(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0063507
(43) 공개일자 2017년06월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/50 (2017.01) *C07K 16/32* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/48715 (2013.01)
A61K 47/48415 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7001643
(22) 출원일자(국제) 2015년06월18일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년01월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/036414
(87) 국제공개번호 WO 2015/195904
국제공개일자 2015년12월23일
(30) 우선권주장
62/014,912 2014년06월20일 미국(US)
62/015,661 2014년06월23일 미국(US)

(71) 출원인
어브게노믹스 인터내셔널 인코포레이티드
미국 델라웨어 19901 시티 오브 도버 카운티 오브 켄트 사우쓰 듀퐁 하이웨이 3500
바이오얼라이언스 씨.브이.
네덜란드 1043 지피 암스테르담 킹스포드베크 103
(72) 발명자
린, 롱-화
미국 94306 캘리포니아주 팔로 알토 지 주니퍼 레인 유닛 지 4201
린, 시-야오
타이완 타이페이 네이후 디스트릭트 리산 스트리트 레인 105 넘버 1 7에프.
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

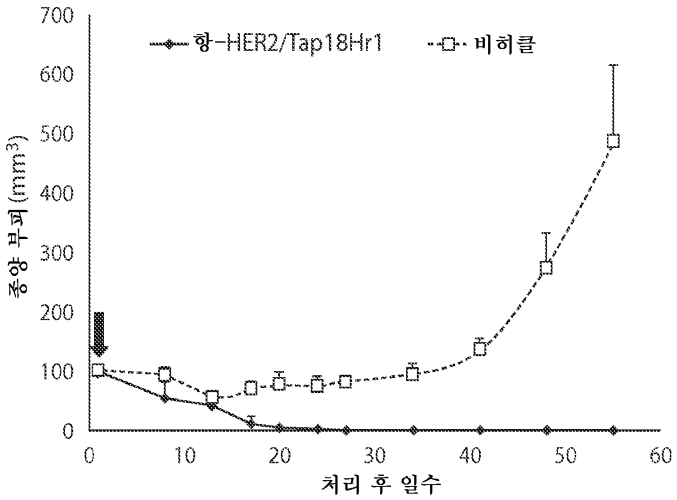
전체 청구항 수 : 총 70 항

(54) 발명의 명칭 **HER2 항체-약물 접합체**

(57) 요 약

본 개시내용은, 적절한 조건 하에 절단가능하고 친수성 기를 혼입시켜 화합물의 보다 우수한 용해도를 제공하는, 친수성 자기-희생적 링커를 갖는 화합물을 제공한다. 본 개시내용의 화합물은 약물 모이어티, 선택된 세포 집단을 표적화할 수 있는 표적화 모이어티, 및 아실 유닛을 함유하는 링커, 약물 모이어티와 표적화 모이어티 사이에 거리를 제공하기 위한 임의적인 스페이서 유닛, 적절한 조건 하에 절단될 수 있는 펩티드 링커, 친수성 자기-희생적 링커, 및 임의적인 제2 자기-희생적 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커를 포함한다. 본 개시내용의 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 항-HER2 항체이다. 본 개시내용은 추가로 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도4



(52) CPC특허분류
A61K 47/48438 (2013.01)
A61K 47/48584 (2013.01)
A61K 47/48615 (2013.01)
A61K 47/48638 (2013.01)
C07K 16/32 (2013.01)
C07K 2317/515 (2013.01)
C07K 2317/522 (2013.01)
C07K 2317/526 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자
시에, 유-치
타이완 뉴 타이페이 시티 221 시지 디스트릭트 동쉬 스트리트 넘버 54 12에프.
황, 치우-첸
타이완 타이페이 네이후 디스트릭트 네이후 로드 섹션 2 레인 339 넘버 2 4에프.
리, 슈-화
타이완 타이페이 네이후 디스트릭트 네이후 로드 섹션 1 레인 91 넘버 136 5에프.
차이, 유-잉
타이완 타이페이 시티 116 웬샨 디스트릭트 징화 스트리트 레인 121 엘리 15 넘버 7 3에프.

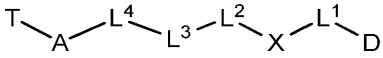
명 세 서

청구범위

청구항 1

화학식 I의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체.

<화학식 I>



여기서,

D는 약물 모이어티이고;

T는 표적화 모이어티이며, 여기서 T는 인간 HER2에 특이적으로 결합하는 항체이고;

X는 친수성 자기-희생적 링커이고;

L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

L^3은 펩티드 링커이고;

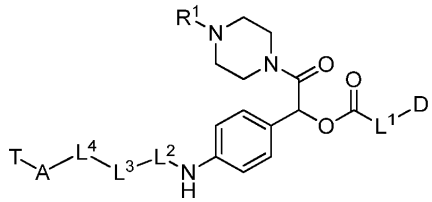
L^4는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이다.

청구항 2

화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체.

<화학식 II>



여기서,

D는 약물 모이어티이고;

T는 표적화 모이어티이며, 여기서 T는 인간 HER2에 특이적으로 결합하는 항체이고;

R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

L^3은 펩티드 링커이고;

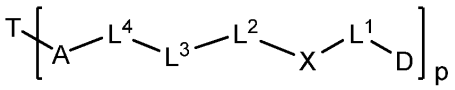
L^4는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이다.

청구항 3

화학식 Ia의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체.

<화학식 Ia>



여기서,

p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이고;

D는 약물 모이어티이고;

T는 표적화 모이어티이며, 여기서 T는 인간 HER2에 특이적으로 결합하는 항체이고;

X는 친수성 자기-희생적 링커이고;

L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

L^3은 펩티드 링커이고;

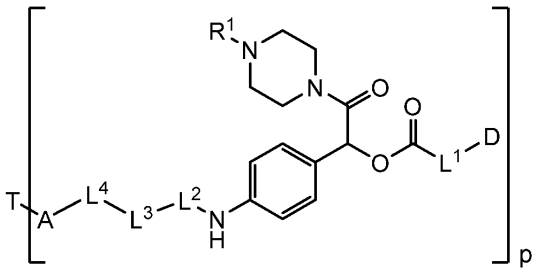
L^4는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이다.

청구항 4

하기 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체.

<화학식 IIa>



여기서,

p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이고;

D는 약물 모이어티이고;

T는 표적화 모이어티이며, 여기서 T는 인간 HER2에 특이적으로 결합하는 항체이고;

R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

L^3은 펩티드 링커이고;

L^4는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이다.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, p가 1, 2, 3 또는 4인 화합물.

청구항 6

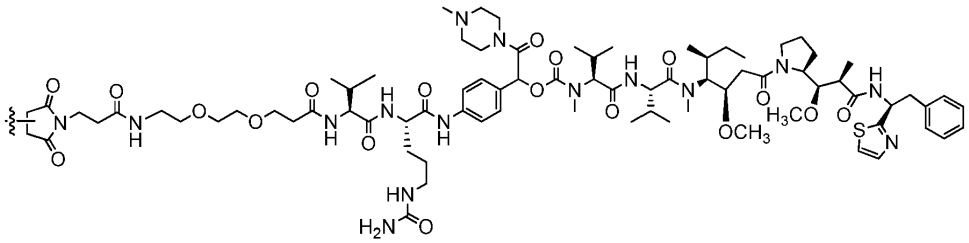
제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, D가 아미노 기-함유 약물 모이어티이며, 여기서 약물은 아미노 기-함유 약물 모이어티의 아미노 기를 통해 L^1 또는 X에 연결된 것인 화합물.

청구항 7

제6항에 있어서, D가 두오카르마이신, 돌라스타틴, 튜부리신, 독소루비신 (DOX), 파클리탁셀 또는 미토마이신 C (MMC) 또는 그의 아미노 유도체인 화합물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, $A\text{-}L^4\text{-}L^3\text{-}L^2\text{-}X\text{-}L^1\text{-}D$가



인 화합물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, L^1이 결합인 화합물.

청구항 10

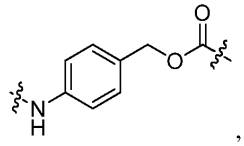
제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 화합물.

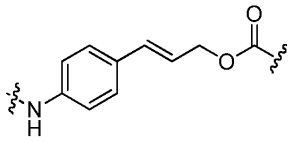
청구항 11

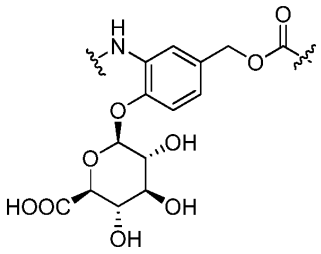
제10항에 있어서, L^1이 아미노벤질옥시카르보닐 링커인 화합물.

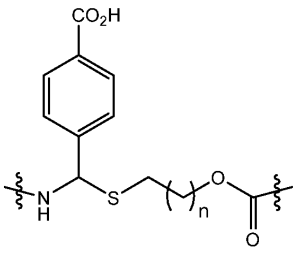
청구항 12

제10항에 있어서, L^1이


,


,

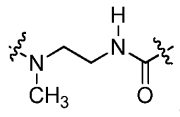

, 및



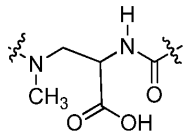
로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 n은 1 또는 2인 화합물.

청구항 13

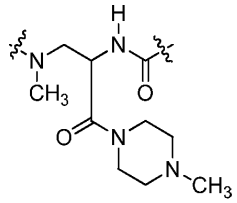
제10항에 있어서, L^1이



,



, 및



로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 14

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, L^2가 결합인 화합물.

청구항 15

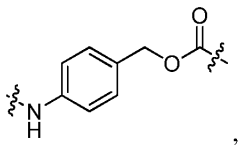
제9항에 있어서, L^2가 자기-희생적 링커인 화합물.

청구항 16

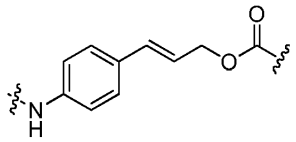
제15항에 있어서, L^2가 아미노벤질옥시카르보닐 링커인 화합물.

청구항 17

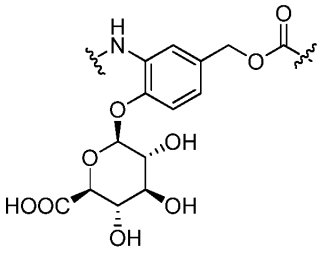
제15항에 있어서, L^2가



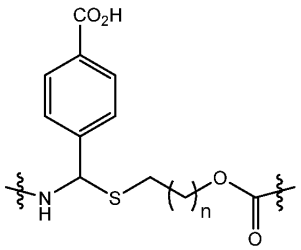
,



,



, 및



로부터 선택되며, 여기서 n은 1 또는 2인 화합물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, L^3이 1 내지 10개의 아미노산 잔기의 펩티드 링커인 화합물.

청구항 19

제18항에 있어서, L^3이 2, 3 또는 4개의 아미노산 잔기의 펩티드 링커인 화합물.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, L^3이 적어도 1개의 리신 또는 적어도 1개의 아르기닌 잔기를 포함하는 펩티드 링커인 화합물.

청구항 21

제18항에 있어서, L^3이 리신, D-리신, 시트룰린, 아르기닌, 프롤린, 히스티딘, 오르니틴 및 글루타민으로부터 선택된 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커인 화합물.

청구항 22

제21항에 있어서, L^3이 발린, 이소류신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 류신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택된 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커인 화합물.

청구항 23

제18항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, L^3이 발린-시트룰린, 프롤린-리신, 메티오닌-D-리신, 아스파라긴-D-리신, 이소류신-프롤린, 페닐알라닌-리신 및 발린-리신으로부터 선택된 디펩티드 유닛인 화합물.

청구항 24

제23항에 있어서, L^3이 발린-시트룰린인 화합물.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, L^4가 결합인 화합물.

청구항 26

제25항에 있어서, L^4가 스페이서인 화합물.

청구항 27

제26항에 있어서, 스페이서가 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 또는 폴리아민인 화합물.

청구항 28

제26항에 있어서, L^4가 L^{4a}-C(O), L^{4a}-C(O)-NH, L^{4a}-$S(O)_2$, 또는 L^{4a}-$S(O)_2$-NH이며, 여기서 각각의 L^{4a}는 독립적으로 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 또는 폴리아민인 화합물.

청구항 29

제26항에 있어서, L^4가 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 또는 폴리아민인 화합물.

청구항 30

제26항에 있어서, L^4가 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 폴리알킬렌 글리콜인 화합물.

청구항 31

제26항에 있어서, L^4가 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 폴리에틸렌 글리콜인 화합물.

청구항 32

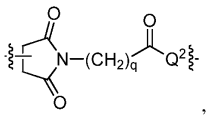
제26항에 있어서, 스페이서가 화학식 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_m-CH_2-C(O)-$를 갖고, 여기서 m은 정수 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30인 화합물.

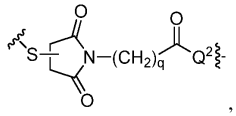
청구항 33

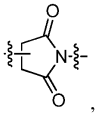
제26항에 있어서, L^4가 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 알킬렌인 화합물.

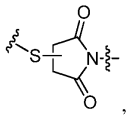
청구항 34

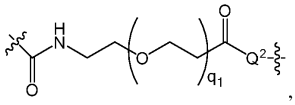
제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, A가

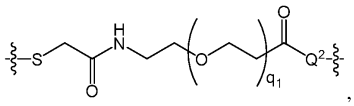

,

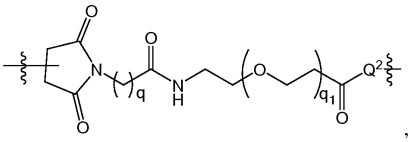

,

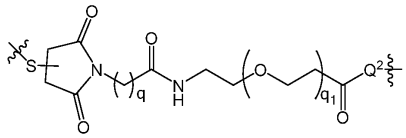

,


,


,


,

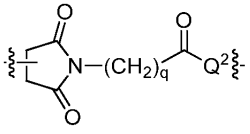
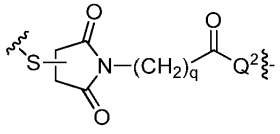

,및



로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 각각의 Q^2는 NH 또는 O이고, 각각의 q는 독립적으로 1 내지 10의 정수이고, 각각의 q_1은 독립적으로 1 내지 10의 정수인 화합물.

청구항 35

제34항에 있어서, A가


또는


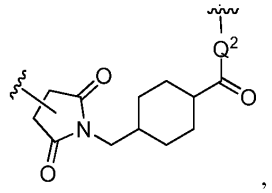
이며, 여기서 각각의 Q^2는 독립적으로 NH 또는 O이고, 각각의 q는 독립적으로 정수 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10인 화합물.

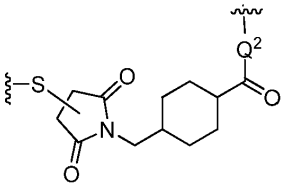
청구항 36

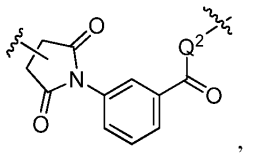
제35항에 있어서, q가 2, 3, 4 또는 5인 화합물.

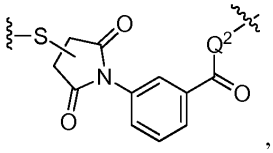
청구항 37

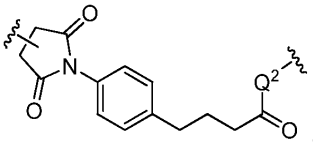
제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, A가

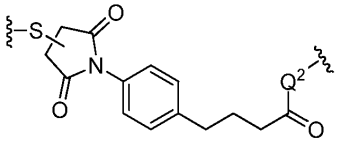

,


,


,


,


, 및



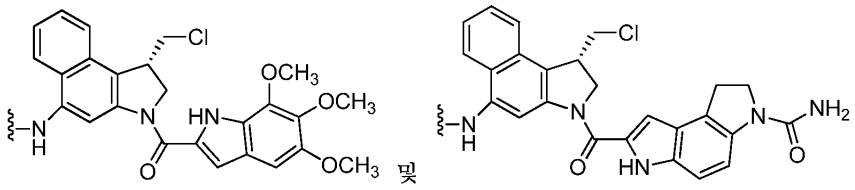
군으로부터 선택되며, 여기서 각각의 Q^2는 독립적으로 NH 또는 O인 화합물.

청구항 38

제9항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, D가 아미노 기-함유 약물 모이어티이며, 여기서 약물은 아미노 기-함유 약물 모이어티의 아미노 기를 통해 L^1 또는 X에 연결된 것인 화합물.

청구항 39

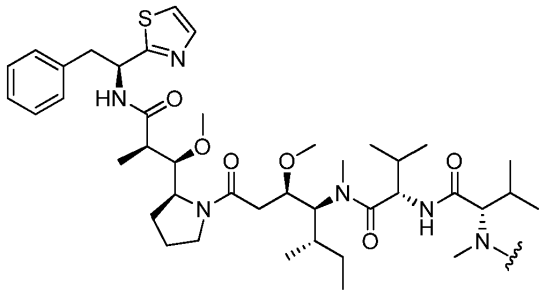
제38항에 있어서, D가



로 이루어진 군으로부터 선택된 두오카르마이신의 아미노 유도체인 화합물.

청구항 40

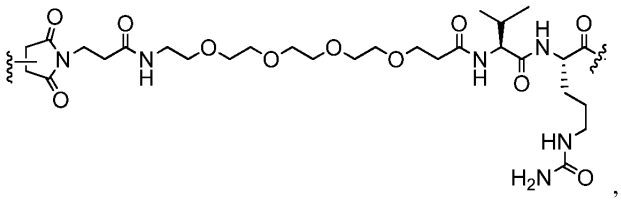
제38항에 있어서, D가

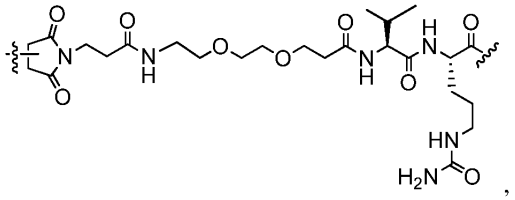


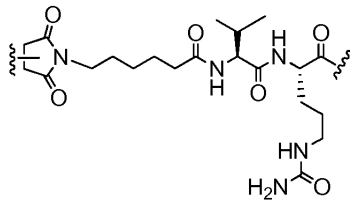
인 화합물.

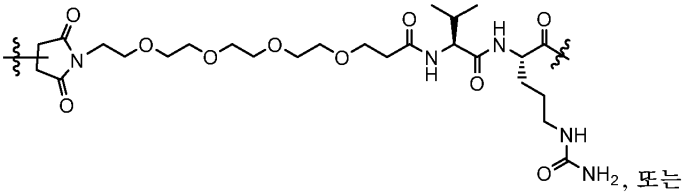
청구항 41

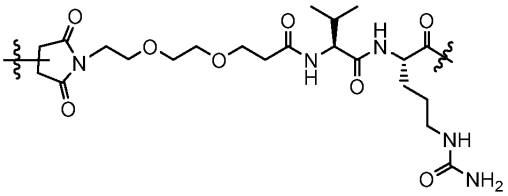
제9항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, A-L^4-L^3-L^2가


,


,


,

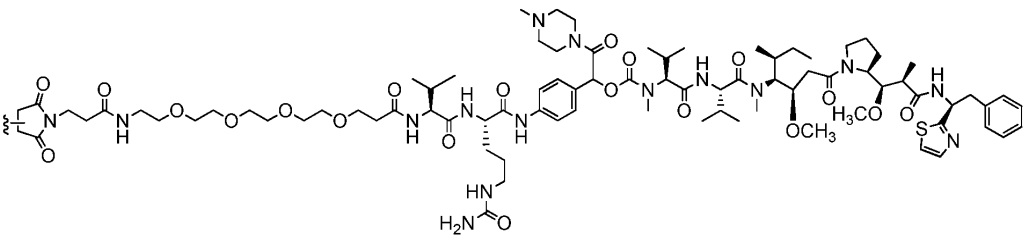

, 또는



인 화합물.

청구항 42

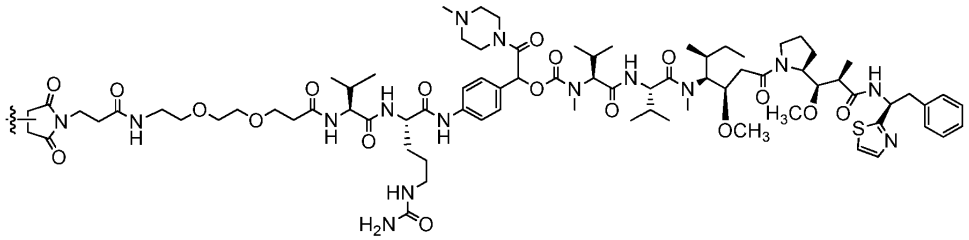
제9항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, A-L^4-L^3-L^2-X-L^1-D가



인 화합물.

청구항 43

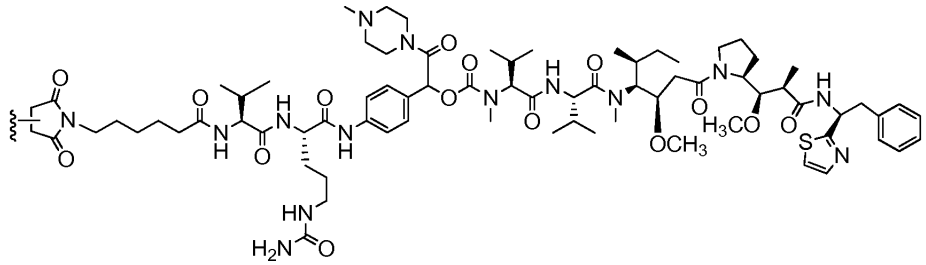
제9항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, A-L^4-L^3-L^2-X-L^1-D가



인 화합물.

청구항 44

제9항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, A-L^4-L^3-L^2-X-L^1-D가



인 화합물.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 항-HER2 항체가 인간화 항체, 키메라 항체, 모노클로날 항체 또는 인간 항체인 화합물.

청구항 46

제45항에 있어서, 인간화 항-HER2 항체가 트라스투주맙인 화합물.

청구항 47

제45항에 있어서, 모노클로날 항-HER2 항체가 페르투주맙인 화합물.

청구항 48

제45항에 있어서, 모노클로날 항-HER2 항체가 마르게툭시맙인 화합물.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 1개 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 것인 화합물.

청구항 50

제49항에 있어서, 항체의 Fc 영역의 1개 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 것인 화합물.

청구항 51

제49항에 있어서, 항체의 1개 이상의 아미노산 잔기가 EU 넘버링을 사용한 경쇄의 위치 147, 188, 200, 201 및/또는 206, 및/또는 중쇄의 위치 155, 157, 165, 169, 197, 199, 209, 211 및/또는 442에 있는 것인 화합물.

청구항 52

제49항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, D가 시스테인 잔기에 의해 T에 연결된 것인 화합물.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 항-HER2 항체가 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서

(1) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 16-18의 아미노산 서열의 3개의 중쇄 CDR을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 19-21의 아미노산 서열의 3개의 경쇄 CDR을 포함하거나;

(2) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 22-24의 아미노산 서열의 3개의 중쇄 CDR을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 25-27의 아미노산 서열의 3개의 경쇄 CDR을 포함하거나;

(3) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 28-30의 아미노산 서열의 3개의 중쇄 CDR을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 31-33의 아미노산 서열의 3개의 경쇄 CDR을 포함하는 것인

화합물.

청구항 54

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 항-HER2 항체가 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서

(1) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하거나;

(2) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 포함하거나;

(3) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 15의 아미노산 서열을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 것인

화합물.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체; 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 56

세포를 사멸시키는데 충분한 양의 제1항 내지 제54항 중 어느 한 항의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체 또는 제약 조성물을 세포에 투여하는 것을 포함하는, 세포를 사멸시키는 방법.

청구항 57

제56항에 있어서, 세포가 암 세포인 방법.

청구항 58

제57항에 있어서, 암 세포가 유방암 세포, 위암 세포 또는 난소암 세포인 방법.

청구항 59

암의 치료를 필요로 하는 개체에게 유효량의 제1항 내지 제54항 중 어느 한 항의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체 또는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 개체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 60

제59항에 있어서, 암이 유방암, 위암, 또는 난소암인 방법.

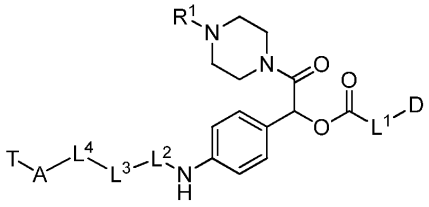
청구항 61

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체 또는 제약 조성물을 포함하는 키트.

청구항 62

화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 방법이며,

<화학식 II>



여기서,

D는 약물 모이어티이고;

T는 표적화 모이어티이며, 여기서 T는 인간 HER2에 특이적으로 결합하는 항체이고;

R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

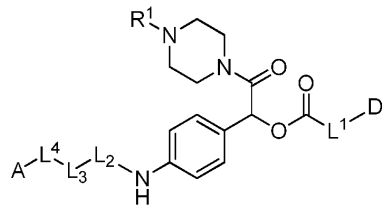
L^3은 펩티드 링커이고;

L^4는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이고;

항체를 화합물 Z 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체와 반응시키는 것을 포함하는 방법.

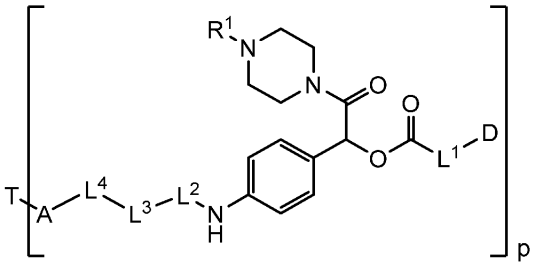
<화합물 Z>



청구항 63

화학식 IIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 방법이며,

<화학식 IIa>



여기서,

p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이고;

D는 약물 모이어티이고;

T는 표적화 모이어티이며, 여기서 T는 인간 HER2에 특이적으로 결합하는 항체이고;

R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

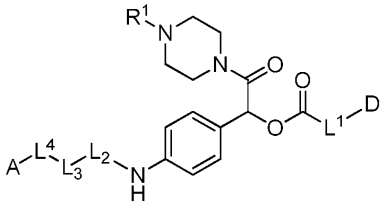
L^3은 펩티드 링커이고;

L^4는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이고;

항체를 화합물 Z 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체와 반응시키는 것을 포함하는 방법.

<화합물 Z>



청구항 64

제62항 또는 제63항에 있어서, 항-HER2 항체가 인간화 항체, 키메라 항체, 모노클로날 항체 또는 인간 항체인 방법.

청구항 65

제62항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 중쇄 및/또는 경쇄의 1개 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 것인 방법.

청구항 66

제62항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 항체의 Fc 영역의 1개 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 것인 방법.

청구항 67

제65항에 있어서, 항체의 1개 이상의 아미노산 잔기가 EU 넘버링을 사용한 경쇄의 위치 147, 188, 200, 201 및/또는 206, 및/또는 중쇄의 155, 157, 165, 169, 197, 199, 209, 211 및/또는 442에 있는 것인 방법.

청구항 68

제62항 또는 제63항에 있어서, 항체가 1개 이상의 술프히드릴 기를 포함하는 것인 방법.

청구항 69

제62항 또는 제63항에 따른 방법에 의해 제조되며, 여기서 항체는 1개 이상의 술프히드릴 기를 포함하는 것인, 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체.

청구항 70

제69항의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에 2014년 6월 23일에 출원된 미국 특허 가출원 U.S.S.N. 62/015,661, 및 2014년 6월 20일에 출원된 U.S.S.N. 62/014,912에 대한 우선권을 주장하며, 이들 각각은 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 개시내용은 항암 치료제의 분야에 속하고, 항체-약물 접합체 (ADC) 포맷을 통한 암 세포에의 특이적 세포독성 약물의 전달을 위한 효능 및 특이성을 제공한다.

배 경 기 술

[0005] 항체-약물 접합체 (ADC)는 모노클로날 항체 (mAb)의 특이성을 세포독성 분자의 효력과 합한 치료제의 부류이다. ADC의 사용은 접합된 세포독성제에 의해 항체에게 암 사멸 활성의 권한을 부여하고, 표적-특이적 전달은 유리 독성제에의 노출에 의해 유발되는 전신 독성을 회피한다. 현재, 2종의 ADC가 인간 암의 치료를 위해 FDA 승인을 받은 바 있다. 세포독성제 MMAE와 접합된 항-CD30 항체인 애드세트리스(ADCETRIS)® (브렌툭시맙 베도틴 또는 SGN-35)는 CD30-양성 재발성 림프종을 치료하기 위해 설계된다. 세포독성제 DM1과 접합된 항-HER2 항체인 카드실라(KADCYLA)® (T-DM1)는 HER2-양성 전이성 유방암을 치료하기 위해 설계된다.

[0006] 링커 기술은 ADC 효력, 특이성 및 안전성에 지대한 영향을 미친다. 효소-불안정성 링커는 세포 내부 및 외부에서의 프로테아제의 차별적 활성을 이용하여 약물 방출의 제어를 달성한다. 약물은 펩티드 결합을 통해 항체에 접합될 수 있고, 세포 내부에 존재하는, 및 특정 종양 유형에서 상승된 수준으로 존재하는 리소좀 프로테아제의 작용에 의해서만 특이적으로 절단될 수 있다 (Koblinsk et al., 2000). 이는 혈류 중 링커의 안정성을 보장하여 건강한 조직에 대한 손상을 제한할 것이다. 그러나, 일부 효소-불안정성 링커의 증가된 회합된 소수성은 특히 강력한 소수성 약물에 의해 ADC의 응집을 야기할 수 있다. 따라서, 혈청 안정성, 뿐만 아니라 소수성 약물의 효율적 접합 및 세포내 전달을 가능하게 하는 증가된 용해도를 제공할 수 있는 링커에 대한 필요가 존재한다.

[0007] 인간 표피 성장 인자 수용체 2 단백질, HER2 (ErbB2)는 표피 성장 인자 수용체 패밀리의 구성원이다. 이들 수용체 티로신 키나제는 발생 및 종양발생 둘 다에서 중요한 역할을 하는 것으로 공지되어 있다. HER2 단백질의 과다발현은 원발성 유방암의 25%-30%에서 관찰되고 (Press et al., 1993), 따라서 암 표적화 요법의 중요한 후보가 된다. 인간화 항-HER2 항체, 트라스투주맙은 시험관내 및 마우스 이종이식편 모델 둘 다에서 HER2를 과다발현하는 인간 종양 세포의 증식을 억제하는 것으로 제시된 바 있다 (Hudziak et al., 1989; Baselga et al., 1998). 트라스투주맙이 임상적으로 활성이고, HER2-과다발현 전이성 유방암에 걸린 환자를 치료하는데 효능을

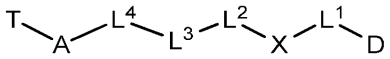
제시하였지만 (Baselga et al., 1996), 트라스투주맙에 초기에 반응한 이러한 집단의 대부분에서 1년 내에 저항성이 발생하였다 (Romond et al., 2005; Nahta et al., 2006; Pohlmann et al., 2009). 따라서, HER2를 과다 발현하는 종양 세포에 대한 신규 요법을 개발할 필요가 존재한다.

발명의 내용

[0008] 본 개시내용의 화합물은 약물 모이어티, 선택된 세포 집단을 표적화할 수 있는 표적화 모이어티, 및 아실 유닛을 함유하는 링커, 약물 모이어티와 표적화 모이어티 사이에 거리를 제공하기 위한 임의적인 스페이서 유닛, 적절한 조건 하에 절단될 수 있는 펩티드 링커, 친수성 자기-희생적 링커, 및 임의적인 제2 자기-희생적 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커를 포함한다.

[0009] 본 개시내용은 또한 화학식 I의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0010] <화학식 I>

[0011] 

[0012] 여기서,

[0013] D는 약물 모이어티이고;

[0014] T는 표적화 모이어티이고;

[0015] X는 친수성 자기-희생적 링커이고;

[0016] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0017] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0018] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0019] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

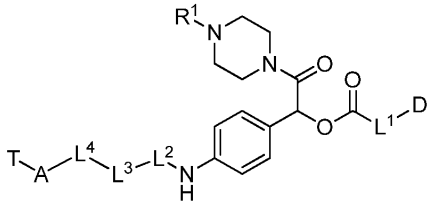
[0020] L^3은 펩티드 링커이고;

[0021] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0022] A는 아실 유닛이다.

