(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0024741
(43) 공개일자 2025년02월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6853 (2017.08)
A61K 47/6803 (2023.08)
(21) 출원번호 10-2024-7034723
(22) 출원일자(국제) 2023년03월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년10월17일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/057565
(87) 국제공개번호 WO 2023/180489
국제공개일자 2023년09월28일
(30) 우선권주장
22163928.9 2022년03월23일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
시나픽스 비.브이.
네덜란드 오스 엔엘-5349 에이비 클루스터스트라아트 9
(72) 발명자
레리에벨트 리안
네덜란드, 5349 에이비 오스, 클루스터스트라트 9
반 길 레몬
네덜란드, 5349 에이비 오스, 클루스터스트라트 9
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 21 항

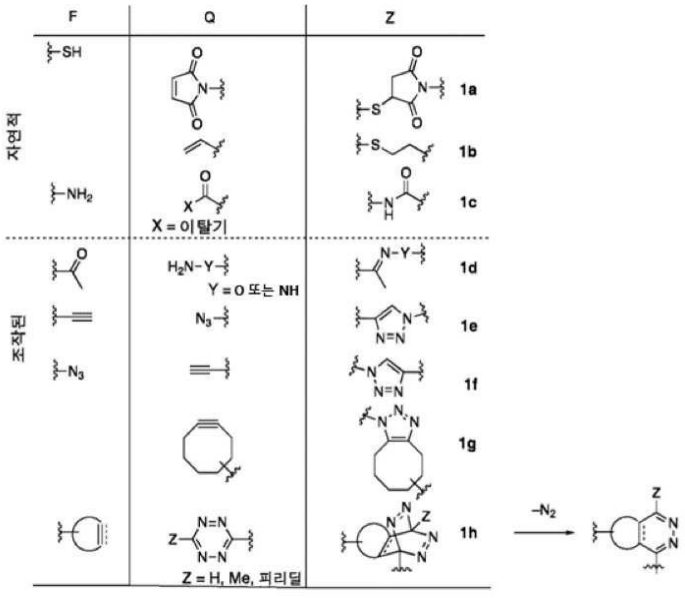
(54) 발명의 명칭 **암배아성 항원을 발현하는 종양을 표적화하기 위한 항체-컨쥬게이트**

(57) 요 약

본 발명은 특히 종양 세포에서 CEA-발현 세포를 표적화하는 데 특히 적합한 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다. 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 구조 (1)을 갖는다: AB-[$(L_6)_b$-{Z-L-D}$_x$]$_y$ (1) 여기서, AB는 CEA-발현 종양을 표적화할 수 있는 항체이고; L은 Z를 D에 연결하는 링커이고; Z는 연결기이고; L^6은 -G1cNAc(Fuc)$_w$-(G)j-S-

(뒷면에 계속)

대 표 도



$(L^7)_{w'}$-이며, 여기서 G는 단당류이고, j는 0-10의 범위의 정수이고, S는 당 또는 당 유도체이고, GlcNAc는 N-아세틸글루코사민이고, Fuc는 푸코스이고, w는 0 또는 1이고, w'은 0, 1 또는 2이고, L^7은 $-N(H)C(O)CH_2-$, $-N(H)C(O)CF_2-$ 또는 $-CH_2-$이고; D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 튜불리신, 에네다이인, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, BCL-XL 억제제, 헤미아스텔린, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD), 및 이들의 유사체 또는 전구약물로 이루어진 군으로부터 선택되고; b는 0 또는 1이고; x는 1 또는 2이고; y는 1, 2, 3 또는 4이다. 본 발명은 추가로 구조 (1)의 항체-컨쥬게이트를 제조하기 위한 방법 및 구조 (1)의 항체-컨쥬게이트의 적용에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
A61K 47/68033 (2023.08)
A61K 47/68037 (2023.08)
A61K 47/6809 (2017.08)
A61K 47/6889 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자
반 버켈 샌더 세바스티안
네덜란드, 5349 에이비 오스, 클루스터스트라트 9
반 델프트 플로리스 루이스
네덜란드, 5349 에이비 오스, 클루스터스트라트 9

명 세 서

청구범위

청구항 1

일반 구조 (1)에 따른 항체-컨쥬게이트:

$$AB-[(L^6)_b-\{Z-L-D\}_x]_y \quad (1)$$

여기서:

- AB는 CEA-발현 종양을 표적화할 수 있는 항체이고;

- L은 Z를 D에 연결하는 링커이고;

- Z는 연결기이고;

- L^6은 $-GlcNAc(Fuc)_w-(G)_j-S-(L^7)_{w'}-$이며, 여기서 G는 단당류이고, j는 0-10의 범위의 정수이며, S는 당 또는 당 유도체이고, GlcNAc는 N-아세틸글루코사민이고, Fuc는 푸코스이고, w는 0 또는 1이고, w'은 0, 1 또는 2이고, L^7은 $-N(H)C(O)CH_2-$, $-N(H)C(O)CF_2-$, 또는 $-CH_2-$이고;

- D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 튜불리신, 에네다이인, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, BCL-XL 억제제, 헤미아스텔린, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD), 및 이들의 유사체 또는 전구약물로 이루어진 군으로부터 선택되고;

- b는 0 또는 1이고;

- x는 1 또는 2이고;

- y는 1, 2, 3 또는 4임.

청구항 2

제1항에 있어서,

D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 마이탄시노이드, 에네다이인, 아우리스타틴 및 피롤로벤조디아제핀 이합체로 이루어진 군으로부터 선택되고, 바람직하게는:

- D는 에네다이인이며, 바람직하게는 칼리키아마이신, 에스페라마이신, 시시지마이신 및 나메나마이신으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게는 칼리키아마이신이거나; 또는

- D는 아우리스타틴이며, 바람직하게는 MMAD, MMAE, MMAF 또는 PF-06380101이고, 더 바람직하게는 MMAE 또는 PF-06380101이거나; 또는

- D는 캄프토테신이며, 바람직하게는 토포테칸, 실라테칸, 코시테칸, 엑사테칸, 엑사테칸-S, DXd, SN-38, 루르토테칸, 기마테칸, 벨로테칸, 루비테칸, AMDCPT 및 G-AMDCPT로 이루어진 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게는 엑사테칸 또는 DXd이고, 가장 바람직하게는 엑사테칸이며, 더 바람직하게는 D는 칼리키아마이신 또는 엑사테칸이고, 더 바람직하게는 D는 엑사테칸인, 항체-컨쥬게이트.

청구항 3

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체는 라베투주맙, A5/A240VL, D8/A240VL, PR1A3, CH1A1A/pAC18, CH1A1B/pAC18, AB17, AB72, AB73, NCC-CO-413, NCC-CO-308, NCC-CO-432, NCC-CO-411, A5B7, 1G9, CEA6, M5A, M5B, SM3E, 12-140-1, 15-1-32, huMAb2-4, 투사미타맙 및 이의 인간화 또는 기능적 유사체로부터 선택되고, 바람직하게는 PR1A3, SM3E, huMAb2-4, 투사미타맙 또는 라베투주맙이고, 더 바람직하게는 항체는 투사미타맙 또는 라베투주맙이고, 가장 바람직하

게는 항체는 라베투주맙이며, 임의로 항체의 Fc 영역은 하나 이상의 돌연변이를 가질 수 있는, 항체-컨쥬게이트.

청구항 4

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체는 서열번호 2, 6, 10, 17, 21, 28, 31, 35, 40, 45, 49, 50 및 51로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 V_L 도메인, 및 서열번호 1, 3, 5, 9, 11, 13, 16, 20, 24, 26, 30, 34, 39, 44 및 48로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 V_H 도메인을 함유하며, 바람직하게는 항체는 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 상보성-결정 영역 (CDR)을 갖는, 항체-컨쥬게이트.

청구항 5

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체는 라베투주맙이고/이거나, 서열번호 38에 따른 경쇄 서열 및 서열번호 36 또는 37, 바람직하게는 서열번호 36에 따른 중쇄 서열을 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%인, 항체-컨쥬게이트.

청구항 6

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체는 투사미타맙이고/이거나, 서열번호 43에 따른 경쇄 서열 및 서열번호 41 또는 42, 바람직하게는 서열번호 41에 따른 중쇄 서열을 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%인, 항체-컨쥬게이트.

청구항 7

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체는 SM3E이고/이거나, 서열번호 19에 따른 경쇄 서열 및 서열번호 18에 따른 중쇄 서열을 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%인, 항체-컨쥬게이트.

청구항 8

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체는 PR1A3이고/이거나, 서열번호 23에 따른 경쇄 서열 및 서열번호 22에 따른 중쇄 서열을 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%인, 항체-컨쥬게이트.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

Z는 친핵성 반응 또는 사이클로첨가 반응, 바람직하게는 1,3-쌍극자 사이클로첨가 반응의 반응 생성물을 포함하는, 항체-컨쥬게이트.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 링커 L은 하기 구조를 갖는, 항체-컨쥬게이트:

$$-(L^1)_n-(L^2)_o-(L^3)_p-(L^4)_q-$$

여기서:

- L^1, L^2, L^3 및 L^4는 각각 개별적으로 Z를 D에 함께 연결하는 링커이고;

- n, o, p 및 q는 각각 개별적으로 0 또는 1이며, 단 n + o + p + q = 1, 2, 3 또는 4이고, 바람직하게는 n = o = p = 1이고;

여기서:

(a) 링커 L^1은 하기로 표현되며:

$$-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(B)_g-(C(O))_g-, \text{ 또는}$$
$$-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-N^*[-(A)_{d'}-(B)_{e'}-(A)_{f'}-(C(O))_{g'}-]_2,$$

여기서:

- d 및 d'은 개별적으로 0 또는 1이고;

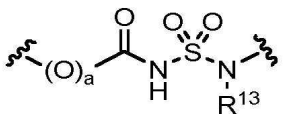
- e 및 e'은 개별적으로 1-10 범위의 정수이고;

- f 및 f'은 개별적으로 0 또는 1이고;

- g 및 g'은 개별적으로 0-10 범위의 정수이고;

- k = 0 또는 1이며, 단 k = 1이면 d = 0이고;

- A는 구조 (**23**)에 따른 설파미드기이며



(**23**)

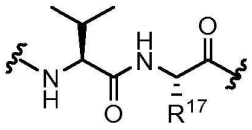
여기서 a = 0 또는 1이고, R^{13}은 수소, C_1-C_{24} 알킬기, C_3-C_{24} 사이클로알킬기, C_2-C_{24} (헤테로)아릴기, C_3-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_3-C_{24} (헤테로)아릴알킬기, O, S 및 NR^{14}로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 임의로 치환되고 임의로 차단된 C_1-C_{24} 알킬기, C_3-C_{24} 사이클로알킬기, C_2-C_{24} (헤테로)아릴기, C_3-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_3-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 R^{14}는 수소 및 C_1-C_4 알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되거나, R^{13}은 스페이서 모이어티를 통해 N에 연결된 D이고, 바람직하게는 여기서 스페이서 모이어티는 $-(B)_g-(C(O))_g-(L^2)_o-(L^3)_p-(L^4)_q-$이고;

- W는 -OC(O)-, -C(O)O-, -C(O)NH-, -NHC(O)-, -OC(O)NH-, -NHC(O)O-, $-C(O)(CH_2)_mC(O)-$, $-C(O)(CH_2)_mC(O)NH-$, 또는 $-(4-Ph)CH_2NHC(O)(CH_2)_mC(O)NH-$이며, 여기서 m은 0-10 범위의 정수이고;

- B는 $-CH_2-CH_2-O-$ 또는 $-O-CH_2-CH_2-$ 모이어티이거나, $(B)_e$는 $-(CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-CH_2-$ 모이어티이며, 여기서 e1은 1-10 범위의 정수이고;

- N*은 분지 질소 원자이며, 이에 2 개의 $-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_{g'}-$ 인스턴스가 연결되고 두 $(C(O))_{g'}$ 모이어티 모두가 $-(L^2)_o-(L^3)_p-(L^4)_q-D$에 연결되며, 여기서 L^2, L^3, L^4, o, p, q 및 D는 각각 개별적으로 선택되고/되거나;

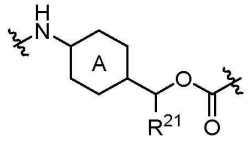
(b) 링커 L^2는 바람직하게는 1-5 개의 아미노산을 포함하는 펩타이드 스페이서, 더 바람직하게는 다이펩타이드, 트라이펩타이드 또는 테트라펩타이드 스페이서이며, 가장 바람직하게는 L^2가 일반 구조 (**L3**)로 표현되며:



(L3)

여기서 R^{17} = CH_3, 또는 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이고/이거나;

(c) 링커 L^3는 자기-희생적 스페이서이며, 바람직하게는 구조 (L4)에 따른 파라-아미노벤질옥시카보닐 (PABC) 유도체이며



(L4)

여기서 R^{21}은 H, R^{26} 또는 $C(O)R^{26}$이고, 여기서 R^{26}은 C_1-C_{24} (헤테로)알킬기, C_3-C_{10} (헤테로)사이클로알킬기, C_2-C_{10} (헤테로)아릴기, C_3-C_{10} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_3-C_{10} (헤테로)아릴알킬기이며, 이들은 O, S 및 NR^{28}로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자로 임의로 치환되고 임의로 차단되며, 여기서 R^{28}은 수소 및 C_1-C_4 알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 R^{21}은 H 또는 $C(O)R^{26}$이고, 여기서 R^{26} = 4-메틸-피페라진 또는 모르폴린이고, 가장 바람직하게는 R^{21}은 H이고/이거나;

(d) 링커 L^4는 구조 $-NR^{22}-(C_z-$알킬렌$)-C(O)-$에 따른 아미노알칸산 스페이서이며, 여기서 x는 1-20 범위의 정수이고 R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이거나; 링커 L^4는 구조 $-NR^{22}-(CH_2-CH_2-O)_{e6}-(CH_2)_{e7}-C(O)-$에 따른 에틸렌글리콜 스페이서이며, 여기서 e6는 1-10 범위의 정수이고, e7은 1-3 범위의 정수이고, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이거나;

링커 L^4는 구조 $-NR^{22}-(C_z-$알킬렌$)-NR^{22}-(C(O))_h-$에 따른 다이아민 스페이서이며, 여기서 h는 0 또는 1이고, x는 1-10 범위의 정수이고, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬임.

청구항 11

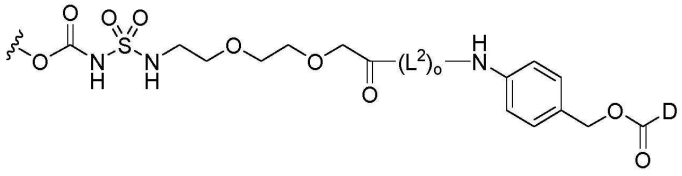
제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

b = 1이고 컨쥬게이션은 항체의 글리칸을 통해 이루어지며, 바람직하게는 j = 0인, 항체-컨쥬게이트.

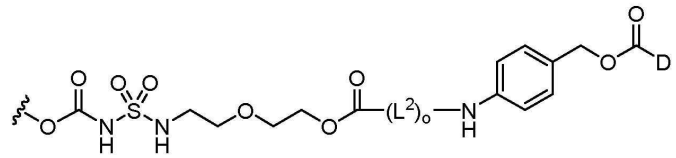
청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

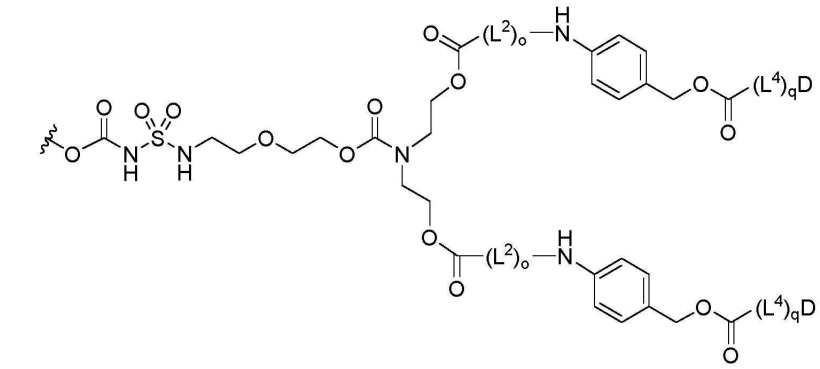
Z-L-D는 (X)-(XII)로 이루어진 군으로부터 선택된 구조를 가지며:



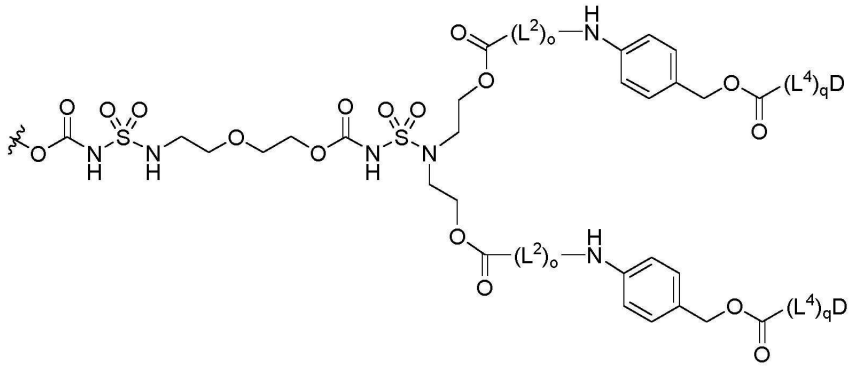
(X)



(XI)



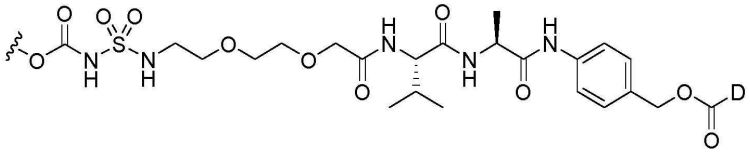
(XII)



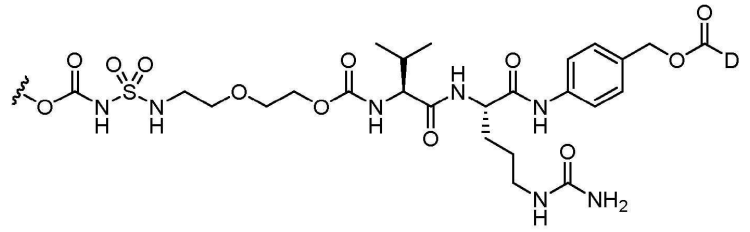
(XIII)

여기서 물결선은 Z에 대한 연결을 나타내고, L^2, L^4, o 및 q는 제10항에 정의된 바와 같으며,

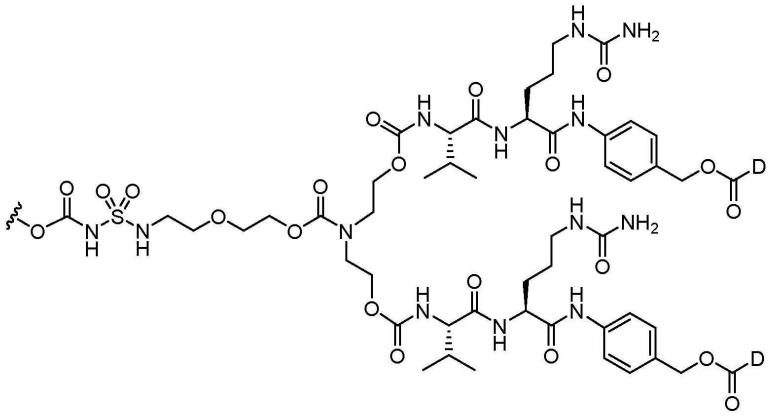
바람직하게는 Z-L-D는 (Xa), (XIb), (XIIg), (XIIIe) 및 (XIIh)로 이루어진 군으로부터 선택된 구조를 가지며:



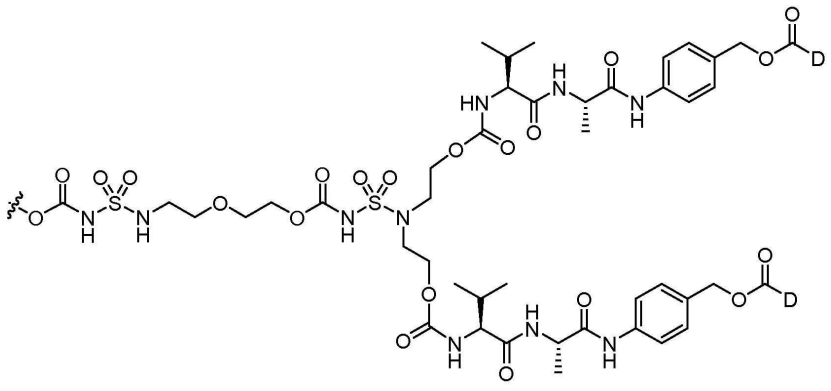
(Xa)



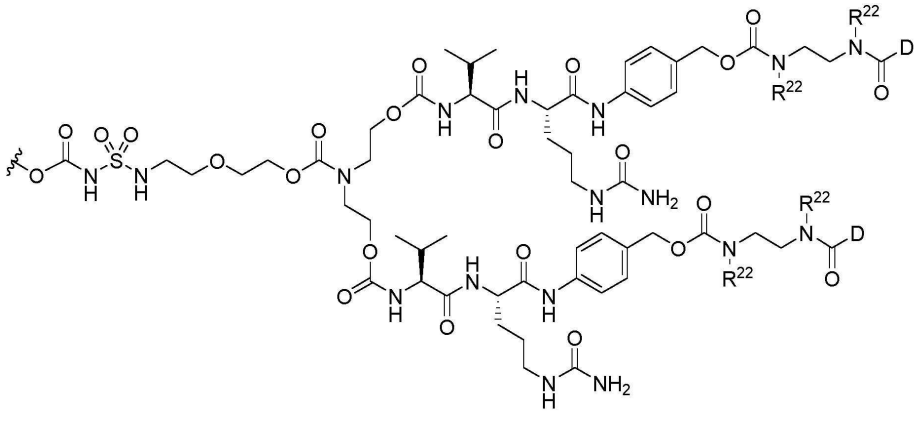
(XIb)



(XIIg)



(XIIIe)



(XIIh)

여기서 물결선은 Z에 대한 연결을 나타내고, R^{22}는 제10항에 정의된 바와 같은, 항체-컨쥬게이트.

청구항 13

제12항에 있어서,

구조 (**XII**) 또는 (**XIII**)에 따른 것이고, 여기서 o = 1이고 항체는 제5항에 정의된 바와 같은 라베투주맙이며, 바람직하게는 q = 0인, 항체-컨쥬게이트.

청구항 14

제13항에 있어서,

구조 (**XII**) 또는 (**XIII**)에 따른 것이고, 여기서 q = 0이고, o = 1이고, L^2는 1-5 개의 아미노산을 함유하는 펩타이드 스페이서이며, 항체는 제5항에 정의된 바와 같은 라베투주맙이고, 페이로드는 엑사테칸인, 항체-컨쥬게이트.

청구항 15

제1항에 있어서,

제12항에 정의된 바와 같은 구조 (**XIIIe**)에 따른 것이고, 항체는 제5항에 정의된 바와 같은 라베투주맙이고, 페이로드는 엑사테칸인, 항체-컨쥬게이트.

청구항 16

다음을 포함하는, 제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 항체-컨쥬게이트를 제조하기 위한 공정:

(i) y = 1, 2, 3 또는 4인 y 개의 코어 *N*-아세틸글루코사민 (GlcNAc) 모이어티를 포함하는 항체를 촉매의 존재하에 화학식 $S(F)_x$-P의 화합물과 접촉시켜, 하기 화학식 (**26**)에 따른 변형된 항체를 수득하는 단계이며, 여기서 $S(F)_x$는 반응성 기 Q와 반응할 수 있는 x 개의 반응성 기 F를 포함하는 당 유도체이고, x는 1 또는 2이고, P는 뉴클레오사이드 모노- 또는 다이포스페이트이고, 촉매는 $S(F)_x$ 모이어티를 코어-GlcNAc 모이어티로 전달할 수 있는, 단계:

$$AB\text{–}[GlcNAc(Fuc)_w\text{–}S\{F\}_x]_y$$

(26)

여기서

- AB는 CEA-발현 종양을 표적화할 수 있는 항체이고;

- Fuc는 푸코스이고;

- w는 0 또는 1임; 그리고

(ii) 하기 구조 (**2**)에 따른 화합물과 변형된 항체를 반응시켜, 구조 (**1**)에 따른 항체-컨쥬게이트를 수득하는 단계:

$$Q\text{–}L\text{–}D$$

(2)

여기서:

- Q는 반응성 모이어티이고;

- L은 Z를 D에 연결하는 링커이고;

- D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 튜불리신, 에네다이인, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, BCL-XL 억제제, 헤미아스텔린, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD), 및 이들의 유사체 또는 전구약물로 이루어진 군으로부터 선택됨.

청구항 17

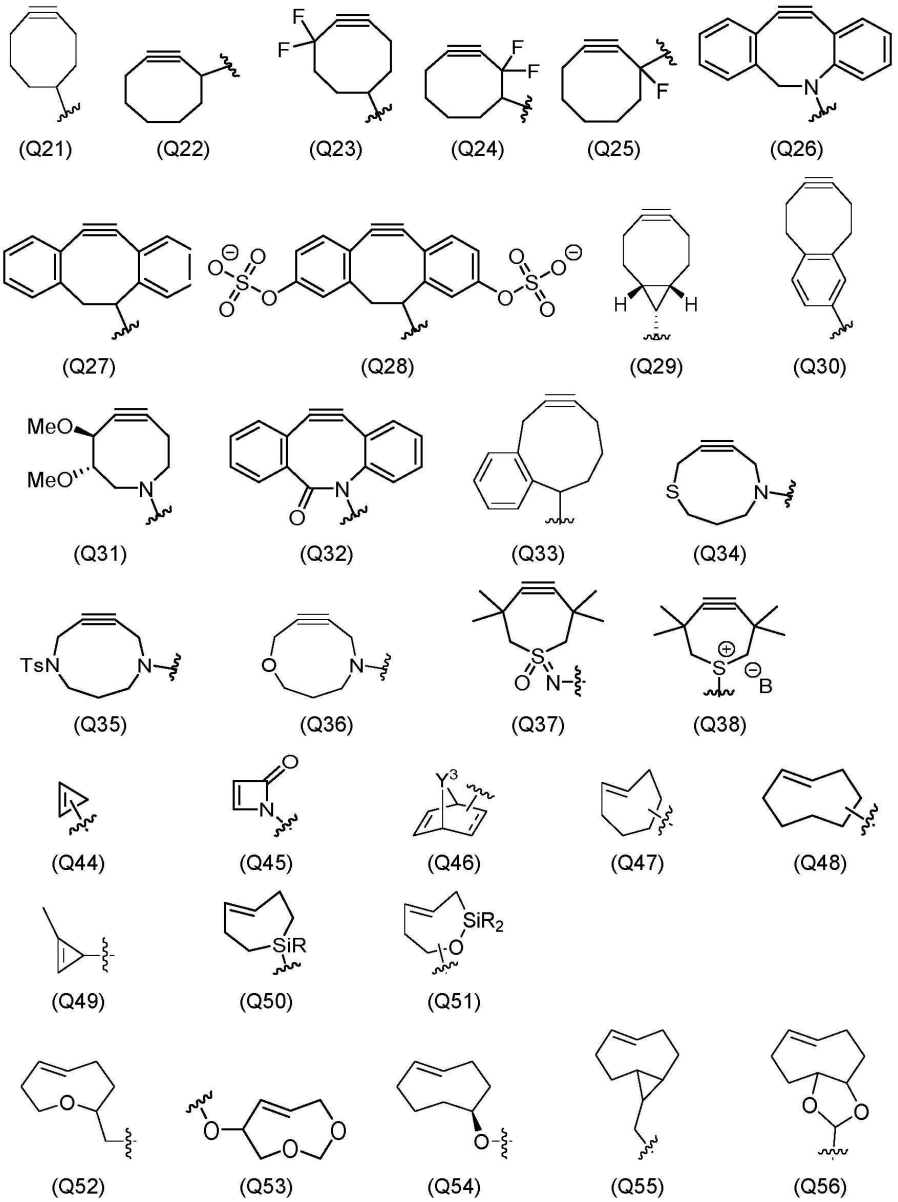
제16항에 있어서,

상기 단계 (ii)의 반응은 친핵성 반응 또는 고리화 첨가, 바람직하게는 1,3-쌍극자 고리화 첨가이며, 바람직하게는 Q는 알킨 모이어티이거나 이를 포함하고 F는 아자이드 모이어티이거나 이를 포함하는, 공정.

청구항 18

제16항 또는 제17항에 있어서,

Q는 (헤테로)사이클로알킨 모이어티 또는 (헤테로)사이클로알켄 모이어티를 포함하는 클릭 프로브이고, 바람직하게 클릭 프로브 Q는 하기 (Q21)-(Q38) 및 (Q44)-(Q56)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 공정:



여기서

- B는 음이온이고;

-(Q50) 및 (Q51) 내의 Si 상의 R 기(들)는 알킬 또는 아릴이고;

여기서 F는 아자이드, 테트라진, 트리아진, 니트론, 나이트릴 옥사이드, 나이트릴 이민, 디아조 화합물, 오르토-퀴논, 다이옥소티오펜 및 시드논으로 이루어진 군으로부터 선택된 클릭 프로브이고, 바람직하게는 F는 아자이

드 모이어티임.

청구항 19

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 항체-컨쥬게이트를 CEA-발현성일 수 있는 세포와 접촉시키는, CEA-발현 세포를 표적화하기 위한 방법으로서,

바람직하게는 세포는 CEA-발현 종양 세포인, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서,

상기 CEA-발현 세포를 표적화하는 것은 CEA-발현 세포, 특히 CEA-발현 종양 세포의 치료, 영상화, 진단, 이의 증식 예방, 방지 및 감소 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서,

상기 대상체는 결장직장암, 위암, 폐암, 자궁암 또는 췌장암을 앓고 있는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **발명의 분야**

[0002] 본 발명은 바이오컨쥬게이션의 분야에 관한 것이다. 더 구체적으로, 본 발명은 암, 특히 암배아성 항원 (CEA)-발현 종양을 갖는 환자의 표적화된 치료를 위한 항체-약물 컨쥬게이트에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 종양의 표적화된 치료를 위한 유망한 접근법은 다수의 (2 내지 8 개의) 고도의 독성 페이로드를 단클론 항체에 컨쥬게이션하여, 항체-약물 컨쥬게이트 (ADC)를 생성하는 것을 수반한다. ADC는 예를 들어, Chari 등, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3796 및 Beck 등, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2017**,*16*, 315-37에 기재된 바와 같이 당업계에 잘 알려져 있다. 기전적으로, 항체는 건강한 조직에 비해 과발현되는 종양-연관 수용체에 대해 고도의 특이성으로 결합하도록 설계되었다. ADC는 수용체에 결합한 후 종양 세포 내로 내재화된 다음, 항체 및/또는 리소좀 내 링커의 분해 시 독성 페이로드를 방출하는 것으로 생각된다.

[0004] 현재 ADC는 일반적으로 대부분이 말레이미드를 포함하는 시스테인 측쇄 또는 활성화된 에스테르를 포함하는 리신 측쇄에 대한 컨쥬게이션에 기반한 다양한 컨쥬게이션 기술 (도 1에 요약됨)에 의해 제조된다. 다이설파이드 결합에 자연적으로 인게이징하는 천연 시스테인에 기반한 ADC를 생성하기 위해, 측쇄 내 티올은 항체를 TCEP 또는 DTT와 같은 적합한 환원제에 적용한 후 말레이미드-기능화된 링커-약물로 처리하여 방출될 수 있다. 생성된 ADC는 전형적으로 총 8 개의 유리 티올만이 포괄적으로 알킬화되지 않은 경우에 위치 이성질체의 혼합물로 이루어질 것이다. 대안적으로, 부위-특이적 ADC를 생성하기 위해, 서열 내 정의된 위치에서 하나 이상의 아미노산을 시스테인으로 돌연변이시킴으로써 항체가 생성될 수 있으며, 이의 측쇄는 환원-산화 서열에 의한 알킬화를 위해 선택적으로 방출될 수 있다. 부위-특이적 컨쥬게이션에 일반적으로 사용되는 시스테인은 LC-41C (경쇄 41C), HC-41C (중쇄 41C), LC-80C, HC-118C, HC-265C, HC-140C, LC-149C, LC-124C, LC-180C, HC-190C, HC-160C, LC-183C, HC-290C, LC-205C, HC-220C, HC-239C, HC-442C이다. 추가적인 시스테인, 예를 들어, HC-i239C가 또한 서열 내로 삽입될 수 있다. 알킬화제로서의 말레이미드 외에도, 시스테인 측쇄와 할로아세트아마이드 또는 비닐벤젠 유도체의 반응이 또한 보고되었다. 자연적 아미노산 측쇄에 대한 반응 외에도, 특이적인 비자연적 (비-정규) 아미노산은 또한 항체의 아미노산 서열로 조작되어, 케톤, 아세틸렌, 아자이드, 사이클릭 알킨 또는 사이클릭 알켄과 같은 화학적 컨쥬게이션에 대한 고유한 결합점(handle)을 제공하여, 각각 옥심, 아자이드, 알킨 또는 테트라진과 반응시킬 수 있다. 그러나, 후자의 접근법의 단점은 항체의 자연적 서열을 재-조작해야 한다는 것이며, 이는 시간-소모적이고 비용이 많이 들 뿐만 아니라 불안정성 이슈를 야기할 수 있다.

[0005] 산화-결찰 서열에 의한 글리칸을 통한 컨쥬게이션은 당업계에 알려져 있으며, 예를 들어, Hamann 등 (*Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 47-58)에 기재되어 있다. 글리칸을 통한 화학효소적 컨쥬게이션은 당업계에 알려져 있으며, Boons 등, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 7179에 시알릴트랜스퍼라제의 사용에 대해 기재되어 있고, Zhu 등, *mAbs* **2014**, *6*, 1 및 Cook 등, *Bioconjugate Chem.* **2016**, *27*, 1789에 돌연변이 갈락토실트랜스퍼라제의 사용에 대해 기재되어 있다.

[0006] 글리칸의 제1 트리밍을 포함하는 글리칸을 통한 화학효소적 컨쥬게이션은 당업계에 알려져 있으며, van Geel 등, *Bioconjugate Chem.* **2015**, *26*, 2233에 기재되어 있으며, 도 2에 개략적으로 묘사되어 있다. 간단히 말해, 단클론 항체를 엔도글리코시다제로 처리하여, 글리칸을 코어 GlcNAc (Asn-297에 직접 부착됨)까지 트리밍한 후, 글리코실트랜스퍼라제의 작용 하에 아지도-변형된 당을 전달한다. UDP-아지도당의 다양한 구조가 도 3에 묘사되어 있다. 특히 적합한 조합 중 하나는 WO 2007/095506, EP 2911699 B1 및 van Geel 등에 개시된 바와 같은 돌연변이 갈락토실트랜스퍼라제 GalT (Y289L)의 작용 하에 GalNAz **2b** (2-아지도아세틸-*N*-갈락토사민)를 전달하는 것을 포함한다. 대안적인 강력한 조합은 PCT/EP2016/059194에 개시된 바와 같이, 6-아지도GalNAc **2d**와 천연 GalNAc-트랜스퍼라제를 수반한다. 다른 유용한 조합은 WO2021/248048에 개시된 바와 같이, GlcNAz와 α-1,3-만노실-글리코단백질-2-β-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 (MGAT1)를 수반한다.

[0007] 금속이 없는 클릭 화학에 적용하기 위한 다양한 사이클로옥틴은 당업계에 알려져 있다 (도 4). 특히, DIBO (**I**), DBCO/DIBAC (**J**), s-DIBO (**K**), BCN (**L**) 및 TMTHSI (**T**)와 같은 다양한 사이클로옥틴은 아자이드와의 컨쥬게이션에 정기적으로 적용된다.

[0008] ADC에 대한 페이로드는 전형적으로 낮은 나노몰 또는 피코몰 범위의 IC_{50} 값을 갖는, 특히 저분자량 내지 중간 분자량 화합물 (예컨대, 약 200 내지 약 2500 Da)인 고도로 세포독성인 분자이다. ADC에 대해 적합한 세포독소 부류의 예는 안트라사이클린, 캄프토테신, 탁산, 튜불리신, 에네다이인, 억제성 펩타이드, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, 헤미아스테를린, BCL-XL 억제제, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD) 및 이들의 유사체 또는 전구약물을 포함한다. 단클론 항체에 컨쥬게이션하기 위한 적합한 부착 지점을 갖는 대표적인 세포독성 분자 및/또는 이들의 합성적 유도체 또는 전구약물의 세트가 도 5에 묘사되어 있다.

[0009] ADC에서 적용하기에 적합한 안트라사이클린의 구체적인 예는 독소루비신, 다우노루비신, 네모루비신 및 PNU-159,682를 포함한다 (이에 제한되지 않음).

[0010] ADC에서 적용하기에 적합한 캄프토테신의 구체적인 예는 SN-38, 엑사테칸, 엑사테칸-S, 토포테칸, 실라테칸, 코시테칸, 루르토테칸, 기마테칸, 벨로테칸, 루비테칸, AMDCPT, G-AMDCPT 및 도 6에 묘사된 구조의 기타 합성적 캄프토테신을 포함한다 (이에 제한되지 않음). 다양한 신규 캄프토테신이 EP0296597, WO2019/236954, WO2020/200880, WO2020/219287, CN113816969, CN113710277 및 US20180200273에 개시되어 있다.

[0011] ADC에서 적용하기에 적합한 에네다이인의 구체적인 예는 칼리키아마이신, 에스페라마이신, 시시지마이신 및 나메나마이신, 및 Galm 등, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 739-758에 요약된 바와 같은 기타 에네다이인을 포함한다 (이에 제한되지 않음).

[0012] ADC에서 적용하기에 적합한 아우리스타틴의 구체적인 예는 MMAD, MMAE, MMAF 및 PF-06380101, 및 Maderna 등, *Mol. Pharmaceutics* **2015**, *12*, 1798-1812에 요약된 바와 같은 기타 아우리스타틴을 포함한다 (이에 제한되지 않음).

[0013] CEACAM 하위그룹에 속하는 7 개의 유전자는 상이한 세포 유형에서 뚜렷한 발현 패턴을 보이지만 이들은 Kuespert 등 *Curr. Opin. Cell. Biol.* **2006**, *18*, 565-571, 및 Beauchemin 등, *Cancer Metastasis Rev.* **2013**, DOI 10.1007/s10555-013-9444-6에 의해 보고된 바와 같이, 이들의 세포외 도메인 (ECD)에서 Ig 가변 도메인 및 불변-유사 도메인으로 구성되어 있기 때문에 구조적 상동성을 공유하며, 도 8을 참고한다.

[0014] CD66e로서 또한 알려진 유전자 암배아성 항원-관련 세포 접착 분자 5 (CEACAM5)는 CEACAM 패밀리의 기초가 되는 구성원이며, 1965 년에 Gold와 Freedman에 의해 처음 식별되었다. CEACAM5는 암배아성 항원 (CEA)으로서 알려진 단백질을 코딩하며, Hefta 등 *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1988**, *85*, 4648-4652를 참고한다. CEA는 세포 접착에 관여하는 당단백질이며, 특히 결장직장, 위, 폐 및 자궁 종양 세포의 표면에서 고도로 발현된다. CEACAM5 cDNA는 N 도메인으로서 식별되는 하나의 가변 (V)-유사 도메인에 이어, 그 뒤에 총 6 개의 불변 C2-유사 도메인 (A1, B1, A2, B2, A3 및 B3으로 명명됨, 도 8 참고)을 포함하는 3 개의 반복 유닛을 나타내는 단백질을 코딩한다. Ig 도메인은 34 개의 아미노산 신호 펩타이드가 선행한다. 또한, CEA cDNA 구조는 정제된 단백질의 높은 탄수화물

함량에 따라 Ig 폴드의 코어를 형성하는 12 개의 시스테인 잔기 및 28 개의 N-연결된 글리코실화 부위를 예측하였다.

[0015] 신호 펩타이드 (위치 1-34) 및 프로-펩타이드 (위치 686-702)를 포함하는 전장 인간 CEACAM5의 참조 서열은 GenBank 데이터베이스로부터 수탁 번호 AAA51967.1 하에서 이용가능하다. 인간 CEACAM5의 도메인 구성은 다음과 같다:

[0016]	인간 CEACAM5 도메인	위치
[0017]	도메인 N	35-142
[0018]	도메인 A1	143-237
[0019]	도메인 B1	238-320
[0020]	도메인 A2	321-415
[0021]	도메인 B2	416-498
[0022]	도메인 A3	499-593
[0023]	도메인 B3	594-685

[0024] 따라서, 인간 CEACAM5의 A3-B3 도메인은 499-685 위치의 아미노산으로 이루어진다.

[0025] CEACAM5는 정상 성인 조직에서는 제한된 발현을 갖지만, Hammarstrom, *Semin. Cancer Biol.* **1999**, *9*, 67-81에 의해 보고된 바와 같이 위장관, 비뇨생식기 및 호흡계의 암종, 및 유방암에서는 과발현된다. 따라서, CEACAM5 (CEA)는 면역컨쥬게이트 또는 항체-약물 컨쥬게이트 (ADC)와 같은 종양 특이적 표적화 접근법에 적합한 치료적 표적을 구성할 수 있다.

[0026] 혈청 내 순환 CEA는 건강한 성인에서는 거의 검출가능하지 않지만 (<5 ng/mL), 종양으로부터 직접 또는 림프관을 통해 배출된 다음, 혈청에서 검출된다. 이러한 특성 때문에, 혈청 CEA의 수준은 암의 진단 및 암, 특히, 결장직장암의 재발에 대한 스크리닝의 임상적 마커로서 사용되었다 (Goldenberg 등, *Int. J. Biol. Mark.* **1992**, *7*, 183-188; Chau 등 *J. Clin. Oncol.* **2004**, *22*, 1420-1429; Flamini 등 *Clin. Cancer Res.* **2006**, *12*, 6985-6988).

[0027] 정상 조직에 비해 CEA의 높은 종양 발현 수준은 이 당단백질을 단클론 항체를 이용한 표적화된 치료 전략에 대한 매력적인 수용체로 만든다. 따라서, 다중 단클론 항체가 제기되고, 다양한 경우에, 연구 목적을 위해, 진단적 도구로서 그리고 치료적 목적을 위해 CEA에 대해 인간화되었으며, 예를 들어, 항-CEA 항체를 요약한 다양한 검토, 예컨대, Nap 등, *Cancer Res.* **1992**, *52*, 2329-2339; Sheahan 등, *Am. J. Clin. Path.* **1990**, *94*, 157-164를 참고한다. 항-CEA 항체에 대한 구체적인 보고서: US9,695,250 (A5/A240VL 및 D8/A240VL); Richman 등, *Int. J. Cancer* **1987**, *39*, 317-32, Stewart 등, *Cancer Immunol. Immunother.* **1999**, *47*, 299-306, Ashraf 등, *Br. J. Canc.* **2009**, *101*, 1758-1768, WO199506067 및 EP0721470 (PR1A3), Bacac 등 *Clin. Canc. Res.* **2016**, *22*, 3286-3297, US8,642,742 및 US9,068,008 (VH CH1A1A/CH7A 또는 CH1A1B/CH7A 및 VL pAC18/2F1에 기반한 항체); WO2021053587 (AB17, AB72 및 AB73); US9,068,008; Sakurai 등, *J. Surg. Oncol.*, **1989**, *42*, 39-46 (항체 NCC-CO-413, 308, 432, 411); Harwood 등, *Br. J. Cancer.* 1982, 54, 72; Ledermann, *Br. J. Cancer*, **1988**, *58*, 654; Pedley 등, *Br. J. Cancer*, **1993**, *68*, 69-73; Boxer 등, *Br. J. Cancer*, **1992**, *65*, 825-831 및 US8,394,926 (항체 A5B7); Baek 등 *Canc. Lett.* **2022**, *525*, 97-107 (항체 1G9); Hansen 등, *Cancer* **1993**, *71*, 347, US5,874,540, 및 US7,803,372, US8,778,342, WO2004032857A2, 및 WO2015069430A2에 기재된 바와 같은 이의 인간화 버전 (hMN-14 또는 라베투주맙); US7,776,330 (뮤린 T84.66으로부터 유래된 항체 M5A 및 M5B). Chester 등에서는 방사면역검출 및 방사면역요법에 사용될 단일 쇄 항-CEA 항체 (MFE-23)를 파지 디스플레이 라이브러리로부터 단리하였으며 (US5,876,691), 항체는 후속적으로 US7,232,888 및 US20050147614에 기재된 바와 같이 (SM3E로) 인간화되었다. Shinmi 등 *Canc. Med.* **2017**, *6*, 798-808 및 Iwano 등 *Drug Metab. Dispos.* **2019**, *47*, 1240-1246에서는 항-CEA 항체 12-140-1 및 15-1-32에 대해 단리하고 표적화된 화학요법에 사용하였다. 항-CEA 항체 CEA6 및 기타 변이체 CEA1-CEA5 및 CEA7 (VH 서열 T06D10, HBA11, HBB11, HBB6 및 VL 서열 T06D4, T06D8, T06D12로부터 유래됨)은 인간 파지 디스플레이 라이브러리로부터 수득하였다 (WO1997020932A1 및 US5,872,215). 항-CEA 항체 769-cea-4는 면역화에 의해 생성되었고, US9,617,345 및 US10,457,739에 기재된 바와 같이 인간화되었다 (투사미타맙 또는 SAR408377). Micromet의 MT111 항체 (Medlmmune의 MEDI-565 항체로서

또한 알려짐)는 Peng 등, *PLoS ONE* **2012**, *7*, e3641 및 WO2007071426에 의해 보고된 바와 같이 인간 CEACAM5 및 인간 CD3에 결합하기 위한 A5B7에 기반한 이중특이적 항체이다.

[0028] 다른 CEACAM 패밀리 구성원인 CEACAM6 (또한 CD66c라고 함)은 NCA-90으로서 알려진 단백질을 코딩한다. CEACAM6은 Kuroki 등, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1992**, *182*, 501-506에 의해 기재된 바와 같이 CEACAM5와 일부 항원성 결정인자를 공유하는 비-특이적 교차-반응 당단백질 항원이다. CEACAM6은 또한 다양한 기관으로부터의 과립구 및 상피에서 발현되고 정상 점막에 비해 과형성 결장 폴립 및 선종의 증식 세포에서 더 넓은 발현 구역을 가지고 있으며, 뿐만 아니라 많은 인간 암에서도 발현된다. 폐 암종, 췌장 암종, 유방 암종, 결장직장 암종 및 간세포 암종을 갖는 환자에서 NCA-90의 상대적으로 높은 혈청 수준이 발견된다. Kuroki 등, *Anticancer. Res.* **1999**, *19*, 5599-5606에 의해 기재된 바와 같이 CEACAM6의 양은 발현된 CEACAM5의 양과 상관관계가 없다. 구조적 상동성 외에도, CEACAM은 또한 서열 유사성을 공유하며, 특히 CEACAM5 및 CEACAM6의 ECD에서 85.7%의 서열 동일성을 갖는다.

