



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0141754
(43) 공개일자 2023년10월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 47/64 (2017.01) A61K 47/60 (2017.01)
A61K 47/65 (2017.01) A61K 47/68 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 47/64 (2017.08)
A61K 47/60 (2017.08)

(21) 출원번호 10-2023-7017996

(22) 출원일자(국제) 2021년10월29일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2023년05월26일

(86) 국제출원번호 PCT/US2021/057330

(87) 국제공개번호 WO 2022/094262

국제공개일자 2022년05월05일

(30) 우선권주장

63/108,020 2020년10월30일 미국(US)

63/197,926 2021년06월07일 미국(US)

(71) 출원인

아박타 라이프 사이언시스 리미티드

영국 엘에스23 7에프에이 웨더비 요크셔 토포 아
치 에스테이트 에쉬 웨이 유닛 20

트러스티즈 오브 터프츠 칼리지

미국 02155 매사추세츠 메드포드 발루 홀

(72) 발명자

바스란, 암리크

영국 씨비1 8피와이 캠프릿지 뷰몬트 로드 42

빈센트, 매튜 피.

미국 01913-5512 매사추세츠 아메스베리 콰이 레
인 12

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양영준, 김영

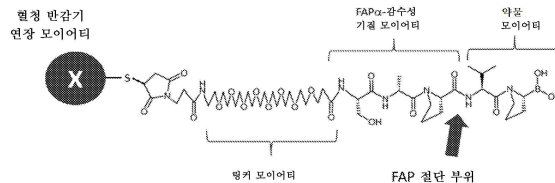
전체 청구항 수 : 총 57 항

(54) 발명의 명칭 FAP-활성화 혈청 반감기 연장된 치료 접합체

(57) 요약

연장된 순환 혈청 반감기를 갖는 치료 접합체가 본원에 개시된다. 치료 접합체는 섬유모세포 활성화 단백질, 알파(FAP α)-절단가능한 링커를 통해 반감기 연장 모이어티에 연결된 치료 모이어티를 포함한다. 치료 접합체를 사용하는 방법이 또한 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/643 (2017.08)

A61K 47/65 (2017.08)

A61K 47/68 (2017.08)

A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자

젠킨스, 엠마

영국 씨엠24 8비비 에식스 스탠스테드 브룩 로드
47

아담, 에스텔

영국 에스취5 1유이 히친 베어톤 로드 42비

바코프친, 윌리엄

미국 02176-2109 매사추세츠 멜로스 와윅 로드 71

명세서

청구범위

청구항 1

섬유모세포 활성화 단백질, 알파 (FAP α)-절단가능한 링커를 통해 반감기 연장 모이어티에 연결된 치료 모이어티를 포함하는 치료 접합체로서, 여기서 생체내 치료 접합체의 순환 혈청 반감기는 적어도 48시간이고, 접합체는 1×10^{-6} M 이하의 K_d 로 세포의 세포 표면 단백질에 결합하는 세포-결합 모이어티를 포함하지 않는 것인 치료 접합체.

청구항 2

섬유모세포 활성화 단백질, 알파 (FAP α)-절단가능한 링커를 통해 반감기 연장 모이어티에 연결된 치료 모이어티를 포함하는 치료 접합체로서, 여기서 생체내 치료 접합체의 순환 혈청 반감기는 유리 치료 모이어티의 순환 혈청 반감기에 비해 2배 초과로 연장되고, 접합체는 1×10^{-6} M 이하의 K_d 로 세포의 세포 표면 단백질에 결합하는 세포-결합 모이어티를 포함하지 않는 것인 치료 접합체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 반감기 연장 모이어티가 혈청 단백질을 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 4

제3항에 있어서, 혈청 단백질이 피브로넥틴, 트랜스페린 및 인간 혈청 알부민 (HSA)으로부터 선택되는 것인 치료 접합체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 반감기 연장 모이어티가 피브로넥틴, 트랜스페린 및 HSA로부터 임의로 선택된 혈청 단백질에 결합하는 분자를 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 6

제5항에 있어서, 혈청 단백질에 결합하는 분자가 Fab, F(ab)₂, F(ab'), F(ab')₂, F(ab')₃, Fd, Fv, 디설피드 연결된 Fv, dAb 또는 sdAb (또는 나노바디(NANOBODY)®), CDR, scFv, (scFv)₂, 디-scFv, 비-scFv, tascFv (탠덤 scFv), 아비바디(AVIBODY)® (예를 들어, 디아바디, 트리아바디, 및 테트라바디), T-세포 연관체 (BiTE®), Fc, scFv-Fc, Fcab, mAb₂, 소형 모듈 면역제약 (SMIP), 젠맵/유니바디 또는 듀오바디, V-NAR 도메인, IgNAR, 미니바디, IgGACH2, DVD-Ig, 프로바디, 인트라바디, 및 다중특이성 항체로 이루어진 군으로부터 임의로 선택된 항체인 치료 접합체.

청구항 7

제5항에 있어서, 혈청 단백질에 결합하는 분자가 아피바디, 아피머(AFFIMER)® 폴리펩티드, 아필린, 안티칼린, 아트리머, 아비머, DARPin, FN3 스캐폴드 (예를 들어, 애드넥틴, 센티린), 피노머, 쿠니츠 도메인, 나노피틴, 프로넥틴, 트리바디, 비시클릭 펩티드 및 Cys-knot로 이루어진 군으로부터 임의로 선택된 비-항체 분자인 치료 접합체.

청구항 8

제7항에 있어서, 반감기 연장 모이어티가 스테핀 폴리펩티드의 HSA-결합 재조합적으로 조작된 변이체 (즉, 아피머® 폴리펩티드)를 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 9

제8항에 있어서, 스테핀 폴리펩티드의 재조합적으로 조작된 변이체 (아피머® 폴리펩티드)가 서열식별번호: 110-132 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 반감기 연장 모이어티가 임의로 IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM, 또는 그의 하위부류로부터의 항체 Fc 도메인을 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 반감기 연장 모이어티가 폴리(에틸렌 글리콜) (PEG), 히드록시에틸 전분, 엑스텐 (XTEN)TM 중합체 및 프롤린-알라닌-세린 중합체로 이루어진 군으로부터 임의로 선택된 생체적합성 중합체를 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식 중 하나에 의해 나타내어지는 치료 접합체:



여기서

X는 반감기 연장 모이어티이고,

L^1 은 스페이서 또는 결합이고,

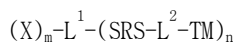
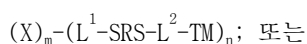
SRS는 FAP α에 의해 절단가능한 기질 인식 서열이고,

L^2 는 자기-희생적 링커 또는 결합이고,

TM은 치료 모이어티이다.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식 중 하나에 의해 나타내어지는 치료 접합체:



여기서

X는 반감기 연장 모이어티이고,

L^1 은 스페이서 또는 결합이고,

SRS는 FAP α에 의해 절단가능한 기질 인식 서열이고,

L^2 는 자기-희생적 링커 또는 결합이고,

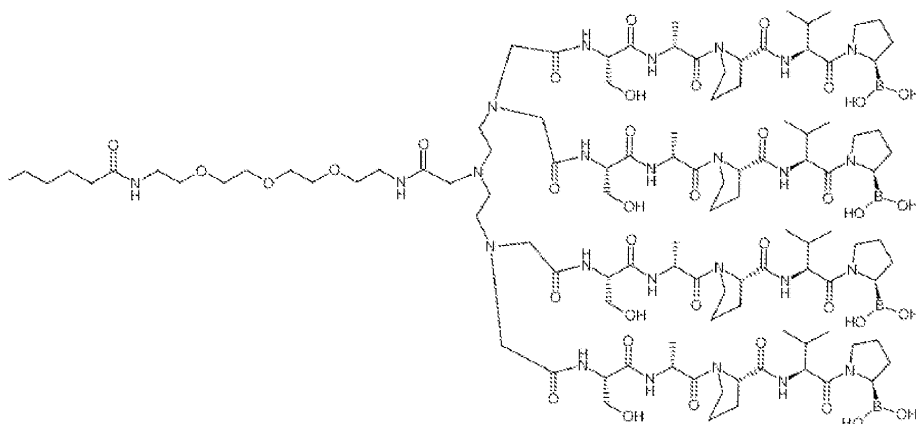
TM은 치료 모이어티이고,

m은 1 내지 6의 정수이고,

n은 1 내지 500, 임의로 1 내지 100, 1 내지 10, 또는 1 내지 5의 정수이다.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 하기를 포함하는 치료 접합체.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, FAP α -절단가능한 링커가 올리고펩티드인 치료 접합체.

청구항 16

제15항에 있어서, 올리고펩티드가 임의로 결합 또는 자기-희생적 링커 및/또는 N-말단 차단기를 통해 치료 모이어티에 공유 연결된 C-말단 프롤린을 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 17

제16항에 있어서, 결합이 FAP α 의 단백질분해 활성화에 의해 절단될 수 있고, 임의로 여기서 결합이 아마이드 결합인 치료 접합체.

청구항 18

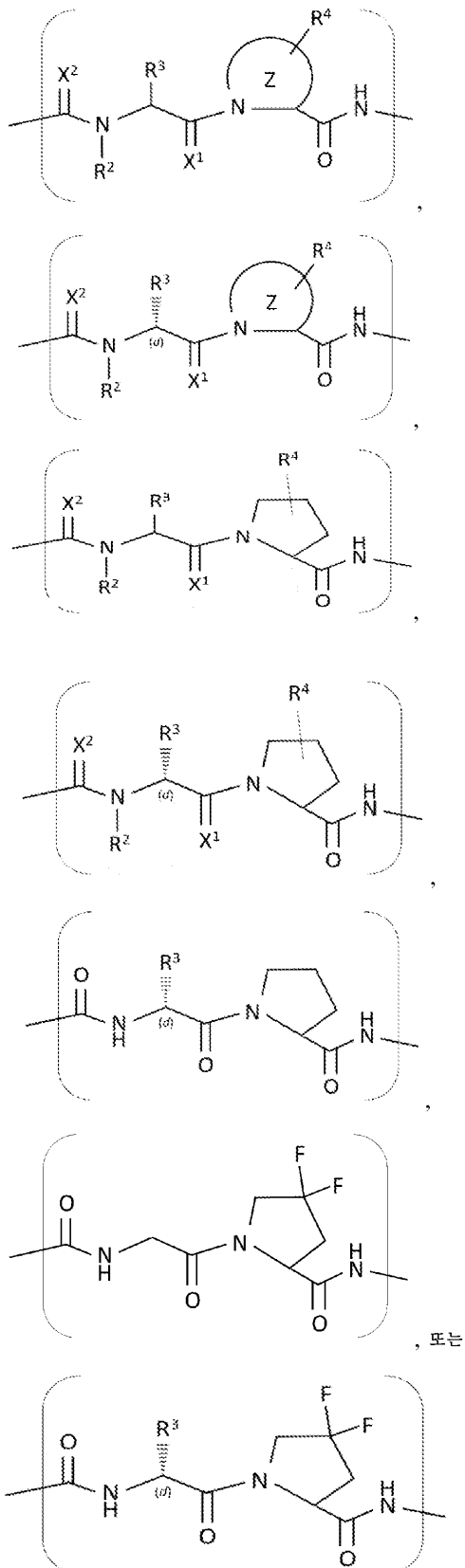
제12항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 자기-희생적 링커가 헤테로시클릭 자기-희생적 모이어티, 임의로 His-Ala, p-아미노벤질옥시카르보닐 (PABC) 또는 및 2,4-비스(히드록시메틸)아닐린을 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, FAP α -절단가능한 링커가 D-Ala-Pro, PPGP (서열식별번호: 136), (D/E)-(R/K)-G-(E/D)-(T/S)-G-P (서열식별번호: 137), DRGETGP (서열식별번호: 138) 및 GPAX (서열식별번호: 139)로부터 선택된 서열, 임의로 D-Ala-Pro 서열 또는 D-Ser 서열을 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, FAP α -절단가능한 링커의 기질 인식 서열 (SRS)이 하기에 의해 나타내어지는 것인 치료 접합체:



R^4 는 분지형 또는 직쇄 저급 알콕시이고/거나,

X^1 은 0 또는 S이고/거나,

X^2 는 0 또는 S이다.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, FAP α -절단가능한 링커의 기질 인식 서열이 임의로 (d)-Ala에 대해 N-말단인 제3 아미노 위치를 포함하고, 임의로 여기서 제3 아미노산 위치에서의 아미노산이 세린 또는 트레오닌인 치료 접합체.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 세포독성제인 치료 접합체.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 세포증식억제제인 치료 접합체.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 후성적 작용제인 치료 접합체.

청구항 25

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 화학요법 약물 모이어티인 치료 접합체.

청구항 26

제25항에 있어서, 화학요법 약물 모이어티가 탁산, 백금-기반 작용제 및 프로테아솜 억제제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 치료 접합체.

청구항 27

제26항에 있어서, 탁산이 파클리탁셀, 도세탁셀 및 카바지탁셀로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 치료 접합체.

청구항 28

제26항에 있어서, 백금-기반 작용제가 옥살리플라틴, 시스플라틴, 카르보플라틴, 네다플라틴, 피코플라틴, 페난트리플라틴, 트리플라틴, 스피로플라틴, 사트라플라틴, 이프로플라틴 및 사트라플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 치료 접합체.

청구항 29

제26항에 있어서, 프로테아솜 억제제가 보르테조미, 락타시스틴, 디술피람, 에피갈로카테킨-3-갈레이트, 마리조미 (살리노스포라미드 A), 오프로조미 (ONX-0912), 델란조미 (CEP-18770), 에폭소미신 및 베타-히드록시 베타-메틸부티레이트로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 치료 접합체.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 생체내에서 선천성 면역 반응을 유도하는 것인 치료 접합체.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 급성 독성인 치료 접합체.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 TLR 효능제, RIG-I 효능제, iDASH 억제제 및 STING 효능제로부터 선택되는 것인 치료 접합체.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 Val-boroPro (탈라보스타트)인 치료 접합체.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 수용체 리간드를 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 35

제34항에 있어서, 수용체 리간드가 소마토스타틴, 콜레시스토키닌-2 (CCK2), 폴레이트, 봄베신, 가스트린-방출 펩티드, 뉴로텐신, 물질 P, 글루카곤-유사 펩티드 1, 뉴로펩티드 Y 및 그의 유사체로부터 선택되는 것인 치료 접합체.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 하기 화학식에 의해 나타내어지는 것인 치료 접합체:



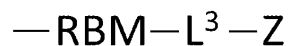
여기서 RBM은 수용체 결합 모이어티이고, Z는 세포독성, 세포증식억제성 또는 후성적 모이어티 또는 방사성동위원소 함유 모이어티이고, p는 0 (Z가 부재함) 또는 1 내지 8의 정수이다.

청구항 37

제36항에 있어서, p가 1인 치료 접합체.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 하기 화학식에 의해 나타내어지는 것인 치료 접합체:



여기서 RBM은 수용체 결합 모이어티이고, Z는 세포독성, 세포증식억제성 또는 후성적 모이어티 또는 방사성동위원소 함유 모이어티이고, L^3 은 결합 또는 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커이다.

청구항 39

제38항에 있어서, L^3 이 산 불안정성 또는 효소 감수성인 링커를 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 40

제39항에 있어서, L^3 이 카텝신 절단 부위를 포함하는 것인 치료 접합체.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 유리 치료 모이어티의 순환 혈청 반감기보다 적어도 5, 10, 25, 50, 100 또는 심지어 1000배 더 긴 순환 혈청 반감기를 갖는 것인 치료 접합체.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 모이어티가 적어도 10, 25, 50, 100, 200, 또는 300시간인 순환 혈청 반감기를 갖는 것인 치료 접합체.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 10, 24, 48, 72, 96 또는 120시간의 기간 동안, 동일한 기간에 걸친 체순환에서의 유리 치료 모이어티의 농도의 적어도 2, 5, 10, 20, 50, 75 또는 100배인, 표적 FAP α -발현 조직에서의 유리 치료 모이어티의 농도를 생성하는 치료 접합체.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, FAP α + 종양을 갖는 대상체에게 투여되었을 때, 유리 치료 모이어티의 항종양 활성에 대한 EC_{50} 이상인 유리 치료 모이어티의 종양내 농도를 적어도 10, 24, 48, 72, 96 또는 120시간의 기간 동안 생성하는 치료 접합체.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, FAP α + 종양을 갖는 대상체에게 투여되었을 때, 적어도 2, 5, 10, 25, 50, 100 또는 500의 항종양 활성에 대한 치료 지수를 갖는 치료 접합체.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, FAP α + 종양을 갖는 대상체에게 투여되었을 때, 유리 치료 모이어티의 항종양 활성에 대한 치료 지수보다 적어도 2, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 또는 10,000배 더 큰 치료 지수를 갖는 치료 접합체.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 등가 용량 기준으로 비교하였을 때, 유리 치료 모이어티에 비해 더 큰 백분율의 유리 치료 모이어티가 FAP α 를 발현하는 표적 조직에 국재화되고, 임의로 여기서 다른 조직 (예컨대, 혈액, 간 또는 심장)에 비해 표적 조직에 국재화된 유리 치료 모이어티의 비가 유리 치료 모이어티에 비해 등가 용량의 치료 접합체에 대해 적어도 2, 5, 10, 100 또는 1000배 더 큰 것인 치료 접합체.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 접합체의 최대 허용 용량이 유리 치료 모이어티의 최대 허용 용량보다 적어도 2, 5, 10, 100 또는 1000배 더 큰 것인 치료 접합체.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 접합체의 세포 투과성이 유리 치료 모이어티의 세포 투과성보다 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 99.9% 더 낮은 것인 치료 접합체.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 접합체의 순환 반감기가 유리 치료 모이어티의 순환 반감기보다 적어도 25%, 50%, 75%, 100%, 150%, 200%, 500%, 750% 또는 1000% 더 긴 것인 치료 접합체.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 유리 치료 모이어티에 비해 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.9% 또는 99.99% 미만의 종양 세포에 대한 세포독성 또는 세포용해 활성을 갖는 치료 접합체.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항의 치료 접합체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 조성물.

청구항 53

이환 조직, 임의로 암을 갖는 대상체에게 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 치료 접합체 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 치료 접합체 또는 조성물이 대상체의 종양 미세환경에서 락테이트 데히드로게나제 (LDH) 방출을 비치료 대조군 대상체에 비해 적어도 0.5배 또는 적어도 1배 증가시키는 데 효과적인 양으로 투여되는 것인 방법.

청구항 55

제53항 또는 제54항에 있어서, 이환 조직, 임의로 종양의 부피가 치료 접합체 또는 조성물의 투여 후 약 2-3주에 적어도 50%, 적어도 60%, 또는 적어도 70% 감소되는 것인 방법.

청구항 56

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 이환 조직, 임의로 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 치료 접합체 또는 조성물.

청구항 57

이환 조직, 임의로 암의 치료를 위한 의약의 제조에서의 제1항 내지 제51항 중 어느 한 항의 치료 접합체의 용도.

발명의 설명

기술 분야

<관련 출원>

본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에 2020년 10월 30일에 출원된 US 63/108,020 및 2021년 6월 7일에 출원된 US 63/197,926을 우선권 주장하며, 이들은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

다양한 치료 약물, 예를 들어 선천성 면역 반응을 유도하는 약물은 면역-관련 독성 및 다른 용량-제한 인자로 인해 실용적 효능이 결여되지만; 이들 약물은 전신 사용에 대해 빈번하게 너무 독성이다. 이는 전신 선천성 면역 활성화가 투여될 수 있는 용량을 크게 제한하기 때문이다. 따라서, 최대 허용 용량은 많은 대상체에서 치료 수준에 도달하지 않는다.

발명의 내용

섬유모세포 활성화 단백질 알파 (FAP α)에 의해 선택적으로 절단되어 절단 부위에서 치료 모이어티를 방출할 수 있는 FAP α 기질을 포함하는 링커를 갖는, 치료제 또는 영상화제의 혈청 반감기 연장된 약물 접합체가 개시된다. FAP 기질의 FAP α 에 의한 절단 시, 약물 접합체는 치료 모이어티를 그의 활성 형태로 방출하거나 또는 그의 활성 형태로 용이하게 대사되는 (또는 달리 전환되는) 형태로 방출한다. 약물 접합체를 포함하는 제약 조성물, 뿐만 아니라 FAP α 상향조절을 특징으로 하는 장애를 치료하기 위해 약물 접합체를 사용하는 방법이 또한 개시된다.

일부 측면에서, 치료 접합체는 대상체에서 급성 독성을 유도하지 않으면서 대상체의 종양 미세환경에서 치료 유효량의 약물 (또는 다른 치료 모이어티)을 방출하도록 설계된다. 놀랍게도, 본 개시내용의 접합체는 심지어 세포-결합 (예를 들어, 표적화) 모이어티의 부재 하에서도 치료 유효량의 약물의 국부 전달을 가능하게 한다. 표적화 모이어티 또는 다른 세포-특이적 귀소 메카니즘 대신에, 본 개시내용의 접합체는 종양 미세환경에서 특이적으로 약물 (또는 다른 치료 모이어티)의 국소 축적 및 방출을 가능하게 하는 반감기 연장 모이어티 및 절단 가능한 링커를 포함한다. 반감기 연장 모이어티는 약물의 국소 축적을 가능하게 하는 한편, 특이성은 종양 미세환경에서 높은 수준으로 존재하는 효소인 FAP α 에 의해 특이적으로 절단되는 절단가능한 링커를 사용하여 달성된다. 따라서, FAP α 에 의한 링커의 특이적 절단은 전형적으로 약물의 전신 전달과 연관된 독성 부작용 없이 종양 미세환경에서 치료 유효량의 약물의 국소 방출을 일으킨다.

본 개시내용의 일부 측면은 FAP α -절단가능한 링커를 통해 반감기 연장 모이어티에 연결된 치료 모이어티를 포함하는 치료 접합체를 제공하며, 여기서 생체내 치료 접합체의 순환 혈청 반감기는 적어도 48시간이고, 접합체

는 1×10^{-6} M 이하의 K_d 로 세포의 세포 표면 단백질에 결합하는 세포-결합 모이어티를 포함하지 않는다.

- [0007] 본 개시내용의 다른 측면은 FAP α -절단가능한 링커를 통해 반감기 연장 모이어티에 연결된 치료 모이어티를 포함하는 치료 접합체를 제공하며, 여기서 생체내 치료 접합체의 순환 혈청 반감기는 적어도 48시간이고, 접합체는 중앙 미세환경에서 세포의 세포 표면 단백질에 결합하는 세포-결합 모이어티를 포함하지 않는다.
- [0008] 본 개시내용의 또 다른 측면은 FAP α -절단가능한 링커를 통해 반감기 연장 모이어티에 연결된 치료 모이어티를 포함하는 치료 접합체를 제공하며, 여기서 생체내 치료 접합체의 순환 혈청 반감기는 반감기 연장 모이어티에 연결되지 않은 치료 모이어티의 순환 혈청 반감기에 비해 적어도 2배로 연장되고, 접합체는 1×10^{-6} M 이하의 K_d 로 세포의 세포 표면 단백질에 결합하는 세포-결합 모이어티를 포함하지 않는다.
- [0009] 본 개시내용의 또 다른 측면은 FAP α -절단가능한 링커를 통해 반감기 연장 모이어티에 연결된 치료 모이어티를 포함하는 치료 접합체를 제공하며, 여기서 생체내 치료 접합체의 순환 혈청 반감기는 반감기 연장 모이어티에 연결되지 않은 치료 모이어티의 순환 혈청 반감기에 비해 적어도 2배로 연장되고, 접합체는 중앙 미세환경에서 세포의 세포 표면 단백질에 결합하는 세포-결합 모이어티를 포함하지 않는다.
- [0010] 반감기 연장 모이어티에 연결되지 않은 치료 모이어티는 본원에서 "유리" 치료 모이어티 (즉, FAP α 에 의한 접합체의 절단으로부터 생성된 치료 모이어티의 모 분자)로 지칭된다.
- [0011] 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 혈청 단백질을 포함한다. 예를 들어, 혈청 단백질은 피브로넥틴, 트랜스페린, 및 인간 혈청 알부민 (HSA)으로부터 선택될 수 있다.
- [0012] 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 혈청 단백질에 결합하는 분자를 포함한다. 예를 들어, 혈청 단백질에 결합하는 분자는 피브로넥틴, 트랜스페린, 또는 HSA일 수 있다.
- [0013] 일부 실시양태에서, 혈청 단백질에 결합하는 분자는 항체이다. 항체는, 예를 들어 Fab, F(ab)₂, F(ab')₂, F(ab')₃, Fd, Fv, 디설피드 연결된 Fv, dAb 또는 sdAb (또는 나노바디(NANOBODY)®), CDR, scFv, (scFv)₂, 디-scFv, 비-scFv, tascFv (탠덤 scFv), 아비바디(AVIBODY)® (예를 들어, 디아바디, 트리아바디 및 테트라바디), T-세포 연관체 (BiTE®), Fc, scFv-Fc, Fcab, mAb₂, 소형 모듈 면역체약 (SMIP), 챔파/유니바디 또는 듀오바디, V-NAR 도메인, IgNAR, 미니바디, IgGACH2, DVD- Ig, 프로바디, 인트라바디 또는 다중특이성 항체일 수 있다.
- [0014] 일부 실시양태에서, 혈청 단백질에 결합하는 분자는 비-항체 분자이다. 비-항체 분자는, 예를 들어 아피바디, 아피머(AFFIMER)® 폴리펩티드, 아필린, 안티칼린, 아트리머, 아비머, DARPin, FN3 스캐폴드 (예를 들어, 애드넥틴, 센티린), 피노머, 쿠니츠 도메인, 나노피틴, 프로넥틴, 트리바디, 비시클릭 펩티드 또는 Cys-듭매일 수 있다. 혈청 단백질에 결합하는 다른 비-항체 분자가 본 개시내용에 포함된다.
- [0015] 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 스테핀 폴리펩티드의 HSA-결합 재조합적으로 조작된 변이체 (즉, 아피머® 폴리펩티드)를 포함한다.
- [0016] 일부 실시양태에서, 스테핀 폴리펩티드의 재조합적으로 조작된 변이체 (즉, 아피머® 폴리펩티드)는 서열식별번호: 110-132 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0017] 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 임의로 IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM, 또는 그의 하위부류로부터의 항체 Fc 도메인을 포함한다.
- [0018] 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 임의로 폴리(에틸렌 글리콜) (PEG), 히드록시에틸 전분, 엑스텐(XTEN)TM 중합체 및 프롤린-알라닌-세린 중합체로 이루어진 군으로부터 선택된 생체적합성 중합체를 포함한다.
- [0019] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 다음 화학식 중 하나에 의해 나타내어진다: $X-L^1-SRS-L^2-TM$, 여기서 X는 반감기 연장 모이어티이고, L^1 은 스페이서 또는 결합이고, SRS는 FAP α 에 의해 절단가능한 기질 인식 서열이고, L^2 는 자기-희생적 링커 (예를 들어, FAP α 절단 후에 대사되거나 또는 달리 제거되어 유리 치료 모이어티를 방출함) 또는 결합이고, TM은 치료 모이어티이다.
- [0020] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 다음 화학식 중 하나에 의해 나타내어진다: $X-(L^1-SRS-L^2-TM)_n$; $X-L^1-(SRS-$

$L^2-TM)_n$; $(X)_m-(L^1-SRS-L^2-TM)_n$; 또는 $(X)_m-L^1-(SRS-L^2-TM)_n$, 여기서 X는 반감기 연장 모이어티이고, L^1 은 스페이서 또는 결합이고, SRS는 FAP α 에 의해 절단가능한 기질 인식 서열이고, L^2 는 자기-회생적 링커 또는 결합이고, TM은 치료 모이어티이고, m은 1 내지 6의 정수이고, n은 1 내지 500, 임의로 1 내지 100, 1 내지 10, 또는 1 내지 5의 정수이다.

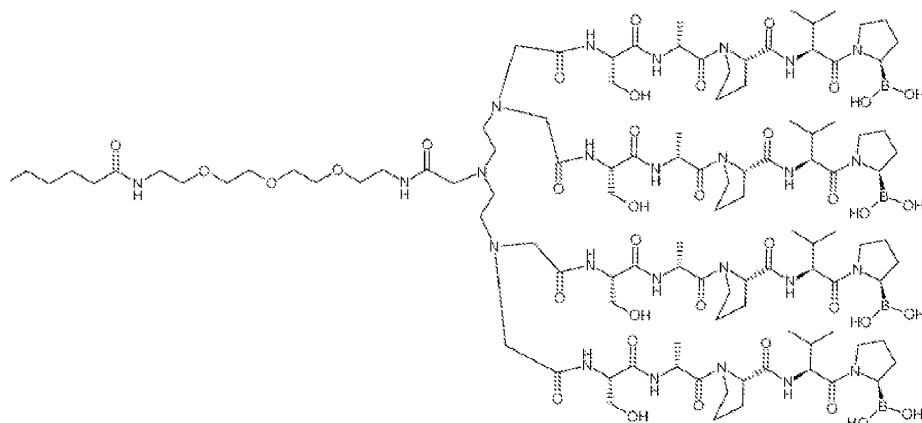
[0021] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 환자의 혈청에서 순환 중인 알부민 또는 다른 단백질에 생체내에서 화학적으로 접합될 수 있는 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 다음 화학식 중 하나에 의해 나타내어진다:

[0022] $Y-L^1-SRS-L^2-TM$; $Y-(L^1-SRS-L^2-TM)_n$; 또는 $Y-L^1-(SRS-L^2-TM)_n$, 여기서 L^1 , SRS, L^2 및 TM은 상기 정의된 바와 같고, Y는 생체내에서 단백질에 화학적으로 가교될 수 있는 반응성 기이다.

[0023] 일부 실시양태에서, Y는 단백질에 존재하는 유리 아민 (예컨대, 리신의 측쇄)에 화학적으로 가교될 수 있는 반응성 기이다. 비제한적 예는 도 6a에 도시된 바와 같은 NHS (N-히드록시숙신이미드)를 포함하는 링커를 포함한다.

[0024] 일부 실시양태에서, Y는 단백질에 존재하는 유리 티올 기 (예컨대, 시스테인의 측쇄)에 화학적으로 가교될 수 있는 반응성 기이다. 비제한적 예는 도 6b에 제시된 바와 같은 말레이미드를 포함하는 링커를 포함한다.

[0025] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 하기이다:



[0026]

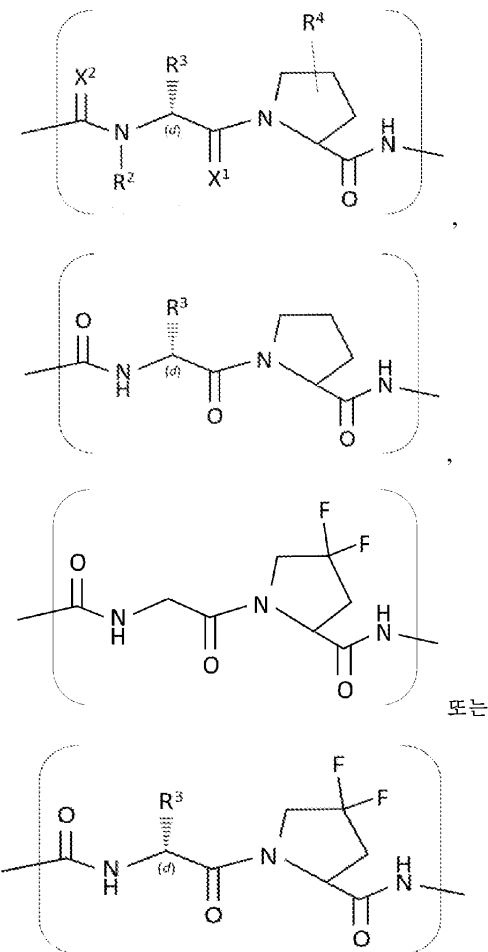
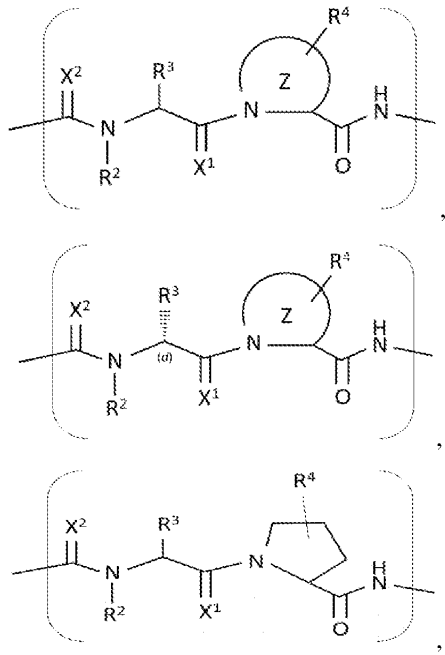
[0027] 일부 실시양태에서, FAP α -절단가능한 링커는 올리고펩티드이다. 일부 실시양태에서, 올리고펩티드는 임의로 결합 또는 자기-회생적 링커 및/또는 N-말단 차단기를 통해 치료 모이어티에 공유 연결된 C-말단 프롤린을 포함한다. 일부 실시양태에서, 결합은 FAP의 단백질분해 활성에 의해 절단될 수 있는 결합, 예를 들어 아마이드 결합이다. 일부 실시양태에서, FAP α -절단가능한 링커는 FAP의 P1' 특이성에 기여한다 (FAP에 의해 P1' 잔기로서 인식됨).

[0028] 일부 실시양태에서, 결합은 FAP α 의 단백질분해 활성에 의해 절단될 수 있으며, 임의로 여기서 결합은 아마이드 결합이다.

[0029] 일부 실시양태에서, 자기-회생적 링커는 헥테로시클릭 자기-회생적 모이어티, 임의로 His-Ala, p-아미노벤질옥시카르보닐 (PABC) 또는 및 2,4-비스(히드록시메틸)아닐린을 포함한다.

[0030] 일부 실시양태에서, FAP α -절단가능한 링커는 D-Ala-Pro, PPGP (서열식별번호: 136), (D/E)-(R/K)-G-(E/D)-(T/S)-G-P (서열식별번호: 137), DRGETGP (서열식별번호: 138) 및 GPAX (서열식별번호: 139)로부터 선택된 서열, 임의로 D-Ala-Pro 서열 또는 D-Ser 서열을 포함한다.

[0031] 일부 실시양태에서, FAP α -절단가능한 링커의 기질 인식 서열 (SRS)이 하기에 의해 나타내어지는 것인 상기 청구항 중 어느 하나의 치료 접합체.



[0034] 여기서 R^2 는 수소 또는 (C_1-C_6) 알킬 또는 수소이고/거나, R^3 은 수소 또는 분지형 또는 직쇄 저급 알킬, 예를 들어 저급 알킬, 예컨대 메틸이고/거나 ((d)가 아미노산 측쇄인 경우, R^3 은 수소가 아님), R^4 는 분지형 또는 직쇄 저급 알콕시, 예컨대 히드록시메틸 (예를 들어, 세린의 경우) 또는 1-히드록시에틸 (예를 들어, 트레오닌의 경

우)이고/거나 (한 실시양태에서, R^4 는 히드록시메틸임), X^1 은 0 또는 S이고/거나, X^2 는 0 또는 S이다.

- [0035] 일부 실시양태에서, FAP α -절단가능한 링커의 기질 인식 서열은 임의로 (d)-Ala (또는 이러한 위치에서 R3에 의해 형성된 다른 (d)-아미노산)에 대해 N-말단인 제3 아미노 위치를 포함하고, 임의로 여기서 제3 아미노산 위치에서의 아미노산은 세린 또는 트레오닌이다.
- [0036] 일부 실시양태에서, FAP α -절단가능한 링커는 FAP α 에 의한 절단에 대한 k_{cat}/K_m 이 프로릴 엔도펩티다제 (EC 3.4.21.26; PREP)에 의한 절단에 대한 k_{cat}/K_m 보다 적어도 10배, 적어도 100배, 1000배, 5000배, 또는 10,000배 더 크다.
- [0037] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 세포독성제이며, 즉 치료 접합체로부터 방출될 때 치료 접합체가 투여되는 농도에서 표적 세포의 세포 사멸을 유발한다.
- [0038] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 세포증식억제제이며, 즉 치료 접합체로부터 방출될 때 치료 접합체가 투여되는 농도에서 표적 세포의 유사분열 정지 또는 중지를 유발한다.
- [0039] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 후성적 작용제이며, 즉 치료 접합체로부터 방출될 때 치료 접합체가 투여되는 농도에서 표적 세포의 후성적 변화를 유발하고, 이는 예를 들어 세포의 또 다른 세포 표현형으로의 분화 (또는 탈분화)를 일으킬 수 있다.
- [0040] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 화학요법 약물 모이어티이다. 예를 들어, 화학요법 약물 모이어티는 타산, 백금-기반 작용제 또는 프로테아솜 억제제일 수 있다. 다른 화학요법 약물 모이어티가 본 개시내용에 의해 포괄된다.
- [0041] 일부 실시양태에서, 타산은 파클리탁셀, 도세탁셀 및 카바지탁셀로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 타산은 파클리탁셀이다. 다른 타산이 본 개시내용에 의해 포괄된다.
- [0042] 일부 실시양태에서, 백금-기반 작용제는 옥살리플라틴, 시스플라틴, 카르보플라틴, 네다플라틴, 피코플라틴, 페난트리플라틴, 트리플라틴, 스피로플라틴, 사트라플라틴, 이프로플라틴 및 사트라플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 백금-기반 작용제는 옥살리플라틴이다. 다른 백금-기반 작용제가 본 개시내용에 의해 포괄된다.
- [0043] 일부 실시양태에서, 프로테아솜 억제제는 보르테조미, 락타시스틴, 디술피람, 에피갈로카테킨-3-갈레이트, 마리조미 (살리노스포라미드 A), 오프로조미 (ONX-0912), 텔란조미 (CEP-18770), 에폭소미신 및 베타-히드록시 베타-메틸부티레이트로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다른 프로테아솜 억제제가 본 개시내용에 의해 포괄된다.
- [0044] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 생체내에서 선천성 면역 (대 적응 면역) 반응을 유도한다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 급성 독성이다. 급성 독성은, 예를 들어 단기간 (예를 들어, 24시간 미만)에 단일 노출로부터 또는 다중 노출로부터 초래되는 약물의 유해 효과를 기재한다. 급성 독성의 유해 효과는 전형적으로 약물 투여 14일 내에 발생한다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 TLR 효능제, RIG-I 효능제, iDASH 억제제 및 STING 효능제로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 Val-boroPro (탈라보스타트)이다.
- [0045] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 수용체에 대한 리간드, 예컨대 치료 접합체로부터 방출될 때 세포 표면 수용체의 세포의 리간드 결합 도메인에 결합할 수 있는 리간드를 포함한다. 예시적인 수용체 리간드는 소마토스타틴, 콜레시스토키닌-2 (CCK2), 플레이트, 붐베신, 가스트린-방출 펩티드, 뉴로텐신, 물질 P, 글루카곤-유사 펩티드 1, 뉴로펩티드 Y 및 이들 리간드의 유사체를 포함한다. 수용체 리간드는 그 자체로 약리학적 활성을 가질 수 있거나, 또는 접합된 약물 모이어티, 독소 또는 방사성동위원소를 전달하는 데 사용될 수 있다.
- [0046] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 다음 화학식에 의해 나타내어진다:
- [0047]
$$-RBM-(Z)_p$$
- [0048] 여기서 RBM은 수용체 결합 모이어티이고, Z는 세포독성, 세포증식억제성 또는 후성적 모이어티 또는 방사성동위원소 함유 모이어티이고, p는 0 (Z가 부재함) 또는 1 내지 8의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 1이다.
- [0049] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 다음 화학식에 의해 나타내어진다:
- [0050]
$$-RBM-L^3-Z$$

- [0051] 여기서 RBM은 수용체 결합 모이어티이고, Z는 세포독성, 세포증식억제성 또는 후성적 모이어티 또는 방사성동위원소 함유 모이어티이고, L^3 은 결합 또는 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커이다. 예를 들어, L^3 은 산 불안정성 또는 효소 감수성 (예컨대, 카텝신 절단 부위를 포함함)인 링커일 수 있고, 이에 따라 수용체 결합 모이어티 RBM에 의존적인 세포 결합을 통해 모이어티 -RBM- L^3 -Z의 내재화 시 Z가 세포내 방출된다.
- [0052] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 유리 치료 모이어티의 순환 혈청 반감기보다 적어도 5, 10, 25, 50, 100 또는 심지어 1000배 더 긴 순환 혈청 반감기를 갖는다. 치료 모이어티의 순환 혈청 반감기는 혈청 내 치료 모이어티의 농도가 50% 감소하는 데 걸리는 시간으로서 정의되는 약동학적 파라미터이다.
- [0053] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 적어도 10, 25, 50, 100, 200, 또는 300시간인 순환 혈청 반감기를 갖는다.
- [0054] 일부 실시양태에서, 적어도 10, 24, 48, 72, 96 또는 120시간의 기간 동안, 치료 접합체는 동일한 기간에 걸친 체순환에서의 유리 치료 모이어티의 농도의 적어도 2, 5, 10, 20, 50, 75 또는 100배인 표적 FAP α -발현 조직에서의 유리 치료 모이어티의 농도를 생성한다. 예를 들어, 유리 치료 모이어티 농도의 이러한 차이는 대상체에서 FAP α -발현 종양과 혈청 사이에 발생할 수 있다.
- [0055] 일부 실시양태에서, FAP α + 종양을 갖는 대상체에게 투여되었을 때, 치료 접합체는 유리 치료 모이어티의 항종양 활성에 대한 EC₅₀ 이상인 유리 치료 모이어티의 종양내 농도를 적어도 10, 24, 48, 72, 96 또는 120시간의 기간 동안 생성한다.
- [0056] 일부 실시양태에서, FAP α + 종양을 갖는 대상체에게 투여되었을 때, 치료 접합체는 적어도 2, 5, 10, 25, 50, 100, 또는 500의 항종양 활성에 대한 치료 지수를 갖는다. 치료 지수 (TI)는 약물의 상대적 안전성의 정량적 측정치이다. 이는 치료 효과를 유발하는 치료제의 양을 독성을 유발하는 양과 비교하는 것이다 (TI는 또한 치료 비로 지칭됨).
- [0057] 일부 실시양태에서, FAP α + 종양을 갖는 대상체에게 투여되었을 때, 치료 접합체는 유리 치료 모이어티의 항종양 활성에 대한 치료 지수보다 적어도 2, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 또는 10,000배 더 큰 치료 지수를 갖는다.
- [0058] 일부 실시양태에서, 등가 용량 기준으로 비교하였을 때, 유리 치료 모이어티에 비해 더 큰 백분율의 유리 치료 모이어티가 FAP α 를 발현하는 표적 조직에 국재화되며, 임의로 여기서 다른 조직 (예컨대, 혈액, 간 또는 심장)에 비해 표적 조직에 국재화된 유리 치료 모이어티의 비는 유리 치료 모이어티에 비해 등가 용량의 치료 접합체에 대해 적어도 2, 5, 10, 100 또는 1000배 더 크다.
- [0059] 일부 실시양태에서, 치료 접합체의 최대 허용 용량은 유리 치료 모이어티의 최대 허용 용량보다 적어도 2, 5, 10, 100 또는 1000배 더 크다. 최대 허용 용량은 특정 기간 내에 허용되지 않는 부작용 또는 명백한 독성을 유발하지 않는 치료 모이어티 (예를 들어, 약물)의 최고 용량이다. 최대 허용 용량은 허용되는 부작용을 갖는 최고 용량이 발견될 때까지 상이한 군의 사람들에게 대해 증가하는 용량을 시험함으로써 임상 시험에서 결정될 수 있다.
- [0060] 일부 실시양태에서, 치료 접합체의 세포 투과성은 유리 치료 모이어티의 세포 투과성보다 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 또는 99.9% 더 낮다.
- [0061] 일부 실시양태에서, 치료 접합체의 순환 반감기는 유리 치료 모이어티의 순환 반감기보다 적어도 25%, 50%, 75%, 100%, 150%, 200%, 500%, 750% 또는 1000% 더 길다.
- [0062] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 유리 치료 모이어티에 비해 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.9% 또는 99.99% 미만의 종양 세포에 대한 세포독성 또는 세포용해 활성을 갖는다.
- [0063] 또한, 일부 측면에서, 상기 단락 중 어느 하나의 치료 접합체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다.
- [0064] 일부 측면에서, 대상체에게 상기 단락 중 어느 하나의 치료 접합체 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 이환 조직, 임의로 암을 갖는 것인 방법이 본원에 추가로 제공된다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 치료 접합체 또는 조성물은 대상체의 종양 미세환경에서 락테이트 데히드로게나제 (LDH) 방출을 비치료 대조군 대상체에 비해 적어도 0.5배 또는 적어도 1배 증가시키는 데 효과적인 양으로 투여된다.