[0023] 본 개시내용은 또한 하기 화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0024] <화학식 II>

[0025] 

[0026] 여기서,

[0027] D는 약물 모이어티이고;

[0028] T는 표적화 모이어티이고;

[0029] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

[0030] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0031] L^2는 결합, 자기-희생적 링커이고;

[0032] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0033] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

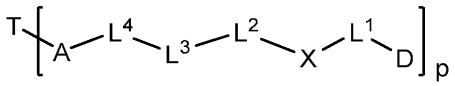
[0034] L^3은 펩티드 링커이고;

[0035] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0036] A는 아실 유닛이다.

[0037] 일부 실시양태에서, 화학식 Ia의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

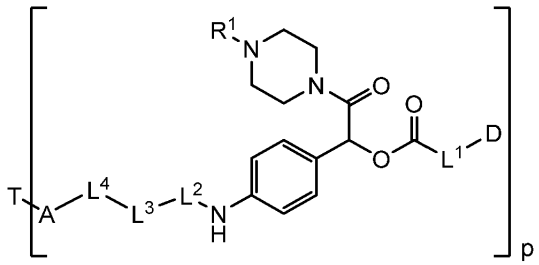
[0038] <화학식 Ia>

[0039] 

[0040] 여기서 D, T, X, L^1, L^2, L^3, L^4 및 A는 화학식 I에 대해 정의된 바와 같고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 또는 4이다.

[0041] 일부 실시양태에서, 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0042] <화학식 IIa>

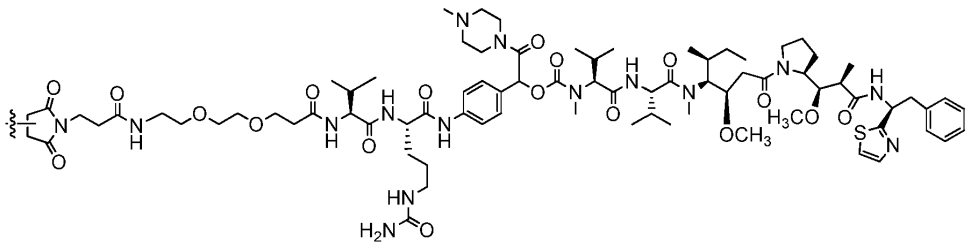
[0043] 

[0044] 여기서 D, T, L^1, L^2, L^3, L^4 및 A는 화학식 II에 대해 정의된 바와 같고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 또는 4이다.

[0045] 화학식 I, II, Ia 및 IIa의 화합물의 일부 실시양태에서, T는 항체 표적화 분자이다. 일부 실시양태에서, T는 항-HER2 항체이다. 일부 실시양태에서 T는 모노클로날 항-HER2 항체이다. 일부 실시양태에서 모노클로날 항-HER2 항체는 페르투주맙이다. 일부 실시양태에서, 모노클로날 항-HER2 항체는 마르게툭시맙이다. 일부 실시양태에서, T는 인간화 항-HER2 항체이다. 일부 실시양태에서, 인간화 항-HER2 항체는 트라스투주맙이다.

[0046] 화학식 I, II, Ia 및 IIa의 화합물의 일부 실시양태에서, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 1개 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다. 일부 실시양태에서, 항체의 Fc 영역의 1개 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다. 일부 실시양태에서, 항체의 1개 이상의 아미노산 잔기는 EU 넘버링 (카바트(Kabat)에서의 EU 인덱스)을 사용한 경쇄의 위치 147, 188, 200, 201 및/또는 206, 및/또는 중쇄의 위치 155, 157, 165, 169, 197, 199, 209, 211 및/또는 442에서 시스테인 잔기로 대체된다. 일부 실시양태에서, D는 시스테인 잔기에 의해 T에 연결된다. 일부 실시양태에서, D는 아미노 기-함유 약물 모이어티이며, 여기서 약물은 아미노 기-함유 약물 모이어티의 아미노 기를 통해 L^1 또는 X에 연결된다. 일부 실시양태에서, D는 두오카르마이신, 돌라스타틴, 튜부리신, 독소루비신 (DOX), 파클리탁셀 또는 미토마이신 C (MMC) 또는 그의 아미노 유도체이다.

[0047] 상기 기재된 임의의 실시양태에서, A-L^4-L^3-L^2-X-L^1-D는



[0048] 이다.

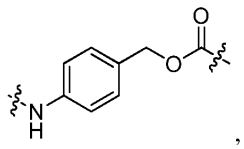
[0049] 본 개시내용의 일부 측면은 본원에 기재된 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체; 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 수반한다.

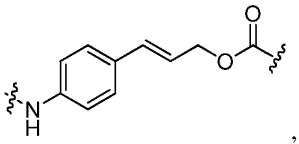
[0050] 본 개시내용의 일부 측면은 세포를 사멸시키는 방법을 수반한다. 방법은 세포를 사멸시키는데 충분한 양의 본원에 기재된 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체 또는 제약 조성물을 세포에 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포는 암 세포이다. 일부 실시양태에서, 암 세포는 유방암 세포, 위암 세포 또는 난소암 세포이다.

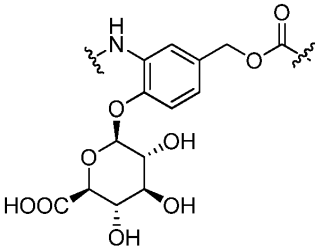
[0051] 본 개시내용의 일부 측면은 암의 치료를 필요로 하는 개체에서 암을 치료하는 방법을 수반한다. 방법은 상기 개체에게 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체 또는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 위암 또는 난소암이다.

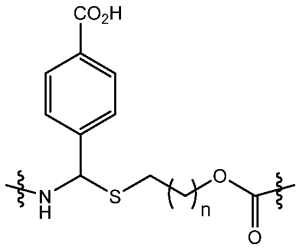
[0052] 본 개시내용의 일부 측면은 암을 치료하는데 사용하기 위한 화학식 I, Ia, II 또는 IIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체 또는 제약 조성물을 수반한다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 위암 또는 난소암이다.

[0053] 일부 실시양태에서, L^1은 결합이다. 일부 실시양태에서, L^1은 자기-희생적 링커이다. 일부 실시양태에서, L^1은 아미노벤질옥시카르보닐 링커이다. 일부 실시양태에서, L^1은


,


,

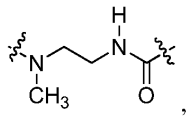

, 및

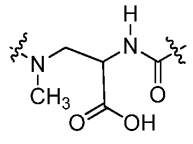


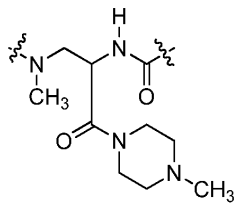
[0054]

[0055] 로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 n은 1 또는 2이다.

[0056] 일부 실시양태에서, L^1은

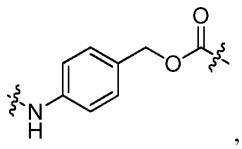

,


, 및

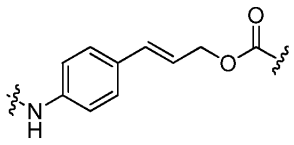


[0057]

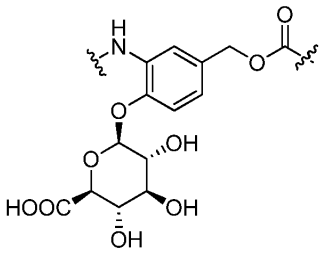
[0058] 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, L^2는 결합이다. 일부 실시양태에서, L^2는 자기-희생적 링커이다. 일부 실시양태에서, L^2는 아미노벤질옥시카르보닐 링커이다. 일부 실시양태에서, L^2는



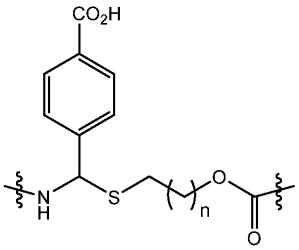
,



,



, 및



[0059]

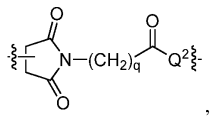
[0060] 로부터 선택되며, 여기서 n은 1 또는 2이다.

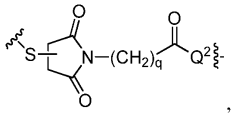
[0061] 일부 실시양태에서, L^3은 1 내지 10개의 아미노산 잔기의 펩티드 링커이다. 일부 실시양태에서, L^3은 2 내지 4개의 아미노산 잔기의 펩티드 링커이다. 일부 실시양태에서, L^3은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 잔기의 펩티드 링커이다. 일부 실시양태에서, L^3은 적어도 1개의 리신 또는 적어도 1개의 아르기닌 잔기를 포함하는 펩티드 링커이다. 일부 실시양태에서, L^3은 리신, D-리신, 시트룰린, 아르기닌, 프롤린, 히스티딘, 오르니틴 및 글루타민으로부터 선택된 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커이다. 일부 실시양태에서, L^3은 발린, 이소류신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 류신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택된 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커이다. 일부 실시양태에서, L^3은 발린-시트룰린, 프롤린-리신, 메티오닌-D-리신, 아스파라긴-D-리신, 이소류신-프롤린, 페닐알라닌-리신 및 발린-리신으로부터 선택된 디펩티드 유닛이다. 일부 실시양태에서, L^3은 발린-시트룰린이다.

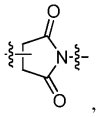
[0062] 일부 실시양태에서, L^4는 결합이다. 일부 실시양태에서, L^4는 스페이서이다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 또는 폴리아민이다. 일부 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O), L^{4a}-C(O)-NH, L^{4a}-$S(O)_2$, 또는 L^{4a}-$S(O)_2$-NH이며, 여기서 각각의 L^{4a}는 독립적으로 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 또는 폴리아민이다. 일부 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 또는 폴리아민이다. 일부 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 폴리알킬

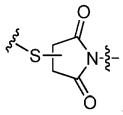
렌 글리콜이다. 일부 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 폴리에틸렌 글리콜이다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 화학식 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_m-CH_2-C(O)-$를 갖고, 여기서 m은 0 내지 30의 정수이다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 화학식 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_m-CH_2-C(O)-$를 갖고, 여기서 m은 정수 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30이다. 일부 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 알킬렌이다.

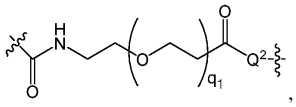
[0063] 일부 실시양태에서, A는

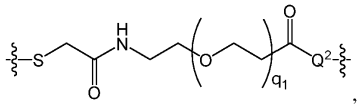

,

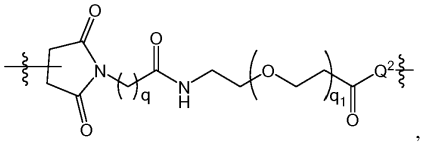

,

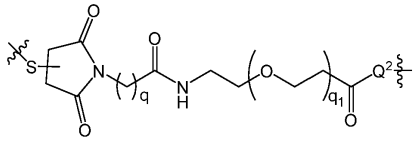

,


,


,

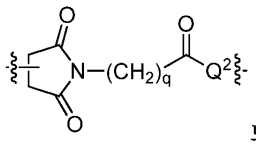
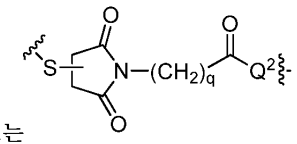

,

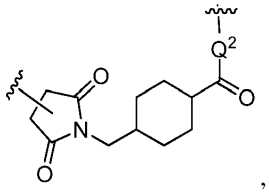

,및

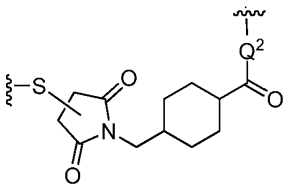


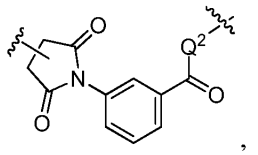
[0064]

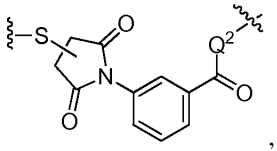
[0065] 로 이루어진 군으로부터 선택되며; 여기서 각각의 Q^2는 NH 또는 O이고, 각각의 q는 1 내지 10의 정수이고, 각각의 q_1은 독립적으로 1 내지 10의 정수이다. 일부 실시양태에서, q는 2, 3, 4 또는 5이다. 특정 실시양태에서, q_1은 2, 3, 4 또는 5이다. 추가 실시양태에서, 각각의 q는 정수 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다. 일부 실시양태에서, A는

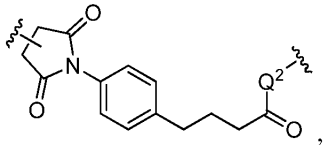
[0066]  또는  이며; 여기서 각각의 Q^2는 독립적으로 NH 또는 O이고, 각각의 q는 독립적으로 1 내지 10의 정수이다. 추가 실시양태에서, 각각의 q는 독립적으로 정수 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다. 일부 실시양태에서, q는 2, 3, 4 또는 5이다. 일부 실시양태에서, A는

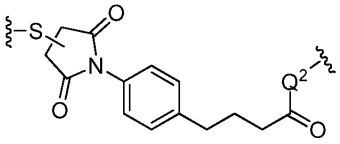
 ,

 ,

 ,

 ,

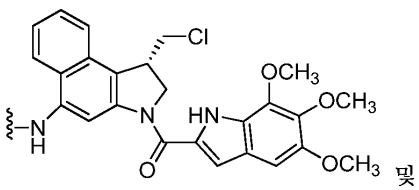
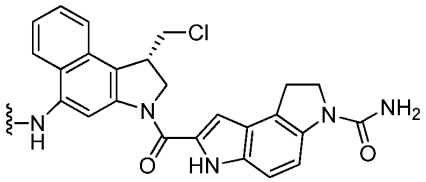
 , 및



[0067]

[0068] 군으로부터 선택되며; 여기서 각각의 Q^2는 독립적으로 NH 또는 O이다.

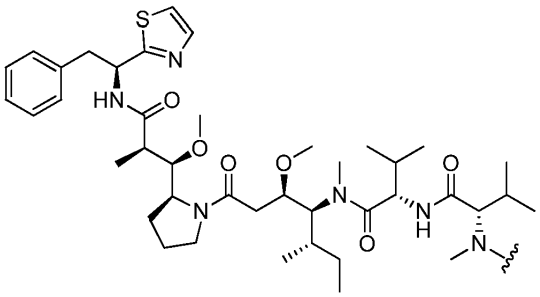
[0069] 일부 실시양태에서, D는 아미노 기-함유 약물 모이어티이며, 여기서 약물은 아미노 기-함유 약물 모이어티의 아미노 기를 통해 L^1 또는 X에 연결된다. 일부 실시양태에서, D는

 및 

[0070]

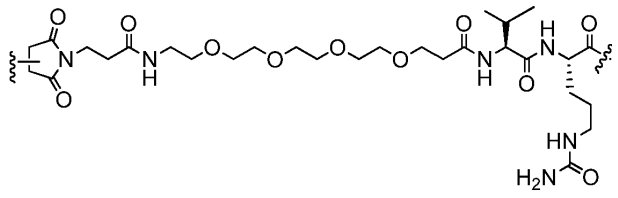
[0071] 로 이루어진 군으로부터 선택된 두오카르마이신의 아미노 유도체이다.

[0072] 일부 실시양태에서, D는 돌라스타틴의 아미노 유도체 (예를 들어 모노메틸 돌라스타틴 10)이다:

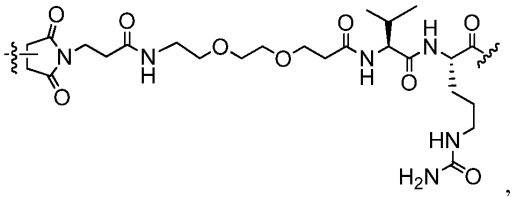


[0073]

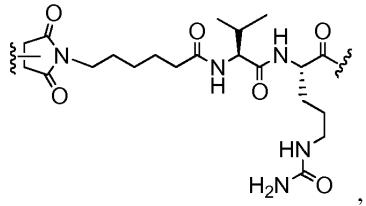
[0074] 일부 실시양태에서, $A\text{-}L^4\text{-}L^3\text{-}L^2$는



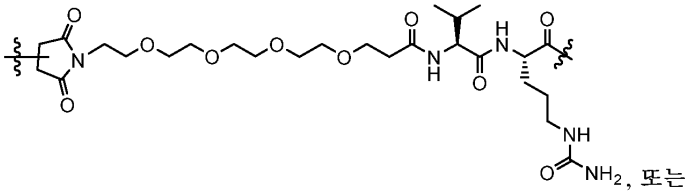
,



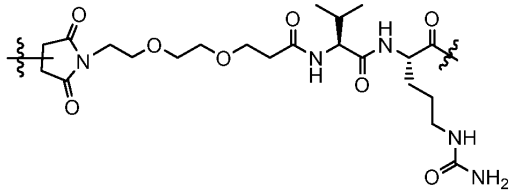
,



,

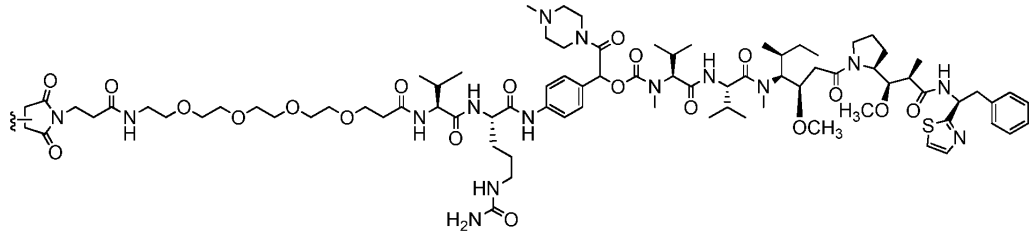


, 또는



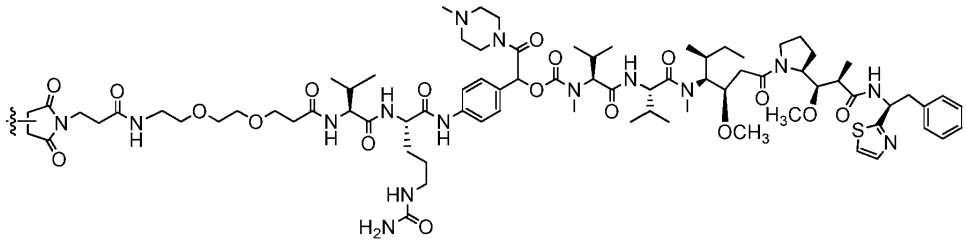
[0075] 이다.

[0076] 일부 실시양태에서, $A\text{-}L^4\text{-}L^3\text{-}L^2\text{-}X\text{-}L^1\text{-}D$는



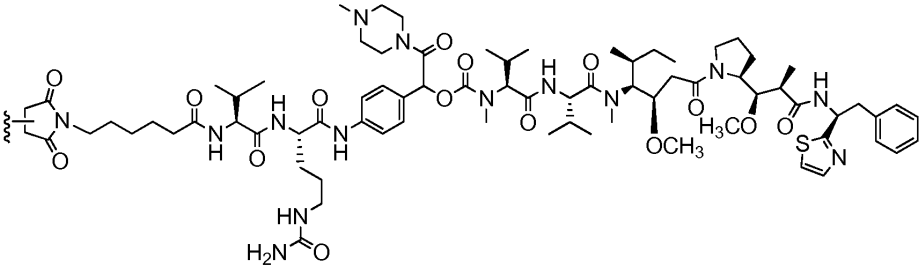
[0077] 이다.

[0078] 일부 실시양태에서, A-L^4-L^3-L^2-X-L^1-D는



[0079] 이다.

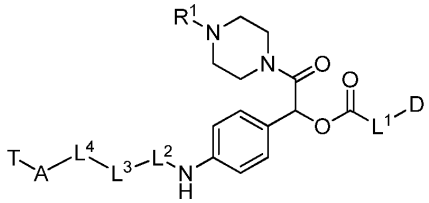
[0080] 일부 실시양태에서, A-L^4-L^3-L^2-X-L^1-D는



[0081] 이다.

[0082] 본 개시내용의 일부 측면은 화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 방법을 수반하며;

[0083] <화학식 II>



[0084]

[0085] 여기서,

[0086] D는 약물 모이어티이고;

[0087] T는 항체이고;

[0088] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

[0089] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0090] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0091] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

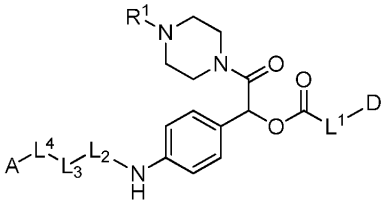
[0092] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

[0093] L^3은 펩티드 링커이고;

[0094] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

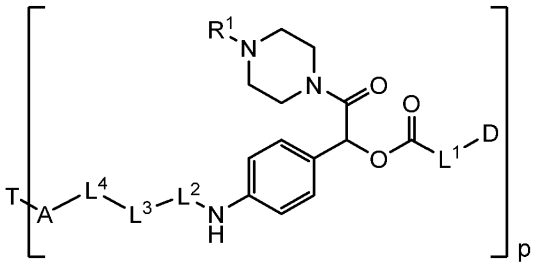
[0095] A는 아실 유닛이다. 방법은 항체를 화합물 Z 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체와 반응시키는 것을 포함한다.

[0096] <화합물 Z>

[0097] 

[0098] 개시내용의 일부 측면은 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 방법을 수반하며;

[0099] <화학식 IIa>

[0100] 

[0101] 여기서,

[0102] p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이고;

[0103] D는 약물 모이어티이고;

[0104] T는 항체이고;

[0105] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

[0106] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0107] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0108] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

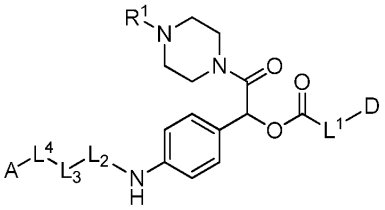
[0109] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

[0110] L^3은 펩티드 링커이고;

[0111] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0112] A는 아실 유닛이다. 방법은 항체를 화합물 Z 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체와 반응시키는 것을 포함한다.

[0113] <화합물 Z>



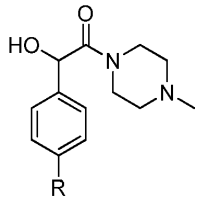
[0114]

[0115] 일부 실시양태에서, 항체는 항-HER2 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 모노클로날 항-HER2 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간화 항-HER2 항체, 임의로 모노클로날 인간화 항-HER2 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 및/또는 경쇄의 1개 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다. 일부 실시양태에서, 항체의 Fc 영역의 1개 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다. 일부 실시양태에서, 항체의 1개 이상의 아미노산 잔기는 EU 넘버링 (카바트에서의 EU 인덱스)을 사용한 경쇄의 위치 147, 188, 200, 201 및/또는 206, 및/또는 중쇄의 위치 155, 157, 165, 169, 197, 199, 209, 211 및/또는 442에서 시스테인 잔기로 대체된다. 일부 실시양태에서, 항체는 1개 이상의 술프히드릴 기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 화합물은 본원에 기재된 방법 중 1개를 사용하여 제조되고, 여기서 항체는 1개 이상의 술프히드릴 기를 포함한다.

[0116] 또한, 본원에 기재된 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 제공된다.

[0117] 본 개시내용의 일부 측면은 화학식 IX의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 수반하며;

[0118] <화학식 IX>

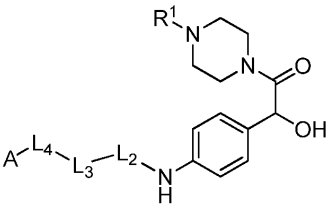


[0119]

[0120] 여기서 R은 NO_2 또는 NH_2이다.

[0121] 본 개시내용의 일부 측면은 화합물 X 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 방법을 수반하며;

[0122] <화합물 X>



[0123]

[0124] 여기서,

[0125] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

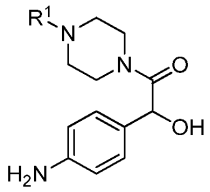
[0126] L^3은 펩티드 링커이고;

[0127] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0128] A는 아실 유닛이고;

[0129] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다. 방법은 화합물 W: A-L^4-L^3-L^2; 및 화합물 I을 반응시키는 것을 포함한다.

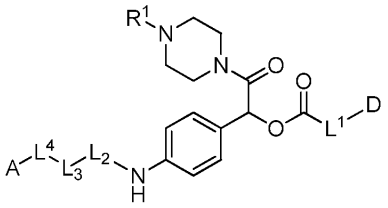
[0130] <화합물 I>



[0131]

[0132] 본 개시내용의 일부 측면은 화합물 Z 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 방법을 수반하며;

[0133] <화합물 Z>



[0134]

[0135] 여기서,

[0136] D는 약물 모이어티이고;

[0137] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0138] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0139] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0140] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

[0141] L^3은 펩티드 링커이고;

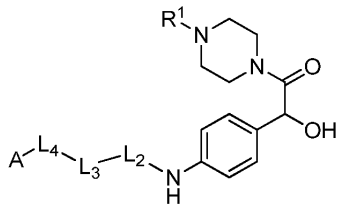
[0142] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0143] A는 아실 유닛이고

[0144] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다.

[0145] 방법은 화합물 X

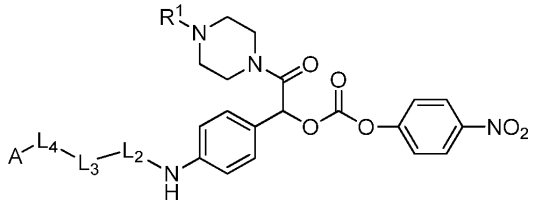
[0146] <화합물 X>



[0147]

[0148] 및 p-니트로페닐클로로포르메이트를 반응시켜 화합물 Y

[0149] <화합물 Y>



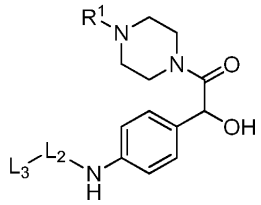
[0150]

[0151] 를 형성하고;

[0152] 화합물 Y를 L^1-D를 포함하는 화합물과 반응시키는 것을 포함한다.

[0153] 본 개시내용의 일부 측면은 화합물 X^1 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 방법을 수반하며;

[0154] <화합물 X^1>



[0155]

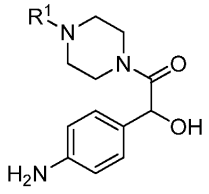
[0156] 여기서,

[0157] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0158] L^3은 펩티드 링커이고;

[0159] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다. 방법은 화합물 W^1: L^3-L^2; 및 화합물 I을 반응시키는 것을 포함한다.

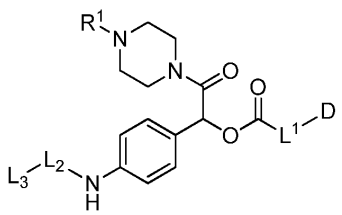
[0160] <화합물 I>



[0161]

[0162] 본 개시내용의 일부 측면은 화합물 Y^1 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 방법을 수반하며;

[0163] <화합물 Y^1>



[0164]

[0165] 여기서,

[0166] D는 약물 모이어티이고;

[0167] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0168] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

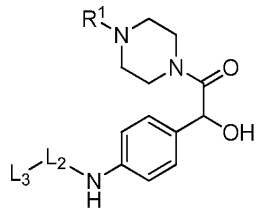
[0169] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0170] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

[0171] L^3은 펩티드 링커이고;

[0172] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다. 방법은 화합물 X^1

[0173] <화합물 X^1>

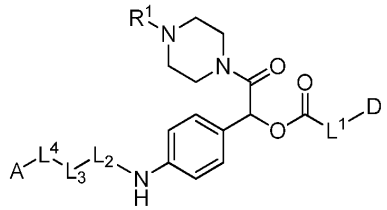


[0174]

[0175] 및 L^1-D를 포함하는 화합물을 p-니트로페닐 클로로포르메이트의 존재 하에 반응시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비스(4/p-니트로페닐) 카르보네이트, 포스겐, 트리포스겐/비스(트리클로로메틸 카르보네이트), 트리클로로메틸 클로로포르메이트, N,N'-디숙신이미딜 카르보네이트 및 1,1'-카르보닐디이미다졸로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물은 화합물 Y^1을 제조하는 방법에서 p-니트로페닐 클로로포르메이트를 대체한다.

[0176] 본 개시내용의 일부 측면은 화합물 Z 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 방법을 수반하며;

[0177] <화합물 Z>



[0178]

[0179] 여기서,

[0180] D는 약물 모이어티이고;

[0181] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0182] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0183] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0184] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

[0185] L^3은 펩티드 링커이고;

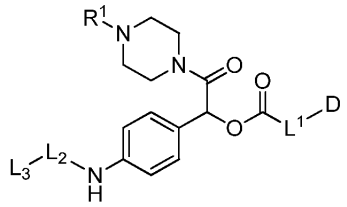
[0186] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0187] A는 아실 유닛이고;

[0188] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다.

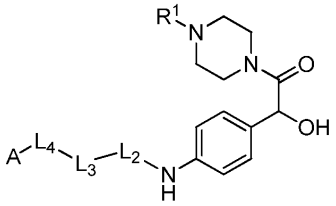
[0189] 방법은 화합물 Y^1 및 A-L^4를 포함하는 화합물을 반응시키는 것을 포함한다.

[0190] <화합물 Y^1>

[0191] 

[0192] 또한, 하기 화학식의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0193] <화합물 X>

[0194] 

[0195] 여기서,

[0196] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0197] L^3은 펩티드 링커이고;

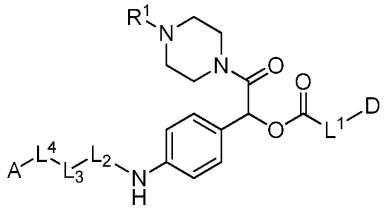
[0198] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0199] A는 아실 유닛이고;

[0200] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다.

[0201] 또한 하기 화학식의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0202] <화합물 Z>

[0203] 

[0204] 여기서,

[0205] D는 약물 모이어티이고;

[0206] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0207] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0208] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0209] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

[0210] L^3은 펩티드 링커이고;

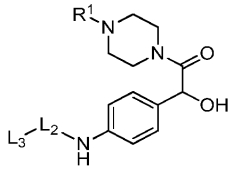
[0211] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0212] A는 아실 유닛이고;

[0213] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다.

[0214] 또한 하기 화학식의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0215] <화합물 X^1>

[0216] 

[0217] 여기서,

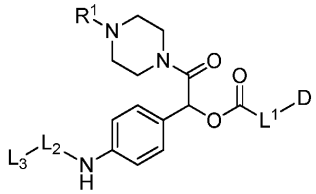
[0218] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0219] L^3은 펩티드 링커이고;

[0220] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다.

[0221] 또한 하기 화학식의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0222] <화합물 Y^1>

[0223] 

[0224] 여기서,

[0225] D는 약물 모이어티이고;

[0226] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0227] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0228] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

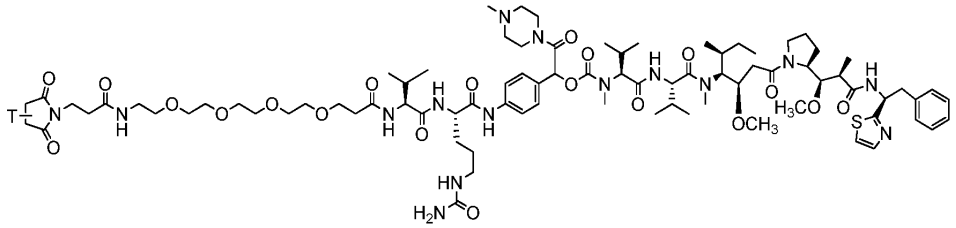
[0229] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

[0230] L^3은 펩티드 링커이고;

[0231] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다.

[0232] 본 개시내용은 또한 화학식 III의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0233] <화학식 III>

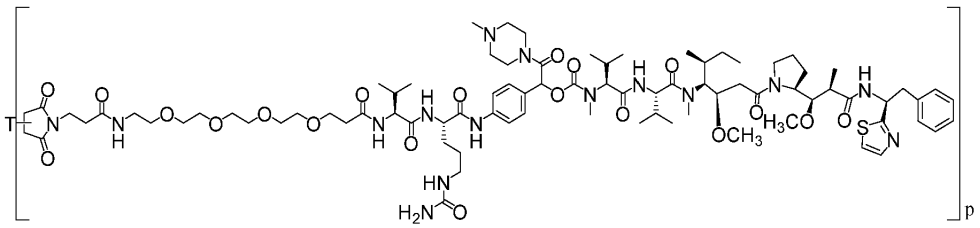


[0234]

[0235] 여기서 T는 표적화 모이어티이다.

