



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년03월19일

(11) 등록번호 10-2783230

(24) 등록일자 2025년03월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 47/68 (2017.01) A61K 31/5365 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01) C07D 405/12 (2006.01)

C07D 471/14 (2006.01) C07D 487/04 (2006.01)

C07D 498/18 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 47/6817 (2017.08)

A61K 31/5365 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-7016230

(22) 출원일자(국제) 2016년11월08일

심사청구일자 2021년11월02일

(85) 번역문제출일자 2018년06월08일

(65) 공개번호 10-2018-0102065

(43) 공개일자 2018년09월14일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/060996

(87) 국제공개번호 WO 2017/083306

국제공개일자 2017년05월18일

(30) 우선권주장

62/252,985 2015년11월09일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020150083919 A\*

US20150157736 A1\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

알.피.쉐러 테크놀로지스 엘엘씨

미국 네바다 89703 카슨 시티 노스 커리 스트리트 112

(72) 발명자

라부카 데이빗

미국 캘리포니아 94708 켄싱턴 스탠포드 아베뉴 202

맥팔랜드 제시 엠.

미국 캘리포니아 94703 버클리 63 스트리트 1832  
(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 23 항

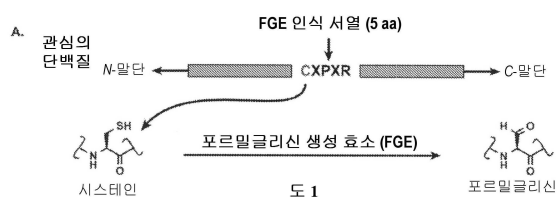
심사관 : 최승희

(54) 발명의 명칭 항-CD22 항체-메이탄신 콘쥬게이트 및 그것의 사용 방법

## (57) 요약

본 개시는 항-CD22 항체-메이탄신 콘쥬게이트 구조를 제공한다. 개시는 또한 그런 콘쥬게이트의 제조 방법, 뿐만 아니라 그것의 사용 방법을 다 포함한다.

## 대표도



(52) CPC특허분류

*A61K 47/6849* (2017.08)

*A61P 35/00* (2018.01)

*C07D 405/12* (2013.01)

*C07D 471/14* (2013.01)

*C07D 487/04* (2022.08)

*C07D 498/18* (2013.01)

*C07K 16/2803* (2013.01)

(72) 발명자

드레이크 페넬로페 엠.

미국 캘리포니아 94546 카스트로 밸리 스왈로우 코  
트 3663

바필드 로빈 엠.

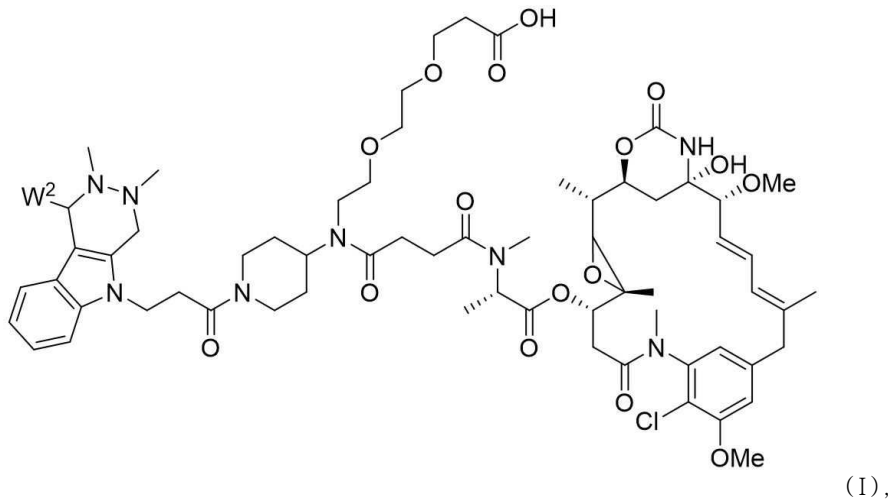
미국 캘리포니아 94608 에머리빌 홀리스 스트리트  
5703

## 명세서

## 청구범위

### 청구항 1

식(I)의 측쇄를 가진 FGly'로 변형된 적어도 하나의 아미노산 잔기를 포함하는 콘쥬게이트:



식에서,

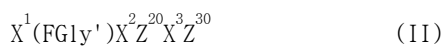
$W^2$ 는 항-CD22 항체이다.

### 청구항 2

제1 항에 있어서, 항-CD22 항체는 SEQ ID NOs: 21 내지 24 중 어느 하나에 제시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1 내지 759 이내, 아미노산 1 내지 751 이내, 또는 아미노산 1 내지 670 이내의 에피토프에 결합하는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

### 청구항 3

제1 항에 있어서, 항-CD22 항체는 식 (II)의 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트:



식에서,

FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;

$Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며;

$Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 또는 지방족 아미노산이고;

$X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있으며, 존재할 때 임의의 아미노산일 수 있고, 단 서열이 콘쥬게이트의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 이 존재하며; 및

$X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 임의의 아미노산이다.

### 청구항 4

제3 항에 있어서, 서열은 L(FGly')TPSR인 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

### 청구항 5

제3 항에 있어서,

$Z^{30}$ 은 R, K, H, A, G, L, V, I, 및 P로부터 선택되고;

$X^1$ 은 L, M, S, 및 V로부터 선택되며; 및

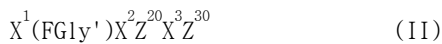
$X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 S, T, A, V, G, 및 C로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

### 청구항 6

제1 항에 있어서, FGly'로 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 중쇄 불변 영역의 C-말단에 위치하는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

### 청구항 7

제6 항에 있어서, 중쇄 불변 영역은 식 (II)의 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트:



식에서,

FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;

$Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며;

$Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 또는 지방족 아미노산이고;

$X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있으며, 존재할 때 임의의 아미노산일 수 있고, 단 서열이 콘쥬게이트의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 이 존재하며; 및

$X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 임의의 아미노산이고; 그리고

서열은 아미노산 서열 SLSLSPG에 대해 C-말단이다.

### 청구항 8

제6 항에 있어서, 중쇄 불변 영역은 서열 SPGSL(FGly')TPSRGS를 포함하는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

### 청구항 9

제6 항에 있어서,

$Z^{30}$ 은 R, K, H, A, G, L, V, I, 및 P로부터 선택되고;

$X^1$ 은 L, M, S, 및 V로부터 선택되며; 및

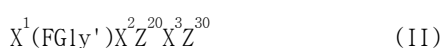
$X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 S, T, A, V, G, 및 C로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

### 청구항 10

제1 항에 있어서, 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 경쇄 불변 영역에 위치하는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

### 청구항 11

제10 항에 있어서, 경쇄 불변 영역은 식 (II)의 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트:





식에서,

FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;

$Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며;

$Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 또는 지방족 아미노산이고;

$X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있으며, 존재할 때 임의의 아미노산일 수 있고, 단 서열이 콘주게이트의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 이 존재하며; 및

$X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 임의의 아미노산이고, 그리고

서열은 서열 KVDNAL에 대해 C-말단이거나, 서열 QSGNSQ에 대해 N-말단이거나, 또는 서열 KVDNAL에 대해 C-말단이고 서열 QSGNSQ에 대해 N-말단이다.

#### 청구항 12

제11 항에 있어서, 경쇄 불변 영역은 서열 KVDNAL(FGly')TPSRQSGNSQ를 포함하는 것을 특징으로 하는 콘주게이트.

#### 청구항 13

제11 항에 있어서,

$Z^{30}$ 은 R, K, H, A, G, L, V, I, 및 P로부터 선택되고;

$X^1$ 은 L, M, S, 및 V로부터 선택되며; 및

$X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 S, T, A, V, G, 및 C로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 콘주게이트.

#### 청구항 14

제1 항에 있어서, FGly'로 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 중쇄 CH1 영역에 위치하는 것을 특징으로 하는 콘주게이트.

#### 청구항 15

제14 항에 있어서, 중쇄 CH1 영역은 식 (II)의 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 콘주게이트:



식에서,

FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;

$Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며;

$Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 또는 지방족 아미노산이고;

$X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있으며, 존재할 때 임의의 아미노산일 수 있고, 단 서열이 콘주게이트의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 이 존재하며; 및

$X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 임의의 아미노산이고,

서열은 아미노산 서열 SWNSGA에 대해 C-말단이거나, 아미노산 서열 GVHTFP에 대해 N-말단이거나, 또는 아미노산 서열 SWNSGA에 대해 C-말단이고 아미노산 서열 GVHTFP에 대해 N-말단이다.

#### 청구항 16

제15 항에 있어서, 중쇄 CH1 영역은 서열 SWNSGAL(FGly')TPSRGVHTFP를 포함하는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

#### 청구항 17

제15 항에 있어서,

$Z^{30}$ 은 R, K, H, A, G, L, V, I, 및 P로부터 선택되고;

$X^1$ 은 L, M, S, 및 V로부터 선택되며; 및

$X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 S, T, A, V, G, 및 C로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

#### 청구항 18

제1 항에 있어서, FGly'로 변형된 아미노산 잔기는

- a) 항-CD22 항체의 중쇄 CH2 영역에 위치하거나, 또는
- b) 항-CD22 항체의 중쇄 CH3 영역에 위치하는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

#### 청구항 19

암의 치료에 사용하기 위한 제1 항 내지 제18 항 중 어느 한 항의 콘쥬게이트.

#### 청구항 20

암 치료용 제약학적 조성물로서,

제1 항 내지 제18 항 중 어느 한 항의 콘쥬게이트; 및

제약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는, 제약학적 조성물.

#### 청구항 21

제19 항에 있어서, 암은 암종, 육종, 백혈병 및 림프종으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 콘쥬게이트.

#### 청구항 22

제20 항에 있어서, 암은 암종, 육종, 백혈병 및 림프종으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

#### 청구항 23

대상체의 표적 부위에 약물을 전달하는 방법에서 사용하기 위한, 제1 항 내지 제18 항 중 어느 한 항의 콘쥬게이트를 포함하는 조성물로서,

방법은 대상체에게 콘쥬게이트를 투여하는 단계를 포함하고, 투여는 대상체의 표적 부위에서 콘쥬게이트로부터 약물의 치료적 유효량을 방출시키기에 효과적인 것인, 조성물.

#### 청구항 24

삭제

#### 청구항 25

삭제

#### 청구항 26

삭제

## 청구항 27

## 삭제

## 청구항 28

## 삭제

## 청구항 29

## 삭제

## 발명의 설명

## 기 술 분 야

[0001]      관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 본 출원은 2015년 11월 9일에 출원된 미국 가출원 번호 62/252,985의 35 U.S.C. § 119(e)에 따르는 유익을 주장하며, 상기 출원의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003]                    기술분야

[0004] 본 발명은 항-CD22 항체-메이탄신 콘쥬게이트 및 그것의 사용 방법에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0005] 단백질-소분자 치료용 콘쥬게이트의 분야는 대단히 진보되어, 수년 내에 더 많은 약물이 제공될 것이라는 전망과 함께 다수의 임상적으로 유익한 약물이 제공된다. 단백질-콘쥬게이트 치료제는 예를 들어, 더 적은 부작용을 초래하는, 특이성, 기능의 다양성 및 상대적으로 낮은 표적-외 활성으로 인해 여러 장점을 제공할 수 있다. 단백질의 화학적 변형은 이런 장점들을, 그것들을 더 강력하거나, 안정적이거나 또는 다중모드로 만듦으로써 확대시킬 수 있다.

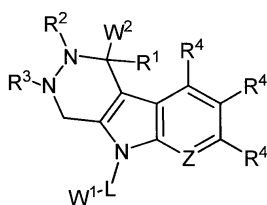
[0006] 단백질에 대한 번역-후 변형을 생성하고 조작하기 위해 다수의 표준 화학적 변환이 보통 사용된다. 당업자가 특정 아미노산의 측쇄를 선택적으로 변형시킬 수 있는 다수의 방법이 있다. 예를 들어, 카르복실산 측쇄 (아스파테이트 및 글루타메이트)는 수용성 카보다이이미드 시약으로의 초기 활성화 및 계속되는 아민과의 반응에 의해 표적화될 수 있다. 유사하게, 리신은 활성화된 에스테르 또는 아이소티오시아네이트의 사용을 통해 표적화될 수 있고, 시스테인 티올은 말레이미드 및  $\alpha$ -할로-카르보닐로 표적화될 수 있다.

[0007] 화학적으로 변경된 단백질 치료제 또는 시약의 생성에 대한 한가지 중요한 장애는 생물학적으로 활성인, 균일한 형태의 단백질의 생성이다. 폴리펩타이드에 대한 약물 또는 검출 가능한 표지의 콘쥬게이션은 제어가 어려울 수 있고, 결과적으로 부착된 약물 분자의 수 및 화학적 콘쥬게이션의 위치가 상이한 콘쥬게이트의 불균일한 혼합물을 초래한다. 일부 경우에, 폴리펩타이드 상에서 화학적 결합의 정확하고 선택적인 형성을 지시하기 위하여 콘쥬게이션 및/또는 폴리펩타이드에 콘쥬게이트된 약물 또는 검출 가능한 표지의 부위를 합성 유기 화학의 도구들을 사용하여 제어하는 것이 바람직할 수 있다.

## 발명의 내용

[0008] 본 개시는 항-CD22 항체-메이탄신 콘쥬게이트 구조를 제공한다. 개시는 또한 그런 콘쥬게이트의 제조 방법, 뿐만 아니라 그것의 사용 방법을 다 포함한다.

[0009] 본 개시의 측면들은 식 (I)의 적어도 하나의 변형된 아미노산 잔기를 포함하는 콘쥬게이트를 포함한다:

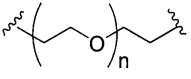


(I),

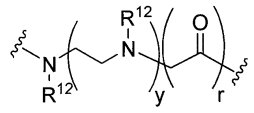
- [0011] 식에서,
- [0012] Z는  $CR^4$  또는 N이고;
- [0013]  $R^1$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택되며;
- [0014]  $R^2$  및  $R^3$ 은 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택되거나, 또는  $R^2$  및  $R^3$ 은 선택적으로 5 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하기 위하여 고리상으로 연결되며;
- [0015] 각각의  $R^4$ 는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택되고;
- [0016] L은  $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d$ -를 포함하는 링커이며, 여기서 a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 이때 a, b, c 및 d의 합은 1 내지 4이며;
- [0017]  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 는 각각 독립적으로  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_h-$ , 피페리딘-4-아미노 (4AP), 아세탈기, 하이드라진, 다이설파이드, 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA는 에틸렌 다이아민 모이어티이며, PEG는 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜이고, 및 AA는 아미노산 잔기이며, 여기서 w는 1 내지 20의 정수이고, n은 1 내지 30의 정수이며, p는 1 내지 20의 정수이고, h는 1 내지 12의 정수이며;
- [0018]  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 각각 독립적으로 공유 결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로 구성되는 군으로부터 선택되고, 여기서 q는 1 내지 6의 정수이며;
- [0019] 각각의  $R^{13}$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 및 치환된 아릴로부터 선택되고;
- [0020] 각각의  $R^{15}$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택되며;
- [0021]  $W^1$ 은 메탄시노이드이고; 및
- [0022]  $W^2$ 는 항-CD22 항체이다.
- [0023] 특정 구체예에서,
- [0024]  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬 및 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬로부터 선택되고;
- [0025]  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 는 각각 독립적으로  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_h-$ , 피페리딘-4-아미노 (4AP), 아세탈기, 하이드라진, 및 에스테르로부터 선택되며; 및
- [0026]  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 각각 독립적으로 공유 결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,

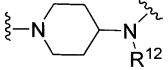
$-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$ , 및  $-P(O)OH-$ 로 구성되는 군으로부터 선택되고;

여기서:

(PEG)<sub>n</sub>는 이며, 여기서 n은 1 내지 30의 정수이고;

EDA는 다음 구조를 가지는 에틸렌 다이아민 모이어티이며:

, 여기서 y는 1 내지 6의 정수이고 r은 0 또는 1이며;

피페리딘-4-아미노는 이고;

각각의 R<sup>12</sup> 및 R<sup>15</sup>는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택되며, 여기서 임의의 두 개의 인접한 R<sup>12</sup>기는 고리상으로 연결되어 피페라지닐 고리를 형성할 수 있고;

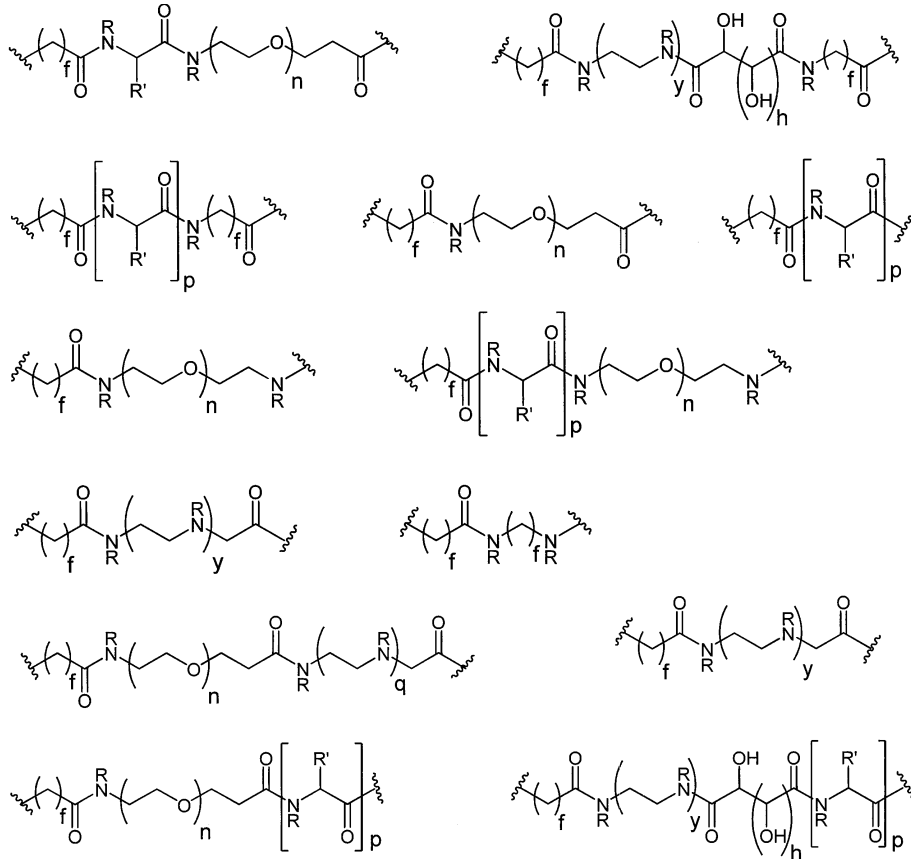
R<sup>13</sup>은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 및 치환된 아릴로부터 선택된다.

