



등록특허 10-2354207



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년01월20일
(11) 등록번호 10-2354207
(24) 등록일자 2022년01월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/48 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/6809 (2017.08)
A61K 47/6849 (2017.08)
- (21) 출원번호 10-2016-7015625
- (22) 출원일자(국제) 2014년12월16일
심사청구일자 2019년12월16일
- (85) 번역문제출일자 2016년06월13일
- (65) 공개번호 10-2016-0094981
- (43) 공개일자 2016년08월10일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2014/070654
- (87) 국제공개번호 WO 2015/095223
국제공개일자 2015년06월25일
- (30) 우선권주장
61/916,680 2013년12월16일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2009099741 A1
WO2010009124 A2
WO2013177055 A2

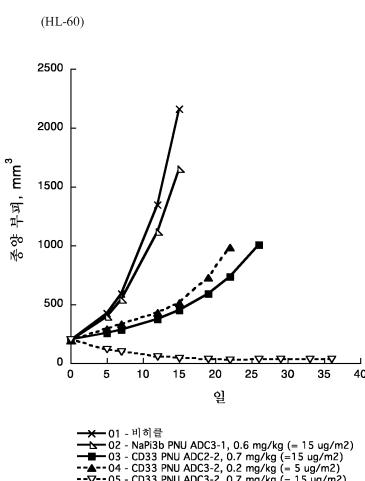
- (73) 특허권자
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자
플라이게어, 존
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내¹
건즈너-토스테, 자넷
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내²
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 31 항

심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 펩티드모방체 화합물 및 그의 항체-약물 접합체**(57) 요약**

본 발명은 항체-약물 접합체 (ADC)의 링커로서 유용한 신규 펩티드모방체 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 펩티드모방체 링커 및 안트라시클린 유도체를 함유하는 ADC에 관한 것이다. 본 발명의 ADC를 사용하여 예를 들어 종양 항원의 과다발현을 특징으로 하는 다양한 질환 또는 장애를 치료할 수 있는 것으로 고려된다.

대 표 도 - 도1

(52) CPC특허분류

A61K 47/6851 (2017.08)

A61K 47/6889 (2017.08)

(72) 발명자

필로우, 토마스

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

사피나, 브라이언

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

베르마, 비살

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

웨이, 빙청

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

차오, 구일링

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

스타벤, 라이나

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (I)로 나타나는 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

<화학식 (I)>

Ab-(L-D)_p

상기 식에서,

Ab는 항체이고; 상기 항체는

CLL1;

BMPR1B;

E16;

STEAP1;

0772P;

MPF;

NaPi2b;

Sema 5b;

PSCA hlg;

ETBR;

MSG783;

STEAP2;

TrpM4;

CRIPTO;

CD21;

CD79b;

FcRH2;

HER2;

NCA;

MDP;

IL20R a;

브레비칸;

EphB2R;

ASLG659;

PSCA;

GEDA;

BAFF-R;

CD22;

CD79a;

CXCR5;

HLA-DOB;

P2X5;

CD72;

LY64;

FcRH1;

IRTA2;

TENB2;

PMEL17;

TMEFF1;

GDNF-Ra1;

Ly6E;

TMEM46;

Ly6G6D;

LGR5;

RET;

LY6K;

GPR19;

GPR54;

ASPHD1;

타로시나제;

TMEM118;

GPR172A;

MUC16; 및

CD33

으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 폴리펩티드에 결합하는 것이고,

L은 하기 화학식으로 나타나는 펩티드모방체 링커이며,

-Str-(PM)-Sp-

여기서

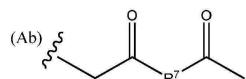
Str은 Ab에 공유 부착된 스트레쳐 단위이고;

여기서, 상기 Str은 하기 화학식으로 나타나는 화학적 모이어티이거나; 또는



(여기서 R^6 은 C_1-C_{10} 알킬렌임)

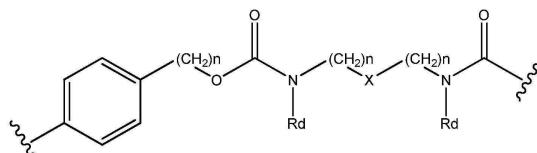
Str은 하기 화학식을 가지며;



(여기서 R^7 은 C_1-C_{10} 알킬렌, C_1-C_{10} 알케닐, $(C_1-C_{10}$ 알킬렌)0-, $N(R^c)-(C_2-C_6$ 알킬렌)- $N(R^c)$ 및 $N(R^c)-(C_2-C_6$ 알킬렌)으로부터 선택되고; 여기서 각각의 R^c 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬임)

Sp는 결합 또는 약물 모이어티에 공유 부착된 스페이서 단위이고, 상기 Sp는 $-Ar-R^b-$ 이며, 여기서 Ar은 C_{5-10} 아릴 또는 해테로아릴이고, R^b 는 $(C_1-C_{10}$ 알킬렌)0-이거나

Sp는 하기 화학식으로 나타나며,

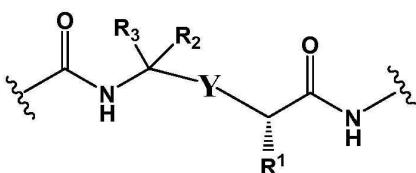


(여기서, 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

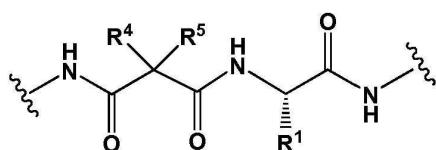
X는 N, CH_2 또는 결합이고;

각각의 R^d 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬임)

PM은



및



로 이루어진 군으로부터 선택된 비-펩티드 화학적 모이어티이고;

Y는 해테로아릴, C_{5-10} 아릴, $-C(O)C_1-C_6$ 알킬렌, C_1-C_6 알케닐, C_1-C_6 알킬렌 또는 $-C_1-C_6$ 알킬렌-NH-이 고;

각각의 R^1 은 독립적으로 C_1-C_{10} 알킬, C_1-C_{10} 알케닐, $(C_1-C_{10}$ 알킬 $)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_{10}$ 알킬 $)NHC(O)NH_2$ 이고;

R^3 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, C_1-C_{10} 알킬, C_1-C_{10} 알케닐, C_{5-10} 아릴 C_{1-3} 알킬 또는 헤테로아릴 C_{1-3} 알킬이거나, 또는

R^3 및 R^2 는 함께 C_3-C_7 시클로알킬을 형성할 수 있고;

R^4 및 R^5 는 각각 독립적으로 C_1-C_{10} 알킬, C_1-C_{10} 알케닐, C_{5-10} 아릴 C_{1-3} 알킬, 헤테로아릴 C_{1-3} 알킬, $(C_1-C_{10}$ 알킬 $)OCH_2-$ 이거나, 또는

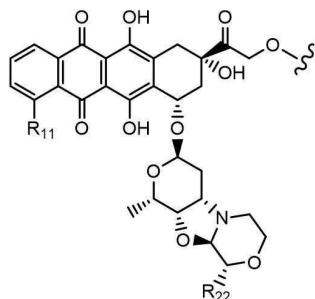
R^4 및 R^5 는 함께 C_3-C_7 시클로알킬 고리를 형성할 수 있고;

p는 1 내지 8의 정수이고;

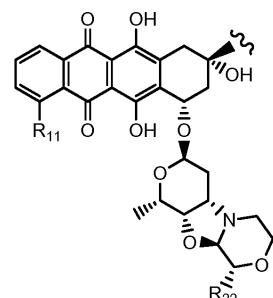
상기 헤테로아릴은 1 내지 9개의 탄소(들)을 함유하고, N, O 및 S로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 1개의 헤테로원자를 포함하는 방향족 고리계이고,

D는 하기 구조로 나타나는 화학식 (Ia) 또는 (Ib)의 약물 모이어티이며,

<화학식 (Ia)>



<화학식 (Ib)>



여기서

R^{11} 은 수소 원자, 히드록시 또는 메톡시 기이고,

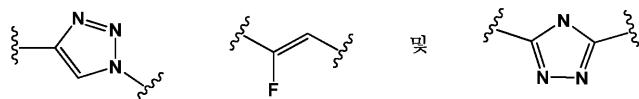
R^{22} 은 C_1-C_5 알콕시 기이다.

청구항 2

제1항에 있어서, Y가 헤테로아릴이고; R^4 및 R^5 가 함께 시클로부틸 고리를 형성하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 3

제1항에 있어서, Y가

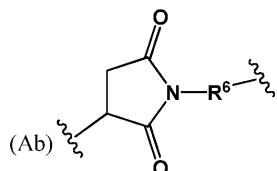


로 이루어진 군으로부터 선택된 모이어티인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 4

제1항에 있어서,

Str이 하기 화학식으로 나타나는 화학적 모이어티인,

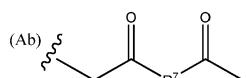


항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 5

제1항에 있어서,

Str이 하기 화학식을 가지며,



여기서

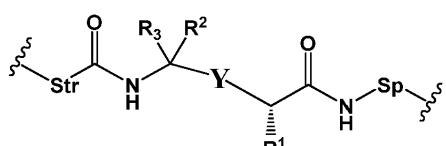
R^7 은 C_1-C_{10} 알킬렌, C_1-C_{10} 알케닐, $(C_1-C_{10}$ 알킬렌) O^- , $N(R^c)-(C_2-C_6$ 알킬렌)- $N(R^c)$ 및 $N(R^c)-(C_2-C_6$ 알킬렌)으로부터 선택되고; 여기서 각각의 R^c 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬인

항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 6

제1항에 있어서,

L이 하기 화학식으로 나타나는 비-펩티드 화학적 모이어티이며,



여기서

R^1 은 C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알케닐, $(C_1-C_6$ 알킬) $NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6$ 알킬) $NHC(O)NH_2$ 이고;

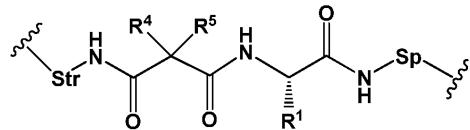
R^3 및 R^2 는 각각 독립적으로 H 또는 C_1-C_{10} 알킬인

항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 7

제1항에 있어서,

L이 하기 화학식으로 나타나는 비-펩티드 화학적 모이어티이며,



여기서

R^1 은 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬, $(\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 $)\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 또는 $(\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 $)\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 이고;

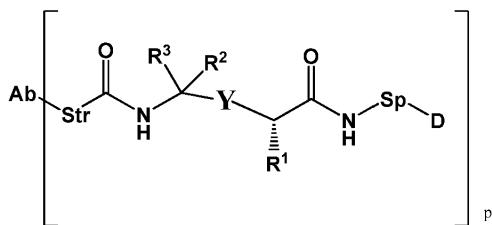
R^4 및 R^5 는 함께 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 시클로알킬 고리를 형성하는 것인

항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 8

제1항에 있어서, 하기 화학식으로 나타나며,

<화학식 (I)(A1)>



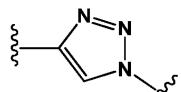
여기서

Y는 헤테로아릴, $\text{C}_{5\text{-}10}$ 아릴 또는 $\text{C}_{1\text{-}6}$ 알케닐이고;

p 는 1, 2, 3 또는 4인

항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

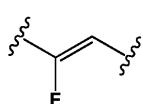
청구항 9



제8항에 있어서, Y가

인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

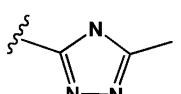
청구항 10



제8항에 있어서, Y가

인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 11



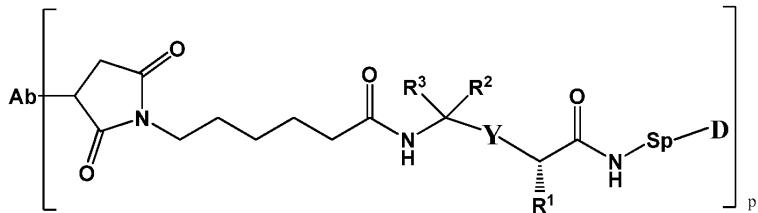
제8항에 있어서, Y가

인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 12

제8항에 있어서, 하기 화학식으로 나타나며,

<화학식 (I)(A2)>

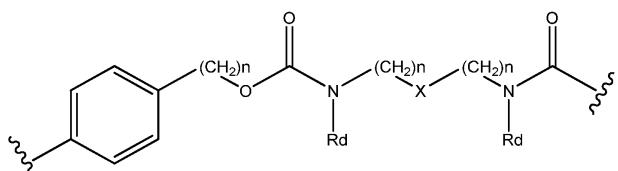


여기서

R^1 은 C_1-C_6 알킬- NH_2 , $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(O)NH_2$ 이고;

p 는 1, 2, 3 또는 4이고;

Sp가 하기 화학식이며,



여기서

각각의 n 은 독립적으로 1-6이고;

X 는 N, CH_2 또는 결합이고;

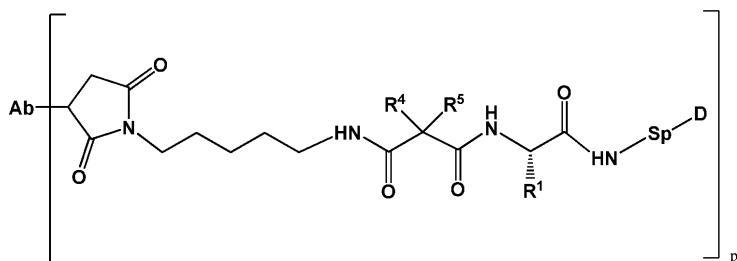
각각의 R^d 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬인

항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 13

제7항에 있어서, 하기 화학식으로 나타나며,

<화학식 (I)(B2)>



여기서

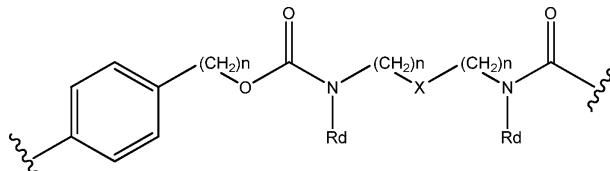
p 는 1, 2, 3 또는 4이고;

R^1 은 C_1-C_6 알킬- NH_2 , $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(O)NH_2$ 이고;

R^4 및 R^5 는 각각 독립적으로 C_1-C_6 알킬이며, 여기서 상기 알킬은 비치환되거나, 또는

R^4 및 R^5 는 C_3-C_7 시클로알킬 고리를 형성할 수 있고;

Sp가 하기 화학식이며,



여기서

각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

X는 N, CH_2 또는 결합이고;

각각의 R^d 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬인

항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, p가 2인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 15

제1항의 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 암 치료용 제약 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 항체가

CLL1;

STEAP1;

NaPi2b;

STEAP2;

TrpM4;

CRIPTO;

CD21;

CD79b;

FcRH2;

HER2;

CD22;

CD79a;

CD72;

LY64;

Ly6E;

MUC16; 및

CD33

으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 폴리펩티드에 결합하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 17

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 항-CD33 항체인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 18

제17항에 있어서, 항-CD33 항체가

서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1,

서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2,

서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3,

서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1,

서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및

서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3

을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 항-CD33 항체가

서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인 및

서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인

을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 20

제17항에 있어서, 상기 항-CD33 항체가

서열 19의 아미노산 서열 및

서열 20의 아미노산 서열

을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 21

제17항에 있어서, 상기 항-CD33 항체가

서열 19의 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 및

서열 20의 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열

을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 22

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 NaPi2b 항체인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 23

제22항에 있어서, NaPi2b 항체가
서열 1의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1,
서열 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2,
서열 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3,
서열 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1,
서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및
서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3
을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 24

제22항에 있어서, 상기 NaPi2b 항체가
서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인 및
서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인
을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 25

제22항에 있어서, 상기 NaPi2b 항체가
서열 9의 아미노산 서열 및
서열 10의 아미노산 서열
을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 26

제22항에 있어서, 상기 NaPi2b 항체가
서열 9의 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 및
서열 10의 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열
을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 27

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 CD-22 항체인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 28

제27항에 있어서, CD-22 항체가
서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1,
서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2,
서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3,
서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1,
서열 45의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및
서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3
을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 29

제27항에 있어서, 상기 CD-22 항체가
서열 47의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인 및
서열 48의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인
을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 30

제27항에 있어서, 상기 CD-22 항체가
서열 49의 아미노산 서열 및
서열 50의 아미노산 서열
을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 31

제27항에 있어서, 상기 CD-22 항체가
서열 49의 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 및
서열 50의 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열
을 포함하는 것인 항체-약물 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

발명의 설명**기술 분야**

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 출원은 35 U.S.C. § 119 하에 2013년 12월 16일에 출원된 미국 가출원 번호 61/916680에 대해 이익을 주장하며, 그의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003]

발명의 분야

[0004]

본 발명은 항체-약물 접합체 (ADC)의 링커로서 유용한 신규 펩티드모방체 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 펩티드모방체 링커 및 안트라시클린 유도체를 함유하는 ADC에 관한 것이다. 본 발명은 또한 인간에서 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005]

항암 약물을 종양 세포로 직접적으로 전달하기 위한 모노클로날 항체 (mAB)의 사용은 최근 수년간 상당한 관심을 끌어 왔다. 2종의 신규 항체-약물 접합체가 암의 치료에 대해 승인받았다. 아드세트리스 (Adcetris)® (브렌툭시맙 베도틴)는 재발성 또는 불응성 호지킨 림프종 및 전신 역형성 대세포 림프종 (ALCL)의 치료에 지시되는 CD30-지시된 항체-약물 접합체 (ADC)이다. 카드실라 (Kadcyla)® (아도-트라스투주맙 엠탄신)는 HER2-양성, 말기 (전이성) 유방암을 갖는 환자에 대해 승인된 신규 요법이다. 강력한 치료 항종양 활성 및 ADC에서 허용되는 치료 지수 둘 다를 얻기 위해, 설계의 여러 측면이 최적화될 수 있다. 특히, 링커의 화학 구조가 ADC의 효능 및 안전성 둘 다에 유의한 영향을 미칠 수 있는 것으로 널리 공지되어 있다 (Ducry & Stump, Bioconjugate Chem, 2010, 21, 5-13). 올바른 링커를 선택하는 것은 암 세포의 의도된 세포 구획으로의 적절한 약물 전달에 영향을 미친다. 링커는 일반적으로 2개의 카테고리로 분류될 수 있다: 절단가능 (예컨대 펩티드, 히드라존 또는 디슬피드) 또는 비-절단가능 (예컨대 티오에테르). 리소솜 효소 (예컨대 카텝신 B)에 의해 가수분해될 수 있는 펩티드 링커, 예컨대 발린-시트룰린 (Val-Cit)이 약물과 항체를 연결하는데 사용된 바 있다 (US6214345). 이들은, 부분적으로 그의 체순환에서의 상대 안정성 및 종양에서 약물을 효율적으로 방출하는 능

력으로 인해 특히 유용하다. Val-Cit 링커를 함유하는 ADC는 생체내에서 상대적으로 안정한 것으로 밝혀진 바 있다 (약물 방출에 대한 $t_{1/2}$ ~7일) (Doronina et al. (2008), Bioconjugate Chem., 19, 1960-1963). 그러나, 천연 웨티드에 의해 나타나는 화학적 공간은 제한되고; 따라서, 웨티드와 유사하게 작용하며 리소솜 프로테아제에 의해 효과적으로 절단될 수 있는 다양한 비-웨티드 링커를 갖는 것이 바람직하다. 비-웨티드 구조의 보다 큰 다양성은 웨티드 링커에 의해 제공되지 되지 않는 유익한 신규 특성을 제공할 수 있다. 리소솜 효소에 의해 절단될 수 있는 ADC에 대한 상이한 유형의 비-웨티드 링커가 본원에 제공된다.

발명의 내용

[0006] 본 발명은 하기 화학식 (I)에 의해 나타내어지는 항체-약물 접합체에 관한 것이다.

[0007] <화학식 (I)>

[0008] $Ab-(L-D)_p$

[0009] 상기 식에서,

[0010] Ab 는 항체이고;

[0011] L 은 하기 화학식에 의해 나타내어지는 웨티드모방체 링커이며,

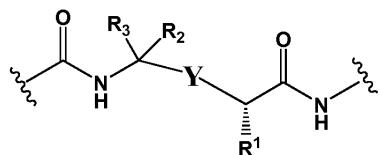
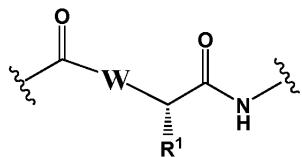
[0012] $-Str-(PM)-Sp-$

[0013] 여기서

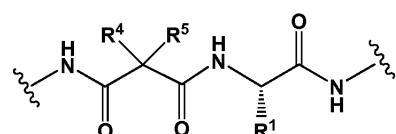
[0014] Str 은 Ab 에 공유 부착된 스트레쳐 단위이고;

[0015] Sp 는 결합 또는 약물 모이어티에 공유 부착된 스페이서 단위이고;

[0016] PM 은



및



[0017]

[0018]로 이루어진 군으로부터 선택된 비-웨티드 화학적 모이어티이고;

[0019]

W 는 $-NH-\text{해테로시클로알킬}-$ 또는 $\text{해테로시클로알킬}-$ 이고;

[0020]

Y 는 해테로아릴 , 아릴 , $-C(O)C_1-C_6\text{알킬렌}$, $C_1-C_6\text{알킬렌}-NH_2$, $C_1-C_6\text{알킬렌}-NH-CH_3$, $C_1-C_6\text{알킬렌}-N-(CH_3)_2$, $C_1-C_6\text{알케닐}$ 또는 $C_1-C_6\text{알킬레닐}$ 이고;

[0021]

각각의 R^1 은 독립적으로 $C_1-C_{10}\text{알킬}$, $C_1-C_{10}\text{알케닐}$, $(C_1-C_{10}\text{알킬})NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_{10}\text{알킬})NHC(O)NH_2$ 고;

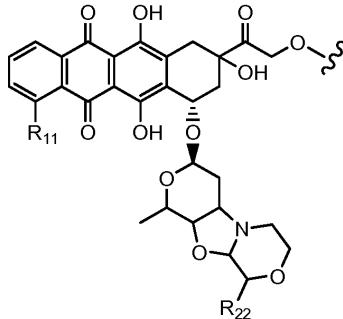
[0022] R^3 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, C_1-C_{10} 알킬, C_1-C_{10} 알케닐, 아릴알킬 또는 헤테로아릴알킬이거나, 또는 R^3 및 R^2 는 함께 C_3-C_7 시클로알킬을 형성할 수 있고;

[0023] R^4 및 R^5 는 각각 독립적으로 C_1-C_{10} 알킬, C_1-C_{10} 알케닐, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, $(C_1-C_{10}$ 알킬 $)OCH_2-$ 이거나, 또는 R^4 및 R^5 는 C_3-C_7 시클로알킬 고리를 형성할 수 있고;

[0024] p는 1 내지 8의 정수이고;

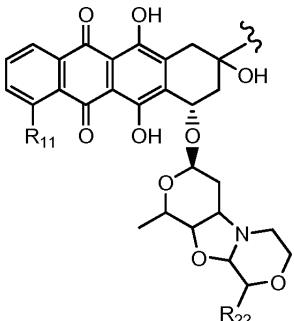
[0025] D는 하기 화학식 (IA) 또는 (IB)의 약물 모이어티이며,

[0026] <화학식 (IA)>



[0027]

[0028] <화학식 (IB)>



[0029]

[0030] 여기서 R^{11} 은 수소 원자, 히드록시 또는 메톡시 기이고, R^{22} 는 C_1-C_5 알콕시 기이다.

[0031] 본 발명은 또한 화학식 (I)의 항체-약물 접합체의 제약 조성물에 관한 것이다.

[0032] 본 발명은 또한 암을 치료하는 방법, 요법에서의 화학식 (I)의 항체-약물 접합체의 용도, 및 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 (I)의 항체-약물 접합체의 용도에 관한 것이다.

[0033] 본 발명은 또한 화학식 (I)의 항체-약물 접합체를 제조하는 방법에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 HL-60 인간 급성 골수성 백혈병 종양을 갖는 SCID 마우스에서의 CD33 ADC (CD33 PNU ADC3-2 및 ADC2-2)의 효능 비교를 제시한다.

도 2는 HL-60 인간 급성 골수성 백혈병 종양을 갖는 SCID 마우스에서의 CD33 ADC (CD33 PNU ADC4-2 및 ADC2-2)의 효능 비교를 제시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

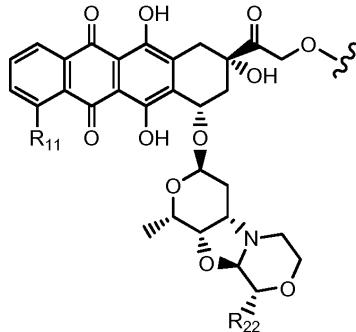
[0035] 리소솜 효소에 의해 절단가능한 ADC에 대한 상이한 유형의 비-펩티드 링커가 본원에 제공된다. 예를 들어, 디펩티드의 중간에서의 아미드 결합 (예를 들어 Val-Cit)이 아미드 모방체로 대체되고/거나; 전체 아미노산 (예를 들어, Val-Cit 디펩티드에서의 발린 아미노산)이 비-아미노산 모이어티 (예를 들어, 시클로알킬 디카르보닐 구

조 (예를 들어, 고리 크기 = 4 또는 5))로 대체되었다.

[0036] 본 발명은 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0037] 본 발명은 또한 (IA)가 하기 화학식이며,

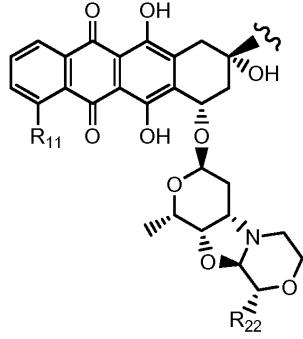
[0038] <화학식 (Ia)>



[0039]

(IB)가 하기 화학식인

[0041] <화학식 (Ib)>



[0042]

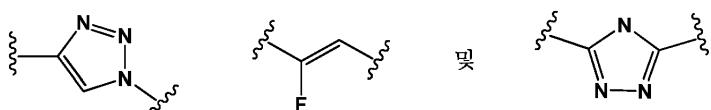
화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0044]

본 발명은 또한 Y가 헤테로아릴이고; R⁴ 및 R⁵가 함께 시클로부틸 고리를 형성하는 것인 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0045]

본 발명은 또한 Y가



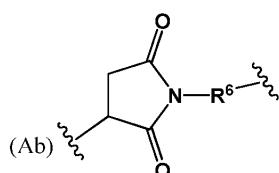
[0046]

로 이루어진 군으로부터 선택된 모이어티인 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0048]

본 발명은 또한

[0049] Str이 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학적 모이어티이며,



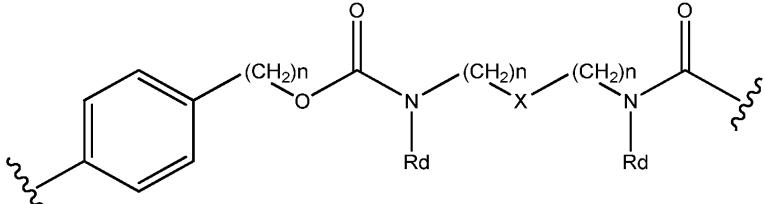
[0050]

[0051] 여기서 R⁶은 C₁-C₁₀알킬렌, C₁-C₁₀알케닐, C₃-C₈시클로알킬, (C₁-C₈알킬렌)O-, 및 C₁-C₁₀알킬렌-C(0)N(R^a)-C₂-C₆알킬

렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각각의 알킬렌은 할로, 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 시아노, 술포닐, 술폰아미드, 술폴시드, 히드록시, 알록시, 에스테르, 카르복실산, 알킬티오, 아릴, 아릴알킬, C_3-C_8 시클로알킬, C_4-C_7 헥테로시클로알킬, 헥테로아릴알킬 및 헥테로아릴로 이루어진 군으로부터

선택된 1 내지 5개의 치환기에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이고;

[0052] Sp가 $-Ar-R^b-$ 이며, 여기서 Ar은 아릴 또는 헥테로아릴이고, R^b 는 $(C_1-C_{10}$ 알킬렌)0-이거나, 또는 Sp가 하기 화학식이며,



[0053]

[0054] 여기서

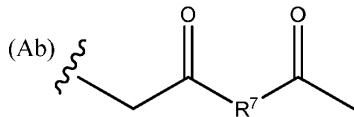
[0055] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0056] X는 N, CH_2 또는 결합이고;

[0057] 각각의 R^d 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬인

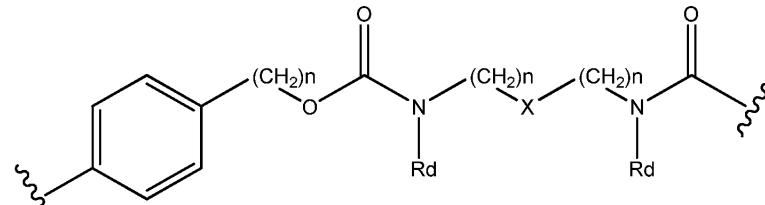
[0058] 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0059] 본 발명은 또한 Str의 하기 화학식을 가지며,



[0060]

[0061] 여기서 R^7 은 C_1-C_{10} 알킬렌, C_1-C_{10} 알케닐, $(C_1-C_{10}$ 알킬렌)0-, $N(R^c)-(C_2-C_6$ 알킬렌)- $N(R^c)$ 및 $N(R^c)-(C_2-C_6$ 알킬렌)으로부터 선택되고; 여기서 각각의 R^c 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이고; Sp가 $-Ar-R^b-$ 이며, 여기서 Ar은 아릴 또는 헥테로아릴이고, R^b 는 $(C_1-C_{10}$ 알킬렌)0-이거나, 또는 Sp가 하기 화학식이며,



[0062]

[0063] 여기서

[0064] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

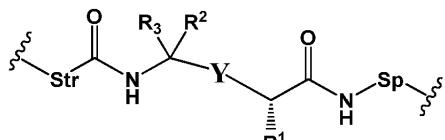
[0065] X는 N, CH_2 또는 결합이고;

[0066] 각각의 R^d 가 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬인

[0067] 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0068] 본 발명은 또한

[0069] L의 하기 화학식에 의해 나타내어지는 비-펩티드 화학적 모이어티이며,



[0070]

[0071] 여기서

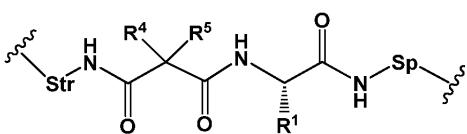
[0072] R^1 은 C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알케닐, $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(O)NH_2$ 이고;

[0073] R^3 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, C_1-C_{10} 알킬인

[0074] 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0075] 본 발명은 또한

[0076] L의 하기 화학식에 의해 나타내어지는 비-펩티드 화학적 모이어티이며,



[0077]

[0078] 여기서

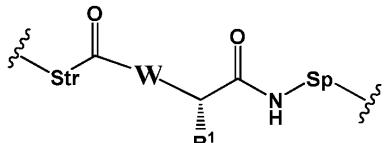
[0079] R^1 은 C_1-C_6 알킬, $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(O)NH_2$ 이고;

[0080] R^4 및 R^5 는 함께 C_3-C_7 시클로알킬 고리를 형성하는 것인

[0081] 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0082] 본 발명은 또한

[0083] L의 하기 화학식에 의해 나타내어지는 비-펩티드 화학적 모이어티이며,



[0084]

[0085] 여기서

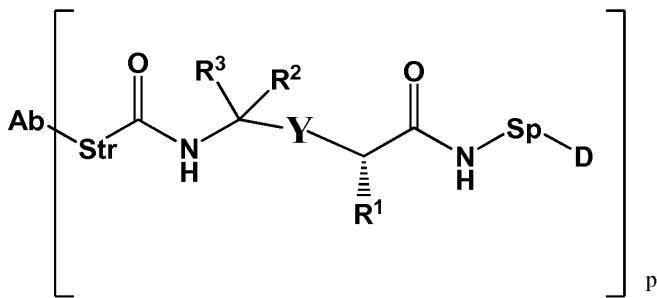
[0086] R^1 은 C_1-C_6 알킬, $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(O)NH_2$ 인

[0087] 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0088] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0089]

<화학식 (I)(A1)>

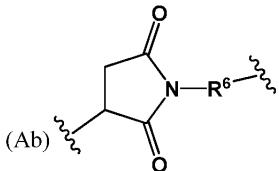


[0090]

상기 식에서,

[0092]

Str은 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학적 모이어티이며,



[0093]

[0094]

여기서 R^6 은 C_1-C_{10} 알킬렌, 및 C_1-C_{10} 알킬렌- $C(O)N(R^a)-C_2-C_6$ 알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각각의 알킬렌은 할로, 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 시아노, 술포닐, 술폰아미드, 술폐시드, 히드록시, 알콕시, 에스테르, 카르복실산, 알킬티오, 아릴, 아릴알킬, C_3-C_8 시클로알킬, C_4-C_7 헤테로시클로알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이고;

[0095]

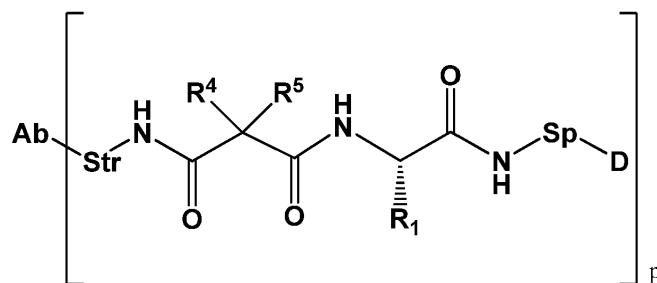
p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0096]

본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0097]

<화학식 (I)(B1)>

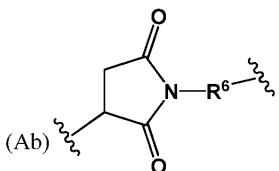


[0098]

상기 식에서,

[0100]

Str은 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학적 모이어티이며,



[0101]

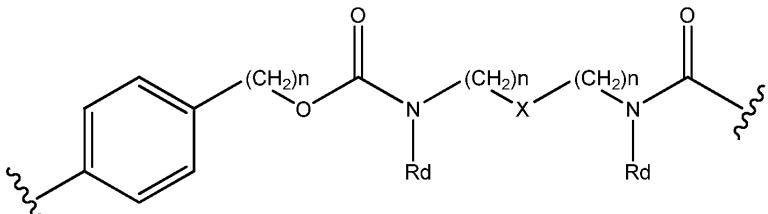
[0102]

여기서 R^6 은 C_1-C_{10} 알킬렌, 및 C_1-C_{10} 알킬렌- $C(O)N(R^a)-C_2-C_6$ 알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각각의 알킬렌은 할로, 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 시아노, 술포닐, 술폰아미드, 술폐시드, 히드록시, 알콕시, 에스테르, 카르복실산, 알킬티오, 아릴, 아릴알킬, C_3-C_8 시클로알킬, C_4-C_7 헤테로시클로알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이고;

폭시드, 히드록시, 알콕시, 에스테르, 카르복실산, 알킬티오, 아릴, 아릴알킬, C₃-C₈시클로알킬, C₄-C₇헤테로시클로알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a는 독립적으로 H 또는 C₁-C₆알킬이고;

[0103] Sp는 -Ar-R^b-이며, 여기서 Ar은 아릴 또는 헤테로아릴이고, R^b는 (C₁-C₁₀알킬렌)O-이거나 또는

[0104] Sp는 하기 화학식이며,



[0105]

[0106] 여기서

[0107] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0108] X는 N, CH₂ 또는 결합이고;

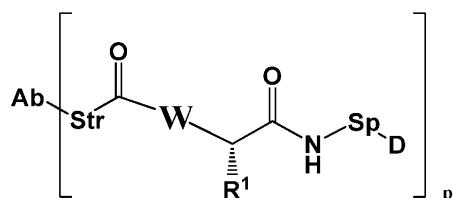
[0109] 각각의 R^d는 독립적으로 H 또는 C₁-C₃알킬이고;

[0110] p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0111] 본 발명은 또한 Y가 헤테로아릴, 아릴 또는 알케닐이고; R⁶이 C₁-C₁₀알킬렌인 상기 항체-접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.

[0112] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학식 (I)의 항체-약물 접합체에 관한 것이다:

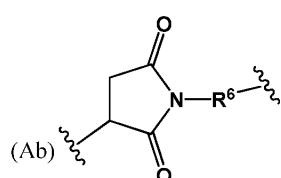
[0113] <화학식 (I)(C1)>



[0114]

[0115] 상기 식에서,

[0116] Str은 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학적 모이어티이며,



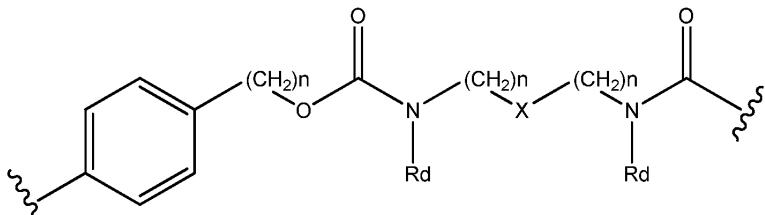
[0117]

[0118] 여기서 R⁶은 C₁-C₁₀알킬렌, 및 C₁-C₁₀알킬렌-C(O)N(R^a)-C₂-C₆알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각각의 알킬렌은 할로, 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 시아노, 술포닐, 술폰아미드, 술폴시드, 히드록시, 알콕시, 에스테르, 카르복실산, 알킬티오, 아릴, 아릴알킬, C₃-C₈시클로알킬, C₄-C₇헤테로시클로알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기

에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이고;

[0119] Sp는 $-Ar-R^b-$ 이며, 여기서 Ar은 아릴 또는 헤테로아릴이고, R^b 는 $(C_1-C_{10}$ 알킬렌)0-이거나 또는

[0120] Sp는 하기 화학식이며,



[0121]

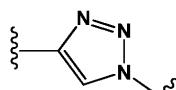
여기서

[0123] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0124] X는 N, CH_2 또는 결합이고;

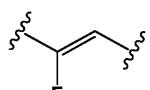
[0125] 각각의 R^d 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬이고;

[0126] p는 1, 2, 3 또는 4이다.



