$, $R^5$, $R^6$, $R^7$ 및 k는, 예를 들어 링커(L-3)에서와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0677] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1-2의 정수이다.

[0678] 일부 구현양태에서, 식(VI)의 5T4-ADC는 링커(L-3)를 포함한다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VI-3)으로 표현될 수 있다:



(VI-3)

[0679]

[0680] 여기서:

[0681] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0682] r은 1-10의 정수이고;

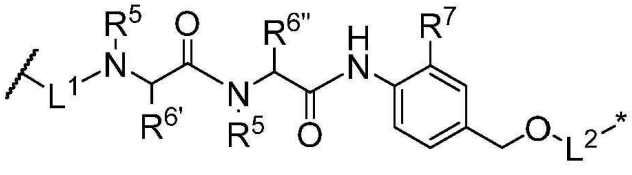
[0683] $X^1$은 C 또는 N이고;

[0684] $W^1$은 약물이고;

[0685] $L^1$, $L^2$, $R^5$, $R^6$, $R^7$ 및 k는 링커(L-3)와 같이 본원에서 정의한 바와 같다.

[0686] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0687] 링커(L-3)의 일부 구현양태에서, k는 2이다. 따라서 링커 L은 링커(L-4)일 수 있다:



(L-4),

[0688]

[0689] 여기서:

[0690] 〰 는 본원에 기술된(예를 들어, 식 IV, V 및 VI 중 하나) 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0691] *는 W에 대한 부착 지점을 나타내고;

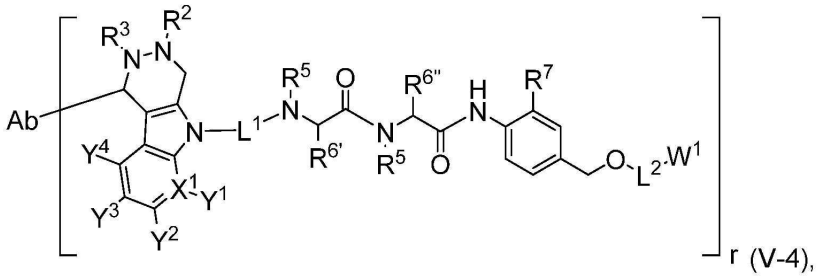
[0692] 각각의 $R^5$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0693] $R^{6'}$ 및 $R^{6''}$는 각각 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0694] $R^7$은 절단가능한 모이어티이고; 그리고

[0695] $L^1$ 및 $L^2$는 링커(L-3)와 같이 본원에서 정의된 바와 같다.

[0696] 일부 구현양태에서, 식(V)의 5T4-ADC는 링커(L-4)를 포함한다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(V-4)로 표현될 수 있다:




(V-4),

[0697]

[0698] 여기서:

[0699] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0700] r은 1-10의 정수이고;

[0701] $X^1$은 C 또는 N이고;

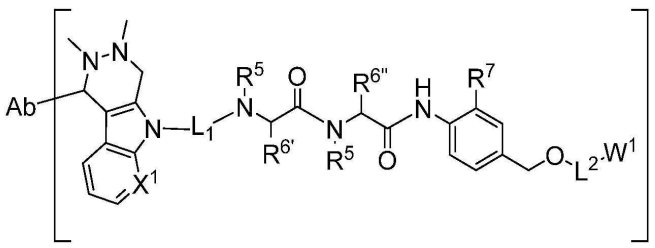
[0702] $W^1$은 약물이고;

[0703] $R^2$, $R^3$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$는, 예를 들어 식(V)에서와 같이 본원에 정의된 바와 같고;

[0704] $L^1$, $L^2$, $R^5$, $R^{6'}$, $R^{6''}$, 및 $R^7$은, 예를 들어, 링커(L-4)에서와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0705] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0706] 일부 구현양태에서, 식(VI)의 5T4-ADC는 링커(L-4)를 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VI-4)로 표현될 수 있다.




(VI-4)

[0707]

[0708] 여기서:

[0709] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0710] r은 1-10의 정수이고;

[0711] $X^1$은 C 또는 N이고;

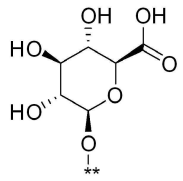
[0712] $W^1$은 약물이고;

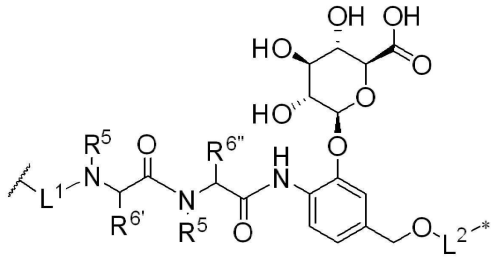
[0713] $L^1$, $L^2$, $R^5$, $R^{6'}$, $R^{6''}$, 및 $R^7$은 링커(L-4)와 같이 본원에서 정의한 바와 같다.

[0714] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0715] 일부 구현양태에서, $R^7$은 글리코사이드 또는 글리코실과 같은 당 모이어티를 포함하는 효소적으로 절단가능한 모이어티이다. 일부 구현양태에서, 글리코사이드는 글리코사이드를 포함하지 않는 절단가능한 링커와 비교하여 절단가능한 링커의 친수성을 증가시킬 수 있다. 글리코사이드는 절단가능한 링커에서 사용하기에 적합한 임의의 글리코사이드일 수 있으며, 효소의 효소 작용을 통해 절단될 수 있다.

[0716] $R^7$ 모이어티의 글리코사이드는 글리코사이드 결합을 통해 5T4-ADC의 나머지 부분에 부착될 수 있다. 글리코사이드 결합은 글리코사이드를 O-글리코사이드 결합(O-글리코사이드), N-글리코사이드 결합(글리코실아민), S-글리코사이드 결합(티오글리코사이드), 또는 C-글리코사이드 결합(C-글리코사이드 또는 C-글리코실)을 포함하지만 이에 제한되는 않는 다양한 유형의 결합을 통해 5T4-ADC에 연결할 수 있다. 일부 구현양태에서, 글리코사이드 결합은 O-글리코사이드 결합(O-글리코사이드)이다.

[0717] 일부 구현양태에서, $R^7$은  이고, 여기서 **는 예를 들어 식 (VI-3), (V-4), 또는 (VI-4)에서와 같이 본원에 기술된 페닐기에 대한 부착 지점을 나타낸다. 따라서 링커 L은 링커 (L-5)일 수 있다:

[0718]  (L-5),

[0719] 여기서:

[0720] ~~~~ 는 본원에 기술된(예를 들어, 식 IV, V 및 VI 중 하나) 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 대한 부착 지점을 나타내고;

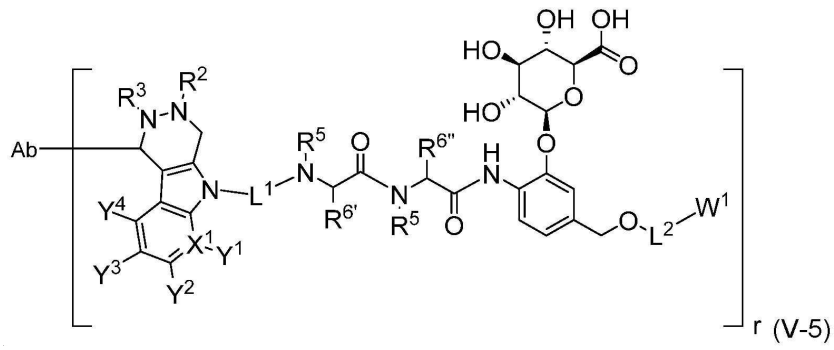
[0721] *는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0722] 각각의 $R^5$는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0723] $R^{6'}$ 및 $R^{6''}$는 독립적으로 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고; 그리고

[0724] $L^1$ 및 $L^2$는 링커(L-3)와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0725] 일부 구현양태에서, 링커(L-5)는 식(V)에 부착된다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(V-5)으로 표현될 수 있다:

[0726] 

[0727] 여기서:

[0728] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0729] r은 1-10의 정수이고;

[0730] $X^1$은 C 또는 N이이고;

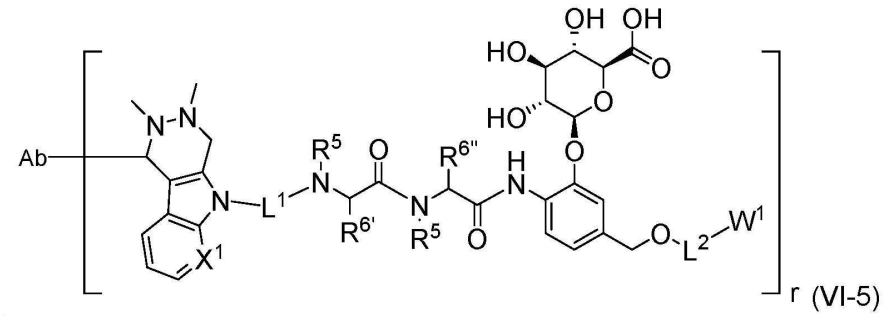
[0731] $W^1$은 약물이고;

[0732] $R^2$, $R^3$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$는 식(V)와 같이 본원에서 정의된 바와 같고;

[0733] $L^1$, $L^2$, $R^5$, $R^{6'}$, 및 $R^{6''}$ 는 링커(L-5)와 같이 본원에서 정의된 바와 같다.

[0734] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0735] 일부 구현양태에서, 식(VI)의 5T4-ADC는 링커(L-5)를 포함할 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VI-5)로 표현될 수 있다:

[0736] 

[0737] 여기서:

[0738] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0739] r은 1-10의 정수이고;

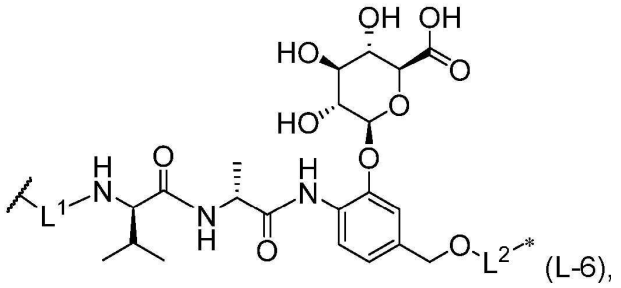
[0740] $X^1$은 C 또는 N이고;

[0741] $W^1$은 약물이고;

[0742] $L^1$, $L^2$, $R^5$, $R^{6'}$, 및 $R^{6''}$ 는 링커(L-5)와 같이 본원에서 정의된 바와 같다.

[0743] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0744] 링커(L-5)의 일부 구현양태에서, $R^5$는 수소이고, $R^{6'}$은 이소프로필이고, $R^{6''}$은 메틸이다. 따라서 일부 구현양태에서, 링커 L은 링커(L-6)일 수 있다:



(L-6),

[0745]

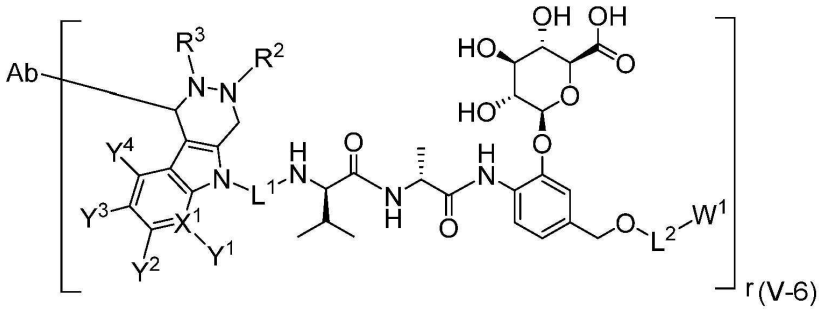
[0746] 여기서:

[0747] ~~~ 는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티(예를 들어, 식 IV, V 및 VI 중 하나)에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0748] *는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타내고; 그리고

[0749] $L^1$ 및 $L^2$는 링커(L-5)와 같이 본원에서 정의한 바와 같다.

[0750] 일부 구현양태에서, 식(V)의 5T4-ADC는 링커(L-6)를 포함한다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(V-6)으로 표현될 수 있다:



(V-6)

[0751]

[0752] 여기서:

[0753] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0754] r은 1-10의 정수이고;

[0755] $X^1$은 C 또는 N이고;

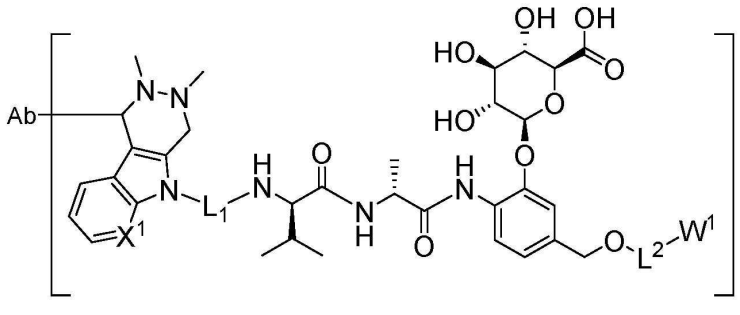
[0756] $R^2$, $R^3$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$는 식(V)과 같이 본원에서 정의된 바와 같고;

[0757] $W^1$은 약물이고;

[0758] $L^1$ 및 $L^2$는 링커(L-6)과 같이 본원에서 정의된 바와 같다.

[0759] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0760] 일부 구현양태에서, 식(VI)의 5T4-ADC는 링커(L-6)를 포함한다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VI-6)으로 표현될 수 있다:



(VI-6),

[0761]

[0762] 여기서:

[0763] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0764] r은 1-10의 정수이고;

[0765] $X^1$은 C 또는 N이고;

[0766] $W^1$은 약물이고; 그리고

[0767] $L^1$ 및 $L^2$는 링커(L-6)와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0768] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0769] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (V-3), (V-4), (V-5), (V-6), (VI-3), (VI-4), (VI-5), 또는 (VI-6)으로 표현될 수 있고, 여기서:

[0770] $L^1$은 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$를 포함하고;

[0771] $L^2$는 $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$-를 포함하고;

[0772] $T^1$, $T^2$ 및 $T^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, $(PEG)_n$ 또는 $(AA)_p$이고;

[0773] $T^5$, $T^6$, $T^7$ 및 $T^8$은 각각 독립적으로 공유 결합, $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 치환된 $C_1$-$C_{12}$ 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_m-$, P4A-$R^{12}$, 아세탈, 하이드라진, 디설파이드 및 에스테르이고;

[0774] $V^1$, $V^2$, $V^3$, $V^4$, $V^5$, $V^6$, $V^7$, 및 $V^8$은 각각 독립적으로 -C(=O)- 또는 $-NR^{11}-$이고;

[0775] a, b 및 c는 각각 1이고;

[0776] d는 0이므로 $T^4$ 및 $V^4$는 부재하고;

[0777] e, f, g 및 h는 각각 독립적으로 1 또는 0이고;

[0778] n은 1-10의 정수이고;

[0779] p는 1-10의 정수이고;

[0780] $R^{11}$은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아릴 또는 치환된 아릴이다.

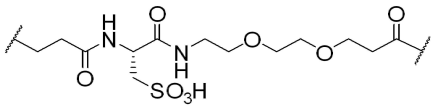
[0781] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (V-3), (V-4), (V-5), (V-6), (VI-3), (VI-4), (VI-5), 또는 (VI-6)으로 표현될 수 있으며, 여기서 $T^1$, $T^2$ 및 $T^3$은 $C_1$-$C_6$ 알킬, $(AA)_p$ 또는 $(PEG)_n$이고, p 및 n은 독립적으로 1-10의 정수이다. 일부 구현양태에서, p는 1이다. 일부 구현양태에서, n은 2이다. 일부 구현양태에서, $(AA)_p$는 시스테인 설폰산 아미노산과 같은 비-자연적으로 발생하는 아미노산을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, $V^1$, $V^2$ 및 $V^3$은 독

립적으로 -C(=O)- 또는 -$NR^{15}$-이고, 여기서 $R^{15}$는 수소이다.

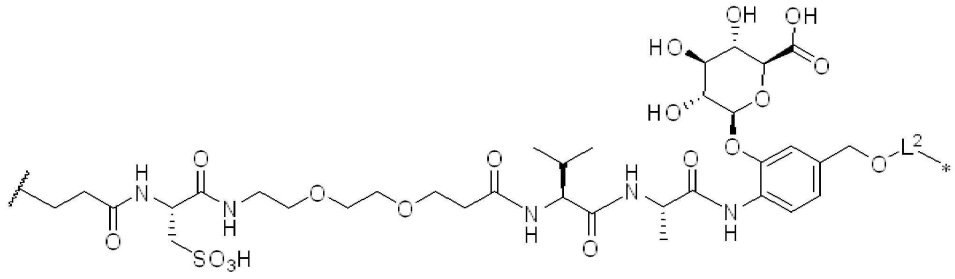
[0782] 본원에 기술된 임의의 구현양태에서 $L^1$은 다음과 같을 수 있다:

[0783] -($C_1$-$C_6$ 알킬)-$V^1$-$(AA)_p$-$V^2$-$(PEG)_n$-$V^3$-

[0784] 여기서 $V^1$, $V^2$, $V^3$, AA, p 및 n은 링커(L-3)와 같이 본원에 기술된 바와 같다. 일부 구현양태에서 $V^1$, $V^2$ 및 $V^3$은 -C(=O) 또는 -$NR^{15}$-이고, 여기서 $R^{15}$는 수소이다. 일부 구현양태에서 p는 1이고 n은 2이다. 일부 구현양태에서 $(AA)_p$는 시스테인 설폰산 아미노산과 같은 비-자연적으로 발생하는 아미노산을 포함할 수 있다.

[0785] 일부 구현양태에서, $L^1$은  이고, 여기서

[0786] 각각의 ⎯ 은 링커의 인접한 화학적 모이어티에 대한 임의의 방향의 부착 지점을 나타낸다. 따라서 일부 구현양태에서, 링커 L은 링커(L-7)일 수 있다:

[0787]  (L-7),

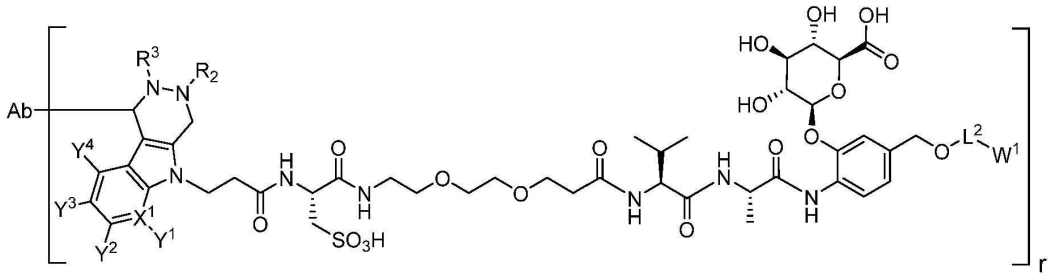
[0788] 여기서:

[0789] ⎯ 는 본원에 기술된 바와 같이(식 IV, V 및 VI 중 하나에서 같이) 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0790] *는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타내고; 그리고

[0791] $L^2$는 링커(L-3)와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0792] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(V-7)로 표현될 수 있다:

[0793]  (V-7),

[0794] 여기서:

[0795] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0796] r은 1-10의 정수이고;

[0797] $X^1$은 C 또는 N이고;

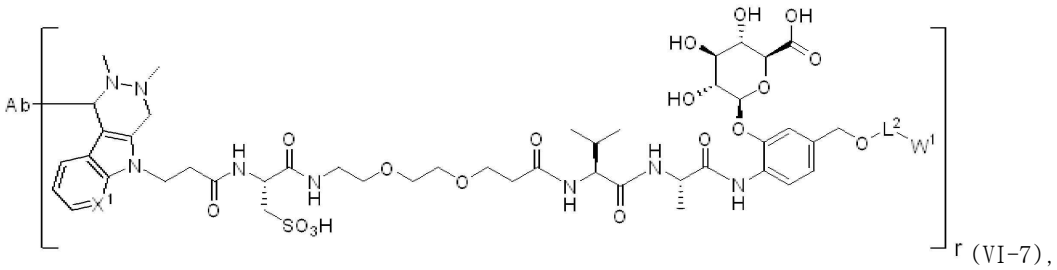
[0798] $R^2$, $R^3$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 및 $Y^4$는 식(V)에서와 같이 본원에 정의된 바와 같고;

[0799] $W^1$은 약물이고; 그리고

[0800] $L^2$는 링커(L-7)와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0801] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0802] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VI-7)로 표현될 수 있다:

[0803]  (VI-7),

[0804] 여기서:

[0805] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0806] r은 1-10의 정수이고;

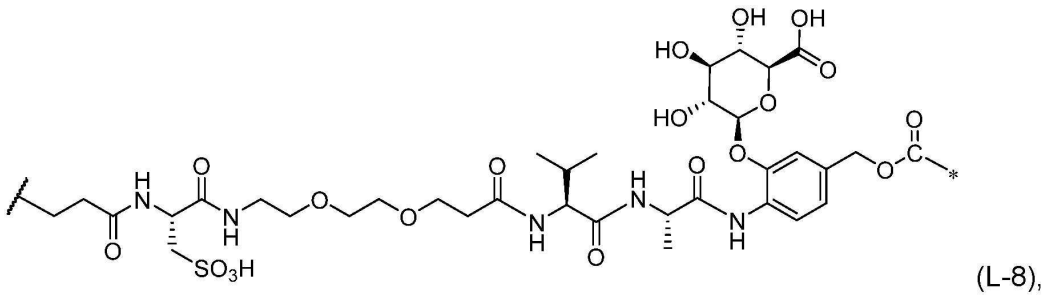
[0807] $X^1$은 C 또는 N이고;

[0808] $W^1$은 약물이고;

[0809] $L^2$는 링커(L-7)와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0810] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0811] $L^2$의 일부 구현양태에서, e는 1이고, $T^5$는 공유 결합이고, $V^5$는 카보닐이고, f, g 및 h는 각각 0이다. 일부 구현양태에서, $L^2$는 카보닐(C=O)이다. 따라서 일부 구현양태에서, 링커 L은 링커(L-8)일 수 있다:

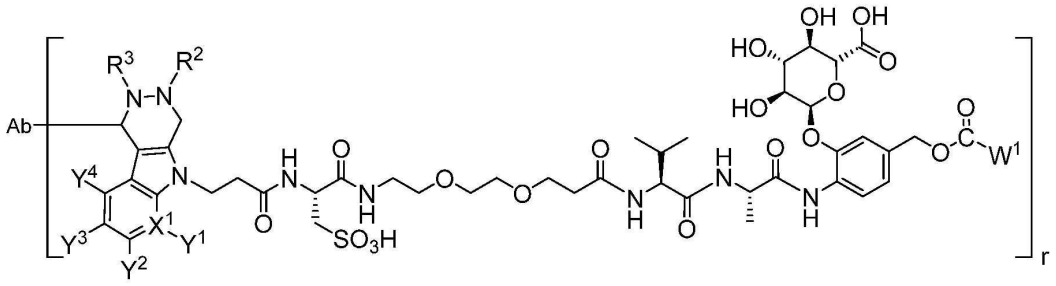
[0812]  (L-8),

[0813] 여기서:

[0814] ~~~ 는 본원에 기술된(식 IV, V 및 VI 중 하나와 같이)바와 같이 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0815] *는 $W^1$에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0816] 일부 구현양태에서, 식(V)의 5T4-ADC의 링커(L)는 링커(L-8)일 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(V-8)로 표현될 수 있다:



(V-8)

[0817]

[0818] 여기서:

[0819] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0820] r은 1-10의 정수이고;

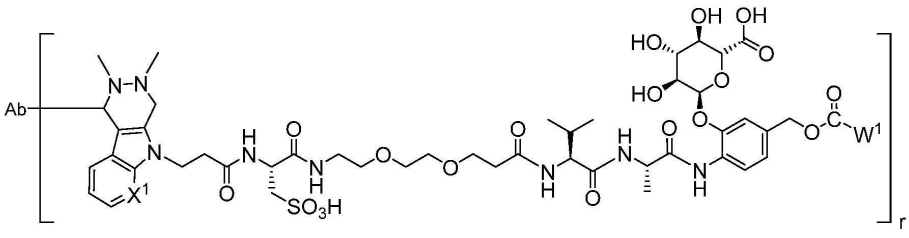
[0821] $X^1$은 C 또는 N이고;

[0822] $R^2$, $R^3$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$는 식(V)과 같이 본원에 정의된 바와 같고;

[0823] $W^1$은 약물이다.

[0824] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0825] 일부 구현양태에서, 식(VI)의 5T4-ADC에서 링커(L)는 링커(L-8)일 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VI-8)로 표현될 수 있다:



(VI-8),

[0826]

[0827] 여기서:

[0828] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

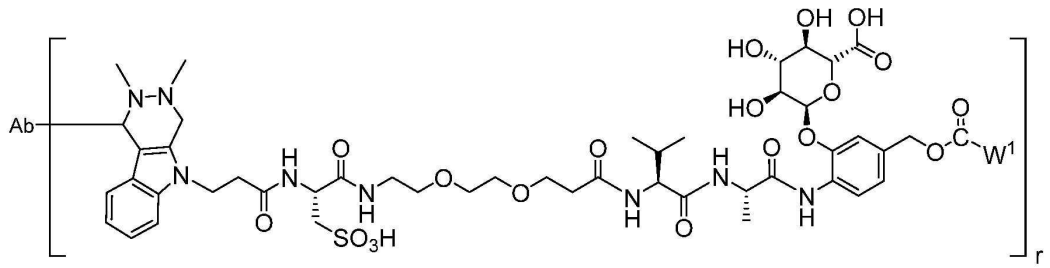
[0829] r은 1-10의 정수이고;

[0830] $X^1$은 C 또는 N이고;

[0831] $W^1$은 약물이다.

[0832] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0833] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 C인 식 (VI-8)로 표현될 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VIa-8)로 표현될 수 있다:



(VIa-8),

[0834]

[0835] 여기서:

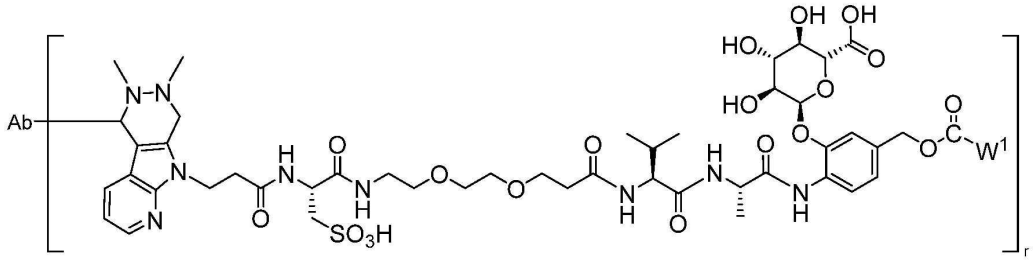
[0836] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0837] r은 1-10의 정수이고;

[0838] $W^1$은 약물이다.

[0839] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0840] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 N인 식 (VI-8)로 표현될 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VIb-8)로 표현될 수 있다:



(VIb-8),

[0841]

[0842] 여기서:

[0843] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0844] r은 1-10의 정수이고; 그리고

[0845] $W^1$은 약물이다.

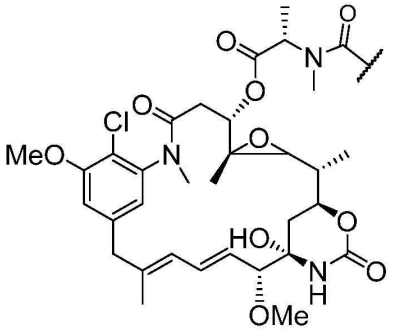
[0846] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0847] **약물**

[0848] 본원에서 기술된 5T4-ADC에서 사용하기에 유용한 약물은 본원에서 제공된 각 식에서 $W^1$로 표시되며, 특별히 제한되지 않는다. 적합한 약물의 예로는 소분자 약물, 예를 들어 암 화학요법제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 약물은 미세소관 영향제일 수 있다. 일부 구현양태에서, 약물은 항증식 활성을 갖는 미세소관 영향제, 예를 들어 메이탄시노이드 또는 아우리스타틴이다.

[0849] **메이탄신**

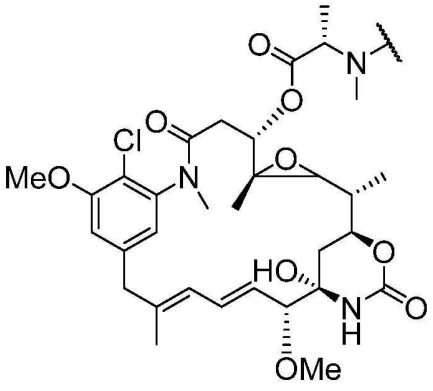
[0850] 일부 구현양태에서, 약물은 메이탄시노이드이다. 예를 들어, 약물은 다음 구조(W-1)를 갖는 메이탄신:



(W-1),

[0851]

[0852] 또는 예를 들어 데아실화된 메이탄신(W-1')과 같은 그 유도체일 수 있다:



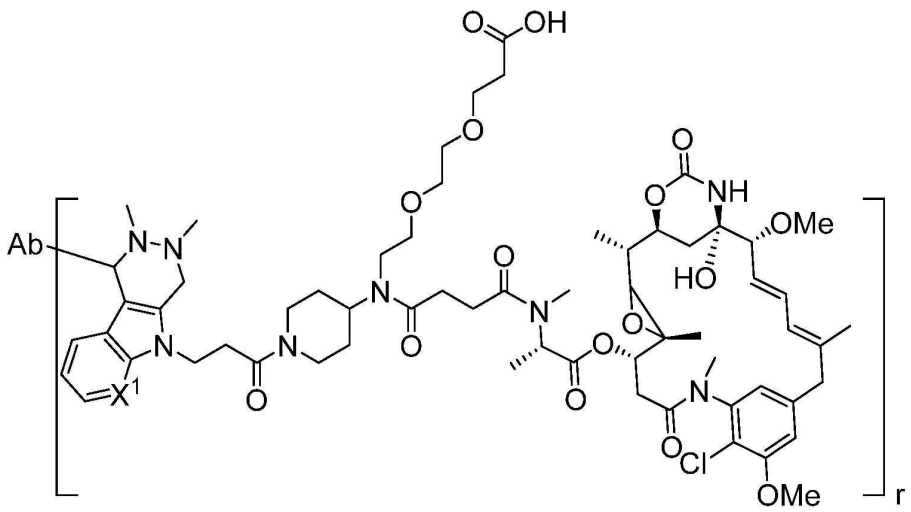
(W-1')

[0853]

[0854] 여기서 ~~~ 는 5T4-ADC에서 링커에 대한 메이탄시노이드의 부착 지점을 나타낸다.

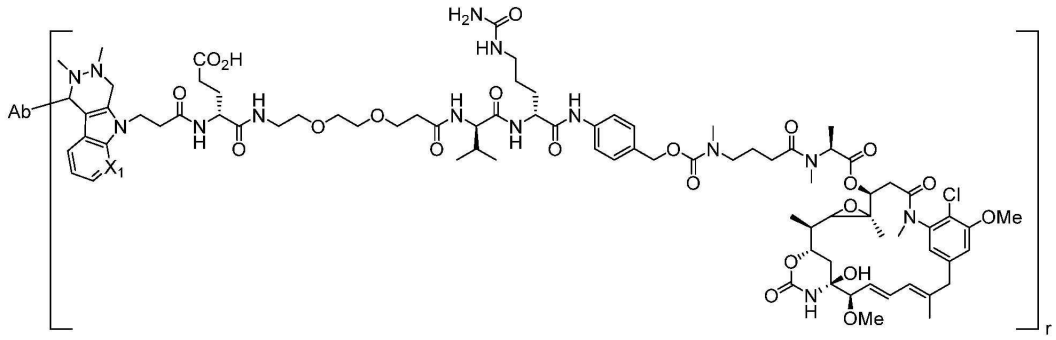
[0855] 예를 들어, 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), 및 (VIb-8)로 표현되는 5T4-ADC에서 $W^1$은 메이탄시노이드, 예를 들어 W-1 또는 W-1'의 메이탄시노이드일 수 있으며, 여기서 ~~~는 메이탄시노이드와 L 또는 $L^2$ 사이의 부착 지점을 나타낸다.

[0856] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VI-11), 식 (VI-21) 또는 식 (VI-81)로 표현될 수 있다:



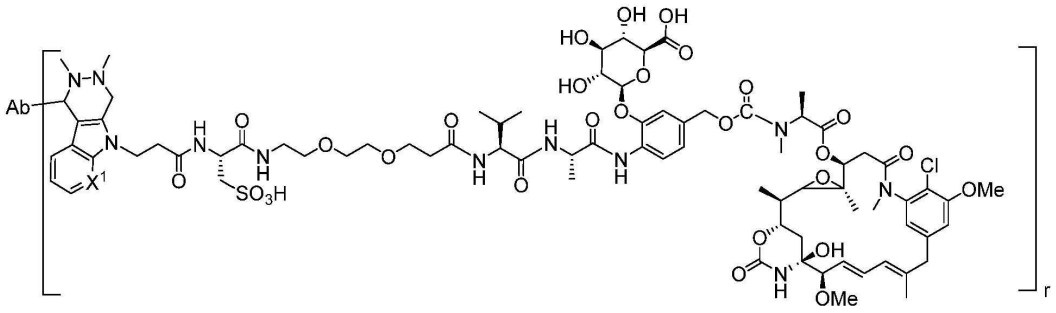
(VI-11),

[0857]



(VI-21),

[0858]



(VI-81),

[0859]

[0860] 여기서:

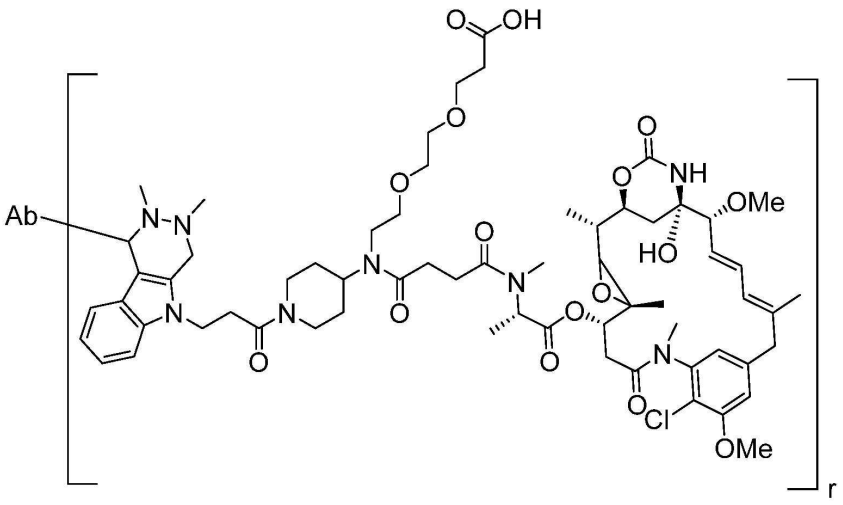
[0861] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0862] r은 1-10의 정수이고; 그리고

[0863] $X^1$은 C 또는 N이다.

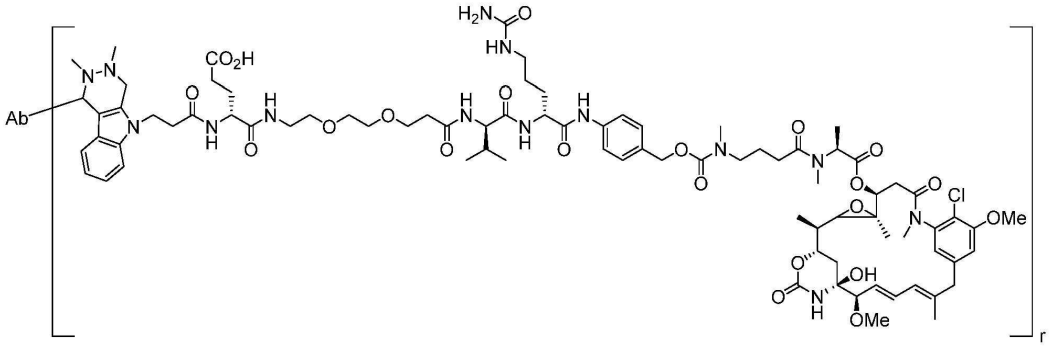
[0864] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0865] 일부 구현양태에서, $X^1$은 C이고, 5T4-ADC는 식 (VIa-11) 또는 식 (VIa-21)로 표현될 수 있다:



(VIa-11),

[0866]



[0867] (VIa-21),

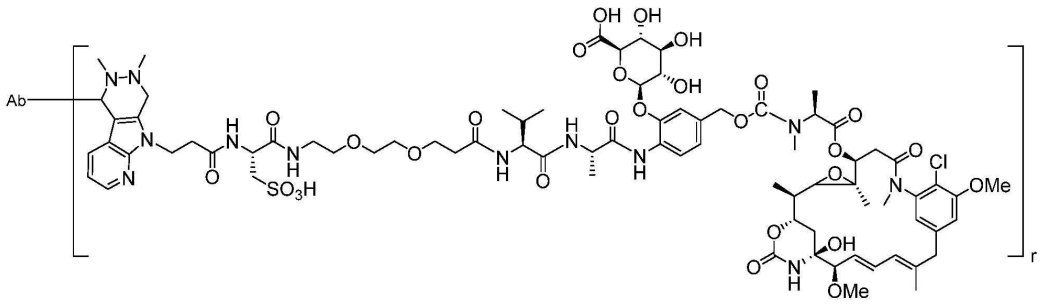
[0868] 여기서:

[0869] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0870] r은 1-10의 정수이다.