[0034] 특정 구체예에서,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ , 및  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 다음 표로부터 선택된다:

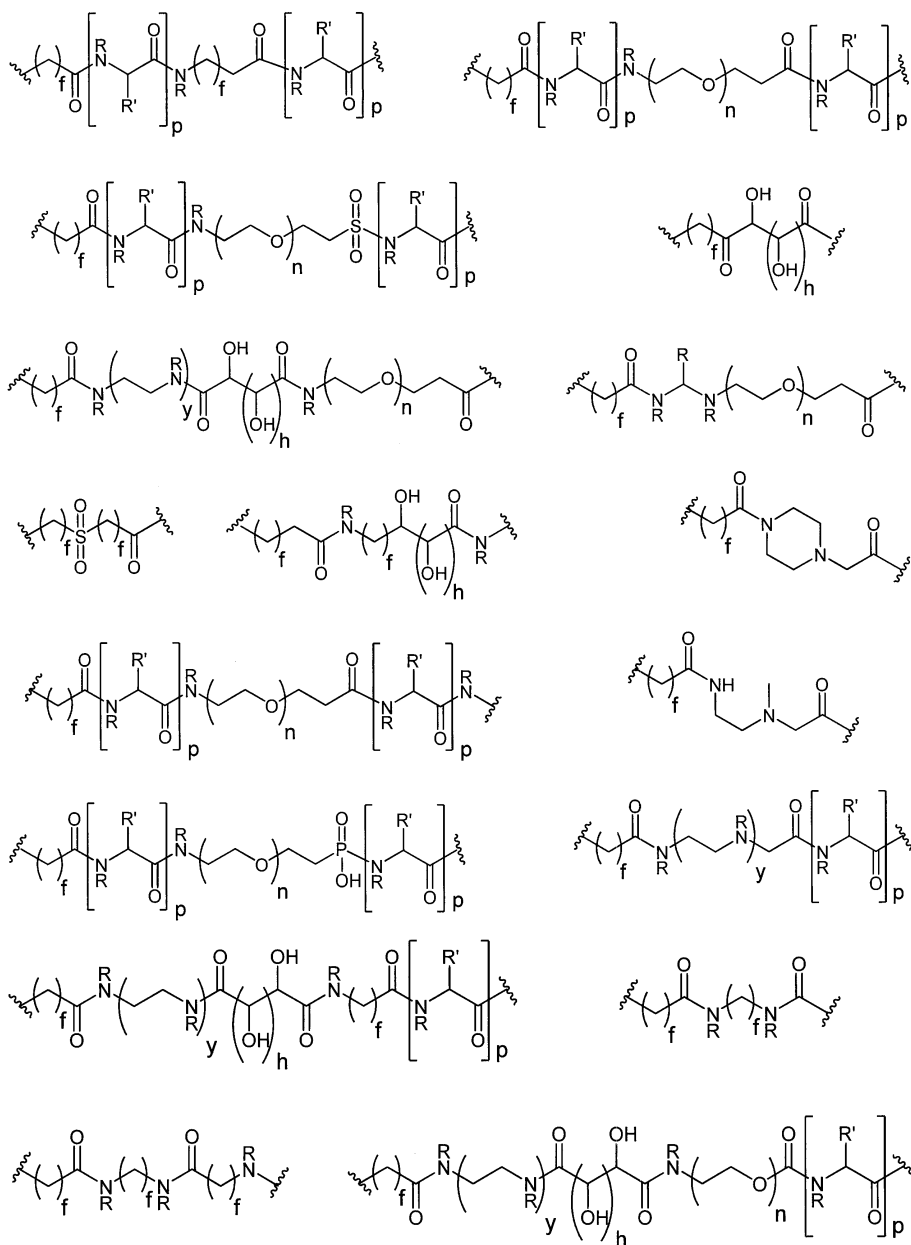
$T^1$	$V^1$	$T^2$	$V^2$	$T^3$	$V^3$	$T^4$	$V^4$
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-NR <sup>15</sup> -	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-NR <sup>15</sup> -	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-CO-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-CO-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-CO-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-SO <sub>2</sub> -	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-CO-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CO-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	치환된 (C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-SO <sub>2</sub> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CONR <sup>15</sup> -	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-P(O)OH-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-	(AA) <sub>p</sub>	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -	-	-CO-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -	-	-CO-	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	4AP	-CO-	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	4AP	-CO-	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	-	-

[0035]

[0036] 특정 구체예에서, L은 다음 구조들 중 하나로부터 선택된다:

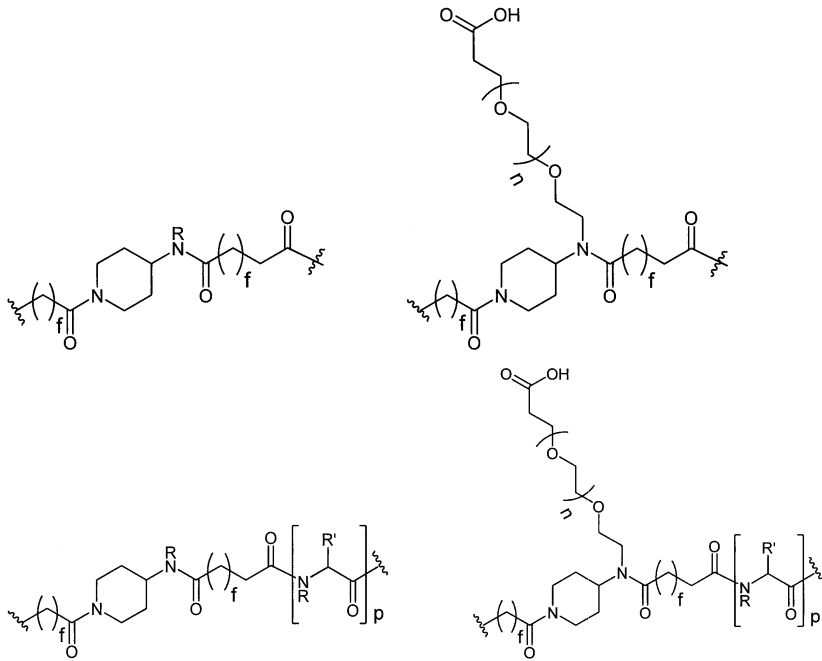


[0037]



[0038]





[0039]

[0040]

[0041]

[0042]

[0043]

[0044]

[0045]

[0046]

[0047]

[0048]

식에서,

각각의  $f$ 는 독립적으로 0 또는 1 내지 12의 정수이고;

각각의  $y$ 는 독립적으로 0 또는 1 내지 20의 정수이며;

각각의  $n$ 는 독립적으로 0 또는 1 내지 30의 정수이고;

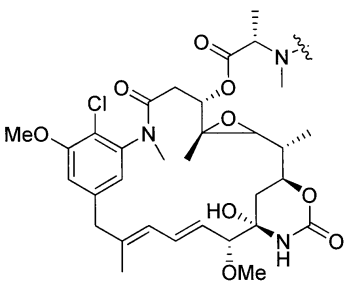
각각의  $p$ 는 독립적으로 0 또는 1 내지 20의 정수이며;

각각의  $h$ 는 독립적으로 0 또는 1 내지 12의 정수이고;

각각의  $R$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴이며; 및

각각의  $R'$ 는 독립적으로 H, 아미노산의 측쇄기, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴이다.

특정 구체예에서, 메이탄시노이드는 다음 식의 것이다:



[0049]

[0050]

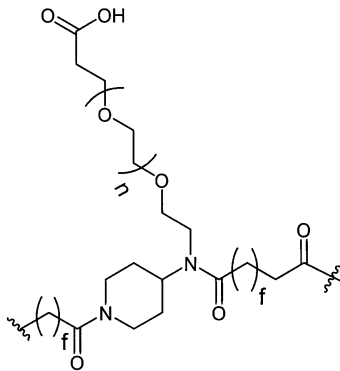
식에서  $\sim$ 는 메이탄시노이드와 L 사이의 부착점을 나타낸다.

[0051]

특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는 4AP이고,  $V^2$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^3$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,

$V^3$ 은 -CO-이며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

[0052] 특정 구체예에서, 링커 L은 다음 구조를 포함한다:



[0053]

[0054] 식에서

[0055] 각각의 f는 독립적으로 1 내지 12의 정수이고; 및

[0056] n은 1 내지 30의 정수이다.

[0057] 특정 구체예에서, 항-CD22 항체는 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1 내지 759 이내, 아미노산 1 내지 751 이내, 또는 아미노산 1 내지 670 이내의 에피토프에 결합한다.

[0058] 특정 구체예에서, 항-CD22 항체는 식 (II)의 서열을 포함한다:

[0059]  $X^1(\text{FGly}')X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (II)

[0060] 식에서,

[0061] FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;

[0062]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며;

[0063]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 또는 지방족 아미노산이고;

[0064]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있으며, 존재할 때 임의의 아미노산일 수 있고, 단 서열이 콘쥬게이트의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 이 존재하며; 및

[0065]  $X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 임의의 아미노산이다.

[0066] 특정 구체예에서, 서열은 L(FGly')TPSR이다.

[0067] 특정 구체예에서,  $Z^{30}$ 은 R, K, H, A, G, L, V, I, 및 P로부터 선택되고;  $X^1$ 은 L, M, S, 및 V로부터 선택되며;  $X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 S, T, A, V, G, 및 C로부터 선택된다.

[0068] 특정 구체예에서, 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 중쇄 불변 영역의 C-말단에 위치한다.

[0069] 특정 구체예에서, 중쇄 불변 영역은 식 (II)의 서열을 포함한다:

[0070]  $X^1(\text{FGly}')X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (II)

[0071] 식에서,

[0072] FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;

[0073]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며;

[0074]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 또는 지방족 아미노산이고;

- [0075]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있으며, 존재할 때 임의의 아미노산일 수 있고, 단 서열이 콘주게이트의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 이 존재하며; 및
- [0076]  $X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 임의의 아미노산이고,
- [0077] 서열은 아미노산 서열 SLSLSPG에 대해 C-말단이다.
- [0078] 특정 구체예에서, 중쇄 불변 영역은 서열 SPGSL(FGly')TPSRGS를 포함한다.
- [0079] 특정 구체예에서,  $Z^{30}$ 은 R, K, H, A, G, L, V, I, 및 P로부터 선택되고;  $X^1$ 은 L, M, S, 및 V로부터 선택되며;  $X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 S, T, A, V, G, 및 C로부터 선택된다.
- [0080] 특정 구체예에서, 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 경쇄 불변 영역에 위치한다.
- [0081] 특정 구체예에서, 경쇄 불변 영역은 식 (II)의 서열을 포함한다:
- [0082]  $X^1(\text{FGly}')X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (II)
- [0083] 식에서,
- [0084] FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;
- [0085]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며;
- [0086]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 또는 지방족 아미노산이고;
- [0087]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있으며, 존재할 때 임의의 아미노산일 수 있고, 단 서열이 콘주게이트의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 이 존재하며; 및
- [0088]  $X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 임의의 아미노산이고,
- [0089] 서열은 서열 KVDNAL에 대해 C-말단이거나, 및/또는 서열 QSGNSQ에 대해 N-말단이다.
- [0090] 특정 구체예에서, 경쇄 불변 영역은 서열 KVDNAL(FGly')TPSRQSGNSQ를 포함한다.
- [0091] 특정 구체예에서,  $Z^{30}$ 은 R, K, H, A, G, L, V, I, 및 P로부터 선택되고;  $X^1$ 은 L, M, S, 및 V로부터 선택되며;  $X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 S, T, A, V, G, 및 C로부터 선택된다.
- [0092] 특정 구체예에서, 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 중쇄 CH1 영역에 위치한다.
- [0093] 특정 구체예에서, 중쇄 CH1 영역은 식 (II)의 서열을 포함한다:
- [0094]  $X^1(\text{FGly}')X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (II)
- [0095] 식에서,
- [0096] FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;
- [0097]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며;
- [0098]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 또는 지방족 아미노산이고;
- [0099]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있으며, 존재할 때 임의의 아미노산일 수 있고, 단 서열이 콘주게이트의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 이 존재하며; 및
- [0100]  $X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 임의의 아미노산이고,
- [0101] 서열은 아미노산 서열 SWNSGA에 대해 C-말단이거나 및/또는 아미노산 서열 GVHTFP에 대해 N-말단이다.

- [0102] 특정 구체예에서, 중쇄 CH1 영역은 서열 SWNSGAL(FGly')TPSRGVHTFP를 포함한다.
- [0103] 특정 구체예에서,  $Z^{30}$ 은 R, K, H, A, G, L, V, I, 및 P로부터 선택되고;  $X^1$ 은 L, M, S, 및 V로부터 선택되며;  $X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 S, T, A, V, G, 및 C로부터 선택된다.
- [0104] 특정 구체예에서, 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 중쇄 CH2 영역에 위치한다.
- [0105] 특정 구체예에서, 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 중쇄 CH3 영역에 위치한다.
- [0106] 본 개시의 측면들은 본원에 기술된 콘주게이트 및 제약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 제약학적 조성물을 포함한다.
- [0107] 본 개시의 측면들은 대상체에게 유효량의 본원에 기술된 콘주게이트를 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다.
- [0108] 본 개시의 측면들은 대상체의 암을 치료하는 방법을 포함한다. 그 방법은 대상체에게 본원에 기술된 콘주게이트를 포함하는 제약학적 조성물의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 투여는 대상체의 암을 치료하기에 효과적이다.
- [0109] 본 개시의 측면들은 대상체의 표적 부위에 약물을 전달하는 방법을 포함한다. 그 방법은 대상체에게 본원에 기술된 콘주게이트를 포함하는 제약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 투여는 대상체의 표적 부위에서 치료적 유효량의 약물을 콘주게이트로부터 방출시키기에 효과적이다.

### 도면의 간단한 설명

- [0110] 도 1, 패널 A는 표준 분자 생물학 기법을 사용하여 항체 백본을 따라 원하는 위치에서 삽입된 포르밀글리신-생성 효소 (FGE) 인식 서열을 도시한다. 발현시, 진행 세포에 대해 내인성인 FGE는 공통 서열 내에서 Cys의 포르밀글리신 잔기 (FGly)로의 변환을 촉매한다. 도 1, 패널 B는 부위-특이적으로 콘주게이션된 ADC를 생성하기 위해 하이드라지노-*iso*-피켓(Pictet)-슈팽글러(Spengler) (HIPS) 링커 및 페이로드와 반응된 알데하이드 모이어티 (항체 당 2개)를 운반하는 항체를 도시한다. 도 1, 패널 C는 안정한 C-C 결합을 생성하기 위하여 중간체 하이드라조늄 이온과 이어서 친핵성 인돌과의 분자내 알킬화를 통하여 진행되는, HIPS 화학을 도시한다.
- 도 2는 본 개시의 구체예에 따라, C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘주게이션된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체의 소수성 상호작용 칼럼 (HIC) 흔적을 도시한다.
- 도 3은 본 개시의 구체예에 따라, C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘주게이션된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체의 HIC 흔적을 도시한다.
- 도 4는 본 개시의 구체예에 따라, C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘주게이션된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체의 역상 크로마토그래피 (PLRP) 흔적을 도시한다.
- 도 5는 본 개시의 구체예에 따라, C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘주게이션된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체의 분석적 크기 추출 크로마토그래피 (SEC) 흔적을 도시한다.
- 도 6A는 본 개시의 구체예에 따라, C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘주게이션된 항-CD22 ADC에 대한 WSU-DLCL2 세포에 대한 시험관내 효능 (% 생존을 대비 로그 항체-약물 콘주게이트 (ADC) 농도 (nM))의 그래프를 도시한다. 도 6B는 본 개시의 구체예에 따라, C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘주게이션된 항-CD22 ADC에 대한 라모스 세포에 대한 시험관내 효능 (% 생존을 대비 로그 항체-약물 콘주게이트 (ADC) 농도 (nM))의 그래프를 도시한다.
- 도 7은 본 개시의 구체예에 따라, C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘주게이션된 항-CD22 ADC에 대한 WSU-DLCL2 이종이식 모델에 대한 생체내 효능 (평균 종양 부피 ( $\text{mm}^3$ ) 대비 일)을 나타내는 그래프를 도시한다.
- 도 8A 내지 8C는 CD22 이소형태의 아미노산 서열을 제공한다 (상부에서 하부로: SEQ ID NO: //-//).
- 도 9A는 알데하이드 태그가 붙은 Ig 폴리펩타이드의 생성을 위한 가능한 변형 부위들을 보여주는 부위 지도를 도시한다. 상부 서열은 IgG1 경쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: //)의 보존된 영역의 아미노산 서열이고 Ig 경쇄의 가능한 변형 부위들을 도시하며; 하부 서열은 Ig 중쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: //; GenBank 승인 번호

AAG00909)의 보존된 영역의 아미노산 서열이고 Ig 중쇄의 가능한 변형 부위들을 도시한다. 중쇄 및 경쇄 넘버링은 전체-길이 중쇄 및 경쇄를 기준으로 한다.