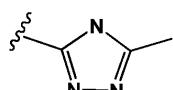
[0127] 본 발명은 또한 Y가

인 상기 항체-접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.



[0128] 본 발명은 또한 Y가

인 상기 항체-접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.

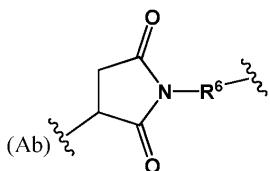


[0129] 본 발명은 또한 Y가

인 상기 항체-접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.

[0130] 본 발명은 또한

[0131] Str이 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학적 모이어티이며,

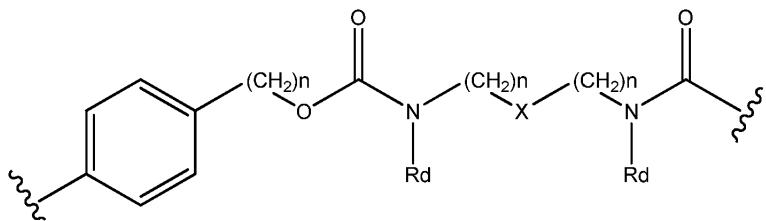


[0132]

여기서

[0134] R^6 은 C_1-C_6 알킬렌이고;

[0135] Sp가 $-Ar-R^b-$ 이며, 여기서 Ar은 아릴 또는 헤테로아릴이고, R^b 는 $(C_1-C_{10}$ 알킬렌)0-이거나, 또는 Sp가 하기 화학식이며,



[0136]

여기서

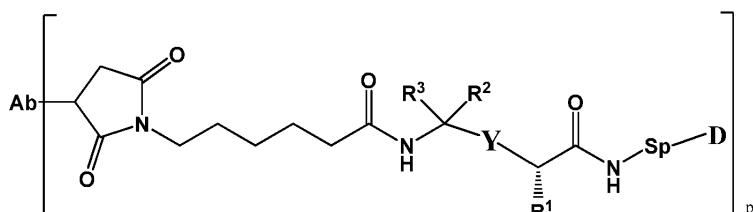
각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

X는 N, CH₂ 또는 결합이고;각각의 R^d는 독립적으로 H 또는 C₁-C₃알킬인

상기 항체-접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.

본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 상기 항체-접합체 (I), (I)(A1) 중 임의의 1종에 관한 것이다.

<화학식 (I)(A2)>



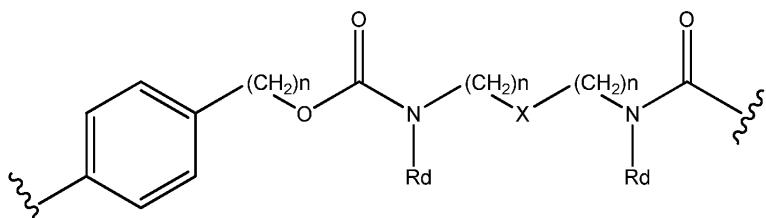
[0144]

상기 식에서,

R¹은 C₁-C₆알킬-NH₂, (C₁-C₆알킬)NHC(NH)NH₂ 또는 (C₁-C₆알킬)NHC(O)NH₂이고,

p는 1, 2, 3 또는 4이고;

Sp는 하기 화학식이며,



[0149]

여기서

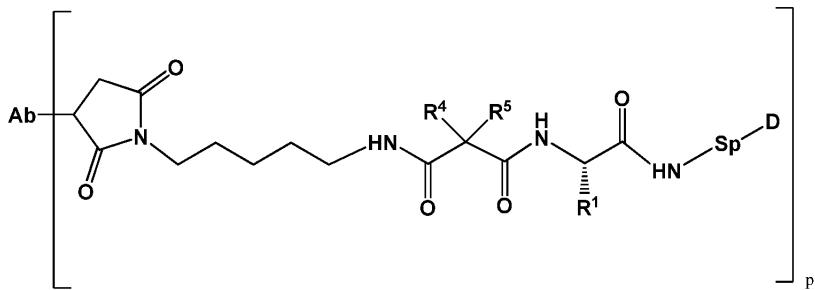
각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

X는 N, CH₂ 또는 결합이고;각각의 R^d는 독립적으로 H 또는 C₁-C₃알킬이다.

본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 상기 항체-접합체 (I), (I)(B1) 중 임의의 1종에 관한 것이다.

[0155]

<화학식 (I)(B2)>



[0156]

상기 식에서,

[0158]

p는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0159]

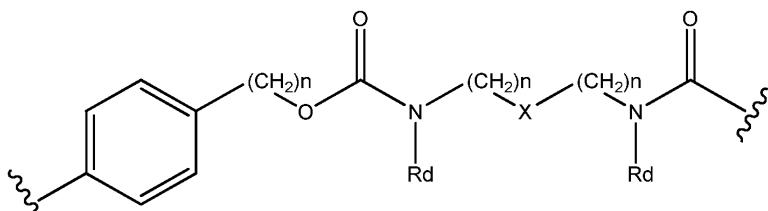
 R^1 은 C_1-C_6 알킬- NH_2 , $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(O)NH_2$ 이고;

[0160]

 R^4 및 R^5 는 각각 독립적으로 C_1-C_6 알킬이며, 여기서 상기 알킬은 비치환되거나, 또는 R^4 및 R^5 는 C_3-C_7 시클로알킬 고리를 형성할 수 있고;

[0161]

Sp는 하기 화학식이며,



[0162]

여기서

[0164]

각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0165]

X는 N, CH2 또는 결합이고;

[0166]

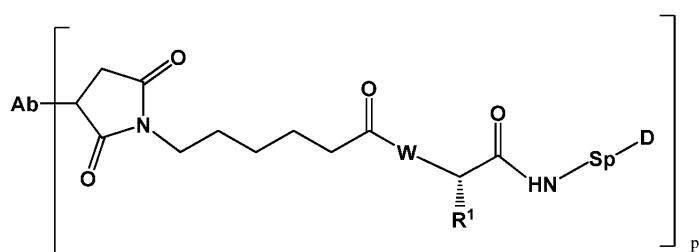
각각의 R^d 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬이다.

[0167]

본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 상기 항체-접합체 (I) 및 (I)(C1) 중 임의의 1종에 관한 것이다.

[0168]

<화학식 (I)(C2)>



[0169]

상기 식에서,

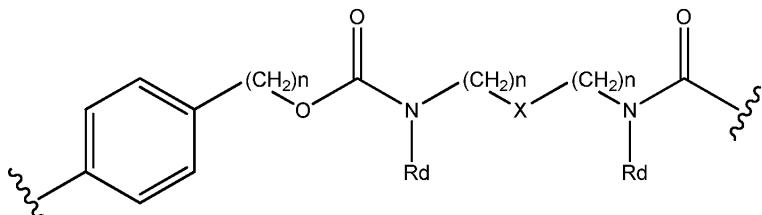
[0171]

p는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0172]

 R^1 은 C_1-C_6 알킬- NH_2 , $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6$ 알킬 $)NHC(O)NH_2$ 이고;

[0173] Sp는 하기 화학식이며,



[0174]

여기서

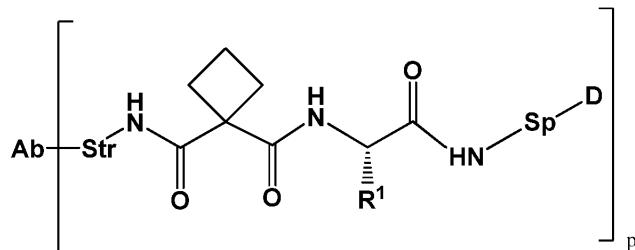
[0175] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0176] X는 N, CH<sub>2</sub> 또는 결합이고;

[0177] 각각의 R<sup>d</sup>는 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알킬이다.

[0178] 본 발명은 또한 하기 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학식 (I)의 항체-접합체에 관한 것이다.

[0179] <화학식 (I)(B3)>



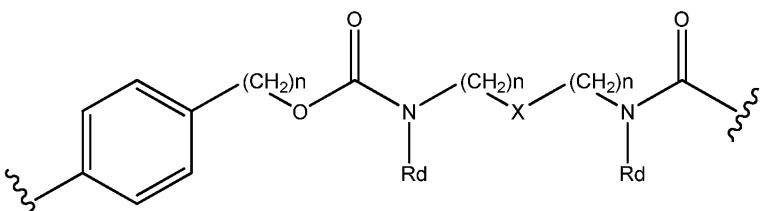
[0180]

상기 식에서,

[0181] p는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0182] R<sup>1</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬-NH<sub>2</sub>, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬)NHC(NH)NH<sub>2</sub> 또는 (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬)NHC(O)NH<sub>2</sub>이고;

[0183] Sp는 하기 화학식이며,



[0184]

여기서

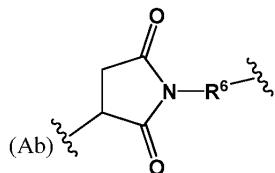
[0185] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0186] X는 N, CH<sub>2</sub> 또는 결합이고;

[0187] 각각의 R<sup>d</sup>는 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알킬이다.

[0188] 본 발명은 또한

[0192] Str이 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학적 모이어티이며,



[0193]

여기서

[0195] R⁶은 아릴 및 헤테로아릴로부터 선택된 1-3개의 기로 치환될 수 있는 C₁-C₆알킬렌인

[0196] (I)(B3)의 항체-약물 접합체에 관한 것이다.

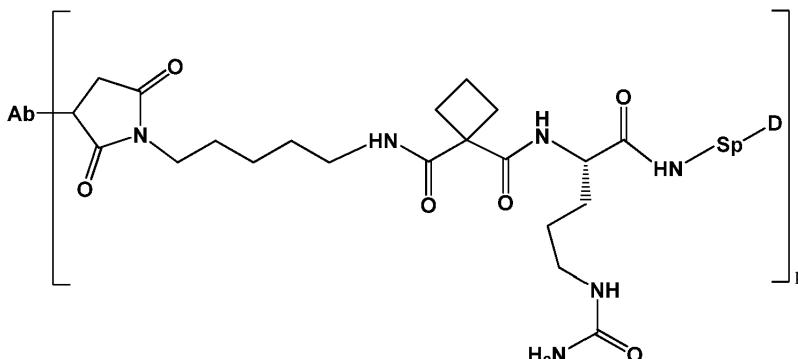
[0197] 본 발명은 또한 R¹이 (CH₂)₃NHC(O)NH₂인 (I)(B3)의 항체-약물 접합체에 관한 것이다.

[0198] 본 발명은 또한 R¹이 (CH₂)₄NH₂인 (I)(B3)의 항체-약물 접합체에 관한 것이다.

[0199] 본 발명은 또한 R¹이 (C₁-C₆알킬)NHC(NH)NH₂인 (I), (I)(B1), (I)(B2) 및 (I)(B3)의 항체-약물 접합체에 관한 것이다.

[0200] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학식 (I)의 항체-약물 접합체에 관한 것이다.

[0201] <화학식 (I)(B4)>



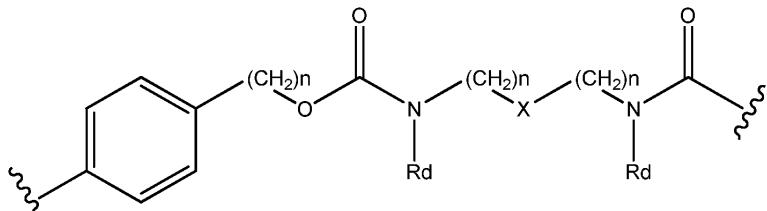
[0202]

상기 식에서,

[0204] Ab는 Her2, CLL1, CD33, CD22 및 NaPi2b로부터 선택된 표적에 결합하는 항체이고;

[0205] P는 1-4이고;

[0206] Sp는 하기 화학식이며,



[0207]

여기서

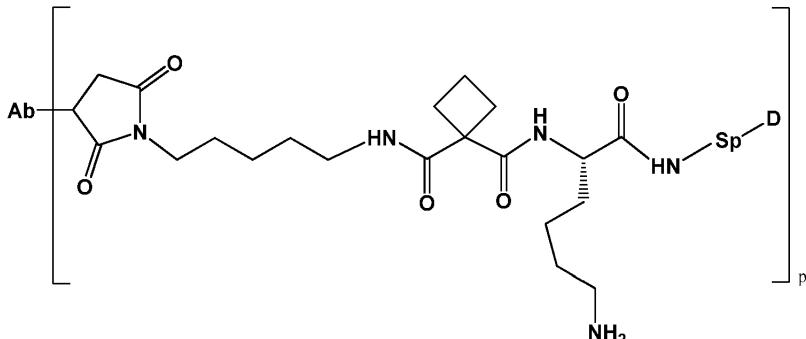
[0209] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0210] X는 N, CH₂ 또는 결합이고;

[0211] 각각의 R^d는 독립적으로 H 또는 C₁-C₃알킬이다.

[0212] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 화학식 (I)의 항체-약물 접합체에 관한 것이다.

[0213] <화학식 (I)(B5)>



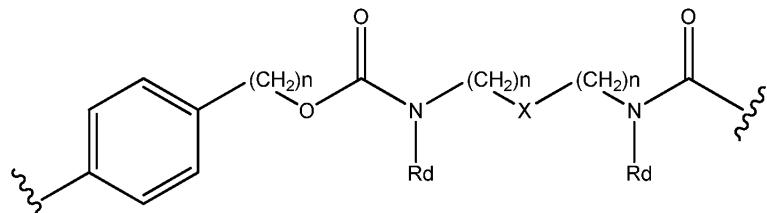
[0214]

[0215] 여기서,

[0216] Ab는 Her2, CLL1, CD33, CD22 및 NaPi2b로부터의 선택된 표적에 결합하는 항체이고;

[0217] P는 1-4이 고;

[0218] Sp는 하기 화학식이며,



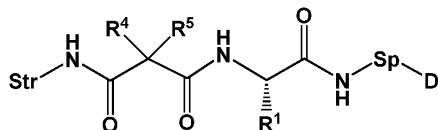
[0219]

[0220] 여기서

[0221] 각각의 n은 독립적으로 1-6이다.

[0222] 본 발명은 또한 하기 화학식 (I)(B)(LD1)의 비-펩티드 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염에 관한 것이다.

[0223] <화학식 (I)(B)(LD1)>



[0224]

[0225] 상기 식에서,

[0226] Str은 항체에 공유 부착될 수 있는 스트레쳐 단위이고;

[0227] Sp는 결합 또는 약물 모이어티에 공유 부착된 스페이서 단위이고;

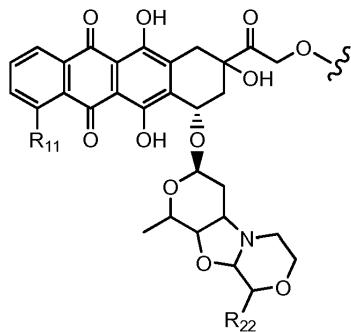
[0228] R¹은 C₁-C₁₀알킬, (C₁-C₁₀알킬)NHC(NH)NH₂ 또는 (C₁-C₁₀알킬)NHC(O)NH₂이 고;

[0229] R⁴ 및 R⁵는 각각 독립적으로 C₁-C₁₀알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, (C₁-C₁₀알킬)OCH₂-이거나, 또는 R⁴ 및 R⁵는 C₃-C₇시클로알킬 고리를 형성할 수 있고;

[0230] D는 하기 화학식 (IA) 또는 (IB)의 약물 모이어티이며,

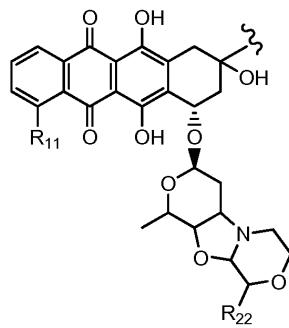
[0231]

<화학식 (IA)>



[0232]

[0233] <화학식 (IB)>

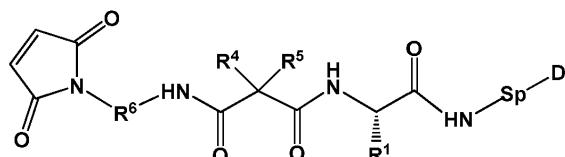


[0234]

[0235] 여기서 R¹¹은 수소 원자, 히드록시 또는 메톡시 기이고, R²²는 C₁-C₅ 알콕시 기이다.

[0236] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 비-펩티드 화합물에 관한 것이다.

[0237] <화학식 (I)(B)(LD2)>

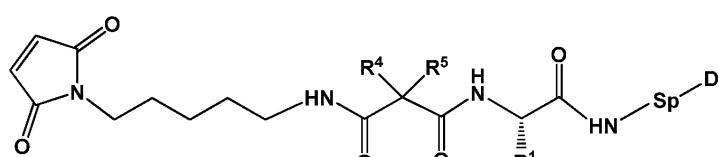


[0238]

[0239] 상기 식에서, R⁶은 C₁-C₁₀알킬렌이고; R⁴ 및 R⁵는 함께 C₃-C₇시클로알킬 고리를 형성한다.

[0240] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 비-펩티드 화합물에 관한 것이다.

[0241] <화학식 (I)(B)(LD3)>

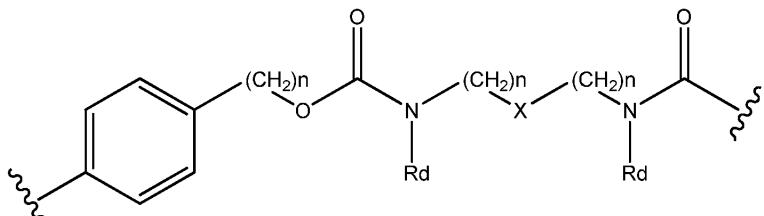


[0242]

[0243] 상기 식에서,

[0244] R¹은 C₁-C₆알킬-NH₂, (C₁-C₆알킬)NHC(NH)NH₂ 또는 (C₁-C₆알킬)NHC(O)NH₂고;[0245] R⁴ 및 R⁵는 각각 독립적으로 C₁-C₆알킬이며, 여기서 상기 알킬은 비치환되거나, 또는 R⁴ 및 R⁵는 C₃-C₇시클로알킬 고리를 형성할 수 있고;

[0246] Sp는 하기 화학식이며,



[0247]

[0248] 여기서

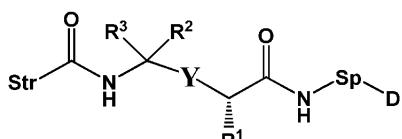
[0249] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0250] X는 N, CH₂ 또는 결합이고;

[0251] 각각의 R^d는 독립적으로 H 또는 C₁-C₃알킬이다.

[0252] 본 발명은 또한 하기 화학식의 비-펩티드 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염에 관한 것이다.

[0253] <화학식 (I)(A)(LD1)>



[0254]

[0255] 상기 식에서,

[0256] Str은 항체에 공유 부착될 수 있는 스트레쳐 단위이고;

[0257] Sp는 약물 모이어티에 공유 부착된 임의적인 스페이서 단위이고;

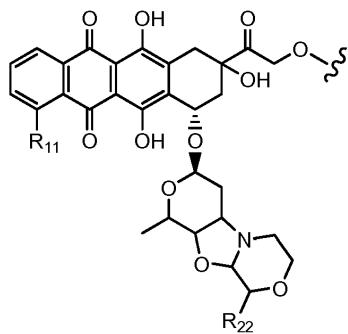
[0258] Y는 헤테로아릴, 아릴, -C(O)C₁-C₆알킬렌, C₁-C₆알킬렌-NH₂, C₁-C₆알킬렌-NH-CH₃, C₁-C₆알킬렌-N-(CH₃)₂, C₁-C₆알케닐 또는 C₁-C₆알킬레닐이고;

[0259] R¹은 C₁-C₁₀알킬, (C₁-C₁₀알킬)NHC(NH)NH₂ 또는 (C₁-C₁₀알킬)NHC(O)NH₂이고;

[0260] R³ 및 R²는 각각 독립적으로 H, C₁-C₁₀알킬, 아릴알킬 또는 헤테로아릴알킬이거나, 또는 R³ 및 R²는 함께 C₃-C₇시클로알킬을 형성할 수 있고;

[0261] D는 하기 화학식 (IA) 또는 (IB)의 약물 모이어티이며,

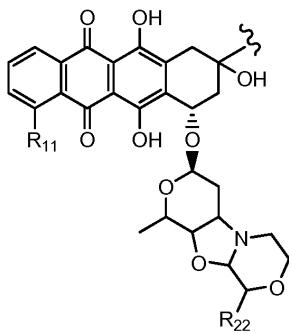
[0262] <화학식 (IA)>



[0263]

[0264]

<화학식 (IB)>

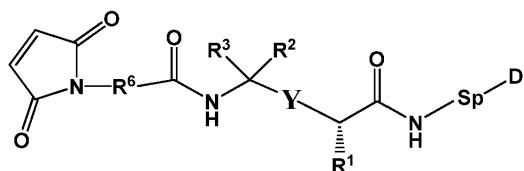


[0265]

[0266] 여기서 R^{11} 은 수소 원자, 히드록시 또는 메톡시 기이고, R^{22} 는 C_1-C_5 알콕시 기이다.

[0267] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 비-펩티드 화합물에 관한 것이다.

[0268] <화학식 (I)(A)(LD2)>

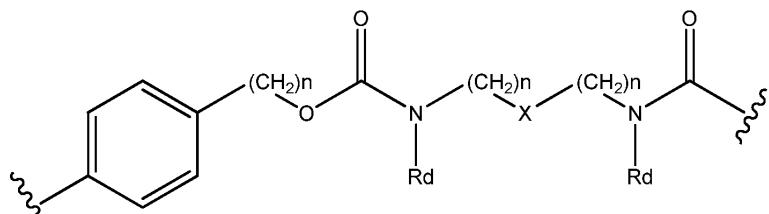


[0269]

[0270] 상기 식에서,

[0271] R^1 은 C_1-C_{10} 알킬, $(C_1-C_{10})NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_{10})NHC(O)NH_2$ 이고;[0272] R^3 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, C_1-C_{10} 알킬, 아릴알킬 또는 헤테로아릴알킬이거나, 또는 R^3 및 R^2 는 함께 C_3-C_7 시클로알킬을 형성할 수 있고;[0273] R^6 은 C_1-C_{10} 알킬렌이고;

[0274] Sp는 하기 화학식이며,



[0275]

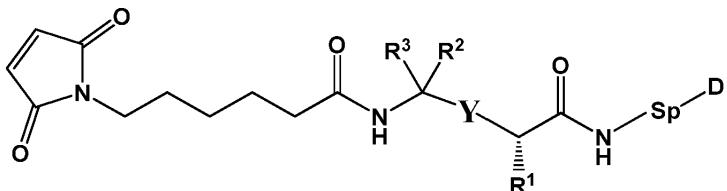
[0276] 여기서

[0277] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0278] X는 N, CH_2 또는 결합이고;[0279] 각각의 R^d 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬이다.

[0280] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 나타내어지는 비-펩티드 화합물에 관한 것이다.

[0281] <화학식 (I)(A)(LD3)>

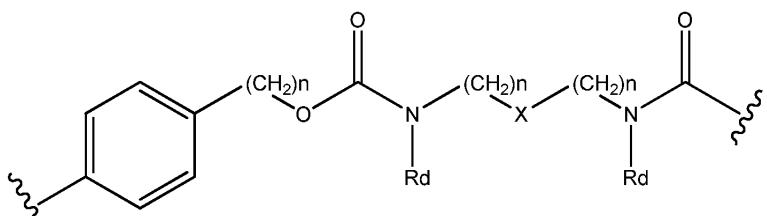


[0282]

[0283] 상기 식에서,

[0284] R^1 은 C_1-C_{10} 알킬, $(C_1-C_{10}$ 알킬 $)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_{10}$ 알킬 $)NHC(O)NH_2$ 이고;[0285] R^3 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, C_1-C_{10} 알킬, 아릴알킬 또는 헤테로아릴알킬이거나, 또는 R^3 및 R^2 는 함께 C_3-C_7 시클로알킬을 형성할 수 있고;[0286] R^6 은 C_1-C_{10} 알킬렌이고;

[0287] Sp는 하기 화학식이며,



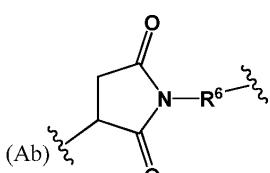
[0288]

[0289] 여기서

[0290] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

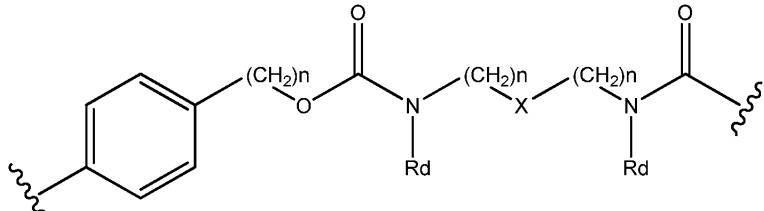
[0291] X는 N, CH_2 또는 결합이고;[0292] 각각의 R^d 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬이다.

[0293] 본 발명은 또한 Str이 하기 화학식을 가지며,



[0294]

[0295] 여기서 R^6 은 C_1-C_{10} 알킬렌, C_3-C_8 시클로알킬, $O-(C_1-C_8$ 알킬렌), 및 C_1-C_{10} 알킬렌- $C(O)N(R^a)-C_2-C_6$ 알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각각의 알킬렌은 할로, 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 시아노, 술포닐, 술폰아미드, 술폭시드, 히드록시, 알콕시, 에스테르, 카르복실산, 알킬티오, 아릴, 아릴알킬, C_3-C_8 시클로알킬, C_4-C_7 헤테로시클로알킬 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기에 의해 치환될 수 있고; 각각의 R^a 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이고;[0296] Sp가 $-Ar-R^b-$ 이며, 여기서 Ar은 아릴 또는 헤테로아릴이고, R^b 는 $(C_1-C_{10}$ 알킬렌 $)O-$ 이거나, 또는 Sp가 하기 화학식이며,



[0297]

여기서

[0299]

각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0300]

X는 N, CH₂ 또는 결합이고;

[0301]

각각의 R^d가 독립적으로 H 또는 C₁-C₃알킬인

[0302]

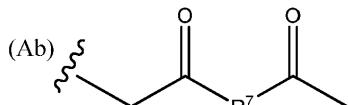
임의의 상기 비-펩티드 링커 약물 화합물에 관한 것이다.

[0303]

본 발명은 또한 R⁶이 C₁-C₁₀알킬렌이고, Sp가 -Ar-R^b-이며, 여기서 Ar은 아릴이고, R^b는 (C₁-C₆알킬렌)0-인 비-펩티드 링커 약물 화합물에 관한 것이다.

[0304]

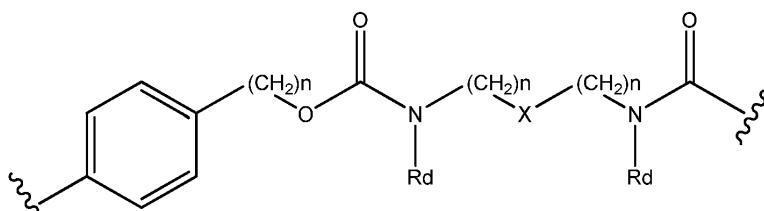
본 발명은 또한 Str이 하기 화학식을 가지며,



[0305]

여기서 R⁷은 C₁-C₁₀알킬렌, C₁-C₁₀알킬렌-0, N(R^c)-(C₂-C₆ 알킬렌)-N(R^c) 및 N(R^c)-(C₂-C₆알킬렌)으로부터 선택되고; 여기서 각각의 R^c는 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

[0307]

Sp가 -Ar-R^b-이며, 여기서 Ar은 아릴 또는 헤테로아릴이고, R^b는 (C₁-C₁₀ 알킬렌)0-이거나, 또는 Sp가 하기 화학식이며,

[0308]

여기서

[0310]

각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0311]

X는 N, CH₂ 또는 결합이고;

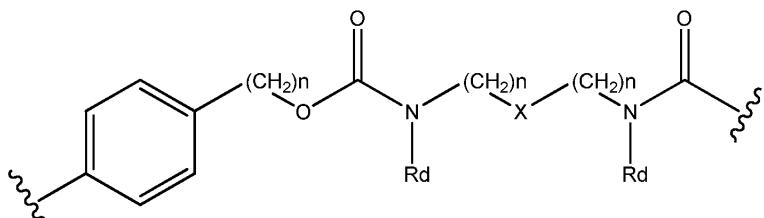
[0312]

각각의 R^d는 독립적으로 H 또는 C₁-C₃알킬인

[0313]

비-펩티드 링커 약물 화합물에 관한 것이다.

[0314] 본 발명은 또한 R⁶이 C₁-C₁₀ 알킬렌이고, Sp가 하기 화학식이며,



[0315]

[0316] 여기서

[0317] 각각의 n은 독립적으로 1-6이고;

[0318] X는 N, CH₂ 또는 결합이고;

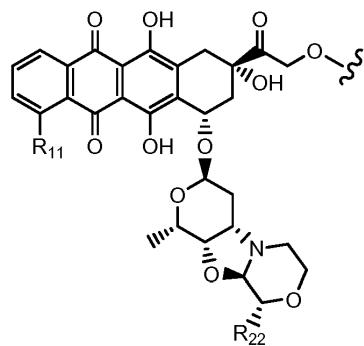
[0319] 각각의 R^d는 독립적으로 H 또는 C₁-C₃알킬인

[0320] 비-펩티드 링커 약물 화합물에 관한 것이다.

[0321] 본 발명은 또한 p가 2인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.

[0322] 본 발명은 또한 (IA)가 하기 화학식이고,

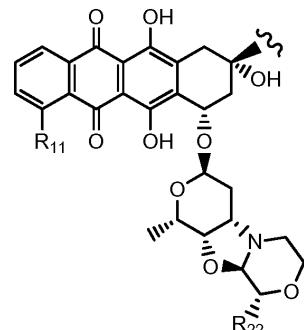
[0323] <화학식 (Ia)>



[0324]

[0325] (IB)가 하기 화학식인

[0326] <화학식 (Ib)>



[0327]

[0328] 링커 약물 화합물 (I)(A)(LD1) 및 (I)(B)(LD1)에 관한 것이다.

[0329] 본 발명은 또한 항체가 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 폴리펩티드에 결합하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다:

[0330]

CLL1;

[0331]	BMPR1B;
[0332]	E16;
[0333]	STEAP1;
[0334]	0772P;
[0335]	MPF;
[0336]	NaPi2b;
[0337]	Sema 5b;
[0338]	PSCA hlg;
[0339]	ETBR;
[0340]	MSG783;
[0341]	STEAP2;
[0342]	TrpM4;
[0343]	CRIPTO;
[0344]	CD21;
[0345]	CD79b;
[0346]	FcRH2;
[0347]	HER2;
[0348]	NCA;
[0349]	MDP;
[0350]	IL20R α ;
[0351]	브레비칸;
[0352]	EphB2R;
[0353]	ASLG659;
[0354]	PSCA;
[0355]	GEDA;
[0356]	BAFF-R;
[0357]	CD22;
[0358]	CD79a;
[0359]	CXCR5;
[0360]	HLA-DOB;
[0361]	P2X5;
[0362]	CD72;
[0363]	LY64;
[0364]	FcRH1;
[0365]	IRTA2;
[0366]	TENB2;

- [0367] PMEL17;
- [0368] TMEFF1;
- [0369] GDNF-Ra1;
- [0370] Ly6E;
- [0371] TMEM46;
- [0372] Ly6G6D;
- [0373] LGR5;
- [0374] RET;
- [0375] LY6K;
- [0376] GPR19;
- [0377] GPR54;
- [0378] ASPHD1;
- [0379] 티로시나제;
- [0380] TMEM118;
- [0381] GPR172A;
- [0382] MUC16 및
- [0383] CD33.
- [0384] 본 발명은 또한 질환의 치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 청구범위 제1항의 항체-약물 접합체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 인간에서 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0385] 본 발명은 또한 청구범위 제1항의 화합물 및 그의 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0386] 본 발명은 또한 항체가 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 폴리펩티드에 결합하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다:
- [0387] CLL1;
- [0388] STEAP1;
- [0389] NaPi2b;
- [0390] STEAP2;
- [0391] TrpM4;
- [0392] CRIPTO;
- [0393] CD21;
- [0394] CD79b;
- [0395] FcRH2;
- [0396] HER2;
- [0397] CD22;
- [0398] CD79a;
- [0399] CD72;

- [0400] LY64;
- [0401] Ly6E;
- [0402] MUC16; 및
- [0403] CD33.
- [0404] 본 발명은 또한 항체가 CD33에 결합하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0405] 본 발명은 또한 항체가 CD22에 결합하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0406] 본 발명은 또한 항체가 NaPi2b에 결합하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0407] 본 발명은 또한 항체가 CLL1에 결합하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0408] 본 발명은 또한 항체가 Her2에 결합하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0409] 본 발명은 또한 항체가 CD33에 결합하며 항-CD33 항체가 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0410] 본 발명은 또한 항체가 CD33에 결합하며 항-CD33 항체가 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인 및 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0411] 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체의 항체는 CD33에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체의 항체는 (a) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 21로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.
- [0412] 일부 실시양태에서, 항체는 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 25 및 서열 26의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (이들 서열의 번역후 변형 포함).
- [0413] 본 발명은 또한 항체가 NaPi2b에 결합하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0414] 본 발명은 또한 항체가 NaPi2b에 결합하며 NaPi2b 항체가 서열 1의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 서열 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 서열 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0415] 본 발명은 또한 항체가 NaPi2b에 결합하며 NaPi2b 항체가 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인 및 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0416] 본 발명은 또한 항체가 NaPi2b에 결합하며 NaPi2b 항체가 서열 9의 아미노산 서열 및 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0417] 본 발명은 또한 항체가 CD22에 결합하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0418] 본 발명은 또한 항체가 CD22에 결합하며 CD22 항체가 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열 45의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0419] 본 발명은 또한 항체가 CD22에 결합하며 CD22 항체가 서열 47의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인 및 서열 48의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.
- [0420] 본 발명은 또한 항체가 CD22에 결합하며 CD22 항체가 서열 49의 아미노산 서열 및 서열 50의 아미노산 서열을

포함하는 것인 상기 항체-약물 접합체 중 임의의 1종에 관한 것이다.

[0421] 정의

달리 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 하기 용어 및 어구는 하기 의미를 갖는 것으로 의도된다: 본원에서 상표명이 사용되는 경우에, 본 출원인은 상표명 제품 제제, 제네릭 약물 및 상표명 제품의 활성 제약 성분(들)이 독립적으로 포함되는 것으로 의도한다.

[0423] 본원에 사용된 용어 "펩티드모방체" 또는 PM은 비-펩티드 화학적 모이어티를 의미한다. 펩티드는 1개의 아미노산의 카르복실 기가 또 다른 것의 아미노 기와 반응할 때 형성되는 공유 화학 결합인 펩티드 (아미드) 결합에 의해 연결된 아미노산 단량체의 단쇄이다. 가장 짧은 펩티드는 단일 펩티드 결합에 의해 연결된 2개의 아미노산으로 이루어진 디펩티드, 이어서 트리펩티드, 테트라펩티드 등이다. 펩티드모방체 화학적 모이어티는 비-아미노산 화학적 모이어티를 포함한다. 펩티드모방체 화학적 모이어티는 또한 1개 이상의 비-아미노산 화학적 단위에 의해 분리되는 1개 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. 펩티드모방체 화학적 모이어티는 그의 화학 구조의 임의의 부분에 펩티드 결합에 의해 연결되는 2개 이상의 인접 아미노산을 함유하지 않는다.

[0424] 본원에 사용된 용어 "아미노산"은 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 메티오닌, 리신, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민 또는 시트룰린을 의미한다.

[0425] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 구체적으로 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 이량체, 다량체, 다중특이적 항체 (예를 들어 이중특이적 항체), 및 바람직한 생물학적 활성을 나타내는 항체 단편을 포함한다 (Miller et al. (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). 항체는 뮤린, 인간, 인간화, 키메라이거나, 또는 다른 종으로부터 유래될 수 있다. 항체는 특정 항원을 인식하고 그에 결합할 수 있는, 면역계에 의해 생성되는 단백질이다. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York). 표적 항원은 일반적으로 다수의 항체 상의 CDR에 의해 인식되는, 에피토프로도 불리는 많은 결합 부위를 갖는다. 상이한 에피토프에 특이적으로 결합하는 각각의 항체는 상이한 구조를 갖는다. 따라서, 1개의 항원은 1개 초과의 상응하는 항체를 가질 수 있다. 항체는 전장 이뮤노글로불린 분자 또는 전장 이뮤노글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 즉 관심 표적 항원 (이러한 표적은 암 세포, 또는 자가면역 질환과 연관된 자가면역 항체를 생성하는 세포를 포함하나, 이에 제한되지는 않음) 또는 그의 일부와 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 포함한다. 본원에 개시된 이뮤노글로불린은 이뮤노글로불린 분자의 임의의 유형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD 및 IgA), 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위부류일 수 있다. 이뮤노글로불린은 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 그러나, 한 측면에서, 이뮤노글로불린은 인간, 뮤린 또는 토키 기원의 것이다.