[0236] 일부 실시양태에서, 화학식 IIIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0237] <화학식 IIIa>

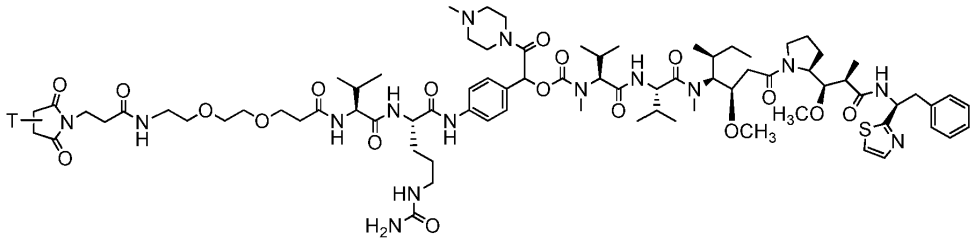


[0238]

[0239] 여기서 T는 표적화 모이어티이고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0240] 본 개시내용은 화학식 IV의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0241] <화학식 IV>

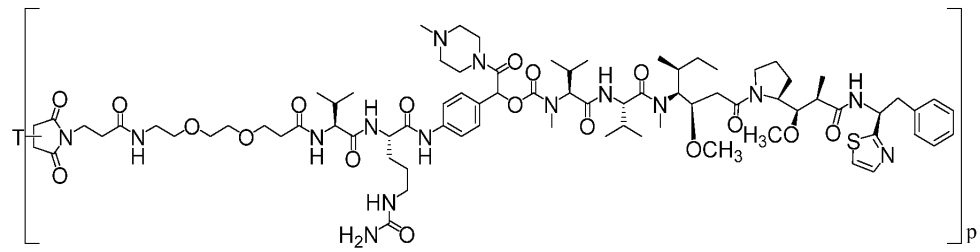


[0242]

[0243] 여기서 T는 표적화 모이어티이다.

[0244] 일부 실시양태에서, 화학식 IVa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0245] <화학식 IVa>



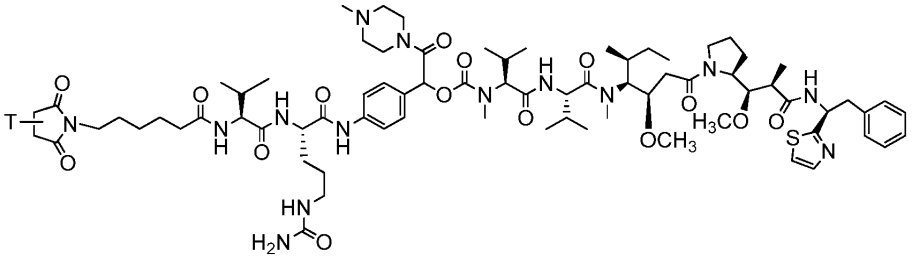
[0246]

[0247] 여기서 T는 표적화 모이어티이고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일

부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0248] 본 개시내용은 화학식 V의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0249] <화학식 V>

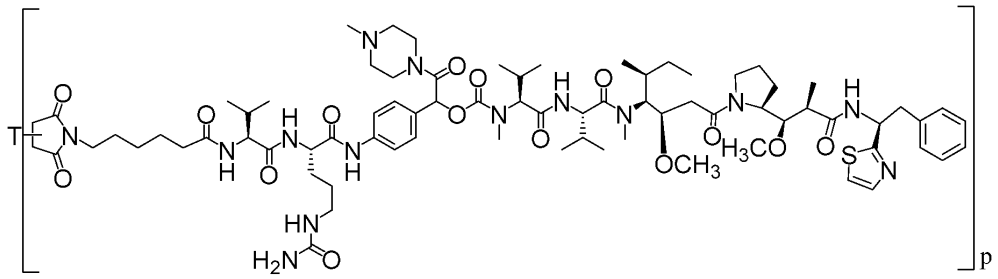


[0250]

[0251] 여기서 T는 표적화 모이어티이다.

[0252] 일부 실시양태에서, 화학식 Va의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0253] <화학식 Va>

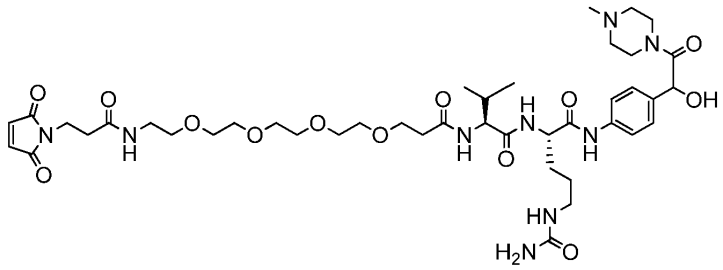


[0254]

[0255] 여기서 T는 표적화 모이어티이고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0256] 본 개시내용은 화학식 VI의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물을 제공한다.

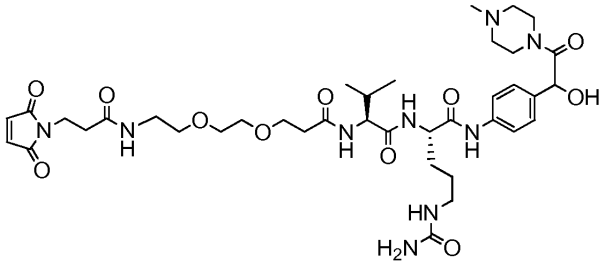
[0257] <화학식 VI>



[0258]

[0259] 본 개시내용은 화학식 VII의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물을 제공한다.

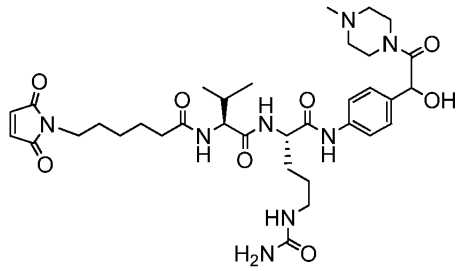
[0260] <화학식 VII>



[0261]

[0262] 본 개시내용은 화학식 VIII의 화합물을 제공한다.

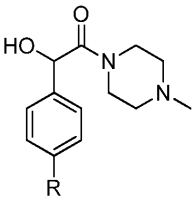
[0263] <화학식 VIII>



[0264]

[0265] 본 개시내용은 화학식 IX의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0266] <화학식 IX>



[0267]

[0268] 여기서 R은 NO_2 또는 NH_2이다.

[0269] 특정 실시양태에서, 화학식 I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII 또는 IX의 화합물은 본원의 상세한 설명에 기재되거나 예시된 그들의 종으로부터 선택된 화합물이다.

[0270] 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va의 화합물의 특정 실시양태에서, T는 항체 표적화 분자이다. 일부 다른 실시양태에서, T는 항-HER2 항체이다. 추가 실시양태에서, 항-HER2 항체는 인간화 또는 모노클로날 또는 인간화 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, T는 인간화 모노클로날 항-HER2 항체 트라스투주맙이다. 일부 실시양태에서 모노클로날 항-HER2 항체는 페르투주맙이다. 일부 실시양태에서, 모노클로날 항-HER2 항체는 마르게툭시맙이다.

[0271] 추가 실시양태에서, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 1개 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다 (예를 들어, 모 항체에 존재하지 않는 위치에 시스테인 잔기를 포함하도록 조작됨). 일부 실시양태에서, 항체의 Fc 영역의 1개 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다. 일부 실시양태에서, 항체의 1개 이상의 아미노산 잔기는 EU 넘버링 (카바트에서의 EU 인덱스)를 사용한 경쇄의 위치 147, 188, 200, 201 및/또는 206 및/또는 중쇄의 위치 155, 157, 165, 169, 197, 199, 209, 211 및/또는 442에 존재한다. 일부 실시양태에서, 조작된 시스테인 잔기를 함유하는 항체는 항-HER2 항체이다. 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va의 화합물의 일부 실시양태에서, D는 시스테인 (예를 들어 조작된) 잔기에 의해 T에 연결된다.

[0272] 특정 실시양태에서, D는 아미노-함유 약물 모이어티이다. 일부 실시양태에서, D는 아미노 기를 통해 L^1 또는 X에 연결된다. 추가 실시양태에서, D는 두오카르마이신, 돌라스타틴, 튜부리신, 독소루비신 (DOX), 파클리탁셀

또는 미토마이신 C (MMC) 또는 그의 아미노 유도체이다.

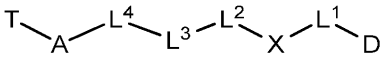
[0273] 추가 측면에서, 본 개시내용은 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va의 적어도 1종의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 실시양태에 따른 제약 조성물은 추가로 제약상 허용되는 부형제를 포함할 수 있다. 본 개시내용은 또한 의약으로서 사용하기 위한 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0274] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 세포를 사멸시키는데 충분한 양의 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va의 화합물을 세포에 투여하는 것을 포함하는, 세포를 사멸시키는 방법을 제공단다. 일부 실시양태에서, 세포는 암 세포이다. 추가 실시양태에서, 암 세포는 유방암 세포, 위암 세포 또는 난소암 세포이다.

[0275] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 개체에게 유효량의 화학식 I-V 또는 Ia-Va의 화합물 또는 그의 염, 용매화물 또는 입체이성질체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 본원에 기재된 방법에 의해 치료될 수 있는 암의 예는 유방, 방광, 췌장, 비소세포 폐암 (NSCLC), 난소, 자궁내막, 결장, 신장, 두경부, 위, 식도, 전립선, 및 고환 배세포의 암종, 자궁암, 윌름스 종양을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va의 화합물에서, T는 항-HER2 항체이고, D는 아미노-함유 약물 모이어티이다. 추가 실시양태에서, T는 항체 트라스투주맙이고, D는 모노메틸 돌라스타틴 10이다. 일부 실시양태에서, T는 항체 페르투주맙이고, D는 모노메틸 돌라스타틴 10이다. 일부 실시양태에서, T는 항체 마르게툭시맙이고, D는 모노메틸 돌라스타틴 10이다.

[0276] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 I의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0277] <화학식 I>

[0278] 

[0279] 여기서,

[0280] D는 약물 모이어티이고;

[0281] T는 표적화 모이어티이고;

[0282] X는 친수성 자기-희생적 링커이고;

[0283] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0284] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0285] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0286] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

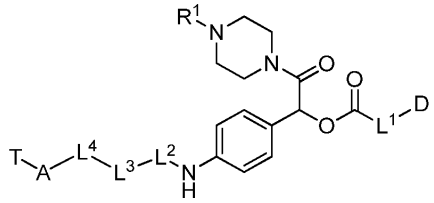
[0287] L^3은 펩티드 링커이고;

[0288] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0289] A는 아실 유닛이다.

[0290] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0291] <화학식 II>



[0292]

[0293] 여기서,

[0294] D는 약물 모이어티이고;

[0295] T는 표적화 모이어티이고;

[0296] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

[0297] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0298] L^2는 결합, 자기-희생적 링커이고;

[0299] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0300] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

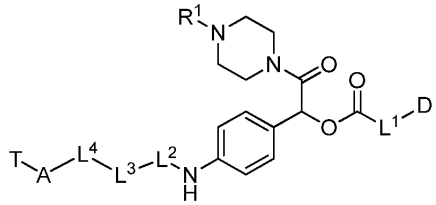
[0301] L^3은 펩티드 링커이고;

[0302] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0303] A는 아실 유닛이다.

[0304] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0305] <화학식 II>



[0306]

[0307] 여기서,

[0308] D는 약물 모이어티이고;

[0309] T는 표적화 모이어티이고;

[0310] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

[0311] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0312] L^2는 결합, 자기-희생적 링커이고;

[0313] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0314] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

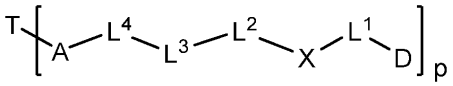
[0315] L^3은 펩티드 링커이고;

[0316] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0317] A는 아실 유닛이다.

[0318] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 Ia의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

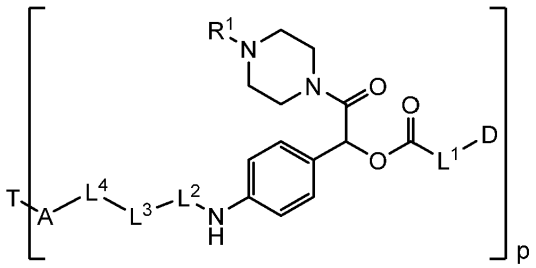
[0319] <화학식 Ia>

[0320] 

[0321] 여기서 D, T, X, L^1, L^2, L^3, L^4 및 A는 화학식 I에 대해 정의된 바와 같고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0322] 일부 실시양태에서, 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

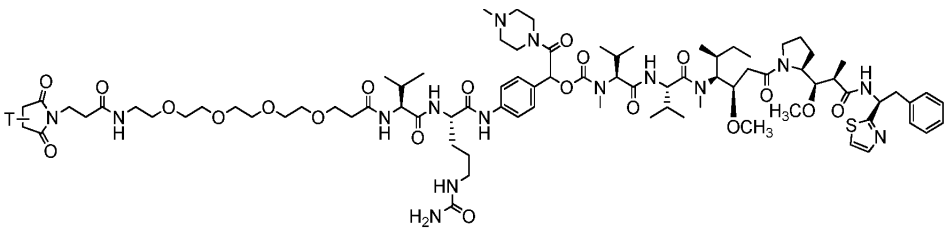
[0323] <화학식 IIa>

[0324] 

[0325] 여기서 D, T, L^1, L^2, L^3, L^4 및 A는 화학식 II에 대해 정의된 바와 같고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0326] 일부 측면에서, 본 개시내용은 또한 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 III의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

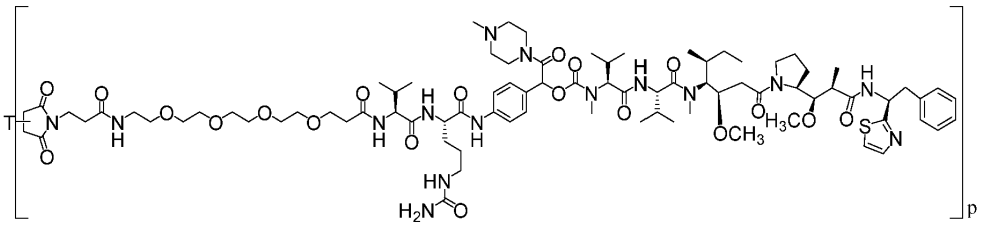
[0327] <화학식 III>

[0328] 

[0329] 여기서 T는 표적화 모이어티이다.

[0330] 일부 실시양태에서, 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 IIIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0331] <화학식 IIIa>

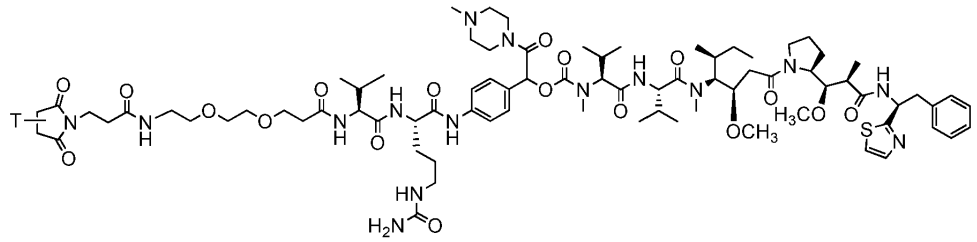


[0332]

[0333] 여기서 T는 표적화 모이어티이고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0334] 본 개시내용은 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 IV의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0335] <화학식 IV>

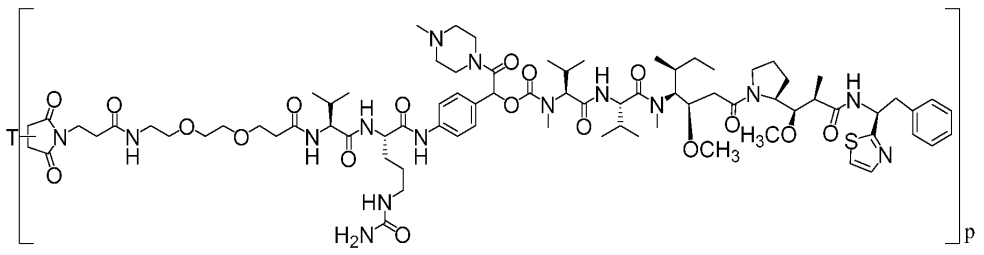


[0336]

[0337] 여기서 T는 표적화 모이어티이다.

[0338] 일부 실시양태에서, 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 IVa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0339] <화학식 IVa>

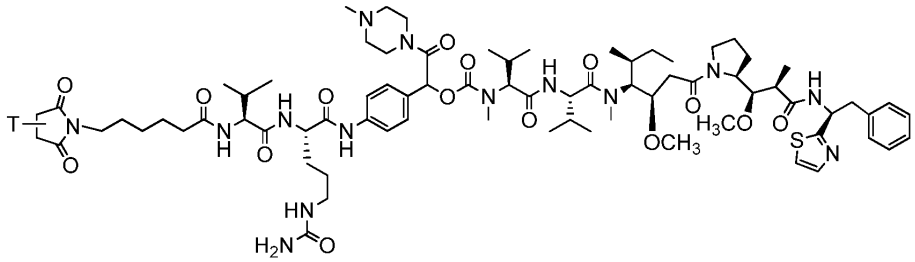


[0340]

[0341] 여기서 T는 표적화 모이어티이고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0342] 본 개시내용은 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 V의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0343] <화학식 V>

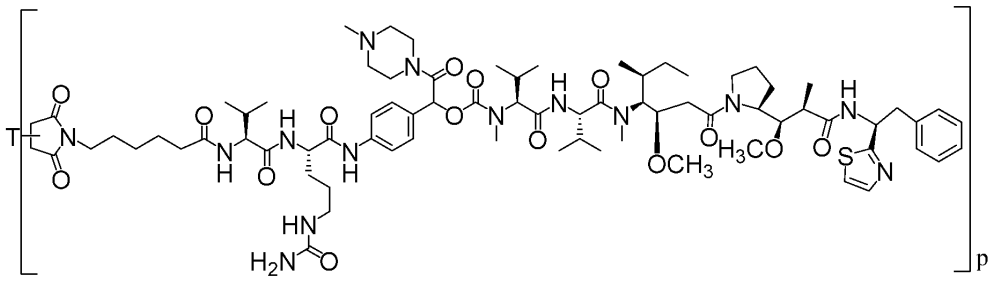


[0344]

[0345] 여기서 T는 표적화 모이어티이다.

[0346] 일부 실시양태에서, 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 Va의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며;

[0347] <화학식 Va>



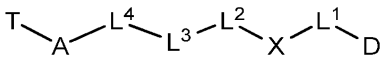
[0348]

[0349] 여기서 T는 표적화 모이어티이고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0350] 추가 측면에서, 본 개시내용은 암의 치료에 사용하기 위한 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va 중 적어도 1종의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 실시양태에 따른 제약 조성물은 추가로 제약상 허용되는 부형제를 포함할 수 있다. 본 개시내용은 또한 의약으로서 사용하기 위한 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0351] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 I의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도를 제공하며;

[0352] <화학식 I>



[0353]

[0354] 여기서,

[0355] D는 약물 모이어티이고;

[0356] T는 표적화 모이어티이고;

[0357] X는 친수성 자기-희생적 링커이고;

[0358] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0359] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0360] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0361] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

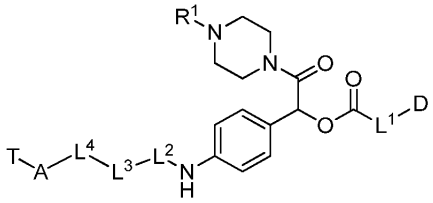
[0362] L^3은 펩티드 링커이고;

[0363] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0364] A는 아실 유닛이다.

[0365] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도를 제공하며;

[0366] <화학식 II>

[0367] 

[0368] 여기서,

[0369] D는 약물 모이어티이고;

[0370] T는 표적화 모이어티이고;

[0371] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

[0372] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0373] L^2는 결합, 자기-희생적 링커이고;

[0374] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0375] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

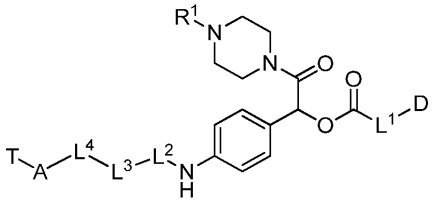
[0376] L^3은 펩티드 링커이고;

[0377] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0378] A는 아실 유닛이다.

[0379] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도를 제공하며;

[0380] <화학식 II>

[0381] 

[0382] 여기서,

[0383] D는 약물 모이어티이고;

[0384] T는 표적화 모이어티이고;

[0385] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

[0386] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0387] L^2는 결합, 자기-희생적 링커이고;

[0388] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0389] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

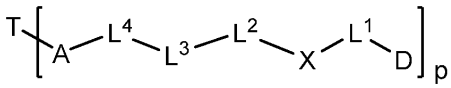
[0390] L^3은 펩티드 링커이고;

[0391] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0392] A는 아실 유닛이다.

[0393] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 Ia의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도를 제공하며;

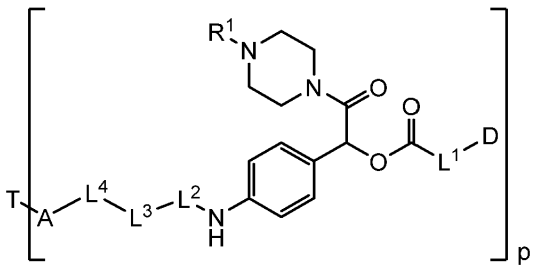
[0394] <화학식 Ia>

[0395] 

[0396] 여기서 D, T, X, L^1, L^2, L^3, L^4 및 A는 화학식 I에 대해 정의된 바와 같고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0397] 일부 실시양태에서, 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도가 제공되며;

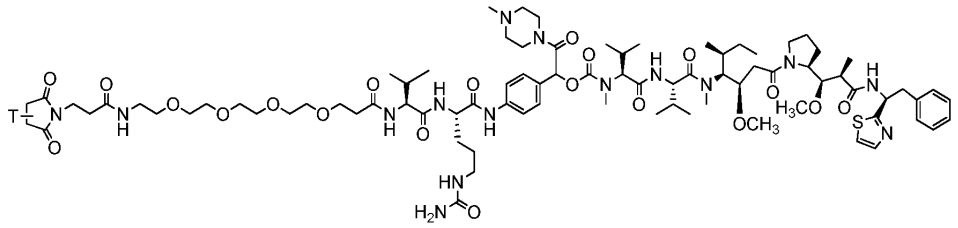
[0398] <화학식 IIa>

[0399] 

[0400] 여기서 D, T, L^1, L^2, L^3, L^4 및 A는 화학식 II에 대해 정의된 바와 같고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0401] 일부 측면에서, 본 개시내용은 또한 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 III의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도를 제공하며;

[0402] <화학식 III>

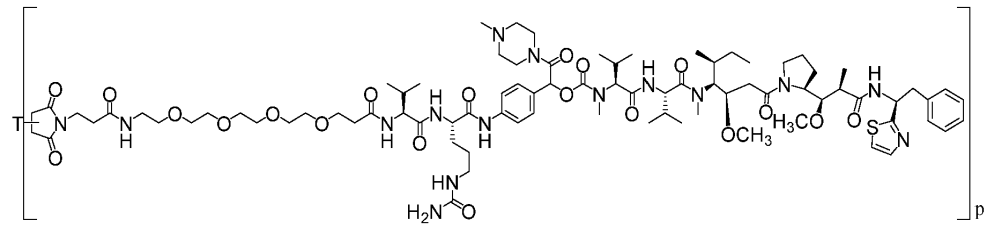


[0403]

[0404] 여기서 T는 표적화 모이어티이다.

[0405] 일부 실시양태에서, 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 IIIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도가 제공되며;

[0406] <화학식 IIIa>

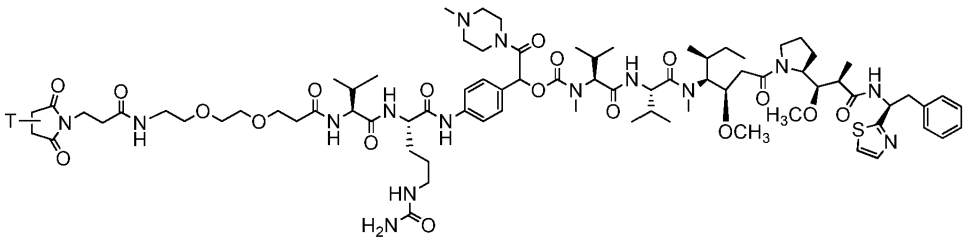


[0407]

[0408] 여기서 T는 표적화 모이어티이고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0409] 본 개시내용은 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 IV의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도를 제공하며;

[0410] <화학식 IV>

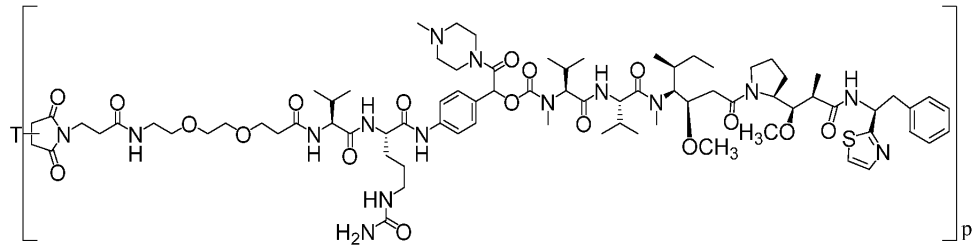


[0411]

[0412] 여기서 T는 표적화 모이어티이다.

[0413] 일부 실시양태에서, 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 IVa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도가 제공되며;

[0414] <화학식 IVa>

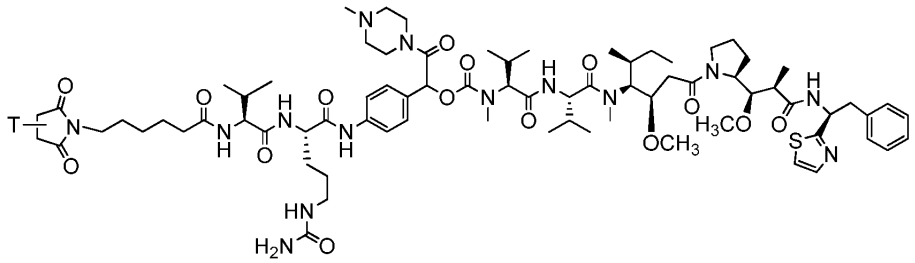


[0415]

[0416] 여기서 T는 표적화 모이어티이고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0417] 본 개시내용은 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 V의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도를 제공하며;

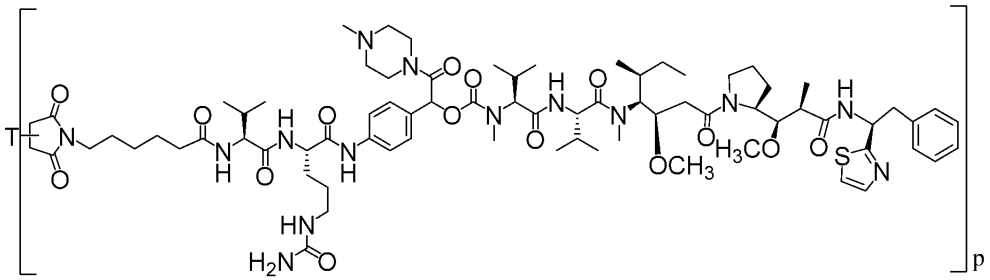
[0418] <화학식 V>

[0419] 

[0420] 여기서 T는 표적화 모이어티이다.

[0421] 일부 실시양태에서, 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 Va의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체의 용도가 제공되며;

[0422] <화학식 Va>

[0423] 

[0424] 여기서 T는 표적화 모이어티이고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0425] 일부 측면에서, 본 개시내용은 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va 중 적어도 1종의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 제약 조성물의 용도를 제공한다. 실시양태에 따른 제약 조성물은 추가로 제약상 허용되는 부형제를 포함할 수 있다. 본 개시내용은 또한 의약으로서 사용하기 위한 화학식 I, II, III, IV, 또는 V 또는 Ia, IIa, IIIa, IVa, 또는 Va의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0426] 상기 논의된 임의의 실시양태에서, 항-HER2 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서

[0427] (1) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호(SEQ ID NO): 16-18의 아미노산 서열의 3개의 중쇄 CDR을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 19-21의 아미노산 서열의 3개의 경쇄 CDR을 포함하고;

[0428] (2) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 22-24의 아미노산 서열의 3개의 중쇄 CDR을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 25-27의 아미노산 서열의 3개의 경쇄 CDR을 포함하거나;

[0429] (3) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 28-30의 아미노산 서열의 3개의 중쇄 CDR을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 31-33의 아미노산 서열의 3개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0430] 상기 논의된 임의의 실시양태에서, 항-HER2 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서

[0431] (1) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하거나;

[0432] (2) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 포함하거나;

[0433] (3) 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 15의 아미노산 서열을 포함하고/거나 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 포함한다.

[0434] 본 개시내용의 추가의 실시양태, 특색 및 이점은 하기 상세한 설명으로부터 및 개시내용의 실시를 통해 분명해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0435] 도 1은 Tap-18H의 NMR 스펙트럼을 제시한다.

도 2는 Tap-18Hr1의 NMR 스펙트럼을 제시한다.

도 3은 Tap-18Hr2의 NMR 스펙트럼을 제시한다.

도 4는 난소암 SKOV-3에 대한 항-HER2-IgG1/Tap18Hr1의 생체내 항종양 활성을 제시한다.

도 5는 유방암 MDA-MB-453에 대한 항-HER2-IgG1/Tap18Hr1의 생체내 항종양 활성을 제시한다. 화살표는 ADC 처리 시간 (제1일)을 나타낸다.

도 6은 위암 NCI-N87에 대한 항-HER2-IgG1/Tap18Hr1의 생체내 항종양 활성을 제시한다. 화살표는 ADC 처리 시간 (제1일 및 제22일)을 나타낸다.

도 7은 위암 NCI-N87에 대한 부위-특이적 접합된 항-HER2-Cys 변이체의 생체내 항종양 활성을 제시한다. 화살표는 ADC 처리 시간 (제1일)을 나타낸다.

도 8은 유방암 JIMT-1에 대한 Tap18Hr1 통상적인 접합된 항-HER2 및 부위-특이적 접합된 항-HER2-Cys 변이체의 생체내 항종양 활성을 제시한다. 화살표는 ADC 처리 시간 (제1일)을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0436] 본 개시내용은, 적절한 조건 하에 절단될 수 있고 친수성 기를 혼입시켜 화합물의 보다 우수한 용해도를 제공하는, 친수성 자기-희생적 링커를 갖는 화합물을 제공한다. 친수성 자기-희생적 링커는 종종 소수성인 세포독성 약물에 대해 약물 접합체의 증가된 용해도를 제공할 수 있다. 약물 접합체에 친수성 자기-희생적 링커를 사용하는 것의 다른 이점은 약물 접합체의 증가된 안정성 및 약물 접합체의 감소된 응집을 포함한다.

[0437] 본 개시내용은 뛰어난 혈청 안정성을 가질 수 있는 약물 접합체를 제공한다. 예를 들어, 약물의 히드록실 기가 수성 완충제 또는 인간 혈청 중에서의 신속한 가수분해에 감수성인 불안정성 카르보네이트 연결을 통해 스페이서에 연결된 약물 접합체와 대조적으로, 본 출원의 약물 접합체는 벤질옥시카르보닐 연결을 이용한다. 이들 접합체는 동일한 조건 하에 상대적으로 더 안정하고, 프로테아제, 예를 들어 카텝신 B에 의한 처리 시 선택적으로 단편화를 거쳐 약물을 방출한다. 혈청 안정성은, 불활성 약물을 환자의 혈청에 투여하고, 그러한 불활성 약물이 리간드에 의해 표적에 집중되게 한 다음, 그러한 약물 접합체가 표적 가까이에서만 활성 형태로 전환되게 하는 것을 목적으로 하는 약물 접합체의 경우에 바람직한 특성이다.

