(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0146528
(43) 공개일자 2023년10월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/12 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 47/64 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/12 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7027291
(22) 출원일자(국제) 2022년01월11일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년08월10일
(86) 국제출원번호 PCT/GB2022/050055
(87) 국제공개번호 WO 2022/148979
국제공개일자 2022년07월14일
(30) 우선권주장
63/135,858 2021년01월11일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
바이사이클티엑스 리미티드
영국 씨비216 지에스 캠브리지 그레이트 애빙턴 그랜타 파크 블록 에이 앤드 비 포트웨이 빌딩
(72) 발명자
킨 니콜라스
영국, 캠브리지 씨비22 3에이티, 바브라함 리서치 캠퍼스,빌딩 900, 씨/오 바이사이클티엑스 리미티드
머드 젬마 엘리자베스
영국, 캠브리지 씨비22 3에이티, 바브라함 리서치 캠퍼스,빌딩 900, 씨/오 바이사이클티엑스 리미티드
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

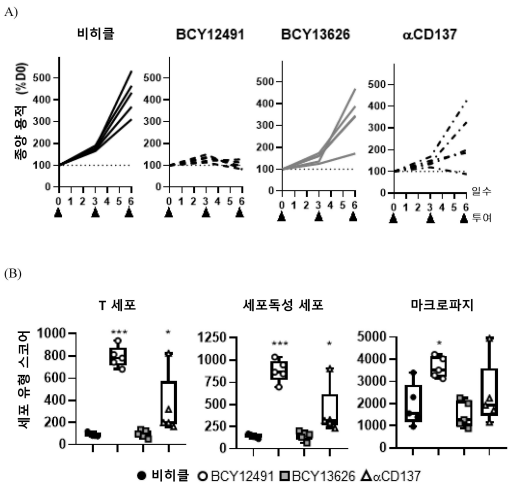
전체 청구항 수 : 총 65 항

(54) 발명의 명칭 **암을 치료하기 위한 방법**

(57) 요 약

본 발명은 환자의 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1ab



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/64 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

(72) 발명자
라덴란타 요한나
영국, 캠브리지 씨비22 3에이티, 바브라함 리서치 캠퍼스,빌딩 900, 씨/오 바이사이클티엑스 리미티드
후로브 크리스텐
영국, 캠브리지 씨비22 3에이티, 바브라함 리서치 캠퍼스,빌딩 900, 씨/오 바이사이클티엑스 리미티드
바툴라 사일라자
영국, 캠브리지 씨비22 3에이티, 바브라함 리서치 캠퍼스,빌딩 900, 씨/오 바이사이클티엑스 리미티드
브랜디시 필립 이.
영국, 캠브리지 씨비22 3에이티, 바브라함 리서치 캠퍼스,빌딩 900, 씨/오 바이사이클티엑스 리미티드
우파드햐야 푸닛
영국, 캠브리지 씨비22 3에이티, 바브라함 리서치 캠퍼스,빌딩 900, 씨/오 바이사이클티엑스 리미티드
맥도넬 케빈
영국, 캠브리지 씨비22 3에이티, 바브라함 리서치 캠퍼스,빌딩 900, 씨/오 바이사이클티엑스 리미티드

(30) 우선권주장
63/135,865 2021년01월11일 미국(US)
63/138,019 2021년01월15일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

환자의 암을 치료하는 방법으로서,

상기 환자에게 치료학적 유효량의 헤테로탠덤(heterotandem) 바이사이클릭 펩티드 복합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제(immuno-oncology agent)를 투여하는 단계를 포함하고, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는

(a) 링커(linker)를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

(b) 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열(loop sequence)에 의해 분리된 적어도 3개의 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드(molecular scaffold) 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 반응성 그룹과 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가

(a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

(b) 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 시스테인 잔기를 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 시스테인 잔기와 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함하는, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가

(a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

(b) 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는, 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가

(a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

(b) 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, CD137 결합 펩티드 리간드가 하기로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

C_iIEEGQYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 5);

C_i[tBuAla]PE[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 6);

C_iIEEGQYC_{ii}F[D-Ala]DPY[Nle]C_{iii} (서열번호 7);

C_i[tBuAla]PK[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 8);

C_i[tBuAla]PE[D-Lys]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 9);

C_i[tBuAla]P[K(PYA)][D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 10);

C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 11);

(서열번호 11)-A (본원에서 BCY14601로 지칭됨);

C_iIEE[D-Lys(PYA)]QYC_{ii}FADPY(Nle)C_{iii} (서열번호 12);

C_i[tBuAla]PE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 60);

C_iIEE[dK(PYA)]QYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 61);

C_i[tBuAla]EE(dK)PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 62);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 63);

C_i[tBuAla]EE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 64);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FANPY[Nle]C_{iii} (서열번호 65);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAEPY[Nle]C_{iii} (서열번호 66);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FA[Aad]PY[Nle]C_{iii} (서열번호 67);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAQPY[Nle]C_{iii} (서열번호 68);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle][Cysam]$_{iii}$ (서열번호 69);

[MerPro]$_i$[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 70; 본원에서 BCY12353으로 지칭됨);

[MerPro]$_i$[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle][Cysam]$_{iii}$ (서열번호 71; 본원에서 BCY12354로 지칭됨);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 72);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 73);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 74; 본원에서 BCY12372로 지칭됨);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeAla]Y[Nle]C_{iii} (서열번호 75);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeDAla]Y[Nle]C_{iii} (서열번호 76);

C_i[tBuAla]P[K(PYA)][dA]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 77);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 78);

C_i[tBuAla]PE[dK(Me,PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 79);

C_i[tBuAla]PE[dK(Me,PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 80); 및

[MerPro]$_i$[tBuAla]EE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 81; 본원에서 BCY13137로 지칭됨);

여기서, [MerPro]$_i$, C_i, C_{ii}, C_{iii} 및 [Cysam]$_{iii}$은 시스테인, MerPro 및 Cysam으로부터 선택된 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 반응성 그룹을 나타내고, Nle은 노르류신을 나타내고, tBuAla는 t-부틸-알라닌을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, Aad는 알파-L-아미노아디프산을 나타내고, MerPro는 3-머캅토프로피온산을 나타내고, Cysam은 시스테아민을 나타내고, NMeAla는 N-메틸-알라닌을 나타낸다.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, CD137 결합 펩티드 리간드가 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 11);

여기서, C_i, C_{ii} 및 C_{iii}은 각각 제1, 제2 및 제3 시스테인 잔기를 나타내고, tBuAla는 t-부틸-알라닌을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, Nle는 노르류신을 나타낸다.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 N- 및 C-말단 변형을 포함하고 하기, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

Ac-A-(서열번호 5)-Dap (본원에서 BCY7732로 지칭됨);

Ac-A-(서열번호 5)-Dap(PYA) (본원에서 BCY7741로 지칭됨);

Ac-(서열번호 6)-Dap (본원에서 BCY9172로 지칭됨);

Ac-(서열번호 6)-Dap(PYA) (본원에서 BCY11014로 지칭됨);

Ac-A-(서열번호 7)-Dap (본원에서 BCY8045로 지칭됨);

Ac-(서열번호 8)-A (본원에서 BCY8919로 지칭됨);

Ac-(서열번호 9)-A (본원에서 BCY8920으로 지칭됨);

Ac-(서열번호 10)-A (본원에서 BCY8927로 지칭됨);

Ac-(서열번호 11)-A (본원에서 BCY8928로 지칭됨);

Ac-A-(서열번호 12)-A (본원에서 BCY7744로 지칭됨);

Ac-(서열번호 60)-Dap(PYA) (본원에서 BCY11144로 지칭됨);

Ac-A-(서열번호 61)-K (본원에서 BCY11613으로 지칭됨);

Ac-(서열번호 62)-Dap(PYA) (본원에서 BCY12023으로 지칭됨);

Ac-(서열번호 63) (본원에서 BCY12149로 지칭됨);

Ac-(서열번호 64) (본원에서 BCY12143으로 지칭됨);

Ac-(서열번호 65) (본원에서 BCY12147로 지칭됨);

Ac-(서열번호 66) (본원에서 BCY12145로 지칭됨);

Ac-(서열번호 67) (본원에서 BCY12146으로 지칭됨);

Ac-(서열번호 68) (본원에서 BCY12150으로 지칭됨);

Ac-(서열번호 69) (본원에서 BCY12352로 지칭됨);

Ac-(서열번호 72)-[1,2-디아미노에탄] (본원에서 BCY12358로 지칭됨);

[팔미트산]-[γGlu]-[γGlu]-(서열번호 73) (본원에서 BCY12360으로 지칭됨);

Ac-(서열번호 75) (본원에서 BCY12381로 지칭됨);

Ac-(서열번호 76) (본원에서 BCY12382로 지칭됨);

Ac-(서열번호 77)-K (본원에서 BCY12357로 지칭됨);

Ac-(서열번호 78)-[dA] (본원에서 BCY13095로 지칭됨);

[Ac]-(서열번호 78)-K (본원에서 BCY13389로 지칭됨);

Ac-(서열번호 79)-[dA] (본원에서 BCY13096으로 지칭됨); 및

Ac-(서열번호 80) (본원에서 BCY13097로 지칭됨);

여기서, Ac는 아세틸 그룹을 나타내고, Dap은 디아미노프로피온산을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타낸다.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 N- 및 C-말단 변형을 포함하고, 하기, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

Ac-(서열번호 11)-A (본원에서 BCY8928로 지칭됨);

여기서, Ac는 아세틸 그룹을 나타낸다.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포에 존재하는 상기 성분이 넥틴-4(Nectin-4)이고, 상기 제1 펩티드 리간드가 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 하기로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 1; 본원에서 BCY8116으로 지칭됨);

C_iP[1Nal][dK](Sar_{10}-(B-Ala))C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 3);

C_iPFGC_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 4; 본원에서 BCY11414로 지칭됨);

C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 14);

[MerPro]$_i$P[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 15; 본원에서 BCY12363으로 지칭됨);

C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]$_{iii}$ (서열번호 16);

[MerPro]$_i$P[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]$_{iii}$ (서열번호 17; 본원에서 BCY12365로 지칭됨);

C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]HWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 18);

C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 19);

C_iP[1Nal][dE]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 20; 본원에서 BCY12368로 지칭됨);

C_iP[1Nal][dA]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 21; 본원에서 BCY12369로 지칭됨);

C_iP[1Nal][dE]C_{ii}L[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 22; 본원에서 BCY12370으로 지칭됨); 및

C_iP[1Nal][dE]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii} (서열번호 23; 본원에서 BCY12384로 지칭됨);

여기서, [MerPro]$_i$, C_i, C_{ii}, C_{iii} 및 [Cysam]$_{iii}$은 시스테인, MerPro 및 Cysam로부터 선택된 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 반응성 그룹을 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, HyP는 트랜스-4-하이드록시-L-프롤린을 나타내고, Sar_{10}은 10 사르코신 단위를 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, MerPro는 3-머캅토프로피온산을 나타내고, Cysam은 시스테아민을 나타낸다.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 임의로 N-말단 변형을 포함하고, 하기, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

서열번호 1 (본원에서 BCY8116으로 지칭됨);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-(서열번호 1) (본원에서 BCY8846으로 지칭됨);

[PYA]-(서열번호 1) (본원에서 BCY11015로 지칭됨);

[PYA]-[B-Ala]-(서열번호 1) (본원에서 BCY11016으로 지칭됨);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-(서열번호 2) (본원에서 BCY11942로 지칭됨);

Ac-(서열번호 3) (본원에서 BCY8831로 지칭됨);

서열번호 4 (본원에서 BCY11414로 지칭됨);

[PYA]-[B-Ala]-(서열번호 14) (본원에서 BCY11143으로 지칭됨);

Palmitic-yGlu-yGlu-(서열번호 14) (본원에서 BCY12371로 지칭됨);

Ac-(서열번호 14) (본원에서 BCY12024로 지칭됨);

Ac-(서열번호 16) (본원에서 BCY12364로 지칭됨);

Ac-(서열번호 18) (본원에서 BCY12366으로 지칭됨); 및

Ac-(서열번호 19) (본원에서 BCY12367로 지칭됨);

여기서, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타낸다.

청구항 12

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 서열번호 1(본원에서 BCY8116으로 지칭됨)을 포함하는, 방법.

청구항 13

제9항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 BCY11027, BCY11863 및 BCY11864, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염과 같은, 표 A 및 B에 수록된 것들로부터 선택되는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포에 존재하는 상기 성분이 EphA2이고, 상기 제1 펩티드 리간드가 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 하기로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (서열번호 24);

C_iLWDPTPC$_{ii}$ANLHL[HArg]C_{iii} (서열번호 25);

C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[K(PYA)]P[dD]W[HArg]C_{iii} (서열번호 26);

C_i[HyP][K(PYA)]VNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (서열번호 27);

C_i[HyP]LVNPLC_{ii}[K(PYA)]HP[dD]W[HArg]C_{iii} (서열번호 28);

C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LKP[dD]W[HArg]C_{iii} (서열번호 29);

C_i[HyP]KVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (서열번호 30);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$KHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 31);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dE]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 32);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 33);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 34);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 35);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[dA]WTC$_{iii}$ (서열번호 36);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[3,3-DPA]P[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 37; 본원에서 BCY12860으로 지칭됨);

C_i[HyP][Cba]VNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 38);

C_i[HyP][Cba]VNPLC$_{ii}$LEP[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 39);

C_i[HyP][Cba]VNPLC$_{ii}$L[3,3-DPA]P[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 40);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[3,3-DPA]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 41);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[d1Nal]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 42);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[1Nal]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 43);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[d1Nal]WTC$_{iii}$ (서열번호 44);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[1Nal]P[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 45; 본원에서 BCY13119로 지칭됨);

C_i[HyP][Cba]VNPLC$_{ii}$LEP[dA]WTC$_{iii}$ (서열번호 46);

C_i[HyP][hGlu]VNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 47);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$[hGlu]HP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 48);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[hGlu]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 49);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dNle]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 50);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[Nle]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 51);

[MerPro]$_i$[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[3,3-DPA]P[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 154);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg][Cysam]$_{iii}$ (서열번호 155);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[His3Me]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 156);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[His1Me]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 157);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[4ThiAz]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 158);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LFP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 159);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[Thi]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 160);

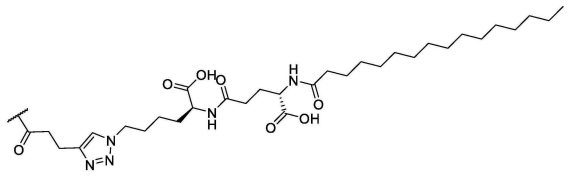
C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[3Thi]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 161);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LNP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 162);

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LQP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 163); 및

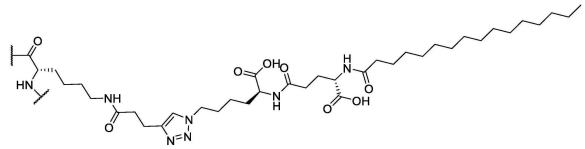
C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[K(PYA-(Palmitoyl-Glu-LysN_3)]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 164);

여기서, [MerPro]$_i$, C_i, C$_{ii}$, C$_{iii}$ 및 [Cysam]$_{iii}$은 시스테인, MerPro 및 Cysam로부터 선택된 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 반응성 그룹을 나타내고, HyP는 트랜스-4-하이드록시-L-프롤린을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, 3,3-DPA는 3,3-다이페닐알라닌을 나타내고, Cba는 β-사이클로부틸알라닌을 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타내고, hGlu는 호모글루탐산을 나타내고, Thi는 티에닐알라닌을 나타내고, 4ThiAz는 베타-(4-티아졸릴)-알라닌을 나타내고, His1Me는 N1-메틸-L-히스티딘을 나타내고, His3Me는 N3-메틸-L-히스티딘을 나타내고, 3Thi는 3-티에닐알라닌을 나타내고, 팔미토일-Glu-LysN_3 [PYA]은



(팔미토일-Glu-LysN3)[PYA]

을 나타내고, [K(PYA-(팔미토일-Glu-LysN_3)]은



[K(PYA(팔미토일 -Glu-LysN3))]

을 나타내고,

Nle은 노르류신(norleucine)을 나타내고, MerPro는 3-머캅토프로피온산을 나타내고, Cysam은 시스테아민을 나타낸다.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 방법:

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 24);

여기서, C_i, C$_{ii}$, C$_{iii}$은 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 시스테인 그룹을 나타내고, HyP는 트랜스-4-하이드록시-L-프롤린을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

청구항 17

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[d1Nal]WTC$_{iii}$ (서열번호 44);

여기서, C_i, C$_{ii}$, C$_{iii}$은 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 시스테인 그룹을 나타내고, HyP는 트랜스-4-하이드록시-L-프롤린을 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타낸다.

청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 임의로 N-말단 변형을 포함하고, 하기, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

A-[HArg]-D-(서열번호 24) (본원에서 BCY9594로 지칭됨);

[B-Ala]-[Sar$_{10}$]-A-[HArg]-D-(서열번호 24) (본원에서 BCY6099로 지칭됨);

[PYA]-A-[HArg]-D-(서열번호 24) (본원에서 BCY11813으로 지칭됨);

Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 24)-[K(PYA)] (본원에서 BCY11814로 지칭됨);

Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 24)-K (본원에서 BCY12734로 지칭됨);

[NMeAla]-[HArg]-D-(서열번호 24) (본원에서 BCY13121로 지칭됨);

[Ac]-(서열번호 24)-L[dH]G[dK] (본원에서 BCY13125로 지칭됨);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-VGP-(서열번호 25) (본원에서 BCY8941로 지칭됨);

Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 26) (본원에서 BCY11815로 지칭됨);

Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 27) (본원에서 BCY11816으로 지칭됨);

Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 28) (본원에서 BCY11817로 지칭됨);

Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 29) (본원에서 BCY12735로 지칭됨);

(팔미토일-Glu-$LysN_3$)[PYA]A[HArg]D-(서열번호 29) (본원에서 BCY14327로 지칭됨);

Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 30) (본원에서 BCY12736으로 지칭됨);

Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 31) (본원에서 BCY12737로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 32) (본원에서 BCY12738로 지칭됨);

A-[HArg]-E-(서열번호 32) (본원에서 BCY12739로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 33) (본원에서 BCY12854로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 34) (본원에서 BCY12855로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 35) (본원에서 BCY12856으로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 35)-[dA] (본원에서 BCY12857로 지칭됨);

(서열번호 35)-[dA] (본원에서 BCY12861로 지칭됨);

[NMeAla]-[HArg]-D-(서열번호 35) (본원에서 BCY13122로 지칭됨);

[dA]-ED-(서열번호 35) (본원에서 BCY13126으로 지칭됨);

[dA]-[dA]-D-(서열번호 35) (본원에서 BCY13127로 지칭됨);

AD-(서열번호 35) (본원에서 BCY13128로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 36) (본원에서 BCY12858로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 37) (본원에서 BCY12859로 지칭됨);

Ac-(서열번호 37)-[dK] (본원에서 BCY13120으로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 38) (본원에서 BCY12862로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 39) (본원에서 BCY12863으로 지칭됨);

[dA]-[HArg]-D-(서열번호 39)-[dA] (본원에서 BCY12864로 지칭됨);

(서열번호 40)-[dA] (본원에서 BCY12865로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 41) (본원에서 BCY12866으로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 42) (본원에서 BCY13116으로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 43) (본원에서 BCY13117로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 44) (본원에서 BCY13118로 지칭됨);

[dA]-[HArg]-D-(서열번호 46)-[dA] (본원에서 BCY13123으로 지칭됨);

[d1Nal]-[HArg]-D-(서열번호 46)-[dA] (본원에서 BCY13124로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 47) (본원에서 BCY13130으로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 48) (본원에서 BCY13131로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 49) (본원에서 BCY13132로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 50) (본원에서 BCY13134로 지칭됨);

A-[HArg]-D-(서열번호 51) (본원에서 BCY13135로 지칭됨);

(서열번호 154)-[dK] (본원에서 BCY13129로 지칭됨);

A[HArg]D-(서열번호 155) (본원에서 BCY13133으로 지칭됨);

A[HArg]D-(서열번호 156) (본원에서 BCY13917로 지칭됨);

A[HArg]D-(서열번호 157) (본원에서 BCY13918로 지칭됨);

A[HArg]D-(서열번호 158) (본원에서 BCY13919로 지칭됨);

A[HArg]D-(서열번호 159) (본원에서 BCY13920으로 지칭됨);

A[HArg]D-(서열번호 160) (본원에서 BCY13922로 지칭됨);

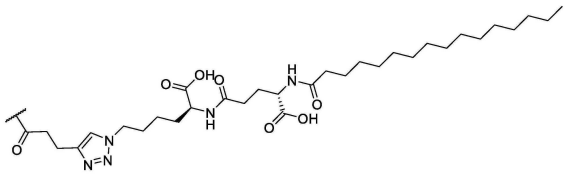
A[HArg]D-(서열번호 161) (본원에서 BCY13923으로 지칭됨);

A[HArg]D-(서열번호 162) (본원에서 BCY14047로 지칭됨);

A[HArg]D-(서열번호 163) (본원에서 BCY14048로 지칭됨); 및

A[HArg]D-(서열번호 164) (본원에서 BCY14313으로 지칭됨);

여기서, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, NMeAla는 N-메틸알라닌을 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타내고,



(팔미토일-Glu-LysN3)[PYA]

팔미토일-Glu-$LysN_3$[PYA]는 을 나타낸다.

청구항 19

제14항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 임의로 N-말단 변형(N-terminal modification)을 포함하고, 하기, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

A-[HArg]-D-(서열번호 24)(본원에서 BCY9594로 지칭됨);

여기서, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

청구항 20

제14항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드가 임의로 N-말단 변형을 포함하고, 하기, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 방법:

A-[HArg]-D-(서열번호 44)(본원에서 BCY13118로 지칭됨);

여기서, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

청구항 21

제14항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 BCY12491,

BCY12730, BCY13048, BCY13050, BCY13053 및 BCY13272, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염과 같은, 표 C에 수록된 것들로부터 선택되는, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분자 스캐폴드가 1,1',1"-(1,3,5-트리아지난-1,3,5-트리일)트리프로프-2-엔-1-온(TATA)인, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역-종양제가 체크포인트 억제제(checkpoint inhibitor)인, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 체크포인트 억제제가 PD-1 길항제인, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제가 서로 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7일 이내에 투여되는, 방법.

청구항 27

환자의 암을 치료하는 방법으로서,

상기 환자에게 치료학적 유효량의 BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제를 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 면역-종양제가 체크포인트 억제제인, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 체크포인트 억제제가 항-PD-1 항체인, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체가 펨브롤리주맙 또는 니볼루맙인, 방법.

청구항 31

제28항에 있어서, 상기 체크포인트 억제제가 항-PD-L1 항체인, 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체가 더발루맙 또는 아테졸리주맙인, 방법.

청구항 33

제28항에 있어서, 상기 체크포인트 억제제가 항-CTLA-4 항체인, 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 항-CTLA-4 항체가 이필리무맙인, 방법.

청구항 35

제27항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 36

제27항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제가 서로 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7일 이내에 투여되는, 방법.

청구항 37

제27항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 정맥내 주입에 의해 투여되는, 방법.

청구항 38

제27항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 주 1회의 빈도로 투여되는, 방법.

청구항 39

제27항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 주 2회의 빈도로 투여되는, 방법.

청구항 40

제27항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 약 0.1 내지 75mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 41

암을 치료하기 위한 의약(medicament)의 제조에서의, BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도로서, 상기 의약이 체크포인트 억제제와 조합하여 사용되는, 용도.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 의약이 히스티딘을 추가로 포함하는, 용도.

청구항 43

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 의약이 수크로오스(sucrose)를 추가로 포함하는, 용도.

청구항 44

제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약이 BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 히스티딘, 수크로오스 및 물을 약 pH 7에서 포함하는 제형인, 용도.

청구항 45

제27항 내지 제40항 중 어느 한 항 또는 제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고도의 넥틴-4 발현인, 방법 또는 용도.

청구항 46

제27항 내지 제40항 중 어느 한 항 또는 제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고형 종양(solid tumor)인, 방법 또는 용도.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 고형 종양이 육종(sarcoma), 암종(carcinoma) 또는 림프종(lymphoma)인, 방법 또는 용도.

청구항 48

환자의 암을 치료하는 방법으로서,

상기 환자에게 치료학적 유효량의 BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 면역-종양제가 체크포인트 억제제인, 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 체크포인트 억제제가 항-PD-1 항체인, 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체가 펨브롤리주맙 또는 니볼루맙인, 방법.

청구항 52

제49항에 있어서, 상기 체크포인트 억제제가 항-PD-L1 항체인, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체가 더발루맙(durvalumab) 또는 아테졸리주맙인, 방법.

청구항 54

제49항에 있어서, 상기 체크포인트 억제제가 항-CTLA-4 항체인, 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 항-CTLA-4 항체가 이필리무맙인, 방법.

청구항 56

제48항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제가 동시 또는 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 57

제48항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제가 서로 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7일 이내에 투여되는, 방법.

청구항 58

제48항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 정맥내 주입에 의해 투여되는, 방법.

청구항 59

제48항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 주 1회의 빈도로 투여되는, 방법.

청구항 60

제48항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 주 2회의 빈도로 투여되는, 방법.

청구항 61

암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의, BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도로서,

상기 의약이 체크포인트 억제제와 조합하여 사용되는, 용도.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 의약이 히스티딘을 추가로 포함하는, 용도.

청구항 63

제61항 또는 제62항에 있어서, 상기 의약이 수크로오스를 추가로 포함하는, 용도.

청구항 64

제61항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약이 BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 히스티딘, 수크로오스 및 물을 약 pH 7에서 포함하는 제형인, 용도.

청구항 65

제48항 내지 제60항 중 어느 한 항 또는 제61항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고도의 EphA2 발현인, 방법 또는 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 암을 치료하기 위한 면역-종양제(immuno-oncology agent)와 조합하여 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 약제학적으로 허용되는 조성물을 제공한다.

배 경 기 술

[0002] 사이클릭 펩티드는 단백질 표적에 대해 높은 친화성과 표적 특이성으로 결합할 수 있고, 따라서 치료제의 개발을 위한 매력적 분자 클래스이다. 실제로, 항균 펩티드 반코마이신, 면역억제제 약물 사이클로스포린 또는 항암 약물 옥트레오타이드와 같은 몇몇 사이클릭 펩티드가 이미 임상에서 성공적으로 사용되고 있다[참조: Driggers *et al*. (2008), Nat Rev Drug Discov *7* (7), 608-24]. 우수한 결합 특성은 펩티드와 표적 사이에 형성된 비교적 큰 상호작용 표면과, 사이클릭 구조의 형태적 유연성의 감소로 인해 발생한다. 일반적으로, 마크로사이클은, 예를 들면, 사이클릭 펩티드 CXCR4 길항제(antagonist) CVX15(400Å^2; Wu *et al*. (2007), Science 330, 1066-71), 인테그린 αVb3(355Å^2)에 결합하는 Arg-Gly-Asp 모티프를 갖는 사이클릭 펩티드[참조: Xiong *et al*. (2002), Science *296* (5565), 151-5] 또는 유로키나아제-유형 플라스미노겐 활성화제에 결합하는 사이클릭 펩티드 억제제 우파인-1(603Å^2; Zhao *et al*. (2007), J Struct Biol 160 (1), 1-10)과 같이 수백 평방 옹스트롬의 표면에 결합한다.

[0003] 이들의 사이클릭 구성에 기인하여, 펩티드 마크로사이클은 주기적 선형 펩티드보다 유연성이 낮고, 이는 표적에 결합할 때에 엔트로피의 보다 적은 손실을 유도하고 더 높은 결합 친화성을 초래한다. 또한, 유연성의 감소는 표적-특이적 형태의 고정을 유도하고, 이는 선형 펩티드와 비교하여 결합 특이성을 증가시킨다. 이러한 효과는, 이의 환이 개방될 때에 다른 MMP에 대한 이의 선택성을 상실하는 매트릭스 메탈로프로테이나제 8(MMP-8)의 강력하고 선택적 억제제에 의해 예시되었다[참조: Cherney *et al*. (1998), J Med Chem 41 (11), 1749-51]. 대환화를 통해 달성되는 유리한 결합 특성은, 예를 들면, 반코마이신, 니신 및 악티노마이신과 같이 하나 이상의 펩티드 환을 갖는 다환 펩티드에서 더욱 현저하다.

[0004] 상이한 연구 팀이 이전에 시스테인 잔기를 갖는 폴리펩티드를 합성 분자 구조에 테더링했다[참조: Kemp and McNamara (1985), J. Org. Chem; Timmerman *et al*. (2005), ChemBioChem]. 멜로엔(Meloen)과 동료들은 단백질 표면의 구조적 모방을 위해 복수의 펩티드 루프를 합성 스캐폴드에 신속하고 정량적으로 환화시키기 위해 트리(브로모메틸)벤젠 및 관련 분자를 사용했다[참조: Timmerman *et al*. (2005), ChemBioChem]. 예를 들면, 트리(브로모메틸)벤젠과 같이, 시스테인 함유 폴리펩티드를 분자 스캐폴드(molecular scaffold)에 연결함으로써 상

기 화합물을 생성하는 후보 약물 화합물의 생성 방법은 WO 제2004/077062호 및 WO 제2006/078161호에 개시되어 있다.

[0005] 파지 디스플레이-기반 조합적 접근법은 관심 표적에 대한 바이사이클릭 펩티드의 대규모 라이브러리를 생성하고 스크리닝하기 위해 개발되었다[참조: Heinis *et al*. (2009), Nat Chem Biol *5* (7), 502-7 and WO 2009/098450]. 간단히 설명하면, 3개의 시스테인 잔기와 6개 랜덤 아미노산의 2개 영역을 함유하는 선형 펩티드의 조합 라이브러리(Cys-$(Xaa)_6$-Cys-$(Xaa)_6$-Cys)를 파지에 표시하고, 시스테인 측쇄를 소분자(트리스-(브로모메틸)벤젠)에 공유 결합함으로써 환화시켰다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명에 이르러, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 종양 침윤 면역 세포 및 면역 반응의 현저한 증가를 유도하는 것으로 밝혀졌다. 예를 들면, 실시예 1의 전사 분석은 BCY12491 및 BT7480 각각의 처리시에 몇몇 T 세포 주화성 케모카인/사이토카인에 대한 면역 세포 스코어 및 mRNA의 현저한 증가를 나타낸다. 따라서, 한 가지 측면에서, 본 발명은, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 치료학적 유효량의 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 암 환자에서 면역 반응을 증가시키는 방법을 제공한다.

[0007] 또한, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 면역-종양제의 조합은 각각의 단일제 치료와 비교하여 항종양 활성을 현저히 향상시키는 것으로 밝혀졌다. 예를 들면, 실시예 2의 BCY12491과 PD-1 길항제 펨브롤리주맙의 병용 요법은 각각의 단일제 치료와 비교하여 더 현저한 항종양 활성을 유도한다. 따라서, 본 발명은, 한 가지 측면에서, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 면역-종양제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 환자의 암을 치료하기 위한 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0008] **도 1은** BCY12491이 종양 면역 미세환경을 조절하고 T 세포 침윤을 유도하는 것을 나타낸다. (A) MC38 종양 보유 마우스를 비히클, 15mg/kg EphA2/CD137 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체(BCY12491), 에난티오머 비결합 대조군 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체(BCY13626) q3d 정맥 또는 2mg/kg aCD137 q3d 경구로 처리했다. 개별 종양 용적(치료 개시일의 종양 용적으로 정규화)는 치료에 의해 그룹화되어 표시된다. (B) 종양의 나노스트링 분석은 T 세포(프로브 세트: Cd3d, Cd3e, Cd3g, Cd6, Sh2d1a 및 Trat1), 세포독성 세포(프로브 세트: Ctsw, Gzma, Gzmb, Klrb1, Klrd1, Klrk1, Nkg7 및 Prf1) 및 마크로파지(프로브 세트: Cd163, Cd68, Cd84 및 Ms4a4a) 함량에 대한 BCY12491 및 αCD137의 효과를 나타낸다. (C) 종양의 나노스트링 분석은 체크포인트 억제제(checkpoint inhibitor) Pdcd1(단백질 PD-1), Cd274(단백질 PD-L1) 및 Ctla4(단백질 CTLA-4) 전사에 대한 BCY12491 및 αCD137의 효과를 나타낸다. (D) 비히클, 15mg/kg BCY12491, BCY13626 또는 2mg/kg αCD137 Q3D로 처리하고 마우스 CD8로 염색한 종양으로부터 조직 절편의 대표적 이미지가 도시되어 있다. (B 및 C) *<0.05, ***p<0.001, 둔네트(Dunnett) 사후 테스트에 의한 일원 분산분석(one-way ANOVA).

도 2는 선택된 사이토카인/케모카인에 대한 BT7480의 효과를 나타낸다. (A) BT7480 처리 후 MC38#13 종양 조직에서 5개 사이토카인/케모카인 mRNA에 대한 정규화된 선형 카운트 데이터가 좌측 그래프에 도시되어 있다. (B) 세포독성 세포 스코어 및 Ccl1, Ccl-17 및 Ccl24 정규화 RNA 카운트의 오버레이는 이러한 사이토카인/케모카인 전사물의 초기 증가 및 이어서 세포독성 세포 스코어의 증가를 입증한다.

도 3은 BT7480이 종양 면역 미세환경을 조절하고 CD8+ T 세포 침윤을 유도하는 것을 나타낸다. MC38#13 종양 보유 마우스를 비히클, 5mg/kg(0시간, 24시간)의 BT7480 또는 비결합 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 대조군 BCY12797(NB-BCY) i.v. 또는 2mg/kg αCD137 i.p.로 처리했다. 종양의 나노스트링 분석은 종양 조직에서 (A) 마크로파지(프로브 세트: Cd163, Cd68, Cd84 및 Ms4a4a) 및 (B) 세포독성 세포(프로브 세트: Ctsw, Gzma,

Gzmb, Klrb1, Klrd1, Klrk1, Nkg7 및 Prf1) 스코어에 대한 BT7480과 αCD137의 효과를 시간 경과에 따라 나타낸다. (C) 세포독성 세포 스코어 및 마크로파지 스코어의 오버레이는 마크로파지 스코어의 초기 증가 및 이어서 세포독성 세포 스코어의 증가를 입증한다. (A 및 B) *<0.05, **p<0.01, 둔네트(Dunnett) 사후 테스트에 의한 일원 분산 분석(one-way ANOVA).

도 4는 BT7480이 몇몇 면역 체크포인트 mRNA의 증가를 유도한다는 것을 나타낸다. MC38#13 종양 보유 마우스를 비히클, 5mg/kg(0시간, 24시간)의 BT7480 또는 비결합 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 대조군 BCY12797(NB-BCY) i.v. 또는 2mg/kg αCD137 i.p.로 처리했다. 종양의 나노스트링 분석은 몇몇 면역 체크포인트 mRNA의 수준에 대한 BT7480 및 αCD137의 효과를 나타낸다. *<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 둔네트 사후 테스트에 의한 일원 분산분석(one-way ANOVA).

도 5는 0일차(치료 개시 후)부터 BCY12491 + 펨브롤리주맙 조합이 22일차까지 100% 완전 반응율을 유도한다는 것을 나타낸다. MC38 종양 보유 마우스를 비히클, 5mg/kg BCY12491 QW(0, 24시간), 3mg/kg 펨브롤리주맙 QW 또는 이들의 조합으로 치료했다. 상부 그래프는 치료 개시부터 28일차까지의 평균 종양 용적을 나타낸다. 단독 요법과 병용 치료 모두는 종양 성장에 유의하게 영향을 미쳤다(***p<0.0001, 비히클로 비교하여 D18에 둔네트 사후 테스트에 의한 혼합 효과 분석). 추가로, 병용 치료는 단독 요법의 어느 하나보다 더 효과적이었고(***p<0.0001, 조합을 단독 요법과 비교하여 D20에 둔네트 사후 테스트에 의한 혼합 효과 분석), 이는 22일차까지 모든 치료 동물에서 완전한 반응을 유도한다. 우측 그래프는 치료 코호트로부터 개별 종양의 성장 곡선을 나타낸다.

도 6은 BCY12491 + 펨브롤리주맙 조합이 상이한 용량 순서로 유의한 항종양 활성을 유도하는 것을 나타낸다. MC38 종양 보유 마우스를 3개의 상이한 투여 스케줄(0일차에 BCY12491 및 펨브롤리주맙 치료 개시, 0일차에 BCY12491 치료 개시, 이어서 5일차에 펨브롤리주맙 치료 개시, 또는 0일차에 펨브롤리주맙 치료 개시, 이어서 5일차에 BCY12491 치료 개시)에 따라 비히클, 5mg/kg BCY12491 QW(0, 24시간), 3mg/kg 펨브롤리주맙 QW 또는 이들 조합으로 치료했다. 상부 그래프는 치료 개시부터 28일차까지의 평균 종양 용적을 나타낸다. 모든 병용 치료는 유의한 항종양 활성을 나타내고, 42일차까지 10/10(D0부터 BCY12491+펨브롤리주맙), 9/10(D0부터 BCY12491 + D5부터 펨브롤리주맙) 및 8/10(D0부터 펨브롤리주맙 및 D5부터 BCY12491)이 완전 반응을 나타낸다. ***p<0.0001, 비히클과 비교하여 D18에 둔네트 사후 테스트에 의한 혼합 효과 분석. 우측 그래프는 치료 코호트로부터 개별 종양의 성장 곡선을 나타낸다.

도 7은 항-PD-1 단독요법에 BCY11864의 추가가 CT26#7(넥틴-4(Nectin-4)를 과발현하도록 조작된 CT26) 보유 마우스의 생존율(인도적 종점의 도달로 정의됨, 종양 용적 >2000mm3)을 유의적으로[p=0.004, 항-PD-1 및 항-PD-1 + BCY11864 조합 암(arm)을 비교한 로그-랭크(Log-rank)(Mantel-Cox) 시험] 증가시키는 것을 나타낸다.

도 8은 항-PD-1 단독요법에 BT7480의 추가가 MC38#13(넥틴-4를 과발현하도록 조작된 MC38) 보유 마우스에서 완전 반응율(CR)을 증가시키는 것을 나타낸다.

도 9는 항CTLA-4 단독요법에 BT7480의 추가가 MC38#13(넥틴-4를 과발현하도록 조작된 MC38) 보유 마우스의 생존율(인도적 종점의 도달로 정의됨, 종양 용적 >2000mm^3)을 유의적으로[p=0.004, 항-Ctla-4 및 항-Ctla-4 + BT7480 조합 암을 비교한 로그-랭크(Mantel-Cox) 시험) 증가시키고, 완전 반응율을 증가시키는 것을 나타낸다.

도 10은 BT7455가 몇몇 면역 체크포인트 mRNA의 증가를 유도한다는 것을 나타낸다. MC38 종양 보유 마우스를 정맥내로 비히클, 8mg/kg(0시간, 24시간)의 BT7455 또는 복강내로 2mg/kg 항-CD137 항체 또는 10mg/kg 항-PD-1 항체로 처리했다. 종양의 나노스트링 분석은 몇몇 면역 체크포인트 mRNA의 수준에 대한 치료 효과를 나타낸다. 24시간, 48시간 및 144시간 시점에서 MC38 종양 조직의 mRNA에 대한 정규화된 Log2 카운트가 제시된다. *<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, 동일한 시점에서 치료제를 비히클과 비교하는 둔네트 사후 테스트에 의한 일원 분산분석(one-way ANOVA).

도 11은 24시간, 48시간 및 24시간 시점에 걸쳐 5개 선택된 사이토카인/케모카인에 대한 BT7455(8mg/kg), 항-PD-1 및 항-CD137(우렐루맙 유사체) 치료의 효과를 나타낸다. 24시간, 48시간 및 144시간 시점에서 MC38 종양 조직의 mRNA에 대한 정규화된 Log2 카운트가 제시된다. p<0.05, **p<0.01, ****p<0.0001, 0.01, 둔네트 사후 테스트에 의한 일원 분산분석(One-way ANOVA).

도 12는 BT7455(8mg/kg), 항-PD-1 및 항-CD137(우렐루맙 유사체) 치료 세포독성 세포의 효과를 나타낸다. 24시간, 48시간 및 144시간 시점에서 세포독성 세포에 대한 치료의 효과는 MC38 종양 조직에서 정규화된 Log2(표준 편차를 갖는 평균) 스코어로서 세포독성 세포 유형 스코어로 제시된다. (*p<0.05, 치료를 비히클과 비교하는 둔

네트 사후 테스트에 의한 일원 분산분석(One-way ANOVA)).