[0426] 본원에 사용된 용어 "항체 단편(들)"은 전장 항체의 일부, 일반적으로 그의 항원 결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 미니바디 (Olafsen et al. (2004) *Protein Eng. Design & Sel.* 17(4):315-323), Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편, 항-이디오타임 (항-Id) 항체, CDR (상보성 결정 영역), 및 암 세포 항원, 바이러스 항원 또는 미생물 항원에 면역특이적으로 결합하는 상기 중 임의의 것의 에피토프-결합 단편, 단일-쇄 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.

[0427] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하며, 즉 이러한 집단을 포함하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 모노클로날 항체는 단일 항원 부위에 대해 지시되어 고도로 특이적이다. 게다가, 상이한 결정기 (에피토프)에 대해 지시된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 반대로, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 지시된다. 그의 특이성 이외에도, 모노클로날 항체는 다른 항체에 의해 오염되지 않은 상태로 합성될 수 있다는 점에서 유리하다. 수식어 "모노클로날"은 항체의 특징이 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 것임을 나타내며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체 생산을 요구한다는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al. (1975) *Nature*, 256:495]에 최초로 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법 (예를 들어, US 4816567; US 5807715 참조)에 의해 제조될 수 있다. 모노클로날 항체는 또한, 예를 들어 문헌 [Clackson et al. (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks et al. (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597]에 기재된 기술을 사용하여 과거 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0428]

본원에서 모노클로날 항체는 구체적으로, 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 종으로부터 유래되거나 특정한 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 또는 그에 상동성인 한편 쇄(들)의 나머지 부분은 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 그에 상동성인 "키메라" 항체, 뿐만 아니라 상기 항체의 단편을 포함한다 (US 4816567; 및 Morrison et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855). 본원에서 관심 키메라 항체는 비-인간 영장류 (예를 들어, 구세계 원숭이, 유인원 등)로부터 유래된 가변 도메인 항원-결합 서열 및 인간 불변 영역 서열을 포함하는 "영장류화" 항체를 포함한다.

[0429]

본원에 사용된 용어 "무손상 항체"는 VL 및 VH 도메인 뿐만 아니라 경쇄 불변 도메인 (CL) 및 중쇄 불변 도메인, CH1, CH2 및 CH3를 포함하는 것이다. 불변 도메인은 천연 서열 불변 도메인 (예를 들어, 인간 천연 서열 불변 도메인) 또는 그의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 무손상 항체는, 항체의 Fc 불변 영역 (천연 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인할 수 있는 생물학적 활성을 지칭하는 1종 이상의 "이펙터 기능"을 가질 수 있다. 항체 이펙터 기능의 예는 C1q 결합; 보체 의존성 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 및 세포 표면 수용체, 예컨대 B 세포 수용체 및 BCR의 하향 조절을 포함한다.

[0430]

본원에 사용된 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 이뮤노글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 의미한다. 상기 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226 또는 Pro230으로부터 중쇄의 카르복실-말단까지 연장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 리신 (Lys447)은 존재할 수 있거나 또는 존재하지 않을 수 있다. 본원에 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바와 같은, EU 인덱스로도 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다.

[0431]

본원에 사용된 용어 "프레임워크" 또는 "FR"은 초가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인: FR1, FR2, FR3 및 FR4로 이루어진다. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 하기 서열로 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

[0432]

중쇄 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 무손상 항체는 상이한 "부류"로 지정될 수 있다. 5가지 주요 부류의 무손상 이뮤노글로불린 항체: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇몇은 "하위부류" (이소형), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA 및 IgA2로 추가로 분류될 수 있다. 상이한 부류의 항체에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ , 및 μ 로 불린다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 형상은 널리 공지되어 있다. Ig 형태는 헌지-변형 또는 무헌지 형태를 포함한다 (Roux et al. (1998) J. Immunol. 161:4083-4090; Lund et al. (2000) Eur. J. Biochem. 267:7246-7256; US 2005/0048572; US 2004/0229310).

[0433]

본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생산되거나, 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-코딩 서열을 사용하는 비-인간 공급원으로부터 유래된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 항체를 지칭한다. 인간 항체의 이러한 정의는 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 분명히 배제한다.

[0434]

본원에 사용된 용어 "인간 컨센서스 프레임워크"는 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택 시 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크를 지칭한다. 일반적으로, 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 행한다. 일반적으로, 서열의 하위군은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3]에서와 같은 하위군이다. 한 실시양태에서, VL의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 카파 I이다. 한 실시양태에서, VH의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 III이다.

[0435]

본원에 사용된 용어 "인간화 항체"는 비-인간 HVR로부터의 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 HVR (예를 들어, CDR)은 비-인간 항체의 것들에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 것들에 상응한다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어 비-인간 항체의 "

"인간화 형태"는 인간화를 거친 항체를 지칭한다.

[0436]

본원에 사용된 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열이 초가변성이고/거나 구조적으로 한정된 루프 ("초가변 루프")를 형성하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 천연 4-쇄 항체는 6개의 HVR; VH 내의 3개 (H1, H2, H3) 및 VL 내의 3개 (L1, L2, L3)를 포함한다. HVR은 일반적으로 초가변 루프로부터의 및/ 또는 "상보성 결정 영역" (CDR)으로부터의 아미노산 잔기를 포함하며, 후자는 서열 가변성이 가장 높고/거나 항원 인식과 관련된다. 예시적인 초가변 루프는 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3)에서 발생한다. (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987).) 예시적인 CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3)은 L1의 아미노산 잔기 24-34, L2의 50-56, L3의 89-97, H1의 31-35B, H2의 50-65 및 H3의 95-102에서 발생한다. (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991).) VH 내의 CDR1을 제외하고, CDR은 일반적으로 초가변 루프를 형성하는 아미노산 잔기를 포함한다. CDR은 또한 항원에 접촉하는 잔기인 "특이성 결정 잔기" 또는 "SDR"을 포함한다. SDR은 단축-CDR, 또는 a-CDR로 불리는 CDR의 영역 내에 함유된다. 예시적인 a-CDR (a-CDR-L1, a-CDR-L2, a-CDR-L3, a-CDR-H1, a-CDR-H2 및 a-CDR-H3)은 L1의 아미노산 잔기 31-34, L2의 50-55, L3의 89-96, H1의 31-35B, H2의 50-58 및 H3의 95-102에서 발생한다. (문헌 [Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)] 참조.) 달리 나타내지 않는 한, HVR 잔기 및 가변 도메인 내의 다른 잔기 (예를 들어, FR 잔기)는 상기 문헌 [Kabat et al.]에 따라 넘버링된다.

[0437]

본원에 사용된 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항원에 대한 항체의 결합에 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인 (각각 VH 및 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역 (FR) 및 3개의 초가변 영역 (HVR)을 포함한다. (예를 들어, 문헌 [Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)] 참조.) 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 게다가, 특정한 항원에 결합하는 항체는 각각 상보적 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 단리될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)]을 참조한다.

[0438]

본원에 사용된 용어 "벡터"는 연결되어 있는 또 다른 핵산을 전파시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 이 용어는 자기-복제 핵산 구조로서의 벡터 뿐만 아니라, 벡터가 도입된 숙주 세포의 게놈 내로 통합된 벡터를 포함한다. 특정 벡터는 작동가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "발현 벡터"로 지칭된다.

[0439]

본원에 사용된 용어 "유리 시스테인 아미노산"은 모 항체 내로 조작되고 티을 관능기 (-SH)를 가지며 분자내 또는 분자간 디슬피드 가교로서 쌍형성되지 않는 시스테인 아미노산 잔기를 지칭한다.

[0440]

본원에 사용된 용어 "링커", "링커 단위" 또는 "링크"는 약물 모이어티를 항체에 공유 부착시키는 원자의 쇄를 포함하는 화학적 모이어티를 의미한다. 다양한 실시양태에서, 링커는 L로 명시되는 2가 라디칼이다.

[0441]

본원에 사용된 용어 "약물 모이어티"는 세포 기능을 억제 또는 방지하고/거나 세포 사멸 또는 파괴를 유발하는 물질을 의미한다. 세포독성제는 방사성 동위원소 (예를 들어, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² 및 Lu의 방사성 동위원소); 화학요법제 또는 약물 (예를 들어, 메토트렉세이트, 아드리아미신, 빈카알칼로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 삽입제); 성장 억제제; 효소 및 그의 단편 예컨대 핵산분해 효소; 및 하기 개시된 다양한 항종 양제 또는 항암제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0442]

청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "아실"은 기 -C(0)R'를 지칭하며, 여기서 R'는 각각 본원에 정의된 바와 같은 알킬, C₃-C₆시클로알킬 또는 헤테로시클릴이다.

[0443]

청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "알콕시"는 기 -OR'를 지칭하며, 여기서 R'는 상기 정의된 바와 같은 C₁-C₄알킬 또는 C₃-C₆시클로알킬이다. "알콕시"의 예는 메톡시, 에톡시, 이소프로록시, 프로록시, 부톡시, t-부톡시, 이소부톡시, 시클로프로록시, 및 시클로부톡시, 및 그의 할로겐화 형태, 예를 들어 플루오로메톡시 및 디플루오로메톡시를 포함한다.

[0444]

청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "알킬"은 비치환되거나 또는 다중 치환도 (예를 들어 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개가 본 발명에 포함됨)로 치환될 수 있는 1 내지 12개의 (C_1-C_{12}) 탄소 원자를 갖는 직쇄형 또는 분지형, 1가 또는 2가 탄화수소 쇄 라디칼을 지칭한다. 치환기의 예는 할로, 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 시아노, 술포닐, 술폰아미드, 술폴시드, 히드록시, 알콕시, 에스테르, 카르복실산 및 알킬티오로 이루어진 군으로부터 선택된다. 본원에 사용된 "알킬"의 예는 메틸 (Me , $-CH_3$), 에틸 (Et , $-CH_2CH_3$), 1-프로필 ($n-Pr$, n -프로필, $-CH_2CH_2CH_3$), 2-프로필 ($i-Pr$, i -프로필, $-CH(CH_3)_2$), 1-부틸 ($n-Bu$, n -부틸, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-메틸-1-프로필 ($i-Bu$, i -부틸, $-CH_2CH(CH_3)_2$), 2-부틸 ($s-Bu$, s -부틸, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$), 2-메틸-2-프로필 ($t-Bu$, t -부틸, $-C(CH_3)_3$), 1-펜틸 (n -펜틸, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$), 3-펜틸 ($-CH(CH_2CH_3)_2$), 2-메틸-2-부틸 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_3$), 3-메틸-2-부틸 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$), 3-메틸-1-부틸 ($-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$), 2-메틸-1-부틸 ($-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$), 1-헥실 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-헥실 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$), 3-헥실 ($-CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$), 2-메틸-2-펜틸 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$), 3-메틸-2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$), 4-메틸-2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$), 3-메틸-3-펜틸 ($-C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$), 2-메틸-3-펜틸 ($-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$), 2,3-디메틸-2-부틸 ($-C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$), 3,3-디메틸-2-부틸 ($-CH(CH_3)C(CH_3)_3$, 뿐만 아니라 2가 ("알킬렌") 및 그의 치환된 버전을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 치환된 알킬의 예는 히드록시메틸, 디플루오로메틸 및 트리플루오로메틸을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0445]

청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "알케닐"은 적어도 1개의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp^2 이중 결합을 갖는 2 내지 8개의 탄소 원자 (C_2-C_{10})의 임의의 길이의 선형 또는 분지형, 1가 탄화수소 쇄 라디칼을 의미하며, 여기서 알케닐 라디칼은 독립적으로 "알킬"의 정의에 상기 기재된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환될 수 있고, "시스" 및 "트랜스" 배향 또는 대안적으로, "E" 및 "Z" 배향을 갖는 라디칼을 포함한다. 알케닐의 예는 에테닐 또는 비닐 ($-CH=CH_2$), 프로프-1-에닐 ($-CH=CHCH_3$), 프로프-2-에닐 ($-CH_2CH=CH_2$), 2-메틸프로프-1-에닐, 부트-1-에닐, 부트-2-에닐, 부트-3-에닐, 부타-1,3-디에닐, 2-메틸부타-1,3-디엔, 헥스-1-에닐, 헥스-2-에닐, 헥스-3-에닐, 헥스-4-에닐, 헥사-1,3-디에닐 뿐만 아니라 2가 ("알케닐렌") 및 그의 치환된 버전을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0446]

청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "알키닐"은 적어도 1개의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp 삼중 결합을 갖는 2 내지 8개의 탄소 원자 (C_2-C_{10})의 임의의 길이의 선형 또는 분지형, 1가 또는 2가 탄화수소 라디칼을 지칭하며, 여기서 알키닐 라디칼은 독립적으로 알킬의 정의에 상기 기재된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환될 수 있고, 알키닐의 예는 에티닐 ($-C\equiv CH$), 프로프-1-이닐 ($-C\equiv CCH_3$), 프로프-2-이닐 (프로파르길, $-CH_2C\equiv CH$), 부트-1-이닐, 부트-2-이닐 및 부트-3-이닐, 뿐만 아니라 2가 ("알키닐렌") 및 그의 치환된 버전을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0447]

청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "알킬아미노"는 기 $-NR'R'$ 를 지칭하며, 여기서 R' 는 H , C_1-C_6 알킬 또는 C_3-C_6 시클로알킬이고, R'' 는 C_1-C_6 알킬 또는 C_3-C_6 시클로알킬이고, 알킬아미노의 예는 메틸아미노, 디메틸아미노, 에틸아미노, 디에틸아미노, 프로필아미노 및 시클로프로필아미노를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0448]

청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "아미드"는 기 $-C(O)NR'R'$ 를 지칭하며, 여기서 R' 및 R'' 는 각각 독립적으로 H , C_1-C_6 알킬 또는 C_3-C_6 시클로알킬이고; 아미드의 예는 $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHCH_3$, 및 $-C(O)N(CH_3)_2$ 를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0449]

청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "아릴"은 방향족, 탄화수소, 고리계를 지칭한다. 고리계는 치환 또는 비치환된 모노시클릭 또는 융합된 폴리시클릭 (예를 들어, 비시클릭, 트리시클릭 등)일 수 있다. 다양한 실시양태에서, 모노시클릭 아릴 C_5-C_{10} , 또는 C_5-C_7 , 또는 C_5-C_6 이며, 여기서 이를 탄소수는 고리계를 형성하는 탄소 원자의 수를 지칭한다. C_6 고리계, 즉 페닐 고리는 아릴 기이다. 다양한 실시양태에서, 폴리시클릭 고리는 비시클릭 아릴 기이며, 여기서 비시클릭 아릴 기의 예는 C_8-C_{12} , 또는 C_9-C_{10} 을 포함한다. 10 개의 탄소 원자를 갖는 나프틸 고리는 폴리시클릭 아릴 기이다. 아릴에 대한 치환기의 예는 하기 "임의로 치환

된"의 정의에 기재되어 있다.

[0450] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "시아노"는 기 -CN을 지칭한다.

[0451] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 "시클로알킬"은 비-방향족, 치환 또는 비치환된, 포화 또는 부분 불포화 탄화수소 고리 기를 지칭한다. 치환기의 예는 "임의로 치환된"의 정의에 기재되어 있다. 한 예에서, 시클로알킬 기는 3 내지 12개의 탄소 원자 (C_3-C_{12})이다. 다른 예에서, 시클로알킬은 C_3-C_8 , C_3-C_{10} 또는 C_5-C_{10} 이다. 다른 예에서, 모노사이클로서의 시클로알킬 기는 C_3-C_8 , C_3-C_6 또는 C_5-C_6 이다. 또 다른 예에서, 비사이클로서의 시클로알킬 기는 C_7-C_{12} 이다. 또 다른 예에서, 스피로계로서의 시클로알킬 기는 C_5-C_{12} 이다. 모노시클릭 시클로알킬의 예는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 1-시클로펜트-1-에닐, 1-시클로펜트-2-에닐, 1-시클로펜트-3-에닐, 시클로헥실, 퍼듀테리오시클로헥실, 1-시클로헥스-1-에닐, 1-시클로헥스-2-에닐, 1-시클로헥스-3-에닐, 시클로헥사디에닐, 시클로헵틸, 시클로옥틸, 시클로노닐, 시클로데실, 시클로운데실 및 시클로도데실을 포함한다. 7 내지 12개의 고리 원자를 갖는 비시클릭 시클로알킬의 예시적인 배열은 [4,4], [4,5], [5,5], [5,6] 또는 [6,6] 고리계를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 가교된 비시클릭 시클로알킬은 비시클로[2.2.1]헵탄, 비시클로[2.2.2]옥탄 및 비시클로[3.2.2]노난을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 스피로 시클로알킬의 예는 스피로[2.2]펜탄, 스피로[2.3]헥산, 스피로[2.4]헵탄, 스피로[2.5]옥탄 및 스피로[4.5]데칸을 포함한다.

[0452] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "에스테르"는 기 -C(O)OR'를 지칭하며, 여기서 R'는 C_1-C_6 알킬, 또는 C_3-C_6 시클로알킬이다.

[0453] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "헵테로사이클", "헵테로시클로알킬" 또는 "헵테로시클릴"은 2 내지 12개의 고리 탄소 원자 및 1 내지 3개의 고리 헵테로 원자를 함유하는 비치환 및 치환된 모노- 또는 폴리시클릭 비-방향족 고리계를 지칭한다. 폴리시클릭 고리계는 융합된 비- 또는 트리-시클릭, 스피로 또는 가교일 수 있다. 헵테로원자의 예는 N-옥시드, 황 옥시드 및 디옥시드를 포함한 N, O 및 S를 포함한다. 한 실시양태에서, 고리는 3 내지 8-원이고, 완전 포화되거나 또는 1 이상의 불포화도를 갖는다. 다중 치환도는 본 정의 내에 포함된다. 치환기의 예는 하기에 정의된다. "헵테로시클릭" 기의 예는 테트라하이드로푸라닐, 퍼라닐, 1,4-디옥사닐, 1,3-디옥사닐, 옥솔라닐, 옥세타닐, 2-옥사-6-아자스피로[3.3]헵탄-6-일, 퍼페리디닐, 퍼롤리디닐, 모르폴리닐, 아제티디닐, 퍼페라지닐, 퍼롤리디노닐, 퍼페라지노닐, 퍼라졸리디닐, 및 그의 다양한 호변이성질체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0454] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "헵테로아릴"은, 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 1 내지 9개의 탄소(들) 및 적어도 1개의 헵테로원자를 함유하는 방향족 고리계를 지칭한다. 헵테로원자의 예는 N, O, 및 S를 포함한다. 헵테로아릴은 치환되거나 비치환된, 모노시클릭 또는 폴리시클릭일 수 있다. 모노시클릭 헵테로아릴 기는 고리 내에 2 내지 6개의 고리 탄소 원자 및 1 내지 3개의 고리 헵테로 원자를 가질 수 있으며, 폴리시클릭 헵테로아릴은 3 내지 9개의 고리 탄소 원자 및 1 내지 5개의 고리 헵테로 원자를 함유할 수 있다. 폴리시클릭 헵테로아릴 고리는 융합된, 스피로 또는 가교된 고리 접합을 함유할 수 있으며, 예를 들어 비시클릭 헵테로아릴은 폴리시클릭 헵테로아릴이다. 비시클릭 헵테로아릴 고리는 8 내지 12개의 구성원 원자를 함유할 수 있다. 모노시클릭 헵테로아릴 고리는 5 내지 8개의 구성원 원자(탄소 및 헵테로원자)를 함유할 수 있다. 예시적인 헵테로아릴 기는 벤조푸라닐, 벤조티오페닐, 푸라닐, 이미다졸릴, 인돌릴, 아자인돌릴, 아자벤즈이미다졸릴, 벤족사졸릴, 벤즈티아졸릴, 벤조티아디아졸릴, 벤조트리아졸릴, 벤조이미다졸릴, 테트라지닐, 테트라졸릴, 이소티아졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 퍼라지닐, 퍼라졸릴, 퍼리다지닐, 퍼리디닐, 퍼리미디닐, 퍼롤릴, 퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 트리아지닐, 트리아졸릴, 티아졸릴 및 티오페닐을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 헵테로아릴에 대한 치환기의 예는 하기 "임의로 치환된"의 정의에 기재되어 있다.

[0455] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "헵테로아릴알킬"은 기 (헵테로아릴) C_1-C_3 알킬을 의미한다.

[0456] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "아릴알킬"은 기 (아릴) C_1-C_3 알킬을 의미한다.

[0457] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "우레아"는 기 -NR'C(O)NR"를 지칭하며, 여기서 R' 및 R"는 각각 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬, 또는 C_3-C_6 시클로알킬이다.

[0458] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "임의로"는 후속적으로 기재된 사건(들)이 발생할 수

있거나 발생하지 않을 수 있다는 것을 의미하며, 발생하는 사건(들) 및 발생하지 않는 사건(들) 둘 다를 포함한다.

- [0459] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 어구 "임의로 치환된", "치환된" 또는 그의 변형은 1개 이상의 치환기, 예를 들어 1, 2 또는 3개로의 임의적인 치환 (다중 치환도 포함)을 나타낸다. 상기 어구는 본원에 기재 및 도시된 치환과 중복되게 해석되어서는 안된다. 예시적인 임의적인 치환기는 아실, C₁-C₆알킬, 술포닐, 아미노, 술플아미드, 술폴시드, 알콕시, 시아노, 할로, 우레아, 에스테르, 카르복실산, 아미드, 히드록시, 옥소, 및 니트로를 포함한다.
- [0460] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "치료"는 명시된 상태를 완화시키는 것, 상태의 1종 이상의 증상을 제거하거나 감소시키는 것, 상태의 진행을 늦추거나 제거하는 것을 지칭한다.
- [0461] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "유효량"은, 예를 들어 연구원 또는 임상의가 추구하는 조직, 계, 동물 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 이끌어낼 약물 또는 제약 작용제의 양을 의미한다.
- [0462] 청구범위에 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "치료 유효량"은 이러한 양을 제공받지 못한 상응하는 대상체와 비교하여 질환, 장애 또는 부작용의 치료, 또는 질환 또는 장애의 진행 속도의 감소를 일으키는 임의의 양을 의미한다. 상기 용어는 또한 정상적인 생리학적 기능을 증진시키는데 유효한 양을 그의 범주 내에 포함한다. 요법에 사용하기 위해, 치료 유효량의 화학식 I의 화합물, 뿐만 아니라 그의 염은 미가공 화학물질로서 투여될 수 있다. 추가로, 활성 성분은 제약 조성물로서 제공될 수 있다.
- [0463] 본 발명은 또한 실험 섹션에서의 실시예 중 임의의 하나에 관한 것이다.
- [0464] 본원에 사용된 어구 "제약상 허용되는 염"은 항체-약물 접합체 (ADC) 또는 링커-약물 모이어티의 제약상 허용되는 유기 또는 무기 염을 지칭한다. 예시적인 염은 술페이트, 시트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 니트레이트, 비설페이트, 포스페이트, 산 포스페이트, 이소니코티네이트, 락테이트, 살리실레이트, 산 시트레이트, 타르트레이트, 올레이트, 탄네이트, 판토테네이트, 비타르트레이트, 아스코르베이트, 숙시네이트, 말레이트, 겐티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄술포네이트, 에탄술포네이트, 벤젠술포네이트, p-톨루엔술포네이트, 및 파모에이트 (즉, 1,1'-메틸렌-비스 -(2-히드록시-3-나프토에이트)) 염을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 제약상 허용되는 염은 또 다른 문자, 예컨대 아세테이트 이온, 숙시네이트 이온 또는 다른 반대이온의 내포를 포함할 수 있다. 반대이온은 모 화합물 상의 전하를 안정화시키는 임의의 유기 또는 무기 모이어티일 수 있다. 게다가, 제약상 허용되는 염은 그의 구조 내에 1개 초과의 하전된 원자를 가질 수 있다. 다수의 하전된 원자가 제약상 허용되는 염의 일부인 경우에는 다수의 반대이온을 가질 수 있다. 따라서, 제약상 허용되는 염은 1개 이상의 하전된 원자 및/또는 1개 이상의 반대이온을 가질 수 있다.
- [0465] 제약상 허용되지 않는 다른 염이 본 발명의 화합물을 제조하는데 유용할 수 있고, 이들은 본 발명의 추가 측면을 형성하는 것으로 간주되어야 한다. 이들 염, 예컨대 옥살산 또는 트리플루오로아세테이트는 그 자체로는 제약상 허용되지 않지만, 본 발명의 화합물 및 그의 제약상 허용되는 염을 수득하는데 있어서 중간체로서 유용한 염을 제조하는데 유용할 수 있다.
- [0466] 본 발명의 화합물은 고체 또는 액체 형태로 존재할 수 있다. 고체 상태에서는, 결정질 또는 비결정질 형태, 또는 그의 혼합물로서 존재할 수 있다. 통상의 기술자는 제약상 허용되는 용매화물이 결정질 또는 비-결정질 화합물에 대해 형성될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 결정질 용매화물에서, 용매 분자는 결정화 동안 결정질 격자 내에 혼입된다. 용매화물은 결정질 격자 내로 혼입되는 용매로서, 비-수성 용매, 예컨대 비제한적으로 에탄올, 이소프로판올, DMSO, 아세트산, 에탄올아민, 또는 에틸 아세테이트를 포함할 수 있거나, 또는 이들은 물을 포함할 수 있다. 물이 결정질 격자에 혼입된 용매인 용매화물은 전형적으로 "수화물"로서 지칭된다. 수화물은 화학량론적 수화물 뿐만 아니라 가변량의 물을 함유하는 조성물을 포함한다. 본 발명은 모든 이러한 용매화물을 포함한다.
- [0467] 통상의 기술자는 추가로 결정질 형태로 존재하는 본 발명의 특정 화합물, 예컨대 그의 다양한 용매화물이 다형성 (즉, 다양한 결정질 구조로 발생하는 능력)을 나타낼 수 있음을 인지할 것이다. 이를 다양한 결정질 형태는 전형적으로 "다형체"로 공지되어 있다. 본 발명은 모든 이러한 다형체를 포함한다. 다형체는 동일한 화학적 조성을 갖지만, 패킹, 기하학적 배열, 및 결정질 고체 상태의 다른 서술적 특성이 상이하다. 따라서, 다형체는 다양한 물리적 특성, 예컨대 형상, 밀도, 경도, 변형성, 안정성 및 용해 특성을 가질 수 있다. 전형적으로, 다형체는 확인에 사용할 수 있는 다양한 용점, IR 스펙트럼 및 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 통상의

기술자는, 예를 들어 화합물의 제조에 사용되는 반응 조건 또는 시약을 변화시키거나 또는 조정함으로써 다양한 다형체가 제조될 수 있음을 인지할 것이다. 예를 들어, 온도, 압력 또는 용매에서의 변화로 다형체를 생성할 수 있다. 추가로, 1종의 다형체는 특정 조건 하에 또 다른 다형체로 자발적으로 전환될 수 있다.

[0468] 본 발명의 화합물 또는 그의 염은 입체이성질체 형태로 존재할 수 있다 (예를 들어, 1개 이상의 비대칭 탄소 원자를 함유함). 개별 입체이성질체 (거울상이성질체 및 부분입체이성질체) 및 이들의 혼합물은 본 발명의 범위 내에 포함된다. 마찬가지로, 화학식 (I)의 화합물 또는 염은 화학식으로 제시되는 것 이외의 호변이성질체 형태로 존재할 수 있고, 이들은 또한 본 발명의 범위 내에 포함되는 것으로 이해된다. 본 발명은 본원에 상기 정의된 특정한 기의 모든 조합 및 하위세트를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명의 범위는 입체이성질체의 혼합물 뿐만 아니라 정제된 거울상이성질체 또는 거울상이성질체적으로/부분입체이성질체적으로 풍부한 혼합물을 포함한다. 본 발명은 본원에 상기 정의된 특정한 기의 모든 조합 및 하위세트를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0469] 본 발명은 또한, 1개 이상의 원자가 자연에서 통상적으로 발견되는 원자 질량 또는 질량수와 상이한 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자에 의해 대체된 점이 상이한, 본 발명의 화합물의 동위원소-표지된 형태를 포함한다. 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 내로 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 황, 플루오린, 아이오딘 및 염소의 동위원소, 예컨대 2H, 3H, 11C, 13C, 14C, 15N, 17O, 18O, 31P, 32P, 35S, 18F, 36Cl, 123I 및 125I를 포함한다.

[0470] 상기 언급된 동위원소 및/또는 다른 원자의 다른 동위원소를 함유하는 본 발명의 화합물 및 상기 화합물의 제약상 허용되는 염은 본 발명의 범위 내에 있다. 본 발명의 동위원소-표지된 화합물, 예를 들어 방사성 동위원소, 예컨대 3H, 14C가 혼입된 것은 약물 및/또는 기질 조직 분포 검정에 유용하다. 삼중수소화, 즉 3H, 및 탄소-14, 즉 14C, 동위원소는 통상적으로 그의 제조의 용이성 및 검출감도를 위해 사용된다. 11C 및 18F 동위원소는 PET (양전자 방출 단층촬영)에 유용하고, 125I 동위원소는 SPECT (단일 광자 방출 컴퓨터 단층촬영)에 유용하며, 이들 모두는 뇌 영상화에 유용하다. 또한, 보다 무거운 동위원소, 예컨대 중수소 즉 2H로의 치환은 더 큰 대사 안정성, 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요건으로 인한 특정의 치료 이점을 제공할 수 있고, 따라서 일부 상황에서 바람직할 수 있다. 동위원소 표지된 본 발명의 화학식 (I)의 화합물 및 하기는 용이하게 입수 가능한 동위원소 표지된 시약으로 비-동위원소 표지된 시약을 치환하여 하기 반응식 및/또는 실시예에 개시된 절차를 수행함으로써 일반적으로 제조될 수 있다.

[0471] ADC의 제약 조성물

[0472] 본 발명의 치료 항체-약물 접합체 (ADC)의 제약 제제는 전형적으로 제약상 허용되는 비경구 비히클과 함께 단위 투여 주사가능한 형태로, 비경구 투여, 즉 볼루스, 정맥내, 종양내 주사를 위해 제조된다. 원하는 정도의 순도를 갖는 항체-약물 접합체 (ADC)는 제약상 허용되는 희석제, 담체, 부형제 또는 안정화제 (Remington's Pharmaceutical Sciences (1980) 16th edition, Osol, A. Ed.)와 함께 동결건조된 제제 또는 수용액의 형태로 임의로 혼합된다.

[0473] 시스테인 조작된 항체

[0474] 본 발명의 화합물은 야생형 또는 모 항체의 1개 이상의 아미노산이 시스테인 아미노산으로 치환된 시스테인 조작된 항체를 포함하는 항체-약물 접합체를 포함한다. 임의의 형태의 항체가 그와 같이 조작, 즉 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 모 Fab 항체 단편은 본원에서 "티오Fab"로 지칭되는 시스테인 조작된 Fab를 형성하도록 조작될 수 있다. 유사하게, 모 모노클로날 항체는 "티오Mab"를 형성하도록 조작될 수 있다. 단일 부위 돌연변이는 티오Fab에 단일 조작된 시스테인 잔기를 생성하지만, IgG 항체의 이량체 특성 때문에 단일 부위 돌연변이는 티오Mab에 2개의 조작된 시스테인 잔기를 생성함을 유념해야 한다. 치환된 ("조작된") 시스테인 (Cys) 잔기를 갖는 돌연변이체는 새로 도입되고 조작된 시스테인 티올 기의 반응성에 대해 평가된다. 티올 반응성 값은 0 내지 1.0 범위의 상대적인 수치 항이고, 임의의 시스테인 조작된 항체에 대해 측정될 수 있다. 본 발명의 시스테인 조작된 항체의 티올 반응성 값은 0.6 내지 1.0; 0.7 내지 1.0; 또는 0.8 내지 1.0의 범위 내이다.

[0475] 돌연변이유발에 의해 시스테인 조작된 항체를 제조하기 위해, 출발 폴리펩티드의 아미노산 서열 변이체를 코딩하는 DNA가 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법에 의해 제조된다. 이들 방법은 폴리펩티드를 코딩하는 앞서 제조된 DNA의 부위-지정 (또는 올리고뉴클레오티드-매개) 돌연변이유발, PCR 돌연변이유발, 및 카세트 돌연변이 유발에 의한 제조를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 제조합 항체의 변이체는 또한 제한 단편 조작에 의해 또는 합성 올리고뉴클레오티드를 사용한 중복 연장 PCR에 의해 제조될 수 있다. 돌연변이유발 프라이머는 시스

테인 코돈 치환(들)을 코딩한다. 표준 돌연변이유발 기술이 이러한 돌연변이체 시스테인 조작된 항체를 코딩하는 DNA를 생성하기 위해 이용될 수 있다. 일반적인 안내는 문헌 [Sambrook et al. Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989; 및 Ausubel et al. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York, N.Y., 1993]에서 찾아볼 수 있다.

[0476] 시스테인 아미노산은 항체 내의 반응성 부위에서 조작될 수 있고, 쇄내 또는 분자간 디슬피드 연결을 형성하지 않는다 (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan et al. (2009) Blood 114(13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249, Shen et al. (2012) Nature Biotech., 30(2):184-191; Junutula et al. (2008) Jour of Immun. Methods 332:41-52). 조작된 시스테인 티올은 티올-반응성, 친전자성 기, 예컨대 말레이미드 또는 알파-할로 아미드를 갖는 본 발명의 링커 시약 또는 링커-약물 중간체와 반응하여 시스테인 조작된 항체 (티오Mab) 및 약물 (D) 모이어티를 갖는 ADC를 형성할 수 있다. 따라서, 약물 모이어티의 위치는 설계, 제어 및 공지될 수 있다. 약물 로딩은, 조작된 시스테인 티올 기가 전형적으로 티올-반응성 링커 시약 또는 링커-약물 중간체와 고수율로 반응하기 때문에 제어될 수 있다. 항체를 조작하여 중쇄 또는 경쇄 상의 단일 부위에서의 치환에 의해 시스테인 아미노산을 도입하는 것은, 대칭 항체 상에 2개의 새로운 시스테인을 제공한다. 거의 2의 약물 로딩 및 거의 동질성의 접합 생성물 ADC가 달성될 수 있다.

[0477] 본 발명의 시스테인 조작된 항체는 바람직하게는 그의 야생형 모 항체 대응물의 항원 결합 능력을 보유한다. 따라서, 시스테인 조작된 항체는 항원에, 바람직하게는 특이적으로 결합할 수 있다. 이러한 항원은 예를 들어 종양-연관 항원 (TAA), 세포 표면 수용체 단백질 및 다른 세포 표면 분자, 막횡단 단백질, 신호전달 단백질, 세포 생존 조절 인자, 세포 증식 조절 인자, 조직 발생 또는 분화와 연관된 (예를 들어, 조직 발생 또는 분화에 기능적으로 기여하는 것으로 공지되거나 또는 의심되는) 분자, 램포카인, 시토카인, 세포 주기 조절에 관여하는 분자, 혈관형성에 관여하는 분자 및 혈관신생과 연관된 (예를 들어, 혈관신생에 기능적으로 기여하는 것으로 공지되거나 또는 의심되는) 분자를 포함한다. 종양-연관 항원은 클러스터 분화 인자 (즉, CD 단백질)일 수 있다. 시스테인 조작된 항체가 결합할 수 있는 항원은 상기 언급된 카테고리 중 하나의 하위세트의 구성원일 수 있고, 여기서 상기 카테고리의 다른 하위세트(들)는 (관심 항원에 관한) 특징적인 특성을 갖는 다른 분자/항원을 포함한다.

[0478] 시스테인 조작된 항체는 쇄내 디슬피드 기의 환원 및 재산화에 의해 링커-약물 중간체와의 접합을 위해 제조된다.

[0479] 종양-연관 항원:

[0480] 암의 치료에 있어서 본 발명의 항체-약물 접합체에 유용할 수 있는 시스테인 조작된 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않는 항체는 세포 표면 수용체 및 종양-연관 항원 (TAA)에 대한 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 종양-연관 항원은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 관련 기술분야에 널리 공지된 방법 및 정보를 사용하여 항체를 생성하는데 사용하기 위해 제조될 수 있다. 암 진단 및 요법에 효과적인 세포 표적을 발견하기 위한 시도에서, 연구자들은 1종 이상의 정상적인 비-암성 세포(들)와 비교하여 1종 이상의 특정한 유형(들)의 암 세포의 표면에서 특이적으로 발현되는 막횡단 또는 달리 종양-연관된 폴리펩티드를 확인하기 위한 모색을 해왔다. 종종, 이러한 종양-연관 폴리펩티드는 비-암성 세포의 표면에서와 비교하여 암 세포의 표면에서 보다 풍부하게 발현된다. 이러한 종양-연관 세포 표면 항원 폴리펩티드의 확인은, 항체-기반 요법을 통해 파괴할 암 세포를 보다 특이적으로 표적화하는 능력을 생성한다.

[0481] 종양-연관 항원 TAA의 예는 하기 열거된 것들을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 편의상, 이들 항원에 관한 정보 (이들 모두는 관련 기술분야에 공지되어 있음)가 하기 열거되어 있고, 미국 국립 생물 공학 정보 센터 (NCBI)의 핵산 및 단백질 서열 확인 규정에 따른 명칭, 대체 명칭, 진뱅크(Genbank) 수탁 번호 및 주요 참고문헌(들)을 포함한다. 하기 열거된 TAA에 상응하는 핵산 및 단백질 서열은 공개 데이터베이스, 예컨대 진뱅크에서 입수 가능하다. 항체에 의해 표적화되는 종양-연관 항원은 언급된 참고문헌에서 확인되는 서열과 비교하여 적어도 약 70%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 보유하고/거나 언급된 참고문헌에서 확인되는 서열을 갖는 TAA와 실질적으로 동일한 생물학적 특성 또는 특징을 나타내는 모든 아미노산 서열 변이체 및 이소형을 포함한다. 예를 들어, 일반적으로, 변이체 서열을 갖는 TAA는 열거된 상응하는 서열을 갖는 TAA에 특이적으로 결합하는 항체에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에서 구체적으로 인용된 참고문헌의 서열 및 개시내용은 명백하게 참조로 포함된다.