도 9B는 면역글로불린 중쇄에서 알테하이드 태그가 제공되는 변형 부위를 보여주는, IgG1 (SEQ ID NO: //), IgG2 (SEQ ID NO: //), IgG3 (SEQ ID NO: //), IgG4 (SEQ ID NO: //), and IgA (SEQ ID NO: //)에 대한 면역글로불린 중쇄 불변 영역의 배열을 도시한다. 중쇄 및 경쇄 넘버링은 전체- 중쇄 및 경쇄를 기준으로 한다.

도 9C는 면역글로불린 경쇄에서 알테하이드 태그가 제공될 수 있는 변형 부위를 보여주는, 면역글로불린 경쇄 불변 영역 (SEQ ID NOS: //)의 배열을 도시한다.

도 10은 본 개시의 구체예에 따라, 다양한 분석물의 검출을 위한 ELISA 포맷의 예시를 도시한다.

도 11은 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 대부분 모노머였고, 평균 1.8의 DAR을 가졌으며, 단일 경쇄 및 중쇄 종을 포함하였음을 도시한다. 항-CD22 ADC는 % 모노머를 평가하기 위하여 크기 축출 크로마토그래피에 의해 분석되었고 (99.2%), 약물-대-항체 비율 (DAR)을 평가하기 위하여 역상 (PLRP) 크로마토그래피에 의해 분석되었으며 (도 11, 패널 C), DAR은 1.8이었다.

도 12는 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 야생형 항-CD22 항체뿐 아니라 인간 CD22 단백질에도 동등하게 결합된 것을 도시한다. 야생형 (WT) 항-CD22 항체에 대한 항-CD22 ADC의 결합을 비교하기 위해 경쟁 ELISA가 사용되었다. 데이터는 평균  $\pm$  S.D. (n = 4)로서 제공된다.

도 13은 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 야생형 항-CD22 항체에 유사하게 CD22의 내부화를 매개한 것을 도시한다. NHL 세포주, 라모스, Granta-519, 및 WSU-DLCL2가 WT 항-CD22 또는 CAT-02-106 중 어느 하나에 대한 결합에 의해 매개된 것과 같이 세포 표면 CD22의 내부화를 비교하기 위해 사용되었다.

도 14는 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 시험관내에서 모 및 MDR1-발현 NHL 종양 세포에 대해 동등하게 강력한 것을 도시한다. 라모스 및 WSU-DLCL2 모 (WT) 세포 (도 14, 패널 A 및 패널 C) 및 MDR1을 발현하도록 엔지니어링된 이 세포주들의 변종들 (MDR1+, 도 14, 패널 B 및 패널 D)이 항-CD22 ADC 활성의 시험관내 세포독성 연구를 위한 표적으로서 사용되었다. 유리 메이탄신 및 CAT-02 항체로 만들어졌지만 발린-시트룰린 절단 가능한 링커를 사용하여 메이탄신에 콘주게이션된  $\alpha$ CD22 ADC가 대조표준으로서 사용되었다. 추가의 대조표준 실험에서, MDR1 억제제인 사이클로스포린이 WT 또는 MDR1+ WSU-DLCL2 세포 (도 14, 패널 E 및 패널 F)에 첨가되었다. 데이터는 평균  $\pm$  S.D. (n = 2)로서 제공된다.

도 15는 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 표적-외 세포독성을 매개하지 않은 것을 도시한다. 위 종양 세포주인 NCI-N87이 시험관내에서 5일 동안 증가하는 농도의 항-CD22 ADC의 존재하에 인큐베이션되었다. 그런 다음, 세포 생존성이 MTS-기반 방법을 사용하여 평가되었다. 데이터는 평균  $\pm$  S.D. (n = 2)로서 제공된다.

도 16은 항-CD22 ADC-관련 ADC, HIPS-4AP-메이탄신 링커 페이로드에 콘주게이션된 항-HER2가 무고한 사멸을 유도하지 않은 것을 도시한다. 시험관내 세포독성 연구는 표적으로서 HER2+ NCI-N87 세포, HER2- 라모스 세포, 또는 둘 다의 공동배양을 사용하여 수행되었다. 유리 메이탄신 (2 nM) 및 절단 가능한 발린-시트룰린 (vc) 링커를 통해 MMAE에 콘주게이션된 항-HER2 (2 nM 페이로드)가 무고한 사멸에 대한 포지티브 대조표준으로서 사용되었다. 항-HER2 ADC는 2 nM 페이로드로 투약되었다. 데이터는 평균  $\pm$  S.D. (n = 2)로서 제공된다.

도 17은 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 NHL-유래된 WSU-DLCL2 및 라모스 이종이식 모델에 대해 생체내에서 효과적인 것을 도시한다. WSU-DLCL2 이종이식편을 가지고 있는 암컷 CB17 ICR SCID 마우스들 (8마리/그룹)을 비히클 단독으로 또는 (도 17, 패널 A) 단일 10 mg/kg 용량 또는 (도 17, 패널 B) 총 4회의 용량에 대해 4일마다 (q4d x 4) 전달된 다중 10 mg/kg 용량 중 어느 하나로서 항-CD22 ADC로 치료되었다. 치료는 종양이 단일 또는 다중용량 연구에 대해 각각 118 또는 262 mm<sup>3</sup>의 평균 크기에 도달했을 때 시작되었다. (도 17, 패널 C) 라모스 이종이식편을 가지고 있는 암컷 CB17 ICR SCID 마우스들 (12마리/그룹)을 비히클 단독으로, 또는 5 또는 10 mg/kg CAT-02-106 q4d x 4로 치료하였다. 종양이 246 mm<sup>3</sup>의 평균 크기에 도달했을 때 투약이 시작되었다. 데이터는 평균  $\pm$  S.E.M.으로서 제공된다.

도 18은 라모스 및 WSU-DLCL2 세포가 상이한 수준의 세포 표면 CD22를 발현한 것을 도시한다. 라모스 및 WSU-DLCL2 세포는 플루오레세인-표지된 항-CD22 항체와 함께 인큐베이션된 후 유동 세포분석에 의해 분석되었다. 각 세포 유형에 대한 FL1 채널의 평균 형광 세기가 그래프에 도시된다.

도 19는 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC로의 치료에 의해 마우스 체중이 영향을 받지 않은 것을 도시한다. 이종

이식 효능 연구에서 마우스들의 평균 체중이 도시된다. (도 19, 패널 A) 단일 용량 WSU-DLCL2 연구; (도 19, 패널 B) 다중용량 WSU-DLCL2 연구; (도 19, 패널 C) 라모스 연구. 오류 막대는 S.D를 나타낸다.

도 20은 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 최소 효과로 최대 60 mg/kg로 래트에 투약될 수 있는 것을 도시한다. 스프래그-다울리 래트 (5마리/그룹)는 6, 20, 40 또는 60 mg/kg의 용량으로 CAT-02-106을 받은 후 12일의 관찰 기간이 이어졌다. (도 20, 패널 A) 체중이 표시된 시간에 모니터링되었다. (도 20, 패널 B) 알라닌 아미노트란스페라제 (ALT), 및 (도 20, 패널 C) 혈소판 수가 용량 후 5 및 12일에 평가되었다. 데이터는 평균  $\pm$  S.D로서 제공된다.

도 21은 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 시노물구스 원숭이 B 세포에 특이적으로 결합된 것을 도시한다. 시노물구스 말초혈 림프구는 그것들의 전방 및 측면 산란 프로파일에 따라 게이팅되었다 (상부 좌측). 세포들은 플루오레세인-아이소티오시아네이트 (FITC)-콘주게이션된 스트렙타비딘 (SA) 단독과 함께 (상부 우측), 또는 비오틴화된 항-CD22 ADC와 이어서 FITC SA와 함께 인큐베이션되었다. 항체 인식 T 세포 (CD3, 하부 좌측) 또는 B 세포 (CD20, 하부 우측)와의 공동 인큐베이션은 B-세포 집단에 대한 CAT-02-106 결합의 특이성을 입증하였다.

도 22는 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 인간 및 시노물구스 원숭이 조직에서 B 세포-특이적 반응성을 증명한 것을 도시한다. 항-CD22 ADC는 비장의 B-세포 풍부 영역에 결합되었다 (상부). 심장 조직은 염색에 대해 네거티브였다 (중간). 폐 부분은 산란된 백혈구를 제외하고 네거티브였다 (하부).

도 23은 시노물구스 원숭이가 반복된 60 mg/kg 용량의 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC로 관찰된 부작용을 나타내지 않는 것을 도시한다. 시노물구스 원숭이 (2마리/성별/그룹)에게 10, 30 또는 60 mg/kg의 항-CD22 ADC가 3주마다 한번씩 총 2 용량에 대해 제공되었고 21일의 관찰 기간이 이어졌다. (도 23, 패널 A) 아스파테이트 트랜스아미나제 (AST), (도 23, 패널 B) 알라닌 아미노트란스페라제 (ALT), (도 23, 패널 C) 혈소판, 및 (도 23, 패널 D) 단핵세포가 표시된 시간에 모니터링되었다. 데이터는 평균  $\pm$  S.D로서 제공된다.

도 24 (패널 A 및 패널 B)는 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC로의 치료가 시노물구스 원숭이에서 말초 B 세포 집단을 감소시킨 것을 도시한다. 독성 연구에서 등록된 시노물구스 원숭이들로부터의 말초혈 단핵세포가, 용량-전 및 7, 14, 28 및 35일에 동물에서 관찰된 B 세포 (CD20+), T 세포 (CD3+), 및 NK 세포 (CD20-/CD3-)의 비율을 검출하기 위해 유동 세포분석에 의해 모니터링되었다. 데이터는 평균  $\pm$  S.D로서 제공된다.

도 25는 본 개시에 따르는 항-CD22 ADC가 래트 약물동역학 연구에 의해 나타난 것과 같이 매우 높은 생체내 안정성을 나타낸 것을 도시한다. 스프래그-다울리 래트 (3마리/그룹)에게 단일 정맥내 볼루스 용량의 3 mg/kg의 항-CD22 ADC가 제공되었다. 혈장 샘플이 지정된 시간에 수집되었고 총 항체, 총 콘주게이트 및 총 ADC 농도에 대해 분석되었다 (도 10에서 나타난 것과 같이).

도 26은 표 3: 본 개시의 구체예들에 따르는 항-CD22 ADC로 투약된 동물에서 총 ADC 값의 평균 ( $\pm$  SD) 약물동역학 및 독물동역학 (TK) 매개변수들의 요약을 나타낸다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

#### 정의

다음의 용어들은 다르게 표시되지 않는 한 다음의 의미들을 가진다. 임의의 정의되지 않은 용어는 기술분야에서 인식되는 의미를 가진다.

"알킬"은 1 내지 10개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 5개, 또는 1 내지 4개, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 가지는 1가의 포화된 지방족 하이드로카르빌기를 나타낸다. 이 용어는, 예를 들면 선형 및 분지형 하이드로카르빌기, 예컨대 메틸 ( $\text{CH}_3$ -), 에틸 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ -), n-프로필 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 아이소프로필 ( $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ -), n-부틸 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 아이소부틸 ( $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$ -), sec-부틸 ( $(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}$ -), t-부틸 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -), n-펜틸 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 및 네오펜틸 ( $(\text{CH}_3)_3\text{CCCH}_2$ -)을 포함한다.

용어 "치환된 알킬"은 알킬 사슬의 하나 이상의 탄소 원자 ( $\text{C}_1$  탄소 원자는 제외됨)가 선택적으로 헤테로원자, 예컨대 -O-, -N-, -S-,  $-\text{S}(\text{O})_n$ - ( $n$ 은 0 내지 2임), -NR- (R은 수소 또는 알킬임)로 대체되었고 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올,



티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴, -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴, 및 -NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>로 구성된 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기를 가지는, 본원에서 정의된 것과 같은 알킬기를 나타내고, 여기서 R' 및 R"는 동일하거나 상이할 수 있고, 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 사이클로알킬, 알케닐, 사이클로알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로고리형으로부터 선택된다.

[0115] "알킬렌"은 바람직하게는 1 내지 6개, 보다 바람직하게는 1 내지 3개의 탄소 원자를 가지는 직쇄 또는 분지쇄이고 -O-, -NR<sup>10</sup>-, -NR<sup>10</sup>C(O)-, -C(O)NR<sup>10</sup>- 등으로부터 선택된 하나 이상의 기로 선택적으로 방해된 이가의 지방족 하이드로카르빌기를 나타낸다. 이 용어는, 예를 들면 메틸렌 (-CH<sub>2</sub>-), 에틸렌 (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), n-프로필렌 (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 아이소-프로필렌 (-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-), (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-), (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)NH-), (-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-) 등을 포함한다.

[0116] "치환된 알킬렌"은 하기 "치환된"의 정의에서 탄소에 대해 기술되는 것과 같은 치환기들로 대체된 1 내지 3개의 수소를 가지는 알킬렌기를 나타낸다.

[0117] 용어 "알칸"은 본원에서 정의된 것과 같이, 알킬기 및 알킬렌기를 나타낸다.

[0118] 용어 "알킬아미노알킬", "알킬아미노알케닐" 및 "알킬아미노알키닐"은 기 R'NHR"-를 나타내며, 여기서 R'는 본원에서 정의된 알킬기이고 R"는 본원에서 정의된 알킬렌, 알케닐렌 또는 알키닐렌기이다.

[0119] 용어 "알카릴" 또는 "아르알킬"은 기 -알킬렌-아릴 및 -치환된 알킬렌-아릴을 나타내고, 여기서 알킬렌, 치환된 알킬렌 및 아릴은 본원에서 정의된다.

[0120] "알콕시"는 기 -O-알킬을 나타내고, 여기서 알킬은 본원에서 정의된 것과 같다. 알콕시는 예를 들면, 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 아이소프로폭시, n-부톡시, t-부톡시, sec-부톡시, n-펜톡시 등을 포함한다. 용어 "알콕시"는 또한 기 알케닐-O-, 사이클로알킬-O-, 사이클로알케닐-O-, 및 알키닐-O-를 포함하고, 여기서 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 및 알키닐은 본원에서 정의된 것과 같다.

[0121] 용어 "치환된 알콕시"는 치환된 알킬-O-, 치환된 알케닐-O-, 치환된 사이클로알킬-O-, 치환된 사이클로알케닐-O-, 및 치환된 알키닐-O-를 나타내고, 여기서 치환된 알킬, 치환된 알케닐, 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐 및 치환된 알키닐은 본원에서 정의된 것과 같다.

[0122] 용어 "알콕시아미노"는 기 -NH-알콕시를 나타내고, 여기서 알콕시는 본원에서 정의된다.

[0123] 용어 "할로알콕시"는 알킬기 상의 하나 이상의 수소 원자가 할로기로 치환된 기 알킬-O-를 나타내며, 예를 들면 트라이플루오로메톡시 등과 같은 기를 포함한다.

[0124] 용어 "할로알킬"은 알킬기 상의 하나 이상의 수소 원자가 할로기로 치환된, 상기에서 기술된 치환된 알킬기를 나타낸다. 그런 기의 예로는, 제한 없이, 플루오로알킬기, 예컨대 트라이플루오로메틸, 다이플루오로메틸, 트라이플루오로 에틸 등을 포함한다.

[0125] 용어 "알킬알콕시"는 기 -알킬렌-O-알킬, 알킬렌-O-치환된 알킬, 치환된 알킬렌-O-알킬, 및 치환된 알킬렌-O-치환된 알킬을 나타내고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알킬렌 및 치환된 알킬렌이 상기에서 정의된 것과 같다.

[0126] 용어 "알킬티오알콕시"는 기 -알킬렌-S-알킬, 알킬렌-S-치환된 알킬, 치환된 알킬렌-S-알킬 및 치환된 알킬렌-S-치환된 알킬을 나타내고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알킬렌 및 치환된 알킬렌은 상기에서 정의된 것과 같다.

[0127] "알케닐"은 2 내지 6개의 탄소 원자 및 바람직하게는 2 내지 4개의 탄소 원자를 가지며 적어도 하나, 바람직하게는 1 내지 2개 부위의 이중 결합 불포화를 가지는 직쇄 또는 분지쇄의 하이드로카르빌기를 나타낸다. 이 용어는, 예를 들면 비-비닐, 알릴 및 부트-3-엔-1-일을 포함한다. 이 용어에는 시스 및 트랜스 이성질체 또는 이 이성질체들의 혼합물이 포함된다.

[0128] 용어 "치환된 알케닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬,

-SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴 및 -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기, 또는 1 내지 3개의 치환기를 가지는, 본원에서 정의된 것과 같은 알케닐기를 나타낸다.

[0129] "알킬닐"은 2 내지 6개의 탄소 원자 및 바람직하게는 2 내지 3개의 탄소 원자를 가지며 적어도 하나, 바람직하게는 1 내지 2개 부위의 삼중 결합 불포화를 가지는 직쇄 또는 분지쇄의 일가 하이드로카르빌기를 나타낸다. 그러한 알킬닐기의 예로는 아세틸레닐 (-C≡CH) 및 프로파르길 (-CH<sub>2</sub>C≡CH)을 포함한다.

[0130] 용어 "치환된 알킬닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴, 및 -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기, 또는 1 내지 3개의 치환기를 가지는, 본원에서 정의된 것과 같은 알킬닐기를 나타낸다.

[0131] "알킬닐옥시"는 기 -O-알킬닐을 나타내고, 여기서 알킬닐은 본원에서 정의된 것과 같다. 알킬닐옥시는 예를 들면 에틸닐옥시, 프로파닐옥시 등을 포함한다.