도 13은 전사 분석이 치료 개시 후 초기 시점(48시간)에서 BT7455에 의한 몇몇 유전자 세트의 유의한 조절(*p<0.05, **p<0.01, 둔네트 사후 테스트에 의한 일원 분산분석(one-way ANOVA))을 나타내는 반면, 항-PD-1 및 우렐루맙 유사체(항-CD137)의 효과는 유의하지 않은 것을 나타낸다. 유전자 세트에 대한 치료의 효과는 MC38 종양 조직에서 시그니처 스코어(표준 편차를 갖는 평균)로 제시된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0009] ***1. 본 발명의 특정 실시형태에 대한 설명:***

[0010] 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 종양 침윤 면역 세포 및 면역 반응의 유의한 증가를 유도하고, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 면역-종양제의 조합은 각각의 단일제 치료와 비교하여 항종양 활성을 유의하게 개선시키는 것으로 밝혀졌다. 예를 들면, 실시예 1에서 BCY12491 및 BT7480 각각을 사용한 치료에 대한 데이터, 및 BCY12491 단독, PD-1 길항제 펨브롤리주맙 단독 및 BCY12491과 펨브롤리주맙의 조합에 의한 치료에 대한 실시예 2의 데이터를 참조한다. 따라서, 한 가지 측면에서, 본원에는 암 환자의 면역 반응을 증가시키기 위해, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 방법 또는 용도가 제공된다. 다른 측면에서, 본원에는 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 환자의 암을 치료하기 위한 면역-종양제의 조합의 방법 또는 용도가 제공된다.

[0011] 일부 실시형태에서, 본 발명은, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 치료학적 유효량의 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 암 환자에서 면역 반응을 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 암 환자의 면역 반응을 증가시키기 위한 의약(medicament)의 제조에서 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

[0012] 일부 실시형태에서, 본 발명은, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 치료학적 유효량의 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 면역-종양제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하여 환자의 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은, 환자의 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공하고, 여기서 상기 의약은 면역-종양제와 조합하여 사용된다.

[0013] 일부 실시형태에서, 암은 본원에 기재된 것들로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 암은 고형 종양(solid tumor)이다. 일부 실시형태에서, 암은 MT1-MMP와 연관되어 있다. 일부 실시형태에서, 암은 넥틴-4와 연관되어 있다. 일부 실시형태에서, 암은 EphA2와 연관되어 있다. 일부 실시형태에서, 암은 PD-L1과 연관되어 있다. 일부 실시형태에서, 암은 PSMA와 연관되어 있다.

[0014] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는, 본원에 기재된 바와 같이, 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는, 본원에 기재된 바와 같이, 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체로부터 선택된다.

[0015] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY11863(BT7480이라고도 함) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY13272(BT7455라고도 함) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY12491 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY11864 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0016] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 본원에 기재된 것들로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 체크 포인트 억제제이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 PD-1 길항제이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 펨브롤리주맙이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 니볼루맙이다.

[0017] 일부 실시형태에서, 본 발명은, 치료학적 유효량의 BT7480 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 환자에게 투여하는 것을 포함하여 암 환자에서 면역 반응을 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 암 환자의 면역 반응을 증가시키기 위한 의약의 제조에서 BT7480 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은, 치료학적 유효량의 BT7480 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 면역-종양제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하여 환자의 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자의 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서 BT7480 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공하고, 여기서 의약은 면역-종양제와 조합하여 사용된다.

[0018] 일부 실시형태에서, 본 발명은, 치료학적 유효량의 BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 환자에게 투여하는 것을 포함하여 암 환자에서 면역 반응을 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 암 환자의 면역 반응을 증가시키기 위한 의약의 제조에서 BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 치료학적 유효량의 BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 면역-종양제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하여 환자의 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자의 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서 BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공하고, 여기서 의약은 면역-종양제와 조합하여 사용된다.

[0019] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 0.001-100mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 본원에 기재된 것들, 예를 들면, BT7480 또는 BT7455 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 0.001-0.01mg/kg, 약 0.01-0.1mg/kg, 약 0.1-1mg/kg, 약 1-10mg/kg, 약 10-25mg/kg, 약 25-50mg/kg 또는 약 50-100mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 0.1-75mg/kg, 약 1-50mg/kg, 약 5-25mg/kg 또는 약 7.5-20mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 0.001mg/kg, 약 0.005mg/kg, 약 0.01mg/kg, 약 0.05mg/kg, 약 0.1mg/kg, 약 0.25mg/kg, 약 0.5mg/kg, 약 1mg/kg, 약 3mg/kg, 약 5mg/kg, 약 7.5mg/kg, 약 10mg/kg, 약 12.5mg/kg, 약 15mg/kg, 약 20mg/kg, 약 25mg/kg, 약 30mg/kg, 약 40mg/kg, 또는 약 50mg/kg의 용량으로 투여된다.

[0020] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 주 1, 2, 3, 또는 4회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 본원에 기재된 것들, 예를 들면, BT7480 또는 BT7455, 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 1일 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 2일에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 3일에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 4일에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 5일에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 일주일에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 1.5주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 2주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 2.5주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 3주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 4주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 1개월에 1회의 빈도로 투여된다.

[0021] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 1-4주의 치료 기간 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 본원에 기재된 것들, 예를 들면, BT7480 또는 BT7455 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 5-8주의 치료 기간 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 9-12주의 치료 기간 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 13-20주의 치료 기간 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 21-28주의 치료 기간 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 4, 8, 12, 16, 20, 24, 또는 28주의 치료 기간 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 약 30주 또는 그 이상의 치료 기간 동안 투여된다.

[0022] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 정맥내 볼러스 주사에 의해 환자에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 본원에 기재된 것들, 예를 들면, BT7480 또는 BT7455 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭

펩티드 복합체는 정맥내 주입에 의해 환자에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 정맥내 주입은 약 5-10분의 주입이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 정맥내 주입은 약 10-20분의 주입이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 정맥내 주입은 약 20-40분의 주입이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 정맥내 주입은 약 45분, 또는 50분, 또는 55분의 주입이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 정맥내 주입은 약 1시간의 주입이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 정맥내 주입은 약 1-1.5시간의 주입이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 정맥내 주입은 약 1.5-2시간의 주입이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 정맥내 주입은 약 2-3시간의 주입이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 정맥내 주입은 3시간 이상의 주입이다.

[0023] 면역-종양제는 FDA 권고 또는 승인에 따른 투여 섭생으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 약 1-20mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 약 1-5mg/kg, 약 6-10mg/kg, 약 11-15mg/kg 또는 약 16-20mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 약 1-10mg/kg, 약 5-15mg/kg, 또는 약 10-20mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 약 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 주 1, 2, 3, 또는 4회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 1일 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 2일에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 3일에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 4일에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 5일에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 주 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 1.5주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 2주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 2.5주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 3주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 4주에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 1개월에 1회의 빈도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 약 1-4주의 치료 기간 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 약 9-12주, 약 13-20주, 약 21-28주 또는 약 29-36주의 치료 기간 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 약 36주 또는 그 이상의 치료 기간 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 정맥내 주사에 의해 환자에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 정맥내 주입에 의해 환자에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제의 정맥내 주입은 약 5-10분의 주입이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제의 정맥내 주입은 약 10-20분 또는 약 20-40분의 주입이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제의 정맥내 주입은 약 30분, 40분, 45분, 50분, 55분, 또는 60분의 주입이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제의 정맥내 주입은 약 1-1.5시간, 약 1.5-2시간 또는 약 2-3시간의 주입이다.

[0024] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 약제는 실시예에 제시된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 제형으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 본원에 기재된 것들, 예를 들면, BT7480 또는 BT7455 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 의약은 히스티딘을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 히스티딘을 포함하는 의약은 약 pH 7이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 의약은 수크로오스(sucrose)를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 의약은 약 10% w/v 수크로오스를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 의약은 물을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 히스티딘, 수크로오스 및 물을 포함하는 의약을 제공하고, 여기서 의약은 약 pH 7이다.

[0025] **예시적 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체**

[0026] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0027] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0028] (b) 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0029] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열(loop sequence)에 의해 분리된 적어도 3개의 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 반응성 그룹과 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0030] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0031] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0032] (b) 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0033] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 시스테인 잔기를 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 시스테인 잔기와 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0034] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0035] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0036] (b) 1개의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0037] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 반응성 그룹과 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0038] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0039] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0040] (b) 1개의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0041] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 시스테인 잔기를 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 시스테인 잔기와 공유 결합을 형성하여 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0042] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0043] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0044] (b) 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0045] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 반응성 그룹과 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0046] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0047] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0048] (b) 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0049] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 시스테인 잔기를 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 시스테인 잔기와 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0050] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0051] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0052] (b) 2개의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0053] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 반응성 그룹과 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0054] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0055] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0056] (b) 2개의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0057] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 시스테인 잔기를 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 시스테인 잔기와 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0058] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0059] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0060] (b) 3개의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0061] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 반응성 그룹과 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0062] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은

[0063] (a) 링커를 통해 하기 (b)에 접합된, 암 세포에 존재하는 성분에 결합하는 제1 펩티드 리간드; 및

[0064] (b) 3개의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고;

[0065] 상기 펩티드 리간드 각각은 적어도 2개의 루프 서열에 의해 분리된 적어도 3개의 시스테인 잔기를 포함하는 폴리펩티드, 및 분자 스캐폴드 상에 적어도 2개의 폴리펩티드 루프가 형성되도록 폴리펩티드의 시스테인 잔기와 공유 결합을 형성하는 분자 스캐폴드를 포함한다.

[0066] 제1 펩티드 리간드

[0067] 본원에서 "암 세포"라는 용어는 암에 관여하는 것으로 공지된 모든 세포를 포함한다. 암 세포는 세포 분열의 조절에 관여하는 유전자가 손상될 때에 생성된다. 발암은 정상 세포의 유전 물질의 돌연변이와 돌연변이 및 에피돌연변이에 의해 유발되고, 이는 증식과 세포 사멸 사이의 정상적 균형(balance)을 깨뜨린다. 이는 제어되지 않은 세포 분열과 신체의 자연 선택에 의한 이들 세포의 진화를 초래한다. 세포의 제어되지 않고 종종 급속한 증식은 양성 또는 악성 종양(암)을 유도할 수 있다. 양성 종양은 신체의 다른 부분으로 확산하거나 다른 조직을 침범하지 않는다. 악성 종양은 다른 기관을 침범하고 먼 장소로 확산하여(전이) 생명을 위협할 수 있다.

[0068] 일부 실시형태에서, 암 세포는 HT1080, A549, SC-OV-3, PC3, HT1376, NCI-H292, LnCap, MC38, MC38 #13, 4T1-D02, H322, HT29, T47D 및 RKO 종양 세포로부터 선택된다.

[0069] 일부 실시형태에서, 암 세포에 존재하는 성분은 넥틴-4이다.

[0070] 넥틴-4는 4개의 구성원을 포함하는 넥틴 단백질 패밀리에 속하는 표면 분자이다. 넥틴은 발달 중 및 성인기 동안 상피, 내피, 면역 세포 및 신경 세포의 극성, 증식, 분화 및 이동과 같은 다양한 생물학적 프로세스에서 중요한 역할을 하는 세포 부착 분자이다. 이들은 인간의 몇몇 병리학적 프로세스에 관여한다. 이들은 폴리오바이러스, 단순 포진 바이러스 및 홍역 바이러스의 주요 수용체이다. 넥틴-1(PVRL1) 또는 넥틴-4(PVRL4)를 코딩하는 유전자의 돌연변이는 다른 이상과 관련된 외배엽 이형성증 증후군(ectodermal dysplasia syndromes)을 유발한다. 넥틴-4는 태아 발달 중에 발현된다. 성인 조직에서, 이의 발현은 가족의 다른 구성원의 발현보다 더 제한되어 있다. 넥틴-4는 유방암, 난소암, 폐암의 각각 50%, 49% 및 86%에서 종양 관련 항원이며, 주로 예후가 불량한 종양에 있다. 이의 발현은 상응하는 정상 조직에서 검출되지 않는다. 유방 종양에서, 넥틴-4는 주로 삼중 음성 및 ERBB2 + 암종에서 발현된다. 이러한 암 환자의 혈청에서, 가용성 형태의 넥틴-4의 검출은 예후 불량과 연관되어 있다. 혈청 넥틴-4의 수준은 전이성 진행 중에 증가하고, 치료 후에 감소한다. 이러한 결과는 넥틴-4가 암을 치료하기 위한 신뢰할 수 있는 표적일 수 있음을 시사한다. 따라서, 몇몇 항-넥틴-4 항체가 종래 기술에 기재되어 있다. 특히, 엔포르투맙 베도틴(ASG-22ME)은 넥틴-4를 표적으로 하는 항체-약물 접합체(ADC)이고, 현재 고형 종양을 앓고 있는 환자의 치료를 위해 임상적으로 연구되고 있다.

[0071] 일부 실시형태에서, 제1 펩티드 리간드는 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함한다.

[0072] 일부 실시형태에서, 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 WO 제2019/243832호에 개시된 것들로부터 선택되며, 이의 내용은 본원에 참조에 의해 전체가 포함된다.

[0073] 일부 실시형태에서, 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0074] $C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 1; 본원에서 BCY8116으로 지칭됨);

[0075] $C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]D[dW]STP[HyP][dW]C_{iii}$ (서열번호 2);

[0076] $C_iP[1Nal][dK](Sar_{10}-(B-Ala))C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 3);

[0077] $C_iPFGC_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 4; 본원에서 BCY11414로 지칭됨);

[0078] $C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 14);

[0079] $[MerPro]_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 15; 본원에서 BCY12363으로 지칭됨);

[0080] $C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]_{iii}$ (서열번호 16);

[0081] $[MerPro]_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]_{iii}$ (서열번호 17; 본원에서 BCY12365로 지칭됨);

[0082] $C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]HWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 18);

[0083] $C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 19);

[0084] $C_iP[1Nal][dE]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 20; 본원에서 BCY12368로 지칭됨);

[0085] $C_iP[1Nal][dA]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 21; 본원에서 BCY12369로 지칭됨);

[0086] $C_iP[1Nal][dE]C_{ii}L[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 22; 본원에서 BCY12370으로 지칭됨); 및

[0087] $C_iP[1Nal][dE]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 23; 본원에서 BCY12384로 지칭됨);

[0088] 여기서, $[MerPro]_i$, C_i, C_{ii}, C_{iii} 및 $[Cysam]_{iii}$은 시스테인, MerPro 및 Cysam으로부터 선택된 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 반응성 그룹을 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, HyP는 트랜스-4-하이드록시-L-프롤린을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, MerPro는 3-머캅토프로피온산을 나타내고, Cysam은 시스테아민을 나타낸다.

[0089] 일부 실시형태에서, 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0090] $C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 1; 본원에서 BCY8116으로 지칭됨);

[0091] $C_iP[1Nal][dK](Sar_{10}-(B-Ala))C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 3); 및

[0092] $C_iPFGC_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 4; 본원에서 BCY11414로 지칭됨);

[0093] 여기서, C_i, C_{ii} 및 C_{iii}은 각각 제1, 제2 및 제3 시스테인 잔기를 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, HyP는 트랜스-4-하이드록시-L-프롤린을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타낸다.

[0094] 일부 실시형태에서, 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 임의로 N-말단 변형(N-terminal modification)을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0095] 서열번호 1 (본원에서 BCY8116으로 지칭됨);

[0096] [PYA]-[B-Ala]-$[Sar_{10}]$-(서열번호 1) (본원에서 BCY8846으로 지칭됨);

[0097] [PYA]-(서열번호 1) (본원에서 BCY11015로 지칭됨);

[0098] [PYA]-[B-Ala]-(서열번호 1) (본원에서 BCY11016으로 지칭됨);

[0099] [PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-(서열번호 2) (본원에서 BCY11942로 지칭됨);

[0100] Ac-(서열번호 3) (본원에서 BCY8831로 지칭됨);

[0101] 서열번호 4 (본원에서 BCY11414로 지칭됨);

[0102] [PYA]-[B-Ala]-(서열번호 14) (본원에서 BCY11143으로 지칭됨);

[0103] 팔미틱-yGlu-yGlu-(서열번호 14) (본원에서 BCY12371로 지칭됨);

[0104] Ac-(서열번호 14) (본원에서 BCY12024로 지칭됨);

[0105] Ac-(서열번호 16) (본원에서 BCY12364로 지칭됨);

[0106] Ac-(서열번호 18) (본원에서 BCY12366으로 지칭됨); 및

[0107] Ac-(서열번호 19) (본원에서 BCY12367로 지칭됨);

[0108] 여기서, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타낸다.

[0109] 일부 실시형태에서, 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 임의로 N-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0110] 서열번호 1(본원에서 BCY8116으로 지칭됨);

[0111] [PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-(서열번호 1)(본원에서 BCY8846으로 지칭됨);

[0112] [PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-(서열번호 2)(본원에서 BCY11942로 지칭됨);

[0113] Ac-(서열번호 3)(본원에서 BCY8831로 지칭됨); 및

[0114] 서열번호 4(본원에서 BCY11414로 지칭됨);

[0115] 여기서, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타낸다.

[0116] 일부 실시형태에서, 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 서열번호 1(본원에서 BCY8116으로 지칭됨)을 포함한다.

[0117] 일부 실시형태에서, 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0118] $C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 1, 본원에서 BCY8116으로 지칭됨);

[0119] $C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]D[dW]STP[HyP][dW]C_{iii}$ (서열번호 2, 본원에서 BCY11415로 지칭됨); 및

[0120] $C_iP[1Nal][dK](Sar_{10}-(B-Ala))C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 3);

[0121] $C_iPFGC_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (서열번호 4, 본원에서 BCY11414로 지칭됨);

[0122] 여기서, C_i, C_{ii} 및 C_{iii}은 각각 제1, 제2 및 제3 시스테인 잔기를 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, HyP는 하이드록시프롤린을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타낸다.

[0123] 추가의 실시형태에서, 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 임의로 N-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0124] 서열번호 1(본원에서 BCY8116으로 지칭됨);

[0125] [PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-(서열번호 1)(본원에서 BCY8846으로 지칭됨);

[0126] 서열번호 2(본원에서 BCY11415로 지칭됨);

[0127] [PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-(서열번호 2)(본원에서 BCY11942로 지칭됨);

[0128] Ac-(서열번호 3)(본원에서 BCY8831로 지칭됨); 및

[0129] 서열번호 4(본원에서 BCY11414로 지칭됨);

[0130] 여기서, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타낸다.

[0131] 일부 실시형태에서, 암 세포에 존재하는 성분은 EphA2이다.

[0132] Eph 수용체 티로신 키나제(Eph)는 티로신 잔기 상에 단백질을 인산화하는 키나제인 수용체 티로신 키나제(RTK)의 거대 그룹에 속한다. Eph 및 이들의 막 결합 에프린 리간드(에프린)는 세포 위치결정 및 조직 조직화를 제어한다[참조: Poliakov *et al.* (2004) Dev Cell 7, 465-80]. 기능적 및 생화학적 Eph 반응은 보다 높은 리간드 올리고머화 상태로 발생한다[참조: Stein *et al.* (1998) Genes Dev 12, 667-678].

[0133] 다른 패터닝 기능 중에서도, 다양한 Eph와 에프린이 혈관 발달에 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다. EphB4와 에프린-B2의 녹아웃은 모세혈관 층을 혈관으로 리모델링하는 능력의 결여(Poliakov *et al.*, 상기) 및 와 배아 치사율을 초래한다. 일부 Eph 수용체와 에프린의 지속적 발현이 새로 형성된 성체 미세 혈관에서 관찰되었다[참조: Brantley-Sieders *et al.* (2004) Curr Pharm Des 10, 3431-42; Adams(2003) J Anat 202, 105-12].

[0134] 성인에서 일부 에프린과 이들의 수용체의 조절되지 않은 재출현은 종양 침습, 전이 및 신생-혈관형성에 기여하는 것으로 관찰되었다[참조: Nakamoto *et al.* (2002) Microsc Res Tech 59, 58-67; Brantley-Sieders *et al.*, 상기]. 추가로, 일부 Eph 패밀리 구성원은 다양한 인간 종양의 종양 세포에서 과발현되는 것으로 밝혀졌다[참조: Brantley-Sieders *et al.*, 상기; Marme (2002) Ann Hematol 81 Suppl 2, S66; Booth *et al.* (2002) Nat Med 8, 1360-1].

[0135] EPH 수용체 A2(에프린 A형 수용체 2)는 인간에서 *EPHA2* 유전자에 의해 코딩되는 단백질이다.

[0136] EphA2는 종종 질환 진행, 전이 및 불량한 예후와 관련되는 인간의 복수의 암, 예를 들면, 유방암[참조: Zelinski et al (2001) Cancer Res. 61, 2301-2306; Zhuang et al (2010) Cancer Res. 70, 299-308; Brantley-Sieders et al (2011) PLoS One 6, e2442], 폐암[참조: Brannan et al (2009) Cancer Prev Res (Phila) 2, 1039-1049; Kinch et al (2003) Clin Cancer Res. 9, 613-618; Guo et al (2013) J Thorac Oncol. 8, 301-308], 위암[참조: Nakamura et al(2005) Cancer Sci. 96, 42-47; Yuan *et al* (2009) Dig Dis Sci 54, 2410-2417], 췌장암[참조: Mudali *et al* (2006) Clin Exp Metastasis 23, 357-365], 전립선암[참조: Walker-Daniels et al(1999) Prostate 41, 275-280], 간암[참조: Yang et al (2009) Hepatol Res. 39, 1169-1177] 및 신경교아세포종[참조: Wykosky et al(2005) Mol Cancer Res. 3, 541-551; Li et al (2010) Tumor Biol. 31, 477-488]에서 상향-조절된다.

[0137] 암 진행에서 EphA2의 완전한 역할은 아직 정의되지 않았지만, 종양 세포 성장, 생존, 침습 및 혈관신생을 포함하는 암 진행의 다수의 단계에서 상호작용의 증거가 있다. EphA2 발현의 하향-조절은 종양 암 세포 증식을 억제하는[참조: Binda et al (2012) Cancer Cell 22, 765-780] 반면, EphA2 차단은 VEGF 유도 세포 이동[참조: Hess et al (2001) Cancer Res. 61, 3250-3255], 발아 및 혈관신생[참조: Cheng et al (2002) Mol Cancer Res. 1, 2-11; Lin et al (2007) Cancer 109, 332-40] 및 전이 진행[참조: Brantley-Sieders et al (2005) FASEB J. 19, 1884-1886]을 억제한다.

[0138] EphA2에 대한 항체 약물 접합체는 랫트 및 마우스 이종이식 모델에서 종양 성장을 유의하게 감소시키는 것으로 나타났고[참조: Jackson et al (2008) Cancer Research 68, 9367-9374], 치료 관련 부작용으로 치료가 중단되어야 했지만 유사한 접근법이 인간에서 시도되었다[참조: Annunziata et al (2013) Invest New Drugs 31, 77-84].

[0139] 일부 실시형태에서, 제1 펩티드 리간드는 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함한다.

[0140] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 WO 제2019/122860호, WO 제2019/122861호 및 WO 제2019/122863호에 개시된 것들로부터 선택되고, 각각의 내용은 본원에서 전체가 참조에 의해 포함되어 있다.

[0141] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0142] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 24);

[0143] C_iLWDPTPC$_{ii}$ANLHL[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 25);

[0144] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[K(PYA)]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 26);

[0145] C_i[HyP][K(PYA)]VNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 27);

[0146] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$[K(PYA)]HP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 28);

[0147] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LKP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 29);

[0148] C_i[HyP]KVNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 30);

[0149] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$KHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 31);

[0150] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dE]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 32);

[0151] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 33);

[0152] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 34);

[0153] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 35);

[0154] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[dA]WTC$_{iii}$ (서열번호 36);

[0155] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[3,3-DPA]P[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 37; 본원에서 BCY12860으로 지칭됨);

[0156] C_i[HyP][Cba]VNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 38);

[0157] C_i[HyP][Cba]VNPLC$_{ii}$LEP[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 39);

[0158] C_i[HyP][Cba]VNPLC$_{ii}$L[3,3-DPA]P[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 40);

[0159] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[3,3-DPA]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 41);

[0160] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[d1Nal]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 42);

[0161] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[1Nal]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 43);

[0162] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[d1Nal]WTC$_{iii}$ (서열번호 44);

[0163] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[1Nal]P[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 45; 본원에서 BCY13119로 지칭됨);

[0164] C_i[HyP][Cba]VNPLC$_{ii}$LEP[dA]WTC$_{iii}$ (서열번호 46);

[0165] C_i[HyP][hGlu]VNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 47);

[0166] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$[hGlu]HP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 48);

[0167] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[hGlu]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 49);

[0168] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dNle]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 50);

[0169] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[Nle]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 51);

[0170] [MerPro]$_i$[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[3,3-DPA]P[dD]WTC$_{iii}$ (서열번호 154);

[0171] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg][Cysam]$_{iii}$ (서열번호 155);

[0172] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[His3Me]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 156);

[0173] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[His1Me]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 157);

[0174] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[4ThiAz]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 158);

[0175] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LFP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 159);

[0176] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[Thi]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 160);

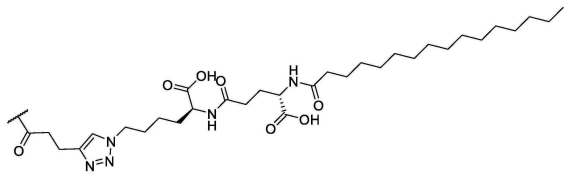
[0177] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[3Thi]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 161);

[0178] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LNP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 162);

[0179] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LQP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 163); 및

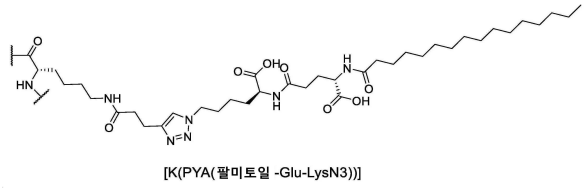
[0180] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$L[K(PYA-(팔미토일-Glu-LysN_3)]P[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 164);

[0181] 여기서, [MerPro]$_i$, C_i, C_{ii}, C_{iii} 및 [Cysam]$_{iii}$은 시스테인, MerPro 및 Cysam로부터 선택된 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 반응성 그룹을 나타내고, HyP는 트랜스-4-하이드록시-L-프롤린을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, 3,3-DPA는 3,3-다이페닐알라닌을 나타내고, Cba는 β-사이클로부틸알라닌을 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타내고, hGlu는 호모글루탐산을 나타내고, Thi는 2-티에닐알라닌을 나타내고, 4ThiAz는 베타-(4-티아졸릴)-알라닌을 나타내고, His1Me는 N1-메틸-L-히스티딘을 나타내고, His3Me는 N3-메틸-L-히스티딘을 나타내고, 3Thi는 3-티에닐알라닌, 팔미토일-Glu-LysN_3[PYA]는



(팔미토일-Glu-LysN3)[PYA]

을 나타내고, [K(PYA-(팔미토일-Glu-LysN_3)]은



[K(PYA(팔미토일 -Glu-LysN3))]

을 나타내고, Nle는 노르류신(norleucine)을 나타내고, MerPro는 3-머캅토프로피온산을 나타내고, Cysam은 시스테아민을 나타낸다.

[0182] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0183] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 24);

[0184] 여기서, C_i, C_{ii}, C_{iii}는 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 시스테인 그룹을 나타내고, HyP는 트랜스-4-하이드록시-L-프롤린을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

[0185] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0186] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LEP[d1Nal]WTC$_{iii}$ (서열번호 44);

[0187] 여기서, C_i, C_{ii}, C_{iii}는 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 시스테인 그룹을 나타내고, HyP는 트랜스-4-하이드록시-L-프롤린을 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타낸다.

[0188] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 임의로 N-말단 및/또는 C-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0189] A-[HArg]-D-(서열번호 24) (본원에서 BCY9594로 지칭됨);

[0190] [B-Ala]-[Sar_{10}]-A-[HArg]-D-(서열번호 24) (본원에서 BCY6099로 지칭됨);

[0191] [PYA]-A-[HArg]-D-(서열번호 24) (본원에서 BCY11813으로 지칭됨);

[0192] Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 24)-[K(PYA)] (본원에서 BCY11814로 지칭됨);

[0193] Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 24)-K (본원에서 BCY12734로 지칭됨);

[0194] [NMeAla]-[HArg]-D-(서열번호 24) (본원에서 BCY13121로 지칭됨);

[0195] [Ac]-(서열번호 24)-L[dH]G[dK] (본원에서 BCY13125로 지칭됨);

[0196] [PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-VGP-(서열번호 25) (본원에서 BCY8941로 지칭됨);

[0197] Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 26) (본원에서 BCY11815로 지칭됨);

[0198] Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 27) (본원에서 BCY11816으로 지칭됨);

[0199] Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 28) (본원에서 BCY11817로 지칭됨);

[0200] Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 29) (본원에서 BCY12735로 지칭됨);

[0201] (팔미토일-Glu-$LysN_3$)[PYA]A[HArg]D-(서열번호 29) (본원에서 BCY14327로 지칭됨);

[0202] Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 30) (본원에서 BCY12736으로 지칭됨);

[0203] Ac-A-[HArg]-D-(서열번호 31) (본원에서 BCY12737로 지칭됨);

[0204] A-[HArg]-D-(서열번호 32) (본원에서 BCY12738로 지칭됨);

[0205] A-[HArg]-E-(서열번호 32) (본원에서 BCY12739로 지칭됨);

[0206] A-[HArg]-D-(서열번호 33) (본원에서 BCY12854로 지칭됨);

[0207] A-[HArg]-D-(서열번호 34) (본원에서 BCY12855로 지칭됨);

[0208] A-[HArg]-D-(서열번호 35) (본원에서 BCY12856으로 지칭됨);

[0209] A-[HArg]-D-(서열번호 35)-[dA] (본원에서 BCY12857로 지칭됨);

[0210] (서열번호 35)-[dA] (본원에서 BCY12861로 지칭됨);

[0211] [NMeAla]-[HArg]-D-(서열번호 35) (본원에서 BCY13122로 지칭됨);

[0212] [dA]-ED-(서열번호 35) (본원에서 BCY13126으로 지칭됨);

[0213] [dA]-[dA]-D-(서열번호 35) (본원에서 BCY13127로 지칭됨);

[0214] AD-(서열번호 35) (본원에서 BCY13128로 지칭됨);

[0215] A-[HArg]-D-(서열번호 36) (본원에서 BCY12858로 지칭됨);

[0216] A-[HArg]-D-(서열번호 37) (본원에서 BCY12859로 지칭됨);

[0217] Ac-(서열번호 37)-[dK] (본원에서 BCY13120으로 지칭됨);

[0218] A-[HArg]-D-(서열번호 38) (본원에서 BCY12862로 지칭됨);

[0219] A-[HArg]-D-(서열번호 39) (본원에서 BCY12863으로 지칭됨);

[0220] [dA]-[HArg]-D-(서열번호 39)-[dA] (본원에서 BCY12864로 지칭됨);

[0221] (서열번호 40)-[dA] (본원에서 BCY12865로 지칭됨);

[0222] A-[HArg]-D-(서열번호 41) (본원에서 BCY12866으로 지칭됨);

[0223] A-[HArg]-D-(서열번호 42) (본원에서 BCY13116으로 지칭됨);

[0224] A-[HArg]-D-(서열번호 43) (본원에서 BCY13117로 지칭됨);

[0225] A-[HArg]-D-(서열번호 44) (본원에서 BCY13118로 지칭됨);

[0226] [dA]-[HArg]-D-(서열번호 46)-[dA] (본원에서 BCY13123으로 지칭됨);

[0227] [d1Nal]-[HArg]-D-(서열번호 46)-[dA] (본원에서 BCY13124로 지칭됨);

[0228] A-[HArg]-D-(서열번호 47) (본원에서 BCY13130으로 지칭됨);

[0229] A-[HArg]-D-(서열번호 48) (본원에서 BCY13131로 지칭됨);

[0230] A-[HArg]-D-(서열번호 49) (본원에서 BCY13132로 지칭됨);

[0231] A-[HArg]-D-(서열번호 50) (본원에서 BCY13134로 지칭됨);

[0232] A-[HArg]-D-(서열번호 51) (본원에서 BCY13135로 지칭됨);

[0233] (서열번호 154)-[dK] (본원에서 BCY13129로 지칭됨);

[0234] A[HArg]D-(서열번호 155) (본원에서 BCY13133으로 지칭됨);

[0235] A[HArg]D-(서열번호 156) (본원에서 BCY13917로 지칭됨);

[0236] A[HArg]D-(서열번호 157) (본원에서 BCY13918로 지칭됨);

[0237] A[HArg]D-(서열번호 158) (본원에서 BCY13919로 지칭됨);

[0238] A[HArg]D-(서열번호 159) (본원에서 BCY13920으로 지칭됨);

[0239] A[HArg]D-(서열번호 160) (본원에서 BCY13922로 지칭됨);

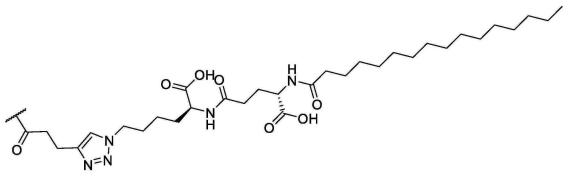
[0240] A[HArg]D-(서열번호 161) (본원에서 BCY13923으로 지칭됨);

[0241] A[HArg]D-(서열번호 162) (본원에서 BCY14047로 지칭됨);

[0242] A[HArg]D-(서열번호 163) (본원에서 BCY14048로 지칭됨); 및

[0243] A[HArg]D-(서열번호 164) (본원에서 BCY14313으로 지칭됨)

[0244] 여기서, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, NMeAla는 N-메틸알라닌을 나타내고, 1Nal은 1-나프틸알라닌을 나타내고,



(팔미토일-Glu-LysN3)[PYA]

팔미토일-Glu-$LysN_3$[PYA]는 을 나타낸다.

[0245] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 임의로 N-말단 및/또는 C-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0246] A-[HArg]-D-(서열번호 24)(본원에서 BCY9594로 지칭됨);

[0247] 여기서, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

[0248] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 임의로 N-말단 및/또는 C-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0249] A-[HArg]-D-(서열번호 44)(본원에서 BCY13118로 지칭됨);

[0250] 여기서, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

[0251] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0252] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 24); 및

[0253] C_iLWDPTPC$_{ii}$ANLHL[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 25);

[0254] 여기서, C_i, C_{ii} 및 C_{iii}은 각각 제1, 제2 및 제3 시스테인 잔기를 나타내고, HyP는 하이드록시프롤린을 나타내고, dD는 D-구성의 아스파르트산을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

[0255] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0256] C_i[HyP]LVNPLC$_{ii}$LHP[dD]W[HArg]C$_{iii}$ (서열번호 24);

[0257] 여기서, C_i, C_{ii} 및 C_{iii}은 각각 제1, 제2 및 제3 시스테인 잔기를 나타내고, HyP는 하이드록시프롤린을 나타내고, dD는 D-구성의 아스파르트산을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

[0258] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 N-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0259] A-HArg-D-(서열번호 24)(본원에서 BCY9594로 지칭됨);

[0260] [B-Ala]-[Sar$_{10}$]-A-[HArg]-D-(서열번호 24)(본원에서 BCY6099로 지칭됨);

[0261] [PYA]-[B-Ala]-[Sar$_{10}$]-A-[HArg]-D-(서열번호 24)(본원에서 BCY6169로 지칭됨); 및

[0262] [PYA]-[B-Ala]-[Sar$_{10}$]-VGP-(서열번호 25)(본원에서 BCY8941로 지칭됨);

[0263] 여기서, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, Sar$_{10}$은 10개 사르코신 단위를 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타낸다.

[0264] 일부 실시형태에서, EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 N-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0265] A-HArg-D-(서열번호 24)(본원에서 BCY9594로 지칭됨),

[0266] 여기서, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

[0267] 일부 실시형태에서, 암 세포에 존재하는 성분은 PD-L1이다.

[0268] 프로그램된 세포 사멸 1 리간드 1(PD-L1)은 마우스 염색체 19 및 인간 염색체 9 상의 CD274 유전자에 의해 코딩되는 290 아미노산 유형 I 막관통 단백질이다. PD-L1의 발현은 만성 감염, 예를 들면, 만성 바이러스 감염(특히, 예를 들면, HIV, HBV, HCV 및 HTLV를 포함함), 만성 박테리아 감염(특히, 예를 들면, 헬리코박터 파일로리(Helicobacter pylori)를 포함함), 및 만성 기생충 감염(예를 들면, 시스토소마 만소니(Schistosoma mansoni)를 포함함)에 관련된 면역 반응의 회피에 관여한다. PD-L1 발현은 T-세포, B-세포, 마크로파지, 수지상 세포(dendritic cell), 및 내피 세포, 간 세포, 근육 세포 및 태반을 포함하는 비조혈 세포를 포함한 다수의 조직 및 세포 유형에서 검출된다.

[0269] PD-L1 발현은 항종양 면역 활성의 억제에도 관여한다. 종양은 숙주 T 세포에 의해 인식될 수 있는 항원을 발현하지만, 종양의 면역학적 클리어런스는 드물다. 이 실패의 일부는 종양 미세환경에 의한 면역 억제 때문이다. 다수의 종양에서 PD-L1 발현은 이 억제 환경의 성분이며, 다른 면역 억제 신호와 협력하여 작용한다. PD-L1 발현은 유방, 폐, 결장, 난소, 흑색종, 방광, 간, 타액, 위, 신경교종, 갑상선, 흉선 상피, 두부 및 경부와 같은 다양한 고형 종양의 원위치에서 나타났다[참조: Brown JA *et al*. 2003 Immunol. 170:1257-66; Dong H *et al*. 2002 Nat. Med. 8:793-800; Hamanishi J, *et al*. 2007 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104:3360-65; Strome SE *et al*. 2003 Cancer Res. 63:6501-5; Inman BA *et al*. 2007 Cancer 109:1499-505; Konishi J *et al*. 2004 Clin. Cancer Res. 10:5094-100; Nakanishi J *et al*. 2007 Cancer Immunol. Immunother. 56:1173-82; Nomi T *et al*. 2007 Clin. Cancer Res. 13:2151-57; Thompson RH *et al*. 2004 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:17174-79; Wu C *et al*. 2006 Acta Histochem. 108:19-24]. 또한, PD-L1, 프로그램된 세포 사멸 단백질 1(PD-1 및 CD279로도 공지되어 있음)의 수용체 발현은 종양 침윤 림프구에서 상향-조절되며, 이는 또한 종양 면역 억제에도 기여한다[참조: Blank C *et al*. 2003 Immunol. 171:4574-81]. 가장 중요하게도, 종양에서 PD-L1

발현을 질환 결과와 연관시키는 연구는 PD-L1 발현이 신장암, 난소암, 방광암, 유방암, 위암 및 췌장암의 불량한 예후와 강력하게 상관관계가 있음을 나타낸다[참조: Hamanishi J *et al*. 2007 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104:3360-65; Inman BA *et al*. 2007 Cancer 109:1499-505; Konishi J *et al*. 2004 Clin. Cancer Res. 10:5094-100; Nakanishi J *et al*. 2007 Cancer Immunol. Immunother. 56:1173-82; Nomi T *et al*. 2007 Clin. Cancer Res. 13:2151-57; Thompson RH *et al*. 2004 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:17174-79; Wu C *et al*. 2006 Acta Histochem. 108:19-24]. 또한, 이러한 연구는 종양에서 높은 수준의 PD-L1 발현이 종양 병기의 진행과 더 깊은 조직 구조로의 침윤을 촉진할 수 있음을 시사한다.

[0270] PD-1 경로는 혈액학적 악성종양에서도 역할을 할 수 있다. PD-L1은 다발성 골수종 세포에서 발현되지만 정상 형질 세포에서는 발현되지 않는다[참조: Liu J et al. 2007 Blood 110:296-304]. PD-L1은 일부 원발성 T 세포 림프종, 특히 역형성 거대 세포 T 림프종에서 발현된다[참조: Brown JA et al, 2003 Immunol. 170:1257-66]. PD-1은 혈관면역모세포 림프종의 T 세포에서 고도로 발현되고, PD-L1은 관련 여포성 수지상 세포 네트워크에서 발현된다[참조: Dorfman DM et al. 2006 Am. J. Surg. Pathol. 30:802-10]. 결절성 림프구-우위 호지킨 림프종에서, 림프구 또는 조직구(L&H) 세포와 관련된 T 세포는 PD-1을 발현한다. PD-1 결찰에 의해 유발된 유전자의 판독치를 이용한 마이크로어레이 분석은 종양 관련 T 세포가 호지킨 림프종의 원위치에서 PD-1 신호에 반응한다는 것을 시사한다[참조: Chemnitz JM et al. 2007 Blood 110:3226-33]. PD-1 및 PD-L1은 HTLV-1-매개 성인 T 세포 백혈병 및 림프종의 CD4 T-세포에서 발현된다[참조: Shimauchi T et al. 2007 Int. J. Cancer 121:2585-90]. 이러한 종양 세포는 TCR 신호에 대해 저반응성이다.