[0482] (1) BMPR1B (골 형태발생 단백질 수용체-유형 IB, 진뱅크 수탁 번호 NM_001203)

- [0483] 문헌 [ten Dijke,P., et al. *Science* 264 (5155):101-104 (1994), *Oncogene* 14 (11):1377-1382 (1997)]; WO2004063362 (청구항 2); WO2003042661 (청구항 12); US2003134790-A1 (페이지 38-39); WO2002102235 (청구항 13; 페이지 296); WO2003055443 (페이지 91-92); WO200299122 (실시예 2; 페이지 528-530); WO2003029421 (청구항 6); WO2003024392 (청구항 2; 도 112); WO200298358 (청구항 1; 페이지 183); WO200254940 (페이지 100-101); WO200259377 (페이지 349-350); WO200230268 (청구항 27; 페이지 376); WO200148204 (실시예; 도 4)
- [0484] NP_001194 골 형태발생 단백질 수용체, 유형 IB /pid=NP_001194.1 -
- [0485] 상호-참조: MIM:603248; NP_001194.1; AY065994
- [0486] (2) E16 (LAT1, SLC7A5, 진뱅크 수탁 번호 NM_003486)
- [0487] 문헌 [Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2), 283-288 (1999), *Nature* 395 (6699):288-291 (1998), Gaugitsch, H.W., et al. (1992) *J. Biol. Chem.* 267 (16):11267-11273]; WO2004048938 (실시예 2); WO2004032842 (실시예 IV); WO2003042661 (청구항 12); WO2003016475 (청구항 1); WO200278524 (실시예 2); WO200299074 (청구항 19; 페이지 127-129); WO200286443 (청구항 27; 페이지 222, 393); WO2003003906 (청구항 10; 페이지 293); WO200264798 (청구항 33; 페이지 93-95); WO200014228 (청구항 5; 페이지 133-136); US2003224454 (도 3); WO2003025138 (청구항 12; 페이지 150);
- [0488] NP_003477 용질 운반체 패밀리 7 (양이온성 아미노산 수송체, y+ 시스템), 구성원 5 /pid=NP_003477.3 - 호모 사피엔스(Homo sapiens)
- [0489] 상호-참조: MIM:600182; NP_003477.3; NM_015923; NM_003486_1
- [0490] (3) STEAP1 (전립선의 6회 막횡단 상피 항원, 진뱅크 수탁 번호 NM_012449)
- [0491] 문헌 [Cancer Res. 61 (15), 5857-5860 (2001), Hubert, R.S., et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (25):14523-14528]; WO2004065577 (청구항 6); WO2004027049 (도 1L); EP1394274 (실시예 11); WO2004016225 (청구항 2); WO2003042661 (청구항 12); US2003157089 (실시예 5); US2003185830 (실시예 5); US2003064397 (도 2); WO200289747 (실시예 5; 페이지 618-619); WO2003022995 (실시예 9; 도 13A, 실시예 53; 페이지 173, 실시예 2; 도 2A);
- [0492] NP_036581 전립선의 6회 막횡단 상피 항원
- [0493] 상호-참조: MIM:604415; NP_036581.1; NM_012449_1
- [0494] (4) 0772P (CA125, MUC16, 진뱅크 수탁 번호 AF361486)
- [0495] 문헌 [*J. Biol. Chem.* 276 (29):27371-27375 (2001)]; WO2004045553 (청구항 14); WO200292836 (청구항 6; 도 12); WO200283866 (청구항 15; 페이지 116-121); US2003124140 (실시예 16); 상호-참조: GI:34501467; AAK74120.3; AF361486_1
- [0496] (5) MPF (MPF, MSLN, SMR, 거핵구 강화 인자, 메소텔린, 진뱅크 수탁 번호 NM_005823) 문헌 [Yamaguchi, N., et al. *Biol. Chem.* 269 (2), 805-808 (1994), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (20):11531-11536 (1999), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93 (1):136-140 (1996), *J. Biol. Chem.* 270 (37):21984-21990 (1995)]; WO2003101283 (청구항 14); (WO2002102235 (청구항 13; 페이지 287-288); WO2002101075 (청구항 4; 페이지 308-309); WO200271928 (페이지 320-321); WO9410312 (페이지 52-57); 상호-참조: MIM:601051; NP_005814.2; NM_005823_1
- [0497] (6) NaPi2b (NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, 용질 운반체 패밀리 34 (인산나트륨), 구성원 2, 유형 II 나트륨-의존 성 포스페이트 수송체 3b, 진뱅크 수탁 번호 NM_006424)
- [0498] 문헌 [*J. Biol. Chem.* 277 (22):19665-19672 (2002), *Genomics* 62 (2):281-284 (1999), Feild, J.A., et al. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 258 (3):578-582]; WO2004022778 (청구항 2); EP1394274 (실시예 11); WO2002102235 (청구항 13; 페이지 326); EP875569 (청구항 1; 페이지 17-19); WO200157188 (청구항 20; 페이지 329); WO2004032842 (실시예 IV); WO200175177 (청구항 24; 페이지 139-140);
- [0499] 상호-참조: MIM:604217; NP_006415.1; NM_006424_1
- [0500] (7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, 세마포린 5b Hlog, sema 도메인, 7개 트롬보스폰

딘 반복부 (유형 1 및 유형 1-유사), 막횡단 도메인 (TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 5B, 진뱅크 수탁 번호 AB040878)

[0501] 문헌 [Nagase T., et al. (2000) DNA Res. 7 (2):143-150]; WO2004000997 (청구항 1); WO2003003984 (청구항 1); WO200206339 (청구항 1; 페이지 50); WO200188133 (청구항 1; 페이지 41-43, 48-58); WO2003054152 (청구항 20); WO2003101400 (청구항 11);

[0502] 수탁: Q9P283; EMBL; AB040878; BAA95969.1. Genew; HGNC:10737;

[0503] (8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008016Rik, RIKEN cDNA 2700050C12, RIKEN cDNA 2700050C12 유전자, 진뱅크 수탁 번호 AY358628); 문헌 [Ross et al. (2002) Cancer Res. 62:2546-2553]; US2003129192 (청구항 2); US2004044180 (청구항 12); US2004044179 (청구항 11); US2003096961 (청구항 11); US2003232056 (실시예 5); WO2003105758 (청구항 12); US2003206918 (실시예 5); EP1347046 (청구항 1); WO2003025148 (청구항 20);

[0504] 상호-참조: GI:37182378; AAQ88991.1; AY358628_1

[0505] (9) ETBR (엔도텔린 유형 B 수용체, 진뱅크 수탁 번호 AY275463);

[0506] 문헌 [Nakamuta M., et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 177, 34-39, 1991; Ogawa Y., et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 248-255, 1991; Arai H., et al. Jpn. Circ. J. 56, 1303-1307, 1992; Arai H., et al. J. Biol. Chem. 268, 3463-3470, 1993; Sakamoto A., Yanagisawa M., et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 656-663, 1991; Elshourbagy N.A., et al. J. Biol. Chem. 268, 3873-3879, 1993; Haendler B., et al. J. Cardiovasc. Pharmacol. 20, s1-S4, 1992; Tsutsumi M., et al. Gene 228, 43-49, 1999; Strausberg R.L., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16899-16903, 2002; Bourgeois C., et al. J. Clin. Endocrinol. Metab. 82, 3116-3123, 1997; Okamoto Y., et al. Biol. Chem. 272, 21589-21596, 1997; Verheij J.B., et al. Am. J. Med. Genet. 108, 223-225, 2002; Hofstra R.M.W., et al. Eur. J. Hum. Genet. 5, 180-185, 1997; Puffenberger E.G., et al. Cell 79, 1257-1266, 1994; Attie T., et al., Hum. Mol. Genet. 4, 2407-2409, 1995; Auricchio A., et al. Hum. Mol. Genet. 5:351-354, 1996; Amiel J., et al. Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996; Hofstra R.M.W., et al. Nat. Genet. 12, 445-447, 1996; Svensson P.J., et al. Hum. Genet. 103, 145-148, 1998; Fuchs S., et al. Mol. Med. 7, 115-124, 2001; Pingault V., et al. (2002) Hum. Genet. 111, 198-206]; WO2004045516 (청구항 1); WO2004048938 (실시예 2); WO2004040000 (청구항 151); WO2003087768 (청구항 1); WO2003016475 (청구항 1); WO2003016475 (청구항 1); WO200261087 (도 1); WO2003016494 (도 6); WO2003025138 (청구항 12; 페이지 144); WO200198351 (청구항 1; 페이지 124-125); EP522868 (청구항 8; 도 2); WO200177172 (청구항 1; 페이지 297-299); US2003109676; US6518404 (도 3); US5773223 (청구항 1a; Col 31-34); WO2004001004;

[0507] (10) MSG783 (RNF124, 가설 단백질 FLJ20315, 진뱅크 수탁 번호 NM_017763);

[0508] WO2003104275 (청구항 1); WO2004046342 (실시예 2); WO2003042661 (청구항 12); WO2003083074 (청구항 14; 페이지 61); WO2003018621 (청구항 1); WO2003024392 (청구항 2; 도 93); WO200166689 (실시예 6);

[0509] 상호-참조: LocusID:54894; NP_060233.2; NM_017763_1

[0510] (11) STEAP2 (HGNC_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, 전립선암 연관 유전자 1, 전립선암 연관 단백질 1, 전립선의 6회 막횡단 상피 항원 2, 6회 막횡단 전립선 단백질, 진뱅크 수탁 번호 AF455138)

[0511] 문헌 [Lab. Invest. 82 (11):1573-1582 (2002)]; WO2003087306; US2003064397 (청구항 1; 도 1); WO200272596 (청구항 13; 페이지 54-55); WO200172962 (청구항 1; 도 4B); WO2003104270 (청구항 11); WO2003104270 (청구항 16); US2004005598 (청구항 22); WO2003042661 (청구항 12); US2003060612 (청구항 12; 도 10); WO200226822 (청구항 23; 도 2); WO200216429 (청구항 12; 도 10);

[0512] 상호-참조: GI:22655488; AAN04080.1; AF455138_1

[0513] (12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, 일시적 수용체 전위 양이온 채널, 서브페밀리 M, 구성원 4, 진뱅크 수탁 번호 NM_017636)

[0514] 문헌 [Xu, X.Z., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (19):10692-10697 (2001), Cell 109 (3):397-407 (2002), J. Biol. Chem. 278 (33):30813-30820 (2003)]; US2003143557 (청구항 4); WO200040614 (청구항 14; 페이지 100-103); WO200210382 (청구항 1; 도 9A); WO2003042661 (청구항 12); WO200230268 (청구항 27; 페이지 100-103);

지 391); US2003219806 (청구항 4); WO200162794 (청구항 14; 도 1A-D);

[0515] 상호-참조: MIM:606936; NP_060106.2; NM_017636_1

[0516] (13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, 기형암종-유래 성장 인자, 진뱅크 수탁 번호 NP_003203 또는 NM_003212)

[0517] 문현 [Ciccodicola, A., et al. EMBO J. 8 (7):1987-1991 (1989), Am. J. Hum. Genet. 49 (3):555-565 (1991)]; US2003224411 (청구항 1); WO2003083041 (실시예 1); WO2003034984 (청구항 12); WO200288170 (청구항 2; 페이지 52-53); WO2003024392 (청구항 2; 도 58); WO200216413 (청구항 1; 페이지 94-95, 105); WO200222808 (청구항 2; 도 1); US5854399 (실시예 2; Col 17-18); US5792616 (도 2);

[0518] 상호-참조: MIM:187395; NP_003203.1; NM_003212_1

[0519] (14) CD21 (CR2 (보체 수용체 2) 또는 C3DR (C3d/엡스타인 바르 바이러스 수용체) 또는 Hs.73792 진뱅크 수탁 번호 M26004)

[0520] 문현 [Fujisaku et al. (1989) J. Biol. Chem. 264 (4):2118-2125; Weis J.J., et al. J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988; Moore M., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987; Barel M., et al. Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998; Weis J.J., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 5639-5643, 1986; Sinha S.K., et al. (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320]; WO2004045520 (실시예 4); US2004005538 (실시예 1); WO2003062401 (청구항 9); WO2004045520 (실시예 4); WO9102536 (도 9.1-9.9); WO2004020595 (청구항 1);

[0521] 수탁: P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1.

[0522] (15) CD79b (CD79B, CD79 β , IgB (이뮤노글로불린-연관 베타), B29, 진뱅크 수탁 번호 NM_000626 또는 11038674)

[0523] 문현 [Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7):4126-4131, Blood (2002) 100 (9):3068-3076, Muller et al. (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6):1621-1625]; WO2004016225 (청구항 2, 도 140); WO2003087768, US2004101874 (청구항 1, 페이지 102); WO2003062401 (청구항 9); WO200278524 (실시예 2); US2002150573 (청구항 5, 페이지 15); US5644033; WO2003048202 (청구항 1, 페이지 306 및 309); WO 99/558658, US6534482 (청구항 13, 도 17A/B); WO200055351 (청구항 11, 페이지 1145-1146);

[0524] 상호-참조: MIM:147245; NP_000617.1; NM_000626_1

[0525] (16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (포스파타제 앵커 단백질 1a를 함유하는 SH2 도메인), SPAP1B, SPAP1C, 진뱅크 수탁 번호 NM_030764, AY358130)

[0526] 문현 [Genome Res. 13 (10):2265-2270 (2003), Immunogenetics 54 (2):87-95 (2002), Blood 99 (8):2662-2669 (2002), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (17):9772-9777 (2001), Xu, M.J., et al. (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun. 280 (3):768-775]; WO2004016225 (청구항 2); WO2003077836; WO200138490 (청구항 5; 도 18D-1-18D-2); WO2003097803 (청구항 12); WO2003089624 (청구항 25);

[0527] 상호-참조: MIM:606509; NP_110391.2; NM_030764_1

[0528] (17) HER2 (ErbB2, 진뱅크 수탁 번호 M11730)

[0529] 문현 [Coussens L., et al. Science (1985) 230(4730):1132-1139; Yamamoto T., et al. Nature 319, 230-234, 1986; Semba K., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82, 6497-6501, 1985; Swiercz J.M., et al. J. Cell Biol. 165, 869-880, 2004; Kuhns J.J., et al. J. Biol. Chem. 274, 36422-36427, 1999; Cho H.-S., et al. Nature 421, 756-760, 2003; Ehsani A., et al. (1993) Genomics 15, 426-429]; WO2004048938 (실시예 2); WO2004027049 (도 1I); WO2004009622; WO2003081210; WO2003089904 (청구항 9); WO2003016475 (청구항 1); US2003118592; WO2003008537 (청구항 1); WO2003055439 (청구항 29; 도 1A-B); WO2003025228 (청구항 37; 도 5C); WO200222636 (실시예 13; 페이지 95-107); WO200212341 (청구항 68; 도 7); WO200213847 (페이지 71-74); WO200214503 (페이지 114-117); WO200153463 (청구항 2; 페이지 41-46); WO200141787 (페이지 15); WO200044899 (청구항 52; 도 7); WO200020579 (청구항 3; 도 2); US5869445 (청구항 3; Col 31-38); WO9630514 (청구항 2; 페이지 56-61); EP1439393 (청구항 7); WO2004043361 (청구항 7); WO2004022709; WO200100244 (실

시예 3; 도 4);

[0530] 수탁: P04626; EMBL; M11767; AAA35808.1. EMBL; M11761; AAA35808.1.

[0531] (18) NCA (CEACAM6, 진뱅크 수탁 번호 M18728);

[0532] 문현 [Barnett T., et al. Genomics 3, 59-66, 1988; Tawaragi Y., et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 150, 89-96, 1988; Strausberg R.L., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99:16899-16903, 2002]; WO2004063709; EP1439393 (청구항 7); WO2004044178 (실시예 4); WO2004031238; WO2003042661 (청구항 12); WO200278524 (실시예 2); WO200286443 (청구항 27; 페이지 427); WO200260317 (청구항 2);

[0533] 수탁: P40199; Q14920; EMBL; M29541; AAA59915.1. EMBL; M18728;

[0534] (19) MDP (DPEP1, 진뱅크 수탁 번호 BC017023)

[0535] 문현 [Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26):16899-16903 (2002)]; WO2003016475 (청구항 1); WO200264798 (청구항 33; 페이지 85-87); JP05003790 (도 6-8); WO9946284 (도 9);

[0536] 상호-참조: MIM:179780; AAH17023.1; BC017023_1

[0537] (20) IL20R α (IL20Ra, ZCYTOR7, 진뱅크 수탁 번호 AF184971);

[0538] 문현 [Clark H.F., et al. Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Mungall A.J., et al. Nature 425, 805-811, 2003; Blumberg H., et al. Cell 104, 9-19, 2001; Dumoutier L., et al. J. Immunol. 167, 3545-3549, 2001; Parrish-Novak J., et al. J. Biol. Chem. 277, 47517-47523, 2002; Pletnev S., et al. (2003) Biochemistry 42:12617-12624; Sheikh F., et al. (2004) J. Immunol. 172, 2006-2010]; EP1394274 (실시예 11); US2004005320 (실시예 5); WO2003029262 (페이지 74-75); WO2003002717 (청구항 2; 페이지 63); WO200222153 (페이지 45-47); US2002042366 (페이지 20-21); WO200146261 (페이지 57-59); WO200146232 (페이지 63-65); WO9837193 (청구항 1; 페이지 55-59);

[0539] 수탁: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; AAF01320.1.

[0540] (21) 브레비칸 (BCAN, BEHAB, 진뱅크 수탁 번호 AF229053)

[0541] 문현 [Gary S.C., et al. Gene 256, 139-147, 2000; Clark H.F., et al. Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Strausberg R.L., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16899-16903, 2002]; US2003186372 (청구항 11); US2003186373 (청구항 11); US2003119131 (청구항 1; 도 52); US2003119122 (청구항 1; 도 52); US2003119126 (청구항 1); US2003119121 (청구항 1; 도 52); US2003119129 (청구항 1); US2003119130 (청구항 1); US2003119128 (청구항 1; 도 52); US2003119125 (청구항 1); WO2003016475 (청구항 1); WO200202634 (청구항 1);

[0542] (22) EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5, 진뱅크 수탁 번호 NM_004442)

[0543] 문현 [Chan, J. and Watt, V.M., Oncogene 6 (6), 1057-1061 (1991) Oncogene 10 (5):897-905 (1995), Annu. Rev. Neurosci. 21:309-345 (1998), Int. Rev. Cytol. 196:177-244 (2000)]; WO2003042661 (청구항 12); WO200053216 (청구항 1; 페이지 41); WO2004065576 (청구항 1); WO2004020583 (청구항 9); WO2003004529 (페이지 128-132); WO200053216 (청구항 1; 페이지 42);

[0544] 상호-참조: MIM:600997; NP_004433.2; NM_004442_1

[0545] (23) ASLG659 (B7h, 진뱅크 수탁 번호 AX092328)

[0546] US20040101899 (청구항 2); WO2003104399 (청구항 11); WO2004000221 (도 3); US2003165504 (청구항 1); US2003124140 (실시예 2); US2003065143 (도 60); WO2002102235 (청구항 13; 페이지 299); US2003091580 (실시예 2); WO200210187 (청구항 6; 도 10); WO200194641 (청구항 12; 도 7b); WO200202624 (청구항 13; 도 1A-1B); US2002034749 (청구항 54; 페이지 45-46); WO200206317 (실시예 2; 페이지 320-321, 청구항 34; 페이지 321-322); WO200271928 (페이지 468-469); WO200202587 (실시예 1; 도 1); WO200140269 (실시예 3; 페이지 190-192); WO200036107 (실시예 2; 페이지 205-207); WO2004053079 (청구항 12); WO2003004989 (청구항 1); WO200271928 (페이지 233-234, 452-453); WO 0116318;

[0547] (24) PSCA (전립선 줄기 세포 항원 전구체, 진뱅크 수탁 번호 AJ297436)

- [0548] 문현 [Reiter R.E., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 1735-1740, 1998; Gu Z., et al. Oncogene 19, 1288-1296, 2000; Biochem. Biophys. Res. Commun. (2000) 275(3):783-788]; WO2004022709; EP1394274 (실시예 11); US2004018553 (청구항 17); WO2003008537 (청구항 1); WO200281646 (청구항 1; 페이지 164); WO2003003906 (청구항 10; 페이지 288); WO200140309 (실시예 1; 도 17); US2001055751 (실시예 1; 도 1b); WO200032752 (청구항 18; 도 1); WO9851805 (청구항 17; 페이지 97); WO9851824 (청구항 10; 페이지 94); WO9840403 (청구항 2; 도 1B);
- [0549] 수탁: 043653; EMBL; AF043498; AAC39607.1.
- [0550] (25) GEDA (진뱅크 수탁 번호 AY260763);
- [0551] AAP14954 지방종 HMGIC 융합-파트너-유사 단백질 /pid=AAP14954.1 - 호모 사피엔스
- [0552] 종: 호모 사피엔스 (인간)
- [0553] WO2003054152 (청구항 20); WO2003000842 (청구항 1); WO2003023013 (실시예 3, 청구항 20); US2003194704 (청구항 45);
- [0554] 상호-참조: GI:30102449; AAP14954.1; AY260763_1
- [0555] (26) BAFF-R (B 세포-활성화 인자 수용체, BLyS 수용체 3, BR3, 진뱅크 수탁 번호 AF116456); BAFF 수용체 /pid=NP_443177.1 - 호모 사피엔스
- [0556] 문현 [Thompson, J.S., et al. Science 293 (5537), 2108-2111 (2001)]; WO2004058309; WO2004011611; WO2003045422 (실시예; 페이지 32-33); WO2003014294 (청구항 35; 도 6B); WO2003035846 (청구항 70; 페이지 615-616); WO200294852 (Col 136-137); WO200238766 (청구항 3; 페이지 133); WO200224909 (실시예 3; 도 3);
- [0557] 상호-참조: MIM:606269; NP_443177.1; NM_052945_1; AF132600
- [0558] (27) CD22 (B-세포 수용체 CD22-B 이소형, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814, 진뱅크 수탁 번호 AK026467);
- [0559] 문현 [Wilson et al. (1991) J. Exp. Med. 173:137-146]; WO2003072036 (청구항 1; 도 1);
- [0560] 상호-참조: MIM:107266; NP_001762.1; NM_001771_1
- [0561] (28) CD79a (CD79A, CD79 a, 이뮤노글로불린-연관 알파, Ig 베타 (CD79B)와 공유적으로 상호작용하고 표면 상에서 Ig M 분자와 복합체를 형성하며 B-세포 분화에 관련된 신호를 변환시키는 B 세포-특이적 단백질), pI: 4.84, MW: 25028 TM: 2 [P] 유전자 염색체: 19q13.2, 진뱅크 수탁 번호 NP_001774.10)
- [0562] WO2003088808, US20030228319; WO2003062401 (청구항 9); US2002150573 (청구항 4, 페이지 13-14); WO9958658 (청구항 13, 도 16); WO9207574 (도 1); US5644033; 문현 [Ha et al. (1992) J. Immunol. 148(5):1526-1531; Mueller et al. (1992) Eur. J. Biochem. 22:1621-1625; Hashimoto et al. (1994) Immunogenetics 40(4):287-295; Preud'homme et al. (1992) Clin. Exp. Immunol. 90(1):141-146; Yu et al. (1992) J. Immunol. 148(2) 633-637; Sakaguchi et al. (1988) EMBO J. 7(11):3457-3464];
- [0563] (29) CXCR5 (버킷 림프종 수용체 1, CXCL13 케모카인에 의해 활성화되고 림프구 이동 및 체액 방어에서 기능하며 HIV-2 감염 및 아마도 AIDS, 림프종, 골수종 및 백혈병의 발생에서 역할을 하는 G 단백질-커플링된 수용체); 372 aa, pI: 8.54 MW: 41959 TM: 7 [P] 유전자 염색체: 11q23.3, 진뱅크 수탁 번호 NP_001707.1)
- [0564] WO2004040000; WO2004015426; US2003105292 (실시예 2); US6555339 (실시예 2); WO200261087 (도 1); WO200157188 (청구항 20, 페이지 269); WO200172830 (페이지 12-13); WO200022129 (실시예 1, 페이지 152-153, 실시예 2, 페이지 254-256); WO9928468 (청구항 1, 페이지 38); US5440021 (실시예 2, col 49-52); WO9428931 (페이지 56-58); WO9217497 (청구항 7, 도 5); 문현 [Dobner et al. (1992) Eur. J. Immunol. 22:2795-2799; Barella et al. (1995) Biochem. J. 309:773-779];
- [0565] (30) HLA-DOB (펩티드에 결합하고 이를 CD4+ T 림프구에 제시하는 MHC 부류 II 분자의 베타 서브유닛 (Ia 항원)); 273 aa, pI: 6.56 MW: 30820 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 6p21.3, 진뱅크 수탁 번호 NP_002111.1)
- [0566] 문현 [Tonnelle et al. (1985) EMBO J. 4(11):2839-2847; Jonsson et al. (1989) Immunogenetics 29(6):411-413; Beck et al. (1992) J. Mol. Biol. 228:433-441; Strausberg et al. (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA

99:16899-16903; Servenius et al. (1987) *J. Biol. Chem.* 262:8759-8766; Beck et al. (1996) *J. Mol. Biol.* 255:1-13; Naruse et al. (2002) *Tissue Antigens* 59:512-519]; WO9958658 (청구항 13, 도 15); US6153408 (Col 35-38); US5976551 (col 168-170); US6011146 (col 145-146); 문현 [Kasahara et al. (1989) *Immunogenetics* 30(1):66-68; Larhammar et al. (1985) *J. Biol. Chem.* 260(26):14111-14119];

[0567] (31) P2X5 (퓨린성 수용체 P2X 리간드-케이팅 이온 채널 5, 세포외 ATP에 의해 케이팅된 이온 채널 (시냅스 전달 및 신경발생에 관련될 수 있고, 결핍은 특발성 배뇨근 불안정의 병리생리상태에 기여할 수 있음); 422 aa), pI: 7.63, MW: 47206 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 17p13.3, 진뱅크 수탁 번호 NP_002552.2)

[0568] 문현 [Le et al. (1997) *FEBS Lett.* 418(1-2):195-199]; WO2004047749; WO2003072035 (청구항 10); 문현 [Touchman et al. (2000) *Genome Res.* 10:165-173]; WO200222660 (청구항 20); WO2003093444 (청구항 1); WO2003087768 (청구항 1); WO2003029277 (페이지 82);

[0569] (32) CD72 (B-세포 분화 항원 CD72, Lyb-2) 단백질 서열 전체 maeaity...tafrfpd (1..359; 359 aa), pI: 8.66, MW: 40225 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 9p13.3, 진뱅크 수탁 번호 NP_001773.1)

[0570] WO2004042346 (청구항 65); WO2003026493 (페이지 51-52, 57-58); WO200075655 (페이지 105-106); 문현 [Von Hoegen et al. (1990) *J. Immunol.* 144(12):4870-4877; Strausberg et al. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 99:16899-16903];

[0571] (33) LY64 (림프구 항원 64 (RP105), 류신 풍부 반복부 (LRR) 패밀리의 유형 I 막 단백질 (B-세포 활성화 및 아폽토시스를 조절하고, 기능 상실은 전신 홍반성 루푸스를 갖는 환자에서 증가된 질환 활성화 연관됨); 661 aa, pI: 6.20, MW: 74147 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 5q12, 진뱅크 수탁 번호 NP_005573.1)

[0572] US2002193567; WO9707198 (청구항 11, 페이지 39-42); 문현 [Miura et al. (1996) *Genomics* 38(3):299-304; Miura et al. (1998) *Blood* 92:2815-2822]; WO2003083047; WO9744452 (청구항 8, 페이지 57-61); WO200012130 (페이지 24-26);

[0573] (34) FcRH1 (Fc 수용체-유사 단백질 1, C2 유형 Ig-유사 및 ITAM 도메인을 함유하는 이뮤노글로불린 Fc 도메인에 대한 추정 수용체 (B-림프구 분화에서 역할을 할 수 있음); 429 aa, pI: 5.28, MW: 46925 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 1q21-1q22, 진뱅크 수탁 번호 NP_443170.1)

[0574] WO2003077836; WO200138490 (청구항 6, 도 18E-1-18-E-2); 문현 [Davis et al. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 98(17):9772-9777]; WO2003089624 (청구항 8); EP1347046 (청구항 1); WO2003089624 (청구항 7);

[0575] (35) IRTA2 (이뮤노글로불린 슈퍼패밀리 수용체 전위 연관 2, B 세포 발생 및 림프종발생에서 가능한 역할을 갖는 추정 면역수용체; 전위에 의한 유전자의 탈조절이 일부 B 세포 악성종양에서 일어남); 977 aa, pI: 6.88 MW: 106468 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 1q21, 진뱅크 수탁 번호 인간:AF343662, AF343663, AF343664, AF343665, AF369794, AF397453, AK090423, AK090475, AL834187, AY358085; 마우스:AK089756, AY158090, AY506558; NP_112571.1

[0576] WO2003024392 (청구항 2, 도 97); 문현 [Nakayama et al. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 277(1):124-127]; WO2003077836; WO200138490 (청구항 3, 도 18B-1-18B-2);

[0577] (36) TENB2 (TMEFF2, 토모레귤린, TPEF, HPP1, TR, 추정 막횡단 프로테오글리칸 (성장 인자의 EGF/헤레귤린 패밀리 및 폴리스타틴과 관련됨)); 374 aa, NCBI 수탁: AAD55776, AAF91397, AAG49451, NCBI RefSeq: NP_057276; NCBI 유전자: 23671; OMIM: 605734; 스위스프로트 Q9UIK5; 진뱅크 수탁 번호 AF179274; AY358907, CAF85723, CQ782436

[0578] WO2004074320 (서열 810); JP2004113151 (서열 2, 4, 8); WO2003042661 (서열 580); WO2003009814 (서열 411); EP1295944 (페이지 69-70); WO200230268 (페이지 329); WO200190304 (서열 2706); US2004249130; US2004022727; WO2004063355; US2004197325; US2003232350; US2004005563; US2003124579; 문현 [Horie et al. (2000) *Genomics* 67:146-152; Uchida et al. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266:593-602; Liang et al. (2000) *Cancer Res.* 60:4907-12; Glynne-Jones et al. (2001) *Int J Cancer.* Oct 15;94(2):178-84];

[0579] (37) PMEL17 (은 상동체; SILV; D12S53E; PMEL17; (SI); (SIL); ME20; gp100) BC001414; BT007202; M32295; M77348; NM_006928; 문현 [McGlinchey, R.P. et al. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106 (33), 13731-13736; Kummer, M.P. et al. (2009) *J. Biol. Chem.* 284 (4), 2296-2306];

- [0580] (38) TMEFF1 (EGF-유사 및 2개의 폴리스타틴-유사 도메인을 갖는 막횡단 단백질 1; 토모레귤린-1; H7365; C9orf2; C9ORF2; U19878; X83961) NM_080655; NM_003692; 문헌 [Harms, P.W. (2003) Genes Dev. 17 (21), 2624-2629; Gery, S. et al. (2003) Oncogene 22 (18):2723-2727];
- [0581] (39) GDNF-Ra1 (GDNF 패밀리 수용체 알파 1; GFRA1; GDNFR; GDNFRA; RETL1; TRNR1; RET1L; GDNFR-알파1; GFR-알파-1; U95847; BC014962; NM_145793) NM_005264; 문헌 [Kim, M.H. et al. (2009) Mol. Cell. Biol. 29 (8), 2264-2277; Treanor, J.J. et al. (1996) Nature 382 (6586):80-83];
- [0582] (40) Ly6E (림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 E; Ly67, RIG-E, SCA-2, TSA-1) NP_002337.1; NM_002346.2; 문헌 [de Nooij-van Dalen, A.G. et al. (2003) Int. J. Cancer 103 (6), 768-774; Zammit, D.J. et al. (2002) Mol. Cell. Biol. 22 (3):946-952];
- [0583] (41) TMEM46 (shisa 상동체 2 (크세노포스 라에비스(Xenopus laevis)); SHISA2) NP_001007539.1; NM_001007538.1; 문헌 [Furushima, K. et al. (2007) Dev. Biol. 306 (2), 480-492; Clark, H.F. et al. (2003) Genome Res. 13 (10):2265-2270];
- [0584] (42) Ly6G6D (림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 G6D; Ly6-D, MEGT1) NP_067079.2; NM_021246.2; 문헌 [Mallya, M. et al. (2002) Genomics 80 (1):113-123; Ribas, G. et al. (1999) J. Immunol. 163 (1):278-287];
- [0585] (43) LGR5 (류신-풍부 반복부-함유 G 단백질-커플링된 수용체 5; GPR49, GPR67) NP_003658.1; NM_003667.2; 문헌 [Salanti, G. et al. (2009) Am. J. Epidemiol. 170 (5):537-545; Yamamoto, Y. et al. (2003) Hepatology 37 (3):528-533];
- [0586] (44) RET (ret 원종양유전자; MEN2A; HSCR1; MEN2B; MTC1; (PTC); CDHF12; Hs.168114; RET51; RET-ELE1) NP_066124.1; NM_020975.4; 문헌 [Tsukamoto, H. et al. (2009) Cancer Sci. 100 (10):1895-1901; Narita, N. et al. (2009) Oncogene 28 (34):3058-3068];
- [0587] (45) LY6K (림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 K; LY6K; HSJ001348; FLJ35226) NP_059997.3; NM_017527.3; 문헌 [Ishikawa, N. et al. (2007) Cancer Res. 67 (24):11601-11611; de Nooij-van Dalen, A.G. et al. (2003) Int. J. Cancer 103 (6):768-774];
- [0588] (46) GPR19 (G 단백질-커플링된 수용체 19; Mm.4787) NP_006134.1; NM_006143.2; 문헌 [Montpetit, A. and Sinnott, D. (1999) Hum. Genet. 105 (1-2):162-164; O'Dowd, B.F. et al. (1996) FEBS Lett. 394 (3):325-329];
- [0589] (47) GPR54 (KISS1 수용체; KISS1R; GPR54; HOT7T175; AXOR12) NP_115940.2; NM_032551.4; 문헌 [Navenot, J.M. et al. (2009) Mol. Pharmacol. 75 (6):1300-1306; Hata, K. et al. (2009) Anticancer Res. 29 (2):617-623];
- [0590] (48) ASPHD1 (아스파르테이트 베타-히드록실라제 도메인 함유 1; LOC253982) NP_859069.2; NM_181718.3; 문헌 [Gerhard, D.S. et al. (2004) Genome Res. 14 (10B):2121-2127];
- [0591] (49) 티로시나제 (TYR; OCAIA; OCA1A; 티로시나제; SHEP3) NP_000363.1; NM_000372.4; 문헌 [Bishop, D.T. et al. (2009) Nat. Genet. 41 (8):920-925; Nan, H. et al. (2009) Int. J. Cancer 125 (4):909-917];
- [0592] (50) TMEM118 (ring 평거 단백질, 막횡단 2; RNFT2; FLJ14627) NP_001103373.1; NM_001109903.1; 문헌 [Clark, H.F. et al. (2003) Genome Res. 13 (10):2265-2270; Scherer, S.E. et al. (2006) Nature 440 (7082):346-351]
- [0593] (51) GPR172A (G 단백질-커플링된 수용체 172A; GPCR41; FLJ11856; D15Ertd747e) NP_078807.1; NM_024531.3; 문헌 [Ericsson, T.A. et al. (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100 (11):6759-6764; Takeda, S. et al. (2002) FEBS Lett. 520 (1-3):97-101].
- [0594] 한 실시양태에서, 항체는 하기 폴리펩티드 중 1개 이상에 결합한다: BMPR1B; E16; STEAP1; 0772P; MPF; Napi3b; Sema 5b; PSCA hlg; ETBR; MSG783; STEAP2; TrpM4; CRIPTO; CD21; CD79b; FcRH2; HER2; NCA; MDP; IL20R α ; 브레비칸; EphB2R; ASLG659; PSCA; GEDA; BAFF-R; CD22; CD79a; CXCR5; HLA-DOB; P2X5; CD72; LY64; FcRH1; IRTA2; TENB2; PMEL17; TMEFF1; GDNF-Ra1; Ly6E; TMEM46; Ly6G6D; LGR5; RET; LY6K; GPR19; GPR54; ASPHD1; 티로시나제; TMEM118; GPR172A; 및 CD33.

