(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0005189
(43) 공개일자 2023년01월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 16/10 (2006.01) *C07K 16/32* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6803 (2017.08)
A61K 47/6849 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2022-7037526
(22) 출원일자(국제) 2021년04월02일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년10월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/025556
(87) 국제공개번호 WO 2021/202984
국제공개일자 2021년10월07일
(30) 우선권주장
63/004,108 2020년04월02일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
메르사나 테라퓨틱스, 인코포레이티드
미국 매사추세츠 캠브리지 메모리얼 드라이브 840 (우:02139)
(72) 발명자
듀발 제레미 알
미국 01880 매사추세츠주 웨이크필드 파온 블러바드 27
벤틀리 키이쓰 더블유
미국 02149 매사추세츠주 에버릿 찰턴 스트리트 25 아파트먼트 208
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김태홍

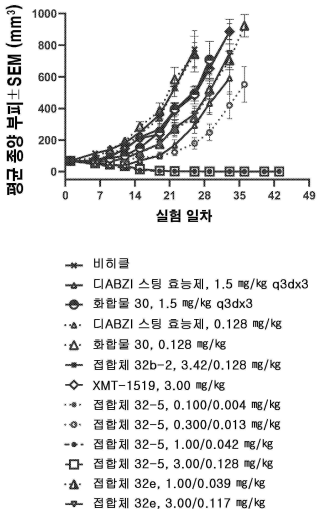
전체 청구항 수 : 총 46 항

(54) 발명의 명칭 **스팅 효능제를 포함하는 항체 약물 접합체**

(57) 요 약

본 개시내용은 인터페론 유전자의 자극제(스팅)를 포함하는 스캐폴드 및 항체-약물 접합체(ADC)를 제공한다. 본 개시내용은 또한 예를 들면 암의 치료와 같은 치료에서 ADC의 용도를 제공한다.

대 표 도 - 도20



(52) CPC특허분류
A61K 47/6855 (2017.08)
A61K 47/6889 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/1027 (2013.01)
C07K 16/32 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/71 (2013.01)

(72) 발명자
부할리드 라그히다 에이
미국 02155 매사추세츠주 메드퍼드 리버스 에지 드라이브 150 아파트먼트 390
세틴바스 나니예
미국 02138 매사추세츠주 캠브리지 서드 스트리트 249 아파트먼트 404
다멜린 마크 아이
미국 02494 매사추세츠주 니덤 렉싱턴 애비뉴 42
켈러허 유진 더블유
미국 02482 매사추세츠주 웰슬리 서니사이드 애비뉴 20
로윈저 티모시 비
미국 01741 매사추세츠주 칼리즐 스쿨 스트리트 352
토마스 조슈아 디
미국 01760 매사추세츠주 나틱 바콘 스트리트 83
토더 도린
미국 02138 매사추세츠주 캠브리지 캠브리지 스트리트 1699 아파트먼트 32
쉬 링
미국 02446 매사추세츠주 브루클린 스틸 스트리트 6 유닛 1
양 리핑
미국 02476 매사추세츠주 알링턴 윌버 애비뉴 53

(30) 우선권주장
63/040,755 2020년06월18일 미국(US)
63/111,820 2020년11월10일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (I)의 항체-약물 접합체(ADC) 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

$$PBRM\text{-}[A^{1}\text{-}(L^{C})_{0\text{ 또는 }1}\text{-}D]_{d15} \quad (I)$$

상기 식에서,

PBRM은 단백질계 인지 분자를 나타내며;

L^{C}는 존재할 경우 링커 단위이며;

A^{1}은 PBRM을 L^{C}가 존재할 경우 L^{C}에 또는 L^{C}가 존재하지 않을 경우 D에 연결하는 2가 링커 모이어티이며;

D는 스팅(STING) 효능제 약물 모이어티이며;

d_{15}는 약 1 내지 약 20의 정수이다.

청구항 2

하기 화학식 (II)를 갖는, PBRM과 접합하기에 유용한 스캐폴드 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

$$A^{1'}\text{-}(L^{C})_{0\text{ 또는 }1}\text{-}D \quad (II)$$

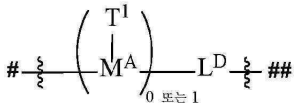
상기 식에서,

L^{C}는 존재할 경우 링커 단위이며;

$A^{1'}$는 PBRM의 작용기와 공유 결합을 형성할 수 있는 작용기를 포함하는 1가 링커 모이어티이며;

D는 스팅 효능제 약물 모이어티이다.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 각각의 L^{C}가 존재할 경우 독립적으로  이며, 여기서

#는 A^{1}로의 부착을 나타내며, ##는 D로의 부착을 나타내며;

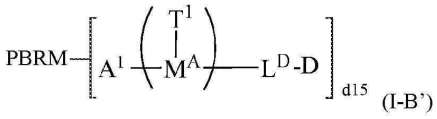
M^{A}는 존재할 경우 2종 이상의 아미노산을 포함하는 펩티드 모이어티이며;

T^{1}은 존재할 경우 친수성 기이며;

L^{D}는 M^{A}가 존재할 경우 D를 M^{A}에 연결하거나 또는 M^{A}가 존재하지 않을 경우 D를 A^{1}에 연결하는 2가 링커 모이어티인 접합체 또는 스캐폴드.

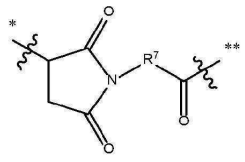
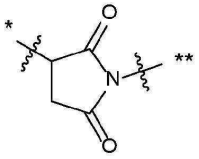
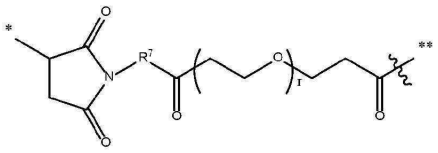
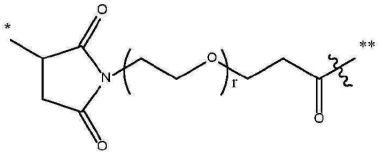
청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식 (I-B')의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:



(I-B')

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 A^1이 독립적으로  ,  ,  또는  이며; 여기서

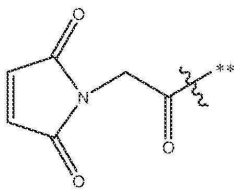
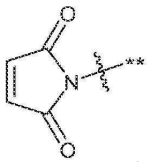
R^7이 -O-, -NR^8, -(C_1-C_{10} 알킬)-, -(C_1-C_{10} 알케닐)-, -(C_1-C_{10} 알키닐)-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-, -아릴-, -O-(C_1-C_8 알킬)-, -O-(C_1-C_{10} 알케닐)-, -O-(C_1-C_{10} 알키닐)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-(C_3-C_8 시클로알킬)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-아릴-, -(C_2-C_{10} 알케닐)-(C_3-C_8 시클로알킬)-, -(C_2-C_{10} 알케닐)-아릴-, -(C_2-C_{10} 알키닐)-(C_3-C_8 시클로알킬)-, -(C_2-C_{10} 알키닐)-아릴-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-(C_1-C_{10} 알킬)-, -아릴-(C_1-C_{10} 알킬)-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-(C_2-C_{10} 알케닐)-, -아릴-(C_2-C_{10} 알케닐)-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-(C_2-C_{10} 알키닐)-, -아릴-(C_2-C_{10} 알키닐)-, -(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(C_2-C_{10} 알케닐)-(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(C_2-C_{10} 알케닐)-(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(C_2-C_{10} 알키닐)-(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(C_2-C_{10} 알키닐)-(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-(C_1-C_{10} 알킬)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-(C_1-C_{10} 알킬)-, -(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-(C_2-C_{10} 알케닐)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-(C_2-C_{10} 알케닐)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-(C_2-C_{10} 알키닐)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-(C_2-C_{10} 알키닐)-, -O-C(O)-(CH_2CH_2O)$_r$-(CH_2)$_2$-, -(CH_2CH_2O)$_r$- 또는 -(CH_2CH_2O)$_r$-(CH_2)$_2$-이며, 여기서 알킬, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 아릴, 헤테로시클로알킬 또는 헤테로아릴은 임의로 치환되며;

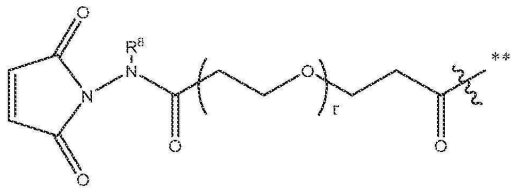
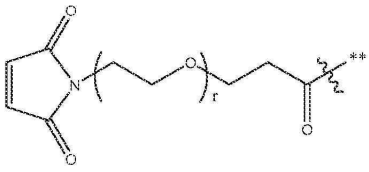
R^8이 H, 히드록시 또는 C_{1-4} 알킬이며;

r이 약 1 내지 약 12 범위 내의 정수이며;

*는 PBRM으로의 부착을 나타내며, **는 L^C가 존재할 경우 L^C로의 부착 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 D로의 부착을 나타내는 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 $A^{1'}$가 독립적으로  ,  ,

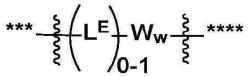

또는  이며; 여기서

r이 약 4 내지 약 6 범위 내의 정수이며;

**는 L^C가 존재할 경우 L^C로의 부착 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 D로의 부착을 나타내는 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

각각의 L^D가 독립적으로  이며, 여기서

L^E가 존재할 경우 -NH-[$(CH_2CH_2O)_p$-$(CH_2)_{0-2}$]$_q$-C(O)-, -NH-(C_1-C_6 알킬)-O-C(O)- 또는 -NH-[$(CH_2CH_2O)_p$-$(CH_2)_{0-2}$]$_q$-C(O)-NH-(C_1-C_6 알킬)-O-C(O)-이며, 여기서 p가 약 1 내지 약 20 범위 내의 정수이며, q가 약 1 내지 약 10 범위 내의 정수이며;

각각의 W가 독립적으로 천연 또는 비천연 아미노산 단위이며;

w가 약 0 내지 약 12 범위 내의 정수이며;

***는 M^A가 존재할 경우 M^A로의 부착 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1로의 부착을 나타내며;

****는 D로의 부착을 나타내는 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 8

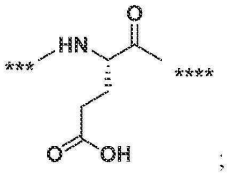
제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, w가 0, 1, 2, 3, 4 또는 5인 접합체 또는 스캐폴드.

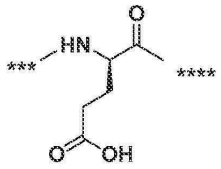
청구항 9

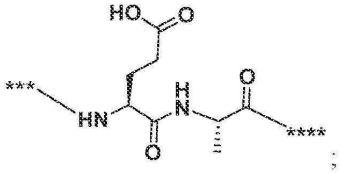
제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, L^E가 존재할 경우 -NH-$(CH_2CH_2O)_2$-$(CH_2)_2$-C(O)-, -NH-CH_2-CH(CH_3)-O-C(O)- 또는 -NH-[$(CH_2CH_2O)_{1-4}$-$(CH_2)_2$-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-O-C(O)-인 접합체 또는 스캐폴드.

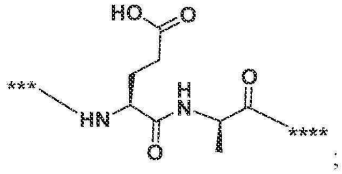
청구항 10

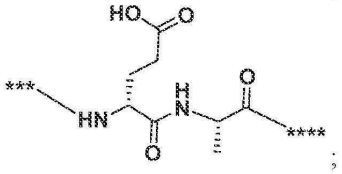
제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L^D가 존재할 경우 독립적으로

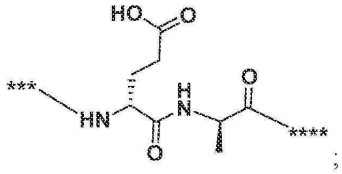
(1)  ;

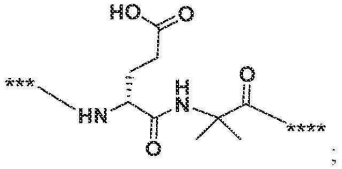
(2)  ;

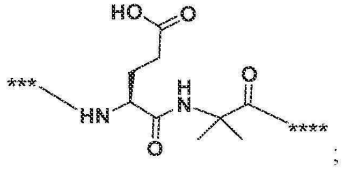
(3)  ;

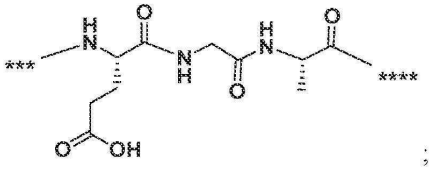
(4)  ;

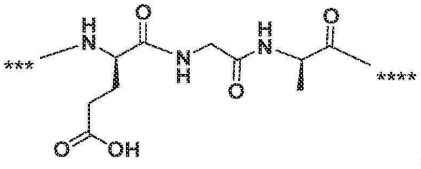
(5)  ;

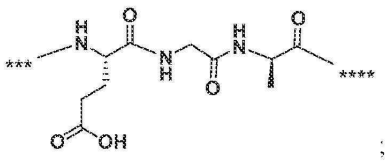
(6)  ;

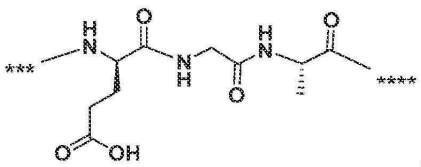
(7)  ;

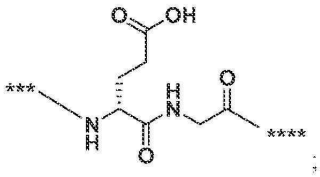
(8)  ;

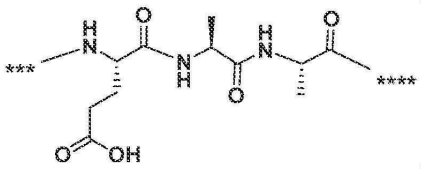
(9)  ;

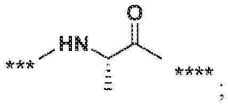
(10)  ;

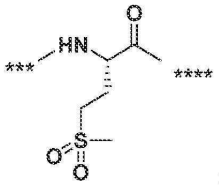
(11)  ;

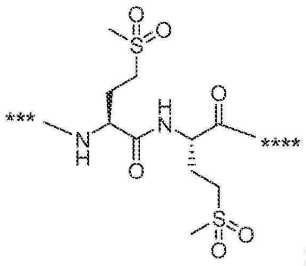
(12)  ;

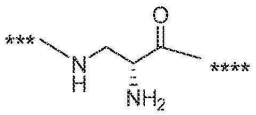
(13)  ;

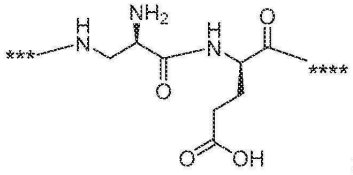
(14)  ;

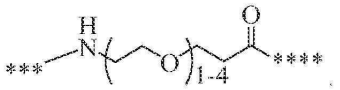
(15)  ;

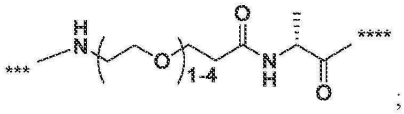
(16)  ;

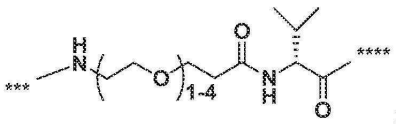
(17)  ;

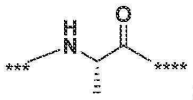
(18)  ;

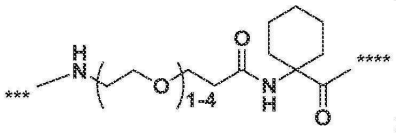
(19)  ;

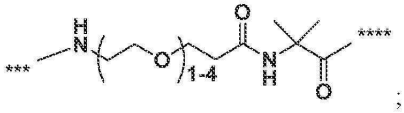
(20)  ;

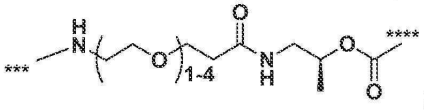
(21)  ;

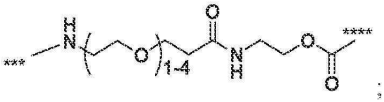
(22)  ;

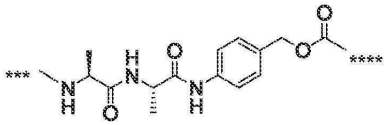
(23)  ;

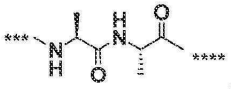
(24)  ;

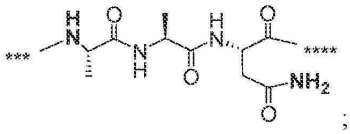
(25)  ;

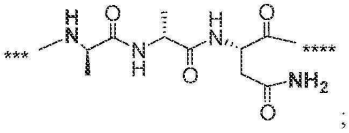
(26)  ;

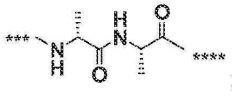
(27)  ;

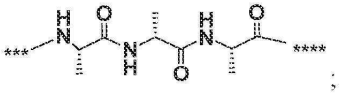
(28)  ;

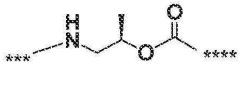
(29)  ;

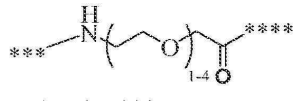
(30)  ;

(31)  ;

(32)  ;

(33)  ;

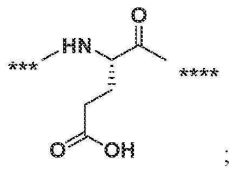
(34)  ; 또는

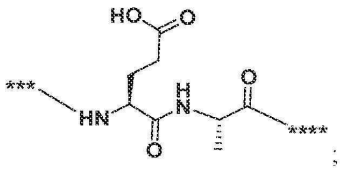
(35)  이며,

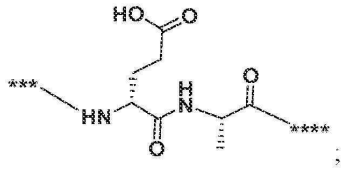
여기서 ***는 M^A가 존재할 경우 M^A로의 부착 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1로의 부착을 나타내며; ****는 D로의 부착을 나타내는 접합체 또는 스캐폴드.

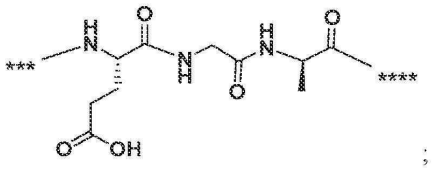
청구항 11

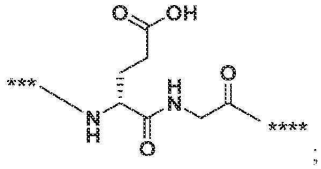
제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, L^D가

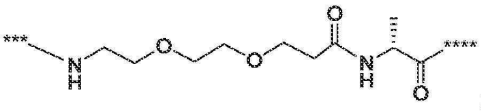
(1)  ;

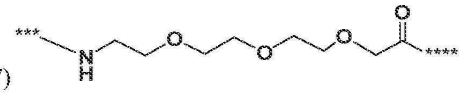
(2)  ;

(3)  ;

(4)  ;

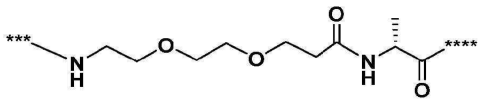
(5)  ;

(6)  ; 또는

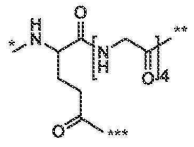
(7)  이며,

여기서 ***는 M^A가 존재할 경우 M^A로의 부착 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1로의 부착을 나타내며; ****는 D로의 부착을 나타내는 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, L^D가  이며, 여기서 ***는 M^A가 존재할 경우 M^A로의 부착 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1로의 부착을 나타내며; ****는 D로의 부착을 나타내는 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, M^A가  이며, 여기서 *는 A^1로의 부착을 나타내며; **는 T^1로의 부착을 나타내며; ***는 L^D로의 부착을 나타내는 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

T^1이 -OH 또는  이며, 여기서 n_1이 0 내지 약 6의 정수이며;

각각의 R_{58}이 독립적으로 -H 또는 C_{1-8} 알킬이며;

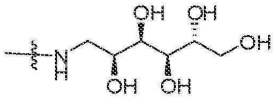
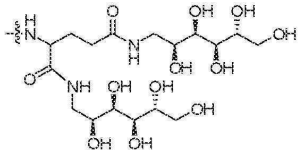
R_{60}이 결합, C_{1-6} 알킬 링커 또는 $-CHR_{59}-$이며, 여기서 R_{59}가 -H, C_{1-8} 알킬, 시클로알킬 또는 아릴알킬이며;

R_{61}이 CH_2OR_{62}, $COOR_{62}$, $-(CH_2)_{n2}COOR_{62}$ 또는 하나 이상의 히드록실로 치환된 헤테로시클로알킬이며;

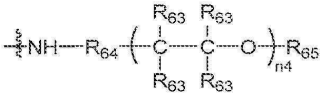
R_{62}가 -H 또는 C_{1-8} 알킬이며;

n_2가 1 내지 약 5의 정수인 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, T^1이  또는  인 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, T^1이  이며, 여기서

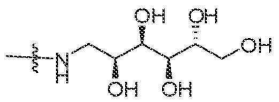
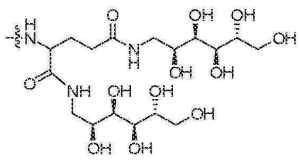
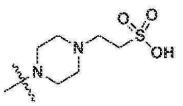
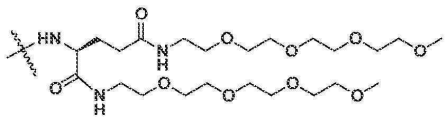
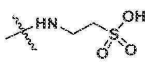
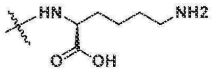
n_4가 1 내지 약 25의 정수이며;

각각의 R_{63}이 독립적으로 수소 또는 C_{1-8} 알킬이며;

R_{64}가 결합 또는 C_{1-8} 알킬 링커이며;

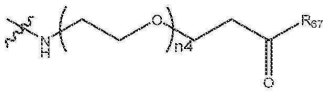
R_{65}가 H, C_{1-8} 알킬, $-(CH_2)_{n2}COOR_{62}$ 또는 $-(CH_2)_{n2}COR_{66}$이며;

R_{62}가 H 또는 C_{1-8} 알킬이며;

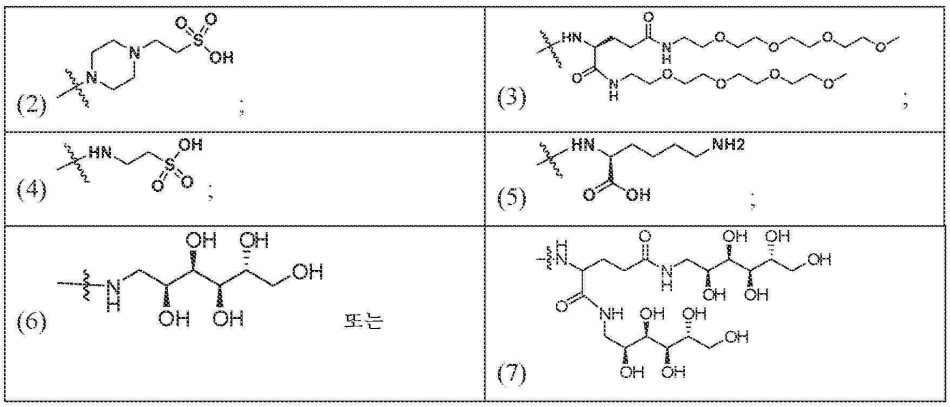
R_{66}이 H,  ,  ,  ,  ,  또는  이며;

n_2가 1 내지 약 5의 정수인 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, T^1이  이며, 여기서

R_{67}이 (1) -OH;



이며, n_4가 약 2 내지 약 20, 약 4 내지 약 16, 약 6 내지 약 12, 약 8 내지 약 12의 정수인 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, n_4가 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12인 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 19

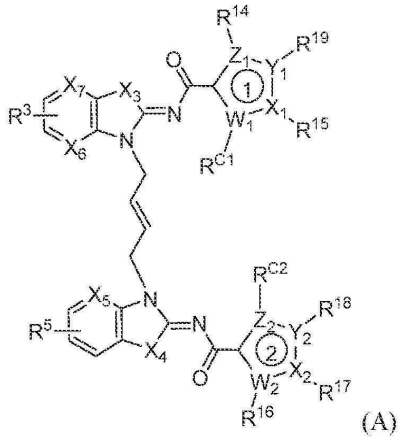
제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, d_{13}이 약 2 내지 약 8의 정수인 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, d_{13}이 6 또는 8인 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 D가 독립적으로 하기 화학식 (A)를 갖는 접합체 또는 스캐폴드 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체:



상기 식에서,

Y_1, Y_2, Z_1 및 Z_2는 각각 독립적으로 O, S, C 또는 N이며;

X_1, X_2, W_1 및 W_2는 각각 독립적으로 C 또는 N이며;

X_3 및 X_4는 각각 독립적으로 S 또는 NR^f이며;

X_5는 N 또는 CR^{A2}이며;

X_6은 N 또는 CR^{A1}이며;

R^3 및 R^5는 각각 독립적으로 $-CON(R^d)(R^f)$, $-CH_2N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)CO(R^f)$, $-CH_2N(R^d)CO(R^f)$이거나 또는 R^3 및 R^5 중 하나는 $-CON(R^d)(R^f)$, $-CH_2N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)CO(R^f)$ 또는 $-CH_2N(R^d)CO(R^f)$이며, R^3 및 R^5 중 나머지 하나는 H, -COOH 또는 $-CO_2(R^C)$이며;

R^c는 C_{1-4} 알킬이며;

R^{A2} 및 R^{A1}은 각각 독립적으로 H, 할로겐, 히드록시, 아미노, 아미노(C_{1-4} 알킬)-, 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬) 또는 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬)옥시-이며, 상기 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬) 또는 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬)옥시-의 C_{1-6} 알킬은 히드록실, C_{1-4} 알콕실, $-N(R^e)(R^f)$, $-CO_2(R^f)$, $-CON(R^e)(R^f)$ 및 -COOH를 포함하는 군으로부터 각각 독립적으로 선택된 1-4개의 치환기로 임의로 치환되며;

각각의 R^d는 독립적으로 H, 히드록시 또는 C_{1-4} 알킬이며;

R^e는 H, (C_{1-4} 알킬), $-CO(C_{1-4}$ 알킬), $-OCO(C_{1-4}$ 알킬) 및 $-CO_2(C_{1-4}$ 알킬)로부터 선택되며;

각각의 R^f는 독립적으로 H, 히드록시 또는 (C_{1-4} 알킬)이며;

R^{14} 및 R^{C2}는 각각 독립적으로 존재하지 않거나 또는 C_{1-4} 알킬이며, 여기서 C_{1-4} 알킬은 할로겐, $-OR^c$, $-NR^cR^d$, $-CO_2R^c$, $-CONR^cR^d$, $-SO_2NR^cR^d$ 및 $-OCONR^cR^d$로부터 선택된 치환기에 의하여 임의로 치환되며;

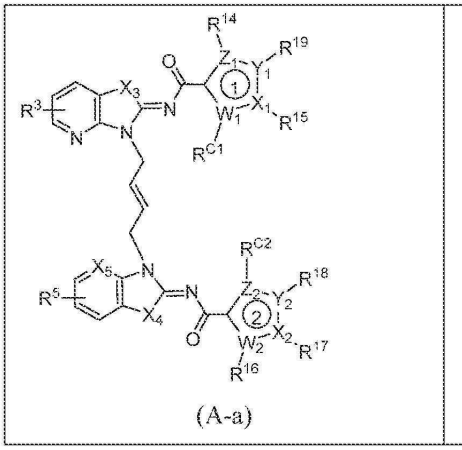
R^{16} 및 R^{C1}은 각각 독립적으로 존재하지 않거나, H 또는 C_{1-4} 알킬이며;

R^{15}, R^{17}, R^{18} 또는 R^{19}는 각각 독립적으로 존재하지 않거나, H 또는 C_{1-4} 알킬이며, 여기서 C_{1-4} 알킬은 할로겐, $-OR^c$, $-NR^cR^d$, $-CO_2R^c$, $-CONR^cR^d$, $-SO_2NR^cR^d$ 및 $-OCONR^cR^d$로부터 선택된 치환기에 의하여 임의로 치환되며;

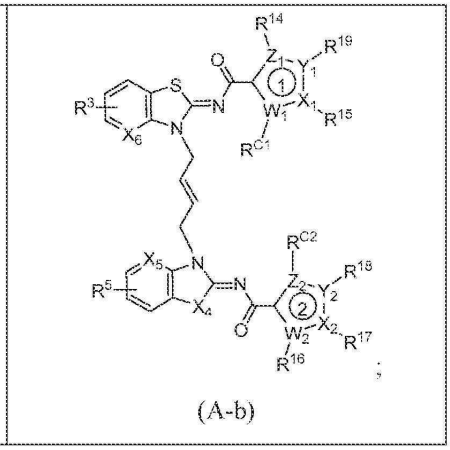
여기서 (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 하나 이상이 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 하나 이상은 L^C가 존재할 경우 L^C에 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 A^1에 R^{A2} 및/또는 R^{A1}의 하나 이상의 작용기를 통해 직접적으로 또는 간접적으로 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 하나 이상이 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 하나 이상은 L^C가 존재할 경우 L^C에 L^C가 존재하지 않을 경우 A^1에 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 하나 이상의 작용기를 통해 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다.

청구항 22

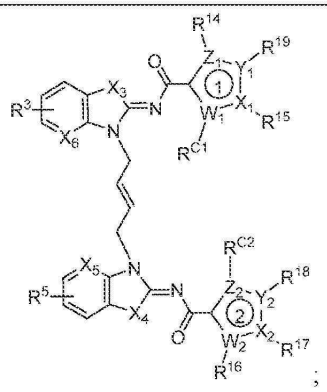
제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 D가 독립적으로 하기 화학식 (A-a), (A-b), (A-c), (A-d), (A-e), (A-f), (A-f1), (A-f2), (A-f3), (A-f4), (A-f5), (A-g), (A-g1), (A-g2), (A-g3), (A-g4), (A-g5), (A-h), (A-h1), (A-h2) 또는 (A-i)를 갖는 접합체 또는 스캐폴드 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체:



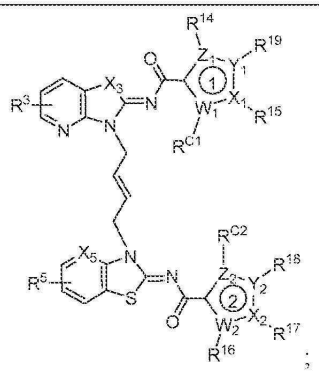
(A-a)



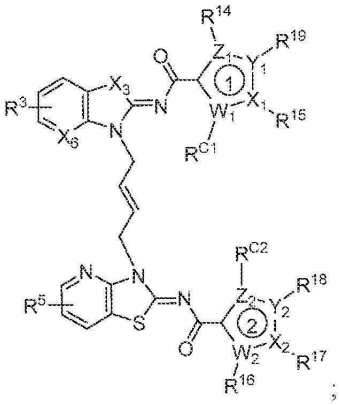
(A-b)



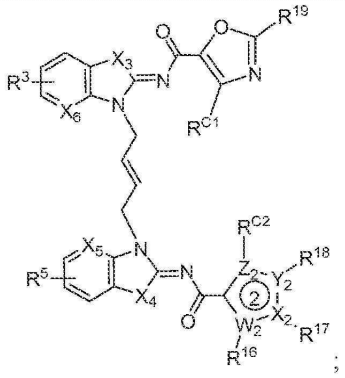
(A-c)



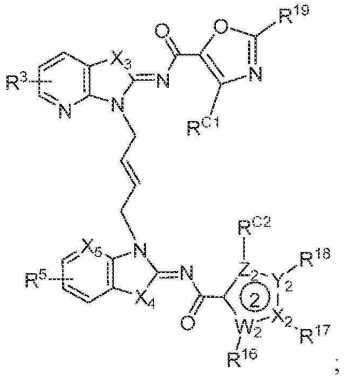
(A-d)



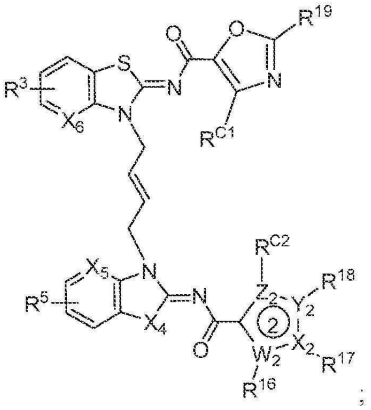
(A-e)



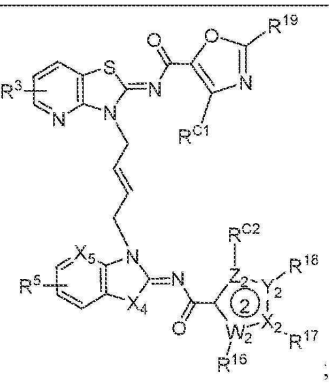
(A-f)



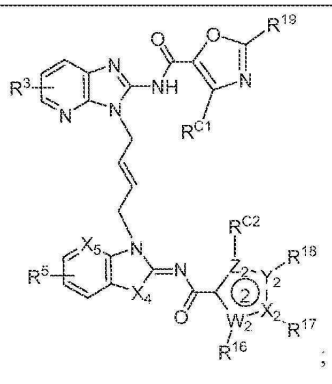
(A-f1)



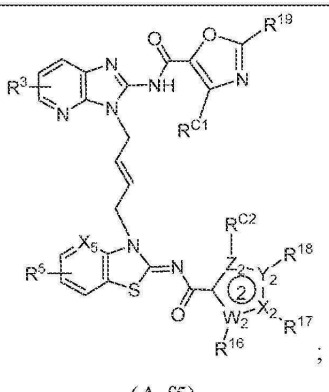
(A-f2)



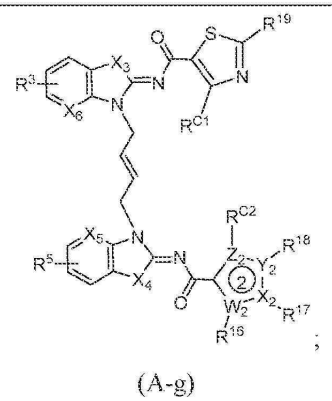
(A-f3)



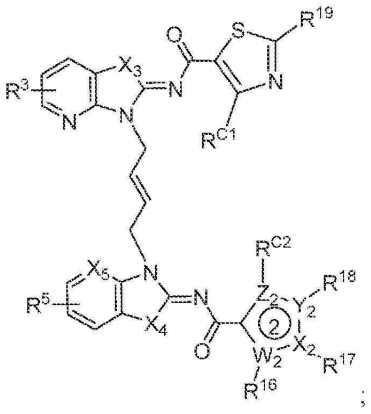
(A-f4)



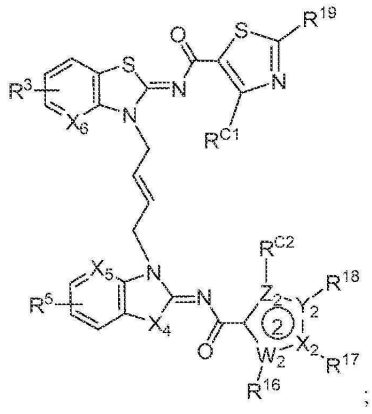
(A-f5)



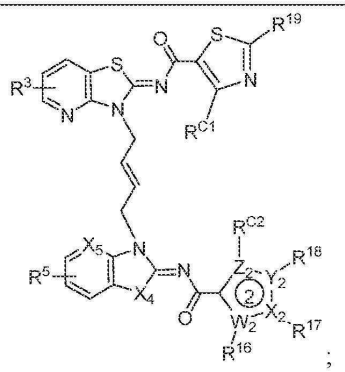
(A-g)



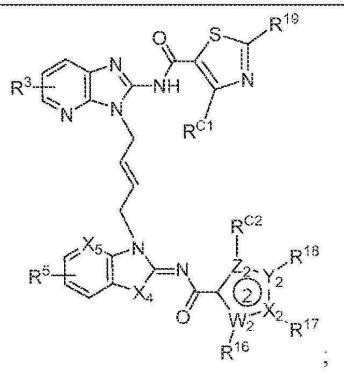
(A-g1)



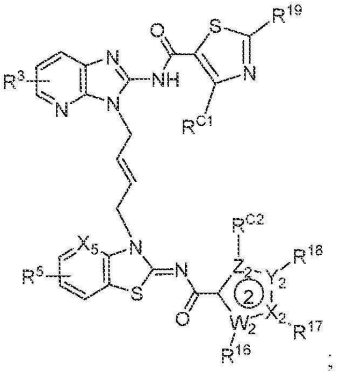
(A-g2)



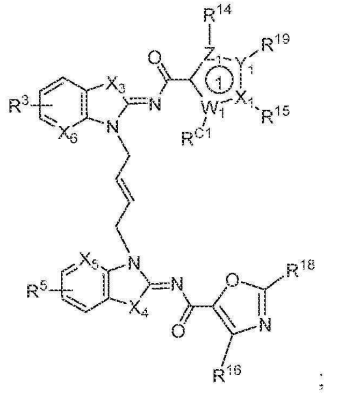
(A-g3)



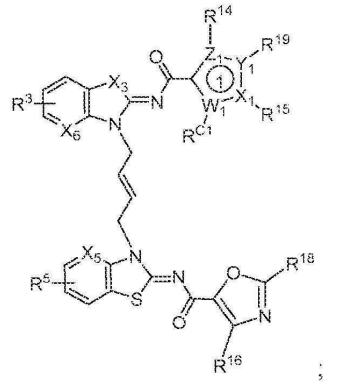
(A-g4)



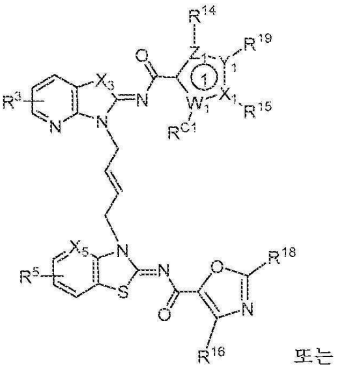
(A-g5)



(A-h)

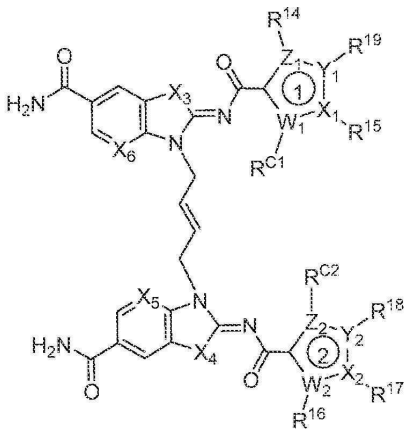


(A-h1)



또는

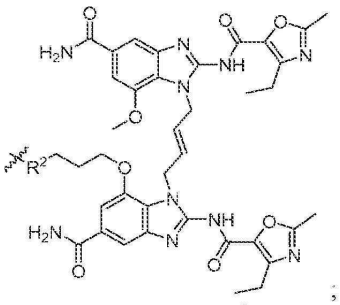
(A-h2)

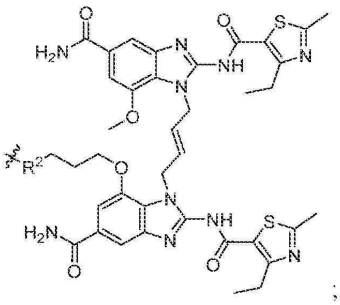


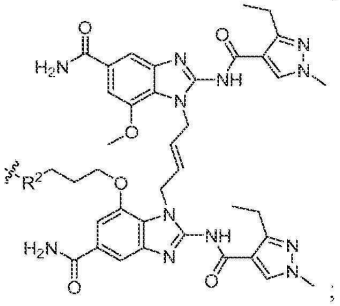
(A-i)

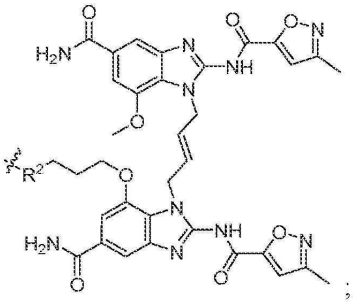
청구항 23

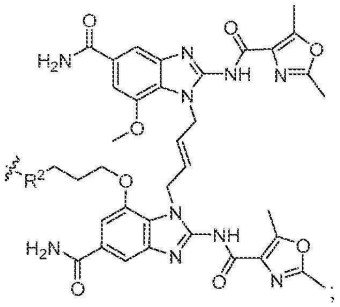
제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 D가 독립적으로

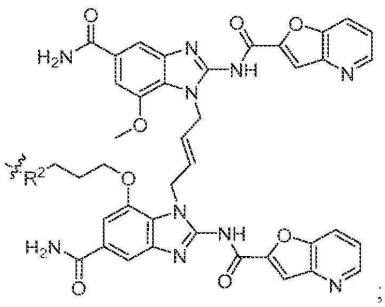

;

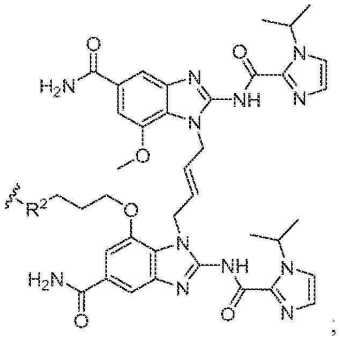

;

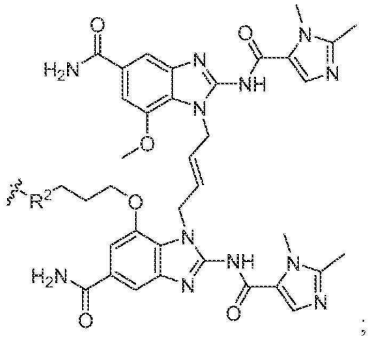

;

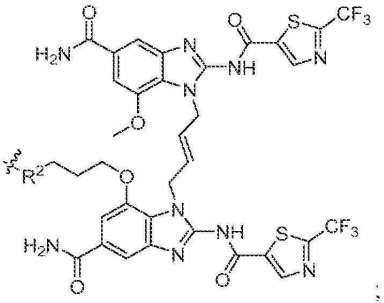

;

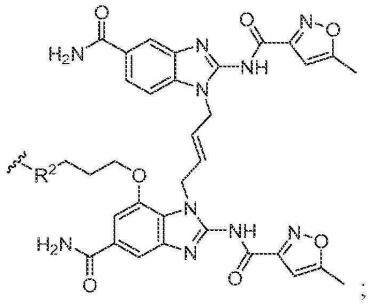

;

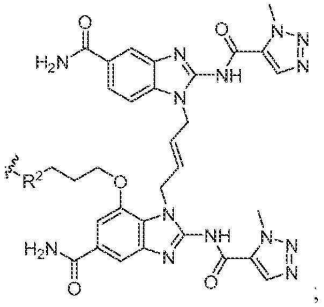

;

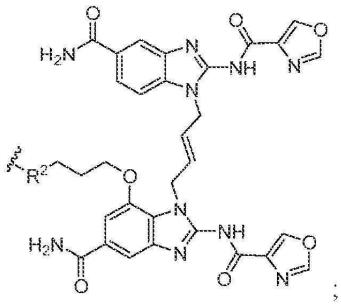

;

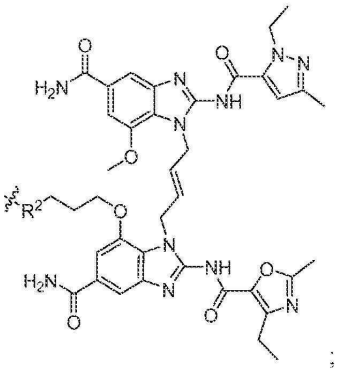

;

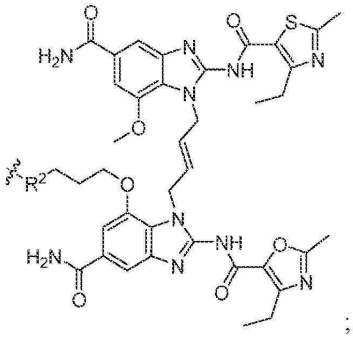

;

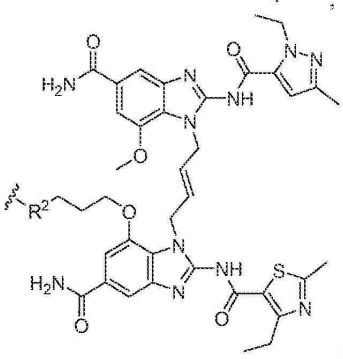

;

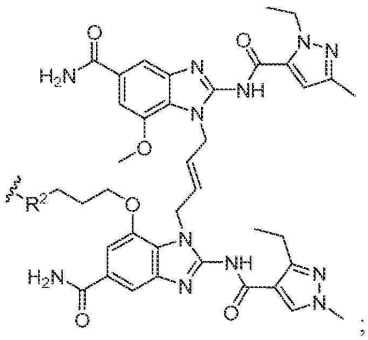

;

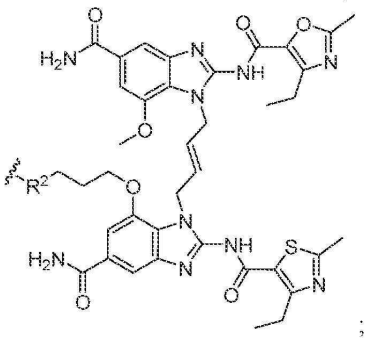

;

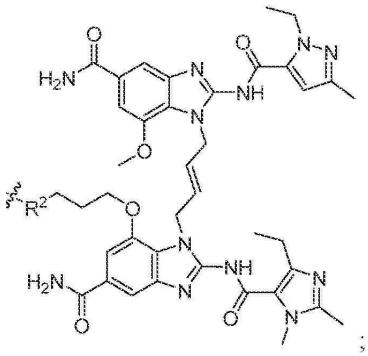

;

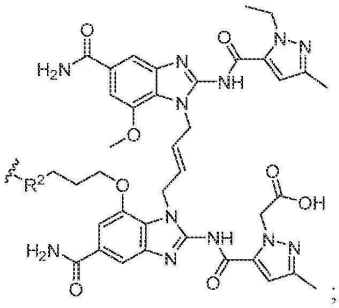

;

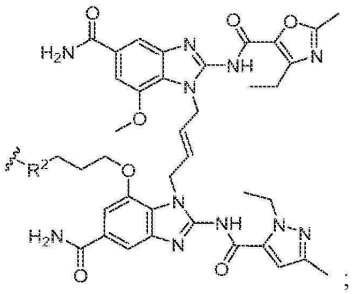

;

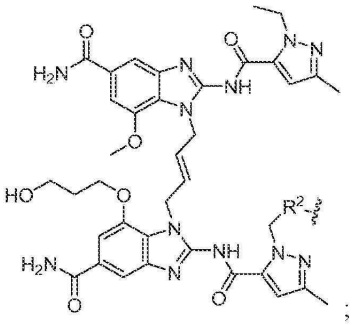

;

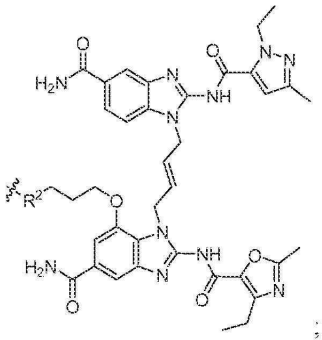

;

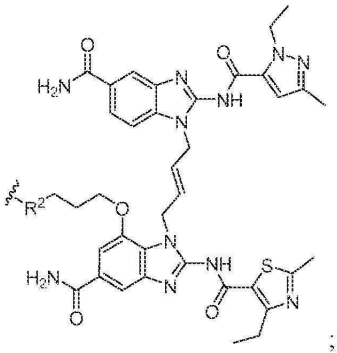

;

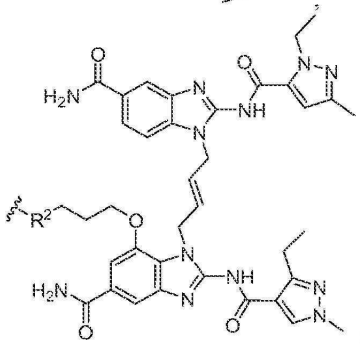

;

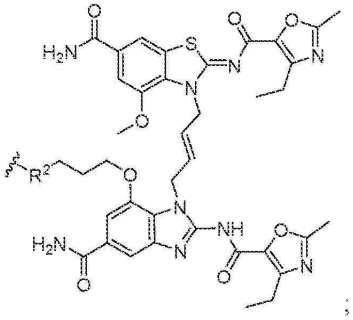

;

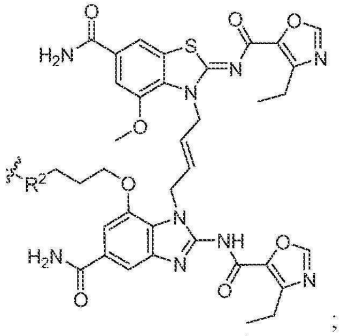

;

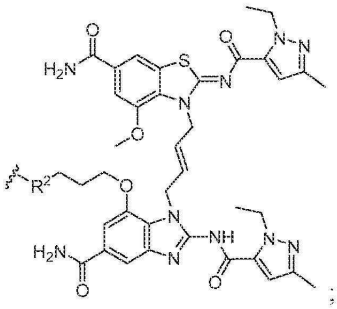

;

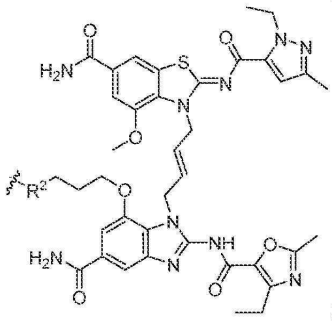

;

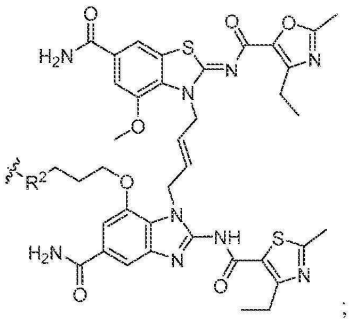

;

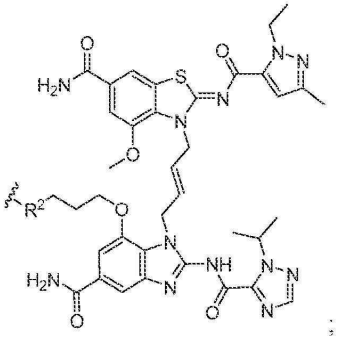

;

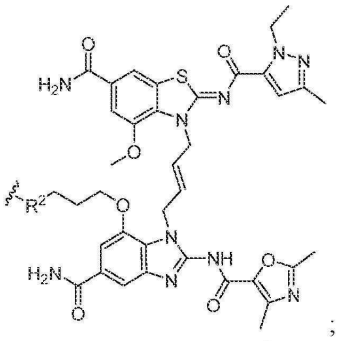

;

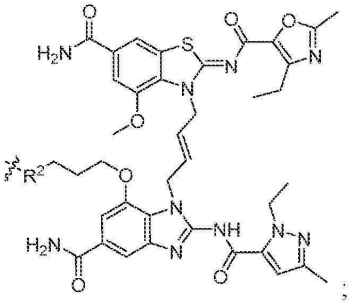

;

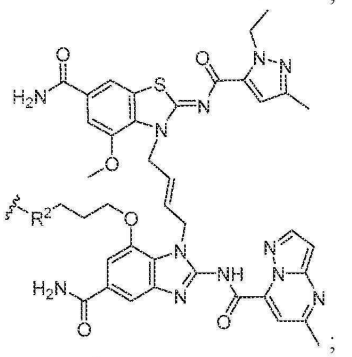

;

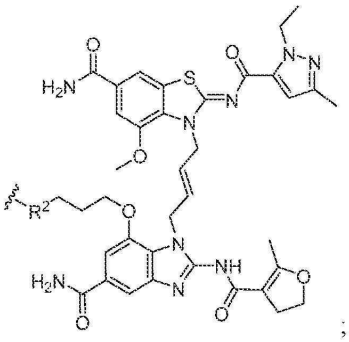

;

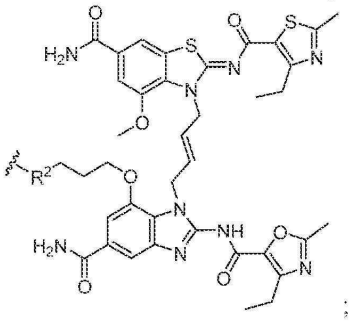

;

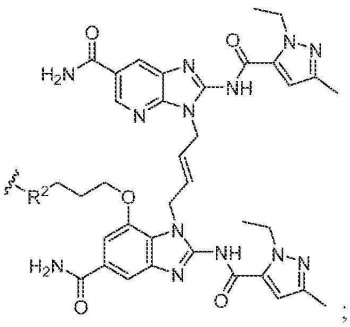

;

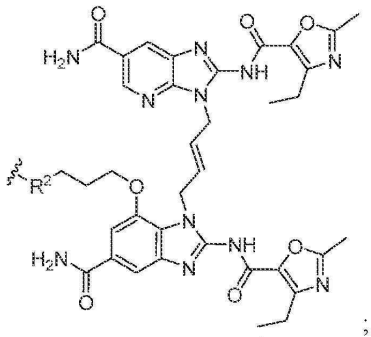

;

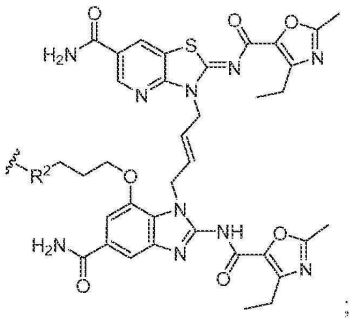

;

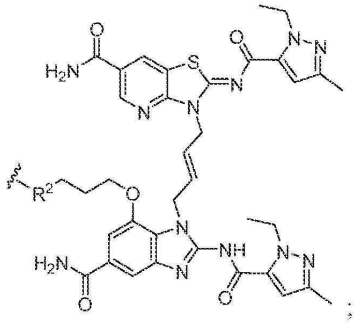

;

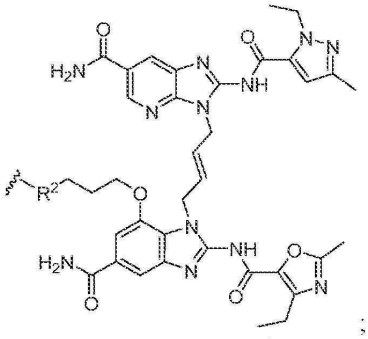

;

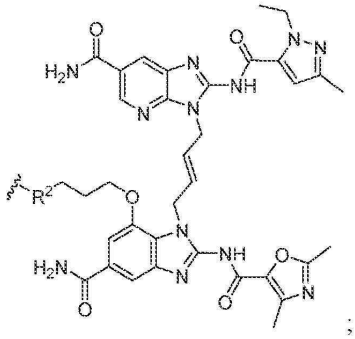

;

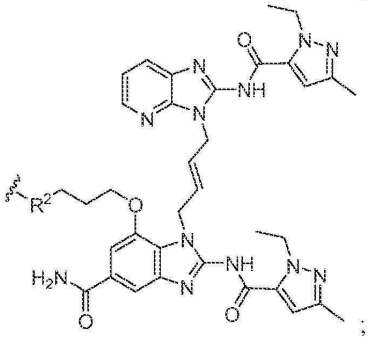

;

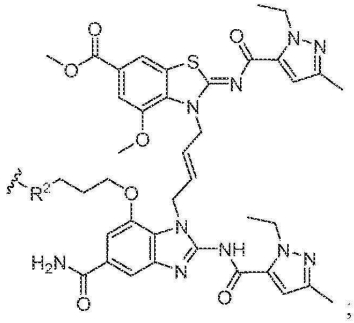

;

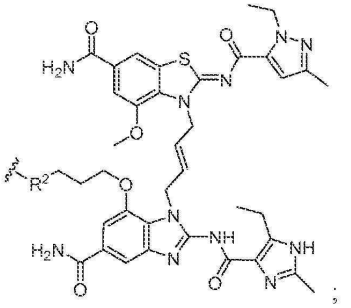

;

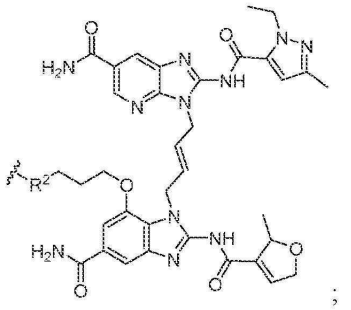

;

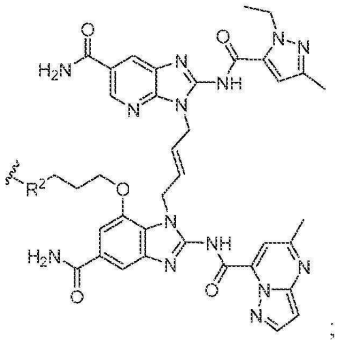

;

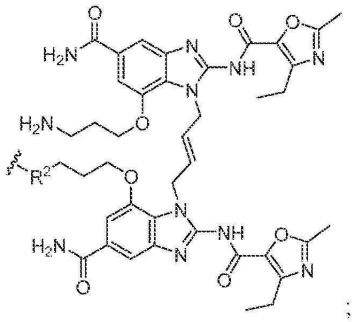

;

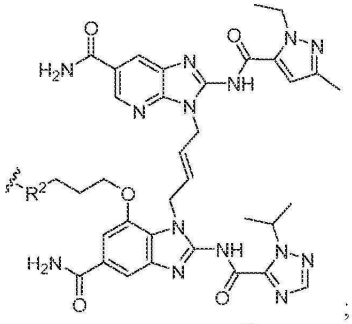

;

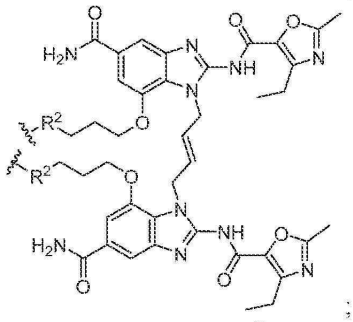

;

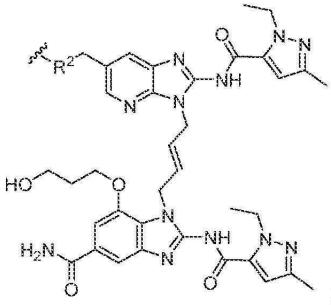

;

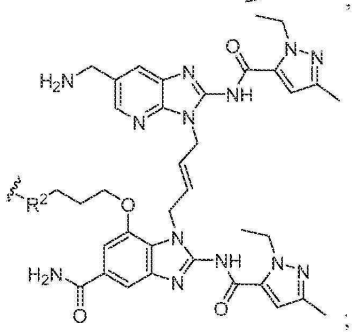

;

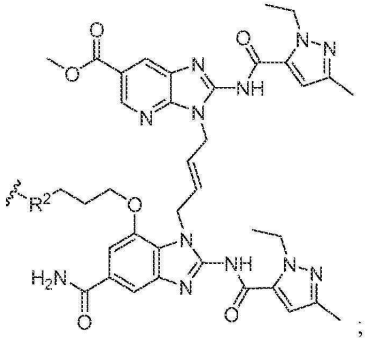

;

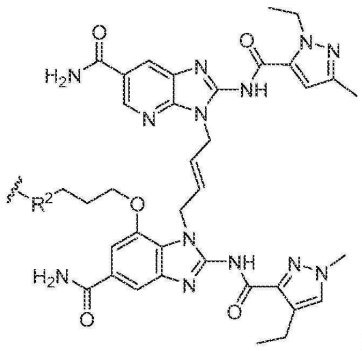

;

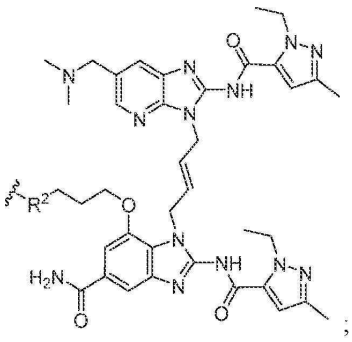

;

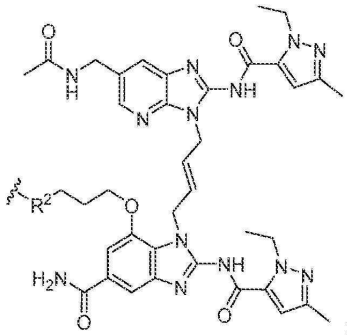

;

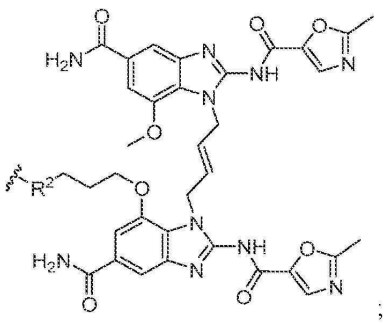

;

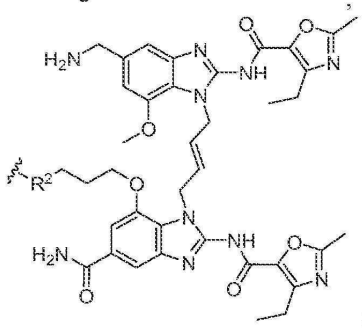

;

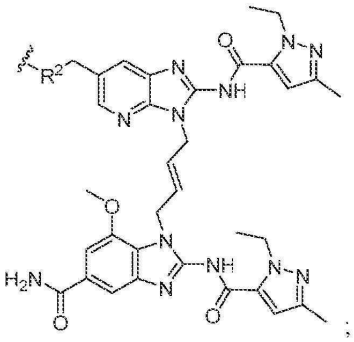

;

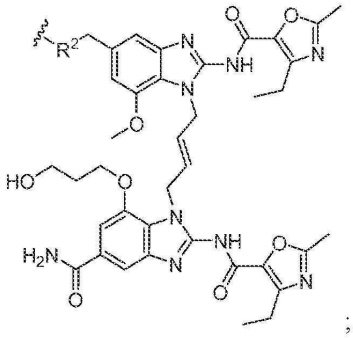

;

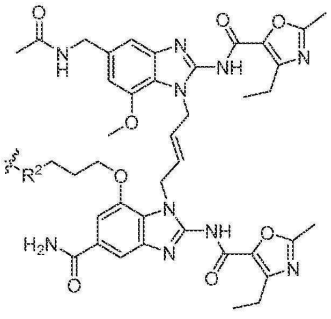

;

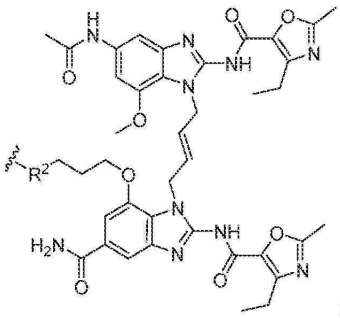

;

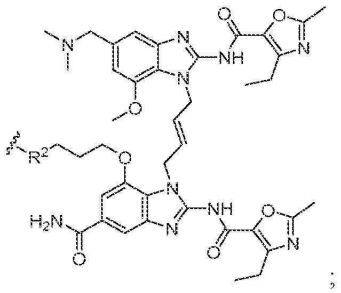

;

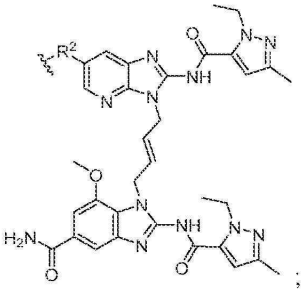

;

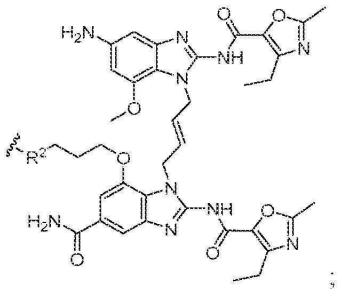

;

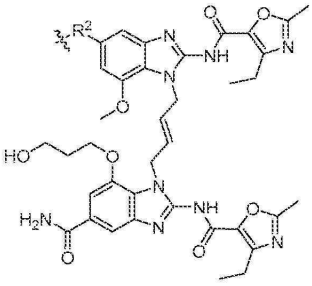

;

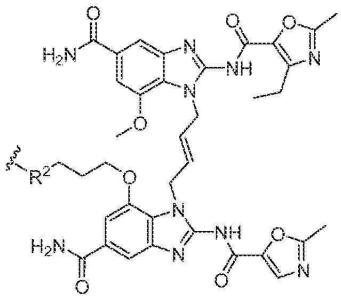

;

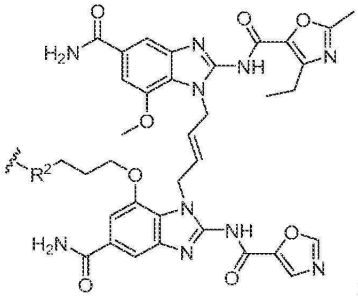

;

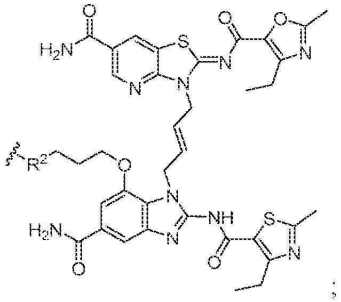

;

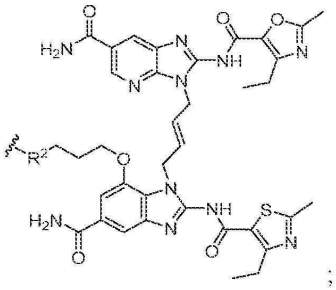

;

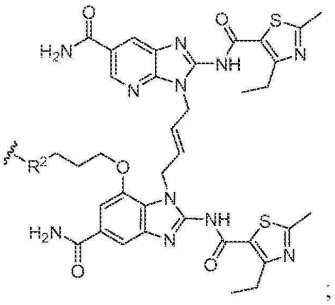

;

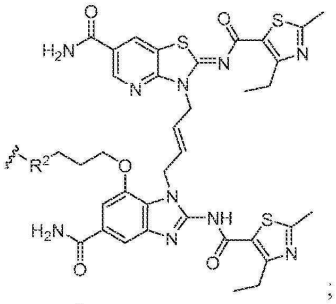

;

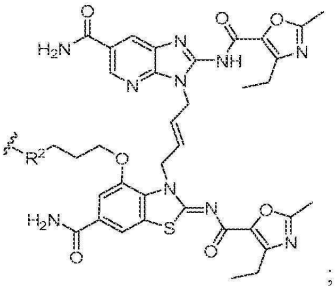

;

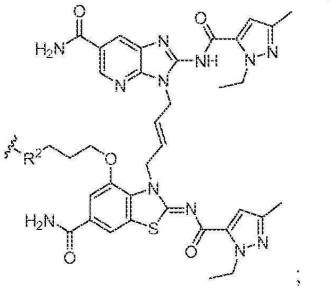

;

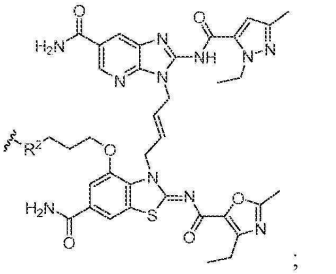

;

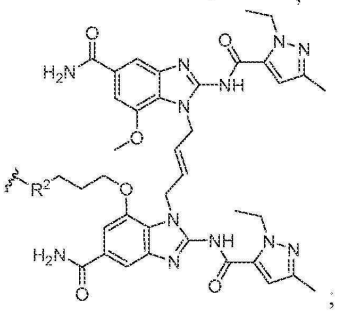

;

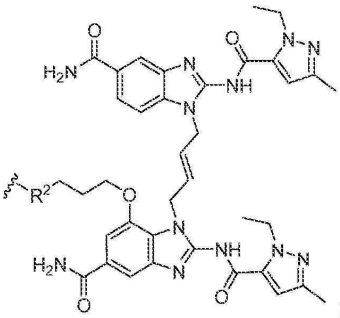

;

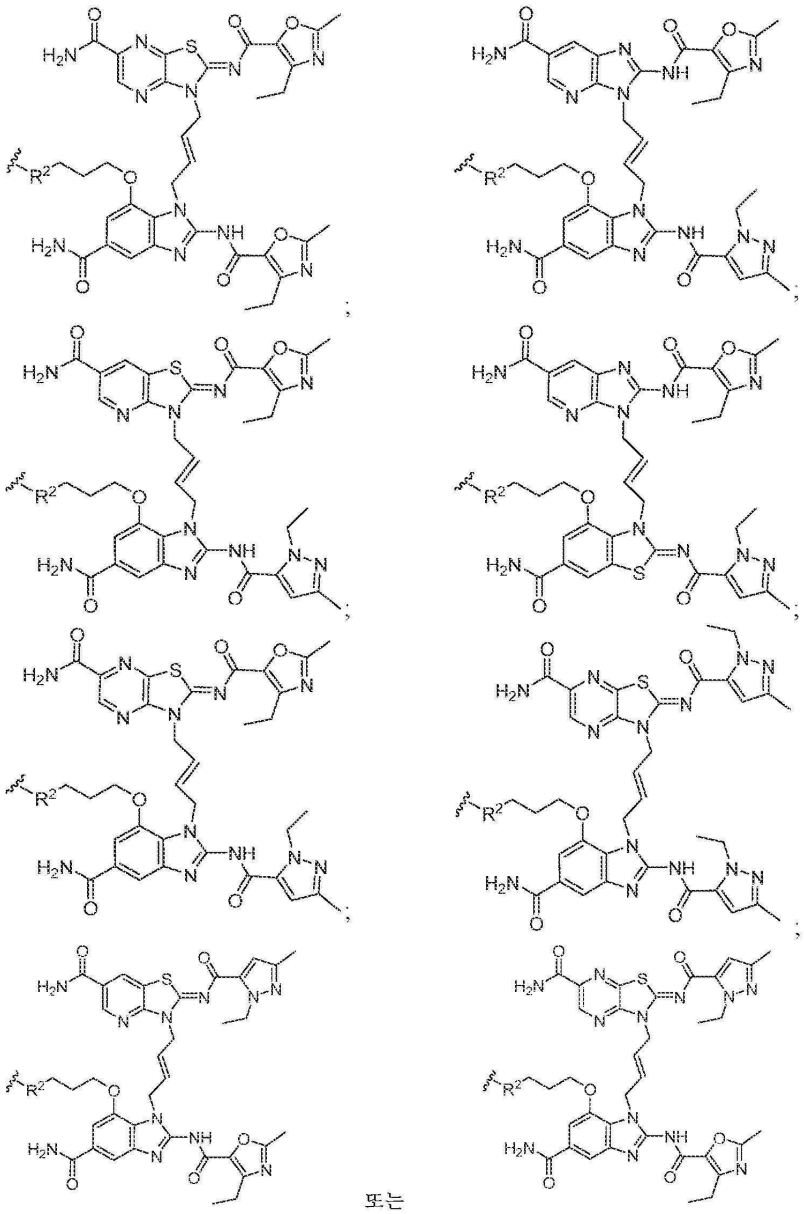

;


;


;


;


;



이며, 여기서

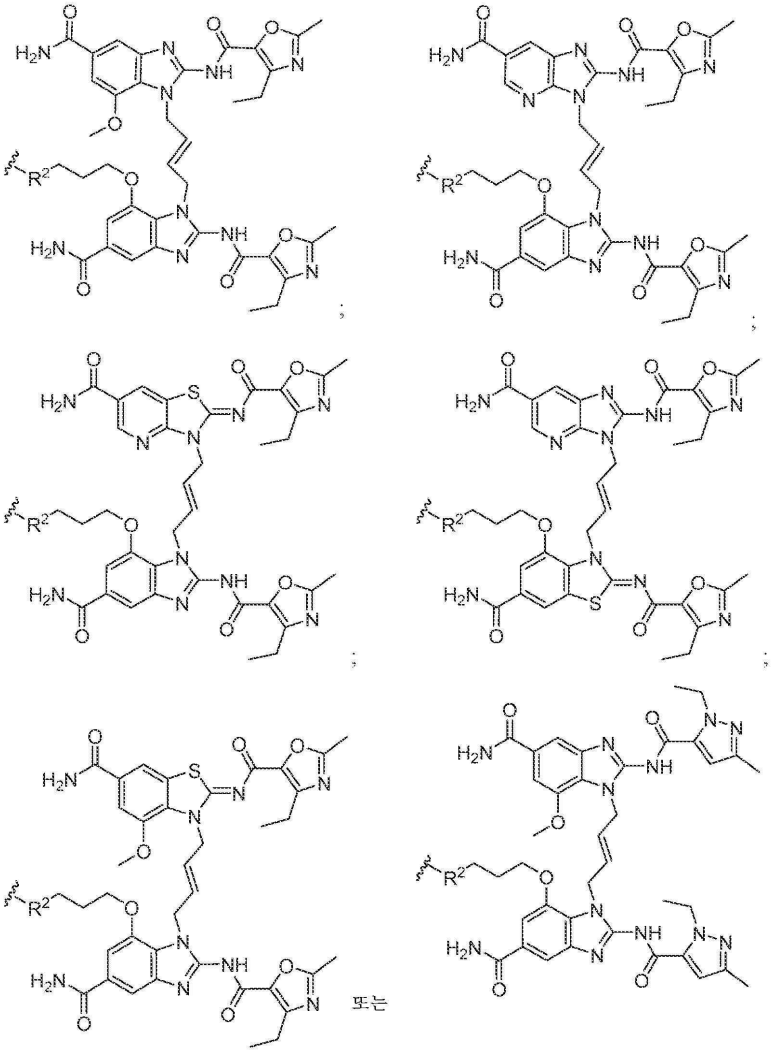
R^2는 존재하지 않거나, -O- 또는 $-NR^4-$이며;

R^4는 H 또는 C_{1-3} 알킬이며;

$\sim$는 L^C가 존재할 경우 L^C로의 부착 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 A^1로의 부착을 나타내는 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 D가 독립적으로



이며, 여기서

R^2는 존재하지 않거나, -O- 또는 $-NR^4-$이며;

R^4는 H 또는 C_{1-4} 알킬이며;

 는 L^C가 존재할 경우 L^C로의 부착 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 A^1로의 부착을 나타내는 접합체 또는 스캐폴드.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 표 A1에 기재된 스캐폴드로부터 선택되는 스캐폴드.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 표 A2에 기재된 스캐폴드로부터 선택되는 스캐폴드.

청구항 27

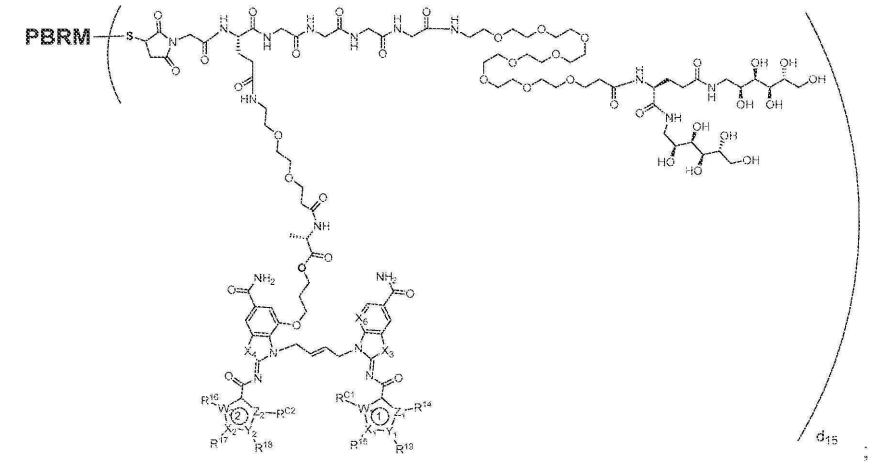
제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 표 B1에 기재된 접합체로부터 선택되는 접합체.

청구항 28

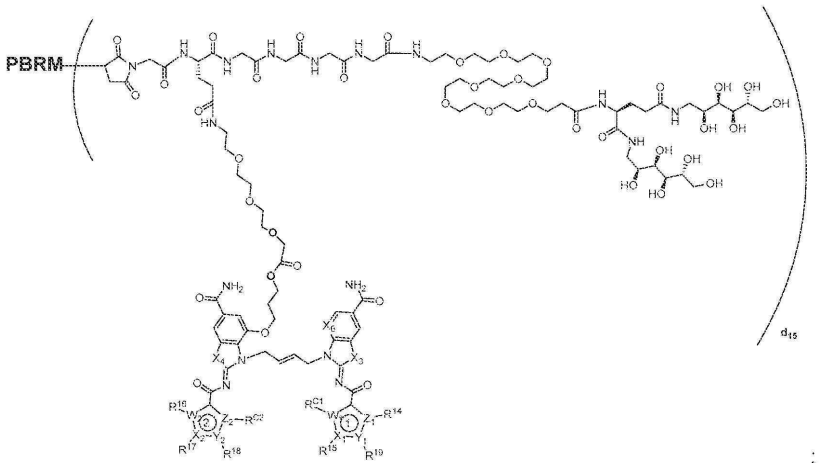
제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 표 B2에 기재된 접합체로부터 선택되는 접합체.

청구항 29

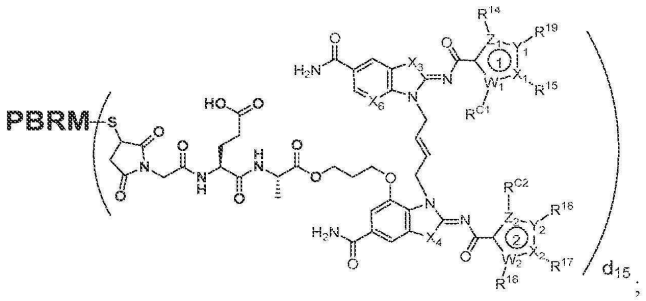
제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서,



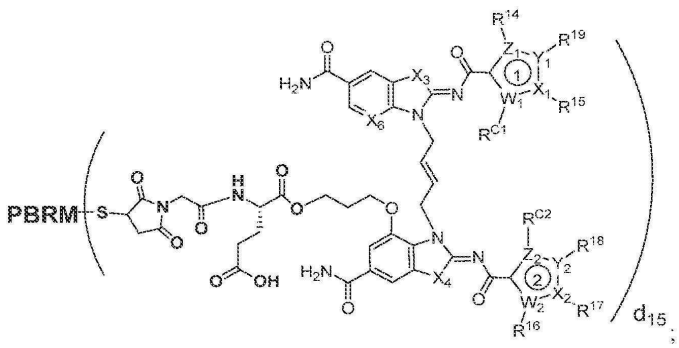
;



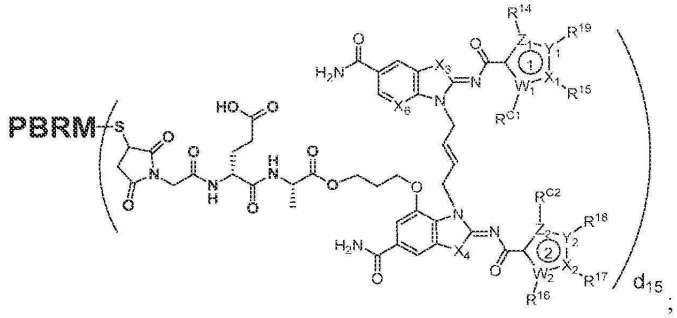
;



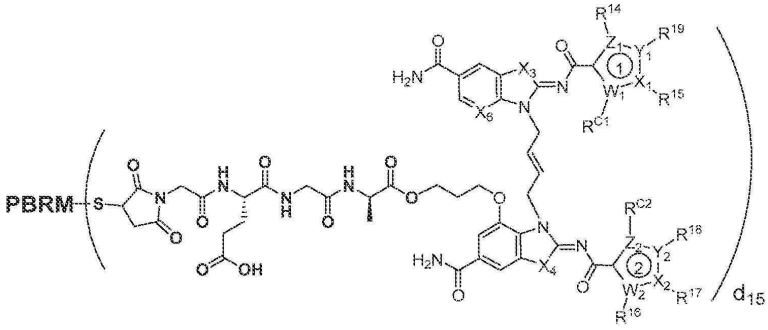
;



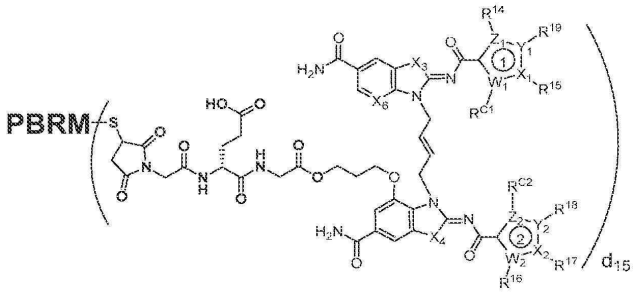
;



;



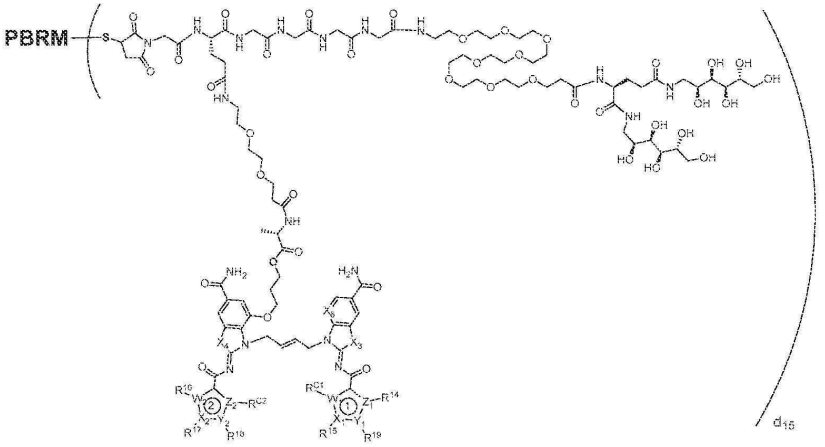
또는



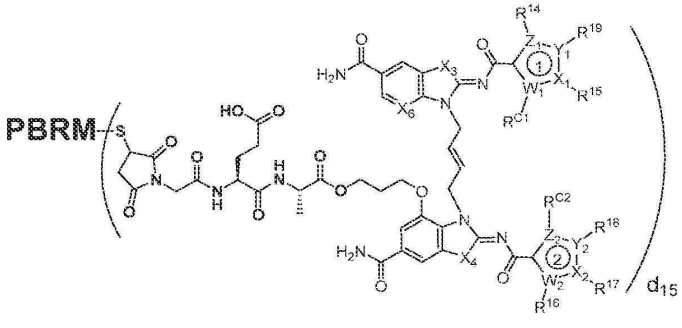
인 접합체.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서,



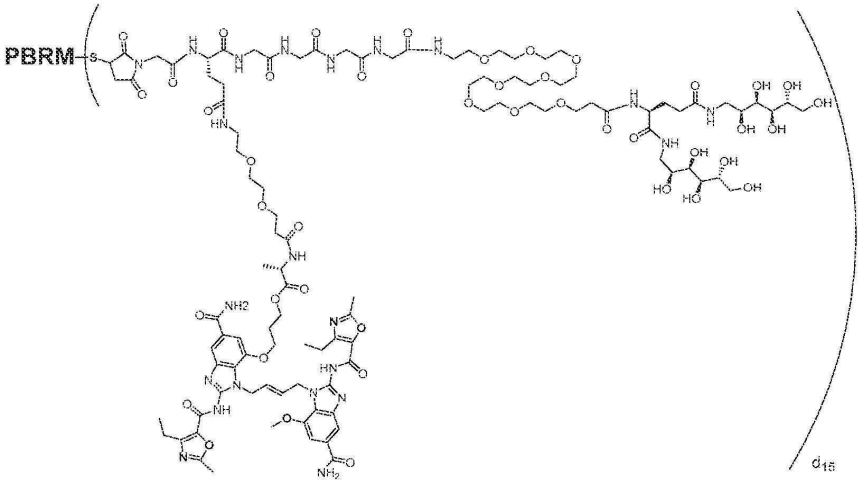
또는



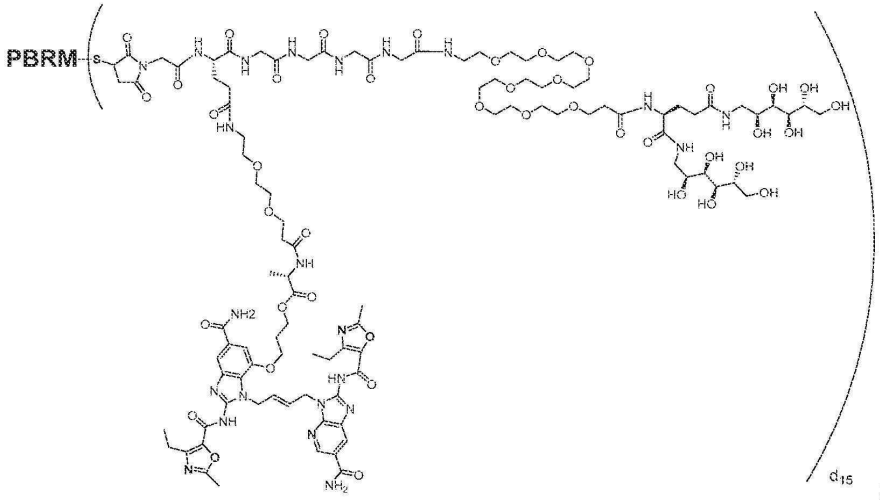
인 접합체.

청구항 31

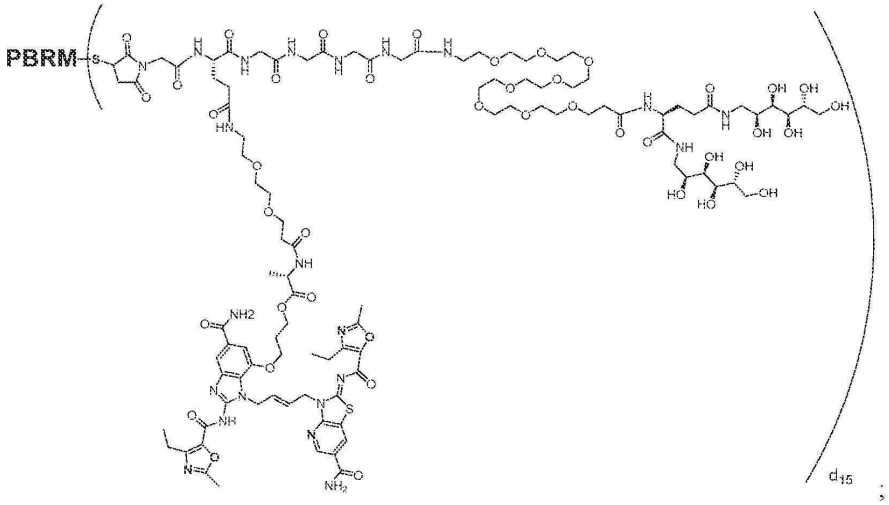
제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서,


PBRM
S
d15

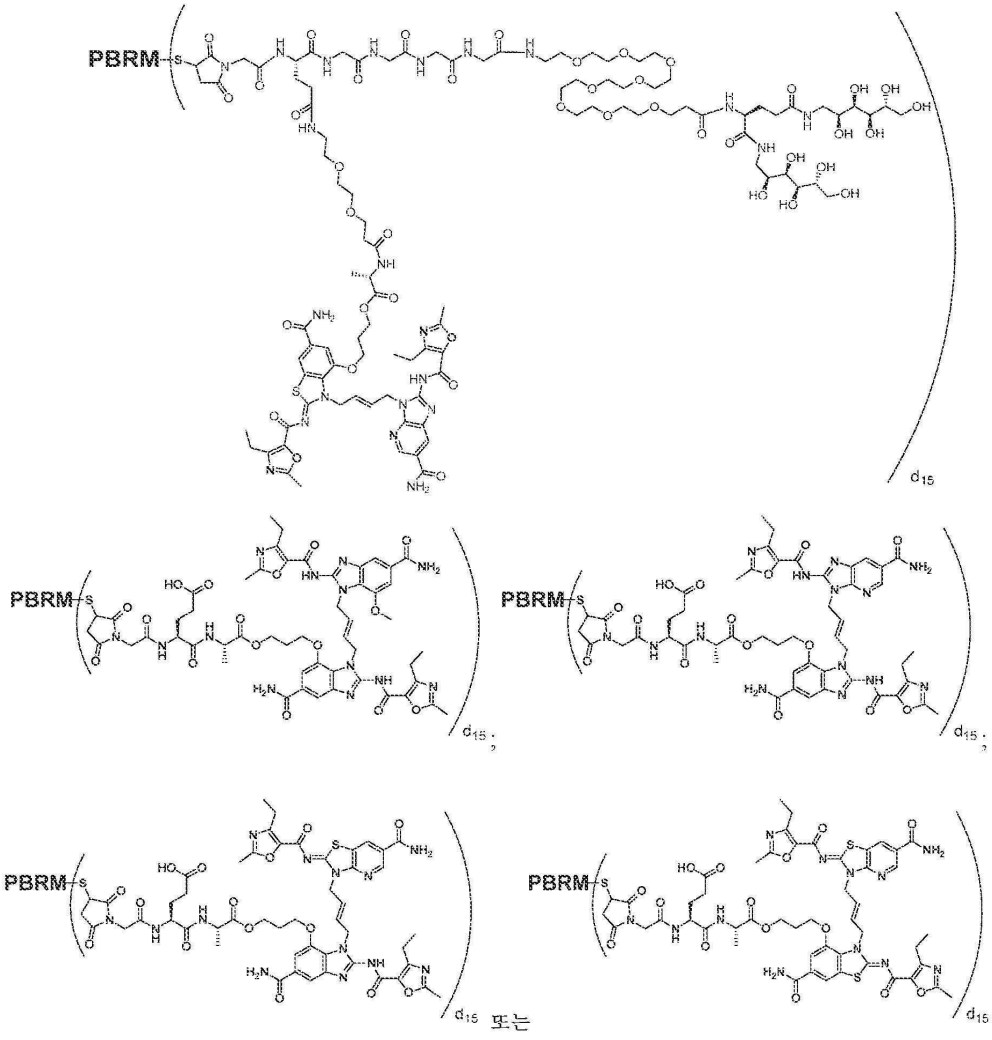
;


PBRM
S
d15

;


PBRM
S
d15

;



또는

인 접합체.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 접합체 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항의 접합체를 포함하며, 하나 이상의 면역조정제 또는 하나 이상의 면역자극제를 더 포함하는 약학 조성물.

청구항 34

대상체에게 제1항 내지 제33항 중 어느 한 항의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 인터페론 유전자의 자극제(스팅)의 활성을 활성화 또는 향상시키는 방법.

청구항 35

대상체에게 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 질환 또는 질병의 예방 또는 치료 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에서의 인터페론 유전자의 자극제(스팅)의 활성을 활성화 또는 향상시키기 위한, 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에서 질환 또는 질병의 예방 또는 치료를 위한 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 38

대상체에서 인터페론 유전자의 자극제(스팅)의 활성을 활성화 또는 향상시키기 위한 약제의 제조에서, 제1항 내지 제37항 중 어느 한 항의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염의 용도.

청구항 39

대상체에서 질환 또는 질병을 예방 또는 치료하기 위한 약제의 제조에서, 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염의 용도.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 질환 또는 질병이 스팅의 효능화와 관련되어 있는 방법, 사용을 위한 접합체 또는 용도.

청구항 41

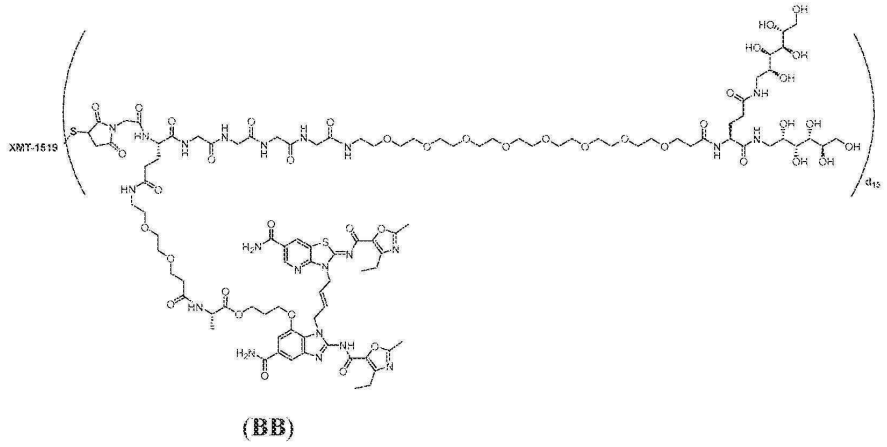
제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 질환 또는 질병이 암인 방법, 사용을 위한 접합체 또는 용도.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 질환 또는 질병이 방광암, 유방암, 결장직장암, 결장암, 자궁내막암, 위암, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 폐암, 난소암, 식도암, 담도암, 요로상피세포암, 자궁경부암, 유두상 갑상선암, 유두형 신세포암, 담관암종, 타액관암, 신장암 또는 췌장암인 방법, 사용을 위한 접합체 또는 용도.

청구항 43

아미노산 서열 FTFSSYSMN(서열 번호 20)을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDRH1); 아미노산 서열 YISSSSSTIYYADSVKG(서열 번호 21)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDRH2); 아미노산 서열 GGHGYFDL(서열 번호 22)을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDRH3); 및 아미노산 서열 RASQSVSSSYLA(서열 번호 27)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDRL1); 아미노산 서열 GASSRAT(서열 번호 28)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDRL2); 및 아미노산 서열 QQYHHSPLT(서열 번호 29)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDRL3)을 포함하는 XMT-1519 항체를 포함하며, d_{15}가 약 8인 하기 화학식 BB의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염:



(BB)

청구항 44

대상체에게 제43항의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 질환 또는 질병의 예방 또는 치료 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 질환 또는 질병이 암인 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 암이 유방암, 위암, 결장직장암, 결장암, 식도암, 담도암, 자궁내막암, 요로상피세포암 또는 비소세포 폐암인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원

[0002] 본원은 2020년 4월 2일자로 출원된 미국 가출원 제63/004,108호, 2020년 6월 18일자로 출원된 미국 가출원 제63/040,755호 및 2020년 11월 10일자로 출원된 미국 가출원 제63/111,820호를 우선권주장으로 하며, 그 혜택을 주장한다. 이들 출원의 각각의 내용은 참조로 그 전문이 포함된다.

[0003] 서열 목록의 참조에 의한 포함

[0004] 2021년 3월 31일자로 생성되며, 49 KB 크기의 텍스트 파일명 "MRSN-033_001WO_SeqList.txt"의 내용은 본원에 참조로 그 전문이 포함된다.

배 경 기 술

[0005] 인터페론 유전자의 자극제(스팅(STING))는 세포질 병원체 유래 및 자기 DNA의 선천 면역 센싱을 전파시키는 내형질 세망 내의 수용체이다. 스팅은 (i) N-말단 막횡단 도메인(aa 1-154); (ii) 중앙 구형 도메인(aa 155-341); 및 (iii) C-말단 꼬리(aa 342-379)인 3종의 구조 도메인을 주로 함유하는 378개의 아미노산 단백질이다. 스팅은 V 형상의 입체형태로 그의 리간드와 조합되지만, 결합된 리간드를 완전하게 덮지는 않는 대칭 이량체를 형성할 수 있다. 스팅 효능제는 스팅의 포켓 영역으로 결합될 수 있다. 그러나, 스팅 활성화 과정은 일부 심각한 질환 병태에서 쉽게 억제되어 스팅 경로의 불활성화를 야기한다. 그러므로, 효력 있는 스팅 효능제의 스크리닝 및 설계는 비만, 간 손상, 당-지질 대사 및 바이러스 감염을 포함하나 이에 제한되지 않는 암 면역 요법 및 기타 감염 질환 치료에 대하여 상당히 중요하다. 면역 경로의 특정한 표적화는 암 요법에 대한 기회를 제시하여 잠재적으로 세포 모집단계 치료 접근법보다 더 큰 특이성을 잠재적으로 제공한다.

[0006] 항체-약물 접합체(ADC)는 항체에 공유 연결된 소분자와 같은 약물로 이루어진다. 그러한 항체는 작용의 특정한 부위에 대하여 조정된 표적화 기전을 나타낸다. 상기 부위에 도달시 ADC는 소분자인 약물을 방출하여 대상체의 신체 전체를 통하여 전신에 분산되는 것과는 반대로 표적화된 방식으로 그의 설계된 기능을 수행하도록 설계된다. 그러한 표적화된 접근은 전신 투여시 독성이 될 정도로 높은 투여량을 필요로 하는 약물을 사용한 치료를 허용한다.

[0007] 선천 면역계의 핵심 특징은 이물질의 인지 및 제거이다. 그러한 병원체 침입체의 확인은 병원체 관련 분자 패턴(PAMP)으로 공지된 진화적으로 보존된 미생물 구조의 숙주 인지에 의하여 발생된다. 숙주 인지는 패턴 인지 수용체(PRR)의 활성화와 같은 복수의 경로에 의하여 발생될 수 있으며, 이는 궁극적으로 하류 신호 이벤트를 초래하며, 면역 반응의 증가에서 절정을 이룬다.

[0008] 본 개시내용의 항체-약물 접합체는 스팅의 활성을 조정하며, 따라서 염증, 알러지 및 자가면역 질환, 감염 질환, 암, 전암성 증후군을 포함하나 이에 제한되지 않는 스팅(인터페론 유전자의 자극제)의 조정이 이로운 질환, 질병 및/또는 병태의 치료에서 및 백신 면역증강제로서 이로운 치료적 영향을 제공할 수 있다. 질환, 특히 암의 치료를 위한 신규한 면역요법에 대한 수요가 여전히 존재한다.

발명의 내용

[0009] 일부 측면에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (I)의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 제공한다:

[0010] $$PBRM-[A^1-(L^C)_{0\text{ 또는 }1}-D]_{d15} \quad (I)$$

[0011] 상기 식에서,

[0012] PBRM은 단백질계 인지 분자를 나타내며;

[0013] L^C는 존재할 경우 링커 단위이며;

[0014] A^1은 PBRM을 L^C가 존재할 경우 L^C에 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 D에 연결하는 2가 링커 모이어티이며;

[0015] D는 스팅 효능제 약물 모이어티이며;

[0016] d_{15}는 약 1 내지 약 20 범위 내의 정수이다.

[0017] 일부 측면에서, 본 개시내용은 PBRM과 접합하기에 유용한 스캐폴드 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 제공하며, 스캐폴드는 하기 화학식 (II)를 갖는다:

[0018] $$A^{1'}\text{-}(L^C)_{0 \text{ 또는 } 1}\text{-}D \quad (II)$$

[0019] 상기 식에서,

[0020] PBRM은 단백질계 인지 분자를 나타내며;

[0021] L^C는 존재할 경우 링커 단위이며;

[0022] $A^{1'}$는 PBRM의 작용기와 공유 결합을 형성할 수 있는 작용기를 포함하는 1가 링커 모이어티이며;

[0023] D는 스팅 효능제 약물 모이어티이며;

[0024] d_{15}는 약 1 내지 약 20 범위 내의 정수이다.

[0025] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 접합체 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0026] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체에게 본원에 기재된 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 인터페론 유전자의 자극제(스팅)의 활성을 활성화 또는 향상시키는 방법을 제공한다.

[0027] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체에게 본원에 기재된 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 질환 또는 질병의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0028] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 스팅의 활성을 활성화 또는 향상시키기 위한 본원에 기재된 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0029] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 질환 또는 질병의 예방 또는 치료를 위한 본원에 기재된 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0030] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 스팅의 활성을 활성화 또는 향상시키기 위한 약제의 제조에서 본원에 기재된 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

[0031] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 질환 또는 질병의 예방 또는 치료를 위한 약제의 제조에서 본원에 기재된 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

[0032] 달리 정의되지 않는다면, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 속하는 해당 기술분야의 통상의 기술자 중 하나에 의하여 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에서, 문맥이 달리 명백하게 나타내지 않는다면 단수형은 또한 복수형을 포함한다. 본원에 기재된 바와 유사하거나 또는 상응하는 방법 및 물질이 본 개시내용의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있기는 하나, 적절한 방법 및 물질은 하기에 기재한다. 본원에 언급된 모든 공보, 특허 출원, 특허 및 기타 문헌은 참조로 포함된다. 본원에 언급된 문헌은 청구된 발명에 대한 종래 기술로 인정하지 않는다. 상충되는 경우, 정의를 포함한 본 명세서가 우선할 것이다. 게다가, 상기 물질, 방법 및 예는 단지 예시를 위한 것이며, 제한하는 것으로 의도하지 않는다. 본원에 개시된 화합물의 화학 구조식 및 명칭 사이에 상충이 존재하는 경우, 화학 구조식이 우선할 것이다.

[0033] 본 개시내용의 기타 특징 및 잇점은 하기 상세한 설명 및 청구범위로부터 자명할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1A는 접합체 8b-1 및 접합체 8f(각각 100, 10 및 1 nM에서) 및 접합체 8c-1 및 화합물 1(각각 100 및 10 nM에서)의 경우 시간에 대한 적색체(red object) 전면생장률을 플롯한다(접합체 농도는 페이로드(payload)를 기준으로 하였음).

도 1B는 접합체 81 및 화합물 1(각각 100, 10 및 1 nM에서) 및 접합체 8m(100 nM)의 경우 시간에 대한 적색체 전면생장률을 플롯한다(접합체 농도는 페이로드를 기준으로 하였음).

도 2는 PBMC, 농축된 단핵구 및 CD16 결핍된 단핵구 모집단에서의 CD14-/CD3+ 세포를 도시한다.

도 3A 및 도 3B는 시간에 대한 적색체 전면생장률을 플롯하며, 접합체 8a-3, 접합체 8j, 접합체 8c-2 및 화합물 1에 대하여 각각 100, 25, 5 및 1 nM에서 PBMC에 의하여 스팅 야생형(sgNT-2) 및 녹아웃(knock out)(sg#3-2) SKBR3 뉴크레드(NucRed) 세포 각각의 사멸을 나타낸다(접합체 농도는 페이로드를 기준으로 하였음).

도 4A는 SKBR3 암 세포/PBMC 공생배양물에서 스팅 야생형 SKBR3 암 세포 사멸 활성에 대한 접합체 8a-3, 접합체 8-j, 야생형 Fc 트라스투주맙 및 AAG Fc 변이체 트라스투주맙의 투여량 반응에 대한 적색체 전면생장률을 플롯한다.

도 4B는 SKBR3 암 세포/PBMC 공생배양물에서 스팅 녹 아웃 SKBR3 암 세포 사멸 활성에 대한 접합체 8a-3, 접합체 8-j, 야생형 Fc 트라스투주맙 및 AAG Fc 변이체 트라스투주맙의 투여량 반응에 대한 적색체 전면생장률을 플롯한다.

도 5A는 20 및 4 nM 둘다에서 접합체 8b-1 및 화합물 1에 대하여 PBMC에 의한 시간에 대한 OVCAR3-뉴크레드 암 세포의 적색체 전면생장률의 변화를 플롯한다(접합체 농도는 페이로드 농도를 기준으로 함).

도 5B는 20 및 4 nM 둘다에서 접합체 8b-1 및 화합물 1에 대하여 농축된 단핵구에 의한 시간에 대한 OVCAR3-뉴크레드 암 세포의 적색체 전면생장률의 변화를 플롯한다(접합체 농도는 페이로드 농도를 기준으로 함).

도 5C는 20 및 4 nM 둘다에서 접합체 8b-1 및 화합물 1에 대하여 CD16 결핍된 단핵구에 의한 시간에 대한 OVCAR3-뉴크레드 암 세포의 적색체 전면생장률의 변화를 플롯한다(접합체 농도는 페이로드 농도를 기준으로 함).

도 6은 마우스의 SKOV3 이종이식 모델에서 트라스투주맙(3/0 mg/kg), 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8c-1(1/0.04 mg/kg 또는 3/0.12 mg/kg), 접합체 8a-1(1/0.03 mg/kg 또는 3/0.09 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드에 의하여 제시함).

도 7A-7H는 SKOV3 마우스 모델에서 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg) 또는 접합체 8a-1(3/0.09 mg/kg)(모든 투여량은 항체/페이로드로서 기재함)의 투여 후 시간에 대한 생쥐 CXCL-10(IP-10; 도 7A), IL-6(도 7B), TNFα(도 7C), IFNɣ(도 7D), CXCL1(KC)(도 7E), MIG(도 7F), MIP-1a(도 7G) 및 RANTES(도 7H)의 시토킨 수준을 도시한다. 각각의 플롯에서의 삽도는 비히클에 대한 접합체 8a-1 및 접합체 8c-1에 의하여 유발된 시토킨 수준을 도시한다.

도 8A-8C는 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg), 접합체 8a-1(3/0.09 mg/kg), 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg) 또는 접합체 8a-1(3/0.09 mg/kg)의 투여 후 12 h 및 72 h에서 마우스의 SKOV3 이종이식 모델에서 마우스 CXCL10(도 8A), 인터페론-β(도 8B) 및 IL-6(도 8C) mRNA의 수준을 도시한다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 기재함).

도 9는 접합체 8a-1(3/0.09 mg/kg), 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg) 또는 비히클에 대한 12 및 72 시간에서 토끼 항-CD45 모노클로날 항체로 염색한 CD45 면역조직화학(IHC)이다.

도 10은 CB.17 SCID 마우스에게 접합체 8a-1(3/0.1 mg/kg)의 투여 후 총 항체 및 접합된 약물의 순환 중인 혈장 농도를 도시하는 그래프이다(투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 11은 암 세포 및 PBMC 공생배양물에서 접합체 8a-3의 사멸 활성에 대한 IFNλ1(IL29) 또는 IFNλ2(IL28A) 중화 항체(10, 2, 0.4, 0.08 ㎍/㎖)의 효과를 도시한다(1 nM 또는 0.1 nM, 페이로드를 기준으로 하였음).

도 12는 마우스의 OVCAR3 이종이식에서 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg), 접합체 8b-1(3/0.09 mg/kg) 또는 접합체 8f(3/0.12 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드에 의하여 제시함).

도 13은 마우스의 OVCAR3 이종이식에서 접합체 8d-2(3/0.1 mg/kg) 또는 접합체 8e(3/0.1 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 14는 마우스의 삼중 음성 유방암 이종이식에서 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8c-1(1/0.04 mg/kg) 또는 접합체 8h(1/0.04 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 15A는 결장암 동계 마우스 모델에서 접합체 8d-3(1/0.04 mg/kg) 또는 접합체 8g(0.88/0.04 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 15B는 결장암 동계 마우스 모델에서 접합체 8d-3(1/0.04 mg/kg) 또는 접합체 8g(0.88/0.04 mg/kg)에 대한 카플란-마이어(Kaplan Meier) 생존 곡선을 나타낸다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 16A는 결장암 동계 마우스 모델에서 개개의 마우스에 대한 접합체 8g(0.9/0.04 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함)

도 16B는 동계 생쥐 결장암 세포로 재유발시 접합체 8g(0.9/0.04 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함)

도 16C는 동계 생쥐 폐암 세포로 재유발시 접합체 8g(0.9/0.04 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 17은 동계 생쥐 배아 암 모델에서 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8d-3(5.5/0.18 mg/kg) 또는 접합체 8i(3.2/0.18 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 18은 마우스의 SKOV3 이종이식에서 접합체 20a(3/0.09 mg/kg), 접합체 34a(3/0.11 mg/kg), 접합체 34(3/0.11 mg/kg) 또는 접합체 20-1(3/0.10 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 19는 마우스의 SKOV3 이종이식에서 접합체 28(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.03 mg/kg), 접합체 29(0.2/0.01 mg/kg 또는 0.8/0.02 mg/kg), 접합체 8-2(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.04 mg/kg), 접합체 25(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.04 mg/kg) 또는 접합체 45(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.04 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 20은 마우스의 SKOV3 이종이식에서 디ABZI 스팅 효능제(1.5 mg/kg q3dx3 또는 0.128 mg/kg qdx1), 화합물 30(1.5 mg/kg q3dx3 또는 0.128 mg/kg qdx1), 접합체 32b-2(3.42/0.128 mg/kg qdx1), XMT-1519(3.00 mg/kg qdx1), 접합체 32-5(0.100/0.004, 0.300/0.013, 1.00/0.042 또는 3.00/0.128 mg/kg qdx1), 접합체 32e(1.00/0.039 또는 3.00/0.117 mg/kg qdx1)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 21A는 접합체 8d-3(1/0.04 mg/kg) 또는 접합체 8k(0.9/0.04 mg/kg)의 동계 마우스 모델에서 항종양 효능을 나타내는 그래프이다.

도 21B는 접합체 8d-3(1/0.04 mg/kg)에 대한 개개의 마우스의 동계 마우스 모델에서의 항종양 효능을 나타낸다.

도 21C는 접합체 8k(0.9/0.04 mg/kg)에 대한 개개의 마우스의 동계 마우스 모델에서 항종양 효능을 나타낸다.

도 22는 마우스의 SKOV3 이종이식에서 접합체 8c-2(3.17/0.10 mg/kg), 접합체 8a-2(2.7/0.10 mg/kg 또는 0.81/0.03 mg/kg), 접합체 8j(2.71/0.10 mg/kg 또는 0.81/0.03 mg/kg) 또는 디ABZI IV 스팅 효능제(0/5 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 23은 마우스의 OVCAR3 이종이식에서 접합체 32b-1(3.39/0.10 mg/kg), 접합체 32a(0.93/0.03 또는 3.12/0.10 mg/kg), 접합체 32c(2.12/0.10 mg/kg), 접합체 32d(2.20/0.10 mg/kg) 또는 디ABZI IV 스팅 효능제(0/5 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

도 24는 마우스의 OVCAR3 이종이식에서 리툭시맙 AF-HPA ADC(0.75/0.023 mg/kg) 및 접합체 8c-2(4.0/0.126 mg/kg)의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg); 접합체 8b-2(2.0/0.071 또는 4.0/0.142 mg/kg); XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 접합체 8c-2(4.0/0.126 mg/kg)의 조합; 리툭시맙 AF-HPA ADC(0.75/0.023 mg/kg) 및 접합체 8b-2(4.0/0.142 mg/kg)의 조합; 리툭시맙 AF-HPA ADC(0.75/0.023 mg/kg) 및 접합체 8b-2(2.0/0.071 mg/kg)의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 접합체 8b-2(4.0/0.142 mg/

kg)의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 접합체 8b-2(2.0/0.071 mg/kg)의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 XMT-1535(4.0/0 mg/kg)의 조합; 또는 XMT-1535(4.75/0 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다.

도 25는 마우스의 SKOV3 이종이식 모델에서 접합체 32b(0.85/0.03 mg/kg), 접합체 32-2(0.90/0.03 mg/kg), 접합체 88(0.87/0.03 mg/kg), 접합체 85(2.87/0.10 mg/kg), 접합체 92(2.36/0.10 mg/kg), 접합체 100(2.23/0.10 mg/kg), 접합체 89(0.99/0.030 mg/kg), 접합체 85a(2.59/0.10 mg/kg), 접합체 93(2.85/0.10 mg/kg) 또는 접합체 101(2.70/0.10 mg/kg)의 항종양 효능을 나타내는 그래프이다.

도 26은 마우스의 SKOV3 이종이식 모델에서 비히클, 접합체 28(0.99/0.0325 mg/kg) 또는 접합체 62(0.92/0.0325 mg/kg)를 사용한 항종양 효능을 나타내는 그래프이다.

도 27은 CB.17 SCID 마우스에게 접합체 28(3.0/0.10 mg/kg) 또는 접합체 62(2.84/0.10 mg/kg)의 투여 후 접합된 약물에 대한 순환 중인 혈장 농도를 나타내는 그래프이다(투여량은 항체/페이로드로서 제시함).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 상세한 설명

[0036] 본 개시내용은 신규한 항체-약물 접합체, 접합체 또는 스캐폴드를 제조하기 위한 합성 방법, 그를 함유하는 약학 조성물 및, 접합체의 다양한 용도를 제공한다.

[0037] 정의

[0038] 본원에 기재된 본 개시내용의 중간 화합물 및/또는 화합물에 제공된 화합물명은 그러한 화합물의 호변이성질체 표시 중 임의의 하나를 지칭할 수 있다(일부 경우에서, 상기 대안의 명칭은 실험과 함께 제공된다). 명명된 화합물(본 개시내용의 중간 화합물 또는 화합물) 또는 구조적으로 도시된 화합물(본 개시내용의 중간 화합물 또는 화합물)에 대한 임의의 언급은 상기 화합물의 쯔비터이온 형태를 포함한 모든 호변이성질체 형태 및 그의 임의의 혼합물을 포함하고자 하는 것으로 이해하여야 한다.

[0039] 용어 "일부 실시양태에서", "본 개시내용의 일부 실시양태에서" 및 "본 개시내용의 화합물의 일부 실시양태에서"는 적절할 경우 번갈아 사용 가능한 것으로 이해한다.

[0040] 용어 "약", "대략" 또는 "대략적인"이 수치 값과 관련하여 사용시 그 값의 모음 또는 범위가 포함된다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, "약 X"는 X의 ±25%, ±20%, ±15%, ±10%, ±5%, ±2%, ±1%, ±0.5%, ±0.2% 또는 ±0.1%인 값의 범위를 포함하며, X는 수치 값이다. 일부 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 5% 더 크거나 또는 더 적은 값의 범위를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 2% 더 크거나 또는 더 적은 값의 범위를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 1% 더 크거나 또는 더 적은 값의 범위를 지칭한다.

[0041] 상기 값의 범위의 언급은 단지 본원에서 달리 나타내지 않는다면 상기 범위 내에 속하는 각각의 별도의 값을 개별적으로 언급하는 약칭 방법으로서 기능하기 위함이며, 각각의 별도의 값은 마치 본원에 개별적으로 언급되는 바와 같이 본 명세서에 포함된다. 본원에 사용된 범위는 달리 명시되지 않는다면 상기 범위의 2개의 한계치를 포함한다. 일부 실시양태에서, 표현 "x는 1 및 6 사이의 정수이다" 및 "x는 1 내지 6의 정수이다" 둘다는 "x가 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다"라는 것을 의미하며, 용어 "X 및 Y 사이" 및 "X 내지 Y 범위"는 X 및 Y 및 그 사이의 정수를 포함한다.

[0042] 용어 "항체"는 본원에서 사용된 바와 같이 광의의 의미로 사용되며, 원하는 항원 결합 활성을 나타낸다면 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중 항체(예, 이중특이성 항체) 및 항체 단편을 포함하나 이에 제한되지 않는 각종 항체 구조를 포함한다. 항체 아미노산의 넘버링은 카밧(Kabat) EU 인덱스를 따른다(문헌[Kabat, E.A., et al., *Sequences of Protein of immunological interest*, Fifth Edition, US Department of Health and Human Services, US Government Printing Office (1991)] 참조).

[0043] 용어 "항체 단편"은 무손상 항체의 일부를 포함하며, 무손상 항체가 결합되는 항원을 결합시키는 무손상 항체를 제외한 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')2; 디아바디; 선형 항체; 단쇄 항체 분자(예, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0044] 본원에서 사용된 바와 같은 기준 항체로서 용어 "동일한 에피토프에 결합되는 항체"는 기준 항체를 그의 항원에 결합되는 것을 경쟁 검정으로 50% 이상으로 및 그 반대로 차단하는 항체를 지칭하며, 기준 항체는 항체를 그의

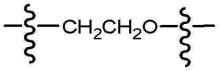
항원에 결합시키는 것을 경쟁 검정으로 50% 이상으로 차단한다. 예시의 경쟁 검정은 본원에 제공된다.

[0045] 항체의 용어 "클래스"는 그의 중쇄가 지니는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM인 항체의 주요 클래스 5종이 존재하며, 이들 중 수개는 서브클래스(이소형), 예를 들면 IgGi, IgG2, IgG3, IgG4, IgAi 및 IgA2로 추가로 나뉠 수 있다. 면역글로불린의 상이한 클래스에 해당하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α, δ, ε, γ 및 μ로 지칭된다.

[0046] 용어 "모노클로날 항체"는 본원에 사용된 바와 같이 실질적으로 균질한 항체의 모집단, 즉 모집단을 포함하는 개개의 항체는 동일하거나 및/또는, 가능한 변이체 항체를 제외하고, 예를 들면 자연 발생 변이를 함유하거나 또는 모노클로날 항체 제제의 생성 중에 발생하는 동일한 에피토프를 결합시키며, 상기 변이체는 일반적으로 소량으로 존재한다. 통상적으로 상이한 결정인자(에피토프)에 대한 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 대조적으로, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원에서 단일 결정인자에 대한 것이다. 그래서, 수식어 "모노클로날"은 항체의 실질적으로 균질한 모집단으로부터 얻는 바와 같은 항체의 특징을 나타내며, 임의의 특정한 방법에 의하여 항체의 생성을 필요로 하는 것으로 해석하지 않는다. 예를 들면, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지 디스플레이 방법 및 사람 면역글로불린 자리의 전부 또는 일부를 함유하는 트랜스제닉 동물을 사용하는 방법을 포함하나 이에 제한되지 않는 각종 기술에 의하여 생성될 수 있으며, 모노클로날 항체를 생성하기 위한 상기 방법 및 기타 예시의 방법은 본원에 기재되어 있다.

[0047] 용어 "에피토프"는 항체가 결합되는 항원 분자 상의 특정한 부위를 지칭한다.

[0048] 용어 "단백질계 인지 분자" 또는 "PBRM"은 세포 표면 마커 또는 수용체, 예컨대 막횡단 단백질, 표면 고정 단백질 또는 프로테오글리칸을 인지 및 결합하는 분자를 지칭한다. 일부 실시양태에서, PBRM은 조작된 시스테인을 포함한다. PBRM의 예는 항체, 펩티드, 리포칼린, 단백질, 펩티드 또는 펩티드 모방체 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 단백질계 인지 분자는 또한 특정한 세포, 조직 또는 부위에 접합체를 표적화하는 것 이외에 표적 세포 또는 경로에 대한 항증식성(세포증식억제성 및/또는 세포독성) 활성과 같은 특정한 치료적 효과를 가질 수 있다. 단백질계 인지 분자는 적어도 1종의 화학적 반응성 기, 예컨대 -COOH, 1급 아민, 2급 아민-NHR, -SH 또는 화학적 반응성 아미노산 모이어티 또는 측쇄, 예컨대 티로신, 히스티딘, 시스테인 또는 리신을 포함하거나 또는 이를 포함하도록 조작될 수 있다. 일부 실시양태에서, PBRM은 제시된 표적 세포 모집단의 경우 세포 표면 분자, 예컨대 세포 표면 수용체 또는 항원과 특이적으로 결합되거나 또는 복합체를 형성하는 리간드(LG) 또는 표적화 모이어티일 수 있다. 리간드가 그의 수용체와 특이적 결합 또는 복합체를 형성한 후, 세포는 리간드 또는 리간드-약물-접합체의 흡수를 허용한 후, 세포로 내재화된다. 본원에 사용된 바와 같이, 세포 표면 분자를 "특이적으로 결합하거나 또는 그와 착체를 형성하거나" 또는 "표적화하는" 리간드는 분자간 힘에 의하여 세포 표면 분자와 우선적으로 회합된다. 일부 실시양태에서, 리간드는 약 50 nM 미만, 약 5 nM 미만 또는 500 pM 미만의 Kd를 갖는 세포 표면 분자와 우선적으로 회합될 수 있다. 세포 표면 분자에 대한 리간드의 결합 친화도를 측정하기 위한 기술은 널리 공지되어 있으며, 예를 들면 1종의 적절한 기술은 표면 플라즈몬 공명(SPR)으로 지칭한다. 일부 실시양태에서, 리간드는 표적화에 사용되며, 전달되는 약물과는 별도로 검출 가능한 치료적 효과를 갖지 않는다. 일부 실시양태에서, 리간드는 표적화 모이어티로서 및 치료제 또는 면역조정제(예, 활성 약물 또는 프로드러그의 활성을 향상시키기 위함)로서 모두 작용한다. 용어 "PEG 단위"는 본원에서 사용된 바와 같이 화학식



을 갖는 폴리에틸렌 글리콜 아단위을 지칭한다. 일부 실시양태에서, PEG 단위는 복수의 PEG 아단위를 포함한다.

[0049] 용어 "알킬"은 본원에 사용된 바와 같이 명시된 개수의 탄소 원자를 갖는 포화, 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 기를 나타낸다. 용어 "C_1-C_6 알킬" 또는 "C_{1-6} 알킬"은 메틸 모이어티 또는 2 내지 6개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 알킬 모이어티를 지칭한다. 예시의 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, s-부틸, t-부틸, 펜틸 및 헥실을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0050] 용어 "할로(알킬)"는 본원에 사용된 바와 같이 명시된 개수(n)의 탄소 원자 및 1개 이상의(2n+1개 이하) 할로겐 원자를 갖는 포화, 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 기를 나타낸다. "할로(C_{1-4} 알킬)" 기의 예는 -CF_3(트리플루오로메틸), -CCl_3(트리클로로메틸), 1,1-디플루오로에틸, 2,2,2-트리플루오로에틸 및 헥사플루오로이소프로필을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0051] 용어 "알케닐"은 본원에 사용된 바와 같이 명시된 개수의 탄소 원자 및 적어도 1개 및 3개 이하의 탄소-탄소 이

중 결합을 갖는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 기를 지칭한다. 그의 예는 에테닐 및 프로페닐을 포함한다.