[0271] 동물 모델에서의 연구는 종양의 PD-L1이 종양 세포의 T 세포 활성화 및 용해를 억제하고, 일부 경우에는 종양 특이적 T-세포 사멸의 증가를 초래한다는 것을 입증한다[참조: Dong H *et al*. 2002 Nat. Med. 8:793-800; Hirano F *et al*. 2005 Cancer Res. 65:1089-96]. 종양-관련 APC는 또한 PD-1:PD-L1 경로를 이용하여 항종양 T-세포 반응을 제어할 수 있다. 종양-관련 골수성 DC 모집단에서의 PD-L1 발현은 종양 환경 요인에 의해 상향-조절된다[참조: Curiel TJ *et al*. 2003 Nat. Med. 9:562-67]. B16 흑색종의 종양 배출 림프절의 형질세포양 수지상 세포(DC)는 조절 T 세포의 억제 활성을 강력하게 활성화하는 IDO를 발현한다. IDO 처리된 조절 T 세포의 억제 활성은 IDO 발현 DC와의 세포 접촉을 필요로 했다[참조: Sharma MD *et al*. 2007 Clin. Invest. 117:2570-82].

[0272] 일부 실시형태에서, 제1 펩티드 리간드는 PD-L1 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함한다.

[0273] 일부 실시형태에서, PD-L1 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 WO 제2020/128526호 및 WO 제2020/128527호에 개시된 것들로부터 선택되며, 각각의 내용은 본원에 전체가 참조에 의해 포함되어 있다.

[0274] 일부 실시형태에서, PD-L1 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0275] $C_iSAGWLTMC_{ii}QKLHLC_{iii}$ (서열번호 52);

[0276] $C_iSAGWLTMC_{ii}Q[K(PYA)]LHLC_{iii}$ (서열번호 53);

[0277] $C_iSKGWLTMC_{ii}Q[K(Ac)]LHLC_{iii}$ (서열번호 54);

[0278] $C_iSAGWLTKC_{ii}Q[K(Ac)]LHLC_{iii}$ (서열번호 55);

[0279] $C_iSAGWLTMC_{ii}K[K(Ac)]LHLC_{iii}$ (서열번호 56);

[0280] $C_iSAGWLTMC_{ii}Q[K(Ac)]LKLC_{iii}$ (서열번호 57);

[0281] $C_iSAGWLTMC_{ii}Q[HArg]LHLC_{iii}$ (서열번호 58); 및

[0282] $C_iSAGWLTMC_{ii}[HArg]QLNLC_{iii}$ (서열번호 59);

[0283] 여기서, C_i, C_{ii} 및 C_{iii}은 각각 제1, 제2 및 제3 시스테인 잔기를 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

[0284] 일부 실시형태에서, PD-L1 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 임의로 N-말단 및/또는 C-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0285] [PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-SDK-(서열번호 52) (본원에서 BCY10043으로 지칭됨);

[0286] Ac-D-[HArg]-(서열번호 52)-PSH (본원에서 BCY11865로 지칭됨);

[0287] Ac-SDK-(서열번호 53) (본원에서 BCY11013으로 지칭됨);

[0288] Ac-SDK-(서열번호 53)-PSH (본원에서 BCY10861로 지칭됨);

[0289] Ac-D-[HArg]-(서열번호 54)-PSH (본원에서 BCY11866으로 지칭됨);

[0290] Ac-D-[HArg]-(서열번호 55)-PSH (본원에서 BCY11867로 지칭됨);

[0291] Ac-D-[HArg]-(서열번호 56)-PSH (본원에서 BCY11868로 지칭됨);

[0292] Ac-D-[HArg]-(서열번호 57)-PSH (본원에서 BCY11869로 지칭됨);

[0293] Ac-SD-[HArg]-(서열번호 58)-PSHK (본원에서 BCY12479로 지칭됨); 및

[0294] Ac-SD-[HArg]-(서열번호 59)-PSHK (본원에서 BCY12477로 지칭됨);

[0295] 여기서, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타낸다.

[0296] 일부 실시형태에서, PD-L1 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0297] C_i[HArg]DWC_{ii}HWTFSHGHPC_{iii} (서열번호 82);

[0298] C_iSAGWLTMC_{ii}QKLHLC_{iii} (서열번호 52); 및

[0299] C_iSAGWLTMC_{ii}Q[K(PYA)]LHLC_{iii} (서열번호 53);

[0300] 여기서, C_i, C_{ii} 및 C_{iii}은 각각 제1, 제2 및 제3 시스테인 잔기를 나타내고, HArg는 호모아르기닌을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타낸다.

[0301] 일부 실시형태에서, PD-L1 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 N-말단 및/또는 C-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0302] [PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-(서열번호 82) (본원에서 BCY8938로 지칭됨);

[0303] [PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]-SDK-(서열번호 52) (본원에서 BCY10043으로 지칭됨);

[0304] NH_2-SDK-(서열번호 52)-[Sar_{10}]-[K(PYA)] (본원에서 BCY10044로 지칭됨);

[0305] NH_2-SDK-(서열번호 53) (본원에서 BCY10045로 지칭됨); 및

[0306] Ac-SDK-(서열번호 53)-PSH (본원에서 BCY10861로 지칭됨);

[0307] 여기서, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, B-Ala는 베타-알라닌을 나타내고, Sar_{10}은 10개 사르코신 단위를 나타낸다.

[0308] 일부 실시형태에서, 암 세포에 존재하는 성분은 전립선-특이적 막 항원(PSMA)이다.

[0309] 전립선-특이적 막 항원(PSMA)(글루타메이트 카복시펩티다제 II(GCPII), N-아세틸-L-아스파르틸-L-글루타메이트 펩티다제 I(NAALADase I) 및 NAAG 펩티다제라고도 함)은 인간에서 *FOLH1*(엽산 하이드롤라제 1) 유전자에 의해 코딩되는 효소이다. 인간 GCPII는 750개의 아미노산을 함유하고, 중량은 약 84kDa이다.

[0310] 인간 PSMA는 전립선에서 고도로 발현되고, 대부분의 다른 조직에서보다 약 100배 더 크다. 일부 전립선암에서, PSMA는 두 번째로 상향-조절된 유전자 산물이고, 비암성 전립선 세포 수준의 8 내지 12배로 증가한다. 이러한 고발현 때문에, PSMA는 몇몇 암의 요법 및 영상화를 위한 잠재적 바이오마커로서 개발되었다. 인간 전립선 암에서, 종양의 발현이 높을수록 진행 시간이 더 빨라지고, 재발로 고통받는 환자의 비율이 높아진다.

[0311] 일부 실시형태에서, 제1 펩티드 리간드는 PSMA 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함한다.

[0312] 일부 실시형태에서, PSMA 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 WO 제2019/243455호 및 WO 제2020/120980호에 개시된 것들로부터 선택되고, 각각의 내용은 본원에 전체가 참조에 의해 포함되어 있다.

[0313] 일부 실시형태에서, 암 세포에 존재하는 성분은 막 1형 메탈로프로테아제(MT1-MMP)이다.

[0314] 일부 실시형태에서, 제1 펩티드 리간드는 MT1-MMP 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함한다.

[0315] 일부 실시형태에서, MT1-MMP 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 WO 제2016/067035호, WO 제2017/191460호 및 WO 제2018/115204호에 개시된 것들로부터 선택되고, 각각의 내용은 본원에 전체가 참조에 의해 포함되어 있다.

[0316] CD137 결합 펩티드 리간드(들)

[0317] CD137은 종양 괴사 인자(TNF) 수용체 패밀리의 구성원이다. 이의 대안적 명칭은 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 9(TNFRSF9), 4-IBB이며, 림프구 활성화(ILA)에 의해 유도된다. CD137은 활성화된 T 세포에 의해 발현되지만 CD4+ T 세포에서보다 CD8+에서 더 큰 정도로 발현된다. 또한, CD137 발현은 수지상 세포, 여포성 수지상 세포, 자연 킬러 세포, 과립구 및 염증 부위의 혈관벽 세포에서 발견된다. CD137의 하나의 특성화된 활성은 활성화 T 세포에 대한 이의 공-자극 활성이다. CD137의 가교결합은 T 세포 증식, IL-2 분비, 생존 및 세포용해 활성을 향상시킨다. 또한, 이는 면역 활성을 향상시켜 마우스의 종양을 제거할 수 있다.

[0318] CD137은 TCR 활성화에 대해 유도된 T 세포 공-자극 수용체이다[참조: Nam et al., Curr. Cancer Drug Targets, 5:357-363 (2005); Waits et al., Annu. Rev, Immunol., 23:23-68 (2005)]. CD137은 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포에서의 발현 이외에, CD4+CD25+ 조절 T 세포, 자연 킬러(NK) 및 NK-T 세포, 단핵구, 호중구 및 수지상 세포에서 또한 발현된다. 이의 천연 리간드인 CD137L은 B 세포, 단핵구/마크로파지 및 수지상 세포를 포함하는 항원 제시 세포에 대해 기재되었다[참조: Watts et al. Annu. Rev. Immunol, 23:23-68 (2005)]. CD137은 이의 리간드와 상호작용시, TCR-유도 T-세포 증식, 사이토카인 생산, 기능적 성숙의 증가 및 CD8+ T-세포 생존의 연장을 초래한다[참조: Nam et al, Curr. Cancer Drug Targets, 5:357-363 (2005), Watts et d - I., Annu. Rev. Immunol, 23:23-68 (2005)].

[0319] CD137L 또는 CD137에 대한 작용제 모노클로날 항체(mAb)에 의한 CD137을 통한 신호전달은 TCR-유도 T 세포 증식, 사이토카인 생산 및 기능적 성숙의 증가, 및 CD8+ T 세포 생존의 연장을 초래한다. 이러한 효과는 (1) NF-κB, c-Jun NH2-말단 키나제/스트레스 활성화 단백질 키나제(JNK/SAPK), 및 p38 미토겐 활성화 단백질 키나제(MAPK) 신호전달 경로의 활성화, 및 (2) 항-아폽토시스 및 세포 주기-관련 유전자 발현의 조절로부터 생성된다.

[0320] CD137 및 CD137L-결핍 마우스 모두에서 수행된 실험은 완전히 유능한 T 세포 반응의 생성에서 CD137 공-자극의 중요성을 추가로 입증했다.

[0321] IL-2 및 IL-15 활성화된 NK 세포는 CD137을 발현하고, 작용제 mAb에 의한 CD137의 결찰은 NK 세포 증식 및 IFN-γ 분비를 자극하지만, 세포용해 활성은 자극하지 않는다.

[0322] 추가로, CD137 자극된 NK 세포는 시험관내에서 활성화된 T 세포의 확장을 촉진한다.

[0323] 이들의 공-자극 기능에 따라, CD137에 대한 작용제 mAb는 심장 및 피부 동종 이식편의 거부를 촉진하고, 확립된 종양을 근절시키고, 원발성 항바이러스 CD8+ T 세포 반응을 확장시키고, T 세포 세포 용해능을 증가시키는 것으로 나타났다. 이러한 연구는 CD137 신호전달이 종양과 감염에 대한 면역력을 증강시킬 수 있는 T 세포 기능을 촉진한다는 견해를 뒷받침한다.

[0324] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드는 동일한 펩티드 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드는 상이한 펩티드 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드는 동일하다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드는 상이하다.

[0325] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, CD137 결합 펩티드 리간드는 CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤

바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드는 CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드이다.

[0326] 일부 실시형태에서, CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 WO 제2019/025811호에 개시된 것들로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, CD137 결합 펩티드 리간드는 WO 제2019/025811호에 개시된 것들로부터 선택된 CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드이다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 WO 제2019/025811호에 개시된 것들로부터 독립적으로 선택된다. WO 제2019/025811호의 내용은 본원에서 전체가 참조에 의해 포함되어 있다.

[0327] 일부 실시형태에서, CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0328] C_iIEEGQYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 5);

[0329] C_i[tBuAla]PE[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 6);

[0330] C_iIEEGQYC_{ii}F[D-Ala]DPY[Nle]C_{iii} (서열번호 7);

[0331] C_i[tBuAla]PK[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 8);

[0332] C_i[tBuAla]PE[D-Lys]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 9);

[0333] C_i[tBuAla]P[K(PYA)][D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 10);

[0334] C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 11);

[0335] C_iIEE[D-Lys(PYA)]QYC_{ii}FADPY(Nle)C_{iii} (서열번호 12);

[0336] C_i[tBuAla]PE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 60);

[0337] C_iIEE[dK(PYA)]QYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 61);

[0338] C_i[tBuAla]EE(dK)PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 62);

[0339] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 63);

[0340] C_i[tBuAla]EE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 64);

[0341] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FANPY[Nle]C_{iii} (서열번호 65);

[0342] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAEPY[Nle]C_{iii} (서열번호 66);

[0343] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FA[Aad]PY[Nle]C_{iii} (서열번호 67);

[0344] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAQPY[Nle]C_{iii} (서열번호 68);

[0345] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle][Cysam]$_{iii}$ (서열번호 69);

[0346] [MerPro]$_i$[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 70; 본원에서 BCY12353으로 지칭됨);

[0347] [MerPro]$_i$[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle][Cysam]$_{iii}$ (서열번호 71; 본원에서 BCY12354로 지칭됨);

[0348] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 72);

[0349] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 73);

[0350] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 74; 본원에서 BCY12372로 지칭됨);

[0351] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeAla]Y[Nle]C_{iii} (서열번호 75);

[0352] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeDAla]Y[Nle]C_{iii} (서열번호 76);

[0353] C_i[tBuAla]P[K(PYA)][dA]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 77);

[0354] C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 78);

[0355] C_i[tBuAla]PE[dK(Me,PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 79);

[0356] C_i[tBuAla]PE[dK(Me,PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 80); 및

[0357] [MerPro]$_i$[tBuAla]EE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 81; 본원에서 BCY13137로 지칭됨);

[0358] 여기서, [MerPro]$_i$, C_i, C_{ii}, C_{iii} 및 [Cysam]$_{iii}$은 시스테인, MerPro 및 Cysam로부터 선택된 제1 (i), 제2 (ii) 및 제3 (iii) 반응성 그룹을 나타내고, Nle은 노르류신을 나타내고, tBuAla는 t-부틸-알라닌을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, Aad는 알파-L- 아미노아디프산을 나타내고, MerPro는 3-머캅토프로피온산을 나타내고, Cysam은 시스테아민을 나타내고, NMeAla는 N-메틸-알라닌을 나타낸다.

[0359] 일부 실시형태에서, CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0360] C_iIEEGQYC$_{ii}$FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 5);

[0361] C_i[tBuAla]PE[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 6);

[0362] C_iIEEGQYC$_{ii}$F[D-Ala]DPY[Nle]C_{iii} (서열번호 7);

[0363] C_i[tBuAla]PK[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 8);

[0364] C_i[tBuAla]PE[D-Lys]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 9);

[0365] C_i[tBuAla]P[K(PYA)][D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 10);

[0366] C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 11); 및

[0367] C_iIE[D-Lys(PYA)]QYC$_{ii}$FADPY(Nle)C_{iii} (서열번호 12);

[0368] 여기서, C_i, C_{ii} 및 C_{iii}은 각각 제1, 제2 및 제3 시스테인 잔기를 나타내고, Nle는 노르류신을 나타내고, tBuAla는 t-부틸-알라닌을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타낸다.

[0369] 일부 실시형태에서, CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 하기 아미노산 서열, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0370] C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (서열번호 11);

[0371] 여기서, C_i, C_{ii} 및 C_{iii}은 각각 제1, 제2 및 제3 시스테인 잔기를 나타내고, tBuAla는 t-부틸-알라닌을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타내고, Nle는 노르류신을 나타낸다.

[0372] 일부 실시형태에서, CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 N- 및 C-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0373] Ac-A-(서열번호 5)-Dap (본원에서 BCY7732로 지칭됨);

[0374] Ac-A-(서열번호 5)-Dap(PYA) (본원에서 BCY7741로 지칭됨);

[0375] Ac-(서열번호 6)-Dap (본원에서 BCY9172로 지칭됨);

[0376] Ac-(서열번호 6)-Dap(PYA) (본원에서 BCY11014로 지칭됨);

[0377] Ac-A-(서열번호 7)-Dap (본원에서 BCY8045로 지칭됨);

[0378] Ac-(서열번호 8)-A (본원에서 BCY8919로 지칭됨);

[0379] Ac-(서열번호 9)-A (본원에서 BCY8920으로 지칭됨);

[0380] Ac-(서열번호 10)-A (본원에서 BCY8927로 지칭됨);

[0381] Ac-(서열번호 11)-A (본원에서 BCY8928로 지칭됨);

[0382] (서열번호 11)-A (본원에서 BCY14601로 지칭됨);

[0383] Ac-A-(서열번호 12)-A (본원에서 BCY7744로 지칭됨);

[0384] Ac-(서열번호 60)-Dap(PYA) (본원에서 BCY11144로 지칭됨);

[0385] Ac-A-(서열번호 61)-K (본원에서 BCY11613으로 지칭됨);

[0386] Ac-(서열번호 62)-Dap(PYA) (본원에서 BCY12023으로 지칭됨);

[0387] Ac-(서열번호 63) (본원에서 BCY12149로 지칭됨);

[0388] Ac-(서열번호 64) (본원에서 BCY12143으로 지칭됨);

[0389] Ac-(서열번호 65) (본원에서 BCY12147로 지칭됨);

[0390] Ac-(서열번호 66) (본원에서 BCY12145로 지칭됨);

[0391] Ac-(서열번호 67) (본원에서 BCY12146으로 지칭됨);

[0392] Ac-(서열번호 68) (본원에서 BCY12150으로 지칭됨);

[0393] Ac-(서열번호 69) (본원에서 BCY12352로 지칭됨);

[0394] Ac-(서열번호 72)-[1,2-디아미노에탄] (본원에서 BCY12358로 지칭됨);

[0395] [팔미트산]-[yGlu]-[yGlu]-(서열번호 73) (본원에서 BCY12360으로 지칭됨);

[0396] Ac-(서열번호 75) (본원에서 BCY12381로 지칭됨);

[0397] Ac-(서열번호 76) (본원에서 BCY12382로 지칭됨);

[0398] Ac-(서열번호 77)-K (본원에서 BCY12357로 지칭됨);

[0399] Ac-(서열번호 78)-[dA] (본원에서 BCY13095로 지칭됨);

[0400] [Ac]-(서열번호 78)-K (본원에서 BCY13389로 지칭됨);

[0401] Ac-(서열번호 79)-[dA] (본원에서 BCY13096으로 지칭됨); 및

[0402] Ac-(서열번호 80) (본원에서 BCY13097로 지칭됨);

[0403] 여기서, Ac는 아세틸 그룹을 나타내고, Dap은 디아미노프로피온산을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타낸다.

[0404] 일부 실시형태에서, CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 N- 및 C-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0405] Ac-A-(서열번호 5)-Dap (본원에서 BCY7732로 지칭됨);

[0406] Ac-A-(서열번호 5)-Dap(PYA) (본원에서 BCY7741로 지칭됨);

[0407] Ac-(서열번호 6)-Dap (본원에서 BCY9172로 지칭됨);

[0408] Ac-(서열번호 6)-Dap(PYA) (본원에서 BCY11014로 지칭됨);

[0409] Ac-A-(서열번호 7)-Dap (본원에서 BCY8045로 지칭됨);

[0410] Ac-(서열번호 8)-A (본원에서 BCY8919로 지칭됨);

[0411] Ac-(서열번호 9)-A (본원에서 BCY8920으로 지칭됨);

[0412] Ac-(서열번호 10)-A (본원에서 BCY8927로 지칭됨);

[0413] Ac-(서열번호 11)-A (본원에서 BCY8928로 지칭됨); 및

[0414] Ac-A-(서열번호 12)-A (본원에서 BCY7744로 지칭됨);

[0415] 여기서, Ac는 아세틸 그룹을 나타내고, Dap은 디아미노프로피온산을 나타내고, PYA는 4-펜티노산을 나타낸다.

[0416] 일부 실시형태에서, CD137 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드는 N- 및 C-말단 변형을 포함하고, 하기 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0417] Ac-(서열번호 11)-A(본원에서 BCY8928로 지칭됨);

[0418] 여기서, Ac는 아세틸 그룹을 나타낸다.

[0419] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드 각각은 동일한 펩티드 서열을 갖고, 상기 펩티드 서열은 Ac-(서열번호 11)-A(본원에서 BCY8928로 지칭됨) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하고, 여기서 Ac는 아세틸 그룹을 나타낸다.

[0420] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개의 CD137 결합 펩티드 리간드 모두는 Ac-(서열번호 11)-A(본원에서 BCY8928로 지칭됨)를 포함하는 동일한 펩티드 서열 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 갖고, 여기서 Ac는 아세틸 그룹을 나타낸다.

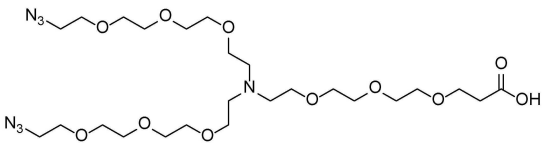
[0421] 링커

[0422] ***2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체***

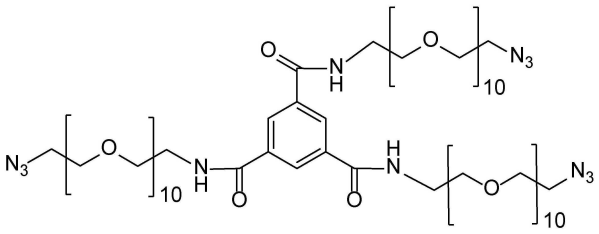
[0423] 제1 펩티드 리간드는 임의의 적절한 링커를 통해 2개 이상의 제2 펩티드 리간드에 접합될 수 있다는 것을 이해할 수 있다. 전형적으로, 상기 링커의 설계는 3개의 바이사이클릭 펩티드가 단독으로 또는 2개의 표적 수용체에 동시에 결합하면서 각각의 표적에 방해받지 않고 결합할 수 있는 방식으로 제시되도록 할 것이다. 추가로, 링커는 원하는 기능적 결과를 유도할 수 있는 표적 세포 사이의 적절한 거리를 유지하면서 양쪽 표적에 동시에 결합할 수 있어야 한다. 링커의 특성은 원하는 기능적 결과를 최적화하기 위해 길이, 강성 또는 용해도를 증가시키도록 조절될 수 있다. 또한, 링커는 동일한 표적에 하나 이상의 바이사이클의 부착을 가능하게 하도록 설계될 수도 있다. 결합 펩티드의 원자가를 증가시키는 것은 표적 세포에 대한 헤테로탠덤의 친화성을 증가시키거나, 표적 수용체 중 하나 또는 둘 모두의 올리고머화를 유도하는 데 도움이 될 수 있다.

[0424] 일부 실시형태에서, 링커는 한쪽 말단에 하나의 제1 펩티드를 가능하게 하고 다른 쪽 말단에 2개 이상의 제2 펩티드를 가능하게 하도록 하는 분지형 링커이다.

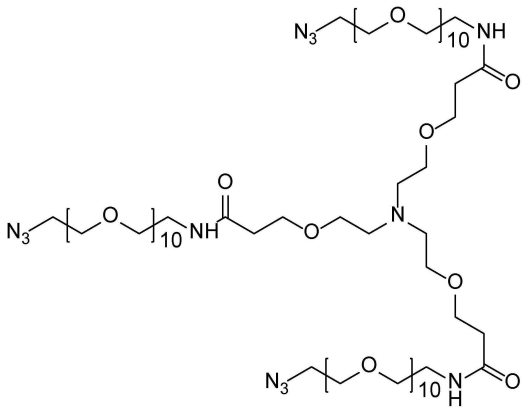
[0425] 일부 실시형태에서, 분지형 링커는 하기로부터 선택된다:



N-(산 -PEG3)-N-bis(PEG3-아지드);

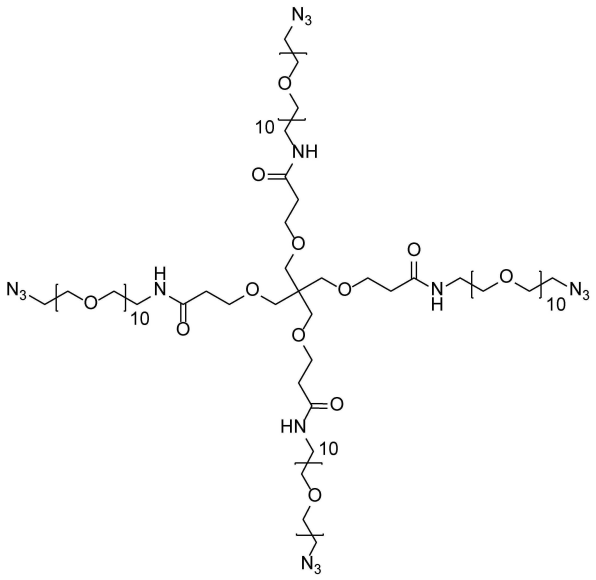


트리메식-[Peg10]3;

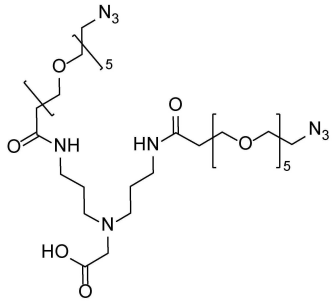


TCA-[Peg10]3;

[0426]



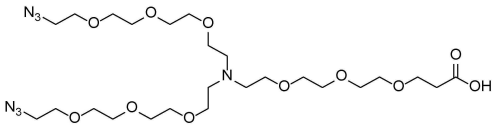
Tet-[Peg$_{10}$]$_4$; 및



BAPG-(Peg$_5$)$_2$

[0427]

[0428] 일부 실시형태에서, 분지형 링커는



N-(산 -PEG$_3$)-N비스(PEG$_3$-아지드)

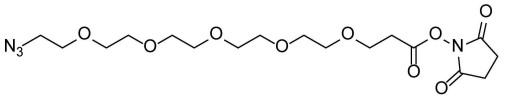
[0429] 이다.

[0430] ***하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체***

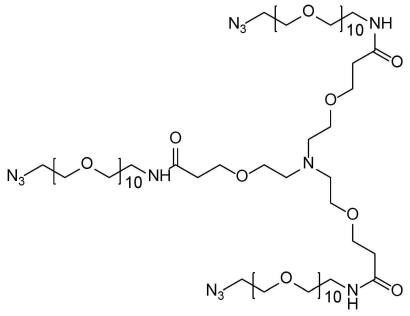
[0431] 제1 펩티드 리간드는 임의의 적절한 링커를 통해 제2 펩티드 리간드에 접합될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 전형적으로, 상기 링커의 설계는 2개의 바이사이클릭 펩티드가 단독으로 또는 2개의 표적 수용체에 동시에 결합하면서 각각의 표적에 방해받지 않고 결합할 수 있는 방식으로 제시되도록 한다. 추가로, 링커는 원하는 기능적 결과를 유도할 수 있는 표적 세포 사이의 적절한 거리를 유지하면서 양쪽 표적에 동시에 결합할 수 있어야 한다. 링커의 특성은 원하는 기능적 결과를 최적화하기 위해 길이, 강성 또는 용해도를 증가시키도록 조절될 수 있다. 또한, 링커는 동일한 표적에 하나 이상의 바이사이클을 부착할 수 있도록 설계될 수도 있다. 결합 펩티드의 원자가를 증가시키는 것은 표적 세포에 대한 헤테로탠덤의 친화성을 증가시키거나, 표적 수용체 중 하나 또는 둘 모두의 올리고머화를 유도하는 데 도움이 될 수 있다.

[0432] 일 실시형태에서, 링커는 하기 서열로부터 선택된다: -PEG5- 및 TCA-[PEG]$_{103}$.

[0433] 이러한 링커의 구조적 표현은 하기에 상세히 설명되어 있다:



-PEG5-; **및**

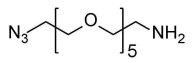


TCA-[PEG_{10}]$_3$.

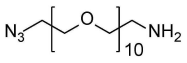
[0434]

[0435] 일부 실시형태에서, 링커는 하기 서열로부터 선택된다: -CH_2-, -PEG_5-, -PEG_{10}-, -PEG_{12}-, -PEG_{23}-, -PEG_{24}-, -PEG_{15}-Sar_5-, -PEG_{10}-Sar_{10}-, -PEG_5-Sar_{15}-, -PEG_5-Sar_5-, -B-Ala-Sar_{20}-, -B-Ala-Sar_{10}-PEG_{10}-, -B-Ala-Sar_5-PEG_{15}- and -B-Ala-Sar_5-PEG_5-.

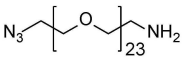
[0436] 일부 실시형태에서, 링커는 하기로부터 선택된다:



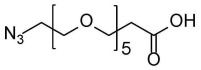
H2N-Peg5-N3
COM00000132



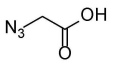
H2N-Peg10-N3
COM00000134



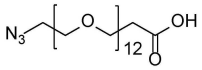
H2N-Peg23-N3
COM00000135



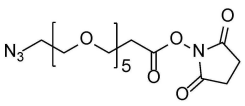
N3-PEG5-COOH
COM00000467



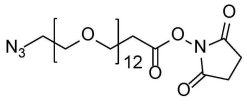
N3-CH2-COOH
COM00000468



N3-PEG12-COOH
COM00000466

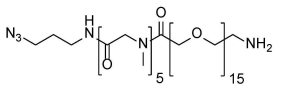


NHS-PEG5-N3

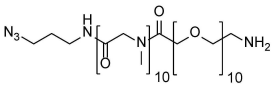


NHS-PEG12-N3

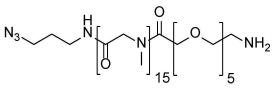
[0437]



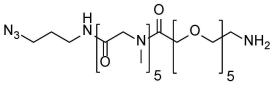
H2N-PEG15-SAR5-N3
COM00000128



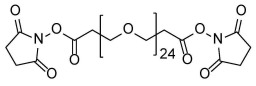
H2N-PEG10-SAR10-N3
COM00000129



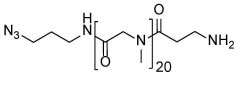
H2N-PEG5-SAR15-N3
COM00000130



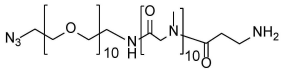
H2N-PEG5-SAR5-N3
COM00000131



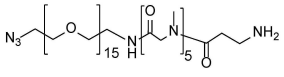
NHS-PEG24-NHS
COM00000469



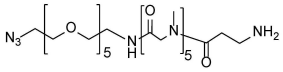
H2N-(B-Ala)-SAR20-N3
COM00000470



H2N-(B-Ala)-SAR10-PEG10-N3
COM00000471



H2N-(B-Ala)-SAR5-PEG15-N3
COM00000472



H2N-(B-Ala)-SAR5-PEG5-N3
COM00000473

[0438]

[0439] 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체

[0440] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 바이사이클릭 리간드 각각은 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 표 A에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0441] 표 A(넥틴-4 : CD137; 1:2)

복합체 번호	*넥틴-4 BCY 번호*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY11863	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12484	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12143	dLys(PYA)4
BCY10918	BCY11015	N-term PYA	트리메식-$[Peg_{10}]_3$	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY10919	BCY11015	N-term PYA	트리메식-$[Peg_{10}]_3$	BCY11014	C-term Dap(PYA)
BCY11027	BCY11015	N-term PYA	TCA-$[Peg_{10}]_3$	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY11385	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY11014	C-term Dap(PYA)
BCY11864	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY7744	dLys(PYA)4
BCY12485	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12149	dLys(PYA)4
BCY12486	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12147	dLys(PYA)4
BCY12586	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12352	dLys(PYA)4

[0442]

BCY12487	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12145	dLys(PYA)4
BCY12490	BCY12024	dLys3	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12587	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12353	dLys(PYA)4
BCY12588	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12354	dLys(PYA)4
BCY12589	BCY12371	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12590	BCY12384	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12760	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12381	dLys(PYA)4
BCY12761	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12382	dLys(PYA)4
BCY13390	BCY8116	N 말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4
BCY14602	BCY8116	N 말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY14601	dLys(PYA)4

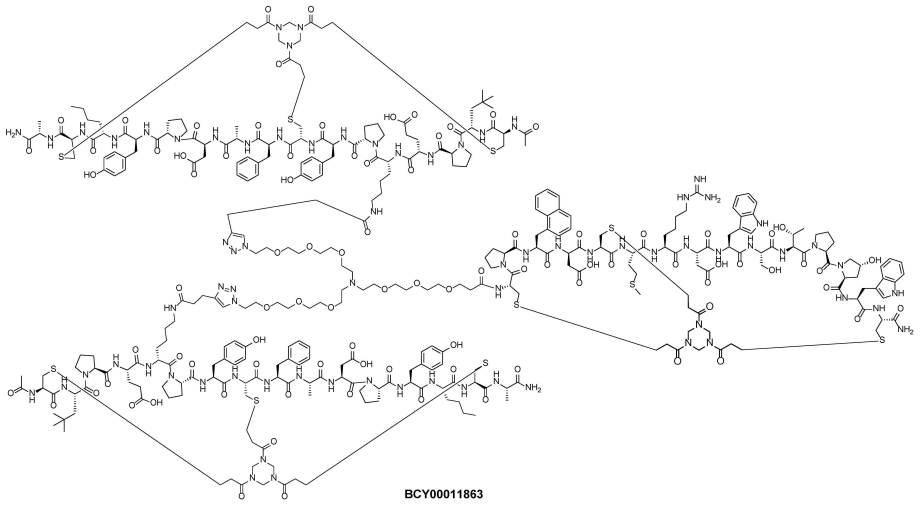
[0443]

BCY15155	BCY8116	N 말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY14601 BCY8928	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4

[0444]

[0445] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY11027, BCY11863 및 BCY11864로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY11863 및 BCY11864로부터 선택된다.

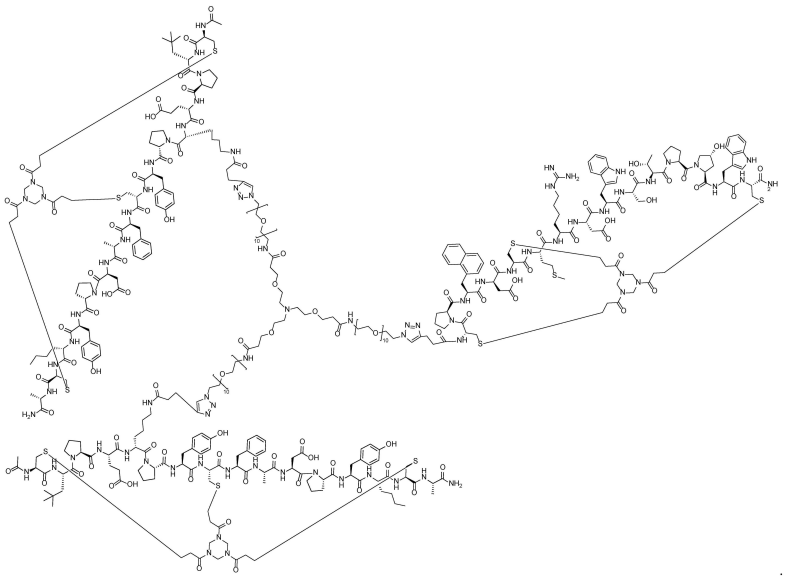
[0446] 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 BCY11863(BT7480이라고도 함)은 하기 도시된 바와 같이 N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드) 링커를 통해 2개의 CD137 특이적 펩티드(둘 다 BCY8928)에 연결된 넥틴-4 특이적 펩티드 BCY8116으로 구성된다:



[0447]

[0448] CD137은 호모삼량체 단백질이고, 천연 리간드 CD137L은 면역 세포에서 발현되거나 분비되는 호모삼량체로서 존재한다. CD137의 생물학은 면역 세포에서 CD137 활성을 유도하기 위해 다량체화에 크게 의존한다. CD137 다량체화를 생성하는 한 가지 방법은 또 다른 세포에 존재하는 특이적 수용체와의 상호작용을 통해 CD137 특이적 작용제의 세포 교차-결합을 통한 것이다. 본 발명의 헤테로탠덤 복합체의 장점은 CD137과 같은 면역 세포 성분에 특이적인 2개 이상의 펩티드 리간드의 존재가 CD137의 보다 효과적 클러스터링을 제공한다는 것이다. 예를 들면, BCY11863은 강력한 CD137 활성화를 입증했고 강력한 IL-2 및 IFN-사이토카인 분비를 유도하며, BCY11863은 SD 랫트에서 4.1시간 및 cyno에서 5.3시간의 종말 반감기를 갖는 우수한 PK 프로파일을 나타내는 것으로 밝혀졌다.

[0449] 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 BCY11027은 하기 도시된 바와 같이 TCA-$[Peg_{10}]_3$ 링커를 통해 2개의 CD137 특이적 펩티드(둘 다 BCY8928)에 연결된 넥틴-4 특이적 펩티드 BCY11015로 이루어져 있다:



[0450] .

[0451] 넥틴-4/CD137 헤테로탠덤 BCY11027은 일차 환자-유래 폐 종양의 *생체외* 배양물에서 표적 의존성 사이토카인 방출을 유도하고, 환자-유래 샘플에서 몇몇 면역 마커(비히클에 대해 정규화)와 %CD8 +ki67+ T 세포에서 넥틴-4 발현 수준과 상관관계가 있는 넥틴-4 의존성 변화를 유도하는 것으로 밝혀졌다.