[0438] 본 개시내용은 감소된 응집을 가질 수 있는 약물 접합체를 제공한다. 일부 효소-불안정성 링커의 증가된 회합된 소수성은 특히 강력한 소수성 약물에 의해 약물 접합체의 응집을 야기할 수 있다. 친수성 기를 링커 내로 회합시키는 것에 의해, 약물 접합체의 응집이 감소된다. 화학적-불안정성 링커 및 비절단가능한 링커를 갖는 ADC와 비교하여, 본원에 기재된 링커는 특정 효소-불안정성 설계를 통해 보다 우수한 혈청 안정성을 달성할 수 있을 뿐만 아니라, 이종 암 세포에 대한 방관자 효과를 통해 보다 우수한 효능을 달성할 수 있다. 본 개시내용의 화합물은 약물 모이어티, 선택된 세포 집단을 표적화할 수 있는 표적화 모이어티, 및 아실 유닛을 함유하는 링커, 약물 모이어티와 표적화 모이어티 사이에 거리를 제공하기 위한 임의적인 스페이서 유닛, 적절한 조건 하에 절단될 수 있는 펩티드 링커, 친수성 자기-희생적 링커, 및 임의적인 제2 자기-희생적 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커를 포함한다. 각각의 특색이 하기 논의된다.

[0439] "알킬"은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 탄소 원자 및 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 탄소

원자를 갖는 1가 포화 지방족 히드로카르빌 기를 지칭한다. 이 용어는, 예로서, 선형 및 분지형 히드로카르빌 기, 예컨대 메틸 (CH_3-), 에틸 (CH_3CH_2-), n-프로필 ($CH_3CH_2CH_2$-), 이소프로필 ($(CH_3)_2CH$-), n-부틸 ($CH_3CH_2CH_2CH_2$-), 이소부틸 ($(CH_3)_2CHCH_2$-), sec-부틸 ($(CH_3)(CH_3CH_2)CH$-), t-부틸 ($(CH_3)_3C$-), n-펜틸 ($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2$-), 네오펜틸 ($(CH_3)_3CCH_2$-), 및 n-헥실 ($CH_3(CH_2)_5$-)을 포함한다.

[0440] "알킬렌"은 직쇄형 또는 분지형인 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 및 보다 바람직하게는 1, 2, 또는 3개의 탄소 원자를 갖는 2가 지방족 히드로카르빌렌 기를 지칭한다. 이 용어는, 예로서, 메틸렌 (-CH_2-), 에틸렌 (-CH_2CH_2-), n-프로필렌 (-$CH_2CH_2CH_2$-), 이소-프로필렌 (-$CH_2CH(CH_3)$-), (-$C(CH_3)_2CH_2CH_2$-), (-$C(CH_3)_2CH_2C(O)$-), (-$C(CH_3)_2CH_2C(O)NH$-), (-$CH(CH_3)CH_2$-) 등을 포함한다.

[0441] "알케닐"은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 탄소 원자 및 바람직하게는 2, 3 또는 4개의 탄소 원자를 갖고, 적어도 1 및 바람직하게는 1 내지 2개의 이중 결합 불포화 부위를 갖는 직쇄 또는 분지형 히드로카르빌 기를 지칭한다. 이 용어는, 예로서, 비-비닐, 알릴, 및 부트-3-엔-1-일을 포함한다. 이 용어에는 시스 및 트랜스 이성질체 또는 이들 이성질체의 혼합물이 포함된다.

[0442] "알케닐렌"은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 탄소 원자 및 바람직하게는 2, 3 또는 4개의 탄소 원자를 갖고, 적어도 1 및 바람직하게는 1 내지 2개의 이중 결합 불포화 부위를 갖는 직쇄 또는 분지형 히드로카르빌렌 기를 지칭한다. 이 용어는, 예로서, 비-비닐, 알릴, 및 부트-3-엔-1-일을 포함한다. 이 용어에는 시스 및 트랜스 이성질체 또는 이들 이성질체의 혼합물이 포함된다.

[0443] "알키닐"은 2, 3, 4, 5 또는 6개의 탄소 원자 및 바람직하게는 2 내지 3개의 탄소 원자를 갖고, 적어도 1 및 바람직하게는 1 내지 2개의 삼중 결합 불포화 부위를 갖는 직쇄형 또는 분지형 히드로카르빌 기를 지칭한다. 이러한 알키닐 기의 예는 아세틸레닐 (-C≡CH) 및 프로파르길 (-CH_2C≡CH)을 포함한다.

[0444] "알키닐렌"은 2, 3, 4, 5 또는 6개의 탄소 원자 및 바람직하게는 2 내지 3개의 탄소 원자로부터 갖고, 적어도 1 및 바람직하게는 1 내지 2개의 삼중 결합 불포화 부위를 갖는 직쇄형 또는 분지형 히드로카르빌렌 기를 지칭한다. 이러한 알키닐 기의 예는 아세틸레닐 (-C≡CH) 및 프로파르길 (-CH_2C≡CH)을 포함한다.

[0445] "아미노"은 기 -NH_2를 지칭한다.

[0446] "치환된 아미노"는 기 -NRR을 지칭하며, 여기서 각각의 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로시클릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, 단 적어도 1개의 R은 수소가 아니다.

[0447] "아릴"은 단일 고리 (예컨대 페닐 기로 존재함), 또는 축합된 고리가 방향족일 수 있거나 그렇지 않을 수 있고 단 부착 지점은 방향족 고리의 원자를 통하는 것인 다중 축합된 고리를 갖는 고리계 (이러한 방향족 고리계의 예는 나프틸, 안트릴 및 인다닐을 포함함)를 갖는, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 또는 18개의 탄소 원자의 1가 방향족 카르보시클릭 기를 지칭한다. 이 용어는, 예로서, 페닐 및 나프틸을 포함한다. 아릴 치환기에 대한 정의에 의해 달리 제약되지 않는 한, 이러한 아릴 기는 임의로, 아실옥시, 히드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알키닐, 치환된 시클로알킬, 치환된 시클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알크아릴, 아릴, 아릴옥시, 아지도, 카르복실, 카르복실 에스테르, 시아노, 할로겐, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릴, 헤테로시클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 술포닐아미노, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO_2-알킬, -SO_2-치환된 알킬, -SO_2-아릴, -SO_2-헤테로아릴 및 트리할로메틸로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 치환기, 또는 1, 2, 또는 3개의 치환기로 치환될 수 있다.

[0448] "시클로알킬"은 단일, 또는 융합, 가교, 및 스피로 고리계를 비롯한 다중 시클릭 고리를 갖는 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 탄소 원자의 시클릭 알킬 기를 지칭한다. 적합한 시클로알킬 기의 예는, 예를 들어 아다만틸, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로옥틸 등을 포함한다. 이러한 시클로알킬 기는, 예로서, 단일 고리 구조, 예컨대 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로옥틸 등, 또는 다중 고리 구조, 예컨대 아다만타닐 등을 포함한다.

[0449] "헤테로아릴"은 고리 내의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개의 탄소 원자, 예컨대

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 탄소 원자, 및 산소, 질소 및 황으로 이루어진 군으로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 헤테로원자의 방향족 기를 지칭한다. 이러한 헤테로아릴 기는 단일 고리(예컨대, 피리디닐, 이미다졸릴 또는 푸릴) 또는 고리계 내의 다중 축합된 고리 (예를 들어 인돌리지닐, 퀴놀리닐, 벤조푸란, 벤즈이미다졸릴 또는 벤조티에닐과 같은 기에서와 같음)를 가질 수 있고, 여기서 고리계 내의 적어도 1개의 고리는 방향족이고, 고리계 내의 적어도 1개의 고리는 방향족이고, 단 부착 지점은 방향족 고리의 원자를 통한다. 특정 실시양태에서, 헤테로아릴 기의 질소 및/또는 황 고리 원자(들)는 임의로 산화되어 N-옥시드 (N→O), 술피닐 또는 술포닐 모이어티를 제공한다. 이 용어는, 예로서, 피리디닐, 피롤릴, 인돌릴, 티오페닐, 및 푸라닐을 포함한다. 헤테로아릴 치환기에 대한 정의에 의해 달리 제약되지 않는 한, 이러한 헤테로아릴 기는 임의로, 아실옥시, 히드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알키닐, 치환된 시클로알킬, 치환된 시클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알크아릴, 아릴, 아릴옥시, 아지도, 카르복실, 카르복실 에스테르, 시아노, 할로겐, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릴, 헤테로시클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 술포닐아미노, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, $-SO_2$-알킬, $-SO_2$-치환된 알킬, $-SO_2$-아릴 및 $-SO_2$-헤테로아릴 및 트리할로메틸로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 치환기, 또는 1, 2, 또는 3개의 치환기로 치환될 수 있다.

[0450] 헤테로아릴의 예는 피롤, 이미다졸, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리미딘, 피리다진, 인돌리진, 이소인돌, 인돌, 퓨린, 이소퀴놀린, 퀴놀린, 프탈라진, 나프틸피리딘, 퀴녹살린, 퀴나졸린, 신놀린, 프테리딘, 카르바졸, 카르볼린, 페난트리딘, 아크리딘, 페난트롤린, 이소티아졸, 페나진, 이속사졸, 페녹사진, 페노티아진, 피페리딘, 피페라진, 프탈이미드, 4,5,6,7-테트라히드로벤조[b]티오펜, 티아졸, 티오펜, 벤조[b]티오펜 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0451] "헤테로사이클", "헤테로시클릭", "헤테로시클로알킬" 또는 "헤테로시클릴"은 단일 고리, 또는 융합, 가교, 또는 스피로 고리계를 비롯한 다중 축합된 고리를 갖고, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 헤테로 원자를 비롯하여 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 고리 원자를 갖는 포화 또는 부분 불포화 기를 지칭한다. 이들 고리 원자는 탄소, 질소, 황 또는 산소로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 융합 고리계에서 고리 중 1개 이상은 시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴일 수 있고, 단 부착 지점은 비-방향족 고리를 통한다. 특정 실시양태에서, 헤테로시클릭 기의 질소 및/또는 황 원자(들)는 임의로 산화되어 N-옥시드, -S(O)-, 또는 $-SO_2$- 모이어티를 제공한다.

[0452] 헤테로사이클의 예는 아제티딘, 디히드로인돌, 인다졸, 퀴놀리진, 이미다졸리딘, 이미다졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌린, 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린, 티아졸리딘, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐 (티아모르폴리닐로도 지칭됨), 1,1-디옥소티오모르폴리닐, 피페리디닐, 피롤리딘, 테트라히드로푸라닐 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0453] 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴 기가 "치환된" 경우에, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭 치환기에 대한 정의에 의해 달리 제약되지 않는 한, 이러한 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭 기는 알킬, 치환된 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로알케닐, 치환된 시클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 아지도, 시아노, 할로겐, 히드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실 에스테르, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로시클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로시클릴, 헤테로시클로옥시, 히드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, 술포닐아미노, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO-헤테로시클릴, $-SO_2$-알킬, $-SO_2$-치환된 알킬, $-SO_2$-아릴, $-SO_2$-헤테로아릴 및 $-SO_2$-헤테로시클릴로부터 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개, 또는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환될 수 있다.

[0454] "폴리알킬렌 글리콜"은 직쇄형 또는 분지형 폴리알킬렌 글리콜 중합체, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 및 폴리부틸렌 글리콜을 지칭한다. 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛은 단일 폴리알킬렌 글리콜 유닛이다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛의 예는 쇄 종결 점에서 수소로 캡핑된 에틸렌 글리콜, $-O-CH_2-CH_2-O-$, 또는 프로필렌 글리콜, $-O-CH_2-CH_2-CH_2-O-$일 것이다. 폴리(알킬렌 글리콜)의 다른 예는 PEG, PEG 유도체, 예컨대 메톡시폴리(에틸렌 글리콜) (mPEG), 폴리(에틸렌 옥시드), PPG, 폴리(테트라메틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥시드-코-프로필렌 옥시드) 또는 그의 공중합체 및 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0455] "폴리아민"은 폴리알킬렌이민에서와 같이 백본 내에 또는 폴리비닐 아민에서와 같이 펜던트 기에 혼입된, 단량체 유닛의 아민 관능기를 갖는 중합체를 지칭한다.

[0456] 본원의 개시내용에 더하여, 용어 "치환된"이 명시된 기 또는 라디칼을 변형시키기 위해 사용된 경우에, 이는 또한 명시된 기 또는 라디칼의 1개 이상의 수소 원자가 각각 서로 독립적으로 하기 정의된 바와 같은 동일하거나 상이한 치환기로 대체된 것을 의미할 수 있다.

[0457] 본원의 개별 용어와 관련하여 개시된 기에 더하여, 명시된 기 또는 라디칼 내의 포화 탄소 원자 상에서의 1개 이상의 수소를 치환하기 위한 치환기는 (단일 탄소 상에서의 임의의 2개의 수소는 =O, $=NR^{70}$, $=N-OR^{70}$, $=N_2$ 또는 =S로 대체될 수 있음), 달리 명시되지 않는 한, $-R^{60}$, 할로, =O, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-NR^{80}R^{80}$, 트리할로메틸, -CN, -OCN, -SCN, -NO, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-S(O)R^{70}$, $-SO_2R^{70}$, $-SO_2O^-M^+$, $-SO_2OR^{70}$, $-OSO_2R^{70}$, $-OSO_2O^-M^+$, $-OSO_2OR^{70}$, $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$, $-P(O)(OR^{70})_2$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-C(O)O^-M^+$, $-C(O)OR^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)O^-M^+$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}CO_2^-M^+$, $-NR^{70}CO_2R^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$이며, 여기서 R^{60}은 임의로 치환된 알킬, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 헤테로시클로알킬알킬, 시클로알킬알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴 및 헤테로아릴알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, 각각의 R^{70}은 독립적으로 수소 또는 R^{60}이고; 각각의 R^{80}은 독립적으로 R^{70}이거나 또는 대안적으로 2개의 R^{80}은 이들이 결합되어 있는 질소 원자와 함께 3-, 4-, 5-, 6-, 또는 7-원 헤테로시클로알킬을 형성하고, 이는 임의로 O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 동일하거나 상이한 추가의 헤테로원자 중 1 내지 4개를 포함할 수 있고, 이 중 N은 -H, C_1-C_4 알킬, $-C(O)C_{1-4}$알킬, $-CO_2C_{1-4}$알킬, 또는 $-SO_2C_{1-4}$알킬 치환기를 가질 수 있고; 각각의 M^+는 알짜 단일 양전하를 갖는 반대 이온이다. 각각의 M^+는 독립적으로, 예를 들어 알칼리 이온, 예컨대 K^+, Na^+, Li^+; 암모늄 이온, 예컨대 $^+N(R^{60})_4$; 또는 알칼리 토류 이온, 예컨대 $[Ca^{2+}]_{0.5}$, $[Mg^{2+}]_{0.5}$, 또는 $[Ba^{2+}]_{0.5}$일 수 있다 ("아래첨자 0.5는 이러한 2가 알칼리 토류 이온에 대한 반대 이온 중 하나는 실시양태의 화합물의 이온화된 형태일 수 있고, 다른 것은 전형적인 반대 이온, 예컨대 클로라이드일 수 있거나, 본원에 개시된 2개의 이온화된 화합물이 이러한 2가 알칼리 토류 이온에 대한 반대 이온으로서 역할을 할 수 있거나, 실시양태의 이중으로 이온화된 화합물이 이러한 2가 알칼리 토류 이온에 대한 반대 이온으로서 역할을 할 수 있음을 의미함).

[0458] 본원의 개시내용에 더하여, "치환된" 알켄, 알킨, 아릴 및 헤테로아릴 기에서 불포화 탄소 원자 상의 수소에 대한 치환기는, 달리 명시되지 않는 한, $-R^{60}$, 할로, $-O^-M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-S^-M^+$, $-NR^{80}R^{80}$, 트리할로메틸, $-CF_3$, -CN, -OCN, -SCN, -NO, $-NO_2$, $-N_3$, $-S(O)R^{70}$, $-SO_2R^{70}$, $-SO_3^-M^+$, $-SO_3R^{70}$, $-OSO_2R^{70}$, $-OSO_3^-M^+$, $-OSO_3R^{70}$, $-PO_3^{2-}(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$, $-P(O)(OR^{70})_2$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-CO_2^-M^+$, $-CO_2R^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OCO_2^-M^+$, $-OCO_2R^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}CO_2^-M^+$, $-NR^{70}CO_2R^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$이며, 여기서 R^{60}, R^{70}, R^{80} 및 M^+는 이전에 정의된 바와 같고, 단 치환된 알켄 또는 알킨의 경우에 치환기는 $-O^-M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, 또는 $-S^-M^+$가 아니다. 본원의 개별 용어와 관련하여 개시된 치환기에 더하여, "치환된" 헤테로시클로알킬 및 시클로알킬 기에서 질소 원자 상의 수소에 대한 치환기는, 달리 명시되지 않는 한, $-R^{60}$, $-O^-M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-S^-M^+$, $-NR^{80}R^{80}$, 트리할로메틸, $-CF_3$, -CN, -NO, $-NO_2$, $-S(O)R^{70}$, $-S(O)_2R^{70}$, $-S(O)_2O^-M^+$, $-S(O)_2OR^{70}$, $-OS(O)_2R^{70}$, $-OS(O)_2O^-M^+$, $-OS(O)_2OR^{70}$, $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$, $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-C(O)OR^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$,

$-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}C(O)OR^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$이며, 여기서 R^{60}, R^{70}, R^{80} 및 M^{+}는 이전에 정의된 바와 같다.

[0459] 본원의 개시내용에 더하여, 특정 실시양태에서, 치환된 기는 1, 2, 3, 또는 4개의 치환기, 1, 2, 또는 3개의 치환기, 1 또는 2개의 치환기, 또는 1개의 치환기를 갖는다. 상기 정의된 모든 치환된 기에서, 추가의 치환기를 갖는 치환기를 그 자체로 정의함으로써 도달되는 중합체 (예를 들어, 치환기로서 그 자체가 치환된 아릴 기로 치환된 것인 치환된 아릴 기를 갖고, 추가로 치환된 아릴 기로 치환된, 치환된 아릴 등)는 본원에 포함되는 것으로 의도되지 않는다는 것을 이해한다. 이러한 경우에, 이러한 치환기의 최대 수는 3개이다. 예를 들어, 본원에서 구체적으로 고려되는 치환된 아릴 기의 일련의 치환은 치환된 아릴-(치환된 아릴)-치환된 아릴로 제한된다.

[0460] 달리 나타내지 않는 한, 본원에 명확하게 정의되지 않은 치환기의 명명법은 관능기의 말단 부분을 명명하고, 이어서 부착 지점을 따라 인접 관능기를 명명함으로써 도달된다. 예를 들어, 치환기 "아릴알킬옥시카르보닐"은 기 (아릴)-(알킬)-O-C(O)-를 지칭한다.

[0461] 1개 이상의 치환기를 함유하는 본원에 개시된 임의의 기에 대하여, 이러한 기는 입체적으로 비실용적이고/거나 합성적으로 실현불가능한 임의의 치환 또는 치환 패턴을 함유하지 않는다는 것을 물론 이해한다. 또한, 대상 화합물은 이들 화합물의 치환으로부터 발생하는 모든 입체화학적 이성질체를 포함한다. 용어 "제약상 허용되는 염"은 환자, 예컨대 포유동물에의 투여에 허용되는 염 (주어진 투여 요법에 대해 허용되는 포유동물 안전성을 갖는 반대이온을 갖는 염)을 의미한다. 이러한 염은 제약상 허용되는 무기 또는 유기 염기로부터 및 제약상 허용되는 무기 또는 유기 산으로부터 유래될 수 있다. "제약상 허용되는 염"은 화합물의 제약상 허용되는 염을 지칭하고, 이 염은 관련 기술분야에 널리 공지된 다양한 유기 및 무기 반대 이온으로부터 유래되고, 단지 예로서, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 암모늄, 테트라알킬암모늄 등; 및 분자가 염기성 관능기를 함유하는 경우에, 유기 또는 무기 산의 염, 예컨대 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 포르메이트, 타르트레이트, 베실레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말레에이트, 옥살레이트 등을 포함한다.

[0462] 기의 구조 도면에서 파상선은 모 구조에의 기의 부착 지점을 나타낸다.

[0463] 용어 "그의 염"은 산의 양성자가 양이온, 예컨대 금속 양이온 또는 유기 양이온 등에 의해 대체되는 경우에 형성되는 화합물을 의미한다. 적용가능한 경우에, 염은 제약상 허용되는 염이며, 이는 환자에의 투여를 위해 의도되지 않는 중간체 화합물의 염에 대해서는 요구되지 않는다. 예로서, 본 발명의 화합물의 염은 화합물이 무기 또는 유기 산에 의해 양성자화되어 염의 음이온성 성분으로서 무기 또는 유기 산의 짝염기와 함께 양이온을 형성하는 것을 포함한다.

[0464] "용매화물"은 용매 분자와 용질의 분자 또는 이온의 조합에 의해 형성된 복합체를 지칭한다. 용매는 유기 화합물, 무기 화합물, 또는 둘 다의 혼합물일 수 있다. 용매의 일부 예는 메탄올, N,N-디메틸포름아미드, 테트라히드로푸란, 디메틸술폭시드 및 물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 용매가 물일 경우에, 형성된 용매화물은 수화물이다.

[0465] "입체이성질체" 및 "입체이성질체들"은 동일한 원자 연결을 갖지만 공간에서 상이한 원자 배열을 갖는 화합물을 지칭한다. 입체이성질체는 시스-트랜스 이성질체, E 및 Z 이성질체, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체를 포함한다.

[0466] "호변이성질체"는 원자의 전자 결합 및/또는 양성자의 위치에서만 상이한 분자의 대안적 형태, 예컨대 엔올-케토 및 이민-엔아민 호변이성질체, 또는 -N=C(H)-NH- 고리 원자 배열을 함유하는 헤테로아릴 기, 예컨대 피라졸, 이미다졸, 벤즈이미다졸, 트리아졸 및 테트라졸의 호변이성질체 형태를 지칭한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 다른 호변이성질체 고리 원자 배열이 가능하다는 것을 인식할 것이다. 용어 "또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체"는 모든 순열의 염, 용매화물 및 입체이성질체, 예컨대 대상 화합물의 입체이성질체의 제약상 허용되는 염의 용매화물을 포함하는 것으로 의도된다는 것이 인식될 것이다.

[0467] 본원에 사용된 바와 같은, 약물, 화합물, 접합체, 약물 접합체, 항체 약물 접합체 또는 제약 조성물의 "유효 투여량" 또는 "유효량"은 유익하거나 목적하는 결과를 발생시키기에 충분한 양이다. 예방적 사용의 경우에, 유익하거나 목적하는 결과는 위험을 제거 또는 감소시키거나, 중증도를 경감시키거나, 질환의 생화학적, 조직학적 및/또는 거동적 증상을 비롯한 질환의 발병, 질환의 발생 동안 제시되는 그의 합병증 및 중간 병리학적 표현형을 지연시키는 것과 같은 결과를 포함한다. 치료적 사용의 경우에, 유익하거나 목적하는 결과는 질환으로부터

발생한 1종 이상의 증상을 감소시키는 것, 질환을 앓고 있는 자의 삶의 질을 증가시키는 것, 질환을 치료하는데 필요한 다른 의약의 용량을 감소시키는 것, 표적화를 통해서와 같이 또 다른 의약의 효과를 증진시키는 것, 질환의 진행을 지연시키는 것, 및/또는 생존을 연장시키는 것과 같은 임상 결과를 포함한다. 암 또는 종양의 경우에, 유효량의 약물은 암 세포의 수를 감소시키고/거나; 종양 크기를 감소시키고/거나; 말초 기관으로의 암 세포 침윤을 억제하고/거나 (즉, 어느 정도 늦추거나 바람직하게는 정지시키는 것); 종양 전이를 억제하고/거나 (즉, 어느 정도 늦추거나 바람직하게는 정지시키는 것); 종양 성장을 어느 정도 억제하고/거나; 장애와 연관된 증상 중 1종 이상을 어느 정도 완화시키는데 효과를 가질 수 있다. 유효 투여량은 1회 이상 투여로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 목적상, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효 투여량은 예방적 또는 치유적 치료를 직접적으로 또는 간접적으로 달성하기에 충분한 양이다. 임상적 문맥에서 이해되는 바와 같이, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효 투여량은 또 다른 약물, 화합물 또는 제약 조성물과 함께 달성될 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있다. 따라서, "유효 투여량"은 1종 이상의 치료제의 투여와 관련하여 고려될 수 있고, 단일 작용제는 1종 이상의 다른 작용제와 관련하여 바람직한 결과가 달성될 수 있거나 달성된다면 유효량으로 주어진 것으로 고려될 수 있다.

[0468] 본원에 사용된 바와 같은, "투여"는 상태를 치료하기 위한 치료제의 분배에 대한 일반적 용어를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 제약 조성물은 화합물 또는 혼합물을 정제, 캡슐 또는 환제로서 경구로 투여가능하게 하는데 적합하거나, 화합물을 비경구, 정맥내, 피내, 근육내, 복강내, 비강내, 설하, 기관내, 흡입, 안구, 질, 직장, 피하 또는 경피 투여에 적합하게 하는 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 함유한다.

[0469] 다양한 투여 경로가 이용가능하다. 선택되는 특정한 방식은 물론 선택되는 특정한 작용제 또는 작용제들, 치료되는 특정한 상태, 및 치료 효능에 필요한 투여량에 따라 달라질 것이다. 여러 투여 방식이 하기 논의된다.

[0470] 본 개시내용의 화합물 또는 제약 조성물의 투여는 통상의 기술자에게 공지된 임의의 수단에 의해 달성될 수 있다. 투여 경로는 경구, 비경구, 정맥내, 근육내, 복강내, 비강내, 설하, 기관내, 흡입, 피하, 안구, 질 및 직장을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 전신 경로는 경구 및 비경구를 포함한다.

[0471] 경구 투여를 위해, 화합물은 관련 기술분야에 널리 공지된 제약상 허용되는 담체와 활성 화합물(들)을 조합하는 것에 의해 용이하게 제제화될 수 있다. 이러한 담체는 본 개시내용의 화합물을 치료되는 대상체에 의한 경구 섭취를 위한 정제, 환제, 당의정, 캡슐, 액체, 겔, 시럽, 슬러리 및 현탁액 등으로 제제화되게 할 수 있다. 임의로, 경구 제제는 또한 내부 산 조건을 중화시키기 위한 염수 또는 완충제 중에서 제제화될 수 있거나, 어떠한 담체 없이 투여될 수 있다.

[0472] 화합물을 전신 전달하는 것이 바람직한 경우에, 이는 주사, 예를 들어 볼루스 주사 또는 연속 주입에 의한 비경구 투여를 위해 제제화될 수 있다. 주사용 제제는, 예를 들어 보존제가 첨가된 앰플 또는 다중-용량 용기 내에 단위 투여 형태로 제공될 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중 현탁액, 용액 또는 에멀젼과 같은 형태를 취할 수 있고, 제제화제, 예컨대 현탁화제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다.

[0473] 비경구 투여를 위한 제약 제제는 활성 화합물의 수용액을 수용성 형태로 포함한다. 추가로, 활성 화합물의 현탁액은 적절한 유성 주사 현탁액으로서 제조될 수 있다. 적합한 친지성 용매 또는 비히클은 지방 오일, 예컨대 참깨 오일, 또는 합성 지방산 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트 또는 트리글리세리드 또는 리포솜을 포함한다. 수성 주사 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예컨대 소듐 카르복시메틸 셀룰로스, 소르비톨 또는 덱스트란을 함유할 수 있다. 임의로, 현탁액은 또한 화합물의 용해도를 증가시키는 적합한 안정화제 또는 작용제를 함유하여 고도로 농축된 용액의 제조를 가능하게 할 수 있다. 대안적으로, 활성 화합물은 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어 멸균 발열원 무함유의 물로 구성하기 위한 분말 형태일 수 있다.

[0474] 화합물은 또한, 예를 들어 코코아 버터 또는 다른 글리세리드와 같은 통상적인 좌제 베이스를 함유하는 좌제 또는 정체 관장제와 같은 직장 또는 질 조성물로 제제화될 수 있다.

[0475] 본원에 사용된 바와 같은, "와 함께"는 하나의 치료 양식에 더하여 또 다른 치료 양식의 투여를 지칭한다. 따라서, "와 함께"는 하나의 치료 양식을, 개체에게 다른 치료 양식을 투여하기 전에, 그 동안 또는 그 후에 투여하는 것을 지칭한다.

[0476] 본원에 사용된 바와 같은, "치료" 또는 "치료하는"은 바람직하게는 임상 결과를 비롯한 유익하거나 목적하는 결과를 수득하기 위한 접근법이다. 본 개시내용의 목적상, 유익하거나 목적하는 임상 결과는 하기 중 1종 이상을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다: 암성 세포의 증식을 감소시키는 것 (또는 파괴하는 것), 질환으로부터 발생한 증상을 감소시키는 것, 질환을 앓고 있는 자의 삶의 질을 증가시키는 것, 질환을 치료하는데 필요한 다른 의

약의 용량을 감소시키는 것, 질환의 진행을 지연시키는 것, 및/또는 개체의 생존을 연장하는 것.

[0477] 본원에 사용된 바와 같은, "질환의 발생을 지연시키는 것"은 질환 (예컨대 암)의 발생을 지체, 방해, 늦춤, 저해, 안정화 및/또는 연기시키는 것을 의미한다. 이러한 지연은 치료할 질환 및/또는 개체의 병력에 따라 다양한 시간 길이일 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백한 바와 같이, 충분한 또는 유의한 지연은 사실상 개체에서 질환이 발생하지 않는 것인 방지를 포괄할 수 있다. 예를 들어, 말기 병기 암, 예컨대 전이의 발생이 지연될 수 있다.

[0478] "개체" 또는 "대상체"는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간이다. 포유동물은 또한 가축, 스포츠 동물, 애완동물 (예컨대 고양이, 개, 말), 영장류, 마우스 및 래트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. "암의 치료를 필요로 하는 개체에서 암의 치료"는 개체가 암에 걸린 것으로 확인되었고, 즉 개체는 의사에 의해 (예를 들어, 관련 기술분야에 널리 공지된 방법을 사용하여) 암에 걸린 것으로서 진단된 바 있다. 일부 실시양태에서, 치료를 필요로 하는 개체는 암에 걸린 것으로 또는 암이 발생한 것으로 의심되는 개체이다. 암에 걸린 것으로 또는 암이 발생한 것으로 의심되는 개체의 예는 암 또는 암의 발생과 연관된 돌연변이를 갖는 것으로 확인된 대상체, 암의 가족력을 갖는 대상체, 및 이전에 암에 걸렸거나 치유된 바 있는 대상체 (완화 상태의 암 환자 포함)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0479] 본원에 사용된 용어 "특이적으로 인식하다" 또는 "특이적으로 결합하다"는 생물학적 분자를 포함하는 이종 분자 집단의 존재 하에 표적의 존재를 결정하는, 측정가능하고 재생가능한 상호작용, 예컨대 표적 및 항체 (또는 분자 또는 모이어티) 사이의 인력 또는 결합을 지칭한다. 예를 들어, 에피토프에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체는 이것이 표적의 다른 에피토프 또는 비-표적 에피토프에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합력으로, 더 용이하게 및/또는 더 큰 지속기간으로 이러한 에피토프에 결합하는 항체이다. 또한, 예를 들어 제1 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체 (또는 모이어티 또는 에피토프)는 제2 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합할 수 있거나 또는 그렇지 않은 것으로 이해된다. 따라서, "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 배타적 결합을 (포함할 수는 있지만) 반드시 필요로 하지는 않는다. 표적에 특이적으로 결합하는 항체는 적어도 약 $10^3\ M^{-1}$ 또는 $10^4\ M^{-1}$, 때때로 약 $10^5\ M^{-1}$ 또는 $10^6\ M^{-1}$, 다른 경우에 약 $10^6\ M^{-1}$ 또는 $10^7\ M^{-1}$, 약 $10^8\ M^{-1}$ 내지 $10^9\ M^{-1}$, 또는 약 $10^{10}\ M^{-1}$ 내지 $10^{11}\ M^{-1}$ 또는 그 초과의 회합 상수를 가질 수 있다. 다양한 면역검정 포맷을 사용하여 특정한 단백질과 특이적으로 면역반응성인 항체를 선택할 수 있다. 예를 들어, 고체-상 ELISA 면역검정이 단백질과 특이적으로 면역반응성인 모노클로날 항체를 선택하는데 상용적으로 사용된다. 특이적 면역반응성을 결정하는데 사용될 수 있는 면역검정 포맷 및 조건에 관한 설명은, 예를 들어 문헌 [Harlow and Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York]을 참조한다.

[0480] 본원에 사용된 용어 "암", "종양", "암성" 및 "악성"은 전형적으로 비조절된 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 상태를 지칭하거나 기재한다. 암의 예는 선암종, 림프종, 모세포종, 흑색종 및 육종을 비롯한 암종을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 암의 보다 특정한 예는 편평 세포암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐 선암종, 폐 편평 세포 암종, 위장암, 호지킨 및 비-호지킨 림프종, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 신경교종, 난소암, 간암, 예컨대 간 암종 및 간세포암, 방광암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 예컨대 신세포 암종 및 윌름스 종양, 기저 세포 암종, 흑색종, 중피종, 전립선암, 갑상선암, 고환암, 식도암, 담낭암 및 다양한 유형의 두경부암을 포함한다.