- [0595] 한 실시양태에서, 항체는 BMPR1B에 결합하고;
- [0596] 한 실시양태에서, 항체는 E16에 결합하고;
- [0597] 한 실시양태에서, 항체는 STEAP1에 결합하고;
- [0598] 한 실시양태에서, 항체는 0772P에 결합하고;
- [0599] 한 실시양태에서, 항체는 MPF에 결합하고;
- [0600] 한 실시양태에서, 항체는 NaPi2b에 결합하고;
- [0601] 한 실시양태에서, 항체는 Sema 5b에 결합하고;
- [0602] 한 실시양태에서, 항체는 PSCA h1g에 결합하고;
- [0603] 한 실시양태에서, 항체는 ETBR에 결합하고;
- [0604] 한 실시양태에서, 항체는 MSG783에 결합하고;
- [0605] 한 실시양태에서, 항체는 STEAP2에 결합하고;
- [0606] 한 실시양태에서, 항체는 TrpM4에 결합하고;
- [0607] 한 실시양태에서, 항체는 CRIPTO에 결합하고;
- [0608] 한 실시양태에서, 항체는 CD21에 결합하고;
- [0609] 한 실시양태에서, 항체는 CD79b에 결합하고;
- [0610] 한 실시양태에서, 항체는 FcRH2에 결합하고;
- [0611] 한 실시양태에서, 항체는 HER2에 결합하고;
- [0612] 한 실시양태에서, 항체는 NCA에 결합하고;
- [0613] 한 실시양태에서, 항체는 MDP에 결합하고;
- [0614] 한 실시양태에서, 항체는 IL20R α 에 결합하고;
- [0615] 한 실시양태에서, 항체는 브레비칸에 결합하고;
- [0616] 한 실시양태에서, 항체는 EphB2R에 결합하고;
- [0617] 한 실시양태에서, 항체는 ASLG659에 결합하고;
- [0618] 한 실시양태에서, 항체는 PSCA에 결합하고;
- [0619] 한 실시양태에서, 항체는 GEDA에 결합하고;
- [0620] 한 실시양태에서, 항체는 BAFF-R에 결합하고;
- [0621] 한 실시양태에서, 항체는 CD22에 결합하고;
- [0622] 한 실시양태에서, 항체는 CD79a에 결합하고;
- [0623] 한 실시양태에서, 항체는 CXCR5에 결합하고;
- [0624] 한 실시양태에서, 항체는 HLA-DOB에 결합하고;
- [0625] 한 실시양태에서, 항체는 P2X5에 결합하고;
- [0626] 한 실시양태에서, 항체는 CD72에 결합하고;
- [0627] 한 실시양태에서, 항체는 LY64에 결합하고;
- [0628] 한 실시양태에서, 항체는 FcRH1에 결합하고;
- [0629] 한 실시양태에서, 항체는 IRTA2에 결합하고;
- [0630] 한 실시양태에서, 항체는 TENB2에 결합하고;

- [0631] 한 실시양태에서, 항체는 PMEL17에 결합하고;
- [0632] 한 실시양태에서, 항체는 TMEFF1에 결합하고;
- [0633] 한 실시양태에서, 항체는 GDNF-Ra1에 결합하고;
- [0634] 한 실시양태에서, 항체는 Ly6E에 결합하고;
- [0635] 한 실시양태에서, 항체는 TMEM46에 결합하고;
- [0636] 한 실시양태에서, 항체는 Ly6G6D에 결합하고;
- [0637] 한 실시양태에서, 항체는 LGR5에 결합하고;
- [0638] 한 실시양태에서, 항체는 RET에 결합하고;
- [0639] 한 실시양태에서, 항체는 LY6K에 결합하고;
- [0640] 한 실시양태에서, 항체는 GPR19에 결합하고;
- [0641] 한 실시양태에서, 항체는 GPR54에 결합하고;
- [0642] 한 실시양태에서, 항체는 ASPHD1에 결합하고;
- [0643] 한 실시양태에서, 항체는 티로시나제에 결합하고;
- [0644] 한 실시양태에서, 항체는 TMEM118에 결합하고;
- [0645] 한 실시양태에서, 항체는 GPR172A에 결합하고;
- [0646] 한 실시양태에서, 항체는 CD33에 결합한다.
- [0647] 모 항체는 또한 알부민-결합 웨티드 (ABP) 서열을 포함하는 융합 단백질일 수 있다 (Dennis et al. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" J Biol Chem. 277:35035-35043; WO 01/45746). 본 발명의 항체는 (i) 문헌 [Dennis et al. (2002) J Biol Chem. 277:35035-35043]의 표 III 및 IV, 페이지 35038; (ii) US 20040001827의 [0076]; 및 (iii) WO 01/45746의 폐이지 12-13 (이들 모두는 본원에 참조로 포함됨)에 교시된 ABP 서열을 갖는 융합 단백질을 포함한다.
- [0648] 항체는, 예를 들어 US 4816567에서 기술된 바와 같이 및 관련 기술분야에 공지된 바와 같이 재조합 방법 및 조성물을 사용하여 생산될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 진핵 숙주 세포 (예를 들어, 포유동물 숙주 세포)에서 생산된다. 일부 실시양태에서, 항체는 원핵 숙주 세포 (예를 들어, 이. 콜라이(*E. coli*))에서 생산된다.
- [0649] 특정 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 변형이 본원에 제공된 항체의 Fc 영역에 도입되어 Fc 영역 변이체가 생성될 수 있다. Fc 영역 변이체는 1개 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.
- [0650] 특정 실시양태에서, 본 발명은, 모든 이펙터 기능은 아니지만 일부 이펙터 기능을 보유하며, 생체내 항체 반감기가 중요하긴 하지만 특정 이펙터 기능 (예컨대 보체 및 ADCC)이 불필요하거나 유해한 적용에 대한 바람직한 후보가 되는 항체 변이체를 고려한다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정이 수행될 수 있다. 예를 들어, 항체에 FcγR 결합이 결여되어 있지만 (따라서 ADCC 활성 결여 가능성이 있음) FcRn 결합 능력은 보유하는 것을 보장하기 위해 Fc 수용체 (FcR) 결합 검정이 수행될 수 있다.
- [0651] ADC의 약물 로딩
- [0652] 약물 로딩은 항체당 약물 모이어티의 평균 수이다. 약물 로딩은 항체 (Ab) 1개당 1개 내지 8개의 약물 (D) 범위일 수 있으며, 즉 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 및 8개의 약물 모이어티가 항체에 공유 부착된다. ADC의 조성물은 1 내지 8개 범위의 약물과 접합된 항체의 접합체를 포함한다. 접합 반응에 의한 ADC의 제제에서의 항체당 약물의 평균 수는 통상적인 수단, 예를 들어 질량 분광분석, ELISA 검정, 전기영동 및 HPLC에 의해 특성화될 수 있다. 또한, ADC의 정량적 분포가 p의 측면에서 결정될 수 있다. ELISA에 의해, ADC의 특정한 제제에서의 p의 평균 값을 결정할 수 있다 (Hamblett et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson et al. (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852). 그러나, p (약물) 값의 분포는 항체-항원 결합 및 ELISA의 검출 한계로 인해

식별불가능하다. 또한, 항체-약물 접합체를 검출하기 위한 ELISA 검정은 약물 모이어티가 항체, 예컨대 중쇄 또는 경쇄 단편, 또는 특정한 아미노산 잔기에 부착되는 위치를 결정하지 못한다. 일부 경우에, p가 다른 약물로딩을 갖는 ADC로부터의 특정 값인 균질 ADC의 분리, 정제 및 특성화는 역상 HPLC 또는 전기영동과 같은 수단에 의해 달성될 수 있다.

[0653] 일부 항체-약물 접합체의 경우에, p는 항체 상의 부착 부위의 수에 의해 제한될 수 있다. 예를 들어, 항체는 시스테인 티올 기를 단지 1개 또는 수개 가질 수도 있거나, 또는 링커가 부착될 수 있는 충분히 반응성인 티올 기를 단지 1개 또는 수개 가질 수 있다. 약물 로딩이 높을수록 (예를 들어 $p > 5$), 특정 항체-약물 접합체의 응집, 불용성, 독성, 또는 세포 투과성 상실이 유발될 수 있다.

[0654] 전형적으로, 이론적 최대치 미만의 약물 모이어티가 접합 반응 동안 항체에 접합된다. 항체는 예를 들어 링커-약물 중간체 (X-L-D) 또는 링커 시약과 반응하지 않는 다수의 리신 잔기를 함유할 수 있다. 오직 가장 반응성인 리신 기만이 아민-반응성 링커 시약과 반응할 수 있다. 또한, 오직 가장 반응성인 시스테인 티올 기만이 티올-반응성 링커 시약 또는 링커-약물 중간체와 반응할 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 유리 및 반응성 시스테인 티올 기를 함유하더라도 다수 함유하지는 않는다. 화합물의 항체 내의 대부분의 시스테인 티올 잔기는 디솔피드 가교로 존재하고, 부분적 또는 완전한 환원 조건 하에 환원제, 예컨대 디티오트레이톨 (DTT) 또는 TCEP를 사용하여 환원시켜야 한다. ADC의 로딩 (약물/항체 비, "DAR")은 (i) 항체에 대한 몰 과량의 약물-링커 중간체 또는 링커 시약의 제한, (ii) 접합 반응 시간 또는 온도의 제한, 및 (iii) 시스테인 티올 변형에 대한 부분적 또는 제한적 환원 조건을 포함한 여러 상이한 방식으로 제어될 수 있다.

[0655] 항체의 1개 초과의 친핵성 또는 친전자성 기가 약물-링커 중간체 또는 링커 시약에 이어서 이량체 약물 모이어티 시약과 반응하는 경우에, 생성된 생성물은 항체에 부착된 약물 모이어티의 분포가 예를 들어 1, 2, 3 등인 항체-약물 접합체의 혼합물이다. 액체 크로마토그래피 방법, 예컨대 중합체 역상 (PLRP) 및 소수성 상호작용 (HIC)은 혼합물 중의 화합물을 약물 로딩 값에 따라 분리할 수 있다. 단일 약물 로딩 값 (p)을 갖는 ADC의 제제가 단리될 수 있지만, 이를 단일 로딩 값 ADC는, 약물 모이어티가 항체 상의 여러 부위에서 링커를 통해 부착될 수 있기 때문에 여전히 불균질 혼합물일 수 있다. 따라서, 본 발명의 항체-약물 접합체 조성물은 항체가 1개 이상의 약물 모이어티를 가지며 약물 모이어티가 다양한 아미노산 잔기에서 항체에 부착될 수 있는 항체-약물 접합체 화합물의 혼합물을 포함한다.

예시적인 약물 모이어티

[0657] 일부 실시양태에서, ADC는 안트라시클린을 포함한다. 안트라시클린은 세포독성 활성을 나타내는 항생제 화합물이다. 임의의 특정한 이론에 얹매이는 것을 의도하지는 않지만, 연구는 안트라시클린이 1) 세포의 DNA 내로의 약물 분자의 삽입에 의한 DNA-의존적 핵산 합성의 억제, 2) 약물에 의한 유리 라디칼의 생성 (이는 이어서 세포 거대분자와 반응하여 세포에 손상을 유발함), 및/또는 3) 약물 분자와 세포 막의 상호작용 (예를 들어, 문헌 [C. Peterson et al., "Transport And Storage Of Anthracycline In Experimental Systems And Human Leukemia" in Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy; N.R. Bachur, "Free Radical Damage" id. at pp.97-102] 참조)을 포함한 수많은 상이한 메카니즘에 의해 세포를 사멸시키는 작동을 할 수 있음을 보여주었다. 그의 세포독성 잠재성으로 인해, 안트라시클린은 다수의 암, 예컨대 백혈병, 유방 암종, 폐 암종, 난소 선암종 및 육종의 치료에 사용되어 왔다 (예를 들어, 문헌 [P.H- Wiernik, in Anthracycline: Current Status And New Developments p 11] 참조).

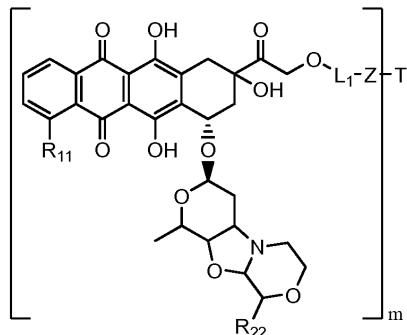
[0658] 비제한적 예시적인 안트라시클린은 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 다우노마이신, 네모루비신 및 그의 유도체를 포함한다. 다우노루비신 및 독소루비신의 면역접합체 및 전구약물이 제조되고 연구되었다 (Kratz et al. (2006) Current Med. Chem. 13:477-523; Jeffrey et al. (2006) Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362; Torgov et al. (2005) Bioconj. Chem. 16:717-721; Nagy et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834; Dubowchik et al. (2002) Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532; King et al. (2002) J. Med. Chem. 45:4336-4343; EP 0328147; US 6630579). 항체-약물 접합체 BR96-독소루비신은 종양-연관 항원 루이스-Y와 특이적으로 반응하고, 제I상 및 제II상 연구에서 평가된 바 있다 (Saleh et al. (2000) J. Clin. Oncology 18:2282-2292; Ajani et al. (2000) Cancer Jour. 6:78-81; Tolcher et al. (1999) J. Clin. Oncology 17:478-484).

[0659] PNU-159682는 네모루비신의 강력한 대사물 (또는 유도체)이다 (Quintieri, et al. (2005) Clinical Cancer Research 11(4):1608-1617). 네모루비신은 독소루비신의 클리코시드 아미노 상에 2-메톡시모르폴리노 기를 갖는 독소루비신의 반합성 유사체이고, 간세포 암종에 대한 제II/III상 시험 (Sun et al. (2003) Proceedings of

the American Society for Clinical Oncology 22, Abs1448; Quintieri (2003) Proceedings of the American Association of Cancer Research, 44:1st Ed, Abs 4649; Pacciarini et al. (2006) Jour. Clin. Oncology 24:14116)을 포함한 임상 평가를 받은 바 있다 (Grandi et al. (1990) Cancer Treat. Rev. 17:133; Ripamonti et al. (1992) Brit. J. Cancer 65:703).

[0660] 네모루비신 또는 네모루비신 유도체를 포함하는 비제한적 예시적인 ADC는 하기 화학식 (Ia) 또는 그의 제약상 허용되는 염으로 제시된다:

[0661] <화학식 (Ia)>



[0662]

[0663] 상기 식에서, R¹¹은 수소 원자, 히드록시 또는 메톡시 기이고, R²²는 C₁-C₅ 알콕시 기이고;

[0664] L₁ 및 Z는 함께 본원에 기재된 바와 같은 링커 (L)이고;

[0665] T는 본원에 기재된 바와 같은 항체 (Ab)이고;

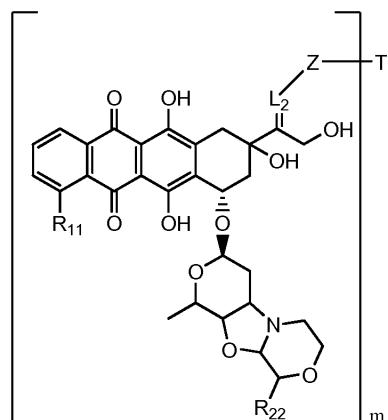
[0666] m은 1 내지 약 20이다.

[0667] 일부 실시양태에서, m은 1 내지 10, 1 내지 7, 1 내지 5, 또는 1 내지 4이다.

[0668] 일부 실시양태에서, R¹¹ 및 R²²는 둘 다 메톡시 (-OMe)이다.

[0669] 네모루비신 또는 네모루비신 유도체를 포함하는 추가의 비제한적 예시적인 ADC는 하기 화학식 (Ib) 또는 그의 제약상 허용되는 염으로 제시된다:

[0670] <화학식 (Ib)>



[0671]

[0672] 상기 식에서, R¹¹은 수소 원자, 히드록시 또는 메톡시 기이고, R²²는 C₁-C₅ 알콕시 기이고;

[0673] L₂ 및 Z는 함께 본원에 기재된 바와 같은 링커 (L)이고;

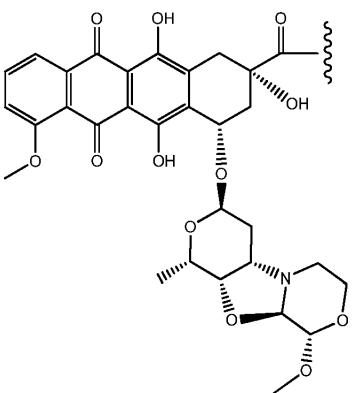
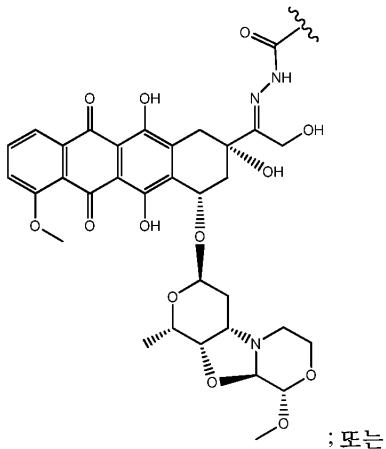
[0674] T는 본원에 기재된 바와 같은 항체 (Ab)이고;

[0675] m은 1 내지 약 20이다. 일부 실시양태에서, m은 1 내지 10, 1 내지 7, 1 내지 5, 또는 1 내지 4이다.

[0676] 일부 실시양태에서, R¹¹ 및 R²²는 둘 다 메톡시 (-OMe)이다.

[0677] 일부 실시양태에서, 네모루비신-함유 ADC의 네모루비신 성분은 PNU-159682이다.

[0678] 일부 이러한 실시양태에서, ADC의 약물 부분은 하기 구조 중 1개를 가질 수 있다:

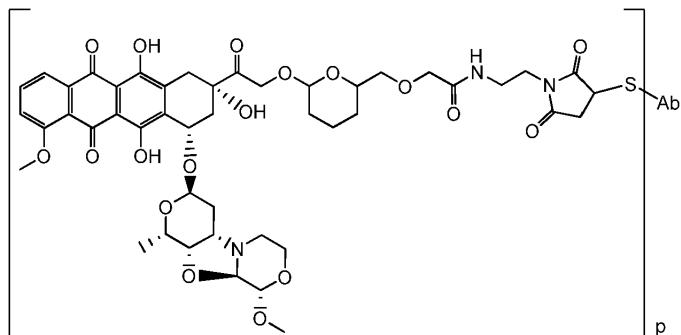


[0679]

[0680] 상기 식에서, 파상선은 링커 (L)에 대한 부착을 나타낸다.

[0681] PNU-159682를 포함한 안트라시클린은 여러 연결 부위 및 본원에 기재된 링커를 포함한 다양한 링커 (US 2011/0076287; WO2009/099741; US 2010/0034837; WO 2010/009124)를 통해 항체에 접합될 수 있다.

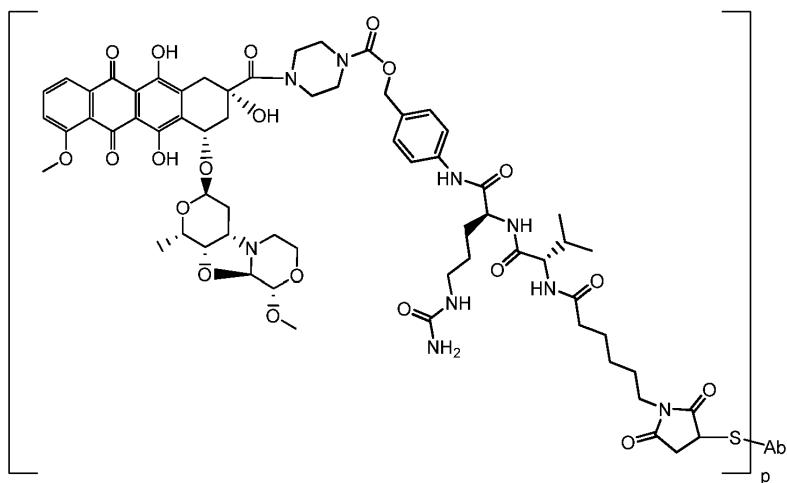
[0682] 네모루비신 및 링커를 포함하는 예시적인 ADC는 하기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:



[0683]

[0684]

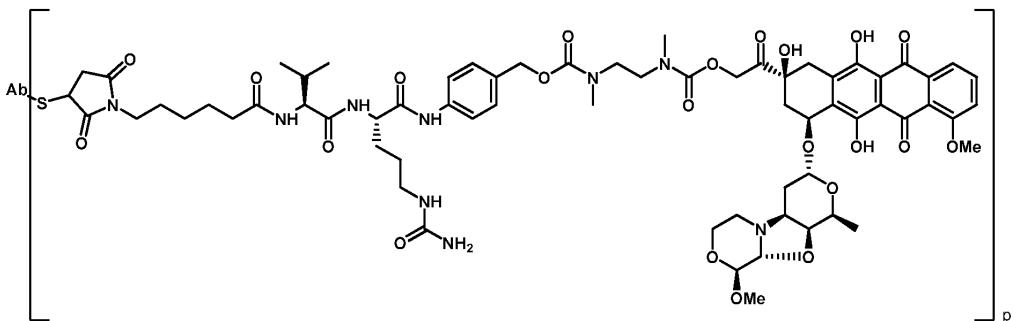
PNU-159682 말레이미드 아세탈-Ab;



[0685]

[0686]

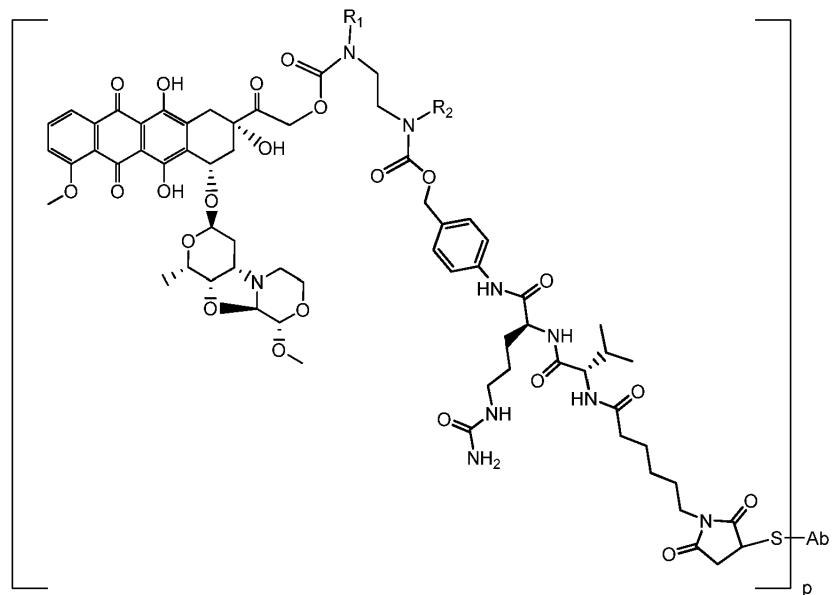
PNU-159682-val-cit-PAB-Ab;



[0687]

[0688]

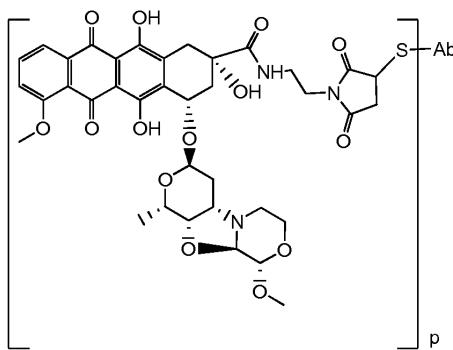
PNU-159682-val-cit-PAB-스페이서-Ab;



[0689]

[0690] PNU-159682-val-cit-PAB-스페이서(R^1R^2)-Ab,

[0691] (상기 식에서, R_1 및 R_2 는 독립적으로 H 및 C₁-C₆ 알킬로부터 선택됨); 및

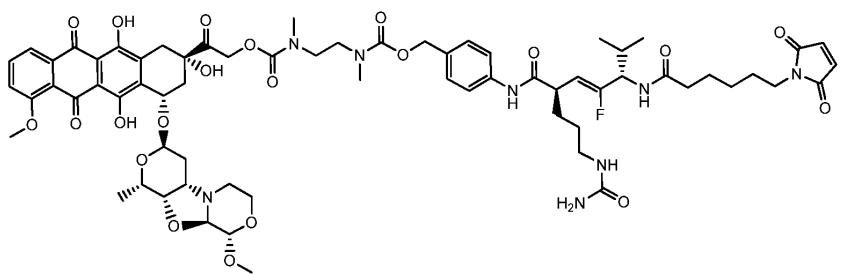
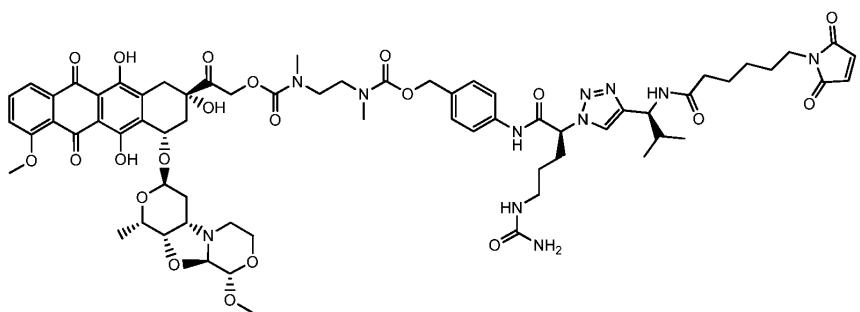
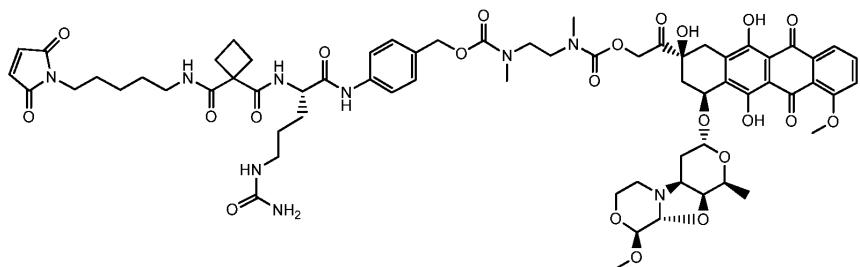


[0692]

[0693] PNU-159682-말레이미드-Ab.

[0694] PNU-159682 말레이미드 아세탈-Ab의 링커는 산-불안정성인 한편, PNU-159682-val-cit-PAB-Ab, PNU-159682-val-cit-PAB-스페이서-Ab, 및 PNU-159682-val-cit-PAB-스페이서(R¹R²)-Ab의 링커는 프로테아제 절단가능하다.

[0695] 안트라시클린 유도체 및 웨티드모방체 링커를 포함하는 예시적인 ADC는 하기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:



[0696]

[0697] 적응증 및 치료 방법

[0698] 본 발명의 항체-약물 접합체 (ADC)를 사용하여 예를 들어 종양 항원의 과다발현을 특징으로 하는 다양한 질환 또는 장애를 치료할 수 있는 것으로 고려된다. 예시적인 상태 또는 과다증식성 장애는 양성 또는 악성 고형 종양 및 혈액 장애 예컨대 백혈병 및 림프성 악성종양을 포함한다. 다른 것은 뉴런, 신경교, 성상세포, 시상하부, 선상, 대식세포, 상피, 기질, 포배강, 염증성, 혈관신생 및 면역 (자가면역 포함) 장애를 포함한다.

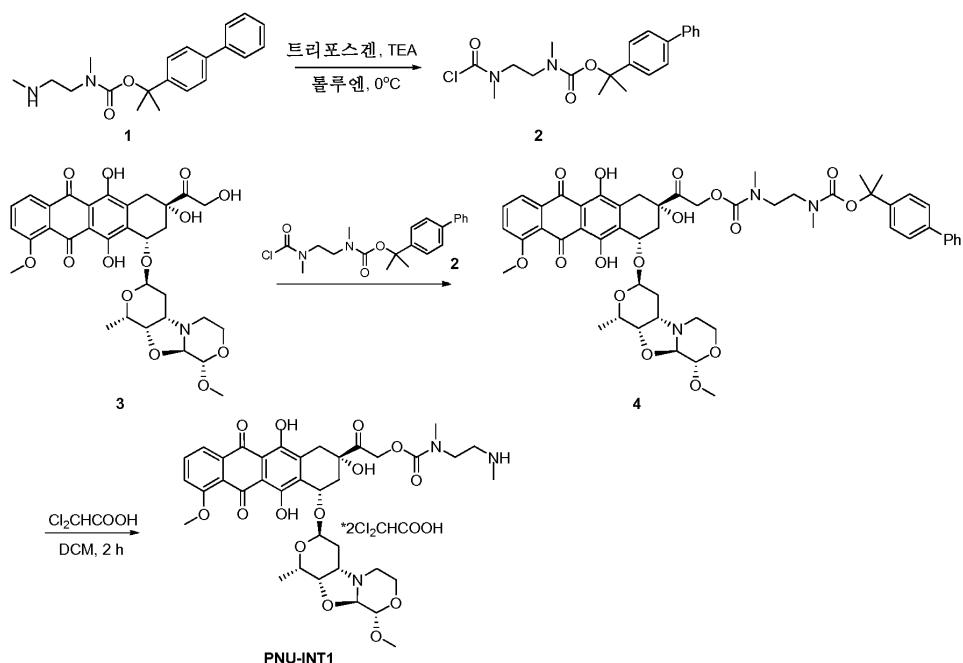
- [0699] 특정 실시양태에서, 항-NaPi2b 항체, 예컨대 상기 기재된 것들을 포함하는 본 발명의 ADC는 고형 종양, 예를 들어 난소를 치료하는 방법에 사용된다.
- [0700] 또 다른 실시양태에서, 항-CD33 항체, 예컨대 본원에 기재된 것들을 포함하는 본 발명의 ADC는 혈액 악성종양 예컨대 비-호지킨 림프종 (NHL), 미만성 대 조혈 림프종, 여포성 림프종, 외투 세포 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병 (AML) 및 골수 세포 백혈병 (MCL) 예를 들어 B-세포 관련 암 및 증식성 장애를 치료하는 방법에 사용된다. US 8226945; 문헌 [Li et al. (2013) Mol. Cancer Ther. 12(7):1255-1265; Polson et al. (2010) Leukemia 24:1566-1573; Polson et al. (2011) Expert Opin. Investig. Drugs 20(1):75-85]을 참조하며, 이를 내용은 참조로 포함된다.
- [0701] 또 다른 실시양태에서, 항-MUC16 항체, 예컨대 본원에 기재된 것들을 포함하는 본 발명의 ADC는 난소암, 유방암 및 췌장암을 치료하는 방법에 사용된다. 암은 MUC16/CA125/0772P 폴리펩티드의 발현 또는 활성과 관련될 수 있다. WO 2007/001851; US 7989595; US 8449883; US 7723485; 문헌 [Chen et al. (2007) Cancer Res. 67(10):4924-4932; Junutula, et al., (2008) Nature Biotech., 26(8):925-932]를 참조하며, 이를 내용은 참조로 포함된다.
- [0702] 특정 실시양태에서, 항-HER2 항체, 예컨대 상기 기재된 것들을 포함하는 본 발명의 ADC는 이러한 ADC를 암, 예를 들어 유방암 또는 위암, 보다 구체적으로 HER2+ 유방암 또는 위암의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암, 예를 들어 유방암 또는 위암, 보다 구체적으로 HER2+ 유방암 또는 위암을 치료하는 방법에 사용된다. 하나의 이러한 실시양태에서, ADC는 항-HER2 항체 트라스투주맙 또는 페르투주맙을 포함한다.
- [0703] 일반적으로, 치료할 질환 또는 장애는 과다증식성 질환 예컨대 암이다. 본원에서 치료할 암의 예는 암종, 림프종, 모세포종, 육종 및 백혈병 또는 림프성 악성종양을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 암의 보다 특정한 예는 편평 세포암 (예를 들어 상피 편평 세포암), 폐암, 예를 들어 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평세포 암종, 복막암, 간세포성암, 위의 암 또는 위암, 예를 들어 위장암, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 직장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁암종, 타액선 암종, 신장암 또는 신암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 항문 암종, 음경 암종 뿐만 아니라 두경부암을 포함한다.
- [0704] 항체-약물 접합체를 치료에 사용할 수 있는 자가면역 질환은 류마티스 장애 (예컨대, 예를 들어, 류마티스 관절염, 쇼그렌 증후군, 경피증, 루푸스 예컨대 전신 홍반성 루푸스 (SLE) 및 루푸스 신염, 다발근염/피부근염, 한랭글로불린혈증, 항-인지질 항체 증후군, 및 건선성 관절염), 골관절염, 자가면역 위장 및 간 장애 (예컨대, 예를 들어, 염증성 장 질환 (예를 들어, 궤양성 결장염 및 크론병), 자가면역 위염 및 악성 빈혈, 자가면역 간염, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 경화성 담관염, 및 복강 질환), 혈관염 (예컨대, 예를 들어, ANCA-연관 혈관염, 예를 들어 쳐그-스트라우스 혈관염, 베게너 육아종증, 및 다발동맥염), 자가면역 신경계 장애 (예컨대, 예를 들어, 다발성 경화증, 안진전 근간대성경련 증후군, 중증 근무력증, 시신경척수염, 파킨슨병, 알츠하이머 병 및 자가면역 다발신경병증), 신장애 (예컨대, 예를 들어, 사구체신염, 굿페스쳐 증후군 및 베르게르병), 자가면역 피부과 장애 (예컨대, 예를 들어, 건선, 두드러기, 심마진, 심장성 천포창, 수포성 유천포창, 및 피부 홍반성 루푸스), 혈액 장애 (예컨대, 예를 들어, 혈소판감소성 자반증, 혈전성 혈소판감소성 자반증, 수혈후 자반증 및 자가면역 용혈성 빈혈), 아테롬성동맥경화증, 포도막염, 자가면역 청각 질환 (예컨대, 예를 들어, 내이 질환 및 청각 상실), 베체트병, 레이노 증후군, 기관 이식, 및 자가면역 내분비 장애 (예컨대, 예를 들어, 당뇨병-관련 자가면역 질환 예컨대 인슐린-의존성 당뇨병 (IDDM), 애디슨병 및 자가면역 갑상선 질환 (예를 들어, 그레이브스병 및 갑상선염))을 포함한다. 보다 바람직한 이러한 질환은 예를 들어 류마티스 관절염, 궤양성 결장염, ANCA-연관 혈관염, 루푸스, 다발성 경화증, 쇼그렌 증후군, 그레이브스병, IDDM, 악성 빈혈, 갑상선염 및 사구체신염을 포함한다.
- [0705] 질환을 예방 또는 치료하는데 적절한 ADC 투여량은 상기 정의된 바와 같은 치료할 질환의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 분자가 예방 목적으로 투여되는지 치료 목적으로 투여되는지의 여부, 선행 요법, 환자의 임상 병력 및 항체에 대한 반응, 및 담당의의 판단에 따라 달라질 것이다. 분자는 환자에게 1회 또는 일련의 치료에 걸쳐 적합하게 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 예를 들어 1회 이상의 개별 투여에 의해서든 또는 연속 주입에 의해서든 관계없이, 약 1 μ g/kg 내지 15 mg/kg (예를 들어 0.1-20 mg/kg)의 분자가 환자에게 투여할 초기 후보 투여량이다. 전형적인 1일 투여량은 상기 언급된 인자에 따라 약 1 μ g/kg 내지 100 mg/kg 또는 그 초과의 범위일 수 있다. 환자에게 투여될 ADC의 예시적인 투여량은 약 0.1 내지 약 10 mg/kg 환자 체중의 범위이다.

[0706]

실험부

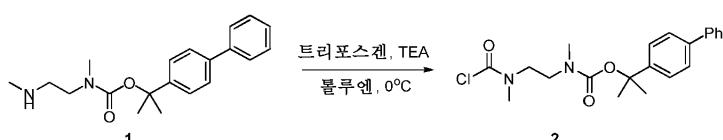
[0707]

반응식 1. 공통 중간체 PNU-INT1의 합성



[0708]

단계 1:



[0710]

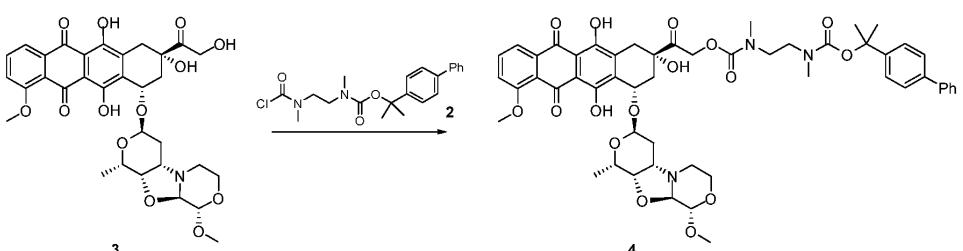
[0711] 톨루엔 (6 mL) 중 트리포스겐 (218.2 mg, 0.735 mmol)을 0°C로 냉각시킨 후, 톨루엔 (4 mL) 중 화합물 1 (600 mg, 1.84 mmol) 및 트리에틸아민 (372 mg, 3.68 mmol)의 용액을 적가하였다. 반응 혼합물을 1시간에 걸쳐 실온으로 가온한 후, 용액을 여과하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 조 생성물을 실리카 겔 (EtOAc/Hex 3:7) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 목적 생성물 2를 백색 고체 (600 mg, 83.9%)로서 수득하였다.

[0712]

MS (ESI): 405.59 $[M+NH_4]^+$.

[0713]

단계 2:



[0714]

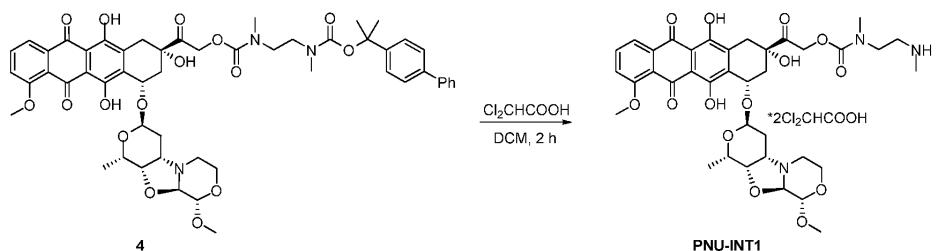
[0715] 무수 DCM (2.5 mL) 중 화합물 3 (150 mg, 0.234 mmol)의 용액에 분자체 (분말-4 Å, 100 mg), 4-디메틸아미노페리딘 (142.8 mg, 1.17 mmol) 및 무수 DCM (0.5 mL) 중 화합물 2 (272.75 mg, 0.701 mmol)의 용액을 첨가하였다. 용액을 암실에서 25°C에서 5일 동안 교반하였다. 조 생성물을 정제용-TLC (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:40)에 의해 정제하여 생성물 4 (140 mg, 60.2%)를 수득하였다.