[0452] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 바이사이클릭 리간드 각각은 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 표 B에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0453] 표 B(넥틴-4 : CD137; 1:3)

복합체 번호	*넥틴-4 BCY 번호*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY11021	BCY11016	N-term PYA	Tet-[Peg10]4	BCY7744	dLys(PYA)4
BCY11022	BCY11016	N-term PYA	Tet-[Peg10]4	BCY8928	dLys(PYA)4

[0454]

[0455] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 바이사이클릭 리간드 각각은 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 표 C에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0456] 표 C(EphA2: CD137; 1:2)

복합체 번호	*EphA2 BCY No.*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY12491	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12723	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY12143	dLys (PYA)4
BCY12724	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY12149	dLys (PYA)4
BCY12725	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY12147	dLys (PYA)4
BCY12726	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY12145	dLys (PYA)4

[0457]

[0458]

BCY12728	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12150	dLys (PYA)4
BCY12729	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12352	dLys (PYA)4
BCY12730	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY12731	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12354	dLys (PYA)4
BCY12732	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12360	dLys (PYA)4
BCY12973	BCY12734	C-term Lys	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12974	BCY12735	Lys8	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12975	BCY12736	Lys2	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12976	BCY12737	Lys7	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12977	BCY12738	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4

BCY12978	BCY12739	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12979	BCY9594	N-말단	BAPG-$(Peg_5)_2$	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13042	BCY12854	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13043	BCY12855	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13044	BCY12856	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13045	BCY12857	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13046	BCY12858	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13047	BCY12859	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13048	BCY12860	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13049	BCY12861	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4

[0459]

BCY13050	BCY12862	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13051	BCY12863	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13052	BCY12864	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13053	BCY12865	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13054	BCY12866	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13138	BCY12856	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13139	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13140	BCY12856	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13270	BCY13116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13271	BCY13117	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4

[0460]

BCY13272	BCY13118	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13273	BCY13119	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13274	BCY13120	C-term dLys	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13275	BCY13121	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13276	BCY13122	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13277	BCY13123	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13278	BCY13124	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13280	BCY13126	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13281	BCY13127	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13282	BCY13128	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4

[0461]

BCY13284	BCY13130	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13285	BCY13131	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13286	BCY13132	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13288	BCY13134	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13289	BCY13135	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13341	BCY12865	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13343	BCY12860	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13279	BCY13125	C-term dLys	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13283	BCY13129	C-term dLys	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13287	BCY13133	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4

[0462]

BCY14049	BCY13917	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14050	BCY13918	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14051	BCY13919	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14052	BCY13920	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14053	BCY13922	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14054	BCY13923	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14055	BCY14047	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14056	BCY14048	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14334	BCY14313	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14335	BCY14327	Lys 8	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928	dLys (PYA)4

[0463]

BCY14413	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928 BCY13389	dLys (PYA)4 dLys (PYA)4
BCY14414	BCY13118	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4
BCY15217	BCY13118	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY14601 BCY14601	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4
BCY15218	BCY13118	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928 BCY14601	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4

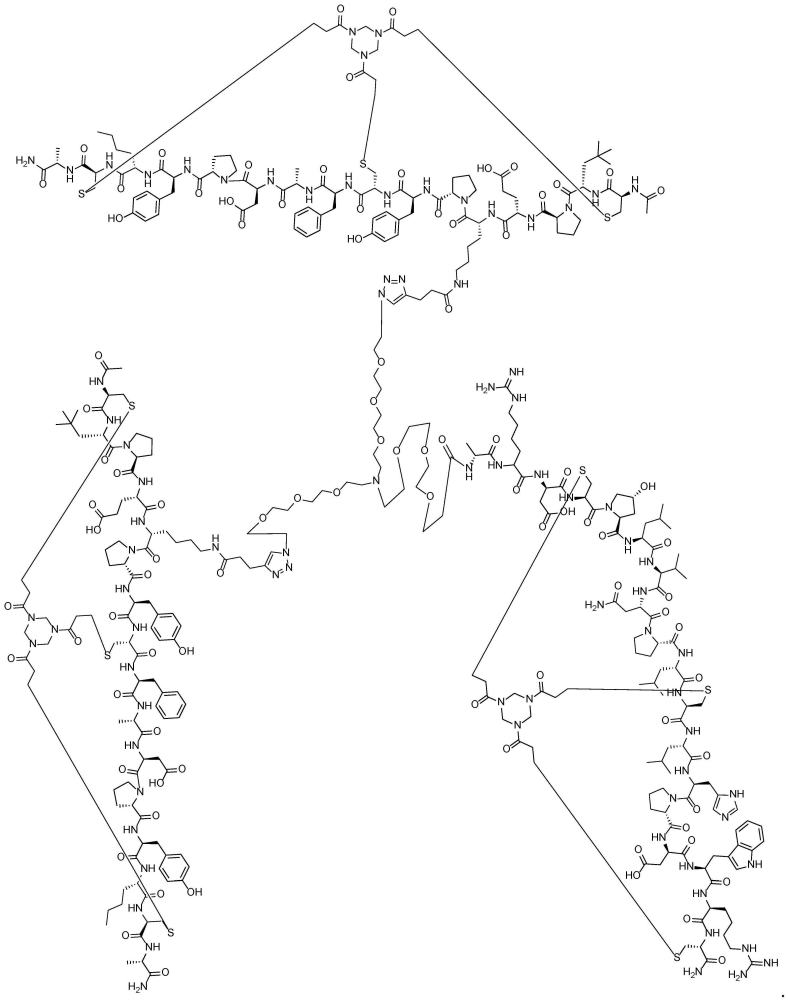
[0464]

[0465] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY12491, BCY12730, BCY13048, BCY13050, BCY13053 및 BCY13272로부터 선택된다.

[0466] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY12491, BCY12730, BCY13048, BCY13050 및 BCY13053으로부터 선택된다.

[0467] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY12491이다.

[0468] 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 BCY12491은 하기 도시된 바와 같이 N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드) 링커를 통해 2개의 CD137 특이적 펩티드(둘 다 BCY8928)에 연결된 EphA2 특이적 펩티드 BCY9594로 구성된다:



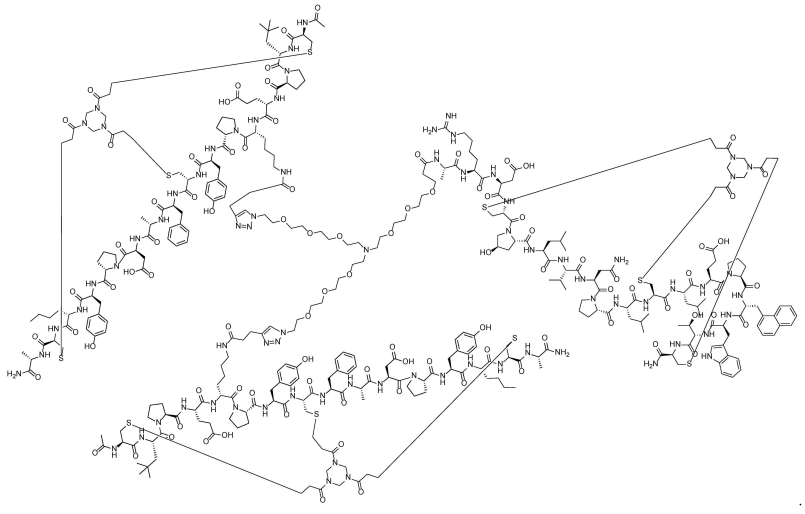
BCY12491

[0469]

[0470] BCY12491은 종양 침윤 면역 세포 및 면역 반응의 현저한 항종양 반응 및 조절(증가)을 유도하는 것으로 밝혀졌다.

[0471] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY13272이다.

[0472] 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 BCY13272는 하기 도시된 바와 같이 N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드) 링커를 통해 2개의 CD137 특이적 펩티드(둘 다 BCY8928)에 연결된 EphA2 특이적 펩티드 BCY13118로 구성된다:



BCY13272

[0473]

[0474] BCY13272는 마우스의 MC38 종양 모델에서 유의한 항종양 효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다.

[0475] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 2개 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 PD-L1 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 2개 이상의 CD137 결합 바이사이클릭 리간드 각각은 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 표 D에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0476] 표 D(PD-L1: CD137; 1:2)

복합체 번호	*PD-L1 BCY 번호*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY11780	BCY10861	Lys(PYA)9	TCA-[Peg_{10}]$_3$	BCY8928	dLys4
BCY12662	BCY12479	C-term Lys	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12722	BCY12477	C-term Lys	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928	dLys(PYA)4

[0477]

[0478] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 PD-L1 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드는 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 표 E에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0479] 표 E(PD-L1: CD137; 1:1)

복합체 번호	*PD-L1 BCY 번호*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY12229	BCY11865	Lys9	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12230	BCY11866	Lys2	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12231	BCY11867	Lys7	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12232	BCY11868	Lys8	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12242	BCY11869	Lys11	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12375	BCY10861	Lys(PYA)9	Peg5	BCY12023	dLys4
BCY12663	BCY12479	C-term Lys	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12796	BCY12477	C-term Lys	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12021	BCY10861	Lys(PYA)9	Peg5	BCY11144	dLys4

[0480]

[0481] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY12375 및 BCY12021로부터 선택된다.

[0482] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 PD-L1 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 상기 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드는 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 표 E-2에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0483] 표 E-2(PD-L1: CD137; 1:1)

복합체 번호	*PD-L1 BCY 번호*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY8939	BCY8938	N-말단 PYA	-PEG_{12}-	BCY7732	C-말단 Dap
BCY10580	BCY10043	N-말단 PYA	-PEG_{12}-	BCY9172	C-말단 Dap
BCY10581	BCY10044	C-말단 Lys(PYA)	-PEG_{12}-	BCY9172	C-말단 Dap
BCY10582	BCY10045	Lys(PYA)9	-PEG_{12}-	BCY9172	C-말단 Dap
BCY11017	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG_{12}-	BCY8919	Lys3
BCY11018	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG_{12}-	BCY8920	dLys4
BCY11019	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG_{12}-	BCY9172	C-말단 Dap
BCY11376	BCY10861	Lys(PYA)9	-CH_2-	BCY8919	Lys3
BCY11377	BCY10861	Lys(PYA)9	-CH_2-	BCY8920	dLys4
BCY11378	BCY10861	Lys(PYA)9	-CH_2-	BCY9172	C-말단 Dap
BCY11379	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG_5-	BCY8919	Lys3
BCY11380	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG_5-	BCY8920	dLys4
BCY11381	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG_5-	BCY9172	C-말단 Dap

[0484]

[0485] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드는 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 복합체는 표 F에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0486] 표 F(EphA2: CD137; 1:1)

복합체 번호	*EphA2 BCY 번호*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY12233	BCY11813	N-term PYA	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12234	BCY11814	C-term Lys(PYA)	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12235	BCY11815	Lys(PYA) 8	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12236	BCY11816	Lys(PYA)2	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12237	BCY11817	Lys(PYA)7	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12711	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY12143	dLys (PYA)4
BCY12712	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY12149	dLys (PYA)4

[0487]

BCY12713	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY12147	dLys (PYA)4
BCY12714	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY12145	dLys (PYA)4
BCY12715	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY12146	dLys (PYA)4
BCY12717	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY12352	dLys (PYA)4
BCY12718	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY12719	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY12354	dLys (PYA)4
BCY12720	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY12360	dLys (PYA)4
BCY12961	BCY12734	C-term Lys	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12962	BCY12735	Lys8	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12963	BCY12736	Lys2	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12964	BCY12737	Lys7	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12965	BCY12738	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12966	BCY12739	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13029	BCY12854	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13030	BCY12855	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13031	BCY12856	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13032	BCY12857	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13033	BCY12858	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13034	BCY12859	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13035	BCY12860	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13036	BCY12861	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4

[0488]

BCY13037	BCY12862	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13038	BCY12863	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13039	BCY12864	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13040	BCY12865	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13041	BCY12866	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13141	BCY12856	N-말단	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13142	BCY9594	N-말단	Peg5	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13143	BCY12856	N-말단	Peg5	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13250	BCY13116	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13251	BCY13117	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13252	BCY13118	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13253	BCY13119	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13254	BCY13120	C-term dLys	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13255	BCY13121	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13256	BCY13122	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13257	BCY13123	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13258	BCY13124	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13260	BCY13126	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13261	BCY13127	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13262	BCY13128	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4

[0489]

BCY13264	BCY13130	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13265	BCY13131	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13266	BCY13132	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13268	BCY13134	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13269	BCY13135	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13340	BCY12865	N-말단	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13342	BCY12860	N-말단	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4

[0490]

[0491] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY13035, BCY13040, BCY13253, BCY13254, BCY13340 및 BCY13342로부터 선택된다.

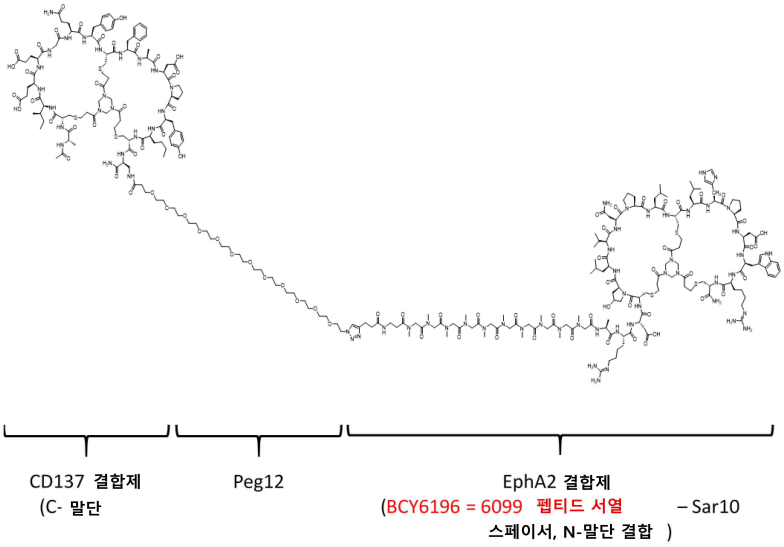
[0492] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 EphA2 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드는 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 복합체는 표 F-2에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0493] 표 F-2(EphA2: CD137; 1:1)

복합체 번호	*EphA2 BCY 번호*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY9173	BCY6169	N-말단 PYA	-PEG_{12}-	BCY9172	C-말단 Dap
BCY7985	BCY6169	N-말단 PYA	-PEG_{12}-	BCY7732	C-말단 Dap
BCY8942	BCY6169	N-말단 PYA	-PEG_{12}-	BCY8045	C-말단 Dap
BCY8943	BCY8941	N-말단 PYA	-PEG_{12}-	BCY7732	C-말단 Dap
BCY9647	BCY6099	N-말단	-PEG_{10}-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9648	BCY6099	N-말단	-PEG_{23}-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9655	BCY6099	N-말단	-PEG_{15}-Sar_5-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9656	BCY6099	N-말단	-PEG_{10}-Sar_{10}-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9657	BCY6099	N-말단	-PEG_5-Sar_{15}-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9658	BCY6099	N-말단	-PEG_5-Sar_5-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9659	BCY6099	N-말단	-PEG_5-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9758	BCY6099	N-말단	-PEG_{24}-	BCY7732	C-말단 Dap
BCY10568	BCY6169	N-말단 PYA	-PEG_{12}-	BCY8919	Lys3
BCY10570	BCY6169	N-말단 PYA	-PEG_{12}-	BCY8920	dLys4
BCY10574	BCY9594	N-말단	-PEG_5-	BCY8927	Lys (PYA)3
BCY10575	BCY9594	N-말단	-PEG_5-	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY10576	BCY9594	N-말단	-PEG_5-	BCY11014	C-말단 Dap(PYA)
BCY10577	BCY6169	N-말단	-CH_2-	BCY9172	C-말단 Dap

[0494]

[0495] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY7985이고, 여기서 CD137-특이적 펩티드 BCY7859는 PEG_{12}를 통해 EphA2-특이적 펩티드 BCY6169의 N-말단 PYA 그룹에 연결된다:



[0496]

[0497] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드는 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 복합체는 표 G에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0498] 표 G(넥틴-4 : CD137; 1:1)

복합체 번호	*넥틴-4 BCY 번호*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY11616	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY7744	dLys(PYA)4
BCY12238	BCY12024	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12377	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY12143	dLys(PYA)4
BCY12379	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY12149	dLys(PYA)4
BCY12572	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY12352	dLys(PYA)4
BCY12573	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY12353	dLys(PYA)4
BCY12574	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY12354	dLys(PYA)4
BCY12575	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY12360	dLys(PYA)4
BCY12576	BCY12363	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12577	BCY12364	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12578	BCY12365	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12579	BCY12366	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12580	BCY12367	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12581	BCY12368	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12582	BCY12369	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12583	BCY12370	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12584	BCY12371	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12585	BCY12384	N-말단	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12709	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY12381	dLys(PYA)4

[0499]

BCY12710	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY12382	dLys(PYA)4
BCY11468	BCY11016	N-term PYA	TCA-[Peg10]3	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY11618	BCY11143	N-term PYA	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY11776	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY11144	C-term Dap(PYA)
BCY11860	BCY11143	N-term PYA	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12020	BCY11016	N-term PYA	Peg5	BCY11144	C-term Dap(PYA)
BCY12661	BCY11015	N-term PYA	Peg5	BCY12023	dLys4
BCY12969	BCY8116	N-말단	Peg5	BCY12358	dLys(PYA)4

[0500]

[0501] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BCY11468, BCY11618, BCY11776, BCY11860, BCY12020, BCY12661 및 BCY12969로부터 선택된다.

[0502] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하고, 제1 펩티드 리간드가 TATA 스캐폴드에 부착된 넥틴-4 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 포함하는 경우, 하나의 CD137 결합 펩티드 리간드는 TATA 스캐폴드에 부착되고, 상기 헤테로탠덤 복합체는 표 G-2에 수록된 복합체로부터 선택된다:

[0503] 표 G-2(넥틴-4 : CD137; 1:1)

복합체 번호	*넥틴-4 BCY 번호*	*부착점*	*링커*	*CD137 BCY 번호*	*부착점*
BCY8854	BCY8846	N-말단 PYA	-PEG12-	BCY7732	C-말단 Dap
BCY9350	BCY11942	N-말단 PYA	-PEG12-	BCY7732	C-말단 Dap
BCY9351	BCY8846	N-말단 PYA	-PEG12-	BCY8045	C-말단 Dap
BCY9399	BCY8116	N-말단	-PEG10-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9400	BCY8116	N-말단	-PEG23-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9401	BCY8116	N-말단	-B-Ala-Sar20-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9403	BCY8116	N-말단	-B-Ala-Sar10-PEG10-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9405	BCY8116	N-말단	-B-Ala-Sar5-PEG15-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9406	BCY8116	N-말단	-B-Ala-Sar5-PEG5-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9407	BCY8116	N-말단	-PEG15-Sar5-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9408	BCY8116	N-말단	-PEG10-Sar10-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9409	BCY8116	N-말단	-PEG5-Sar15-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9410	BCY8116	N-말단	-PEG5-Sar5-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9411	BCY8116	N-말단	-PEG5-	BCY7741	C-말단 Dap(PYA)
BCY9759	BCY8116	N-말단	-PEG24-	BCY7732	C-말단 Dap
BCY10000	BCY8846	N-말단 PYA	-PEG12-	BCY9172	C-말단 Dap
BCY10567	BCY8846	N-말단 PYA	-PEG12-	BCY8919	Lys3
BCY10569	BCY8846	N-말단 PYA	-PEG12-	BCY8920	dLys4
BCY10571	BCY8116	N-말단	-PEG5-	BCY8927	Lys(PYA)3
BCY10572	BCY8116	N-말단	-PEG5-	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY10573	BCY8116	N-말단	-PEG5-	BCY11014	C-말단 Dap(PYA)
BCY10578	BCY8846	N-말단 PYA	-CH2-	BCY9172	C-말단 Dap
BCY10917	BCY8831	dLys(Sar10)-(B-Ala))4	-PEG12-	BCY11014	C-말단 Dap(PYA)
BCY11020	BCY8831	dLys(Sar10)-(B-Ala))4	-PEG5-	BCY11014	C-말단 Dap(PYA)
BCY11373	BCY8116	N-말단	-CH2-	BCY8927	Lys(PYA)3

[0504]

BCY11374	BCY8116	N-말단	-CH2-	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY11375	BCY8116	N-말단	-CH2-	BCY11014	C-말단 Dap(PYA)
BCY11616	BCY8116	N-말단	-PEG5-	BCY7744	dLys (PYA)4
BCY11617	BCY8116	N-말단	-PEG5-	BCY11506	Lys(PYA)4
BCY11857	BCY11414	N-말단	-PEG5-	BCY7744	dLys (PYA)4
BCY11858	BCY11414	N-말단	-PEG5-	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY11859	BCY11415	N-말단	-PEG5-	BCY8928	dLys (PYA)4

[0505]

[0506] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 미국 특허 출원 제17/062,662호에 개시된 것들로부터 선택되고, 이의 내용은 본원에 전체가 참조에 의해 포함되어 있다.

[0507] 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 미국 특허 공보 제20190307836호에 개시된 것들로부터 선택되고, 이의 내용은 본원에 전체가 참조에 의해 포함되어 있다.

[0508] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 펩티드 화학, 세포 배양 및 파지 디스플레이, 핵산 화학 및 생화학의 기술에서 통상의 당업자에게 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 분자 생물학, 유전학 및 생화학 방법에는 표준 기술이 사용되고[참조: Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel *et al.*, Short Protocols in Molecular Biology (1999) 4th ed., John Wiley & Sons, Inc.], 이는 본원에 참조에 의해 포함되어 있다.

[0509] ***명명법***

[0510] 넘버링

[0511] 본 발명의 화합물 내의 아미노산 잔기 위치를 언급하는 경우, 시스테인 잔기(C_i, C_{ii} 및 C_{iii})는 불변이기 때문에 넘버링으로부터 생략되며, 따라서 서열번호 1내의 아미노산 잔기의 넘버링은 하기와 같이 참조된다:

[0512] C_i-P_1-1Nal$_2$-dD_3-C_{ii}-M_4-HArg$_5$-D_6-W_7-S_8-T_9-P_{10}-HyP_{11}-W_{12}-C_{iii}(서열번호 1).

[0513] 이 설명의 목적을 위해, 모든 바이사이클릭 펩티드는 TBMB(1,3,5-트리스(브로모메틸)벤젠) 또는 1,1',1"-(1,3,5-트리아지난-1,3,5-트리일)트리프로프-2-엔-1-온(TATA)으로 환화되어 삼치환된 구조를 생성하는 것으로 가정된다. TBMB 및 TATA에 의한 사이클릭화는 C_i, C_{ii} 및 C_{iii} 상에서 발생한다.

[0514] 분자 형식

[0515] 바이사이클 코어 서열로의 N-말단 또는 C-말단 확장은 하이픈으로 분리된 서열의 좌측 또는 우측에 추가된다. 예를 들면, N-말단 βAla-Sar10-Ala 꼬리는 다음과 같이 표시된다:

[0516] βAla-Sar10-A-(서열번호 X).

[0517] 역전된 펩티드 서열

[0518] 문헌[참조: Nair *et al* (2003) J Immunol 170(3), 1362-1373]의 개시에 비추어, 본원에 개시된 펩티드 서열은 또한 이들의 레트로-역함수 형태에서 유용성을 발견할 것으로 예상된다. 예를 들면, 서열은 역전되고(즉, N-말단이 C-말단이 되고, 그 반대도 마찬가지이다), 입체화학도 마찬가지로 또한 역전된다(즉, D-아미노산이 L-아미노산이 되고, 그 반대도 마찬가지이다). 의심의 여지를 피하기 위해, 이들의 전체 명칭으로 또는 이들의 아미노산 단일 또는 3문자 코드로서 아미노산에 대한 참조는 달리 명시되지 않는 한 본원에서 L-아미노산으로 표현되는 것으로 의도된다. 이러한 아미노산이 D-아미노산으로 표현되도록 의도된 경우, 아미노산은 사각 괄호 안의 소문자 d로, 예를 들면, [dA], [dD], [dE], [dK], [d1Nal], [dNle] 등으로 서문을 달 것이다.

[0519] **펩티드 리간드의 장점**

[0520] 본 발명의 특정 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 주사, 흡입, 비강, 눈, 경구 또는 국소 투여에 적합한 약물-유사 분자로 간주될 수 있게 하는 다수의 유리한 특성을 갖는다. 이러한 유리한 특성은 다음을 포함한다:

[0521] - 종 교차 반응성. 이것은 전임상 약력학적 및 약동학적 평가의 전형적 요건이다.

[0522] - 프로테아제 안정성. 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 이상적으로 혈장 프로테아제, 상피("막-고정") 프로테아제, 위 및 장 프로테아제, 폐 표면 프로테아제, 세포내 프로테아제 등에 대한 안정성을 입증해야 한다. 프로테아제 안정성은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 리드 후보가 동물 모델에서 개발될 수 있을 뿐만 아니라 인간에게 안심하고 투여될 수 있도록 상이한 종 사이에 유지되어야 한다.

[0523] - 바람직한 용해도 프로파일. 이는 하전된 및 친수성 대(versus) 소수성 잔기 및 분자내/분자간 H-결합의 비율의 함수이고, 이는 제형화 및 흡수 목적으로 중요하다.

[0524] - 선택성. 본 발명의 특정 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 다른 표적에 대해 양호한 선택성을 입증한다.

[0525] - 순환 중 최적 혈장 반감기. 임상적 조짐 및 치료 섭생에 따라 급성 질병 관리 환경에서 단기 노출을 위한 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체를 개발하거나 순환 중 체류가 증강된 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체를 개발하는 것이 필요할 수 있고, 따라서 보다 만성 질환 상태의 관리에 최적이다. 바람직한 혈장 반감기를 구동하는 다른 요인은 최대 치료 효율에 대한 지속적 노출 대 제제의 지속적 노출로 인한 동반되는 독성학의 요건이다.

[0526] 중요하게는, 선택된 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 화합물의 시험관내 EC_{50} 초과의 혈장 농도를 유지하지 않는 빈도로 투여될 때 항종양 효과를 입증하는 데이터가 본원에 제시된다. 이는 CD137 효능 작용 또는 이중특이적 CD137 효능 작용에 대한 더 큰 재조합 생물학적(즉, 항체 기반) 접근법과는 대조적이다[참조: Segal *et al*., Clin Cancer Res., 23(8):1929-1936 (2017), Claus *et al*., Sci Trans Med., 11(496): eaav5989, 1-12 (2019), Hinner *et al*., Clin Cancer Res., 25(19):5878-5889 (2019)]. 이론에 얽매이지 않고, 이 관찰의 이유는 헤테로탠덤 바이사이클릭 복합체가 비교적 낮은 분자량(전형적으로 <15kDa)을 갖고, 완전히 합성적이고

CD137의 종양 표적화 작용제라는 사실에 기인한다고 여겨진다. 이와 같이, 이들은 혈장 반감기는 상대적으로 짧지만 종양 침투와 유지는 양호하다. 이러한 장점을 완전히 뒷받침하는 데이터가 본원에 제시된다. 예를 들면, 인간화 CD137을 갖는 마우스의 동계 설치류 모델에서의 항종양 효능은 매일 또는 3일 마다 입증된다. 또한, 복강내 약물동태 데이터는 혈장 반감기가 3시간 미만임을 나타내며, 이는 복합체의 순환 농도가 투여간에 지속적으로 시험관내 EC_{50} 미만으로 떨어질 것으로 예측될 것이다. 또한, 종양 약물동태 데이터는 종양 조직에서 헤테로탠덤 바이사이클 복합체의 수준이 혈장 수준과 비교하여 더 높고 더 지속될 수 있음을 나타낸다.

[0527] 이러한 관찰은 본 발명의 중요한 추가 측면을 형성하는 것으로 이해될 것이다. 따라서, 본 발명의 추가의 측면에 따르면, 본원에 정의된 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체를 상기 복합체의 시험관내 EC_{50} 초과의 상기 복합체의 혈장 농도를 유지하지 않는 투여 빈도로 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하기 위한 방법이 제공된다.

[0528] - 면역 기억. 암 세포 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드를 면역 세포 결합 바이사이클릭 펩티드 리간드와 결합시키는 것은 면역 기억의 상승적 이점을 제공한다. 본 발명의 선택된 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체가 종양을 근절할 뿐만 아니라 종양 형성제의 재투여시 접종된 완전 반응자 마우스 중 어느 것도 종양을 발병하지 않았음을 입증하는 데이터가 본원에 제시된다(도 5 참조). 이는 본 발명의 선택된 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체에 의한 치료가 완전한 반응자 마우스에서 면역원성 기억을 유도하였음을 나타낸다. 이는 종양이 최초로 제어되고 근절되면 상기 종양의 재발을 방지하기 위해 중요한 임상적 이점을 갖는다.

[0529] ***펩티드 리간드***

[0530] 본원에 언급된 펩티드 리간드는 분자 스캐폴드에 공유 결합된 펩티드를 지칭한다. 전형적으로, 이러한 펩티드는 스캐폴드에 공유 결합을 형성할 수 있는 2개 이상의 반응성 그룹(즉, 시스테인 잔기), 및 루프 서열로서 지칭되는 상기 반응성 그룹 사이에 대향하는 서열을 포함하는 데, 이는 펩티드가 스캐폴드에 결합될 때 루프를 형성하기 때문이다. 본 사례의 경우, 펩티드는 시스테인, 3-머캅토프로피온산 및/또는 시스테아민으로부터 선택되는 적어도 3개의 반응성 그룹을 포함하고, 스캐폴드 상에 적어도 2개의 루프를 형성한다.

[0531] *반응성 그룹*

[0532] 본 발명의 분자 스캐폴드는 폴리펩티드 상의 작용성 또는 반응성 그룹을 통해 폴리펩티드에 결합될 수 있다. 이들은 전형적으로 폴리펩티드 중합체에서 발견되는 특정 아미노산의 측쇄로부터 형성된다. 이러한 반응성 그룹은 시스테인 측쇄, 리신 측쇄, 또는 N-말단 아민 그룹, 또는 임의의 다른 적합한 반응성 그룹, 예를 들면, 페니실라민일 수 있다. 적합한 반응성 그룹의 상세는 WO2009/098450에서 발견될 수 있다.

[0533] 천연 아미노산의 반응성 그룹의 예는 시스테인의 티올 그룹, 리신의 아미노 그룹, 아스파르테이트 또는 글루타메이트의 카복실 그룹, 아르기닌의 구아니디늄 그룹, 티로신의 페놀 그룹 또는 세린의 하이드록실 그룹이다. 비천연 아미노산은 아지드, 케토-카보닐, 알킨, 비닐 또는 아릴 할라이드 그룹을 포함하는 광범위한 범위의 반응성 그룹을 제공할 수 있다. 폴리펩티드의 말단의 아미노 및 카복실 그룹은 또한 분자 스캐폴드/분자 코어에 공유 결합을 형성하기 위한 반응성 그룹으로서 기능할 수 있다.

[0534] 본 발명의 폴리펩티드는 적어도 3개의 반응성 그룹을 함유한다. 상기 폴리펩티드는 또한 4개 이상의 반응성 그룹을 함유할 수 있다. 더 많은 반응성 그룹이 사용될수록 분자 스캐폴드 내에 더 많은 루프가 형성될 수 있다.

[0535] 바람직한 실시형태에서, 3개의 반응성 그룹을 갖는 폴리펩티드가 생성된다. 상기 폴리펩티드와 3중 회전 대칭을 갖는 분자 스캐폴드/분자 코어의 반응은 단일 생성물 이성체를 생성한다. 단일 생성물 이성체의 생성은 몇몇 이유로 유리하다. 화합물 라이브러리의 핵산은 폴리펩티드의 1차 서열만을 코딩하고, 폴리펩티드와 분자 코어의 반응시 형성된 분자의 이성체 상태는 코딩하지 않는다. 하나의 생성물 이성체만이 형성될 수 있는 경우, 생성물 이성체에 대한 핵산의 할당이 명확하게 정의된다. 다수의 생성물 이성체가 형성되는 경우, 핵산은 스크리닝 또는 선택 프로세스에서 단리된 생성물 이성체의 성질에 대한 정보를 제공할 수 없다. 본 발명의 라이브러리의 특정 구성원이 합성되는 경우, 단일 생성물 이성체의 형성 또한 유리하다. 이 경우, 폴리펩티드와 분자 스캐폴드의 화학 반응은 이성체의 혼합물보다는 단일 생성물 이성체를 생성한다.

[0536] 또 다른 실시형태에서, 4개의 반응성 그룹을 갖는 폴리펩티드가 생성된다. 상기 폴리펩티드와 정사면체 대칭성을 갖는 분자 스캐폴드/분자 코어의 반응은 2개의 생성물 이성체를 생성한다. 2개의 상이한 생성물 이성체가 하나의 동일한 핵산에 의해 코딩되더라도, 단리된 이성체의 이성체 성질은 양 이성체를 화학적으로 합성하고, 2개의 이성체를 분리하고 표적 리간드에 대한 결합에 대해 양 이성체를 시험함으로써 결정될 수 있다.

[0537] 본 발명의 일 실시형태에서, 폴리펩티드의 반응성 그룹 중 적어도 하나는 나머지 반응성 그룹에 직교한다. 직교 반응성 그룹의 사용은 상기 직교 반응성 그룹을 분자 코어의 특정 부위로 향하게 한다. 직교 반응성 그룹을 포함하는 연결 전략을 사용하여 형성된 생성물 이성체의 수를 제한할 수 있다. 즉, 적어도 3개 결합 중 하나 이상에 대해 적어도 3개 결합의 나머지에 대해 선택된 것에 대해 별개의 또는 상이한 반응성 그룹을 선택함으로써, 분자 스캐폴드 상의 특정 위치에 폴리펩티드의 특정 반응성 그룹을 결합하거나 지시하는 특정 순서가 유용하게 달성될 수 있다.

[0538] 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드의 반응성 그룹은 분자 링커와 반응하고, 여기서 상기 링커는 링커가 최종 결합 상태에서 분자 스캐폴드와 폴리펩티드 사이에 개입하도록 분자 스캐폴드와 반응할 수 있다.

[0539] 일부 실시형태에서, 라이브러리 또는 폴리펩티드 세트의 구성원의 아미노산은 임의의 천연 또는 비천연 아미노산으로 대체될 수 있다. 루프 서열만이 교환가능하도록 분자 코어에 폴리펩티드를 가교결합시키기 위한 작용성 그룹을 보유하는 것은 이러한 교환가능한 아미노산으로부터 제외된다. 교환가능한 폴리펩티드 서열은 랜덤 서열, 불변 서열, 또는 랜덤 및 불변 아미노산을 갖는 서열 중 어느 하나를 갖는다. 반응성 그룹을 갖는 아미노산은 이들 아미노산의 위치가 루프 크기를 결정하기 때문에 폴리펩티드 내의 정의된 위치에 위치한다.

[0540] 일 실시형태에서, 3개의 반응성 그룹을 갖는 폴리펩티드는 서열 $(X)_lY(X)_mY(X)_nY(X)_o$를 가지며, 여기서 Y는 반응성 그룹을 갖는 아미노산을 나타내고, X는 랜덤 아미노산을 나타내고, m 및 n은 동일하거나 상이할 수 있는 개재성 폴리펩티드 세그먼트의 길이를 정의하는 3 내지 6의 수이며, l 및 o는 인접한 폴리펩티드 세그먼트의 길이를 정의하는 0 내지 20의 수이다.

[0541] 티올-매개 접합에 대한 대안이 공유 상호작용을 통해 분자 스캐폴드를 펩티드에 부착시키는데 사용될 수 있다. 대안적으로, 이러한 기술은 본 발명에 따라 선택되거나 단리된 후에 폴리펩티드로의 추가 모이어티(예: 분자 스캐폴드와는 상이한 관심 소분자)의 변형 또는 부착에 사용될 수 있고 - 이어서, 이 실시형태에서, 명백히 부착은 공유결합일 필요는 없으며, 비공유결합 부착을 포함할 수 있다. 이러한 방법은 상보적 반응성 그룹을 보유하는 소분자와 조합하여 필요한 화학적 반응성 그룹을 갖는 비천연 아미노산을 보유하는 단백질 및 펩티드를 표시하는 파지를 생성하거나, 분자가 선택/단리 단계 후에 제조되는 경우 비천연 아미노산을 화학적으로 또는 재조합적으로 합성된 폴리펩티드에 도입함으로써 티올 매개 방법 대신에 (또는 조합하여) 사용될 수 있다. 추가의 상세는 문헌[참조: WO2009/098450 또는 Heinis *et al.*, *Nat Chem Biol* **2009**, *5* (7), 502-7]에서 발견할 수 있다.

[0542] 일부 실시형태에서, 반응성 그룹은 시스테인, 3-머캅토프로피온산 및/또는 시스테아민 잔기로부터 선택된다.

[0543] ***약제학적으로 허용되는 염***

[0544] 염 형태는 본 발명의 범위 내에 있으며, 펩티드 리간드에 대한 언급은 상기 리간드의 염 형태를 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0545] 본 발명의 염은 염기성 또는 산성 모이어티를 함유하는 모체 화합물로부터 통상적인 화학적 방법, 예를 들면, 문헌[참조: *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 pages, August 2002]에 기재된 방법에 의해 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 이러한 화합물의 유리 산 또는 염기 형태를 물 중 또는 유기 용매 중 또는 둘의 혼합물 중의 적절한 염기 또는 산과 반응시킴으로써 제조될 수 있다.

[0546] 산 부가염(일염 또는 이염)은 무기 및 유기 둘 다의 다양한 산으로 형성될 수 있다. 산 부가염의 예로는 아세트산, 2,2-디클로로아세트산, 아디프산, 알긴산, 아스코르브산(예: L-아스코르브산), L-아스파르트산, 벤젠설폰산, 벤조산, 4-아세트아미도벤조산, 부탄산, (+) 캄포르산, 캄포-설폰산, (+)-(1S)-캄포-10-설폰산, 카프르산, 카프로산, 카프릴산, 신남산, 시트르산, 사이클람산, 도데실황산, 에탄-1,2-디설폰산, 에탄설폰산, 2-하이드록시에탄설폰산, 포름산, 푸마르산, 갈락타르산, 겐티스산, 글루코헵톤산, D-글루콘산, 글루쿠론산(예: D-글루쿠론산), 글루탐산(예: L-글루탐산), α-옥소글루타르산, 글리콜산, 히푸르산, 할로겐화수소산(예: 브롬화수소산, 염산, 요오드화수소산), 이세티온산, 락트산(예: (+)-L-락트산, (±)-DL-락트산), 락토비온산, 말레산, 말산, (-)-L-말산, 말론산, (±)-DL-만델산, 메탄설폰산, 나프탈렌-2-설폰산, 나프탈렌-1,5-디설폰산, 1-하이드록시-2-나프토산, 니코틴산, 질산, 올레산, 오로트산, 옥살산, 팔미트산, 파모산, 인산, 프로피온산, 피루브산, L-피로글루탐산, 살리실산, 4-아미노-살리실산, 세박산, 스테아르산, 석신산, 황산, 타닌산, (+)-L-타르타르산, 티오시안산, p-톨루엔설폰산, 운데실렌산 및 발레르산뿐만 아니라 아실화 아미노산 및 양이온 교환 수

지로 이루어진 그룹으로부터 선택된 산으로 형성된 일염 또는 이염을 포함한다.

[0547] 염의 하나의 특정 그룹은 아세트산, 염산, 요오드화수소산, 인산, 질산, 황산, 시트르산, 락트산, 석신산, 말레산, 말산, 이세티온산, 푸마르산, 벤젠설폰산, 톨루엔설폰산, 황산, 메탄설폰산(메실레이트), 에탄설폰산, 나프탈렌설폰산, 발레산, 프로판산, 부탄산, 말론산, 글루쿠론산 및 락토비온산으로부터 형성된 염으로 구성된다. 하나의 특정 염은 염산염이다. 또 다른 특정 염은 아세테이트 염이다.

[0548] 화합물이 음이온성이거나 음이온성일 수 있는 작용성 그룹을 갖는 경우(예를 들면, -COOH는 $-COO^-$일 수 있다), 염은 유기 또는 무기 염기로 형성되어 적합한 양이온을 생성할 수 있다. 적합한 무기 양이온의 예는 Li^+, Na^+ 및 K+와 같은 알칼리 금속 이온, Ca^{2+} 및 Mg^{2+}와 같은 알칼리 토금속 양이온, 및 Al^{3+} 또는 Zn^+와 같은 다른 양이온을 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다. 적합한 유기 양이온의 예는 암모늄 이온(즉, NH_4^+) 및 치환된 암모늄 이온(예: NH_3R^+, $NH_2R_2^+$, NHR_3^+, NR_4^+)을 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다. 일부 적합한 치환된 암모늄 이온의 예는 메틸아민, 에틸아민, 디에틸아민, 프로필아민, 디사이클로헥실아민, 트리에틸아민, 부틸아민, 에틸렌디아민, 에탄올아민, 디에탄올아민, 피페라진, 벤질아민, 페닐벤질아민, 콜린, 메글루민 및 트로메타민뿐만 아니라 아미노산, 예를 들면, 리신 및 아르기닌으로부터 유래된 것들이다. 일반적인 4급 암모늄 이온의 예는 $N(CH3)_4^+$이다.

[0549] 본 발명의 화합물이 아민 작용기를 함유하는 경우, 이들은, 예를 들면, 당업자에게 익히 공지된 방법에 따른 알킬화제와의 반응에 의해 4급 암모늄 염을 형성할 수 있다. 이러한 4급 암모늄 화합물은 본 발명의 범위 내에 있다.

[0550] ***변형된 유도체***

[0551] 본원에 정의된 펩티드 리간드의 변형된 유도체는 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 이해될 것이다. 이러한 적합한 변형된 유도체의 예는 하기에서 선택되는 하나 이상의 변형을 포함한다: N-말단 및/또는 C-말단 변형; 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 비천연 아미노산 잔기로의 치환(하나 이상의 극성 아미노산 잔기의 하나 이상의 등배전자 또는 등전자 아미노산에 의한 치환; 하나 이상의 비극성 아미노산 잔기의 다른 비천연 등배전자 또는 등전자 아미노산에 의한 치환); 스페이서 그룹의 첨가; 하나 이상의 산화 민감성 아미노산 잔기의 하나 이상의 산화 내성 아미노산 잔기에 의한 치환; 하나 이상의 아미노산 잔기의 알라닌에 의한 치환, 하나 이상의 L-아미노산 잔기의 하나 이상의 D-아미노산 잔기에 의한 치환; 바이사이클릭 펩티드 리간드 내의 하나 이상의 아미드 결합의 N-알킬화; 하나 이상의 펩티드 결합의 대리 결합에 의한 치환; 펩티드 백본 길이 변형; 하나 이상의 아미노산 잔기의 알파 탄소 상의 수소의 다른 화학적 그룹에 의한 치환, 상기 아미노산을 작용화하기 위해 적합한 아민, 티올, 카복실산 및 페놀 반응성 시약에 의한 아미노산, 예를 들면, 시스테인, 리신, 글루타메이트/아스파르테이트 및 티로신의 변형, 및 작용화에 적합한 직교 반응성을 도입하는 아미노산, 예를 들면, 각각 알킨 또는 아지드 보유 모이어티에 의한 작용화를 가능하게 하는 아지드 또는 알킨 그룹 보유 아미노산의 도입 또는 치환.