[0481] 본원 및 첨부된 청구범위에 사용된 단수 형태는 문맥상 명백하게 달리 나타내지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다. 예를 들어, "항체"에 대한 언급은 1종 내지 많은 항체, 예컨대 몰 양에 대한 언급이고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 그의 등가물 등을 포함한다.

[0482] 본원에서 "약" 값 또는 파라미터에 대한 언급은 값 또는 파라미터 그 자체에 대한 실시양태를 포함 (및 기재)한다. 예를 들어, "약 X"를 언급하는 기재는 "X"의 기재를 포함한다.

[0483] 본원에 기재된 본 개시내용의 측면 및 변경은 측면 및 변경으로 "이루어진" 및/또는 "로 본질적으로 이루어진" 것을 포함하는 것으로 이해된다.

[0484] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 개시내용이 속하는 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에서 기재된 것들과 유사하거나 대등한 임의의 방법 및 물질이 또한 본 개시내용을 실시하거나 테스트할 때 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질이 이제부터 기재된다. 본원에서 언급된 모든 간행물들은 간행물과 관련하여 인용된 방법 및/또는 물질을 개시하고 기

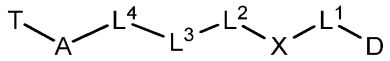
재하기 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0485] 달리 지적되는 것을 제외하고, 본 발명의 실시양태의 방법 및 기술은 일반적으로 관련 기술분야에 널리 공지되고 본 명세서 전반에 걸쳐 인용되고 논의된 다양한 일반적이고 보다 구체적인 참고문헌에 기재된 바와 같은 통상적인 방법에 따라 수행된다. 예를 들어, 문헌 [Loudon, Organic Chemistry, 4th edition, New York: Oxford University Press, 2002, pp. 360-361, 1084-1085; Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th edition, Wiley-Interscience, 2001]을 참조한다. 대상 화합물을 명명하기 위해 본원에 사용된 명명법이 본원의 실시예에서 예시된다. 이 명명법은 일반적으로 상업적으로 입수 가능한 오토놈(AutoNom) 소프트웨어 (MDL, 캘리포니아주 샌리앤드로)를 사용하여 유래된다.

[0486] 명료성을 위해 별개의 실시양태와 관련하여 기재된 본 개시내용의 특정 특색이 또한 단일 실시양태로 조합되어 제공될 수 있는 것으로 인지된다. 반대로, 간결성을 위해 단일 실시양태와 관련하여 기재된 본 개시내용의 다양한 특색은 또한 개별적으로 또는 임의의 적합한 하위조합으로 제공될 수 있다. 가변기에 의해 나타내어지는 화학적 기에 관한 실시양태의 모든 조합은 본 개시내용에 의해 구체적으로 포괄되고, 각각의 및 모든 조합이 개별적으로 및 명확하게 개시된 것과 같이, 이러한 조합이 안정한 화합물 (즉 단리되고, 특징화되고, 생물학적 활성에 대해 시험될 수 있는 화합물)인 화합물을 포괄하는 정도까지 본원에 개시된다. 또한, 이러한 가변기를 기재한 실시양태에 열거된 화학적 기의 모든 하위조합이 본 개시내용에 의해 구체적으로 또한 포괄되고, 화학적 기의 각각의 및 모든 이러한 하위조합이 개별적으로 및 명확하게 본원에 개시된 바와 같이 본원에 개시된다.

[0487] 본 개시내용은 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0488] <화학식 I>

[0489] 

[0490] 여기서,

[0491] D는 약물 모이어티이고;

[0492] T는 표적화 모이어티이고;

[0493] X는 친수성 자기-희생적 링커이고;

[0494] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0495] L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고;

[0496] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0497] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

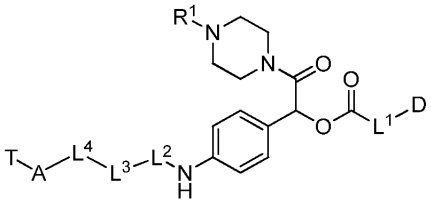
[0498] L^3은 펩티드 링커이고;

[0499] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0500] A는 아실 유닛이다.

[0501] 본 개시내용은 또한 하기 화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0502] <화학식 II>

[0503] 

[0504] 여기서,

[0505] D는 약물 모이어티이고;

[0506] T는 표적화 모이어티이고;

[0507] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

[0508] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0509] L^2는 결합, 자기-희생적 링커이고;

[0510] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0511] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

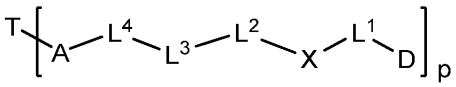
[0512] L^3은 펩티드 링커이고;

[0513] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0514] A는 아실 유닛이다.

[0515] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 약물 모이어티에의 연결을 위한 1개 이상의 부착 부위를 갖는다. 예를 들어, 표적화 모이어티 T는 링커-약물 모이어티 (예를 들어, A-L^4-L^3-L^2-X-L^1-D)에의 연결을 위한 다중 부위를 가질 수 있다. 따라서, 화학식 Ia의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 또한 제공되며,

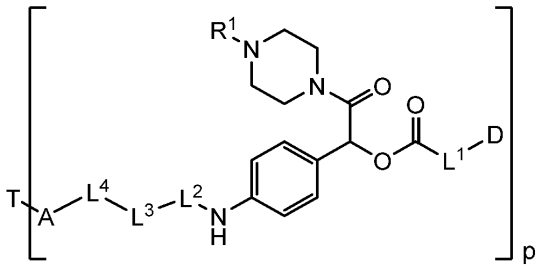
[0516] <화학식 Ia>

[0517] 

[0518] 여기서 X, L^1, L^2, L^3, L^4 및 A는 화학식 I에 대해 정의된 바와 같고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0519] 본 개시내용은 또한 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며,

[0520] <화학식 IIa>

[0521] 

[0522] 여기서 R^1, X, L^1, L^2, L^3, L^4 및 A는 화학식 II에 대해 정의된 바와 같고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0523] 펩티드 링커

[0524] 일부 실시양태에서, L^3은 펩티드 링커이다. 일부 실시양태에서, L^3은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의

아미노산 잔기의 펩티드 링커이다. 특정 실시양태에서, L^3은 2, 3 또는 4개의 아미노산 잔기의 펩티드 링커이다. 특정 경우에, L^3은 디펩티드 링커이다.

[0525] 아미노산 잔기는 자연 발생 또는 비-천연 아미노산 잔기일 수 있다. 용어 "천연 아미노산" 및 "자연 발생 아미노산"은 Ala, Asp, Cys, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr을 지칭한다. "비-천연 아미노산" (즉 아미노산이 자연 발생되지 않음)은, 비제한적 예로서, 호모세린, 호모아르기닌, 시트룰린, 페닐글리신, 타우린, 아이오도티로신, 셀레노-시스테인, 노르류신 ("Nle"), 노르발린 ("Nva"), 베타-알라닌, L- 또는 D-나프트알라닌, 오르니틴 ("Orn") 등을 포함한다.

[0526] 아미노산은 또한 천연 및 비-천연 아미노산의 D-형태를 포함한다. "D-"는 자연 발생 ("L-") 아미노산에서의 배위와 반대로, "D" (우선성) 배위를 갖는 아미노산을 지정한다. 어떠한 구체적 배위도 표시되지 않은 경우에, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 아미노산이 L-아미노산이라는 것을 이해할 것이다. 아미노산은, 그러나, 또한 D- 및 L-배위의 라세미 혼합물로 존재할 수 있다. 천연 및 비-천연 아미노산은 상업적으로 구입할 수 있거나 (시그마 케미칼 캄파니(Sigma Chemical Co.); 어드밴스드 켐테크(Advanced Chemtech)), 또는 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 합성될 수 있다. 아미노산 치환은 그의 생물학적 활성이 유지되는 한 극성, 전하, 용해도, 소수성, 친수성 및/또는 잔기의 양친매성 속성에서의 유사성에 기초하여 이루어질 수 있다.

[0527] 아미노산 잔기 서열은 생성된 펩티딜 유도체 약물-접합체로부터 종양-연관 프로테아제 중 1종 이상에 의해 선택적으로 효소적으로 절단되도록 특이적으로 조정될 수 있다.

[0528] 특정 실시양태에서, L^3은 적어도 1개의 리신 또는 적어도 1개의 아르기닌 잔기를 포함하는 펩티드 링커이다.

[0529] 특정 실시양태에서, L^3은 리신, D-리신, 시트룰린, 아르기닌, 프롤린, 히스티딘, 오르니틴 및 글루타민으로부터 선택된 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커이다.

[0530] 특정 실시양태에서, L^3은 발린, 이소류신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 류신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택된 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커이다.

[0531] 특정 실시양태에서, L^3은 발린-시트룰린, 프롤린-리신, 메티오닌-D-리신, 아스파라긴-D-리신, 이소류신-프롤린, 페닐알라닌-리신 및 발린-리신으로부터 선택된 디펩티드 링커이다. 특정 실시양태에서, L^3은 발린-시트룰린이다.

[0532] 본 개시내용에서 사용하기에 적합한 수많은 특정 펩티드 링커 분자는 특정한 종양-연관 프로테아제에 의한 효소적 절단을 위해 그의 선택성 면에서 설계되고 최적화될 수 있다. 본 개시내용에서 사용하기 위한 특정 펩티드 링커는 프로테아제, 카텝신 B 및 D에 대해 최적화된 것들이다.

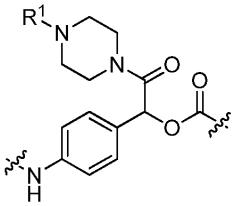
[0533] 친수성 자기-희생적 링커

[0534] 본원에 기재된 화합물의 일부 실시양태에서, X는 친수성 자기-희생적 링커이다.

[0535] 본 개시내용의 화합물은 2개의 관능성 모이어티를 이격시키고 함께 공유 연결하고, 화합물의 보다 우수한 용해도를 제공하는 친수성 기를 혼입시키는 친수성 자기-희생적 스페이서 모이어티를 사용한다. 일부 실시양태에서, 친수성 자기-희생적 스페이서 모이어티는 표적화 모이어티 및 약물 모이어티를 함께 연결한다. 일부 효소-불안정성 링커의 증가된 회합된 소수성은 특히 강력한 소수성 약물에 의해 약물 접합체의 응집을 야기할 수 있다. 친수성 기를 링커 내로 회합시키는 것에 의해, 약물 접합체의 감소된 응집이 존재할 것이다.

[0536] 자기-희생적 스페이서는 2개의 이격된 화학적 모이어티를 정상적으로 안정한 3부 분자로 함께 공유 연결할 수 있는 이관능성 화학적 모이어티로서 정의될 수 있고, 이는 효소적 절단에 의해 3부 분자로부터 하나의 이격된 화학적 모이어티를 방출할 수 있고; 효소적 절단 후에 이는 분자의 나머지로부터 자발적으로 절단되어 다른 이격된 화학적 모이어티를 방출할 수 있다.

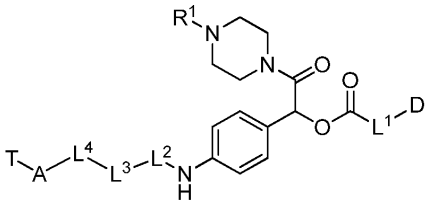
[0537] 특정 실시양태에서, X는 벤질옥시카르보닐 기이다. 특정 실시양태에서, X는

[0538] 

[0539] 이며, 여기서 R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다.

[0540] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 화학식 II의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제공하며;

[0541] <화학식 II>

[0542] 

[0543] 여기서,

[0544] D는 약물 모이어티이고;

[0545] T는 표적화 모이어티이고;

[0546] R^1은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이고;

[0547] L^1은 결합, 자기-희생적 링커, 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

[0548] L^2는 결합, 자기-희생적 링커이고;

[0549] 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에, L^2는 결합이고;

[0550] 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에, L^1은 결합이고;

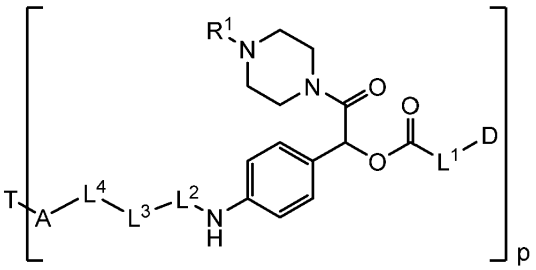
[0551] L^3은 펩티드 링커이고;

[0552] L^4는 결합 또는 스페이서이고;

[0553] A는 아실 유닛이다.

[0554] 또한, 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체가 제공되며,

[0555] <화학식 IIa>

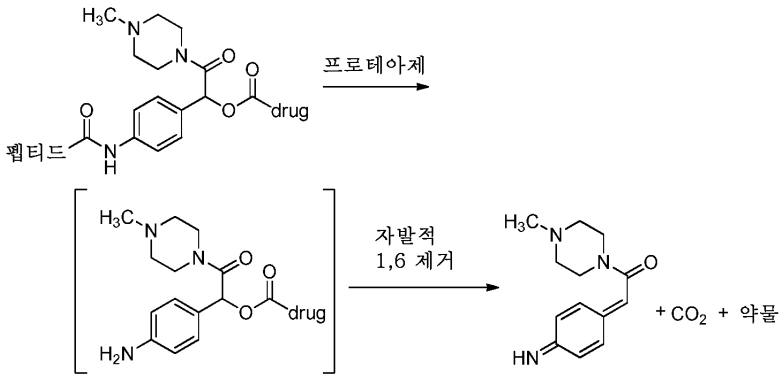
[0556] 

[0557] 여기서 D, T, L^1, L^2, L^3, L^4 및 A는 화학식 II에 대해 정의된 바와 같고, p는 1 내지 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 8이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 6이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2 내지 4이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다. 일부 실시양태에서, p는 2이다. 일부 실시양태에서, p는 3이다. 일부 실시양태에서, p는 4이다.

[0558] 화학식 II 또는 IIa의 특정 실시양태에서, R^1은 수소이다. 특정 경우에, R^1은 메틸이다.

[0559] 약물 모이어티의 방출은 아미노벤질옥시카르보닐 기의 자기-제거 반응에 기초한다. 예시 목적을 위해, 약물 및 펩티드가 부착된 아미노벤질옥시카르보닐 기와의 반응식이 하기 제시된다.

[0560] <반응식 1>

[0561] 

[0562] 반응식 1을 참고하면, 펩티드로부터의 절단 시 아미노벤질옥시카르보닐이 형성되고, 이는 자발적 1,6 제거를 거쳐 시클로헥사-2,5-디엔이민 유도체 및 이산화탄소를 형성할 수 있고, 약물을 방출할 수 있다.

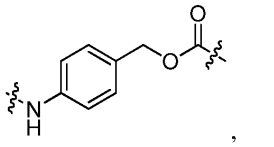
[0563] 임의적인 제2 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커

[0564] 임의적인 제2 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커는 약물 모이어티를 방출하기 위해 화합물의 절단의 미세-조정을 가능하게 하는 추가의 링커를 제공한다.

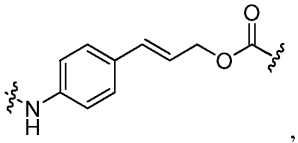
[0565] 본원에 기재된 화합물에서, L^1은 결합, 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이고; L^2는 결합 또는 자기-희생적 링커이고; 여기서 L^1이 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 경우에 L^2는 결합이고; 여기서 L^2가 자기-희생적 링커인 경우에 L^1은 결합이다. 따라서, 친수성 자기-희생적 링커에 인접하여 임의적인 제2 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커가 존재한다.

[0566] 특정 실시양태에서, L^1은 결합이고, L^2는 결합이다. 특정 실시양태에서, L^1은 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이고, L^2는 결합이다. 특정 실시양태에서, L^1은 결합이고, L^2는 자기-희생적 링커이다.

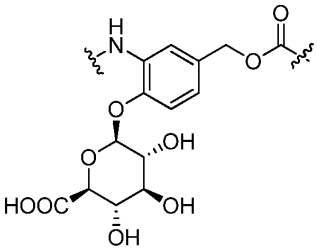
[0567] 일부 실시양태에서, L^1은 결합이다. 특정 실시양태에서, L^1은 자기-희생적 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커이고, 이는 친수성 자기-희생적 링커와 약물 모이어티를 분리한다. 특정 실시양태에서, L^1은 아미노벤질옥시카르보닐 링커이다. 특정 실시양태에서, L^1은



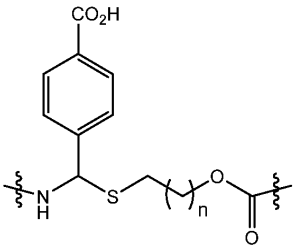
,



,



, 및

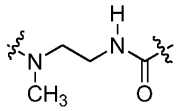


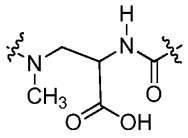
[0568]

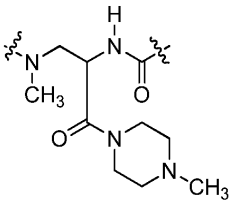
[0569] 로부터 선택되며, 여기서 n은 1 또는 2이다.

[0570] 특정 경우에, 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커는 사용될 수 있는 더 넓은 다양한 모이어티에 대한 설계 잠재력을 제공한다. 예를 들어, 화학식 IV 또는 IVa에서, 친수성 자기-희생적 링커와 약물 모이어티 사이의 카르바메이트 연결 (-O-C(O)-N(H)-) 연결은 안정한 약물 접합체를 제공할 것이고, 용이하게 절단되어 유리 약물 모이어티를 제공할 것이다. 친수성 자기-희생적 링커는 전형적으로 옥시카르보닐 기 (-O-C(O)-)로 종결될 것이다. 약물 모이어티가 카르바메이트 기를 형성하기 위한 반응을 위해 사용될 수 있는 아미노-반응성 기를 갖는 경우에, (임의적인) 제2 자기-희생적 유닛 또는 고리화 자기-제거 링커는 필요하지 않지만; 여전히 사용될 수는 있다. 그러나, 약물이 아미노 기를 함유하지 않지만 대신 일부 다른 반응성 관능기를 함유하는 경우에, 약물 모이어티와 아미노벤질옥시카르보닐 기 사이에 중간 자기-희생적 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커를 포함시킴으로써, 이러한 약물은 본 발명의 실시양태의 아미노벤질옥시카르보닐-함유 화합물 내로 여전히 혼입될 수 있다.

[0571] 하기 L^1의 고리화 자기-제거 링커는 친수성 자기-희생적 링커의 아미노벤질옥시카르보닐 기에 히드록실-함유 또는 티올-함유 약물 모이어티의 연결을 제공한다.


,

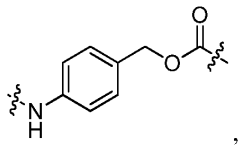

, 및

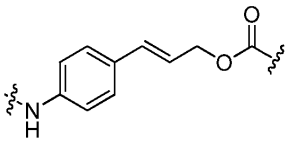


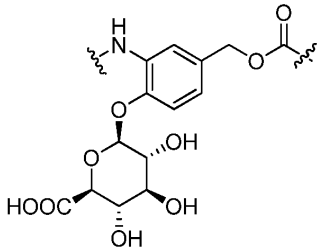
[0572]

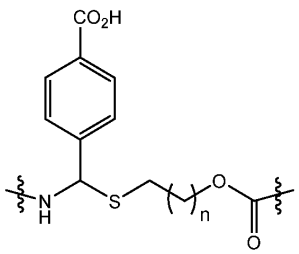
[0573] 실시양태의 화합물에서 고리화 자기-제거 링커는 화합물의 절단을 제공하여 약물 모이어티를 방출시킨다. 인접한 친수성 자기-희생적 링커의 제거 메카니즘은 L^1의 아미노 기를 드러낼 것이다. 이어서 아미노 기는 고리화 반응에서 L^1의 카르바메이트 기 또는 티오카르바메이트 연결 및 약물 모이어티와 반응하여 히드록실-함유 또는 티올-함유 약물 모이어티를 방출할 수 있다.

[0574] 일부 실시양태에서, L^2는 결합이다. 특정 실시양태에서, L^2는 친수성 자기-희생적 링커와 펩티드 링커를 분리하는 자기-희생적 스페이서이다. 특정 실시양태에서, L^2는 아미노벤질옥시카르보닐 링커이다. 특정 실시양태에서, L^2는


,


,


, 및



[0575]

[0576] 로부터 선택되며, 여기서 n은 1 또는 2이다.

[0577] 임의적인 스페이서

[0578] 일부 실시양태에서, L^4는 결합 또는 스페이서이다. 특정 실시양태에서, L^4는 결합이다. 특정 실시양태에서, L^4는 약물 모이어티와 표적화 모이어티 사이에 거리를 제공할 수 있는 스페이서이다.

[0579] 특정 실시양태에서, 스페이서는 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로시클릭, 치환된 헤테로시클릭 및 헤테로원자 및 그의 조합으로부터 선택된다. 스페이서는 그의 원자 내용에서 균질 또는 불균질할 수 있다 (예를 들어, 탄소 원자만을 함유하는 스페이서 또는 탄소 원자 뿐만 아니라 스페이서 상에 존재하는 1개 이상의 헤테로원자를 함유하는 스페이서). 바람직하게는, 스페이서는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50개의 탄소 원자, 및 산소, 질소 및 황으로부터 선택된 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개의 헤테로원자를 함유한다. 스페이서는 또한 키랄 또는 비키랄, 선형, 분지형 또는 시클릭일 수 있다.

[0580] 특정 실시양태에서, L^4는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 및 폴리아민으로부터 선택된 스페이서이다. 알케닐렌의 예는 비닐렌 (-CH=CH-), 알릴렌 (-CH_2C=C-) 및 부트-3-엔-1-일렌 (-CH_2 CH_2C=CH-)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 알케닐렌의 예는 아세틸레닐렌 (-C≡C-) 및 프로파르길렌 (-CH_2C≡C-)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

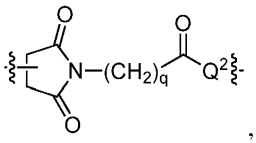
[0581] 특정 실시양태에서, L^4는 펩티드 연결의 말단에 연결을 제공할 수 있는 관능기를 포함하는 스페이서이다. 관능기, 예컨대 C(O), C(O)-NH, $S(O)_2$ 및 $S(O)_2$-NH는 펩티드 연결의 말단에 연결을 제공할 수 있다. 특정 경우에, L^4는 L^{4a}-C(O), L^{4a}-C(O)-NH, L^{4a}-$S(O)_2$, L^{4a}-$S(O)_2$-NH이며, 여기서 L^{4a}는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 및 폴리아민으로부터 선택된다. 특정 경우에, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 및 폴리아민으로부터 선택된다.

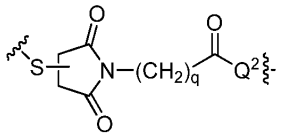
[0582] 특정 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 폴리알킬렌 글리콜이다. 특정 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 폴리에틸렌 글리콜이다. 특정 실시양태에서, 스페이서는 화학식 -CH_2-(CH_2-O-CH_2)$_m$-CH_2-C(O)-를 갖고, 여기서 m은 정수 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30이다. 특정 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 알킬렌이다. 특정 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 C_{1-10}알킬렌, C_{1-8}알킬렌 또는 C_{1-6}알킬렌이다. 특정 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 C_4알킬렌, C_5알킬렌 또는 C_6알킬렌이다. 특정 실시양태에서, L^4는 L^{4a}-C(O)이며, 여기서 L^{4a}는 C_5알킬렌이다.

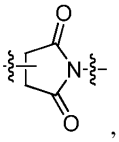
[0583] 아실 유닛

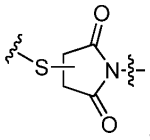
[0584] 본원에 기재된 화합물에서, A는 아실 유닛이다. 특정 실시양태에서, 아실 유닛 "A"는 황 원자를 포함하고, 표적화 모이어티로부터 유래된 황 원자를 통해 표적화 모이어티에 연결된다. 이러한 경우에, 아실 유닛과 표적화 모이어티 사이에 디티오 결합이 형성된다.

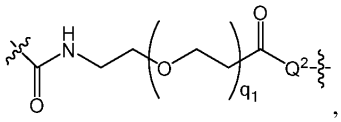
[0585] 특정 실시양태에서, A는

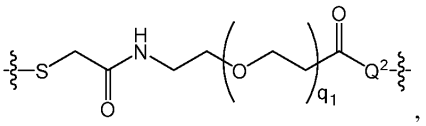

,

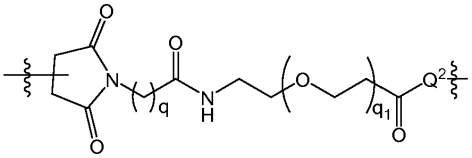


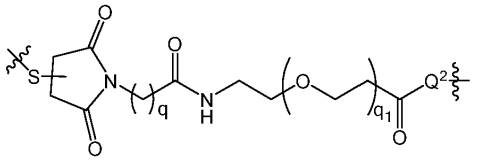

,


,


,

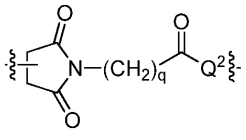

,

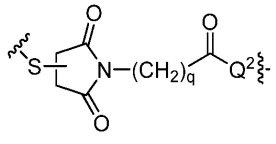

, 및



[0586]

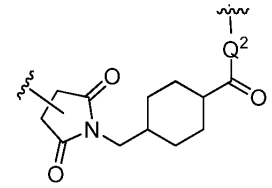
[0587] 로부터 선택되며; 여기서 Q^2는 NH 또는 O이고, 각각의 q는 독립적으로 1 내지 10의 정수이고, 각각의 q_1은 독립적으로 1 내지 10의 정수이다. 일부 실시양태에서, q는 2 내지 5의 정수, 예컨대 2, 3, 4 또는 5이다. 일부 실시양태에서, q_1은 2 내지 5의 정수, 예컨대 2, 3, 4 또는 5이다.

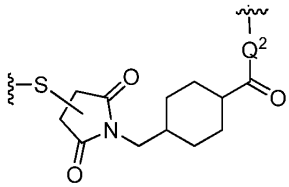
[0588] 특정 실시양태에서, A는  이며, 여기서 Q^2는 NH 또는 O이고, q는 정수 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다. 특정 경우에, q는 2 내지 5의 수, 예컨대 2, 3, 4 또는 5이다.

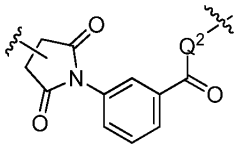
[0589] 특정 실시양태에서, A는  이며, 여기서 Q^2는 NH 또는 O이고, q는 정수 1, 2, 3, 4, 5,

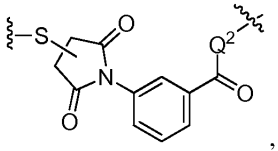
6, 7, 8, 9 또는 10이다. 특정 경우에, q는 2 내지 5의 수, 예컨대 2, 3, 4 또는 5이다.

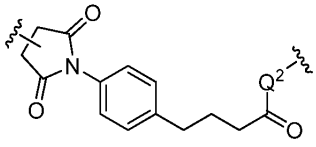
[0590] 특정 실시양태에서, A는

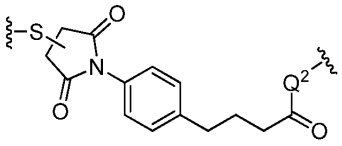

,


,


,


,


, 및



[0591]

[0592] 로부터 선택되며; 여기서 Q^2는 NH 또는 O이다.

[0593] 약물 모이어티

[0594] 본 발명의 실시양태의 약물 접합체는 상응하는 약물이 효과를 나타내는 통상의 목적에 효과적이고, 특히 유익한 목적 세포로 약물을 수송할 수 있는 표적화 모이어티에서의 고유한 능력 때문에 우수한 효능을 갖는다.

[0595] 본 발명의 실시양태에 사용하기 위한 바람직한 약물은 세포독성 약물, 예컨대 암 요법에 사용되는 것이다. 이러한 약물은 일반적으로 DNA 손상 작용제, 항대사물, 천연 생성물 및 그의 유사체를 포함한다. 세포독성제의 특정 부류는, 예를 들어 효소 억제제, 예컨대 디히드로폴레이트 리덕타제 억제제, 티미딜레이트 신타제 억제제, DNA 삽입제, DNA 절단제, 토포이소머라제 억제제, 안트라시클린 패밀리의 약물, 빈카 약물, 미토마이신, 블레오마이신, 세포독성 뉴클레오시드, 프테리딘 패밀리의 약물, 디이넨, 포도필로톡신, 분화 유도제 및 탁솔을 포함한다. 그러한 부류의 특정 유용한 구성원은, 예를 들어 메토트렉세이트, 메토프테린, 디클로로메토트렉세이트, 5-플루오로우라실, 6-메르캅토퓨린, 시토신 아라비노시드, 멜팔란, 류로신, 류로시데인, 악티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 미토마이신 C, 미토마이신 A, 카르미노마이신, 아미노프테린, 탈리소마이신, 포도필로톡신 및 포도필로톡신 유도체, 예컨대 에토포시드 또는 에토포시드 포스페이트, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 탁솔, 탁소테레 레티노산, 부티르산, N^8-아세틸 스페르미딘, 캄프토테신 및 그의 유사체를 포함한다. 다른 약물은 돌라스타틴 및 두오카르마이신을 포함한다.

[0596] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용의 접합체를 제조하기 위한 목적으로 목적 화합물의 화학적 변형

을 수행하여 그러한 화합물의 반응을 보다 편리하게 만들 수 있다.

[0597] 특정 실시양태에서, D는 약물을 L^1 또는 X에 결합시키는 화학적 반응성 관능기를 갖는 약물 모이어티이다. 특정 경우에서, 관능기는 1급 아민, 2급 아민, 히드록실 및 술프히드릴로부터 선택된다. 특정 경우에서, 관능기는 1급 아민 또는 2급 아민이다. 특정 경우에서, 관능기는 히드록실이다. 특정 경우에서, 관능기는 술프히드릴이다.

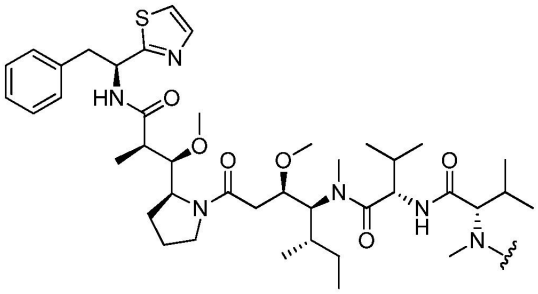
[0598] 상기 논의된 바와 같이, 친수성 자기-희생적 링커는 전형적으로 옥시카르보닐 기 (-O-C(O)-)로 종결된다. 따라서, 아미노-함유 약물 모이어티는 옥시카르보닐 기와 용이하게 반응하여 카르바메이트 기를 형성할 것이다. 특정 실시양태에서, D는 아미노-함유 약물 모이어티이며, 여기서 약물은 아미노 기를 통해 L^1 또는 X에 연결된다. 그러나, 약물 모이어티가 아미노 기를 함유하지 않는 경우에, L^1의 제2 자기-희생적 링커 또는 고리화 자기-제거 링커가 사용될 수 있는 매우 다양한 모이어티에 대한 설계 잠재력을 제공할 수 있다. 특정 실시양태에서, D는 히드록실-함유 또는 술프히드릴-함유 약물 모이어티이며, 여기서 약물은 히드록실 또는 술프히드릴 기를 통해 L^1에 연결된다.

[0599] 대표적인 아미노-함유 약물은 미토마이신-C, 미토마이신-A, 다우노루비신, 독소루비신, 아미노프테린, 악티노마이신, 블레오마이신, 9-아미노 캄프토테신, N^8-아세틸 스페르미딘, 1-(2-클로로에틸)-1,2-디메탄술포닐 히드라지드, 탈리소마이신, 시타라빈, 돌라스타틴 및 그의 유도체를 포함한다. 아미노-함유 약물은 또한 자연적으로 아미노 기를 함유하지 않는 약물의 아미노 유도체를 포함한다. 특정 실시양태에서, D는 두오카르마이신, 돌라스타틴, 튜부리신, 독소루비신 (DOX), 파클리탁셀 또는 미토마이신 C (MMC), 또는 그의 아미노 유도체이다.

