



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0157464
(43) 공개일자 2022년11월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 51/10 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 51/1096 (2013.01)
A61K 51/103 (2020.05)
(21) 출원번호 10-2022-7036615
(22) 출원일자(국제) 2021년03월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년10월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/023755
(87) 국제공개번호 WO 2021/195131
국제공개일자 2021년09월30일
(30) 우선권주장
62/993,622 2020년03월23일 미국(US)

(71) 출원인
퓨전 파마슈티칼즈 인크.
캐나다 엘8피 0에이6 온타리오주 해밀턴 룽우드
로드 사우쓰 270
(72) 발명자
슈바비시, 마크
미국 02482 매사추세츠 웰즐리 에지무어 애비뉴
73
그린슈타인, 나탈리
미국 98021 워싱턴 보텔 212쓰 플레이스 에스이
3630
부락, 에릭 스티븐
캐나다 엔1에스 1씨5 온타리오 캄브리지 제임스
스트리트 40
(74) 대리인
양영준, 이상영

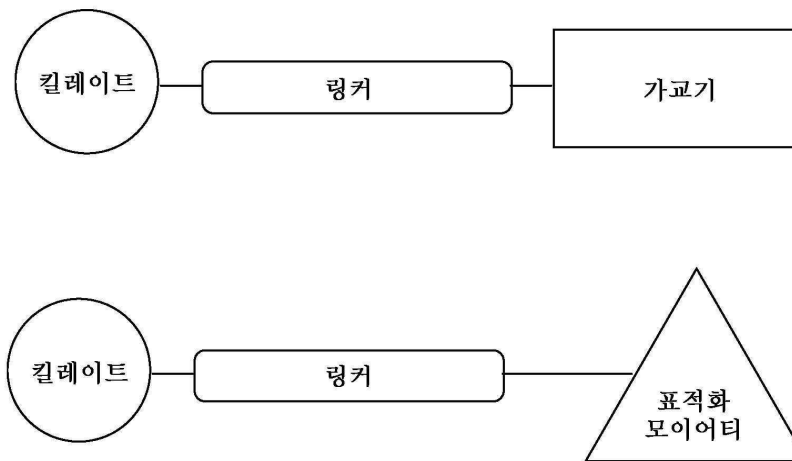
전체 청구항 수 : 총 91 항

(54) 발명의 명칭 FGFR3-표적화된 방사선면역접합체 및 그의 용도

(57) 요약

킬레이트화 모이어티 또는 그의 금속 착물, 링커, 및 FGFR3 표적화 모이어티를 포함하는 방사선면역접합체. 이러한 방사선면역접합체의 제약 조성물 및 이러한 제약 조성물을 사용하여 상태, 예를 들어 암을 치료하는 방법.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 16/2863 (2013.01)

C07K 2317/77 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 구조를 포함하는 방사선면역접합체:

A-L-B

화학식 I-a

여기서 A는 킬레이트화 모이어티 또는 그의 금속 착물이고,

여기서 B는 FGFR3 표적화 모이어티이고,

여기서 L은 링커이다.

청구항 2

제1항에 있어서, A가 킬레이트화 모이어티의 금속 착물인 방사선면역접합체.

청구항 3

제2항에 있어서, 금속 착물이 방사성핵종을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 4

제3항에 있어서, 방사성핵종이 알파 방출체인 방사선면역접합체.

청구항 5

제4항에 있어서, 방사성핵종이 아스타틴-211 (^{211}At), 비스무트-212 (^{212}Bi), 비스무트-213 (^{213}Bi), 악티늄-225 (^{225}Ac), 라듐-223 (^{223}Ra), 납-212 (^{212}Pb), 토륨-227 (^{227}Th), 및 테르븀-149 (^{149}Tb)로 이루어진 군으로부터 선택된 알파 방출체 또는 그의 자손인 방사선면역접합체.

청구항 6

제5항에 있어서, 방사성핵종이 ^{225}Ac 또는 그의 자손인 방사선면역접합체.

청구항 7

제1항에 있어서, L이 화학식 I-b 내에 제시된 바와 같은 구조 $-\text{L}^1-(\text{L}^2)_n-$ 을 갖는 것인 방사선면역접합체:

$\text{A}-\text{L}^1-(\text{L}^2)_n-\text{B}$

화학식 I-b

여기서

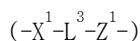
A는 킬레이트화 모이어티 또는 그의 금속 착물이고;

B는 FGFR3 표적화 모이어티이고;

L^1 은 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬, 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬, 또는 임의로 치환된 아릴 또는 헤테로아릴이고;

n은 1 내지 5 (포함)이고;

각각의 L^2 는 독립적으로 하기 구조를 갖고:



화학식 III

여기서

X^1 은 $C=O(NR^1)$, $C=S(NR^1)$, $OC=O(NR^1)$, $NR^1C=O(O)$, $NR^1C=O(NR^1)$, $-CH_2PhC=O(NR^1)$, $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^1)$, O, 또는 NR^1 이고; 각각의 R^1 은 독립적으로 H, 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬, 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬, 또는 임의로 치환된 아릴 또는 헤테로아릴이고, 여기서 C_1-C_6 알킬은 옥소 (=O), 헤테로아릴, 또는 그의 조합에 의해 치환될 수 있고;

L^3 은 임의로 치환된 C_1-C_{50} 알킬 또는 임의로 치환된 C_1-C_{50} 헤테로알킬이고;

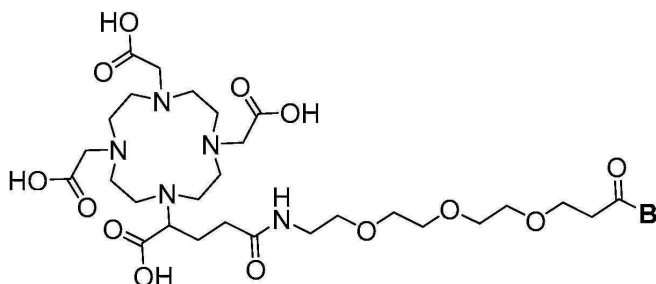
Z^1 은 CH_2 , $C=O$, $C=S$, $OC=O$, $NR^1C=O$, 또는 NR^1 이고, 여기서 R^1 은 수소 또는 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬 또는 피롤리딘-2,5-디온이다.

청구항 8

제7항에 있어서, L^3 이 C_5-C_{20} 폴리에틸렌 글리콜인 방사선면역접합체.

청구항 9

제7항에 있어서, 하기 구조를 포함하는 방사선면역접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염:



여기서 B는 FGFR3 표적화 모이어티이다.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 적어도 100 kDa 크기인 방사선면역접합체.

청구항 11

제10항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 적어도 150 kDa 크기인 방사선면역접합체.

청구항 12

제11항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 적어도 200 kDa 크기인 방사선면역접합체.

청구항 13

제12항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 적어도 250 kDa 크기인 방사선면역접합체.

청구항 14

제13항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 적어도 300 kDa 크기인 방사선면역접합체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 인간 FGFR3에 결합할 수 있는 것인 방사선면역접합체.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 야생형 FGFR3에 결합할 수 있는 것인 방사선면역접합체.

청구항 17

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 돌연변이체 FGFR3에 결합할 수 있는 것인 방사선면역접합체.

청구항 18

제17항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 야생형 및 돌연변이체 FGFR3 둘 다에 결합할 수 있는 것인 방사선면역접합체.

청구항 19

제17항 또는 제18항에 있어서, 돌연변이체 FGFR3이 점 돌연변이를 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 20

제19항에 있어서, 점 돌연변이가 암과 연관된 것인 방사선면역접합체.

청구항 21

제20항에 있어서, 점 돌연변이체가 FGFR3^{Y375C}, FGFR3^{R248C}, FGFR3^{S249C}, FGFR3^{G372C}, FGFR3^{K652E}, FGFR3^{K652Q}, FGFR3^{K652M}, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방사선면역접합체.

청구항 22

제16항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 돌연변이체 FGFR3이 FGFR3 융합체를 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 23

제22항에 있어서, FGFR3 융합체가 FGFR3-TACC3, FGFR3-CAMK2A, FGFR3-JAKMOP1, FGFR3-TNIP2, FGFR3-WHSC1, FGFR3-BAIAP2L1, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방사선면역접합체.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 25

제24항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 인간화된 것인 방사선면역접합체.

청구항 26

제24항 또는 제25항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 (CDR)-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;

서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는

서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 27

제26항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;

서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는

서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 28

제27항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;

서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는

서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3개의 CDR을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 29

제28항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-

H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;

서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는

서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 4개의 CDR을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 30

제29항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;

서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는

서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 5개의 CDR을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 31

제30항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;

서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및

서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 32

제24항 또는 제25항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및

서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 33

제32항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및

서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 34

제32항 또는 제33항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및

서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변 도메인
을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 35

제34항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및

서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변 도메인
을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 36

제35항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및

서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
을 포함하는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 37

제36항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및

서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

을 포함하는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 38

제27항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 39

제38항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 40

제39항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열과 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 41

제40항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 42

제41항에 있어서, 항체가 MFGR1877S (보파타맵)인 방사선면역접합체.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 방사선면역접합체 또는 그의 조성물을 포유동물에게 투여한 후에, 장 경로, 신장 경로, 또는 둘 다의 경로에 의해 배출되는 방사선의 비율이 참조 방사선면역접합체를 투여받은 대등한 포유동물에 의한 동일한 경로(들)에 의해 배출되는 방사선의 비율보다 적어도 2-배 더 큰 것인 방사선면역접합체.

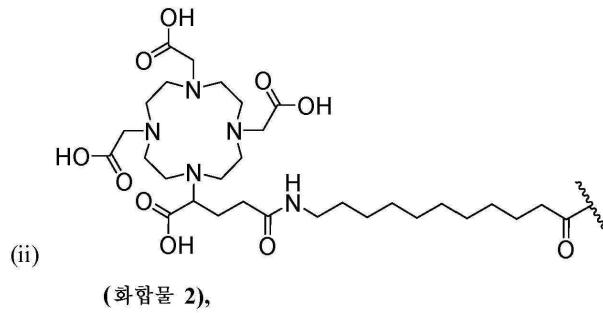
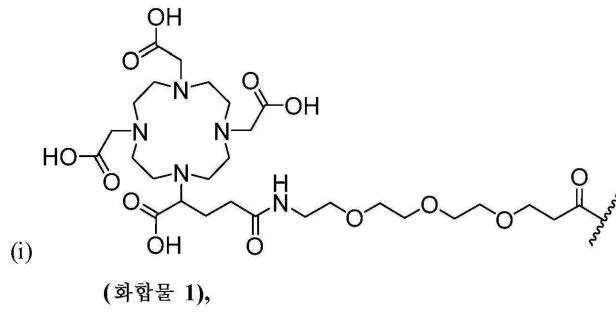
청구항 44

제43항에 있어서, 방사선면역접합체 또는 그의 조성물을 포유동물에게 투여한 후에, 장 경로, 신장 경로, 또는 둘 다의 경로에 의해 배출되는 방사선의 비율이 참조 방사선면역접합체를 투여받은 대등한 포유동물에 의한 동

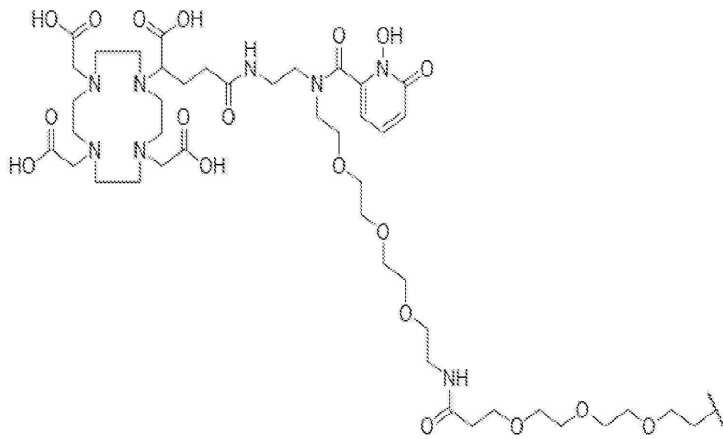
일한 경로(들)에 의해 배출되는 방사선의 비율보다 적어도 3-배 더 큰 것인 방사선면역접합체.

청구항 45

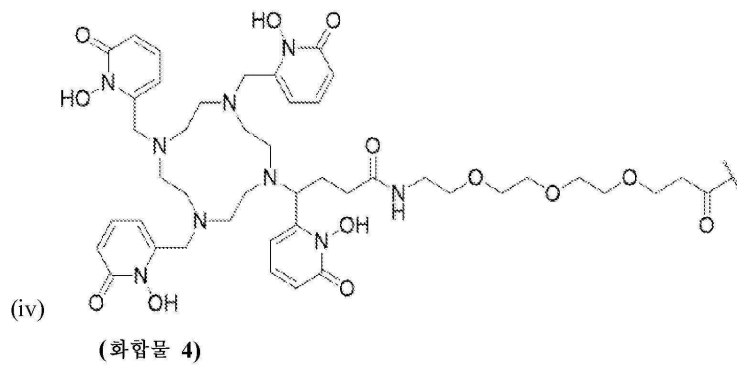
제1항에 있어서, A-L-이



(iii)



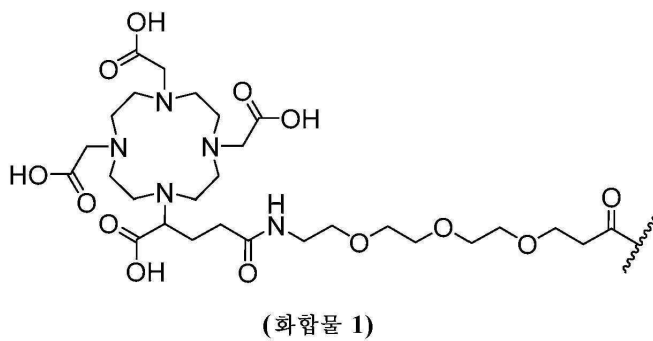
(화합물 3), 및



로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물의 금속 착물인 방사선면역접합체.

청구항 46

제45항에 있어서, A-L-이



의 금속 착물인 방사선면역접합체.

청구항 47

제46항에 있어서, 금속 착물이 방사성핵종을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 48

제47항에 있어서, 방사성핵종이 알파 방출체인 방사선면역접합체.

청구항 49

제48항에 있어서, 방사성핵종이 아스타틴-211 (^{211}At), 비스무트-212 (^{212}Bi), 비스무트-213 (^{213}Bi), 악티늄-225 (^{225}Ac), 라듐-223 (^{223}Ra), 납-212 (^{212}Pb), 토륨-227 (^{227}Th), 및 테르븀-149 (^{149}Tb)로 이루어진 군으로부터 선택된 알파 방출체 또는 그의 자손인 방사선면역접합체.

청구항 50

제49항에 있어서, 방사성핵종이 ^{225}Ac 또는 그의 자손인 방사선면역접합체.

청구항 51

제50항에 있어서, FGFR3 표적화 모이어티가 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 52

제51항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 인간화된 것인 방사선면역접합체.

청구항 53

제52항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;

서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및

서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및

서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

을 포함하는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 54

제52항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열과 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 55

제54항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및

(ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인

을 포함하는 것인 방사선면역접합체.

청구항 56

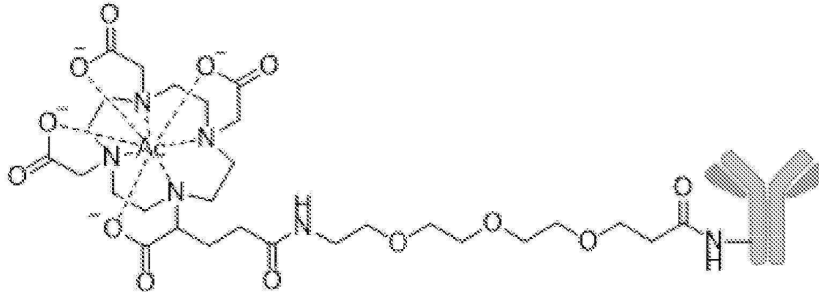
제55항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 MFGR1877S (보파타맙) 또는 그의 항원-결합 단편인 방사선면역접합체.

청구항 57

제56항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 MFGR1877S (보파타맵)인 방사선면역접합체.

청구항 58

제46항에 있어서, 하기 구조를 포함하는 방사선면역접합체:



여기서  는 MFGR1877S (보파타맵)이고, 여기서 상기 제시된 항체에 부착된 아민 기 NH-는 항체의 일부인 리신 유닛으로부터의 것이다.

청구항 59

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항의 방사선면역접합체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 60

암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제58항 중 어느 한 항의 방사선면역접합체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 대상체가 포유동물인 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 포유동물이 인간인 방법.

청구항 63

제60항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 고형 종양 암인 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 고형 종양 암이 부신피질 암종, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 자궁내막 선암종, 유잉 육종, 담낭 암종, 신경교종, 두경부암, 간암, 폐암, 신경모세포종, 신경내분비암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 타액 선양 낭성암, 또는 정모세포성 정상피종인 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 고형 종양 암이 방광암인 방법.

청구항 66

제64항에 있어서, 고형 종양 암이 신경교종인 방법.

청구항 67

제64항에 있어서, 고형 종양 암이 신경모세포종인 방법.

청구항 68

제64항에 있어서, 고형 종양 암이 췌장암인 방법.

청구항 69

제64항에 있어서, 고형 종양 암이 유방암인 방법.

청구항 70

제64항에 있어서, 고형 종양 암이 두경부암인 방법.

청구항 71

제64항에 있어서, 고형 종양 암이 간암인 방법.

청구항 72

제64항에 있어서, 고형 종양 암이 폐암인 방법.

청구항 73

제60항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 비-고형 종양 암인 방법.

청구항 74

제73항에 있어서, 암이 액상 암 또는 혈액암인 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 암이 골수종인 방법.

청구항 76

제75항에 있어서, 골수종이 다발성 골수종인 방법.

청구항 77

제74항에 있어서, 암이 백혈병인 방법.

청구항 78

제74항에 있어서, 암이 림프종인 방법.

청구항 79

제60항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 제약 조성물이 전신으로 투여되는 것인 방법.

청구항 80

제79항에 있어서, 제약 조성물이 비경구로 투여되는 것인 방법.

청구항 81

제80항에 있어서, 제약 조성물이 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 82

제80항에 있어서, 제약 조성물이 동맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 83

제80항에 있어서, 제약 조성물이 복강내로 투여되는 것인 방법.

청구항 84

제80항에 있어서, 제약 조성물이 피하로 투여되는 것인 방법.

청구항 85

제80항에 있어서, 제약 조성물이 피내로 투여되는 것인 방법.

청구항 86

제79항에 있어서, 제약 조성물이 장으로 투여되는 것인 방법.

청구항 87

제86항에 있어서, 제약 조성물이 위장관을 통해 투여되는 것인 방법.

청구항 88

제86항에 있어서, 제약 조성물이 경구로 투여되는 것인 방법.

청구항 89

제60항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 제약 조성물이 국부로 투여되는 것인 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 제약 조성물이 종양주위 주사에 의해 투여되는 것인 방법.

청구항 91

제89항에 있어서, 제약 조성물이 종양내 주사에 의해 투여되는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원

[0002]

본 출원은 2020년 3월 23일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/993,622에 대한 우선권을 주장하며, 그의 전체 내용은 모든 목적상 본원에 참조로 포함된다.

[0003]

서열 목록

[0004]

본 명세서는 서열 목록 (2021년 3월 23일에 "FPI_012_Sequence_Listing.txt"로 명명된 .txt 파일로서 전자적으로 제출됨)을 참조한다. .txt 파일은 2021년 3월 22일에 생성되었고, 크기는 8 kb이다. 서열 목록의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

[0005]

섬유모세포 성장 인자 (FGF) 및 그의 수용체 (FGFR)는 배아 발생, 조직 항상성 및 대사 동안 중요한 역할을 한다. 인간에서, 22종의 FGF (FGF1-14, FGF16-23) 및 티로신 키나제 도메인을 갖는 4종의 FGF 수용체 (FGFR1-4)가 존재한다. FGFR은 2 또는 3개의 이뮤노글로불린-유사 도메인 (IgD1-3)을 갖는 세포외 리간드 결합 영역, 단일-통과 막횡단 영역, 및 세포질, 분할 티로신 키나제 도메인으로 이루어진다. FGF 및 그의 동족 수용체는 콘텍스트-의존성 방식으로 증식, 분화, 이동 및 생존을 비롯한 광범위한 세포 과정을 조절한다. FGFR은 종종 구성적 활성화를 부여하는 돌연변이로 인해 많은 암 유형에서 과다발현된다.

[0006]

비정상적으로 활성화된 FGFR은 특정 인간 악성종양에 연루되어 왔다. 예를 들어, t(4; 14) (p16.3;q32) 염색체 전좌는 다발성 골수종 환자의 약 15-20%에서 발생하며, 이는 FGFR3의 과다발현으로 이어지고, 보다 짧은 전체 생존과 상관관계가 있다. FGFR3은 배양물 중 골수종 세포주에 대해 화학요법저항성을 부여하는데 연루되며, 이는 통상적인 화학요법에 대한 t(4; 14)+ 환자의 불량한 임상 반응과 일치한다. 돌연변이 활성화된 FGFR3의 과

다발현은 조혈 세포 및 섬유모세포, 트랜스제닉 마우스 모델, 및 뮤린 골수 이식 모델에서 종양원성 형질전환을 유도하기에 충분하다. FGFR3-TACC3 (형질전환 산성 코일드-코일 3) 종양원성 융합체가 또한 교모세포종 및 다른 암의 하위세트에서 관찰되었고, 초기 데이터는 이러한 종양이 FGFR 억제에 감수성일 수 있음을 시사한다. 추가적으로, FGFR3을 활성화시키는 게놈 변경은 전이성 방광 요로상피 암종을 비롯한 방광암에서 빈번하다.

[0007] 따라서, FGFR3은 암에 대한 잠재적 치료 표적으로서 제안되었다. FGFR을 표적화하는 여러 소분자 억제제는 배양물 및 마우스 모델에서 FGFR3-양성 골수종 세포에 대해 세포독성을 입증하였다. 그러나, 이들 소분자는 FGFR3에 대해 선택적이지 않고, 특정의 다른 키나제에 대해 억제 활성을 나타낸다.

[0008] 따라서, FGFR3을 표적화할 수 있는 개선된 치료제 (예를 들어, 암 치료제)에 대한 필요가 남아있다.

발명의 내용

[0009] 본 개시내용은 FGFR3 (예를 들어, 야생형 및/또는 돌연변이체 FGFR3을 포함한 인간 FGFR3)을 표적화하는 방사선면역접합체, 그의 제약 조성물, 및 이러한 제약 조성물을 사용하여 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 제공되는 방사선면역접합체는 치료 효능을 여전히 유지하면서, 일부 현재 공지된 방사선요법제와 비교하여 (예를 들어, 포유동물에게 투여된 후에) 증가된 배출 속도를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 보다 빠른 배출은 방사선면역접합체가 대상체에서 머무르는 시간의 양을 제한함으로써 오프-타겟 독성을 제한할 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 제공된 면역접합체는 감소된 오프-타겟 독성을 나타낸다.

[0010] 특정 실시양태에서, 하기 구조를 포함하는 방사선면역접합체가 제공되며:

[0011] A-L-B

[0012] (화학식 I-a)

[0013] 여기서 A는 킬레이트화 모이어티 또는 그의 금속 착물이고, B는 FGFR3 표적화 모이어티이고, L은 링커이다.

[0014] 일부 실시양태에서, A는 킬레이트화 모이어티의 금속 착물이다. 일부 이러한 실시양태에서, 금속 착물은 방사성핵종을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방사성핵종은 알파 방출체, 예를 들어 아스타틴-211 (^{211}At), 비스무트-212 (^{212}Bi), 비스무트-213 (^{213}Bi), 악티늄-225 (^{225}Ac), 라듐-223 (^{223}Ra), 납-212 (^{212}Pb), 토륨-227 (^{227}Th), 및 테르븀-149 (^{149}Tb)로 이루어진 군으로부터 선택된 알파 방출체 또는 그의 자손이다. 일부 실시양태에서, 방사성핵종은 ^{225}Ac 또는 그의 자손이다.