[0552] 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 N-말단 및/또는 C-말단 변형을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 변형된 유도체는 적합한 아미노 반응성 화학을 사용하는 N-말단 변형 및/또는 적합한 카복시 반응성 화학을 사용하는 C-말단 변형을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 상기 N-말단 또는 C-말단 변형은 세포독성제, 방사성 킬레이트제 또는 발색단을 포함하지만 이들로 한정되지 않는 이펙터 그룹의 첨가를 포함한다.

[0553] 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 N-말단 변형을 포함한다. 추가의 실시형태에서, N-말단 변형은 N-말단 아세틸 그룹을 포함한다. 이 실시형태에서, N-말단 시스테인 그룹(본원에서 C_i로 지칭되는 그룹)은 펩티드 합성 동안 아세트산 무수물 또는 다른 적합한 시약으로 캡핑하여 N-말단 아세틸화되는 분자를 초래한다. 이 실시형태는 아미노펩티다제의 가능한 인식 지점을 제거하는 이점을 제공하며, 바이사이클릭 펩티드의 분해 가능성을 회피한다.

[0554] 일부 실시형태에서, N-말단 변형은 이펙터 그룹의 접합 및 바이사이클릭 펩티드의 이의 표적에 대한 효능의 유지를 용이하게 하는 분자 스페이서 그룹의 부가를 포함한다.

[0555] 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 C-말단 변형을 포함한다. 추가의 실시형태에서, C-말단 변형은 아미드 그

룹을 포함한다. 이 실시형태에서, C-말단 시스테인 그룹(본원에서 C_{iii}로서 지칭되는 그룹)은 펩티드 합성 동안 아미드로서 합성되어 C-말단 아미드화되는 분자를 초래한다. 이 실시형태는 카복시펩티다제의 가능한 인식 지점을 제거하는 이점을 제공하고, 바이사이클릭 펩티드의 단백질분해 가능성을 감소시킨다.

[0556] 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 비천연 아미노산 잔기에 의한 치환을 포함한다. 이 실시형태에서, 분해성 프로테아제에 의해 인식되지도 않고 표적 효능에 임의의 악영향을 미치지 않는 등배전자/등전자 측쇄를 갖는 비천연 아미노산이 선택될 수 있다.

[0557] 대안적으로, 인접한 펩티드 결합의 단백질분해 가수분해가 구조적 및 입체적으로 방해되도록 강제된 아미노산 측쇄를 갖는 비천연 아미노산이 사용될 수 있다. 특히, 이들은 프롤린 유사체, 벌키한 측쇄, Cα-이치환된 유도체(예: 아미노이소부티르산, Aib), 및 사이클로 아미노산에 관한 것이며, 단순한 유도체는 아미노-사이클로프로필카복실산이다.

[0558] 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 스페이서 그룹의 부가를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 N-말단 시스테인(C_i) 및/또는 C-말단 시스테인(C_{iii})에 스페이서 그룹의 부가를 포함한다.

[0559] 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 하나 이상의 산화 민감성 아미노산 잔기의 하나 이상의 산화 내성 아미노산 잔기로의 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 트립토판 잔기의 나프틸알라닌 또는 알라닌 잔기로의 치환을 포함한다. 이 실시형태는 생성된 바이사이클릭 펩티드 리간드의 약제학적 안정성 프로파일을 개선시키는 이점을 제공한다.

[0560] 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 하나 이상의 하전된 아미노산 잔기의 하나 이상의 소수성 아미노산 잔기로의 치환을 포함한다. 대안적 실시형태에서, 변형된 유도체는 하나 이상의 소수성 아미노산 잔기의 하나 이상의 하전된 아미노산 잔기로의 치환을 포함한다. 하전된 아미노산 잔기 대 소수성 아미노산 잔기의 정확한 균형은 바이사이클릭 펩티드 리간드의 중요한 특징이다. 예를 들면, 소수성 아미노산 잔기는 혈장 단백질 결합의 정도에 영향을 미치고, 따라서 혈장 중의 유리 이용가능한 분획의 농도에 영향을 미치는 반면, 하전된 아미노산 잔기(특히 아르기닌)는 펩티드 및 세포 표면 상의 인지질 막과의 상호작용에 영향을 미칠 수 있다. 조합하여 둘 다는 반감기, 분포 용적 및 펩티드 약물의 노출에 영향을 미칠 수 있으며, 임상 종점에 따라 조정될 수 있다. 또한, 하전된 아미노산 잔기 대 소수성 아미노산 잔기의 정확한 조합 및 수는 주사 부위에서의 자극을 감소시킬 수 있다(펩티드 약물이 피하 투여된 경우).

[0561] 일부 실시형태에서, 변형된 유도체는 하나 이상의 L-아미노산 잔기의 하나 이상의 D-아미노산 잔기로의 치환을 포함한다. 이 실시형태는 입체 장애 및 D-아미노산이 β-회전 형태를 안정화시키는 경향에 의해 단백질분해 안정성을 증가시키는 것으로 여겨진다[참조: Tugyi et al (2005) PNAS, 102(2), 413-418].

[0562] β-회전 형태를 안정화시키는 d-아미노산에서, 변형된 유도체는 임의의 아미노산 잔기의 제거 및 알라닌으로의 치환을 포함한다. 이 실시형태는 가능한 단백질분해 공격 부위(들)를 제거하는 이점을 제공한다.

[0563] 상기 언급된 변형 각각은 의도적으로 펩티드의 효능 또는 안정성을 개선시키는 역할을 한다는 것을 주시해야 한다. 변형에 기초한 추가의 효능의 개선은 하기 메커니즘을 통해 달성될 수 있다:

[0564] - 소수성 효과를 이용하고 더 높은 친화성이 달성되도록 더 낮은 오프율을 초래하는 소수성 모이어티의 도입;

[0565] - 장거리 이온 상호작용을 이용하여 보다 빠른 온 비율 및 더 높은 친화성을 초래하는 하전된 그룹의 도입[참조: 예를 들면, Schreiber *et al*, *Rapid, electrostatically assisted association of proteins* (1996), Nature Struct. Biol. 3, 427-31]; 및

[0566] - 예를 들면, 엔트로피의 손실이 표적 결합시 최소이도록 아미노산의 측쇄를 정확하게 강제하고, 엔트로피의 손실이 표적 결합시 최소이도록 백본의 비틀림 각을 강제하고, 동일한 이유로 분자에 추가의 환화를 도입하여 펩티드에 추가 제약의 도입.

[0567] (검토를 위해, 문헌[Gentilucci *et al*, Curr. Pharmaceutical Design, (2010), 16, 3185-203, 및 Nestor *et al*, Curr. Medicinal Chem (2009), 16, 4399-418]을 참조한다).

[0568] 본 발명의 변형된 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 예는 하기 표 H 및 I에 수록된 것들을 포함한다:

[0569] 표 H: (EphA2: CD137; 1:2)

복합체 번호	EphA2 BCY 번호	부착점	링커	CD137 BCY 번호	부착점	변형제
BCY14415	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928 BCY13389	dLys (PYA)4 dLys (PYA)4	Peg12-비오틴
BCY14416	BCY9594	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928 BCY13389	dLys (PYA)4 dLys (PYA)4	Alexa Fluor® 488
BCY14417	BCY13118	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Peg12-비오틴
BCY14418	BCY13118	N-말단	N-(산-PEG3)-N-비스(PEG3-아지드)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Alexa Fluor® 488

[0570]

[0571] 표 I: (넥틴-4:CD137; 1:2)

복합체 번호	넥틴-4 BCY 번호	부착점	링커	CD137 BCY 번호	부착점	변형제
BCY13582	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928, BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	비오틴-Peg12
BCY13583	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928, BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Alexa Fluor 488
BCY13628	BCY8116	N-말단	N-(산-PEG_3)-N-비스(PEG_3-아지드)	BCY8928, BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Cyanine 5

[0572]

[0573] *동위원소 변동*

[0574] 본 발명은 하나 이상의 원자가 동일한 원자 번호를 갖지만, 원자 질량 또는 질량수가 자연에서 일반적으로 발견된 원자 질량 또는 질량수와 상이한 원자로 치환되는 본 발명의 모든 약제학적으로 허용되는 (방사성) 동위원소 표지된 펩티드 리간드, 관련 (방사성) 동위원소를 보유할 수 있는 금속 킬레이트 그룹이 부착된("이펙터"로서 칭명됨) 본 발명의 펩티드 리간드, 및 특정 작용성 그룹이 관련 (방사성) 동위원소 또는 동위원소로 표지된 작용성 그룹으로 공유적으로 치환된 본 발명의 펩티드 리간드를 포함한다.

[0575] 본 발명의 펩티드 리간드에 포함하기에 적합한 동위원소의 예로는 수소의 동위원소, 예를 들면, ^{2}H(D) 및 ^{3}H(T), 탄소, 예를 들면, ^{11}C, ^{13}C 및 ^{14}C, 염소, 예를 들면, ^{36}Cl, 불소, 예를 들면, ^{18}F, 요오드, 예를 들면, ^{123}I, ^{125}I 및 ^{131}I, 질소, 예를 들면, ^{13}N 및 ^{15}N, 산소, 예를 들면, ^{15}O, ^{17}O 및 ^{18}O, 인, 예를 들면, ^{32}P, 황, 예를 들면, ^{35}S, 구리, 예를 들면, ^{64}Cu, 갈륨, 예를 들면, ^{67}Ga 또는 ^{68}Ga, 이트륨, 예를 들면, ^{90}Y, 루테륨, 예를 들면, ^{177}Lu 및 비스무트, 예를 들면, ^{213}Bi를 포함한다.

[0576] 본 발명의 특정 동위원소 표지된 펩티드 리간드, 예를 들면, 방사성 동위원소를 포함하는 것들은 약물 및/또는 기질 조직 분포 연구 및 발병 조직 상의 넥틴-4 표적의 존재 및/또는 부재를 임상적으로 평가하는 데 유용하다. 본 발명의 펩티드 리간드는 표지된 화합물과 다른 분자, 펩티드, 단백질, 효소 또는 수용체 사이에 복합체의 형성을 검출 또는 동정하는데 사용될 수 있다는 점에서 가치있는 진단 특성을 추가로 가질 수 있다. 검출 또는 동정 방법은 방사성 동위원소, 효소, 형광 물질, 발광 물질(예: 루미놀, 루미놀 유도체, 루시페린, 에쿠오린 및

루시퍼라제) 등과 같은 표지제로 표지된 화합물을 사용할 수 있다. 방사성 동위원소 삼중수소, 즉 $^{3}H(T)$, 및 탄소-14, 즉 ^{14}C는 도입의 용이성 및 검출 준비 수단의 관점에서 이 목적에 특히 유용하다.

[0577] 중수소, 즉 $^{2}H(D)$와 같은 더 무거운 동위원소로의 치환은 보다 큰 대사 안정성, 예를 들면, 생체내 반감기의 증가 또는 용량 요건의 감소로 인한 특정 치료적 이점을 수득할 수 있고, 따라서 일부 상황에서 바람직할 수 있다.

[0578] 양전자 방출 동위원소, 예를 들면, ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O 및 ^{13}N에 의한 치환은 표적 점유율을 조사하기 위한 양전자 방출 단층촬영(PET) 연구에 유용할 수 있다.

[0579] 본 발명의 펩티드 리간드의 동위원소 표지 화합물은 일반적으로 당업자에게 공지된 종래 기술에 의해 또는 이전에 사용된 비표지 시약 대신 적합한 동위원소 표지 시약을 사용하여 첨부된 실시예에 기재된 것들과 유사한 공정에 의해 제조될 수 있다.

[0580] ***분자 스캐폴드***

[0581] 분자 스캐폴드는, 예를 들면, WO2009/098450 및 이에 인용된 참고문헌, 특히 WO2004/077062 및 WO 2006/078161에 기재되어 있다.

[0582] 전술한 문서에서 주시된 바와 같이, 분자 스캐폴드는 작은 유기 분자와 같은 작은 분자일 수 있다.

[0583] 일 실시형태에서, 분자 스캐폴드는 거대분자일 수 있다. 일 실시형태에서, 분자 스캐폴드는 아미노산, 뉴클레오티드, 또는 탄수화물로 구성된 거대분자이다.

[0584] 일 실시형태에서, 분자 스캐폴드는 폴리펩티드의 작용성 그룹(들)과 반응하여 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함한다.

[0585] 분자 스캐폴드는 펩티드와 결합을 형성하는 화학적 그룹, 예를 들면, 아민, 티올, 알코올, 케톤, 알데히드, 니트릴, 카복실산, 에스테르, 알켄, 알킨, 아지드, 무수물, 석신이미드, 말레이미드, 알킬 할라이드 및 아실 할라이드를 포함할 수 있다.

[0586] 일 실시형태에서, 분자 스캐폴드는 헥사하이드로-1,3,5-트리아진, 특히 1,3,5-트리아크릴로일헥사하이드로-1,3,5-트리아진("TATA"), 또는 이의 유도체를 포함할 수 있거나 이들로 이루어질 수 있다.

[0587] 본 발명의 분자 스캐폴드는 본 발명의 코딩된 라이브러리의 폴리펩티드의 작용성 그룹이 분자 스캐폴드와 공유 결합을 형성하도록 하는 화학적 그룹을 함유한다. 상기 화학적 그룹은 아민, 티올, 알코올, 케톤, 알데히드, 니트릴, 카복실산, 에스테르, 알켄, 알킨, 무수물, 석신이미드, 말레이미드, 아지드, 알킬 할라이드 및 아실 할라이드를 포함하는 광범위한 작용기로부터 선택된다.

[0588] 시스테인의 티올 그룹과 반응하기 위해 분자 스캐폴드에 사용될 수 있는 스캐폴드 반응성 그룹은 알킬 할라이드이다(또는 할로게노알칸 또는 할로알칸으로 칭명된다).

[0589] 예로는 브로모메틸벤젠(TBMB에 의해 예시되는 스캐폴드 반응성 그룹) 또는 요오도아세트아미드가 포함된다. 화합물을 단백질의 시스테인에 선택적으로 결합시키는데 사용되는 다른 스캐폴드 반응성 그룹은 말레이미드, α-불포화 카보닐 함유 화합물 및 α-할로메틸카보닐 함유 화합물이다. 본 발명에서 분자 스캐폴드로서 사용될 수 있는 말레이미드의 예는 트리스-(2-말레이미도에틸)아민, 트리스-(2-말레이미도에틸)벤젠, 트리스-(말레이미도)벤젠을 포함한다. αβ 불포화 카보닐 함유 화합물의 예는 1,1',1"-(1,3,5-트리아지난-1,3,5-트리일)트리프로프-2-엔-1-온(TATA)이다[참조: Angewandte Chemie, International Edition (2014), 53(6), 1602-1606]. α-할로메틸카보닐 함유 화합물의 예는 N,N',N"-(벤젠-1,3,5-트리일)트리스(2-브로모아세트아미드)이다. 셀레노시스테인은 시스테인과 유사한 반응성을 가지며 동일한 반응에 사용될 수 있는 천연 아미노산이기도 하다. 따라서, 시스테인이 언급되는 경우에는 문맥이 달리 시사하지 않는 한 셀레노시스테인을 치환하는 것이 전형적으로 허용된다.

[0590] ***합성***

[0591] 본 발명의 펩티드는 표준 기술, 이어서 시험관내에서 분자 스캐폴드와의 반응에 의해 합성적으로 제조될 수 있다. 이것이 수행될 때, 표준 화학이 사용될 수 있다. 이는 추가의 다운스트림 실험 또는 검증을 위한 가용성 물질의 신속한 대규모 제조를 가능하게 한다. 이러한 방법은 문헌[참조: Timmerman et al(상기)]에 개시된 바와

같은 통상적 화학을 사용하여 달성될 수 있다.

[0592] 따라서, 본 발명은 또한 본원에 제시된 바와 같이 선택된 폴리펩티드 또는 접합체의 제조에 관한 것이고, 여기서 제조는 하기에 설명되는 바와 같은 임의의 추가 단계를 포함한다. 일 실시형태에서, 이들 단계는 화학적 합성에 의해 제조된 최종 생성물 폴리펩티드/접합체에 대해 수행된다.

[0593] 임의로, 목적 폴리펩티드의 아미노산 잔기는 접합체 또는 복합체를 제조할 때 치환될 수 있다.

[0594] 펩티드를 또한 확장하여, 예를 들면, 다른 루프를 도입할 수 있고, 따라서 복수의 특이성을 도입할 수 있다.

[0595] 펩티드를 확장하기 위해, 표준 고상 또는 액상 화학을 사용하여 직교적으로 보호된 리신(및 유사체)을 사용하여 N-말단 또는 C-말단에서 또는 루프 내에서 단순히 화학적으로 확장될 수 있다. 표준 (생체)접합 기술을 사용하여 활성화된 또는 활성화 가능한 N-말단 또는 C-말단을 도입할 수 있다. 대안적으로, 첨가는, 예를 들면, 문헌[참조: Dawson *et al*. 1994. Synthesis of Proteins by Native Chemical Ligation. Science 266:776-779]에 기재된 바와 같이 단편 응축 또는 천연 화학적 결찰에 의해, 또는 효소, 예를 들면, 문헌[참조: Chang *et al*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994 Dec 20; 91(26):12544-8 또는 Hikari *et al* Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters Volume 18, Issue 22, 15 November 2008, Pages 6000-6003]에 기재된 서브틸리가제를 사용하여 수행될 수 있다.

[0596] 대안적으로, 펩티드는 디설파이드 결합을 통한 추가 접합에 의해 확장되거나 변형될 수 있다. 이것은 제1 및 제2 펩티드가 세포의 환원 환경 내에서 한 번 서로 해리되도록 하는 추가의 이점을 갖는다. 이 경우, 분자 스캐폴드(예: TATA)는 3개의 시스테인 그룹과 반응하도록 제1 펩티드의 화학 합성 동안 추가될 수 있고; 이어서, 추가의 시스테인 또는 티올을 제1 펩티드의 N 또는 C-말단에 첨부하여 이 시스테인 또는 티올이 제2 펩티드의 유리 시스테인 또는 티올과만 반응하여 디설파이드 결합된 바이사이클릭 펩티드-펩티드 접합체를 형성하도록 할 수 있다.

[0597] 유사한 기술을 2개의 바이사이클릭 및 이중특이적 매크로사이클의 합성/커플링에 동등하게 적용하여 잠재적으로 사중특이적 분자를 생성한다.

[0598] 또한, 다른 작용성 그룹 또는 이펙터 그룹의 첨가는 적절한 화학을 사용하여 N-말단 또는 C-말단에 또는 측쇄를 통해 커플링하여 동일한 방식으로 달성될 수 있다. 일 실시형태에서, 커플링은 어느 하나의 실체의 활성을 차단하지 않는 방식으로 수행된다.

[0599] ***2. 화합물 및 정의:***

[0600] 본원에서 사용되는 바와 같이, "약제학적으로 허용되는 염"이라는 용어는 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 등이 없이 인간 및 하등 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하고 합리적 유익성/위험성 비율에 부합하는 염을 지칭한다. 약제학적으로 허용되는 염은 당업자에게 익히 공지되어 있다. 예를 들면, 에스. 엠. 버지(S. M. Berge) 등은 약제학적으로 허용되는 염을 본원에서 참조에 의해 포함된 문헌[참조: J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19]에서 상세히 기재한다. 본 발명의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염은 적절한 무기산 및 유기산 및 염기로부터 유래된 것들을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 무독성 산 부가염의 예로는 염산, 브롬화수소산, 인산, 황산 및 과염산과 같은 무기산 또는 아세트산, 옥살산, 말레산, 타르타르산, 시트르산, 숙신산 또는 말론산과 같은 유기산으로 형성되거나, 또는 이온 교환과 같은 당해 기술분야에 사용되는 다른 방법을 사용하여 형성된 아미노 그룹의 염이 있다. 기타 약제학적으로 허용되는 염에는 아디페이트, 알기네이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤젠설포네이트, 벤조에이트, 비설페이트, 보레이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄포설포네이트, 시트레이트, 사이클로펜탄프로피온산, 디글루코네이트, 도데실설페이트, 에탄설포네이트, 포르메이트, 푸마레이트, 글루코헵토네이트, 글리세로포스페이트, 글루코네이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시-에탄설포네이트, 락토비오네이트, 락테이트, 라우레이트, 라우릴 설페이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 메탄설포네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 니트레이트, 올레에이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 스테아레이트, 숙시네이트, 설페이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, p-톨루엔설포네이트, 운데카노에이트, 발레이트 염 등이 포함된다.

[0601] 적절한 염기로부터 유래하는 염에는 알칼리 금속, 알칼리 토금속, 암모늄 및 N^+ (C_{1-4}알킬)$_4$ 염이 포함된다. 대표적 알칼리 또는 알칼리 토금속 염에는 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등이 포함된다. 추가로 약제학적으로 허용되는 염에는, 적절한 경우, 무독성 암모늄, 4급 암모늄, 및 할라이드, 하이드록사이드, 카복실레이트,

설페이트, 포스페이트, 니트레이트, 저급 알킬 설포네이트 및 아릴 설포네이트와 같은 카운터이온을 사용하여 형성된 아민 양이온이 포함된다.

[0602] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 기재된 구조는 또한 모든 이성질체(예를 들면, 에난티오머, 디아스테레오머 및 기하학적(또는 입체구조)) 형태의 구조; 예를 들면, 각 비대칭 중심에 대한 R 및 S 구성, Z 및 E 이중 결합 이성질체 및 Z 및 E 입체구조 이성질체를 포함하는 것으로 의도된다. 따라서, 본 화합물의 단일 입체화학 이성질체뿐만 아니라 에난티오머, 디아스테레오머 및 기하학적(또는 입체구조) 혼합물은 본 발명의 범위 내에 있다. 달리 명시되지 않는 한, 본 발명의 화합물의 모든 토우토머 형태는 본 발명의 범위 내에 있다. 추가로, 달리 명시되지 않는 한, 본원에 기재된 구조는 하나 이상의 동위원소 농축 원자의 존재하에서만 상이한 화합물을 포함하는 것을 의미한다. 예를 들면, 중수소 또는 삼중수소에 의한 수소의 치환 또는 ^{13}C- 또는 ^{14}C-농축 탄소에 의한 탄소의 치환을 포함하는 본 발명의 구조를 갖는 화합물은 본 발명의 범위 내에 있다. 이러한 화합물은, 예를 들면, 본 발명에 따른 분석 도구, 생물학적 검정의 프로브 또는 치료제로서 유용하다.

[0603] 본원에서 사용되는 바와 같이, "약"이라는 용어는 주어진 값의 20% 이내를 지칭한다. 일부 실시형태에서, "약"이라는 용어는 주어진 값의 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1% 이내를 지칭한다.

[0604] 본원에서 사용되는 바와 같이, "mg/kg"이라는 용어는 약물을 복용하는 대상체의 체중 1kg당 의약의 밀리그램을 지칭한다.

[0605] ***3. 약제학적으로 허용되는 조성물***

[0606] 일부 실시형태에 따르면, 본 발명은 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 약제학적으로 허용되는 담체(carrier), 보조제(adjuvant) 또는 비히클(vehicle)을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 면역-종양제 및 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 암 치료에 사용하기 위한 약제학적 조성물을 제공한다.

[0607] 일부 실시형태에서, 본 발명은 BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 BT7480, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 면역-종양제, 및 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 암 치료에 사용하기 위한 약제학적 조성물을 제공한다.

[0608] 일부 실시형태에서, 본 발명은 BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 면역-종양제, 및 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 암 치료에 사용하기 위한 약제학적 조성물을 제공한다.

[0609] 일부 실시형태에서, 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함한다. "약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클"이라는 용어는 제형화되는 화합물의 약리학적 활성을 파괴하지 않는 무독성 담체, 보조제 또는 비히클을 지칭한다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클은 이온 교환기, 알루미나, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 인간 혈청 알부민과 같은 혈청 단백질, 포스페이트, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방산의 부분 글리세라이드 혼합물과 같은 완충 물질, 물, 프로타민 설페이트, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연 염, 콜로이드 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스-기반 물질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 양모 지방 등의 염 또는 전해질을 포함하지만 이들로 한정되지 않는다.

[0610] 본원에서 사용되는 "환자"라는 용어는 동물, 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 인간을 의미한다.

[0611] 본 발명의 조성물은 경구, 비경구, 흡입 스프레이, 국소, 직장, 비강, 협측, 질내 또는 이식된 저장소를 통해 투여할 수 있다. 본원에서 사용되는 "비경구"라는 용어는 피하, 정맥내, 근육내, 관절내, 활막내, 피내, 척수강내, 간내, 혈관내 및 두개내 주사 또는 주입 기술을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 경구, 복강내 또는 정맥내로 투여된다. 본 발명의 조성물의 멸균 주사가능한 형태는 수성 또는 올레진 현탁액일 수 있다. 이러한 현탁액은 적절한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 당해 기술분야에 공지된 기술에 따라 제형화될 수

있다. 멸균 주사용 제제는 또한 무독성 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매(예: 1,3-부탄디올의 용액으로서) 중의 멸균 주사용 용액 또는 현탁액일 수 있다. 사용될 수 있는 용매 및 용매에는 물, 링거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균 고정 오일은 종래 용매 또는 현탁 매질로 사용된다.

[0612] 이 목적을 위해, 합성 모노- 또는 디-글리세라이드를 포함한 모든 블랜드 고정 오일을 사용할 수 있다. 올레산 및 이의 글리세라이드 유도체와 같은 지방산은 특히 이들의 폴리옥시에틸화 버전에서 올리브유 또는 피마자유와 같은 약제학적으로 허용되는 천연 오일과 마찬가지로 주사제의 제조에 유용하다. 이러한 오일 용액 또는 현탁액에는 장쇄 알코올 희석제 또는 분산제, 예컨대, 카복시메틸 셀룰로오스, 또는 에멀젼 및 현탁액을 포함한 약제학적으로 허용되는 투여형의 제형에 일반적으로 사용되는 유사한 분산제도 포함될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 고체, 액체 또는 기타 투여형의 제조에 일반적으로 사용되는 트윈(Tween), 스판(Span) 및 기타 유화제 또는 생체이용률 증강제와 같은 기타 일반적으로 사용되는 계면활성제도 제형의 목적으로 사용될 수 있다.

[0613] 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 캡슐, 정제, 수성 현탁액 또는 용액을 포함하지만 이들로 한정되지 않는 임의의 경구 허용되는 투여 형태로 경구 투여될 수 있다. 경구용 정제의 경우, 일반적으로 사용되는 담체에는 락토오스 및 옥수수 전분이 포함된다. 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제도 통상 첨가된다. 캡슐 형태로 경구 투여하는 경우, 유용한 희석제로는 락토오스 및 건조 옥수수 전분이 포함된다. 경구 사용에 수성 현탁액이 필요한 경우, 활성 성분을 유화제 및 현탁제와 조합한다. 필요에 따라, 특정 감미료, 향미료 또는 착색제를 첨가할 수도 있다.

[0614] 대안적으로, 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 직장 투여를 위한 좌약의 형태로 투여될 수 있다. 이는 실온에서는 고체이지만 직장 온도에서는 액체이고, 따라서 직장 내에서 용해되어 약물을 방출하는 적절한 비자극성 부형제와 혼합하여 제조할 수 있다. 이러한 재료에는 코코아 버터, 밀랍 및 폴리에틸렌 글리콜이 포함된다.

[0615] 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은, 특히 치료 표적이 눈, 피부 또는 하부 장관(lower intestinal tract)의 질환을 포함하여 국소 적용에 의해 용이하게 접근할 수 있는 부위 또는 기관을 포함하는 경우, 국소적으로 투여할 수도 있다. 적합한 국소 제형은 이러한 각 부위 또는 기관에 용이하게 제조될 수 있다.

[0616] 하부 장관에 대한 국소 도포는 직장 좌약 제형(상기 참조) 또는 적절한 관장제 제형으로 수행될 수 있다. 국소-경피 패치도 사용할 수 있다.

[0617] 국소 적용의 경우, 제공된 약제학적으로 허용되는 조성물은 하나 이상의 담체에 현탁 또는 용해된 활성 성분을 함유하는 적절한 연고로 제형화될 수 있다. 본 발명의 화합물을 국소 투여하기 위한 담체는 미네랄 오일, 액체 바셀린, 백색 바셀린, 프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌, 폴리옥시프로필렌 화합물, 유화 왁스 및 물을 포함하지만 이들로 한정되지 않는다. 대안적으로, 제공된 약제학적으로 허용되는 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체에 현탁 또는 용해된 활성 성분을 함유하는 적절한 로션 또는 크림으로 제형화될 수 있다. 적합한 담체는 미네랄 오일, 소르비탄 모노스테아레이트, 폴리소르베이트 60, 세틸 에스테르 왁스, 세테아릴 알코올, 2-옥틸도데칸올, 벤질 알코올 및 물을 포함하지만 이들로 한정되지 않는다.

[0618] 안과 사용의 경우, 제공된 약제학적으로 허용되는 조성물은 등장성, pH 조절 멸균 생리식염수에 미분화된 현탁액으로 제형화되거나, 바람직하게는 벤질알코늄 클로라이드와 같은 보존제를 포함하거나 포함하지 않는 등장성, pH 조절 멸균 생리식염수에 용액으로 제형화할 수 있다. 대안적으로, 안과 사용의 경우, 약제학적으로 허용되는 조성물은 바셀린과 같은 연고로 제형화될 수 있다.

[0619] 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 비강 에어로졸 또는 흡입에 의해 투여될 수도 있다. 이러한 조성물은 약제학적 제형화의 기술분야에서 익히 공지된 기술에 따라 제조되며, 벤질 알코올 또는 기타 적절한 보존제, 생체이용률을 증강시키기 위한 흡수 촉진제, 탄화불소 및/또는 기타 통상적 용해 또는 분산제를 사용하여 생리식염수 중의 용액으로 제조될 수 있다.

[0620] 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 경구 투여용으로도 제형화될 수 있다. 이러한 제형은 음식물과 함께 또는 음식물 없이 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 음식물 없이 투여된다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 음식물과 함께 투여된다.

[0621] 또한, 임의의 특정 환자에 대한 특정 투여량 및 치료 섭생은 사용되는 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적 건강, 성별, 식이, 투여 시간, 배설 속도, 약물 조합, 치료 의사의 판단 및 치료 중인 특정 질환의 중증도를 포함한 다양한 요인에 따라 달라질 수 있음을 이해해야 한다. 조성물에서 본 발명의 화합물의 양은 또한 조성물

중의 특정 화합물에 따라 달라질 것이다.

[0622] ***4. 암을 치료하는 방법***

[0623] 일부 실시형태에 따르면, 본 발명은, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 치료 유효량의 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 면역-종양제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하여, 환자의 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0624] 일부 실시형태에서, 본 발명은 암을 치료하기 위한, 면역-종양제와 조합하여, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

[0625] 일부 실시형태에서, 본 발명은 치료학적 유효량의 BT7480 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 면역-종양제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하여, 환자의 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 암의 치료를 위한, 면역-종양제와 조합하여, BT7480 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

[0626] 일부 실시형태에서, 본 발명은 치료학적 유효량의 BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 면역-종양제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하여, 환자의 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 암을 치료하기 위한, 면역-종양제와 조합하여, BT7455, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

[0627] **예시적 암**

[0628] 일부 실시형태에서, 암은 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 암은 MT1-MMP와 연관되어 있다. 일부 실시형태에서, 암은 높은 MT1-MMP 발현이다. 예를 들면, 아들레이(Adley) 등은 난소의 투명 세포 암종에서 MT1-MMP가 고도의 발현을 갖는다고 보고했다[참조: Adley et al. "Expression of Membrane Type 1 Matrix Metalloproteinase (MMP-14) in Epithelial Ovarian Cancer: High Level Expression in Clear Cell Carcinoma" Gynecol Oncol. 2009 February; 112(2): 319-324].

[0629] 일부 실시형태에서, 암은 넥틴-4와 연관되어 있다. 일부 실시형태에서, 암은 높은 넥틴-4 발현이다.

[0630] 일부 실시형태에서, 암은 EphA2와 연관되어 있다. 일부 실시형태에서, 암은 높은 EphA2 발현이다.

[0631] 일부 실시형태에서, 암은 PD-L1과 연관되어 있다. 일부 실시형태에서, 암은 높은 PD-L1 발현이다.

[0632] 일부 실시형태에서, 암은 PSMA와 연관되어 있다. 일부 실시형태에서, 암은 높은 PSMA 발현이다.

[0633] 일부 실시형태에서, 암은 방광암(bladder cancer)이다. 일부 실시형태에서, 방광암은 기저, p53-유사 및 루미날로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0634] 일부 실시형태에서, 암은 자궁내막암(endometrial cancer)이다. 일부 실시형태에서, 자궁내막암은 MMR-D, POLE EDM, p53 WT, p53 비정상, I형, II형, 암종, 암육종(carcinosarcoma), 자궁내막 선암종(endometrioid adenocarcinoma), 장액성 암종(serous carcinoma), 투명 세포 암종, 점액성 암종, 혼합 또는 미분화 암종, 혼합 장액성 및 자궁내막성, 혼합 장액성 및 저급 자궁내막성 및 미분화로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0635] 일부 실시형태에서, 암은 식도암(esophageal cancer)이다. 일부 실시형태에서, 식도암은 선암(adenocarcinoma; EAC), 편평 세포 암(squamous cell carcinoma; ESCC), 염색체 불안정성(CIN), 엡스타인-바 바이러스(EBV), 게놈 안정(GS) 및 미세위성 불안정성(MSI)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0636] 일부 실시형태에서, 암은 교모세포종이다. 일부 실시형태에서, 교모세포종은 전신경, 신경, 고전적 및 중간엽으로 구성된 그룹에서 선택된다.

[0637] 일부 실시형태에서, 암은 중피종(glioblastoma)이다. 일부 실시형태에서, 중피종은 흉막 중피종(pleural mesothelioma), 복막 중피종(peritoneal mesothelioma), 심낭 중피종(pericardial mesothelioma), 상피 중피종(epithelioid mesothelioma), 육종성 중피종(sarcomatoid mesothelioma), 이상성 중피종(biphasic mesothelioma) 및 악성 중피종(malignant mesotheliomamalignant mesothelioma)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0638] 일부 실시형태에서, 암은 다발성 골수종(multiple myeloma)이다. 일부 실시형태에서, 다발성 골수종은 고배체, 비-고배체, 사이클린 D 전위, MMSET 전위, MAF 전위 및 미분류로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0639] 일부 실시형태에서, 암은 난소암(ovarian cancer)이다. 일부 실시형태에서, 난소암은 투명 세포, 자궁내막형, 점액성, 고등급 장액성 및 저등급 장액성 난소암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0640] 일부 실시형태에서, 암은 췌장암(pancreatic cancer)이다. 일부 실시형태에서, 췌장암은 편평상피, 췌장 전구세포, 면역원성 및 ADEX(이상 분화 내분비 외분비) 췌장암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0641] 일부 실시형태에서, 암은 전립선암(prostate cancer)이다. 일부 실시형태에서, 전립선암은 AZGP1(서브타입 I), MUC1(서브타입 II) 및 MUC1(서브타입 III) 전립선암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0642] 일부 실시형태에서, 암은 폐암(lung cancer)이다. 일부 실시형태에서, 폐암은 메타-증폭된 편평 NSCLC, 야생형 EGFR을 갖는 편평 세포 NSCLC 또는 T790M EGFR-발현 폐 선암(lung adenocarcinoma)이다.

[0643] 일부 실시형태에서, 암은 유방암(breast cancer)이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 삼중 음성 유방암이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 기저부 삼중 음성 유방암이다.

[0644] 일부 실시형태에서, 암은 결장암(colon cancer)이다. 일부 실시형태에서, 암은 결장직장 선암종(colorectal adenocarcinoma)이다. 일부 실시형태에서, 대장 선암종은 높은 pgp-발현 결장직장 선암종이다.

[0645] 일부 실시형태에서, 암은 위암(gastric cancer)이다. 일부 실시형태에서, 위암은 FGFR-증폭 위암이다.

[0646] 일부 실시형태에서, 암은 두경부암(head and neck cancer)이다. 일부 실시형태에서, 두경부암은 비중격 편평 세포 암종이다.

[0647] 일부 실시형태에서, 암은 육종(sarcoma)이다. 일부 실시형태에서, 육종은 섬유육종(fibrosarcoma)이다. 일부 실시형태에서, 섬유육종은 N-ras 돌연변이/IDH1 돌연변이 연조직 육종(STS)이다.

[0648] 암은, 일 실시형태에서, 제한 없이, 백혈병(leukemias)(예를 들면, 급성 백혈병(acute leukemia), 급성 림프구성 백혈병(acute lymphocytic leukemia), 급성 골수성 백혈병(acute myelocytic leukemia)), 급성 골수아구성 백혈병(acute myeloblastic leukemia), 급성 전골수성 백혈병(acute promyelocytic leukemia), 급성 골수단핵구 백혈병(acute myelomonocytic leukemia), 급성 단핵구성 백혈병(acute monocytic leukemia), 급성 적혈구 백혈병(acute erythroleukemia), 만성 백혈병(chronic leukemia), 만성 골수성 백혈병(chronic myelocytic leukemia), 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia)), 진성적혈구 증가증(polycythemia vera), 림프종(lymphoma)(예를 들면, 호지킨병(Hodgkin's disease) 또는 비호지킨병(non-Hodgkin's disease)), 발덴스트롬 거대글로불린혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia), 다발성 골수종(multiple myeloma), 중쇄 질환(heavy chain disease), 육종(sarcomas) 및 암종(carcinomas)과 같은 고형 종양(예를 들면, 섬유육종(fibrosarcoma), 점액육종(myxosarcoma), 지방육종(liposarcoma), 연골육종(chondrosarcoma), 골형성 육종(osteogenic sarcoma), 척색종(chordoma), 혈관육종(angiosarcoma), 내피육종(endotheliosarcoma), 림프관육종(lymphangiosarcoma), 림프관내피육종(lymphangioendotheliosarcoma), 활막종(synovioma), 중피종(mesothelioma), 유잉 종양(Ewing's tumor), 평활근육종(leiomyosarcoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 결장암(colon carcinoma), 췌장암(pancreatic cancer), 유방암(breast cancer), 난소암(ovarian cancer), 전립선암(prostate cancer), 편평세포암(squamous cell carcinoma), 기저세포암(basal cell carcinoma), 선암(adenocarcinoma), 땀샘암(sweat gland carcinoma), 피지선암(sebaceous gland carcinoma), 유두암(papillary carcinoma), 유두 선암(papillary adenocarcinomas), 낭선암종(cystadenocarcinoma), 수질암(medullary carcinoma), 기관지암(bronchogenic carcinoma), 신세포암(renal cell carcinoma), 간암(hepatoma), 담관암(bile duct carcinoma), 융모막암(choriocarcinoma), 정낭종(seminoma), 배아 암(embryonal carcinoma), 윌름 종양(Wilm's tumor), 자궁경부암(cervical cancer), 자궁암(uterine cancer), 고환암(esticular cancer), 폐암(lung carcinoma), 소세포 폐암(small cell lung carcinoma), 방광암(bladder carcinoma), 상피암(epithelial carcinoma), 신경교종(glioma), 성상세포종(astrocytoma), 다형성 교모세포종(glioblastoma multiforme; GBM, 교모세포종(glioblastoma)이라고도 함), 수모세포종(medulloblastoma), 두개인두종(craniopharyngioma), 뇌수막종(ependymoma), 송과종(pinealoma), 혈관모세포종(hemangioblastoma), 청신경종(acoustic neuroma), 희돌기아교종(oligodendroglioma), 신경초종(schwannoma), 신경섬유육종(neurofibrosarcoma), 수막종(meningioma), 흑색종(melanoma), 신경모세포종(neuroblastoma) 및 망막모세포종(retinoblastoma))을 포함한다.