[0716]

LCMS: (5-95, AB, 1.5분), 0.983분, MS = 994.4 $[M+H]^+$;

[0717]

단계 3:



[0718]

[0719] 빙조에서 DCM (1 mL) 중 화합물 4 (80.0 mg, 0.080 mmol)의 용액에 DCM (0.4 mL) 중 디클로로아세트산 (1.61 mmol)의 용액을 첨가하였다. 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 디에틸 에테르 및 헥산의 혼합물을 첨가하였다. 조적색 고체를 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다 (52 mg, 85%).

[0720]

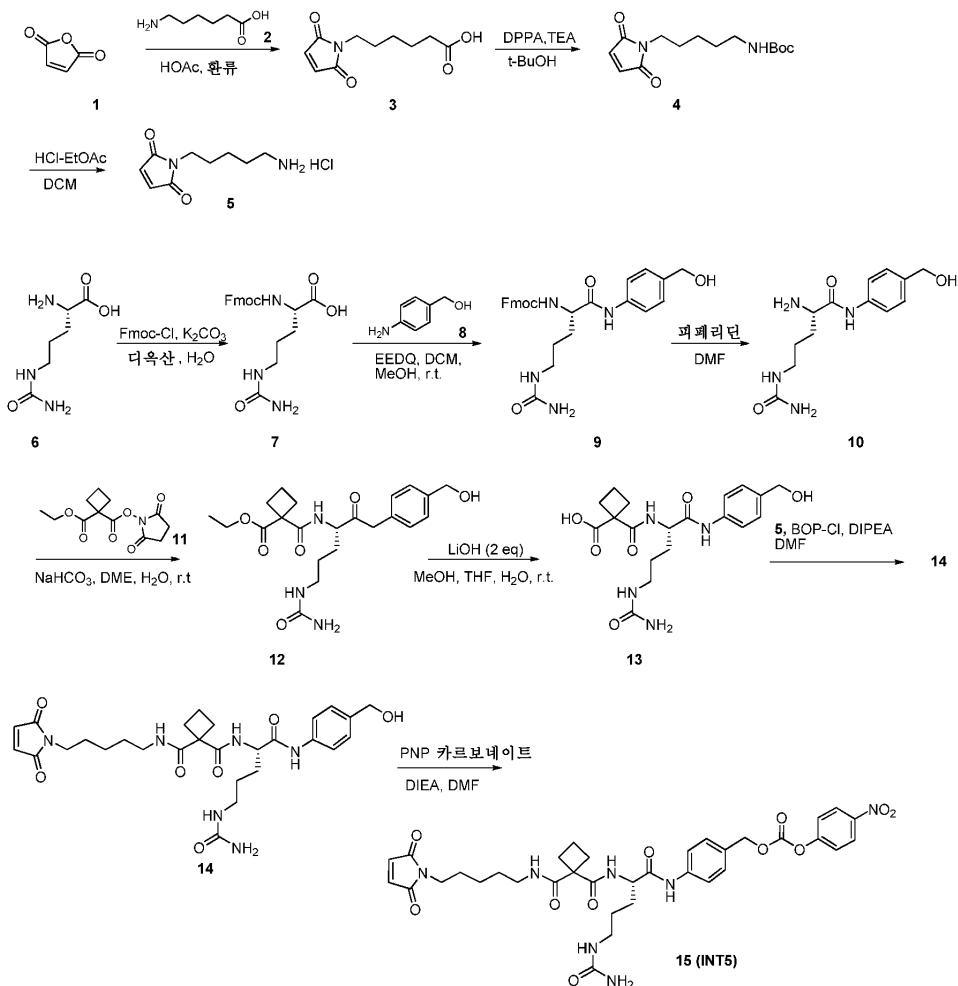
INT5의 합성

[0721]

(S)-4-(2-(1-(5-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-파롤-1-일)펜틸카르바모일)시클로부탄카르복스아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질 4-나트로페닐 카르보네이트

[0722]

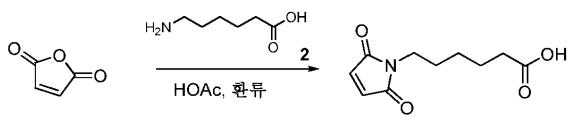
반응식 1



[0723]

[0724]

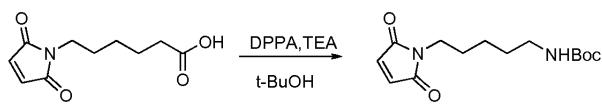
절차



[0725]

[0726]

화합물 1 (150 g, 1.53 mol)을 HOAc (1000 mL) 중 화합물 2 (201 g, 1.53 mol)의 교반 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반한 후, 이것을 환류 하에 8시간 동안 가열하였다. 유기 용매를 감압 하에 제거하고, 잔류물을 EtOAc (500 mL x 3)로 추출하고, H₂O로 세척하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켜 조 생성물을 수득하였다. 이것을 석유 에테르로 세척하여 화합물 3을 백색 고체 (250 g, 77.4%)로서 수득하였다.



[0727]

[0728]

DPPA (130 g, 473 mmol) 및 TEA (47.9 g, 473 mmol)를 t-BuOH (200 mL) 중 화합물 3 (100 g, 473 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 환류 하에 N₂ 하에 8시간 동안 가열하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 실리카겔 (PE:EtOAc= 3:1) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 4 (13 g, 10%)를 수득하였다.



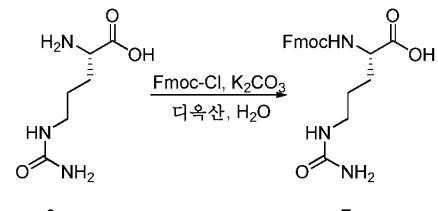
[0729]

[0730]

무수 EtOAc (30 mL) 중 화합물 4 (28 g, 992 mmol)의 용액에 HCl/EtOAc (50 mL)를 적가하였다. 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반한 후, 이것을 여과하고, 고체를 건조시켜 화합물 5 (16 g, 73.7%)을 수득하였다.

[0731]

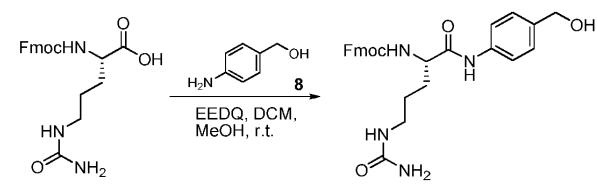
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.02 (s, 2H), 6.99 (s, 2H), 3.37-3.34 (m, 2H), 2.71-2.64 (m, 2H), 1.56-1.43 (m, 4H), 1.23-1.20 (m, 2H).



[0732]

[0733]

디옥산 및 H₂O의 혼합물 (50 mL / 75 mL) 중 화합물 6 (17.50 g, 0.10 mol)의 혼합물에 K₂CO₃ (34.55 g, 0.25 mol)을 첨가하였다. Fmoc-Cl (30.96 g, 0.12 mol)을 0°C에서 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 2시간에 걸쳐 가온하였다. 유기 용매를 감압 하에 제거하고, 물 슬러리를 6 M HCl 용액을 사용하여 pH = 3으로 조정하고, EtOAc (100 mL x 3)로 추출하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 목적 생성물 7 (38.0 g, 95.6%)을 수득하였다.



[0734]

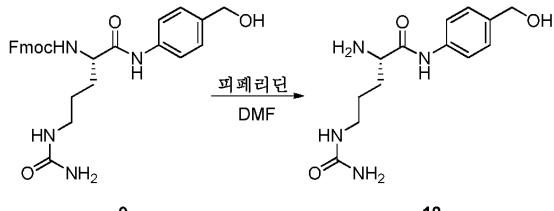
[0735]

DCM 및 MeOH의 혼합물 (100 mL / 50 mL) 중 화합물 7 (4.0 g, 10 mmol)의 용액에 4-아미노-페닐-메탄올 (8)

(1.6 g, 13 mmol, 1.3 당량) 및 EEDQ (3.2 g, 13 mmol, 1.3 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 하에 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 농축시켜 갈색 고체를 수득하였다. MTBE (200 mL)를 첨가하고, 이것을 15°C에서 2시간 동안 교반하였다. 고체를 여과에 의해 수집하고, MTBE (50 mL x 2)로 세척하여 조 생성물 9를 오렌지색 고체 (4.2 g, 84%)로서 수득하였다.

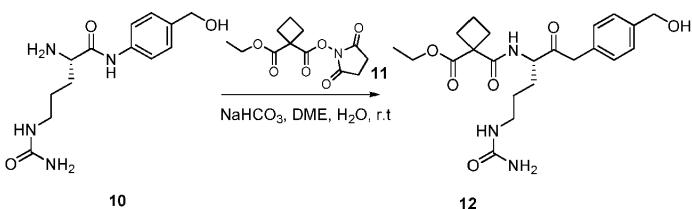
[0736]

LCMS (ESI): m/z 503.0 [M+1].



[0737]

건조 DMF (20 mL) 중 화합물 9 (4.2 g, 8.3 mmol)의 교반 용액에 피페리딘 (1.65 mL, 17 mmol, 2.0 당량)을 실온에서 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였고, 고체 침전물이 형성되었다. 건조 DCM (50 mL)을 첨가하였고, 혼합물은 즉시 투명해졌다. 혼합물을 실온에서 추가로 30분 동안 교반하고, LCMS는 화합물 9가 소모되었음을 나타내었다. 이것을 감압 (남아있는 피페리딘이 없음을 확실하게 함) 하에 농축 건조시키고, 잔류물을 EtOAc와 H_2O (50 mL / 20 mL) 사이에 분배하였다. 수성 상을 EtOAc (50 mL x 2)로 세척하고, 농축시켜 10을 유성 잔류물 (2.2 g, 94%) (소량의 DMF 함유)로서 수득하였다.

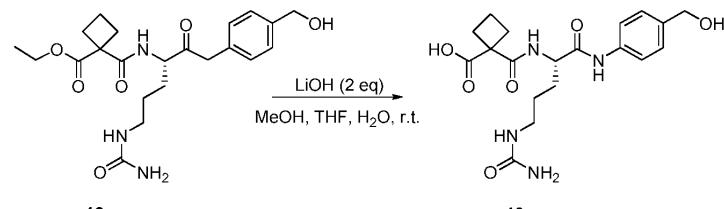


[0739]

DME (50 mL) 중 화합물 11 (8.0 g, 29.7 mmol)의 용액에 물 (30 mL) 중 화합물 10 (6.0 g, 21.4 mmol) 및 $NaHCO_3$ (7.48 g, 89.0 mmol)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 감압 하에 농축 건조시키고, 잔류물을 칼럼 크로마토그래피 (DCM:MeOH = 10:1)에 의해 정제하여 조 화합물 12를 백색 고체 (6.4 g, 68.7%)로서 수득하였다.

[0741]

LCMS (ESI): m/z 435.0 [M+1].



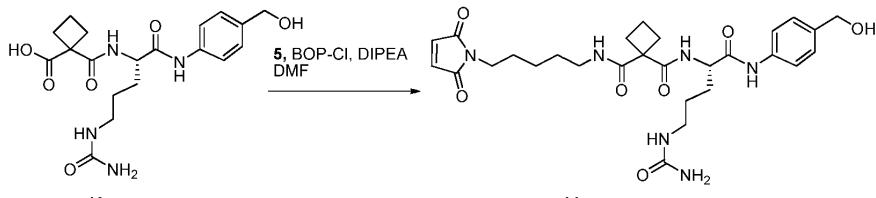
[0742]

THF 및 MeOH (20 mL/10 mL)의 혼합물 중 화합물 12 (6.4 g, 14.7 mmol)의 교반 용액에 실온에서 H_2O (20 mL) 중 $LiOH \cdot H_2O$ (1.2 g, 28.6 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 용매를 감압 하에 제거하고, 수득된 잔류물을 정제용 HPLC에 의해 정제하여 화합물 13 (3.5 g, 수율: 58.5%)을 수득하였다.

[0744]

LCMS (ESI): m/z 406.9 [M+1].

1H NMR (400 MHz, 메탄올- d_4) δ 8.86 (d, J = 8.4 Hz, 2 H), 8.51 (d, J = 8.4 Hz, 2 H), 5.88 – 5.85 (m, 1 H), 5.78 (s, 2 H), 4.54 – 4.49 (m, 3 H), 4.38 – 4.32 (m, 1 H), 3.86 – 3.75 (m, 1 H), 3.84 – 3.80 (m, 2 H), 3.28 – 3.21 (m, 1 H), 3.30 – 3.24 (m, 1 H), 3.00 – 2.80 (m, 1 H), 2.37 – 2.28 (m, 2 H).

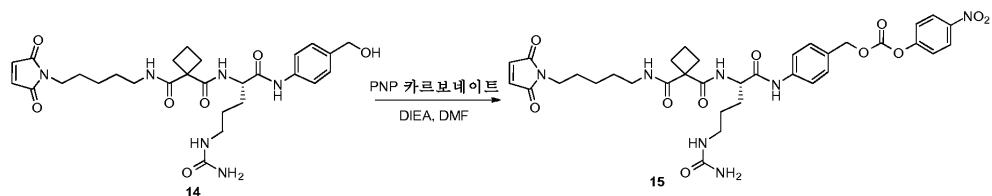


[0746]

[0747] DIPEA (1.59 g, 12.3 mmol) 및 BOP-Cl (692 mg, 2.71 mmol)을 0°C에서 DMF (10 mL) 중 화합물 13 (1.0 g, 2.46 mmol)의 용액에 첨가하고, 이어서 화합물 5 (592 mg, 2.71 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 0.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 시트르산 용액 (10 mL)으로 켄칭하고, DCM/MeOH (10:1)로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 농축시키고, 잔류물을 실리카 젤 (DCM:MeOH = 10:1) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 14 (1.0 g, 71%)를 수득하였다.

[0748]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10.00 (s, 1H), 7.82-7.77 (m, 2H), 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 2 H), 7.19 (d, J = 8.4 Hz, 2 H), 6.96 (s, 2H), 5.95 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 5.39 (s, 2H), 5.08 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.40-4.35 (m, 3H), 4.09 (d, J = 4.8 Hz, 1 H), 3.01 (d, J = 3.2 Hz, 2 H), 3.05-2.72 (m, 4H), 2.68-2.58 (m, 3H), 2.40-2.36 (m, 4H), 1.72-1.70 (m, 3H), 1.44-1.42 (m, 1H), 1.40-1.23 (m, 6H), 1.21-1.16 (m, 4H).



[0749]

[0750] 건조 DMF (20 mL) 중 화합물 14 (500 mg, 0.035 mmol)의 용액에 20°C에서 화합물 PNP (533 mg, 1.75 mmol) 및 DIPEA (340 mg, 2.63 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 N₂ 분위기 하에 16°C에서 2시간 동안 교반되도록 하였다. 혼합물을 농축시키고, 정제용-TLC (DCM/MeOH=10/1)에 의해 정제하여 생성물 INT5 (250 mg, 39%)를 수득하였다.

[0751]

LCMS (ESI, 5-95AB, 1.5분): 0.842분, m/z 736.4 [M+1].

[0752]

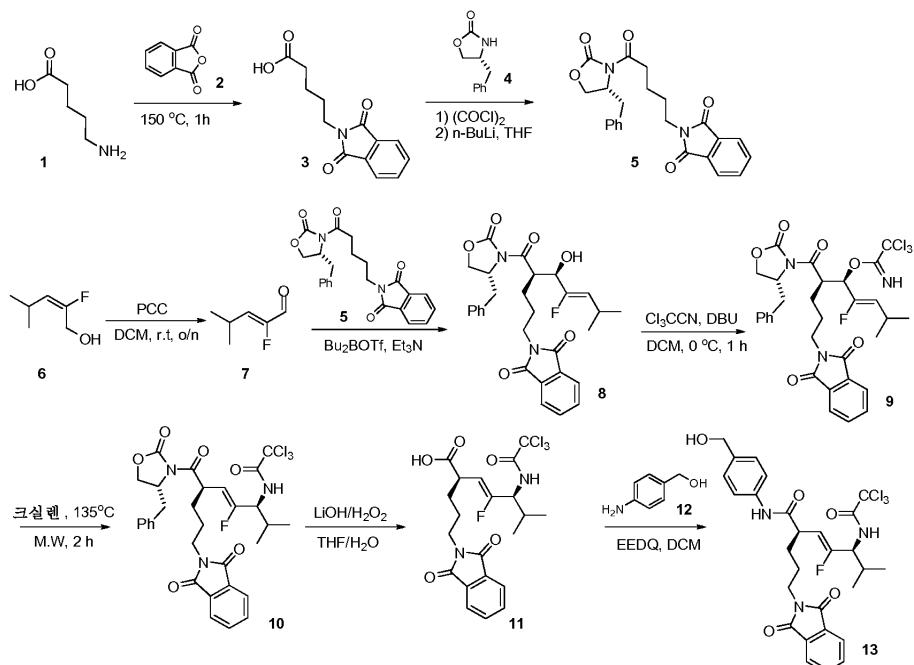
INT6의 합성

[0753]

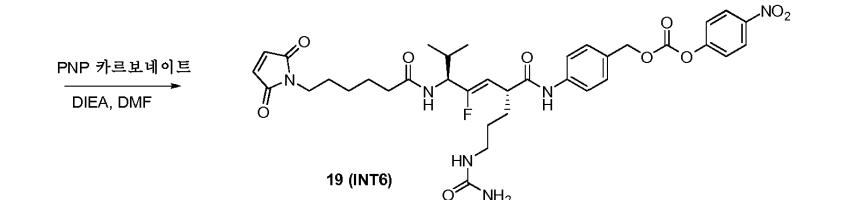
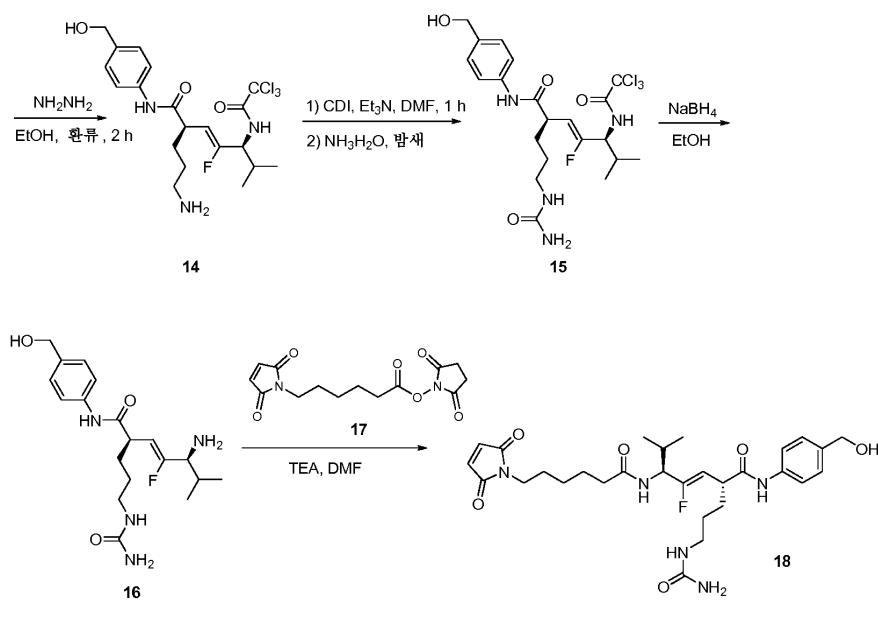
4-((2R,5S,Z)-5-(6-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-페롤-1-일)헥산아미도)-4-플루오로-6-메틸-2-(3-우레이도프로필)헵트-3-엔아미도)벤질 4-나트로페닐 카르보네이트

[0754]

반응식 2



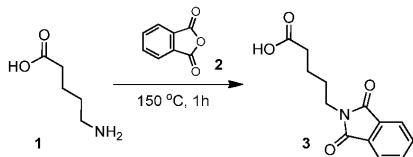
[0755]



[0756]

[0757]

실험부



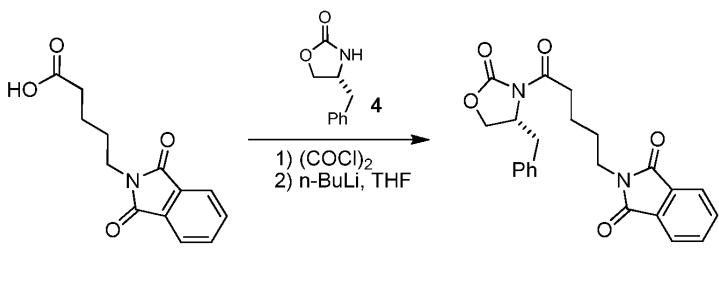
[0758]

[0759]

화합물 1 (10.0 g, 85.36 mmol), 화합물 2의 혼합물 (13.3 g, 89.79 mmol)을 150°C에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 25°C로 냉각시키고, 고체를 온수 중에 용해시켰다. 혼합물을 빙조에서 추가로 냉각시켰다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하였다. 필터 케이크를 건조시켜 화합물 3을 백색 고체 (19.0 g, 90.0%)로서 수득하였다.

[0760]

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.96 (br, 1H), 7.78 – 7.77 (m, 4H), 3.52 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.18 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.59 – 1.51 (m, 2H), 1.47 – 1.41 (m, 2H).



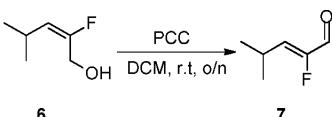
[0761]

[0762]

무수 DCM (100 mL) 중 화합물 3 (9.0 g, 36.40 mmol)의 혼합물에 $(\text{COCl})_2$ (15.0 mL, 157.76 mmol), DMF (1 mL)를 실온에서 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 0.5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시키고, 잔류물을 무수 THF (60 mL)로 희석하고, 다시 농축시켜 아실 클로라이드를 황색 고체로서 수득하였다. 무수 THF (60 mL) 중 화합물 4 (6.6 g, 37.25 mmol)의 혼합물에 N_2 하에 -78°C에서 n-BuLi (15.0 mL, 2.5 M, 37.5 mmol)를 적가하였다. THF (40 mL) 중 상기 아실 클로라이드를 -78°C에서 혼합물 내로 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 -78°C에서 15분 동안 교반한 다음, 수성 NH_4Cl 용액 (30 mL)으로 켄칭하였다. 혼합물을 EtOAc로 추출하고, 물로 세척하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 젤 (PE/EtOAc 3:1) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 조 화합물 5를 백색 고체 (13.0 g, 87.9%)로서 수득하였다.

[0763]

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.89 – 7.83 (m, 4H), 7.32 – 7.28 (m, 2H), 7.25 – 7.22 (m, 1H), 7.19 – 7.17 (m, 2H), 4.66 – 4.60 (m, 1H), 4.30 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 4.17 (dd, J = 9.2, 2.8 Hz, 1H), 3.61 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.00 – 2.78 (m, 4H), 1.70 – 1.60 (m, 4H).



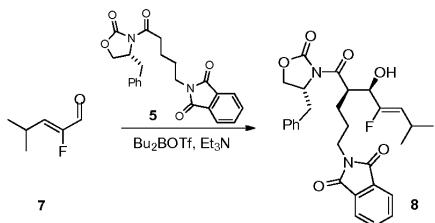
[0764]

[0765]

DCM (100 mL) 중 화합물 6 (3.0 g, 25.39 mmol)의 용액에 PCC (10.9 g, 50.78 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 하에 25°C에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실리카 젤 플러그를 통해 여과하였다. 여과물을 감압 하에 25°C의 조 온도에서 농축시켜 화합물 7을 오일 (1.8 g, 61.0%)로서 수득하였다.

[0766]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.18 (d, J = 18.4 Hz, 1 H), 5.79 (dd, J = 32.8, 9.2 Hz, 1 H), 3.02 – 2.93 (m, 1 H), 1.13 (d, J = 6.8 Hz, 6 H).

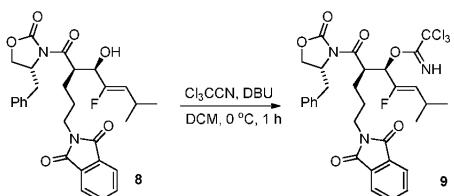


[0767]

DCM (20 mL) 중 화합물 5 (6.0 g, 14.7 mmol)의 용액을 냉조를 이용하여 0°C로 냉각시켰다. DCM 중 Bu_2BOTf (1.0 M, 15 mL, 15 mmol)에 이어서 Et_3N (3.03 g, 30 mmol)을 내부 온도가 3°C 미만으로 유지되도록 하는 속도로 적가하였다. 냉조를 드라이 아이스-아세톤 조로 교체하였다. 내부 온도가 -65°C 미만으로 떨어지면, DCM (10 mL) 중 화합물 7 (1.5 g, 12.9 mmol)을 적가하였다. 용액을 드라이 아이스-아세톤 조에서 20분, 이어서 냉조에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 수성 포스페이트 완충제 (pH = 7.0, 20 mL) 및 MeOH (10 mL)로 켄칭하였다. 이 탁한 용액에 MeOH/30% H_2O_2 의 혼합물 (2:1, 20 mL)을 내부 온도가 10°C 미만으로 유지되도록 하는 속도로 첨가하였다. 용액을 추가로 1시간 동안 교반한 후, 휘발성 물질을 25-30°C의 조온도에서 회전 증발기로 제거하였다. 슬러리를 EtOAc (50 mL x 3)로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 Na_2SO_3 용액 (15 mL), 5% NaHCO_3 용액 (30 mL) 및 염수 (25 mL)로 세척하였다. 이것을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 실리카 젤 (PE/ EtOAc 3:1) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 조화합물 8을 오일 (4.0 g, 59.7%)로서 수득하였다.

[0769]

LCMS (ESI): m/z 505.0 [M-17].



[0770]

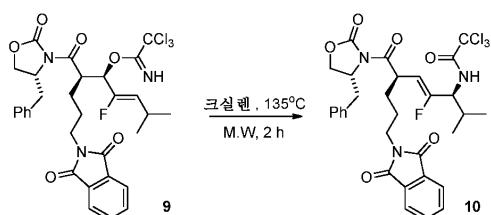
DCM (20 mL) 중 화합물 8 (4.0 g, 7.65 mmol) 및 Cl_3CCN (1.67 g, 11.48 mmol)의 용액에 N_2 하에 0°C에서 DBU (234 mg, 1.53 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 실리카 젤 (EtOAc 중 5%-20% 석유) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 9 (3.0 g, 58.8%)를 수득하였다.

[0772]

LCMS (ESI): m/z 505.1 [M-160].

[0773]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.47 (s, 1H), 7.83 - 7.80 (m, 2H), 7.72 - 7.69 (m, 2H), 7.36 - 7.28 (m, 2H), 7.28 - 7.22 (m, 3H), 5.69 - 5.63 (q, 1H), 4.89 (dd, J = 37.6, 9.6 Hz, 1H), 4.63 - 4.58 (m, 2H), 4.20 - 4.11 (m, 2H), 3.74 - 3.69 (m, 2H), 3.35 (dd, J = 13.2, 3.2 Hz, 1H), 2.78 - 2.69 (m, 2H), 1.99 - 1.85 (m, 2H), 1.80 - 1.76 (m, 2H), 0.96 - 0.92 (q, 6H).

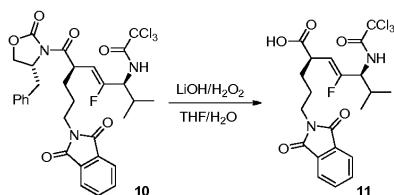


[0774]

크실렌 (5 mL) 중 화합물 9 (3.0 g, 4.50 mmol)의 용액을 마이크로웨이브 하에 135°C에서 2시간 동안 가열하였다. 혼합물을 25°C로 냉각시키고, 실리카 젤 (EtOAc 중 석유 5%-10%-50%) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 10 (1.4 g, 46.7%)을 수득하였다.

[0776] LCMS (ESI): m/z 685.0 [M+H₂O].

[0777] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.83 – 7.81 (m, 2H), 7.71 – 7.69 (m, 2H), 7.36 – 7.32 (m, 2H), 7.29 – 7.25 (m, 1H), 7.21 – 7.19 (m, 2H), 6.90 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.11 (dd, J = 36.4, 9.6 Hz, 1H), 4.81 – 4.76 (m, 1H), 4.68 – 4.64 (m, 1H), 4.30 – 4.16 (m, 3H), 3.75 – 3.68 (m, 2H), 3.27 (dd, J = 13.2, 3.2 Hz, 1H), 2.80 – 2.74 (q, 1H), 2.08–2.05 (m, 1H), 1.93 – 1.90 (m, 1H), 1.76 – 1.70 (m, 2H), 1.65 – 1.62 (m, 1H), 1.00 (dd, J = 6.8, 3.2 Hz, 6H).

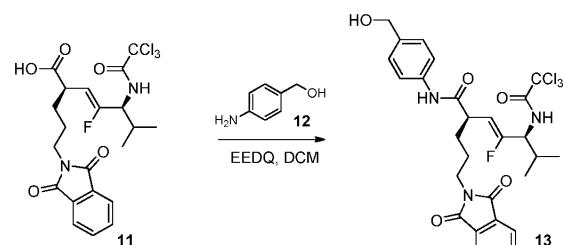


[0778]

[0779] THF/H₂O (v/v 4:1, 10 mL) 중 화합물 10 (1.4 g, 2.1 mmol)의 용액에 H₂O₂ (1.43 g, 물 중 30%, 12.6 mmol)에 이어서 LiOH·H₂O (264.6 mg, 6.3 mmol)를 첨가하였다. 용액을 25°C에서 1.5시간 동안 교반한 후, 포화 Na₂SO₃ 용액 (8 mL)을 첨가하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 DCM (20 mL x 2)으로 추출하였다. 수용액을 1M HCl을 사용하여 pH = 1.0으로 산성화시키고, EtOAc/MeOH (10/1, 25 mL x 3)로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 화합물 11 (1.0 g, 93.4%)을 수득하였다.

[0780]

LCMS (ESI): m/z 527.0 [M+Na⁺].

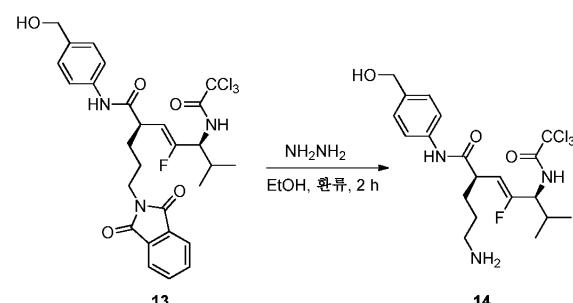


[0781]

[0782] DCM/MeOH (v/v 2:1, 7.5 mL) 중 화합물 11 (1.0 g, 1.97 mmol) 및 (4-օ-미노페닐) 메탄올 (364 mg, 2.96 mmol)의 용액에 N₂ 하에 0°C에서 EEDQ (732 mg, 2.96 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 16시간 동안 교반하였다. 용매를 제거하고, 잔류물을 실리카 겔 (EtOAc 중 30% 석유) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 조 화합물 13 (1.0 g, 82.8%)을 수득하였다.

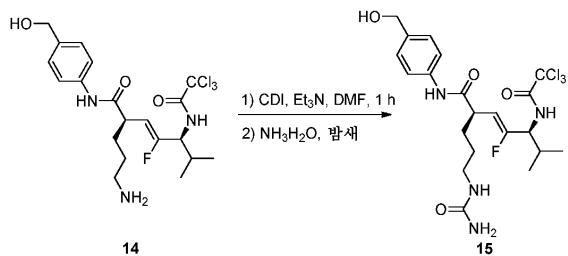
[0783]

LCMS (ESI): m/z 614.0 [M+H⁺].



[0784]

[0785] EtOH (20 mL) 중 화합물 13 (1.5 g, 2.45 mmol)의 용액에 NH₂NH₂ · xH₂O (471 mg, c = 50%, 7.35 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 100°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 14 (1.18 g, 100%)를 조 생성물로서 수득하였다.

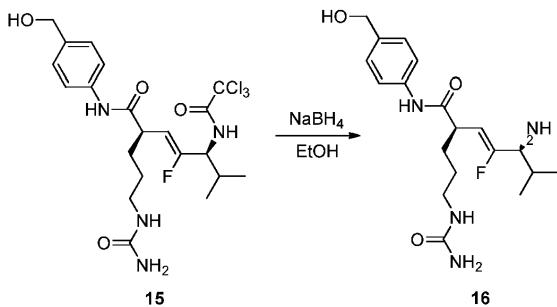


[0786]

[0787] DMF (10 mL) 중 화합물 14 (1.18 g, 2.45 mmol)의 혼합물에 TEA (496 mg, 4.90 mmol)에 이어서 CDI (795mg, 4.90 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$ (5 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 정제용 HPLC (FA)에 의해 정제하여 화합물 15 (350 mg, 27.1%, 2 단계)를 고체로서 수득하였다.

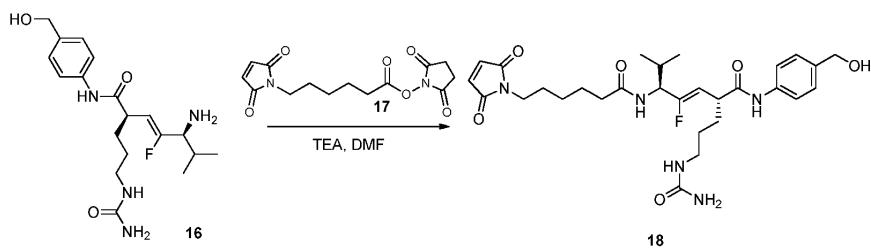
[0788]

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.96 (s, 1H), 9.24 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.22 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.94 (s, 1H), 5.38 (br, 2H), 5.09 (dd, J = 38.4, 9.6 Hz, 1H), 4.42 (s, 2H), 4.07 - 3.97 (m, 1H), 3.50 - 3.40 (m, 2H), 2.95 (dd, J = 15.2, 5.2 Hz, 2H), 2.18 - 2.14 (m, 1H), 1.70 - 1.65 (m, 1H), 1.42 - 1.30 (m, 3H), 0.94 - 0.89 (m, 6H).



[0789]

[0790] 무수 EtOH (10 mL) 중 화합물 15 (120 mg, 0.23 mmol)의 용액에 0°C에서 NaBH_4 (104 mg, 2.74 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. H_2O (1 mL)를 첨가하여 반응물을 켄칭하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시키고, 잔류물을 정제용-TLC ($\text{DCM}/\text{MeOH} = 4:1$)에 의해 정제하여 조 화합물 16 (50 mg)을 수득하였으며, 이는 미지의 불순물을 함유하였다.

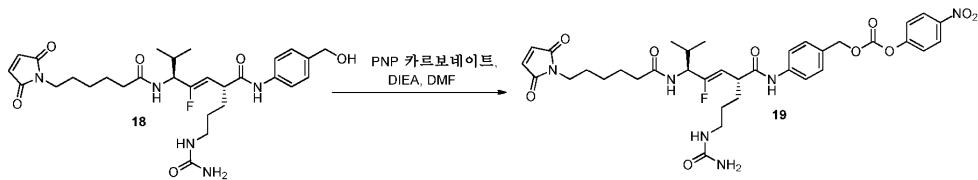


[0791]

[0792] DMF (4 mL) 중 화합물 16 (50 mg, 0.13 mmol)의 혼합물에 TEA (39 mg, 0.39 mmol)에 이어서 화합물 17 (61 mg, 0.20 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 정제용 HPLC (FA)에 의해 정제하여 화합물 18 (30 mg, 40%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0793]

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.93 (s, 1H), 8.00 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.21 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.00 (s, 2H), 5.94 (s, 1H), 5.37 (br, 2H), 4.95 (dd, J = 38.8, 9.6 Hz, 1H), 4.42 (s, 2H), 4.24 - 4.15 (m, 1H), 3.47 - 3.35 (m, 2H), 2.95 (dd, J = 10.0, 5.2 Hz, 2H), 2.13 - 2.09 (m, 2H), 1.90 - 1.85 (m, 1H), 1.20 - 1.15 (m, 1H), 1.49 - 1.43 (m, 6H), 1.28 - 1.25 (m, 1H), 1.19 - 1.15 (m, 2H), 0.84 (dd, J = 6.4, 2.8 Hz, 6H).



[0794]

건조 DMF (2 mL) 중 화합물 18 (20 mg, 0.035 mmol)의 용액에 20°C에서 PNP 카르보네이트 (32 mg, 0.105 mmol) 및 DIPEA (9 mg, 0.07 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 N₂ 하에 16°C에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 여과하고, 정제용-TLC (DCM/MeOH=10/1)에 의해 정제하여 화합물 19 (INT6) (18 mg, 수율: 69%)를 수득하였다.