[0052] 용어 "알키닐"은 본원에 사용된 바와 같이 명시된 개수의 탄소 원자 및 적어도 1개 및 3개 이하의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 기를 지칭한다. 그의 예는 에티닐 및 프로피닐을 포함한다.

[0053] 용어 "알콕시-" 또는 "(알킬)옥시-"는 본원에 사용된 바와 같이 산소 연결 원자를 통하여 부착된 명시된 개수의 탄소 원자를 갖는 알킬 모이어티를 포함하는 "알킬-옥시- 기를 지칭한다. 예시의 "C_{1-4} 알콕시-" 또는 "(C_{1-4} 알킬)옥시-" 기는 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, n-부톡시, s-부톡시 및 t-부톡시를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0054] 용어 "할로(알콕시)-"는 본원에 사용된 바와 같이 산소 연결 원자를 통하여 부착된 명시된 개수(n)의 탄소 원자 및 하나 이상(2n+1개 이하)의 할로겐 원자를 갖는 포화, 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 기를 나타낸다. 예시의 "할로(C_{1-4} 알콕시)-" 기는 $-OCHF_2$(디플루오로메톡시), $-OCF_3$(트리플루오로메톡시), $-OCH_2CF_3$(트리플루오로에톡시) 및 $-OCH(CF_3)_2$(헥사플루오로이소프로폭시)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0055] 용어 "아미노"는 본원에 사용된 바와 같이 적어도 1개의 질소 원자를 포함하는 치환기를 지칭한다. 구체적으로, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4}$ 알킬), 알킬아미노 또는 (C_{1-4} 알킬)아미노- 또는 (C_{1-4} 알킬)(C_{1-4} 알킬)아미노- 또는 디알킬아미노, 아미드-, 카르바미드-, 우레아 및 술파미드 치환기가 용어 "아미노"에 포함된다.

[0056] 용어 "카르보시클릭 기 또는 모이어티"는 본원에 사용된 바와 같이 고리원이 탄소 원자이며, 포화, 부분 불포화(비방향족) 또는 완전 불포화(방향족)일 수 있는 시클릭 기 또는 모이어티를 지칭한다.

[0057] 용어 "시클로알킬"은 본원에 사용된 바와 같이 고리에서 명시된 개수의 탄소 원자를 포함하는 비방향족 포화 탄화수소 고리 기를 지칭한다. 예를 들면, 용어 "C_{3-6} 시클로알킬"은 3 내지 6개의 고리 탄소 원자를 갖는 시클릭 기를 지칭한다. 예시의 "C_{3-6} 시클로알킬" 기는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸 및 시클로헥실을 포함한다.

[0058] 용어 "아릴"은 본원에 사용된 바와 같이 고리 구조에서 임의의 헤테로원자를 함유하지 않는 하나 이상의 방향족 고리를 갖는 "접합된" 또는 멀티시클릭계를 포함한 방향족성을 갖는 기를 지칭한다. 용어 아릴은 1가 종 및 2가 종 둘다를 포함한다. 아릴 기의 예는 페닐, 비페닐, 나프틸 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 아릴은 페닐이다.

[0059] 용어 "헤테로시클릭 기 또는 모이어티"는 본원에 사용된 바와 같이 적어도 2개의 상이한 원소의 원자를 고리원으로서 가지며, 시클릭 기 또는 모이어티가 포화, 부분 불포화(비방향족) 또는 완전 불포화(방향족)일 수 있는 시클릭 기 또는 모이어티를 지칭한다.

[0060] 용어 "헤테로원자"는 본원에 사용된 바와 같이 질소, 황 또는 산소 원자, 예를 들면 질소 원자 또는 산소 원자를 지칭한다.

[0061] 용어 "헤테로시클로알킬"은 본원에 사용된 바와 같이 3-10개의 고리 원자를 포함하며, 산소, 황 및 질소로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자 고리원 하나 이상(일반적으로 1 또는 2개)을 포함하는 비방향족, 모노시클릭 또는 바이시클릭 기를 지칭한다. 헤테로시클로알킬 기의 부착점은 임의의 적절한 탄소 또는 질소 원자에 의하여일 수 있다.

[0062] 용어 "헤테로아릴"은 본원에 사용된 바와 같이 질소, 산소 및 황으로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자 1 내지 4개를 포함한 5 내지 10 개의 고리 원자를 포함하며, 여기서 상기 기의 적어도 일부가 방향족인 방향족 모노시클릭 또는 바이시클릭 기를 지칭한다. 예를 들면, 상기 용어는 헤테로시클릭 모이어티에 융합된 페닐 고리 또는 카르보시클릭 모이어티에 융합된 헤테로아릴 고리 모이어티를 포함하는 바이시클릭 헤테로시클릭아릴 기를 포함한다. 헤테로아릴 기로의 부착점은 임의의 적절한 탄소 또는 질소 원자에 의하여일 수 있다.

[0063] 용어 "할로겐" 및 "할로"는 본원에 사용된 바와 같이 할로겐 라디칼, 예를 들면 플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오도 치환기를 지칭한다.

[0064] 용어 "옥소"는 본원에 사용된 바와 같이 이중 결합된 산소 모이어티를 지칭하며; 예를 들면 탄소 원자에 직접 부착될 경우 카르보닐 모이어티(C=O)를 형성한다.

[0065] 용어 "히드록시" 또는 "히드록실"은 본원에 사용된 바와 같이 라디칼 -OH를 의미하고자 한다.

[0066] 용어 "시아노"는 본원에 사용된 바와 같이 니트릴 기, -C≡N을 지칭한다.

[0067] 용어 "임의로 치환된"은 본원에 사용된 바와 같이 기((예컨대 알킬, 시클로알킬, 알콕시, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기)를 나타내거나 또는 고리 또는 모이어티는 비치환될 수 있거나 또는 기, 고리 또는 모이어티는 하나 이상의 치환기(들)로 치환될 수 있다. 기가 다수의 대안의 기로부터 선택될 수 있는 경우, 선택된 기는 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 적절한 치환기는 예를 들면 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로겐, 히드록실, 알킬카르보닐옥시, 아릴카르보닐옥시, 알콕시카르보닐옥시, 아릴옥시카르보닐옥시, 카르복실레이트, 알킬카르보닐, 아릴카르보닐, 알콕시카르보닐, 아미노카르보닐, 알킬아미노카르보닐, 디알킬아미노카르보닐, 알킬티오카르보닐, 알콕실, 포스페이트, 포스포나토, 포스피나토, 아미노(알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노 및 알킬아릴아미노 포함), 아실아미노(알킬카르보닐아미노, 아릴카르보닐아미노, 카르바모일 및 우레이도 포함), 아미디노, 이미노, 술프히드릴, 알킬티오, 아릴티오, 티오카르복실레이트, 술페이트, 알킬술피닐, 술포나토, 술파모일, 술폰아미도, 니트로, 트리플루오로메틸, 시아노, 아지도, 헤테로시클릴, 알킬아릴 또는 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티를 포함할 수 있다.

[0068] 용어 "독립적으로"는 본원에 사용된 바와 같이 1개 초과의 치환기가 다수의 가능한 치환기로부터 선택될 경우 상기 치환기는 동일하거나 또는 상이할 수 있다는 것을 의미한다.

[0069] 용어 "약학적으로 허용되는"은 본원에 사용된 바와 같이 건전한 의학적 판단의 범주 내에서 지나친 독성, 자극 또는 기타 문제 또는 합병증 없이 사람 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적절하며, 타당한 유익/유해비에 상응하는 상기 화합물, 접합체, 물질, 조성물 및 투여 형태를 지칭한다.

[0070] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "치료하는" 또는 "치료하다"는 질환, 병태 또는 질병과 싸울 목적으로 환자의 관리 및 간호를 기재하며, 질환, 병태 또는 질병의 증상 또는 합병증을 완화시키거나 또는 질환, 병태 또는 질병을 제거하기 위하여 본 개시내용의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 다형태 또는 용매화물을 투여하는 것을 포함한다. 용어 "치료하다"는 또한 시험관내 세포 또는 동물 모델의치료를 포함할 수 있다.

[0071] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "예방하는", "예방하다" 또는 "~로부터 보호하는"은 상기 질환, 병태 또는 질병의 증상 또는 합병증의 개시를 감소 또는 제거하는 것을 기재한다.

[0072] 용어 "대상체"는 치료, 관찰 또는 실험의 대상이었던 동물, 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 사람을 지칭한다.

[0073] 용어 "치료적 유효량"은 연구원, 수의사, 의사 또는 기타 임상의가 추구하는 조직계, 동물 또는 사람에서의 생물학적 또는 의약 반응을 규명하며, 치료되는 질환, 증후군, 병태 또는 질병의 증상의 완화 또는 부분 완화를 포함한, 본 개시내용의 접합체를 포함한 활성 화합물 또는 약제의 양을 지칭한다.

[0074] 치료적 "유효량"은 본원에서 정의된 바와 같이 치료를 필요로 하는 환자에게 투여시 효과적으로 치료 또는 예방하기에 충분한 접합체의 양을 의미하고자 한다. 상기 양에 상응할 주어진 접합체의 양은 특정한 접합체(예, 특정한 접합체의 효력(pIC_{50}), 효능(EC_{50}) 및 생물학적 반감기), 질환 상태 및 그의 경중도, 치료를 필요로 하는 환자의 고유성(예, 연령, 사이즈 및 체중)과 같은 요인에 의존하여 변경될 것이지만, 그럼에도 불구하고 해당 기술분야의 기술자에 의하여 통상적으로 결정될 수 있다. 마찬가지로, 접합체의 치료 기간 및 투여 기간(투여 사이의 기간 및 투여의 타이밍, 예를 들면 식사 전/동시/후)는 치료를 필요로 하는 포유동물의 고유성(예, 체중), 특정한 접합체 및 그의 성질(예, 약물동태학 성질), 질환 또는 질병 및 그의 경중도 및 사용되는 구체적인 조성 및 방법에 따라 변경될 것이지만, 그럼에도 불구하고, 해당 기술분야의 기술자에 의하여 결정될 수 있다.

[0075] 용어 "조성물"은 명시된 성분을 치료적 유효량으로 포함하는 생성물뿐 아니라, 명시된 양으로 명시된 성분의 조합으로부터 직접적으로 또는 간접적으로 발생하는 임의의 생성물을 지칭한다.

[0076] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "약학적으로 허용되는 부형제"는 일반적으로 안전하며, 비독성이며, 생물학적으로 또는 달리 바람직한 약학 조성물의 제조에서 유용한 부형제를 의미하며, 사람의 약학적 용도뿐 아니라, 수의학적 용도를 위하여 허용되는 부형제를 포함한다. "약학적으로 허용되는 부형제"는 본 명세서 및 청구범위에서 사용된 바와 같이 1종 및 1종 초과의 상기 부형제 둘다를 포함한다.

[0077] 용어 "스팅 효능제"는 본원에 사용된 바와 같이 예를 들면 스팅에 결합되거나 및/또는 하류 신호 전달(예, 스팅 기능과 관련된 분자의 활성화를 특징으로 함)을 유도하여 스팅과 상호작용할 수 있는 화합물 또는 모이어티를 지칭한다. 이는 스팅, IRF3 및/또는 NF-kB의 직접 인산화를 포함하며, 또한 STAT6을 포함할 수 있다. 일부 실시

양태에서, 스팅 경로 활성화는 1형 인터페론(주로 IFN-a 및 IFN-b)의 증가된 생성 및/또는 인터페론 자극된 유전자의 발현을 발생한다.

[0078] 용어 "스팅 효능제 약물 모이어티"는 본원에 사용된 바와 같이 스팅 효능제로부터 유도되며, 스팅과 상호작용할 수 있는 모이어티를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 본 개시내용의 접합체의 나머지에 모이어티가 연결되도록 스팅 효능제로부터 유도된 모이어티이다.

[0079] 본 개시내용의 접합체는 스팅의 효능화에 의하여 영향을 받는 바이러스 감염, 질환, 증후군, 병태 또는 질병을 치료 또는 개선시키는 방법에서 유용하다. 상기 방법은 상기 치료, 개선 및/또는 예방을 필요로 하는 동물, 포유동물 및 사람을 포함한 대상체에게 본 개시내용의 접합체 또는 그의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하거나, 이로써 이루어지거나 및/또는 본질적으로 이로써 이루어진다.

[0080] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체 또는 그의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염 형태는 질환, 증후군, 병태 또는 질병, 예컨대 흑색종, 결장암, 유방암, 전립선암, 폐암, 섬유육종 및 B형 간염의 치료 또는 개선에 유용하다.

[0081] 용어 "본 개시내용의 접합체(들)" 또는 "본 개시내용의 접합체(들)"는 본원에 사용된 바와 같이 임의의 형태, 즉 임의의 호변이성질체 형태, 임의의 이성질체 형태, 임의의 염 또는 비-염(예, 유리 산 또는 염기 형태로서 또는 그의 염, 특히 약학적으로 허용되는 염으로서) 및 그의 임의의 물리적 형태(예, 비고체 형태(예, 액체 또는 반고체 형태) 및 고체 형태(예, 무정형 또는 결정형 형태), 특정한 다형태 형태, 수화물 형태(예, 일수화물, 이수화물 및 헤미수화물)를 포함한 용매화물 형태) 포함) 및 다양한 형태의 혼합물로 본원에 정의된 바와 같은 접합체를 의미한다.

[0082] 따라서, 본 개시내용에는 임의의 염 또는 비-염 형태 및 그의 임의의 물리적 형태 및 다양한 형태의 혼합물로 본원에 개시된 바와 같은 접합체가 포함된다. 상기가 본 개시내용에 포함되지만, 임의의 염 또는 비-염 형태 및 그의 임의의 물리적 형태로 본 개시내용의 접합체는 다양한 수준의 활성, 상이한 생체이용률 및 제제 목적을 위한 상이한 취급 성질을 가질 수 있는 것으로 이해될 것이다.

[0083] 본원에 사용된 바와 같이 표현 "A, B 또는 C 중 하나 이상", "하나 이상의 A, B 또는 C", "A, B 및 C 중 하나 이상", "하나 이상의 A, B 및 C", "A, B 및 C로 이루어진 군으로부터 선택된", "A, B 및 C로부터 선택된" 등은 번갈아 사용되며, 이들 모두는 달리 나타내지 않는다면 A, B 및/또는 C로 이루어진 군으로부터의 선택, 즉 하나 이상의 A, 하나 이상의 B, 하나 이상의 C 또는 그의 임의의 조합을 지칭한다.

[0084] 상세한 설명 전체에서 조성물이 특정한 성분을 갖거나, 포함하는 것으로 기재되는 경우 그러한 조성물은 또한 언급된 성분으로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어지는 것으로 간주되는 것으로 이해한다. 유사하게, 방법 또는 프로세스가 특정한 프로세스 단계를 갖거나 또는 포함하는 것으로 기재되는 경우, 프로세스는 또한 언급된 프로세스 단계로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진다. 추가로, 본 발명이 계속 작동 가능하다면 특정한 작용을 수행하기 위한 순서 또는 단계의 순서는 중요치 않은 것으로 이해하여야 한다. 게다가, 2개 이상의 단계 또는 작용은 동시에 수행될 수 있다.

[0085] 본원에 사용된 모든 퍼센트 및 비는 달리 나타내지 않는다면 중량을 기준으로 한다. 본 개시내용의 기타 특징 및 잇점은 상이한 실시예로부터 자명하다. 제공된 실시예는 본 개시내용을 실시하는데 유용한 상이한 성분 및 방법을 예시한다. 그러한 실시예는 본 개시내용을 제한하지 않는다. 본 개시내용에 기초하여 기술자는 본 개시내용을 실시하기에 유용한 기타 성분 및 방법을 확인 및 사용할 수 있다.

[0086] 본원에 언급된 모든 공보 및 특허 문헌은 마치 각각의 상기 공보 또는 문헌이 구체적으로 및 개별적으로 본원에 참조로 포함되는 것을 나타내는 바와 같이 본원에 참조로 포함된다. 공보 및 특허 문헌의 인용은 임의의 것이 선행 기술에 관한 것이라는 승인을 위한 것이 아니며, 동일한 내용 또는 일자에 대한 어떠한 승인도 구성하지 않는다. 본 발명은 서면 기재에 의하여 기재하지만, 해당 기술분야의 기술자는 본 발명이 각종 실시양태로 실시될 수 있으며, 상기 기재 및 하기의 실시예는 예시를 위한 것이며, 하기 청구범위를 제한하지 않는다는 것을 인지할 것이다.

[0087] 본 개시내용의 접합체 및 스캐폴드

[0088] 일부 측면에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (I)의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 제공한다:

[0089] $PBRM-[A^1-(L^C)_{0\text{ 또는 }1}-D]_{d15}$ (I)

[0090] 상기 식에서,

[0091] PBRM은 단백질계 인지 분자를 나타내며;

[0092] L^C는 존재할 경우 링커 단위이며;

[0093] A^1은 PBRM을 L^C가 존재할 경우 L^C에 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 D에 연결하는 2가 링커 모이어티이며;

[0094] D는 스팅 효능제 약물 모이어티이며;

[0095] d_{15}는 약 1 내지 약 20 범위 내의 정수이다.

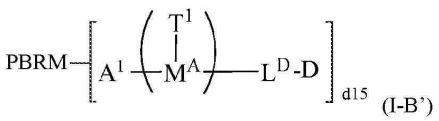
[0096] 일부 실시양태에서, 접합체는 하기 화학식 (I-A)의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

[0097] $PBRM-[A^1-D]_{d15}$ (I-A)

[0098] 일부 실시양태에서, 접합체는 하기 화학식 (I-B)의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

[0099] $PBRM-[A^1-L^C-D]_{d15}$ (I-B)

[0100] 일부 실시양태에서, 접합체는 하기 화학식 (I-B')의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

[0101]  (I-B')

[0102] 일부 측면에서, 본 개시내용은 PBRM과의 접합에 유용한 스캐폴드를 제공하며, 여기서 스캐폴드는 하기 화학식 (II)의 것 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

[0103] $A^{1'}-(L^C)_{0\text{ 또는 }1}-D$ (II)

[0104] 상기 식에서,

[0105] PBRM은 단백질계 인지 분자를 나타내며;

[0106] L^C는 존재할 경우 링커 단위이며;

[0107] $A^{1'}$는 PBRM의 작용기와 공유 결합을 형성할 수 있는 작용기를 포함하는 1가 링커 모이어티이며;

[0108] D는 스팅 효능제 약물 모이어티이다.

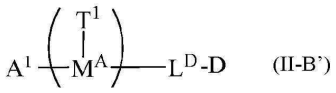
[0109] 일부 실시양태에서, 스캐폴드는 하기 화학식 (II-A)의 것 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

[0110] $A^{1'}-D$ (II-A)

[0111] 일부 실시양태에서, 스캐폴드는 하기 화학식 (II-B)의 것 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

[0112] $A^{1'}-L^C-D$ (II-B)

[0113] 일부 실시양태에서, 스캐폴드는 하기 화학식 (II-B')의 것 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

[0114] 

[0115] 화학식 (I), (I-A), (I-B), (I-B'), (II), (II-A), (II-B) 또는 (II-B') 중 어느 하나의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 경우 변수 PBRM, L^C, A^1, T^1, M^A, L^D, D 및 d_{15}는 각각 적용 가능하다면 본원에 기재된 기로부터 선택될 수 있으며, 임의의 변수 PBRM, L^C, A^1, T^1, M^A, L^D, D 및 d_{15}에 대하여 본원에 기재된 임의의 기는 적용 가능할 경우 변수 PBRM, L^C, A^1, T^1, M^A, L^D, D 및 d_{15} 중 나머지 중 하나 이상에 대하여 본원에 기재된 임의의 기와 조합될 수 있는 것으로 이해한다.

[0116] 변수 d_{15}

[0117] 일부 실시양태에서, d_{15}는 약 2 내지 약 14, 약 2 내지 약 12, 약 2 내지 약 10, 약 2 내지 약 8, 약 2 내지 약 6, 약 2 내지 약 4, 약 4 내지 약 10, 약 4 내지 약 8, 약 4 내지 약 6, 약 6 내지 약 14, 약 6 내지 약 12, 약 6 내지 약 10, 약 6 내지 약 8, 약 8 내지 약 14, 약 8 내지 약 12 또는 약 8 내지 약 10 범위 내의 정수이다.

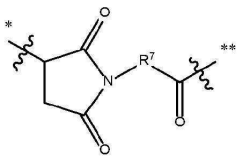
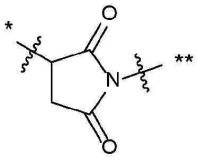
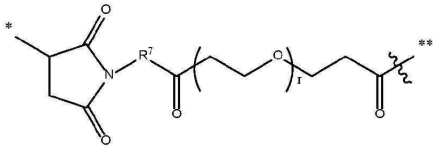
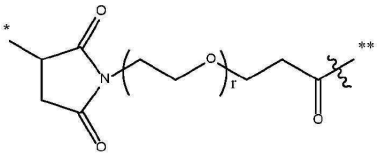
[0118] 일부 실시양태에서, d_{15}는 약 2 내지 약 8 범위 내의 정수이다.

[0119] 일부 실시양태에서, d_{15}는 2, 4, 6 또는 8이다. 일부 실시양태에서, d_{15}는 6 또는 8이다.

[0120] 일부 실시양태에서, d_{15}는 8이다. 일부 실시양태에서, d_{15}는 6이다.

[0121] 변수 A^1 및 $A^{1'}$

[0122] 일부 실시양태에서, 각각의 A^1은 독립적으로 PBRM을 L^C가 존재할 경우 L^C에 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 D에 연결하는 2가 링커 모이어티이다.

[0123] 일부 실시양태에서, 각각의 A^1은 독립적으로  ,  ,  또는  이며;

[0124] 상기 식에서,

[0125] R^7은 -O-, $-NR^8$, -(C_1-C_{10} 알킬)-, -(C_1-C_{10} 알케닐)-, -(C_1-C_{10} 알키닐)-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-, -아릴-, -O-(C_1-C_8 알킬)-, -O-(C_1-C_{10} 알케닐)-, -O-(C_1-C_{10} 알키닐)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-(C_3-C_8 시클로알킬)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-아릴-, -(C_2-C_{10} 알케닐)-(C_3-C_8 시클로알킬)-, -(C_2-C_{10} 알케닐)-아릴-, -(C_2-C_{10} 알키닐)-(C_3-C_8 시클로알킬)-, -(C_2-C_{10} 알키닐)-아릴-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-(C_1-C_{10} 알킬)-, -아릴-(C_1-C_{10} 알킬)-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-(C_2-C_{10} 알케닐)-, -아릴-(C_2-C_{10} 알케닐)-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-(C_2-C_{10} 알키닐)-, -아릴-(C_2-C_{10} 알키닐)-, -(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(C_2-C_{10} 알케닐)-(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(C_2-C_{10} 알케닐)-(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(C_2-C_{10} 알키닐)-(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(C_2-C_{10} 알키닐)-(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-(C_1-C_{10} 알킬)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-(C_1-C_{10} 알킬)-, -(3 내지 8원

헤테로시클로알킬)-(C_2-C_{10} 알케닐)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-(C_2-C_{10} 알케닐)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-(C_2-C_{10} 알키닐)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-(C_2-C_{10} 알키닐)-, -O-C(O)-$(CH_2CH_2O)_r$-$(CH_2)_2$-, -$(CH_2CH_2O)_r$- 또는 -$(CH_2CH_2O)_r$-$(CH_2)_2$-이며, 여기서 알킬, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 아릴, 헤테로시클로알킬 또는 헤테로아릴은 임의로 치환되며;

[0126] R^8은 H, 히드록시 또는 C_{1-4} 알킬이며;

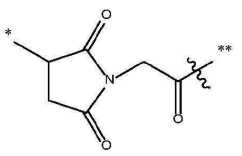
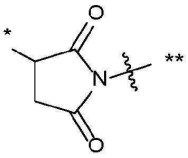
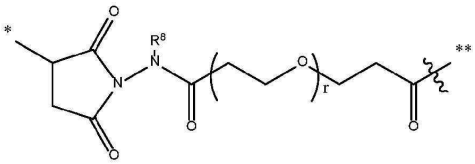
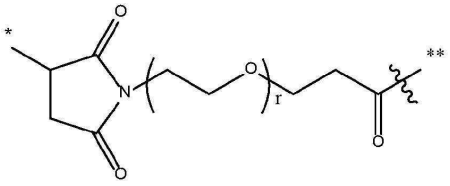
[0127] r은 약 1 내지 약 12 범위 내의 정수이며;

[0128] *는 PBRM으로의 부착을 나타내며, **는 L^C가 존재할 경우 L^C로의 부착 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 D로의 부착을 나타낸다.

[0129] 일부 실시양태에서, R^7은 -O-, -NR^8, -(C_1-C_{10} 알킬)-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-, -아릴-, -O-(C_1-C_8 알킬)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-아릴-, -아릴-(C_1-C_{10} 알킬)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-(C_3-C_8 시클로알킬)-, -(C_3-C_8 시클로알킬)-(C_1-C_{10} 알킬)-, -(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-, -(C_1-C_{10} 알킬)-(5 내지 8원 헤테로아릴)-, -(3 내지 8원 헤테로시클로알킬)-(C_1-C_{10} 알킬)-, -(5 내지 8원 헤테로아릴)-(C_1-C_{10} 알킬)-, -O-C(O)-$(CH_2CH_2O)_r$-$(CH_2)_2$-, -$(CH_2CH_2O)_r$- 또는 -$(CH_2CH_2O)_r$-$(CH_2)_2$-이다.

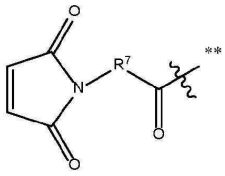
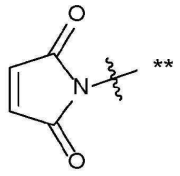
[0130] 일부 실시양태에서, R^7은 -(C_1-C_{10} 알킬)-, -O-(C_1-C_8 알킬)-, -$(CH_2CH_2O)_r$-, -O-C(O)-$(CH_2CH_2O)_r$-$(CH_2)_2$- 또는 -$(CH_2CH_2O)_r$-$(CH_2)_2$-이다.

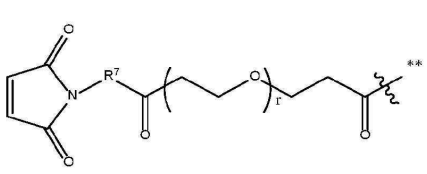
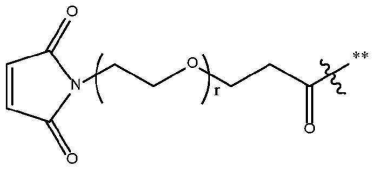
[0131] 일부 실시양태에서, R^7은 -O-, -NH, -N(CH_3), -CH_2-, -$(CH_2)_2$-, -$(CH_2)_5$-, -O-C(O)-$(CH_2CH_2O)_6$-$(CH_2)_2$-, -(CH_2CH_2O)-$(CH_2)_2$-, -$(CH_2CH_2O)_2$-$(CH_2)_2$-, -$(CH_2CH_2O)_4$-$(CH_2)_2$- 또는 -$(CH_2CH_2O)_6$-$(CH_2)_2$-이다.

[0132] 일부 실시양태에서, 각각의 A^1은 독립적으로  ,  ,  또는  이며;

[0133] 여기서 R^8은 H, 히드록시 또는 C_{1-4} 알킬이며; r은 약 4 내지 약 6 범위 내의 정수이며; *는 PBRM으로의 부착을 나타내며, **는 L^C가 존재할 경우 L^C로의 부착 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 D로의 부착을 나타낸다.

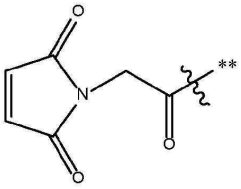
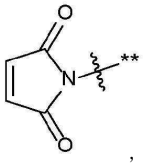
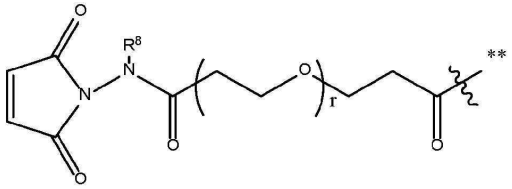
[0134] 각각의 A^1은 PBRM에 연결되기 이전에 독립적으로 1가 모이어티 $A^{1'}$에 해당하는 것으로 이해한다.

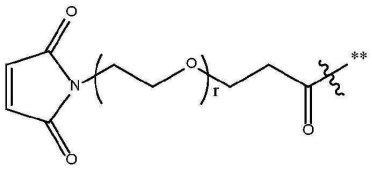
[0135] 일부 실시양태에서, 각각의 $A^{1'}$는 독립적으로  ,  ,

또는 이며;

[0136] 여기서 R^7, R^8 및 r은 본원에 기재된 바와 같으며, **는 L^C가 존재할 경우 L^C로의 부착 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 D로의 부착을 나타낸다.

[0137] 일부 실시양태에서, 각각의 $A^{1'}$는 독립적으로  ,  , 

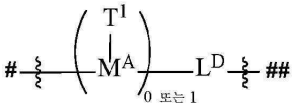
또는  이며; 여기서

[0138] r은 약 4 내지 약 6 범위 내의 정수이며;

[0139] **는 L^C가 존재할 경우 L^C로의 부착 또는 L^C가 존재하지 않을 경우 D로의 부착을 나타낸다.

[0140] 변수 L^C

[0141] 일부 실시양태에서, 각각의 L^C는 존재할 경우 독립적으로

[0142]  이며, 여기서

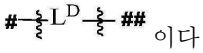
[0143] #는 A^1로의 부착을 나타내며, ##는 D로의 부착을 나타내며;

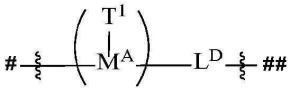
[0144] M^A는 존재할 경우 적어도 2종의 아미노산을 포함하는 펩티드 모이어티이며;

[0145] T^1는 존재할 경우 친수성 기이며;

[0146] L^D는 D를 M^A가 존재할 경우 M^A에 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1에 연결하는 2가 링커 모이어티이다.

[0147] 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 결합 분해시 D가 그의 의도한 치료적 효과를 위한 활성 형태로 방출되도록 적어도 1종의 분해 가능한 결합을 포함한다.

[0148] 일부 실시양태에서, 각각의 L^C는 존재할 경우 독립적으로  이다.

[0149] 일부 실시양태에서, 각각의 L^C는 존재할 경우 독립적으로  이다.

[0150] 변수 L^D

[0151] 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 독립적으로 D를 M^A가 존재할 경우 M^A에 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1에 연결하는 2가 링커 모이어티이다.

[0152] 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 결합 분해시 D가 그의 의도한 치료적 효과를 위한 활성 형태로 방출되도록 적어도 1종의 분해 가능한 결합을 포함한다.

[0153] 일부 실시양태에서, L^D는 1종의 분해 가능한 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, L^D는 복수의 분해 부위 또는 결합을 포함한다.

[0154] 각각의 L^D는 D에 연결되기 이전에 독립적으로 1가 모이어티 L^D'에 해당하는 것으로 이해한다.

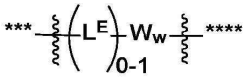
[0155] 일부 실시양태에서, L^D'는 분해 가능한 결합을 형성할 수 있는 작용기를 포함한다. 분해 가능한 결합을 형성할 수 있는 작용기는 예를 들면 디술피드 결합을 형성하는 술프히드릴 기, 히드라존 결합을 형성하는 알데히드, 케톤 또는 히드라진 기, 옥심 결합을 형성하는 히드록실아민 기, 펩티드 결합을 형성하는 카르복실 또는 아미노 기, 에스테르 결합을 형성하는 카르복실 또는 히드록시 기 및 글리코시드 결합을 형성하는 당을 포함할 수 있다.

[0156] 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 디술피드 교환에 의하여 분해 가능한 디술피드 결합, 산성 pH에서 분해 가능한 산 불안정 결합 및/또는 가수분해효소에 의하여 분해 가능한 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, L^D는 카르바메이트 결합(즉, -O-C(O)-NR-, 여기서 R은 수소 또는 알킬 등임)을 포함한다.

[0157] 일부 실시양태에서, L^D에서의 분해 가능한 결합의 구조 및 순서는 표적 부위에 존재하는 효소의 작용에 의하여 결합이 분해되도록 할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분해 가능한 결합은 기타 기전에 의하여 분해 가능할 수 있다.

[0158] 일부 실시양태에서, L^D에서의 분해 가능한 결합의 구조 및 순서는 표적 부위에 존재하는 효소의 작용에 의하여 결합이 분해되도록 할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분해 가능한 결합은 기타 기전에 의하여 분해 가능할 수 있다.

[0159] 일부 실시양태에서, 분해 가능한 결합(들)은 약물 단위 또는 D를 방출하기 위하여 종양 관련 프로테아제를 포함한 하나 이상의 효소에 의하여 효소적으로 분해될 수 있으며, 여기서 본 개시내용의 접합체 또는 그의 중간체 또는 스캐폴드는 생체내 방출시 양성자화되어 약물 단위 또는 D를 제공한다.

[0160] 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 독립적으로  이며, 여기서

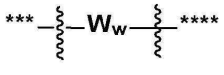
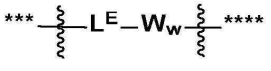
[0161] L^E는 존재할 경우 -NH-[$(CH_2CH_2O)_p$-$(CH_2)_{0-2}$]$_q$-C(O)-, -NH-(C_1-C_6 알킬)-O-C(O)- 또는 -NH-[$(CH_2CH_2O)_p$-$(CH_2)_{0-2}$]$_q$-C(O)-NH-(C_1-C_6 알킬)-O-C(O)-이며, 여기서 p는 약 1 내지 약 20범위 내의 정수이며, q는 약 1 내지 약 10 범위 내의 정수이며;

[0162] 각각의 W는 독립적으로 천연 또는 비천연 아미노산 단위이며;

[0163] w는 약 0 내지 약 12 범위 내의 정수이며;

[0164] ***는 M^A가 존재할 경우 M^A로의 부착 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1로의 부착을 나타내며;

[0165] ****는 D로의 부착을 나타낸다.

[0166] 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 독립적으로  이다. 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 독립적으로  이다. 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 독립적으로  이다.

[0167] 일부 실시양태에서, L^E는 적어도 1개의 PEG 단위를 포함한다.

[0168] 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 1개의 아단위, 적어도 2개의 아단위, 적어도 3개의 아단위, 적어도 4개의 아단위, 적어도 5개의 아단위 또는 적어도 6개의 아단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도

4개의 아단위, 적어도 3개의 아단위, 적어도 2개의 아단위 또는 적어도 1개의 아단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 1개의 아단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 2개의 아단위를 포함한다.

[0169] 일부 실시양태에서, p는 약 1 내지 약 15, 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 9, 약 1 내지 약 8, 약 1 내지 약 7, 약 1 내지 약 6 또는 약 1 내지 약 5 범위 내의 정수이다.

[0170] 일부 실시양태에서, p는 약 1 내지 약 6 범위 내의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 약 1 내지 약 4 범위 내의 정수이다. 일부 실시양태에서, p는 약 1 내지 약 2 범위 내의 정수이다.

[0171] 일부 실시양태에서, p는 2이다.

[0172] 일부 실시양태에서, q는 약 1 내지 약 15, 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 9, 약 1 내지 약 8, 약 1 내지 약 7, 약 1 내지 약 6 또는 약 1 내지 약 5 범위 내의 정수이다.

[0173] 일부 실시양태에서, q는 1, 2, 3, 4 또는 5이다. 일부 실시양태에서, q는 2이다.

[0174] 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-$(CH_2CH_2O)_{1-4}$-$(CH_2)_2$-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-$(CH_2CH_2O)_2$-$(CH_2)_2$-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-$(CH_2CH_2O)_3$-$(CH_2)_{0-2}$-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-$(CH_2CH_2O)_3$-$(CH_2)_1$-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-$(CH_2CH_2O)_3$-$(CH_2)_2$-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-CH_2CH_2O-$(CH_2)_{0-2}$-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-CH_2CH_2O-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-(C_1-C_6 알킬)-O-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-CH_2-$CH(CH_3)$-O-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-[$(CH_2CH_2O)_{1-4}$-$(CH_2)_2$-C(O)-NH-(C_1-C_6 알킬)-O-C(O)-이다. 일부 실시양태에서, L^E는 존재할 경우 -NH-CH_2CH_2O-$(CH_2)_2$-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-O-C(O)-이다.

[0175] 일부 실시양태에서, w는 약 1 내지 약 12(예, 1 내지 6 또는 1 내지 4 또는 1 내지 3 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12) 범위 내의 정수이다.

[0176] 일부 실시양태에서, w는 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이다. 일부 실시양태에서, w는 1, 2, 3, 4 또는 5이다.

[0177] 일부 실시양태에서, w는 1이다. 일부 실시양태에서, w는 2이다. 일부 실시양태에서, w는 3이다.

[0178] 일부 실시양태에서, 각각의 W는 독립적으로 천연 또는 비천연 아미노산 및/또는 D 또는 L 이성질체이다.

[0179] 일부 실시양태에서, 각각의 W는 독립적으로 천연 또는 비천연인 알파, 베타 또는 감마 아미노산이다.

[0180] 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 W는 천연 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 W는 비천연 아미노산이다.

[0181] 일부 실시양태에서, Ww는 천연 아미노산을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, W_w는 비천연 아미노산을 포함하지 않는다.

[0182] 일부 실시양태에서, W_w는 비천연 아미노산에 연결된 천연 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, W_w는 천연 아미노산의 D-이성질체에 연결된 천연 아미노산을 포함한다.

[0183] 일부 실시양태에서, W_w는 디펩티드, 예를 들면 -Val-Cit-, -Phe-Lys-, -Val-Ala- 또는 Glu-Ala이다.

[0184] 일부 실시양태에서, W_w는 모노펩티드, 디펩티드, 트리펩티드, 테트라펩티드, 펜타펩티드, 헥사펩티드, 헵타펩티드, 옥타펩티드, 노나펩티드, 데카펩티드, 운데카펩티드 또는 도데카펩티드 단위이다.

[0185] 일부 실시양태에서, W_w는 D에 직접 접합되는 펩티드(예, 1 내지 12개의 아미노산의 펩티드)이다. 일부 실시양태에서, 펩티드는 단일 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 펩티드는 디펩티드이다. 일부 실시양태에서, 펩티드는 트리펩티드이다.

[0186] 일부 실시양태에서, W_w에서의 각각의 아미노산은 알라닌, β-알라닌, 아르기닌, 아스파르트산, 아스파라긴, 히스티딘, 글리신, 글루탐산, 글루타민, 페닐알라닌, 리신, 류신, 세린, 티로신, 트레오닌, 이소류신, 프롤린, 트립토판, 발린, 시스테인, 메티오닌, 셀레노시스테인, 오르니틴, 페니실라민, 아미노알칸산, 아미노알킨산, 아미노알칸2산, 아미노벤조산, 아미노-헤테로시클로-알칸산, 헤테로시클로-카르복실산, 시트룰린, 스타틴, 디아미노알칸산 및 그의 유도체로부터 독립적으로 선택된다.

[0187] 일부 실시양태에서, W_w에서의 각각의 아미노산은 알라닌, β-알라닌, 아르기닌, 아스파르트산, 아스파라긴, 히스티딘, 글리신, 글루탐산, 글루타민, 페닐알라닌, 리신, 류신, 세린, 티로신, 트레오닌, 이소류신, 프롤린, 트립토판, 발린, 시트룰린 및 그의 유도체로부터 독립적으로 선택된다.

[0188] 일부 실시양태에서, W_w에서의 각각의 아미노산은 단백질생성 및 비단백질생성 아미노산으로부터 독립적으로 선택된다.

[0189] 일부 실시양태에서, W_w에서의 각각의 아미노산은 하기 아미노산의 L 또는 D 이성질체로부터 독립적으로 선택된다: 알라닌, β-알라닌, 아르기닌, 아스파르트산, 아스파라긴, 시스테인, 히스티딘, 글리신, 글루탐산, 글루타민, 페닐알라닌, 리신, 류신, 메티오닌, 세린, 티로신, 트레오닌, 트립토판, 프롤린, 오르니틴, 페니실라민, 아미노알킨산, 아미노알칸2산, 헤테로시클로-카르복실산, 시트룰린, 스타틴, 디아미노알칸산, 발린, 시트룰린 및 그의 유도체.

[0190] 일부 실시양태에서, W_w에서의 각각의 아미노산은 독립적으로 시스테인, 호모시스테인, 페니실라민, 오르니틴, 리신, 세린, 트레오닌, 글리신, 글루타민, 알라닌, 아스파르트산, 글루탐산, 셀레노시스테인, 프롤린, 글리신, 이소류신, 류신, 메티오닌, 발린, 시트룰린 또는 알라닌이다.

[0191] 일부 실시양태에서, W_w에서의 각각의 아미노산은 하기 아미노산의 L-이성질체로부터 독립적으로 선택된다: 알라닌, β-알라닌, 아르기닌, 아스파르트산, 아스파라긴, 히스티딘, 글리신, 글루탐산, 글루타민, 페닐알라닌, 리신, 류신, 세린, 티로신, 트레오닌, 이소류신, 트립토판, 시트룰린 및 발린.

[0192] 일부 실시양태에서, W_w에서의 각각의 아미노산은 하기 아미노산의 D-이성질체로부터 독립적으로 선택된다: 알라닌, β-알라닌, 아르기닌, 아스파르트산, 아스파라긴, 히스티딘, 글리신, 글루탐산, 글루타민, 페닐알라닌, 리신, 류신, 세린, 티로신, 트레오닌, 이소류신, 트립토판, 시트룰린 및 발린.

[0193] 일부 실시양태에서, W_w에서의 각각의 아미노산은 알라닌, β-알라닌, 글리신, 글루탐산, 이소글루탐산, 이소아스파르트산, 발린 시트룰린 또는 아스파르트산이다.

[0194] 일부 실시양태에서, W_w는 β-알라닌을 포함한다. 일부 실시양태에서, W는 (β-알라닌)-(알라닌)을 포함한다. 일부 실시양태에서, W_w는 (β-알라닌) 및 임의로 글루탐산, 이소글루탐산, 아스파르트산, 이소아스파르트산, 발린, (발린)-(알라닌), (알라닌)-(알라닌) 또는 (발린)-(시트룰린)을 포함한다.

[0195] 일부 실시양태에서, W_w는 (글루탐산)-(알라닌)을 포함한다.

[0196] 일부 실시양태에서, W_w는 글루탐산 및 임의로 알라닌, 글리신, 이소글루탐산, 아스파르트산, 이소아스파르트산, 발린, (발린)-(알라닌), (알라닌)-(알라닌) 또는 (발린)-(시트룰린)을 포함한다.

[0197] 일부 실시양태에서, W_w는 2,3-디아미노프로판산을 포함한다. 일부 실시양태에서, W_w는 (R)-2,3-디아미노프로판산을 포함한다. 일부 실시양태에서, W_w는 글루탐산을 포함한다. 일부 실시양태에서, W_w는 (글루탐산)-(알라닌)을 포함한다. 일부 실시양태에서, W_w는 (글루탐산)-(글리신)-(알라닌)을 포함한다.

[0198] 일부 실시양태에서, W_w는 L-글루탐산, D-글루탐산, (L-글루탐산)-(L-알라닌), (L-글루탐산)-(D-알라닌), (D-글루탐산)-(L-알라닌), (D-글루탐산)-(D-알라닌), (L-글루탐산)-(글리신)-(L-알라닌), D-글루탐산)-(글리신)-(D-알라닌), (L-글루탐산)-(글리신)-(D-알라닌) 또는 (D-글루탐산)-(글리신)-(L-알라닌)을 포함한다.

[0199] 일부 실시양태에서, W_w는 하나 이상의 아미노산 이외에 카르바메이트 결합을 포함한다.

[0200] 일부 실시양태에서, L^D(예, W_w)는 효소 분해(예, 특정한 효소에 의함)에 대하여 선택적이다. 일부 실시양태에서,

특정한 효소는 종양 관련 프로테아제이다.

[0201] 일부 실시양태에서, L^D(예, W_w)는 카텝신 B, 카텝신 C, 카텝신 D 또는 플라스민 프로테아제에 의하여 촉매화되는 분해를 갖는 결합을 포함한다.

[0202] 일부 실시양태에서, L^D는 당 분해 부위를 포함한다.

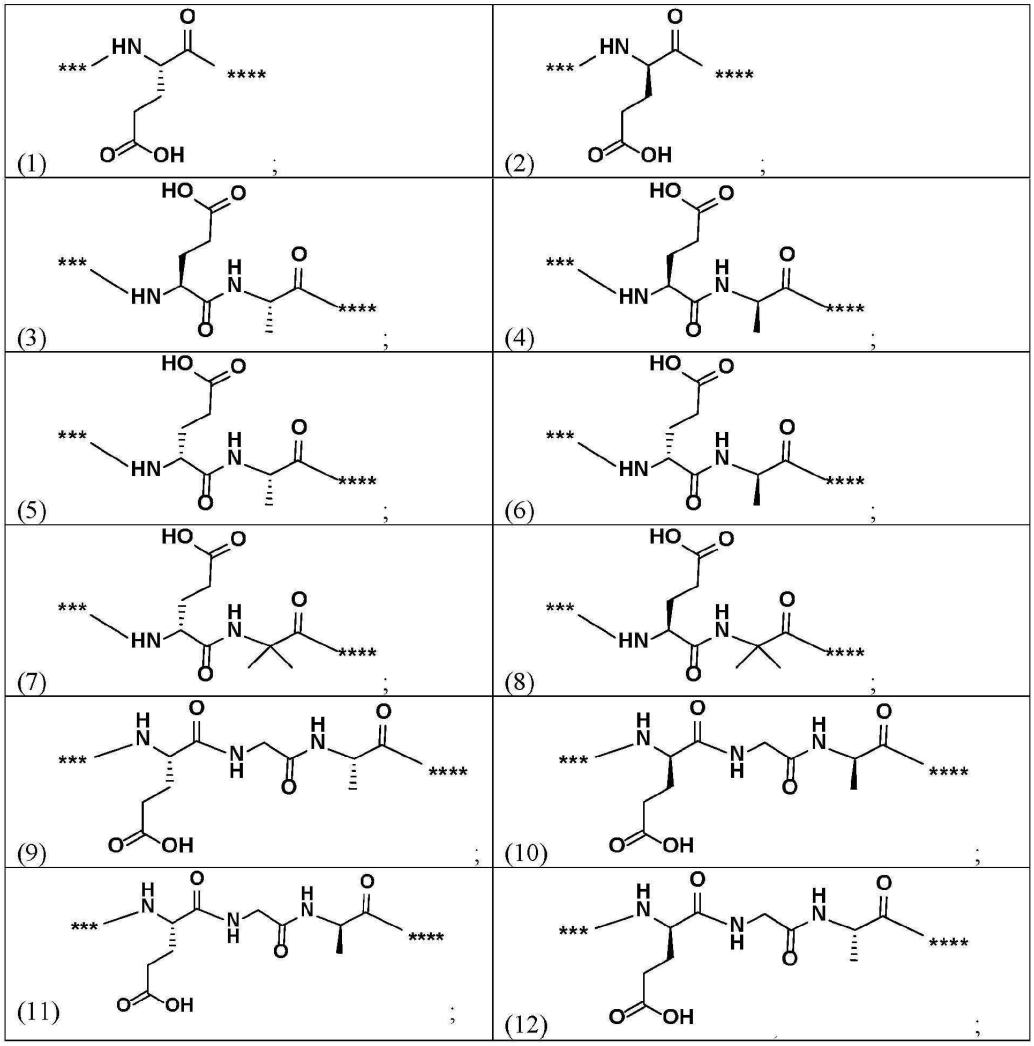
[0203] 일부 실시양태에서, L^D는 자기 희생 기로의 산소 글리코시드 결합을 경유하여 연결되는 당 모이어티(Su)를 포함한다.

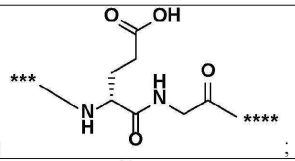
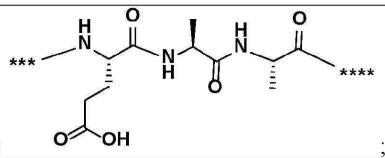
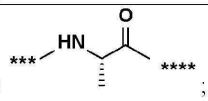
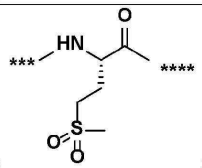
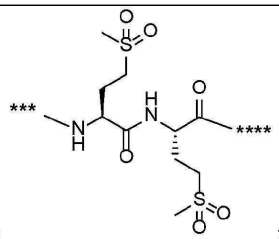
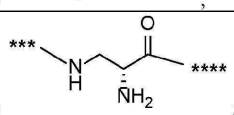
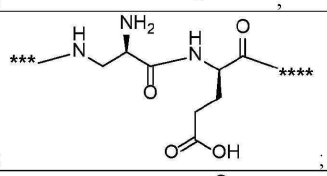
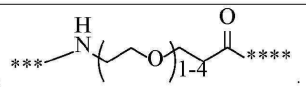
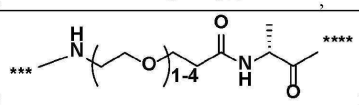
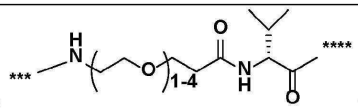
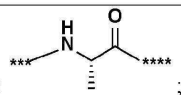
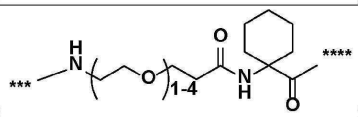
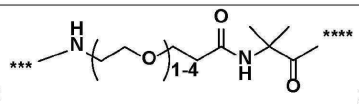
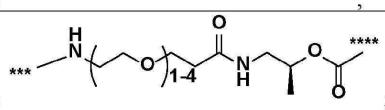
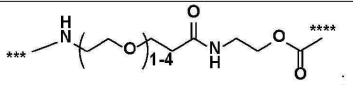
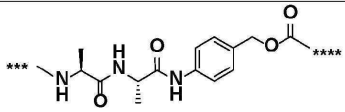
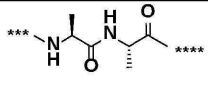
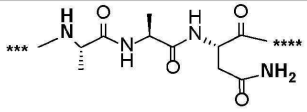
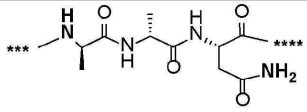
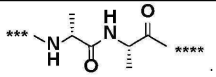
[0204] 일부 실시양태에서, "자기 희생 기"는 M^A가 존재할 경우 3종의 이격된 화학적 모이어티(즉, 당 모이어티(글리코시드 결합 경유), 약물 단위(직접적으로 또는 간접적으로) 및 M^A(직접적으로 또는 간접적으로) 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1과 함께 공유 연결될 수 있는 3작용성 화학적 모이어티일 수 있다.

[0205] 일부 실시양태에서, 글리코시드 결합은 표적 부위에서 분해되어 자기 희생 반응 시퀀스를 개시하여 약물을 방출할 수 있다.

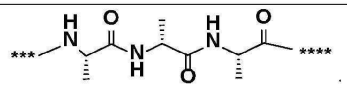
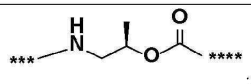
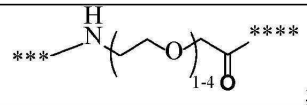
[0206] 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 존재할 경우 독립적으로 하기이며:

[0207]



(13)  ;	(14)  ;
(15)  ;	(16)  ;
(17)  ;	(18)  ;
(19)  ;	(20)  ;
(21)  ;	(22)  ;
(23)  ;	(24)  ;
(25)  ;	(26)  ;
(27)  ;	(28)  ;
(29)  ;	(30)  ;
(31)  ;	(32)  ;

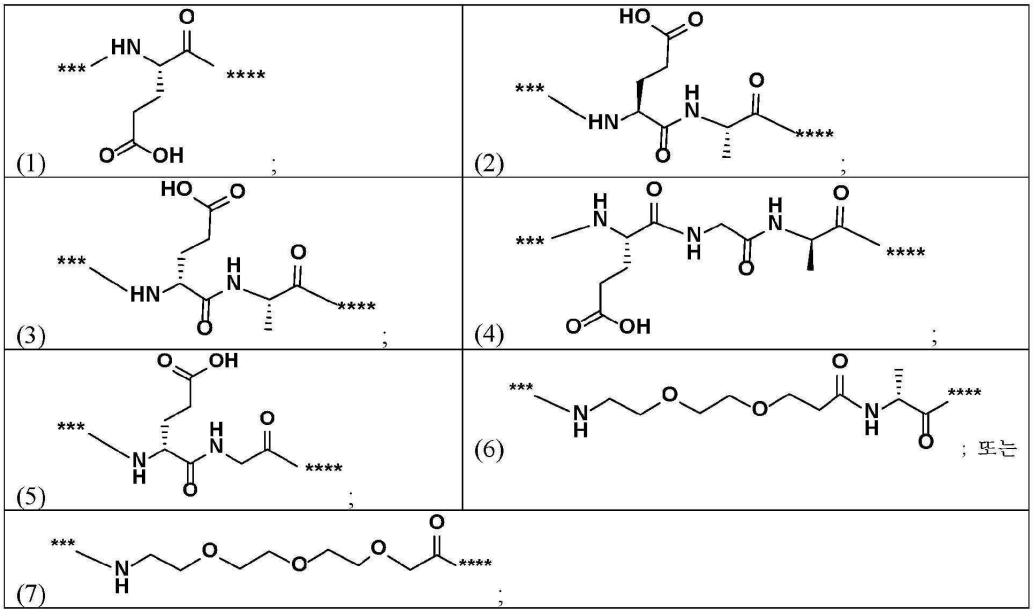
[0208]

(33)  ;	(34)  ; 또는
(35)  ;	

[0209]

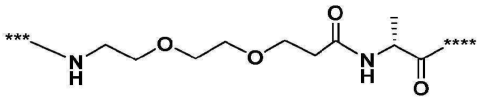
[0210] 여기서 ***는 M^A가 존재할 경우 M^A로의 부착 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1로의 부착을 나타내며, ****는 D로의 부착을 나타낸다.

[0211] 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 존재할 경우 독립적으로 하기이며:

[0212] 

[0213] 여기서 ***는 M^A가 존재할 경우 M^A로의 부착 또는 M^A가 존재하지 않을 경우 A^1로의 부착을 나타내며; ****는 D로의 부착을 나타낸다.

[0214] 일부 실시양태에서, 각각의 L^D는 존재할 경우 독립적으로

[0215]  이며,

[0216] 여기서, ***는 M^A로의 부착을 나타내며, ****는 D로의 부착을 나타낸다.

[0217] 변수 M^A

[0218] 일부 실시양태에서, M^A는 적어도 2종의 아미노산의 펩티드 모이어티를 포함한다.

[0219] 일부 실시양태에서, 아미노산은 본원에서 "AA"로 지칭하며, 아미노산들은 "AA들"로 지칭한다.

[0220] 일부 실시양태에서, M^A는 $-L^D-D$ 단위와의 공유 결합을 형성할 수 있으며, 복수의 약물의 부착을 허용하는 모이어티이다.

[0221] 일부 실시양태에서, M^A는 단일 AA 단위를 포함하거나 또는 2개 이상의 AA 단위(예, 2 내지 10, 2 내지 6 또는 2, 3, 4, 5 또는 6개)를 가지며, 여기서 AA 단위는 각각 독립적으로 천연 또는 비천연 아미노산, 아미노 알콜, 아미노 알데히드, 디아민, 폴리아민 또는 그의 조합이다.

[0222] 일부 실시양태에서, 필수 개수의 부착을 갖기 위하여, AA 단위 중 적어도 1개는 $-L^D-D$ 단위의 부착을 제공하기 위하여 작용화된 측쇄를 가질 것이다. 일부 실시양태에서, 예시의 작용화된 AA 단위(예, 아미노산, 아미노 알콜 또는 아미노 알데히드)는 예를 들면 아지도 또는 알킨 작용화된 AA 단위(예, 아지드 기 또는 알킨 기를 갖도록 변형된 아미노산, 아미노 알콜 또는 아미노 알데히드)를 포함한다.

[0223] 일부 실시양태에서, M^A는 2 내지 12개의 AA 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, M^A는 2 내지 10개의 AA 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, M^A는 2 내지 6개의 AA 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, M^A는 2, 3, 4, 5 또는 6개의 AA 단위를 포함한다.

[0224] 일부 실시양태에서, M^A는 2개의 AA 단위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는 3개의 AA 단위를 갖

는다. 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는 4개의 AA 단위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는 5개의 AA 단위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는 6개의 AA 단위를 갖는다.

[0225] 일부 실시양태에서, M^A 내에서 또는 접합체, 그의 중간체 또는 스캐폴드의 기타 성분과의 부착은 예를 들면 아미노, 카르복시 또는 기타 작용기를 경유할 수 있다.

[0226] 일부 실시양태에서, M^A에서의 각각의 아미노산은 독립적으로 티올 함유 아미노산의 D 또는 L 이성질체일 수 있다. 일부 실시양태에서, M^A에서의 각각의 아미노산은 독립적으로 티올 함유 아미노산의 D 이성질체일 수 있다. 일부 실시양태에서, M^A에서의 각각의 아미노산은 독립적으로 티올 함유 아미노산의 L 이성질체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 티올 함유 아미노산은 예를 들면 시스테인, 호모시스테인 또는 페니실라민일 수 있다.

[0227] 일부 실시양태에서, M^A에서의 각각의 아미노산은 독립적으로 하기 아미노산의 L 또는 D 이성질체일 수 있다: 알라닌(β-알라닌 포함), 아르기닌, 아스파르트산, 아스파라긴, 시스테인, 히스티딘, 글리신, 글루탐산, 글루타민, 페닐알라닌, 리신, 류신, 메티오닌, 세린, 티로신, 트레오닌, 트립토판, 프롤린, 오르니틴, 페니실라민, 아미노알킨산, 아미노알칸2산, 헤테로시클로-카르복실산, 시트룰린, 스타틴, 디아미노알칸산, 그의 입체이성질체 또는 그의 유도체.

[0228] 일부 실시양태에서, M^A에서의 각각의 아미노산은 독립적으로 시스테인, 호모시스테인, 페니실라민, 오르니틴, 리신, 세린, 트레오닌, 글리신, 글루타민, 알라닌, 아스파르트산, 글루탐산, 셀레노시스테인, 프롤린, 글리신, 이소류신, 류신, 메티오닌, 발린, 알라닌 또는 그의 입체이성질체이다.

[0229] 일부 실시양태에서, M^A는 모노펩티드, 디펩티드, 트리펩티드, 테트라펩티드 또는 펜타펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, M^A는 펜타펩티드를 포함한다.

[0230] 일부 실시양태에서, M^A는 적어도 약 5종의 아미노산(예, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10종의 아미노산)을 포함한다. 일부 실시양태에서, M^A는 약 10종 이하의 아미노산을 포함한다.

[0231] 일부 실시양태에서, M^A에서의 각각의 아미노산은 독립적으로 글리신, 세린, 글루탐산, 리신, 아스파르트산 및 시스테인이다.

[0232] 일부 실시양태에서, M^A는 적어도 4개의 글리신 및 적어도 1개의 글루탐산, 예를 들면 $(글리신)_4$ 및 글루탐산을 포함하며, 여기서 글루탐산은 펩티드 쇄를 따라 임의의 위치에 존재하며, 예를 들면 (글루탐산)-$(글리신)_4$; (글리신)-(글루탐산)-$(글리신)_3$; $(글리신)_2$-(글루탐산)-$(글리신)_2$; $(글리신)_3$-(글루탐산)-(글리신); 또는 $(글리신)_4$-(글루탐산)이다.

[0233] 일부 실시양태에서, M^A는 $(글리신)_4$-(글루탐산)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는 (글루탐산)-$(글리신)_4$를 포함한다.

[0234] 일부 실시양태에서, M^A는 적어도 4개의 글리신 및 적어도 1개의 세린을 포함하며, 예를 들면 세린이 펩티드 쇄를 따른 임의의 위치에 있는 $(글리신)_4$ 및 세린, 예를 들면 (세린)-$(글리신)_4$; (글리신)-(세린)-$(글리신)_3$; $(글리신)_2$-(세린)-$(글리신)_2$; $(글리신)_3$-(세린)-(글리신); 또는 $(글리신)_4$-(세린)이다.

[0235] 일부 실시양태에서, M^A는 $(글리신)_4$-(세린)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는 (세린)-$(글리신)_4$를 포함한다.

[0236] 일부 실시양태에서, M^A는 세린이 펩티드 쇄를 따른 임의의 위치에 있는 (β-알라닌)-$(글리신)_4$-(세린), 예를 들면 (β-알라닌)-(세린)-$(글리신)_4$; (β-알라닌)-(글리신)-(세린)-$(글리신)_3$; (β-알라닌)-$(글리신)_2$-(세린)-$(글리신)_2$; (β-알라닌)-$(글리신)_3$-(세린)-(글리신); 또는 (β-알라닌)-$(글리신)_4$-(세린)이다.

[0237] 일부 실시양태에서, M^A는 세린이 펩티드 쇄를 따른 임의의 위치에 있는 (글리신)$_4$-(세린)-(글루탐산), 예를 들면 (세린)-(글리신)$_4$-(글루탐산); (글리신)-(세린)-(글리신)$_3$-(글루탐산); (글리신)$_2$-(세린)-(글리신)$_2$-(글루탐산); (글리신)$_3$-(세린)-(글리신)-(글루탐산); 또는 (글리신)$_4$-(세린)-(글루탐산)이다. 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는 세린이 펩티드 쇄를 따른 임의의 위치에 있는 (β-알라닌)-(글리신)$_4$-(세린)-(글루탐산), 예를 들면 (β-알라닌)-(세린)-(글리신)$_4$-(글루탐산); (β-알라닌)-(글리신)-(세린)-(글리신)$_3$-(글루탐산); (β-알라닌)-(글리신)$_2$-(세린)-(글리신)$_2$-(글루탐산); (β-알라닌)-(글리신)$_3$-(세린)-(글리신)-(글루탐산); 또는 (β-알라닌)-(글리신)$_4$-(세린)-(글루탐산)이다.

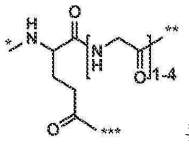
[0238] 일부 실시양태에서, M^A는 (글리신)$_4$-(세린)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는 (세린)-(글리신)$_4$를 포함한다.

[0239] 일부 실시양태에서, M^A는 세린이 펩티드 쇄를 따른 임의의 위치에 있는 (β-알라닌)-(글리신)$_4$-(세린)을 포함한다.

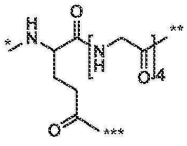
[0240] 일부 실시양태에서, M^A는 세린이 펩티드 쇄를 따른 임의의 위치에 있는 (글리신)$_4$-(세린)-(글루탐산)을 포함한다.

[0241] 일부 실시양태에서, M^A는 세린이 펩티드 쇄를 따른 임의의 위치에 있는 (β-알라닌)-(글리신)$_4$-(세린)-(글루탐산)을 포함한다.

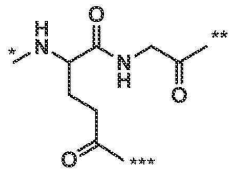
[0242] 일부 실시양태에서, M^A는 (글루탐산)-(글리신)$_{1-4}$를 포함하며, 여기서 M^A는 글루탐산 중 1개를 경유하여 A^1에 부착되며; M^A는 글리신을 경유하여 T^1에 부착되며. M^A는 글루탐산을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0243] 일부 실시양태에서, M^A는  를 포함한다.

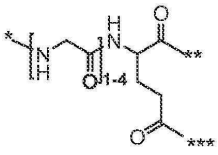
[0244] 일부 실시양태에서, M^A는 (글루탐산)-(글리신)$_4$를 포함하며, 여기서 M^A는 글루탐산을 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 글리신 중 하나를 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 글루탐산을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0245] 일부 실시양태에서, M^A는  를 포함한다.

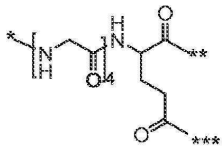
[0246] 일부 실시양태에서, M^A는 (글루탐산)-(글리신)을 포함하며, 여기서 M^A는 글루탐산을 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 글리신을 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 글루탐산을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0247] 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는  을 포함한다.

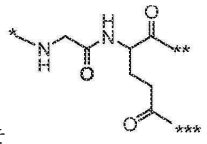
[0248] 일부 실시양태에서, M^A는 (글리신)$_{1-4}$-(글루탐산)을 포함하며, 여기서 M^A는 글리신 중 하나를 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 글루탐산을 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 글루탐산을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0249] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

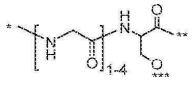
[0250] 일부 실시양태에서, M^A는 $(글리신)_4$-(글루탐산)을 포함하며, 여기서 M^A는 글루탐산을 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 글리신을 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 글루탐산을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0251] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

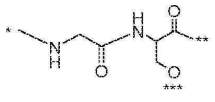
[0252] 일부 실시양태에서, M^A는 (글리신)-(글루탐산)을 포함하며, 여기서 M^A는 글리신을 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 글루탐산을 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 글루탐산을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0253] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

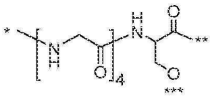
[0254] 일부 실시양태에서, M^A는 $(글리신)_{1-4}$-(세린)을 포함하며, 여기서 M^A는 글리신 중 하나를 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0255] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

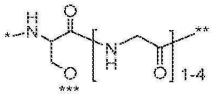
[0256] 일부 실시양태에서, M^A는 (글리신)-(세린)을 포함하며, 여기서 M^A는 글리신을 경유하여 A^1에 부착되며; M^A는 세린을 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0257] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

[0258] 일부 실시양태에서, M^A는 $(글리신)_4$-(세린)을 포함하며, 여기서 M^A는 글리신 중 하나를 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 L^D에 부착된다.

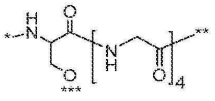
[0259] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

[0260] 일부 실시양태에서, M^A는 (세린)-$(글리신)_{1-4}$을 포함하며, 여기서 M^A는 세린을 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 글리신 중 하나를 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 L^D에 부착된다.

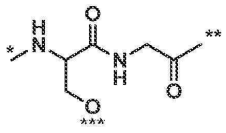
[0261] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

[0262] 일부 실시양태에서, M^A는 (세린)-$(글리신)_4$을 포함하며, 여기서 M^A는 세린을 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 글리

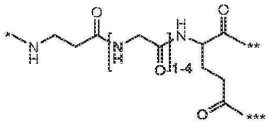
신 중 하나를 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0263] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다

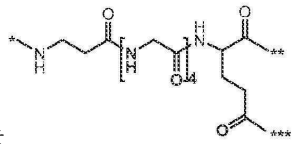
[0264] 일부 실시양태에서, M^A는 (세린)-(글리신)을 포함하며, 여기서 M^A는 세린을 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 글리신 중 하나를 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0265] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

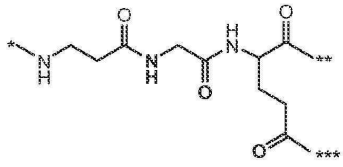
[0266] 일부 실시양태에서, M^A는 (β-알라닌)-(글리신)$_{1-4}$-(세린)을 포함하며, 여기서 M^A는 β-알라닌을 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0267] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

[0268] 일부 실시양태에서, M^A는 (β-알라닌)-(글리신)$_4$-(세린)을 포함하며, 여기서 M^A는 β-알라닌을 경유하여 A^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 T^1에 부착되며, M^A는 세린을 경유하여 L^D에 부착된다.

[0269] 일부 실시양태에서, M^A는  을 포함한다.

[0270] 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는 (β-알라닌)-(글리신)-(글루탐산)을 포함하며, 여기서 펩티드 모이어티는 β-알라닌을 경유하여 존재할 경우 L^3에 부착되거나 또는 L^3이 존재하지 않을 경우 L^M에 부착되며, 펩티드 모이어티는 글루탐산을 경유하여 존재할 경우 T^1에 부착되며, 펩티드 모이어티는 글루탐산을 경유하여 존재할 경우 L^D에 부착된다.

[0271] 일부 실시양태에서, 펩티드 모이어티는  을 포함한다.

[0272] M^A의 실시양태의 경우 *는 A^1로의 부착을 나타내며, **는 T^1로의 부착을 나타내며, ***는 L^D로의 부착을 나타내는 것으로 이해한다.

[0273] 친수성 기(변수 T^1)

[0274] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체 또는 스캐폴드에 포함된 친수성 기는 수용성 및 실질적으로 비항원성 중합체이다. 친수성 기의 예는 폴리알콜, 폴리에테르, 폴리음이온, 폴리양이온, 폴리인산, 폴리아민, 다당류, 폴리히드록시 화합물, 폴리리신 및 그의 유도체를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 친수성 기의 한 단부는 분해 불가한 연결에 의하여 또는 분해 가능한 연결을 경유하여 M^A 링커에(예, M^A 링커에서의 아미노산에) 공유 부착될 수 있도록 작용화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 작용화는 예를 들면 아민, 티올, NHS 에스테르, 말레이미드, 알킨, 아지드, 카르보닐 또는 기타 작용기를 경유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친수

성 기의 기타 말단(또는 말단들)은 자유로우며, 테터링되어 있지 않을 것이다. 일부 실시양태에서, "테터링되어 있지 않다"라는 것은 친수성 기가 본 개시내용의 접합체 또는 스캐폴드의 또 다른 모이어티, 예컨대 D 또는 약물 단위 또는 기타 성분에 부착되지 않을 것이라는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 친수성 기의 자유로우며, 테터링되지 않은 단부는 메톡시, 카르복실산, 알콜 또는 기타 적절한 작용기를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 메톡시, 카르복실산, 알콜 또는 기타 적절한 작용기는 친수성 기의 말단 또는 말단들에 대한 캡(cap)으로서 작용한다.

[0275] 일부 실시양태에서, 분해 가능한 연결은 혈장 중에서는 순환되지만, 세포내 또는 종양내 환경 내에서의 분해에 민감하면서 분해에 실질적으로 민감하지 않은 연결을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 분해 불가한 연결은 임의의 생물학적 환경 내에서 분해에 실질적으로 민감하지 않은 것이다. 일부 실시양태에서, 히드라존의 화학적 가수분해, 디술피드의 환원 및 펩티드 결합 또는 글리코시드 연결의 효소 분해는 분해 가능한 연결의 예이다. 일부 실시양태에서, 친수성 기의 예시의 부착은 아미드 연결, 에테르 연결, 에스테르 연결, 히드라존 연결, 옥심 연결, 디술피드 연결, 펩티드 연결 또는 트리아졸 연결을 경유한다. 일부 실시양태에서, M^A 링커(예, M^A 링커에서의 아미노산)으로의 친수성 기의 부착은 아미드 연결을 경유한다.

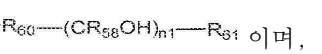
[0276] 본 개시내용의 접합체 또는 스캐폴드가 1개 초과의 친수성 기를 포함하는 일부 실시양태에서, 복수의 친수성 기는 동일하거나 또는 상이한 화학적 모이어티(예, 상이한 분자량, 아단위의 개수 또는 화학적 구조의 친수성 기)일 수 있다. 일부 실시양태에서, 복수의 친수성 기는 단일의 부착 부위 또는 상이한 부착에서 M^A 링커에 부착될 수 있다.

[0277] 일부 실시양태에서, 친수성 기의 첨가는 생성된 접합체의 약물동태학에 대한 2가지의 잠재적 영향을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 원하는 영향은 약물 또는 약물-링커의 노출된 소수성 엘리먼트에 의하여 유발되는 비특이성 상호작용에서의 감소로부터 발생하는 청소율의 감소(및 그에 따른 노출에서의 증가)이다. 일부 실시양태에서, 원하지 않는 영향은 접합체의 분자량의 증가로부터 발생할 수 있는 부피 및 분배율의 감소이다. 일부 실시양태에서, 친수성 기의 분자량의 증가는 접합체의 유체역학적 반경을 증가시키며, 이는 접합체가 종양의 내부에 침투할 수 있는 능력을 약화시킬 수 있는 감소된 확산율을 야기한다. 상기 2가지 경쟁적 약물동태학적 효과로 인하여, 접합체 청소율을 감소시켜서 혈장 노출을 증가시키기에 충분히 크지만, 그의 확산율을 크게 약화시킬 정도로 크지 않아서 접합체가 의도하는 표적 세포 모집단에 도달할 수 있는 능력을 감소시킬 수 있는 친수성 기를 사용하는 것이 바람직할 수 있다.

[0278] 일부 실시양태에서, 친수성 기는 당 알콜(또한 폴리알콜, 다가 알콜, 알디톨, 글리시톨, 예컨대 이노시톨, 글리세롤, 에리트리톨, 트레이톨, 아라비톨, 크실리톨, 리비톨, 갈락티톨, 만니톨, 소르비톨 등으로 공지됨) 또는 그의 유도체(예, 아미노 폴리알콜), 탄수화물(예, 당류), 폴리비닐 알콜, 탄수화물계 중합체(예, 덱스트란), 히드록시프로필메타크릴아미드(HPMA), 폴리알킬렌 옥시드 및/또는 그의 공중합체를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0279] 일부 실시양태에서, T^1은 복수의 히드록실("-OH") 기, 예컨대 단당류, 올리고당류, 다당류 등을 혼입하는 모이어티를 포함한다.

[0280] 일부 실시양태에서, T^1은 복수의 $-(CR_{58}OH)-$ 기를 포함하며, 여기서 R_{58}은 -H 또는 C_{1-8} 알킬이다.

[0281] 일부 실시양태에서, T^1은 -OH 또는  이며, 여기서

[0282] n_1은 0 내지 약 6의 정수이며;

[0283] 각각의 R_{58}은 독립적으로 -H 또는 C_{1-8} 알킬이며;

[0284] R_{60}은 결합, C_{1-6} 알킬 링커 또는 $-CHR_{59}-$이며, 여기서 R_{59}는 -H, C_{1-8} 알킬, 시클로알킬 또는 아릴알킬이며;

[0285] R_{61}은 CH_2OR_{62}, $COOR_{62}$, $-(CH_2)_{n2}COOR_{62}$ 또는, 하나 이상의 히드록실로 치환된 헤테로시클로알킬이며;

[0286] R_{62}는 -H 또는 C_{1-8} 알킬이며;

[0287] n_2는 1 내지 약 5의 정수이다.

[0288] 일부 실시양태에서, T^1은 -OH이다. 일부 실시양태에서, T^1은 $-NH-R_{60}-(CR_{58}OH)_{n1}-R_{61}$ 이다.

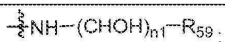
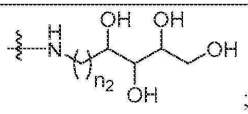
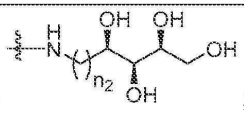
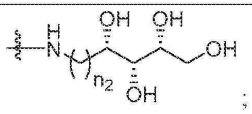
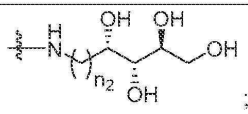
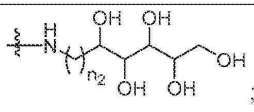
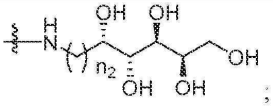
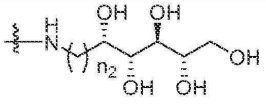
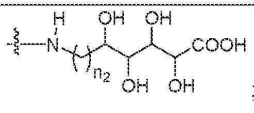
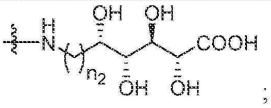
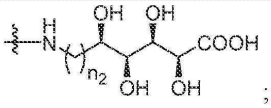
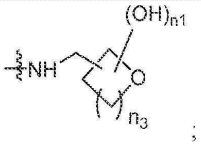
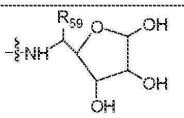
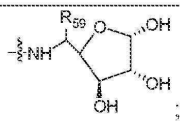
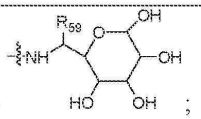
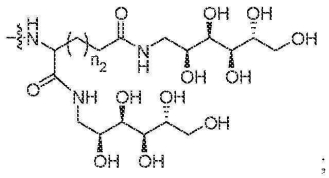
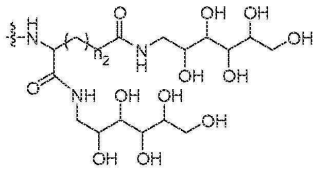
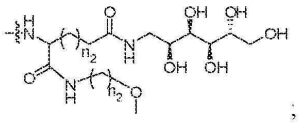
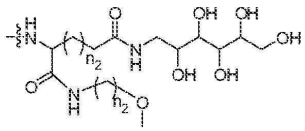
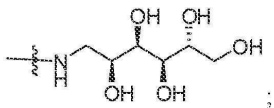
[0289] 일부 실시양태에서, R_{58}은 -H이며; R_{60}은 결합 또는 C_{1-6} 알킬 링커이며; n_1은 1 내지 약 6의 정수이며; R_{61}은 CH_2OH 또는 COOH이다.

[0290] 일부 실시양태에서, R_{58}은 -H이며; R_{60}은 $-CHR_{59}-$이며; n_1은 0이며; R_{61}은 하나 이상의 히드록실로 치환된 헤테로시클로알킬, 예를 들면 단당류이다.

[0291] 일부 실시양태에서, T^1은 글루코실-아민, 디-아민 또는 트리-아민을 포함한다

[0292] 일부 실시양태에서, T^1은 하기 단편 또는 그의 입체이성질체 중 하나 이상을 포함한다:

[0293]

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

[0294] 상기 식에서, R_{59}는 -H, C_{1-8} 알킬, 시클로알킬 또는 아릴알킬이며; n_1은 1 내지 약 6의 정수이며; n_2는 1 내지 약 5의 정수이며; n_3은 약 1 내지 약 3의 정수이다.

[0295] 친수성 기의 모든 입체화학 형태는 본원에서 고려되는 것으로 이해한다. 예를 들면, 상기 화학식에서, 친수성 기는 리보스, 크실로스, 글루코스, 만노스, 갈락토스 또는 기타 당으로부터 유도될 수 있으며, 분자 상에 존재하는 펜던트 히드록실 및 알킬 기의 입체화학적 배열을 보유할 수 있다.

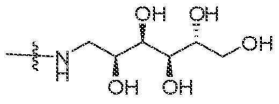
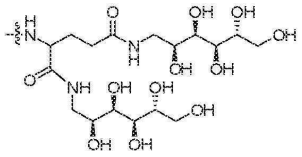
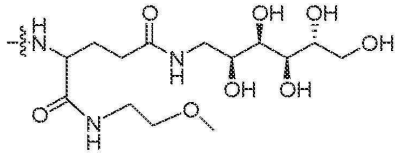
[0296] 상기 화학식에서, 다양한 데옥시 화합물도 또한 고려되는 것으로 이해하여야 한다. 예시적으로, 적용 가능할 경우 친수성 기에 대하여 하기 특징 중 하나 이상이 고려된다.

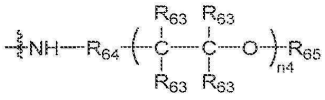
[0297] 일부 실시양태에서, n_3은 2 또는 3이다.

[0298] 일부 실시양태에서, n_1은 1, 2 또는 3이다.

[0299] 일부 실시양태에서, n_2는 1이다.

[0300] 일부 실시양태에서, R_{59}는 수소이다.

[0301] 일부 실시양태에서, T^1은  이다. 일부 실시양태에서, T^1은  이다. 일부 실시양태에서, T^1은  이다.

[0302] 일부 실시양태에서, T^1은  이며, 여기서

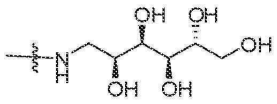
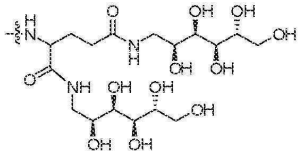
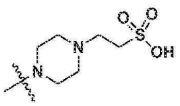
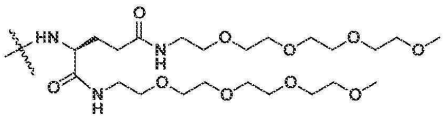
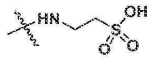
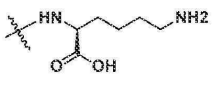
[0303] n_4는 1 내지 약 25의 정수이며;

[0304] 각각의 R_{63}은 독립적으로 -H 또는 C_{1-8} 알킬이며;

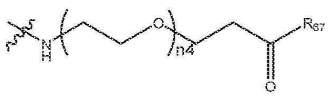
[0305] R_{64}는 결합 또는 C_{1-8} 알킬 링커이며;

[0306] R_{65}는 -H, C_{1-8} 알킬, $-(CH_2)_{n2}COOR_{62}$ 또는 $-(CH_2)_{n2}COR_{66}$이며;

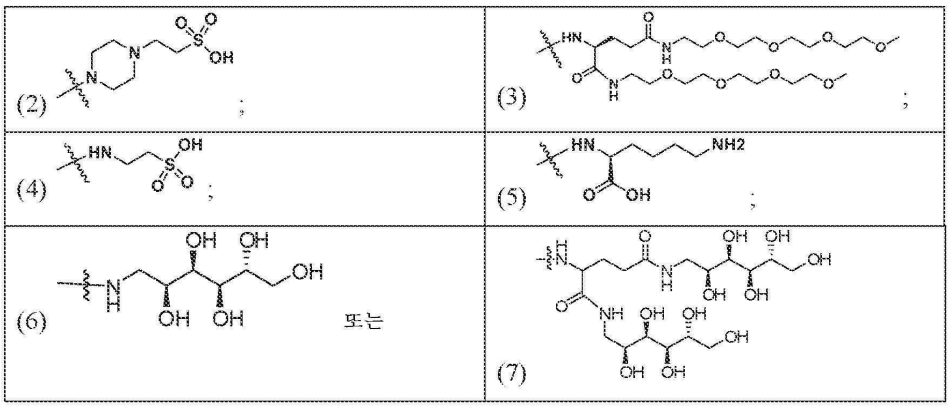
[0307] R_{62}는 H 또는 C_{1-8} 알킬이며;

[0308] R_{66}은 H,  ,  ,  ,  ,  또는  이며;

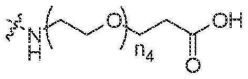
[0309] n_2는 1 내지 약 5의 정수이다.

[0310] 일부 실시양태에서, T^1은  이며, 여기서

[0311] R_{67}은 (1) -OH;

[0312] 

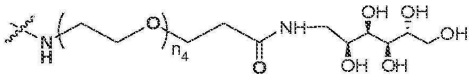
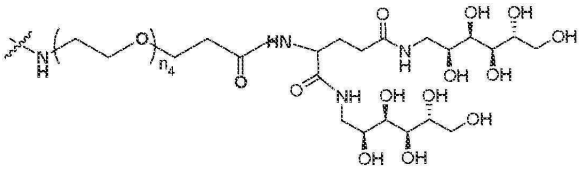
이며, 여기서 n_4는 2 내지 약 20, 약 4 내지 약 16, 약 6 내지 약 12, 약 8 내지 약 12의 정수이다.

[0313] 일부 실시양태에서, T^1은  이다.

[0314] 일부 실시양태에서, n_4는 약 2 내지 약 20, 약 4 내지 약 16, 약 6 내지 약 12, 약 8 내지 약 12의 정수이다.

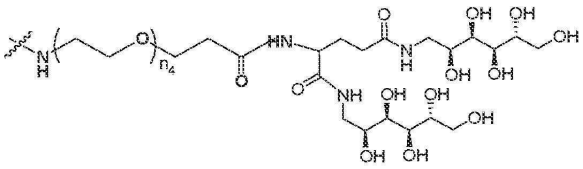
[0315] 일부 실시양태에서, n_4는 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12이다.

[0316] 일부 실시양태에서, n_4는 8 또는 12이다.

[0317] 일부 실시양태에서, T^1은  또는  이며, 여기서 n_4는 약 2 내지 약 24, 약 4 내지 약 16, 약 6 내지 약 12, 약 8 내지 약 12의 정수이다.

[0318] 일부 실시양태에서, n_4는 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12이다.

[0319] 일부 실시양태에서, n_4는 8 또는 12이다. 일부 실시양태에서, n_4는 8이다.

[0320] 일부 실시양태에서, T^1은  이며, 여기서 n_4는 8이다.

[0321] 일부 실시양태에서, T^1은 폴리에테르, 예를 들면 폴리알킬렌 글리콜(PAO)을 포함한다. PAO는 저급 알킬렌 옥시드의 중합체, 특히 에틸렌 옥시드, 예컨대 프로필렌 옥시드의 중합체, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리옥시에틸렌화 폴리올, 그의 공중합체 및 그의 블록 공중합체를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0322] 일부 실시양태에서, 폴리알킬렌 글리콜은 다분산 PEG, 단분산 PEG 및 불연속 PEG를 포함하나 이에 제한되지 않는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이다. 다분산 PEG는 크기 및 분자량의 불균질 혼합물인 반면, 단분산 PEG는 통상적으로 불균질 혼합물로부터 정제되므로 단일의 쇄 길이 및 분자량을 제공한다. 일부 실시양태에서, PEG 단위는 불연속이며, PEG는 정의된 및 명시된 쇄 길이를 갖는 단일 분자를 제공한다. 일부 실시양태에서, 폴리에틸렌 글리콜은 mPEG이다.

[0323] 일부 실시양태에서, T^1은 1개의 또는 복수개의 PEG 쇄를 포함하는 PEG 단위를 포함한다. PEG 쇄는 예를 들면 선형, 분지형 또는 성상형 배치로 함께 연결될 수 있다. PEG 단위는 반복되는 PEG 아단위를 포함하는 것 이외에

(예, 복수의 PEG 쇄를 서로 커플링시키는 것을 촉진하기 위하여 또는 아미노산에 커플링시키는 것을 촉진하기 위하여) 비PEG 물질도 포함할 수 있다. 비PEG 물질은 반복되는 $-CH_2CH_2O-$ 아단위의 일부가 아닌 PEG 쇄에서의 원자를 지칭한다. 일부 실시양태에서, PEG 쇄는 비PEG 엘리먼트를 경유하여 서로 연결되는 2개의 단량체성 PEG를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, PEG 단위는 아미노산에 부착되는 중심 코어에 부착되는 2개의 선형 PEG 쇄를 포함할 수 있다(즉, PEG 단위 그 자체는 분지형이다).

[0324] PEG 단위는 반응성 기를 경유하여 M^A 링커에(예, M^A 링커에서의 아미노산에) 공유 결합될 수 있다. 반응성 기는 활성화된 PEG 분자가 결합될 수 있는 것(예, 유리 아미노 또는 카르복실 기)이다. 일부 실시양태에서, N-말단 아미노산 및 리신(K)은 유리 아미노 기를 가지며, C-말단 아미노산 잔기는 유리 카르복실 기를 갖는다. 술프히드릴 기(예, 시스테인 잔기 상에서 발견되는 바와 같음)는 또한 PEG를 부착시키기 위한 반응성 기로서 사용될 수 있다.

[0325] 일부 실시양태에서, PEG 단위는 숙신이미딜 숙시네이트(SS), 숙신이미딜 카르보네이트(SC), mPEG-이미데이트, 파라-니트로페닐카르보네이트(NPC), 숙신이미딜 프로피오네이트(SPA) 및 염화시아누르를 포함하나 이에 제한되지 않는 상이한 반응성 모이어티를 갖는 메톡시화 PEG("mPEG")를 사용하여 M^A 링커에(예, M^A 링커에서의 아미노산에) 부착될 수 있다. mPEG의 예는 mPEG-숙신이미딜 숙시네이트(mPEG-SS), $mPEG_2$-숙신이미딜 숙시네이트($mPEG_2$-SS), mPEG-숙신이미딜 카르보네이트(mPEG-SC), $mPEG_2$-숙신이미딜 카르보네이트($mPEG_2$-SC), mPEG-이미데이트, mPEG-파라-니트로페닐카르보네이트(mPEG-NPC), mPEG-이미데이트, $mPEG_2$-파라-니트로페닐카르보네이트($mPEG_2$-NPC), mPEG-숙신이미딜 프로피오네이트(mPEG-SPA), $mPEG_2$-숙신이미딜 프로피오네이트($mPEG_2$-SPA), mPEG-N-히드록시-숙신이미드(mPEG-NHS), $mPEG_2$-N-히드록시-숙신이미드($mPEG_2$-NHS), mPEG-염화시아누르, $mPEG_2$-염화시아누르, $mPEG_2$-리시놀-NPC 및 $mPEG_2$-Lys-NHS를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 각종 PEG 종을 사용할 수 있으며, 실질적으로 임의의 적절한 반응성 PEG 시약을 사용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 반응성 PEG 시약은 다작용성 링커 또는 M^A 링커에(예, M^A 링커에서의 아미노산에) 부착시 카르바메이트 또는 아미드 결합을 형성할 것이다. 반응성 PEG 시약은 $mPEG_2$-N-히드록시-숙신이미드($mPEG_2$-NHS), 2작용성 PEG 프로피온알데히드($mPEG_2$-ALD), 멀티 아암 PEG, 말레이미드 함유 PEG($mPEG(MAL)_2$, $mPEG_2(MAL)$), mPEG-NH_2, mPEG-숙신이미딜 프로피오네이트(mPEG-SPA), mPEG 부타노에이트 산의 숙신이미드(mPEG-SBA), mPEG-티오에스테르, mPEG-2중 에스테르, mPEG-BTC, mPEG-부티르ALD, mPEG-아세트알데히드 디에틸 아세탈(mPEG-ACET), 헤테로작용성 PEG(예, NH_2-PEG-COOH, Boc-PEG-NHS, Fmoc-PEG-NHS, NHS-PEG-비닐술폰(NHS-PEG-VS) 또는 NHS-PEG-MAL), PEG 아크릴레이트(ACRL-PEG-NHS), PEG-인지질(예, mPEG-DSPE), 해당 기술분야의 기술자에 의하여 선택된 화학에 의하여 활성화된 글리세린계 PEG를 포함한 썬브라이트(SUNBRITE)™ 시리즈의 멀티 아암 형성된 PEG, 임의의 썬브라이트 활성화된 PEG(카르복실-PEG, p-NP-PEG, 트리실-PEG, 알데히드 PEG, 아세탈-PEG, 아미노-PEG, 티올-PEG, 말레이미도-PEG, 히드록실-PEG-아민, 아미노-PEG-COOK 히드록실-PEG-알데히드, 카르복실산 무수물형-PEG, 작용화된 PEG-인지질 및 기타 유사한 및/또는 적절한 반응성 PEG를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0326] 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 6개의 아단위, 적어도 7개의 아단위, 적어도 8개의 아단위, 적어도 9개의 아단위, 적어도 10개의 아단위, 적어도 11개의 아단위, 적어도 12개의 아단위, 적어도 13개의 아단위, 적어도 14개의 아단위, 적어도 15개의 아단위, 적어도 16개의 아단위, 적어도 17개의 아단위, 적어도 18개의 아단위, 적어도 19개의 아단위, 적어도 20개의 아단위, 적어도 21개의 아단위, 적어도 22개의 아단위, 적어도 23 아단위 또는 적어도 24개의 아단위를 포함한다. 상기 일부 실시양태에서, PEG 단위는 약 72개 이하의 아단위를 포함한다.

[0327] 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 6개의 아단위, 적어도 7개의 아단위, 적어도 8개의 아단위, 적어도 9개의 아단위, 적어도 10개의 아단위, 적어도 11개의 아단위, 적어도 12개의 아단위, 적어도 13개의 아단위, 적어도 14개의 아단위, 적어도 15개의 아단위, 적어도 16개의 아단위, 적어도 17개의 아단위, 적어도 18개의 아단위, 적어도 19개의 아단위 또는 적어도 20개의 아단위를 포함한다.

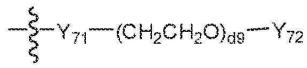
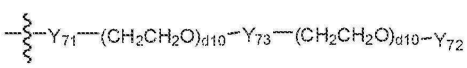
[0328] 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 6개의 아단위, 적어도 7개의 아단위, 적어도 8개의 아단위, 적어도 9개의 아단위, 적어도 10개의 아단위, 적어도 11개의 아단위, 적어도 12개의 아단위, 적어도 13개의 아단위, 적어도 14개의 아단위, 적어도 15개의 아단위, 적어도 16개의 아단위, 적어도 17개의 아단위 또는 적어도 18개의 아단위를 포함한다.

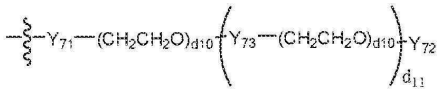
[0329] 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 6개의 아단위, 적어도 7개의 아단위, 적어도 8개의 아단위, 적어도 9개의 아단위, 적어도 10개의 아단위, 적어도 11개의 아단위 또는 적어도 12개의 아단위를 포함한다.

[0330] 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 8개의 아단위, 적어도 9개의 아단위, 적어도 10개의 아단위, 적어도 11개의 아단위 또는 적어도 12개의 아단위를 포함한다.

[0331] 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 6개의 아단위, 적어도 7개의 아단위 또는 적어도 8개의 아단위를 포함한다.

[0332] 일부 실시양태에서, 선형 PEG 단위는

[0333] (i)  ; (ii)  ; 또는

[0334] (iii)  이며, 여기서

[0335]  는 M^A 링커로의(예, M^A 링커에서의 아미노산으로의) 부착 부위를 나타내며;

[0336] Y_{71}은 PEG 부착 단위이며;

[0337] Y_{72}는 PEG 캡핑 단위이며;

[0338] Y_{73}은 PEG 커플링 단위(즉, 복수의 PEG 아단위 쇄를 함께 커플링하기 위한)이며;

[0339] d_9는 2 내지 72의 정수이며;

[0340] 각각의 d_{10}은 독립적으로 1 내지 72의 정수이며;

[0341] d_{11}은 2 내지 5의 정수이다.

[0342] 일부 실시양태에서, d_9는 2 내지 24의 정수이다. 일부 실시양태에서, d_9는 4 내지 24의 정수이다. 일부 실시양태에서, d_9는 6 내지 24, 8 내지 24, 10 내지 24 또는 12 내지 24의 정수이다.

[0343] 일부 실시양태에서, PEG 단위에는 적어도 6개의 PEG 아단위가 존재한다. 일부 실시양태에서, PEG 단위에는 적어도 8개의 PEG 아단위가 존재한다. 일부 실시양태에서, PEG 단위에는 적어도 10개의 PEG 아단위가 존재한다. 일부 실시양태에서, PEG 단위에는 적어도 12개의 PEG 아단위가 존재한다.

[0344] 일부 실시양태에서, d_9는 8 또는 약 8, 12 또는 약 12, 24 또는 약 24이다.

[0345] 일부 실시양태에서, 각각의 Y_{72}는 독립적으로 $-C_{1-10}$ 알킬, $-C_{2-10}$ 알킬-CO_2H, $-C_{2-10}$ 알킬-OH, $-C_{2-10}$ 알킬-NH_2, $-C_{2-10}$ 알킬-NH(C_{1-3} 알킬) 또는 C_{2-10} 알킬-N(C_{1-3} 알킬)$_2$이다.

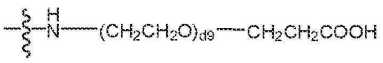
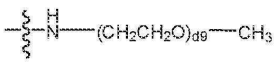
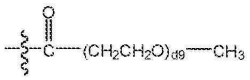
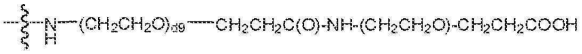
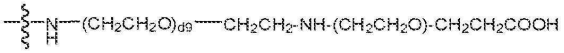
[0346] 일부 실시양태에서, Y_{72}는 $-C_{1-10}$ 알킬, $-C_{2-10}$ 알킬-CO_2H, $-C_{2-10}$ 알킬-OH 또는 $-C_{2-10}$ 알킬-NH_2이다.

[0347] 일부 실시양태에서, PEG 커플링 단위는 PEG 단위의 일부이며, 반복되는 CH_2CH_2O- 아단위의 쇄 2개 이상을 연결하는 작용을 하는 비PEG 물질이다. 일부 실시양태에서, PEG 커플링 단위 Y_{73}은 $-C_{2-10}$ 알킬-C(O)-NH-, $-C_{2-10}$ 알킬-NH-C(O)-, $-C_{2-10}$ 알킬-NH-, $-C_{2-10}$ 알킬-C(O)-, $-C_{2-10}$ 알킬-O- 또는 $-C_{2-10}$ 알킬-S-이다.

[0348] 일부 실시양태에서, 각각의 Y_{73}은 독립적으로 $-C_{1-10}$ 알킬-C(O)-NH-, $-C_{1-10}$ 알킬-NH-C(O)-, $-C_{2-10}$ 알킬-NH-, $-C_{2-10}$ 알킬-O-, $-C_{1-10}$ 알킬-S- 또는 $-C_{1-10}$ 알킬-NH-이다.

[0349] 일부 실시양태에서, PEG 부착 단위는 PEG 단위의 일부이며, PEG 단위를 M^A 링커에(예, M^A 링커에서의 아미노산에) 연결하는 작용을 한다. 일부 실시양태에서, 아미노산은 PEG 단위를 갖는 결합을 형성하는 작용기를

갖는다. 일부 실시양태에서, PEG 단위를 아미노산에 부착하기 위한 작용기는 디술피드 결합 또는 티오에테르 결합을 형성하기 위한 술프히드릴 기, 히드라존 결합을 형성하기 위한 알데히드, 케톤 또는 히드라진 기, 옥심 결합을 형성하기 위한 히드록실아민, 펩티드 결합을 형성하는 카르복실 또는 아미노 기, 에스테르 결합을 형성하기 위한 카르복실 또는 히드록시 기, 술폰아미드 결합을 형성하기 위한 술폰산, 카르바메이트 결합을 형성하기 위한 알콜 및, 술폰아미드 결합 또는 카르바메이트 결합 또는 아미드 결합을 형성하기 위한 아민을 포함한다. 일부 실시양태에서, PEG 단위는 예를 들면 디술피드, 티오에테르, 히드라존, 옥심, 펩티드, 에스테르, 술폰아미드, 카르바메이트 또는 아미드 결합을 경유하여 아미노산에 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, PEG 단위를 부착시키기 위한 반응은 적용 가능할 경우 시클로첨가, 첨가, 첨가/제거 또는 치환 반응 또는 그의 조합일 수 있다.

[0350] 선형 PEG 단위의 예는 (i)  ; (ii)  ; (iii)  ; (iv)  ; 및 (v)  를 포함하며, 여기서

[0351] 는 다작용성 링커 또는 M^A 링커로의(예, M^A 링커에서의 아미노산으로의) 부착 부위를 나타내며, 각각의 d_9는 독립적으로 4 내지 24, 6 내지 24, 8 내지 24, 10 내지 24, 12 내지 24, 14 내지 24 또는 16 내지 24의 정수이다.

[0352] 일부 실시양태에서, d_9는 약 8, 약 12 또는 약 24이다. 일부 실시양태에서, d_9는 약 8이다.

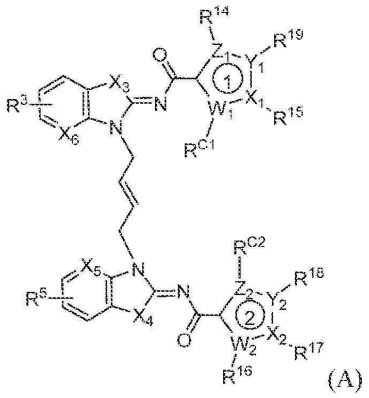
[0353] 일부 실시양태에서, PEG 단위는 약 300 Da 내지 약 5 kDa, 약 300 Da 내지 약 4 kDa, 약 300 Da 내지 약 3 kDa, 약 300 Da 내지 약 2 kDa; 또는 약 300 Da 내지 약 1 kDa이다. 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 6개의 아단위 또는 적어도 8, 10 또는 12개의 아단위를 갖는다. 일부 실시양태에서, PEG 단위는 적어도 6개의 아단위 또는 적어도 8, 10 또는 12개의 아단위, 24개 이하의 아단위를 갖는다.

[0354] 일부 실시양태에서, 적절한 폴리에틸렌 글리콜은 중합체 분자의 각각의 단부에서 유리 히드록시 기를 가질 수 있거나 또는 저급 알킬, 예를 들면 메틸 기로 에테르화된 히드록시 기 1개를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서 적절한 폴리에틸렌 글리콜은 에스테르화 가능한 카르복시 기를 갖는 폴리에틸렌 글리콜의 유도체이다. 일부 실시양태에서, 폴리에틸렌 글리콜은 일반적으로 평균 분자량을 특징으로 하는 중합체의 혼합물로서 상표명 PEG 하에 상업적으로 입수 가능하다. 일부 실시양태에서, 폴리에틸렌 글리콜은 약 300 내지 약 5,000의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 폴리에틸렌 글리콜은 약 600 내지 약 1,000의 평균 분자량을 갖는다.

[0355] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 접합체, 스캐폴드 및 방법에 적절한 친수성 기의 예는 예를 들면 US 8,367,065 컬럼 13; US 8524696 컬럼 6; WO2015/057699 및 WO 2014/062697에서 찾아볼 수 있으며, 각각의 내용은 본원에 그 전문이 참조로 포함된다.

[0356] 스팅 효능제 약물 모이어티(변수 D)

[0357] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티(D)는 하기 화학식 (A)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A)

[0358]

[0359] 상기 식에서,

[0360] Y_1, Y_2, Z_1 및 Z_2는 각각 독립적으로 O, S, C 또는 N이며;

[0361] X_1, X_2, W_1 및 W_2는 각각 독립적으로 C 또는 N이며;

[0362] X_3 및 X_4는 각각 독립적으로 S 또는 NR^f이며;

[0363] X_5는 N 또는 CR^{A2}이며;

[0364] X_6은 N 또는 CR^{A1}이며;

[0365] R^3 및 R^5는 각각 독립적으로 $-CON(R^d)(R^f)$, $-CH_2N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)CO(R^f)$, $-CH_2N(R^d)CO(R^f)$이거나 또는 R^3 및 R^5 중 하나는 $-CON(R^d)(R^f)$, $-CH_2N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)CO(R^f)$ 또는 $-CH_2N(R^d)CO(R^f)$이며, R^3 및 R^5 중 나머지는 H, -COOH 또는 $-CO_2(R^C)$이며;

[0366] R^c는 C_{1-4} 알킬이며;

[0367] R^{A2} 및 R^{A1}은 각각 독립적으로 H, 할로겐, 히드록시, 아미노, 아미노(C_{1-4} 알킬)-, 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬) 또는 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬)옥시-이며, 여기서 상기 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬) 또는 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬)옥시-의 C_{1-6} 알킬은 히드록실, C_{1-4} 알콕실, $-N(R^e)(R^f)$, $-CO_2(R^f)$, $-CON(R^e)(R^f)$ 및 -COOH를 포함하는 군으로부터 각각 독립적으로 선택된 1-4개의 치환기로 임의로 치환되며;

[0368] 각각의 R^d는 독립적으로 H, 히드록시 또는 C_{1-4} 알킬이며;

[0369] R^e는 H, (C_{1-4} 알킬), $-CO(C_{1-4}$ 알킬), $-OCO(C_{1-4}$ 알킬) 및 $-CO_2(C_{1-4}$ 알킬)로부터 선택되며;

[0370] 각각의 R^f는 독립적으로 H, 히드록시 또는 (C_{1-4} 알킬)이며;

[0371] R^{14} 및 R^{C2}는 각각 독립적으로 존재하지 않거나 또는 C_{1-4} 알킬이며, 여기서 C_{1-4} 알킬은 할로겐, $-OR^c$, $-NR^cR^d$, $-CO_2R^c$, $-CONR^cR^d$, $-SO_2NR^cR^d$ 및 $-OCONR^cR^d$로부터 선택된 치환기에 의하여 임의로 치환되며;

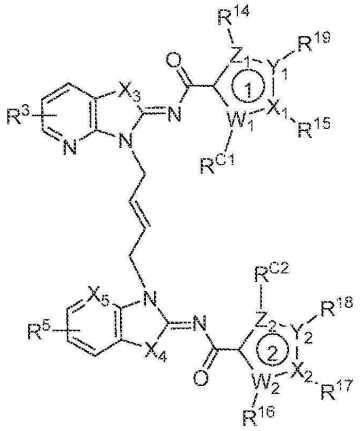
[0372] R^{16} 및 R^{C1}는 각각 독립적으로 존재하지 않거나, H 또는 C_{1-4} 알킬이며;

[0373] R^{15}, R^{17}, R^{18} 또는 R^{19}는 각각 독립적으로 존재하지 않거나, H 또는 C_{1-4} 알킬이며, 여기서 C_{1-4} 알킬은 할로겐,

$-OR^c$, $-NR^cR^d$, $-CO_2R^c$, $-CONR^cR^d$, $-SO_2NR^cR^d$ 및 $-OCONR^cR^d$로부터 선택된 치환기에 의하여 임의로 치환되며;

[0374] 여기서 (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0375] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-a)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-a)

[0376]

[0377] 상기 식에서,

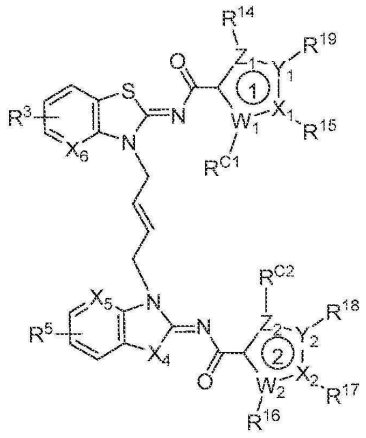
[0378] Y_1, Y_2, Z_1, Z_2, X_1, X_2, W_1, W_2, X_3, X_4, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{14}, R^{C2}, R^{16}, R^{C1}, R^{15}, R^{17}, R^{18} 및 R^{19}는 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0379] X_5는 CR^{A2}이며;

[0380] R^{A2}는 할로겐, 히드록실, 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬), 치환된 (C_{1-6} 알킬)옥시-, 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬)아미노- 또는 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬)(C_{1-4} 알킬)아미노-이며, 여기서 상기 임의로 치환된 (C_{1-6} 알킬) 또는 치환된 (C_{1-6} 알킬)옥시-의 C_{1-6} 알킬은 히드록실, C_{1-4} 알콕실, $-N(R^e)(R^f)$, $-CO_2(R^f)$, $-CON(R^e)(R^f)$ 및 -COOH를 포함하는 군으로부터 각각 독립적으로 선택된 1-4개의 치환기로 임의로 치환되며;

[0381] 여기서 (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0382] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-b)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



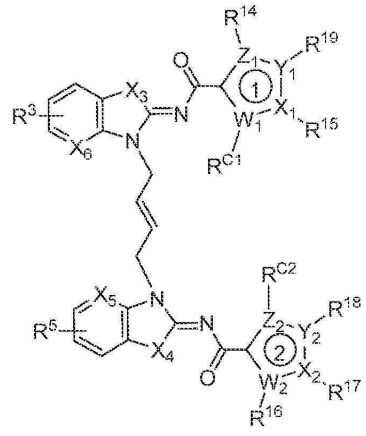
(A-b)

[0383]

[0384] 상기 식에서, Y_1, Y_2, Z_1, Z_2, X_1, X_2, W_1, W_2, X_4, X_5, X_6, R^3, R^5, R^c, R^{A2}, R^{A1}, R^d, R^e, R^f, R^{14}, R^{C2}, R^{16}, R^{C1}, R^{15}, R^{17}, R^{18} 및 R^{19}는 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며; 여기서

[0385] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0386] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-c)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-c)

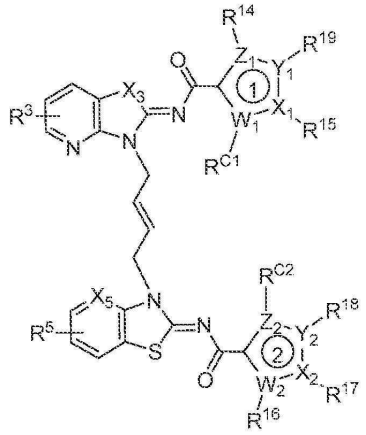
[0387]

[0388] 상기 식에서, Y_2, Z_2, X_2, W_2, X_3, X_4, X_5, X_6, R^3, R^5, R^c, R^{A2}, R^{A1}, R^d, R^e, R^f, R^{14}, R^{C2}, R^{16}, R^{C1}, R^{15}, R^{17}, R^{18} 및 R^{19}는 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며; 여기서

[0389] W_1, X_1, Y_1 및 Z_1 중 하나는 N이며, 추가적인 W_1, X_1, Y_1 및 Z_1은 O, S 또는 C이며;

[0390] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0391] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-d)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-d)

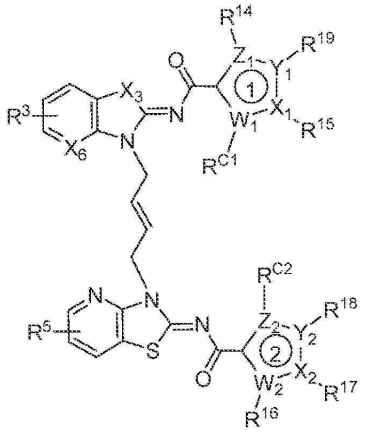
[0392]

[0393] 상기 식에서, Y_1, Y_2, Z_1, Z_2, X_1, X_2, W_1, W_2, X_3, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{14}, R^{A2}, R^{C2}, R^{16}, R^{C1}, R^{15}, R^{17}, R^{18} 및 R^{19}는 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0394] X_5는 CR^{A2}이며; 여기서

[0395] (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0396] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-e)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-e)

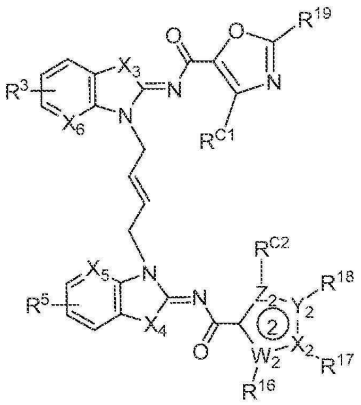
[0397]

[0398] 상기 식에서, Y_1, Y_2, Z_1, Z_2, X_1, X_2, X_3,W_1, W_2, R^{A1}, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{14}, R^{C2}, R^{16}, R^{C1}, R^{15}, R^{17}, R^{18} 및 R^{19}는 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0399] X_6은 CR^{A1}이며; 여기서

[0400] (i) R^{A1}은 R^{A1}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0401] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-f)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



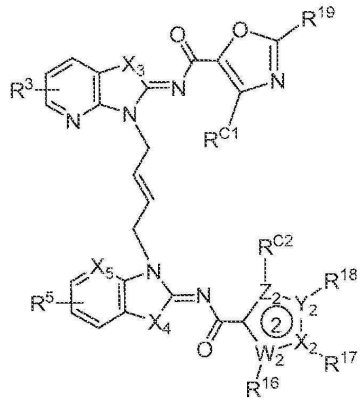
(A-f)

[0402]

[0403] 상기 식에서, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^{A2}, R^{A1}, R^d, R^e, R^f, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{C2} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며, 여기서

[0404] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0405] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-f1)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-f1)

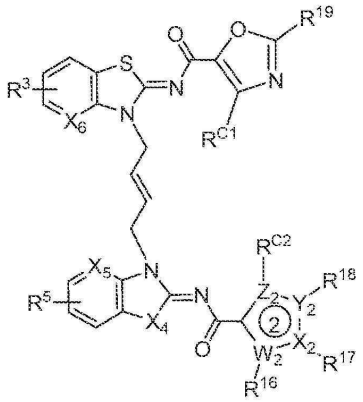
[0406]

[0407] 상기 식에서, X_2, X_3, X_4, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{16}, R^{A2}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{C2} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0408] X_5는 CR^{A2}이며; 여기서

[0409] (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0410] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-f2)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



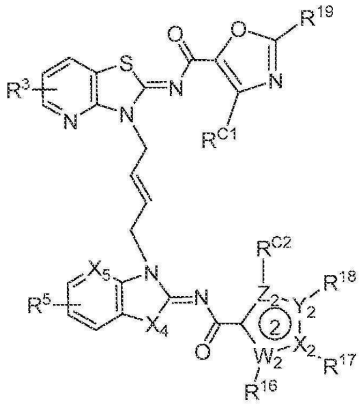
(A-f2)

[0411]

[0412] 상기 식에서, X_2, X_4, X_5, X_6, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^{A2}, R^{A1}, R^d, R^e, R^{C1}, R^{C2}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19} 및 R^f는 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며; 여기서

[0413] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0414] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-f3)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-f3)

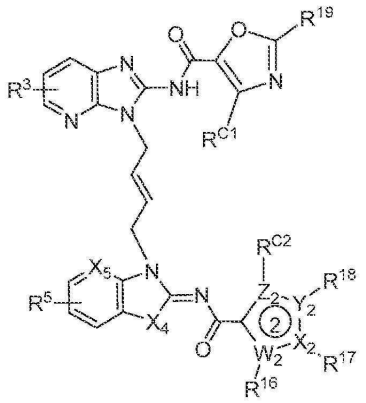
[0415]

[0416] 상기 식에서, X_2, X_4, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{16}, R^{A2}, R^{C2}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0417] X_5는 CR^{A2}이며; 여기서

[0418] (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0419] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-f4)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-f4)

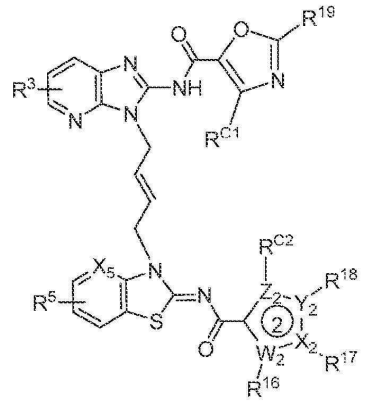
[0420]

[0421] 상기 식에서, X_2, X_4, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{16}, R^{A2}, R^{C2}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0422] X_5는 CR^{A2}이며; 여기서

[0423] (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0424] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-f5)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-f5)

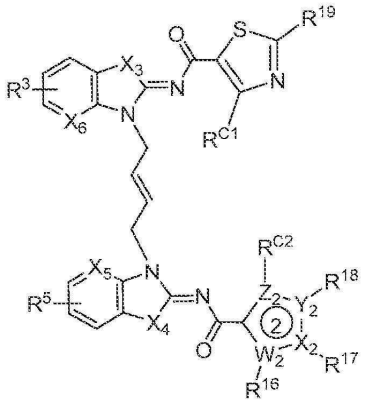
[0425]

[0426] 상기 식에서, X_2, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{16}, R^{A2}, R^{C2}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0427] X_5는 CR^{A2}이며; 여기서

[0428] (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0429] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-g)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-g)

[0430]

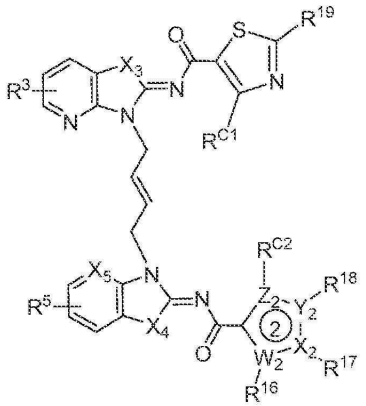
[0431] 상기 식에서, X_3, X_4, X_5, X_6, R^3, R^5, R^c, R^{A2}, R^{A1}, R^{C2}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^d, R^e, R^f, R^{16} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0432] Y_2 및 Z_2는 각각 독립적으로 O, S, C 또는 N이며;

[0433] X_2 및 W_2는 각각 독립적으로 C 또는 N이며; 여기서

[0434] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0435] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-g1)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:

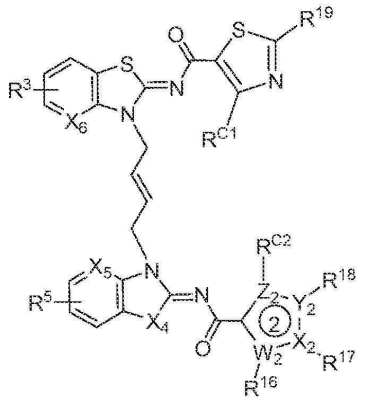


(A-g1)

[0436]

[0437] 상기 식에서, X_2, W_2, Y_2, Z_2, X_3, X_4, X_5, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{A2}, R^{C2}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{16} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며; 여기서 (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0438] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-g2)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



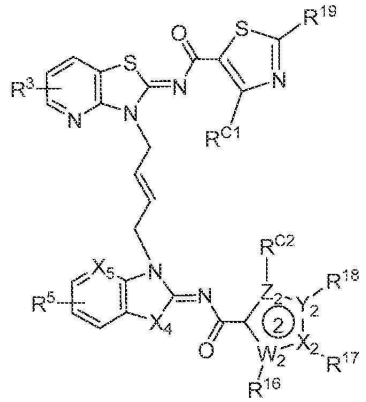
(A-g2)

[0439]

[0440] 상기 식에서, X_2, X_4, X_5, X_6, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^{A2}, R^{A1}, R^{C2}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^d, R^e, R^f, R^{16} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며; 여기서

[0441] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0442] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-g3)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-g3)

[0443]

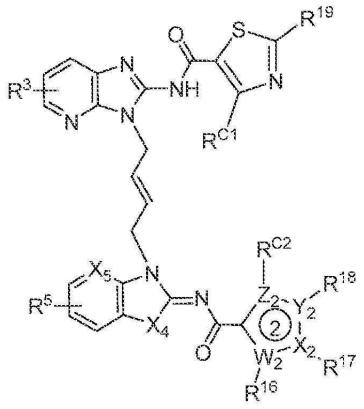
[0444] 상기 식에서, X_2, X_4, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^{A2}, R^{C2}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{16} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0445] X_5는 CR^{A2}이며; 여기서

[0446] (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되며;

[0447] 임의로, R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0448] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-g4)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-g4)

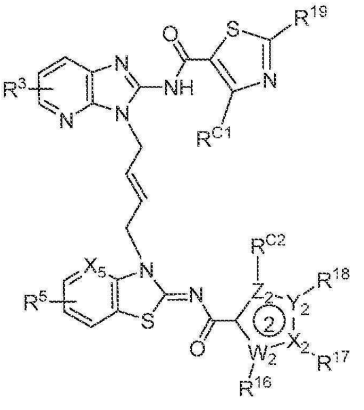
[0449]

[0450] 상기 식에서, X_2, X_4, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{A2}, R^{C2}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{16} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0451] X_5는 CR^{A2}이며; 여기서

[0452] (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0453] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-g5)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-g5)

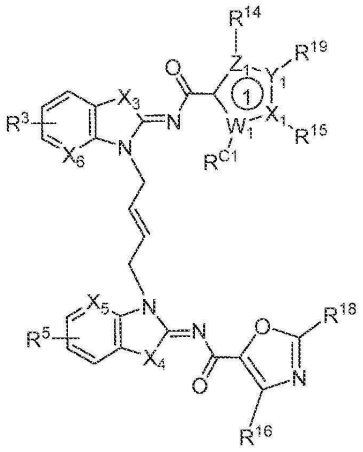
[0454]

[0455] 상기 식에서, X_2, W_2, Y_2, Z_2, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{A2}, R^{C2}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{16} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0456] X_5는 CR^{A2}이며; 여기서

[0457] (i) R^{A2}는 R^{A2}의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0458] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-h)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



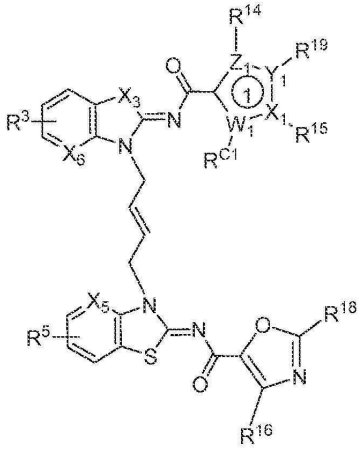
(A-h)

[0459]

[0460] 상기 식에서, X_1, W_1, Y_1, Z_1, X_3, X_4, X_5, X_6, R^3, R^5, R^c, R^{A2}, R^{A1}, R^d, R^e, R^f, R^{14}, R^{15}, R^{18}, R^{19}, R^{16} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며; 여기서

[0461] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0462] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-h1)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



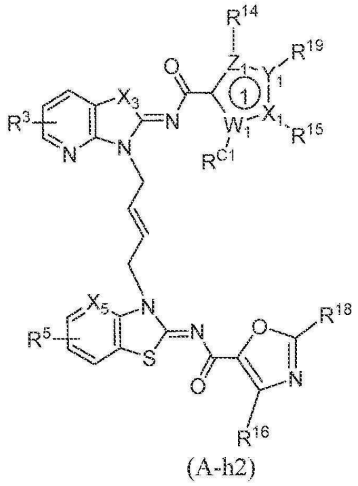
(A-h1)

[0463]

[0464] 상기 식에서, X_1, X_3, W_1, Y_1, Z_1, X_5, X_6, R^3, R^5, R^c, R^{A2}, R^{A1}, R^d, R^e, R^f, R^{14}, R^{15}, R^{18}, R^{19}, R^{16} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며; 여기서

[0465] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0466] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티는 하기 화학식 (A-h2)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



(A-h2)

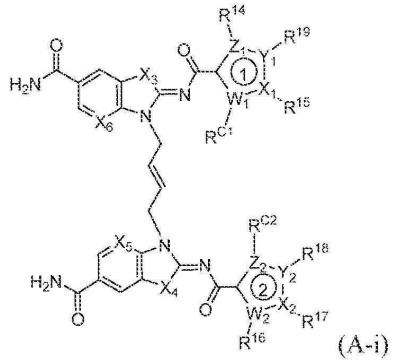
[0467]

[0468] 상기 식에서, X_1, X_3, W_1, Y_1, Z_1, R^3, R^5, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{A2}, R^{14}, R^{15}, R^{18}, R^{19}, R^{16} 및 R^{C1}은 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며;

[0469] X_5는 CR^{A2}이며; 여기서

[0470] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

[0471] 일부 실시양태에서, 스팅 효능제 약물 모이어티(D)는 화학식 (A)의 화합물이며, 여기서 화합물은 하기 화학식 (A-i)의 화합물 또는 그의 프로드러그, 용매화물, 약학적으로 허용되는 염 또는 호변이성질체이다:



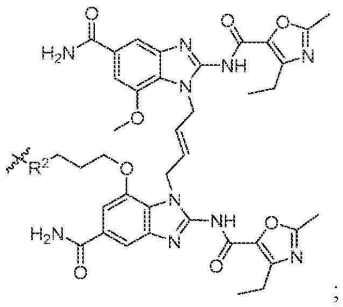
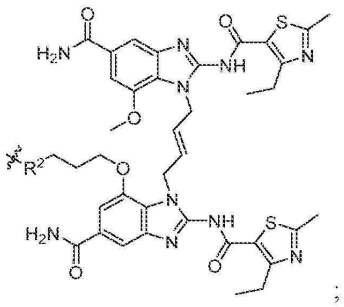
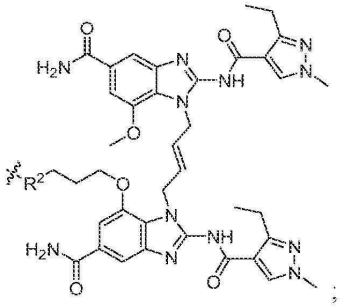
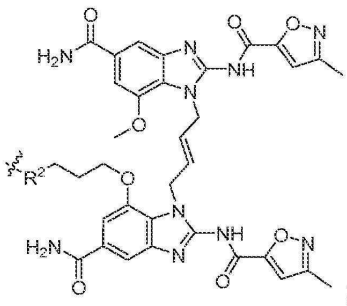
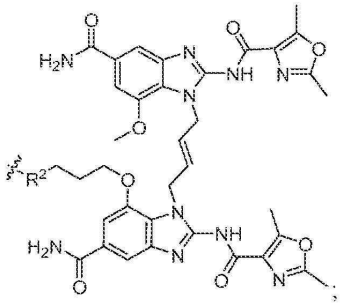
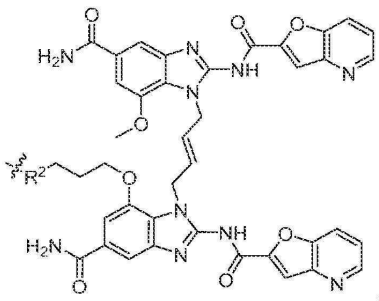
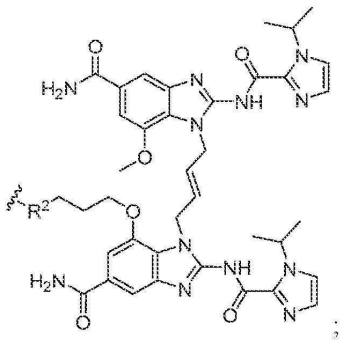
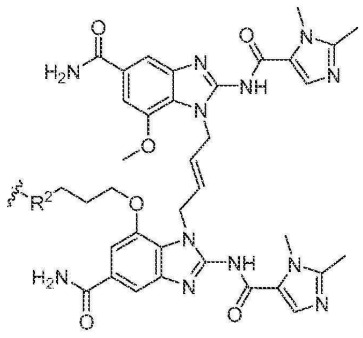
(A-i)

[0472]

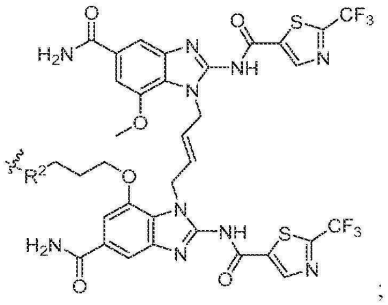
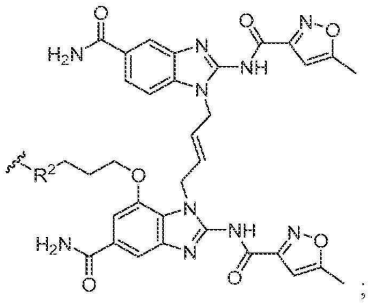
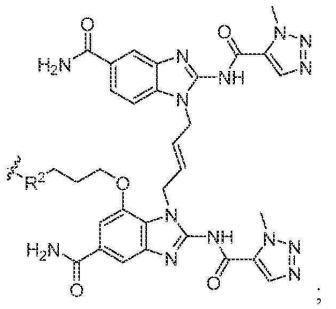
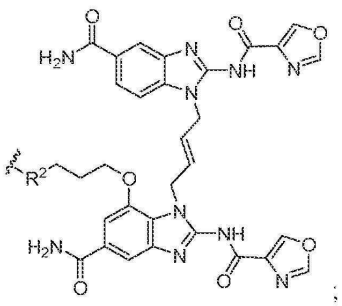
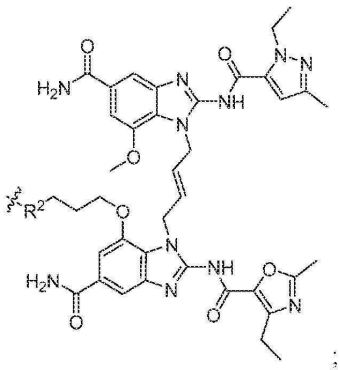
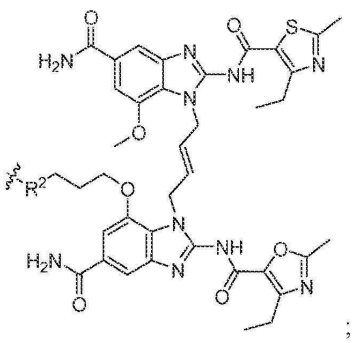
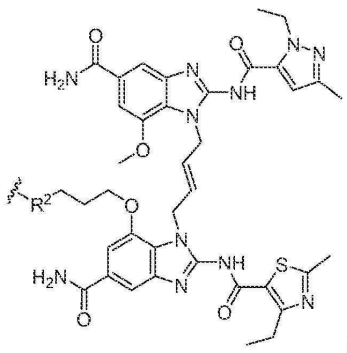
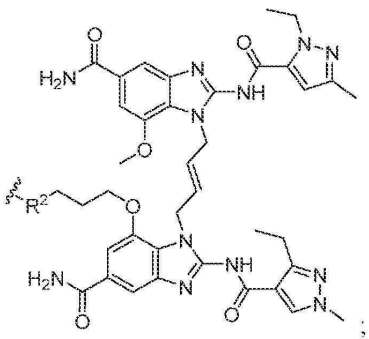
[0473] 상기 식에서, Y_1, Y_2, Z_1, Z_2, X_1, X_2, X_3, X_6, W_1, W_2, R^{A1}, R^{A2}, R^c, R^d, R^e, R^f, R^{14}, R^{C2}, R^{16}, R^{C1}, R^{15}, R^{17}, R^{18} 및 R^{19}는 화학식 (A)에서 정의된 바와 같으며; 여기서

[0474] (i) R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{A2} 및 R^{A1} 중 적어도 하나는 R^{A2} 및/또는 R^{A1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결되거나; 또는 (ii) R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나가 존재하며, R^{C2} 및 R^{C1} 중 적어도 하나는 R^{C2} 및/또는 R^{C1} 중 적어도 하나의 작용기를 통해 L^D에 연결된다.