[0649] 일부 실시형태에서, 암은 신경교종, 성상세포종, 다형성 교모세포종(GBM, 교모세포종이라고도 함), 수모세포종, 두개인두종, 뇌수막종, 송과종, 혈관모세포종, 청신경종, 희돌기아교종, 신경초종, 신경섬유육종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종 또는 망막모세포종이다.

[0650] 일부 실시형태에서, 암은 청신경종, 성상세포종(예를 들면, 1등급-필로세포성 성상세포종, 2등급-저등급 성상세포종, 3등급-역형성성 성상세포종 또는 4등급-교모세포종(GBM)), 척삭종(chordoma), CNS 림프종, 두개인두종, 뇌간 신경교종, 뇌수막종, 혼합 신경교종, 시신경교종(optic nerve glioma), 뇌수막하종(subependymoma), 수모세포종, 수막종, 전이성 뇌종양(metastatic brain tumor), 희소돌기아교종, 뇌하수체 종양, 원시 신경외배엽(primitive neuroectodermal)(PNET) 종양 또는 신경초종(schwannoma)이다. 일부 실시형태에서, 암은 뇌간 신경교종, 두개인두종, 뇌수막종, 청소년 성상세포종(juvenile pilocytic astrocytoma; JPA), 수모세포종, 시신경교종, 송과종양(pineal tumor), 원시 신경외배엽 종양(PNET) 또는 횡문근 종양(rhabdoid tumor)과 같이 성인보다 소아에서 더 통상적으로 발견되는 유형이다. 일부 실시형태에서, 환자는 성인 인간이다. 일부 실시형태에서, 환자는 소아 또는 소아 환자이다.

[0651] 암은, 또 다른 실시형태에서, 제한 없이, 중피종, 간 담관(hepatobilliary)(간 및 담관), 골암(bone cancer), 췌장암, 피부암, 두경부의 암, 피부 또는 안구내 흑색종, 난소암, 결장직장암, 직장암, 항문 영역의 암, 위암, 위장관(gastrointestinal)(위암, 결장직장암, 십이지장암), 자궁암(uterine cancer), 나팔관암(carcinoma of the fallopian tubes), 자궁내막암, 자궁경부암, 질암(carcinoma of the vagina), 외음부암(carcinoma of the vagina), 호지킨병, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암(cancer of the urethra), 음경암(cancer of the penis), 전립선암, 고환암, 만성 또는 급성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 림프구성 림프종, 방광암, 신장 또는 요관암(cancer of the kidney or ureter), 신세포암(renal cell carcinoma), 신골반암(carcinoma of the renal pelvis), 비호지킨스 림프종, 척추축 종양(spinal axis tumors), 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 부신피질암, 담낭암, 다발성 골수종, 담관암(cholangiocarcinoma), 섬유육종, 신경모세포종, 망막모세포종 또는 상기 암 중의 하나 이상의 조합을 포함한다.

[0652] 일부 실시형태에서, 암은 간세포암, 난소암, 난소 상피암 또는 나팔관암, 유두 장액성 방광선암 또는 자궁 유두 장액성 암종(UPSC); 전립선암, 고환암, 담낭암, 간 담관암, 연조직 및 골 활액 육종(soft tissue and bone synovial sarcoma), 횡문근 육종, 골육종(osteosarcoma), 연골 육종(chondrosarcoma), 유잉 육종; 역형성 갑상선암(anaplastic thyroid cancer), 부신피질 선종, 췌장암, 췌관암 또는 췌장 선암; 위장관/위암(GIST); 림프종; 두경부의 편평세포암(SCCHN); 침샘암; 신경교종 또는 뇌암; 신경섬유종증-1 관련 악성 말초 신경초 종양(anaplastic thyroid cancer; MPNST), 월든스트롬 거대글로불린혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia); 또는 수모세포종을 포함한다.

[0653] 일부 실시형태에서, 암은 간세포암(HCC), 간모세포종, 결장직장암, 직장암, 난소암, 난소 상피암, 나팔관암, 유두 장액성 방광암, 자궁 유두 장액성 암종(UPSC), 간 담관암, 연조직 및 골 활액 육종, 횡문근육종, 골육종, 역형성 갑상선암, 부신피질 선종, 췌장암, 췌관암, 췌장 선암, 신경교종, 신경섬유종증-1 관련 악성 말초 신경초 종양(MPNST), 발덴스트롬 거대글로불린혈증 또는 수모세포종으로부터 선택된다.

[0654] 일부 실시형태에서, 암은 육종, 암종 또는 림프종과 같은 고형 종양이다. 고형 종양은 일반적으로 낭종 또는 액체 영역을 포함하지 않는 비정상적 조직 덩어리를 포함한다. 일부 실시형태에서, 암은 신장 세포 암종 또는 신장암; 간세포 암종(HCC) 또는 간 모세포종 또는 간암; 흑색종; 유방암; 결장직장 암종 또는 결장직장암; 결장암; 직장암; 및 항문암; 비소세포 폐암(NSCLC) 또는 소세포 폐암(SCLC)과 같은 폐암; 난소암, 난소 상피암, 난소암 또는 난관암; 유두 장액성 방광선암 또는 자궁 유두 장액성 암종(UPSC); 전립선암; 고환암; 담낭암; 간 담관암; 연조직 및 골 활액 육종; 횡문근 육종; 골육종; 연골 육종; 유잉 육종; 역형성 갑상선암; 부신피질 암종; 췌장암; 췌관암 또는 췌장 선암; 위장관/위(GIST) 암; 림프종, 두경부 편평상피세포암(SCCHN); 침샘암; 신경교종 또는 뇌암; 신경섬유종증-1 관련 악성 말초 신경초 종양(MPNST); 발덴스트롬 거대글로불린혈증 또는 수모세포종으로부터 선택된다.

[0655] 일부 실시형태에서, 암은 신장 세포 암종, 간세포 암종(HCC), 간 모세포종, 대장 암종, 결장직장암, 결장암, 직장암, 항문암, 난소암, 난소 상피암, 난소암종, 나팔관암, 유두 장액성 낭성암종, 자궁 유두 장액성 암종(UPSC), 간 담관암, 연조직 및 골 활액 육종, 횡문근육종, 골육종, 연골육종, 역형성 갑상선암, 부신피질암, 췌장암, 췌관암, 췌장 선암, 신경교종, 뇌암, 신경섬유종증-1 관련 악성 말초 신경초 종양(MPNST), 발덴스트롬 거대글로불린혈증 또는 수모세포종으로부터 선택된다.

[0656] 일부 실시형태에서, 암은 간세포암(HCC), 간모세포종, 결장암, 직장암, 난소암, 난소 상피암, 난소암, 나팔관암, 유두 장액성 낭선암종, 자궁 유두 장액성 암종(UPSC), 간 담관암, 연조직 및 골 활액 육종, 횡문근육종, 골육종, 역형성 갑상선암, 부신피질암, 췌장암, 췌관암, 췌장 선암, 신경교종, 신경섬유종증-1 관련 악성 말초 신경초 종양(MPNST), 발덴스트롬 거대글로불린혈증 또는 수모세포종으로부터 선택된다.

[0657] 일부 실시형태에서, 암은 간세포암종(HCC)이다. 일부 실시형태에서, 암은 간모세포종이다. 일부 실시형태에서, 암은 결장암이다. 일부 실시형태에서, 암은 직장암이다. 일부 실시형태에서, 암은 난소암 또는 난소 암종이다. 일부 실시형태에서, 암은 난소 상피암이다. 일부 실시형태에서, 암은 나팔관 암이다. 일부 실시형태에서, 암은 유두 장액성 낭선암종이다. 일부 실시형태에서, 암은 자궁 유두 장액성 암종(UPSC)이다. 일부 실시형태에서, 암은 간 담관암종이다. 일부 실시형태에서, 암은 연조직 및 골 활액 육종이다. 일부 실시형태에서, 암은 횡문근육종이다. 일부 실시형태에서, 암은 골육종이다. 일부 실시형태에서, 암은 역형성 갑상선암이다. 일부 실시형태에서, 암은 부신피질 암종이다. 일부 실시형태에서, 암은 췌장암 또는 췌관 암종이다. 일부 실시형태에서, 암은 췌장 선암종이다. 일부 실시형태에서, 암은 신경교종이다. 일부 실시형태에서, 암은 악성 말초 신경초 종양(MPNST)이다. 일부 실시형태에서, 암은 신경섬유종증-1 관련 MPNST이다. 일부 실시형태에서, 암은 발덴스트롬 거대글로불린혈증이다. 일부 실시형태에서, 암은 수모세포종이다.

[0658] 일부 실시형태에서, 암은 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 관련 고형 종양, 인간 유두종 바이러스(HPV)-16 양성 난치성 고형 종양 및 성인 T-세포 백혈병을 포함하는 바이러스 관련 암(이는 인간 T 세포 백혈병 바이러스 유형 I(HTLV-I)에 의해 유발되고 백혈병 세포에서 HTLV-I의 클론 통합을 특징으로 하는 매우 공격적 형태의 CD4+ T-세포 백혈병이다)[참조: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/ NCT02631746]; 뿐만 아니라 위암, 비인두암, 자궁경부암, 질암, 외음부암, 두경부의 편평세포암 및 메르켈 세포암의 바이러스-관련 종양이다[참조: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02488759; 또한 https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT0240886; https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02426892].

[0659] 일부 실시형태에서, 암은 흑색종 암이다. 일부 실시형태에서, 암은 유방암이다. 일부 실시형태에서, 암은 폐암이다. 일부 실시형태에서, 암은 소세포 폐암(SCLC)이다. 일부 실시형태에서, 암은 비소세포 폐암(NSCLC)이다.

[0660] 일부 실시형태에서, 암은 종양의 추가 성장을 저지함으로써 치료된다. 일부 실시형태에서, 암은 종양의 크기(예를 들면, 용적 또는 덩어리)를 치료 전 종양의 크기와 비교하여 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 75%, 90% 또는 99% 감소시킴으로써 치료된다. 일부 실시형태에서, 암은 치료 전 종양의 양과 비교하여 환자의 종양의 양을 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 75%, 90% 또는 99% 감소시킴으로써 치료된다.

[0661] 본 발명의 방법에 따른 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 조성물은 암의 치료 또는 중증도의 완화에 효과적인 임의의 양 및 임의의 투여 경로를 사용하여 투여할 수 있다. 필요한 정확한 양은 대상체의 종, 연령 및 일반적 상태, 질환 또는 상태의 중증도, 특정 약제, 이의 투여 방식 등에 따라 대상체마다 상이할 수 있다. 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제형화되는 것이 바람직하다. 본원에서 사용되는 "투여 단위 형태"라는 표현은 치료되는 환자에게 적합한 물리적으로 분리된 약제 단위를 지칭한다. 그러나, 본 발명의 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 조성물의 1일 총 사용량은 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 주치의에 의해 결정될 것임이 이해될 것이다. 임의의 특정 환자 또는 생물에 대한 특정 유효 용량 수준은 치료되는 질환 및 장애의 중증도; 사용되는 특정 화합물의 활성; 사용되는 특정 조성물; 환자의 연령, 체중, 일반 건강, 성별 및 식단; 사용되는 특정 화합물의 투여 시간, 투여 경로 및 배설 속도; 치료 기간; 사용되는 특정 화합물과 조합하여 또는 동시에 사용되는 약물 및 의료 기술분야에 익히 공지된 요인을 포함한 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다. 본원에서 사용되는 "환자"라는 용어는 동물, 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 인간을 의미한다.

[0662] 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 치료되는 질환 또는 장애의 중증도에 따라 경구, 직장, 비경구, 흉강내, 질내, 복강내, 국소(분말, 연고 또는 액적), 경구 또는 비강 스프레이 등으로 인간 및 기타 동물에게 투여할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 목적하는 치료 효과를 수득하기 위해 1일 1회 이상, 대상체 체중의 약 0.01mg/kg 내지 약 100mg/kg, 또는 약 1mg/kg 내지 약 25mg/kg의 용량 수준으로 경구 또는 비경구 투여될 수 있다.

[0663] 경구 투여용 액체 투여 형태에는 약제학적으로 허용되는 에멀젼, 마이크로에멀젼, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르가 포함되지만 이들로 한정되지 않는다. 활성 화합물에 추가하여, 액체 투여 형태는 당해 기술분야에 통상 사용되는 불활성 희석제, 예를 들면, 물 또는 기타 용매, 용해제 및 유화제, 예컨대, 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸포름아미드, 오일(특히, 목화씨, 땅콩, 옥수수, 배아, 올리브, 피마자 및 참기름), 글리세롤, 테트라하이드로 푸르푸릴 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다. 불활성 희석제 외에도, 경구용 조성물에는 습윤제, 유화제 및 현탁제, 감미제, 향료 및 향미제와 같은 보

조제가 포함될 수 있다.

[0664] 주사가능한 제제, 예를 들면, 멸균 주사가능한 수성 또는 유성 현탁액은 공지 기술에 따라 적절한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 제형화할 수 있다. 멸균 주사가능한 제제는 또한 무독성 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사가능한 용액, 현탁액 또는 에멀젼(예: 1,3-부탄디올 중의 용액)일 수 있다. 사용될 수 있는 허용되는 비히클 및 용매에는 물, 링거 용액, U.S.P. 및 등장성 염화나트륨 용액 등이 있다. 또한, 멸균 고정 오일은 종래 용매 또는 현탁 매질로 사용된다. 이를 위해, 합성 모노- 또는 디글리세라이드를 포함한 임의의 블랜드 고정 오일을 사용할 수 있다. 또한, 올레산과 같은 지방산은 주사제의 제조에 사용된다.

[0665] 주사가능한 제형은, 예를 들면, 박테리아-보유 필터를 통한 여과 또는 사용 전에 멸균수 또는 기타 멸균 주사가능한 매질에 용해 또는 분산시킬 수 있는 멸균 고체 조성물 형태의 멸균제의 도입에 의해 멸균시킬 수 있다.

[0666] 본 발명의 화합물의 효과를 연장하기 위해, 피하 또는 근육 주사로부터 화합물의 흡수를 지연시키는 것이 종종 바람직하다. 이는 수용성이 낮은 결정성 또는 비정질 물질의 액체 현탁액을 사용함으로써 달성될 수 있다. 화합물의 흡수 속도는 이의 용해 속도에 따라 달라지며, 이는 또한 결정 크기와 결정 형태에 따라 달라질 수 있다. 대안적으로, 비경구 투여 화합물 형태의 지연 흡수는 화합물을 오일 비히클에 용해 또는 현탁시킴으로써 달성된다. 주사가능한 데포 형태는 폴리락타이드-폴리글리콜라이드와 같은 생분해성 중합체 중의 화합물의 마이크로캡슐 매트릭스를 형성함으로써 제조된다. 화합물과 폴리머의 비율과 사용된 특정 중합체의 성질에 따라, 화합물 방출 속도를 조절할 수 있다. 다른 생분해성 중합체의 예로는 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(무수물)이 있다. 데포 주사가능한 제형은 또한 신체 조직과 상용성이 있는 리포좀 또는 마이크로에멀젼에 화합물을 포획하여 제조된다.

[0667] 직장 또는 질 투여용 조성물은 본 발명의 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체를, 상온에서는 고체이지만 체온에서는 액체이고 따라서 직장 또는 질강에서 용해하여 활성 화합물을 방출하는 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌약 왁스와 같은 적절한 비-자극성 부형제 또는 담체와 혼합하여 제조할 수 있는 좌약이 바람직하다.

[0668] 경구 투여용의 고체 투여형에는 캡슐, 정제, 환제, 분말 및 과립이 포함된다. 이러한 고체 투여형에서, 활성 화합물은 나트륨 시트레이트 또는 인산이칼슘과 같은 적어도 하나의 불활성, 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체 및/또는 a) 전분, 락토오스, 수크로오스, 글루코오스, 만니톨 및 규산과 같은 충전제 또는 증량제, b) 예를 들면, 카복시메틸셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리디논, 수크로오스 및 아카시아와 같은 결합제, c) 글리세롤과 같은 보습제, d) 아가-아가, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염 및 탄산나트륨과 같은 붕해제, e) 파라핀과 같은 용액 지연제, f) 4급 암모늄 화합물과 같은 흡수 촉진제, g) 예를 들면, 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트와 같은 습윤제, h) 카올린 및 벤토나이트 점토와 같은 흡수제, i) 탈크, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 라우릴 설페이트 및 이들의 혼합물과 같은 윤활제와 혼합한다. 캡슐, 정제 및 환제의 경우, 투여형은 완충제를 포함할 수도 있다.

[0669] 유사한 유형의 고체 조성물은 락토오스 또는 유당과 같은 부형제 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등을 사용하여 연질 및 경질-충전 젤라틴 캡슐 중의 충전제로서 사용할 수도 있다. 정제, 드라지, 캡슐, 환제 및 과립의 고체 투여 형태는 장용 코팅 및 약제학적 제형 기술에서 익히 공지된 기타 코팅과 같은 코팅 및 쉘로 제조될 수 있다. 이들은 임의로 불투명화제를 포함할 수 있으며, 또한 장관의 특정 부분에서 단독으로 또는 우선적으로, 임의로, 지연된 방식으로 활성 성분(들)을 방출하는 조성물일 수 있다. 사용될 수 있는 포매(embedding) 조성물의 예로는 중합체 물질 및 왁스 등이 포함된다. 유사한 유형의 고체 조성물은 락토오스 또는 유당과 같은 부형제 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등을 사용하여 연질 및 경질-충전 젤라틴 캡슐의 충전제로서 또한 사용될 수 있다.

[0670] 활성 화합물은 상기에서 언급한 바와 같이 하나 이상의 부형제를 갖는 마이크로-캡슐화 형태일 수도 있다. 정제, 드라지, 캡슐, 환제 및 과립의 고체 투여 형태는 장용 코팅, 방출 제어 코팅 및 약제학적 제형화 기술에서 익히 공지된 기타 코팅과 같은 코팅 및 쉘로 제조될 수 있다. 이러한 고체 투여형에서, 활성 화합물은 수크로오스, 락토오스 또는 전분과 같은 적어도 하나의 불활성 희석제와 혼합될 수 있다. 이러한 투여형은 또한, 통상의 관행에 따라, 불활성 희석제 이외의 추가 물질, 예를 들면, 정제화 윤활제 및 기타 정제화 보조제(예: 마그네슘 스테아레이트 및 미결정 셀룰로오스)를 포함할 수 있다. 캡슐, 정제 및 환제의 경우, 투여형은 완충제를 포함할 수도 있다. 이들은 임의로 불투명화제를 포함할 수 있으며, 장관의 특정 부위에서 단독으로 또는 우선적으로, 임의로 지연된 방식으로 활성 성분(들)을 방출하는 조성물일 수도 있다. 사용될 수 있는 포매 조성물의 예로는 중합체 물질 및 왁스 등이 있다.

[0671] 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 국소 또는 경피 투여를 위한 투여형에는 연고, 페이스트, 크림, 로션, 겔, 분말, 용액, 스프레이, 흡입제 또는 패치가 포함될 수 있다. 활성 성분은 멸균 조건하에 약제학적으로 허용되는 담체 및 필요에 따라 임의의 필요한 보존제 또는 완충제와 혼합된다. 안과용 제형, 점안제 및 점안액도 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 고려된다. 추가로, 본 발명은 경피 패치의 사용을 고려하고, 이는 신체에 대한 화합물의 제어된 전달을 제공한다는 추가 이점이 있다. 이러한 투여형은 화합물을 적절한 매질에 용해 또는 분배함으로써 제조할 수 있다. 흡수 증강제는 피부 전체에서 화합물의 유량을 증가시키는 데 사용할 수도 있다. 속도는 속도 조절 막을 제공하거나 중합체 매트릭스 또는 겔에 화합물을 분산시킴으로써 제어할 수 있다.

[0672] **헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제의 공-투여**

[0673] 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제는 복수 투여 섭생의 일부로서 개별적으로 투여될 수 있다. 대안적으로, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제는 단일 조성물에서 단일 투여형으로서 함께 혼합될 수 있다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BT7480 또는 BT7455, 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0674] 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 면역-종양제와 별도로 투여된다. 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제가 동시에 투여된다. 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제는 서로 일정 시간 내에, 예를 들면, 서로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23 또는 24시간 내에 투여된다. 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제는 24시간 이상의 간격으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제는 서로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일 이내에 투여된다. 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제는 1주일 이상의 간격으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제는 서로 1, 2, 3, 4 또는 5주 이내에 투여된다.

[0675] 본원에서 사용되는 바와 같이, "조합", "조합된" 및 관련 용어는 본 발명에 따라 치료제의 동시 또는 순차적 투여를 지칭한다. 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 면역-종양제와 함께 별도의 단위 투여형으로 동시 또는 순차적으로 투여되거나, 단일 단위 투여형으로 함께 투여될 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체, 면역-종양제, 및 임의로 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 단일 단위 투여형을 제공한다.

[0676] 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이, 단일 투여형을 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제의 양은 치료되는 숙주 및 특정 투여 방식에 따라 달라질 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 조성물은, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체의 0.001 내지 100mg/kg/체중/일의 용량이 투여될 수 있도록 제조되어야 한다.

[0677] 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제는 상승적으로 작용할 수 있다. 따라서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이, 이러한 조성물 중의 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제의 양은 당해 치료제만을 사용하는 단일요법에서 요구되는 것보다 적을 수 있다.

[0678] 본 발명의 조성물에 존재하는 면역-종양제의 양은 당해 이를 유일한 활성 약제로서 포함하는 조성물에서 통상적으로 투여되는 양보다 많지 않을 수 있다. 바람직하게는, 현재 개시된 조성물에서 면역-종양제의 양은 당해 약제를 유일한 치료 활성제로서 포함하는 조성물에 통상적으로 존재하는 양의 약 50% 내지 100% 범위일 것이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 통상적으로 단일요법으로 투여되는 양의 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90% 또는 약 95%의 투여량으로 투여된다. 본원에서 사용된 바와 같이, "통상적으로 투여되는"이라는 문구는 FDA 승인 치료제가 FDA 라벨 삽입물에 따른 투여에 대해 승인된 양을 의미한다.

[0679] 본 발명의 약제학적 조성물은 보철물, 인공 판막, 혈관 이식편, 스텐트 및 카테터와 같은 이식가능한 의료 기기를 코팅하기 위한 조성물에도 포함될 수 있다. 예를 들면, 혈관 스텐트는 재협착(손상 후 혈관벽이 다시 좁아지는 현상)을 극복하는 데 사용되어 왔다. 그러나, 스텐트 또는 기타 이식가능한 장치를 사용하는 환자는 혈전 형성 또는 혈소판 활성화의 위험이 있다. 이러한 원치 않는 효과는 키나제 억제제를 포함하는 약제학적으로 허용되는 조성물로 장치를 사전-코팅함으로써 예방 또는 완화시킬 수 있다. 본 발명의 화합물로 코팅된 이식가능한 장치는 본 발명의 또 다른 실시형태이다.

[0680] ***5. 모범적 면역-종양제***

[0681] 본원에서 사용되는 바와 같이, "면역-종양제"라는 용어는 대상체에서 면역 반응을 증강, 자극 및/또는 상향-조절하는 데 효과적인 약제를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체와 함께 면역-종양제의 투여는 암 치료에 상승 효과를 갖는다.

[0682] 면역-종양제는, 예를 들면, 소분자 약물, 항체 또는 생물학적 또는 소분자일 수 있다. 생물학적 면역-종양제의 예로는 암 백신, 항체 및 사이토카인이 포함되지만 이들로 한정되지 않는다. 일부 실시형태에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 일부 실시형태에서, 모노클로날 항체는 인간화 또는 인간 항체이다.

[0683] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 (i) 자극성(공-자극성 포함) 수용체의 작용제 또는 (ii) T 세포에 대한 억제성(공-억제성 포함) 신호의 길항제이며, 둘 다는 항원-특이적 T 세포 반응의 증폭을 초래한다.

[0684] 특정 자극 및 억제 분자는 면역글로불린 슈퍼 패밀리(IgSF)의 구성원이다. 공-자극 또는 공-억제 수용체에 결합하는 막-결합 리간드의 한 가지 중요한 패밀리는 B7 패밀리이고, 여기에는 B7-1, B7-2, B7-H1(PD-L1), B7-DC(PD-L2), B7-H2(ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5(VISTA) 및 B7-H6이 포함된다. 공-자극 또는 공-억제 수용체에 결합하는 또 다른 막-결합 리간드의 패밀리는 동종 TNF 수용체 패밀리 구성원에 결합하는 분자의 TNF 패밀리이고, 여기에는 CD40 및 CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137(4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LTβR, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, 림프독소 α/TNFβ, TNFR2, TNFα, LTβR, 림프독소 α1β2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, NGFR이 포함된다.

[0685] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 면역 반응을 자극하기 위해 T 세포 활성화를 억제하는 사이토카인(예를 들면, IL-6, IL-10, TGF-β, VEGF 및 기타 면역억제 사이토카인) 또는 T 세포 활성화를 자극하는 사이토카인이다.

[0686] 일부 실시형태에서, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이, 하나 이상의 CD137 결합 펩티드 리간드를 포함하는 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 및 면역-종양제의 조합은 T 세포 반응을 자극할 수 있다. 일부 실시형태에서, 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체는 BT7480 또는 BT7455, 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 (i) T 세포 활성화를 억제하는 단백질의 길항제(예를 들면, 면역 체크포인트 억제제), 예컨대, CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, 갈렉틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 및 TIM-4; 또는 (ii) T 세포 활성화를 자극하는 단백질의 작용제, 예컨대, B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB(CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, DR3 및 CD28H이다.

[0687] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 NK 세포의 억제 수용체의 길항제 또는 NK 세포의 활성화 수용체의 작용제이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 리릴루맙과 같은 KIR의 길항제이다.

[0688] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 마크로파지 또는 단핵구를 억제하거나 고갈시키는 약제이고, RG7155(WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) 또는 FPA-008(WO11/140249; WO13169264; WO14/036357)을 포함하여 CSF-1R 길항제 항체와 같은 CSF-1R 길항제를 포함하지만 이들로 한정되지 않는다.

[0689] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 양성 공자극 수용체를 결찰하는 작용제, 억제 수용체를 통한 신호전달을 약화시키는 차단제, 길항제 및 항종양 T 세포의 빈도를 전신적으로 증가시키는 하나 이상의 약제, 종양 미세환경 내의 명확한 면역 억제 경로를 극복하는 약제(예를 들면, 억제 수용체 관여의 차단(예: PD-L1/PD-1 상호작용), Treg의 고갈 또는 억제(예: 항-CD25 모노클로날 항체(예: 다클리주맙)의 사용 또는 생체외 항-CD25 비드 고갈),

IDO와 같은 대사 효소의 억제, T 세포 에너지 또는 고갈의 역전/방지) 및 종양 부위에서 선천 면역 활성화 또는 염증을 유발하는 약제로부터 선택된다.

[0690] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 CTLA-4 길항제이다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 길항제는 길항성 CTLA-4 항체이다. 일부 실시형태에서, 길항성 CTLA-4 항체는 YERVOY(이필리무맙) 또는 트레멜리무맙이다.

[0691] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 PD-1 길항제이다. 일부 실시형태에서, PD-1 길항제는 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 프로그램된 사멸-1(PD-1) 수용체에 특이적으로 결합하고 PD-1 활성을 억제하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분이다. 일부 실시형태에서, PD-1 길항제는 길항성 PD-1 항체이다. 일부 실시형태에서, 길항성 PD-1 항체는 OPDIVO(니볼루맙), KEYTRUdA(펨브롤리주맙), 또는 MEDI-0680(AMP-514; WO2012/145493)이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 피딜리주맙(CT-011)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 AMP-224라고 하는 IgG1의 Fc 부분에 융합된 PD-L2(B7-DC)의 세포외 도메인으로 구성된 재조합 단백질이다.

[0692] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 PD-L1 길항제이다. 일부 실시형태에서, PD-L1 길항제는 길항성 PD-L1 항체이다. 일부 실시형태에서, PD-L1 항체는 MPDL3280A(RG7446; WO2010/077634), 더발루맙(durvalumab)(MEDI4736), BMS-936559(WO2007/005874) 및 MSB0010718C(WO2013/79174)이다.

[0693] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 LAG-3 길항제이다. 일부 실시형태에서, LAG-3 길항제는 길항성 LAG-3 항체이다. 일부 실시형태에서, LAG3 항체는 BMS-986016(WO10/19570, WO14/08218), 또는 IMP-731 또는 IMP-321(WO08/132601, WO09/44273)이다.

[0694] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 CD137(4-1BB) 작용제이다. 일부 실시형태에서, CD137(4-1BB) 작용제는 작용성 CD137 항체이다. 일부 실시형태에서, CD137 항체는 우렐루맙 또는 PF-05082566(WO12/32433)이다.

[0695] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 GITR 작용제이다. 일부 실시형태에서, GITR 작용제는 작용성 GITR 항체이다. 일부 실시형태에서, GITR 항체는 BMS-986153, BMS-986156, TRX-518(WO06/105021, WO09/009116) 또는 MK-4166(WO11/028683)이다.

[0696] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 인돌아민(2,3)-다이옥시게나제(IDO) 길항제이다. 일부 실시형태에서, IDO 길항제는 에파카도스타트(INCB024360, Incyte); 인독시모드(NLG-8189, LewLink Genetics Corporation); 캡마니팁(INC280, Novartis); GDC-0919(Genentech/Roche); PF-06840003(Pfizer); BMS:F001287(Bristol-Myers Squibb); Phy906/KD108(Phytoceutica); 키누레닌을 분해하는 효소(Kynase, Ikena Oncology, 이전 명칭 Kyn Therapeutics); 및 NLG-919(WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237)로부터 선택된다.

[0697] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 OX40 작용제이다. 일부 실시형태에서, OX40 작용제는 작용성 OX40 항체이다. 일부 실시형태에서, OX40 항체는 MEDI-6383 또는 MEDI-6469이다.

[0698] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 OX40L 길항제이다. 일부 실시형태에서, OX40L 길항제는 길항성 OX40 항체이다. 일부 실시형태에서, OX40L 길항제는 RG-7888(WO06/029879)이다.

[0699] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 CD40 작용제이다. 일부 실시형태에서, CD40 작용제는 작용성 CD40 항체이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 CD40 길항제이다. 일부 실시형태에서, CD40 길항제는 길항성 CD40 항체이다. 일부 실시형태에서, CD40 항체는 루카투무맙 또는 다세투주맙이다.

[0700] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 CD27 작용제이다. 일부 실시형태에서, CD27 작용제는 작용성 CD27 항체이다. 일부 실시형태에서, CD27 항체는 바릴루맙이다.

[0701] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 MGA271(B7H3에 대한)(WO11/109400)이다.

[0702] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 아바고보맙, 아데카투맙, 아푸투주맙, 알렘투주맙, 아나투모맙 마페나톡스, 아폴리주맙, 아테졸리맙, 아벨루맙, 블리나투맙, BMS-936559, 카투막소맙, 두발루맙, 에파카도스타트, 에프라투주맙, 인독시모드, 이노투주맙 오조가미신, 인텔루무맙, 이필리무맙, 이사툭시맙, 람브롤리주맙, MED14736, MPDL3280A, 니볼루맙, 오비누투주맙, 오카라투주맙, 오파투무맙, 올라타투맙, 펨브롤리주맙, 피딜리주맙, 리툭시맙, 티실리무맙, 사말리주맙 또는 트레멜리무맙이다.

[0703] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 면역자극제이다. 예를 들면, PD-1 및 PD-L1 억제 축을 차단하는 항체는 활성화된 종양-반응성 T 세포를 방출할 수 있으며, 임상 시험에서 종래 면역요법에 민감하지 않은 것으로 간주되었던 일부 종양 유형을 포함하여 점점 더 많은 종양 조직에서 지속적 항종양 반응을 유도하는 것으로 밝혀졌다.

예를 들면, 문헌[참조: Okazaki, T. et al. (2013) Nat. Immunol. 14, 1212-1218; Zou et al. (2016) Sci. Transl. Med. 8]을 참조한다. 항-PD-1 항체 니볼루맙(OPDIVO®, Bristol-Myers Squibb, 또한 ONO-4538, MDX1106, 및 BMS-936558로도 공지되어 있음)은 이전 항-혈관신생 치료 중 또는 이후에 질환 진행을 경험한 RCC 환자의 전체 생존율을 개선할 가능성이 있는 것으로 밝혀졌다.

[0704] 일부 실시형태에서, 면역조절 치료제는 종양 세포의 아폽토시스를 특이적으로 유도한다. 본 발명에 사용될 수 있는 승인된 면역조절 치료제로는 포말리도마이드(POMALYST®, Celgene), 레날리도마이드(REVLIMID®, Celgene), 인게놀 메부테이트(PICATO®, LEO Pharma) 등이 포함된다.

[0705] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 암 백신이다. 일부 실시형태에서, 암 백신은 무증상 또는 최소 증상의 전이성 거세 저항성(호르몬-불응성) 전립선암의 치료용으로 승인된 시풀루셀-T(PROVENGE®, Dendreon/Valeant Pharmaceuticals); 및 흑색종의 절제불가능한 피부, 피하 및 결절 병변의 치료용으로 승인된 유전자 변형 종양용해성 바이러스 치료제인 탈리모진 라헤르파렙벡(IMLYGIC®, VioVex/Amgen, 이전에는 T-VEC로 공지됨)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 간세포암(NCT02562755) 및 흑색종(NCT00429312)에 대해 GM-CSF를 발현하도록 조작된 티미딘 키나제-(TK-) 결핍 백시니아 바이러스인 펙사스티모진 데바시렙벡(PexaVec/JX-594, SillaJen/이전 Jennerex Biotherapeutics)와 같은 종양용해성 바이러스 요법; 결장직장암(NCT01622543), 전립선암(NCT01619813), 두경부 편평세포암(NCT01166542), 췌장 선암(NCT00998322), 비소세포 폐암(NSCLC)(NCT00861627)을 포함한 다수의 암에서 RAS-활성화되지 않은 세포에서 복제되지 않는 호흡기 장내 오르판 바이러스(레오바이러스)의 변이체인 펠라레오렙(REOLYSIN®, Oncolytics Biotech); 난소암(NCT02028117); 결장직장암, 방광암, 두경부 편평세포암 및 침샘암과 같은 전이성 또는 진행성 상피 종양(NCT02636036)에서 전장 CD80 및 T-세포 수용체 CD3 단백질에 특이적인 항체 단편을 발현하도록 조작된 아데노바이러스인 에나데노투시레브(NG-348, PsiOxus, 이전에 ColoAd1로 공지됨); 흑색종(NCT03003676); 복막 질환, 대장암 또는 난소암(NCT02963831)에서 GM-CSF를 발현하도록 조작된 아데노바이러스인 ONCOS-102(Targovax/이전에 Oncos); 복막암종증(NCT01443260); 나팔관암, 난소암(NCT 02759588)에서 연구된, 각각 베타-갈락토시다제(베타-gal)/베타 글루코로니다제 또는 베타-gal/인간 요오드화나트륨 수송체(hNIS)를 발현하도록 조작된 백시니아 바이러스인 GL-ONC1(GLV-1h68/GLV-1h153, Genelux GmbH); 또는 방광암(NCT02365818)에서 GM-CSF를 발현하도록 조작된 아데노바이러스인 CG0070(Cold Genesys)로부터 선택된다.

[0706] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 프로드러그 5-플루오로시토신을 세포독성 약물 5-플루오로우라실로 전환할 수 있는 사이토신 데아미나제를 발현하도록 조작된 TK-및 백시니아 성장 인자-결핍 백시니아 바이러스인 JX-929(SillaJen/이전에 Jennerex Biotherapeutics); 치료가 곤란한 RAS 돌연변이에 대해 표적화된 펩티드-기반 면역요법제인 TG01 및 TG02(Targovax/이전에 Oncos); 및 Ad5/3-E2F-delta24-hTNFα-IRES-hIL20으로 지정된 조작된 아데노바이러스인 TILT-123(TILT Biotherapeutics); 및 항원-특이적 $CD8^+$ T 세포 반응을 생성하도록 설계된 항원을 발현하도록 추가로 조작할 수 있는, 림프구성 맥락막염 바이러스(LCMV)의 당단백질(GP)을 발현하도록 조작된 수포성 구내염 바이러스(VSV)인 VSV-GP(ViraTherapeutics)로부터 선택된다.

[0707] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 키메라 항원 수용체 또는 CAR를 발현하도록 조작된 T-세포이다. 이러한 키메라 항원 수용체를 발현하도록 조작된 T-세포를 CAR-T 세포라고 한다.

[0708] 천연 리간드에서 유래할 수 있는 결합 도메인, T 림프구에서 활성화 신호를 생성할 수 있는 TCR로부터의 CD3-제타 신호전달 도메인과 같은 T-세포 수용체(TCR)의 기능적 말단인 엔도 도메인에 융합된, 세포-표면 항원에 특이적인 모노클로날 항체로부터 유래한 일본쇄 가변 단편(scFv)으로 구성되는 CAR이 작제되었다. 항원 결합에 의해, 이러한 CAR은 이펙터 세포의 내인성 신호전달 경로에 연결하고, TCR 복합체에 의해 개시되는 것과 유사한 활성화 신호를 생성한다.

[0709] 예를 들면, 일부 실시형태에서, CAR-T 세포는 미국 특허 8,906,682(June et al.; 이에 의해 이의 전체가 참조에 의해 포함됨)에 기재된 것들 중 하나이고, 이는 T 세포 항원 수용체 복합체 제타 쇄(예: CD3 제타)의 세포내 신호전달 도메인에 융합된, 항원 결합 도메인(예: CD19에 결합하는 도메인)을 갖는 세포외 도메인을 포함하도록 조작된 CAR-T 세포를 개시한다. T 세포에서 발현되면, CAR은 항원 결합 특이성에 기초하여 항원 인식을 재지시할 수 있다. CD19의 경우, 항원은 악성 B 세포에서 발현된다. 현재 다양한 적응증에서 CAR-T를 사용하는 200개 이상의 임상 시험이 진행 중이다.

[https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=chimeric+antigen+receptors&pg=1].

[0710] 일부 실시형태에서, 면역자극제는 레티노산 수용체-관련 오르판 수용체 γ(RORγt)의 활성화제이다. RORγt는 CD4+(Th17) 및 CD8+(Tc17) T 세포의 17형 이펙터 서브세트의 분화 및 유지뿐만 아니라 NK 세포와 같은 IL-17 발현 선천성 면역 세포 하위 모집단의 분화에 중요한 역할을 하는 전사 인자이다. 일부 실시형태에서, RORγt의 활성화제는 현재 고형 종양의 치료를 위한 임상 시험에서 평가되고 있는 LYC-55716(Lycera)이다(NCT02929862).

[0711] 일부 실시형태에서, 면역자극제는 톨-유사 수용체(TLR)의 작용제 또는 활성화제이다. TLR의 적합한 활성화제는 SD-101(Dynavax)과 같은 TLR9의 작용제 또는 활성화제를 포함한다. SD-101은 B-세포, 여포형 및 기타 림프종(NCT02254772)에 대해 연구되고 있는 면역자극성 CpG이다. 본 발명에 사용될 수 있는 TLR8의 작용제 또는 활성화제는 두경부 편평세포암(NCT02124850) 및 난소암(NCT02431559)에 대해 연구되고 있는 모토리모드(VTX-2337, VentiRx Pharmaceuticals)를 포함한다.

[0712] 본 발명에 사용될 수 있는 다른 면역-종양제에는 항-CD137 모노클로날 항체인 우렐루맙(BMS-663513, Bristol-Myers Squibb); 항-CD27 모노클로날 항체인 바릴루맙(CDX-1127, Celldex Therapeutics); 항-OX40 모노클로날 항체인 BMS-986178(Bristol-Myers Squibb); 항-KIR 모노클로날 항체인 리릴루맙(IPH2102/BMS-986015, Innate Pharma, Bristol-Myers Squibb); 항-NKG2A 모노클로날 항체인 모날리주맙(IPH2201, Innate Pharma, AstraZeneca); 항-MMP9 항체인 안데칼릭시맙(GS-5745, Gilead Sciences); 항-GITR 모노클로날 항체인 MK-4166(Merck & Co.)가 포함된다.

[0713] 일부 실시형태에서, 면역자극제는 엘로투주맙, 미파무르타이드, 톨-유사 수용체의 작용제 또는 활성화제 및 RORγt의 활성화제로부터 선택된다.