[0029] CEACAM6에 대한 치료적 항체는 당업계에 알려져 있다. 일부는 인간 CEACAM6에 대해 선택적이지 않다 (예컨대, Immunomedics MN-3, Neogenix로부터의 Neo201/h16C3; 둘 모두가 또한 인간 CEACAM5에 결합됨). 단일 도메인 항체 2A3 및 이의 융합 돌연변이체 (WO2012040824 및 Niu 등, *J. Contr. Rel.* **2012**, *10*, 18-24)는 원숭이 CEACAM5에 대한 선택성 및 교차-반응성과 관련하여 특성화되지 않았다. 마우스 항체 9A6 (제노박/알데브론)은 CEACAM6의 면역억압 활성을 조절할 수 있는 것으로 설명된 유일한 항체이다 (Witzens-Harig 등 *Blood* **2013**, *121*, 4493-4503). TPP-3310을 포함한 암 면역요법을 위한 강력한 항-CECAM6 항체가 WO2016150899에 개시되어 있다.

[0030] CEACAM5를 표적화하는 ADC는 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, Govindan 등 *Clin. Canc. Res.* ***2009***, *15*, 6052-6061에서는 SN-38 페이로드를 갖는 CL2A 링커-약물로 hMN-14를 변형하여 수득된 라베투주맙-고베티칸으로서 알려진 ADC의 전임상적 및 임상적 평가에 대해 보고하였다. 또한, Shinmi 등 *Canc. Med.* **2017**, *6*, 798-808 및 Iwano 등 *Drug Metab. Dispos.* **2019**, *47*, 1240-1246에서는 항체 12-140-1 및 15-1-32를 기반으로 하는 MMAE 페이로드와 컨쥬게이션된 항-CEA ADC를 전임상적으로 평가하였다. 셋째로, Decary 등 *Clin. Canc. Res.* **2020**, *26*, 6589-6599에서는 SAR408701 또는 투사미타맙-라브탄신으로서 알려진 ADC인 DM4 페이로드로 유도체화된 항-CEA 항체 SAR408377의 유도체화 및 임상적 평가에 대해 보고하였다.

[0031] CEACAM6에 대한 ADC는 Genentech Strickland 등, *J. Pathol.* **2009**, *218*, 380에 의해 보고된 마이탄시노이드 항-CEACAM6 항체와 같이 당업계에 알려져 있으며, 이는 비-인간 영장류 연구에서 CEACAM6-의존적 조혈 독성을 유도하는 것으로 나타났다. 골수에서 항체 약물 컨쥬게이트의 축적, 및 과립구 및 이들의 세포 전구체의 고갈에 기인한 이 독성은 저자들에 의해 주요 안전 문제로 간주되었다.

발명의 내용

[0032] 발명자들은 특히 종양에서 CEA-발현 세포를 표적화하는 데 매우 적합한 항체-컨쥬게이트를 개발하였다. 따라서, 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 CEA-양성 암, 특히 결장직장암, 위암, 폐암, 자궁암 또는 췌장암을 치료하는 데 매우 적합하다.

[0033] 제1 양태에서, 본 발명은 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다. 이와 관련하여, 제2 양태에서, 본 발명은 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트를 제조하기 위한 공정에 관한 것이다. 제3 양태에서, 본 발명은 CEA-발현 세포를 표적화하기 위한 방법에 관한 것이다. 이와 관련된 것으로는 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트의 제1 의학적 용도뿐만 아니라 암의 치료를 위한 제2 의학적 용도가 있다. 마지막 양태에서, 본 발명은 CEA-발현 종양의 치료에서 항체-컨쥬게이트의 치료적 지수를 증가시키기 위한 컨쥬게이션의 모드의 용도에 관한 것이다.

[0034] 정의

[0035] 본 설명 및 청구항에 사용된 바와 같이, 동사 "포함하기 위한", 및 그 활용형은 단어 뒤에 오는 항목이 포함되지만 구체적으로 언급되지 않은 항목은 배제되지 않음을 의미하도록 비-제한적인 의미로 사용된다.

[0036] 또한, 부정관사 "a" 또는 "an"에 의한 요소에 대한 언급은 문맥상 요소가 하나이고 오직 하나일 것을 명백하게 요구하지 않는 한, 하나 초과의 요소가 존재할 가능성을 배제하지 않는다. 따라서, 부정관사 "a" 또는 "an"은 보통 "적어도 하나"를 의미한다.

[0037] 링커는 본원에서 화합물의 2 개 이상의 요소를 연결 (공유 연결)하는 모이어티로서 정의된다. 링커는 하나 이상의 스페이서 모이어티를 포함할 수 있다. 스페이서-모이어티는 본원에서 링커의 2 개 (또는 그 초과)의 부분을

간격을 두고 (즉, 거리를 제공하고) 함께 공유 연결하는 모이어티로서 정의된다. 링커는 예컨대, 아래에 정의된 바와 같이 링커-작제물, 링커-컨쥬게이트, 링커-페이로드 (예컨대, 링커-약물) 또는 항체-컨쥬게이트의 일부일 수 있다.

[0038] "친수성 기" 또는 "극성 링커"는 본원에서, 이것이 부착된 분자에 개선된 극성 및 따라서 개선된 수용성을 부여하는 하나 이상의 극성 기능적 기를 함유하는 임의의 분자 구조로서 정의된다. 바람직한 친수성 기는 카복실산 기, 알코올 기, 에테르 기, 폴리에틸렌 글리콜 기, 아미노 기, 암모늄 기, 설포네이트 기, 포스페이트 기, 아실설파마이드 기 또는 카바모일 설파마이드 기로부터 선택된다. 더 높은 용해도 외에도 친수성 기의 다른 효과는 개선된 클릭 컨쥬게이션 효율, 그리고 일단 항체-약물 컨쥬게이트 내로 통합되면, 더 낮은 응집, 더 높은 효능을 초래하는 개선된 약동학, 및 생체내 내약성을 포함한다.

[0039] 용어 "이의 염"은 산성 양성자, 전형적으로 산의 양성자가 금속 양이온 또는 유기 양이온 등과 같은 양이온으로 대체될 때 형성되는 화합물을 의미한다. 적용가능한 경우, 염은 약학적으로 허용가능한 염이지만, 이는 환자에 투여하기 위한 것이 아닌 염에 대해서는 필요하지 않다. 예를 들어, 화합물의 염에서, 화합물은 무기산 또는 유기산에 의해 양성자화되어 양이온을 형성할 수 있으며, 무기산 또는 유기산의 컨쥬게이트 염기는 염의 음이온 구성요소이다. 용어 "약학적으로 허용가능한" 염은 포유류와 같은 환자에 투여하기에 허용가능한 염을 의미한다 (주어진 투여량 양생법에 대해 허용가능한 포유동물의 안전성을 갖는 반대 이온을 갖는 염). 이러한 염은 약학적으로 허용가능한 무기 또는 유기 염기 및 약학적으로 허용가능한 무기산 또는 유기산으로부터 유래될 수 있다. "약학적으로 허용가능한 염"은 화합물의 약학적으로 허용가능한 염을 지칭하며, 이 염은 당업계에 알려진 다양한 유기 및 무기 반대 이온으로부터 유래되며, 예를 들어, 소듐, 포타슘, 칼슘, 마그네슘, 암모늄, 테트라알킬암모늄 등을 포함하며, 분자가 염기성 기능기를 함유하는 경우, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 포메이트, 타르트레이트, 베실레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말레에이트, 옥살레이트 등과 같은 유기산 또는 무기산의 염을 포함한다.

[0040] 용어 "에네다이인" 또는 "에네다이인 항생제" 또는 "에네다이인-함유 세포독소"는 당업계에 알려진 바와 같이 사이클릭 분자의 일부로서 3-엔-1,5-다이인 구조적 특징의 존재를 특징으로 하는 임의의 세포독소를 지칭하며, 네오카르지노스타틴 (NCS), C-1027, 케다르시딘 (KED), 마두로펩틴 (MDP), N1999A2, 스포롤리드 (SPO), 시아노스포라시드 (CYA 및 CYN), 및 피지올리드, 칼리키아마이신 (CAL), 에스페라마이신 (ESP), 다이네마이신 (DYN), 나메나마이신, 시시지마이신, 및 운시알라마이신 (UCM)을 포함한다.

[0041] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "알킬아미노당"은 이의 2-위치를 통해 알코올 기능기에 연결되어 아세탈 기능기를 형성하고, 3, 4 또는 5 위치에서 (적어도) 하나의 N-알킬아미노기로 추가로 치환된 테트라하이드로피란일 모이어티를 의미한다. 이 맥락에서 "N-알킬아미노기"는 하나의 메틸, 에틸 또는 2-프로필기를 갖는 아미노기를 지칭한다.

[0042] 용어 "클릭 프로브"는 클릭 반응을 겪을 수 있는 기능적 모이어티를 지칭하며, 즉, 2 개의 상용성 클릭 프로브가 상호 클릭 반응을 겪어 생성물에서 공유 연결된다. 클릭 반응을 위한 상용성 프로브는 당업계에 알려져 있으며, 바람직하게는 (사이클릭) 알킨 및 아자이드를 포함한다. 본 발명의 맥락에서, 본 발명에 따른 화합물 내 클릭 프로브 Q는 (변형된) 단백질 상의 클릭 프로브 F와 반응할 수 있어, 클릭 반응의 발생 시, 단백질이 본 발명에 따른 화합물에 컨쥬게이션되는 컨쥬게이트가 형성된다. 본원에서, F 및 Q는 상용성 클릭 프로브이다.

[0043] "아실설파마이드 모이어티"는 분자의 하나의 단부에서 N-아실화 또는 N-카바모일화되고 분자의 다른 단부에서 N-알킬화 (모노 또는 비스)된 설파마이드 모이어티 ($H_2NSO_2NH_2$)로서 정의된다. 본 발명의 맥락에서, 특히 실시예에서, 이 기는 "HS"로서 또한 지칭된다.

[0044] "도메인"은 일반적으로 서열 상동성을 기준으로 정의되고 종종 특이적인 구조적 또는 기능적 엔티티와 관련된 단백질의 임의의 영역일 수 있다. CEACAM 패밀리 구성원은 Ig-유사 도메인으로 구성된 것으로 알려져 있다. 용어 도메인은 이 문서에서 "N-도메인"과 같은 개별 Ig-유사 도메인 또는 "A3-B3 도메인"과 같은 연속 도메인의 그룹을 지정하기 위해 사용된다.

[0045] RNA, 폴리펩타이드, 단백질 또는 효소와 같은 발현 생성물을 "코딩하는" 서열 또는 "코딩 서열"은 발현될 때 해당 RNA, 폴리펩타이드, 단백질 또는 효소의 생산을 초래하는 뉴클레오타이드 서열이며, 즉, 뉴클레오타이드 서열은 해당 폴리펩타이드, 단백질 또는 효소에 대한 아미노산 서열을 코딩한다. 단백질에 대한 코딩 서열은 출발 코돈 (보통 ATG) 및 정지 코돈을 포함할 수 있다.

[0046] 용어 "유전자"는 하나 이상의 단백질 또는 효소의 전부 또는 일부를 포함하는 아미노산의 특정 서열을 코딩하거

나 이에 상응하는 DNA 서열을 의미하며, 예를 들어, 유전자가 발현되는 조건을 결정하는 프로모터 서열과 같은 조절 DNA 서열을 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있다. 구조 유전자가 아닌 일부 유전자는 DNA로부터 RNA로 전사될 수 있지만, 아미노산 서열로 번역되지 않는다. 다른 유전자는 구조 유전자의 조절자 또는 DNA 전사의 조절자로서 기능할 수 있다. 특히, 용어 유전자는 단백질을 코딩하는 게놈 서열, 즉, 조절자, 프로모터, 인트론 및 엑손 서열을 포함하는 서열을 대상으로 하는 것일 수 있다.

[0047] 용어 "당단백질"은 본원에서 일반적인 과학적 의미로 사용되며, 단백질에 공유 결합된 하나 이상의 단당류 또는 올리고당 쇄 ("글리칸")를 포함하는 단백질을 지칭한다. 글리칸은 단백질 상의 하이드록실기 (O-연결된-글리칸), 예컨대, 세린, 트레오닌, 티로신, 하이드록시리신 또는 하이드록시프롤린의 하이드록실기, 또는 단백질 상의 아마이드 기능기 (*N*-당단백질), 예컨대, 아스파라긴 또는 아르기닌, 또는 단백질 상의 탄소 (*C*-당단백질), 예컨대, 트립토판에 부착될 수 있다. 당단백질은 하나 초과의 글리칸을 포함할 수 있고, 하나 이상의 단당류 및 하나 이상의 올리고당 글리칸의 조합을 포함할 수 있으며, N-연결된, O-연결된 및 C-연결된 글리칸의 조합을 포함할 수 있다. 모든 단백질 중 50% 초과가 일부 형태의 글리코실화를 가지고 있어 당단백질로서 분류되는 것으로 추정된다. 당단백질의 예는 PSMA (전립선-특이적 막 항원), CAL (칸디다 안타르티카 리파제), gp41, gp120, EPO (에리트로포이에틴), 부동 단백질 및 항체를 포함한다.

[0048] 용어 "글리칸"은 본원에서 일반적인 과학적 의미로 사용되며, 단백질에 연결된 단당류 또는 올리고당 쇄를 지칭한다. 따라서, 용어 글리칸은 당단백질의 탄수화물-부분을 지칭한다. 글리칸은 하나의 당의 C-1 탄소를 통해 단백질에 부착되며, 이는 추가 치환 없이 이루어질 수 있거나 (단당류), 이의 하이드록실기 중 하나 이상에서 추가로 치환될 수 있다 (올리고당). 자연적으로 발생하는 글리칸은 전형적으로 1 내지 약 10 개의 당류 모이어티를 포함한다. 그러나, 더 긴 당류 쇄가 단백질에 연결되는 경우, 상기 당류 쇄가 또한 본원에서 글리칸으로 간주된다. 당단백질의 글리칸은 단당류일 수 있다. 전형적으로, 당단백질의 단당류 글리칸은 단백질에 공유 부착된 단일 N-아세틸글루코사민 (GlcNAc), 글루코스 (Glc), 만노스 (Man) 또는 푸코스 (Fuc)로 이루어진다. 글리칸은 또한 올리고당일 수 있다. 당단백질의 올리고당 쇄는 선형 또는 분지형일 수 있다. 올리고당에서, 단백질에 직접 부착되는 당을 코어 당이라고 한다. 올리고당에서, 단백질에 직접 부착되지 않고 적어도 2 개의 다른 당에 부착되는 당을 내부 당이라고 한다. 올리고당에서, 단백질에 직접 부착되지 않고 다른 단일 당에 부착되는 당, 즉, 이의 다른 하이드록실기 중 하나 이상에서 추가의 당 치환기를 보유하지 않은 당을 말단 당이라고 한다. 의심을 피하기 위해, 당단백질의 올리고당에는 다중 말단 당이 존재할 수 있지만, 코어 당은 오직 하나이다. 글리칸은 O-연결된 글리칸, N-연결된 글리칸 또는 C-연결된 글리칸일 수 있다. O-연결된 글리칸에서, 단당류 또는 올리고당 글리칸은 전형적으로 세린 (Ser) 또는 트레오닌 (Thr)의 하이드록실기를 통해 단백질의 아미노산 내 O-원자에 결합된다. N-연결된 글리칸에서, 단당류 또는 올리고당 글리칸은 단백질의 아미노산 내 N-원자를 통해, 전형적으로 아스파라긴 (Asn) 또는 아르기닌 (Arg)의 측쇄 내 아마이드 질소를 통해 단백질에 결합된다. C-연결된 글리칸에서, 단당류 또는 올리고당 글리칸은 단백질의 아미노산 내 C-원자에, 전형적으로 트립토판 (Trp)의 C-원자에 결합된다.

[0049] 용어 "항체" (AB)는 본원에서 일반적인 과학적 의미로 사용된다. 항체는 특이적 항원을 인식하고 이에 결합할 수 있는 면역계에 의해 생성되는 단백질이다. 항체는 당단백질의 일 예이다. 용어 항체는 본원에서 이의 가장 넓은 의미로 사용되며, 구체적으로 단클론 항체, 다중클론 항체, 이합체, 다합체, 다중특이적 항체 (예컨대, 이중특이적 항체), 항체 단편, 및 이중 및 단일 쇄 항체를 포함한다. 용어 "항체"는 본원에서 또한 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체 및 암 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 것을 의미한다. 용어 "항체"는 전체 항체를 포함하지만, 항체의 단편, 예를 들어, 항체의 Fab 단편, $F(ab')_2$, 절단된 항체로부터의 Fv 단편 또는 Fc 단편, scFv-Fc 단편, 미니바디, 디아바디 또는 scFv를 또한 포함하는 것을 의미한다. 게다가, 용어는 유전자 조작된 항체 및 항체의 유도체를 포함한다. 항체, 항체의 단편 및 유전자 조작된 항체는 당업계에 알려진 방법에 의해 수득될 수 있다.

[0050] 항체는 2 개의 중쇄가 다이설파이드 결합에 의해 서로 연결되고 각각의 중쇄가 다이설파이드 결합에 의해 경쇄에 연결된 자연적 또는 통상적인 항체일 수 있다. 경쇄에는 람다 (l) 및 카파 (k)의 2 개의 유형이 있다. 경쇄는 가변 도메인 (VL) 및 불변 도메인 (CL)의 2 개의 도메인 또는 영역을 포함한다. 중쇄는 가변 도메인 (VH) 및 3 개의 불변 도메인 (CH1, CH2 및 CH3, 총체적으로 CH로서 지칭됨)의 4 개의 도메인을 포함한다. 경쇄 (VL) 및 중쇄 (VH) 둘 모두의 가변 영역은 항원에 대한 결합 인식 및 특이성을 결정한다. 경쇄 (CL) 및 중쇄 (CH)의 불변 영역 도메인은 항체 쇄 회합, 분비, 태반-통과 이동성, 보체 결합 및 Fc 수용체 (FcR)에 대한 결합과 같은 중요한 생물학적 특성을 부여한다. Fv 단편은 면역글로불린의 Fab 단편의 N-말단 부분이며, 하나의 경쇄 및 하나의 중쇄의 가변 부분으로 이루어진다. 면역글로불린은 임의의 유형 (예컨대, IgG, IgE, IgM, IgD, 및 IgA),

클래스 (예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위클래스, 또는 알로타입 (예컨대, 인간 G1m1, G1m2, Gm3, 비-G1m1 [즉, G1m1이 아닌 임의의 알로타입임], G1m17, G2m23, G3m21, G3m28, G3m1.1, G3m5, G3m13, G3m14, G3m10, G3m15, G3m16, G3m6, G3m24, G3m26, G3m27, A2m1, A2m2, Km1, Km2 및 Km3)의 면역글로불린 분자일 수 있다. 투여를 위한 바람직한 알로타입은 G1m17,1, G1m3, G1m3.1, G1m3.2 또는 G1m3.1.2와 같은 비-G1m1 알로타입 (nG1m1)을 포함한다. 더 바람직하게는, 알로타입은 G1m17,1 또는 G1m3 알로타입으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 항체는 Saunders 등 *Front. Immunol.* **2019**, *10*, doi: 10.3389/fimmu.2019.01296 및 Ward 등, *Mol. Immunol.* **2015**, *67*, 131-141에 요약된 바와 같이 Fc-감마 수용체에 대한 결합을 향상시키거나 무효화하기 위해 Fc-도메인에서 조작될 수 있다. 예를 들어, Leu234Ala 및 Leu235Ala의 조합 (보통 LALA 돌연변이라고 함)은 FcγRIIa 결합을 제거한다. Fc-감마 수용체에 대한 결합의 제거는 또한 N297 아미노산을 아스파라긴을 제외한 임의의 기타 아미노산으로 돌연변이시키거나, T299 아미노산을 트레오닌 또는 세린을 제외한 임의의 기타 아미노산으로 돌연변이시키거나, 완전히 글리코실화된 항체를 예를 들어, PNGase F 또는 엔도글리코시다제로 효소적 탈글리코실화 또는 트리밍하여 달성될 수 있다. 면역글로불린은 인간, 뮤린 또는 토끼 기원을 포함한 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 각각의 쇄는 별개의 서열 도메인을 함유한다.

[0051] "서열 동일성"의 백분율은 비교 윈도우에 대해 최적으로 정렬된 2 개의 서열을 비교함으로써 결정될 수 있으며, 여기서 비교 윈도우 내 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열의 일부는 2 개의 서열의 최적 정렬을 위해 참조 서열 (첨가 또는 결실을 포함하지 않음)과 비교하여 첨가 또는 결실 (즉, 갭)을 포함할 수 있다. "참조 서열과 적어도 85% 동일한" 서열은 이의 전체 길이에 대해 참조 서열의 전체 길이와 85% 이상, 예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열이다.

[0052] 용어 "CDR"은 상보성-결정 영역을 지칭하며, 항체의 특이성은 항체 조합 부위 및 항원 결정인자 사이의 구조적 상보성에 있다. 항체 조합 부위는 주로 초가변성 또는 상보성 결정 영역 (CDR)으로부터 유래한 잔기로 구성된다. 때때로, 비-초변성 또는 프레임워크 영역 (FR)으로부터의 잔기가 전체 도메인 구조 및 따라서 조합 부위에 영향을 미친다. 따라서, 상보성 결정 영역 또는 CDR은 천연 면역글로불린 결합 부위의 자연적 Fv 영역의 결합 친화도 및 특이성을 함께 정의하는 아미노산 서열을 지칭한다. 면역글로불린의 경쇄 및 중쇄는 각각 CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L 및 CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H로 지정된 3 개의 CDR을 갖는다. 따라서, 통상적인 항체 항원-결합 부위는 중쇄 및 경쇄 V 영역 각각으로부터의 CDR 세트를 포함하는 6 개의 CDR을 포함한다. "CDR"

[0053] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "단클론 항체" 또는 "mAb"는 특이적 항원에 대해 지시되는 단일 아미노산 서열의 항체 분자를 지칭하며, 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로서 해석되어서는 안 된다. 단클론 항체는 B 세포 또는 하이브리도마의 단일 클론에 의해 생산될 수 있지만, 재조합, 즉, 단백질 조작에 의해 또한 생산될 수 있다.

[0054] 용어 "키메라 항체"는 이의 가장 광범위한 의미에서 하나의 항체로부터의 하나 이상의 영역 및 하나 이상의 다른 항체로부터의 하나 이상의 영역을 함유하는 조작된 항체를 지칭한다. 일 실시양태에서, 키메라 항체는 다른 항체, 일 실시양태에서 인간 항체의 CH 도메인 및 CL 도메인과 회합된, 비-인간 동물로부터 유래된 항체의 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함한다. 비-인간 동물로서, 마우스, 랫트, 햄스터, 또는 토끼 등과 같은 임의의 동물이 사용될 수 있다. 키메라 항체는 또한 적어도 2 개의 상이한 항원에 대한 특이성을 갖는 다중특이적 항체를 나타낼 수 있다.

[0055] 용어 "인간화 항체"는 비-인간 기원의 전체적 또는 부분적 항체를 지칭하며, 예를 들어, VH 및 VL 도메인의 프레임워크 영역에서 특정 아미노산을 대체하여 인간의 면역 반응을 회피하거나 최소화도록 변형된 항체를 지칭한다. 인간화 항체의 불변 도메인은 대부분 인간의 CH 및 CL 도메인이다. (통상적인) 항체의 "단편"은 온전한 항체의 일부, 특히 온전한 항체의 항원 결합 영역 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, F(ab')2, Fab', dsFv, (dsFv)2, scFv, sc(Fv)2, 디아바디, 항체 단편으로부터 형성된 이중특이적 및 다중특이적 항체를 포함한다. 통상적인 항체의 단편은 또한 중쇄 항체 또는 VHH와 같은 단일 도메인 항체일 수 있다.

[0056] 본원에 사용된 바와 같이, "CEA" 또는 "CEACAM5"는 "CD66e" (분화 클러스터 66e)로서 또한 알려진 "암-배아성 항원-관련 세포 접착 분자 5"를 지정한다. CEA 및 CEACAM5는 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

도면의 간단한 설명

[0057] 도 1은 생체분자에 존재할 때 반응성 기 Q와의 반응 시 연결기 Z를 야기하는 대표적인 반응성 기 (F)의 세트를 도시한다 (**1a-1h**). 기능적 기 F는 자연적으로 존재할 수 있거나 선택한 임의의 위치에서 생체분자에 인공적으로 도입 (조작)될 수 있다.

도 2는 2-단계 공정으로 임의의 단클론 항체로부터 항체 컨쥬게이트를 수득하는 방법을 개략적으로 보여준다. 제1 단계에서, 아지도-변형된 UPD-Gal 또는 UDP-GalNAc는 (a) 엔도글리코시다제에 의한 (코어 GlcNAc로의) 글리칸의 트리밍 및 (b) 글리코실트랜스퍼라제 (갈락토실트랜스퍼라제 또는 그 돌연변이체 또는 GalNAc-트랜스퍼라제)의 작용 하에 아지도-당의 부착을 포함하는 원포트 공정에서 단클론 항체에 부착될 수 있으며, 이에 의해 아지도-변형된 GalNAc 및 GlcNAc 사이에 β-글리코사이드 1-4 연결이 생성된다. 제2 단계에서, 아지도-변형된 항체는 적절하게 기능화된 사이클로옥틴과 반응하여, 항체 컨쥬게이트가 생성된다.

도 3은 2-위치에서 3-머캅토프로피오닐기 (**2a**), 아지도아세틸기 (**2b**), 또는 아지도다이플루오로아세틸기 (**2c**)를 포함하도록, 또는 N-아세틸 갈락토사민의 6-위치에서 아지도기 (**2d**)를 포함하도록 변형될 수 있는, 갈락토사민의 UDP 당의 유도체의 여러 구조를 도시한다.

도 4는 금속이 없는 클릭 화학에 적합한 사이클로옥틴 (**A-T**)을 도시하며, 이들은 반응성 모이어티 Q에 대한 바람직한 옵션이다.

도 5는 본 발명에 따른 다양한 CEA-표적화 단클론 항체에 컨쥬게이션하기 위한 일련의 예시적인 독성 페이로드를 도시한다. (페이로드에 존재하는 아미노기에 대한) 링커의 부착 지점은 화살표로 표시되어 있다. 본 발명에 따른 바람직한 컨쥬게이트는 도 5에 도시된 바와 같이 부착 지점을 포함한 페이로드를 함유한다.

도 6은 본 발명의 맥락에서 바람직한 페이로드인 다양한 캄프토테신의 구조를 도시한다.

도 7은 다음의 페이로드 (**3** = 엑사테칸, **4** = MMAE, **5a** = 칼리키아마이신 γ_1^I, **5b** = 글리신-칼리키아마이신 γ_1^I, **6** = 6-아미노헥사노일-마이탄시노이드)를 함유하는, 아지도당-리모델링된 항체에 대한 클릭 화학을 통해 ADC를 제조하기 위해 사용되는 Val-Cit-PABC 또는 Val-Ala-PABC 절단가능한 링커를 함유하는 BCN-링커 약물의 구조를 묘사한다.

도 8은 CEACAM 하위그룹에 속하는 인간 CEA 패밀리의 12 개의 구성원의 구조를 도시한다. CEACAM-코딩된 단백질은 일반적으로 N 도메인 (2 개의 N 도메인이 있는 CEACAM16 제외)으로서 식별되는 하나의 가변 (V)-유사 Ig 도메인을 갖지만, 이들은 A 또는 B로서 식별되는 불변 C2-유사 Ig 도메인의 갯수뿐만 아니라 막 고정이 상이하다.

도 9a는 배경에 대해 보정된 hCEACAM5 (hCD66e), cCEACAM5 (cCD66e) 및 hCEACAM6 (hCD66c)에 대한 투사미타맙 및 라베투주맙의 결합을 도시한다. 두 mAb 모두는 hCEACAM5에 대해 유사한 친화도를 나타내고, hCEACAM6에 대한 임의의 결합을 나타내지 않으며, 투사미타맙만이 cCEACAM5에 대한 친화도를 나타낸다. 도 9b는 투사미타맙 및 라베투주맙-기반 ADC의 hCEACAM5에 대한 결합을 도시한다. 모든 ADC는 여전히 상응하는 mAb와 비슷한 hCEACAM5에 대한 결합을 나타낸다.

도 10은 CEACAM5 발현 MKN-45 세포에 대한 세포독성 데이터를 도시한다. 음성 대조군 B12-**3**을 제외한 모든 ADC는 농도가 증가함에 따라 세포독성을 유도한다.

도 11a는 결장직장 IGR-034P PDX 모델의 생체내 효능 데이터를 도시한다. 종양 퇴행의 제1 효과는 7 일 후 투사미타맙-**3** 및 라베투주맙-**3** 둘 모두에 대해 관찰된다. 도 11b는 체중 플롯을 도시한다. 도 11c 및 11d는 전체 실험 (35 일)에 대한 동일한 플롯을 도시한다.

도 12a는 결장직장 IGR-002P PDX 모델의 생체내 효능 데이터를 도시한다. 종양 퇴행은 10 mg/kg에서 라베투주맙-**3** 및 투사미타맙-**3** 둘 모두에 대해 관찰된다. 투사미타맙-DM4에 대한 효과는 관찰되지 않았고, 이 모델에서 음성 대조군인 B12-**3**에 대한 효과도 관찰되지 않았다. 도 12b는 종양 성장 억제가 관찰되지 않은 3 개의 그룹에 대한 체중 손실을 도시한다. 이는 PDX 모델의 악액질적 성질 때문이다. 치료에 잘 반응한 그룹에 대한 체중은 매우 일정하였다.

도 13은 여러 PDX 모델에 대해 라베투주맙-**3**으로 수득된 생체내 효능 데이터를 도시한다. 도 13(a)-(c)는 결장직장 IC-003P PDX 모델에 상응하는 플롯을 도시한다. 이 모델에 대해 명확한 종양 퇴행이 관찰되었다. 도 13(d)-(f)는 결장직장 LRB-010P PDX 모델에 상응하는 플롯을 도시한다. 치료 그룹에서 종양 성장 억제가 관찰되었으며, 전체 생존율이 크게 향상되었다 (비히클과 비교하여 적어도 1.5 배). 도 13(g)-(i)는 폐 NIC-014 PDX 모델에 상응하는 플롯을 도시한다. 적어도 2 배 증가한 전체 생존율을 갖는 이 빠르게 성장하는 모델에 대해 종양 퇴행이 관찰되었다. 도 13(j)-(l)은 췌장 SA-083 PDX 모델에 상응하는 플롯을 도시한다. 이 적용(indication)에 대해 종양 성장 억제가 또한 관찰되었다. 종양 성장 억제는 다른 췌장 PDX 모델에서 확인되었다. 도 13(m)-(o)는 높은 종양 성장 억제를 또한 갖는 췌장 IM-PAN-07 PDX 모델에 상응하는 플롯을 도

시한다.

도 14는 라베투주맙-3으로 수득된 생체내 내약성 데이터를 도시한다. 시간 경과에 따른 체중 변화 (%)가 묘사되었으며, 이는 테스트된 모든 용량에 대해 어느 정도 동일하였다. 최대 140 mg/kg의 용량에서도 독성은 관찰되지 않았다. 따라서, MTD는 140 mg/kg 초과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0058] 본 발명

[0059] 제1 양태에서, 본 발명은 일반 구조 (1)의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다:

[0060] $AB-[(L^6)_b-\{Z-L-D\}_x]_y$ (1)

[0061] 여기서:

[0062] - AB는 CEA-발현 종양을 표적화할 수 있는 항체이고;

[0063] - L은 Z를 D에 연결하는 링커이고;

[0064] - Z는 연결기이고;

[0065] - L^6은 $-GlcNAc(Fuc)_w-(G)_j-S-(L^7)_{w'}-$이며, 여기서 G는 단당류이고, j는 0-10의 범위의 정수이며, S는 당 또는 당 유도체이고, GlcNAc는 N-아세틸글루코사민이고, Fuc는 푸코스이고, w는 0 또는 1이고, w'은 0, 1 또는 2이고, L^7은 $-N(H)C(O)CH_2-$, $-N(H)C(O)CF_2-$, 또는 $-CH_2-$이고;

[0066] - D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 튜불리신, 에네다이인, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, BCL-XL 억제제, 헤미아스텔린, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD), 및 이들의 유사체 또는 전구약물로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0067] - b는 0 또는 1이고;

[0068] - x는 1 또는 2이고;

[0069] - y는 1, 2, 3 또는 4임.

[0070] 또한 본 발명 내에서 구조 (1)에 따른 항체-컨쥬게이트의 염, 바람직하게는 약학적으로 허용가능한 염을 고려한다.

[0071] 제2 양태에서, 본 발명은 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트를 제조하기 위한 공정에 관한 것으로, 일반 구조 (2)에 따른 화합물을 항체 (3)와 반응시키는 단계를 포함한다. 일반 구조 (2)에 따른 화합물은 반응성 모이어티 Q를 포함하고, 항체는 컨쥬게이션 반응에서 Q와 반응할 수 있는 반응성 모이어티 F를 포함하며, 여기서 Q 및 F는 반응하여 연결기 Z를 형성한다. 이 반응에서, 일반 구조 (1)에 따른 컨쥬게이트가 형성된다. 이 양태에 따른 공정은 다음의 바이오컨쥬게이션 반응에 관한 것이다:

[0072] $AB-[(L^6)_b-\{F\}_x]_y$ + $Z-L-D$ → $AB-[(L^6)_b-\{Z-L-D\}_x]_y$
(3) (2) (1)

[0073] 이하에서, 구조 (1)에 따른 항체-컨쥬게이트가 먼저 정의된다. 구조 (1)에 따른 항체-컨쥬게이트의 구조적 특징은 또한 구조 (2)에 따른 화합물 및 구조 (3)에 따른 항체에 적용되는데, 이들은 구조 (2)에 따른 화합물과 구조 (3)에 따른 항체의 반응 시 연결기 Z로 변환되는 반응성 모이어티 F 및 Q를 제외하고는 컨쥬게이션 반응에서 변하지 않기 때문이다.

[0074] 제3 양태에서, 본 발명은 CEA-발현 세포를 표적화하기 위한 구조 (1)에 따른 항체-컨쥬게이트의 적용에 관한 것이다. 이와 관련하여, 본 발명은 구조 (1)에 따른 항체-컨쥬게이트의 제1 의학적 용도 및 제2 의학적 용도에 관한 것이다.

[0075] 당업자가 이해할 것인 바와 같이, 화학적 모이어티의 정의뿐만 아니라 이들의 바람직한 실시양태는 본 발명의 모든 양태에 적용된다.

[0076] 일반 구조 (1)의 항체-컨쥬게이트

[0077] 제1 양태에서, 본 발명은 일반 구조 (1)의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다:

[0078] $AB-[(L^6)_b-\{Z-L-D\}_x]_y$ (1)

[0079] 여기서:

[0080] - AB는 CEA-발현 종양을 표적화할 수 있는 항체이고;

[0081] - b는 0 또는 1이고;

[0082] - L^6은 $-GlcNAc(Fuc)_w-(G)_j-S-(L^7)_{w'}-$이며, 여기서 G는 단당류이고, j는 0-10의 범위의 정수이며, S는 당 또는 당 유도체이고, GlcNAc는 N-아세틸글루코사민이고, Fuc는 푸코스이고, w는 0 또는 1이고, w'은 0, 1 또는 2이고, L^7은 $-N(H)C(O)CH_2-$, $-N(H)C(O)CF_2-$ 또는 $-CH_2-$이고;

[0083] - Z는 연결기이고;

[0084] - L은 Z를 D에 연결하는 링커이고;

[0085] - D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 튜불리신, 에네다이인, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, BCL-XL 억제제, 헤미아스텔린, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD), 및 이들의 유사체 또는 전구약물로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0086] - x는 1 또는 2이고;

[0087] - y는 1, 2, 3 또는 4임.

[0088] *항체 AB*

[0089] 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 CEA-발현 세포, 특히 종양 세포를 표적화할 수 있는 항체를 함유한다. 암배아성 항원 (CEA)은 암 치료를 위한 알려진 표적이고, CEACAM5 유전자에 의해 코딩된다. 용어 "발현"은 당업계에서 일반적으로 사용되며, 건강한 조직에서의 발현에 비해 표적의 과발현을 지칭한다. CEA-발현 종양을 표적화할 수 있는 항체는 항-CEA 항체, CEA-표적화 항체 또는 CEA-결합 항체로서 또한 지칭될 수 있다. 항-CEA 항체는 CEA-발현 세포에 선택적으로 결합한다.

[0090] 항-CEA 항체는 당업계에 알려져 있으며, 본 발명의 맥락에서 임의의 적합한 항체가 사용될 수 있다. 바람직한 항체는 라베투주맙, A5/A240VL, D8/A240VL, PR1A3, CH1A1A/pAC18, CH1A1B/pAC18, AB173, AB14AB72, AB15AB73, NCC-CO-413, NCC-CO-308, NCC-CO-432, NCC-CO-411, A5B7, 1G9, CEA6, T84.66M5A, M5B, MFE-23, SM3E, 12-140-1, 15-1-32, 투사미타맙, MT111, 및 이의 인간화 또는 기능적 유사체로 이루어진 목록으로부터 선택된다. 더 바람직하게는, 항체는 PR1A3, SM3E, huMAb2-4, 투사미타맙 또는 라베투주맙이고, 보다 더 바람직하게는 항체는 투사미타맙 또는 라베투주맙이고, 가장 바람직하게는 항체는 라베투주맙이다.

[0091] 본원에서, 이들 항체의 Fc 영역은 0-10 개의 돌연변이 또는 0-5 개의 돌연변이와 같이 하나 이상의 돌연변이를 가질 수 있다. 특히 항체의 반감기를 조정하기 위해 FcRn 수용체에 대한 결합을 변화시키는 돌연변이가 선호된다. 예를 들어, IgG1 Fc에서 종종 YTE라고 불리는 중쇄의 아미노산 254-260의 영역에 Met-내지-Tyr, Ser-내지-Thr 및 Thr-내지-Glu 돌연변이의 포함은 인간 FcRn에 대한 항체의 약 11-배 더 높은 결합을 초래하여, 순환 반감기가 약 3.5 배 증가한다. 예를 들어, 투사미타맙에 대한 YTE 돌연변이는 Met255Tyr, Ser257Thr 및 Thr259Glu이고, 라베투주맙의 경우 YTE 돌연변이는 Met254Tyr, Ser256Thr 및 Thr258Glu이다. 따라서, 일 실시양태에서, 항체는 2.5×10^{-6} M 미만, 바람직하게는 $0.05\text{-}0.99 \times 10^{-6}$ M의 범위, 더 바람직하게는 $0.1\text{-}0.49 \times 10^{-6}$ M의 범위, 가장 바람직하게는 $0.2\text{-}0.4 \times 10^{-6}$ M의 범위의 겉보기 인간 FcRn 결합 친화도 $K_{D,app}$를 갖는다. 겉보기 결합 친화도 $K_{D,app}$는 Mackness 등 *MABS*, **2019**, 11(7), 1276-1288에 따라 결정될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 항체 AB는 위 또는 아래에서 본원에 정의된 바람직한 항체의 YTE 돌연변이체이다.

[0092] 라베투주맙은 hMN-14로서 또한 알려져 있고, 서열번호 38에 따른 경쇄 서열, 및 서열번호 36 또는 37, 바람직하게는 서열번호 36에 따른 중쇄 서열을 함유하는 것으로서 또한 정의될 수 있으며, 여기서 서열 동일성은 적어도

90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%이다. 특히 바람직한 실시양태에서, 이 실시양태에 따른 항체는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸과 조합된다.

[0093] 투사미타맙은 huMAb2-3 또는 SAR408377로서 또한 알려져 있고, 서열번호 43에 따른 경쇄 서열, 및 서열번호 41 또는 42, 바람직하게는 서열번호 41에 따른 중쇄 서열을 함유하는 것으로서 또한 정의될 수 있으며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%이다. 특히 바람직한 실시양태에서, 이 실시양태에 따른 항체는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸과 조합된다.

[0094] M5B는 또한 서열번호 8에 따른 경쇄 서열 및 서열번호 7에 따른 중쇄 서열을 함유하는 것으로서 정의될 수 있으며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%이다. 특히 바람직한 실시양태에서, 이 실시양태에 따른 항체는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸과 조합된다.

[0095] D8은 또한 서열번호 15에 따른 경쇄 서열 및 서열번호 14에 따른 중쇄 서열을 함유하는 것으로서 정의될 수 있으며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%이다. 특히 바람직한 실시양태에서, 이 실시양태에 따른 항체는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸과 조합된다.

[0096] SM3E는 또한 서열번호 19에 따른 경쇄 서열 및 서열번호 18에 따른 중쇄 서열을 함유하는 것으로서 정의될 수 있으며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%이다. 특히 바람직한 실시양태에서, 이 실시양태에 따른 항체는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸과 조합된다.

[0097] PR1A3은 또한 서열번호 23에 따른 경쇄 서열 및 서열번호 22에 따른 중쇄 서열을 함유하는 것으로서 정의될 수 있으며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%이다. 특히 바람직한 실시양태에서, 이 실시양태에 따른 항체는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸과 조합된다.

[0098] huMAb2-4는 또한 서열번호 47에 따른 경쇄 서열 및 서열번호 46에 따른 중쇄 서열을 함유하는 것으로서 정의될 수 있으며, 여기서 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%이다. 특히 바람직한 실시양태에서, 이 실시양태에 따른 항체는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸과 조합된다.

[0099] 대안적으로, 항체는 이의 V_L 및 V_H 도메인에 의해 정의되며, 이는 항원에 결합하는 가변 도메인을 함께 형성한다. 따라서, 바람직한 실시양태에서, 항체는 서열번호 2, 6, 10, 17, 21, 28, 31, 35, 40, 45, 49, 50 및 51로 이루어진 군으로부터 선택된 V_L 도메인, 및 서열번호 1, 3, 5, 9, 11, 13, 16, 20, 24, 26, 30, 34, 39, 44 및 48로 이루어진 군으로부터 선택된 V_H 도메인을 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75% 또는 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85% 또는 적어도 90% 또는 적어도 95%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 또는 심지어 100%이다. 추가의 바람직한 실시양태에 있어서, 항체는 서열번호 17, 21, 35 및 40으로 이루어진 군으로부터 선택된 V_L 도메인, 및 서열번호 16, 20, 34 및 39로 이루어진 군으로부터 선택된 V_H 도메인을 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75% 또는 적어도 80%, 더 바

람직하게는 적어도 85% 또는 적어도 90% 또는 적어도 95%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 또는 심지어 100%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 항체는 서열번호 35 및 40으로 이루어진 군으로부터 선택된 V_L 도메인, 및 서열번호 34 및 39로 이루어진 군으로부터 선택된 V_H 도메인을 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75% 또는 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85% 또는 적어도 90% 또는 적어도 95%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 또는 심지어 100%이다. 가장 바람직한 실시양태에서, 항체는 서열번호 35의 V_L 도메인 및 서열번호 34의 V_H 도메인을 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75% 또는 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85% 또는 적어도 90% 또는 적어도 95%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 또는 심지어 100%이다.

[0100] 전술된 서열 동일성은 V_L 및 V_H 도메인의 완전한 서열을 지칭한다. 이들 도메인의 전체 서열은 CEA에 대한 결합을 위태롭게 하지 않으면서 서열에 일부 변이를 허용하지만, CEA에 대한 결합이 유의하게 위태롭게 하지 않도록 하기 위해 상보성-결정 영역 (CDR)이 더 높은 서열 동일성을 갖는 것이 바람직하다. CDR의 위치는 아래 표에 주어져 있다. 따라서, 항체는 서열번호 2, 6, 10, 17, 21, 28, 31, 35, 40, 45, 49, 50 및 51로 이루어진 군으로부터 선택된 V_L 도메인, 및 서열번호 1, 3, 5, 9, 11, 13, 16, 20, 24, 26, 30, 34, 39, 44 및 48로 이루어진 군으로부터 선택된 V_H 도메인, 바람직하게는 서열번호 17, 21, 35 및 40으로 이루어진 군으로부터 선택된 V_L 도메인 및 서열번호 16, 20, 34 및 39로 이루어진 군으로부터 선택된 V_H 도메인, 더 바람직하게는 서열번호 35 및 40으로 이루어진 군으로부터 선택된 V_L 도메인 및 서열번호 34 및 39로 이루어진 군으로부터 선택된 V_H 도메인, 가장 바람직하게는 서열번호 35의 V_L 도메인 및 서열번호 34의 V_H 도메인을 함유하는 것이 바람직하며, 여기서 CDR의 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%이다. 당업자는 위에 식별된 V_L 및 V_H 도메인이 적합한 불변 도메인과 조합되어 완전한 항체를 형성할 수 있음을 이해한다.

[0101] 바람직한 V_L 도메인

[0102]

서열번호	CDR (서열 내의 아미노산 번호)
2	24-34 | 50-56 | 89-97
6	24-38 | 54-60 | 93-101
10	23-36 | 52-62 | 97-106
17	26-30 | 49-51 | 90-95
21	25-34 | 50-52 | 89-98
28	24-34 | 49-56 | 89-98
31	24-34 | 49-56 | 89-98
35	24-34 | 50-56 | 89-96
40	26-31 | 49-51 | 88-96
45	26-31 | 49-51 | 88-96
49	24-34 | 50-56 | 89-99
50	24-34 | 50-56 | 89-99
51	24-34 | 50-56 | 89-99

[0103] 바람직한 V_H 도메인

서열번호	CDR (서열 내의 아미노산 번호)
1	31-35 | 50-66 | 99-112
3	31-35 | 50-66 | 99-110
5	31-36 | 50-65 | 99-110
9	31-35 | 50-68 | 101-110
11	31-35 | 50-62 | 99-108
13	31-35 | 50-66 | 99-108
16	26-32 | 52-57 | 100-108
20	20-35 | 50-66 | 97-110
24	31-35 | 50-66 | 99-110
26	31-35 | 50-66 | 99-110
30	31-35 | 50-65 | 99-110
34	31-35 | 50-66 | 99-108
39	26-33 | 51-58 | 97-109
44	26-33 | 51-58 | 97-109
48	26-35 50-68 | 99-114

[0104]

[0105] 특히 바람직한 실시양태에서, 항체는 서열번호 2의 V_L 도메인 및 서열번호 1의 V_H 도메인, 또는 서열번호 6의 V_L 도메인 및 서열번호 3 또는 5의 V_H 도메인, 또는 서열번호 10의 V_L 도메인 및 서열번호 9의 V_H 도메인, 또는 서열번호 17의 V_L 도메인 및 서열번호 16의 V_H 도메인, 또는 서열번호 21의 V_L 도메인 및 서열번호 20의 V_H 도메인, 또는 서열번호 31의 V_L 도메인 및 서열번호 30의 V_H 도메인, 또는 서열번호 35의 V_L 도메인 및 서열번호 34의 V_H 도메인, 또는 서열번호 40의 V_L 도메인 및 서열번호 39의 V_H 도메인, 또는 서열번호 45의 V_L 도메인 및 서열번호 44의 V_H 도메인, 또는 서열번호 49, 50 또는 51의 V_L 도메인 및 서열번호 48의 V_H 도메인을 함유한다. 본원에서, 완전한 서열뿐만 아니라 CDR에 대해 위에 정의된 바와 같은 서열 동일성이 적용된다.