[0015] 일부 실시양태에서, L은 화학식 I-b 내에 제시된 바와 같은 구조 $-\text{L}^1-(\text{L}^2)_n-$ 를 갖고:

[0016] $\text{A-L}^1-(\text{L}^2)_n-\text{B}$

[0017] 화학식 I-b

[0018] 여기서:

[0019] A는 킬레이트화 모이어티 또는 그의 금속 착물이고;

[0020] B는 FGFR3 표적화 모이어티이고;

[0021] L^1 은 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬, 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬, 또는 임의로 치환된 아릴 또는 헤테로아릴이고;

[0022] n은 1 내지 5 (포함)이고;

[0023] 각각의 L^2 는 독립적으로 하기 구조를 갖고:

[0024] $(-\text{X}^1-\text{L}^3-\text{Z}^1-)$

[0025] 화학식 III

[0026] 여기서:

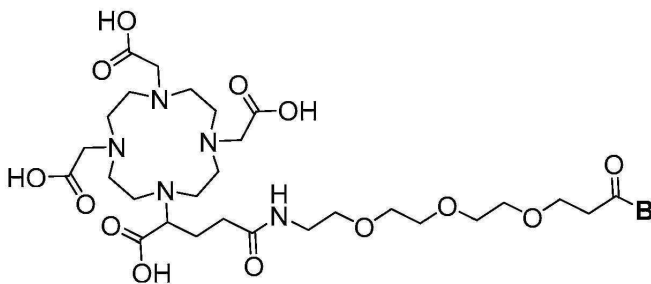
[0027] X^1 은 $C=O(NR^1)$, $C=S(NR^1)$, $OC=O(NR^1)$, $NR^1C=O(O)$, $NR^1C=O(NR^1)$, $-CH_2PhC=O(NR^1)$, $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^1)$, O, 또는 NR^1 이고; 각각의 R^1 은 독립적으로 H, 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬, 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬, 또는 임의로 치환된 아릴 또는 헤테로아릴이고, 여기서 C_1-C_6 알킬은 옥소 (=O), 헤테로아릴, 또는 그의 조합에 의해 치환될 수 있고;

[0028] L^3 은 임의로 치환된 C_1-C_{50} 알킬 또는 임의로 치환된 C_1-C_{50} 헤테로알킬이고;

[0029] Z^1 은 CH_2 , $C=O$, $C=S$, $OC=O$, $NR^1C=O$, 또는 NR^1 이고, 여기서 R^1 은 수소 또는 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬 또는 피롤리딘-2,5-디온이다.

[0030] 일부 실시양태에서, L^3 은 C_5-C_{20} 폴리에틸렌 글리콜이다.

[0031] 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염은 하기 구조를 포함하며:



[0032]

[0033] 여기서 B는 FGFR3 표적화 모이어티이다.

[0034] 일부 실시양태에서, FGFR3 표적화 모이어티는 적어도 100 kDa 크기, 예를 들어, 적어도 150 kDa 크기, 적어도 200 kDa 크기, 적어도 250 kDa 크기, 또는 적어도 300 kDa 크기이다.

[0035] 일부 실시양태에서, FGFR3 표적화 모이어티는 인간 FGFR3에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, FGFR3 표적화 모이어티는 야생형 FGFR3에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, FGFR3 표적화 모이어티는 돌연변이체 FGFR3에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, FGFR3 표적화 모이어티는 야생형 및 돌연변이체 FGFR3 둘 다에 결합할 수 있다.

[0036] 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 점 돌연변이를 포함하며, 예를 들어 점 돌연변이는 압과 연관된다. 일부 실시양태에서, 점 돌연변이체는 FGFR3Y375C, FGFR3R248C, FGFR3S249C, FGFR3G372C, FGFR3K652E, FGFR3K652Q, FGFR3K652M, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0037] 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 FGFR3 융합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR3 융합체는 FGFR3-TACC3, FGFR3-CAMK2A, FGFR3-JAKMOP1, FGFR3-TNIP2, FGFR3-WHSC1, FGFR3-BAIAP2L1, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0038] 일부 실시양태에서, FGFR3 표적화 모이어티는 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어 인간화 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0039] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은

[0040] 서열식별번호(SEQ ID NO): 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR)-H1;

[0041] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;

[0042] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;

[0043] 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-

L1;

- [0044] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는
- [0045] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0046] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함한다.
- [0047] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0048] 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0049] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;
- [0050] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;
- [0051] 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;
- [0052] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는
- [0053] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0054] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함한다.
- [0055] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0056] 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0057] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;
- [0058] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;
- [0059] 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;
- [0060] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는
- [0061] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0062] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3개의 CDR을 포함한다.
- [0063] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0064] 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0065] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;
- [0066] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;
- [0067] 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

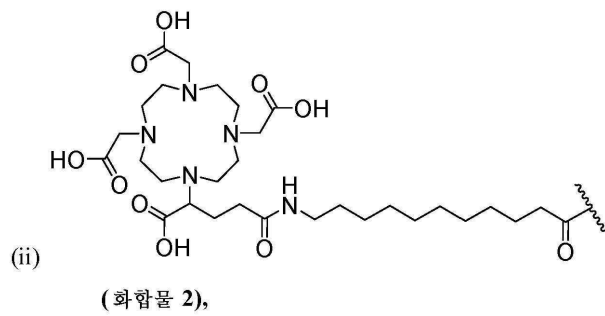
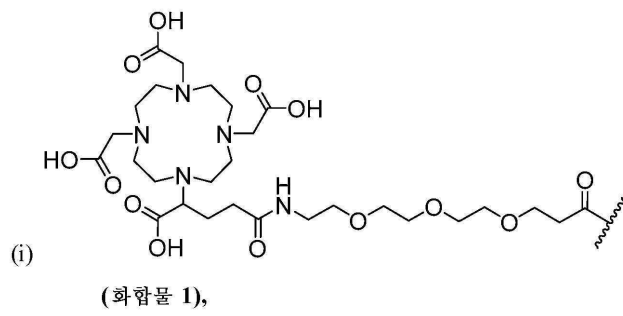
- [0068] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는
- [0069] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0070] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 4개의 CDR을 포함한다.
- [0071] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0072] 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0073] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;
- [0074] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;
- [0075] 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;
- [0076] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 또는
- [0077] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0078] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 5개의 CDR을 포함한다.
- [0079] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0080] 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0081] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2;
- [0082] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;
- [0083] 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;
- [0084] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및
- [0085] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0086] 을 포함한다.
- [0087] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0088] (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0089] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및
- [0090] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3
- [0091] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및
- [0092] (ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;

- [0093] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및
- [0094] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0095] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0096] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0097] (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0098] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및
- [0099] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3
- [0100] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및
- [0101] (ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;
- [0102] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및
- [0103] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0104] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0105] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0106] (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0107] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및
- [0108] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3
- [0109] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및
- [0110] (ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;
- [0111] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및
- [0112] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0113] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0114] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0115] (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0116] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및
- [0117] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3
- [0118] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및
- [0119] (ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;
- [0120] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및
- [0121] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0122] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0123] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0124] (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는

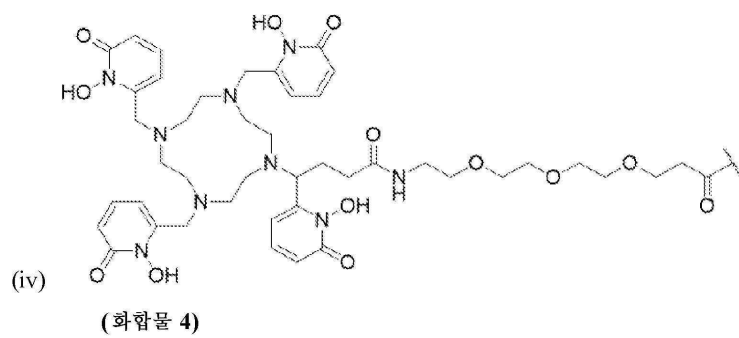
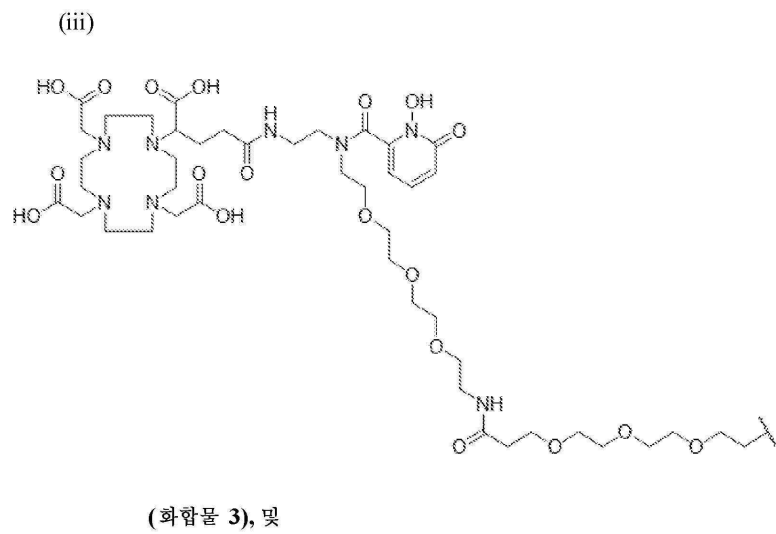
CDR-H1;

- [0125] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및
- [0126] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 3 또는 4와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3
- [0127] 을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및
- [0128] (ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;
- [0129] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및
- [0130] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0131] 을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0132] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은
- [0133] (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1;
- [0134] 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및
- [0135] 서열식별번호: 3 또는 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3
- [0136] 을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및
- [0137] (ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1;
- [0138] 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및
- [0139] 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
- [0140] 을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0141] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 (i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인; 및 (ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0142] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 (i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인; 및 (ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0143] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 (i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열과 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인; 및 (ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0144] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 (i) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인; 및 (ii) 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0145] 일부 실시양태에서, 항체는 MFGR1877S (보파타맙)이다.
- [0146] 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체 또는 그의 조성물을 포유동물에게 투여한 후에, 장 경로, 신장 경로, 또는 둘 다의 경로에 의해 배출되는 방사선의 비율은 참조 방사선면역접합체를 투여받은 대등한 포유동물에 의한 동일한 경로(들)에 의해 배출되는 방사선의 비율보다 적어도 2-배 더 크다.
- [0147] 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체 또는 그의 조성물을 포유동물에게 투여한 후에, 장 경로, 신장 경로, 또는 둘 다의 경로에 의해 배출되는 방사선의 비율은 참조 방사선면역접합체를 투여받은 대등한 포유동물에 의한 동일한 경로(들)에 의해 배출되는 방사선의 비율보다 적어도 3-배 더 크다.

[0148] 일부 실시양태에서, A-L-은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물의 금속 착물이다:

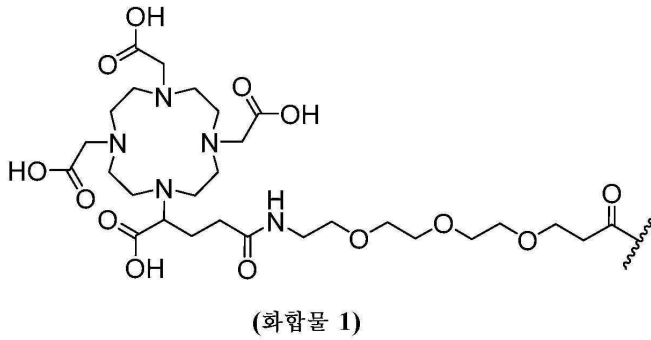


[0149]



[0150]

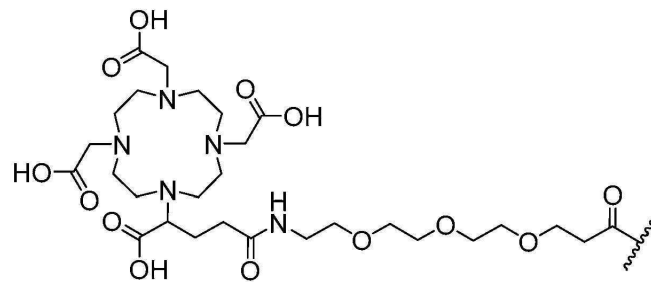
[0151] 일부 실시양태에서, A-L-은



[0152]

[0153] 의 금속 착물이다.

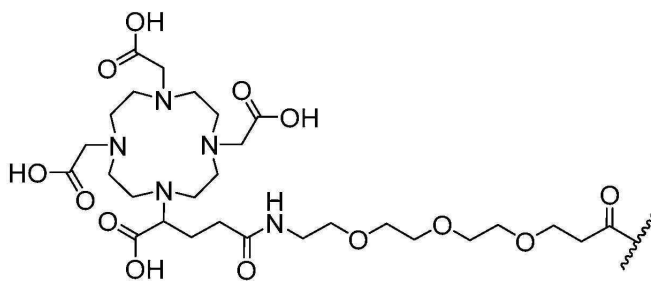
[0154] 일부 실시양태에서, A-L-은



[0155]

[0156] 의 금속 착물이고, 금속 착물은 방사성핵종, 예컨대 알파 방출체 (예를 들어, 아스타틴-211 (^{211}At), 비스무트-212 (^{212}Bi), 비스무트-213 (^{213}Bi), 악티늄-225 (^{225}Ac), 라듐-223 (^{223}Ra), 납-212 (^{212}Pb), 토륨-227 (^{227}Th), 및 테르븀-149 (^{149}Tb), 또는 그의 자손)를 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR3 표적화 모이어티는 항체 또는 그의 항원-결합 단편 (예를 들어, 인간화 항체 또는 그의 항원-결합 단편)이다.

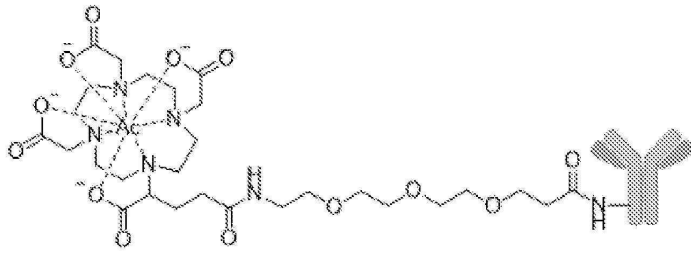
[0157] 일부 실시양태에서, A-L-은



[0158]

[0159] 의 금속 착물이고, 금속 착물은 ^{225}Ac 또는 그의 자손을 포함하고, FGFR3 표적화 모이어티는 MFGR1877S (보파타맙) 또는 그의 항원-결합 단편이다. 일부 실시양태에서, FGFR3 표적화 모이어티는 MFGR1877S (보파타맙)이다.

[0160] 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체는 하기 구조를 포함하며:



[0161]



[0162] 여기서 는 MFGR1877S (보파타말)이고, 여기서 상기 제시된 항체에 부착된 아민 기 NH-는 항체의 일부인 리신 유닛으로부터의 것이다.

[0163] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 방사선면역접합체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 제공된다.

[0164] 특정 실시양태에서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 방사선면역접합체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법이 제공된다.

[0165] 일부 실시양태에서, 대상체는 포유동물, 예를 들어 인간이다.

[0166] 일부 실시양태에서, 암은 고형 종양 암이다. 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 부신피질 암종, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 자궁내막 선암종, 유방 육종, 담낭 암종, 신경교종, 두경부암, 간암, 폐암, 신경모세포종, 신경내분비암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 타액 선양 낭성암, 또는 정모세포성 정상피종이다. 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 방광암이다. 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 신경교종이다. 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 신경모세포종이다. 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 췌장암이다. 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 유방암이다. 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 두경부암이다. 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 간암이다. 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 폐암이다.

[0167] 일부 실시양태에서, 암은 비-고형 종양 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 액상 암 또는 혈액암, 예를 들어 골수종 (예를 들어, 다발성 골수종), 백혈병, 또는 림프종이다.

[0168] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 전신으로 투여된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 비경구로, 예를 들어 정맥내로, 동맥내로, 복강내로, 피하로, 또는 피내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 장으로, 예를 들어 위장관을 통해 또는 경구로 투여된다.

[0169] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 국부로, 예를 들어 종양주위 주사에 의해 또는 종양내 주사에 의해 투여된다.

도면의 간단한 설명

[0170] 도 1a는 킬레이트, 링커, 및 표적화 모이어티를 포함하는 접합체의 일반 구조를 도시한 개략도이다.

도 1b는 본원에 개시된 예시적인 방사선면역접합체인 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3의 구조를 도시한 개략도이다.

도 2는 이관능성 킬레이트, 4-([11-옥소-11-(2,3,5,6-테트라플루오로페녹시)운데실]카르바모일)-2-[4,7,10-트리스(카르복시메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1-일]부탄산 (화합물 B)의 합성을 도시한 개략도이다. 화합물 B의 합성은 실시예 2에 기재되어 있다.

도 3은 이관능성 킬레이트, 4-([2-(2-{2-[3-옥소-3-(2,3,5,6-테트라플루오로페녹시)프로폭시]에톡시}에톡시)에틸]카르바모일)-2-[4,7,10-트리스(카르복시메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1-일]부탄산 (화합물 C)의 합성을 도시한 개략도이다. 화합물 C의 합성은 실시예 4에 기재되어 있다.

도 4a-4c는 RT4 (도 4a), RT112 (도 4b), 및 HepG2 (도 4c) FGFR3-양성 종양 세포에 대한 비표지된 DOTA-항-FGFR3 결합에 대한 결합 곡선이다. 실시예 16을 참조한다.

도 5는 RT4 (방광암) 이종이식 종양을 보유하고 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3를 주사한 마우스에서의 생체분포 연구의 결과를 나타내는 플롯을 보여준다. 조직 그램당 주사 용량 백분율 (% ID/g)을 x-축 상에 플롯팅하고, 4, 24, 48, 96, 및 168시간째에 혈액, 신장, 간, 폐, 비장, 피부, 종양, 및 꼬리에 대해 제시한다. 실시예 17을 참조한다.

도 6a는 RT112 (방광암) 이종이식 종양을 보유하고 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3를 주사한 마우스에서의 생체분포 연구의 결과를 나타내는 플롯을 보여준다. % ID/g를 x-축 상에 플롯팅하고, 4, 24, 48, 및 96시간째에 혈액, 장, 신장 및 부신, 간 및 담낭, 폐, 비장, 피부, 방광, 소변, 및 종양에 대해 제시한다. 실시예 18을 참조한다.

도 6b는 RT112 (방광암) 이종이식 종양을 보유하고 콜드 항-FGFR3의 사전-투여 후 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3를 주사한 마우스에서의 생체분포 연구의 결과를 나타내는 플롯을 보여준다. % ID/g를 x-축 상에 플롯팅하고, 4, 24, 48, 및 96시간째에 혈액, 장, 신장 및 부신, 간 및 담낭, 폐, 비장, 피부, 방광, 소변, 및 종양에 대해 제시한다. 마우스에게 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3를 제공하기 3시간 전에 100 μg 콜드 (비-방사성, 비-접합된) 항-FGFR3 항체의 사전-투여를 제공하였다. 실시예 18을 참조한다.

도 7a-7c는 RT112 (방광암) 이종이식 종양을 보유하고 콜드 항-FGFR3 및 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3를 공투여한 마우스에서의 생체분포 연구의 결과를 나타내는 플롯을 보여준다. % ID/g를 x-축 상에 플롯팅하고, 24 및 96시간째에 혈액, 장, 신장, 간, 폐, 비장, 피부, 방광, 소변, 및 종양에 대해 제시한다. 마우스에게 50 μg (도 7a), 100 μg (도 7b), 또는 200 μg (도 7c)의 콜드 항-FGFR3를 공투여하였고; 콜드 항-FGFR3는 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3과 동시에 투여하였다. 실시예 19를 참조한다.

도 8a-8b는 RT112 (방광암) 이종이식 종양을 보유하고 콜드 항-FGFR3 및 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3 (도 8a) 또는 [^{111}In]-DOTA-항-FGFR3 (도 8b)를 공투여한 마우스에서의 생체분포 연구의 결과를 나타내는 플롯을 보여준다. % ID/g를 x-축 상에 플롯팅하고, 4, 24, 48, 96, 및 168시간째에 혈액, 장, 신장, 간, 폐, 비장, 피부, 방광, 및 종양에 대해 제시한다. 마우스에게 100 μg 의 콜드 항-FGFR3를 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3와 함께 공투여하였다. 실시예 19를 참조한다.

도 9a 및 9b는 실험 시작 시, RT112 이종이식 종양을 보유하는 마우스에서의 상대 종양 부피 (도 9a) 및 상대 체중 (도 9b)을 보여주는 플롯이다. 상대 종양 부피 (도 9a) 및 상대 체중 (도 9b)은 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3를 사용한 처리 후 다양한 시점에서 제시된다. 마우스에게 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3를 투여하기 3시간 전에 100 μg 콜드 항-FGFR3의 사전-용량을 투여하였다. 실시예 20을 참조한다.

도 10a 및 10b는 실험 시작 시, RT112 이종이식 종양을 보유하는 마우스에서의 상대 종양 부피 (도 10a) 및 상대 체중 (도 10b)을 보여주는 플롯이다. 상대 종양 부피 (도 10a) 및 상대 체중 (도 10b)은 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3를 사용한 처리 후 다양한 시점에서 제시된다. 마우스에게 100 μg 의 콜드 항-FGFR3를 공투여하였다. 실시예 21을 참조한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0171] 방사선면역접합체는 질환 상태에서 상향조절되는 단백질 또는 수용체를 표적화하여 방사성 페이로드를 전달함으로써 관심 세포를 손상 및 사멸시키도록 설계된다 (방사선면역요법). 이러한 페이로드를 방사성 붕괴를 통해 전달하는 과정은 DNA에 직접 효과 (예컨대 단일 또는 이중 가닥 DNA 파괴) 또는 간접 효과, 예컨대 방관자 또는 십자포화 효과를 유발할 수 있는 알파, 베타, 또는 감마 입자 또는 오거 전자를 생산한다.
- [0172] 방사선면역접합체는 전형적으로 생물학적 표적화 모이어티 (예를 들어, 인간 FGFR3에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 그의 항원 결합 단편), 방사성동위원소, 및 이들 둘을 연결하는 분자를 함유한다. 접합체는 이관능성 킬레이트가 표적 친화도는 유지하면서 구조적 변경이 최소이도록 생물학적 표적화 분자에 부착되는 경우에 형성된다. 일단 방사성표지되면, 최종 방사선면역접합체가 형성된다.
- [0173] 이관능성 킬레이트는 구조적으로 킬레이트, 링커, 및 표적화 모이어티, 예를 들어 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 함유한다 (도 1). 신규 이관능성 킬레이트의 개발 시, 대부분의 노력은 분자의 킬레이트화 부분에 집중된다. 이관능성 킬레이트의 몇몇 예는 표적화된 모이어티에 접합된 다양한 시클릭 및 비-시클릭 구조를 갖는 것

으로 기재되었다. [Bioconjugate Chem. 2000, 11, 510-519; Bioconjugate Chem. 2012, 23, 1029-1039; Mol Imaging Biol. 2011, 13, 215-221, Bioconjugate Chem. 2002, 13, 110-115.]

[0174] 안전하고 효과적인 방사선면역접합체를 개발하는 주요 인자 중 하나는 정상 조직에서 오프-타겟 독성을 최소화 하면서 효능을 최대화하는 것이다. 이러한 언급은 신규 약물 개발의 핵심 신조 중 하나이지만, 방사선면역요법에 대한 적용은 신규 도전과제를 제시한다. 방사선면역접합체는 치료 효능을 갖기 위해, 치료 항체에서 필요한 바와 같이 수용체를 차단하거나, 또는 항체 약물 접합체에서 요구되는 바와 같이 세포독성 페이로드를 세포 내로 방출할 필요가 없다. 그러나, 독성 입자의 방출은 1차 (방사성) 붕괴의 결과로서 발생하고 투여 후 신체 내부의 임의의 곳에서 무작위로 발생할 수 있는 사건이다. 일단 방출이 발생하면, 방출 범위 내의 주변 세포에 손상이 발생할 수 있으며, 이는 오프-타겟 독성의 잠재력으로 이어진다. 따라서, 정상 조직에 대한 이들 방출의 노출을 제한하는 것은 신규 약물 개발의 핵심이다.

[0175] 오프-타겟 노출을 감소시키기 위한 하나의 잠재적 방법은 신체로부터 (예를 들어, 신체 내 정상 조직으로부터) 방사능을 보다 효과적으로 제거하는 것이다. 하나의 메카니즘은 생물학적 표적화제의 클리어런스를 증가시키는 것이다. 이러한 접근법은 생물학적 표적화제의 반감기를 단축시키는 방식을 확인하는 것을 필요로 할 가능성이 있으며, 이는 생물학적 표적화제에 대해 널리 기재되어 있지 않다. 메카니즘에 상관없이, 약물 클리어런스를 증가시키는 것은 또한, 신체로부터의 약물의 보다 신속한 제거가 작용 부위에서의 유효 농도를 낮출 것이며, 이는 다시 보다 높은 총 용량을 필요로 할 것이고, 정상 조직에 대한 총 방사성 용량을 감소시키는 목적하는 결과를 달성하지 못할 것이라는 점에서 약역학/효능에 부정적인 영향을 미칠 것이다.