[0871] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0872] 일부 구현양태에서, $X^1$은 N이고, 5T4-ADC는 식 (VIb-81)로 표현될 수 있다:



[0873] (VIb-81),

[0874] 여기서:

[0875] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0876] r은 1-10의 정수이다.

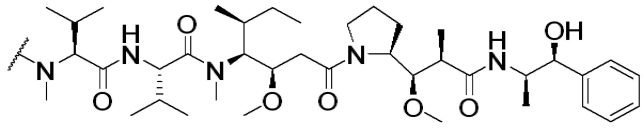
[0877] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0878] 일부 구현양태에서, 상기 구조의 메이탄시노이드는 데아실화된 메이탄신 또는 데아실 메이탄신이라고 할 수 있다.

[0879] **아우리스타틴**

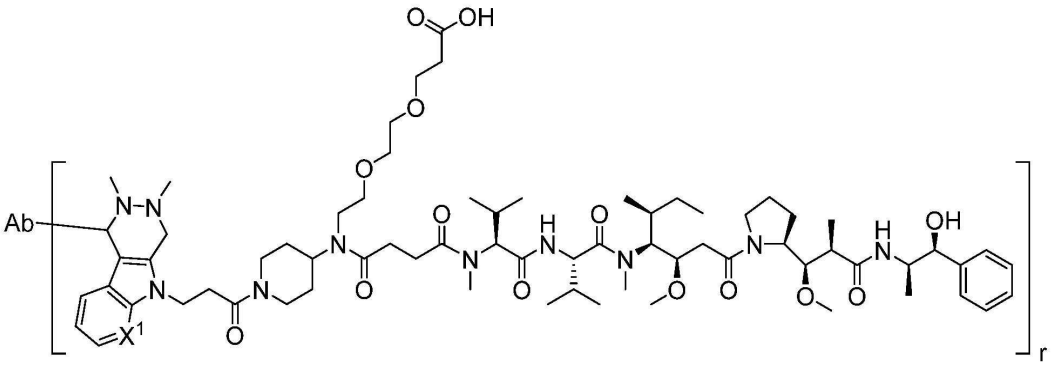
[0880] 일부 구현양태에서, 약물은 항유사분열제, 예를 들어 아우리스타틴 또는 활성 아우리스타틴 유사체 또는 그 유도체(예를 들어, 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD), 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF) 등)이다. 예를 들어, 본원에 기술된 5T4-ADC를 나타내는 임의의 식에서 $W^1$은 MMAE, MMAF 또는 MMAD일 수 있다.

[0881] 일부 구현양태에서, $W^1$은 다음 구조(W-2)를 갖는 MMAE이다:

[0882]  (W-2),

[0883] 여기서 ~~~ 는 5T4-ADC에서 MMAE와 링커 L(본원에 공개된 $L^2$ 모이어티와 같은) 사이의 부착 지점을 나타낸다.

[0884] 예를 들어, MMAE는 링커(L-1)를 포함하는 5T4-ADC에 포함될 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VI-12)로 표현될 수 있다:



(VI-12),

[0885]

[0886] 여기서:

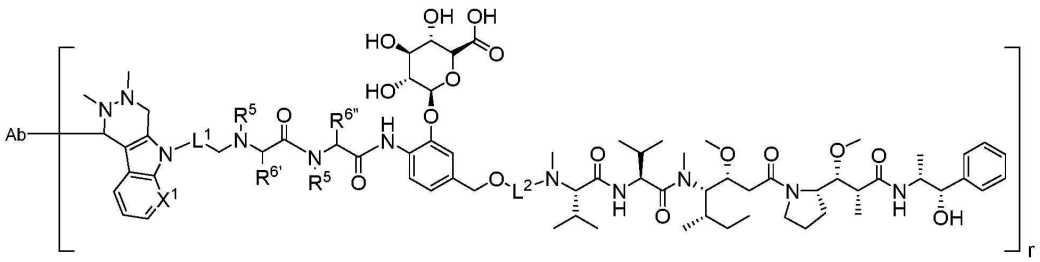
[0887] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0888] r은 1-10의 정수이고; 그리고

[0889] $X^1$은 C 또는 N이다.

[0890] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0891] 일부 구현양태에서, MMAE는 링커(L-5)를 포함하는 5T4-ADC에 포함될 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VI-52)으로 표현될 수 있다:



(VI-52),

[0892]

[0893] 여기서:

[0894] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

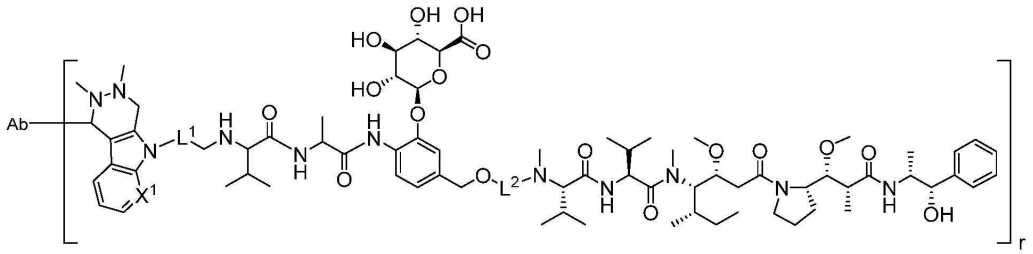
[0895] r은 1-10의 정수이고;

[0896] $X^1$은 C 또는 N이고; 그리고

[0897] $L^1$ 및 $L^2$는 링커(L-3)와 같이 본원에서 정의한 바와 같다.

[0898] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0899] 일부 구현양태에서, MMAE는 링커(L-6)를 포함하는 5T4-ADC에 포함될 수 있다. 따라서 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식(VI-62)으로 표현될 수 있다:



(VI-62),

[0900]

[0901] 여기서:

[0902] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

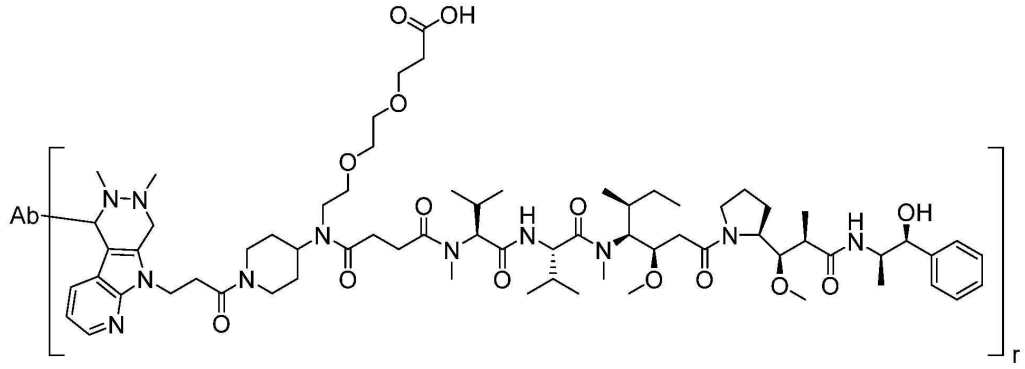
[0903] r은 1-10의 정수이고;

[0904] $X^1$은 C 또는 N이고; 그리고

[0905] $L^1$ 및 $L^2$는 링커(L-3)와 같이 본원에서 정의한 바와 같다.

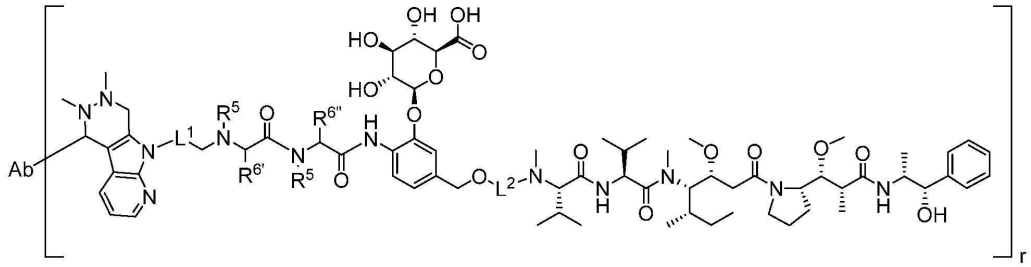
[0906] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0907] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 $X^1$이 N인 식 (VI-12), (VI-52), 및 (VI-62)로 표현될 수 있다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (VIb-12), 식 (VIb-52), 또는 식 (VIb-62)로 표현될 수 있다:

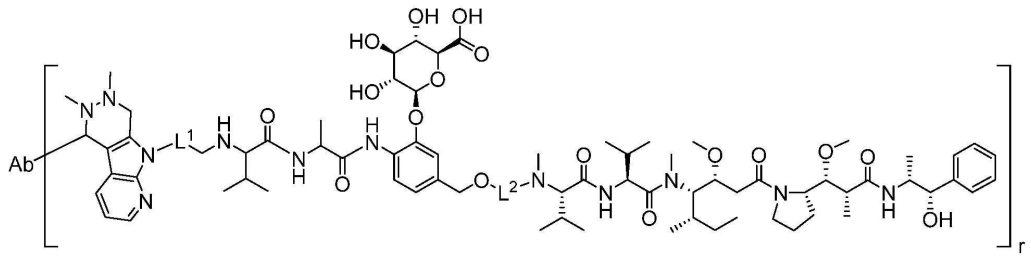


(VIb-12),

[0908]



(VIb-52), **또는**



(VIb-62), **여기서**

[0909]

[0910] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

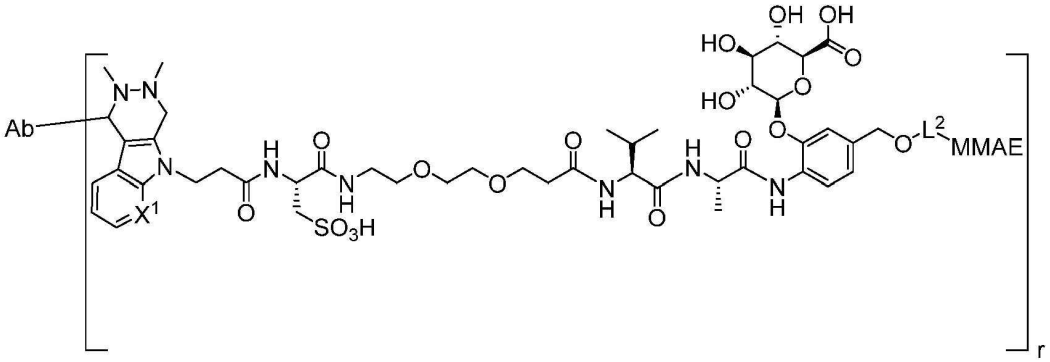
[0911] r은 1-10의 정수이고;

[0912] $R^5$, $R^{6'}$, $R^{6''}$, $L^1$ 및 $L^2$는 링커(L-5)와 같이 본원에서 정의된 바와 같고;

[0913] r은 1-10의 정수이다.

[0914] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0915] 일부 구현양태에서, MMAE는 링커(L-7)를 포함하는 5T4-ADC에 포함될 수 있다. 따라서, 5T4-ADC는 식(VIb-72)으로 표현될 수 있다:




[0916] (VIb-72),

[0917] 여기서:

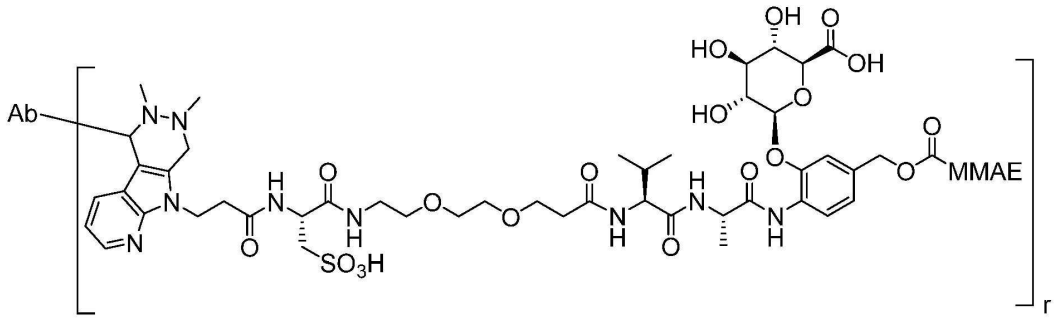
[0918] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0919] r은 1-10의 정수이고; 그리고

[0920] $L^2$는 링커(L-6)와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0921] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0922] 일부 구현양태에서, MMAE는 링커(L-8)를 포함하는 5T4-ADC에 포함될 수 있다. 따라서, 5T4-ADC는 식(VIb-82)으로 표현될 수 있다:




(VIb-82),

[0923]

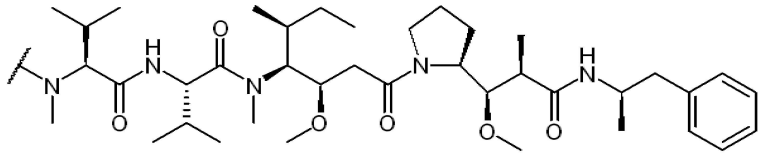
[0924] 여기서:

[0925] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0926] r은 1-10의 정수이다.

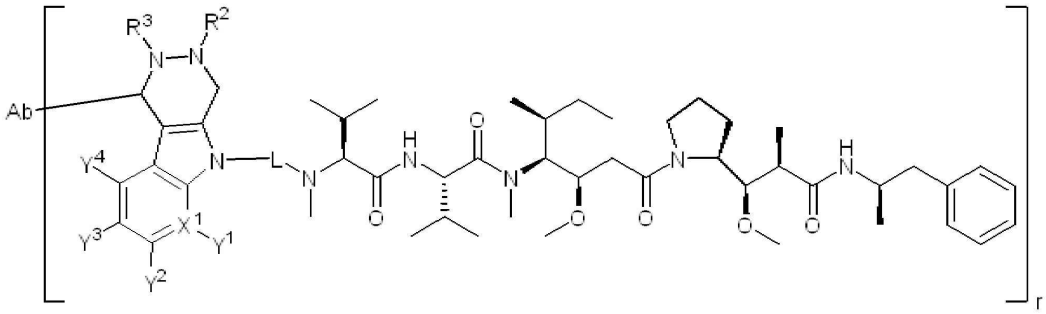
[0927] 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0928] 일부 구현양태에서, $W^1$은 MMAF이며, 이는 다음 구조(W-3)를 갖는다:

[0929]  (W-3),

[0930] 여기서 ..... 는 5T4-ADC에서 MMAF와 링커 사이의 부착 지점을 나타낸다.

[0931] 예를 들어, MMAF는 다음과 같이 5T4-ADC에 포함될 수 있다:

[0932] 

[0933] 여기서:

[0934] Ab는 5T4에 결합하는 항체이고;

[0935] r은 1-10의 정수이고; 그리고

[0936] $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, $Y^4$, $X^1$, $R^2$, $R^3$, 및 L은 식(V)와 같이 본원에 정의된 바와 같다.

[0937] 일부 구현양태에서, L은 링커(L-1), (L-2), (L-3), (L-4), (L-5), (L-6), (L-7) 및 (L-8)에서 선택된다. 일부 구현양태에서, $X^1$은 C 또는 N이다. 일부 구현양태에서, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 및 $Y^4$는 각각 수소이다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$은 독립적으로 $C_1$-$C_6$ 알킬, 예를 들어, 메틸이다. 일부 구현양태에서, r은 1-10의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1-4의 정수이다. 일부 구현양태에서, r은 1 또는 2이다.

[0938] **요약 섹션**

[0939] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있고, 여기서 Ab는 본원에 개시된 바와 같이 5T4에 결합하는 항체이다. 일부 구현양태에서, 항체는 예를 들어, 표 1-3 중 하나와 같이 본원에 기술된 CDR과 동일하거나 실질적으로 동일한 하나 이상(예를 들어, 1, 2 또는 3개)의 CDR을 포함하는 VH를 포함한다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 구현양태에서, 항체는 예를 들어, 표 1-3 중 하나와 같이 본원에 기술된 CDR과 동일하거나 실질적으로 동일한 하나 이상(예를 들어, 1, 2 또는 3개)의 CDR을 포함하는 VL을 포함한다.

[0940] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 본원에 개시된 5T4에 결합하는 항체이다. 일부 구현양태에서, 항체는 예를 들어, 표 1-3 중 하나와 같이 본원에 기술된 VH와 동일하거나 실질적으로 동일한 VH를 포함한다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 구현양태에서, 항체는 예를 들어, 표 1-3 중 하나와 같이 본원에 기술된 VL과 동일하거나 실질적으로 동일한 VL을 포함한다.

[0941] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 5T4에 결합하는 항체이다. 일부 구현양태에서, 항체는 (i) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:26의 아미노산 서열을

포함하는 VL; 또는 (ii) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (iii) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0942] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 도는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 본원에 개시된 바와 같은 5T4에 결합하는 항체이다. 일부 구현양태에서, 항체는 (a) (1) 서열번호:1, 7, 12, 13 및 18 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:2, 8, 14, 19 및 24 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3, 9, 15 및 20 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6, 17 및 23 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0943] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 5T4에 결합하는 항체이다. 일부 구현양태에서, 항체는 (i) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (ii) 서열번호:7의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:8의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:9의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iii) 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iv) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:14의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:15의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (v) 서열번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (vi) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0944] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 5T4에 결합하는 항체이고, (a) (1) 서열번호:27, 31, 34, 35 및 39 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:28, 32, 36, 40 및 43 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29, 33, 37 및 41 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30, 38 및 42 중 어느 하나의 의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0945] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2),

(V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 5T4에 결합하는 항체이다. 일부 구현양태에서, 항체는 (i) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (ii) 서열번호:31의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:33의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iii) 서열번호:34의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iv) 서열번호:35의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:36의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:37의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:38의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (v) 서열번호:39의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:40의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:41의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:42의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (vi) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:43의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0946] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 5T4에 결합하는 항체이다. 일부 구현양태에서, 항체는 (a) (1) 서열번호:46, 50, 53, 13 및 57 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (2) 서열번호:47, 51, 54, 58 및 61 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48, 52, 55 및 59 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 (b) (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (2) 서열번호:5, 11 및 22 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49, 56 및 60 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0947] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 5T4에 결합하는 항체이며, (i) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; (ii) 서열번호:50의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:51의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:52의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iii) 서열번호:53의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (iv) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:54의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:55의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11

의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:56의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (v) 서열번호:57의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:58의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:59의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:60의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 (vi) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:61의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0948] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 5T4에 결합하는 항체이다. 일부 구현양태에서, 항체는 또한 서열번호:25, 26, 44, 45, 62 및 63 중 어느 하나에 제시된 프레임워크 1(FR1), 프레임워크 2(FR2), 프레임워크 3(FR3) 및/또는 프레임워크 4(FR4) 서열을 추가로 포함한다.

[0949] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 5T4에 결합하는 항체이며 인간 프레임워크 서열을 포함한다.

[0950] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 식 (IV), (V), (VI), (VI-1), (VIa-1), (VIb-1), (VI-2), (VIa-2), (VIb-2), (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), (VIb-8), (VI-11), (VI-21), (VI-81), (VIa-11), (VIa-21), (VIb-81), (VI-12), (VI-52), (VI-62), (VIb-12), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)로 표현될 수 있으며, 여기서 Ab는 5T4에 결합하는 항체이다. 일부 구현양태에서, 항체는 (i) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (ii) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (iii) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0951] **항체-링커-약물 접합**

[0952] 일부 구현양태에서, 항체는 링커-약물에 접합되기 전에 변형될 수 있다. 항체의 변형은 링커-약물에 접합하기에 적합한 하나 이상의 반응성 기를 함유하는 변형된 항체를 생성할 수 있다.

[0953] 일부 구현양태에서, 항체는 링커-약물에 대한 접합에 적합한 하나 이상의 반응성 기를 제공하기 위해 하나 이상의 아미노산 잔기에서 변형될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드에 도입된 카보닐 기은 아미노옥시- 및 하이드라지드-보유 화합물과 같은 α-친핵체와 선택적으로 반응할 수 있다. 향상된 동역학, 부위 선택성 및 접합 안정성을 갖는 단백질의 카보닐 작용 기에 대해 선택적인 화학은 향상된 바이오접합체를 초래할 수 있다.

[0954] 일부 구현양태에서, 항체는 반응성 알데히드 기(예를 들어, 반응성 알데히드)을 포함하도록 변형될 수 있다. 반응성 알데히드는 "알데히드 태그" 또는 "ald-태그"에 포함될 수 있으며, 이는 포르밀글리신 생성 효소(FGE)의 작용에 의해 2-포르밀글리신 잔기(본원에서 "fGly"로 지칭됨)를 포함하도록 전환된 설파타제 모티프에서 유래된 아미노산 서열을 지칭하는 것을 의미한다. FGE에 의해 생성된 fGly 잔기는 문헌에서 "포르밀글리신"으로도 지칭된다. 다르게 말하면, 용어 "알데히드 태그"는 본원에서 "전환된" 설파타제 모티프(즉, 시스테인 또는 세린 잔기가 FGE의 작용에 의해 fGly로 전환된 설파타제 모티프, 예를 들어, L(fGly)TPSR(서열번호:102))를 포함하는 아미노산 서열을 지칭하는 데 사용된다. 전환된 설파타제 모티프는 "전환되지 않은" 설파타제 모티프(즉, 시스테인 또는 세린 잔기가 FGE에 의해 fGly로 전환되지 않았지만 전환될 수 있는 설파타제 모티프, 예를 들어, L(C/S)TPSR(서열번호:103) 서열을 갖는 전환되지 않은 설파타제 모티프)를 포함하는 아미노산 서열에서 유래될 수 있다. 설파타제 모티프에 대한 포르밀글리신 생성 효소(FGE)의 작용 맥락에서 사용되는 "전환"은 설파타제 모티프의 시스테인 또는 세린 잔기를 포르밀글리신(fGly) 잔기로 생화학적 변형하는 것을 지칭한다(예를 들어, Cys에서 fGly로, 또는 Ser에서 fGly로). 본원에서 사용되는 알데히드-태그된 항체는 시스테인 또는 세린 잔기가 포르밀글리신 잔기를 형성하도록 변형된 항체를 지칭한다. 알데히드 태그의 추가적 측면 및 부위 특이적 단백질 변형에서의 그 용도는 미국 특허 7,985,783 및 미국 출원 공개 번호 2011/0117621에 기술되어 있으며, 이들 각

각에 대한 공개 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0955] fGly를 포함하도록 폴리펩타이드를 전환하는 것은 세포-기반(생체내) 또는 무-세포 방법(시험관내)에 의해 달성될 수 있다. 마찬가지로, 접합에 적합한 폴리펩타이드를 생성하도록 폴리펩타이드를 변형하는 것(예를 들어, 접합에 적합한 반응성 기를 함유하는 폴리펩타이드를 생성하도록 변형하는 것)은 세포-기반(생체내) 또는 무-세포 방법(시험관내)에 의해 달성될 수 있다.

[0956] 항체의 아미노산 서열은 생체내(예를 들어, 세포내 알데히드 태그-함유 단백질의 번역 시점) 또는 시험관내(예를 들어, 무-세포 시스템에서 알데히드 태그-함유 단백질을 FGE와 접촉시켜)에서 FGE의 작용에 의해 FGly 잔기로 전환(산화)될 수 있는 세린 또는 시스테인 잔기를 함유하는 설파타제 모티프를 포함하도록 변형될 수 있다. 5T4-ADC를 생성하는 데 사용되는 5T4 항체는 적어도 Ig 불변 영역, 예를 들어 Ig 중쇄 불변 영역(예를 들어, 적어도 CH1 도메인; 적어도 CH1 및 CH2 도메인; CH1, CH2 및 CH3 도메인; 또는 CH1, CH2, CH3 및 CH4 도메인) 또는 Ig 경쇄 불변 영역을 포함한다.

[0957] 설파타제 모티프는 항체의 임의의 편리한 부위에 도입될 수 있다. 본원에서 언급된 바와 같이, 일부 구현양태에서 삽입, 결실, 치환(대체) 및/또는 첨가(예를 들어, N- 또는 C-말단)되는 아미노산 잔기의 수를 최소화하기 위해 표적 폴리펩타이드의 천연 아미노산 서열의 변형 정도는 최소화된다. 표적 항체의 아미노산 서열 변형 정도를 최소화하면 이러한 변형이 항체 기능 및/또는 구조에 미칠 수 있는 영향을 최소화할 수 있다.

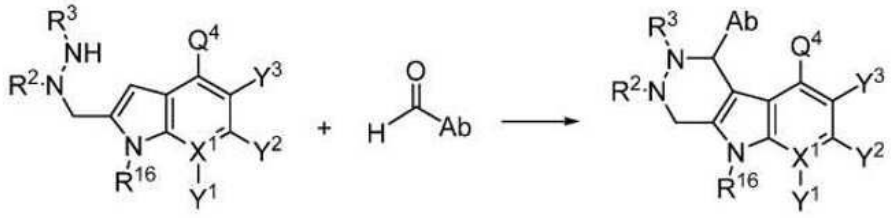
[0958] 일부 구현양태에서, 알데히드-태그된 항체는 알데히드-태그된 Ig 중쇄 불변 영역(예를 들어, 적어도 CH1 도메인; 적어도 CH1 및 CH2 도메인; CH1, CH2 및 CH3 도메인; 또는 CH1, CH2, CH3 및 CH4 도메인)을 포함한다. 알데히드-태그된 Ig 중쇄 불변 영역은 IgA, IgM, IgD, IgE, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소타입 중쇄 또는 동일한 것의 임의의 알로타입 변이체, 예를 들어, 인간 중쇄 불변 영역 서열 또는 마우스 중쇄 불변 영역 서열, 하이브리드 중쇄 불변 영역, 합성 중쇄 불변 영역 또는 합의 중쇄 불변 영역 서열 등의 중쇄 불변 영역 서열을 포함할 수 있으며, 이는 FGE에 의해 변형되어 fGly-변형된 Ig 폴리펩타이드를 생성할 수 있는 적어도 하나의 설파타제 모티프를 포함하도록 변형된다. Ig 중쇄의 알로타입 변이체는 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, Jefferis and Lefranc (2009) *MAbs* 1:4 참조.

[0959] 일부 구현양태에서, 알데히드-태그된 항체는 알데히드-태그된 Ig 경쇄 불변 영역을 포함한다. 알데히드-태그된 Ig 경쇄 불변 영역은 카파 경쇄, 람다 경쇄, 예를 들어 카파 또는 람다 경쇄 불변 영역, 하이브리드 경쇄 불변 영역, 합성 경쇄 불변 영역 또는 합의 경쇄 불변 영역 서열 등의 불변 영역 서열을 포함할 수 있으며, 이는 FGE에 의해 변형되어 fGly-변형된 항체를 생성할 수 있는 적어도 하나의 설파타제 모티프를 포함하도록 변형된다.

[0960] 대안적으로, 분리된, 변형되지 않은 폴리펩타이드는 적합한 효소가 없는 숙주 세포에서 재조합 생산 후 또는 합성 생산에 의해 분리될 수 있다. 그런 다음 분리된 폴리펩타이드는 폴리펩타이드의 원하는 변형이 fGly를 포함하도록 하는 조건 하에 적합한 효소와 접촉될 수 있다. 폴리펩타이드는 당업계에 알려진 방법(예를 들어, 열, pH 조절, 카오트로픽제(예를 들어, 우레아 등), 유기 용매(예를 들어, 탄화수소: 옥탄, 벤젠, 클로로포름 등) 사용)에 의해 펼쳐질 수 있으며, 변성된 단백질은 적합한 효소와 접촉된다. 그런 다음, 변형된 폴리펩타이드는 적합한 조건 하에 다시 접힐 수 있다.

[0961] 일부 구현양태에서, fGly 잔기를 함유하는 변형된 항체는 fGly와 링커-약물의 커플링 모이어티, 예를 들어 본원에서 기술된 바와 같은 하이드라지닐-피롤로 커플링 모이어티의 반응에 의해 링커-약물에 접합될 수 있다. 예를 들어, fGly-함유하는 항체는 생산 공급원(예를 들어, 재조합 숙주 세포 생산, 합성 생산)로부터 분리될 수 있으며, 약물 또는 다른 모이어티를 5T4 항체에 접합시키기에 적합한 조건 하에 반응성 파트너-함유하는 약물 또는 다른 모이어티(예를 들어, 검출가능한 표지)와 접촉시킬 수 있다. 예를 들어, 반응성 파트너-함유하는 약물 또는 다른 모이어티는 접합 모이어티(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 하이드라지닐-피롤로 커플링 모이어티)를 포함할 수 있다. 하이드라지닐-피롤로-함유하는 약물은 본원에 기술된 바와 같이 항체와 반응하여 5T4-ADC를 생산할 수 있다.

[0962] 항체를 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 커플링시키기 위한 일반적인 반응식은 아래와 같다:

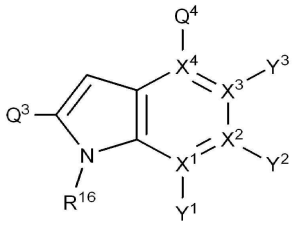


azaHIPS fGly 잔기를 갖는 항체 식(III)

[0963]

[0964] 본원에서 aza-하이드라지노-이소-픽테트-슈펭글러(azaHIPS) 커플링 모이어티로 상호 교환적으로 지칭될 수 있는 하이드라지닐-피롤로 커플링 모이어티는 포르밀-글리신과 접합되면 식(III)으로 표시된 것과 같은 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 형성한다. 5T4 항체는 azaHIPS 커플링 모이어티와 반응하여 두 가지를 함께 접합하는 2-포르밀글리신 잔기(fGly)를 포함할 수 있다. 5T4-ADC를 생성하기 위해 약물은 azaHIPS 모이어티의 임의의 위치(예를 들어, $R^{16}$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 또는 $Q^4$)에서 azaHIPS 모이어티에 직접 또는 간접적으로(예를 들어, 링커 모이어티를 통해) 커플링될 수 있다. $R^2$ 및 $R^3$는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 임의의 원하는 치환기일 수 있다. $R^{16}$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$ 및 $Q^4$는 예를 들어, 식 (I) 또는 식 (II)과 같이 본원에서 기술한 바와 같을 수 있다.

[0965] 아래의 식 (I)은 본원에 기술된 5T4-ADC에서 약물과 5T4에 결합하는 항체를 연결하는 데 사용될 수 있는 하이드라지닐-피롤로 커플링 모이어티를 나타낸다:



[0966] (I)

[0967] 여기서:

[0968] $R^{16}$, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Q^4$ 중 하나는 -L-$W^1$이고,

[0969] $Q^3$ 및 $Q^4$ 중 하나는 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$이고;

[0970] m은 0 또는 1이고;

[0971] $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R^2$ 및 $R^3$은 고리적으로 연결되어 5- 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0972] $Q^3$가 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$가 아닌 경우, $Q^3$는 $Y^4$이고;

[0973] $Q^4$가 -L-$W^1$ 또는 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$가 아닌 경우, $Q^4$는 $Y^4$이고;

[0974] $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$는 각각 독립적으로 C, N, O 또는 S이며, 여기서 $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$ 중 하나는 임의로 부재하고;

[0975] L-$W^1$이 아닌 $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나; 또는 $Y^1$과 $Y^2$, $Y^2$와 $Y^3$, 또는 $Q^4$가 $Y^4$인 경우 $Y^4$와 $Y^3$은 임의로 고리로 연결될 수 있고;

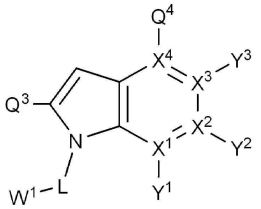
[0976] $R^{16}$이 L-$W^1$이 아닌 경우, $R^{16}$은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0977] L은 본원에 기술된 바와 같은 링커이고; 그리고

[0978] $W^1$은 약물이다.

[0979] 식 (I)은 WO 2015/081282에 이전에 기술되었으며, 이는 본원에 참조로 전체적으로 포함된다.

[0980] 일부 구현양태에서, 하이드라지닐-피롤로 커플링 모이어티는 식 (II)로 표현될 수 있다:

[0981]  (II),

[0982] 여기서:

[0983] $Q^3$ 및 $Q^4$ 중 하나는 [-$(CH_2)_m$$NR^3$$NR^2$]이고;

[0984] $Q^3$ 및 $Q^4$ 중 다른 하나는 $Y^4$이고;

[0985] m은 0 또는 1이고;

[0986] $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R^2$ 및 $R^3$은 고리적으로 연결되어 5- 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0987] $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$는 각각 독립적으로 C, N, O 또는 S이고, 여기서 $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$ 중 하나는 임의로 부재하고;

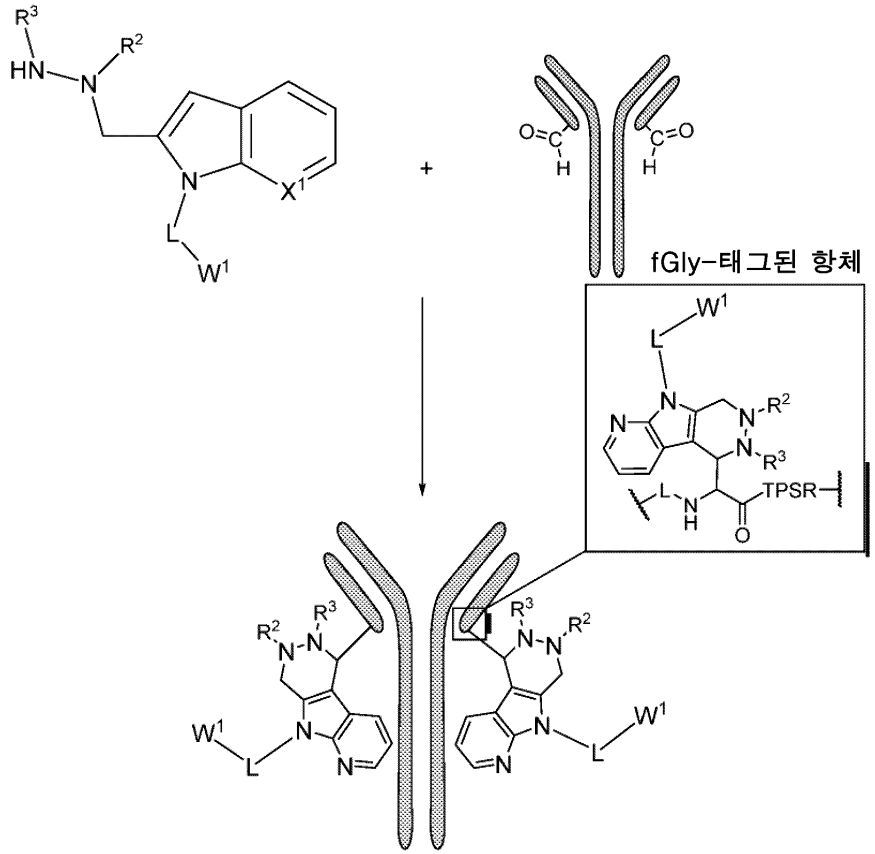
[0988] $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카복실, 카복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴이거나; 또는 $Y^1$과 $Y^2$,$Y^2$와 $Y^3$, 또는 $Q^4$가 $Y^4$인 경우, $Y^3$ 및 $Y^4$는 임의로 고리적으로 연결될 수 있고;

[0989] L은 본원에 기술된 링커이고;

[0990] $W^1$은 약물이다.