[0106] 대안적으로, 항체는 항체를 함께 형성하는 경쇄 및 중쇄로 정의된다. 따라서, 바람직한 실시양태에서, 항체는 서열번호 8, 15, 19, 23, 29, 33, 38, 43 및 47로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄, 및 서열번호 4, 7, 12, 14, 18, 22, 25, 27, 32, 36, 37, 41, 42 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄를 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75% 또는 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85% 또는 적어도 90% 또는 적어도 95%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 또는 심지어 100%이다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 항체는 서열번호 19, 23, 38 및 43으로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄, 및 서열번호 18, 22, 36, 37, 41 및 42로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄를 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75% 또는 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85% 또는 적어도 90% 또는 적어도 95%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 또는 심지어 100%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 항체는 서열번호 38 및 43으로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄, 및 서열번호 36 및 41로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄를 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75% 또는 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85% 또는 적어도 90% 또는 적어도 95%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 또는 심지어 100%이다. 가장 바람직한 실시양태에서, 항체는 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄, 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄를 함유하며, 여기서 서열 동일성은 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75% 또는 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85% 또는 적어도 90% 또는 적어도 95%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 또는 심지어 100%이다.

[0107] 전술된 서열 동일성은 경쇄 및 중쇄의 완전한 서열을 지칭한다. 이들 쇄의 전체 서열은 CEA에 대한 결합을 위태롭게 하지 않으면서 서열에 일부 변이를 허용하지만, CEA에 대한 결합이 유의하게 위태롭게 하지 않도록 하기 위해 CDR이 더 높은 서열 동일성을 갖는 것이 바람직하다. CDR의 위치는 아래 표에 주어져 있다. 따라서, 항체는 서열번호 8, 15, 19, 23, 29, 33, 38, 43 및 47로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄, 및 서열번호 4, 7, 12, 14, 18, 22, 25, 27, 32, 36, 37, 41, 42 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄를 함유하는 것이 바람직하며, 여기서 CDR의 서열 동일성은 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 100%이다.

[0108] 바람직한 경쇄

서열번호	CDR (서열 내의 아미노산 번호)
8	24-38 | 54-60 | 93-101
15	23-36 | 52-62 | 97-106
19	26-30 | 49-51 | 90-95
23	25-34 | 50-52 | 89-98
29	24-34 | 49-56 | 89-98
33	24-34 | 49-56 | 89-98
38	24-34 | 50-56 | 89-96
43	26-31 | 49-51 | 88-96
47	26-31 49-51 | 88-96

[0109]

[0110] 바람직한 중쇄

서열번호	CDR (서열 내의 아미노산 번호)
4	31-35 | 50-66 | 99-110
7	31-36 | 50-65 | 99-110
12	31-35 | 50-62 | 99-108
14	31-35 | 50-66 | 99-108
18	26-32 | 52-57 | 100-108
22	20-35 | 50-66 | 97-110
25	31-35 | 50-66 | 99-110
27	31-35 | 50-66 | 99-110
32	31-35 | 50-65 | 99-110
36	31-35 | 50-66 | 99-108
37	31-35 | 50-66 | 99-108
41	26-33 | 51-58 | 97-109
42	26-33 | 51-58 | 97-109
46	26-32 51-58 | 97-109

[0111]

[0112] 특히 바람직한 실시양태에서, 항체는 서열번호 8의 경쇄 및 서열번호 7의 중쇄, 또는 서열번호 15의 경쇄 및 서열번호 14의 중쇄, 또는 서열번호 19의 경쇄 및 서열번호 18의 중쇄, 또는 서열번호 23의 경쇄 및 서열번호 22의 중쇄, 또는 서열번호 33의 경쇄 및 서열번호 32의 중쇄, 또는 서열번호 38의 경쇄 및 서열번호 36 또는 37, 바람직하게는 36의 중쇄, 또는 서열번호 43의 경쇄 및 서열번호 41 또는 42, 바람직하게는 41의 중쇄, 또는 서열번호 47의 경쇄 및 서열번호 46의 중쇄를 함유한다. 본원에서, 완전한 서열뿐만 아니라 CDR에 대해 위에 정의된 바와 같은 서열 동일성이 적용된다.

[0113] *링커* L^6

[0114] 반응성 기 F가 항체에 직접 연결되거나 심지어 항체 구조의 일부인 경우, AB를 F에 연결하는 링커 L^6 (구조 (**3**)의 항체의 경우) 또는 AB를 Z에 연결하는 링커 L^6 (구조 (**1**)의 컨쥬게이트의 경우)은 부재하고, b = 0이다. 이는 예를 들어, 시스테인 컨쥬게이션 및 리신 컨쥬게이션의 경우이다. 대안적으로, 반응성 기 F는 AB를 F에 연결하는 링커 L^6 (구조 (**3**)의 항체의 경우) 또는 AB를 Z에 연결하는 링커 L^6 (구조 (**1**)의 컨쥬게이트의 경우)을 사용하여 항체에 또한 도입될 수 있으며, 이 경우 L^6이 존재하고 b = 1이다. L^6이 존재하는 경우, 반응성 기 F는 전형적으로 항체의 글리칸에 도입된다. 예를 들어, 이는 예를 들어, 트랜스글루타미나제를 사용하거나 효소적 글리칸 변형 (예컨대, 글리코실트랜스퍼라제 또는 α-1,3-만노실-글리코단백질-2-β-N-아세틸글루코사민일-트랜스퍼라제)에 의한 것과 같이 인공적으로 도입된 반응성 기 F를 통한 컨쥬게이션의 경우이다. 예를 들어, 변형된 당 잔기 $S(F)_x$가 글리칸에 도입되어, 글리칸을 하나의 단당류 잔기 S로 확장할 수 있으며, 이는 항체의 글리칸에 x 개의 반응성 기 F를 도입한다. 가장 바람직한 실시양태에서, 컨쥬게이션은 항체의 글리칸을 통해

발생하고, b = 1이다. 컨쥬게이션의 부위는 바람직하게는 항체의 중쇄에 있다.

[0115] 존재하는 경우, L^6은 AB를 F 또는 Z에 연결하는 링커이며, $-GlcNAc(Fuc)_w-(G)_j-S-(L^7)_{w'}-$로 표현되며, 여기서 G는 단당류이고, j는 0-10의 범위의 정수이고, S는 당 또는 당 유도체이고, GlcNAc는 N-아세틸글루코사민이고, Fuc는 푸코스이고, w는 0 또는 1이고, w'은 0, 1 또는 2이고, L^7은 $-N(H)C(O)CH_2-$, $-N(H)C(O)CF_2-$ 또는 $-CH_2-$이다.

전형적으로, L^6은 적어도 부분적으로 항체의 글리칸에 의해 형성된다. 포유동물 숙주 시스템에서 생성된 모든 재조합 항체는 중쇄의 위치 297에서의 또는 그 근처의 아스파라긴 잔기에서 보존된 N-글리코실화 부위를 함유하며, 이는 복합형의 글리칸에 의해 변형된다. 항체의 이 자연적으로 발생하는 글리코실화 부위가 바람직하게 사용되지만, 인공적으로 도입된 것을 포함한 다른 글리코실화 부위가 또한 링커 L^6의 연결에 사용될 수 있다. 따라서, 바람직한 실시양태에서, L^6은 중쇄의 250-350의 범위의 위치, 바람직하게는 중쇄의 280-310의 범위의 위치, 더 바람직하게는 중쇄의 295-300의 범위의 위치, 가장 바람직하게는 중쇄의 위치 297에 위치한 항체의 아미노산에 연결된다.

[0116] L^6의 $-GlcNAc(Fuc)_w-(G)_j-$는 항체의 글리칸 또는 그 일부이다. 따라서, 글리칸의 $-GlcNAc(Fuc)_b-(G)_j-$는 전형적으로 원래 항체로부터 기원하며, 여기서 GlcNAc는 *N*-아세틸글루코사민 모이어티이고 Fuc는 푸코스 모이어티이다. Fuc는 전형적으로 α-1,6-글리코시드 결합을 통해 GlcNAc에 결합된다. 일반적으로, 항체는 푸코실화될 수도 있거나 (w = 1), 아닐 수 있다 (w = 0). 본 발명의 맥락에서, 푸코실 모이어티의 존재는 무관하며, 푸코실화된 (w = 1) 및 비-푸코실화된 (w = 0) 항체 컨쥬게이트에서 유사한 효과가 수득된다. GlcNAc 잔기는 또한 코어-GlcNAc 잔기로서 지칭되며, 항체의 펩타이드 부분에 직접 부착된 단당류이다.

[0117] S는 코어-$GlcNAc(Fuc)_w$ 모이어티에 직접 연결될 수 있으며, 즉, j = 0이며, 이는 S가 부착되기 전에 글리칸의 나머지 부분이 코어-$GlcNAc(Fuc)_w$ 모이어티로부터 제거됨을 의미한다. 이러한 글리칸의 트리밍은 당업계에 잘 알려져 있으며, 엔도글리코시다제의 작용에 의해 달성될 수 있다. 대안적으로, 코어-$GlcNAc(Fuc)_w$ 모이어티와 S 사이에 하나 이상의 단당류 잔기가 존재하고, 즉, j는 1-10의 범위의 정수이며, 바람직하게는 j = 2-5이다. 바람직한 실시양태에서, $(G)_j$는 j 개의 단당류 잔기 G를 포함하는 올리고당 분획이며, 여기서 j는 2-5의 범위의 정수이다. $(G)_j$는 전형적으로 β-1,4 결합을 통해 $GlcNAc(Fuc)_w$의 GlcNAc 모이어티에 연결된다. 바람직한 실시양태에서, j는 3, 4 또는 5이다. 글리칸에 존재할 수 있는 임의의 단당류가 G로서 사용될 수 있지만, 각각의 G는 바람직하게는 갈락토스, 글루코스, *N*-아세틸갈락토사민, *N*-아세틸글루코사민, 만노스 및 *N*-아세틸뉴라민산으로 이루어진 군으로부터 개별적으로 선택된다. G에 대한 더 바람직한 옵션은 갈락토스, *N*-아세틸글루코사민, 만노스이다. 발명자들은 4 미만의 j를 갖는 항체-컨쥬게이트가 Fc-감마 수용체에 대한 임의의 결합을 나타내지 않거나 거의 나타내지 않는 반면, 4-10의 범위의 j를 갖는 항체 컨쥬게이트가 Fc-감마 수용체에 결합함을 발견하였다. 따라서, j에 대한 특정 값을 선택함으로써, Fc-감마 수용체에 대한 원하는 결합의 정도를 수득할 수 있다. 따라서, j = 0, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10, 더 바람직하게는 j = 0, 3, 4 또는 5, 가장 바람직하게는 항체가 트리밍되고 j = 0인 것이 바람직하다.

[0118] S는 당 또는 당 유도체이다. 용어 "당 유도체"는 본원에서 단당류 당의 유도체, 즉, 치환기 및/또는 기능적 기를 포함하는 단당류 당을 나타내기 위해 사용된다. S에 적합한 예는 글루코스 (Glc), 갈락토스 (Gal), 만노스 (Man), 푸코스 (Fuc), 아미노당 및 당산, 예컨대, 글루코사민 ($GlcNH_2$), 갈락토사민 ($GalNH_2$) N-아세틸글루코사민 (GlcNAc), N-아세틸갈락토사민 (GalNAc), N-아세틸뉴라민산 (NeuNAc)으로서 또한 지칭되는 시알산 (Sia), 및 N-아세틸뮤람산 (MurNAc), 글루쿠론산 (GlcA) 및 이두론산 (IdoA)을 포함한다. 바람직하게는, S는 Glc, Gal, GlcNAc 및 GalNAc로부터 선택된다. 특히 바람직한 실시양태에서, S는 GalNAc이다.

[0119] x는 당 (유도체) S에 부착된 연결기 Z (컨쥬게이트 (**1**)의 경우) 또는 반응성 기 F (항체 (**3**)의 경우)의 갯수를 나타내는 정수이다. 따라서, 본 발명에 따른 항체는 x 개의 반응성 모이어티 F를 포함하는 모이어티 S를 함유한다. 이러한 반응성 모이어티 F 각각은 일반 구조 (**2**)에 따른 화합물의 반응성 모이어티 Q와 반응하여, x 개의 연결기 Z가 형성되고 일반 구조 (**2**)에 따른 x 개의 화합물이 S의 단일 발생에 부착된다. x는 1 또는 2이고, 바람직하게는 x = 1이다.

[0120] 연결기 Z (컨쥬게이트 (**1**)의 경우) 또는 반응성 기 F (항체 (**3**)의 경우)는 S에 직접 부착될 수 있거나, S와 Z

또는 F 사이에 링커 L^7이 있을 수 있다. L^7은 S를 Z에 연결하는 링커이다. L^7은 존재할 수 있거나 (w' = 1 또는 2), 부재할 수 있다 (w' = 0). 전형적으로, 각각의 모이어티 Z는 링커 L^7을 통해 S에 연결될 수 있으므로, 일 실시양태에서 w' = 0 개의 x이다. 바람직하게는, L^7은 부재하고 각각의 연결 모이어티 Z는 S에 직접 부착된다. 존재하는 경우, L^7은 $-N(H)C(O)CH_2-$, $-N(H)C(O)CF_2-$, 또는 $-CH_2-$로부터 선택될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, x = 1이고, w' = 0 또는 1이고, 가장 바람직하게는 x = 1이고 w' = 0이다.

[0121] y는 각각이 항체에 연결된 x 개의 반응성 기 F를 갖거나 x 개의 연결기 Z에 연결된 당(들) (유도체(들)) S의 갯수를 나타내는 정수이다. y는 1, 2, 3 또는 4이고, 바람직하게는 y = 2 또는 4이고, 가장 바람직하게는 y = 2이다. 따라서, 항체는 y 개의 모이어티 S를 함유하는데, 이들 각각은 x 개의 반응성 모이어티 F를 포함한다. 이러한 반응성 모이어티 F 각각은 일반 구조 (**2**)에 따른 화합물의 반응성 모이어티 Q와 반응하여, x + y 개의 연결기 Z가 형성되고, 일반 구조 (**2**)에 따른 x + y 개의 화합물이 단일 항체에 부착된다. 일반 구조 (**2**)에 따른 각각의 화합물은 예컨대, L 내 분지 질소 원자 N*에 의해 다중 페이로드를 함유할 수 있다. 일반 구조 (**2**)에 따른 각각의 화합물은 D의 1 또는 2 회의 발생, 가장 바람직하게는 D의 2 회의 발생을 함유하는 것이 바람직하다. 특히 바람직한 실시양태에서, 링커 L^1은 D의 제2 발생이 연결되는 분지 질소 원자 N*을 함유한다.

[0122] 단일 항체에 부착된 페이로드 (D) 분자의 양은 당업계에서 DAR (약물-항체 비율)로서 알려져 있다. 본 발명의 맥락에서, DAR은 1-8 범위의 정수, 더 바람직하게는 2 또는 4, 가장 바람직하게는 DAR = 4인 것이 바람직하다. 대안적으로 표현하면, DAR은 바람직하게는 (x + y) 내지 [(x + y) × 2] 범위의 정수이고, 가장 바람직하게는 DAR = [(x + y) × 2]이다. x에 대한 바람직한 값이 1이고 y에 대한 바람직한 값이 2인 경우, DAR은 바람직하게는 4이다. 이들은 이론적 DAR 값이며 실제로 DAR은 불완전한 컨쥬게이션으로 인해 이 값으로부터 약간 벗어날 수 있음이 인식될 것이다. 전형적으로, 컨쥬게이트는 항체-약물 컨쥬게이트의 확률적 혼합물로서 수득되며, DAR 값은 개별 컨쥬게이트 간에 다르고 사용된 컨쥬게이션 기술에 따라 DAR은 넓은 분포 (예컨대, DAR = 0-10) 또는 좁은 분포 (예컨대, DAR = 3-4)를 가질 수 있다. 이러한 혼합물의 경우, DAR은 종종 혼합물의 평균 DAR을 지칭한다. 이는 바이오컨쥬게이션의 분야에서 잘 알려져 있다. 그러나, 컨쥬게이션이 글리칸을 통해 발생하는 경우 (즉, b = 1이고, L^6이 존재함), 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 이론에 가까운 DAR을 갖는다. 예를 들어, 이론적 DAR이 4일 때, 3.6 초과, 또는 심지어 3.8 초과의 DAR 값이 용이하게 수득되며, 이는 반응 혼합물 내 대부분의 항체가 완전히 반응하였고 4의 DAR을 가짐을 나타낸다.

[0123] *연결기 Z*

[0124] Z는 본 발명에 따른 컨쥬게이트의 두 부분 모두를 공유 연결하는 연결기이다. 본원에서 용어 "연결기"는 Q와 F 사이의 반응에서 발생하는 구조적 요소를 지칭하며, 이는 컨쥬게이트의 한 부분을 동일한 컨쥬게이트의 다른 부분과 연결한다. 당업자에 의해 이해될 것인 바와 같이, 연결기의 성질은 상기 화합물의 부분 사이의 연결이 수득되는 반응의 유형에 따라 좌우된다. 예로서, R-C(O)-OH의 카복실기가 H_2N-R'의 아미노기와 반응하여 R-C(O)-N(H)-R'을 형성할 때, R은 연결기 Z를 통해 R'에 연결되고, Z는 -C(O)-N(H)- 기로 표현될 수 있다. 연결기 Z는 Q와 F 사이의 반응으로부터 기원하므로, 임의의 형태를 취할 수 있다.

[0125] 항체에 하나 초과의 반응성 모이어티 F가 존재하거나 도입될 수 있기 때문에, 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 생체분자당 하나 초과의 페이로드 D, 예컨대, 1-8 개의 페이로드 D, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4 개의 페이로드 D, 더 바람직하게는 2 또는 4 개의 페이로드 D를 함유할 수 있다. 페이로드의 갯수는 항체의 대칭적 성질을 고려할 때 전형적으로 짝수 정수이다. 다시 말해, 항체의 하나의 측면이 F로 기능화될 때, 대칭적 대응물이 또한 기능화될 것이다. 대안적으로, 단백질의 시스테인 잔기의 자연적으로 발생하는 티올기가 F로서 사용되는 경우, m의 값은 무엇이든 될 수 있으며 개별 컨쥬게이트 간에 다를 수 있다.

[0126] 구조 (**1**)에 따른 화합물에서, 연결기 Z는 링커 L을 통해 D를 AB에 연결하고, 임의로 L^6을 통해 연결한다. 반응성 기 Q를 반응성 기 F에 부착하기 위한 다수의 반응이 당업계에 알려져 있다. 그 결과, 본 발명에 따른 컨쥬게이트에 다양한 연결기 Z가 존재할 수 있다. 일 실시양태에서, 반응성 기 Q는 위에 기재된 옵션으로부터 선택되며, 바람직하게는 도 1에 묘사된 바와 같고, 상보적 반응성 기 F 및 이렇게 수득된 연결기 Z는 당업자에게 알려져 있다. Q를 포함하는 링커-컨쥬게이트가 상보적 반응성 기 F를 포함하는 생체분자에 컨쥬게이션될 때 바이오컨쥬게이트에 존재할 F 및 Q의 적합한 조합 및 연결기 Z^3의 여러 예가 도 1에 도시되어 있다.

[0127] 예를 들어, F가 티올기이거나 이를 포함하는 경우, 상보적 기 Q는 N-말레이미딜기 및 알케닐기를 포함하고, 상응하는 연결기 Z는 도 1에 도시된 바와 같다. F가 티올기이거나 이를 포함하는 경우, 상보적 기 Q는 또한 알렌 아마이드기를 포함한다.

[0128] 예를 들어, F가 아미노기이거나 이를 포함하는 경우, 상보적 기 Q는 케톤기 및 활성화된 에스테르기를 포함하고, 상응하는 연결기 Z는 도 1에 도시된 바와 같다.

[0129] 예를 들어, F가 케톤기이거나 이를 포함하는 경우, 상보적 기 Q는 (O-알킬)하이드록실아미노기 및 하이드라진기를 포함하고, 상응하는 연결기 Z는 도 1에 도시된 바와 같다.

[0130] 예를 들어, F가 알킨일기이거나 이를 포함하는 경우, 상보적 기 Q는 아지도기를 포함하고, 상응하는 연결기 Z는 도 1에 도시된 바와 같다.

[0131] 예를 들어, F가 아지도기이거나 이를 포함하는 경우, 상보적 기 Q는 알킨일기를 포함하고, 상응하는 연결기 Z는 도 1에 도시된 바와 같다.

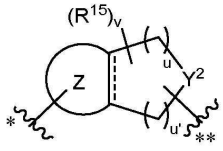
[0132] 예를 들어, F가 사이클로프로펜일기, 트랜스-사이클로옥텐기 또는 사이클로옥틴기이거나, 이를 포함하는 경우, 상보적 기 Q는 테트라진일기를 포함하고, 상응하는 연결기 Z는 도 1에 도시된 바와 같다. 이러한 특정한 경우에, Z는 단지 중간 구조이며, N2를 배출하여, 다이하이드로피리다진 (알켄과의 반응으로부터) 또는 피리다진 (알킨과의 반응으로부터)을 생성할 것이다.

[0133] F 및 Q의 추가적인 적합한 조합 및 생성된 연결기 Z3의 성질은 당업자에게 알려져 있으며, 예컨대, 참조로 포함된 G.T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Elsevier, 3rd Ed. 2013 (ISBN:978-0-12-382239-0), 특히 3 장 229-258 페이지에 기재되어 있다. 바이오컨쥬게이션 공정에 적합한 상보적 반응성 기의 목록은 G.T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Elsevier, 3rd Ed. 2013 (ISBN:978-0-12-382239-0)의 3 장의 230-232 페이지, 표 3.1에 개시되어 있으며, 이 표의 내용은 본원에 참조로 명시적으로 포함되어 있다.

[0134] 바람직한 실시양태에서, 연결기 Z는 사이클로첨가 또는 친핵성 반응에 의해 수득되며, 바람직하게는 여기서 사이클로첨가는 [4+2] 사이클로첨가 또는 1,3-쌍극자 사이클로첨가이거나, 친핵성 반응은 마이클 첨가 또는 친핵성 치환이다. 이러한 사이클로첨가 또는 친핵성 반응은 S에 연결된 반응성 기 F를 통해 및 L을 통해 D에 연결된 반응성 기 Q를 통해 발생한다. 사이클로첨가 또는 친핵성 반응을 통한 컨쥬게이션 반응은 당업자에게 알려져 있으며, 당업자는 적절한 반응 파트너 F 및 Q를 선택할 수 있으며, 생성된 연결기 Z의 성질을 이해할 것이다.

[0135] 제1 바람직한 실시양태에서, Z는 사이클로첨가에 의해 형성된다. 바람직한 사이클로첨가는 (4+2)-사이클로첨가 (예컨대, Diels-Alder 반응) 또는 (3+2)-사이클로첨가 (예컨대, 1,3-쌍극자 사이클로첨가)이다. 바람직하게는, 컨쥬게이션은 Diels-Alder 반응 또는 1,3-쌍극자 사이클로첨가이다. 바람직한 Diels-Alder 반응은 역-전자 수요 Diels-Alder 사이클로첨가이다. 다른 바람직한 실시양태에서, 1,3-쌍극자 사이클로첨가가 사용되고, 더 바람직하게는 알킨-아자이드 사이클로첨가가 사용되고, 가장 바람직하게는 여기서 Q는 알킨기이거나 이를 포함하고 F는 아지도기이다. Diels-Alder 반응 및 1,3-쌍극자 사이클로첨가와 같은 사이클로첨가는 당업계에 알려져 있으며, 당업자는 이를 수행하는 방법을 알고 있다.

[0136] 바람직하게는, Z는 트리아졸, 사이클로헥센, 사이클로헥사다이엔, [2.2.2]-바이사이클로옥타다이엔, [2.2.2]-바이사이클로옥텐, 아이소옥사졸린, 아이소옥사졸리딘, 피라졸린, 피페라진, 티오에테르, 아마이드 또는 이미드기로 이루어진 군으로부터 선택된 모이어티를 함유한다. 트리아졸 모이어티는 특히 Z에 존재하는 것이 바람직하다. 일 실시양태에서, Z는 즉, (헤테로)사이클로알킨 모이어티를 포함하는 Q로부터 형성된 (헤테로)사이클로알켄 모이어티를 포함한다. 대안적인 실시양태에서, Z는 즉, (헤테로)사이클로알켄 모이어티를 포함하는 Q로부터 형성된 (헤테로)사이클로알칸 모이어티를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, Z는 하기 구조 (Z1)을 갖는다:



(Z1)

[0137]

[0138] 여기서 ---로서 묘사된 결합은 단일 결합 또는 이중 결합이다. 게다가:

[0139] - 고리 Z는 사이클로첨가에 의해 수득되며, 바람직하게는 고리 Z는 아래에 정의된 (Za)-(Zj)로부터 선택되며, 여기서 **로 표지된 탄소 원자는 고리 Z가 융합되는 (Z1)의 ---로서 묘사된 결합의 2 개의 탄소 원자에 상응하고;

[0140] - R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, $-NO_2$, -CN, $-S(O)_2R^{16}$, $-S(O)_3^{(-)}$, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 알킬기, (헤테로)아릴기, 알킬(헤테로)아릴기 및 (헤테로)아릴알킬기는 임의로 치환되고, 여기서 2 개의 치환기 R^{15}는 함께 연결되어, 임의로 치환된 고리형 사이클로알킬 또는 임의로 치환된 고리형 (헤테로)아렌 치환기를 형성할 수 있고, 여기서 R^{16}은 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0141] - Y^2는 $C(R^{31})_2$, O, S, $S^{(+)}R^{31}$, $S(O)R^{31}$, $S(O)=NR^{31}$ 또는 NR^{31}이며, 여기서 $S^{(+)}$는 $B^{(-)}$에 의해 균형을 이룬 양이온성 황 원자이고, 여기서 $B^{(-)}$는 음이온이며, 여기서 각각의 R^{31}은 개별적으로 R^{15}이거나 L을 통해 연결된 D와의 연결이고;

[0142] - u는 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

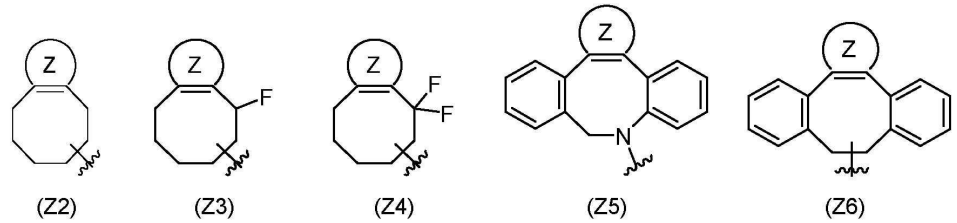
[0143] - u'은 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이며, 여기서 u + u' = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

[0144] - v = 8-16 범위의 정수이고;

[0145] - 고리 A는 사이클로첨가에 의해 형성되고, 바람직하게는 (Za)-(Zj)로부터 선택된다.

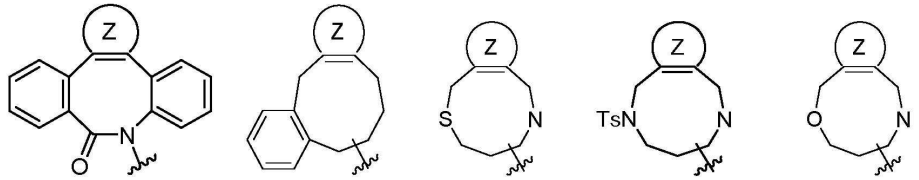
[0146] ---로서 묘사된 결합이 이중 결합인 경우, u + u' = 4, 5, 6, 7 또는 8인 것이 바람직하다. 바람직하게는, *로 표지된 물결모양 결합은 S에 연결되고 **로 표지된 물결모양 결합은 L에 연결된다.

[0147] Z가 (헤테로)사이클로알켄 모이어티를 포함하는 것이 특히 바람직하며, 즉, ---로서 묘사된 결합은 이중 결합이다. 바람직한 실시양태에서, Z는 여기서 아래에 묘사된 구조 (Z2)-(Z20)으로부터 선택된다:

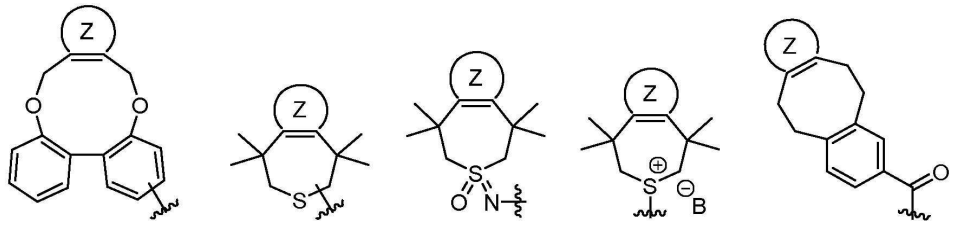


(Z2) (Z3) (Z4) (Z5) (Z6)

(Z7) (Z8) (Z9) (Z10)



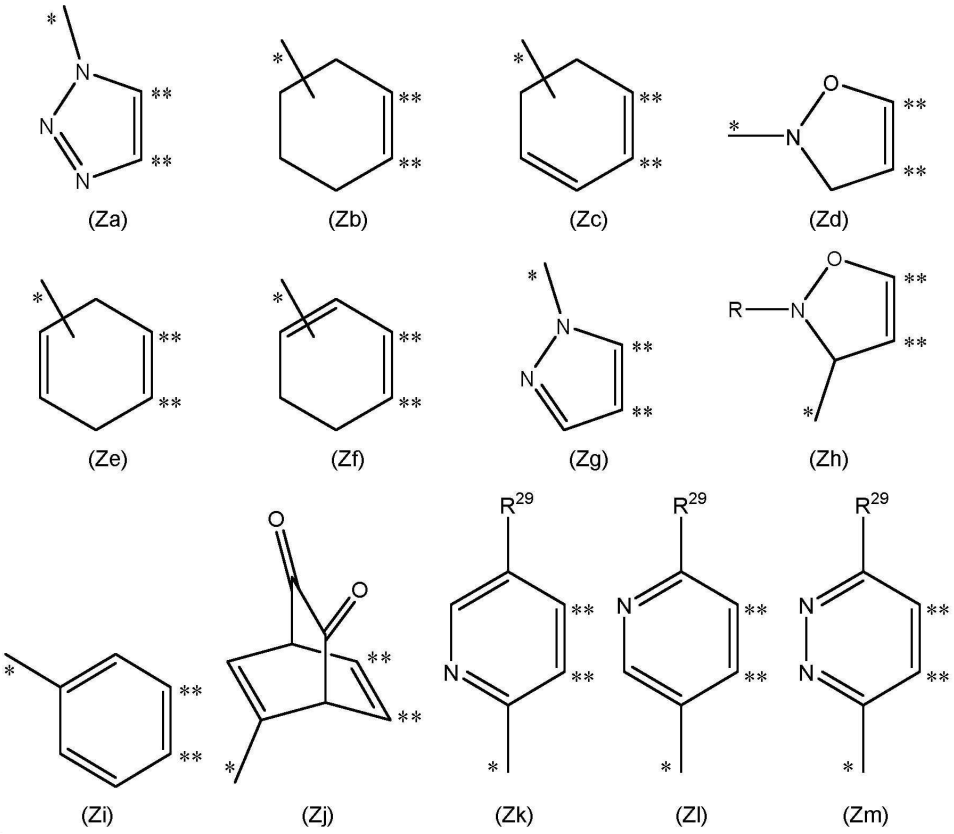
[0148] (Z11) (Z12) (Z13) (Z14) (Z15)



(Z16) (Z17) (Z18) (Z19) (Z20)

[0149]

[0150] 여기서, L에 대한 연결은 물결모양 결합으로 묘사된다. $B^{(-)}$는 음이온, 바람직하게는 약학적으로 허용가능한 음이온이다. 고리 Z는 사이클로첨가 반응에 의해 형성되고, 바람직하게는 트리아졸, 사이클로헥센, 사이클로헥사다이엔, [2.2.2]-바이사이클로옥타다이엔, [2.2.2]-바이사이클로옥텐, 아이소옥사졸린, 아이소옥사졸리딘, 피라졸린 또는 피페라진이다. 가장 바람직하게는, 고리 Z는 트리아졸 고리이다. 고리 Z는 아래에 묘사된 (Za)-(Zm)으로부터 선택된 구조를 가질 수 있으며, 여기서 **로 표지된 탄소 원자는 고리 Z가 융합된 (Z2)-(Z20)의 (헤테로)사이클로알칸 고리의 2 개의 탄소 원자에 상응한다. 바람직한 고리 Z는 (Za)-(Zj)로부터 선택되고, 더 바람직하게는 (Za), (Zd) 및 (Zh)로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 고리 Z는 구조 (Za)를 갖는다. 연결기 Z가 본 실시양태의 맥락에서 (헤테로)사이클로알킨과의 반응에 의해 형성되므로, 위에서 _ _ _로서 묘사된 결합은 이중 결합이다.



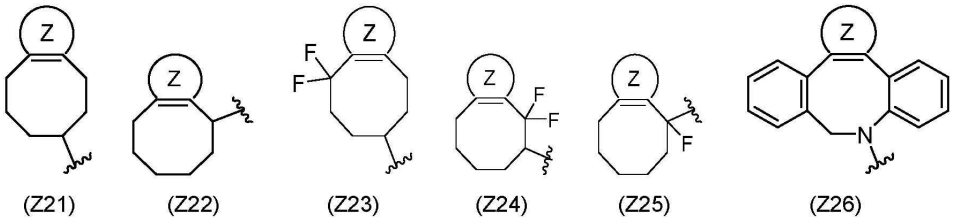
(Za) (Zb) (Zc) (Zd)

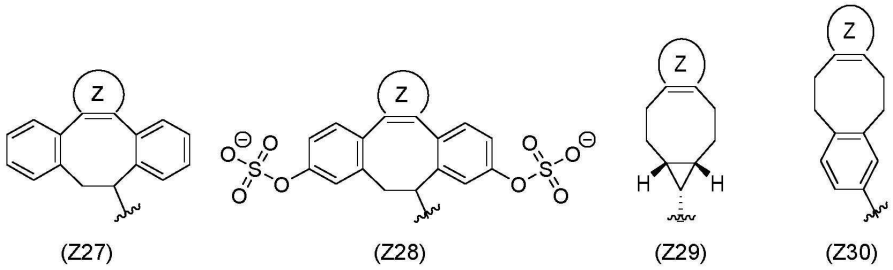
(Ze) (Zf) (Zg) (Zh)

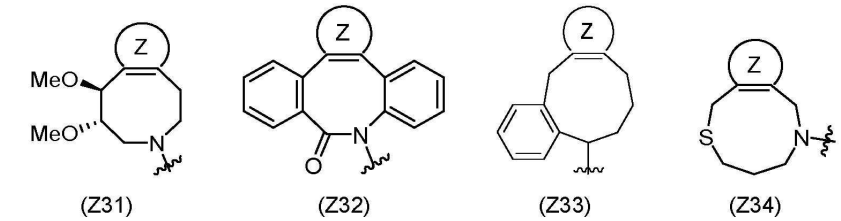
(Zi) (Zj) (Zk) (Zl) (Zm)

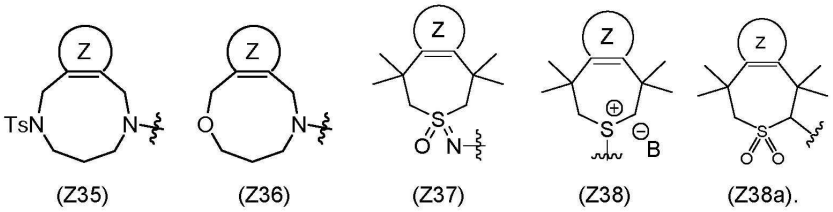
[0151]

[0152] 추가의 바람직한 실시양태에서, Z는 여기서 아래에 묘사된 구조 (Z21)-(Z38) 및 (Z38a)로부터 선택된다:









[0153]

[0154] 여기서, L에 대한 연결은 물결모양 결합으로 묘사된다. 구조 (Z38)에서, $B^{(-)}$는 음이온, 바람직하게는 약학적으로 허용가능한 음이온이다. 고리 Z는 위에 정의된 바와 같이 구조 (Za)-(Zm), 바람직하게는 구조 (Za)-(Zj)로부터 선택된다.

[0155] 바람직한 실시양태에서, Z는 (헤테로)사이클로옥텐 모이어티 또는 (헤테로)사이클로헵텐 모이어티를 포함하며, 바람직하게는 구조 (Z8), (Z26), (Z27), (Z28) 또는 (Z37) 또는 (Z38a)에 따르고, 더 바람직하게는 구조 (Z8), (Z26), (Z27), (Z28) 또는 (Z37)에 따르며, 이들은 임의로 치환된다. Z에 대한 이러한 바람직한 옵션 각각은 여기서 아래에서 추가로 정의된다.

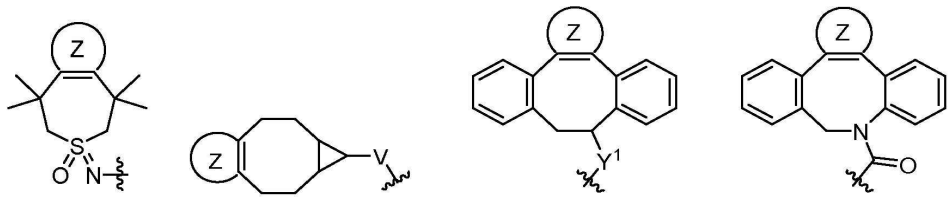
[0156] 따라서, 바람직한 실시양태에서, Z는 구조 (Z37)에 따른 헤테로사이클로헵텐 모이어티를 포함하며, 이는 임의로 치환된다. 바람직하게는, 구조 (Z37)에 따른 헤테로사이클로헵틴 모이어티는 치환되지 않는다.

[0157] 바람직한 실시양태에서, Z는 구조 (Z8), 더 바람직하게는 (Z29)에 따른 (헤테로)사이클로옥텐 모이어티를 포함하며, 이는 임의로 치환된다. 바람직하게는, 구조 (Z8) 또는 (Z29)에 따른 사이클로옥텐 모이어티는 치환되지 않는다. 본 실시양태의 맥락에서, Z는 바람직하게는 아래에 도시된 바와 같은 구조 (Z39)에 따른 (헤테로)사이클로옥텐 모이어티를 포함하며, 여기서 V는 $(CH_2)_l$이고 l은 0 내지 10의 범위, 바람직하게는 0 내지 6의 범위의 정수이다. 더 바람직하게는, l은 0, 1, 2, 3 또는 4이고, 더 바람직하게는 l은 0, 1 또는 2이고, 가장 바람직하게는 l은 0 또는 1이다. 기 (Z39)의 맥락에서, l은 가장 바람직하게는 1이다. 가장 바람직하게는, Z는 아래에 추가로 정의된 구조 (Z42)에 따른 것이다.

[0158] 대안적인 바람직한 실시양태에서, Z는 구조 (Z26), (Z27) 또는 (Z28)에 따른 (헤테로)사이클로옥텐 모이어티를 포함하며, 이들은 임의로 치환된다. 본 실시양태의 맥락에서, Z는 바람직하게는 아래에 도시된 바와 같은 구조 (Z40) 또는 (Z41)에 따른 (헤테로)사이클로옥텐 모이어티를 포함하며, 여기서 Y^1은 O 또는 NR^{11}이고, 여기서 R^{11}은 수소, 선형 또는 분지형 C_1-C_{12} 알킬기 또는 C_4-C_{12} (헤테로)아릴기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된

다. (Z40) 내 방향족 고리는 하나 이상의 위치에서 임의로 O-설포닐화되는 반면, (Z41)의 고리는 하나 이상의 위치에서 할로겐화될 수 있다. 바람직하게는, 구조 (Z40) 또는 (Z41)에 따른 (헤테로)사이클로옥텐 모이어티는 추가로 치환되지 않는다. 가장 바람직하게는, Z는 아래에 추가로 정의된 구조 (Z43)에 따른 것이다.

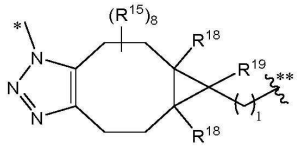
[0159] 대안적인 바람직한 실시양태에서, Z는 헤테로사이클로헵텐일기를 포함하고 구조 (Z37)에 따른 것이다.



(Z37) (Z39) (Z40) (Z41)

[0160]

[0161] 특히 바람직한 실시양태에서, Z는 사이클로옥텐일기를 포함하고 구조 (Z42)에 따른 것이다:



(Z42)

[0162]

[0163] 여기서:

[0164] - *로 표지된 결합은 S에 연결되고, **로 표지된 물결모양 결합은 L에 연결되고;

[0165] - R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, $-NO_2$, -CN, $-S(O)_2R^{16}$, $-S(O)_3^{(-)}$, C_1-C_{24} 알킬기, C_5-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 알킬기, (헤테로)아릴기, 알킬(헤테로)아릴기 및 (헤테로)아릴알킬기는 임의로 치환되고, 여기서 2 개의 치환기 R^{15}는 함께 연결되어, 임의로 치환된 고리형 사이클로알킬 또는 임의로 치환된 고리형 (헤테로)아렌 치환기를 형성하고, 여기서 R^{16}은 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

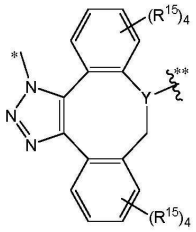
[0166] - R^{18}은 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0167] - R^{19}는 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되며, 알킬기는 임의로 O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로-원자에 의해 끊어지고, 여기서 알킬기, (헤테로)아릴기, 알킬(헤테로)아릴기 및 (헤테로)아릴알킬기는 독립적으로 임의로 치환되거나, R^{19}는 스페이서 모이어티를 통해 연결된 Z (또는 Q) 또는 D의 제2 발생이고;

[0168] - l은 0-10 범위의 정수임.

[0169] 구조 (Z42)에 따른 그룹의 바람직한 실시양태에서, R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, C_1-C_6 알킬기, C_5-C_6 (헤테로)아릴기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 R^{16}은 수소 또는 C_1-C_6 알킬이고, 더 바람직하게는 R^{15}는 수소 및 C_1-C_6 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 가장 바람직하게는 모든 R^{15}는 H이다. 구조 (Z42)에 따른 그룹의 바람직한 실시양태에서, R^{18}은 수소, C_1-C_6 알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 가장 바람직하게는 두 R^{18} 모두는 H이다. 구조 (Z42)에 따른 그룹의 바람직한 실시양태에서, R^{19}는 H이다. 구조 (Z42)에 따른 그룹의 바람직한 실시양태에서, l은 0 또는 1이고, 더 바람직하게는 l은 1이다.

[0170] 특히 바람직한 실시양태에서, Z는 (헤테로)사이클로옥틴일기를 포함하고 구조 (Z43)에 따른 것이다:



[0171] (Z43)

[0172] 여기서:

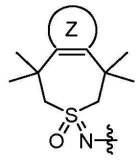
[0173] - *로 표지된 결합은 S에 연결되고 **로 표지된 물결모양 결합은 L에 연결되고;

[0174] - R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, $-NO_2$, -CN, $-S(O)_2R^{16}$, $-S(O)_3^{(-)}$, C_1-C_{24} 알킬기, C_5-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 알킬기, (헤테로)아릴기, 알킬(헤테로)아릴기 및 (헤테로)아릴알킬기는 임의로 치환되고, 여기서 2 개의 치환기 R^{15}는 함께 연결되어, 임의로 치환된 고리형 사이클로알킬 또는 임의로 치환된 고리형 (헤테로)아렌 치환기를 형성할 수 있고, 여기서 R^{16}은 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로부터 독립적으로 선택되고;

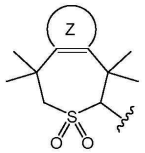
[0175] - Y는 N 또는 CR^{15}임.

[0176] 구조 (Z43)에 따른 그룹의 바람직한 실시양태에서, R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, $-S(O)_3^{(-)}$, C_1-C_6 알킬기, C_5-C_6 (헤테로)아릴기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 R^{16}은 수소 또는 C_1-C_6 알킬이고, 더 바람직하게는 R^{15}는 수소 및 $-S(O)_3^{(-)}$로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 구조 (Z43)에 따른 그룹의 바람직한 실시양태에서, Y는 N 또는 CH이고, 더 바람직하게는 Y = N이다.

[0177] 특히 바람직한 실시양태에서, Z는 헤테로사이클로헵틴일기를 포함하고 구조 (Z37) 또는 (Z38a)에 따른 것이며, 바람직하게는 구조 (Z37)에 따른 것이며, 여기서 고리 Z는 트리아졸이다:



(Z37)



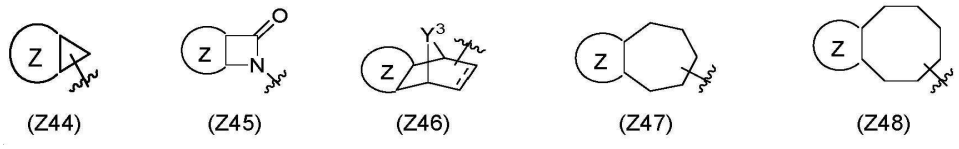
(Z38a)

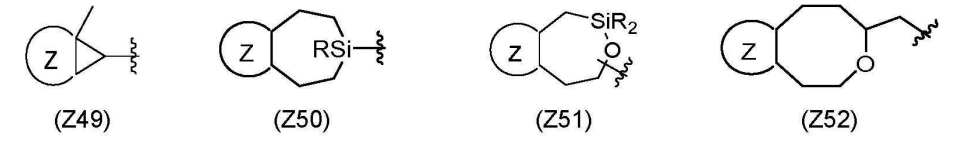
[0178]

[0179] 대안적인 바람직한 실시양태에서, Z는 (헤테로)사이클로알칸 모이어티를 포함하며, 즉, ---로서 묘사된 결합은 단일 결합이다. (헤테로)사이클로알칸기는 또한 헤테로사이클로알칸일기 또는 사이클로알칸일기, 바람직하게는 사이클로알칸일기로서 지칭될 수 있으며, 여기서 (헤테로)사이클로알칸일기는 임의로 치환된다. 바람직하게는, (헤테로)사이클로알칸일기는 (헤테로)사이클로프로판일기, (헤테로)사이클로부탄일기, 노르보르난기, 노르보르넨기, (헤테로)사이클로헵탄일기, (헤테로)사이클로옥탄일기, (헤테로)사이클로노닐기 또는 (헤테로)사이클로데칸일기이며, 이는 모두 임의로 치환될 수 있다. (헤테로)사이클로프로판일기, (헤테로)사이클로헵탄일기 또는 (헤테로)사이클로옥탄일기가 특히 바람직하며, 여기서 (헤테로)사이클로프로판일기, 트랜스-(헤테로)사이클로헵탄일기 또는 (헤테로)사이클로옥탄일기는 임의로 치환된다. 바람직하게는, Z는 구조 (Z44)에 따른 사이클로프로판일 모이어티, 구조 (Z45)에 따른 헤테로사이클로부탄 모이어티, 구조 (Z46)에 따른 노르보르난 또는 노르보르넨기, 구조 (Z47)에 따른 (헤테로)사이클로헵탄일 모이어티 또는 구조 (Z48)에 따른 (헤테로)사이클로옥탄일 모이어티를 포함한다. 여기서, Y^3은 $C(R^{23})_2$, NR^{23}, 또는 O로부터 선택되며, 여기서 각각의 R^{23}은 개별적으로 수소, C_1-C_6 알킬이거나, 임의로 스페이서를 통해 L에 연결되고, ---로 표지된 결합은 단일 또는 이중 결합이다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 사이클로프로판일기는 구조 (Z49)에 따른 것이다. 다른 바람직한 실시양태

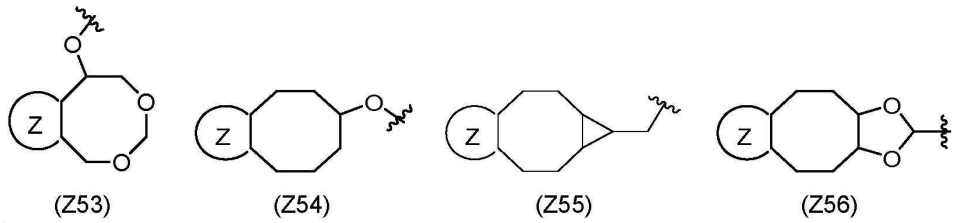
에서, (헤테로)사이클로헵탄기는 구조 (Z50) 또는 (Z51)에 따른 것이다. 다른 바람직한 실시양태에서, (헤테로)사이클로옥탄기는 구조 (Z52), (Z53), (Z54), (Z55) 또는 (Z56)에 따른 것이다.