[0176] 다른 노력은 방사성 모이어티를 함유하는 분자 부분의 대사를 가속화하는데 집중되어 왔다. 이를 위해, "절단 가능한 링커"로 명명된 것을 사용하여 생물학적 표적화제로부터 방사능의 절단 속도를 증가시키기 위한 일부 노력이 이루어졌다. 그러나, 절단가능한 링커는 방사선면역접합체와 관련된 바에 따라 상이한 의미로 받아들여져 왔다. 코넬리센(Cornelissen) 등은 이관능성 접합체가 환원된 시스테인을 통해 생물학적 표적화제에 부착되게 하는 것으로서 절단가능한 링커를 기재한 반면, 다른 이는 방출을 위해 방사선면역접합체와 절단제/효소의 공투여를 필요로 하는 효소-절단가능한 시스템의 사용을 기재하였다 [Mol Cancer Ther. 2013, 12(11), 2472-2482; Methods Mol Biol. 2009, 539, 191-211; Bioconjug Chem. 2003, 14(5), 927-33]. 이들 방법은 시스테인 연결의 경우에 생물학적 표적화 모이어티의 성질을 변화시키거나, 또는 제공된 인용문헌의 경우에 2종의 작용제의 투여를 필요로 하기 때문에 약물 개발 관점에서 실용적이지 않다 (효소 절단가능한 시스템).

[0177] 본 개시내용은 특히, 치료 효능을 유지하면서 이화작용 및/또는 대사 후에 신체로부터 보다 효과적으로 제거되는 방사선면역접합체를 제공한다. 개시된 면역접합체는, 일부 실시양태에서, 예를 들어 공지된 이관능성 킬레이트와 비교하여 무손상 분자의 약동학은 유지하면서 이화/대사 산물의 배출 정도를 증가시킴으로써 전신 방사능의 감소를 달성할 수 있다. 일부 실시양태에서, 방사능의 이러한 감소는 다른 시험관내 및 생체내 특성, 예컨대 결합 특이성 (시험관내 결합), 세포 체류, 및 생체내 종양 흡수에 영향을 미치지 않으면서 이화/대사 부산물의 클리어런스로부터 발생한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 제공된 방사선면역접합체는 온-타겟 활성은 유지하면서 인간 신체에서 감소된 방사능을 달성한다.

[0178] 정의

[0179] 본원에 사용된 "항체"는 아미노산 서열이 지정된 항원에 특이적으로 결합하는 이뮤노글로불린 및 그의 단편을 포함하는 것인 폴리펩티드, 또는 그의 단편을 지칭한다. 본 발명에 따른 항체는 임의의 유형 (예를 들어, IgA, IgD, IgE, IgG, 또는 IgM) 또는 하위유형 (예를 들어, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4)일 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 항체의 특징적인 서열 또는 부분이 항체의 하나 이상의 영역 (예를 들어, 가변 영역, 초가변 영역, 불변 영역, 중쇄, 경쇄, 및 그의 조합)에서 발견되는 아미노산을 포함할 수 있다는 것을 인지할 것이다. 더욱이, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 항체의 특징적인 서열 또는 부분이 1개 이상의 폴리펩티드 쇄를 포함할 수 있고, 동일한 폴리펩티드 쇄 또는 상이한 폴리펩티드 쇄에서 발견되는 서열 요소를 포함할 수 있다는 것을 인지할 것이다.

[0180] 본원에 사용된 "항원-결합 단편"은 모 항체의 결합 특징을 보유하는 항체의 부분을 지칭한다.

[0181] 본원에 사용된 용어 표적화 모이어티가 "결합하다" 또는 그의 "결합"은 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 표적 분자, 예를 들어 인간 FGFR3 및/또는 돌연변이체 FGFR3과의 또는 그에 대한 적어도 일시적인 상호작용 또는 회합을 의미한다.

[0182] 본원에서 상호교환가능하게 사용된 용어 "이관능성 킬레이트" 또는 "이관능성 접합체"는 킬레이트 또는 그의 금

속 착물, 링커, 및 표적화 모이어티, 예를 들어 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 화합물을 지칭한다. 예를 들어, 화학식 I-a 또는 도 1을 참조한다.

- [0183] 용어 "암"은 악성 신생물성 세포의 증식에 의해 유발된 임의의 암, 예컨대 종양, 신생물, 암종, 육종, 백혈병, 및 림프종을 지칭한다. "고형 종양 암"은 조직의 비정상적 덩이를 포함하는 암, 예를 들어 육종, 암종, 및 림프종이다. 본원에서 상호교환가능하게 사용되는 "혈액암" 또는 "액상 암"은 체액에 존재하는 암, 예를 들어 림프종 및 백혈병이다.
- [0184] 본원에 사용된 용어 "킬레이트"는 2개 이상의 지점에서 중심 금속 또는 방사성금속 원자에 결합될 수 있는 유기 화합물 또는 그의 부분을 지칭한다.
- [0185] 본원에 사용된 용어 "접합체"는 킬레이트화 기 또는 그의 금속 착물, 링커 기를 함유하고, 임의로 표적화 모이어티, 예를 들어 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 함유하는 분자를 지칭한다.
- [0186] 본원에 사용된 용어 "화합물"은 도시된 구조의 모든 입체이성질체, 기하 이성질체, 및 호변이성질체를 포함하는 것으로 의도된다.
- [0187] 본원에 언급되거나 기재된 화합물은 비대칭일 수 있다 (예를 들어, 1개 이상의 입체중심을 가짐). 달리 나타내지 않는 한, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체와 같은 모든 입체이성질체가 의도된다. 비대칭적으로 치환된 탄소 원자를 함유하는 본 개시내용에서 논의된 화합물은 광학 활성 또는 라세미 형태로 분리될 수 있다. 광학 활성 출발 물질로부터 광학 활성 형태를 제조하는 방법, 예컨대 라세미 혼합물의 분할에 의하는 것 또는 입체선택적 합성에 의하는 것은 관련 기술분야에 공지되어 있다.
- [0188] 본원에 사용된 "검출제"는 항원을 함유하는 세포의 위치를 찾아냄으로써 질환을 진단하는데 유용한 분자 또는 원자를 지칭한다. 검출제로 폴리펩티드를 표지하는 다양한 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 검출제의 예는 방사성동위원소 및 방사성핵종, 염료 (예컨대 비오틴-스트렙타비딘 복합체에 의함), 조영제, 발광제 (예를 들어, 플루오레세인 이소티오시아네이트 또는 FITC, 로다민, 란타나이드 인광체, 시아닌, 및 근 IR 염료), 및 자성 작용제, 예컨대 가돌리늄 킬레이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0189] 본원에 사용된 용어 "방사성핵종"은 방사성 붕괴를 겪을 수 있는 원자 (예를 들어, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{89}Zr , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{90}Y , ^{97}Y , ^{99}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{213}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th , ^{229}Th , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{82}Rb , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{201}Tl)를 지칭한다. 용어 방사성 핵종, 방사성동위원소, 또는 방사성 동위원소는 또한 방사성핵종을 기재하는데 사용될 수 있다. 방사성핵종은 본원에 기재된 바와 같이 검출제로서 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 방사성핵종은 알파-방출 방사성핵종일 수 있다.
- [0190] 본원에 사용된 용어 작용제 (예를 들어, 상기 접합체 중 임의의 것)의 "유효량"은 유익한 또는 목적하는 결과, 예컨대 임상 결과를 달성하기에 충분한 양이고, 따라서 "유효량"은 그것이 적용되는 문맥에 따라 달라진다. 예를 들어, 치료 용도에서, "유효량"은 장애 및 그의 합병증의 증상을 치유하거나 적어도 부분적으로 정지시키고/거나 질환 또는 의학적 상태와 연관된 적어도 1종의 증상을 실질적으로 개선시키기에 충분한 양일 수 있다. 예를 들어, 암의 치료에서, 질환 또는 상태의 임의의 증상을 감소, 예방, 지연, 억제, 또는 정지시키는 작용제 또는 화합물은 치료상 유효할 것이다. 치료 유효량의 작용제 또는 화합물은 질환 또는 상태를 치유하는데 요구되지 않지만, 예를 들어 질환 또는 상태의 발병이 지연, 방해, 또는 예방되도록, 질환 또는 상태 증상이 호전되도록, 또는 질환 또는 상태의 기간이 변화되도록 질환 또는 상태에 대한 치료를 제공할 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 상태는 덜 중증이 될 수 있고/거나 개체에서 회복이 가속화된다. 유효량은 단일 용량 또는 다중 (예를 들어, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6회) 용량을 투여함으로써 투여될 수 있다.
- [0191] 본원에 사용된 용어 "면역접합체"는 표적화 모이어티, 예컨대 항체 (또는 그의 항원-결합 단편), 나노바디, 아피바디, 또는 피브로넥틴 유형 III 도메인으로부터의 컨센서스 서열을 포함하는 접합체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 면역접합체는 표적화 모이어티당 평균 적어도 0.10개의 접합체 (예를 들어, 표적화 모이어티당 평균 적어도 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 4, 5, 또는 8개의 접합체)를 포함한다.
- [0192] 본원에 사용된 용어 "방사성접합체"는 방사성동위원소 또는 방사성핵종, 예컨대 본원에 기재된 방사성동위원소 또는 방사성핵종 중 임의의 것을 포함하는 임의의 접합체를 지칭한다.
- [0193] 본원에 사용된 용어 "방사선면역접합체"는 방사성동위원소 또는 방사성핵종, 예컨대 본원에 기재된 방사성동위

원소 또는 방사성핵종 중 임의의 것을 포함하는 임의의 면역접합체를 지칭한다.

[0194] 본원에 사용된 용어 "방사선면역요법"은 치료 효과를 생성하기 위해 방사선면역접합체를 사용하는 방법을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 방사선면역요법은 그를 필요로 하는 대상체에게 방사선면역접합체를 투여하는 것을 포함할 수 있으며, 여기서 방사선면역접합체의 투여는 대상체에서 치료 효과를 생성한다. 일부 실시양태에서, 방사선면역요법은 세포에 대한 방사선면역접합체의 투여를 포함할 수 있으며, 여기서 방사선면역접합체의 투여는 세포를 사멸시킨다. 방사선면역요법은 세포의 선택적 사멸을 수반하고, 일부 실시양태에서 세포는 암을 갖는 대상체의 암 세포이다.

[0195] 본원에 사용된 용어 "제약 조성물"은 제약상 허용되는 부형제와 함께 제제화된 본원에 기재된 방사선면역접합체를 함유하는 조성물을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 포유동물에서의 질환의 치료를 위한 치료요법의 일부로서 정부 규제 기관의 승인 하에 제조 또는 판매된다. 제약 조성물은, 예를 들어 단위 투여 형태로 경구 투여를 위해 (예를 들어, 정제, 캡슐, 캐플릿, 겔캡, 또는 시럽); 국소 투여를 위해 (예를 들어, 크림, 겔, 로션, 또는 연고로서); 정맥내 투여를 위해 (예를 들어, 미립자 색전이 없고 정맥내 사용에 적합한 용매계 중의 멸균 용액으로서); 또는 본원에 기재된 임의의 다른 제제로 제제화될 수 있다.

[0196] 본원에 사용된 "제약상 허용되는 부형제"는 본원에 기재된 화합물 이외의 임의의 성분 (예를 들어, 활성 화합물을 현탁 또는 용해시킬 수 있는 비히클)을 지칭하며, 환자에서 비독성 및 비-염증성인 특성을 갖는다. 부형제는, 예를 들어: 부착방지제, 향산화제, 결합제, 코팅, 압축 보조제, 봉해제, 염료 (착색제), 연화제, 유화제, 충전제 (회석제), 필름 형성제 또는 코팅, 향미제, 향료, 활택제 (유동 증진제), 윤활제, 보존제, 인쇄 잉크, 방사선보호제, 흡착제, 현탁화제 또는 분산제, 감미제, 또는 수화수를 포함할 수 있다. 예시적인 부형제는 아스코르브산, 히스티딘, 포스페이트 완충제, 부틸화 히드록시톨루엔 (BHT), 탄산칼슘, 인산칼슘 (이염기성), 스테아르산칼슘, 크로스카르멜로스, 가교 폴리비닐 피롤리돈, 시트르산, 크로스포비돈, 시스테인, 에틸셀룰로스, 젤라틴, 히드록시프로필 셀룰로스, 히드록시프로필 메틸셀룰로스, 락토스, 스테아르산마그네슘, 말티톨, 만니톨, 메티오닌, 메틸셀룰로스, 메틸 파라벤, 미세결정질 셀룰로스, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐 피롤리돈, 포비돈, 예비젤라틴화 전분, 프로필 파라벤, 레티닐 팔미테이트, 셀락, 이산화규소, 소듐 카르복시메틸 셀룰로스, 시트르산나트륨, 소듐 스타치 글리콜레이트, 소르비톨, 전분 (옥수수), 스테아르산, 스테아르산, 수크로스, 활석, 이산화티타늄, 비타민 A, 비타민 E, 비타민 C, 및 크실리톨을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0197] 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 염"은 타당한 의학적 판단의 범주 내에서 과도한 독성, 자극 또는 알레르기 반응 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 본원에 기재된 화합물의 염을 나타낸다. 제약상 허용되는 염은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 제약상 허용되는 염은 문헌 [Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences 66:1-19, 1977 및 Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Eds. P.H. Stahl and C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008]에 기재되어 있다. 염은 본원에 기재된 화합물의 최종 단리 및 정제 동안 계내에서 또는 유리 염기 기를 적합한 유기 산과 반응시킴으로써 개별적으로 제조될 수 있다.

[0198] 본 발명의 화합물은 제약상 허용되는 염으로서 제조될 수 있도록 이온화가능한 기를 가질 수 있다. 이들 염은 무기 또는 유기 산을 포함하는 산 부가염일 수 있거나, 또는 염은 본 발명의 화합물의 산성 형태의 경우에 무기 또는 유기 염기로부터 제조될 수 있다. 빈번하게, 화합물은 제약상 허용되는 산 또는 염기의 부가 생성물로서 제조된 제약상 허용되는 염으로서 제조되거나 사용된다. 적합한 제약상 허용되는 산 및 염기, 예컨대 산 부가염을 형성하기 위한 염산, 황산, 브로민화수소산, 아세트산, 락트산, 시트르산, 또는 타르타르산, 및 염기성 염을 형성하기 위한 수산화칼륨, 수산화나트륨, 수산화암모늄, 카페인, 다양한 아민은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 적절한 염의 제조 방법은 관련 기술분야에 널리 확립되어 있다.

[0199] 대표적인 산 부가염은 특히 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤젠술포네이트, 벤조에이트, 비스페이트, 보레이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄포르술포네이트, 시트레이트, 시클로펜탄 프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실술포네이트, 에탄술포네이트, 푸마레이트, 글루코헵토네이트, 글리세로포스페이트, 헤미술포네이트, 헵토네이트, 헥사노에이트, 히드로브로마이드, 히드로클로라이드, 히드로아이오다이드, 2-히드록시-에탄술포네이트, 락토비오네이트, 락테이트, 라우레이트, 라우릴 술포네이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 메탄술포네이트, 2-나프탈렌술포네이트, 니코티네이트, 니트레이트, 올레에이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼술포네이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 스테아레이트, 숙시네이트, 술포네이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 툴루엔술포네이트, 운데카노에이트, 발레레이트 염을 포함한다. 대표적인 알칼리 또는 알칼리 토금속 염은 나트륨,

리튬, 칼륨, 칼슘, 및 마그네슘, 뿐만 아니라 암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 트리에틸아민, 및 에틸아민을 포함하나 이에 제한되지는 않는 비독성 암모늄, 4급 암모늄, 및 아민 양이온을 포함한다.

[0200] 본원에 사용된 용어 "폴리펩티드"는 펩티드 결합에 의해 서로 부착된 적어도 2개의 아미노산의 스트링을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 적어도 3-5개의 아미노산을 포함할 수 있으며, 이들 각각은 적어도 1개의 펩티드 결합에 의해 다른 것에 부착된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 폴리펩티드가 1개 이상의 "비-천연" 아미노산 또는 그룹에도 불구하고 폴리펩티드 쇠 내로 통합될 수 있는 다른 엔티티를 포함할 수 있다는 것을 인지할 것이다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 글리코실화될 수 있고, 예를 들어 폴리펩티드는 1개 이상의 공유 연결된 당 모이어티를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 단일 "폴리펩티드" (예를 들어, 항체 폴리펩티드)는 2개 이상의 개별 폴리펩티드 쇠를 포함할 수 있으며, 이는 일부 경우에, 예를 들어 1개 이상의 디설피드 결합 또는 다른 수단에 의해 서로 연결될 수 있다.

[0201] "대상체"는 인간 또는 비-인간 동물 (예를 들어, 포유동물)을 의미한다.

[0202] "실질적 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"은 각각 참조 서열과 동일한 폴리펩티드 서열을 갖거나, 또는 2개의 서열이 최적으로 정렬된 경우에 각각 참조 서열 내의 상응하는 위치에서 동일한 아미노산 잔기를 명시된 백분율로 갖는 폴리펩티드 서열을 의미한다. 예를 들어, 참조 서열과 "실질적으로 동일한" 아미노산 서열은 참조 아미노산 서열과 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는다. 폴리펩티드의 경우에, 비교 서열의 길이는 일반적으로 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 50, 75, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 또는 350개의 인접 아미노산 (예를 들어, 전장 서열)일 것이다. 서열 동일성은 서열 분석 소프트웨어를 디폴트 설정으로 사용하여 측정될 수 있다 (예를 들어, 위스콘신주 53705 매디슨 1710 유니버시티 애비뉴 소재의 유니버시티 오브 위스콘신 바이오테크놀로지 센터, 제네틱스 컴퓨터 그룹의 서열 분석 소프트웨어 패키지). 이러한 소프트웨어는 다양한 치환, 결실, 및 다른 변형에 상동성 정도를 배정함으로써 유사한 서열을 매칭시킬 수 있다.

[0203] 본원에 사용된 용어 "표적화 모이어티"는 주어진 표적에 결합할 수 있는 임의의 분자 또는 분자의 임의의 부분을 지칭한다. 용어 "FGFR3 표적화 모이어티"는 FGFR3 분자, 예를 들어 인간 FGFR3, 예를 들어 야생형 또는 돌연변이체 FGFR3에 결합할 수 있는 표적화 모이어티를 지칭한다.

[0204] 본원에 사용되고 관련 기술분야에서 널리 이해되는 바와 같은, 상태를 "치료하기 위한 것" 또는 상태 (예를 들어, 본원에 기재된 상태, 예컨대 암)의 "치료"는 유익하거나 목적하는 결과, 예컨대 임상 결과를 수득하기 위한 접근법이다. 유익하거나 목적하는 결과는 1종 이상의 증상 또는 상태의 개선 또는 호전; 질환, 장애, 또는 상태의 정도의 감소; 질환, 장애, 또는 상태의 안정화된 (즉, 악화되지 않는) 상태; 질환, 장애, 또는 상태의 확산 예방; 질환, 장애, 또는 상태의 진행의 지연 또는 둔화; 질환, 장애, 또는 상태의 호전 또는 완화; 및 검출 가능하든 검출가능하지 않든 (부분적이든 전체적이든) 차도를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 질환, 장애, 또는 상태를 "완화시키는 것"은 치료 부재 하의 정도 또는 시간 경과와 비교하여, 질환, 장애, 또는 상태의 정도 및/또는 바람직하지 않은 임상 징후가 경감되고/거나 진행의 시간 경과가 둔화 또는 연장되는 것을 의미한다.

[0205] 본원에 사용된 용어 "약" 또는 "대략"은, 정량적 값과 관련하여 사용되는 경우에, 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 언급된 정량적 값 자체를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "약" 또는 "대략"은 문맥으로부터 달리 나타내어지거나 추론되지 않는 한 언급된 정량적 값으로부터 $\pm 10\%$ 변동을 지칭한다.

[0206] 방사선면역접합체

[0207] 한 측면에서, 본 개시내용은 화학식 I-a의 구조를 갖는 방사선면역접합체를 제공하며:

[0208] A-L-B

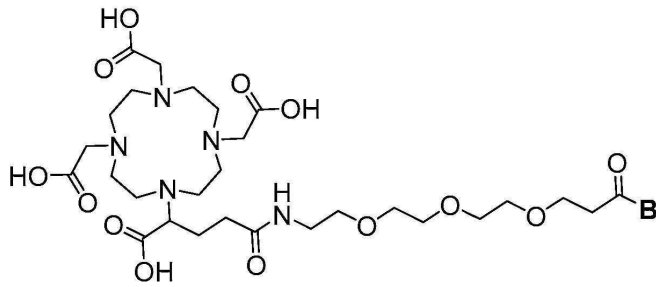
[0209] 화학식 I-a

[0210] 여기서 A는 킬레이트화 모이어티 또는 그의 금속 착물이고,

[0211] 여기서 B는 FGFR3 표적화 모이어티이고,

[0212] 여기서 L은 링커이다.

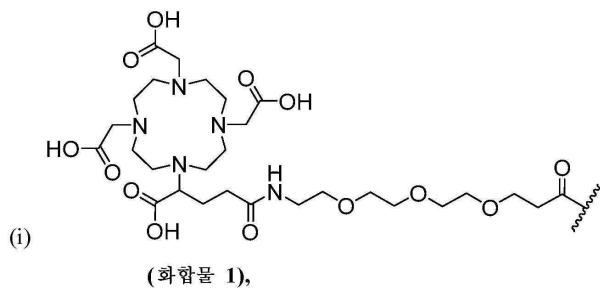
[0213] 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체는 화학식 II에 제시된 구조를 갖거나 또는 그를 포함하며:



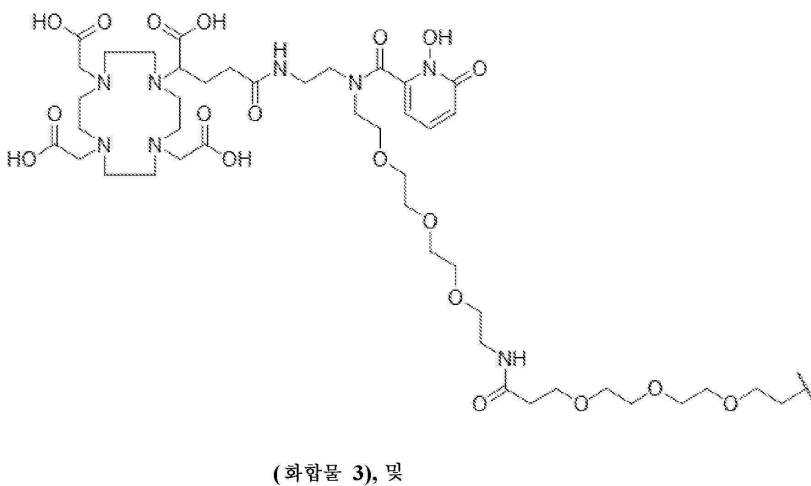
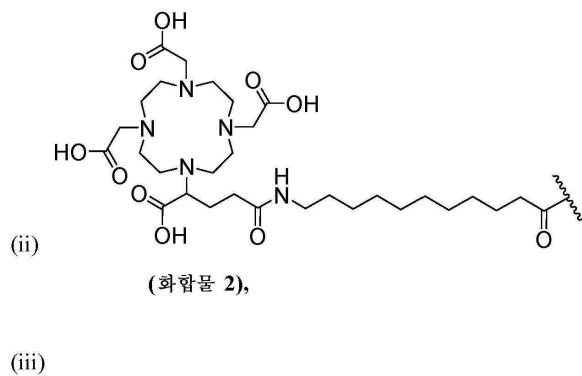
[0214]

[0215] 여기서 B는 FGFR3 표적화 모이어티이다.

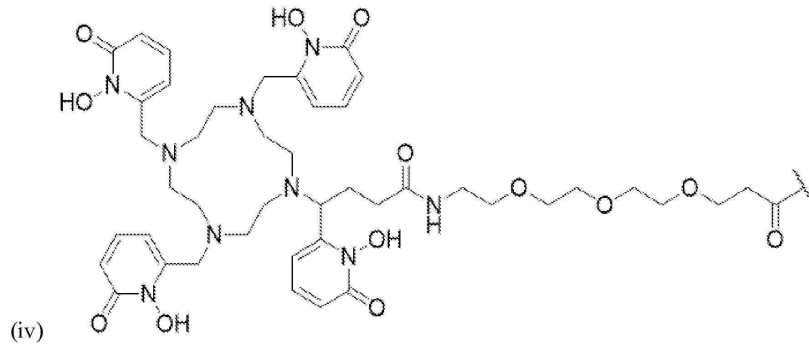
[0216] 일부 실시양태에서, A-L-은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물의 금속 착물이다:



[0217]



[0218]



(화합물 4)

[0219]

[0220]

일부 실시양태에서, 본원에 추가로 기재된 바와 같이, 방사선면역접합체는 킬레이트화 모이어티 또는 그의 금속 착물을 포함하며, 금속 착물은 방사성핵종을 포함할 수 있다. 일부 이러한 방사선면역접합체에서, 킬레이트화 모이어티 대 FGFR3 표적화 모이어티의 평균 비 또는 중앙 비는 8 이하, 7 이하, 6 이하, 5 이하, 4 이하, 3 이하, 2 이하, 또는 약 1이다. 일부 방사선면역접합체에서, 킬레이트화 모이어티 대 FGFR3 표적화 모이어티의 평균 비 또는 중앙 비는 약 1이다.