[0714] 일부 실시형태에서, 면역자극 치료제는 재조합 인간 인터루킨 15(rhIL-15)이다. rhIL-15는 흑색종 및 신세포 암종(NCT01021059 및 NCT01369888) 및 백혈병(NCT02689453)의 치료제로서 임상에서 시험되었다. 일부 실시형태에서, 면역자극제는 재조합 인간 인터루킨 12(rhIL-12)이다. 일부 실시형태에서, IL-15 기반 면역요법제는 흑색종, 신세포암, 비소세포 폐암 및 두경부 편평세포암(NCT02452268)에 대한 1상 임상 시험에서 시험된 바 있는 용해성 IL-15 결합 단백질 IL-15 수용체 알파 쇄(IL15:sIL-15RA)에 복합체화된 내인성 IL-15의 합성 형태로 구성된 융합 복합체인 헤테로이량체 IL-15(hetIL-15, Novartis/Admune)이다. 일부 실시형태에서, 재조합 인간 인터루킨 12(rhIL-12)는 NM-IL-12(Neumedicines, Inc.), NCT02544724 또는 NCT02542124이다.

[0715] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 문헌[참조: Jerry L. Adams et al., "Big opportunities for small molecules in immuno-oncology," Cancer Therapy 2015, Vol. 14, pages 603-622, 이의 내용은 본원에서 이의 전체가 참조에 의해 포함됨]에 기재된 것들로부터 선택된다. 일부 실시형태들에서, 면역-종양제는 문헌[참조: Jerry L. Adams et al]의 표 1에 기재된 예들로부터 선택된다. 일부 실시형태들에서, 면역-종양제는 문헌[참조: Jerry L. Adams et al]의 표 2에 수록된 것들로부터 선택된 소분자 약제이다.

[0716] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 문헌[참조: Peter L. Toogood, "Small molecule immuno-oncology therapeutic agents," Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2018, Vol. 28, pages 319-329, 이의 내용은 본원에서 이의 전체가 참조에 의해 포함됨]에 기재된 소분자 면역-종양제로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 문헌[참조: Peter L. Toogood]에 기재된 바와 같이 경로를 표적화하는 약제이다.

[0717] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 문헌[참조: Sandra L. Ross et al., "Bispecific T cell engager (BITE®) antibody constructs can mediate bystander tumor cell killing", PLoS ONE 12(8): e0183390, 이의 내용은 본원에서 의의 전체가 참조에 의해 포함됨]에 기재된 것들로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 이중특이적 T 세포 결합체(BITE®) 항체 작제물이다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 T 세포 결합체(BITE®) 항체 작제물은 CD19/CD3 이중특이적 항체 작제물이다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 T 세포 결합체(BITE®) 항체 작제물은 EGFR/CD3 이중특이적 항체 작제물이다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 T 세포 결합체(BITE®) 항체 작제물은 T 세포를 활성화시킨다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 T 세포 결합체(BITE®) 항체 작제물은 T 세포를 활성화시키고, 이는 세포간 부착 분자 1(ICAM-1) 및 방관자 세포에서 FAS의 상향-조절을 유도하는 사이토카인을 방출한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 T 세포 결합체(BITE®) 항체 작제물은 T 세포를 활성화하여 방관자 세포 용해를 초래한다. 일부 실시형태에서, 방관자 세포는 고형 종양 내에 존재한다. 일부 실시형태에서, 용해되는 방관자 세포는 BITE®-활성화된 T 세포에 근접해 있다. 일부 실시형태에서, 방관자 세포는 종양-관련 항원

(TAA) 음성 암 세포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 방관자 세포는 EGFR 음성 암 세포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 PD-L1/PD1 축 및/또는 CTLA4를 차단하는 항체이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 생체외 확장된 종양-침윤성 T 세포이다. 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 T 세포를 종양-관련 표면 항원(TAA)과 직접 연결하는 이중특이적 항체 작제물 또는 키메라 항원 수용체(CAR)이다.

[0718] ***예시적 체크포인트 억제제***

[0719] 일부 실시형태에서, 면역-종양제는 본원에 기재된 바와 같이 면역 체크포인트 억제제이다.

[0720] 본원에서 사용되는 "체크포인트 억제제"라는 용어는 암 세포가 환자의 면역 체계를 회피하는 것을 방지하는 데 유용한 약제와 관련이 있다. 항종양 면역 전복의 주요 메커니즘 중 하나는 억제 수용체의 상향-조절을 유도하는 항원에 대한 만성 노출을 초래하는 "T-세포 고갈"로 공지되어 있다. 이러한 억제 수용체는 통제되지 않은 면역 반응을 방지하기 위해 면역 체크포인트로서 작용한다.

[0721] 세포독성 T-림프구 항원 4(CTLA-4), B 및 T 림프구 감쇠제(BTLA; CD272), T 세포 면역글로불린 및 뮤신 도메인-3(Tim-3), 림프구 활성화 유전자-3(Lag-3; CD223) 등과 같은 PD-1 및 공-억제 수용체는 종종 체크포인트 조절자라고 지칭된다. 이들은 세포외 정보가 세포 사이클 진행 및 기타 세포내 신호전달 프로세스의 진행 여부를 지시하도록 하는 분자 "게이트키퍼(gatekeeper)" 역할을 한다.

[0722] 일부 실시형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1에 대한 항체이다. PD-1은 프로그램된 세포 사멸 1 수용체(PD-1)에 결합하여 수용체가 억제 리간드 PDL-1에 결합하는 것을 방지하고, 따라서 숙주 항종양 면역 반응을 억제하는 종양의 능력을 무력화한다.

[0723] 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 생물학적 치료제 또는 소분자이다. 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 모노클로날 항체, 인간화 항체, 완전 인간 항체, 융합 단백질 또는 이들의 조합이다. 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK 1, CHK2, A2aR, B-7 패밀리 리간드 또는 이들의 조합으로부터 선택된 체크포인트 단백질을 억제한다. 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK 1, CHK2, A2aR, B-7 패밀리 리간드 또는 이들의 조합으로부터 선택된 체크포인트 단백질의 리간드와 상호작용한다. 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 면역자극제, T 세포 성장 인자, 인터루킨, 항체, 백신 또는 이들의 조합이다. 일부 실시형태에서, 인터루킨은 IL-7 또는 IL-15이다. 일부 실시형태에서, 인터루킨은 글리코실화된 IL-7이다. 추가 측면에서, 백신은 수지상 세포(DC) 백신이다.

[0724] 체크포인트 억제제는 면역계의 억제 경로를 통계적으로 유의한 방식으로 차단하거나 억제하는 임의의 약제를 포함한다. 이러한 억제제는 소분자 억제제를 포함하거나, 면역 체크포인트 수용체에 결합하여 이를 차단 또는 억제하는 항체 또는 이들의 항원 결합 단편, 또는 면역 체크포인트 수용체 리간드에 결합하여 이를 차단 또는 억제하는 항체를 포함할 수 있다. 차단 또는 억제에 대해 표적화될 수 있는 예시적 체크포인트 분자로는 CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, LAG3, TIM3, VISTA, KIR, 2B4(CD2 패밀리 분자에 속하며, 모든 NK, γδ 및 메모리 $CD8^+$ (αβ) T 세포에서 발현됨), CD160(BY55라고도 함), CGEN-15049, CHK 1 및 CHK2 키나제, A2aR 및 다양한 B-7 패밀리 리간드가 포함되지만 이들로 한정되지 않는다. B7 패밀리 리간드에는 B7-1, B7-2, B7-DC, B7-H1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H5, B7-H6 및 B7-H7이 포함되지만 이들로 한정되지 않는다. 체크포인트 억제제는, CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD 160 및 CGEN-15049의 하나 이상의 활성을 차단 또는 억제하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 기타 결합 단백질, 생물학적 치료제 또는 소분자를 포함한다. 예시적 면역 체크포인트 억제제에는 트레멜리무맙(CTLA-4 차단 항체), 항-OX40, PD-L1 모노클로날 항체(항-B7-H1; MEDI4736), MK-3475(PD-1 차단제), 니볼루맙(항-PD1 항체), CT-011(항-PD1 항체), BY55 모노클로날 항체, AMP224(항-PDL1 항체), BMS-936559(항-PDL1 항체), MPLDL3280A(항-PDL1 항체), MSB0010718C(항-PDL1 항체) 및 이필리무맙(항-CTLA-4 체크포인트 억제제)가 포함되지만 이들로 한정되지 않는다. 체크포인트 단백질 리간드에는 PD-L1, PD-L2, B7-H3, B7-H4, CD28, CD86 및 TIM-3이 포함되지만 이들로 한정되지 않는다.

[0725] 특정 실시예에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1 길항제, PD-L1 길항제 및 CTLA-4 길항제로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 니볼루맙(OPDIVO®), 이필리무맙(YERVOY®) 및 펨브롤리주맙(KEYTRUDA®)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 니볼루맙(항-PD-1 항체,

OPDIVO®, Bristol-Myers Squibb); 펨브롤리주맙(항-PD-1 항체, KEYTRUDA®, Merck); 이필리무맙(항-CTLA-4 항체, YERVOY®, Bristol-Myers Squibb); 더발루맙(항-PD-L1 항체, IMFINZI®, AstraZeneca); 및 아테졸리주맙(항-PD-L1 항체, TECENTRIQ®, Genentech)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0726] 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 람브롤리주맙(MK-3475), 니볼루맙(BMS-936558), 피딜리주맙(CT-011), AMP-224, MDX-1105, MEDI4736, MPDL3280A, BMS-936559, 이필리무맙, 리를루맙, IPH2101, 펨브롤리주맙(KEYTRUDA®) 및 트레멜리무맙으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0727] 일부 실시형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 기저 세포 암종(NCT03132636); NSCLC(NCT03088540); 피부 편평세포 암종(NCT02760498); 림프종(NCT02651662); 및 흑색종(NCT03002376)을 갖는 환자에서 시험된 항-PD-1 항체인 REGN2810(Regeneron); 미만성 거대 B-세포 림프종 및 다발성 골수종에 대한 임상 시험에서 PD-1에 결합하는 항체인, CT-011로도 공지된 피딜리주맙(CureTech); 비소세포 폐암, 메르켈 세포암, 중피종, 고형 종양, 신장암, 난소암, 방광암, 두경부암 및 위암에 대한 임상 시험에서 완전 인간 IgG1 항-PD-L1 항체인 아벨루맙(BAVENCIO®, Pfizer/Merck KGaA), MSB0010718C로도 공지됨); 또는 비-소세포 폐암, 흑색종, 삼중 음성 유방암 및 진행성 또는 전이성 고형 종양에 대한 임상 시험에서 PD-1에 결합하는 억제 항체인 PDR001(Novartis)이다. 트레멜리무맙(CP-675,206, Astrazeneca)은 다음과 같은 다수의 적응증에 대한 임상 시험에서 조사되고 있는 CTLA-4에 대한 완전 인간 모노클로날 항체이다: 중피종, 결장직장암, 신장암, 유방암, 폐암 및 비소세포성 폐암, 췌관 선암, 췌장암, 생식세포암, 두경부의 편평세포암, 간 세포암, 전립선암, 자궁내막암, 간의 전이성 암, 간암, 거대 B-세포 림프종, 난소암, 자궁경부암, 전이성 역형성 갑상선암, 요로상피암, 나팔관암, 다발성 골수종, 방광암, 연조직 육종 및 흑색종. AGEN-1884(Agenus)는 진행성 고형 종양(NCT02694822)에 대한 임상 1상 시험에서 연구되고 있는 항-CTLA4 항체이다.

[0728] 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 단백질-3을 함유하는 T-세포 면역 글로불린 뮤신(TIM-3)의 억제제이다. 본 발명에서 사용될 수 있는 TIM-3 억제제는 TSR-022, LY3321367 및 MBG453을 포함한다. TSR-022(Tesaro)는 고형 종양(NCT02817633)에서 연구되고 있는 항-TIM-3 항체이다. LY3321367(Eli Lilly)은 고형 종양(NCT03099109)에서 연구되고 있는 항-TIM-3 항체이다. MBG453(Novartis)은 진행성 악성 종양(NCT02608268)에서 연구되고 있는 항-TIM-3 항체이다.

[0729] 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T 세포 면역수용체 또는 특정 T 세포 및 NK 세포의 면역 수용체인 TIGIT의 억제제이다. 본 발명에 사용될 수 있는 TIGIT 억제제는 BMS-986207(Bristol-Myers Squibb), 항-TIGIT 모노클로날 항체(NCT02913313), OMP-313M32(Oncomed), 항-TIGIT 모노클로날 항체(NCT03119428) 등을 포함한다.

[0730] 일부 실시형태에서, 체크포인트 억제제는 림프구 활성화 유전자-3(LAG-3)의 억제제이다. 본 발명에 사용될 수 있는 LAG-3 억제제에는 BMS-986016 및 REGN3767 및 IMP321이 포함된다. 항-LAG-3 항체인 BMS-986016(Bristol-Myers Squibb)은 교모세포종 및 신경육종(NCT02658981)에서 연구되고 있다. REGN3767(Regeneron)도 항-LAG-3 항체이고, 악성 종양(NCT03005782)에서 연구되고 있다. IMP321(Immutep S.A.)은 흑색종(NCT02676869); 선암(NCT02614833); 및 전이성 유방암(NCT00349934)에서 연구되고 있는 LAG-3-Ig 융합 단백질이다.

[0731] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 OX40 작용제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 OX40 작용제에는 전이성 신장암(NCT03092856) 및 진행성 암 및 신생물(NCT02554812; NCT05082566)에서 작용성 항-OX40 항체인 PF-04518600/PF-8600(Pfizer); 1상 암 임상 시험(NCT02528357)에서 작용성 항-OX40 항체인 GSK3174998(Merck); 진행성 고형 종양(NCT02318394 및 NCT02705482)에서 작용성 항-OX40 항체인 MEDI0562(Medimmune/AstraZeneca); 결장직장암(NCT02559024), 유방암(NCT01862900), 두경부암(NCT02274155) 및 전이성 전립선암(NCT01303705)을 갖는 환자에서 작용성 항-OX40 항체인 MEDI6469(Medimmune/AstraZeneca); 진행성 암(NCT02737475)에서 작용성 항-OX40 항체인 BMS-986178(Bristol-Myers Squibb)이 포함된다.

[0732] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 CD137(4-1BB라고도 함) 작용제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 CD137 작용제에는 미만성 거대 B-세포 림프종(NCT02951156) 및 진행성 암 및 신생물(NCT02554812 및 NCT05082566)에서 작용성 항-CD137 항체인 우토밀루맙(PF-05082566, Pfizer); 흑색종 및 피부암(NCT02652455) 및 교모세포종 및 신경교육종(NCT02658981)에서 작용성 항-CD137 항체인 우렐루맙(BMS-663513, Bristo-Myers Squibb); 전이성 또는 국소 진행성 악성종양(NCT03881488)에서 작용성 항-CD137 항체인 CTX-471(Compass Therapeutics)이 포함된다.

[0733] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 CD27 작용제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 CD27 작용제에는 편평세포 두경부암, 난소암, 결장직장암, 신세포암 및 교모세포종(NCT02335918); 림프종(NCT01460134); 및 신경교종 및 성상세포종(NCT02924038)에서 작용성 항-CD27 항체인 발릴루맙(CDX-1127, Celldex Therapeutics)이 포함된다.

[0734] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 글루코코르티코이드-유도 종양 괴사 인자 수용체(GITR) 작용제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 GITR 작용제에는 악성 흑색종 및 기타 악성 고형 종양(NCT01239134 및 NCT02628574)에서 작용성 항-GITR 항체인 TRX518(Leap Therapeutics); 고형 종양 및 림프종(NCT02740270)에서 작용성 항-GITR 항체인 GWN323(Novartis); 진행성 암(NCT02697591 및 NCT03126110)에서 작용성 항-GITR 항체인 INCAGN01876(Incyte/Agnus); 고형 종양(NCT02132754)에서 작용성 항-GITR 항체인 MK-4166(Merck), 및 진행성 고형 종양(NCT02583165)에서 인간 IgG1 Fc 도메인을 갖는 작용성 육량체 GITR-리간드 분자인 MEDI1873(Medimmune/AstraZeneca)이 포함된다.

[0735] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 유도가능한 T-세포 공-자극제(ICOS, CD278로도 공지됨) 작용제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 ICOS 작용제에는 림프종(NCT02520791)에서 작용성 항-ICOS 항체인 MEDI-570(Medimmune), 1상(NCT02723955)에서 작용성 항-ICOS 항체인 GSK3359609(Merck); 1상(NCT02904226)에서 작용성 항-ICOS 항체인 JTX-2011(Jounce Therapeutics)이 포함된다.

[0736] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 킬러 IgG-유사 수용체(KIR) 억제제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 KIR 억제제에는 백혈병(NCT01687387, NCT02399917, NCT02481297, NCT02599649), 다발성 골수종(NCT02252263) 및 림프종(NCT01592370)에서 항-KIR 항체인 리릴루맙(IPH2102/BMS-986015, Innate Pharma/Bristol-Myers Squibb); 골수종(NCT01222286 및 NCT01217203)에서 IPH2101(1-7F9, Innate Pharma); 림프종(NCT02593045)에서 긴 세포질 꼬리(KIR3DL2)의 3개 도메인에 결합하는 항-KIR 항체인 IPH4102(Innate Pharma)가 포함된다.

[0737] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 CD47과 신호 조절 단백질 알파(SIRPa) 사이의 상호작용의 CD47 억제제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 CD47/SIRPa 억제제에는 1상(NCT03013218)에서 CD47에 결합하고 CD47/SIRPa-매개 신호전달을 방해하는 (SIRPa)의 길항 변이체인 ALX-148(Alexo Therapeutics); SIRPa의 N-말단 CD47 결합 도메인을 인간 IgG1의 Fc 도메인에 연결하여 생성되고 인간 CD47과 결합하여 마크로파지에 "먹지 말라(do not eat)"는 신호를 전달하지 못하게 하는 작용을 하며 1상(NCT02890368 및 NCT02663518)에서 임상 시험 중에 있는 가용성 재조합 융합 단백질인 TTI-621(SIRPa-Fc, Trillium Therapeutics); 백혈병(NCT02641002)에서 항-CD47 항체인 CC-90002(Celgene); 결장직장 신생물 및 고형 종양(NCT02953782), 급성 골수성 백혈병(NCT02678338) 및 림프종(NCT02953509)에서 Hu5F9-G4(Forty Seven, Inc.)가 포함된다.

[0738] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 CD73 억제제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 CD73 억제제로는 고형 종양(NCT02503774)에서 항-CD73 항체인 MEDI9447(Medimmune); 및 고형 종양(NCT02754141)에서 항-CD73 항체인 BMS-986179(Bristol-Myers Squibb)가 포함된다.

[0739] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 인터페론 유전자 단백질의 자극제(STING, 막관통 단백질 173 또는 TMEM173이라고도 함)의 작용제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 STING의 작용제에는 림프종(NCT03010176)에서 작용성 합성 사이클릭 디뉴클레오티드인 MK-1454(Merck); 및 1상(NCT02675439 및 NCT03172936)에서 작용성 합성 사이클릭 디뉴클레오티드인 ADU-S100(MIW815, Aduro Biotech/Novartis)이 포함된다.

[0740] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 CSF1R 억제제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 CSF1R 억제제로는 결장직장암, 췌장암, 전이성 및 진행성 암(NCT02777710) 및 흑색종, 비소세포 폐암, 편평세포 두경부암, 위장관 기질 종양(GIST) 및 난소암(NCT02452424)에서 CSF1R 소분자 억제제인 펙시다티닙(PLX3397, Plexxikon); 췌장암(NCT03153410), 흑색종(NCT03101254), 및 고형 종양(NCT02718911)에서 항-CSF-1R 항체인 IMC-CS4(LY3022855, Lilly); 및 진행성 고형 종양(NCT02829723)에서 경구 이용가능한 CSF1R의 억제제인 BLZ945(4-[2((1R,2R)-2-하이드록시사이클로헥실아미노)-벤조티아졸-6-일옥실]-피리딘-2-카복실산 메틸아마이드, Novartis)가 포함된다.

[0741] 본 발명에 사용될 수 있는 체크포인트 억제제는 NKG2A 수용체 억제제를 포함한다. 임상 시험에서 연구되고 있는 NKG2A 수용체 억제제로는 두경부 종양(NCT02643550) 및 만성 림프구성 백혈병(NCT02557516)에서 항-NKG2A 항체인 모날리주맙(IPH2201, Innate Pharma)이 포함된다.

[0742] 일부 실시형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 이필리무맙, 아벨루맙, 두르발루맙, 아테졸리주맙 또는 피딜리주맙으로부터 선택된다.

[0743] **예시**

[0744] 하기의 실시예는 상술한 본 발명을 예시하지만, 본 발명의 범위를 어떠한 방식으로든 제한하기 위한 것이 아니다. 본 발명의 약학 화합물, 조합 및 조성물의 유익한 효과는 적절한 기술분야에서 당업자에게 공지된 다른 시험 모델에 의해서도 결정될 수 있다.

[0745] **실시예 1: 전사 프로파일링 연구**

[0746] BCY12491을 사용한 프로파일링 연구

[0747] 전사 및 면역조직화학(IHC) 분석을 위해, 6 내지 8주령의 암컷 huCD137-C57B/6J 마우스(Biocytogen) 마우스에게 1×10^6 MC38 세포를 피하 이식했다. 평균 종양 용적이 약 240mm^3에 도달하면 마우스를 치료 그룹으로 랜덤화하고, 비히클(25mM 히스티딘, 10% 수크로오스, pH7), 15mg/kg BCY12491, 15mg/kg BCY13626(비-결합 대조군)을 정맥내 치료하거나, 2mg/kg 항-CD137 항체 우렐루맙을 복강내 치료했다. 치료는 3회 용량으로 Q3D를 제공하고, 캘리퍼 측정에 의해 종양 성장을 모니터링하고, 6일차에 최종 용량의 1시간 후에 종양 조직을 채취했다. 종양 조직의 일부는 전사 분석을 위한 RNA 분리에 사용되었고, 종양 조직의 일부는 IHC 분석을 위한 포르말린 고정 파라핀 포매(FFPE) 샘플 제조에 사용되었다. RNAeasy 키트(Qiagen)를 사용하여 종양 조직으로부터 RNA를 단리하고, 100ng RNA/종양으로부터 nCounter Mouse PanCancer IO 360 패널(Nanostring)을 사용하여 전사 분석을 수행했다. 데이터는 고도의 분석 프로브 세트 ns_mm_io_360_v1.0(Nanostring)을 갖는 nSolver 분석 소프트웨어를 사용하여 분석했다. CD8+ 종양 침윤 세포는 항-마우스 CD8 항체(Abcam, # ab217344) 및 벤타나 디스커버리 옴니맵(Ventana Discovery OmniMap) 항 래빗-HRP 키트(Ventana #760 4310)를 사용하여 FFPE 조직 절편에서 염색했다.

[0748] 데이터는 도 1에 제시되어 있다.

[0749] **결과:** 전사 분석은, EPhA2 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 BCY12491 치료시 종양 조직에서 세포독성 세포 스코어, T 세포 스코어, 마크로파지 세포 스코어와 같은 면역 세포 스코어가 비히클 치료 마우스의 종양과 비교했을 때 유의한 증가를 나타냈다. 항-CD137 항체 치료는 종양 조직에서 세포독성 세포 스코어 및 T 세포 스코어를 유의하게 증가시켰지만, BCY12491에 비해 그 정도는 적었다. 비-결합 대조군(BCY13626) 치료 동물로부터의 종양 조직에서 면역 세포 스코어에는 변화가 관찰되지 않았다. 종양 조직에서 CD8+ 세포에 대한 IHC 분석은, 비히클 또는 비-결합 BCY13626 치료된 마우스의 종양과 비교했을 때 BCY12491 치료된 마우스의 종양에서 CD8+ 세포의 강력한 침윤을 입증했다. CD8+ 세포 침윤의 일부 증가는 항-CD137 항체 치료 마우스의 종양에서도 관찰되었다. 종양 조직에서 면역 세포 스코어 및 CD8+ 세포의 이러한 변화는 EphA2/CD137 헤테로탠덤 바이사이클릭 펩티드 복합체 BCY12491에 의한 종양 조직내 CD137의 작용이 종양 침윤 면역 세포 및 면역 반응의 유의한 조절(증가)를 유도한다는 것을 시사한다.

[0750] BT7480을 사용한 연구

[0751] 전사 및 면역조직화학(IHC) 분석을 위해, 6 내지 8주령의 암컷 huCD137-C57B/6J 마우스(Biocytogen) 마우스에게 1×10^6 MC38#13(넥틴-4를 발현하도록 조작된 MC38 세포) 세포를 피하 이식했다. 평균 종양 용적이 약 255mm^3에 도달하면 마우스를 치료 그룹으로 랜덤화하여 비히클, BT7480(BCY00011863), 비-결합 BCY 대조군 BCY00012797(BCY12797) 또는 αCD137 항체(우렐루맙 유사체)를 투여받았다. BT7480 및 이의 비-결합 대조군은 0시간 및 24시간에 5mg/kg(25mM 히스티딘 HCl, 10% 수크로오스, pH7, 비히클)으로 정맥내 투여하고, 우렐루맙 유사체는 PBS BIW(0시간, 72시간) 용량 및 스케줄에 따라 2mg/kg으로 복강내 투여했다. BT7480-치료 마우스의 종양을 24시간(0시간 용량 후), 48시간(최후 0시간 및 24시간 용량 후 24시간), 96시간(최후 0시간 및 24시간 용량 후 72시간), 144시간(최후 0시간 및 24시간 용량 후 120시간)에 채취했다. αCD137-치료 마우스의 종양은 치료 개시후 144시간에서 채취했다. 비히클 치료 마우스의 종양은 0시간 용량의 24시간 후 및 144시간(최후 0시간 및 24시간 용량 후 120시간)에 채취했다. RNAeasy 키트(Qiagen)를 사용하여 RNA를 종양 조직으로부터 단리하고, 100ng RNA/종양으로부터 nCounter Mouse PanCancer IO 360 패널(Nanostring)을 사용하여 전사 분석을 수행했다. 데이터는 고도의 분석 프로브 세트 ns_mm_io_360_v1.0(Nanostring)을 갖는 nSolver 분석 소프트웨어를 사용하여 분석했다.

[0752] 데이터는 도 2 내지 4에 제시되어 있다.

[0753] **결과:** 전사 분석은, 골수성 세포에 의해 분비되어 케모카인 분비의 부위에서 T 세포의 동원을 유도하는 것으로 간주되는 몇몇 T 세포 화학작용성 케모카인/사이토카인(예: Ccl1, Ccl17 및 Ccl24)의 mRNA에서 현저한 초기(24시간 시점)를 나타냈다. 또한, 전사 분석은, 비히클 치료 마우스로부터의 종양과 비교했을 때, BT7480 치료시 종양 조직에서 세포독성 세포 스코어 및 마크로파지 스코어와 같은 면역 세포 스코어의 현저한 증가를 나타냈다. 마크로파지 스코어는 BT7480 투여 후 24시간부터 증가를 개시하여 48시간까지 24시간 비히클 판독치보다 현저한 증가에 도달했다. 반면에, 세포독성 세포 스코어는 치료 개시 후 48시간부터 증가를 개시하여 144시간까지 증가하여, 144시간에서 비히클 치료 종양과 비교하여 세포독성 세포 스코어가 유의하게 증가했다. BT7480에 대한 반응으로 세포독성 세포 스코어 및 Ccl1, Ccl17 및 Ccl24에 대한 정규화된 mRNA 수의 중첩은 Ccl1, Ccl17 및 Ccl24 전사의 증가가 세포독성 세포 스코어의 증가에 어떻게 선행하는지를 입증한다.

[0754] BT7480에 대한 반응으로 마크로파지 및 세포독성 세포 스코어의 중첩은 마크로파지 스코어의 증가가 세포독성 세포 스코어의 증가보다 어떻게 선행하는지를 입증한다.

[0755] 전사 분석은 CTLA-4(Ctla4), PD-1(Pdcd1), PD-L1(Cd274), LAG3(Lag3), TIM3(Havcr2), PD-L2(Pdcd1lg2) 및 TIGIT(티깃)을 포함하는 몇몇 면역 체크포인트의 mRNA에서 증가 또는 현저한 증가의 경향을 나타냈고, 이는 체크포인트 억제제와의 BT7480 조합의 개념을 뒷받침한다.

[0756] **실시예 2: BCY12491 및 펨브롤리주맙 조합에 의한 효능 연구**

[0757] 종양 성장 분석을 위해, 6 내지 8주령의 암컷 huCD137/huPD-1-C57B/6J 마우스(Biocytogen) 마우스에게 1×10^6 MC38 세포를 피하 이식했다. 평균 종양 용적이 약 92mm^3에 도달했을 때, 마우스를 치료 그룹으로 랜덤화하고, 비히클(25mM 히스티딘, 10% 수크로오스, pH7), 5mg/kg BCY12491(0, 24시간)을 정맥내 치료하거나, 3mg/kg 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙 또는 BCY12491 및 펨브롤리주맙의 조합을 복강내로 치료했다. 병용 치료는 3개의 상이한 투여 스케줄로 제공되었다: 0일차에 BCY12491 및 펨브롤리주맙 치료를 동시에 개시하거나, 1일차에 BCY12491 치료를 개시하고 5일차에 펨브롤리주맙 치료를 개시하거나, 0일차에 펨브롤리주맙 치료를 개시하고 5일차에 BCY12491 치료를 개시한다. 치료는 4회 용량으로 매주 투여하고, 캘리퍼 측정에 의해 종양 성장을 모니터링했다.

[0758] 데이터는 도 5 및 6에 제시되어 있다.

[0759] **결과:** BCY12491 및 펨브롤리주맙 단독요법 및 이들의 조합은 모두 비히클 대조군과 비교했을 때 유의한 항종양 활성을 나타냈다(모두 ***p<0.0001, 치료 대 비히클을 비교한 D18에 대한 둔네트 사후 테스트에 의한 혼합 효과 분석). 추가로, 병용 치료는 단독요법보다 더 효과적이었고(***p<0.0001, 조합 대 단독요법을 비교한 D20에 대한 둔네트 사후 테스트에 의한 혼합 효과 분석), 이는 22일차까지 치료된 모든 동물에서 완전 반응을 유도한다. 대조적으로, 이들 치료 섭생 및 스케쥴은 BCY12491 단독요법 치료 코호트에서 2/10의 완전 반응을 유도하고, 펨브롤리주맙 단독요법 치료 코호트에서 3/10의 완전 반응을 유도했다. BCY12491과 펨브롤리주맙 조합의 대안적 순서(0일차에 BCY12491 치료를 개시하고 5일차에 펨브롤리주맙 치료를 개시하거나, 그 반대의 경우)는 유의한 항종양 활성을 유도했고(모두 ***p<0.0001, 치료 대 비히클을 비교한 D18에 대한 둔네트 사후 테스트에 의한 혼합 효과 분석), 양 스케쥴 모두 42일차에 치료된 마우스에서 9/10의 완전 반응(0일차에 BCY12491 치료 개시 및 5일차에 펨브롤리주맙 치료 개시) 및 8/10의 완전 반응(0일차에 펨브롤리주맙 치료 개시 및 5일차에 BCY12491 치료 개시)을 유도했다.

[0760] **실시예 3: BCY11864 및 항-PD-1 병용에 의한 효능 연구**

[0761] 종양 성장 분석을 위해, 6 내지 8주령의 암컷 Balb/c-huCD137-마우스(Gempharmatech)에게 3×10+e5 CT26#7 세포(넥틴-4를 과발현하도록 조작된 CT26 세포)를 피하 이식했다. 평균 종양 용적이 약 80mm^3에 도달했을 때, 마우스를 치료 그룹으로 랜덤화하고, 비히클(25mM 히스티딘, 10% 수크로오스, pH7), BCY11864 10mg/kg(0, 24시간)으로 정맥내 치료하거나, 10mg/kg 항-PD-1 항체(RMP1-14) 또는 BCY11864와 항-PD-1 항체의 조합으로 복강내 치료했다. 매주 치료를 제공하고, 캘리퍼 측정에 의해 종양 성장을 모니터링했다. >2000mm^3 종양을 갖는 동물은 인도적 종점에 도달함에 따라 희생되었다. 치료 개시 후 66일차에 연구가 종료되었으며, 이 시점에서 2마리(조합 치료 아암(arm) 모두)의 동물만이 연구에 잔류했다(완전 반응자 1마리, 크기가 여전히 퇴행하고 있는 종양을 갖는 1마리).

[0762] 데이터는 도 7에 제시되어 있다.

[0763] **결과:** 항-PD-1 단독요법에 대한 BCY11864의 첨가는 CT26#7 보유 마우스의 생존율(인도적 종점, 즉 종양 용적 >2000mm^{3}에 도달하는 시간으로 측정된 결과)을 유의적으로(p=0.004, 항-PD-1 및 항-PD-1 + BCY11864 조합 아암을 비교한 맨틀-콕스(Mantel-Cox) 로그-랭크 테스트) 증가시켰다.

[0764] **실시예 4. 항-PD-1 및 항-Ctla-4와 조합한 BT7480을 사용한 효능 연구**

[0765] 종양 성장 분석을 위해, 6 내지 8주령의 암컷 C57BL/6J-huCD137-마우스(Biocytogen)에게 1×10+e6 MC38#13 세포(넥틴-4를 과발현하도록 조작된 MC38 세포)를 피하 이식했다. 평균 종양 용적이 약 100mm^{3}에 도달했을 때, 마우스를 치료 그룹으로 랜덤화하고, 비히클(25mM 히스티딘, 10% 수크로오스, pH7), 1mg/kg BT7480, 5mg/kg 항-PD-1(RMP 1-14), 5mg/kg 항-Ctla-4(9H10) 또는 BT7480/항-PD-1 및 BT7480/항-Ctla-4 조합으로 복강내 치료했다. 치료는 2주간 주 2회(BIW) 제공했으며, 치료 개시 후 33일차까지 캘리퍼 측정에 의해 종양 성장을 모니터링했다. >2000mm^3 종양을 갖는 동물은 인도적 종점에 도달함에 따라 희생되었다.

[0766] 데이터는 도에 8 및 9에 제시되어 있다.

[0767] **결과:** 항-PD-1 단독요법에 대한 BT7480의 추가는 완전 반응(CR) 비율을 0/8(BT7480 및 항-PD-1 단독요법 아암)로부터 2/8(BT7480/항-PD-1 조합 치료 아암)로 증가했다. 항-Ctla-4 단독요법에 대한 BT7480의 추가는 치료 개시 후 33일차에 완전 반응(CR) 비율을 각각 0/8 또는 1/8(BT7480 및 항-Ctla-4 단독요법 아암)로부터 4/8로 증가시켰다(BT7480/항-Ctla-4 조합 치료 아암). 추가로, 항-Ctla-4 단독요법에 대한 BT7480의 추가는 MC38#13 보유 마우스의 생존율(인도적 종점, 즉 종양 용적 >2000mm^{3}에 도달하는 시간으로 측정된 결과)을 유의적으로(p=0.0499, 항-Ctla-4 및 항-Ctla-4 + BT7480을 비교하여 맨틀-콕스 로그-랭크 테스트) 증가시켰다.

[0768] **실시예 5. BT7455를 사용한 전사 프로파일링 연구**

[0769] 면역 종양 미세환경에서 BT7455의 효과의 전사 프로파일링 분석을 위해, 6 내지 8주령의 암컷 huCD137-C57B/6J 마우스(Biocytogen) 마우스에게 1×10+E6 MC38 세포를 피하 이식했다. 평균 종양 용적이 약 350mm^{3}에 도달했을 때, 마우스를 치료 그룹으로 랜덤화하여 비히클, BT7455, αCD137 항체(우렐루맙 유사체) 또는 αPD-1 항체를 투여받았다. BT7455는 0시간 및 24시간에 8mg/kg(25mM 히스티딘 HCl, 10% 수크로오스, pH7, 비히클)으로 정맥내 투여하고, 우렐루맙 유사체 및 αPD-1 항체는 0시간에 PBS 중의 2mg/kg(우렐루맙 유사체) 또는 10mg/kg(αPD-1 항체)으로 복강내 투여했다. 치료 개시 후 24시간, 48시간 및 144시간에서 비히클, BT7455, 우렐루맙 유사체 및 αPD-1 항체-치료 마우스로부터 종양을 채취했다. 종양 조직으로부터 RNAeasy 키트(Qiagen)를 사용하여 RNA를 단리하고, 100ng RNA/종양으로부터 nCounter 마우스 PanCancer IO 360 패널(Nanostring)을 사용하여 전사 분석을 수행했다. 데이터는 고도의 분석 프로브 세트 ns_mm_io_360_v1.0(Nanostring)을 갖는 nSolver 분석 소프트웨어를 사용하여 분석했다.

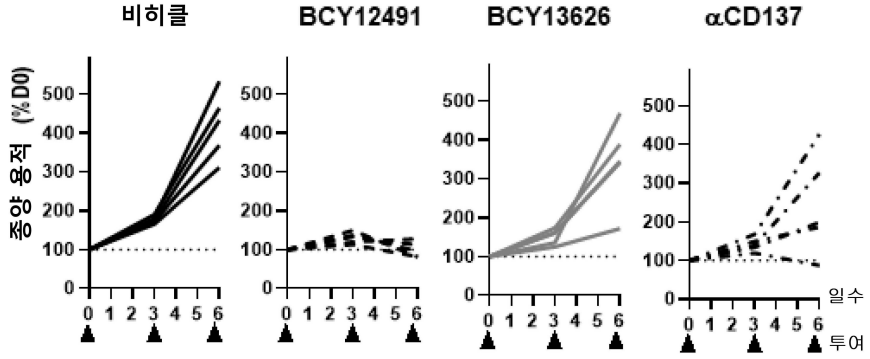
[0770] 데이터는 도 10 내지 13에 제시되어 있다.

[0771] **결과:** 전사 분석은, BT7455 치료 후 CTLA-4(Ctla4), PD-1(Pdcd1), PD-L1(Cd274), LAG3(Lag3), TIM3(Havcr2), PD-L2(Pdcd1lg2) 및 TIGIT(Tigit)를 포함하여 몇몇 면역 체크포인트에 대한 mRNA에서 현저한 증가를 나타냈고, 이는 체크포인트 억제제와의 BT7455 조합의 개념을 뒷받침한다. 또한, 전사 분석은, 골수성 세포에 의해 분비되어 케모카인 분비의 부위에서 T 세포의 동원을 유도하는 것으로 간주되는 Ccl1, Ccl17 및 Ccl24와 같은 몇몇 T 세포 화학작용성 케모카인/사이토카인에 대한 mRNA에서 현저한 초기(24-48시간 시점) 증가를 나타냈다. 또한, 전사 분석은, 비히클 또는 항-PD-1 또는 항-CD137 치료 마우스로부터의 종양과 비교했을 때, BT7455 치료시 종양 조직에서 세포독성 세포 스코어와 같은 면역 세포 스코어에서 유의한 증가를 나타냈다. BT7455 치료는 사이토카인 및 케모카인 신호전달, 세포독성, 아폽토시스 및 NK-kappaB 신호전달 유전자 세트와 관련된 유전자 세트를 포함하여 몇몇 유전자 세트의 현저한 초기(48시간) 조절을 유도했다.