일부 실시양태에서, 치료 접합체 또는 조성물은 대상체의 종양 미세환경에서 LDH 방출을 약 0.5배, 약 0.6배, 약 0.7배, 약 0.8배, 약 0.9배, 약 1배, 약 1.5배 또는 약 2배 증가시키는 데 효과적인 양으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 치료 접합체 또는 조성물은 대상체의 종양 미세환경에서 LDH 방출을 약 0.5배 내지 약 1.5배, 약 0.5배 내지 약 2배, 또는 약 1배 내지 약 2배 증가시키는 데 효과적인 양으로 투여된다.

[0066] 일부 실시양태에서, 이환 조직, 임의로 종양의 부피는 치료 접합체 또는 조성물의 투여 후 약 2-3주에 적어도 50%, 적어도 60%, 또는 적어도 70% 감소된다. 일부 실시양태에서, 이환 조직, 임의로 종양의 부피는 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 또는 약 80% 감소된다. 일부 실시양태에서, 이환 조직, 임의로 종양의 부피는 약 50% 내지 약 60%, 또는 약 50% 내지 약 70%, 또는 약 50% 내지 약 80% 감소된다.

[0067] 일부 측면은 이환 조직, 임의로 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 상기 단락 중 어느 하나의 치료 접합체 또는 조성물을 제공한다.

[0068] 다른 측면은 이환 조직, 임의로 암의 치료를 위한 의약의 제조에서의 상기 단락 중 어느 하나의 치료 접합체의 용도를 제공한다.

[0069] 본 개시내용의 일부 측면은 FAP α -절단가능한 링커를 통해 반감기 연장 모이어티에 연결된 화학요법 치료 모이어티를 포함하는 치료 접합체를 제공하며, 여기서 화학요법 모이어티는 생체내에서 선천성 면역 반응을 유도하고/거나 급성 독성이고, 생체내 치료 접합체의 순환 혈청 반감기는 적어도 48시간이고, 치료 접합체는 1×10^{-8} M 이하의 K_d 로 세포의 세포 표면 단백질에 결합하는 세포-결합 모이어티를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 화학요법 모이어티는 TLR 효능제, RIG-I 효능제, iDASH 억제제 및 STING 효능제로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 화학요법 모이어티는 Val-boroPro (탈라보스타트)이다. 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 항체 Fc 도메인이다. 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 HSA이다. 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는, 서열식별번호: 110-132 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 임의로 포함하는, 스테핀 폴리펩티드의 HSA-결합 재조합적으로 조작된 변이체 (즉, 아피머® 폴리펩티드)이다.

도면의 간단한 설명

[0070] 도 1은 본원에 기재된 반감기 연장된 치료 접합체의 실시양태를 예시한 개략도이다. 다이어그램에서, "X"는 혈청 반감기 연장 모이어티를 나타내며, 이 경우 단백질은 말레이미드 접합체를 통해 시스템인 잔기의 티올 측쇄에 연결되고, 이는 FAP α 기질 서열을 포함하는 링커에 연결되고, 이는 링커의 FAP 절단 시 방출되는 약물 모이어티 (제시된 I-DASH 억제제 발린-보로프로린)에 연결된다.

도 2는 결장 암종의 마우스 모델에서 종양 부피에 의해 나타난 바와 같은 본원에 기재된 치료 접합체의 예의 항종양 활성을 나타내는 그래프이다. "SQT-Gly V.2-6325" 기는 세포-표적화 모이어티가 없는 치료 접합체이다. "AVA04-182" 기는 세포-표적화 모이어티를 포함한다.

도 3은 나타난 투여량 수준에서 치료 접합체의 투여 후 종양 및 혈청에서의 유리 Val-boroPro (탈라보스타트)의 양을 나타내는 그래프이다.

도 4a-4b는 마우스 및 래트에서 단독으로 투여되고 (도 4a) 본원에 기재된 치료 접합체와 함께 투여된 (도 4b) 탈라보스타트의 EC₅₀을 나타내는 그래프이다.

도 5a-5d는 비히클 (도 5a), 세포-결합 모이어티를 포함하는 접합체 (도 5b), 및 본원에 기재된 치료 접합체 (세포-결합 모이어티가 없는 도 5b의 접합체) (도 5c)를 투여한 후의 마우스에서의 종양 부피 및 % 체중 변화를 도시한 그래프이다. 도 5c의 마우스의 % 체중 변화를 또한 측정하였다 (도 5d).

도 6a는 단백질의 리신 잔기에의 접합을 위한 NHS 기를 포함하는 예시적인 FAP-활성화 I-DASH 억제제인 "6325"에 대한 구조이다. 도 6b는 단백질의 리신 잔기에의 접합을 위한 말레이미드 기를 포함하는 예시적인 FAP-활성화 I-DASH 억제제인 "6323"에 대한 구조이다. 도 6c는 단백질의 리신 잔기에의 접합을 위한 말레이미드 기를 포함하는 예시적인 4-분지형 FAP-활성화 I-DASH 억제제인 "6501"에 대한 구조이다.

도 7은 비히클 (대조군), MSA-6325 (6325와 접합된 마우스 혈청 알부민) 및 PEG-6325 (선브라이트(SUNBRIGHT) PTE-200 PA, 20 KDa 4 아암 기능성 PEG와 반응된 6325)를 갖는 CT26-mFAP+ 마우스에서의 시간 경과에 따른 종양 부피의 변화를 나타내는 그래프이다.

도 8a-8b는 6325와 접합된 인간 Fc 단편 (도 8a) 또는 6325와 접합된 완전 인간 IgG 항체 (도 8b)를 갖는 CT26-mFAP+ 마우스에서의 시간 경과에 따른 개별 동물 종양 부피 성장 곡선을 나타내는 그래프이다.

도 9는 FAP-활성화 소마토스타틴 유사체 (옥트레오티드)-기재 접합체에 대한 예시적인 일반 구조를 도시하며, 여기서 X는 반감기 연장 모이어티이고, L1은 스페이서 또는 결합이고, X1 및 X2는 독립적으로 O 또는 S이고, R2는 수소 또는 (C1-C6) 알킬 또는 수소이고, R3은 수소 또는 분지형 또는 직쇄 저급 알킬, 예를 들어 저급 알킬, 예컨대 메틸이고, R4는 분지형 또는 직쇄 저급 알콕시, 예컨대 히드록시메틸 (예를 들어, 세린의 경우) 또는 1-히드록시에틸 (예를 들어, 트레오닌의 경우)이고 (한 실시양태에서, R4는 히드록시메틸임), L3은 결합 또는 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커이고, Z는 세포독성, 세포증식억제성 또는 후성적 모이어티 또는 방사성동위원소 함유 모이어티이다.

도 10은 FAP-활성화 폴산-기재 접합체에 대한 예시적인 일반적 구조를 도시하며, 여기서 X는 반감기 연장 모이어티이고, L1은 스페이서 또는 결합이고, X1 및 X2는 독립적으로 O 또는 S이고, R2는 수소 또는 (C1-C6) 알킬 또는 수소이고, R3은 수소 또는 분지형 또는 직쇄 저급 알킬, 예를 들어 저급 알킬, 예컨대 메틸이고, R4는 분지형 또는 직쇄 저급 알콕시, 예컨대 히드록시메틸 (예를 들어, 세린의 경우) 또는 1-히드록시에틸 (예를 들어, 트레오닌의 경우)이고 (한 실시양태에서, R4는 히드록시메틸임), X3은 O 또는 N(H)이고, L3은 결합 또는 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커이고, Z는 세포독성, 세포증식억제성 또는 후성적 모이어티 또는 방사성동위원소 함유 모이어티이다.

도 11은 FAP 기질 인식 서열 (단백질 접합을 위한 링커를 나타냄), 플레이트 표적화 리간드, 펩티드 스페이서, 자기-희생적 디설피드 링커 및 세포독성 약물 테스아세틸 빈블라스틴 모노히드라진 (DAVLBH)으로 구성된 FAP-활성화 폴산-기재 SMDC 빈타폴리드의 예시이다.

도 12는 FAP 기질 인식 서열 (단백질 접합을 위한 링커를 나타냄), 폴산 표적화 모이어티, 자기-희생적 디설피드 링커 및 친수성 PEG화 디펩티드 스페이서 (가용화 스페이서) 및 화학요법 약물 탁솔의 유도체인 탁소이드 SB-T-1214를 혼입시킨 FAP-활성화 플레이트-탁소이드 접합체의 예시이다 (문헌 [Seitz et al. Bioorg. Med. Chem., 2015, 23, 2187-2194] 참조).

도 13a-13b는 FAP-활성화 플레이트-독소루비신 (도 13a) 및 티올로에이트 (도 13b) HDAC 억제제의 구조를 도시한다.

도 14는 FAP 기질 인식 서열 (단백질 접합을 위한 링커를 나타냄), 폴산 표적화 모이어티, 자기-희생적 디설피드 링커 및 항류블린 세포독성 메이탄시노이드 약물 모이어티 DM4를 포함하는 FAP-활성화 플레이트-세포독성 메이탄시노이드 접합체를 나타낸다.

도 15는 FAP-활성화 플레이트-MMAE의 구조를 도시한다.

도 16은 캄프토테신의 구조를 도시한다.

도 17은 24시간 동안 rhFAP α 의 존재 (개방 막대) 또는 부재 (회색으로 채워진 막대) 하에 다양한 버전의 FAP-활성화 I-DASH 억제제 6325 (Hu IgG1 Fc-6325, Hu IgG1-6325, MSA-6325, SQT-Gly V.2-6325, SQT-Gly CF-6325, 또는 SQT-Gly CG-6325) 중 하나와 함께 배양된 J774A.1 마우스 대식세포 세포주 세포로부터의 배양물 상청액으로 방출된 락테이트 데히드로게나제 (LDH, 피로토시스의 마커)의 배수-증가를 나타내는 그래프를 포함한다. 비처리 대조군을 각각의 실험 세트에 대해 사용하였고, Val-boroPro (VbP) 대조군 실험을 또한 수행하였다 (데이터는 제시되지 않음). 모든 값은 평균 $\pm$ SEM을 나타낸다. FAP α 없음 대 + FAP α 의 통계적 분석을 그래프패드 프리즘에서 다중 T 검정을 통해 수행하였다. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

도 18a-18b는 화합물 말레이미드 링커 전구약물, 6323 (도 18a) 및 6501 (도 18b)에 대한 유리 SH의 측정에 의해 결정된 티올 (SH) 기의 접합을 나타내는 그래프이다.

도 19a-19b는 FAP α -특이적 억제제인 5057의 존재 또는 부재 하에 CT26-mFAP 종양-보유 마우스 혈청 (도 19a) 및 종양 샘플 (도 19b)에서 Hu IgG1 Fc-6325로부터 방출된 VbP의 약동학을 나타내는 그래프이다. 각각의 시점은 군당 3마리의 마우스를 포함한다.

도 20a-20b는 동계 묶임 결합압 모델 (CT26-mFAP⁺ 마우스)에서 시간 경과에 따른 종양 부피로서 측정된, SQT-Gly 접합체 (도 20a) 및 Hu IgG1 Fc 접합체 (도 20b)의 효능을 나타내는 그래프이다.

도 21은 무린 결장암 모델 (CT26-mFAP⁺ 마우스)에서 마우스 혈청 및 종양에서 상이한 FAP-활성화 전구약물로부터 방출된 VbP의 약동학 및 조직 분포를 나타내는 그래프를 포함한다. 측정은 액체 크로마토그래피-질량 분광 측정법 (LC-MS)을 사용하여 수행하였다. 각각의 투여 군은 1, 4, 및 24시간으로만 이루어진 24 μ g 3892를 제외하고는 1, 4, 6, 24, 및 48시간 수집 시점 (n = 3/군)을 나타내는 5개 군의 하위세트로 이루어졌다.

도 22a-22b는 무린 결장암 모델 (CT26-mFAP⁺ 마우스)에서 마우스 혈청 및 종양에서 SQT-Gly V.2-접합체 (도 22a) 및 IgG Fc-접합체 (도 22b)로부터 방출된 VbP의 약동학 및 조직 분포를 나타내는 그래프를 포함한다. LC-MS를 사용하여 측정하였다. 각각의 투여 군은 1, 4, 6, 24 및 48시간 수집 시점을 나타내는 5개 군의 하위세트로 이루어졌다 (n = 3/군).

도 23은 비종양-보유 BALB/c 마우스 수준에서의 FAP-활성화 전구약물 G-CSF 혈청 시토카인 반응을 도시한 그래프이다. 비히클 (PBS), 42CQ-6501 및 42CQ-6501+MSA를 200 μ g/마우스로 투여한 후의 마우스 혈청 내의 G-CSF의 수준을 나타낸다.

도 24a-24b는 스테핀 폴리펩티드의 재조합적으로 조작된 변이체 (아피머®)-Fc 단백질의 힌지 영역 시스테인 잔기에 대한 화합물 말레이미드 링커 전구약물 (6323)의 접합을 나타내는 그래프이다. 환원된 SH의 mol당 0, 10, 20 및 40 mol의 6323의 반응 비 (SQTGlyCF당 4 SH)로 접합을 수행하였다. 유리 SH 기의 변화 대 반응 비를 도 24a에 나타낸다. SH당 40 6323의 반응 비로 시한 접합 반응을 수행하고, 6323의 첨가 후 0, 5, 10, 15 및 20 분에 반응을 중지시켰다. SH 기당 40 6323의 반응 비로 SQTGlyCF에 대한 6323의 접합의 동역학을 도 24b에 나타낸다.

도 25a-25b는 CT26-mFAP 종양-보유 마우스에서 42CQ-6501의 투여 후에 방출된 VbP의 약동학을 나타내는 그래프이다. 각각의 투여 군은 1, 4, 6, 24 및 48시간 수집 시점을 나타내는 5개 군의 하위세트로 이루어졌다 (n = 3/군). VbP를 혈청 (도 25a) 및 종양 (도 25b) 샘플에서 LC-MS로 측정하였다.

도 26a-26b는 동계 무린 결장암 모델 (CT26-mFAP⁺ 마우스)에서 시간 경과에 따른 종양 부피로서 측정된, 42CQ-6323 접합체 (도 26a) 및 42CQ-6501 접합체 (도 26b) $\pm$ MSA의 효능을 나타내는 그래프이다.

도 27a-27b는 야생형 및 FAP α 녹아웃 마우스 (n=3/군)에서 42CQ-6323 접합체 (도 27a) 및 42CQ-6501 접합체 (도 27b)의 투여 후에 방출된 VbP의 약동학을 나타내는 그래프이다.

도 28은 VbP의 예시적인 전구약물인 "3892"에 대한 구조이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0071] 본원에 제공된 데이터는, 예상외로, 본 개시내용의 치료 접합체가 세포-결합 (예를 들어, 세포 표적화) 모이어티 없이 전신 전달될 수 있지만, 여전히 치료 유효량의 치료 모이어티 (예를 들어, 약물)를 표적 이환 조직에 전달할 수 있으면서, 직접 전달된 치료 모이어티의 치료 지수보다 우수한 치료 지수를 (예를 들어, 동일한 투여 경로에 의해) 유지한다는 것을 입증한다. 세포-결합 모이어티 대신에, 본원에 기재된 치료 접합체는 반감기 연장 모이어티 및 FAP α -절단가능한 링커를 포함하며, 이는 조합되는 경우에 표적 조직보다 더 낮은 수준으로 FAP α 를 발현하는 비-표적 조직의 노출을 감소시키면서 종양 미세환경 (또는 FAP α 를 발현하는 다른 표적 조직)에서 치료 모이어티의 국소 축적 및 방출을 가능하게 한다. 따라서, 본원에 제공된 치료 접합체는 (1) 전구약물의 국제화된 FAP α 절단 및 연장된 순환 혈청 반감기로 인한 표적 조직에서 방출된 치료 모이어티의 최대 유효 농도의 보다 높은 백분율에 도달하는 우수한 효능 및/또는 능력, 및 (2) 모 치료 모이어티에 비해 보다 낮은 전신 C_{max} 농도 및/또는 감소된 전신 독성으로 투여되는 능력으로 인한 개선된 치료 지수 (TI) 중 하나 이상을 입증한다.

[0072] 섬유모세포 활성화 단백질, 알파 (FAP α)-절단가능한 링커를 통해 반감기 연장 모이어티에 연결된 치료 모이어티를 포함하는 치료 접합체가 본원에 기재된다. 이들 접합체의 각각의 성분은 하기에 상세하게 기재된다.

[0073] 반감기 연장 모이어티

[0074] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 반감기 연장 모이어티를 포함한다. 반감기 연장 모이어티는 생체내 치료 모이어티의 순환 혈청 반감기를 연장시킨다. 순환 혈청 반감기는 혈청 내 치료 모이어티의 농도 또는 양이 절반 (50%)만큼 감소하는 데 걸리는 시간의 양이다. 반감기는 시간 경과에 따라 대상체의 혈청 내 치료 모이어티의 농도를 측정함으로써 실험적으로 결정될 수 있다. 반감기는 다음 식을 이용하여 계산할 수 있다: $0.693 \times$

(Vd/CL), 여기서 Vd는 분포 부피를 나타내고, CL은 클리어런스를 나타낸다. 분포 부피는 혈장에서 관찰되는 것과 동일한 농도의 치료 모이어티의 총량을 함유하는 데 필요한 이론적 부피이다 (예를 들어, 혈액, 혈장에서, 및 간질액 중의 유리 형태로 측정된 치료 모이어티의 농도에 대한 체내 치료 모이어티의 양의 비). 클리어런스는 단위 시간당 치료 모이어티가 완전히 제거되는 혈장의 부피이다. 반감기는 또한 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC), 형광 검정, 방사성검정, 방사선면역검정 및 원소 질량 분광측정 검정을 사용하여 결정될 수 있다.

[0075] 반감기 연장 모이어티는 분자의 순환 혈청 반감기를 반감기 연장 모이어티에 연결되지 않은 분자의 순환 혈청 반감기에 비해 적어도 2배 연장시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 분자의 순환 혈청 반감기를 반감기 연장 모이어티에 연결되지 않은 분자의 순환 혈청 반감기에 비해 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 적어도 10배, 적어도 20배, 또는 적어도 30배 연장시킨다. 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 분자의 순환 혈청 반감기를 반감기 연장 모이어티에 연결되지 않은 분자의 순환 혈청 반감기에 비해 2배 내지 5배, 2배 내지 10배, 3배 내지 5배, 3배 내지 10배, 15배 내지 5배, 4배 내지 10배, 또는 5배 내지 10배 연장시킨다.

[0076] 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 치료 모이어티의 순환 혈청 반감기를 반감기 연장 모이어티에 연결되지 않은 치료 모이어티의 순환 혈청 반감기에 비해 생체내 투여 후 적어도 10시간, 적어도 12시간, 적어도 15시간, 적어도 20시간, 적어도 24시간, 적어도 48시간, 적어도 72시간 또는 적어도 96시간, 예를 들어 적어도 1주 연장시킨다.

[0077] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 10시간의 순환 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 24시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 48시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 72시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 96시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 120시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 144시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 168시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 192시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 216시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 240시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 264시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 288시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 312시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 336시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 적어도 360시간의 혈청 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 인간 대상체에서 24 내지 360시간, 48 내지 360시간, 72 내지 360시간, 96 내지 360시간, 또는 120 내지 360시간의 혈청 반감기를 갖는다.

[0078] 혈청 단백질 및 항체 Fc 도메인은 반감기 연장 모이어티로서 본원에 제공된 바와 같이 사용될 수 있는 2종의 주요 단백질의 비제한적 예이다. Fc 및 혈청 단백질 접합체 둘 다는 치료 모이어티의 크기를 증가시킴으로써 뿐만 아니라 신생아 Fc 수용체, FcRn과 같은 신체의 자연 재순환 메커니즘을 이용함으로써 연장된 반감기를 달성한다. FcRn에 대한 이들 단백질의 pH-의존성 결합은 엔도솜에서 치료 접합체의 분해를 방지한다. 이들 단백질을 사용하는 접합체는 3-16일 범위의 반감기를 가질 수 있다. 항체 Fc 도메인 또는 혈청 단백질을 포함하는 접합체는 치료 모이어티의 용해도 및 안정성을 개선시킬 수 있다.

[0079] 혈청 단백질

[0080] 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 혈청 단백질 (예를 들어, 인간의 혈액 (예를 들어, 혈청) 중 자연 발생 또는 변형된 버전의 단백질)을 포함한다. 혈청 단백질은, 예를 들어 피브로넥틴, 트랜스페린 또는 알부민일 수 있다.

[0081] 일부 실시양태에서, 혈청 단백질은 피브로넥틴이다. 피브로넥틴은 인테그린으로 불리는 막-관통 수용체 단백질에 결합하는 세포의 매트릭스의 고분자량 (~440 kDa) 당단백질이다. 이는 한 쌍의 C-말단 디설피드 결합에 의해 연결된 2개의 거의 동일한 폴리펩티드 쇄를 포함하는 단백질 이량체로서 존재한다. 각각의 피브로넥틴 서브유닛은 230-250 kDa의 분자량을 갖고, 3가지 유형의 모듈: 유형 I, II 및 III을 함유한다. 모든 3개의 모듈은 2개의 역평행 β -시트로 구성되어 베타-샌드위치를 생성하지만; 유형 I 및 유형 II는 쇄내 디설피드 결합에 의해 안정화되는 반면에, 유형 III 모듈은 어떠한 디설피드 결합도 함유하지 않는다. 유형 III 모듈에서의 디설피드

피드 결합의 부재는 적용된 힘 하에 이들이 부분적으로 언폴딩되도록 한다. 피브로넥틴은 또한 다른 세포의 매트릭스 단백질, 예컨대 콜라겐, 피브린, 및 헤파란 술페이트 프로테오글리칸 (예를 들어, 신데칸)에 결합한다. 피브로넥틴은 한 쌍의 디설피드 결합에 의해 연결된 2개의 거의 동일한 단량체로 이루어진 단백질 이량체로서 존재한다. 피브로넥틴 단백질은 단일 유전자로부터 생산되지만, 그의 프리-mRNA의 선택적 스플라이싱은 몇몇 이소형의 생성을 유도한다.

[0082] 일부 실시양태에서, 혈청 단백질은 트랜스페린이다. 트랜스페린은 혈장을 통해 철 (Fe)에 결합하고 결과적으로 그의 수송을 매개하는, 척추동물에서 발견되는 당단백질이다. 이는 간에서 생산되고, 2개의 Fe^{3+} 원자에 대한 결합 부위를 함유한다. 인간 트랜스페린은 TF 유전자에 의해 코딩되고, 76 kDa 당단백질로서 생산된다. 트랜스페린 당단백질은 철에 단단하지만 가역적으로 결합한다. 트랜스페린에 결합된 철은 총 신체 철의 0.1% (4 mg) 미만이지만, 이는 최고 전환율 (25 mg/24시간)로 가장 필수적인 철 풀을 형성한다. 트랜스페린은 약 80 kDa의 분자량을 갖고, 2개의 특이적 고산화도 Fe(III) 결합 부위를 함유한다. Fe(III)에 대한 트랜스페린의 친화도는 극히 높지만 (회합 상수는 pH 7.4에서 $10^{20} M^{-1}$ 임), pH가 중성 미만으로 감소함에 따라 점진적으로 감소한다.

[0083] 트랜스페린은 철에만 결합하는 것이 아니라 다른 금속 이온에도 결합한다.

[0084] 일부 실시양태에서, 혈청 단백질은 인간 혈청 알부민 (HSA)이다. HSA는 ALB 유전자에 의해 코딩되는 단백질이다. HSA는 약 20일의 혈청 반감기를 갖는 585개 아미노산 폴리펩티드 (대략 67 kDa)이며, 주로 콜로이드성 삼투혈압, 혈액 pH의 유지, 및 수많은 내인성 및 외인성 리간드의 수송 및 분포를 담당한다. HSA는 3개의 구조적 상동성 도메인 (도메인 I, II 및 III)을 갖고, 거의 전적으로 알파-나선 입체형태로 존재하고, 17개의 디설피드 가교에 의해 고도로 안정화된다. 대표적인 HSA 서열은 유니프록KB 1차 수탁 번호 P02768에 의해 제공되고, 그의 다른 인간 이소형을 포함할 수 있다.

[0085] 혈청 단백질 결합 분자

[0086] 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 혈청 단백질에 결합하는 분자, 예컨대 펩티드 또는 단백질-결합 도메인을 통해 혈청 단백질에 비-공유적으로 결합하는 단백질, 예컨대 항체 (그의 항원-결합 부분 포함)를 포함한다. 항체의 예는 Fab, F(ab)₂, F(ab'), F(ab')₂, F(ab')₃, Fd, Fv, 디설피드 연결된 Fv, dAb 또는 sdAb (또는 나노바디®), CDR, scFv, (scFv)₂, 디-scFv, 비-scFv, tascFv (탠덤 scFv), 아비바디(예를 들어, 디아바디, 트리바디 및 테트라바디), T-세포 연관체 (BiTE), Fc, scFv-Fc, Fcab, mAb2, 소형 모듈 면역제약 (SMIP), 젠맵/유니바디 또는 듀오바디, V-NAR 도메인, IgNAR, 미니바디, IgGACH2, DVD-Ig, 프로바디, 인트라바디 및 다중특이성 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 다른 예는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 US 2005/0287153에서 제공된다.

[0087] 일부 실시양태에서, 혈청 단백질-결합 분자는 혈청 알부민과 회합하는 소수성 모이어티, 예컨대 아실화 펩티드 (예를 들어, 문헌 [Zorzi et al., Nature Communications vol 8: 16092 (2017)]에서의 아실화 헵타펩티드; 리라글루티드의 아실 기)이다.

[0088] 일부 실시양태에서, 혈청 단백질에 결합하는 분자는 비-항체 분자이고, 그의 비제한적 예는 아피바디, 아피머® 폴리펩티드, 아필린, 안티칼린, 아트리머, 아비머, DARPin, FN3 스캐폴드 (예를 들어, 애드넥틴, 설텨린), 피노머, 쿠니츠 도메인, 나노피틴, 프로넥틴, 트리바디, 비스클릭 펩티드 및 Cys-knot를 포함한다.

[0089] 일부 실시양태에서, 혈청 단백질, 예컨대 HSA에 결합하는 분자는 아피머® 폴리펩티드를 포함한다. 아피머® 폴리펩티드는 스테핀 폴리펩티드의 재조합적으로 조작된 변이체인 작고 고도로 안정한 폴리펩티드 (예를 들어, 단백질)이다. 따라서, 용어 "아피머® 폴리펩티드"는 본원에서 용어 "스테핀 폴리펩티드의 재조합적으로 조작된 변이체"와 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 스테핀 폴리펩티드는 시스타틴 슈퍼패밀리 - 다중 시스타틴-유사 서열을 함유하는 단백질을 포괄하는 패밀리 내의 단백질의 하위군이다. 시스타틴 패밀리의 스테핀 하위군은 비교적 작은 (~ 100개 아미노산) 단일 도메인 단백질이다. 이들은 공지된 번역후 변형을 받지 않고, 디설피드 결합이 결여되며, 이는 이들이 광범위한 세포외 및 세포내 환경에서 동일하게 폴딩될 수 있을 것임을 시사한다. 스테핀 A는 98개 아미노산의 단량체성 단일쇄 단일 도메인 단백질이다. 스테핀 A의 구조가 해결되어, 스테핀 A의 아피머® 폴리펩티드로의 합리적 돌연변이를 용이하게 한다. 시스타틴의 유일한 공지된 생물학적 활성은 카텝신 활성의 억제이고, 조작된 단백질의 잔류 생물학적 활성에 대한 철저한 시험을 가능하게 하였다.

[0090] 아피머® 폴리펩티드는 모노클로날 항체와 유사한 방식으로 높은 친화도와 특이성으로 목적하는 표적 단백질에

결합하도록 모두 무작위화될 수 있는 2개의 펩티드 루프 및 N-말단 서열을 디스플레이한다. 스테핀 A 단백질 스캐폴드에 의한 2개의 펩티드의 안정화는 펩티드가 취할 수 있는 가능한 입체형태를 제약하여, 유리 펩티드의 라이브러리에 비해 결합 친화도 및 특이성을 증가시킨다. 이들 조작된 비-항체 결합 단백질은 상이한 적용분야에서 모노클로날 항체의 분자 인식 특징을 모방하도록 설계된다. 스테핀 A 폴리펩티드 서열의 다른 부분에 대한 변이가 수행될 수 있으며, 이러한 변이는 이들 친화성 시약의 특성을 개선시켜, 예컨대 안정성을 증가시켜, 예를 들어 다양한 온도 및 pH에 걸쳐 이들을 강건하게 만든다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 스테핀 A 야생형 서열, 예컨대 인간 스테핀 A와 실질적 동일성을 공유하는, 스테핀 A로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 인간 스테핀 A에 상응하는 서열에 대해 적어도 25%, 35%, 45%, 55% 또는 60% 동일성을 공유하는 아미노산 서열을 갖는다. 예를 들어, 아피머® 폴리펩티드는, 예를 들어 서열 변이가 목적하는 표적에 결합하는 스캐폴드의 능력에 불리한 영향을 미치지 않고, 예를 들어 야생형 스테핀 A에 의해 보유되지만 본원에 기재된 돌연변이 변화에서 폐지되는 것과 같은 생물학적 기능을 회복 또는 생성하지 않는 경우, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95% 동일성을 공유하는 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0091] 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는, 용매 접근가능한 루프 중 적어도 하나가 아피머® 폴리펩티드가 HSA에 선택적으로 및 일부 실시양태에서는 10^{-6} M 이하의 K_d 로 결합할 수 있게 하는 아미노산 서열을 갖는 야생형 스테핀 A 단백질로부터의 것인 아피머® 폴리펩티드를 포함한다.

[0092] 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4 내지 7.6에서 1×10^{-9} M 내지 1×10^{-6} M의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4 내지 7.6에서 1×10^{-6} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4 내지 7.6에서 1×10^{-7} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4 내지 7.6에서 1×10^{-8} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4 내지 7.6에서 1×10^{-9} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4 내지 7.6에서 1×10^{-10} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4 내지 7.6에서 1×10^{-11} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4에서 1×10^{-9} M 내지 1×10^{-6} M의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4에서 1×10^{-6} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4에서 1×10^{-7} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4에서 1×10^{-8} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4에서 1×10^{-9} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4에서 1×10^{-10} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 아피머® 폴리펩티드는 pH 7.4에서 1×10^{-11} M 이하의 K_d 로 HSA에 결합한다.

[0093] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 백본 서열을 갖는 야생형 인간 스테핀 A 단백질로부터 유래되고, 여기서 루프 2 ((Xaa)_n으로 지정됨) 및 루프 4 ((Xaa)_m으로 지정됨) 중 하나 또는 둘 다는 대안적 루프 서열 (Xaa)_n 및 (Xaa)_m으로 대체되어 화학식 (I)을 갖는다:

[0094] FR1-(Xaa)_n-FR2-(Xaa)_m-FR3 (I),

[0095] 여기서 FR1은 MIPGGLSEAK PATPEIQEIV DKVKPQLEEK TNETYGKLEA VQYKTQVLA (서열식별번호: 1)에 대해 적어도 70% 동일성을 갖는 아미노산 서열이고; FR2는 GTNYYIKVRA GDNKYMHLKV FKSL (서열식별번호: 2)에 대해 적어도 70% 동일성을 갖는 아미노산 서열이고; FR3은 EDLVLTYGVV DKNKDDELGT F (서열식별번호: 3)에 대해 적어도 70% 동일성을 갖는 아미노산 서열이고; Xaa는 각 경우에 개별적으로 아미노산이고; n은 3 내지 20의 정수이고, m은 3 내지 20의 정수이다.

[0096] 일부 실시양태에서, FR1은 서열식별번호: 1과 80%-98%, 82%-98%, 84%-98%, 86%-98%, 88%-98%, 90%-98%, 92%-

98%, 94%-98%, 또는 96%-98% 상동성을 갖는 폴리펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, FR1은 서열식별번호: 1과 80%, 82%, 84%, 86%, 88%, 90%, 92%, 94%, 96% 또는 95% 상동성을 갖는 폴리펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, FR1은 서열식별번호: 1의 폴리펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, FR2는 서열식별번호: 2와 적어도 80%-96%, 84%-96%, 88%-96% 또는 92%-96% 상동성을 갖는 폴리펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, FR2는 서열식별번호: 2와 적어도 80%, 84%, 88%, 92% 또는 96% 상동성을 갖는 폴리펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, FR2는 서열식별번호: 2와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 심지어 98%의 동일성을 갖는 폴리펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, FR2는 서열식별번호: 2의 폴리펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, FR3은 서열식별번호: 3과 적어도 80%-95%, 85%-95%, 또는 90%-95% 상동성을 갖는 폴리펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, FR3은 서열식별번호: 3과 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95% 상동성을 갖는 폴리펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, FR3은 서열식별번호: 3의 폴리펩티드 서열이다.

[0097] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 화학식 (II)로 나타내어지는 아미노산 서열을 포함한다:

[0098] $MIP-Xaa1-GLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA-(Xaa)_n-Xaa2-TNYYIKVRAGDNKYMHLKVF-Xaa3-Xaa4-Xaa5-(Xaa)_m-Xaa6-D-Xaa7-VLTGYQVDKNKDELDTGF$ (서열식별번호: 4) (II),

[0099] 여기서 Xaa는 각 경우에 개별적으로 아미노산이고; n은 3 내지 20의 정수이고, m은 3 내지 20의 정수이고; Xaa1은 Gly, Ala, Val, Arg, Lys, Asp 또는 Glu이고; Xaa2는 Gly, Ala, Val, Ser 또는 Thr이고; Xaa3은 Arg, Lys, Asn, Gln, Ser, Thr이고; Xaa4는 Gly, Ala, Val, Ser 또는 Thr이고; Xaa5는 Ala, Val, Ile, Leu, Gly 또는 Pro이고; Xaa6은 Gly, Ala, Val, Asp 또는 Glu이고; Xaa7은 Ala, Val, Ile, Leu, Arg 또는 Lys이다.

[0100] 일부 실시양태에서, Xaa1은 Gly, Ala, Arg 또는 Lys이다. 일부 실시양태에서, Xaa1은 Gly 또는 Arg이다. 일부 실시양태에서, Xaa2는 Gly, Ala, Val, Ser 또는 Thr이다. 일부 실시양태에서, Xaa2는 Gly 또는 Ser이다. 일부 실시양태에서, Xaa3은 Arg, Lys, Asn, Gln, Ser, Thr이다. 일부 실시양태에서, Xaa3은 Arg, Lys, Asn 또는 Gln이다. 일부 실시양태에서, Xaa3은 Lys 또는 Asn이다. 일부 실시양태에서, Xaa4는 Gly, Ala, Val, Ser 또는 Thr이다. 일부 실시양태에서, Xaa4는 Gly 또는 Ser이다. 일부 실시양태에서, Xaa5는 Ala, Val, Ile, Leu, Gly 또는 Pro이다. 일부 실시양태에서, Xaa5는 Ile, Leu 또는 Pro이다. 일부 실시양태에서, Xaa5는 Leu 또는 Pro이다. 일부 실시양태에서, Xaa6은 Gly, Ala, Val, Asp 또는 Glu이다. 일부 실시양태에서, Xaa6은 Ala, Val, Asp 또는 Glu이다. 일부 실시양태에서, Xaa6은 Ala 또는 Glu이다. 일부 실시양태에서, Xaa7은 Ala, Val, Ile, Leu, Arg 또는 Lys이다. 일부 실시양태에서, Xaa7은 Ile, Leu 또는 Arg이다. 일부 실시양태에서, Xaa7은 Leu 또는 Arg이다.

[0101] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머®는 화학식 (III)으로 나타내어지는 아미노산 서열을 포함한다:

[0102] $MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKT$

[0103] $QVLA-(Xaa)_n-STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP-(Xaa)_m-ADR$

[0104] $VLTGYQVDKNKDELDTGF$ (서열식별번호: 5) (III),

[0105] 여기서 Xaa는 각 경우에 개별적으로 아미노산이고; n은 3 내지 20의 정수이고, m은 3 내지 20의 정수이다. 일부 실시양태에서, n은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이다. 일부 실시양태에서, n은 8 내지 10, 7 내지 11, 6 내지 12, 5 내지 13, 4 내지 14, 또는 3 내지 15이다. 일부 실시양태에서, m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이다. 일부 실시양태에서, m은 8 내지 10, 7 내지 11, 6 내지 12, 5 내지 13, 4 내지 14, 또는 3 내지 15이다.

[0106] 일부 실시양태에서, $(Xaa)_n$ 은 화학식 (IV)에 의해 나타내어진다:

[0107] $aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-aa7-aa8-aa9$ (IV),

[0108] 여기서 aa1은 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa2는 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa3은 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa4는 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa5는 양으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa6은 양으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa7은 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa8은 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa9는 중성 비극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이다.

[0109] 일부 실시양태에서, $(Xaa)_m$ 은 화학식 (V)에 의해 나타내어진다:

- [0110] aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-aa7-aa8-aa9 (V),
- [0111] 여기서 aa1은 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa2는 양으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa3은 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa4는 양으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa5는 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa6은 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa7은 음으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa8은 양으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이고; aa9는 중성 비극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산이다.
- [0112] 중성 비극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산의 예는 시스테인 (Cys) 및 글리신 (Gly)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Cys이다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Gly이다.
- [0113] 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산의 예는 알라닌 (Ala), 이소류신 (Ile), 류신 (Leu), 메티오닌 (Met), 페닐알라닌 (Phe), 프롤린 (Pro), 트립토판 (Trp) 및 발린 (Val)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Ala이다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Ile이다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Leu이다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Met이다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Phe이다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Pro이다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Trp이다. 일부 실시양태에서, 중성 비극성 소수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Val이다.
- [0114] 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산의 예는 아스파라긴 (Asn), 글루타민 (Gln), 세린 (Ser), 트레오닌 (Thr) 및 티로신 (Tyr)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Asn이다. 일부 실시양태에서, 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Gln이다. 일부 실시양태에서, 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Ser이다. 일부 실시양태에서, 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Thr이다. 일부 실시양태에서, 중성 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Tyr이다.
- [0115] 양으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산의 예는 아르기닌 (Arg), 히스티딘 (His) 및 리신 (Lys)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 양으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Arg이다. 일부 실시양태에서, 양으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 His이다. 일부 실시양태에서, 양으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Lys이다.
- [0116] 음으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산의 예는 아스파르테이트 (Asp) 및 글루타메이트 (Glu)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 음으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Asp이다. 일부 실시양태에서, 음으로 하전된 극성 친수성 측쇄를 갖는 아미노산은 Glu이다.
- [0117] 일부 실시양태에서, (Xaa)_n은 화학식 (IV)에 의해 나타내어진다:
- [0118] aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-aa7-aa8-aa9 (IV),
- [0119] 여기서 aa1은 Asp, Gly, Asn, 및 Val로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa2는 Trp, Tyr, His, 및 Phe로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa3은 Trp, Tyr, Gly, Trp, 및 Phe로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa4는 Gln, Ala, 및 Pro로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa5는 Ala, Gln, Glu, Arg, 및 Ser로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa6은 Lys, Arg, 및 Tyr로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa7은 Trp 및 Gln으로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa8은 Pro 및 His로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa9는 His, Gly, 및 Gln으로부터 선택된 아미노산이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Asp이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Gly이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Asn이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa2는 His이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Gly이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Pro이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Glu이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Arg이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Ser이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Lys이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Arg이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa7은 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa7은 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa8은 Pro이다. 일부 실시양태에서, aa8은 His이다. 일부 실시양태에서, aa9는 His이다. 일부 실시양태에서, aa9는 Gly이다. 일부 실시양태에서, aa9는

Gln이다.

[0120] 일부 실시양태에서, (Xaa)_n은 화학식 (IV)에 의해 나타내어진다:

[0121] aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-aa7-aa8-aa9 (IV),

[0122] 여기서 aa1은 Tyr, Phe, Trp, 및 Asn으로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa2는 Lys, Pro, His, Ala, 및 Thr로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa3은 Val, Asn, Gly, Gln, Ala, 및 Phe로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa4는 His, Thr, Lys, Trp, Lys, Val, 및 Arg로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa5는 Gln, Ser, Gly, Pro, 및 Asn으로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa6은 Ser, Tyr, Glu, Leu, Lys, 및 Thr로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa7은 Ser, Asp, Val, 및 Lys로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa8은 Gly, Leu, Ser, Pro, His, Asp, 및 Arg로부터 선택된 아미노산이고/거나; aa9는 Gly, Gln, Glu, 및 Ala로부터 선택된 아미노산이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Asn이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Lys이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Pro이다. 일부 실시양태에서, aa2는 His이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Thr이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Val이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Asn이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Gly이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa4는 His이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Thr이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Lys이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Lys이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Val이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Arg이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Ser이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Gly이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Pro이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Asn이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Ser이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Glu이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Leu이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Lys이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Thr이다. 일부 실시양태에서, aa7은 Ser이다. 일부 실시양태에서, aa7은 Asp이다. 일부 실시양태에서, aa7은 Val이다. 일부 실시양태에서, aa7은 Lys이다. 일부 실시양태에서, aa8은 Gly이다. 일부 실시양태에서, aa8은 Leu이다. 일부 실시양태에서, aa8은 Ser이다. 일부 실시양태에서, aa8은 Pro이다. 일부 실시양태에서, aa8은 His이다. 일부 실시양태에서, aa8은 Asp이다. 일부 실시양태에서, aa8은 Arg이다. 일부 실시양태에서, aa9는 Gly이다. 일부 실시양태에서, aa9는 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa9는 Glu이다. 일부 실시양태에서, aa9는 Ala이다.

[0123] 일부 실시양태에서, (Xaa)_n은 화학식 (V)에 의해 나타내어진다:

[0124] Asn-aa1-aa2-Gln-Gln-Arg-Arg-Trp-Pro-Gly (V) (서열식별번호: 140),

[0125] 여기서 aa1은 Trp 및 Phe로부터 선택된 아미노산이고; aa2는 Tyr 및 Phe로부터 선택된 아미노산이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Phe이다.

[0126] 일부 실시양태에서, (Xaa)_n은 화학식 (VI)에 의해 나타내어진다:

[0127] aa1-aa2-Trp-aa3-aa4-Lys-Trp-Pro-aa5 (VI) (서열식별번호: 141),

[0128] 여기서 aa1은 Asp 및 Gly로부터 선택된 아미노산이고; aa2는 Trp, Tyr, 및 Phe로부터 선택된 아미노산이고; aa3은 Gln 및 Ala로부터 선택된 아미노산이고; aa4는 Ala 및 Ser로부터 선택된 아미노산이고; aa5는 His 및 Gly로부터 선택된 아미노산이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Asp이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Gly이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Ser이다. 일부 실시양태에서, aa5는 His이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Gly이다.

[0129] 일부 실시양태에서, (Xaa)_n은 화학식 (VII)에 의해 나타내어진다:

[0130] aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-Trp-Pro-Gly (VII),

[0131] 여기서 aa1은 Gly 및 Asn으로부터 선택된 아미노산이고; aa2는 Tyr, Phe, Trp, 및 His로부터 선택된 아미노산이고; aa3은 Trp, Tyr, 및 Phe로부터 선택된 아미노산이고; aa4는 Ala 및 Gln으로부터 선택된 아미노산이고; aa5는 Ala, Ser, Gln, 및 Arg로부터 선택된 아미노산이고; aa6은 Lys, Arg, 및 Tyr로부터 선택된 아미노산이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Gly이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Asn이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa2는 His이다.

일부 실시양태에서, aa3은 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Ser이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Arg이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Lys이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Arg이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Tyr이다.

[0132] 일부 실시양태에서, (Xaa)_n은 화학식 (IX)에 의해 나타내어진다:

[0133] Gly-aa1-aa2-Ala-aa3-aa4-Trp-Pro-Gly (IX) (서열식별번호: 142),

[0134] 여기서 aa1은 Tyr, Phe, 및 His로부터 선택된 아미노산이고; aa2는 Trp 및 Tyr로부터 선택된 아미노산이고; aa3은 Ala, Ser, 및 Arg로부터 선택된 아미노산이고; aa4는 Lys 및 Tyr로부터 선택된 아미노산이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Phe His이다. 일부 실시양태에서, aa1은 His이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Ser이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Arg이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Lys이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Tyr이다.

[0135] 일부 실시양태에서, (Xaa)_n은 화학식 (X)에 의해 나타내어진다.

[0136] aa1-aa2-aa3-Gln-aa4-aa5-Trp-Pro-aa6 (X),

[0137] 여기서 aa1은 Asp 및 Asn으로부터 선택된 아미노산이고; aa2는 Trp 및 Phe로부터 선택된 아미노산이고; aa3은 Trp, Tyr, 및 Phe로부터 선택된 아미노산이고; aa4는 Ala, Gln, 및 Arg로부터 선택된 아미노산이고; aa5는 Lys 및 Arg로부터 선택된 아미노산이고; aa6은 His 및 Gly로부터 선택된 아미노산이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Asp이다. 일부 실시양태에서, aa1은 Asn이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa2는 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Trp이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Tyr이다. 일부 실시양태에서, aa3은 Phe이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Ala이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Gln이다. 일부 실시양태에서, aa4는 Arg이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Lys이다. 일부 실시양태에서, aa5는 Arg이다. 일부 실시양태에서, aa6은 His이다. 일부 실시양태에서, aa6은 Gly이다.