[0221]

일부 실시양태에서, 방사선면역접합체를 포유동물에게 투여한 후에, 장 경로, 신장 경로, 또는 둘 다에 의해 배출되는 (투여되는 방사선의 총량 중) 방사선의 비율은 참조 방사선면역접합체를 투여받은 대등한 포유동물에 의해 배출되는 방사선의 비율보다 더 크다. "참조 면역접합체"는 적어도 (1) 상이한 링커를 가짐; (2) 상이한 크기의 표적화 모이어티를 가짐 및/또는 (3) 표적화 모이어티가 결여됨으로써 본원에 기재된 방사선면역접합체와 상이한 공지된 방사선면역접합체를 의미한다. 일부 실시양태에서, 참조 방사선면역접합체는 [^{90}Y]-이브리투모맙 티옥세탄 (제발린 (^{90}Y)) 및 [^{111}In]-이브리투모맙 티옥세탄 (제발린 (^{111}In))으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0222]

일부 실시양태에서, 주어진 경로 또는 경로의 세트에 의해 배출되는 방사선의 비율은 참조 방사선면역접합체를 투여받은 대등한 포유동물에 의한 동일한 경로(들)에 의해 배출되는 방사선의 비율보다 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 더 크다. 일부 실시양태에서, 배출되는 방사선의 비율은 참조 방사선면역접합체가 투여된 대등한 포유동물에 의해 배출되는 방사선의 비율보다 적어도 1.5배, 적어도 2배, 적어도 2.5배, 적어도 3배, 적어도 3.5배, 적어도 4배, 적어도 4.5배, 적어도 5배, 적어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 또는 적어도 10배 더 크다. 배출의 정도는 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해, 예를 들어 소변 및/또는 대변에서 방사능을 측정함으로써 및/또는 일정 기간에 걸쳐 전신 방사능을 측정함으로써 측정될 수 있다. 또한, 예를 들어 국제 특허 공개 WO 2018/024869를 참조한다.

[0223]

일부 실시양태에서, 배출 정도는 투여 후 적어도 또는 약 12시간, 투여 후 적어도 또는 약 24시간, 투여 후 적어도 또는 약 2일, 투여 후 적어도 또는 약 3일, 투여 후 적어도 또는 약 4일, 투여 후 적어도 또는 약 5일, 투여 후 적어도 또는 약 6일, 또는 투여 후 적어도 또는 약 7일의 기간에 측정된다.

[0224]

일부 실시양태에서, 방사선면역접합체가 포유동물에게 투여된 후에, 방사선면역접합체는 참조 접합체 (예를 들어, 참조 면역접합체, 예컨대 참조 방사선면역접합체)와 비교하여 감소된 오프-타겟 결합 효과 (예를 들어, 독성)를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 이러한 감소된 오프-타겟 결합 효과는 또한 본원에 기재된 바와 같은 보다 큰 배출물을 나타내는 방사선면역접합체의 특색이다.

[0225]

표적화 모이어티

[0226]

표적화 모이어티는 주어진 표적, 예를 들어 FGFR3에 결합할 수 있는 임의의 분자 또는 분자의 임의의 부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 단백질 또는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 항체 또는 그의 항원 결합 단편, 나노바디, 아피바디, 및 피브로넥틴 유형 III 도메인 (예를 들어, 센티린 또는 애드벡틴)으로부터의 컨센서스 서열로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 모이어티는 표적화 및 치료 모이어티 둘 다이고, 즉 모이어티는 주어진 표적에 결합할 수 있고, 또한 치료 이익을 부여한다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 소분자를 포함한다.

[0227]

일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 적어도 50 kDa, 적어도 75 kDa, 적어도 100 kDa, 적어도 125 kDa, 적어

도 150 kDa, 적어도 175 kDa, 적어도 200 kDa, 적어도 225 kDa, 적어도 250 kDa, 적어도 275 kDa, 또는 적어도 300 kDa의 분자량을 갖는다.

- [0228] 전형적으로, 표적화 모이어티는 FGFR3, 예를 들어 야생형 및/또는 돌연변이체 FGFR3에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 인간 FGFR3, 예를 들어 야생형 및/또는 돌연변이체 인간 FGFR3에 결합할 수 있다.
- [0229] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 FGFR3에 특이적으로 결합할 수 있다 (예를 들어, 다른 키나제, 예컨대 다른 FGFR 단백질에 대한 결합은 비교적 거의 또는 전혀 나타나지 않으면서 FGFR3에 결합할 수 있음).
- [0230] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 FGFR3의 세포외 영역, 예를 들어 IgD1 영역, IgD2 영역, IgD3 영역, IgD1과 IgD2 사이의 링커 영역, IgD2와 IgD3 사이의 링커 영역, 또는 세포외 막근접 도메인에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 IgD2와 IgD3 사이의 링커 영역에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 세포외 막근접 도메인에 결합할 수 있다.
- [0231] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 FGFR3의 IIIb 이소형에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 FGFR3의 IIIc 이소형에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 FGFR3의 IIIb 및 IIIc 이소형 둘 다에 결합할 수 있다.
- [0232] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 돌연변이체 FGFR3, 예를 들어 돌연변이체 인간 FGFR3에 결합할 수 있다. 일부 FGFR3 돌연변이는 쌍형성되지 않은 시스테인을 생성하며, 이는 리간드-비의존성 수용체 이량체화 및/또는 구성적 활성화로 이어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 활성화된 돌연변이체이고/거나 암과 연관된다.
- [0233] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 야생형 FGFR3 및 암과 연관된 적어도 1종의 돌연변이체 FGFR3에 결합할 수 있다.
- [0234] 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 FGFR3의 세포외 영역에 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 IgD2와 IgD3 사이의 링커 영역 및/또는 FGFR3의 세포외 막근접 영역에 돌연변이를 포함한다.
- [0235] 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 FGFR3의 세포내 영역, 예를 들어 FGFR3의 키나제 도메인에 돌연변이를 포함한다.
- [0236] 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 점 돌연변이를 포함한다. 암과 연관된 FGFR3 점 돌연변이체의 비제한적 예는 FGFR3^{Y375C}, FGFR3^{R248C}, FGFR3^{S249C}, FGFR3^{G372C}, FGFR3^{K652E}, FGFR3^{K652Q}, FGFR3^{K652M}, 및 그의 조합을 포함한다.
- [0237] 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 리간드-의존성이다 (예를 들어, FGFR3^{G372C} 또는 FGFR3^{Y375C}). 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 구성적으로 활성화이다 (예를 들어, FGFR3^{R248C} 또는 FGFR3^{S249C}). 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 리간드-의존성이고 또한 구성적으로 활성화이다 (예를 들어, FGFR3^{K652E}).
- [0238] 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은 FGFR3 융합체, 예를 들어 구성적으로 활성화된 및/또는 종양원성 융합체, 예컨대 전위로 인해 발생한 융합체를 포함한다. 예를 들어, FGFR3-TACC3, FGFR3-CAMK2A, FGFR3-JAKMOP1, FGFR3-TNIP2, FGFR3-WHSC1, 및 FGFR3-BAIAP2L1 (또한 FGFR3-IRTKS로도 공지됨) 융합체는 암과 연관되었다.
- [0239] 일부 실시양태에서, 돌연변이체 FGFR3은, 예를 들어 야생형 FGFR3에 비해 증가된 카피수를 포함하고/거나 보다 높은 발현을 발생시키는 증폭 돌연변이이다.
- [0240] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 FGFR3을 억제한다. "억제하다"는 표적화 모이어티가 FGFR3 (예를 들어, 인간 FGFR3)의 1종 이상의 기능을 적어도 부분적으로 억제하는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 야생형 FGFR3, 예를 들어 야생형 인간 FGFR3의 1종 이상의 기능을 적어도 부분적으로 억제한다. 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 돌연변이체 FGFR3, 예를 들어 돌연변이체 인간 FGFR3의 1종 이상의 기능을 적어도 부분적으로 억제한다.
- [0241] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 FGFR3에 대한 리간드 결합 및/또는 FGFR3의 수용체 이량체화를 차단한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 리간드 결합을 차단하는 표적화 모이어티는 FGFR3의 IIIb 및/또는 IIIc 이소형과의 상호작용에 대해 FGF 리간드와 경쟁한다.

- [0242] 일부 실시양태에서, 표적화 모이어티는 FGFR3 수용체의 하류 신호전달을 손상시키고, 예를 들어 FGFR3의 1종 이상의 하류 매개자, 예컨대 FRS2 α , AKT, 및 p44/42 MAPK의 감소된 인산화 및/또는 단백질 또는 전사체 수준을 발생시킨다.
- [0243] 항체
- [0244] 항체는 전형적으로 디설피드 결합에 의해 함께 연결된 2개의 동일한 경쇄 폴리펩티드 및 2개의 동일한 중쇄 폴리펩티드를 포함한다. 각 쇄의 아미노 말단에 위치한 제1 도메인은 아미노산 서열이 가변적이어서, 각 개별 항체의 항체-결합 특이성을 제공한다. 이들은 가변 중쇄 (VH) 및 가변 경쇄 (VL) 영역으로 공지되어 있다. 각각의 쇄의 다른 도메인은 아미노산 서열이 비교적 변함없고, 불변 중쇄 (CH) 및 불변 경쇄 (CL) 영역으로 공지되어 있다. 경쇄는 전형적으로 1개의 가변 영역 (VL) 및 1개의 불변 영역 (CL)을 포함한다. IgG 중쇄는 가변 영역 (VH), 제1 불변 영역 (CH1), 힌지 영역, 제2 불변 영역 (CH2), 및 제3 불변 영역 (CH3)을 포함한다. IgE 및 IgM 항체에서, 중쇄는 추가의 불변 영역 (CH4)을 포함한다.
- [0245] 본 개시내용에 사용하기에 적합한 항체는, 예를 들어 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 낙타류 항체, 키메라 항체, 단일-쇄 Fv (scFv), 디설피드-연결된 Fv (sdFv), 및 항-이디오타입 (항-Id) 항체, 및 상기 중 임의의 것의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간화된 것이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 키메라이다. 항체는 임의의 유형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위부류의 것일 수 있다.
- [0246] 본원에 사용된 용어 항체의 "항원 결합 단편"은 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 1개 이상의 단편을 지칭한다. 용어 항체의 "항원 결합 단편" 내에 포괄되는 결합 단편의 예는 Fab 단편, F(ab')₂ 단편, Fd 단편, Fv 단편, scFv 단편, dAb 단편 (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), 및 단리된 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함한다. 일부 실시양태에서, "항원 결합 단편"은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 이들 항체 단편은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 획득될 수 있고, 단편은 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝될 수 있다.
- [0247] 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편은 항체의 합성에 대해 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Brinkman et al., 1995, J. Immunol. Methods 182:41-50]; WO 92/22324; WO 98/46645 참조). 키메라 항체는 예를 들어 문헌 [Morrison, 1985, Science 229:1202]에 기재된 방법을 사용하여 생산될 수 있고, 인간화 항체는 예를 들어 미국 특허 번호 6,180,370에 기재된 방법에 의해 생산될 수 있다.
- [0248] 본원에 기재된 추가의 항체는, 예를 들어 문헌 [Segal et al., J. Immunol. Methods 248:1-6 (2001); 및 Tutt et al., J. Immunol. 147: 60 (1991)]에 기재된 바와 같은 이중특이적 항체 및 다가 항체, 또는 본원에 기재된 분자 중 임의의 것이다.
- [0249] "아비머"는, 예를 들어 시험관내 엑손 서플링 및 파지 디스플레이를 사용하여 조작된 다량체 결합 단백질 또는 펩티드에 관한 것이다. 다중 결합 도메인이 연결되어, 단일 에피토프 이뮤노글로불린 도메인과 비교하여 더 큰 친화도 및 특이성이 생성된다.
- [0250] "나노바디"는 단일 단량체 가변 항체 도메인으로 이루어진 항체 단편이다. 나노바디는 또한 단일-도메인 항체로도 지칭될 수 있다. 항체와 같이, 나노바디는 특이적 항원에 선택적으로 결합할 수 있다. 나노바디는 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 도메인일 수 있다. 나노바디는 자연 발생할 수 있거나 또는 생물학적 조작의 생성물일 수 있다. 나노바디는 부위-지정 돌연변이유발 또는 돌연변이유발 스크리닝 (예를 들어, 파지 디스플레이, 효모 디스플레이, 박테리아 디스플레이, mRNA 디스플레이, 리보솜 디스플레이)에 의해 생물학적으로 조작될 수 있다. "아피바디"는 특이적 항원에 결합하도록 조작된 폴리펩티드 또는 단백질이다. 따라서, 아피바디는 항체의 특정 기능을 모방하는 것으로 간주될 수 있다.
- [0251] 아피바디는 스타필로코쿠스 단백질 A의 이뮤노글로불린-결합 영역 내의 B-도메인의 조작된 변이체일 수 있다. 아피바디는 Fab 영역에 대해 보다 낮은 친화도를 갖는 B-도메인인 Z-도메인의 조작된 변이체일 수 있다. 아피바디는 부위-지정 돌연변이유발 또는 돌연변이유발 스크리닝 (예를 들어, 파지 디스플레이, 효모 디스플레이, 박테리아 디스플레이, mRNA 디스플레이, 리보솜 디스플레이)에 의해 생물학적으로 조작될 수 있다.

- [0252] 다양한 상이한 단백질 (예를 들어 인슐린, 피브리노겐, 트랜스페린, 종양 괴사 인자- α , IL-8, gp120, CD28, 인간 혈청 알부민, IgA, IgE, IgM, HER2 및 EGFR)에 대한 특이적 결합을 나타내는 아피바디 분자가 생성되었고, 이는 μM 내지 pM 범위의 친화도 (Kd)를 입증한다. "디아바디"는 2가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, 문헌 [Hudson et al., (2003)]을 참조한다. 단일쇄 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 항체 단편은 무손상 항체의 단백질분해적 소화뿐만 아니라 본원에 기재된 바와 같은 재조합 숙주 (예를 들어, 이. 콜라이(E. coli) 또는 파지)에 의한 생산을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다.
- [0253] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 다중특이적, 예를 들어 이중특이적이다. 다중특이적 항체 (또는 그의 항원-결합 단편)는 적어도 2개의 상이한 부위에 대한 결합 특이성을 갖는 모노클로날 항체 (또는 그의 항원-결합 단편)를 포함한다.
- [0254] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 아미노산 서열 변이체; 예를 들어, 인간 FGFR3 및/또는 돌연변이체 FGFR3 (예컨대 암과 연관된 돌연변이체 FGFR3)에 결합할 수 있는 변이체가 고려된다. 예를 들어, 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 아미노산 서열 변이체는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 적절한 변형을 도입하는 것에 의해, 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 이러한 변형은, 예를 들어 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 아미노산 서열 내의 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 최종 구축물이 목적하는 특징, 예를 들어 항원 결합을 보유하는 한, 최종 구축물에 도달하기 위한 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 이루어질 수 있다.
- [0255] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 억제 항체 (또한 "길항작용 항체"로도 불림) 또는 그의 항원-결합 단편이고, 예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 본원에서 추가로 설명되는 바와 같이 표적 분자 (예를 들어, FGFR3)의 1종 이상의 기능을 적어도 부분적으로 억제한다.
- [0256] 억제 항체의 비제한적 예는 인간화 모노클로날 항체, 예컨대 MFGR1877S (CAS 번호 1312305-12-6; 제넨테크 (Genentech)) (인간 모노클로날 항체, 또한 보파타말로도 공지되고, 그의 동결건조 형태는 또한 B-701 또는 R3Mab로도 공지됨); PRO-001 (프로콘(Prochon)); PRO-007 (피브론(Fibron)); IMC-D11 (임클론(Imclone)); 및 AV-370 (아베오 파마슈티칼스(Aveo Pharmaceuticals))을 포함한다. (예를 들어, 미국 특허 번호 8,410,250; US 10,208,120; 및 국제 특허 공개 번호 WO2002102972A2, WO2002102973A2, WO2007144893A2, WO2010002862A2, 및 WO2010048026A2 참조.)
- [0257] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 효능작용 항체 (또한 자극 항체로도 공지됨)이다.
- [0258] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 효능작용성도 길항작용성도 아니거나, 또는 효능작용성 또는 길항작용성인 것으로 특징화되지 않았다.
- [0259] 추가의 공지된 FGFR3 항체는, 예를 들어 마우스 모노클로날 항체, 예컨대 예를 들어 제넨테크(Genentech)로부터의 1G6, 6G1, 및 15B2 (예를 들어, US8,410,250 참조), B9 (Sc-13121) (산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology)), MAB766 (클론 136334) (알앤디 시스템즈(R&D systems)), MAB7661 (클론 136318) (알앤디 시스템즈) 및 OTI1B10 (오리진(OriGene)); 토끼 폴리클로날 항체, 예컨대 예를 들어 ab10651 (앱캠 (Abcam)); 및 토끼 모노클로날 항체, 예컨대 C51F2 (카탈로그 번호 4574) (셀 시그널링 테크놀로지(Cell Signaling Technology))를 포함한다.
- [0260] 본 개시내용의 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 본원에 기재된 바와 같은 특이적 중쇄 상보성 결정 영역 CDR-H1, CDR-H2 및/또는 CDR-H3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 상보성 결정 영역 (CDR)은 프레임워크 영역에 플랭킹된다. 3개의 CDR을 함유하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 중쇄 또는 경쇄는 전형적으로 4개의 프레임워크 영역을 함유한다.
- [0261] 일부 실시양태에서, FGFR3 항체 또는 그의 항체-결합 단편의 중쇄 가변 영역은 하기 제시된 아미노산 서열을 갖는 1, 2, 또는 3개의 상보성 결정 영역 (CDR) CDR-H1, CDR-H2, 및/또는 CDR-H3, 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열(들)을 갖는 CDR 영역(들)을 포함한다:

CDR-H1:

GFTFTSTGIS (SEQ ID NO: 1)

CDR-H2:

GRIYPTSGSTNYADSV (SEQ ID NO: 2)

CDR-H3:

TYGIYDLYVDYTEYVMDY (SEQ ID NO: 3) 또는

ARTYGIYDLYVDYTEYVMDY (SEQ ID NO: 4)

[0262]

[0263]

일부 실시양태에서, FGFR3 항체 또는 그의 항체-결합 단편의 경쇄 가변 영역은 하기 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 1, 2, 또는 3개의 상보성 결정 영역 (CDR) CDR-L1, CDR-L2, 및/또는 CDR-L3, 또는 그와 1 또는 2 개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열(들)을 갖는 CDR 영역(들)을 포함한다:

CDR-L1:

RASQDVDTSLA (SEQ ID NO: 5)

CDR-L2:

SASFLYS (SEQ ID NO: 6)

CDR-L3:

QQSTGHPQT (SEQ ID NO: 7)

[0264]

[0265]

일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은

[0266]

(i) 서열식별번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-H1),

[0267]

서열식별번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-H2), 및

[0268]

서열식별번호: 3 또는 4에 제시된 바와 같은 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3)

[0269]

을 포함하는 중쇄, 및

[0270]

(ii) 서열식별번호: 5에 제시된 바와 같은 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-L1),

[0271]

서열식별번호: 6에 제시된 바와 같은 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-L2), 및

[0272]

서열식별번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열 또는 그와 1 또는 2개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-L3)

[0273]

을 포함하는 경쇄;

[0274]

또는 FGFR3 상의 동일한 에피토프를 인식하는 모노클로날 항체를 포함한다.

[0275]

일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 임의의 변이 없이 서열식별번호: 1, 2, 3, 5, 6, 및 7의 아미노산 서열을 갖는 CDR 서열을 갖는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 1, 2, 및 3의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 상보성 결정 영역 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3, 및 서열식별번호: 5, 6, 및 7의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 상보성 결정 영역 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함한다.

[0276]

일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 임의의 변이 없이 서열식별번호: 1, 2, 4, 5, 6, 및 7의 아미노산 서열을 갖는 CDR 서열을 갖는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 1, 2, 및 4의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 상보성 결정 영역 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3, 및 서열식별번호: 5, 6, 및 7의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 상보성 결정 영역 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함한다.

[0277] 일부 실시양태에서, FGFR3 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 9의 아미노산 서열 또는 그와 1, 2, 3, 또는 4개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 8과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

```
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFT STGISWVRQ APGKGLEWVGR
IYPTSGSTNY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARTY
GIYDLYVDYT EYVMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA
ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS
SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV
FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK
PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME ALHNHYTQKS
```

[0278] LSLSPGK (SEQ ID NO: 8)