[0132] "아실"은 기 H-C(O)-, 알킬-C(O)-, 치환된 알킬-C(O)-, 알케닐-C(O)-, 치환된 알케닐-C(O)-, 알킬닐-C(O)-, 치환된 알킬닐-C(O)-, 사이클로알킬-C(O)-, 치환된 사이클로알킬-C(O)-, 사이클로알케닐-C(O)-, 치환된 사이클로알케닐-C(O)-, 아릴-C(O)-, 치환된 아릴-C(O)-, 헤테로아릴-C(O)-, 치환된 헤테로아릴-C(O)-, 헤테로사이클릴-C(O)-, 및 치환된 헤테로사이클릴-C(O)-를 나타내고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다. 예를 들어, 아실은 "아세틸"기 CH<sub>3</sub>C(O)-를 포함한다.

[0133] "아실아미노"는 기 -NR<sup>20</sup>C(O)알킬, -NR<sup>20</sup>C(O)치환된 알킬, N R<sup>20</sup>C(O)사이클로알킬, -NR<sup>20</sup>C(O)치환된 사이클로알킬, -NR<sup>20</sup>C(O)사이클로알케닐, -NR<sup>20</sup>C(O)치환된 사이클로알케닐, -NR<sup>20</sup>C(O)알케닐, -NR<sup>20</sup>C(O)치환된 알케닐, -NR<sup>20</sup>C(O)알킬닐, -NR<sup>20</sup>C(O)치환된 알킬닐, -NR<sup>20</sup>C(O)아릴, -NR<sup>20</sup>C(O)치환된 아릴, -NR<sup>20</sup>C(O)헤테로아릴, -NR<sup>20</sup>C(O)치환된 헤테로아릴, -NR<sup>20</sup>C(O)헤테로사이클릭, 및 -NR<sup>20</sup>C(O)치환된 헤테로사이클릭을 나타내고, 여기서 R<sup>20</sup>은 수소 또는 알킬이며, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다.

[0134] "아미노카르보닐" 또는 용어 "아미노아실"은 기 -C(O)NR<sup>21</sup>R<sup>22</sup>를 나타내고, 여기서 R<sup>21</sup> 및 R<sup>22</sup>는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭으로 구성되는 군으로부터 선택되며, 이때 R<sup>21</sup> 및 R<sup>22</sup>는 선택적으로 그것에 결합되는 질소와 함께 연합하여 헤테로사이클릭 또는 치환된 헤테로사이클릭 기를 형성하고, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다.

[0135] "아미노카르보닐아미노"는 기 -NR<sup>21</sup>C(O)NR<sup>22</sup>R<sup>23</sup>을 나타내며, 여기서 R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup>, 및 R<sup>23</sup>은 수소, 알킬, 아릴 또는 사이클로알킬로부터 독립적으로 선택되고, 이때 두개의 R 기는 연합하여 헤테로사이클릴기를 형성한다.

[0136] 용어 "알콕시카르보닐아미노"는 기 -NRC(O)OR을 나타내며, 여기서 각각의 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 또는 헤테로사이클릴이고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 헤테로사이클릴은 본원에서 정의된 것과 같다.



- [0137] 용어 "아실옥시"는 기 알킬-C(0)O-, 치환된 알킬-C(0)O-, 사이클로알킬-C(0)O-, 치환된 사이클로알킬-C(0)O-, 아릴-C(0)O-, 헤테로아릴-C(0)O-, 및 헤테로사이클릴-C(0)O-를 나타내며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 헤테로사이클릴은 본원에서 정의된 것과 같다.
- [0138] "아미노설포닐"은 기  $-SO_2NR^{21}R^{22}$ 를 나타내며, 여기서  $R^{21}$  및  $R^{22}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 치환된 헤테로사이클릭으로 구성되는 군으로부터 선택되고, 이때  $R^{21}$  및  $R^{22}$ 는 선택적으로 그것에 결합된 질소와 함께 연합하여 헤테로사이클릭 또는 치환된 헤테로사이클릭 기를 형성하며, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다.
- [0139] "설포닐아미노"는 기  $-NR^{21}SO_2R^{22}$ 를 나타내며, 여기서  $R^{21}$  및  $R^{22}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭으로 구성되는 군으로부터 선택되고, 이때  $R^{21}$  및  $R^{22}$ 는 선택적으로 그것에 결합된 원자들과 함께 연합하여 헤테로사이클릭 또는 치환된 헤테로사이클릭 기를 형성하며, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다.
- [0140] "아릴" 또는 "Ar"은 단일 고리 (예컨대 페닐기에 존재하는) 또는 다중 축합 고리를 가지는 고리 시스템 (그런 방향족 고리 시스템의 예는 나프틸, 안트릴 및 인다닐을 포함한다)을 가지는 6 내지 18개의 탄소 원자의 일가의 방향족 탄소고리기를 나타내고, 축합 고리는 방향족이거나 방향족이 아닐 수 있으며, 단 부착지점은 방향족 고리의 원자를 통한다. 이 용어는 예를 들면 페닐 및 나프틸을 포함한다. 아릴 치환기에 대한 정의에 의해 다르게 한정되지 않는 한, 그런 아릴기는 아실옥시, 하이드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알키닐, 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알카릴, 아릴, 아릴옥시, 아지도, 카르복실, 카르복실알킬, 시아노, 할로젠, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴, -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴 및 트라이할로메틸로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기, 또는 1 내지 3개의 치환기로 선택적으로 치환될 수 있다.
- [0141] "아릴옥시"는 기 -O-아릴을 나타내며, 여기서 아릴은 본원에서 정의된 것과 같고, 예를 들면 페녹시, 나프톡시, 등을 포함하고, 선택적으로 또한 본원에서 정의된 것과 같은 치환된 아릴기를 포함한다.
- [0142] "아미노"는 기 -NH<sub>2</sub>를 나타낸다.
- [0143] 용어 "치환된 아미노"는 기 -NRR을 나타내고, 여기서 각각의 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 및 헤테로사이클릴로 구성되는 군으로부터 선택되며, 단 적어도 하나의 R은 수소가 아니다.
- [0144] 용어 "아지도"는 기 -N<sub>3</sub>을 나타낸다.
- [0145] "카르복실", "카르복시" 또는 "카르복실레이트"는 -CO<sub>2</sub>H 또는 그것의 염을 나타낸다.
- [0146] "카르복실 에스테르" 또는 "카르복시 에스테르" 또는 용어 "카르복시알킬" 또는 "카르복실알킬"은 기 -C(0)O-알킬, -C(0)O-치환된 알킬, -C(0)O-알케닐, -C(0)O-치환된 알케닐, -C(0)O-알키닐, -C(0)O-치환된 알키닐, -C(0)O-아릴, -C(0)O-치환된 아릴, -C(0)O-사이클로알킬, -C(0)O-치환된 사이클로알킬, -C(0)O-사이클로알케닐, -C(0)O-치환된 사이클로알케닐, -C(0)O-헤테로아릴, -C(0)O-치환된 헤테로아릴, -C(0)O-헤테로사이클릭, 및 -C(0)O-치환된 헤테로사이클릭을 나타내며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알

케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다.

[0147] "(카르복실 에스테르)옥시" 또는 "카보네이트"는 기  $-O-C(=O)-$ 알킬,  $-O-C(=O)-$ 치환된 알킬,  $-O-C(=O)-$ 알케닐,  $-O-C(=O)-$ 치환된 알케닐,  $-O-C(=O)-$ 알킬닐,  $-O-C(=O)-$ 치환된 알킬닐,  $-O-C(=O)-$ 아릴,  $-O-C(=O)-$ 치환된 아릴,  $-O-C(=O)-$ 사이클로알킬,  $-O-C(=O)-$ 치환된 사이클로알킬,  $-O-C(=O)-$ 사이클로알케닐,  $-O-C(=O)-$ 치환된 사이클로알케닐,  $-O-C(=O)-$ 헤테로아릴,  $-O-C(=O)-$ 치환된 헤테로아릴,  $-O-C(=O)-$ 헤테로사이클릭, 및  $-O-C(=O)-$ 치환된 헤테로사이클릭을 나타내며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다.

[0148] "시아노" 또는 "니트릴"은 기  $-CN$ 을 나타낸다.

[0149] "사이클로알킬"은 단일 고리 또는 융합된, 가교된, 및 스피로 고리 시스템을 포함하는 다중 고리형 고리를 가지는, 3 내지 10개의 탄소 원자의 고리형 알킬기를 나타낸다. 적합한 사이클로알킬기의 예로는, 예를 들어 아다만틸, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로옥틸 등을 포함한다. 그런 사이클로알킬기는, 예를 들면 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로옥틸 등과 같은 단일 고리 구조, 또는 아다만타닐 등과 같은 다중 고리 구조를 포함한다.

[0150] 용어 "치환된 사이클로알킬"은 알킬, 치환된 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로,  $-SO-$ 알킬,  $-SO-$ 치환된 알킬,  $-SO-$ 아릴,  $-SO-$ 헤테로아릴,  $-SO_2-$ 알킬,  $-SO_2-$ 치환된 알킬,  $-SO_2-$ 아릴 및  $-SO_2-$ 헤테로아릴로부터 선택된, 1 내지 5개의 치환기, 또는 1 내지 3개의 치환기를 가지는 사이클로알킬기를 나타낸다.

[0151] "사이클로알케닐"은 단일 또는 다중 고리를 가지며 적어도 하나의 이중 결합, 바람직하게는 1 내지 2개의 이중 결합을 가지는, 3 내지 10개의 탄소 원자의 비-방향족 사이클릭 알킬기를 나타낸다.

[0152] 용어 "치환된 사이클로알케닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 케토, 티오케토, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로,  $-SO-$ 알킬,  $-SO-$ 치환된 알킬,  $-SO-$ 아릴,  $-SO-$ 헤테로아릴,  $-SO_2-$ 알킬,  $-SO_2-$ 치환된 알킬,  $-SO_2-$ 아릴 및  $-SO_2-$ 헤테로아릴로부터 선택된, 1 내지 5개의 치환기, 또는 1 내지 3개의 치환기를 가지는 사이클로알케닐기를 나타낸다.

[0153] "사이클로알킬닐"은 단일 또는 다중 고리를 가지며 적어도 하나의 삼중 결합을 가지는, 5 내지 10개의 탄소 원자의 비-방향족 사이클로알킬기를 나타낸다.

[0154] "사이클로알콕시"는  $-O-$ 사이클로알킬을 나타낸다.

[0155] "사이클로알케닐옥시"는  $-O-$ 사이클로알케닐을 나타낸다.

[0156] "할로" 또는 "할로젠"은 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 나타낸다.

[0157] "하이드록시" 또는 "하이드록실"은 기  $-OH$ 를 나타낸다.

[0158] "헤테로아릴"은 1 내지 15개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 10개의 탄소 원자 및 고리 내에서 산소, 질소 및 황으로 구성된 군으로부터 선택된 1 내지 10개의 헤테로원자의 방향족 기를 나타낸다. 그런 헤테로아릴기는 단일 고리 (예컨대 피리디닐, 이미다졸릴 또는 퓨릴) 또는 고리 시스템의 다중 축합 고리 (예를 들어 인돌리지닐, 퀴놀리닐, 벤조퓨란, 벤즈이미다졸릴 또는 벤조티에닐과 같은 기에서와 같이)를 가질 수 있고, 여기서 고리 시스템 내의 적어도 하나의 고리는 방향족이다. 원자가 요구조건을 충족시키기 위해, 그런 헤테로아릴 고리의 임의의 헤테로원자는 H 또는 치환기, 예컨대 알킬기 또는 본원에서 기술된 다른 치환기에 결합하거나 결합하지 않을 수 있다. 특정 구체예에서, 헤테로아릴기의 질소 및/또는 황 고리 원자(들)은 선택적으로 산화되어 N-옥사이드 (N

→O), 설퍼닐 또는 설폰일 모이어티를 제공한다. 이 용어는, 예를 들면 피리디닐, 피롤릴, 인돌릴, 티오펜릴 및 퓨라닐을 포함한다. 헤테로아릴 치환기에 대한 정의에 의해 다르게 한정되지 않는 한, 그런 기는 아실옥시, 하이드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알키닐, 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알카릴, 아릴, 아릴옥시, 아지도, 카르복실, 카르복실알킬, 시아노, 할로젠, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴 및 -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴, 및 트라이할로메틸로부터 선택된 1 내지 5 개의 치환기, 또는 1 내지 3개의 치환기로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0159] 용어 "헤테로아르알킬"은 기 -알킬렌-헤테로아릴을 나타내고, 여기서 알킬렌 및 헤테로아릴은 본원에서 정의된다. 이 용어는, 예를 들면 피리딜메틸, 피리딜에틸, 인돌릴메틸 등을 포함한다.

[0160] "헤테로아릴옥시"는 -O-헤테로아릴을 나타낸다.

[0161] "헤테로고리", "헤테로사이클릭", "헤테로사이클로알킬", 및 "헤테로사이클릴"은 융합된, 가교된 및 스피로 고리 시스템을 포함하여 단일 고리 또는 다중 축합 고리를 가지며, 1 내지 10개의 헤테로 원자를 포함하여 3 내지 20개의 고리 원자를 가지는 포화 또는 불포화 기를 나타낸다. 이 고리 원자들은 질소, 황 또는 산소로부터 선택되고, 융합된 고리 시스템에서, 하나 이상의 고리는 사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴일 수 있고, 단 부착지점은 비-방향족 고리를 통한다. 특정 구체예에서, 헤테로사이클릭 기의 질소 및/또는 황 원자(들)은 N-옥사이드, -S(O)-, 또는 -SO<sub>2</sub>- 모이어티를 제공하기 위해 선택적으로 산화된다. 원자가 요구조건을 충족하기 위하여, 그런 헤테로사이클릭 고리들의 임의의 헤테로원자는 하나 이상의 H 또는 하나 이상의 치환기 기(들), 예컨대 알킬기 또는 본원에 기술된 다른 치환기에 결합될 수 있거나 결합되지 않을 수 있다.

[0162] 헤테로고리 및 헤테로아릴의 예는, 한정하는 것은 아니지만, 아제티딘, 피롤, 이미다졸, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리미딘, 피리다진, 인돌리진, 아이소인돌, 인돌, 다이하이드로인돌, 인다졸, 퓨린, 퀴놀리진, 아이소퀴놀린, 퀴놀린, 프탈라진, 나프틸피리딘, 퀴녹살린, 퀴나졸린, 신놀린, 프테리딘, 카르바졸, 카르볼린, 페난트리딘, 아크리딘, 페난트롤린, 아이소티아졸, 페나진, 아이소옥사졸, 페녹사진, 페노티아진, 이미다졸리딘, 이미다졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌린, 프탈이미드, 1,2,3,4-테트라하이드로아이소퀴놀린, 4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜, 티아졸, 티아졸리딘, 티오펜, 벤조[b]티오펜, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐 (티아모르폴리닐로도 언급됨), 1,1-다이옥소티오모르폴리닐, 피페리디닐, 피롤리딘, 테트라하이드로푸라닐 등을 포함한다.

[0163] 헤테로사이클릭 치환기에 대한 정의에 의해 다르게 한정되지 않는 한, 그런 헤테로사이클릭 기는 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 옥소, 티오펜, 카르복실, 카르복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO<sub>2</sub>-알킬, -SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, -SO<sub>2</sub>-아릴, -SO<sub>2</sub>-헤테로아릴, 및 융합된 헤테로고리로부터 선택된, 1 내지 5개, 또는 1 내지 3개의 치환기로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0164] "헤테로사이클릴옥시"는 기 -O-헤테로사이클릴을 나타낸다.

[0165] 용어 "헤테로사이클릴티오"는 기 헤테로사이클릭-S-를 나타낸다.

[0166] 용어 "헤테로사이클렌"은 본원에서 정의된 것과 같이, 헤테로고리로부터 형성된 2라디칼 기를 나타낸다.

[0167] 용어 "하이드록시아미노"는 기 -NHOH를 나타낸다.

[0168] "니트로"는 기 -NO<sub>2</sub>를 나타낸다.

[0169] "옥소"는 원자 (=O)를 나타낸다.

[0170] "설퍼닐"은 기 SO<sub>2</sub>-알킬, SO<sub>2</sub>-치환된 알킬, SO<sub>2</sub>-알케닐, SO<sub>2</sub>-치환된 알케닐, SO<sub>2</sub>-사이클로알킬, SO<sub>2</sub>-치환된 사이클로알킬, SO<sub>2</sub>-사이클로알케닐, SO<sub>2</sub>-치환된 사이클로알케닐, SO<sub>2</sub>-아릴, SO<sub>2</sub>-치환된 아릴, SO<sub>2</sub>-헤테로아

릴,  $\text{SO}_2$ -치환된 헤테로아릴,  $\text{SO}_2$ -헤테로사이클릭, 및  $\text{SO}_2$ -치환된 헤테로사이클릭을 나타내고, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다. 설폰일은, 예를 들면, 메틸- $\text{SO}_2^-$ , 페닐- $\text{SO}_2^-$ , 및 4-메틸페닐- $\text{SO}_2^-$ 를 포함한다.

[0171] "설폰닐옥시"는 기  $-\text{OSO}_2$ -알킬,  $\text{OSO}_2$ -치환된 알킬,  $\text{OSO}_2$ -알케닐,  $\text{OSO}_2$ -치환된 알케닐,  $\text{OSO}_2$ -사이클로알킬,  $\text{OSO}_2$ -치환된 사이클로알킬,  $\text{OSO}_2$ -사이클로알케닐,  $\text{OSO}_2$ -치환된 사이클로알케닐,  $\text{OSO}_2$ -아릴,  $\text{OSO}_2$ -치환된 아릴,  $\text{OSO}_2$ -헤테로아릴,  $\text{OSO}_2$ -치환된 헤테로아릴,  $\text{OSO}_2$ -헤테로사이클릭, 및  $\text{OSO}_2$  치환된 헤테로사이클릭을 나타내며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다.