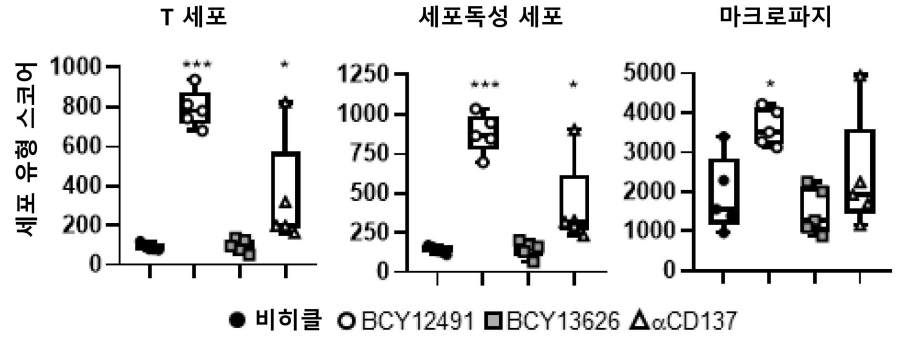
도면

도면1ab

A)

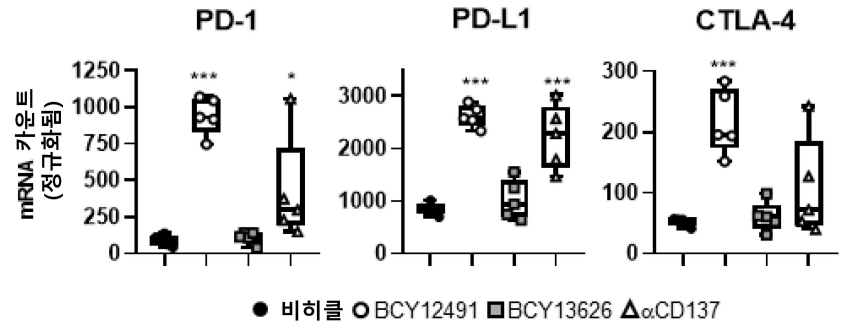

비히클
BCY12491
BCY13626
αCD137
종양 용적 (%D0)
일수
투여

(B)

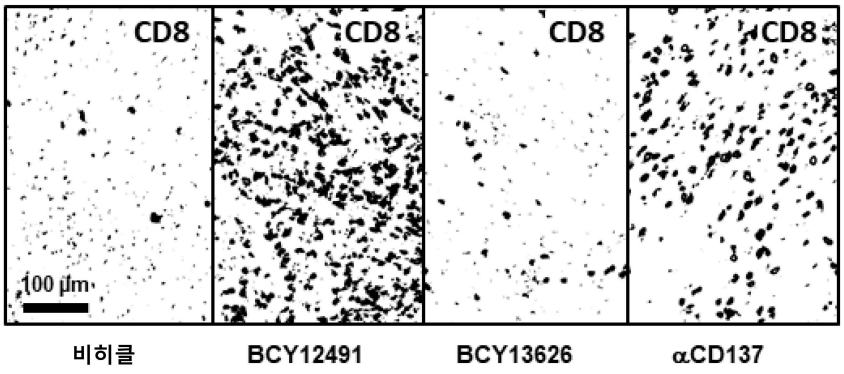

T 세포
세포독성 세포
마크로파지
세포 유형 스코어
비히클
BCY12491
BCY13626
αCD137

도면1cd

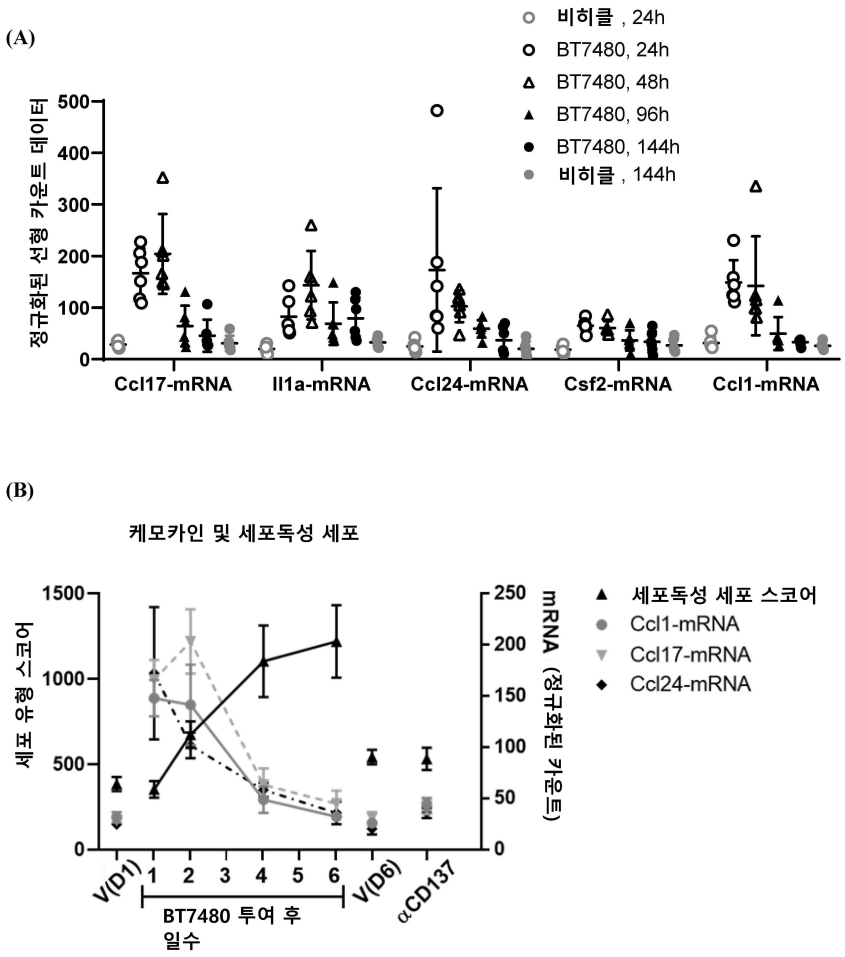
(C)


PD-1
PD-L1
CTLA-4
mRNA 카운트 (정규화됨)
1250
1000
750
500
250
0
3000
2000
1000
0
300
200
100
0
***
*
비히클 BCY12491 BCY13626 αCD137

(D)

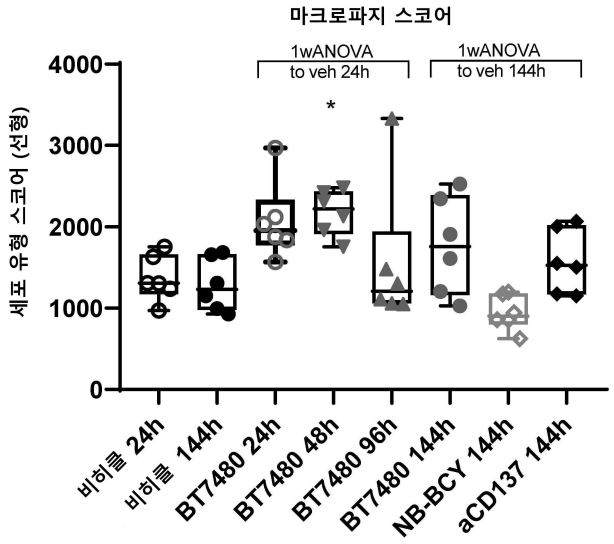

CD8
CD8
CD8
CD8
100 μm
비히클
BCY12491
BCY13626
αCD137

도면2ab

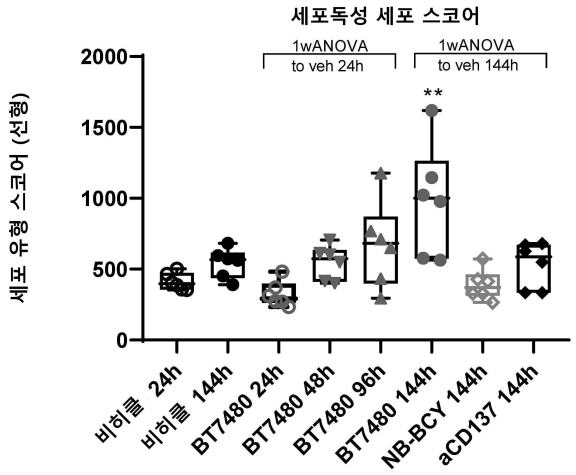

(A)
비히클 , 24h
BT7480, 24h
BT7480, 48h
BT7480, 96h
BT7480, 144h
비히클 , 144h
정규화된 선형 카운트 데이터
500
400
300
200
100
0
Ccl17-mRNA
Il1a-mRNA
Ccl24-mRNA
Csf2-mRNA
Ccl1-mRNA
(B)
케모카인 및 세포독성 세포
세포 유형 스코어
1500
1000
500
0
mRNA (정규화된 카운트)
250
200
150
100
50
0
세포독성 세포 스코어
Ccl1-mRNA
Ccl17-mRNA
Ccl24-mRNA
V(D1)
1
2
3
4
5
6
V(D6)
αCD137
BT7480 투여 후
일수

도면3ab

(A)

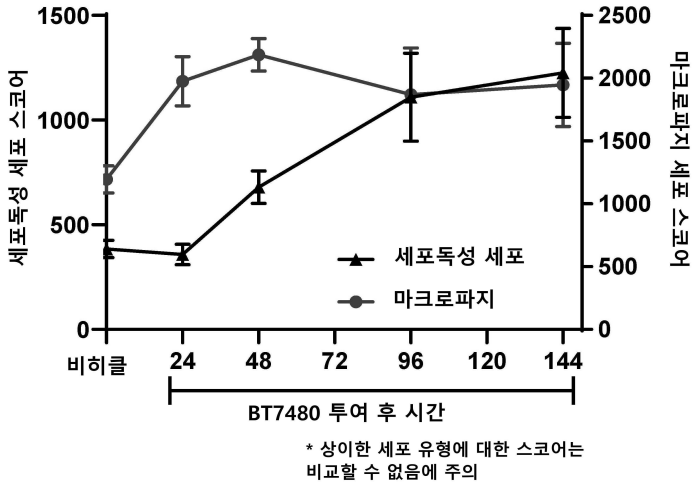


(B)



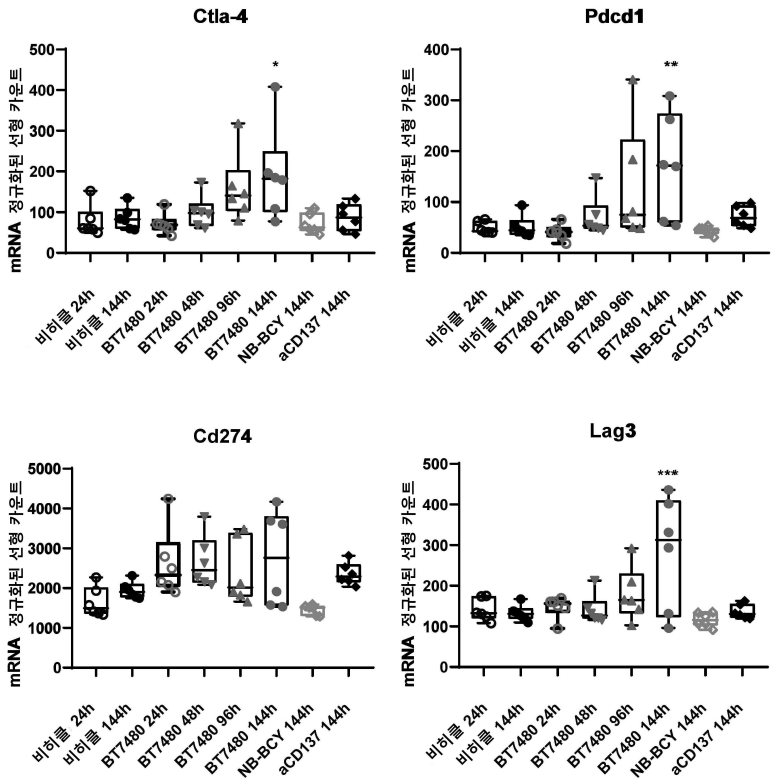
도면3c

(C)

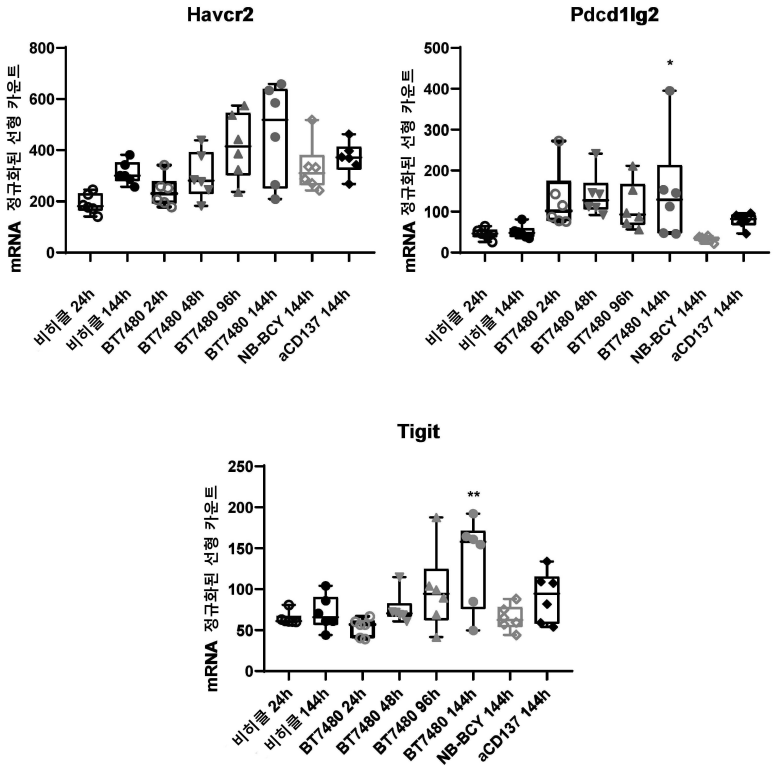


* 상이한 세포 유형에 대한 스코어는 비교할 수 없음에 주의

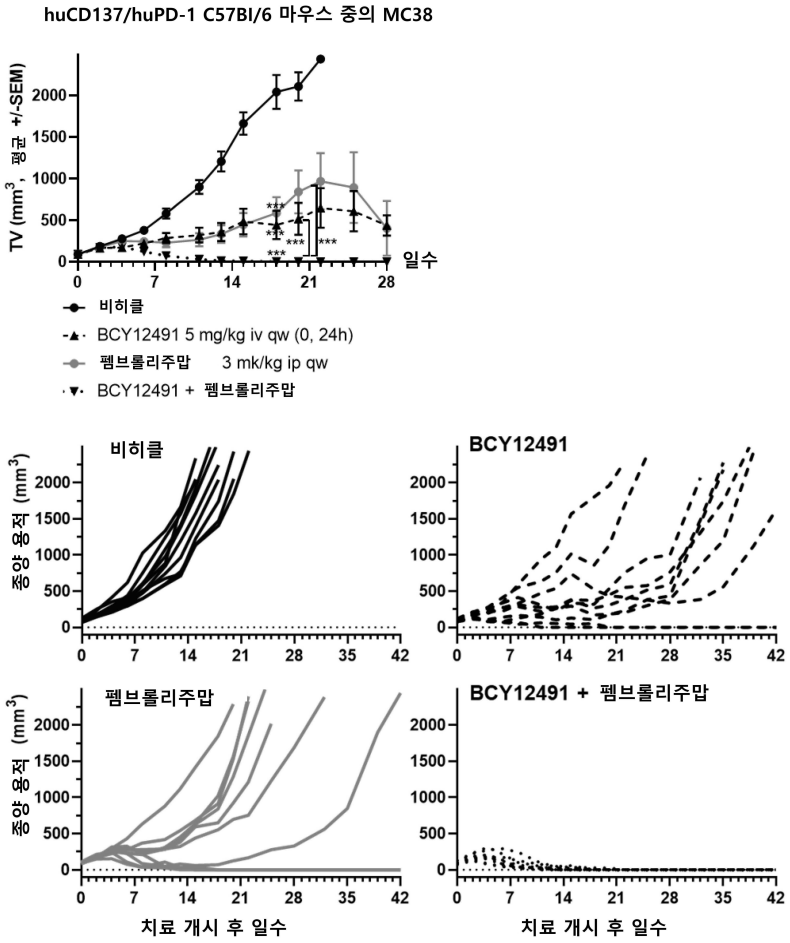
도면4a


Ctla-4
Pdcd1
Cd274
Lag3
mRNA 정규화된 선형 카운트
비히클 24h
비히클 144h
BT7480 24h
BT7480 48h
BT7480 96h
BT7480 144h
NB-BCY 144h
aCD137 144h

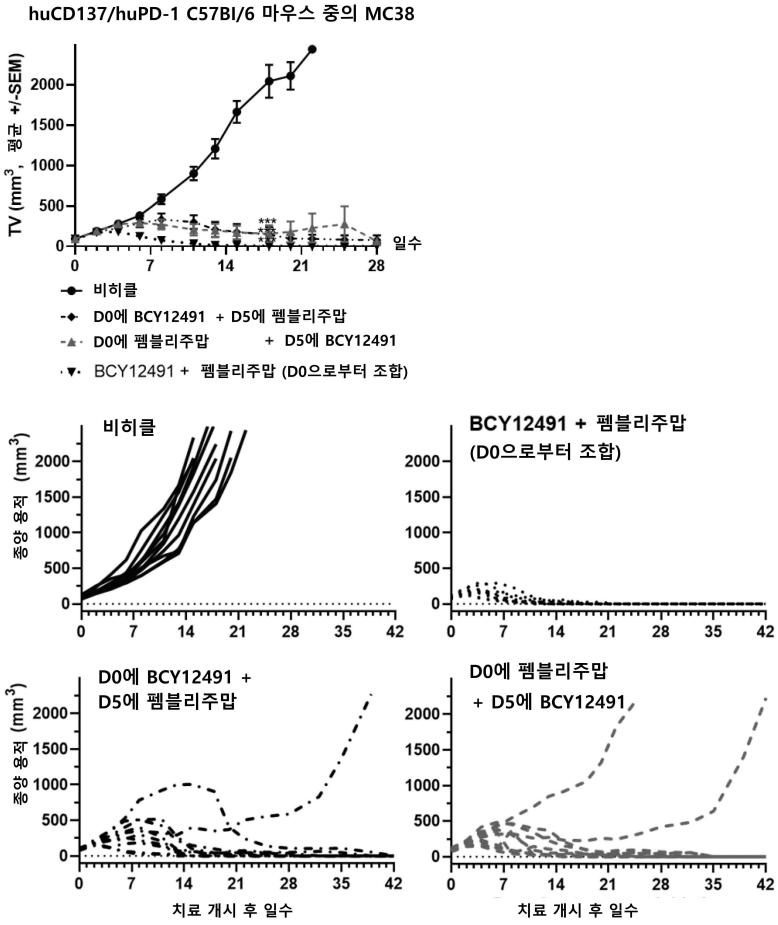
도면4b


Havcr2
Pdcd1lg2
Tigit
mRNA 정규화된 선형 카운트
비히클 24h
비히클 144h
BT7480 24h
BT7480 48h
BT7480 96h
BT7480 144h
NB-BCY 144h
aCD137 144h

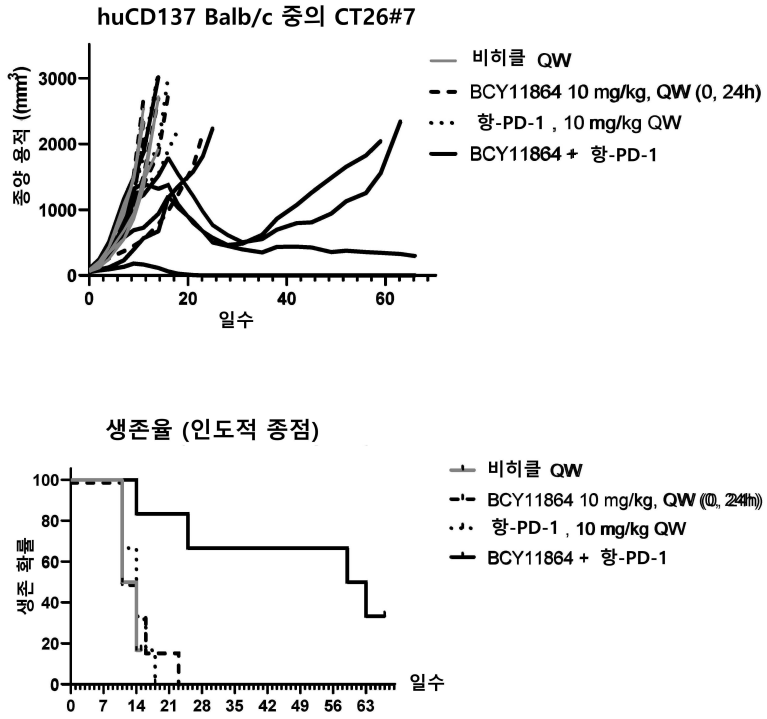
도면5


huCD137/huPD-1 C57Bl/6 마우스 중의 MC38
TV (mm3, 평균 +/-SEM)
일수
비히클
BCY12491 5 mg/kg iv qw (0, 24h)
펨브롤리주맙 3 mk/kg ip qw
BCY12491 + 펨브롤리주맙
비히클
BCY12491
펨브롤리주맙
BCY12491 + 펨브롤리주맙
종양 용적 (mm3)
치료 개시 후 일수

도면6

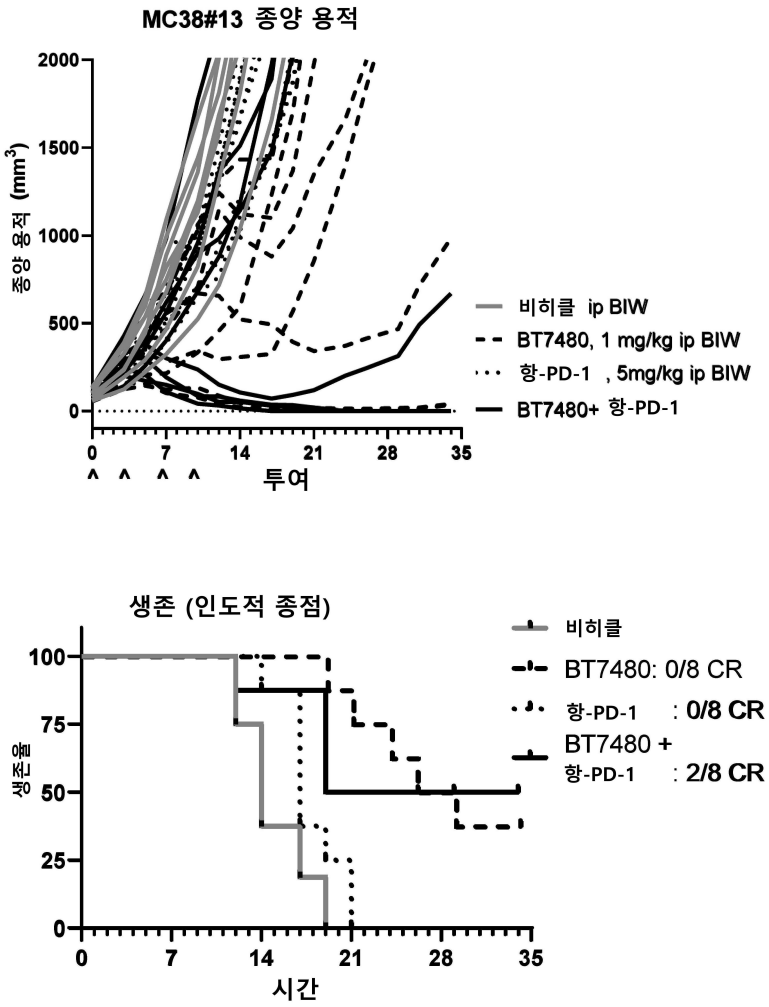

huCD137/huPD-1 C57Bl/6 마우스 중의 MC38
TV (mm3, 평균 +/-SEM)
일수
비히클
D0에 BCY12491 + D5에 펨블리주맙
D0에 펨블리주맙 + D5에 BCY12491
BCY12491 + 펨블리주맙 (D0으로부터 조합)
비히클
BCY12491 + 펨블리주맙
(D0으로부터 조합)
D0에 BCY12491 +
D5에 펨블리주맙
D0에 펨블리주맙
+ D5에 BCY12491
종양 용적 (mm3)
치료 개시 후 일수

도면7

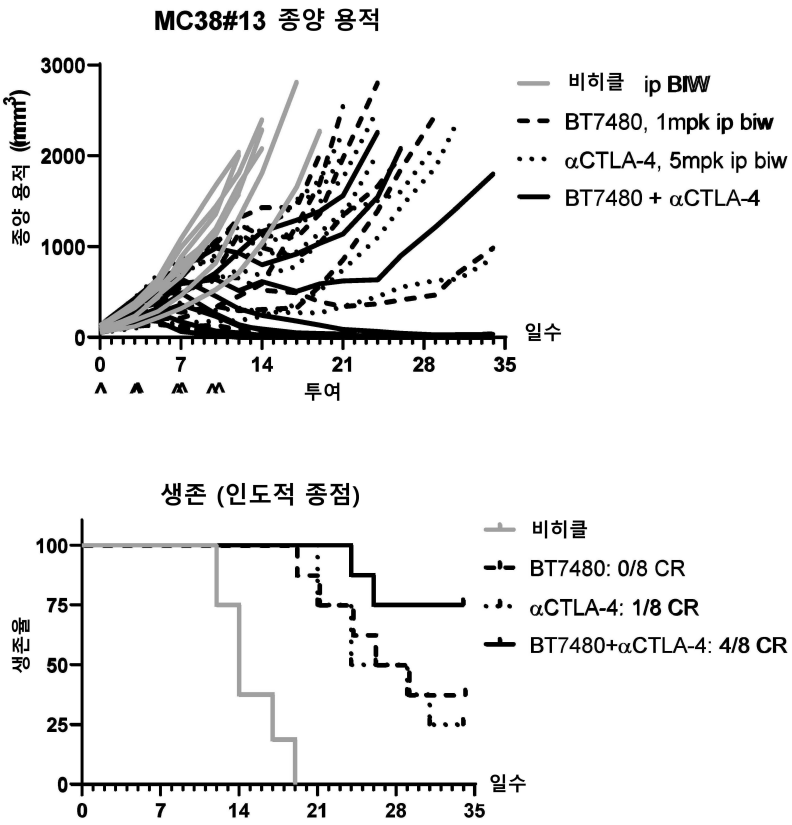

huCD137 Balb/c 중의 CT26#7
중양 용적 (mm³)
3000
2000
1000
0
0
20
40
60
일수
비히클 QW
BCY11864 10 mg/kg, QW (0, 24h)
항-PD-1 , 10 mg/kg QW
BCY11864 + 항-PD-1

생존율 (인도적 종점)
생존율
100
80
60
40
20
0
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
일수
비히클 QW
BCY11864 10 mg/kg, QW (0, 24h)
항-PD-1 , 10 mg/kg QW
BCY11864 + 항-PD-1

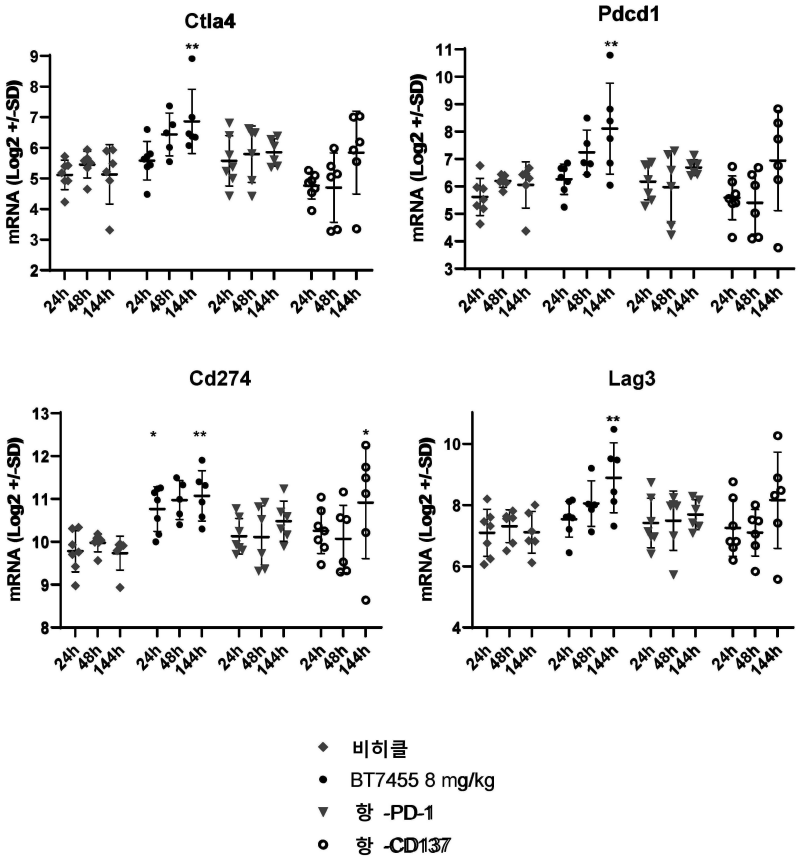
도면8


MC38#13 종양 용적
종양 용적 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0
7
14
21
28
35
투여
비히클 ip BIW
BT7480, 1 mg/kg ip BIW
항-PD-1 , 5mg/kg ip BIW
BT7480+ 항-PD-1
생존 (인도적 종점)
생존율
100
75
50
25
0
시간
비히클
BT7480: 0/8 CR
항-PD-1 : 0/8 CR
BT7480 +
항-PD-1 : 2/8 CR

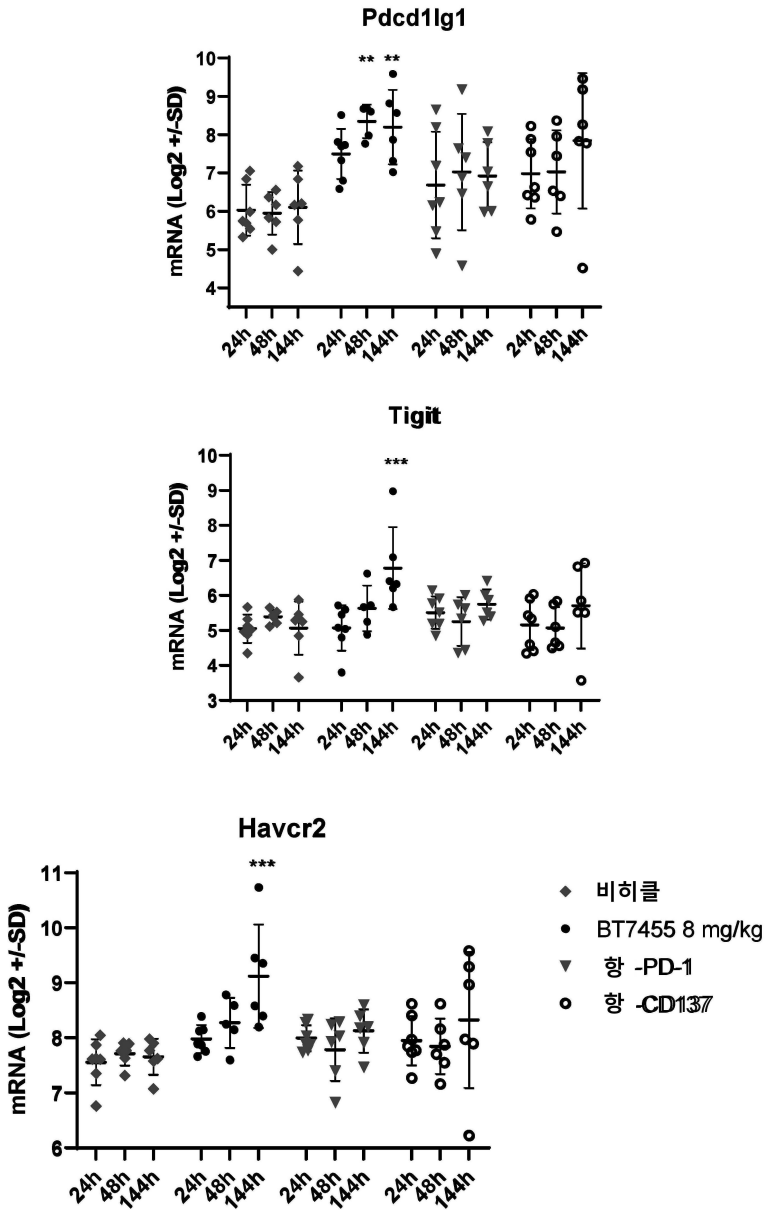
도면9


MC38#13 종양 용적
종양 용적 (mm³)
3000
2000
1000
0
0
7
14
21
28
35
투여
일수
비히클 ip BIW
BT7480, 1mpk ip biw
αCTLA-4, 5mpk ip biw
BT7480 + αCTLA-4
생존 (인도적 종점)
생존율
100
75
50
25
0
일수
비히클
BT7480: 0/8 CR
αCTLA-4: 1/8 CR
BT7480+αCTLA-4: 4/8 CR

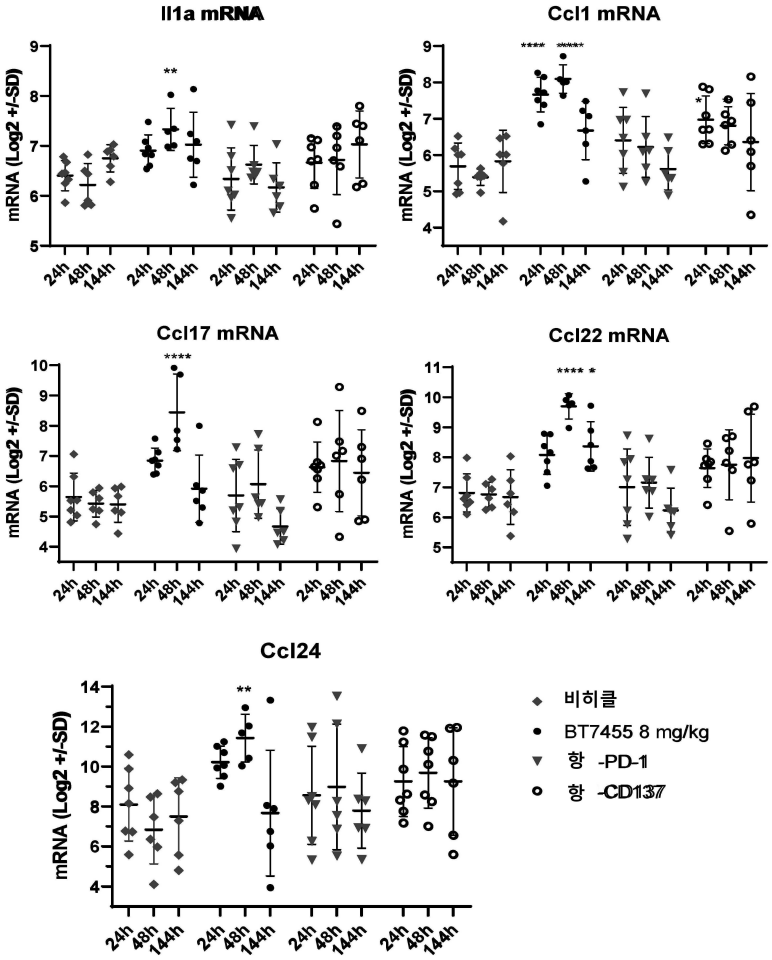
도면10a


Ctla4
Pdcd1
Cd274
Lag3
mRNA (Log2 +/-SD)
24h
48h
144h
비히클
BT7455 8 mg/kg
항 -PD-1
항 -CD137

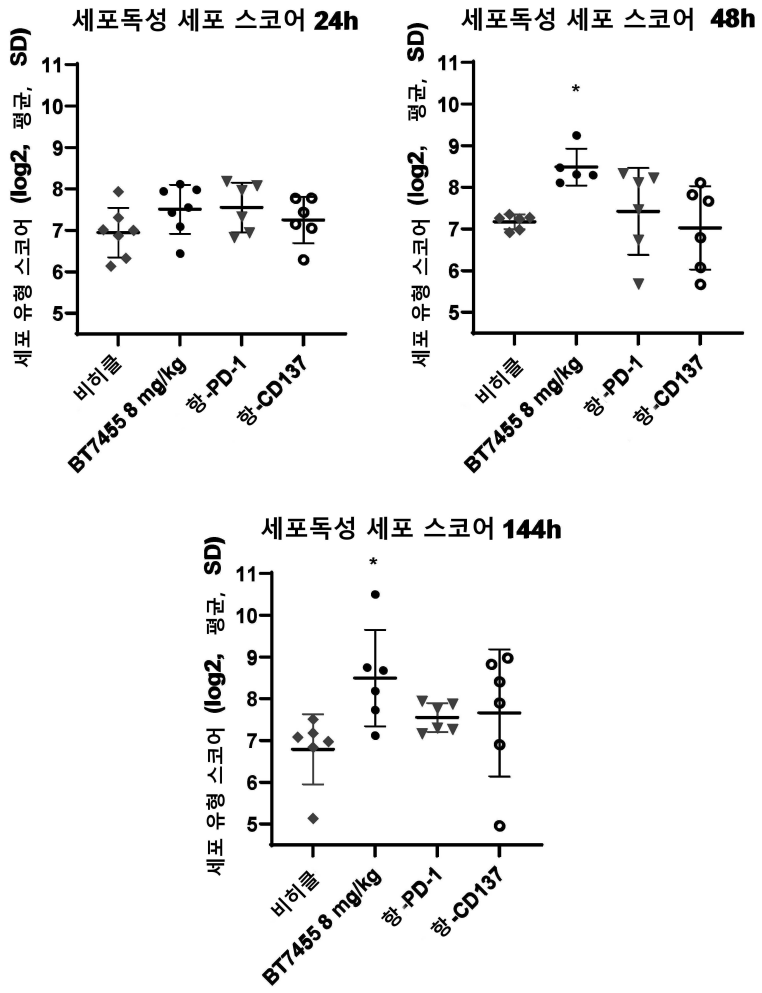
도면10b


Pdcd1lg1
mRNA (Log2 +/-SD)
**
**
Tigit
mRNA (Log2 +/-SD)
***
Havcr2
mRNA (Log2 +/-SD)
***
24h
48h
144h
비히클
BT7455 8 mg/kg
항 -PD-1
항 -CD137

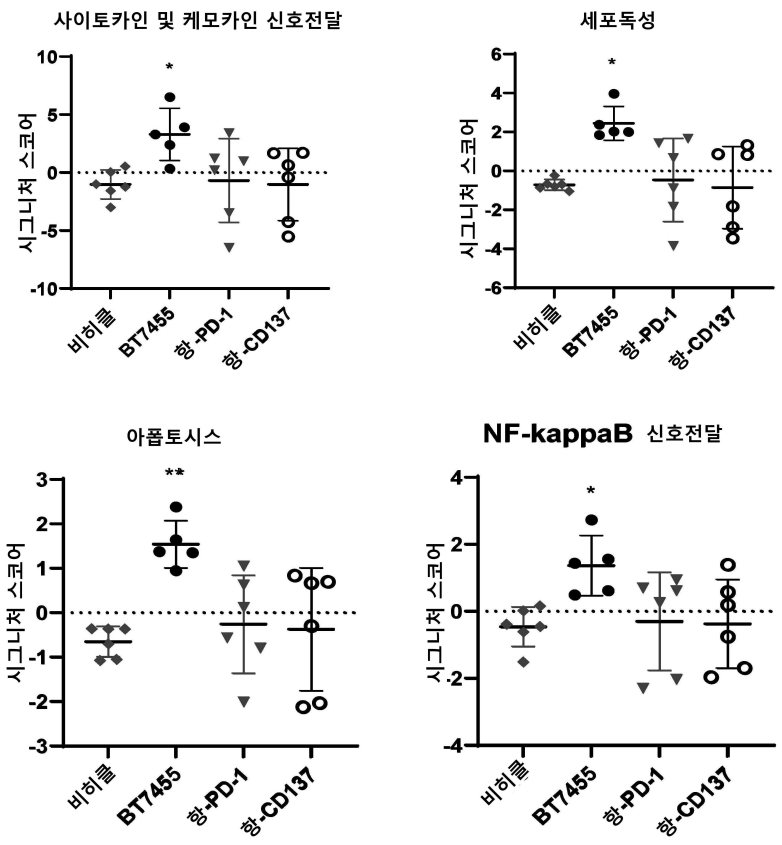
도면11


Il1a mRNA
Ccl1 mRNA
Ccl17 mRNA
Ccl22 mRNA
Ccl24
mRNA (Log2 +/-SD)
24h
48h
144h
비히클
BT7455 8 mg/kg
항 -PD-1
항 -CD137

도면12


세포독성 세포 스코어 24h
세포독성 세포 스코어 48h
세포독성 세포 스코어 144h
세포 유형 스코어 (log2, 평균, SD)
11
10
9
8
7
6
5
*
비히클
BT7455 8 mg/kg
항-PD-1
항-CD137

도면13


사이토카인 및 케모카인 신호전달
시그니쳐 스코어
10
5
0
-5
-10
*
비히클
BT7455
항-PD-1
항-CD137
세포독성
시그니쳐 스코어
6
4
2
0
-2
-4
-6
*
비히클
BT7455
항-PD-1
항-CD137
아폽토시스
시그니쳐 스코어
3
2
1
0
-1
-2
-3
**
비히클
BT7455
항-PD-1
항-CD137
NF-kappaB 신호전달
시그니쳐 스코어
4
2
0
-2
-4
*
비히클
BT7455
항-PD-1
항-CD137