[0991] 식 (II)는 이전에 WO 2015/081282 및 WO 2020/154437에 기술되었으며, 각각은 본원에 전체적으로 참고로 포함된다. 일부 구현양태에서, m은 0 또는 1이고 $R^2$ 및 $R^3$은 각각 알킬이다. 예를 들어, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_{10}$ 알킬(예를 들어, $C_1$-$C_6$ 알킬)일 수 있다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소부틸 또는 t-부틸이다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$ 중 적어도 하나는 메틸이다. 일부 구현양태에서, $R^2$ 및 $R^3$ 둘 다 메틸이다. 일부 구현양태에서, $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$는 각각 각각 독립적으로 C 또는 N이다. 일부 구현양태에서, $X^1$은 C이다. 일부 구현양태에서, $X^1$은 N이다. 일부 구현양태에서, $X^2$는 C 또는 N이다. 일부 구현양태에서, $X^2$는 C이다. 일부 구현양태에서, $X^3$은 C 또는 N이다. 일부 구현양태에서, $X^3$은 C이다. 일부 구현양태에서, $X^4$는 C 또는 N이다. 일부 구현양태에서, $X^4$는 C이다. $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$의 다양한 조합이 가능하다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$ 각각은 C이다. 다른 구현양태에서, $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$ 중 3개는 C이고 $X^1$, $X^2$, $X^3$, 및 $X^4$ 중 1개는 N이다. 일부 구현양태에서, $Y^1$, $Y^2$, $Y^3$, 및 $Y^4$ 각각은 수소이다.

[0992] 5T4-ADC를 만드는 예시적인 반응식은 반응식 A에 도시되어 있다:



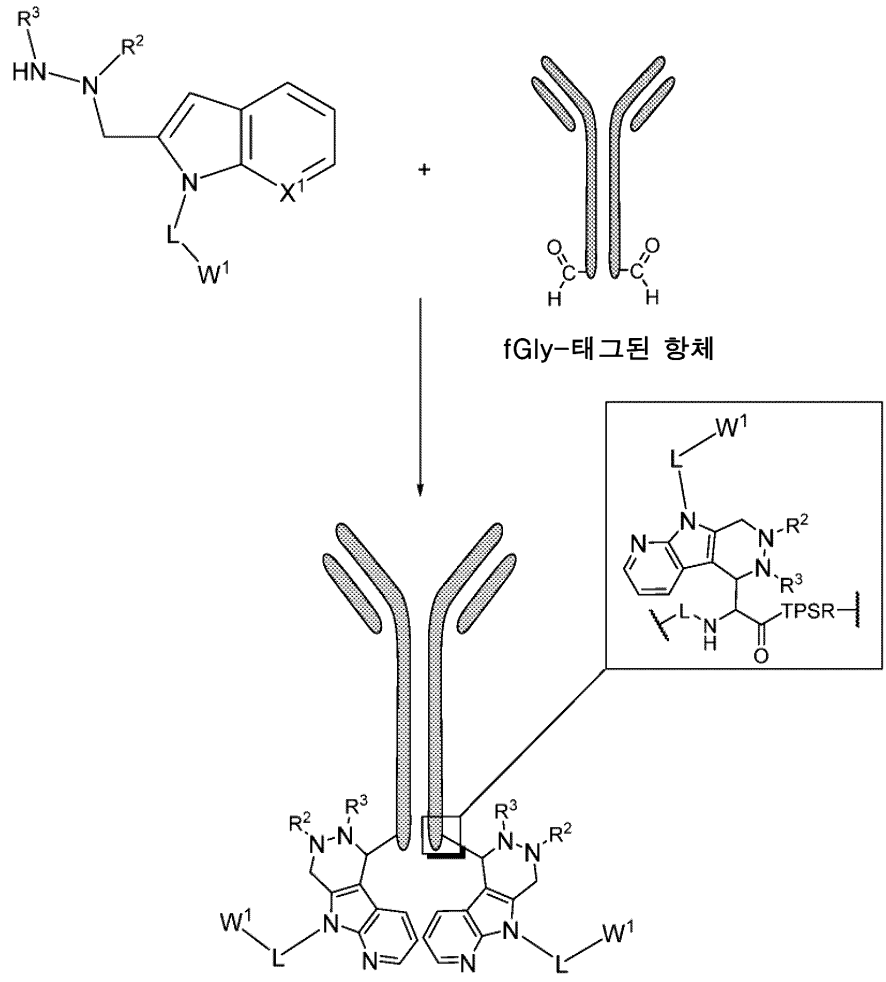

부위-특이적으로
접합된 ADC (DAR 2)

-반응식 A-

[0993]

[0994] 반응식 A에서 링커-약물은 5T4에 결합하는 항체에 접합된다. 5T4 항체는 인식 모티프, 예를 들어 L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프(예를 들어, 서열번호:90, 94, 98)를 경쇄의 불변 영역에 갖는다. L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프의 시스테인 잔기는 포르밀 글리신(fGly)으로 전환된 후 픽테트-슈펭글러(Pictet-Spengler) 반응을 통해 azaHIPs 모이어티에 접합될 수 있다.

[0995] 5T4-ADC를 만드는 예시적인 반응식은 반응식 B에 도시되어 있다:




부위-특이적으로
접합된 ADC (DAR 2)

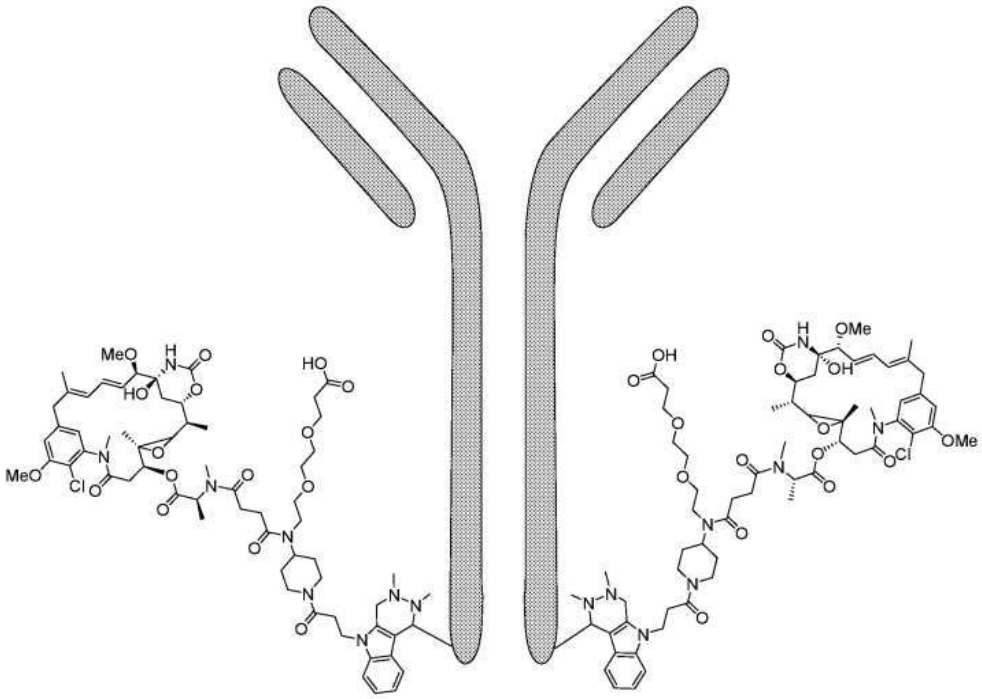
-반응식 B-

[0996]

[0997] 반응식 B에서 링커-약물은 5T4에 결합하는 항체에 접합된다. 5T4 항체는 중쇄의 불변 영역에 인식 모티프, 예를 들어 L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프(예를 들어, 서열번호:90, 94, 98)를 갖는다. L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프의 시스테인 잔기는 포르밀 글리신(fGly)으로 전환된 후 픽테트-슈펭글러(Pictet-Spengler) 반응을 통해 azaHIPs 모이어티에 접합될 수 있다.

[0998] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 통해 5T4 항체의 각 중쇄 불변 영역의 C-말단에 접합된 링커-약물을 포함하고 항체 대 링커-약물의 화학양론적 비율이 1 대 4, 1 대 2, 1.75 대 2 또는 1.9 대 2인 것을 특징으로 할 수 있다. 다른 구현양태에서, 5T4-ADC는 하나의 중쇄 불변 영역의 C-말단에만 연결된 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 포함하고 항체와 약물 사이의 화학양론적 비율이 0.5 대 1, 0.75 대 1 또는 0.9 대 1이다.

[0999] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 통해 5T4 항체에 접합된 링커-약물을 포함하고, 링커-약물은 아래 반응식 C에 도시된 바와 같이 링커(L-1)를 통해 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 접합된 메이탄신을 포함한다:

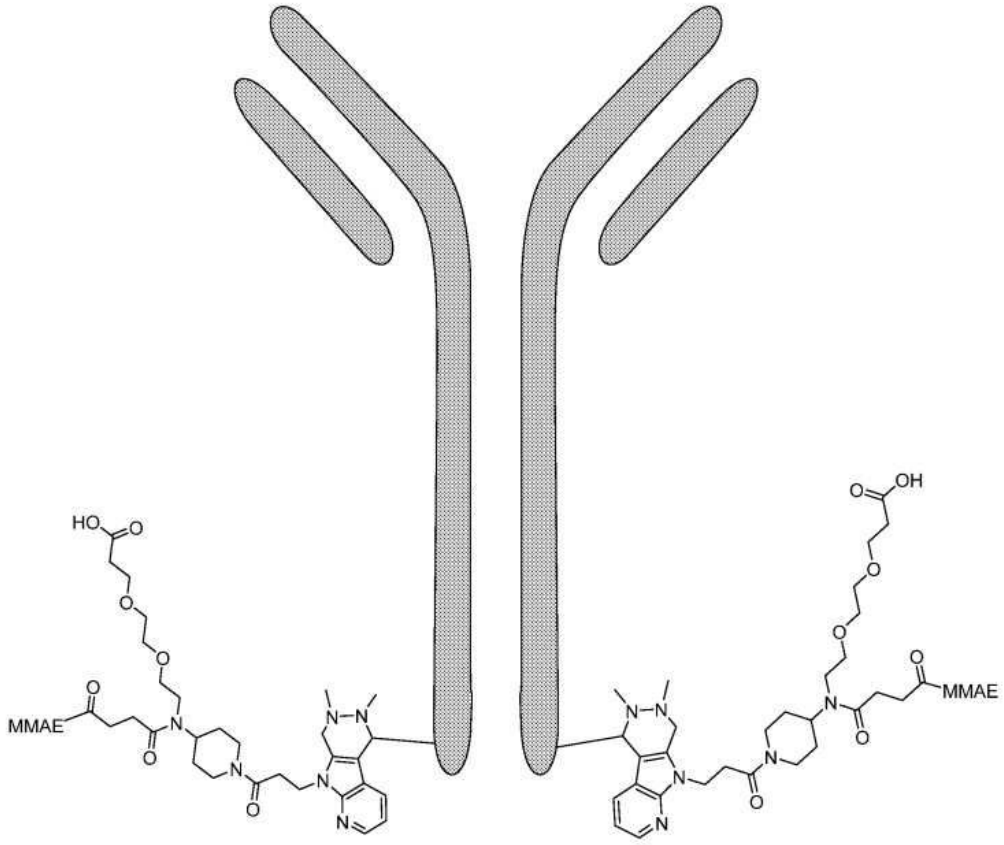


[1000]

[1001] - 반응식 C -

[1002] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 중쇄의 불변 영역에 인식 모티프, 예를 들어 L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프(예를 들어, 서열번호:90, 94, 98)를 갖는다. L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프의 시스테인 잔기는 포르밀 글리신(fGly)으로 전환될 수 있고, 이후 픽테트-스펭글러 반응을 통해 링커(L-1)를 통해 MMAE에 접합된 azaHIPs 모이어티에 접합될 수 있다.

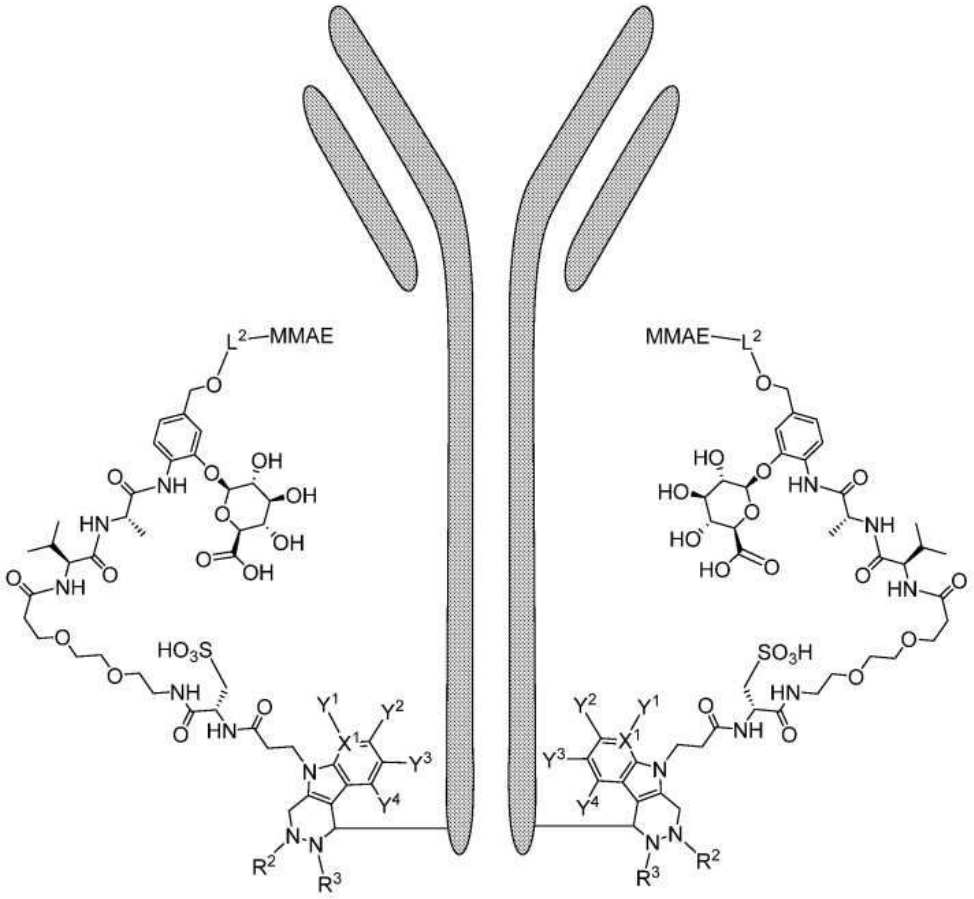
[1003] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 통해 5T4 항체에 접합된 링커-약물을 포함하며, 여기서 링커-약물은 아래 반응식 D에 도시된 바와 같이 링커(L-2)를 통해 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 접합된 MMAE를 포함한다:

[1004] 


[1005] - 반응식 D -

[1006] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 중쇄의 불변 영역에 인식 모티프, 예를 들어 L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프를 갖는다. L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프의 시스테인 잔기는 포르밀 글리신(fGly)으로 전환된 후, 픽테트-스펭글러 반응을 통해 링커(L-2)를 통해 MMAE에 접합된 azaHIPs 모이어티에 접합될 수 있다.

[1007] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 통해 5T4 항체에 접합된 링커-약물을 포함하며, 여기서 링커-약물은 아래 반응식 E에 도시된 바와 같이 링커(L-7)를 통해 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 접합된 MMAE를 포함한다:

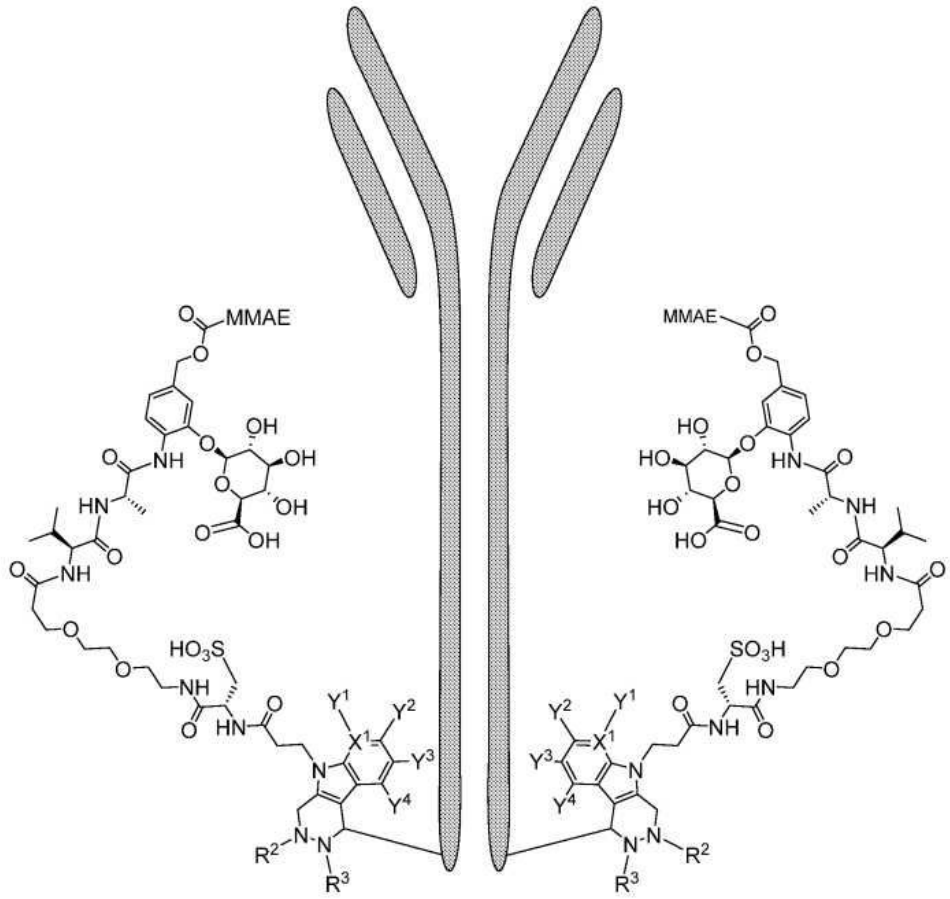


[1008]

[1009] - 반응식 E -

[1010] 일부 구현양태에서, 5T4 항체는 중쇄의 불변 영역에 인식 모티프, 예를 들어 L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프(예를 들어, 서열번호:90, 94, 98)를 갖는다. L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프의 시스테인 잔기는 포르밀 글리신(fGly)으로 전환될 수 있고, 픽테트-스펭글러 반응을 통해 링커(L-7)를 통해 MMAE에 접합된 azaHIPs 모이어티에 접합될 수 있다.

[1011] 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 피리다진-피롤로 커플링 모이어티를 통해 5T4 항체에 접합된 링커-약물을 포함하며, 여기서 링커-약물은 아래 반응식 F에 도시된 바와 같이 링커(L-8)를 통해 피리다진-피롤로 커플링 모이어티에 접합된 MMAE를 포함한다:




[1012]

[1013] - 반응식 F -

[1014] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 중쇄의 불변 영역에 인식 모티프, 예를 들어 L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프(예를 들어, 서열번호: 90, 94, 98)를 갖는다. L(C/S)TPSR(서열번호:103) 인식 모티프의 시스테인 잔기는 포르밀 글리신(fGly)으로 전환된 후, 픽테트-슈펭글러 반응을 통해 링커(L-8)를 통해 MMAE에 접합된 azaHIPs 모이어티에 접합될 수 있다.

[1015] **제형 및 조성물**

[1016] 5T4-ADC는, 예를 들어 질병 장애 또는 상태를 치료하기 위해 대상체에게 투여하기 위한 약제학적 조성물에 포함될 수 있다. 약제학적 조성물은 평균적으로 약 1 내지 약 2의 약물-대-항체 비율("DAR")을 나타낼 수 있는 5T4-ADC를 포함할 수 있다. 다시 말해, 각 항체는 하나 또는 두 개의 링커-약물 접합체에 접합된다. DAR을 결정하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있으며 역상 크로마토그래피 또는 HPLC-MS를 사용하는 방법을 포함한다.

[1017] 예를 들어, 임의의 구현양태에서, 5T4-ADC를 포함하는 약제학적 조성물은 약 1 내지 약 1.9 또는 약 1 내지 약 1.8, 약 1 내지 약 1.7, 약 1.5 내지 약 1.9, 약 1.5 내지 약 1.8, 약 1.5 내지 약 1.7, 약 1.7 내지 약 1.9, 약 1.7 내지 약 1.8, 또는 약 1.8 내지 약 1.9의 DAR을 나타낼 수 있다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 본원에서 기술된 바와 같이 5T4에 결합하는 항체를 포함하는 5T4-ADC, 예를 들어 표 1-3 중 하나와 같이 본원에서 기술된 바와 같은 mAbA4, mAbA15 및 mAbA17 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (IV), (V) 또는 (VI)의 5T4-ADC를 포함하며, L은 링커 (L-1), (L-2), (L-3), (L-4), (L-5), (L-6), (L-7) 및 (L-8)에서 선택된다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 MMAE, MMAF, 메이탄신 또는 그 유도체를 포함하는 5T4-ADC를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-1), (VIa-1) 또는 (VIb-1)의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-2), (VIa-2), 또는 (VIb-2)의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), 또는 (VIb-8)의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-11), (VI-12), (VIa-11), 또는 (VIb-12)의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-21) 또는 (VIa-21)의 5T4-ADC 및 약제학적으로

허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-52), (VI-62), (VI-81), (VIb-81), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72) 또는 (VIb-82)의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 mAbA4-VIa-21(즉, 항체 mAbA4에 접합된 식 VIa-21의 링커-약물), mAbA15-VIa-21(즉, 항체 mAbA15에 접합된 식 VIa-21의 링커-약물), mAbA15-VIb-82(즉, 항체 mAbA15에 접합된 식 VIb-82의 링커-약물), 또는 mAbA17-VIb-82(즉, 항체 mAbA17에 접합된 식 VIb-82의 링커-약물)의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다.

[1018] 5T4-ADC는 다양한 다른 방식으로 제형화될 수 있다. 본 개시내용의 5T4-ADC는, 예를 들어 약제학적으로 허용되는 염의 형태로 임의의 적합한 형태로 제공될 수 있으며, 예를 들어 경구, 국소 또는 비경구 투여와 같은 임의의 적합한 투여 경로를 위해 제형화될 수 있다. 5T4-ADC가 액체 주사제(예를 들어, 정맥내 또는 조직에 직접 투여될 수 있는 구현양태)로 제공되는 경우, 5T4-ADC는 즉시-사용가능한 투여 형태 또는 재구성을 위한 저장-안정 분말 또는 약제학적으로 허용되는 부형제 및 부형제로 구성된 액체로 제공될 수 있다.

[1019] 5T4-ADC를 제형화하는 방법은 당해 기술 분야에서 이용 가능한 방법에서 적용할 수 있다. 예를 들어, 5T4-ADC는 유효량의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제(예를 들어, 식염수)를 포함하는 약제학적 조성물로 제공될 수 있다. 약제학적 조성물은 임의로 다른 첨가제(예를 들어, 완충액, 안정제, 방부제 등)를 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 제형은 인간에게 투여하기에 적합한 것과 같이 포유류에게 투여하기에 적합하다.

[1020] 또한, 본원에서 기술된 유효량의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 함유하는 약제학적 조성물이 본원에서 제공된다. 일부 구현양태에서, 5T4-ADC는 표 1-3 중 하나에 기술된 바와 같이 mAbA4, mAbA15 및 mAbA17을 포함하여 본원에서 기술된 바와 같이 5T4에 결합하는 항체를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (IV), (V) 또는 (VI)의 5T4-ADC의 유효량을 포함하고, L은 링커 (L-1), (L-2), (L-3), (L-4), (L-5), (L-6), (L-7) 또는 (L-8)에서 선택된다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 MMAE, MMAF, 메이탄신 또는 이들의 임의의 유도체를 포함하는 5T4-ADC의 유효량을 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-1), (VIa-1) 또는 (VIb-1)의 5T4-ADC의 유효량과 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-2), (VIa-2) 또는 (VIb-2)의 5T4-ADC의 유효량과 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), 또는 (VIb-8)의 5T4-ADC의 유효량과 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-11), (VI-12), (VIa-11), 또는 (VIb-12)의 5T4-ADC의 유효량과 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-21) 또는 (VIa-21)의 5T4-ADC의 유효량과 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 식 (VI-52), (VI-62), (VI-81), (VIb-81), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)의 5T4-ADC의 유효량과 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물은 mAbA4-VIa-21, mAbA15-VIa-21, mAbA15-VIb-82, 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC의 유효량과 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다.

[1021] 약제학적으로 허용되는 부형제는 인간 또는 수의학적 대상체에 투여하기에 적합한(예를 들어, 생리학적으로 허용되는 및/또는 약리학적으로 허용되는) 하나 이상의 호환가능한 고체 또는 액체 충전제, 희석제, 다른 부형제 또는 캡슐화 물질일 수 있다. 약제학적으로 허용되는 부형제는, 예를 들어 하이브리드 분자와 같은 하나 이상의 활성 성분과 혼합될 수 있으며, 약제학적 조성물에 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제가 존재하는 경우 원하는 약제학적 효능을 크게 손상시키지 않는 방식으로 서로 혼합될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 물질은 일반적으로 메스꺼움, 현기증, 발진 또는 위장 장애와 같은 상당한 바람직하지 않은 생리적 효과를 일으키지 않고 대상체에게 투여할 수 있다. 예를 들어, 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 조성물은 치료 목적으로 인간 대상체에게 투여될 때 면역원성이 없는 것이 바람직하다.

[1022] 본 발명의 약제학적 조성물은 또한, 예를 들어 염 형태의 아세트산, 염 형태의 시트르산, 염 형태의 붕산 및 염 형태의 인산을 포함하는 적합한 완충제를 추가로 함유할 수 있다. 약제학적 조성물은 또한 임의로 벤잘코늄 클로라이드, 클로로부탄올, 파라벤 및 티메로살과 같은 적합한 방부제를 함유할 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물은 단위 투여 형태로 제공될 수 있으며, 많은 약제학 분야에서 잘 알려진 적합한 방법으로 제조될 수 있다. 이러한 방법에는 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편을 하나 이상의 보조 성분을 구성하는 부형제와 결합시키는 단계가 포함된다. 일반적으로, 약제학적 조성물은 활성제를 액체 부형제, 미분된 고체 부형제 또는 둘 모두와 균일하고 친밀하게 결합시킨 다음, 필요한 경우 생성물을 성형하여 제조된다.

[1023] 비경구 투여에 적합한 조성물은 편리하게 조성물의 멸균 수성 제제를 포함하는데, 이는 바람직하게는 수용자의

혈액과 등장성이다. 이 수성 제제는 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 공지된 방법으로 제형화할 수 있다. 멸균 주사 제제는 또한 비-독성 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매, 예를 들어 1,3-부탄 디올 중 용액과 같은 멸균 주사 용액 또는 현탁액일 수 있다. 사용할 수 있는 허용되는 비히클 및 용매에는 물, 링거액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한 멸균 고정 오일은 통상적으로 용매 또는 현탁 매질로 사용된다. 이러한 목적을 위해 합성 모노- 또는 디-글리세리드와 같은 임의의 무난한 고정 오일을 사용할 수 있다. 또한 올레산과 같은 지방산을 주사제의 제조에 사용할 수 있다. 경구, 피하, 정맥내, 근육내 투여 등에 적합한 부형제 제형은 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA에서 찾을 수 있다.

[1024] 본 발명의 약제학적 조성물의 제조 및 다양한 투여 경로는 당해 기술 분야에서 잘 알려진 방법에 따라 수행할 수 있다. 본 발명의 맥락에서 유용한 전달 시스템에는 시간-방출, 지연 방출 및 지속 방출 전달 시스템이 포함되어 조성물의 전달이 치료될 부위의 감작을 유발하기에 충분한 시간 전에 발생한다. 조성물은 다른 치료제 또는 요법과 함께 사용할 수 있다. 이러한 시스템은 조성물의 반복 투여를 피할 수 있으므로 대상체와 의사의 편의성을 높일 수 있으며, 본 발명의 일부 조성물에 특히 적합할 수 있다.

[1025] 다양한 유형의 방출 전달 시스템이 이용가능하며 해당 분야의 통상의 기술자에게 알려져 있다. 적합한 방출 전달 시스템에는 폴리(락티드-글리콜리드), 코폴리옥살레이트, 폴리카프로락톤, 폴리에스테르아미드, 폴리오르토에스테르, 폴리하이드록시부티르산 및 폴리안하이드라이드와 같은 중합체 기반 시스템이 포함된다. 약물을 함유하는 상기 중합체의 마이크로캡슐은, 예를 들어 미국 특허 5,075,109에 기재되어 있다. 전달 시스템에는 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 지방산과 같은 스테롤 또는 모노-, 디- 및 트리-글리세리드와 같은 중성 지방과 같은 지질인 비-중합체 시스템; 하이드로겔 방출 시스템; 실라스틱 시스템; 펩타이드-기반 시스템; 왁스 코팅; 통상적인 결합제 및 부형제를 사용한 압축 정제; 부분적으로 융합된 임플란트 등이 포함된다. 구체적인 예로는 다음이 포함되지만 이에 제한되지는 않는다: (a) 미국 특허 4,452,775, 4,667,014, 4,748,034 및 5,239,660에 기술된 것과 같은 활성 조성물이 매트릭스 내의 형태로 포함된 침식 시스템 및 (b) 미국 특허 3,832,253 및 3,854,480에 기술된 것과 같은 활성 성분이 중합체에서 제어된 속도로 침투하는 확산 시스템. 또한, 일부는 이식에 적합하게 조정된 펌프-기반 하드웨어 전달 시스템을 사용할 수 있다.

[1026] 일반적으로, 5T4-ADC 또는 약제학적 조성물은, 예를 들어 바이알, 파우치, 앰플 및/또는 치료 방법에 적합한 임의의 용기에 적절하게 포장된다. 성분은 농축물(동결건조 조성물 포함)로 제공될 수 있으며, 사용 전에 추가로 희석할 수 있거나 사용 농도로 제공될 수 있다. 생체내에서 5T4-ADC를 사용하는 경우, 단일 투여량은 성분의 원하는 양과 농도를 갖는 멸균 용기에 제공될 수 있다.

[1027] **치료 방법**

[1028] 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태, 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태의 하나 이상의 증상을 포함하여, 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태를 인간 5T4와 같은 5T4에 결합하는 항체 및 이에 직접 또는 간접적으로 접합된 약물을 포함하는 5T4-ADC를 사용하여 치료, 방지 또는 완화하는 방법이 본원에 또한 제공된다. 또한, 인간 5T4와 같은 5T4에 결합하는 항체 및 이에 직접 또는 간접적으로 접합된 약물을 포함하는 5T4-ADC를 사용하여 종양 세포를 사멸하는 방법이 본원에 제공된다.

[1029] 5T4에 결합하는 항체는 표 1-3 중 하나에 기술된 바와 같은 본원에 기술된 mAbA4, mAbA15 및 mAbA17과 같은 임의의 항체를 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 종양 세포를 사멸시키는 방법은 종양 세포를 식 (IV), (V) 또는 (VI)의 5T4-ADC와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 L은 링커 (L-1), (L-2), (L-3), (L-4), (L-5), (L-6), (L-7) 또는 (L-8)이다. 일부 구현양태에서, 종양 세포를 사멸시키는 방법은 종양 세포를 MMAE, MMAF, 메이탄신 또는 그 유도체를 포함하는 5T4-ADC와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 종양 세포를 사멸시키는 방법은 종양 세포를 식 (VI-1), (VIa-1) 또는 (VIb-1)의 5T4-ADC와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 종양 세포를 사멸시키는 방법은 종양 세포를 식 (VI-2), (VIa-2), 또는 (VIb-2)의 5T4-ADC와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 종양 세포를 사멸시키는 방법은 종양 세포를 식 (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), 또는 (VIb-8)의 5T4-ADC와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 종양 세포를 사멸시키는 방법은 종양 세포를 식 (VI-11), (VI-12), (VIa-11), 또는 (VIb-12)의 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 종양 세포를 사멸시키는 방법은 종양 세포를 식 (VI-21) 또는 (VIa-21)의 5T4-ADC와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 종양 세포를 사멸시키는 방법은 종양 세포를 식 (VI-52), (VI-62), (VI-81), (VIb-81), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)의 5T4-ADC와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 구현양

태에서, 종양 세포를 사멸시키는 방법은 종양 세포를 mAbA4-VIa-21, mAbA15-VIa-21, mAbA15-VIb-82, 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 접촉은 생체내 또는 시험관내에서 이루어진다.

[1030] 임의의 구현양태에서, 종양 세포를 5T4-ADC와 접촉시키는 방법은 종양 세포를 5T4-ADC 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 조성물과 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 조성물 내의 5T4-ADC는 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 4, 약 1 내지 약 2, 약 1.5 내지 약 2, 또는 약 1.75 내지 약 1.9의 DAR로 특징지어질 수 있다.

[1031] 또한, 본원에서는 대상체에게 유효량의 5T4-ADC를 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 5T4-ADC는 본원에서 기술된 바와 같이 5T4에 결합하는 항체 및 링커를 통해 이에 접합된 약물을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 예를 들어 표 1-3 중 하나와 같이 본원에서 기술된 바와 같은 mAbA4, mAbA15 또는 mAbA17이다.

[1032] 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에게 식 (IV), (V) 또는 (VI)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 L은 (L-1), (L-2), (L-3), (L-4), (L-5), (L-6), (L-7) 또는 (L-8)이다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 본원에서 기술된 바와 같이 MMAE, MMAF, 메이탄신 또는 이들의 임의의 유도체를 포함하는 5T4-ADC의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에게 식 (VI-1), (VIa-1), 또는 (VIb-1)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에게 식 (VI-2), (VIa-2), 또는 (VIb-2)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에게 식 (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), 또는 (VIb-8)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에게 식 (VI-11), (VI-12), (VIa-11), 또는 (VIb-12)의 5T4-ADC의 유효량 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에게 식 (VI-21) 또는 (VIa-21)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에게 유효량의 5T4-ADC를 식 (VI-52), (VI-62), (VI-81), (VIb-81), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에게 mAbA4-VIa-21, mAbA15-VIa-21, mAbA15-VIb-82 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다.

[1033] 어떤 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에게 5T4-ADC 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물 내의 5T4-ADC는 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 4, 약 1 내지 약 2, 약 1.5 내지 약 2, 또는 약 1.75 내지 약 1.9의 DAR로 특징지어질 수 있다.

[1034] 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에서 암 세포, 예를 들어 종양 세포의 제거를 향상시키는 데 효과적이다.

[1035] 암 또는 종양 세포의 제거를 "향상"하는 데는 제거의 100% 향상이 필요하지 않다. 제거 속도의 향상이 고려된다. 마찬가지로, 종양 성장을 "조절"하는 것은 종양의 크기를 줄이거나, 종양 성장을 늦추거나, 기존 종양의 크기 증가를 억제하는 것을 지칭한다. 종양을 완전히 없애는 것이 필요하지 않으며; 종양 크기의 감소 또는 종양 성장의 둔화는 대상체에게 유익한 생물학적 효과를 구성한다. 이와 관련하여, 종양 세포 제거는, 예를 들어 방법이 없는 경우(예를 들어, 생물학적으로 일치하는 대조군 대상체 또는 방법의 작용제에 노출되지 않은 표본)에 관찰된 제거 수준에 비해 적어도 약 5%, 적어도 약 10% 또는 적어도 약 20% 향상될 수 있다. 효과는, 예를 들어 종양 크기의 감소, 종양 마커 수준의 감소 또는 유지, 또는 종양 세포 집단의 감소 또는 유지에 의해 검출된다. 일부 구현양태에서, 종양 세포의 제거는, 예를 들어 본 방법의 5T4 결합제(예를 들어, 항체)가 없는 경우의 종양 세포 제거에 비해 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 그 이상(약 100%) 향상된다.