[0796]

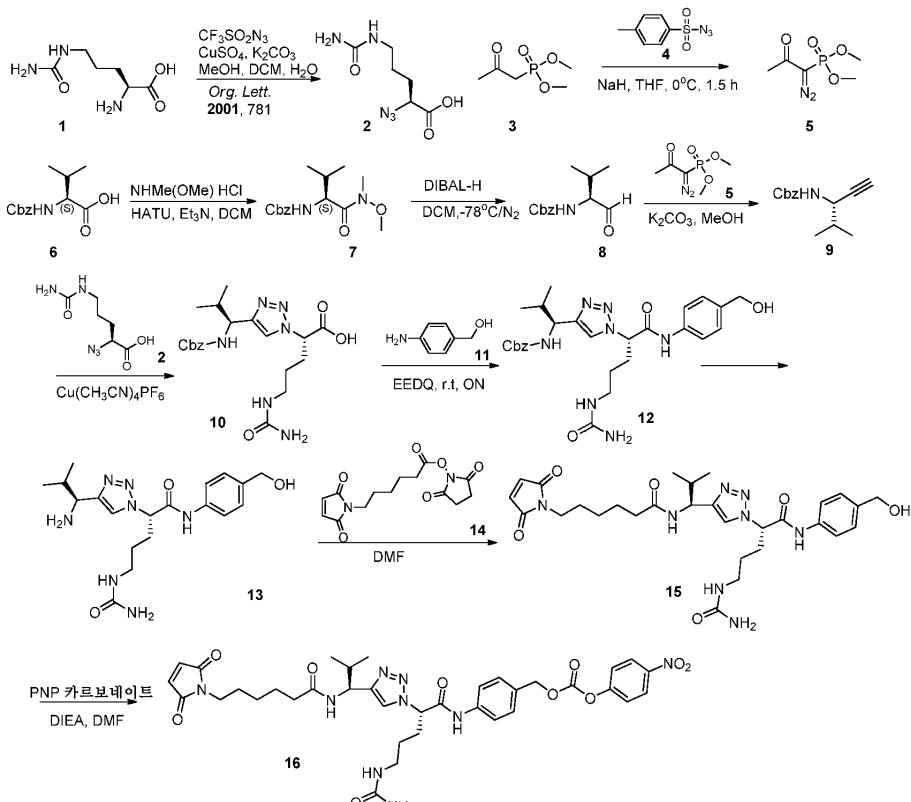
INT7의 합성

[0797]

4-((S)-2-((S)-1-(6-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)헥산아미도)-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-우레이도펜탄아미도)벤질 4-니트로페닐 카르보네이트

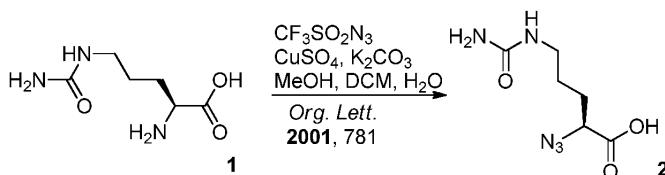
[0798]

반응식 3



[0799]

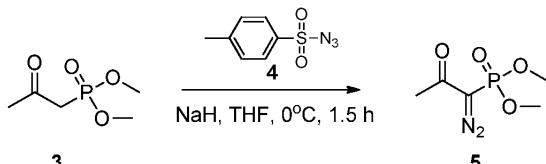
실험부



[0801]

NaN₃ (20 g, 285.7 mmol)의 용액을 증류된 H₂O (75 mL) 중에 용해시키고, DCM (100 mL)을 첨가하였다. 이것을 냉조에서 냉각시키고, Tf₂O (19.2 mL, 114.28 mmol)를 3시간 동안 교반을 계속하면서 30분에 걸쳐 천천히 첨가하였다. 혼합물을 분리 할때기에 넣고, CH₂Cl₂ 상을 수집하였다. 수성부를 CH₂Cl₂ (50 mL x 2)로 추출하였다. 트리플릴 아지드를 함유하는 유기 분획을 합하고, 포화 Na₂CO₃ (150 mL)으로 1회 세척하고, 추가 정제 없이 사

용하였다. 화합물 1 (10 g, 57.14 mmol)을 K_2CO_3 (11.83 g, 85.7 mmol), $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (1.43 g, 5.71 mmol) 중 류된 H_2O (50 mL) 및 MeOH (100 mL)와 합하였다. 상기 생성된 CH_2Cl_2 (120 mL) 중 트리플릴 아지드를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 후속적으로, 유기 용매를 감압 하에 제거하고, 수성 슬러리를 H_2O (100 mL)로 희석하였다. 이것을 진한 HCl을 사용하여 pH 6으로 산성화시키고, 0.2 M pH 6.2 포스페이트 완충제 (150 mL)로 희석하고, EtOAc (100 mLx3)로 세척하여 술품아미드 부산물을 제거하였다. 이어서, 수성 상을 진한 HCl을 사용하여 pH 2로 산성화시켰다. 이것을 EtOAc/MeOH (20:1) (100 mLx4)로 추출하였다. EtOAc/MeOH 추출물을 합하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 증발시켜 화합물 2를 추가 정제 없이 수득하였다 (10 g, 87%).

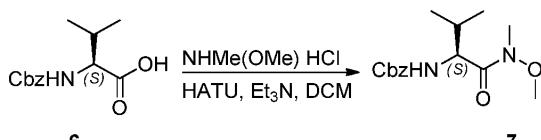


[0803]

[0804] 무수 THF (300 mL) 중 화합물 3 (18.00 g, 108.36 mmol)의 용액에 0°C에서 NaH (5.2 g, 130.03 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반한 다음, 화합물 4 (25.64 g, 130.03 mmol)를 혼합물 내로 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 0.5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 농축시키고, 실리카겔 (PE: EtOAc = 1:1) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 목적 생성물 (20 g, 96%)을 수득하였다.

[0805]

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.84 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.25 (s, 3H).

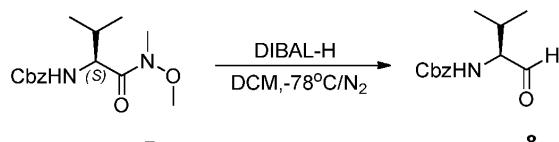


[0806]

[0807] 무수 DCM (150 mL) 중 화합물 6 (20.0 g, 79.59 mmol)의 혼합물에 Et_3N (24.16 g, 238.77 mmol) 및 HATU (45.40 g, 119.39 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반한 다음, $NHMe(OMe) HCl$ (11.65 g, 119.39 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 DCM으로 희석하고, 포화 수성 Na_2CO_3 (100 mL x 3), 포화 시트르산 (100 mL x 3) 및 염수 (100 mL)로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고, 농축시키고, 실리카겔 (PE: EtOAc = 10:1) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 목적 생성물 (20.0 g, 85.4%)을 수득하였다.

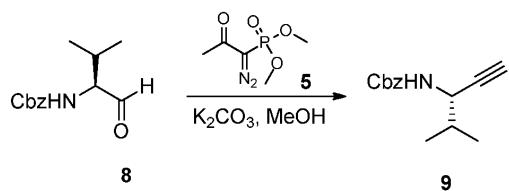
[0808]

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 7.97 (s, 1H), 7.73 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.36-7.29 (m, 5H), 6.01 (s, 1H), 5.40 (dd, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.08-4.99 (m, 2H), 4.58 (dd, $J = 2.8$ Hz, 1H), 2.99-2.94 (m, 2H), 2.21-2.02 (m, 4H), 1.02-1.33 (m, 2H), 0.86-0.77 (m, 6H).



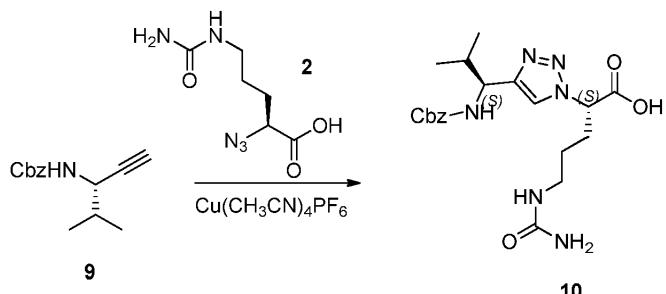
[0809]

[0810] 화합물 7 (12 g, 40.77 mmol)을 무수 DCM (40 mL) 중에 용해시키고, 생성된 용액을 드라이 아이스/아세톤 조를 이용하여 -78°C로 냉각시켰다. DIBAL-H (122.3 mL, 122.3 mmol, 톨루엔 중 1.0 M)를 적가하고, 생성된 용액을 -78°C에서 4시간 동안 교반하였다. 잉여 히드라이드를 -78°C에서 MeOH (40 mL)의 첨가에 의해 켄칭하고, 생성된 용액을 실온으로 가온하였다. 용액을 증발시켜 화합물 8 (~ 9.2 g, 96%)을 추가 정제 없이 수득하였다.



[0811]

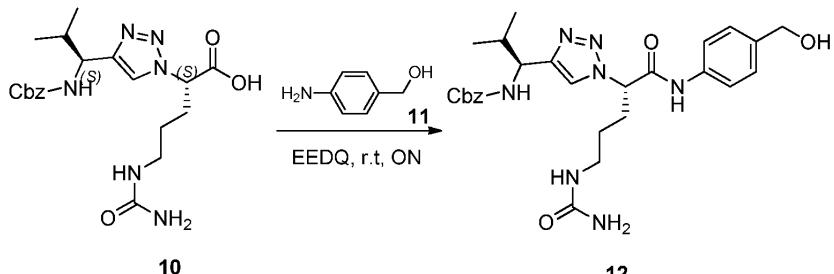
[0812] MeOH (150 mL) 중 화합물 8 (조 물질, ~9.2 g, 39.1 mmol) 및 화합물 5 (11.27 g, 58.65 mmol)의 용액에 K_2CO_3 (16.2 g, 117.3 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 진공 하에 농축시키고, 실리카 젤 (PE: EtOAc = 50: 1) 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 목적 생성물 (4 g, 44%)을 수득하였다.



[0813]

[0814] DMF (15 mL) 중 화합물 9 (4.0 g, 17.29 mmol) 및 화합물 2 (4.17 g, 20.75 mmol)의 용액에 $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$ (1.29 g, 3.46 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 60°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 정제하여 화합물 10 (5.0 g, 66.8%)을 수득하였다.

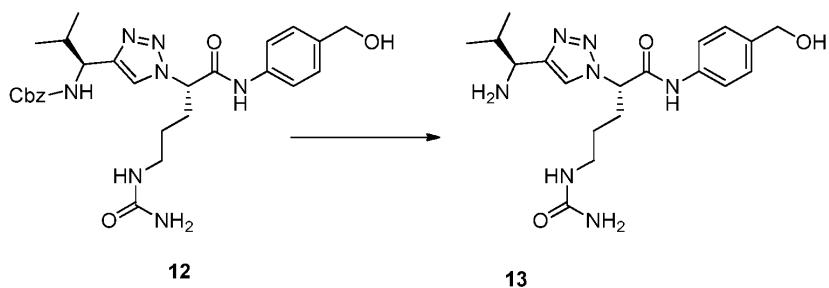
[0815] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.97 (s, 1H), 7.73 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.36-7.29 (m, 5H), 6.01 (s, 1H), 5.40 (dd, J = 5.2 Hz, 1H), 5.08-4.99 (m, 2H), 4.58 (dd, J = 2.8 Hz, 1H), 2.99-2.94 (m, 2H), 2.21-2.02 (m, 4H), 1.02-1.33 (m, 2H), 0.86-0.77 (m, 6H).



[0816]

[0817] DMF (15 mL) 중 화합물 10 (조 물질, ~3.8 g, 8.79 mmol)의 용액에 0°C에서 EEDQ (4.34 g, 17.58 mmol) 및 화합물 11 (1.62 g, 13.18 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 N₂ 하에 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 정제용 HPLC에 의해 정제하여 화합물 12 (650 mg, 13.7%)를 수득하였다.

[0818] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.52 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.72 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 7.33-7.23 (m, 7H), 6.01 (s, 1H), 5.47-5.43 (m, 3H), 5.04-4.96 (m, 2H), 4.59-4.54 (m, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.04-2.94 (m, 3H), 2.09-1.97 (m, 4H), 1.24 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 0.82-0.74 (m, 6H).

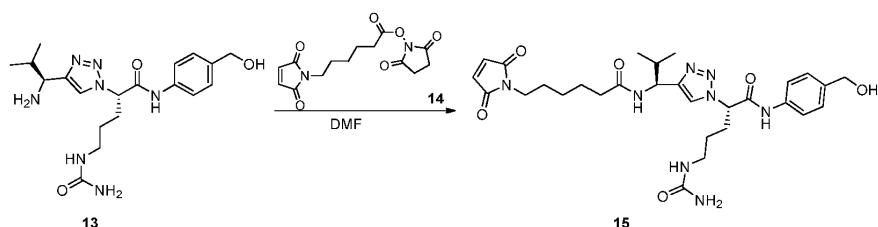


[0819]

[0820] MeOH (15 mL) 중 화합물 12 (650 mg, 1.21 mmol)의 반응물에 Pd/C (300 mg)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 H_2 하에 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여과물을 농축시켜 13 (450 mg, 92%)을 수득하였다.

[0821] LCMS (ESI): RT = 0.611분, $\text{M}+\text{H}^+$ = 404.0. 방법 = 5-95 / 1.5분.

[0822] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.55 (s, 1H), 8.03 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.4, 2H), 6.05 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 5.46-5.42 (m, 3H), 5.14 (s, 1H), 4.40 (s, 2H), 3.76 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 3.00-2.93 (m, 3H), 2.09-2.04 (m, 2H), 1.90-1.87 (m, 1H), 1.25-1.21 (m, 2H), 0.82-0.77 (m, 6H).



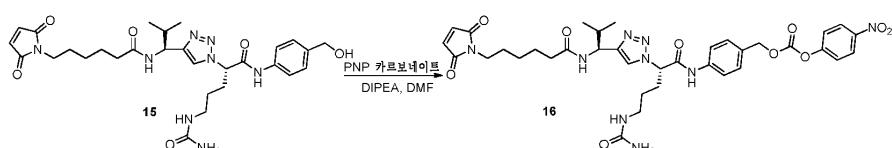
[0823]

[0824] 화합물 13 (390 mg, 0.965 mmol) 및 화합물 14 (327 mg, 1.06 mmol)를 16°C에서 DMF (10 mL) 중에 용해시켰다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공 하에 농축시키고, 칼럼 크로마토그래피 (PE/EtOAc=3/1)에 의해 정제하여 목적 생성물 15 (400 mg, 수율: 54%)를 수득하였다.

[0825]

LCMS: (5-95, AB, 1.5분), 0.726분, MS=597.1[M+1];

[0826] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.52 (s, 1H), 8.09 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.25 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.00 (s, 2H), 6.03 - 6.00 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.14 - 5.11 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 4.91 - 4.87 (m, 1H), 4.43 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 3.38 (s, 2H), 3.03 - 2.98 (m, 2H), 2.14 - 2.05 (m, 4H), 1.50 - 1.46 (m, 4H), 1.27 - 1.18 (m, 4H), 0.82 - 0.77 (m, 6H).



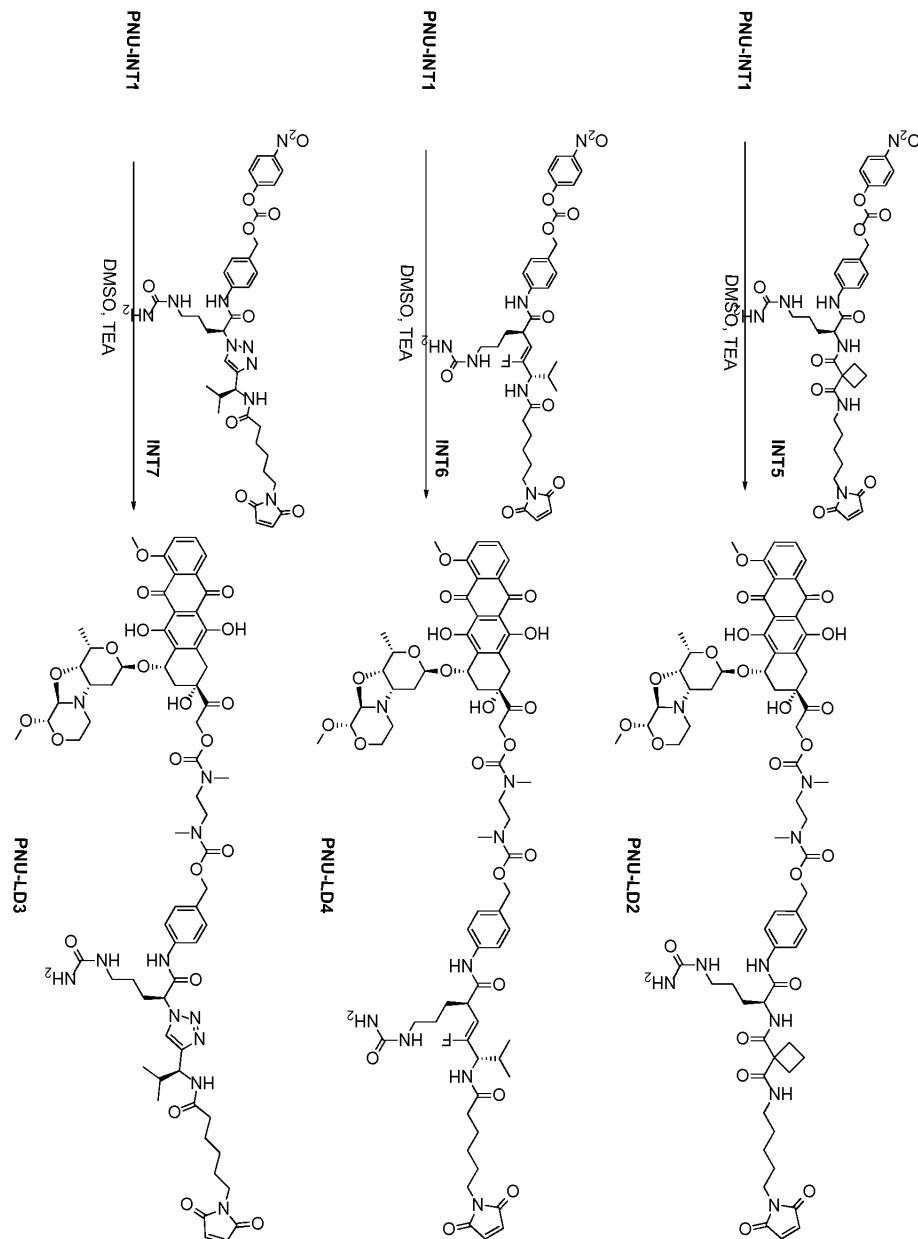
[0827]

[0828] 건조 DMF (2 mL) 중 화합물 15 (30 mg, 0.05 mmol)의 용액에 20°C에서 PNP 카르보네이트 (46 mg, 0.15 mmol) 및 DIPEA (13 mg, 0.101 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 하에 16°C에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 여과하고, 정제용-TLC (DCM/MeOH=10/1)에 의해 정제하여 16 (INT7) (25 mg, 수율: 65%)을 수득하였다.

[0829] 공통 중간체로부터의 PNU-LD2, PNU-LD3 및 PNU-LD4의 합성.

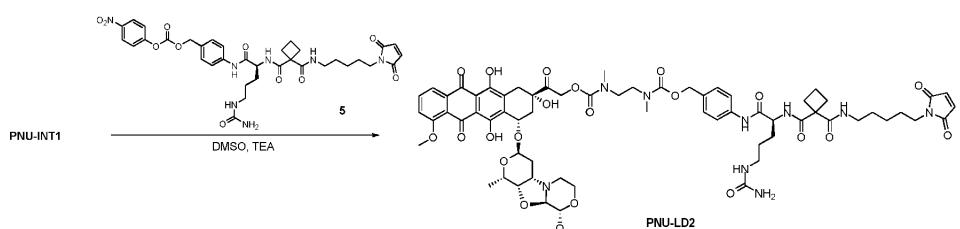
[0830]

반응식 4



[0831]

[0832] 단계 1:



[0833]

[0834]

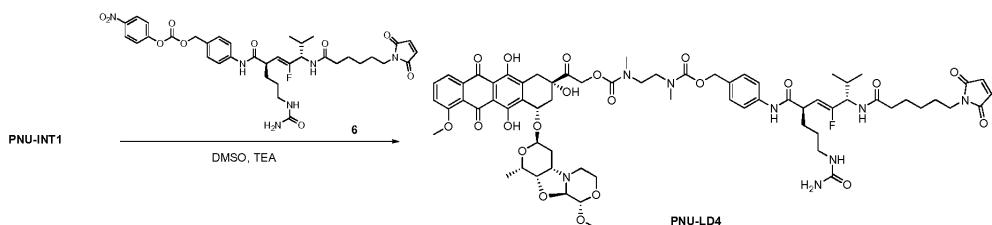
DMSO (1 mL) 중 PNU-INT1 (90.00 mg, 119.08 umol) 및 화합물 INT5 (131.42 mg, 178.63 umol)의 용액에 25°C에서 Et₃N (60.25 mg, 592.42 umol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반한 후, 이것을 H₂O (5 mL)로 희석하고, DCM/MeOH (10 mL/1 mL)로 2회 추출하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켜 조 생성물을 수득하였으며, 이를 정제용-TLC (DCM:MeOH = 10:1)에 의해 정제하여 목적 생성물 (50 mg, 31%) [4-[[2(S)-2-[[1-[5-(2,5-디옥소피롤-1-일)펜틸카르바모일]시클로부탄카르보닐]아미노]-5-우레아-도-펜타노

일]아미노]페닐]메틸 N-[2-[2-[2-[(2S,4S)-4-[(1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-메톡시]-1-메틸-3,4,4a,6,7,9,9a,10a-옥타하이드로-1H-페라노[1,2]옥사졸로[3,4-b][1,4]옥사진-3-일]옥시]-2,5,12-트리히드록시-7-메톡시-6,11-디옥소-3,4-디하이드로-1H-테트라센-2-일]-2-옥소-에톡시]카르보닐-메틸-아미노]에틸]-N-메틸-카르바메이트 PNU-LD2를 적색 고체로서 수득하였다.

[0835] LCMS: (10-80, AB, 3.0분), 1.948분, MS = 1352.5 [M+H]⁺;

[0836] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 13.82 (s, 1H), 13.20 (s, 1H), 7.96 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.71 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.23-7.10 (m, 2H), 6.61 (s, 2H), 5.4 (br, 1H), 5.2-4.4 (m, 10H), 4.01 (s, 6H), 3.53-3.33 (m, 14H), 3.16-2.50 (m, 19H), 1.94-1.18 (m, 22H).

[0837] 단계 2:

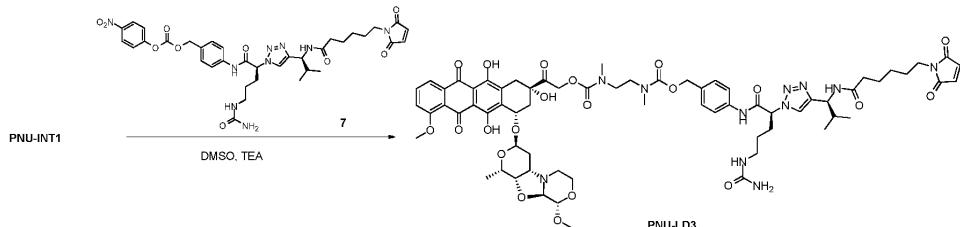


[0838]

[0839] DMSO (0.5 mL) 중 PNU-INT1 (11.00 mg, 14.55 umol) 및 화합물 INT6 (12.00 mg, 16.01 umol)의 용액에 25°C에서 Et₃N (7.36 mg, 72.75 umol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O (3 mL)로 희석하고, DCM/MeOH (5 mL / 0.5 mL)로 2회 추출하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켜 조 생성물을 수득하였으며, 이를 정제용-TLC (DCM:MeOH=10:1)에 의해 정제하여 목적 생성물 [4-[(Z,2R,5S)-5-[6-(2,5-디옥소페릴-1-일)헥사노일아미노]-4-플루오로-6-메틸-2-(3-우레이도프로필)헵트-3-에노일]아미노]페닐]메틸 N-[2-[2-[2-[(2S,4S)-4-[(1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-메톡시]-1-메틸-3,4,4a,6,7,9,9a,10a-옥타하이드로-1H-페라노[1,2]옥사졸로[3,4-b][1,4]옥사진-3-일]옥시]-2,5,12-트리히드록시-7-메톡시-6,11-디옥소-3,4-디하이드로-1H-테트라센-2-일]-2-옥소-에톡시]카르보닐-메틸-아미노]에틸]-N-메틸-카르바메이트 PNU-LD4 (6 mg, 31.17%)를 적색 고체로서 수득하였다.

[0840] LCMS: (10-80, AB, 3.0분), 1.894분, MS = 1366.5 [M+H]⁺;

[0841] 단계 3:



[0842]

[0843] DMSO (0.5 mL) 중 PNU-INT1 (22.00 mg, 29.11 umol) 및 화합물 INT7 (23.49 mg, 32.02 umol)의 용액에 25°C에서 Et₃N (14.73 mg, 145.55 umol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O (3 mL)로 희석하고, DCM/MeOH (5 mL/0.5 mL)로 2회 추출하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켜 조 생성물을 수득하였으며, 이를 정제용-TLC (DCM:MeOH=10:1)에 의해 정제하여 목적 생성물 [4-[(2S)-2-[4-[(1S)-1-[6-(2,5-디옥소페릴-1-일)헥사노일아미노]-2-메틸-프로필]트리아졸-1-일]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 N-[2-[2-[2-[(2S,4S)-4-[(1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-메톡시]-1-메틸-3,4,4a,6,7,9,9a,10a-옥타하이드로-1H-페라노[1,2]옥사졸로[3,4-b][1,4]옥사진-3-일]옥시]-2,5,12-트리히드록시-7-메톡시-6,11-디옥소-3,4-디하이드로-1H-테트라센-2-일]-2-옥소-에톡시]카르보닐-메틸-아미노]에틸]-N-메틸-카르바메이트 PNU-LD3 (14 mg, 34.89%)을 적색 고체로서 수득하였다.

[0844] LCMS: (10-80, AB, 3.0분), 1.938분, MS = 1378.5 [M+H]⁺;

[0845] ADC를 제조하는 방법

[0846] 환원 및 재산화에 의한 접합을 위한 시스테인 조작된 항체의 제조

[0847] 특정 조건 하에, 시스테인 조작된 항체는 환원제 예전대 DTT (클리랜드(Cleland) 시약, 디티오토레이톨) 또는 TCEP (트리스(2-카르복시에틸)포스핀 히드로클로라이드; 문헌 [Getz et al. (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; Soltec Ventures, Beverly, MA])로의 처리에 의해 본 발명의 링커-약물 중간체와의 접합에 반응성이도록 제조될 수 있다. CHO 세포에서 발현된 전장, 시스테인 조작된 모노클로날 항체 (티오Mab) (Gomez et al. (2010) Biotechnology and Bioeng. 105(4):748-760; Gomez et al. (2010) Biotechnol. Prog. 26:1438-1445)를 예를 들어 약 50배 과량의 DTT를 사용하여 실온에서 밤새 환원시켜 새로 도입된 시스테인 잔기와 배양 배지에 존재하는 시스테인 사이에 형성될 수 있는 디슬피드 결합을 환원시켰다.

[0848] 경쇄 아미노산은 카바트 (Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, (1991) 5th Ed., US Dept of Health and Human Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)에 따라 넘버링하였다. 중쇄 아미노산은 카바트 시스템으로 나타낸 경우를 제외하고는 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링하였다 (Edelman et al. (1969) Proc. Natl. Acad. of Sci. 63(1):78-85). 단일 문자의 아미노산 약어를 사용하였다.

[0849] CHO 세포에서 발현된 전장, 시스테인 조작된 모노클로날 항체 (티오Mab)는 시스테인 부가물 (시스틴)을 보유하거나, 또는 세포 배양 조건으로 인해 조작된 시스테인 상에서 글루타티오닐화된다. 조작된 시스테인의 반응성 티올 기를 유리시키기 위해, 티오Mab를 약 pH 8.0에서 500 mM 봉산나트륨 및 500 mM 염화나트륨 중에 용해시키고, 약 50-100배 과량의 1 mM TCEP (트리스(2-카르복시에틸)포스핀 히드로클로라이드 (Getz et al. (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; Soltec Ventures, Beverly, MA)로 37°C에서 약 1-2시간 동안 환원시켰다. 대안적으로, DTT를 환원제로서 사용할 수 있다. 쇄간 디슬피드 결합의 형성을 비-환원 SDS-PAGE 또는 변성 역상 HPLC PLRP 칼럼 크로마토그래피에 의해 모니터링하였다. 환원된 티오Mab를 희석하고, 10 mM 아세트산나트륨, pH 5 중에서 하이트랩(HiTrap) SP FF 칼럼 상에 로딩하고, 0.3 M 염화나트륨을 함유하는 PBS, 또는 150 mM 염화나트륨을 함유하는 50 mM 트리스-C1, pH 7.5로 용리하였다.

[0850] 재산화를 수행함으로써 모 Mab에 존재하는 시스테인 잔기 사이에 디슬피드 결합을 재확립시켰다. 용리된 환원된 티오Mab를 15X 또는 2 mM 데히드로아스코르브산 (dHAA)으로 pH 7에서 3시간 동안, 또는 50 mM 트리스-C1, pH 7.5 중에서 3시간 동안, 또는 2 mM 수성 황산구리 (CuSO_4)로 실온에서 밤새 처리하였다. 관련 기술분야에 공지된 다른 산화제, 즉 산화 작용제, 및 산화 조건이 사용될 수 있다. 주위의 공기 산화가 또한 효과적일 수 있다. 이 온화한 부분적 재산화 단계는 효율적으로 쇄내 디슬피드를 고충실도로 형성시킨다. 완충제를 세파덱스(Sephadex) G25 수지 상에서의 용리에 의해 교환하고, 1 mM DTPA를 함유하는 PBS로 용리시켰다. 상기 용액의 280 nm에서의 흡광도로부터 환원된 항체 농도를 결정하고, DTNB (알드리치(Aldrich), 위스콘신주 밀워키)와 반응시켜 412 nm에서의 흡광도를 측정하여 티올 농도를 결정함으로써 티올/Ab 값을 확인하였다.

[0851] 액체 크로마토그래피/질량 분광측정 분석을 확장된 질량 범위를 갖는 TSQ 퀀텀 트리플(Quantum Triple) 사중극자™ 질량 분광계 (써모 일렉트론(Thermo Electron), 캘리포니아주 산 호세) 상에서 수행하였다. 샘플을 75°C로 가열한 PRLP-S®, 1000 A, 소구경 칼럼 (50mm × 2.1mm, 폴리머 래보러토리즈(Polymer Laboratories), 영국 슈롭셔) 상에서 크로마토그래피하였다. 30-40% B (용매 A: 물 중 0.05% TFA, 용매 B: 아세토니트릴 중 0.04% TFA)의 선형 구배를 사용하였고, 용리액은 전기분무 공급원을 사용하여 직접 이온화하였다. 데이터는 엑스칼리버(Xcalibur)® 데이터 시스템에 의해 수집하였고, 디컨볼루션은 프로매스(ProMass)® (노바티아, 엘엘씨 (Novatia, LLC), 뉴저지주)를 사용하여 수행하였다. LC/MS 분석 전에, 항체 또는 약물 접합체 (50 마이크로그램)를 PNGase F (2 단위/mL, 프로자임(PROzyme), 캘리포니아주 산 레안드로)로 37°C에서 2시간 동안 처리하여 N-연결된 탄수화물을 제거하였다.

[0852] 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC) 샘플을 부틸 HIC NPR 칼럼 (2.5 마이크로미터 입자 크기, 4.6 mm × 3.5 cm) (도소 바이오사이언스(Tosoh Bioscience))에 주입하고, 0에서 70% B, 0.8 mL/분의 선형 구배 (A: 50 mM 인산칼륨, pH 7 중 1.5 M 황산암모늄, B: 50 mM 인산칼륨 pH 7, 20% 이소프로판올)로 용리하였다. 다중 파장 검출기 및 켐스테이션(Chemstation) 소프트웨어가 장착된 애질런트(Agilent) 1100 시리즈 HPLC 시스템을 사용하여 항체당 다양한 비의 약물을 갖는 항체 종을 분석하고 정량화하였다. 시스테인 조작된 본 발명의 항체는 상기 기재된 일반적 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0853] 항체에 대한 링커-약물 중간체의 접합 (절차 1)

[0854] 조작된 항체 시스테인을 CHO 세포에서 발현된 글루타티온 및/또는 시스테인과의 혼합 디슬피드로서 차단하였다.

이들 시스테인은 접합 전에 "탈차단"되어야 한다.

[0855] 20 mM 숙시네이트, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA 중 탈차단된 항체 (5-12 mg/mL)를 75-100 mM 트리스, pH 7.5-8로 만들었다 (1M 트리스 사용). 공용매 (DMSO, DMF 또는 DMA)를 항체 용액에 첨가하고, 이어서 링커-약물 (DMSO 또는 DMF 중)을 첨가하여 10-13%의 최종 %-유기 용매 및 항체 농도에 대해 링커-약물 2.5-10X의 최종 농도를 수득하였다. 반응을 1-12시간 동안 (최대 접합이 달성될 때까지) 실온에서 진행되도록 하였다. 접합 반응물을 양이온 교환 크로마토그래피 및/또는 겔 여과를 통해 일회용 칼럼 (각각 S 맥시(S maxi) 또는 제바(Zeba))을 사용하여 정제하였다. 분석용 SEC에 따라 조 접합체가 유의하게 응집되면 (예를 들어, >10%) 정제용 겔 여과 (S200 칼럼)에 의한 추가의 정제를 수행하였다. 후속적으로, 접합체를 겔 여과 또는 투석을 사용하여 제제 완충제 (20 mM His-아세테이트, pH 5.5, 240 mM 수크로스)으로 교환하였다. 후속적으로, 트윈-20을 정제된 접합체에 첨가하여 0.02%의 최종 농도에 도달하였다. 최종 접합체 농도는 2.4 내지 7.5 mg/ml 범위였다 (%수율: 탈차단된 항체로부터 34-81%). 접합체를 LCMS에 의해 분석하여 약물-항체 비 (DAR)를 측정하였으며, 이는 1.3 내지 2.1 범위였다 (평균: 1.8). 접합체를 또한 분석용 SEC (제닉스(Zenix) 또는 쇼덱스(Shodex) 칼럼)를 사용하여 고분자량 응집체의 존재에 대해 분석하였으며; 최종 정제된 접합체는 0-10% 범위의 응집을 나타내었다. 접합체를 또한 내독소 오염에 대해 평가하였으며, 모든 경우에 1.3 EU/mg을 초과하지 않았다. 유리, 비접합 약물은 최종 접합체의 1%를 초과하지 않았다.

[0856] 항체에 대한 링커-약물 중간체의 접합 (절차 2, 대안적 절차)

[0857] 상기 실시예의 환원 및 재산화 절차 후에, 항체를 PBS (포스페이트 완충 염수) 완충제 중에 용해시키고, 얼음 상에서 냉각시켰다. 과량의, 약 1.5 몰 내지 20 당량의 링커-약물 중간체와 티올-반응성 관능기 예컨대 말레이미도 또는 브로모-아세트아미드를 DMSO 중에 용해시키고, 아세토니트릴 및 물 중에 희석하고, PBS 중 냉각 환원된, 재산화된 항체에 첨가하였다. 약 1시간 후, 과량의 말레이미드를 첨가하여 반응물을 켄칭하고, 임의의 미반응 항체 티올 기를 캡핑하였다. 접합체 혼합물을 로딩하고, 하이트랩 SP FF 칼럼을 통해 용리하여 잉여 약물-링커 중간체 및 다른 불순물을 제거할 수 있다. 반응 혼합물을 원심 한외여과에 의해 농축시키고, 시스테인 조작된 항체 약물 접합체를 PBS 중 G25 수지를 통한 용리에 의해 정제 및 탈염하고, 멸균 조건 하에 0.2 μ m 필터를 통해 여과하고 냉동시켜 저장하였다.

[0858] 본 발명의 ADC는 상기 섹션에 기재된 절차에 따라 제조될 수 있다.

[0859] 검정

[0860] 이어서, 선택 링커를 시험하였으며, 시험관내 및 생체내 검정에서 활성인 것으로 확인되었다. 절단 데이터가 하기 표에 제시된다

[0861] 카텝신 B 절단 검정

[0862] 웨პ티드 링커와 같이, ADC에 대한 비-웨პ티드 링커는 적절한 약물 방출을 위해 리소솜에서 절단가능할 것으로 예상된다. 세포의 소화 소기관으로서, 리소솜을 산성 pH에서 최적 가수분해 활성을 나타내는 일부 프로테아제로 풍부화하였다. 카텝신 B는 대표적인 리소솜 프로테아제이며, ADC 웨პ티드 링커 (ref)의 활성화에 기여하는 것으로 밝혀진 바 있다. 초기 스크린으로서, 항체와의 접합에 적합한 절단가능한 링커-약물 구축물을 확인하기 위해 정제된 카텝신 B를 사용한 검정을 개발하였다. 노르플록사신을 링커-약물의 약물 성분을 나타내도록 사용하였다. 주어진 시점에서의 대조군 웨პ티드 (예컨대 Val-Cit)에 대한 절단의 백분율, 뿐만 아니라 절단 반응의 동역학적 파라미터 (K_m 및 V_{max})를 측정하였다. 검정의 상세한 설명이 하기 제시된다. 본 검정으로부터, 다양한 단백질분해적으로 활성이며 구조적으로 다양한 링커를 확인하고, 이후 ADC의 제조에 사용하였다.