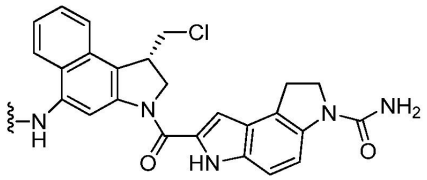
[0600] 대표적인 히드록실-함유 약물은 에토포시드, 캄프토테신, 탁솔, 에스페라미신, 1,8-디히드록시-비시클로[7.3.1]트리데카-4-9-디엔-2,6-디인-13-온, (미국 특허 번호 5,198,560), 포도필로톡신, 안구이딘, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 모르폴린-독소루비신, n-(5,5-디아세톡시-펜틸) 독소루비신, 두오카르마이신, 및 그의 유도체를 포함한다.

[0601] 대표적인 술프히드릴-함유 약물은 에스페라미신 및 6-메르캅토퓨린, 및 그의 유도체를 포함한다.

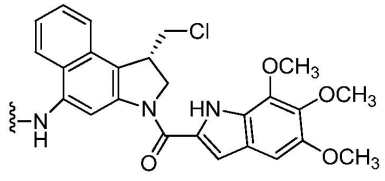
[0602] 본 발명의 실시양태에서 약물로서 사용하기 위한 특정 군의 세포독성제는 하기 화학식의 약물을 포함한다:



[0603] (돌라스타틴의 아미노 유도체)



[0604] (두오카르마이신의 아미노 유도체)



[0605] (두오카르마이신의 아미노 유도체).

[0606] 표적화 모이어티

[0607] 본 개시내용에 기재된 바와 같은 표적화 모이어티는 주어진 세포 집단에 특이적으로 결합하거나, 그와 복합체를 이루거나, 그와 반응하거나 또는 그와 회합되는 모이어티 또는 분자를 지칭한다. 예를 들어, 표적화 모이어티

는 주어진 세포 집단 (예를 들어, 치료적으로 처리되거나 또는 달리 생물학적으로 변형되도록 모색된 주어진 세포 집단)과 회합된 수용 모이어티 또는 수용체에 특이적으로 결합할 수 있거나, 그와 복합체를 이룰 수 있거나, 그와 반응할 수 있거나 또는 그와 회합될 수 있다. 본원에 기재된 접합체에 있어서, 본원에 기재된 표적화 모이어티는 접합체에서 약물 모이어티에 링커를 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 표적화 모이어티가 결합하거나, 복합체를 이루거나, 반응하거나 또는 회합되는 특정한 표적 세포 집단에 약물 모이어티 (예를 들어, 치료 목적을 위해 사용된 약물 모이어티)를 전달할 수 있다.

[0608] 표적화 모이어티는, 예를 들어 큰 분자량 단백질, 예컨대, 예를 들어 항체, 작은 분자량 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드 및 비-펩티딜 모이어티를 포함할 수 있다. 본원에 기재된 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드 모이어티는, 예를 들어 트랜스페린, 혈청 알부민, 표피 성장 인자 ("EGF"), 봄베신, 가스트린, 가스트린-방출 펩티드, 혈소판-유래 성장 인자, IL-2, IL-6, 종양 성장 인자 ("TGF"), 예컨대 TGF-α 및 TGF-β, 백시니아 성장 인자 ("VGF"), 인슐린 및 인슐린-유사 성장 인자 I 및 II를 포함할 수 있다. 비-펩티딜 모이어티는, 예를 들어 탄수화물, 렉틴 및 저밀도 지단백질로부터의 아포단백질을 포함할 수 있다. 단백질, 항체, 폴리펩티드 또는 펩티드는 특정 실시양태에서 그의 비변형된 형태, 본원에 기재된 접합체에 사용되도록, 예컨대 링커에 결합하는데 사용되도록 변형된 형태, 또는 본원에 기재된 접합체에 있는 모이어티를 지칭할 수 있다.

[0609] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 항체 (항체 모이어티 또는 항체 표적화 모이어티)이다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 술프히드릴 (-SH) 기 (예를 들어, 유리 반응성 술프히드릴 (-SH) 기)를 포함하거나 또는 이러한 술프히드릴 기를 함유하도록 변형될 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 술프히드릴 기 (예를 들어, 유리 반응성 술프히드릴 기)를 갖는 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 유리 티올 기, 예컨대 유리 티올 기를 갖는 항체를 포함하거나 또는 이러한 티오 기를 함유하도록 변형될 수 있다. 일부 실시양태에서, 술프히드릴 기 또는 티올 기를 포함하는 표적화 모이어티는 술프히드릴 기 내 황 원자를 통해 링커에 결합한다.

[0610] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티 (예를 들어, 항체 표적화 모이어티)는 약물 모이어티에 대한 연결을 위한 1개 이상의 부착 부위를 갖는다. 예를 들어, 표적화 모이어티 T (예를 들어, 항체)는 링커-약물 모이어티 (예를 들어, $A\text{-}L^{4}\text{-}L^{3}\text{-}L^{2}\text{-}X\text{-}L^{1}\text{-}D$ (여기서 A는 표적화 항체의 술프히드릴 기에 결합하는데 적합함))에 대한 연결을 위한 다중 부위 (예를 들어, 다중 술프히드릴 기)를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 1 내지 20개의 부착 부위를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 1 내지 20개, 1 내지 10개, 1 내지 8개, 1 내지 6개, 1 내지 4개, 2 내지 8개, 2 내지 6개 또는 2 내지 4개의 부착 부위를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 부착 부위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 부착 부위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 2개의 부착 부위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 1개의 부착 부위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 4개의 부착 부위를 갖는다. 일부 경우에서, 특정 잠재적 부착 부위는 약물 모이어티에 대한 결합에 접근가능하지 않을 수 있다. 따라서, 표적화 모이어티 T에서의 부착 부위의 수는 잠재적 부착 부위의 수보다 부착된 약물 모이어티의 수가 보다 적은 약물 접합체를 생성할 수 있다. 일부 실시양태에서, 부착 부위 중 1개 이상은 약물 모이어티에 대한 결합에 접근가능할 수 있다. 예를 들어, 항체 표적화 모이어티는 링커를 통한 약물 모이어티에 대한 결합에 접근가능한 항체의 각 쇄 상에 1 또는 2개의 술프히드릴 기를 가질 수 있다.

[0611] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 항체 또는 항체 표적화 모이어티이다. 본원에 기재된 항체는 이뮤노글로불린 분자의 가변 영역에 위치하는 적어도 1개의 항원 인식 부위를 통해 표적, 예컨대 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 폴리펩티드 등에 특이적으로 결합할 수 있는 이뮤노글로불린 분자를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "항체"는 무손상 폴리클로날 또는 모노클로날 항체, 뿐만 아니라 그의 항원-결합 단편 (예컨대 Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv), 단일 쇄 (ScFv), 그의 돌연변이체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 형상의 이뮤노글로불린 분자를 포괄한다. 항체는 임의의 부류, 예컨대 IgG, IgA 또는 IgM (또는 그의 하위부류)의 항체를 포함하고, 항체가 임의의 특정한 부류일 필요는 없다. 중쇄의 불변 도메인의 항체 아미노산 서열에 따라, 이뮤노글로불린은 상이한 부류로 배정될 수 있다. 이뮤노글로불린의 5가지 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇몇은 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가로 분류될 수 있다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 불린다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 형상은 널리 공지되어 있다.

[0612] 본원에 기재된 표적화 모이어티 (또는 항체 표적화 모이어티)에 포함되거나 사용된 항체는 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 항체 단편 (예를 들어, Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, Fc 등), 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체 (예를 들어, 완전 인간 항체), 단일 쇄 (ScFv), 이중특이적 항체, 다중특이적 항체, 그의 돌연변이체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 요구되는 특이성의 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 형상의 이뮤노글로불린 분자를 포괄한다. 항체는 뮤린, 래트, 낙타, 인간 또는 임의의 다른 기원 (인간화 항체 포함)일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티 (또는 항체 표적화 모이어티)에 사용된 항체는 하기 중 어느 하나이다: 이중특이적 항체, 다중특이적, 단일-쇄, 이중기능적, 및 항체의 적어도 1개의 초가변 영역 (HVR) 또는 상보성 결정 영역 (CDR)에 의해 부여되는 폴리펩티드에 대한 친화성을 갖는 키메라 및 인간화 분자. 본 개시내용에 사용된 항체는 또한 항체 중쇄의 가변 도메인 또는 항체 경쇄의 가변 도메인인 단일 도메인 항체를 포함한다. (Holt et al., Trends Biotechnol. 21:484-490, 2003). 항체로부터의 6개의 자연 발생 HVR 또는 CDR 중 3개를 함유하는 항체 중쇄의 가변 도메인 또는 항체 경쇄의 가변 도메인을 포함하는 도메인 항체를 제조하는 방법은 또한 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Muyldermans, Rev. Mol. Biotechnol. 74:277-302, 2001]을 참조한다.

[0613] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티 (또는 항체 표적화 모이어티)에 포함되거나 사용된 항체는 모노클로날 항체이다. 본원에 사용된 모노클로날 항체는 실질적으로 동종인 항체들의 항체를 지칭하며, 즉 집단을 구성하는 개별 항체는 극소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연-발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 추가로, 전형적으로 상이한 결정기 (에피토프)에 대하여 지시되는 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 대조적으로, 모노클로날 항체는 개별 항체의 혼합물이 아니다. 수식어 "모노클로날"은 항체의 특징이 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 것임을 나타내며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생산을 요구한다는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 개시내용에 사용된 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler and Milstein, 1975, Nature, 256:495]에 최초로 기재되었던 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 미국 특허 번호 4,816,567에 기재된 바와 같은 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다. 모노클로날 항체는 또한, 예를 들어 문헌 [McCafferty et al., 1990, Nature, 348:552-554]에 기재된 기술을 사용하여 생성된 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0614] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티 (또는 항체 표적화 모이어티)에 포함되거나 사용된 항체는 키메라 항체이다. 본원에 사용된 키메라 항체는 제1 종으로부터의 가변 영역 또는 가변 영역의 일부 및 제2 종으로부터의 불변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 무손상 키메라 항체는 2 카피의 키메라 경쇄 및 2 카피의 키메라 중쇄를 포함한다. 키메라 항체의 제조는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (Cabilly et al. (1984), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:3273-3277; Harlow and Lane (1988), Antibodies: a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory). 전형적으로, 이들 키메라 항체에서, 경쇄 및 중쇄 둘 다의 가변 영역은 포유동물의 한 종으로부터 유래된 항체의 가변 영역을 모방하고, 반면에 불변 부분은 또 다른 종으로부터 유래된 항체에서의 서열과 상동이다. 이러한 키메라 형태에 대한 한 분명한 이점은, 예를 들어 인간 세포 제제로부터 유래된 불변 영역과 조합하여 가변 영역이 비-인간 숙주 유기체로부터 용이하게 입수가능한 하이브리도마 또는 B 세포를 사용하여 현재 공지된 공급원으로부터 편리하게 유래될 수 있다는 것이다. 가변 영역이 제조의 용이성이라는 이점을 갖고, 특이성이 그의 공급원에 의해 영향받지 않으면서, 불변 영역이 인간인 것은 비-인간 공급원으로부터의 불변 영역보다 항체가 주사되었을 때 인간 대상체로부터 면역 반응을 유발할 가능성이 더 적다. 그러나, 정의는 이러한 특정한 예에 제한되지 않는다.

[0615] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티 (또는 항체 표적화 모이어티)에 포함되거나 사용된 항체는 인간화 항체이다. 본원에 사용된 인간화 항체는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소의 서열을 함유하는 특이적 키메라 이뮤노글로불린, 이뮤노글로불린 쇄, 또는 그의 단편 (예컨대, Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ 또는 항체의 다른 항원-결합 하위서열)인 비-인간 (예를 들어, 뮤린) 항체 형태를 지칭한다. 대부분에서, 인간화 항체는 수용자의 HVR 또는 CDR로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화성 및 능력을 갖는 마우스, 래트 또는 토끼와 같은 비-인간 종 (공여자 항체)의 HVR 또는 CDR로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에서, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기에 의해 대체된다. 추가로, 인간화 항체는, 수용자 항체나 유입된 HVR 또는 CDR 또는 프레임워크 서열 어느 것에서도 발견되지 않지만 항체 성능을 추가로 정밀화하고 최적화되도록 포함되는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 HVR 또는 CDR 영역은 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 또한, 인간화 항체는 최적으로는 이뮤노글로불

린 불변 영역 또는 도메인 (Fc)의 적어도 일부분, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 것을 포함할 것이다. 항체는 WO 99/58572에 기재된 바와 같이 변형된 Fc 영역을 가질 수 있다. 다른 형태의 인간화 항체는 원래의 항체와 관련하여 변경된 1개 이상의 HVR 또는 CDR (1, 2, 3, 4, 5, 6개)을 가지며, 이는 또한 원래의 항체로부터의 1개 이상의 HVR 또는 CDR"로부터 유래된" 1개 이상의 HVR 또는 CDR로 칭해진다.

[0616] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티 (또는 항체 표적화 모이어티)에 포함되거나 사용된 항체는 인간 항체이다. 본원에 사용된 인간 항체는 인간에 의해 생산된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체 및/또는 관련 기술분야에 공지된 인간 항체를 제조하는 임의의 기술을 사용하여 제조된 항체를 의미한다. 본원에 사용된 인간 항체는 적어도 1개의 인간 중쇄 폴리펩티드 또는 적어도 1개의 인간 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체를 포함한다. 하나의 이러한 예는 뮤린 경쇄 및 인간 중쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체이다. 인간 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 한 실시양태에서, 인간 항체는 인간 항체를 발현하는 파지 라이브러리로부터 선택된다 (Vaughan et al., 1996, Nature Biotechnology, 14:309-314; Sheets et al., 1998, PNAS, (USA) 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol., 227:381; Marks et al., 1991, J. Mol. Biol., 222:581). 인간 항체는 또한 인간 이뮤노글로불린 유전자좌를 트랜스제닉 동물, 예를 들어 내인성 이뮤노글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전히 불활성화된 마우스에 도입시킴으로써 제조될 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016에 기재되어 있다. 대안적으로, 인간 항체는 표적 항원에 대하여 지시된 항체를 생산하는 인간 B 림프구를 불멸화시킴으로써 제조될 수 있다 (이러한 B 림프구는 개체로부터 회수될 수 있거나 시험관내에서 면역화될 수 있다). 예를 들어, 문헌 [Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., 1991, J. Immunol., 147 (1):86-95]; 및 미국 특허 번호 5,750,373을 참조한다.

[0617] 인간 표피 성장 인자 2 단백질, HER2 (ErbB2)는 발생 및 종양발생 둘 다에서 중요한 역할을 하는 것으로 공지되어 있는 수용체 티로신 키나제이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티 (또는 항체 표적화 모이어티)에 포함되거나 사용된 항체는 HER2에 특이적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 항-HER2 항체는 모노클로날 또는 인간화 항체이다. 인간화 모노클로날 항-HER2 항체 트라스투주맙 (헤르셉틴(HERCEPTIN)®)은 현재 HER2-양성 암을 치료하는데 사용된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티에 포함되거나 사용된 항체는 트라스투주맙이다. 페르투주맙 (페르제타(PERJETA)®) 및 마르게툭시맙을 비롯한 다른 항-HER2 항체가 또한 관련 기술분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티에 포함되거나 사용된 항체는 페르투주맙이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티에 포함되거나 사용된 항체는 마르게툭시맙이다.

[0618] 일부 실시양태에서, 항-HER2 항체는 서열식별번호: 7로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 8로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 7로부터의 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 8로부터의 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 7의 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 및/또는 서열식별번호: 8의 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0619] 일부 실시양태에서, 항-HER2 항체는 서열식별번호: 12로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 13으로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 12로부터의 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 13으로부터의 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 12의 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 및/또는 서열식별번호: 13의 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약

87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0620] 일부 실시양태에서, 항-HER2 항체는 서열식별번호: 14로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 15로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 14로부터의 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 15로부터의 3개의 HVR (또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 14의 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 및/또는 서열식별번호: 15의 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0621] <표 1> 항-HER2 ADC의 서열식별번호

SEQ ID NO.	설명
1	인간 카파 경쇄 불변 도메인 서열
2	인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 서열
3	인간 IgG2 중쇄 불변 도메인 서열
4	인간 IgG3 중쇄 불변 도메인 서열
5	인간 IgG4 중쇄 불변 도메인 서열
6	hIgG4-S228P 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열
7	트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.) 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열
8	트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.) 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열
9	인간 카파 불변 도메인을 포함하는 트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.) 경쇄의 아미노산 서열
10	인간 IgG1 불변 도메인을 포함하는 트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.) 중쇄의 아미노산 서열
11	인간 IgG4-S228P 불변 도메인을 포함하는 트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.) 중쇄의 아미노산 서열
12	페르투주맙 (페르제타®, 로슈 인크.) 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열
13	페르투주맙 (페르제타®, 로슈 인크.) 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열
14	마르게툭시맙 (마크로제닉스 인크.) 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열
15	마르게툭시맙 (마크로제닉스 인크.) 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열

[0622]

[0623] 인간 카파 경쇄 불변 도메인 서열 (서열식별번호: 1)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ

[0624] DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0625] 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 서열 (서열식별번호: 2)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
[0626] SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0627] 인간 IgG2 중쇄 불변 도메인 서열 (서열식별번호: 3)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAAPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST
FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
[0628] QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPSK

[0629] 인간 IgG3 중쇄 불변 도메인 서열 (서열식별번호: 4)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSC
DTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMH
[0630] EALHNRFTQKSLSLSPGK

[0631] 인간 IgG4 중쇄 불변 도메인 서열 (서열식별번호: 5)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW
[0632] QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0633] hIgG4-S228P의 아미노산 서열 (서열식별번호: 6)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW
[0634] QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0635] 트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.(Roche Inc.)) 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 7)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
[0636] SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK

[0637] 트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.) 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 8)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT
RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
[0638] LVTVSS

[0639] 인간 카파 불변 도메인을 포함하는 트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.) 경쇄의 아미노산 서열 (서열식별번호: 9)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL
[0640] TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0641] 인간 IgG1 불변 도메인을 포함하는 트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.) 중쇄의 아미노산 서열 (서열식별번호: 10)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT
RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
[0642] KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0643] 인간 IgG4-S228P 불변 도메인을 포함하는 트라스투주맙 (헤르셉틴®, 로슈 인크.) 중쇄의 아미노산 서열 (서열식별번호: 11)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT
RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEF
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT
[0644] VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0645] 페르투주맙 (페르제타®, 로슈 인크.) 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 12)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPS
[0646] RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK

[0647] 페르투주맙 (페르제타®, 로슈 인크.) 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 13)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGG
SIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLV
[0648] TVSS

[0649] 마르게툭시맙 (마크로제닉스 인크.(Macrogenics Inc.)) 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 14)

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVNTAVAWYQQKPGHSPKLLIYSASFRYTGVP
[0650] DRFTGSRSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYTTPPTFGGGTKVEIK

[0651] 마르게툭시맙 (마크로제닉스 인크.) 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 15)

QVQLQQSGPELVKPGASLKLSCTASGFNIKDTYIHWVKQRPEQGLEWIGRIYPTNGYTR
YDPKFQDKATITADTSSNTAYLQVSRLTSEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGASV
[0652] TVSS

[0653] <표 2> 항-HER2 항체 트라스투주맙, 페르투주맙 및 마르게툭시맙의 CDR의 아미노산 서열

	트라스투주맙	페르투주맙	마르게툭시맙
CDR-H1	DTYIH (SEQ ID NO: 16)	DYTMD (SEQ ID NO: 22)	DTYIH (SEQ ID NO: 28)
CDR-H2	RIYPTNGYTRYADSVKG (SEQ ID NO: 17)	DVNPNSGGSIYNQRFKG (SEQ ID NO: 23)	RIYPTNGYTRYDPKFQD (SEQ ID NO: 29)
CDR-H3	WGGDGFYAMDY (SEQ ID NO: 18)	NLGPSFYFDY (SEQ ID NO: 24)	WGGDGFYAMDY (SEQ ID NO: 30)
CDR-L1	RASQDVNTAVA (SEQ ID NO: 19)	KASQDVSIGVA (SEQ ID NO: 25)	KASQDVNTAVA (SEQ ID NO: 31)
CDR-L2	SASFLYS (SEQ ID NO: 20)	SASYRYT (SEQ ID NO: 26)	SASFRYT (SEQ ID NO: 32)
CDR-L3	QQHYTTPPT (SEQ ID NO: 21)	QQYYIYPYT (SEQ ID NO: 27)	QQHYTTPPT (SEQ ID NO: 33)

[0654]

[0655] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 모이어티에 포함되거나 사용된 항체는 변형된 것이다. 일부 실시양태에서, 변형은 조작된 시스테인 치환이다.

[0656] 일부 실시양태에서, 조작된 시스테인 치환은 항체의 IgG 중쇄 상에서 일어난다. 일부 실시양태에서, 조작된 시스테인 치환은 항체의 IgG 중쇄 상의 특정한 위치에서 일어난다. 일부 실시양태에서, 조작된 시스테인 치환을 가질 수 있는 IgG 중쇄 상의 아미노산 위치는 (EU 넘버링) 118-215, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 246, 248, 249, 254, 265, 267, 269, 270, 273, 276, 278, 279, 282, 283, 284, 286, 287, 289, 292, 293, 294, 297, 298, 299, 300, 302, 303, 312, 314, 315, 318, 320, 324, 326, 327, 330, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 339, 341-447을 포함한다. 상기 개시된 아미노산 위치는 US 2012/0148580 A1; WO 2013/093809 A1; US 2009/0258420 A1; US 7521541 B2; US 7855275 B2; US 2011/0137017 A1; US 2012/0213705 A1; US 2011/0033378 A1; US 8455622 B2에 기재되어 있으며; 이들은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 부위-특이적 접합을 위한 조작된 시스테인일 수 있는 IgG 중쇄 상의 추가의 위치는 (EU 넘버링) 121, 122, 124, 125, 126, 129, 159, 187, 188, 190, 191, 193, 197, 199, 201, 202, 203, 205, 207, 208, 209, 211, 212, 215, 295, 296, 301을 포함한다.

[0657] 일부 실시양태에서, 조작된 시스테인 치환은 항체의 IgG 경쇄 상에서 일어난다. 일부 실시양태에서, 조작된 시스테인 치환은 항체의 IgG 경쇄 상의 특정한 위치에서 일어난다. 일부 실시양태에서, 조작된 시스테인 치환을 가질 수 있는 IgG 경쇄 상의 아미노산 위치는 WO 2013/093809 A1; US 2009/0258420 A1; US 7855275 B2; US 8455622 B2 (이들은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같은 (카바트 넘버링) 108-211을 포함한다. 부위-특이적 접합을 위한 조작된 시스테인일 수 있는 IgG 경쇄 상의 추가의 위치는 (카바트 넘버링) 112, 114, 115, 116, 147, 195, 199, 200, 201, 202, 203, 206, 207, 208, 209, 210을 포함한다.

[0658] 치료 용도

[0659] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 세포에 충분한 치사량의 본원에 논의된 화합물을 투여함으로써 세포를 사멸시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 사멸되는 세포는 암 세포이다. 일부 실시양태에서, 세포는 유방암 세포 또는 위암 세포 또는 난소암 세포이다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 세포를 사멸시키는 방법은 시험관내에서 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포를 사멸시키는 방법은 생체내에서 수행될 수 있다.

[0660] 일부 실시양태에서, 본원에 논의된 화합물은 대상체에서의 질환 또는 장애의 치료에 있어서 치료 요법의 일부로서 유효 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 개체에게 유효

용량의 본원에 개시된 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 유효 용량은 투여 방식 및 상기 논의된 인자에 따라 1일 또는 수일 또는 그 초과 일 동안 1회 이상의 용량 투여에서 약 0.001 mg/kg 내지 약 1000 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 750 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 500 mg/kg, 약 1.0 mg/kg 내지 약 250 mg/kg, 약 10.0 mg/kg 내지 약 150 mg/kg으로 달라진다.

[0661] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 화합물은 다른 치료 화합물과 조합되어 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 다른 치료 화합물은 항암 약물 또는 화학요법제이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 매우 다양한 암 화학요법제에 친숙할 것이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 화합물은 다른 형태의 암 요법, 예컨대 (비제한적으로) 방사선 요법과 조합되어 투여될 수 있다.

[0662] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 암을 치료하는 방법의 사용은, 암성 세포의 증식을 감소시키는 것 (또는 암성 세포를 파괴하는 것), 질환으로부터 초래된 증상을 감소시키는 것, 질환을 앓고 있는 자의 삶의 질을 증가시키는 것 및/또는 질환의 발생을 지연시키는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 유익하거나 목적하는 임상 결과로 이어진다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백한 바와 같이, 충분한 또는 유의한 지연은 사실상 개체에서 질환이 발생하지 않는 방지를 포괄할 수 있다. 예를 들어, 후기 단계 암, 예컨대 전이의 발생이 지연될 수 있다.

[0663] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 화합물의 표적화 모이어티는 암 세포에 특이적으로 결합한다. 암-결합 표적화 모이어티의 예시적이지만 비제한적인 예는 항-CD20 항체, 항-CD30 항체 및 항-HER2 항체를 포함한다. 추가 실시양태에서, 본원에 논의된 화합물의 약물 모이어티는 암을 치료하는데 효과적인 약물이다. 이러한 약물의 비제한적 예는 미토마이신-C, 미토마이신-A, 다우노루비신, 독소루비신, 아미노프테린, 악티노마이신, 블레오마이신, 9-아미노 캄프토테신, N^8-아세틸 스페르미딘, 1-(2-클로로에틸)-1,2-디메탄술포닐 히드라지드, 탈리소마이신, 시타라빈, 돌라스타틴 및 그의 유도체를 포함한다.

[0664] 하기 실시예는 본 개시내용의 유용성을 제한하는 것이 아니라 예시하기 위해 제공된다.

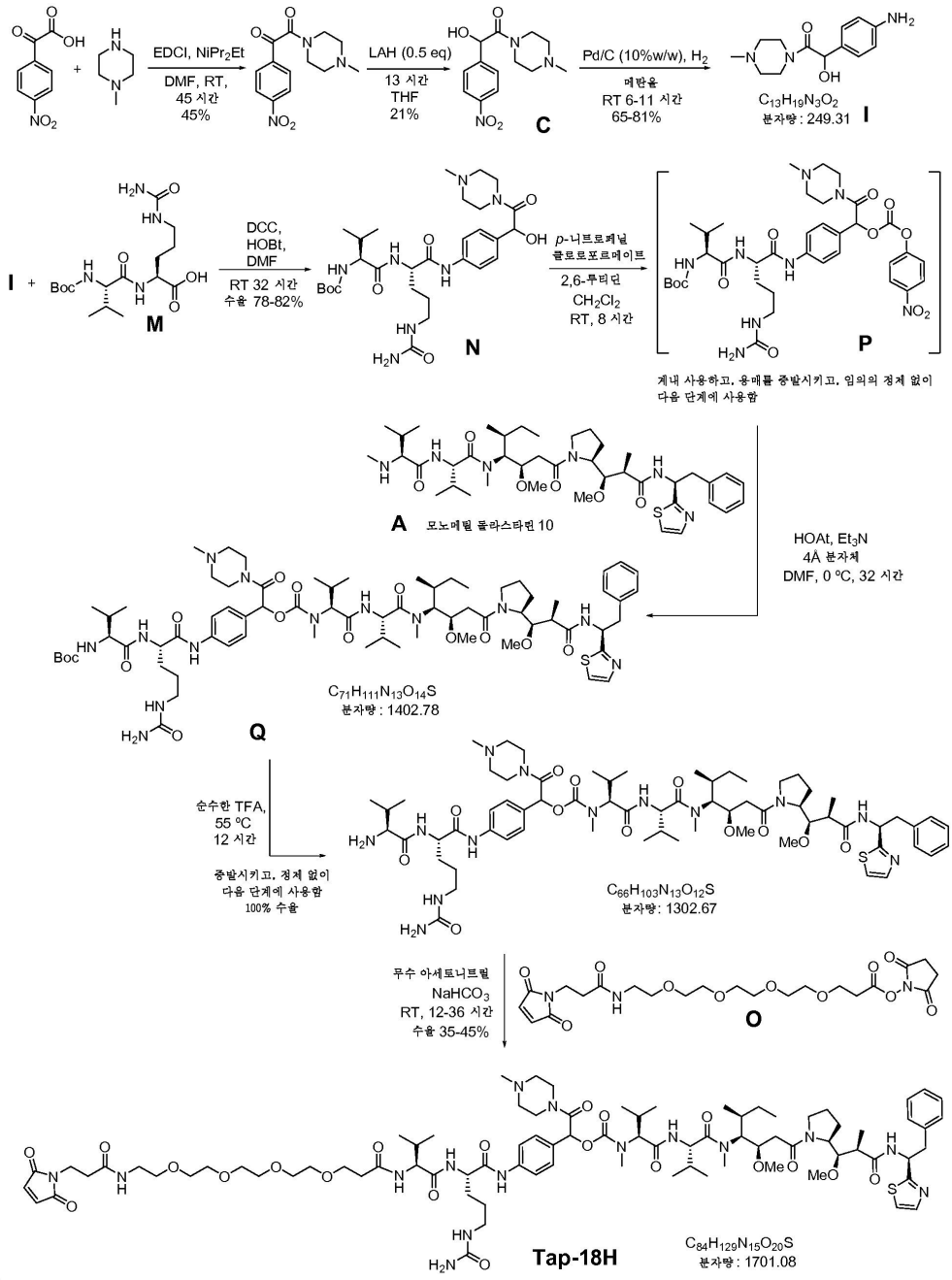
[0665] 실시예 1

[0666] 실시예 2에 대한 물질 및 방법

[0667] 링커-약물의 합성

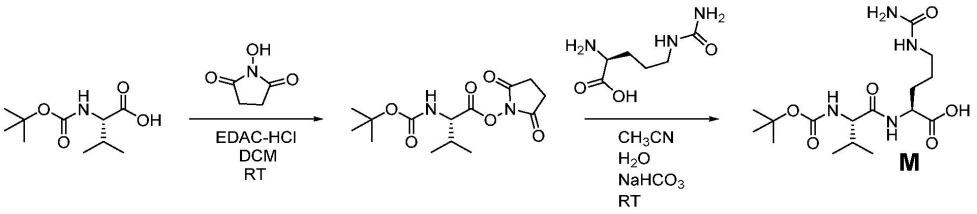
[0668] 화합물 Tap-18H의 합성은 하기 반응식에 제시된다. 중간체 화합물 M 및 O의 합성도 또한 하기 반응식에 제시된다.

[0669] 화합물 Tap-18H의 합성



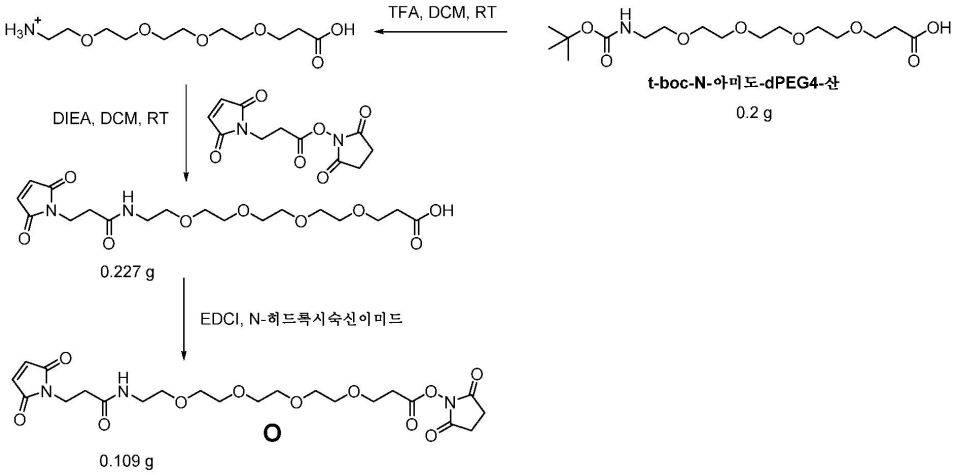
[0670]

[0671] 화합물 M의 합성



[0672]

[0673] 화합물 O의 합성



[0674]

[0675] 화합물 Tap-18H의 합성의 반응식을 참조하면, 상업적으로 입수가능한 4-니트로페닐글리옥실산을 PCl_5, 또는 DMF 중 EDCI 및 $NiPr_2Et$, 또는 CH_2Cl_2 중 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 및 커플링제로서의 N-메틸모르폴린을 사용하여 N-메틸피페라진과 축합시켜 목적하는 케토아미드가 생성되었다. 전형적 절차에서, CH_2Cl_2 (20 ml) 중 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 (5 mmol)의 용액, N-메틸모르폴린 (15 mmol)을 연속 교반 하에 0-5℃에서 첨가하였다. 백색 현탁액이 30-40분 후에 형성되었고, 이러한 혼합물에 CH_2Cl_2 (10 ml) 중 4-니트로페닐글리옥실산을 첨가하여 투명한 용액이 생성되었다. 1시간 동안 혼합물을 교반한 후에, N-메틸피페라진 (5 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 반응의 완결 (TLC, 10분) 후에, 혼합물을 10% 수성 $NaHCO_3$ 용액 (2x10 ml)에 이어서 H_2O (3x10 ml)로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 하에 용매를 제거하여 조 생성물이 수득되었으며, 이를 추가로 재결정화 또는 칼럼 크로마토그래피 (석유 에테르:에틸 아세테이트 =8:2)에 의해 정제하였다.