[1036] 본 개시내용은 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절(예를 들어, 억제, 감소, 방지)하는 방법을 제공하며, 이 방법은 본원에서 기술된 바와 같이 5T4에 결합하는 항체 및 링커를 통해 연결된 약물을 포함하는 5T4-ADC를 대상체에서 종양 성장을 조절하는 데 효과적인 양으로 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 본원에서 기술된 바와 같이 5T4에 결합하는 항체 및

링커를 통해 연결된 약물을 포함하는 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 표 1-3 중 하나에 기술된 바와 같이 mAbA4, mAbA15 또는 mAbA17이다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 대상체에게 식 (IV), (V), 또는 (VI)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 L은 (L-1), (L-2), (L-3), (L-4), (L-5), (L-6), (L-7), 또는 (L-8)이다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 대상체에게 MMAE, MMAF, 메이탄신 또는 이들의 임의의 유도체를 포함하는 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 대상체에게 식 (VI-1), (VIa-1), 또는 (VIb-1)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 대상체에게 식 (VI-2), (VIa-2), 또는 (VIb-2)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 대상체에게 식 (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), 또는 (VIb-8)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 대상체에게 식 (VI-11), (VI-12), (VIa-11), 또는 (VIb-12)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 대상체에게 식 (VI-21) 또는 (VIa-21)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 대상체에게 식 (VI-52), (VI-62), (VI-81), (VIb-81), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 대상체에게 mAbA4-VIa-21, mAbA15-VIa-21, mAbA15-VIb-82, 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다.

[1037] 임의의 구현양태에서, 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장을 조절하는 방법은 5T4-ADC 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에 있어서, 약제학적 조성물 내의 5T4-ADC는 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 4, 약 1 내지 약 2, 약 1.5 내지 약 2, 또는 약 1.75 내지 약 1.9의 DAR로 특징지어질 수 있다.

[1038] 일부 구현양태에 있어서, 본원에서 기술된 방법에 의해 치료 및/또는 사멸될 수 있는 본원에서 기술된 암 및 종양 세포는, 예를 들어 암 또는 종양 세포의 표면에서 5T4를 발현한다. 일부 구현양태에 있어서, 종양 또는 암 세포는 5T4를 과발현할 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "과발현"은 정상(예를 들어, 정상 세포)보다 더 많은 유전적 생성물을 전사하고 번역하는 것을 의미하며, 그 과정은 종종 암 세포의 특성이다.

[1039] 본원에 기술된 5T4-ADC로 치료할 수 있는 암의 예는 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: 유방암, 대장암, 신장암, 폐암, 편평세포 골수성 백혈병, 혈관종, 흑색종, 성상세포종 및 신경교종뿐만 아니라 육종(혈관육종, 섬유육종, 횡문근육종, 지방육종), 점액종, 횡문근종, 섬유종, 지방종 및 기형종과 같은 심장 증식성 질병을 포함하되 이에 제한되지 않는 기타 세포-증식성 질병 상태; 기관지 원발성 암종과 같은 폐의 암종(예를 들어, 편평세포암, 미분화 소세포암, 미분화 대세포암, 선암), 폐포암(예를 들어, 세기관지암), 기관지 선종, 육종, 림프종, 연골종성 폐선종, 폐피종; 식도(예를 들어, 편평세포 암종, 선암, 평활근육종, 림프종), 위(예를 들어, 암종, 림프종, 평활근육종), 췌장(예를 들어, 관상 선암, 인슐린선암, 글루카곤종, 가스트리노마, 카르시노이드 종양, 비포마), 소장(예를 들어, 선암, 림프종, 카르시노이드 종양, 카르포시 육종, 평활근종, 혈관종, 지방종, 신경섬유종, 섬유종), 대장(예를 들어, 선암종, 세관형 선종, 융모선종, 과오종, 평활근종)과 같은 위장관계의 암; 비뇨생식기 암, 즉 신장 암(예를 들어, 선암종, 윌름 종양(예를 들어, 신모세포종) 림프종, 백혈병, 신세포암종), 방광 및 요도 암(예를 들어, 편평세포 암종, 전이세포 암종, 선종암), 전립선 암(예를 들어, 선암종, 육종, 전립선 소세포 암종), 고환 암(예를 들어, 정자세포종, 기형종, 배아암종, 기형암종, 융모암종, 육종, 간질세포 암종, 섬유종, 섬유선종, 선종양 종양, 지방종); 간의: 간종(예를 들어, 간세포암종), 담관암, 간모세포암종, 혈관육종, 간세포선종, 혈관종; 골형성 육종(예를 들어, 골육종), 섬유육종, 악성 섬유성 조직구종, 연골육종, 유잉 육종, 악성 림프종(예를 들어, 망상세포 육종), 악성 거대세포 종양, 척추종, 골연골종(예를 들어, 골연골성 외골증), 양성 연골종, 연골모세포종, 연골점액종, 유골성 골종 및 거대세포 종양과 같은 뼈의 증식성 질병; 두개골(예를 들어, 골종, 혈관종, 육아종, 황색종, 변형성골염), 뇌막(예를 들어, 수막종, 수막육종, 신경교종증), 뇌(예를 들어, 성상세포종, 수질모세포종, 신경교종, 상피세포종, 생식세포종(예를 들어, 송과체종), 다형성 신경교종, 과소교종, 슈반종, 망막모세포종, 선천적 종양), 척수 신경섬유종, 수막종, 신경교종, 육종); 자궁(예를 들어, 자궁 내막암), 자궁경부(예를 들어, 자궁경부암, 전암 자궁경부 이형성증), 난소(예를 들어, 난소암), 장액성 낭선암, 점액성 낭선암, 미분류 암종, 과립막세포 종양, 세르톨리-라이디히 세포 종양, 디스세퍼미노마, 악성 기형종), 외음부(예를 들어, 편평세포암, 상피내암종, 선암종, 섬유육종, 흑색종), 질(예를 들어, 투명세포암, 편평세포암, 포도상육종(배아성 횡문근육종), 나팔관(예를 들어, 암종));혈액의(예를 들

어, 골수성 백혈병(급성 및 만성), 급성 림프모구 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 골수증식성 질병, 다발성 골수종, 골수이형성증후군), 호지킨병, 비호지킨 림프종(예를 들어, 악성 림프종); 악성 흑색종, 기저세포 암종, 편평세포 암종, 카르포시 육종, 두더지 이형성 모반, 지방종, 혈관종, 피부섬유종, 켈로이드, 건선과 같은 피부; 신경모세포종과 같은 부신; 수질성 갑상선 암을 포함한 갑상선. 일부 구현양태에서, 종양 또는 암은 재발된 종양 또는 암이다. 일부 구현양태에서, 종양 또는 암은 전이성 종양 또는 암이다. 일부 구현양태에서, 종양 또는 암은 원발성 종양 또는 암이다. 추가로 또는 대안적으로, 종양이나 암이 화학요법이나 기타 비-5T4 표적 항암요법에 내성을 보인다.

[1040] 또한, 5T4에 결합하는 항체를 포함하는 5T4-ADC는, 예를 들어 뼈 악화, 척추 붕괴 및 마비와 같은 암과 관련된 부작용을 완화하거나 감소시키는 데 사용될 수 있다. 한 구현양태에서, 대상체은 뼈 전이를 앓거나 앓을 위험이 있으며, 5T4에 결합하는 항체를 포함하는 5T4-ADC는 주변 뼈의 악화를 감소시키는 양으로 투여된다. 따라서, 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체를 포함하는 5T4-ADC는 뼈 전이로 인한 뼈 악화를 방지하고, 여기서 종양 세포 증식은 감소되거나 감소되지 않는다. 일부 구현양태에서, 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)인 5T4에 결합하는 항체를 포함하는 5T4-ADC는 뼈 전이로 인한 뼈 악화를 방지하고 종양 세포 증식을 감소시킨다. 일반적으로, 종양 세포 증식에 대한 효과(예를 들어, 증식 억제 또는 증식에 대한 효과 없음)는 특정 전이의 미세환경에 따라 달라진다. 예를 들어, 상당한 양의 1형 콜라겐이 있는 미세환경에 위치한 전이의 증식은 억제될 수 있다. 반면에 상당한 양의 1형 콜라겐이 없는 미세환경에 위치한 전이의 증식은 억제될 수 없지만, 전이 근처의 골 악화는 감소되거나 방지된다.

[1041] 따라서, 본 개시내용은 또한 이를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 5T4-ADC를 투여하는 것을 포함하는, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 본원에서 기술된 바와 같이, 5T4에 결합하는 항체와 링커를 통해 이에 접합된 약물을 포함하는 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체는 표 1-3 중 하나에 기술된 바와 같이 mAbA4, mAbA15 또는 mAbA17이다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 대상체에게 식 (IV), (V) 또는 (VI)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 L은 (L-1), (L-2), (L-3), (L-4), (L-5), (L-6), (L-7) 또는 (L-8)이다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 대상체에게 MMAE, MMAF, 메이탄신 또는 그 유도체를 포함하는 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 대상체에게 식 (VI-1), (VIa-1), 또는 (VIb-1)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 대상체에게 식 (VI-2), (VIa-2), 또는 (VIb-2)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 대상체에게 식 (V-3), (VI-3), (V-4), (VI-4), (V-5), (VI-5), (V-6), (VI-6), (V-7), (VI-7), (V-8), (VI-8), (VIa-8), 또는 (VIb-8)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 대상체에게 식 (VI-11), (VI-12), (VIa-11), 또는 (VIb-12)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 대상체에게 식 (VI-21) 및 (VIa-21)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 대상체에게 식 (VI-52), (VI-62), (VI-81), (VIb-81), (VIb-52), (VIb-62), (VIb-72), 또는 (VIb-82)의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 대상체에게 mAbA4-VIa-21, mAbA15-VIa-21, mAbA15-VIb-82 또는 mAbA17-VIb-82의 5T4-ADC의 유효량을 투여하는 것을 포함한다.

[1042] 임의의 구현양태에서, 암과 관련된 부작용을 완화 또는 감소시키는 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 본원에 개시된 5T4-ADC 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에 있어서, 약제학적 조성물 내의 5T4-ADC는 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 4, 약 1 내지 약 2, 약 1.5 내지 약 2, 또는 약 1.75 내지 약 1.9의 DAR로 특징지어질 수 있다.

[1043] 본원에 기술된 다양한 구현양태의 활성에 실질적으로 영향을 미치지 않는 변형도 본원에 기술된 주제의 정의 내에서 제공되는 것으로 이해된다. 따라서, 다음 실시예는 본 개시내용을 예시하기 위한 것이지 제한하기 위한 것이 아니다.

[1044] **실시예**

[1045] **실시예 1. 항체 생성**

[1046] 인간 5T4에 대한 결합제를 얻기 위해, 항체 발견은 파지 디스플레이에 의해 수행되었다.

[1047] 인간 5T4에 대한 결합제를 얻기 위해 항체 발견은 인간 Fab 라이브러리의 파지 디스플레이에 의해 수행되었으며 표준 프로토콜을 사용하여 수행되었다. 인간 5T4의 세포외 도메인은 Acro Biosystems(비오틴화된 인간 5T4 His-AVITAG™ Acro Cat No. TPG-H83Eb)에서 구입하거나 생산했다. 생산된 항원은 인간 5T4, 시노몰구스 5T4 및 마우스 5T4로 구성되었으며, 모두 C-말단 6-his-Avi 태그를 포함하는 벡터에 클로닝되었고 가능한 경우 표준 절차를 사용하여 공동-발현 비오틴 리가제 효소를 사용하여 시험관내에서 비오틴화되었다.

[1048] 파지 클론은 비오틴화된 인간 5T4에 결합하는 능력에 대해 스크리닝되었다. 간단히 말해서, Fab-포맷된 파지 라이브러리는 파지에서 복제 및 발현이 가능한 발현 벡터(파지미드라고도 함)를 사용하여 구성되었다. 중쇄와 경쇄는 모두 동일한 발현 벡터에 코딩되었으며, 여기서 중쇄는 파지 코트 단백질 pIII의 절단된 변이체에 융합되었다. 경쇄와 중쇄-pIII 융합체는 별도의 폴리펩타이드로 발현되었고, 산화환원전위가 디설파이드 결합 형성을 가능하게 하는 박테리아 주변질에서 조립되어 후보 항체의 항원 결합 도메인(Fab)을 형성했다.

[1049] 라이브러리는 특정 인간 중쇄 가변 도메인과 특정 인간 경쇄 가변 도메인에서 유래된 서열을 사용하여 생성되었다. 스크리닝된 라이브러리 내의 경쇄 가변 도메인은 다양성이 VL CDR3(L3)에 도입되어 생성되었고, 경쇄 VL CDR1(L1) 및 CDR2(L2)는 인간 생식 세포 서열로 유지되었다. 스크리닝된 라이브러리의 경우, VH 영역의 세 개의 CDR은 모두 인간 항체 레퍼토리에서 발견되는 CDR 길이에 따른 위치 아미노산 빈도와 일치하도록 다양화되었다.

[1050] 라이브러리에서 사용된 파지 디스플레이 중쇄(서열번호:72) 및 경쇄(서열번호:73) 스캐폴드는 아래와 같으며, 여기서 "x"는 라이브러리를 생성하기 위해 변화된 CDR 아미노산을 나타내고 굵은 기울림체는 불변 CDR 서열을 나타낸다.

[1051] 서열번호:72에 대한 서열은 다음과 같다:

[1052] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSXXXXXWVRQAPGKGLEWVAXXXXXXXXXXXXXXXXXXRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARXXXXXXXXXXXXXWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC.

[1053] 서열번호:73에 대한 서열은 다음과 같다:

[1054] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC***RASQSVSSAVA***WYQQKPGKAPKLLIY***SASSLYS***GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**XXXXXXXXX**FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC.

[1055] 다양성은 변성 DNA 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용하여 돌연변이생성을 통해 생성되어 VL CDR3(L3) 및 VH CDR1(H1), CDR2(H2) 및 CDR3(H3)에 다양성을 도입하여 자연 항체 레퍼토리에서 발견되는 다양성을 모방했으며, 이는 Kunkel, TA(*PNAS* January 1, 1985. 82 (2) 488-492)에 자세히 기술되어 있으며, 이는 본원에 전체적으로 참조로 포함되어 있다. 간단히 말해서, 우라실-통합된 단일-가닥 원형 DNA는 표준 절차를 사용하여 분리된 파지에서 제조되었고, Kunkel 돌연변이생성은 4개의 CDR에 다양성을 도입하기 위해 수행되었다. 화학적으로-합성된 DNA는 TG1 세포에 전기천공된 후 회수되었다. 회수된 세포는 계대 배양되고 M13K07 헬퍼 파지로 감염되어 파지 라이브러리를 생산했다.

[1056] 파지 패닝은 표준 절차를 사용하여 수행했다. 간단히 말해서, 첫 번째 라운드의 파지 패닝은 스트렙타비딘 자기 비드 상에 고정된 표적을 사용하여 수행했으며, 이 비드에 제조된 라이브러리에서 약 $1x10^{12}$개의 파지를 PBST-2% BSA의 1mL 용량으로 처리했다. 1시간 인큐베이션 후, 비드-결합 파지를 자기 스탠드를 사용하여 상층액에서 분리했다. 비드를 세 번 세척하여 비-특이적으로 결합된 파지를 제거한 다음, $OD_{600}$이 약 0.6일 때 ER2738 세포(5 mL)에 첨가했다. 실온에서 20분 인큐베이션 후, 감염된 세포를 25 mL 2xYT + 암피실린 및 M13K07 헬퍼 파지(최종 농도 약 $1x10^{10}$ pfu/mL)에 계대 배양하고 격렬하게 진탕하면서 37℃에서 밤새도록 성장시켰다. 다음 날, 파지는 PEG 침전을 통해 표준 절차를 사용하여 제조되었다. 패닝 전에 SAV-코팅된 비드에 특이적인 파지의 사전 클리어런스를 수행했다. 두 번째 패닝 라운드는 표준 절차(라운드 3의 경우 100 nM 5T4, 라운드 4의 경우 50 nM 5T4)를 사용하여 킹피셔(KingFisher) 자기 비드 핸들러를 사용하여 수행했다. 총 3-4라운드의 파지 패닝을 수행하여 5T4 항원에 특이적인 Fab를 표시하는 파지를 풍부하게 했다. 5T4- 특이적 풍부화는 다클론 ELISA를 사용하여 확인했고 개별 클론을 분리하여 단일클론 파지 ELISA를 수행하여 추가로 검증했다. DNA 시퀀싱을 사용하여 후보 항체를 포함하는 분리된 Fab 클론의 CDR 서열을 결정했다.

[1057] 후보 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 코딩하는 유전자는 포유류 세포에서 전장 IgG로 발현하기 위해 포유류

발현 벡터에 별도로 클로닝되었다.

[1058] 전장 IgG의 경우, 중쇄 불변 영역(예를 들어, CH1 = 일반 글씨; 힌지 = 기울임체 글씨; CH2 = 굵은 글씨; 및 CH3 = 밑줄 글씨)에는 다음 아미노산 서열이 포함되었다:

[1059] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS C*DKTHTCPPCP***APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAK**GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:74).

[1060] 전장의 IgG의 경우, 경쇄 불변 영역(예를 들어, CL)에는 다음 아미노산 서열이 포함되었다.

[1061] RTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (서열번호:75).

[1062] IgG 항체는 단백질 A 수지를 사용하여 배양 상층액에서 정제되었다.

[1063] **실시예 2. 스크리닝 검정**

[1064] 2가 결합 검정은 실시예 1에서 파지 디스플레이를 통해 얻은 VH/VL를 갖는 항체가 인간, 시노물구스 원숭이(시노), 마우스의 세 가지 임상적으로 관련된 종에서 모두 고정된 5T4에 결합했는지에 대한 데이터를 제공하는 데 사용되었다. 2가 결합 및 교차-반응성 검정의 경우, 5T4 인간, 시노, 마우스 항원은 단백질 데이터베이스의 서열을 사용하여 합성되었고 his-avi 태그와 공동-발현된 BirA 효소를 사용한 생체내 비오틴화를 사용하여 비오틴화된 단백질로 발현되었다.

[1065] 표준 옥텟-기반 검정은 각 항체가 각 항원에 결합했는지 정성적으로 결정하는 데 사용되었다. 이러한 검정의 경우, 200 nM 비오틴화된 항원을 1X 운동 완충액(ForteBio)의 스트렙타비딘 바이오센서에 고정시켰다. 그런 다음, 로딩된 센서를 500 nM의 관심 항체를 함유하는 웰에 담그고 결합 결합 신호를 모니터링했다. 결합 단계 동안 음성 대조군보다 신호가 증가하면 항원에 결합한 것으로 간주했다.

[1066] 옥텟을 사용한 정성적 결합 친화도의 경우, 테스트된 27개 항체 모두 인간 5T4에 결합하는 것으로 나타났고, 13개 항체는 또한 시노 5T4에 결합하는 것으로 나타났으며, 13개 항체는 또한 마우스 5T4에 결합하는 것으로 나타났다. 예시적 항체에 대한 데이터는 아래 표 4에 나와 있다.

[1067] **표 4. 옥텟에 의한 정성적 2가 결합 친화도**

[1068]

| 항체 | 인간 5T4 옥텟 (2 가) | 시노 5T4 옥텟 (2 가) | 마우스 5T4 옥텟 (2 가) |
|---|---|---|---|
| mAbA5 | + | + | - |
| mAbA15 | + | + | + |
| mAbA17 | + | + | + |

[1069] 1가 결합 검정을 사용하여 실시예 1의 파지 디스플레이에서 얻은 각 5T4 결합제의 인간 5T4에 대한 상대적 친화도를 결정했다. 인간 5T4는 Acro Biosystems(Acro Catalog No. TPGH52E)에서 구입했으며 별도로 생산했다. 인간 5T4에 대한 결합제의 1가 상호작용은 옥텟(Pall ForteBio) 기기를 사용하여 모니터링했다. 이러한 검정의 경우, 36 nM 항체를 1X 운동 완충액(ForteBio)에서 항-인간 Fc(AHC) 센서에 고정했다. 그런 다음 센서를 1 μM에서 1.37 nM 범위의 인간 5T4의 3X 연속 희석액을 포함하는 웰에 담갔다. 결합이 평형에 도달하도록 두었다. 그런 다음 센서를 1X 운동 완충액만 함유하는 웰로 옮겨 평형까지 해리되도록 두었다. 결합 및 해리 속도가 측정되었고, 이를 통해 온보드 분석 소프트웨어(ForteBio)를 사용하여 1가 $K_D$를 계산했다.

[1070] 테스트된 27개의 항체 중 대부분은 1가 결합 친화도 - 내부(Lot 20-019-62) 검정에서 약한 결합을 보였다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17은 세 로트 모두에서 강하거나 보통의 결합을 보이는 항체이다. 데이터는 아래 표 5에 나와 있다.

[1071] **표 5. 옥텟에 의한 정성적 1가 결합 친화도**

| 항체 | 1 가 결합 친화도- Acro TPGH52E5 (Lot B465-87AF1-K2) | 1 가 결합 친화도- 내부 (Lot 20-019-62) | 1 가 결합 친화도- Acro TPGH52E5 (Lot B465-87AF1-JP) |
|---|---|---|---|
| | 옥텟 | 옥텟 | 옥텟 |
| | $K_D$ [nM] | $K_D$ [nM] | $K_D$ [nM] |
| mAbA4 | 0.01 | 83 | 30.2 |
| mAbA15 | 3.62 | 10.4 | 11.2 |
| mAbA17 | 2.81 | 9.34 | 21.1 |

[1072]

[1073] **실시예 3: 추가 스크리닝 및 선택**

[1074] 예를 들어, 실시예 2에 기술된 것과 같은 5T4에 결합하도록 선택된 항체는 5T4를 발현하는 세포에 대한 결합을 평가했다. 세포는 검정 당일 70-90% 합류에서 수확했다. v-바닥 96웰 플레이트(Costar 3897)에서 웰당 100,000개의 세포를 웰당 50 µL의 8- 또는 12-포인트 항체 희석 시리즈와 함께 +4℃에서 30분 동안 인큐베이션했다. 인큐베이션 후, 세포를 200 x g에서 5분 동안 원심분리하여 PBS로 한 번 세척했다. 그런 다음 세포를 웰당 50 µL의 알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 488 염소 항-인간 IgG Fab(Jackson Immuno Research 109-547-003)와 1:100 희석하여 +4℃에서 30분 동안 인큐베이션했다. 세포를 200 x g에서 5분 동안 원심분리하여 PBS로 두 번 세척한 다음 iQue 스크리너 플러스(Screener Plus)(Sartorius)에서 수집했다. BL1(Alexa-Fluor-488) 채널의 평균 형광 강도를 항체 농도에 대해 플로팅하여 용량 반응 곡선과 EC50 값을 생성했다.

[1075] 테스트한 27개 항체 중 26개 항체가 HEK-5T4 세포에 결합 친화도를 보였고, 16개 항체가 MCF-7 세포에 결합 친화도를 보였고, 26개 항체가 HEK-시노-5T4 세포에 결합 친화도를 보였다.

[1076] 세 가지 HEK-5T4, MCF-7 및 HEK-시노-5T4 세포주(mAbA4, mAbA15 및 mAbA17 포함) 모두에 결합하도록 선택된 항체는 HEK-5T4 및 MCF-7 세포를 사용한 내재화 검정에서 추가로 평가되었다.

[1077] 부착 세포는 70-90%의 합류에서 수확하여 50 µL 배양 배지에서 웰당 20,000개 세포로 96웰 검은색 투명/평평한 바닥 반면적 플레이트(Corning 3882)에 37℃에서 하룻밤 플레이팅했다. 현탁 세포주의 경우, 96웰 플레이트를 폴리-L-오르니틴 용액(Millipore-Sigma)으로 37℃에서 1시간 동안 코팅하고 검정 전 약 1-2시간 동안 세포를 50 µL 배양 배지에서 웰당 40,000개 세포 밀도로 시딩했다. 항체는 세포 배양 배지에 희석하고, 3X 몰 농도의 Incucyte 인간 FabFluor-pH 적색 항체 표지 시약과 혼합한 후 실온에서 15분간 인큐베이션했다. 항체/FabFluor 혼합물의 모든 희석액의 최종 농도의 2X를 제조했다. 그런 다음 2X 항체/Fab-Fluor 혼합물 50 µL를 미리 시딩한 세포가 있는 모든 웰에 복제하여 직접 첨가하고 플레이트를 빠르게 Incucyte로 옮겼다. 그런 다음 플레이트를 최대 24시간 동안 30분마다 스캔했다. 항체/FabFluor 혼합물을 세포에 첨가한 후 2-3분 이내에 첫 번째 스캔(0시간)을 시작하도록 주의했다. 플레이트는 시간이 지남에 따라 생성된 적색 신호를 읽고 해당 웰의 세포 합류율(%)로 정규화하여 분석했다. 표적 세포주에서 다른 농도로 몇 개의 항체를 테스트했으며, 신호:잡음 비율이 좋은 것을 기준으로 최상의 농도를 선택했다.

[1078] 내재화 검정에서 6개의 항체(mAbA4 및 mAbA15 포함)가 HEK-5T4 세포에서 강력한 내재화를 보였고, 1개의 항체가 HEK-5T4 세포에서 중간 정도의 내재화를 보였고, 7개의 항체가 HEK-5T4 세포에서 내재화를 보이지 않았거나 비-특이적인 내재화를 보였다. 추가 검정에서 2개의 항체가 MCF-7 세포에서 강력한 내재화를 보였고, 4개의 항체가 HEK-5T4 세포에서 중간 정도의 내재화를 보였고, 8개의 항체가 MCF-7 세포에서 내재화를 보이지 않았거나 비-특이적인 내재화를 보였다.

[1079] **실시예 4: 개발가능성 검정**

[1080] 실시예 2 및 3에 기술된 것과 같은 5T4에 결합하도록 선택된 항체는 개발 가능성을 평가하기 위해 다양한 방법으로 테스트되었다. 예를 들어, 크기 배제 크로마토그래피(SEC), 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC), 스탠드업 단층 흡착 크로마토그래피(SMAC)를 포함한 다양한 크로마토그래피 방법을 사용하여 단량체 비율, 용해도, 항체 응집 또는 침전과 같은 요소를 평가했다.

[1081] 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 분석은 Agilent 1100 HPLC에서 6 mm x 4 cm 가드 컬럼(PN 08543)이 있는 7.8 mm ID x 30 cm TSKgel G3000SWXL 컬럼(Tosoh Bioscience LLC, PN 08541)을 사용하여 수행했다. 항체는 둘베코

의(Dulbecco's) PBS(pH 7.4, $Ca^{2+}$/$Mg^{2+}$ 없음)에서 1 mg/mL 농도로 정규화되었으며, 가용성 응집물을 유지하면서 입자를 펠릿화하기 위해 원심분리로 정제되었다. 이동상 완충액은 2X 농도(10X 스톡 농도에서 희석)의 둘베코의 PBS(pH 7.4, $Ca^{2+}$/$Mg^{2+}$ 없음)였다. 각 샘플에 대해 10 µL를 로딩하고 주변 온도에서 20분 동안 1.0 mL/분으로 등용매 용출했다. 흡광도는 280 nm에서 모니터링했다. 크로마토그래피 피크를 통합하여 균질성 백분율과 보유 시간을 결정했다. 이동상 선택과 함께 컬럼 고정상은 분자 크기(SMAC에 비해 훨씬 약한 2차 상호 작용) 외에도 소수성 및 정전기적 상호 작용을 지원한다. 데이터 분석은 Agilent ChemStation B.04.03 SP1을 사용하여 수행했다.

[1082] 결과는 SEC 분석을 기반으로 mAbA4, mAbA15 및 mAbA17(다른 테스트된 항체 중)이 강력한 개발가능성을 가지고 있음을 보여주었다.

[1083] 소수성 상호 작용 크로마토그래피 (HIC) 분석은 Agilent 1100 HPLC에서 4.6 mm ID x 3.5 cm TSKgel 부틸-NPR 컬럼(Tosoh Bioscience LLC, PN 14947)을 사용하여 수행했다. 항체는 둘베코의 PBS(pH 7.4, $Ca^{2+}$/$Mg^{2+}$ 없음)에서 1 mg/mL 농도로 정규화했다. 컬럼은 주변 온도에서 1 mL/분의 유량으로 100% 이동상 완충액 A(2 M 황산암모늄/20 mM 인산나트륨, pH 7.0)로 평형화했다. 각 샘플에 대해 10 µL를 로딩하고 15분 동안 1.0 mL/분의 속도로 100% 이동상 완충액 A에서 100% 이동상 완충액 B(20 mM 인산나트륨, pH 7.0)로 구배를 사용하여 용출한 다음, 컬럼을 세척하기 위해 3분 동안 100% B에서 유지한 다음 평형을 위해 2분 동안 100% A로 되돌렸다. 흡광도는 280 nm에서 모니터링했다. 샘플 보유 시간을 계산하여 표준 대조군 세트와 비교하여 보유 시간이 증가한(소수성 증가) 항체와 여러 종이 존재하는 항체를 식별했다. 데이터 분석은 Agilent ChemStation B.04.03 SP1을 사용하여 수행했다.

[1084] 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 분석 결과에 따르면 특정 항체는 강력한 개발성을 가지고 다른 항체는 중간 수준의 개발성을 가지고 있었다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17은 HIC 분석을 기반으로 강력한 개발성을 가진 항체 중 일부이다. 항체 소수성은 항체 응집, 용해도 및 점도에 영향을 미칠 수 있다. 결과는 이러한 항체의 응집 및 침전에 대한 낮은 경향을 나타낸다.

[1085] 스탠드업 단층 흡착 크로마토그래피(SMAC) 분석은 Agilent 1100 HPLC에서 4.6 mm ID x 300 mm Zenix SEC 300 컬럼(Sepax Technologies, PN 213300P-4630)과 4.6 mm x 50 mm 가드 컬럼(PN 213300P-4605)을 사용하여 수행되었다. 항체는 둘베코의 PBS(pH 7.4, $Ca^{2+}$/$Mg^{2+}$ 없음)에서 1 mg/mL 농도로 정규화하고 원심분리를 통해 입자를 펠릿화하면서 가용성 응집체를 유지했다. 이동상 완충액은 2X 농도(10X 스톡 농도에서 희석)의 둘베코의 PBS(pH 7.4, $Ca^{2+}$/$Mg^{2+}$ 없음)였다. 각 샘플에 대해 10 µL를 로딩하고 주변 온도에서 32분 동안 0.4 mL/분의 속도로 등용매 용출했다. 흡광도는 280 nm에서 모니터링했다. 샘플 보유 시간을 계산하여 표준 대조군 세트와 비교하여 보유 시간이 증가한 항체(응집체를 형성하는 경향 증가 및/또는 소수성/정전기적 상호 작용 증가)를 식별했는데, 이는 컬럼 고정상과 이동상 선택이 분자 크기 조정 외에도 2차 상호 작용을 촉진하기 때문이다. 데이터 분석은 Agilent ChemStation B.04.03 SP1을 사용하여 수행했다.

[1086] 스탠드업 단층 흡착 크로마토그래피(SMAC) 분석 결과는 특정 항체가 강력한 개발성을 가지고 있고 다른 항체는 중간 수준의 개발성을 가지고 있음을 보여주었다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17은 SMAC 분석에 근거하여 강력한 개발성을 가진 항체 중 일부이다. 이 결정은 콜로이드 안정성과 낮은 응집 경향을 나타내는 양호한 보유 시간을 기반으로 했다.

[1087] **실시예 5: 에피토프 비닝 검정**

[1088] 에피토프 비닝 검정은 실시예 1에서 파지 디스플레이를 통해 얻은 각 항체가 결합한 5T4의 에피토프를 결정하는 데 사용되었다.

[1089] 에피토프 결합 결정을 여전히 가능하게 하면서 5T4 단백질의 전체 구조를 유지하기 위해, 마우스-인간 키메라는 인간 5T4의 7개 연속 서열(에피토프 1-7)을 복제하여 각각의 해당 마우스 서열을 대체하여 생성되었다. 키메라 생성을 위해, 전장의 인간 및 마우스 5T4 유전자는 GenScript에 의해 합성되었고 6-His-Avi 태그가 있는 포유류 벡터에 클로닝되었다. 본원에 기술된 7개의 서열(에피토프 1-7) 각각은 인간 유전자에서 제거된 후 적절한 프라이머를 사용하여 마우스 유전자에 별도로 클로닝되었다. 인간 5T4의 에피토프 1(H1)은 SSPTSSASSFSSSAPFLASAVSAQPPLPDQCPALCECSEAART(서열번호:76)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 2(H2)는 VKCVNRNLTEVPTDLPAYVRNLFLTGNQLAVLPAGAFARRPPLAELAALNLSGSRLDEVR(서열번호:77)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 3(H3)은 AGAFEHLPSLRQLDLSHNPLADLSPFAFSG(서열번호:78)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 4(H4)는

SNASVSAPSPLVELILNHIVPPEDERQNRSFEGMVVAALLAGRALQGLRRLE(서열번호:79)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 5(H5)는 LASNHFLYLPRDVLAQLPSLRHLDLSNNSLVSLTYVSFRNLTHLESL(서열번호:80)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 6(H6)은 HLEDNALKVLHNGTLAELQGLPHIRVFL(서열번호:81)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 7(H7)은 DNNPWVCDCHMADMVTWLKETEVVQGKDRLTCAYPEKMRNRVLLELNSADLDCDPILPPSLQTS(서열번호:82)에 해당한다. 항원은 Expi293 단백질 발현 시스템(Thermo Fisher)을 사용하여 일시적으로 발현시키고, 공동-발현된 BirA 비오틴 리가제를 사용하여 시험관내에서 비오틴화하고 Ni-NTA 친화도 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. 표 6에 나타낸 바와 같이, 생성된 인간(H) 및 마우스(M) 서열의 7개 키메라 구성물은 다음과 같다: (1) H1 M2 M3 M4 M5 M6 M7(서열번호:83); (2) M1 H2 M3 M4 M5 M6 M7(서열번호:84); (3) M1 M2 H3 M4 M5 M6 M7(서열번호:85); (4) M1 M2 M3 H4 M5 M6 M7(서열번호:86); (5) M1 M2 M3 M4 H5 M6 M7(서열번호:87); (6) M1 M2 M3 M4 M5 H6 M7(서열번호:88); 및 (7) M1 M2 M3 M4 M5 M6 H7(서열번호:89). 각 항체는 각각의 키메라 구성물 및 전장의 인간 단백질에 대한 결합을 테스트했다. 키메라에 대한 임의의 중요한 결합 신호는 항체가 특이적으로 결합하는 영역을 나타낸다.

[1090] **표 6. 5T4 키메라 구성물**

| | | |
|---|---|---|
| 인간 5T4 에피토프 1 | H1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 (서열번호:83) | SSPTSSASS FSSSAPFLAS AVSAQPPLPD QCPALCECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S |

[1091]

| | | |
|---|---|---|
| 인간 5T4 에피토프 2 | M1 H2 M3 M4 M5 M6 M7 (서열번호:84) | SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLTEVPTDLP AYVRNLFLTG NQLAVLPAGA FARRPPLAEL AALNLSGSRL DEVRAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S |
| 인간 5T4 에피토프 3 | M1 M2 H3 M4 M5 M6 M7 (서열번호:85) | SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPSLRQLDLS HNPLADLSPF AFSGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S |
| 인간 5T4 에피토프 4 | M1 M2 M3 H4 M5 M6 M7 (서열번호:86) | SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLVELIL NHIVPPEDER QNRSFEGMVV AALLAGRALQ GLRRLELASN HFLFLPRDLL AQLPSLRYLD LRNNSLVSLT YASFRNLTHL ESLHLEDNAL KVLHNSTLAE WHGLAHVKVF LDNNPWVCDC YMADMVAWLK ETEVVPDKAR LTCAFPEKMR NRGLLDLNSS DLDCDAVLPQ SLQTS |
| 인간 5T4 에피토프 5 | M1 M2 M3 M4 H5 M6 M7 (서열번호:87) | SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLY LPRDVLAQLP SLRHLDLSNN SLVSLTYVSF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S |

[1092]

| | | |
|---|---|---|
| 인간 5T4 에피토프 6 | M1 M2 M3 M4 M5 H6 M7 (서열번호:88) | SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NGTLAELQGL PHIRVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S |
| 인간 5T4 에피토프 7 | M1 M2 M3 M4 M5 M6 H7 (서열번호:89) | SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCHMAD MVTWLKETEV VQGKDRLTCA YPEKMRNRVL LELNSADLDC DPILPPSLQT S |

[1093]

[1094] 표준 옥텟-기반 검정은 각 항체에 대한 에피토프 빈을 확립하기 위해 에피토프 빈 검정에 사용되었다. 이러한 검정의 경우, 50 nM 비오틴화된 항원을 1X 운동 완충액(ForteBio)의 스트렙타비딘 센서에 고정했다. 그런 다음 센서를 100 nM로 해당 항체를 함유하는 웰에 담그고 연관 신호를 모니터링했다. 항체의 결합을 효과적으로 녹아웃한 키메라는 항체가 결합하는 특이적 에피토프에 해당한다. 전장의 인간 5T4가 참조용으로 검정에 포함되었다.