[0863] 실험 링커-약물을 기질로 사용한 카텝신 B 절단 활성을 LC/MS를 사용하여 노르플록사신의 방출을 모니터링함으로써 측정하였다. 다양한 농도의 링커-약물 (3배 연속 희석물)을 20 nM 카텝신 B (EMD 밀리포어(EMD Millipore) 카탈로그 #219364, 인간 간), 10 mM MES pH 6.0, 1 mM DTT, 0.03% CHAPS 및 25 nM 노르플록사신-d5 내부 표준 (산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology), 카탈로그 #sc-301482)을 함유하는 20 μ L 반응물 중에서 인큐베이션하였다. 반응물을 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 이어서 2% 포름산 60 μ L를 첨가하여 반응물을 켄칭하였다. 워터스 액큐티(Waters Acuity) UPLC BEH 페닐 칼럼 (2.1 mm x 50 mm, 워터스 카탈로그 #186002884) 상에 정지된 반응물 2 μ L를 주입함으로써 샘플을 분석하였다. 워터스 액큐티 UPLC 상에서 아세토니트릴, 0.1% 포름산의 선형 2분 구배 (0%에서 80%)를 사용하여 샘플을 정제하였다. 노르플록사신 및 노르플록사신-d5 내부 표준을 양성 MRM 모드로 작동하는 AB 사이엑스 Q트랩 5500(AB Sciex QTrap 5500) 삼중 사중극자 질량 분광계를 사용하여 검출하였다 (노르플록사신 320→233 m/z, 노르플록사신-d5 325→233

m/z). 정량화된 노르플록사신 (내부 표준으로 정규화됨)을 링커-약물 농도에 대해 플롯팅하였으며, 생성된 플롯은 동역학적 상수 Km 및 Vmax에 대해 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 소프트웨어를 사용하여 미카엘리스-멘텐(Michaelis-Menten) 피트로 피팅된 곡선이었다.

[0864] 시험관내 세포 증식 검정

[0865] ADC의 효능을 하기 프로토콜을 이용하여 세포 증식 검정에 의해 측정하였다 (셀타이터 글로(CELLTITER GLO)TM 발광 세포 생존율 검정, 프로메가 코포레이션(Promega Corp.) 기술 회보 TB288; Mendoza et al. (2002) Cancer Res. 62:5485-5488):

[0866] 1. 배지 중에 약 10⁴ 개의 세포 (SKBR-3, BT474, MCF7 또는 MDA-MB-468)를 함유하는 세포 배양물 100 μl의 분취물을 96-웰, 불투명-벽 플레이트의 각 웰에 침착시켰다.

[0867] 2. 배지를 함유하며 세포는 함유하지 않는 대조군 웰을 제조하였다.

[0868] 3. ADC를 실험 웰에 첨가하고, 3-5일 동안 인큐베이션하였다.

[0869] 4. 플레이트를 대략 30분 동안 실온으로 평형화시켰다.

[0870] 5. 각 웰에 존재하는 세포 배양 배지의 부피와 동등한 부피의 셀타이터-글로TM 시약을 첨가하였다.

[0871] 6. 내용물을 오비탈 진탕기 상에서 2분 동안 혼합하여 세포 용해를 유도하였다.

[0872] 7. 플레이트를 실온에서 10분 동안 인큐베이션하여 발광 신호를 안정화시켰다.

[0873] 8. 발광을 기록하고, RLU = 상대적 발광 단위로서 그래프로 보고하였다.

[0874] 데이터를 표준 편차 오차 막대와 함께 각 세트의 반복에 대한 발광의 평균으로서 플롯팅하였다. 프로토콜은 셀타이터 글로TM 발광 세포의 변형이었다.

[0875] 배지: SK-BR-3을 50/50/10%FBS/글루타민 중에서 성장시키고/250 μg/mL G-418 OVCAR-3을 RPMI/20%FBS/글루타민에서 성장시켰다.

[0876] 생체내 검정

[0877] 1. 항-CD33 항체-약물 접합체 (ADC)의 효능을 HL-60 또는 EOL-1 (인간 급성 골수성 백혈병)의 마우스 이종이식 편 모델에서 조사하였다. HL-60 세포주는 ATCC (아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션(American Type Culture Collection); 베지니아주 마나사스)로부터 입수하였고, EOL-1 세포주는 DSMZ (저먼 컬렉션 오브 마이크로오가니즘스 앤드 셀 컬쳐스(German Collection of Microorganisms and Cell Cultures); 독일 브라운슈바이크)로부터 유래되었다.

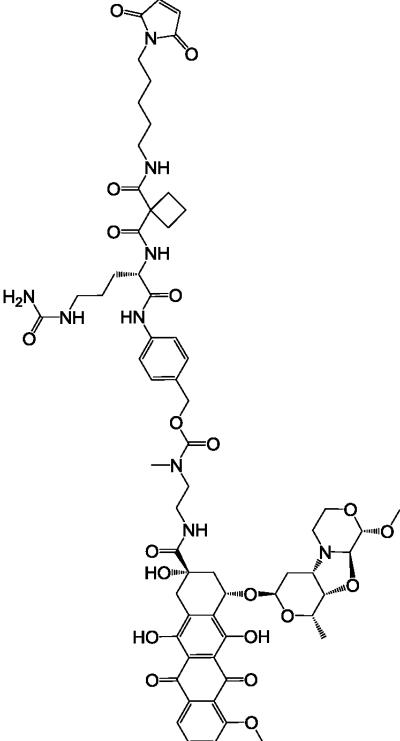
[0878] 암컷 C.B-17 SCID 마우스 (찰스 리버 래보러토리즈; 캘리포니아주 홀리스터) 각각의 측복부 영역에 HL-60 또는 EOL-1의 5백만개의 세포를 피하로 접종하였다. 이종이식 종양이 100-300 mm³의 평균 종양 부피에 도달하면 (제0일로 지칭됨), 동물을 각각 7-10마리 마우스의 군으로 무작위 배정하고, ADC의 단일 정맥내 주사를 제공하였다. ADC 투여 대략 4시간 전에, 동물에게 과량 (30mg/kg)의 항-gD 대조 항체를 복강내로 투여하여 종양 세포 상의 가능한 비특이적 항체 결합 부위를 차단하였다. 마우스의 종양 및 체중을 연구 전반에 걸쳐 주 1-2회 측정하였다. 체중 감소가 그의 출발 체중의 >20%인 경우에 마우스를 즉시 안락사시켰다. 종양이 3000 mm³에 도달하기 전에 또는 절박 궤양화의 징후를 나타내기 전에 모든 동물을 안락사시켰다.

[0879] 2. 항-Napi2B 항체-약물 접합체 (ADC)의 효능을 OVCAR3-X2.1 (인간 난소암)의 마우스 이종이식편 모델에서 조사하였다. OVCAR3 세포주는 ATCC (아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션; 베지니아주 마나사스)로부터 입수하였고, 마우스에서의 최적 성장을 위해 하위-세포주 OVCAR3-X2.1을 제넨테크(Genentech)에서 생성하였다.

[0880] 암컷 C.B-17 SCID-베이지 마우스 (찰스 리버 래보러토리즈(Charles River Laboratories); 캘리포니아주 샌디에고) 각각의 흉부 유방 지방 패드 영역에 10백만개의 OVCAR3-X2.1 세포를 접종하였다. 이종이식 종양이 100-300 mm³의 평균 종양 부피에 도달하면 (제0일로 지칭함), 동물을 각각 7-10마리 마우스의 군으로 무작위 배정하고, ADC의 단일 정맥내 주사를 제공하였다. 마우스의 종양 및 체중을 연구 전반에 걸쳐 주 1-2회 측정하였다. 체중 감소가 그의 출발 체중의 >20%인 경우에 마우스를 즉시 안락사시켰다. 종양이 3000 mm³에 도달하기 전에 또는 절박 궤양화의 징후를 나타내기 전에 모든 동물을 안락사시켰다.

- [0881] 3. 항-CD22 항체-약물 접합체 (ADC)의 효능을 BJAB-luc (인간 벼킷 림프종) 또는 WSU-DLCL2 (인간 미만성 대B-세포 림프종)의 마우스 이종이식편 모델에서 조사하였다. BJAB 세포주는 DSMZ (저먼 콜렉션 오브 마이크로오가니즘스 앤드 셀 컬처스; 독일 브라운슈바이크)로부터 입수하였고, 루시페라제 유전자를 안정하게 발현하도록 하위-세포주 BJAB-luc를 제넨테크에서 생성하였다. WSU-DLCL2 세포주가 또한 DSMZ로부터 기원하였다.
- [0882] 암컷 C.B-17 SCID 마우스 (찰스 리버 래보리토리즈; 캘리포니아주 홀리스터) 각각의 측복부 영역에 BJAB-luc 또는 WSU-DLCL2의 20백만개의 세포를 피하로 접종하였다. 이종이식 종양이 $100\text{-}300 \text{ mm}^3$ 의 평균 종양 부피에 도달하면 (제0일로 지정됨), 동물을 각각 7-10마리 마우스의 군으로 무작위 배정하고, ADC의 단일 정맥내 주사를 제공하였다. 마우스의 종양 및 체중을 연구 전반에 걸쳐 주 1-2회 측정하였다. 체중 감소가 그의 출발 체중의 >20%인 경우에 마우스를 즉시 안락사시켰다. 종양이 3000 mm^3 에 도달하기 전에 또는 절박 케양화의 징후를 나타내기 전에 모든 동물을 안락사시켰다.
- [0883] 4. 항-Her2 항체-약물 접합체 (ADC)의 효능을 MMTV-HER2 창시자 #5 (뮤린 유방 종양)의 마우스 동종이식편 모델에서 조사하였다. MMTV-HER2 창시자 #5 (Fo5) 모델 (제넨테크에 개발됨)은 뮤린 유방 종양 바이러스 프로모터 (MMTV-HER2)의 전사 조절 하에 인간 HER2 유전자가 유방 상피에서 과다발현되는 트랜스제닉 마우스 모델이다. 과다발현은 인간 HER2 수용체를 과다발현하는 유방 종양의 자발적 발생을 초래한다. 창시자 동물 (창시자 #5, Fo5) 중 하나로부터의 유방 종양을 종양 단편의 연속 이식에 의해 FVB 마우스 (찰스 리버 래보리토리즈)에 전파시켰다.
- [0884] 효능 연구를 위해, Fo5 트랜스제닉 유방 종양을 대략 $2\text{mm} \times 2\text{mm}$ 크기의 종양 단편으로서 암컷 nu/nu 마우스 (찰스 리버 래보리토리즈; 캘리포니아주 홀리스터)의 흉부 유방 지방 패드 내로 외과적으로 이식하였다. 이종이식 종양이 $100\text{-}300 \text{ mm}^3$ 의 평균 종양 부피에 도달하면 (제0일로 지정됨), 동물을 각각 7-10마리 마우스의 군으로 무작위 배정하고, ADC의 단일 정맥내 주사를 제공하였다. 마우스의 종양 및 체중을 연구 전반에 걸쳐 주 1-2회 측정하였다. 체중 감소가 그의 출발 체중의 >20%인 경우에 마우스를 즉시 안락사시켰다. 종양이 3000 mm^3 에 도달하기 전에 또는 절박 케양화의 징후를 나타내기 전에 모든 동물을 안락사시켰다.
- [0885] 생물학적 데이터

[0886] 본원에 기재된 일반적 절차에 따라 제조된 ADC 링커-약물 구조

실시 예	상용하 는 ADC	구조	명칭
PNU- LD1			[4-[(2S)-2-[[1-[5-(2,5-디옥소파롤-1-일)펜틸카르바모일]시클로부탄카르보닐]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 N-[2-[(2S,4S)-4-[[1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-메톡시]-1-메틸-3,4,4a,6,7,9,9a,10a-옥타하드로-1H-페라노[1,2]옥사졸로[3,4-b][1,4]옥사진-3-일]옥시]-2,5,12-트리하드록시-7-메톡시-6,11-디옥소-3,4-디히드로-1H-테트라센-2-카르보닐]아미노]에틸]-N-메틸-카르바메이트

[0887]

PNU-LD2	CD33 PNU ADC2-2 및 MUC16 PNU ADC2-4		[4-[(2S)-2-[[1-[5-(2,5-디옥소페롤-1-일)펜틸카르바모일]시클로부тан카르보닐]아미노]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 N-[2-[[2-[(2S,4S)-4-[[[1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-메톡시-1-메틸-3,4,4a,6,7,9,9a,10a-옥타히드로-1H-페라노[1,2]옥사졸로[3,4-b][1,4]옥사진-3-일]옥시]-2,5,12-트리히드록시-7-메톡시-6,11-디옥소-3,4-디히드로-1H-테트라센-2-일]-2-옥소-에톡시]카르보닐-메틸-아미노]에틸]-N-메틸-카르바메이트
---------	--	--	--

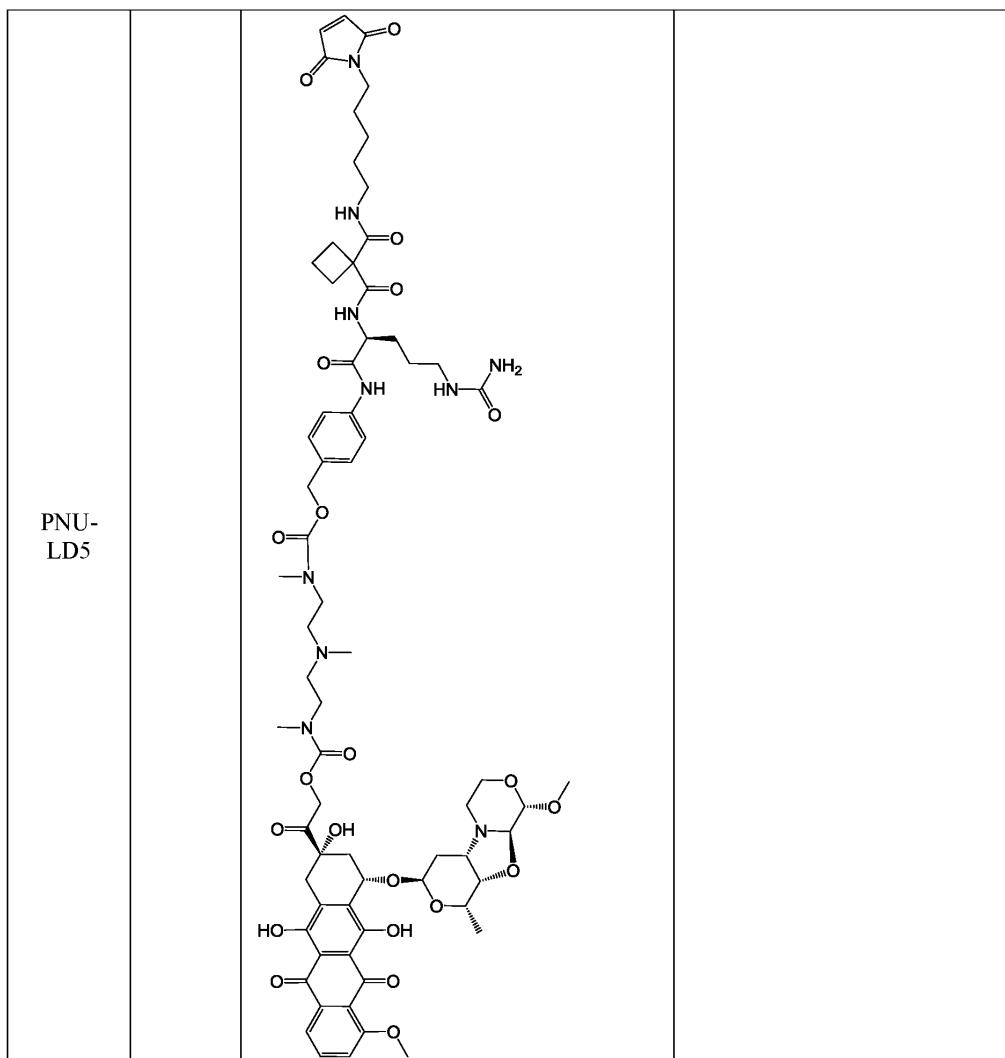
[0888]

PNU-LD3	NaPi2b PNU ADC3-1 및 CD33 PNU ADC3-2		[4-[(2S)-2-[[4-[(1S)-1-[6-(2,5-디옥소페롤-1-일)헥사노일]아미노]-2-메틸-프로필]트리아졸-1-일]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 N-[2-[[2-[(2S,4S)-4-[[[1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-메톡시-1-메틸-3,4,4a,6,7,9,9a,10a-옥타히드로-1H-페라노[1,2]옥사졸로[3,4-b][1,4]옥사진-3-일]옥시]-2,5,12-트리히드록시-7-메톡시-6,11-디옥소-3,4-디히드로-1H-테트라센-2-일]-2-옥소-에톡시]카르보닐-메틸-아미노]에틸]-N-메틸-카르바메이트
---------	---	--	--

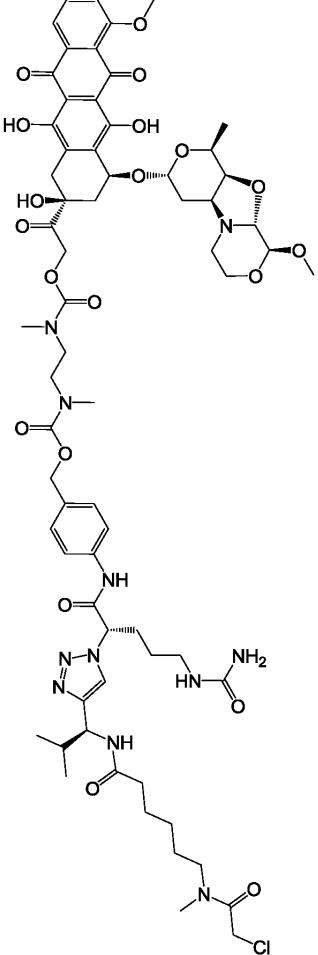
[0889]

PNU-LD4	NaPi2b PNU ADC4-1, 및 CD33 PNU ADC4-2		[4-[(Z,2R,5S)-5-[6-(2,5-디옥소페롤-1-일)헥사노일아미노]-4-플루오로-6-메틸-2-(3-우레이도프로필)헵트-3-에노일]아미노]페닐]메틸 N-[2-[[2S,4S]-4-[(1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-메톡시]-1-메틸-3,4,4a,6,7,9,9a,10a-옥타히드로-1H-페라노[1,2]옥사졸로[3,4-b][1,4]옥사진-3-일]옥시]-2,5,12-트리히드록시-7-메톡시-6,11-디옥소-3,4-디히드로-1H-테트라센-2-일]-2-옥소-에톡시]카르보닐-메틸-아미노]에틸]-N-메틸-카르바메이트
---------	---	--	--

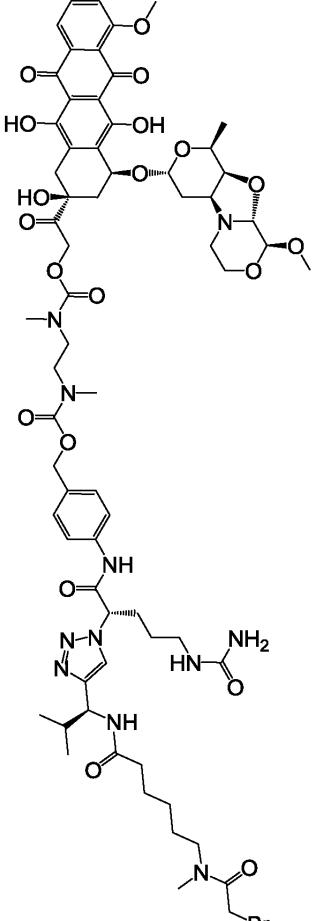
[0890]



[0891]

PNU-LD6		<p>[4-[[2S)-2-[4-[(1S)-1-[6-[(2-클로로아세틸)-메틸-아미노]헥사노일아미노]-2-메틸-프로필]트리아졸-1-일]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 N-[2-[(2S,4S)-4-[(1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-메톡시-1-메틸-3,4,4a,6,7,9,9a,10a-옥타히드로-1H-페라노[1,2]옥사졸로[3,4-b][1,4]옥사진-3-일]옥시]-2,5,12-트리히드록시-7-메톡시-6,11-디옥소-3,4-디히드로-1H-테트라센-2-일]-2-옥소-에톡시]카르보닐-메틸-아미노]에틸]-N-메틸-카르바메이트</p>
---------	--	---

[0892]

PNU-LD7		<p>[4-[(2S)-2-[4-[(1S)-1-[6-[(2-브로모아세틸)-메틸-아미노]헥사노일아미노]-2-메틸-프로필]트리아졸-1-일]-5-우레이도-펜타노일]아미노]페닐]메틸 N-[2-[(2S,4S)-4-[(1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-메톡시-1-메틸-3,4,4a,6,7,9,9a,10a-옥타하이드로-1H-페라노[1,2]옥사졸로[3,4-b][1,4]옥사진-3-일]옥시]-2,5,12-트리하이드록시-7-메톡시-6,11-디옥소-3,4-디하이드로-1H-테트라센-2-일]-2-옥소-에톡시]카르보닐-메틸-아미노]에틸]-N-메틸-카르바메이트</p>
---------	--	--

[0893]

서열

[0894]

NaPi2b 인간화 항체:

[0895]

한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 NaPi2b 항체는 3개의 경쇄 초기변 영역 및 3개의 중쇄 초기변 영역 (서열 1-6)을 포함하며, 이를 서열이 하기 제시된다.

[0896]

한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 NaPi2b 항체는 서열 7의 가변 경쇄 서열 및 서열 8의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

[0898] 한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 NaPi2b 항체는 서열 9의 경쇄 서열 및 서열 10의 중쇄 서열을 포함한다.

10H1.11.4B HVR-L1	RSSETLVHSSGNTYLE	서열 1
10H1.11.4B HVR-L2	RVSNRFS	서열 2
10H1.11.4B HVR-L3	FQGSFNPLT	서열 3
10H1.11.4B HVR-H1	GFSFSDFAMS	서열 4
10H1.11.4B HVR-H2	ATIGRVAFHHTYYPDPSMKG	서열 5
10H1.11.4B HVR-H3	ARHRGFDVGHFDF	서열 6
10H1.11.4B V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSETLVHSSGNTYLEWYQQK PGKAPKLLIYRVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCFQGSFNPLTFGQGTKVEIKR	서열 7
10H1.11.4B V _H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSDFAMSWVRQAPGK GLEWVATIGRVAFHHTYYPDPSMKGRTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARHRGFDVGHFDFWGQGTLVTVSS	서열 8
10H1.11.4B 경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSETLVHSSGNTYLEWYQQK PGKAPKLLIYRVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCFQGSFNPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSTTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	서열 9
10H1.11.4B 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSDFAMSWVRQAPGK GLEWVATIGRVAFHHTYYPDPSMKGRTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARHRGFDVGHFDFWGQGTLVTVSSCSTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	서열 10

[0899]

[0900] 항-CD33 인간화 항체:

[0901]

한 실시양태에서, 본 발명의 항-CD33 항체는 3개의 경쇄 초기변 영역 및 3개의 중쇄 초기변 영역을 포함하며, 이들 서열 (서열 11-16)이 하기 제시된다.

[0902]

한 실시양태에서, 본 발명의 항-CD33 항체는 서열 17의 가변 경쇄 서열 및 서열 18의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

15G15.33-HVR L1	RSSQSLLHSNGYNYLD	서열 11
15G15.33-HVR L2	LGVNSVS	서열 12
15G15.33-HVR L3	MQALQTPWWT	서열 13
15G15.33-HVR H1	NHAIS	서열 14
15G15.33-HVR H2	GIIPIFGTANYAQKFQG	서열 15
15G15.33-HVR H3	EWADVFID	서열 16
15G15.33 V _L	EIVLTQSPLSLPVTPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQK PGQSPQLLIYLGVNSVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCMQALQTPWTFGQGTTKEIK	서열 17
15G15.33 V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGIFSNHAISWVRQAPG QGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAFMELSS LRSEDTAVYYCAREWADVFDIWGQGTMVTVSS	서열 18

[0903]

[0904] 한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열 19의 경쇄 서열 및 서열 20의 중쇄 서열을 포함한다.

[0905]

[0905] 한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 3개의 경쇄 초가변 영역 및 3개의 중쇄 초가변 영역을 포함하며, 이들 서열 (서열 19-24)이 하기 제시된다.

[0906]

[0906] 한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열 25의 가변 경쇄 서열 및 서열 26의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

[0907]

[0907] 한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열 27의 가변 경쇄 서열 및 서열 28의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

[0908]

[0908] 한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열 29의 가변 경쇄 서열 및 서열 30의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

[0909]

[0909] 한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열 31의 가변 경쇄 서열 및 서열 32의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

9C3-HVR L1	RASQGIRNDLG	서열 19
9C3-HVR L2	AASSLQS	서열 20
9C3-HVR L3	LQHNSYPWT	서열 21
9C3-HVR H1	GNYMS	서열 22
9C3-HVR H2	LIYSGDSTYYADSVKG	서열 23
9C3-HVR H3	DGYYVSDMVV	서열 24
9C3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQK PGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQP EDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKEIK	서열 25
9C3 V _H	EVQLVESGGALIQPQGSLRLSCVASGFTISGNYMSWVRQ APGKGLEWVSLIYSGDSTYYADSVKGRFNISRDISKNTVY LQMNSLRVEDTAVYYCVRDGYYVSDMVVWGKTTVT VSS	서열 26
9C3.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQK PGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQP EDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKEIK	서열 27
9C3.2 V _H	EVQLVESGGALIQPQGSLRLSCVASGFTISGNYMSWVRQ APGKGLEWVSLIYSGDSTYYADSVKGRFTISRDISKNTVY LQMNSLRVEDTAVYYCVRDGYYVSDMVVWGKTTVT VSS	서열 28
9C3.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQK PGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQP EDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKEIK	서열 29
9C3.3 V _H	EVQLVESGGALIQPQGSLRLSCVASGFTISGNYMSWVRQ APGKGLEWVSLIYSGDSTYYADSVKGRFSISRDISKNTVY LQMNSLRVEDTAVYYCVRDGYYVSDMVVWGKTTVT VSS	서열 30
9C3.4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQK PGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQP EDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKEIK	서열 31
9C3.4 V _H	EVQLVESGGALIQPQGSLRLSCVASGFTISGNYMSWVRQ APGKGLEWVSLIYSGDSTYYADSVKGRFAISRDISKNTVY LQMNSLRVEDTAVYYCVRDGYYVSDMVVWGKTTVT VSS	서열 32

[0910]

항-CD22 인간화 항체 :

[0911]

한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD22 항체는 3개의 경쇄 초기면 영역 및 3개의 중쇄 초기면 영역 (서열 41-46)을 포함하며, 이들 서열이 하기 제시된다.

[0912]

한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD22 항체는 서열 47의 가변 경쇄 서열 및 서열 48의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

[0914]

한 실시양태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD22 항체는 서열 49의 경쇄 서열 및 서열 50의 중쇄 서열을 포함한다.

h10F4.V3.K149C HVR-L1	RSSQSIVHSVGNNTFLE	서열 41
h10F4.V3.K149C HVR-L2	KVSNRFS	서열 42
h10F4.V3.K149C HVR-L3	FQGSQFPYT	서열 43
h10F4.V3.K149C HVR-H1	GYEFSRSWMN	서열 44
h10F4.V3.K149C HVR-H2	RIYPGDGDTNYSGKFKG	서열 45
h10F4.V3.K149C HVR-H3	DGSSWDWYFDV	서열 46
V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSIVHSVGNNTFLEWYQQKP GKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCFQGSQFPYTFGQGKVEIKR	서열 47
h10F4.V3.K149C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYEFSRSWMNWVRQAPG KGLEWVGRIYPGDGDTNYSGKFKGRFTISADTSKNTAYLQMNS	서열 48

[0915]

V _H	LRAEDTAVYYCARDGSSWDWYFDVWGQGTLTVSS	
h10F4.V3.K149C 경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSIVHSVGNNTFLEWYQQKP GKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCFQGSQFPYTFGQGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWCVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	서열 49
h10F4.V3.K149C 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYEFSRSWMNWVRQAPG KGLEWVGRIYPGDGDTNYSGKFKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCARDGSSWDWYFDVWGQGTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQ PREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	서열 50

[0916]

[0917] ADC 시험관내 데이터

[0918] 하기 ADC를 상기 기재된 시험관내 검정에서 시험하였고, 활성인 것으로 확인되었다. 상기 ADC의 활성을 하기 표에 예시하였다.

코드	항체 ID	EOL-1 IC ₅₀ (ng/mL)
CD33 PNU ADC2-2	15G15.33	6.9
MUC16 PNU ADC2-4		337
NaPi2b PNU ADC3-1	10H1.11.4B	24.2
CD33 PNU ADC3-2	15G15.33	2.0
NaPi2b PNU ADC4-1	10H1.11.4B	218
CD33 PNU ADC4-2	15G15.33	0.6

[0919]

[0920] ADC 생체내 데이터

[0921] 하기 ADC를 상기 기재된 생체내 검정에서 시험하였고, 활성인 것으로 확인되었다. 상기 ADC의 활성을 도 1-2 및 하기 설명에 예시하였다.

[0922]

도 1은 HL-60 인간 급성 골수성 백혈병 종양을 갖는 SCID 마우스에서의 CD33 ADC의 효능 비교를 제시한다. CD33 PNU ADC3-2는 비히클 군과 비교하여 종양 성장의 용량-의존성 억제를 나타내었다. 5 ug/m² 약물 용량의 ADC3-2가 15 ug/m² 약물 용량의 ADC2-2와 유사한 종양 성장 지연을 일으켰다. CD33 PNU ADC3-2를 15 ug/m² 약물 용량으로 제공한 경우에 종양 완화가 달성되었다. 비-표적화 대조군 NaPi2b PNU ADC3-1은 종양 성장에 대해 최소 효과를 가졌다.

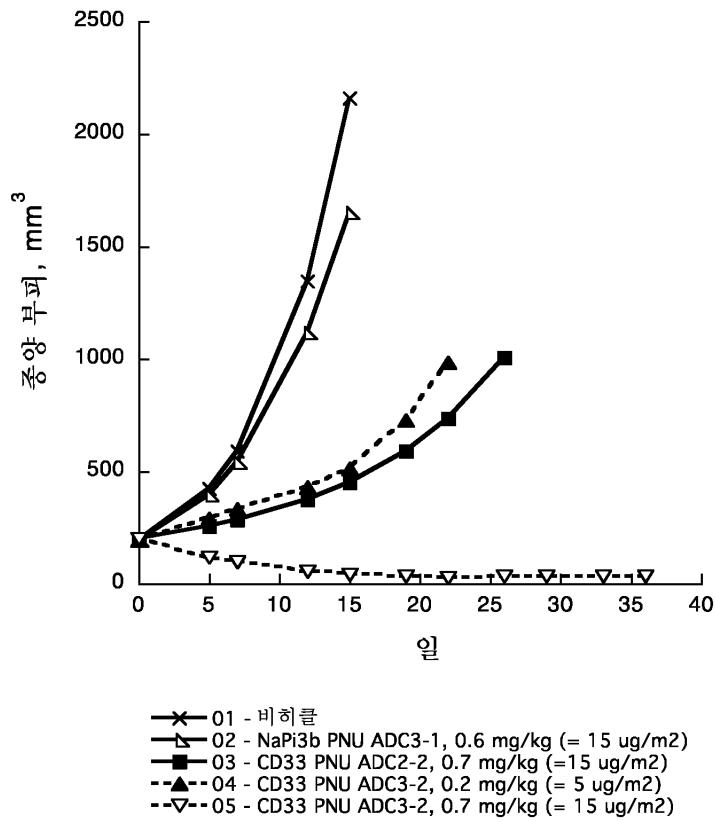
[0923]

도 2는 HL-60 인간 급성 골수성 백혈병 종양을 갖는 SCID 마우스에서의 CD33 ADC의 효능 비교를 제시한다. CD33 PNU ADC4-2는 비히클 군과 비교하여 종양 성장의 용량-의존성 억제를 나타내었다. CD33 PNU ADC4-2의 항 종양 활성은 CD33 PNU ADC2-2와 대등하였으며, 이는 10ug/m²의 약물 용량 (= 0.4 mg/kg의 항체 용량)에서 종양 성장 지연을 일으켰다. CD33 PNU ADC4-2를 20ug/m²의 약물 용량으로 제공한 경우에 종양 퇴행이 달성되었다. 비-표적화 대조군 NaPi2b PNU ADC4-1은 종양 성장에 대해 어떠한 효과도 갖지 않았다.

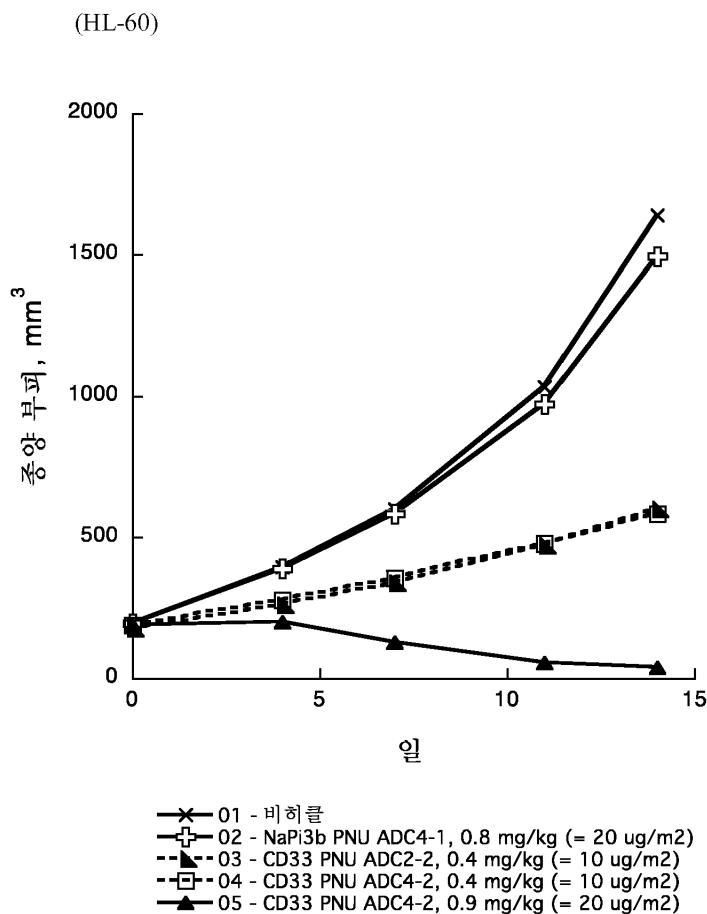
도면

도면1

(HL-60)



도면2



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC. ET AL.

<120> PEPTIDOMIMETIC COMPOUNDS AND ANTIBODY-DRUG CONJUGATES THEREOF

<130> P5762R1-W0

<140> PCT/US2014/70654

<141> 2014-12-16

<150> 61/916,680

<151> 2013-12-16

<160> 50

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

Arg Ser Ser Glu Thr Leu Val His Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 3

Phe Gln Gly Ser Phe Asn Pro Leu Thr

1 5

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 4

Gly Phe Ser Phe Ser Asp Phe Ala Met Ser

1 5 10

<210> 5

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 5

Ala Thr Ile Gly Arg Val Ala Phe His Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Met

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 6

Ala Arg His Arg Gly Phe Asp Val Gly His Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 7

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 7

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

Arg

<210> 8

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400

> 8

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asp Phe

20	25	30
----	----	----

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35	40	45
----	----	----

Ala Thr Ile Gly Arg Val Ala Phe His Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Met

50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg His Arg Gly Phe Asp Val Gly His Phe Asp Phe Trp Gly Gln		
100	105	110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	
<210> 9		
<211> 219		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		

<220><221> source		
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"		
<400> 9		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Glu Thr Leu Val His Ser		
20	25	30
Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala		
35	40	45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		

50	55	60
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile		
65	70	75
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly		
85	90	95
Ser Phe Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	110

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

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165

170

175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

180

185

190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195

200

205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

215

<210> 10

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 10

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asp Phe

20

25

30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ala Thr Ile Gly Arg Val Ala Phe His Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Met

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg His Arg Gly Phe Asp Val Gly His Phe Asp Phe Trp Gly Gln			
100	105	110	
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
210	215	220	
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
245	250	255	
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
260	265	270	
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
275	280	285	
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg			
290	295	300	
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 11

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 12

Leu Gly Val Asn Ser Val Ser

1 5

<210> 13

<

211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 13

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 14

Asn His Ala Ile Ser

1 5

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><221> source

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

<400> 15

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

Glu Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile

1 5

<210> 17

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Val Asn Ser Val Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 18

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 18

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 19

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1 5 10

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 20

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 21

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 22

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

Gly Asn Tyr Met Ser

1 5

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val

1 5 10

<210> 25

<211>

> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp

20	25	30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile		
35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp		
85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100	105	

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 26

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

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys			
50	55	60	
Gly Arg Phe Asn Ile Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu			
65	70	75	80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val			
85	90	95	
Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr			

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 27

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp

20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 28

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 28

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Gly Asn

20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 29

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 29

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp

20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100		105	

<210> 30

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 30

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

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50	55	60	
Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu			
65	70	75	80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val			
85	90	95	

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr			
100	105	110	

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 31

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 31

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 32

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 32

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Gly Asn
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 33

<400> 33

000

<210> 34

<400> 34

000

<210> 35

<400> 35

000

<210> 36

<400> 36

000

<210> 37

<400> 37

000

<210> 38

<400> 38

000

<210> 39

<400> 39

000

<210> 40
 <400> 40
 000
 <210> 41
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 41
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Val Gly Asn Thr Phe Leu Glu

1 5 10 15

<210> 42
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 42

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5
 <210> 43
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 43

Phe Gln Gly Ser Gln Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

Gly Tyr Glu Phe Ser Arg Ser Trp Met Asn

1 5 10

<210> 45

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Ser Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

Asp Gly Ser Ser Trp Asp Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 47

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30Val Gly Asn Thr Phe Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95Ser Gln Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 48

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400

> 48

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Ser Arg Ser
 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Ser Gly Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Ser Ser Trp Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 49

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
 20 25 30

Val Gly Asn Thr Phe Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser Gln Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 50

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 50

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Ser Arg Ser

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Ser Gly Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gly Ser Ser Trp Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290	295	300	
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
325	330	335	
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
340	345	350	
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
355	360	365	
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
370	375	380	
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val			
385	390	395	400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
405	410	415	
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
420	425	430	
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
435	440	445	
Gly Lys			
450			