[0279] 일부 실시양태에서, FGFR3 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 9의 아미노산 서열 또는 그와 1, 2, 3, 또는 4개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 9와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRTV ITCRASQDVD TSLAWYKQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFGSGSGSTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ STGHPQTFGQ
GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV
DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG
```

[0280] LSSPVTKSFN RGEK (SEQ ID NO: 9)

[0281] 일부 실시양태에서, FGFR3 표적화 모이어티는 MFGR1877S (보파타말) 또는 그의 항원-결합 단편이다.

[0282] 일부 실시양태에서, FGFR3 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간화 항체 또는 그의 항원-결합 단편이다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ 의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 1 nM 내지 10 nM (중점 포함) 또는 0.1 nM 내지 1 nM (중점 포함)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다.

[0283] 한 실시양태에서, K_d 는 관심 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 Fab 버전 및 그의 항원을 사용하여 수행된 방사성-표지된 항원 결합 검정 (방사선면역검정, RIA)에 의해 측정된다.

[0284] 또 다른 실시양태에 따르면, K_d 는 고정된 항원을 사용한 표면 플라즈몬 공명 검정을 사용하여 측정된다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 본원에 기재된 바와 같은 인간 FGFR3의 에피토프에 대해 지시된 인간 모노클로날 항체이다.

[0285] 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 천연 및/또는 합성 기원의 임의의 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어 포유동물 기원의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 불변 도메인은, 존재하는 경우에, 인간 불변 도메인이다. 일부 실시양태에서, 가변 도메인은 포유동물 가변 도메인, 예를 들어 인간화 또는 인간 가변 도메인이다.

[0286] 일부 실시양태에서, 본 개시내용에 따라 사용되는 항체는 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 재조합 무인 항체, 키메라, 인간화 또는 완전 인간 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 또는 그의 항원-결합 단편이다.

[0287] 일부 실시양태에서, 예를 들어 약물 표적화 및 영상화 용도를 위해 다른 모이어티에 추가로 커플링된다.

[0288] 일부 실시양태에서, 예를 들어 진단 목적을 위해, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표지되고, 즉 표지 기에 커플링된다. 적합한 표지의 비제한적 예는 방사성 표지, 형광 표지, 적합한 염료 기, 효소 표지, 발색원, 화학발광 기, 비오틀린 기, 2차 리포터에 의해 인식되는 미리 결정된 폴리펩티드 에피토프 등을 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 표지는 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 공유 결합된다.

- [0289] 이들 표지된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 (또한 "항체 접합체"로도 지칭됨)은 특히 면역조직화학 검정에서 또는 생체내 분자 영상화를 위해 사용될 수 있다.
- [0290] 일부 실시양태에서, 예를 들어 치료 목적을 위해, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 이펙터 기, 특히 치료 이펙터 기, 예컨대 세포독성제 또는 방사성 기 작용제와 추가로 접합된다.
- [0291] 폴리펩티드
- [0292] 폴리펩티드는, 예를 들어 다양한 혈액 작용제 (예를 들어, 에리트로포이에틴, 혈액-응고 인자 등 포함), 인터페론, 콜로니 자극 인자, 항체, 효소, 및 호르몬 중 임의의 것을 포함한다. 특정한 폴리펩티드의 정체는 본 개시내용을 제한하는 것으로 의도되지 않고, 임의의 관심 폴리펩티드가 본 방법에서의 폴리펩티드일 수 있다.
- [0293] 본원에 기재된 참조 폴리펩티드는 관심 표적에 결합할 수 있는 (예를 들어, 항원, 예를 들어 FGFR3에 결합할 수 있는) 표적-결합 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드, 예컨대 항체는 막형단 폴리펩티드 (예를 들어, 수용체) 또는 리간드 (예를 들어, 성장 인자)에 결합할 수 있다.
- [0294] 변형된 폴리펩티드
- [0295] 본 개시내용의 조성물 및 방법에 사용하기에 적합한 폴리펩티드는 변형된 아미노산 서열을 가질 수 있다. 변형된 폴리펩티드는 상응하는 참조 폴리펩티드와 실질적으로 동일할 수 있다 (예를 들어, 변형된 폴리펩티드의 아미노산 서열은 참조 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 가질 수 있음). 특정 실시양태에서, 변형은 목적하는 생물학적 활성 (예를 들어, FGFR3에 대한 결합)을 유의하게 파괴하지 않는다. 변형은 원래의 폴리펩티드의 생물학적 활성을 감소시킬 수 있거나 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 20%, 25%, 35%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 또는 95%만큼), 그에 영향이 없을 수 있거나, 또는 증가시킬 수 있다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200%, 500%, 또는 1000%만큼). 변형된 폴리펩티드는 폴리펩티드의 특징, 예컨대 생체내 안정성, 생체이용률, 독성, 면역학적 활성, 면역학적 동일성, 및 접합 특성을 가질 수 있거나 또는 이를 최적화할 수 있다.
- [0296] 변형은 자연 과정, 예컨대 번역후 프로세싱에 의한 것, 또는 관련 기술분야에 공지된 화학적 변형 기술에 의한 것을 포함한다. 변형은 폴리펩티드 백본, 아미노산 측쇄 및 아미노- 또는 카르복시-말단을 비롯한 폴리펩티드 내의 임의의 위치에서 일어날 수 있다. 동일한 유형의 변형이 주어진 폴리펩티드 내의 여러 부위에서 동일하거나 다양한 정도로 존재할 수 있고, 폴리펩티드는 1종 초과 유형의 변형을 함유할 수 있다. 폴리펩티드는 유비퀴틴화의 결과로서 분지화될 수 있고, 분지화를 갖거나 갖지 않는 시클릭일 수 있다. 시클릭, 분지형, 및 분지형 시클릭 폴리펩티드는 번역후 천연 과정으로부터 생성될 수 있거나 또는 합성적으로 제조될 수 있다. 다른 변형은 PEG화, 아세틸화, 아실화, 아세토미도메틸 (Acm) 기의 부가, ADP-리보실화, 알킬화, 아미드화, 비오틴화, 카르바모일화, 카르복시에틸화, 에스테르화, 플라빈에의 공유 부착, 헵 모이어티에의 공유 부착, 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유도체의 공유 부착, 약물의 공유 부착, 마커 (예를 들어, 형광 또는 방사성)의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스파티딜이노시톨의 공유 부착, 가교, 고리화, 디설피드 결합 형성, 탈메틸화, 공유 가교의 형성, 시스틴의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포르밀화, 감마-카르복실화, 글리코실화, GPI 앵커 형성, 히드록실화, 아이오딘화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 단백질분해 프로세싱, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황산화, 단백질에 대한 아미노산의 전달-RNA 매개 부가, 예컨대 아르기닐화 및 유비퀴틴화를 포함한다.
- [0297] 변형된 폴리펩티드는 또한 폴리펩티드 서열에 아미노산 삽입, 결실, 또는 보존적이거나 비-보존적인 (예를 들어, D-아미노산, 데스아미노산) 치환을 포함할 수 있다 (예를 들어, 이러한 변화가 폴리펩티드의 생물학적 활성을 실질적으로 변경시키지 않는 경우). 특히, 본원의 폴리펩티드의 아미노 또는 카르복시-말단에 대한 1개 이상의 시스테인 잔기의 부가는, 예를 들어 디설피드 결합에 의한 이들 폴리펩티드의 접합을 용이하게 할 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드는 아미노-말단에 단일 시스테인 잔기 또는 카르복시-말단에 단일 시스테인 잔기를 포함하도록 변형될 수 있다. 아미노산 치환은 보존적 (즉, 잔기가 동일한 일반 유형 또는 군의 또 다른 것에 의해 대체되는 경우) 또는 비-보존적 (즉, 잔기가 또 다른 유형의 아미노산에 의해 대체되는 경우)일 수 있다. 또한, 자연 발생 아미노산은 비-자연 발생 아미노산으로 치환될 수 있다 (즉, 비-자연 발생 보존적 아미노산 치환 또는 비-자연 발생 비-보존적 아미노산 치환).
- [0298] 합성적으로 제조된 폴리펩티드는 DNA에 의해 자연 코딩되지 않는 아미노산 (예를 들어, 비-자연 발생 또는 비천연 아미노산)의 치환을 포함할 수 있다. 비-자연 발생 아미노산의 예는 D-아미노산, N-보호된 아미노산, 시스테인의 황 원자에 부착된 아세틸아미노메틸기를 갖는 아미노산, PEG화 아미노산, 화학식 $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ (여기서

n은 2-6임)의 오메가 아미노산, 중성 비극성 아미노산, 예컨대 사르코신, t-부틸 알라닌, t-부틸 글리신, N-메틸 이소류신, 및 노르류신을 포함한다. 페닐글리신은 Trp, Tyr, 또는 Phe를 치환할 수 있고; 시트룰린 및 메티오닌 술폭시드는 중성 비극성이고, 시스테산은 산성이고, 오르니틴은 염기성이다. 프롤린은 히드록시프롤린으로 치환될 수 있고, 입체형태 부여 특성을 보유할 수 있다.

[0299] 유사체는 치환 돌연변이유발에 의해 생성될 수 있고, 원래의 폴리펩티드의 생물학적 활성을 보유할 수 있다. "보존적 치환"으로서 확인된 치환의 예가 표 1에 제시된다. 이러한 치환이 바람직하지 않은 변화를 발생시키는 경우에, 표 1의 "예시적인 치환"으로 명명되거나 또는 아미노산 부류와 관련하여 본원에 추가로 기재된 바와 같은 다른 유형의 치환이 도입되고, 생성물이 스크리닝된다.

[0300] 표 1: 아미노산 치환

원래 잔기	예시적인 치환	보존적 치환
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro	Pro
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala	Leu
Pro (P)	Gly	Gly
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala, 노르류신	Leu

[0301]

[0302] 기능 또는 면역학적 동일성의 실질적인 변형은 (a) 예를 들어 시트 또는 나선 입체형태로서 치환 구역 내의 폴리펩티드 백본의 구조, (b) 표적 부위에서의 분자의 전하 또는 소수성, 및/또는 (c) 측쇄의 벌크를 유지시키는 것에 대한 그의 효과에 있어서 유의하게 상이한 치환을 선택하는 것에 의해 달성된다.

[0303] 킬레이트화 모이어티 또는 그의 금속 착물

[0304] 킬레이트화 모이어티

[0305] 적합한 킬레이트화 모이어티의 예는 DOTA (1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산), DOTMA (1R,4R,7R,10R)- α , α' , α'' , α''' -테트라메틸-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산, DOTAM (1,4,7,10-테트라키스(카르바모일메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸), DOTPA (1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라 프로피온산), DO3AM-아세트산 (2-(4,7,10-트리스(2-아미노-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1-일)아세트산), DOTA-GA 무수물 (2,2',2''-(10-(2,6-디옥소테트라히드로-2H-피란-3-일)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산, DOTP (1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라(메틸렌 포스폰산)), DOTMP (1,4,6,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라메틸렌 포스폰산, DOTA-4AMP (1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라키스(아세트아미도-메틸렌포스폰산), CB-TE2A (1,4,8,11-테트라아자비시클로[6.6.2]헥사데칸-4,11-디아세트산), NOTA (1,4,7-트리아자시클로노난-1,4,7-트리아세트산), NOTP (1,4,7-트리아자시클로노난-1,4,7-트리(메틸렌 포스폰산), TETPA (1,4,8,11-테트라

아자시클로테트라데칸-1,4,8,11-테트라프로피온산), TETA (1,4,8,11-테트라아자시클로테트라데칸-1,4,8,11-테트라아세트산), HEHA (1,4,7,10,13,16-헥사아자시클로헥사데칸-1,4,7,10,13,16-헥사아세트산), PEPA (1,4,7,10,13-펜타아자시클로펜타데칸-N,N',N'',N'''', N''''-펜타아세트산), H₄옥타과 (N,N'-비스(6-카르복시-2-피리딜메틸)-에틸렌디아민-N,N'-디아세트산), H₂데드과 (1,2-[[6-(카르복시)-피리딘-2-일]-메틸아미노]에탄), H₆포스과 (N,N'-(메틸렌포스포네이트)-N,N'-[6-(메톡시카르보닐)피리딘-2-일]-메틸-1,2-디아미노에탄), TTHA (트리에틸렌테트라민-N,N,N',N'',N''', N''''-헥사아세트산), DO2P (테트라아자시클로도데칸 디메탄포스포산), HP-DO3A (히드록시프로필테트라아자시클로도데칸트리아세트산), EDTA (에틸렌디아민테트라아세트산), 테페록사민, DTPA (디에틸렌트리아민펜타아세트산), DTPA-BMA (디에틸렌트리아민펜타아세트산-비스메틸아미드), 옥타덴테이트-HOPO (옥타덴테이트 히드록시피리디논), 또는 포르피린을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0306] 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체는 킬레이트화 모이어티의 금속 착물을 포함한다. 예를 들어, 킬레이트화기는 금속, 예컨대 망가니즈, 철, 및 가돌리늄 및 동위원소 (예를 들어, 60 내지 10,000 keV의 일반적 에너지 범위의 동위원소), 예컨대 본원에 논의된 방사성동위원소 및 방사성핵종 중 임의의 것과 금속 킬레이트 조합에 사용될 수 있다.

[0307] 일부 실시양태에서, 킬레이트화 모이어티는 검출제로서 유용하고, 따라서 이러한 검출가능한 킬레이트화 모이어티를 포함하는 방사선면역접합체는 진단제 또는 치료진단제로서 사용될 수 있다.

[0308] 방사성동위원소 및 방사성핵종

[0309] 일부 실시양태에서, 금속 착물은 방사성핵종을 포함한다. 적합한 방사성동위원소 및 방사성핵종의 예는 ³H, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸F, ³⁵S, ⁴⁷Sc, ⁵⁵Co, ⁶⁰Cu, ⁶¹Cu, ⁶²Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁶Ga, ⁶⁷Ga, ⁶⁷Cu, ⁶⁸Ga, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁷⁷Br, ⁸²Rb, ⁸⁹Zr, ⁸⁶Y, ⁸⁷Y, ⁹⁰Y, ⁹⁷Ru, ⁹⁹Tc, ^{99m}Tc, ¹⁰⁵Rh, ¹⁰⁹Pd, ¹¹¹In, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹⁴⁹Pm, ¹⁴⁹Tb, ¹⁵³Sm, ¹⁶⁶Ho, ¹⁷⁷Lu, ^{117m}Sn, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁹⁸Au, ¹⁹⁹Au, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ²¹¹At, ²¹²Pb, ²¹²Bi, ²¹³Bi, ²²³Ra, ²²⁵Ac, ²²⁷Th, 및 ²²⁹Th를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0310] 일부 실시양태에서, 방사성핵종은 알파 방출체, 예를 들어, 아스타틴-211 (²¹¹At), 비스무트-212 (²¹²Bi), 비스무트-213 (²¹³Bi), 악티늄-225 (²²⁵Ac), 라듐-223 (²²³Ra), 납-212 (²¹²Pb), 토륨-227 (²²⁷Th), 또는 테르븀-149 (¹⁴⁹Tb), 또는 그의 자손이다. 일부 실시양태에서, 알파-방출체는 악티늄-225 (²²⁵Ac) 또는 그의 자손이다.

[0311] 링커

[0312] 일부 실시양태에서, 링커는 화학식 I-b의 구조 내에 제시된 바와 같으며, A 및 B가 부재하는 화학식 I-b의 부분과 같다:

[0313] $A-L^1-(L^2)_n-B$

[0314] 화학식 I-b

[0315] (A 및 B는 화학식 I-a에 정의된 바와 같음.)

[0316] 따라서, 일부 실시양태에서, 링커는 $-L^1-(L^2)_n-$ 이고, 여기서:

[0317] L^1 은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 또는 임의로 치환된 아릴 또는 헤테로아릴이고;

[0318] n은 1 내지 5 (포함)이고;

[0319] 각각의 L^2 는 독립적으로 하기 구조를 갖고:

[0320] $(-X^1-L^3-Z^1-)$

[0321] 화학식 III

[0322] 여기서:

- [0323] X^1 은 $C=O(NR^1)$, $C=S(NR^1)$, $OC=O(NR^1)$, $NR^1C=O(O)$, $NR^1C=O(NR^1)$, $-CH_2PhC=O(NR^1)$, $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^1)$, O , 또는 NR^1 이고; 각각의 R^1 은 독립적으로 H , 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬, 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬, 또는 임의로 치환된 아릴 또는 헤테로아릴이고, 여기서 C_1-C_6 알킬은 옥소 (=O), 헤테로아릴, 또는 그의 조합에 의해 치환될 수 있고;
- [0324] L^3 은 임의로 치환된 C_1-C_{50} 알킬 또는 임의로 치환된 C_1-C_{50} 헤테로알킬 (예를 들어, C_5-C_{20} 폴리에틸렌 글리콜)이고;
- [0325] Z^1 은 CH_2 , $C=O$, $C=S$, $OC=O$, $NR^1C=O$, 또는 NR^1 이고, 여기서 R^1 은 수소 또는 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬 또는 피롤리딘-2,5-디온이다.
- [0326] 일부 실시양태에서, L^1 은 치환된 C_1-C_6 알킬 또는 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬이고, 치환기는 헤테로아릴 기 (예를 들어, 6-원 질소-함유 헤테로아릴)를 포함한다.