[0138] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 6-56, 134-135 (표 1) 중 어느 하나로부터 선택된 루프 2 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 57-109 (표 1) 중 어느 하나로부터 선택된 루프 4 아미노산 서열을 포함한다.

[0139] 표 1. HSA 아피머® 폴리펩티드 루프 서열의 예

명칭	루프 2	서열식별번호:	루프 4	서열식별번호:
HSA-00	WTQPKNEHH	134	RFKYFAHYQ	57
HSA-01	HLKHTDAQP	135	FHDFWHRRW	58
HSA-02	HDQDVLHAW	6	DWYHYWWEV	59
HSA-03	KFHRQEWAD	7	STRSIHVT	60
HSA-04	PEDFDPEH	8	KQHHLHYLDK	61
HSA-05	VVRTTGHVV	9	HSAQDREIP	62
HSA-06	YWWFCTGQS	10	WVQSGYNSQ	63
HSA-07	IHHRQARSL	11	AVFWGKWS	64
HSA-08	SHRRRAYIW	12	QSFDPKWT	65
HSA-09	WDSHHWRAP	13	HYPLKYSE	66
HSA-10	DKRVKYGQ	14	WHHPWHNR	67
HSA-11	SDWVYALQL	15	DPWWAWVW	68
HSA-12	FWWFWY	16	FDNQDLQY	69
HSA-13	VRDWPWNTF	17	EKKNWYKWD	70
HSA-14	QKKRDEYI	18	DRHKSRLGI	71
HSA-15	GVHEEPKRL	19	LNPFPTSVT	72
HSA-16	EWVQKHWP	20	YKGLLNHD	73
HSA-17	NFFQRRWPG	21	WKFRTNRG	74
HSA-18	DWWQAKWPH	22	YKVHQS	75
HSA-19	GIWQSRWPG	23	FHPHAGRP	76
HSA-20	GYWAAKWPG	24	FPNTSYDLQ	77
HSA-21	GFYADHWPG	25	FAHYNLKS	78
HSA-22	NWYQQRWPG	26	WHNYGESS	79
HSA-23	GFYARHWPG	27	KFYADHWQ	80
HSA-24	DFWKAHWPG	28	YTHADPHSQ	81
HSA-25	DFYSVRWPG	29	FGVPQLGAG	82
HSA-26	YWAANHASK	30	YSGFPFAGF	83
HSA-27	IKRLEHWEY	31	WFSWPYTPL	84
HSA-28	EWDSWSEN	32	YYHPSIQST	85
HSA-29	KHKNLRWPF	33	FLGWKDTVV	86
HSA-30	RHFPKQTNW	34	DWWKWWAK	87
HSA-31	VWGPEYQH	35	NAGWPLVPE	88
HSA-32	TWKNNGQDV	36	YALDPFGGK	89
HSA-33	ATWLNYYLP	37	GYKFWGVSD	90
HSA-34	DQESLFLNN	38	QKQYILLR	91
HSA-35	GFYAQHWPD	39	YKRHSADHY	92
HSA-36	GHYARYWPG	40	WAQKSKVHQ	93
HSA-37	GFWASKWPG	41	FTAVSKKDA	94

[0140]

명칭	루프 2	서열식별번호:	루프 4	서열식별번호:
HSA-38	GFWQRKWP	42	WGDKENIWF	95
HSA-39	VWPADNDLK	43	WSGHPVWQK	96
HSA-40	HWAWTSPGY	44	YADYPLSPK	97
HSA-41/ HSA-52	NFFQRRWPG	45	WKFRTNDRG	98
HSA-42	HHSHRLKGQ	46	QTVATHYHY	99
HSA-43	YQNTIFLSI	47	WHAKHLLSH	100
HSA-44	FQDQFTWSQ	48	SGIKKADSV	101
HSA-45	GEPHWPWQA	49	KANLINVKS	102
HSA-46	ADPRHPWVE	50	WKSHVEVRS	103
HSA-47	FHKRFQSQG	51	WVTQKYIIQ	104
HSA-48	EWVQNRWPN	52	WEHAKDWPT	105
HSA-49	EWYQTRWPG	53	FHSKVLDKA	106
HSA-50	EFWQRHWPG	54	YGAQKQAVW	107
HSA-51	KFYERHWPG	55	FSASHFTSQ	108
컨센서스	GWVQRRWPG	56	X ₁ X ₂ AX ₃ KX ₄ DX ₅ Q	109

[0141]

[0142] 일부 실시양태에서, (Xaa)_n은 서열식별번호: 6-55, 134-135 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_n은 서열식별번호: 6-55, 134-135 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부

[0147] 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 75, 77, 79, 88, 93, 94, 및 98 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 75의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 77의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 79의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 88의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 93의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 94의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 98의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 75의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 77의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 79의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 88의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 93의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 94의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 98의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0148] 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 75, 77, 79, 88, 93, 94, 및 98 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 75, 77, 79, 88, 93, 94, 및 98 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 75의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 77의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 79의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 88의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 93의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 94의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, (Xaa)_m은 서열식별번호: 98의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0149] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 110-116 및 133 (표 2) 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0150] 표 2. HSA 아피머® 폴리펩티드 서열의 예

명칭	서열	서열식별번호:
HSA-18	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA DWWQAKWPH STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP YKVHSSGG AD RVLTYQVQVDKNKDDEL TGF	110
HSA-20	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA GYWAAKWPG STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP FPNTSYDLQ ADR VLTGYQVQVDKNKDDEL TGF	111
HSA-22	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA NWYQORWPG STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP WHNYGESS ADR VLTGYQVQVDKNKDDEL TGF	112
HSA-31	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA VWGPEYQHQS STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP NAGWPLVPE ADR VLTGYQVQVDKNKDDEL TGF	113
HSA-36	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA GHYARYWPG STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP WAOKSKVHQ ADR VLTGYQVQVDKNKDDEL TGF	114
HSA-37	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA GFWASKWPG STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP FTAVSKKDA ADR VLTGYQVQVDKNKDDEL TGF	115
HSA-41	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA NFFORRWPG STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP WKFRNTDRG ADR VLTGYQVQVDKNKDDEL TGF	116
HSA-52	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA NFFORRWPG STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP WKFRNTDRG ADR VLTGYQVQVDKNKDDEL TGF AAAGGAEQKLISEEDLGAENLYFQGA AGHHHHHHH	133

[0151]

[0152] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 110-116 및 133 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 110의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 111의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 112의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 113의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 114의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 115의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 116의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 133의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0153] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 110의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 111의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 112의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 113의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 114의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 115의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 116의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 133의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0154] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 110-116 및 133 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 110-116 및 133 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 110의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 111의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 112의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 113의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖

는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 114의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 115의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 116의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 133의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0155] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 또 다른 분자에 연결되고, 그 분자 (예를 들어, 치료 폴리펩티드)의 반감기를 연장시킨다. 예를 들어 다른 종, 예컨대 마우스 및 시노물구스 (시노) 원숭이와 교차-반응하는 다양한 결합 친화도를 갖는 다양한 항-HSA 아피머®가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 이들 항-HSA 아피머®는 아피머 XT™ 플랫폼으로 지칭되는 것을 구성한다. 이들 항-HSA 아피머®는 생체내 약동학 (PK) 연구에서, 예를 들어 이. 콜라이에서 제조될 수 있는 단일 유전자 융합체로 접합된 임의의 다른 아피머® 치료 폴리펩티드의 혈청 반감기를 제어된 방식으로 연장시키는 것으로 밝혀졌다. 아피머 XT™는 또한 다른 펩티드 또는 단백질 치료제의 반감기를 연장하는 데 사용될 수 있다.

[0156] 용어 반감기는 물질, 예컨대 치료 아피머® 폴리펩티드가 그의 약리학적 또는 생리학적 활성 또는 농도의 절반을 상실하는 데 걸리는 시간의 양을 지칭한다. 생물학적 반감기는 물질의 제거, 배설, 분해 (예를 들어, 효소적 분해), 또는 신체의 특정 기관 또는 조직에서의 흡수 및 농도에 의해 영향을 받을 수 있다. 생물학적 반감기는, 예를 들어 물질의 혈장 농도가 그의 정상 상태 수준의 절반에 도달하는 데 걸리는 시간 ("혈장 반감기")을 결정함으로써 평가될 수 있다.

[0157] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 생체내에서 분자 (예를 들어, 치료 폴리펩티드)의 혈청 반감기를 연장시킨다. 예를 들어, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 분자의 반감기를 항-HSA 아피머® 폴리펩티드에 연결되지 않은 분자의 반감기에 비해 적어도 2배 연장시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 분자의 반감기를 항-HSA 아피머® 폴리펩티드에 연결되지 않은 분자의 반감기에 비해 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 적어도 10배, 적어도 20배, 또는 적어도 30배 연장시킨다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 분자의 반감기를 항-HSA 아피머® 폴리펩티드에 연결되지 않은 분자의 반감기에 비해 2배 내지 5배, 2배 내지 10배, 3배 내지 5배, 3배 내지 10배, 15배 내지 5배, 4배 내지 10배, 또는 5배 내지 10배 연장시킨다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 생체내 투여 후 분자의 반감기를 항-HSA 아피머® 폴리펩티드에 연결되지 않은 분자의 반감기에 비해 적어도 6시간, 적어도 12시간, 적어도 24시간, 적어도 48시간, 적어도 72시간, 적어도 96시간, 예를 들어 적어도 1주 연장시킨다.

[0158] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 연장된 혈청 반감기를 갖고, 서열식별번호: 117-127 (표 3) 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0159] 표 3. 반감기 연장 인라인 융합 아피머® 폴리펩티드 서열의 예

서열	서열식별번호:
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>KEHGPDSWW</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>QEKNOWVE</u> <u>E</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLE AVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>W</u> <u>KFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGF	117
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>KEHGPDSWW</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>QEKNOWVE</u> <u>E</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKE AAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKL EAVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGF	118
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>HAYGPRDWD</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>PADHVLEEA</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEA VQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WK</u> <u>FRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGF	119
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>HAYGPRDWD</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>PADHVLEEA</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEA AAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLE AVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>W</u> <u>KFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGF	120
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>KEYGPEEWW</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>GDYEQVLIH</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEA VQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WK</u> <u>FRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGF	121
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>KEYGPEEWW</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>GDYEQVLIH</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEA AAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLE AVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>W</u> <u>KFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGF	122
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> <u>L</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKE AAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKL EAVQYKTQVLA <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELDTGFAEAAAKEAAAKEAA AKEAAAKEAAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEK	123

[0160]

서열	서열식별번호:
TNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>NFFORRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF	
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> <u>L</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>NFFORRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> LADRVLTGYQVDKNKDDELTF	124
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>NFFORRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> LADRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> LADRVLTGYQVDKNKDDELTF	125
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> <u>L</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> LADRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>NFFORRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF	126
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>FALPEFEYM</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>PMIRRKNEVA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>FALPEFEYM</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>PMIRRKNEVA</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>NFFORRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF	127
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>GGGGGGGGG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>GGGGGGGGG</u> <u>G</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>GGGGGGGGG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>GGGGGGGGG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF <u>AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA</u> <u>GGGGGGGGG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>GGGGGGGGG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTF	128

[0161]

서열	서열식별번호:
KTNETYGKLEAVQYKTQVLAN <u>FFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKY MHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDELDTGF	
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> LADRVLTGYQVDKNKDELDTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKE AAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKL EAVQYKTQVLA <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> LADRVLTGYQVDKNKDELDTGF	129
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> LADRVLTGYQVDKNKDELDTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKE AAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKL EAVQYKTQVLA <u>REGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQ</u> LADRVLTGYQVDKNKDELDTGFC	130
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>FFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDELDTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEA AAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLE AVQYKTQVLA <u>FFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDELDTGF	131
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQV LA <u>FFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDELDTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEA VQYKTQVLA <u>FFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDELDTGF	132

[0162]

[0163]

일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 117-127 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 117의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 118의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 119의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 120의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 121의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 122의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 123의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 124의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 125의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 126의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 127의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0164]

일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 117의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 118의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 119의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 120의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 121의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 122의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 123의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 124의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 125의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 126의 아미노산 서열

에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 127의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0165] 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 117-127 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 117-127 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 117의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 118의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 119의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 120의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 121의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 122의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 123의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 124의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 125의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 126의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-HSA 아피머® 폴리펩티드는 서열식별번호: 127의 아미노산 서열에 대해 80% 내지 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0166] Fc 도메인

[0167] 일부 실시양태에서, 반감기 연장 모이어티는 항체 Fc 도메인을 포함한다. 용어 "Fc 도메인"은 항체 Fc 도메인의 기능적 단편을 포함한다. 치료 접합체는, 예를 들어 FAP-절단가능한 링커를 통해 치료 모이어티에 연결된 항체의 Fc 영역 (이펙터 기능 및 약동학을 용이하게 함) (또한 본원에서 "Fc 융합체"로 지칭됨)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 융합체는 이량체화되어 Fc 융합 동종이량체를 형성할 수 있거나, 또는 비-동일한 Fc 도메인을 사용하여 Fc 융합 이종이량체를 형성할 수 있다.

[0168] 본 개시내용의 치료 접합체를 생성하는 데 사용하기 위해 인간 항체의 Fc 도메인을 선택하는 여러 이유가 존재한다. 원리 근거는 항체의 것과 비교하여 유사한 약동학적 프로파일을 입증하기에 충분히 큰 안정한 단백질을 생산하는 것, 및 Fc 도메인에 의해 부여된 특성을 이용하는 것이며; 이는 세포내이입 후 세포 표면에 대한 Fc 융합체의 FcRn-매개된 재순환을 수반하는 구제 신생아 FcRn 수용체 경로를 포함하며, 이는 리소솜 분해를 회피하고 혈류 내로 다시 방출을 유발하여 연장된 혈청 반감기에 기여한다. 또 다른 명백한 이점은 단백질 A에 대한 Fc 도메인의 결합이며, 이는 치료 접합체의 생산 동안 하류 가공을 단순화하고 치료 접합체의 고도로 순수한 제제의 생성을 허용할 수 있다.

[0169] 일부 실시양태에서, Fc 도메인은 제1 불변 영역 이뮤노글로불린 도메인을 제외한 항체의 불변 영역을 포함한다. 따라서, Fc 도메인은 IgA, IgD, 및 IgG의 마지막 2개의 불변 영역 이뮤노글로불린 도메인, 및 IgE 및 IgM의 마지막 3개의 불변 영역 이뮤노글로불린 도메인, 및 이들 도메인에 대한 가요성 힌지 N-말단을 지칭한다. IgA 및 IgM의 경우, Fc는 J 쇄를 포함할 수 있다. IgG의 경우, Fc는 이뮤노글로불린 도메인 Oy2 및 Cy3, 및 Oy1과 Oy2 사이의 힌지를 포함한다. Fc 도메인의 경계는 달라질 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 통상적으로 그의 카르복실-말단에 대한 잔기 C226 또는 P230을 포함하는 것으로 정의되며, 여기서 넘버링은 카바트 (문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, Bethesda, Md. (1991)])에 제시된 바와 같은 EU 인덱스에 따른다. Fc는 별도로 이러한 영역, 또는 전체 항체, 항체 단편, 또는 Fc 융합 단백질의 맥락에서 이러한 영역을 지칭할 수 있다. 다형성은 다수의 상이한 Fc 위치에서 관찰되었고, 또한 본원에 사용된 Fc 도메인으로 포함된다.

[0170] Fc 도메인은 항체 Fc 도메인의 기능적 단편을 포함한다. 기능적 Fc 단편은 FcRn에 결합하는 능력을 보유한다. 기능적 Fc 단편은 FcRn에 결합하지만, 이펙터 기능은 보유하지 않는다. FcRn에 결합하는 Fc 영역 또는 그의 단편의 능력은 관련 기술분야에 공지된 표준 결합 검정에 의해 결정될 수 있다. 예시적인 이펙터 기능은 C1q 결합; 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 및 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절을 포함한다. 이러한 이펙터 기능은 이러한 항체

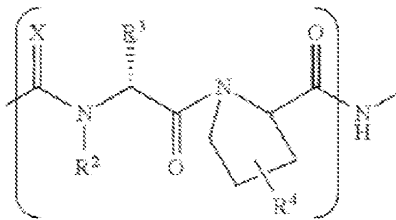
이펙터 기능을 평가하기 위한 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정을 사용하여 평가될 수 있다.

- [0171] 예시적인 실시양태에서, Fc 도메인은 IgG1 하위부류로부터 유래되지만, 다른 하위부류 (예를 들어, IgG2, IgG3, 및 IgG4)가 또한 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 도메인은 IgG1 하위부류로부터 유래되고, LALA 돌연변이를 추가로 포함한다.
- [0172] Fc 도메인, 기능적 Fc 단편 및 특정한 서열의 다른 비제한적 예는 본원에 참조로 포함된 WO 2019/236567에서 제공된다.
- [0173] 생체적합성 중합체
- [0174] 매우 다양한 생체적합성 거대분자 중합체 및 다른 분자가 반감기 연장 모이어티로서 사용될 수 있다. 중합체의 분자량은 약 100 Da 내지 약 100,000 Da 또는 그 초과를 포함하나 이에 제한되지는 않는 넓은 범위일 수 있다. 중합체의 분자량은 약 100 Da 내지 약 100,000 Da, 예를 들어 비제한적으로 100,000 Da, 95,000 Da, 90,000 Da, 85,000 Da, 80,000 Da, 75,000 Da, 70,000 Da, 65,000 Da, 60,000 Da, 55,000 Da, 50,000 Da, 45,000 Da, 40,000 Da, 35,000 Da, 30,000 Da, 25,000 Da, 20,000 Da, 15,000 Da, 10,000 Da, 9,000 Da, 8,000 Da, 7,000 Da, 6,000 Da, 5,000 Da, 4,000 Da, 3,000 Da, 2,000 Da, 1,000 Da, 900 Da, 800 Da, 700 Da, 600 Da, 500 Da, 400 Da, 300 Da, 200 Da 및 100 Da일 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체의 분자량은 약 100 Da 내지 약 50,000 Da이다. 일부 실시양태에서, 중합체의 분자량은 약 100 Da 내지 약 40,000 Da이다. 일부 실시양태에서, 중합체의 분자량은 약 1,000 Da 내지 약 40,000 Da이다. 일부 실시양태에서, 중합체의 분자량은 약 5,000 Da 내지 약 40,000 Da이다. 일부 실시양태에서, 중합체의 분자량은 약 10,000 Da 내지 약 40,000 Da이다.
- [0175] 반감기 연장의 목적을 위해, PEG화, 폴리시알릴화, HES화, 글리코실화, 또는 가요성 및 친수성 아미노산 쇠 (500 내지 600개 아미노산)에 융합된 재조합 PEG 유사체를 비롯한 다양한 방법이 개발되었다 (문헌 [Chapman, (2002) Adv Drug Deliv Rev. 54. 531-545; Schlapschy et al., (2007) Prot Eng Des Sel. 20, 273-283; Contermann (2011) Curr Op Biotechnol. 22, 868-876; Jevsevar et al., (2012) Methods Mol Biol. 901, 233-246] 참조).
- [0176] 반감기 연장 모이어티로서 사용될 수 있는 생체적합성 중합체의 예는 폴리알킬 에테르 및 그의 알콕시-캡핑된 유사체 (예를 들어, 폴리옥시에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌/프로필렌 글리콜, 및 그의 메톡시 또는 에톡시-캡핑된 유사체, 특히 폴리옥시에틸렌 글리콜, 후자는 또한 폴리에틸렌 글리콜 또는 PEG로 공지됨); 이산 PEG (dPEG); 폴리비닐피롤리돈; 폴리비닐알킬 에테르; 폴리옥사졸린, 폴리알킬 옥사졸린 및 폴리히드록시알킬 옥사졸린; 폴리아크릴아미드, 폴리알킬 아크릴아미드, 및 폴리히드록시알킬 아크릴아미드 (예를 들어, 폴리히드록시프로필메타크릴아미드 및 그의 유도체); 폴리히드록시알킬 아크릴레이트; 폴리시알산 및 그의 유사체; 친수성 펩티드 서열; 폴리사카라이드 및 그의 유도체, 예컨대 텍스트란 및 텍스트란 유도체, 예를 들어 카르복시메틸텍스트란, 텍스트란 술페이트, 아미노텍스트란; 셀룰로스 및 그의 유도체, 예를 들어 카르복시메틸 셀룰로스, 히드록시알킬 셀룰로스; 키틴 및 그의 유도체, 예를 들어 키토산, 숙시닐 키토산, 카르복시메틸키틴, 카르복시메틸키토산; 히알루론산 및 그의 유도체; 전분; 알기네이트; 콘드로이틴 술페이트; 알부민; 폴루란 및 카르복시메틸 폴루란; 폴리아미노산 및 그의 유도체, 예를 들어 폴리글루탐산, 폴리리신, 폴리아스파르트산, 폴리아스파르트아미드; 말레산 무수물 공중합체, 예컨대: 스티렌 말레산 무수물 공중합체, 디비닐에틸 에테르 말레산 무수물 공중합체; 폴리비닐 알콜; 그의 공중합체; 그의 삼원공중합체; 그의 혼합물; 및 상기의 유도체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0177] 선택된 중합체는 수용성이어서 그를 구성성분으로 하는 치료 접합체가 수성 환경, 예컨대 생리학적 환경에서 침전되지 않을 수 있다. 수용성 중합체는 선형, 포크형 또는 분지형을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 구조적 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 수용성 중합체는 폴리(알킬렌 글리콜), 예컨대 폴리(에틸렌 글리콜) (PEG)이지만, 다른 수용성 중합체가 또한 사용될 수 있다. 예로서, 선택된 특정한 PEG의 특성이 본 개시내용에 따른 치료 접합체의 순환 혈청 반감기를 연장시키는 한, PEG는 본 개시내용의 일부 실시양태에서 사용된다.
- [0178] 일부 실시양태에서, 생체적합성 중합체는 폴리(에틸렌 글리콜), 히드록시에틸 전분, XTEN, 및 프롤린-알라닌-세린 중합체로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0179] 중합체의 다른 비제한적 예는 본원에 참조로 포함된 WO 2019/236567에서 제공된다.
- [0180] 섬유모세포 활성화 단백질, 알파 (FAP α)-절단가능한 링커

[0181] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 반감기 연장 모이어티를 치료 모이어티에 연결하는 섬유모세포 활성화 단백질, 알파 (FAP α)-절단가능한 링커를 포함한다. 유형 II 막횡단 세린 프로테아제인 FAP α 는 기질 섬유모세포에서 발현되는 종양-연관 항원이다 (문헌 [Chai et al., Acta Pharmacologica Sinica, 2018, 39: 415-424]). FAP α 의 발현은 정상인 건강한 성체 조직에서는 거의 검출불가능하기 때문에 종양 덩이로 거의 독점적으로 제한된다. 섬유모세포는 종양 등급과 무관하게 FAP의 발현의 실질적인 증가를 특징으로 하는 종양 미세환경에서 형태학적 변환을 겪는다 (문헌 [Henry et al., Clin Cancer Res, 2007, 13(6): 1736]).

[0182] FAP는 프롤린 잔기 뒤의 펩티드 기질을 선택적으로 절단하는 DASH 패밀리의 프롤린-후 절단 효소이다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 치료 접합체 내 FAP α -절단가능한 링커의 포함은 치료 접합체가 FAP α 에 근접할 때까지 치료 모이어티가 불활성으로 남아있도록 할 것이며, 이 시점에 FAP α 는 링커를 절단하여 치료 모이어티를 활성화시킨다. FAP α 는 건강한 조직이 아니라 종양 조직에 존재하기 때문에, 치료 모이어티는 주로 종양 조직 근처/내에서 활성화될 것이다.

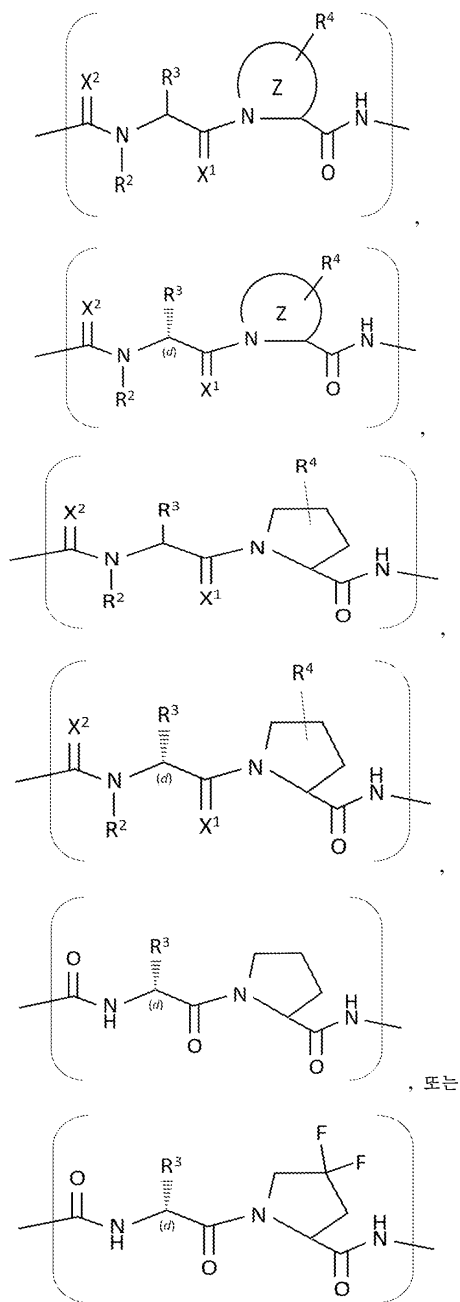
[0183] 일부 실시양태에서, 링커는 FAP α 에 의해 절단가능한 기질 인식 서열 (SRS)을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, SRS는 FAP α 에 의해 절단되고, 하기에 의해 나타내어진다:



[0184]

[0185] 여기서 R^2 는 H 또는 (C₁-C₆) 알킬을 나타내고, 예를 들어 H이고; R^3 은 H 또는 (C₁-C₆) 알킬을 나타내고, 예를 들어 메틸, 에틸, 프로필 또는 이소프로필이고; R^4 는 부재하거나 또는 (C₁-C₆) 알킬, -OH, -NH₂ 또는 할로젠을 나타내고; X는 O 또는 S를 나타내고; NH는, L²가 자기-희생적 링커인 경우에 L²의 부분이거나 또는 L²가 결합인 경우에 치료 모이어티의 부분인 아민을 나타낸다.

[0186] 일부 실시양태에서, FAP α-절단가능한 링커 또는 SRS는 하기에 의해 나타내어진다:



[0187]

[0188] 여기서

[0189] R^2 는 수소 또는 (C_1 - C_6) 알킬이다. 일부 실시양태에서, R^2 는 수소이다.

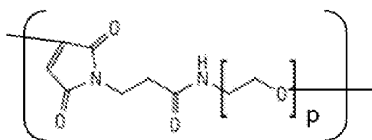
[0190] R^3 은 수소 또는 분지형 또는 직쇄 저급 알킬, 예를 들어 저급 알킬, 예컨대 메틸이다. (d)가 아미노산 측쇄인 경우, R^3 은 수소가 아니다.

[0191] R^4 는 분지형 또는 직쇄 저급 알콕시, 예컨대 히드록시메틸 (예를 들어, 세린의 경우) 또는 1-히드록시에틸 (예를 들어, 트레오닌의 경우)이다. 한 실시양태에서, R^4 는 히드록시메틸이다.

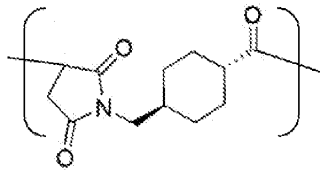
[0192] X^1 은 O 또는 S이다.

[0193] X^2 은 O 또는 S이다.

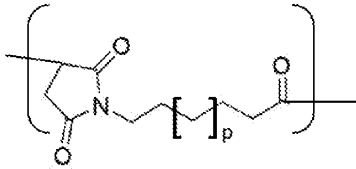
- [0194] 일부 실시양태에서, FAP α -절단가능한 링커 또는 SRS는 제3 아미노 위치 (예를 들어, (d)-Ala에 대해 N-말단)를 포함한다. 절단 부위로부터의 이러한 위치인 P3은 일부 실시양태에서 세린이다. 일부 실시양태에서, 이는 트레오닌이다.
- [0195] 일부 실시양태에서, 링커는 FAP α 에 의해 절단가능한 기질 인식 서열 (SRS), 예컨대 D-Ala-Pro를 포함한다. 일부 실시양태에서, FAP α 에 의해 절단가능한 SRS 서열은 PPGP (서열식별번호: 136), (D/E)-(R/K)-G-(E/D)-(T/S)-G-P (서열식별번호: 137), DRGETGP (서열식별번호: 138), GPAX (서열식별번호: 139) (여기서, X는 임의의 아미노산임)이다 (문헌 [Aggarwal et al., Biochemistry. 2008; 47(3): 1076-1086; Ji et al., Angew Chem Int Ed Engl. 2016; 55(3):1050-1055]).
- [0196] 스페이서
- [0197] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 반감기 연장 모이어티와 FAP α 에 의해 절단가능한 기질 인식 서열 (SRS) 사이에 스페이서 또는 결합 (L^1)을 포함한다.
- [0198] 스페이서는 임의의 분자, 예를 들어 하나 이상의 뉴클레오타이드, 아미노산, 화학적 관능기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 펩티드 링커 (예를 들어, 2개 이상의 아미노산)이다. 스페이서는 폴리펩티드의 발현, 분비 또는 생물활성에 불리한 영향을 미치지 않아야 한다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 항원성이 아니고, 면역 반응을 유발하지 않는다. 면역 반응은 선천성 면역계 및/또는 적응 면역계로부터의 반응을 포함한다. 따라서, 면역 반응은 세포-매개 반응 및/또는 체액성 면역 반응일 수 있다. 면역 반응은, 예를 들어 T 세포 반응, B 세포 반응, 자연 킬러 (NK) 세포 반응, 단핵구 반응 및/또는 대식세포 반응일 수 있다. 다른 세포 반응이 본원에서 고려된다. 일부 실시양태에서, 링커는 비-단백질-코딩이다.
- [0199] 일부 실시양태에서, L^1 은 탄화수소 (직쇄 또는 시클릭), 예컨대 6-말레이미도카프로일, 말레이미도프로파노일 및 말레이미도 에틸 시클로헥산-1-카르복실레이트이거나, 또는 L^1 은 N-숙신이미딜 4-(2-피리딜티오) 펜타노에이트, N-숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1 카르복실레이트, N-숙신이미딜 (4-아이오도-아세틸) 아미노벤조에이트이다.
- [0200] 일부 실시양태에서, L^1 은 폴리에테르, 예컨대 폴리(에틸렌 글리콜) 또는 다른 친수성 링커이다. 예를 들어, CBM이 티올 (예컨대, 시스테인 잔기)을 포함하는 경우, L^1 은 말레이미드 모이어티를 통해 티올 기에 커플링된 폴리에틸렌 글리콜일 수 있다.
- [0201] 본 개시내용에 따라 사용하기 위한 링커의 비제한적 예는 2019년 12월 12일에 공개된 국제 공개 번호 WO 2019/236567 (본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다.
- [0202] 자기-희생적 링커
- [0203] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 FAP α 에 대한 기질 인식 서열 (SRS)과 치료 모이어티 사이에, 예컨대 하기 화학식으로 나타내어지는 자기-희생적 링커 (L^2)를 포함한다.



- [0204]
- [0205] 여기서 p는 1 내지 100, 바람직하게는 6 내지 50, 보다 바람직하게는 6 내지 12의 정수를 나타낸다.
- [0206] CBM이 티올을 포함하고 L^1 이 말레이미드 모이어티를 통해 티올 기에 커플링된 탄화수소 모이어티인 다른 실시양태에서, L^1 은 하기 화학식으로 나타내어질 수 있다.



또는



[0207]

[0208] 여기서 p는 1 내지 20, 바람직하게는 1 내지 4의 정수를 나타낸다.

[0209] 자기-희생적 모이어티는 2개의 이격된 화학적 모이어티를 함께 통상적으로 안정한 분자로 공유 연결할 수 있는 이관능성 화학적 기로서, 효소적 절단에 의해 이격된 화학적 모이어티 중 하나를 분자로부터 방출하고; 효소적 절단 후에, 이관능성 화학적 기의 나머지로써 자발적으로 절단되어 상기 이격된 화학적 모이어티 중 다른 하나를 방출할 수 있는 것으로 정의될 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 자기-희생적 모이어티는 그의 말단 중 하나에서 스페이서 단위를 통해 직접적으로 또는 간접적으로 아마이드 결합에 의해 리간드에 공유 연결되고, 그의 다른 말단에서 치료 모이어티로부터 계류 중인 화학적 반응성 부위 (관능기)에 공유 연결된다. 자기-희생적 모이어티에 의한 치료 모이어티의 유도체화는 약물이 절단될 때까지 약물을 덜 약리학적으로 활성 (예를 들어, 덜 독성)이게 하거나 또는 전혀 활성이 아니게 할 수 있다.

[0210] 치료 접합체는 일반적으로 순환계 중에서 안정하거나, 또는 적어도 기질 인식 서열 (FAP α-절단가능한 링커)과 자기-희생적 모이어티 사이의 아마이드 결합을 절단할 수 있는 효소의 부재 하의 경우이어야 한다. 적합한 효소 (FAP α)에 대한 치료 접합체의 노출 시, 아마이드 결합은 절단되어 자발적 자기-희생적 반응을 개시하고 자기-희생적 모이어티를 치료 모이어티에 공유 연결한 결합의 절단을 초래함으로써, 그의 비유도체화된 또는 약리학적 활성 형태의 유리 치료 모이어티의 방출을 가져온다. 접합체 내의 자기-희생적 모이어티는 1개 이상의 헤테로 원자를 혼입하고, 그에 의해 개선된 용해도를 제공하고, 절단 속도를 개선시키고, 접합체의 응집 성향을 감소시킨다.

[0211] 일부 실시양태에서, L^2 는 벤질 옥시 카르보닐 기이다. 다른 실시양태에서, 자기-희생적 링커 L^2 는 $-NH-(CH_2)_4-C(=O)-$ 또는 $-NH-(CH_2)_3-C(=O)-$ 이다. 또 다른 실시양태에서, 자기-희생적 링커 L^2 는 p-아미노벤질옥시카르보닐 (PABC)이다. 또 다른 실시양태에서, 자기-희생적 링커 L^2 는 2,4-비스(히드록시메틸)아닐린이다.

[0212] 본 개시내용의 치료 접합체는 치료 모이어티 및 절단가능한 기질 인식 서열에 공유 연결된 헤테로시클릭 자기-희생적 모이어티를 사용할 수 있다. 자기-희생적 모이어티는 2개의 이격된 화학적 모이어티를 함께 통상적으로 안정한 분자로 공유 연결하여, 효소적 절단에 의해 분자로부터 상기 이격된 화학적 모이어티 중 하나를 방출하고; 상기 효소적 절단 후에, 이관능성 화학적 기의 나머지로써 자발적으로 절단하여 상기 이격된 화학적 모이어티 중 다른 하나를 방출할 수 있는 이관능성 화학적 기로서 정의될 수 있다. 본 개시내용에 따르면, 자기-희생적 모이어티는 그의 말단 중 하나에서 스페이서 단위를 통해 직접적으로 또는 간접적으로 아마이드 결합에 의해 리간드에 공유 연결되고, 그의 다른 말단에서 약물로부터 계류 중인 화학적 반응성 부위 (관능기)에 공유 연결될 수 있다. 자기-희생적 모이어티에 의한 치료 모이어티의 유도체화는 약물이 절단될 때까지 약물을 덜 약리학적으로 활성 (예를 들어, 덜 독성)이게 하거나 또는 전혀 활성이 아니게 할 수 있다.

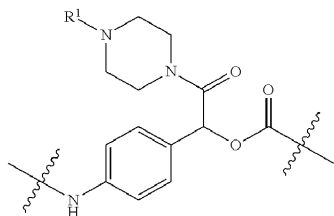
[0213] 치료 접합체는 일반적으로 순환에서 안정하거나, 또는 적어도 기질 인식 서열과 자기-희생적 모이어티 사이의 아마이드 결합을 절단할 수 있는 효소의 부재 하의 경우이어야 한다. 그러나, 적합한 효소에 대한 치료 접합체의 노출 시, 아마이드 결합은 절단되어 자발적 자기-희생적 반응을 개시하여 자기-희생적 모이어티를 약물에 공유 연결하는 결합의 절단을 초래함으로써, 그의 비유도체화 또는 약리학적 활성 형태의 유리 치료 모이어티의 방출을 달성한다.

[0214] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체 내의 자기-희생적 모이어티는 1개 이상의 헤테로원자를 혼입하고, 그에 의해 개선된 용해도를 제공하고, 절단 속도를 개선시키고, 접합체의 응집 성향을 감소시킨다. 비-헤테로시

클릭, PAB-유형 링커에 비해 본 개시내용의 헤테로시클릭 자기-희생적 링커 구축물의 이러한 개선은 놀랍고도 예상치 못한 생물학적 특성, 예컨대 증가된 효능, 감소된 독성, 및 보다 바람직한 약동학을 생성할 수 있다.

[0215] 일부 실시양태에서, L^2 는 벤질옥시카르보닐 기이다.

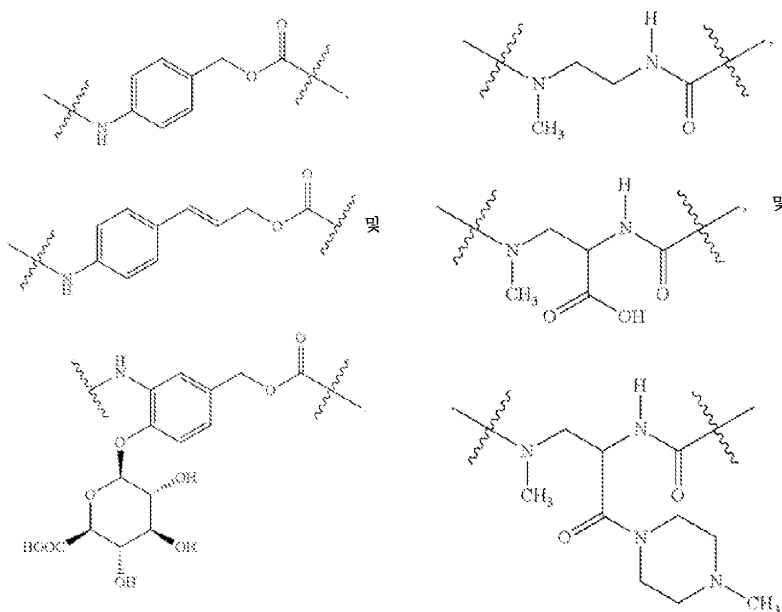
[0216] 일부 실시양태에서, L^2 는 하기이다:



[0217]

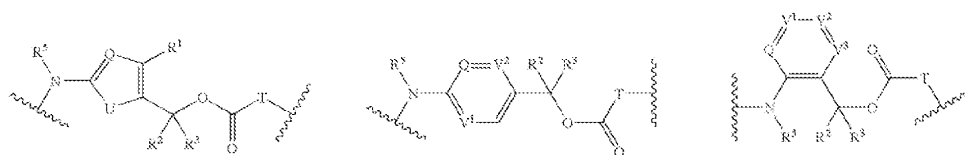
[0218] 여기서 R^1 은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로시클릴이다. 일부 실시양태에서, R^1 은 수소이다. 일부 예에서, R^1 은 메틸이다.

[0219] 일부 실시양태에서, L^2 는 하기로부터 선택된다:



[0220]

[0221] 일부 실시양태에서, 자기-희생적 모이어티 L_2 는 하기로부터 선택된다:



[0222]

[0223] 여기서

[0224] U 는 O, S 또는 NR^6 이고;

[0225] Q 는 CR^4 또는 N이고;

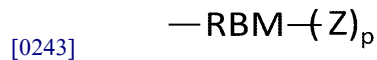
[0226] V^1 , V^2 및 V^3 은 독립적으로 CR^4 또는 N이며, 단 화학식 II 및 III의 경우 Q , V^1 및 V^2 중 적어도 하나는 N이고;

[0227] T 는 상기 치료 모이어티로부터 계열 중인 NH, NR^6 , O 또는 S이고;

- [0228] R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 독립적으로 H, F, Cl, Br, I, OH, $-N(R^5)_2$, $-N(R^5)_3^+$, C_1-C_8 알킬할라이드, 카르복실레이트, 술페이트, 술포메이트, 술포네이트, $-SO_2R^5$, $-S(=O)R^5$, $-SR^5$, $-SO_2N(R^5)_2$, $-C(=O)R^5$, $-CO_2R^5$, $-C(=O)N(R^5)_2$, $-CN$, $-N_3$, $-NO_2$, C_1-C_8 알콕시, C_1-C_8 할로치환된 알킬, 폴리에틸렌옥시, 포스포네이트, 포스페이트, C_1-C_8 알킬, C_1-C_8 치환된 알킬, C_2-C_8 알케닐, C_2-C_8 치환된 알케닐, C_2-C_8 알키닐, C_2-C_8 치환된 알키닐, C_6-C_{20} 아릴, C_6-C_{20} 치환된 아릴, C_1-C_{20} 헤테로사이클, 및 C_1-C_{20} 치환된 헤테로사이클로부터 선택되거나; 또는 함께 취해지는 경우, R^2 및 R^3 은 3 내지 7개의 탄소 원자의 카르보닐 ($=O$), 또는 스피로 카르보시클릭 고리를 형성하고;
- [0229] R^5 및 R^6 은 H, C_1-C_8 알킬, C_1-C_8 치환된 알킬, C_2-C_8 알케닐, C_2-C_8 치환된 알케닐, C_2-C_8 알키닐, C_2-C_8 치환된 알키닐, C_6-C_{20} 아릴, C_6-C_{20} 치환된 아릴, C_1-C_{20} 헤테로사이클, 및 C_1-C_{20} 치환된 헤테로사이클로부터 독립적으로 선택되고;
- [0230] 여기서 C_1-C_8 치환된 알킬, C_2-C_8 치환된 알케닐, C_2-C_8 치환된 알키닐, C_6-C_{20} 치환된 아릴, 및 C_2-C_{20} 치환된 헤테로사이클은 독립적으로 F, Cl, Br, I, OH, $-N(R^5)_2$, $-N(R^5)_3^+$, C_1-C_8 알킬할라이드, 카르복실레이트, 술페이트, 술포메이트, 술포네이트, C_1-C_8 알킬술포네이트, C_1-C_8 알킬아미노, 4-디알킬아미노피리디늄, C_1-C_8 알킬히드록실, C_1-C_8 알킬티올, $-SO_2R^5$, $-S(=O)R^5$, $-SR^5$, $-SO_2N(R^5)_2$, $-C(=O)R^5$, $-CO_2R^5$, $-C(=O)N(R^5)_2$, $-CN$, $-N_3$, $-NO_2$, C_1-C_8 알콕시, C_1-C_8 트리플루오로알킬, C_1-C_8 알킬, C_3-C_{12} 카르보사이클, C_6-C_{20} 아릴, C_2-C_{20} 헤테로사이클, 폴리에틸렌옥시, 포스포네이트, 및 포스페이트로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 치환된다.
- [0231] T가 NH인 경우, 이는 (자기-희생적 모이어티에 커플링되기 전에) 치료 모이어티로부터 계류 중인 1급 아민 ($-NH_2$)으로부터 유래되고, T가 N인 경우, 이는 (자기-희생적 모이어티에 커플링되기 전에) 치료 모이어티로부터 계류 중인 2급 아민 ($-NH-$)으로부터 유래되는 것으로 이해될 것이다. 유사하게, T가 O 또는 S인 경우, 이는 자기-희생적 모이어티에 커플링되기 전에 각각 치료 모이어티로부터 계류 중인 히드록실 ($-OH$) 또는 술포히드릴 ($-SH$) 기로부터 유래된다.
- [0232] 일부 실시양태에서, 자기-희생적 링커 L^2 는 $-NH-(CH_2)_4-C(=O)-$ 또는 $-NH-(CH_2)_3-C(=O)-$ 이다.
- [0233] 일부 실시양태에서, 자기-희생적 링커 L^2 는 p-아미노벤질옥시카르보닐 (PABC)이다.
- [0234] 일부 실시양태에서, 자기-희생적 링커 L^2 는 2,4-비스(히드록시메틸)아닐린이다.
- [0235] 본원에 기재된 치료 접합체에 사용하기 위해 용이하게 적합화된 자기-희생적 링커의 다른 예는, 예를 들어 미국 특허 7,754,681; WO 2012/074693A1; US 9,089,614; EP 1,732,607; WO 2015/038426A1 (이들 모두 참조로 포함됨); 문헌 [Walther et al. "Prodrugs in medicinal chemistry and enzyme prodrug therapies" Adv Drug Deliv Rev. 2017 Sep 1; 118:65-77; and Tranoy-Opalinski et al. "Design of self-immolative linkers for tumour-activated prodrug therapy", Anticancer Agents Med Chem. 2008 Aug;8(6):618-37]에 교시되어 있으며; 이들 각각의 교시는 본원에 참조로 포함된다.
- [0236] 본 개시내용에 따라 사용하기 위한 자기-희생적 링커의 또 다른 비제한적 예는 2019년 12월 12일에 공개된 국제 공개 번호 WO 2019/236567 (본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다.
- [0237] 치료 모이어티
- [0238] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티 ($-TM$)는 면역 유도제, 예컨대 염증을 유도하여 선천성 및/또는 적응 면역 반응의 활성화를 일으키는 작용제이다.
- [0239] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티 ($-TM$)는 세포독성제이며, 즉 치료 접합체로부터 방출될 때 치료 접합체가 투여되는 농도에서 표적 세포의 세포 사멸을 유발한다.
- [0240] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티 ($-TM$)는 세포증식억제제이며, 즉 치료 접합체로부터 방출될 때 치료 접합체가 투여되는 농도에서 표적 세포의 유사분열 정지 또는 중지를 유발한다.