[0172] 용어 "아미노카르보닐옥시"는 기  $-\text{OC}(\text{O})\text{NRR}$ 을 나타내고, 이때 각각의 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 또는 헤테로사이클릭이며, 여기서 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로사이클릭은 본원에서 정의된 것과 같다.

[0173] "티올"은 기  $-\text{SH}$ 를 나타낸다.

[0174] "티오옥소" 또는 용어 "티오케토"는 원자 ( $=\text{S}$ )를 나타낸다.

[0175] "알킬티오" 또는 용어 "티오알콕시"는 기  $-\text{S}$ -알킬을 나타내고, 여기서 알킬은 본원에서 정의된 것과 같다. 특정 구체예에서, 황은  $-\text{S}(\text{O})$ -로 산화될 수 있다. 설폭사이드는 하나 이상의 입체이성질체로서 존재할 수 있다.

[0176] 용어 "치환된 티오알콕시"는 기  $-\text{S}$ -치환된 알킬을 나타낸다.

[0177] 용어 "티오아릴옥시"는 기 아릴- $\text{S}$ -를 나타내고, 여기서 아릴기는 역시 본원에서 정의된 것과 같은 선택적으로 치환된 아릴기를 포함하여 본원에서 정의된 것과 같다.

[0178] 용어 "티오헤테로아릴옥시"는 기 헤테로아릴- $\text{S}$ -를 나타내고, 여기서 헤테로아릴기는 역시 본원에서 정의된 것과 같은 선택적으로 치환된 아릴기를 포함하여 본원에서 정의된 것과 같다.

[0179] 용어 "티오헤테로사이클로옥시"는 기 헤테로사이클릴- $\text{S}$ -를 나타내고, 여기서 헤테로사이클릴기는 역시 본원에서 정의된 것과 같은 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴기를 포함하여 본원에서 정의된 것과 같다.

[0180] 본원의 개시에 더불어, 용어 "치환된"은, 명시된 기 또는 라디칼을 변형시키기 위해 사용될 때, 또한 명시된 기 또는 라디칼의 하나 이상의 수소 원자가 각각, 서로에 독립적으로, 하기에서 정의되는 것과 같이 동일한 또는 상이한 치환기로 대체되는 것을 의미할 수 있다.

[0181] 본원에서 개별적인 용어들과 관련하여 개시된 기들에 더불어, 명시된 기 또는 라디칼의 포화된 탄소 원자 상의 하나 이상의 수소를 치환하기 위한 치환기는 (단일 탄소 상의 임의의 두 수소는  $=\text{O}$ ,  $=\text{NR}^{70}$ ,  $=\text{N-OR}^{70}$ ,  $=\text{N}_2$  또는  $=\text{S}$ 로 대체될 수 있다), 다르게 명시되지 않는 한,  $-\text{R}^{60}$ , 할로,  $=\text{O}$ ,  $-\text{OR}^{70}$ ,  $-\text{SR}^{70}$ ,  $-\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ , 트라이할로메틸,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{OCN}$ ,  $-\text{SCN}$ ,  $-\text{NO}$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $=\text{N}_2$ ,  $-\text{N}_3$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^{70}$ ,  $-\text{SO}_2\text{O}^-\text{M}^+$ ,  $-\text{SO}_2\text{OR}^{70}$ ,  $-\text{OSO}_2\text{R}^{70}$ ,  $-\text{OSO}_2\text{O}^-\text{M}^+$ ,  $-\text{OSO}_2\text{OR}^{70}$ ,  $-\text{P}(\text{O})(\text{O}^-)_2(\text{M}^+)_2$ ,  $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{70})\text{O}^-\text{M}^+$ ,  $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{70})_2$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{70}$ ,  $-\text{C}(\text{S})\text{R}^{70}$ ,  $-\text{C}(\text{NR}^{70})\text{R}^{70}$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-\text{M}^+$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{70}$ ,  $-\text{C}(\text{S})\text{OR}^{70}$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ ,  $-\text{C}(\text{NR}^{70})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{70}$ ,  $-\text{OC}(\text{S})\text{R}^{70}$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{O}^-\text{M}^+$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{OR}^{70}$ ,  $-\text{OC}(\text{S})\text{OR}^{70}$ ,  $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{O})\text{R}^{70}$ ,  $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{S})\text{R}^{70}$ ,  $-\text{NR}^{70}\text{CO}_2^-$ ,  $\text{M}^+$ ,  $-\text{NR}^{70}\text{CO}_2\text{R}^{70}$ ,  $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{S})\text{OR}^{70}$ ,  $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ ,  $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{NR}^{70})\text{R}^{70}$  및  $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{NR}^{70})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 이고, 여기서  $\text{R}^{60}$ 은 선택적으로 치환된 알킬, 사이클로알킬, 헤테로알킬, 헤테로사이클로알킬알킬, 사이클로알킬알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴 및 헤테로아릴알킬로 구성되는 군으로부터 선택되며, 각각의  $\text{R}^{70}$ 은 독립적으로 수소 또는  $\text{R}^{60}$ 이고; 각각의  $\text{R}^{80}$ 은 독립적으로  $\text{R}^{70}$ 이거나 또는 대안적으로, 두  $\text{R}^{80}$ 은, 그것들이 결합되는 질소 원자와 함께, O, N 및 S로 구성되는 군으로부터 선택된 동일한 또는 상이한 추가의 헤테로원자 중 1 내지 4개를 선택적으로 포함할 수 있고, 이때 그 중 N은  $-\text{H}$  또는  $\text{C}_1\text{-C}_3$  알킬로 치환될 수 있는 5-, 6- 또는 7-원 헤테로사이클로알킬을 형성하며; 각

각의  $M^+$ 는 순(net) 단일 양전하를 가지는 카운터 이온이다. 각각의  $M^+$ 는 독립적으로, 예를 들면 알칼리 이온, 예컨대  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Li^+$ ; 암모늄 이온, 예컨대  $N(R^{60})_4^+$ ; 또는 알칼리토 이온, 예컨대  $[Ca^{2+}]_{0.5}$ ,  $[Mg^{2+}]_{0.5}$ , 또는  $[Ba^{2+}]_{0.5}$ 이다 ("첨자 0.5는 그런 이가 알칼리토 이온에 대한 카운터 이온들 중 하나가 발명의 화합물의 이온화된 형태일 수 있고 다른 것은 클로라이드와 같은 전형적인 카운터 이온이거나, 또는 본원에 개시된 두 개의 이온화된 화합물이 그런 이가 알칼리토 이온에 대한 카운터 이온으로서 작용할 수 있거나, 또는 발명의 이중으로 이온화된 화합물이 그런 이가 알칼리토 이온에 대한 카운터 이온으로서 작용할 수 있는 것을 의미한다). 특정 예시로서,  $-NR^{80}R^{80}$ 은  $-NH_2$ ,  $-NH$ -알킬,  $N$ -피롤리디닐,  $N$ -피페라지닐,  $4N$ -메틸-피페라진-1-일 및  $N$ -모르폴리닐을 포함하는 것을 의미한다.

[0182] 본원의 개시에 더불어, "치환된" 알켄, 알킨, 아릴 및 헤테로아릴기의 불포화 탄소 상의 수소에 대한 치환기는, 다르게 명시되지 않는 한,  $-R^{60}$ , 할로,  $-O^+M^+$ ,  $-OR^{70}$ ,  $-SR^{70}$ ,  $-S^+M^+$ ,  $-NR^{80}R^{80}$ , 트라이할로메틸,  $-CF_3$ ,  $-CN$ ,  $-OCN$ ,  $-SCN$ ,  $-NO$ ,  $-NO_2$ ,  $-N_3$ ,  $-SO_2R^{70}$ ,  $-SO_3^+M^+$ ,  $-SO_3R^{70}$ ,  $-OSO_2R^{70}$ ,  $-OSO_3^+M^+$ ,  $-OSO_3R^{70}$ ,  $-PO_3^{2-}(M^+)_2$ ,  $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$ ,  $-P(O)(OR^{70})_2$ ,  $-C(O)R^{70}$ ,  $-C(S)R^{70}$ ,  $-C(NR^{70})R^{70}$ ,  $-CO_2^+M^+$ ,  $-CO_2R^{70}$ ,  $-C(S)OR^{70}$ ,  $-C(O)NR^{80}R^{80}$ ,  $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ,  $-OC(O)R^{70}$ ,  $-OC(S)R^{70}$ ,  $-OCO_2^+M^+$ ,  $-OCO_2R^{70}$ ,  $-OC(S)OR^{70}$ ,  $-NR^{70}C(O)R^{70}$ ,  $-NR^{70}C(S)R^{70}$ ,  $-NR^{70}CO_2^+M^+$ ,  $-NR^{70}CO_2R^{70}$ ,  $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ ,  $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ ,  $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$  및  $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 이고, 이때  $R^{60}$ ,  $R^{70}$ ,  $R^{80}$  및  $M^+$ 는 앞서 정의된 것과 같으며, 단 치환된 알켄 또는 알킨의 경우에, 치환기는  $-O^+M^+$ ,  $-OR^{70}$ ,  $-SR^{70}$ , 또는  $-S^+M^+$ 가 아니다.

[0183] 본원에서 개별적인 용어들과 관련하여 개시된 기들에 더불어, "치환된" 헤테로알킬 및 사이클로헤테로알킬기의 질소 원자 상의 수소에 대한 치환기는, 다르게 명시되지 않는 한,  $-R^{60}$ ,  $-O^+M^+$ ,  $-OR^{70}$ ,  $-SR^{70}$ ,  $-S^+M^+$ ,  $-NR^{80}R^{80}$ , 트라이할로메틸,  $-CF_3$ ,  $-CN$ ,  $-NO$ ,  $-NO_2$ ,  $-S(O)_2R^{70}$ ,  $-S(O)_2O^+M^+$ ,  $-S(O)_2OR^{70}$ ,  $-OS(O)_2R^{70}$ ,  $-OS(O)_2O^+M^+$ ,  $-OS(O)_2OR^{70}$ ,  $-P(O)(O^+M^+)_2$ ,  $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$ ,  $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$ ,  $-C(O)R^{70}$ ,  $-C(S)R^{70}$ ,  $-C(NR^{70})R^{70}$ ,  $-C(O)OR^{70}$ ,  $-C(S)OR^{70}$ ,  $-C(O)NR^{80}R^{80}$ ,  $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ,  $-OC(O)R^{70}$ ,  $-OC(S)R^{70}$ ,  $-OC(O)OR^{70}$ ,  $-OC(S)OR^{70}$ ,  $-NR^{70}C(O)R^{70}$ ,  $-NR^{70}C(S)R^{70}$ ,  $-NR^{70}C(O)OR^{70}$ ,  $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ ,  $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ ,  $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$  및  $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 이고, 이때  $R^{60}$ ,  $R^{70}$ ,  $R^{80}$  및  $M^+$ 는 앞서 정의된 것과 같다.

[0184] 본원의 개시에 더불어, 특정 구체예에서, 치환된 기는 1, 2, 3 또는 4개의 치환기, 1, 2 또는 3개의 치환기, 1 또는 2개의 치환기 또는 1개의 치환기를 가진다.

[0185] 상기 정의된 모든 치환된 기에서, 자체에 대한 추가의 치환기를 가지는 치환기를 정의함으로써 이루어진 폴리머 (예컨대 치환된 아릴기로 자체 치환되는 치환기로서 치환된 아릴기를 가지는 치환된 아릴, 그것은 추가로 치환된 아릴기에 의해 치환되는 식임)는 본원에 포함되는 것으로 의도되지 않는다. 그런 경우에, 그런 치환의 최대 수는 3이다. 예를 들어, 본원에서 특이적으로 고려된 치환된 아릴기의 연속적인 치환은 치환된 아릴-(치환된 아릴)-치환된 아릴에 한정된다.

[0186] 다르게 표시되지 않는 한, 본원에서 분명하게 정의되지 않는 치환기의 명명법은 작용기의 말단 부분의 명칭을 정하고, 이어서 부착점을 향한 인접한 작용기의 명칭을 정함으로써 이루어진다. 예를 들어, 치환기 "아릴알킬옥시카르보닐"은 기 (아릴)-(알킬)-O-C(O)-를 나타낸다.

[0187] 하나 이상의 치환기를 가지는, 본원에 개시된 기들 중 임의의 것에 대하여, 물론, 그런 기들이 입체적으로 비현실적으로 및/또는 합성적으로 실현가능성이 없는 임의의 치환 또는 치환 패턴을 함유하지 않는다는 것이 인지된다. 또한, 대상 화합물들은 모두 이 화합물들의 치환으로부터 발생하는 입체화학 이성질체를 포함한다.

[0188] 용어 "제약학적으로 허용되는 염"은 환자, 예컨대 포유류에게 투여하는 것이 허용되는 염을 의미한다 (주어진 투약 처방에 대한 허용되는 포유류 안전성을 가지는 카운터이온을 가진 염). 그런 염은 제약학적으로 허용되는 무기 또는 유기 염기로부터 또는 제약학적으로 허용되는 무기 또는 유기 산으로부터 유래될 수 있다. "제약학적으로 허용되는 염"은 화합물의 제약학적으로 허용되는 염을 나타내고, 그 염들은 기술분야에 잘 알려져 있는 다양한 유기 및 무기 카운터이온으로부터 유래되고, 단지 예를 들면, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 암모늄,



테트라알킬암모늄, 등을 포함하고; 분자가 염기성 작용기를 함유할 때, 유기 또는 무기 산의 염, 예컨대 염산염, 브롬화수소산염, 포름산염, 타르타르산염, 베실레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말레에이트, 옥살레이트 등을 포함한다.

- [0189] 용어 "그것의 염"은 산의 일부가 양이온, 예컨대 금속 양이온 또는 유기 양이온 등에 의해 대체될 때 형성된 화합물을 의미한다. 해당하는 경우, 염은 제약학적으로 허용되는 염이지만, 이것은 환자에게 투여하기 위해 의도되지 않은 중간체 화합물의 염에 대해서는 필요하지 않다. 예를 들자면, 본 화합물의 염은 화합물이 무기 또는 유기 산에 의해 양자화되어 양이온을 형성하는 것들을 포함하고, 이때 무기 또는 유기산의 콘주게이트 염기는 염의 음이온 성분이다.
- [0190] "용매 화합물"은 용매 분자와 용질의 분자 또는 이온과의 조합에 의해 형성된 복합체를 나타낸다. 용매는 유기 화합물, 무기 화합물 또는 그 둘의 혼합물일 수 있다. 용매의 일부 예시는, 한정하는 것은 아니지만, 메탄올, *N,N*-다이메틸포름아미드, 테트라하이드로퓨란, 다이메틸설폭사이드 및 물을 포함한다. 용매가 물일 때, 형성된 용매 화합물은 수화물이다.
- [0191] "입체이성질체" 및 "입체이성질체들"은 동일한 원자 연결성을 갖지만 공간에서 상이한 원자 배열을 가지는 화합물들을 나타낸다. 입체이성질체는 시스-트랜스 이성질체, *E* 및 *Z* 이성질체, 거울상 이성질체 및 부분입체이성질체를 포함한다.
- [0192] "호변체"는 원자들의 전자 결합에서만 및/또는 양자의 위치에서만 상이한 분자의 대체 형태, 예컨대 에놀-케토 및 이민-엔아민 호변체, 또는  $\text{-N=C(H)-NH-}$  고리 원자 배열을 함유하는 헤테로아릴기, 예컨대 피라졸, 이미다졸, 벤즈이미다졸, 트리아아졸 및 테트라졸의 호변체 형태를 나타낸다. 기술분야의 숙련자는 다른 호변체 고리 원자 배열이 가능한 것을 인지할 것이다.
- [0193] 용어 "또는 그것의 염 또는 용매 화합물 또는 입체이성질체"는 염, 용매 화합물 및 입체이성질체의 모든 순열, 예컨대 본 화합물의 입체이성질체의 제약학적으로 허용되는 염의 용매 화합물을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0194] "제약학적 유효량" 및 "치료적 유효량"은 명시된 장애 또는 질환 또는 그것의 하나 이상의 증상을 치료하거나 및/또는 질환 또는 장애의 발생을 방지하기에 충분한 화합물의 양을 나타낸다. 종양발생 증식성 장애와 관련하여, 제약학적 또는 치료적 유효량은 다른 것들 중에서도, 종양이 종양의 성장 속도를 위축시키거나 감소시키기에 충분한 양을 포함한다.
- [0195] "환자"는 인간 및 비-인간 대상체, 특히 포유류 대상체를 나타낸다.
- [0196] 본원에서 사용되는 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 환자, 예컨대 포유류 (특히 인간)의 질병 또는 의학적 상태를 치료하는 또는 치료를 의미하고, (a) 대상체의 질병 또는 의학적 상태가 발생하는 것을 방지하는 것, 예컨대 예방적 치료; (b) 환자에서 질병 또는 의학적 상태를 개선하는 것, 예컨대 질병 또는 의학적 상태의 제거 또는 퇴행 유발; (c) 환자의 질병 또는 의학적 상태를, 예를 들어 질병 또는 의학적 상태의 둔화 또는 발달의 정지에 의해 억제하는 것; 또는 (d) 환자의 질병 또는 의학적 상태의 증상을 완화시키는 것을 포함한다.
- [0197] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산의 폴리머 형태를 나타내기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 구체적으로 다르게 표시되지 않는 한, "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 유전자적으로 암호화된 및 암호화되지 않은 아미노산, 화학적으로 또는 생화학적으로 변형된 또는 유도체화된 아미노산, 및 변형된 펩타이드 백본을 가지는 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 이 용어는 한정하는 것은 아니지만, 이종성 아미노산 서열을 가지는 융합 단백질, 이종성 및 동종성 리더 서열을 가지는 융합물을 포함하여 융합 단백질, 적어도 하나의 N-말단 메티오닌 잔기를 함유하는 단백질 (예컨대 재조합 박테리아 숙주 세포에서 생성을 용이하게 하기 위한 것임); 면역학적으로 태그된 단백질; 등을 포함한다.
- [0198] 용어 "아미노산 유사체", "비천연 아미노산" 등은 상호교환적으로 사용될 수 있고, 자연적으로 발생하는 단백질에서 통상적으로 발견되는 하나 이상의 아미노산 (예컨대 Ala 또는 A, Cys 또는 C, Asp 또는 D, Glu 또는 E, Phe 또는 F, Gly 또는 G, His 또는 H, Ile 또는 I, Lys 또는 K, Leu 또는 L, Met 또는 M, Asn 또는 N, Pro 또는 P, Gln 또는 Q, Arg 또는 R, Ser 또는 S, Thr 또는 T, Val 또는 V, Trp 또는 W, Tyr 또는 Y)에 대해 구조 및/또는 전체 형상에서 유사한 아미노산-유사 화합물들을 포함한다. 아미노산 유사체는 또한 변형된 측쇄 또는 백본을 가지는 천연 아미노산을 포함한다. 아미노산 유사체는 또한 자연적으로 발생하는 D-형태, 뿐만 아니라 아미노산 유사체들의 L-형태와 동일한 입체화학을 가지는 아미노산 유사체를 포함한다. 일부 경우에, 아미노산 유사체는 하나 이상의 천연 아미노산의 백본 구조, 및/또는 측쇄 구조를 공유하며, 이때 차이(들)는 분자의 하나 이상의 변형된 기이다. 그런 변형은, 한정하는 것은 아니지만, 관련된 원자 (예컨대 S)에 대한 원자의 치환,

기 (예컨대 메틸, 또는 하이드록실 등) 또는 원자 (예컨대 Cl 또는 Br, 등)의 첨가, 또는 그것들의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 아미노산 유사체는 하이드록시 산 및  $\alpha$ -아미노산, 등을 포함할 수 있다.