[0180]

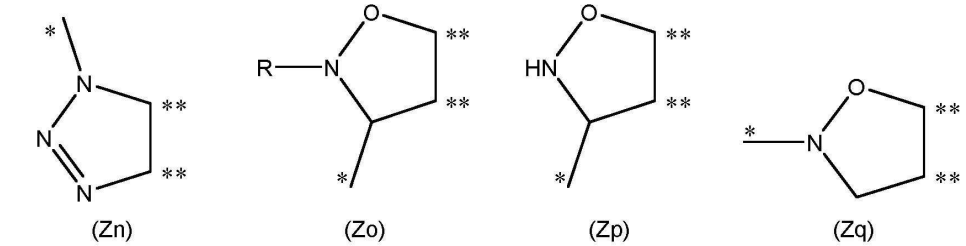


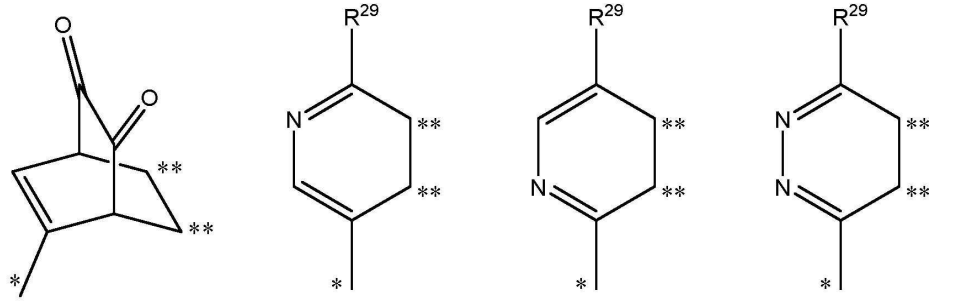


[0181]



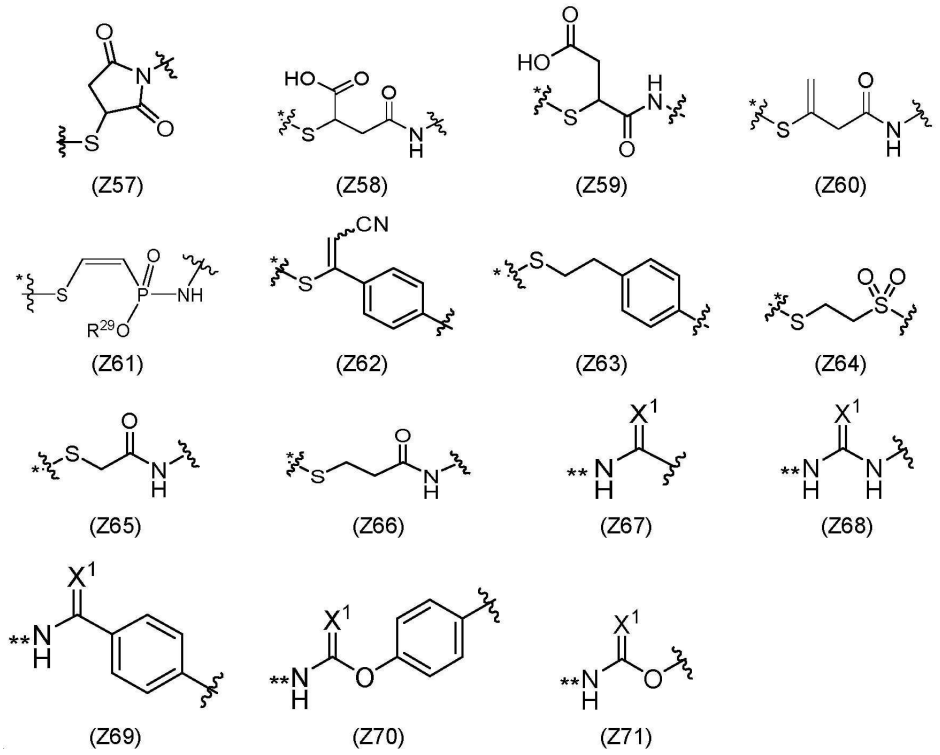
[0182] 여기서, (Z50) 및 (Z51) 내 Si 상의 R 기(들)는 전형적으로 알킬 또는 아릴, 바람직하게는 C_1-C_6 알킬이다. 고리 Z는 전형적으로 구조 (Zn)-(Zu)로부터 선택되며, 여기서 **로 표지된 탄소 원자는 고리 Z가 융합된 (Z44)-(Z56)의 (헤테로)사이클로알칸 고리의 2 개의 탄소 원자에 상응하고, *로 표지된 탄소 a 탄소는 항체의 펩타이드 쇄에 직접 연결된다. 바람직한 고리 Z는 (Zo)-(Zr)로부터 선택된다. 연결기 Z는 본 실시양태의 맥락에서 (헤테로)사이클로알켄과의 반응에 의해 형성되므로, 위에서 - - -로서 표지된 결합은 단일 결합이다.





[0183]

[0184] 제2 바람직한 실시양태에서, Z는 친핵성 반응, 바람직하게는 친핵성 치환 또는 마이클 첨가, 바람직하게는 마이클 첨가에 의해 형성된다. 바람직한 마이클 반응은 티올-말레이미드 결찰이며, 가장 바람직하게는 여기서 Q는 말레이미드이고 F는 티올기이다. 바람직하게는, 티올은 시스테인 잔기의 측쇄에 존재한다. 바람직한 실시양태에서, 연결기 Z는 석신이미딜 고리 또는 이의 고리-개방형 석신산 아마이드 유도체를 포함한다. 연결기 Z에 대한 바람직한 옵션은 여기서 아래에 묘사된 (Z57)-(Z71)로부터 선택된 모이어티를 포함한다.



[0185]

[0186] 여기서, *로 표지된 물결모양 결합(들)은 항체 Ab에 연결되고, 임의로 링커를 통해 연결되고, 그리고 표지가 없는 물결모양 결합은 페이로드에 연결되고, 임의로 링커를 통해 연결된다. 또한, R^{29}는 C_{1-12} 알킬, 바람직하게는 C_{1-4} 알킬, 가장 바람직하게는 에틸이고, X^1은 O 또는 S이고, 바람직하게는 X^1 = O이다. (Z67)-(Z71)에서 **로 표지된 질소 원자는 항체의 리신 잔기의 측쇄의 질소 원자에 상응한다. (Z69) 및 (Z70)의 페닐기의 탄소 원자는 임의로 치환되고, 바람직하게는 임의로 불소화된다.

[0187] 바람직한 실시양태에서, 연결기 Z는 (Z1)-(Z71)로부터 선택된 모이어티를 포함한다.

[0188] *링커 L*

[0189] 링커 L은 페이로드 D를 연결기 Z (구조 (**1**)에 따른 컨쥬게이트에서)와 연결하거나 페이로드 D를 반응성 기 Q (구조 (**2**)에 따른 화합물에서)와 연결한다. 링커는 당업계에 알려져 있으며 절단가능하거나 비-절단가능할 수 있다. 링커 L은 바람직하게는 펩타이드 스페이서 및 파라-아미노벤질옥시카보닐 (PABC) 모이어티 또는 이의 유도체를 포함하는 자기-희생 기 또는 절단가능한 링커를 함유한다.

[0190] 바람직한 실시양태에서, 링커 L은 구조 $-(L^1)_n-(L^2)_o-(L^3)_p-(L^4)_q-$로서, 여기서 $(L^4)_q$는 페이로드 D에 연결되고, $(L^1)_n$은 Z 또는 Q에 연결된다. 여기서, L^1, L^2, L^3 및 L^4는 링커 또는 연결 유닛이고, n, o, p 및 q 각각은 개별적으로 0 또는 1이며, 여기서 n + o + p + q는 적어도 1이다. 바람직한 실시양태에서, 적어도 링커 L^1 및 L^2가 존재하고 (즉, n = 1; o = 1; p = 0 또는 1; q = 0 또는 1), 더 바람직하게는 링커 L^1, L^2 및 L^3이 존재하고, L^4가 존재하거나 존재하지 않는다 (즉, n = 1; o = 1; p = 1; q = 0 또는 1). 일 실시양태에서, 링커 L^1, L^2, L^3 및 L^4가 존재한다 (즉, n = 1; o = 1; p = 1; q = 1). 일 실시양태에서, 링커 L^1, L^2 및 L^3이 존재하고 L^4가 존재하지 않는다 (즉, n = 1; o = 1; p = 1; q = 0).

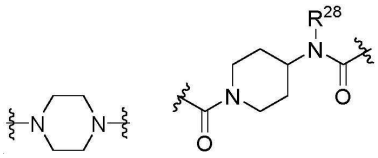
[0191] 링커, 특히 링커 L^1은 단일 연결기에 다중 페이로드를 부착하기 위한 하나 이상의 분기점을 함유할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 컨쥬게이트의 링커는 분지 모이어티를 함유한다. 본 발명의 맥락에서 "분지 모이어티"는 3 개의 모이어티를 연결하는 링커에 임베딩된 모이어티를 지칭한다. 다시 말해, 분지 모이어티는 다른 모이어티에 대한 적어도 3 개의 결합을 포함하는데, 전형적으로 Z 또는 Q에 연결되는 하나의 결합, 페이로드 D에 대한 하나의 결합, 제2 페이로드 D에 대한 하나의 결합이다. 분지 모이어티가 존재하는 경우, 바람

직하게는 링커 L^1에 임베딩되고, 더 바람직하게는 Sp^2의 일부에 또는 NR^{13}의 질소 원자로서 임베딩된다. 다른 모이어티에 대한 적어도 3 개의 결합을 함유하는 임의의 모이어티는 본 발명의 맥락에서 분지 모이어티로서 적합하다. 바람직한 실시양태에서, 분지 모이어티는 탄소 원자, 질소 원자, 인 원자, (헤테로)방향족 고리, (헤테로)사이클 또는 폴리사이클릭 모이어티로부터 선택된다. 가장 바람직하게는, 분지 모이어티는 질소 원자이다.

[0192] *링커 L^1*

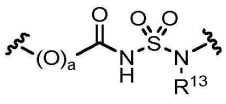
[0193] 링커 L^1이 부재하거나 (n = 0), 존재한다 (n = 1). 바람직하게는, 링커 L^1이 존재하고, n = 1이다. L^1은 예를 들어, 선형 또는 분지형 C_1-C_{200} 알킬렌기, C_2-C_{200} 알케닐렌기, C_2-C_{200} 알키닐렌기, C_3-C_{200} 사이클로알킬렌기, C_5-C_{200} 사이클로알케닐렌기, C_8-C_{200} 사이클로알키닐렌기, C_7-C_{200} 알킬아릴렌기, C_7-C_{200} 아릴알킬렌기, C_8-C_{200} 아릴알케닐렌기, C_9-C_{200} 아릴알키닐렌기로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 임의로 알킬렌기, 알케닐렌기, 알키닐렌기, 사이클로알킬렌기, 사이클로알케닐렌기, 사이클로알키닐렌기, 알킬아릴렌기, 아릴알킬렌기, 아릴알케닐렌기 및 아릴알키닐렌기는 치환될 수 있으며, 임의로 상기 기는 하나 이상의 헤테로원자, 바람직하게는 1 내지 100 개의 헤테로원자에 의해 끊어질 수 있으며, 상기 헤테로원자는 바람직하게는 O, $S(O)_{y'}$ 및 NR^{21}로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 y'은 0, 1 또는 2이고, 바람직하게는 y' = 2이고, R^{21}은 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0194] 바람직한 실시양태에서, 링커 L^1은 극성기를 함유한다. 이러한 극성기는 (폴리)에틸렌 글리콜다이아민 (예컨대, 1,8-다이아미노-3,6-다이옥사옥탄 또는 더 긴 에틸렌 글리콜 쇄를 포함하는 등가물), (폴리)에틸렌 글리콜 또는 (폴리)에틸렌 옥사이드 쇄, (폴리)프로필렌 글리콜 또는 (폴리)프로필렌 옥사이드 쇄 및 1,z'-다이아미노알칸 (여기서 z'는 알칸 내 탄소 원자의 갯수, 바람직하게는 z' = 1-10임), $-(O)_a-C(O)-NH-S(O)_2-NR^{13}-$ (아래에 추가로 정의된 바와 같음, 구조 (**23**) 참고), $-C(S(O)_3^{(-)})-$, $-C(C(O)_2^{(-)})-$, $-S(O)_2-$, $-P(O)_2^{(-)}-$, $-O(CH_2CH_2O)_t-$, $-NR^{30}(CH_2CH_2NR^{30})_t-$ 및 다음의 2 개의 구조로부터 선택될 수 있다:

[0195] 

[0196] 극성기는 또한 바람직하게는 Arg, Glu, Asp, Ser 및 Thr로부터 선택된 아미노산을 함유할 수 있다. 여기서, a 및 R^{13}은 구조 (**23**)에 대해 아래에 추가로 정의된다. t는 0-15, 바람직하게는 1-10, 더 바람직하게는 2-5의 범위의 정수의 범위의 정수이며, 가장 바람직하게는 t = 2 또는 4이다. 각각의 R^{30}은 개별적으로 H, C_{1-12} 알킬, C_{1-12} 아릴, C_{1-12} 알카릴 또는 C_{1-12} 아랄킬이다. 링커 L^1은 적어도 2 개의 극성기와 같은 하나 초과의 이러한 극성기를 함유할 수 있다. 극성기는 또한 링커 L^1의 분지에 존재할 수 있으며, 이는 다른 곳에서 정의된 바와 같은 분지 모이어티에서 분지된다. 바람직하게는, 질소 또는 탄소 원자가 분지 모이어티로서 사용된다. 특히 분지에 $-O(CH_2CH_2O)_t-$ 극성기가 존재하는 것이 바람직하다.

[0197] 바람직한 실시양태에서, 링커 L^1은 설파마이드기, 바람직하게는 구조 (**23**)에 따른 설파마이드기이거나 이를 포함한다:

[0198] 

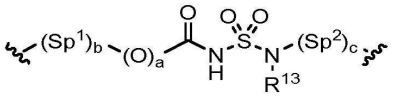
(**23**)

[0199] 물결선은 화합물의 나머지 부분, 전형적으로 Q 및 L^2, L^3, L^4 또는 D, 바람직하게는 Q 및 L^2에 대한 연결을 나타낸다. 바람직하게는, $(O)_aC(O)$ 모이어티는 Q에 연결되고, NR^{13} 모이어티는 L^2, L^3, L^4 또는 D, 바람직하게는 L^2에 연결된다.

[0200] 구조 (23)에서, a = 0 또는 1, 바람직하게는 a = 1이고, R^{13}은 수소, C_1-C_{24} 알킬기, C_3-C_{24} 사이클로알킬기, C_2-C_{24} (헤테로)아릴기, C_3-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_3-C_{24} (헤테로)아릴알킬기, 임의로 치환되고 임의로 O, S 및 NR^{14}로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어진 C_1-C_{24} 알킬기, C_3-C_{24} 사이클로알킬기, C_2-C_{24} (헤테로)아릴기, C_3-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_3-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R^{14}는 수소 및 C_1-C_4 알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되거나, R^{13}은 스페이서 모이어티, 바람직하게는 아래에 정의된 바와 같은 Sp^2를 통해 N에 연결된 D이며, 일 실시양태에서 D는 $-(B)_e-(A)_f-(B)_g-C(O)-$를 통해 N에 연결된다.

[0201] 바람직한 실시양태에서, R^{13}은 수소 또는 C_1-C_{20} 알킬기이고, 더 바람직하게는 R^{13}은 수소 또는 C_1-C_{16} 알킬기이고, 보다 더 바람직하게는 R^{13}은 수소 또는 C_1-C_{10} 알킬기이며, 여기서 알킬기는 임의로 치환되고 임의로 O, S 및 NR^{14}, 바람직하게는 O로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지며, 여기서 R^{14}는 수소 및 C_1-C_4 알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 바람직한 실시양태에서, R^{13}은 수소이다. 다른 바람직한 실시양태에서, R^{13}은 C_1-C_{20} 알킬기, 더 바람직하게는 C_1-C_{16} 알킬기, 보다 더 바람직하게는 C_1-C_{10} 알킬기이며, 여기서 알킬기는 하나 이상의 O-원자로 임의로 끊어지고, 여기서 알킬기는 -OH 기, 바람직하게는 말단 -OH 기로 임의로 치환된다. 이 실시양태에서, R^{13}은 말단 -OH 기를 포함하는 (폴리)에틸렌 글리콜 쇄인 것이 추가로 바람직하다. 다른 바람직한 실시양태에서, R^{13}은 수소, 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, s-부틸 및 t-부틸로 이루어진 군으로부터, 더 바람직하게는 수소, 메틸, 에틸, n-프로필 및 i-프로필로 이루어진 군으로부터, 보다 더 바람직하게는 수소, 메틸 및 에틸로 이루어진 군으로부터 선택된다. 훨씬 보다 더 바람직하게는, R^{13}은 수소 또는 메틸이고, 가장 바람직하게는 R^{13}은 수소이다.

[0202] 바람직한 실시양태에서, L^1은 구조 (24)에 따른 것이다:

[0203] 

(24)

[0204] 여기서, a 및 R^{13}은 위에 정의된 바와 같고, Sp^1 및 Sp^2는 독립적으로 스페이서 모이어티이고, b 및 c는 독립적으로 0 또는 1이다. 바람직하게는, b = 0 또는 1이고 c = 1이며, 더 바람직하게는 b = 0이고 c = 1이다. 일 실시양태에서, 스페이서 Sp^1 및 Sp^2는 선형 또는 분지형 C_1-C_{200} 알킬렌기, C_2-C_{200} 알케닐렌기, C_2-C_{200} 알키닐렌기, C_3-C_{200} 사이클로알킬렌기, C_5-C_{200} 사이클로알케닐렌기, C_8-C_{200} 사이클로알키닐렌기, C_7-C_{200} 알킬아릴렌기, C_7-C_{200} 아릴알킬렌기, C_8-C_{200} 아릴알케닐렌기 및 C_9-C_{200} 아릴알키닐렌기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 알킬렌기, 알케닐렌기, 알키닐렌기, 사이클로알킬렌기, 사이클로알케닐렌기, 사이클로알키닐렌기, 알킬아릴렌기, 아릴알킬렌기, 아릴알케닐렌기 및 아릴알키닐렌기는 임의로 치환되고, 임의로 O, S 및 NR^{16}의 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지며, 여기서 R^{16}은 수소, C_1-C_{24} 알킬기, C_2-C_{24} 알케닐기, C_2-C_{24} 알키닐기 및 C_3-C_{24} 사이클로알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 알킬기, 알케닐기, 알키닐기 및 사이클로알킬기는 임의로 치환된다. 알킬렌기, 알케닐렌기, 알키닐렌기, 사이클로알킬렌기, 사이클로알케닐렌기, 사이클로알키닐렌기, 알킬아릴렌기, 아릴알킬렌기, 아릴알케닐렌기 및 아릴알키닐렌기가 위에 정의된

바와 같은 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지는 경우, 상기 기가 하나 이상의 O-원자 및/또는 하나 이상의 S-S 기에 의해 끊어지는 것이 바람직하다.

[0205] 더 바람직하게는, 스페이서 모이어티 Sp^1 및 Sp^2는 존재하는 경우 선형 또는 분지형 C_1-C_{100} 알킬렌기, C_2-C_{100} 알케닐렌기, C_2-C_{100} 알키닐렌기, C_3-C_{100} 사이클로알킬렌기, C_5-C_{100} 사이클로알케닐렌기, C_8-C_{100} 사이클로알키닐렌기, C_7-C_{100} 알킬아릴렌기, C_7-C_{100} 아릴알킬렌기, C_8-C_{100} 아릴알케닐렌기 및 C_9-C_{100} 아릴알키닐렌기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 알킬렌기, 알케닐렌기, 알키닐렌기, 사이클로알킬렌기, 사이클로알케닐렌기, 사이클로알키닐렌기, 알킬아릴렌기, 아릴알킬렌기, 아릴알케닐렌기 및 아릴알키닐렌기는 임의로 치환되고, 임의로 O, S 및 NR^{16}의 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지며, 여기서 R^{16}은 수소, C_1-C_{24} 알킬기, C_2-C_{24} 알케닐기, C_2-C_{24} 알키닐기 및 C_3-C_{24} 사이클로알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 알킬기, 알케닐기, 알키닐기 및 사이클로알킬기는 임의로 치환된다.

[0206] 보다 더 바람직하게는, 스페이서 모이어티 Sp^1 및 Sp^2는 존재하는 경우 선형 또는 분지형 C_1-C_{50} 알킬렌기, C_2-C_{50} 알케닐렌기, C_2-C_{50} 알키닐렌기, C_3-C_{50} 사이클로알킬렌기, C_5-C_{50} 사이클로알케닐렌기, C_8-C_{50} 사이클로알키닐렌기, C_7-C_{50} 알킬아릴렌기, C_7-C_{50} 아릴알킬렌기, C_8-C_{50} 아릴알케닐렌기 및 C_9-C_{50} 아릴알키닐렌기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 알킬렌기, 알케닐렌기, 알키닐렌기, 사이클로알킬렌기, 사이클로알케닐렌기, 사이클로알키닐렌기, 알킬아릴렌기, 아릴알킬렌기, 아릴알케닐렌기 및 아릴알키닐렌기는 임의로 치환되고 임의로 O, S 및 NR^{16}의 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지며, 여기서 R^{16}은 수소, C_1-C_{24} 알킬기, C_2-C_{24} 알케닐기, C_2-C_{24} 알키닐기 및 C_3-C_{24} 사이클로알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 알킬기, 알케닐기, 알키닐기 및 사이클로알킬기는 임의로 치환된다.

[0207] 훨씬 보다 더 바람직하게는, 스페이서 모이어티 Sp^1 및 Sp^2는 존재하는 경우 선형 또는 분지형 C_1-C_{20} 알킬렌기, C_2-C_{20} 알케닐렌기, C_2-C_{20} 알키닐렌기, C_3-C_{20} 사이클로알킬렌기, C_5-C_{20} 사이클로알케닐렌기, C_8-C_{20} 사이클로알키닐렌기, C_7-C_{20} 알킬아릴렌기, C_7-C_{20} 아릴알킬렌기, C_8-C_{20} 아릴알케닐렌기 및 C_9-C_{20} 아릴알키닐렌기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 알킬렌기, 알케닐렌기, 알키닐렌기, 사이클로알킬렌기, 사이클로알케닐렌기, 사이클로알키닐렌기, 알킬아릴렌기, 아릴알킬렌기, 아릴알케닐렌기 및 아릴알키닐렌기는 임의로 치환되고 임의로 O, S 및 NR^{16}의 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지며, 여기서 R^{16}은 수소, C_1-C_{24} 알킬기, C_2-C_{24} 알케닐기, C_2-C_{24} 알키닐기 및 C_3-C_{24} 사이클로알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 알킬기, 알케닐기, 알키닐기 및 사이클로알킬기는 임의로 치환된다.

[0208] 이러한 바람직한 실시양태에서, 알킬렌기, 알케닐렌기, 알키닐렌기, 사이클로알킬렌기, 사이클로알케닐렌기, 사이클로알키닐렌기, 알킬아릴렌기, 아릴알킬렌기, 아릴알케닐렌기 및 아릴알키닐렌기는 비치환되고 임의로 O, S 및 NR^{16}, 바람직하게는 O의 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지며, 여기서 R^{16}은 수소 및 C_1-C_4 알킬기, 바람직하게는 수소 또는 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 것이 추가로 바람직하다.

[0209] 가장 바람직하게는, 스페이서 모이어티 Sp^1 및 Sp^2는 존재하는 경우 선형 또는 분지형 C_1-C_{20} 알킬렌기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 알킬렌기는 임의로 치환되고 임의로 O, S 및 NR^{16}의 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지며, 여기서 R^{16}은 수소, C_1-C_{24} 알킬기, C_2-C_{24} 알케닐기, C_2-C_{24} 알키닐기 및 C_3-C_{24} 사이클로알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 알킬기, 알케닐기, 알키닐기 및 사이클로알킬기는 임의로 치환된다. 이 실시양태에서, 알킬렌기는 비치환되고 임의로 O, S 및 NR^{16}, 바람직하게는 O 및/또는 S-S의 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지는 것이 추가로 바람직하며, 여기서 R^{16}은 수소 및 C_1-C_4 알킬기, 바람직하게는 수소 또는 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0210] 따라서, 바람직한 스페이서 모이어티 Sp^1 및 Sp^2는 $-(CH_2)_r-$, $-(CH_2CH_2)_r-$, $-(CH_2CH_2O)_r-$, $-(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CH_2CH_2O)_rCH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CH_2CH_2CH_2O)_r-$, $-(OCH_2CH_2CH_2)_r-$, $-(CH_2CH_2CH_2O)_rCH_2CH_2CH_2-$, 및 $-CH_2CH_2CH_2(OCH_2CH_2CH_2)_r-$를 포함하며, 여기서 r은 1 내지 50의 범위, 바람직하게는 1 내지 40의 범위, 더 바람직하게는 1 내지 30의 범위, 훨씬 더 바람직하게는 1 내지 20의 범위, 그리고 훨씬 더욱 더 바람직하게는 1 내지 15의 범위의 정수이다. 더 바람직하게는 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10, 더 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8, 훨씬 더 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 훨씬 더욱 더 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0211] 대안적으로, 바람직한 링커 L^1은 $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-$로 표현될 수 있으며, 여기서:

[0212] - d = 0 또는 1, 바람직하게는 d = 1이고;

[0213] - e = 0-10 범위의 정수, 바람직하게는 e = 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고, 바람직하게는 1-10 범위의 정수이고, 가장 바람직하게는 e = 1, 2, 3 또는 4이고;

[0214] - f = 0 또는 1, 바람직하게는 f = 0이고;

[0215] - 여기서 d + e + f는 적어도 1, 바람직하게는 1-5 범위이고; 바람직하게는 d + f는 적어도 1, 바람직하게는 d + f = 1이고;

[0216] - g = 0 또는 1, 바람직하게는 g = 1이고;

[0217] - k = 0 또는 1, 바람직하게는 k = 1이고;

[0218] - A는 구조 (**23**)에 따른 설파미드기이고;

[0219] - B는 $-CH_2-CH_2-O-$ 또는 $-O-CH_2-CH_2-$ 모이어티이거나, $(B)_e$는 $-(CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-CH_2-$, 또는 $-(CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-$ 모이어티이며, 여기서 e1은 e와 동일한 방식으로 정의되고;

[0220] - W는 $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)NH-$, $-NHC(O)-$, $-OC(O)NH-$, $-NHC(O)O-$, $-C(O)(CH_2)_mC(O)-$, $-C(O)(CH_2)_mC(O)NH-$, 또는 $-(4-Ph)CH_2NHC(O)(CH_2)_mC(O)NH-$이고, 바람직하게는 W는 $-OC(O)NH-$, $-C(O)(CH_2)_mC(O)NH-$, 또는 $-C(O)NH-$이고, 여기서 m은 0-10 범위의 정수이고, 바람직하게는 m = 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고, 가장 바람직하게는 m = 2 또는 3이고;

[0221] - 바람직하게는 L^1은 $(W)_k$를 통해 Q에 그리고 $(C(O))_g$를 통해, 바람직하게는 C(O)를 통해 L^2, L^3, L^4 또는 D에, 바람직하게는 L^2에 연결된다.

[0222] 본 실시양태의 맥락에서, 구조 (**23**)의 물결선은 $(W)_k$, $(B)_e$, 및 $(C(O))_g$와 같은 인접한 기에 대한 연결을 나타낸다. A는 구조 (**23**)에 따른 것이 바람직하며, 여기서 a = 1이고 R^{13} = H 또는 C_1-C_{20} 알킬기, 더 바람직하게는 R^{13} = H 또는 메틸, 가장 바람직하게는 R^{13} = H이다.

[0223] 바람직한 링커 L^1은 구조 $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-$를 가지며, 여기서:

[0224] (a) k = 0; d = 1; g = 1; f = 0; B = $-CH_2-CH_2-O-$; e = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e = 2이다.

[0225] (b) k = 1; W = $-C(O)(CH_2)_mC(O)NH-$; m = 2; d = 0; $(B)_e$ = $-(CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-CH_2-$; f = 0; g = 1; e1 = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e = 1이다.

[0226] (c) k = 1; W = $-OC(O)NH-$; d = 0; B = $-CH_2-CH_2-O-$; g = 1; f = 0; e = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e = 2이다.

[0227] (d) k = 1; W = $-C(O)(CH_2)_mC(O)NH-$; m = 2; d = 0; $(B)_e$ = $-(CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-CH_2-$; f = 0; g = 1; e1 = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e1 = 4이다.

[0228] (e) k = 1; W = -OC(O)NH-; d = 0; $(B)_e$ = $-(CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-CH_2-$; g = 1; f = 0; e1 = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e1 = 4이다.

[0229] (f) k = 1; W = $-(4-Ph)CH_2NHC(O)(CH_2)_mC(O)NH-$, m = 3; d = 0; $(B)_e$ = $-(CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-CH_2-$; g = 1; f = 0; e1 = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e1 = 4이다.

[0230] (g) k = 0; d = 0; g = 1; f = 0; B = $-CH_2-CH_2-O-$; e = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e = 2이다.

[0231] (h) k = 1; W = -C(O)NH-; d = 0; g = 1; f = 0; B = $-CH_2-CH_2-O-$; e = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e = 2이다.

[0232] 바람직한 실시양태에서, 링커 L^1은 Q 또는 Z와 $(L^2)_o$ 사이의 골격에 위치하고 치환기로서 추가 모이어티 D를 함유하는 분지 질소 원자를 포함하며, 이는 바람직하게는 링커를 통해 분지 질소 원자에 연결된다. 분지 질소 원자의 예는 구조 (23)의 질소 원자 NR^{13}이며, 여기서 R^{13}은 스페이서 모이어티를 통해 D의 제2 발생에 연결된다. 대안적으로, 분지 질소 원자는 구조 $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-$에 따라 L^1 내에 위치할 수 있다. 일 실시양태에서, L^1은 $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-N*[-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_{g'}-]_2$로 표현되며, 여기서 A, B, W, d, e, f, g 및 k는 위에 정의된 바와 같고 각각의 발생에 대해 개별적으로 선택되고, N*은 $-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_{g'}-$의 2개의 인스턴스가 연결되는 분지 질소 원자이다. 여기서, 두 $(C(O))_{g'}$ 모이어티 모두는 $-(L^2)_o-(L^3)_p-(L^4)_q-D$에 연결되며, 여기서 L^2, L^3, L^4, o, p, q 및 D는 위에 정의된 바와 같고 각각 개별적으로 선택된다. 바람직한 실시양태에서, L^2, L^3, L^4, o, p, q 및 D 각각은 $(C(O))_{g'}$에 연결된 두 모이어티 모두에 대해 동일하다.

[0233] 분지 질소 원자를 포함하는 바람직한 링커 L^1은 구조 $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-N*[-(A')_{d'}-(B')_{e'}-(A')_{f'}-(C(O))_{g'}-]_2$를 가지며, 여기서:

[0234] (i) k = d = g = e' = 1이고; f = d' = g' = 0이고; W = -C(O)-이고; B = B' = $-CH_2-CH_2-O-$이고; A는 구조 (23)에 따라 a = 0이고 R^{13} = H이고; e = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e = 2이다.

[0235] (j) k = d = g = e' = g' = 1이고; f = d' = 0이고; W = -C(O)-이고; B = B' = $-CH_2-CH_2-O-$이고; A는 구조 (23)에 따라 a = 0이고 R^{13} = H이고; e = 1, 2, 3 또는 4, 바람직하게는 e = 2이다.

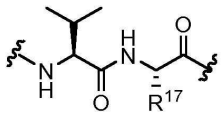
[0236] *링커 L^2*

[0237] 링커 L^2는 부재하거나 (o = 0), 존재한다 (o = 1). 바람직하게는, 링커 L^2가 존재하고 o = 1이다. 링커 L^2는 펩타이드 스페이서이다. 펩타이드 스페이서는 바람직하게는 $(NH-CR^{17}-CO)_n$으로 정의되며, 여기서 R^{17}은 당업계에 알려진 바와 같은 아미노산 측쇄를 나타낸다. 여기서, 아미노산은 자연적 또는 합성적 아미노산일 수 있다. 바람직하게는, 아미노산(들)은 모두 L-입체배열이다. n은 1-5의 범위, 바람직하게는 2-5의 범위의 정수이다. 따라서, 펩타이드 스페이서는 바람직하게는 1-5 개의 아미노산을 함유한다. 바람직하게는, 펩타이드는 다이펩타이드 (n = 2), 트라이펩타이드 (n = 3) 또는 테트라펩타이드 (n = 4)이고, 가장 바람직하게는 펩타이드 스페이서는 다이펩타이드이다. 임의의 펩타이드 스페이서가 사용될 수 있지만, 바람직하게는 펩타이드 스페이서는 Val-Cit, Val-Ala, Val-Lys, Val-Arg, AcLys-Val-Cit, AcLys-Val-Ala, Glu-Val-Ala, Asp-Val-Ala, iGlu-Val-Ala, Glu-Val-Cit, Asp-Val-Cit, iGlu-Val-Cit, Phe-Cit, Phe-Ala, Phe-Lys, Phe-Arg, Ala-Lys, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Ala-Ala-Asn, Ala-Asn, Gly-Gly-Phe-Gly 및 Lys, 더 바람직하게는, Val-Cit, Val-Ala, Glu-Val-Ala, Val-Lys, Phe-Cit, Phe-Ala, Phe-Lys, Ala-Ala-Asn, 더 바람직하게는, Val-Cit, Val-Ala, Ala-Ala-Asn, 가장 바람직하게는, Val-Cit 또는 Val-Ala로부터 선택된다. 여기서, AcLys는 아세틸리신이고, iGlu는 아이소글루타메이트이다. 일 실시양태에서, L^2 = Val-Cit이다. 일 실시양태에서, L^2 = Val-Ala이다.

[0238] R^{17}은 아미노산 측쇄를 나타내며, 바람직하게는 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 페닐알라닌,

글리신, 히스티딘, 이소류신, 리신, 아세틸리신, 류신, 메티오닌, 아스파라진, 피롤리신, 프로린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 셀레노시스테인, 발린, 트립토판, 티로신 및 시트룰린의 측쇄에서 선택된다. 바람직한 아미노산 측쇄는 Val, Cit, Ala, Lys, Arg, AcLys, Phe, Leu, Ile, Trp, Glu, Asp 및 Asn의 측쇄이며, 더 바람직하게는 Val, Cit, Ala, Glu 및 Lys의 측쇄이다. 대안적으로 말하면, R^{17}은 바람직하게는 CH_3 (Ala), $CH_2CH(CH_3)_2$ (Leu), $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ (Cit), $CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ (Lys), $CH_2CH_2CH_2NHC(O)CH_3$ (AcLys), $CH_2CH_2CH_2NHC(=NH)NH_2$ (Arg), CH_2Ph (Phe), $CH(CH_3)_2$ (Val), $CH(CH_3)CH_2CH_3$ (Ile), $CH_2C(O)NH_2$ (Asn), $CH_2CH_2C(O)OH$ (Glu), $CH_2C(O)OH$ (Asp), 및 CH_2(1*H*-인돌-3-일) (Trp)로부터 선택된다. R^{17}의 특히 바람직한 실시양태는 CH_3 (Ala), $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ (Cit), $CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ (Lys), $CH_2CH_2C(O)OH$ (Glu) 및 $CH(CH_3)_2$ (Val)이다. 가장 바람직하게는, R^{17}은 CH_3 (Ala), $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ (Cit), $CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ (Lys), 또는 $CH(CH_3)_2$ (Val)이다.

[0239] 특히 바람직한 실시양태에서, 펩타이드 스페이서는 일반 구조 (L3)으로 표현될 수 있다:



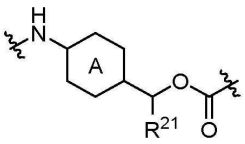
(L3)

[0240]

[0241] 여기서, R^{17}은 위에 정의된 바와 같고, 바람직하게는 R^{17}은 CH_3 (Val) 또는 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ (Cit)이다. 물결선은 $(L^1)_n$ 및 $(L^3)_p$에 대한 연결을 나타내며, 바람직하게는 구조 (L3)에 따른 L^2는 NH를 통해 $(L^1)_n$에 연결되고 C(O)를 통해 $(L^3)_p$에 연결된다.

[0242] *링커 L^3*

[0243] 링커 L^3은 부재하거나 (p = 0), 존재한다 (p = 1). 바람직하게는, 링커 L^3은 존재하고 p = 1이다. 링커 L^3은 자가-절단가능한 스페이서이며, 또한 자가-희생 스페이서로서 지칭된다. 바람직하게는, L^3은 파라-아미노벤질옥시카보닐 (PABC) 유도체이며, 더 바람직하게는 구조 (L4)에 따른 PABC 유도체이다:



(L4)

[0244]

[0245] 여기서, 물결선은 Q 또는 Z, L^1 또는 L^2, 및 L^4 또는 D에 대한 연결을 나타낸다. 전형적으로, PABC 유도체는 NH를 통해 Q, Z, L^1 또는 L^2에, 바람직하게는 L^2에 연결되고, O를 통해 L^4 또는 D에 연결된다.

[0246] A는 5- 또는 6-원 방향족 또는 헤테로방향족 고리, 바람직하게는 6-원 방향족 또는 헤테로방향족 고리이다. 적합한 5-원 고리는 옥사졸, 티아졸 및 푸란이다. 적합한 6-원 고리는 페닐 및 피리딜이다. 바람직한 실시양태에서, A는 1,4-페닐, 2,5-피리딜 또는 3,6-피리딜이다. 가장 바람직하게는, A는 1,4-페닐이다.

[0247] R^{21}은 H, R^{26}, C(O)OH, 및 $C(O)R^{26}$으로부터 선택되며, 여기서 R^{26}은 C_1-C_{24} (헤테로)알킬기, C_3-C_{10} (헤테로)사이클로알킬기, C_2-C_{10} (헤테로)아릴기, C_3-C_{10} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_3-C_{10} (헤테로)아릴알킬기이며, 이들은 임의로 치환되고 임의로 O, S 및 NR^{28}로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어지며, 여기서 R^{28}은 수소 및 C_1-C_4 알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 바람직하게는, R^{26}은 C_3-C_{10} (헤테로)사이클로알킬 또는 폴리알킬렌 글리콜이다. 폴리알킬렌 글리콜은 바람직하게는 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜, 더

바람직하게는 $-(CH_2CH_2O)_sH$, 또는 $-(CH_2CH_2CH_2O)_sH$이다. 폴리알킬렌 글리콜은 가장 바람직하게는 폴리에틸렌 글리콜, 바람직하게는 $-(CH_2CH_2O)_sH$이며, 여기서 s는 1-10, 바람직하게는 1-5 범위의 정수, 가장 바람직하게는 s = 1, 2, 3 또는 4이다. 더 바람직하게는, R^{21}은 H 또는 $C(O)R^{26}$이며, 여기서 R^{26} = 4-메틸-피페라진 또는 모르폴린이다. 가장 바람직하게는, R^{21}은 H이다.

[0248] *링커 L^4*

[0249] 링커 L^4는 부재하거나 (q = 0), 존재한다 (q = 1). 바람직하게는, 링커 L^4는 존재하고 q = 1이다. 링커 L^4는 하기로부터 선택된다:

[0250] - 구조 $-NR^{22}-(C_z-$알킬렌$)-C(O)-$에 따른 아미노알칸산 스페이서, 여기서 z는 1-20 범위의 정수이고 R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬임;

[0251] - 구조 $-NR^{22}-(CH_2-CH_2-O)_{e6}-(CH_2)_{e7}-C(O)-$에 따른 에틸렌글리콜 스페이서, 여기서 e6은 1-10 범위의 정수이고, e7은 1-3 범위의 정수이고 R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬임; 및

[0252] - 구조 $-NR^{22}-(C_z-$알킬렌$)-NR^{22}-(C(O))_h-$에 따른 다이아민 스페이서, 여기서 h는 0 또는 1이고, z는 1-20 범위의 정수이고, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬임.

[0253] 링커 L^4는 아미노알칸산 스페이서, 즉 $-NR^{22}-(C_z-$알킬렌$)-C(O)-$일 수 있으며, 여기서 z는 1 내지 20, 바람직하게는 1-10, 가장 바람직하게는 1-6 범위의 정수이다. 여기서, 아미노알칸산 스페이서는 전형적으로 질소 원자를 통해 L^3에 연결되고 카보닐 모이어티를 통해 D에 연결된다. 바람직한 링커 L^4는 6-아미노헥산산 (Ahx, z = 5), β-알라닌 (z = 2) 및 글리신 (Gly, z = 1)으로부터 선택되고, 보다 더 바람직하게는 6-아미노헥산산 또는 글리신이다. 일 실시양태에서, L^4 = 6-아미노헥산산이다. 일 실시양태에서, L^4 = 글리신이다. 여기서, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이고, 바람직하게는 R^{22}는 H 또는 메틸이고, 가장 바람직하게는 R^{22}는 H이다.

[0254] 대안적으로, 링커 L^4는 구조 $-NR^{22}-(CH_2-CH_2-O)_{e6}-(CH_2)_{e7}-(C(O)-$에 따른 에틸렌글리콜 스페이서일 수 있으며, 여기서 e6은 1-10 범위의 정수이고, 바람직하게는 e6은 2-6 범위의 정수이고, e7은 1-3 범위의 정수이고, 바람직하게는 e7은 2이다. 여기서, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이고, 바람직하게는 R^{22}는 H 또는 메틸이고, 가장 바람직하게는 R^{22}는 H이다.

[0255] 대안적으로, 링커 L^4는 구조 $-NR^{22}-(C_z-$알킬렌$)-NR^{22}-(C(O))_h-$에 따른 다이아민 스페이서일 수 있으며, 여기서 h는 0 또는 1이고, z는 1-20 범위의 정수이고, 바람직하게는 2-6 범위의 정수이며, 보다 더 바람직하게는 z = 2 또는 5이며, 가장 바람직하게는 z = 2이다. R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이다. 여기서, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이며, 바람직하게는 R^{22}는 H 또는 메틸이고, 가장 바람직하게는 R^{22}는 메틸이다. 여기서, h는 바람직하게는 1이고, 이 경우 링커 L^4는 특히 페이로드 D에 존재하는 페놀성 하이드록실기를 통한 컨쥬게이션에 적합하다.

[0256] *페이로드 D*

[0257] D는 항체에 연결되거나 연결될 표적 분자 D를 나타내며, 이는 또한 당업계에서 페이로드로서 지칭된다. D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 튜불리신, 에네다이인, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, BCL-XL 억제제, 헤미아스텔린, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD), 및 이들의 유사체 또는 전구약물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 대안적으로, D는 약학적으로 활성인 물질, 예컨대, 항암제, 바람직하게는 세포독소로서 정의된다. 바람직하게는, D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 마이탄시노이드, 에네다이인, 아마니틴, 아우리스타틴 및 피롤로벤조디아제핀 이합체로 이루어진 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게는 D는 에네다이인, 아우리스타틴 및 캄프토테신으로 이루어진 군으로부

터 선택된다. 일 실시양태에서, D는 에네다이인이다. 일 실시양태에서, D는 아우리스타틴이다. 일 실시양태에서, D는 캄프토테신이다. 가장 바람직하게는, D는 캄프토테신이다.

[0258] 바람직한 실시양태에서, 에네다이인은 칼리키아마이신, 에스페라마이신, 시시지마이신 및 나메나마이신으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게는 칼리키아마이신이다. 다른 바람직한 실시양태에서, 아우리스타틴은 MMAD, MMAE, MMAF, 또는 PF-06380101로 이루어진 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게는 MMAE 또는 PF-06380101이다. 다른 바람직한 실시양태에서, 캄프토테신은 도 6에 묘사된 화합물로부터 선택되고, 바람직하게는 토포테칸, 실라테칸, 코시테칸, 엑사테칸, 엑사테칸-S, DXd, SN-38, 루르토테칸, 기마테칸, 벨로테칸, 루비테칸, AMDCPT 및 G-AMDCPT로 이루어진 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게는 엑사테칸 또는 DXd, 가장 바람직하게는 엑사테칸이다.

[0259] 특히 바람직한 실시양태에서, D는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 D는 엑사테칸이다.

[0260] 일반 구조 (**2**)에 따른 화합물은 하나 초과의 모이어티 D를 포함할 수 있다. 하나 초과의 세포독소 D가 존재하는 경우, 세포독소 D는 동일하거나 상이할 수 있으며, 전형적으로 이들은 동일하다. 바람직한 실시양태에서, 일반 구조 (**2**)에 따른 화합물은 D의 1 또는 2 회 발생, 가장 바람직하게는 D의 2 회 발생을 함유한다. 전형적으로, D의 제2 발생은 링커 L 내에 존재하며, 이는 분지 모이어티, 전형적으로 분지 질소 원자를 함유할 수 있으며, 이는 D의 제2 발생에 연결된다. 바람직하게는, D의 두 발생 모두가 동일한 링커를 통해 분지 모이어티에 연결된다. 마찬가지로, 구조 (**1**)에 따른 항체-컨쥬게이트는 연결기 Z당 하나 초과의 모이어티 D를 함유할 수 있다.