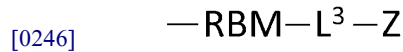
[0241] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티 (-TM)는 후성적 작용제이며, 즉 치료 접합체로부터 방출될 때 치료 접합체가 투여되는 농도에서 표적 세포의 후성적 변화를 유발하고, 이는 예를 들어 세포의 또 다른 세포 표현형으로의 분화 (또는 탈분화)를 일으킬 수 있다.

[0242] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 다음 화학식에 의해 나타내어진다:



[0244] 여기서 RBM은 수용체 결합 모이어티이고, Z는 세포독성, 세포증식억제성 또는 후성적 모이어티 또는 방사성동위원소 함유 모이어티이고, p는 0 (Z가 부재함) 또는 1 내지 8의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 1이다.

[0245] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 다음 화학식에 의해 나타내어진다:



[0247] 여기서 RBM은 수용체 결합 모이어티이고, Z는 세포독성, 세포증식억제성 또는 후성적 모이어티 또는 방사성동위원소 함유 모이어티이고, L^3 은 결합 또는 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커이다. 예를 들어, L^3 은 산 불안정성 또는 효소 감수성 (예컨대, 카텝신 절단 부위를 포함함)인 링커일 수 있고, 이에 따라 수용체 결합 모이어티 RBM에 의존적인 세포 결합을 통해 모이어티 -RBM- L^3 -Z의 내재화 시 Z가 세포내 방출된다.

[0248] 추가로 예시하기 위해, 수용체 결합 모이어티 (RBM)는 수용체에 대한 리간드, 예컨대 치료 접합체로부터 방출될 때 세포 표면 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인에 결합할 수 있는 리간드일 수 있다. 예시적인 수용체 리간드는 소마토스타틴, 콜레시스토키닌-2 (CCK2), 폴레이트 (폴산), 붐베신, 가스트린-방출 펩티드, 칼시토닌, 옥시토신, EGF, α -멜라닌세포-자극 호르몬, 미니가스트린, 뉴로텐신, 물질 P, 글루카곤-유사 펩티드 1, 뉴로펩티드 Y 및 이들 리간드의 유사체를 포함한다. 수용체 리간드는 그 자체로 약리학적 활성을 가질 수 있거나, 또는 접합된 치료 모이어티 (예를 들어, 약물 모이어티), 독소 또는 방사성동위원소를 수용체를 발현하는 세포에 (및 바람직하게는 그 내로) 전달하는 데 사용될 수 있다.

[0249] 추가의 예는 수용체 결합 모이어티가 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 리간드 또는 수용체 효능제인 실시양태를 포함한다: 폴레이트 유도체 (폴레이트 수용체에 결합하고 난소암 및 다른 악성종양에서 과다발현되는 단백질) (문헌 [Low, PS et al. 2008, acc. chem. res.41, 120-9]); 글루타메이트 우레아 유도체 (전립선 특이적 막 항원에 결합함, 전립선암 세포에 대한 표면 마커) (문헌 [Hillier, SM et al., 2009, Cancer res.69, 6932-40]); 소마토스타틴 (성장 호르몬 억제 호르몬 (GHIH) 또는 성장 호르몬 방출 억제 인자 (SRIF) 또는 성장 호르몬 방출 억제 호르몬으로도 공지됨) 및 그의 상동체, 예컨대 옥트레오티드 (산도스타틴) 및 란레오티드 (소마토린) (특히 신경내분비 종양, GH-생산 뇌하수체 선종, 부신경절종, 비-기능성 뇌하수체 선종, 크롬친화세포종 (문헌 [Ginj, M., et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103,16436-41]), 다음 종양에서의 소마토스타틴 수용체 하위유형 (sst1, sst2, sst3, sst4 및 sst5), GH-분비 뇌하수체 선종 (문헌 [Reubi JC, L and olt, AM1984J. Clin. Endocrinol Metab 59: 1148-51; Re JC, L and olt AM 1987 Clin. Endocrinol Metab 65: 65. C.73; Moyse E, et al., J Clin Endocrinol Metab 61: 98-103]), 위장궤장 종양 (문헌 [Reubi JC, et al., 1987J Clin Endocrinol Metab 65: 1127-34; Reubi, J.C, et al., 1990Cancer Res 50: 5969-77]), 크롬친화세포종 (문헌 [Epel-baum J, et al., 1995J Clin Endocrinol Metab80: 1837-44; Reubi J C, et al., 1992J Clin Endocrinol Metab 74: 1082-9]), 신경모세포종 (문헌 [Prevost G,1996 neoendocrinology 63: 188) 197; Mortel, Mill.L, et al., 1994 Amob J P102: 752-752]), 갑상선 수질 암종 (문헌 [Reubi, J.C, et al., 1991Lab 64: 7J, 1987J, 1987, et al., 1987J, 1987J, mouse colon receptor for colon Cancer, mouse colon receptor, mouse colon receptor, mouse colon receptor, mouse colon receptor, mouse colon receptor, mouseThe somatic subtype (CCK)]); 붐베신 (Pyr-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH)2 (서열식별번호: 143) 또는 가스트린 방출 펩티드 (GRP) 및 그의 수용체 하위부류 (BB1, GRP 수용체 하위부류 (BB2), BB3 및 BB4) (문헌 [Ohlsson, b., et al., 1999, Sc and j.gastroenterology 34(12) 1224-9; weber, HC,2009, cur. opin. endocri. dib. obesity16(1): 66-71, Gonzalez N, et al., 2008, cur. opin. endocri. dib. obesity 15(1), 58-64]); 뉴로텐신 수용체 및 그의 수용체 하위유형 (NTR1, NTR2, NTR 3); 물질 P 수용체 및 그의 수용체 하위유형 (예를 들어, 신경교 종양에 대한 NK1 수용체, 문헌 [Hennig I M, et al. 1995int. J. cancer 61, 786-cake 792]); 뉴로펩티드 Y (npy) 수용체 및 그의 수용체 하위유형 (Y1-Y6); 세포 표면 발현을 위한 귀소 펩티드, 예컨대 RGD (Arg-Gly-Asp), NGR (Asn-

Gly-Arg), 이량체 및 다량체 시클릭 RGD 펩티드 (예를 들어, cRGDfV) (문헌 [Laakkonen P, Vuorine K.2010, Integr Biol (Camb). sub.2 (7-8): 326-337; ChenK, Chen X.2011, Theranostics.1: 189-200; Garanger E, et al., Anti-Cancer Agents Med. 7(5): 552-558; Kerr, JS et al., Antincerner Research,19(2A), 959-968; Thumshirn, G, et al., 2003Chem. Eur.J.9, 7-2725]), 및 TAASGVRSMH (서열식별번호: 144) 또는 LTLRWVGLMS (서열식별번호: 145) (콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸 NG2 수용체) 및 F3 (뉴클레올린 수용체 결합 펩티드) (RG 수용체) (아미노산 수용체 31, BTE-Gly-26, WO 31, 92-26, 바이오다멘(Biodamen) K.31, 바이오다멘 K.326; 및 K.32, 바이오담(Biodamn). 31, 바이오담 K.32; 및 K.32, 바이오담. 9, JP 31, 9, K, 9, K, 9, No. 35, No. 20, No. 35, No., proc.nat.acad.sci.usa 99(11), 7444-9); 세포 투과 펩티드 (CPP) (문헌 [Nakase I, et al., 2012, J.Control Release.159(2), 181-188]); 난포 자극 호르몬 (FSH) 및 황체형성 호르몬 (LH) 뿐만 아니라 테스토스테론 생산을 표적화함으로써 작용하는 펩티드 호르몬, 예컨대 황체형성 호르몬 방출 호르몬 (LHRH)의 효능제 및 길항제, 고나도트로핀 방출 호르몬 (GnRH) 효능제, 예컨대 부세렐린 (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser (OtBu)-Leu-Arg-Pro-NHEt) (서열식별번호: 146), 고나도렐린 (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH2) (서열식별번호: 147), 고세렐린 (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser (OtBu)-Leu-Arg-Pro-AzGly-NH2) (서열식별번호: 148) 히말라렐린 (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-His (N-Bn)-Leu-Arg-Pro-NHEt) (서열식별번호: 149), 류프롤리드 (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHEt) (서열식별번호: 150), 나파렐린 (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-2 Nal-Leu-Arg-Pro-Gly-NH2) (서열식별번호: 151), 트립토텐린 (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH2) (서열식별번호: 152) 나파렐린, 데스로랄린, 아베렐린 (Ac-D-2Nal-D-4-클로로Phe-D-3-(3-피리돌) Ala-Ser- (N-Me) Tyr-D-Asn-Leu-이소프로필Lys-Pro-DAla-NH2) (서열식별번호: 153) 세트로렐릭스 (Ac-D-2Nal-D-4-클로로-Phe-D-3-(3-피리돌) Ala-Ser-Tyr-D-Cit-Leu-Arg-Pro-D-Ala-NH2) (서열식별번호: 154), 데가렐릭스 (Ac-D-2Nal-D-4-클로로Phe-D-3-(3-피리돌) Ala-Ser-4-아미노Phe (L-히드록실)-D-4-아미노Phe (카르바-모일)-Leu-이소프로필Lys-Pro-D-Ala-NH2) (서열식별번호: 155) 및 갈랑갈 (Ac-D-2Nal-D-4-클로로Phe-D-3-(3-피리돌) Ala-Ser-Tyr-D-(N9, N10-디에틸)-호모Arg-Leu-(N9, N10-디에틸)-호모Arg-Pro-D-Ala-NH2) (서열식별번호: 156) (문헌 [Thundimadathil, J., J.Aminoacids in Urology3(3): 127-140; Debruyne, F.,2006, Future Oncology,2 (6); 677 696; Schally A.V; Nagy, A.1999Eur J Endocrinol 141: 1-14; Koppan M, et al. 1999 Protate 38: 151-158]; 패턴 인식 수용체 (PRR), 예컨대 톨-유사 수용체 (TLR), C-유형 렉틴 및 결절성 수용체 (NLR) (문헌 [Fukata, M.et al., 2009, Semin. 21, Immunol 242-253; Maisoneune euonymus, C.et al., 2014, J.Ach.56, J.56.56, J.2011., J.56, J.2011.56, J.2011, 19870, 19856, USA, 14, III, V.56, III, V.11, III]. 짧은 펩티드, GRGDSPPK (서열식별번호: 157) 및 시클릭 RGD 펜타펩티드, 예컨대 시클로 (RGDfV) (서열식별번호: 160) (L1) 및 그의 유도체 (시클로 (-N (Me) R-GDfV) 서열식별번호: 158, 시클로 (R-Sar-DfV) 서열식별번호: 159, 시클로- (RG-N (Me) D-fV) 서열식별번호: 176, 시클로 (RGD-N (Me) fV) 서열식별번호: 177, 시클로 (RGDf-N (Me) V-) (실렌기티드) 서열식별번호: 178)는 인테그린 수용체에 대해 높은 친화도를 갖는다 (문헌 [Dechantsreiter, MA et al., 1999J.Med.chem.42,3033-40, Goodman, SL, et al., 2002J.Med.chem.45, 1045-51])).

- [0250] 일부 실시양태에서, 수용체 결합 모이어티는 인테그린 $\alpha v \beta 3$, 가스트린-방출 펩티드 수용체 (GRPR), 소마토스타틴 수용체 (예컨대, 소마토스타틴 수용체 하위유형 2), 멜라노코르틴 수용체, 콜레시스토키닌-2 수용체, 뉴로펩티드 Y 수용체 또는 뉴로텐신 수용체에 결합한다.
- [0251] 일부 실시양태에서, 수용체 결합 모이어티는 폴레이트 수용체 α 에 결합하고, 폴레이트 수용체 리간드, 예컨대 폴산 또는 폴산 유사체 (예컨대, 에타르폴라티드, 빈타폴리드, 류코보린 및 메토타렉세이트)일 수 있다.
- [0252] 일부 실시양태에서, 수용체 결합 모이어티는 소마토스타틴 수용체에 결합하고, 소마토스타틴 또는 소마토스타틴 유사체, 예컨대 옥트레오테이트, 옥트레오티드 또는 펜테트레오티드일 수 있다.
- [0253] 일부 실시양태에서, 수용체 결합 모이어티는 $\alpha IIb \beta 3$ 에 결합하고, $\alpha IIb \beta 3$ -표적화 리간드, 예컨대 RGD 또는 RGD 유사체 (즉, 이량체 또는 다량체 유사체), 예를 들어 예시적인 시클릭 RGD 펩티드, 예컨대 시클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe Val-) ["c(RGDfV)"] (서열식별번호: 160), c(RGDfK) (서열식별번호: 161), c(RGDfC) (서열식별번호: 162), c(RADfC) (서열식별번호: 163), c(RADfK) (서열식별번호: 164), c(RGDfE) (서열식별번호: 165), c(RADfE) (서열식별번호: 166), RGDSK (서열식별번호: 167), RADSK (서열식별번호: 168), RGDS (서열식별번호: 169), c(RGDyC) (서열식별번호: 170), c(RADyC) (서열식별번호: 171), c(RGDyE) (서열식별번호: 172), c(RGDyK) (서열식별번호: 173), c(RADyK) (서열식별번호: 174) 및 H-E[c(RGDyK)]₂ (서열식별번호: 175), EMD 12194, DMP728, DMP757 및 SK&F107260일 수 있다.

- [0254] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 생체내에서 선천성 면역 반응을 유도하는 그의 능력에 기초하여 선택된다. 선천성 면역 반응은 증가된 시토카인 발현 및 방출 및 세포 사멸을 일으키는, 전형적으로 바이러스 또는 박테리아 기원의 외인성 핵산 또는 단백질에 대한 세포성 반응을 포함한다. 따라서, 선천성 면역 반응은 시토카인 (예를 들어, 제1형 인터페론)의 발현 또는 활성 수준 또는 인터페론-조절된 유전자 (예를 들어, 톨-유사 수용체)의 발현 수준에 의해 측정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 선천성 면역 반응은 과립구 콜로니-자극 인자 (G-CSF)의 발현 또는 활성 수준에 의해 측정된다. 반응은 또한 세포 사멸의 수준에 의해 측정될 수 있다.
- [0255] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 치료 모이어티 단독과 비교하여 더 낮은 선천성 면역 반응을 유도한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 치료 모이어티가 단독으로 투여되는 경우에 유도된 선천성 면역 반응보다 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100% 더 낮은 선천성 면역 반응을 유도한다.
- [0256] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 급성 독성이다. 본원에 사용된 "급성 독성"인 모이어티는 대상체에게 투여한 지 14일 이내에 유해 효과를 갖는 모이어티를 지칭한다. 급성 독성은 만성 독성 또는 누적 독성과 비교되며, 여기서 시간 경과에 따른 치료 모이어티의 축적은 치료 모이어티의 독성을 유발한다.
- [0257] 독성은 임의의 방법을 사용하여 측정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 독성은 간 활성에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 독성은 신장 활성에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 독성은 췌장 활성에 의해 측정된다.
- [0258] 일부 실시양태에서, 독성은 순환 간 효소, 예컨대 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST) 및/또는 알라닌 트랜스아미나제 (ALT)를 평가함으로써 측정된다. 치료 모이어티의 투여 후 시점에서의 AST 및/또는 ALT 수준을 투여 전에 수득된 기준선 값, 예를 들어 치료 모이어티를 제공받지 않은 대조군 동물의 것, 또는 이전 실험 (과거 대조군) 또는 문헌으로부터 정상 동물과 연관된 것으로 공지된 값과 비교할 수 있다.
- [0259] 일부 실시양태에서, 독성은 알칼리성 포스파타제 (ALP) 수준을 평가함으로써 측정된다. 치료 모이어티의 투여 후 시점에서의 ALP 수준을 투여 전에 수득된 기준선 값, 예를 들어 치료 모이어티를 제공받지 않은 대조군 동물의 것, 또는 이전 실험 (과거 대조군) 또는 문헌으로부터 정상 동물과 연관된 것으로 공지된 값과 비교할 수 있다.
- [0260] 일부 실시양태에서, 독성은 총 빌리루빈 (TBIL) 수준을 평가함으로써 측정된다. 치료 모이어티의 투여 후 시점에서의 TBIL 수준을 투여 전에 수득된 기준선 값, 예를 들어 치료 모이어티를 제공받지 않은 대조군 동물의 것, 또는 이전 실험 (과거 대조군) 또는 문헌으로부터 정상 동물과 연관된 것으로 공지된 값과 비교할 수 있다.
- [0261] 일부 실시양태에서, 독성은 알부민 수준을 평가함으로써 측정된다. 치료 모이어티의 투여 후 시점에서의 알부민 수준을 투여 전에 수득된 기준선 값, 예를 들어 치료 모이어티를 제공받지 않은 대조군 동물의 것, 또는 이전 실험 (과거 대조군) 또는 문헌으로부터 정상 동물과 연관된 것으로 공지된 값과 비교할 수 있다.
- [0262] 일부 실시양태에서, 독성은 혈청 글루코스 수준을 평가함으로써 측정된다. 치료 모이어티의 투여 후 시점에서의 혈청 글루코스 수준을 투여 전에 수득된 기준선 값, 예를 들어 치료 모이어티를 제공받지 않은 대조군 동물의 것, 또는 이전 실험 (과거 대조군) 또는 문헌으로부터 정상 동물과 연관된 것으로 공지된 값과 비교할 수 있다.
- [0263] 일부 실시양태에서, 독성은 락테이트 데히드로게나제 (LDH) 수준을 평가함으로써 측정된다. 치료 모이어티의 투여 후 시점에서의 락테이트 데히드로게나제 (LDH) 수준을 투여 전에 수득된 기준선 값, 예를 들어 치료 모이어티를 제공받지 않은 대조군 동물의 것, 또는 이전 실험 (과거 대조군) 또는 문헌으로부터 정상 동물과 연관된 것으로 공지된 값과 비교할 수 있다.
- [0264] 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 치료 접합체는 FAP α 가 링커를 절단할 때까지 치료 모이어티가 활성이 되지 않도록 유지하는 것으로 생각된다. 이러한 방식으로, 치료 접합체는 급성으로 독성이 아니고, 유리 치료 모이어티보다 더 높은 치료 지수 (TI)를 갖는다. TI는 치료 효과를 유발하는 치료 모이어티 (또는 접합체)의 양을 독성을 유발하는 치료 모이어티 (또는 접합체)의 양과 비교함으로써 계산된, 치료 모이어티의 상대적 안전성의 정량적 척도이다. 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 전신으로 전달되는 경우에 유리 치료 모이어티의 전신 전달보다 적어도 2배 더 큰, 예를 들어 유리 치료 모이어티의 전신 전달보다 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 250, 500 또는 심지어 1000배 더 큰 치료 지수 (TI)를 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료 접합체의 치료 지수 (TI)는 전신으로 주어지는 경우에 유리 치료 모이어티에 대한 치료 지수보다 적어도 5배 더 크고, 예를 들어 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 75 또는 심지어 100배 더 크다.

- [0265] 이러한 방식으로, 용량-제한 독성으로 인해 이전에 유효하지 않았던 치료 모이어티 (약물) (예를 들어, 탈라보스타트)는 본원에 기재된 바와 같은 치료 용량 (예를 들어, 75 nM, 80 nM, 85 nM, 90 nM, 95 nM, 100 nM, 125 nM, 150 nM, 175 nM, 200 nM, 또는 그 초과와 중앙내 농도)으로 투여될 수 있다.
- [0266] 본원에 제공된 치료 모이어티는 그의 전구약물 형태에서 불활성이지만 (예를 들어, 전신 독성의 감소된 위험을 갖고, 감소된 세포 투과성을 가짐), FAP α -절단가능한 링커의 절단에 의해 활성화되는 약물 (예를 들어, 10 kD 이하의 분자량을 갖는 소분자)인 전구약물일 수 있다. 절단 시, 치료 모이어티는 이환 조직 (예를 들어, 종양)의 세포의 공간으로 방출되고, 여기서 이는 국부 염증 반응을 유발하고, 면역 세포 침윤을 촉진하고, 일부 실시양태에서 선천성 면역 반응을 유도할 수 있다. 이환 조직이 종양인 경우, 활성화된 치료 모이어티는 또한 종양 기질을 분해하고/거나 종양 세포를 사멸시킬 수 있다.
- [0267] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 세포내 표적과 상호작용하고, 치료 모이어티의 약리학적 효과는 세포 투과성, 즉 그의 세포내 표적과 상호작용할 수 있는 유리 치료 모이어티에 의존적인 반면에, 결합제-약물 접합체의 일부인 경우에 치료 모이어티는 실질적으로 세포 불투과성이다. 예를 들어, 결합제-약물 접합체의 세포내 축적 속도는 유리 치료 모이어티에 대한 속도의 50% 미만, 예를 들어 유리 치료 모이어티에 대한 속도의 25%, 10%, 5%, 1% 미만 또는 심지어 0.1% 미만이다. 예를 들어, 유리 치료 모이어티의 약리학적 효과에 대한 EC50은 결합제-약물 접합체보다 적어도 2배 더 적고 (더 강력함), 예를 들어 결합제-약물 접합체보다 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 250, 500 또는 심지어 1000배 더 적다.
- [0268] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 세포의 표적과 상호작용하고, 치료 모이어티의 약리학적 효과는 L^1 에 공유 연결된 경우에 실질적으로 감소된다. 예를 들어, 유리 치료 모이어티의 약리학적 효과에 대한 EC50은 결합제-약물 접합체보다 적어도 2배 더 적고 (더 강력함), 예를 들어 결합제-약물 접합체보다 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 250, 500 또는 심지어 1000배 더 적다.
- [0269] 일부 실시양태에서, 결합제-약물 접합체는 전신으로 전달되는 경우에 유리 치료 모이어티의 전신 전달보다 적어도 2배 더 큰, 예를 들어 유리 치료 모이어티의 전신 전달보다 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 250, 500 또는 심지어 1000배 더 큰 치료 지수를 갖는다.
- [0270] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 면역조절제이며 - 이는 면역 활성화제 및/또는 선천성 면역 경로 반응의 유도제로서 작용하는 약물 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 IFN- α 의 생산을 유도한다. 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 염증유발 시토카인의 생산을 유도한다. 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 IL-1 β 의 생산을 유도한다. 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 IL-18의 생산을 유도한다.
- [0271] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 NK, $\gamma \delta$ T 및 CD8+ T 세포를 비롯한 이펙터 세포의 확장 및 생존을 촉진한다.
- [0272] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 손상-연관 분자 패턴 분자이다. 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 병원체-연관 분자 패턴 분자이다.
- [0273] 본원에서 사용하기 위한 치료 모이어티는, 예를 들어 공식 미국 약전, 공식 미국 동종요법 약전, 공식 국립 처방집, 또는 그의 임의의 증보판에서 인정되는 것들을 포함하고, 소분자 화합물/약물, 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, RNA 간섭 분자, 예컨대 miRNA, siRNA, shRNA, 및 안티센스 RNA), 및 폴리펩티드 (예를 들어, 항체)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본원에 제공된 바와 같이 사용될 수 있는 치료 분자의 부류는 제조합 단백질, 항체, 세포독성제, 항대사물, 알킬화제, 항생제, 성장 인자 (예를 들어, 에리트로포이에틴, 파립구 콜로니-자극 인자 (G-CSF), 파립구-대식세포 콜로니-자극 인자 (GM-CSF), 각질세포 성장 인자)), 시토카인, 케모카인, 인터페론 (예를 들어, 인터페론-알파, 인터페론-베타, 인터페론-감마), 혈액 인자 (예를 들어, 인자 VIII, 인자 Vila, 인자 IX, 트롬빈, 항트롬빈), 항유사분열제, 독소, 아포토시스제 (예를 들어, DNA 알킬화제), 토포이소머라제 억제제, 내형질 세망 응력 유도제, 백금 화합물, 항대사물, 빈칼로이드, 타산, 에포티론, 효소 억제제, 수용체 길항제, 티로신 키나제 억제제, 방사선증감제, 화학요법 조합 요법, 수용체 트랩, 수용체 리간드, 혈관신생제, 항혈관신생제, 항응고제 및 혈전용해제 (예를 들어, 조직 플라스미노겐 활성화제, 히루딘, 단백질 C), 신경전달물질, 적혈구생성-자극제, 인슐린, 성장 호르몬 (예를 들어, 인간 성장 호르몬 (hGH), 여포-자극 호르몬), 대사 호르몬 (예를 들어, 인크레틴), 제조합 IL-1 수용체 길항제 및 이중특이적 T-세포 결속화 분자 (BITE®)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0274] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 시클릭 디뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 유리 약물 모이어

티는 ADU-S100이다. 일부 실시양태에서, 유리 약물 모이어티는 암 연관 섬유모세포 (CAF)에 대해 세포독성이다.

[0275] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 종양 연관 대식세포 집단을 M1 대식세포로 분극시키고/거나 M2 대식세포 면역억제 활성을 억제한다.

[0276] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 T-세포 프라이밍 및/또는 수지상 세포 트래킹을 가속화한다.

[0277] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는, 예컨대 면역억제 기능 또는 림프절 및/또는 종양 미세환경으로의 이동을 차단함으로써 Treg 세포를 억제하거나 고갈시킨다.

[0278] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 화학요법 약물 모이어티이다. 화학요법 약물 모이어티의 예는 백금-기반 약물 (예를 들어, 옥살리플라틴, 시스플라틴, 카르보플라틴, 스피로플라틴, 이프로플라틴, 사트라플라틴 등), 알킬화제 (예를 들어, 시클로포스파미드, 이포스파미드, 클로람부실, 부숴판, 멜팔란, 메클로레타민, 우라무스틴, 티오테파 및 니트로소우레아), 항대사물 (예를 들어, 5-플루오로우라실 (5-FU), 아자티오프린, 메토틱렉세이트, 류코보린, 카페시타빈, 시타라빈, 플록수리딘, 플루다라빈, 겐시타빈, 페메트렉세드 및 라티트렉세드), 식물 알칼로이드 (예를 들어, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈데신, 포도필로톡신, 파클리탁셀 (탁셀) 및 도세탁셀), 토포이소머라제 억제제 (예를 들어, 이리노테칸 (CPT-11; 캄프토사르), 토포테칸, 암사크린, 에토포시드 (VP16), 에토포시드 포스페이트 및 테니포시드), 항종양 항생제 (예를 들어, 독소루비신, 아드리아마이신, 다우노루비신, 에피루비신, 악티노마이신, 블레오마이신, 미토마이신, 미톡산트론 및 플리카마이신), 티로신 키나제 억제제 (예를 들어, 게필티닙 (이레사(IRESSA)®), 수니티닙 (수텐트(SUTENT)®; SU11248), 예를로티닙 (타르세바(TARCEVA)®; OSI-1774), 라파티닙 (GW572016; GW2016), 카네르티닙 (CI 1033), 세막시닙 (SU5416), 바탈라닙 (PTK787/ZK222584), 소라페닙 (BAY 43-9006), 이마티닙 (글리벡(GLEEVEC)®; STI571), 다사티닙 (BMS-354825), 레플루노미드 (SU101), 반데타닙 (작티마(ZACTIMA)™; ZD6474), 그의 제약상 허용되는 염, 그의 입체이성질체, 그의 유도체, 그의 유사체 및 그의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0279] 치료 모이어티의 다른 비제한적 예는 본원에 참조로 포함된 WO 2019/236567에서 제공된다.

[0280] 탁산/탁소이드

[0281] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 탁산이다. 탁산은 디테르펜 부류이다. 탁산 부류의 약물의 주요 작용 메카니즘은 미세관 기능의 파괴이다. 미세관은 세포 분열에 필수적이고, 탁산은 미세관에서 GDP-결합된 튜불린을 안정화시켜, 탈중합이 방지됨에 따라 세포 분열의 과정을 억제한다. 따라서, 본질적으로, 탁산은 유사분열 억제제이다. 탁산과 달리, 빈카 알칼로이드는 튜불린 중합의 억제를 통해 유사분열 방추체 형성을 방지한다. 따라서, 탁산 및 빈카 알칼로이드 둘 다 방추체 독 또는 유사분열 독으로 명명되지만, 이들은 상이한 방식으로 작용한다. 탁산은 또한 방사선민감성인 것으로 생각된다. 탁산의 비제한적 예는 파클리탁셀, 도세탁셀 및 카바지탁셀을 포함한다.

[0282] 백금-기반 작용제

[0283] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 백금-기반 작용제이다. 백금-기반 항신생물 약물 (비공식적으로 플라티노로 불림)은 암을 치료하는 데 전형적으로 사용되는 화학요법제이다. 백금-기반 항신생물제는 1부가물로서 DNA의 가교, 가닥간 가교, 가닥내 가교 또는 DNA 단백질 가교를 유발한다. 대부분 이들은 구아닌의 인접한 N-7 위치에 작용하여, 1, 2 가닥내 가교를 형성한다. 생성된 가교는 암 세포에서 DNA 복구 및/또는 DNA 합성을 억제한다. 백금-기반 항신생물제는 알킬화 항신생물제와 유사한 효과로 인해 때때로 "알킬화-유사"로 기재되지만, 이들은 알킬기를 갖지 않는다. 백금-기반 작용제의 비제한적 예는 옥살리플라틴, 시스플라틴, 카르보플라틴, 네다플라틴, 피코플라틴, 페난트리플라틴, 트리플라틴, 스피로플라틴, 사트라플라틴, 이프로플라틴 및 사트라플라틴을 포함한다.

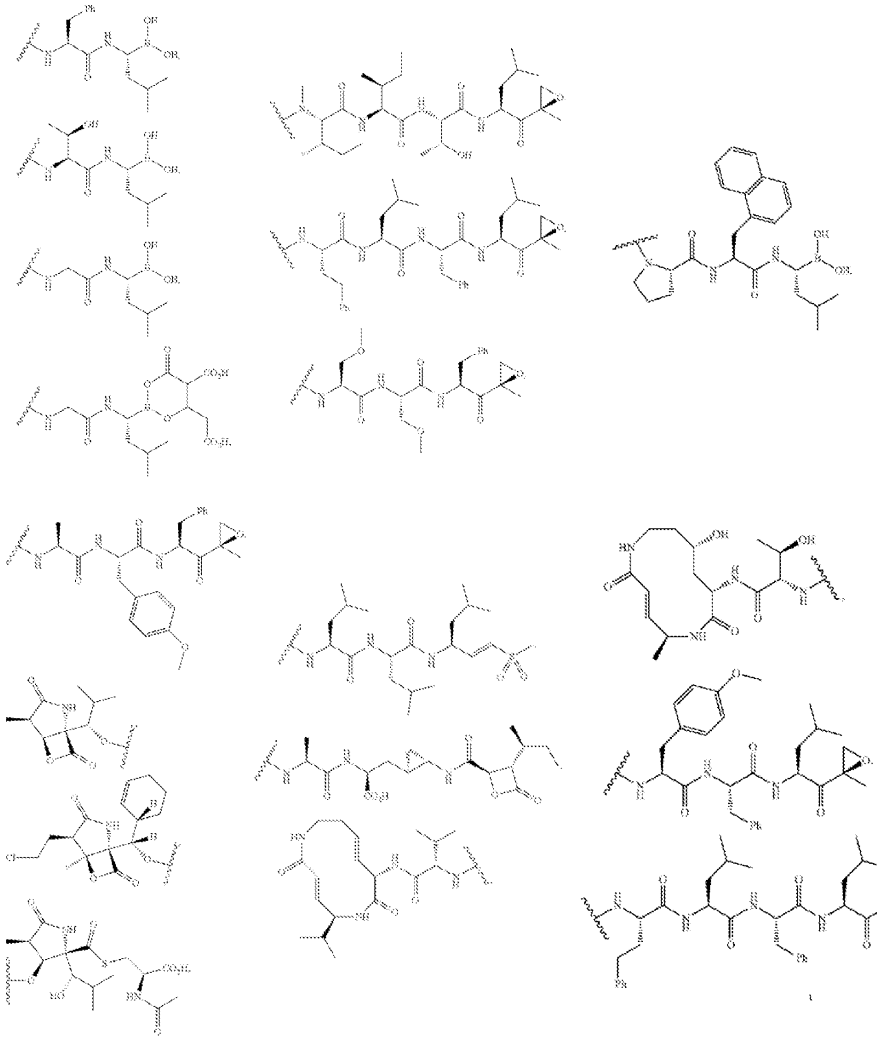
[0284] 프로테아솜 억제제

[0285] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 프로테아솜 억제제이다. 프로테아솜 억제제는 단백질을 분해하는 세포 복합체인 프로테아솜의 작용을 차단하는 약물이다. 다중 메카니즘이 수반될 가능성이 있지만, 프로테아솜 억제는 아폽토시스촉진 인자, 예컨대 p53 단백질의 분해를 방지하여, 아폽토시스촉진 경로의 억제에 의존적인 신생물성 세포에서의 프로그램화된 세포 사멸의 활성화를 허용할 수 있다. 예를 들어, 보르테조밐은 세포내 펩티드 수준의 신속하고 극적인 변화를 야기한다. 프로테아솜 억제제의 비제한적 예는 보르테조밐, 락타시스틴, 디술피람, 에피갈로카테킨-3-갈레이트, 마리조밐 (살리노스포라미드 A), 오프로조밐 (ONX-0912), 텔란조밐 (CEP-18770),

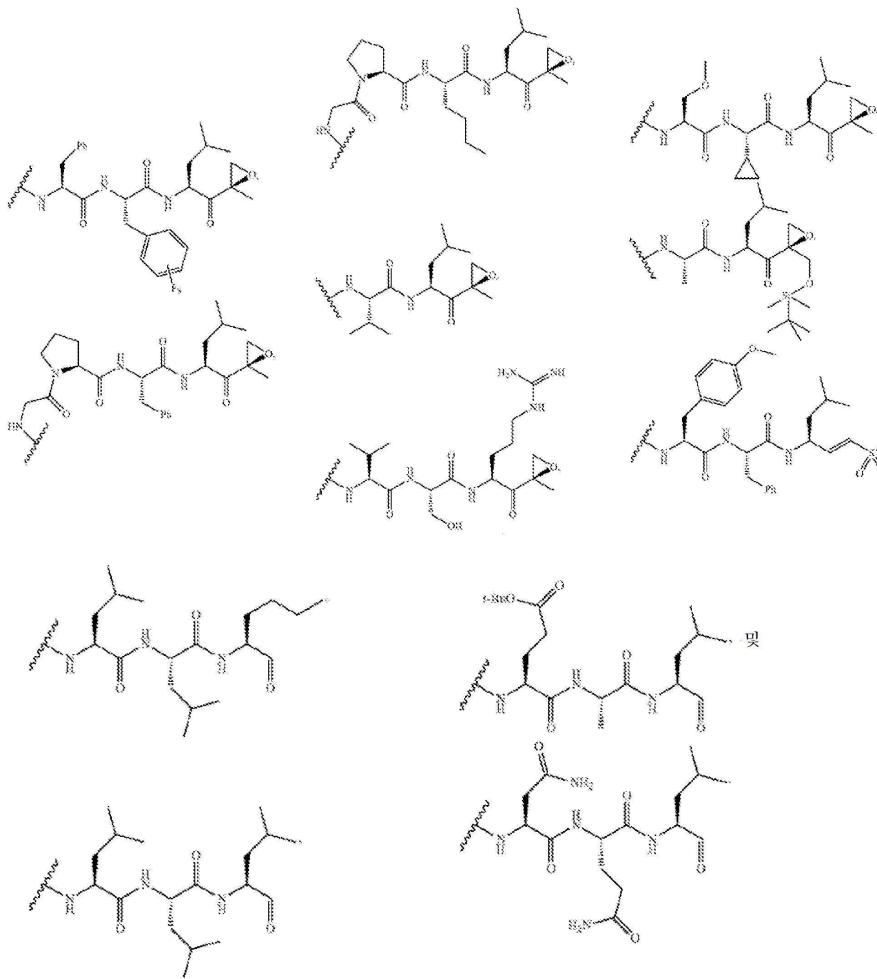
에폭소미신 및 베타-히드록시 베타-메틸부티레이트를 포함한다.

[0286]

예시적인 프로테아솜 억제제는 하기를 포함한다:



[0287]



[0288]

[0289] 톨-유사 수용체 효능제

[0290] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 톨-유사 수용체 (TLR) 효능제, 예컨대 TLR1/2 효능제, TLR2 효능제, TLR3 효능제, TLR4 효능제, TLR5 효능제, TLR6/2 효능제, TLR7 효능제, TLR7/8 효능제, TLR7/9 효능제, TLR8 효능제, TLR9 효능제 및 TLR11 효능제로 이루어진 군으로부터 선택된 것, 예를 들어 TLR3 효능제, TLR7 효능제, TLR7/8 효능제 및 TLR9 효능제로 이루어진 군으로부터 선택된 것이다. 톨-유사 수용체 (TLR) 효능제는 선천성 및 적응 면역 반응 둘 다를 활성화시키는 데 수반된다. 대부분의 TLR 효능제는 전문 항원-제시 세포 (APC), 예컨대 수지상 세포를 활성화시키고, T 세포와 상호작용한다. TLR은 선천성 면역에 중추적이기 때문에, TLR 효능제는 TLR 활성을 증진시키고, 관련하여 선천성 면역 반응을 활성화시키는 데 사용되어 왔다. TLR 효능제는 전형적으로 CpG 디뉴클레오타이드 모티프를 포함하는 단일-가닥 DNA의 짧은 합성 스트레치이다.

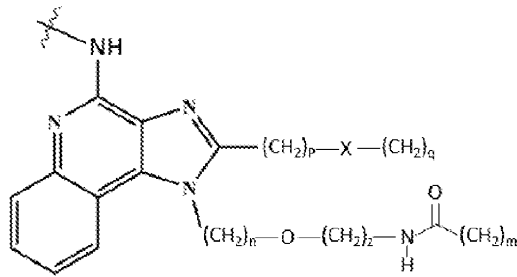
[0291] 톨-유사 수용체 (TLR) 효능제의 예는 TLR1/2 효능제, TLR2 효능제, TLR3 효능제 (예를 들어, 폴리IC), TLR4 효능제 (예를 들어, S-유형 리포폴리사카라이드, 파클리탁셀, 지질 A, 및 모노포스포릴 지질 A), TLR5 효능제 (예를 들어, 플라젤린), TLR6/2 효능제 (예를 들어, MALP-2), TLR7 효능제, TLR7/8 효능제 (예를 들어, 가르디퀴 모드, 이미퀴모드, 록소리빈, 및 레시퀴모드 (R848)), TLR7/9 효능제 (예를 들어, 히드록시클로로퀸 술페이트), TLR8 효능제 (예를 들어, 모톨리모드 (VTX-2337)), TLR9 효능제 (예를 들어, CpG-ODN), 및 TLR11 효능제 (예를 들어, 프로필린)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0292] 접합체에서 치료 모이어터로서 사용될 수 있는 TLR 효능제의 예는 S-27609, CL307, UC-IV150, 이미퀴모드, 가르 디퀴모드, 레시퀴모드, 모톨리모드, VTS-1463GS-9620, GSK2245035, TMX-101, TMX-201, TMX-202, 이사토리빈, AZD8848, MEDI9197, 3M-051, 3M-852, 3M-052, 3M-854A, S-34240, KU34B, 또는 CL663, 또는 적절한 경우, 기질 인식 서열로부터의 또는 자기-희생적 링커로의 연결에 의한 지정 연결 및 방출을 위한 적절한 관능기를 갖는 그의 유사체를 포함한다.

[0293] TLR의 효능제, 특히 TLR7 효능제, TLR8 효능제 및 TLR7/8 효능제의 예는 이사토리빈, 록소리빈, 브로피리민, 이 미퀴모드, 레시퀴모드, 가르디퀴모드, CL097, 3M-002, R848, SM360320, CL264, 3M-003, IMDQ, PF-04878691, 모

톨리모드 (VTX-2337) 및 GSK2245035를 포함한다. 상기 TLR 효능제의 화학 구조에 대해서는, 예를 들어 2019년 12월 12일에 공개된 국제 공개 번호 WO 2019/236567을 참조한다.

[0294] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 하기 화학식으로 나타내어지는 TRL7/8 효능제이다.



[0295]

여기서

[0296]

X는 CH₂, O, S 또는 N, 예를 들어 CH₂, O 또는 N이고;

[0297]

n은 0 (N에서 0로의 직접 결합), 또는 1 내지 5의 정수, 예를 들어 1 또는 2이고; z는 1 내지 5의 정수이고;

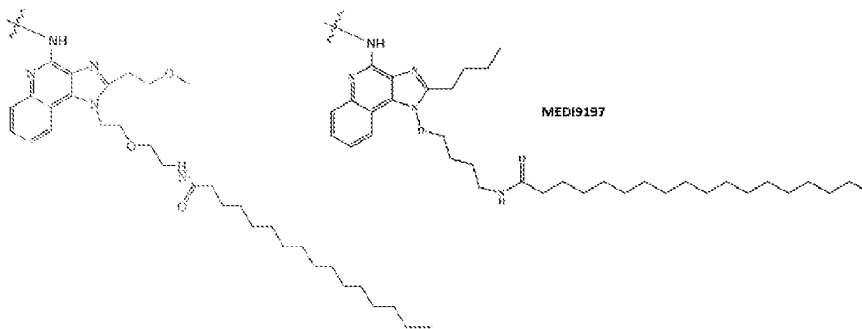
[0298]

m은 1 내지 20, 예를 들어 1 내지 16의 정수이고;

[0299]

p는 0 (고리로부터 X로의 직접 결합), 또는 1 내지 5의 정수, 예를 들어 1 또는 2이고; q는 1 내지 5의 정수, 예를 들어 1 또는 2이다. 예를 들어, TRL 효능제는 TRL7/8 효능제, 예컨대 하기 중 하나이다:

[0300]



[0301]

국제 공개 번호 WO 2008/135791 및 WO 2016/141092는 또한 TLR7을 통해 작용하는 면역-조정 특성을 갖는 이미 다조퀴놀린 화합물의 부류를 기재한다.

[0302]

접합체의 치료 모이어티로서 사용하기 위해 용이하게 적합화된 TRL 효능제의 다른 예는, 예를 들어 문헌 [Yoo et al. "Structure-activity relationships in Toll-like receptor 7 agonistic 1H-imidazo[4,5-c]pyridines" Org. Biomol. Chem., 2013, 11, 6526-6545; Fletcher et al. "Masked oral prodrugs of Toll-like receptor 7 agonists: a new approach for the treatment of infectious disease", 2006 Current opinion in investigational drugs (London, England). 7. 702-708; and Pryde et al. "The discovery of a novel prototype small molecule TLR7 agonist for the treatment of hepatitis C virus infection" Med. Chem. Commun., 2011, 2, 185-189]에 개시되어 있다.

[0303]

본 개시내용에 따라 사용하기 위한 TLR 효능제의 다른 비제한적 예는 2019년 12월 12일에 공개된 국제 공개 번호 WO 2019/236567 (본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0304]

또한, 특히 자기-희생적 링커를 사용하여, TRL 효능제가 상기 나타난 바와 같은 아민 이외의 관능기를 통해, 예컨대 예를 들어 유리 히드록실 기를 통해 링커에 커플링될 수 있다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인지될 것이다.

[0305]

레티노산-유도성 유전자 I (RIG-I) 효능제

[0306]

일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 RIG-1 효능제이다. 레티노산-유도성 유전자 I (RIG-1) 효능제는 선천성 면역 반응을 유도하는 데 사용된다. RIG-I은 유형-1 인터페론 (IFN1) 반응을 담당한다. 그의 활성화 시, RIG-I은 그의 RIG-I 인플라마솜을 활성화시키며, 이는 프로그램화된 세포 사멸의 면역원성 메카니즘인 피로토시

[0307]

스, 뿐만 아니라 염증유발 시토카인의 유도도 이어진다 (문헌 [Elion et al., Oncotarget. 2018; 9(48): 29007-29017]). 피롭토시스는 형질 막에서 세공을 형성시켜 저장성 세포 팽윤, 및 위험 연관 분자 패턴 (DAMP)을 비롯한 세포내 내용물의 누출을 유발한다. DAMP 및 시토카인은 국부 급성 염증성 면역 반응으로 이어진다.