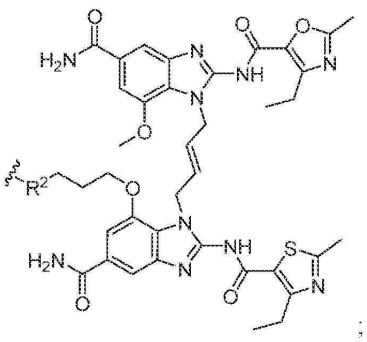
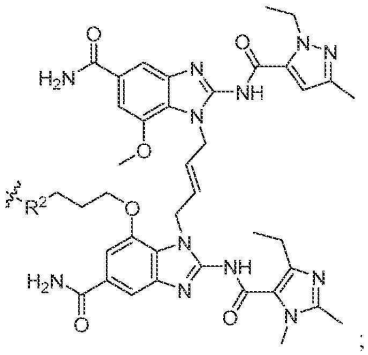
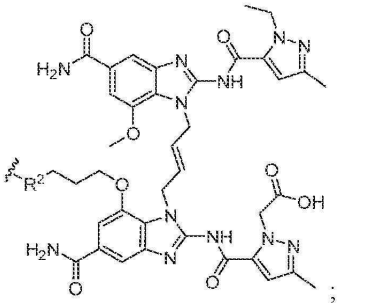
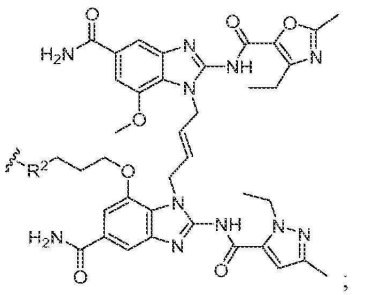
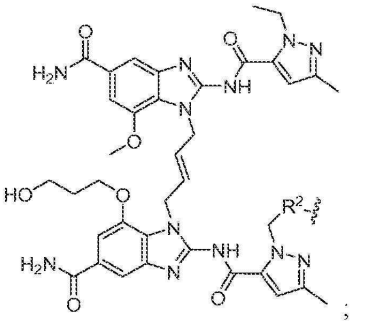
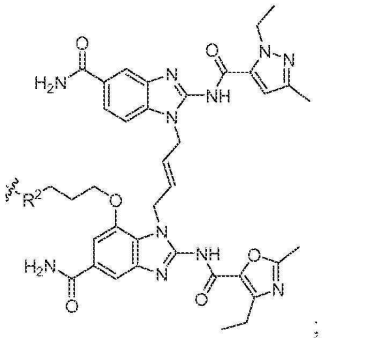
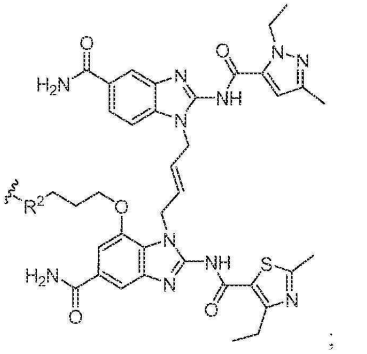
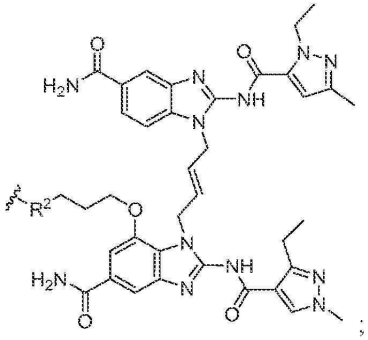
[0475] 일부 실시양태에서, 각각의 스팅 효능제 약물 모이어티(D)는 독립적으로


;

;

;

;

;

;

;

;

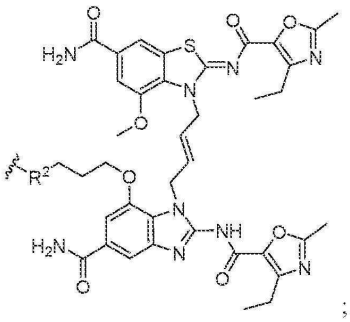
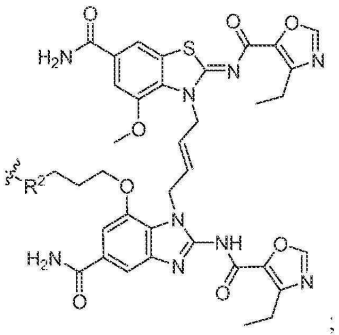
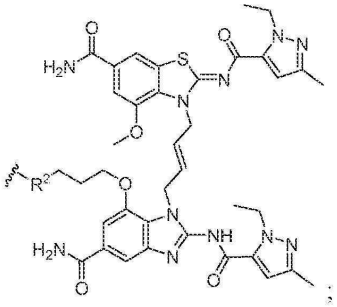
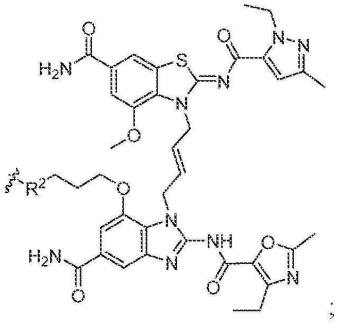
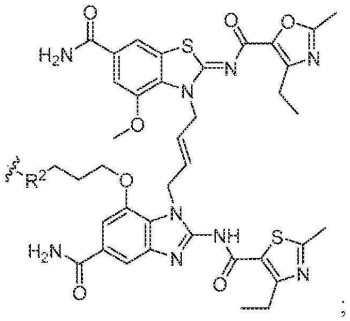
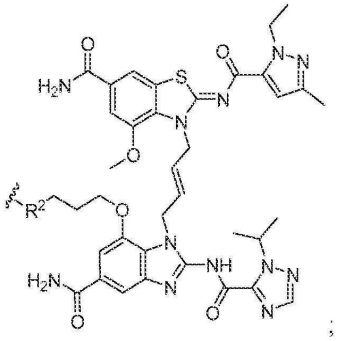
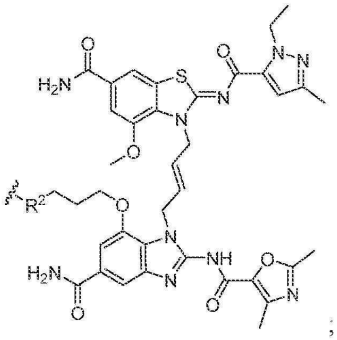
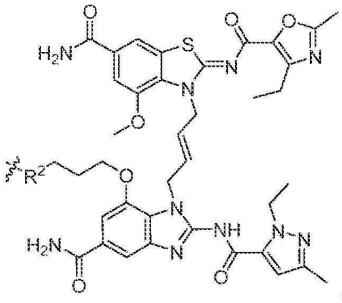
[0476]


;

;

;

;

;

;

;

;

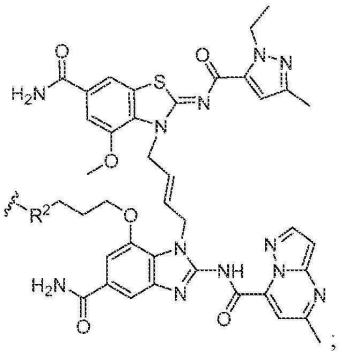
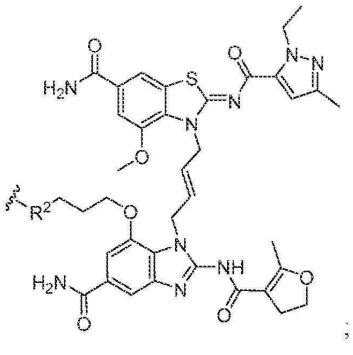
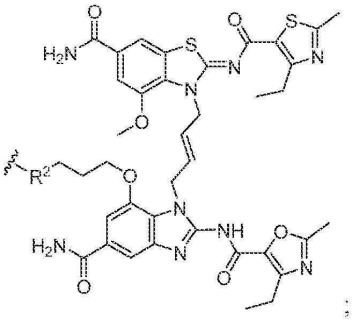
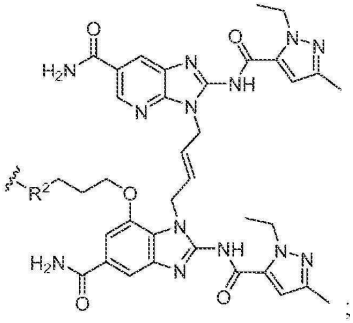
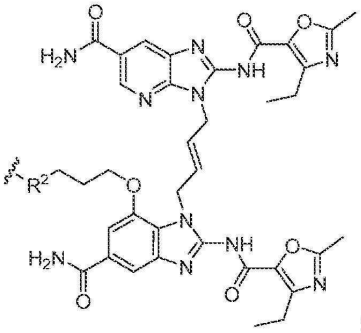
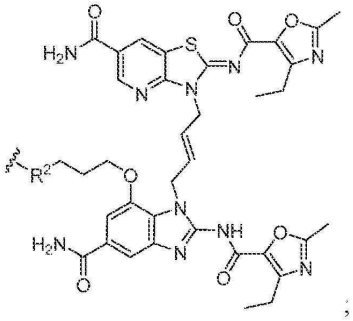
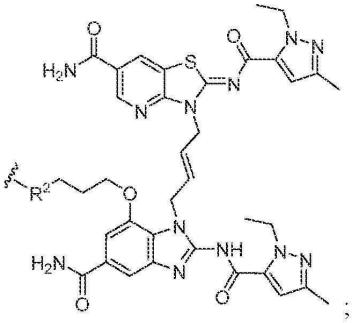
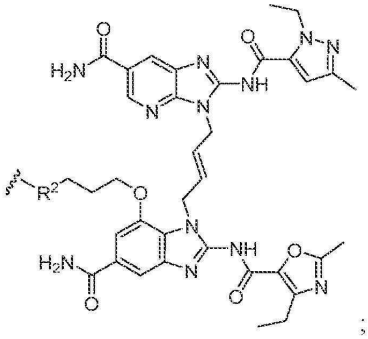
[0477]


;

;

;

;

;

;

;

;

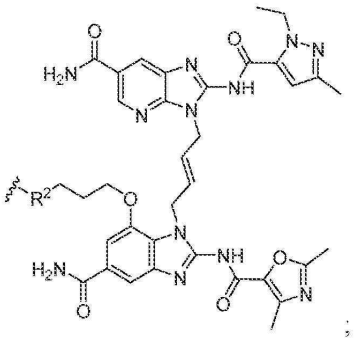
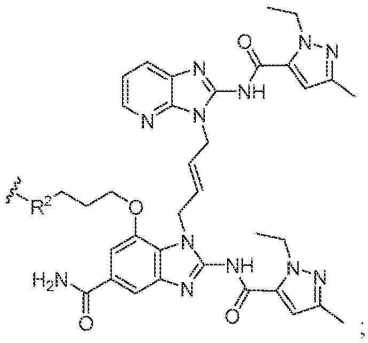
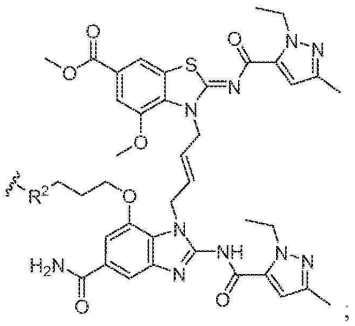
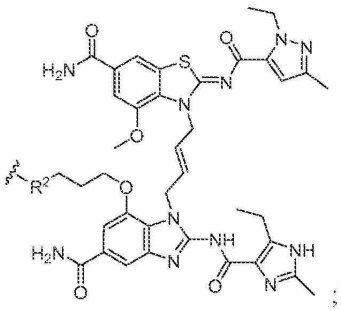
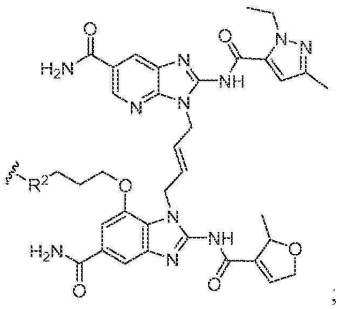
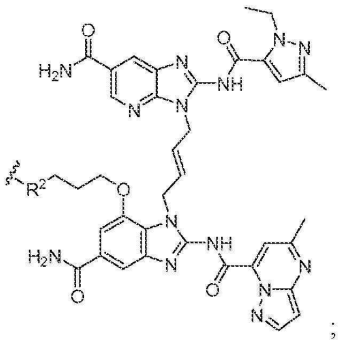
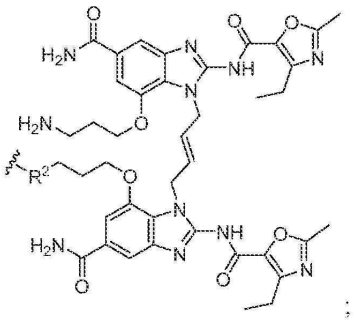
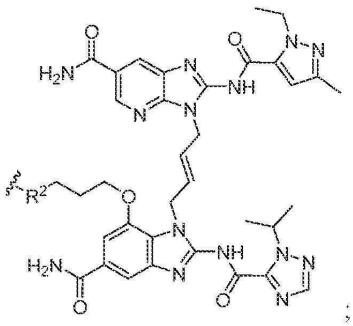
[0478]


;

;

;

;

;

;

;

;

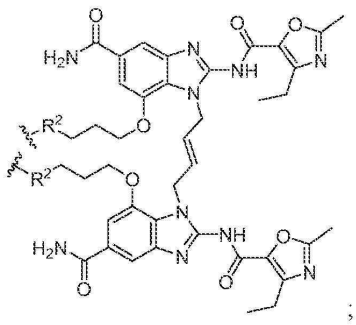
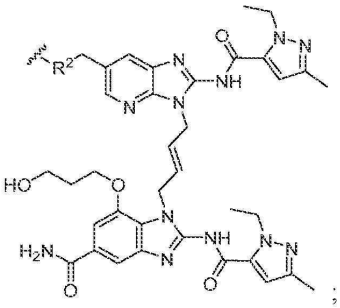
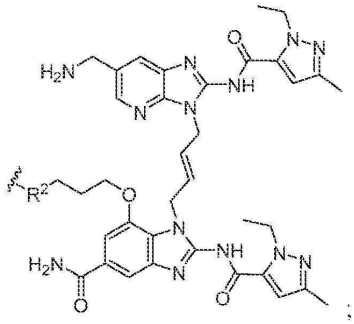
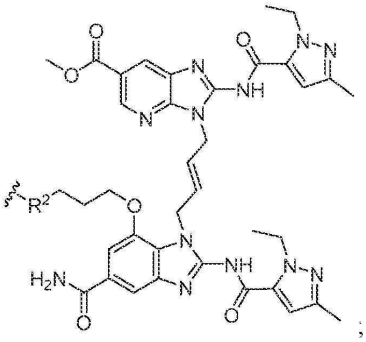
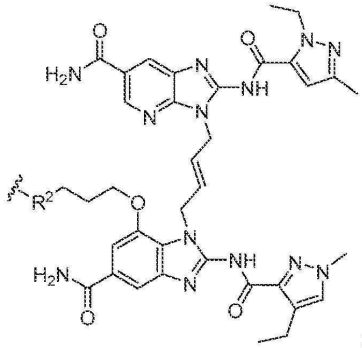
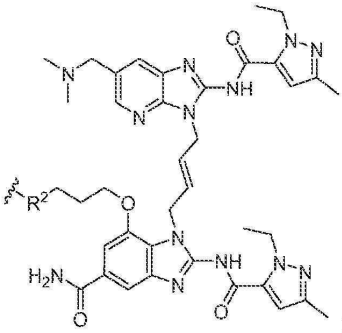
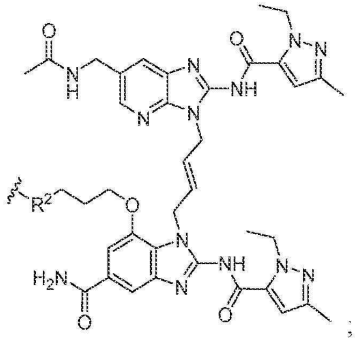
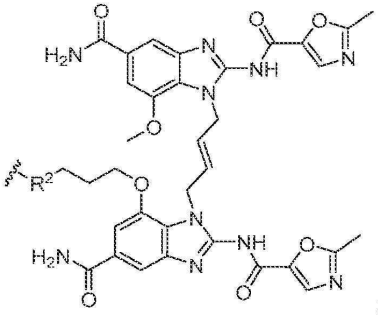
[0479]


;

;

;

;

;

;

;

;

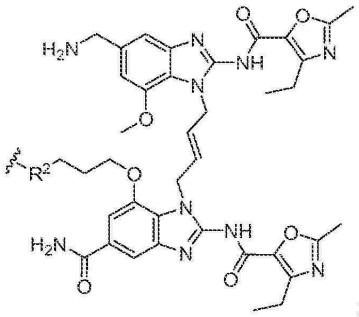
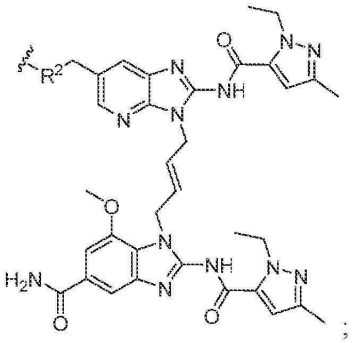
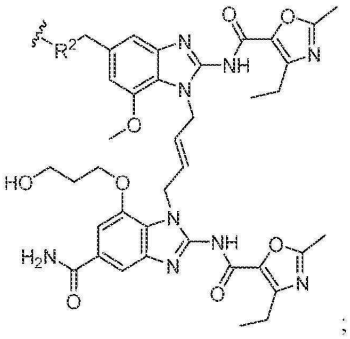
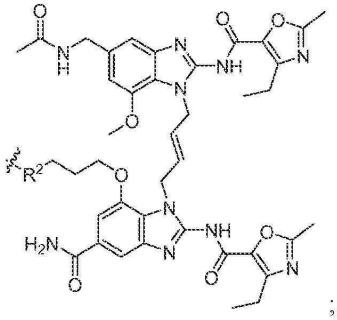
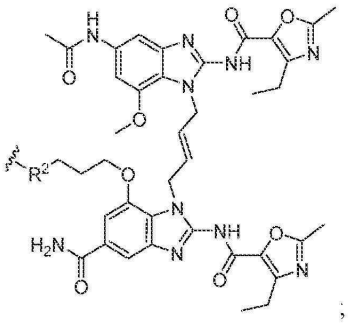
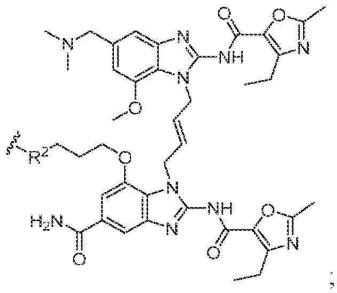
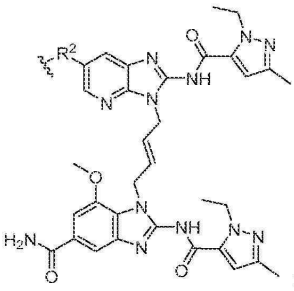
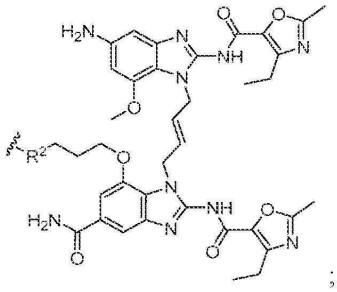
[0480]


;

;

;

;

;

;

;

;

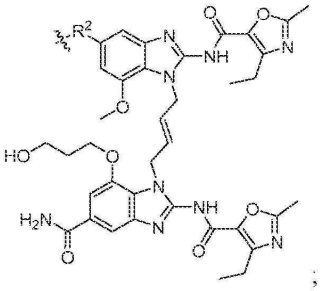
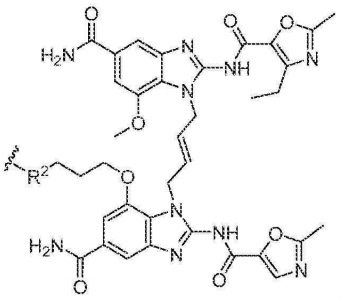
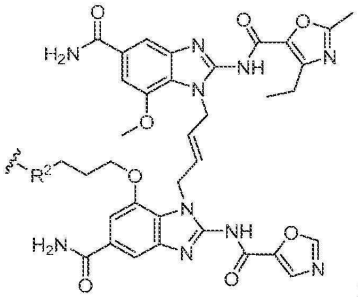
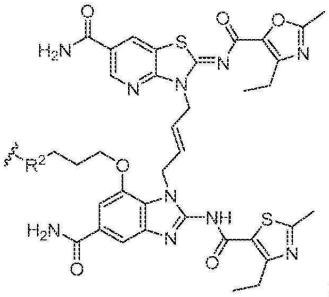
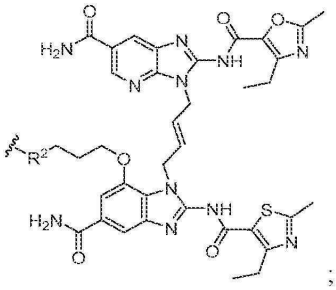
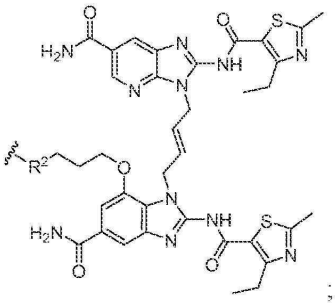
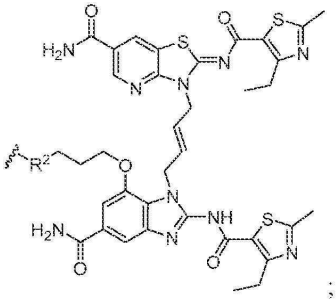
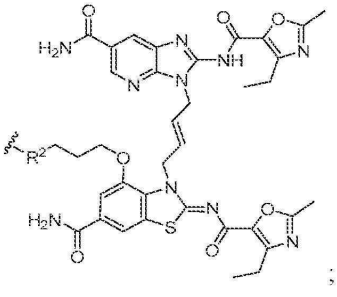
[0481]


;

;

;

;

;

;

;

;

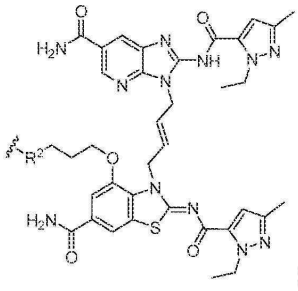
[0482]

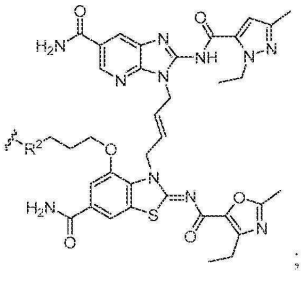

;

;

;

;

;

;

;

;

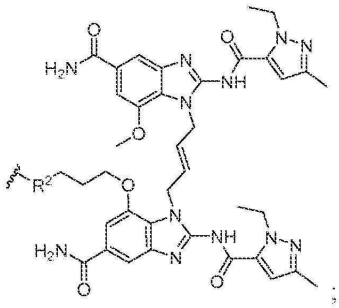
[0483]

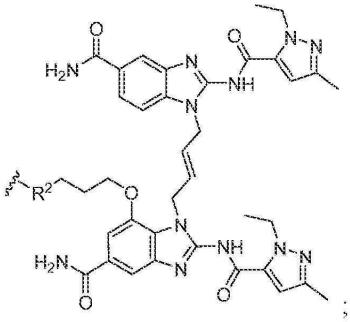

;

;

;

;

;

;

;

;

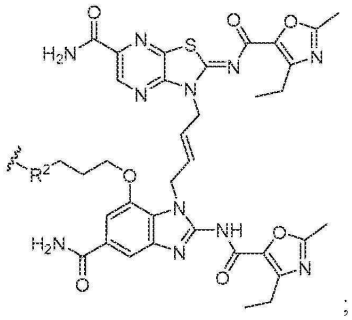
[0484]

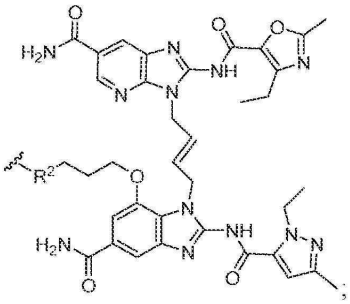

;

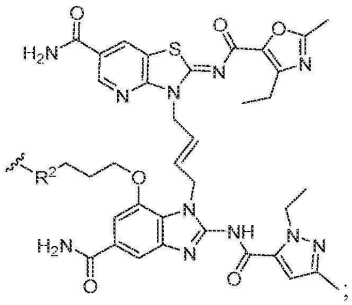

;

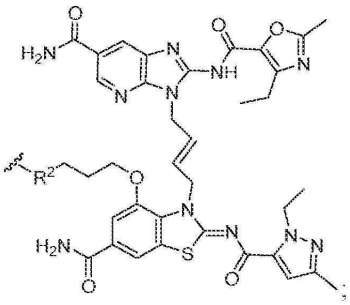

;


;

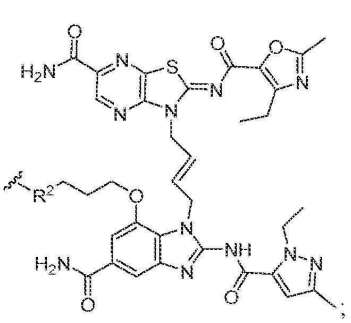

;

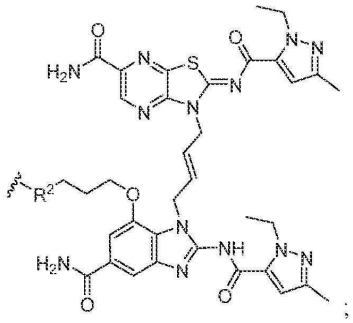

;

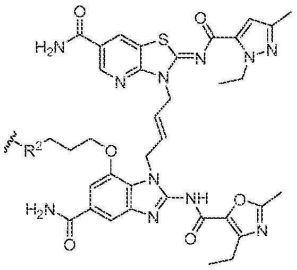

;


;

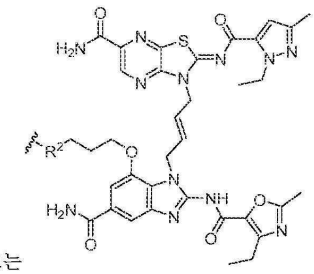
[0485]


;


;



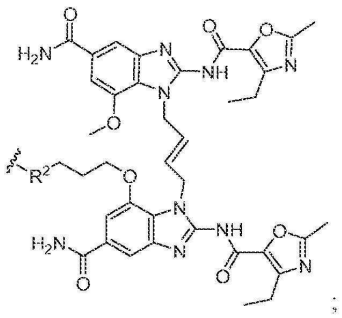
또는

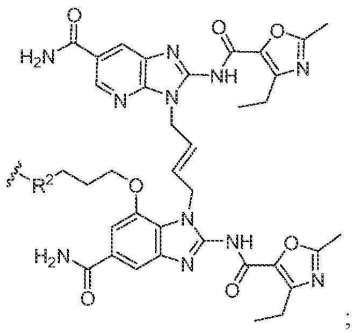


[0486] 이며, 여기서

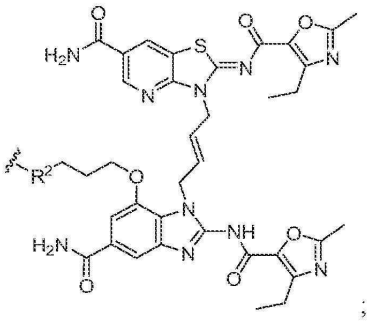
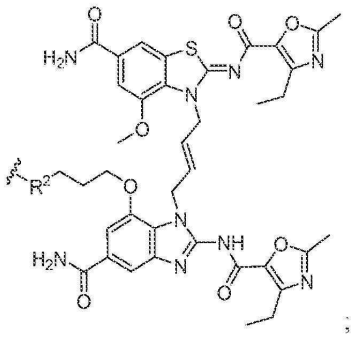
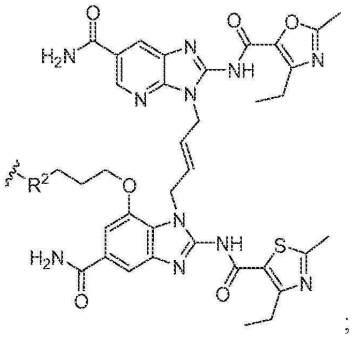
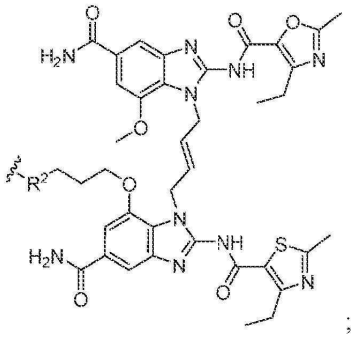
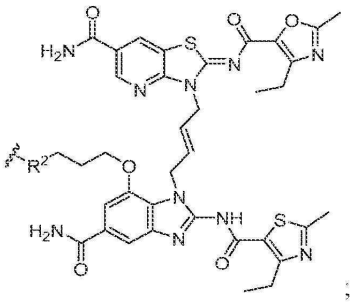
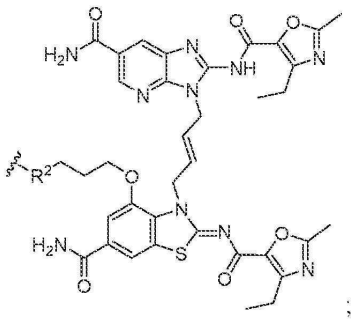
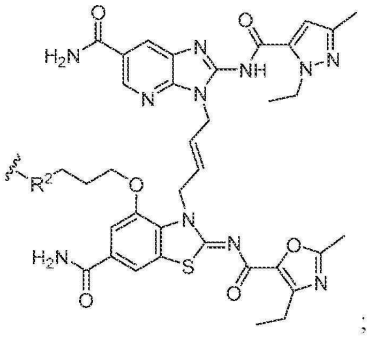
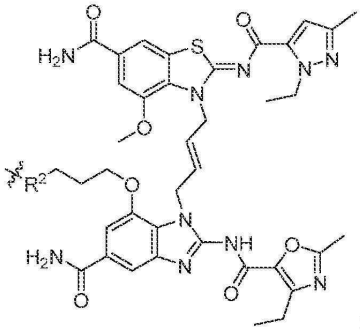
[0487] R^2는 존재하지 않거나, -O- 또는 $-NR^4-$이며; R^4는 H 또는 C_{1-3} 알킬이며; $-\S-$는 L^D로의 부착을 나타낸다.

[0488] 일부 실시양태에서, 각각의 스팅 효능제 약물 모이어티(D)는 독립적으로

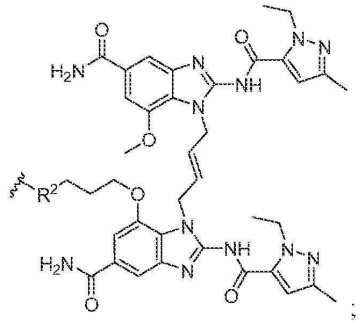
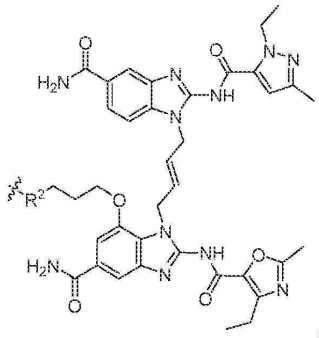
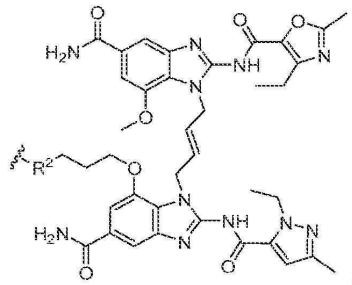
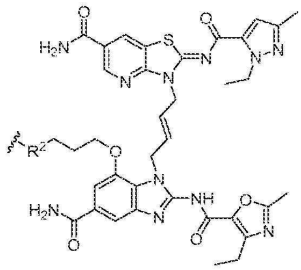
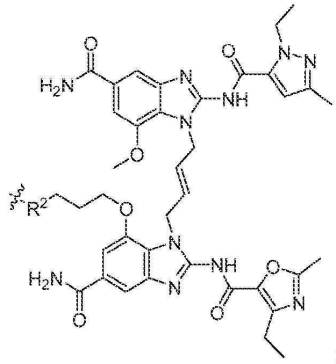
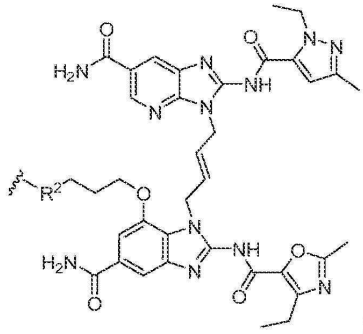

;


;

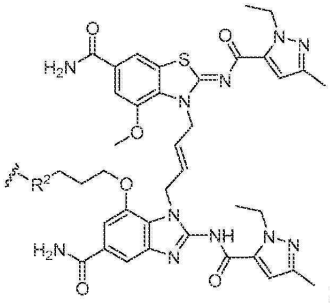
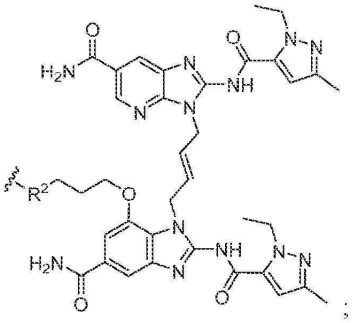
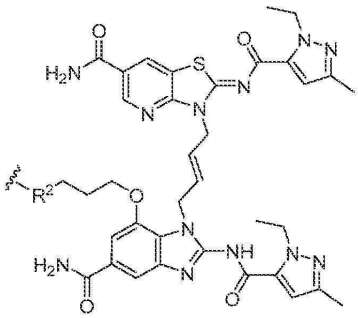
[0489]


;

;

;

;

;

;

;

;

[0490]


;

;

;

;

;

;

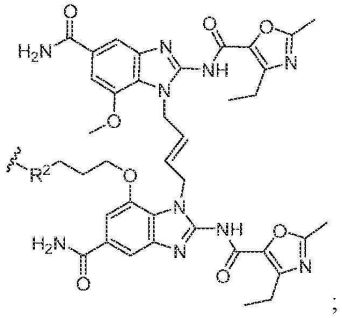
[0491]

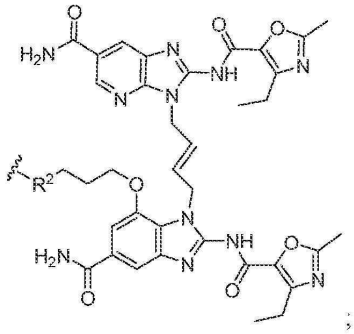

;

;

또는

[0492] 이며, 여기서

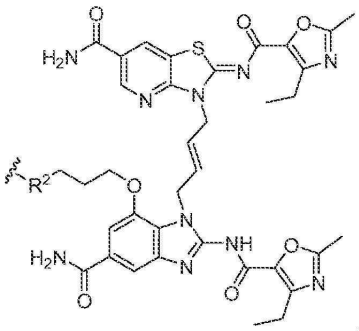
[0493] R^2는 존재하지 않거나, -O- 또는 $-NR^4-$이며; R^4는 H 또는 C_{1-3} 알킬이며; $-\!\!\!\sim\!\!\!-$는 L^D로의 부착을 나타낸다.

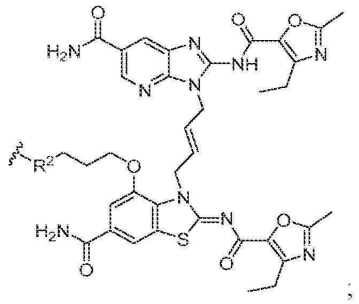
[0494] 일부 실시양태에서, 각각의 스팅 효능제 약물 모이어티(D)는 독립적으로

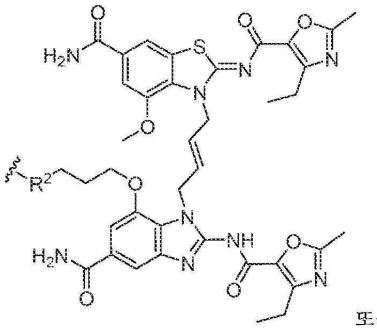

;

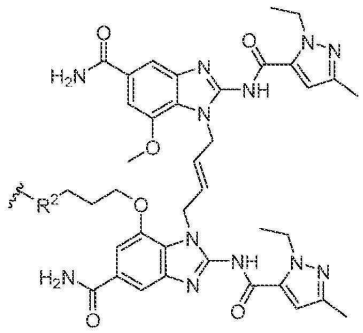

;

[0495]


;


;

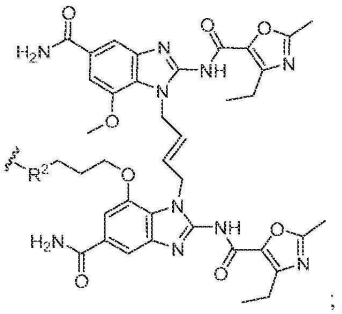

또는

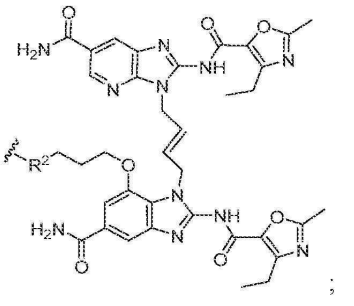


[0496] 이며, 여기서

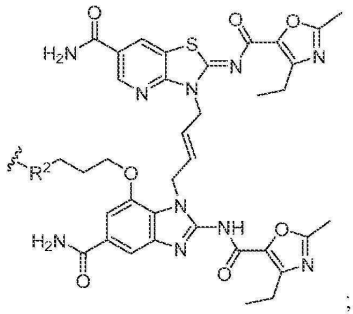
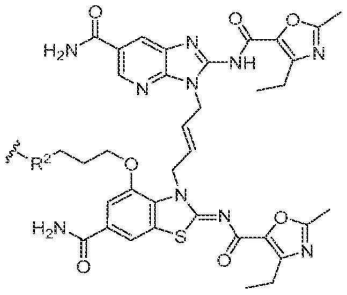
[0497] R^2는 존재하지 않거나, -O- 또는 $-NR^4-$이며; R^4는 H 또는 C_{1-3} 알킬이며; $\sim$는 L^D로의 부착을 나타낸다.

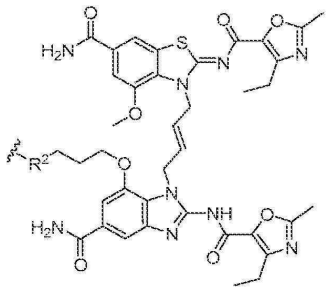
[0498] 일부 실시양태에서, 각각의 스팅 효능제 약물 모이어티(D)는 독립적으로


;


;

[0499]

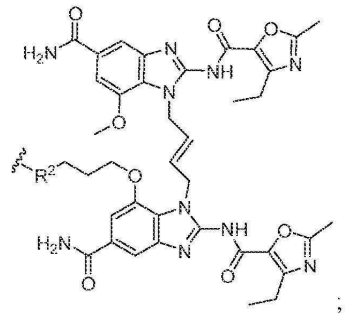
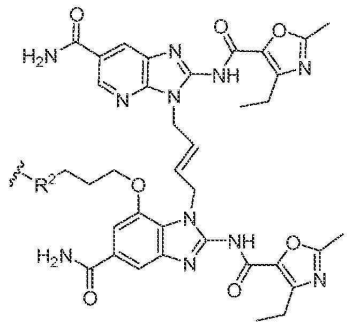
[0500]  ;  또는



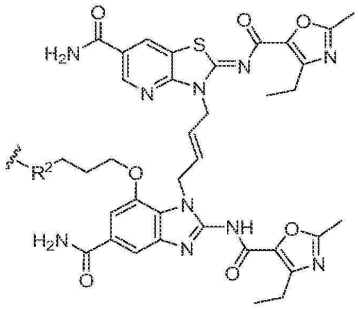
[0501] 이며, 여기서

[0502] R^2는 존재하지 않거나, -O- 또는 $-NR^4-$이며; R^4는 H 또는 C_{1-3} 알킬이며; 는 L^D로의 부착을 나타낸다.

[0503] 일부 실시양태에서, 각각의 스팅 효능제 약물 모이어티(D)는 독립적으로

 ; 

[0504] 또는



[0505] 이며, 여기서

[0506] R^2는 존재하지 않거나, -O- 또는 $-NR^4-$이며; R^4는 H 또는 C_{1-3} 알킬이며;  는 L^D로의 부착을 나타낸다.

[0507] 단백질계 인지 분자(PBRM)

[0508] 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 접합체를 특정한 조직, 세포 또는 세포 내의 부위로 지시한다. 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 배양물 중의 또는 전체 유기체 중의 또는 둘다에서의 접합체를 지시할 수 있다. 각각의 경우에서, 단백질계 인지 분자는 효과적인 특이성, 친화성 및 항원항체결합력으로 결합되는 표적화된 세포(들)의 세포 표면 상에 존재하는 리간드를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 간을 제외한 조직에 접합체를 표적화한다. 일부 실시양태에서 단백질계 인지 분자는 접합체를 간, 신장, 폐 또는 췌장과 같은 특정 조직에 표적화한다. 단백질계 인지 분자는 접합체를 표적 세포, 예컨대 암세포, 예컨대 암세포와 같은 세포 상에서 발현되는 수용체, 기질 조직 또는, 종양 항원과 같은 암과 관련된 단백질에 표적화할

수 있다. 대안으로, 종양 맥관구조를 포함하는 세포가 표적화될 수 있다. 단백질계 인지 분자는 쿱퍼(Kupffer) 세포와는 반대로 간에서 간세포로의 특정한 표적화와 같이 특정한 유형의 세포에 접합체를 지시할 수 있다. 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 세망내피계 또는 림프계의 세포에 또는 전문적인 포식세포 세포, 예컨대 대식세포 또는 호산구에 접합체를 지시할 수 있다. 일부 실시양태에서, 접합체 그 자체는 또한 특정한 표적화에 대한 필요 없이 효율적인 전달계가 될 수 있다.

[0509] 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 예를 들면 핵, 세포질 또는 엔도솜과 같은 세포 내의 부위에 접합체를 표적화할 수 있다. 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 수용체로의 세포 결합 또는 핵으로의 세포질 수송 및, 엔도솜 또는 기타 세포내 소포로부터의 핵 유입 또는 방출을 향상시킬 수 있다.

[0510] 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 항체, 항체 단편, 단백질, 펩티드 또는 펩티드 모방체이다.

[0511] 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 항체이다. 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 항체 단편이다. 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 단백질이다. 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 펩티드이다. 일부 실시양태에서, 단백질계 인지 분자는 펩티드 모방체이다.

[0512] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항체 단편은 해당 모 항체 또는 항체 단편(예, 해당 야생형 항체 또는 항체 단편)의 하나 이상의 아미노산이 시스테인(예, 조작된 시스테인)으로 치환된 항체 또는 항체 단편이다. 일부 실시양태에서, 모 항체 또는 항체 단편은 야생형 또는 변이형일 수 있다.

[0513] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항체 단편은 변이된 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 일부 실시양태에서, 해당 기술분야에 공지된 모노클로날 항체는 조작되어 항체를 형성한다. 일부 실시양태에서, 해당 기술분야에 공지된 항체 단편(예, Fab 항체 단편)은 조작되어 항체 단편(예, 시스테인 조작된 Fab 항체 단편)을 형성한다. 일부 실시양태에서, Fab의 단일 부위 변이는 Fab에서 단일 잔기를 제공하는 반면, 항체에서의 단일 부위 변이는 IgG 항체의 이량체 성질로 인하여 생성되는 항체에서 2종의 아미노산을 산출한다.

[0514] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항체 단편은 그의 해당 야생형 항체 또는 항체 단편의 항원 결합 능력을 보유한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항체 단편은 그의 해당 야생형 항체 또는 항체 단편에 대한 하나 이상의 항원에 결합될 수 있다.

[0515] 일부 실시양태에서, 세포 표면 마커에 대하여 특이성인 Fab, Fab2, scFv 또는 낙타 항체 중쇄 단편으로부터 유래하는 예시의 항체 또는 항체들은 5T4, AOC3, ALK, AXL, B7-H4, C242, C4.4a, CA-125, CCL11, CCR 5, CD2, CD3, CD4, CD5, CD15, CA15-3, CD18, CD19, CA19-9, CDH6, CD20, CD22, CD23, CD25, CD28, CD30, CD31, CD33, CD37, CD38, CD40, CD41, CD44, CD44 v6, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD74, CD79-B, CD80, CD125, CD103, CD138, CD141, CD147, CD152, CD 154, CD326, CEA, CEACAM-5, 응괴 인자, Clec9A, CSFR1, CTLA-4, CXCR2, DEC205, EGFR (HER1), ErbB1, ErbB2, ErbB3, EpCAM, EPHA2, EPHB2, EPHB4, FAP, FGFR (즉, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4), FLT3, 피브로넥틴-EDB, 엽산염 수용체, GD2, GD3, GPNMB, GCC ($GUCY_2C$), HGF, HER2, HER3, HMI.24, ICAM, ICOS-L, IGF-1 수용체, VEGFR1, EphA2, TRPV1, CFTR, gpNMB, CA9, 크립토(Cripto), c-KIT, c-MET, ACE, APP, 아드레날린성 수용체-베타2, 클로딘(Claudine) 3, LIV1, LY6E, 메소텔린(Mesothelin), MUC1, MUC13, NaPi2b, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, RON, ROR1, PD-L1, PD-L2, PTK7, B7-H3, B7-B4, IL-2 수용체, IL-4 수용체, IL-13 수용체, TROP-2, 프리즐드(frizzled)-7, 인테그린(α_4, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_1\beta_4$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_{IIb}\beta_3$ 인테그린 포함), IFN-α, IFN-ɣ, IgE, IgE, IGF-1 수용체, IL-1, IL-12, IL-23, IL-13, IL-22, IL-4, IL-5, IL-6, 인터페론 수용체, ITGB2(CD18), LFA-1(CD11a), CD11b, L-셀렉틴(CD62L), 뮤신, 미오스타틴, NCA-90, NGF, PDGFRα, 포스파티딜세린, 전립선 암종 세포, 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 광견병, RANKL, 호흡기 세포융합 바이러스, 레서스(Rhesus) 인자, SLAMF7, 스핑고신-1-포스페이트, TAG-72, T-세포 수용체, 테나신 C, TGF-1, TGF-β 2, TGF-β, TNF-α, 트레일(TRAIL)-R1, 트레일-R2, 종양 항원 CTAA16.88, VEGF-A, VEGFR2, 비멘틴 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0516] 일부 실시양태에서, 세포 표면 마커에 대하여 특이성인 Fab, Fab2, scFv 또는 낙타 항체 중쇄 단편으로부터 유래된 항체들 또는 항체는 CA-125, C242, CD3, CD11b, CD19, CD22, CD25, CD30, CD31, CD33, CD37, CD40, CD44, CD51, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD103, CD138, CD141, CD326, CEA, Clec9A, CSFR1, CTLA-4, DEC205, EGFR (HER1), ErbB2, ErbB3, FAP, 피브로넥틴-EDB, 엽산염 수용체, IGF-1 수용체, GD3, GPNMB, HGF, HER2, VEGF-A, VEGFR2, VEGFR1, EphA2, EpCAM, 5T4, PTK7, TAG-72, 테나신 C, TRPV1, CFTR, gpNMB, CA9, 크립토, ACE, APP, PDGFR α, 포스파티딜세린, 전립선 암종 세포, 아드레날린성 수용체-베타2, 클로딘 3, 뮤신, MUC1, NaPi2b, B7H3, B7H4, C4.4a, CEACAM-5, MUC13, TROP-2, 프리즐드-7, 메소텔린, IL-2 수용

체, IL-4 수용체, IL-13 수용체 및 인테그린($\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_1\beta_4$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$ 인테그린 포함), 테나신 C, 트레일-R2 및 비멘틴을 포함한다.

[0517] 일부 실시양태에서, 항체는 5T4, CA-125, CEA, CDH6, CD3, CD11b, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD40, CD44, CD51, CD-103, CTLA-4, CEACAM5, Clec9A, CSFR1, DEC205, EpCAM, HER2, EGFR(HER1), FAP, 피브로넥틴-EDB, 엽산염 수용체, GCC(GUCY2C), HGF, 인테그린 $\alpha_v\beta_3$, 인테그린 $\alpha_5\beta_1$, IGF-1 수용체, GD3, GPNMB, 뮤신, LIV1, LY6E, 메소텔린, MUC1, MUC13, NaPi2b, PTK7, 포스파티딜세린, 전립선 암종 세포, PDGFR α, TAG-72, 테나신 C, 트레일-R2, VEGF-A 및 VEGFR2에 대한 세포 표면 마커로 지시된다. 본 실시양태에서, 항체는 아바고보맙, 아데카투무맙, 알라시주맙, 알투모맙, 아나투모맙, 아르시투모맙, 바비툭시맙, 베바시주맙(아바스틴(AVASTIN)®), 비바투주맙, 블리나투모맙, 브렌툭시맙, 칸투주맙, 카투막소맙, 카프로맙, 세툭시맙, 시타투주맙, 클리바투주맙, 코나투무맙, 다세투주맙, 에드레콜로맙, 에프라투주맙, 에르투막소맙, 에타라시주맙, 파르렉투주맙, 파기투무맙, 겜투주맙, 글렘바투무맙, 이브리투모맙, 이고보맙, 인테투무맙, 이노투주맙, 라베투주맙, 렉사투무맙, 린투주맙, 루카투무맙, 마투주맙, 미투모맙, 납투모맙, 에스타페나톡스, 네시투무맙, 오포르투주맙, 오레고보맙, 파니투무맙, 펨투모맙, 페르투주맙, 프리투무맙, 리툭시맙(리툭산(RITUXAN)®), 릴로투무맙, 로바투무맙, 사투모맙, 시브로투주맙, 타플리투모맙, 테나투모맙, 네타투모맙, 티실리무맙(트레멜리무맙), 티가투주맙, 트라스투주맙(헤르셉틴(HERCEPTIN)®), 토시투모맙, 트레멜리무맙, 투코투주맙, 셀모류킨, 볼로시시맙 및 잘루투무맙을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0518] 일부 실시양태에서, HER2에 대한 세포 표면 마커로 지시된 항체는 페르투주맙 또는 트라스투주맙이며, EGFR(HER1)의 경우 항체는 세툭시맙 또는 파니투무맙이며; CD20의 경우 항체는 리툭시맙이며, VEGF-A의 경우 베바시주맙이며, CD-22의 경우 항체는 에프라투주맙 또는 벨투주맙이며, CEA의 경우 항체는 라베투주맙이다.

[0519] 예시의 펩티드 또는 펩티드 모방체는 인테그린 표적화 펩티드(RGD 펩티드), LHRH 수용체 표적화 펩티드, ErbB2(HER2) 수용체 표적화 펩티드, 전립선 특이성 막 결합된 항원(PSMA) 표적화 펩티드, 지단백질 수용체 LRP1 표적화, ApoE 단백질 유도된 펩티드, ApoA 단백질 펩티드, 소마토스타틴 수용체 표적화 펩티드, 클로로톡신 유래된 펩티드 및 봄베신을 포함한다.

[0520] 일부 실시양태에서, 펩티드 또는 펩티드 모방체는 LHRH 수용체 표적화 펩티드 및 ErbB2(HER2) 수용체 표적화 펩티드이다.

[0521] 예시의 단백질은 인슐린, 트랜스페린, 피브리노겐-감마 단편, 트롬보스폰딘, 클로딘, 아포지단백질 E, 어피바디(Affibody) 분자, 예컨대 ABY-025, 안키린(Ankyrin) 반복 단백질, 안키린 유사 반복 단백질 및 합성 펩티드를 포함한다.

[0522] 일부 실시양태에서, 단백질-약물 접합체는 HER2의 경우 예컨대 페르투주맙 또는 트라스투주맙; EGFR의 경우 예컨대 세툭시맙 및 파니투무맙; CEA의 경우 예컨대 라베투주맙; CD20의 경우 예컨대 리툭시맙; VEGF-A의 경우 예컨대 베바시주맙; 또는 CD-22의 경우 예컨대 에프라투주맙 또는 벨투주맙인 세포 표면 마커와 조합된 광역 세포독소를 포함한다.

[0523] 일부 실시양태에서, 본 개시내용에서 사용된 단백질-약물 접합체 또는 단백질 접합체는 2종 이상의 단백질계 인지 분자의 조합, 예컨대 종양 세포 상의 EGF 수용체(EGFR) 및 T 세포 상의 CD3 및 CD28에 지시된 이중특이성 항체의 조합; Fab, Fab2, scFv 또는 낙타 항체 중쇄 단편 및 펩티드 또는 펩티드 모방체로부터 유래된 항체들 또는 항체의 조합; Fab, Fab2, scFv 또는 낙타 항체 중쇄 단편 및 단백질로부터 유래된 항체들 또는 항체의 조합; 2종의 이중특이성 항체, 예컨대 CD3-CD19 + CD28-CD22 이중특이성 항체의 조합을 포함한다.

[0524] 일부 실시양태에서, 본 개시내용에 사용된 단백질-약물 접합체 또는 단백질 접합체는 항원에 대한 항체, 예컨대 트라스투주맙, 세툭시맙, 리툭시맙, 베바시주맙, 에프라투주맙, 벨투주맙, 라베투주맙, B7-H4, B7-H3, CD11b, CD103, CA125, CDH6, CD33, CXCR2, CEACAM5, Clec9A, CSFR1, DEC205, EGFR, FAP, 피브로넥틴-EDB, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, GCC(GUCY2C), HER2, LIV1, LY6E, NaPi2b, c-Met, 메소텔린, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, PD-L1, PTK7, c-Kit, MUC1, MUC13 및 5T4인 단백질계 인지 분자를 포함한다.

[0525] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 단백질-약물 접합체 또는 단백질 접합체는 CSRF1, CD11b, DEC205, clec9A, CD103, B7H4, 메소텔린, PTK7, Ly6E, FAP, 피브로넥틴-EDB, Her-2 또는 NaPi2b 항체인 단백질계 인지 분자를 포함한다.

[0526] <u>NaPi2b 항체</u>

[0527] 일부 실시양태에서, 접합에 적절한 NaPi2b 항체는 SLC34A2의 세포외 영역에 결합된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 나트륨 의존성 포스페이트 수송 단백질 2B로도 공지된 NaPi2b를 특이적으로 인지하는 NaPi2b-표적화된 모노클로날 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 접합체에 사용된 NaPi2b 항체는 NaPi2b의 적어도 1종의 생물학적 활성을 조정, 예를 들면 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하는 것이 가능하며, 유용하다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 또한 가용성 NaPi2b를 결합시키는 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, NaPi2b 항체는 사람 NaPi2b의 세포외 도메인(ECD) 상의 에피토프에 특이적으로 결합된다. 이들 항체는 본원에서 "NaPi2b" 항체로서 총괄적으로 지칭된다.

[0528] 일부 실시양태에서, 본원에서 제공된 NaPi2b 항체-약물 접합체는 ≤1 μM(예, ≤100 nM; ≤10 nM; 및 ≤1 nM)의 평형 해리 상수(K_d 또는 K_D)를 갖는 NaPi2b 에피토프에 결합되는 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체-약물 접합체에 사용된 NaPi2b 항체는 대략 ≤1 nM 내지 약 1 pM 범위 내의 K_d를 나타낸다.

[0529] 일부 실시양태에서, 본원에서 제공된 NaPi2b 항체-약물 접합체는 NaPi2b의 작용적 활성을 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하는 역할을 하는 항체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, NaPi2b의 작용적 활성은 예를 들면 세포횡단 무기 포스페이트(Pi) 흡수에 참여하여 체내에서 포스페이트 항상성의 유지에 기여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, NaPi2b 항체는 세포횡단 무기 포스페이트 흡수를 부분적으로 또는 완전하게 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하여 NaPi2b 작용적 활성을 완전하게 또는 부분적으로 억제한다.

[0530] 일부 실시양태에서, NaPi2b 항체는 본원에 기재된 NaPi2b 항체와의 결합의 부재 하에서 NaPi2b 작용성 활성의 수준과 비교시 NaPi2b 항체의 존재하에서 NaPi2b 작용성 활성의 수준을 적어도 95%, 예를 들면 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 감소시킬 때 NaPi2b 작용성 활성을 완전하게 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하는 것으로 고려된다. 일부 실시양태에서, NaPi2b 항체는 본원에 기재된 NaPi2b 항체와의 결합의 부재 하에서 NaPi2b 활성의 수준과 비교시 NaPi2b 항체의 존재하에서 NaPi2b 활성의 수준을 95% 미만, 예를 들면 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 75%, 80%, 85% 또는 90% 감소시킬 때 NaPi2b 작용성 활성을 부분적으로 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하는 것으로 고려된다.

[0531] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 예시의 항체는 XMT-1535 항체를 포함한다. 이들 항체는 사람 NaPi2b에 대한 특이성을 나타내며, NaPi2b 활성을 억제하는 것으로 나타났다.

[0532] NaPi2b 사람 또는 사람화 모노클로날 항체, XMT-1535는 하기 표 I에 제시된 아미노산 및 해당 핵산 서열로 제시된 바와 같이 중쇄(HC), 중쇄 가변 영역(VH), 경쇄(LC) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 각각의 항체에 대한 가변 중쇄 영역 및 가변 경쇄 영역은 하기 아미노산 서열에서 음영으로 표시한다. 중쇄 및 경쇄의 상보성 결정 영역(CDR)은 하기 제시된 아미노산 서열에서 밑줄로 표시한다. XMT-1535 항체에 대한 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 아미노산은 미국 특허 제8,603,474호에 개시되어 있다.

표 I: NaPi2b 사람 또는 사람화 모노클로날 항체 XMT-1535 서열

서열 번호	서열 설명
1	XMT-1535 중쇄 아미노산 서열
2	XMT-1535 경쇄 아미노산 서열
3	XMT-1535 중쇄 가변 영역
4	XMT-1535 경쇄 가변 영역
5	XMT-1535 CDRH1
6	XMT-1535 CDRH2
7	XMT-1535 CDRH3
8	XMT-1535 CDRL1
9	XMT-1535 CDRL2

서열 번호	서열 설명
10	XMT-1535 CDRL3
11	XMT-1535 IgG1 중쇄 불변 영역
12	XMT-1535 경쇄 불변 영역
13	XMT-1535 중쇄 가변 영역 핵산 서열
14	XMT-1535 경쇄 가변 영역 핵산 서열
15	전장 사람 NaPi2b 서열

[0533]

[0534] 본원에 개시된 항체는 사람 NaPi2b의 세포외 도메인(ECD) 상의 에피토프에 특이적으로 결합된다.

[0535] 일부 실시양태에서, 해당 기술분야의 기술자는 과도한 실험 없이 본원에 개시된 모노클로날 항체(예, XMT-1535, 10H1.11.4B)가 천연 결합 파트너 또는, NaPi2b와 회합하는 것으로 공지된 기타 분자에 결합되는 것을 모노클로날 항체가 방해하는지의 여부를 확인하여 모노클로날 항체가 본원에 개시된 모노클로날 항체(예, XMT-1535, 10H1.11.4B)와 동일한 특이성을 갖는지의 여부를 결정할 수 있는 것으로 인지할 것이다. 테스트되는 모노클로날

항체가 본원에 개시된 모노클로날 항체와 경쟁할 경우, 본원에 개시된 모노클로날 항체에 의한 결합에서의 감소에 의하여 나타난 바와 같이, 2종의 모노클로날 항체는 동일하거나 또는 밀접하게 관련된 에피토프에 결합된다.

[0536] 모노클로날 항체가 본원에 개시된 모노클로날 항체의 특이성을 갖는지의 여부를 결정하기 위한 대안의 방법은 가용성 NaPi2b(정상적으로 반응성인)를 갖는 본원에 개시된 모노클로날 항체를 사전인큐베이션한 후, 테스트되는 모노클로날 항체를 첨가하여 테스트되는 모노클로날 항체가 NaPi2b를 결합시키는 그의 능력에서 억제되는지의 여부를 결정하는 것이다. 테스트되는 모노클로날 항체가 억제되는 경우 아마도 본원에 개시된 모노클로날 항체와 동일하거나 또는 작용적으로 등가인 에피토프 특이성을 갖는다.

[0537] 본원에 개시된 모노클로날 항체의 스크리닝은 또한 예를 들면 NaPi2b 매개된 활성을 측정하고, 테스트 모노클로날 항체가 NaPi2b 활성을 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해할 수 있는지의 여부를 결정하여 실시될 수 있다.

[0538] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 3으로부터 선택된 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및, 서열 번호 4로부터 선택된 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0539] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 1의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 중쇄 아미노산 서열 및, 서열 번호 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0540] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 3의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 번호 4의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함한다.

[0541] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 1의 중쇄 아미노산 서열 및 서열 번호 2의 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0542] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 5의 CDRH1 아미노산 서열, 서열 번호 6의 CDRH2 아미노산 서열, 서열 번호 7의 CDRH3 아미노산 서열, 서열 번호 8의 CDRL1 아미노산 서열, 서열 번호 9의 CDRL2 아미노산 서열 및 서열 번호 10의 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0543] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 5의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1; 서열 번호 6의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2; 서열 번호 7의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3; 서열 번호 8의 아미노산 서열과 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRL1; 서열 번호 9의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRL2; 및 서열 번호 10의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRL3을 포함한다.

[0544] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 가변 도메인 서열에서 하나 이상의 보존성 아미노산 치환, 예컨대 가변 도메인 서열에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 이상의 보존성 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이들 보존성 아미노산 치환은 CDR 영역에서 예를 들면 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 이상의 보존성 치환이 모든 CDR에서 누적적으로 생성되며, 일부 특정한 실시양태에서 1, 2, 3 또는 4 이하의 보존성 아미노산 치환은 각각의 CDR 서열, 예를 들면 서열 번호 5-10에서 존재할 수 있다.

[0545] 일부 실시양태에서, 해당 기술분야의 기술자는 과도한 실험 없이 모노클로날 항체 XMT-1535가 천연 결합 파트너 또는, NaPi2b와 회합하는 것으로 공지된 기타 분자에 결합되는 것을 모노클로날 항체가 방해하는지의 여부를 확인하여 모노클로날 항체가 모노클로날 항체 XMT-1535와 동일한 특이성을 갖는지의 여부를 결정할 수 있는 것으로 인지할 것이다. 테스트되는 모노클로날 항체가 본원에 개시된 모노클로날 항체와 경쟁할 경우, 본원에 개시된 모노클로날 항체에 의한 결합에서의 감소에 의하여 나타난 바와 같이, 2종의 모노클로날 항체는 동일하거나 또는 밀접하게 관련된 에피토프에 결합된다.

[0546] 일부 실시양태에서, 모노클로날 항체가 본원에 개시된 모노클로날 항체의 특이성을 갖는지의 여부를 결정하는 대안의 방법은 가용성 NaPi2b(정상적으로 반응성인)를 갖는 본원에 개시된 모노클로날 항체를 사전인큐베이션한 후, 테스트되는 모노클로날 항체를 첨가하여 테스트되는 모노클로날 항체가 NaPi2b에 결합되는 그의 능력에서 억제되는지의 여부를 결정하는 것이다. 테스트되는 모노클로날 항체가 억제되는 경우 본원에 개시된 모노클로날 항체와 동일하거나 또는 작용적으로 등가인 에피토프 특이성을 갖는다.

[0547] 본원에 개시된 모노클로날 항체의 스크리닝은 또한 예를 들면 NaPi2b 매개된 활성을 측정하고, 테스트 모노클로날 항체가 NaPi2b 활성을 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해할 수 있는지의 여부를 결정하여 실시될 수 있다.

[0548] 일부 실시양태에서, 접합에 적절한 NaPi2b 항체는 예를 들면 WO 2009/097128, WO 2017/160754 및 US 16/136,706의 널리 공지된 기술에 의하여 생성 및 정제될 수 있으며, 이들 각각은 본원에 참조로 그 전문이 포함된다.

[0549] HER2 항체

[0550] 일부 실시양태에서, 접합에 적절한 HER2 항체는 가용성 형태로 또는 결합된 멤브레인으로(즉 세포 표면에서 발현시) 사람 HER2를 결합시킨다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 HER2을 결합시키며, 사람화 또는 완전 사람인 모노클로날 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 HER2를 특이적으로 결합시키는 모노클로날 항체를 제공한다. 항체는 본원에서 "HER2" 항체로 총괄적으로 지칭된다.

[0551] 일부 실시양태에서, 접합에 적절한 HER2 항체는 ≤1 μM(예, ≤100 nM; ≤10 nM; ≤1 nM)의 평형 해리 상수(K_d 또는 K_D)를 갖는 HER2 에피토프에 결합된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 HER2를 결합시키며, 사람화 또는 완전 사람인 모노클로날 항체를 제공한다. 예를 들면, 본원에서 제공된 HER2 항체는 대략 ≤1 nM 내지 약 1 pM의 범위 내의 K_d를 나타낸다.

[0552] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 HER2 항체는 HER2의 작용성 활성을 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하는 역할을 한다. 일부 실시양태에서, HER2의 작용적 활성은 예를 들면 PI3K-Akt 경로 활성의 조정을 포함한다. 일부 실시양태에서, HER2 항체는 PI3K-Akt 경로 활성을 부분적으로 또는 완전하게 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하여 HER2 작용성 활성을 완전하게 또는 부분적으로 억제한다. PI3K-Akt 경로 활성은 본원에 개시된 항체 또는 항원 결합 단편의 존재 및 부재 하에서 인산화된 Akt의 수준을 검출하는 것을 포함하나 이에 제한되지 않는 PI3K-Akt 경로 활성을 검출하기 위한 임의의 종래 기술에 인지된 방법을 사용하여 평가된다.

[0553] 일부 실시양태에서, HER2 항체는 HER2 항체의 존재하에서 HER2 작용성 활성의 수준이 본원에 기재된 HER2 항체와의 결합의 부재 하에서 HER2 작용성 활성의 수준에 비하여 적어도 80%, 예를 들면 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 감소될 때 HER2 작용성 활성을 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하는 것으로 고려된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 HER2 항체와의 결합 부재시 HER2 활성의 수준과 비교시 HER2 항체의 존재 하에서 HER2 활성의 수준이 95% 미만, 예를 들면 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 75%, 80%, 85% 또는 90% 감소될 때 HER2 항체는 HER2 작용성 활성을 부분적으로 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하는 것으로 고려한다.

[0554] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 예시의 항체는 XMT-1519 항체를 포함한다. 상기 항체는 사람 HER2에 대한 특이성을 나타내며, 이는 시험관내 HER2의 작용성 활성을 억제하는 것으로 밝혀졌다.

[0555] HER-2 모노클로날 항체 XMT-1519는 하기 표 II에 제시한 아미노산 및 해당 핵산 서열로 나타낸 바와 같이 중쇄(HC), 중쇄 가변 영역(VH), 경쇄(LC) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 각각의 항체에 대한 가변 중쇄 영역 및 가변 경쇄 영역은 하기 아미노산 서열에서 음영으로 표시한다. 중쇄 및 경쇄의 상보성 결정 영역(CDR)은 하기 제시된 아미노산 서열에서 밑줄로 표시한다.

표 II: HER2 사람 또는 사람화 모노클로날 항체 XMT-1519 서열

서열 번호	서열 설명
16	전장 사람 HER2 수용체
17	XMT-1519 중쇄 가변 영역
18	XMT-1519 IgG1 중쇄 불변 영역
19	XMT-1519 중쇄 아미노산 서열
20	XMT-1519 CDRH1
21	XMT-1519 CDRH2
22	XMT-1519 CDRH3
23	XMT-1519 중쇄 가변 영역 핵산 서열

서열 번호	서열 설명
24	XMT-1519 경쇄 가변 영역
25	XMT-1519 경쇄 불변 영역
26	XMT-1519 경쇄 아미노산 서열
27	XMT-1519 CDRL1
28	XMT-1519 CDRL2
29	XMT-1519 CDRL3
30	XMT-1519 경쇄 가변 영역 핵산 서열
31	사람 HER2 수용체의 세포외 도메인 (ECD)

[0556]

[0557] 본원에 개시된 항체 및 그의 항원 결합 단편은 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 전장 사람 HER2 수용체 상의 에피토프에 특이적으로 결합된다.

[0558] 본원에 개시된 항체 및 그의 항원 결합 단편은 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인(ECD) 상의 에피토프에 특이적으로 결합된다.

[0559] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항체는 해당 기술분야에 기재된 항체와는 상이한 HER2 결합 특징을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 HER2의 상이한 에피토프에 결합되며, 이들은 HER2로의 결합으로부터 트라스투주맙, 페르투주맙, Fab37 또는 chA21이 아닌 서로 교차차단한다. 추가로, 공지된 항체와는 반대로, 본원에 개시된 항체는 세포 증식을 촉진하지 않고 HER2 발현 세포로 효율적으로 내재화될 수 있다.

[0560] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 신규한 에피토프에 결합되며 및/또는 치료적 사용에 대한 기타 바람직한 특성을 갖는 완전 사람 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, 예시의 특성은 사람 HER2를 높거나 또는 낮은 수준에서 발현시키는 암세포에 대한 바람직한 결합 특징, 재조합 사람 및 시노몰구스 원숭이 HER2로의 특이적 결합, HER2로의 결합시 효율적인 내재화, 항체 약물 접합체(ADC)로서 투여시 HER2의 높거나 또는 낮은 수준에서 발현되는 암 세포 사멸에 대한 높은 용량, HER2 발현 암 세포의 증식에 대한 실질적인 효능제 효과가 없음을 포함하나 이에 제한되지 않으며 및/또는 HER2 발현 세포의 효율적인 항체 의존성 세포성 세포독성(ADCC) 매개된 사멸뿐 아니라, 상기 특성의 임의의 조합을 제공한다.

[0561] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 또한 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 잔기 452 내지 531, 서열 번호 16의 잔기 474 내지 553 또는 서열 번호 31의 잔기 452 내지 531을 포함하는 사람 HER2 수용체의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0562] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 사람 HER2 수용체의 도메인 IV의 N 말단의 적어도 일부에 결합되지만, 사람 HER2 수용체의 에피토프 4D5에 결합되는 항체와는 교차경쟁하지 않는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 사람 HER2 수용체에 결합하기 위하여 트라스투주맙과 교차경쟁하지 않는데, 트라스투주맙은 사람 HER2 수용체의 에피토프 4D5에 결합되는 것으로 공지되어 있기 때문이다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 사람 HER2 수용체의 에피토프 4D5는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 아미노산 잔기 529 내지 627, 서열 번호 16의 잔기 551 내지 649 또는 서열 번호 31의 잔기 529 내지 627을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 또한 시노몰구스 원숭이 HER2 수용체 상의 적어도 하나의 에피토프에 결합된다.

[0563] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 또한 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 잔기 452 내지 500, 서열 번호 16의 잔기 474 내지 522 또는 서열 번호 31의 잔기 452 내지 500을 포함하는 사람 HER2 수용체의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0564] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 또한 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 아미노산 잔기 E521, L525 및 R530으로부터 선택된 아미노산 잔기 중 적어도 하나, 예를 들면 서열 번호 16의 잔기 543, 547 및 552 및 서열 번호 31의 잔기 521, 525 및 530을 포함하는 사람 HER2 수용체의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 아미노산 잔기 E521, L525 및 R530으로부터 선택된 적어도 2개의 아미노산 잔기를 포함하는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시

양태에서, 본원에 개시된 항체는 또한 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 적어도 아미노산 잔기 E521, L525 및 R530을 포함하는 사람 HER2 수용체의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이들 항체 중 임의의 것 또는 전부 또는 그의 항원 결합 단편은 또한 시노몰구스 원숭이 HER2 수용체 상의 적어도 하나의 에피토프에 결합된다.

[0565] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 또한 사람 HER2 수용체의 도메인 III의 적어도 일부 및 도메인 IV의 N 말단의 적어도 일부에 결합되지만, 사람 HER2 수용체의 에피토프 4D5에 결합되는 항체 또는 Fab37 모노클로날 항체와 교차경쟁하지 않는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 사람 HER2 수용체에 결합되기 위하여 Fab37 모노클로날 항체 및/또는 트라스투주맙과 교차경쟁하지 않는다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 또한 시노몰구스 원숭이 HER2 수용체 상의 적어도 하나의 에피토프에 결합된다.

[0566] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 또한 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 잔기 520 내지 531, 서열 번호 16의 잔기 542 내지 553 또는 서열 번호 31의 잔기 520 내지 531을 포함하는 사람 HER2 수용체의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0567] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 또한 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 잔기 C453, H456, H473, N476, R495, G496, H497 및 W499로부터 선택된 적어도 하나의 아미노산 잔기, 예를 들면 서열 번호 16의 잔기 475, 478, 495, 498, 517, 518, 519 및 521 또는 서열 번호 31의 잔기 453, 456, 473, 476, 495, 496, 497 및 499를 포함하는 사람 HER2 수용체의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 아미노산 잔기 C453, H456, H473, N476, R495, G496, H497 및 W499로부터 선택된 적어도 2종의 아미노산 잔기, 적어도 3종의 아미노산 잔기, 적어도 4종의 아미노산 잔기, 적어도 5종의 아미노산 잔기 또는 적어도 6종의 아미노산 잔기를 포함하는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 적어도 아미노산 잔기 C453, H456, H473, N476, R495, G496, H497 및 W499를 포함하는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이들 항체 또는 그의 항원 결합 단편 중 임의의 것 또는 전부는 또한 시노몰구스 원숭이 HER2 수용체 상의 적어도 하나의 에피토프에 결합된다.

[0568] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 또한 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 잔기 C453, H473, N476, R495, H497 및 W499로부터 선택된 적어도 하나의 아미노산 잔기, 예를 들면 서열 번호 16의 잔기 475, 495, 498, 517, 519 및 521 또는 서열 번호 31의 잔기 453, 473, 476, 495, 497 및 499를 포함하는 사람 HER2 수용체의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 아미노산 잔기 C453, H473, N476, R495, H497 및 W499로부터 선택된 적어도 2개의 아미노산 잔기, 적어도 3개의 아미노산 잔기, 적어도 4개의 아미노산 잔기, 적어도 5개의 아미노산 잔기 또는 적어도 6개의 아미노산 잔기를 포함하는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 적어도 아미노산 잔기 C453, H473, N476, R495, H497 및 W499를 포함하는 사람 HER2 수용체의 세포외 도메인의 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이들 항체 또는 그의 항원 결합 단편 중 임의의 또는 전부는 시노몰구스 원숭이 HER2 수용체 상의 적어도 하나의 에피토프에 결합된다.

[0569] 일부 실시양태에서, 이들 항체는 사람 HER2에 대한 특이성을 나타내며, 인산화 AKT의 수준을 감소시켜 세포 생존을 촉진시키는 PI3K-Akt 경로를 조정, 예를 들면 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해하는 것으로 밝혀졌다. 일부 실시양태에서, 이들 항체는 트라스투주맙 또는 그의 생물학적 유사체가 내재화되는 속도와 동일하거나 또는 실질적으로 유사한 속도로 HER2 발현 세포의 세포 표면으로부터 내재화된다. 일부 실시양태에서, 이들 항체 및 항원 결합 단편은 4 시간까지 내재화되는 시간 0에서 결합된 전체 표면의 약 50%인 내재화 속도를 갖는다.

[0570] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 17로부터 선택된 서열과 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 24로부터 선택된 서열과 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변

영역을 포함한다.

[0571] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 19의 아미노산 서열과 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 중쇄 아미노산 서열 및 서열 번호 26의 아미노산 서열과 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0572] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 17의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 번호 24의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함한다.

[0573] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 19의 중쇄 아미노산 서열 및 서열 번호 26의 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0574] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 서열 번호 20의 CDRH1 아미노산 서열, 서열 번호 21의 CDRH2 아미노산 서열, 서열 번호 22의 CDRH3 아미노산 서열, 서열 번호 27의 CDRL1 아미노산 서열, 서열 번호 28의 CDRL2 아미노산 서열 및 서열 번호 29의 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0575] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체는 가변 도메인 서열에서 하나 이상의 보존성 아미노산 치환, 예컨대 가변 도메인 서열에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 이상의 보존성 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이들 보존성 아미노산 치환은 CDR 영역에서 예를 들면 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 이상의 보존성 치환이 모든 CDR에서 누적적으로 생성된다. 일부 특정한 실시양태에서 1, 2, 3 또는 4 이하의 보존성 아미노산 치환은 각각의 CDR 서열, 예를 들면 서열 번호 20-22 및 27-29에서 존재할 수 있다.

[0576] 해당 기술분야의 기술자는 과도한 실험 없이 모노클로날 항체 XMT-1519가 천연 결합 파트너 또는, HER2와 회합하는 것으로 공지된 기타 분자에 결합되는 것을 모노클로날 항체가 방해하는지의 여부를 확인하여 모노클로날 항체가 모노클로날 항체 XMT-1519와 동일한 특이성을 갖는지의 여부를 결정할 수 있는 것으로 인지할 것이다. 일부 실시양태에서, 테스트되는 모노클로날 항체가 본원에 개시된 모노클로날 항체와 경쟁할 경우, 본원에 개시된 모노클로날 항체에 의한 결합에서의 감소에 의하여 나타난 바와 같이, 2종의 모노클로날 항체는 동일하거나 또는 밀접하게 관련된 에피토프에 결합된다.

[0577] 일부 실시양태에서, 모노클로날 항체가 본원에 개시된 모노클로날 항체의 특이성을 갖는지의 여부를 결정하는 대안의 방법은 가용성 HER2(정상적으로 반응성인)를 갖는 본원에 개시된 모노클로날 항체를 사전인큐베이션한 후, 테스트되는 모노클로날 항체를 첨가하여 테스트되는 모노클로날 항체가 HER2에 결합되는 그의 능력에서 억제되는지의 여부를 결정하는 것이다. 테스트되는 모노클로날 항체가 억제되는 경우 아마도 본원에 개시된 모노클로날 항체와 동일하거나 또는 작용적으로 등가인 에피토프 특이성을 갖는다.

[0578] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 모노클로날 항체의 스크리닝은 또한 예를 들면 HER2 매개된 PI3K-Akt 경로 활성을 측정하고, 테스트 모노클로날 항체가 PI3K-Akt 경로 활성을 조정, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 달리 방해할 수 있는지의 여부를 결정하여 실시될 수 있다. 일부 실시양태에서, 접합에 적절한 HER2 항체는 널리 공지된 기술, 예를 들면 WO 2015/195917 및 PCT/US2018/019873에 의하여 생성 및 정제될 수 있으며, 이들 각각은 본원에 그 전문이 참조로 포함된다.

[0579] 접합체

[0580] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체는 D의 하나 이상의 발생을 포함하며, 여기서 D는 스팅 효능제이며, D의 하나 이상의 발생은 동일하거나 또는 상이할 수 있다.

[0581] 일부 실시양태에서, PBRM의 하나 이상의 발생은 링커-약물 모이어티에 부착되며, 여기서 PBRM의 하나 이상의 발생은 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 일부 실시양태에서, D의 하나 이상의 발생을 포함하는 하나 이상의 링커-약물 모이어티는 하나의 PBRM(예, 항체)에 연결된다.

[0582] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체는 약 40 kDa 이상(예, 약 60 kDa 이상, 약 80 kDa 이상, 약 100 kDa 이상, 약 120 kDa 이상, 약 140 kDa 이상, 약 160 kDa 이상, 약 180 kDa 이상; 또는 약 200 kDa 이상 또는 약 40-200 kDa, 약 40-180 kDa, 약 40-140 kDa, 약 60-200 kDa, 약 60-180 kDa, 약 60-140 kDa, 약 80-200 kDa, 약 80-180 kDa, 약 80-140 kDa, 약 100-200 kDa, 약 100-180 kDa 또는 약 100-140 kDa)의 분자량을 가지며, 술프히드릴(즉, -SH 또는 티올) 기를 갖는 PBRM을 포함한다.

[0583] 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이에 형성된 술피드 결합의 총수(또는 부착점의 총수)는 10 이하(예, 8, 6, 4 또는 2)이다.

[0584] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 약 40 kDa 이상(예, 약 60 kDa 이상, 약 80 kDa 이상, 약 100 kDa 이상, 약 120 kDa 이상, 약 140 kDa 이상, 약 160 kDa 이상 또는 약 180 kDa 이상; 또는 약 40-200 kDa, 약 40-180 kDa, 약 40-140 kDa, 약 60-200 kDa, 약 60-180 kDa, 약 60-140 kDa, 약 80-200 kDa, 약 80-180 kDa, 약 80-140 kDa, 약 100-200 kDa, 약 100-180 kDa 또는 약 100-140 kDa)의 분자량을 갖는다.

[0585] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 약 40 kDa 내지 약 200 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 약 40 kDa 내지 약 80 kDa의 분자량을 갖는다.

[0586] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 40 kDa 내지 200 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 40 kDa 내지 80 kDa의 분자량을 갖는다.

[0587] 일부 실시양태에서, 상기 분자량 범위 내의 PBRM은 예를 들면 항체 단편, 예컨대 Fab를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0588] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 약 60 kDa 내지 약 120 kDa의 분자량을 갖는다.

[0589] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 60 kDa 내지 120 kDa의 분자량을 갖는다.

[0590] 일부 실시양태에서, 상기 분자량 범위 내의 PBRM은 예를 들면 낙타과, Fab2, scFvFc 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0591] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 약 140 kDa 내지 약 180 kDa의 분자량을 갖는다.

[0592] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 140 kDa 내지 180 kDa의 분자량을 갖는다.

[0593] 일부 실시양태에서, 상기 분자량 범위 내의 PBRM은 예를 들면 전장 항체, 예컨대 IgG, IgM을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0594] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 표적화 리간드, 링커 및 약물 또는 프로드러그 단편은 예를 들면 개시된 기술 및 방법에 따라 본 개시내용의 접합체 또는 스캐폴드로 어셈블리될 수 있다. 본 개시내용의 치료적 및 표적화 접합체 및 그의 제조 방법은 하기에 비제한적인 예에 의하여 기재된다.

[0595] 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이에서 형성된 술피드 결합의 총수(또는 부착점의 총수)는 8 이하이다.

[0596] 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이에 형성된 술피드 결합의 총수(또는 부착점의 총수)는 8이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이에 형성된 술피드 결합의 총수(또는 부착점의 총수)는 6이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이에 형성된 술피드 결합의 총수(또는 부착점의 총수)는 5이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이에 형성된 술피드 결합의 총수(또는 부착점의 총수)는 4이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이에 형성된 술피드 결합의 총수(또는 부착점의 총수)는 3이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이에 형성된 술피드 결합의 총수(또는 부착점의 총수)는 2이다.

[0597] 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이의 비는 약 1:1 내지 약 8:1이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이의 비는 약 1:1 내지 약 6:1이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이의 비는 약 1:1 내지 약 4:1이다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이의 비는 약 2:1 내지 약 2:1이다.

[0598] 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이의 비는 약 6:1 내지 약 8:1이다.

[0599] 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이의 비는 약 8:1이다.

[0600] 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티 및 PBRM 사이의 비는 약 6:1이다.

[0601] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 또한 적어도 2개의 모이어티를 포함하는 링커-약물 모이어티에 관한 것이며, 여기서 각각의 모이어티는 단백질-링커-약물 접합하도록 PBRM에서의 티올 기에 접합될 수 있다.

[0602] 일부 실시양태에서, PBRM의 하나 이상의 티올 기는 단백질을 환원시켜 생성된다. 그 후, PBRM의 하나 이상의 티올 기는 링커-약물 모이어티를 사용하여 PBRM으로부터의 티올 기에 접합될 수 있는 하나 이상의 링커-약물 모이어티와 반응될 수 있다. 일부 실시양태에서, PBRM에 연결된 적어도 2개의 모이어티는 말레이미드 기이다.

[0603] 일부 실시양태에서, 항체는 환원제, 예컨대 DTT(클리랜드(Cleland) 시약), 디티오트레이톨) 또는 TCEP(트리스(2-카르복시에틸)포스핀 히드로클로라이드)로 처리하여 링커-약물 모이어티와 접합을 위하여 활성화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 전장 모노클로날 항체는 디술피드 결합을(예, 해당 모 항체에 존재하는 시스테인 사이에서) 환원시키기 위하여 과잉의 TCEP를 사용하여 환원시켜 항체의 환원된 형태를 산출할 수 있다. 새로이 도입되고, 쌍을 이루지 않은 시스테인은 본 개시내용의 항체 접합하기 위하여 링커-약물 모이어티와의 반응에 이용 가능할 수 있다. 일부 실시양태에서, 과잉의 링커-약물 모이어티는 첨가되어 접합을 실시하고, 항체-약물 접합하며, 접합 혼합물을 정제하여 과잉의 링커-약물 중간체 및 기타 불순물을 제거한다.

[0604] 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티의 접합을 위하여, PBRM은 40 kDa 이상(예, 60 kDa 이상; 80 kDa 이상; 또는 100 kDa 이상; 120 kDa 이상; 140 kDa 이상; 160 kDa 이상 또는 180 kDa 이상)의 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티당 PBRM의 비는 약 1:1 내지 약 1:8, 약 1:1 내지 약 1:6, 약 1:1 내지 약 1:5, 약 1:1 내지 약 1:4, 약 1:1 내지 약 1:3 또는 약 1:1 내지 약 1:2이다.

[0605] 상기 분자량 범위 내의 PBRM은 예를 들면 전장 항체, 예컨대 IgG, IgM을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0606] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 60 kDa 내지 120 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티당 PBRM의 비는 약 1:1 내지 약 1:8, 약 1:1 내지 약 1:6, 약 1:1 내지 약 1:5, 약 1:1 내지 약 1:4, 약 1:1 내지 약 1:3 또는 약 1:1 내지 약 1:2이다.

[0607] 상기 분자량 범위 내의 PBRM은 예를 들면 항체 단편, 예를 들면 Fab2, scFcFv 및 낙타과를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0608] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티와의 접합을 위하여 PBRM은 40 kDa 내지 80 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 링커-약물 모이어티당 PBRM의 비는 약 1:1 내지 약 1:8, 약 1:1 내지 약 1:6, 약 1:1 내지 약 1:5, 1:1 내지 약 1:4, 약 1:1 내지 약 1:3 또는 약 1:1 내지 약 1:2이다.

[0609] 일부 실시양태에서, 상기 분자량 범위 내의 PBRM은 예를 들면 항체 단편, 예컨대 Fab를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0610] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 단백질계 인지 분자(PBRM) 및 스팅 효능제 모이어티(D) 중 어느 하나 또는 둘다와 접합되는데 유용한 스캐폴드를 특징으로 한다.

[0611] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 약물 담지 스캐폴드(즉, PBRM에 연결되지 않음)는 각각 통상적으로 1의 다분산지수(PDI)를 갖는다.

[0612] 본원에 개시된 접합체 및 스캐폴드는 광범위 정용여과에 의하여 정제(즉, 임의의 출발 물질의 제거)될 수 있다. 필요할 경우, 크기 배제 크로마토그래피에 의한 추가적인 정제를 실시하여 임의의 응집된 접합체를 제거할 수 있다. 일반적으로, 정제된 상태의 접합체는 통상적으로 SEC에 의하여 측정시 5% 미만(예, <2% w/w)의 응집된 접합체; RP-HPLC에 의하여 측정시 0.5% 미만(예, <0.1% w/w)의 유리(접합되지 않은) 약물; SEC에 의하여 측정시 1% 미만의 약물 담지-펩티드 함유 스캐폴드 및 HIC-HPLC에 의하여 측정시 2% 미만(예, <1% w/w)의 접합되지 않은 PBRM을 함유한다.

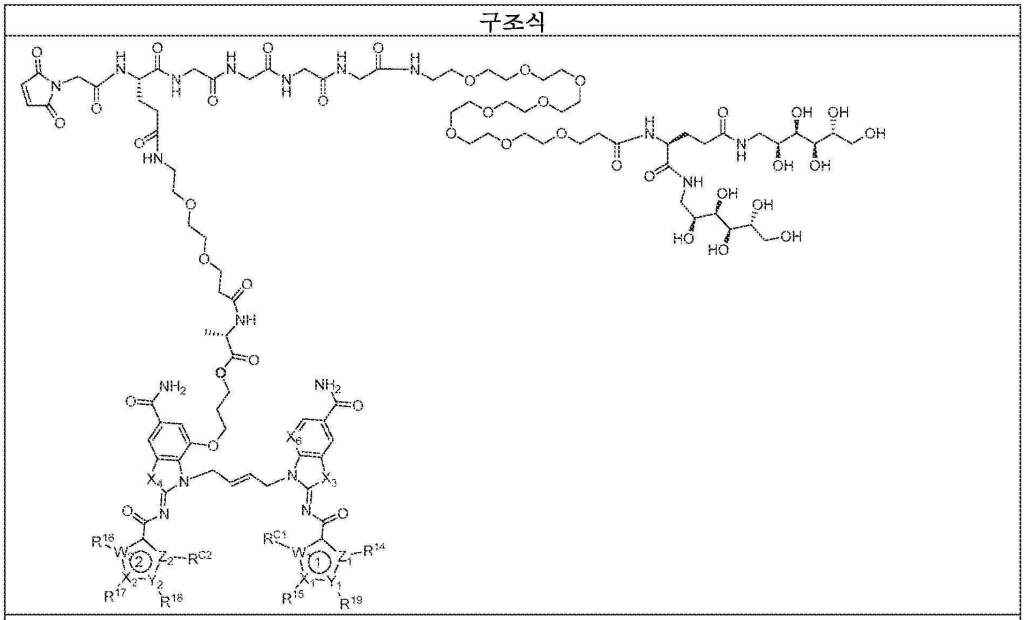
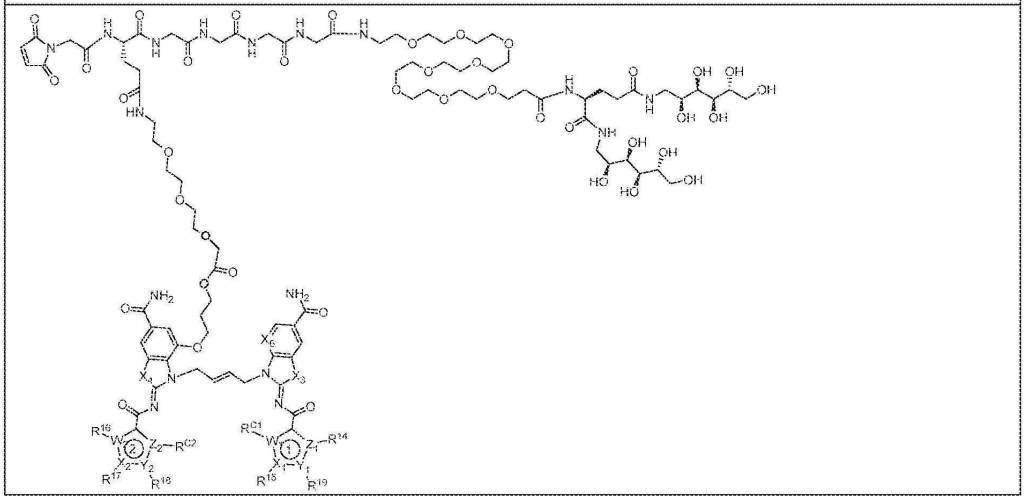
[0613] 일부 실시양태에서, 스캐폴드는 하기 표 A1에 기재된 스캐폴드로부터 선택된다.

[0614] 일부 실시양태에서, 스캐폴드는 하기 표 A2에 기재된 스캐폴드로부터 선택된다.

[0615] 일부 실시양태에서, 접합체는 하기 표 B1에 기재된 접합체로부터 선택된다.

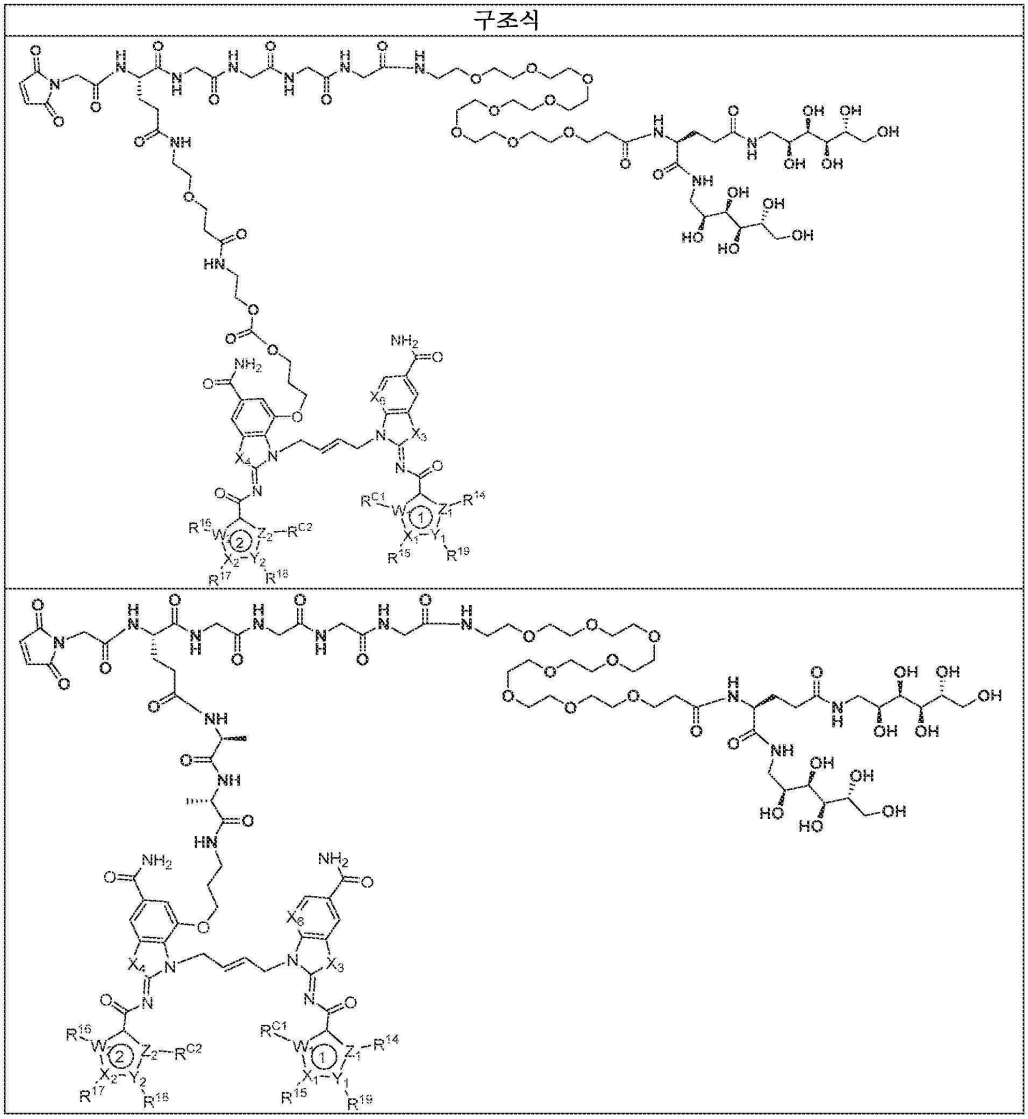
[0616] 일부 실시양태에서, 접합체는 하기 표 B2에 기재된 접합체로부터 선택된다.

표 A1

구조식



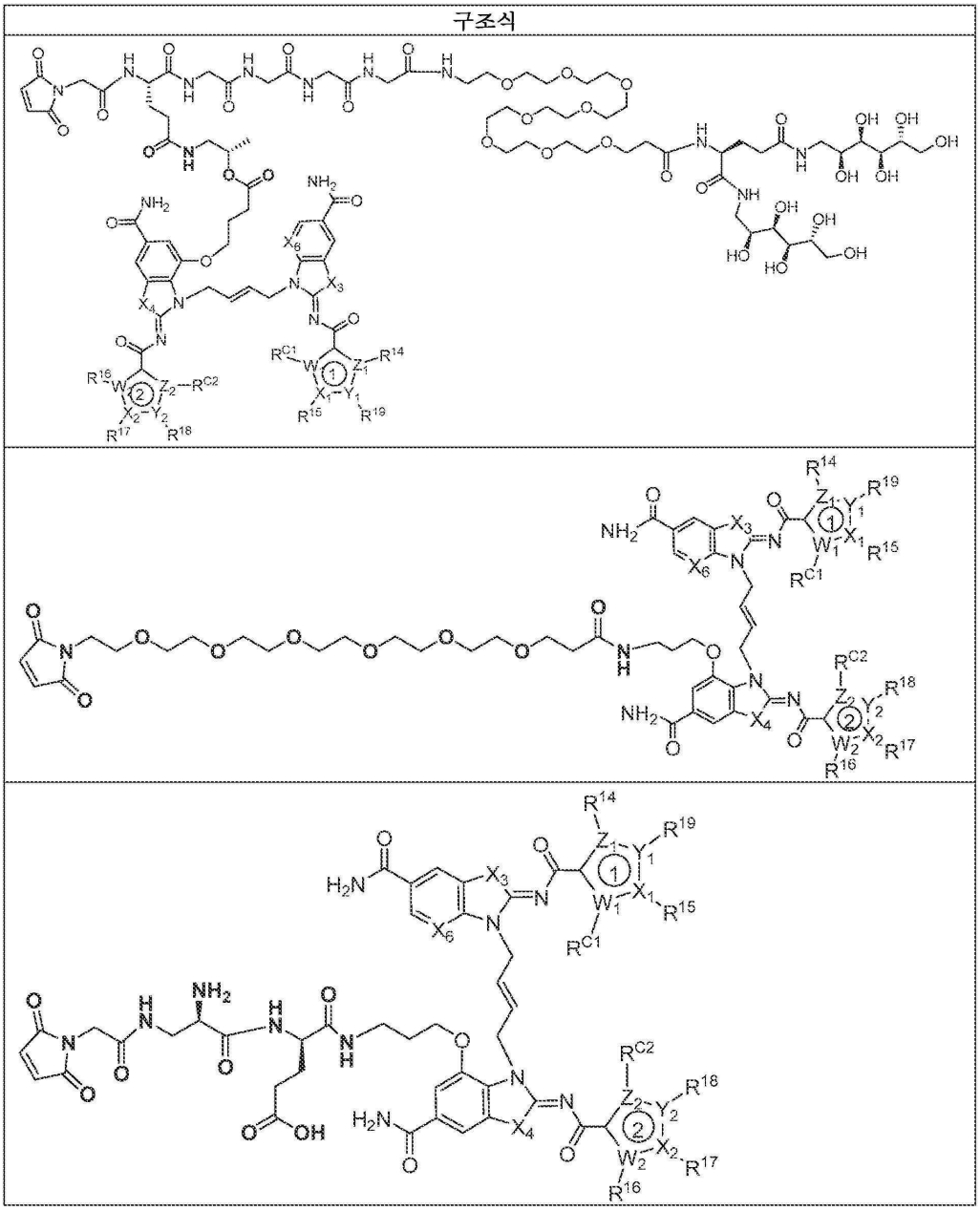
[0617]

구조식

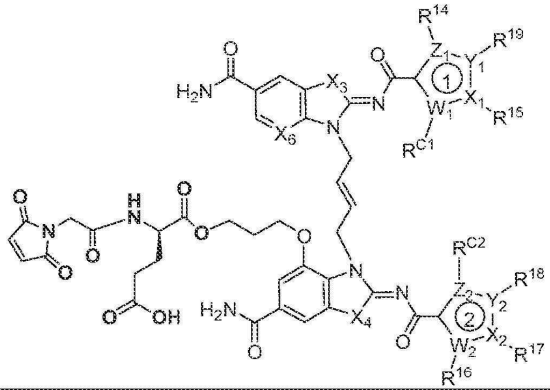
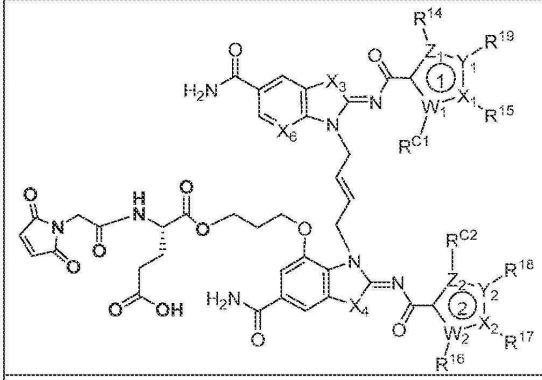
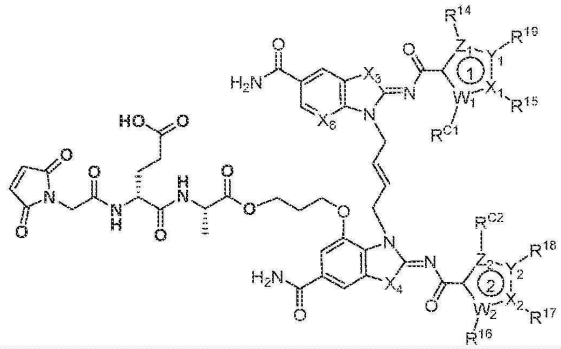


[0618]

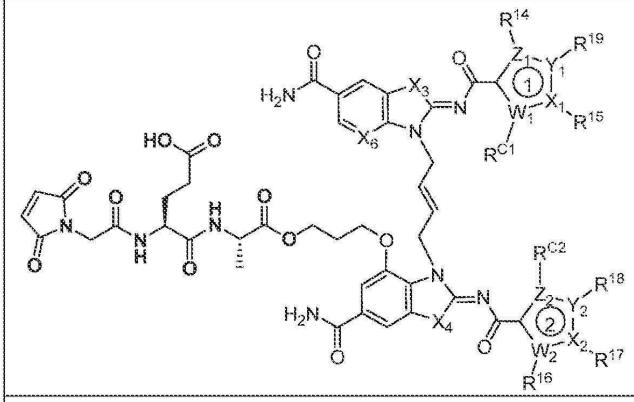
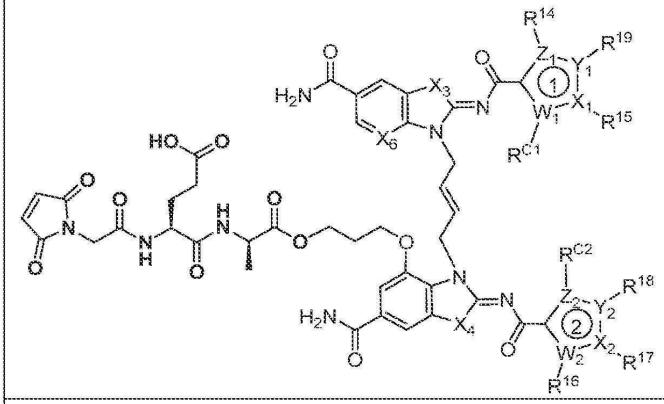
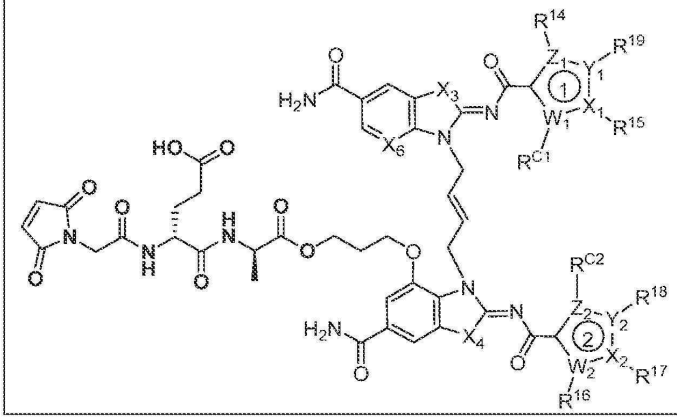
구조식



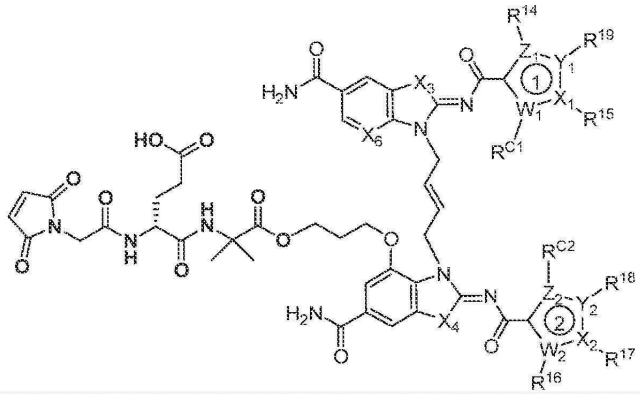
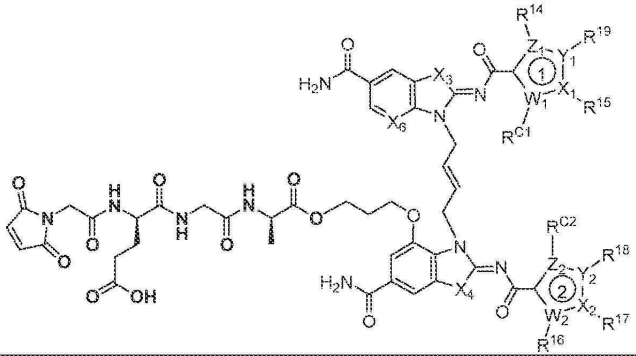
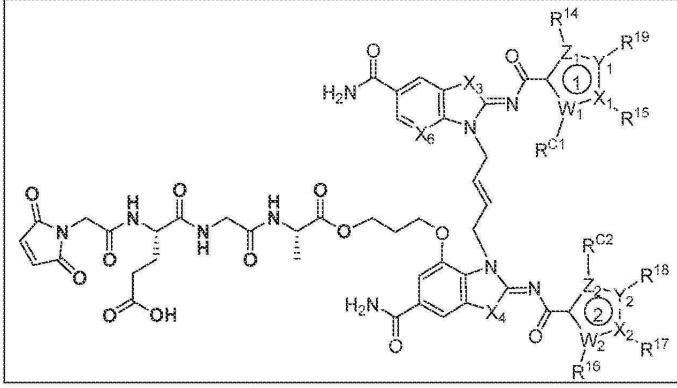
[0619]

구조식




[0620]

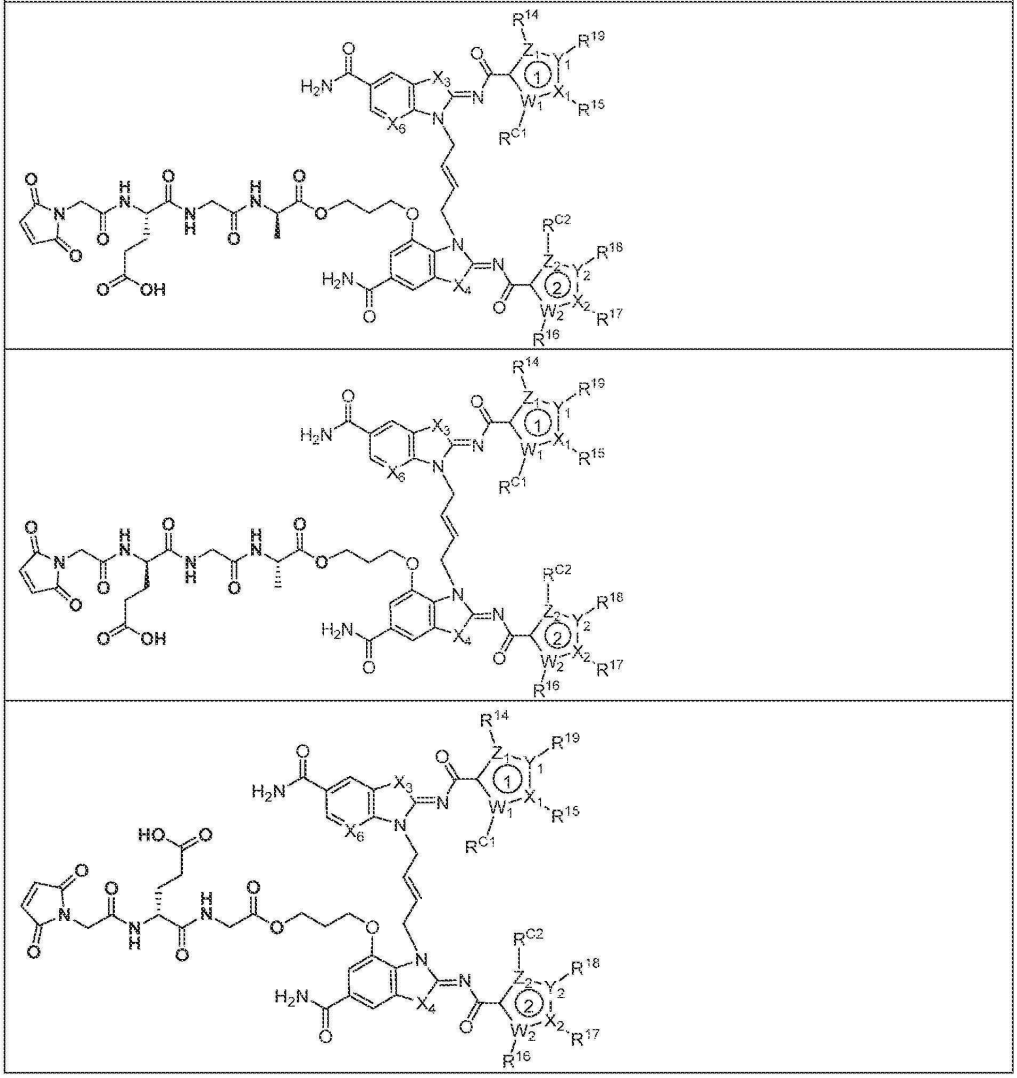
구조식




[0621]

구조식




[0622]

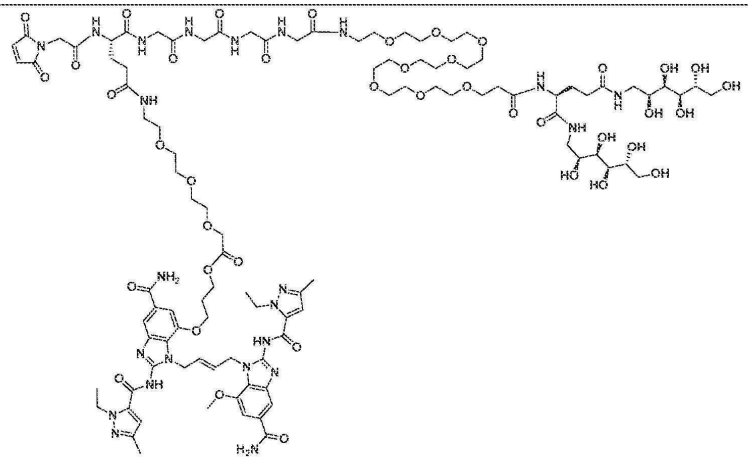
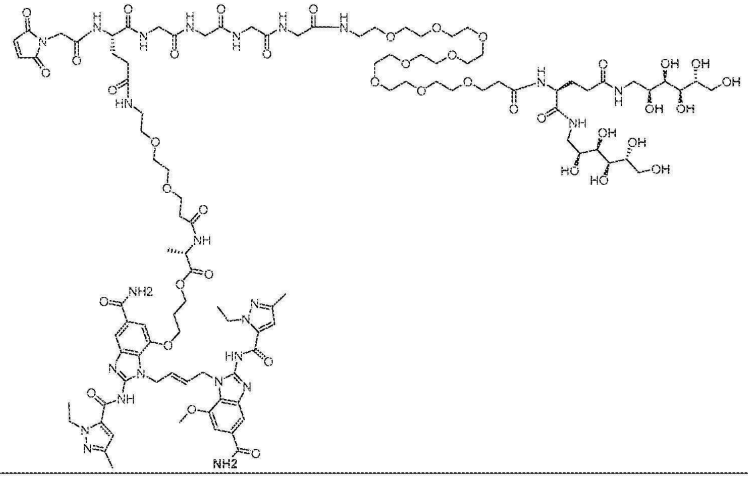
구조식



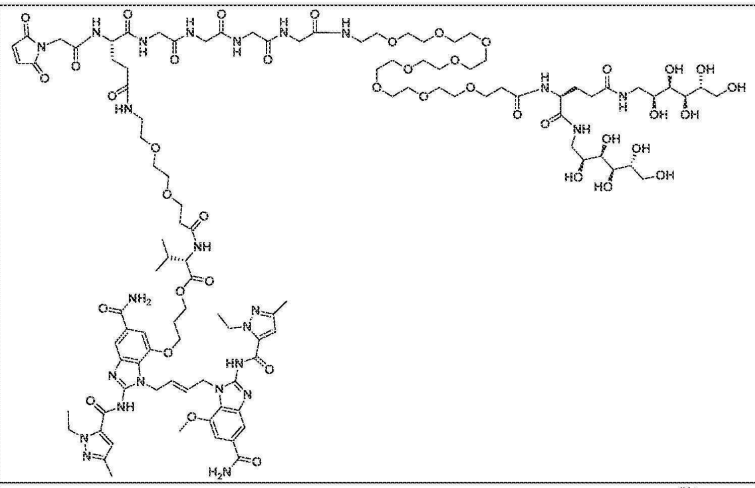
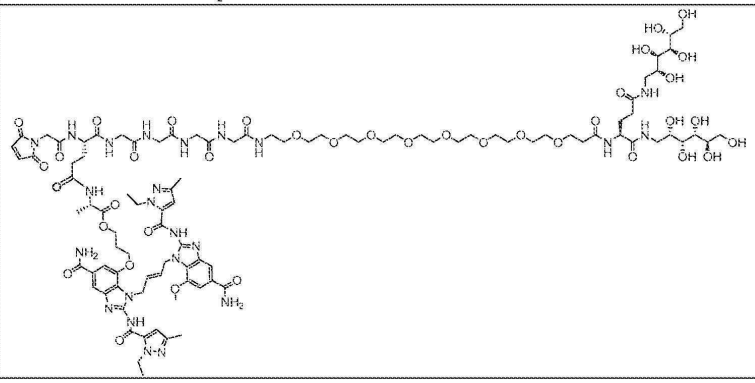
[0623]