[1095] 결과는 9개의 항체가 5T4의 에피토프 4에 특이적으로 결합하고, 3개의 항체가 5T4의 에피토프 7에 특이적으로 결합하고, 3개의 항체가 5T4의 에피토프 2에 특이적으로 결합하고, 1개의 항체가 5T4의 에피토프 4 및 에피토프 6에 특이적으로 결합하고, 11개의 항체가 전장의 5T4(FL)에 결합한다는 것을 보여준다. 예시적 에피토프 비닝 결과(mAbA4, mAbA15 및 mAbA17에 대한)는 표 7에 요약되어 있다.

[1096] **표 7. 에피토프 비닝 검정**

| 항체 | 에피토프 Bin |
|---|---|
| mAbA4 | 4 |
| mAbA15 | 2 |
| mAbA17 | 7 |

[1097]

[1098] 본원에 기술된 바와 같이, 실시예 1에 기술된 바와 같이 파지 라이브러리에서 스크리닝된 모든 항체 중에서 IgG로 포맷팅한 후에도 5T4에 결합할 수 있는 27개의 항체를 실시예 2-5에 기술된 바와 같이 추가로 테스트했다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17로 지정된 3개의 항체는 인간 5T4 결합에 대한 특이성, 시노 5T4에 대한 결합, 세포 표면 결합 신호 및 SEC, HIC 및 SMAC와 같은 다양한 방법으로 평가한 강력한 개발 가능성을 포함한 다양한 활동을 기반으로 선택했다. 이러한 항체의 VH, VL 및 CDR 서열은 본원에, 예를 들어 표 1-3에 기술되어 있다.

[1099] **실시예 6: ADC의 제조**

[1100] A. 태그된 항체의 제조

[1101] 태그된 항체는 각각은 참조로 전체가 본원에 통합되어 있는 문헌(Rabuka D. et al., "Site-specific chemical protein conjugation using genetically encoded aldehyde tags," *Nat Protoc.*, 2012; 7(6):1052-1067 and in U.S. Patent No. 7,985,783 B2)에 기술된 것과 같은 해당 기술 분야에 알려진 방법에 따라 제조되었다. 간단히 말해서, 이종 설파타제 모티프를 함유하는 항체는 포르밀글리신-생성 효소와 접촉하여 모티프의 시스테인 또는 세린을 알데히드 모이어티를 갖는 포르밀글리신으로 전환하여 "알데히드-태그된 항체"를 생성할 수 있다. *마이코박테리아 결핵(Mycobacterium tuberculosis)* 또는 *마이코박테리아 결핵(Mycobacterium tuberculosis)*과 같은 포르밀글리신-생성 효소를 사용할 수 있다.

[1102] B. 링커-페이로드의 제조

[1103] 1. 링커-페이로드 VIa-21의 합성.

[1104] 링커-약물 **VIa-21**의 합성은 도 1의 반응식 1에 도시되어 있다. 화합물 **2-1**은 Shanghai Medicilon Inc. (Shanghai, China)에서 상업적으로 구입하여 그대로 사용했다. 화합물 **2-1**은 또한 국제 특허 출원 공개 WO 2015/081282에 개시된 합성 절차에 따라 제조할 수 있으며, 이는 본원에 참조로 전체적으로 포함된다. 화합물 **21-1**은, 예를 들어 각각 본원에 참조로 전체적으로 포함되는 문헌(Kudirka *et al*. *ACS Med. Chem. Lett*. 2016, *7*(11):94-998 및 WO 2015/081282)에 공개된 절차에 따라 제조하였다. 사용된 다른 모든 시약은 상업적 공급원에서 구입하여 정제하지 않고 사용했다.

[1105] 화합물 **21-1**(62 mg, 54 μmol)과 30 μL의 DIPEA를 실온에서 무수 DMF 2 mL중의 화합물 **2-1**(45 mg, 54 μmol)의 교반 용액에 첨가했다. (7-아자벤조트리아졸-1-일옥시)트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트("PyAOP," 28 mg, 54 μmol)를 실온에서 첨가했다. 30분 후, 반응 혼합물을 염수 20 mL에 붓고 DCM(2 x 25 mL)으로 추출했다. 유기층을 황산나트륨으로 건조하고 진공 하에 농축한 후 실리카겔 크로마토그래피(DCM 중에 5-10% MeOH)로 정제하여 무색 고체인 중간체 **3** 70 mg(36 μmol, 수율 67%)을 얻었다. 고체의 LRMS(ESI) 분석 결과, $C_{101}H_{135}ClN_{14}O_{24}$에 대해 예상대로 m/z 1986.0 $[M+Na]^+$에서 피크가 나타났다.

[1106] DCM(1 M, 0.36 mL)중에 $SnCl_4$를 넣고 실온에서 무수 DCM(2 mL)에 중간체 **Fmoc-VIa-21**(70 mg, 36 μmol) 용액에 천천히 첨가했다. 첨가 후, 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하고, 물 두 방울을 넣은 아세토니트릴 2 mL로 반응을 켄칭했다. 생성된 용액을 진공 하에 농축하고 잔류물을 역상 크로마토그래피(C18 컬럼, 0-100% 아세토니트릴-물 + 0.05% 트리플로오아세트산("TFA"))로 정제했다. 순수한 분획을 합치고 동결건조하여 무색 고체인 25 mg(13 μmol, 수율 36%)의 Fmoc-VIa-21을 얻었다. 고체의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{97}H_{127}ClN_{14}O_{24}$에 대해 예상했던 대로 m/z 1929.8 $[M+Na]^+$에서 피크가 나타났다.

[1107] 피페리딘(26 μL)을 실온에서 무수 DMA 2 mL 중 **Fmoc-VIa-21**(25 mg, 13 μmol) 용액에 첨가했다. 20분 후, 반응 혼합물을 역상 HPLC(C18 컬럼, 0-75% 아세토니트릴-물 + 0.05% TFA)로 직접 정제했다. 순수한 분획을 합치고 동결건조하여 8 mg의 링커-약물 **VIa-21**(5 μmol, 수율 39%)을 흰색 고체로 얻었다. 흰색 고체의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{82}H_{117}ClN_{14}O_{22}$에 대해 예상했던 대로 m/z 1685.9 $[M+H]^+$에서 피크가 나타났다.

[1108] 2. 링커-페이로드 VIa-11의 합성. 링커-페이로드 **VIa-11**의 합성은 **도 2**의 반응식 2에 나타나 있다. 4-피페리디논 염산염 모노하이드레이트(1.53 g, 10 mmol), Boc 무수물(2.39 g, 11 mmol), 탄산나트륨(1.22 g, 11.5 mmol), 디옥산(10 mL) 및 물(1 mL)을 자기 교반 막대가 들어 있는 100 mL 둥근 바닥 플라스크에 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반했다. 혼합물을 물(100 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트("EtOAc," 3 x 100 mL)로 추출했다. 합쳐진 유기층을 염수로 세척하고 $Na_2SO_4$로 건조한 다음 여과하고 감압 하에 농축했다. 생성된 물질을 진공에서 건조하여 흰색 고체인 tert-부틸 4-옥소피페리딘-1-카복실레이트(1.74 g, 수율 87%)를 얻었다. $^1H$ NMR($CDCl_3$) δ 3.73(t, 4H, J = 6.0), 2.46(t, 4H, J = 6.0), 1.51(s, 9H).

[1109] *Tert*-부틸 4-옥소피리딘-1-카복실레이트(399 mg, 2 mmol), *Tert*-부틸 3-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)프로파노에이트(550 mg, 2.4 mmol), 4Å 분자체(활성화된 분말, 200 mg) 및 1,2-디클로로에탄(5 mL)을 자기 교반 막대가 들어 있는 건조된 섬광 바이알에 첨가했다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반했다. 나트륨 트리아세톡시보로하이드라이드(845 mg, 4 mmol)를 반응 혼합물에 첨가했다. 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반한 다음 EtOAc와 포화 수성 $NaHCO_3$ 사이에 분배했다. 유기층을 염수로 세척하고 $Na_2SO_4$로 건조한 다음 여과하고 감압 하에 농축하여 중간체 **1-1**(tert-부틸 4-((2-(2-(3-(tert-부톡시)-3-옥소프로폭시)에톡시)에틸)아미노)피페리딘-1-카복실레이트)을 점성 오일(850 mg, >100% 수율)로 생성했다. 오일의 MS(ESI) 분석 결과 예상대로 *m/z* 417.2에서 피크가 나타났다.

[1110] 중간체 **1-1**(220 mg, 0.5 mmol), 석신산 무수물(55 mg, 0.55 mmol), 4-(디메틸아미노)피리딘(5 mg, 0.04 mmol) 및 디클로로메탄(3 mL)을 자기 교반 막대가 들어 있는 건조된 섬광 바이알에 첨가했다. 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 플래시 크로마토그래피(용출액 = 50-100% EtOAc/헥산)로 부분적으로 정제하여 중간체 **1-2**(13-(1-(tert-부톡시카보닐)피페리딘-4-일)-2,2-디메틸-4,14-디옥소-3,7,10-트리옥사-13-아자헵타데칸-17-오산)를 투명한 오일(117 mg)로 생성했다.

[1111] 중간체 **1-2**(55 mg, 0.1 mmol), 데아실 메이탄신(65 mg, 0.1 mmol), 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로포스페이트("HATU," 43 mg, 0.11 mmol), 디메틸포름아마이드("DMF," 1 mL), 및 디클로로메탄("DCM," 0.5 mL)을 자기 교반 막대가 들어 있는 건조된 섬광 바이알에 첨가했다. 혼합물을 실온에서 8시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 C18 플래시 크로마토그래피(용출액 = 5-100% MeCN/물)로 직접 정제하여 흰색 필름(18 mg, 16% 수율)으로 중간체 **11-1**을 생성했다. 필름의 MS(ESI) 분석은 예상대로 *m/z* 1148.7에서 피크를 나타냈다.

[1112] 중간체 **11-1**(31 mg, 0.027 mmol)과 디클로로메탄(1 mL)을 자기 교반 막대가 들어 있는 건조된 섬광 바이알에 첨가했다. 용액을 0℃로 냉각하고 사염화주석(IV)(DCM 중에 1.0M 용액, 0.3 mL, 0.3 mmol)을 첨가했다. 반응 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 C18 플래시 크로마토그래피(용출액 = 5-100% MeCN/물)로 직접 정제하여 중간체 **11-2**를 흰색 고체(16 mg, 수율 60%)로 생성했다. 예상대로 흰색 고체의 MS(ESI) 분석 결과 *m/z* 992.6에서 피크가 나타났다.

[1113] 중간체 **11-2**(16 mg, 0.016 mmol), Fmoc-VIa(13 mg, 0.02 mmol, 반응식 6에 표시), N,N-디이소프로필에틸아민("DIPEA," 8 μL, 0.05 mmol), 및 DMF(1 mL)를 자기 교반 막대가 들어 있는 건조된 섬광 바이알에 첨가했다. 용액을 실온에서 18시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 C18 플래시 크로마토그래피(용출액 = 5-100% MeCN/물)로 직접 정제하여 **Fmoc-VIa-11**을 흰색 고체(18 mg, 수율 77%)로 생성했다. 예상대로 흰색 고체의 MS(ESI) 분석 결과 *m/z* 1457.9에서 피크가 나타났다.

[1114] **Fmoc-VIa-11**(18 mg, 0.012 mmol), 피페리딘(20 μL, 0.02 mmol) 및 DMF(1 mL)를 자기 교반 막대가 들어 있는 건조된 섬광 바이알에 첨가했다. 용액을 실온에서 20분 동안 교반했다. 반응 혼합물을 C18 플래시 크로마토그래피(용출액 = 1-60% MeCN/물)로 직접 정제하여 링커-약물 **VIa-11**을 흰색 고체(15 mg, 수율 98%)로 생성했다. 예상대로 흰색 고체의 MS(ESI) 분석 결과 *m/z* 1236.0에서 피크가 나타났다.

[1115] 3. 링커-페이로드 VIb-11의 합성.

[1116] 링커-약물 **VIb-11**의 합성은 도 3의 반응식 3에 나와 있다.

[1117] 화합물 **1-1**은 Shanghai Medicilon에서 상업적으로 구입하여 그대로 사용했다. 화합물 **1-1**은 또한 국제 특허 출원 공개 WO 2015/081282, WO 2015/187428, 및 Albers, et al. Eur. J. Med. Chem. 2014, 83:3-9에 개시된 합성 절차에 따라 제조할 수 있으며, 각각은 본원에 전체적으로 참고로 포함된다. 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF)는 상업적 공급원에서 구입하여 정제하지 않고 사용했다.

[1118] DIPEA(35 μL, 0.2 mmol), 다음에 HATU(30 mg, 0.08 mmol)를 실온에서 무수 DMF 0.6 mL 중의 화합물 **1-1**(90 mg, 0.09 mmol) 용액에 첨가했다. 생성된 혼합물을 30분 동안 교반하고 MMAF(50 mg, 0.07 mmol)와 합쳤다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고 역상 크로마토그래피(C18, 40-100% 아세토니트릴-물 + 0.05% TFA)로 직접 정제하여 노란색 오일의 중간체 **12-1**(0.06 mmol, 수율 86%) 98 mg을 얻었다. 흰색 고체의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{98}H_{128}N_{10}O_{17}$에 대해 예상했던 대로 *m/z* 1717.7 $[M+H]^+$에서 피크가 나타났다.

[1119] 피페리딘(40 μL, 0.4 mmol)을 실온에서 무수 DMA 0.8 mL 중 중간체 **12-1**(98 mg, 0.06 mmol) 용액에 첨가했다. 30분 후, 반응 혼합물을 역상 HPLC(C18 컬럼, 10-70% 아세토니트릴-물 + 0.05% TFA)로 직접 정제했다. 순수한 분획을 합치고 동결건조하여 흰색 고체로 45 mg의 링커-약물 **VIb-12**(0.03 mmol, 수율 50%)를 얻었다. 흰색 고체의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{69}H_{108}N_{10}O_{15}$에 대해 예상했던 대로 *m/z* 1317.8 $[M+H]^+$에서 피크가 나타났다.

[1120] 4. 링커-페이로드 VIb-82의 합성.

[1121] 링커 약물 VIb-82의 합성은 도 4의 반응식 4에 나와 있다.

[1122] 화합물 **8-1** 및 2,3,4,5,6-펜타플루오로페놀은 Shanghai Medicilon에서 상업적으로 구입하여 그대로 사용했다. 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)는 BroadPharm(San Diego, CA, USA)에서 구입했다. 다른 모든 시약은 상업적 공급원에서 구입하여 정제하지 않고 사용했다.

[1123] 화합물 **8-1**(1.33 g, 1.67 mmol)을 무수 DMF 6.5 mL 중에서 2,3,4,5,6-펜타플루오로페놀(1.23 g, 6.68 mmol)과 배합했다. 이 혼합물을 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드("EDCI-HCl," 0.64 g, 3.34 mmol)로 실온에서 한 번에 처리하고 HPLC 분석에서 입증된 바와 같이 화합물 **8-1**이 완전히 소모될 때까지 20시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 C18 컬럼(BIOTAGE®, 샘플이 포함된 60 g)에 로딩하고 ACN/물 + 0.05% TFA의 0-80% 구배

(컬럼 볼륨 10배)로 용출했다. 순수한 분획을 합치고 회전 증발기에서 약간 탁해질 때까지 농축한 다음 동결 건조하여 중간체 **8-2**(1.40 g, 1.46 mmol, 수율 87%)를 황갈색 분말로 얻었고, 추가 사용 전까지 -20℃의 질소 하에 보관했다. 황갈색 분말의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{44}H_{45}F_5N_6O_{11}S$에 대해 예상했던 대로 *m/z* 961.2 $[M+H]^+$에서 피크가 나타났다.

[1124] 20 mL 유리 바이알에 MMAE(720 mg, 1.0 mmol), 무수 DMF 5 mL, DIPEA(2.0 mmol) 0.35 mL를 실온에서 배합하였다. 생성된 혼합물을 교반하고 고체인 화합물 **8-3**(1014 mg, 1.0 mmol)을 몇 번에 나누어 처리한 다음, 실온에서 HOAt(136 mg, 1.0 mmol)를 한 번에 첨가했다. 반응 혼합물을 HPLC 분석에서 입증된 바와 같이 반응이 완료될 때까지 6시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 물 30 mL에 부었다. 생성된 흰색 침전물을 회전시켜 분리하고 수집한 다음 물 5 mL로 세척하고 고진공 하에서 잠깐 건조시켜 중간체 **8-4** 1.87 g을 노란색 고체로 얻었고, 이를 정제 없이 아래 개시에 따라 추가로 반응시켰다.

[1125] 15 mL의 THF 중 중간체 **8-4**(1.87 g)의 용액을 얼음 욕조에서 0℃로 냉각시키고 1M 수산화리튬 수용액(3 mL)으로 천천히 처리했다. 반응 혼합물을 0℃에서 3시간 동안 교반한 다음, 주변 온도로 데운 다음, 3 mL의 1M 수산화리튬 수용액으로 처리하고 3 mL의 메탄올로 희석했다. 생성된 혼합물을 HPLC 분석에서 입증된 바와 같이 가수분해가 완료될 때까지 실온에서 3시간 동안 교반했다. 그런 다음, 반응 혼합물을 pH 7로 만들기 위해 1M HCl 수용액을 첨가하여 반응을 켄칭했다. 그런 다음, 반응 혼합물을 감압 하에 농축시키고 10 mL의 메틸 tert-부틸 에테르("MTBE")로 세척했다. 수성 층은 역상 크로마토그래피(C18 컬럼, 0-40% 아세토니트릴-물 + 0.05% TFA)로 정제했다. 순수한 생성물 분획을 합치고 감압 하에 농축한 후 동결 건조하여 중간체 **8-5**를 흰색 분말(735 mg, 0.60 mmol, 2단계에 걸쳐 60% 수율)로 얻었다. 흰색 분말의 LRMS(ESI) 분석 결과, $C_{61}H_{96}N_8O_{18}$에 대해 예상했던 대로 *m/z* 1229.7 $[M+H]^+$에서 피크가 나타났다.

[1126] DIPEA(0.21 mL, 1.2 mmol) 및 DMA 2 mL 중 중간체 **8-2**(575 mg, 0.60 mmol)의용액을 실온에서 무수 DMA 3 mL 중 중간체 **8-5**(735mg, 0.60mmol)의 교반된 용액에 첨가했다. 그런 다음 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸("HOAt," 84 mg, 0.60 mmol)을 첨가했다. 생성된 혼합물을 HPLC에서 입증된 바와 같이 커플링이 완료될 때까지 30분 동안 교반했다. 그런 다음 반응 혼합물을 실온에서 1.2 mL의 피페리딘으로 처리했다. 15분 후, 반응 혼합물을 역상 크로마토그래피(C18 컬럼, 아세토니트릴-물의 0-40% 구배)로 정제했다. 순수한 분획을 합치고 감압 및 실온에서 농축한 후 동결 건조하여 링커-약물 **VIb-82**(808 mg, 0.45 mmol, 수율 75%)를 흰색 솜털 같은 분말로 얻었다. 흰색 분말의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{84}H_{130}N_{14}O_{26}S$에 대해 예상했던 대로 *m/z* 1783.9$[M+H]^+$에서 피크가 나타났다.

[1127] 5. 링커-페이로드 VIb-81의 합성.

[1128] 링커-약물 VIb-81의 합성은 도 5의 반응식 5에 나와 있다.

[1129] 3-하이드록시-4-니트로벤즈알데히드(204 mg, 1.22 mmol)와 아세토브로모-α-D-갈랄토오스(500 mg, 1.22 mmol)를 50 mL 둥근 바닥 플라스크에 무수 아세토니트릴 20 mL와 함께 넣었다. 용액을 산화은(I)(986 mg, 4.3 mmol)으로 처리하고 생성된 혼합물을 어두운 곳에서 실온에서 24시간 동안 격렬하게 교반했다. 반응 혼합물을 진공 상태에서 농축한 후, 잔류물을 에틸 아세테이트-헥산 혼합물을 용출액으로 사용하여 실리카겔에서 정제하여(0-100% 구배) 420 mg(0.85 mmol, 수율 70%)의 (2R,3S,4S,5R,6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-아미노-5-(하이드록시메틸)페녹시)테트라하이드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트를 밝은 황색 고체로 얻었다. 노란색 고체의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{21}H_{23}NO_{13}$에 대해 예상했던 대로 520.0 $[M+Na]^+$에서 피크가 나타났다.

[1130] 탄소상의 팔라듐(30 mg, 10% wt.)과 30 μL의 트리메틸아민을 3 mL의 에틸 아세테이트 중 ((2R,3S,4S,5R,6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(5-포르밀-2-니트로페녹시)테트라하이드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트(350 mg, 0.70 mmol) 용액에 첨가했다. 공기를 제거한 후, 플라스크에 수소 풍선을 장착하고 반응 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반했다. 셀라이트 패드를 통해 여과한 후, 진공 하에서 용매를 제거하고 생성된 잔류물을 고진공 하에서 건조하여 300 mg의 (2R,3S,4S,5R,6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-아미노-5-(하이드록시메틸)페녹시)테트라하이드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트는 흰색 고체로, 추가 정제 없이 합성에 추가로 사용되었다. 흰색 고체의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{21}H_{27}NO_{11}$에 대해 예상했던 대로 470.1$[M+H]^+$에서 피크가 나타났다.

[1131] Boc-L-알라닌(220 mg, 1.11 mmol)과 (2R,3S,4S,5R,6S)-2-(아세톡시메틸)-6-(2-아미노-5-(하이드록시메틸)페녹시)테트라하이드로-2H-피란-3,4,5-트리일 트리아세테이트(520 mg, 1.16 mmol)를 무수 디클로로메탄 5 mL 및 무

수 메탄올 0.50 mL 중에서 배합하였다. 생성된 용액을 실온에서 N-에톡시카보닐-2-에톡시-1,2-디하이드로퀴놀린("EEDQ", 280 mg, 1.13 mmol)으로 처리했다. 반응 혼합물을 어두운 곳에서 1시간 동안 교반한 후 진공에서 용매를 제거했다. 생성된 중간체 **8-7**을 고진공에서 1시간 동안 건조하고 실온에서 TFA와 DCM의 1:1 혼합물 6 mL에 용해했다. 용액을 1시간 동안 방치한 후 용매를 제거하고 생성된 중간체 **8-8**을 몇 시간 동안 고진공에서 보관했다.

[1132] 별도의 20 mL 섬광 바이알에서 Fmoc-L-발린(375 mg, 1.1 mmol)을 HATU(420 mg, 1.1 mmol) 및 DIPEA(375 µL, 2.15 mmol)와 무수 DMF 3mL에 혼합했다. 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반한 다음, 중간체 **8-8**과 합하고 반응이 완료될 때까지(LCMS 분석에서 입증됨) 밤새 교반했다. 반응 혼합물을 역상 C18 컬럼($CH_3CN$-$H_2O$/0.05% TFA, 0-80% 구배)에서 직접 정제하여 미량의 불순물이 포함된 혼합물인 중간체 **8-9**를 얻었다. 생성물을 고진공 하에서 완전히 건조하고 추가 정제 없이 다음 단계를 거쳤다.

[1133] 중간체 **8-9**를 무수 DCM 6 mL에 용해시키고 DIPEA(375 µL, 2.15 mmol)로 처리한 다음 실온에서 686 mg(2.26 mmol)의 비스(4-니트로페닐) 카보네이트를 한꺼번에 처리했다. 반응 혼합물을 1시간 동안 교반한 후 진공 상태에서 용매를 제거했다. 생성된 잔류물을 실리카겔에서 컬럼 크로마토그래피(EtOAc-헥산, 10-100% 구배)로 정제하여 중간체 **8-10**(640 mg, 0.62 mmol, 4단계에 걸쳐 56% 수율)을 황색 고체로 생성했다. 중간체의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{51}H_{54}N_4O_{19}$에 대해 예상했던 대로 1049.3$[M+Na]^+$에서 피크가 나타났다.

[1134] 4-(메틸아미노)부타노산(61 mg, 0.52 mmol), DIPEA 61 µL(0.35 mmol) 및 무수 DMF 1 mL을 20 mL 섬광 바이알에 첨가했다. 생성된 용액을 실온에서 중간체 **8-10** 180 mg(0.175 mmol)과 합쳤다. 반응 혼합물을 중간체 **8-10**이 완전히 소모될 때까지(LCMS 분석으로 입증됨) 1시간 동안 교반했다. 진공 하에서 용매를 제거하고 잔류물을 메탄올 3 mL에 용해했다. 얻어진 용액을 0℃로 냉각시키고 1M 수산화리튬 수용액 3 mL로 처리했다. 반응 혼합물을 30분 동안 교반한 다음 실온으로 데운 후 진공 하에서 농축했다. 잔류물은 역상 C18 컬럼($CH_3CN$-$H_2O$/0.05% TFA, 0-50% 구배)에서 직접 정제하여 노란색 오일인 90 mg(0.146 mmol, 2단계에 걸쳐 83% 수율)의 중간체 **8-11**을 얻었다. 오일의 LRMS(ESI) 분석 결과 $C_{27}H_{42}N_4O_{12}$에 대해 예상했던 대로 615.3$[M+H]^+$에서 피크가 나타났다.

[1135] 중간체 **8-11**(84 mg, 0.14 mmol), 무수 DMF 1 mL, DIPEA(48 µL, 0.28 mmol)를 20 mL 섬광 바이알에 첨가한 다음 중간체 **8-2** 130 mg(0.14 mmol)을 첨가했다. 생성된 혼합물을 LCMS 분석에서 입증된 대로 커플링이 완료될 때까지 30분 동안 교반했다. 메이탄신(89 mg, 0.14 mmol)을 0.5 mL DMF 용액으로 반응 혼합물에 직접 첨가한 다음 HATU(52 mg, 0.14 mmol)를 첨가했다. 30분 후, 반응 혼합물을 역상 C18 컬럼($CH_3CN$-$H_2O$/0.05% TFA, 10-95% 구배)에서 정제했다. 용매를 완전히 제거한 후, 생성된 중간체 **8**을 3 mL DMF에 용해하고 실온에서 150 µL 피페리딘으로 처리했다. 30분 후, 반응 혼합물을 역상 분취 HPLC(C18 컬럼, $CH_3CN$-$H_2O$/0.05% TFA, 0-50% 구배)에서 직접 정제했다. 순수한 분획을 동결 건조하여 링커-약물 **VIb-81** 58 mg(0.032 mmol, 3단계에 걸쳐 23% 수율)을 얻었다. 동결건조된 고체의 LRMS(ESI) 분석은 $C_{82}H_{118}ClN_{13}O_{28}S$에 대해 예상했던 대로 1801.8 $[M+H]^+$에서 피크를 나타냈다.

[1136] C. 5T4 ADC의 생접합

[1137] 링커-약물 및 알데히드-태그된 항체를 20 mM 나트륨 시트레이트, pH 5.5, 0.85% DMA를 함유한 50 mM 염화나트륨에서 37℃에서 72시간 동안 반응시켜 알데히드-태그된 항체(15 mg/mL)를 합성된 링커-약물(8 mol. 당량 약물:항체)에 접합시켰다. 일부 경우에 링커-약물 용해도를 개선하기 위해 0.25 TX-100 및/또는 최대 10% vol/vol DMA를 첨가했다. 접합 후, 잔류 유리 약물은 30 kDa TFF 카세트(Sigma-Aldrich, Cat. No. P3C030C00)를 갖춘 115V 실험실 규모 접선 흐름 여과(Labscale Tangential Flow Filtration, TFF) 시스템(Millipore, Cat. No. XX42LSS11)을 사용하여 투석여과를 통해 제거하였고, 12 투석부피(600 mL)를 20 mM 나트륨 시트레이트, pH 5.5, 50 mM NaCl로 교환하였다. 또는, 잔류 유리 약물은 20 mM 나트륨 시트레이트, pH 5.5, 50 mM 염화나트륨으로 다수 라운드 희석을 사용하여 제거하고 AMICON® 0.5 mL 30 kD 분자량 컷오프(MWCO) 원심분리 필터(Millipore Sigma, Cat. No. #UFC5030BK) 또는 ZEBA® 탈염 컬럼(Fisher Scientific, Cat. No. PI87766)을 사용하여 농축하였다. 최종 생성물의 약물-대-항체 비율(DAR)을 결정하기 위해 항체-약물 접합체를 분석적 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 또는 중합체성 역상 크로마토그래피(PLRP)로 검사했다. HIC 컬럼(Tosoh Bioscience, Cat. No. 14947)은 1.5 M 황산암모늄과 25 mM 인산나트륨(pH 7.0)을 이동상 A로, 25% 이소프로판올과 18.75 mM 인산

나트륨(pH 7.0)을 이동상 B로 사용하여 실행했다. PLRP 컬럼(Agilent, Cat. No. PL1912-1802)은 $H_2O$ 중 0.1% 트리플루오로아세트산을 이동상 A로, $CH_3CN$ 중 0.1% 트리플루오로아세트산을 이동상 B로 사용하여 실행했으며, 컬럼을 80℃로 가열했다. 응집을 결정하기 위해, 샘플은 300 mM NaCl, 25 mM 인산나트륨 및 5% 이소프로판올(pH 6.8)의 이동상을 사용하여 분석적 크기 배제 크로마토그래피(Tosoh Bioscience, Cat. No. 08541)를 사용하여 분석되었다.

[1138] **D. ADC 특성화**: 최종 ADC 생성물을 특성화하기 위해 다음 분석을 수행했다:

[1139] 1. 녹는점 분석

[1140] 단백질 열 이동 실험(용융 온도)을 위한 샘플은 APPLIED BIOSYSTEMS™ PROTEIN THERMAL SHIFT™ 염료 키트(ThermoFisher Scientific Cat. No. 4461146)를 사용하여 제조했다. 데이터는 PROTEIN THERMAL SHIFT™ 소프트웨어 v1.4(ThermoFisher Scientific Cat. No. 466038)가 있는 QUANTSTUDIO™ 3 기기(ThermoFisher Scientific Cat. No. A28567)를 사용하여 수집했다. 간단히 말해서, PROTEIN THERMAL SHIFT™ 염료(1000X)를 탈이온수에 8X로 희석했다. 샘플은 5 µL의 PROTEIN THERMAL SHIFT™ 완충액, 12.5 µL의 단백질 용액, 및 2.5 µL의 희석된 PROTEIN THERMAL SHIFT™ 염료(8X)를 배합하여 얼음 위에서 제조하여 총 반응 용액 부피를 20 µL로 만들었다. 반응 용액을 피펫으로 10번 혼합했다. 그런 다음 튜브를 1분 동안 1000 rpm으로 회전시킨 다음 분석할 때까지 얼음 위에서 인큐베이션했다. 샘플을 기기 플레이트에 로딩한 다음 QUANTSTUDIO™ 3 실시간 PCR 시스템 기기에 로딩했다. 다음 조건에서 표준 용융 곡선 실험을 사용하여 데이터를 수집했다: 1단계 온도: 25℃에서 2분; 2단계 온도: 99℃에서 2분, 연속 고속 램프 모드(1단계: 1.6℃/초; 2단계: 0.05℃/초). 원시 용융 온도 데이터는 QUANTSTUDIO™ 3 분석 소프트웨어 내에서 디컨볼루션되었다. 아래 **표 8**은 각 ADC의 측정된 용융 온도를 보고한다.

[1141] **표 8. ADC의 용융 온도**

| mAb 또는 ADC | CH2 $T_m$ | Fab $T_m$ |
|---|---|---|
| mAbA4 WT | 69.18 | 89.94 |
| mAbA15 WT | 70.07 | 86.38 |
| mAbA17 WT | 70.06 | 81.92 |
| mAbA4-VIa-11 | 69.03 | 89.63 |
| mAbA15-VIa-11 | 69.34 | 89.95 |
| mAbA17-VIa-11 | 69.04 | 80.9 |
| mAbA4-VIb-82 | 69.3 | 89.59 |
| mAbA15-VIb-82 | 69.74 | 86.04 |
| mAbA17-VIb-82 | 69.46 | 80.87 |
| mAbA15-VIb-12 | 69.48 | 85.94 |

[1142]

[1143] 2. 약물-대-항체 비율(DAR). UV/Vis 검출을 사용한 분석적 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC)(Tosoh #14947). 최종 생성물의 환원된 형태는 UV/Vis 검출을 사용한 역상 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)(Agilent Cat. No. PL1912-1802)로 분석하여 DAR을 검증했다. RP 크로마토그래피는 또한 중쇄만 변형되었고 변형이 단 하나뿐이라는 것을 검증하는 데이터를 제공했다. 아래 **표 9**는 테스트한 각 ADC에 대한 DAR을 보고한다.

[1144] **표 9. ADC에 대한 약물-대-항체 측정**

| 항체 | 링커-페이로드 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | VIa-21 | VIa-11 | VIb-12 | VIb-82 | VIb-81 |
| mAbA4 | 1.8 | 1.8 | - | 1.8 | - |
| mAbA15 | 1.8 | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.9 |
| mAbA17 | 1.9 | 1.8 | - | 1.8 | - |

[1145]

[1146] 위에 식별된 각 분석 방법에 대한 구체적인 프로토콜은 아래에 자세히 나와 있다.

[1147] 분석적 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC): 샘플은 25℃에서 유지되는 Tosoh(#14947)의 4.6 mm x 35 mm TSK 겔 부틸-NPR 컬럼이 장착된 Agilent 1100 기기에서 분석되었다. 50 mM NaCl(pH 5.5) 20 µL와 이동상 A 20 µL를 첨가하여 샘플을 제조한 후 실온에서 주입했다. 구배 용출은 **표 10**에 보고된 프로그램에서 1.0 mL/분의 유량으로 이동상 A(25 mM $Na_3PO_4$, 1.5 M $(NH_4)_2SO_4$, pH 7.0)와 이동상 B(18.75 mM $Na_3PO_4$, pH 7.0, 25% 이소프로필

알코올)를 활용했다. 검출은 215 nm, 252 nm, 280 nm에서 UV를 통해 이루어졌다.

[1148] **표 10. HIC 분석을 위한 구배 용출 프로그램**

| 시간(분) | 이동상 B (%) |
|---|---|
| 0.0 | 12 |
| 5.5 | 42 |
| 7.5 | 70 |
| 8.5 | 100 |
| 9.5 | 100 |
| 10 | 12 |
| 12 | 12 |

[1149]

[1150] 역상 HPLC: 샘플은 80℃에서 유지되는 Agilent의 50 x 2.1 mm PL1912-1802(8 μm, 1000 Å) 컬럼이 장착된 Agilent 1100 기기에서 분석했다. 0.5 mM DTT, 8M 구아니딘 HC 50 μL, 130 mM 트리스, 및 1 mM EDTA(pH 7.6)의 혼합물 10 μL를 20 μg 샘플에 첨가하고 PBS를 최종 부피 100 μL로 첨가하여 샘플을 제조했다. 샘플은 제조 후 37℃에서 30분 동안 인큐베이션했다. 샘플은 25% 아세토니트릴 + 0.1% TFA에서 2.0 mL/분의 유량으로 용출하고 215 nm, 252 nm, 280 nm에서 UV를 통해 검출했다.

[1151] 크기 배제 HPLC: 샘플은 25℃에서 유지되는 Tosoh(#08541)의 7.8 mm x 300 mm G300 SW XL 컬럼이 장착된 Agilent 1100 기기에서 분석되었다. 샘플(1 mg/mL, 20 μg)을 실온에서 주입하고, 25 mM $NaPO_4$ 완충액, 300 mM NaCl, pH 6.8에서 1.0 mL/분의 유량으로 용출하고, 215 nm, 252 nm, 280 nm에서 UV를 통해 검출했다.

[1152] LC-MRM/MS: 이 방법은 ADC 제조 시 RP-HPLC-MRM에 의해 생성된 링커-약물과 알려진 변형의 신호를 교정 표준으로 링커-약물을 사용하고 내부 표준으로 디부카인-HCl을 사용하는 내부 표준 곡선과 비교하여 링커-약물의 유리 약물 농도를 결정한다.