- [0327] 일부 실시양태에서, L^3 은 치환된 C_1-C_{50} 알킬 또는 치환된 C_1-C_{50} 헤테로알킬이고, 치환기는 헤테로아릴 기 (예를 들어, 6-원 질소-함유 헤테로아릴)를 포함한다.
- [0328] 일부 실시양태에서, A 는 1개 이상의 헤테로아릴 기 (예를 들어, 6-원 질소-함유 헤테로아릴)를 포함하는 마크로 시클릭 킬레이트화 모이어티이다.
- [0329] 가교 기
- [0330] 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체는 표적화 모이어티 대신 또는 그에 더하여 가교 기를 포함한다 (예를 들어, 화학식 I에서 B 가 가교 기를 포함함).
- [0331] 가교 기는 공유 결합에 의해 2개 이상의 분자를 연결할 수 있는 반응성 기이다. 가교 기는 링커 및 킬레이트화 모이어티를 치료 또는 표적화 모이어티에 부착시키는데 사용될 수 있다. 가교 기는 또한 생체내 표적에 링커 및 킬레이트화 모이어티를 부착시키는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 가교 기는 아미노-반응성, 메티오닌 반응성 또는 티올-반응성 가교 기, 또는 소르타제-매개 커플링이다. 일부 실시양태에서, 아미노-반응성 또는 티올-반응성 가교 기는 활성화된 에스테르, 예컨대 히드록시숙신이미드 에스테르, 2,3,5,6-테트라플루오로페놀 에스테르, 4-니트로페놀 에스테르 또는 이미데이트, 무수물, 티올, 디설피드, 말레이미드, 아지드, 알킨, 변형된 알킨, 변형된 알켄, 할로젠, 술포네이트, 할로아세틸, 아민, 히드라지드, 디아지린, 포스핀, 테트라진, 이소티오시아네이트, 또는 옥사지리딘을 포함한다. 일부 실시양태에서, 소르타제 인식 서열은 말단 글리신-글리신-글리신 (GGG) 및/또는 LPTXG 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, 여기서 X 는 임의의 아미노산이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 가교 기의 사용이 본원에 개시된 구체적 구축물에 제한되지 않고, 오히려 다른 공지된 가교 기를 포함할 수 있다는 것을 이해할 것이다.
- [0332] 제약 조성물
- [0333] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 방사선면역접합체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 이러한 제약 조성물은 다양한 약물 전달 시스템에 사용하기 위해 제제화될 수 있다. 1종 이상의 생리학상 허용되는 부형제 또는 담체가 또한 적절한 제제를 위해 제약 조성물에 포함될 수 있다. 본 개시내용과 함께 사용하기에 적합한 제제의 비제한적 예는 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed., 1985]에 기재된 것을 포함한다. 약물 전달 방법의 간단한 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Langer (Science. 249:1527-1533, 1990)]을 참조한다.
- [0334] 제약 조성물은 본원에 논의된 다양한 투여 경로 중 임의의 것을 위해 제제화될 수 있고 (예를 들어, 본원의 "투여 및 투여량" 하위섹션 참조), 지속 방출 투여는 데포 주사 또는 침식성 이식물 또는 성분과 같은 수단에 의해 고려된다. 따라서, 본 개시내용은 허용되는 담체, 바람직하게는 수성 담체, 예를 들어 특히 물, 완충수, 염수, 또는 PBS 중에 용해되거나 현탁된 본원에 개시된 작용제 (예를 들어, 방사선면역접합체)를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 생리학적 조건에 근접하게 하기 위한 제약상 허용되는 보조물질, 예컨대 특히 pH 조정제 및 완충제, 장성 조정제, 습윤제, 또는 세제를 함유한다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 경구 전달을 위해 제제화되고, 임의로 단위 투여 형태, 예컨대 정제 또는 캡슐 제제를 위한 불활성

성분, 예컨대 결합제 또는 충전제를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 국부 투여를 위해 제제화되고, 임의로 크림, 연고, 겔, 페이스트, 또는 점안제 제제를 위한 불활성 성분, 예컨대 용매 또는 유화제를 함유할 수 있다.

[0335] 일부 실시양태에서, 제공되는 제약 조성물은 통상적인 멸균 기술에 의해 멸균되고, 예를 들어 멸균 여과될 수 있다. 생성된 수용액은 사용을 위해 그대로 또는 동결건조되어 포장될 수 있다. 동결건조된 제제는, 예를 들어 투여 전에 멸균 수성 담체와 조합될 수 있다. 제제의 pH는 전형적으로 3 내지 11, 보다 바람직하게는 5 내지 9 또는 6 내지 8, 가장 바람직하게는 6 내지 7, 예컨대 6 내지 6.5일 것이다. 고체 형태의 생성된 조성물은, 예를 들어 각각 고정량의 상기 언급된 작용제 또는 작용제들을 함유하는 다중 단일 용량 단위로, 예컨대 정제 또는 캡슐의 밀봉된 패키지로 포장될 수 있다. 고체 형태의 제약 조성물은 또한 유연한 양을 위한 용기에, 예컨대 국소로 적용가능한 크림 또는 연고용으로 설계된 압착가능한 튜브에 포장될 수 있다.

[0336] 치료 방법

[0337] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 바와 같은 방사선면역접합체를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 치료 방법을 제공한다.

[0338] 대상체

[0339] 일부 개시된 방법에서, 요법 (예를 들어, 치료제를 포함함)은 대상체에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 포유동물, 예를 들어 인간이다.

[0340] 일부 실시양태에서, 대상체는 암을 갖거나 또는 암이 발생할 위험이 있다. 예를 들어, 대상체는 암으로 진단되었을 수 있다. 예를 들어, 암은 원발성 암 또는 전이성 암일 수 있다. 대상체는 림프절 침범이 있거나 없고 전이가 있거나 없는 임의의 병기, 예를 들어, I기, II기, III기, 또는 IV기의 암을 가질 수 있다. 제공된 방사선면역접합체 및 조성물은 암의 추가의 성장을 예방 또는 감소시키고/거나 달리 암을 호전시킬 수 있다 (예를 들어, 전이를 예방 또는 감소시킴). 일부 실시양태에서, 대상체는 암을 갖지 않지만, 예를 들어 1종 이상의 위험 인자, 예컨대 환경 노출의 존재, 1종 이상의 유전자 돌연변이 또는 변이체의 존재, 가족력 등으로 인해 암이 발생할 위험이 있는 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 대상체는 암으로 진단되지 않았다.

[0341] 일부 실시양태에서, 암은 고형 종양 암, 예를 들어 육종 또는 암종이다.

[0342] 일부 실시양태에서, 고형 종양 암은 부신피질 암종, 방광암 (예를 들어, 요로상피 암종), 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 자궁내막 선암종, 유잉 육종, 담낭 암종, 신경교종 (예를 들어, 다형성 교모세포종), 두경부암, 간암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암 또는 비소세포 폐암, 또는 폐의 선암종), 신경모세포종, 신경내분비 암, 췌장암 (예를 들어, 췌장 외분비 암종), 전립선암, 신세포 암종, 타액 선양 낭성암, 또는 정모세포성 정상피종이다.

[0343] 일부 실시양태에서, 암은 방광암, 유방암, 두경부암, 간암, 및 폐암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 암은 방광암이다. 일부 실시양태에서, 암은 두경부암이다. 일부 실시양태에서, 암은 간암이다.

[0344] 일부 실시양태에서, 암은 비-고형 종양 암, 예를 들어 액상 암 또는 혈액암이다. 일부 실시양태에서, 암은 골수종, 예를 들어 다발성 골수종이다. 일부 실시양태에서, 암은 백혈병, 예를 들어 급성 골수성 백혈병이다. 일부 실시양태에서, 암은 림프종이다.

[0345] 투여 및 투여량

[0346] 본원에 개시된 방사선면역접합체 및 그의 제약 조성물은 전신 및 국부 투여 경로를 비롯한 다양한 투여 경로 중 임의의 것에 의해 투여될 수 있다.

[0347] 전신 투여 경로는 비경구 경로 및 경장 경로를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체 또는 그의 제약 조성물은 비경구 경로에 의해, 예를 들어 정맥내로, 동맥내로, 복강내로, 피하로, 또는 피내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체 또는 그의 제약 조성물은 정맥내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 방사선면역접합체 또는 그의 제약 조성물은 경장 투여 경로에 의해, 예를 들어 위장관을 통해 또는 경구로 투여된다.

[0348] 국부 투여 경로는 종양주위 주사 및 종양내 주사를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0349] 제약 조성물은 방사선 치료 계획, 진단, 및/또는 치유적 치료를 위해 투여될 수 있다. 방사선 치료 계획 또는

진단 목적을 위해 투여되는 경우에, 방사선면역접합체는 진단 유효 용량 및/또는 치료 유효 용량을 결정하는데 효과적인 양으로 대상체에게 투여될 수 있다. 치료 용도에서, 제약 조성물은 이미 상태 (예를 들어, 암)를 앓고 있는 대상체 (예를 들어, 인간)에게 장애 및 그의 합병증의 증상을 치유하거나 또는 적어도 부분적으로 정지 시키기에 충분한 양으로 투여될 수 있다. 이러한 목적을 달성하기에 적절한 양은 질환 또는 의학적 상태와 연관된 적어도 1종의 증상을 실질적으로 개선시키기에 충분한 화합물의 양인 "치료 유효량"으로서 정의된다. 예를 들어, 암의 치료에서, 질환 또는 상태의 임의의 증상을 감소, 예방, 지연, 억제, 또는 정지시키는 작용제 또는 화합물은 치료상 유효할 것이다. 치료 유효량의 작용제 또는 화합물은 질환 또는 상태를 치유하는데 요구되지 않지만, 예를 들어 질환 또는 상태의 발병이 지연, 방해, 또는 예방되도록, 질환 또는 상태 증상이 호전되도록, 또는 질환 또는 상태의 기간이 변화되도록 질환 또는 상태에 대한 치료를 제공할 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 상태는 덜 중증이 될 수 있고/거나 개체에서 회복이 가속화된다. 일부 실시양태에서, 대상체에게 방사선 치료 계획에 효과적인 양의 방사선면역접합체 또는 조성물의 제1 용량이 투여된 후, 치료 유효량의 방사선면역접합체 또는 조성물의 제2 용량 또는 용량 세트가 투여된다.

- [0350] 유효량은 질환 또는 상태의 중증도 및 대상체의 다른 특징 (예를 들어, 체중)에 좌우될 수 있다. 대상체 (예를 들어, 포유동물, 예컨대 인간)에 대한 개시된 방사선면역접합체 및 조성물의 치료 유효량은 개별 차이 (예를 들어, 대상체의 연령, 체중, 및 상태의 차이)를 고려하여 통상의 기술자에 의해 결정될 수 있다.
- [0351] 일부 실시양태에서, 개시된 방사선면역접합체는 암 세포를 표적화하는 증진된 능력을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 개시된 방사선면역접합체의 유효량은 비접합 및/또는 비-방사성표지된 표적화 모이어티의 치료 효과를 위한 등가 용량보다 적다 (예를 들어, 그의 약 90%, 75%, 50%, 40%, 30%, 20%, 15%, 12%, 10%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 또는 0.1% 이하).
- [0352] 유효량을 포함하는 본원에 개시된 제약 조성물의 단일 또는 다중 투여는 치료 의사에 의해 선택되는 용량 수준 및 패턴으로 수행될 수 있다. 용량 및 투여 스케줄은 대상체의 질환 또는 상태의 중증도에 기초하여 결정 및 조정될 수 있으며, 이는 임상적에 의해 통상적으로 실시되는 방법 또는 본원에 기재된 것에 따라 치료 과정 전반에 걸쳐 모니터링될 수 있다.
- [0353] 하기 구체적 실시예는 단지 예시적이며, 어떠한 방식으로든 본 개시내용의 나머지를 제한하지 않는 것으로 해석되어야 한다.
- [0354] 실시예
- [0355] 실시예 1. 일반적 물질 및 방법
- [0356] 루테튬-177은 퍼킨 엘머(Perkin Elmer)로부터 0.05 N 염산 용액 중 루테튬 트리클로라이드로서 입수할 수 있고; 인듐-111은 노르디온(Nordion)으로부터 트리클로라이드 염으로서 입수할 수 있고; 악티늄-225는 오크 리지 내셔널 레보라토리즈(Oak Ridge National Laboratories)로부터 악티늄-225 트리니트레이트로서 입수할 수 있다.
- [0357] 분석용 HPLC-MS는 워터스 액유티(Waters Acquity) 바이너리 솔벤트 매니저, 워터스 액유티 샘플 매니저 (10°C로 냉각된 샘플), 워터스 액유티 칼럼 매니저 (칼럼 온도 30°C), 워터스 액유티 포토다이오드 어레이 검출기 (254 nm 및 214 nm에서 모니터링함), 전기분무 이온화에 의하는 워터스 액유티 TQD 및 워터스 액유티 BEH C18, 2.1x50 (1.7 μ m) 칼럼으로 구성된 워터스 액유티 HPLC-MS 시스템을 사용하여 수행할 수 있다. 정제용 HPLC는 워터스 1525 바이너리 HPLC 펌프, 워터스 2489 UV/가시광선 검출기 (254 nm 및 214 nm에서 모니터링함) 및 워터스 엑스브리지 정제용 페닐 또는 C18 19x100 mm (5 μ m) 칼럼으로 구성된 워터스 HPLC 시스템을 사용하여 수행할 수 있다.
- [0358] HPLC 용리 방법 1: 워터스 액유티 BEH C18 2.1x50 mm (1.7 μ m) 칼럼; 이동상 A: H₂O (0.1% v/v TFA); 이동상 B: 아세트ونی트릴 (0.1% v/v TFA); 유량 = 0.3 mL/분; 초기 = 90% A, 3-3.5분 = 0% A, 4분 = 90% A, 5분 = 90% A.
- [0359] HPLC 용리 방법 2: 워터스 엑스브리지 정제용 페닐 19x100 mm (5 μ m) 칼럼; 이동상 A: H₂O (0.1% v/v TFA); 이동상 B: 아세트ونی트릴 (0.1% v/v TFA); 유량: 10 mL/분; 초기 = 80% A, 13분 = 0% A.
- [0360] HPLC 용리 방법 3: 워터스 액유티 BEH C18 2.1x50 mm (1.7 μ m) 칼럼; 이동상 A: H₂O (0.1% v/v TFA); 이동상 B: 아세트ونی트릴 (0.1% v/v TFA); 유량 = 0.3 mL/분; 초기 = 90% A, 8분 = 0% A, 10분 = 0% A, 11분 = 90% A, 12분 = 90% A.

- [0361] HPLC 용리 방법 4: 워터스 엑스브리지 정제용 C18 OBD 19x100 mm (5 μ m) 칼럼; 이동상 A: H₂O (0.1% v/v TFA); 이동상 B: 아세토니트릴 (0.1% v/v TFA); 유량: 10 mL/분; 초기 = 80% A, 3분 = 80% A, 13분 = 20% A, 18분 = 0% A.
- [0362] HPLC 용리 방법 5: 워터스 엑스브리지 정제용 C18 OBD 19x100 mm (5 μ m) 칼럼; 이동상 A: H₂O (0.1% v/v TFA); 이동상 B: 아세토니트릴 (0.1% v/v TFA); 유량: 10 mL/분; 초기 = 90% A, 3분 = 90% A, 13분 = 0% A, 20분 = 0% A.
- [0363] HPLC 용리 방법 6: 워터스 엑스브리지 정제용 C18 OBD 19x100 mm (5 μ m) 칼럼; 이동상 A: H₂O (0.1% v/v TFA); 이동상 B: 아세토니트릴 (0.1% v/v TFA); 유량: 10 mL/분; 초기 = 75% A, 13분 = 0% A, 15분 = 0% A.
- [0364] HPLC 용리 방법 7: 워터스 엑스브리지 정제용 C18 OBD 19x100 mm (5 μ m) 칼럼; 이동상 A: H₂O (0.1% v/v TFA); 이동상 B: 아세토니트릴 (0.1% v/v TFA); 유량: 10 mL/분; 초기 = 80% A, 12분 = 0% A, 15분 = 0% A.
- [0365] HPLC 용리 방법 8: 워터스 엑스브리지 정제용 C18 OBD 19x100 mm (5 μ m) 칼럼; 이동상 A: H₂O (0.1% v/v TFA); 이동상 B: 아세토니트릴 (0.1% v/v TFA); 유량: 10 mL/분; 초기 = 90% A, 12분 = 0% A, 15분 = 0% A.
- [0366] 분석용 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)는 워터스 1525 바이너리 HPLC 펌프, 워터스 2489 UV/가시광선 검출기 (280 nm에서 모니터링함), 바이오스캔 플로우 카운트 방사선검출기 (FC-3300) 및 도소(TOSOH) TSK겔 G3000SWx1, 7.8x300 mm 칼럼으로 구성된 워터스 시스템을 사용하여 수행할 수 있다. 등용매 SEC 방법은 0.1 M 포스페이트, 0.6 M NaCl, 0.025% 아지드화나트륨, pH = 7의 이동상으로, 예를 들어 mL/분의 유량을 가질 수 있다.
- [0367] MALDI-MS (양이온)는 MALDI 브루커 울트라플렉스트림 분광계를 사용하여 수행할 수 있다.
- [0368] 방사성 박층 크로마토그래피 (방사성TLC)는 바이오스캔 AR-2000 이미징 스캐너를 사용하여 수행할 수 있고, 시트레이트 완충제 (0.1 M, pH 5.5)를 사용하여 iTLC-SG 유리 마이크로섬유 크로마토그래피 종이 (애질런트 테크놀로지스(Agilent Technologies), SGI0001) 플레이트 상에서 수행할 수 있다.
- [0369] 실시예 2.
4-([11-옥소-11-(2,3,5,6-테트라플루오로페녹시)운데실]카르바모일)-2-[4,7,10-트리스(카르복시메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로데칸-1-일]부탄산 (화합물 B)의 합성
- [0370] 이관능성 킬레이트, 4-([11-옥소-11-(2,3,5,6-테트라플루오로페녹시)운데실]카르바모일)-2-[4,7,10-트리스(카르복시메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로데칸-1-일]부탄산 (화합물 B)은 도 2에 제공된 반응식에 따라 합성할 수 있다. ACN (2.0 mL) 중 5-(tert-부톡시)-5-옥소-4-(4,7,10-트리스(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로데칸-1-일)펜탄산 (DOTA-GA-(tBu)₄, 50 mg, 0.07 mmol)의 용액에, DSC (50 mg, 0.21 mmol)에 이어서 피리딘 (0.20 mL, 2.48 mmol)을 첨가한다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반한다. 반응 혼합물에 11-아미노운데칸산 (70 mg, 0.36 mmol)에 이어서 PBS 용액 (1.0 mL)을 실온에서 첨가한다. 반응물을 실온에서 72시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 시린지 필터로 여과하고, 정제용 HPLC에 의해 방법 6을 사용하여 직접 정제하여 중간체 2-A를 수득한다.
- [0371] ACN (1.0 mL) 중 중간체 2-A (40 mg, 0.03 mmol), TFP (90 mg, 0.54 mmol) 및 EDC (40 mg, 0.27 mmol)의 용액에 피리딘 (0.05 mL, 50 mg, 0.62 mmol)을 실온에서 첨가한다. 용액을 실온에서 24시간 동안 교반한다. 반응물을 정제용 HPLC에 의해 방법 7을 사용하여 직접 정제하여, 바이오타지 V10 급속 증발기를 사용하여 농축시킨 후에 중간체 2-B를 왁스로서 수득한다.
- [0372] 중간체 2-B를 DCM / TFA (1.0 mL / 2.0 mL) 중에 용해시키고, 실온에서 24시간 동안 교반되도록 한다. 반응물을 공기 스트림에 의해 농축시키고, 정제용 HPLC에 의해 방법 8을 사용하여 직접 정제하여, 농축 후 화합물 B를 투명한 왁스로서 수득한다. 분취물을 HPLC-MS 용리 방법 3에 의해 분석한다.