[0624] 상기 식에서, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{C1}, R^{C2}, X_3, X_4, X_6, X_1, W_1, Y_1, Z_1, X_2, W_2, Y_2, Z_2는 본원에서 정의된 바와 같다:

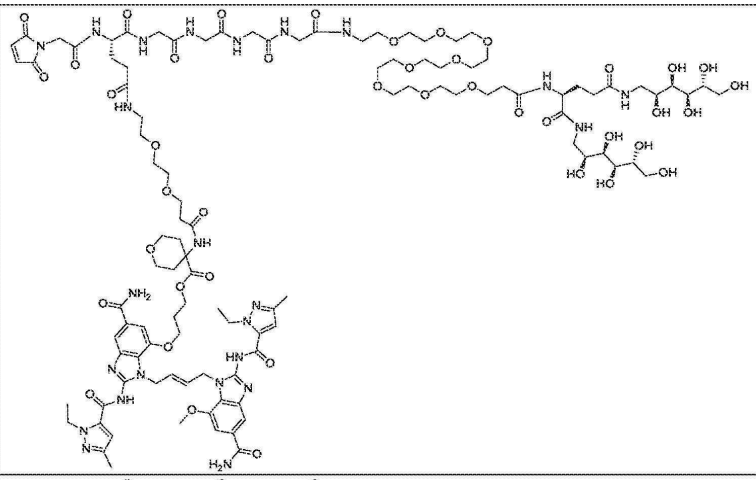
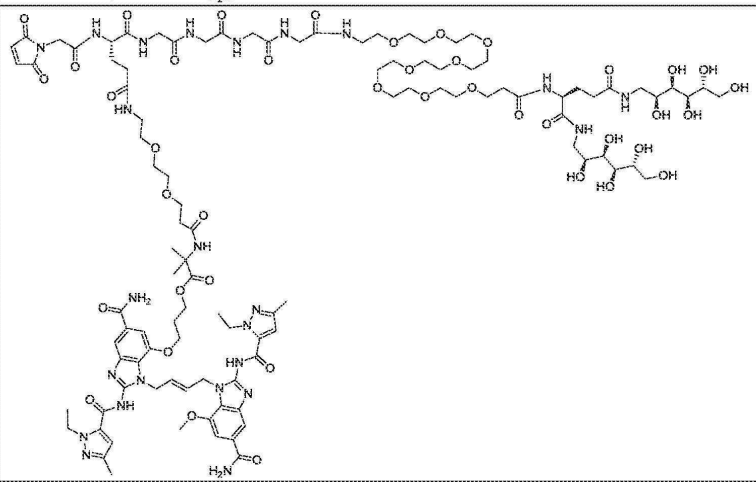
표 A2

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1172.55 (M+H)
1	7		1192.53 (M+2H)

[0625]

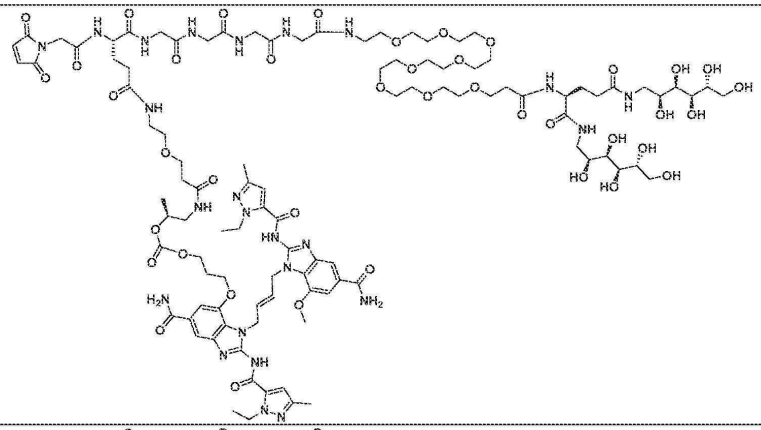
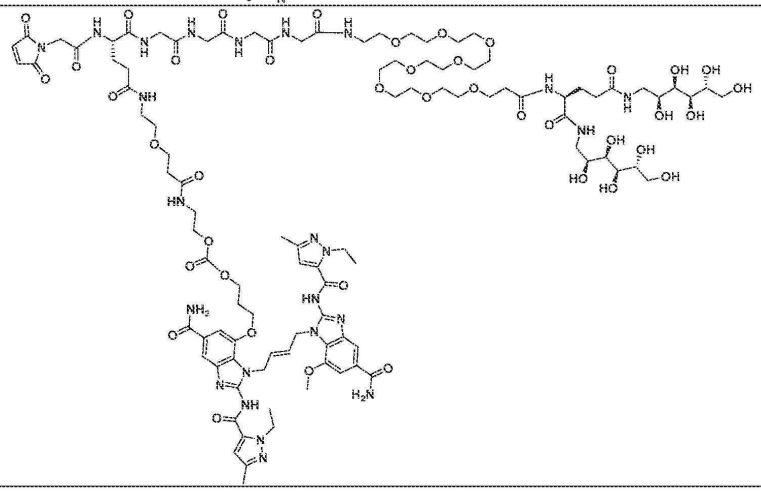
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1206.58 (M+2H)
			1113.04 (M+2H)

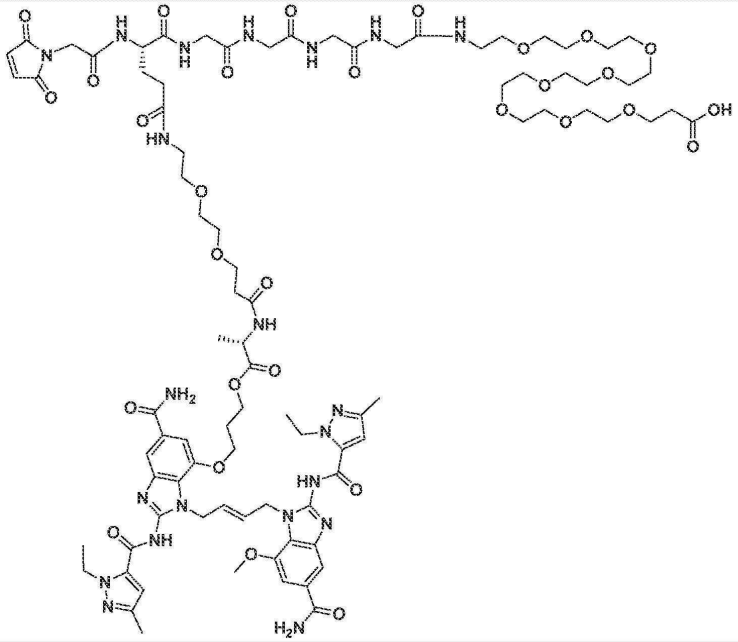
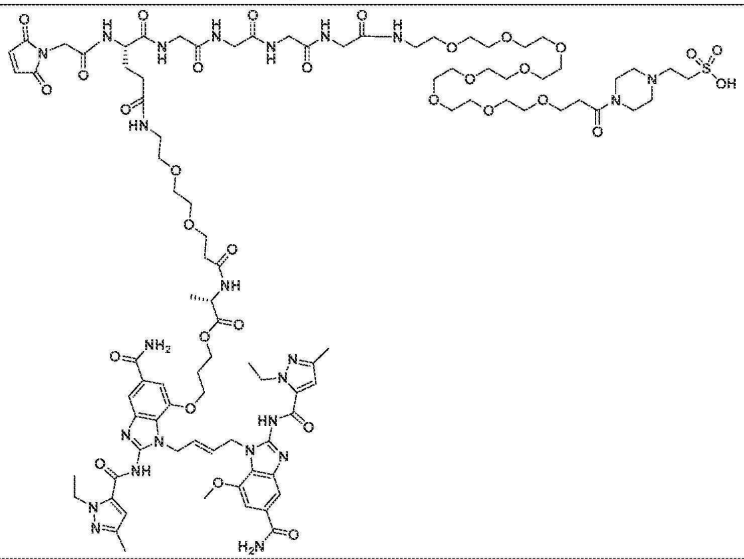
[0626]

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1220.58 (M+2H)
			1199.53 (M+2H)

[0627]

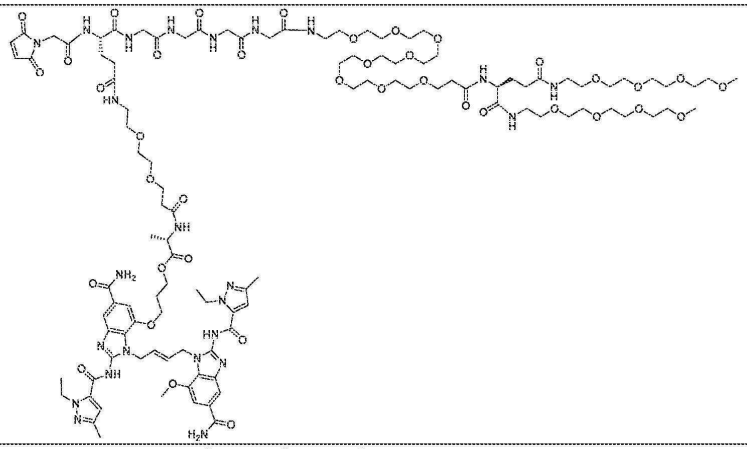
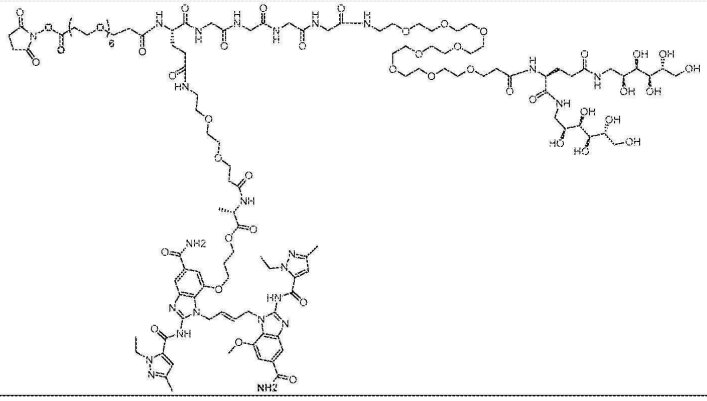
[0628]

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1185.56 (M+2H)
2	14		1178.54 (M+2H)

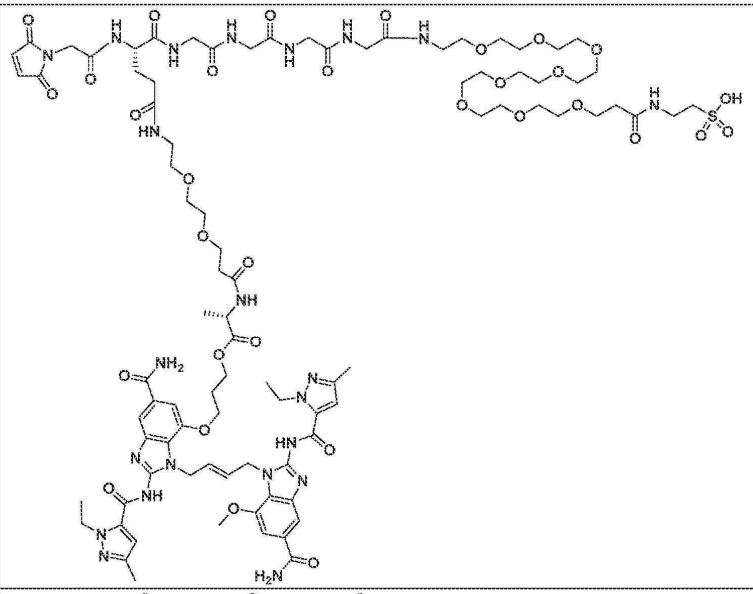
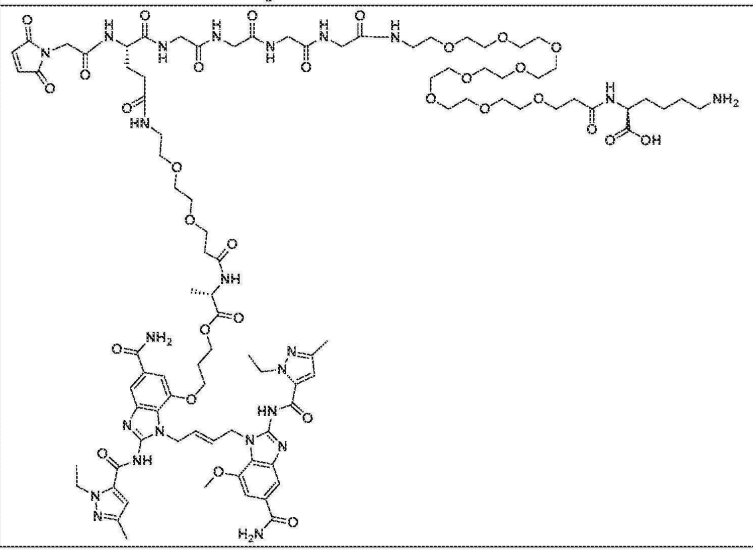
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1929.85 (M+H)
			1052.97 (M+2H)

[0629]

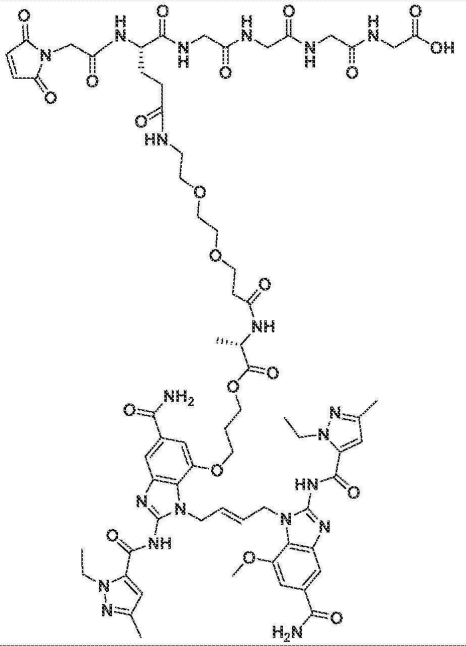
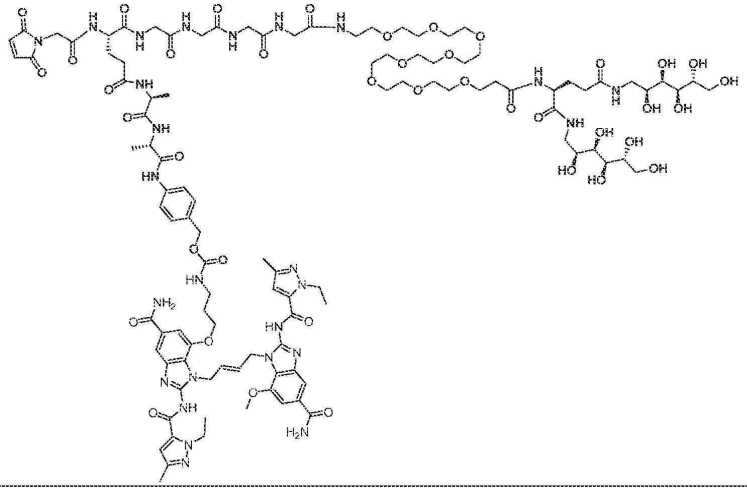
[0630]

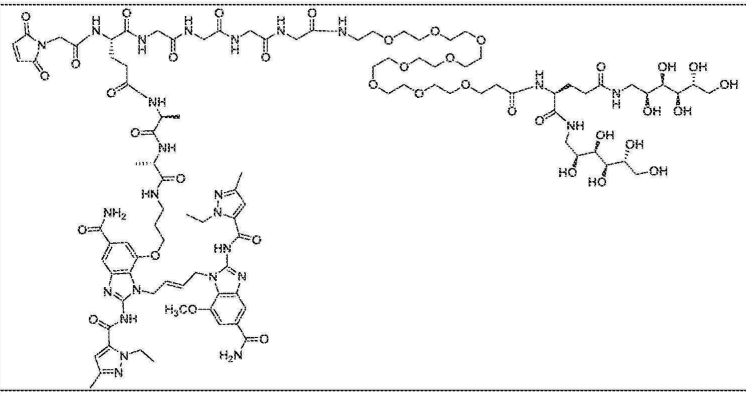
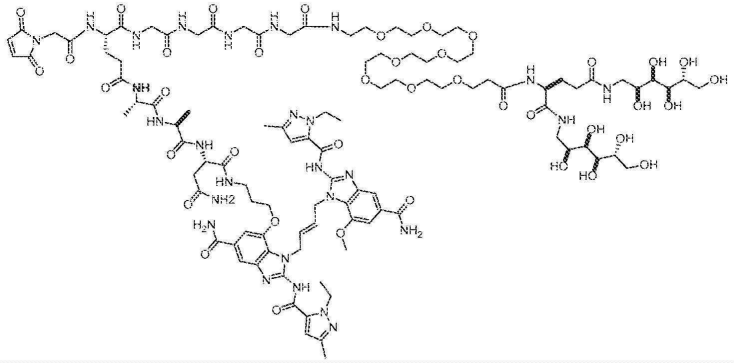
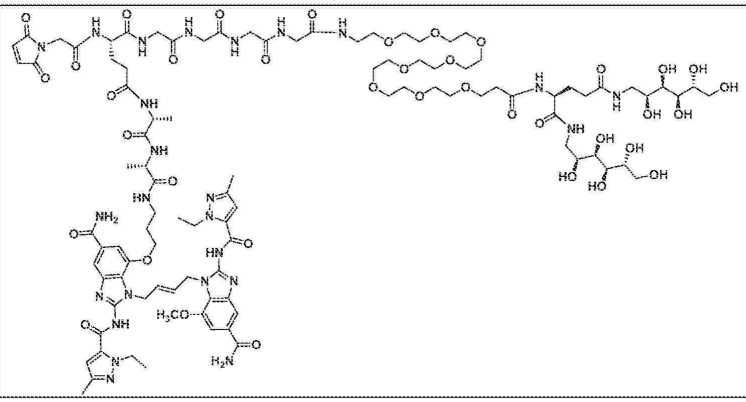
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1218.60 (M+2)
			1354.62 (M+2H)

[0631]

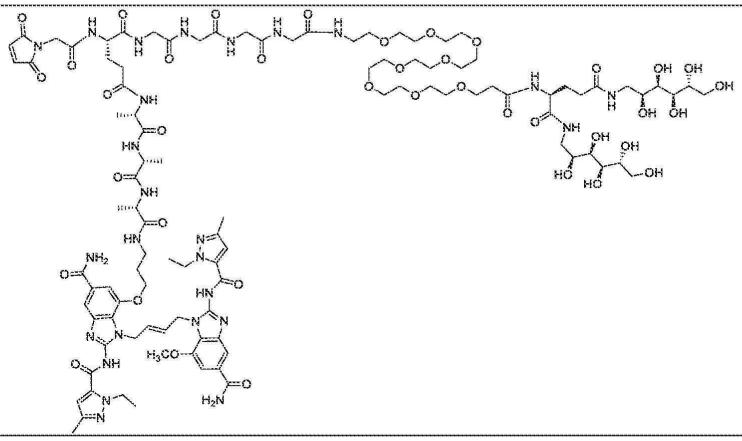
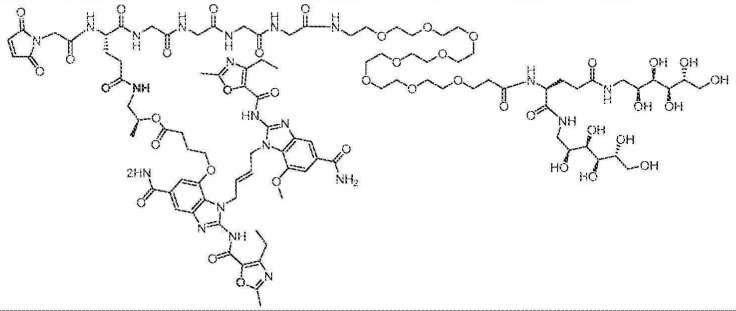
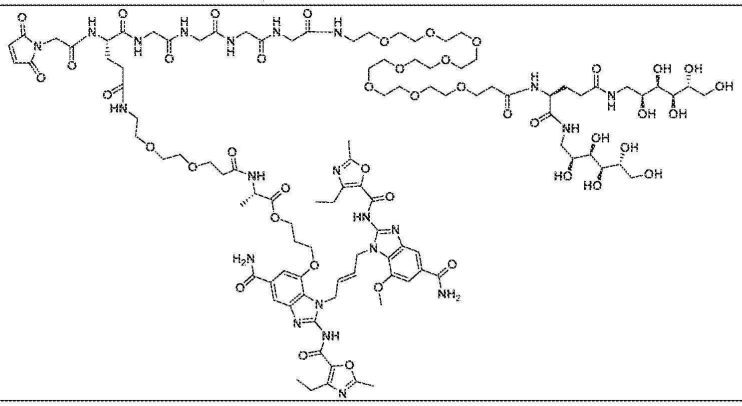
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1018.39 (M+2H)
			1028.97 (M+2H)

[0632]

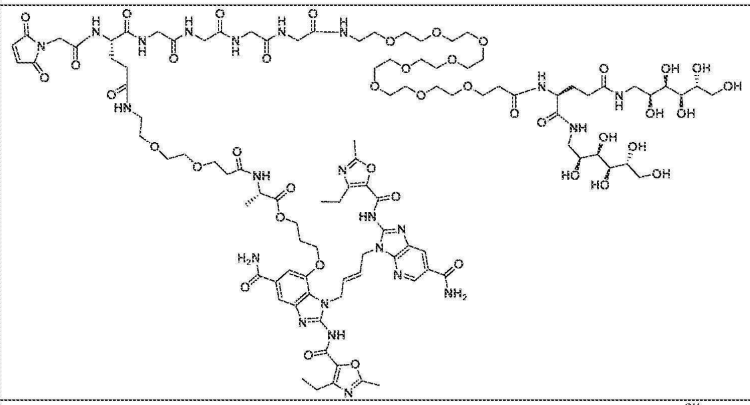
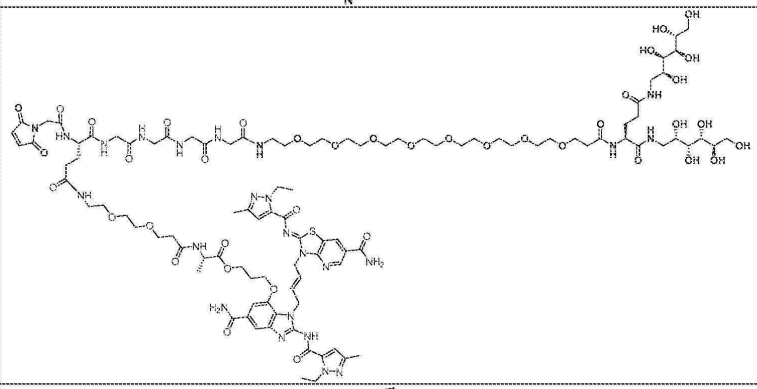
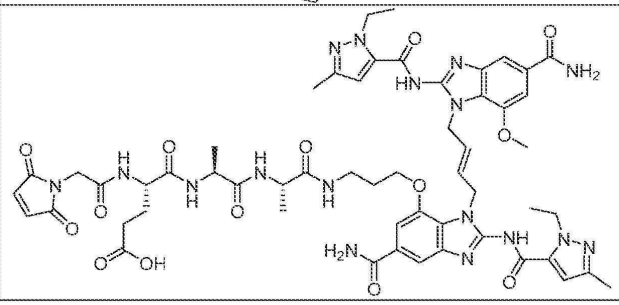
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1505.56 (M+H)
			1222.92 (M+2H)

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
3	18		1148.43 (M+2H)
			1205.07 (M+2H)
			1148.33 (M+2H)

[0633]

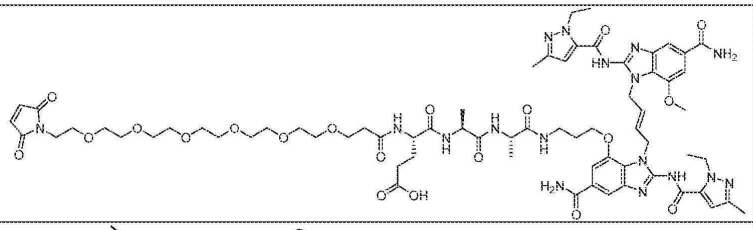
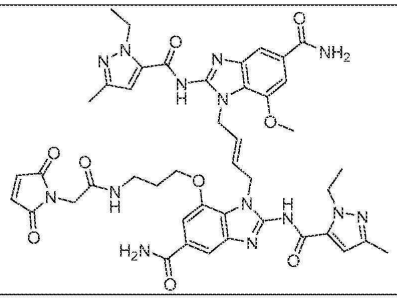
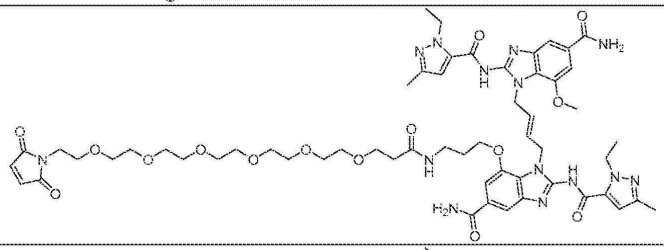
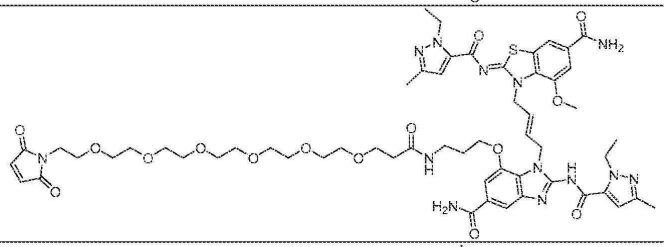
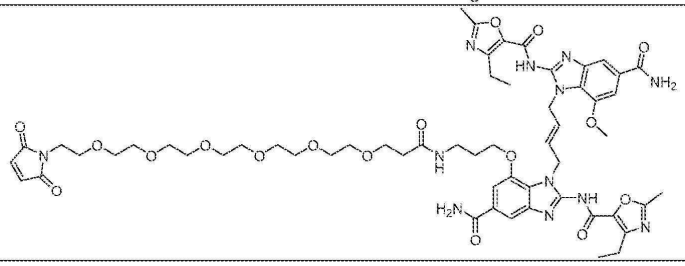
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1183.63 (M+2H)
4	23		1121.06 (M+2H)
5	37		1193.48 (M+2H)

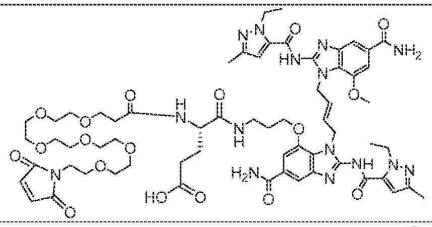
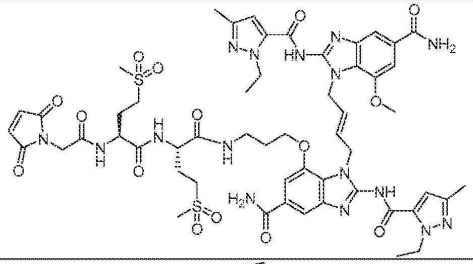
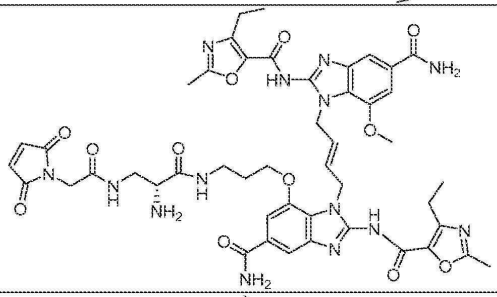
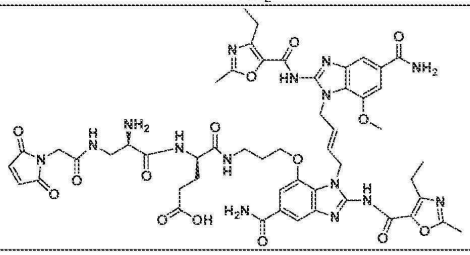
[0634]

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
7	31		1179.21 (M+2H)
			1186.93 (M+2H)
			1188.46 (M+H)

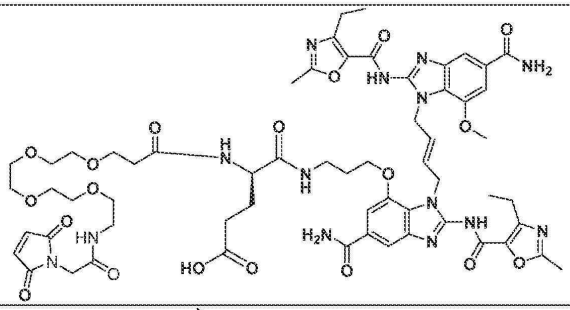
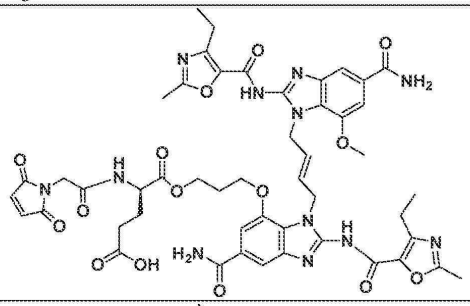
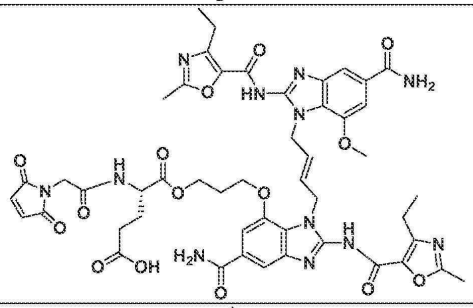
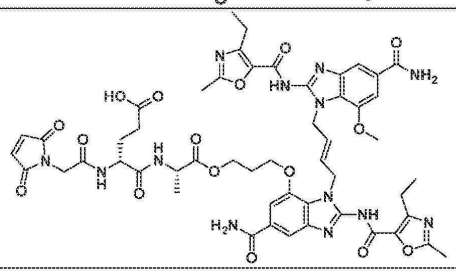
[0635]

[0636]

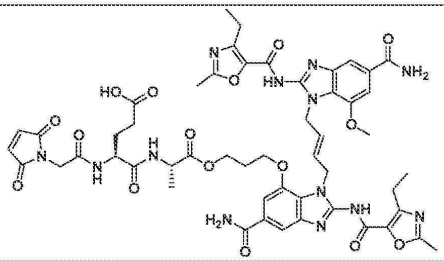
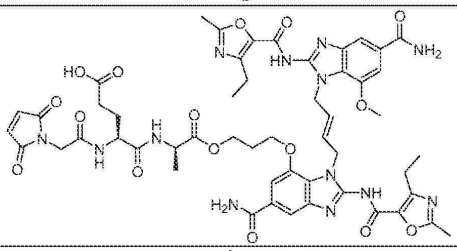
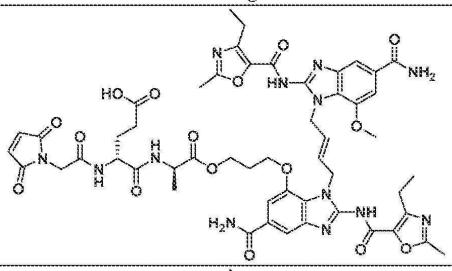
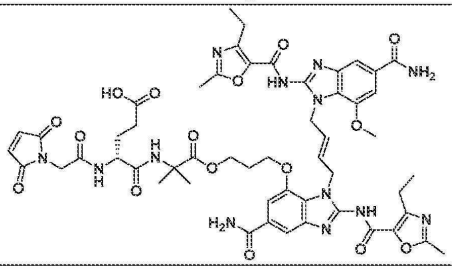
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1466.64 (M+H)
			917.41 (M+H)
8	33		1195.47 (M+H)
			1212.60 (M+H)
			1197.50 (M+H)

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1324.40 (M+H)
			1243.24 (M+H)
			1005.22 (M+H)
9	44		1134.24 (M+H)

[0637]

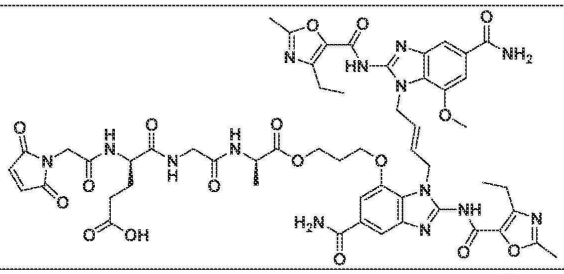
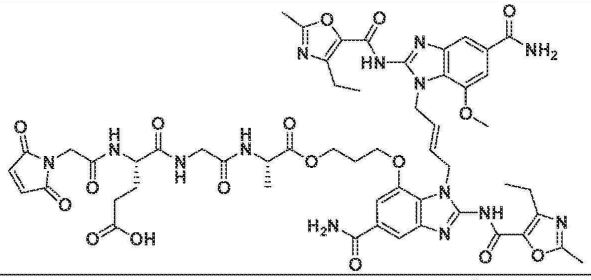
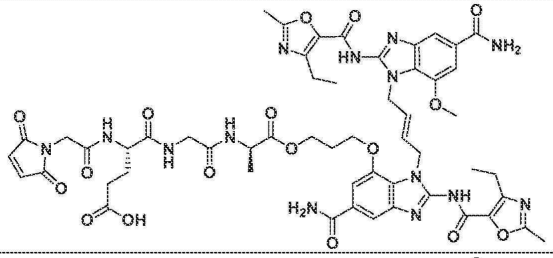
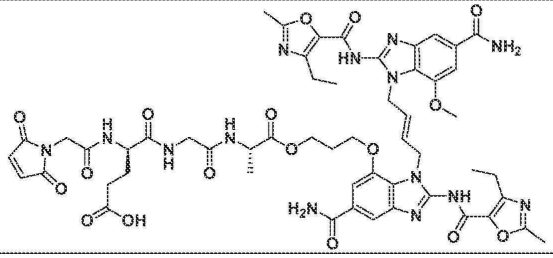
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1295.26 (M+H)
10	49		1049.15 (M+H)
11	51		1049.38 (M+H)
12	57		1120.41 (M+H)

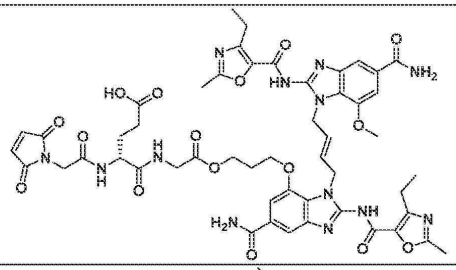
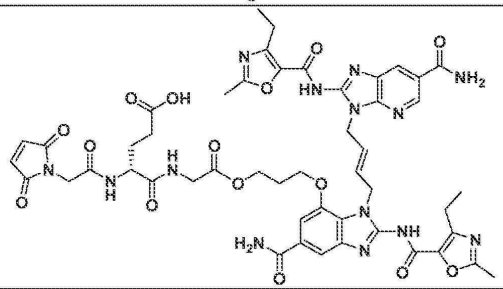
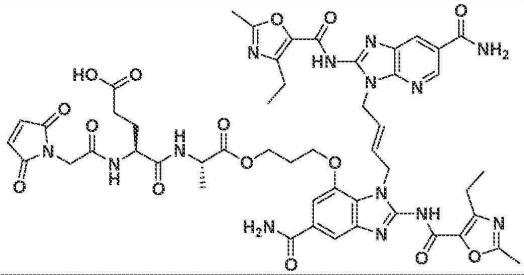
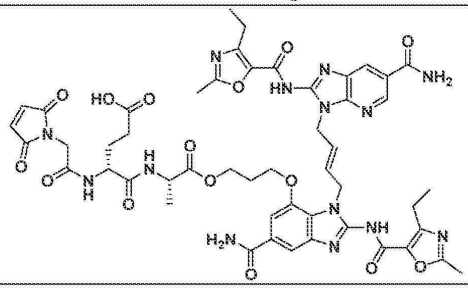
[0638]

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
13	59		1120.38 (M+H)
14	61		1120.37 (M+H)
15	63		1120.11 (M+H)
16	65		1134.19 (M+H)

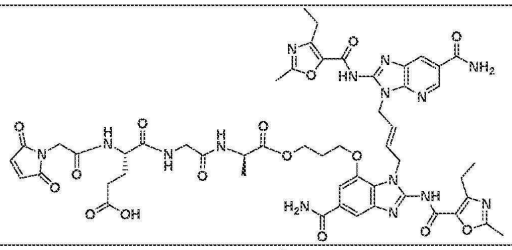
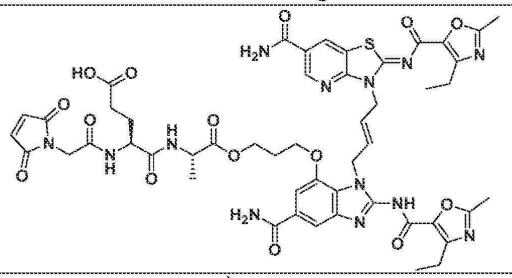
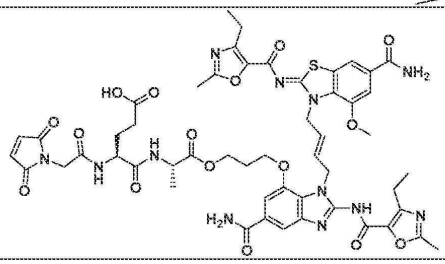
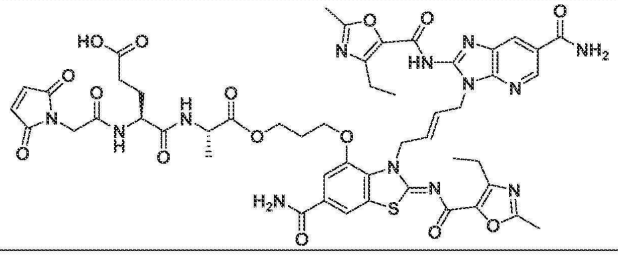
[0639]

[0640]

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
17	73		1177.40 (M+H)
18	75		1177.41 (M+H)
19	77		1177.40 (M+H)
20	79		1177.44 (M+H)

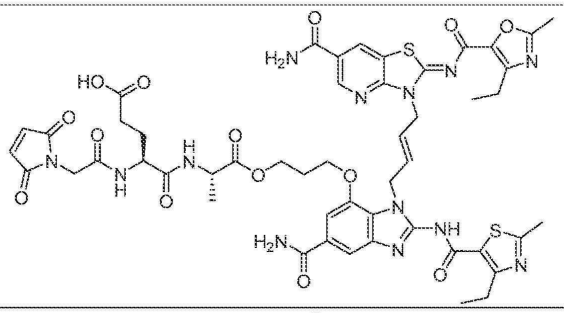
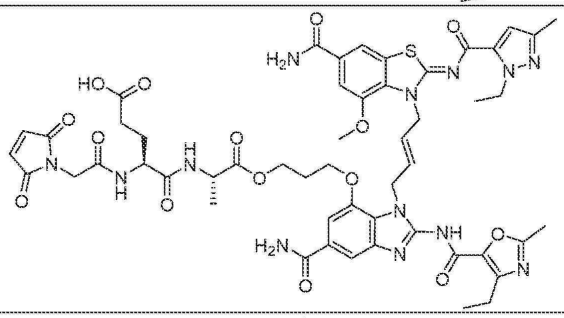
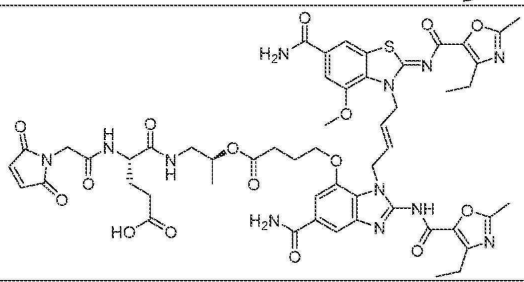
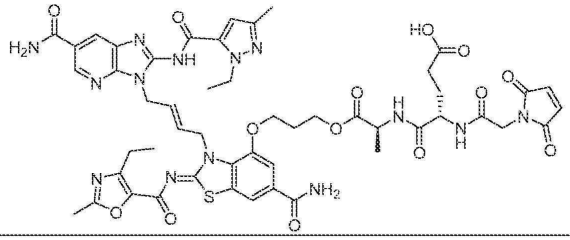
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
21	81		1106.17 (M+H)
			1077.15 (M+H)
			1091.18 (M+H)
			1091.17 (M+H)

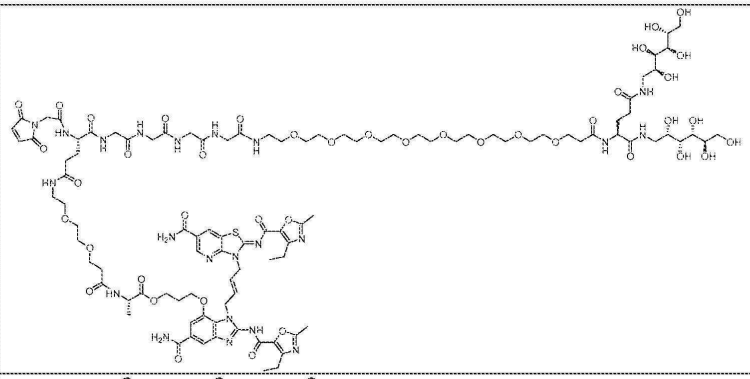
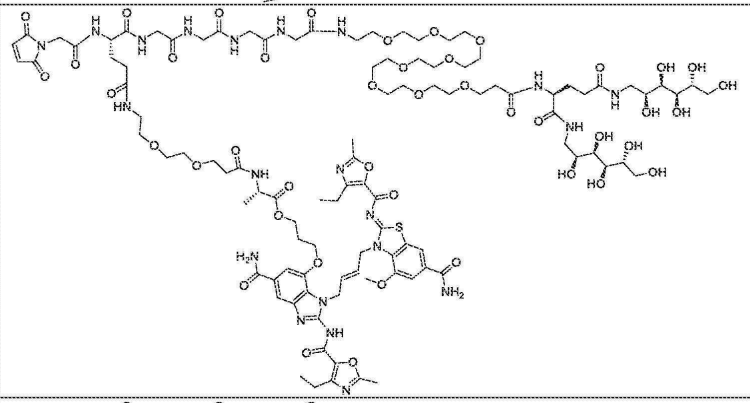
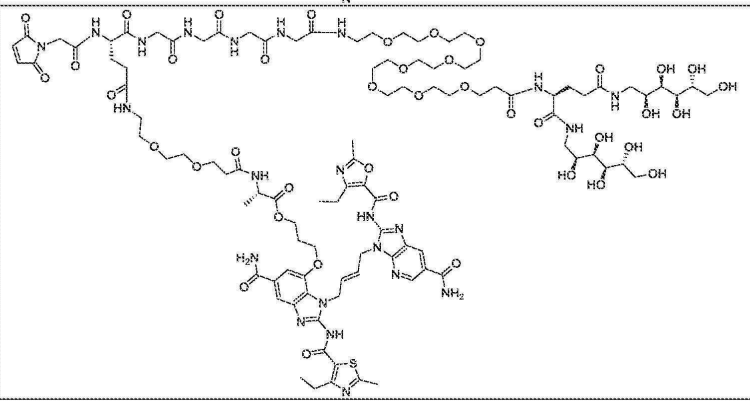
[0641]

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			1148.17 (M+H)
			1108.12 (M+H)
			1137.15 (M+H)
			1108.14 (M+H)

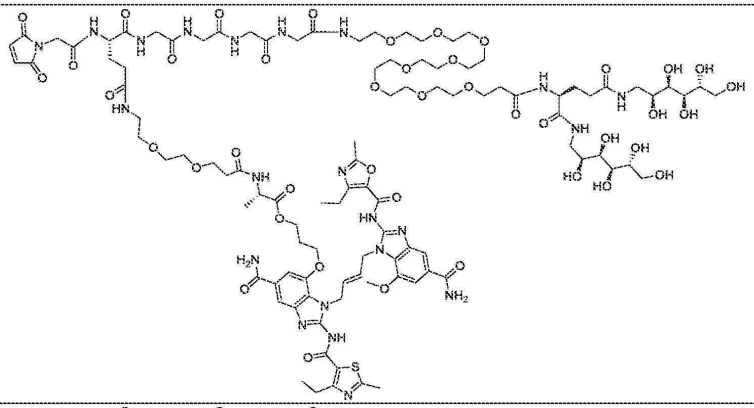
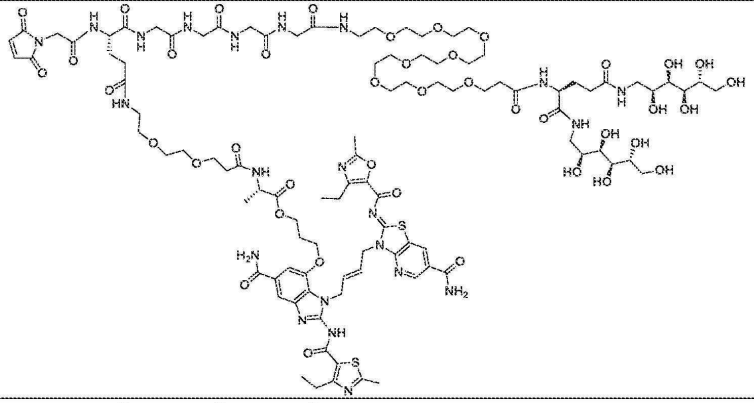
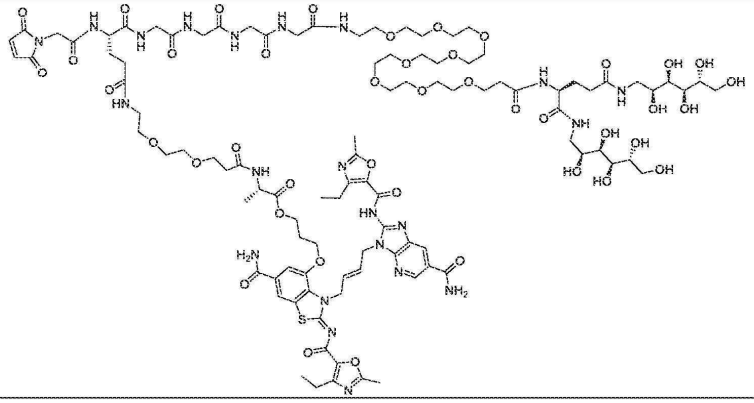
[0642]

[0643]

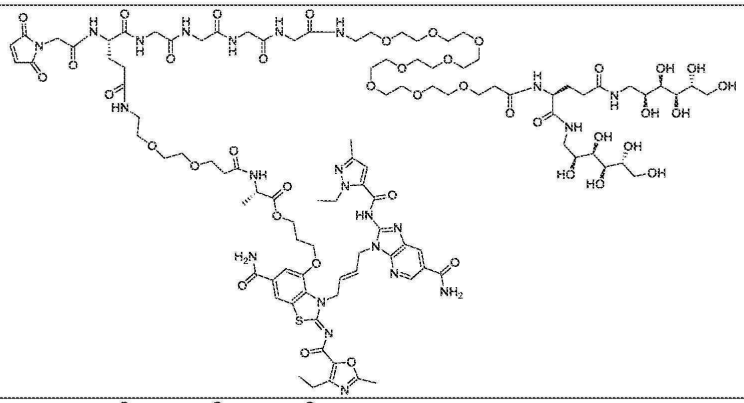
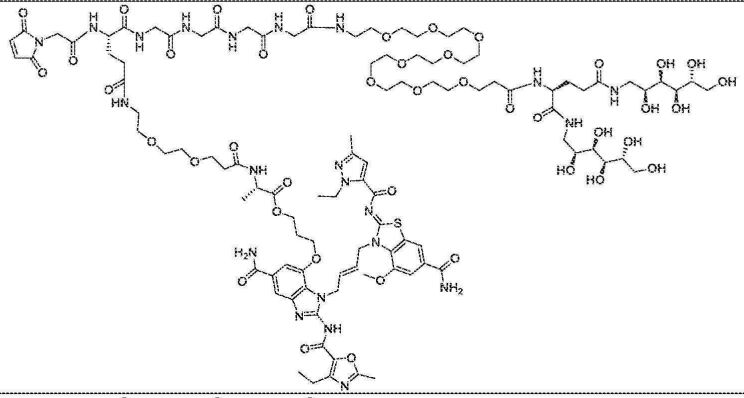
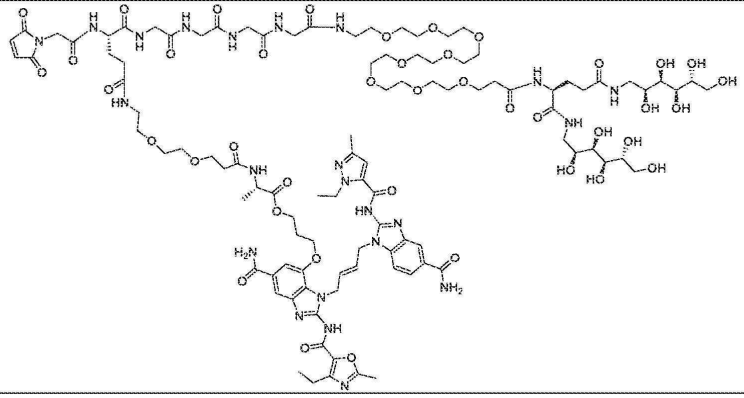
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			
			
			
			

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			
			
			

[0644]

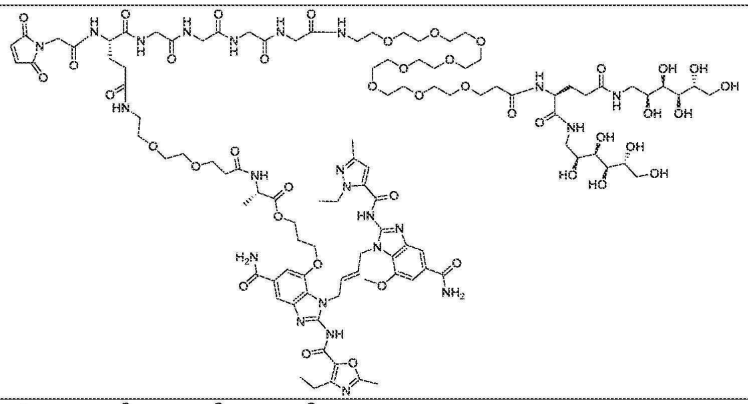
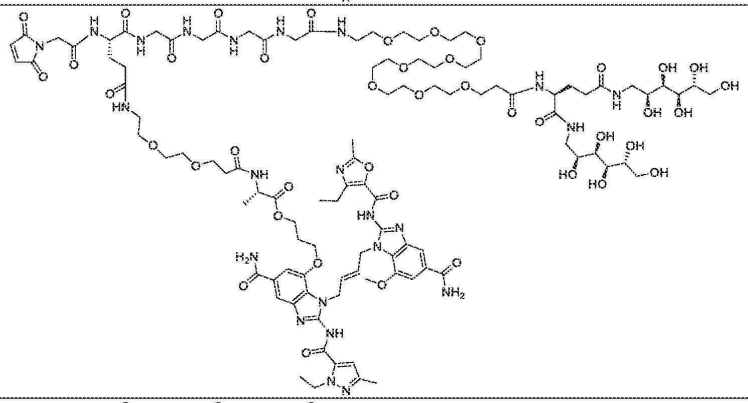
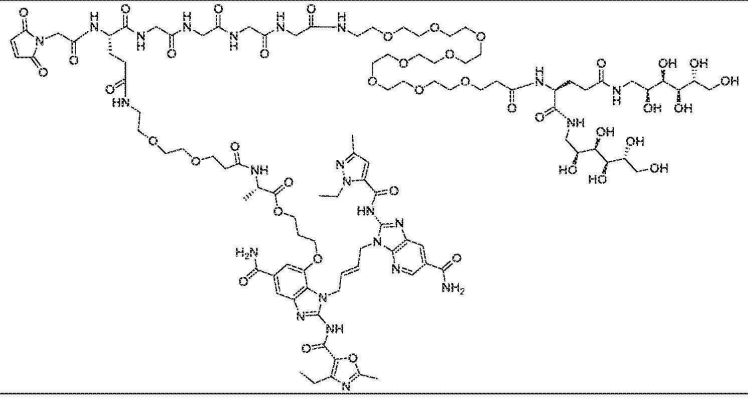
실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			
			
			

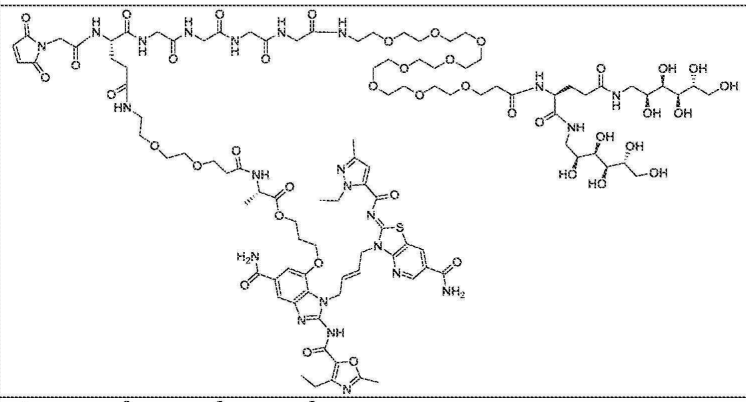
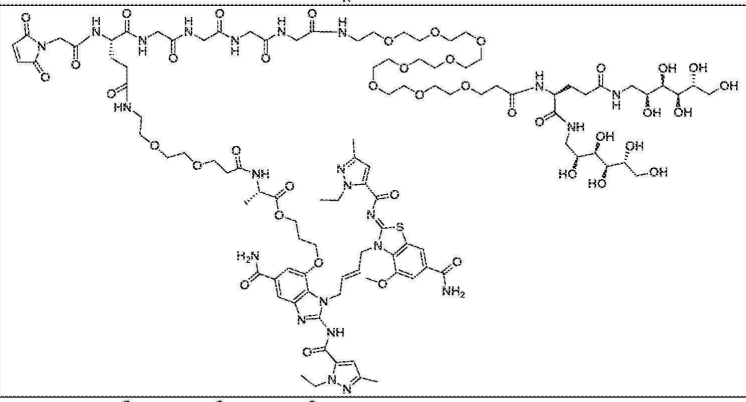
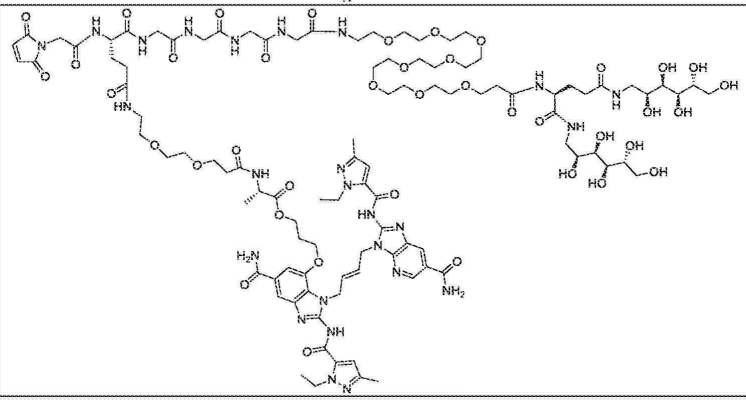
[0645]

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			
			
			

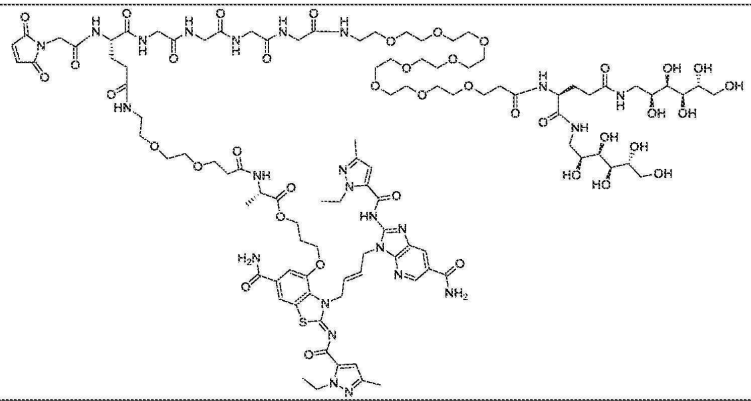
[0646]

[0647]

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			
			
			

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			
			
			

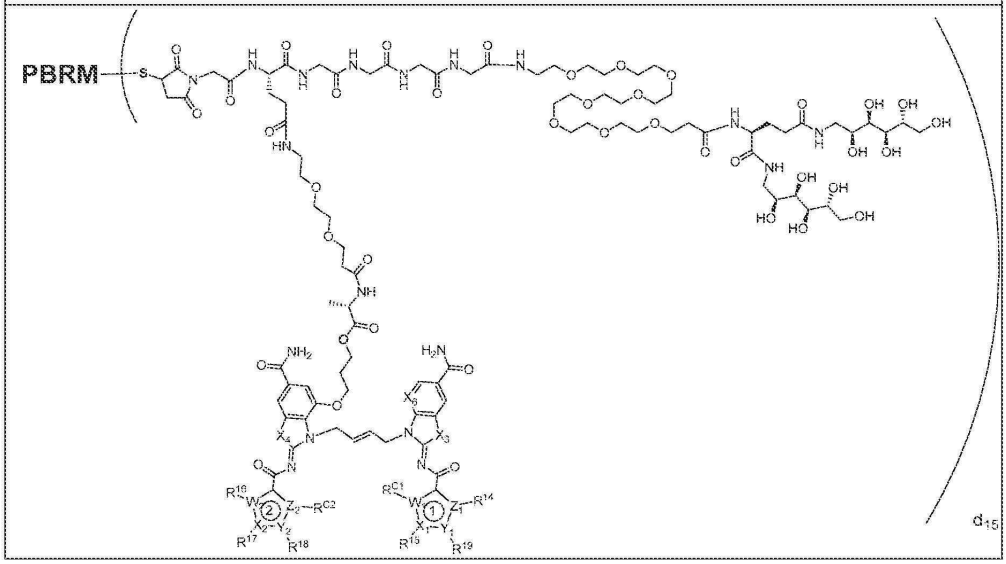
[0648]

실시예 번호	화합물 번호	구조식	LCMS
			

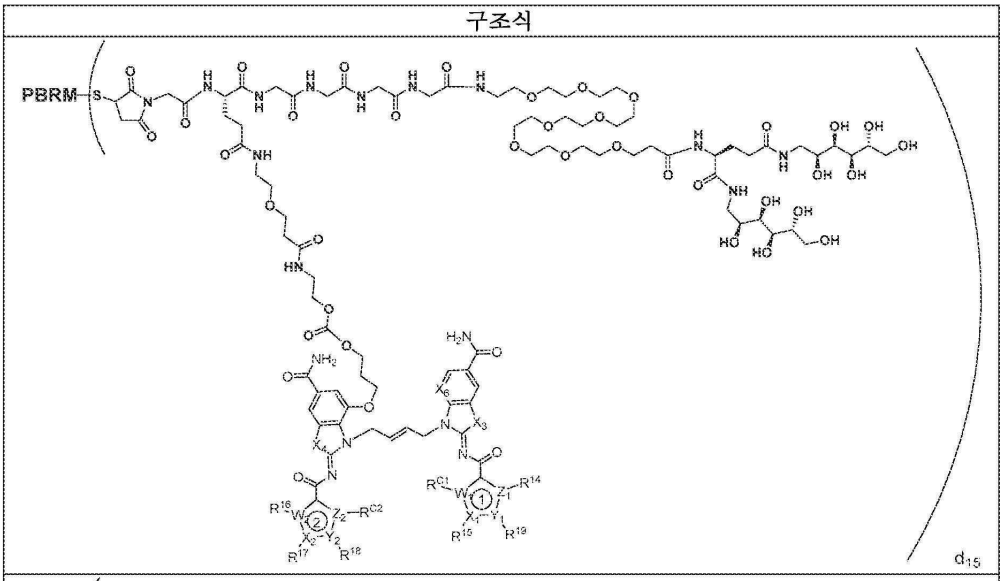
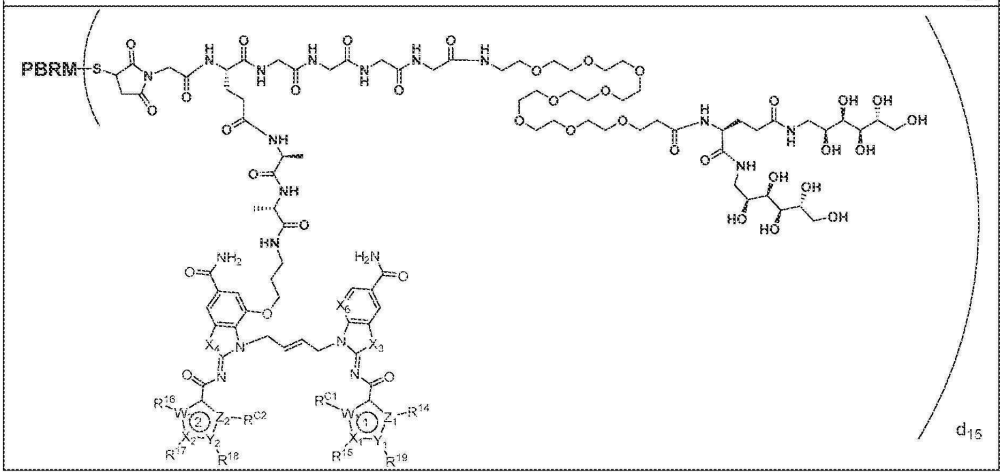
[0649]

표 B1

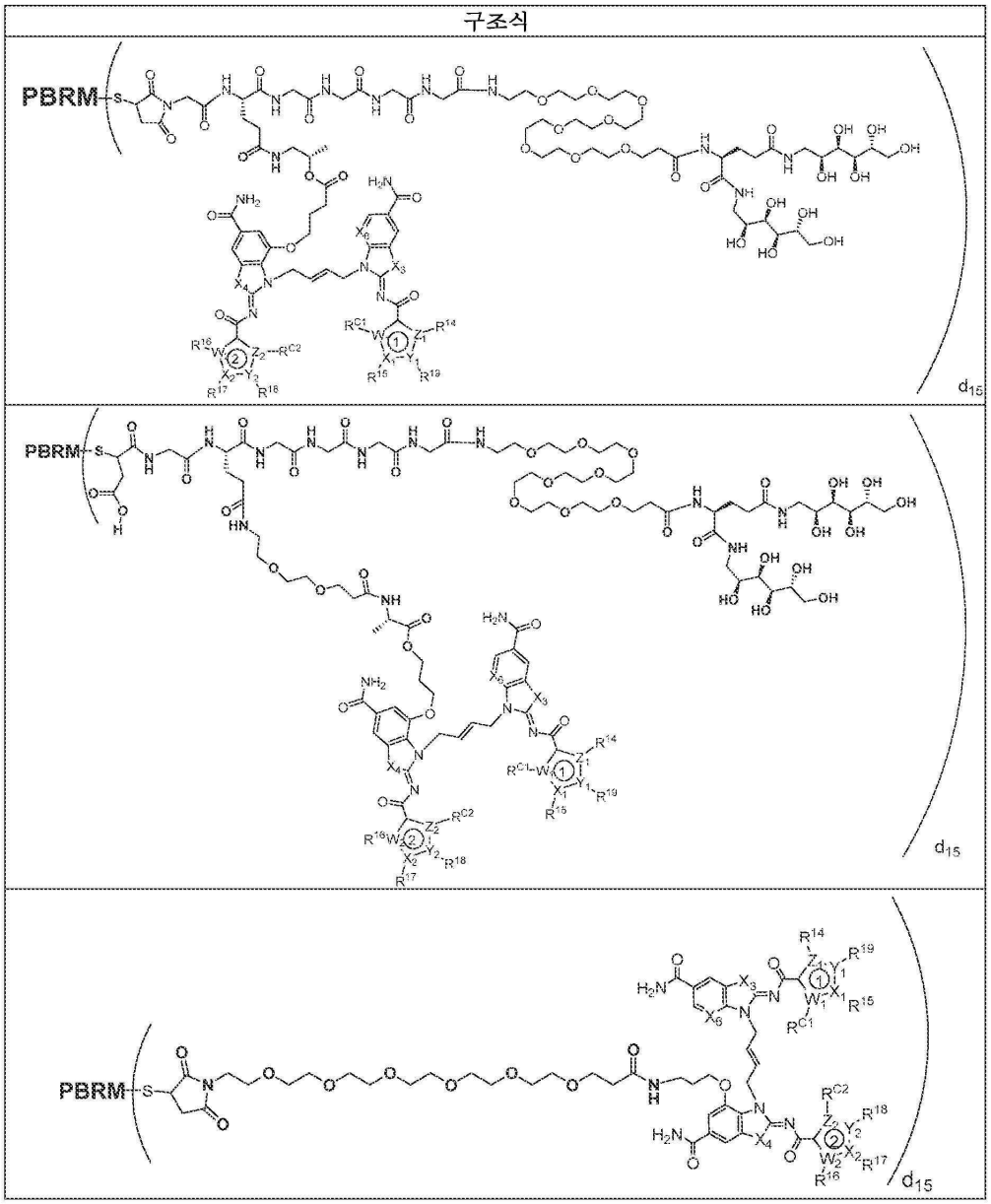
[0650]

구조식


[0651]

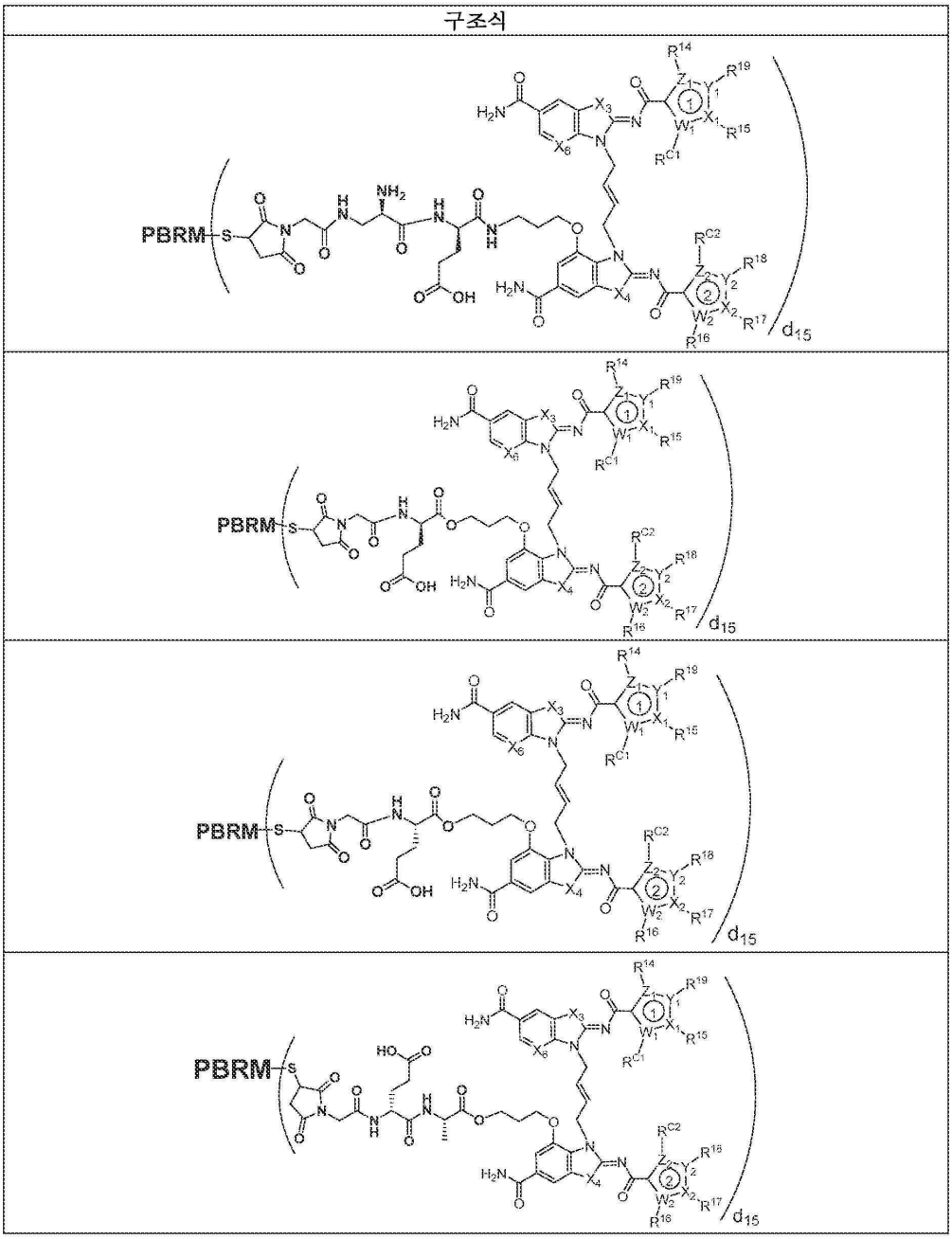
구조식



구조식

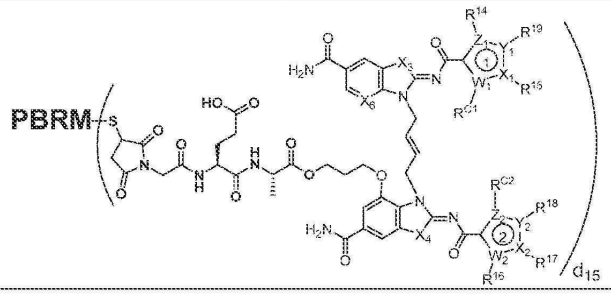
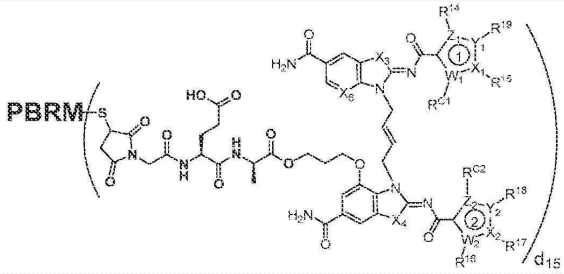
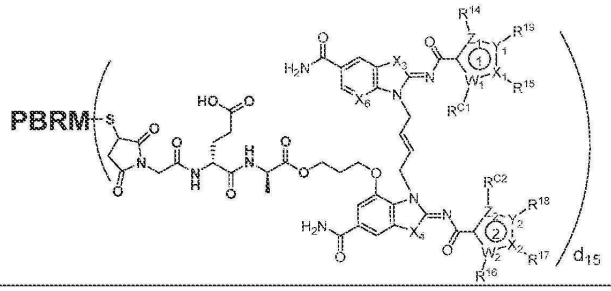
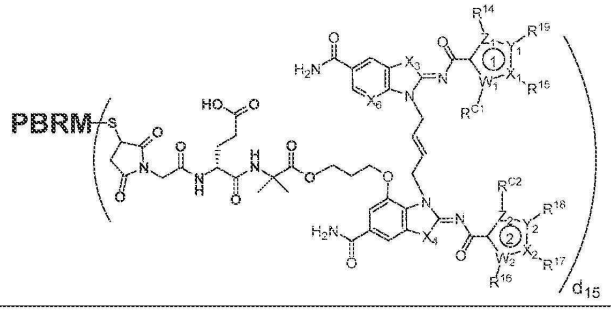


[0652]

구조식

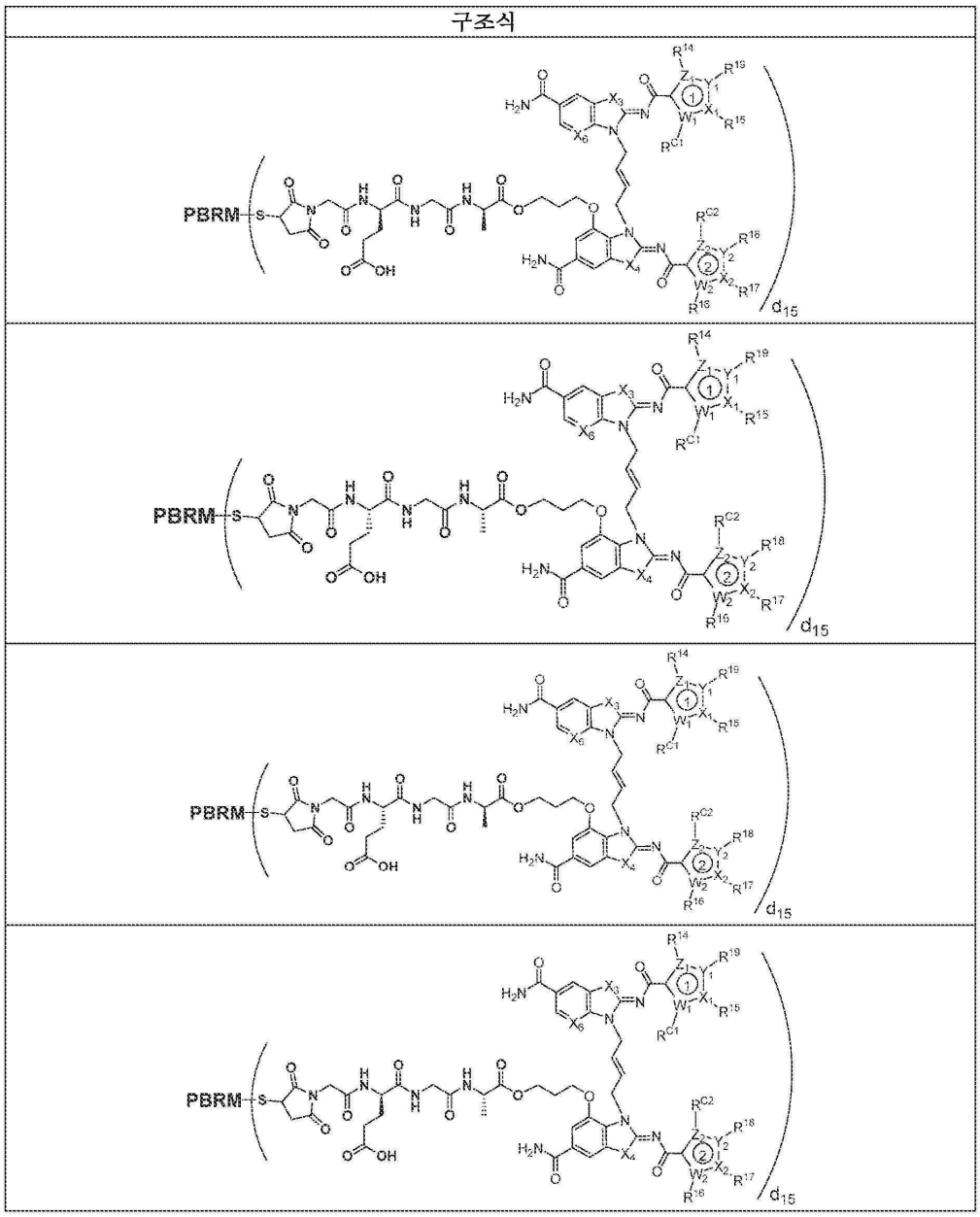


[0653]

구조식





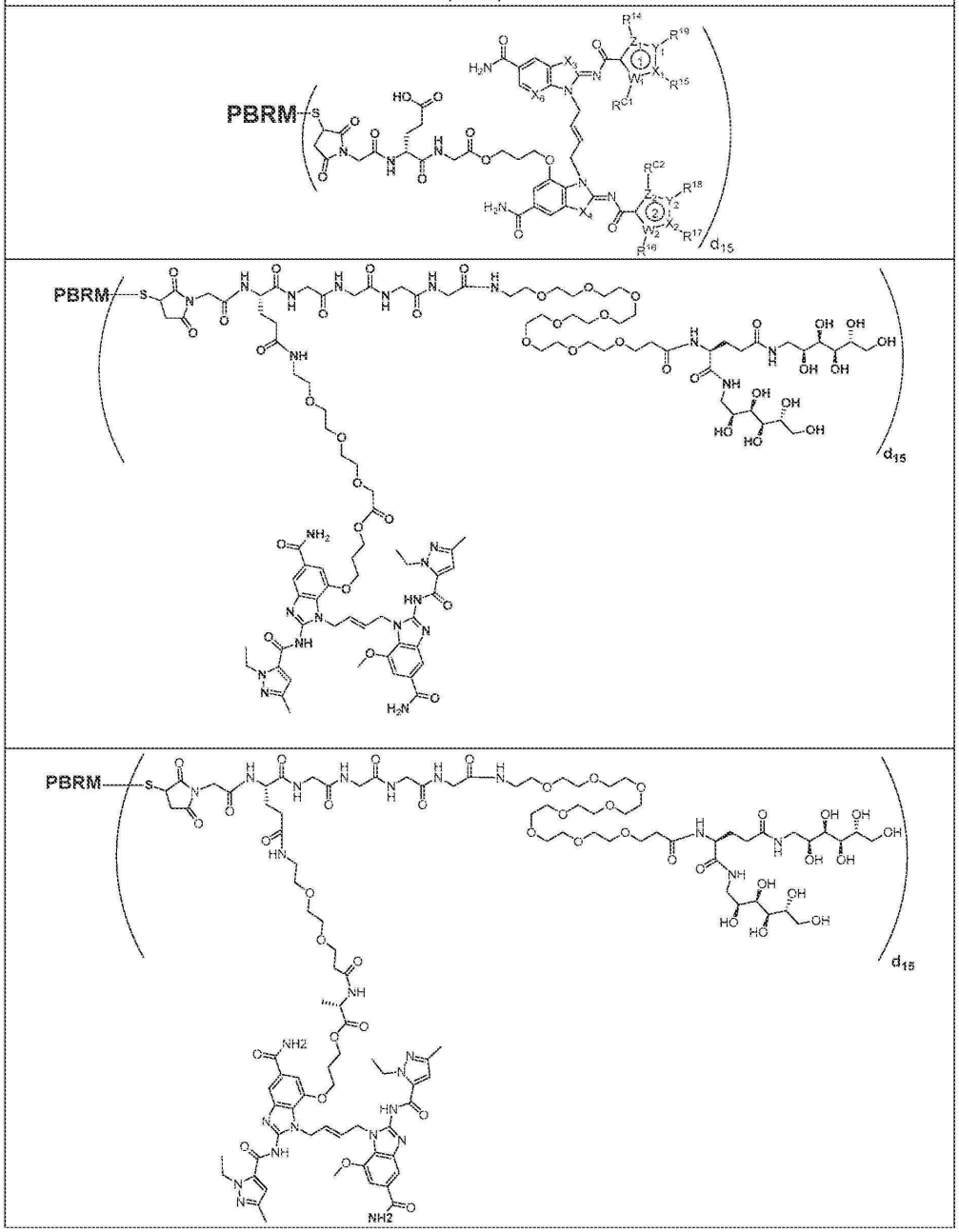
[0654]

구조식



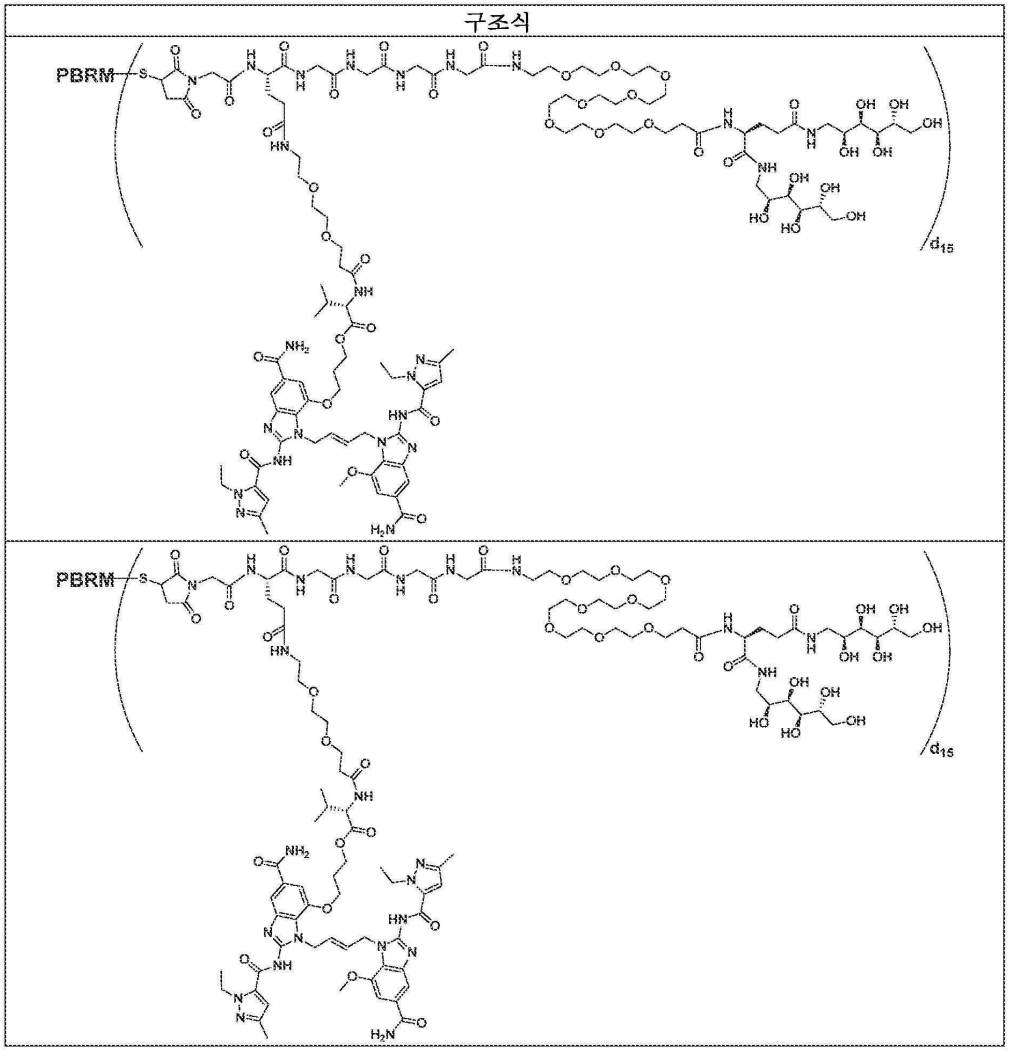
[0655]

구조식



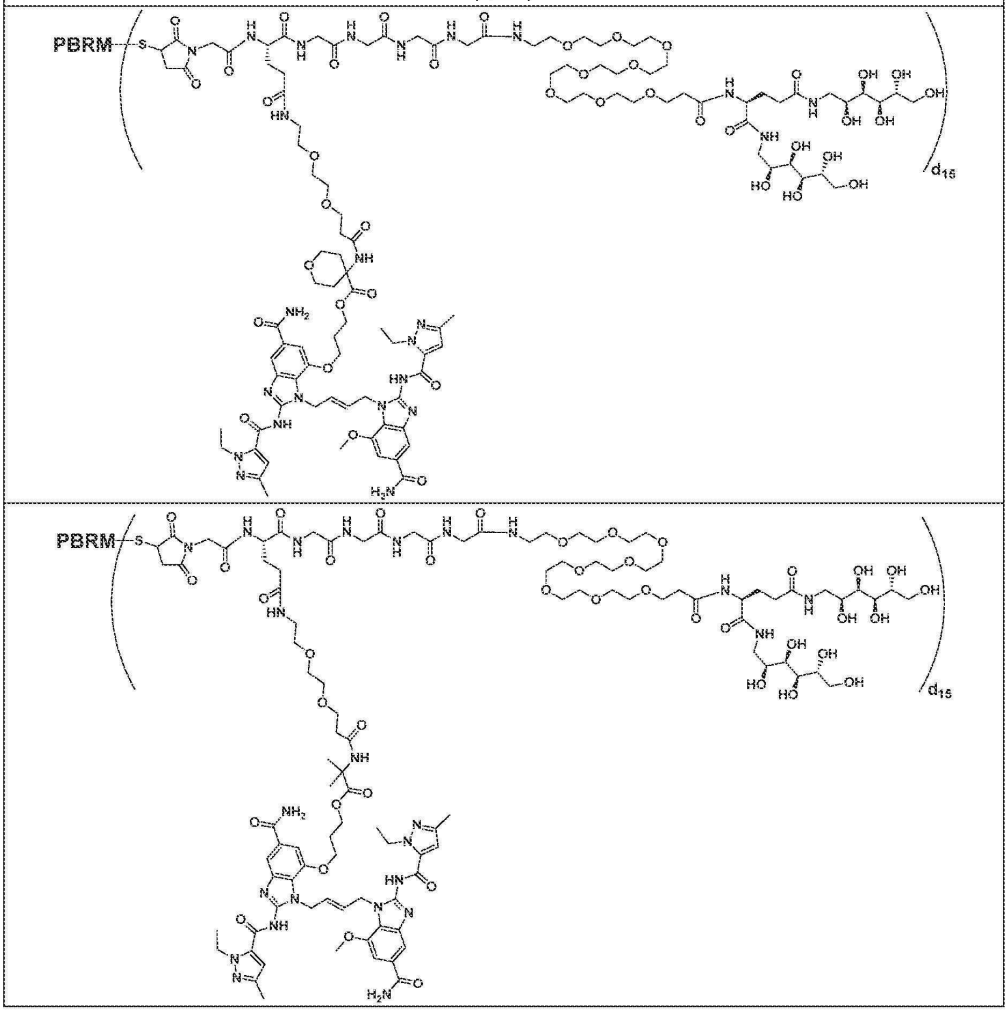
[0656]

구조식



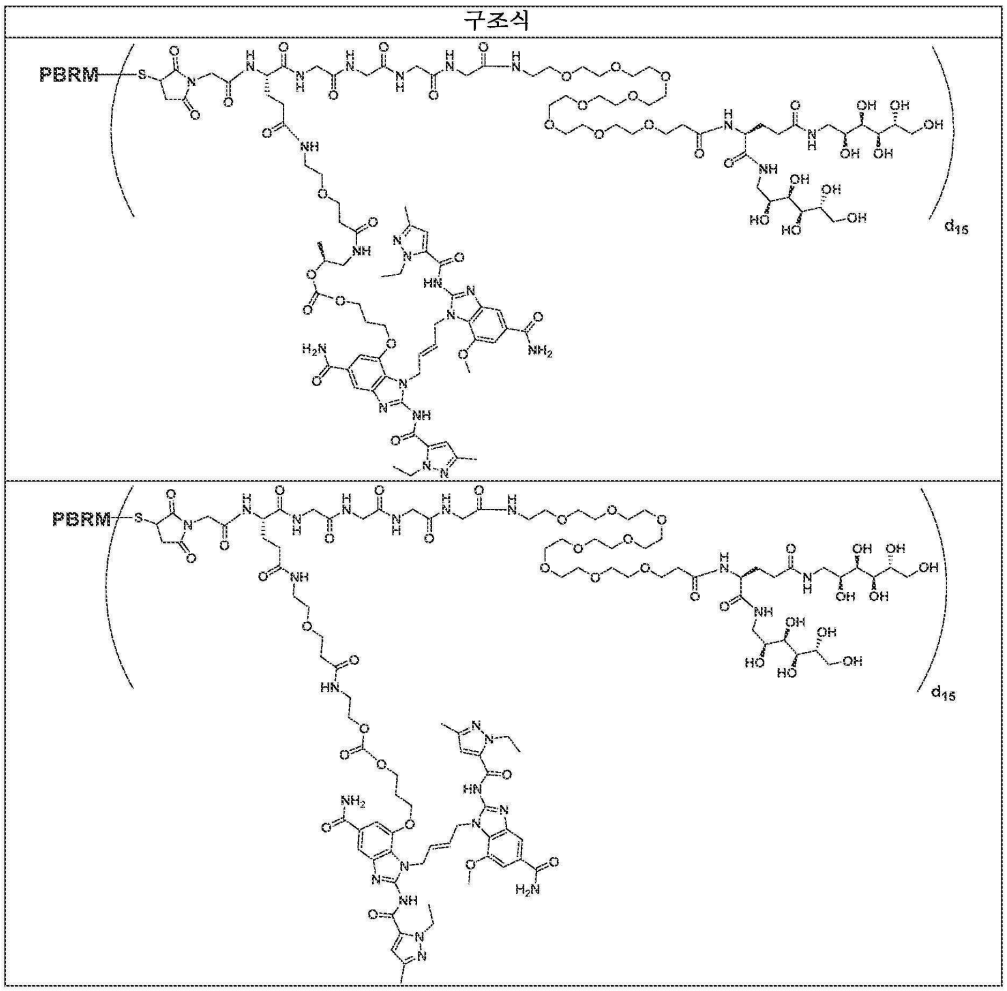
[0657]

구조식



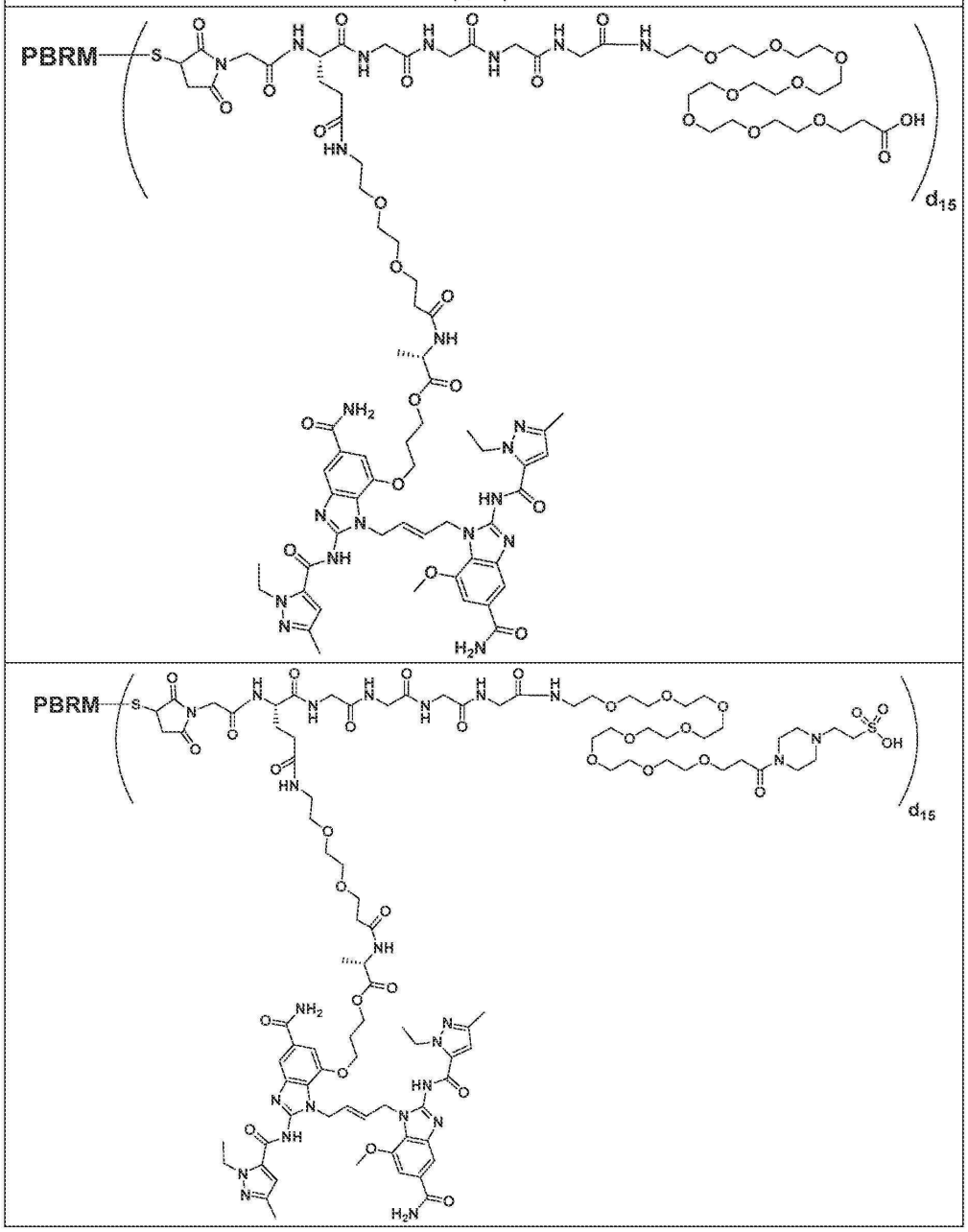
[0658]

구조식



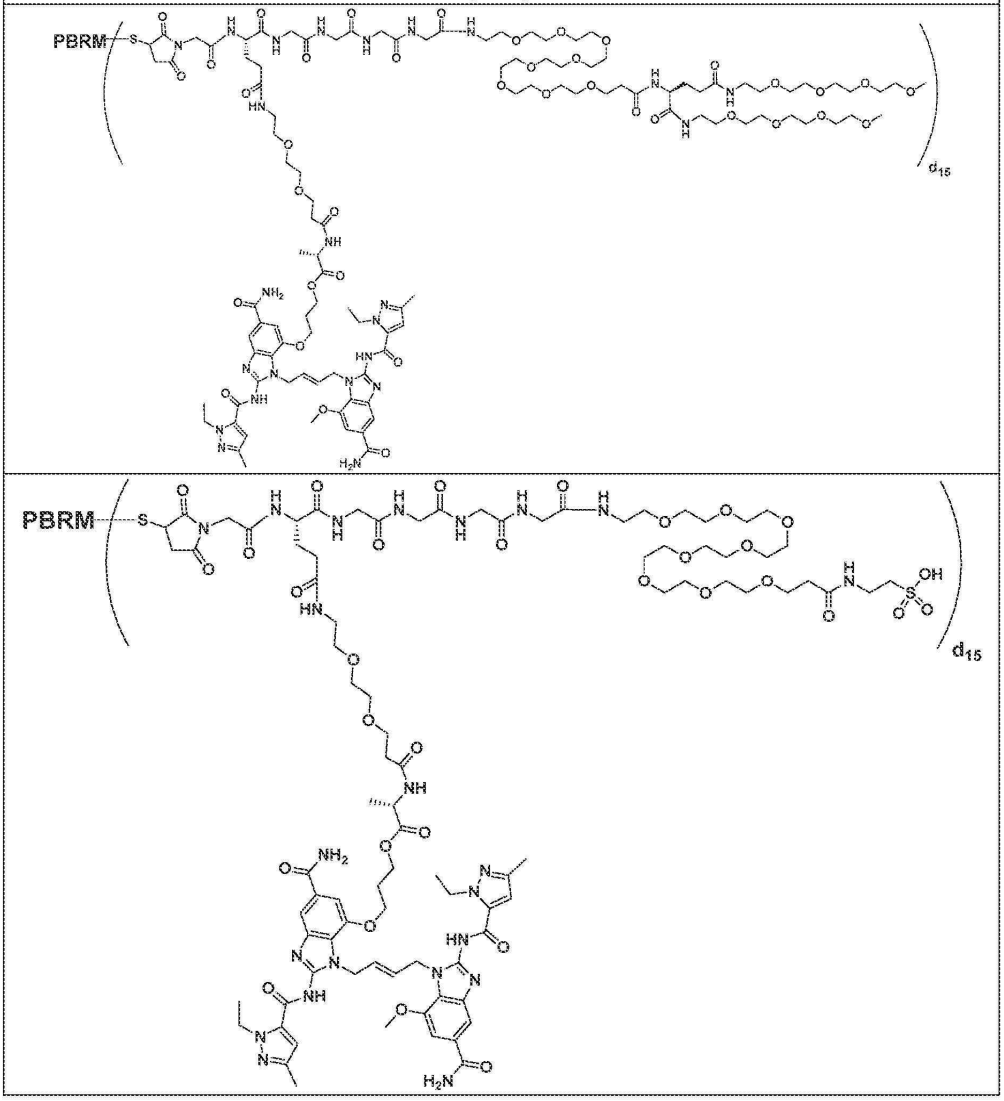
[0659]

구조식



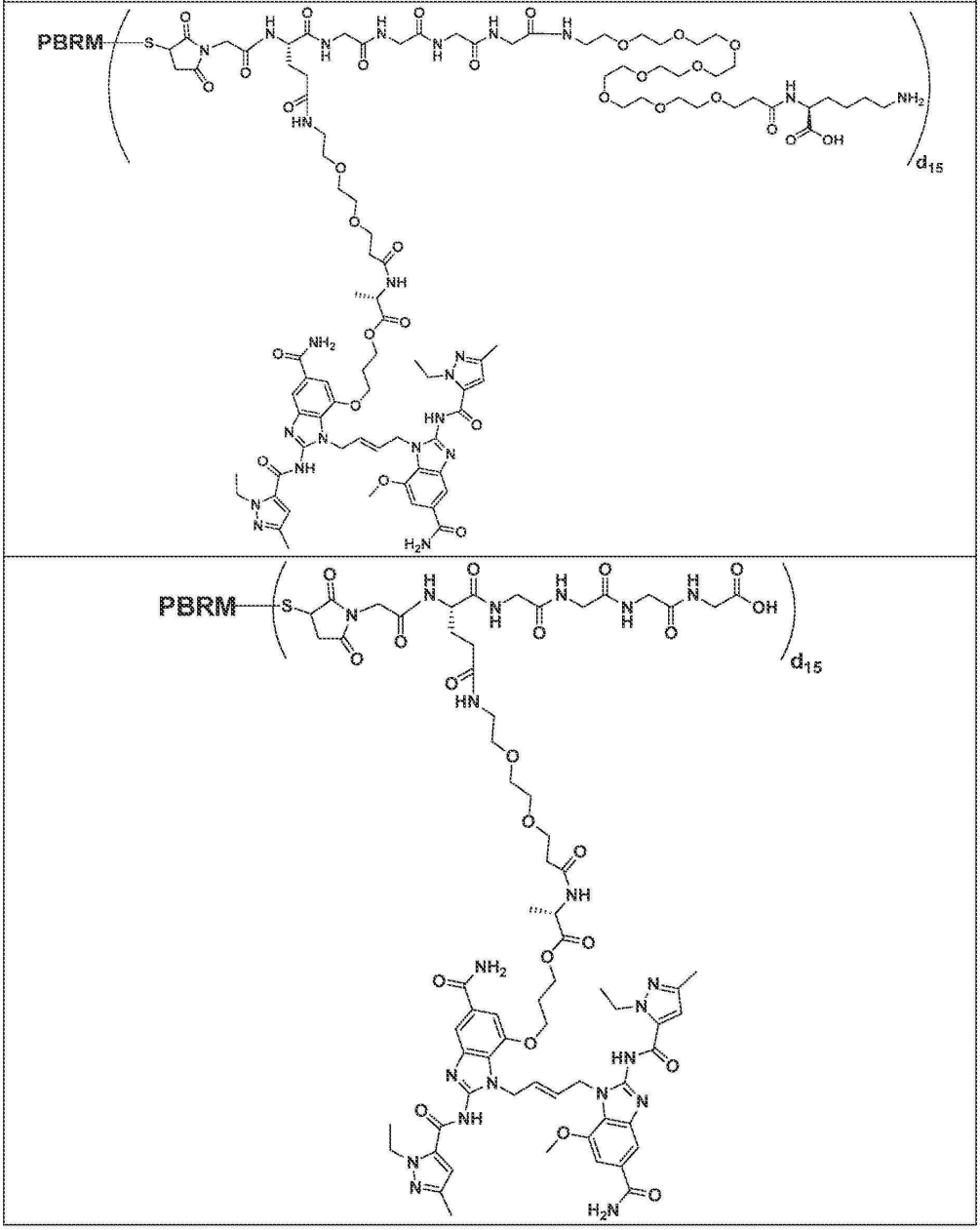
[0660]

구조식



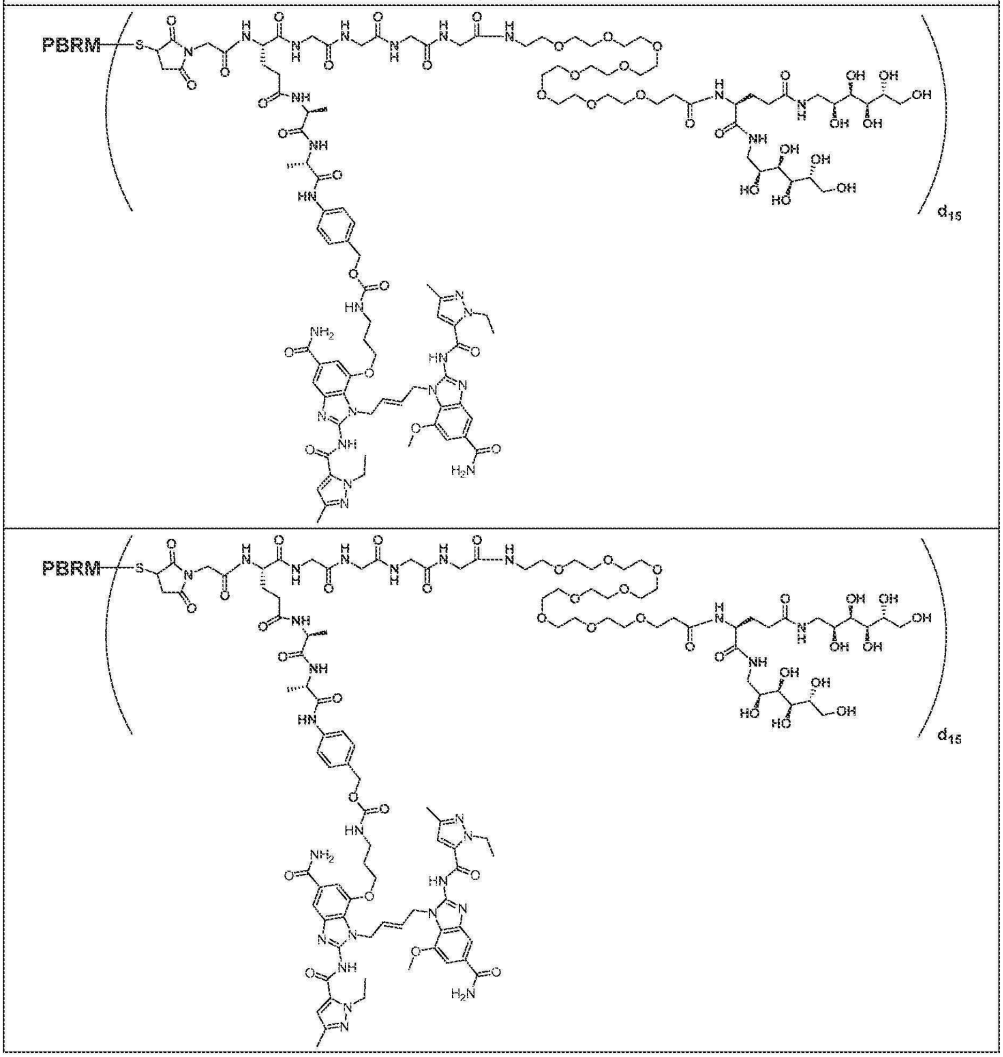
[0661]

구조식



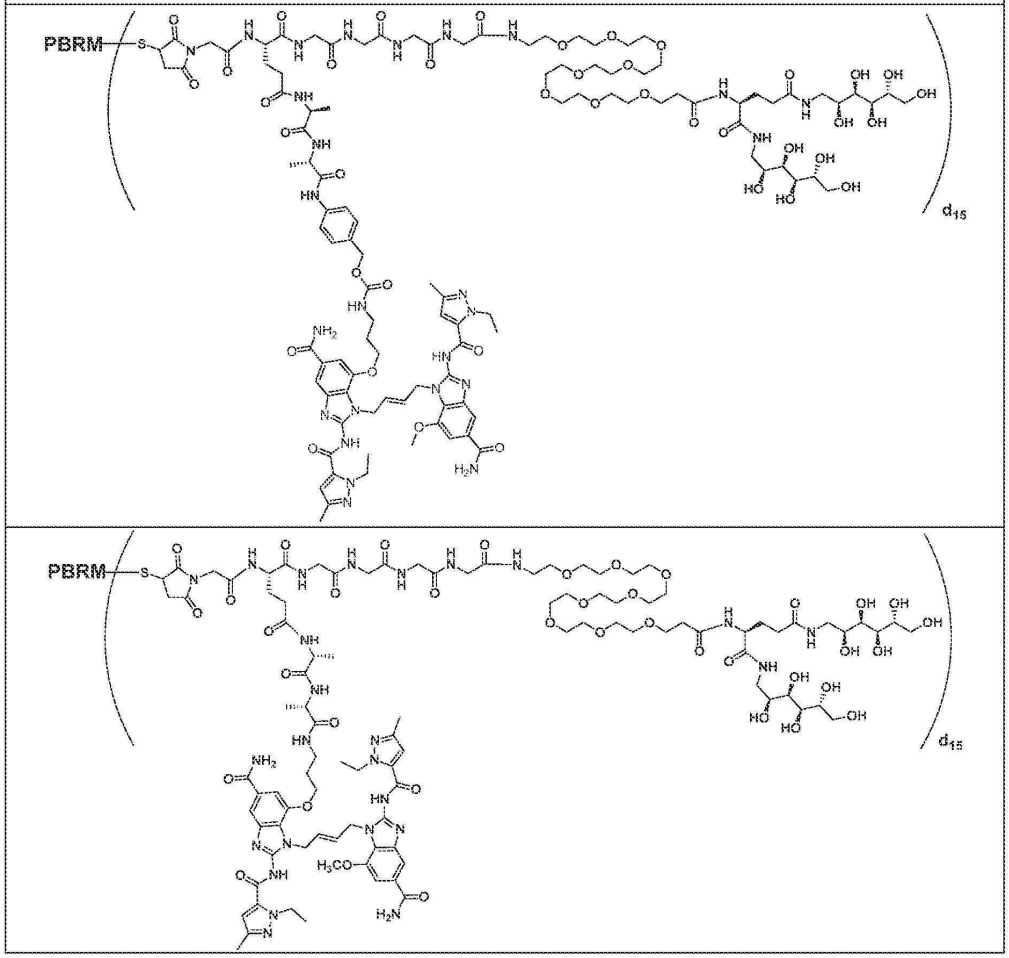
[0662]

구조식



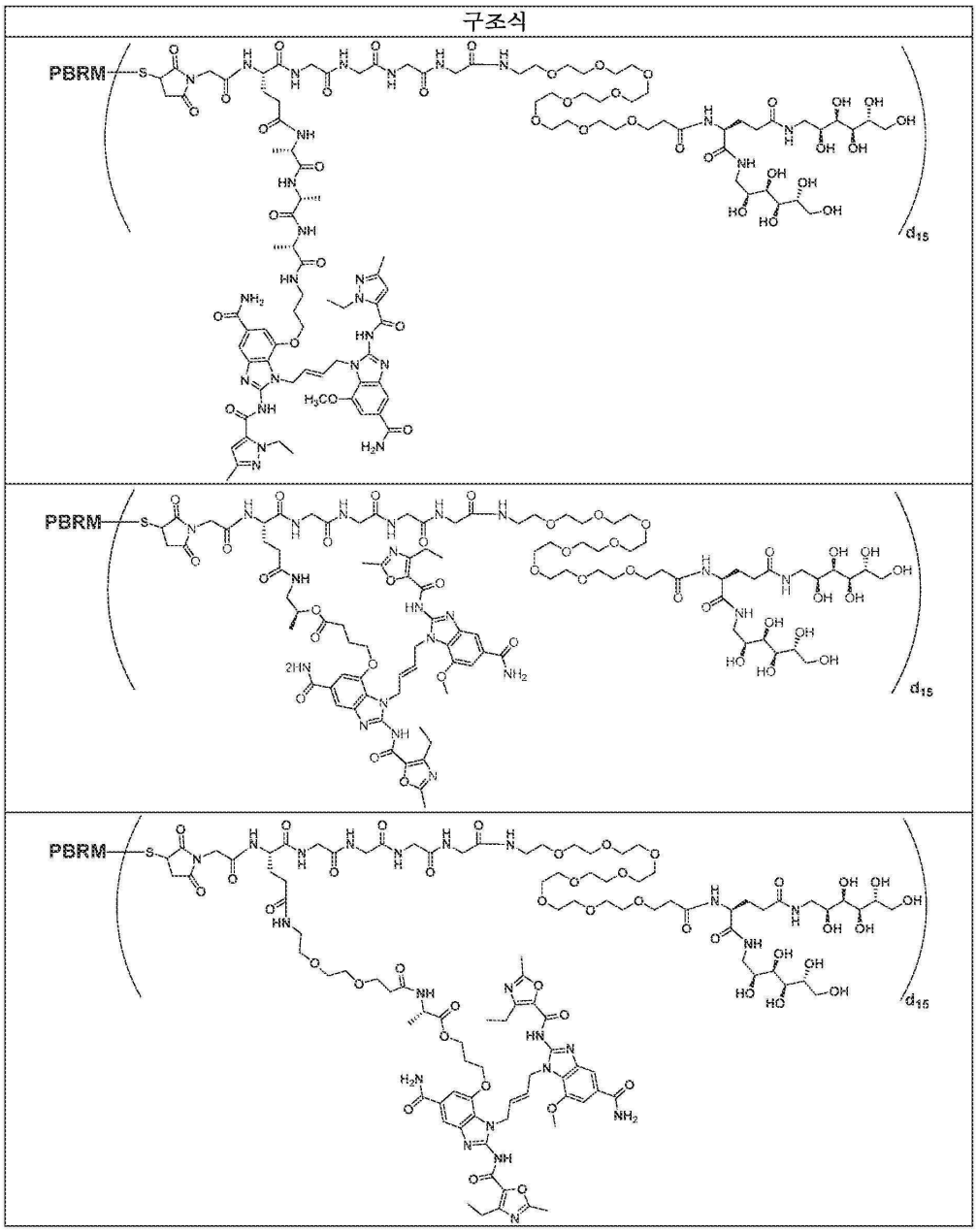
[0663]

구조식



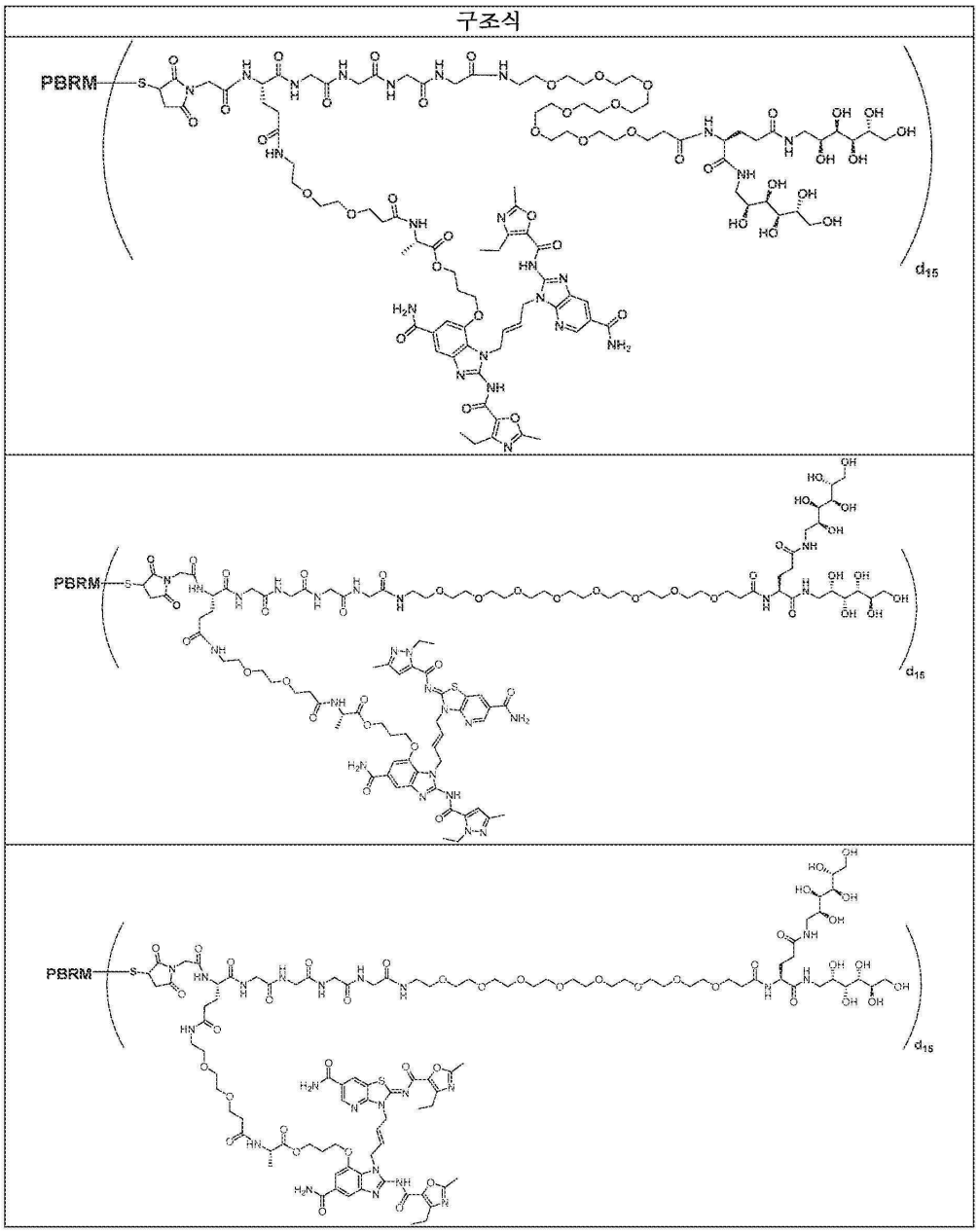
[0664]

구조식



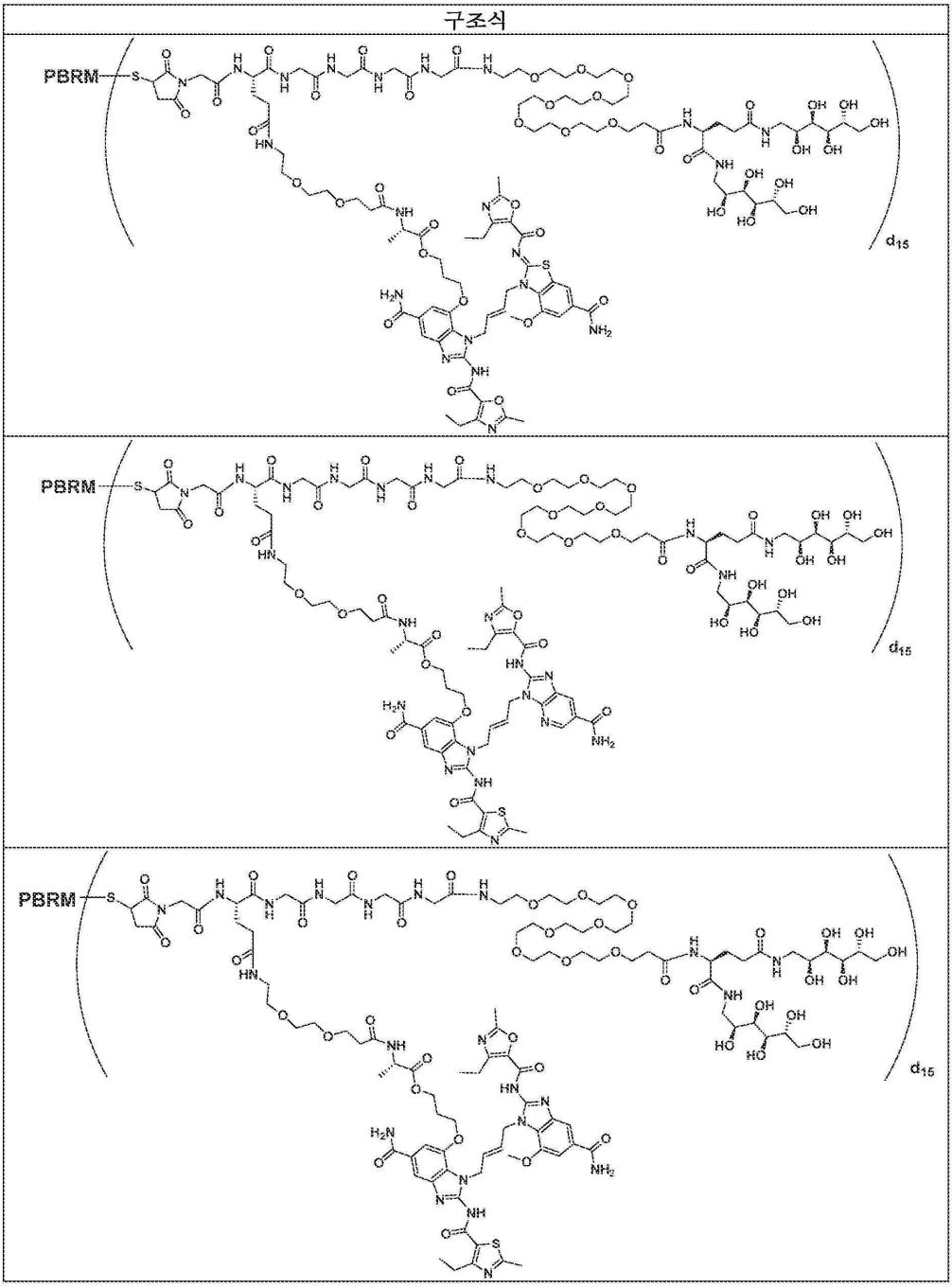
[0665]

구조식



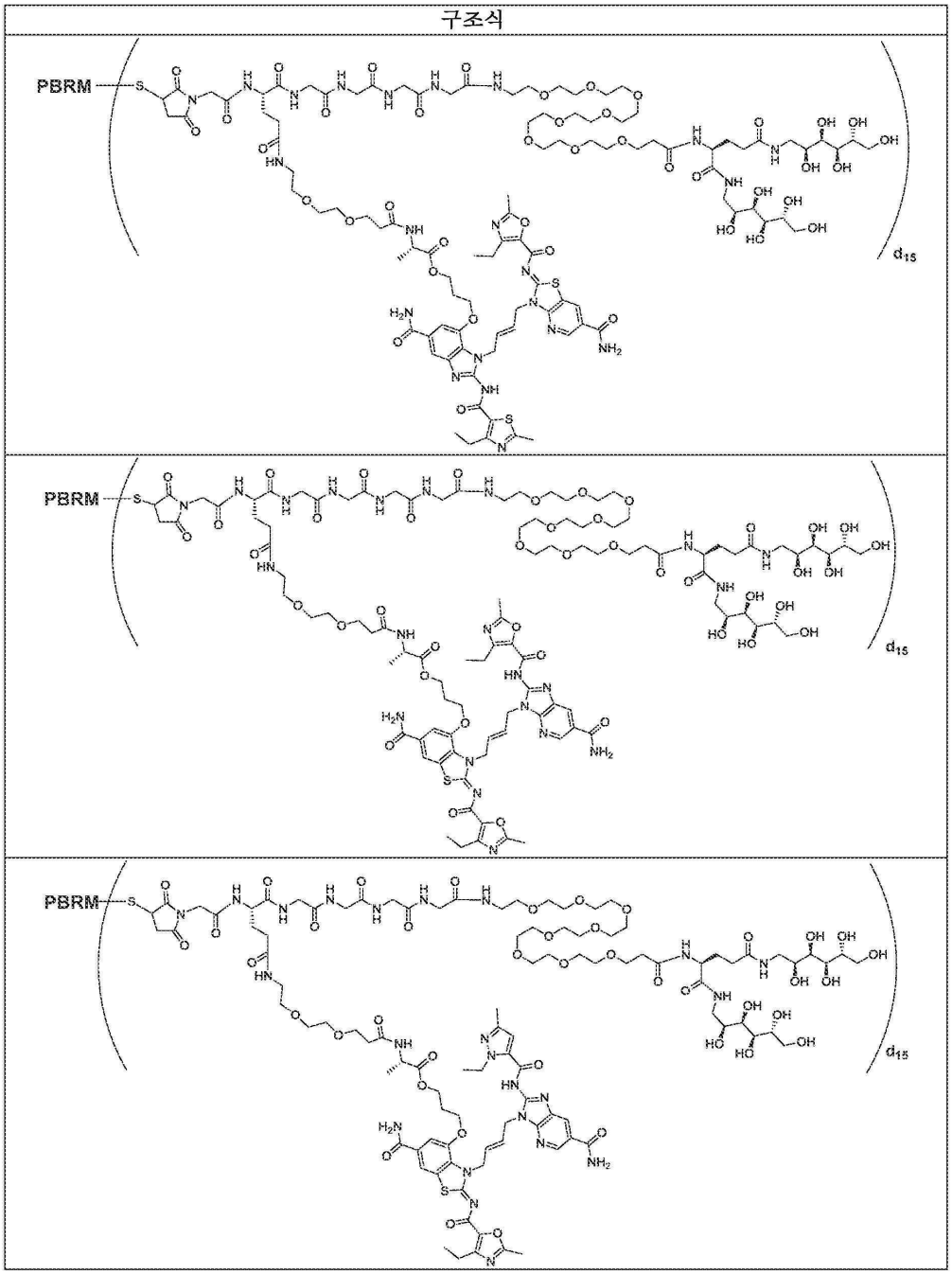
[0666]