[0676] 케토아미드 화합물을 추가로 0.5 등가량의 $LiAlH_4$ (THF의 존재 하) 또는 DIBAL-H 또는 수소화붕소나트륨으로 환원시켜 니트로 화합물 C가 생성되었다 [B. P. Bandgar and S. S. Pandit, Tetrahedron Letters 44 (2003) 3855-3858]. 니트로 화합물 C를 약 6-11시간 동안 실온에서 메탄올 중 촉매로서 Pd/C (10% w/w)를 사용한 촉매 수소화 또는 $SnCl_2$로의 처리에 의해 아닐린 화합물 I로 65-81%의 수율로 환원시켰다. 이는 RB04-50 반응기 B가 구비된 멀티맥스IR(MultiMaxIR) 시스템을 사용하여 하기 절차를 통해 수득할 수 있었다. 반응기에 메탄올 35 ml, 10% Pd/C 0.03 mg 및 니트로 화합물 C 0.0252 mol을 초기에 채우고, 6.3 bar (H_2, 일정)의 압력까지 수소를 반응기에 첨가하였다.

[0677] 화합물 M의 합성의 반응식을 참조하면, Boc-보호된 L-발린을 DCM 중 EDAC-HCl 및 N-히드록시숙신이미드 또는 DCM 중 EDC 및 N-히드록시숙신이미드로 처리하여 숙신이미드 에스테르가 생성되었다. 이러한 활성화된 에스테르를 L-시트룰린 및 CH_3CN, H_2O, $NaHCO_3$과 반응시켜 Boc-보호된 화합물 M이 수득되었다.

[0678] 화합물 Tap-18H의 합성의 반응식을 참조하면, 아닐린 화합물 I을 32시간 동안 실온에서 DMF 중 DCC/HOBt에 의해 Boc-보호된 화합물 M과 커플링시켜 화합물 N (수율 78-82%)이 생성되거나, PS-카르보디이미드와 커플링시키며, 이 반응에서 화합물 N의 합성은 화합물 M 100 mg으로부터 출발하여 1.5 당량의 아닐린 화합물 I을 24시간 동안 DCM 중 2 당량의 PS-카르보디이미드 및 1.7 당량의 HOBt의 존재 하에 사용하여 수행하였다. LC/MS에 의한 분석은 목적하는 질량을 갖는 피크 및 대략 50-60% 전환을 제시하였다.

[0679] 이어서, 커플링된 생성물인 화합물 N을 8시간 동안 실온에서 DCM 중 2,6-루티딘의 존재 하에 4-니트로페닐 클로로포르메이트와 반응시켜 카르보네이트 화합물 P를 수득하였다. LC/MS는 목적하는 질량을 갖는 피크를 제시하였다. 카르보네이트 화합물 P를 DMF 중 HOAt 및 Et_3N의 존재 하에 모노메틸 돌라스타틴 10으로 처리하여 화합물 Q가 형성되었다.

[0680] 화합물 O의 합성의 반응식을 참조하면, β-알라닌을 DMF 중 말레산 무수물로 처리하고, 그렇게 수득된 산을 DCC 커플링 하에서 N-히드록시숙신이미드 (NHS)와 반응시켜 NHS-에스테르가 생성되었다. 상업적으로 입수가능한 t-

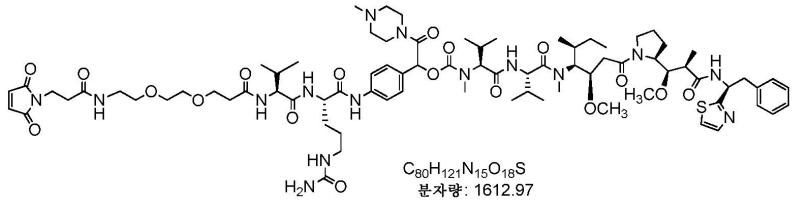
boc-N-아미도-dPEG$_4$-산에서의 BOC 보호기를 TFA에 의한 처리로 제거하여 아민의 TFA 염이 생성되었으며, 이를 이전에 합성된 NHS 에스테르와 반응시켰다. 그렇게 수득된 카르복실산을 단리하고, EDCI를 사용하여 N-히드록시숙신이미드와 커플링시켜 NHS 에스테르 화합물 O를 수득하였다.

[0681] 화합물 Tap-18H의 합성의 반응식을 참조하면, 화합물 Q에서의 Boc-기를 TFA에 의해 제거하고, 유리 아민을 12-36시간 동안 실온에서 무수 아세토니트릴 및 $NaHCO_3$ 중 NHS 에스테르 화합물 O와 커플링시켜 최종 생성물 Tap-18H가 35-45%의 수율로 생성되었다.

[0682] 도 1은 Tap-18H의 NMR 스펙트럼을 제시한다.

[0683] 화합물 Tap-18Hr1의 합성

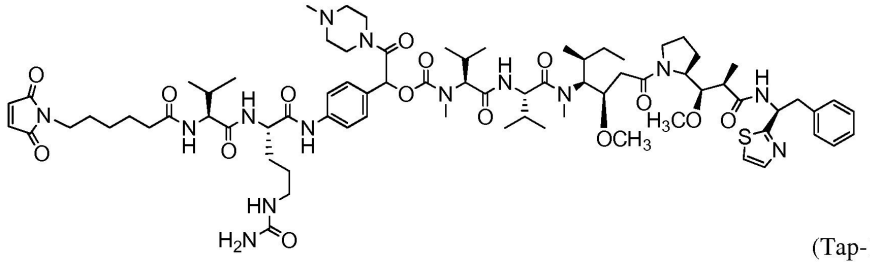
[0684] Tap-18Hr1은 하기 제시된 화학식을 사용하여 합성되었다. 도 2는 Tap-18Hr1의 NMR 스펙트럼을 제시한다.

[0685] 

(Tap-18Hr1)

[0686] 화합물 Tap-18Hr2의 합성

[0687] Tap-18Hr2는 하기 제시된 화학식을 사용하여 합성되었다. 도 3은 Tap-18Hr2의 NMR 스펙트럼을 제시한다.

[0688] 
(Tap-18Hr2)

[0689] 세포주

[0690] 인간 난소암 세포 SKOV-3 (ATCC, 카탈로그 번호 HTB-77)을 10% FBS (하이클론(HyClone), SH30071.03), 100 U/mL 페니실린/100 μg/mL 스트렙토마이신 (깁코(GIBCO), 15140)에 의해 보충된 맥코이(McCoy) 5A 배지 (변형됨) (깁코, 카탈로그 번호 16600)에서 배양하였다. 인간 유방암 세포 MDA-MB-453 (BCRC, 카탈로그 번호 60429)을 10% FBS (하이클론, 카탈로그 번호 SH30071.03), 100 U/mL 페니실린/100 μg/mL 스트렙토마이신 (깁코, 카탈로그 번호 15140)에 의해 보충된 레이보비츠(Leibovitz) L-15 배지 (깁코, 카탈로그 번호 11415)에서 배양하였다. 인간 유방암 세포 JIMT-1 (DSMZ, 카탈로그 번호 ACC 589)을 10% FBS (하이클론, 카탈로그 번호 SH30071.03), 100 U/mL 페니실린/100 μg/mL 스트렙토마이신 (깁코, 카탈로그 번호 15140)에 의해 보충된 둘베코(Dulbecco) MEM 배지 (깁코, 카탈로그 번호 11965)에서 배양하였다. 인간 위암 세포 NCI-N87 (CCRC, 카탈로그 번호 60217) 및 인간 T 백혈병 세포 Jurkat (BCRC, 카탈로그 번호 60424)를 10% FBS (하이클론, 카탈로그 번호 SH30071.03), 100 U/mL 페니실린/100 μg/mL 스트렙토마이신 (깁코, 카탈로그 번호 15140)에 의해 보충된 RPMI 배지 1640 (깁코, 카탈로그 번호 22400)에서 배양하였다.

[0691] 시약

[0692] DTT 및 DTPA는 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich) (미주리주 세인트 루이스)로부터 획득하였다. TCEP는 아크로스(Acros) (뉴저지주 모리스 플레인스)로부터 획득하였다. DTNB는 써모 사이언티픽(Thermo Scientific) (일리노이주 록포드)으로부터 획득하였다. 인산나트륨, 붕산나트륨 및 염화나트륨은 제이.티. 베이커(J.T. Baker) (펜실베니아주, 센터 밸리)로부터 획득하였다. 시스테인은 알파 에이사(Alfa Aesar) (매사추세츠주, 워드 힐)로부터 획득하였다.

[0693] 항-HER2-시스테인 변이체의 생성

[0694] 시스테인 잔기를 부위-지정 돌연변이유발 방법에 의해 인간화 항-HER2 항체 (서열식별번호: 9로서의 경쇄 및

IgG1에 대한 서열식별번호: 10 또는 IgG4에 대한 서열식별번호: 11로서의 중쇄) 내로 도입하였다. 간략하게, 돌연변이유발을 중첩 PCR에 의해 수행하였다. 목적하는 염기에서의 특정한 교체는 뉴클레오티드 변화된 프라이머를 혼입시킴으로써 도입될 수 있다. 프라이머가 연장됨에 따라, 생성된 앰플리콘에서 돌연변이가 생성되었다. 돌연변이 위치 및 상응하는 플랭킹 서열은 하기 표 3에 열거되어 있다.

[0695] <표 3> 시스테인 치환된 돌연변이체

EU 넘버링 (EU 인덱스 (카바트))	**플랭킹 서열**	**SEQ ID NO.**
Q147C (CL)	LLNNFYPREAKV**C**WKVDNALQSGNS	34
K188C (CL)	SSTLTLSKADYE**C**HKVYACEVTHQG	35
G200C (CL)	KHKVYACEVTHQ**C**LSSPVTKSFNRG	36
L201C(CL)	HKVYACEVTHQG**C**SSPVTKSFNRGE	37
V205C (CL)	EVTHQGLSSP**C**TKSFNRGEC	38
T206C (CL)	CEVTHQGLSSPV**C**KSFNRGEC	39

[0696]

T155C(CH1)	GCLVKDYFPEPV**C**VSWNSGALTSGV (hIgG1~4)	40
S157C(CH1)	LVKDYFPEPVTV**C**WNSGALTSGVHT (hIgG1~4)	41
S165C(CH1)	PVTVSWNSGALT**C**GVHTFPAVLQSS (hIgG1~4)	42
T169C(CH1)	SWNSGALTSGVH**C**FPAVLQSSGLYS (hIgG1~4)	43
T197C(CH1)	VVTVPSSSLGTQ**C**YICNVNHKPSNT (hIgG1) VVTVPSSNFGTQ**C**YTCNVDHKPSNT (hIgG2) VVTVPSSSLGTQ**C**YTCNVNHKPSNT (hIgG3) VVTVPSSSLGTK**C**YTCNVDHKPSNT (hIgG4)	44 45 46 47
I199C (CH1, hIgG1) T199C (CH1, hIgG2/3/4)	TVPSSSLGTQTY**C**CNVNHKPSNT (hIgG1) TVPSSNFGTQTY**C**CNVDHKPSNT (hIgG2) TVPSSSLGTQTY**C**CNVNHKPSNT (hIgG3) TVPSSSLGTKTY**C**CNVDHKPSNT (hIgG4)	48 49 50 51
T209C (CH1)	TYICNVNHKPSN**C**KVDKKVEPKSCD (hIgG1) TYTCNVDHKPSN**C**KVDKTVERKCCV (hIgG2) TYTCNVNHKPSN**C**KVDKRVELKTPL (hIgG3) T YTCNVDHKPSN**C**KVDKRVESKYGP (hIgG4)	52 53 54 55
V211C (CH1)	ICNVNHKPSNTK**C**DKKVEPKSCDKT (hIgG1) TCNVDHKPSNTK**C**DKTVERKCCVEC (hIgG2) TCNVNHKPSNTK**C**DKRVELKTPLGD (hIgG3) TCNVDHKPSNTK**C**DKRVESKYGPPC (hIgG4)	56 57 58 59
S442C(CH3)	EALHNHYTQKSL**C**LSPGK (hIgG1,hIgG2) EALHNRFTQKSL**C**LSPGK (hIgG3) EALHNHYTQKSL**C**LSLGK (hIgG4)	60 61 62

[0697]

[0698] 항-HER2-Cys 변이체를 발현하는 안정한 세포주의 생산

[0699] 항-HER2-시스테인 (항-HER2-Cys) 변이체 (표 1)를 Flp-In CHO 세포 (인비트로젠(Invitrogen), 카탈로그 번호 R708-07)에서 안정하게 발현시키고 생산하였다. 시스테인 치환된 항체 변이체의 DNA 서열을 pcDNA5/FRT 벡터 (인비트로젠, 카탈로그 번호 V6010-20)에 삽입하고, 판매업체에 의해 제공된 표준 절차에 따라 pOG44 (인비트로젠, 카탈로그 번호 V6005-20)로 공동-형질감염시켰다. 확립된 세포주의 배양물 상청액을 수집하고, 단백질 A 세파로스 비드 (지이 헬스케어(GE Healthcare), 카탈로그 번호 17-5280-04)에 의해 정제하였다. 정제된 단백질을, 항체의 품질을 확실하게 하기 위해 SDS-PAGE 및 크기 배제 크로마토그래피 둘 다에 의해 분석하였다.

[0700] 항-HER2-IgG1 항체의 통상적인 접합

[0701] 항-HER2-IgG1 (서열식별번호: 9로서의 경쇄, 서열식별번호: 10으로서의 중쇄) 항체를 37℃에서 2시간 동안 0.025 M 붕산나트륨 pH 8, 0.025 M NaCl, 1 mM DTPA 중 약 1.55 당량의 TCEP에 의해 환원시켰다. 단백질 농도를 1.0 mg/mL 용액에 대해 280 nm에서 1.48의 흡광도 값을 사용하여 정량화하고, 몰 농도를 145,532 g/mol의 분자량을 사용하여 결정하였다. 생성된 mAb-시스테인 티올의 농도를 DTNB에 의해 적정함으로써 결정하였다. 전형적으로 3.0 티올/mAb를 수득하였다. 부분적으로 환원된 항체를 1.2 몰의 말레이미노카프로일-약물/mAb 시스테인 티올 또는 말레이미드-약물 (Tap18Hr1, Tap-18Hr1)/mAb-시스테인 티올로 알킬화하였다. 알킬화 반응을

4℃에서 12~16시간 동안 수행하였다. 시스테인 (최종 1 mM)을 사용하여 임의의 미반응의 과량의 말레이미도카프로일-약물 또는 말레이미드-약물을 켄칭하였다. Tap18Hr1 접합 혼합물을 먼저 결합 완충제, 10 mM 인산나트륨, 10 mM NaCl, 5% DMSO, pH 7.0에 의해 5배 희석하고, 항-HER2/Tap18Hr1로서 명명된 접합된 항체 20 mg당 1 mL 히드록시아파타이트의 로딩 용량으로 히드록시아파타이트 칼럼 (마크로프렙(Macroprep) 세라믹 유형 I 40 μm, 바이오라드(BioRad), 캘리포니아주 허큘레스)에 적용하였다. 이전에 칼럼을 5 칼럼 부피의 결합 완충제에 의해 평형화시켰다. 샘플 적용 후에, 칼럼을 3 칼럼 부피의 결합 완충제로 세척한 다음, 5 칼럼 부피의 10 mM 인산나트륨, 10 mM NaCl, pH 7.0에 의해 평형화시켰다. 이어서, 결합 ADC를 200 mM 인산나트륨, 10 mM NaCl, pH 7.0으로 용리시켰다. 용리 후에, 완충제를 하이프렙(HiPrep)™ 26/10 탈염 칼럼 (임의적)을 사용하여 둘베코 포스페이트 완충 염수로 변경하였다.

[0702] 항-HER2-Cys 변이체의 부위-특이적 접합

[0703] 도입된 시스테인 상의 링커 페이로드 Tap18Hr1 (Tap-18Hr1)에 특이적으로 접합시키기 위해, 환원/산화 절차를 사용하였다. 배양 조건 동안 발생할 수 있었던 도입된 시스테인 부위 상의 시스테인 또는 글루타티온을 제거하기 위해, 항-HER2-Cys 변이체를 먼저 1mM DTPA (시그마-알드리치, 카탈로그 번호 D6518)를 함유하는 PBS (깁코®, 카탈로그 번호 21600-069) 중 2~5시간 동안 37℃에서 10~15배 몰 과량의 TCEP (아크로스 오가닉스(Acros Organics), 카탈로그 번호 363830100)로 처리하였다. 과량의 TCEP를 제거한 후에, 이어서 쇄간 디술피드 결합의 재형성을 확실하게 하기 위해 실온에서 3~5시간 동안 또는 4℃에서 3~16시간 동안 항체에 비해 20~70배 몰 과량의 데히드로아스코르브산 (DHA) (시그마-알드리치, 카탈로그 번호 261556)으로 항체를 재산화시켰다. 샘플을 PBS 내로 완충제 교환하였다. 이어서, 말레이미드-연결된 약물 페이로드 (Tap18Hr1)를 첨가하여 처리된 항체 상의 유리-티올과 반응시켰다. 과량의 페이로드를 N-아세틸-L-시스테인 (시그마-알드리치, 카탈로그 번호 A7250)로 켄칭하고, CHT 세라믹 히드록시아파타이트 (바이오-라드(Bio-Rad), 카탈로그 번호 157-0040)를 사용하여 접합된 항체를 정제하였다.

[0704] 역상 HPLC 분석에 의해 결정된 약물 항체 비 (DAR) 결정

[0705] HPLC 분석 전에, 접합체 샘플을 50℃ 가열 하에서 15분 동안 6M 구아니딘 히드로클로라이드 및 20mM DTT로 처리하였다. 처리된 접합체 샘플 100 μg을 PLRP-S 칼럼 (2.1 x 150 mm, 8μm, 1000Å, 애질런트(Agilent))에 적용하였다. 유량은 0.8 mL/분이고, 칼럼 온도는 80℃였다. 용매 A는 미니 Q 워터 중 0.05% 트리플루오로아세트산이고, 용매 B는 아세토니트릴 중 0.04% 트리플루오로아세트산이었다. 방법은 하기로 이루어졌다: 3 ml에 대해 등용매 25% B, 50% B로의 25 ml 선형 구배, 95% B로의 2 ml 선형 구배, 25% B로의 1 ml 선형 구배, 및 2 ml에 대해 등용매 25% B. 미접합 항체에 피크 배정이 이루어졌다 (L0 및 H0). H1 및 H2를 이들의 용리 시간 및 UV 스펙트럼에 의해 배정하였다 (A248/280 비가 약물 로딩과 함께 증가함).

[0706] 암 세포에 대한 항-HER2 항체 및 Tap18Hr1 접합체의 결합

[0707] $1x10^5$개의 세포를 v형-바닥 96-웰 플레이트에 웰마다 시딩하고, 지시된 농도의 미접합 Ab 또는 ADC 100 μl와 함께 인큐베이션하였다. 4℃에서의 인큐베이션 60~90분 후에, 세포를 200 μl FACS 완충제 (1% FBS를 함유하는 1x PBS)로 1회 세척하고, FACS 완충제 중 1 μg/ml 염소 F(ab')2-항-인간 IgG (H+L)-RPE (서던 바이오테크(Southern Biotech), 카탈로그 번호 2043-09) 100 μl로 염색한 다음, 4℃에서 30~60분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 FACS 완충제로 1회 세척하고, 유동 세포측정법 (BD LSR, 비디 라이프 사이언시스(BD Life Sciences))에 의해 분석하였다.

[0708] 시험관내 세포독성 검정: WST-1 검정

[0709] 96-웰 마이크로타이터 플레이트 상에 웰당 SKOV-3 세포를 $5x10^3$개의 세포로 시딩하고, MDA-MB-453 및 JIMT-1을 $2x10^4$개의 세포로 시딩하고, NCI-N87을 $4x10^4$개의 세포로 시딩하고, Jurkat 세포를 $2.5x10^4$개의 세포로 시딩하였다. 항-HER2/Tap18Hr1 또는 미접합 항체를 6회 반복으로 지시된 농도로 최종 부피 200 μL/웰로 첨가하였다. 이어서, MDA-MB-453 세포를 37℃ 및 0% CO_2에서 96시간 동안 인큐베이션하고, 48시간에 동등한 배지를 재생시켰다. SKOV-3, JIMT-1, NCI-N87 및 Jurkat 세포를 37℃ 및 5% CO_2에서 68-72시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에, 세포 생존율을 세포 증식 시약 WST-1 (로슈, 카탈로그 번호 11644807001)에 의해 제조업체의 지침에 따라 검출하였다. 간략하게, 인큐베이션 말기에 배지 100 μL를 회수하고, WST-1 10 μL/웰을 첨가하였다. 최적의 색이 발생한 후에 (비처리 대조군의 OD_{450} ≥ 1인 경우에), 450 nm에서의 흡광도 (OD_{450} 값)를 분광광도계 (몰레큘라 디바이시스(Molecular Devices) (캘리포니아주 서니베일), 베르사맥스(VERSAmax) 마이크로플레이트

판독기)에 의해 측정하였다. 반복물의 평균을 얻고, 배경 (배지 대조군)을 차감하였다. 이어서, 생성된 OD_{450} 값을 사용하여 하기 식에 따른 % 억제를 계산하였다: [OD_{450} 용매 - OD_{450} 샘플] / [OD_{450} 용매] * 100.

[0710] 암 이종이식편 모델에서의 ADC 처리

[0711] 항-HER2/Tap18Hr1로 처리된 SKOV-3

[0712] 피하 이종이식편 모델을 확립하기 위해, 25% 고 농도 매트리겔 (비디 바이오사이언시스(BD Biosciences), 카탈로그 번호 354248)을 함유하는 PBS 100 μL 중 $1x10^7$개의 SKOV-3 세포를 6-주령 암컷 C.B-17 SCID 마우스 (라스코(Lasco), 타이완 타이페이)의 우측 측복부 내로 이식하였다. 항-HER2/Tap18Hr1을 종양 세포 접종 (제1일로 표시함)으로부터 대략 2시간 후에 100 μL 중 3 mg/kg으로 정맥내 주사하였다. 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 두 수직 치수로 매주 1회 또는 2회 측정하고, 식 (0.52*길이*폭*폭)에 따라 계산하였다.

[0713] 항-HER2/Tap18Hr1로 처리된 MDA-MB-453

[0714] 피하 이종이식편 모델을 확립하기 위해, 50% 고 농도 매트리겔 (비디 바이오사이언시스, 카탈로그 번호 354248)을 함유하는 PBS 150 μL 중 $1x10^7$개의 MDA-MB-453 세포를 7-주령 암컷 C.B-17 SCID 마우스 (라스코, 타이완 타이페이)의 우측 측복부 내로 이식하였다. 평균 종양 부피가 150 mm^3에 도달하였을 때, 항-HER2/Tap18Hr1을 100 μL 중 3 mg/kg으로 1회 정맥내 주사하였다 (제1일로 표시함). 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 두 수직 치수로 매주 2회 측정하고, 식 (0.52*길이*폭*폭)에 따라 계산하였다.

[0715] 항-HER2/Tap18Hr1 및 부위-특이적 Tap18Hr1-접합된 항-HER2 시스테인 변이체로 처리된 NCI-N87

[0716] 피하 이종이식편 모델을 확립하기 위해, PBS 100 μL 중 $5x10^6$개의 NCI-N87 세포를 7-주령 암컷 C.B-17 SCID 마우스 (라스코, 타이완 타이페이)의 우측 측복부 내로 이식하였다. 평균 종양 부피가 180 mm^3에 도달하였을 때, 약물 접합된 항체를 정맥내 주사하였다 (제1일로 표시함). 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 두 수직 치수로 매주 1회 또는 2회 측정하고, 식 (0.52*길이*폭*폭)에 따라 계산하였다.

[0717] 항-HER2/Tap18Hr1 및 부위-특이적 Tap18Hr1-접합된 항-HER2 시스테인 변이체로 처리된 JIMT-1

[0718] 피하 이종이식편 모델을 확립하기 위해, PBS 100 μL 중 $5x10^6$개의 JIMT-1 세포를 6-주령 암컷 C.B-17 SCID 마우스 (라스코, 타이완 타이페이)의 우측 측복부 내로 이식하였다. 평균 종양 부피가 100 mm^3에 도달하였을 때, 약물 접합된 항체를 100 μL 중 3 mg/kg으로 1회 정맥내 주사하였다 (제1일로 표시함). 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 두 수직 치수로 매주 2회 측정하고, 식 (0.52*길이*폭*폭)에 따라 계산하였다.

[0719] 실시예 2: 암 세포에 대한 항-HER2 항체 기반 항체 약물 접합체 (ADC)의 시험관내 세포 결합 활성

[0720] 항-HER2/Tap18Hr1 결합 능력

[0721] 항-HER2 네이키드 및 Tap18Hr1-접합된 항체의 결합 능력을 SKOV-3, NCI-N87, MDA-MB-453 및 Jurkat 세포에서 평가하였다. 표 4에서의 데이터는 시험된 샘플이 인간 HER2-발현 세포주 (NCI-N87, SKOV-3 및 MDA-MB-453)에 유의하게 결합하지만, 인간 HER2를 발현하지 않는 Jurkat에는 결합하지 않는다는 것을 제시한다. 추가로, 네이키드 및 약물-접합된 항체는 둘 다 이들 세포에 필적할 만한 평균 형광 강도 (MFI)로 결합한다. 이들 결과는 항-HER2/Tap18Hr1이 네이키드 항체의 항원 반응성을 유지하고 효과적으로 HER2-발현 세포에 결합한다는 것을 입증한다.

[0722] <표 4> 암 세포에 대한 항-HER2-IgG1의 결합

MFI	항-HER2/Tap18Hr1 (3.3 μg/mL)	항-HER2-IgG1 (3.3 μg/mL)	2 차 Ab 단독
NCI-N87	9810	9871	9
SKOV-3	7595	8157	8
MDA-MB-453	7085	8009	11
Jurkat	7	11	9

[0723]

[0724] 유방 JIMT-1, 위 NCI-N87 및 난소 SKOV-3 암 세포에서 Tap18Hr1-접합된 항-HER2 시스테인 변이체의 결합 능력

[0725] 약물 접합을 갖는 또는 갖지 않는 항-HER2-IgG1 Cys 변이체의 결합 능력을 유방 JIMT-1 (표 5-7), 위 NCI-N87 (표 8) 및 난소 SKOV-3 (표 9) 암 세포에서 평가하였다. 표 5-9에서의 데이터는 항-HER2-IgG1 시스테인 변이체가 항-HER2-IgG1 Ab에 필적할 만하게 모든 시험된 암 세포에 결합한다는 것을 제시한다. 추가로, 다른 변이체보다 다소 낮은 친화성을 나타낸 항-HER2-S442C-IgG1/Tap18Hr1을 제외하고, 부위-특이적 접합된 항-HER2-IgG1 ADC는 또한 항원 반응성을 유지하였다.

[0726] <표 5> JIMT-1 세포에 대한 항-HER2-IgG1 변이체의 결합

MFI	미접합 Ab (3.3 μg/mL)	Tap18Hr1 접합체 (3.3 μg/mL)
항-HER2-S157C-IgG1	1555	1636
항-HER2-S442C-IgG1	1402	1296
항-HER2-IgG1	1574	1615
2 차 Ab 단독	9	*ND

[0727]

[0728] *ND: 결정되지 않음.

[0729] <표 6> JIMT-1 세포에 대한 항-HER2-IgG1 변이체의 결합

MFI	미접합 Ab (3.3 μg/mL)	Tap18Hr1 접합체 (3.3 μg/mL)
항-HER2-T155C-IgG1	1448	1492
항-HER2-T169C-IgG1	1554	1513
항-HER2-IgG1	1550	*ND
2 차 Ab 단독	5	*ND

[0730]

[0731] *ND: 결정되지 않음.

[0732] <표 7> 유방 JIMT-1 암 세포에 대한 항-HER2-IgG1 변이체의 결합

MFI	미접합 Ab (3.3 μg/mL)	Tap18Hr1 접합체 (3.3 μg/mL)
항-HER2-T209C-IgG1	1737	1796
항-HER2-Q147C-IgG1	1772	1897
항-HER2-G200C-IgG1	1924	1944
항-HER2-L201C-IgG1	1807	1935
항-HER2-T206C-IgG1	1765	1841
항-HER2-IgG1	1738	1906
이소형 대조군	4	*ND
2 차 Ab 단독	4	*ND

[0733]

[0734] *ND: 결정되지 않음.

[0735] <표 8> 위 NCI-N87 암 세포에 대한 항-HER2-IgG1 변이체의 결합

MFI	미접합 Ab (3.3 μg/mL)	Tap18Hr1 접합체 (3.3 μg/mL)
항-HER2-S157C-IgG1	9667	9587
항-HER2-S442C-IgG1	9645	9417
항-HER2-T209C-IgG1	9629	9601
항-HER2-Q147C-IgG1	9696	9627
항-HER2-G200C-IgG1	9731	9639
항-HER2-L201C-IgG1	9664	9669
항-HER2-T206C-IgG1	9691	9633
항-HER2-IgG1	9698	9628
이소형 대조군	4	*ND
2 차 Ab 단독	7	*ND

[0736]

[0737] *ND: 결정되지 않음.

[0738] <표 9> 난소 SKOV-3 암 세포에 대한 항-HER2-IgG1 변이체의 결합

MFI	미접합 Ab (3.3 μg/mL)	Tap18Hr1 접합체 (3.3 μg/mL)
항-HER2-S157C-IgG1	6194	6427
항-HER2-S442C-IgG1	6177	5636
항-HER2-T209C-IgG1	6232	6232
항-HER2-Q147C-IgG1	6295	6408
항-HER2-G200C-IgG1	6826	6412
항-HER2-L201C-IgG1	6491	6552
항-HER2-T206C-IgG1	6321	6440
항-HER2-IgG1	6206	6287
이소형 대조군	3	*ND
2 차 Ab 단독	3	*ND

[0739]

[0740] *ND: 결정되지 않음.

[0741] 약물 접합을 갖는 또는 갖지 않는 항-HER2-IgG4p Cys 변이체의 결합 능력을 유방 JIMT-1 (표 10-11), 위 NCI-N87 (표 12) 및 난소 SKOV-3 (표 13) 암 세포에서 평가하였다. 표 10-13에서의 데이터는 항-HER2-IgG4p 시스테인 변이체의 결합이 항-HER2-IgG4p 항체의 결합에 필적하지만, 항-HER2-IgG1 항체의 결합 (표 5-9)과 비교하였을 때 더 낮다는 것을 제시하며, 이는 감소된 결합 활성이 시스테인 돌연변이보다는 오히려 IgG4 이소형에 기인하였다는 것을 나타낸다. 전체적으로, 부위-특이적 접합된 항-HER2-IgG4p ADC는 항원 반응성을 유지하였다. IgG1 변이체와 유사하게, 항-HER2-S442C-IgG4p는 또한 다른 변이체보다 다소 낮은 친화성을 나타냈다.

[0742] <표 10> JIMT-1 세포에 대한 항-HER2-IgG4p 시스테인 변이체의 결합

MFI	미접합 Ab (3.3 μg/mL)	Tap18Hr1 접합체 (3.3 μg/mL)
항-HER2-T155C-IgG4p	568	574
항-HER2-T169C-IgG4p	527	543
항-HER2-S442C-IgG4p	556	405
항-HER2-IgG4p	543	*ND
항-HER2-IgG1	1026	797
이소형 대조군 (10 μg/ml)	3.79	*ND
2 차 Ab 단독	3.29	*ND

[0743]

[0744] *ND: 결정되지 않음.