[1153] 표준 곡선은 0.457 nM에서 1000 nM 범위의 샘플을 사용하여 생성되었다. 100-μM 링커-약물 0.75 μL를 74.25 μL의 매트릭스에 첨가하고 피펫 흡인(10x)을 통해 혼합하여 링커-약물의 1000 nM 표준을 제조했다. 제조된 표준은 -80℃에서 보관했다. 표준은 25 μL를 50 μL의 매트릭스에 첨가하여 1:3으로 희석하고, 피펫 흡인(10x)을 통해 혼합하고, 와류시켜 333.33 nM 표준을 생성했다. 333.33 nM 표준 25 μL를 같은 방식으로 50 μL의 매트릭스에 희석하여 111.11 nM 표준을 생성했다. 유사한 방식으로 추가 희석을 수행하여 다음 농도의 8개 표준을 생성했다: 1000, 333.33, 111.11, 37.04, 12.35, 4.12, 1.37, 및 0.46 nM.

[1154] ADC(50 μL)를 8개의 원심분리 튜브에 각각 첨가했다. 내부 표준(150 μL)을 각각에 첨가하여 각 원심분리 튜브에 최종 부피 200 μL를 생성했으며, 각각 링커-약물의 농도가 달랐다. 모든 원심분리 튜브는 5분 동안 와류시킨 후 단백질이 변성되고 침전되어 용액이 흐릿해졌고, 용액에 유리 약물이 남았다. 모든 샘플은 침전을 돕기 위해 얼음 위에서 30분 동안 인큐베이션한 다음 10분 동안 다시 와류시켰다.

[1155] 침전된 mAb를 분리하기 위해 각 샘플을 원심분리했다(10분, 15,000 x g). 상층액(75 μL)을 제거하여 자동 샘플러 바이알에 넣고 75 μL 물로 희석했다. 각 샘플은 아래의 HPLC/MS 방법을 사용하여 3회 반복했다.

[1156] 샘플은 50℃에서 유지되는 Agilent의 2.1 x 100 mm ZORBAX® RRHD Eclipse Plus C18 컬럼(95 Å, 1.8 μm)이 장착된 Agilent 1100 기기에서 분석되었다. 샘플(1 mg/mL, 20 μg)은 실온에서 주입하고 0.5 mL/분의 유량으로 1% 아세토니트릴 + 0.1% TFA에서 용출했다. 검출에는 질량 분석법이 사용되었다.

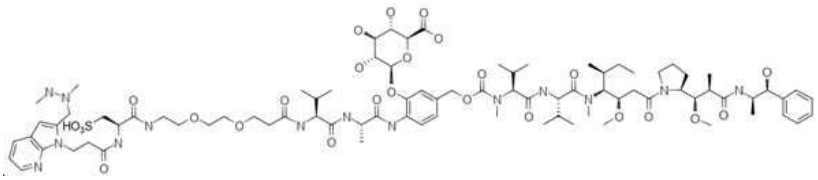
[1157] 질량 분석법은 SCIEX의 분석 소프트웨어의 "화합물 최적화" 기능을 사용하여 생성되었다. 이 기기는 분자에 대한 MRM 전환 세트를 출력한 다음 LC-MS 방법에 사용했다. 디부카인에 대한 MRM 전환은 또한 "화합물 최적화"를 사용하여 생성했다.

[1158] 아래 **표 11**에 나와 있는 전이는 링커-약물 VIb-82의 유리 농도를 결정하는 데 사용된다(이는 질량 분석기에 따라 다를 수 있음). 유사한 전이는 유리 VIa-21, VIb-12 및 VIa-11 농도를 결정하는 데 사용되었다. 각 전이 종의 정체성은 아래 **표 11**에 나와 있다.

[1159] **표 11. 링커-페이로드 VIb-82의 유리 농도를 결정하기 위한 전이 종**

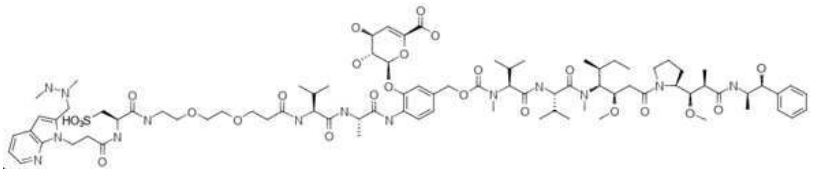
| Q1 (Da) | Q3 (Da) | 시간(ms) | 전이 종 | DP (Volts) | CE (Volts) | CXP (Volts) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 892.536 | 718.2 | 30 | VIb-82 모체 | 1 | 29 | 26 |
| 892.536 | 501.1 | 30 | VIb-82 모체 | 1 | 35 | 18 |
| 892.536 | 725 | 30 | VIb-82 모체 | 1 | 29 | 26 |
| 898.527 | 718.2 | 30 | VIb-82 +12 Da | 1 | 29 | 30 |
| 898.527 | 737.1 | 30 | VIb-82+12 Da | 1 | 29 | 12 |
| 898.527 | 513 | 30 | VIb-82+12 Da | 1 | 39 | 54 |
| 883.684 | 718.1 | 30 | VIb-82-18 Da | 136 | 31 | 30 |
| 883.684 | 501 | 30 | VIb-82-18 Da | 136 | 37 | 20 |
| 883.684 | 725 | 30 | VIb-82-18 Da | 136 | 27 | 12 |
| 343.968 | 271.1 | 10 | IS | 31 | 29 | 24 |
| 343.968 | 215.1 | 10 | IS | 31 | 39 | 16 |

[1160]

[1161] 

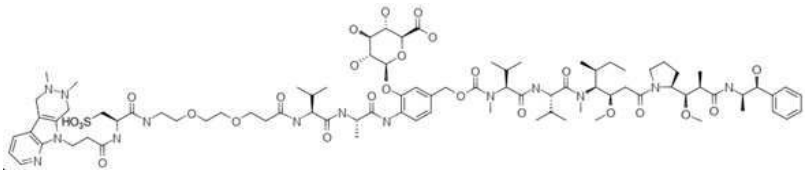
[1162] VIb-82, 모체, $C_{84}H_{130}N_{14}O_{26}S$

[1163] 단일동위원소 질량: 1782.9001

[1164] 

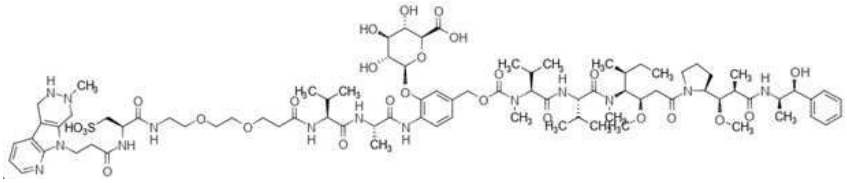
[1165] VIb-82, -18 Da, $C_{84}H_{128}N_{14}O_{25}S$

[1166] 단일동위원소 질량: 1764.8896

[1167] 

[1168] VIb-82, +12 Da, $C_{85}H_{130}N_{14}O_{26}S$

[1169] 단일동위원소 질량: 1794.9001

[1170] 

[1171] VIb-82, -2 Da, $C_{84}H_{128}N_{14}O_{26}S$

[1172] 단일동위원소 질량: 1780.8845

[1173] 유리 약물 퍼센트를 계산하기 위해 선형 교정 곡선을 생성했다. 질량 분석법에서 식별된 각 전이는 자체 크로마토그램을 생성한다. 각 전이에 대한 피크는 모든 표준에 대해 통합되어 피크 면적을 찾았다. "모체", "-18 Da" 및 "+12 Da"를 포함한 모든 전이에 대한 피크 면적을 더하여 "VIb-82 면적" 값을 생성했다. 내부 표준에 대한

모든 전이에 대한 피크 면적도 마찬가지로 더하여 "IS 면적" 값을 생성했다. VIb-82 면적 대 IS 면적의 비율을 계산하고 x축에 농도, y축에 비율을 사용하여 산점도를 생성했다. 추세선 방정식의 x절편이 ADC의 농도인 플롯된 데이터에서 추세선을 생성했다. 유리 약물 %는 다음 방정식을 사용하여 계산했다:

[1174] 유리 약물 % = 유리 약물 농도/전체 ADC 농도* 100%

[1175] **실시예 7: 인간 5T4에 대한 비접합 항체의 결합(ELISA)**

[1176] **A. 정상 결합** 비접합 항체는 ELISA를 사용하여 인간 5T4(hu5T4)에 결합하는 능력에 대해 테스트되었다. 1일차에, c-말단 폴리히스티딘 및 Avi(AVITAG™) 태그(AcroBiosystems(Newark, DE, USA), Cat. No. TPG-H52E5)가 있는 비접합 인간 TPBG/5T4 단백질을 PBS 중에 2 μg/mL로 희석하고, 완전히 혼합한 후, 96웰 플레이트(Nunc MAXISORP®)에 웰당 100 μL씩 플레이팅하고 4℃에서 밤새 인큐베이션했다.

[1177] 2일차에, 플레이트를 PBS 중에 0.1% Tween®-20("PBS-T")으로 4번 세척했다. 웰은 PBS 중 200 μL의 카제인(BLOCKER™ Casein, ThermoFisher Scientific에서 제공)으로 차단하고 진탕하면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션했다.

[1178] IgG-ADC의 1:3 희석 시리즈를 PBS에서 제조하고 96웰 플레이트에 웰당 100 μL의 용량으로 첨가했다. 플레이트는 진탕하면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션했다.

[1179] 염소 항-인간 IgG Fc 감마 특이적 HRP 접합체(Jackson Immunoresearch, cat# 109-035-098)를 PBS에서 1:15000의 인자로 희석했다. ELISA 플레이트를 플레이트 세척기(BIOTEK® ELx405™)를 사용하여 PBS-T로 6번 세척한 후 염소 항-인간 IgG Fc 감마 특이적 HRP 접합체 100 μL를 각 웰에 첨가했다. 플레이트는 그런 다음 진탕하면서 실온에서 30분 동안 인큐베이션했다.

[1180] ELISA 플레이트는 플레이트 세척기(BIOTEK ELx405™)를 사용하여 PBS-T로 6번 세척한 다음, 각 웰에 100 μL의 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)을 첨가했다. 플레이트는 진한 파란색이 보일 때까지 현상되도록 두었다. 그런 다음 $H_2SO_4$(2 N, 100 μL)를 첨가하여 반응을 켄칭하고 각 웰의 흡광도를 플레이트 판독기(Molecular Devices에서 제공하는 SOFTMAX® Pro 소프트웨어가 장착된 SPETRAMAX® M5)에서 판독하였다.

[1181] B. 스트레스 테스트

[1182] 1. 고 pH 스트레스 테스트. 여러 비접합 항체는 염기성(고 pH) 조건에서 ELISA를 사용하여 5T4에 결합하는 능력을 테스트했다. 0.1% w/w $H_2O_2$/1x PBS 중에 1 mg/mL의 항체를 넣고 24-48시간 동안 어두운 곳에서 실온에서 보관한 후 50 mM 메티오닌을 첨가했다. 분석 전에 샘플을 동결하여 보관했으며, 분석은 A 부분에서 기술한 대로 ELISA를 통해 수행했다. 아래 **표 12**는 테스트한 각 항체에 대해 계산된 $EC_{50}$을 보고한다.

[1183] **표 12. 높은 pH에서 hu5T4에 대한 비접합 항체의 결합**

| mAb | 조건 | $EC_{50}$ (nM) |
|---|---|---|
| mAbA4 | pH 8.5, 0 일 | 0.120 |
| mAbA4 | pH 8.5, 1 일 | 0.127 |
| mAbA4 | pH 8.5, 4 일 | 0.114 |
| mAbA4 | pH 8.5, 7 일 | 0.128 |
| mAbA4 | pH 8.5, 14 일 | 0.136 |
| mAbA15 | pH 8.5, 0 일 | 0.134 |
| mAbA15 | pH 8.5, 1 일 | 0.128 |
| mAbA15 | pH 8.5, 4 일 | 0.133 |
| mAbA15 | pH 8.5, 7 일 | 0.143 |
| mAbA15 | pH 8.5, 14 일 | 0.131 |
| mAbA17 | pH 8.5, 0 일 | 0.153 |
| mAbA17 | pH 8.5, 1 일 | 0.174 |
| mAbA17 | pH 8.5, 4 일 | 0.150 |
| mAbA17 | pH 8.5, 7 일 | 0.158 |
| mAbA17 | pH 8.5, 14 일 | 0.167 |

[1184]

[1185] 2. 낮은 pH 스트레스 테스트. 여러 개의 비접합 항체를 산성(낮은 pH) 조건에서 ELISA를 사용하여 5T4에 결합하는 능력에 대해 테스트했다. pH 8.5의 20 mM Tris/10 mM EDTA 중에 1 mg/mL 내지 10 mg/mL 항체 용액을 제조하여 37℃에서 1 내지 2주 동안 보관했다. 샘플은 분석 전에 동결 보관했으며, 분석은 A 부분에서 설명한 대로 ELISA를 통해 수행했다. 아래 **표 13**은 테스트된 각 항체에 대해 계산된 $EC_{50}$을 보고한다.

[1186] **표 13. 낮은 pH에서 hu5T4에 대한 비접합 항체의 결합**

| mAb | 조건 | $EC_{50}$ (nM) |
|---|---|---|
| mAbA4 | pH 5.5, 0 일 | 0.133 |
| mAbA4 | pH 5.5, 1 일 | 0.132 |
| mAbA4 | pH 5.5, 4 일 | 0.125 |
| mAbA4 | pH 5.5, 7 일 | 0.124 |
| mAbA4 | pH 5.5, 14 일 | 0.122 |
| mAbA15 | pH 5.5, 0 일 | 0.124 |
| mAbA15 | pH 5.5,1 일 | 0.134 |
| mAbA15 | pH 5.5, 4 일 | 0.123 |
| mAbA15 | pH 5.5, 7 일 | 0.132 |
| mAbA15 | pH 5.5, 14 일 | 0.138 |
| mAbA17 | pH 5.5, 0 일 | 0.164 |
| mAbA17 | pH 5.5, 1 일 | 0.159 |
| mAbA17 | pH 5.5, 4 일 | 0.157 |
| mAbA17 | pH 5.5, 7 일 | 0.190 |
| mAbA17 | pH 5.5, 14 일 | 0.153 |

[1187]

[1188] 3. 산화 스트레스. 여러 비접합 항체를 산화 환경에서 ELISA를 사용하여 5T4에 결합하는 능력에 대해 테스트했다. pH 5.5의 20 mM 시트레이트/50 mM NaCl 중에 1 mg/mL 내지 10 mg/mL 항체 용액을 제조하여 37℃에서 1 내지 2주 동안 보관했다. 분석 전에 샘플을 동결하여 보관했으며, 분석은 A 부분에서 설명한 대로 ELISA를 통해 수행했다. 아래 **표 14**는 테스트한 각 항체에 대해 계산된 $EC_{50}$을 보고한다.

[1189] **표 14. 산화 스트레스 하에서 hu5T4에 대한 비접합 항체의 결합**

| mAb | 조건 | $EC_{50}$ (nM) |
|---|---|---|
| mAbA4 | PBS 시간 0 | 0.182 |
| mAbA4 | PBS 시간 24 hr. | 0.200 |
| mAbA4 | PBS 시간 48 hr. | 0.189 |
| mAbA4 | PBS+$H_2O_2$ 시간 0 | 0.225 |
| mAbA4 | PBS+$H_2O_2$ 시간 24 hr. | 0.393 |
| mAbA4 | PBS+$H_2O_2$ 시간 48 hr. | 0.386 |
| mAbA15 | PBS 시간 0 | 0.229 |
| mAbA15 | PBS 시간 24 hr. | 0.212 |
| mAbA15 | PBS 시간 48 hr. | 0.203 |
| mAbA15 | PBS+$H_2O_2$ 시간 0 | 0.191 |
| mAbA15 | PBS+$H_2O_2$ 시간 24 hr. | 0.190 |
| mAbA15 | PBS+$H_2O_2$ 시간 48 hr. | 0.189 |
| mAbA17 | PBS 시간 0 | 0.198 |
| mAbA17 | PBS 시간 24 hr. | 0.186 |
| mAbA17 | PBS 시간 48 hr. | 0.185 |
| mAbA17 | PBS+$H_2O_2$ 시간 0 | 0.188 |
| mAbA17 | PBS+$H_2O_2$ 시간 24 hr. | 0.183 |
| mAbA17 | PBS+$H_2O_2$ 시간 48 hr. | 0.207 |

[1190]

[1191] **실시예 8. 시노, 래트 및 마우스 5T4에 대한 비접합 항체의 교차-반응성(ELISA 및 OCTET)**

[1192] 비접합 항체는 ELISA 및 옥텟을 사용하여 비인간 5T4-T에 결합하는 능력에 대해 테스트되었다. 실시예 7에 기술된 ELISA 프로토콜을 사용하여 인간 5T4 항원을 재조합 시노 5T4-Fc(R&D Systems(Minneapolis, MN, USA), Cat.

No. 2280-TG-100 또는 LSBio(Seattle, WA, USA), Cat. No. LS-G137131에서 공급), 재조합 마우스 5T4-Fc(R&D Systems, Cat. No. 5049-TG-100), 6His-SUMO, N-말단 태그가 있는 재조합 래트 TPBG/5T4(LSBio Cat. No. G56592), His, N-말단 태그가 있는 재조합 마우스 TPBG/5T4(LSBio, Cat. No. G12168) 항원으로 대체했다. 옥텟 분석의 경우, 단백질 A 바이오칩을 항체로 코팅하고 PBS로 세척한 다음 위에서 식별한 대로 항원과 반응시켰다. 테스트한 모든 항체는 인간, 시노 및 래트 5T4에 결합했다. 마우스 5T4에 대한 유의한 결합 교차-반응성은 관찰되지 않았다.

[1193] **실시예 9. 5T4-형질감염된 CHO 및 HEK293 세포에 대한 비접합 항체의 세포 결합**

[1194] 비접합 항체는 인간, 시노, 래트 또는 마우스 5T4를 발현하도록 형질감염된 HEK293 및 CHO 세포에 결합하는 능력에 대해 테스트했다. 비-형질감염된 세포는 비-특이적 결합을 관찰하기 위한 대조군으로 활용되었다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17은 인간 및 시노 5T4를 발현하도록 형질감염된 HEK293 및 CHO 세포에는 반응했지만 래트 또는 마우스 5T4를 발현하도록 형질감염된 세포에는 반응하지 않았다.

[1195] **실시예 10. 5T4 ADC의 시험관내 세포독성**

[1196] MDA-MB-468, MDA-MB-231, MCF-7, NCI-H226 또는 BxPC3 세포를 코스타(Costar) 3610 플레이트(Corning(Corning NY, USA), VWR Cat. No. VWR#29444-010) 100 μL의 성장 배지에 웰당 1500개 세포의 밀도로 플레이팅하고 하룻밤 동안 인큐베이션했다. 테스트할 각 ADC에 대해 6배 희석 시리즈를 제조했다. 제조된 ADC 용액 각각 20 μL를 세포에 첨가하여 최종 희석 범위가 100 nM-0.02 nM이 되도록 하고 37℃에서 5% $CO_2$로 5일간 인큐베이션했다. 세포의 생존율은 Cell TITER-GLO® 생존율 검정(Promega(Madison, WI, USA), Cat. No. G7573)을 사용하여 측정하고 처리하지 않은(대조군) 세포와 비교했다.

[1197] A. VIa-11. **도 6**은 메이탄신에 직접 접합된 mAbA15-VIa-11, mAbA17-VIa-11 및 mAbA17로 처리한 MDA-MB-468 세포의 세포 생존율을 보고한다. **도 7**은 메이탄신에 직접 접합된 mAb15-VIa-11, mAb15-VIa-11 및 mAbA17로 처리한 MCF-7 세포의 세포 생존율을 보고한다.

[1198] B. VIa-82. **도 8**은 mAbA15-VIb-82, mAbA17-VIb-82, 이소타입 대조군 및 유리 MMAE로 처리한 MDA-MB-468 세포의 세포 생존율을 보고한다. **도 9**는 mAbA15-VIb-82, mAbA17-VIb-82, 이소타입 대조군 및 유리 MMAE로 처리한 MCF-7 세포의 세포 생존율을 보고한다. **도 10**은 링커-약물 VIb-82에 접합된 다양한 항체로 처리한 MDA-MB-231 세포의 세포 생존율을 보고한다. **도 11**은 링커-약물 VIb-82에 접합된 다양한 항체로 처리한 NCI-H226 세포의 세포 생존율을 보고한다. 아래에 제공된 **도 12**는 링커-약물 VIb-82에 접합된 다양한 항체로 처리한 BxPC3 세포의 세포 생존율을 보고한다.

[1199] **실시예 11. 암 이종이식 모델에 대한 5T4 ADC의 생체내 효능**

[1200] **MCF-7.1 유방암 이종이식 모델.** 암컷 NCr NU/NU 마우스(n=8)에 50% MATRIGEL®(Corning Life Sciences) 매트릭스에서 $1x10^7$의 MCF-7.1 종양 세포를 주입(측면)했다. 평균 종양 부피가 150-250 $mm^3$에 도달했을 때, 마우스를 각각의 처리군으로 무작위로 나누고 비히클, 이소타입 대조군 또는 ADC를 정맥 주사했다. ADC는 MCF-7.1 세포 주입 후 1일차와 4일차에 5 mg/kg의 농도로 정맥 내 주입하거나, 1일차에 비히클, 이소타입 대조군 또는 테스트 물질(5 mg/kg)을 단일 정맥 내 주입했다. 연구 기간 동안 어떤 처리군에서도 체중에 대한 부작용은 없었다.

[1201] **도 13**은 mAbA15-VIa-11 및 mAbA17-VIa-11로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스에서 종양 퇴행 및 억제에 대한 치료 효과를 나타낸다. 화살표로 표시된 대로, 마우스는 그래프의 x축에 있는 화살표로 표시된 대로 1일차와 4일차에 정맥내 주사를 받았다.

[1202] **도 14**는 mAbA15-VIb-82 및 mAbA17-VIb-82로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스에서 종양 퇴행 및 억제에 대한 치료 효과를 나타낸다. 화살표로 표시된 대로, 마우스는 그래프의 x축에 있는 화살표로 표시된 대로 1일차에 단일 정맥 주사를 받았다.

[1203] **도 15**는 mAbA15-VIb-82의 세 가지 다른 용량 강도 중 하나로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스에서 종양 퇴행 및 억제에 대한 단일 투여의 용량 반응 효과를 나타낸다. 화살표로 표시된 대로, 마우스는 비히클, 이소타입 대조군(5 mg/kg) 또는 ADC(0.5 mg/kg, 2.5 mg/kg 또는 5 mg/kg)를 단일 정맥 주사했다. **도 16**은 mAbA15-VIb-82로 치료한 MCF-7.1 이종이식 마우스에서 종양 퇴행 및 억제에 대한 주간 투여의 용량 반응 효과를 보고한다. 화살표로 표시된 대로, 마우스는 비히클, 이소타입 대조군(2.5 mg/kg) 또는 ADC(0.25 mg/kg, 1.25 mg/kg 또는 2.5 mg/kg)의 1일 및 8일에 분할 투여를 받았다.

[1204] **도 17**은 mAbA17-VIb-82로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스에서 종양 퇴행 및 억제에 대한 단일 투여의 용량 반응 효과를 보고한다. 화살표로 표시된 대로, 마우스는 비히클, 이소타입 대조군(5 mg/kg) 또는 ADC(0.5 mg/kg, 2.5 mg/kg 또는 5 mg/kg)의 단일 정맥 주사를 받았다.

[1205] **도 18**은 mAbA17-VIb-82로 처리한 MCF-7.1 이종이식 마우스에서 종양 퇴행 및 억제에 대한 주간 투여의 용량 반응 효과를 보고한다. 화살표로 표시된 대로, 마우스는 1일차와 8일차에 비히클, 이소타입 대조군(2.5 mg/kg) 또는 ADC(0.25 mg/kg, 1.25 mg/kg 또는 2.5 mg/kg)의 분할 투여를 받았다.

[1206] **MDA-MB-468 유방암 이종이식 모델:** 암컷 SCID 베이지 마우스(n=8)에 50% MATRIGEL®(Corning Life Sciences) 매트릭스에서 $1x10^7$의 MDA-MB-468 종양 세포를 주입(측면)했다. 평균 종양 부피가 100-150 $mm^3$에 도달했을 때, 마우스를 각각의 처리군으로 무작위로 나누고, 비히클, 5 mg/kg 이소타입 대조군 또는 5 mg/kg ADC를 정맥 주사했다. 연구 기간 동안 어떤 처리군에서도 체중에 대한 부작용은 없었다.

[1207] 링커-약물 VIb-82에 접합된 mAbA15의 종양 퇴행 및 억제에 대한 효과는 **도 19**에서 링커-약물 VIb-81 및 MMAF에 직접 접합된 mAbA15의 효과와 비교된다. 마우스는 그래프의 x축에 있는 화살표로 표시된 대로 1일차와 4일차에 ADC를 정맥 주사했다.

[1208] **MDA-MB-231 유방암 이종이식 모델:** 암컷 BalbC/누드 마우스(n=8)에 $1x10^6$의 MDA-MB-231 종양 세포를 유방 지방 패드에 접종했다. 평균 종양 부피가 50-150 $mm^3$에 도달했을 때, 마우스를 각각의 처리군으로 무작위로 나누고 비히클, 이소타입 대조군 또는 5 mg/kg ADC를 정맥 주사했다. 연구 기간 동안 어떤 처리군에서도 체중에 대한 부작용은 없었다. mAbA15-VIb-82 및 mAbA15-VIa-11이 종양 퇴행 및 억제에 미치는 영향은 **도 20**에 나와 있다. 마우스는 실험군으로 나눈 후 1일차와 4일차에 정맥 주사를 맞았다(그래프의 x축에 있는 화살표는 MCF-7 세포 주사 후 투여량을 나타냄).

[1209] **NCI-H226 폐암 이종이식 모델:** 암컷 BalbC/누드 마우스(n=8)에 1:1 MATRIGEL® 매트릭스에서 $1x10^7$의 NCI-H226 종양 세포를 접종했다. 평균 종양 부피가 150-200 $mm^3$에 도달했을 때, 마우스는 각각의 처리군으로 무작위로 배정되었고, 비히클, 이소타입 대조군 또는 5 mg/kg ADC를 정맥 주사했다. 연구 기간 동안 어떤 처리군에서도 체중에 대한 부작용은 없었다. mAbA15-VIb-82 및 mAbA15-VIa-11이 종양 퇴행 및 억제에 미치는 영향은 **도 21**에 나와 있다. 마우스는 그래프의 x축에 있는 화살표로 표시된 대로 1일차와 4일차에 정맥 주사를 맞았다.

[1210] **BxPC3 췌장암 이종이식 모델:** 암컷 BalbC/누드 마우스(n=8)에 1:1 MATRIGEL® 매트릭스에서 $1x10^7$의 BxPC3 종양 세포를 접종했다. 평균 종양 부피가 150-200 $mm^3$에 도달했을 때, 마우스를 각각의 처리군으로 무작위로 배정하고 비히클, 이소타입 대조군 또는 5 mg/kg ADC를 정맥 주사했다. 연구 기간 동안 어떤 처리군에서도 체중에 대한 부작용은 없었다. mAbA15-VIb-82 및 mAbA15-VIa-11이 종양 퇴행 및 억제에 미치는 영향은 **도 22**에 나와 있다. 마우스는 그래프의 x축에 있는 화살표로 표시된 대로 1일차와 4일차에 정맥 주사를 받았다.

[1211] **Calu-6 폐암 이종이식 모델:** 암컷 BalbC/누드 마우스(n=10)에 PBS 중에서 $5x10^6$의 Calu-6 종양 세포를 접종했다. 평균 종양 부피가 100-200 $mm^3$에 도달했을 때, 마우스를 각각의 처리군으로 무작위로 나누고 비히클, 이소타입 대조군 또는 1.25, 2.5 또는 5 mg/kg ADC를 정맥 주사했다. 이를 치료의 "1일차"로 표시했다. 마우스는 1일차에 단일 정맥 주사를 받았다. 연구 기간 동안 어떤 처리군에서도 체중에 대한 부작용은 없었다. 종양 퇴행 및 억제에 대한 mAbA15-VIb-82의 효과는 **도 23**에 나와 있다.

[1212] **래트 독성동태학(TK) 연구:** 수컷 스프라그-도울리(Sprague-Dawley) 래트(군당 3마리)에게 상기 실시예에서 설명한 대로 생산된 mAbA15-VIb-82 5mg/kg의 단일 용량을 정맥 주사로 투여했다. $K_2$EDTA-안정화된 혈장은 투여 후 0.5시간, 6시간, 24시간, 2일, 4일, 7일, 10일, 14일, 21일에 수집했다. 전체 항체 및 전체 ADC 농도는 두 가지 ELISA 방법으로 정량화했다. 전체 항체 측정의 경우, 접합체는 항-인간 IgG-특이적 항체로 포획하고 HRP-접합된 항-인간 Fc 특이적-항체로 검출했다. 전체 ADC 측정의 경우, 접합체는 항-인간 Fab-특이적 항체로 포획하고 마우스 항-페이로드 1차 항체로 검출한 다음 HRP-접합된 항-마우스 IgG-서브클래스 1-특이적 2차 항체로 검출했다. 결합된 2차 항체는 Ultra TMB One-Step ELISA 기질(ThermoFisher)을 사용하여 검출했다. 황산으로 반응을 켄칭한 후, SoftMax Pro 소프트웨어가 장착된 Molecular Devices Spectra Max M5 플레이트 판독기에서 450 nm에서 흡광도를 측정하여 신호를 읽었다. 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 및 마이크로소프트 엑셀 소

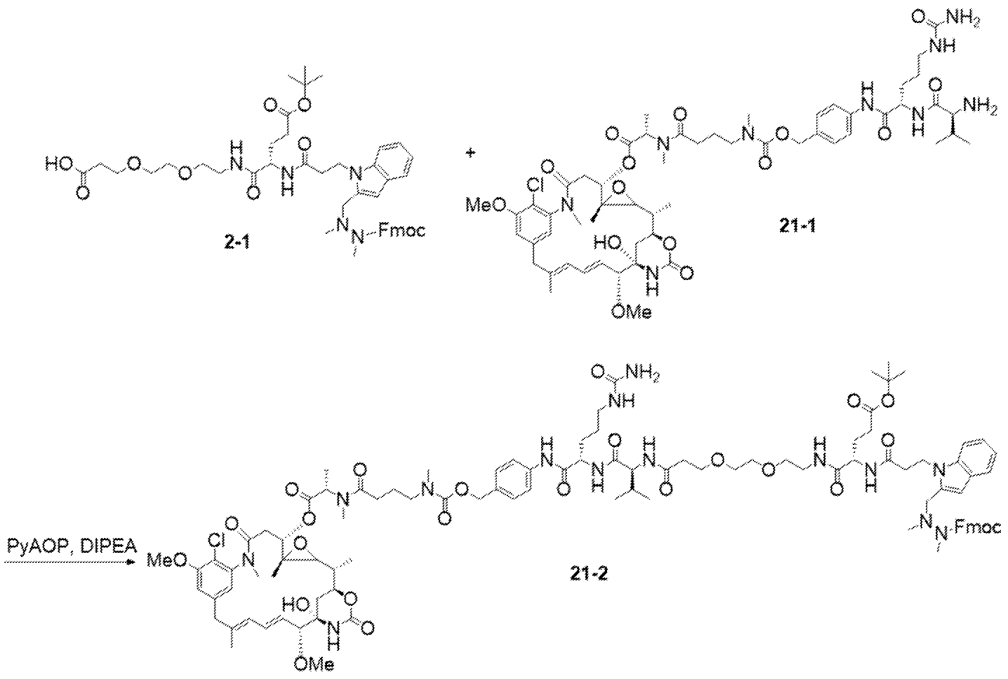
프트웨어를 사용하여 데이터를 분석하고 **도 24a**(30 mg/kg), **24b**(60 mg/kg) 및 **24c**(90 mg/kg)에 플로팅했다.

[1213] * * * * *

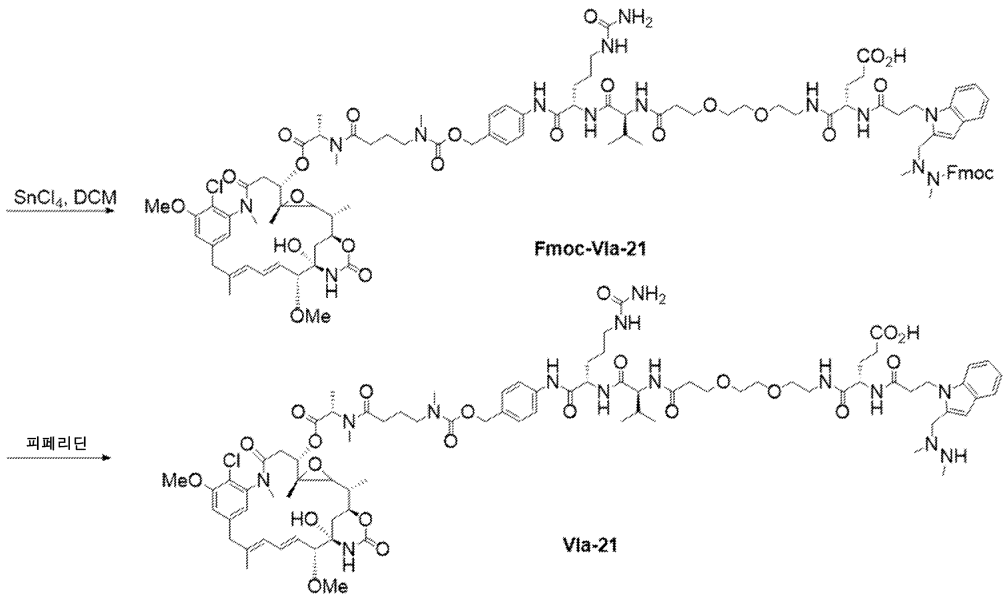
[1214] 본 출원 전반에 걸쳐, 다양한 간행물, 특허, 특허 출원 및 기타 문서가 참조되었다. 이러한 간행물, 특허, 특허 출원 및 기타 문서의 개시내용은 본 출원에서 개시된 주제가 관련된 기술 상태를 보다 완전하게 설명하기 위한 것을 포함하여 모든 목적을 위해 본 출원에 참조로 통합되어 있다. 개시된 주제는 위에 제공된 실시예를 참조하여 설명되었지만, 개시된 주제의 정신에서 벗어나지 않고 다양한 변형이 이루어질 수 있다는 것을 이해해야 한다. 이 명세서를 검토하면 많은 수정이 해당 분야의 숙련자에게 분명해질 것이다.