구조식



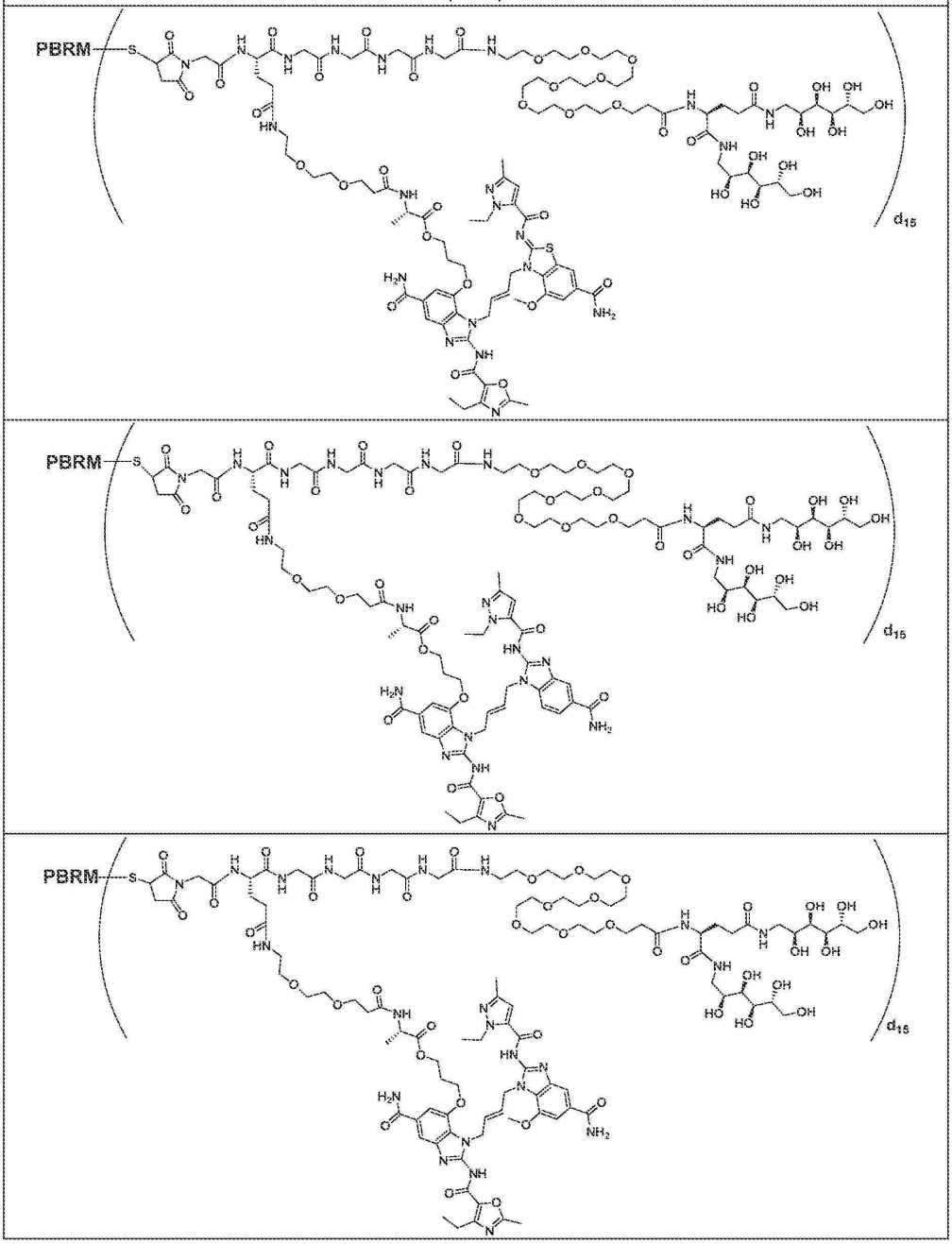
[0667]

구조식



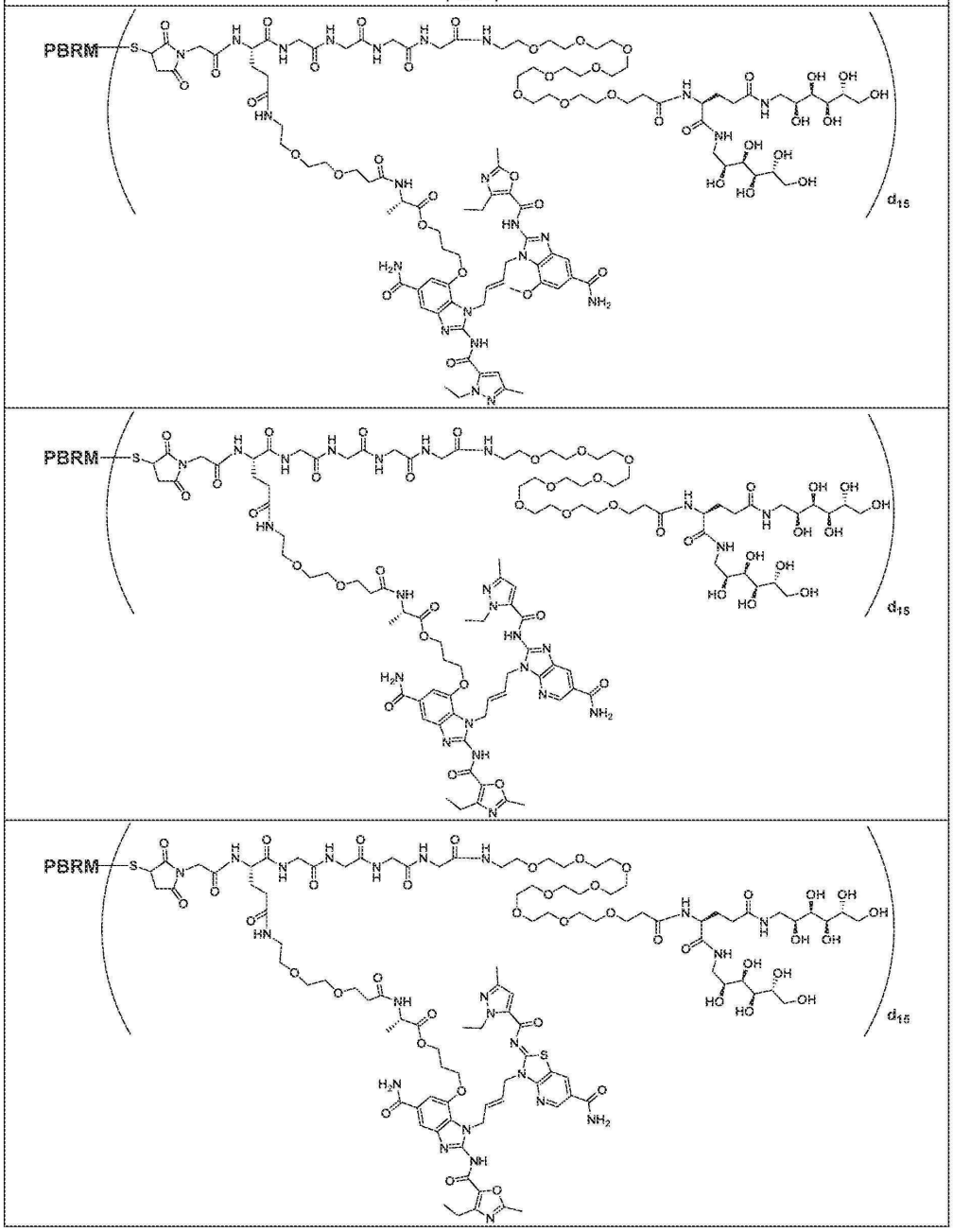
[0668]

구조식



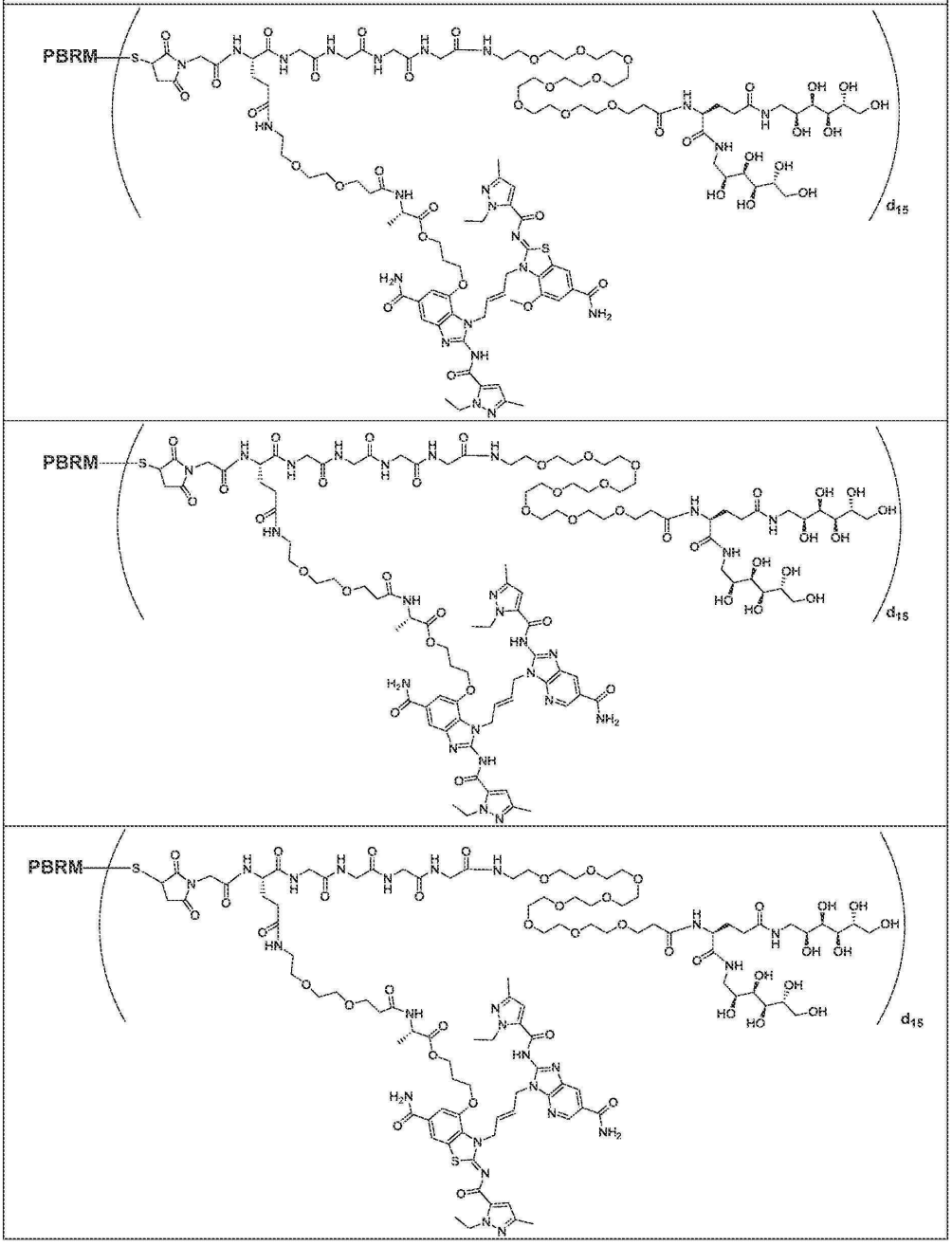
[0669]

구조식



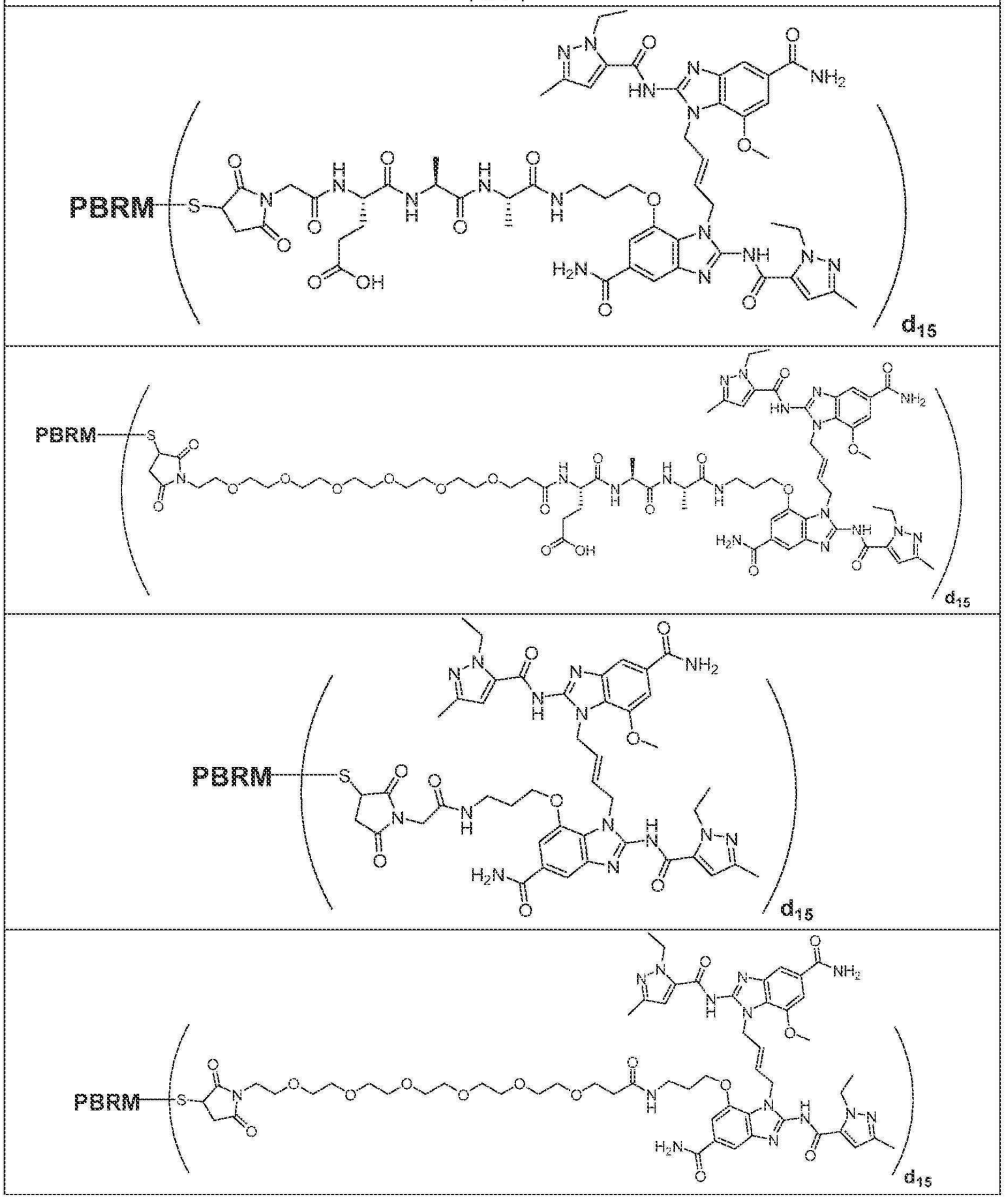
[0670]

구조식



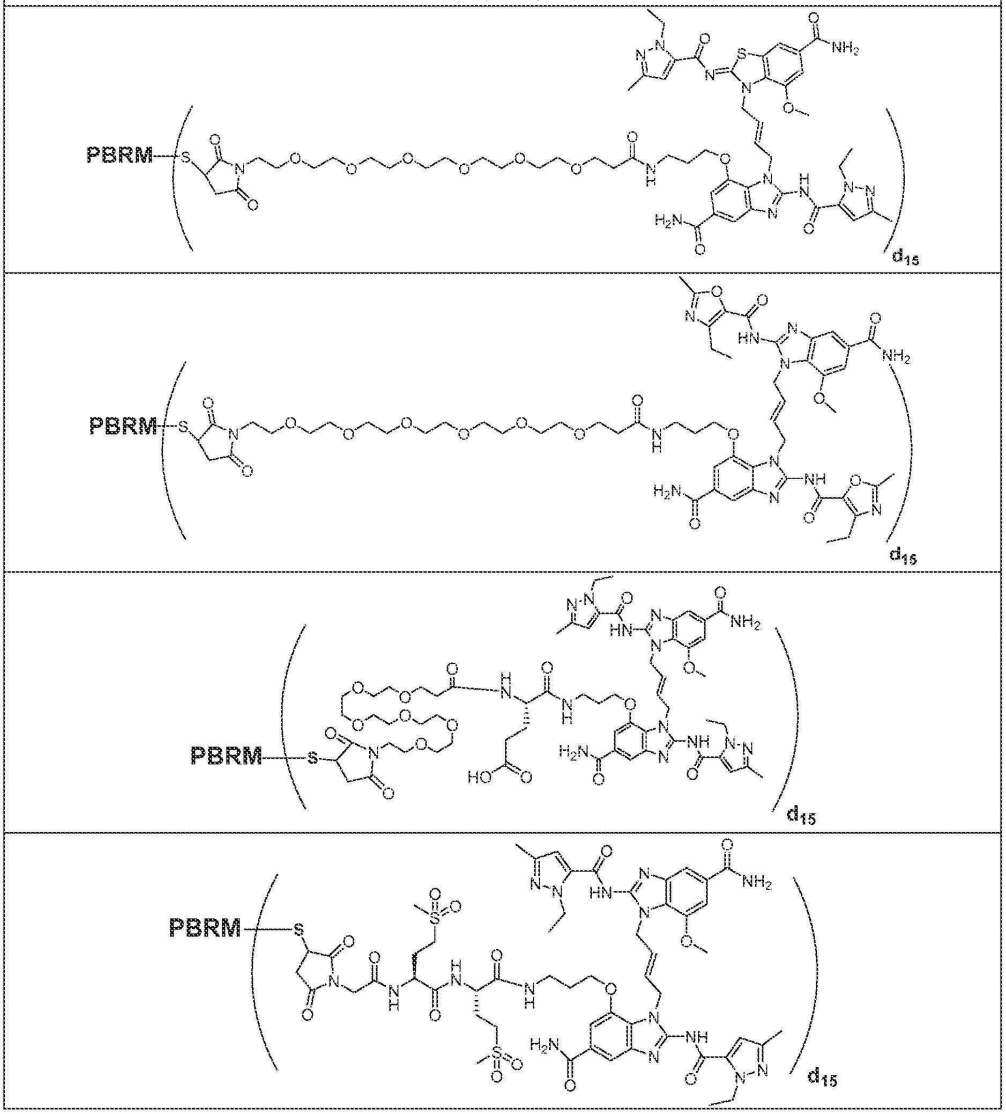
[0671]

구조식

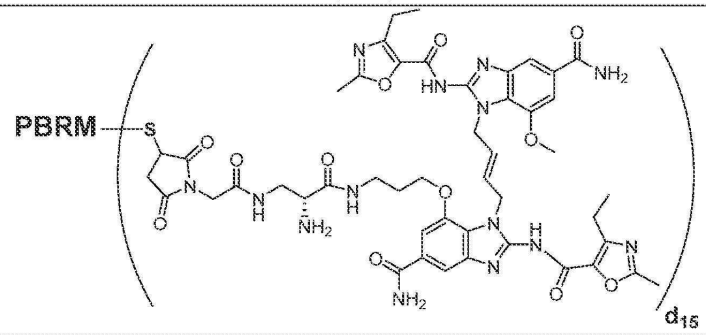
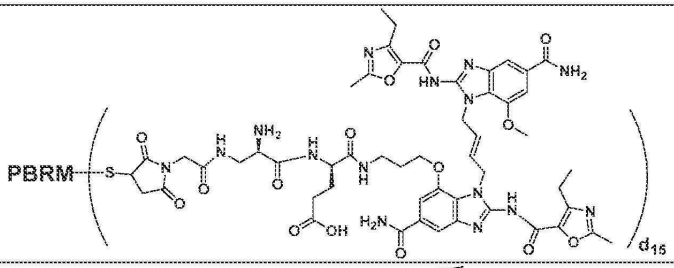
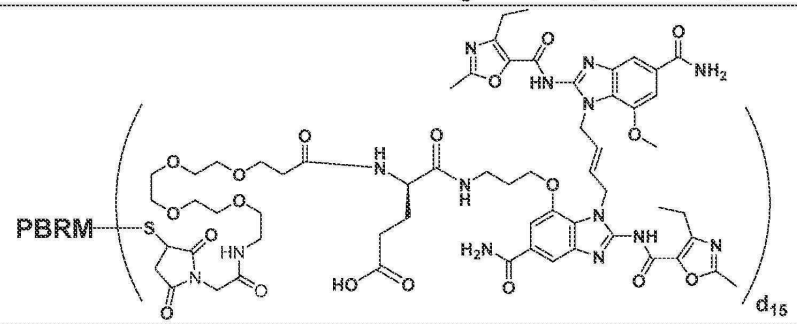
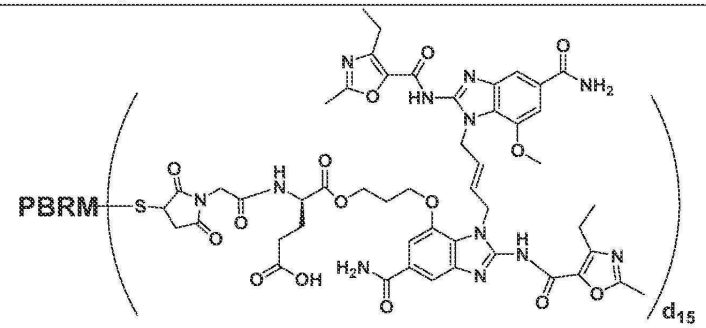


[0672]

구조식

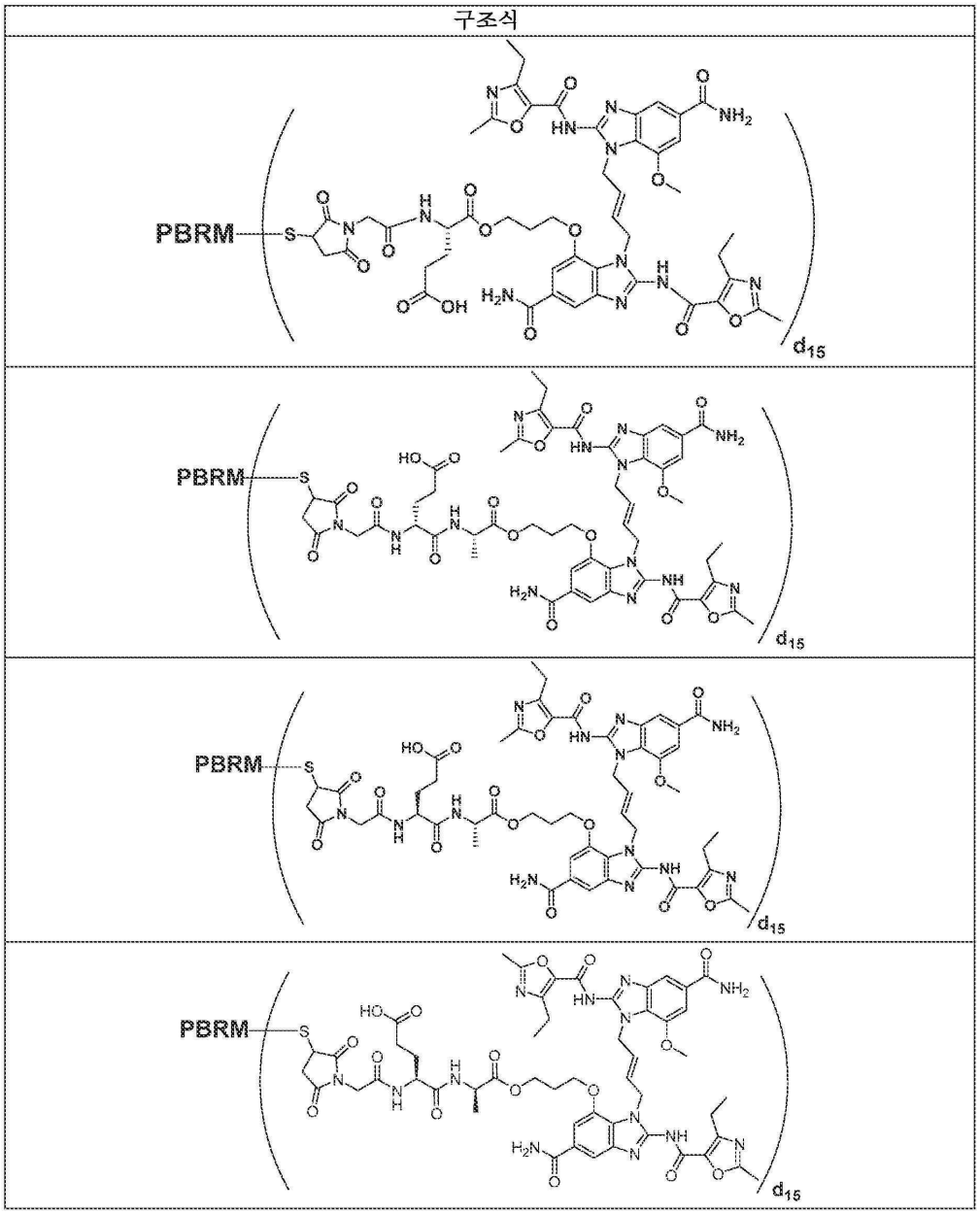

PBRM
S
O
N
O
O
O
O
O
O
O
O
O
O
O
N
H
O
N
H
O
N
N
O
NH2
O
N
S
N
O
O
NH2
H2N
O
N
N
H
N
O
d15
PBRM
S
O
N
O
O
O
O
O
O
O
O
O
O
O
N
H
O
N
H
O
N
N
O
NH2
O
N
O
N
HN
N
N
O
NH2
H2N
O
N
N
H
N
O
d15
PBRM
S
O
N
O
O
O
O
O
O
O
O
O
O
O
N
H
O
N
H
O
N
N
O
NH2
O
N
HN
N
N
O
NH2
H2N
O
N
N
H
N
O
d15
PBRM
S
O
N
O
O
O
O
O
O
O
O
O
O
O
N
H
O
N
H
O
N
N
O
NH2
O
N
HN
N
N
O
NH2
H2N
O
N
N
H
N
O
d15

[0673]

구조식





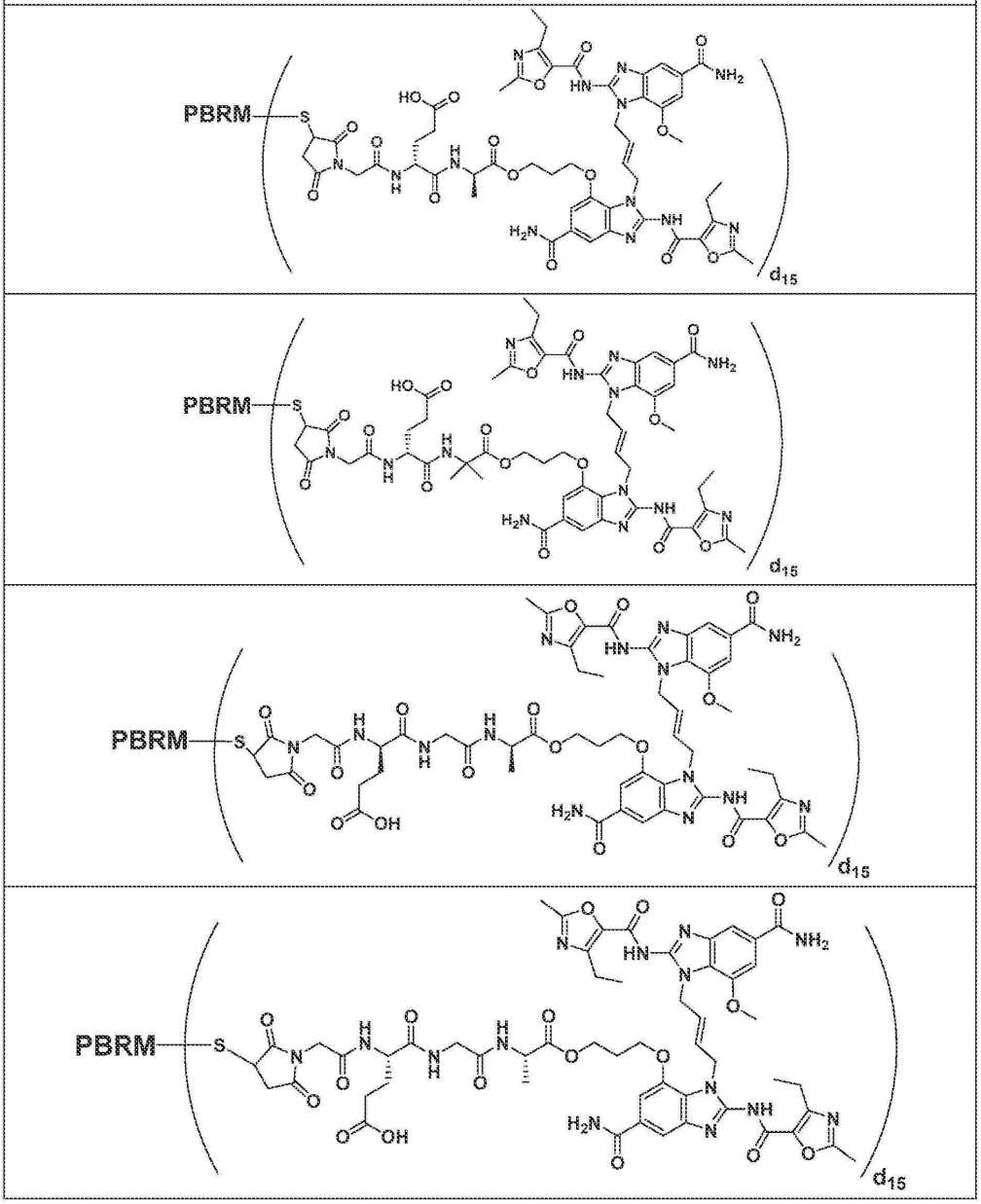
[0674]

구조식



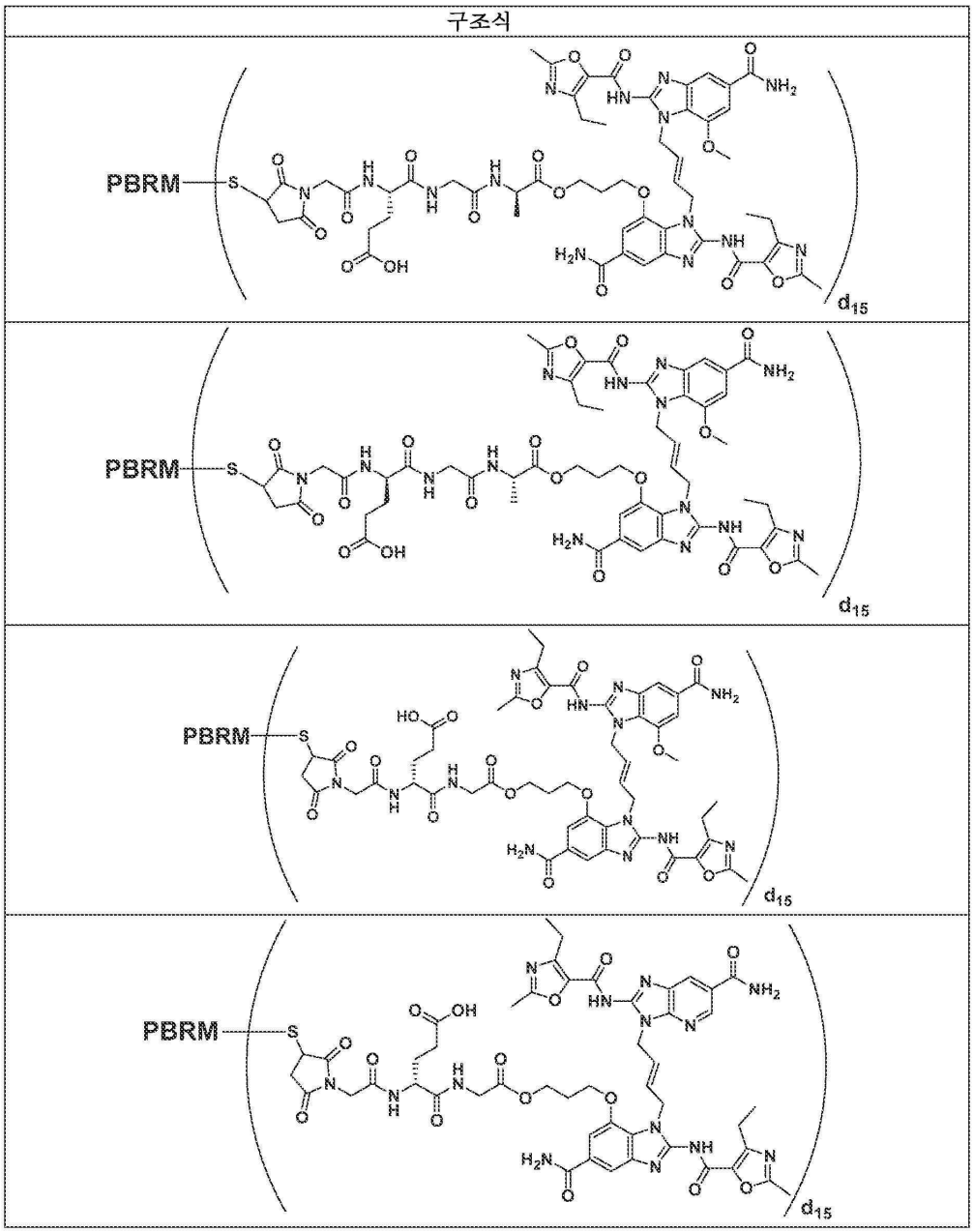
[0675]

구조식



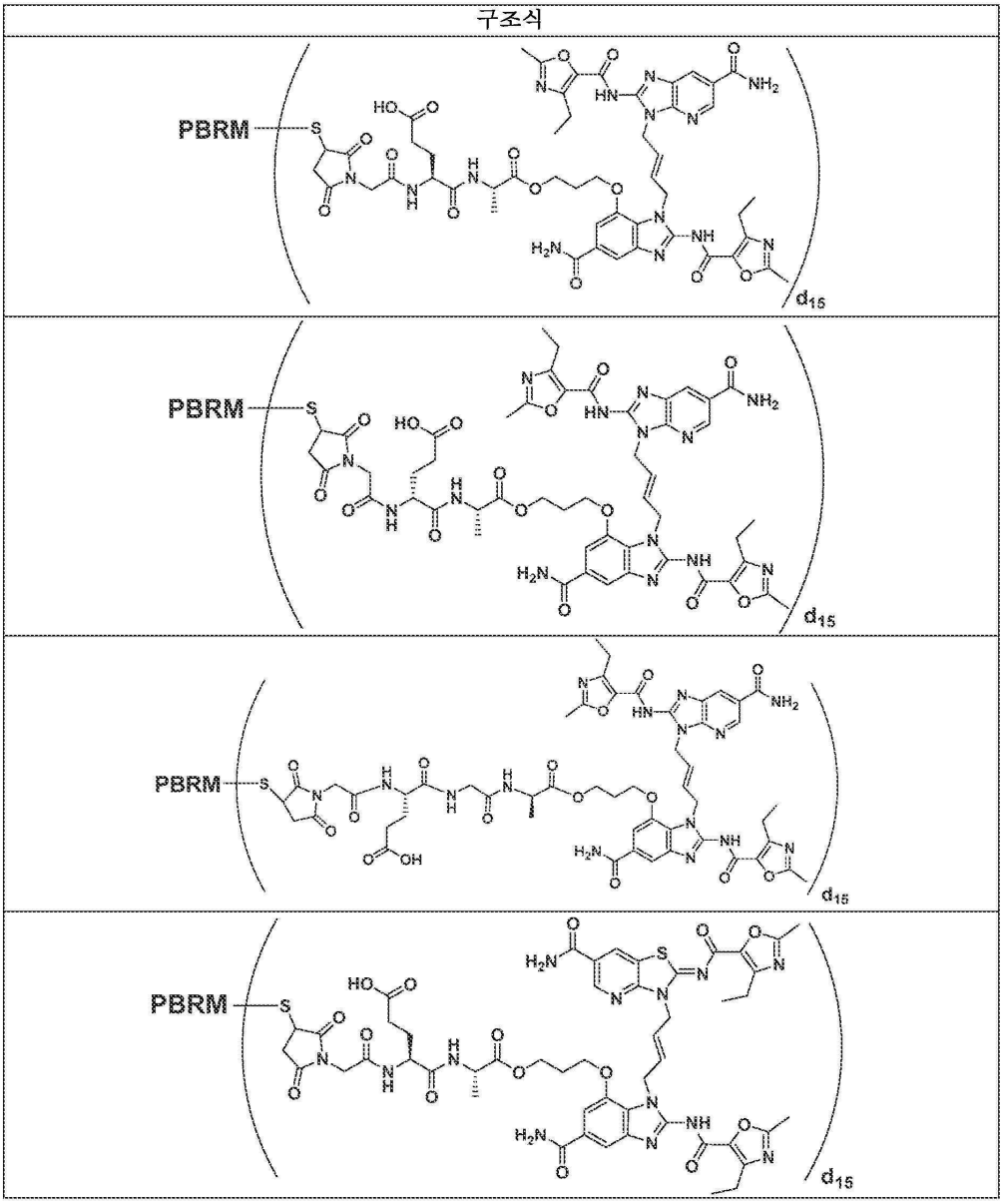
[0676]

구조식



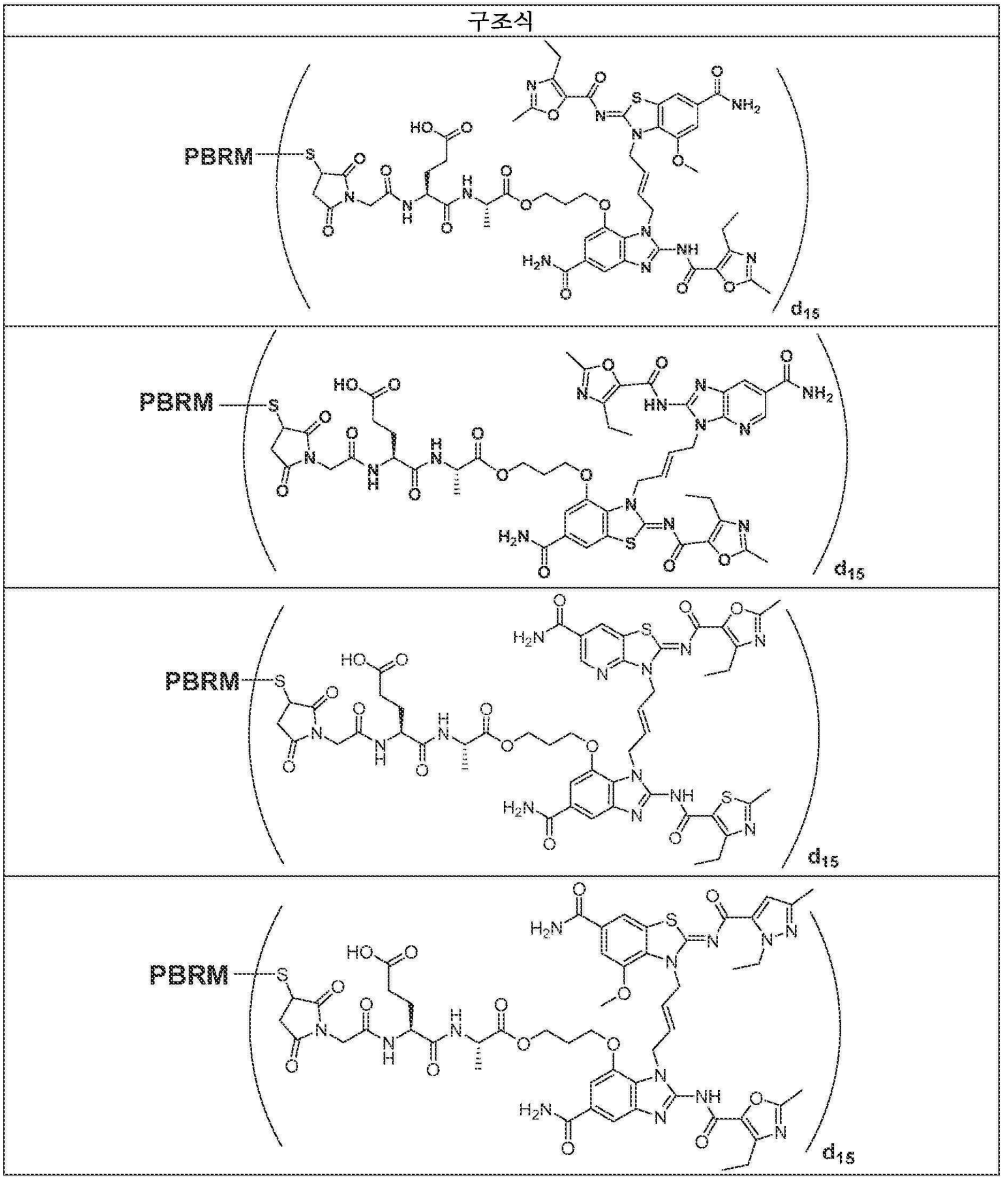
[0677]

구조식



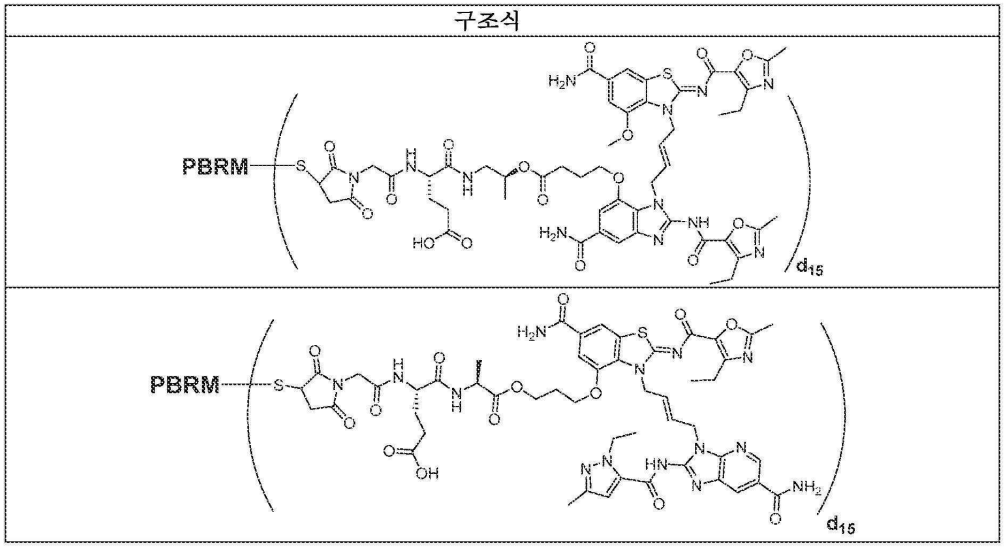
[0678]

구조식



[0679]

구조식

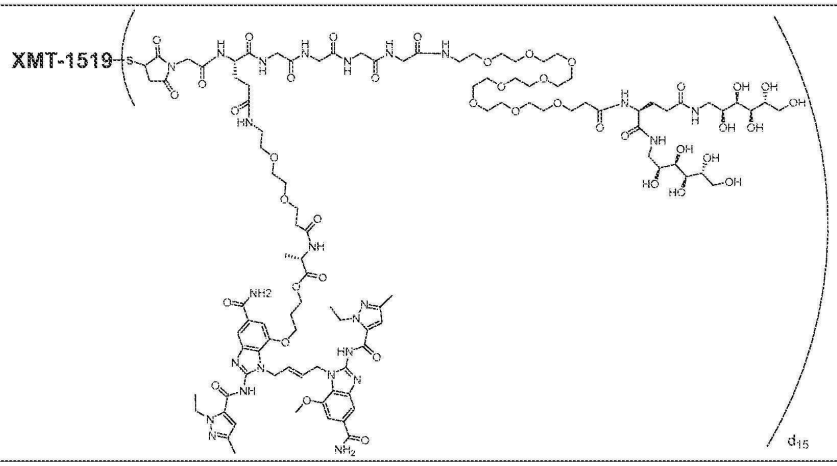


[0680]

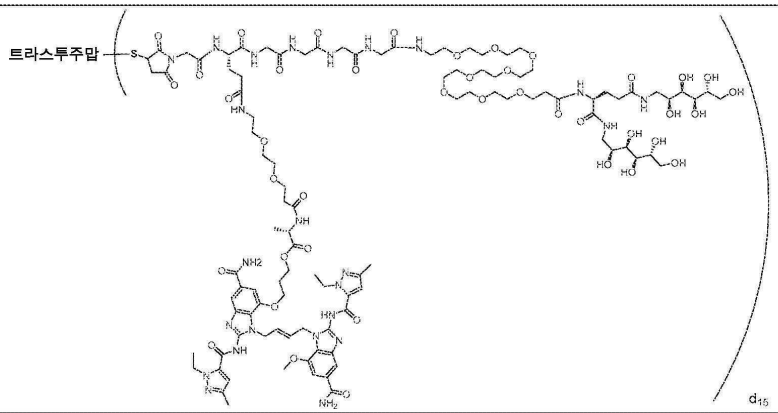
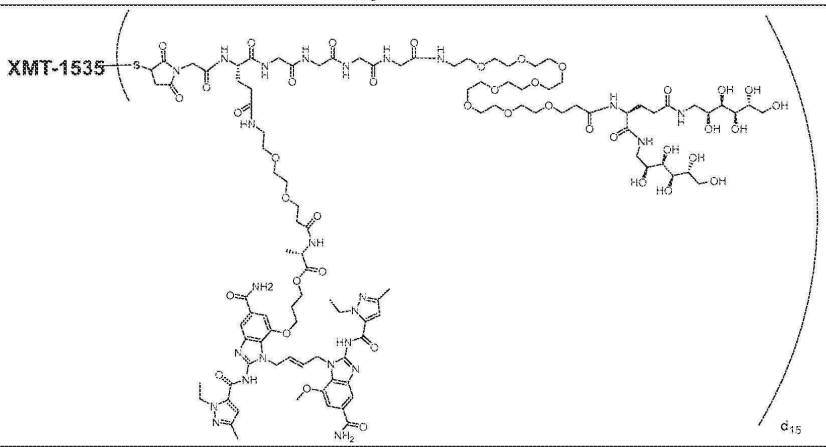
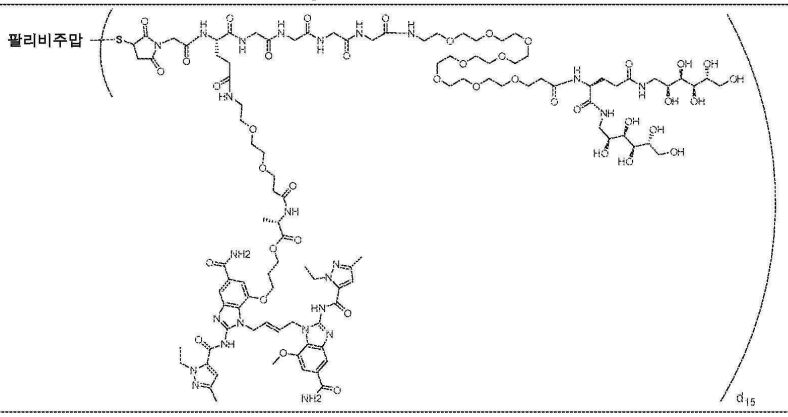
[0681] 상기 식에서, d_{15}, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{C1}, R^{C2}, X_3, X_4, X_6, X_1, W_1, Y_1, Z_1, X_2, W_2, Y_2, Z_2는 본원에서

정의된 바와 같다.

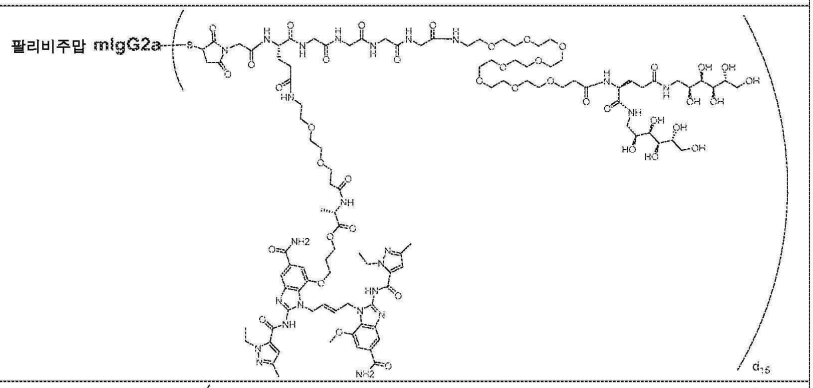
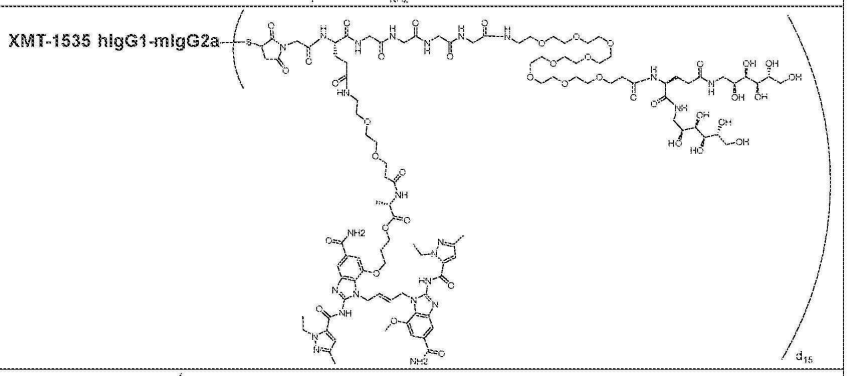
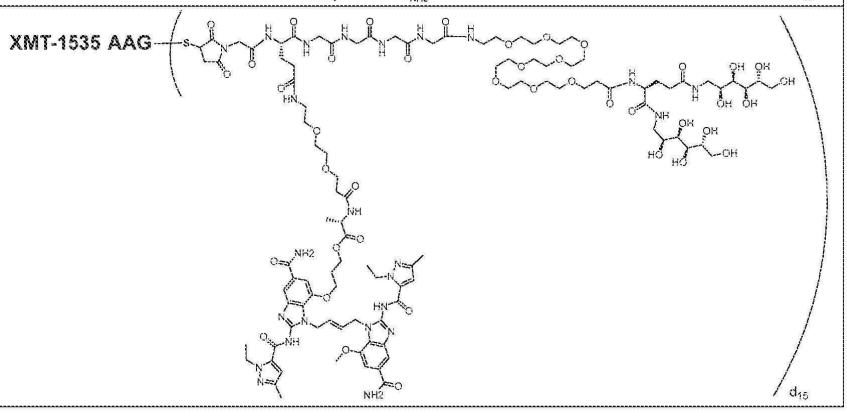
표 B2

실시예 번호	화합물 번호	구조식
1	8-1 DAR 6.1 8-2 DAR 6.8	

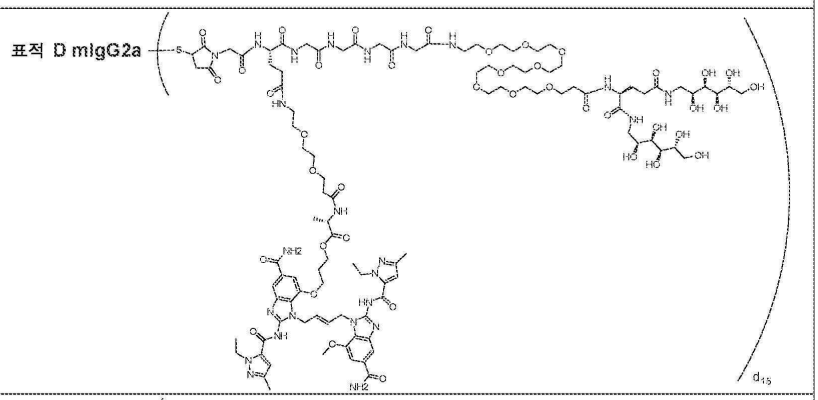
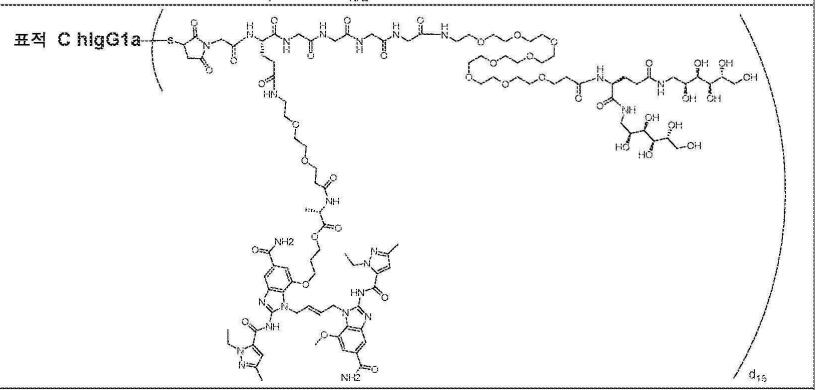
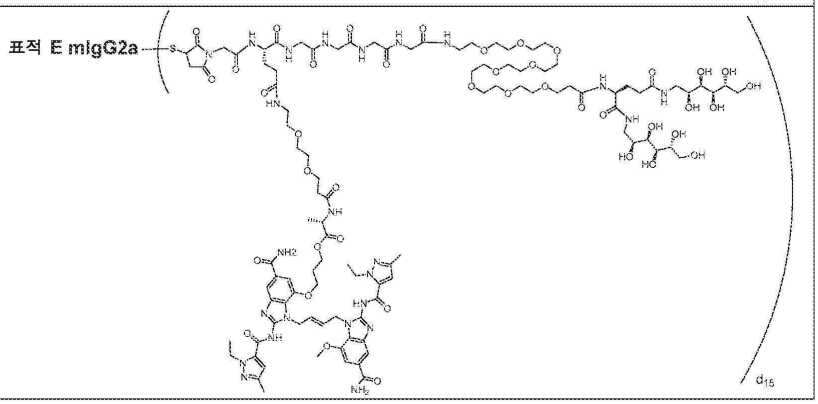
[0682]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
1a	**8a-1** DAR 6.0 **8a-2** DAR 7.0 **8a-3** DAR 8.4	
1b	**8b-1** DAR 5.7 **8b-2** DAR 6.6 **8b-3** DAR 6.4	
1c	**8c-1** DAR 7.5 **8c-2** DAR 5.8	

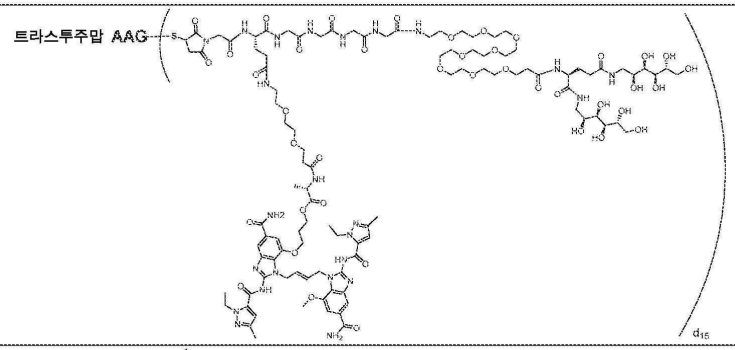
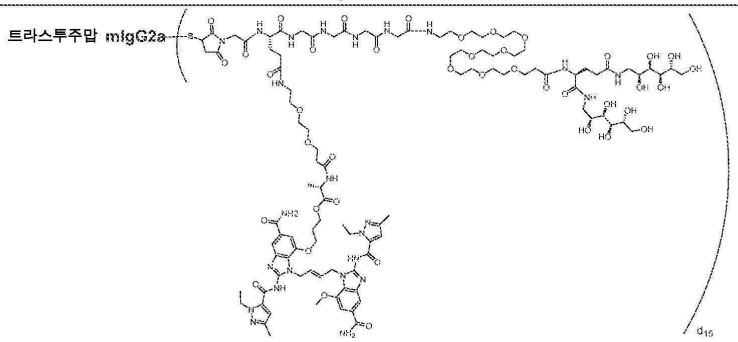
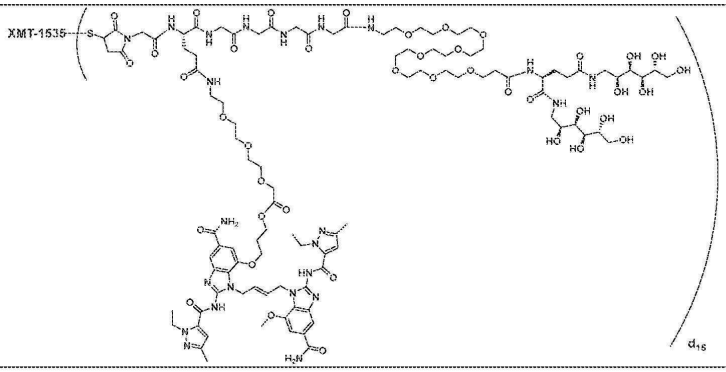
[0683]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
1d	**8d-1** DAR 6.8 **8d-2** DAR 6.5 **8d-3** DAR 6.0	
1e	**8e** DAR 7.0	
1f	**8f** DAR 7.4	

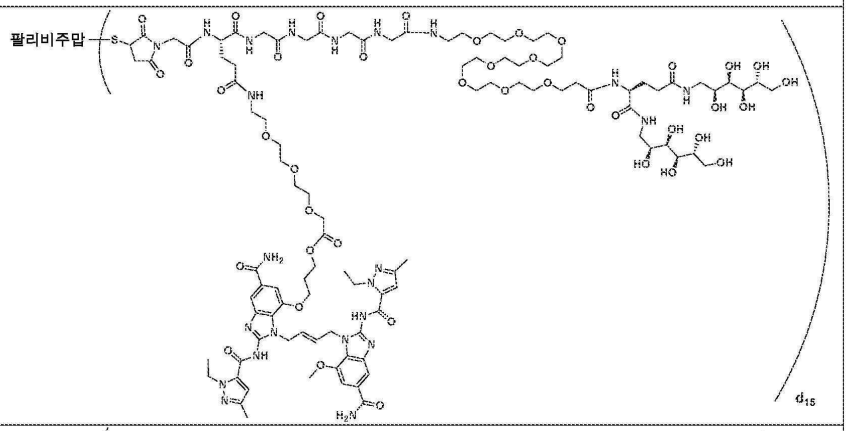
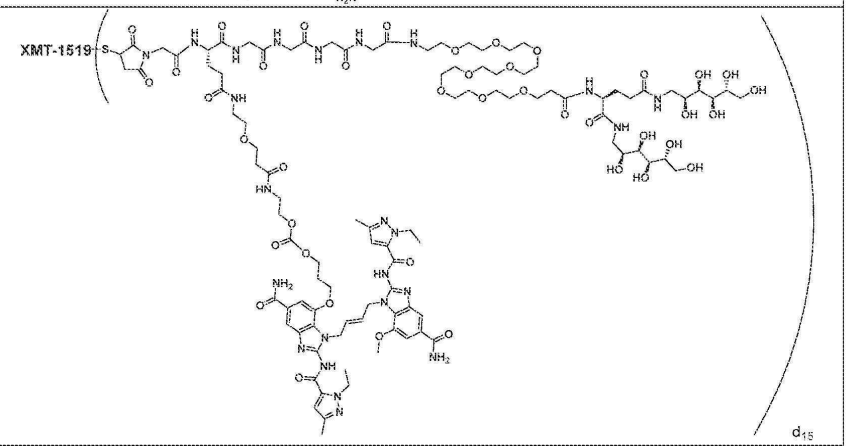
[0684]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
1g	8g DAR 7.4	
1h	8h DAR 6.9	
1i	8i DAR 10.0	

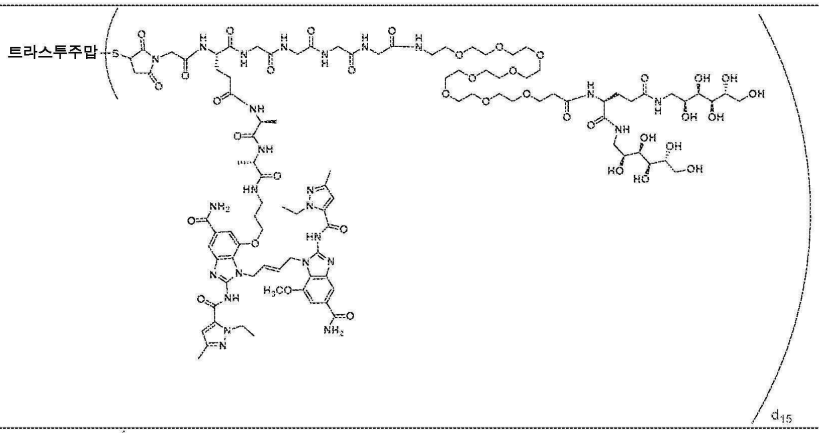
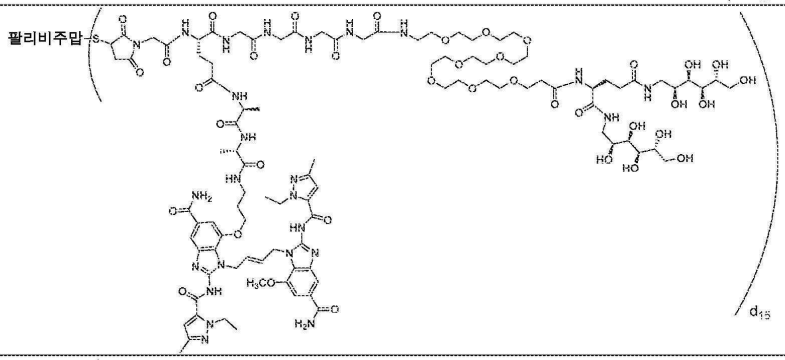
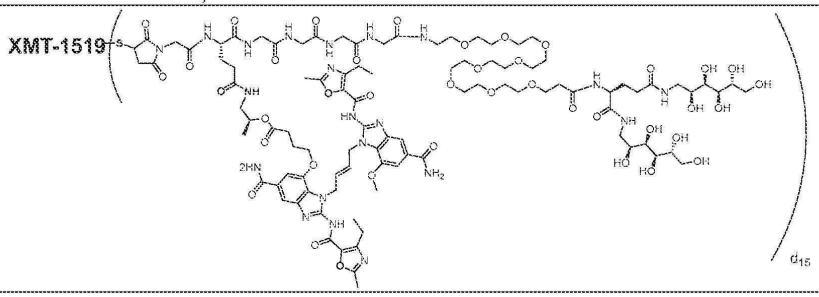
[0685]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
1j	8j DAR 7.0 8j-1 DAR 4.2	
1k	8k DAR 8.1	
1l	8l DAR 4.7	

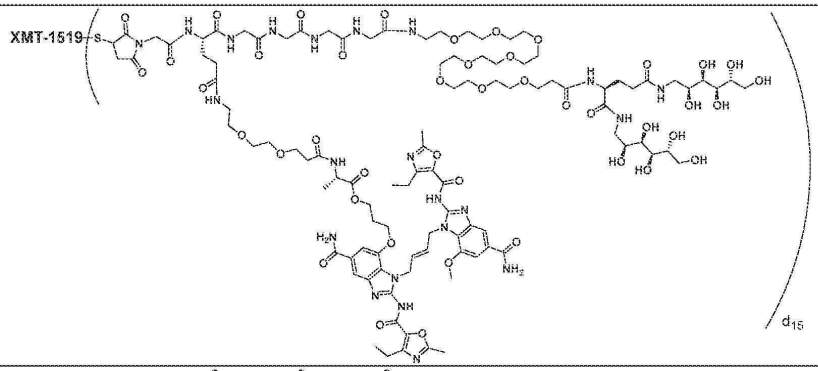
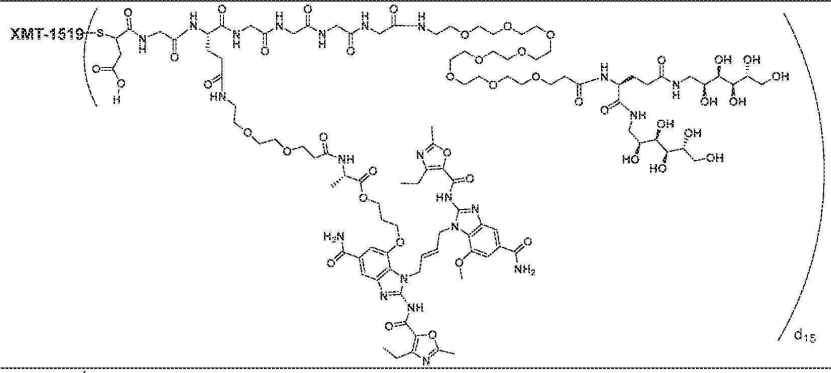
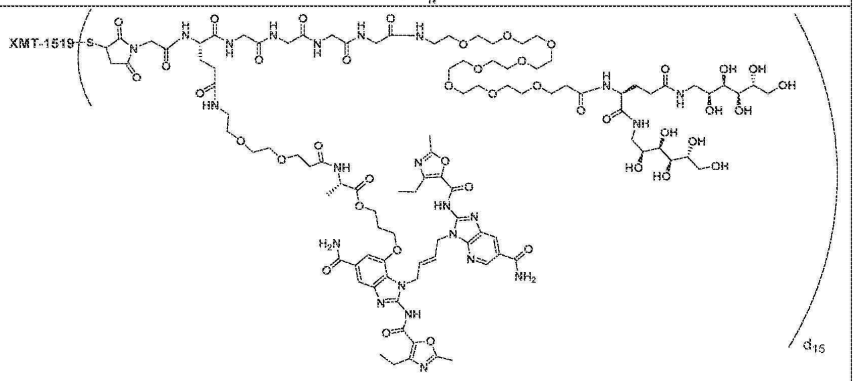
[0686]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
1m	8m DAR 4.5	
2	16 DAR 5.3	

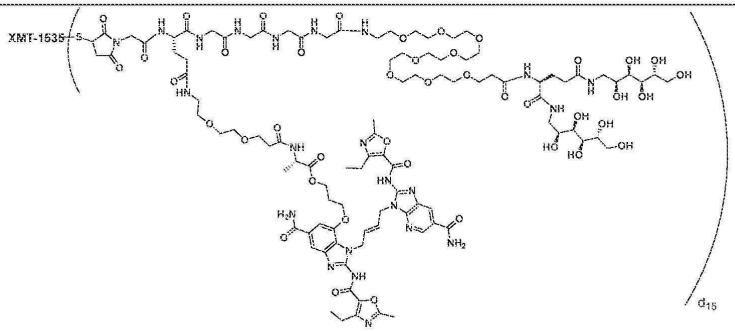
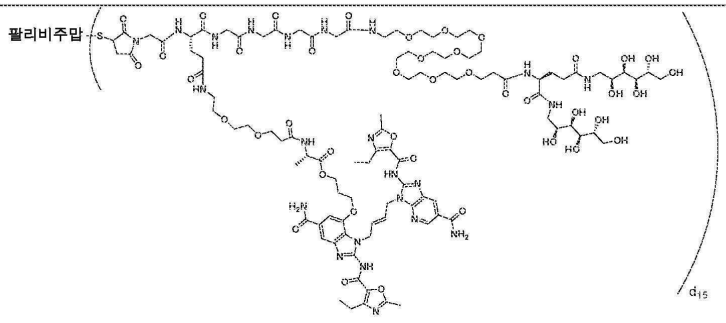
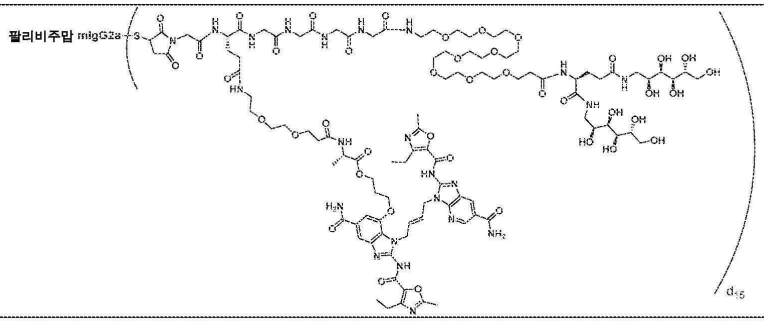
[0687]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
3	**20-1** DAR 6.0 **20-2** DAR 6.1	
3a	**20a** DAR 5.5	
4	**25** DAR 6.6	

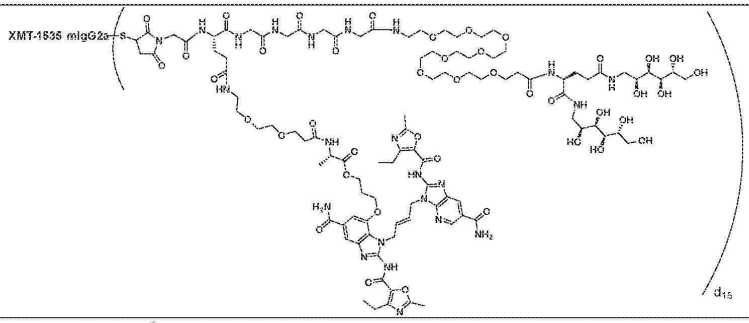
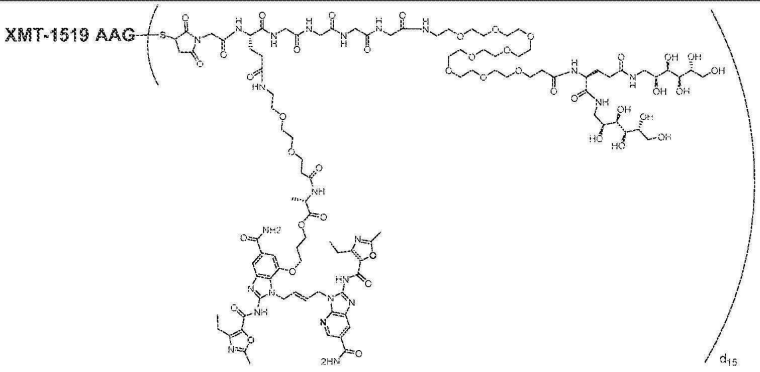
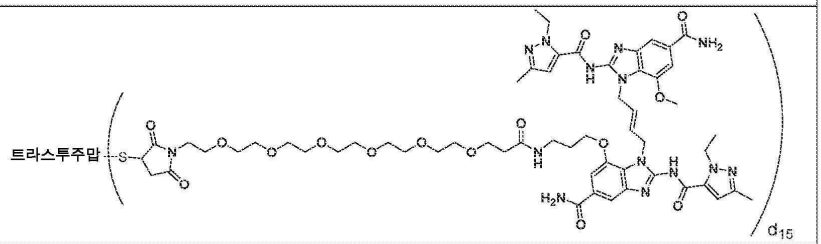
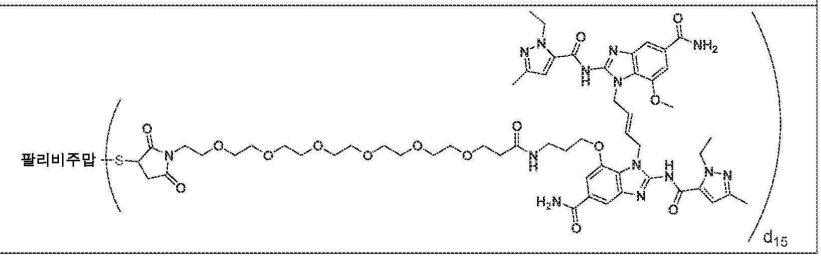
[0688]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
5	**28** DAR 6.0	
6	**29** DAR 5.5	
7	**32-1** DAR 6.5 **32-2** DAR 6.4 **32-3** DAR 6.7 **32-4** DAR 8.6	

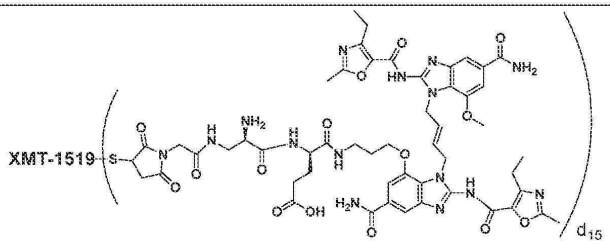
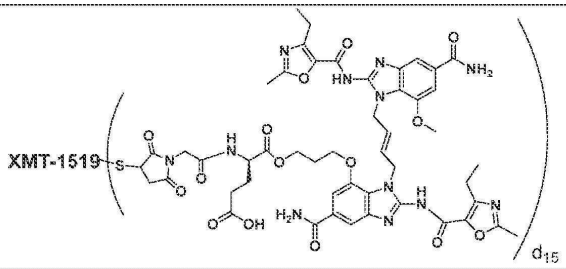
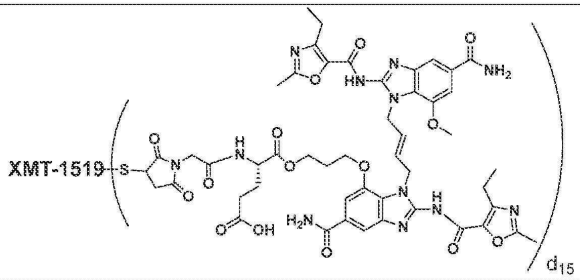
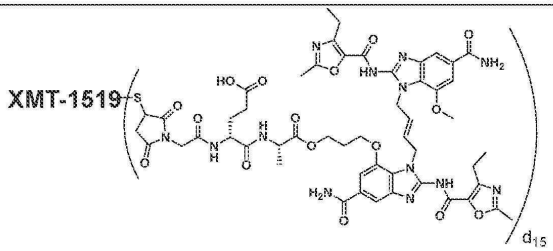
[0689]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
7a	**32a** DAR 6.2 **32a-1** DAR 7.4 **32a-2** DAR 8.0 **32a-3** DAR 7.5 **32a-4** DAR 8.0	
7b	**32b** DAR 6.8 **32b-1** DAR 5.7 **32b-2** DAR 7.2	
7c	**32c** DAR 9.1	

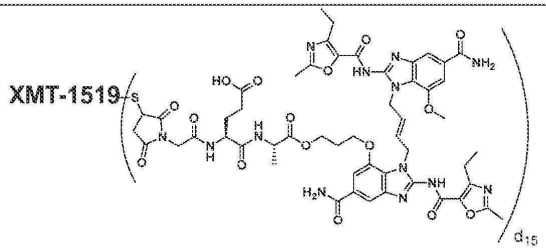
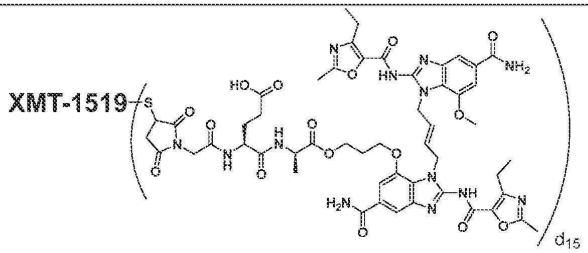
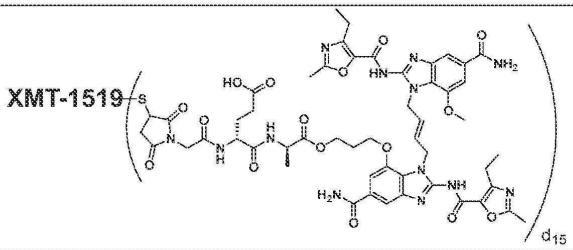
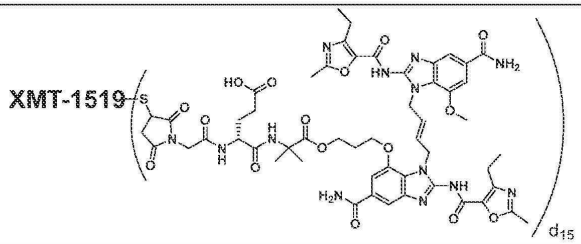
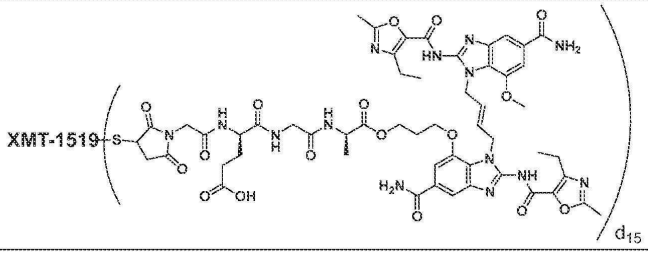
[0690]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
7d	**32d** DAR 8.8	
7e	**32e** DAR 8.8	 **32e**
8	**34** DAR 6.9	
8a	**34a** DAR 7.0	

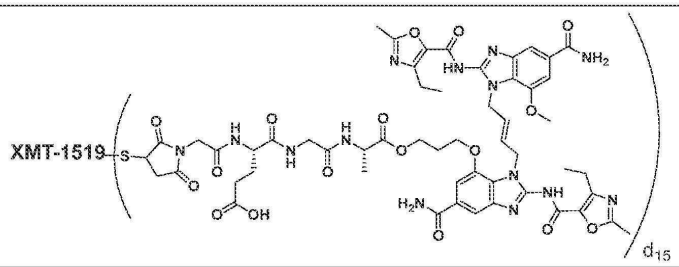
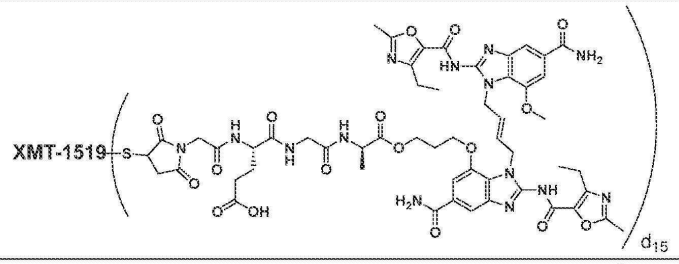
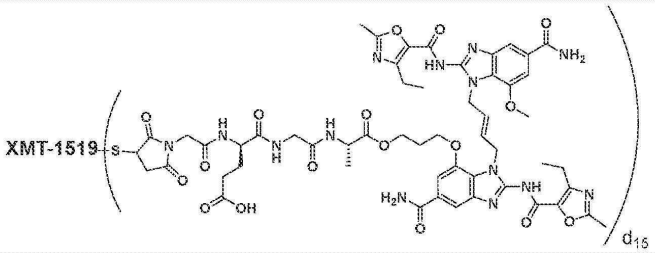
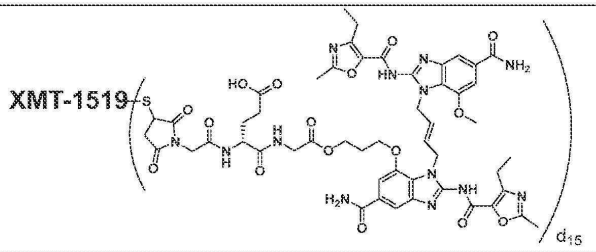
[0691]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
9	**45** DAR 6.5	
10	**50** DAR 8.2	
11	**52** DAR 7.7	
12	**58** DAR 6.5	

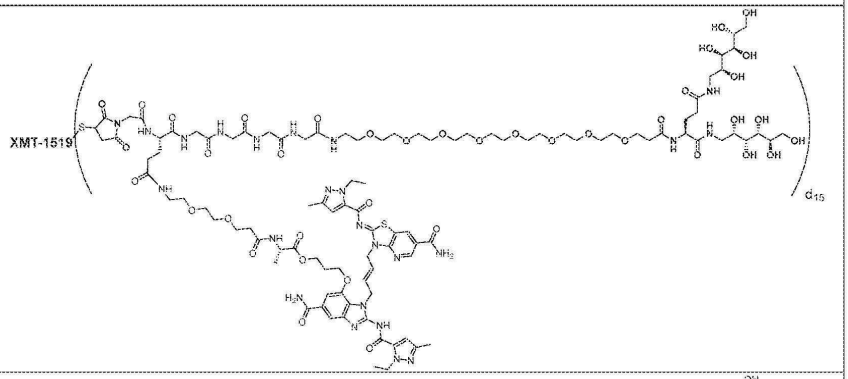
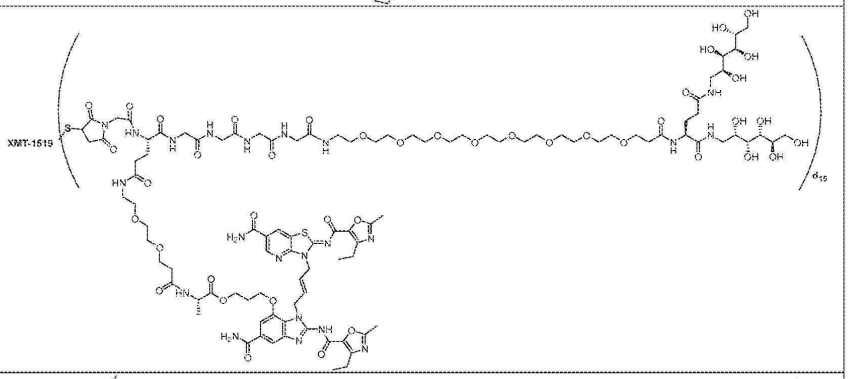
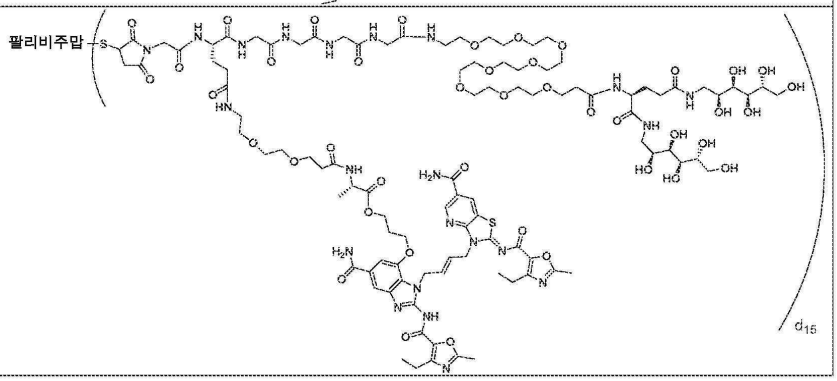
[0692]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
13	**60-1** (DAR 7.7 **60-2** DAR 5.5	
14	**62** DAR 6.5	
15	**64** DAR 6.4	
16	**66-1** DAR 7.5 **66-2** DAR 5.3	
17	**74** DAR 6.9	

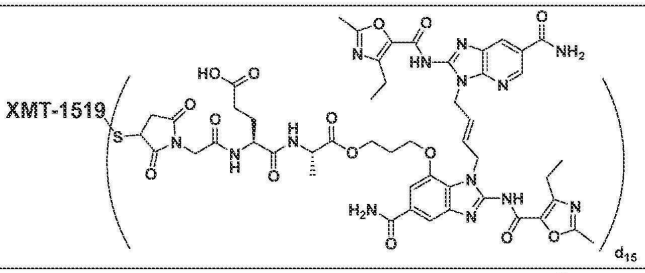
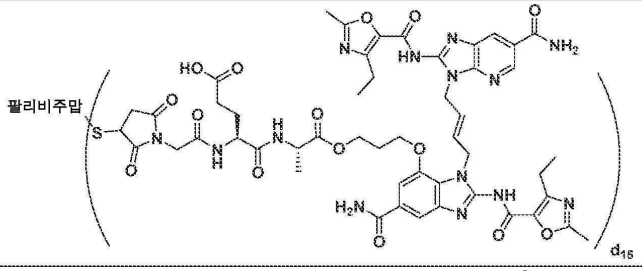
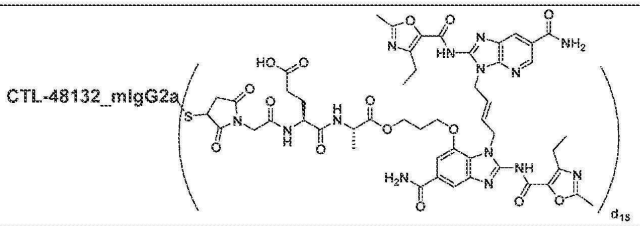
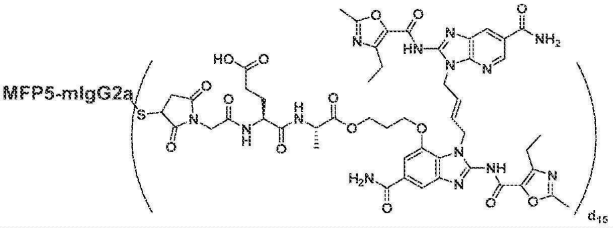
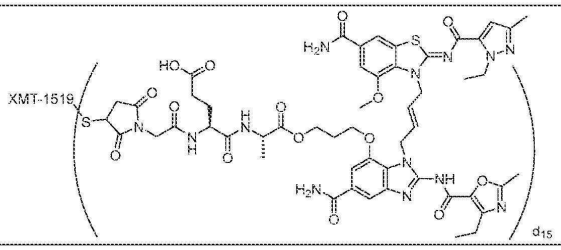
[0693]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
18	**76** DAR 7.5	
19	**78** DAR 7.4	
20	**80** DAR 7.5	
21	**82** DAR 5.7	

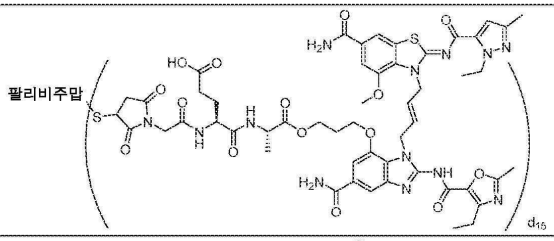
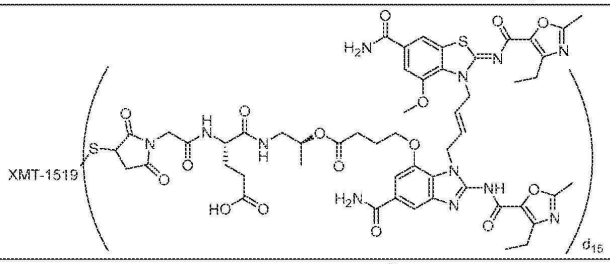
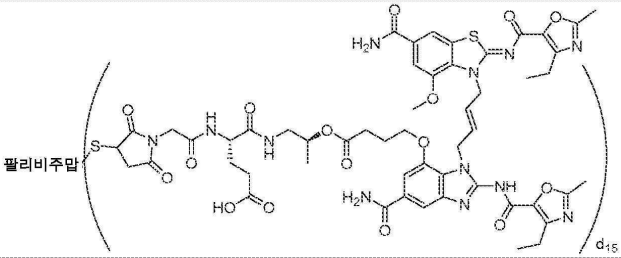
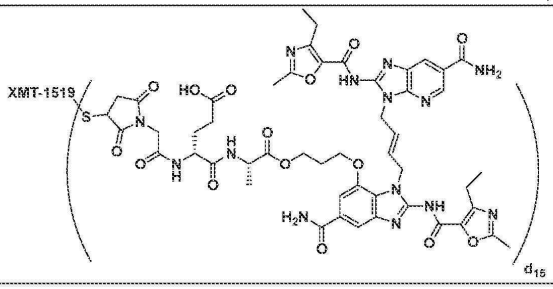
[0694]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
		
22	85 DAR 6.5	
22a	85a DAR 7.4	

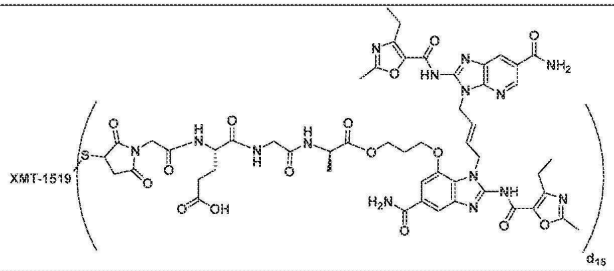
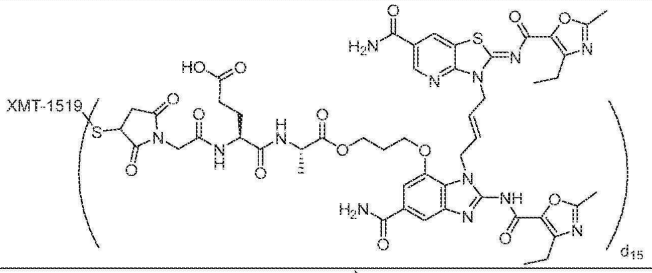
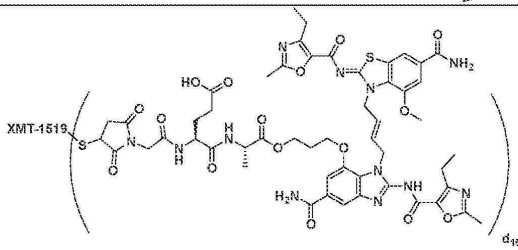
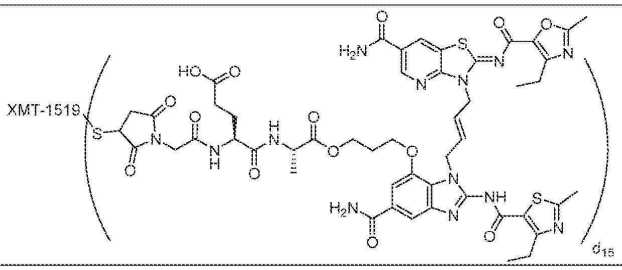
[0695]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
23	**88** DAR 6.6	
23a	**89** DAR 5.9	
23b	**89a** DAR 8.8	
23c	**89b** DAR 9.0	
24	**92** DAR 7.6	

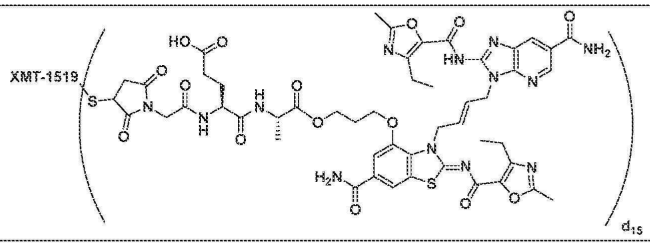
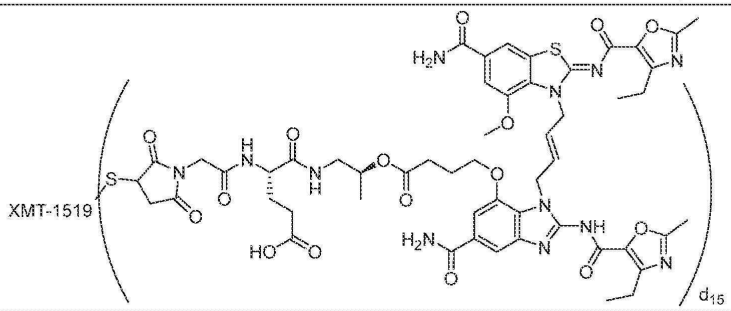
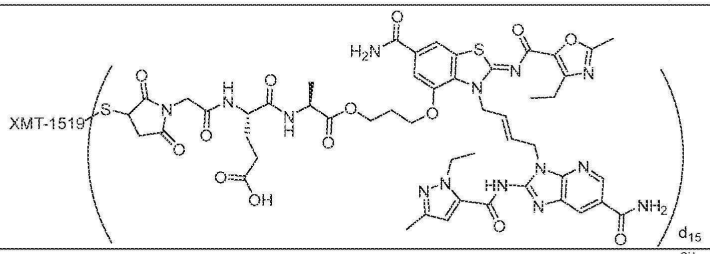
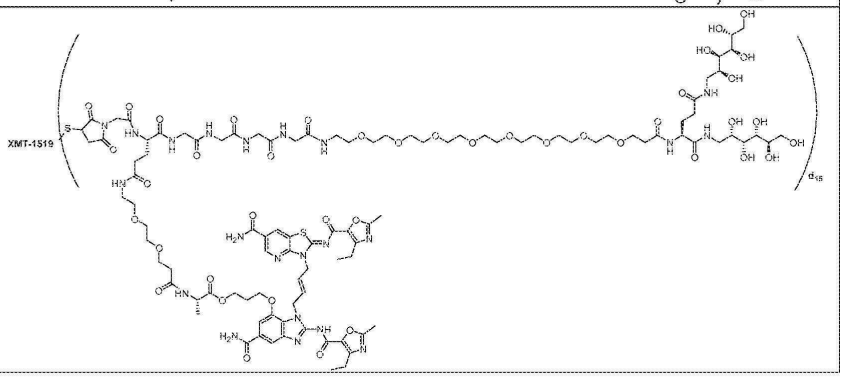
[0696]

실시예 번호	화합물 번호	구조식
24a	**93** DAR 6.7	
25	**100** DAR 7.8	
25a	**101** DAR 6.5	
		

[0697]

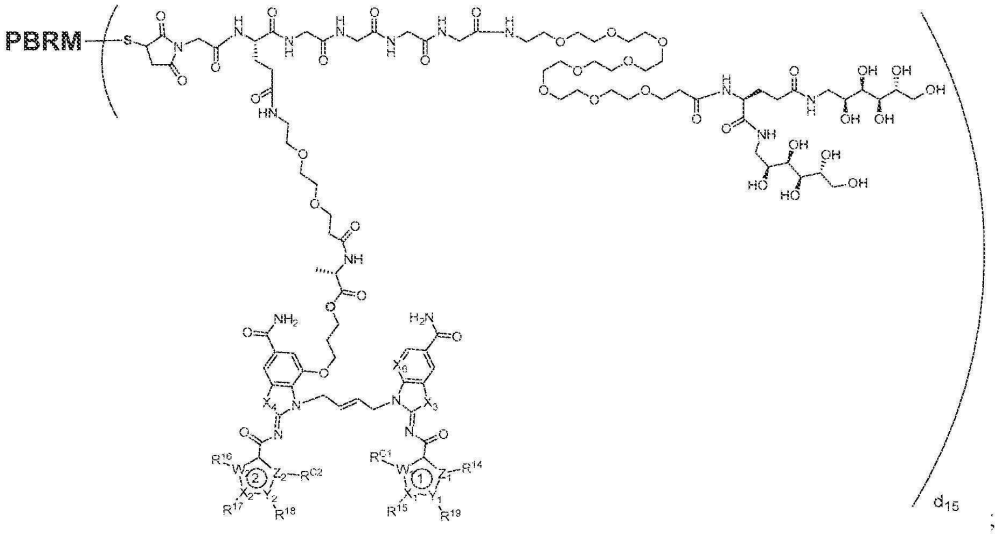
실시예 번호	화합물 번호	구조식
		
		
		
		

[0698]

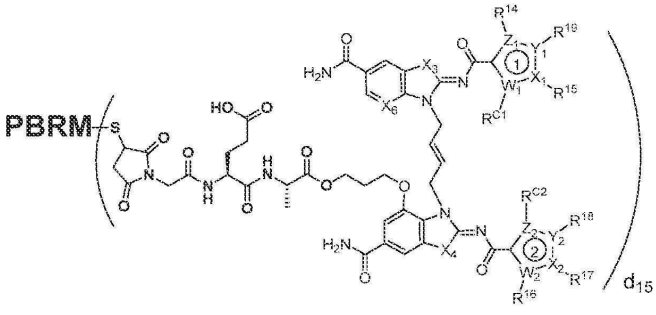
실시예 번호	화합물 번호	구조식
		
		
		
		

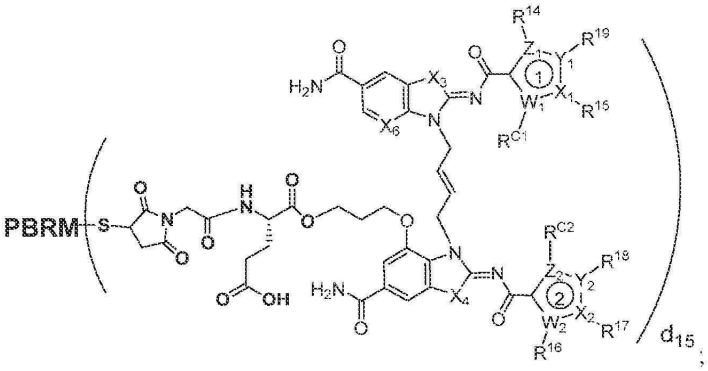
[0699]

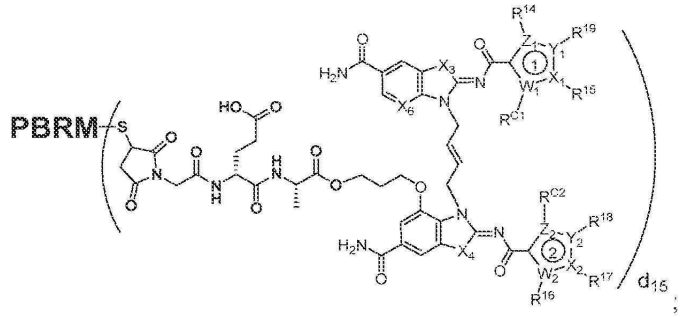
[0700] 일부 실시양태에서, 접합체는

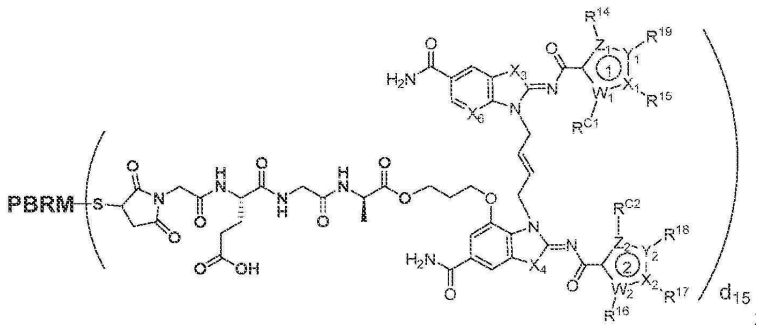


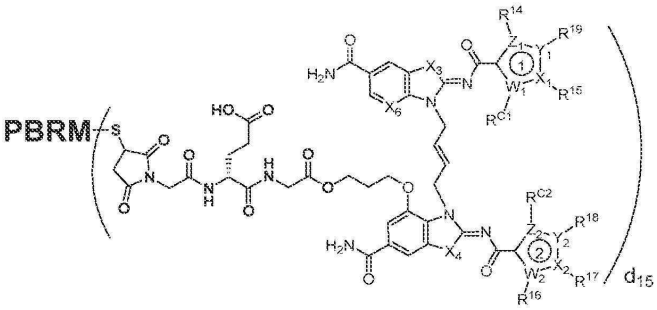
[0701] ;

[0702] 

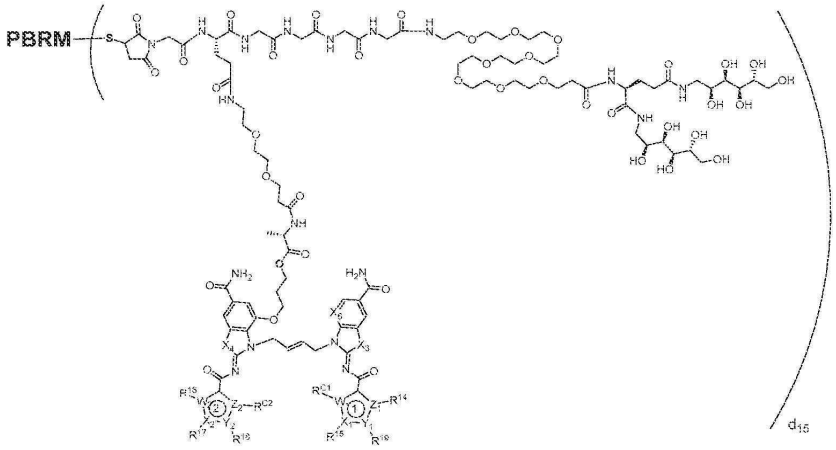
[0703] 

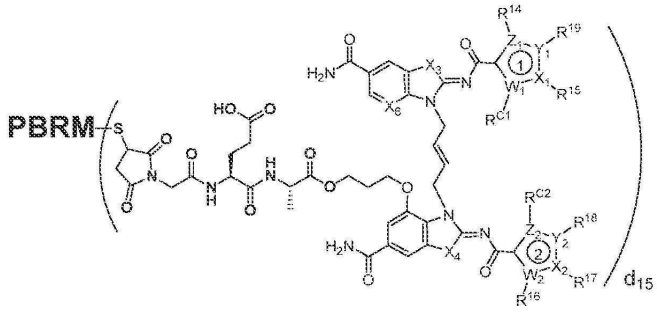
[0704] 

[0705]  또는

[0706]  이며, 상기 식에서, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{C1}, R^{C2}, X_3, X_4, X_6, X_1, W_1, Y_1, Z_1, X_2, W_2, Y_2, Z_2는 본원에서 정의된 바와 같다.

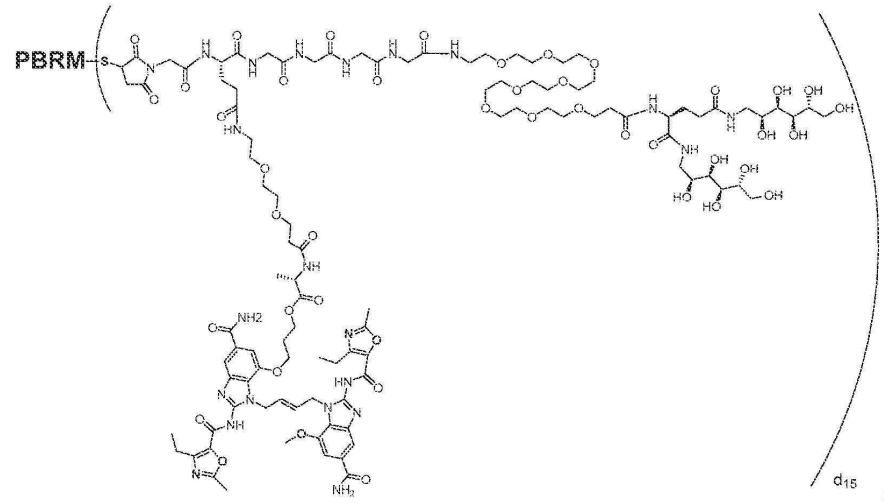
[0707] 일부 실시양태에서, 접합체는

[0708]  또는

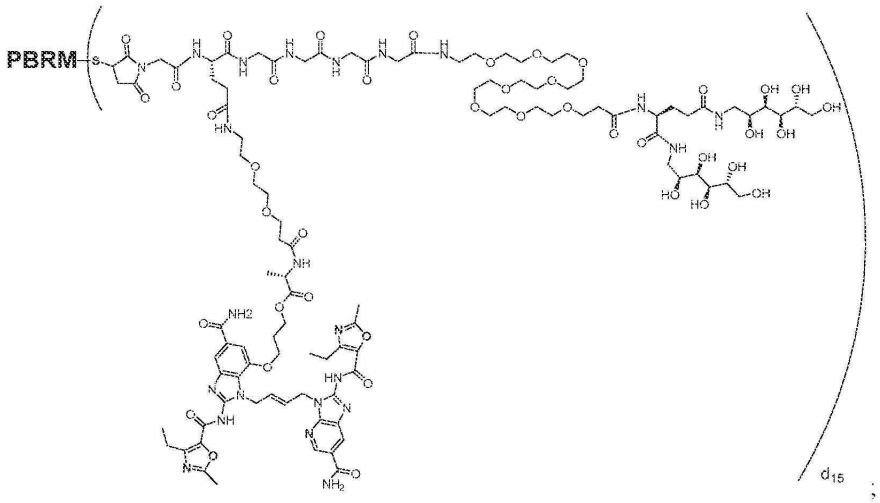


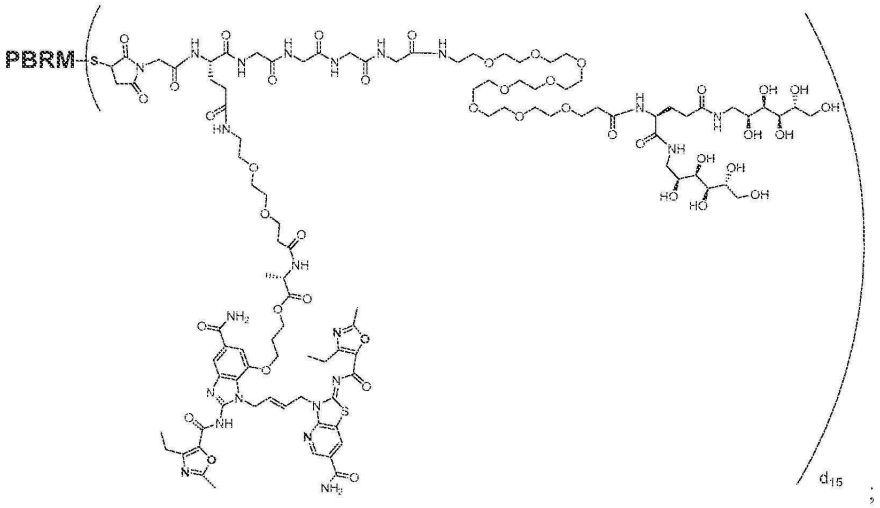
[0709] 이며, 상기 식에서, d_{15}, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{C1}, R^{C2}, X_3, X_4, X_6, X_1, W_1, Y_1, Z_1, X_2, W_2, Y_2, Z_2는 본원에서 정의된 바와 같다.

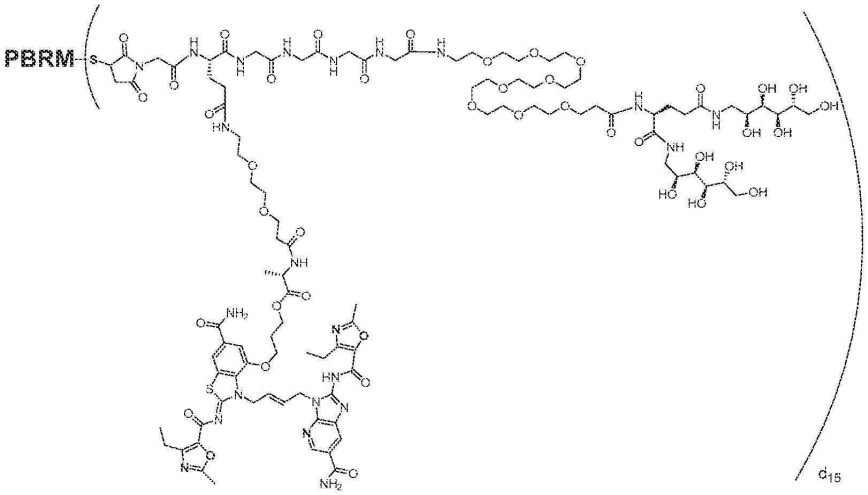
[0710] 일부 실시양태에서, 접합체는

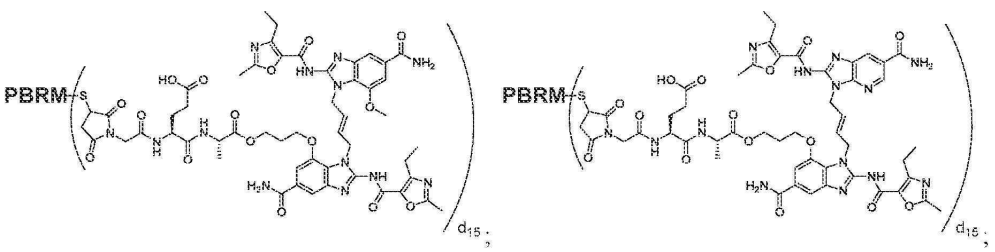


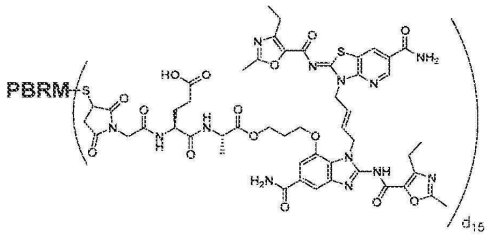
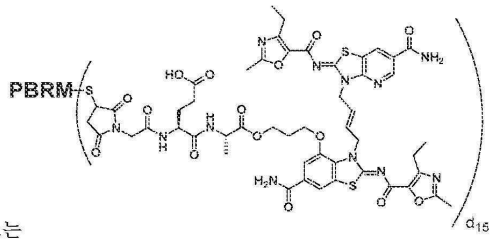
[0711] ;

[0712] 

[0713] 

[0714] 

[0715] 

[0716]  또는  이며; 여기서 d_{15}는 본원에서 정의된 바와 같다.

[0717] 약학 조성물

[0718] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 접합체 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0719] 본 개시내용의 접합체를 함유하는 약학 조성물은 일반적으로 공지된 방식으로, 예를 들면 통상의 혼합, 용해, 과립화, 당의정 제조, 분쇄, 유화, 캡슐화, 포획 또는 동결건조 공정에 의하여 제조될 수 있다. 약학 조성물은 통상의 방식으로 접합체를 약학적으로 사용될 수 있는 제제로 가공하는 것을 촉진하는 부형제 및/또는 보조제를 포함하는 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체를 사용하여 제제화될 수 있다. 물론, 적절한 제제는 선택된 투여의 경로에 의존한다.

[0720] 주사용으로 적절한 약학 조성물은 멸균 주사용 액제 또는 분산액의 임시 제제를 위한 멸균 수성 용액(수용성) 또는 분산액 및 멸균 분말을 포함한다. 정맥내 투여의 경우, 적절한 담체는 생리염수, 정균수, 크레모포르(Cremophor) EL™(바스프(BASF), 미국 뉴저지주 파시패니 소재) 또는 포스페이트 완충 염수(PBS)를 포함한다. 모든 경우에서, 조성물은 멸균되어야 하며, 용이한 주사능이 존재하는 정도로 유체이어야 한다. 이는 제조 및 저장 조건 하에서 안정하여야 하며, 세균 및 진균과 같은 미생물의 오염 작용으로부터 보호되어야 한다. 담체는 예를 들면 물, 에탄올, 폴리올(예를 들면 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적절한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매체일 수 있다. 적절한 유체성은 예를 들면 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의하여, 분산의 경우에서 요구되는 입자 크기의 유지에 의하여 및 계면활성제의 사용에 의하여 유지될 수 있다. 미생물 작용의 방지는 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들면 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의하여 달성될 수 있다. 다수의 경우에서, 조성물 중에 등장화제, 예를 들면 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨 및 소르비톨 및 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사용 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 약제, 예를 들면 모노스테아르산알루미늄 및 젤라틴을 조성물 중에 포함시켜 발생될 수 있다.

[0721] 멸균 주사 액제는 접합체를 적절한 용매 중에서 필요량으로 상기 열거된 성분 중 1종 또는 그의 조합과 혼입한 후, 필요할 경우 여과 살균에 의하여 생성될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 기본 분산 매체 및 상기 열거된 것으로부터의 필수 기타 성분을 함유하는 멸균 비히클에 접합체를 혼입하여 생성된다. 멸균 주사 가능한 액제의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 제조 방법은 미리 멸균 여과된 용액으로부터 활성 성분 + 임의의 추가적인 원하는 성분의 분말을 산출하는 진공 건조 및 냉동 건조이다.

[0722] 경구 조성물은 일반적으로 불활성 희석제 또는 식용 약학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 이는 젤라틴 캡슐에 동봉되거나 또는 정제로 압축될 수 있다. 경구 치료제 투여를 위하여, 접합체는 부형제와 함께 혼입될 수 있으며, 정제, 트로키 또는 캡슐의 형태로 사용될 수 있다. 경구 조성물은 또한 구강청결제로서 사용하기 위하여 유체 담체를 사용하여 생성될 수 있으며, 여기서 유체 담체 중의 접합체는 경구 적용하고, 헹구고, 뱉거나 삼킨다. 약학적으로 적합한 결합제 및/또는 아주번트 물질은 조성물의 일부로서 포함될 수 있다. 정제, 환제, 캡슐, 트로키 등은 유사한 성질의 임의의 하기 성분 또는 화합물을 함유할 수 있다: 결합제, 예컨대 미정질 셀룰로스, 껌 트라가칸트 또는 젤라틴; 부형제, 예컨대 전분 또는 락토스, 붕해제, 예컨대 알긴산, 프리모겔(Primogel) 또는 옥수수 전분; 윤활제, 예컨대 스테아르산마그네슘 또는 스테로테스(Sterotes); 활택제, 예컨대 콜로이드성 이산화규소; 감미제, 예컨대 수크로스 또는 사카린; 또는 풍미제, 예컨대 페퍼민트, 메틸 살리실레이트 또는 오렌지 풍미.

[0723] 흡입에 의한 투여의 경우 접합체는 적절한 추진제, 예를 들면 이산화탄소와 같은 가스 또는 연무제를 함유하는 가압 용기 또는 디스펜서로부터 에어로졸 분무의 형태로 전달된다.

[0724] 전신 투여는 또한 경점막 또는 경피 수단에 의하여 투여될 수 있다. 경점막 또는 경피 투여의 경우, 침투하고자

하는 장벽에 적절한 침투제가 제제에 사용된다. 이러한 침투제는 일반적으로 해당 기술분야에 공지되어 있으며, 예를 들면 경점막 투여의 경우 세제, 담즙산염 및 푸시드산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는 비내 분무제 또는 좌제의 사용을 통하여 이루어질 수 있다. 경피 투여의 경우, 접합체를 해당 기술분야에 일반적으로 공지된 바와 같은 연고, 고약, 겔 또는 크림으로 제제화된다.

[0725] 접합체는 임플란트 및 미세캡슐화 전달 시스템을 포함한 제어 방출 제제와 같이 신체로부터의 신속한 제거에 대하여 접합체를 보호할 약학적으로 허용되는 담체로 제조될 수 있다. 에틸렌 비닐 아세테이트, 다가무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산과 같은 생분해성, 생체적합성 중합체를 사용할 수 있다. 상기 제제의 제조 방법은 해당 기술분야의 기술자에게 맹백할 것이다.

[0726] 투여의 용이성과 투여량의 균일성을 위하여 경구 또는 비경구 조성물을 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 이로울 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이 투여 단위 형태는 치료되는 대상체를 위한 단위 투여로서 적합한 물리적 불연속 단위를 지칭하며, 각각의 단위는 요구되는 약학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산될 수 있다. 본 개시내용의 투여 단위 형태에 대한 세부사항은 접합체의 고유 특성 및 달성하고자 하는 특정 치료 효과에 의존하여 결정되고, 이에 직접적으로 좌우된다.

[0727] 치료적 적용에서, 본 개시내용에 따라 사용되는 약학 조성물의 투여량은 선택된 투여량에 영향을 미치는 기타 요인 중에서 약제, 수혜 환자의 연령, 체중 및 임상적 상태 및 요법을 투여하는 임상의 또는 의사의 경험 및 판단에 의존하여 변동된다. 일반적으로, 투여량은 질환의 증상을 서행 및 바람직하게는 복귀시켜 바람직하게는 질환의 완전한 복귀를 야기하기에 충분하여야 한다.

[0728] 약학 조성물은 투여 설명서와 함께 용기, 팩 또는 디스펜서 내에 포함될 수 있는 것으로 이해한다.

[0729] 사용 방법

[0730] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에게 본원에 개시된 접합체의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 질병의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0731] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에게 본원에 개시된 접합체의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 질병의 치료 방법을 제공한다.

[0732] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에게 본원에 개시된 접합체를 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 스팅의 활성을 활성화 또는 향상시키는 방법을 제공한다.

[0733] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에게 본원에 개시된 접합체의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료 방법에 관한 것이다.

[0734] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 본원에 개시된 접합체를 제공한다.

[0735] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 질병의 치료에 사용하기 위한 본원에 개시된 접합체를 제공한다.

[0736] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 스팅 매개된 질환 또는 질병의 치료를 위한 본원에 개시된 접합체를 제공한다.

[0737] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료를 위한 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0738] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 질병의 치료를 위한 약제의 제조에서 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0739] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 질병의 치료 또는 예방을 위한 약제의 제조에서 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0740] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 스팅 매개된 질환 또는 질병의 치료를 위한 약제의 제조에서 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0741] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료를 위한 약제의 제조에서 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0742] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 질병의 치료 또는 예방을 위한 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0743] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 질병의 치료를 위한 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0744] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 스팅 매개된 질환 또는 질병의 치료를 위한 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0745] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료를 위한 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0746] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 접합체는 대상체에게 투여된다.

[0747] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 본 개시내용의 적어도 1종의 접합체의 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 접합체가 생분해시 1종 이상의 치료제를 방출하는, 상기 대상체에서 질환 또는 질병의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0748] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료를 필요로 하는 대상체에게 본 개시내용의 적어도 1종의 접합체의 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 접합체가 생분해시 1종 이상의 치료제를 방출하는, 상기 대상체에서 질환 또는 질병의 치료 방법을 제공한다.

[0749] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체는 항체-스팅 효능제 접합체이다. 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 암이다.

[0750] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 스팅 매개된 질환 및 질병의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 예시의 질환/질병은 암, 감염 질환(예, HIV, HBV, HCV, HPV 및 인플루엔자) 및 백신 아주번트를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0751] 일부 실시양태에서, 스팅 경로는 효능제, 세포질 핵산에 대한 반응으로 종양 내에서 다수의 세포 유형에서 IFN β 및 인터페론(IFN)-자극된 유전자(ISG)를 상향조절하여 항종양 면역을 유도할 수 있다.

[0752] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 백신 면역증강제로서 사용하기 위한 본원에 개시된 접합체를 제공한다. 그러므로, 본원에 개시된 접합체를 포함하는 면역원 조성물 또는 백신 면역증강제가 제공된다.

[0753] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 접합체 및 하나 이상의 면역자극제를 포함하는 조성물이 제공된다.

[0754] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 백신의 제조에서 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 질환의 치료 또는 예방을 위한 항원 또는 항원 조성물을 포함하는 면역원 조성물 또는 백신 조성물의 제조를 위한 본원에 개시된 접합체의 용도를 제공한다.

[0755] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 질환을 앓고 있거나 또는 앓기 쉬운 사람 대상체에게 항원 또는 항원 조성 및 본원에 개시된 접합체를 포함하는 면역원 조성물 또는 백신 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 질환의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다.

[0756] 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 염증, 자가면역 질환, 알러지 질환, 감염 질환, HIV 감염, AIDS 감염, HCV 감염, 인플루엔자 또는 사람 유두종바이러스(HPV) 감염이다. 질환의 범위는 해당 기술분야의 기술자에 의하여 쉽게 인지될 것이다. 일부 실시양태에서, 이들 질환은 PCT 출원 번호 PCT/US2020/044538에 기재된 바와 같으며, 그의 내용은 본원에 그 전문이 참조로 포함된다.

[0757] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "암", "신생물" 및 "종양"은 번갈아 사용되며, 단수형 또는 복수형으로 숙주 유기체에서 병리학적 상태가 되게 하는 악성 세포 전환을 겪은 세포를 지칭한다. 원발성 암 세포는 널리 확립된 기술, 특히 조직학적 검사에 의하여 비암성 세포와 쉽게 구별될 수 있다. 암 세포의 정의는 본원에 사용된 바와 같이 원발성 암 세포뿐 아니라, 암 세포 선조로부터 유래하는 임의의 세포를 포함한다. 이는 전이된 암 세포 및, 암 세포로부터 유래된 시험관내 배양물 및 세포주를 포함한다. 통상적으로 고체 종양으로서 나타나는 암의 유형의 지칭시, "임상적으로 검출 가능한" 종양은 종양 질량을 기준으로 하여 예를 들면 컴퓨터 단층촬영술(CT) 스캔, 자기 공명 영상화(MRI), X선, 초음파 또는 신체 검사에서의 촉진과 같은 시술에 의하여 검출 가능하며 및/또는 환자로부터 얻을 수 있는 샘플 중의 하나 이상의 암 특이성 항원의 발현으로 인하여 검출 가능한 것이다. 종양은 혈액형성(또는 혈액 또는 혈액학적 또는 혈액 관련) 암, 예를 들면 "액체 종양"으로 지칭될 수 있는 혈

액 세포 또는 면역 세포로부터 유래된 암일 수 있다. 혈액 종양에 기초한 임상적 병태의 구체적인 예는 백혈병, 예컨대 만성 골수성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병 및 급성 림프구성 백혈병; 형질 세포 악성종양, 예컨대 다발성 골수종, MGUS 및 발덴스트룀 마크로글로불린혈증; 림프종, 예컨대 비호지킨 림프종, 호지킨 림프종 등을 포함한다.

[0758] 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 전암성 증후군이다.

[0759] 본 개시내용의 접합체는 근골격 염증, 혈관 염증, 신경 염증, 소화계 염증, 안구 염증, 생식계의 염증 및 기타 염증을 포함한, 신체의 임의의 조직 및 기관의 염증을 치료하는데 사용될 수 있다. 질환의 범주는 해당 기술분야의 기술자에 의하여 쉽게 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 이들 질환은 PCT 출원 번호 PCT/US2020/044538에 기재된 바와 같으며, 그의 내용은 본원에 참조로 그 전문이 포함된다.

[0760] 본 개시내용의 접합체가 잠재적으로 유익한 항종양 효과를 가질 수 있는 암 질환 및 병태의 예는 폐, 골, 췌장, 피부, 뇌, 목, 자궁, 난소, 위, 결장, 유방, 식도, 담관, 소장, 장, 내분비계, 갑상선, 부갑상선, 부신, 요도, 전립선, 음경, 고환, 요관 또는 요로상피, 방광, 신장 또는 간의 암; 직장암; 항문 영역의 암; 자궁관, 자궁내막, 자궁경부, 질, 외음, 신우, 신장 세포의 암종; 연조직의 육종; 점액종; 횡문근종; 섬유종; 지방종; 기형종; 담관암종; 간모세포종; 혈관육종; 혈관종; 간암; 섬유육종; 연골육종; 골수종; 만성 또는 급성 백혈병; 림프구성 림프종; 원발성 CNS 림프종; CNS의 신생물; 척추 종양; 편평세포 암종; 윤활막 육종; 악성 중피종; 뇌간 교종; 뇌하수체 선종; 기관지 선종; 연골종 과오종; 중피종; 호지킨병 또는 상기 암 중 하나 이상의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0761] 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 고형 종양이다. 한 구체예에서, 종양은 두경부암, 위암, 흑색종, 신세포암종(RCC), 식도암, 담도암, 비소세포 폐 암종(NSCLC), 전립선암, 결장직장암(CRC), 결장암, 난소암, 자궁내막암, 요로상피세포암, 자궁경부암, 방광암, 유두상 갑상선암, 유두형 신세포암, 담관암종, 타액관암, 신장암, 자궁경부암 및 췌장암으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 사람은 액체 종양, 예컨대 미만성 거대 B세포 림프종(DLBCL), 다발성 골수종, 만성 림프모세포성 백혈병(CLL), 소포 림프종, 급성 골수성 백혈병 및 만성 골수성 백혈병을 갖는다. 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 피부암(예, 비흑색종 피부암, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종) 또는 광선 각화증이다. 표재성 피부암을 제거하기 위한 장(field) 효과 이외에, 본 개시내용의 접합체는 치료된 대상체에서 후속 피부암 및 전암성 광선 각화증의 발생을 방지할 수 있다.