- [0373] ¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ 7.99 - 7.88 (m, 1H), 7.82 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 3.78 (넓은 s, 4H), 3.43 (넓은 s, 12H), 3.08 (넓은 s, 4H), 3.00 (m, 3H), 2.93 (넓은 s, 3H), 2.77 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.30 (넓은 s, 2H), 1.88 (넓은 s, 2H), 1.66 (p, J = 7.3 Hz, 2H), 1.36 (m, 4H), 1.32 - 1.20 (m, 9H).

- [0374] 실시예 3. [^{225}Ac]-화합물 B-항-FGFR3 접합체의 합성
- [0375] 화합물 B (1 μmol)를 염산 용액 (0.001 M) 중에 용해시킨다. 화합물 B 용액의 분취물 (5 μL , 70 nmol)을 포스페이트 완충제 (pH 8) 중 항-FGFR3 항체 (1.8 nmol)를 함유하는 용액에 첨가한다. 주위 온도에서 3시간 후, 생성된 면역접합체를 세파텍스 G-50 수지 충전 칼럼을 통해 정제한다. 면역접합체 화합물 B-항-FGFR3을 아세테이트 완충제 (pH 6.5)를 사용하여 칼럼으로부터 용리시킨다.
- [0376] Ac-225 (15 μCi , 10 μL)를 아세테이트 완충제 (pH 6.5) 중 화합물 B-항-FGFR3 (300 μg)의 용액에 첨가한다. 방사성표지 반응물을 30°C에서 1시간 동안 인큐베이션한다. 조 생성물, [^{225}Ac]-화합물 B-항-FGFR3을 세파텍스 G-50 수지 충전 칼럼을 통해 아세테이트 완충제로 용리시키면서 정제한다.
- [0377] 실시예 4. 4-([2-(2-{[3-옥소-3-(2,3,5,6-테트라플루오로페녹시)프로폭시] 에톡시}에톡시)에틸]카르바모일)-2-[4,7,10-트리스(카르복시메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로데칸-1-일]부탄산 (화합물 C)의 합성
- [0378] 이관능성 킬레이트, 4-([2-(2-{[3-옥소-3-(2,3,5,6-테트라플루오로페녹시)프로폭시] 에톡시}에톡시)에틸]카르바모일)-2-[4,7,10-트리스(카르복시메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로데칸-1-일]부탄산 (화합물 C)을 도 3에 제공된 반응식에 따라 합성한다.
- [0379] ACN (8.0 mL) 중 5-(tert-부톡시)-5-옥소-4-(4,7,10-트리스(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로데칸-1-일)펜탄산 (DOTA-GA(tBu)₄, 100 mg, 0.143 mmol)의 용액에 DSC (73 mg, 0.285 mmol) 및 피리딘 (0.80 mL, 9.89 mmol)을 첨가한다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 90분 동안 교반한다. 이 용액을 100 mL 둥근 바닥 플라스크 내의 아미노-PEG3-산 (63 mg, DMF 1.2 mL 중 0.285 mmol)의 반-용액에 첨가한다. 주위 온도에서 4시간 후, 반응물을 공기 스트림 하에 농축 건조시킴으로써 후처리한다. 조 물질을 HPLC 용리 방법 2 (20% ACN/H₂O 6 mL 중에 조 물질을 용해시킴)에 의해 정제한다. 생성물을 함유하는 분획을 풀링하고, 진공 하에 농축시킨 다음, ACN (3 x 2 mL)과 공증발시킨다.
- [0380] 중간체 1-A (82 mg, 60 μmol)를 함유하는 바이알에 ACN (2 mL), NEt₃ (50 μL , 360 μmol , 6 당량), HBTU (23 mg, 60 μmol , 1 당량) 및 TFP 용액 (50 mg, 300 μmol , 5 당량, ACN 250 μL 중에 용해시킴)을 첨가한다. 생성된 투명한 용액을 주위 온도에서 3시간 동안 교반한다. 용액을 공기 스트림 하에 농축 건조시킴으로써 반응물을 후처리한 다음, ACN/H₂O (1:1, 총 3 mL)로 희석하고, 정제용 HPLC 상에서 용리 방법 4를 사용하여 정제한다. 생성물을 함유하는 분획을 풀링하고, 진공 하에 농축시킨 다음, ACN (3 x 2 mL)과 공증발시킨다. 중간체 1-B가 투명한 잔류물로서 수득된다.
- [0381] 중간체 1-B (67 mg, 64 μmol)가 들은 바이알에 DCM (2 mL) 및 TFA (2 mL)를 첨가한다. 생성된 용액을 주위 온도에서 16시간 동안 교반한다. 추가의 TFA (2 mL)를 첨가하고, 반응물을 주위 온도에서 6시간 동안 교반한다. 반응물을 공기 스트림 하에 농축 건조시키고, 조 생성물을 최종적으로 ACN/H₂O (10% ACN/H₂O 1 mL) 중에 용해시킨다. 이어서, 조 반응 용액을 정제용 HPLC에 의해 용리 방법 5를 사용하여 정제한다. 생성물을 함유하는 분획을 풀링하고, 동결시키고, 동결건조시킨다. 화합물 C가 백색 고체로서 수득된다. 분취물을 HPLC-MS 용리 방법 3에 의해 분석한다.
- [0382] ¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz) δ 7.97-7.91 (m, 2H), 3.77 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 3.58-3.55 (m, 2H), 3.53-3.48 (m, 8H), 3.44-3.38 (m, 10H), 3.23-3.08 (m, 11H), 3.02 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 2.93 (넓은 s, 4H), 2.30 (넓은 s, 2H), 1.87 (넓은 s, 2H).
- [0383] 실시예 5. [^{225}Ac]-화합물 C-항-FGFR3 접합체의 합성
- [0384] 화합물 C (1 μmol)를 염산 용액 (0.001 M) 중에 용해시킨다. 화합물 C 용액의 분취물 (5 μL , 70 nmol)을 포스페이트 완충제 (pH 8) 중 항-FGFR3 항체 (1.8 nmol)를 함유하는 용액에 첨가한다. 주위 온도에서 3시간 후, 생성된 면역접합체를 세파텍스 G-50 수지 충전 칼럼을 통해 정제한다. 면역접합체 화합물 C-항-FGFR3을 아세테이트 완충제 (pH 6.5)를 사용하여 칼럼으로부터 용리시킨다. 용리액의 정제는 예를 들어 MALDI-TOF에 의해 확인할 수 있다.
- [0385] Ac-225 (15 μCi , 10 μL)를 아세테이트 완충제 (pH 6.5) 중 화합물 C-항-FGFR3 (300 μg)의 용액에 첨가한다. 방사성표지 반응물을 30°C에서 1시간 동안 인큐베이션한다. 조 생성물, [^{225}Ac]-화합물 C-항-FGFR3을 세파텍스

G-50 수지 충전 칼럼을 통해 아세테이트 완충제로 용리시키면서 정제한다.

- [0386] 실시예 6. 방광암 이종이식편 모델에서 종양 성장 및 생존에 대한 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0387] [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 야생형 FGFR3을 발현하는 인간 UM-UC-1 방광 세포주를 사용하여 시험한다. UM-UC-1 세포를 면역손상 마우스에 주사한다. 종양의 확립 후에, 마우스에게 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체, 대조군 (예를 들어, PBS 완충제 또는 다른 비히클 단독), 또는 임의로 비접합된 항-FGFR3을 투여한다.
- [0388] 종양 부피를 캘리퍼 측정을 사용하여 매주 2회 모니터링하고, 결과를 처리군에 걸쳐 비교한다. 생존을 기록한다. [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체 처리군에서 종양 성장의 보다 큰 억제 및/또는 보다 큰 생존은 증가된 효능을 나타낸다.
- [0389] 실시예 7. WT 및 돌연변이체 FGFR3 방광암 이종이식편 모델에서 종양 성장 및 생존에 대한 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0390] 야생형 FGFR3은 특정 암에서 과다발현되지만, 일부 종양은 돌연변이체 FGFR3과 연관된다. 본 실시예에서, 야생형 또는 돌연변이체 FGFR3을 발현하는 다양한 인간 방광 세포주를 사용하여 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 시험한다.
- [0391] WT FGFR3을 발현하는 RT112 방광암 세포를 누드 (nu/nu) 마우스 내로 주사하고, 종양이 $\sim 100\text{--}150\text{ mm}^3$ 의 평균 부피로 성장하게 한다. 동물에게 비히클 또는 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 매주 2회 투여한다. 임의로, 제3 세트의 동물에게 비접합된 항-FGFR3을 투여한다.
- [0392] 종양을 캘리퍼를 사용하여 매주 2회 측정하고, 종양 부피를 하기 식을 사용하여 계산하며:
- [0393]
$$V = 0.5 \times a \times b^2$$
- [0394] 여기서 a 및 b는 각각 종양의 길이 및 폭이다.
- [0395] 종양 성장을 군에 걸쳐 비교한다.
- [0396] FGFR3 신호전달에 대한 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과를 평가하기 위해, 종양 용해물을 처리 48 및 72시간 후에 수집한다. 종양 용해물 내의 FRS2 α , AKT, 및 p44/42 MAPK (FGFR3 신호전달의 하류 매개자)의 인산화 및 총 단백질 수준을 검사한다.
- [0397] 추가적으로, [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과를 Ba/F3-FGFR3^{S249C} 동종이식편 모델에서 연구한다. 예를 들어, 문헌 [Qing et al., "Antibody-based targeting of FGFR3 in bladder carcinoma and t(4;14)-positive multiple myeloma in mice." J Clin Invest. 2009 May 1; 119(5): 1216-1229]을 참조한다 (S249C는 방광암에서 발견되는 가장 빈번한 FGFR3 돌연변이임). 종양 성장 및 종양 용해물을 RT112 이종이식편 모델에 대해 상기 언급된 바와 같이 평가한다.
- [0398] 실시예 8. 다발성 골수종 이종이식편 모델에서 종양 성장 및 생존에 대한 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0399] OPM2 및 KMS11은 각각 K650E 및 Y373C FGFR3 돌연변이를 보유하는 t(4;14)+ 다발성 골수종 세포주이다. [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 OPM2 및 KMS11 이종이식편 모델에서 시험한다. 세포를 확장시키고, 15×10^6 개의 OPM2 또는 20×10^6 개의 KMS11 세포를 행크 평형 염 용액 (HBSS)/매트리젤 (1:1 v/v: 비디 바이오사이언시스(BD Biosciences)) 중 0.2 ml의 부피로 마우스의 옆구리에 피하로 이식한다. 종양을 캘리퍼로 매주 2회 측정하고, 종양 부피를 실시예 7에 기재된 바와 같이 계산한다.
- [0400] 종양이 $150\text{--}200\text{ mm}^3$ 의 평균 크기에 도달하면, 동물을 처리군 또는 대조군으로 무작위로 배정한다. 각각의 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 별개의 처리군에서 시험할 수 있다. 대조군은 HBSS 또는 다른 비히클이 투여된 마우스를 포함할 수 있다. 임의로, 비교를 위해, 마우스에 비접합된 항-FGFR3 (콜드 항체)을 투여하는 1개 이상의 처리군을 포함시킨다. 모든 군의 마우스에게 그의 군에 대한 관련 작용제를 매주 2회 복강내로 투여한다.

- [0401] 종양 부피를 캘리퍼 측정을 사용하여 매주 2회 모니터링하고, 결과를 처리군에 걸쳐 비교한다. 생존을 기록한다. [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체 처리군에서 종양 성장의 보다 큰 억제 및/또는 보다 큰 생존은 증가된 효능을 나타낸다.
- [0402] 실시예 9. 간암 이종이식편 모델에서 종양 성장 및 생존에 대한 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0403] [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 간암 세포주 (Huh7)에 기초한 종양 이종이식편 모델에서 본질적으로 실시예 8에 기재된 바와 같이 시험한다.
- [0404] 실시예 10. 유방암 이종이식편 모델에서 종양 성장 및 생존에 대한 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0405] [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 유방암 세포주 (Cal-51)에 기초한 종양 이종이식편 모델에서 본질적으로 실시예 8에 기재된 바와 같이 시험한다.
- [0406] 실시예 11. 결장 선암종 이종이식편 모델에서 종양 성장 및 생존에 대한 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0407] [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 MC38 마우스 결장 선암종 이종이식편 모델에서 시험한다. FGFR3-양성 MC38 세포를 확장시키고, 1×10^6 개의 MC38 세포를 8 내지 12주령의 암컷 C57BL/6 마우스의 옆구리에 피하로 이식한다. 종양이 $80\text{--}120\text{ mm}^3$ 의 평균 크기에 도달하면, 동물을 쌍 매칭시키고, 처리군 또는 대조군으로 배정한다. 각각의 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 별개의 처리군에서 시험할 수 있다. 대조군은 포스페이트-완충 염수 (PBS)가 투여된 마우스를 포함할 수 있다. 임의로, 비교를 위해, 마우스에 비접합된 항-FGFR3 (콜드 항체)을 투여하는 1개 이상의 처리군을 포함시킨다. 모든 군의 마우스에게 그의 군에 대한 관련 작용제를 규칙적 스케줄에 따라, 예를 들어 매주, 1주 2회, 또는 1주에 3회, 1주 이상 (예를 들어, 1, 2, 또는 3주) 동안 정맥내로 또는 복강내로 투여할 수 있다.
- [0408] 종양 부피를 캘리퍼 측정을 사용하여 매주 2회 모니터링하고, 결과를 처리군에 걸쳐 비교한다. 생존을 기록한다. [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체 처리군에서 종양 성장의 보다 큰 억제 및/또는 보다 큰 생존은 증가된 효능을 나타낸다.
- [0409] 실시예 12. 선암종 세포주를 사용한 면역 세포 침윤에 대한 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0410] MC38 (선암종) 세포를 8 내지 12주령의 암컷 C57BL/6 마우스의 옆구리에 피하로 이식한다. 종양이 $80\text{--}120\text{ mm}^3$ 의 평균 크기에 도달하면, 동물을 쌍 매칭시키고, 처리군 및 대조군으로 나눈다. 대조군 마우스에게는 PBS를 제공하고, 면역접합체 처리군(들)에게는 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 제공하고, 임의적인 항체 처리군(들)에게는 비접합된 항-FGFR3을 제공한다. 모든 군에게 동일한 경로 및 투여 스케줄에 따라: 매주 2회 정맥내로 투여한다.
- [0411] 처리 7일 후, 각각의 군으로부터의 동물의 절반을 희생시키고, 종양을 수집한다. 처리 14일 후, 각각의 군의 동물의 나머지 절반을 희생시키고, 종양을 수집한다. 각각의 종양의 절반은 파라핀 포매를 위해 가공하고, 다른 절반은 유동 세포측정 분석을 위해 단세포 현탁액을 제조하는데 사용한다. 유동 세포측정 분석을 위한 샘플을 CD8 및 T-조절 세포의 마커에 대해 염색한다. CD8+ 대 조절 T 세포의 보다 높은 비는 종양 내로의 면역 세포 침윤을 통한 증진된 효능을 나타낼 수 있다.
- [0412] 실시예 13. 폐 종양 발생에 대한 [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0413] [^{225}Ac]-항-FGFR3 접합체를 2가지의 마우스 폐암 이종이식편 모델: 둘 다 FGFR3-양성인 매디슨 109 (M109) 및 루이스 폐 암종 세포에서 시험한다. 1×10^6 개의 루이스 폐 암종 종양 세포를 8 내지 12주령의 암컷 C57BL/6 마우스의 옆구리에 피하로 이식한다. 추가적으로, 1×10^6 개의 매디슨 109 종양 세포를 8 내지 12주령의 CR 암컷 BALB/c 마우스의 옆구리에 피하로 이식한다.
- [0414] 종양이 $100\text{--}200\text{ mm}^3$ 의 평균 크기에 도달하면, 동물을 쌍 매칭시키고, 처리를 개시한다. 각각의 [^{225}Ac]-항-

FGFR3 접합체를 별개의 처리군에서 시험할 수 있다. 대조군은 포스페이트-완충 염수 (PBS)가 투여된 마우스를 포함할 수 있다. 임의로, 비교를 위해, 마우스에 비접합된 항-FGFR3 (콜드 항체)을 투여하는 1개 이상의 처리군을 포함시킨다. 모든 군의 마우스에게 그의 군에 대한 관련 작용제를 규칙적 스케줄에 따라, 예를 들어 매주, 1주 2회, 또는 1주에 3회 (정맥내로 또는 복강내로) 투여할 수 있다. 본 실시예에서, 마우스를 1, 2, 또는 3주 동안 처리한다 (하기 참조).

- [0415] 종양을 캘리퍼를 사용하여 매주 2회 측정하고, 결과를 처리군에 걸쳐 비교한다. [²²⁵Ac]-항-FGFR3 접합체 처리군에서 종양 성장의 보다 큰 억제는 증가된 효능을 나타낸다.
- [0416] 처리 7일 후, 각각의 군으로부터의 일부 동물을 희생시키고, 종양을 수집한다. 처리 14일 후, 각각의 군의 나머지 동물 중 일부를 희생시키고, 종양을 수집한다. 나머지 동물에게 제21일까지 계속 투여하고, 이 시점에 이들을 희생시키고 그의 종양을 수집한다. 각각의 종양의 절반은 파라핀 포매를 위해 가공하고, 다른 절반은 최적 절단 온도 (O.C.T.) 화합물 중에 동결시킨다.
- [0417] 실시예 14. 생존에 대한 [²²⁵Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0418] 실시예 12 및/또는 13을 수행하되, 마우스를 희생시키지 않고, 대신 적어도 수개월의 기간에 걸쳐 종양 성장 및 생존에 대해 모니터링한다. [²²⁵Ac]-항-FGFR3 접합체 처리군에서 증진된 생존은 증진된 치료 효능을 나타낸다.
- [0419] 실시예 15. FGFR3 융합체를 수반하는 방광암 세포주에서 종양 성장 및 생존에 대한 [²²⁵Ac]-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0420] [²²⁵Ac]-항-FGFR3 접합체를 RT4, RT112, SW780, 및 UMUC-14 방광 세포주 중 1종 이상에 기초한 종양 이종이식편 모델에서 본질적으로 실시예 8에 기재된 바와 같이 시험한다. RT4 및 RT112 세포는 FGFR3-TACC3 융합체를 함유하고, SW780 세포는 FGFR-BAIAP2L1 융합체를 함유하고, UMUC-14는 FGFR3^{S249C}를 보유한다.
- [0421] 실시예 16. FGFR3을 발현하는 암 세포에 대한 DOTA-항-FGFR3 접합체의 결합
- [0422] 본 실시예는 접합된 항-FGFR3의 FGFR3-양성 암 세포에 대한 서브나노몰/피코몰 Kd 범위에서의 결합을 입증한다.
- [0423] 비표지된 DOTA-항-FGFR3 접합체를 1) 화합물 C의 순수한 R 거울상이성질체 (실시예 4 참조) (즉, PEG3 산 링커를 통해 2,3,5,6-테트라플루오로페놀 황성 에스테르에 연결된 (2R)-2-[4,7,10-트리스(카르복시메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1-일]헵탄디오산의 R-거울상이성질체 (R-DOTA-GA)) 및 2) 항-FGFR3 항체인 MFGR1877S (보파타맵)를 사용하여 합성하였다. DOTA-항-FGFR3의 FGFR3-양성 암 세포주 RT4 (방광), RT112 (방광), 및 HepG2 (간)에 대한 결합을 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.