## 도면

### 도면1a

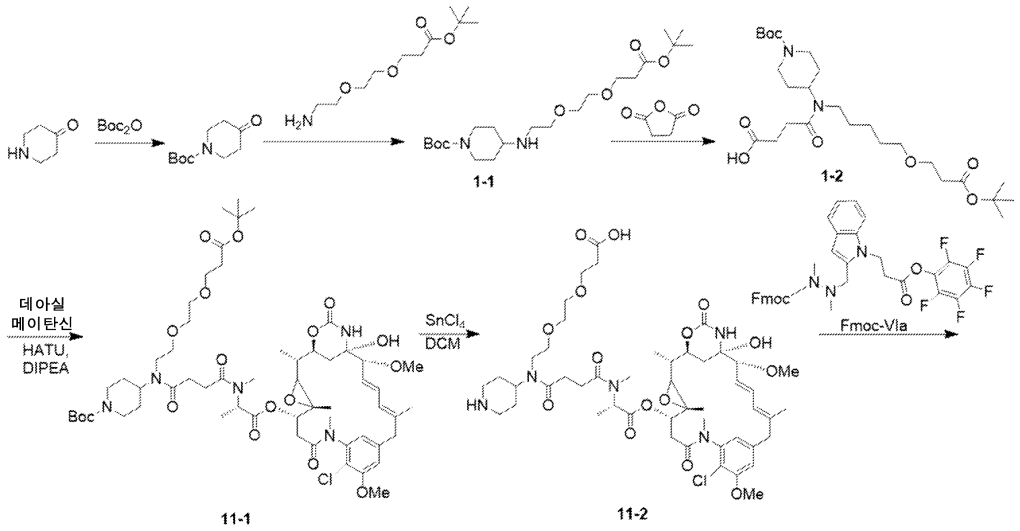


도면1b

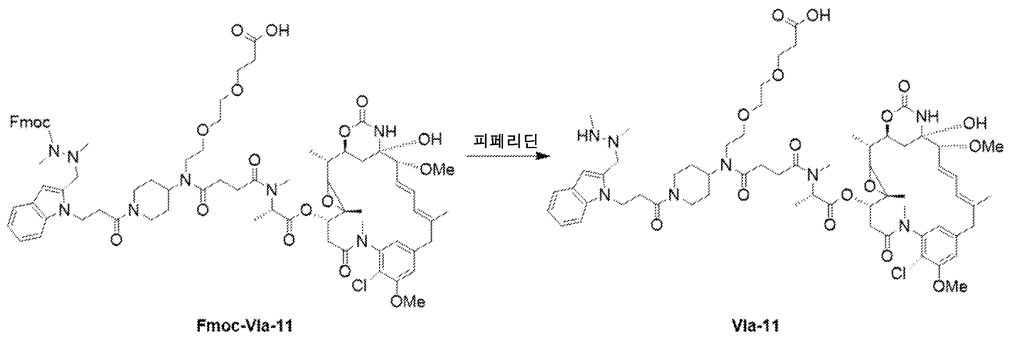



-반응식 1-

도면2a



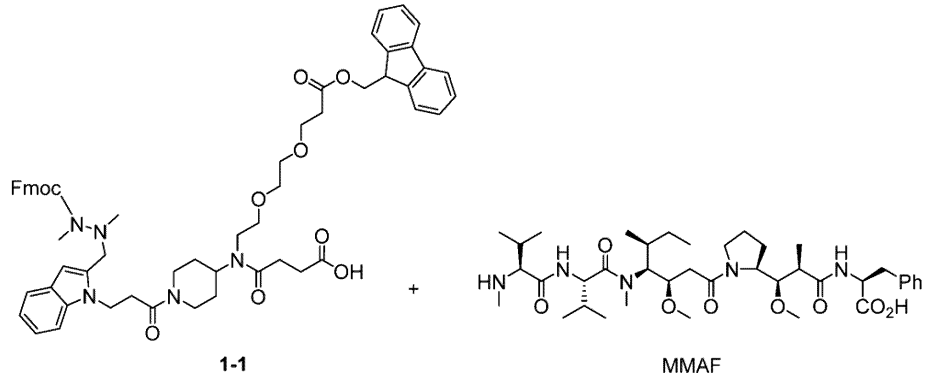
도면2b



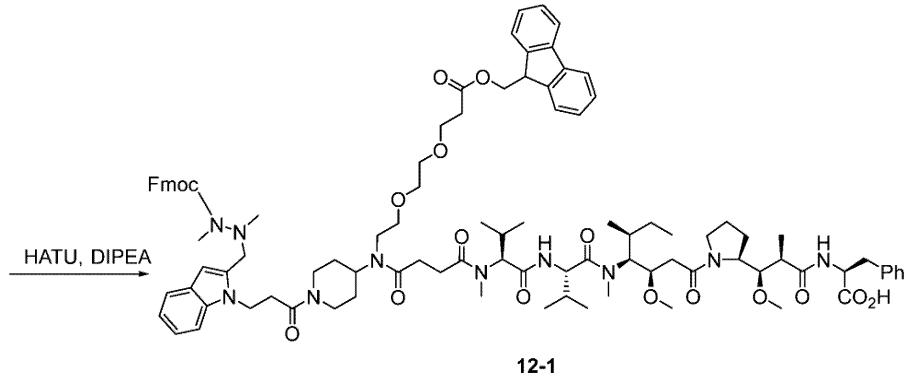

Fmoc-VIa-11 VIa-11

-반응식 2-

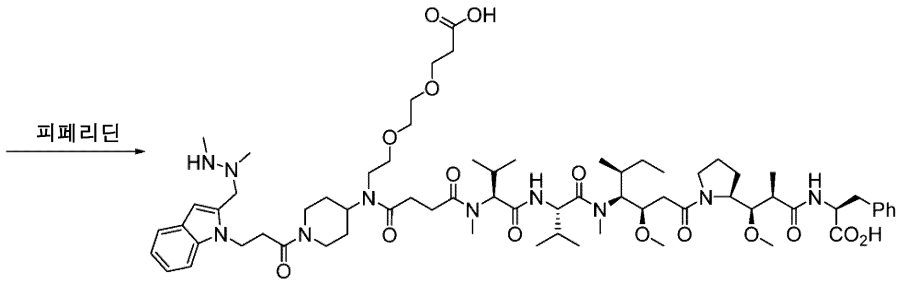
도면3




1-1 MMAF



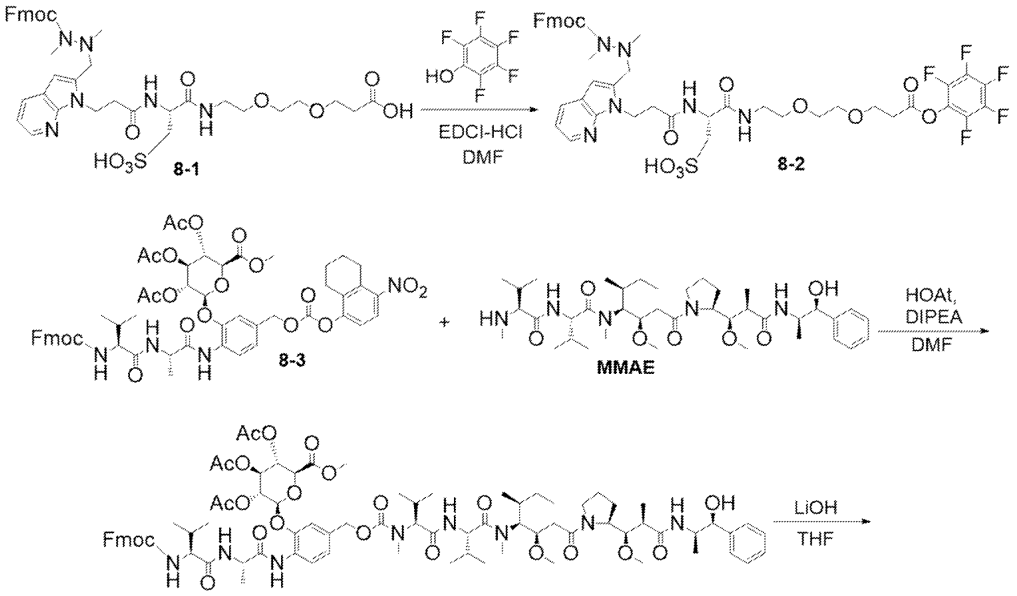

12-1



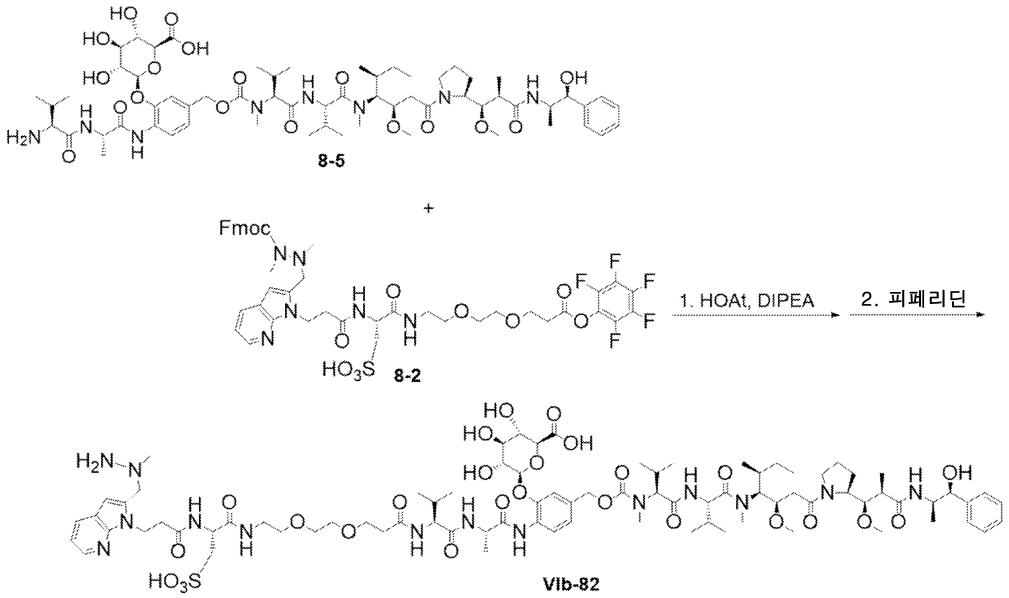

VIb-12

-반응식 3-

도면4a

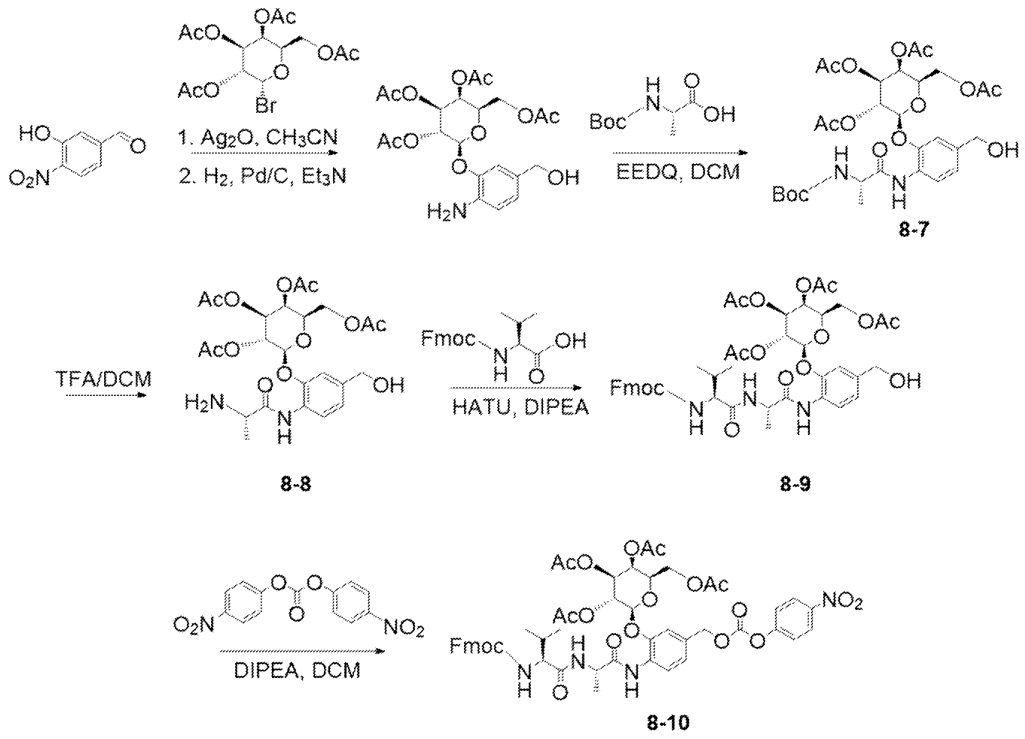



도면4b

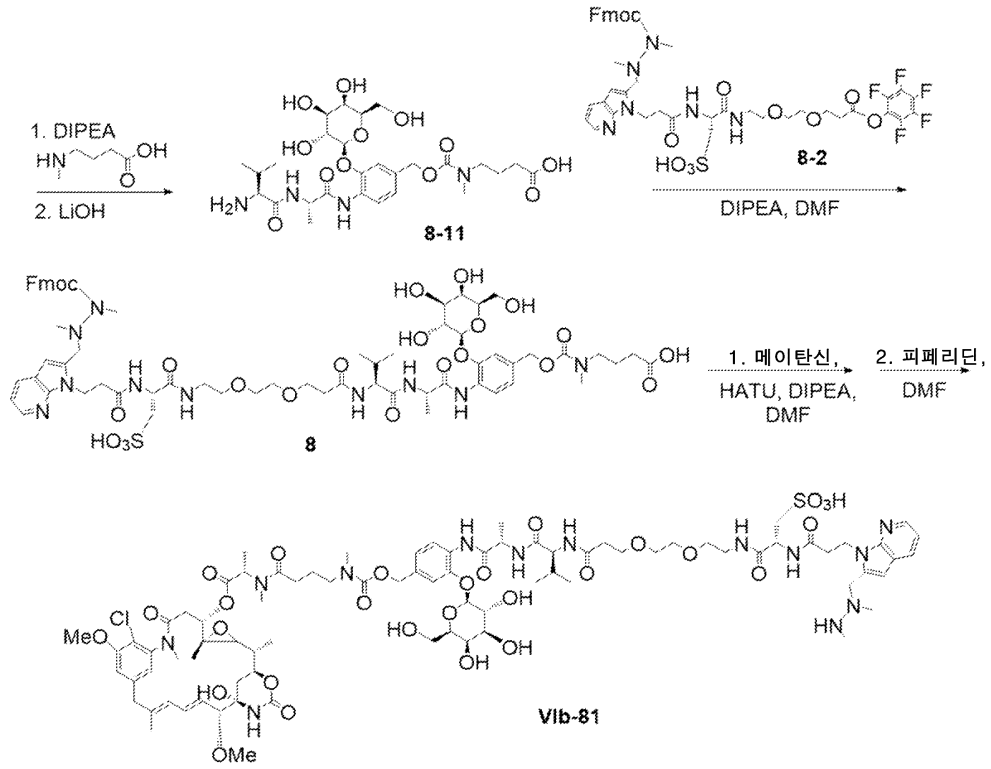



-반응식 4-

도면5a

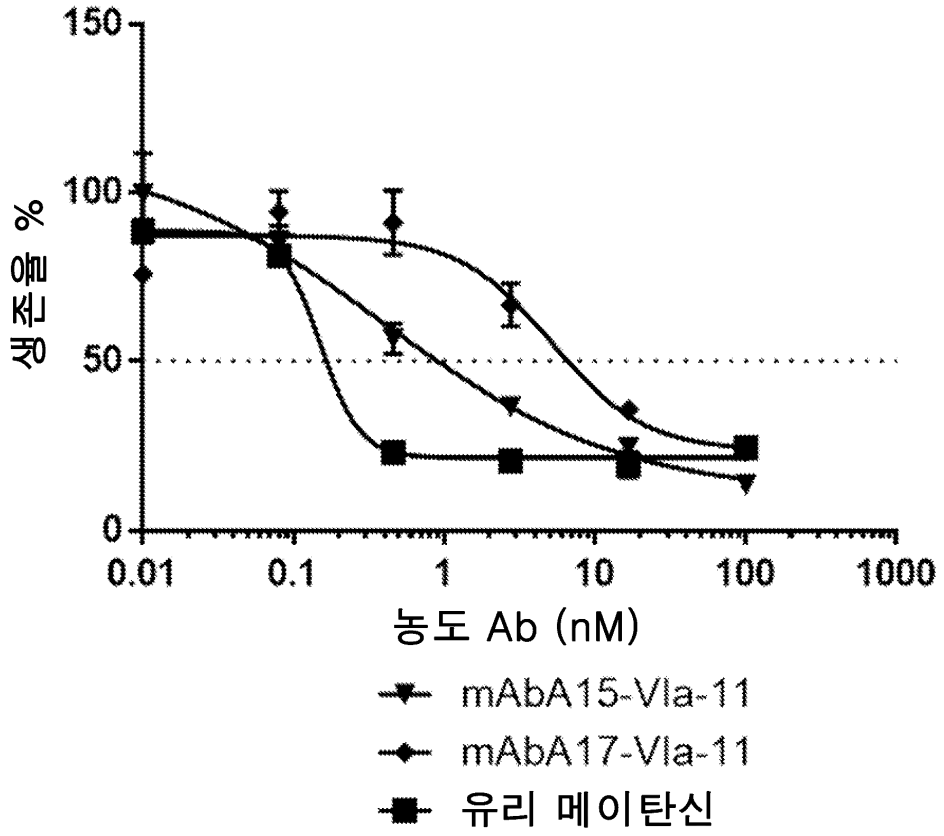



도면5b

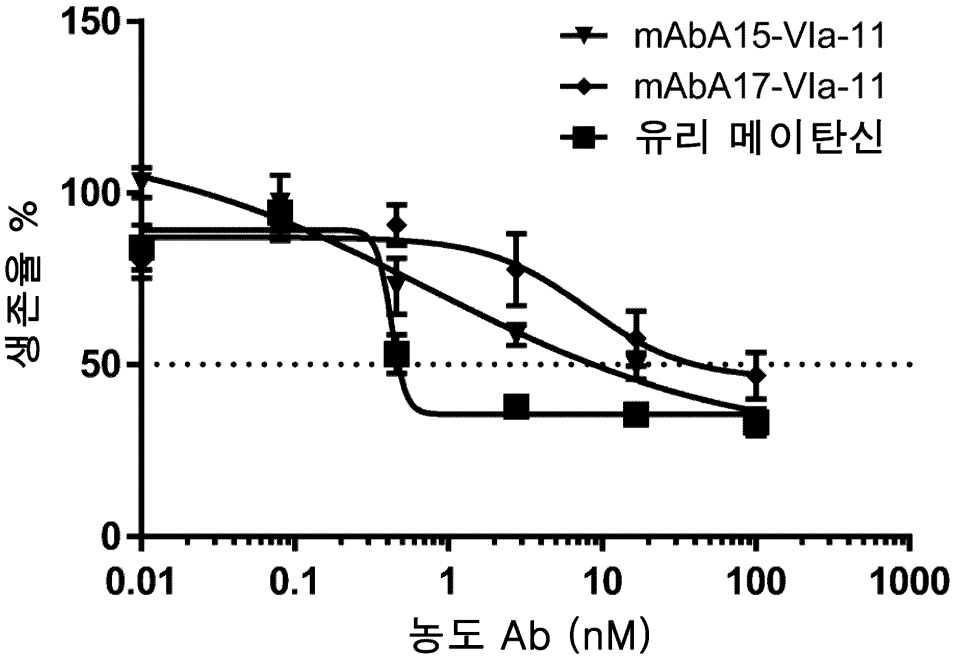



-반응식 5-

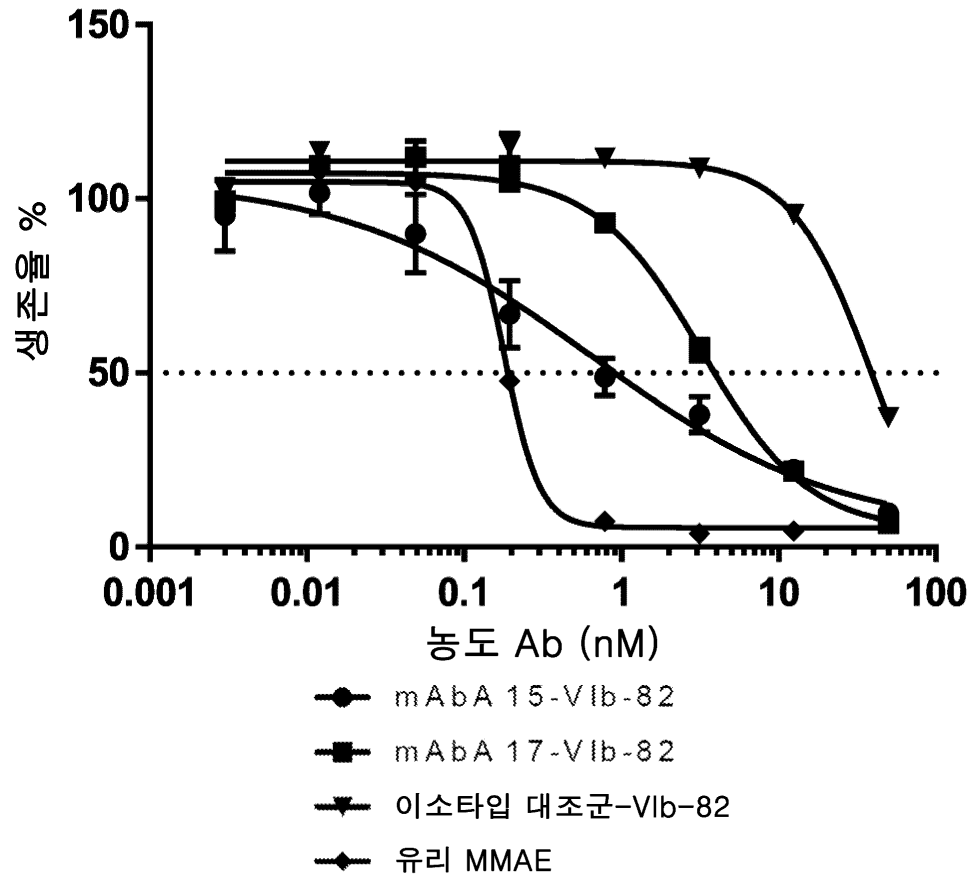
도면6


150
100
50
0
생존율 %
0.01
0.1
1
10
100
1000
농도 Ab (nM)
mAbA15-VIa-11
mAbA17-VIa-11
유리 메이탄신

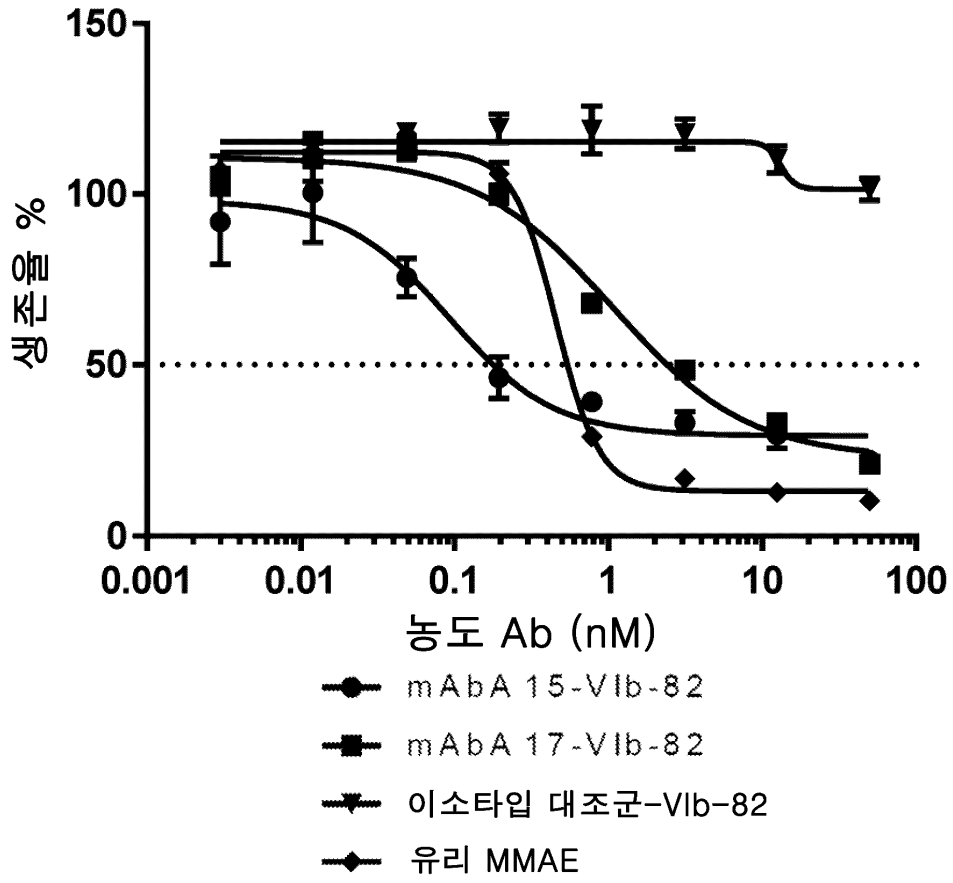
도면7


150
100
50
0
생존율 %
0.01
0.1
1
10
100
1000
농도 Ab (nM)
mAbA15-VIa-11
mAbA17-VIa-11
유리 메이탄신

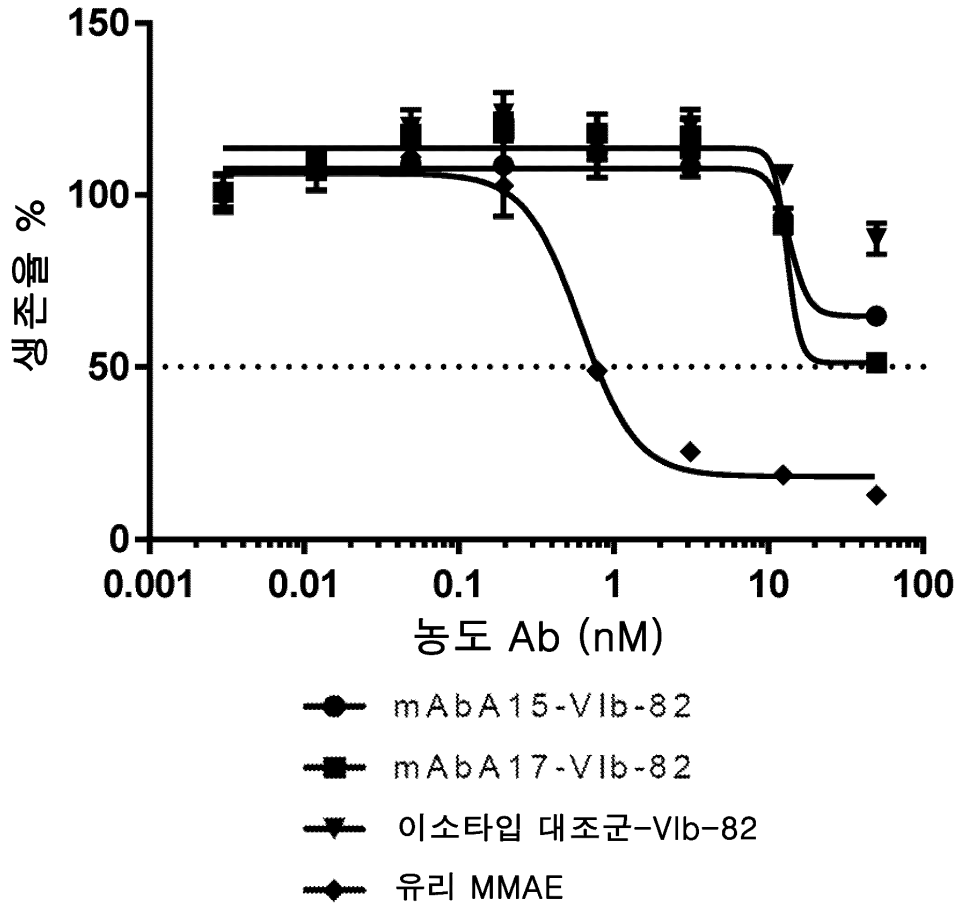
도면8


150
100
50
0
생존율 %
0.001
0.01
0.1
1
10
100
농도 Ab (nM)
mAbA 15-Vlb-82
mAbA 17-Vlb-82
이소타입 대조군-Vlb-82
유리 MMAE

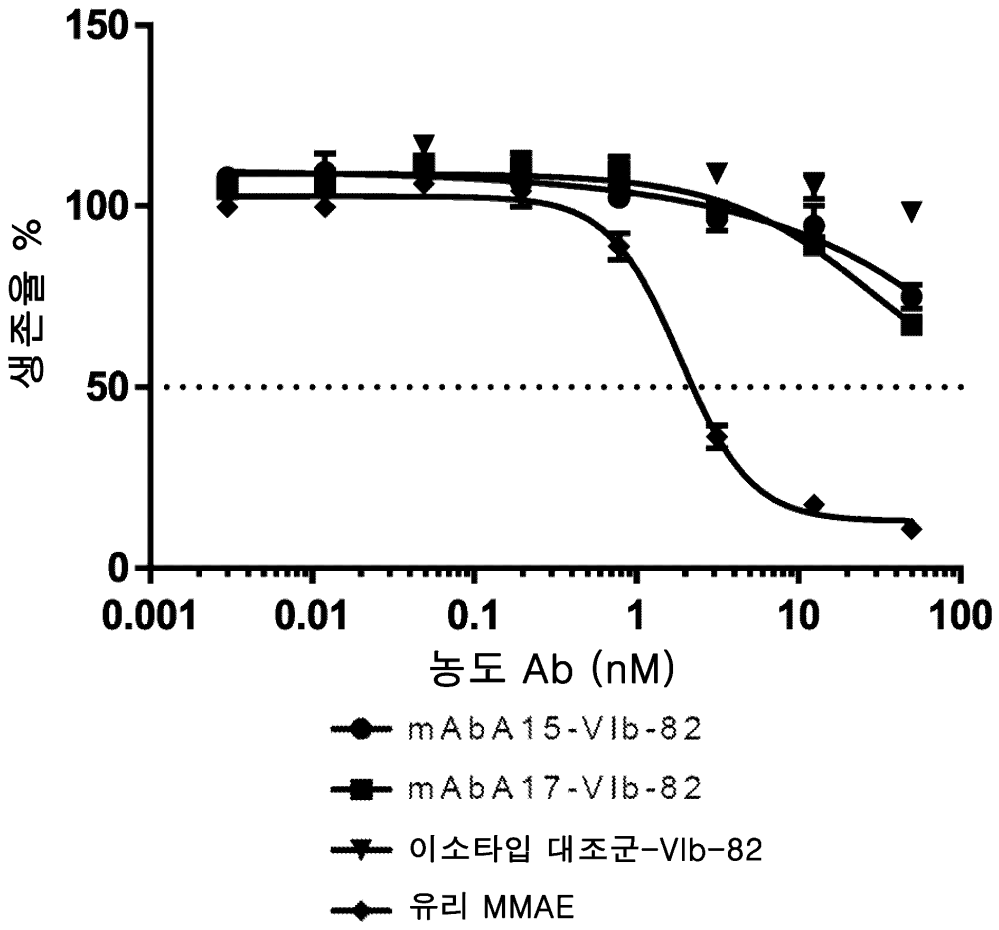
도면9


150
100
50
0
생존율 %
0.001
0.01
0.1
1
10
100
농도 Ab (nM)
mAbA 15-Vlb-82
mAbA 17-Vlb-82
이소타입 대조군-Vlb-82
유리 MMAE

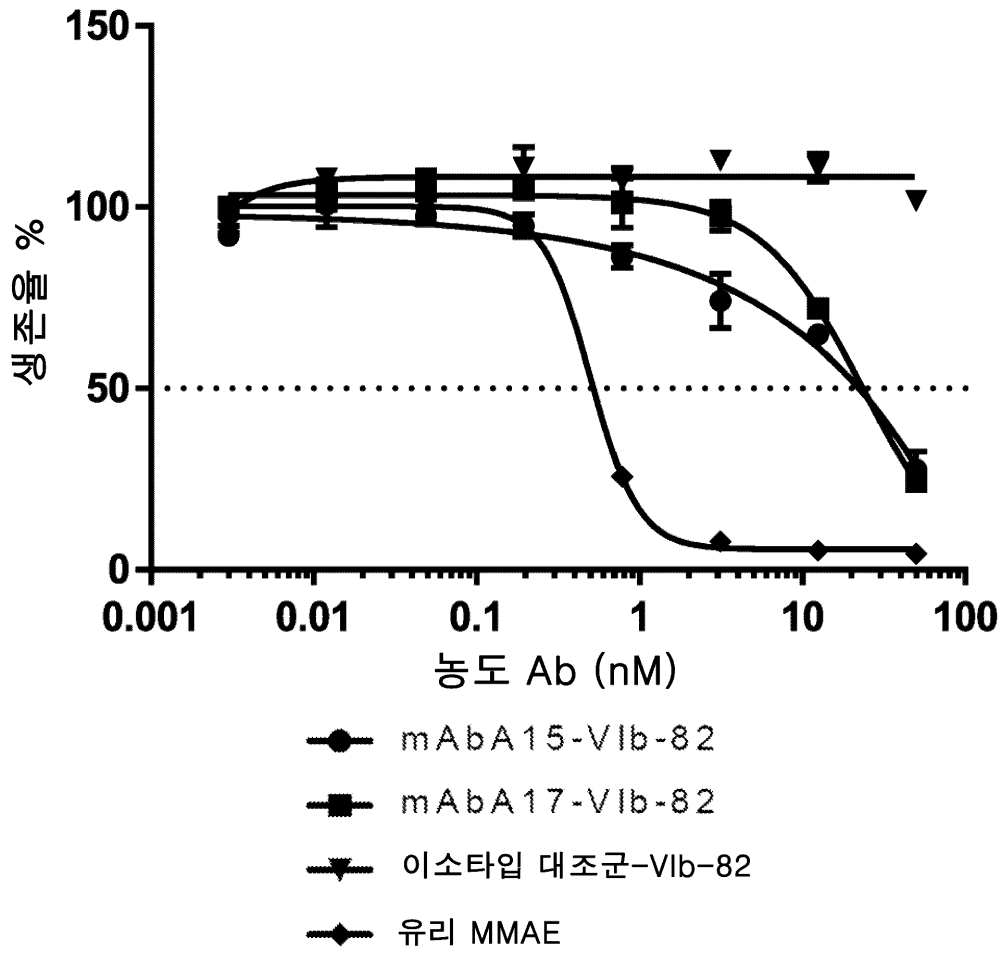
도면10


150
100
50
0
생존율 %
0.001
0.01
0.1
1
10
100
농도 Ab (nM)
mAbA15-VIb-82
mAbA17-VIb-82
이소타입 대조군-VIb-82
유리 MMAE

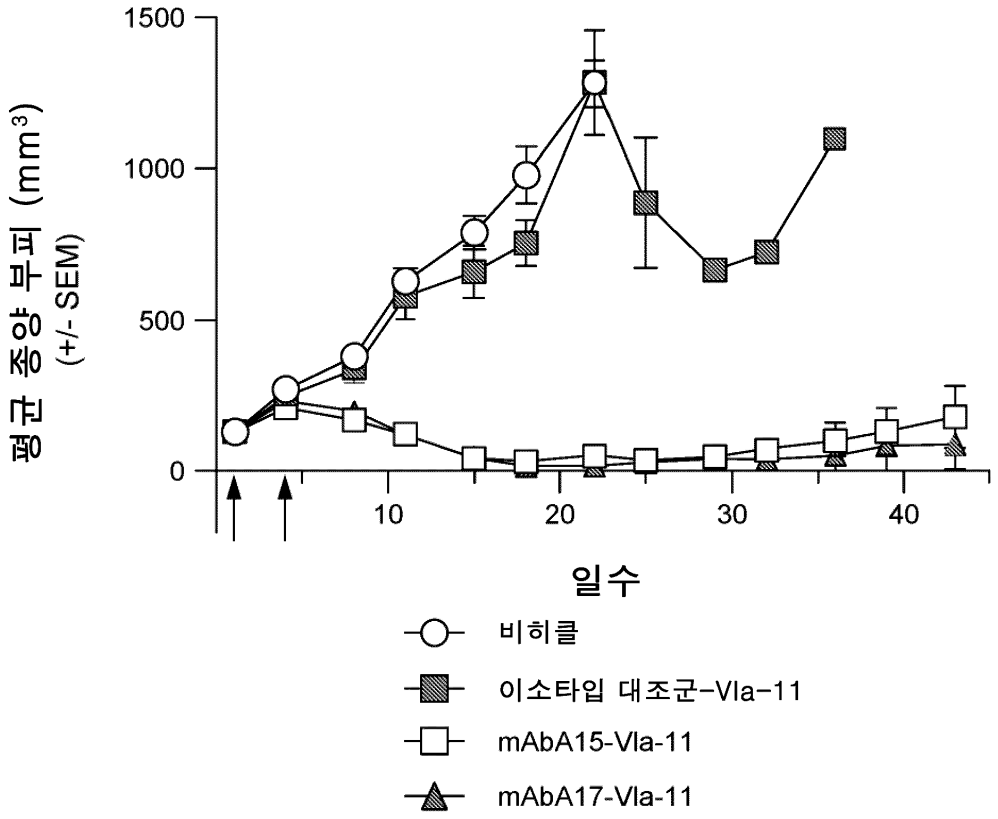
도면11


150
100
50
0
생존율 %
0.001
0.01
0.1
1
10
100
농도 Ab (nM)
mAbA15-Vlb-82
mAbA17-Vlb-82
이소타입 대조군-Vlb-82
유리 MMAE