[0745] <표 11> 유방 JIMT-1 암 세포에 대한 항-HER2-IgG1, 항-HER2-IgG4p 및 항-HER2-IgG4p 시스테인 변이체의 결합

MFI	미접합 Ab (3.3 μg/mL)	Tap18Hr1 접합체 (3.3 μg/mL)
항-HER2-T199C-IgG4p	1020	991
항-HER2-T209C-IgG4p	1001	1025
항-HER2-V211C-IgG4p	1040	1026
항-HER2-K188C-IgG4p	1057	1075
항-HER2-IgG4p	*ND	*ND
항-HER2-IgG1	1738	1906
이소형 대조군 (10 μg/ml)	4	*ND
2 차 Ab 단독	4	*ND

[0746]

[0747] *ND: 결정되지 않음.

[0748] <표 12> 위 NCI-N87 암 세포에 대한 항-HER2-IgG1, 항-HER2-IgG4p 및 항-HER2-IgG4p 시스테인 변이체의 결합

MFI	미접합 Ab (3.3 μg/mL)	Tap18Hr1 접합체 (3.3 μg/mL)
항-HER2-T155C-IgG4p	8562	8510
항-HER2-T169C-IgG4p	8704	8475
항-HER2-S442C-IgG4p	8433	8385
항-HER2-T199C-IgG4p	8524	8347
항-HER2-T209C-IgG4p	8331	8366
항-HER2-V211C-IgG4p	8429	8388
항-HER2-K188C-IgG4p	8562	8501
항-HER2-IgG4p	8794	*ND
항-HER2-IgG1	9698	9628
이소형 대조군 (10 μg/ml)	4	*ND
2 차 Ab 단독	7	*ND

[0749]

[0750] *ND: 결정되지 않음.

[0751] <표 13> 난소 SKOV-3 암 세포에 대한 항-HER2-IgG1, 항-HER2-IgG4p 및 항-HER2-IgG4p 시스테인 변이체의 결합

MFI	미접합 Ab (3.3 μg/mL)	Tap18Hr1 접합체 (3.3 μg/mL)
항-HER2-T155C-IgG4p	4619	4941
항-HER2-T169C-IgG4p	4579	4966
항-HER2-S442C-IgG4p	4480	4362
항-HER2-T199C-IgG4p	5001	4625
항-HER2-T209C-IgG4p	4430	4582
항-HER2-V211C-IgG4p	4525	4659
항-HER2-K188C-IgG4p	4613	4641
항-HER2-IgG4p	4607	*ND
항-HER2-IgG1	6206	6287
이소형 대조군 (10 μg/ml)	3	*ND
2 차 Ab 단독	3	*ND

[0752]

[0753] *ND: 결정되지 않음.

[0754] 실시예 3: 암 세포에 대한 항-HER2 항체 기반 항체 약물 접합체 (ADC)의 시험관내 세포독성 효과

[0755] 통상적인 접합된 항-HER2 항체 (항-HER2/Tap18Hr1)의 시험관내 세포독성 활성을 HER2 양성 암 세포주 (NCI-N87, SKOV-3, MDA-MB-453 및 JIMT-1) 및 HER2 음성 세포주 (Jurkat)에서 평가하였다. 네이키드 항체에 의한 세포독성을 또한 병행하여 시험하였다. 5 및 1.25 μg/mL에서, 항-HER2 네이키드 항체는 NCI-N87 (위암 세포) 및 MBA-MD-453 (유방암 세포)에서 세포독성을 유발할 수 있지만, 통상적인 접합된 항-HER2는 훨씬 더 효력이 있었다 (표 14). JIMT-1 (유방암 세포) 및 SKOV-3 (난소암 세포)의 경우, 단지 약물 접합된 항-HER2만이 5 및 1.25 μg/mL에서 50% 초과의 성장 억제를 야기할 수 있다 (표 14 & 15). HER2 음성 세포주 Jurkat에서는 어떤 독성도 관찰되지 않았다. 이들 결과는 Tap18Hr1 접합된 항-HER2가 항원 특이성을 갖는 표적 암 세포로 세포독성 약물을 전달하였다는 것을 입증한다.

[0756] <표 14> 시험관내 세포독성 활성

(% 억제)		5 μg/mL	1.25 μg/mL
NCI-N87	항-HER2/Tap18Hr1	68.5	69.7
	항-HER2	46.7	36.9
SKOV-3	항-HER2/Tap18Hr1	57.3	54.8
	항-HER2	0.9	-2.9
MDA-MB-453	항-HER2/Tap18Hr1	82.3	80.9
	항-HER2	58.9	56.8
Jurkat	항-HER2/Tap18Hr1	1.1	-2.7
	항-HER2	2.3	-1.4

[0757]

[0758] 음의 값은 어떤 세포독성도 검출되지 않았음을 나타낸다.

[0759] <표 15> 시험관내 세포독성 활성

(% 억제)		5 μg/mL	1.25 μg/mL
JIMT-1	항-HER2/Tap18Hr1	63.5	58.5
	항-HER2	9.3	7.2

[0760]

[0761] 부위-특이적 접합된 항-HER2-Cys 변이체의 시험관내 세포독성 활성을 또한 NCI-N87, JIMT-1 및 SKOV-3 세포에서 평가하였다. 표 16 & 17은 시험된 항-HER2 시스테인 변이체의 ADC의 세포독성 검정 결과를 제시한다. 5 및 1.25 μg/mL에서, 부위-특이적 ADC는 HER2 양성 암종 세포 (NCI-N87, JIMT-1 및 SKOV-3)를 사멸시키는데 효력이 있었지만, HER2 음성 세포주 (Jurkat)에서는 그렇지 않았다. 다소 낮은 결합에도 불구하고, 항-HER2-S442C/Tap18Hr1은 항원 발현 세포에서 다른 시스테인 변이체와 유사한 정도의 세포독성을 유발하였다. 이들 결과는 부위-특이적 항-HER2 ADC가 항원 특이성을 갖는 표적 암 세포로 세포독성 약물을 전달할 수 있다는 것을 입증한다.

[0762] <표 16> Tap18Hr1 접합된 항-HER2-Cys 변이체에 의한 시험관내 세포독성 활성

(% 억제)		5 μg/mL	1.25 μg/mL
NCI-N87	항-HER2-S157C-IgG1/Tap18Hr1	74.55	73.15
	항-HER2-S442C-IgG1/Tap18Hr1	74.17	74.75
	항-HER2-T155C-IgG4p/Tap18Hr1	74.89	74.21
	항-HER2-T169C-IgG4p/Tap18Hr1	73.63	72.63
	항-HER2-S442C-IgG4p/Tap18Hr1	74.91	73.83
JIMT-1	항-HER2-S157C-IgG1/Tap18Hr1	79.54	75.76
	항-HER2-S442C-IgG1/Tap18Hr1	77.90	75.11
	항-HER2-T155C-IgG4p/Tap18Hr1	76.35	72.95
	항-HER2-T169C-IgG4p/Tap18Hr1	76.05	71.31
	항-HER2-S442C-IgG4p/Tap18Hr1	74.67	72.15
Jurkat	항-HER2-S157C-IgG1/Tap18Hr1	11.02	10.55
	항-HER2-S442C-IgG1/Tap18Hr1	6.51	9.16
	항-HER2-T155C-IgG4p/Tap18Hr1	-1.32	1.68
	항-HER2-T169C-IgG4p/Tap18Hr1	-1.84	-0.13
	항-HER2-S442C-IgG4p/Tap18Hr1	-7.85	-8.46

[0763]

[0764] <표 17> Tap18Hr1 접합된 항-HER2-Cys 변이체에 의한 시험관내 세포독성 활성

(% 억제)		5 μg/mL	1.25 μg/mL
NCI-N87	항-HER2-T209C-IgG1/Tap18Hr1	70.33	69.80
	항-HER2-T199C-IgG4p/Tap18Hr1	69.95	69.46
	항-HER2-T209C-IgG4p/Tap18Hr1	71.53	71.72
	항-HER2-V211C-IgG4p/Tap18Hr1	72.65	71.25
	항-HER2-K188C-IgG4p/Tap18Hr1	70.88	71.06
JIMT-1	항-HER2-T209C-IgG1/Tap18Hr1	54.65	49.31
	항-HER2-T199C-IgG4p/Tap18Hr1	69.07	56.87
	항-HER2-T209C-IgG4p/Tap18Hr1	59.21	49.53
	항-HER2-V211C-IgG4p/Tap18Hr1	59.97	50.87
	항-HER2-K188C-IgG4p/Tap18Hr1	58.91	51.01
SKOV-3	항-HER2-S157C-IgG1/Tap18Hr1	63.80	56.95
	항-HER2-S442C-IgG1/Tap18Hr1	70.00	60.64
	항-HER2-T209C-IgG1/Tap18Hr1	67.58	63.90
	항-HER2-T155C-IgG4p/Tap18Hr1	63.91	61.22
	항-HER2-T169C-IgG4p/Tap18Hr1	64.84	61.88
	항-HER2-T199C-IgG4p/Tap18Hr1	72.32	63.52
	항-HER2-T209C-IgG4p/Tap18Hr1	68.65	64.39
	항-HER2-V211C-IgG4p/Tap18Hr1	66.26	60.77
	항-HER2-K188C-IgG4p/Tap18Hr1	66.63	63.03

[0765]

[0766] 실시예 4: 통상적인 접합된 항-HER2로 처리된 SKOV-3 이종이식편

[0767] 항-HER2/Tap18Hr1의 효능을 난소암 세포 SKOV-3에 대하여 생체내에서 평가하였다. 마우스를 종양 세포 접종(제1일로 표시함)으로부터 대략 2시간 후에 비히클 (PBS, 100 μL) 또는 100 μL 중 3 mg/kg으로의 단일 용량의 ADC로 정맥내 처리하였다. 제1일에서의 종양 크기는 매트리겔을 포함하는 접종 부피로 인해 100 mm^3으로서 기록하였다. 주사된 매트리겔은 제15일까지 흡수되었고, 그 동안 비히클 군에서는 종양이 확립되어 꾸준히 성장하였다 (도 4). 항-HER2/Tap18Hr1에 의한 처리는 제17일에 종양 성장을 억제하였고, 이러한 군에서의 모든 마우스 (5마리/5마리)는 제27일 이후로 종양이 검출불가능함을 나타냈다. 두 군의 체중이 꾸준히 증가하였을 때 어떤 독성도 관찰되지 않았다. 데이터는 단일 주사에 의해 항-HER2/Tap18Hr1이 SCID 마우스에 이식된 항원 양성 종양의 성장을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 제시한다.

[0768] 실시예 5: 통상적인 접합된 항-HER2로 처리된 MDA-MB-453 이종이식편

[0769] 항-HER2/Tap18Hr1의 효능을 유방암 세포 MDA-MB-453에 대하여 생체내에서 평가하였다. 평균 접종된 종양 크기가 ~150 mm^3에 도달하였을 때, 마우스를 PBS (비히클, 100 μL) 또는 100 μL 중 3 mg/kg으로의 단일 용량의 ADC로 정맥내 처리하였다 (제1일로 표시함). 항-HER2/Tap18Hr1 군은 제8일에 종양이 퇴행되었음을 나타냈고, 평균 종양 크기는 제11일 이후로 <50 mm^3으로 추가로 억제되었다 (도 5). 연구의 말기에, 6마리의 마우스 중 3마리는 완전한 종양 퇴행을 나타냈다. 마우스의 체중은 두 군에서 꾸준히 증가하였다. 데이터는 항-

HER2/Tap18Hr1이 SCID 마우스에 이식된 항원 양성 종양의 성장을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 제시한다.

[0770] 실시예 6: Tap18Hr1 통상적인 접합된 항-HER2 및 부위-특이적 접합된 항-HER2-Cys 변이체로 처리된 NCI-N87 이종이식편

[0771] 통상적인 접합된 항-HER2/Tap18Hr1의 효능을 위암 세포 NCI-N87에 대하여 생체내에서 평가하였다. 평균 종양 크기가 ~180 mm^3에 도달하였을 때, 마우스를 PBS (100 μL 중 비히클) 또는 ADC (100 μL 중 3 또는 5 mg/kg)로 2회 정맥내 처리하였다 (제1일 및 제22일로 표시함). 비히클 군의 종양은 성장하여 제15일에 500 mm^3에 접근하였지만 (도 6), 항-HER2/Tap18Hr1 군은 제5일에 지연된 종양 성장을 나타냈고, 평균 종양 크기는 제19일 이후로 <30 mm^3으로 추가로 억제되었다. 연구의 말기에, 대부분의 종양은 두 ADC 처리군에서 10 mm^3 미만이었다. 마우스의 체중은 세 군에서 꾸준히 증가하였다. 데이터는 항-HER2/Tap18Hr1이 SCID 마우스에 이식된 항원 양성 종양의 성장을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 제시한다.

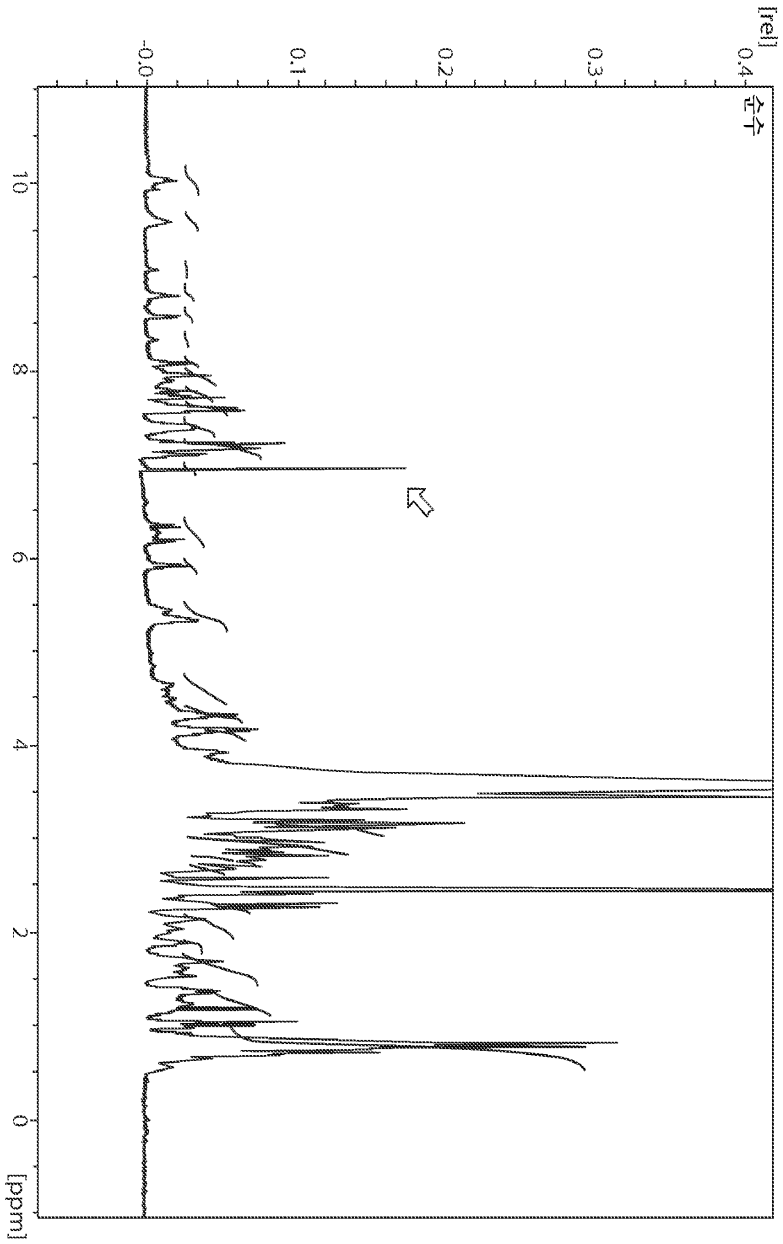
[0772] 부위-특이적 접합된 항-HER2-Cys 변이체의 효능을 위암 세포 NCI-N87에 대하여 생체내에서 평가하였다. 종양 크기의 평균이 ~180 mm^3에 도달하였을 때, 마우스를 PBS (비히클, 100 μL) 또는 등가의 약물 용량을 갖는 ADC (100 μL 중 9.7 μg/kg Tap18Hr1)로 정맥내 처리하였다 (제1일로 표시함). 도 7에 제시된 바와 같이, 모든 부위-특이적 접합된 변이체 처리된 마우스는 비히클 군과 비교하여 유의하게 지연된 종양 성장을 나타냈다. 체중은 ADC-처리군에서 변하지 않았고, 비히클 군에서는 종양의 중량으로 인해 다소 증가하였다. 데이터는 단일 주사에 의해 부위-특이적 접합된 항-HER2-Cys 변이체가 SCID 마우스에 이식된 항원 양성 종양의 성장을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 입증한다.

[0773] 실시예 7: Tap18Hr1 통상적인 접합된 항-HER2 및 부위-특이적 접합된 항-HER2-Cys 변이체로 처리된 JIMT-1 이종이식편

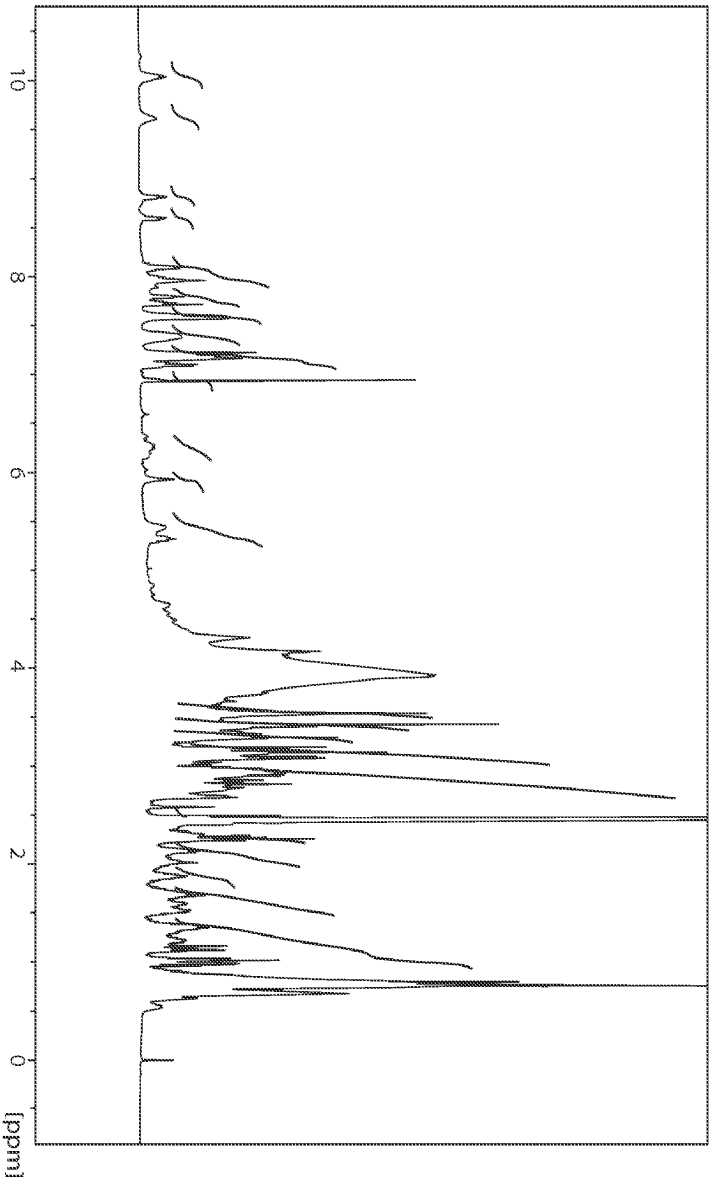
[0774] 통상적인 접합된 항-HER2/Tap18Hr1 및 부위-특이적 접합된 항-HER2-Cys 변이체의 효능을 공지된 헤르셉틴-저항성 유방암 세포 JIMT-1에 대하여 생체내에서 평가하였다. 평균 종양 크기가 ~100 mm^3에 도달하였을 때, 마우스를 PBS (비히클 대조군, 100 μL) 또는 ADC (100 μL 중 3 mg/kg)로 1회 정맥내 처리하였다 (제1일로 표시함). 도 8에 제시된 바와 같이, 모든 ADC 처리군은 비히클 군과 비교하여 제7일 이후로 유의하게 지연된 종양 성장을 나타냈다. 마우스의 체중은 모든 군에서 꾸준히 증가하였다. 데이터는 단일 투여에 의해, 통상적인 항-HER2/Tap18Hr1, 뿐만 아니라 부위-특이적 접합된 항-HER2-Cys 변이체도 SCID 마우스에 이식된 HER2 양성 종양의 성장을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 입증하였다.

도면

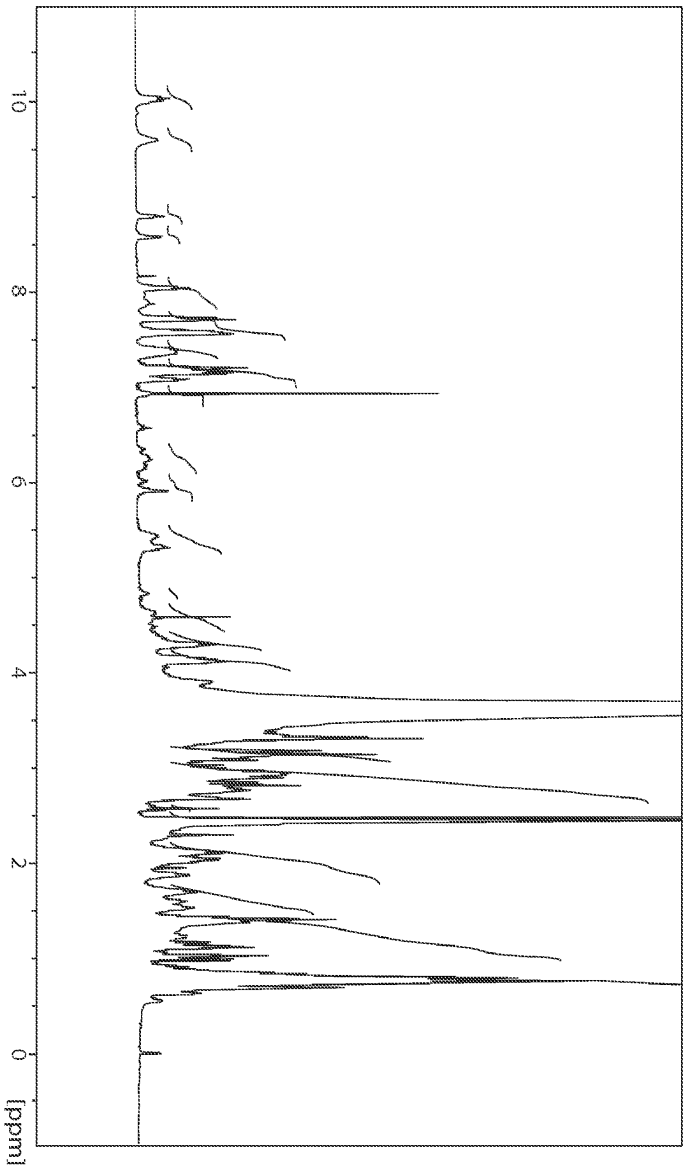
도면1



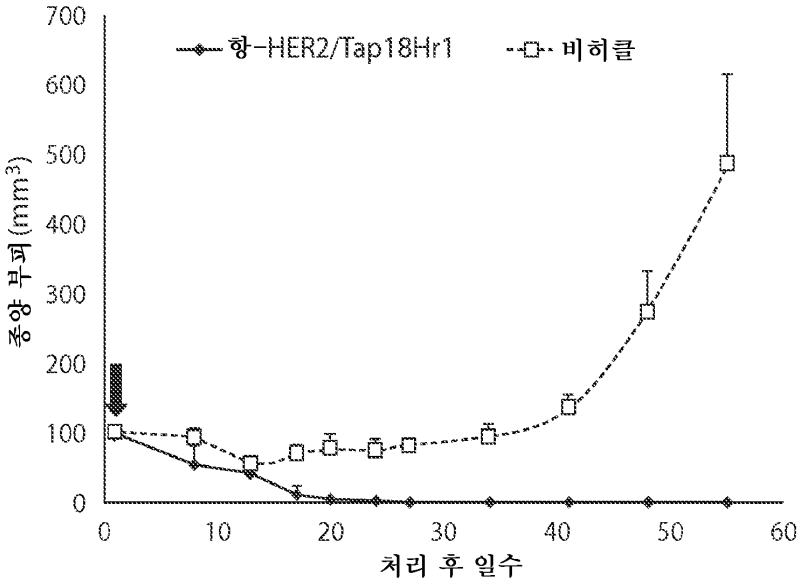
도면2



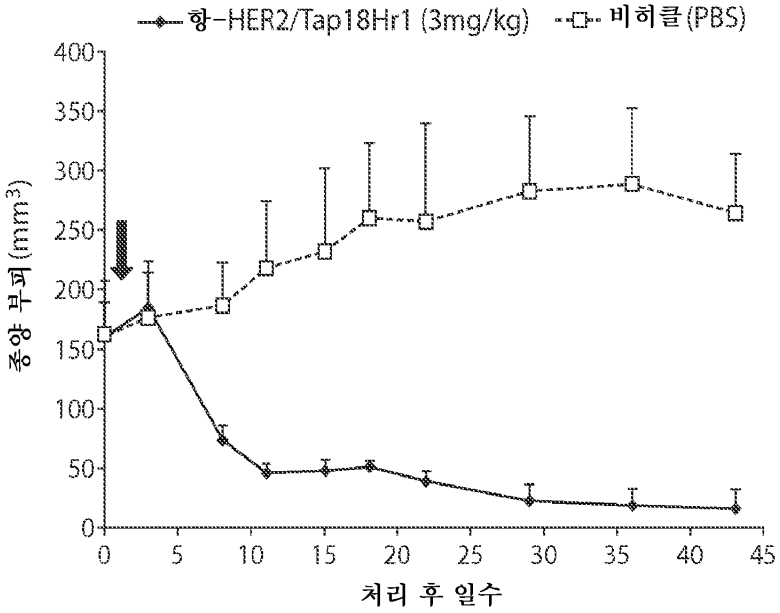
도면3



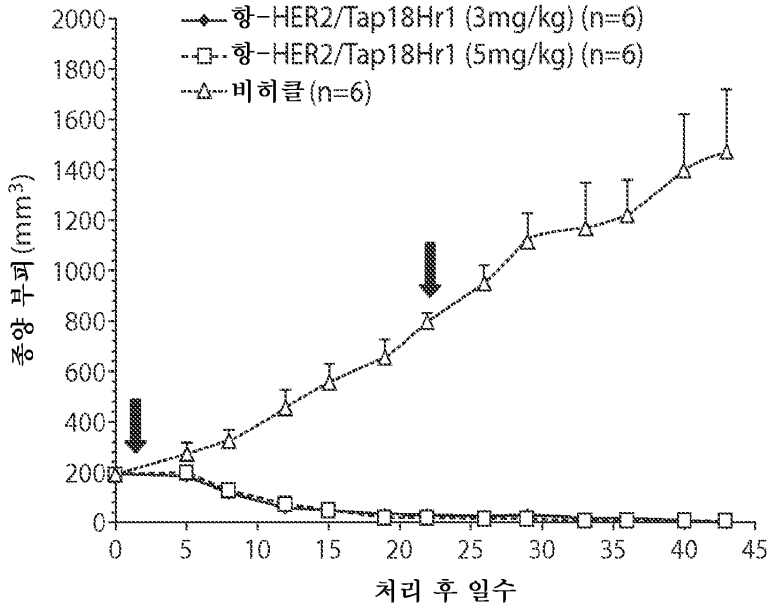
도면4


항-HER2/Tap18Hr1
비히클
종양 부피 (mm3)
700
600
500
400
300
200
100
0
0
10
20
30
40
50
60
처리 후 일수

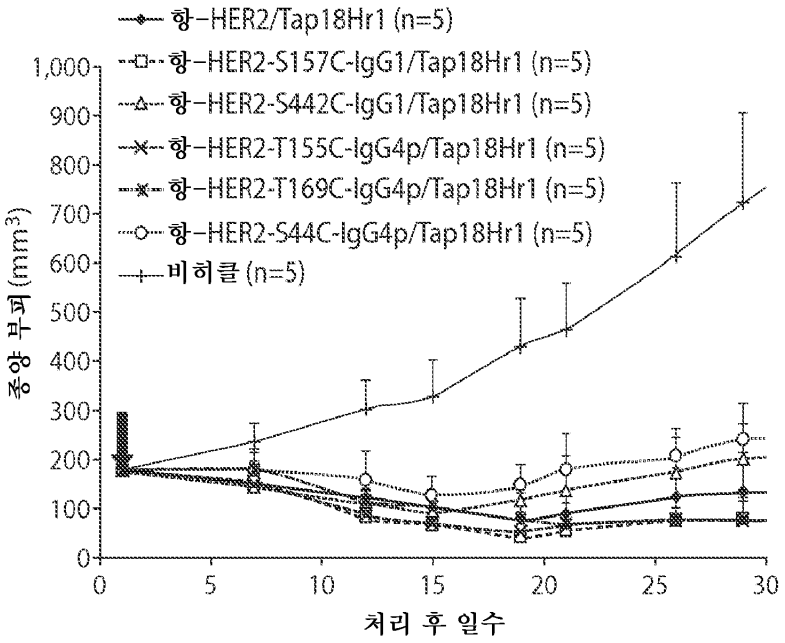
도면5


항-HER2/Tap18Hr1 (3mg/kg)
비히클(PBS)
종양 부피 (mm3)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
처리 후 일수

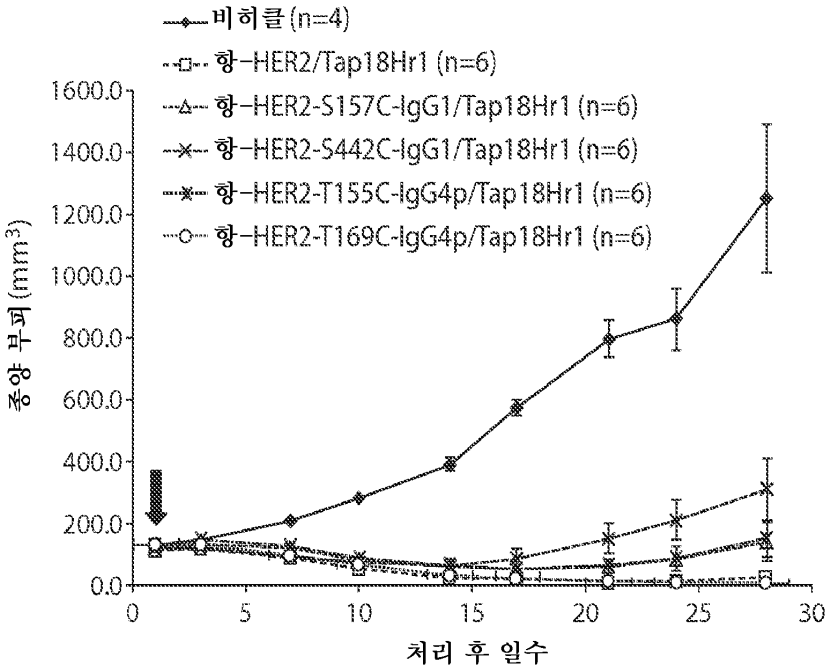
도면6


항-HER2/Tap18Hr1 (3mg/kg) (n=6)
항-HER2/Tap18Hr1 (5mg/kg) (n=6)
비히클 (n=6)
종양 부피 (mm3)
처리 후 일수

도면7


항-HER2/Tap18Hr1 (n=5)
항-HER2-S157C-IgG1/Tap18Hr1 (n=5)
항-HER2-S442C-IgG1/Tap18Hr1 (n=5)
항-HER2-T155C-IgG4p/Tap18Hr1 (n=5)
항-HER2-T169C-IgG4p/Tap18Hr1 (n=5)
항-HER2-S44C-IgG4p/Tap18Hr1 (n=5)
비히클 (n=5)
종양 부피 (mm3)
처리 후 일수

도면8


비히클 (n=4)
항-HER2/Tap18Hr1 (n=6)
항-HER2-S157C-IgG1/Tap18Hr1 (n=6)
항-HER2-S442C-IgG1/Tap18Hr1 (n=6)
항-HER2-T155C-IgG4p/Tap18Hr1 (n=6)
항-HER2-T169C-IgG4p/Tap18Hr1 (n=6)
종양 부피 (mm3)
1600.0
1400.0
1200.0
1000.0
800.0
600.0
400.0
200.0
0.0
0
5
10
15
20
25
30
처리 후 일수