[0261] *바람직한 항체-컨쥬게이트*

[0262] 제1 양태에 따른 바람직한 항체-컨쥬게이트는 화합물 (**I**)-(**III**), 더 바람직하게는 (**II**) 또는 (**III**), 가장 바람직하게는 (**II**)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 더 바람직한 항체-컨쥬게이트는 (**X**)-(**XIII**)로부터 선택된다. 특히 바람직한 일 실시양태에서, 항체-컨쥬게이트는 (**Xa**), (**XIb**), (**XIIg**), (**XIIh**) 및 (**XIIIe**)로부터 선택된다. 훨씬 더 바람직한 실시양태에서, 항체-컨쥬게이트는 (**XI**) 및 (**XIII**), 더 바람직하게는 (**XIb**) 또는 (**XIIIe**)로부터 선택되고, 더 바람직하게는 항체-컨쥬게이트는 (**XIII**)에 따르고, 가장 바람직하게는 (**XIIIe**)에 따른 것이다. 이러한 항체-컨쥬게이트의 구조는 여기에서 아래에 정의되어 있다.

[0263] 항체-컨쥬게이트 (**I**)는 다음의 구조를 갖는다:

[0264] $$AB-[(L^6)-\{Z-(L^1)-(L^2)-(L^3)-(L^4)_q-D\}_x]_y \quad (I)$$

[0265] 여기서:

[0266] - AB, L^6, Z, D, x 및 y는 위에 정의된 바와 같고;

[0267] - L^1은 위에 정의된 바와 같이 $-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-$로 표현되는 링거이고;

[0268] - L^2는 Val-Cit 또는 Val-Ala이고;

[0269] - L^3은 구조 (L4)에 따른 PABC 유도체이고;

[0270] - L^4는 -N-(C_z-알킬렌)-C(O)- 또는 -NR^{22}-(C_z-알킬렌)-NR^{22}-이며, 여기서 z 및 R^{22}는 위에 정의된 바와 같고;

[0271] - q = 0 또는 1임.

[0272] 항체-컨쥬게이트 (**I**)의 맥락에서, L^1의 경우 d = 1 (구조 (**23**)에 따른 A의 경우, a = 1, R^{13} = H인 것이 바람직함), e = 2, f = 0, 그리고 g = 1인 것이 바람직하다. 항체-컨쥬게이트 (**I**)의 맥락에서, L^2 = Val-Cit인 것이 바람직하다. 항체-컨쥬게이트 (**I**)의 맥락에서, L^3의 경우 R^{21} = H인 것이 바람직하다. 항체-컨쥬게이트 (**I**)의 맥락에서, q = 1인 경우 z = 1 또는 5인 것이 바람직하다.

[0273] 특히 바람직한 실시양태에서, 구조 (**I**)에 따른 항체-컨쥬게이트는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테

칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸을 함유한다.

[0274] 항체-컨쥬게이트 (II)는 다음의 구조를 갖는다:

[0275] $AB-[(L^6)-\{Z-(L^1)-(L^2)-(L^3)-D\}_x]_y$ (II)

[0276] 여기서:

[0277] - AB, L^6, Z, D, x 및 y는 위에 정의된 바와 같고;

[0278] - L^1은 위에 정의된 바와 같이 -(A)-$(B)_e$-(C(O))-로 표현되는 링커이고;

[0279] - L^2는 Val-Cit 또는 Val-Ala이고;

[0280] - L^3은 구조 (L4)에 따른 PABC 유도체이며, 여기서 R^{21} = H임.

[0281] 항체-컨쥬게이트 (II)의 맥락에서, 구조 (23)에 따른 L^1, e = 2, A의 경우, a = 1이고 R^{13} = H인 것이 바람직하다. 항체-컨쥬게이트 (II)의 맥락에서, L^2 = Val-Cit인 것이 바람직하다.

[0282] 특히 바람직한 실시양태에서, 구조 (II)에 따른 항체-컨쥬게이트는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸을 함유한다.

[0283] 항체-컨쥬게이트 (III)는 다음의 구조를 갖는다:

[0284] $AB-[(L^6)-\{Z-(L^1)-(L^2)-(L^3)-(L^4)-D\}_x]_y$ (III)

[0285] 여기서:

[0286] - AB, L^6, Z, D, x 및 y는 위에 정의된 바와 같고;

[0287] - L^1은 위에 정의된 바와 같이 -(A)-$(B)_e$-(C(O))-로 표현되는 링커이고;

[0288] - L^2는 Val-Cit 또는 Val-Ala이고;

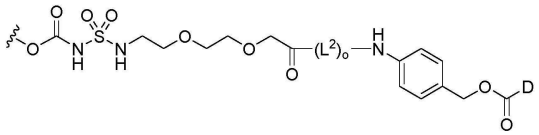
[0289] - L^3은 구조 (L4)에 따른 PABC 유도체이며, 여기서 R^{21} = H이고;

[0290] - L^4는 -NR^{22}-(C_z-알킬렌)-NR^{22}-이며, 여기서 R^{22}는 위에 정의된 바와 같고 z는 1 내지 6 범위의 정수임.

[0291] 항체-컨쥬게이트 (III)의 맥락에서, L^1의 경우 e = 2이고, a = 1이고 R^{13} = H인 것이 바람직하다. 항체-컨쥬게이트 (III)의 맥락에서, L^2 = Val-Cit인 것이 바람직하다. 항체-컨쥬게이트 (III)의 맥락에서, z = 2인 것이 바람직하다.

[0292] 특히 바람직한 실시양태에서, 구조 (III)에 따른 항체-컨쥬게이트는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸을 함유한다.

[0293] 항체-컨쥬게이트 (**X**)는 다음의 구조에 따른 링커-페이로드 모이어티를 갖는다:



[0294] (**X**)

[0295] 여기서:

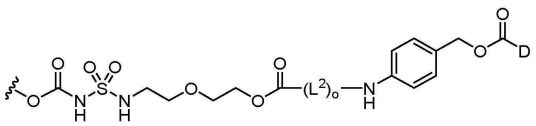
[0296] - 물결선은 Z에 대한 연결을 나타내고;

[0297] - L^2, o 및 D는 위에 정의된 바와 같음.

[0298] L^2는 존재하거나 부재할 수 있으며, 바람직하게는 L^2는 존재하고 o = 1이다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**Xa**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고 R^{17}은 CH_3이다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**Xb**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고 R^{17}은 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이다. 항체-컨쥬게이트 (**X**)는 바람직하게는 구조 (**Xa**)를 갖는다.

[0299] 특히 바람직한 실시양태에서, 구조 (**X**)에 따른 항체-컨쥬게이트는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸을 함유한다.

[0300] 항체-컨쥬게이트 (**XI**)는 다음의 구조에 따른 링커-페이로드 모이어티를 갖는다:



[0301] (**XI**)

[0302] 여기서:

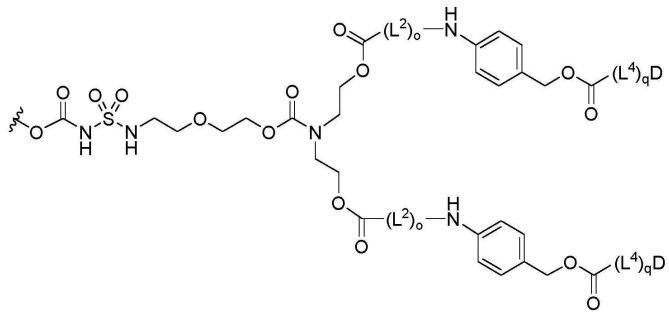
[0303] - 물결선은 Z에 대한 연결을 나타내고;

[0304] - L^2, o 및 D는 위에 정의된 바와 같음.

[0305] L^2는 존재하거나 부재할 수 있으며, 바람직하게는 L^2는 존재하고 o = 1이다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIa**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고 R^{17}은 CH_3이다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIb**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고 R^{17}은 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이다. 항체-컨쥬게이트 (**XI**)는 바람직하게는 구조 (**XIb**)를 갖는다.

[0306] 특히 바람직한 실시양태에서, 구조 (**XI**)에 따른 항체-컨쥬게이트는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 칼리키아마이신을 함유한다.

[0307] 항체-컨쥬게이트 (**XII**)는 다음의 구조에 따른 링커-페이로드 모이어티를 갖는다:



[0308] (**XII**)

[0309] 여기서:

[0310] - 물결선은 Z에 대한 연결을 나타내고;

[0311] - L^2, L^4, o, q 및 D는 위에 정의된 바와 같음.

[0312] L^2는 존재하거나 부재할 수 있으며, 바람직하게는 L^2는 존재하고 o = 1이다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIa**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고 R^{17}은 CH_3이다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIb**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고 R^{17}은 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이다. 바람직하게는 R^{17} = $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이다.

[0313] L^4는 존재하거나 부재할 수 있다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIc**)의 경우, q = 0이고 L^4는 부재한다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIId**)의 경우, q = 1이고 L^4는 구조 $-NR^{22}-(C_z-$알킬렌$)-NR^{22}-$에 따른 다이아민 스페이서이며, 여기서 z는 1-20 범위의 정수이고, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이다.

[0314] 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIe**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고, R^{17}은 CH_3이고, q = 0이고, L^4는 부재한다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIf**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고, R^{17}은 CH_3이고, q = 1이고, L^4는 구조 $-NR^{22}-(C_z-$알킬렌$)-NR^{22}-$에 따른 다이아민 스페이서이며, 여기서 z는 1-10 범위의 정수이고, 바람직하게는 여기서 z = 2이고, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이다.

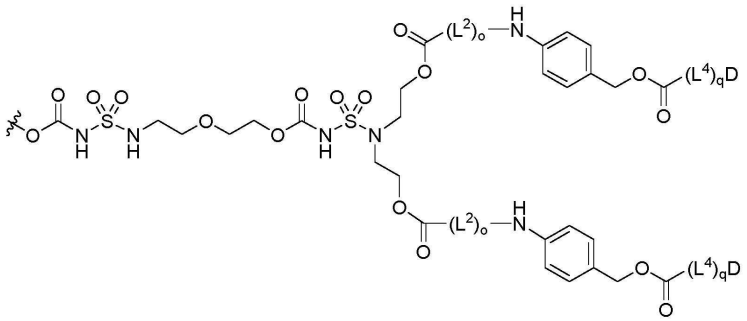
[0315] 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIg**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고, R^{17}은 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이고, q = 0이며, L^4는 부재한다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIh**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고, R^{17}은 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이고, q = 1이며, L^4는 구조 $-NR^{22}-(C_z-$알킬렌$)-NR^{22}-$에 따른 다이아민 스페이서이며, 여기서 z는 1-20 범위의 정수이고, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이다.

[0316] 항체-컨쥬게이트 (**XII**)의 맥락에서, z는 1-10, 더 바람직하게는 z = 2-6의 범위의 정수, 가장 바람직하게는 z = 2인 것이 바람직하다. 항체-컨쥬게이트 (**XII**)의 맥락에서, R^{22}는 H 또는 CH_3인 것이 추가로 바람직하다.

[0317] 항체-컨쥬게이트 (**XII**)의 맥락에서, 구조 (**XIIg**) 및 (**XIIh**)가 가장 바람직하다.

[0318] 특히 바람직한 실시양태에 있어서, 구조 (**XII**)에 따른 항체-컨쥬게이트는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸을 함유한다.

[0319] 항체-컨쥬게이트 (**XIII**)는 다음의 구조에 따른 링커-페이로드 모이어티를 갖는다:



(**XIII**)

[0320]

[0321] 여기서:

[0322] - 물결선은 Z에 대한 연결을 나타내고;

[0323] - L^2, L^4, o, q 및 D는 위에 정의된 바와 같음.

[0324] L^2는 존재하거나 부재할 수 있으며, 바람직하게는 L^2는 존재하고 o = 1이다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIIa**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고 R^{17}은 CH_3이다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIIb**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고 R^{17}은 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이다. 바람직하게는, R^{17} = CH_3이다.

[0325] L^4는 존재하거나 부재할 수 있다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIIc**)의 경우, q = 0이고 L^4는 부재한다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIId**)의 경우, q = 1이고 L^4는 구조 -NR^{22}-(C_z-알킬렌)-NR^{22}-에 따른 다이아민 스페이서이며, 여기서 z는 1-20 범위의 정수이고, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이다.

[0326] 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIIe**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고, R^{17}은 CH_3이고, q = 0이고, L^4는 부재한다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIIf**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고, R^{17}은 CH_3이고, q = 1이고, L^4는 구조 -NR^{22}-(C_z-알킬렌)-NR^{22}-에 따른 다이아민 스페이서이며, 여기서 z는 1-10 범위의 정수이고, 바람직하게는 여기서 z = 2이고, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이다.

[0327] 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIIg**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고, R^{17}은 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이고, q = 0이며, L^4는 부재한다. 바람직한 항체-컨쥬게이트 (**XIIIh**)의 경우, L^2는 구조 (L3)에 따르고, R^{17}은 $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$이고, q = 1이며, L^4는 구조 -NR^{22}-(C_z-알킬렌)-NR^{22}-에 따른 다이아민 스페이서이며, 여기서 z는 1-20 범위의 정수이고, R^{22}는 H 또는 C_1-C_4 알킬이다.

[0328] 항체-컨쥬게이트 (**XIII**)의 맥락에서, z는 1-10, 더 바람직하게는 z = 2-6의 범위의 정수, 가장 바람직하게는 z = 2인 것이 바람직하다. 항체-컨쥬게이트 (**XIII**)의 맥락에서, R^{22}는 H 또는 CH_3인 것이 추가로 바람직하다.

[0329] 항체-컨쥬게이트 (**XIII**)의 맥락에서, 구조 (**XIIIe**)가 가장 바람직하다.

[0330] 특히 바람직한 실시양태에서, 구조 (**XIII**)에 따른 항체-컨쥬게이트는 칼리키아마이신, MMAE, PF-06380101, 엑사테칸 및 DXd로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 더 바람직하게는 칼리키아마이신, MMAE 및 엑사테칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 페이로드 D, 가장 바람직하게는 페이로드 D로서 엑사테칸을 함유한다.

[0331] 특히 바람직한 일 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 위에 정의된 바와 같은 구조 (**XIb**)에 따르고, 항체는 위에 정의된 바와 같은 라베투주맙 또는 위에 정의된 바와 같은 투사미타맙이며, 페이로드는 칼리키아마이신이다.

[0332] 특히 바람직한 일 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 위에 정의된 바와 같은 구조 (**XIIIe**)에 따르고, 항체는 위에 정의된 바와 같은 라베투주맙 또는 위에 정의된 바와 같은 투사미타맙이며, 페이로드는 엑사테칸이다.

[0333] 특히 바람직한 일 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 위에 정의된 바와 같은 구조 (**XIIIe**)에 따르고, 항체는 위에 정의된 바와 같은 라베투주맙이고, 페이로드는 엑사테칸이다.

[0334] 이러한 바람직한 항체-컨쥬게이트는 글리칸, 즉, b = 1, 더 바람직하게는 트리밍된 글리칸, 즉, j = 0을 통해 컨쥬게이션되는 것이 추가로 바람직하다. 여기서, S = GalNAc 및 w' = 0인 것이 추가로 바람직하다. 여기서, 연결기 Z가 아자이드-알킨 사이클로첨가에 의해 형성되고, 바람직하게는 연결기 Z = (Z39)인 것이 추가로 바람직하며, 여기서 고리 Z = (Za) 및 V = CH_2이다. 여기서, x = 1인 것이 추가로 바람직하다. 여기서, y = 2인 것이 추가로 바람직하고, 더 바람직하게는 x = 1이고 y = 2인 것이 추가로 바람직하다.

[0335] 가장 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 위에 정의된 바와 같은 구조 (**XIIIe**)에 따르고, 항체는 위에 정의된 바와 같은 라베투주맙이고, 페이로드는 엑사테칸이며, 여기서 b = 1, e = 0, S =

GalNAc, w' = 0, 연결기 Z = (Z39)이며, 여기서 고리 Z = (Za) 및 V = CH_2, x = 1 및 y = 2이다.

[0336] 일반 구조 (2)에 따른 화합물

[0337] 화합물은 하기 일반 구조 (2)를 갖는다:

Q–L–D

(2)

[0338]

[0339] 여기서:

[0340] - Q는 반응성 모이어티이고;

[0341] - L은 Z를 D에 연결하는 링커이고;

[0342] - D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 튜불리신, 에네다이인, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, BCL-XL 억제제, 헤미아스텔린, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD), 및 이들의 유사체 또는 전구약물로 이루어진 군으로부터 선택됨.

[0343] 일반 구조 (2)의 화합물은 또한 최종 컨쥬게이트의 링커 L 및 페이로드 D를 함유하기 때문에 "링커-약물 작제물"로서 지칭될 수 있다. 일반식 (2)에 따른 화합물은 표준 유기 합성 기술을 사용하여 그리고 실시예에 예시된 바와 같이 당업자에 의해 제조될 수 있다. 링커 L 및 페이로드 D는 구조 (1)에 따른 컨쥬게이트의 맥락에서 위에 정의되어 있다.

[0344] *반응성 모이어티 Q*

[0345] 일반 구조 (2)에 따른 화합물은 반응성 모이어티 Q를 포함한다. 본 발명의 맥락에서, 용어 "반응성 모이어티"는 반응성 기를 포함하는 화학적 모이어티를 지칭할 수 있지만, 반응성 기 자체를 또한 지칭할 수 있다. 예를 들어, 사이클로옥틴일기는 반응성 기, 즉 C-C 삼중 결합을 포함하는 반응성 기이다. 유사하게, *N*-말레이미딜기는 반응성 기로서 C-C 이중 결합을 포함하는 반응성 기이다. 그러나, 반응성 기, 예를 들어, 아지도 반응성 기, 티올 반응성 기 또는 알키닐 반응성 기는 본원에서 반응성 모이어티로서 또한 지칭될 수 있다.

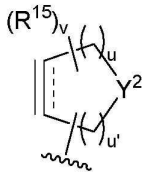
[0346] Q는 $S(F)_x$에 대한 연결을 위한 화학적 핸들 역할을 한다. 다시 말해, Q는 F에 대해 반응성이 있고 F에 대해 상보적이다. 여기서, 반응성 기는 상기 반응성 기가 선택적으로, 임의로 다른 기능적 기의 존재 하에 상기 반응성 기와 반응할 때 반응성 기에 대해 "상보적"으로서 표시된다. 상보적 반응성 기 및 기능적 기는 당업자에게 알려져 있으며, 아래에 더 상세히 기재되어 있다. 이와 같이, 일반 구조 (2)에 따른 화합물은 컨쥬게이션 반응에서 편리하게 사용되며, 여기서 Q와 F 사이의 화학 반응이 일어나서, 페이로드 D와 항체 사이의 공유 연결을 포함하는 항체-컨쥬게이트를 형성한다.

[0347] Q 및 F의 정확한 성질은 사용되는 컨쥬게이션 반응의 유형에 따라 좌우된다. 당업자는 Q 및 F의 적절한 조합을 선택할 수 있을 것이다. 바람직하게는, Q, 및 이에 따라 또한 F는 사이클로첨가 또는 친핵성 반응에서 반응성이 있다. 따라서, Q는 바람직하게는 클릭 프로브, 티올, 티올-반응성 모이어티, 아민 또는 아민-반응성 모이어티를 포함하고, 더 바람직하게는 Q는 클릭 프로브, 티올-반응성 모이어티 또는 아민-반응성 모이어티이고, 가장 바람직하게는 Q는 클릭 프로브이다. 클릭 프로브는 사이클로첨가 (클릭 반응)에서 반응성이 있으며, 바람직하게는 아자이드, 테트라진, 트리아진, 니트론, 나이트릴 옥사이드, 나이트릴 이민, 디아조 화합물, 오르토-퀴논, 다이옥소티오펜, 시드논, 알켄 모이어티 및 알킨 모이어티로부터 선택된다. 바람직하게는, 클릭 프로브는 알켄 모이어티 또는 알킨 모이어티이거나, 이를 포함하며, 더 바람직하게는 여기서 알켄은 (헤테로)사이클로알켄이고/이거나, 알킨은 말단 알킨 또는 (헤테로)사이클로알킨이다. 전형적인 티올-반응성 모이어티는 말레이미드 모이어티, 할로아세트아마이드 모이어티, 알렌아마이드 모이어티, 포스폰아미다이트 모이어티, 시아노에틴일 모이어티, 비닐설폰, 비닐피리딘 모이어티 또는 메틸설포닐페닐옥사디아졸 모이어티로부터 선택된다. 가장 바람직하게는, 티올-반응성 모이어티는 말레이미드 모이어티이거나 이를 포함한다. 전형적인 아민-반응성 모이어티는 N-하이드록시석신이미딜 에스테르 및 기타 활성화된 에스테르, *p*-나이트로페닐 카보네이트 및 기타 활성화된 카보네이트, 아이소시아네이트, 아이소티오시아네이트, 할로아세트아마이드 및 벤질 할라이드로부터 선택된다. 바람직한 실시양태에서, Q는 알켄 모이어티, 알킨 모이어티, 티올-반응성 모이어티 또는 아민-반응성 모이어티, 더 바람직하게는 알켄 모이어티 또는 알킨 모이어티, 보다 더 바람직하게는 알킨 모이어티로부터 선택된다. 여기서, 알켄은 바람직하게는 (헤테로)사이클로알켄이고 알킨은 바람직하게는 말단 알킨 또는 (헤테로)사이클로알킨이다. 가장 바람직하게는, Q는 사이클릭 (헤테로)알킨 모이어티이다. 이러한 모이어티 각각은 여기에서 아래

에 추가로 정의되어 있다.

[0348] 따라서, 특히 바람직한 실시양태에서, Q는 사이클릭 (헤테로)알킨 모이어티를 포함한다. 알키닐기는 또한 (헤테로)사이클로알키닐기, 즉, 헤테로사이클로알키닐기 또는 사이클로알키닐기로서 지칭될 수 있으며, 여기서 (헤테로)사이클로알키닐기는 임의로 치환된다. 바람직하게는, (헤테로)사이클로알키닐기는 (헤테로)사이클로헵틴일기, (헤테로)사이클로옥틴일기, (헤테로)사이클로노니닐기 또는 (헤테로)사이클로데신일기이다. 여기서, (헤테로)사이클로알킨은 임의로 치환될 수 있다. 바람직하게는, (헤테로)사이클로알키닐기는 임의로 치환된 (헤테로)사이클로헵틴일기 또는 임의로 치환된 (헤테로)사이클로옥틴일기이다. 가장 바람직하게는, (헤테로)사이클로알킨일기는 (헤테로)사이클로옥틴일기이며, 여기서 (헤테로)사이클로옥틴일기는 임의로 치환된다.

[0349] 특히 바람직한 실시양태에서, Q는 (헤테로)사이클로알킨일 또는 (헤테로)사이클로알케닐기를 포함하고 구조 (Q1)에 따른 것이다:



[0350] (Q1)

[0351] 여기서:

[0352] - - - -로서 묘사된 결합은 이중 결합 또는 삼중 결합이고;

[0353] - R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, $-NO_2$, -CN, $-S(O)_2R^{16}$, $-S(O)_3^{(-)}$, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 알킬기, (헤테로)아릴기, 알킬(헤테로)아릴기 및 (헤테로)아릴알킬기는 임의로 치환되고, 여기서 2 개의 치환기 R^{15}는 함께 연결되어, 임의로 치환된 고리형 사이클로알킬 또는 임의로 치환된 고리형 (헤테로)아렌 치환기를 형성할 수 있고, 여기서 R^{16}은 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0354] - Y^2는 $C(R^{31})_2$, O, S, $S^{(+)}R^{31}$, $S(O)R^{31}$, $S(O)=NR^{31}$, 또는 NR^{31}이며, 여기서 $S^{(+)}$는 $B^{(-)}$에 의해 균형을 이루는 양이온성 황 원자이고, 여기서 $B^{(-)}$는 음이온이고, 여기서 각각의 R^{31}은 개별적으로 R^{15}이거나 L을 통해 연결된 D와의 연결이고;

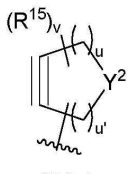
[0355] - u는 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

[0356] - u'은 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이며, 여기서 u + u' = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

[0357] - v = 0-16 범위의 정수임.

[0358] 전형적으로, v = (u + u') x 2 (물결모양 결합으로 묘사된 L에 대한 연결이 Y^2를 통한 경우) 또는 [(u + u') x 2] - 1 (물결모양 결합으로 묘사된 L에 대한 연결이 탄소 원자 중 하나를 통한 경우)이다.

[0359] 구조 (Q1)의 바람직한 실시양태에서, 반응성 기 Q는 (헤테로)사이클로알키닐기를 포함하고 구조 (Q1a)에 따른 것이다:



[0360] (Q1a)

[0361] 여기서,

[0362] - R^{15} 및 Y^{2}는 위에 정의된 바와 같고;

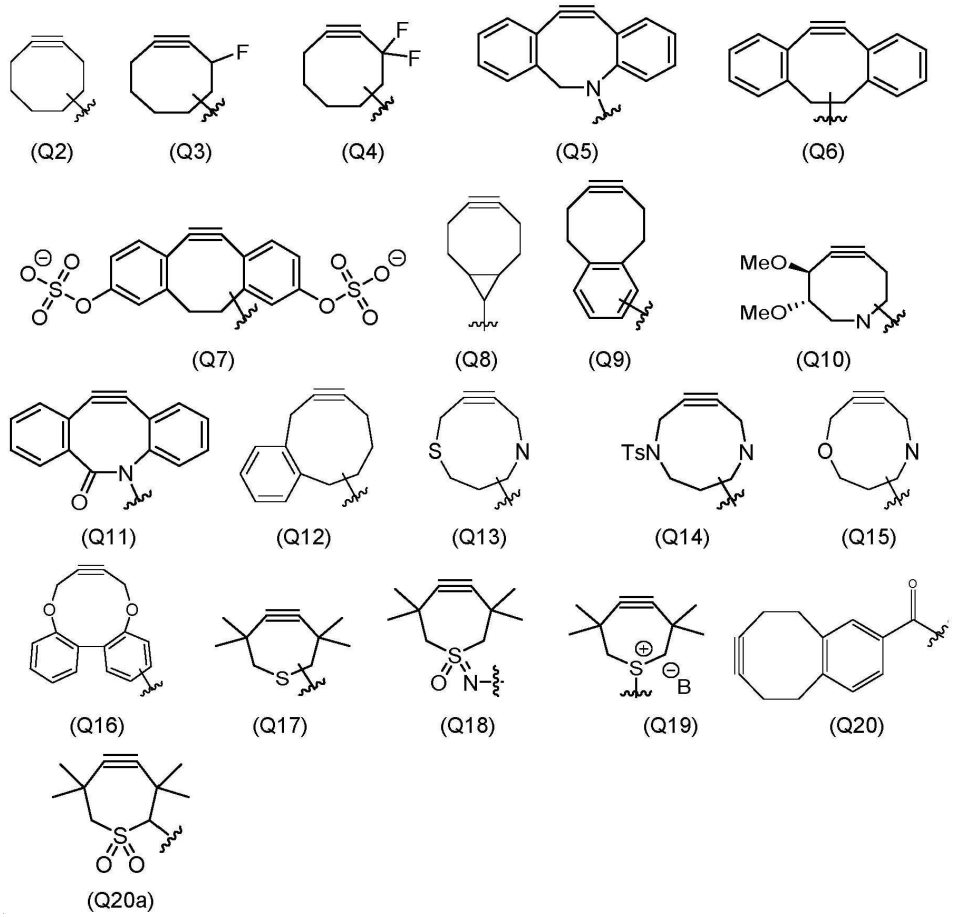
[0363] - u는 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

[0364] - u'는 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이며, 여기서 u + u' = 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

[0365] - v = 8-16 범위의 정수임.

[0366] 바람직한 실시양태에서, u + u' = 4, 5 또는 6이고, 더 바람직하게는 u + u' = 5이다. 바람직한 실시양태에서, v = 8, 9 또는 10이고, 더 바람직하게는 v = 9 또는 10이고, 가장 바람직하게는 v = 10이다.

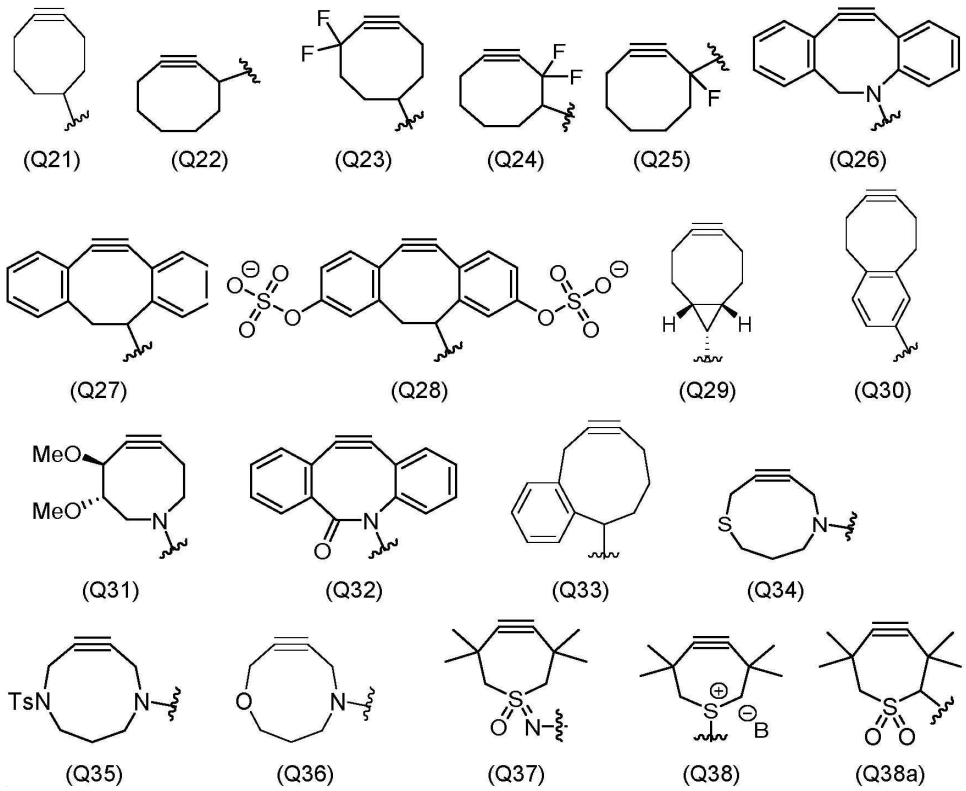
[0367] 바람직한 실시양태에서, Q는 여기서 아래에 묘사된 (Q2)-(Q20) 및 (Q20a)로 이루어진 군으로부터 선택된 (헤테로)사이클로알키닐기이다.



[0368]

[0369] 여기서, 물결모양 결합으로 묘사된 L에 대한 연결은 Q의 임의의 이용가능한 탄소 또는 질소 원자에 대한 것일 수 있다. (Q10), (Q13), (Q14) 및 (Q15)의 질소 원자는 L에 대한 연결을 보유할 수 있거나, 수소 원자를 함유하거나, 임의로 기능화될 수 있다. $B^{(-)}$는 음이온이며, 이는 바람직하게는 $^{(-)}OTf$, $Cl^{(-)}$, $Br^{(-)}$, 또는 $I^{(-)}$로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 $B^{(-)}$는 $^{(-)}OTf$이다. 컨쥬게이션 반응에서, $B^{(-)}$는 약학적으로 허용가능한 음이온일 필요가 없는데, $B^{(-)}$는 어차피 반응 혼합물에 존재하는 음이온과 교환될 것이기 때문이다. (Q19)가 Q에 사용되는 경우, 음으로 하전된 반대-이온은 바람직하게는 발명에 따른 컨쥬게이트의 단리 시 약학적으로 허용가능하고, 그에 따라 컨쥬게이트는 의약으로서 용이하게 사용가능하다.

[0370] 추가의 바람직한 실시양태에서, Q는 여기서 아래에 묘사된 (Q21)-(Q38) 및 (Q38a)로 이루어진 군으로부터 선택된 (헤테로)사이클로알키닐기이다.



[0371]

[0372] 구조 (Q38)에서, $B^{(-)}$는 음이온이며, 이는 바람직하게는 $^{(-)}OTf$, $Cl^{(-)}$, $Br^{(-)}$, 또는 $I^{(-)}$로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 $B^{(-)}$는 $^{(-)}OTf$이다.

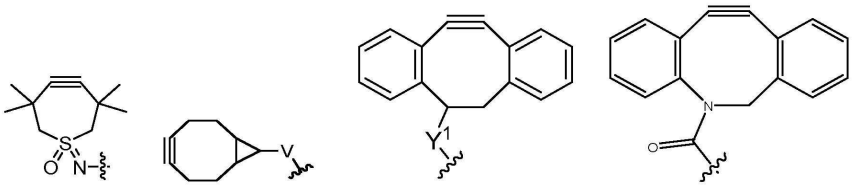
[0373] 바람직한 실시양태에서, Q는 바람직하게는 구조 (Q8), (Q26), (Q27), (Q28), (Q37) 또는 (Q38a)에 따른, 더 바람직하게는 구조 (Q8), (Q26), (Q27), (Q28) 또는 (Q37)에 따른, (헤테로)사이클로옥틴 모이어티 또는 (헤테로)사이클로헵틴 모이어티를 포함하며, 이들은 임의로 치환된다. Q에 대한 이러한 바람직한 옵션 각각은 본원에서 아래에 추가로 정의되어 있다.

[0374] 따라서, 바람직한 실시양태에서, Q는 구조 (Q37)에 따른 헤테로사이클로헵틴 모이어티를 포함하며, 이는 TMTHSI로서 또한 지칭되며, 이는 임의로 치환된다. 바람직하게는, 구조 (Q37)에 따른 헤테로사이클로헵틴 모이어티는 치환되지 않는다.

[0375] 대안적인 바람직한 실시양태에서, Q는 구조 (Q8)에 따른, 더 바람직하게는 (Q29)에 따른 사이클로옥틴 모이어티를 포함하며, 이는 바이사이클로[6.1.0]논-4-인-9-일] 기 (BCN 기)로서 또한 지칭되며, 이는 임의로 치환된다. 바람직하게는, 구조 (Q8) 또는 (Q29)에 따른 사이클로옥틴 모이어티는 치환되지 않는다. 본 실시양태의 맥락에서, Q는 바람직하게는 아래에 도시된 바와 같은 구조 (Q39)에 따른 (헤테로)사이클로옥틴 모이어티이며, 여기서 V는 $(CH_2)_l$이고 l은 0 내지 10의 범위, 바람직하게는 0 내지 6의 범위의 정수이다. 더 바람직하게는, l은 0, 1, 2, 3 또는 4이고, 더 바람직하게는 l은 0, 1 또는 2이고, 가장 바람직하게는 l은 0 또는 1이다. 기 (Q39)의 맥락에서, l은 가장 바람직하게는 1이다. 가장 바람직하게는, Q는 아래에 추가로 정의된 구조 (Q42)에 따른 것이다.

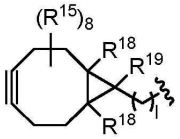
[0376] 대안적인 바람직한 실시양태에서, Q는 구조 (Q26), (Q27) 또는 (Q28)에 따른 (헤테로)사이클로옥틴 모이어티를 포함하며, 이는 DIBO, DIBAC, DBCO 또는 ADIBO 기로서 또한 지칭되며, 이는 임의로 치환된다. 본 실시양태의 맥락에서, Q는 바람직하게는 아래에 도시된 바와 같은 구조 (Q40) 또는 (Q41)에 따른 (헤테로)사이클로옥틴 모이어티이며, 여기서 Y^1은 O 또는 NR^{11}이고, 여기서 R^{11}은 수소, 선형 또는 분지형 C_1-C_{12} 알킬기 또는 C_4-C_{12} (헤테로)아릴기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. (Q40) 내 방향족 고리는 임의로 하나 이상의 위치에서 O-설포닐화되는 반면, (Q41)의 고리는 하나 이상의 위치에서 할로겐화될 수 있다. 바람직하게는, 구조 (Q40) 또는 (Q41)에 따른 (헤테로)사이클로옥틴 모이어티는 추가로 치환되지 않는다. 가장 바람직하게는, Q는 아래에 추가로 정의된 구조 (Q43)에 따른 것이다.

[0377] 대안적인 바람직한 실시양태에서, Q는 헤테로사이클로헵틴일기를 포함하고 구조 (Q37)에 따른 것이다.



[0378] (Q37) (Q39) (Q40) (Q41)

[0379] 특히 바람직한 실시양태에서, Q는 사이클로옥틴일기를 포함하고 구조 (Q42)에 따른 것이다:



[0380] (Q42)

[0381] 여기서:

[0382] - R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, $-NO_2$, -CN, $-S(O)_2R^{16}$, $-S(O)_3^{(-)}$, C_1-C_{24} 알킬기, C_5-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 알킬기, (헤테로)아릴기, 알킬(헤테로)아릴기 및 (헤테로)아릴알킬기는 임의로 치환되고, 여기서 2 개의 치환기 R^{15}는 함께 연결되어, 임의로 치환된 고리형 사이클로알킬 또는 임의로 치환된 고리형 (헤테로)아렌 치환기를 형성할 수 있고, 여기서 R^{16}은 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

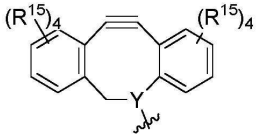
[0383] - R^{18}은 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0384] - R^{19}는 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되며, 알킬기는 임의로 O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로-원자에 의해 끊어지고, 여기서 알킬기, (헤테로)아릴기, 알킬(헤테로)아릴기 및 (헤테로)아릴알킬기는 독립적으로 임의로 치환되거나, R^{19}는 스페이서 모이어티를 통해 연결된 Q 또는 D의 제2 발생이고;

[0385] - l은 0 내지 10 범위의 정수임.

[0386] 구조 (Q42)에 따른 반응성 기의 바람직한 실시양태에서, R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, C_1-C_6 알킬기, C_5-C_6 (헤테로)아릴기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 R^{16}은 수소 또는 C_1-C_6 알킬이고, 더 바람직하게는 R^{15}는 수소 및 C_1-C_6 알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 가장 바람직하게는 모든 R^{15}는 H이다. 구조 (Q42)에 따른 반응성 기의 바람직한 실시양태에서, R^{18}은 수소, C_1-C_6 알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 가장 바람직하게는 두 R^{18} 모두는 H이다. 구조 (Q42)에 따른 반응성 기의 바람직한 실시양태에서, R^{19}는 H이다. 구조 (Q42)에 따른 반응성 기의 바람직한 실시양태에서, l은 0 또는 1이고, 더 바람직하게는 l은 1이다.

[0387] 특히 바람직한 실시양태에서, Q는 (헤테로)사이클로옥틴일기를 포함하고 구조 (Q43)에 따른 것이다:



(Q43)

[0388]

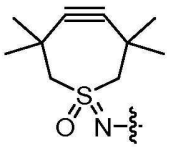
[0389] 여기서:

[0390] - R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, $-NO_2$, -CN, $-S(O)_2R^{16}$, $-S(O)_3^{(-)}$, C_1-C_{24} 알킬기, C_5-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 알킬기, (헤테로)아릴기, 알킬(헤테로)아릴기 및 (헤테로)아릴알킬기는 임의로 치환되고, 여기서 2 개의 치환기 R^{15}는 함께 연결되어, 임의로 치환된 고리형 사이클로알킬 또는 임의로 치환된 고리형 (헤테로)아렌 치환기를 형성할 수 있고, 여기서 R^{16}은 수소, 할로겐, C_1-C_{24} 알킬기, C_6-C_{24} (헤테로)아릴기, C_7-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기 및 C_7-C_{24} (헤테로)아릴알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

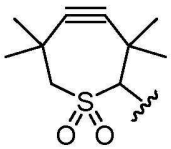
[0391] - Y는 N 또는 CR^{15}임.

[0392] 구조 (Q43)에 따른 반응성 기의 바람직한 실시양태에서, R^{15}는 수소, 할로겐, $-OR^{16}$, $-S(O)_3^{(-)}$, C_1-C_6 알킬기, C_5-C_6 (헤테로)아릴기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 R^{16}은 수소 또는 C_1-C_6 알킬이고, 더 바람직하게는 R^{15}는 수소 및 $-S(O)_3^{(-)}$로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 구조 (Q43)에 따른 반응성 기의 바람직한 실시양태에서, Y는 N 또는 CH이고, 더 바람직하게는 Y = N이다.

[0393] 특히 바람직한 실시양태에서, Q는 헤테로사이클로헵틴일기를 포함하고 구조 (Q37) 또는 (Q38a)에 따른 것이고, 바람직하게는 구조 (Q37)에 따른 것이다.



(Q37)

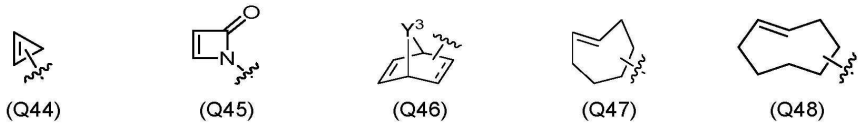


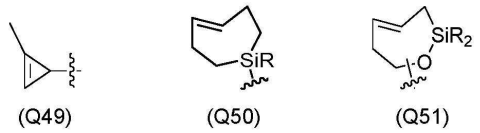
(Q38a)

[0394]

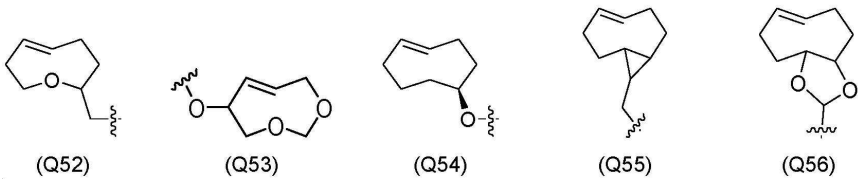
[0395] 대안적인 바람직한 실시양태에서, Q는 사이클릭 알켄 모이어티를 포함한다. 알케닐기 Q는 또한 (헤테로)사이클로알케닐기, 즉, 헤테로사이클로알케닐기 또는 사이클로알케닐기, 바람직하게는 사이클로알케닐기로서 또한 지칭될 수 있으며, 여기서 (헤테로)사이클로알케닐기는 임의로 치환된다. 바람직하게는, (헤테로)사이클로알케닐기는 (헤테로)사이클로프로펜일기, (헤테로)사이클로부텐일기, 노르보르넨기, 노르보르나디엔기, 트랜스-(헤테로)사이클로헵텐일기, 트랜스-(헤테로)사이클로옥텐일기, 트랜스-(헤테로)사이클로노네닐기 또는 트랜스-(헤테로)사이클로데세닐기이며, 이는 모두 임의로 치환될 수 있다. 특히 바람직한 것은 (헤테로)사이클로프로펜일기, 트랜스-(헤테로)사이클로헵텐일기 또는 트랜스-(헤테로)사이클로옥텐일기이며, 여기서 (헤테로)사이클로프로펜일기, 트랜스-(헤테로)사이클로헵텐일기 또는 트랜스-(헤테로)사이클로옥텐일기는 임의로 치환된다. 바람직하게는, Q는 구조 (Q44)에 따른 사이클로프로펜일 모이어티, 구조 (Q45)에 따른 헤테레오사이클로부텐 모이어티, 구조 (Q46)에 따른 노르보르넨 또는 노르보르나디엔기, 구조 (Q47)에 따른 트랜스-(헤테로)사이클로헵텐일 모이어티 또는 구조 (Q48)에 따른 트랜스-(헤테로)사이클로옥텐일 모이어티를 포함한다. 여기서, Y^3은 $C(R^{23})_2$, NR^{23} 또는 O로부터 선택되고, 여기서 각각의 R^{23}은 개별적으로 수소, C_1-C_6 알킬이거나, 임의로 스페이서를 통해 L에 연결되고, _ _ _로 표지된 결합은 단일 또는 이중 결합이다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 사이클로프로펜일기는 구조 (Q49)에 따른 것이다. 다른 바람직한 실시양태에서, 트랜스-(헤테로)사이클로헵텐기는 구조 (Q50) 또는 (Q51)에 따른 것이다. 다른 바람직한 실시양태에서, 트랜스-(헤테로)사이클로옥텐기는 구조 (Q52), (Q53), (Q54), (Q55) 또는 (Q56)에 따른 것이다.

[0396]





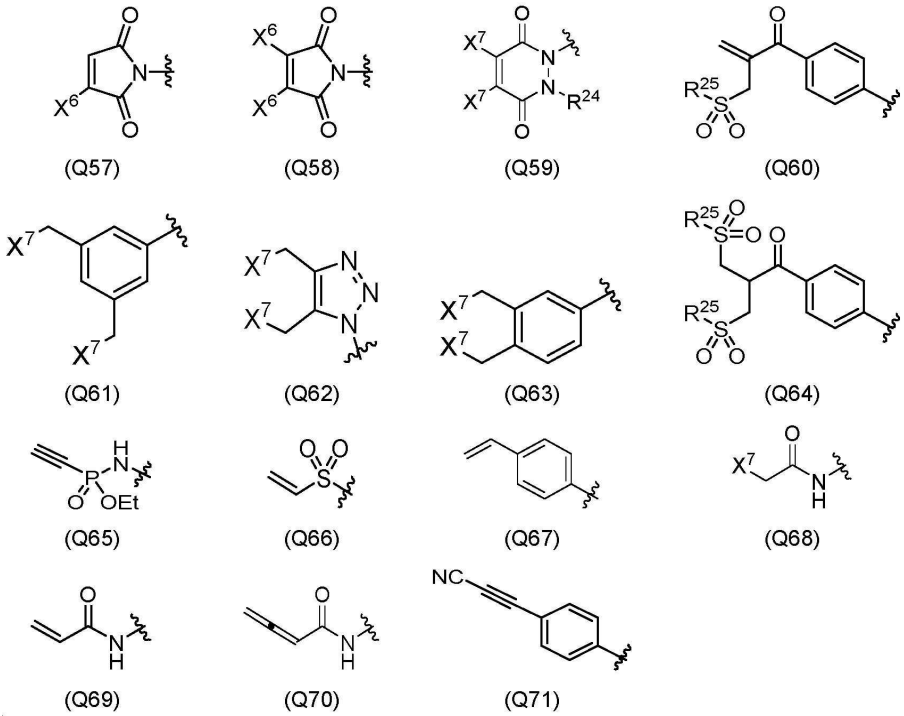
[0397]



[0398] 여기서, (Q50) 및 (Q51) 내 Si 상의 R 기(들)는 전형적으로 알킬 또는 아릴, 바람직하게는 C_1-C_6 알킬이다.