[0308] RIG-I 효능제의 예는 KIN700, KIN1148, KIN600, KIN500, KIN100, KIN101, KIN400, KIN2000, RGT100 및 SD-9200을 포함한다.

[0309] 본 개시내용에 따라 사용하기 위한 RIG-I 효능제의 다른 비제한적 예는 2019년 12월 12일에 공개된 국제 공개 번호 WO 2019/236567 (본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0310] iDASH 억제제

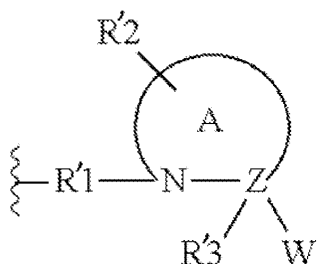
[0311] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는, DPP8 및 DPP9의 효소적 활성을 억제하고 시험관내 및/또는 생체내에서 대식세포 피롭토시스를 유도하는 면역-DASH 억제제이다. iDASH 억제제는 프롤린-후 절단 효소인 DPP4, DPP8 및 DPP9의 억제제이고, DASH 효소를 수반하는 면역-체크포인트의 체크포인트 억제제로서 작용한다. 세포내 및 세포외 표적 둘 다를 포함하는 이들 표적 효소의 억제는 T 세포 세포독성의 증가 (암 세포 항원의 방출, 이는 암 세포 사멸을 유발함), 수지상 세포 트래픽킹의 증가 (암 항원 제시), 면역자극 시토카인의 증가 (APC 및 T 세포의 프라이밍 및 활성화), 종양내 CXCL10 반감기의 증가 (T 세포의 종양으로의 트래픽킹), 종양 내로의 T 세포의 침윤, T 세포에 의한 암 세포의 인식, 및 골수 유래 억제 세포 (MDSC) 고갈 및 MDSC 면역억제 활성의 손상을 일으킨다. iDASH 억제제의 비제한적 예는 WO 2019/236567에 기재되어 있으며, 그의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0312] 일부 실시양태에서, iDASH 억제제는 DASH 효소 DPP8 및 DPP9 (및 일부 실시양태에서 또한 DPP-4 및/또는 FAP)의 보론산 억제제이다.

[0313] 일부 실시양태에서, iDASH 억제제는 DASH 효소 DPP8 및 DPP9 (및 일부 실시양태에서 또한 DPP-4 및/또는 FAP)의 디펩티드 보론산 억제제이다. 일부 실시양태에서, iDASH 억제제 디펩티드 보론산은 P1 위치에 프롤린 또는 프롤린 유사체를 갖는다. 대상 iDASH 억제제는 면역-매개 메커니즘에 의해 종양 퇴행을 매개할 수 있다. 대상 iDASH 억제제는 대식세포 피롭토시스를 유도하고, 면역원성 조정과 같은 활성을 직접적으로 또는 간접적으로 갖고, 종양 세포를 항원-특이적 CTL 사멸에 감작시키고, 면역-세포 하위세트 및 기능을 변경시키고, 수지상 세포 트래픽킹의 조정을 통해 T 세포 프라이밍을 가속화하고, 일반적 T-세포 매개 항종양 활성을 유발한다.

[0314] iDASH 억제제의 예는 삭사글립틴, 시타글립틴, 리나글립틴, 알로글립틴, 발린-보로프롤린 (PT100), 빌다글립틴, 게미글립틴, 아나글립틴, 테네리글립틴, 트렐라글립틴, 오마리글립틴, 에보글립틴, 고소글립틴, 두토글립틴을 포함한다.

[0315] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 사용하기 위한 면역-DASH 억제제는 하기 화학식에 의해 나타내어진다:



[0316]

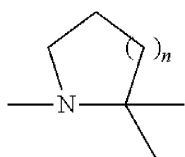
[0317] 여기서

[0318] A는 N 및 Ca 탄소를 포함하는 4-8원 헤테로사이클을 나타내고;

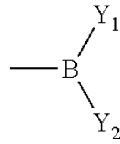
[0319] Z는 C 또는 N을 나타내고;

[0320] W는 $-\text{CN}$, $-\text{CH}=\text{NR}^5$, $-\text{SO}_2-\text{X}^1$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{X}^1)-$, $-\text{B}(\text{Y}^1)(\text{Y}^2)-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{R}^5)(\text{R}^6)-\text{R}^7$, 또는 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^4$ 을 나타내고;

- [0321] R'1은 C-말단 연결된 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체, 또는 C-말단 연결된 펩티드 또는 펩티드 유사체를 나타내고, 그의 아민 말단은 L1과 공유를 형성하거나, 또는 L1이 결합인 경우에는 기질 인식 서열과 공유를 형성하고;
- [0322] R'2는 부재하거나 또는 고리 A에 대한 1개 이상의 치환을 나타내고, 이들 각각은 독립적으로 할로젠, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, 카르보닐 (예컨대, 카르복실, 에스테르, 포르메이트 또는 케톤), 티오키르보닐 (예컨대, 티오에스테르, 티오아세테이트 또는 티오포르메이트), 아미노, 아실아미노, 아미도, 시아노, 니트로, 아지도, 술페이트, 술포네이트, 술폰아미도, $-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_m-OH$, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_m-SH$, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R7$ 일 수 있고;
- [0323] X가 N인 경우, R'3은 수소를 나타내고, X가 C인 경우, R'3은 수소 또는 할로젠, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, 카르보닐 (예컨대, 카르복실, 에스테르, 포르메이트 또는 케톤), 티오키르보닐 (예컨대, 티오에스테르, 티오아세테이트 또는 티오포르메이트), 아미노, 아실아미노, 아미도, 시아노, 니트로, 아지도, 술페이트, 술포네이트, 술폰아미도, $-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_m-OH$, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_m-SH$, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R7$ 을 나타내고;
- [0324] R5는 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, $-C(X1)(X2)X3$, $-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_n-OH$, $-(CH_2)_n-O$ -알킬, $-(CH_2)_n-O$ -알케닐, $-(CH_2)_n-O$ -알키닐, $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_n-SH$, $-(CH_2)_n-S$ -알킬, $-(CH_2)_n-S$ -알케닐, $-(CH_2)_n-S$ -알키닐, $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R7$, $-C(O)C(O)H_2$, $-C(O)C(O)OR'7$ 을 나타내고;
- [0325] R6은 수소, 할로젠, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, $-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_m-OH$, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_m-SH$, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R7$ 을 나타내고,
- [0326] R7은 각 경우에 치환 또는 비치환된 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로사이클을 나타내고;
- [0327] R'7은 각 경우에 수소, 또는 치환 또는 비치환된 알킬, 알케닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로사이클을 나타내고;
- [0328] Y1 및 Y2는 독립적으로 또는 함께 OH, 또는 히드록실 기로 가수분해될 수 있는 기, 예컨대 Y1 및 Y2가 고리 구조 내에 5 내지 8개의 원자를 갖는 고리를 통해 연결된 시클릭 유도체 (예컨대, 피나콜 등)일 수 있고,
- [0329] R50은 O 또는 S를 나타내고;
- [0330] R51은 N_3 , SH_2 , NH_2 , NO_2 또는 $O-R'7$ 을 나타내고;
- [0331] R52는 수소, 저급 알킬, 아민, $OR'7$, 또는 제약상 허용되는 염을 나타내거나, 또는 R51 및 R52는 이들이 부착되어 있는 인 원자와 함께 고리 구조 내에 5 내지 8개의 원자를 갖는 헤테로시클릭 고리를 완성하고,
- [0332] X1은 할로젠을 나타내고;
- [0333] X2 및 X3은 각각 수소 또는 할로젠을 나타내고,
- [0334] m은 0 또는 1 내지 8 범위의 정수이고;
- [0335] n은 1 내지 8 범위의 정수이다.
- [0336] 바람직한 실시양태에서, 고리 A는, 예를 들어 하기 화학식에 의해 나타내어진 5, 6 또는 7원 고리이고,

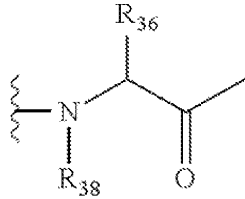


- [0337]
- [0338] 보다 바람직하게는 5 또는 6원 고리 (예를 들어, n은 1 또는 2이지만, n은 또한 3 또는 4일 수 있음)이다. 고리는 임의로 추가로 치환될 수 있다.



[0339] 바람직한 실시양태에서, W는

[0340] 바람직한 실시양태에서, R'1은 하기이다:



[0341]

[0342] 여기서 R36은 작은 소수성 기, 예를 들어 저급 알킬 또는 할로젠이고, R38은 수소이거나, 또는 R36 및 R37은 함께 상기 A에 대해 정의된 바와 같은 N 및 C α 탄소를 포함하는 4-7원 헤테로사이클을 형성한다.

[0343] 바람직한 실시양태에서, R'2는 부재하거나, 또는 작은 소수성 기, 예컨대 저급 알킬 또는 할로젠을 나타낸다.

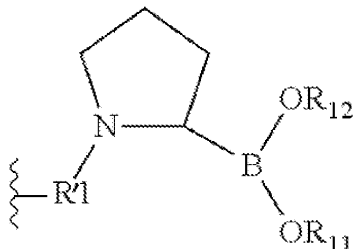
[0344] 바람직한 실시양태에서, R'3은 수소, 또는 작은 소수성 기, 예컨대 저급 알킬 또는 할로젠이다.

[0345] 바람직한 실시양태에서, R'5는 수소 또는 할로젠화 저급 알킬이다.

[0346] 바람직한 실시양태에서, X1은 플루오린이고, X2 및 X3은 할로젠인 경우에 플루오린이다.

[0347] 또한, 보론산 에스테르 및 할라이드를 비롯한 임의의 상기 언급된 화합물로 가수분해적으로 전환될 수 있는 임의의 화합물, 및 아세트알, 헤미아세트알, 케탈 및 헤미케탈을 비롯한 카르보닐 등가물, 및 시클릭 디펩티드 유사체가 등가물로서 간주된다.

[0348] 일부 바람직한 실시양태에서, 본 방법은 면역-DASH 억제제로서 아미노산의 보론산 유사체를 이용한다. 예를 들어, 본 개시내용은 대상 방법에서 보로-프롤릴 유도체의 사용을 고려한다. 본 개시내용의 예시적인 보론산 유래 억제제는 하기 화학식에 의해 나타내어진다:



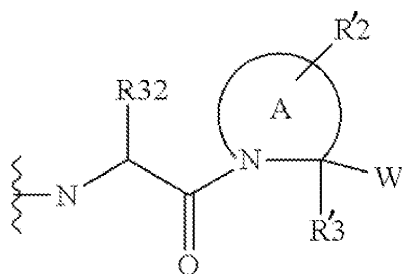
[0349]

[0350] 여기서

[0351] R'1은 C-말단 연결된 아미노산 잔기 또는 아미노산 유사체, 또는 C-말단 연결된 펩티드 또는 펩티드 유사체를 나타내고, 그의 아민 말단은 L1과 공유를 형성하거나, 또는 L1이 결합인 경우에는 기질 인식 서열과 공유를 형성하고;

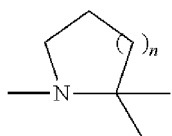
[0352] R11 및 R12는 각각 독립적으로 수소, 알킬 또는 제약상 허용되는 염을 나타내거나, 또는 R11 및 R12는 이들이 부착되어 있는 O-B-O 원자와 함께 고리 구조에 5 내지 8개의 원자를 갖는 헤테로시클릭 고리를 완성한다.

[0353] 일부 실시양태에서, 면역-DASH 억제제는 P1 특이성 위치에 프롤릴 기 또는 그의 유사체, 및 P2 특이성 위치에 비극성 (및 바람직하게는 소수성) 아미노산, 예를 들어 비극성 아미노산, 예컨대 알라닌, 류신, 이소류신, 발린, 프롤린, 페닐알라닌, 트립토판 또는 메티오닌, 또는 그의 유사체를 포함하는 펩티드 또는 펩티드모방체이다. 다른 실시양태에서, P2는 하전된 측쇄를 갖는 아미노산, 예컨대 아르기닌, 리신, 아스파르트산 또는 글루탐산을 위치시킨다. 예를 들어, 면역-DASH 억제제는 Ala-Pro 또는 Val-Pro 디펩티드 서열 또는 그의 등가물을 포함할 수 있고, 하기 화학식으로 나타내어질 수 있다:



[0354]

[0355] 바람직한 실시양태에서, 고리 A는, 예를 들어 하기 화학식에 의해 나타내어진 5, 6 또는 7원 고리이다:



[0356]

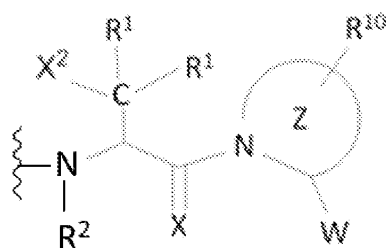
[0357] 일부 바람직한 실시양태에서, R32는 작은 소수성 기, 예를 들어 저급 알킬 또는 할로젠이다.

[0358] 일부 바람직한 실시양태에서, R32는 -저급 알킬-구아니딘, -저급-알킬-아민, 저급-알킬-C(O)OH, 예컨대 $-(CH_2)_m-NH-C(=N)(NH_2)$, $-(CH_2)_m-NH_2$ 또는 $-(CH_2)_m-COOH$ 이고, 여기서 m은 1-6이고, 바람직하게는 1-3이다.

[0359] 바람직한 실시양태에서, R'2는 부재하거나, 또는 작은 소수성 기, 예컨대 저급 알킬 또는 할로젠을 나타낸다.

[0360] 바람직한 실시양태에서, R'3은 수소, 또는 작은 소수성 기, 예컨대 저급 알킬 또는 할로젠이다.

[0361] 본 개시내용의 또 다른 측면은 화학식 III에 의해 나타내어진 번역-DASH 억제제 또는 그의 제약 염에 관한 것이다:



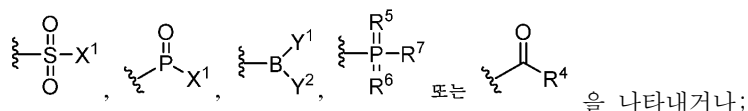
(III)

[0362]

[0363] 여기서

[0364] 고리 Z는 N 및 C α 탄소를 포함하는 4-10원 헤테로사이클을 나타내고;

[0365] W는 -CN, $-CH=NR_4$, 표적의 활성 부위 잔기와 반응하는 관능기, 또는



[0366] X는 O 또는 S이고;

[0367] X2는 H, 할로젠, 또는 저급 알킬이고;

[0368] Y1 및 Y2는 독립적으로 OH이거나, 또는 이들이 부착되어 있는 붕소 원자와 함께 보론산으로 가수분해가능한 기를 나타내거나, 또는 이들이 부착되어 있는 붕소 원자와 함께 보론산으로 가수분해가능한 5-8원 고리를 형성하고;

[0369] R1은 각 경우에 독립적으로 할로젠, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, 카르보닐, 티오카르보닐, 아미노, 아실아미노, 아미도, 시아노, 니트로, 아지도, 술포이트, 술포네이트, 술폰아미도, $-CF_3$, $-(CH_2)_m-R_3$, $-(CH_2)_m-OH$, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_m-R_3$, $-(CH_2)_m-SH$, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알킬,

$-(CH_2)_m-S-$ 저급 알케닐, 또는 $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R3$ 을 나타내고;

[0370] R2는 각 경우에 수소, 저급 알킬, 저급 알키닐, $-(CH_2)_m-R3$, $-C(=O)-$ 알킬, $-C(=O)-$ 알케닐, $-C(=O)-$ 알키닐, 또는 $-C(=O)-(CH_2)_m-R3$ 을 나타내고;

[0371] R3은 각 경우에 수소, 또는 치환 또는 비치환된 저급 알킬, 저급 알케닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로사이클을 나타내고;

[0372] R4는 수소, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, $-(CH_2)_m-R3$, $-(CH_2)_n-OH$, $-(CH_2)_n-O-$ 저급 알킬, $-(CH_2)_n-O-$ 알케닐, $-(CH_2)_n-O-$ 알키닐, $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_n-SH$, $-(CH_2)_n-S-$ 저급 알킬, $-(CH_2)_n-S-$ 저급 알케닐, $-(CH_2)_n-S-$ 저급 알키닐, $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R3$, $-C(O)C(O)NH_2$, 또는 $-C(O)C(O)OR8$ 을 나타내고;

[0373] R5는 O 또는 S를 나타내고;

[0374] R6은 N3, SH, NH2, NO2 또는 OR8을 나타내고;

[0375] R7은 수소, 저급 알킬, 아민, OR8 또는 제약상 허용되는 염을 나타내거나, 또는 R5 및 R6은 이들이 부착되어 있는 인 원자와 함께 고리 구조에 5 내지 8개의 원자를 갖는 헤테로시클릭 고리를 완성하고;

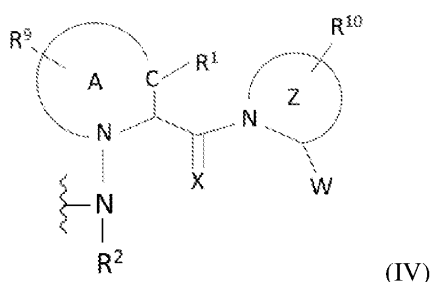
[0376] R8은 수소, 치환 또는 비치환된 알킬, 알케닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로시클릴을 나타내고;

[0377] R10은 부재하거나, 또는 이들이 부가된 고리 Z에 대한 1 내지 3개의 치환을 나타내고, 이들 각각은 독립적으로 할로젠, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, 카르보닐 (예컨대, 카르복실, 에스테르, 포르메이트 또는 케톤), 티오키르보닐 (예컨대, 티오에스테르, 티오아세테이트 또는 티오포르메이트), 아미노, 아실아미노, 아미도, 시아노, 이소시아노, 티오시아네이트, 이소티오시아네이트, 시아네이트, 니트로, 아지도, 술페이트, 술포네이트, 술폰아미도, 저급 알킬- $C(O)OH$, $-O-$ 저급 알킬- $C(O)OH$, $-$ 구아니디닐; $-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_m-OH$, $-(CH_2)_m-O-$ 저급 알킬, $-(CH_2)_m-O-$ 저급 알케닐, $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R3$, $-(CH_2)_m-SH$, $-(CH_2)_m-S-$ 저급 알킬, $-(CH_2)_m-S-$ 저급 알케닐, $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R3$ 일 수 있고;

[0378] n은 0, 1, 2, 또는 3이고;

[0379] m은 0, 1, 2, 또는 3이다.

[0380] 본 개시내용의 또 다른 측면은 화학식 IV에 의해 나타내어진 면역-DASH 억제제 또는 그의 제약 염에 관한 것이다:



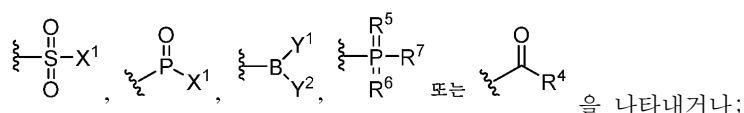
[0381]

[0382] 여기서

[0383] 고리 A는 N을 포함하는 3-10원 고리 구조를 나타내고;

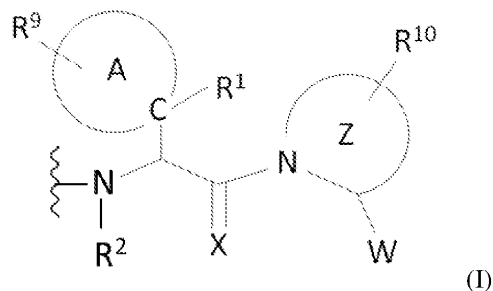
[0384] 고리 Z는 N 및 C α 탄소를 포함하는 4-10원 헤테로사이클을 나타내고;

[0385] W는 $-CN$, $-CH=NR4$, 표적의 활성 부위 잔기와 반응하는 관능기, 또는



- [0386] X는 O 또는 S이고;
- [0387] X1은 할로젠을 나타내고;
- [0388] Y1 및 Y2는 독립적으로 OH이거나, 또는 이들이 부착되어 있는 붕소 원자와 함께 보론산으로 가수분해가능한 기를 나타내거나, 또는 이들이 부착되어 있는 붕소 원자와 함께 보론산으로 가수분해가능한 5-8원 고리를 형성하고;
- [0389] R1은 할로젠, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, 카르보닐, 티오카르보닐, 아미노, 아실아미노, 아미도, 시아노, 니트로, 아지도, 술페이트, 술포네이트, 술폰아미도, $-\text{CF}_3$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-R}_3$, $-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-O-저급 알킬}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-O-저급 알케닐}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}(\text{CH}_2)_m\text{-R}_3$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-SH}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-S-저급 알킬}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-S-저급 알케닐}$ 또는 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}(\text{CH}_2)_m\text{-R}_3$ 을 나타내고;
- [0390] R2는 각 경우에 수소, 저급 알킬, 저급 알키닐, $-(\text{CH}_2)_m\text{-R}_3$, $-\text{C}(=\text{O})\text{-알킬}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{-알케닐}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{-알키닐}$, 또는 $-\text{C}(=\text{O})\text{-}(\text{CH}_2)_m\text{-R}_3$ 을 나타내고;
- [0391] R3은 각 경우에 수소, 또는 치환 또는 비치환된 저급 알킬, 저급 알케닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로사이클을 나타내고;
- [0392] R4는 수소, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, $-(\text{CH}_2)_m\text{-R}_3$, $-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-저급 알킬}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-알케닐}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-알키닐}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}(\text{CH}_2)_m\text{-R}_7$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-SH}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-저급 알킬}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-저급 알케닐}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-저급 알키닐}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}(\text{CH}_2)_m\text{-R}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, 또는 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{OR}_8$ 을 나타내고;
- [0393] R5는 O 또는 S를 나타내고;
- [0394] R6은 N3, SH, NH2, NO2 또는 OR8을 나타내고;
- [0395] R7은 수소, 저급 알킬, 아민, OR8 또는 제약상 허용되는 염을 나타내거나, 또는 R5 및 R6은 이들이 부착되어 있는 인 원자와 함께 고리 구조에 5 내지 8개의 원자를 갖는 헤테로시클릭 고리를 완성하고;
- [0396] R8은 수소, 치환 또는 비치환된 알킬, 알케닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로시클릴을 나타내고;
- [0397] R9 및 R10은 각각 독립적으로 부재하거나, 또는 이들이 부가된 고리 A 또는 고리 Z에 대한 1 내지 3개의 치환을 나타내고, 이들 각각은 독립적으로 할로젠, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, 카르보닐 (예컨대, 카르복실, 에스테르, 포르메이트 또는 케톤), 티오카르보닐 (예컨대, 티오에스테르, 티오아세테이트 또는 티오포르메이트), 아미노, 아실아미노, 아미도, 시아노, 이소시아노, 티오시아네이트, 이소티오시아네이트, 시아네이트, 니트로, 아지도, 술페이트, 술포네이트, 술폰아미도, $-(\text{CH}_2)_m\text{-R}_7$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-OH}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-O-저급 알킬}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-O-저급 알케닐}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}(\text{CH}_2)_m\text{-R}_3$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-SH}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-S-저급 알킬}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-S-저급 알케닐}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}(\text{CH}_2)_m\text{-R}_3$ 일 수 있고;
- [0398] n은 0, 1, 2, 또는 3이고;
- [0399] m은 0, 1, 2, 또는 3이다.
- [0400] 일부 바람직한 실시양태에서, 면역-DASH 억제제는 DASH 효소 DPP8 및 DPP9 (및 임의로 또한 DPP-4 및/또는 FAP)의 보론산 억제제이다.
- [0401] 일부 바람직한 실시양태에서, 면역-DASH 억제제는 DASH 효소 DPP8 및 DPP9 (및 임의로 또한 DPP-4 및/또는 FAP)의 디펩티드 보론산 억제제이다. 일부 바람직한 실시양태에서, 면역-DASH 억제제 디펩티드 보론산은 P1 위치에 프롤린 또는 프롤린 유사체를 갖는다. 대상 면역-DASH 억제제는 면역-매개 메카니즘에 의해 종양 퇴행을 매개할 수 있다. 대상 면역-DASH 억제제는 대식세포 피로토시스를 유도하고, 면역원성 조정과 같은 활성을 직접적으로 또는 간접적으로 갖고, 종양 세포를 항원-특이적 CTL 사멸에 감작시키고, 면역-세포 하위세트 및 기능을 변경시키고, 수지상 세포 트래픽킹의 조정을 통해 T 세포 프라이밍을 가속화하고, 일반적 T-세포 매개 항종양 활성을 유발한다.
- [0402] 일부 실시양태에서, 면역-DASH 억제제 및 PD-1 억제제의 대상 조합물은 하나 이상의 다른 화학요법제, 면역-종양학 작용제 또는 방사선을 수반하는 요법의 일부로서 투여될 수 있다. 이는 또한 종양 백신, 입양 세포 요법, 유전자 요법, 종양용해 바이러스 요법 등을 비롯한 요법의 일부로 사용될 수 있다.

[0403] 일부 실시양태에서, 본 방법의 면역-DASH 억제제는 화학식 I에 의해 나타내어지거나 또는 그의 제약 염이다:



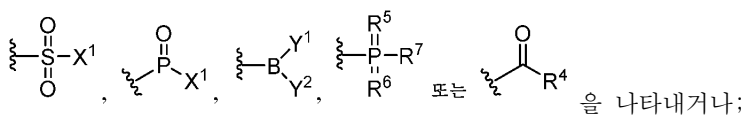
[0404]

[0405] 여기서

[0406] 고리 A는 3-10원 고리 구조를 나타내고;

[0407] 고리 Z는 N 및 C α 탄소를 포함하는 4-10원 헤테로사이클을 나타내고;

[0408] W는 -CN, -CH=NR₄, 표적의 활성 부위 잔기와 반응하는 관능기, 또는



[0409] X는 O 또는 S이고;

[0410] X1은 할로젠을 나타내고;

[0411] Y1 및 Y2는 독립적으로 OH이거나, 또는 이들이 부착되어 있는 붕소 원자와 함께 보론산으로 가수분해가능한 기를 나타내거나, 또는 이들이 부착되어 있는 붕소 원자와 함께 보론산으로 가수분해가능한 5-8원 고리를 형성하고;

[0412] R1은 할로젠, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, 카르보닐, 티오키르보닐, 아미노, 아실아미노, 아미도, 시아노, 니트로, 아지도, 술페이트, 술포네이트, 술폰아미도, -CF₃, -(CH₂)_m-R₃, -(CH₂)_m-OH, -(CH₂)_m-O-저급 알킬, -(CH₂)_m-O-저급 알케닐, -(CH₂)_n-O-(CH₂)_m-R₃, -(CH₂)_m-SH, -(CH₂)_m-S-저급 알킬, -(CH₂)_m-S-저급 알케닐 또는 -(CH₂)_n-S-(CH₂)_m-R₃을 나타내고;

[0413] R2는 각 경우에 수소, 저급 알킬, 저급 알키닐, -(CH₂)_m-R₃, -C(=O)-알킬, -C(=O)-알케닐, -C(=O)-알키닐, 또는 -C(=O)-(CH₂)_m-R₃을 나타내고;

[0414] R3은 각 경우에 수소, 또는 치환 또는 비치환된 저급 알킬, 저급 알케닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로사이클을 나타내고;

[0415] R4는 수소, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, -(CH₂)_m-R₃, -(CH₂)_n-OH, -(CH₂)_n-O-저급 알킬, -(CH₂)_n-O-알케닐, -(CH₂)_n-O-알키닐, -(CH₂)_n-O-(CH₂)_m-R₇, -(CH₂)_n-SH, -(CH₂)_n-S-저급 알킬, -(CH₂)_n-S-저급 알케닐, -(CH₂)_n-S-저급 알키닐, -(CH₂)_n-S-(CH₂)_m-R₃, -C(O)C(O)NH₂, 또는 -C(O)C(O)OR₈을 나타내고;

[0416] R5는 O 또는 S를 나타내고;

[0417] R6은 N₃, SH, NH₂, NO₂ 또는 OR₈을 나타내고;

[0418] R7은 수소, 저급 알킬, 아민, OR₈ 또는 제약상 허용되는 염을 나타내거나, 또는 R5 및 R6은 이들이 부착되어 있는 인 원자와 함께 고리 구조에 5 내지 8개의 원자를 갖는 헤테로시클릭 고리를 완성하고;

[0419] R8은 수소, 치환 또는 비치환된 알킬, 알케닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로시클릭을 나타내고;

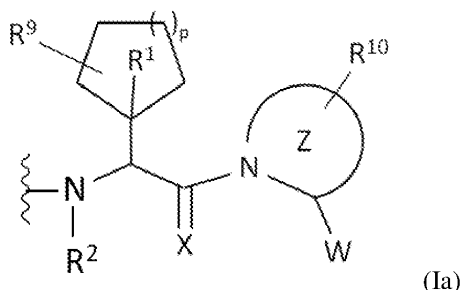
[0420] R9 및 R10은 각각 독립적으로 부재하거나, 또는 이들이 부가된 고리 A 또는 고리 Z에 대해 1, 2 또는 3개의 치환을 나타내고, 이들 각각은 독립적으로 할로젠, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, 카르보닐 (예컨대, 카르복실, 에스테르, 포르메이트 또는 케톤), 티오키르보닐 (예컨대, 티오에스테르, 티오아세테이트 또는 티오포르메이트), 아미노, 아실아미노, 아미도, 시아노, 이소시아노, 티오시아네이트, 이소티오시아네이트, 시아네이트, 니트로, 아지도, 술페이트, 술포네이트, 술폰아미도, 저급 알킬-C(O)OH, -O-저급 알킬-C(O)OH,

-구아니디닐; $-(CH_2)_m-R7$, $-(CH_2)_m-OH$, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R3$, $-(CH_2)_m-SH$, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R3$ 일 수 있고;

[0421] n 은 0, 1, 2, 또는 3이고;

[0422] m 은 0, 1, 2, 또는 3이다.

[0423] 일부 실시양태에서, 화학식 I의 면역-DASH 억제제는 화학식 Ia로 나타내어지거나 또는 그의 제약 염이다:

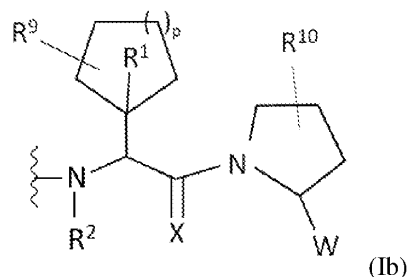


[0424]

[0425] 여기서 X, W, Z, R1, R2, R9 및 R10은 화학식 I에 대해 상기 정의된 바와 같고, p 는 1, 2 또는 3이다.

[0426] Ia의 일부 바람직한 실시양태에서, R1은 저급 알킬이고; R9는 부재하거나, 또는 각 경우에 독립적으로 저급 알킬, $-OH$, $-NH_2$, $-N_3$, $-$ 저급 알킬- $C(O)OH$, $-O$ -저급 알킬, $-O$ -저급 알킬- $C(O)OH$, $-$ 구아니디닐이고; X는 O이고; 각각의 R2는 수소이거나, R10은 부재하거나, 또는 $-OH$, $-NH_2$, $-CN$ 또는 $-N_3$ 의 단일 치환을 나타내고; W는 $-B(OH)_2$ 또는 $-CN$ (및 보다 바람직하게는 $-B(OH)_2$)이다.

[0427] 일부 실시양태에서, 화학식 I의 면역-DASH 억제제는 화학식 Ib로 나타내어지거나 또는 그의 제약 염이다:

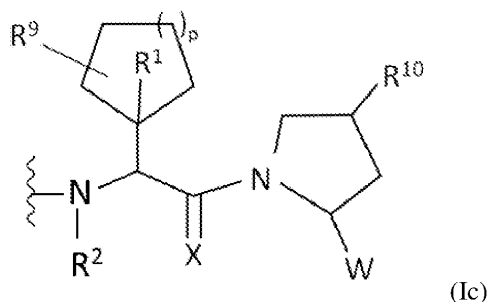


[0428]

[0429] 여기서 X, W, R1, R2, R9 및 R10은 화학식 I에 대해 상기 정의된 바와 같고, p 는 1, 2 또는 3이다.

[0430] Ib의 일부 바람직한 실시양태에서, R1은 저급 알킬이고; R9는 부재하거나, 또는 각 경우에 독립적으로 저급 알킬, $-OH$, $-NH_2$, $-N_3$, $-$ 저급 알킬- $C(O)OH$, $-O$ -저급 알킬, $-O$ -저급 알킬- $C(O)OH$, $-$ 구아니디닐이고; X는 O이고; 각각의 R2는 수소이거나, R10은 부재하거나, 또는 $-OH$, $-NH_2$, $-CN$ 또는 $-N_3$ 의 단일 치환을 나타내고; W는 $-B(OH)_2$ 또는 $-CN$ (및 보다 바람직하게는 $-B(OH)_2$)이다.

[0431] 일부 실시양태에서, 화학식 I의 면역-DASH 억제제는 화학식 Ic로 나타내어지거나 또는 그의 제약 염이다:



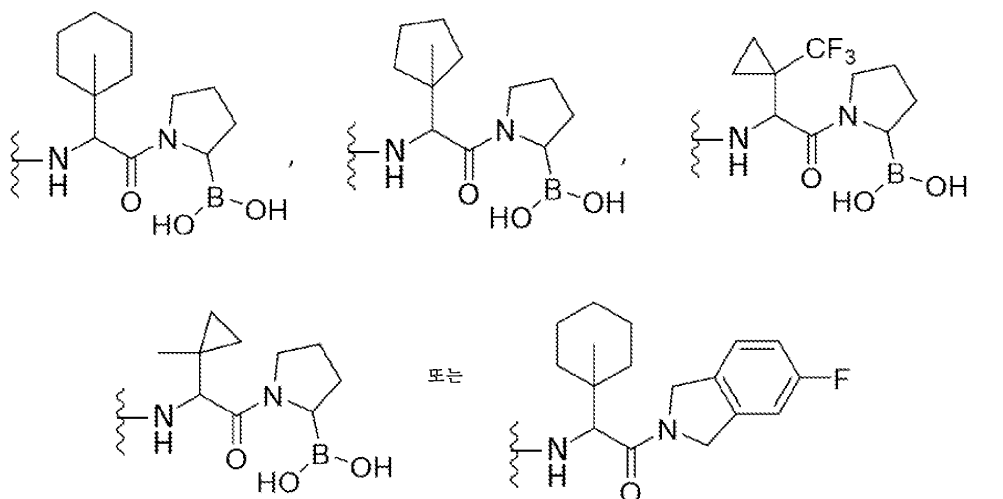
[0432]

[0433] 여기서 X, W, R1, R2, R9 및 R10은 화학식 I에 대해 상기 정의된 바와 같고, p 는 1, 2 또는 3이다.

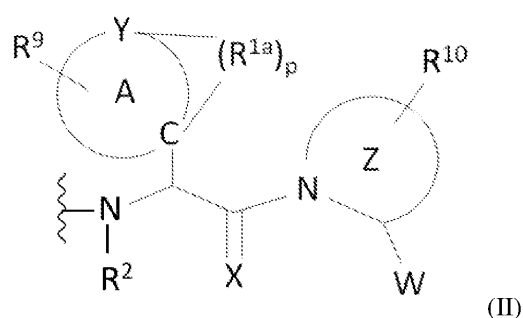
[0434] Ic의 일부 바람직한 실시양태에서, R1은 저급 알킬이고; R9는 부재하거나, 또는 각 경우에 독립적으로 저급 알

킬, -OH, -NH₂, -N₃, -저급 알킬-C(O)OH, -O-저급 알킬, -O-저급 알킬-C(O)OH, -구아니디닐이고; X는 O이고; 각각의 R₂는 수소이거나, R₁₀은 부재하거나, 또는 -OH, -NH₂, -CN 또는 -N₃의 단일 치환을 나타내고; W는 -B(OH)₂ 또는 -CN (및 보다 바람직하게는 -B(OH)₂)이다.

일부 실시양태에서, 면역-DASH 억제제는 하기에 의해 나타내어진다:



본 개시내용의 또 다른 측면은 화학식 II에 의해 나타내어진 면역-DASH 억제제 또는 그의 제약 염에 관한 것이다:

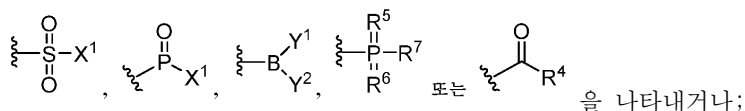


여기서

고리 A는 각 경우의 R1a와 함께 7-12원 폴리시클릭 고리 구조를 나타내고;

고리 Z는 N 및 Ca 탄소를 포함하는 4-10원 헤테로사이클을 나타내고;

W는 $-\text{CN}$, $-\text{CH}=\text{NR}_4$, 표적의 활성 부위 잔기와 반응하는 관능기, 또는



X 는 0 또는 S 이고;

X1은 할로젠을 나타내고;

Y는 C 또는 N이 고;

Y1 및 Y2는 독립적으로 OH이거나, 또는 이들이 부착되어 있는 붕소 원자와 함께 보론산으로 가수분해가능한 기를 나타내거나, 또는 이들이 부착되어 있는 붕소 원자와 함께 보론산으로 가수분해가능한 5-8원 고리를 형성하고;

R1a는 저급 알킬, $-(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_m-$; $-(CH_2)_m-N-(CH_2)_m-$; 또는 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_m-$ 을 나타내고;

R2는 각 경우에 수소, 저급 알킬, 저급 알키닐, $-(CH_2)_m-R_3$, $-C(=O)-$ 알킬, $-C(=O)-$ 알케닐, $-C(=O)-$ 알키닐, 또

는 $-C(=O)-(CH_2)_m-R_3$ 을 나타내고;

[0449] R_3 은 각 경우에 수소, 또는 치환 또는 비치환된 저급 알킬, 저급 알케닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로사이클을 나타내고;

[0450] R_4 는 수소, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, $-(CH_2)_m-R_3$, $-(CH_2)_n-OH$, $-(CH_2)_n-O$ -저급 알킬, $-(CH_2)_n-O$ -알케닐, $-(CH_2)_n-O$ -알키닐, $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R_7$, $-(CH_2)_n-SH$, $-(CH_2)_n-S$ -저급 알킬, $-(CH_2)_n-S$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-S$ -저급 알키닐, $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R_3$, $-C(O)C(O)NH_2$, 또는 $-C(O)C(O)OR_8$ 을 나타내고;

[0451] R_5 는 O 또는 S를 나타내고;

[0452] R_6 은 N_3 , SH, NH_2 , NO_2 또는 OR_8 을 나타내고;

[0453] R_7 은 수소, 저급 알킬, 아민, OR_8 또는 제약상 허용되는 염을 나타내거나, 또는 R_5 및 R_6 은 이들이 부착되어 있는 인 원자와 함께 고리 구조에 5 내지 8개의 원자를 갖는 헤테로시클릭 고리를 완성하고;

[0454] R_8 은 수소, 치환 또는 비치환된 알킬, 알케닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 헤테로시클릴을 나타내고;

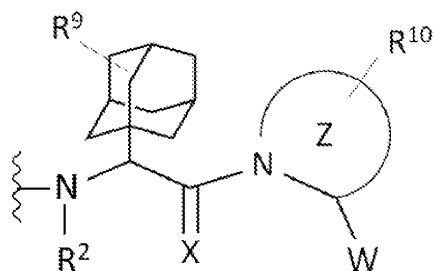
[0455] R_9 및 R_{10} 은 각각 독립적으로 부재하거나, 또는 이들이 부가된 고리 A 또는 고리 Z에 대해 1, 2 또는 3개의 치환을 나타내고, 이들 각각은 독립적으로 할로젠, 저급 알킬, 저급 알케닐, 저급 알키닐, 카르보닐 (예컨대, 카르복실, 에스테르, 포르메이트 또는 케톤), 티오카르보닐 (예컨대, 티오에스테르, 티오아세테이트 또는 티오포르메이트), 아미노, 아실아미노, 아미도, 시아노, 이소시아노, 티오시아네이트, 이소티오시아네이트, 시아네이트, 니트로, 아지도, 술페이트, 술포네이트, 술폰아미도, 저급 알킬- $C(O)OH$, -O-저급 알킬- $C(O)OH$, -구아니디닐; $-(CH_2)_m-R_7$, $-(CH_2)_m-OH$, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-O$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R_3$, $-(CH_2)_m-SH$, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알킬, $-(CH_2)_m-S$ -저급 알케닐, $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R_3$ 일 수 있고;

[0456] n 은 0, 1, 2 또는 3이고;

[0457] m 은 0, 1, 2, 또는 3이고;

[0458] p 는 1, 2, 또는 3이다.

[0459] 일부 실시양태에서, 화학식 II의 번역-DASH 억제제는 화학식 IIa로 나타내어지거나 또는 그의 제약 염이다:



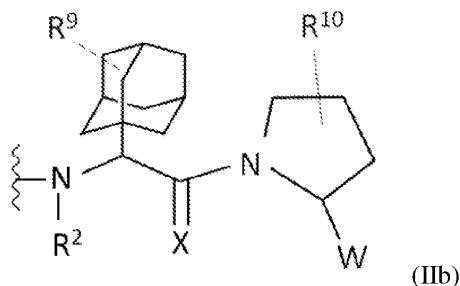
(IIa)

[0460]

[0461] 여기서 X, W, Z, R_2 , R_9 및 R_{10} 은 화학식 II에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0462] IIa의 일부 바람직한 실시양태에서, R_9 는 각 경우에 독립적으로 저급 알킬, -OH, - NH_2 , - N_3 , -저급 알킬- $C(O)OH$, -O-저급 알킬, -O-저급 알킬- $C(O)OH$, -구아니디닐이고; X는 O이고; 각각의 R_2 는 수소이거나, R_{10} 은 부재하거나, 또는 -OH, - NH_2 , -CN 또는 - N_3 의 단일 치환을 나타내고; W는 - $B(OH)_2$ 또는 -CN (보다 바람직하게는 - $B(OH)_2$)이다.

[0463] 일부 실시양태에서, 화학식 II의 면역-DASH 억제제는 화학식 IIb로 나타내어지거나 또는 그의 제약 염이다:

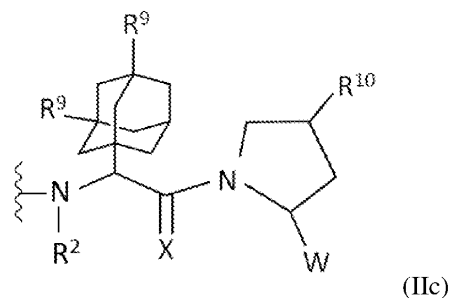


[0464]

[0465] 여기서 X, W, R2, R9 및 R10은 화학식 II에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0466] IIb의 일부 바람직한 실시양태에서, R9는 각 경우에 독립적으로 저급 알킬, -OH, -NH2, -N3, -저급 알킬-C(O)OH, -O-저급 알킬, -O-저급 알킬-C(O)OH, -구아니디닐이고; X는 O이고; 각각의 R2는 수소이거나, R10은 부재하거나, 또는 -OH, -NH2, -CN 또는 -N3의 단일 치환을 나타내고; W는 -B(OH)2 또는 -CN (보다 바람직하게는 -B(OH)2)이다.

[0467] 일부 실시양태에서, 화학식 II의 면역-DASH 억제제는 화학식 IIc로 나타내어지거나 또는 그의 제약 염이다:

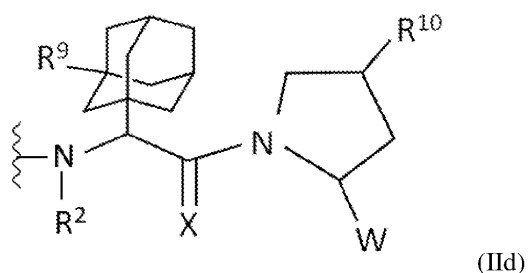


[0468]

[0469] 여기서 X, W, R2, R9 및 R10은 화학식 II에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0470] IIc의 일부 바람직한 실시양태에서, R9는 각 경우에 독립적으로 저급 알킬, -OH, -NH2, -N3, -저급 알킬-C(O)OH, -O-저급 알킬, -O-저급 알킬-C(O)OH, -구아니디닐이고; X는 O이고; 각각의 R2는 수소이거나, R10은 부재하거나, 또는 -OH, -NH2, -CN 또는 -N3의 단일 치환을 나타내고; W는 -B(OH)2 또는 -CN (보다 바람직하게는 -B(OH)2)이다.