[0762] 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 방광암, 유방암, 결장직장암, 결장암, 자궁내막암, 위암, 식도암, 담도암, 요로상피세포암, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비소세포 폐암, 난소암 또는 췌장암이다. 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 유방암, 위암, 결장직장암, 결장암, 식도암, 담도암, 자궁내막암, 요로상피세포암 또는 비소세포 폐암이다.

[0763] 일부 실시양태에서, 유방암은 HER2 증폭/과발현된 유방암 또는 HER2 저 발현 유방암이다.

[0764] 일부 실시양태에서, 자궁내막암은 장액 자궁내막암이다.

[0765] 본 개시내용의 접합체는 또한 혈관신생 및/또는 혈관 투과인자와 관련된 질환, 섬유화성 질환 및 대사 질환의 분야에서 세포 증식을 특징으로 하는 포유동물이 앓고 있는 하나 이상의 질환의 치료에 유용할 수 있다. 그러한 질환의 범주는 해당 기술분야의 기술자가 쉽게 인지할 것이다. 일부 실시양태에서, 그러한 질환은 PCT 출원 번호 PCT/US2020/044538에 기재된 바와 같으며, 그의 내용은 본원에 그 전문이 참조로 포함된다.

[0766] 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 신경변성 질환이다. 예시의 신경변성 질환은 다발성 경화증, 헌팅톤병, 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축 측삭 경화증(ALS)을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 질환의 범주는 해당 기술분야의 기술자가 쉽게 인지할 것이다. 일부 실시양태에서, 이들 질환은 U.S. 가출원 번호 62/882,081, 62/944,643 및 62/982,935에 기재된 바와 같으며, 그의 내용은 본원에 그 전문이 참조로 포함된다.

[0767] 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 병원체로부터, 세균으로부터 유래된, DNA 바이러스 패밀리 또는 RNA 바이러스 패밀리로부터 유래된 감염에 의하여 유발되거나 또는 이와 동시에 발생하는 임의의 질환인 감염 질환이다. 질환의 범주는 해당 기술분야의 기술자가 쉽게 인지할 것이다. 일부 실시양태에서, 이들 질환은 PCT 출원 번호 PCT/US2020/044538에 기재된 바와 같으며, 그의 내용은 본원에 그 전문이 참조로 포함된다.

[0768] 본 개시내용의 접합체는 단독으로 사용될 수 있거나 또는 기타 치료제와 조합하여 사용될 수 있다. 면역 반응의 조정제로서, 본 개시내용의 접합체는 또한 스팅의 조정이 이로운 질환 및 병태의 치료에서 단일요법으로 사용될 수 있거나 또는 또 다른 치료제와 조합하여 사용될 수 있다. 그리하여 본 개시내용에 따른 조합 요법은 본 개시

내용의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 및 적어도 1종의 기타 치료적 활성제의 투여를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용에 따른 조합 요법은 본 개시내용의 적어도 1종의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 및 적어도 1종의 기타 치료제의 투여를 포함한다. 본 개시내용의 접합체(들) 및 그의 약학적으로 허용되는 염 및 기타 치료제(들)는 단일 약학 조성물 중에 함께 또는 별도로 투여될 수 있으며, 별도 투여시 이는 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 발생될 수 있다. 본 개시내용의 접합체(들) 및 그의 약학적으로 허용되는 염 및 기타 치료제(들)의 양 및 투여의 상대적 타이밍은 원하는 조합된 치료 효과를 달성하기 위하여 선택될 것이다. 그래서, 추가의 구체예에서, 본 개시내용의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 하나 이상의 기타 치료제와 함께 포함하는 조합이 제공된다.

[0769] 본 개시내용의 접합체 및 그의 약학적으로 허용되는 염은 예를 들면 알러지 질환, 염증성 질환 또는 자가면역 질환의 예방 또는 치료에 유용할 수 있는 하나 이상의 기타 치료제; 항원 면역요법, 항히스타민, 스테로이드, NSAID, 기관지확장제, 메토트렉세이트, 류코트리엔 조정제, 모노클로날 항체 요법, 수용체 요법 또는 항원 비특이성 면역요법과 조합하여 사용될 수 있다.

[0770] 본 개시내용의 접합체 및 그의 약학적으로 허용되는 염은 암 및 전암성 증후군의 치료에 유용할 수 있는 방사선 요법 및/또는 수술 및/또는 적어도 1종의 기타 치료제와 조합하여 사용될 수 있다. 임의의 항신생물제, 미세소관 저해제, 항유사분열제, 호르몬, 호르몬 유사체 신호 전달 경로 억제제, 단백질 티로신 키나제 또는 항혈관형성 치료제는 조합되어 사용될 수 있다. 기타 치료제의 범주는 해당 기술분야의 기술자가 쉽게 인지할 것이다. 일부 실시양태에서, 기타 치료제는 PCT 출원 번호 PCT/US2020/044538에 기재된 바와 같으며, 그의 내용은 본원에 그 전문이 참조로 포함된다.

[0771] 면역치료 요법에 사용되는 약제, 프로아폽토틱 요법에 사용되는 치료제 또는 세포 주기 신호 억제제도 또한 본 개시내용의 접합체와 조합하여 유용할 것이다.

[0772] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조합은 본 개시내용의 접합체 또는 그의 염, 특히 약학적으로 허용되는 염 및 적어도 1종의 항신생물제, 미세소관 저해제, 항유사분열제, 호르몬, 호르몬 유사체 신호 전달 경로 억제제, 단백질 티로신 키나제 또는 항혈관형성 치료제 또는 그의 조합을 포함한다.

[0773] 본 개시내용의 접합체 또는 그의 약학적으로 허용되는 염과 조합하여 사용되거나 또는 동시투여하기 위한 기타 치료제(예, 항신생물제)의 또 다른 예는 면역조정제이다.

[0774] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조합은 본 개시내용의 접합체 또는 그의 염, 특히 약학적으로 허용되는 염 및 적어도 1종의 면역조정제 또는 적어도 1종의 면역자극제를 포함한다.

[0775] 본원에 사용된 바와 같이 "면역조정제"는 면역계에 영향을 미치는 모노클로날 항체를 포함한 임의의 물질을 지칭한다. 면역조정제는 암 치료를 위한 항신생물제로서 사용될 수 있다. 예를 들면, 면역조정제는 항CTLA-4 항체 및 항PD-1 항체를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 기타 면역조정제는 ICOS 항체, OX-40 항체, PD-L1 항체, LAG3 항체, TIM-3 항체, 41BB 항체 및 GITR 항체를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0776] 본 개시내용의 접합체와 조합하여 사용하거나 또는 동시투여하기 위한 기타 치료제(항신생물제)의 추가적인 예는 항PD-L1제(즉, 항PD-L1 항체) 또는 PD-1 길항제이다.

[0777] 그래서, 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체 또는 그의 염 및 적어도 1종의 면역조정제를 투여하는 것을 포함하는, 치료를 필요로 하는 사람의 치료 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 면역조정제는 ICOS 효능제 항체, OX-40 항체 및 PD-1 항체로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 사람은 암을 갖는다. 또한, 본원에는 치료를 필요로 하는 사람의 치료를 위한 적어도 1종의 면역조정제와 조합한 본 개시내용의 접합체 또는 그의 염의 용도가 제공된다.

[0778] 본원에 사용된 바와 같이 "면역자극제"는 면역계를 자극할 수 있는 임의의 약제를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이 면역자극제는 백신 면역증강제, 예컨대 톨 유사 수용체 효능제, T-세포 관문 억제제, 예컨대 PD-1 및 CTL4에 대한 mAb 및 T-세포 관문 효능제, 예컨대 OX-40 및 ICOS에 대한 효능제 mAb를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 본원에 사용된 바와 같이 "면역자극제"는 면역계를 자극할 수 있는 임의의 약제를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이 면역자극제는 백신 면역증강제를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0779] 용어 "톨 유사 수용체"(또는 "TLR")는 본원에 사용된 바와 같이 미생물 생성물을 감지하며 및/또는 적응 면역 반응을 개시하는 단백질 또는 그의 단편의 톨 유사 수용체 패밀리의 구성원을 지칭한다. 일부 실시양태에서, TLR은 수지상 세포(DC)를 활성화시킨다. 톨 유사 수용체(TLR)는 미생물 병원체를 인지하는 선천 면역계의 센서

로서 초기에 식별되었던 패턴 인지 수용체의 패밀리이다. TLR은 "PAMP"(병원체 연관 분자 패턴)로 종종 지칭되는 미생물에서의 뚜렷한 구조를 인지한다. TLR에 결합되는 리간드는 염증 및 면역에 수반되는 인자의 생성을 유발하는 세포내 신호 경로의 캐스케이드를 야기한다.

[0780] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체와 조합하여 사용하기 위한 면역자극제는 TLR4 효능제이다.

[0781] 그래서, 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체 또는 그의 염 및 적어도 1종의 면역자극제를 투여하는 것을 포함하는, 치료를 필요로 하는 사람의 치료 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 면역자극제는 TLR4 효능제이다. 일부 실시양태에서, 면역자극제는 AGP이다. 일부 실시양태에서, 사람은 암을 갖는다. 또한, 본원에는 치료를 필요로 하는 사람의 치료를 위한 적어도 1종의 면역자극제와 조합하여 본 개시내용의 접합체 또는 그의 염의 용도가 제공된다.

[0782] 상기 기재된 면역자극제 이외에, 본 개시내용의 조성물은 그의 아주번트 성질로 인하여 불활성화된 종양 세포(들) 상에 존재하는 암 항원에 반응하는 면역계를 자극시키는 역할을 할 수 있는 기타 치료제를 추가로 포함할 수 있다. 그러한 아주번트는 지질, 리포좀, 선천 면역을 유발할 수 있는 불활성화된 세균(예, 불활성화된 또는 약독화 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)), (NOD) 유사 수용체(NLR), 레티노산 유도 유전자계(RIG)-I 유사 수용체(RLR) 및/또는 C형 렉틴 수용체(CLR)를 경유하여 선천 면역 활성화를 매개하는 조성물을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0783] 아주번트 품질로 인하여 TLR 효능제는 기타 백신, 아주번트 및/또는 면역 조정제와 조합하여 사용될 수 있으며, 다양한 조합으로 조합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체는 스팅에 결합되며, 스팅 의존성 TBKI 활성화를 유발하며, 본원에 기재된 바와 같이 DC 유도, 동원 및/또는 성숙을 자극하는 하나 이상의 시토킨을 발현 및 분비하는 불활성화된 종양 세포는 치료 목적을 위하여 하나 이상의 TLR 효능제와 함께 투여될 수 있다.

[0784] 본 개시내용의 접합체와 조합하여 사용하기 위하여 또는 함께 동시투여되는 추가의 활성 성분(항신생물제)은 IDO 억제제이다.

[0785] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 접합체는 감염 질환 세균 감염, 바이러스 감염, 카포시 육종 관련 헤르페스 바이러스 감염, TB 감염, 클라미디아, 말라리아원충 감염, 포도구균 감염, 근위축 측삭 경화증(ALS), 다발성 경화증, 전신 홍반 루푸스 및 관련 루프스 장애, 건선 또는 쇼그렌 증후군의 예방 또는 치료에 유용한 적어도 1종의 기타 치료제와 조합하여 사용될 수 있다.

[0786] 본 개시내용의 접합체는 전신 투여 및 국소 투여 둘다를 포함한 투여의 임의의 적절한 경로에 의하여 투여될 수 있다. 전신 투여는 경구 투여, 비경구 투여, 경피 투여, 직장 투여 및 흡입에 의한 투여를 포함한다. 비경구 투여는 장관, 경피 또는 흡입에 의한 것을 제외한 투여의 경로를 지칭하며, 통상적으로 주사 또는 주입에 의한 것이다. 비경구 투여는 정맥내, 근육내 및 피하 주사 또는 주입을 포함한다. 흡입은 입을 통하여 또는 비강을 통하여 흡입하든 환자의 폐로의 투여를 지칭한다. 국소 투여는 피부로의 도포를 포함한다.

[0787] 종양학의 치료에 적절한 투여의 상기 기재된 경로 이외에, 약학 조성물은 종양내 또는 종양주위 주사에 의한 투여를 위하여 조정될 수 있다. 단일의 고형 종양에 직접 또는 이에 인접하게 본 개시내용의 접합체의 종양내 또는 종양주위 주사는 신체 전체에 암 세포를 공격 및 파괴할 수 있는 면역 반응을 유도하여 질환을 앓고 있는 대상체로부터의 종양을 실질적으로 감소시키고, 일부 경우에서는 영구적으로 종양을 제거하는 것으로 예상된다. 종양을 원위의 부위에서 사멸시키기 위하여 이와 같은 방식의 면역계의 활성화는 압스코팔 효과로서 통상적으로 공지되어 있으며, 동물에서 복수의 치료 양식을 사용하여 입증되었다. 국소 또는 종양내 또는 종양주위 투여의 추가의 잇점은 훨씬 더 적은 투여량에서 등가의 효능을 달성하여 훨씬 더 큰 전신 투여량에서 관찰될 수 있는 유해 사례를 최소화 또는 제거하는 능력이다.

[0788] 본 개시내용의 접합체는 1회 투여될 수 있거나 또는 주어진 시간 기간 동안 변경되는 시간 간격에서 다수의 투여로 투여되는 투여 섭생에 따라 투여될 수 있다. 예를 들면, 투여는 1일 1, 2, 3 또는 4회 투여될 수 있다. 투여는 원하는 치료적 효과가 달성될 때까지 또는 원하는 치료적 효과를 유지하기 위하여 무기한으로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 접합체에 적절한 투여 섭생은 기술자에 의하여 결정될 수 있는 접합체의 약물동태학적 특성, 예컨대 흡수, 분포 및 반감기에 의존한다. 게다가, 본 개시내용의 접합체에 대하여 투여 섭생이 투여되는 기간을 포함한 적절한 투여 섭생은 치료되는 질환 또는 질병, 치료되는 질환 또는 질병의 경중도, 치료되는 환자의 연령 및 신체적 상태, 치료되는 환자의 의학적 이력, 병행 치료의 성질, 원하는 치료적 효과 및 기술자의 지식 및 의견 내의 유사 요인에 의존한다. 기술자는 적절한 투여 섭생이 투여 섭생에 대한 개개의 환자의 반응

을 고려하거나 또는 개개의 환자가 변경을 필요로 하는 바에 따라 시간 경과에 대하여 조절이 요구될 수 있다는 것을 추가로 이해할 것이다. 1일 총 투여량 범위는 1 ㎎ 내지 2,000 ㎎ 범위 내이며, 바람직하게는 1일 총 투여량은 1 ㎎ 내지 250 ㎎ 범위 내이다.

[0789] 요법에 사용하기 위하여, 본 개시내용의 접합체는 통상적으로 환자에게 투여 전 약학 조성물로 제제화될 것이지만, 반드시 그러한 것은 아니다. 따라서, 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 접합체 및 적어도 1종의 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0790] 본 개시내용의 약학 조성물은 벌크 형태로 또는 단위 투여 형태로 제조 및 포장될 수 있다. 경구 적용예의 경우, 예를 들면 하나 이상의 정제 또는 캡슐이 투여될 수 있다. 약학 조성물의 투여량은 적어도 본 개시내용의 접합체(즉, 본 개시내용의 접합체 또는 그의 염, 특히 약학적으로 허용되는 염)의 치료적 유효량을 함유한다. 단위 투여 형태로 제조시, 약학 조성물은 1 ㎎ 내지 1,000 ㎎의 본 개시내용의 접합체를 함유할 수 있다.

[0791] 본원에 제공된 바와 같이, 1 ㎎ 내지 1,000 ㎎의 본 개시내용의 접합체를 포함하는 단위 투여 형태(약학 조성물)는 스팅 매개된 질환 또는 질병의 치료를 실시하기 위하여 1일 1, 2, 3 또는 4회, 바람직하게는 1일 1, 2 또는 3회, 더욱 바람직하게는 1일 1 또는 2회 투여될 수 있다.

[0792] 본 개시내용의 약학 조성물은 통상적으로 본 개시내용의 1종의 접합체를 함유한다. 그러나, 특정한 실시양태에서, 본 개시내용의 약학 조성물은 본 개시내용의 1종 초과의 접합체를 함유한다. 게다가, 본 개시내용의 약학 조성물은 임의로 하나 이상의 추가적인 치료제(예, 약학적 활성 접합체)를 추가로 포함할 수 있다.

[0793] 본원에 사용된 바와 같이, "약학적으로 허용되는 부형제"는 약학 조성물에 형태 또는 일관성을 부여하는 것에 수반되는 약학적으로 허용되는 물질, 조성물 또는 비히클을 지칭하며, 각각의 부형제는 환자에게 투여시 본 개시내용의 접합체의 효능을 실질적으로 감소시키는 상호작용 및, 약학적으로 허용되지 않는 약학 조성물을 초래하는 상호작용을 방지하도록 혼합시 약학 조성물의 기타 성분과 적합성을 가져야 한다. 게다가, 각각의 부형제는 물론 약학적으로 허용되게 하기에 충분히 높은 순도를 가져야만 한다.

[0794] 본 개시내용의 접합체 및 약학적으로 허용되는 부형제 또는 부형제는 통상적으로 투여의 원하는 경로에 의하여 환자에게 투여를 위하여 변형된 투여 형태로 제제화될 것이다. 통상적인 투여 형태는 (1) 경구 투여를 위하여 조정된 것, 예컨대 정제, 캡슐, 캐플렛, 환제, 트로키, 분말, 시럽, 엘릭시르, 현탁액, 액제, 에멀젼, 사셰제; (2) 비경구 투여를 위하여 조정된 것, 예컨대 재구성을 위한 멸균 액제, 현탁액 및 분말; (3) 경피 투여를 위하여 조정된 것, 예컨대 경피 패치; (4) 직장 투여를 위하여 조정된 것, 예컨대 좌제; (5) 흡입을 위하여 조정된 것, 예컨대 에어로졸 및 액제; 및 (6) 국소 투여를 위하여 조정된 것, 예컨대 크림, 연고, 로션, 액제, 페이스트, 스프레이, 포옴 및 겔을 포함한다.

[0795] 적절한 약학적으로 허용되는 부형제는 선택된 특정한 투여 형태에 의존하여 변경될 것이다. 게다가, 적절한 약학적으로 허용되는 부형제는 조성물 중에 작용할 수 있는 특정한 작용을 위하여 선택될 수 있다. 예를 들면, 특정한 약학적으로 허용되는 부형제는 균일한 투여 형태의 제조를 용이하게 하는 그의 능력을 위하여 선택될 수 있다. 특정한 약학적으로 허용되는 부형제는 안정한 투여 형태의 제조를 용이하게 하는 그의 능력을 위하여 선택될 수 있다. 특정한 약학적으로 허용되는 부형제는 일단 환자에게 투여된 본 개시내용의 접합체 또는 접합체들을 하나의 기관 또는 신체의 일부로부터 또 다른 기관 또는 신체의 일부에 운반 또는 수송하는 것을 쉽게할 수 있는 그의 능력을 위하여 선택될 수 있다. 특정한 약학적으로 허용되는 부형제는 환자 순응성을 향상시키는 그의 능력을 위하여 선택될 수 있다.

[0796] 적절한 약학적으로 허용되는 부형제는 하기 유형의 부형제를 포함한다: 희석제, 충전제, 결합제, 붕해제, 윤활제, 활택제, 과립화제, 코팅제, 습윤화제, 용매, 공용매, 현탁제, 유화제, 감미제, 풍미제, 풍미 차폐제, 착색제, 고결방지제, 습윤제, 킬레이트화제, 가소제, 점도 증가제, 산화방지제, 방부제, 안정화제, 계면활성제 및 완충제. 기술자는 특정한 약학적으로 허용되는 부형제가 1종 초과의 작용을 제공할 수 있으며, 제제 중에 얼마나 많은 부형제가 존재하는지 및 어떤 기타 성분이 제제 중에 존재하는지에 의존하여 대안의 작용을 제공할 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0797] 기술자는 적절한 약학적으로 허용되는 부형제를 본 개시내용에 사용하기에 적절한 양을 선택할 수 있게 하는 해당 기술분야의 지식 및 기술을 갖는다. 게다가, 약학적으로 허용되는 부형제를 설명하며, 적절한 약학적으로 허용되는 부형제를 선택하는데 있어서 유용할 수 있는 기술자가 이용 가능한 다수의 재료가 존재한다. 그의 예는 문헌[*Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Publishing Company)], [*The Handbook of Pharmaceutical Additives* (Gower Publishing Limited)] 및 [*The Handbook of Pharmaceutical Excipients* (the American

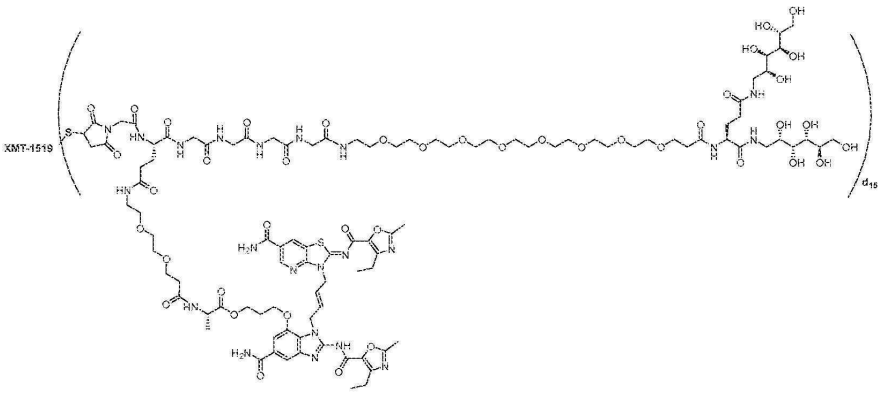
Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press)]을 포함한다.

[0798] 한 구체예에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 접합체의 유효량 및 희석제 또는 충전제를 포함하는 고체 경구 투여 형태, 예컨대 정제 또는 캡슐에 관한 것이다. 경구 고체 투여 형태는 붕해제 또는 윤활제를 추가로 포함할 수 있다.

[0799] 본 개시내용의 접합체는 또한 그의 활성을 조정하기 위하여 아주번트로서 백신과 함께 제제화될 수 있는 것으로 이해될 것이다. 그러한 조성물은 임의로 아주번트 활성을 갖는 하나 이상의 기타 성분과 함께 항체(항체들) 또는 항체 단편(들) 또는 항원성 성분을 함유할 수 있다.

[0800] 본 개시내용의 특정한 화합물 및/또는 접합체는 효력 있는 면역조정제일 수 있으므로, 그의 취급에 주의를 기울여야 한다. 본 개시내용을 기재하였으며, 하기 실시예는 제한이 아니라 예시를 위하여 제공한다.

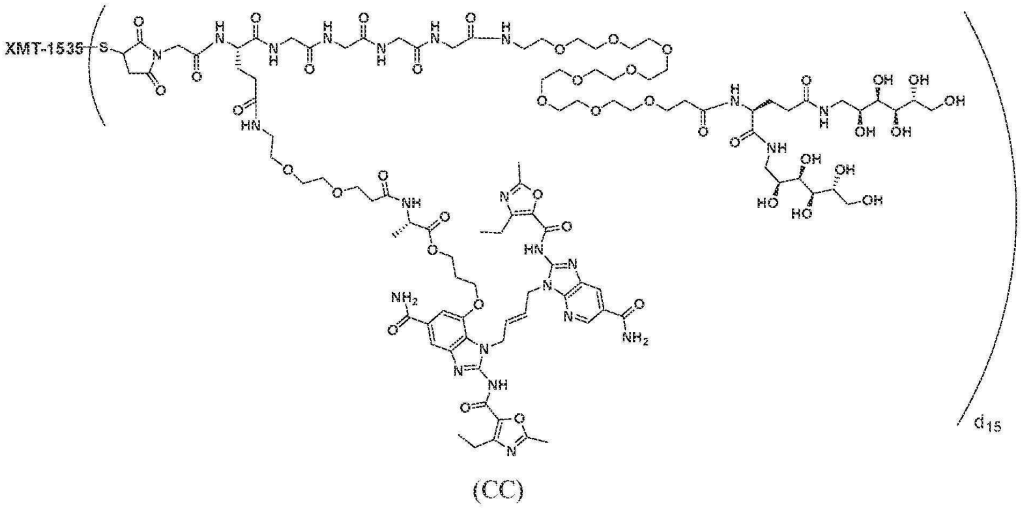
[0801] 일부 실시양태에서, 접합체는 하기 화학식 BB이다:



[0802] (BB)

[0803] 여기서, 접합체는 아미노산 서열 FTFSSYSMN(서열 번호 20)을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDRH1); 아미노산 서열 YISSSSSTIYYADSVKG(서열 번호 21)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDRH2); 아미노산 서열 GGHGYFDL(서열 번호 22)을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDRH3); 및 아미노산 서열 RASQSVSSSYLA(서열 번호 27)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDRL1); 아미노산 서열 GASSRAT(서열 번호 28)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDRL2); 및 아미노산 서열 QQYHHSPLT(서열 번호 29)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDRL3)을 포함하는 XMT-1519 항체를 포함하며, d_{15}는 약 8이다.

[0804] 일부 실시양태에서, 접합체는 하기 화학식 CC이다:



[0805] (CC)

[0806] 여기서, 접합체는 아미노산 서열 GYTFTGYNIH(서열 번호 5)를 포함하는 CDRH1; 아미노산 서열 AIYPGNGDTSYKQKFRG(서열 번호 6)를 포함하는 CDRH2; 아미노산 서열 GETARATFAY(서열 번호 7)를 포함하는 CDRH3; 아미노산 서열 SASQDIGNFLN(서열 번호 8)을 포함하는 CDRL1; 아미노산 서열 YTSSLYS(서열 번호 9)를 포함하는 CDRL2; 아미노산 서열 QQYSKLPLT(서열 번호 10)를 포함하는 CDRL3을 포함하는 XMT-1535 항체를

포함하며, d_{15}는 약 8이다.

[0807] 일부 실시양태에서, 화학식 BB 또는 화학식 CC의 접합체는 치료를 필요로 하는 대상체에게 화학식 BB 또는 화학식 CC의 접합체의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 질환 또는 질병의 치료에 유용하다. 일부 실시양태에서, 질환 또는 질병은 암이다.

[0808] 일부 실시양태에서, 화학식 BB의 접합체의 경우 암은 유방암, 위암, 결장직장암, 식도암, 담도암, 자궁내막암, 요로상피세포암 또는 비소세포 폐암이다. 일부 실시양태에서, 유방암은 HER2 증폭/과발현된 유방암 또는 HER2 저 발현 유방암이다. 일부 실시양태에서, 자궁내막암은 장액 자궁내막암이다.

[0809] 일부 실시양태에서, 화학식 CC의 접합체의 경우 치료를 필요로 하는 대상체에서 NaPi2b 발현 종양의 치료에 유용하다. 일부 실시양태에서, NaPi2b 발현 종양은 난소암, 비소세포 폐암(NSCLC), 유두상 갑상선암, 자궁내막암, 담관암종, 유두형 신세포암, 투명 세포 신장암, 유방암, 신장암, 자궁경부암 또는 타액관암이다.

[0810] 일부 실시양태에서, 대상체는 상피 난소암, 난관암, 원발성 복막암, 백금 저항성 난소암, 비편평 NSCLC 암, 진행성, 방사성 요오드-치료저항성, 구역 재발 또는 전이성 질환 유두상 갑상선암 또는 상피 자궁내막암을 갖는다.

[0811] 일부 실시양태에서, 화학식 BB의 접합체는 치료를 필요로 하는 대상체에게 하나 이상의 치료제와 조합하여 화학식 BB의 접합체의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 질환 또는 질병의 치료에 유용하다. 일부 실시양태에서, 치료제는 면역조정제 또는 면역자극제이다. 일부 실시양태에서, 면역조정제는 항-CTLA-4 항체, 항PD-1 항체, ICOS 항체, OX-40 항체, PD-L1 항체, LAG3 항체, TIM-3 항체, 41BB 항체 또는 GITR 항체이다.

[0812] 일부 실시양태에서, 화학식 BB의 접합체는 치료를 필요로 하는 대상체에게 HER2 항체 XMT-1519보다는 HER2의 상이한 에피토프에 결합되는 하나 이상의 HER2 항체와 조합되어 화학식 BB의 접합체의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 질환 또는 질병의 치료에 유용하다. 일부 실시양태에서, HER2 항체 XMT-1519보다는 상이한 HER2에 결합되는 HER2 항체는 트라스투주맙, 페르투주맙, Fab37 또는 chA21이다.

[0813] 실시예

[0814] 하기 실시예는 본 개시내용을 예시한다. 이들 실시예는 본 개시내용의 범주를 제한하지 않지만, 본 개시내용의 화합물, 조성물 및 방법을 제조 및 사용하기 위하여 기술자에게 안내를 제공하기 위한 것이다. 본 개시내용의 특정한 실시양태를 기재하면서, 기술자는 본 개시내용의 정신 및 범주로부터 벗어남이 없이 다양한 변경예 및 수정예가 이루어질 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0815] 본 개시내용의 특정한 화합물은 효력 있는 면역조정제일 수 있으며, 따라서 그의 취급에 주의를 기울여야 하는 것으로 이해될 것이다.

[0816] 본원에 기재된 반응은 본원에서 정의된 바와 같이 각종 상이한 치환기(예, R^1, R^2 등)를 갖는 본 개시내용의 화합물을 제조하는데 이용 가능하다. 기술자는 특정한 치환기가 본원에 기재된 합성 방법과 적합성을 갖지 않을 경우 치환기는 반응 조건에 안정한 적절한 보호기로 보호될 수 있는 것으로 이해될 것이다. 적절한 보호기 및, 적절한 보호기를 사용한 상이한 치환기의 보호 및 탈보호 방법은 해당 기술분야의 기술자에게 널리 공지되어 있으며, 그의 예는 문헌[T. W. Greene '*Protective Groups in Organic Synthesis*' (4th edition, J. Wiley and Sons, 2006)]에서 찾아볼 수 있다. 달리 나타내지 않는다면, 모든 출발 물질은 상업적 공급처로부터 입수하였으며, 추가로 정제하지 않고 사용하였다.

[0817] 약어

[0818] 하기 약어를 하기의 반응식 및 합성예에 사용한다. 유기 합성의 기술분야의 기술자가 쉽게 이해하는 추가적인 표준 약어는 또한 합성 반응식 및 실시예에 사용될 수 있으므로 이러한 리스트는 본원에서 사용된 약어의 모두를 포함하는 리스트를 의미하지는 않는다.

[0819] ACN: 아세토니트릴

[0820] CDI: 1,1'-카르보닐디이미다졸

[0821] DCC: N,N'-디시클로헥실카르보디이미드

[0822] DCM: 디클로로메탄

[0823] DIPEA: N,N-디이소프로필에틸아민

[0824] DMA: 디메틸아세트아미드

[0825] DMF: 디메틸포름아미드

[0826] DMPA 디메틸올프로피온산

[0827] ESI: 전기분무 이온화

[0828] HATU: 2-(1H-7-아자벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄

[0829] 헥사플루오르포스페이트

[0830] HIC: 소수성 상호작용 크로마토그래피

[0831] HOBt: 히드록시벤조트리아졸

[0832] HPLC: 고압 액체 크로마토그래피

[0833] MeOH: 메탄올

[0834] SEC: 크기 배제 크로마토그래피

[0835] TFA: 트리플루오로아세트산

[0836] THF: 테트라히드로푸란

[0837] PyBOP: (벤조트리아졸-1-일옥시)트리피롤리디노포스포늄

[0838] 헥사플루오로포스페이트

[0839] 일반적인 정보

[0840] 모든 시약은 달리 명시하지 않는다면 관련 공급업자로부터 구입하였다.

[0841] 디ABZI 스팅 효능제는 문헌[Ramanjulu et al., *Nature*, 564(7736):439-443 (2018)]에 기재된 바와 같이 생성하였다.

[0842] XMT-1535(항NaPi2b 항체)는 2017년 3월 13일자로 출원된 동시계류 중인 출원 US 15/457,574에 개시되어 있으며, 그의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. XMT-1519(항Her2 항체)는 2017년 1월 31일자로 발행된 US 9,555,112 및 2017년 8월 22일자로 발행된 US 9,738,720에 개시되어 있으며, 그의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0843] XMT-1535 AF-HPA ADC, DAR 5.9 및 리툭시맙 AF-HPA ADC, DAR 5.5는 2020년 1월 9일자로 출원된 동시계류 중인 출원 US 62/958,916 및 2020년 6월 18일자로 출원된 US 63/040,735에 기재된 바와 같이 생성하였으며, 그의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0844] HPLC 정제는 페노메넥스 제미니(Phenomenex Gemini) 5 ㎛ C18 110 Å, 250×10 ㎜, 반정제용 컬럼 상에서 수행하였다.

[0845] 적용 가능할 경우 접합체의 약물 함유량은 약물 함유량의 정량적 측정을 위하여 수행된 바와 같은 분광광도적으로, 달리 RP-HPLC 또는 LC/MS로 측정하였다.

[0846] 항체-약물 접합체의 단백질 함유량은 분광광도적으로 또는 ELISA에 의하여 측정하였다.

[0847] 항체-약물 접합체, 약물 담지 스캐폴드 또는 항체 스캐폴드를 필요할 경우 광범위 정용여과, CHT 크로마토그래피 또는 HIC에 의하여 정제하였다(즉, 잔류 미반응 약물, 접합되지 않은 항체, 효소 또는 출발 물질의 제거). 필요할 경우, SEC 또는 HIC에 의한 추가적인 정제를 실시하여 응집된 항체-약물 접합체를 제거하였다. 일반적으로, 항체-약물 접합체는 정제된 상태로 SEC에 의하여 측정시 <5%(w/w)(예, <2%(w/w)) 응집된 항체-약물 접합체; RP-HPLC 및/또는 LC-MS/MS에 의하여 측정시 <0.5%(w/w)(예, <0.1%(w/w)) 유리(접합되지 않은) 약물; SEC 및/또는 RP-HPLC에 의하여 측정시 <1%(w/w)의 유리 약물 접합체; 및 HIC-HPLC 및/또는 RP-HPLC에 의하여 측정시 <10%(w/w)(예, <1%(w/w)) 접합되지 않은 항체 또는 항체 단편을 함유하였다. 환원된 또는 부분적으로 환원된 항

체는 문헌에 기재된 절차를 사용하여 생성하였으며, 예를 들면 문헌[Francisco et al., *Blood* 102(4): 1458-1465(2003)]을 참조한다. 총 약물(접합된 및 접합되지 않은) 농도는 UV-Vis 분광광도 또는 RP-HPLC에 의하여 측정하였다.

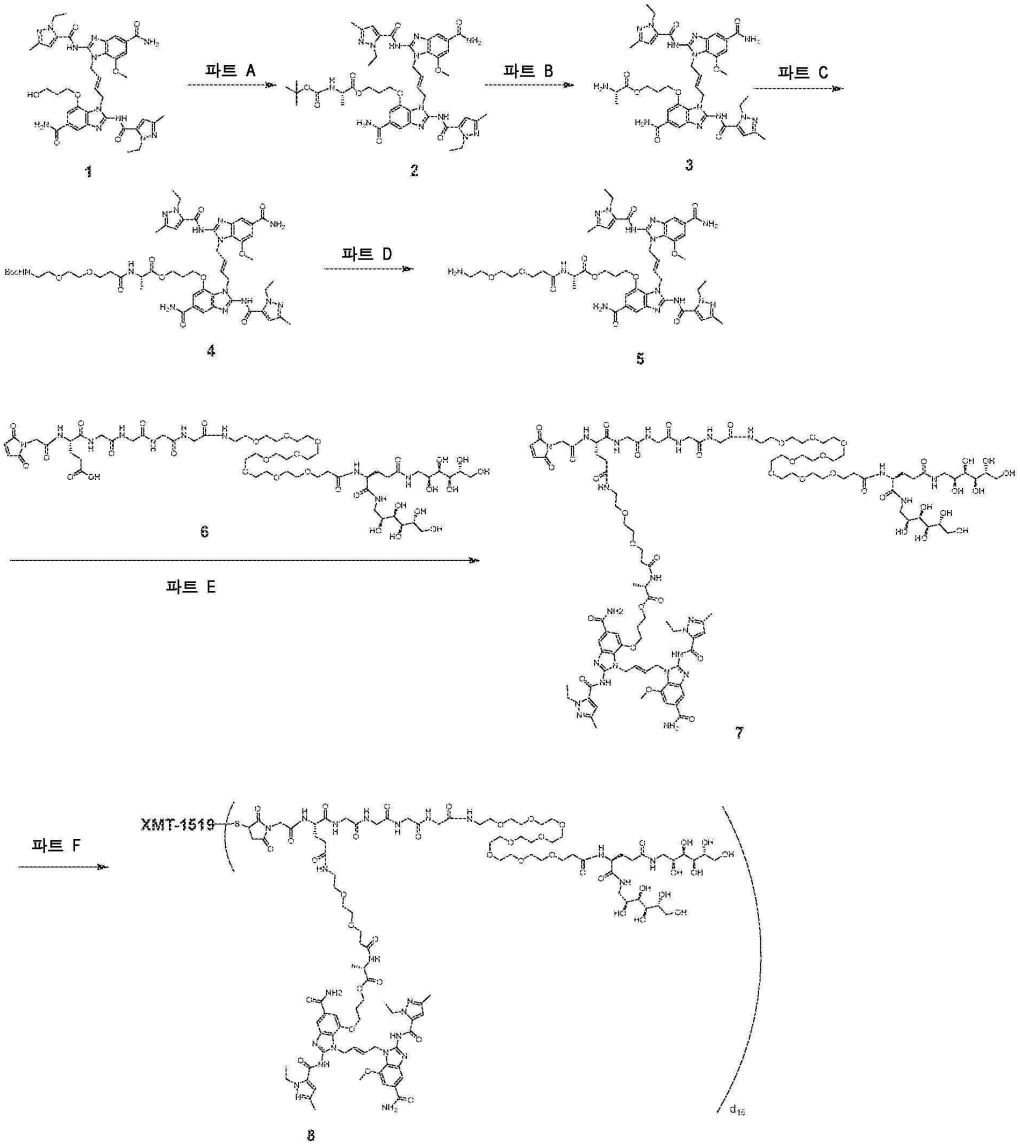
[0848] 생물학적 샘플 중의 유리 약물의 농도를 측정하기 위하여, 산성화된 샘플을 아세토니트릴로 처리하였다. 유리 약물을 추출하고, 아세토니트릴 상청액을 분석하였다. 비임상 샘플 중의 접합된 스팅 효능제의 농도를 측정하기 위하여, 샘플을 항사람 Fc 항체 자기 비드를 사용한 면역포획에 이어서 완전(exhaustive) 염기성 가수분해로 처리하였다. 방출된 약물을 함유하는 아세토니트릴 상청액을 LC-MS/MS에 의하여 분석하였다. 비임상 샘플 중의 총 항체는 MSD ECL 면역검정을 사용하여 측정하였다.

[0849] 유리 약물의 분석은 RP-HPLC에 의하여 C-4 컬럼 및 아세토니트릴 구배를 사용하여 실시하였다. 턴덤 매스 분광학에서의 MRM 피크 면적을 적분하고, 아우리스타틴 F(AF) 및 아우리스타틴 F 히드록시프로필 아미드(AF-HPA) 표준물질과 비교하였다. 그러한 방법은 혈장 및 조직 균질물 중의 AF-HPA 및 AF에 대하여 정량적이며, 0.1 내지 150 ng/㎖의 농도 범위에 걸쳐 선형이다. NaOH를 사용한 가수분해 후 방출된 전체 약물은 동일한 조건 하에서 1 ng/㎖ 내지 5,000 ng/㎖의 동적 범위로 측정하였다. 총 항체 표준물질은 0.009 ㎍/㎖ 내지 20 ㎍/㎖ 범위 내이다.

[0850] 항체에 대한 약물의 비(DAR)는 접합체의 흡수를 측정하여 구하였다. DAR 값은 항체 및 스팅 효능제 페이로드의 적절한 몰 흡광 계수를 사용하여 계산하였다.

[0851] 디지탈 캘리퍼를 사용하여 주당 2회 종양을 측정하고, 종양 부피는 하기 수학식을 사용하여 계산하였다: 종양 부피(㎣)=(폭^{2}×길이)/2. 체중을 1주차에 매일, 그 후 주당 2회 기록하였다. 개개의 종양 부피가 ≥1,000 ㎣, ≥1,500 ㎣ 또는 나타낸 바와 같이 도달될 때까지 동물은 실험에 남아있었다. 체중의 변화율은 하기 수학식을 사용하여 계산하였다: 체중 변화율(%)=(체중$^{\text{실험 일차 X}}$-체중$^{\text{실험 1일차}}$)/체중$^{\text{실험 1일차}}$)*100. 종양 부피는 평균±평균의 표준 오차(SEM)로서 보고한다. 종양 성장 억제율(%TGI)은 처치군 및 대조군 사이의 평균 종양 부피(MTV)에서의 퍼센트 차이로서 정의하였다. 종양 크기는 각각의 효능 실험 연구 전반에 걸쳐 측정하여 종양 성장 억제율(TGI)을 구하였다. 종양 퇴행률은 하기 수학식을 사용하여 계산하였다: 퇴행률(%)=(1-(평균 종양 부피$^{\text{최종}}$)/(평균 종양 부피$^{\text{1일차}}$))*100. 부분 반응(PR)은 3회 연속 측정에 대하여 1일차 부피에 대하여 50% 이하 및 3회 연속 측정 중 적어도 하나에 대하여 13.5 ㎣ 이상의 종양 부피로서 정의된다. 완전 반응(CR)은 3회 연속 측정에 대하여 13.5 ㎣ 미만의 종양 부피로서 정의된다. 무종양 생존(TFS)은 실험 종료시 CR을 갖는 것으로 분류된다.

[0852] 실시예 1: XMT-1519 접합체 8의 합성



[0853]

[0854] 파트 A: 화합물 1(WO2017175147A1에 기재된 바와 같이 생성함, 0.5 g, 0.64 mmol), Boc-L-알라닌(0.242 g, 1.28 mmol), DMAP(7.8 mg, 0.064 mmol) 및 DCC(0.264 g, 1.28 mmol)의 혼합물에 DMF(2 ㎖)를 첨가하였다. 현탁액을 밤새 실온에서 교반한 후, 용액을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(DCM 중의 0-40% MeOH) 상에서 정제하여 화합물 2를 담황색 고체(0.52 g, 85% 수율)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{46}H_{58}N_{13}O_{10}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 952.4; 측정치: 952.4.

[0855] 파트 B: 디옥산(10 ㎖) 중의 화합물 2(0.52 g, 0.55 mmol)의 현탁액에 4 N HCl(2 ㎖, 8.19 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반한 후, 현탁액을 농축시키고, 추가로 정제하지 않고 그 다음 단계에서 사용하였다. 화합물 3은 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{41}H_{50}N_{13}O_8$ [M+H]에 대한 이론치: 852.4; 측정치: 852.3.

[0856] 파트 C: DMF(5 ㎖) 중의 화합물 3(0.586 g, 0.661 mmol)의 용액에 2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11-트리옥사-5-아자테트라데칸-14-산(0.202 g, 0.727 mmol)에 이어서 DIPEA(0.230 ㎖, 1.322 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5 분 동안 교반한 후, HATU(0.376 g, 0.992 mmol) 및 HOBt(0.153 g, 0.992 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DIPEA의 추가적인 분액(0.460 ㎖, 2.6 mmol)을 첨가하였다. 또 다른 1 시간 동안, 반응 혼합물을 오일로 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔(DCM 중의 0-40% MeOH) 상에서 정제하여 화합물 4(0.9 g, >95% 수율)를 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{53}H_{71}N_{14}O_{13}[M+H]^+$에 대한 이론치: 1111.5; 측

정치: 1111.5.

[0857] 파트 D: 디옥산(10 mℓ) 중의 화합물 4(0.9 g, 0.810 mmol)의 현탁액에 4 N HCl(3.04 mℓ, 12.15 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 현탁액을 농축시켜 화합물 5를 무색 고체(0.56 g, 66.0% 수율)로서 얻었다. ESI-MS $C_{48}H_{63}N_{14}O_{11}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1011.5; 측정치: 1011.4.

[0858] 파트 E: DMF(2 mℓ) 중의 스캐폴드 6(100 mg, 0.072 mmol, PCT/US2018/06719에 기재된 바와 같이 생성함) 및 화합물 5(72.7 mg, 0.072 mmol)의 용액에 PyBOP(37.5 mg, 0.072 mmol) 및 DIPEA(0.075 mℓ, 0.431 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반한 후, 용액을 농축시키고, 잔류물을 정제용 HPLC(물 중의 0-80% ACN)에 의하여 정제하여 화합물 7(109 mg, 64% 수율)을 얻었다. ESI-MS m/z $C_{103}H_{156}N_{24}O_{41}$ $[M+2H]^{2+}$에 대한 이론치: 1192.5; 측정치: 1192.5.

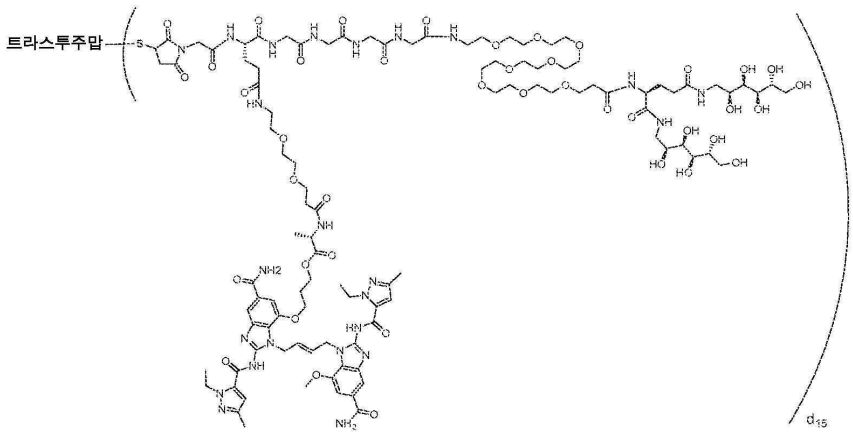
[0859] 파트 F: 50 mM HEPES, 1 mM EDTA, pH 7 완충제 중의 XMT-1519(10 mg, 0.069 μmol)의 용액에 TCEP(0.059 mg, 0.207 μmol)를 첨가하고, 혼합물을 37℃에서 90 분 동안 진탕시켰다. 환원된 항체에 화합물 7(0.987 mg, 200 ㎕ DMA 중의 0.414 μmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 37℃에서 60 분 동안 진탕시켰다. 반응을 시스테인(15 당량, 0.125 mg, 125 ㎕의 50 mM HEPES, 1 mM EDTA 중의 1.035 μmol, pH 7)으로 켄칭시키고, 실온에서 1 시간 동안 회전시켰다. 생성된 접합체 8을 한외여과 또는 CHT 크로마토그래피에 의하여 정제하였다. 항체-약물 접합체 8-1 및 8-2의 세부사항은 하기에 제시한다. 접합체 8-1 및 8-2는 8-1(4:1 대 3:1)에 비하여 8-2의 합성에 더 높은 비의 TCEP:mAb를 사용할 뿐 아니라, 더 높은 비의 화합물 7 대 mAb(8:1 vs 6:1)를 사용한 것을 제외하고 기재된 바와 같이 생성하였다.

[0860]

접합체	DAR
8-1	6.1
8-2	6.8

[0861] 실시예 1a: 트라스투주맙 접합체 8a의 합성

[0862]



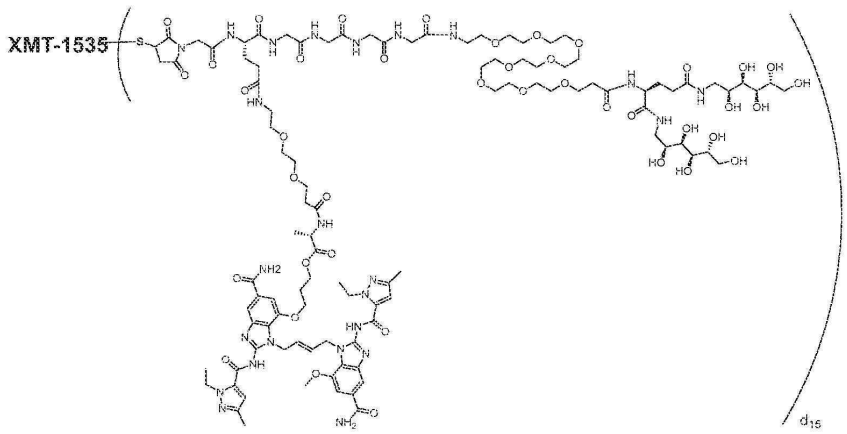
8a

[0863] 접합체 8a는 XMT-1519 대신에 트라스투주맙을 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 항체-약물 접합체 8a-1, 8a-2 및 8a-3의 세부사항은 하기에 제시한다.

[0864]

접합체	DAR
8a-1	6.0
8a-2	7.0
8a-3	8.4

[0865] 실시예 1b: XMT-1535 접합체 8b, DAR 5.7의 합성



8b

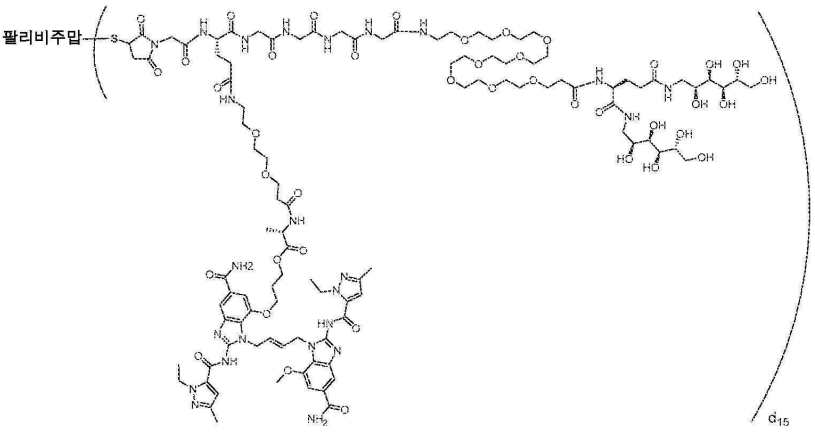
[0866]

[0867] 접합체 8b는 XMT-1519 대신에 XMT-1535를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 항체-약물 접합체 8b-1, 8b-2 및 8b-3의 세부사항은 하기에 제시한다.

접합체	DAR
8b-1	5.7
8b-2	6.6
8b-3	6.4

[0868]

[0869] 실시예 1c: 팔리비주맙 접합체 8c의 합성



8c

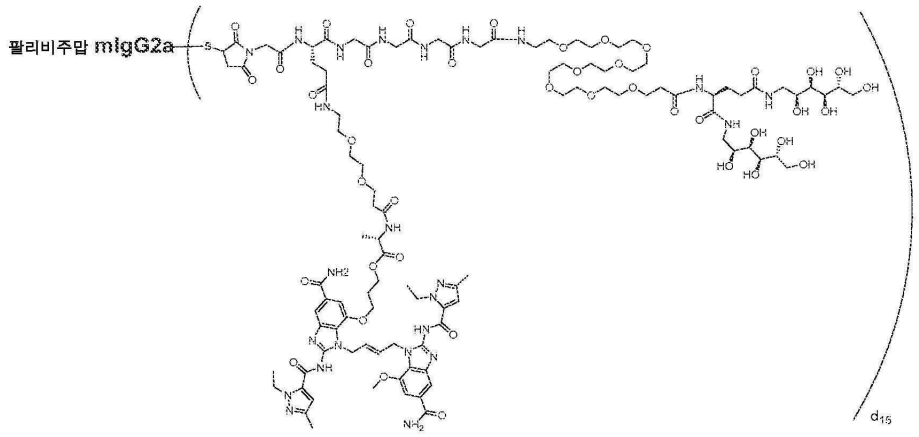
[0870]

[0871] 접합체 8c는 XMT-1519 대신에 팔리비주맙을 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 항체-약물 접합체 8c-1 및 8c-2의 세부사항은 하기에 제시한다.

접합체	DAR
8c-1	7.5
8c-2	5.8

[0872]

[0873] 실시예 1d: 팔리비주맙 mIgG2a 접합체 8d의 합성



8d

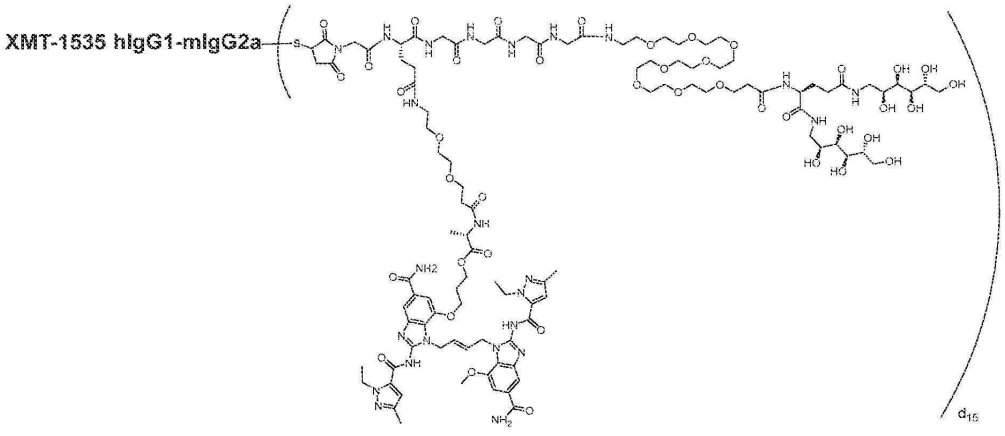
[0874]

[0875] 접합체 8d는 XMT-1519 대신에 팔리비주맙 mIgG2a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 항체-약물 접합체 8d-1, 8d-2 및 8d-3의 세부사항은 하기에 제시한다.

[0876]

접합체	DAR
8d-1	6.8
8d-2	6.5
8d-3	6.0

[0877] 실시예 1e: XMT-1535 hIgG1-mIgG2a 접합체 8e, DAR 7.0의 합성

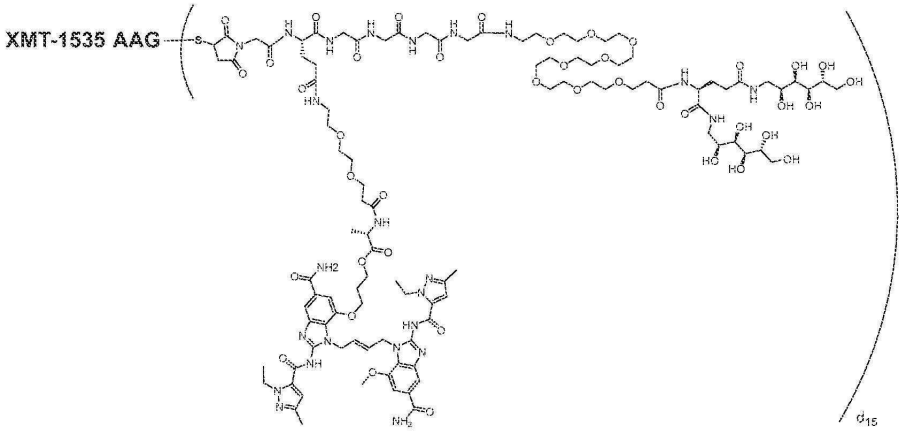


8e

[0878]

[0879] 접합체 8e는 XMT-1519 대신에 XMT-1535 mIgG2a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 8e는 7.0의 XMT-1535 hIgG1-mIgG2a에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0880] 실시예 1f: XMT-1535 AAG 접합체 8f, DAR 7.4의 합성

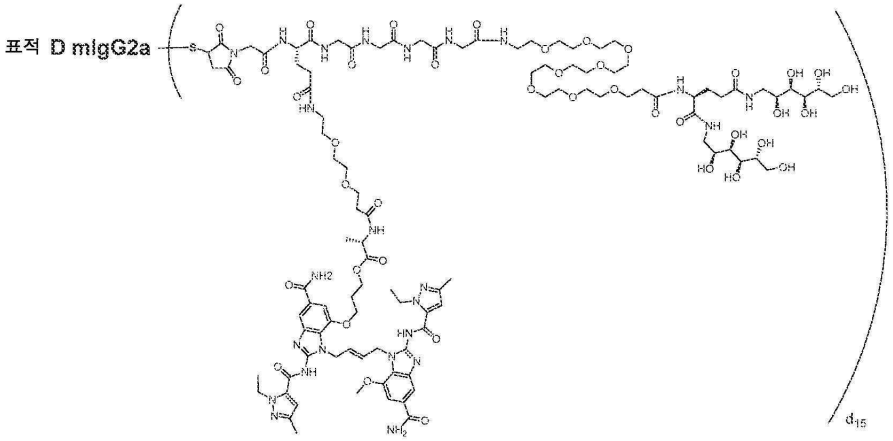


8f

[0881]

[0882] 접합체 8f는 XMT-1519 대신에 XMT-1535 AAG를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 8f는 7.4의 XMT-1535 AAG에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0883] 실시예 1g: 표적 D mIgG2a 접합체 8g, DAR 7.4의 합성

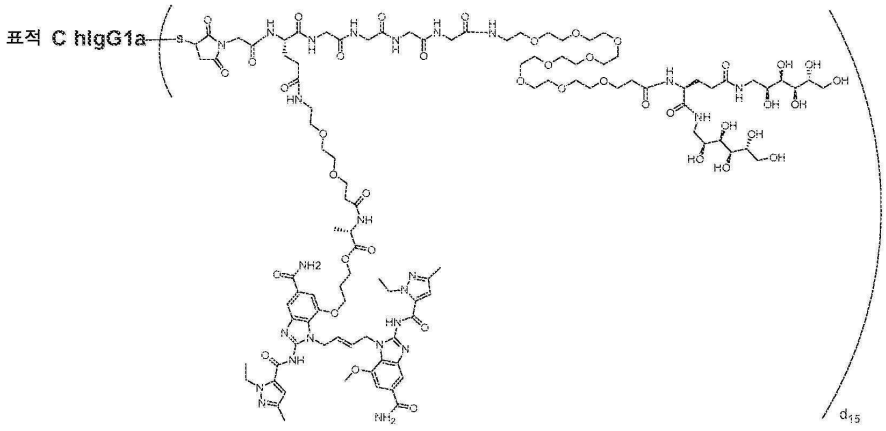


8g

[0884]

[0885] 접합체 8g는 XMT-1519 대신에 표적 D mIgG2a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 8g는 7.4의 표적 D_mIgG2a에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0886] 실시예 1h: 표적 C hIgG1a 접합체 8h, DAR 6.9의 합성

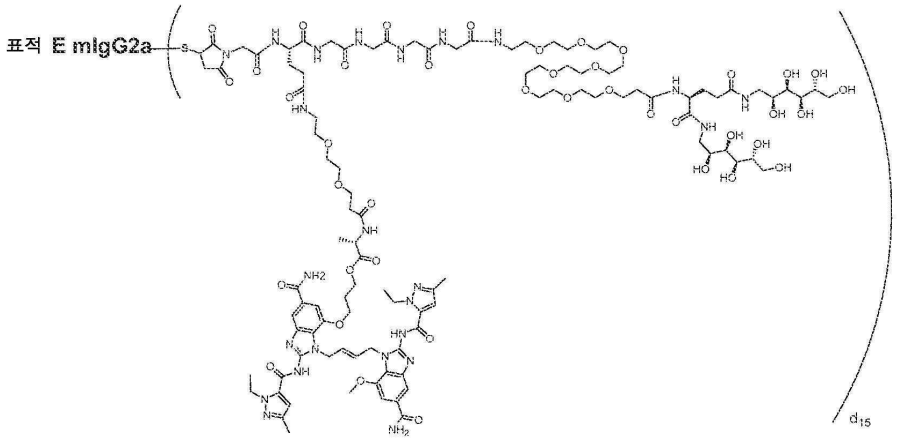


8h

[0887]

[0888] 접합체 8h는 XMT-1519 대신에 표적 C hIgG1a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 8g는 6.9의 표적 C hIgG1a에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0889] 실시예 1i: 표적 E mIgG2a 접합체 8i, DAR 10.0의 합성

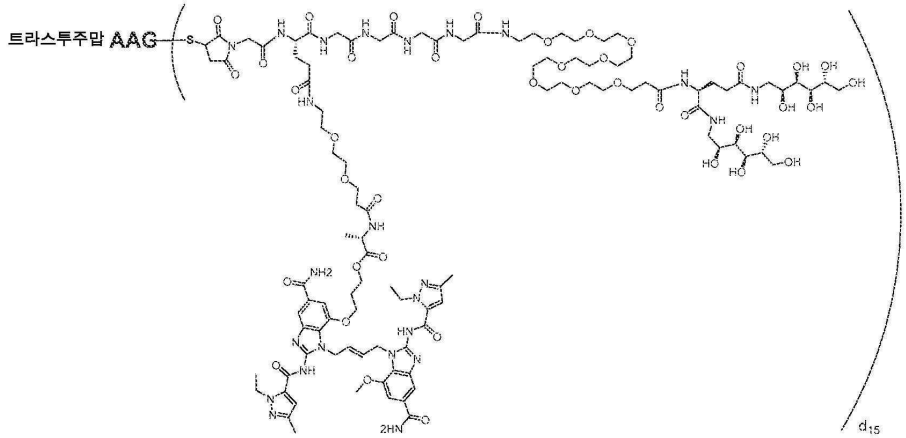


8i

[0890]

[0891] 접합체 8i는 XMT-1519 대신에 표적 E mIgG2a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 8g는 10.0의 표적 E mIgG2a에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0892] 실시예 1j: 트라스투주맙 AAG 접합체 8j, DAR 7.0의 합성



8j

[0893]

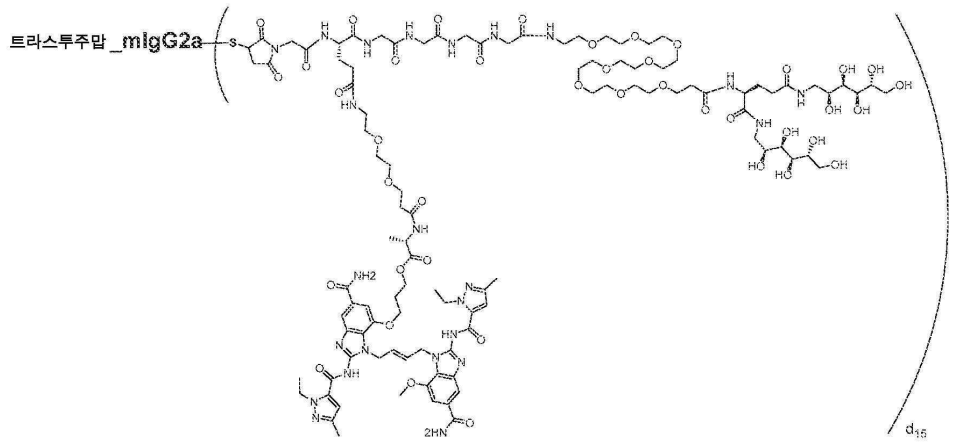
[0894] 접합체 8j는 XMT-1519 대신에 트라스투주맙 AAG를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다.

[0895] 접합체 8j 및 8j-1의 세부사항은 하기에 제시한다.

[0896]

접합체	DAR
8j	7.0
8j-1	4.2

[0897] 실시예 1k: 트라스투주맙 mIgG2a 접합체 8k, DAR 8.1의 합성

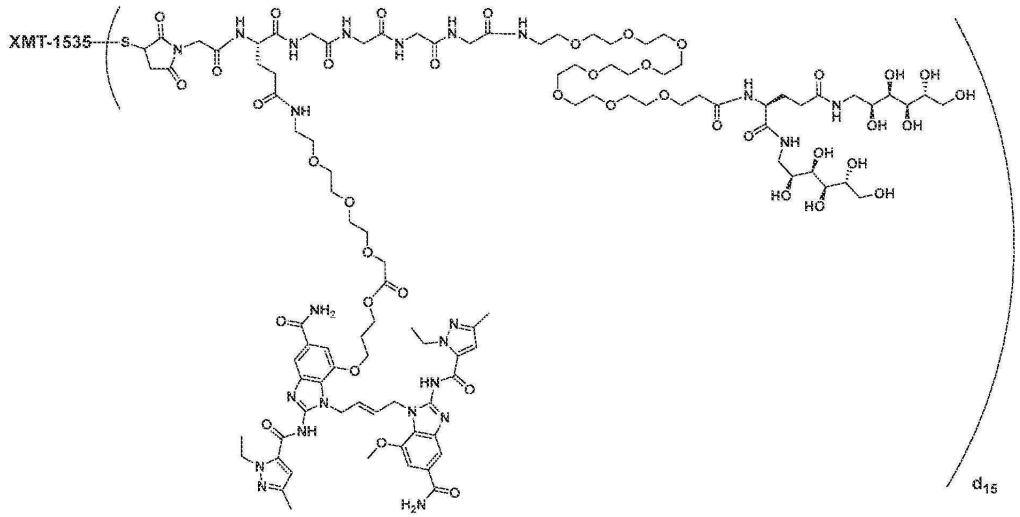


8k

[0898]

[0899] 접합체 8k는 XMT-1519 대신에 트라스투주맙 mIgG2a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 8k는 8.1의 트라스투주맙 mIgG2a에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0900] 실시예 1l: XMT-1535 접합체 8l, DAR 4.7의 합성

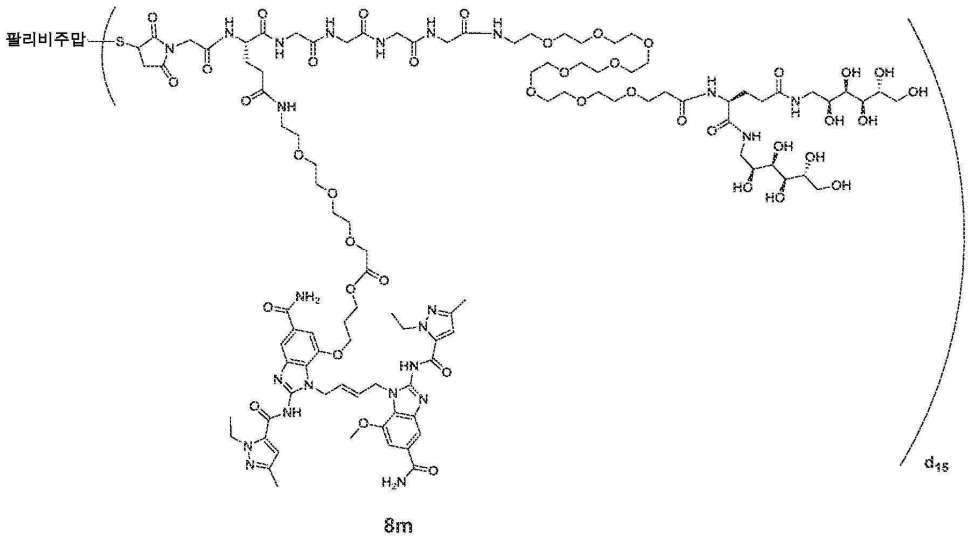


8l

[0901]

[0902] 접합체 8l은 XMT-1519 대신에 XMT-1535를 사용하고, (3-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)프로파노일)-L-알라닌 대신에 2-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)아세트산을 화합물 구조에 혼입한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 8l은 4.7의 XMT-1535에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0903] 실시예 1m: 팔리비주맙 접합체 8m, DAR 4.5의 합성

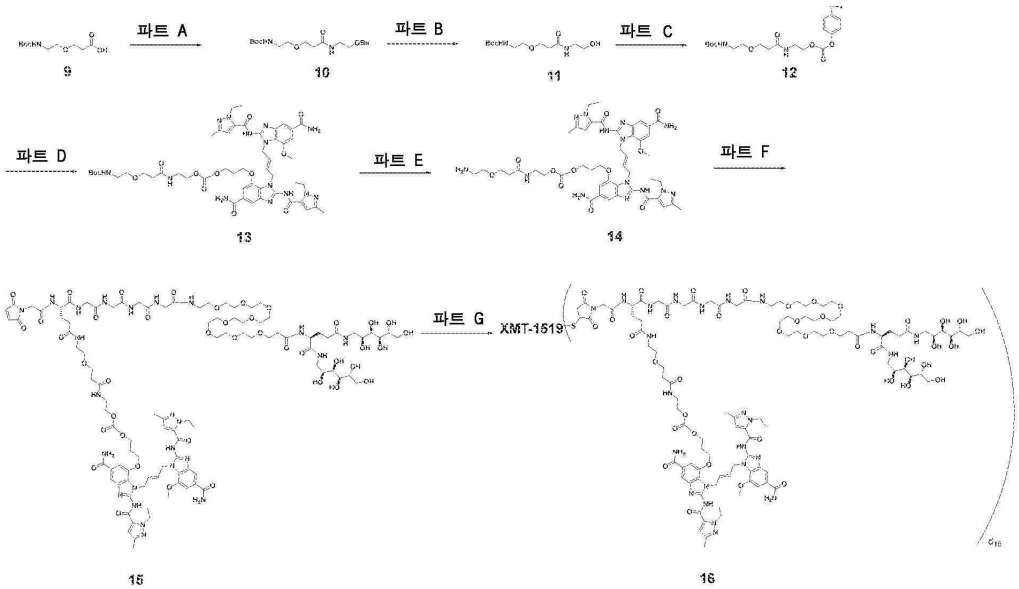


8m

[0904]

[0905] 접합체 8m은 XMT-1519 대신에 팔리비주맙을 사용하고, (3-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)프로파노일)-L-알라닌 대신에 2-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)아세트산을 화합물 구조에 혼입한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 8m은 4.5의 팔리비주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0906] 실시예 2: XMT-1519 접합체 16, DAR 5.3의 합성



[0907]

[0908] 파트 A: THF(5 ㎖) 중의 화합물 9(0.100 g, 0.429 mmol)의 용액에 HATU(0.196 g, 0.514 mmol) 및 HOBt(0.079 g, 0.514 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 0℃에서 10 분 동안 교반한 후, 2-(벤질옥시)에탄-1-아민(0.0648 mg, 0.429 mmol) 및 DIPEA(0.112 ㎖, 0.643 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 용액을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(DCM 중의 0-10% MeOH) 상에서 정제하여 화합물 10(0.2 g, 100% 수율)을 얻었다. ESI-MS m/z $C_{19}H_{30}N_2O_5Na$ $[(M+Na)^+]$에 대한 이론치: 389.2; 측정치: 389.2.

[0909] 파트 B: EtOH(10 ㎖) 중의 화합물 10(150 mg, 0.409 mmol)의 용액을 N_2로 탈기시킨 후, Pd-C(43.6 mg, 0.409 mmol)를 첨가하였다. 그 후, 혼합물을 H_2로 탈기시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 H_2(1 atm) 하에서 밤새 교반하였다. 고체를 셀라이트 패드를 통하여 여과하고, 여과액을 농축시켜 화합물 11을 얻었다. 미정제 화합물 11은 그 다음 단계에서 추가로 정제하지 않고 사용하였다. ESI-MS m/z $C_{12}H_{24}N_2O_5Na$ $[(M+Na)^+]$에 대한 이론치: 299.2;

측정치: 299.2.

[0910] 파트 C: 화합물 11의 잔류물(128 mg, 0.463 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민(11.32 mg, 0.093 mmol)을 함유하는 100 mℓ 플라스크를 아르곤으로 플러쉬 처리한 후, 트리에틸아민(129 μℓ, 0.926 mmol), 아세토니트릴(1.544 mℓ) 및 DMF(0.772 mℓ)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, 5 분 동안 교반한 후, 4-니트로페닐 카르보노클로리데이트(140 mg, 0.695 mmol)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 20℃에서 2 시간 동안 교반한 후, 오일로 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔(헥산 중의 0-100% 에틸 아세테이트) 상에서 정제하여 화합물 12(50 mg, 24% 수율)를 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{14}H_{19}N_3O_7$ $[(M-Boc+H]^+$)에 대한 이론치: 342.2; 측정치: 342.1.

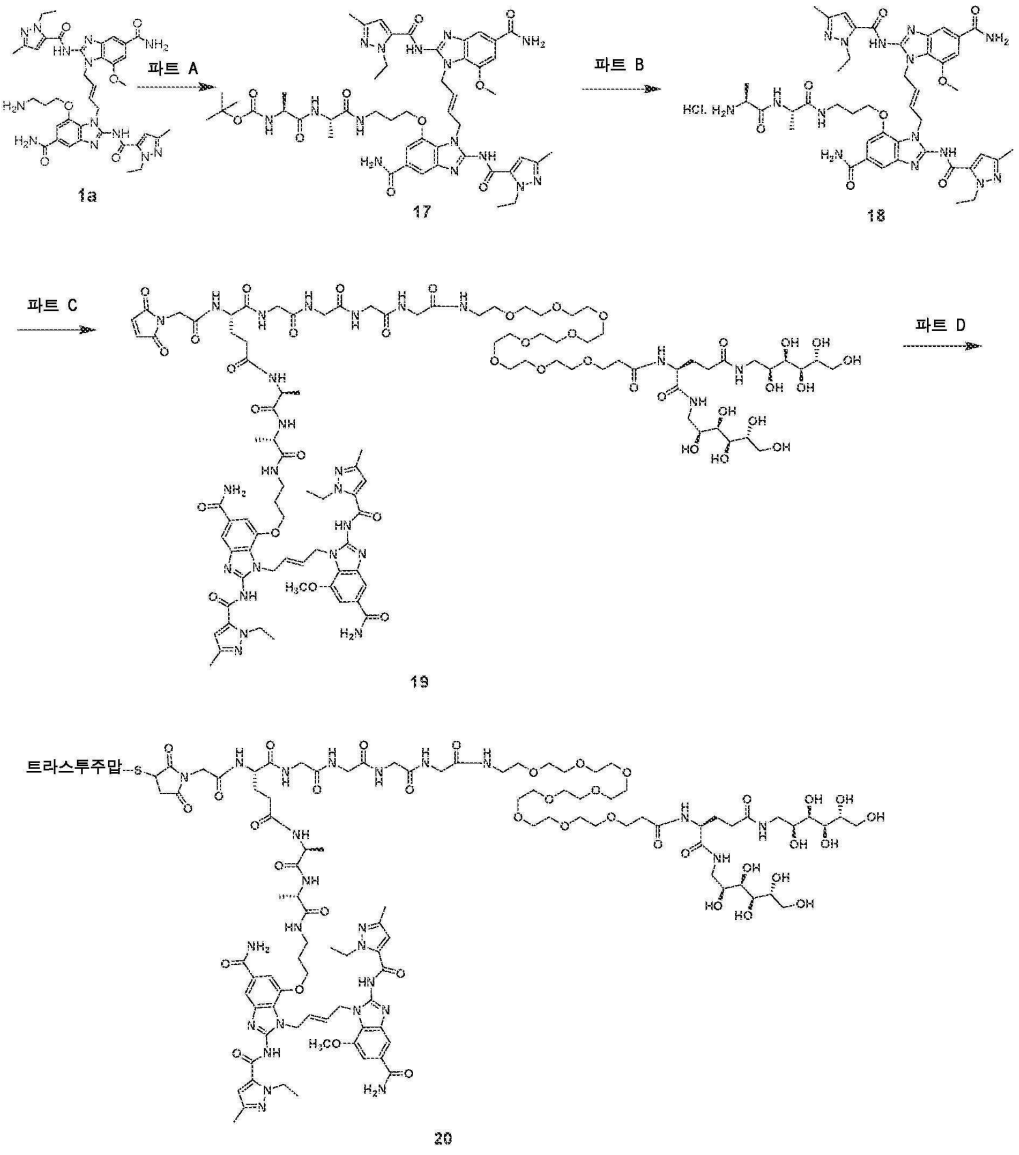
[0911] 파트 D: 화합물 12(50 mg, 0.113 mmol) 및 화합물 1(36.9 mg, 0.047 mmol)의 용액에 DMF(500 μℓ) 중의 DMAP(1.153 mg, 9.44 μmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 80℃에서 3 시간 동안 가열한 후, 화합물 12(50 mg, 0.113 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 또 다른 3 시간 동안 교반한 후, 실온으로 냉각시켰다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(DCM 중의 0-30% MeOH) 상에서 정제하여 화합물 13(20 mg, 39% 수율)을 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{51}H_{67}N_{14}O_{13}$ $[(M+H)]^+$에 대한 이론치: 1083.4; 측정치: 1083.5.

[0912] 파트 E: DCM(0.5 mℓ) 중의 화합물 13(20 mg, 0.047 mmol)의 용액에 TFA(0.1 mℓ)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반한 후, 농축시켜 화합물 14(10 mg, 55% 수율)를 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{46}H_{59}N_{14}O_{11}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 983.4; 측정치: 983.5.

[0913] 파트 F: DMF(1 mℓ) 중의 스캐폴드 6(14.15 mg, 10.17 μmol) 및 화합물 14(10 mg, 10.17 μmol)의 용액에 HATU(4.64 mg, 0.012 mmol), HOAt(1.881 mg, 0.012 mmol) 및 DIPEA(0.018 mℓ, 0.102 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반한 후, 농축시키고, 잔류물을 정제용 RP HPLC(물 중의 0-80% ACN) 상에서 정제하여 스캐폴드 15(20 mg, 83% 수율)를 얻었다. ESI-MS m/z $C_{101}H_{152}N_{24}O_{41}$ $[(M+2H]^{2+}$)에 대한 이론치: 1178.7; 측정치: 1178.59.0.

[0914] 파트 G: XMT-1519(10 mg, 0.069 μmol)의 용액을 실시예 1에 기재된 바와 같이 스캐폴드 15(0.823 mg, 200 μℓ DMA 중의 0.347 μmol)로 접합시켰다. 정제된 접합체 16은 5.3의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0915] 실시예 3: 트라스투주맙 접합체 20의 합성



[0916]

[0917] 파트 A: Boc-ala-ala-OH(67 mg, 256 μmol), CDI(70 mg, 435 μmol) 및 DMF(2 mℓ)의 용액을 실온에서 23 시간 동안 교반하였다. 그 후, 화합물 1a(WO2017175147A1에 기재된 바와 같이 생성함, 100 mg, 128 μmol) 및 DIPEA(67 μℓ, 384 μmol)를 첨가하고, 반응을 실온에서 23 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(0-20% MeOH-DCM 용리제)에 의하여 크로마토그래피하였다. 생성물인 화합물 17을 황색 포옴으로서 단리시켰다(109 mg, 83% 수율). ESI-MS m/zi $C_{49}H_{64}N_{15}O_{10}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1022.5; 측정치: 1022.4.

[0918] 파트 B: 화합물 17(108 mg, 106 μmol) 및 2 M HCl-디옥산(6 mℓ)의 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 고 진공 하에서 건조시켜 화합물 18을 회백색 포옴으로서 얻었다(103 mg, quant.). ESI-MS m/z $C_{44}H_{56}N_{15}O_8$ [M+H]에 대한 이론치: 922.4; 측정치: 922.4.

[0919] 파트 C: 화합물 18(80 mg, 84 μmol), 스캐폴드 6(117 mg, 84 μmol), HOAt(12mg, 84 μmol), DiPEA(59 μℓ, 336 μmol) 및 DMF(3 mℓ)의 혼합물을 실온에서 5 분 동안 교반한 후, HATU(42 mg, 109 μmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 20 시간 동안 교반하였다. 그 후, 반응 혼합물을 농축시키고, 역상에 의하여 크로마토그래피(10-100% ACN-물 w/0.1% HCOOH 용리제)하였다. 스캐폴드 19를 백색의 솜털 같은 고체(35 mg, 18% 수율)로서 단리시켰다. ESI-MS m/z $C_{99}H_{149}N_{25}O_{38}$ $[M+2H]^{2+}$에 대한 이론치: 이론치: 1148.0; 측정치: 1148.4.

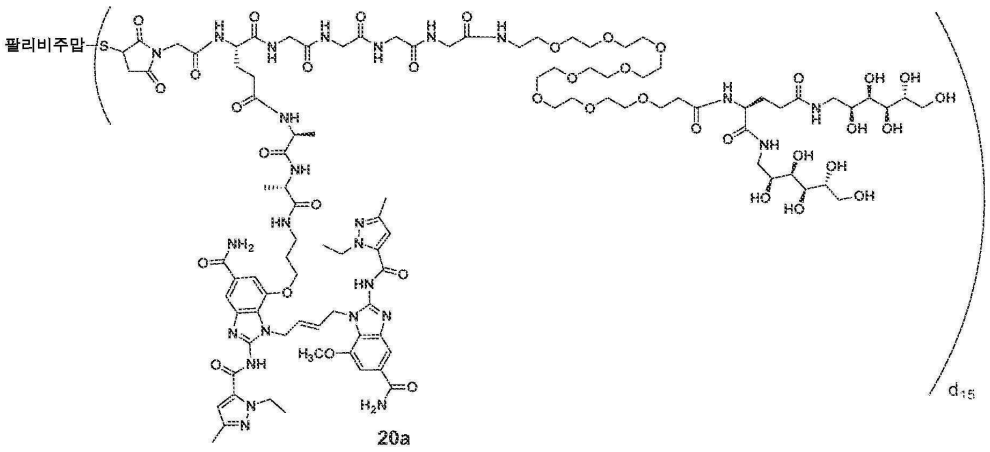
[0920] 파트 D: 트라스투주맙(10 mg, 0.067 μmol)을 실시예 1에 기재된 바와 같이 스캐폴드 19(1.237 mg, 200 μℓ DMA

중의 0.539 μmol)와 접합시킨 후, CHT II형 크로마토그래피를 사용하여 정제하여 접합체 20을 얻었다. 항체-약물 접합체 20-1 및 20-2의 세부사항은 하기에 제시한다.

[0921]

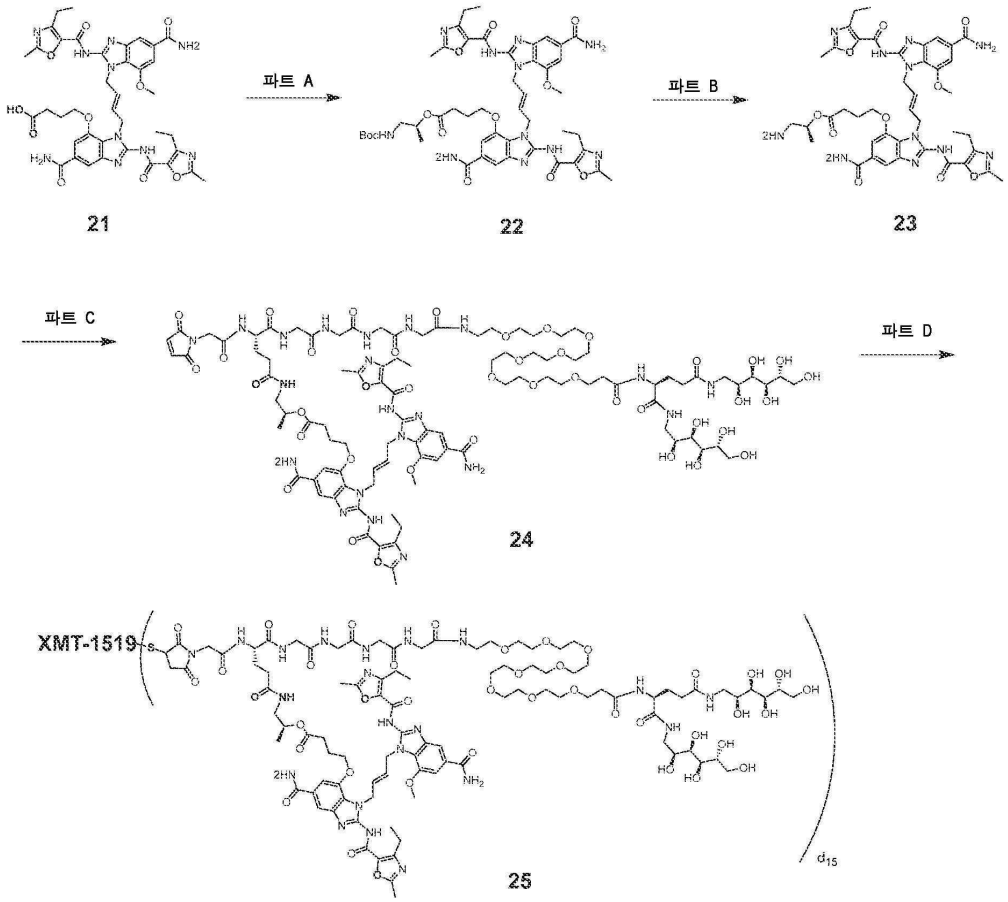
접합체	DAR
20-1	6.0
20-2	6.1

[0922] 실시예 3a: 팔리비주맙 접합체 20a, DAR 5.5의 합성

[0923] 

[0924] 접합체 20a는 XMT-1519 대신에 팔리비주맙을 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 20a는 5.5의 팔리비주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0925] 실시예 4: 트라스투주맙 접합체 25, DAR 6.6의 합성



[0926]

[0927] 파트 A: DMF(2 mℓ) 중의 화합물 21(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함, 38 mg, 0.047 mmol) 및 tert-부틸 (S)-(2-히드록시프로필)카르바메이트(9.85 mg, 0.056 mmol)의 혼합물에 3-((에틸이미노)메틸렌)아미노)-N,N-

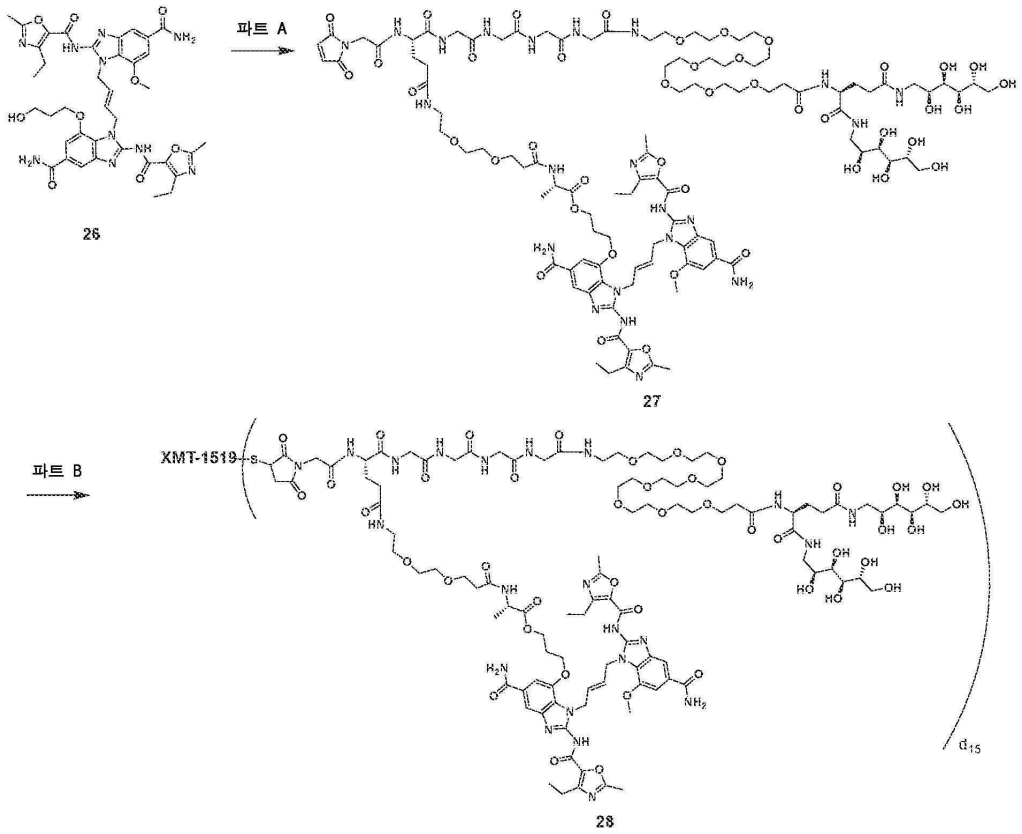
디메틸프로판-1-아민 히드로클로라이드(13.48 mg, 0.070 mmol), HOBt(10.77 mg, 0.070 mmol) DIPEA(0.016 mℓ, 0.094 mmol) 및 DMAP(5.73 mg, 0.047 mmol)를 첨가하였다. 그 후, 현탁액을 2 일 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 잔류물을 얻고, 이를 실리카 겔(DCM 중의 0-30% MeOH) 상에서 정제하여 화합물 22를 담황색 고체(20 mg, 44% 수율)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{47}H_{58}N_{11}O_{12}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 968.4; 측정치: 968.3.

[0928] 파트 B: 디옥산(4 mℓ) 중의 화합물 22(20 mg, 0.021 mmol)의 현탁액에 4 N HCl(0.52 mℓ, 8.19 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5 시간 동안 교반하고, 농축시키고, 정제하지 않고 그 다음 단계에 사용하였다. 생성물인 화합물 23(17 mg, 95% 수율)을 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{42}H_{50}N_{11}O_{10}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 868.3; 측정치: 868.4.

[0929] 파트 C: DMF(2 mℓ) 중의 화합물 23(17 mg, 0.020 mmol) 및 스캐폴드 6(32.1 mg, 0.023 mmol)의 용액에 PyBOP(15.3 mg, 0.03 mmol) 및 DIPEA(0.034 mℓ, 0.196 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하고, 농축시켜 잔류물을 얻은 후, 정제용 RP HPLC(물 중의 0-80% ACN) 상에서 정제하여 스캐폴드 24(26 mg, 59% 수율)를 얻었다. ESI-MS m/z $C_{97}H_{143}N_{21}O_{40}$ $[M+2H]^{2+}$에 대한 이론치: 1,120.98; 측정치: 1,121.06.

[0930] 파트 D: XMT-1519 항체(5 mg, 0.0347 μmol)를 실시예 1에 기재된 바와 같이 스캐폴드 24(0.622 mg, 0.278 μmol)와 접합시켰다. 미정제 반응 생성물을 CHT 컬럼 크로마토그래피에 의하여 정제하여 접합체 25(3.19 mg, 64% 수율)를 얻었다. 정제된 접합체 25는 6.6의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0931] 실시예 5: XMT-1519 접합체 28, DAR 6.0의 합성

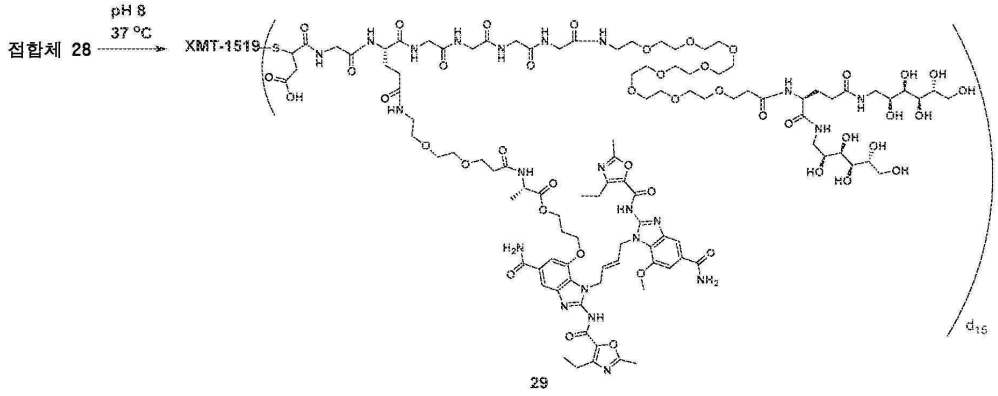


[0932]

[0933] 파트 A: 화합물 26은 26(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함)을 화합물 1 대신에 사용한 것을 제외하고 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하였다. 화합물 27은 무색 고체(71.0 mg, 40% 수율)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{103}H_{154}N_{22}O_{43}$ $[M+2H]^{2+}$에 대한 이론치: 1193.52; 측정치: 1193.48

[0934] 파트 B: 접합체 28은 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하여 접합체 28을 얻었다. 정제된 접합체 28은 6.0의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0935] 실시예 6: XMT-1519 접합체 29, DAR 5.5의 합성

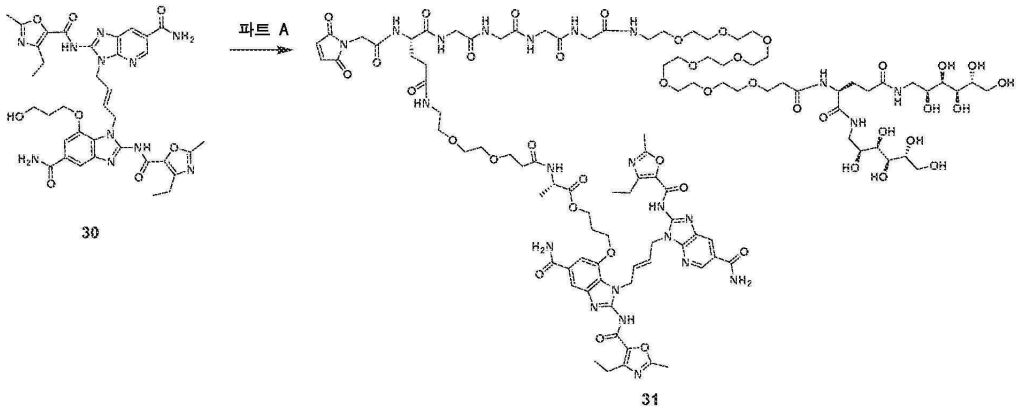


29

[0936]

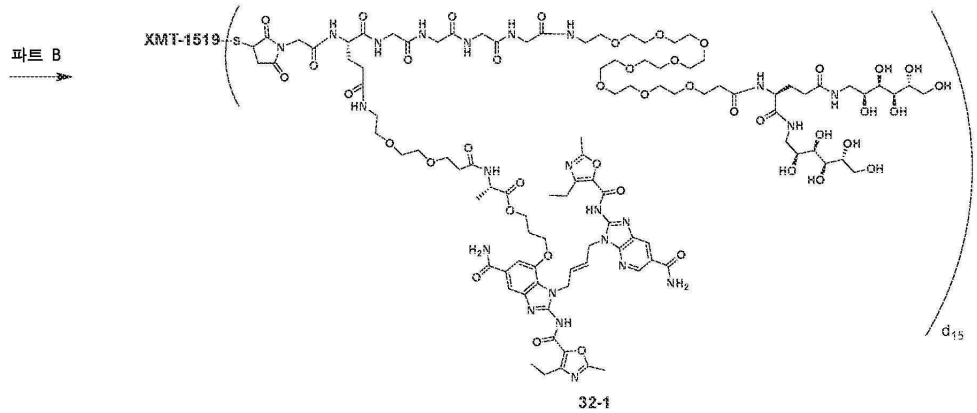
[0937] 접합체 28(6.5 mg)은 30 kDa MWCO 한외여과 유닛을 사용하는 농축 및 희석의 3회 사이클로 PBS, pH 8로 제제화하였다. 그후, 재제제화한 접합체를 37℃에서 24 시간 동안 인큐베이션한 후, 트레할로스 완충제 pH 5.5로 재제제화하였다. 개환은 항체 환원에 이어서 중쇄 및 경쇄의 LCMS 분석에 의하여 확인하였다. 비접합, 무손상 숙신이미드와 접합된 및 개환된 숙신이미드와 접합된 다양한 경쇄 종 사이에서 우수한 해상도가 관찰되었다. 개환은 또한 해당 중쇄 종에서 관찰되었으나, 다양한 종 사이의 해상도는 불량하였다. 그러므로, 개환도는 경쇄 종에 집중하여 추정되었다. 이러한 접근법을 사용하여 무손상 숙신이미드에 대한 접합체 29에서의 개환된 생성물의 비율은 94%로 추정되었다. 접합체 29는 5.5의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0938] 실시예 7: XMT-1519 접합체 32-1, DAR 6.5의 합성



30

31



32-1

[0939]

[0940] 파트 A: 스캐폴드 31은 화합물 1 대신에 화합물 30(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함)을 사용한 것을 제외하고 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하였다. 스캐폴드 31은 무색 고체(9 mg, 8% 수율)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{101}H_{151}N_{23}O_{42}$ $[M+2H]^{2+}$에 대한 이론치: 1179.02; 측정치: 1179.21.

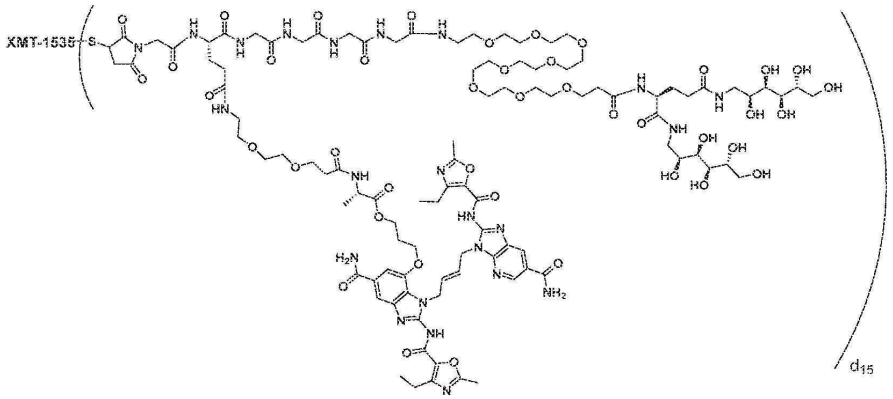
[0941] 파트 B: 접합체 32-1, 32-2, 32-3 및 32-4는 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하여 표제 접합체를 얻었다. 정제된 접합체 32-1, 32-2, 32-3, 32-4 및 32-5는 하기 표에 기재된 바와 같은 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의

비를 가졌다. 접합체 32-5는 >10 mg/mℓ의 mAb 농도를 가졌으며, <1%의 미접합 mAb 및 <1% 고 분자량종을 함유하였다.

접합체	DAR
32-1	6.5
32-2	6.4
32-3	6.7
32-4	8.6
32-5	8.1

[0942]

[0943] 실시예 7a: XMT-1535 접합체 32a, DAR 6.2의 합성



32a

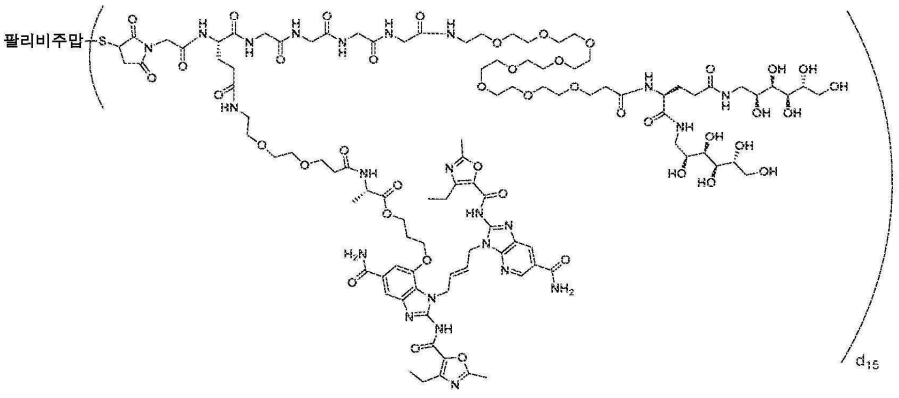
[0944]

[0945] 접합체 32a, 32a-1, 32a-2, 32a-3 및 32a-4는 XMT-1519 대신에 XMT-1535를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 32a, 32a-1, 32a-2, 32a-3 및 32a-4는 하기 표에 기재된 바와 같은 XMT-1535에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

접합체	DAR
32a	6.2
32a-1	7.4
32a-2	8.0
32a-3	7.5
32a-4	8.0

[0946]

[0947] 실시예 7b: 팔리비주맙 접합체 32b, DAR 6.8의 합성



32b

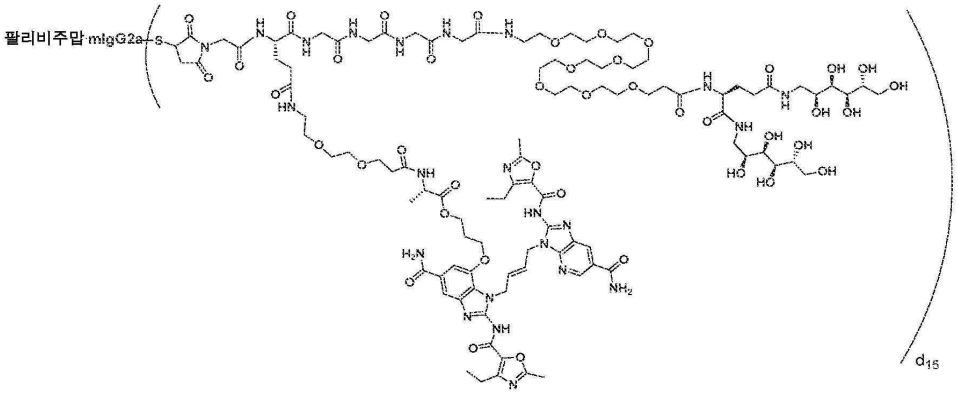
[0948]

[0949] 접합체 32b, 32b-1 및 32b-2는 XMT-1519 대신에 팔리비주맙을 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 32b, 32b-1 및 32b-2는 하기 표에 기재된 바와 같은 팔리비주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

접합체	DAR
32b	6.8
32b-1	5.7
32b-2	7.2

[0950]

[0951] 실시예 7c: 팔리비주맙 mIgG2a 접합체 32c, DAR 9.1의 합성

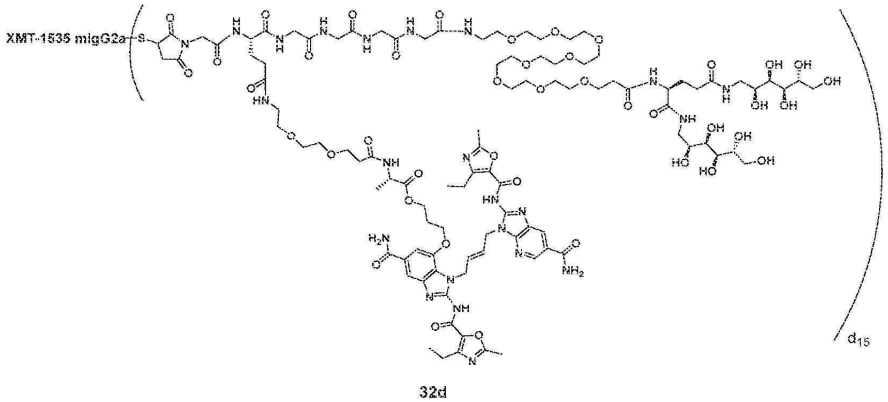


32c

[0952]

[0953] 접합체 32c는 XMT-1519 대신에 팔리비주맙 mIgG2a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에서 상기 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 32c는 9.1의 팔리비주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0954] 실시예 7d: XMT-1535 mIgG2a 접합체 32d, DAR 8.8의 합성

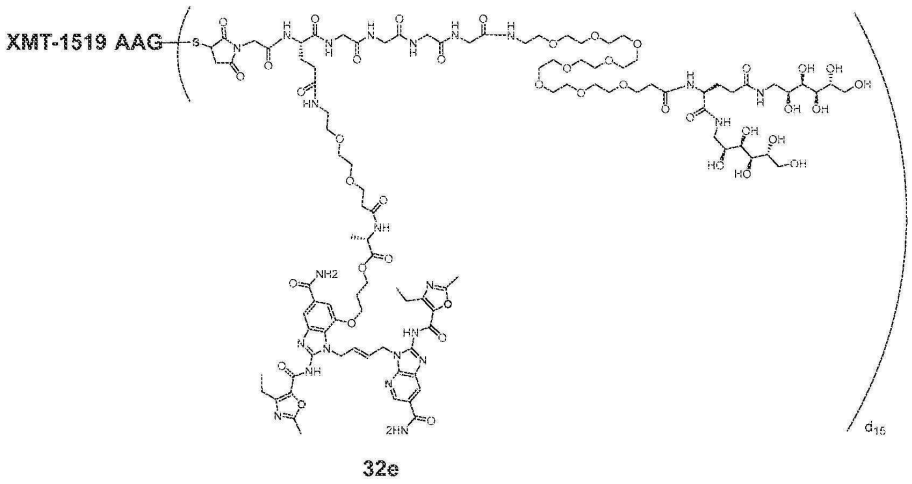


32d

[0955]

[0956] 접합체 32d는 XMT-1519 대신에 XMT-1535 mIgG2a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에서 상기 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 32d는 8.8의 XMT-1535 mIgG2a에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

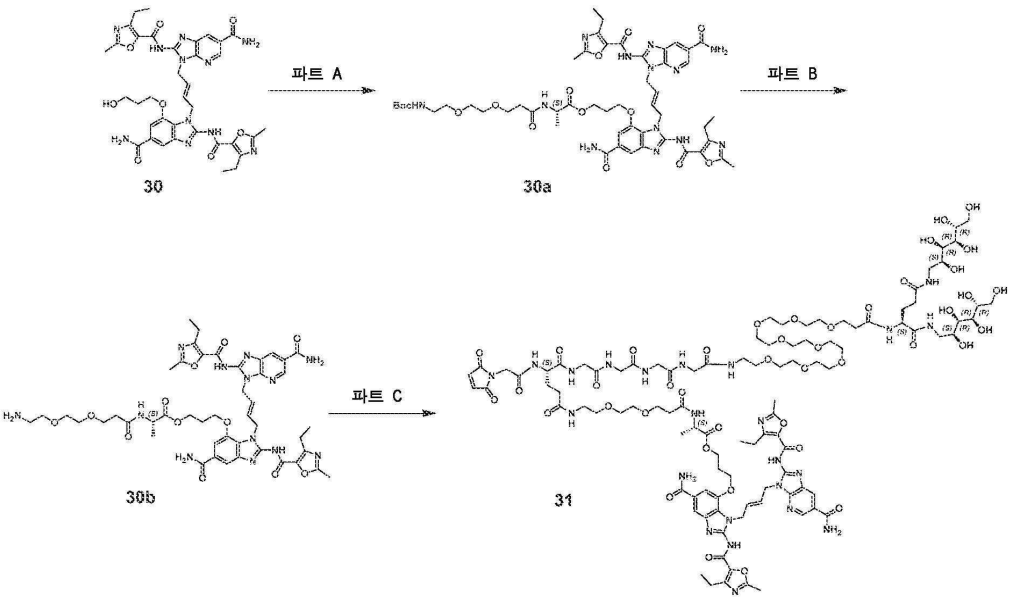
[0957] 실시예 7e: XMT-1519 AAG 접합체 32e, DAR 7.4의 합성



[0958]

[0959] 접합체 32e는 XMT-1519 대신에 XMT-1519 AAG를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 32e는 7.4의 XMT-1519 AAG에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0960] 실시예 7-1: 화합물 31의 대안의 합성



[0961]

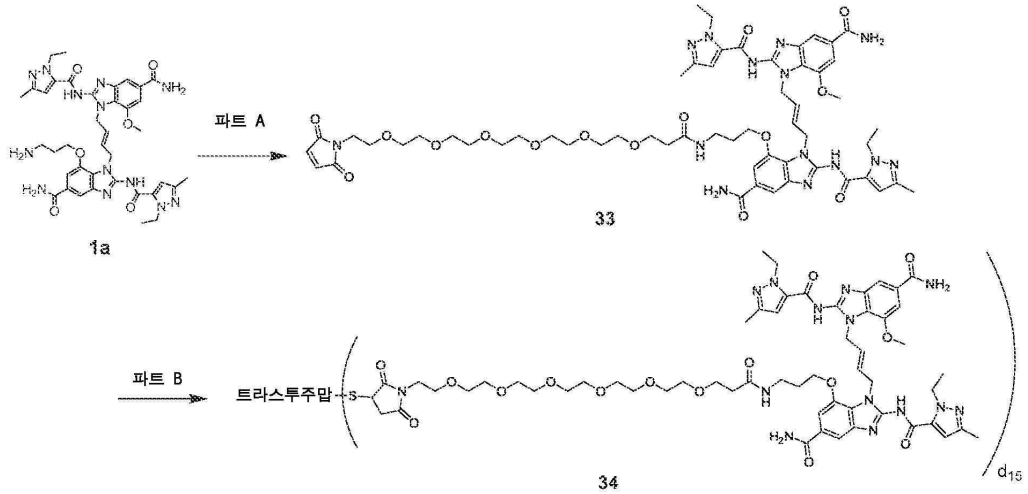
[0962] 파트 A: 화합물 30(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함)(500 mg, 0.663 mmol, 1 eq), Boc-PEG_2-Ala-OH(0.693 g, 1.99 mmol, 3 eq), EDC-HCl(381 mg, 1.99 mmol, 3 eq) 및 DMAP(243 mg, 1.99 mmol)를 바이알 내에서 공기 중에서 DMF(26.5 ㎖) 중에서 혼합하였다. 반응은 3 시간 이내에 완료되었다. 혼합물을 AcOH(0.76 ㎖, 10 eq)로 켄칭하고, 농축시키고, 실리카 겔(DCM:MeOH) 상에서 정제하여 화합물 30a를 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{51}H_{66}N_{13}O_{14}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1084.5; 측정치: 1084.4.

[0963] 파트 B: 화합물 30a(0.663 mmol)를 플라스크 내에서 공기 중에서 디옥산(10 ㎖) 중에 현탁시켰다. HCl(디옥산 중의 4 M, 6 ㎖)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 백색 고체를 얻었다. 고체를 순수한 물 중에 용해시키고, 역상 크로마토그래피(물 중의 0-25% ACN)에 의하여 정제하여 화합물 30b(444 mg, 77%)를 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{46}H_{58}N_{13}O_{12}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 984.4; 측정치: 984.2.

[0964] 파트 C: DMF(6.5 ㎖) 중의 스캐폴드 6(450 mg, 0.32 mmol, PCT/US2018/06719에 기재된 바와 같이 생성함) 및 화합물 30b(350 mg, 0.072 mmol)의 용액에 PyBOP(185 mg, 0.36 mmol) 및 트리에틸아민(0.23 ㎖, 1.62 mmol)을

첨가하였다. 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, AcOH(0.23 ㎖, 3.99 mmol)로 켄칭시키고, 역상 정제(물 중의 0-40% ACN w/0.1% 아세트산)에 의하여 정제하여 화합물 31(408 mg, 55% 수율)을 얻었다. ESI-MS m/z $C_{101}H_{151}N_{23}O_{42}$ $[M+2H]^{2+}$에 대한 이론치: 1179.52; 측정치: 1179.27.

[0965] 실시예 8: 트라스투주맙 접합체 34, DAR 6.9의 합성

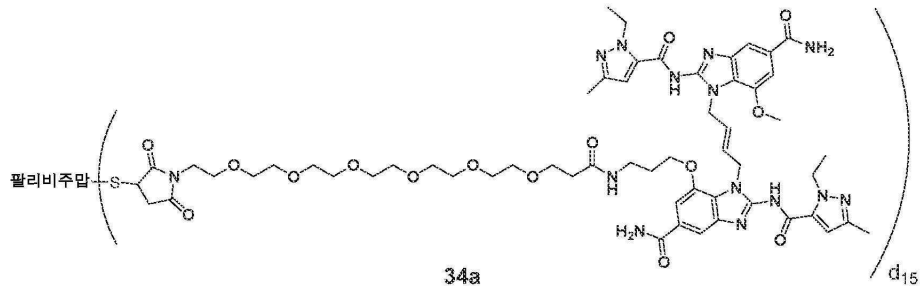


[0966]

[0967] 파트 A: DMF(1.5 ㎖) 중의 화합물 1a(WO2017175147A1에 기재된 바와 같이 생성함, 0.030 g, 0.038 mmol)의 용액에 N-에틸-N-이소프로필프로판-2-아민(0.067 ㎖, 0.385 mmol)을 첨가하였다. 용액을 5 분 동안 실온에서 교반한 후, DMF(0.5 ㎖) 중의 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 1-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-오에이트(0.027 g, 0.050 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반하였다. 그 후, 아세트산(0.1 ㎖)을 첨가한 후, 정제용 HPLC 컬럼(C18, 21.2 mm×100 mm), H_2O 중의 10-100% MeCN(0.1% HOAc)(0.1% HOAc, 20 분 구배) 상에서 정제하여 스캐폴드 33(0.006 g, 13.05% 수율)을 얻었다. ESI-MS m/z $C_{57}H_{75}N_{14}O_{15}$ $[M+H]^{+}$에 대한 이론치: 이론치: 1,195.55; 측정치: 1,195.47.

[0968] 파트 B: 트라스투주맙(10 mg, 0.069 μmol)을 실시예 1에 기재된 바와 같이 스캐폴드 33(0.658 mg, DMA 중의 0.550 μmol)에 접합시켰다. 미정제 접합체 34를 CHT II형 크로마토그래피에 의하여 정제하였다. 정제된 접합체 34는 6.9의 트라스투주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 갖는다.

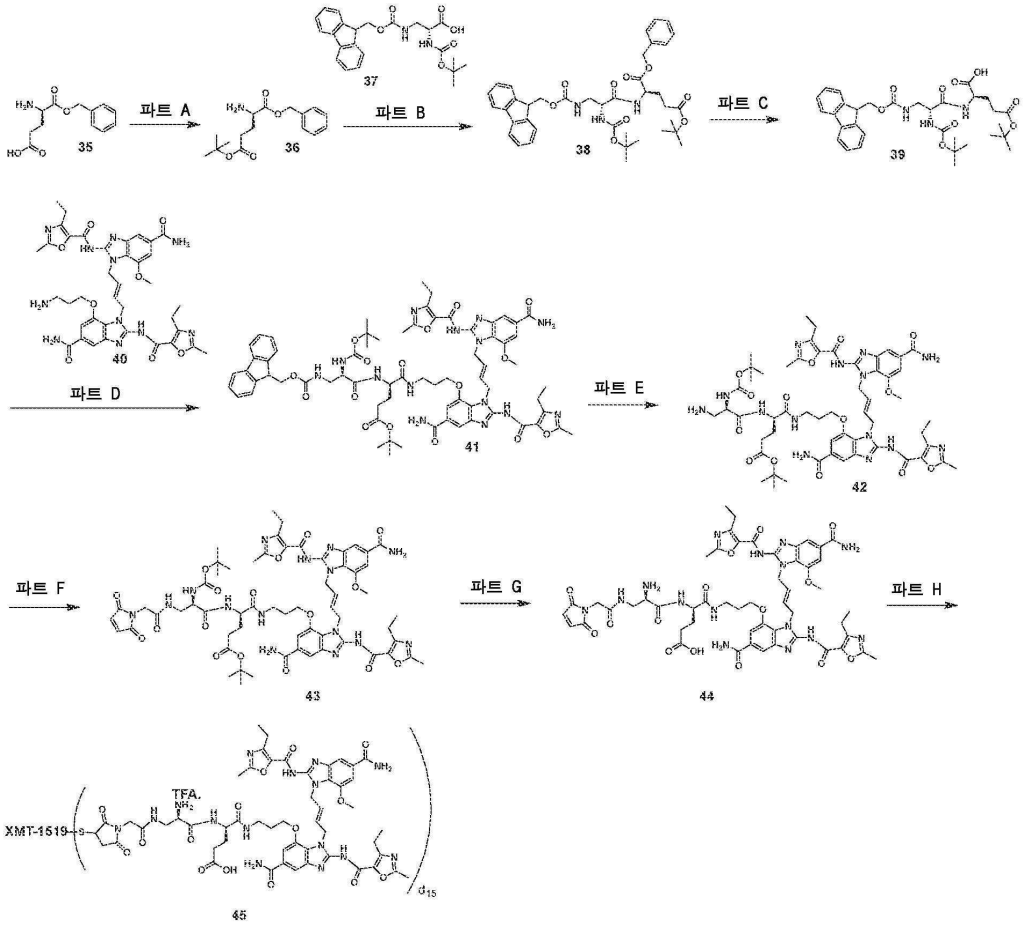
[0969] 실시예 8a: 팔리비주맙 접합체 34a, DAR 7.0의 합성



[0970]

[0971] 접합체 34a는 트라스투주맙 대신에 팔리비주맙을 사용한 것을 제외하고, 실시예 8에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 34a는 7.0의 팔리비주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 갖는다.

[0972] 실시예 9: XMT-1519 접합체 45, DAR 6.5의 합성



[0973]

[0974] 파트 A: 화합물 35(400 mg, 1,688 μmol) 및 t-부틸 아세테이트(8 mℓ)의 혼합물에 70% $HClO_4$(302 mg, 2.11 mmol)를 첨가하였다. 그 후, 생성된 용액을 실온에서 21 시간 동안 교반한 후, $NaHCO_3$ 포화 용액으로 중화시켰다. 수성상을 EtOAc로 세정하고(2회), 합한 유기물을 염수로 세정하고, 건조시키고(Na_2SO_4), 여과하고, 농축시켜 화합물 36을 불투명 오일(530 mg, quant.)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{16}H_{24}N_1O_4$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 294.2; 측정치: 294.2.

[0975] 파트 B: 화합물 36(279mg, 782 μmol), 화합물 37(370 mg, 938 μmol), HOAt(128 mg, 938 μmol), DIPEA(409 μℓ, 2.35 mmol) 및 DMF(4 mℓ)의 혼합물을 실온에서 5 분 동안 교반한 후, HATU(416 mg, 1095 μmol)를 첨가하고, 반응을 실온에서 2.5 시간 동안 교반하였다. 그 후, 반응 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(20-100% EtOAc/헥산 용리제)에 의하여 크로마토그래피하였다. 화합물 38은 백색의 솜털 같은 고체(254 mg, 362 μmol, 46% 수율)로서 단리시켰다. ESI-MS m/z $C_{39}H_{48}N_2O_9$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 702.3; 측정치: 702.4.

[0976] 파트 C: 화합물 38(254 mg, 362 μmol), MeOH(6 mℓ) 및 10% Pd-C 촉매(50 mg)의 혼합물을 H_2(1 atm) 하에서 2 시간 동안 실온에서 교반하였다. 그 후, 반응 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켜 화합물 39를 맑은 오일로서 얻었다(214 mg, 97% 수율). ESI-MS m/z $C_{32}H_{42}N_3O_9$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 612.3; 측정치: 612.3.

[0977] 파트 D: 화합물 39(58 mg, 64 μmol), 화합물 40(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함, 47 mg, 77 μmol), HOAt(10 mg, 77 μmol), DiPEA(56 μℓ, 320 μℓ) 및 DMF(2 mℓ)의 혼합물을 실온에서 5 분 동안 교반하였다. 그 후, HATU(36 mg, 96 μmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반한 후, 농축시켜 화합물 41을 황색 오일(90 mg, quant.)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{70}H_{83}N_{14}O_{16}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1375.6; 측정치: 1375.4.

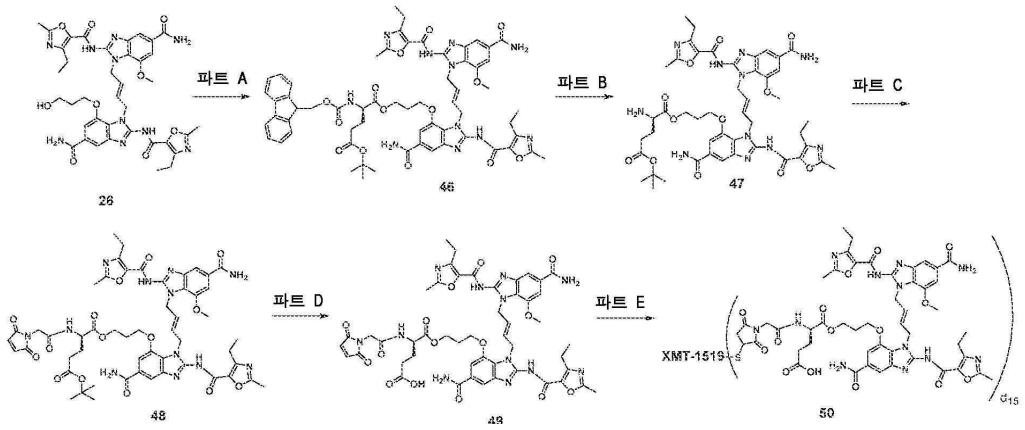
[0978] 파트 E: DMF(2 ㎖) 중의 20% 피페리딘 중의 화합물 41(90 mg, 64 μmol)의 용액을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 그 후, 반응 혼합물을 농축시키고, 실리카 겔(0-40% MeOH-DCM 용리제)에 의하여 크로마토그래피하여 화합물 42를 황색 오일(30 mg, 41% 수율)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{55}H_{73}N_{14}O_{14}$ [M+H]에 대한 이론치: 1153.5; 측정치: 1153.4.

[0979] 파트 F: 화합물 42(30 mg, 37 μmol), 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)아세테이트(8mg, 44 μmol), TEA(7 ㎕, 74 μmol) 및 DMF(1 ㎖)의 용액을 실온에서 17 시간 동안 교반하였다. 그 후, 반응 혼합물을 농축시켜 스캐폴드 43을 황색 오일(40 mg, quant.)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{61}H_{76}N_{15}O_{17}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1290.6; 측정치: 1290.3.