[0199] 용어 "아미노산 측쇄" 또는 "아미노산의 측쇄" 등은 천연 아미노산, 비천연 아미노산 및 아미노산 유사체를 포함하여, 아미노산 잔기의  $\alpha$ -탄소에 부착된 치환기를 나타내기 위해 사용될 수 있다. 아미노산 측쇄는 또한 본원에 기술된 변형된 아미노산 및/또는 콘주게이트의 맥락에서 기술된 것과 같은 아미노산 측쇄를 포함할 수 있다.

[0200] 용어 "탄수화물" 등은 단당류, 이당류, 올리고당류 및 다당류의 모노머 단위 및/또는 폴리머를 나타내기 위해 사용될 수 있다. 용어 당은 더 작은 탄수화물, 예컨대 단당, 이당을 나타내기 위해 사용될 수 있다. 용어 "탄수화물 유도체"는 관심의 탄수화물의 하나 이상의 작용기가 치환되거나 (임의의 편리한 치환기에 의해 대체됨), 변형되거나 (임의의 편리한 화학을 사용하여 다른 기로 변환됨) 또는 없는 (예컨대 제거되거나 H에 의해 대체됨) 화합물들을 포함한다. 다양한 탄수화물 및 탄수화물 유도체가 활용될 수 있고 본 화합물 및 콘주게이트에 사용하기 위해 적응될 수 있다.

[0201] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고 단클론성 항체 (전체 길이 단클론성 항체를 포함함), 다클론성 항체, 및 다중특이적 항체 (예컨대 이중특이적 항체), 인간화된 항체, 단일-사슬 항체, 키메라 항체, 항체 단편 (예컨대 Fab 단편), 등을 포함한다. 항체는 표적 항원에 결합할 수 있다 (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York). 표적 항원은 또한 에피토프로 불리는, 항체의 하나 이상의 가변 영역에 의해 형성된 상보성 결정 영역 (CDR)에 의해 인식되는 하나 이상의 결합 부위를 가질 수 있다.

[0202] 용어 "천연 항체"는 항체의 중쇄 및 경쇄가 다세포 유기체의 면역체계에 의해 만들어지고 수복되는 항체를 나타낸다. 비장, 림프절, 골수 및 형질이 천연 항체를 생성하는 조직들의 예이다. 예를 들어, 항원으로 면역화된 제 1 동물로부터 분리된 항체 생성 세포에 의해 생성된 항체는 천연 항체이다.

[0203] 용어 "인간화된 항체" 또는 "인간화된 면역글로불린"은 인간으로부터의 상응하는 위치의 아미노산으로 치환된 하나 이상의 아미노산 (예를 들어 프레임워크 영역, 불변 영역 또는 CDR)을 함유하는 비-인간 (예컨대 마우스 또는 토끼) 항체를 나타낸다. 일반적으로, 인간화된 항체는 동일한 항체의 비-인간화된 버전에 비교하여, 인간 숙주에서 감소된 면역 반응을 유발한다. 항체는 예를 들면 CDR-그래프팅 (EP 239,400; PCT 공보 WO 91/09967; 미국 특허 번호 5,225,539; 5,530,101; 및 5,585,089), 전장(veneer) 또는 재포장(resurfacing) ((EP 592,106; EP 519,596; Padlan, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498 (1991); Studnicka et al., *Protein Engineering* 7(6):805-814 (1994); Roguska. et al., *PNAS* 91:969-973 (1994)), 및 사슬 서플링 (미국 특허 번호 5,565,332)을 포함하여, 기술분야에 알려져 있는 다양한 기법들을 사용하여 인간화될 수 있다. 특정 구체예에서, 프레임워크 치환은 항원 결합 및 특정 위치에서 독특한 프레임워크 잔기를 확인하기 위한 서열 비교를 위해 중요한 프레임워크 잔기들을 확인하기 위하여 CDR과 프레임워크 잔기의 상호작용의 모델링에 의해 확인된다 (예컨대 미국 특허 번호 5,585,089; Riechmann et al., *Nature* 332:323 (1988) 참조). 본 발명에 사용하기 위해 고려된 항체를 인간화하기 위한 추가의 방법들은 미국 특허 번호 5,750,078; 5,502,167; 5,705,154; 5,770,403; 5,698,417; 5,693,493; 5,558,864; 4,935,496; 및 4,816,567, 및 PCT 공보 WO 98/45331 및 WO 98/45332에 기술되어 있다. 특정 구체예에서, 본 토끼 항체는 US20040086979 및 US20050033031에 표시된 방법에 따라 인간화될 수 있다. 따라서, 상기 기술된 항체들은 기술분야에 잘 알려져 있는 방법들을 사용하여 인간화될 수 있다.

[0204] 용어 "키메라 항체"는 경쇄 및 중쇄 유전자들이 전형적으로 유전자 엔지니어링에 의해, 상이한 종에 속하는 항체 가변 및 불변 영역 유전자들로부터 구성된 항체를 나타낸다. 예를 들어, 마우스 단클론성 항체로부터의 유전자들의 가변 분절은 인간 불변 분절, 예컨대 감마 1 및 감마 3에 연결될 수 있다. 치료용 키메라 항체의 예는 마우스 항체로부터의 가변 또는 항원-결합 도메인과 인간 항체로부터의 불변 또는 이펙터 도메인으로 구성된 하 이브리드 단백질이지만, 다른 포유류 종으로부터의 도메인들도 사용될 수 있다.

[0205] 면역글로불린 폴리펩타이드 면역글로불린 경쇄 또는 중쇄 가변 영역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로도 언급되는 3개의 초가변 영역이 사이에 끼어 있는 프레임워크 영역 (FR)으로 구성된다. 프레임워크 영역 및 CDR의 정도는 정의되어 있다 ("Sequences of Proteins of Immunological Interest", E. Kabat et al., U.S. Department of Health and Human Services, 1991 참조). 구성하는 경쇄 및 중쇄의 조합된 프레임워크 영역인, 항체의 프레임워크 영역은 CDR의 위치를 정하고 배열시키는 작용을 한다. CDR은 주로 항원의 에피토프에 대한 결합에 기여한다.

- [0206] 본 개시 전체를 통해서, 면역글로불린 중쇄 및 면역글로불린 경쇄에서 잔기들의 넘버링은 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) (참조로 본원에 포함됨)에서와 같다.
- [0207] "모 (parent) Ig 폴리펩타이드"는 본원에 기술된 것과 같은 알데하이드-태그 불변 영역이 결핍된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이다. 모 폴리펩타이드는 천연 서열 불변 영역을 포함할 수 있거나, 또는 기존의 아미노산 서열 변형 (예컨대 첨가, 결실 및/또는 치환)을 가진 불변 영역을 포함할 수 있다.
- [0208] Ig 폴리펩타이드의 맥락에서, 용어 "불변 영역"은 기술분야에서 잘 인지되고, Ig 중쇄 또는 Ig 경쇄의 C-말단 영역을 나타낸다. Ig 중쇄 불변 영역은 CH1, CH2, 및 CH3 도메인 (및 CH4 도메인, 여기서 중쇄는  $\mu$  또는  $\epsilon$  중쇄임)을 포함한다. 천연 Ig 중쇄에서, CH1, CH2, CH3 (및 존재한다면 CH4) 도메인은 중쇄 가변 (VH) 영역 바로 뒤에서 (C-말단쪽임) 시작하고, 각각 길이가 약 100 아미노산 내지 약 130 아미노산이다. 천연 Ig 경쇄에서, 불변 영역은 경쇄 가변 (VL) 영역 바로 뒤에서 (C-말단쪽임) 시작하고, 길이가 약 100 아미노산 내지 120 아미노산이다.
- [0209] 본원에서 사용되는 것과 같이, 용어 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역"은 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 둘 다의 가변 영역 내에서 발견된 비-연속성 항원 조합 부위를 의미하는 것으로 의도된다. CDR은 Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of immunological interest" (1991); Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); ALC MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)에 의해 기술되었고, 상기 문헌들에서 정의는 서로 비교할 때 아미노산 잔기들의 중복 또는 하위세트를 포함한다. 그럼에도 불구하고, 항체 또는 그라프트된 항체 또는 그것의 변종의 CDR을 언급하기 위한 어느 하나의 정의의 적용은 본원에서 정의되고 사용된 용어의 범주 내에 있는 것으로 의도된다. 상기 인용된 참고문헌의 각각에 의해 정의된 CDR을 포함하는 아미노산 잔기들이 비교로서 하기 표 1에 제시된다.

**표 1**

- [0210] CDR 정의

	<b>Kabat</b> <sup>1</sup>	<b>Chothia</b> <sup>2</sup>	<b>MacCallum</b> <sup>3</sup>
V <sub>H</sub> CDR1	31-35	26-32	30-35
V <sub>H</sub> CDR2	50-65	53-55	47-58
V <sub>H</sub> CDR3	95-102	96-101	93-101
V <sub>L</sub> CDR1	24-34	26-32	30-36
V <sub>L</sub> CDR2	50-56	50-52	46-55
V <sub>L</sub> CDR3	89-97	91-96	89-96

- [0211] <sup>1</sup> 잔기 넘버링은 Kabat et al. (상기 동일)의 명명법을 따른다.

- [0212] <sup>2</sup> 잔기 넘버링은 Chothia et al. (상기 동일)의 명명법을 따른다.

- [0213] <sup>3</sup> 잔기 넘버링은 MacCallum et al. (상기 동일)의 명명법을 따른다.

- [0214] 폴리펩타이드, 펩타이드 또는 단백질의 아미노산 서열과 관련하여 사용된 "유전자적으로 암호화될 수 있는"은 아미노산 서열이 그 아미노산 서열을 암호화하는 핵산의 전사 및 번역에 의해 생성될 수 있는 아미노산 잔기들로 구성되는 것을 의미하고, 여기서 전사 및/또는 번역은 세포에서 또는 시험관내 전사/번역 시스템에서 세포 없이 일어날 수 있다.

- [0215] 용어 "대조표준 서열"은 특정 발현 시스템, 예컨대 포유류 세포, 박테리아 세포, 세포-유리 합성 등에서 작동 가능하게 연결된 코딩 서열의 발현을 용이하게 하는 DNA 서열을 나타낸다. 원핵세포 시스템에 적합한 대조표준 서열은, 예를 들면, 프로모터, 선택적으로 오퍼레이터 서열 및 리보솜 결합 부위를 포함한다. 진핵세포 시스템은 프로모터, 폴리아데닐화 신호 및 인헨서를 이용할 수 있다.

- [0216] 핵산은 그것이 다른 핵산 서열과 기능적 관계에 있을 때 "작동 가능하게 연결"된다. 예를 들어, 전서열 또는 분



비 신호에 대한 DNA는 그것이 폴리펩타이드의 분비에 참여하는 전단백질로서 발현된다면 폴리펩타이드에 대한 DNA에 작동 가능하게 연결된 것이고; 프로모터 또는 인핸서는 서열의 전사에 영향을 미친다면 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 것이며; 또는 리보솜 결합 부위는 그것이 번역의 개시를 용이하게 하기 위해 배치된다면 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 것이다. 일반적으로, "작동 가능하게 연결된"은 연결되는 DNA 서열이 연속적이고, 분비 리더의 경우에, 연속적이고 리딩 프레임에 있는 것을 의미한다. 연결은 결합에 의해 또는 증폭 반응을 통해 이루어진다. 합성 올리고뉴클레오타이드 어댑터 또는 링커는 종래의 실시예에 따라 서열들을 연결시키기 위해 사용될 수 있다.

[0217] 본원에서 사용되는 용어 "발현 카세트"는 핵산에 삽입될 수 있는 (예컨대 관심의 구성물로의 결합과 부합하는 제한 부위의 사용에 의해 또는 관심의 구성물로의 또는 숙주 세포 계놈으로의 상동 재조합에 의해) 핵산, 보통 DNA의 분절을 나타낸다. 일반적으로, 핵산 분절은 관심의 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 카세트 및 제한 부위는 전사 및 번역을 위한 적절한 리딩 프레임에 카세트의 삽입을 용이하게 하기 위해 디자인된다. 발현 카세트는 또한 숙주 세포에서 관심의 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 발현을 용이하게 하는 요소들을 포함할 수 있다. 이 요소들은, 한정하는 것은 아니지만, 프로모터, 최소 프로모터, 인핸서, 응답 요소, 터미네이터 서열, 폴리아데닐화 서열, 등을 포함할 수 있다.

[0218] 본원에서 사용되는 용어 "분리된"은 화합물이 자연적으로 발생하는 환경과 상이한 환경에 있는 관심의 화합물을 묘사하는 것을 의미한다. "분리된"은 실질적으로 관심의 화합물에 대해 풍부해진 및/또는 관심의 화합물이 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 샘플 내에 있는 화합물들을 포함하는 것을 의미한다.

[0219] 본원에서 사용되는 용어 "실질적으로 정제된"은 그것의 천연 환경으로부터 제거되고 자연적으로 회합하는 다른 성분들이 적어도 60% 없는, 적어도 75% 없는, 적어도 80% 없는, 적어도 85% 없는, 적어도 90% 없는, 적어도 95% 없는, 적어도 98% 없는, 또는 98% 이상 없는 화합물을 나타낸다.

[0220] 용어 "생리적 조건"은 살아있는 세포와 부합하는 조건, 예컨대 살아있는 세포와 부합하는 온도, pH, 염도 등의 지배적으로 수성 조건을 포함하는 것을 의미한다.

[0221] "반응 파트너"는 반응 생성물을 생성하기 위해 다른 반응 파트너와 특이적으로 반응하는 분자 또는 분자 모이어티를 의미한다. 예시적인 반응 파트너로는 설파타제 모티프 및 포르밀글리신 생성 효소 (FGE)의 시스템인 또는 세린을 포함하는데, 그것들은 모티프의 시스템인 또는 세린 대신 포르밀글리신 (FGly)을 함유하는 변환된 알데하이드 태그의 반응 생성물을 형성하기 위해 반응한다. 다른 예시적인 반응 파트너는 변환된 알데하이드 태그의 fGly 잔기의 알데하이드 (예컨대 반응성 알데하이드기) 및 "알데하이드-반응성 반응 파트너"를 포함하는데, 그것은 알데하이드-반응성 기와 관심의 모이어티를 포함하며, 변형된 fGly 잔기를 통해 변형된 폴리펩타이드에 대해 공유결합된 관심의 모이어티를 가지는 변형된 알데하이드 태그된 폴리펩타이드의 반응 생성물을 형성하기 위하여 반응한다.

[0222] "N-말단"은 유리 아민기를 가지는 폴리펩타이드의 말단 아미노산 잔기를 나타내고, 비-N-말단 아미노산 잔기의 아민기는 보통 폴리펩타이드의 공유 백본의 부분을 형성한다.

[0223] "C-말단"은 유리 카르복실기를 가지는 폴리펩타이드의 말단 아미노산 잔기를 나타내고, 비-C-말단 아미노산 잔기의 카르복실기는 보통 폴리펩타이드의 공유 백본의 부분을 형성한다.

[0224] 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드의 아미노산 서열과 관련하여 사용되는 "내부 부위"는 N-말단 또는 C-말단에 있지 않은 폴리펩타이드의 영역을 의미한다.

[0225] 본 발명을 추가로 기술하기 전에, 본 발명은 기술된 특정 구체예들에 제한되지 않는 것이 인지되어야 하는데, 그것들은 당연히 달라질 수 있기 때문이다. 또한 본원에 사용되는 용어는 단지 특정 구체예들을 기술할 목적에 대한 것이고, 본 발명의 범주는 오직 첨부된 청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문에, 제한하려는 의도가 아니라는 것이 인지되어야 한다.