[0471] 일부 실시양태에서, 화학식 II의 면역-DASH 억제제는 화학식 IId로 나타내어지거나 또는 그의 제약 염이다:

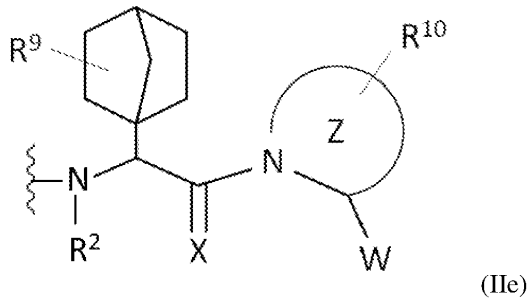


[0472]

[0473] 여기서 X, W, R2, R9 및 R10은 화학식 II에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0474] IIc의 일부 바람직한 실시양태에서: R9는 각 경우에 독립적으로 저급 알킬, -OH, -NH2, -N3, -저급 알킬-C(O)OH, -O-저급 알킬, -O-저급 알킬-C(O)OH, -구아니디닐이고; X는 O이고; 각각의 R2는 수소이거나, R10은 부재하거나, 또는 -OH, -NH2, -CN 또는 -N3의 단일 치환을 나타내고; W는 -B(OH)2 또는 -CN (및 보다 바람직하게는 -B(OH)2)이다.

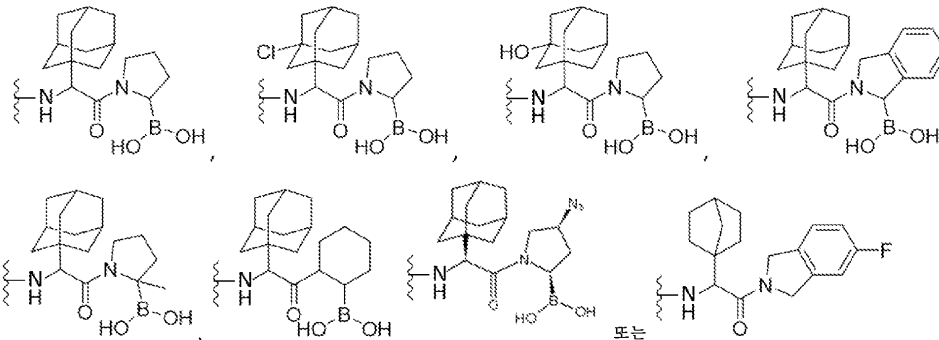
[0475] 일부 실시양태에서, 화학식 II의 면역-DASH 억제제는 화학식 IIe로 나타내어지거나 또는 그의 제약 염이다:



[0476] 여기서 X, W, Z, R², R⁹ 및 R¹⁰은 화학식 II에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0477] IIe의 일부 바람직한 실시양태에서: R⁹는 각 경우에 독립적으로 저급 알킬, -OH, -NH₂, -N₃, -저급 알킬-C(O)OH, -O-저급 알킬, -O-저급 알킬-C(O)OH, -구아니디닐이고; X는 O이고; 각각의 R²는 수소이거나, R¹⁰은 부재하거나, 또는 -OH, -NH₂, -CN 또는 -N₃의 단일 치환을 나타내고; Z는 피롤리딘 또는 피페리딘 고리 (및 보다 바람직하게는 피롤리딘 고리)이고; W는 -B(OH)₂ 또는 -CN (및 보다 바람직하게는 -B(OH)₂)이다.

[0479] 일부 실시양태에서, 면역-DASH 억제제는 하기 중 하나이다:



[0480] 본 개시내용에 따라 사용하기 위한 iDASH 억제제의 다른 비제한적 예는 2019년 12월 12일에 공개된 국제 공개 번호 WO 2019/236567 (본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0481] 인터페론 유전자의 자극인자 단백질 (STING) 효능제

[0482] 일부 실시양태에서, 유리 치료 모이어티는 STING 효능제이다. 인터페론 유전자의 자극인자 단백질 (STING) 효능제는 STING에 결합하여, STING 경로를 활성화시키고, 이는 I κ B-관련 키나제 TANK-결합 키나제 1 (TBK1) 신호 전달을 촉진한다. TBK1 신호전달은 중앙 미세환경 내 면역 세포에서 핵 인자-카파 B (NF- κ B) 및 인터페론 조절 인자 3 (IRF3)을 활성화시킨다. 그의 활성화는 인터페론 (IFN)을 비롯한 염증유발 시토카인의 생산으로 이어진다. IFN-베타의 발현은 CD8 α ⁺ 및 CD103⁺ 수지상 세포에 의한 중앙-연관 항원의 세포독성 T 림프구 (CTL)로의 교차-제시를 촉진한다. 이는 중앙 세포에 대한 CTL-매개 면역 반응을 일으키고, 중앙 세포 용해를 유발한다.

[0483] STING 효능제는 시클릭 디뉴클레오타이드 및 그의 유도체, 예컨대 변형된 시클릭 디뉴클레오타이드, 예를 들어 변형된 핵염기, 변형된 리보스 또는 변형된 포스페이트 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 시클릭 디뉴클레오타이드는 변형된 포스페이트 연결, 예를 들어 티오포스페이트를 포함한다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 2', 5' 또는 3', 5' 포스페이트 연결을 갖는 시클릭 디뉴클레오타이드 (예를 들어, 변형된 시클릭 디뉴클레오타이드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 포스페이트 결합 주위에 R_p 또는 S_p 입체화학을 갖는 시클릭 디뉴클레오타이드를 포함한다.

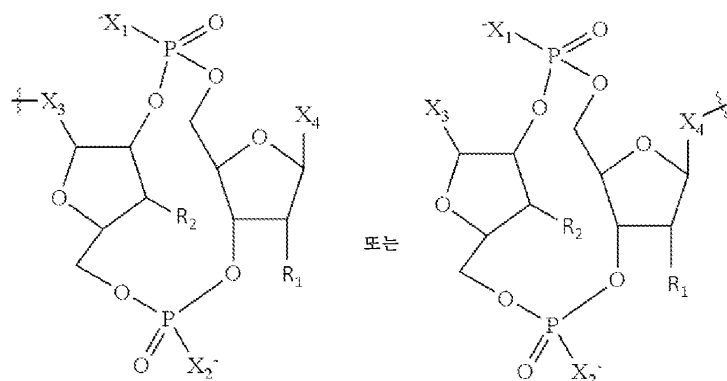
[0484] 일부 실시양태에서, STING 효능제는 R_p, R_p 디티오 2', 3' c-디-AMP (예를 들어, R_p, R_p-디티오 c- [A (2', 5') pA (3', 5') p]) 또는 그의 시클릭 디뉴클레오타이드 유사체이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 미국 특허 공개 US 2015/0056224에 기재된 화합물이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 c- [G (2', 5') pG (3', 5') p], 그의 디티오리보스 O-치환된 유도체이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 c- [A (2', 5') pA (3', 5') p] 또는 그의 디티오리보스 O-치환된 유도체이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 c- [G (2', 5') pA (3', 5') p] 또는 그의 디티오리보스 O-치환된 유도체이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 2'-

[0485] 일부 실시양태에서, STING 효능제는 R_p, R_p 디티오 2', 3' c-디-AMP (예를 들어, R_p, R_p-디티오 c- [A (2', 5') pA (3', 5') p]) 또는 그의 시클릭 디뉴클레오타이드 유사체이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 미국 특허 공개 US 2015/0056224에 기재된 화합물이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 c- [G (2', 5') pG (3', 5') p], 그의 디티오리보스 O-치환된 유도체이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 c- [A (2', 5') pA (3', 5') p] 또는 그의 디티오리보스 O-치환된 유도체이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 c- [G (2', 5') pA (3', 5') p] 또는 그의 디티오리보스 O-치환된 유도체이다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 2'-

0-프로파르길-시클릭- [A (2', 5') pA (3', 5') p] (2'-0-프로파르길-ML-CDA)이다.

[0486] STING 효능제는 또한 크산테논 및 그의 유도체, 예컨대 플라본 아세트산 (FAA), 크산텐-아세트산 (XAA), 디메틸 크산테논-4-아세트산 (DMXAA), 및 그의 유도체를 포함한다. STING 효능제의 예는 ADU-S100 (ML-RR-S2-CDA 또는 MIW815), MK-1454, 바디메잔 (5,6-디메틸크산테논-4-아세트산 (DMXAA)), 2'3'-cGAMP, c-디-GMP, 3'3'-cGAMP, 및 ML-RR-CDA를 포함한다.

[0487] STING 효능제의 비제한적 예는 하기 화학식 중 하나로 나타내어지는 효능제를 포함한다:



[0488]

[0489] 여기서

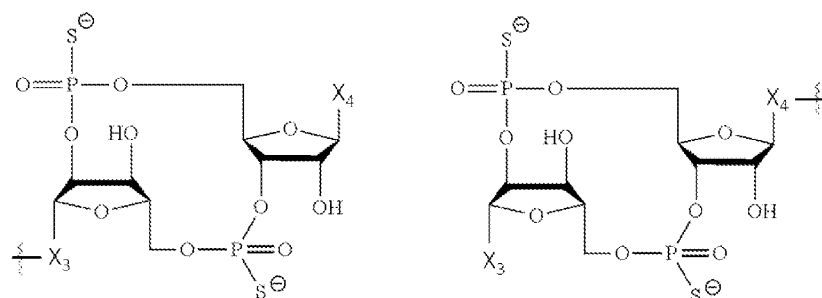
[0490] X_1 및 X_2 는 독립적으로 O 또는 S이고, 바람직하게는 동일하고 (O,O 또는 S,S);

[0491] X_3 및 X_4 는 독립적으로 퓨린, 예컨대 구아닌 또는 구아닌 유사체, 또는 피리미딘이고, 여기서 파선은 L1에 대한 공유 부착 부위를 나타내거나, 또는 L1이 결합인 경우에는 기질 인식 서열에 대한 공유 부착 부위를 나타내고;

[0492] R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, 히드록실, 할로젠 (바람직하게는 F 또는 Cl) 또는 1 내지 18개의 탄소 및 0 내지 3개의 헤테로원자의 임의로 치환된 직쇄 알킬, 1-9개의 탄소의 임의로 치환된 알케닐, 1-9개의 탄소의 임의로 치환된 알키닐, 또는 임의로 치환된 아릴이고, 여기서 치환(들)은, 존재하는 경우, 독립적으로 C_{1-6} 알킬 직쇄 또는 분지쇄, 벤질, 할로젠, 트리할로메틸, C_{1-6} 알콕시, $-NO_2$, $-NH_2$, $-OH$, $=O$, $-COOR'$ 또는 $-OR'$ 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있고, 여기서 R_1 및 R_2 는 둘 다 H는 아니고,

[0493] R' 은 H 또는 저급 알킬, $-CH_2OH$ 또는 $-CONH_2$ 이다.

[0494] 일부 실시양태에서, STING 효능제는 하기 화학식 중 하나로 나타내어진다:



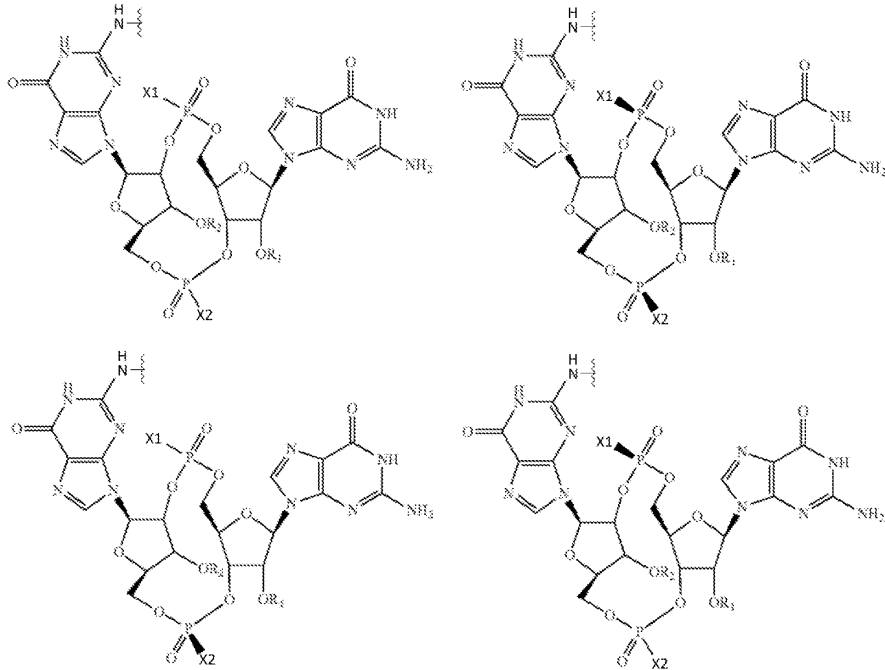
[0495]

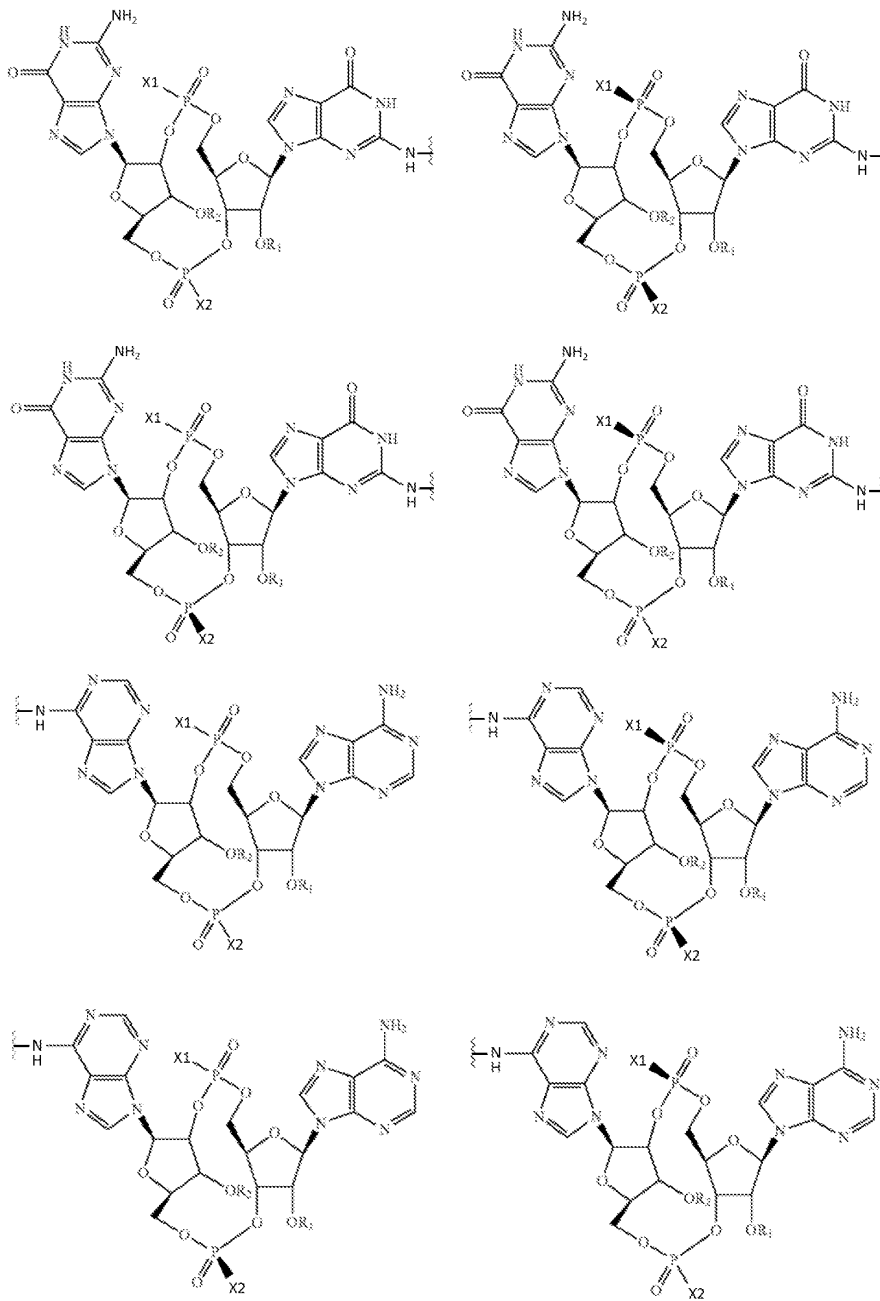
[0496] 상기 STING 효능제 구조에서, X_3 및 X_4 는 각각 독립적으로, 예를 들어 9-퓨린, 9-아데닌, 9-구아닌, 9-하이포크산틴, 9-크산틴, 9-요산, 또는 9-이소구아닌일 수 있으며, 단 X_3 또는 X_4 중 1개는 L^2 가 자기 희생적 링커인 경우에 L^2 가 결합을 공유하는 관능기를 포함하거나, 또는 L^2 가 결합인 경우에 DM이 결합을 공유하는 관능기를 포함한다.

[0497] X_3 및 X_4 는 동일하거나 상이할 수 있다.

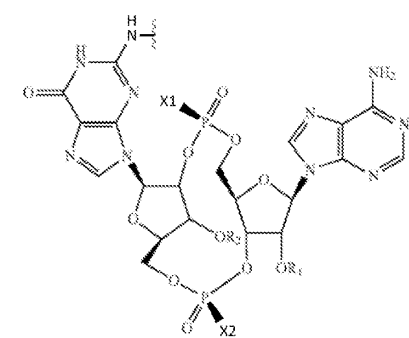
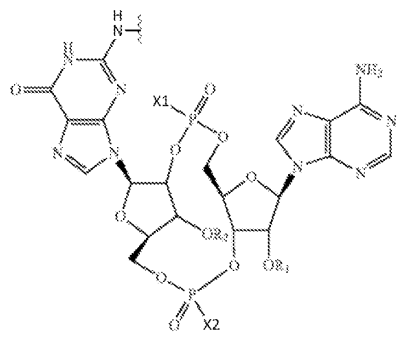
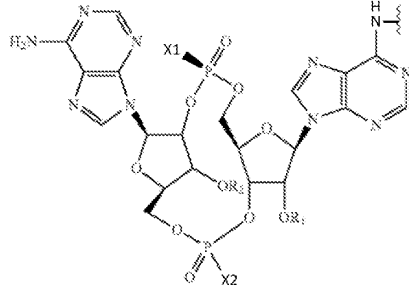
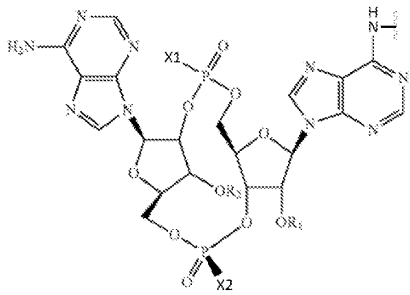
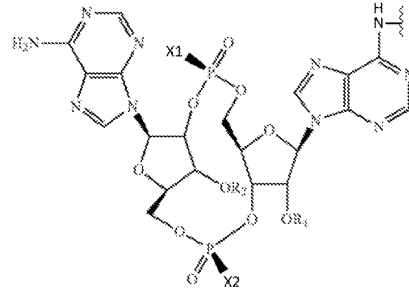
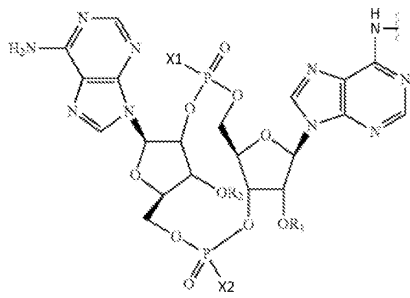
[0498] 일부 실시양태에서, STING 효능제는 우세하게 Rp,Rp 또는 Rp,Sp 입체이성질체의 형태로 제공될 수 있다. 일부 실시양태에서, STING 효능제는 우세하게 Rp,Rp 입체이성질체의 형태로 제공될 수 있다.

[0499] 예시적인 STING 효능제는 하기를 포함한다:

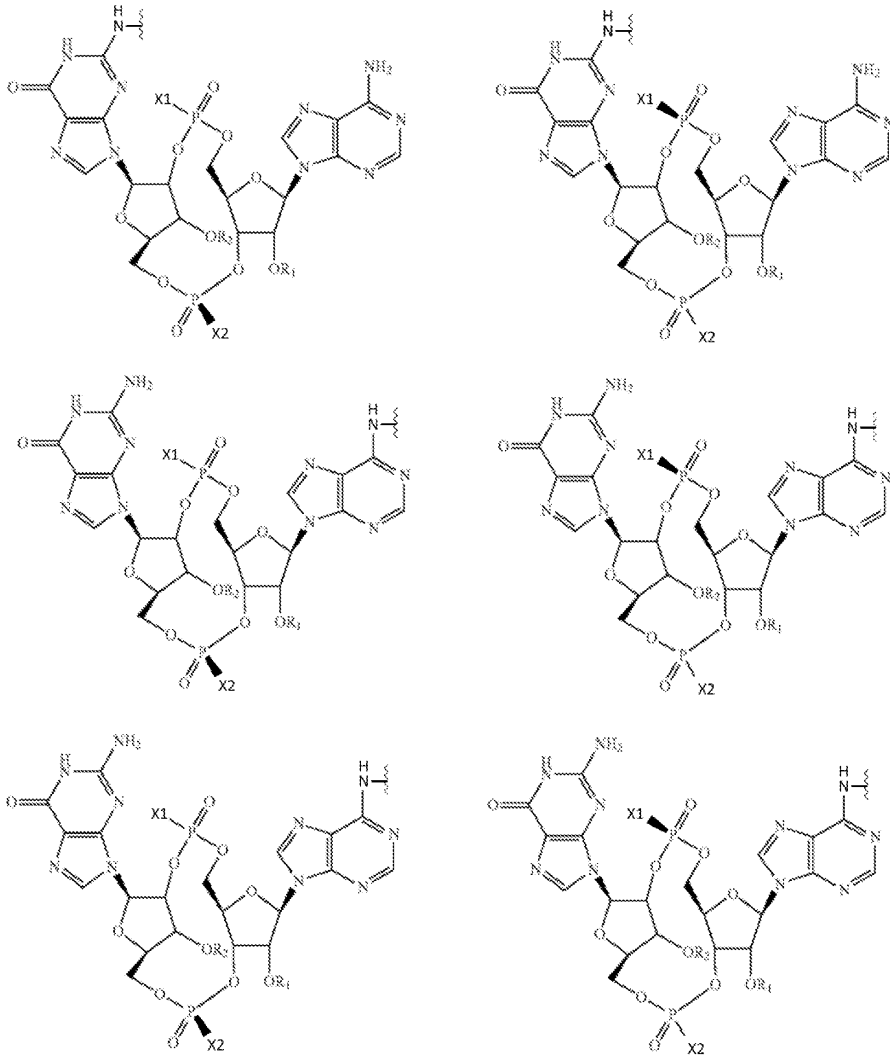




[0501]

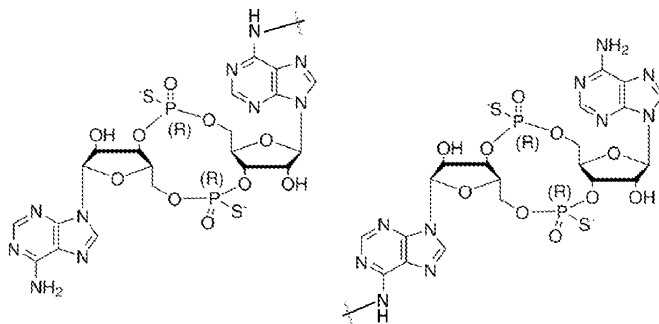


[0502]



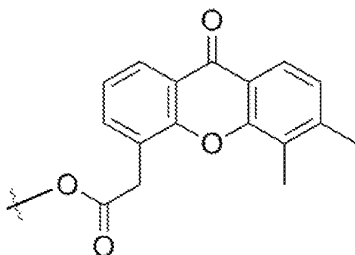
[0503]

[0504] 일부 실시양태에서, STING 효능제는 하기 구조 중 하나로 나타내어진다:



[0505]

[0506] 본 발명의 결합체 접합체에서 약물 모이어티로서 사용될 수 있는 또 다른 STING 효능제는 하기이다:



[0507]

[0508] 또한, 특히 자기-희생적 링커를 사용하여, STING 효능제가 상기 나타난 바와 같은 아민 이외의 관능기를 통해, 예컨대 예를 들어 유리 히드록실 기를 통해 링커에 커플링될 수 있다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인지될 것이다.

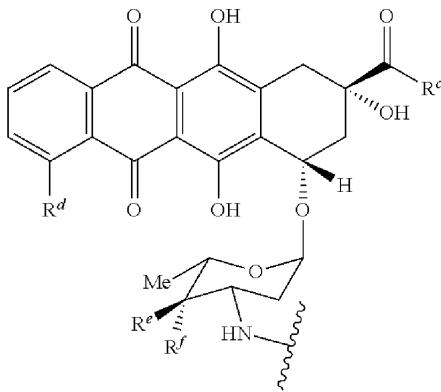
[0509] 본 개시내용에 따라 사용하기 위한 STING 효능제의 비제한적 예는 2019년 12월 12일에 공개된 국제 공개 번호 WO 2019/236567 (본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다. STING 효능제의 추가의 예는 국제 공개 번호 WO 2017/123669 및 WO 2015/077354 뿐만 아니라 미국 특허 공개 번호 US 2015/0056224에 기재되어 있으며, 이들 각각은 본원에 참조로 포함된다.

[0510] 또한, 특히 자기-회생적 링커를 사용하여, STING 효능제가 상기 나타낸 바와 같은 아민 이외의 관능기를 통해, 예컨대 예를 들어 유리 히드록실 기를 통해 링커에 커플링될 수 있다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인지될 것이다.

[0511] 안트라시클린

[0512] 일부 실시양태에서, 약물 모이어티는 안트라시클린 또는 그의 유도체, 바람직하게는 독소루비신, 또는 종양 세포의 면역원성 세포 사멸을 유도할 수 있는 다른 유사체이다.

[0513] 안트라시클린 및 그의 유사체는 구체적으로 비제한적으로 독소루비신, 다우노루비신, 에피루비신, 이다루비신, 피라루비신, 발루비신, 아클라루비신, 미톡산트론, 악티노마이신, 블레오마이신, 플리카마이신, 및 미토마이신을 포함한다. 예를 들어, 안트라시클린 모이어티는 하기 화학식에 의해 나타내어질 수 있다:



[0514]

[0515] 여기서,

[0516] R^c는 (C₁-C₆)알킬, (C₁-C₆)히드록시알킬 또는 (C₁-C₆)알카노일옥시 (C₁-C₆)알킬, 특히 메틸, 히드록시메틸, 디에톡시아세톡시메틸 또는 부티릴옥시메틸을 나타내고;

[0517] R^d는 수소, 히드록실 또는 (C₁-C₆)알콕시, 특히 메톡시를 나타내고;

[0518] R^e 및 R^f 중 하나는 수소 원자를 나타내고; 다른 하나는 수소 원자 또는 히드록시 또는 테트라히드로피란-2-일옥시 (OTHP) 기를 나타낸다.

[0519] 방사성약제

[0520] 일부 실시양태에서, 치료 모이어티는 방사성약제이다. 예를 들어, 치료 모이어티는 방사선요법 또는 영상화 절차에 유용한 방사성핵종에 대한 킬레이트화제를 포함할 수 있다. 본 개시내용 내에서 유용한 방사성핵종은 감마-방출체, 양전자-방출체, 오제 전자-방출체, X선 방출체 및 형광-방출체, 및 치료 용도를 위한 베타- 또는 알파-방출체를 포함한다. 방사선 요법에서 독소로서 유용한 방사성핵종의 예는 ^{43}K , ^{47}Sc , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{64}Cu , ^{67}Ga , ^{67}Cu , ^{68}Ga , ^{71}Ge , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{77}As , ^{81}Rb , ^{90}Y , ^{97}Ru , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{100}Pd , ^{101}Rh , ^{103}Pb , ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}Ag , ^{111}In , ^{113}In , ^{119}Sb , ^{121}Sn , ^{123}I , ^{125}I , ^{127}Cs , ^{128}Ba , ^{129}Cs , ^{131}I , ^{131}Cs , ^{143}Pr , ^{153}Sm , ^{161}Tb , ^{166}Ho , ^{169}Eu , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{189}Re , ^{191}Os , ^{193}Pt , ^{194}Ir , ^{197}Hg , ^{199}Au , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi 및 ^{213}Bi 를 포함한다. 킬레이트화제가 금속을 배위할 조건은, 예를 들어 간소(Gansow) 등의 미국 특허 번호 4,831,175, 4,454,106 및 4,472,509에 기재되어 있다. 킬레이트화제의 예는 1.4.7-트리아자시클로노난-N,N',N"-트리아세트산 (NOTA), 1.4.7.10-테트라아

자시클로도데칸-N,N',N'',N'''-테트라아세트산(DOTA), 1,4,8,11-테트라아자시클로테트라데칸-N,N',N'',N'''-테트라아세트산 (TETA)을 포함한다.

[0521] 치료 접합체 조성물 및 사용 방법

[0522] 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 제약상 허용되는 부형제와 함께 제제화되어 조성물을 형성한다. 일부 실시양태에서, FAP α 절단가능한 링커 또는 SRS는 제약상 허용되는 부형제와 함께 제제화되어 조성물을 형성한다. 분자 또는 다른 물질/작용제는 인간을 비롯한 동물에서의 사용에 대해 연방 정부 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 또는 승인가능하거나, 또는 미국 약전 또는 다른 일반적으로 인식되는 약전에 열거된 경우에 "제약상 허용되는" 것으로 간주된다. 부형제는 치료 접합체와 조합하여 투여되는 임의의 불활성(inert) (불활성(inactive)), 비-독성 작용제일 수 있다. 제약상 허용되는 부형제는 사카라이드 (예컨대, 글루코스, 락토스 등), 보존제, 예컨대 향미생물제, 재구성 보조제, 착색제, 염수 (예컨대, 포스페이트 완충 염수) 및 완충제를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 관련 기술분야에 공지된 다양한 물질을 포함한다.

[0523] 일부 실시양태에서, 치료 접합체 또는 조성물은 대상체에게 투여된다. 대상체는 인간, 비-인간 영장류, 개, 고양이 및 설치류를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 동물 (예를 들어, 포유동물)일 수 있다. "대상체"는 인간 대상체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 이환 조직, 예컨대 암을 갖는다.

[0524] 따라서, 치료 접합체 또는 조성물은 이환 조직, 예컨대 암을 치료하기 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료 접합체는 이환 조직 (예를 들어, 암)의 치료를 위한 의약을 제조하는 데 사용된다. 암의 비제한적 예는 피부암 (예를 들어, 흑색종 또는 비-흑색종, 예컨대 기저 세포 또는 편평 세포), 폐암, 전립선암, 유방암, 결장직장암, 신장 (신)암, 방광암, 비-호지킨 림프종, 갑상선암, 자궁내막암, 외분비암 및 췌장암을 포함한다. 다른 암이 본원에서 고려된다. 용어 치료하다는, 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 질환 (예를 들어, 암)과 연관된 적어도 1종의 증상을 완화시키는 과정을 지칭한다. 증상은 질환의 신체적, 정신적 또는 병리학적 징후일 수 있다. 다양한 질환과 연관된 증상이 공지되어 있다. 특정한 상태를 치료 또는 예방하기 위해, 본원에 제공된 바와 같은 치료 접합체는 상태를 치료 또는 예방하는 데 사용되는 임의의 양일 수 있는 유효량으로 투여되어야 한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 유효량은 치료되는 특정한 질환과 연관된 증상을 완화시키는 데 사용되는 양이다. 예를 들어, 다양한 치료 분자의 유효량을 결정하는 방법이 공지되어 있다.

[0525] 투여 경로는 정맥내, 근육내, 종양내, 복강내, 비강내 및 피하를 포함한다. 다른 투여 경로가 본 개시내용에 의해 포괄된다.

[0526] 따라서, 본 개시내용의 치료 접합체는 정맥내, 근육내, 종양내, 복강내, 비강내 또는 피하 투여를 위해 제제화될 수 있다.

[0527] <실시예>

[0528] 실시예 1 - 치료 접합체의 항종양 활성

[0529] FAP α -절단가능한 링커를 통해 탈라보스타트 (Val-boroPro)에 접합된 Fc를 포함하는 치료 접합체를 생성하고, 마우스 결장암에 사용되며 FAP α 유전자 녹-인을 갖는 동계 모델, CT26-mFAP+ 마우스에 주사하였다. 마우스에서의 종양 부피를 20일에 걸쳐 9회 측정하였다. 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 치료 접합체가 주사된 마우스 ("SQT-Gly" 군)는 세포-결합 모이어티를 포함하는 치료 접합체가 주사된 그의 대응 마우스 ("AVA04-182" 군) 및 대조군 중 일부보다 더 낮은 종양 부피를 가졌다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, AVA04-182 군은 항-약물 항체에 의해 클리어런스되었기 때문에 SQT-Gly 군과 마찬가지로 작용하지 않는 것으로 생각된다.

[0530] 약동학적 연구를 또한 수행하였다. 치료 접합체를 또한 상이한 용량으로 주사하고, 유리 탈라보스타트의 양을 50시간에 걸쳐 측정하였다. 도 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 치료 접합체는 FAP-방출 iDASH 억제제에 대한 우선적인 종양내 노출을 나타낸다.

[0531] 실시예 2 - EC₅₀ 연구

[0532] 반수-최대 유효 농도 (EC₅₀) 연구를 수행하여, 탈라보스타트 단독을 투여한 마우스 및 래트 (도 4a)와, 탈라보스타트를 포함하는 치료 접합체를 투여한 마우스 및 래트 (도 4b) 간의 차이를 검사하였다. 탈라보스타트가 단독으로 투여되는 경우, 탈라보스타트 최대 허용 용량 (MTD)은 마우스 종양 모델에서 약 3 mg/m²이고, 래트에서 0.18 mg/m²이다. 즉, 탈라보스타트 MTD는 종양 모델 EC₅₀의 1/17이다 (도 4a). 대조적으로, 탈라보스타트가 치

료 접합체의 일부로서 투여되는 경우, 마우스 모델에서 MTD는 160 mg/m^2 이고, 래트에 대한 EC_{50} 은 500 mg/m^2 초과이다 (도 4b). 치료 접합체의 일부로서 탈라보스타트는 래트 및 마우스에게 치료 유효 용량으로 투여될 수 있다.

[0533] 실시예 3 - 생체내 종양 연구

[0534] CT26-mFAP+ 마우스에게 비히클 (도 5a), 세포-결합 모이어티를 포함하는 치료 접합체 (도 5b), 또는 FAP α -절단 가능한 링커를 통해 탈라보스타트에 접합된 Fc (Val-boroPro) (도 5c)를 주사하고, 종양 부피를 22일에 걸쳐 측정하였다. 비히클 군에서, 10마리의 마우스 중 0마리가 종양 부피의 감소를 나타냈고, 모든 마우스를 연구 종료 전에 희생시켰다 (약 제20일). 세포-결합 모이어티를 포함하는 치료 접합체를 제공받는 군에서, 10마리 마우스 중 3마리는 기준선으로 다시 감소된 종양 부피를 가졌다. 대조적으로, 본원에 기재된 치료 접합체 (세포 결합 모이어티 없음)는 연구 동안 10마리 마우스 중 6마리가 기준선으로 다시 감소된 종양 부피를 갖게 하였다. 추가로, 연구 동안 마우스의 체중을 측정하고, % 체중 변화를 계산하였다 (도 5d). 측정된 마우스 중 어느 것도 15% 초과와 % 체중 변화를 갖지 않았다.

[0535] 또 다른 실험 세트에서, CT26-mFAP+ 마우스에 비히클 (대조군), $200 \mu\text{g}$ 또는 $400 \mu\text{g}$ MSA-6325 (6325와 접합된 마우스 혈청 알부민), 또는 $740 \mu\text{g}$ PEG-6325 (신브라이트 PTE-200 PA, 20KDa 4 아암 기능성 PEG와 반응된 6325)를 주사하고, 종양 부피의 변화를 시간 경과에 따라 측정하였다 (도 7). "6325" (도 6a)는 단백질의 리신 잔기에의 접합을 위한 NHS 기를 포함하는 예비적인 FAP-활성화 I-DASH 억제제이다.

[0536] 또 다른 실험 세트에서, CT26-mFAP+ 마우스에게 6325와 접합된 인간 Fc 단편 (도 8a), 또는 6325와 접합된 완전 인간 IgG 항체 (도 8b)를 주사하고, 종양 부피의 변화를 시간 경과에 따라 측정하였다.

[0537] 실시예 4 - 시험관내 연구

[0538] 추가의 시험관내 연구에서, 여러 접합체를 FAP α 의 부재 및 존재 하에 J774 세포에서 피로토시스를 유도하는 그의 능력에 대해 시험하였다. 간략하게, J774A.1 마우스 대식세포 세포주 세포를 24시간 동안 25 nM 의 최종 농도에서 rhFAP α 의 존재 또는 부재 하에 VbP (테이터는 나타내지 않음) 또는 FAP-활성화 I-DASH 억제제 (Hu IgG1 Fc-6325, Hu IgG1-6325, MSA-6325, SQT-Gly V.2-6325, SQT-Gly CF-6325 또는 SQT-Gly CG-6325) 중 하나의 연속 10배 희석물과 함께 삼중 웰에서 배양하였다. 각각의 실험은 비처리 대조군을 포함하였다. 인큐베이션 후에, 배양물 상청액 내로 방출된 락테이트 탈하이드로게나제 (LDH, 피로토시스의 마커)의 수준을 제조업체의 지침에 따라 시토크스 96 비-방사성 세포독성 검정을 사용하여 측정하였다. 결과는 LDH 방출의 배수-증가로서 도 17에 제시된다. 시험된 모든 접합체는 FAP α 의 존재 또는 부재 하에 통계적으로 유의한 명백한 분화를 나타냈다. 이는 VbP 단독의 경우에는 그렇지 않았으며 (테이터는 나타내지 않음), 이는 다양한 반응이 FAP α 에 의한 전구약물의 활성화로 인한 것임을 나타낸다.

[0539] 추가의 연구에서, huIgG1 Fc의 힌지 영역 시스테인 잔기에 대한 2종의 전구약물 (6323 및 6501 (도 6c))의 접합을 검사하였다. 간략하게, 화합물 말레이미드 링커 전구약물 (6323 및 6501)을 DMSO 중에 100 mM 의 농도로 용해시켰다. 6323 또는 6501을 환원된 Fc에 첨가하고, 샘플을 실온에서 인큐베이션하였다. 미반응 6323 또는 6501을 제바 스핀 칼럼으로 제거하였다. 유리 티올 (SH) 기를 측정하기 전에, 샘플을 다시 환원시키고, 샘플을 제바 스핀 탈염 칼럼 상에 다시 통과시킴으로써 디티오프레이트 (DTT)를 제거하였다. 티올 기의 접합은 엘만 시약을 사용하여 유리 SH 기를 측정함으로써 결정하였다. 환원된 Fc 샘플의 농도를 $66500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 의 흡광 계수를 사용하여 280 nm 에서의 흡광도로부터 결정하였다. 환원된 SH의 mol당 0, 10, 20, 및 40 mol 의 6323 또는 6501의 반응 비 (Fc당 4 SH)로 접합을 수행하였다. 6323 (도 18a) 또는 6501 (도 18b)에의 접합에 의한 Fc 상의 유리 SH 기의 수의 감소는 유리 SH 기 대 반응 비의 변화로서 나타내어진다.

[0540] 아피머®-Fc 단백질에 대한 6323의 접합에 관한 연구를 수행하였다. 화합물 말레이미드 링커 전구약물 (6323)을 DMSO 중에 100 mM 의 농도로 용해시켰다. 환원된 SQTGlyCF 샘플의 농도를 280 nm 에서의 흡광도로부터 결정하였다. 6323을 환원된 SQTGlyCF에 첨가하고, 샘플을 실온에서 인큐베이션하였다. 미반응 6323을 제바 스핀 칼럼으로 제거하였다. 유리 SH 기를 측정하기 전에, 샘플을 상기 기재된 바와 같이 다시 환원시켜 임의의 미반응 시스테인이 환원되는 것을 확인하였다. 티올 기의 접합은 엘만 시약을 사용하여 유리 SH 기를 측정함으로써 결정하였다. 티올의 농도를 $14,150 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 의 흡광 계수를 사용하여 412 nm 에서의 흡광도로부터 결정하였다.

[0541] SQTGlyCF당 티올의 수를 티올 농도 대 단백질 농도의 비로서 계산하였다 ($[\text{SH}]/[\text{SQTGlyCF}]$). 환원된 SH의 mol당 0, 10, 20 및 40 mol 의 6323의 반응 비 (SQTGlyCF당 4 SH)로 접합을 수행하였다. 유리 SH 기의 변화 대 반

응 비를 도 24a에 나타낸다. SH당 40 6323의 반응 비로 시한 접합 반응을 수행하고, 6323의 첨가 후 0, 5, 10, 15 및 20분에 반응을 중지시켰다. SH 기당 40 6323의 반응 비로 SQT-GlyCF에 대한 6323의 접합의 동역학을 도 24b에 나타낸다.

[0542] 실시예 5 - 약동학적 연구 (종양 마우스 모델)

[0543] 다양한 화합물의 약동학을 암의 무인 모델에서 검사하였다. 마우스 (BALB/c)의 우측 측복부에 5×10^5 CT26-mFAP 세포를 피하 접종하였다. 종양이 확립되도록 한 후, 동물을 24시간 동안 5057 (FAP α 억제제)로 처리하거나 또는 5057 없이 처리하였다. 이어서, 동물을 hu IgG1 Fc-6325 (Fc-6325, 200 μ g/동물)로 1, 4, 6, 24 및 48시간 동안 처리하였다. 지정된 시점에, 혈액 및 종양 샘플을 수집하여 LC-MS 상에서 Val-boroPro (VbP)를 측정하였다. Fc-6325로의 처리는 모든 시점에서 혈청에서보다 종양에서 더 높은 농도의 VbP를 생성하였다. FAP α 억제제는 VbP의 수준을 유의하게 감소시켰으며, 24 및 48시간에서의 종양 내 VbP의 값은 1-6시간에서보다 컸다. 이는 6-24시간 기간 동안 FAP 억제제가 약화되었기 때문인 것으로 생각된다. 혈청 (도 19a) 또는 종양 (도 19b) 샘플에 대한 시간 (시간)에 따른 VbP의 농도 (nM)를 나타낸다. 각각의 시점은 군당 3마리의 마우스를 포함하였다.

[0544] 이어서, 상이한 화합물의 접합체를 시험하였다. 마우스 ($n=10$ /군, BALB/c)의 우측 측복부에 5×10^5 CT26-mFAP 세포를 피하 접종하였다. 종양 부피가 평균 대략 $50-100 \text{ mm}^3$ 일 때 접합체를 복강내 주사하였다. 치료는 3주 동안 1주 2회 투여하였다. 비히클 (대조군) 또는 SQT-Gly 접합체 (도 20a) 또는 Hu IgG1 Fc 접합체 (도 20b)를 사용한 CT26-mFAP⁺ 마우스에서의 시간 경과에 따른 종양 부피의 변화를 나타낸다. 도 20a-20b에서, 점선은 매주 2회 (BIW) 투여를 나타낸다. 시험된 SQT-Gly 접합체는 다음과 같았다: 6325 (NHS) 또는 6323 (MAL)과 접합된 SQT-Gly V.2 (IgG1 Fc) 및 6325 또는 6323과 접합된 SQT-Gly CF (IgG1 LALA Fc). 시험된 hu IgG1 Fc 접합체는 다음과 같았다: 6325 또는 6323 또는 6501 (사량체 전구약물; 도 6c)과 접합된 Hu IgG1 Fc 단편. 접합체로 처리된 모든 마우스는 제20일에 비히클 대조군과 비교하여 감소된 종양 크기를 가졌다. NHS (6325) 또는 MAL (6323 또는 6501) 접합체의 효능은 SQT-Gly 및 hu IgG1 Fc의 반감기 연장된 버전 간에 대등하였다.

[0545] 또한, 상이한 FAP-활성화된 전구약물로부터 방출된 VbP의 약동학 및 조직 분포를 검사하였다. 마우스 (BALB/c)의 우측 측복부에 5×10^5 CT26-mFAP 세포를 피하 접종하였다. 종양이 확립되도록 한 후, 동물에게 24 μ g 3892 (3892의 구조는 도 28에 나타냄), 1138 μ g 3892, 52 μ g 6323, 56 μ g 6325, 또는 1113 μ g 6435 (N-Ac-Lys-6325)를 200 μ L 복강내 주사를 통해 투여하였다. 각각의 투여 군은 1, 4 및 24시간으로만 이루어진 24 μ g 3892를 제외하고는 1, 4, 6, 24 및 48시간 수집 시점 ($n = 3$ /군)을 나타내는 5개 군의 하위세트로 이루어졌다. 수집 시점에, 혈액 및 종양 샘플을 수집하여 LC-MS 상에서 VbP 수준을 측정하였다. 전구약물 투여 후 혈청 및 종양에서의 VbP 농도 대 시간을 도 21에 나타낸다. 1138 μ g 용량의 3892 및 1113 μ g 용량의 6435 (N-Ac-Lys-6325)는 각각 20 μ g VbP 단독과 비교하여 25x 및 10x 당량의 방출된 VbP를 나타냈다. 둘 다 VbP 단독과 유사한 혈청 및 종양 분포 프로파일을 나타냈고, 피크 농도는 투여 1시간 후에 발생하고, 이어서 시간 경과에 따라 꾸준히 감소하였다. 24 μ g 3892, 52 μ g 6325 및 56 μ g 6325의 보다 낮은 전구약물 용량을 선택하여 접합체와 연관된 대략적인 함유된 VbP 농도를 나타냈다. 6323 및 6325는 둘 다 대략 200 nM 종양 VbP의 농도를 생성하였으며, 이는 초기 시점에 꾸준히 유지되었고, 이어서 24시간에서 48시간까지 400 nM로 증가하였다.