[0980] 파트 G: 10% TFA-DCM(2 ㎖) 중의 스캐폴드 43(30 mg, 26 μmol)의 용액을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 그 후, 반응 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 HPLC(10-100% ACN-물 w/0.1% HCOOH 용리제)에 의하여 크로마토그래피하였다. 스캐폴드 44는 회백색 솜털 같은 고체(6 mg, 20% 수율)로서 단리시켰다. ESI-MS m/z $C_{52}H_{60}N_{15}O_{15}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1134.4; 측정치: 1134.2.

[0981] 파트 H: 접합체 45는 4 당량의 TCEP를 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하였다. 정제된 접합체 45는 6.5의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0982] 실시예 10: XMT-1519 접합체 50, DAR 8.2의 합성

[0983] 

[0984] 파트 A: 화합물 26(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함, 50 mg, 64 μmol), Fmoc-D-글루탐-O-tBu(54 mg, 128 μmol), DCC(26 mg, 128 μmol), DMAP(1 mg, 6 μmol) 및 DMF(2 ㎖)의 혼합물을 실온에서 17 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 그 다음 단계에서 정제하지 않고 사용하였다. 화합물 46을 황색 오일(135 mg)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{62}H_{68}N_{11}O_{14}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1190.5; 측정치: 1190.3.

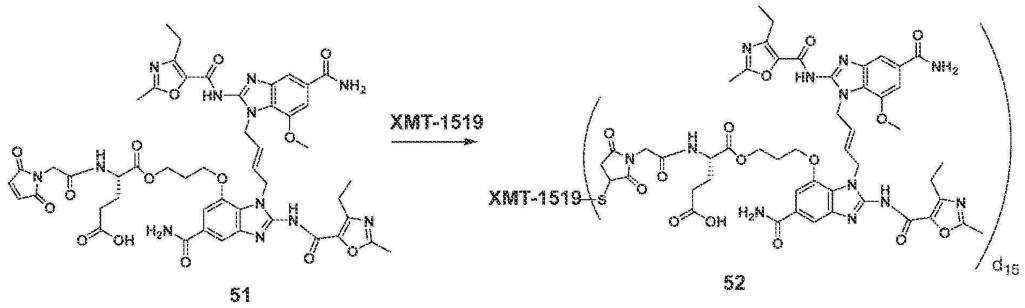
[0985] 파트 B: DMF(2.4 ㎖) 중의 화합물 46(135 mg, 64 μmol) 및 33% TEA의 혼합물을 실온에서 4.5 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 역상 HPLC(10-100% ACN-물 w/0.1% HCOOH 용리제)에 의한 크로마토그래피에 의하여 정제하였다. 화합물 47은 황색 분말(27 mg, 44% 수율)로서 단리시켰다. ESI-MS m/z $C_{47}H_{58}N_{11}O_{12}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 968.4; 측정치: 968.2.

[0986] 파트 C: 화합물 47(25 mg, 26 μmol), 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)아세테이트(8 mg, 31 μmol), TEA(11 ㎕, 78 μmol) 및 DMF(1 ㎖)의 용액을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 그 다음 단계에서 정제하지 않고 사용하였다. 스캐폴드 48을 황색 오일(40 mg, quant.)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{53}H_{61}N_{12}O_{15}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1,105.4; 측정치: 1,105.2.

[0987] 파트 D: DCM(1 ㎖) 중의 스캐폴드 48(40 mg, 24 μmol) 및 15% TFA의 용액을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 그 후, 반응 혼합물을 농축시키고, HPLC(0.1% HCOOH 용리제를 사용한 10-100% ACN-물)에 의하여 크로마토그래피하였다. 스캐폴드 49를 백색의 솜털 같은 고체(5 mg, 20% 수율)로서 단리시켰다. ESI-MS m/z $C_{49}H_{53}N_{12}O_{15}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1049.4; 측정치: 1049.2.

[0988] 파트 E: XMT-1519(10 mg, 0.069 μmol)를 실시예 1에 기재된 바와 같이 스캐폴드 49로 접합시켰다. 접합체 50을 CHT II형 크로마토그래피에 의하여 정제하였다. 정제된 접합체 50은 8.2의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[0989] 실시예 11: XMT-1519 접합체 52, DAR 7.7의 합성

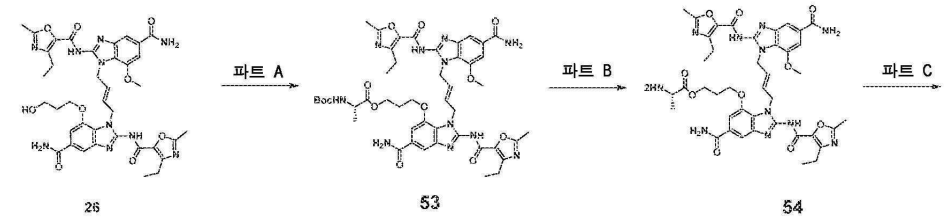


51 52

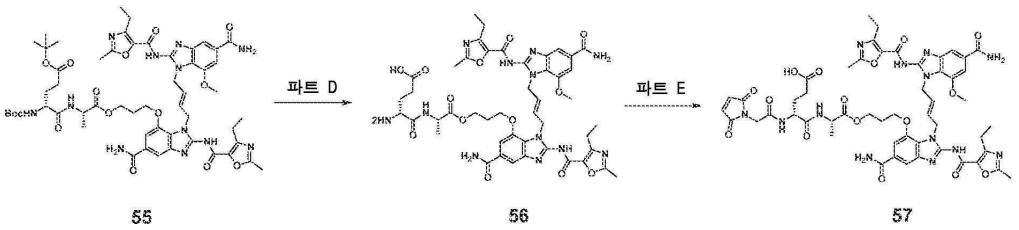
[0990]

[0991] 접합체 52는 Fmoc-D-Glu(O-tBu) 대신에 Fmoc-L-Glu(O-tBu)를 사용한 것을 제외하고, 실시예 10에 기재된 바와 같이 스캐폴드 51로부터 생성하였다. 정제된 접합체 52는 7.7의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

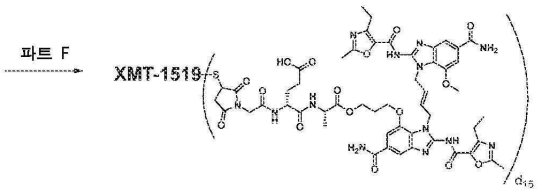
[0992] 실시예 12: XMT-1519 접합체 58, DAR 6.5의 합성



26 53 54



55 56 57



58

[0993]

[0994] 파트 A: 화합물 26(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함, 0.105 g, 0.134 mmol), Boc-L-알라닌(50.8 mg, 0.268 mmol), DMAP(50.8 mg, 0.067 mmol) 및 DCC(0.111 g, 0.537 mmol)의 혼합물에 DMF(2 mℓ)를 첨가하였다. 그 후, 현탁액을 2 일 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 실리카 겔(DCM 중의 0-40% MeOH) 상에서 정제하여 화합물 53을 담황색 고체(0.102 g, 80% 수율)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{46}H_{56}N_{11}O_{12}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 954.4; 측정치: 954.4.

[0995] 파트 B: 디옥산(10 mℓ) 중의 화합물 53(0.102 g, 0.107 mmol)의 현탁액에 4 N HCl(0.508 mℓ, 2.031 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 그 후, 현탁액을 농축시키고, 그 다음 단계에서 정제하지 않고 사용하였다. 화합물 54를 담황색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{41}H_{48}N_{11}O_{10}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 854.3; 측정치: 854.3.

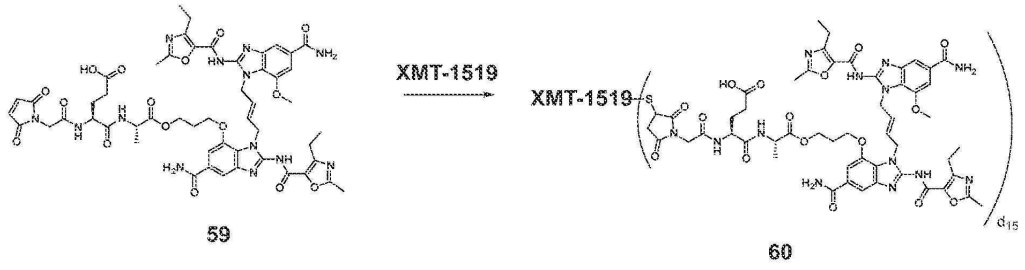
[0996] 파트 C: DMF(1 mℓ) 중의 화합물 54(0.015 g, 0.017 mmol)의 용액에 Boc-D-Glu(Otu)-OH(7.67 mg, 0.025 mmol)에 이어서 DIPEA(0.026 mℓ, 0.152 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5 분 동안 교반하였다. 그 후, PyBOP(13.15 mg, 0.025 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하고, 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(DCM 중의 0-30% MeOH) 상에서 정제하여 화합물 55(11 mg, 57.3% 수율)를 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{55}H_{71}N_{12}O_{15}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1139.5; 측정치: 1139.5.

[0997] 파트 D: 디옥산(3 mℓ) 중의 화합물 55(11 mg, 0.00966 mmol)의 현탁액에 4 N HCl(0.241 mℓ, 0.966 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 현탁액을 농축시키고, 그 다음 단계에서 정제하지 않고 사용하였다. 화합물 56을 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{46}H_{55}N_{12}O_{13}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 983.4; 측정치: 983.4.

[0998] 파트 E: DMF(3 mℓ) 중의 화합물 56(9.5 mg, 0.00966 mmol)의 용액에 DIEA(8.44 ㎕, 0.048 mmol) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)아세테이트(3.17 mg, 0.013 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하고, HOAc를 사용하여 pH 6-7로 중화시킨 후, 정제용 RP HPLC(물 중의 0-75% ACN) 상에서 정제하여 스캐폴드 57(3.3 mg, 31% 수율)을 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{52}H_{58}N_{13}O_{16}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1,120.4; 측정치: 1,120.4.

[0999] 파트 F: XMT-1519(10 mg, 0.069 μmol)를 실시예 1에 기재된 바와 같이 스캐폴드 57(0.700 mg, 200 ㎕ DMA 중의 0.625 μmol)과 접합시켰다. 접합체 58을 CHT II형 크로마토그래피에 의하여 정제하였다. 정제된 접합체 58은 6.5의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1000] 실시예 13: XMT-1519 접합체 60의 합성

[1001] 

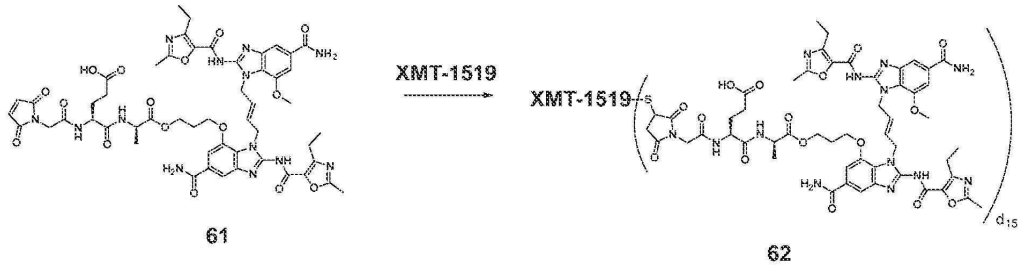
59 60

[1002] 접합체 60은 Boc-D-Glu-O-tBu 대신에 Boc-L-Glu (Otu)-OH를 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 59로부터 생성하였다. 항체-약물 접합체 60-1 및 60-2의 세부사항은 하기에 제시한다.

[1003]

접합체	DAR
60-1	7.7
60-2	5.5

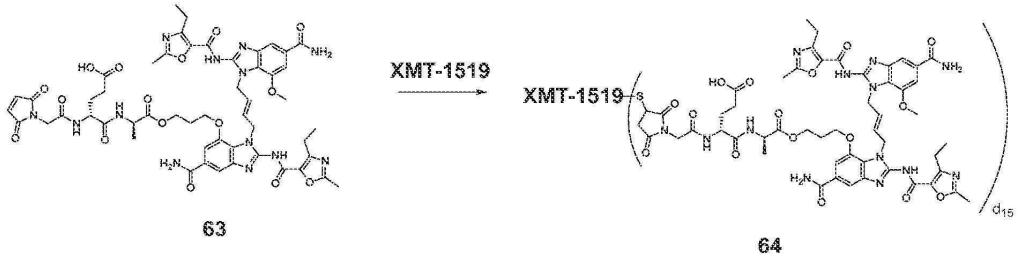
[1004] 실시예 14: XMT-1519 접합체 62, DAR 6.5의 합성

[1005] 

61 62

[1006] 접합체 62는 Boc-D-Glu-O-tBu 대신에 Boc-L-Glu (Otu)-OH를 사용하고, Boc-L-Ala 대신에 Boc-D-Ala를 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 스캐폴드 61로부터 생성하였다. 정제된 접합체 62는 6.5의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

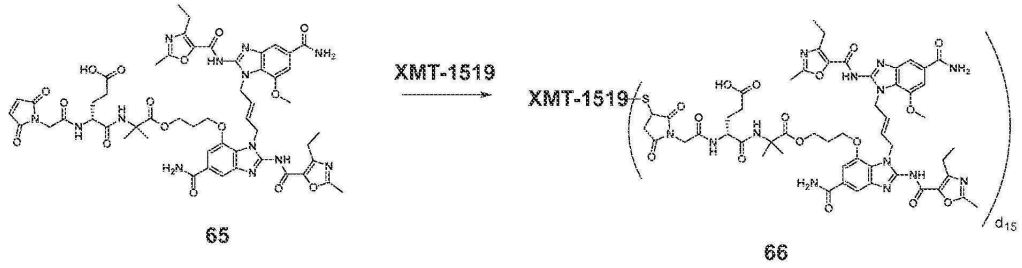
[1007] 실시예 15: XMT-1519 접합체 64, DAR 6.4의 합성



[1008]

[1009] 접합체 64는 Boc-L-Ala 대신에 Boc-D-Ala를 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 스캐폴드 63으로부터 생성하였다. 정제된 접합체 64는 6.4의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1010] 실시예 16: XMT-1519 접합체 66의 합성



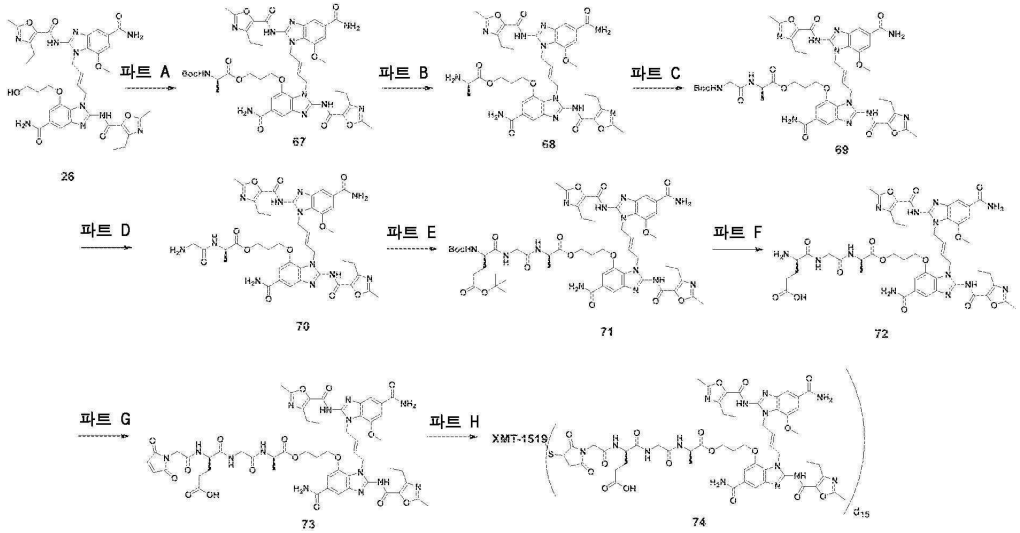
[1011]

[1012] 접합체 66은 Boc-L-Ala 대신에 Boc-2-아미노-2-메틸프로판산을 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 스캐폴드 65로부터 생성하였다. 항체-약물 접합체 66-1 및 66-2의 세부사항은 하기에 제시한다.

[1013]

접합체	DAR
66-1	7.5
66-2	5.3

[1014] 실시예 17: XMT-1519 접합체 74, DAR 6.9의 합성



[1015]

[1016] 파트 A: DMF(3 ㎖) 중의 화합물 26(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함, 75 mg, 0.096 mmol), N-Boc-(D)-Ala-OH(91 mg, 0.48 mmol), DCC(99 mg, 0.48 mmol) 및 DMAP(1.2 mg, 9.58 μmol)의 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반한 후, 진공 하에서 농축시켰다. 실리카 겔(DCM:MeOH 60:40 v/v) 상의 정제는 화합물 67(82 mg, 90% 수율)을 담황색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{46}H_{56}N_{11}O_{12}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 954.40, 측정치: 954.43.

[1017] 파트 B: 디옥산(5 ㎖) 중의 화합물 67(80 mg, 0.084 mmol)의 현탁액에 HCl(디옥산 중의 4 M, 0.42 ㎖, 1.68 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공 하에서 농축시켜 화합물 68(72

mg, 100% 수율)을 담황색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{41}H_{48}N_{11}O_{10}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 854.35, 측정치: 854.38.

[1018] 파트 C: DMF(3 mℓ) 중의 화합물 68(48 mg, 0.056 mmol), N-Boc-글리신(15 mg, 0.084 mmol) 및 PyBOP(44 mg, 0.084 mmol)의 교반된 용액에 DIPEA(0.088 mℓ, 0.51 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(DCM:MeOH 60:40 v/v) 상에서 정제하여 화합물 69(53 mg, 93% 수율)를 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{48}H_{59}N_{12}O_{13}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1011.42, 측정치: 1011.45.

[1019] 파트 D: 디옥산(5 mℓ) 중의 화합물 69(50 mg, 0.049 mmol)의 현탁액에 HCl(디옥산 중의 4 M, 1 mℓ, 20% v/v)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반한 후, 농축시켜 화합물 70(45 mg, 100% 수율)을 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{43}H_{51}N_{12}O_{11}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 911.37, 측정치: 911.39.

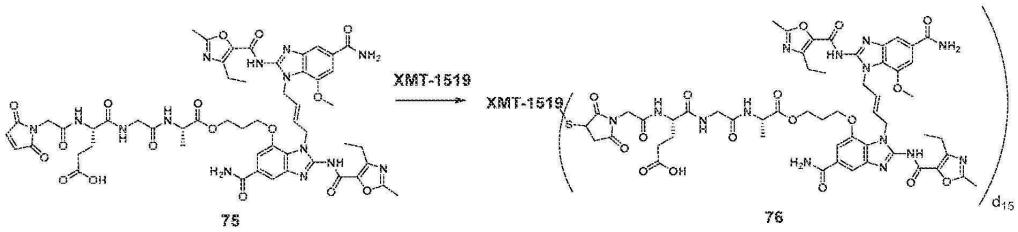
[1020] 파트 E: DMF(2 mℓ) 중의 화합물 70(20 mg, 0.022 mmol), N-Boc-(D)-Glu(OtBu)-OH(10 mg, 0.033 mmol) 및 PyBOP(17 mg, 0.033 mmol)의 교반된 용액에 DIPEA(0.03 mℓ, 0.22 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(DCM:MeOH 60:40 v/v) 상에서 정제하여 화합물 71(24 mg, 90% 수율)을 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{57}H_{74}N_{13}O_{16}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1196.53; 측정치: 1196.55.

[1021] 파트 F: DCM(5 mℓ) 중의 화합물 71(24 mg, 0.02 mmol)의 현탁액에 TFA(1 mℓ, 20% v/v)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 화합물 72(21 mg, 100% 수율)를 담황색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{48}H_{58}N_{13}O_{14}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1040.41; 측정치: 1040.23.

[1022] 파트 G: DMF(2 mℓ) 중의 화합물 72(21 mg, 0.02 mmol), 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)아세테이트(7.6 mg, 0.03 mmol)의 교반된 용액에 DIPEA(0.035 mℓ, 0.20 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 RP HPLC 상에서 정제하여 스캐폴드 73(4.5 mg, 19% 수율)을 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{54}H_{61}N_{14}O_{17}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1177.43; 측정치: 1177.40.

[1023] 파트 H: 접합체 74는 실시예 12에 기재된 바와 같이 스캐폴드 73으로부터 생성하였다. 정제된 접합체 74는 6.9의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

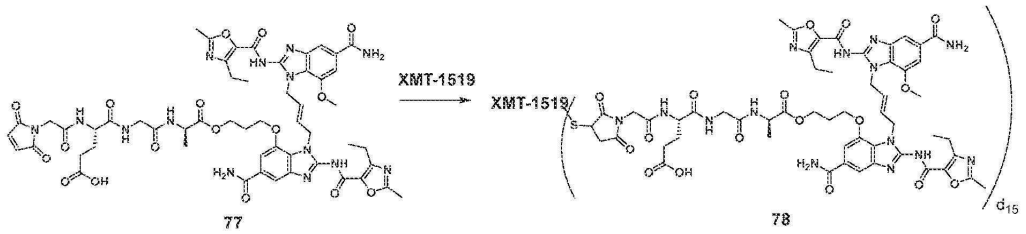
[1024] 실시예 18: XMT-1519 접합체 76, DAR 7.5의 합성



[1025]

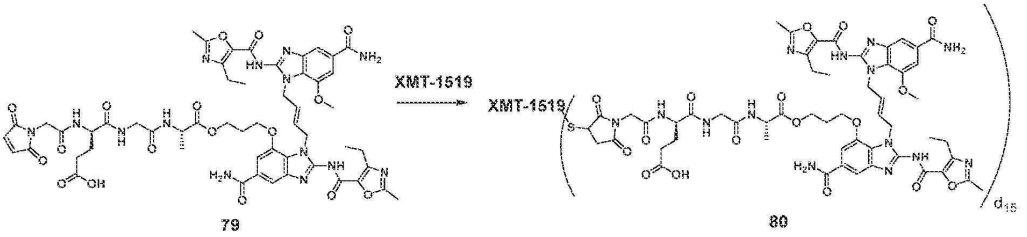
[1026] 접합체 76은 N-Boc-(D)-Ala-OH 대신에 N-Boc-(L)-Ala-OH를 사용하고, N-Boc-(D)-Glu(OtBu)-OH 대신에 N-Boc-(L)-Glu(OtBu)-OH를 사용한 것을 제외하고, 실시예 17에 기재된 바와 같이 스캐폴드 75로부터 생성하였다. 정제된 접합체 76은 7.5의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1027] 실시예 19: XMT-1519 접합체 78, DAR 7.4의 합성

[1028] 

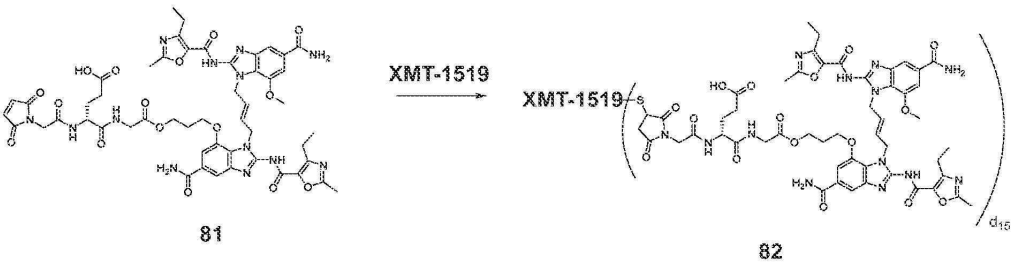
[1029] 접합체 78은 N-Boc-(D)-Glu(OtBu)-OH 대신에 N-Boc-(L)-Glu(OtBu)-OH를 사용한 것을 제외하고, 실시예 17에 기재된 바와 같이 스캐폴드 70으로부터 생성하였다. 정제된 접합체 78은 7.4의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1030] 실시예 20: XMT-1519 접합체 80, DAR 7.5의 합성

[1031] 

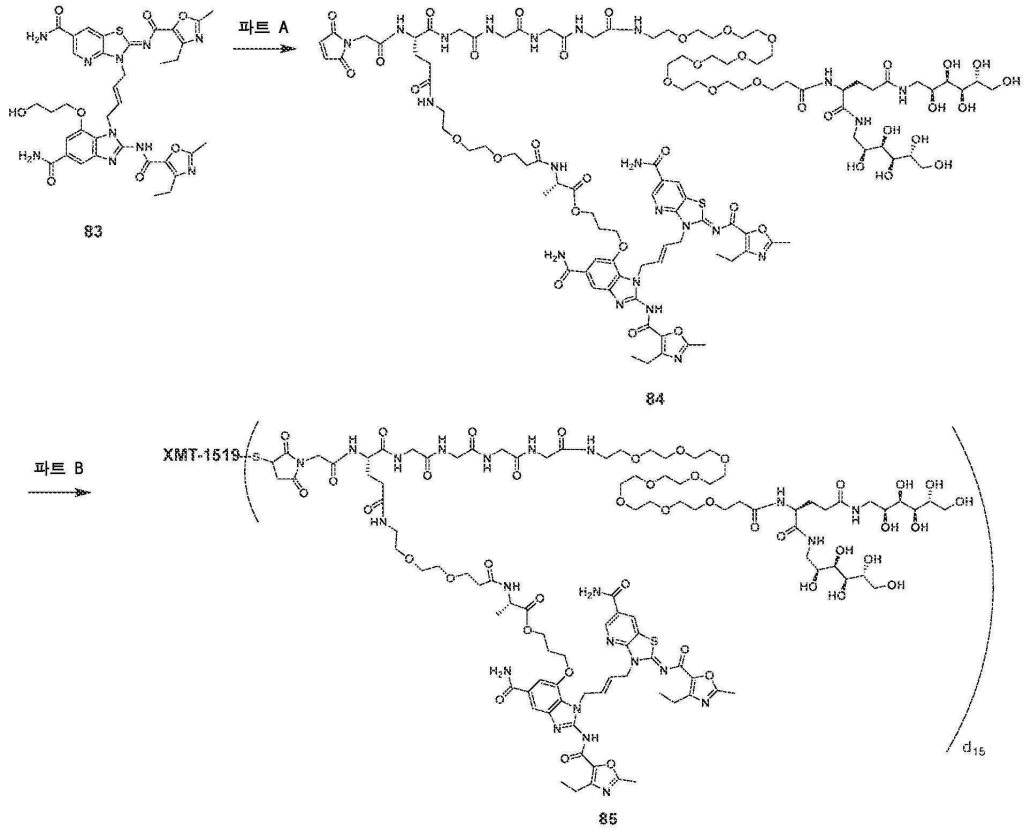
[1032] 접합체 80은 N-Boc-(D)-Ala-OH 대신에 N-Boc-(L)-Ala-OH를 사용한 것을 제외하고, 실시예 17에 기재된 바와 같이 스캐폴드 79로부터 생성하였다. 정제된 접합체 80은 7.5의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1033] 실시예 21: XMT-1519 접합체 82, DAR 5.7의 합성

[1034] 

[1035] 접합체 82는 Boc-(L)-Ala-OH 대신에 Boc-글리신을 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 스캐폴드 81로부터 생성하였다. 정제된 접합체 81은 5.7의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1036] 실시예 22: XMT-1519 접합체 85, DAR 6.5의 합성

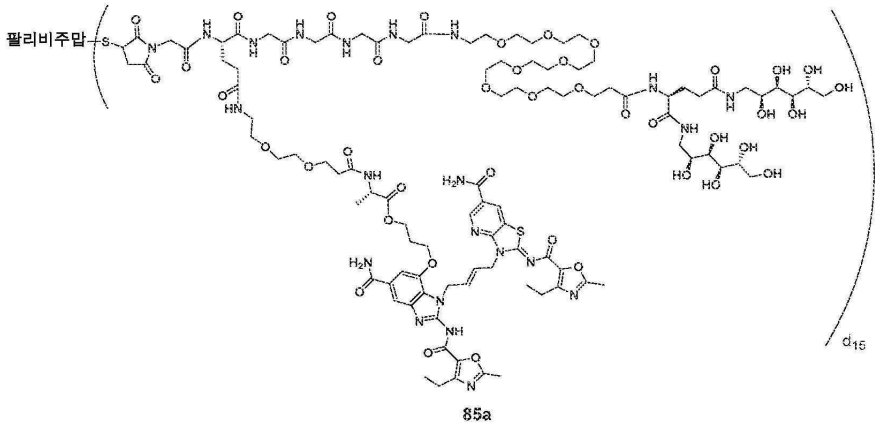


[1037]

[1038] 파트 A: 스캐폴드 84는 화합물 1 대신에 화합물 83(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함)을 사용한 것을 제외하고 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하였다. 스캐폴드 84는 백색의 솜털 같은 고체(3.3 mg, 5 단계에 걸쳐 0.5% 수율)로서 얻었다. ESI-MS m/z $C_{101}H_{148}N_{22}O_{42}S$ $[M+2H]^{2+}$에 대한 이론치: 1187.49; 측정치: 1187.78.

[1039] 파트 B: 접합체 85는 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하여 표제 접합체를 얻었다. 정제된 접합체 85는 6.5의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

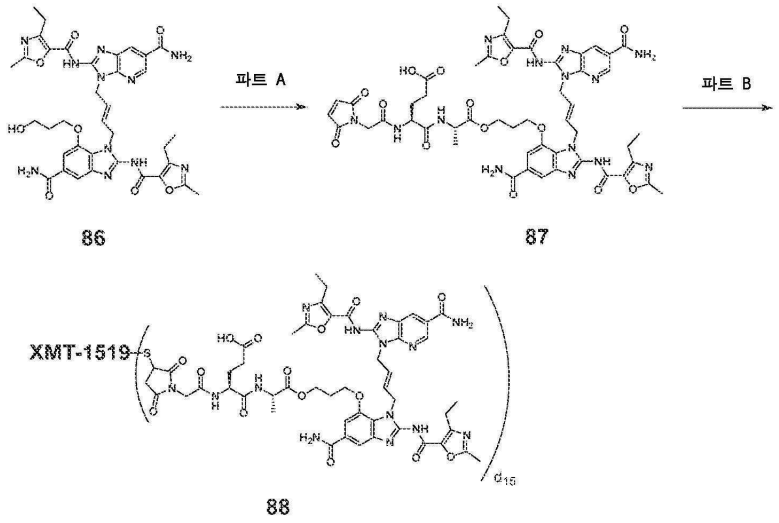
[1040] 실시예 22a: 팔리비주맙 접합체 85a, DAR 7.4의 합성



[1041]

[1042] 접합체 85a는 XMT-1519 대신에 팔리비주맙을 사용한 것을 제외하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 85a는 7.4의 팔리비주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1043] 실시예 23: XMT-1519 접합체 88, DAR 6.6의 합성

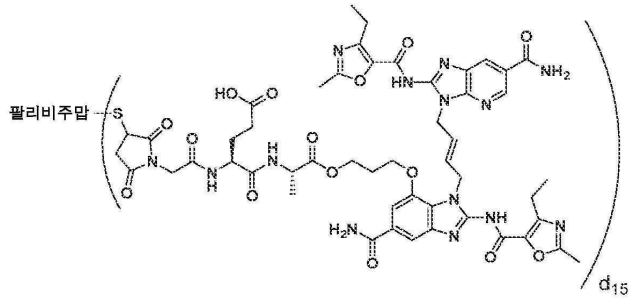


[1044]

[1045] 파트 A: 스캐폴드 87은 화합물 26 대신에 화합물 86(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함)을 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 생성하였다. ESI-MS m/z $C_{50}H_{55}N_{14}O_{15}$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1091.4; 측정치: 1091.2.

[1046] 파트 B: 접합체 88은 스캐폴드 57 대신에 스캐폴드 87을 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 생성하였다. 정제된 접합체는 6.6의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

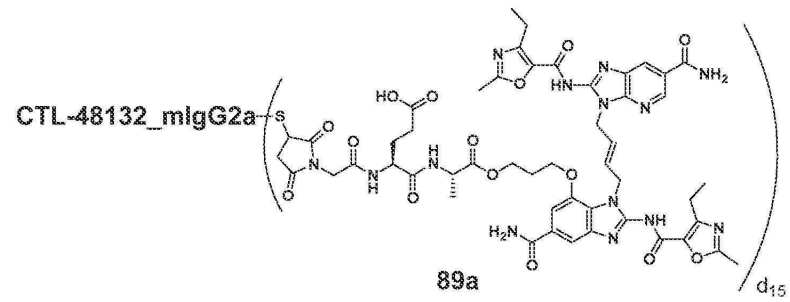
[1047] 실시예 23a: 팔리비주맙 접합체 89, DAR 5.9의 합성



[1048]

[1049] 접합체 89는 XMT-1519 대신에 팔리비주맙을 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 89는 5.9의 팔리비주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

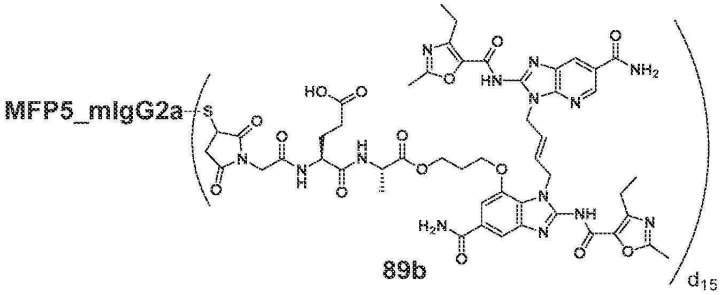
[1050] 실시예 23b: CTL-48132_mIgG2a 접합체 89a, DAR 8.8의 합성



[1051]

[1052] 접합체 89a는 XMT-1519 대신에 CTL-48132_mIgG2a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 89a는 8.8의 CTL-48132_mIgG2a에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

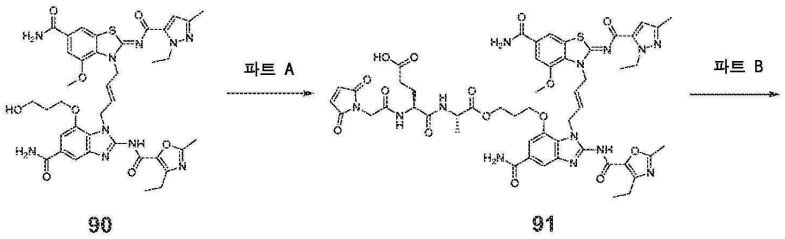
[1053] 실시예 23c: MFP5_mIgG2a 접합체 89b, DAR 9.0의 합성

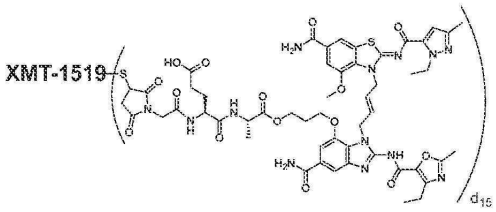


[1054]

[1055] 접합체 89b는 XMT-1519 대신에 CTL-48132_mIgG2a를 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 89b는 9.0의 MFP5_mIgG2a에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1056] 실시예 24: XMT-1519 접합체 92, DAR 7.6의 합성



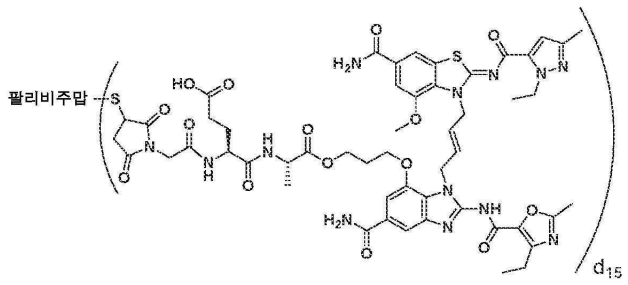


[1057]

[1058] 파트 A: 스캐폴드 91은 화합물 26 대신에 화합물 90(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함)을 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 생성하였다. ESI-MS m/z $C_{52}H_{58}N_{13}O_{15}S$ $[M+H]^+$에 대한 이론치: 1136.4; 측정치: 1136.2.

[1059] 파트 B: 접합체 88은 스캐폴드 57 대신에 스캐폴드 87을 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 생성하였다. 정제된 접합체는 7.6의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

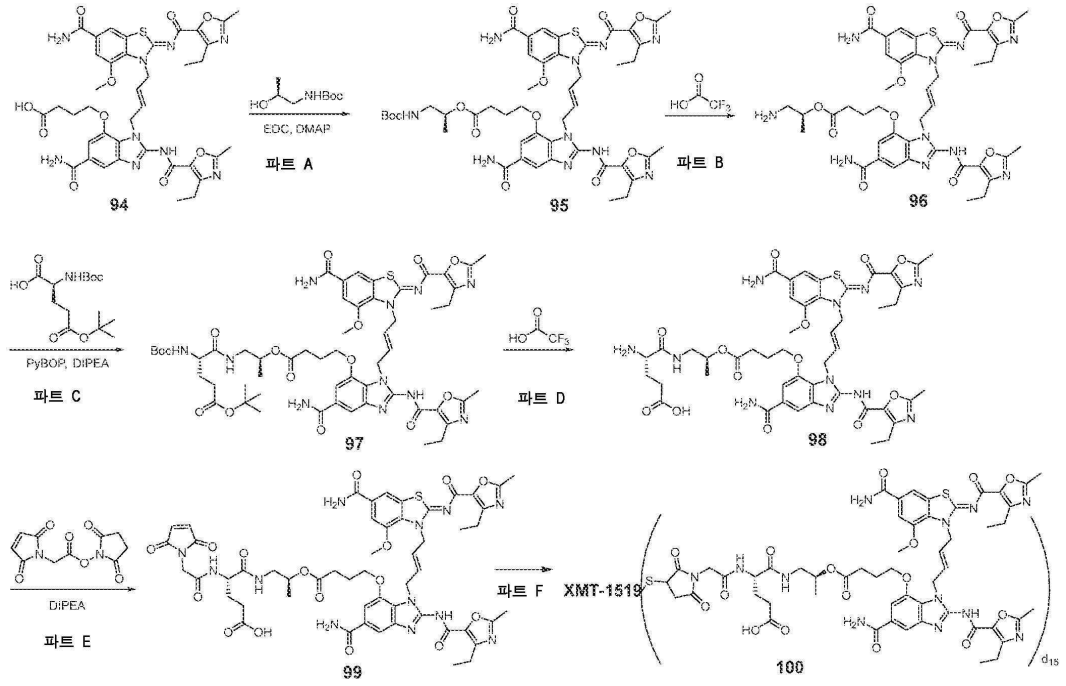
[1060] 실시예 24a: 팔리비주맙 접합체 93, DAR 6.7의 합성



[1061]

[1062] 접합체 93은 XMT-1519 대신에 팔리비주맙을 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 생성하고, 특징화하였다. 정제된 접합체 93은 6.7의 팔리비주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1063] 실시예 25: XMT-1519 접합체 100, DAR 7.8의 합성



[1064]

[1065] 파트 A: DMF(3 ㎖) 중의 화합물 94(US 62/982,935에 기재된 바와 같이 생성함, 45 mg, 0.054 mmol)의 교반된 용액에 (S)-1-(Boc-아미노)프로판-2-올(19 mg, 0.11 mmol), EDC(17 mg, 0.109 mmol) 및 DMAP(3.3 mg, 0.027 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. 반응을 진공 하에서 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(DCM:MeOH 60:40 v/v) 상에서 정제하여 95(49 mg, 92% 수율)를 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS: $C_{47}H_{57}N_{10}O_{12}S$ (M+H): 이론치: 985.38, 측정치: 985.21.

[1066] 파트 B: DCM(5 ㎖) 중의 화합물 95(49 mg, 0.05 mmol)의 교반된 현탁액에 TFA(1 ㎖, 20% v/v DCM)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 농축시켜 화합물 96(44 mg, 100% 수율)을 담황색 고체로서 얻었다. ESI-MS: $C_{42}H_{49}N_{10}O_{10}S$ (M+H): 이론치: 885.33, 측정치: 885.18.

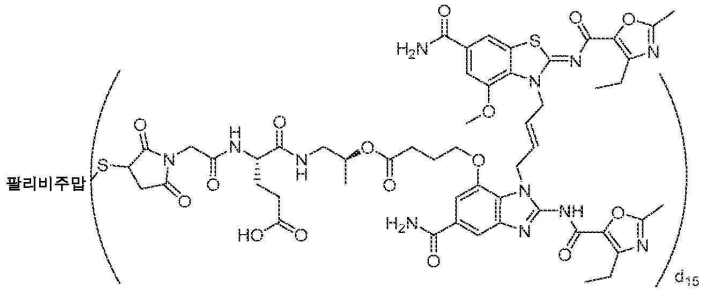
[1067] 파트 C: DMF(2 ㎖) 중의 화합물 96(50 mg, 0.05 mmol)의 교반된 용액에 Boc-Glu-OtBu(86 mg, 0.28 mmol), PyBOP(118 mg, 0.23 mmol) 및 DIPEA(0.12 ㎖, 0.68 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 30 분 동안 교반하였다. 혼합물을 진공 하에서 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔(DCM:MeOH 60:40 v/v) 상에서 정제하여 화합물 97(45 mg, 77% 수율)을 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS: $C_{56}H_{72}N_{11}O_{15}S$ (M+H): 이론치: 1170.49, 측정치: 1170.29.

[1068] 파트 D: DCM(5 ㎖) 중의 화합물 97(45 mg, 0.038 mmol)의 교반된 현탁액에 TFA(1 ㎖, 20% v/v DCM)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공 하에서 농축시켜 화합물 98(38 mg, 100% 수율)을 담황색 고체로서 얻었다. ESI-MS: $C_{47}H_{56}N_{11}O_{13}S$ (M+H): 이론치: 1014.37, 측정치: 1014.20.

[1069] 파트 E: DMF(2 ㎖) 중의 화합물 98(20 mg, 0.02 mmol)의 교반된 용액에 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 2-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)아세테이트(5 mg, 0.02 mmol) 및 DIPEA(0.034 ㎖, 0.20 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반하였다. 반응을 아세트산(0.034 ㎖, 1:1 v/v DIPEA)으로 켄칭하고, C18 정지상(물:ACN)을 사용하는 HPLC에 의하여 직접 정제하여 스캐폴드 99(4.7 mg, 20% 수율)를 백색 고체로서 얻었다. ESI-MS: $C_{53}H_{59}N_{12}O_{16}S$ (M+H): 이론치: 1151.38, 측정치: 1151.18.

[1070] 파트 F: 접합체 100은 스캐폴드 57 대신에 스캐폴드 99를 사용한 것을 제외하고, 실시예 12에 기재된 바와 같이 생성하였다. 정제된 접합체는 7.8의 XMT-1519에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1071] 실시예 25a: 팔리비주맙 접합체 101, DAR 6.5의 합성



[1072] 101

[1073] 접합체 101은 XMT-1519 대신에 팔리비주맙을 사용한 것을 제외하고, 실시예 25에 기재된 바와 같이 생성하였다. 정제된 접합체는 6.5의 팔리비주맙에 대한 스팅 효능제의 비를 가졌다.

[1074] 실시예 26A: 암 세포/THP1 루시페라제 리포터 세포 공생배양물에서 암 세포 표적화된 야생형 또는 Fc 변이체 스팅-ADC 활성

[1075] NaPi2b Fc 침묵 항체의 생성: Fc 이펙터 작용을 무효화시키기 위하여 조작된 Fc 영역을 갖는 NaPi2b mAb(항NaPi2b-(AAG))는 중쇄 불변 영역 L234A, L235A 및 P329G(AAG; 카밧 Eu 넘버링)에서 3개의 변이로 설계되었으며, 표준 분자 생물학 절차에 의하여 생성되었다. 항체를 발현시키고, 정제하였다. 간단히, L234A, L235A 및 P329G 변이를 지니는 사람 IgG1의 불변 영역을 갖는 NaPi2b 항체의 중쇄의 가변 영역 및, 사람 카파 경쇄를 갖는 항NaPi2b 항체의 경쇄의 가변 영역을 인코딩하는 DNA를 포유동물 발현 벡터로 클로닝하였다. NaPi2b-(AAG)의 중쇄 및 경쇄를 HEK293 세포에서 동시발현시켰으며, 항체를 세포 상청액으로부터 표준 단백질 A 친화성 크로마토그래피에 의하여 정제하였다.

[1076] 면역 세포에서 스팅 경로의 유도: NaPi2b 표적 스팅 ADC에 의한 면역 세포에서의 스팅 경로의 유도는 암 세포/THP1-IRF3-루시페라제 리포터 세포 공생배양물 검정에 의하여 평가하였다. OVCAR3 사람 난소 암종 세포를 96웰 셀바인드(CellBind) 표면 조직 배양 평판(15,000/웰)에서 배양하고, 6 시간 동안 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 RPMI-1640 배지 내에서 부착되도록 하였다. 테스트 항목 접합체 8b-1, 접합체 8f, 접합체 8d-1 및 화합물 1의 다양한 희석액(페이로드를 기준으로 하여 0.4 nM 내지 100 nM; 성장 배지 중에서 3배 계열 희석액)을 각각의 웰에 첨가하고, 평판을 20 분 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 그 후, THP1-2중 리포터 세포(30,000)를 각각의 웰에 첨가하고, 인큐베이션을 20 시간 동안 37℃에서 5% CO_2의 가습 대기 중에서 지속하였다. 각각의 인큐베이션한 샘플로부터의 세포 배양 상청액(20 ㎕)을 재현탁된 QUANTI-Luc(50 ㎕)에 첨가하고, 발광 신호는 스펙트라맥스(SpectraMax) M5 평판 판독기(몰레큘라 디바이스(Molecular Devices))를 사용하여 즉시 측정하였다. EC_{50} 값은 투여량 반응 곡선으로부터 구하였다. 하기 표 1A는 OVCAR3 암 세포로 공생배양된 THP1-2중 세포에서의 EC_{50} 값을 제공한다.

표 1A

[1077]

테스트 항목	접합체 8b-1	접합체 8f	접합체 8d-1	화합물 1
EC_{50} (nM)	<0.05	43.3	41.8	6.8

[1078] 표 1A에 제시한 바와 같이, 야생형 Fc 이펙터 작용을 갖는 접합체 8b-1은 유리 효능제인 화합물 1에 비하여 100배 초과로 증가된 활성 및 접합체 8f 및 접합체 8d-1에 비하여 ~1,000배 증가된 활성을 나타내며, 이는 활성에 대한 Fc 수용체의 역할을 확인하였다. 제시된 결과는 대표적인 실험의 EC_{50} 값이다.

[1079] 실시예 26B: 암 세포/THP1 루시페라제 리포터 세포 공생배양물에서의 암 세포 표적화된 야생형 또는 Fc 변이체 스팅-ADC 활성

[1080] HER-2 Fc 침묵 항체의 생성: Fc 이펙터 작용을 무효화시키기 위하여 조작된 Fc 영역을 갖는 트라스투주맙 mAb(항Her2-(AAG))는 중쇄 불변 영역 L234A, L235A 및 P329G(AAG; 카밧 Eu 넘버링)에서 3개의 변이로 설계되었으며, 실시예 26A에 기재된 바와 같이 생성하였다.

[1081] 면역 세포에서 스팅 경로의 유도: Her2 표적화된 스팅 ADC에 의한 면역 세포에서의 스팅 경로의 유도는 SKBR3 사람 유방 암종 세포를 사용하는 암 세포/THP1-IRF3-루시페라제 리포터 세포 공생배양물 검정에 의하여 실시예

26A에 기재된 바와 같이 테스트 항목 접합체 8a-2, 접합체 8j, 접합체 8c-2 및 화합물 1을 사용하여 평가하였다. 하기 표 1B는 SKBR3 암 세포로 공생배양된 THP1-2중 세포에서의 EC_{50} 값을 제공한다.

표 1B

[1082]

테스트 항목	접합체 8a-2	접합체 8j	접합체 8c-2	화합물 1
EC_{50} (nM)	0.35	>200	>200	7.4

[1083] 표 1B에 제시한 바와 같이, 야생형 Fc 이펙터 작용을 갖는 접합체 8a-2는 유리 효능제인 화합물 1에 비하여 ~50배 증가된 활성 및, 접합체 8j 및 접합체 8c-2에 비하여 ~1,000배 증가된 활성을 나타내며, 이는 활성에 대한 Fc 수용체의 역할을 확인하였다. 제시된 결과는 대표적인 실험의 EC_{50} 값이다.

[1084] 실시예 27A: 종양 세포 항원 코팅된 평판 상에서 배양된 THP1 루시페라제 리포터 세포에서 암 세포 표적화된 야생형 또는 Fc 변이체 스팅 ADC 활성

[1085] 사람 NaPi2b 유도된 펩티드(QINVTVPSTANCTSPSLCWTDGIQNWTMKN)를 펩티드(PBS 중의 1 ㎍/㎖)로 밤새 4℃에서 인큐베이션에 의하여 96웰 평판의 각각의 웰의 표면 상에 코팅하였다. 그 후, 웰을 PBS-T로 1회 세정하고, BSA(PBS-T 중 3%)와 함께 1 시간 동안 실온에서 인큐베이션에 의하여 차단하였다. PBS-T(2x), PBS(1x) 및 성장 배지(RPMI 1640, 10% FBS, 1% 페니실린/스트렙토마이신, 1x)로 세정한 후, 테스트 항목(접합체 8b-1, 접합체 8f, 접합체 8c-1 및 화합물 1)의 다양한 희석액(페이로드를 기준으로 하여 0.4 nM 내지 100 nM; 성장 배지 중에서 3배 계열 희석액)을 각각의 웰에 첨가하고, 평판을 20 분 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. THP1-2중 리포터 세포(50,000)를 각각의 웰에 첨가하고, 20 시간 동안 37℃에서 5% CO_2의 가습 대기 중에서 인큐베이션하였다. 각각의 인큐베이션한 샘플로부터의 세포 배양 상청액(20 ㎕)을 재현탁된 QUANTI-Luc(50 ㎕)에 첨가하고, 스펙트라맥스 M5 평판 판독기(몰레큘라 디바이스)를 사용하여 발광 신호를 즉시 측정하였다. EC_{50} 값은 투여량 반응 곡선으로부터 구하였다. 하기 표 2A는 NaPi2b 재조합 펩티드 코팅된 평판 상에서 배양된 THP1-2중 세포에서의 EC_{50} 값을 제공한다.

표 2A

[1086]

테스트 항목	접합체 8b-1	접합체 8f	접합체 8c-1	화합물 1
EC_{50} (nM)	<0.022	>100	18.99	5.18

[1087] 표 2A에 제시한 바와 같이, 야생형 Fc를 갖는 접합체 8b-1은 화합물 1에 비하여 ~100배 증가된 활성을 나타낸다. 접합체 8f는 활성을 갖지 않으며, 접합체 8c-1은 접합체 8b-1에 비하여 ~1,000배 더 낮은 활성을 가지며, 이는 활성에 대한 Fc 수용체의 역할을 확인하였다. 제시된 결과는 대표적인 실험의 EC_{50} 값이다.

[1088] 실시예 27B: 종양 세포 항원 코팅된 평판 상에서 배양된 THP1 루시페라제 리포터 세포에서의 암 세포 표적화된 야생형 또는 Fc 변이체 스팅 ADC 활성

[1089] 사람 HER2/ErbB2 단백질(His-태그된, ECD, 도메인 IV, 17.1 kDa) 유래 펩티드를 펩티드(PBS 중의 1 ㎍/㎖)로 밤새 4℃에서 인큐베이션에 의하여 96웰 평판의 각각의 웰의 표면 상에 코팅하고, 테스트 항목 접합체 8a-3, 접합체 8j, 접합체 8c-2 및 화합물 1의 3배 계열 희석액(페이로드를 기준으로 하여 0.09 nM 내지 200 nM)을 사용한 것을 제외하고, 실시예 27A에 기재된 바와 같이 수행하였다. 하기 표 2B는 Her2 재조합 단백질 코팅된 평판 상에서 배양된 THP1-2중 세포에서의 EC_{50} 값을 제공한다.

표 2B

[1090]

테스트 항목	접합체 8a-3	접합체 8j	접합체 8c-2	화합물 1
EC_{50} (nM)	0.36	>200	>200	8.8

[1091] 표 2B에 제시한 바와 같이, 야생형 Fc를 갖는 접합체 8a-3은 화합물 1에 비하여 ~100배 증가된 활성을 나타낸다. 접합체 8j 및 접합체 8c-2는 활성을 갖지 않으며, 이는 활성에 대한 Fc 수용체의 역할을 확인하였다. 제시된 결과는 대표적인 실험의 EC_{50} 값이다.

[1092] 실시예 28A: 암 세포/PBMC 공생배양물에서의 종양 세포 표적화된 NaPi2b ADC의 활성

[1093] 핵 제한된 mKate 형광 적색 단백질을 안정하게 발현시키는 OVCAR3 사람 난소 암종 세포는 인큐사이트(IncuCyte)ⓒ 누라이트 레드 렌티바이러스(NucLight Red Lentivirus) 시약을 사용한 변환에 의하여 생성하였다. 푸로마

이신 함유 배지(2 ㎍/㎖) 중에서 선택된 안정하게 변환된 세포(OVCAR3-뉴크레드 세포로서 지정됨)를 2 일 동안 96웰 조직 배양 평판(8,000/웰) 중에 파종하고, 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 RPMI-1640 배지 중에서 밤새 부착되도록 하였다. 배양 배지를 새로운 배지(50 ㎕)로 교체하였다. 테스트 항목(3배 농축, 접합체 8b-1(100, 10 및 1 nM), 접합체 8f(100, 10 및 1 nM), 접합체 8c-1(100 및 10 nM) 및 화합물 1(100 및 10 nM); 접합체 농도는 페이로드를 기준으로 하였음)을 배지(50 ㎕) 중에서 각각의 웰에 첨가하고, 평판을 20 분 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 냉동시킨 사람 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 공급업자의 지시사항에 따라 해동시키고, 각각의 웰(50 ㎕ 배지 중의 40,000 PBMC)에 첨가하고, 평판을 인큐사이트ⓒ 생세포 영상화 기기를 인큐베이터(37℃, 5% O_2) 내에 넣고, 2 일에 걸쳐 4 시간마다 스캐닝하였다. 적색체(암 세포)의 개수를 인큐사이트ⓒ 줌(Zoom) 소프트웨어를 사용하여 정량화하였다. 각각의 웰에서의 적색체 전면생장률을 그 자체의 T=0 시점 적색체 전면생장률에 대하여 정규화하였다.

[1094] 도 1A는 시간에 대한 적색체 전면생장률을 플롯하며, 화합물 1에 비하여 100x 더 낮은 페이로드 농도에서 접합체 8b-1에 반응하여 PBMC에 의한 암 세포 사멸의 강력한 유도를 나타낸다. 접합체 8f는 또한 접합체 8b에 비하여 감소된 수준에서이기는 하지만 활성을 나타냈다. 접합체 8c-1은 접합체 8b-1에 비하여 상당히 더 낮은 활성을 가졌다.

[1095] 실시예 28B: 암 세포/PBMC 공생배양물 중에서 종양 세포 포적화된 NaPi2b ADC의 활성

[1096] OVCAR3-뉴크레드 세포를 96웰 조직 배양 평판(20,000/웰) 중에서 파종하고, 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 사용한 RPMI-1640 배지 내에서 6 시간 부착되도록 하였다. 배양 배지를 새로운 배지(50 ㎕)로 교체하였다. 테스트 항목(3배 농축, 접합체 8l 및 화합물 1(각각 100, 10 및 1 nM에서) 및 접합체 8m(100 nM); 접합체 농도는 페이로드를 기준으로 하였음)을 배지(50 ㎕) 중에서 각각의 웰에 첨가하였다. 30,000 PBMC를 사용한 것을 제외하고, 실시예 28A에 기재된 바와 같이 검정을 수행하였다. 적색체(암 세포)의 개수는 인큐사이트ⓒ 줌 소프트웨어를 사용하여 정량화하였다, 각각의 웰 중의 적색체 개수는 그 자체의 T=0 시점 적색체 개수에 대하여 정규화하였다.

[1097] 도 1B는 시간에 대한 적색체 개수를 플롯하며, 화합물 1에 비하여 100x 더 낮은 페이로드 농도에서 접합체 8l에 반응하여 PBMC에 의한 암 세포 사멸의 강력한 유도를 나타낸다. 접합체 8m은 상당한 활성을 갖지 않았으며, 시간 경과에 따른 적색체 개수(세포 성장)의 증가는 미처치 대조군과 유사하였다. 삽도는 테스트 항목(100 nM)이 단일배양물 중 OVCAR3-뉴크레드 세포의 성장을 억제시키지 못하였다는 것을 나타낸다.

[1098] 실시예 29: CD14, Fcγ 수용체의 흐름 세포측정 분석 및 PBMC 및 단리된 단핵구 부분모집단에서의 CD3 발현

[1099] 냉동시킨 사람 PBMC(1×10^8)를 해동시키고, 3개의 시험관으로 나누었다: 1개의 분액을 사람 단핵구 농축[스템셀 테크놀로지즈(StemCell Technologies)]으로 처리하고("CD16 결핍된 단핵구"), 1개의 분액을 CD16 결핍 없는 사람 단핵구 농축[스템셀 테크놀로지즈]으로 처리하고("농축된 단핵구"), 1개의 분액은 농축으로 처리하지 않았다("PBMC"). 흐름 세포측정의 경우, 각각의 군으로부터의 세포(50,000)를 U-바닥 96웰 평판에 4회 반복으로 전달하고, PBS로 세정하고, 살아있는/죽은 고정 가능한 아쿠아(Aqua) 죽은 세포 염색 염료(몰레큘라 프로브즈(Molecular Probes))로 염색한 후, 형광단 접합된 표적 특이성(3회) 또는 동형 대조 항체(퍼시픽 블루(Pacific Blue) 항사람 CD14, FITC 항사람 CD3, APC/Cy7 CD16, PE 항사람 CD32, PE/Cy7 항사람 CD64)로 염색하였다. 세포를 고정시키고, 관심의 댄백질의 표면 발현 단백질은 MACSQuant 유세포 분석기 상에서 흐름 세포측정 분석에 의하여 측정하였다. 데이타 분석은 플로우조(FlowJo) 소프트웨어에 의하여 수행하였다. 하기 표 3은 PBMC, 농축된 단핵구 및 CD16 결핍된 단핵구 모집단에서 CD14-/CD16+, CD14+/CD16+, CD14-/CD32+, CD14+/CD32+, CD14-/CD64+, CD14+/CD64+ 및 CD14-/CD3+ 세포의 빈도(단일/생 세포의 %)를 제공한다.

표 3

모집단 (%)*	CD14+ CD16+	CD14- CD16+	CD14+ CD32+	CD14- CD32+	CD14+ CD64+	CD14- CD64+	CD14- CD3+
PBMC	1.8±0.1	20.0±0.8	15.5±0.8	32.5±0.5	15.5±0.9	1.0±0.3	47.5±0.7
농축된 단핵구	4.0±0.4	23.6±1.2	5.1±1.2	20.7±0.1	41.8±0.1	2.7±0.3	3.4±0.5
CD16 결핍된 단핵구	2.0±0.2	3.0±0.9	5.8±0.5	24.2±1.1	46.8±0.6	2.7±0.1	2.5±1.2

[1100] *단일/생 세포 상에서 게이팅함

[1101] 표 3은 CD3+ 세포의 효율적인 결핍 및 단핵구의 농축 및, 단리 후 CD16 결핍된 단핵구에서 약화된 수준의 CD16 양성 세포를 나타낸다. CD64 염색 결과는 모든 CD14 양성 세포가 농축된 단핵구 부분모집단에서뿐 아니라, PBMC

에서 CD64(FcγRI)를 발현시킨다는 것을 나타낸다.

[1102] 도 2는 CD3+ 세포의 효율적인 결핍 및 단핵구의 농축 및, 단리 후 CD16 결핍된 단핵구에서 약화된 수준의 CD14 양성 세포를 나타낸다.

[1103] 실시예 30: PBMC 및 스팅 야생형 또는 녹 아웃 SKBR3 세포의 시험관내 공생배양물에서 Fc-변이체 종양 세포 표적화된 Her2 ADC의 암 세포-사멸 활성

[1104] 핵 제한된 mKate 형광 단백질을 발현시키는 스팅 녹 아웃 단일 세포 클론의 생성: SKBR3 세포를 24웰 평판(50,000/웰)에 파종하고, 비표적화 sgRNA 및 사람 스팅 유전자를 표적화하는 3종의 상이한 sgRNA를 써모 피셔(Thermo Fisher)로부터의 트루가이드(TrueGuide)™ 합성 gRNA, 트루컷(TrueCut)™ Cas9 단백질 v2 및 리포펙타민(Lipofectamine)™ 크리스퍼맥스(CRISPRMAX)™ 트랜스펙션 시약을 사용하여 제조업자의 프로토콜에 따라 트랜스펙션하였다. sgRNA 서열은 sgNT(비표적화): AAAUGUGAGAUCAGAGUAAU; sg#3: TACTCCCTCCCAAATGCGGT; sg#4: CTCGCAGGCACTGAACATCC; 및 sg#5: GTTAAACGGGGTCTGCAGCC이었다. 트랜스펙션 7일 후, 단일 세포를 20% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 100 ㎕의 DMEM을 함유하는 96웰 평판에서 분류하고, 클론이 2-3 주 이내에 형성되었다(배지를 주당 1-2회 교체하였다). 복수의 클론을 트립신화하고, 팽창시켜 토끼 모노클로날 항스팅(셀 시그날링 테크놀로지즈(Cell Signaling Technologies)) 및 항β-액탠(리코르(Licor)) 항체를 사용하는 웨스턴 블롯에 의하여 스팅 발현을 분석하였다. 스팅 단백질 발현이 없는 클론(웨스턴 블롯에 의하여 측정한 바와 같음)은 실시예 28에 기재된 바와 같이 핵 제한된 mKate 형광 단백질을 안정하게 발현시키도록 선택하였다.

[1105] 사멸 검정: 뉴크레드를 발현시키는 스팅 야생형(sgNT-2: 비표적화 sgRNA, 클론 2) 및 녹 아웃(sg#3-2: sgRNA#3 클론 2) SKBR3 세포를 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 RPMI 중의 96웰 평판(15,000/웰)에 파종하고, PBMC 사멸 검정을 각각 100, 25, 5 및 1 nM에서 접합체 8a-3, 접합체 8j, 접합체 8c-2 및 화합물 1을 사용하여 실시예 29에 기재된 바와 같이 수행하였다(접합체 농도는 페이로드를 기준으로 하였음).

[1106] 도 3A 및 도 3B는 시간에 대하여 적색체 전면생장률을 플롯하며, 스팅 야생형(sgNT-2) SKBR3 세포/PBMC 공생배양물 및 녹 아웃(sg#3-2) SKBR3 세포/PBMC 공생배양물 각각의 사멸을 나타낸다. 접합체 8a-3은 테스트한 모든 투여량에서 스팅 야생형 및 녹 아웃 SKBR3 세포/PBMC 공생배양물 둘다의 강력한 사멸을 유도하였다. 접합체 8j는 스팅 야생형(sgNT-2) SKBR3 세포/PBMC 공생배양물에서 100, 25 및 5 nM에서 높은 활성 및, 스팅 녹 아웃(sg#3-2) SKBR3 세포/PBMC 공생배양물에서 낮은 활성을 가졌다. 화합물 1은 스팅 야생형(sgNT-2) SKBR3 세포/PBMC 공생배양물에서 100 nM에서만 활성을 나타냈으며, 스팅 녹 아웃(sg#3-2) SKBR3 세포/PBMC 공생배양물에서는 모든 투여량에서 활성을 나타내지 않았다. 접합체 8c-2는 스팅 야생형(sgNT-2) SKBR3 세포/PBMC 공생배양물 또는 스팅 녹 아웃(sg#3-2) SKBR3 세포/PBMC 공생배양물에서 어떠한 활성도 갖지 않았다.

[1107] 실시예 30A: 스팅 야생형 또는 스팅 녹 아웃 SKBR3 암 세포/PBMC 공생배양물에서 종양 세포 표적화된 Her2 ADC 및 Her2 항체의 활성

[1108] 뉴크레드를 발현시키는 스팅 야생형(sgNT-2: 비표적화 sgRNA, 클론 2) 및 녹 아웃(sg#3-2: sgRNA#3 클론 2) SKBR3 세포를 PBMC로 공생배양시키고, 사멸 검정은 실시예 30에 기재된 바와 같이 접합체 8a-3, 접합체 8-j의 투여량 범위(페이로드를 기준으로 하여 200 nM, 4x 희석)를 사용하여 수행하였다. 접합되지 않은 야생형 Fc 트라스투주맙 및 AAG Fc 변이체 트라스투주맙을 접합체 8a-3 항체 농도에 해당하는 항체 농도를 기준으로 하여 투여하였다. 도 4A 및 도 4B에 도시한 바와 같이, 접합체 8a-3은 스팅 야생형 및 녹 아웃 SKBR3 암 세포 둘다의 강력한 사멸을 나타내는 반면, Fc 변이체 Her2 표적화된 ADC, 접합체 8-j는 스팅 야생형 SKBR3 공생배양물에서만 사멸 활성을 나타냈으며, 이는 스팅 녹 아웃 SKBR3 공생배양물에서 거의 약화되었다. Fc 야생형 및 AAG 변이체 접합되지 않은 트라스투주맙 항체 둘다는 스팅 야생형 및 녹 아웃 암 세포 공생배양물 둘다에서 낮은 활성을 나타냈다. 이들 데이타는 면역 세포 공생배양물에서 Fc 변이체 암 세포 표적화된 스팅-ADC 활성의 암 세포 사멸 활성이 종양 세포 내재 스팅 활성화로부터 기여된다는 것을 입증한다.

[1109] 실시예 31: T 세포의 부재 하에서 암 세포/사람 단핵구 공생배양물에서 종양 세포 표적화된 NaPi2b ADC의 활성

[1110] OVCAR3-뉴크레드 세포(실시예 28에 기재된 바와 같이 생성함)를 96웰 셀바인드 표면 조직 배양 평판(코닝(Corning))에 파종(15,000/웰)하고, 6 시간 동안 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 RPMI-1640 배지에서 부착되도록 하였다. 배양 배지를 새로운 배지(50 ㎕)로 교체하였다. 그 후, 테스트 항목(각각 20 및 4 nM에서 접합체 8b-1 및 화합물 1, 페이로드 농도를 기준으로 한 접합체 농도)을 배지(50 ㎕) 중의 각각의 웰에 첨가하고, 평판을 20 분 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. PBMC, 농축된 단핵구 및 CD16 결핍된 단핵구를 실시예 29에 기재된 바와 같이 생성하였다. 그 후, 생PBMC(30,000/웰), 농축된 단핵구(20,000/웰) 및 CD16 결핍된

단핵구(20,000/웰)를 배양 배지(50 ㎕) 중의 웰에 첨가하고, 평판을 인큐베이터(37℃, 5% O_2) 내의 인큐사이트ⓒ 생세포 영상화 기기에 넣고, 2 일에 걸쳐 4 시간마다 스캐닝하였다. 적색체(암 세포)의 개수는 인큐사이트ⓒ 줌 소프트웨어를 사용하여 정량화하였다. 각각의 웰에서의 적색체 전면생장률을 그 자체의 T=0 시점 적색체 전면생장률에 대하여 정규화하였다. 적색체 전면생장률을 도 5A 내지 5C에서 시간에 대하여 플롯하고, CD3+ T 세포 결핍된 단핵구 모집단이 종양 세포 표적 ADC 활성에 반응하여 필적하는 암 세포 사멸 활성을 갖다는 것을 나타낸다. 4 nM 및 20 nM 페이로드 농도에서의 접합체 8b-1은 PBMC(도 5A), 농축된 단핵구(도 5B) 및 CD16 결핍된 단핵구(도 5C)에 의하여 OVCAR3-뉴크레드 암 세포의 강력한 사멸을 유도하였다. 20 nM에서의 화합물 1은 농축된 단핵구 및 CD16 결핍된 단핵구 공생배양물에서 암 세포 사멸만을 유도하였다.

[1111] 실시예 32: 사람 CXCL10의 시험관내 측정 및 HER2 표적화된 항체 약물 접합체의 HCC1954 사람 유방암 세포주로의 세포 결합

[1112] HCC1954 유방암 세포를 FBS(10%) 및 페니실린/스트렙토마이신(1%)이 보충된 RPMI 1640 배지 중에서 ~80-95% 전면생장률로 성장시켰다. 세포를 수거하고, 96웰 평편 바닥 평판(40,000/웰)의 웰에 첨가하고, 밤새 37℃, 5% CO_2에서 인큐베이션하였다. 그 후, 세포를 표 4에 나타낸 바와 같은 테스트 HER2 항체-약물 접합체(20 ㎕)로 1 pM 내지 10 μM 범위 내의 농도에서 처리하고, 24 시간 동안 37℃, 5% CO_2에서 인큐베이션하였다. 평판을 원심분리(300 g, 5 분)하고, 상청액을 수집하고(100 ㎖), 사람 CXCL10(사람 CXCL10/IP-10)에 대하여 ELISA 분석으로 처리하였다. 발생된 평판을 OD_{450}에서 스펙트라맥스 M5 평판 판독기 상에서 판독하였다. 각각의 처리에 대한 값을 플롯하고, EC_{50} 값을 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 소프트웨어로 4-파라미터 곡선 핏팅을 사용하여 계산하였다.

[1113] HER2 항체-약물 접합체의 HCC1954 세포로의 세포 결합의 측정을 위하여 FBS(10%) 및 페니실린/스트렙토마이신(1%)이 보충된 RPMI 1640 배지 중에서 ~80-95% 전면생장률까지 성장시켰다. 세포를 수거하고, 96웰 V 바닥 평판(50,000/웰)의 웰에 첨가하였다. 세포를 펠릿으로 만들고(300×g, 5 분), 하기 표 4에 나타낸 바와 같은 테스트 HER2 항체-약물 접합체의 용액 중에 0.01 nM 내지 100 nM 범위 내의 농도에서 재현탁시키고, 얼음 상에서 3 시간 동안 인큐베이션하였다. 그 후, 세포를 빙냉 PBS(3x) 중에 세정하고, 펠릿으로 만들고(300 g, 5 분), 검출 항체(염소 항사람 IgG-알렉사-647(H+L 쇄)와 함께 1 시간 동안 4℃에서 인큐베이션하였다. 세포 현탁액을 펠릿으로 만들고(300 g, 5 분), 빙냉 PBS로 3회 세정하고, 파라포름알데히드(2%)의 용액 중에 재현탁시켜 고정시켰다. 그 후, 재현탁된 세포를 MACS Quant 흐름 세포측정에서의 흐름 세포측정 분석으로 처리하였다. 분석을 위하여 단일 이벤트(10,000)를 수집하였다. 모집단 게이팅 및 평균 형광 강도(MFI) 분석을 플로우조 소프트웨어로 수행하였다.

[1114] 하기 표 4는 HCC1954에서 세포 결합 및 CXCL10 유도에 대한 평균 EC_{50} 값을 요약한다.

표 4

테스트 항목	DAR	CXCL10 ELISA EC_{50} (nM)	세포 결합 EC_{50} (nM)
접합체 25	6.6	0.13	ND
접합체 45	6.5	0.17	ND
접합체 8-2	6.8	0.51	ND
접합체 28	6	0.16	1.0
접합체 29	5.5	0.18	ND
접합체 62	6.5	0.20	ND
접합체 64	6.4	0.22	ND
접합체 58	6.5	2.3	ND
접합체 74	6.9	3.4	ND
접합체 78	7.4	2.7	ND
접합체 28	6	0.16	1.0
접합체 82	5.7	0.17	ND
접합체 52	7.7	0.12	2.3
접합체 50-1	7.7	0.13	ND
접합체 66-2	5.3	1.38	ND
접합체 32-1	6.5	1.23	2.4

ND = 측정하지 않음

[1115]

[1116] 표 4에 나타낸 바와 같이, HCC1954 세포를 Her2 표적화 항체-약물 접합체로 처리하는 것은 CXCL10의 유도에 대하여 나노몰이하 내지 낮은 나노몰의 EC_{50} 값을 초래하였다. 측정시, HCC1954 세포로의 Her2 표적화된 ADC의 결합에 대한 EC_{50} 값은 또한 낮은 나노몰 범위 내에 있었다.

[1117] 실시예 33: 암 세포/PBMC 공생배양물에서 종양 세포 표적화된 HER2 항체 약물 접합체의 활성

[1118] 암 세포 사멸 활성: 핵 제한된 mKate 형광 단백질을 안정하게 발현시키는 SKBR3 사람 유방암 세포는 실시예 28A에 기재된 바와 같이 생성하고, SKBR3 뉴크레드 세포로 지정하였다. 20,000개의 세포(웰당) SKBR3 뉴크레드 세포를 96웰 조직 배양 평판에 파종하고, 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 50 ㎕의 RPMI-1640 배지에서 6 시간 동안 부착되도록 하였다. 50 ㎕ 테스트 항목(접합체 8a-2, 접합체 8-j, 접합체 8c-2 및 화합물 1)의 다양한 희석액(페이로드를 기준으로 하여 0.0.1 nM 내지 200 nM; 성장 배지에서 4배 계열 희석액)을 각각의 웰에 첨가하고, 평판을 20 분 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 그 후, PBMC 또는 1차 사람 단핵구(실시예 29에 기재된 바와 같이 PBMC로부터 단리됨)(50,000)를 각각의 웰에 첨가하고, 검정을 실시예 28에 기재된 바와 같이 수행하였다. 하기 표 5는 암 세포/PBMC에서 테스트 항목의 IC_{50} 값(사멸 활성)을 나타내며, 1차 사람 단핵구 공생배양물을 단리시켰다(암 세포 사멸 활성).

표 5

테스트 항목	접합체 8a-2	접합체 8-j	접합체 8c-2	화합물 1
IC_{50} (nM) - PBMC	0.03	0.91	NA	9.51
IC_{50} (nM) - 단핵구	0.05	1.6	NA	8.32

[1119]

[1120] 표 5에 나타낸 바와 같이, 접합체 8a-2는 PBMC 및 단핵구 공생배양물 각각에서 화합물 1에 비하여 ~300x 및 ~150x 더 큰 효력을 나타냈다. 접합체 8-j의 효력은 PBMC 및 단핵구 공생배양물 각각에서 접합체 8a-2에 비하여 ~30x 및 80x 더 낮았다. 접합체 8c-2는 PBMC 및 단핵구 공생배양물 둘다에서 최소 활성을 가졌다.

[1121] CXCL10 유도: 표 6은 암 세포/PBMC에서 테스트 항목의 EC_{50} 값을 나타내며, CXCL10 유도를 위하여 1차 사람 단핵구 공생배양물을 단리시켰다.

표 6

테스트 항목	접합체 8a-2	접합체 8-j	접합체 8c-2	화합물 1
EC_{50} (nM) - PBMC	0.06	2.35	NA	26.13
EC_{50} (nM) - 단핵구	0.04	2.05	NA	31.10

[1122]

[1123] 표 6에 나타낸 바와 같이, 접합체 8a-2는 PBMC 및 단핵구 공생배양물 각각에서 화합물 1에 비하여 CXCL10 유도에 대하여 ~400x 및 ~700x 더 큰 효력을 나타냈다. 접합체 8-j의 효력은 PBMC 및 단핵구 공생배양물 둘다에서 접합체 8a-2에 비하여 ~50x 더 낮았다. 접합체 8c-2는 PBMC 및 단핵구 공생배양물 둘다에서 최소의 활성을 가졌다.

[1124] III형 IFN 유도: SKBR3 세포 및 PBMC에 대한 공생배양은 상기 기재된 바와 같이 설정하여 사람 IL29/IL28b ELISA 키트를 사용한 처리 24 시간 후 상청액에서 III형 인터페론의 유도를 분석하였다. 하기 표 7은 IL29/IL28b 유도에 대하여 암 세포/PBMC 공생배양물에서의 테스트 항목의 EC_{50} 값(IFNλ1/λ3)을 나타낸다.

표 7

테스트 항목	접합체 8a-2	접합체 8-j	접합체 8c-2	화합물 1
IC_{50} (nM) - PBMC	0.08	0.54	NA	28.30

[1125]

[1126] 표 7에 나타낸 바와 같이, 접합체 8a-2는 PBMC 공생배양물에서의 화합물 1에 비하여 IL29/IL28b 유도에 대하여 ~400x 더 큰 효력을 나타냈다. 접합체 8-j의 효력은 PBMC 공생배양물에서 접합체 8a-2에 비하여 ~6x 더 낮았다. 접합체 8c-2는 PBMC 공생배양물에서 최소 활성을 가졌다.

[1127] 표 7-9에서의 데이타는 FcγR 상호작용을 방해하는 ADC의 Fc 영역에서의 변이는 표적화된 ADC의 암 세포 사멸 활성을 감소시키기는 하나 배제시키지는 않는다는 것을 입증하며, 이는 ADC의 Fc 독립적 기여를 시사한다.

[1128] 실시예 34: 면역 세포에서 스팅 경로의 유도

[1129] Her2 표적화된 스팅 ADC에 의한 면역 세포에서의 스팅 경로의 유도는 암 세포/THP1-IRF3-루시페라제 리포터 세

포 공생배양물 검정에 의하여 평가하였다. SKOV3 사람 난소 선암종 세포를 96웰 셀바인드 표면 조직 배양 평판(20,000/웰)에 파종하고, 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 맥코이(McCoy) 5a 배지에서 6 시간 동안 부착되도록 하였다. 테스트 항목 접합체 32-5, 접합체 32e 및 화합물 30의 다양한 희석액(페이로드를 기준으로 하여 0.01 nM 내지 300 nM; 성장 배지에서 4배 계열 희석액)을 각각의 웰에 첨가하고, 평판을 20 분 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 그 후, 50,000 THP1-2중 리포터 세포를 각각의 웰에 첨가하고, 인큐베이션을 20 시간 동안 37℃에서 5% CO_2의 가습 대기 중에서 지속하였다. 각각의 인큐베이션한 샘플로부터의 세포 배양 상청액(20 ㎕)을 재현탁된 QUANTI-Luc(50 ㎕)에 첨가하고, IRF3에 대한 발광 신호를 스펙트라맥스 M5 평판 판독기(몰레큘라 디바이스)를 사용하여 즉시 측정하였다. EC_{50} 값은 투여량 반응 곡선으로부터 구하였다. 표 8은 SKOV3 암 세포로 공생배양된 THP1-2중 세포에서의 EC_{50} 값을 제공한다.

표 8

테스트 항목	접합체 32-5	접합체 32e	화합물 30
EC_{50} (nM)	0.78	NA	38.51

[1130]

[1131] 표 8에 나타낸 바와 같이, Her2 표적화된 ADC로 공생배양한 SKOV3 및 THP-1의 처리는 THP-1 면역 세포에서 스팅 경로의 유도에 대하여 나노몰이하 내지 낮은 나노몰의 EC_{50} 값을 초래하였다.

[1132] 실시예 35: 암 세포/PBMC 공생배양물에서 종양 세포 표적화된 HER2 항체 약물 접합체의 활성

[1133] CXCL10 유도: Calu3 사람 폐 선암종 세포를 96웰 조직 배양 평판에 파종하고, 밤새 37℃, 5% CO_2에서 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 100 ㎕의 EMEM 배지 중에서 부착되도록 하였다. 배양 배지를 새로운 배지(100 ㎕)로 교체하였다. 50 ㎕ 테스트 항목(접합체 32-4, 화합물 30 및 접합체 32b-1)의 다양한 희석액(페이로드를 기준으로 하여 0.0.1 nM 내지 200 nM; 성장 배지에서 4배 계열 희석액)을 각각의 웰에 첨가하고, 검정을 실시예 33-CXCL10 유도에 기재된 바와 같이 수행하였다. 표 9는 CXCL10 유도에 대하여 암 세포/PBMC 및 암 세포 단일배양물에서 테스트 항목의 EC_{50} 값을 나타낸다.

표 9

테스트 항목	접합체 32-4	화합물 30	접합체 32b-1
IC_{50} (nM) - PBMC	0.06	160.20	NA

[1134]

[1135] 표 9에 나타낸 바와 같이, 접합체 32-4는 암 세포/PBMC 공생배양물 및 단일배양물 각각에서 화합물 30에 비하여 나노몰이하의 효력을 나타냈다. 접합체 32b-1은 암 세포/PBMC 공생배양물 및 단일배양물 둘다에서 최소의 활성을 가졌다.

[1136] 실시예 36: 미처치 면역 세포 배양물로부터 컨디셔닝한 배지의 존재 하에서 암 세포 단일배양물에서 스팅 경로의 활성화

[1137] 컨디셔닝된 배지는 인큐베이터 내에서 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 RPMI-1640 배지에서 24 시간 동안 37℃, 5% O_2에서 1.5×10^6/㎖ PBMC(2종의 상이한 공여체), 1×10^6/㎖ 1차 단핵구(2종의 상이한 공여체로부터의 PBMC로부터 단리됨, 실시예 29에 기재된 바와 같음) 또는 1×10^6/㎖ THP1 세포를 배양하여 생성하였다. 상청액을 수집하고, 2,000 rpm에서 10 분 동안 회전시켜 임의의 세포를 제거하였다. SKOV3 세포를 96웰 평판(30,000/웰)에 파종하고, 밤새 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 RPMI-1640 배지 내에서 부착되도록 하였다. 배양 배지를 미처치 면역 세포로부터의 새로운 배지(대조군) 또는 컨디셔닝된 배지 100 ㎕/웰로 교체한 후, 화합물 1(50 ㎕/웰, 100 nM 최종 농도) 또는 대조군 배지(무처치)를 각각의 웰에 첨가하였다. 24 시간 동안 37℃, 5% O_2에서 인큐베이션한 후, 96웰 평판으로부터의 상청액을 사람 CXCL10 ELISA 키트를 사용하여 CXCL10 생성에 대하여 분석하였다. 표 10은 SKOV3 암 세포 단일배양물에 의하여 생성된 CXCL10에 대한 O.D. 450 값을 나타낸다.

표 10

컨디셔닝된 배지	O.D. 450 대조군 (스팅 효능제 처리 없음)	O.D. 450 + 100 nM 화합물 1
없음	0.02 +/- 0.028	0.16 +/- 0.038
PBMC (공여체1)	0.47 +/- 0.058	2.22 +/- 0.084
PBMC (공여체2)	0.13 +/- 0.019	0.83 +/- 0.086
단핵구 (공여체1)	0.04 +/- 0.010	1.62 +/- 0.050
단핵구 (공여체2)	0.21 +/- 0.018	0.97 +/- 0.142
THP1	0.00 +/- 0.007	0.18 +/- 0.043

[1138]

[1139] 표 10에 나타낸 바와 같이, SKOV3 세포는 THP1 세포로부터가 아니라 PBMC 및 1차 사람 단핵구로부터 컨디셔닝된 배지의 존재하에서 단일배양물에서만의 스팅 효능제 처리에 반응하였으며, 그리하여 PBMC 또는 1차 사람 단핵구가 스팅 효능제 처리에 대하여 암 세포를 감작화시킬 수 있는 요인을 분비한다는 것을 시사한다.

[1140] 실시예 37: SKOV3에서 HER2 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1141] CB.17 SCID 마우스 암컷을 SKOV3 사람 난소암 세포(마우스 1 마리당 10×10^6 세포)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 63-75 ㎣(평균=65.4 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다(n=10/군). 비히클, 트라스투주맙(3/0 mg/kg), 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8c-1(1/0.04 mg/kg 또는 3/0.12 mg/kg) 또는 접합체 8a-1(1/0.03 mg/kg 또는 3/0.09 mg/kg)를 단일 투여로 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드에 의하여 제시함). 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg) 및 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg)의 경우 일시적인 체중 감소가 추가적인 임상적 관찰 없이 처치 2-3 일 후 허용되는 한계 내에서 관찰되었다. 차후의 시점에서의 체중 감소는 종양 진행과 상관관계를 가졌으며, 이는 종양 모델 유도된 악액질을 나타낸다.

[1142] 도 6은 트라스투주맙, 디ABZI 스팅 효능제, 접합체 8c-1, 접합체 8a-1 또는 비히클로 처치한 SKOV3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다. 트라스투주맙(3/0 mg/kg), 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg) 또는 접합체 8c-1(1/0.04 mg/kg 또는 3/0.12 mg/kg)을 사용한 처치로 각각 47.5, 36.9, 13.5 또는 25.5% TGI를 발생하였다. 접합체 8a-1(1/0.03 mg/kg 또는 3/0.09 mg/kg)를 사용한 처치는 각각 86.5 및 100% 종양 퇴행을 초래하였다.

[1143] 실시예 38: SKOV3에서 HER2 항체-약물 접합체의 투여 후 혈청 시토킨

[1144] CB.17 SCID 마우스 암컷을 SKOV3 사람 난소암 세포(마우스 1 마리당 10×10^6 세포)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 108-172 ㎣(평균=128-131.6 ㎣)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg) 또는 접합체 8a-1(3/0.09 mg/kg)을 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드에 의하여 제시하며, 각각의 군의 경우 n=10임). 투여 후 6, 12, 24 및 72 시간에 혈청을 수집하였으며(군당 n=5), 혈청 시토킨 분석을 위하여 드라이 아이스 상에서 급속 냉각시켰다. 투여 후 12 및 72 시간에 종양을 수집하였으며(각각의 시점에 대하여 n=5), 포르말린 고정된 파라핀 매립된(FFPE) 블록에 가공하였다.

[1145] 혈청 시토킨(에오탁신(Eotaxin), G-CSF, GM-CSF, IFNγ, IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12(p40), IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, CXCL10(IP-10), CXCL1(KC), LIF, LIX, MCP-1, M-CSF, MIG, MIP-1α, MIP-1β, MIP-2, RANTES, TNFα 및 VEGF)은 마우스 시토킨/케모킨 자석 비드 패널을 사용하여 플렉스맵3D 루미넥스(FlexMap3D Luminex) 기기 상에서 분석하였다. 벨리사(Belysa) 면역검정 곡선 핏팅 소프트웨어를 데이타 분석에 사용하였다.

[1146] 도 7A-7H는 시간에 대한 측정된 시토킨을 제공한다. 비히클 대조군에 비하여 측정 가능하게 증가된 시토킨만을 나타낸다(CXCL-10(IP-10), IL-6, TNFα, IFNγ, CXCL1(KC), MIG, MIP-1α 및 RANTES). 각각의 플롯에서의 삽도는 비히클에 비하여 접합체 8a-1 및 접합체 8c-1에 의하여 유도된 시토킨 수준을 나타낸다. 정맥내 투여된 디ABZI 스팅 효능제는 접합체 8a-1 또는 접합체 8c-1보다 유의적으로 더 높은 수준의 혈청 시토킨을 유도하였으며, IL6의 경우 100배 정도로 높으며, CXCL10의 경우 6 배 정도로 낮은 배율 차이를 발생하였다. 대부분의 시토킨의 경우, 대조군 및 표적화된 ADC 사이에서 유의적인 차이는 없었으며, 소수의 시토킨이 비히클 대조군 및 ADC에서의 차이를 나타냈다. 주요 플롯 및 삽도에서의 Y축 눈금은 본 연구에서 디ABZI 스팅 효능제 및 나머지 처치에서의 차이를 강조한다.

[1147] 실시예 39A: SKOV3에서 HER2 항체-약물 접합체의 투여 후 PD 반응

[1148] 6주령 CB.17 SCID 암컷을 SKOV3 사람 난소암 세포(마우스 1 마리당 10×10^6 세포)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 75-126 ㎣(평균=94.5-96.7 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg) 또는 접합체 8a-1(3/0.09 mg/kg), 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg) 또는 접합체 8a-1(3/0.09 mg/kg)을 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드에 의하여 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=12). 투여 후 6, 12, 24 및 72 시간에 혈청을 수집하였으며(각각의 군에 대하여 n=6), 드라이 아이스 상에서 혈청 시토킨 분석을 위하여 급속 냉각하였다(데이타는 제시하지 않음). 종양을 12 및 72 시간에 수집하고(각각의 군에 대하여 n=6), 추가의 가공을 위하여 FFPE 블록 중에서 고정시켰다.

[1149] 실시간 qPCR 분석의 경우 카이젠 알니지(Qiagen Rneasy) FFPE 키트를 사용하여 FFPE 블록으로부터 RNA를 추출하였다. 샘플을 노나드롭(nanodrop) 판독을 기준으로 하여 균등화하였으며, 마우스 CXCL10, 인터페론-베타 및 IL-6에 대하여 exDNase 효소 유전자 발현 검정을 사용한 써모 피셔(Thermofisher)의 슈퍼스크립트(SuperScript) IV VILO 마스터 믹스를 사용하여 생성된 cDNA를 택맨 패스트 어드밴스드 마스터 믹스(TaqMan Fast Advanced Master Mix)로 셋업하였다. 마우스 인터페론-β(IFNb), IL-6 및 CXCL10에 대한 ABI 검정은 하우스키퍼로서 GAPDH 및 RPL30을 사용하였다. GAPDH에 대한 mRNA의 수준은 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 방법을 사용하여 계산하였다.

[1150] 도 8A-8C는 12 및 72 시간에서 측정된 SKOV3 종양에서의 마우스 CXCL10, 인터페론-β 및 IL-6 mRNA의 수준을 제공한다. 접합체 8a-1을 사용한 처치는 비히클 또는 접합체 8c-1에 대하여 12 시간에서 CXCL10, 인터페론-β 및 IL-6 mRNA의 최고 수준을 초래하였다. 접합체 8a-1의 경우 CXCL10, 인터페론-β 및 IL-6 mRNA 수준 모두 72 시간에서 감소되었다.

[1151] 도 9는 접합체 8a-1, 접합체 8c-1 또는 비히클에 대하여 12 및 72 시간에서 토끼 항-CD45 모노클로날 항체를 사용한 FFPE 종양 조직 절편의 CD45 면역조직화학(IHC) 염색을 제공한다. 도시한 바와 같이, 접합체 8a-1을 사용한 처치 72 시간 후 SCID 마우스에서 SKOV3 종양으로의 CD45-양성 마우스 면역 세포 침윤이 증가되었다.

[1152] 실시예 39B: HER2 항체-약물 접합체에 반응한 SCID 마우스의 SKOV3 사람 종양 이종이식에서의 스팅 경로 유전자의 발현

[1153] CB.17 SCID 마우스 암컷을 SKOV3 사람 난소암 세포로 피하 접종하고, 실시예 38에 기재된 바와 같이 접합체 8a-1(3/0.09 mg/kg)로 처치하였다. 종양을 수거하고, 실시예 31에 기재된 바와 같이 FFPE로 가공하였다. 키트 설명서에 따라 카이젠 알니지 FFPE 키트를 사용하여 RNA를 추출하였다. 샘플당 150 ng RNA를 나노스트링(NanoString)의 엔카운터 맥스(nCounter Max) 시스템 상에서 엔카운터 전암 사람 또는 마우스 면역 프로파일링 패널 및 엔카운터 표준 마스터 키트를 사용하여 분석하였다. 하기 표 11은 12 시간에서 선택된 스팅 경로 유전자의 log2 배율 변화를 나타낸다.

표 11

유전자명	사람		마우스	
	Log2 배율 변화	표준 오차	Log2 배율 변화	표준 오차
CXCL10	11.7	1.11	8.02	0.482
IFNβ1	9.26	1.02	4.82	1.13
IFIT2	7.88	0.229	7.12	0.435
IFIT1	6.96	0.31	5.81	0.396
ISG15	6.67	0.36	5.79	0.382
IL6	5.94	0.749	6.36	0.647
IRF1	5.48	0.14	4.83	0.125
MX1	5.4	0.324	6.68	0.542
IFIH1	5.07	0.223	4.45	0.36
IRF7	4.1	0.322	4.72	0.403
IFNλ1	6.52	0.695	적용 불가	
IFNλ2	4.6	0.603	검출되지 않음	

[1154]

[1155] 표 11에 나타낸 바와 같이, 접합체 8a-1의 단일 투여는 마우스 및 사람 스팅 경로 유전자 둘다의 뚜렷한 유도를 초래하며, 이는 종양 표적화된 스팅 효능제 ADC가 종양에서의 종양-고유의 스팅 경로 활성화를 생체내 유도할

수 있다는 것을 시사한다.

[1156] 실시예 40: CB.17 SCID 마우스에서 Her-2 표적화된 ADC의 약물동태학적 분석

[1157] 10주령 CB.17 SCID 마우스 암컷을 단일 투여로서 1일차에 비히클 또는 접합체 8a-1(3/0.1 mg/kg)로 정맥내 투여하였다(투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군당 n=3). 처치 1, 24, 48, 72, 96, 168, 240 및 336 시간 후 모든 동물로부터 혈액을 연속적으로 수집하였다(각각의 군당 n=3). 전혈을 0.1 ㎖의 총 부피에 대하여 산성 완충액(0.6% BSA(w/v), 100 ㎖ PBS + 15.34 ㎖ 10 mg/㎖ 시트르산 중 5 mM EDTA)으로 1:10으로 즉시 희석하였다. 희석한 전혈을 드라이 아이스 상에서 급속 냉각시키고, 총 항체 및 접합된 약물에 대한 분석 때까지 -80℃에서 보관하였다.

[1158] 도 10은 총 항체 및 접합된 약물의 순환 중인 혈장 농도에 대한 결과를 제공한다. ~25.1 ㎍/㎖ 및 ~0.46 ㎍/㎖의 혈장 농도는 총 항체 및 접합된 약물 각각에 대하여 달성하였으며, 해당 청소율은 총 항체의 경우 ~6.71 ㎖/일/kg 및 접합된 약물의 경우 ~20.2 ㎖/일/kg이었다.

[1159] 유사하게, 접합체 32-3(1.14/0.04 mg/kg)을 투여하였으며, 총 항체 및 접합된 약물을 0.25, 24, 72, 168, 240 및 336 시간에서 평가하였다. 데이타를 하기 표 12에 보고한다.

표 12

[1160]

	Cmax (ng/mL)	반감기 (일)	AUC∞ (Day*ng/mL)	Cl_obs (mL/일 /Kg)
접합된 약물	562 ± 16	6.43 ± 1.15	2880 ± 468	14.2 ± 2.51
총 항체	12200 ± 1160	8.69 ± 1.20	96300 ± 7190	11.9 ± 0.88

[1161] 실시예 41: Her2 표적화된 스팅 효능제 ADC 처치에 반응하여 SKBR3 암 세포/PBMC 공생배양물에서의 스팅 경로 유전자의 발현

[1162] 나노스트링 분석: 암 세포를 12웰 평판 내에서 0.75 ㎖ 배양 배지(10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 RPMI-1640 배지) 내에서 2중으로 파종하며(250,000 세포/웰), 37℃에서 5% CO_2 인큐베이터 내에서 밤새 부착되도록 하였다. 배양 배지를 제거하고, 접합체 8a-3 또는 비히클을 0.5 ㎖ 배양 배지 내의 웰에 50 nM의 최종 농도(페이로드 기준)로 첨가하였다. 웰당 500,000 PBMC를 0.5 ㎖ 배지 중의 각각의 웰에 첨가하였다. 37℃에서 5 시간의 인큐베이션 후, 현탁된 세포를 에펜도르프 시험관에 수집하고, 간단하게 회전시켰다. 상청액을 제거하고, 시험관을 얼음에 넣었다. 부착된 세포를 RNA 분해 완충액으로 분해시키고, 현탁 세포 펠릿에 전달하였다. 카이젠 알니지 미니 키트를 사용하여 키트 설명서에 따라 RNA를 추출하였다. 샘플당 150 ng RNA를 나노스트링 엔카운터 맥스 시스템 상에서 엔카운터 전암 사람 면역 프로파일링 패널 및 엔카운터 표준 마스터 키트를 사용하여 분석하였다.

[1163] 하기 표 13은 시험관내 SKBR3 암 세포 및 PBMC 공생배양물에서 접합체 8a-3 대 비히클 처치(5 시간)에 의한 선택된 스팅 경로 유전자의 log2 배율 변화를 나타낸다. 50 nM 접합체 8a-3 처치는 스팅 경로 유전자 및 III형 인터페론(IFNλ1 및 IFNλ2)의 뚜렷한 유도를 초래하며, 이는 종양 표적화된 스팅 효능제 ADC 처치가 또한 시험관내 암/면역 세포 공생배양물에서 III형 인터페론뿐 아니라, 스팅 경로 유전자를 유도한다는 것을 확인하였다.

표 13

유전자명	Log2 배율 변화	표준 오차	P값
IFNλ1	10.7	0.207	5.17E-08
IFNλ2	12.5	0.318	2.04E-07
CXCL10	7.86	0.0538	2.85E-10
IFNβ1	9.76	0.0493	6.25E-11
IFIT2	9.15	0.393	2.72E-06
IFIT1	8.08	0.0854	2.49E-09
ISG15	6.73	0.182	2.73E-07
IL6	8.55	0.382	3.32E-06
IRF1	6.99	0.171	1.65E-07
MX1	4.48	0.0876	5.41E-08
IFIH1	4.2	0.0853	6.49E-08
IRF7	3.45	0.15	2.92E-06

[1164]

[1165] III형 인터페론 유전자의 qPCR 분석: SKBR3/PBMC 공생배양물을 상기 기재된 바와 같이 셋업하고, 50 nM 및 1 nM(페이로드를 기준으로 하였음)의 접합체 8a-3 또는 접합체 8c-2로 5 시간 동안 처치하였다. 세포를 수거하고, RNA를 상기 기재된 바와 같이 추출하였다. qPCR 분석은 실시예 39A에 기재된 바와 같이 수행하였다. 사람 IFNλ1(IL29), IFNλ2(IL28a) 및 IFNλ3(IL28b)에 대한 ABI 검정은 하우스키퍼로서 GAPDH 및 ACTB와 함께 사용하였다. GAPDH에 대한 mRNA의 수준은 표 14에 제시한 바와 같이 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 방법을 사용하여 계산하였다.

표 14

처치	상대적 mRNA 발현		
	IFNλ1 (IL29)	**IFNλ2 (IL28a)**	**IFNλ3 (IL28b)**
접합체 8a-3 – 50 nM	190.5 ± 18.9	327 ± 2.5	27.7 ± 1.2
접합체 8a-3– 1 nM	89 ± 1.2	201.6 ± 32.7	29.7 ± 2.0
접합체 8c-2 – 50 nM	1.8 ± 2.5	0	0
접합체 8c-2 –1 nM	0	0	0

[1166]

[1167] 표 14는 암 세포/PBMC 공생배양물의 표적화된 ADC 및 대조군 ADC 처치에 반응하여 하우스키핑 유전자에 대한 III형 인터페론의 mRNA 발현을 나타낸다. 50 nM 및 1 nM 페이로드 투여량 둘다에서의 접합체 8a-3 처치는 III형 인터페론 유전자의 뚜렷한 상향조절을 유도하였다. 접합체 8c-2 처치는 본 실험에 사용된 투여량에서 III형 인터페론을 상당하게 유도하지는 않았다.

[1168] 실시예 42: 스팅 야생형 또는 녹 아웃 SKBR3 암 세포 및 PBMC 공생배양물에서 III형 인터페론의 유도

[1169] 스팅 야생형 또는 녹 아웃 암 세포(실시예 30에 기재된 바와 같음) 및 PBMC 공생배양물을 접합체 8a-3, 접합체 8j-1, 접합체 8c-2 및 화합물 1(페이로드를 기준으로 하여 0.0.1 nM 내지 200 nM; 4배 계열 희석)로 처치하고, III형 인터페론 IFNλ1/IFNλ3(IL29/IL28b) 시토킨을 실시예 33-III형 인터페론 유도에 기재된 바와 같이 측정하였다.

[1170] 표 15는 접합체 8a-3, 접합체 8j-1, 접합체 8c-2 및 화합물 1에 반응하여 스팅 야생형 또는 스팅 녹 아웃 SKBR3 및 PBMC 공생배양물에서 III형 인터페론 IFNλ1/IFNλ3(IL29/IL28b) 시토킨 생성을 나타낸다.

표 15

암 세포주	접합체 8a-3		접합체 8j-1		접합체 8c-2		화합물 1	
	EC_{50} (nM)	Bmax (OD_{450})	EC_{50} (nM)	Bmax (OD_{450})	EC_{50} (nM)	Bmax (OD_{450})	EC_{50} (nM)	Bmax (OD_{450})
스팅 야생형	0.13	2.6	0.89	2.6	NA	1.8	49.3	0.5
스팅 녹 아웃 (sgRNA#3)	0.19	0.7	NA	0.3	NA	0.2	NA	0
스팅 녹 아웃 (sgRNA#4)	0.27	0.7	NA	0.1	NA	0.1	NA	0

[1171]

[1172] 접합체 8a-3 및 접합체 8j-1 둘다는 스팅 야생형 SKBR3 세포 공생배양물에서 강력한 III형 인터페론 IFNλ1/IFNλ3(IL29/IL28b) 시토킨 생성을 유도하였다. 화합물 1은 또한 공생배양 세팅에서 III형 인터페론 IFNλ1/IFNλ3(IL29/IL28b) 생성을 유도하였으나, ~400x 더 낮은 EC_{50} 농도를 갖는 반면, 접합체 8c-2는 유의적인 활성을 갖지 않았다. 스팅 녹 아웃 SKBR3 세포 공생배양에서 IFNλ1/IFNλ3(IL29/28b) 생성의 양은 매우 낮은 Bmax(OD_{450}) 수준으로부터 명백한 바와 같이 모든 처치에 반응하여 뚜렷하게 감소되었다.

[1173] 실시예 43A: 암 세포 및 PBMC 공생배양물에서 Her2 표적화된 스팅 ADC의 사멸 활성에 대한 IFNλ1(IL29) 또는 IFNλ2(IL28A) 중화 항체의 효과

[1174] 암 세포 사멸 활성: SKBR3 및 PBMC 공생배양은 IFNλ1(IL29) 또는 IFNλ2(IL28b) 중화 항체(10, 2, 0.4, 0.08 ㎍/㎖)의 존재하에 접합체 8a-3(페이로드를 기준으로 하여 1 nM 또는 0.1 nM)의 사멸 활성을 평가하기 위하여 실시예 33-III형 인터페론 유도에 기재된 바와 같이 실시하였다. 도 11에 도시한 바와 같이, 10, 2 및 0.4 ㎍/㎖에서의 IFNλ1 중화 항체는 PBMC 공생배양에서 암 세포 사멸 활성 접합체 8a-3을 0.1 nM(페이로드를 기준으로 하였음)에서 억제하였다. 접합체 8a-3을 1 nM(페이로드를 기준으로 하였음)에서 사용시 IFNλ1 항체로 억제가 관찰되지 않았으며, 접합체 8a-3을 0.1 nM에서 투여시조차 IFNλ2 중화 항체는 암 세포-사멸 활성을 억제하지 못하였다.

[1175] 실시예 43B: IFNλ1/IFNλ3(L29/28b) 시토킨 유도

[1176] 실시예 43A에 기재된 검정의 시스터 평판을 사용하여 실시예 33-III형 인터페론 유도에 기재된 바와 같이 사람 IL29/28b ELISA 키트를 사용한 처치 24 시간 후 상청액 중 IFNλ1/IFNλ3(IL29/28b)을 분석하였다. 하기 표 16은 각각의 조건으로부터 얻은 OD_{450} 값을 나타낸다.

표 16

접합체 8a-2 (nM)	IFN λ1 mAb (μg/mL)	IFNλ1/ IFNλ3 (IL29/28b) (OD450)
1 nM	0	2.996 ± 0.028
	10	1.470 ± 0.071
	2	1.584 ± 0.099
	0.4	1.491 ± 0.071
	0.08	1.464 ± 0.077
0.1 nM	0	2.166 ± 0.023
	10	0.034 ± 0.014
	2	0.021 ± 0.008
	0.4	0.048 ± 0.011
	0.08	0.190 ± 0.014

[1177]

[1178] 실시예 43C: CXCL10, IFNβ, IL6 및 TNFα 시토킨 유도

[1179] 실시예 43B로부터의 상청액을 사용하여 플렉스맵3D 루미넥스 기기 상에서 사람 시토킨/케모킨 자석 비드 패널을 사용하는 CXCL10, IFNβ, IL6 및 TNFα 시토킨 생성에 대하여 분석하였다. 벨리사 면역검정 곡선 핏팅 소프트웨어를 데이타 분석에 사용하였다. 하기 표 17은 상청액 중에서 검출된 CXCL10, IFNβ, IL6 및 TNFα 시토킨을 나타낸다.

표 17

접합체 8a-2 (nM)	IFNλ1 mAb (μg/mL)	CXCL10 (pg/mL)	IFNβ (pg/mL)	IL6 (pg/mL)	TNFα (pg/mL)
1 nM	0	1187 ± 23.1	99 ± 9.5	4228 ± 292.0	469 ± 86.3
	10	827 ± 122.5	61 ± 5.9	2191 ± 194.3	43 ± 5.5
	2	1106 ± 167.9	71 ± 9.1	2831 ± 260.9	54 ± 2.9
	0.4	1128 ± 44.9	76 ± 7.7	3735 ± 456.2	71 ± 9.6
	0.08	1155 ± 34.4	104 ± 20.6	4475 ± 725.5	170 ± 27.2
0.1 nM	0	1189 ± 7.5	32 ± 0.9	806 ± 117.9	52 ± 7.4
	10	306 ± 136.0	3 ± 1.5	77 ± 56.6	16 ± 3.8
	2	325 ± 98.2	2 ± 0.9	27 ± 15.4	12 ± 0.5
	0.4	435 ± 186.6	5 ± 2.2	42 ± 21.4	16 ± 0.5
	0.08	695 ± 173.0	15 ± 1.6	171 ± 14.1	22 ± 1.0

[1180]

[1181] 함께, 이들 데이타는 III형 인터페론 생성이 특히 낮은 농도에서 종양 세포 표적화된 스팅-ADC 활성에 중요하다는 것을 입증한다.

[1182] 실시예 44: OVCAR-3에서 NaPi2b 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1183] 5주령 CB.17 SCID 마우스 암컷을 OVCAR-3 세포(마우스 1 마리당 5×10^6 세포)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 52-180 ㎣(평균: 93-94 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg), 접합체 8b-1(3/0.09 mg/kg) 또는 접합체 8f(3/0.12 mg/kg)를 단일 투여로 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드에 의하여 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=8). 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8c-1, 접합체 8b-1 및 접합체 8f의 경우 일시적인 체중 감소가 추가적인 임상적 관찰 없이 처치 3-13 일 후 관찰되었다.

[1184] 도 12는 비히클, 디ABZI 스팅 효능제, 접합체 8c-1, 접합체 8b-1 또는 접합체 8f로 처치한 OVCAR-3 종양을 지니는 마우스에 대한 결과를 제공한다. 비히클 대조군과 비교시, 접합체 8c-1(3/0.12 mg/kg)을 사용한 처치는 70.6%의 종양 성장에서의 평균 증가를 발생하였다. 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg)를 사용한 처치는 42.7% TGI를 발생하였다. 접합체 8b-1(3/0.09 mg/kg)을 사용한 처치는 98.4% TGI를 발생하였다. 접합체 8f를 사용한 처치는 83.1% TGI를 발생하였다.

[1185] 실시예 45: OVCAR-3에서 키메라(hIgG1-mIgG2a) NaPi2b 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1186] CB.17 SCID 마우스 암컷을 OVCAR-3 사람 난소암 세포(마우스 1 마리당 5×10^6 세포)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 53-223 ㎣(평균=112-122 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 접합체 8d-2(3/0.1 mg/kg) 또는 접합체 8e(3/0.1 mg/kg)를 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=8). 접합체 8d-2(3/0.1 mg/kg) 및 접합체 8e(3/0.1 mg/kg)의 경우 일시적인 체중 감소가 허용되는 한계 내에서 추가적인 임상적 관찰 없이 처치 3-15 일 후 관찰되었다.

[1187] 도 13은 비히클, 접합체 8d-2 또는 접합체 8e로 처치한 OVCAR-3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다. 접합체 8d-2(3/0.1 mg/kg)를 사용한 처치는 37.3% TGI를 발생하였다. 접합체 8e(3/0.1 mg/kg)를 사용한 처치는 95.8% TGI를 발생하였다.

[1188] 실시예 46: 삼중 음성 유방암 이종이식 모델에서 표적 C 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1189] 8주령의 NCr nu/nu 마우스 암컷(찰스 리버 래버러토리즈(Charles River Laboratories))은 표적 C를 발현시키는 사람 삼중 음성 유방암(TNBC) 종양 단편(1 ㎣)을 이식하였다. 종양 부피가 63-108 ㎣(평균=80.7-82 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg), 접합체 8c-1(1/0.04 mg/kg) 또는 접합체 8h(1/0.04 mg/kg)를 단일 투여로서 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=9). 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg)의 경우 일시적인 체중 감소가 허용되는 한계 내에서 추가적인 임상적 관찰 없이 처치 2 일 후 관찰되었다.

[1190] 도 14는 비히클, 디ABZI 스팅 효능제, 접합체 8c-1 또는 접합체 8h로 처치한 사람 TNBC 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다. 디ABZI 스팅 효능제(0/5 mg/kg)를 사용한 처치는 52.4% TGI를 발생하였다. 접합체 8c-1을 사용한 처치는 35.1% TGI를 발생하였다. 접합체 8h(1.1/00.4 mg/kg)를 사용한 처치는 51.8% TGI

를 발생하였다.

[1191] 실시예 47: 결장암에서 표적 D 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1192] 7 내지 8주령 C57Bl/6 마우스 암컷은 우측 옆구리에 생쥐 결장암 세포(마우스 1 마리당 5×10^5 세포)를 피하 접종하였다. 종양 부피가 63-108 ㎣(평균=78 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 접합체 8d-3(1/0.04 ㎎/㎏) 또는 접합체 8g(0.09/0.04 ㎎/㎏)를 단일 투여로서 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10). 접합체 8g(0.9/0.04 ㎎/㎏)의 경우 일시적인 체중 감소가 허용되는 한계 내에서 추가적인 임상적 관찰 없이 처치 2 일 후 관찰되었다.

[1193] 도 15A는 비히클, 접합체 8d-3 또는 접합체 8g로 처치한 생쥐 결장암 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다. 접합체 8d-3을 사용한 처치는 42% TGI를 발생한 반면, 접합체 8g를 사용한 처치는 92.5% TGI를 발생하였다.

[1194] 도 15B는 비히클, 접합체 8d-3 또는 접합체 8g로 처치한 생쥐 결장암 종양을 지닌 마우스에 대한 카플란-마이어 생존 곡선을 도시한다. 접합체 8d-3을 사용한 처치. 접합체 8g로 처치한 마우스가 가장 오래 생존하였다.

[1195] 실시예 48: 표적 D 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응의 재유발 실험

[1196] 도 16A에 제시한 실시예 36으로부터의 접합체 8g(0.9/0.04 ㎎/㎏)로 미리 처치한 무종양 마우스(9 마리 중 6 마리) 및 실시예 38로부터의 연령을 맞춘 무처치 동물을 좌측 옆구리에 생쥐 결장암 세포(마우스 1 마리당 5×10^5 세포) 및 우측 옆구리에 생쥐 폐암 세포(마우스 1 마리당 1×10^6 세포)로 피하 접종하였다(각각 n=6 및 12). 생쥐 결장암 세포 또는 생쥐 폐암 세포로 재유발될 때 접합체 8g(0.9/0.04 ㎎/㎏)로 미리 처치한 마우스의 종양 성장을 도 16B 및 도 16C 각각에 도시한다. 접합체 8g를 사용한 이전의 처치는 각각의 무처치 대조군과 비교시 생쥐 폐암 모델의 25.5% TGI 및 생쥐 결장암 모델의 99.8% TGI를 발생하였다.

[1197] 실시예 49: 배아 암에서 표적 E 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1198] Balb/C 마우스 암컷은 생쥐 배아 암 세포(마우스 1 마리당 5×10^5 세포)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 56-108 ㎣(평균=75.3-76.5 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 디ABZI 스팅 효능제(0/5 ㎎/㎏) 접합체 8d-3(5.5/0.18 ㎎/㎏) 또는 접합체 8i(3.2/0.18 ㎎/㎏)를 단일 투여로서 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10). 디ABZI 스팅 효능제(0/5 ㎎/㎏) 및 접합체 8i(3.2/0.18 ㎎/㎏)의 경우 일시적인 체중 감소가 허용되는 한계 내에서 추가적인 임상적 관찰 없이 처치 2 일 후 관찰되었다.

[1199] 도 17은 비히클, 디ABZI 스팅 효능제, 접합체 8d-3 또는 접합체 8i로 처치한 생쥐 배아 암 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다. 접합체 8d-3(5.5/0.18 ㎎/㎏)을 사용한 처치는 각각 27.5 및 66.5% TGI를 발생하였다. 디ABZI 스팅 효능제(0/5 ㎎/㎏)를 사용한 처치는 93.8% TGI를 발생하였다. 접합체 8i(3.2/0.18 ㎎/㎏)를 사용한 처치는 각각 20.5 및 100% TGI를 발생하였다.

[1200] 실시예 50: SKOV3 난소암에서 HER2 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1201] CB.17 SCID 마우스 암컷은 SKOV3 사람 난소암 세포(마우스 1 마리당 10×10^6 세포)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 63-75 ㎣(평균=65.4 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 접합체 34a(3/0.11 ㎎/㎏), 접합체 34(3/0.11 ㎎/㎏), 접합체 20a(3/0.09 ㎎/㎏) 또는 접합체 20-1(3/0.10 ㎎/㎏)을 단일 투여로서 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10). 접합체 34a, 접합체 20a, 접합체 34 및 접합체 20-1의 경우 일시적인 체중 감소가 허용되는 한계 내에서 추가적인 임상적 관찰 없이 처치 2-3 일 후 관찰되었다. 차후의 시점에서의 체중 감소는 종양 퇴행과 상관관계를 가지며, 이는 종양 모델 유도된 악액질을 나타낸다.

[1202] 도 18은 비히클, 접합체 34a, 접합체 34, 접합체 20a 또는 접합체 20-1(3/0.09 ㎎/㎏)로 처치한 SKOV3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다. 접합체 20a(3/0.09 ㎎/㎏) 또는 접합체 34a(3/0.11 ㎎/㎏)를 사용한 처치는 각각 21 및 65.9% TGI를 발생하였다. 접합체 34(3/0.11 ㎎/㎏) 또는 접합체 20-1(3/0.10 ㎎/㎏)을 각각 사용한 처치는 100% 평균 종양 퇴행을 발생하였다.

[1203] 실시예 51: SKOV3 난소암에서 HER2 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1204] CB.17 SCID 마우스 암컷은 SKOV3 사람 난소암 세포(마우스 1 마리당 10×10^6 세포)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 88-126 ㎣(평균=112.8-113.2 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 접합체 28(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.03 mg/kg), 접합체 29(0.2/0.01 mg/kg 또는 0.8/0.02 mg/kg), 접합체 8-2(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.04 mg/kg), 접합체 25(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.04 mg/kg) 또는 접합체 45(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.04 mg/kg)를 단일 투여로서 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10). 접합체 25(1/0.04 mg/kg)의 경우 일시적인 체중 감소가 허용되는 한계 내에서 추가적인 임상적 관찰 없이 처치 3 일 후 관찰되었다. 차후의 시점에서의 체중 감소는 종양 퇴행과 상관관계를 가지며, 이는 종양 모델 유도된 악액질을 나타낸다.

[1205] 도 19는 비히클, 접합체 28, 접합체 29, 접합체 8-2, 접합체 25 또는 접합체 45로 처치한 SKOV3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피를 제공한다. 접합체 28(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.03 mg/kg), 접합체 29(0.2/0.01 mg/kg 또는 0.8/0.02 mg/kg), 접합체 8-2(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.04 mg/kg), 접합체 25(0.3/0.01 mg/kg) 또는 접합체 45(0.3/0.01 mg/kg 또는 1/0.04 mg/kg)를 사용한 처치는 각각 17.6, 97.6, 12.1, 86.9, 10.9, 70.3, 81.9, 15.8 및 27.2% TGI를 발생하였다. 접합체 25(1/0.04 mg/kg)를 사용한 처치는 74.5% 평균 종양 퇴행을 발생하였다.

[1206] 실시예 52: SKOV3 난소암에서 HER2 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1207] CB.17 SCID 마우스 암컷은 SKOV3 사람 난소암 세포(10×10^6 세포/마우스 + 50% 마트리겔(Matrigel))로 피하 접종하였다. 종양 부피가 63-75 ㎣(평균=67.8 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클(염수, q3dx3 또는 q5dx5), 디ABZI 스팅 효능제(1.5 mg/kg q3dx3 또는 0.128 mg/kg qdx1), 화합물 30(1.5 mg/kg q3dx3 또는 0.128 mg/kg qdx1), 접합체 32b-2(3.42/0.128 mg/kg qdx1), XMT-1519(3.00 mg/kg qdx1), 접합체 32-5(0.100/0.004, 0.300/0.013, 1.00/0.042 또는 3.00/0.128 mg/kg qdx1), 접합체 32e(1.00/0.039 또는 3.00/0.117 mg/kg qdx1)를 모두 1일차에 시작하여 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10).

[1208] 도 20은 비히클, 디ABZI 스팅 효능제, 화합물 30, 접합체 32b-2, XMT-1519, 접합체 32-5 또는 접합체 32e로 처치한 SKOV3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피를 제공한다. 1.00/0.042 또는 3.00/0.117 mg/kg에서 접합체 32-5를 사용한 처치는 10/10 완전 반응을 발생하였다.

[1209] 실시예 53: 사람 HER2를 발현시키기 위하여 조작된 4T1에서 HER2 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1210] Balb/C 마우스 암컷은 사람 HER2(4T1-hHER2)를 발현시키기 위하여 조작된 4T1 생쥐 유방암 세포(마우스 1 마리당 2×10^6 세포)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 75-88 ㎣(평균=71.5-80.3 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 접합체 8d-3(1/0.04 mg/kg) 또는 접합체 8k(0.9/0.04 mg/kg)를 단일 투여로서 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10). 접합체 8k(0.9/0.04 mg/kg)의 경우 일시적인 체중 감소가 허용되는 한계 내에서 추가적인 임상적 관찰 없이 처치 2 일 후 관찰되었다.

[1211] 도 21A는 비히클, 접합체 8d-3(1/0.04 mg/kg) 또는 접합체 8k(0.9/0.04 mg/kg)로 처치한 4T1-hHER2 종양을 지닌 마우스의 종양 부피를 제공한다. 접합체 8d-3(1/0.04 mg/kg)를 사용한 처치는 85.4% TGI를 발생하였다(도 21B). 접합체 8k(0.9/0.04 mg/kg)를 사용한 처치는 93.2% 평균 종양 퇴행을 발생하였으며, 동물 10 마리 중 8 마리는 실험 종료시 무종양이었다(도 21C).

[1212] 실시예 54: SKOV3 난소암에서 Fc 변이체 HER2 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1213] CB.17 SCID 마우스 암컷은 SKOV3 사람 난소암 세포(10×10^6 세포/마우스)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 63-75 ㎣(평균=72.6 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 접합체 8c-2(3.17/0.10 mg/kg), 접합체 8a-2(2.7/0.10 mg/kg 또는 0.81/0.03 mg/kg), 접합체 8j(2.71/0.10 mg/kg 또는 0.81/0.03 mg/kg) 또는 디ABZI IV 스팅 효능제(0/5 mg/kg)를 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10).

[1214] 도 22는 접합체 8c-2, 접합체 8a-2, 접합체 8j 또는 디ABZI IV 스팅 효능제로 처치한 SKOV3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피를 제공한다. 접합체 8a-2(2.70/0.10 mg/kg)를 사용한 처치는 10 CR 및 10 TFS를 발생하였다. 접합

체 8a-2(0.81/0.030 mg/kg)를 사용한 처치는 2 PR, 8CR 및 3 TFS를 발생하였다. 접합체 8j(2.71/0.10 mg/kg)를 사용한 처치는 2 PR 및 6 CR을 발생하였다. 접합체 8j(0.81/0.03 mg/kg)를 사용한 처치는 3 PR 및 1 CR을 발생하였다. 디ABZI IV 스팅 효능제(0/5 mg/kg)를 사용한 처치는 7 PR을 발생하였다.

[1215] 실시예 55: 사람 난소암 세포에 NaPi2b 항체-약물 접합체의 시험관내 결합

[1216] FBS(20%) 및 페니실린/스트렙토마이신(1%)이 보충된 RPMI 1640 배지 내에서 OVCAR3 세포를 ~80-95% 전면생장률로 성장시켰다. 세포를 수거하고, 96웰 U 바닥 평판의 웰(50,000/웰)에 첨가하였다. 세포를 펠릿으로 만들고(300×g, 5 분), 표 18에 나타낸 바와 같은 테스트 항목의 용액 중에서 0.01 nM 내지 300 nM 범위 내의 농도에서 재현탁시키고, 얼음 상에서 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 그 후, 세포를 빙냉 PBS(3x) 중에서 세정하고, 펠릿으로 만들고(300 g, 5 분), 검출 항체(염소 항사람 IgG-알렉사-647(H+L 쇄)와 함께 1 시간 동안 4℃에서 인큐베이션하였다. 세포 현탁액을 펠릿으로 만들고(300 g, 5 분), 빙냉 PBS 내에서 3회 세정하고, 파라포름알데히드(1%)의 용액 중에 재현탁시켜 고정시켰다. 그 후, 재현탁된 세포를 MACS Quant 흐름 세포측정에서 흐름 세포측정 분석으로 처리하였다. 분석을 위하여 단일 이벤트(10,000)를 수집하였다. 모집단 게이팅 및 중간 형광 강도(MFI) 분석은 MACS Quant 소프트웨어로 수행하였다. 하기 표 18은 세포 결합에 대하여 평균 EC_{50} 값을 요약한다.