- [0424] 도 4a, 4b, 및 4c는 각각 RT4, RT112, 및 HepG2에 대한 결합 곡선을 보여주며, 상응하는 결합 친화도 (Kd)는 표 2에 요약되어 있다.
- [0425] 표 2. 항-FGFR3 접합체의 FGFR3+ 암 세포에 대한 결합 친화도

	Kd [nM] RT4	Kd [nM] RT112	Kd [nM] HepG2
항-FGFR3 접합체	0.448	0.248	0.279

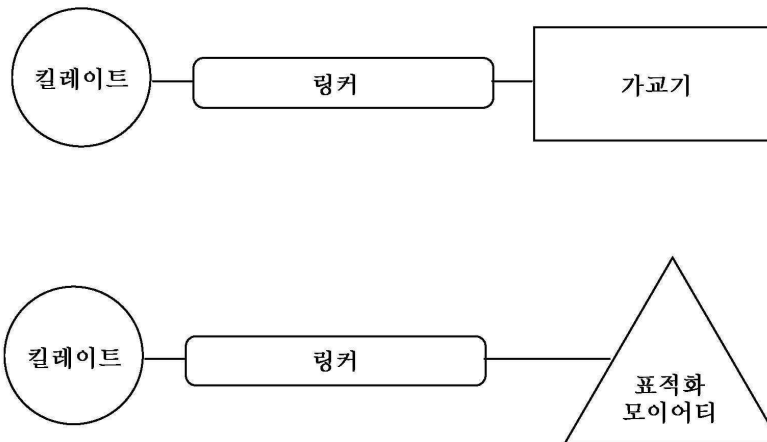
- [0426]
- [0427] 실시예 17. [¹⁷⁷Lu]-DOTA-항-FGFR3 접합체의 생체내 생체분포
- [0428] Balb/c 누드 / RT4 세포주 이종이식편 마우스 모델을 사용하여 방사성표지된 항-FGFR3 접합체의 생체내 생체분포를 평가하였다. [¹⁷⁷Lu]-DOTA-항-FGFR3 접합체를 화합물 C의 순수한 R 거울상이성질체 (실시예 4 참조), MFGR1877S (보파타맵), 및 루테튬-177을 사용하여 합성하였다.
- [0429] 종양-보유 동물 군에 [¹⁷⁷Lu]-DOTA-항-FGFR3을 정맥내로 주사하였다. 용량은 항체 2 µg (0.1 mg/kg)에 대해 약 23 마이크로퀴리 (µCi)의 활성을 함유하였다. 동물을 주사 후 4시간, 24시간, 48시간, 96시간, 및 168시간째에 안락사시켜 혈액, 신장, 간, 폐, 비장, 피부, 종양, 및 꼬리에서의 방사능 수준을 결정하였다 (시점당 n = 3).

- [0430] 결과를 조직 그림당 주사된 용량의 백분율 (% ID/g)로서 표현하였고, 도 5에 도시한다. [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3은 혈액으로부터 신속하게 소거되었고, 간, 폐, 및 비장에서 일시적 흡수를 입증하였다. 종양 흡수는 모든 시점에서 약 5% ID/g이었다. 어떠한 특정한 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 관찰된 종양 흡수 수준은 RT4 종양의 작은 크기에 기인할 수 있다 (약 50 mm^3).
- [0431] 실시예 18. 콜드 항-FGFR3의 사전-투여 후 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3 접합체의 생체내 생체분포
- [0432] 본 실시예는 종양 세포에서의 본원에 개시된 방사선면역접합체의 흡수를, 정상 조직에서의 보다 낮은 흡수 수준과 함께 입증한다.
- [0433] Balb/c 누드 / RT112 세포주 이종이식편 마우스 모델을 사용하여 콜드 (비-방사성표지된, 비접합된) 항-FGFR3 항체의 사전-투여 후 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3의 생체내 생체분포를 평가하였다.
- [0434] 종양-보유 마우스의 군에 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3을 정맥내로 주사하였다. 용량은 항체 $2\text{ }\mu\text{g}$ (0.1 mg/kg)에 대해 약 23 마이크로퀴리 (μCi)의 활성을 함유하였다. [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3의 투여 대략 3시간 전에, 마우스의 절반에 $100\text{ }\mu\text{g}$ 콜드 항-FGFR3 (보파타맙)을 복강내 주사에 의해 투여하였다. 동물을 주사 4시간, 24시간, 48시간, 및 96시간 후에 안락사시켜 혈액, 장 (소장 및 대장), 신장 및 부신, 간 및 담낭, 폐, 비장, 피부, 방광, 소변, 및 종양에서의 방사능 수준을 결정하였다 (시점당 $n = 3$).
- [0435] 결과를 % ID/g로 표현하였고, 도 6a 및 6b에 도시한다. 콜드 항-FGFR3의 사전-투여는 혈액으로부터 방사능 클리어런스를 감소시켰고, 정상 조직에서 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3의 흡수를 감소시켰고, 종양에서 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3의 흡수를 증가시켰다.
- [0436] 실시예 19. 콜드 항-FGFR3과 공투여된 방사성표지된 항-FGFR3 접합체의 생체내 생체분포
- [0437] 본 실시예는 종양 세포에서의 본원에 개시된 방사선면역접합체의 흡수를, 정상 조직에서의 보다 낮은 흡수 수준과 함께 입증한다. 또한, 본 실시예는 상이한 방사성핵종으로 표지된 DOTA-항-FGFR3 접합체가 유사한 생체분포 프로파일을 나타낸다는 것을 입증한다.
- [0438] [^{111}In]-DOTA-항-FGFR3 접합체를 화합물 C의 순수한 R 거울상이성질체 (실시예 4 참조), MFGR1877S (보파타맙), 및 인듐-111을 사용하여 합성하였다.
- [0439] Balb/c 누드 / RT112 세포주 이종이식편 마우스 모델을 사용하여 콜드 항-FGFR3과 공투여한 경우의 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3 접합체 및 [^{111}In]-DOTA-항-FGFR3 접합체의 생체내 생체분포를 평가하였다.
- [0440] 종양-보유 마우스의 군에 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3을 항체 $2\text{ }\mu\text{g}$ (0.1 mg/kg)에 대해 약 22 마이크로퀴리 (μCi)의 활성으로 정맥내로 주사하였다. 마우스에게 또한 50, 100, 또는 $200\text{ }\mu\text{g}$ 의 콜드 항-FGFR3을 동일한 정맥내 주사를 통해 공투여하였다. 동물을 주사 24시간 및 96시간 후에 안락사시켜 혈액, 장, 신장, 간, 폐, 비장, 피부, 방광, 소변, 및 종양에서의 방사능 수준을 결정하였다 (시점당 $n = 3$).
- [0441] 결과를 % ID/g로 표현하였고, 도 7a-7c에 도시하였다. $100\text{ }\mu\text{g}$ 또는 $200\text{ }\mu\text{g}$ 의 콜드 항-FGFR3의 공투여는 혈액으로부터 방사능 클리어런스를 감소시켰고, 정상 조직에서 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3의 흡수를 감소시켰고, 종양에서 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3의 흡수를 증가시켰다.
- [0442] 본 실시예에서 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3 공투여 실험에 대해 기재된 바와 유사하게, $100\text{ }\mu\text{g}$ 의 콜드 항-FGFR3과 공투여된 [^{111}In]-DOTA-항-FGFR3을 사용하여 또한 생체분포 연구를 수행하였다. 도 8a 및 8b는 각각 콜드 항-FGFR3과 공투여된 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3 (도 8a) 또는 [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3 (도 8b)이 투여된 마우스에서의 결과 %ID/g를 보여준다. [^{177}Lu]-DOTA-항-FGFR3 및 [^{111}In]-DOTA-항-FGFR3 둘 다는 투여 96시간 후에 약 34% - 37% ID/g로 우수한 종양 섭취를 보였다.
- [0443] 실시예 20. 방광암 이종이식편 모델에서 종양 성장 및 생존에 대한 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3 접합체의 효과

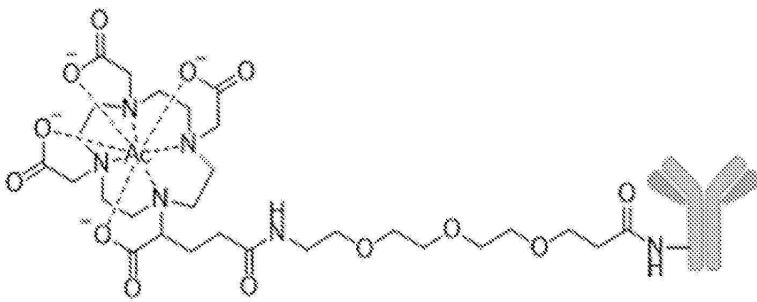
- [0444] 본 실시예는 방광암 모델에서 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3 접합체의 치료 효능을 입증한다.
- [0445] [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3 접합체를 화합물 C의 순수한 R 거울상이성질체 (실시에 4 참조), MFGR1877S (보파타말), 및 악티늄-225를 사용하여 합성하였다.
- [0446] Balb/c 누드 / RT112 세포주 이종이식편 마우스 모델을 사용하여 콜드 항-FGFR3의 사전-투여 후 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3 접합체의 생체내 활성을 평가하였다. 종양을 피하로 약 150 mm³ 부피로 성장시켰다. 종양-보유 마우스의 군에 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3 (50 nCi, 100 nCi, 200 nCi, 또는 400 nCi 용량), 콜드 항-FGFR3, 또는 비히클 대조군을 정맥내로 주사하였다 (군당 n = 5). [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3의 투여 3시간 전, 대조군의 마우스를 제외하고, 마우스에게 100 µg의 콜드 항-FGFR3을 복강내로 주사하였다. 상대 종양 부피 (도 9a) 및 상대 체중 (도 9b)을 투여 후 28일까지 평가하였다.
- [0447] 도 9a에 제시된 바와 같이, 200 nCi 또는 400 nCi [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3으로의 처리는 종양 성장을 유의하게 억제하였다. 400 nCi 군에서 1마리의 마우스는 그의 체중의 30% 감소가 있었고, 제11일에 희생시켰다. 그러나, 도 9b에 제시된 바와 같이, 평균적으로, 처리군의 마우스는 대조군의 마우스에 비해 유의한 체중 감소를 입증하지 않았고, 이는 처리가 용인되고 독성이 제한되었음을 시사한다.
- [0448] 실시예 21. 방광암 이종이식편 모델에서 종양 성장 및 생존에 대한 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3 접합체의 효과
- [0449] 본 실시예는 방광암 모델에서 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3 접합체의 치료 효능을 입증한다.
- [0450] Balb/c 누드 / RT112 세포주 이종이식편 마우스 모델을 사용하여 콜드 항-FGFR3과 공투여된 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3 접합체의 생체내 활성을 평가하였다. 종양을 피하로 약 150 mm³ 부피로 성장되게 하였다. 종양 보유 마우스의 군에 100 µg 항-FGFR3과 공투여되는 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3 (50 nCi, 100 nCi, 200 nCi, 또는 400 nCi)을 정맥내로 주사하였다. 대조군에게는 콜드 항-FGFR3 단독 또는 비히클 대조군을 제공하였다. 군당 n = 5. 상대 종양 부피 (도 10a) 및 상대 체중 (도 10b)을 투여 후 28일까지 평가하였다.
- [0451] 도 10a에 제시된 바와 같이, 200 nCi 또는 400 nCi [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3으로의 처리는 종양 성장을 유의하게 억제하였고, 보다 낮은 용량 (50-100 nCi)의 [^{225}Ac]-DOTA-항-FGFR3으로의 처리는 종양 성장의 일부 억제를 발생시켰다.
- [0452] 400 nCi 처리군에서, 2마리의 마우스는 유의한 체중 감소가 있었고 희생되었으며, 다른 3마리의 마우스는 영향을 받지 않았다. 그러나, 다른 처리군의 마우스는 대조군의 마우스에 비해 유의한 체중 감소를 입증하지 않았다. (도 10b 참조.)
- [0453] 다른 실시양태
- [0454] 본 발명은 그의 구체적 실시양태와 관련하여 기재되었지만, 추가의 변형이 가능하며, 본 출원은 일반적으로 본 발명의 원리를 따르고, 본 발명이 속하는 기술분야 내의 공지되거나 통상의 실시 내에 있으며 상기 본원에 제시된 본질적인 특성에 적용될 수 있는 본 개시내용으로부터의 이러한 일탈을 포함하는 본 발명의 임의의 변형, 사용, 또는 적합화를 포괄하는 것으로 의도된다는 것이 이해될 것이다.

도면

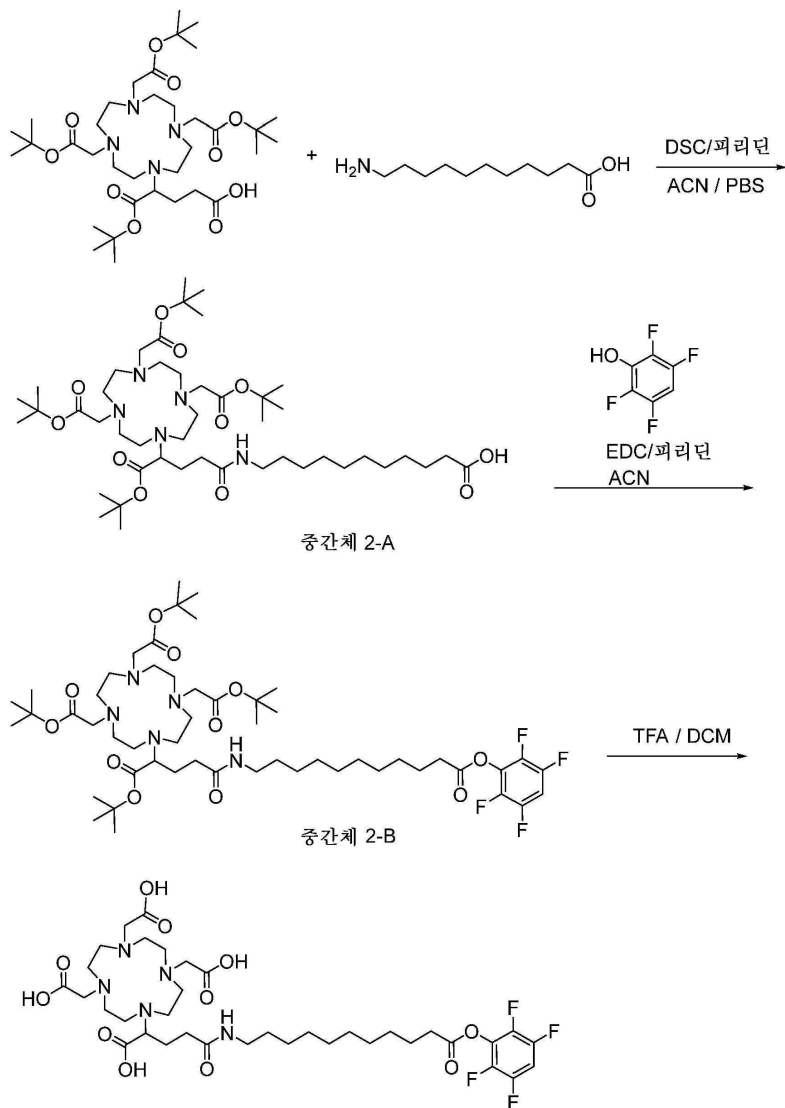
도면1a



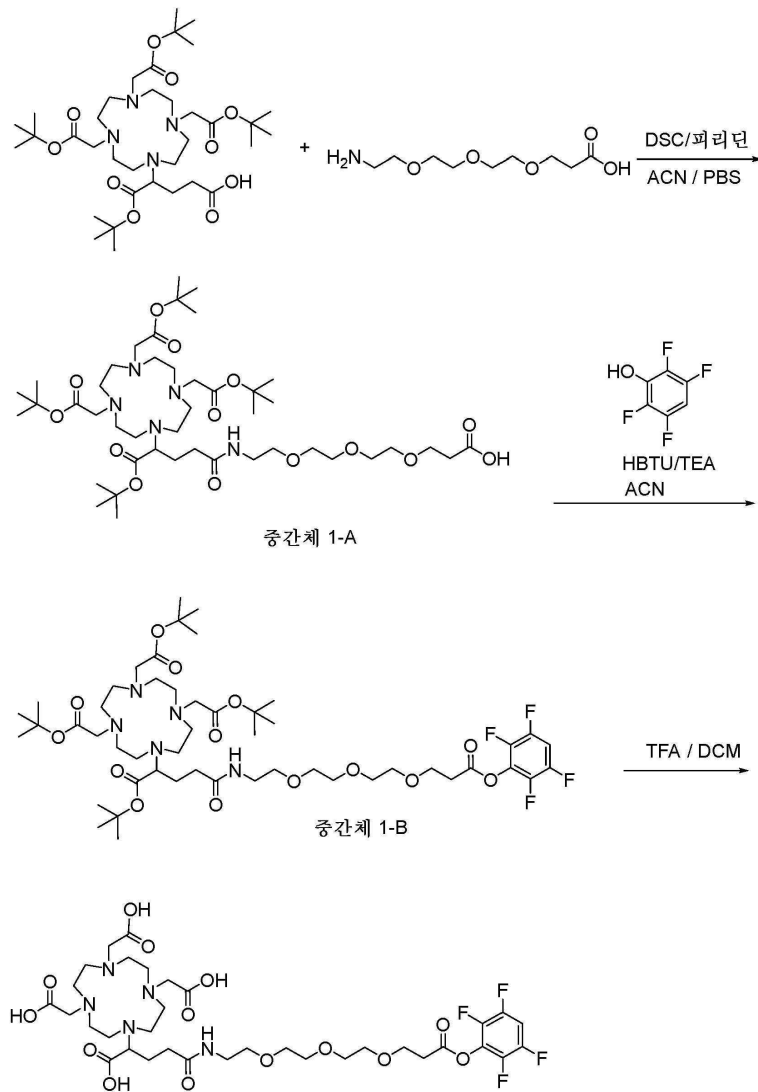
도면1b



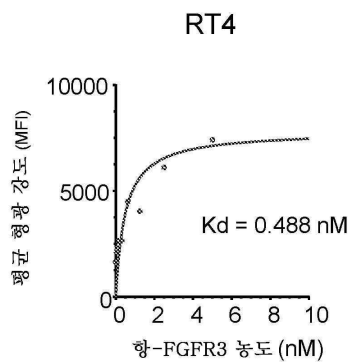
도면2



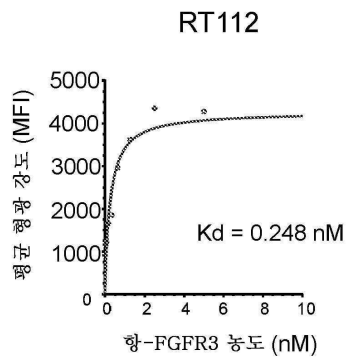
도면3



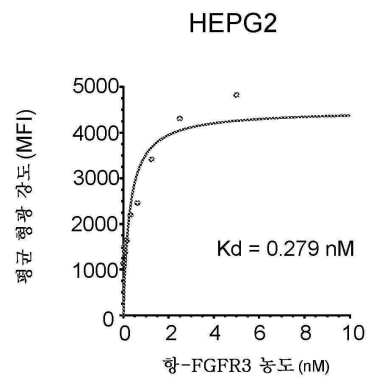
도면4a



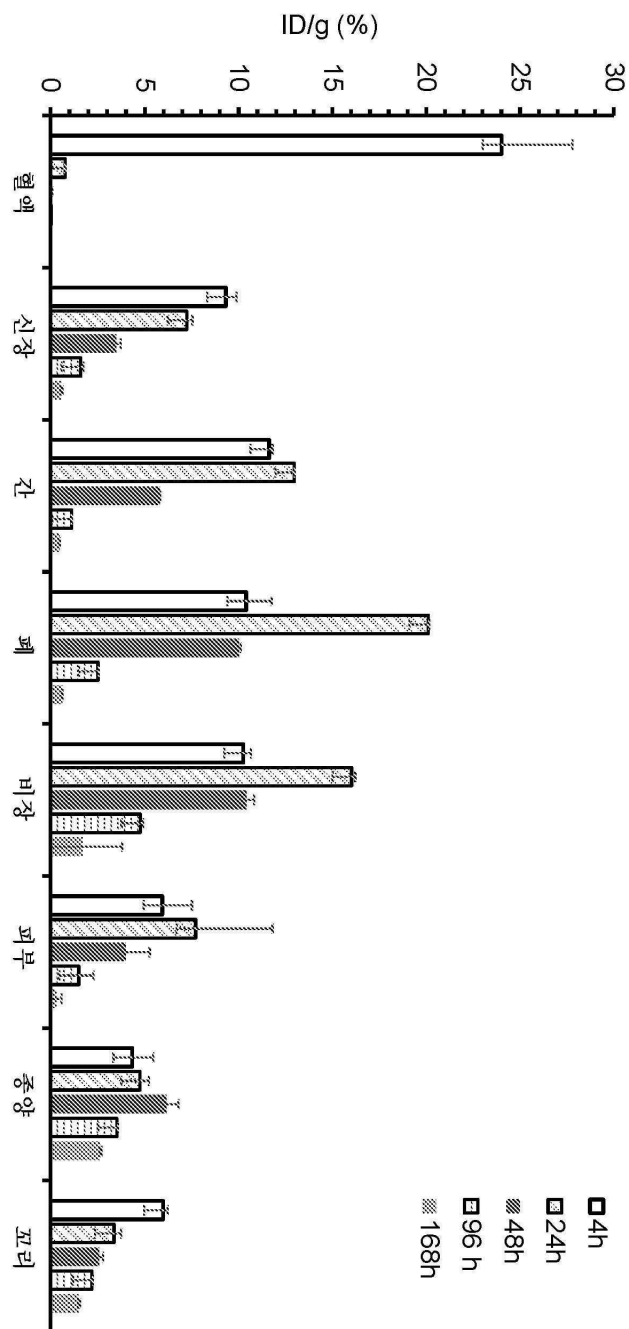
도면4b



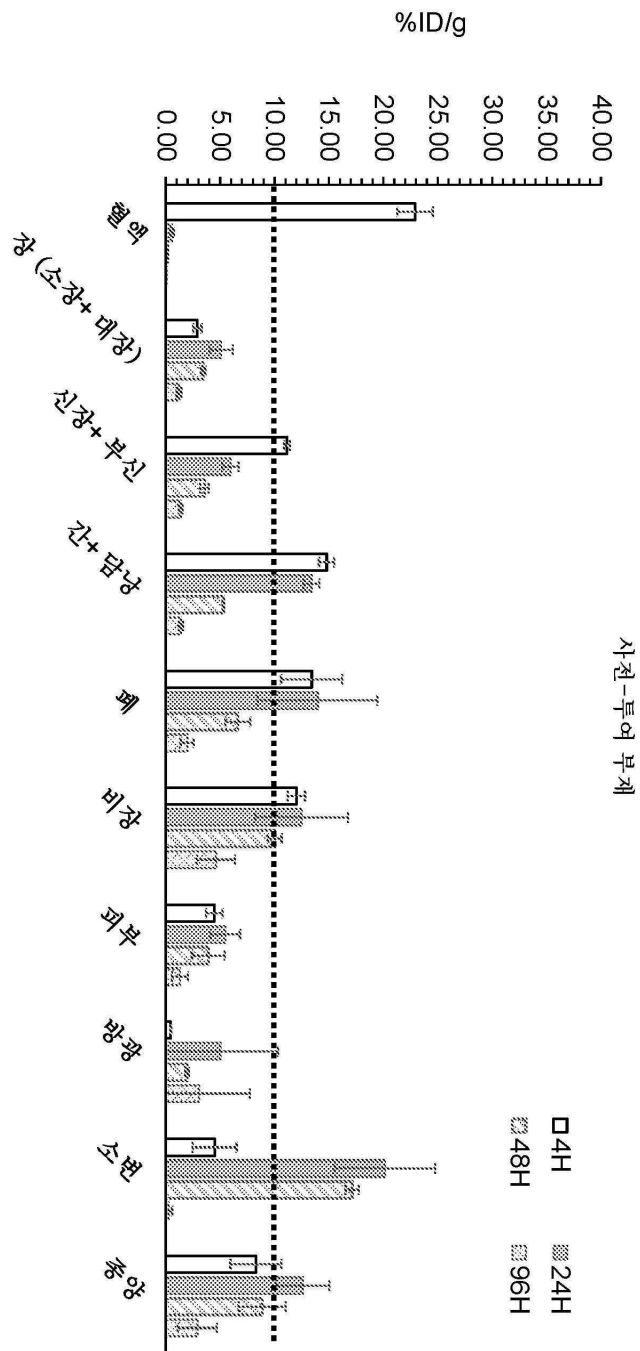
도면4c



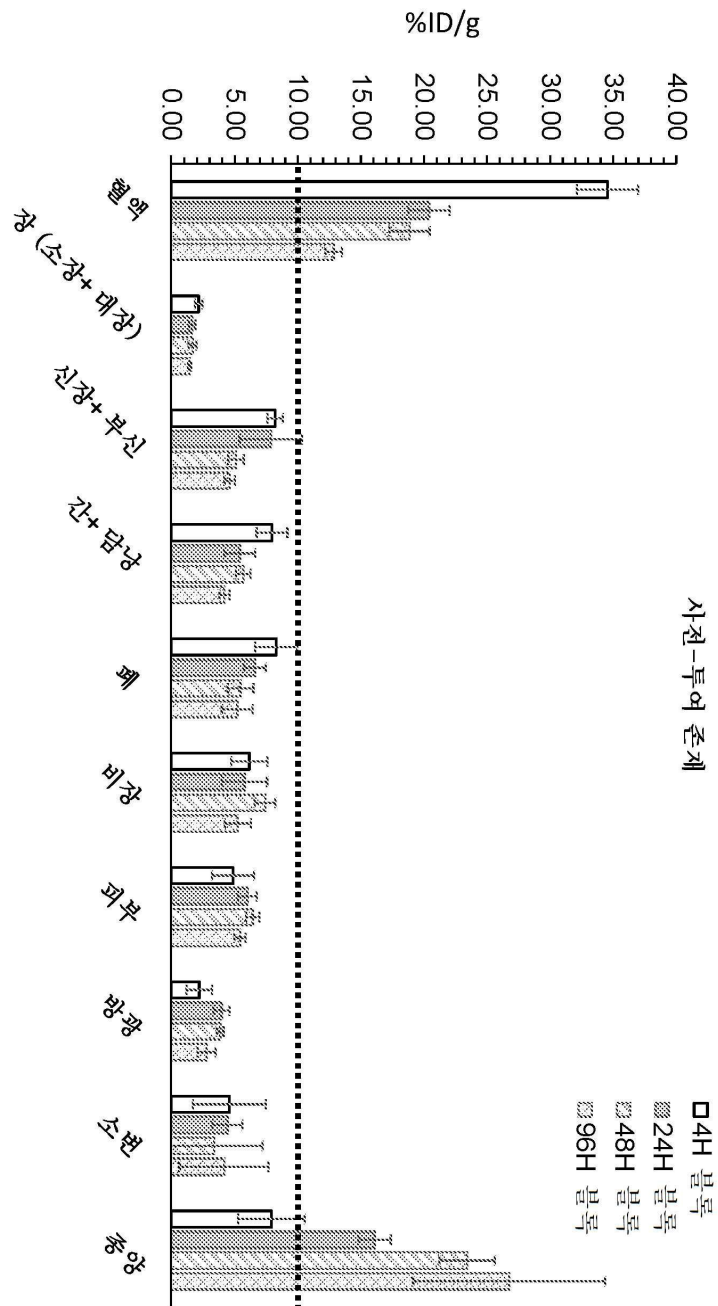
도면5



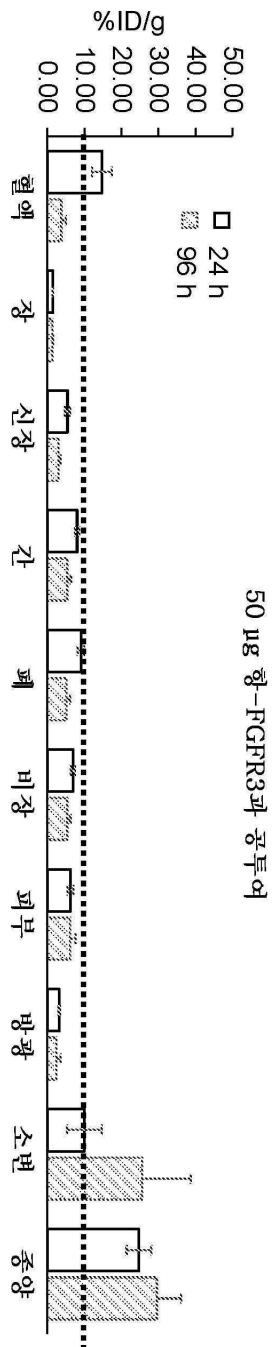
도면6a



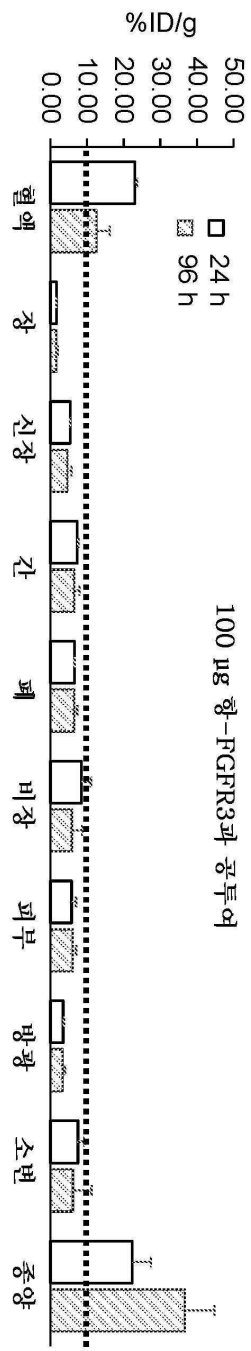
도면6b



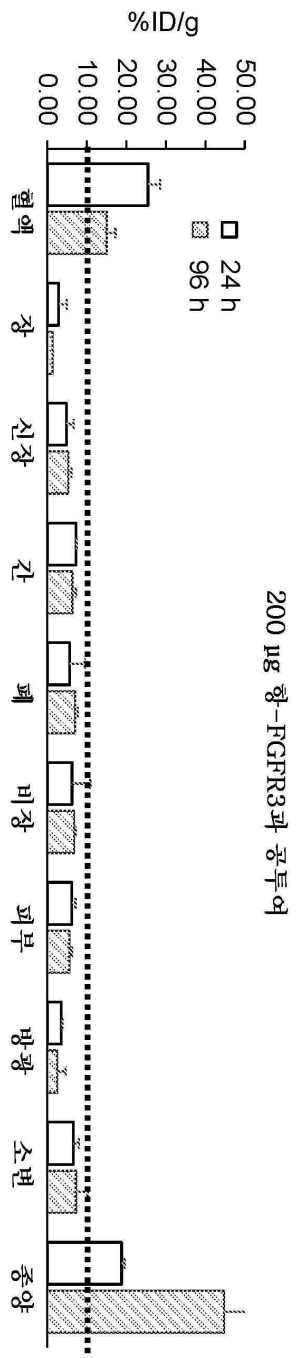
도면7a



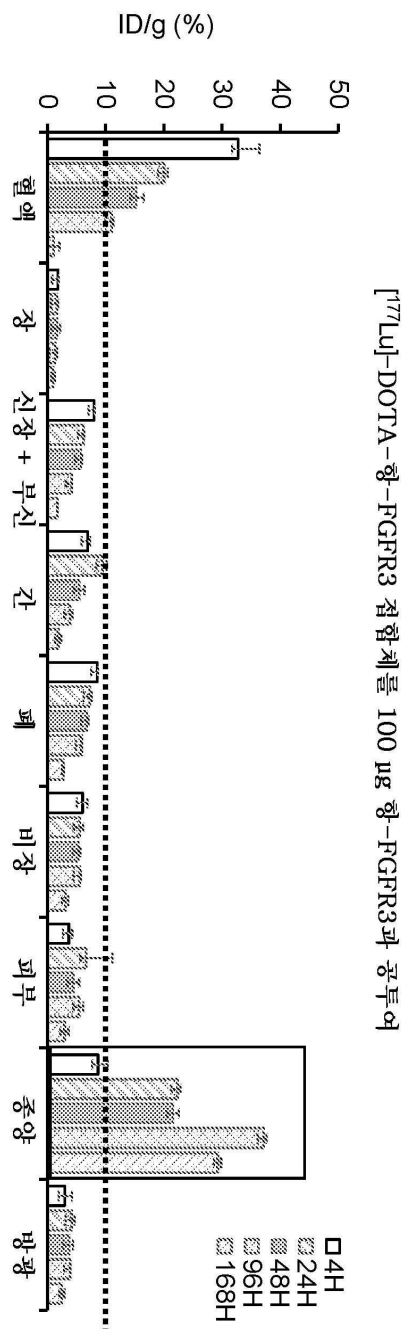
도면7b



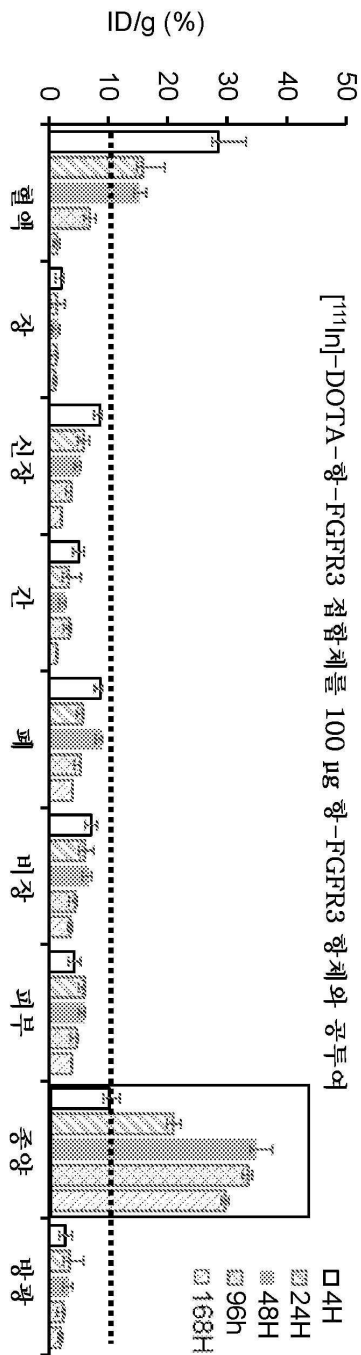
도면7c



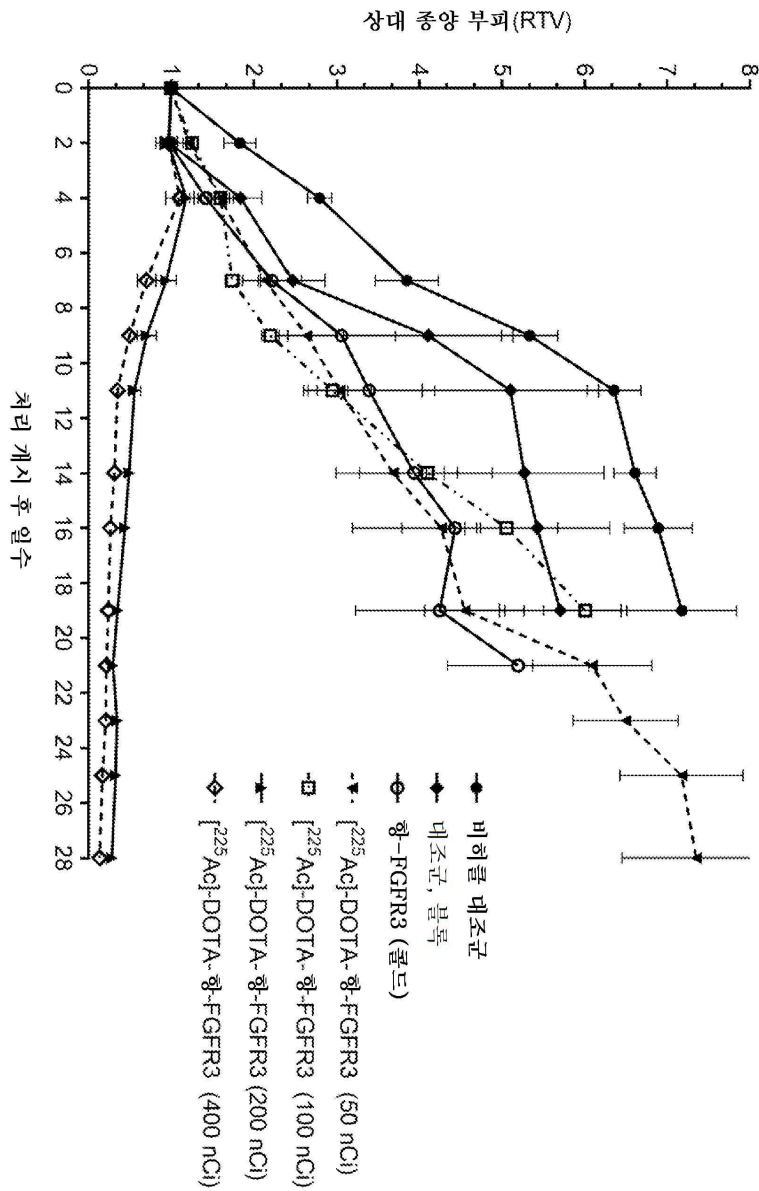
도면8a



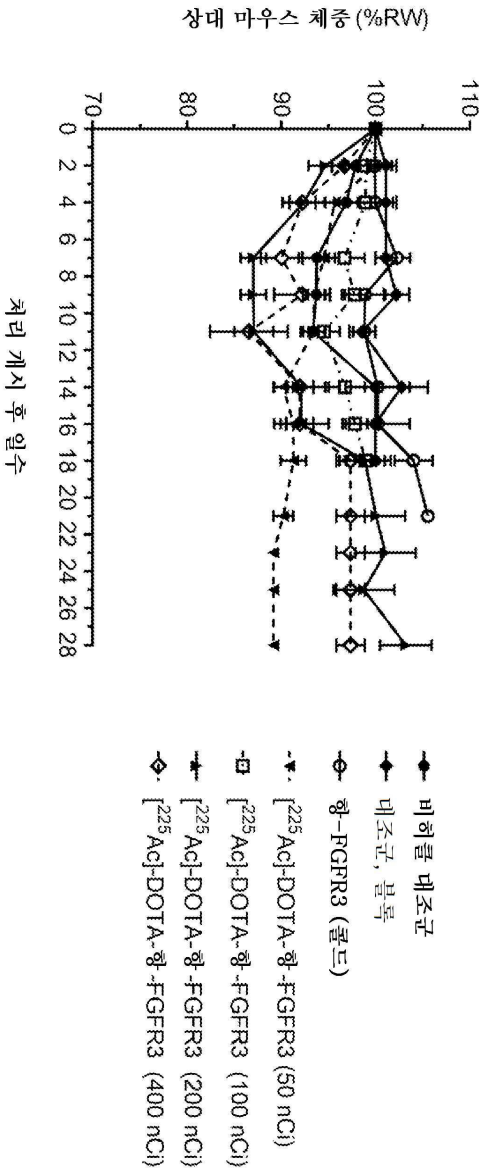
도면8b



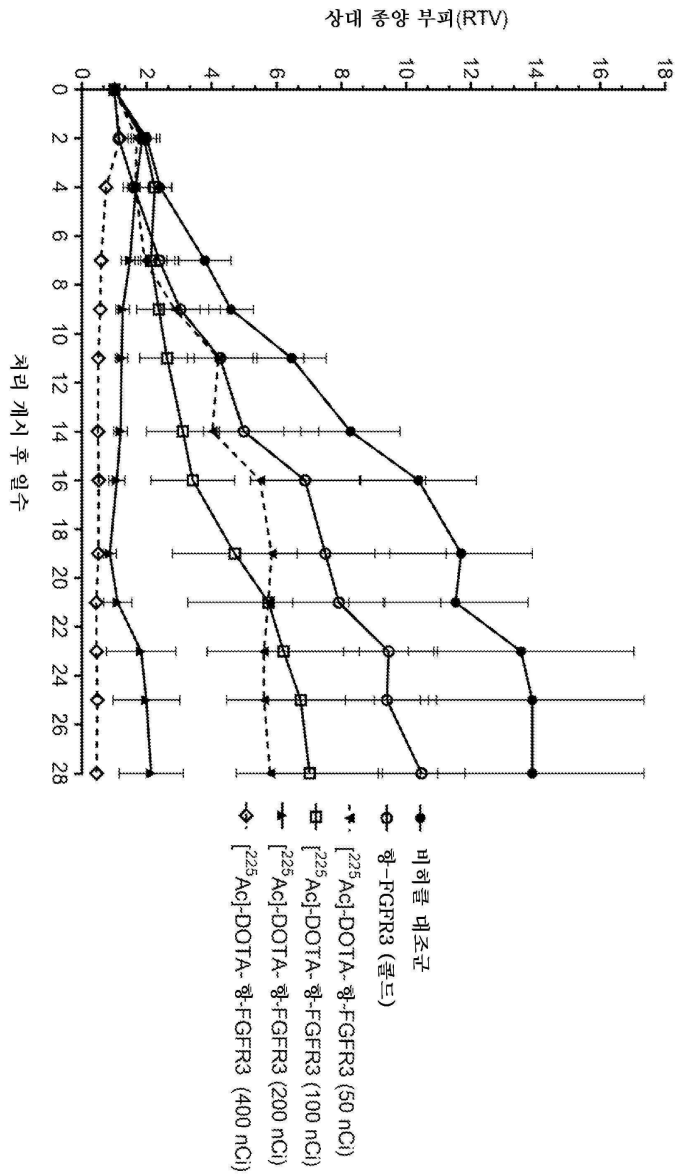
도면9a



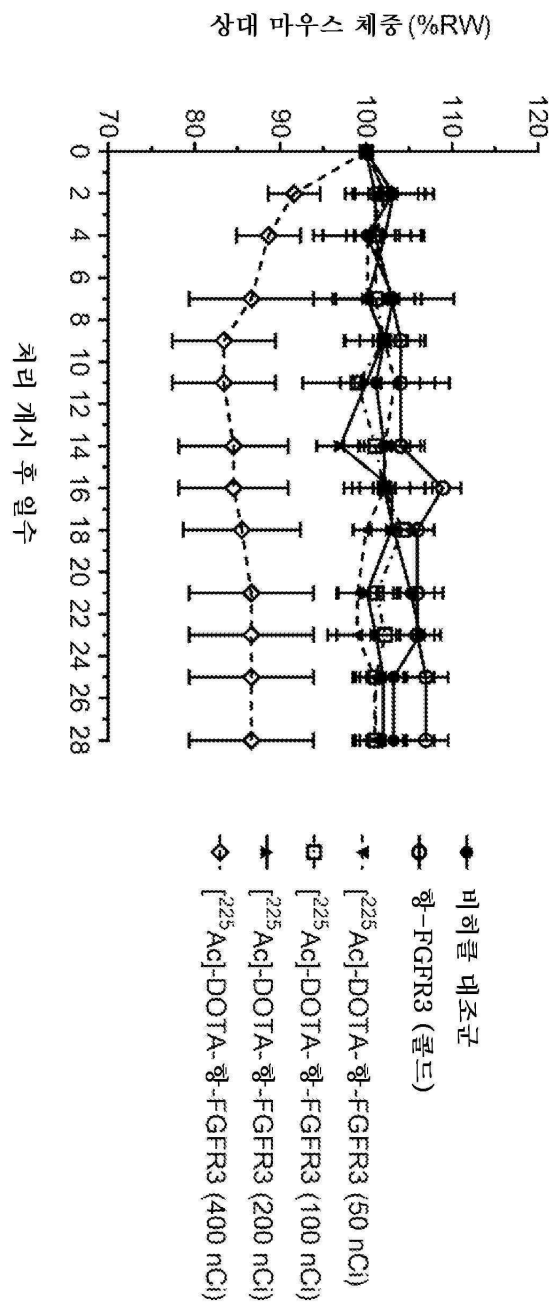
도면9b



도면10a



도면10b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Fusion Pharmaceuticals Inc.
- <120> FGFR3-TARGETED RADIOIMMUNOCONJUGATES AND USES THEREOF
- <130> FPI-012
- <150> US 62/993,622
- <151> 2020-03-23

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-H1 of FGFR3 antibody

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Thr Ser Thr Gly Ile Ser

1 5 10

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-H2 of FGFR3 antibody

<400> 2

Gly Arg Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val

1 5 10 15

<210> 3

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-H3 of FGFR3 antibody

<400> 3

Thr Tyr Gly Ile Tyr Asp Leu Tyr Val Asp Tyr Thr Glu Tyr Val Met

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 4

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-H3 of FGFR3 antibody

<400> 4

Ala Arg Thr Tyr Gly Ile Tyr Asp Leu Tyr Val Asp Tyr Thr Glu Tyr

1 5 10 15

Val Met Asp Tyr

20

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L1 of FGFR3 antibody

<400> 5

Arg Ala Ser Gln Asp Val Asp Thr Ser Leu Ala

1 5 10

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L2 of FGFR3 antibody

<400> 6

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR-L3 of FGFR3 antibody

<400> 7

Gln Gln Ser Thr Gly His Pro Gln Thr

1 5

<210> 8

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain variable sequence of FGFR3 antibody MFGR1877S

<400> 8

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Thr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Thr Tyr Gly Ile Tyr Asp Leu Tyr Val Asp Tyr Thr Glu Tyr
100 105 110
Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125
Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
130 135 140
Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145 150 155 160
Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
165 170 175
Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
180 185 190
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
195 200 205
Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
210 215 220
Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
225 230 235 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

245 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

260 265 270

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

275 280 285

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

290 295 300

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

325 330 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

340 345 350

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

355 360 365

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

370 375 380

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

385 390 395 400

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

405 410 415

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

420 425 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

435 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 9

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain variable region of FGFR3 antibody MFGR1877S

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210