[0399] 대안적인 바람직한 실시양태에서, Q는 티올-반응성 프로브이다. 이 실시양태에서, Q는 시스테인 컨쥬게이션과 상용성인 반응성 기이다. 이러한 프로브는 당업계에 알려져 있으며, 말레이미드 모이어티, 할로아세트아마이드 모이어티, 알렌아마이드 모이어티, 포스폰아미다이트 모이어티, 시아노에틴일 모이어티, 비닐설폰, 비닐피리딘 모이어티 또는 메틸설포닐페닐옥사디아졸 모이어티로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 가장 바람직하게는, Q는 말레이미드 모이어티이거나 이를 포함한다. 시약은 모노알킬화 유형일 수 있거나 2 개의 시스테인 측쇄와 반응하기 위한 가교제일 수 있다.

[0400] 추가의 바람직한 실시양태에서, 프로브 Q는 여기에서 아래에 묘사된 (Q57)-(Q71)로 이루어진 군으로부터 선택된다.



[0401]

[0402] 여기서:

[0403] - X^6은 H, 할로겐, PhS, MeS, 바람직하게는 Cl, Br, I와 같은 할로겐이고;

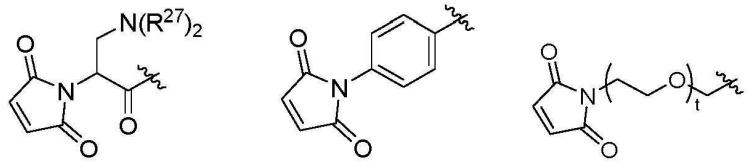
[0404] - X^7은 할로겐, PhS, MeS, 바람직하게는 Cl, Br, I와 같은 할로겐이고;

[0405] - R^{24}는 H 또는 C_{1-12} 알킬, 바람직하게는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

[0406] - R^{25}는 H, C_{1-12} 알킬, C_{1-12} 아릴, C_{1-12} 알카릴 또는 C_{1-12} 아랄킬, 바람직하게는 H 또는 파라-메틸페닐이고;

[0407] - 여기서 (Q61) 및 (Q63)의 방향족 고리는 임의로 페닐 또는 피리딘 고리와 같은 헤테로방향족 고리일 수 있다.

[0408] 티올-반응성 프로브 (Q57)의 바람직한 실시양태에서, 프로브 Q는 여기에서 아래에 묘사된 (Q72)-(Q74)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0409] 
(Q72) (Q73) (Q74)

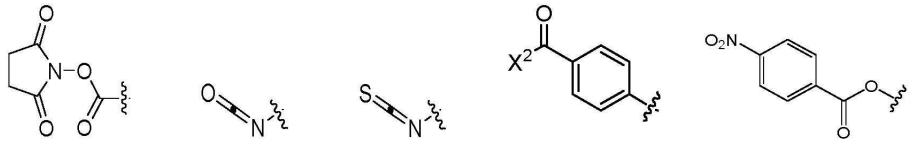
[0410] 여기서:

[0411] - R^{27}은 C_{1-12} 알킬, C_{1-12} 아릴, C_{1-12} 알카릴 또는 C_{1-12} 아랄킬이고;

[0412] - t는 0-15, 바람직하게는 1-10의 범위의 정수이다.

[0413] 대안적인 바람직한 실시양태에서, Q는 아민-반응성 프로브이다. 이 실시양태에서, Q는 리신 컨쥬게이션과 상용성인 반응성 기이다. 이러한 프로브는 당업계에 알려져 있으며 *N*-하이드록시석신이미딜기, 아이소시아네이트기, 아이소티오시아네이트기 및 벤조일 할라이드기로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 가장 바람직하게는, Q는 N-하이드록시석신이미딜 에스테르 또는 p-나이트로페닐 카보네이트 모이어티이거나 이를 포함한다.

[0414] 추가의 바람직한 실시양태에서, 프로브 Q는 여기에서 아래에 묘사된 (Q75)-(Q79)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0415] 
(Q75) (Q76) (Q77) (Q78) (Q79)

[0416] 여기서, X^2는 할로겐, 바람직하게는 F이다.

[0417] 바람직한 실시양태에서, Q는 (Q1)-(Q79)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0418] 일반 구조 (3)에 따른 항체

[0419] 항체는 하기 일반 구조 (3)을 갖는다:

[0420] $$AB-[(L^6)_b-\{F\}_x]_y$$
(3)

[0421] 여기서:

[0422] - AB는 CEA-발현 종양을 표적화할 수 있는 항체이고;

[0423] - b는 0 또는 1이고;

[0424] - L^6은 $-GlcNAc(Fuc)_w-(G)_j-S-(L^7)_{w'}-$이며, 여기서 G는 단당류이고, j는 0-10의 범위의 정수이며, S는 당 또는 당 유도체이고, GlcNAc는 N-아세틸글루코사민이고, Fuc는 푸코스이고, w는 0 또는 1이고, w'은 0, 1 또는 2이고, L^7은 $-N(H)C(O)CH_2-$, $-N(H)C(O)CF_2-$, 또는 $-CH_2-$이고;

[0425] - F는 반응성 모이어티이고;

[0426] - x는 1 또는 2이고;

[0427] - y는 1, 2, 3 또는 4임.

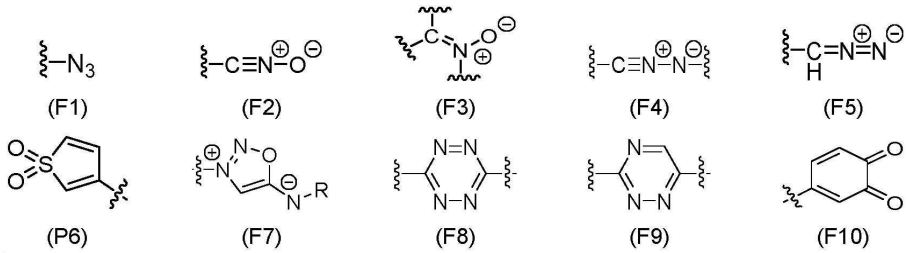
[0428] 일반 구조 (3)의 항체는 반응성 기 F를 함유하는 항체이기 때문에 "(변형된) 항체"로서 또한 지칭될 수 있으며, 여기서 반응성 기 F는 자연적으로 존재하거나, 항체는 변형되어 반응성 기 F를 포함한다. 일반식 (2)에 따른 (변형된) 항체는 표준 유기 및/또는 효소적 합성 기술을 사용하여 그리고 실시예에 예시된 바와 같이 당업자에 의해 제조될 수 있다. 항체 AB, 링커 L^6, b, x 및 y는 구조 (1)에 따른 컨쥬게이트의 맥락에서 위에 정의되어 있다.

[0429] *반응성 모이어티 F*

[0430] F는 아래에 정의된 컨쥬게이션 반응에서 Q에 대해 반응성이며, 바람직하게는 여기서 컨쥬게이션 반응은 고리화첨가 또는 친핵성 반응이다. 당업자가 이해할 것인 바와 같이, F에 대한 옵션은 F 및 Q가 서로에 대해 반응성인 경우 Q에 대한 옵션과 동일하다. 따라서, F는 바람직하게는 클릭 프로브, 티올, 티올-반응성 모이어티, 아민 또는 아민-반응성 모이어티를 포함하고, 더 바람직하게는 F는 클릭 프로브, 티올 또는 아민이고, 가장 바람직하게는 F는 클릭 프로브이다. 클릭 프로브는 사이클로첨가 (클릭 반응)에서 반응성이고, 바람직하게는 아자이드, 테트라진, 트리아진, 니트론, 나이트릴 옥사이드, 나이트릴 이민, 디아조 화합물, 오르토-퀴논, 다이옥소티오펜, 시드논, 알켄 모이어티 및 알킨 모이어티로부터 선택된다. 바람직하게는, 클릭 프로브는 아자이드, 테트라진, 트리아진, 니트론, 나이트릴 옥사이드, 나이트릴 이민, 디아조 화합물, 오르토-퀴논, 다이옥소티오펜 또는 시드논이거나 이를 포함하며, 가장 바람직하게는 아자이드이다. 전형적인 티올-반응성 모이어티는 말레이미드 모이어티, 할로아세트아마이드 모이어티, 알렌아마이드 모이어티, 포스폰아미다이트 모이어티, 시아노에틴일 모이어티, 오르토-퀴논 모이어티, 비닐설폰, 비닐피리딘 모이어티 또는 메틸설포닐페닐옥사디아졸 모이어티로부터 선택된다. 가장 바람직하게는, 티올-반응성 모이어티는 말레이미드 모이어티이거나 이를 포함한다. 전형적인 아민-반응성 모이어티는 N-하이드록시석신이미딜 에스테르, 아이소시아네이트, 아이소티오시아네이트 및 벤질 할라이드로부터 선택된다. 바람직한 실시양태에서, F는 클릭 프로브 또는 티올이고, 더 바람직하게는 F는 아자이드 또는 티올이고, 가장 바람직하게는 F는 아자이드이다.

[0431] 항체에는 하나 초과의 반응성 기 F가 존재할 수 있다. 항체 내 반응성 기 F는 자연적으로 존재할 수 있거나, 구체적인 기술, 예를 들어, (생)화학적 또는 유전학적 기술에 의해 항체에 배치될 수 있다. 항체에 배치되는 반응성 기, 예를 들어, 아자이드 또는 말단 알킨은 화학적 합성에 의해 제조된다. 변형된 항체를 제조하는 방법은 당업계에 알려져 있으며, 예컨대, 본원에 참조로 포함되는 WO 2014/065661, WO 2016/170186 및 WO 2016/053107로부터 알려져 있다. 동일한 문서로부터, 변형된 항체 및 링커-약물 작제물 간의 컨쥬게이션 반응은 당업자에게 알려져 있다.

[0432] 바람직하게는, F는 (헤테로)사이클로알켄 및/또는 (헤테로)사이클로알킨에 반응성인 클릭 프로브이고, 전형적으로 아자이드, 테트라진, 트리아진, 니트론, 나이트릴 옥사이드, 나이트릴 이민, 디아조 화합물, 오르토-퀴논, 다이옥소티오펜 및 시드논으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 반응성 기에 대한 바람직한 구조는 여기에서 아래에 묘사된 구조 (F1)-(F10)이다.

[0433] 

[0434] 여기서, 물결모양 결합은 페이로드에 대한 연결을 나타낸다. (F3), (F4), (F8) 및 (F9)의 경우, 페이로드는 물결모양 결합 중 임의의 하나에 연결될 수 있다. 그런 다음, 다른 물결모양 결합은 수소, C_1-C_{24} 알킬기, C_2-C_{24} 아실기, C_3-C_{24} 사이클로알킬기, C_2-C_{24} (헤테로)아릴기, C_3-C_{24} 알킬(헤테로)아릴기, C_3-C_{24} (헤테로)아릴알킬기 및 C_1-C_{24} 설포닐기로부터 선택된 R 기에 연결될 수 있으며, 이들 각각 (수소 제외)은 임의로 치환될 수 있고, 임의로 O, S 및 NR^{32}로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자에 의해 끊어질 수 있으며, 여기서 R^{32}는 수소 및 C_1-C_4 알킬기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 당업자는 F 기 각각에 대해 어떤 R 기가 적용될 수 있는지 이해한다. 예를 들어, (F3)의 질소 원자에 연결된 R 기는 알킬 및 아릴로부터 선택될 수 있고, (F3)의 탄소 원

자에 연결된 R 기는 수소, 알킬, 아릴, 아실 및 설포닐로부터 선택될 수 있다. 바람직하게는, 반응성 모이어티 F는 아자이드 또는 테트라진으로부터 선택된다. 가장 바람직하게는, 반응성 모이어티 F는 아자이드이다.

[0435] 제2 바람직한 실시양태에서, F는 티올 또는 이의 전구체이다. 티올 또는 이의 전구체 F는 링커-약물 작제물을 (변형된) 항체에 연결하기 위한 컨쥬게이션 반응에 사용된다. F는 티올 결찰에서 티올-반응성 프로브 Q에 대해 반응성이다. 티올은 바람직하게는 항체 AB 내에 자연적으로 존재하는 시스테인 아미노산의 측쇄의 티올이며, 이 경우 링커 L^6은 존재하지 않지만 (b = 0), 이는 또한 임의로 링커 L^6을 통해 합성적으로 도입될 수 있다. 바이오컨쥬게이션의 맥락에서 티올 전구체는 당업계에 알려져 있으며, 항체에 존재하는 자연적으로 발생하는 다이설파이드 브릿지일 수 있는 다이설파이드, 또는 당업계에 알려진 바와 같이 환원된 합성적으로 도입된 다이설파이드를 포함한다. 바람직하게는, F는 시스테인 측쇄의 티올기이다.

[0436] 제3 바람직한 실시양태에서, F는 아민 또는 이의 전구체, 바람직하게는 아민이다. 아민 또는 이의 전구체 F는 링커-약물 작제물을 (변형된) 항체에 연결하기 위한 컨쥬게이션 반응에 사용된다. F는 친핵성 치환에서 아민-반응성 프로브 Q에 대해 반응성이다. 아민은 전형적으로 일차 아민이며, 바람직하게는 항체 AB 내에 자연적으로 존재하는 리신 아미노산의 측쇄의 아민이며, 이 경우 링커 L^6은 존재하지 않지만 (b = 0), 이는 또한 임의로 링커 L^6을 통해 합성적으로 도입될 수 있다. 바람직하게는, F는 리신 측쇄의 일차 아민기이다.

[0437] 일반 구조 (1)에 따른 항체-컨쥬게이트를 합성하는 방법

[0438] 추가 양태에서, 본 발명은 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트를 제조하기 위한 공정에 관한 것으로, 공정은 본 발명에 따른 화합물의 Q를 항체의 반응성 기 F와 반응시키는 단계를 포함한다. 일반 구조 (2)에 따른 화합물 및 이의 바람직한 실시양태는 위에 더 상세히 기재되어 있다. 본 공정은 Q가 F와 반응하여 항체 AB (3)를 페이로드 D에 공유 연결시키는 조건 하에서 발생한다. 본 발명에 따른 공정에서, Q는 F와 반응하여 항체 및 본 발명에 따른 화합물 사이에 공유 연결을 형성한다. 상보적 반응성 기 Q 및 반응성 기 F는 당업자에게 알려져 있으며 아래에 더 상세히 기재되어 있다.

[0439] 당업계에 알려진 임의의 컨쥬게이션 기술을 사용하여 본 발명에 따른 다기능 항체 작제물을 제조할 수 있다. 적합한 컨쥬게이션 기술은 티올 결찰, 리신 결찰, 사이클로첨가 (예컨대, 구리-촉매화된 클릭 반응, 스트레인 (strain)-촉진된 아자이드-알킨 사이클로첨가, 스트레인-촉진된 퀴논-알킨 사이클로첨가)를 포함한다. 본 발명의 맥락에서 사용되는 바람직한 컨쥬게이션 기술은 친핵성 반응 및 사이클로첨가를 포함하며, 바람직하게는 여기서 사이클로첨가는 [4+2] 사이클로첨가 또는 [3+2] 사이클로첨가이고, 친핵성 반응은 마이클 첨가 반응 또는 친핵성 치환이다. 적합한 컨쥬게이션 기술은 예를 들어, G.T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Elsevier, 3rd Ed. 2013 (ISBN:978-0-12-382239-0), WO 2014/065661, van Geel 등, *Bioconj. Chem.* **2015**, *26*, 2233-2242, PCT/EP2021/050594, PCT/EP2021/050598 및 NL 2026947에 개시되어 있다.

[0440] 따라서, 본 발명에 따른 컨쥬게이션 공정의 바람직한 실시양태에서, 컨쥬게이션은 친핵성 반응, 예컨대, 친핵성 치환 또는 마이클 반응을 통해 달성된다. 바람직한 친핵성 반응은 활성화된 에스테르를 이용한 일차 아미노기의 아실화이다. 바람직한 마이클 반응은 말레이미드-티올 반응이며, 이는 바이오컨쥬게이션에 널리 사용된다.

[0441] 따라서, 본 발명에 따른 컨쥬게이션 공정의 바람직한 실시양태에서, 컨쥬게이션은 사이클로첨가를 통해 달성된다. 바람직한 사이클로첨가는 (4+2)-사이클로첨가 (예컨대, Diels-Alder 반응) 또는 (3+2)-사이클로첨가 (예컨대, 1,3-쌍극자 사이클로첨가)이다. 바람직하게는, 컨쥬게이션 반응은 Diels-Alder 반응 또는 1,3-쌍극자 사이클로첨가이다. 바람직한 Diels-Alder 반응은 역전자 요구 Diels-Alder 사이클로첨가이다. 다른 바람직한 실시양태에서, 1,3-쌍극자 사이클로첨가가 사용되고, 더 바람직하게는 알킨-아자이드 사이클로첨가가 사용되고, 가장 바람직하게는 여기서 Q는 알킨기이거나 이를 포함하고 F는 아지도기이다. 사이클로첨가, 예컨대, Diels-Alder 반응 및 1,3-쌍극자 사이클로첨가는 당업계에 알려져 있으며, 당업자는 이를 수행하는 방법을 알고 있다.

[0442] 본 양태에 따른 공정은 바람직하게는 클릭 반응, 더 바람직하게는 1,3-쌍극자 사이클로첨가, 가장 바람직하게는 알킨/아자이드 사이클로첨가에 관한 것이다. 가장 바람직하게는, Q는 알킨기이거나 이를 포함하고, F는 아지도기이다. 클릭 반응, 예컨대, 1,3-쌍극자 사이클로첨가는 당업계에 알려져 있으며, 당업자는 이를 수행하는 방법을 알고 있다.

[0443] 따라서, 본 양태에 따른 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트를 제조하기 위한 공정은 구조 (3)의 변형된 항체를 구조 (2)에 따른 화합물과 반응시켜 구조 (1)의 항체-컨쥬게이트를 수득하는 단계를 포함한다.

[0444] 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트를 제조하기 위한 공정은 다음을 포함한다:

[0445] (i) y = 1, 2, 3 또는 4인 y 개의 코어 *N*-아세틸글루코사민 (GlcNAc) 모이어티를 포함하는 항체를 촉매의 존재 하에 화학식 $S(F)_x$-P의 화합물과 접촉시켜, 하기 화학식 (**26**)에 따른 변형된 항체를 수득하는 단계이며, 여기서 $S(F)_x$는 반응성 기 Q와 반응할 수 있는 x 개의 반응성 기 F를 포함하는 당 유도체이고, x는 1 또는 2이고, P는 뉴클레오사이드 모노- 또는 다이포스페이트이고, 여기서 촉매는 $S(F)_x$ 모이어티를 코어-GlcNAc 모이어티로 전달할 수 있는, 단계:

$$AB\text{–}[GlcNAc(Fuc)_w\text{–}S\{F\}_x]_y$$

[0446] **(26)**

[0447] 여기서

[0448] - AB는 CEA-발현 종양을 표적화할 수 있는 항체이고;

[0449] - Fuc는 푸코스이고;

[0450] - w는 0 또는 1임; 그리고

[0451] (ii) 하기 구조 (**2**)에 따른 화합물과 변형된 항체를 반응시켜, 구조 (**1**)에 따른 항체-컨쥬게이트를 수득하는 단계:

$$Q\text{–}L\text{–}D$$

[0452] **(2)**

[0453] 여기서:

[0454] - Q는 반응성 모이어티이고;

[0455] - L은 Z를 D에 연결하는 링커이고;

[0456] - D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 튜불리신, 에네다이인, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, BCL-XL 억제제, 헤미아스텔린, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD), 및 이의 유사체 또는 전구약물로 이루어진 군으로부터 선택됨.

[0457] *단계 (i)*

[0458] 단계 (i)에서, 1, 2, 3 또는 4 개의 코어 N-아세틸글루코사민 모이어티를 포함하는 항체는 촉매의 존재 하에 화학식 $S(F)_x$-P의 화합물과 접촉되며, 여기서 $S(F)_x$는 반응성 기 Q와 반응할 수 있는 x 개의 반응성 기 F를 포함하는 당 유도체이고, x는 1 또는 2이고, P는 뉴클레오사이드 모노- 또는 다이포스페이트이고, 여기서 촉매는 $S(F)_x$ 모이어티를 코어-GlcNAc 모이어티로 전달할 수 있다. 여기서, 항체는 전형적으로 아래에 추가로 기재된 바와 같이 코어-GlcNAc 잔기로 트리밍된 항체이다. 단계 (i)는 화학식 (**26**)에 따른 변형된 항체를 제공한다.

[0459] 출발 재료, 즉, 코어-GlcNAc 치환기를 포함하는 항체는 당업계에 알려져 있으며, 당업자에게 알려진 방법에 의해 제조될 수 있다. 일 실시양태에서, 발명에 따른 공정은 코어 N-아세틸글루코사민 치환기를 포함하는 항체를 수득하기 위해, 엔도글리코시다제의 존재 하에 코어 N-아세틸글루코사민을 갖는 항체 글리칸의 탈글리코실화를 추가로 포함하며, 여기서 상기 코어 N-아세틸글루코사민 및 상기 코어 N-아세틸글루코사민 치환기는 임의로 푸코실화된다. 글리칸의 성질에 따라, 적합한 엔도글리코시다제가 선택될 수 있다. 엔도글리코시다제는 바람직하게는 EndoS, EndoA, EndoE, EfEndo18A, EndoF, EndoM, EndoD, EndoH, EndoT 및 EndoSH 및/또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이들의 선택은 글리칸의 성질에 따라 좌우된다. EndoSH는 본원에 참조로 포함되는 PCT/EP2017/052792에 기재되어 있으며, 실시예 1-3 및 서열번호 1을 참고한다.

[0460] 구조적 특징 S 및 x는 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트에 대해 위에 정의되어 있으며, 이는 본 양태에 동일하게 적용된다. 뉴클레오사이드 모노포스페이트 또는 뉴클레오사이드 다이포스페이트 P가 당 유도체 $S(F)_x$에 연결된 화학식 $S(F)_x$-P의 화합물은 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, 모두가 본원에 참조로 포함되는 Wang 등, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 13343-13345, Piller 등, *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7*, 753, Piller 등, *Bioorg. Med. Chem.*

Lett. **2005**, *15*, 5459-5462 및 WO 2009/102820은 다수의 화합물 $S(F)_x$-P 및 이들의 합성을 개시한다. 바람직한 실시양태에서, $S(F)_x$-P 내 뉴클레오사이드 모노- 또는 다이포스페이트 P는 유리딘 다이포스페이트 (UDP), 구아노신 다이포스페이트 (GDP), 티미딘 다이포스페이트 (TDP), 시티딘 다이포스페이트 (CDP) 및 시티딘 모노포스페이트 (CMP)로 이루어진 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게는 P는 유리딘 다이포스페이트 (UDP), 구아노신 다이포스페이트 (GDP) 및 시티딘 다이포스페이트 (CDP)로 이루어진 군으로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 P = UDP이다. 바람직하게는, $S(F)_x$-P는 GalNAz-UDP, F_2-GalNAz-UDP (*N*-(아지도다이플루오로)아세틸-갈락토사민), 6-AzGal-UDP, 6-AzGalNAc-UDP (6-아지도-6-데옥시-N-아세틸갈락토사민-UDP), 4-AzGalNAz-UDP, 6-AzGalNAz-UDP, GlcNAz-UDP, 6-AzGlc-UDP, 6-AzGlcNAz-UDP 및 2-(부트-3-이온산 아미도)-2-데옥시-갈락토스-UDP로 이루어진 군으로부터 선택된다. 가장 바람직하게는, $S(F)_x$-P는 GalNAz-UDP 또는 6-AzGalNAc-UDP이다.

[0461] $S(F)_x$ 모이어티를 코어-GlcNAc 모이어티로 전달할 수 있는 적합한 촉매는 당업계에 알려져 있다. 적합한 촉매는 해당 특이적 공정에서 특이적 당 유도체 뉴클레오타이드 $S(F)_x$-P가 기질인 촉매이다. 더 구체적으로, 촉매는 β(1,4)-글리코사이드 결합의 형성을 촉매한다. 바람직하게는, 촉매는 갈락토실트랜스퍼라제 및 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제의 군, 더 바람직하게는 β(1,4)-N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제 (GalNAcT) 및 β(1,4)-갈락토실트랜스퍼라제 (GalT)의 군, 가장 바람직하게는 돌연변이체 촉매 도메인을 갖는 β(1,4)-N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제의 군으로부터 선택된다. 적합한 촉매 및 이들의 돌연변이체는, 모두가 본원에 참조로 포함되는 WO 2014/065661, WO 2016/022027 및 WO 2016/170186에 개시되어 있다. 일 실시양태에서, 촉매는 야생형 갈락토실트랜스퍼라제 또는 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제, 바람직하게는 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제이다. 대안적인 실시양태에서, 촉매는 돌연변이 갈락토실트랜스퍼라제 또는 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제, 바람직하게는 돌연변이 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제이다. WO 2016/022027 및 WO 2016/170186에 기재된 돌연변이체 효소가 특히 바람직하다. 이들 갈락토실트랜스퍼라제 (돌연변이체) 효소 촉매는 수용체로서 내부 당 및 당 유도체를 인식할 수 있다. 따라서, 당 유도체 $S(F)_x$는 단계 (i)에서 코어-GlcNAc 치환기에 연결되며, 상기 GlcNAc가 푸코실화되었는지 여부와 무관하다.

[0462] 단계 (i)는 바람직하게는 예를 들어, 포스페이트, 완충된 식염수 (예컨대, 포스페이트-완충된 식염수, 트리스-완충된 식염수), 시트레이트, HEPES, 트리스 및 글리신과 같은 적합한 완충액에서 수행된다. 적합한 완충액은 당업계에 알려져 있다. 바람직하게는, 완충액은 포스페이트-완충된 식염수 (PBS) 또는 트리스 완충액이다. 단계 (i)는 바람직하게는 약 4 내지 약 50℃의 범위, 더 바람직하게는 약 10 내지 약 45℃의 범위, 보다 더 바람직하게는 약 20 내지 약 40℃의 범위, 그리고 가장 바람직하게는 약 30 내지 약 37℃의 범위의 온도에서 수행된다. 단계 (i)는 바람직하게는 약 5 내지 약 9의 범위, 바람직하게는 약 5.5 내지 약 8.5의 범위, 더 바람직하게는 약 6 내지 약 8의 범위의 pH에서 수행된다. 가장 바람직하게는, 단계 (i)는 약 7 내지 약 8의 범위의 pH에서 수행된다.

[0463] *단계 (ii)*

[0464] 단계 (ii)에서, 변형된 항체는 반응성 기 F와 반응할 수 있는 반응성 기 Q 및 페이로드 D를 포함하는 일반 구조 (**2**)에 따른 화합물과 반응하여, Q와 F 간의 반응에서 생성된 연결기 Z를 함유하는 구조 (**1**)에 따른 항체-컨쥬게이트를 수득한다. 이러한 반응은 반응성 기 Q가 생체분자의 반응성 기 F와 반응하여 항체를 일반 구조 (**2**)에 따른 화합물에 공유 연결시키는 조건 하에서 발생한다. 단계 (ii)는 컨쥬게이션 반응으로서 또한 지칭될 수 있다.

[0465] 바람직한 실시양태에서, 단계 (ii)에서 아자이드-변형된 항체 상의 아자이드는 사이클로첨가 반응을 통해 일반 구조 (**2**)에 따른 화합물의 알키닐기, 바람직하게는 말단 알키닐기 또는 (헤테로)사이클로알키닐기와 반응한다. 아자이드를 포함하는 분자와 말단 알키닐기 또는 (헤테로)사이클로알키닐기를 포함하는 분자의 이 사이클로첨가 반응은 당업계에서 "클릭 화학"으로서 알려진 반응 중 하나이다. 말단 알키닐기를 포함하는 링커-컨쥬게이트의 경우, 상기 사이클로첨가 반응은 적합한 촉매, 바람직하게는 Cu(I) 촉매의 존재 하에 수행되어야 한다. 그러나, 바람직한 실시양태에서, 링커-컨쥬게이트는 (헤테로)사이클로알키닐기, 더 바람직하게는 긴장된(strained) (헤테로)사이클로알키닐기를 포함한다. (헤테로)사이클로알키닐이 긴장된 (헤테로)사이클로알키닐기인 경우, 촉매의 존재는 필요하지 않으며, 상기 반응은 심지어 스트레인-촉진된 아자이드-알킨 사이클로첨가 (SPAAC)라고 하는 반응에 의해 자발적으로 발생할 수 있다. 이것은 당업계에서 "금속-없는 클릭 화학"으로서 알려진 반응 중 하나이다.

[0466] 적용

[0467] 본 발명은 추가로 위에 정의된 바와 같은 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트의 투여를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체를 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 치료를 필요로 하는 대상체는 전형적으로 암 환자이다. 항체-컨쥬게이트, 예컨대, 항체-약물 컨쥬게이트의 사용은 암 치료의 분야에서 잘 알려져 있으며, 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트는 이 측면에서 특히 적합하다. 기재된 바와 같은 방법은 전형적으로 암의 치료에 적합하다. 이 양태에 따른 방법에서, 항체-컨쥬게이트는 전형적으로 치료적으로 유효한 용량으로 투여된다. 본 발명의 본 양태는 또한 치료를 필요로 하는 대상체의 치료에 사용하기 위한, 바람직하게는 암의 치료를 위한 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트로서 표현될 수 있다. 다시 말해, 본 양태는 치료를 필요로 하는 대상체의 치료에 사용하기 위한, 바람직하게는 암의 치료에 사용하기 위한 의약 또는 약학 조성물을 제조하기 위한 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트의 사용에 관한 것이다. 본 맥락에서, 암의 치료는 종양을 치료, 영상화, 진단, 이의 증식 예방, 방지 및 감소시키는 것을 포함하는 것으로 생각된다.

[0468] 본 발명의 이 양태는 또한 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트를 CEA-발현성일 수 있는 세포와 접촉시키는 단계를 포함하는, CEA-발현 세포, 특히 CEA-발현 종양 세포를 표적화하기 위한 방법으로서 표현될 수 있다. 따라서, 이 양태에 따른 방법은 세포가 CEA-발현되는지 여부를 결정하는 데 적합하다. 이러한 CEA-발현 세포는 대상체에 존재할 수 있으며, 이 경우 방법은 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트를, 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, CEA-발현성일 수 있는 세포는 CEA-발현 세포이다. CEA-발현 세포의 표적화는 바람직하게는 CEA-발현 세포, 특히 CEA-발현 종양 세포의 치료, 영상화, 진단, 이의 증식 예방, 방지 및 감소 중 하나 이상을 포함한다. 이 실시양태에 따른 방법은 의학적이거나 비-의학적일 수 있다. 본 양태에 따른 비-의학적 방법은 생체외 또는 엑스 비보에서 CEA-발현 세포를 표적화하는 것에 관한 것일 수 있으며, 여기서 CEA-발현성일 수 세포는 샘플, 예컨대, 환자로부터 채취한 샘플에 존재한다. 이러한 비-의학적 방법은 전형적으로 암, 특히 CEA-양성 암의 진단에 사용된다.

[0469] CEA-발현 세포는 바람직하게는 CEACAM1, CEACAM3, CEACAM4, CEACAM5, CEACAM6, CEACAM7, CEACAM8, CEACAM16, CEACAM18, CEACAM19, CEACAM20, CEACAM21을 발현하고, 가장 바람직하게는 이들은 CEACAM5를 발현한다. 본 발명의 맥락에서, 대상체는 결장직장암, 위암, 폐암, 자궁암 또는 췌장암으로부터 선택된 장애를 앓을 수 있다. 따라서, 치료를 필요로 하는 대상체의 치료는 바람직하게는 결장직장암, 위암, 폐암, 또는 자궁암의 치료를 지칭한다.

[0470] 발명자들은 놀랍게도 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트가 안전성 및/또는 효능의 측면에서 기존의 CEA-표적 항체-컨쥬게이트보다 우수하여, 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트의 치료적 지수는 기존의 CEA-표적화 항체-컨쥬게이트에 비해 증가한다는 것을 발견하였다.

[0471] 컨쥬게이션의 모드

[0472] 본 발명의 맥락에서, "컨쥬게이션의 모드"는 페이로드 D를 항체 AB에 컨쥬게이션하기 위해 사용되는 공정, 뿐만 아니라 컨쥬게이션의 공정의 직접적인 결과인 생성된 항체-컨쥬게이트의, 특히 페이로드를 항체에 연결하는 링커의 구조적 특징을 지칭한다. 따라서, 일 실시양태에서, 컨쥬게이션의 모드는 페이로드를 항체에 컨쥬게이션하기 위한 공정을 지칭한다. 대안적인 실시양태에서, 컨쥬게이션의 모드는 페이로드를 항체에 컨쥬게이션하기 위한 공정의 직접적인 결과인 링커의 구조적 특징 및/또는 링커의 항체에 대한 부착 지점을 지칭한다.

[0473] 추가의 양태에서, 본 발명은 CEA-발현 종양의 치료에서 항체-컨쥬게이트의 치료적 지수를 증가시키기 위한 컨쥬게이션의 모드의 사용에 관한 것이며, 여기서 컨쥬게이션의 모드는 링커 L을 통해 항체 AB를 페이로드 D와 연결시키기 위해 사용된다. 컨쥬게이션의 모드는 다음을 포함한다:

[0474] (i) y = 1, 2, 3 또는 4인 y 개의 코어 *N*-아세틸글루코사민 (GlcNAc) 모이어티를 포함하는 항체를 촉매의 존재하에 화학식 $S(F)_x$-P의 화합물과 접촉시켜, 하기 화학식 (**26**)에 따른 변형된 항체를 수득하는 단계이며, 여기서 $S(F)_x$는 반응성 기 Q와 반응할 수 있는 x 개의 반응성 기 F를 포함하는 당 유도체이고, x는 1 또는 2이고, P는 뉴클레오사이드 모노- 또는 다이포스페이트이고, 여기서 촉매는 $S(F)_x$ 모이어티를 코어-GlcNAc 모이어티로 전달할 수 있는, 단계:

$$AB\text{–}[GlcNAc(Fuc)_w\text{–}S\{F\}_x]_y$$

[0475] (**26**)

[0476] 여기서

[0477] - AB는 CEA-발현 종양을 표적화할 수 있는 항체이고;

[0478] - Fuc는 푸코스이고;

[0479] - w는 0 또는 1임; 그리고

[0480] (ii) 하기 구조 (2)에 따른 화합물과 변형된 항체를 반응시켜, 구조 (1)에 따른 항체-컨쥬게이트를 수득하는 단계:

[0481] Q–L–D

(2)

[0482] 여기서:

[0483] - Q는 반응성 모이어티이고;

[0484] - L은 Z를 D에 연결하는 링커이고;

[0485] - D는 안트라사이클린, 캄프토테신, 튜불리신, 에네다이인, 아마니틴, 듀오카마이신, 마이탄시노이드, 아우리스타틴, 에리불린, BCL-XL 억제제, 헤미아스텔린, KSP 억제제, TLR 작용제, 인돌리노벤조디아제핀 이합체 또는 피롤로벤조디아제핀 이합체 (PBD), 및 이의 유사체 또는 전구약물로 이루어진 군으로부터 선택됨.

[0486] 바람직하게는, 항체-컨쥬게이트의 치료적 지수를 증가시키는 것은 다음으로부터 선택된다:

[0487] (a) 항체-컨쥬게이트의 치료적 효능을 증가시키는 것; 및/또는

[0488] (b) 항체-컨쥬게이트의 내약성을 증가시키는 것.

[0489] 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트의 치료적 효능의 증가는 기존의 CEA-표적화 ADC와 비교했을 때, 종양 크기의 감소 및/또는 장기간의 퇴행의 형태를 취할 수 있다. 본 발명에 따른 항체-컨쥬게이트의 내약성의 증가는 기존의 기술로 제조된 CEA-표적화 ADC의 투여와 비교하여, 독성의 징후의 감소의 형태를 취할 수 있다. 징후의 감소는 또한 암 치료의 증상 또는 부작용의 감소로서 지칭될 수 있으며, 하나 이상의 임상 징후, 예컨대, 감소된 체중의 감소, 감소된 이동성의 감소, 감소된 음식 섭취의 감소 및/또는 하나 이상의 독성 매개변수, 예컨대, 개선된 혈액 화학, 혈액학 및/또는 조직병리학을 포함할 수 있다.

[0490] **실시예**

[0491] 단클론 항체의 일시적 발현 및 정제를 위한 일반적인 절차: 다양한 IgG (투사미타맙, 라베투주맙 또는 B12)를 Evitria (Zurich, Switzerland)에 의한 CHO K1 세포에서 각각 2 L, 250 mL 및 5 L 규모로 일시적으로 발현시켰다. 상층액을 HiTrap MabSelect sure 컬럼을 사용하여 정제하였다. 상층액을 컬럼 상에 로딩한 후, 적어도 10 컬럼 부피의 25 mM 트리스 pH 7.5, 150 mM NaCl (TBS)로 세척하였다. 유지된 단백질을 0.1 M AcOH pH 2.7을 이용하여 용리시켰다. 용리된 생성물을 2.5 M 트리스-HCl pH 8.8을 이용하여 즉시 중화하고, 20 mM 히스티딘, 150 mM NaCL, pH 7.5에 대해 투석하였다. 다음으로, IgG를 Vivaspin Turbo 15 초여과 유닛 (Sartorius)를 사용하여 농축시켰다 (>20 mg/mL). IgG의 서열은 본원에서 아래에 주어져 있다:

[0492] 투사미타맙 (I) 경쇄 (서열번호 43):

[0493] DIQMTQSPASLSASVDRVTITCRASENIFSYLAWYQQKPGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRFSGSG
SGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV
THQGLSSPVTKSFNRGEC

[0494] 투사미타맙 (I) 중쇄 (서열번호 41):

EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYAPSTV
KGRFTVSRDNAKNTLYLQMNSLTSEDTAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGTLVTVSSASTKGPS
VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES

[0495] NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0496] 라베투주맙 (II) 경쇄 (서열번호 38):

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTSVAWYQQKPGKAPKLLIYWTSTRHTGVPSRFSG
SGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYSLYRSFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE

[0497] VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0498] 라베투주맙 (II) 중쇄 (서열번호 36):

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFDFTTYWMSWVRQAPGKGLEWIGEIHPDSSTINYAPSL
KDRFTISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCASLYFGFPWFAYWGQGTPVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS
SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0499] K

[0500] B12 (III) 경쇄 (서열번호 52):

EIVLTQSPGTLSLSPGERATFSCRSSHSIRSRRVAWYQHKPGQAPRLVIHGVSNRASGISDRFSG
SGSGTDFTLTITRVEPEDFALYYCQVYGASSYTFGQGTKLERKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA

[0501] CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0502] B12 (III) 중쇄 (서열번호 53):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIHWVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSA
KFQDRVTFTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYMDVWGKGTTVIV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY

[0503] TQKSLSLSPGK

[0504] 분석적 RP-UPLC (DTT 처리된 샘플)에 대한 일반적인 절차: RP-UPLC 분석 전에, IgG (10 μL, PBS pH 7.4 내 1 mg/mL)를 12.5 mM DTT, 100 mM 트리스HCl pH 8.0 (40 μL)에 첨가하고, 37℃에서 15 분 동안 항온처리하였다. 반응을 49% 아세토나이트릴, 49% 물, 2% 포름산 (50 μL)을 첨가함으로써 켄칭하였다. RP-UPLC 분석을 Waters Acquity UPLC-SQD에서 수행하였다. 샘플 (5 μL)을 70℃의 컬럼 온도에서 Bioresolve RP mAb 2.1*150 mm 2.7 μm (Waters)에 0.4 mL/min으로 주입하였다. 선형 구배는 0.1% TFA 및 물 내 30 내지 54% 아세토나이트릴로 9 분 내에 적용되었다. 용리된 피크의 흡광도를 215 nm에서 측정한 후, 자동화된 통합 (MassLynx, Waters)을 통해 반응 전환을 결정하였다.

[0505] (변형된) 단클론 항체의 질량 스펙트럼 분석을 위한 일반적인 절차: 질량 스펙트럼 분석 전에, IgG를, Fc/2 단편의 분석을 가능하게 하는 IdeS로 처리하였다. 경쇄 및 중쇄 둘 모두를 분석하기 위해, 20 μg (변형된) IgG의 용액을 100 mM DTT와 함께 37℃에서 5 분 동안 총 4 μL의 부피로 항온처리하였다. 존재하는 경우, 아자이드-기

능기는 이러한 조건 하에서 아민으로 환원된다. Fc/2 단편의 분석을 위해, 20 μg (변형된) IgG의 용액을 포스페이트-완충된 식염수 (PBS) pH 6.6 내 IdeS/Fabricator™ (1.25 U/μL)와 함께 37℃에서 1 시간 동안 총 10 μL의 부피로 항온처리하였다. 샘플을 희석하여 80 μL가 되도록 한 후, JEOL AccuTOF에서 전기분무 이온화 비행 시간 (ESI-TOF) 분석을 수행하였다. Magtran 소프트웨어를 사용하여 디컨볼루션 스펙트럼을 수득하였다.

[0506] IgG의 mAb-(6-N_3-GalNAc)$_2$로의 효소적 리모델링을 위한 일반적인 절차: IgG (15 mg/mL)를 1% w/w EndoSH (PCT/EP2017/052792에 기재된 바와 같음, 실시예 1-3 및 서열번호 1 참고, 이는 본원에 참조로 포함됨), 3% w/w His-TnGalNAcT (PCT/EP2016/059194에 기재된 바와 같음, 실시예 3 및 4, 및 서열번호 49 참고, 이는 본원에 참조로 포함됨), 0.01% AP (Roche) 및 UDP 6-N_3-GalNAc (도 3의 화합물 **2d**, IgG 대비 25 eq)와 함께 6 mM $MnCl_2$ 및 TBS에서 16 시간 동안 30℃에서 항온처리하였다. 다음으로, 기능화된 IgG를 HiTrap MabSelect sure 5 mL 컬럼을 사용하여 정제하였다. 반응 혼합물의 로딩 후, 컬럼을 TBS+0.2% 트리톤 및 TBS로 세척하였다. IgG를 0.1 M AcOH pH 2.7로 용리하고, 2.5 M 트리스-HCl pH 8.8로 중화하였다. 20 mM 히스티딘, 150 mM NaCl pH 7.5로 3 회 투석한 후, IgG를 Vivaspin Turbo 15 초여과 유닛 (Sartorius)을 사용하여 15-20 mg/mL로 농축하였다.

[0507] 아자이드-기능화된 항체의 제조: 실시예 1-3:

[0508] *실시예 1: 투사미타맙-(6-N_3-GalNAc)$_2$ (**I-N_3**)의 제조*

[0509] 효소적 리모델링을 위한 일반적인 절차에 따라, 투사미타맙을 투사미타맙-(6-N_3-GalNAc)$_2$로 전환하였다. IdeS 처리 후 샘플의 질량 스펙트럼 분석에서는 예상된 생성물에 상응하는 하나의 주요 Fc/2 생성물 (관찰 질량 24329 Da, 총 Fc/2 중 대략 95%)을 보여주었다.

[0510] *실시예 2: 라베투주맙-(6-N_3-GalNAc)$_2$ (**II-N_3**)의 제조*

[0511] 효소적 리모델링의 일반적인 절차에 따라, 라베투주맙을 라베투주맙-(6-N_3-GalNAc)$_2$로 전환하였다. IdeS 처리 후 샘플의 질량 스펙트럼 분석에서는 예상된 생성물에 상응하는 하나의 주요 Fc/2 생성물 (관찰 질량 24360 Da, 총 Fc/2 중 대략 90%)을 보여주었다.

[0512] *실시예 3: B12-(6-N_3-GalNAc)$_2$ (**III-N_3**)의 제조*

[0513] 효소적 리모델링의 일반적인 절차에 따라, B12를 B12-(6-N_3-GalNAc)$_2$로 전환하였다. IdeS 처리 후 샘플의 질량 스펙트럼 분석에서는 예상된 생성물에 상응하는 하나의 주요 Fc/2 생성물 (관찰 질량 24330 Da, 총 Fc/2 중 대략 90%)을 보여주었다.

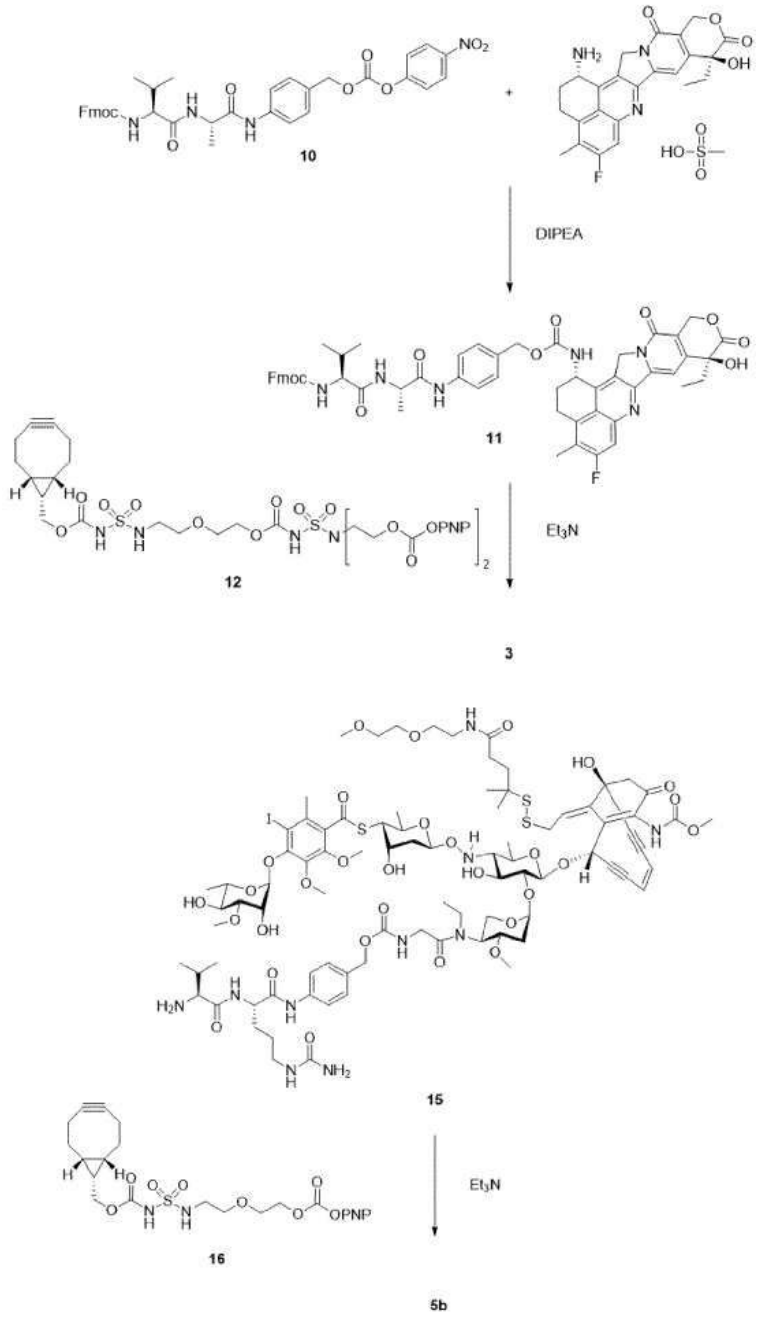
[0514] 실시예 4-8: 링커 컨쥬게이트 **3**, **4**, **5b** 및 **9**의 합성

[0515] *실시예 4: 화합물 **11**의 제조*

[0516] 화합물 **10** (163 mg, 240 μmol)을 건조 DMF (0.9 mL) 내 엑사테칸 메실레이트 (125 mg, 235 μmol) 및 DIPEA (61 mg, 82 μL, 0.47 mmol)의 혼합물에 첨가하였다. 20 시간 후, 반응 혼합물을 9 mL DCM으로 희석하고, 구배 컬럼 크로마토그래피 (0 → 40% MeOH/DCM)로 정제하여, **11** (155 mg, 159 μmol, 68%)을 제공하였다. LCMS (ESI+)에서 $C_{55}H_{54}FN_6O_{10}^+$ $(M+H)^+$에 대한 계산치 977.39, 실측치 977.72. **11** 외에도, 엑사테칸의 유리 염기 (82.4 mg, 189 μmol, 20%)를 회수하였다. LCMS (ESI+)에서 $C_{24}H_{23}FN_3O_4^+$ $(M+H)^+$에 대한 계산치 436.46, 실측치 436.54.