[0226] 값의 범위가 제공되는 경우, 각각의 개재된 값은, 그 범위 및 임의의 다른 표시된 또는 그 표시된 범위의 개재된 값의 상한선과 하한선 사이에서, 맥락이 분명하게 다르게 표시하지 않는 한 하한선의 단위의 1/10까지, 발명에 다 포함되는 것이 인지된다. 이 더 작은 범위들의 상한선 및 하한선은 독립적으로 더 작은 범위들에 포함될 수 있고, 또한 발명 내에 다 포함되며, 표시된 범위의 임의의 특정하게 배제된 한계의 영향을 받는다. 표시된 범위가 한계들 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 경우에, 그 포함된 한계들 중 어느 하나 또는 둘 다를 배제하는 범위 또한 발명에 포함된다.

- [0227] 명료성을 위해, 별도의 구체예의 맥락에서 기술된 발명의 특정 특징들은 또한 단일 구체예에서 조합되어 제공될 수 있다는 것이 인지된다. 역으로, 간단함을 위해, 단일 구체예의 맥락에서 기술된 발명의 다양한 특징들은 또한 별도로 또는 임의의 적합한 하위-조합으로 제공될 수 있다. 발명에 속하는 구체예들의 모든 조합은 구체적으로 본 발명에 의해 포함되고, 마치 각각의 및 모든 조합이 그런 조합들이 예를 들어 안정한 화합물 (즉 제조되고, 분리되고, 특성화되고, 생물학적 활성에 대해 테스트될 수 있는 화합물)인 화합물인 대상물을 포함하는 정도로, 개별적으로 및 명백하게 개시된 것처럼 본원에 개시된다. 또한, 다양한 구체예 및 그것들의 요소 (예컨대 그런 변수들을 기술하는 구체예들에서 열거된 화학적 기들의 요소들)의 모든 하위-조합 또한 본 발명에 의해 구체적으로 포함되며, 마치 각각의 및 모든 그런 하위-조합들이 개별적으로 및 명백하게 본원에 개시된 것처럼 본원에 개시된다.
- [0228] 다르게 명시되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명에 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 통상적으로 인지되는 것과 같은 의미를 가진다. 비록 본원에 기술된 것과 유사한 또는 동등한 임의의 방법 및 물질들이 또한 본 발명의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질이 이제 기술된다. 본원에서 언급된 모든 간행물은 그 간행물들이 인용되는 것과 관련된 방법 및/또는 물질을 개시하고 기술하기 위해 참조로 본원에 포함된다.
- [0229] 본원에서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 것과 같이, 단일한 형태를 나타내는 용어들은 맥락이 분명하게 다른 것을 가리키지 않는 한 복수의 대상물을 포함하는 것이 주지되어야 한다. 추가로 청구범위는 임의의 선택적 요소를 배제하는 것으로 작성될 수 있다는 것이 주지된다. 그와 같이, 이런 진술은 청구범위 요소의 설명과 관련하여 "단지", "단독으로" 등과 같은 배타적 용어의 사용, 또는 "네거티브" 한계의 사용에 대한 선행적 기준으로서 작용하도록 의도된다.
- [0230] 명료성을 위해, 별도의 구체예의 맥락에서 기술된 발명의 특정 특징들은 또한 단일 구체예에서 조합되어 제공될 수 있다는 것이 인지된다. 역으로, 간단함을 위해, 단일 구체예의 맥락에서 기술된 발명의 다양한 특징들은 또한 별도로 또는 임의의 적합한 하위-조합으로 제공될 수 있다.
- [0231] 본원에서 논의된 간행물들은 단지 본 출원의 출원일 이전에 개시된 것에 대해서만 제공된다. 여기서 본 발명이 선행 발명에 의해 그런 간행물에 앞선 것으로 자격을 가지는 것으로 인정되는 것으로 해석될만한 것은 없다. 추가로, 제공된 간행물의 날짜들은 독립적으로 확인될 필요가 있을 수 있는 실제 간행 날짜와 다를 수 있다.
- [0232] **상세한 설명**
- [0233] 본 개시는 항-CD22 항체-메이탄신 콘쥬게이트 구조를 제공한다. 본 개시는 또한 그런 콘쥬게이트의 제조 방법, 뿐만 아니라 그것의 사용 방법을 다 포함한다. 각각의 구체예들은 하기 단락들에서 보다 상세하게 기술된다.
- [0234] **항체-약물 콘쥬게이트**
- [0235] 본 개시는 콘쥬게이트, 예컨대 항체-약물 콘쥬게이트를 제공한다. "콘쥬게이트"는 제1 모이어티 (예컨대 항체)가 제2 모이어티 (예컨대 약물)와 안정하게 회합되어 있는 것을 의미한다. 예를 들어, 메이탄신 콘쥬게이트는 또 다른 모이어티 (예컨대 항체)와 안정하게 회합된 메이탄신 (예컨대 메이탄신 활성 제제 모이어티)을 포함한다. "안정하게 회합된"은 모이어티가 또 다른 모이어티 또는 구조에 표준 조건하에서 결합된 것을 의미한다. 특정 구체예에서, 제1 및 제2 모이어티는 서로에 하나 이상의 공유 결합을 통해 결합된다.
- [0236] 특정 구체예에서, 콘쥬게이트는 폴리펩타이드 콘쥬게이트이고, 그것은 제2 모이어티에 콘쥬게이트된 폴리펩타이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 폴리펩타이드에 콘쥬게이트된 모이어티는 관심의 다양한 모이어티들, 예컨대 한정하는 것은 아니지만, 검출 가능한 표지, 약물, 수용성 폴리머, 또는 막 또는 표면에 폴리펩타이드를 고정시키기 위한 모이어티 중 임의의 것일 수 있다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트는 메이탄신 콘쥬게이트이고, 여기서 폴리펩타이드는 메이탄신 또는 메이탄신 활성 제제 모이어티에 콘쥬게이트된다. "메이탄신", "메이탄신 모이어티", "메이탄신 활성 제제 모이어티" 및 "메이탄신노이드"는 메이탄신 및 그것의 유사체 및 유도체, 및 그것의 제약학적으로 활성인 메이탄신 모이어티 및/또는 부분을 나타낸다. 폴리펩타이드에 콘쥬게이트된 메이탄신은, 한정하는 것은 아니지만 본원에서 기술된 메이탄신 및 그것의 유사체 및 유도체와 같은 다양한 메이탄신노이드 모이어티 중 임의의 것일 수 있다.
- [0237] 관심의 모이어티는 폴리펩타이드의 임의의 원하는 부위에서 폴리펩타이드에 콘쥬게이트될 수 있다. 그러므로, 본 개시는 예를 들어, 폴리펩타이드의 C-말단에서 또는 C-말단 가까이에서 콘쥬게이트된 모이어티를 가지는 변형된 폴리펩타이드를 제공한다. 다른 예시는 폴리펩타이드의 N-말단에서 또는 N-말단 가까운 위치에서 콘쥬게이트

트된 모이어티를 가지는 변형된 폴리펩타이드를 포함한다. 예시는 또한 폴리펩타이드의 C-말단과 N-말단 사이의 위치에서 (예컨대 폴리펩타이드의 내부 부위에서) 콘쥬게이트된 모이어티를 가지는 변형된 폴리펩타이드를 포함한다. 상기의 조합은 또한 변형된 폴리펩타이드가 둘 이상의 모이어티에 콘쥬게이트되어 있는 경우에도 가능하다.

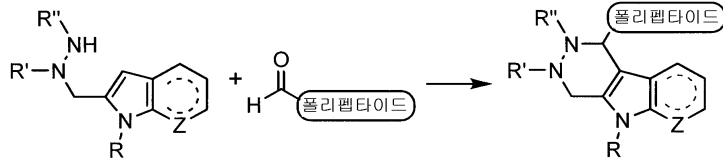
[0238] 특정 구체예에서, 본 개시의 콘쥬게이트는 아미노산 잔기의  $\alpha$ -탄소에서 폴리펩타이드의 아미노산 잔기에 콘쥬게이트된 메이탄신을 포함한다. 표시된 또 다른 방식으로, 메이탄신 콘쥬게이트는 폴리펩타이드의 하나 이상의 아미노산 잔기의 측쇄가 메이탄신에 부착되도록 변형되어 있는 (예컨대 본원에서 기술된 것과 같이 링커를 통해 메이탄신에 부착된) 폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들어, 메이탄신 콘쥬게이트는 폴리펩타이드의 하나 이상의 아미노산 잔기의  $\alpha$ -탄소가 메이탄신에 부착되도록 변형되어 있는 (예컨대 본원에서 기술된 것과 같이 링커를 통해 메이탄신에 부착된) 폴리펩타이드를 포함한다.

[0239] 본 개시의 구체예들은 폴리펩타이드가 하나 이상의 모이어티, 예컨대 2개의 모이어티, 3개의 모이어티, 4개의 모이어티, 5개의 모이어티, 6개의 모이어티, 7개의 모이어티, 8개의 모이어티, 9개의 모이어티 또는 10개의 모이어티에 콘쥬게이트된 콘쥬게이트를 포함한다. 모이어티들은 폴리펩타이드의 하나 이상의 부위에서 폴리펩타이드에 콘쥬게이트될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 모이어티는 폴리펩타이드의 단일 아미노산 잔기에 콘쥬게이트될 수 있다. 일부 경우에, 하나의 모이어티가 폴리펩타이드의 아미노산 잔기에 콘쥬게이트된다. 다른 구체예에서, 2개의 모이어티가 폴리펩타이드의 동일한 아미노산 잔기에 콘쥬게이트될 수 있다. 다른 구체예에서, 제 1 모이어티는 폴리펩타이드의 제1 아미노산 잔기에 콘쥬게이트되고 제2 모이어티는 폴리펩타이드의 제2 아미노산 잔기에 콘쥬게이트된다. 상기의 조합들 또한 가능하며, 예를 들어 폴리펩타이드는 제1 아미노산 잔기에서 제 1 모이어티에 콘쥬게이트되고 제2 아미노산 잔기에서 2개의 다른 모이어티에 콘쥬게이트된다. 다른 조합들도 가능하며, 예컨대 한정하는 것은 아니지만, 제1 아미노산 잔기에서 제1 및 제2 모이어티에 콘쥬게이트되고 제2 아미노산 잔기에서 제3 및 제4 모이어티에 콘쥬게이트된 폴리펩타이드 등이 가능하다.

[0240] 하나 이상의 모이어티에 콘쥬게이트된 폴리펩타이드의 하나 이상의 아미노산 잔기는 자연적으로 발생하는 아미노산, 비천연 아미노산 또는 그것들의 조합일 수 있다. 예를 들어, 콘쥬게이트는 폴리펩타이드의 자연적으로 발생하는 아미노산 잔기에 콘쥬게이트된 모이어티를 포함할 수 있다. 다른 경우에, 콘쥬게이트는 폴리펩타이드의 비천연 아미노산 잔기에 콘쥬게이트된 모이어티를 포함할 수 있다. 하나 이상의 모이어티는 상기 기술한 것과 같이 단일 천연 또는 비천연 아미노산 잔기에서 폴리펩타이드에 콘쥬게이트될 수 있다. 폴리펩타이드의 하나 이상의 천연 또는 비천연 아미노산 잔기는 본원에서 기술된 것과 같이 모이어티 또는 모이어티들에 콘쥬게이트될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 2개 (또는 그 이상)의 아미노산 잔기 (예컨대 천연 또는 비천연 아미노산 잔기)는 각각 하나 이상의 모이어티에 콘쥬게이트될 수 있어서, 폴리펩타이드의 다중 부위가 변형된다.

[0241] 본원에서 기술된 것과 같이, 폴리펩타이드는 하나 이상의 모이어티에 콘쥬게이트될 수 있다. 특정 구체예에서, 관심의 모이어티는 화학적 실체(entity), 예컨대 약물 또는 검출 가능한 표지이다. 예를 들어, 약물 (예컨대 메이탄신)은 폴리펩타이드에 콘쥬게이트될 수 있거나, 또는 다른 구체예에서, 검출 가능한 표지가 폴리펩타이드에 콘쥬게이트될 수 있다. 그러므로, 예를 들어, 본 개시의 구체예들은, 한정하는 것은 아니지만, 다음을 포함한다: 폴리펩타이드와 약물의 콘쥬게이트; 폴리펩타이드와 검출 가능한 표지의 콘쥬게이트; 둘 이상의 약물과 폴리펩타이드의 콘쥬게이트; 둘 이상의 검출 가능한 표지와 폴리펩타이드의 콘쥬게이트; 등.

[0242] 특정 구체예에서, 폴리펩타이드와 관심의 모이어티는 커플링 모이어티를 통해 콘쥬게이트된다. 예를 들어, 폴리펩타이드와 관심의 모이어티는 커플링 모이어티에 결합될 수 있고 (예컨대 공유 결합), 그로써 폴리펩타이드와 관심의 모이어티 (예컨대 약물, 예컨대 메이탄신)가 커플링 모이어티를 통해 함께 간접적으로 결합한다. 일부 경우에, 커플링 모이어티는 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 화합물, 또는 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 화합물의 유도체를 포함한다. 예를 들어, 관심의 모이어티 (예컨대 메이탄신)를 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 통해 폴리펩타이드에 커플링하기 위한 일반적인 계획은 하기 일반적 반응 계획에서 제시된다. 하이드라지닐-인돌릴 및 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티는 또한 본원에서 각각 하이드라지노-아/소-피펫-슈켈글러 (HIPS) 커플링 모이어티 및 아자-하이드라지노-아/소-피펫-슈켈글러 (azaHIPS) 커플링 모이어티로도 언급된다.



[0243]

[0244]

상기 반응 계획에서, R은 폴리펩타이드에 콘쥬게이트된 관심의 모이어티 (예컨대 메이탄신)이다. 상기 반응 계획에서 나타난 것과 같이, 2-포르밀글리신 잔기 (FGly)를 포함하는 폴리펩타이드는 커플링 모이어티 (예컨대 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티)를 포함하도록 변형되어 있는 약물 (예컨대 메이탄신)과 반응하여 커플링 모이어티에 부착된 폴리펩타이드 콘쥬게이트를 생성하고, 그로써 커플링 모이어티를 통해 폴리펩타이드에 메이탄신을 부착시킨다.

[0245]

본원에서 기술된 것과 같이, 모이어티는, 한정하는 것은 아니지만, 화학적 실체, 예컨대 검출 가능한 표지 또는 약물 (예컨대 메이탄신노이드)과 같은 다양한 모이어티 중 임의의 것일 수 있다. R' 및 R"는 각각 독립적으로 임의의 바람직한 치환기, 예컨대 한정하는 것은 아니지만, 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로 사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴일 수 있다. Z는 CR<sup>11</sup>, NR<sup>12</sup>, N, O 또는 S일 수 있고, 여기서 R<sup>11</sup> 및 R<sup>12</sup>는 각각 독립적으로 상기 R' 및 R"에 대해 기술된 치환기들 중 임의의 것으로부터 선택된다.

[0246]

다른 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티도 또한, 본원에서 기술된 콘쥬게이트 및 화합물에서 나타난 것과 같이 가능하다. 예를 들어, 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티는 링커에 부착되도록 (예컨대 공유 부착되도록) 변형될 수 있다. 그와 같이, 본 개시의 구체예들은 링커를 통해 약물 (예컨대 메이탄신)에 부착된 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 포함한다. 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 약물 (예컨대 메이탄신)에 커플링시킬 수 있는 링커의 다양한 구체예들이 본원에서 상세하게 기술된다.

[0247]

특정 구체예에서, 폴리펩타이드는 관심의 모이어티에 콘쥬게이트될 수 있고, 여기서 폴리펩타이드는 관심의 모이어티에 콘쥬게이션되기 전에 변형된다. 폴리펩타이드의 변형은 관심의 모이어티에 콘쥬게이션되기 전에 적합한 하나 이상의 반응기를 함유하는 변형된 폴리펩타이드를 생성할 수 있다. 일부 경우에, 폴리펩타이드는 관심의 모이어티 (예컨대 상기 기술된 것과 같이 커플링 모이어티, 예컨대 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 포함하는 모이어티)에의 콘쥬게이션에 적합한 하나 이상의 반응기를 제공하기 위해 하나 이상의 아미노산 잔기에서 변형될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드는 반응성 알데하이드기 (예컨대 반응성 알데하이드)를 포함하기 위해 변형될 수 있다. 반응성 알데하이드는 본원에서 사용되는 것과 같이 2-포르밀글리신 잔기 (본원에서 "FGly"로 언급됨)를 함유하기 위해 포르밀글리신 생성 효소 (FGE)의 작용에 의해 변환된 설파타제 모티프 (예컨대 L(C/S)TPSR)로부터 유래된 아미노산 서열을 나타내는, "알데하이드 태그" 또는 "ald-태그"에 포함될 수 있다. FGE에 의해 생성된 FGly 잔기는 또한 "포르밀글리신"으로서 언급될 수 있다. 다르게 진술하면, 용어 "알데하이드 태그"가 "변환된" 설파타제 모티프 (즉 시스테인 또는 세린 잔기가 FGE의 작용에 의해 FGly로 변환되어 있는 설파타제 모티프, 예컨대 L(FGly)TPSR)를 포함하는 아미노산 서열을 나타내기 위해 본원에서 사용된다. 변환된 설파타제 모티프는 "미변환" 설파타제 모티프 (즉 시스테인 또는 세린 잔기가 FGE에 의해 FGly로 변환되지 않았지만, 변환될 수 있는 설파타제 모티프, 예컨대 서열: L(C/S)TPSR을 가지는 미변환 설파타제 모티프)를 포함하는 아미노산 서열로부터 유래될 수 있다. 설파타제 모티프 상의 포르밀글리신 생성 효소 (FGE)의 작용의 맥락에서 사용되는 바 "변환"은 설파타제 모티프의 시스테인 또는 세린 잔기의 포르밀글리신 (FGly) 잔기로의 생화학적 변형 (예컨대 Cys의 FGly로의 변형, 또는 Ser의 FGly로의 변형)을 나타낸다. 알데하이드 태그 및 부위-특이적 단백질 변형에서 그것의 사용의 추가의 측면은 미국 특허 번호 7,985,783 및 미국 특허 번호 8,729,232에서 기술되고, 상기 각 문헌의 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0248]

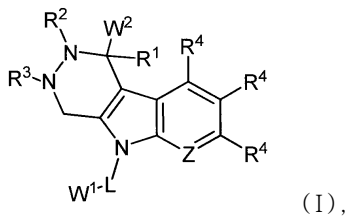
일부 경우에, FGly 잔기를 함유하는 변형된 폴리펩타이드는 FGly와 화합물 (예컨대 상기에서 기술된 것과 같이 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 함유하는 화합물)의 반응에 의해 관심의 모이어티에 콘쥬게이트될 수 있다. 예를 들어, FGly-함유 폴리펩타이드는 약물의 폴리펩타이드에의 콘쥬게이션을 제공하기에 적합한 조건하에서 반응성 파트너-함유 약물과 접촉될 수 있다. 일부 경우에, 반응성 파트너-함유 약물은 상기 기술된 것과 같은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어



티를 포함할 수 있다. 예를 들어, 메이탄신은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 포함하도록 변형될 수 있다. 일부 경우에, 메이탄신은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착된다, 예컨대 본원에서 상세하게 기술되는 것과 같이, 링커를 통해 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 공유 부착될 수 있다.