[0546] 다음으로, SQT-Gly V.2-접합체 및 IgG Fc-접합체로부터 방출된 VbP의 약동학 및 조직 분포를 검사하였다. 마우스 (BALB/c)의 우측 측복부에 5×10^5 CT26-mFAP 세포를 피하 접종하였다. 종양이 확립되도록 한 후, 동물에게 SQT-Gly V.2-6323, SQT-Gly V.2-6325, 마우스 IgG2a Fc-6325, 또는 Hu IgG1 Fc-6325 (200 μ g/200 μ L)를 복강내 주사를 통해 투여하였다. 각각의 투여 군은 1, 4, 6, 24 및 48시간 수집 시점을 나타내는 5개 군의 하위세트로 이루어졌다 ($n = 3$ /군). 수집 시점에, 혈액 및 종양 샘플을 수집하고 LC-MS를 사용하여 방출된 VbP 수준을 측정하였다. SQT-Gly V.2-접합체 (도 22a) 또는 IgG Fc-접합체 (도 22b)의 투여 후 혈청 및 종양에서의 VbP 농도 대 시간을 나타낸다.

[0547] SQT-Gly V.2-6323의 혈청 및 종양 PK/TD 프로파일을 SQT-Gly V.2-6325와 비교하여 평가하였다. SQT-Gly V.2-6325에 대한 혈청 VbP 수준은 시험된 모든 시점에서 낮게 ($<10 \text{ nM}$) 유지되었지만, SQT-Gly V.2-6323은 1시간에서 SQT-Gly V.2-6325보다 >10 배 더 높은 스파이크를 일으켰으며 (37 대 3 nM), 이는 잠재적으로 MAL 접합 부위가 혈청 FAP에 의한 전구약물 절단을 위한 접근성을 증가시킨다는 것을 나타낸다. 종양 VbP 수준 또한 SQT-Gly V.2-6323에 대해 더 높았으며, 이는 MAL 접합체의 증가된 전구약물 활성화를 추가로 지지할 수 있다.

- [0548] Mu IgG2a Fc-6325를 Hu IgG1 Fc-6325와 비교하여 평가하였다. 후자의 효능은 연장된 반감기 전구약물로서의 그의 설계뿐만 아니라 외래 항원 (Hu IgG1 Fc)의 존재에 의해 촉발된 2차 면역 반응의 결과 때문일 가능성이 있다. Mu IgG2a Fc는 마우스 기원이기 때문에, 이 문제를 우회하도록 설계되었다. 둘의 PK/TD 프로파일은 매우 유사하였다. Hu IgG1 Fc-6325에 대해서는 관찰되지 않았던 24-48시간 사이에 Mu IgG2a Fc-6325에 대해 관찰된 종양에서의 VbP 수준의 감소가 있었지만; 이는 마우스 접합체의 반감기가 인간 접합체보다 더 짧다는 것을 나타낼 수 있다.
- [0549] 실시예 6 - 42CQ-기재 접합체
- [0550] 비종양-보유 BALB/c 마우스에서의 FAP-활성화 전구약물 G-CSF 혈청 시토카인 반응을 검사하였다. 11-12주령의 암컷 BALB/c 마우스에게 처리당 5마리 마우스의 군으로 200 μ g/마우스의 비히클 (PBS), 42CQ-6501, 또는 42CQ-6501+MSA를 복강내 주사하였다.
- [0551] VbP 단독은 큰 혈청 G-CSF 반응을 도출하는 것으로 공지되어 있다. 시토카인 동원이 종양 면역에서 중요한 역할을 하는 것으로 여겨지지만, 혈청에서의 그의 존재는 원치 않는 유해 효과를 유도할 수 있는 전신 반응을 나타낸다. 42CQ-기재 접합체의 패닐을 스크리닝하여 이들이 VbP에 비해 약화된 혈청 G-CSF 반응을 일으키는지 여부를 평가하였다. 42CQ는 혈청 알부민에 결합하도록 설계된 아피머® 폴리펩티드 (서열식별번호: 133)이다. 결과적으로, 42CQ-기재 접합체 (6501 사용)를 MSA에 대한 예비결합의 존재 또는 부재 하에 제조하여, 2종의 제제 사이에 명백한 차이가 있는지 여부를 결정하였다.
- [0552] 투여 6시간 후에, 혈액을 수집하고 마우스 G-CSF 퀀티킨 ELISA 키트를 사용하여 혈청 내의 G-CSF를 측정하였다. 시험된 용량에서, 42CQ-6501은 비히클-처리된 마우스에 비해 G-CSF의 혈청 농도의 유의한 증가를 유도한 반면에, 42CQ-6501과 MSA의 예비결합은 42CQ-6501에 비해 G-CSF의 혈청 농도의 유의한 약화를 일으켰다 (도 23).
- [0553] 다음으로, CT26-mFAP 종양-보유 마우스에서 42CQ-6501 접합체의 약동학을 검사하였다. 간략하게, BALB/c 마우스의 우측 측복부에 5×10^5 CT26-mFAP 세포를 피하 접종하였다. 종양이 확립되도록 한 후, 동물에게 100 또는 200 μ g/동물의 42CQ-6501을 복강내 주사를 통해 투여하였다. 각각의 투여 군은 1, 4, 6, 24 및 48시간 수집 시점을 나타내는 5개 군의 하위세트로 이루어졌다 ($n = 3$ /군). 수집 시점에, 혈액 및 종양 샘플을 수집하여 LC-MS 상에서 VbP 수준을 측정하였다. 100 또는 200 μ g/동물의 42CQ-6501의 투여 후 혈청 (도 25a) 및 종양 (도 25b)에서의 VbP 농도 대 시간을 나타낸다. VbP의 평균 혈청 수준은 42CQ-6501의 두 용량에 대해 모든 시점에서 종양 수준보다 4 내지 15배 더 낮았다.
- [0554] 추가 실험에서, 동계 류린 결장암 (CT26) 모델에서 종양 성장에 대한 42CQ-기재 접합체 $\pm$ MSA의 효과를 검사하였다. 마우스 ($n=10$ /군, BALB/c)의 우측 측복부에 5×10^5 CT26-mFAP 세포를 피하 접종하였다. MSA 예비결합은 VbP의 전신 방출을 약화시킬 수 있고, 따라서 42CQ-6323 및 42CQ-6501 접합체 둘 다의 효능을 MSA 예비결합의 존재 및 부재 하에 시험하였다. 종양 부피가 평균 대략 $50-100 \text{ mm}^3$ 일 때 42CQ-기재 접합체 $\pm$ MSA를 복강내 주사하였다. 42CQ-6323 $\pm$ MSA 및 42CQ-6501 $\pm$ MSA에 대한 종양 성장 억제를 각각 도 26a 및 26b에 나타낸다. 점선은 BIW 투여를 나타낸다. MSA가 없는 42CQ-6501을 제외하고 42CQ-기재 접합체로 처리된 모든 마우스는 대조군과 비교하여 감소된 종양 크기를 가졌다.
- [0555] 추가의 실험에서, 야생형 (WT) 및 FAP α 녹아웃 (KO) 마우스에서 FAP α -활성화된 아피머® 전구약물 (42CQ-6323 및 42CQ-6501)로부터 방출된 VbP의 약동학을 검사하였다. 비-종양 보유 WT 또는 FAP α KO 마우스 ($n=3$ /군)에게 200 μ g/동물의 42CQ-6323, 42CQ-6323-MSA, 42CQ-6501, 또는 42CQ-6501-MSA를 복강내 주사를 통해 투여하였다. 혈액을 0 (투여 전), 투여 후 15, 30, 60, 120 및 240분 및 24시간에 수집하여 LC-MS 상에서 혈장 내 VbP의 농도를 측정하였다. 200 μ g/동물의 42CQ-6323 $\pm$ MSA 또는 42CQ-6501 $\pm$ MSA의 투여 후 혈장 내 VbP 농도 대 시간을 각각 도 27a 및 27b에 나타낸다.
- [0556] 어떠한 시점에서도 FAP α 녹아웃 마우스에서 VbP는 검출되지 않았다. 혈장 내 VbP 수준은 6323 접합체보다 6501 접합체에 대해 더 컸으며, 이는 6501 접합체에 대한 더 큰 유효 약물-아피머® 단백질 비 (DAR)와 일치한다. 주사 전 알부민에 대한 예비-결합은 혈액 내 VbP의 초기 스파이크를 제한하는 것으로 보인다 (MSA 군과 비-MSA 군을 비교함).
- [0557] 본원에 개시된 모든 참고문헌, 특허 및 특허 출원은 각각이 인용된 대상과 관련하여 참조로 포함되며, 일부 경우 문헌의 전문을 포괄할 수 있다.

[0558] 본원의 명세서 및 청구범위에서 사용된 단수형은, 달리 명백하게 나타내지 않는 한, "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0559] 또한, 달리 명백하게 나타내지 않는 한, 하나 초과와 단계 또는 작용을 포함하는 본원에 청구된 임의의 방법에서, 방법의 단계 또는 작용의 순서는 반드시 방법의 단계 또는 작용이 언급된 순서로 제한되지는 않는 것으로 이해되어야 한다.

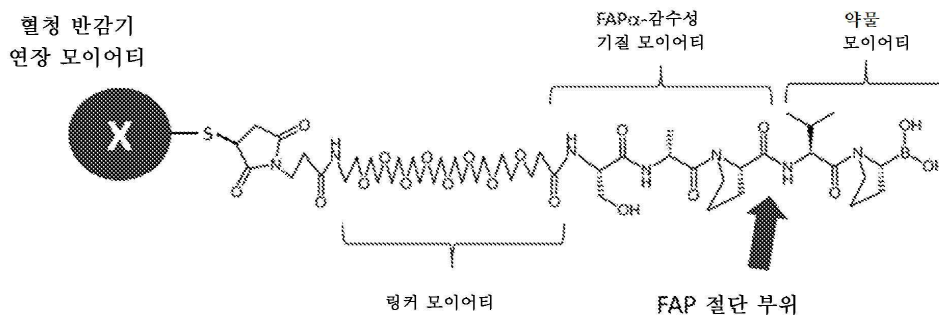
[0560] 청구범위 뿐만 아니라 상기 명세서에서, 모든 연결 어구, 예컨대 "포함하는", "포함한", "보유하는", "갖는", "함유하는", "수반하는", "보유한", "로 구성된" 등은 개방형인 것으로, 즉 포함하나 이에 제한되지는 않는 것을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 오직 연결 어구 "로 이루어진" 및 "로 본질적으로 이루어진"만이 미국 특허청 특허 심사 절차 매뉴얼, 섹션 2111.03에 제시된 바와 같이 각각 폐쇄형 또는 반-폐쇄형 연결 어구가 될 것이다.

[0561] 수치에 선행하는 용어 "약" 및 "실질적으로"는 언급된 수치의 $\pm 10\%$ 를 의미한다.

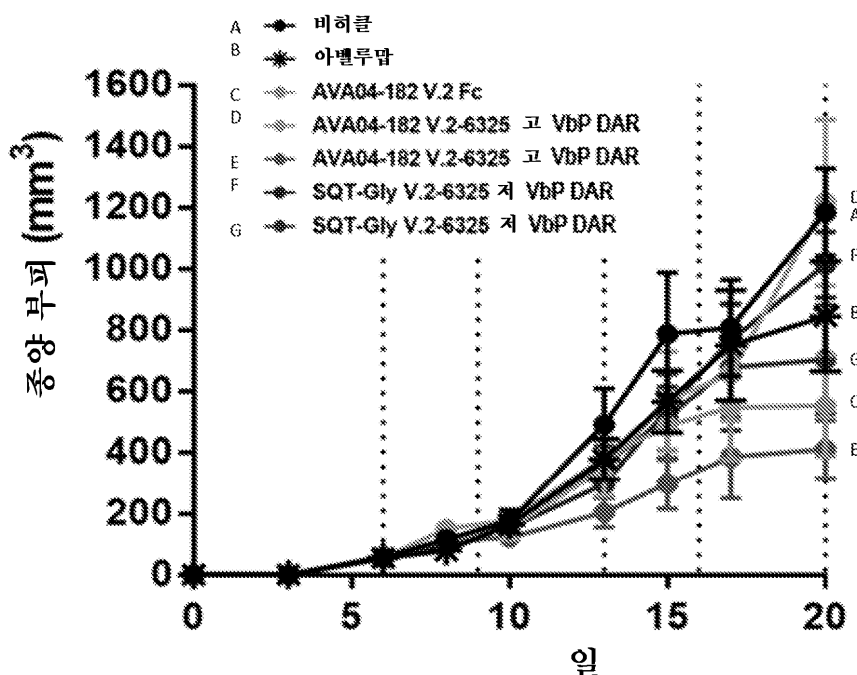
[0562] 값의 범위가 제공되는 경우, 범위의 상한과 하한 사이의 각각의 값이 구체적으로 고려되고 본원에 기재된다.