표 18

테스트 항목	DAR	세포 결합 EC_{50} (nM)
접합체 60-1	6.2	3.33
접합체 32d	8.8	2.99
접합체 32b-1	5.7	ND
접합체 8b-3	6.4	8.13
XMT-1535	NA	4.29
XMT-1535	NA	3.74
XMT-1535 mIgG2a	NA	4.13
사람 IgG 대조군	NA	ND

ND=측정하지 않음
NA=적용 불가

[1217]

[1218] 표 18에 나타낸 바와 같이, OVCAR3 세포로의 NaPi2b ADC의 결합에 대한 EC_{50} 값은 낮은 나노몰 범위 내에 있는 반면, 동형 대조군은 OVCAR3 세포에 결합되지 않았다.

[1219] 실시예 56: OVCAR3 사람 난소암 및 THP1 리포터 세포의 공생배양물 검정에서 NaPi2b 생접합체의 작용적 활성

[1220] NaPi2b 표적화된 스팅 ADC에 의한 면역 세포에서 스팅 경로의 유도는 암 세포/THP1-IRF3-루시페라제 리포터 세포 공생배양물 검정으로 평가하였다. OVCAR3 사람 난소 암종 세포를 96웰 셀바인드 표면 조직 배양 평판(20,000/웰)에 파종하고, 6 시간 동안 20% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 갖는 RPMI 배지 내에서 부착되도록 하였다. 테스트 항목의 다양한 희석액(페이로드를 기준으로 하여 0.01 nM 내지 300 nM; 성장 배지 중에서 3배 계열 희석액)을 각각의 웰에 첨가하고, 평판을 20 분 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 그 후, 50,000 THP1-2중 리포터 세포를 각각의 웰에 첨가하고, 인큐베이션을 20 시간 동안 37℃, 5% CO_2에서 지속하였다. 각각의 인큐베이션한 샘플로부터의 세포 배양 상청액(20 ㎕)을 재현탁된 QUANTI-Luc(50 ㎕)에 첨가하고, 발광 신호는 스펙트라맥스 M5 평판 판독기(몰레큘라 디바이스)를 사용하여 즉시 측정하였다. EC_{50} 값은 투여량 반응 곡선으로부터 구하였다. 하기 표 19는 OVCAR3 암 세포로 공생배양된 THP1-2중 세포에서의 EC_{50} 값을 제공한다.

표 19

테스트 항목	접합체 32a	접합체 32d	접합체 32c	접합체 32b-1	접합체 8b-3
IC_{50} (nM)	0.29	0.47	NA	NA	0.21

[1221]

[1222] 표 19에 제시한 바와 같이, NaPi2b-ADC를 사용한 OVCAR3 및 THP-1 공생배양물의 처치는 THP-1 면역 세포에서 스팅 경로의 유도에 대하여 나노몰이하의 EC_{50} 값을 발생한 반면, 동형 대조군은 활성을 갖지 않았다.

[1223] 실시예 57: OVCAR-3에서 NaPi2b 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1224] CB.17 SCID 마우스 암컷은 OVCAR-3 사람 난소암 세포(5×10^6 세포/마우스)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 56-122 ㎣(평균=83.9-84.7 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 접합체 32b-1(3.39/0.10 mg/kg), 접합체 32a(0.93/0.03 또는 3.12/0.10 mg/kg), 접합체 32c(2.12/0.10 mg/kg), 접합체 32d(2.20/0.10 mg/kg) 또는 디ABZI IV 스팅 효능제(0/5 mg/kg)를 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10).

[1225] 도 23은 접합체 32b-1, 접합체 32a, 접합체 32c, 접합체 32d 또는 디ABZI IV 스팅 효능제로 처치한 OVCAR-3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다.

[1226] 실시예 58: OVCAR-3에서 NaPi2b AF-HPA 항체-약물 접합체와 조합된 NaPi2b 스팅 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1227] CB.17 SCID 마우스 암컷은 OVCAR-3 사람 난소암 세포(5×10^6 세포/마우스)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 68-247 ㎣(평균=148-148.2 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클; 리툭시맙 AF-HPA ADC(0.75/0.023 mg/kg) 및 접합체 8c-2(4.0/0.126 mg/kg)의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg); 접합체 8b-2(2.0/0.071 또는 4.0/0.142 mg/kg); XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 접합체 8c-2(4.0/0.126 mg/kg)의 조합; 리툭시맙 AF-HPA ADC(0.75/0.023 mg/kg) 및 접합체 8b-2(4.0/0.142 mg/kg)의 조합; 리툭시맙 AF-HPA ADC(0.75/0.023 mg/kg) 및 접합체 8b-2(2.0/0.071 mg/kg)의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 접합체 8b-2(4.0/0.142 mg/kg)의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 접합체 8b-2(2.0/0.071 mg/kg)의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 XMT-1535(4.0/0 mg/kg)의 조합; 또는 XMT-1535(4.75/0 mg/kg)를 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10).

[1228] 도 24는 비히클; 리툭시맙 AF-HPA ADC 및 접합체 8c-2의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC; 접합체 8b-2; XMT-1535 AF-HPA ADC 및 접합체 8c-2의 조합; 리툭시맙 AF-HPA ADC 및 접합체 8b-2의 조합; 리툭시맙 AF-HPA ADC 및 접합체 8b-2의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC 및 접합체 8b-2의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC 및 접합체 8b-2의 조합; XMT-1535 AF-HPA ADC 및 XMT-1535의 조합; 또는 XMT-1535로 처치한 OVCAR-3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다. 모든 계산은 22일차에서의 값을 기준으로 하였다. 리툭시맙 AF-HPA ADC(0.75/0.023 mg/kg) 및 접합체 8c-2(4.0/0.126 mg/kg)의 조합을 사용한 처치는 25.1%(n=10)의 TGI를 발생하였다. XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg)를 사용한 처치는 71.6%(n=9)의 TGI 및 71.2%(n=1)의 평균 종양 수축을 발생하였다. 접합체 8b-2(4.0/0.142 mg/kg)를 사용한 처치는 72.9%(n=9)의 TGI 및 48%(n=1)의 평균 종양 수축을 발생하였다. 접합체 8b-2(2.0/0.071 mg/kg)를 사용한 처치는 59.8%(n=10)의 TGI를 발생하였다. XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 접합체 8c-2(4.0/0.126 mg/kg)의 조합을 사용한 처치는 85.1%(n=9)의 TGI 및 24.6%(n=1)의 평균 종양 수축을 발생하였다. 리툭시맙 AF-HPA ADC(0.75/0.023 mg/kg) 및 접합체 8b-2(4.0/0.142 mg/kg)의 조합을 사용한 처치는 61.7%(n=10)의 TGI를 발생하였다. 리툭시맙 AF-HPA ADC(0.74/0.023 mg/kg) 및 접합체 8b-2(2.0/0.071 mg/kg)의 조합을 사용한 처치는 55.7%(n=10)의 TGI를 발생하였다. XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 접합체 8b-2(4.0/0.142 mg/kg)의 조합을 사용한 처치는 95.2%(n=4)의 TGI 및 60.5%(n=6)의 평균 종양 수축을 발생하였다. XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 접합체 8b-2(2.0/0.071 mg/kg)의 조합을 사용한 처치는 98.2%(n=8)의 TGI 및 17.8%(n=2)의 평균 종양 수축을 발생하였다. XMT-1535 AF-HPA ADC(0.75/0.024 mg/kg) 및 XMT-1535(4.00/0 mg/kg)의 조합을 사용한 처치는 68.2%(n=9)의 TGI 및 23.7%(n=1)의 평균 종양 수축을 발생하였다. XMT-1535(4.75/0 mg/kg)를 사용한 처치는 0.6%(n=10)의 TGI를 발생하였다.

[1229] 실시예 59: SKOV3 난소암에서 HER2 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1230] CB.17 SCID 마우스 암컷은 SKOV3 사람 난소암 세포(10×10^6 세포/마우스)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 75-100 ㎣(평균=84-85 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다. 비히클, 접합체 32b(0.85/0.03 mg/kg), 접합체 32-2(0.90/0.03 mg/kg), 접합체 88(0.87/0.03 mg/kg), 접합체 85(2.87/0.10 mg/kg), 접합체 92(2.36/0.10 mg/kg), 접합체 100(2.23/0.10 mg/kg), 접합체 89(0.99/0.030 mg/kg), 접합체 85a(2.59/0.10 mg/kg), 접합체 93(2.85/0.10 mg/kg) 또는 접합체 101(2.70/0.10 mg/kg)을 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10).

[1231] 도 25는 접합체 32b, 접합체 32-2, 접합체 88, 접합체 85, 접합체 92, 접합체 100, 접합체 89, 접합체 85a, 접합체 93 또는 접합체 101로 처치한 SKOV3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다. 접합체 32-

2(0.90/0.03 ㎎/㎏)를 사용한 처치는 1 PR 및 9 CR 및 5 TFS를 발생하였다. 접합체 88(0.87/0.03 ㎎/㎏)를 사용한 처치는 6 CR 및 4 TFS를 발생하였다. 접합체 85(2.87/0.10 ㎎/㎏)를 사용한 처치는 9 CR 및 8 TFS를 발생하였다. 접합체 100(2.23/0.10 ㎎/㎏)을 사용한 처치는 1 PR을 발생하였다.

[1232] 실시예 60: SKOV3에서 HER2 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응

[1233] CB.17 SCID 마우스 암컷은 SKOV3 사람 난소암 세포(10×10^6 세포/마우스)로 피하 접종하였다. 종양 부피가 75-144 ㎣(평균=112-114 ㎣/군)가 될 때 동물을 처치군으로 무작위로 나누었다(n=10/군). 비히클, 접합체 28(0.99/0.0325 ㎎/㎏) 또는 접합체 62(0.9/0.0325 ㎎/㎏)를 1일차에 정맥내 투여하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=10).

[1234] 도 26은 비히클, 접합체 28 또는 접합체 62(HER2 표적)로 처치한 SKOV3 종양을 지닌 마우스의 종양 부피에 대한 결과를 제공한다. 접합체 28(0.99/0.0325 ㎎/㎏)을 사용한 처치는 1 PR, 8 CR 및 5 TFS를 발생하였다. 접합체 62(0.92/0.0325 ㎎/㎏)를 사용한 처치는 2 PR, 7 CR 및 4 TFS를 발생하였다.

[1235] 실시예 61: SKOV3에서 HER2 항체-약물 접합체의 약물동태학

[1236] CB.17 SCID 마우스 암컷은 비히클, 접합체 28(3.0/0.10 ㎎/㎏) 또는 접합체 62(2.84/0.10 ㎎/㎏)의 단일 정맥내 주사로 처치하였다(모든 투여량은 항체/페이로드로서 제시하며, 각각의 군에 대하여 n=4). 혈장을 처치 후 15 분, 1, 6, 24, 48, 72, 96, 168 및 336 시간에 수집하였다. 혈장을 0.1 ㎖의 총 부피에 대하여 1.33 ㎎/㎖ 시트르산 중에서 1:10로 희석하였다. 희석한 혈장을 드라이 아이스 상에서 급속 냉각시키고, -80℃에서 PK 분석 때까지 보관하였다.

[1237] 도 27은 접합된 약물의 순환 중인 혈장 농도에 대한 결과를 제공한다. ~2.5 ㎍/㎖ 및 ~1.8 ㎍/㎖의 혈장 농도가 접합체 28 및 접합체 62 각각에 대하여 달성되었으며, 해당 청소율은 각각 ~9.05 ㎖/일/㎏ 및 ~14.6 ㎖/일/㎏이었다.

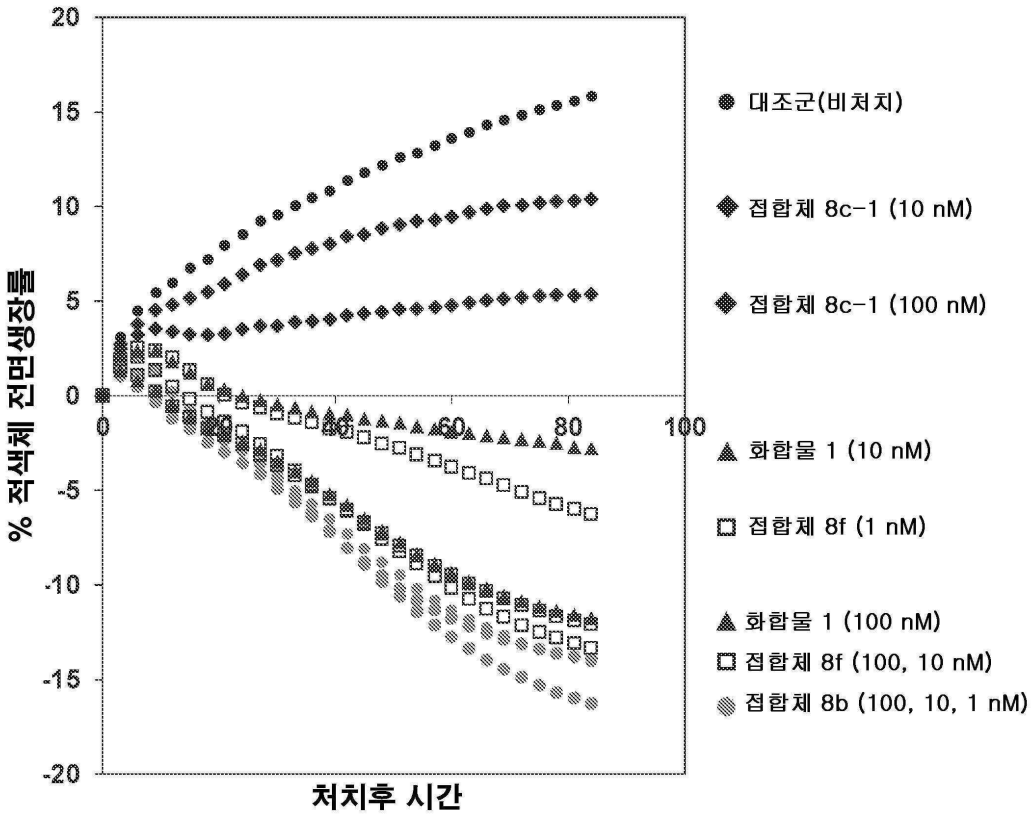
[1238] 균등예

[1239] 본 발명의 하나 이상의 실시양태의 세부사항은 상기 상세한 설명에 기재되어 있다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 또는 등가의 임의의 방법 및 물질이 본 개시내용의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있더라도, 그러한 방법 및 물질을 이제 기재한다. 본 개시내용의 기타의 특징, 목적 및 잇점은 상세한 설명 및 청구범위로부터 자명할 것이다. 상세한 설명 및 첨부한 청구범위에서, 단수형은 문맥이 달리 명백하게 지시하지 않는다면 복수형을 포함한다. 달리 정의되지 않는다면, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 속하는 해당 기술분야의 기술자 중 하나가 통상적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에서 인용한 모든 특허 및 공보는 참조로 포함된다.

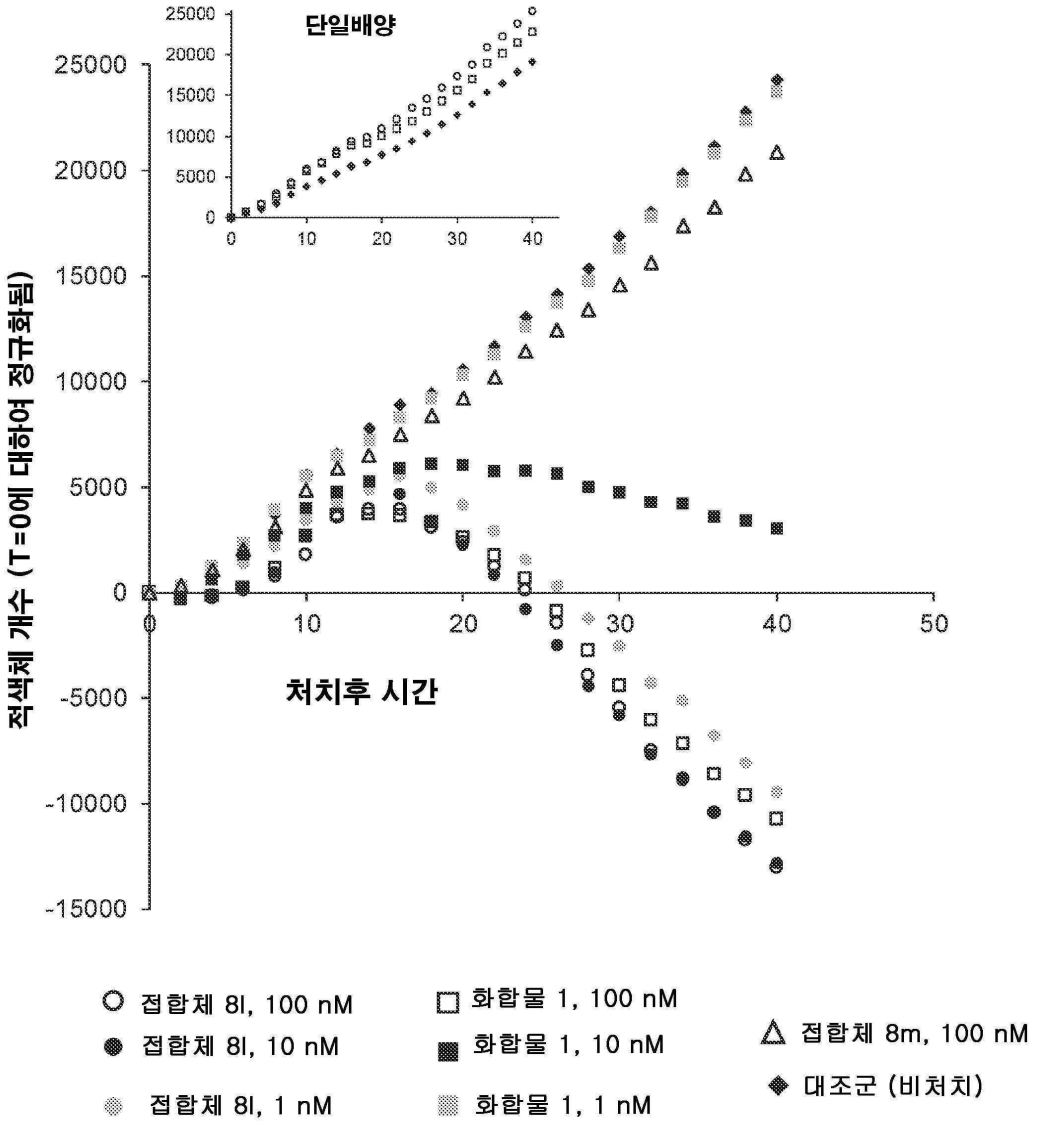
[1240] 상기 상세한 설명은 예시를 위하여서만 제시하였으며, 본 발명은 개시된 정확한 형태로 제한되지 않으며, 본원에 첨부된 청구범위에 의하여 제한하고자 한다.

도면

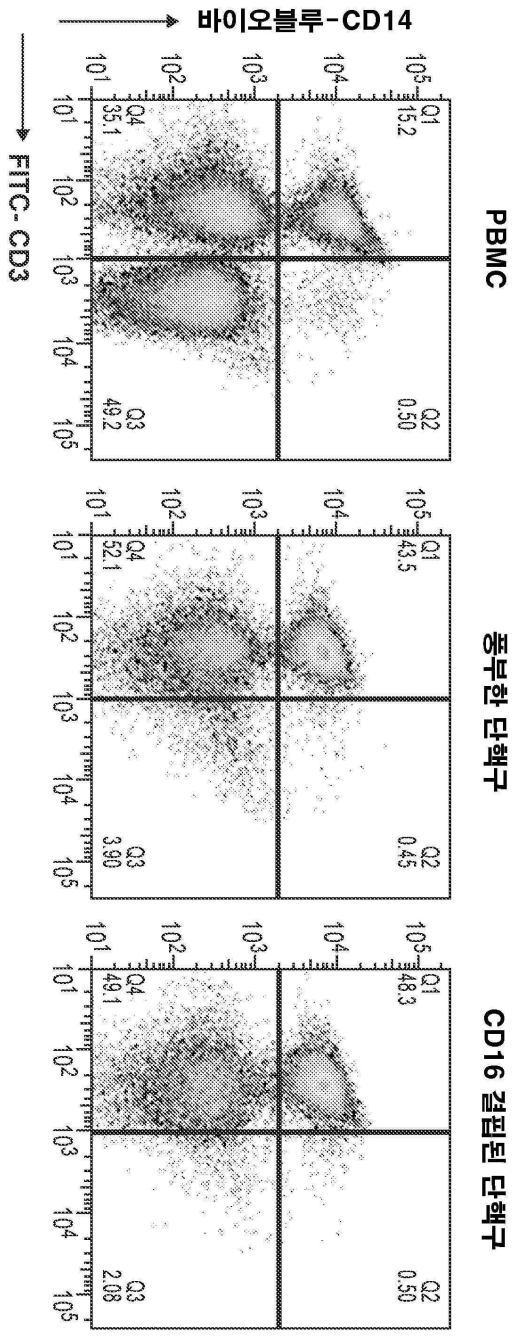
도면1a


20
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
0
20
40
60
80
100
% 적색체 전면생장률
처치후 시간
대조군(비처치)
접합체 8c-1 (10 nM)
접합체 8c-1 (100 nM)
화합물 1 (10 nM)
접합체 8f (1 nM)
화합물 1 (100 nM)
접합체 8f (100, 10 nM)
접합체 8b (100, 10, 1 nM)

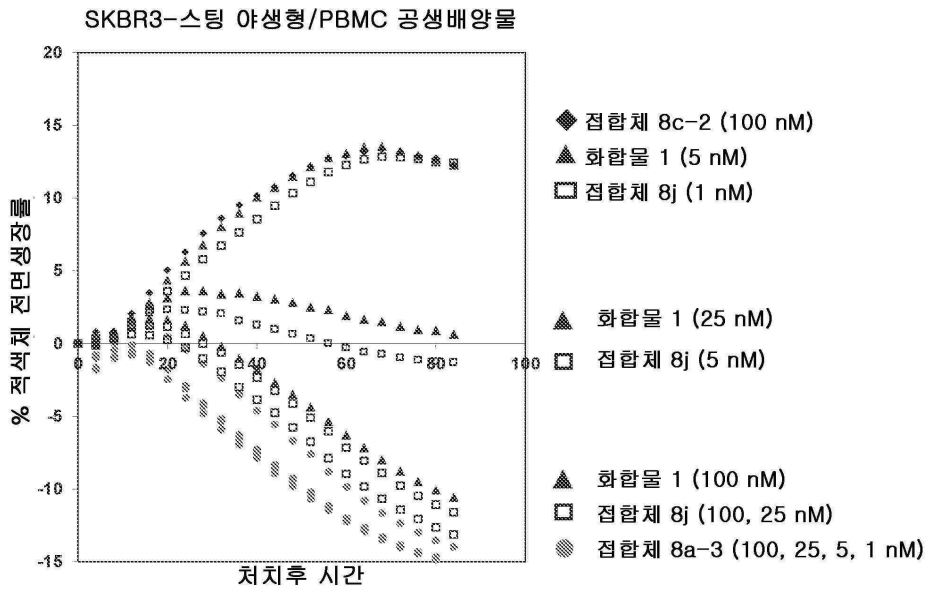
도면1b


단일배양
적색체 개수 (T=0에 대하여 정규화됨)
처치후 시간
25000
20000
15000
10000
5000
0
-5000
-10000
-15000
0
10
20
30
40
50
접합체 8l, 100 nM
접합체 8l, 10 nM
접합체 8l, 1 nM
화합물 1, 100 nM
화합물 1, 10 nM
화합물 1, 1 nM
접합체 8m, 100 nM
대조군 (비처치)

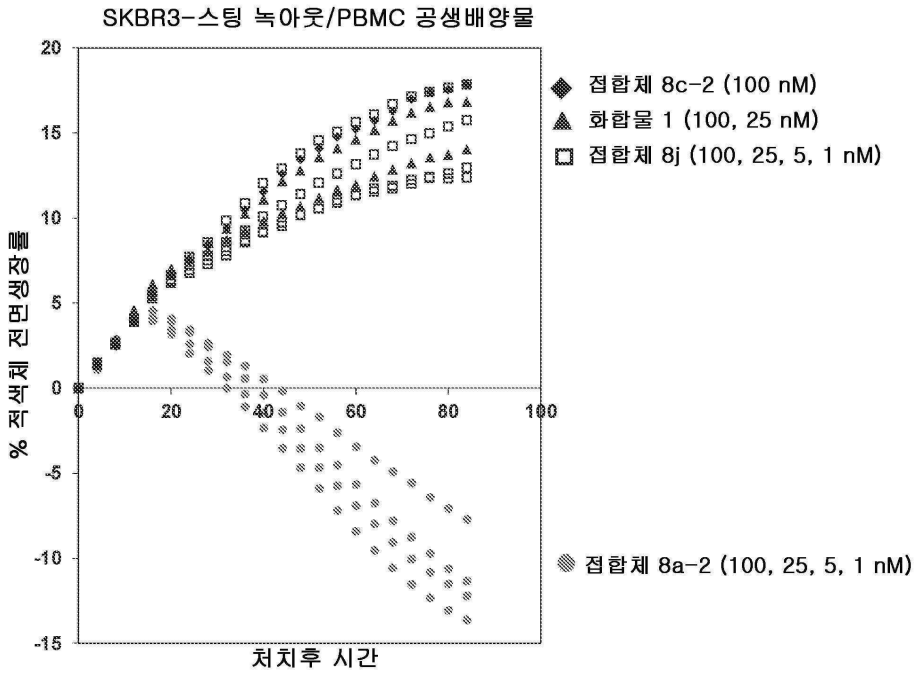
도면2


바이오블루-CD14
FITC-CD3
PBMC
Q1 15.2
Q2 0.50
Q3 49.2
Q4 35.1
홍부한 단핵구
Q1 43.5
Q2 0.45
Q3 3.90
Q4 52.1
CD16 결핍된 단핵구
Q1 48.3
Q2 0.50
Q3 2.08
Q4 49.1

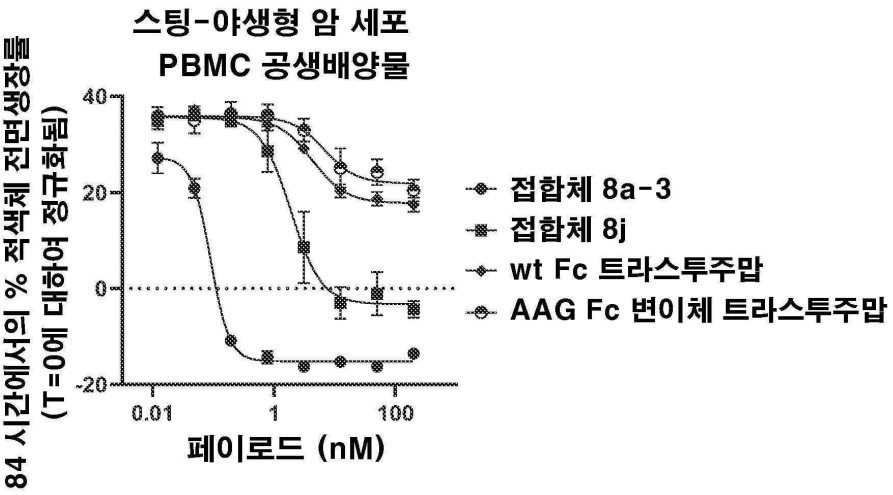
도면3a


SKBR3-스팅 야생형/PBMC 공생배양물
% 적색체 전면생장률
처치후 시간
접합체 8c-2 (100 nM)
화합물 1 (5 nM)
접합체 8j (1 nM)
화합물 1 (25 nM)
접합체 8j (5 nM)
화합물 1 (100 nM)
접합체 8j (100, 25 nM)
접합체 8a-3 (100, 25, 5, 1 nM)

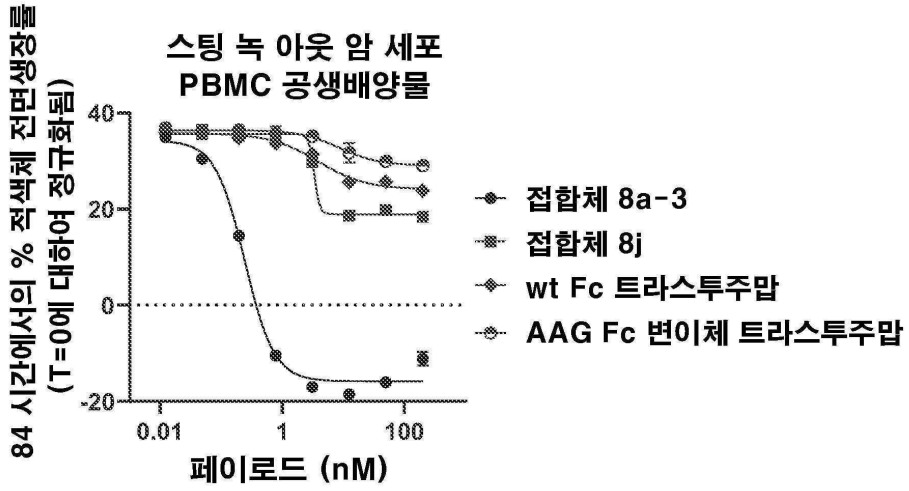
도면3b


SKBR3-스팅 녹아웃/PBMC 공생배양물
% 적색체 전면생장률
처치후 시간
접합체 8c-2 (100 nM)
화합물 1 (100, 25 nM)
접합체 8j (100, 25, 5, 1 nM)
접합체 8a-2 (100, 25, 5, 1 nM)

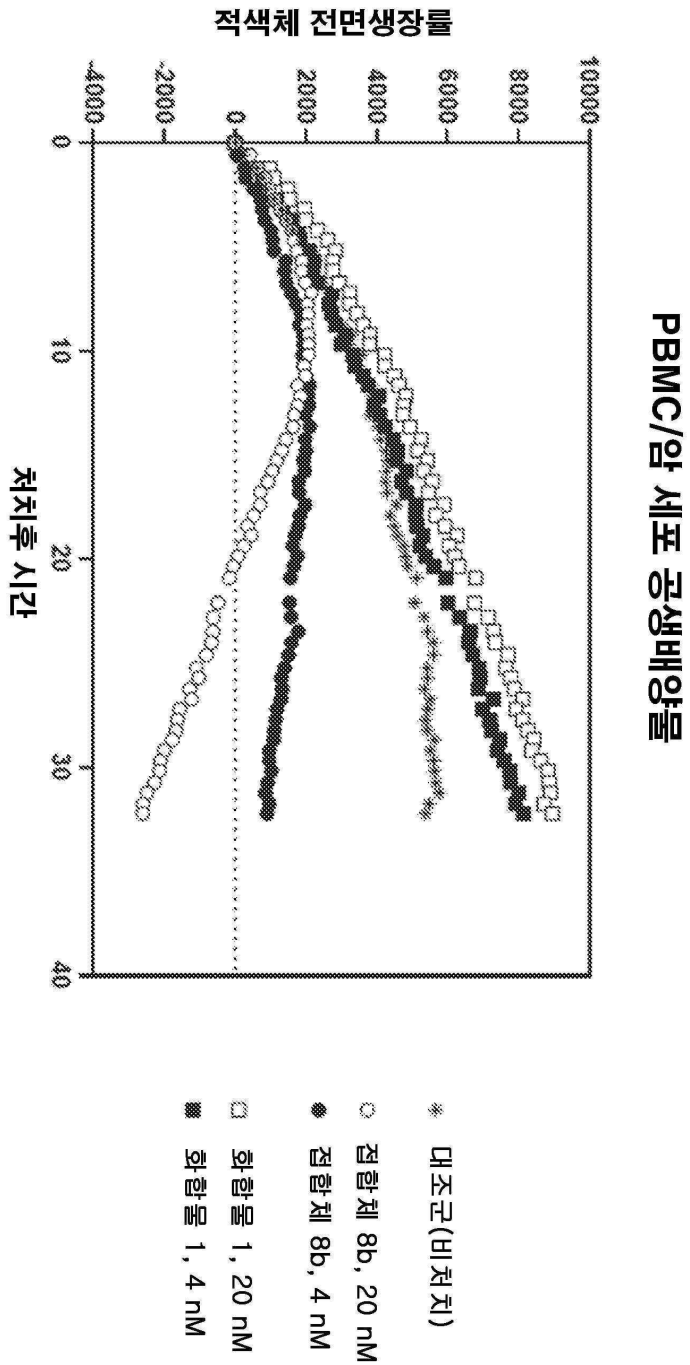
도면4a


스팅-야생형 암 세포
PBMC 공생배양물
84 시간에서의 % 적색체 전면생장률
(T=0에 대하여 정규화됨)
40
20
0
-20
0.01
1
100
페이로드 (nM)
접합체 8a-3
접합체 8j
wt Fc 트라스투주맙
AAG Fc 변이체 트라스투주맙

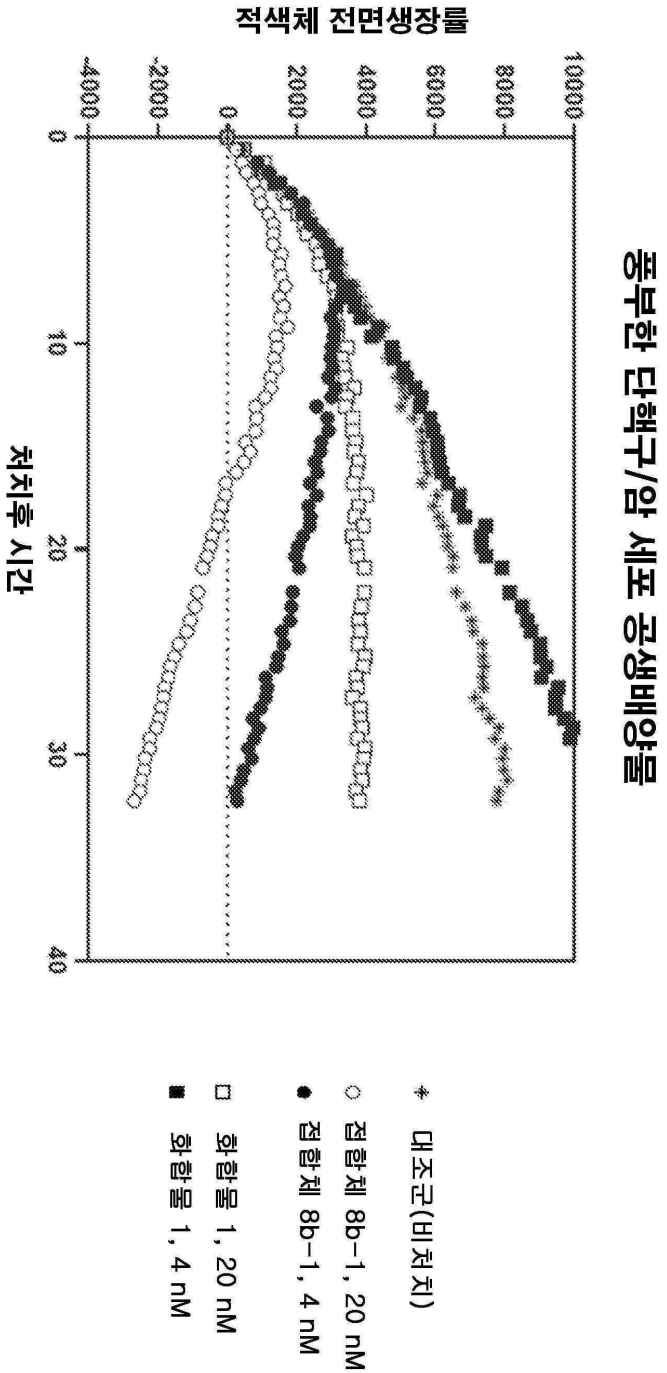
도면4b


스팅 녹 아웃 암 세포
PBMC 공생배양물
84 시간에서의 % 적색체 전면생장률
(T=0에 대하여 정규화됨)
40
20
0
-20
0.01
1
100
페이로드 (nM)
접합체 8a-3
접합체 8j
wt Fc 트라스투주맙
AAG Fc 변이체 트라스투주맙

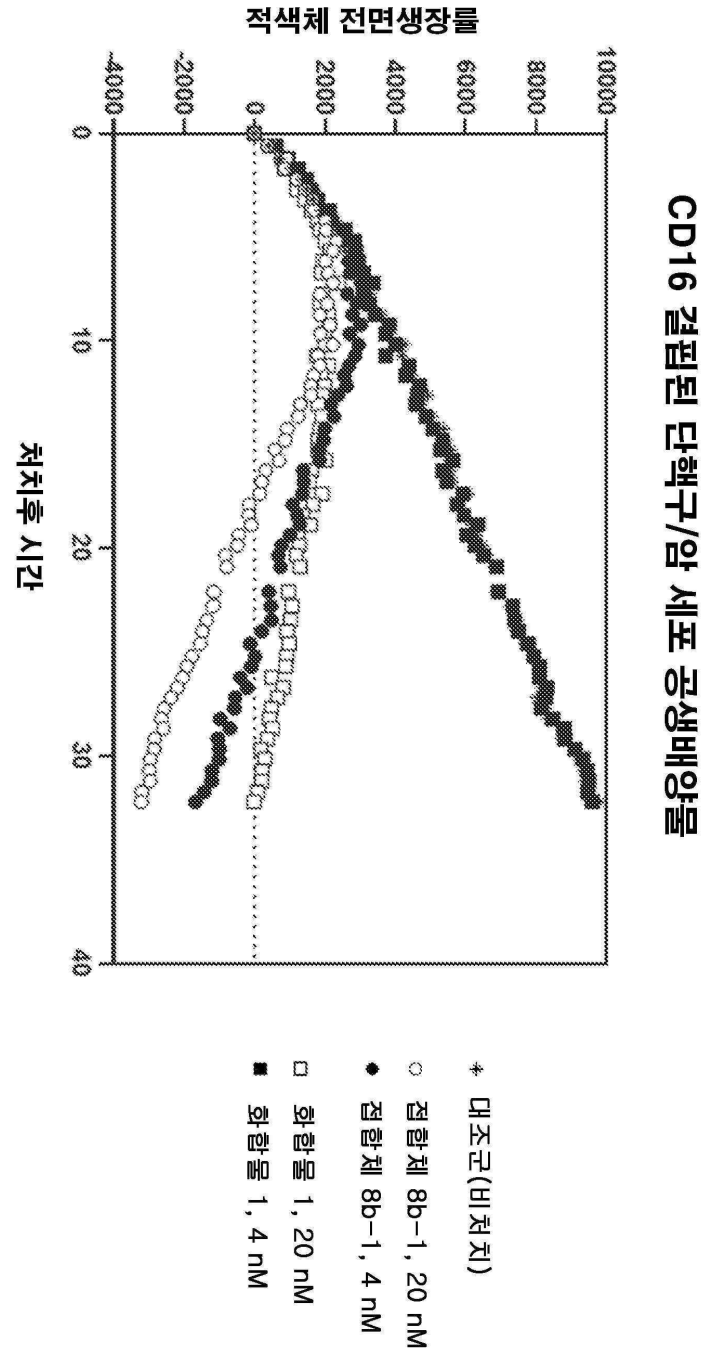
도면5a


적색체 전면생장률
-4000
-2000
0
2000
4000
6000
8000
10000
0
10
20
30
40
처치후 시간
PBMC/암 세포 공생배양물
대조군(비처치)
접합체 8b, 20 nM
접합체 8b, 4 nM
화합물 1, 20 nM
화합물 1, 4 nM

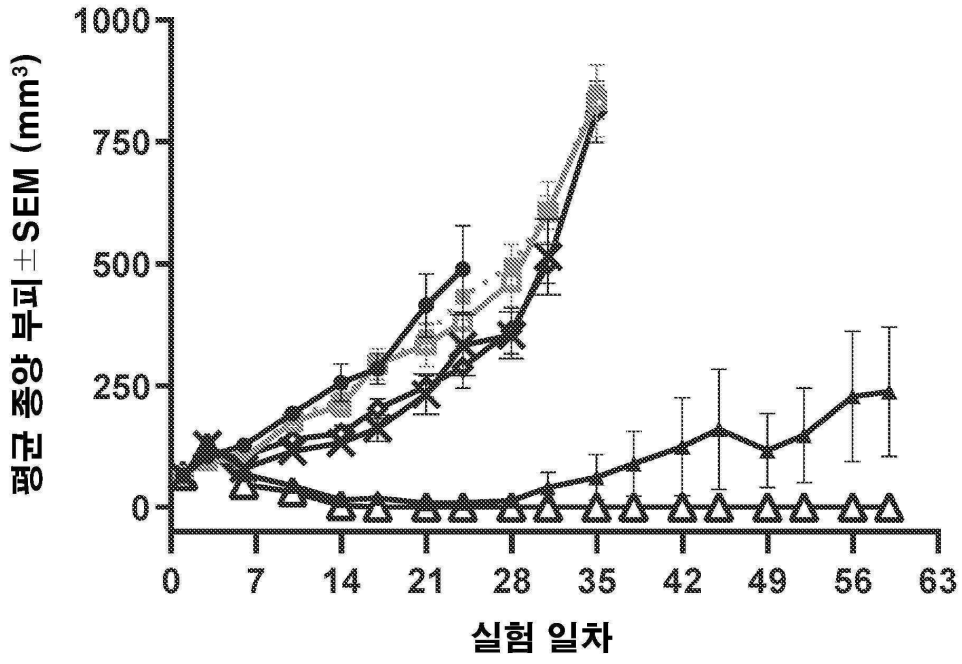
도면5b


적색체 전면생장률
10000
8000
6000
4000
2000
0
-2000
-4000
0
10
20
30
40
처치후 시간
종부화 단핵구/암 세포 공생배양물
대조군(비처치)
접합체 8b-1, 20 nM
접합체 8b-1, 4 nM
화합물 1, 20 nM
화합물 1, 4 nM

도면5c


CD16 결핍된 단핵구/암 세포 공생배양물
적색체 전면생장률
처치후 시간
10000
8000
6000
4000
2000
0
-2000
-4000
0
10
20
30
40
대조군(비처치)
접합체 8b-1, 20 nM
접합체 8b-1, 4 nM
화합물 1, 20 nM
화합물 1, 4 nM

도면6



비히클

디ABZI 스팅 효능제, 0/5 mg/kg

접합체 8c-1, 1/0.04 mg/kg

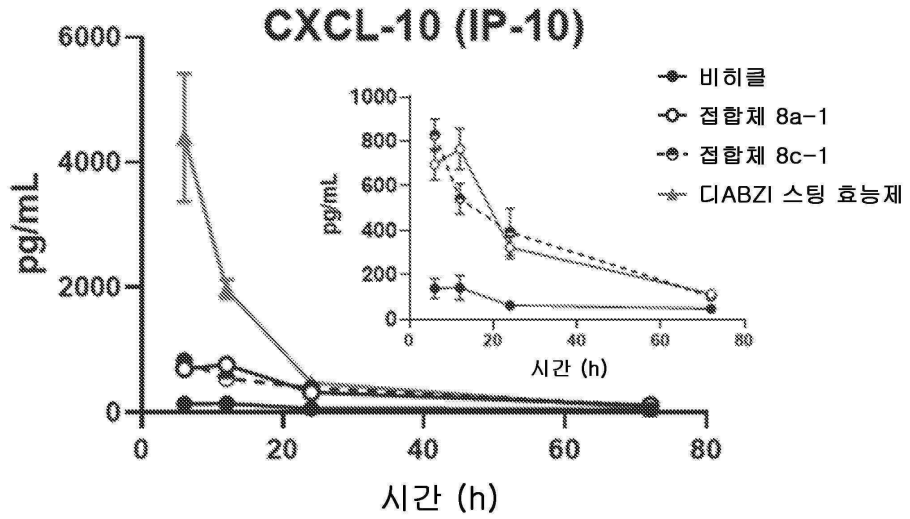
접합체 8c-1, 3/0.12 mg/kg

트라스투주맙, 3/0 mg/kg

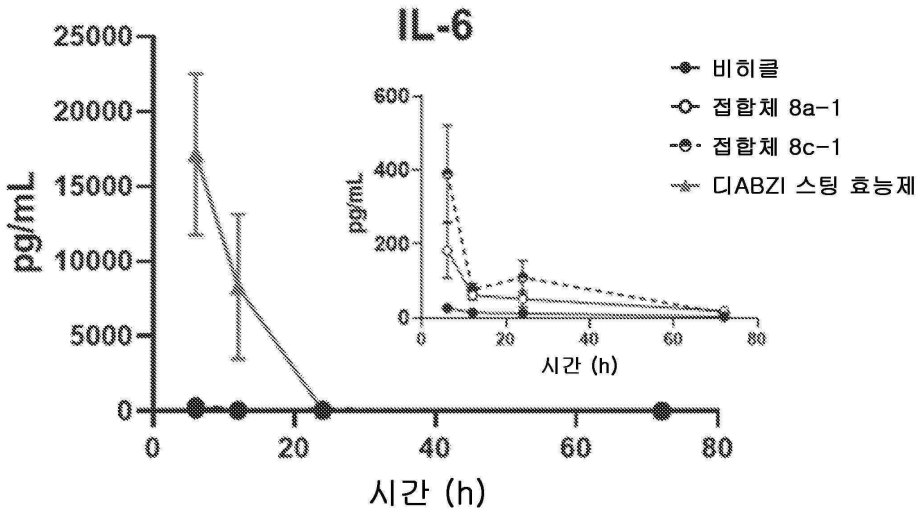
접합체 8a-1, 1/0.03 mg/kg

접합체 8a-1, 3/0.09 mg/kg

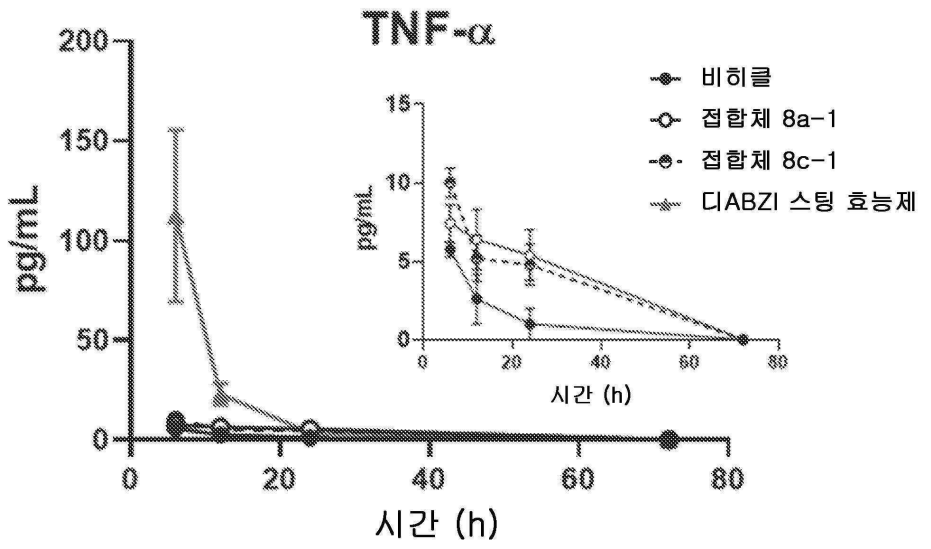
도면7a


CXCL-10 (IP-10)
pg/mL
시간 (h)
비히클
접합체 8a-1
접합체 8c-1
디ABZI 스팅 효능제

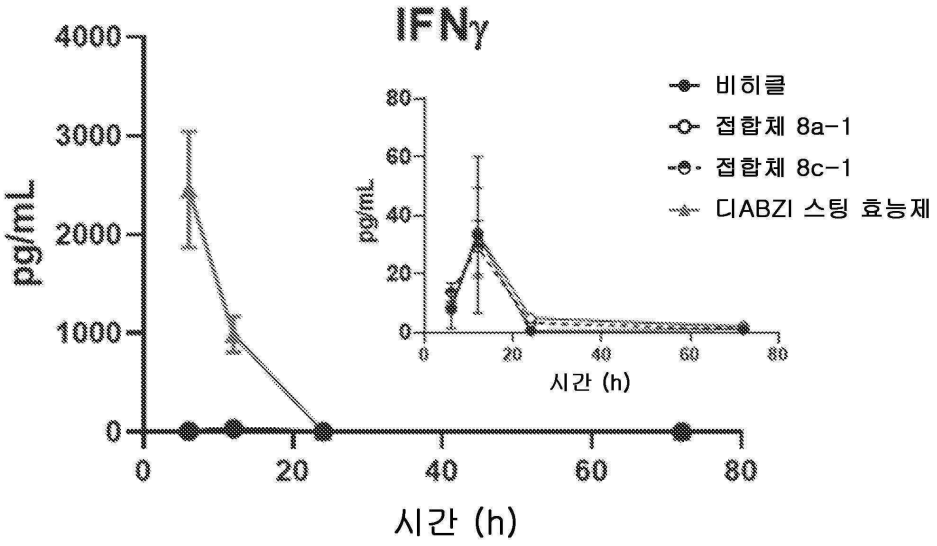
도면7b


IL-6
pg/mL
시간 (h)
비히클
접합체 8a-1
접합체 8c-1
디ABZI 스팅 효능제

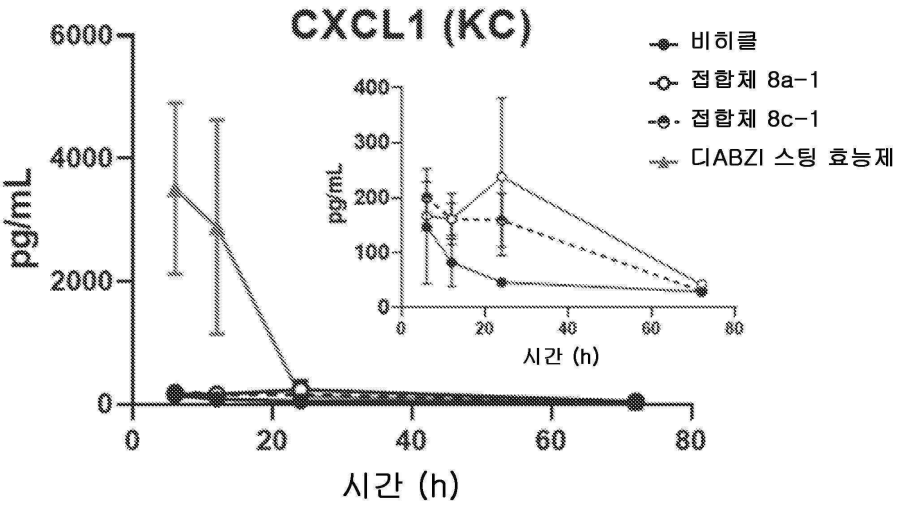
도면7c


TNF-α
pg/mL
200
150
100
50
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
15
10
5
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
비히클
접합체 8a-1
접합체 8c-1
디ABZI 스팅 효능제

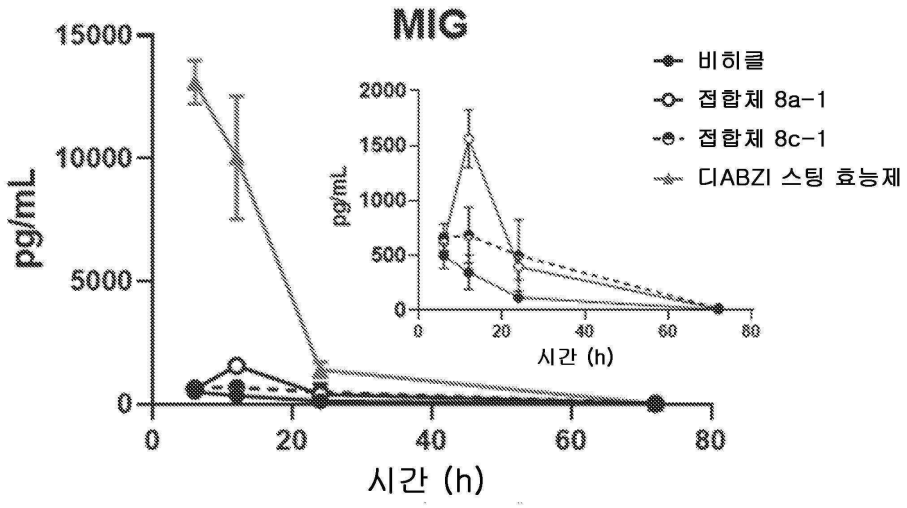
도면7d


IFNγ
pg/mL
4000
3000
2000
1000
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
80
60
40
20
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
비히클
접합체 8a-1
접합체 8c-1
디ABZI 스팅 효능제

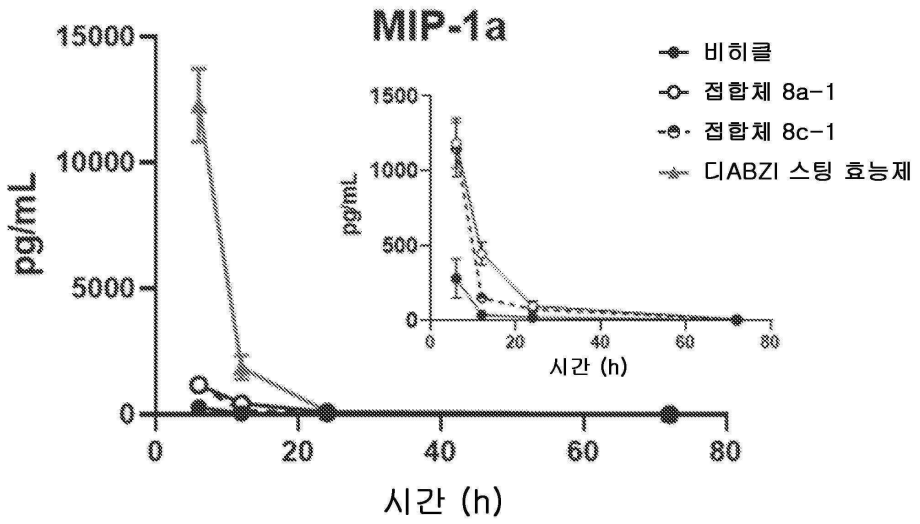
도면7e


CXCL1 (KC)
pg/mL
6000
4000
2000
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
400
300
200
100
비히클
접합체 8a-1
접합체 8c-1
디ABZI 스팅 효능제

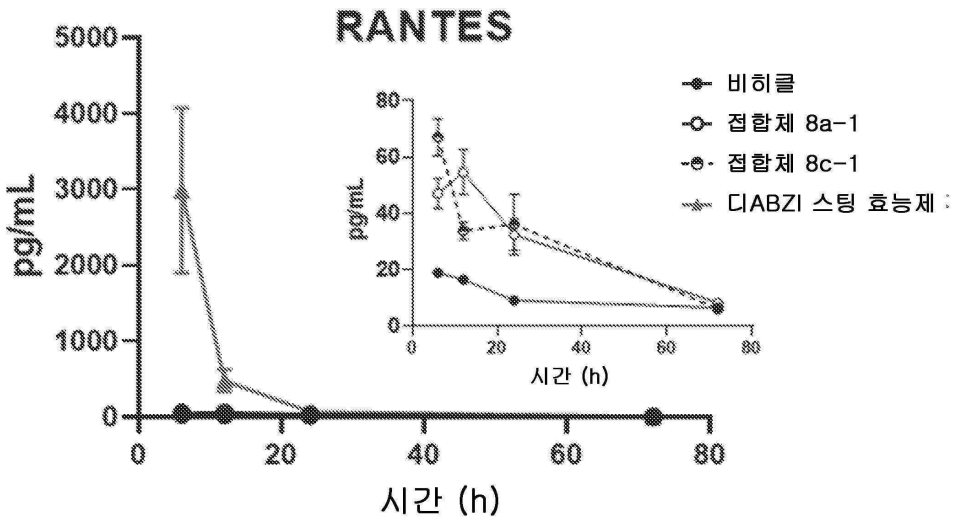
도면7f


MIG
pg/mL
15000
10000
5000
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
2000
1500
1000
500
비히클
접합체 8a-1
접합체 8c-1
디ABZI 스팅 효능제

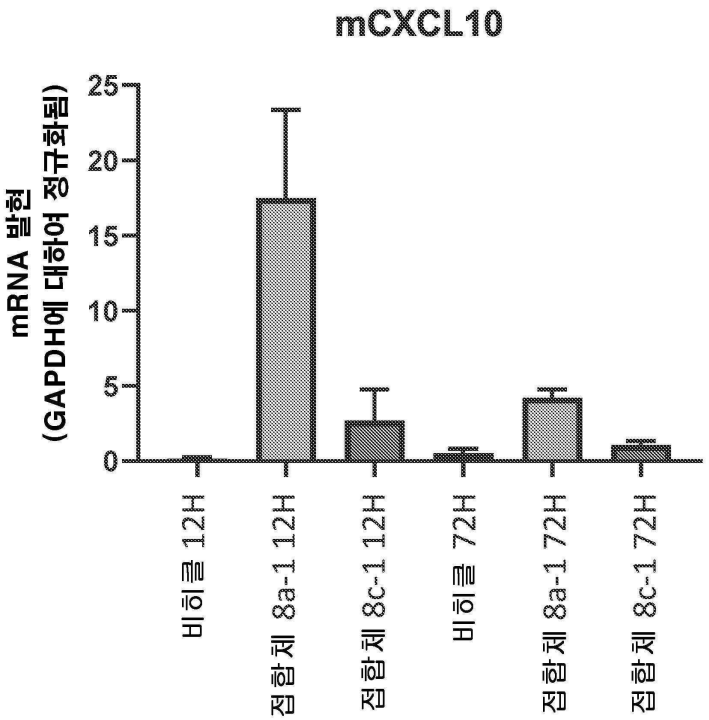
도면7g


MIP-1a
pg/mL
15000
10000
5000
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
1500
1000
500
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
비히클
접합체 8a-1
접합체 8c-1
디ABZI 스팅 효능제

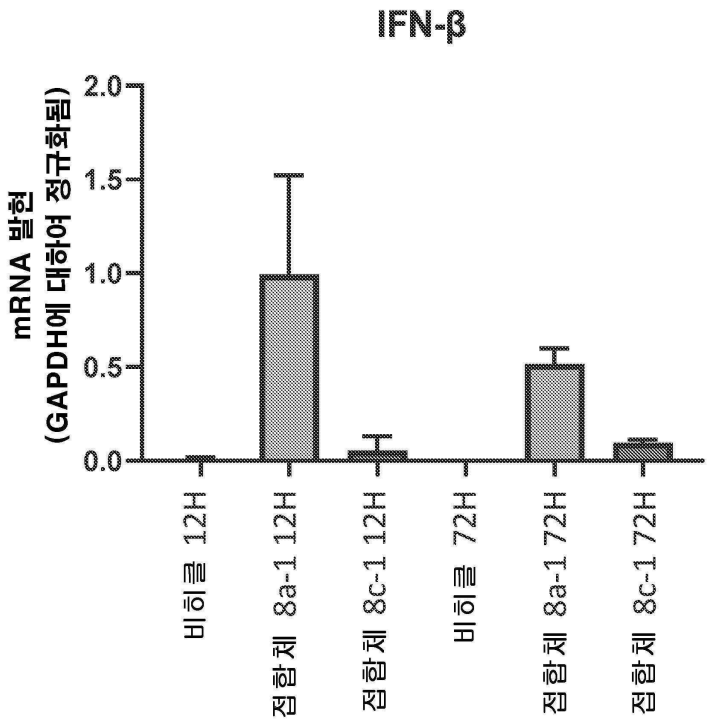
도면7h


RANTES
pg/mL
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
80
60
40
20
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
비히클
접합체 8a-1
접합체 8c-1
디ABZI 스팅 효능제

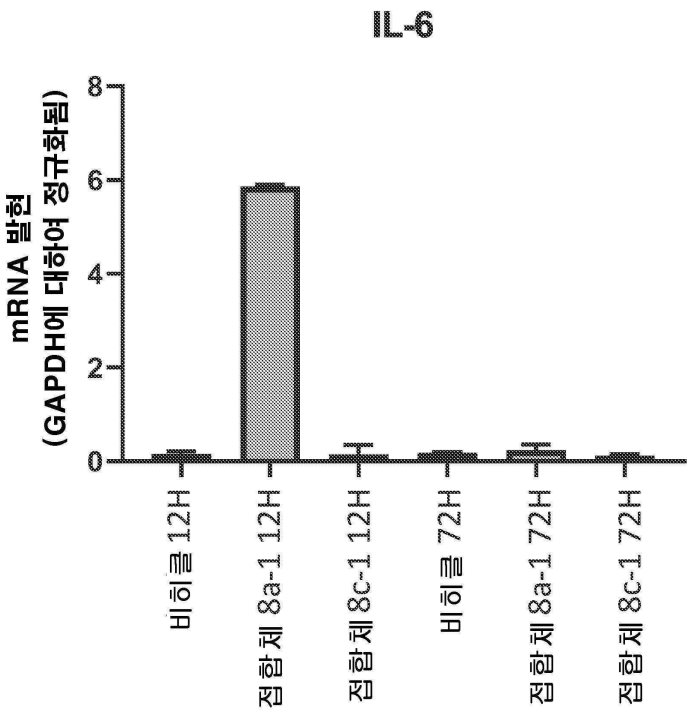
도면8a


mCXCL10
mRNA 발현
(GAPDH에 대하여 정규화됨)
25
20
15
10
5
0
비히클 12H
접합체 8a-1 12H
접합체 8c-1 12H
비히클 72H
접합체 8a-1 72H
접합체 8c-1 72H

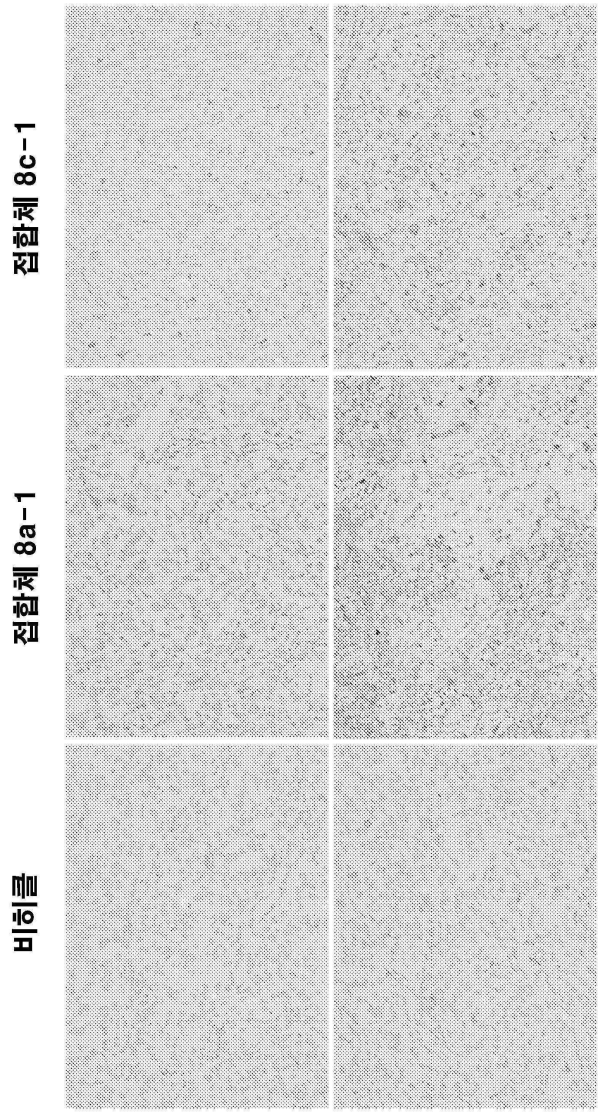
도면8b


IFN-β
mRNA 발현
(GAPDH에 대하여 정규화됨)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
비히클 12H
접합체 8a-1 12H
접합체 8c-1 12H
비히클 72H
접합체 8a-1 72H
접합체 8c-1 72H

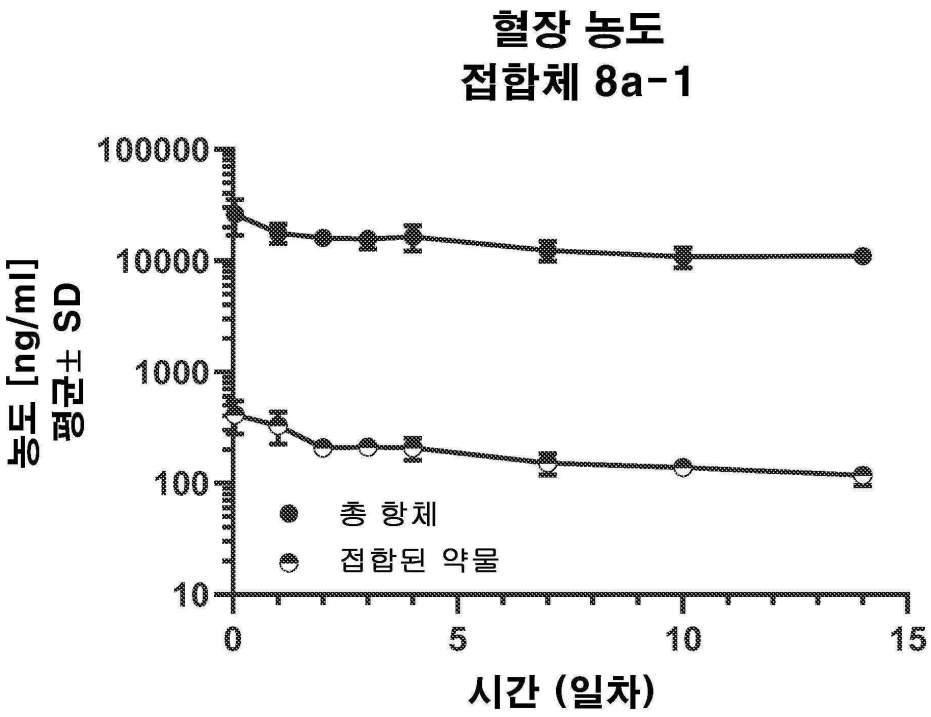
도면8c


IL-6
mRNA 발현
(GAPDH에 대하여 정규화됨)
0
2
4
6
8
비히클 12H
접합체 8a-1 12H
접합체 8c-1 12H
비히클 72H
접합체 8a-1 72H
접합체 8c-1 72H

도면9

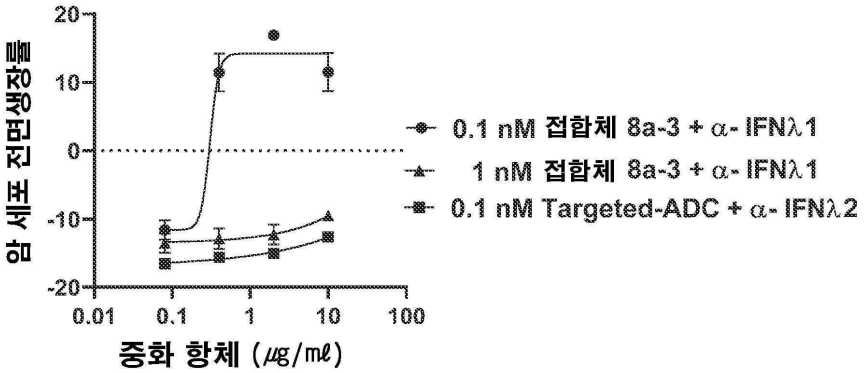


도면10

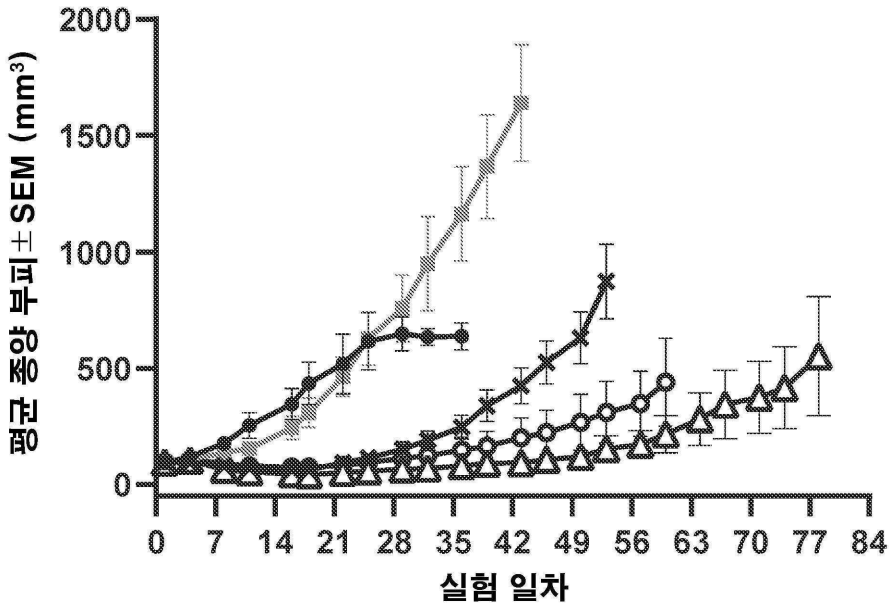


도면11

암 세포 및 PBMC 공생배양물에서 IFN λ1(IL29) 또는 IFN λ2(IL28A) 중화 항체의 효과

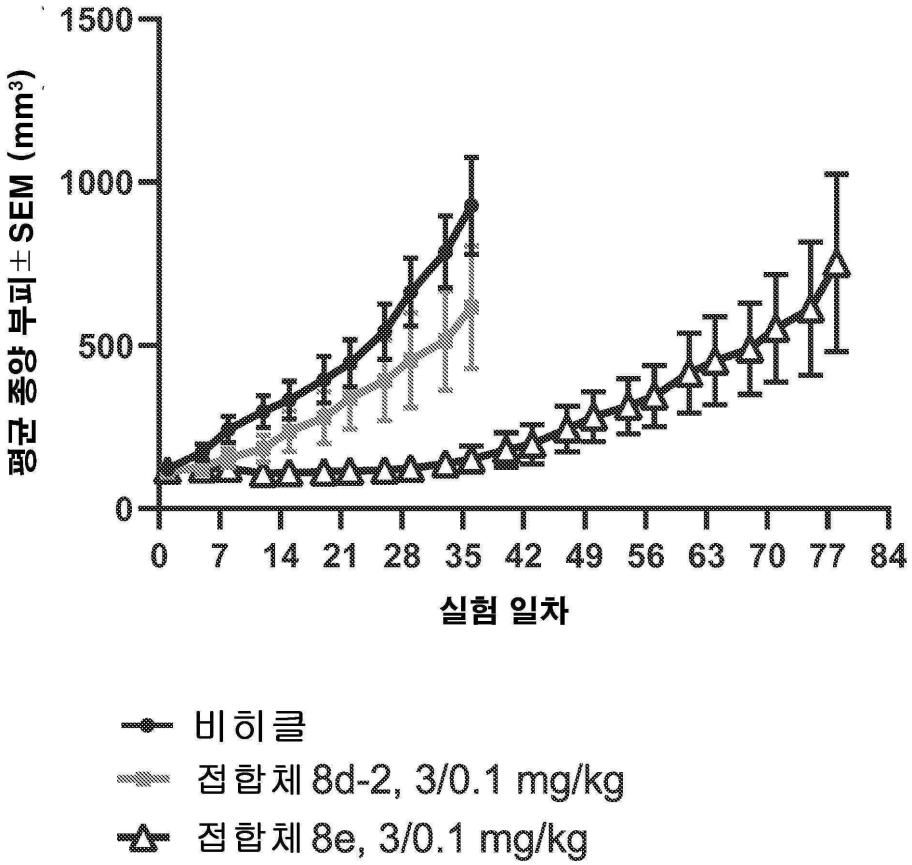


도면12

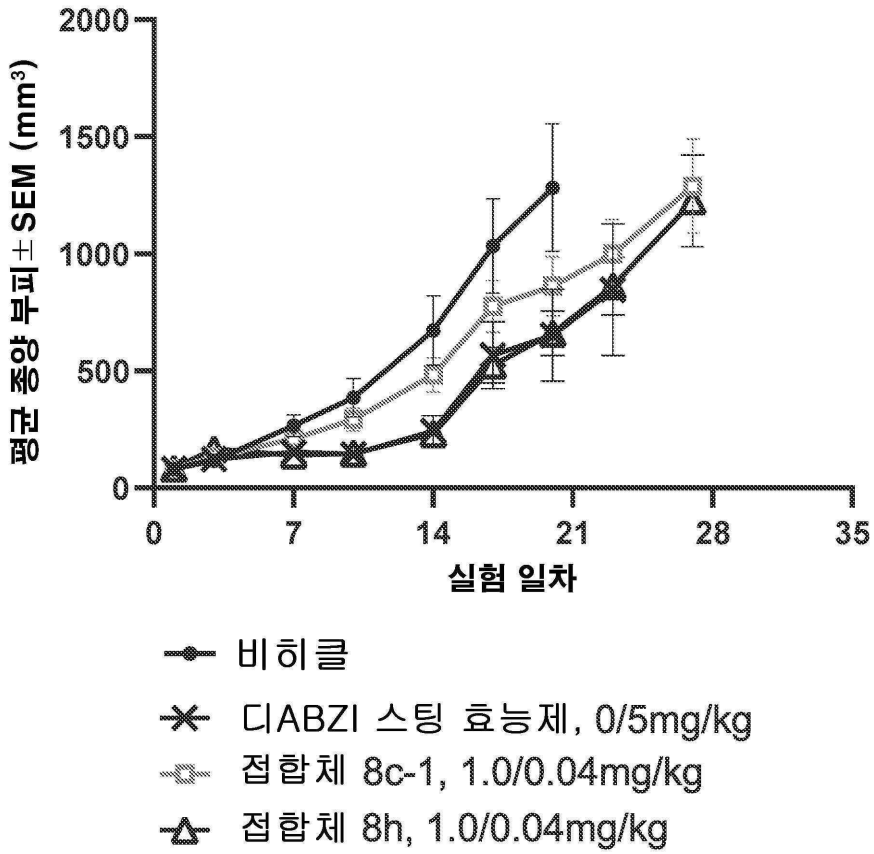


비히클
디ABZI 스팅 효능제, 0/5 ㎎/㎏
접합체 8c-1, 3/0.12 ㎎/㎏
접합체 8b-1, 3/0.09 ㎎/㎏
접합체 8f, 3/0.12 ㎎/㎏

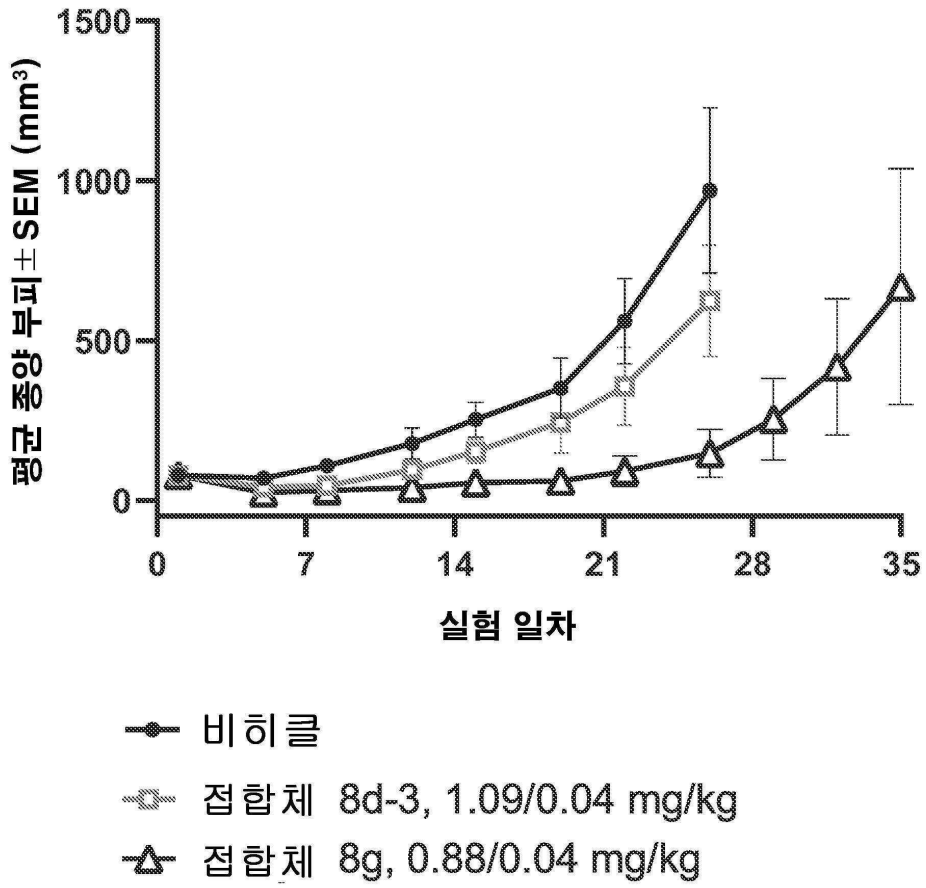
도면13


1500
1000
500
0
평균 종양 부피 ± SEM (mm³)
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84
실험 일차
비히클
접합체 8d-2, 3/0.1 mg/kg
접합체 8e, 3/0.1 mg/kg

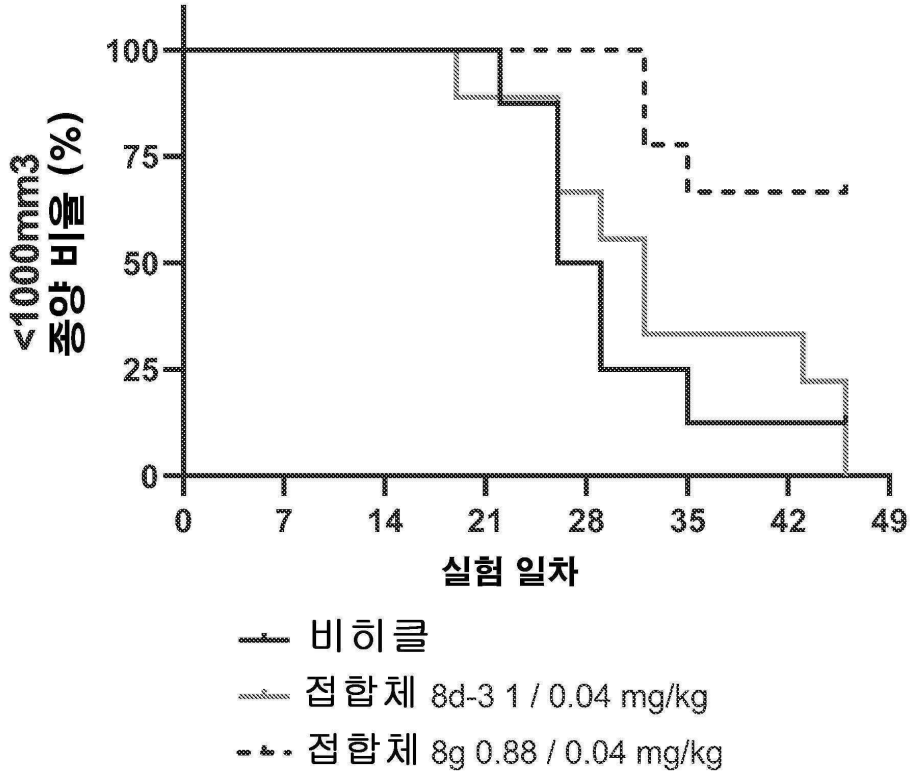
도면14


2000
1500
1000
500
0
평균 종양 부피 ± SEM (mm³)
0
7
14
21
28
35
실험 일차
비히클
디ABZI 스팅 효능제, 0/5mg/kg
접합체 8c-1, 1.0/0.04mg/kg
접합체 8h, 1.0/0.04mg/kg

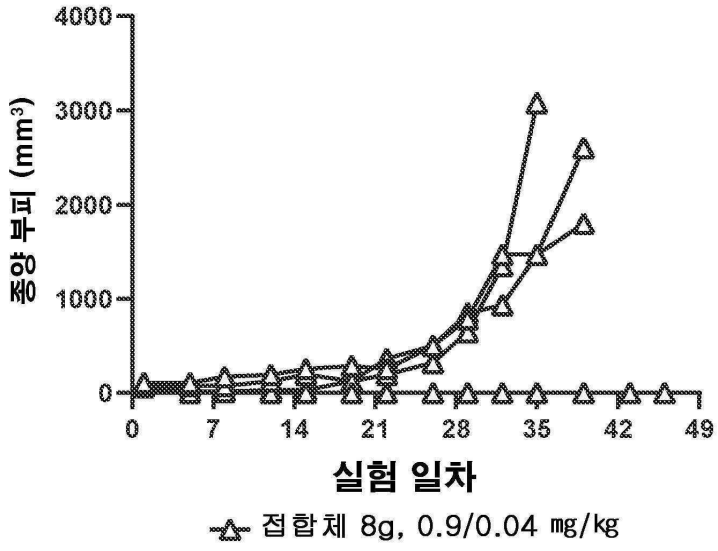
도면15a


1500
1000
500
0
평균 종양 부피 ± SEM (mm³)
0
7
14
21
28
35
실험 일차
비히클
접합체 8d-3, 1.09/0.04 mg/kg
접합체 8g, 0.88/0.04 mg/kg

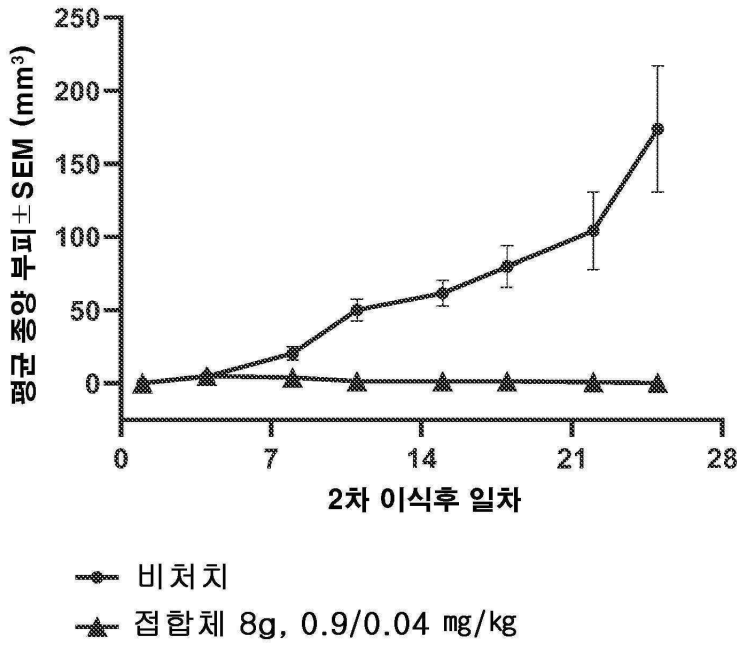
도면15b


100
75
50
25
0
<1000mm3 종양 비율 (%)
0
7
14
21
28
35
42
49
실험 일차
비히클
접합체 8d-3 1 / 0.04 mg/kg
접합체 8g 0.88 / 0.04 mg/kg

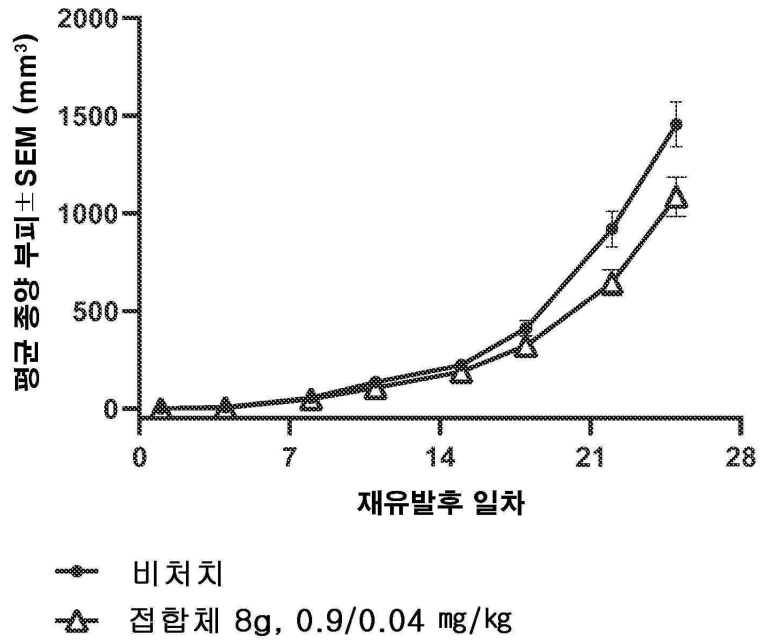
도면16a


4000
3000
2000
1000
0
종양 부피 (mm3)
0
7
14
21
28
35
42
49
실험 일차
접합체 8g, 0.9/0.04 mg/kg

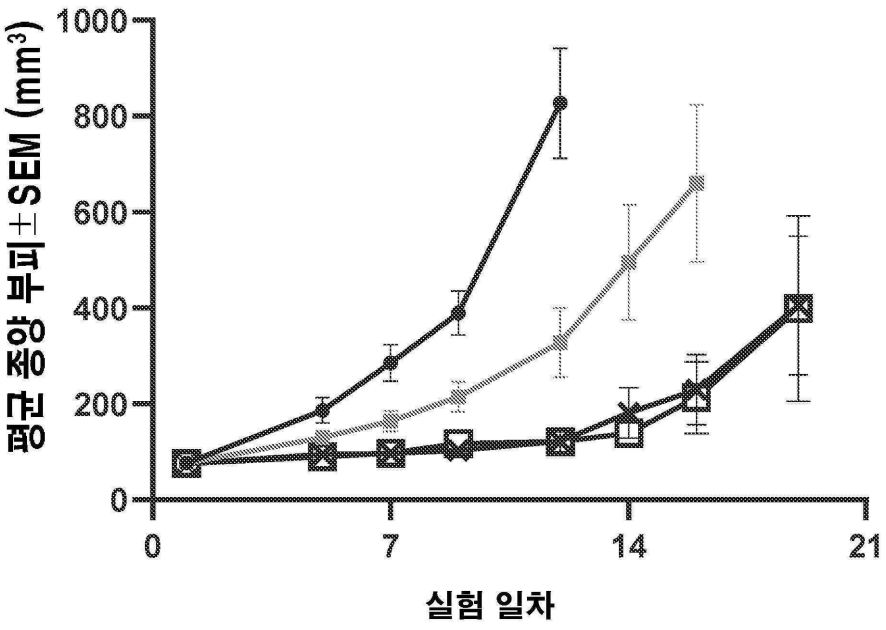
도면16b


250
200
150
100
50
0
평균 종양 부피±SEM (mm3)
0
7
14
21
28
2차 이식후 일차
비처치
접합체 8g, 0.9/0.04 mg/kg

도면16c


2000
1500
1000
500
0
평균 종양 부피±SEM (mm3)
0
7
14
21
28
재유발후 일차
비처치
접합체 8g, 0.9/0.04 mg/kg

도면17



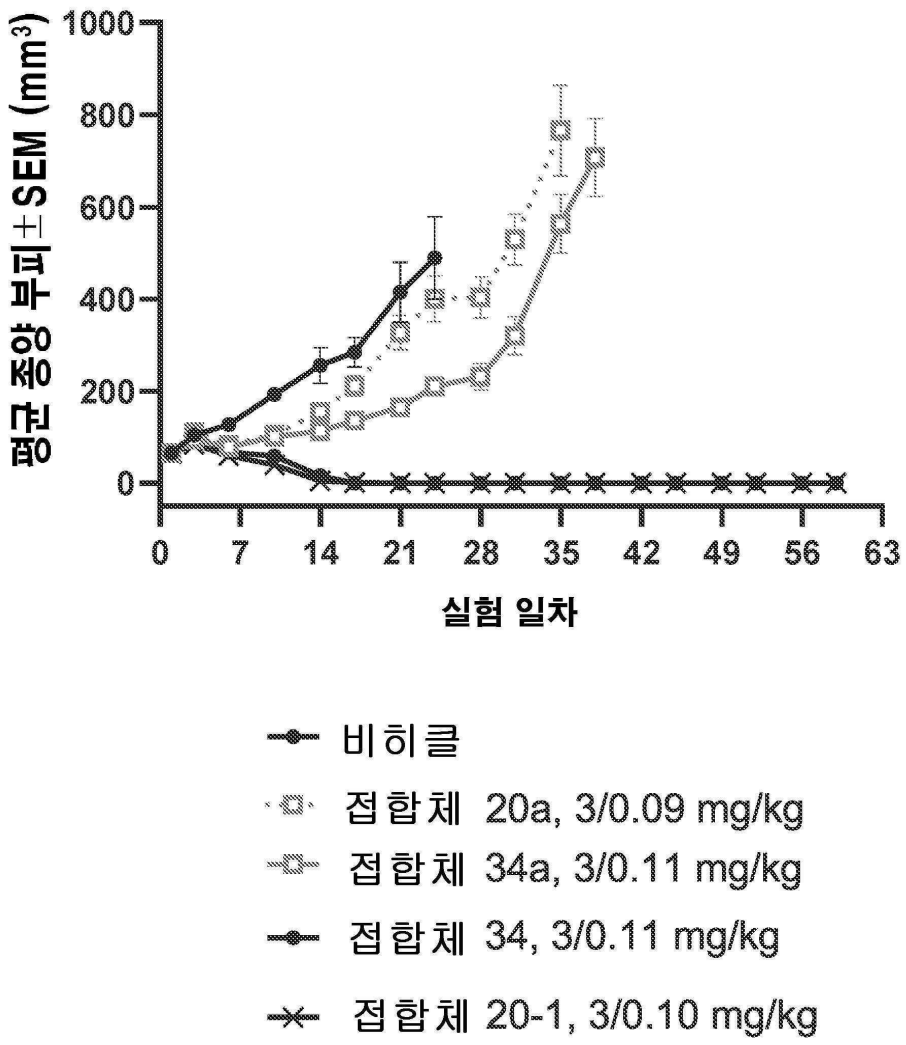
비히클

접합체 8d-3, 5.5/0.18 mg/kg

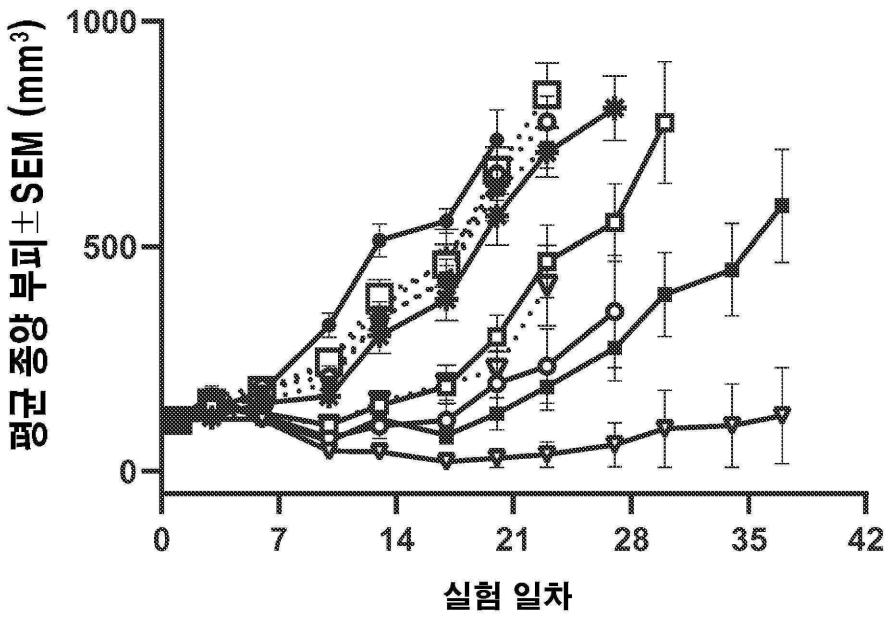
접합체 8i, 3.2/0.18 mg/kg

디ABZI 스팅 효능제 0/5 mg/kg

도면18

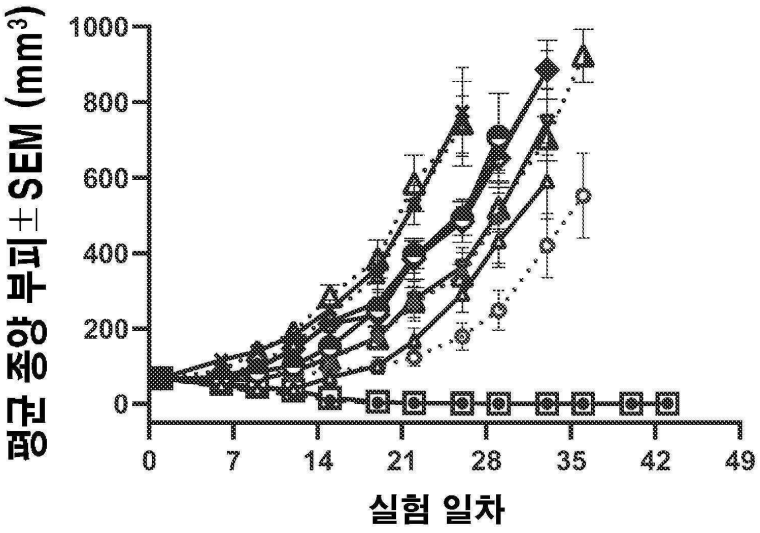

종양 부피 ± SEM (mm³)
1000
800
600
400
200
0
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
실험 일차
비히클
접합체 20a, 3/0.09 mg/kg
접합체 34a, 3/0.11 mg/kg
접합체 34, 3/0.11 mg/kg
접합체 20-1, 3/0.10 mg/kg

도면19



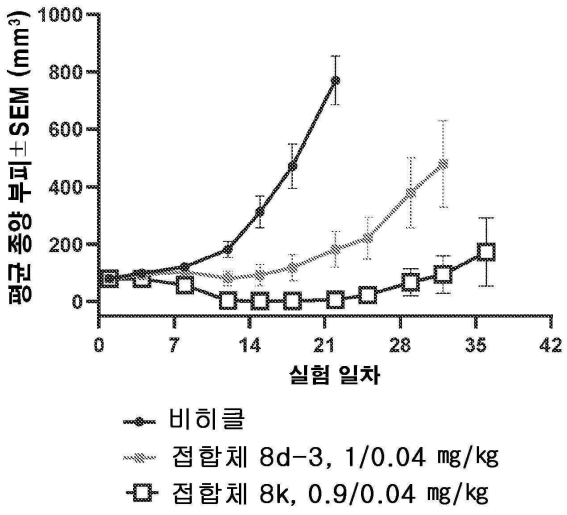
비히클
접합체 28, 0.3/0.01mg/kg
접합체 29, 0.2/0.01mg/kg
접합체 8-2, 0.3/0.01 mg/kg
접합체 25, 0.3/0.01 mg/kg
접합체 45, 0.3/0.01 mg/kg
접합체 45,1 /0.04 mg/kg
접합체 25,1/0.04 mg/kg
접합체 8-2, 1/0.04 mg/kg
접합체 29, 0.8/0.02 mg/kg
접합체 28, 1.0/0.03 mg/kg

도면20



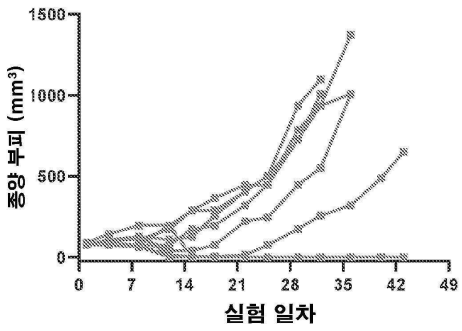
비히클
디ABZI 스팅 효능제, 1.5 ㎎/㎏ q3dx3
화합물 30, 1.5 ㎎/㎏ q3dx3
디ABZI 스팅 효능제, 0.128 ㎎/㎏
화합물 30, 0.128 ㎎/㎏
접합체 32b-2, 3.42/0.128 ㎎/㎏
XMT-1519, 3.00 ㎎/㎏
접합체 32-5, 0.100/0.004 ㎎/㎏
접합체 32-5, 0.300/0.013 ㎎/㎏
접합체 32-5, 1.00/0.042 ㎎/㎏
접합체 32-5, 3.00/0.128 ㎎/㎏
접합체 32e, 1.00/0.039 ㎎/㎏
접합체 32e, 3.00/0.117 ㎎/㎏

도면21

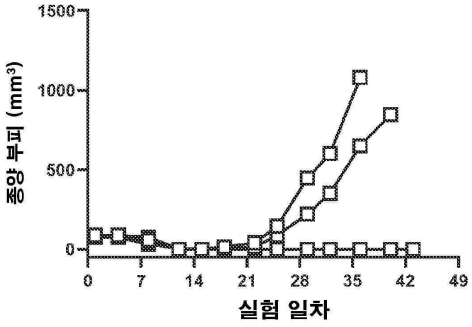


도 21a

개별 플롯

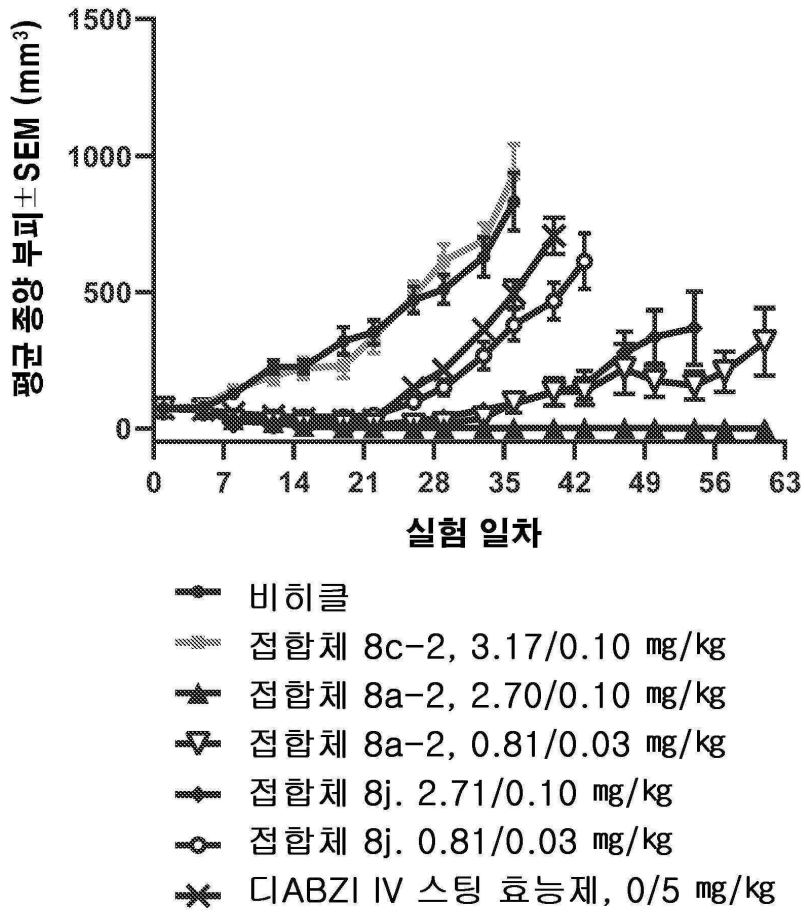


도 21b

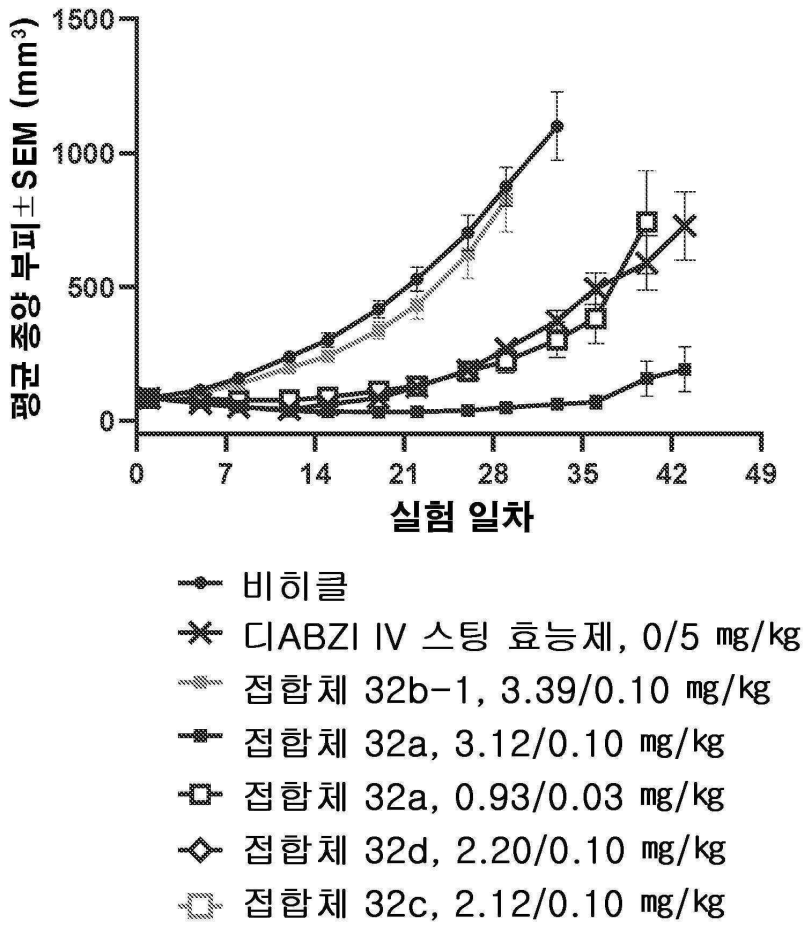


도 21c

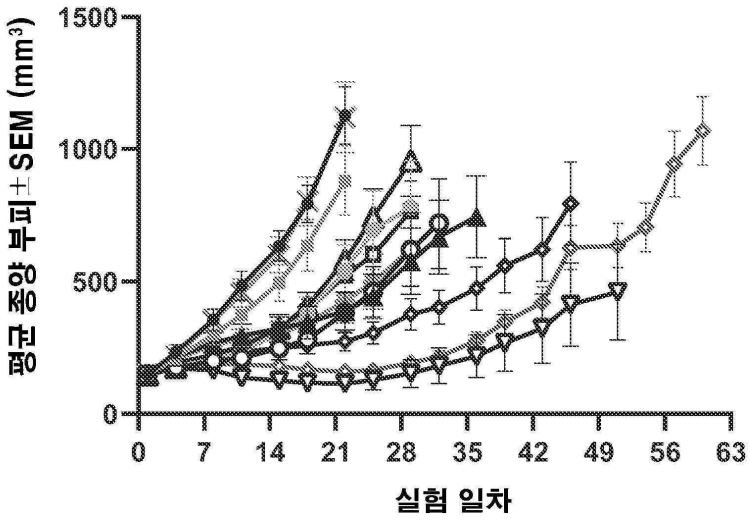
도면22


평균 종양 부피 ± SEM (mm³)
1500
1000
500
0
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
실험 일차
비히클
접합체 8c-2, 3.17/0.10 mg/kg
접합체 8a-2, 2.70/0.10 mg/kg
접합체 8a-2, 0.81/0.03 mg/kg
접합체 8j. 2.71/0.10 mg/kg
접합체 8j. 0.81/0.03 mg/kg
디ABZI IV 스팅 효능제, 0/5 mg/kg

도면23

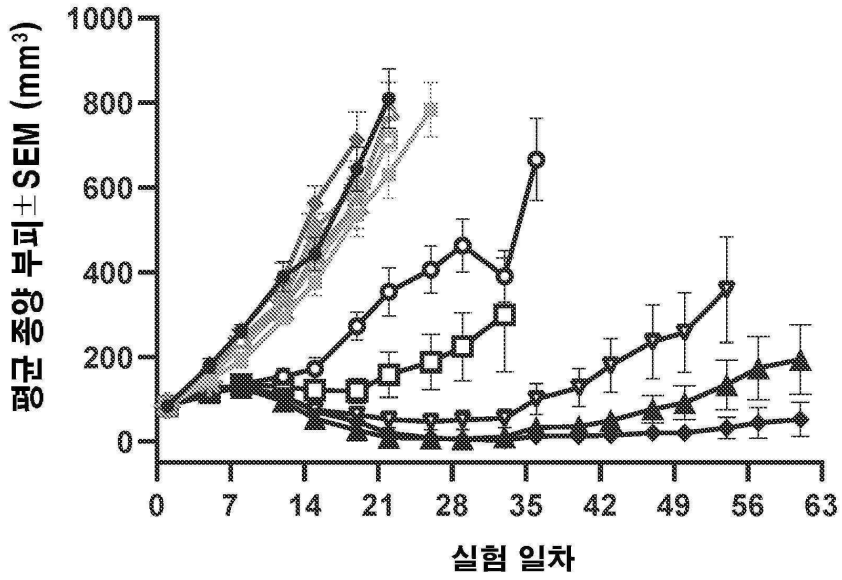

평균 종양 부피 ± SEM (mm³)
1500
1000
500
0
0
7
14
21
28
35
42
49
실험 일차
비히클
디ABZI IV 스팅 효능제, 0/5 mg/kg
접합체 32b-1, 3.39/0.10 mg/kg
접합체 32a, 3.12/0.10 mg/kg
접합체 32a, 0.93/0.03 mg/kg
접합체 32d, 2.20/0.10 mg/kg
접합체 32c, 2.12/0.10 mg/kg

도면24



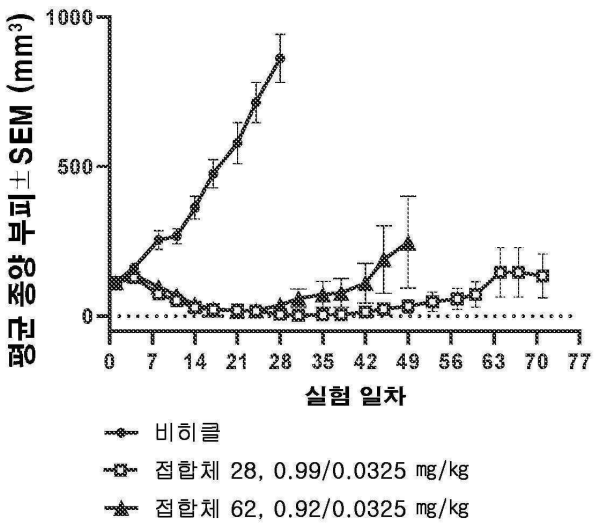
비히클
리툭시맙 AF-HPA ADC, 0.75/0.023 mg/kg + 접합체 8c-2, 4.0/0.126 mg/kg
XMT-1535 AF-HPA ADC, 0.75/0.024 mg/kg
접합체 8b-2, 4.0/0.142 mg/kg
접합체 8b-2, 2.0/0.071 mg/kg
XMT-1535 AF-HPA ADC, 0.75/0.024 mg/kg + 접합체 8c-2, 4.0/0.126 mg/kg
리툭시맙 AF-HPA ADC, 0.75/0.023 mg/kg + 접합체 8b-2, 4.0/0.142 mg/kg
리툭시맙 AF-HPA ADC, 0.75/0.023 mg/kg +접합체 8b-2, 2.0/0.071 mg/kg
XMT-1535 AF-HPA ADC, 0.75/0.024 mg/kg + 접합체 8b-2, 4.0/0.142 mg/kg
XMT-1535 AF-HPA ADC, 0.75/0.024 mg/kg + 접합체 8b-2, 2.0/0.071 mg/kg
XMT-1535 AF-HPA ADC, 0.75/0.024 mg/kg + XMT-1535, 4.0/0 mg/kg
XMT-1535, 4.75/0 mg/kg

도면25

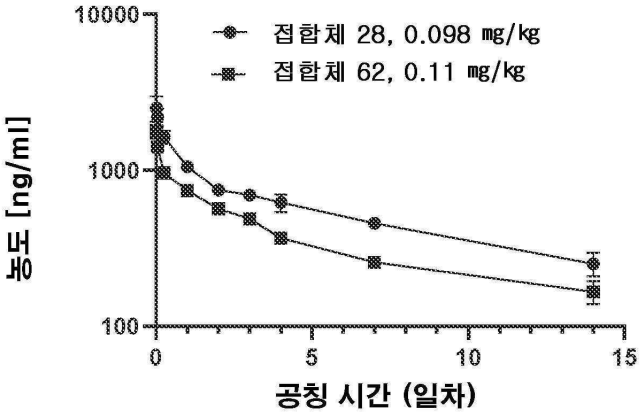


비히클
접합체 32b, 0.85/0.03 mg/kg
접합체 89, 0.99/0.030 mg/kg
접합체 85a, 2.59/0.10 mg/kg
접합체 93, 2.85/0.10 mg/kg
접합체 101, 2.70/0.10 mg/kg
접합체 32-2, 0.90/0.03 mg/kg
접합체 88, 0.87/0.03 mg/kg
접합체 85, 2.87/0.10 mg/kg
접합체 92, 2.36/0.10 mg/kg
접합체 100, 2.23/0.10 mg/kg

도면26



도면27



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Mersana Therapeutics, Inc.

<120> ANTIBODY DRUG CONJUGATES COMPRISING STING AGONISTS

<130> MRSN-033/001WO

<150> US 63/004,108

<151> 2020-04-02

<150> US 63/040,755

<151> 2020-06-18

<150> US 63/111,820

<151> 2020-11-10

<160> 31

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 449

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Arg Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Glu Thr Ala Arg Ala Thr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 2

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Val Lys Val Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 3

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Arg Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Thr Ala Arg Ala Thr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly

115 120

<210> 4

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Val Lys Val Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

100 105

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Asn Ile His

1 5 10

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

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

1 5 10 15

Gly

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Gly Glu Thr Ala Arg Ala Thr Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Tyr Thr Ser Ser Leu Tyr Ser

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 11

<211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 12
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 12
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105
<210> 13
<211> 357

<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 13
caagttcagc tggttcagtc tggcgccgag gttgtgaaac ctggcgcctc tgtgaagatg 60
agctgcaagg ccagcggcta caccttcacc ggctacaaca tccactgggt caagcaggcc 120

cctggacagg gactcgaatg gatcggagcc atctatcccg gcaacggcga caccagctac 180

aagcagaagt tccggggcag agccacactg accgccgata caagcaccag caccgtgtac 240

atggaactga gcagcctgag aagcgaggac agcgccgtgt actattgcgc cagaggcgaa 300

acagccagag ccacctttgc ctattggggc cagggaaccc tggtcaccgt tagctct 357

<210

> 14

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

gatattcaga tgacacagag ccccagcagc ctgtctgcct ctgtgggaga cagagtgacc 60

atcacctgta gcgccagcca ggatatcggc aacttcctga actggtatca gcagaaaccc 120

ggcaagaccg tgaaggtgct gatctactac acctccagcc tgtacagcgg cgtgcccagc 180

agattttctg gcagcggctc tggcaccgac tacaccctga ccatatctag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacagcaagc tgcccctgac atttggccag 300

ggcaccaagc tggaactgaa g 321

<210> 15

<211> 690

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Ala Pro Trp Pro Glu Leu Gly Asp Ala Gln Pro Asn Pro Asp Lys

1 5 10 15

Tyr Leu Glu Gly Ala Ala Gly Gln Gln Pro Thr Ala Pro Asp Lys Ser

20 25 30

Lys Glu Thr Asn Lys Thr Asp Asn Thr Glu Ala Pro Val Thr Lys Ile

35 40 45

Glu Leu Leu Pro Ser Tyr Ser Thr Ala Thr Leu Ile Asp Glu Pro Thr

50 55 60

Glu Val Asp Asp Pro Trp Asn Leu Pro Thr Leu Gln Asp Ser Gly Ile

65 70 75 80

Lys Trp Ser Glu Arg Asp Thr Lys Gly Lys Ile Leu Cys Phe Phe Gln

85 90 95

Gly Ile Gly Arg Leu Ile Leu Leu Leu Gly Phe Leu Tyr Phe Phe Val
100 105 110
Cys Ser Leu Asp Ile Leu Ser Ser Ala Phe Gln Leu Val Gly Gly Lys

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

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

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

305 310 315 320
Asn Cys Thr Ser Pro Ser Leu Cys Trp Thr Asp Gly Ile Gln Asn Trp
325 330 335
Thr Met Lys Asn Val Thr Tyr Lys Glu Asn Ile Ala Lys Cys Gln His

340 345 350

Ile Phe Val Asn Phe His Leu Pro Asp Leu Ala Val Gly Thr Ile Leu

355 360 365

Leu Ile Leu Ser Leu Leu Val Leu Cys Gly Cys Leu Ile Met Ile Val

370 375 380

Lys Ile Leu Gly Ser Val Leu Lys Gly Gln Val Ala Thr Val Ile Lys

385 390 395 400

Lys Thr Ile Asn Thr Asp Phe Pro Phe Pro Phe Ala Trp Leu Thr Gly

405 410 415

Tyr Leu Ala Ile Leu Val Gly Ala Gly Met Thr Phe Ile Val Gln Ser

420 425 430

Ser Ser Val Phe Thr Ser Ala Leu Thr Pro Leu Ile Gly Ile Gly Val

435 440 445

Ile Thr Ile Glu Arg Ala Tyr Pro Leu Thr Leu Gly Ser Asn Ile Gly

450 455 460

Thr Thr Thr Thr Ala Ile Leu Ala Ala Leu Ala Ser Pro Gly Asn Ala

465 470 475 480

Leu Arg Ser Ser Leu Gln Ile Ala Leu Cys His Phe Phe Phe Asn Ile

485 490 495

Ser Gly Ile Leu Leu Trp Tyr Pro Ile Pro Phe Thr Arg Leu Pro Ile

500 505 510

Arg Met Ala Lys Gly Leu Gly Asn Ile Ser Ala Lys Tyr Arg Trp Phe

515 520 525

Ala Val Phe Tyr Leu Ile Ile Phe Phe Phe Leu Ile Pro Leu Thr Val

530 535 540

Phe Gly Leu Ser Leu Ala Gly Trp Arg Val Leu Val Gly Val Gly Val

545 550 555 560

Pro Val Val Phe Ile Ile Ile Leu Val Leu Cys Leu Arg Leu Leu Gln

565 570 575

Ser Arg Cys Pro Arg Val Leu Pro Lys Lys Leu Gln Asn Trp Asn Phe

580 585 590

Leu Pro Leu Trp Met Arg Ser Leu Lys Pro Trp Asp Ala Val Val Ser
595 600 605

Lys Phe Thr Gly Cys Phe Gln Met Arg Cys Cys Cys Cys Cys Arg Val
610 615 620

Cys Cys Arg Ala Cys Cys Leu Leu Cys Asp Cys Pro Lys Cys Cys Arg

625 630 635 640

Cys Ser Lys Cys Cys Glu Asp Leu Glu Glu Ala Gln Glu Gly Gln Asp
645 650 655

Val Pro Val Lys Ala Pro Glu Thr Phe Asp Asn Ile Thr Ile Ser Arg
660 665 670

Glu Ala Gln Gly Glu Val Pro Ala Ser Asp Ser Lys Thr Glu Cys Thr
675 680 685

Ala Leu
690

<210> 16

<211> 1255

<212
> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

Pro Pro Gly Ala Ala Ser Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys
20 25 30

Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His
35 40 45

Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr
50 55 60

Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val
65 70 75 80

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

Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr

100 105 110

Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro

115 120 125

Val Thr Gly Ala Ser Pro Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser

130 135 140

Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln

145 150 155 160

Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn

165 170 175

Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys

180 185 190

His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser

195 200 205

Ser Glu Asp Cys Gln Ser Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys

210 215 220

Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys

225 230 235 240

Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu

245 250 255

His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val

260 265 270

Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg

275 280 285

Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu

290 295 300

Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln

305 310 315 320

Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys

325 330 335

Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu

340 345 350

Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys
355 360 365
Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp
370 375 380

Pro Ala Ser Asn Thr Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe
385 390 395 400
Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro
405 410 415
Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg
420 425 430
Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu
435 440 445

Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly
450 455 460
Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val
465 470 475 480
Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr
485 490 495
Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His
500 505 510

Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys
515 520 525
Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys
530 535 540
Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys
545 550 555 560
Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys
565 570 575

Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp
580 585 590
Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu

595 600 605

Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln

610 615 620

Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys

625 630 635 640

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

645 650 655

Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly

660 665 670

Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg

675 680 685

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

690 695 700

Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu

705 710 715 720

Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys

725 730 735

Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile

740 745 750

Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu

755 760 765

Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg

770 775 780

Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu

785 790 795 800

Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg

805 810 815

Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly

820 825 830

Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala

835 840 845

Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe
850 855 860
Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp
865 870 875 880
Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg
885 890 895

Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val
900 905 910
Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala
915 920 925
Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro
930 935 940
Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met
945 950 955 960

Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe
965 970 975
Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu
980 985 990
Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu
995 1000 1005
Leu Glu Asp Asp Asp Met Gly Asp Leu Val Asp Ala Glu Glu Tyr
1010 1015 1020

Leu Val Pro Gln Gln Gly Phe Phe Cys Pro Asp Pro Ala Pro Gly
1025 1030 1035
Ala Gly Gly Met Val His His Arg His Arg Ser Ser Ser Thr Arg
1040 1045 1050
Ser Gly Gly Gly Asp Leu Thr Leu Gly Leu Glu Pro Ser Glu Glu
1055 1060 1065
Glu Ala Pro Arg Ser Pro Leu Ala Pro Ser Glu Gly Ala Gly Ser
1070 1075 1080

Asp Val Phe Asp Gly Asp Leu Gly Met Gly Ala Ala Lys Gly Leu

1085 1090 1095

Gln Ser Leu Pro Thr His Asp Pro Ser Pro Leu Gln Arg Tyr Ser

1100 1105 1110

Glu Asp Pro Thr Val Pro Leu Pro Ser Glu Thr Asp Gly Tyr Val

1115 1120 1125

Ala Pro Leu Thr Cys Ser Pro Gln Pro Glu Tyr Val Asn Gln Pro

1130 1135 1140

Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro Ser Pro Arg Glu Gly Pro Leu Pro

1145 1150 1155

Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala Thr Leu Glu Arg Pro Lys Thr Leu

1160 1165 1170

Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val Val Lys Asp Val Phe Ala Phe Gly

1175 1180 1185

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

1190 1195 1200

Ala Pro Gln Pro His Pro Pro Pro Ala Phe Ser Pro Ala Phe Asp

1205 1210 1215

Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala Pro

1220 1225 1230

Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr Pro Thr Ala Glu Asn Pro Glu Tyr

1235 1240 1245

Leu Gly Leu Asp Val Pro Val

1250 1255

<210> 17

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

<210> 18
<211> 329
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 18

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

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

115 120 125

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

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

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 19
<211> 446
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly His Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn

1 5

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

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

1 5 10 15

Gly

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Gly Gly His Gly Tyr Phe Asp Leu

1 5

<210> 23

<211> 351

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 23

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggGtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagta gtagtagtac catatactac 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggcggtgt actactgcgc cagaggtgga 300

cacggatatt tcgacctatg ggggagaggt accttggtca ccgtctcctc a 351

<210> 24

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

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

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

<210> 25

<

211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

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

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

100 105

<210> 26

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His His Ser Pro

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 27

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Gln Gln Tyr His His Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 30

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 30

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtaccacc acagtcctct cacttttggc 300

ggagggacca aggttgagat caaa 324

<210> 31

<211> 630

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys Leu Arg Leu Pro Ala Ser
1 5 10 15

Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His Leu Tyr Gln Gly Cys Gln
20 25 30

Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr Leu Pro Thr Asn Ala Ser
35 40 45

Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Gln Gly Tyr Val Leu Ile
50 55 60

Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu Gln Arg Leu Arg Ile Val
65 70 75 80

Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr Ala Leu Ala Val Leu Asp
85 90 95

Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro Val Thr Gly Ala Ser Pro
100 105 110

Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser Leu Thr Glu Ile Leu Lys
115 120 125

Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln Leu Cys Tyr Gln Asp Thr
130 135 140

Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn Asn Gln Leu Ala Leu Thr
145 150 155 160

Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys His Pro Cys Ser Pro Met
165 170 175

Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser Ser Glu Asp Cys Gln Ser
180 185 190

Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys Ala Arg Cys Lys Gly Pro

195 200 205

Leu Pro Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly

210 215 220

Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu His Phe Asn His Ser Gly

225 230 235 240

Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val Thr Tyr Asn Thr Asp Thr

245 250 255

Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ser

260 265 270

Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu Ser Thr Asp Val Gly Ser

275 280 285

Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln Glu Val Thr Ala Glu Asp

290 295 300

Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys Pro Cys Ala Arg Val Cys

305 310 315 320

Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu Val Arg Ala Val Thr Ser

325 330 335

Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys Lys Ile Phe Gly Ser Leu

340 345 350

Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp Pro Ala Ser Asn Thr Ala

355 360 365

Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe Glu Thr Leu Glu Glu Ile

370 375 380

Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro Asp Ser Leu Pro Asp Leu

385 390 395 400

Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg Gly Arg Ile Leu His Asn

405 410 415

Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu Gly Ile Ser Trp Leu Gly

420 425 430

Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly Leu Ala Leu Ile His His

435 440 445

Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val Pro Trp Asp Gln Leu Phe
450 455 460
Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr Ala Asn Arg Pro Glu Asp
465 470 475 480
Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His Gln Leu Cys Ala Arg Gly
485 490 495
His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys Val Asn Cys Ser Gln Phe

500 505 510
Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys Arg Val Leu Gln Gly Leu
515 520 525
Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys Leu Pro Cys His Pro Glu
530 535 540
Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys Phe Gly Pro Glu Ala Asp
545 550 555 560
Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp Pro Pro Phe Cys Val Ala

565 570 575
Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu Ser Tyr Met Pro Ile Trp
580 585 590
Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln Pro Cys Pro Ile Asn Cys
595 600 605
Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys Gly Cys Pro Ala Glu Gln
610 615 620
Arg Ala Ser Pro Leu Thr
625 630