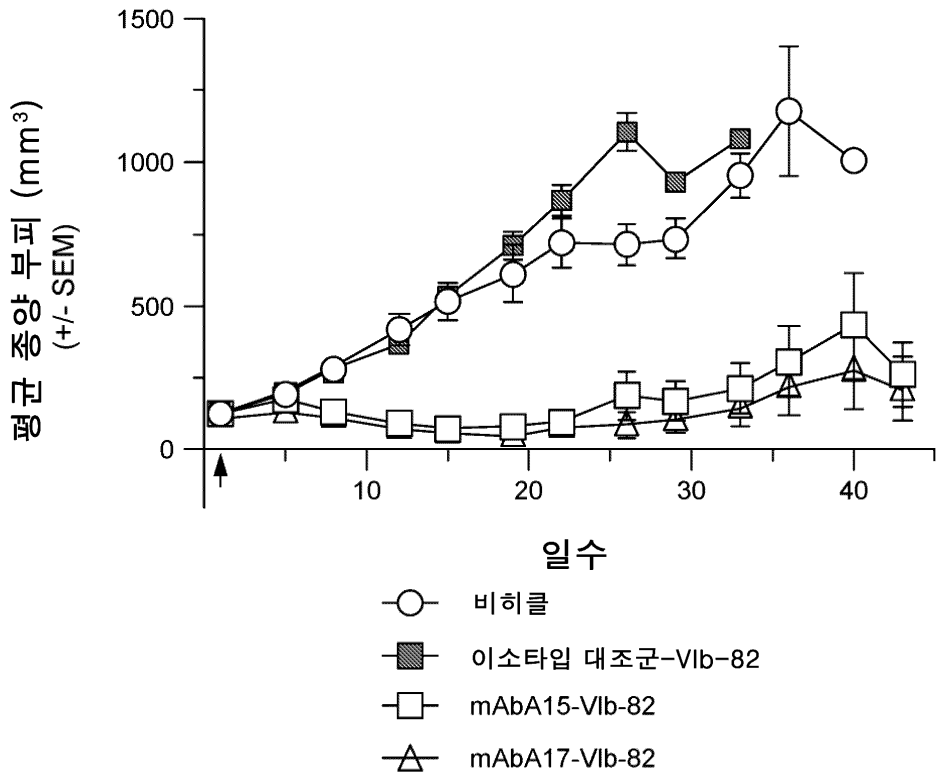
도면12


150
100
50
0
생존율 %
0.001
0.01
0.1
1
10
100
농도 Ab (nM)
mAbA15-Vlb-82
mAbA17-Vlb-82
이소타입 대조군-Vlb-82
유리 MMAE

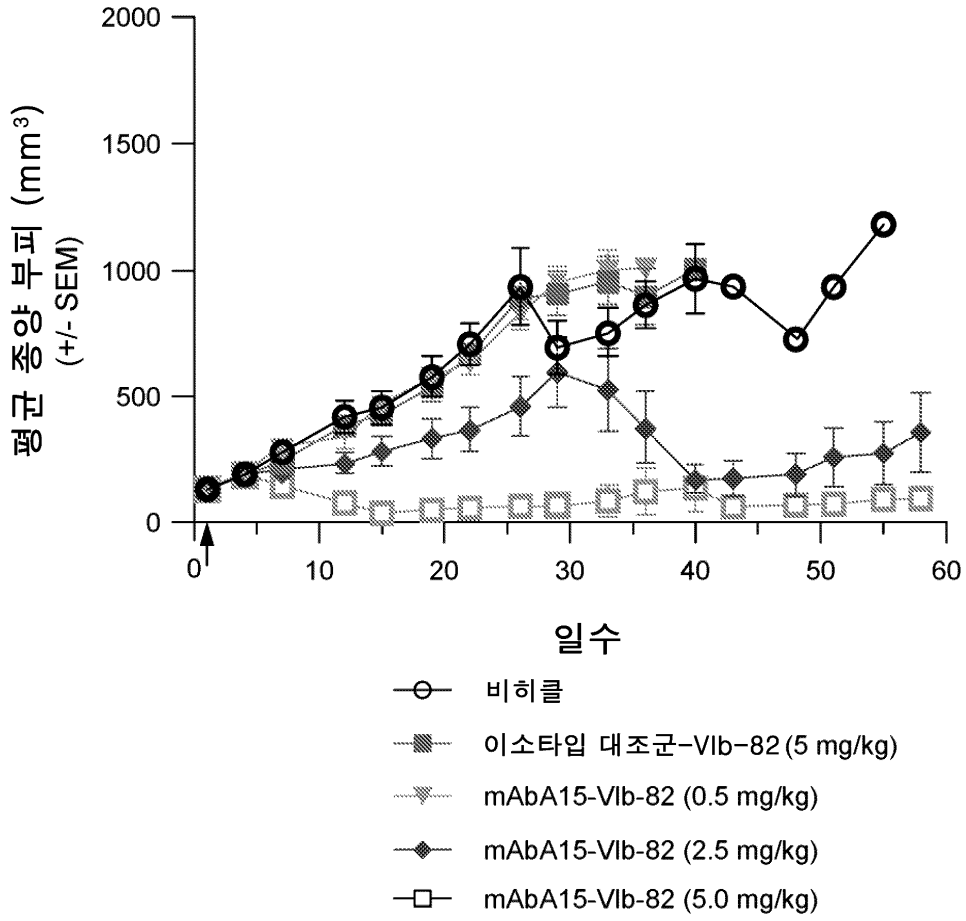
도면13


1500
1000
500
0
10
20
30
40
평균 종양 부피 (mm3)
(+/- SEM)
일수
비히클
이소타입 대조군-Vla-11
mAbA15-Vla-11
mAbA17-Vla-11

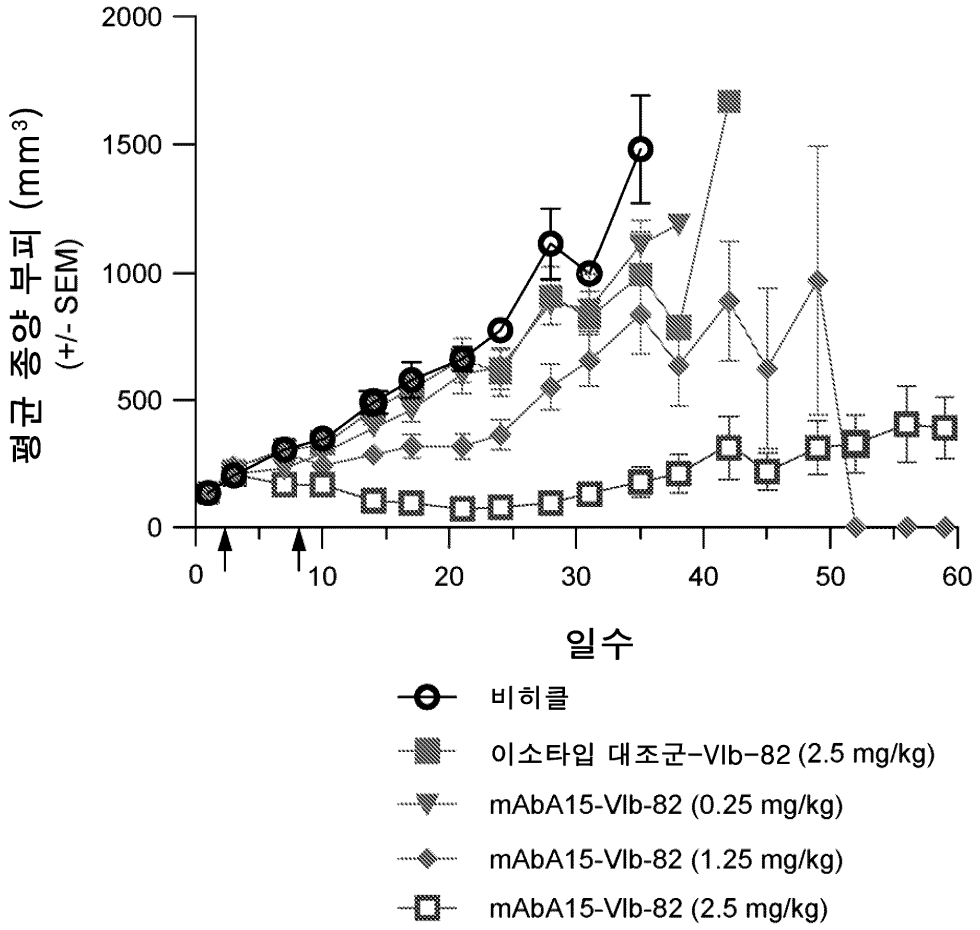
도면14


평균 종양 부피 (mm³)
(+/- SEM)
1500
1000
500
0
10
20
30
40
일수
비히클
이소타입 대조군-VIb-82
mAbA15-VIb-82
mAbA17-VIb-82

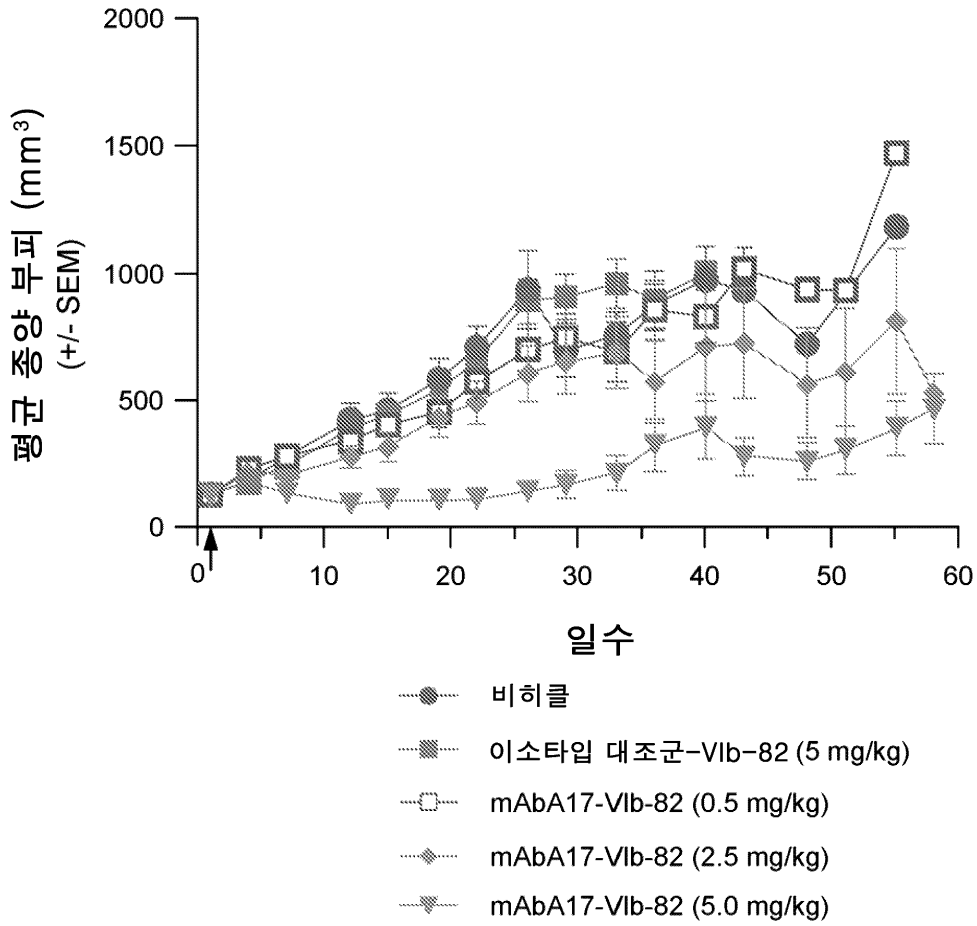
도면15


평균 종양 부피 (mm³) (+/- SEM)
2000
1500
1000
500
0
0
10
20
30
40
50
60
일수
비히클
이소타입 대조군-VIb-82 (5 mg/kg)
mAbA15-VIb-82 (0.5 mg/kg)
mAbA15-VIb-82 (2.5 mg/kg)
mAbA15-VIb-82 (5.0 mg/kg)

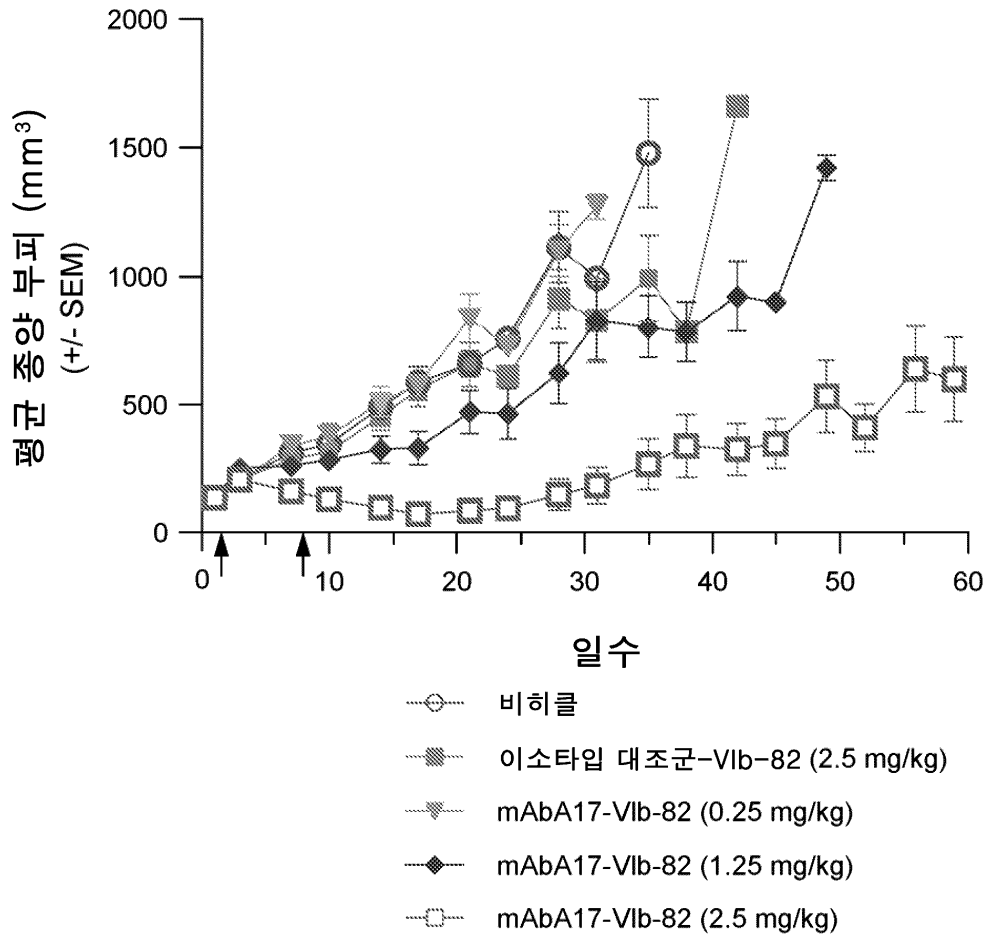
도면16


2000
1500
1000
500
0
평균 종양 부피 (mm³)
(+/- SEM)
0
10
20
30
40
50
60
일수
비히클
이소타입 대조군-VIb-82 (2.5 mg/kg)
mAbA15-VIb-82 (0.25 mg/kg)
mAbA15-VIb-82 (1.25 mg/kg)
mAbA15-VIb-82 (2.5 mg/kg)

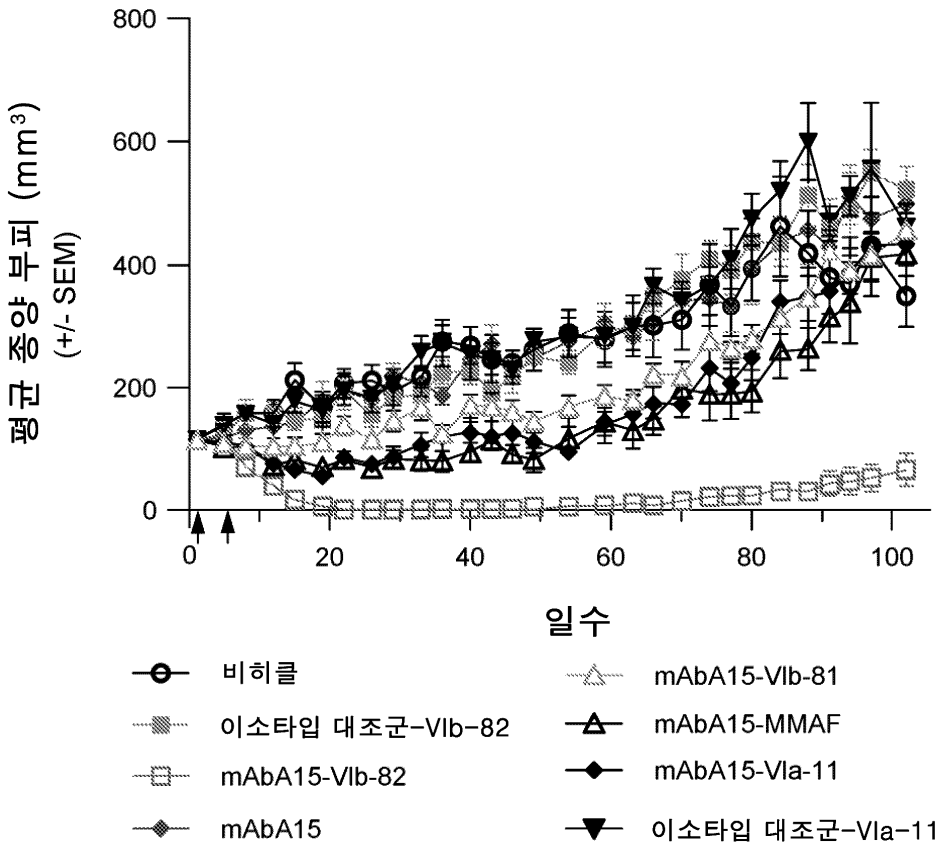
도면17


2000
1500
1000
500
0
평균 종양 부피 (mm³)
(+/- SEM)
0
10
20
30
40
50
60
일수
비히클
이소타입 대조군-VIb-82 (5 mg/kg)
mAbA17-VIb-82 (0.5 mg/kg)
mAbA17-VIb-82 (2.5 mg/kg)
mAbA17-VIb-82 (5.0 mg/kg)

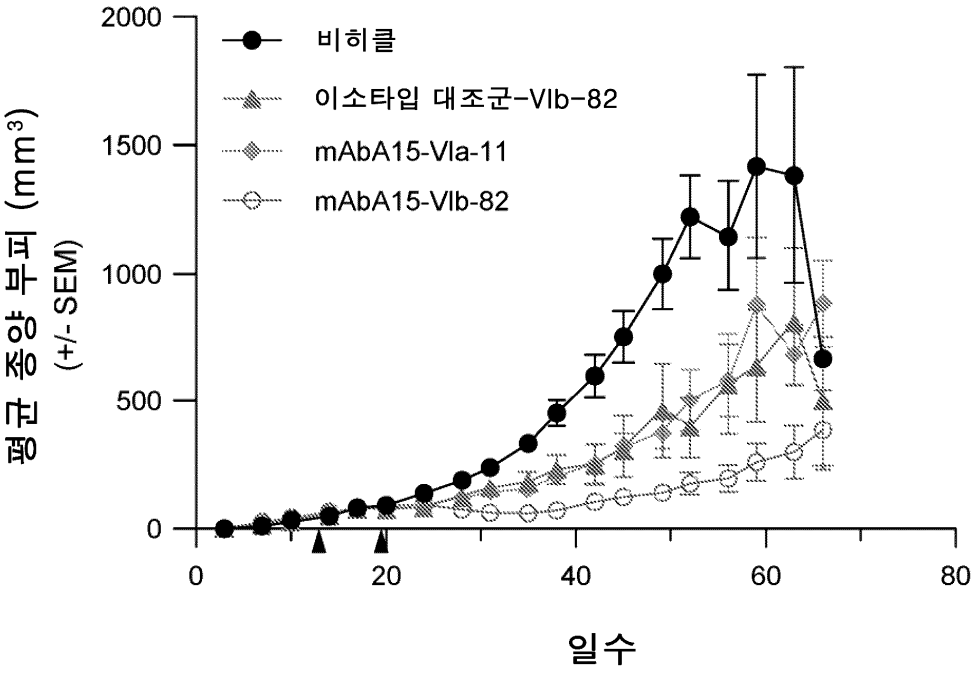
도면18


2000
1500
1000
500
0
평균 종양 부피 (mm3)
(+/- SEM)
0
10
20
30
40
50
60
일수
비히클
이소타입 대조군-VIb-82 (2.5 mg/kg)
mAbA17-VIb-82 (0.25 mg/kg)
mAbA17-VIb-82 (1.25 mg/kg)
mAbA17-VIb-82 (2.5 mg/kg)

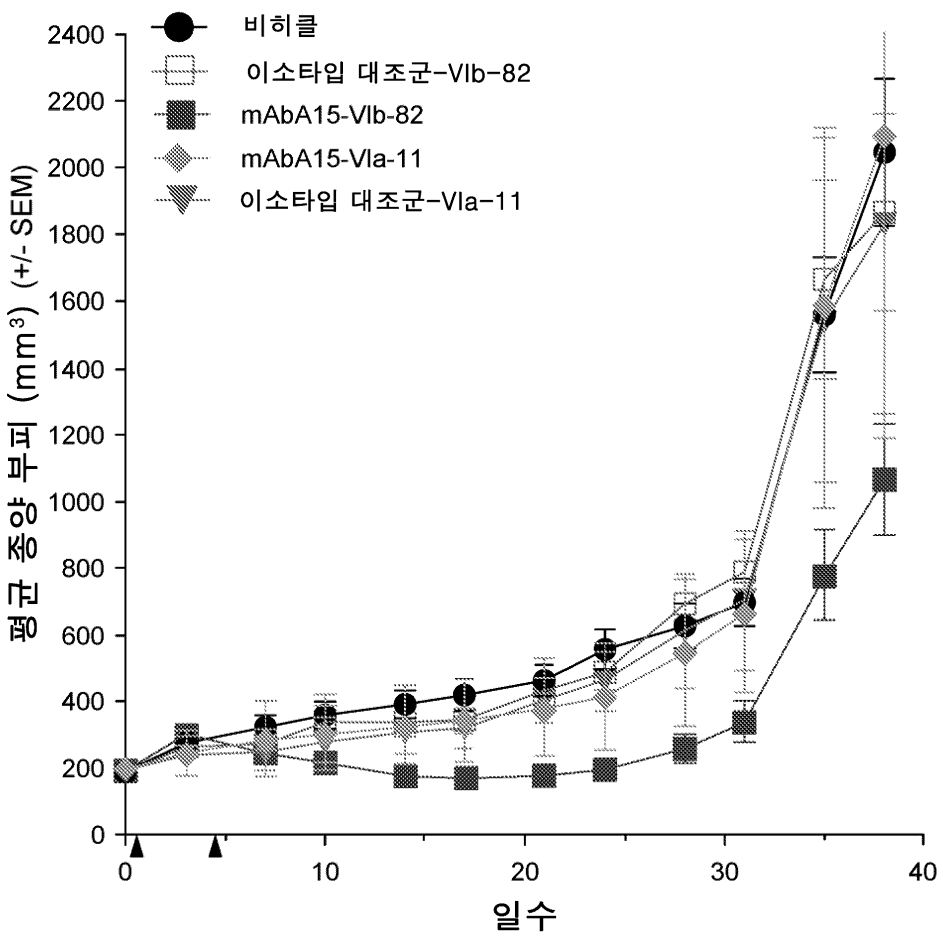
도면19


800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
일수
평균 종양 부피 (mm³)
(+/- SEM)
비히클
이소타입 대조군-Vlb-82
mAbA15-Vlb-82
mAbA15
mAbA15-Vlb-81
mAbA15-MMAF
mAbA15-Vla-11
이소타입 대조군-Vla-11

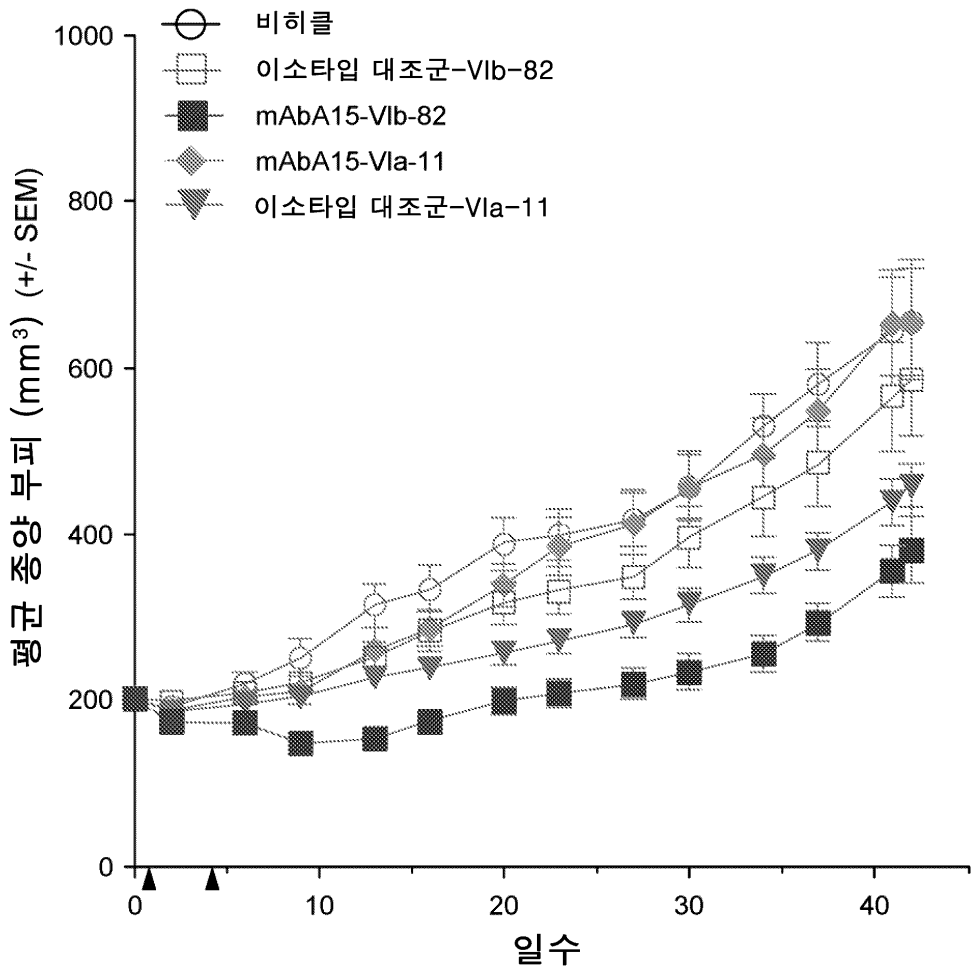
도면20


2000
1500
1000
500
0
0
20
40
60
80
일수
평균 종양 부피 (mm³)
(+/- SEM)
비히클
이소타입 대조군-Vlb-82
mAbA15-Vla-11
mAbA15-Vlb-82

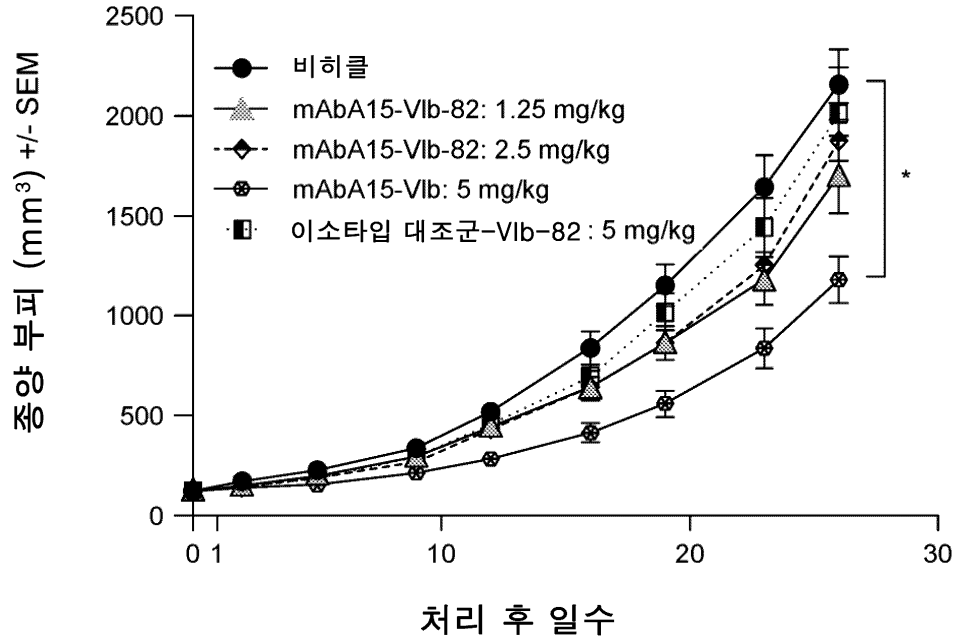
도면21


비히클
이소타입 대조군-VIb-82
mAbA15-VIb-82
mAbA15-VIa-11
이소타입 대조군-VIa-11
평균 종양 부피 (mm³) (+/- SEM)
2400
2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
일수

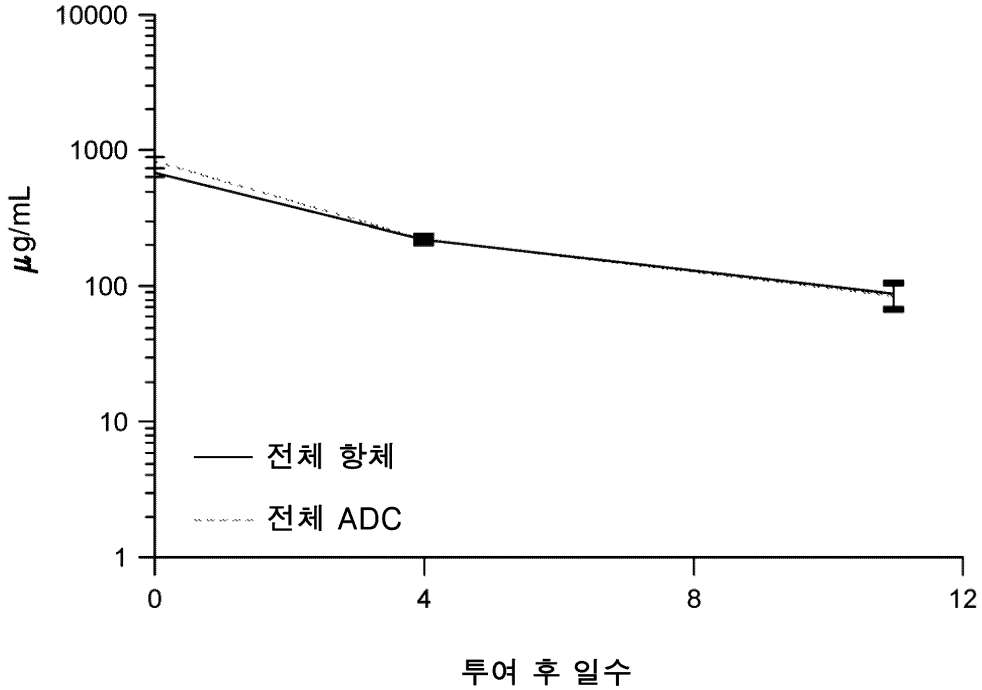
도면22


비히클
이소타입 대조군-VIb-82
mAbA15-VIb-82
mAbA15-VIa-11
이소타입 대조군-VIa-11
평균 종양 부피 (mm³) (+/- SEM)
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
일수

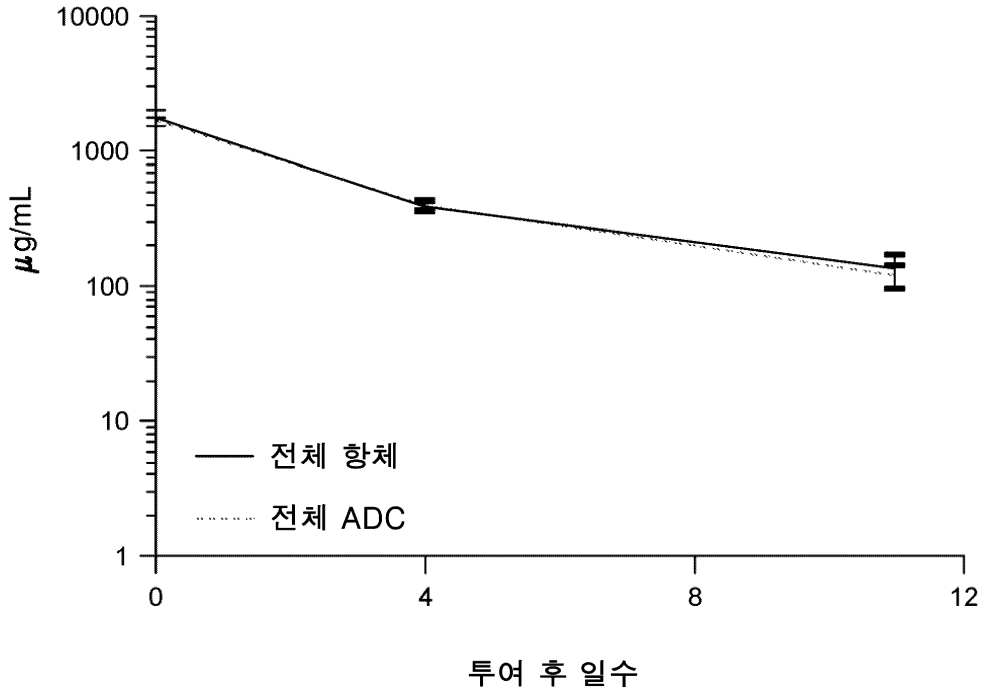
도면23


2500
2000
1500
1000
500
0
종양 부피 (mm³) +/- SEM
비히클
mAbA15-Vlb-82: 1.25 mg/kg
mAbA15-Vlb-82: 2.5 mg/kg
mAbA15-Vlb: 5 mg/kg
이소타입 대조군-Vlb-82 : 5 mg/kg
*
0 1
10
20
30
처리 후 일수

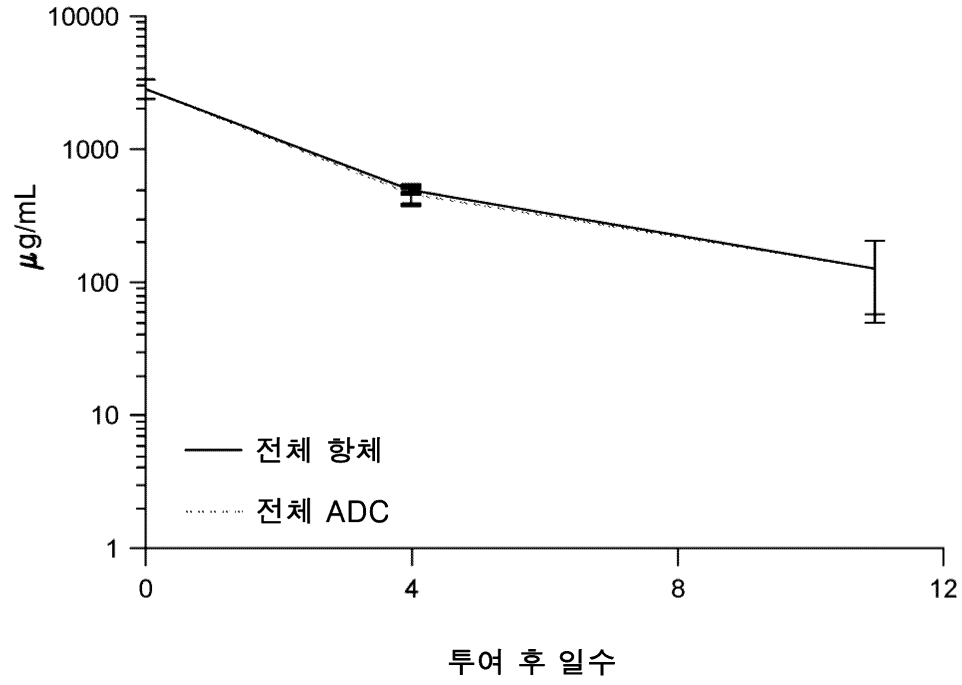
도면24a


10000
1000
100
10
1
μg/mL
전체 항체
전체 ADC
0
4
8
12
투여 후 일수

도면24b


10000
1000
100
10
1
μg/mL
전체 항체
전체 ADC
0
4
8
12
투여 후 일수

도면24c


10000
1000
100
10
1
μg/mL
전체 항체
전체 ADC
0
4
8
12
투여 후 일수

*서 열 목 록 (첨부)*



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.