[0517] *실시예 5. 화합물 **3**의 제조*

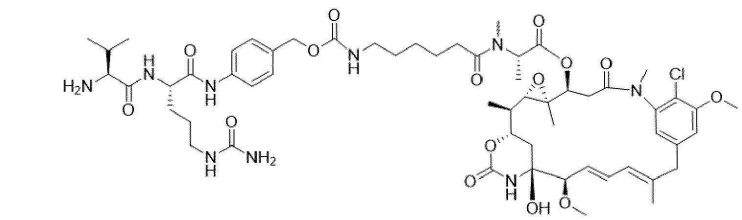
[0518] BCN-HS-(va-PABC-Ex)$_2$ (**3**)의 합성은 또한 본원에 포함된 PCT/EP2021/075401 (실시예 4)에 기재되어 있다. DMF (1.6 mL) 내 화합물 **11** (155 mg, 159 μmol)의 용액에 Et_3N (73 mg, 101 μL, 0.72 mmol) 및 DMF (1.4 mL) 내 화합물 **12** (65 mg, 72 μmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 18 시간 동안 교반하고, DCM (20 mL)으로 희석하고, 구배 컬럼 크로마토그래피 (0 → 40% MeOH/DCM)로 정제하여, **3**을 담황색 고체 (94 mg, 44 μmol, 28%)로서 제공하였다. LCMS (ESI+)에서 $C_{102}H_{118}F_2N_{16}O_{29}S_2^{2+}$ $(M/2+H)^+$에 대한 계산치 1066.88, 실측치 1067.12.



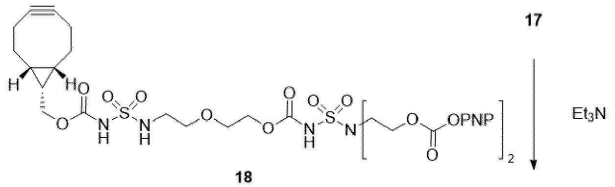
[0519]

[0520] *실시예 6: 링커 컨쥬게이트 **5b**의 합성*

[0521] 화합물 BCN-HS-vc-PABC-CM (**5b**)은 본원에 포함된 WO2019110725에 기재된 절차에 따라 제조되었다. 화합물 **16** (172 μL, 21.5 mg, 38.1 μmol)의 용액을 화합물 **15** (190 μL, 82.6 mg, 38.1 μmol, 1.0 당량)의 용액에 첨가한 후, Et_3N (53 μL, 38.6 mg, 381 μmol, 10.0 당량)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 14.5 시간 동안 방치하였다. 반응 혼합물을 DCM으로 희석하여, 6 mL의 용량으로 만든 다음, 자동화된 실리카겔 플래시 크로마토그래피 (0% --> 20%의, DCM 중 MeOH)에 의해 정제하여, 순수하지 않은 생성물 (72.2 mg, 31.0 μmol)을 희백색 필름으로서 제공하였다. 순수하지 않은 생성물을 prepHPLC (30% --> 90%의 CH_3CN / H_2O +1% CH_3COOH, Column Xbridge prep C18 5 um OBD, 30 x 100 mm, 작동시간 16 분)에 의해 추가로 정제한 후, 자동화된 실리카겔 플래시 크로마토그래피 (0% --> 20%의, DCM 중 MeOH)로 2 번째 정제하여, 화합물 **5b** (45.2 mg, 19.4 μmol, 수율 47%)를 무색 필름으로서 제공하였다. LCMS (ESI+)에서 $C_{100}H_{144}IN_{11}O_{36}S_4^{2+}$ $(M+2H^+)/2$에 대한 계산치 1165.39, 실측치 1165.71.



17



18

6

[0522]

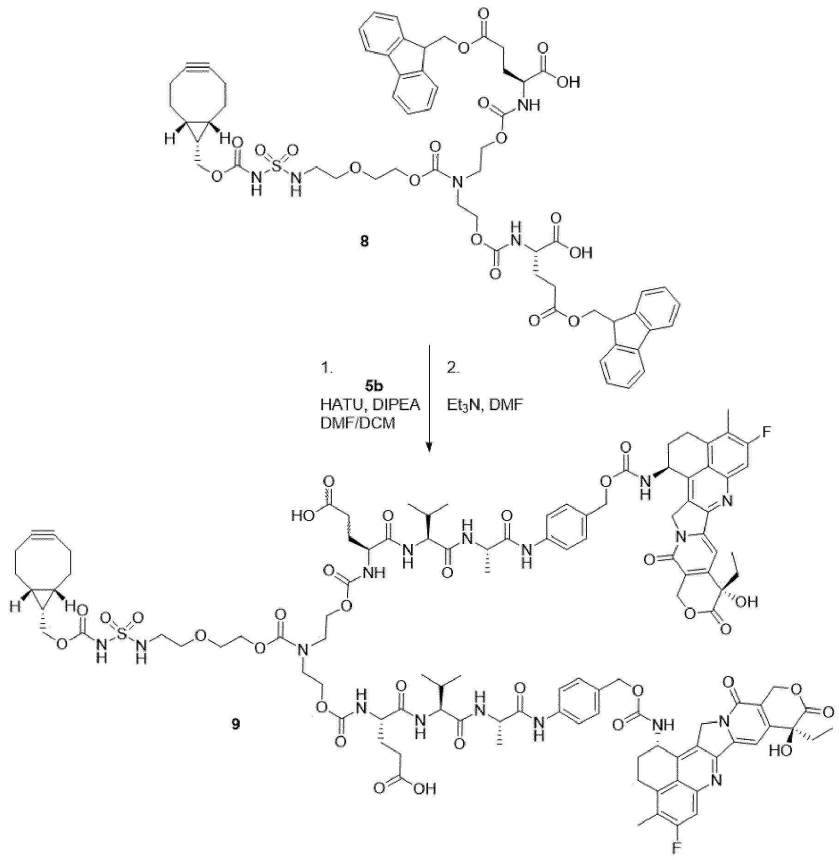
[0523] *실시예 7. 링커 컨쥬게이트 6의 합성*

[0524] BCN-HS-PEG2-HS-(vc-PABA-Ahx-May)$_2$ (**6**)의 합성은 또한 본원에 포함된 PCT/NL2015/050697 (실시예 55)에 기재되어 있다. DMF (1 mL) 중 **18** (3.9 mg, 4.3 μmol) 및 Et_3N (3.0 μL, 2.2 mg, 21.5 μmol)의 용액을 DMF (100 μL) 중 H-Val-Cit-PABA-Ahx-마이탄신 **17** (10 mg, 8.6 μmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 밤새 반응시키고 농축하였다. 잔류물을 H_2O (1% AcOH)에서 역상 (C18) HPLC 크로마토그래피 (30 → 90% MeCN, 1% AcOH)를 통해 정제하여, 생성물 **6** (3.9 mg, 1.32 μmol, 31%)을 제공하였다. LRMS (ESI+) m/z에서 $C_{136}H_{196}Cl_2N_{22}O_{43}S_2$ ($M+2H^+$)/2에 대한 계산치=1480.13; 실측치 1480.35. 부산물로서 **6**의 단일-치환된 Ahx-마이탄신 유도체를 단리하였다 (묘사되지 않음). LRMS (ESI^+)에서 $C_{85}H_{119}ClN_{14}O_{31}S_2^{2+}$에 대한 계산치 m/z 965.36; 실측치 965.54.

[0525] *실시예 8. 화합물 9의 제조*

[0526] 무수 DMF (180 μL)에 용해된 BCN-HS-PEG$_2$-b-(Glu(OFm)-OH)$_2$ (**8**, 12.1 mg, 10 μmol, 1.0 eq)의 용액을 무수 DCM (180 μL), DIPEA (11 μL, 63 μmol, 6.2 eq) 및 HATU (8.9 mg, 23 μmol, 2.3 eq) 내 NH_2-Val-Ala-PABC-엑사테칸 (**5b**, Fmoc-탈보호된 **5**, 19 mg, 25 μmol, 2.5 eq)의 용액에 첨가하였다. 실온에서 2 시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 DCM (800 μL)으로 추가로 희석하고, 실리카겔을 통한 플래시 컬럼 크로마토그래피 (0% → 20%의, DCM 내 MeOH)에 의해 정제하여, 생성물을 투명한 오일로서 제공하였다 (DMF의 존재로 인해 수율을 결정하기 어려움). LCMS (ESI+)에서 $C_{140}H_{150}F_2N_{17}O_{33}S^+$ ($M/2+H^+$)에 대한 계산치 1334.01, 실측치 1334.79.

[0527] 이 화합물을 DMF (300 μL)에 용해시키고, 트리에틸아민 (21 μL, 150 μmol, 15 eq)을 첨가하였다. 실온에서 17 시간 후, 반응 혼합물을 DCM (700 μL)으로 희석하고, 실리카겔을 통한 플래시 컬럼 크로마토그래피 (0% → 45%의, DCM 내 MeOH)에 의해 정제하여, 화합물 **9**를 44% 수율로 황색 고체 (10.2 mg, 4.4 μL)로서 제공하였다. LCMS (ESI+)에서 $C_{112}H_{130}F_2N_{17}O_{33}S^+$ ($M/2+H^+$)에 대한 계산치 1156.2, 실측치 1156.74.



[0528]

[0529] 실시예 9-15: (변형된) 단클론 항체에 대한 링커-페이로드의 컨쥬게이션

[0530] *실시예 9: 컨쥬게이트* ***라베투주맙-3****을 수득하기 위한 BCN-HS-PEG2-HS-(va-PAB-Ex)$_2$* ***3****과 라베투주맙(6-N_3-GalNAc)$_2$의 컨쥬게이션*

[0531] 라베투주맙(6-N_3-GalNAc)$_2$의 용액 (844 μL, 18.0 mg, TBS pH 7.5 내 23.71 mg/ml)에 소듐 데옥시콜레이트 (200 μL, 110 mM) 및 BCN-HS-PEG2-HS-(va-PAB-Ex)$_2$ **3** (53 μL, DMF 내 10 mM 용액) 및 프로필렌 글리콜 (547 μL)을 첨가하였다. 반응물을 밤새 rt에서 항온처리하였다. 다음으로, 컨쥬게이트를 AKTA Pure (Cytiva)에서 HiLoad 16/600 Superdex200 PG 컬럼 (Cytiva)에서 정제하였다. 과도한 유리 페이로드를 제거하기 위해, 4 mg의 활성탄 (Carbon RHC, Filtrox AG)을 첨가하고, 3 시간 동안 회전시켰다. 목탄을 원심분리에 의해 제거하고, 후속적으로 PES 주사기 필터 (기공 0.20 μm, Corning)로 여과하였다. 후속적으로, 용액을 HiTrap 26-10 탈염 컬럼 (Cytiva)을 사용하여 완충액 교환하고, 0.1 M NaOH로 헹구고, 20 mM 히스티딘, 6% 수크로스 완충액 pH 6.0으로 평형화하고, Vivaspin Turbo 4 10 kDa MWCO 초여과 장치 (Sartorius)를 사용하여 농축하였다. 0.04% 트윈-20을 첨가한 후, 필터 살균하였다. IdeS 처리 후 샘플의 질량 스펙트럼 분석에서는 컨쥬게이트 **라베투주맙-3**에 상응하는 하나의 주요 Fc/2 생성물 (관찰 질량 26492 Da, 총 Fc/2 중 대략 90%)을 보여주었다. 환원 조건 하의 샘플의 RP-UPLC 분석에서는 3.90의 평균 DAR을 나타냈다.

[0532] *실시예 10: 컨쥬게이트* ***투사미타맙-3****을 수득하기 위한 BCN-HS-PEG2-HS-(va-PAB-Ex)$_2$* ***3****과 투사미타맙(6-N_3-GalNAc)$_2$의 컨쥬게이션*

[0533] 투사미타맙(6-N_3-GalNAc)$_2$의 용액 (1762 μL, 37.0 mg, TBS pH 7.5 중 21.06 mg/ml)에 소듐 데옥시콜레이트 (247 μL, 110 mM) 및 BCN-HS-PEG2-HS-(va-PAB-Ex)$_2$ **3** (74 μL, DMF 중 10 mM 용액) 및 프로필렌 글리콜 (421 μL)을 첨가하였다. 반응물을 rt에서 밤새 항온처리하였다. 다음에, 컨쥬게이트를 AKTA Pure (Cytiva)에서 HiLoad 16/600 Superdex200 PG 컬럼 (Cytiva)으로 정제하였다. 과도한 유리 페이로드를 제거하기 위해, 19 mg의 활성탄 (Carbon RHC, Filtrox AG)을 첨가하고, 3 시간 동안 회전시켰다. 목탄을 원심분리에 의해 제거하고, 후속적으로 PES 주사기 필터 (기공 0.20 μm, Corning)로 여과하였다. 후속적으로, 용액을 HiTrap 26-10 탈염 컬럼 (Cytiva)을 사용하여 완충액 교환하고, 0.1 M NaOH로 헹구고, 20 mM 히스티딘, 6% 수크로스 완충액 pH

6.0으로 평형화하고, Vivaspin Turbo 4 10 kDa MWCO 초여과 장치 (Sartorius)를 사용하여 농축하였다. 0.04% 트윈-20을 첨가한 후, 필터 살균하였다. IdeS 처리 후 샘플의 질량 스펙트럼 분석에서는 컨쥬게이트 **투사미타맙-3**에 상응하는 하나의 주요 Fc/2 생성물 (관찰 질량 26461 Da, 총 Fc/2 중 대략 90%)을 보여주었다. 환원 조건 하의 샘플의 RP-UPLC 분석에서는 3.89의 평균 DAR을 나타냈다.

[0534] *실시예 11: 컨쥬게이트 **투사미타맙-5b**를 수득하기 위한 BCN-HS-vc-PABC-칼리키아마이신 **5b**와 투사미타맙(6-N_3-GalNAc)$_2$의 컨쥬게이션*

[0535] 투사미타맙(6-N_3-GalNAc)$_2$의 용액 (1424 μL, 30.0 mg, TBS pH 7.5 중 21.06 mg/ml)에 소듐 데옥시콜레이트 (200 μL, 110 mM) 및 BCN-HS-vc-PABC-칼리키아마이신 **5b** (15 μL, DMF 중 40 mM 용액) 및 DMF (185 μL)를 첨가하였다. 반응물을 rt에서 밤새 항온처리하였다. 다음으로, 컨쥬게이트를 AKTA Pure (Cytiva)에서 HiLoad 16/600 Superdex200 PG 컬럼 (Cytiva)에서 정제하였다. 후속적으로, 용액을 HiTrap 26-10 탈염 컬럼 (Cytiva)을 사용하여 완충액 교환하고, 0.1 M NaOH로 헹구고, 20 mM 히스티딘, 6% 수크로스 완충액 pH 6.0으로 평형화하고, Vivaspin Turbo 4 10 kDa MWCO 초여과 장치 (Sartorius)를 사용하여 농축하였다. 0.04% 트윈-20을 첨가한 후, 필터 살균하였다. IdeS 처리 후 샘플의 질량 스펙트럼 분석에서는 컨쥬게이트 **투사미타맙-5b**에 상응하는 하나의 주요 Fc/2 생성물 (관찰 질량 26715 Da, 총 Fc/2 중 대략 90%)을 보여주었다. 환원 조건 하의 샘플의 RP-UPLC 분석에서는 1.94의 평균 DAR을 나타냈다.

[0536] *실시예 12: 컨쥬게이트 **투사미타맙-6**을 수득하기 위한 BCN-HS-PEG2-HS-(vc-PABA-Ahx-May)$_2$ **6**과 투사미타맙(6-N_3-GalNAc)$_2$의 컨쥬게이션*

[0537] 투사미타맙(6-N_3-GalNAc)$_2$의 용액 (1424 μL, 30.0 mg, TBS pH 7.5 중 21.06 mg/ml)에 BCN-HS-PEG2-HS-(vc-PABA-Ahx-May)$_2$ **6** (80 μL, DMF 중 10 mM 용액) 및 DMF (420 μL)를 첨가하였다. 반응물을 rt에서 밤새 항온처리하였다. 다음으로, 컨쥬게이트를 AKTA Pure (Cytiva)에서 HiLoad 16/600 Superdex200 PG 컬럼 (Cytiva)에서 정제하였다. 후속적으로, 용액을 HiTrap 26-10 탈염 컬럼 (Cytiva)을 사용하여 완충액 교환하고, 0.1 M NaOH로 헹구고, 20 mM 히스티딘, 6% 수크로스 완충액 pH 6.0으로 평형화하고, Vivaspin Turbo 4 10 kDa MWCO 초여과 장치 (Sartorius)를 사용하여 농축하였다. 0.04% 트윈-20을 첨가한 후, 필터 살균하였다. IdeS 처리 후 샘플의 질량 스펙트럼 분석에서는 컨쥬게이트 **투사미타맙-6**에 상응하는 하나의 주요 Fc/2 생성물 (관찰 질량 27289 Da, 총 Fc/2 중 대략 90%)을 보여주었다. 환원 조건 하의 샘플의 RP-UPLC 분석에서는 3.85의 평균 DAR을 나타냈다.

[0538] *실시예 13: 컨쥬게이트 **B12-3**을 수득하기 위한 BCN-HS-PEG2-HS-(va-PAB-Ex)$_2$ **3**과 B12(6-N_3-GalNAc)$_2$의 컨쥬게이션*

[0539] B12(6-N_3-GalNAc)$_2$의 용액 (6.33 mL, 150.0 mg, TBS pH 7.5 내 23.71 mg/ml)에 BCN-HS-PEG2-HS-(va-PAB-Ex)$_2$ **3** (495 μL, DMF 내 10 mM 용액) 및 프로필렌 글리콜 (7.0 mL)을 첨가하였다. 반응물을 rt에서 밤새 항온처리하였다. 다음으로, 컨쥬게이트를 AKTA Pure (Cytiva)에서 HiLoad 26/600 Superdex200 PG 컬럼 (Cytiva)에서 정제하였다. 과도한 유리 페이로드를 제거하기 위해, 150 mg의 활성탄 (Carbon RHC, Filtrox AG)을 첨가하고, 밤새 회전시켰다. 목탄을 원심분리에 의해 제거하고, 후속적으로 PES 주사기 필터 (기공 0.20 μm, Corning)로 여과하였다. 후속적으로, 용액을 20 mM 히스티딘, 6% 수크로스 완충액 pH 6.0으로 rt에서 2 시간 그리고 4℃에서 밤새 투석하였다. 용액을 Vivaspin Turbo 4 10 kDa MWCO 초여과 유닛 (Sartorius)를 사용하여 농축하고, 0.04% 트윈-20을 첨가한 후, 필터 살균하였다. IdeS 처리 후 샘플의 질량 스펙트럼 분석에서는 컨쥬게이트 **B12-3**에 상응하는 하나의 주요 Fc/2 생성물 (관찰 질량 26462 Da, 총 Fc/2 중 대략 90%)을 보여주었다. 환원 조건 하의 샘플의 RP-UPLC 분석에서는 3.75의 평균 DAR을 나타냈다.

[0540] *실시예 14: 투사미타맙-DM4의 생산*

[0541] 투사미타맙 (17.5 mg, PBS 중 2.11 mg/ml)에 DMA를 충전하여, 5% v/v 및 7 몰 당량의 SPDB-DM4 (DMA 중 20 mM)를 제공하고, rt에서 밤새 항온처리하였다. 컨쥬게이트를 20 mM 히스티딘/80 mM NaCl/6% 수크로스 내로 분취용 SEC (HiLoad 26/600 Superdex pg)에 의해 정제하였다. 20 mM 히스티딘/6% 수크로스/pH 6 내로의 농축 및 완충액 교환을 Vivaspin에서 불연속 투석여과를 통해 수행하였다. 0.04% 트윈-20을 첨가한 후, 필터 살균하였다. 평균 DAR을 측정하였고, 3.4였다.

[0542] 실시예 15: *컨쥬게이트* **라베투주맙-9**를 수득하기 위한 *BCN-HS-PEG2-(eva-PAB-Ex)$_2$* ***9***와 라베투주맙(*6-N_3-GalNAc*)$_2$

의 컨쥬게이션

[0543] 라베투주맙(6-N_3-GalNAc)$_2$의 용액 (26 μL, 0.5 mg, TBS pH 7.5 중 19.35 mg/ml)에 소듐 데옥시콜레이트 (5 μL, 110 mM) 및 BCN-HS-PEG2-(eva-PAB-Ex)$_2$ **9** (1 μL, DMF 중 10 mM 용액) 및 프로필렌 글리콜 (9 μL)을 첨가하였다. 반응물을 rt에서 밤새 항온처리하였다. IdeS 처리 후 샘플의 질량 스펙트럼 분석에서는 컨쥬게이트 **라베투주맙-9**에 상응하는 하나의 주요 Fc/2 생성물 (관찰 질량 26674 Da, 총 Fc/2 중 대략 95%)을 보여주었다. 환원 조건 하의 컨쥬게이트의 RP-UPLC 분석에서는 3.88의 평균 DAR을 나타냈다.

[0544] 실시예 16-19: 생체외 연구

[0545] *실시예 16. ELISA를 사용한 mAb 및 ADC에 대한 hCEACAM5, cCEACAM5 및 hCEACAM6 결합 검정*

[0546] 니켈 NTA 플레이트 (Pierce™ 니켈 코팅된 플레이팅, ThermoScientific™)를 사용하기 전에 3 회 세척하였다. 인간 CEACAM5 (CD66e 단백질, His 태그, Sino Biological), 인간 CEACAM6 (CD66c 단백질, His 태그, Sino Biological) 및 시노몰거스 CEACAM5 (CD66e 단백질, His 태그, Sino Biological)를 PBS (PBA) 내 0.1% BSA에 0.05 μg/mL의 농도로 용해시켰다. 100 μL를 각각의 웰에 첨가하고, 실온에서 1 시간 동안 진탕하면서 항온처리하였다. 제거 후, 플레이트를 PBS (세척 완충액) 내 0.05% 트윈-20으로 3 회 세척하였다. ADC를 0.1% PBA에 희석하여 8 μg/mL의 최종 농도가 되도록 하고, 100 μL를 각각의 웰에 첨가하였다 (삼중으로). ADC를 실온에서 1 시간 동안 항온처리하였다. 100 μL의, 이차 항체 (염소 항-인간 IgG, HRP 컨쥬게이트, Invitrogen)의 1:100 희석물의 첨가 전에, 플레이트를 세척 완충액으로 3 회 세척하였다. 플레이트를 다시 실온에서 1 시간 동안 항온처리하고, 후속적으로 세척 완충액으로 3 회 그리고 PBS로 3 회 세척하였다. 마지막으로, 100 μL의 TMB ELISA 기질 (1 Step™ Turbo TMB ELISA 기질, ThermoScientific™)을 첨가하고, 1 분 동안 항온처리하였다. 비색 신호의 흡광도는 605 nm에서 Infinite® M1000 (Tecan)으로 측정하였다. 데이터를 배경에 대해 보정하여 플롯팅하였다 (도 9a 및 9b 참고).

[0547] *실시예 17: 생체외 세포독성*

[0548] MKN-45 (CEACAM+, DSMZ ACC-409) 세포를 80% RPMI 1640 + 20% FBS에 희석하였다. 세포를 384-웰 플레이트에 45 μl 배지 중 웰당 200 개의 세포의 밀도로 분배하였다. 플레이트의 여백은 포스페이트-완충된 식염수로 채웠다. 플레이팅된 세포를 37℃에서 5% CO2의 가습된 분위기 하에 항온처리하였다. 24 시간 후, 5 μl의 화합물 희석물을 첨가하고, 플레이트를 추가로 항온처리하였다. t=종료에서, 24 μl의 ATPlite 1Step™ (PerkinElmer) 용액을 각각의 웰에 첨가하고, 후속적으로 2 분 동안 진탕하였다. 암흑에서 5 분의 항온처리 후, Envision 멀티모드 판독기 (PerkinElmer)에서 발광을 기록하였다.

[0549] 대조군: t = 0 신호. 평행 플레이트에서, 45 μl의 세포를 분배하고, 37℃에서 5% CO2의 가습된 분위기 하에 항온처리하였다. 24 시간 후, 5 μl의 DMSO-함유 HEPES 완충액 및 24 μl의 ATPlite 1Step™ 용액을 혼합하고, 5 분의 항온처리 후 발광을 측정하였다(= $발광_{t=0}$). 세포 성장 대조군. 모든 세포주의 세포 배가 시간은 미처리 세포의 t = 0 시간 및 t = 성장 종료 신호로부터 계산된다. 배가 시간이 사양을 벗어나는 경우 (역사적 평균으로부터 0.5-2.0 배 편차), 검정은 무효화된다. 최대 신호. 각각의 세포주의 경우, 최대 발광은 0.4% DMSO의 존재하에 화합물 없이 t = 종료까지 항온처리한 후 기록하였다(= $발광_{미처리,\ t=종료}$).

[0550] 데이터 분석: IC50을 IDBS XLfit 5를 사용한 비-선형 회귀에 의해 계산하였다. t=종료까지 항온처리 후의 성장 백분율 (%-성장)을 다음과 같이 계산하였다: 100% x ($발광_{t=종료}$/$발광_{미처리,\ t=종료}$). 이것은 4-매개변수 로지스틱스 곡선에 의해 ^{10}log 화합물 농도 (conc)에 맞춰졌다: %-성장 = 하단 + (상단 - 하단) / (1+ $10^{((logIC50\ -conc)*hill}$)), 여기서 hill은 Hill-계수이고, 하단 및 상단은 해당 검정에서 화합물이 허용하는 점근적 최소 및 최대 세포 성장임. 생존 플롯은 세포가 없는 웰을 0% 생존율로, 미처리 세포가 있는 웰을 100% 생존율로 설정함으로써 세포 생존율 백분율로 정규화된 데이터를 도시한다 (도 10 참고). ADC에 대한 IC_{50} 값은 아래 표에 도시되어 있다:

[0551] 표 1. MKN-45 세포에 대한 여러 ADC 및 mAb에 대한 IC_{50} 값

	MKN-45, IC_{50} (nM)
라베투주맙-3	6.5
투사미타맙-DM4	2.6
투사미타맙-3	3.4
투사미타맙-5b	1.9
투사미타맙-6	0.88
B12-3	>100

[0552]

[0553] *실시예 18. 인간 및 마우스 혈청 안정성*

[0554] 마우스 및 인간 혈장 내 ADC의 안정성을 테스트하였다. 검정 전에, CaptivA® 단백질 A 아가로스 (1 mL 아가로스/mL 혈청)를 사용하여 혈장에서 모든 IgG를 고갈시켰다. ADC를 고갈된 인간/마우스 혈청에 0.1 mg/mL의 최종 농도가 되도록 첨가한 후, 37℃에서 항온처리하였다. 각각의 시점에서, 0.5 mL을 급속 냉동하고, 추가 분석이 있을 때까지 -80℃에서 보관하였다. 항온처리 후 ADC를 단리하기 위해, 20 μl의 CaptivA® 단백질 A 아가로스 수지를 샘플에 첨가하고, 실온에서 1 시간 동안 항온처리하였다. 수지를 PBS로 3 회 세척하고, 후속적으로 0.1 M 글리신-HCl pH 2.7 (0.4 mL)을 첨가하여, ADC를 용리하였다. 용리 후, 샘플을 1.0 M 트리스 pH 8.0 (0.1 mL)으로 즉시 중화하였다. 샘플을 Amicon 울트라 스핀-필터 0.5 mL MWCO 10 kDa (Merck Millipore)를 사용하여 PBS에 대해 3 회 스핀-여과하고, 부피를 40 μL로 감소시켜, 대략 1 mg/mL의 최종 ADC 농도를 산출하였다. 샘플을 구체적인 일자에 RP-UPLC (DTT 환원)에서 분석하여, DAR를 결정하였으며, 결과는 아래 표에 도시되어 있다. t = 14일에서, t = 0 일과의 차이는 백분율로 제공된다.

[0555] 표 2. 인간 및 마우스 혈장에서의 안정성

혈장	컨쥬게이트	DAR t=0	DAR t=3	DAR t=7	DAR t=14
인간	투사미타맙-DM4	3.40	3.30	3.10	3.00 (88%)
인간	라베투주맙-3	3.90	3.86	3.79	3.70 (95%)
마우스	투사미타맙-DM4	3.40	3.35	3.13	3.21 (94%)
마우스	라베투주맙-3	3.84	3.78	3.78	3.69 (96%)

[0556]

[0557] *실시예 19. 생리적 및 향상된 스트레스 조건에서의 열안정성*

[0558] ADC의 안정성을 생리적 조건 (PBS, pH 7.4, 37℃) 또는 향상된 스트레스 조건 (시트레이트 완충된 식염수, CBS, pH 5.0, 40℃)에서 상승된 온도에서 테스트하였다. ADC를 HiTrap 26-10 탈염 컬럼 (Cytiva)을 사용하여 완충액 교환하고, 0.1 M NaOH로 헹구고, AKTA Pure (Cytiva)에서 PBS 또는 CBS로 평형화하였다. 용액을 Vivaspin Turbo 4 10 kDa MWCO 초여과 장치 (Sartorius)를 사용하여 농도 > 1 mg/mL로 농축하였다. ADC의 농도를 측정하고, 이들을 1 mg/mL로 희석하고, 위에 기재된 바와 같이 SE-HPLC 분석을 위해 제1 측정치인 t=0을 취하였다. 샘플을 37℃ 또는 40℃에 두었고, 여러 시점 t (일자 단위)에서 샘플을 채취하고, 응집 수준을 결정하였으며, 아래 표를 참고한다.

[0559] 표 3. 생리학적 조건, 단량체 수준 (백분율 단위):

	t=0	t=1	t=2	t=5	t=7	t=14	t=21	t=28
투사미타맙-DM4	99,0%	99,0%	99,0%	98,9%	98,7%	96,8%	97,0%	95,0%
라베투주맙-3	98,5%	98,7%	98,5%	98,9%	98,0%	99,0%	98,6%	98,4%

[0560]

[0561] 표 4. 향상된 스트레스 조건, 단량체 수준 (백분율 단위):

[0562]

	t=0	t=1	t=2	t=5	t=7	t=14	t=21	t=28
투사미타맙-DM4	99,0%	85,3%	89,3%	83,6%	80,3%	75,5%	70,5%	62.5%
라베투주맙-3	98,8%	98,5%	99,0%	98,4%	98,6%	08,7%	98,4%	97,7%

[0563] 실시예 20-23: 생체내 연구

[0564] *실시예 20: 생체내 효능 연구*

[0565] DMSO/SVF/RPMI 1640 배지 (5/10/85)에서 동결되고 액체 질소에 보관된 환자-유래된 종양의 단편을 37℃에서 5 분 동안 해동시켰다. 그런 다음, 이들을 면역결핍 마우스에 피하 이식하기 전에 RPMI 1640 배지에서 2 회 행군 다음, 면역결핍 마우스에 연속으로 이식하였다. 결장직장 PDX 세포주인 CR-IGR-034P를 각각의 동물의 오른쪽 옆구리 내로의 피하 이식에 의해 수용 6-주령의 건강한 암컷 CB17 SCID (CB17/lcr-Prkdcscid/lcrlcoCrl) 마우스 15 마리 (Charles River로부터 수득됨)에서 증폭시켰다. 종양 부피가 500-1500 mm^3에 도달했을 때, 이식을 위해 종양을 수술적으로 절제하였다.

[0566] 6-7 주령의 CB17 SCID 마우스 (암컷)(Charles River로부터 수득됨)는 위에 기재된 바와 같이 증폭된 종양 단편을 포함하는 피하 주사를 오른쪽 옆구리 영역에 제공받았다. 종양이 100-200 mm^3의 평균 크기에 도달했을 때, 8 마리의 마우스의 10 개의 그룹으로 무작위화를 수행하고, 치료를 시작하였다. 그룹 간의 동질성을 분산 분석 (ANOVA)에 의해 테스트하였다.

[0567] 테스트 물품 투여를 꼬리 정맥을 통한 정맥 주사를 통해 수행하였고, 투약 부피는 10 mL/kg이었다. 치료를 무작위화 당일에 개시하였다. 투약을 층류 캐비닛에서 실시하였다.

[0568] 종양 세포 접종 후, 동물을 이환율 및 사망률에 대해 매일 확인하였다. 정기 모니터링 시, 정상적인 거동, 예컨대, 이동성, 음식 및 물 소비의 시각적 추정, 체중 증가/손실, 눈/털 뭉침 및 임의의 기타 비정상적인 효과에 대한 종양 성장 및 치료의 임의의 이상 효과에 대해 동물을 확인하고, Vivo Manager 데이터베이스 (Biosystemes, France)에 기록한다. 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 2 차원으로 3-4 일마다 측정하고, 부피 데이터는 다음의 공식을 사용하여 mm^3으로 표현된다: V = (L x W x W)/2, 여기서 V는 종양 부피이고, L은 종양 길이 (가장 긴 종양 치수)이고, W는 종양 너비 (L에 수직인 가장 긴 종양 치수)임. 투약뿐만 아니라 종양 및 체중 측정은 층류 캐비닛에서 실시될 것이다. 실험의 엔드포인트는 종양 부피가 2,000 mm^3이 되거나 체중이 20% 이상 감소하거나 28일이 경과하는 시점이며, 어느 쪽이 먼저 도달하는지가 적용된다.

[0569] 표 5. 생체내 연구에 포함된 테스트 항목 및 용량 수준의 개요

[0570]

테스트 항목	용량 수준 (mg/kg)	그룹 (N=8)	투여	투약 일정
비히클	–	1	IV	단일 용량
투사미타맙-DM4	5.7	2	IV	단일 용량
라베투주맙-3	5	3	IV	단일 용량
	10	4	IV	단일 용량
투사미타맙-3	5	5	IV	단일 용량
	10	6	IV	단일 용량
투사미타맙-5b	3	8	IV	단일 용량
	5	9	IV	단일 용량
투사미타맙-6	5	7	IV	단일 용량
B12-3	10	10	IV	단일 용량

[0571] 위의 테스트 항목을 이용한 효능 연구에 대한 데이터는 도 11a-11d에 묘사되어 있다.

[0572] *실시예 21: 생체내 효능 연구*

[0573] DMSO/SVF/RPMI 1640 배지 (5/10/85)에서 동결되고 액체 질소에 보관된 환자-유래된 종양의 단편을 37℃에서 5 분 동안 해동시켰다. 그런 다음, 이들을 면역결핍 마우스에 피하 이식하기 전에 RPMI 1640 배지에서 2 회 헹군 다음, 면역결핍 마우스에 연속으로 이식하였다. 결장직장 PDX 세포주인 CR-IGR-002P를 각각의 동물의 오른쪽 옆구리 내로의 피하 이식에 의해 수용 6-주령의 건강한 암컷 CB17 SCID (CB17/lcr-Prkdcscid/lcrlcoCrl) 마우스 15 마리 (Charles River로부터 수득됨)에서 증폭시켰다. 종양 부피가 500-1500 mm^3에 도달했을 때, 이식을 위해 종양을 수술적으로 절제하였다.

[0574] 6-7 주령의 CB17 SCID 마우스 (암컷)(Charles River로부터 수득됨)는 위에 기재된 바와 같이 증폭된 종양 단편을 포함하는 피하 주사를 오른쪽 옆구리 영역에 제공받았다. 종양이 100-200 mm^3의 평균 크기에 도달했을 때, 6 마리의 마우스의 5 개의 그룹으로 무작위화를 수행하고, 치료를 시작하였다. 그룹 간의 동질성을 분산 분석 (ANOVA)에 의해 테스트하였다.

[0575] 테스트 물품 투여를 꼬리 정맥을 통한 정맥 주사를 통해 수행하였고, 투약 부피는 10 mL/kg이었다. 치료를 무작위화 당일에 개시하였다. 투약을 층류 캐비닛에서 실시하였다.

[0576] 종양 세포 접종 후, 동물을 이환율 및 사망률에 대해 매일 확인하였다. 정기 모니터링 시, 정상적인 거동, 예컨대, 이동성, 음식 및 물 소비의 시각적 추정, 체중 증가/손실, 눈/털 뭉침 및 임의의 기타 비정상적인 효과에 대한 종양 성장 및 치료의 임의의 이상 효과에 대해 동물을 확인하고, Vivo Manager 데이터베이스 (Biosystemes, France)에 기록한다. 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 2 차원으로 3-4 일마다 측정하고, 부피 데이터는 다음의 공식을 사용하여 mm^3으로 표현된다: V = (L x W x W)/2, 여기서 V는 종양 부피이고, L은 종양 길이 (가장 긴 종양 치수)이고, W는 종양 너비 (L에 수직인 가장 긴 종양 치수)임. 투약뿐만 아니라 종양 및 체중 측정은 층류 캐비닛에서 실시될 것이다. 실험의 엔드포인트는 종양 부피가 2,000 mm^3이 되거나 체중이 20% 이상 감소하거나 29 일이 경과하는 시점이며, 어느 쪽이 먼저 도달하는지가 적용된다.

[0577] 표 6. 생체내 연구에 포함된 테스트 항목 및 용량 수준의 개요

테스트 항목	용량 수준 (mg/kg)	그룹 (N=8)	투여	투약 일정
비히클	–	1	IV	단일 용량
투사미타맙-DM4	5	2	IV	단일 용량
라베투주맙-3	10	3	IV	단일 용량
투사미타맙-3	10	4	IV	단일 용량
B12-3	10	5	IV	단일 용량

[0578]

[0579] 위의 테스트 항목을 이용한 효능 연구에 대한 데이터는 도 12a 및 12b에 묘사되어 있다.

[0580] *실시예 22: 여러 PDX 모델의 생체내 효능 연구, 단일 마우스 시험*

[0581] DMSO/SVF/RPMI 1640 배지 (5/10/85)에서 동결되고 액체 질소에 보관된 환자-유래된 종양의 단편을 37℃에서 5 분 동안 해동시켰다. 그런 다음, 이들을 면역결핍 마우스에 피하 이식하기 전에 RPMI 1640 배지에서 2 회 헹군 다음, 면역결핍 마우스에 연속으로 이식하였다. 아래 표를 참고하여 PDX 세포주는 각각의 동물의 오른쪽 옆구리 내로의 피하 이식에 의해 수령 6-주령의 건강한 암컷 CB17 SCID (CB17/lcr-Prkdcscid/lcrlcoCrl) 마우스 12 마리 (Charles River로부터 수득됨) 및 건강한 NSG (NOD.Cg.PrkdcSCID I12rgtmWijl/SzJ, Charles River로부터 수득됨) 9 마리에서 증폭시켰다. 종양 부피가 500-1500 mm^3에 도달했을 때, 이식을 위해 종양을 수술적으로 절제하였다.

[0582] 6-7 주령의 CB17 SCID 마우스 (암컷)(Charles River로부터 수득됨)는 위에 기재된 바와 같이 증폭된 종양 단편

을 포함하는 피하 주사를 오른쪽 옆구리 영역에 제공받았다. 종양이 100-200 mm^3의 평균 크기에 도달했을 때, 무작위화를 수행하고, 치료를 시작하였다. 집단 간의 동질성을 분산 분석 (ANOVA)에 의해 테스트하였다.

[0583] 테스트 물품 투여를 꼬리 정맥을 통한 정맥 주사를 통해 수행하였고, 투약 부피는 10 mL/kg이었다. 용량은 비히클 또는 10 mg/kg의 라베투주맙-3이었다. 치료를 무작위화 당일에 개시하였다. 투약을 층류 캐비닛에서 실시하였다.

[0584] 종양 세포 접종 후, 동물을 이환율 및 사망률에 대해 매일 확인하였다. 정기 모니터링 시, 정상적인 거동, 예컨대, 이동성, 음식 및 물 소비의 시각적 추정, 체중 증가/손실, 눈/털 뭉침 및 임의의 기타 비정상적인 효과에 대한 종양 성장 및 치료의 임의의 이상 효과에 대해 동물을 확인하고, Vivo Manager 데이터베이스 (Biosystemes, France)에 기록한다. 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 2 차원으로 3-4 일마다 측정하고, 부피 데이터는 다음의 공식을 사용하여 mm^3으로 표현된다: V = (L x W x W)/2, 여기서 V는 종양 부피, L은 종양 길이 (가장 긴 종양 치수)이고, W는 종양 너비 (L에 수직인 가장 긴 종양 치수)임. 투약뿐만 아니라 종양 및 체중 측정은 층류 캐비닛에서 실시될 것이다. 실험의 엔드포인트는 종양 부피가 2,000 mm^3이 되거나 체중이 20% 이상 감소하거나 생존율이 비히클 대비 1.5 배인 시점 중 가장 먼저 도달한 시점이다.

[0585] 종양 성장 억제는 다음의 방정식으로 계산된다:

[0586] $$\frac{T}{C}\% = 100 \times \frac{Dx\text{에서 치료된 그룹의 중앙값 종양 부피}}{Dx\text{에서 비히클 치료된 그룹의 중앙값 종양 부피}}$$

[0587] 여기서 DX: 종양 부피 측정의 일자. 최적의 값은 달성된 최대 종양 성장 억제를 반영하는 최소 T/C% 비율이다. 종양 성장 억제는 다음과 같이 분류된다:

[0588] <20%: 높은 억제

[0589] 21-40%: 적당히 높은 억제

[0590] 41-80%: 중등도 억제

[0591] >81%: 낮은 억제

[0592] 표 7. PDX 모델의 개요 및 특징

[0593]

PDX 모델	증폭을 위한 동물	적용	CEACAM 발현 수진 (H-점수)	염색의 세기 (IHC)	이리노테칸 민감성*
CR-IC-003P	SCID 마우스	결장직장	ND	2+	아니오
CR-LRB-010P	SCID 마우스	결장직장	ND	1+	예
LUN-NIC-014	SCID 마우스	폐	120	2+	미지
IM-PAN-007	NSG 마우스	췌장	270	3+	예
SA-PAN-083	NSG 마우스	췌장	70	1+	예

[0594] * 예는 >40% 이리노테칸 반응을 의미함

[0595] 도 13a-13o는 PDX 모델당 효능 플롯, 체중 플롯 및 카플란-마이어 플롯을 도시한다. 아래 표 8은 모델당 TGI%를 도시한다.

[0596] 표 8. 모델당 TGI%

PDX 모델	TGI%	분류
CR-IC-003P	8.3 %	높은 억제
CR-LRB-010P	29.4 %	적당히 높은 억제
LUN-NIC-014	11.9 %	높은 억제
IM-PAN-007	11.8 %	높은 억제
SA-PAN-083	11.2 %	높은 억제

[0597]

[0598] *실시예 23: 생체내 내약성 연구*

[0599] 6-7 주령의 Sprague Dawley 랫트 (암컷)를 연구에 등록되기 전 1 주일 동안 적응시켰다.

[0600] 무작위화: 내약성 연구에서, 총 15 마리의 랫트를 등록시켰고, 그룹당 3 마리의 랫트를 포함하는 5 개의 연구 그룹에 무작위로 배정하였다. "매칭된 분포" 방법 (StudyDirectorTM 소프트웨어, 버전 3.1.399.19)에 기반하여 무작위화를 수행하였다. 무작위화의 날짜는 0 일차로서 표시된다.

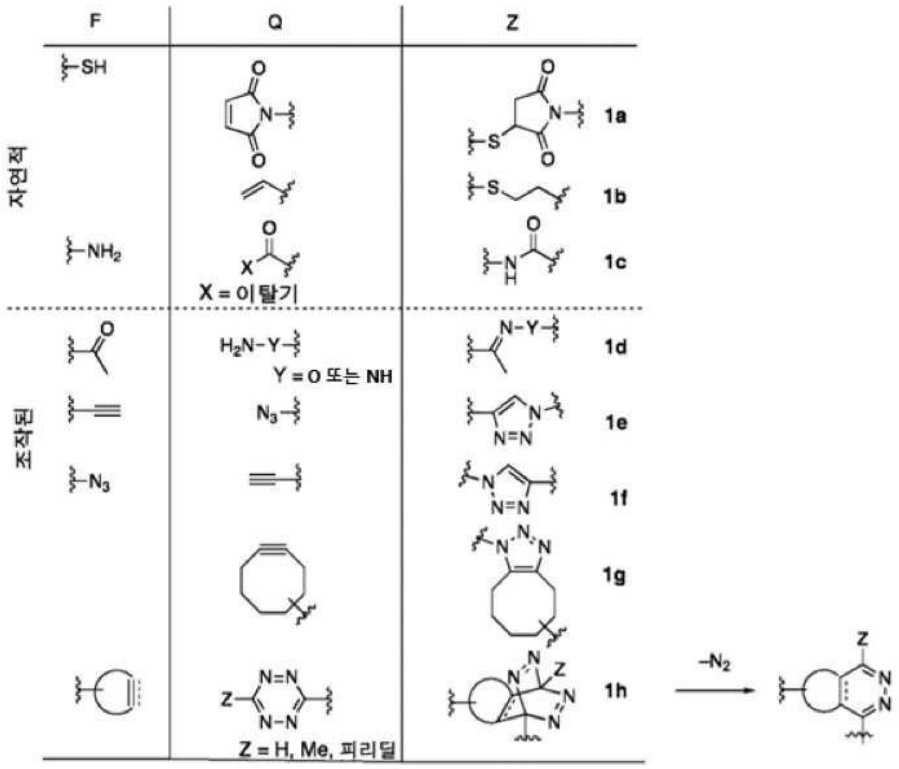
[0601] 테스트 물품 투여: 치료를 연구 설계에 따라 무작위화 당일 (0 일차)에 개시하였다. 선택된 용량 수준은 80, 100, 120 및 140 mg/kg의 단일 용량이었다. 모든 동물에 느린 정맥 주사 (10 mL/kg)를 통해 투약하였다.