도면

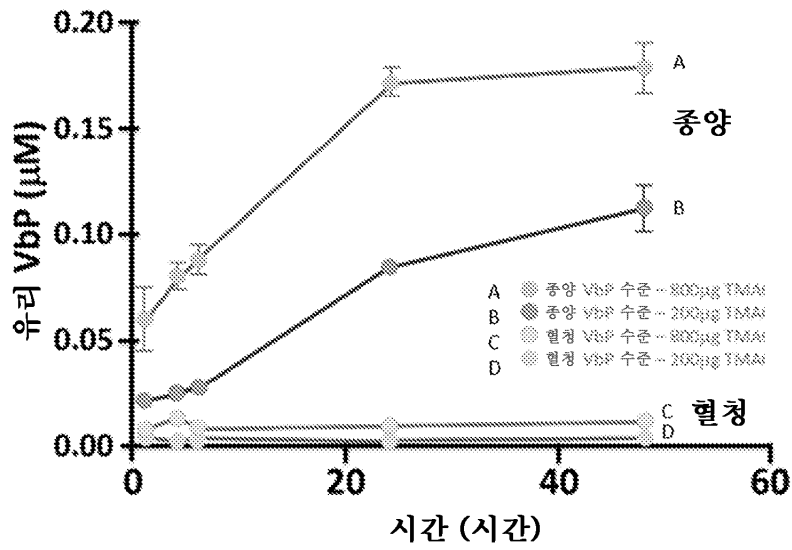
도면1



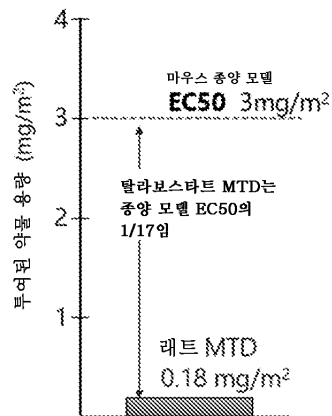
도면2



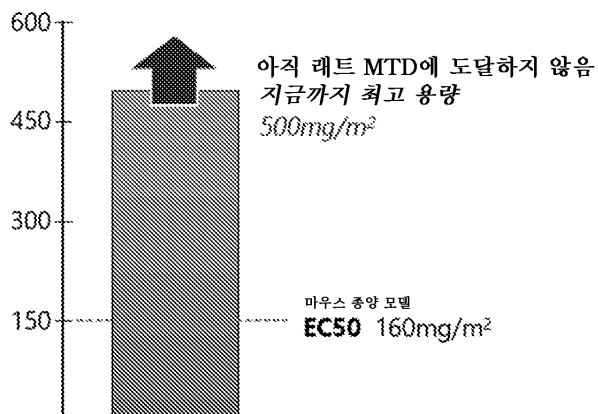
도면3



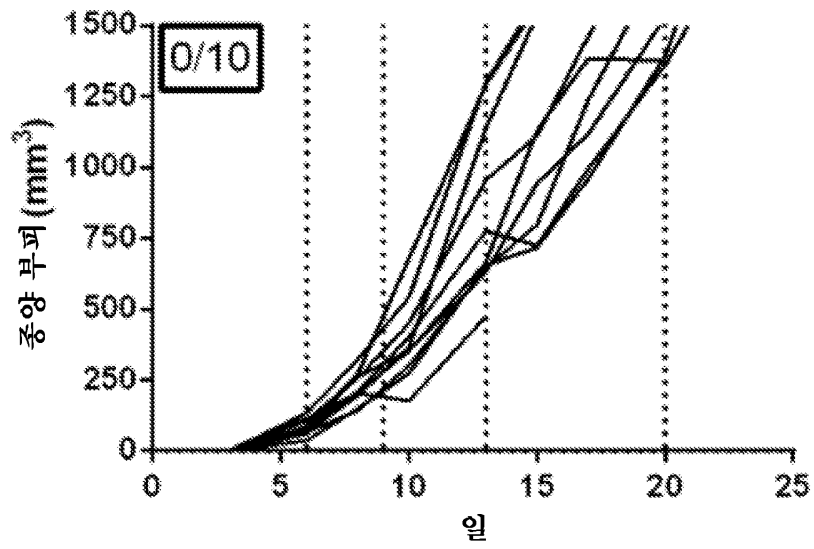
도면4a



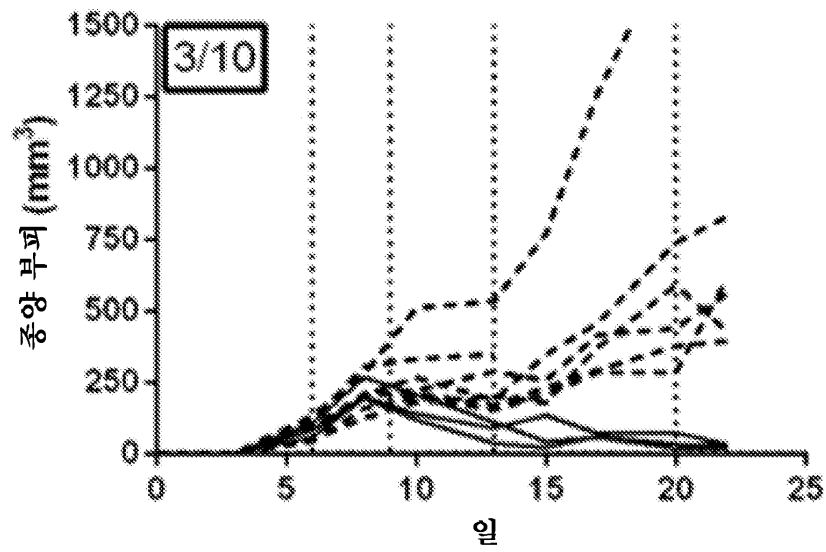
도면4b



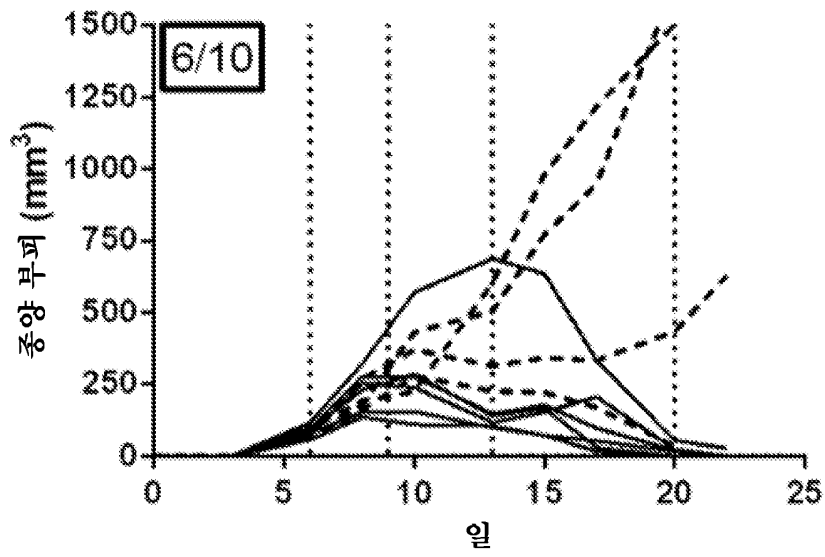
도면5a



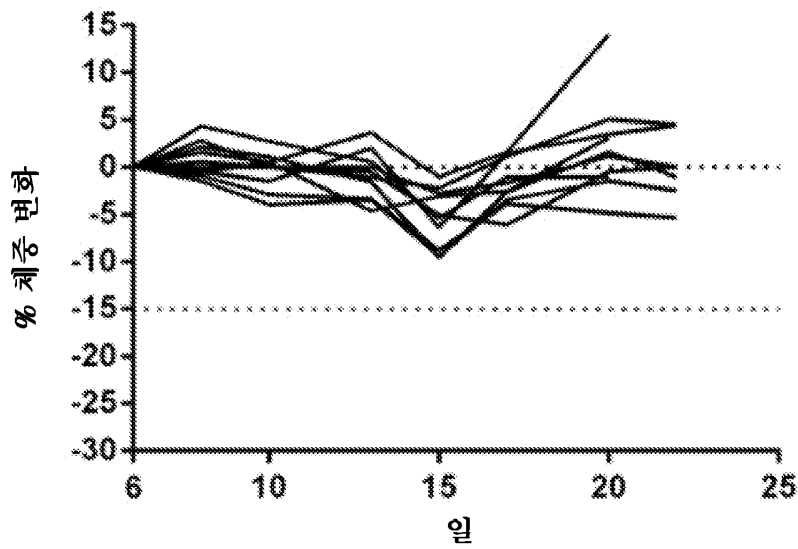
도면5b



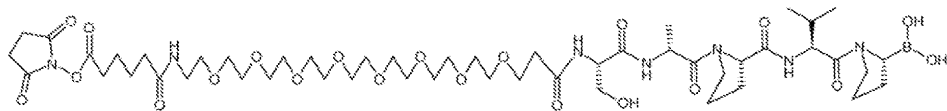
도면5c



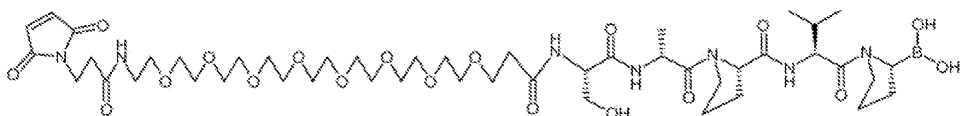
도면5d



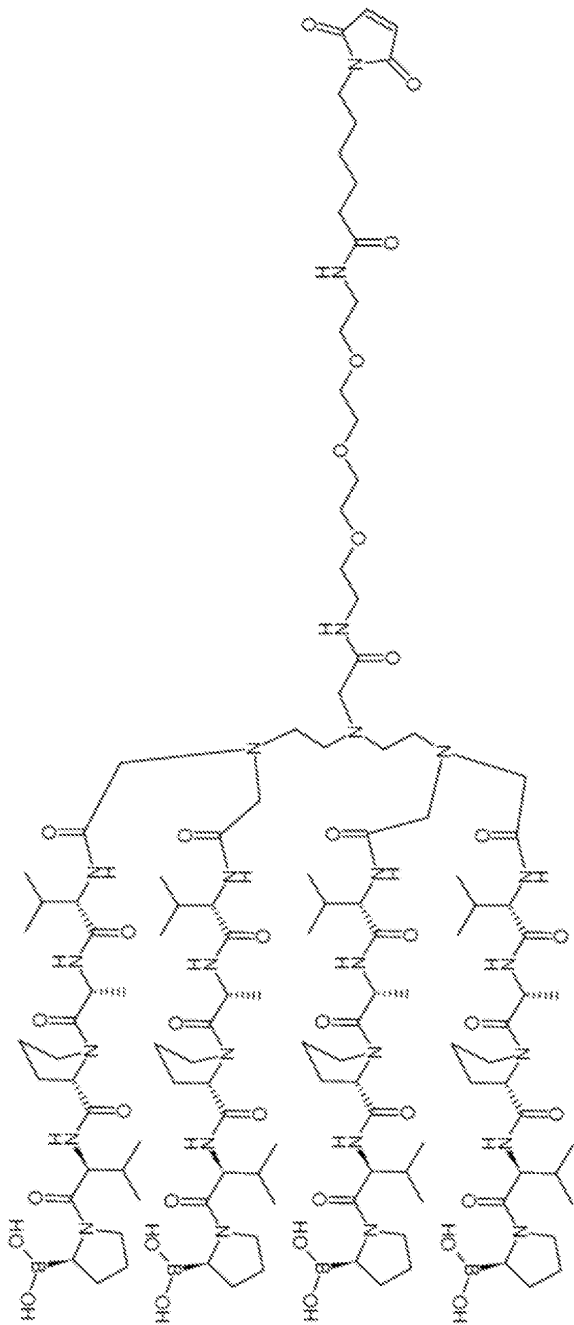
도면6a



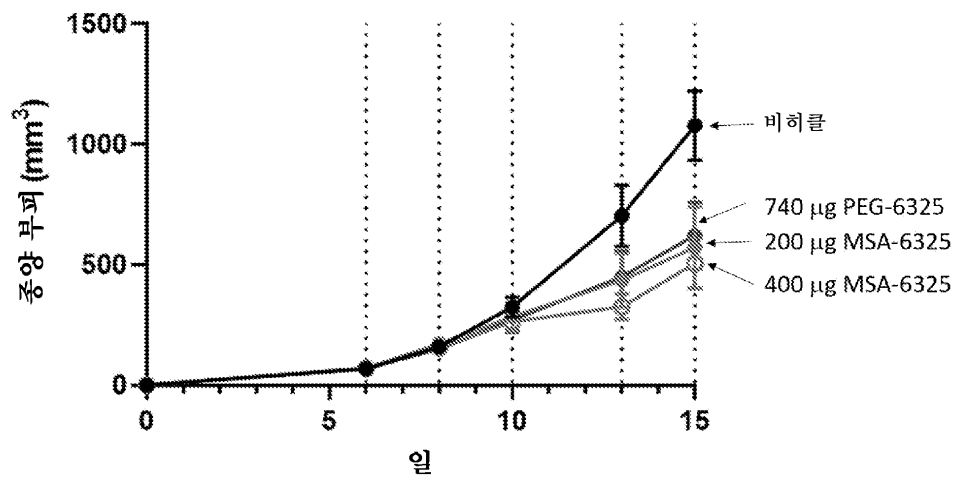
도면6b



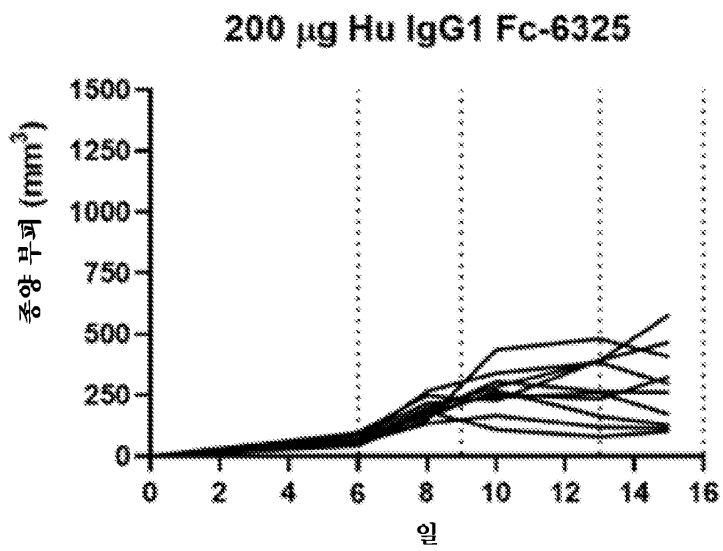
도면6c



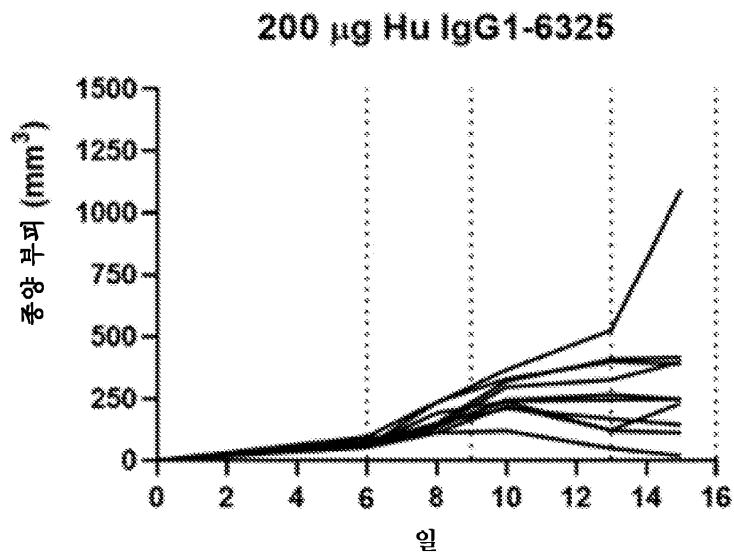
도면7



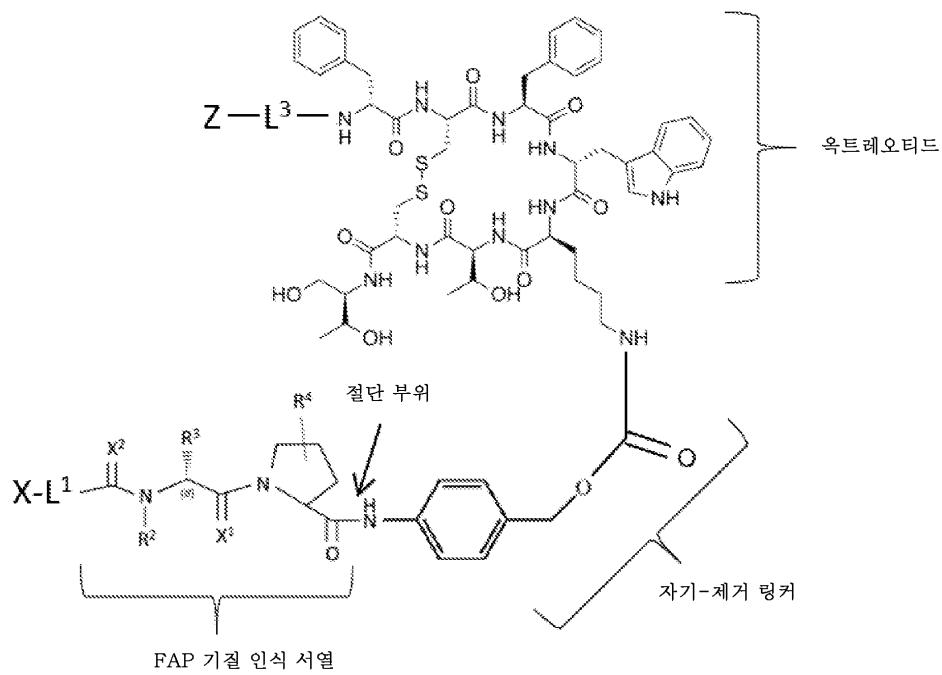
도면8a



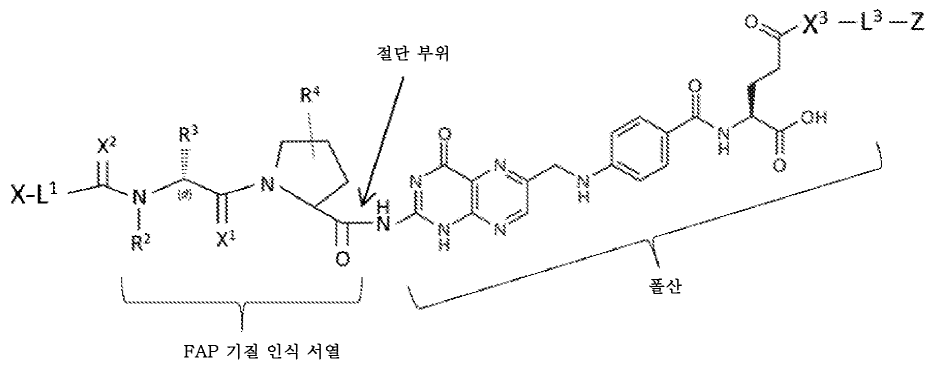
도면8b



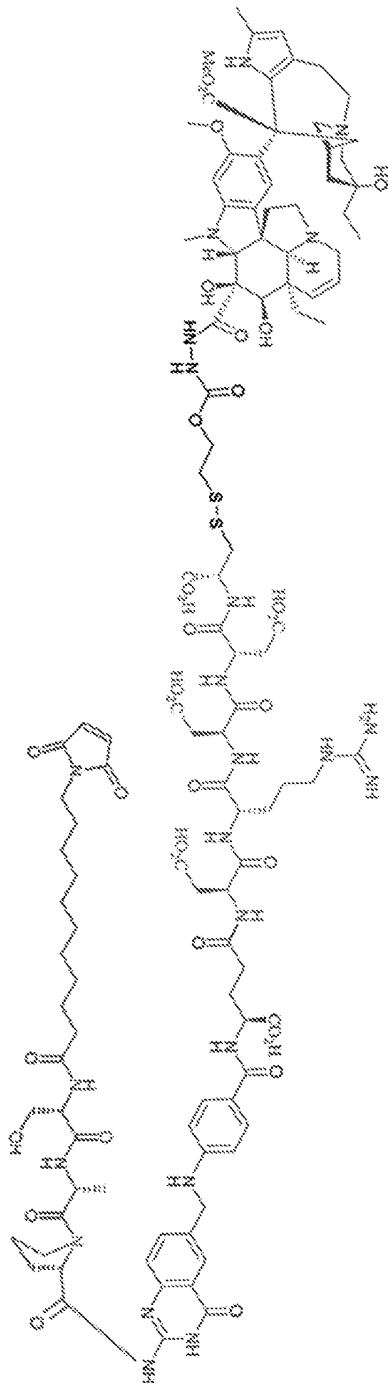
도면9



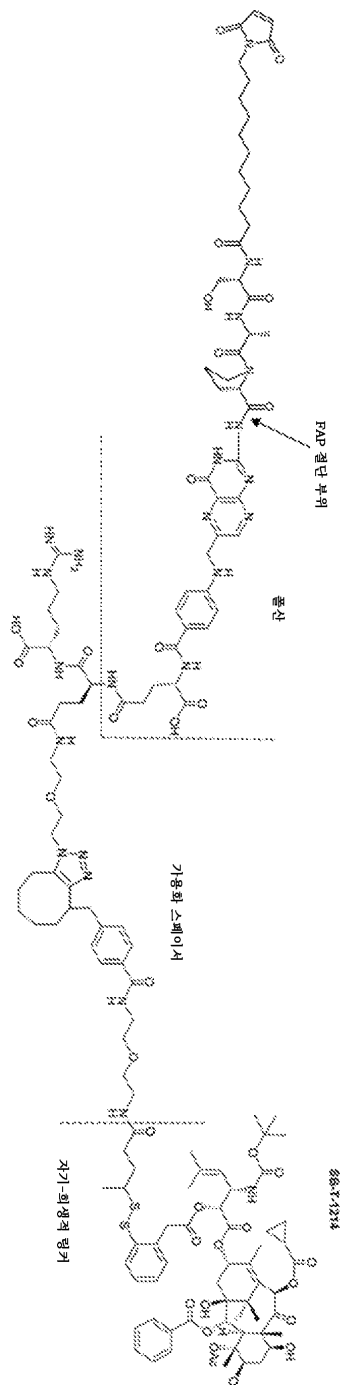
도면10



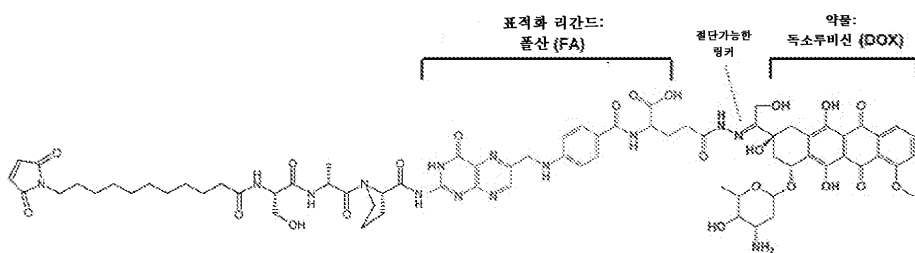
도면11



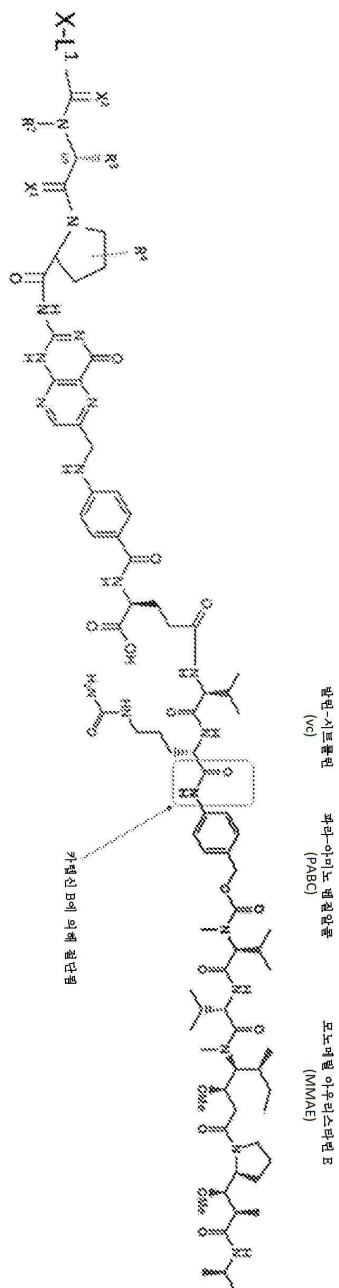
도면12



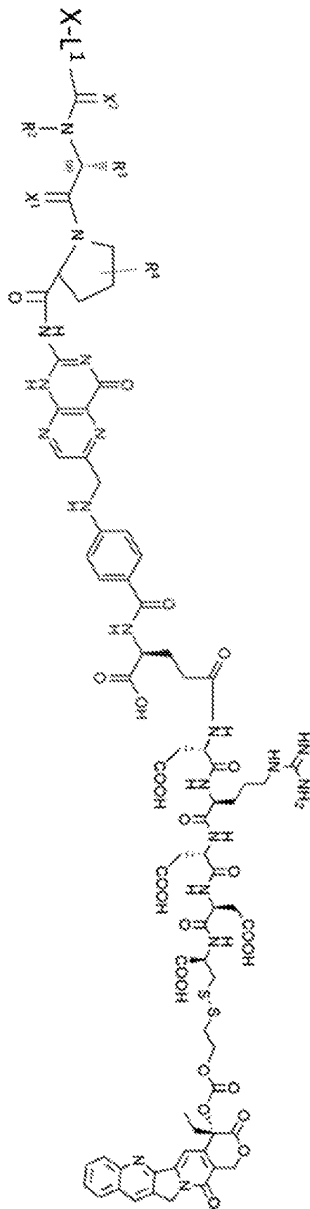
도면13a



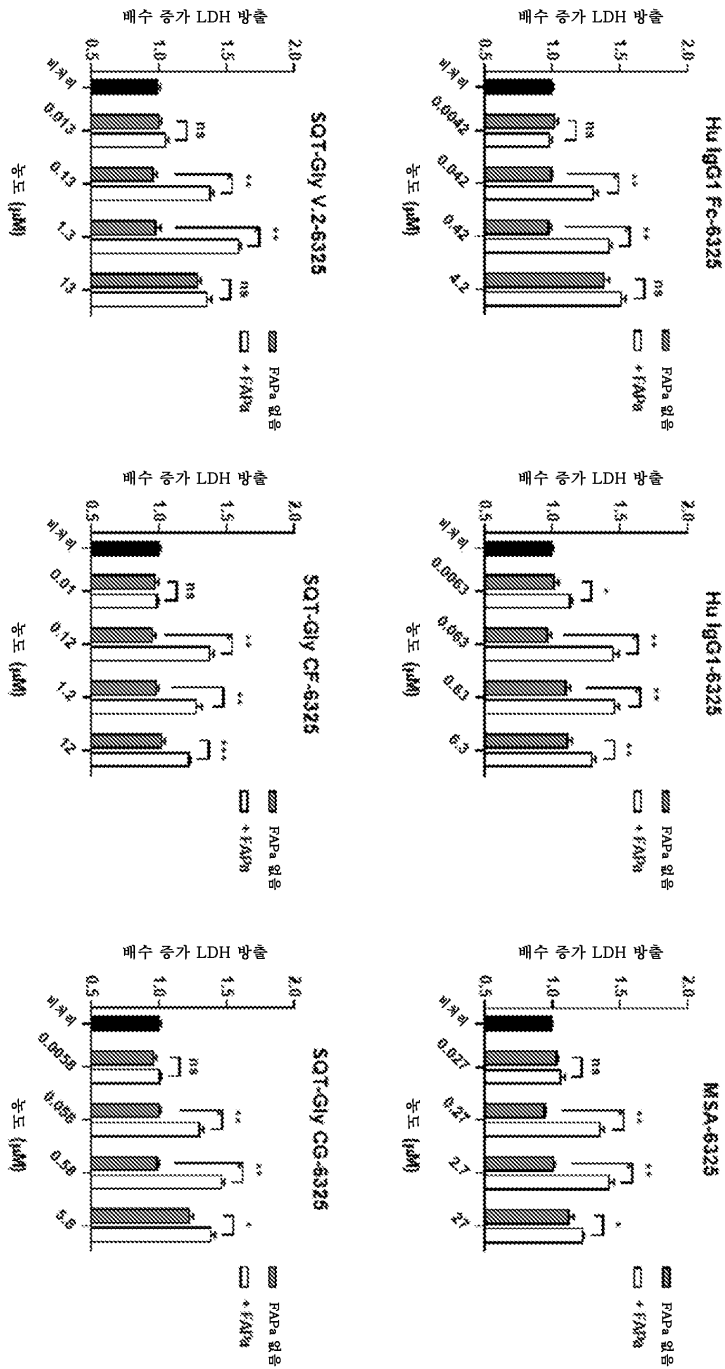
도면15



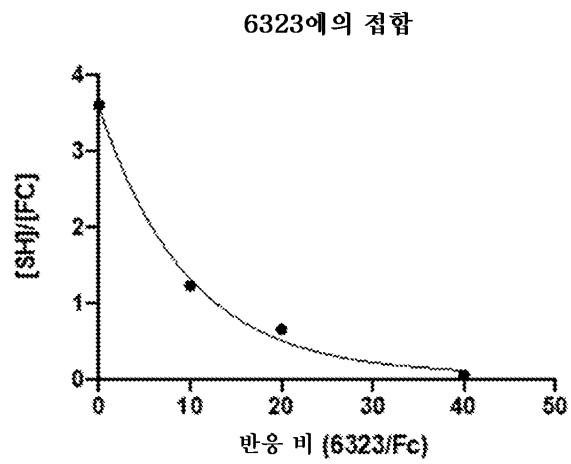
도면16



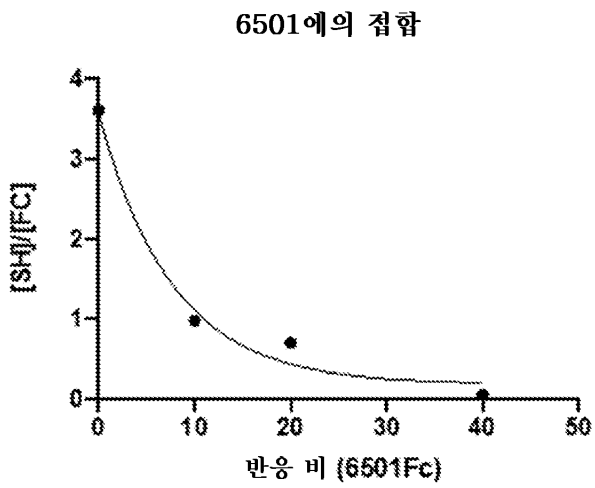
도면17



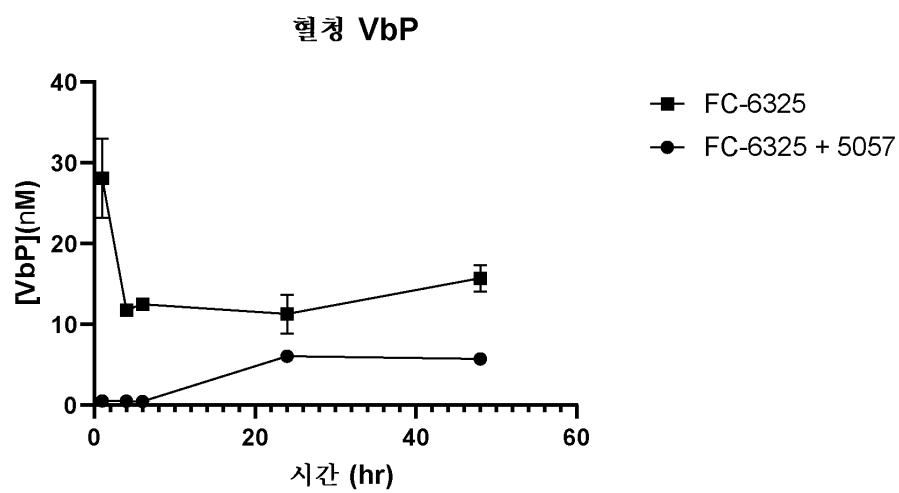
도면18a



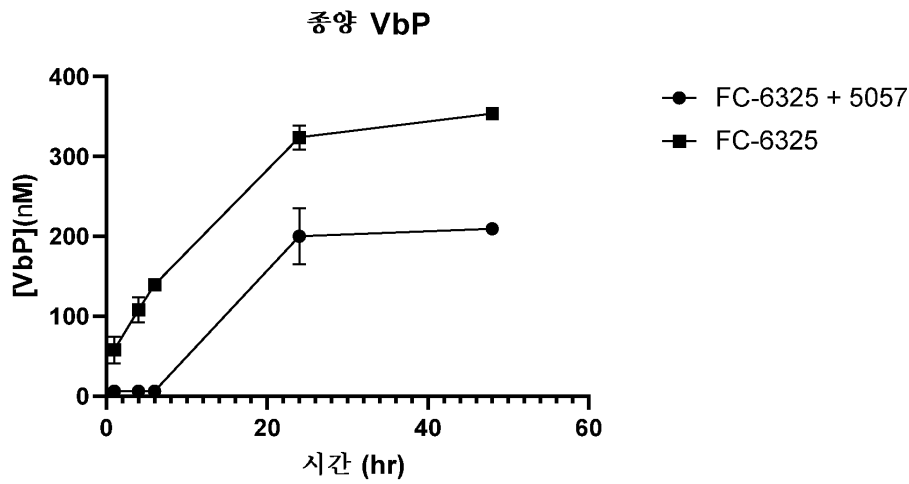
도면18b



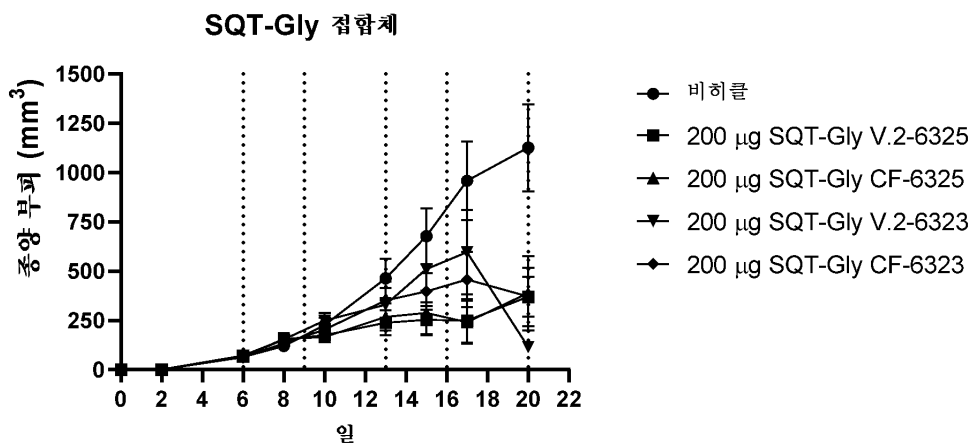
도면19a



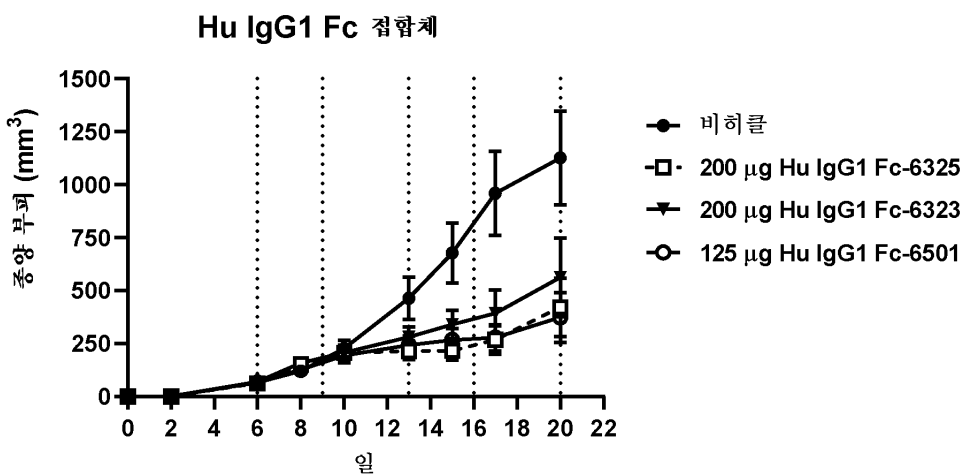
도면19b



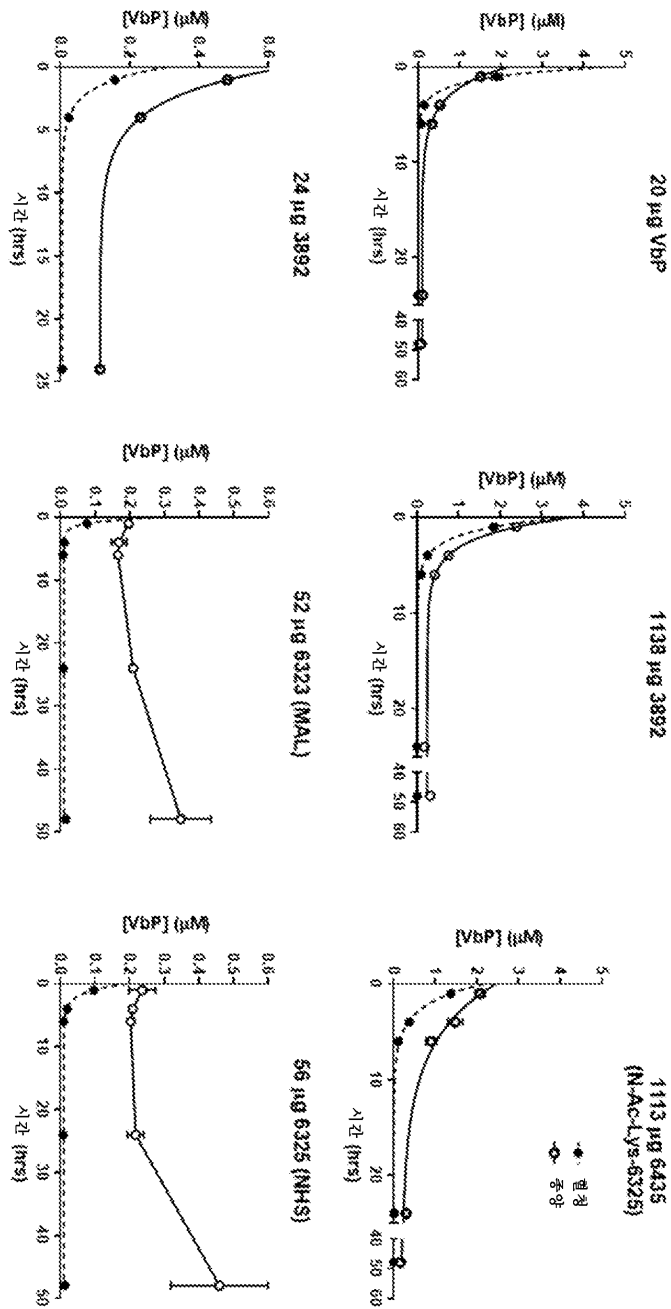
도면20a



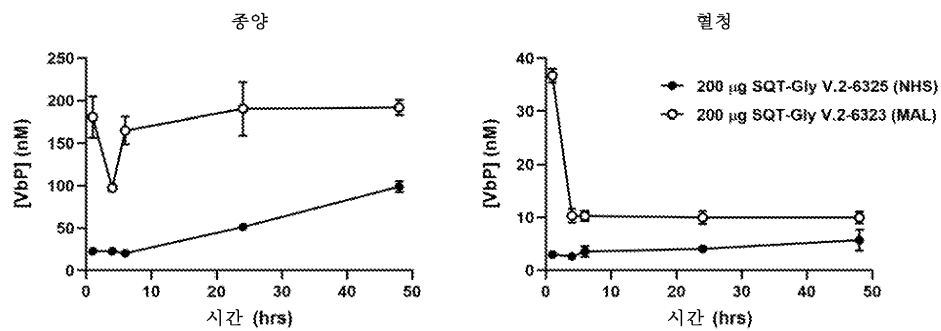
도면20b



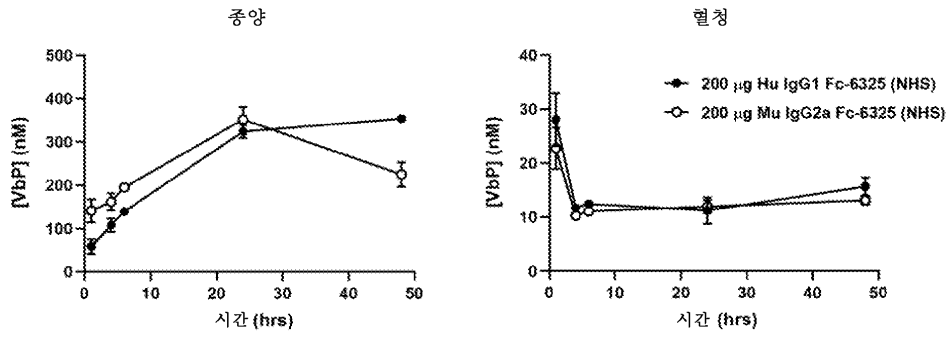
도면21



도면22a

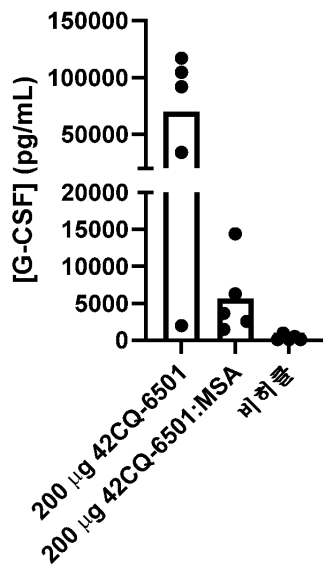


도면22b

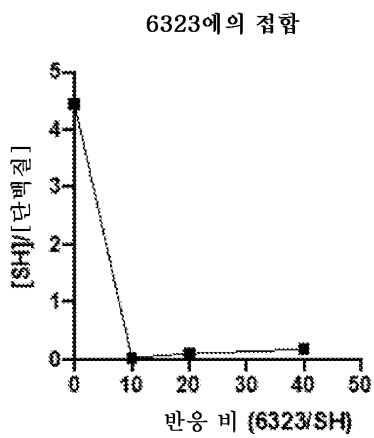


도면23

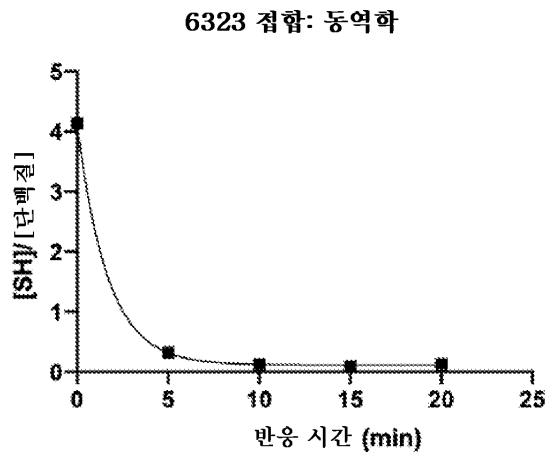
42CQ-6501 +/- MSA 예비결합



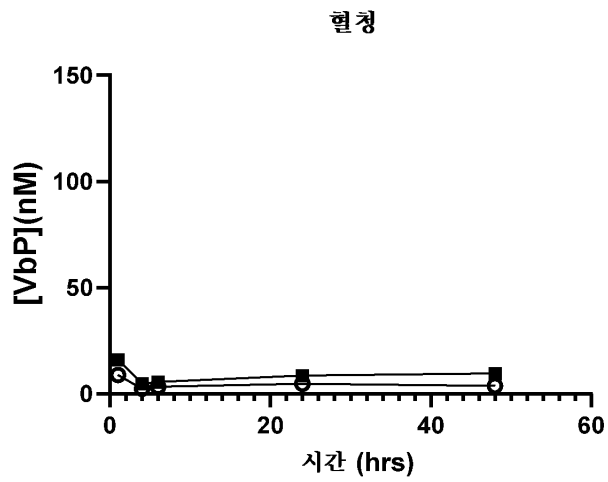
도면24a



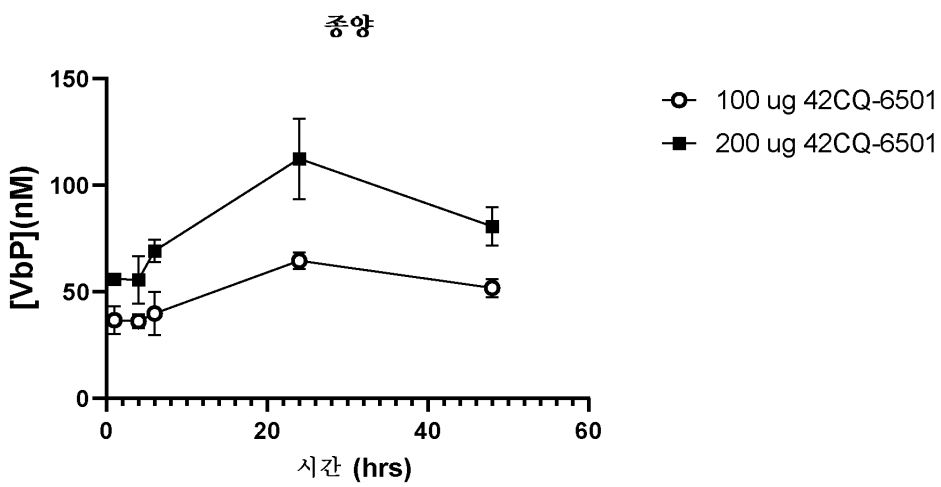
도면24b



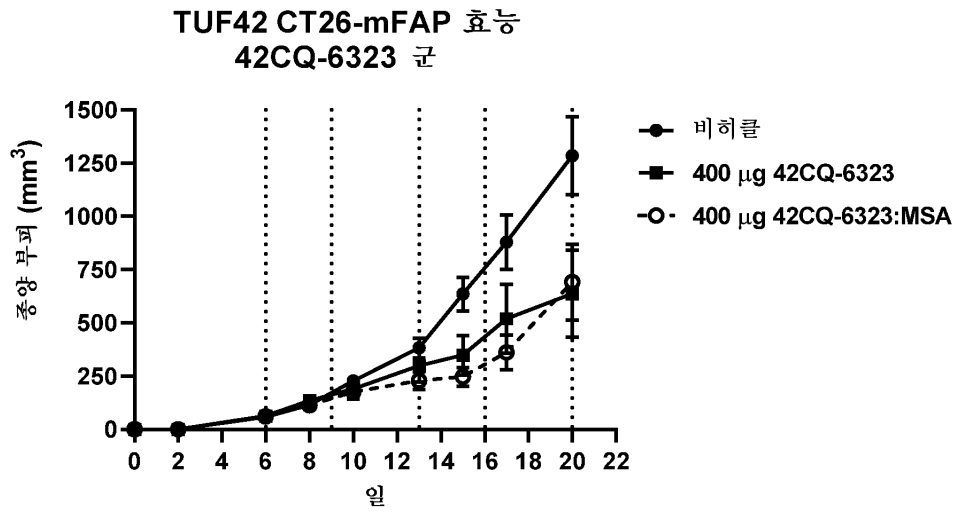
도면25a



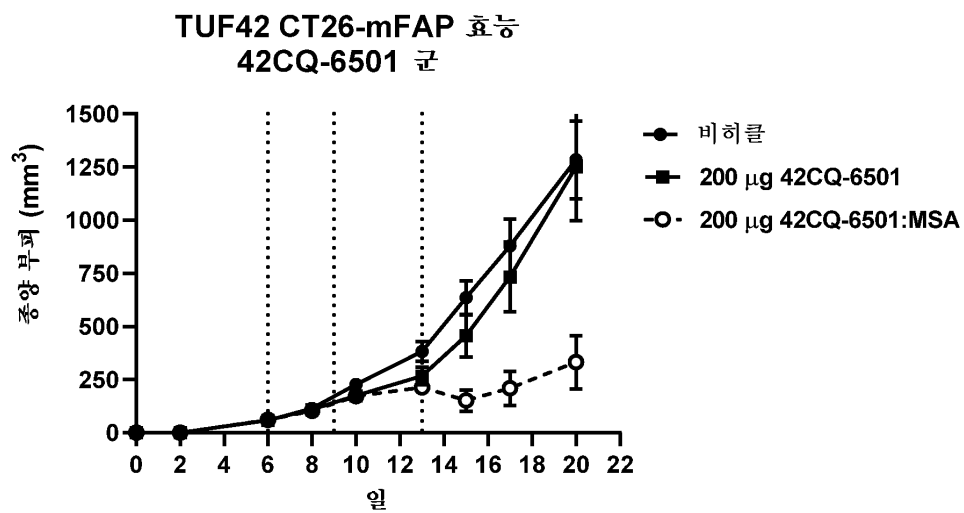
도면25b



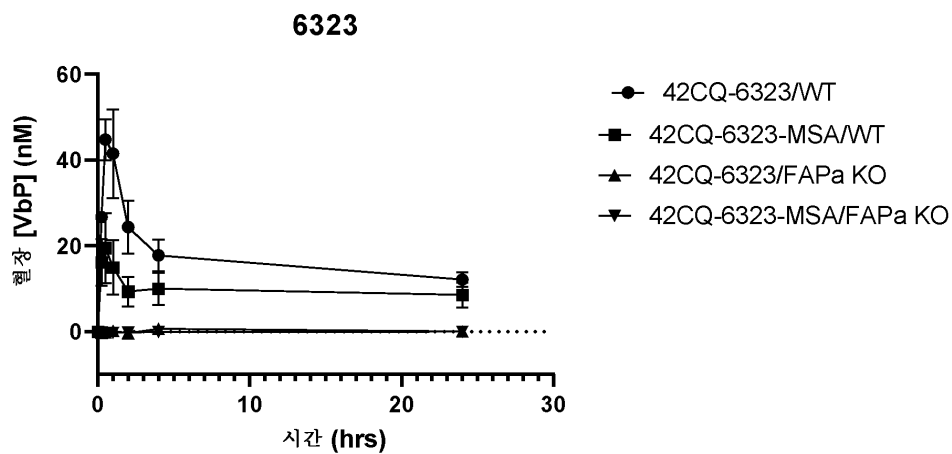
도면26a



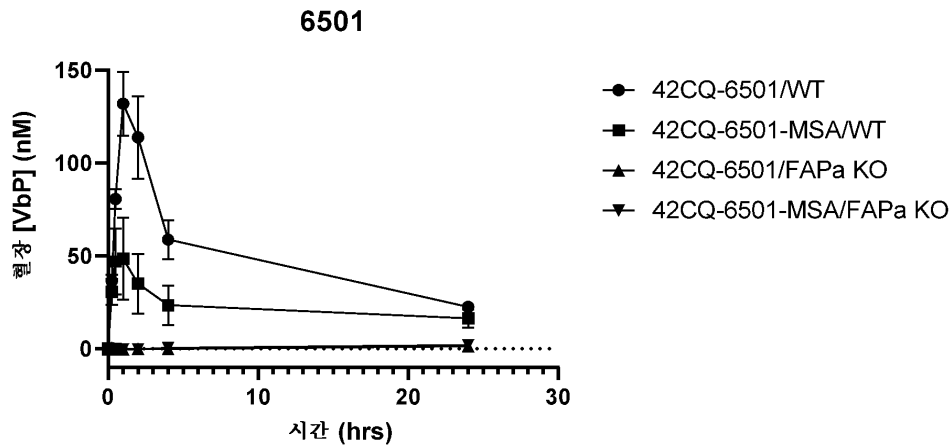
도면26b



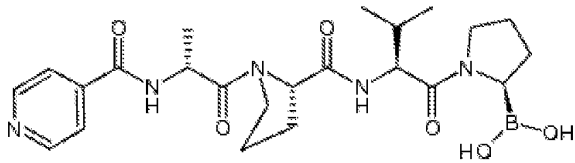
도면27a



도면27b



도면28



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Avacta Life Sciences Limited
Trustees of Tufts College

<120> FAP-ACTIVATED SERUM EXTENDED HALF-LIFE THERAPEUTIC CONJUGATES

<130> A1224.70010W000

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 63/197,926

<151> 2021-06-07

<150> US 63/108,020

<151> 2020-10-30

<160> 178

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 49

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 1

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

1 5 10 15
Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30
Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45
Ala

<210> 2

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 2

Gly Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met

1 5 10 15

His Leu Lys Val Phe Lys Ser Leu

20

<210> 3

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 3

Glu Asp Leu Val Leu Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp

1 5 10 15

Glu Leu Thr Gly Phe

20

<210> 4

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa may be Gly, Ala, Val, Arg, Lys, Asp, or Glu

<220><221> misc_feature
 <222> (50)..(69)
 <223> Xaa may be any naturally-occurring amino acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (53)..(69)
 <223> may be absent
 <220><221> misc_feature
 <222> (70)..(70)
 <223> Xaa may be Gly, Ala, Val, Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (91)..(91)
 <223> Xaa may be Arg, Lys, Asn, Gln, Ser, Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (92)..(92)
 <223> Xaa may be Gly, Ala, Val, Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (93)..(93)
 <223> Xaa may be Ala, Val, Ile, Leu, Gly or Pro

<220><221> misc_feature
 <222> (94)..(113)
 <223> Xaa may be any naturally-occurring amino acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (97)..(113)
 <223> may be absent
 <220><221> misc_feature
 <222> (114)..(114)
 <223> Xaa may be Gly, Ala, Val, Asp or Glu
 <220><221> misc_feature

<222> (116)..(116)

<223> Xaa may be Ala, Val, Ile, Leu, Arg or Lys

<400> 4

Met Ile Pro Xaa Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val Arg Ala Gly

65 70 75 80

Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

100 105 110

Xaa Xaa Asp Xaa Val Leu Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp

115 120 125

Asp Glu Leu Thr Gly Phe

130

<210> 5

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (50)..(69)

<223> Xaa may be any naturally-occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (53)..(69)

<223> may be absent

<220><221> misc_feature

<222> (94)..(113)

<223> Xaa may be any naturally-occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (97)..(113)

<223> may be absent

<400> 5

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val Arg Ala Gly

65 70 75 80

Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

100 105 110

Xaa Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp

115 120 125

Asp Glu Leu Thr Gly Phe

130

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 6

His Asp Gln Asp Val Leu His Ala Trp

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 7

Lys Phe His Arg Gln Glu Trp Ala Asp

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 8

Pro Glu Asp Phe Trp Asp Pro Glu His

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 9

Val Val Arg Thr Thr Gly His Val Val

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 10

Tyr Trp Trp Phe Cys Thr Gly Gln Ser

1 5

<210> 11

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 11
 Ile His His Arg Gln Ala Arg Ser Leu
 1 5

<210> 12
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 12
 Ser His Arg Arg Arg Ala Tyr Ile Trp
 1 5

<210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 13
 Trp Asp Ser His His Trp Arg Ala Pro
 1 5

<210> 14
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 14
 Asp Lys Arg Val Lys Tyr Gly Gln
 1 5

<210> 15
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 15

Ser Asp Trp Val Tyr Ala Leu Gln Leu

1 5

<210> 16

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 16

Phe Trp Trp Phe Trp Tyr

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 17

Val Arg Asp Trp Pro Trp Asn Thr Phe

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 18

Gln Lys Lys Arg Asp Glu Asp Tyr Ile

1 5

<210>

> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 19

Gly Val His Glu Glu Pro Arg Lys Leu

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 20

Glu Trp Trp Gln Lys His Trp Pro Ser

1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 21

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly

1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 22

Asp Trp Trp Gln Ala Lys Trp Pro His

1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

Gly Ile Trp Gln Ser Arg Trp Pro Gly

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

Gly Tyr Trp Ala Ala Lys Trp Pro Gly

1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 25

Gly Phe Tyr Ala Asp His Trp Pro Gly

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 26

Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Trp Pro Gly

1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 27

Gly Phe Tyr Ala Arg His Trp Pro Gly

1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 28

Asp Phe Trp Lys Ala His Trp Pro Gly

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 29

Asp Phe Tyr Ser Val Arg Trp Pro Gly

1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 30

Tyr Trp Ala Ala Asn His Ala Ser Lys

1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 31

Ile Lys Arg Leu Glu His Trp Glu Tyr

1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 32

Glu Trp Asp Ser Pro Trp Ser Glu Asn

1 5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 33

Lys His Lys Asn Leu Arg Trp Pro Phe

1 5

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 34

Arg His Phe Pro Lys Gln Thr Asn Trp

1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 35

Val Trp Gly Pro Glu Tyr Gln His Gln

1 5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 36

Thr Trp Lys Asn Asn Gly Gln Asp Val

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 37

Ala Thr Trp Leu Asn Tyr Tyr Leu Pro

1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 38

Asp Gln Glu Ser Leu Phe Leu Asn Asn

1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 39

Gly Phe Tyr Ala Gln His Trp Pro Asp

1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 40

Gly His Tyr Ala Arg Tyr Trp Pro Gly

1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 41

Gly Phe Trp Ala Ser Lys Trp Pro Gly

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 42

Gly Phe Trp Gln Arg Lys Trp Pro Asn

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 43

Val Trp Pro Ala Asp Asn Asp Leu Lys

1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 44

His Trp Ala Trp Thr Ser Pro Gly Tyr

1 5

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 45

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly

1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 46

His His Ser His Arg Leu Lys Gly Gln

1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 47

Tyr Gln Asn Thr Ile Phe Leu Ser Ile

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 48

Phe Gln Asp Gln Phe Thr Trp Ser Gln

1 5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 49

Gly Glu Pro His Trp Pro Trp Gln Ala

1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 50

Ala Asp Pro Arg His Pro Trp Val Glu

1 5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 51

Phe His Lys Arg Phe Gln Ser Gln Gly

1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 52

Glu Trp Trp Gln Asn Arg Trp Pro Asn

1 5

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 53

Glu Trp Tyr Gln Thr Arg Trp Pro Gly

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

Glu Phe Trp Gln Arg His Trp Pro Gly

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 55

Lys Phe Tyr Glu Arg His Trp Pro Gly

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 56

Gly Trp Trp Gln Arg Arg Trp Pro Gly

1 5

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 57

Arg Phe Lys Tyr Phe Ala His Tyr Gln

1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 58

Phe His Asp Phe Trp His Arg Arg Trp

1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 59

Asp Trp Tyr His Tyr Trp Trp Glu Val

1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 60

Ser Thr Arg Ser Ile His Val Thr Thr

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 61

Lys Gln His His His Tyr Leu Asp Lys

1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 62

His Ser Ala Gln Asp Arg Glu Ile Pro

1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 63

Trp Val Gln Ser Gly Tyr Asn Ser Gln

1 5

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 64

Ala Val Phe Trp Gly Lys Trp Ser Asp

1 5

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 65

Gln Ser Phe Asp Lys Pro Trp Thr Thr

1 5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 66

His Tyr Pro Leu Lys Tyr Ser Phe Glu

1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 67

Trp His His Pro Trp His Arg Asn Arg

1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 68

Asp Pro Trp Trp Ala Trp Val Val Trp

1 5

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 69

Phe Asp Asn Gln Asp Leu Ile Gln Tyr

1 5

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 70

Glu Lys Lys Asn Trp Tyr Lys Trp Asp

1 5

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 71

Asp Arg His Lys Ser Arg Trp Gly Ile

1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 72

Leu Asn Pro Phe Thr Pro Ser Val Thr

1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 73

Tyr Lys Gly Ala Leu Leu Asn His Asp

1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 74

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Glu Arg Gly

1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 75

Tyr Lys Val His Gln Ser Ser Gly Gly

1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 76

Phe His Pro Ile Ala Gly Arg Pro Trp

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 77

Phe Pro Asn Thr Ser Tyr Asp Leu Gln

1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 78

Phe Ala His Tyr Asn Leu Lys Ser Gly

1 5

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 79

Trp His Asn Tyr Gly Glu Ser Ser Gly

1 5

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 80

Lys Phe Tyr Tyr Ala Asp His Gln Trp

1 5

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 81

Tyr Thr His Ala Asp Pro His Ser Gln

1 5

<210> 82

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 82

Phe Gly Val Pro Gln Leu Gly Ala Gly

1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 83

Tyr Ser Gly Phe Pro Phe Ala Gly Phe

1 5

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 84

Trp Phe Ser Trp Pro Tyr Thr Pro Leu

1 5

<210> 85

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 85

Tyr Tyr His Pro Ser Ile Gln Ser Thr

1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 86

Phe Leu Gly Trp Lys Asp Thr Val Val

1 5

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 87

Asp Trp Trp Lys Trp Trp Trp Ala Lys

1 5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 88

Asn Ala Gly Trp Pro Leu Val Pro Glu

1 5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 89

Tyr Ala Leu Asp Pro Phe Gly Gly Lys

1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 90

Gly Tyr Lys Phe Trp Gly Val Ser Asp

1 5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 91

Gln Gly Lys Gln Tyr Ile Leu Leu Arg

1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 92

Tyr Lys Arg His Ser Ala His Asp Tyr

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 93

Trp Ala Gln Lys Ser Lys Val His Gln

1 5

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 94

Phe Thr Ala Val Ser Lys Lys Asp Ala

1 5

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 95

Trp Gly Asp Lys Glu Asn Ile Trp Phe

1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 96

Trp Ser Gly His Pro Trp Val Gln Lys

1 5

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 97

Tyr Ala Asp Tyr Pro Leu Ser Pro Lys

1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 98

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly

1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 99

Gln Thr Val Ala Thr His Tyr His Tyr

1 5

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 100

Trp His Ala Lys His Leu Leu Ser His

1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 101

Ser Gly Ile Lys Lys Ala Asp Ser Val

1 5

<210> 102

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 102

Lys Ala Asn Leu Ile Asn Val Lys Ser

1 5

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 103

Trp Lys Ser His Val Glu Val Arg Ser

1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 104

Trp Val Thr Gln Lys Tyr Ile Ile Gln

1 5

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 105

Trp Glu His Ala Lys Asp Trp Pro Thr

1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 106

Phe His Ser Lys Val Leu Asp Lys Ala

1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 107

Tyr Gly Ala Gln Lys Gln Ala Val Trp

1 5

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 108

Phe Ser Ala Ser His Phe Thr Ser Gln

1 5

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 109

Xaa Xaa Ala Xaa Lys Xaa Asp Xaa Gln

1 5

<210> 110

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 110

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Asp Trp Trp Gln Ala Lys Trp Pro His Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80

Gly Pro Tyr Lys Val His Gln Ser Ser Gly Gly Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100 105 110

<210> 111

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 111

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Gly Tyr Trp Ala Ala Lys Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80
Gly Pro Phe Pro Asn Thr Ser Tyr Asp Leu Gln Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95
Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

<210> 112

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 112

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15
Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30
Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45
Ala Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

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

<210> 113

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 113

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15
Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30
Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45
Ala Val Trp Gly Pro Glu Tyr Gln His Gln Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60
Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80
Gly Pro Asn Ala Gly Trp Pro Leu Val Pro Glu Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95
Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

<210> 114

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 114

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30
Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45
Ala Gly His Tyr Ala Arg Tyr Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60
Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Ala Gln Lys Ser Lys Val His Gln Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95
 Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
 100 105 110

<210> 115

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 115

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
 1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30
 Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45
 Ala Gly Phe Trp Ala Ser Lys Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60
 Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80
 Gly Pro Phe Thr Ala Val Ser Lys Lys Asp Ala Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95
 Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
 100 105 110

<210> 116

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 116

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
 1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80

Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100 105 110

<210> 117

<211> 254

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 117

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Lys Glu His Gly Pro Asp Ser Trp Trp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile
130 135 140

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
145 150 155 160

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
165 170 175

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn
180 185 190

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
195 200 205

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
210 215 220

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
225 230 235 240

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250

<210> 118
<211> 255
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 118

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Lys Glu His Gly Pro Asp Ser Trp Trp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
 65 70 75 80
 Gly Pro Gln Glu Lys Asn Gln Trp Val Glu Glu Ala Asp Arg Val Leu
 85 90 95

 Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
 100 105 110
 Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
 115 120 125
 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
 130 135 140
 Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
 145 150 155 160

 Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
 165 170 175
 Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
 180 185 190
 Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
 195 200 205
 Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
 210 215 220

 Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
 225 230 235 240
 Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
 245 250 255

 <210> 119
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 119
 Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
 1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala His Ala Tyr Gly Pro Arg Asp Trp Asp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80

Gly Pro Pro Ala Asp His Val Leu Glu Glu Ala Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr

165 170 175

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn

180 185 190

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val

195 200 205

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro

210 215 220

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly

225 230 235 240

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

245 250

<210> 120

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 120

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala His Ala Tyr Gly Pro Arg Asp Trp Asp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Pro Ala Asp His Val Leu Glu Glu Ala Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250 255

<210> 121
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 121

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15
Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30
Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45
Ala Lys Glu Tyr Gly Pro Glu Glu Trp Trp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60
Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80
Gly Pro Gly Asp Tyr Glu Gln Val Leu Ile His Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95
Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile

130 135 140
Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
145 150 155 160

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
165 170 175

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn
180 185 190

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
195 200 205

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
210 215 220

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
225 230 235 240

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250

<210> 122

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 122

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Lys Glu Tyr Gly Pro Glu Glu Trp Trp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Gly Asp Tyr Glu Gln Val Leu Ile His Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250 255

<210> 123

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 123

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

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

 115 120 125
 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
 130 135 140
 Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
 145 150 155 160
 Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
 165 170 175
 Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala

 180 185 190
 Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
 195 200 205
 Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
 210 215 220
 Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
 225 230 235 240
 Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala

 245 250 255
 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
 260 265 270
 Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile
 275 280 285
 Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
 290 295 300

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr

305 310 315 320

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn

325 330 335

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val

340 345 350

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro

355 360 365

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly

370 375 380

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

385 390 395

<210> 124

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 124

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80

Gly Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100 105 110
Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125
Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140
Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175
Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190
Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205
Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240
Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala
245 250 255
Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
260 265 270
Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile
275 280 285

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
290 295 300
Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
305 310 315 320
Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Arg
325 330 335
Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
340 345 350

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
355 360 365

Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
370 375 380

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
385 390 395

<210> 125
<211> 398
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 125

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15
Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30
Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45
Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60
Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80
Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95
Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110
Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125
Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met

130 135 140
Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
 165 170 175
 Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
 180 185 190
 Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
 195 200 205
 Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
 210 215 220
 Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
 225 230 235 240
 Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala
 245 250 255
 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
 260 265 270
 Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile
 275 280 285
 Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
 290 295 300
 Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
 305 310 315 320
 Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Arg
 325 330 335
 Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
 340 345 350
 Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
 355 360 365
 Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
 370 375 380
 Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
 385 390 395
 <210> 126

<211> 399

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 126

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80

Gly Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu

165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala

180 185 190

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

195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly

210 215 220
 Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
 225 230 235 240

 Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala
 245 250 255
 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
 260 265 270
 Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile
 275 280 285
 Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
 290 295 300

 Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
 305 310 315 320
 Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn
 325 330 335
 Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
 340 345 350
 Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
 355 360 365

 Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
 370 375 380
 Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Cys
 385 390 395
 <210> 127
 <211> 398
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 127
 Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
 1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Phe Ala Leu Pro Glu Phe Glu Tyr Met Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80

Gly Pro Pro Met Ile Arg Arg Lys Asn Glu Val Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu

165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala

180 185 190

Phe Ala Leu Pro Glu Phe Glu Tyr Met Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys

195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly

210 215 220

Pro Pro Met Ile Arg Arg Lys Asn Glu Val Ala Asp Arg Val Leu Thr

225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala

245 250 255

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu

260 265 270
Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile

275 280 285
Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu

290 295 300
Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr

305 310 315 320
Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn

325 330 335
Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val

340 345 350
Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro

355 360 365
Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly

370 375 380
Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

385 390 395

<210> 128

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 128

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
 65 70 75 80
 Gly Pro Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Asp Arg Val Leu
 85 90 95
 Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
 100 105 110
 Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
 115 120 125

 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
 130 135 140
 Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
 145 150 155 160
 Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
 165 170 175
 Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
 180 185 190

 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
 195 200 205
 Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
 210 215 220
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
 225 230 235 240
 Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala
 245 250 255

 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
 260 265 270
 Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile
 275 280 285
 Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
 290 295 300
 Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr

305	310							315							320		
Tyr	Gly	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Tyr	Lys	Thr	Gln	Val	Leu	Ala	Asn		
				325				330				335					
Phe	Phe	Gln	Arg	Arg	Trp	Pro	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Ile	Lys	Val		
				340				345				350					
Arg	Ala	Gly	Asp	Asn	Lys	Tyr	Met	His	Leu	Lys	Val	Phe	Asn	Gly	Pro		
				355				360				365					
Trp	Lys	Phe	Arg	Asn	Thr	Asp	Arg	Gly	Ala	Asp	Arg	Val	Leu	Thr	Gly		
				370				375				380					
Tyr	Gln	Val	Asp	Lys	Asn	Lys	Asp	Asp	Glu	Leu	Thr	Gly	Phe				
385				390				395									
<210>	129																
<211>	255																
<212>	PRT																
<213>	Artificial Sequence																
<220><223>	Synthetic																
<400>	129																
Met	Ile	Pro	Arg	Gly	Leu	Ser	Glu	Ala	Lys	Pro	Ala	Thr	Pro	Glu	Ile		
1				5				10				15					
Gln	Glu	Ile	Val	Asp	Lys	Val	Lys	Pro	Gln	Leu	Glu	Glu	Lys	Thr	Asn		
				20				25				30					
Glu	Thr	Tyr	Gly	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Tyr	Lys	Thr	Gln	Val	Leu		
				35				40				45					
Ala	Arg	Glu	Gly	Arg	Gln	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Ile		
50				55				60									
Lys	Val	Arg	Ala	Gly	Asp	Asn	Lys	Tyr	Met	His	Leu	Lys	Val	Phe	Asn		
65				70				75				80					
Gly	Pro	Trp	Val	Pro	Phe	Pro	His	Gln	Gln	Leu	Ala	Asp	Arg	Val	Leu		
				85				90				95					
Thr	Gly	Tyr	Gln	Val	Asp	Lys	Asn	Lys	Asp	Asp	Glu	Leu	Thr	Gly	Phe		
				100				105				110					

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125
Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140
Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160
Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175
Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190
Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205
Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220
Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240
Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250 255
<210> 130
<211> 256
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 130
Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15
Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30
Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45
Ala Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
 65 70 75 80
 Gly Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu
 85 90 95

 Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
 100 105 110
 Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
 115 120 125
 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
 130 135 140
 Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
 145 150 155 160

 Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
 165 170 175
 Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
 180 185 190
 Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
 195 200 205
 Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
 210 215 220

 Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
 225 230 235 240
 Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Cys
 245 250 255

 <210> 131
 <211> 255
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 131
 Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
 1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80

Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu

165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala

180 185 190

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys

195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly

210 215 220

Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr

225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

245 250 255

<210> 132

<211> 254

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 132

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn

20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile

50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80

Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu

85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr

165 170 175

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn

180 185 190

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val

195 200 205

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
210 215 220

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
225 230 235 240

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250

<210> 133
<211> 149
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 133

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile

1 5 10 15
Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30
Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45
Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60
Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65 70 75 80
Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95
Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110
Ala Ala Ala Gly Gly Arg Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp
115 120 125
Leu Gly Cys Ala Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ala Ala Gly His

130 135 140
His His His His His
145

<210> 134
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 134
 Trp Thr Gln Pro Lys Asn Glu His His
 1 5
 <210> 135
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 135
 His Leu Lys His Thr Asp Ala Gln Pro
 1 5
 <210> 136
 <211> 4
 <212> PRT
 <213>
 > Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 136
 Pro Pro Gly Pro
 1
 <210> 137
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa may be Asp or Glu
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Arg or Lys

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa may be Asp or Glu

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa may be Thr or Ser

<400> 137

Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Gly Pro

1 5

<210> 138

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 138

Asp Arg Gly Glu Thr Gly Pro

1 5

<210> 139

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 139

Gly Pro Ala Xaa

1

<210> 140

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Trp or Phe

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa may be Tyr or Phe

<400> 140

Asn Xaa Xaa Gln Gln Arg Arg Trp Pro Gly

1 5 10

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be Asp or Gly

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Trp, Tyr, or Phe

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa may be Gln or Ala

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa may be Ala or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa may be His or Gly

<400> 141

Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Lys Trp Pro Xaa

1 5

<210> 142
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa may be Tyr, Phe, or His
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223>
 Xaa may be Trp or Tyr
 <220><221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa may be Ala, Ser, or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa may be Lys or Tyr
 <400> 142

Gly Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Trp Pro Gly
 1 5

<210> 143
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa may be Pyroglutamic acid
 <400> 143

Xaa Gln Arg Leu Gly Asn Gln Trp Ala Val Gly His Leu Met

1 5 10
 <210> 144
 <211> 10

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 144
 Thr Ala Ala Ser Gly Val Arg Ser Met His
 1 5 10
 <210> 145
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 145
 Leu Thr Leu Arg Trp Val Gly Leu Met Ser
 1 5 10
 <210> 146
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223>
 Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa may be Pyroglutamic acid
 <400> 146
 Xaa His Trp Ser Tyr Ser Leu Arg Pro
 1 5
 <210> 147
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa may be Pyroglutamic acid
 <400> 147

Xaa His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

1 5 10

<210> 148

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be Pyroglutamic acid

<400> 148

Xaa His Trp Ser Tyr Ser Leu Arg Pro

1 5

<210> 149

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be Pyroglutamic acid

<400> 149

Xaa His Trp Ser Tyr His Leu Arg Pro

1 5

<210> 150

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be Pyroglutamic acid

<400> 150

Xaa His Trp Ser Tyr Leu Leu Arg Pro

1 5

<210> 151

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be Pyroglutamic acid

<400> 151

Xaa His Trp Ser Tyr Leu Arg Pro Gly

1 5

<210> 152

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be Pyroglutamic acid

<400> 152

Xaa His Trp Ser Tyr Trp Leu Arg Pro Gly

1 5 10

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 153

Phe Ala Ser Tyr Asn Leu Lys Pro Ala

1 5

<210> 154

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 154

Phe Ala Ser Trp Lys Arg Pro Ala

1 5

<210> 155

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 155

Phe Ala Ser Phe Phe Leu Lys Pro Ala

1 5

<210> 156

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 156

Phe Ala Ser Tyr Arg Leu Arg Pro Ala

1 5

<210> 157

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 157

Gly Arg Gly Asp Ser Pro Lys

1 5

<210> 158

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 158

Asn Arg Gly Asp Phe Val

1 5

<210> 159

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Sarcosine

<400> 159

Arg Xaa Asp Phe Val

1 5

<210> 160

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 160

Arg Gly Asp Phe Val

1 5

<210> 161

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 161

Arg Gly Asp Phe Lys

1 5

<210> 162

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 162

Arg Gly Asp Phe Cys

1 5

<210> 163

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 163

Arg Ala Asp Phe Cys

1 5

<210> 164

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 164

Arg Ala Asp Phe Lys

1 5

<210> 165

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 165

Arg Gly Asp Phe Glu

1 5

<210> 166

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 166

Arg Ala Asp Phe Glu

1 5

<210> 167

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400>

> 167

Arg Gly Asp Ser Lys

1 5

<210> 168

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 168

Arg Ala Asp Ser Lys

1 5

<210> 169

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 169

Arg Gly Asp Ser

1

<210> 170

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 170

Arg Gly Asp Tyr Cys

1 5

<210> 171

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 171

Arg Ala Asp Tyr Cys

1 5

<210> 172

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 172

Arg Gly Asp Tyr Glu

1 5

<210> 173

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 173

Arg Gly Asp Tyr Lys

1 5

<210> 174

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400>

> 174

Arg Ala Asp Tyr Lys

1 5

<210> 175

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 175

His Glu Arg Gly Asp Tyr Lys Arg Gly Asp Tyr Lys

1 5 10

<210> 176

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 176

Arg Gly Asn Asp Phe Val

1 5

<210> 177

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 177

Arg Gly Asp Asn Phe Val

1 5

<210> 178

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 178

Arg Gly Asp Phe Asn Val

1 5