[0602] 무작위화 후 관찰 및 데이터 수집: 동물을 이환율 및 사망률에 대해 매일 확인하였다. 정기 모니터링 동안, 거동, 예컨대, 이동성, 음식 및 물 소비, 체중 증가/손실, 눈/털 뭉침 및 임의의 기타 비정상에 대한 치료의 임의의 효과에 대해 동물을 확인하였다. 사망률 및 관찰된 임상 징후를 개별 동물에 대해 상세히 기록하였다. 투약뿐만 아니라 체중 측정을 층류 캐비닛에서 실시하였다. 체중을 StudyDirectorTM 소프트웨어 (버전 3.1.399.19)를 사용하여 매일 측정하였다.

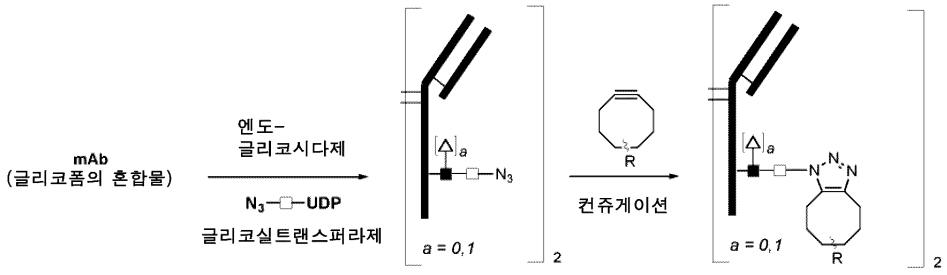
[0603] 여러 용량 수준에서 테스트 항목으로서 라베투주맙-3을 이용한 시간 경과에 따른 랫트의 체중은 도 14에 묘사되어 있다.

도면

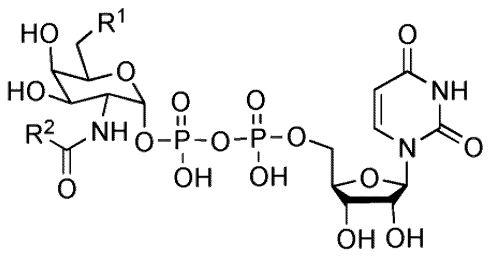
도면1



도면2

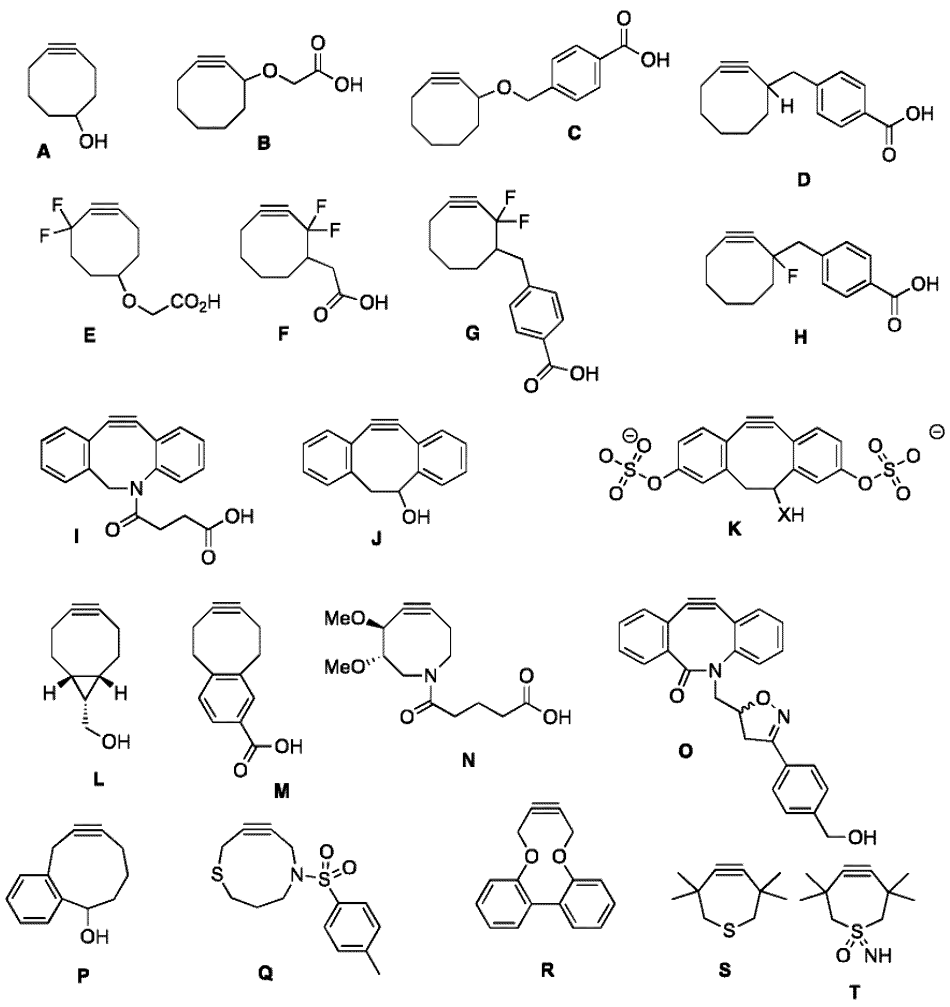


도면3

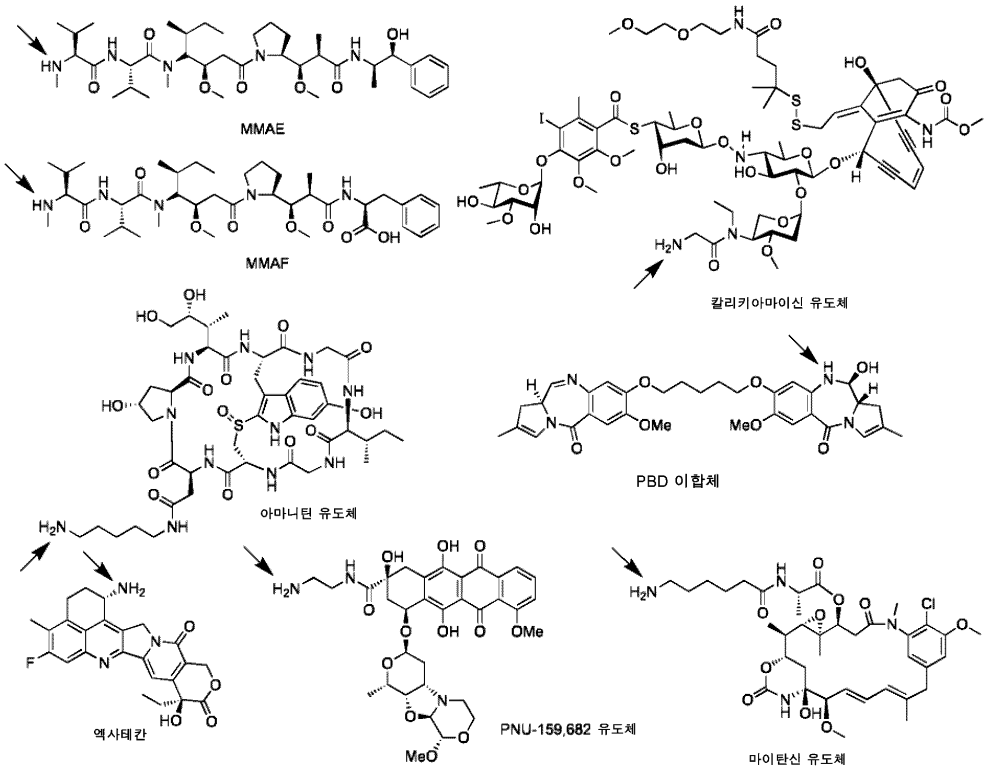


2a R^1 = OH; R^2 = $(CH_2)_2SH$
2b R^1 = OH; R^2 = CH_2N_3
2c R^1 = OH; R^2 = CF_2N_3
2d R^1 = N_3; R^2 = CH_3

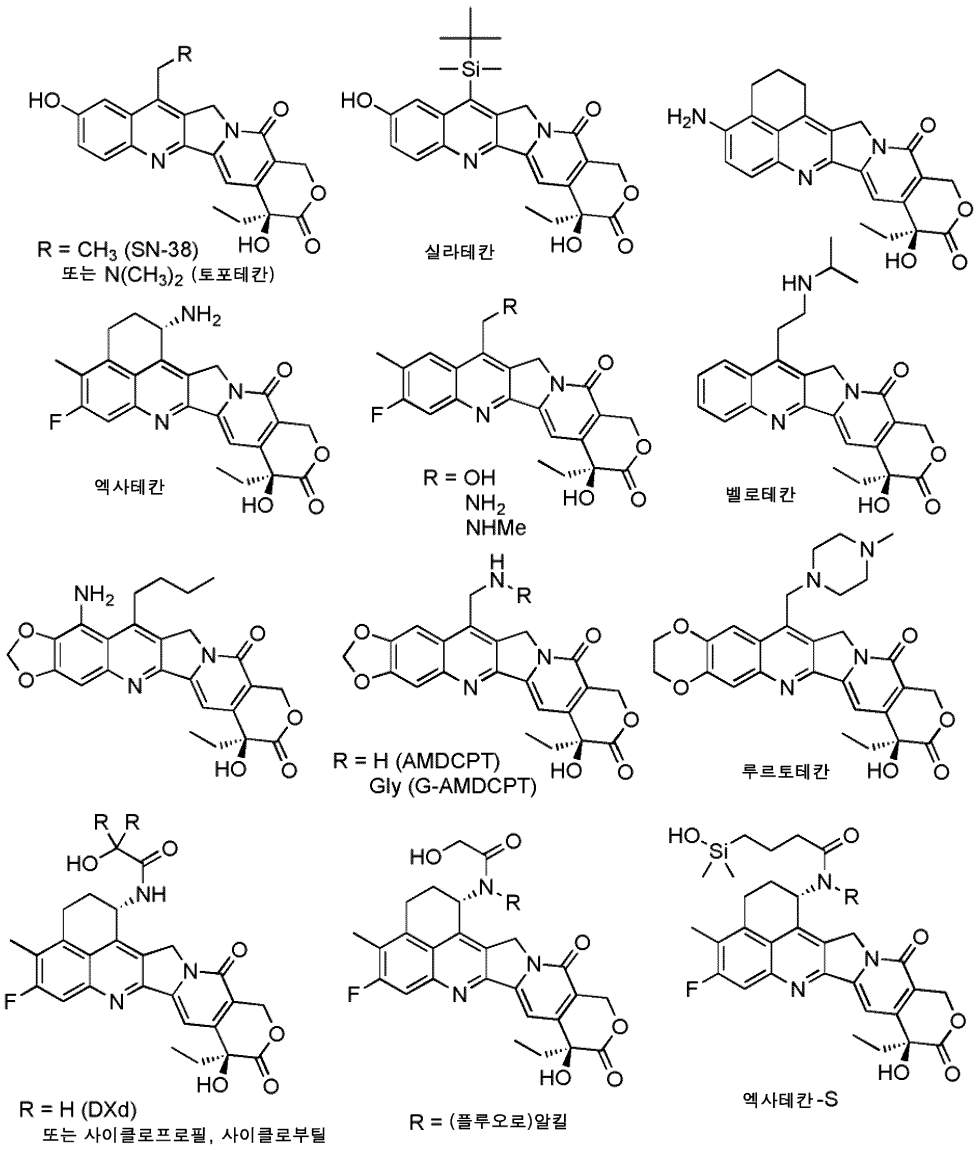
도면4



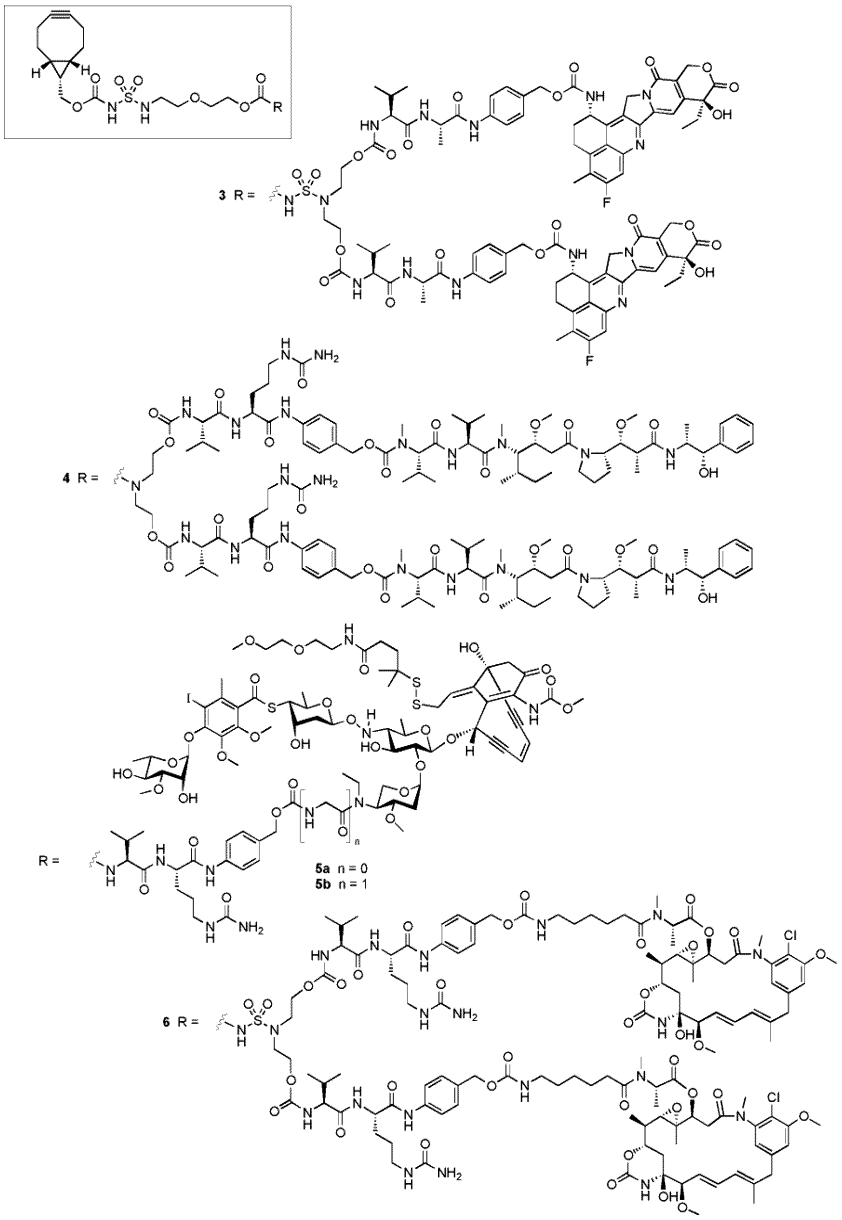
도면5


MMAE
MMAF
칼리키아마이신 유도체
아마니틴 유도체
PBD 이합체
액사테칸
PNU-159,682 유도체
마이탄신 유도체

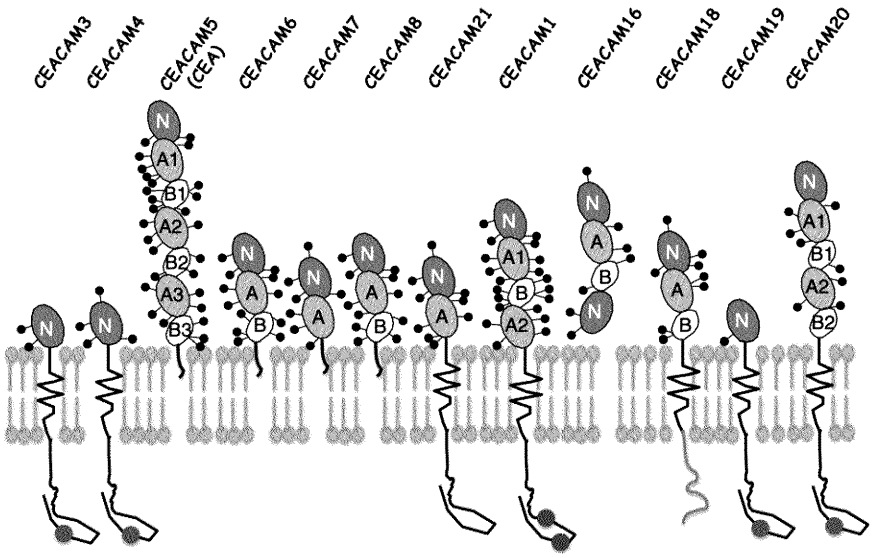
도면6


R = CH3 (SN-38)
또는 N(CH3)2 (토포테칸)
실라테칸
엑사테칸
R = OH
NH2
NHMe
벨로테칸
R = H (AMDCPT)
Gly (G-AMDCPT)
루르토테칸
R = H (DXd)
또는 사이클로프로필, 사이클로부틸
R = (플루오로)알킬
엑사테칸-S

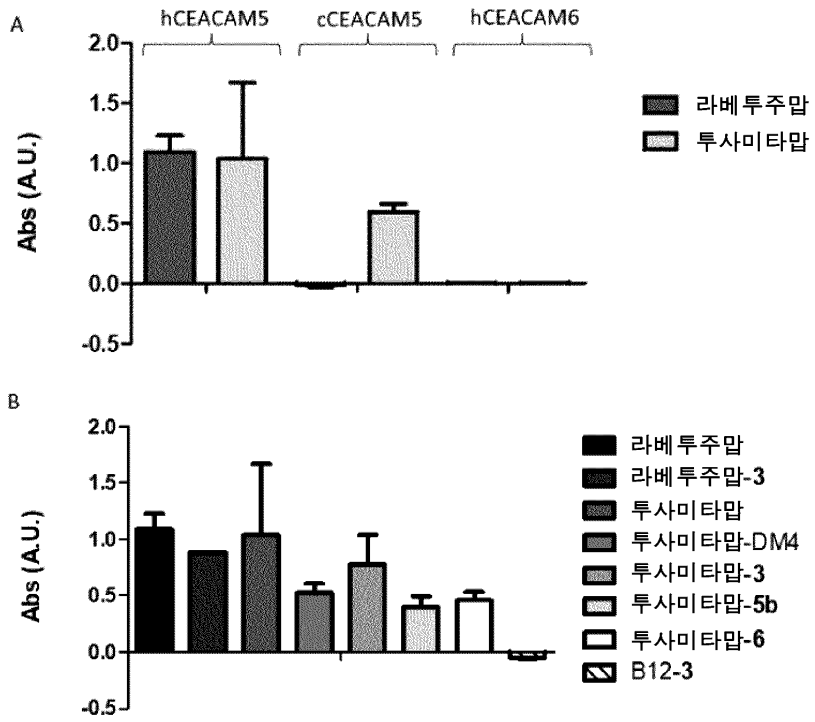
도면7



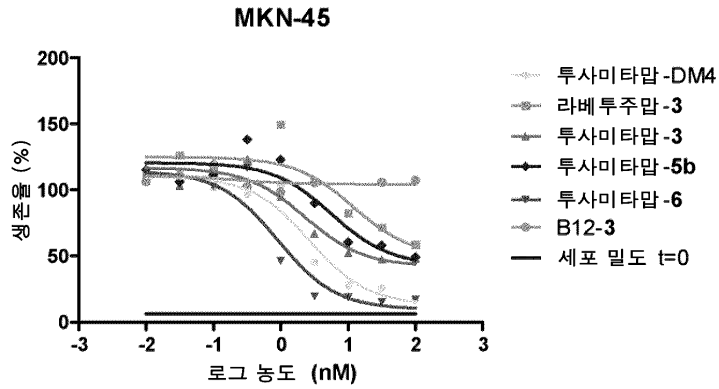
도면8


CEACAM3
CEACAM4
CEACAM5 (CEA)
CEACAM6
CEACAM7
CEACAM8
CEACAM21
CEACAM1
CEACAM16
CEACAM18
CEACAM19
CEACAM20
N
A1
B1
A2
B2
A3
B3
A
B

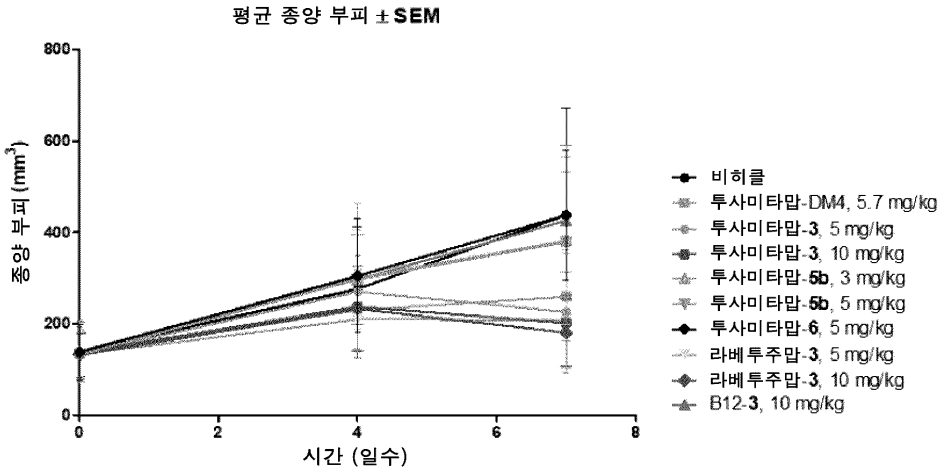
도면9


A
hCEACAM5
cCEACAM5
hCEACAM6
Abs (A.U.)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
라베투주맙
투사미타맙
B
Abs (A.U.)
라베투주맙
라베투주맙-3
투사미타맙
투사미타맙-DM4
투사미타맙-3
투사미타맙-5b
투사미타맙-6
B12-3

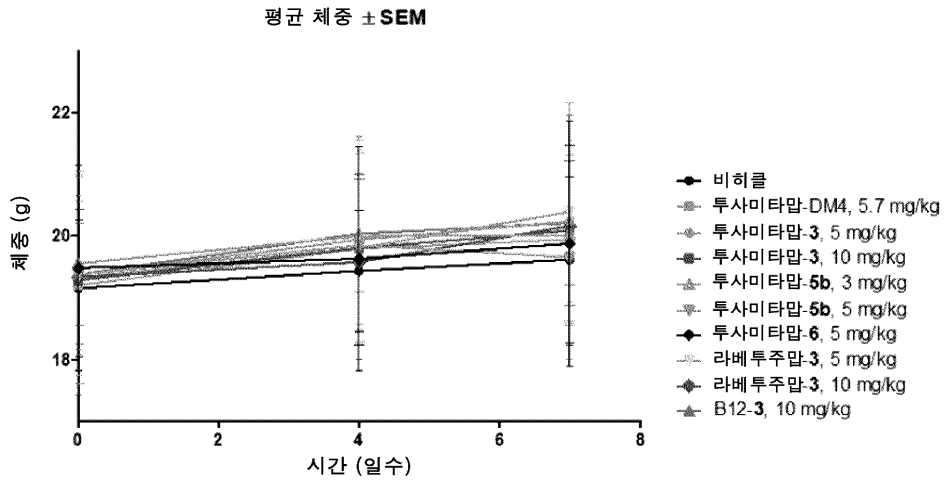
도면10



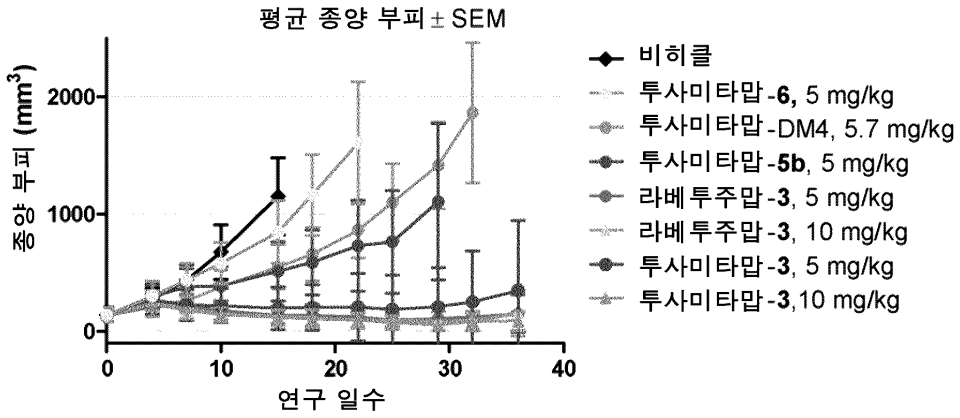
도면11a



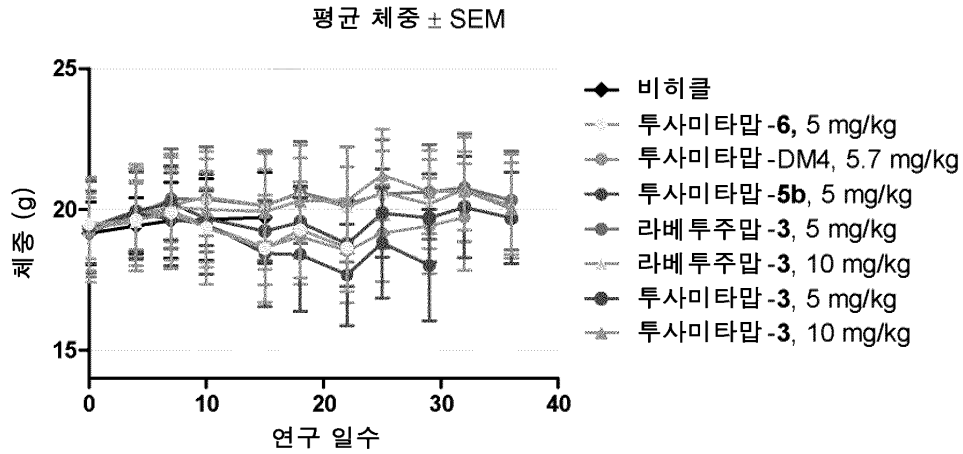
도면11b



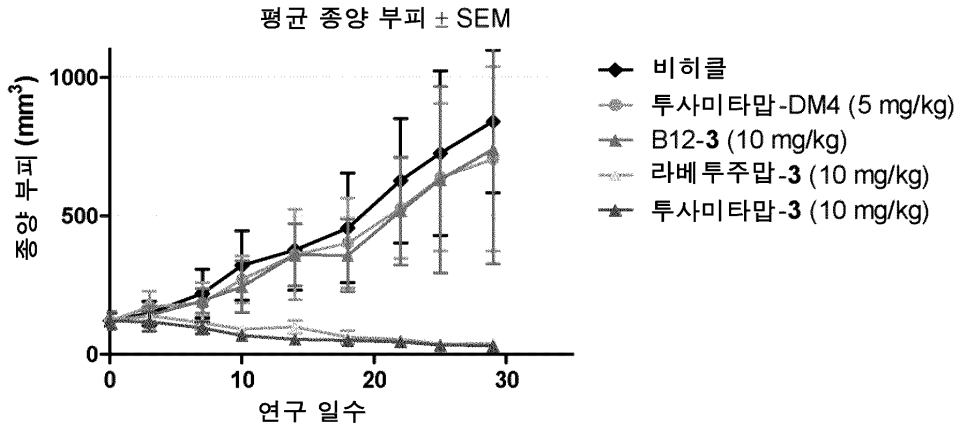
도면11c



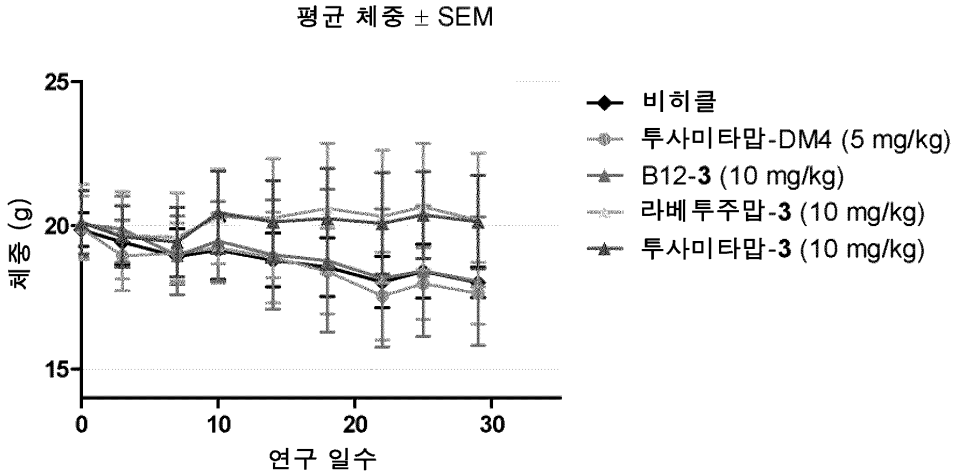
도면11d



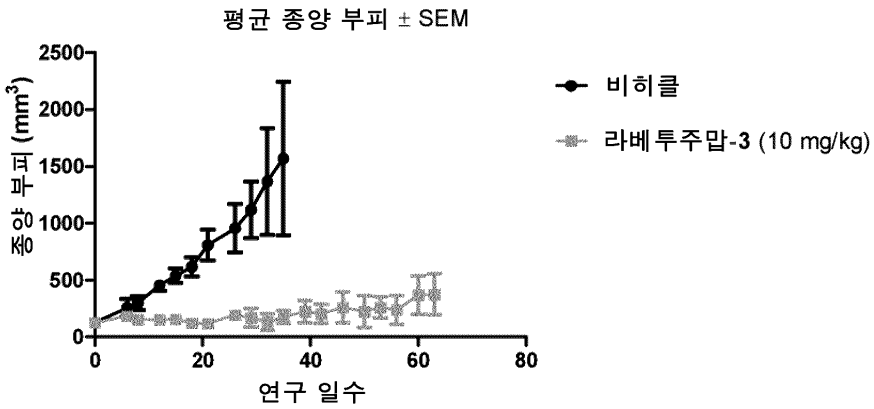
도면12a



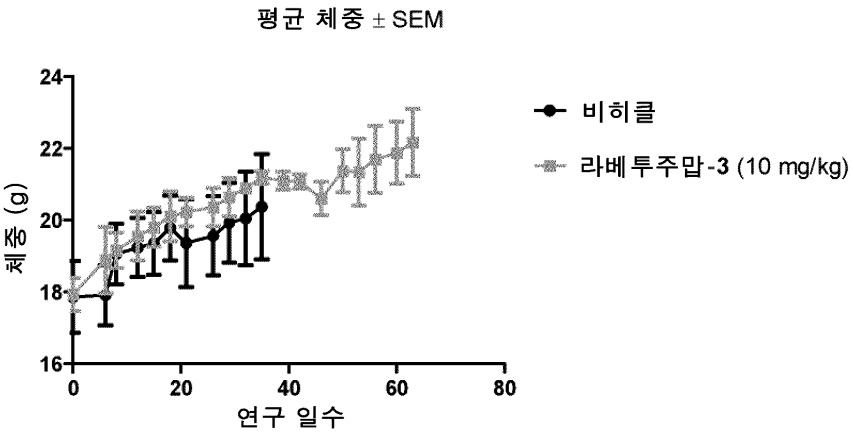
도면12b



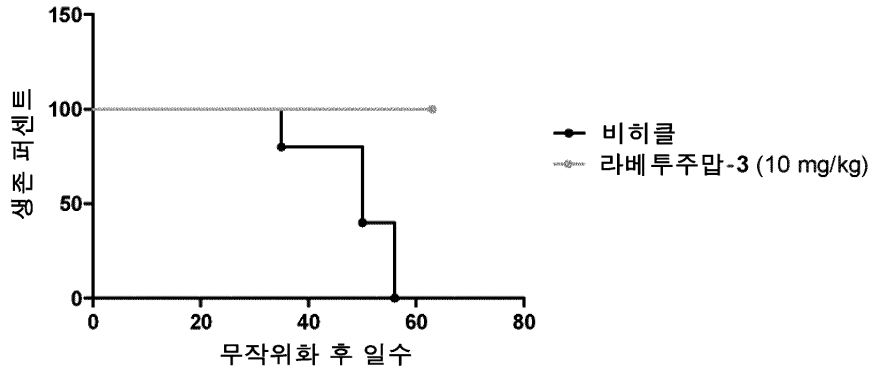
도면13a



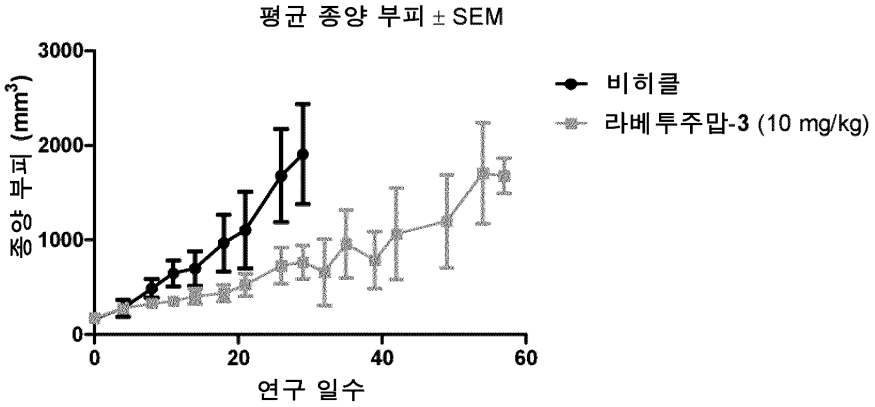
도면13b



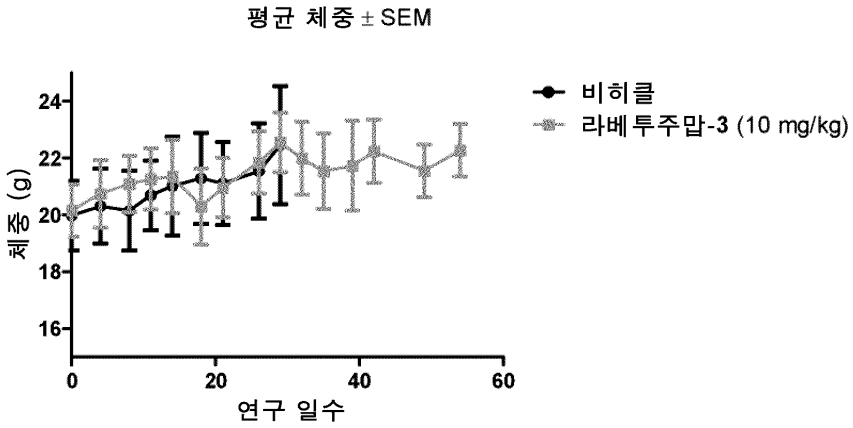
도면13c



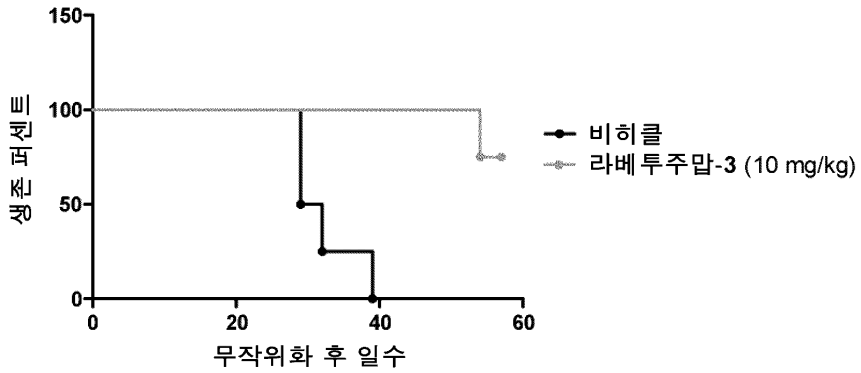
도면13d



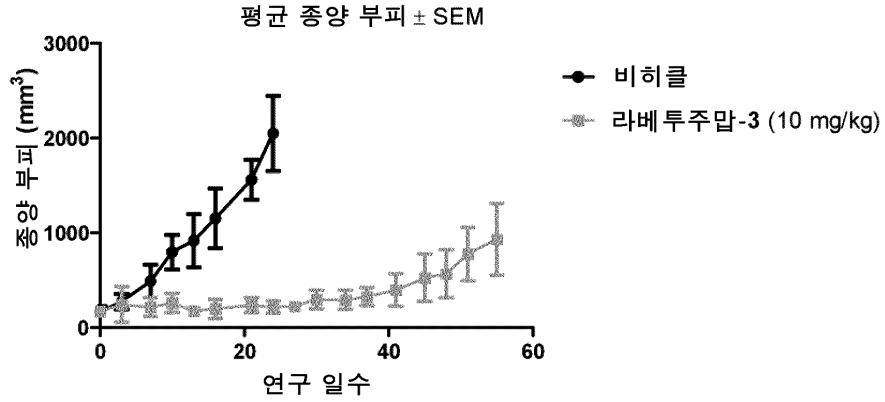
도면13e



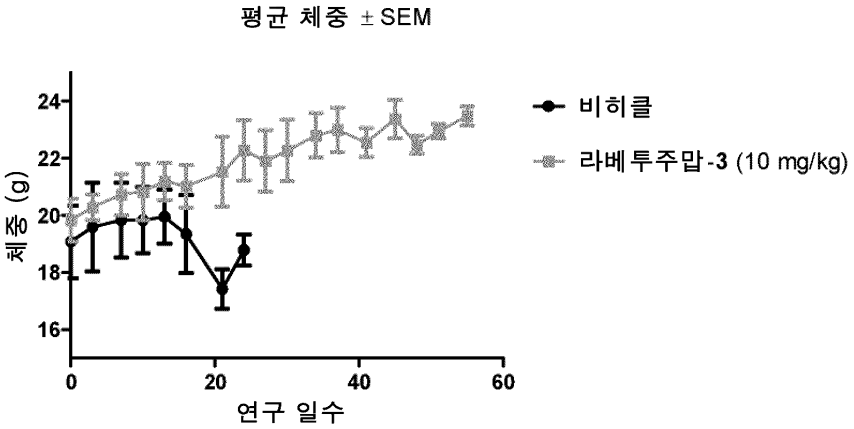
도면13f



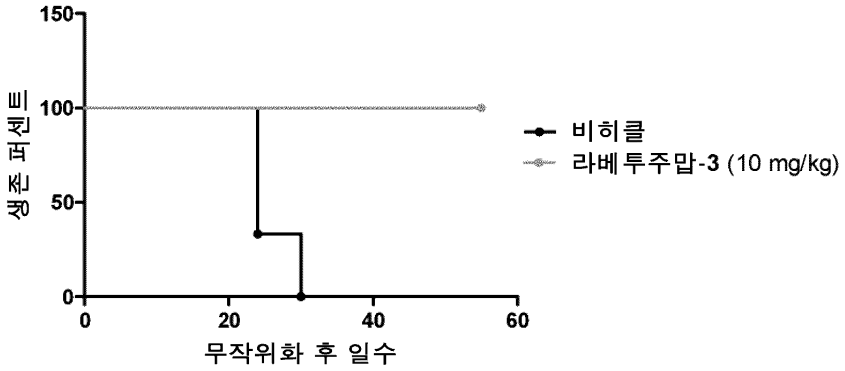
도면13g



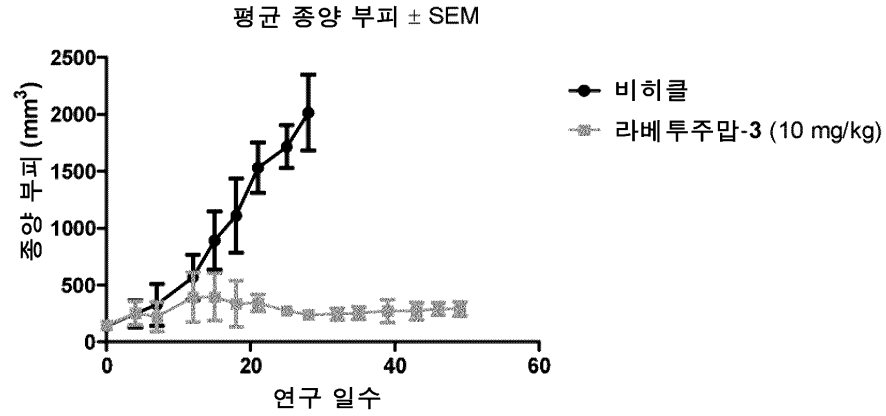
도면13h



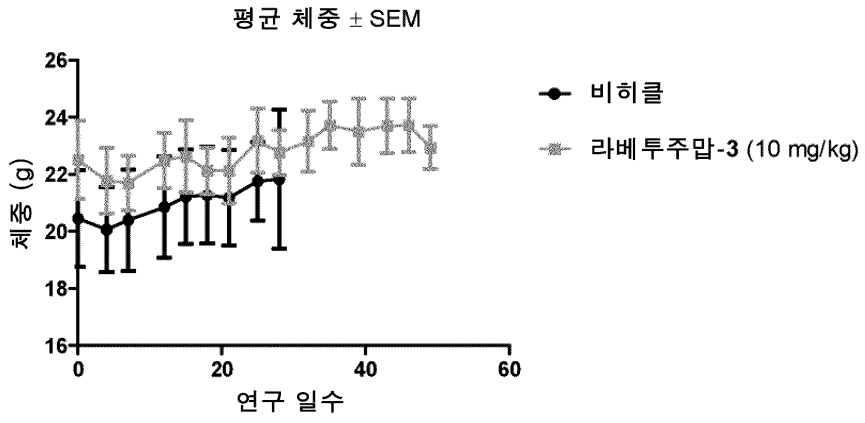
도면13i



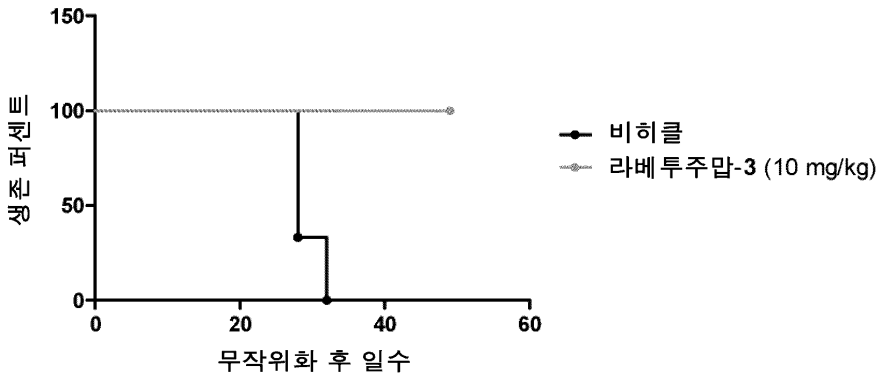
도면13j



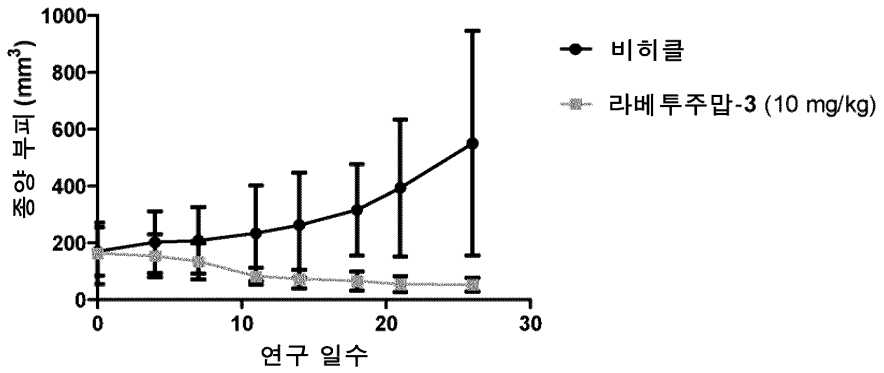
도면13k



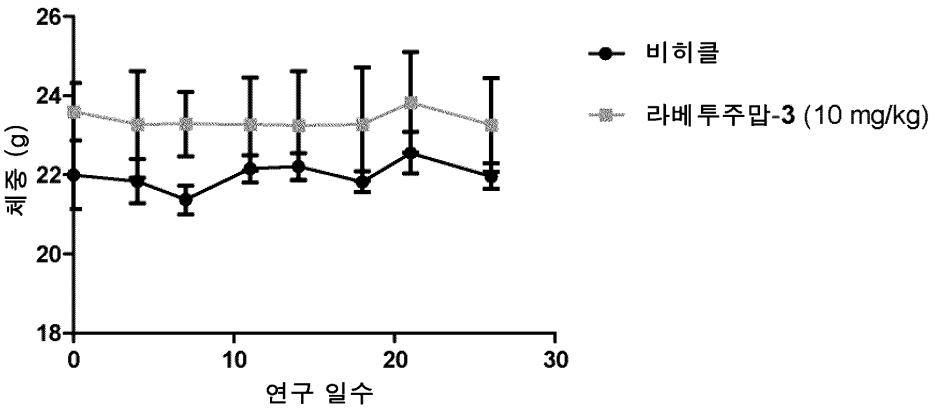
도면131



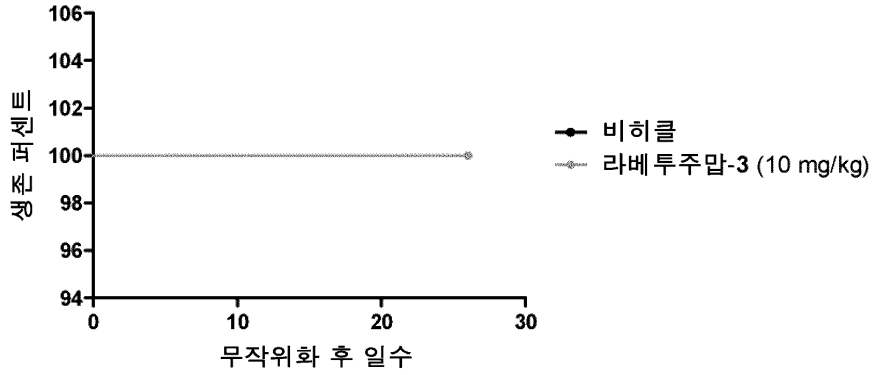
도면13m



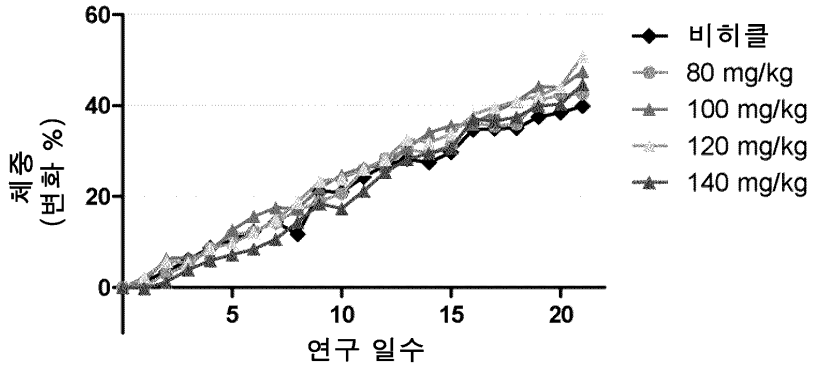
도면13n



도면13o


106
104
102
100
98
96
94
생존 퍼센트
0
10
20
30
무작위화 후 일수
비히클
라베투주맙-3 (10 mg/kg)

도면14


60
40
20
0
체중
(변화 %)
5
10
15
20
연구 일수
비히클
80 mg/kg
100 mg/kg
120 mg/kg
140 mg/kg

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.