[0249] 특정 구체예에서, 본 개시의 콘쥬게이트는 적어도 하나의 변형된 아미노산 잔기를 가지는 폴리펩타이드 (예컨대 항체, 예컨대 항-CD22 항체)를 포함한다. 폴리펩타이드의 변형된 아미노산 잔기는 상기 기술된 것과 같은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 함유하는 약물 (예컨대 메이탄신)에 커플링될 수 있다. 특정 구체예에서, 폴리펩타이드 (예컨대 항-CD22 항체)의 변형된 아미노산 잔기는 상기 기술된 것과 같이 FGly 잔기로 변환된 시스테인 또는 세린 잔기로부터 유래될 수 있다. 특정 구체예에서, FGly 잔기는 본 개시의 콘쥬게이트를 제공하기 위해 상기 기술된 것과 같은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 함유하는 약물에 콘쥬게이트되고 이때 약물은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 통해 폴리펩타이드에 콘쥬게이트된다. 본원에서 사용되는 용어 FGly'는 관심의 모이어티 (예컨대 약물, 예컨대 메이탄시노이드)에 커플링된 폴리펩타이드 (예컨대 항-CD22 항체)의 변형된 아미노산 잔기를 나타낸다.

[0250] 특정 구체예에서, 콘쥬게이트는 본원에서 기술되는 식 (I)의 적어도 하나의 변형된 아미노산 잔기를 포함한다. 예를 들어, 콘쥬게이트는 식 (I)의 측쇄를 가지는 적어도 하나의 변형된 아미노산 잔기를 포함할 수 있다:



[0251] 식에서,  
[0252]

[0253] Z는 CR<sup>4</sup> 또는 N이고;

[0254] R<sup>1</sup>은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택되며;

[0255] R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설폰, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택되거나, 또는 R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 선택적으로 5 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하기 위하여 고리상으로 연결되며;

[0256] 각각의 R<sup>4</sup>는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설폰, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택되고;

[0257] L은 -(T<sup>1</sup>-V<sup>1</sup>)<sub>a</sub>-(T<sup>2</sup>-V<sup>2</sup>)<sub>b</sub>-(T<sup>3</sup>-V<sup>3</sup>)<sub>c</sub>-(T<sup>4</sup>-V<sup>4</sup>)<sub>d</sub>-를 포함하는 링커이며, 여기서 a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 이때 a, b, c 및 d의 합은 1 내지 4이며;

[0258] T<sup>1</sup>, T<sup>2</sup>, T<sup>3</sup> 및 T<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, 치환된 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬, (EDA)<sub>w</sub>, (PEG)<sub>n</sub>, (AA)<sub>p</sub>, -(CR<sup>13</sup>OH)<sub>h</sub>-, 피페리딘-4-아미노 (4AP), 아세탈기, 하이드라진, 다이설파이드, 및 에스테르로부터 선택되고, 여기서 EDA는 에틸렌 다이아민 모이어티이며, PEG는 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜이고, 및 AA는 아미노산 잔기이며, 여기서 w는 1 내지 20의 정수이고, n은 1 내지 30의 정수이며, p는 1 내지 20의 정수이고, h는 1 내지

12의 정수이며;

[0259]  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 각각 독립적으로 공유 결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로 구성되는 군으로부터 선택되고, 여기서  $q$ 는 1 내지 6의 정수이며;

[0260] 각각의  $R^{13}$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 및 치환된 아릴로부터 선택되고;

[0261] 각각의  $R^{15}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택되며;

[0262]  $W^1$ 은 메이탄시노이드이고; 및

[0263]  $W^2$ 는 항-CD22 항체이다.

[0264] 특정 구체예에서,  $Z$ 는  $CR^4$  또는  $N$ 이다. 특정 구체예에서,  $Z$ 는  $CR^4$ 이다. 특정 구체예에서,  $Z$ 는  $N$ 이다.

[0265] 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택된다. 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 수소이다. 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-4}$  알킬 또는  $C_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬 또는  $C_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알케닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-4}$  알케닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-3}$  알케닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 알키닐 또는 치환된 알키닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알키닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알키닐, 또는  $C_{2-4}$  알키닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알키닐, 또는  $C_{2-3}$  알키닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알키닐이다. 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$  치환된 아릴, 또는  $C_6$  아릴 또는  $C_6$  치환된 아릴이다. 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_5$  헤테로아릴 또는  $C_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $C_6$  헤테로아릴 또는  $C_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 사이클로알킬 또는 치환된 사이클로알킬, 예컨대  $C_{3-8}$  사이클로알킬 또는  $C_{3-8}$  치환된 사이클로알킬, 예컨대  $C_{3-6}$  사이클로알킬 또는  $C_{3-6}$  치환된 사이클로알킬, 또는  $C_{3-5}$  사이클로알킬 또는  $C_{3-5}$  치환된 사이클로알킬이다. 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴, 예컨대  $C_{3-8}$  헤테로사이클릴 또는  $C_{3-8}$  치환된 헤테로사이클릴, 예컨대  $C_{3-6}$  헤테로사이클릴 또는  $C_{3-6}$  치환된 헤테로사이클릴, 또는  $C_{3-5}$  헤테로사이클릴 또는  $C_{3-5}$  치환된 헤테로사이클릴이다.

[0266] 특정 구체예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 은 각각 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택되거나, 또는  $R^2$  및  $R^3$ 은 선택적으로 5 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하기 위해 고리상으로 연결된다.

[0267] 특정 구체예에서,  $R^2$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴,

치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택된다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 수소이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-4}$  알킬 또는  $C_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬 또는  $C_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알케닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-4}$  알케닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-3}$  알케닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 알킬닐 또는 치환된 알킬닐이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 설폰일이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$  치환된 아릴, 또는  $C_6$  아릴 또는  $C_6$  치환된 아릴이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_5$  헤테로아릴 또는  $C_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $C_6$  헤테로아릴 또는  $C_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 사이클로알킬 또는 치환된 사이클로알킬, 예컨대  $C_{3-8}$  사이클로알킬 또는  $C_{3-8}$  치환된 사이클로알킬, 예컨대  $C_{3-6}$  사이클로알킬 또는  $C_{3-6}$  치환된 사이클로알킬, 또는  $C_{3-5}$  사이클로알킬 또는  $C_{3-5}$  치환된 사이클로알킬이다. 특정 구체예에서,  $R^2$ 는 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴, 예컨대  $C_{3-6}$  헤테로사이클릴 또는  $C_{3-6}$  치환된 헤테로사이클릴, 또는  $C_{3-5}$  헤테로사이클릴 또는  $C_{3-5}$  치환된 헤테로사이클릴이다.

[0268]

특정 구체예에서,  $R^3$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택된다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 수소이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-4}$  알킬 또는  $C_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬 또는  $C_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $C_{2-6}$  알케닐 또는  $C_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-4}$  알케닐 또는  $C_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $C_{2-3}$  알케닐 또는  $C_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 알킬닐 또는 치환된 알킬닐이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 설폰일이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $C_5$  아릴 또는  $C_5$  치환된 아릴, 또는  $C_6$  아릴 또는  $C_6$  치환된 아릴이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $C_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $C_5$  헤테로아릴 또는  $C_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $C_6$  헤테로아릴 또는  $C_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 사이클로알킬 또는 치환된 사이클로알킬, 예컨대  $C_{3-8}$  사이클로알킬 또는  $C_{3-8}$  치환된 사이클로알킬, 예컨대  $C_{3-6}$  사이클로알킬 또는  $C_{3-6}$  치환된 사이클로알킬, 또는  $C_{3-5}$  사이클로알킬 또는  $C_{3-5}$  치환된 사이클로알킬이다. 특정 구체예에서,  $R^3$ 은 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴, 예컨대  $C_{3-8}$  헤테로사이클릴 또는  $C_{3-8}$  치환된 헤테로사이클릴, 예컨대

C<sub>3-6</sub> 헤테로사이클릴 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 헤테로사이클릴, 또는 C<sub>3-5</sub> 헤테로사이클릴 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0269] 특정 구체예에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 5 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하기 위하여 선택적으로 고리상으로 연결된다. 특정 구체예에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 5 또는 6-원 헤테로사이클릴을 형성하기 위하여 고리상으로 연결된다. 특정 구체예에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 5-원 헤테로사이클릴을 형성하기 위하여 고리상으로 연결된다. 특정 구체예에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 6-원 헤테로사이클릴을 형성하기 위하여 고리상으로 연결된다.

[0270] 특정 구체예에서, 각각의 R<sup>4</sup>는 독립적으로 수소, 할로젠, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택된다.

[0271] 각각의 R<sup>4</sup>에 대한 다양한 가능성은 다음과 같이 더 상세하게 기술된다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 수소이다. 특정 구체예에서, 각각의 R<sup>4</sup>는 수소이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 할로젠, 예컨대 F, Cl, Br 또는 I이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 F이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 Cl이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 Br이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 I이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>1-6</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-4</sub> 알킬 또는 C<sub>1-4</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬 또는 C<sub>1-3</sub> 치환된 알킬이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대 C<sub>2-6</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-6</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-4</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-4</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-3</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-3</sub> 치환된 알케닐이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 알키닐 또는 치환된 알키닐이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 설포닐이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대 C<sub>5-8</sub> 아릴 또는 C<sub>5-8</sub> 치환된 아릴, 예컨대 C<sub>5</sub> 아릴 또는 C<sub>5</sub> 치환된 아릴, 또는 C<sub>6</sub> 아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 아릴 (예컨대 페닐 또는 치환된 페닐)이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5-8</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5-8</sub> 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5</sub> 치환된 헤테로아릴, 또는 C<sub>6</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 헤테로아릴이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 사이클로알킬 또는 치환된 사이클로알킬, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 사이클로알킬 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 사이클로알킬, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 사이클로알킬 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 사이클로알킬, 또는 C<sub>3-5</sub> 사이클로알킬 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 사이클로알킬이다. 특정 구체예에서, R<sup>4</sup>는 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 헤테로사이클릴 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 헤테로사이클릴, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 헤테로사이클릴 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 헤테로사이클릴, 또는 C<sub>3-5</sub> 헤테로사이클릴 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0272] 특정 구체예에서, W<sup>1</sup>은 메이탄시노이드이다. 메이탄시노이드의 추가의 설명은 본원의 개시에서 찾을 수 있다.

[0273] 특정 구체예에서, W<sup>2</sup>는 항-CD22 항체이다. 항-CD22 항체의 추가의 설명은 본원의 개시에서 찾을 수 있다.

[0274] 특정 구체예에서, 식 (I)의 화합물은 링커 L을 포함한다. 링커는 하나 이상으로 관심의 모이어티 및/또는 하나 이상의 폴리펩타이드에 커플링 모이어티를 커플링시키기 위해 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 링커는 커플링 모이어티를 폴리펩타이드 또는 화학적 실체 중 어느 하나에 결합시킨다. 링커는 임의의 편리한 위치에서 커플링 모이어티 (예컨대 본원에서 기술된 것과 같음)에 결합 (예컨대 공유 결합)될 수 있다. 예를 들어, 링커는 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 약물 (예컨대 메이탄신)에 부착시킬 수



있다. 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티는 링커 (및 그로써 약물, 예컨대 메이탄신)를 폴리펩타이드, 예컨대 항-CD22 항체에 콘주게이트하기 위해 사용될 수 있다.

- [0275] 특정 구체예에서, L은 커플링 모이어티를  $W^1$ 에 부착시키고, 그로써 커플링 모이어티는 링커 L을 통해  $W^1$ 에 간접적으로 결합된다. 상기에서 기술된 것과 같이,  $W^1$ 은 메이탄시노이드이고, 그로써 L은 커플링 모이어티를 메이탄시노이드에 결합시키고, 예컨대 커플링 모이어티는 링커 L을 통해 메이탄시노이드에 간접적으로 결합된다.
- [0276] 임의의 편리한 링커가 본 콘주게이트 및 화합물에 이용될 수 있다. 특정 구체예에서, L은 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실 아미노, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택된 기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 알킬 또는 치환된 알킬기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 알케닐 또는 치환된 알케닐기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 알킬닐 또는 치환된 알킬닐기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 알콕시 또는 치환된 알콕시기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 아미노 또는 치환된 아미노기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 카르복실 또는 카르복실 에스테르기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 아실 아미노기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 아릴 또는 치환된 아릴기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 사이클로알킬 또는 치환된 사이클로알킬기를 포함한다. 특정 구체예에서, L은 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴기를 포함한다.
- [0277] 특정 구체예에서, L은 폴리머를 포함한다. 예를 들어, 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜, 메톡시폴리에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 호모폴리머, 폴리프로필렌 글리콜 호모폴리머, 에틸렌 글리콜과 프로필렌 글리콜과의 코폴리머 (예컨대 호모폴리머와 코폴리머가 알킬기를 가지는 한 단부에서 치환되지 않거나 치환되는 경우), 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 에틸 에테르, 폴리비닐피롤리돈, 그것들의 조합 등등을 포함하여, 폴리알킬렌 글리콜 및 그것의 유도체를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 폴리머는 폴리알킬렌 글리콜이다. 특정 구체예에서, 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜이다. 다른 링커들도 하기에서 더 상세하게 기술된 콘주게이트 및 화합물에 나타난 것과 같이 가능하다.
- [0278] 일부 구체예에서, L은 식  $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d$ -에 의해 기술되는 링커이며, 식에서  $L^1$ ,  $L^2$ ,  $L^3$  및  $L^4$ 는 각각 독립적으로 링커 단위이고, a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이며, 여기서 a, b, c 및 d의 합은 1 내지 4이다.
- [0279] 특정 구체예에서, a, b, c 및 d의 합은 1이다. 특정 구체예에서, a, b, c 및 d의 합은 2이다. 특정 구체예에서, a, b, c 및 d의 합은 3이다. 특정 구체예에서, a, b, c 및 d의 합은 4이다. 특정 구체예에서, a, b 및 c는 각각 1이고 d는 0이다. 특정 구체예에서, a 및 b는 각각 1이고 c 및 d는 각각 0이다. 특정 구체예에서, a는 1이고, b, c 및 d는 각각 0이다.
- [0280] 특정 구체예에서,  $L^1$ 은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티 (예컨대 상기 식 (I)에서 나타난 바와 같이)에 부착된다. 특정 구체예에서,  $L^2$ 는, 존재한다면,  $W^1$ 에 부착된다. 특정 구체예에서,  $L^3$ 은, 존재한다면,  $W^1$ 에 부착된다. 특정 구체예에서,  $L^4$ 는, 존재한다면,  $W^1$ 에 부착된다.
- [0281] 임의의 편리한 링커 단위가 본 링커에 이용될 수 있다. 관심의 링커 단위는, 한정하는 것은 아니지만, 폴리머, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 및 폴리아크릴레이트, 아미노산 잔기(들), 탄수화물-기반 폴리머 또는 탄수화물 잔기 및 그것들의 유도체, 폴리뉴클레오타이드, 알킬기, 아릴기, 헤테로사이클릭기, 그것들의 조합, 및 그것들의 치환된 버전을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^1$ ,  $L^2$ ,  $L^3$  및  $L^4$ 의 각각 (존재한다면)은 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬기, a 치환된 알킬, 아릴기, 치환된 아릴기, 및 다이아민 (예컨대 알킬렌 다이아민을 포함하는 연결기)으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 기를 포함한다.
- [0282] 일부 구체예에서,  $L^1$ 은 (존재한다면) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬기, 치환된 알킬, 아릴기, 치환된 아릴기, 또는 다이아민을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^1$ 은 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^1$ 은 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^1$ 은 아미노산 잔기를

포함한다. 일부 구체예에서,  $L^1$ 은 알킬기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^1$ 은 아릴기 또는 치환된 아릴기를 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^1$ 은 다이아민 (예컨대 알킬렌 다이아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0283] 일부 구체예에서,  $L^2$ 는 (존재한다면) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬기, 치환된 알킬, 아릴기, 치환된 아릴기, 또는 다이아민을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^2$ 는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^2$ 는 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^2$ 는 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^2$ 는 알킬기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^2$ 는 아릴기 또는 치환된 아릴기를 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^2$ 는 다이아민 (예컨대 알킬렌 다이아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0284] 일부 구체예에서,  $L^3$ 은 (존재한다면) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬기, 치환된 알킬, 아릴기, 치환된 아릴기, 또는 다이아민을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^3$ 은 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^3$ 은 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^3$ 은 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^3$ 은 알킬기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^3$ 은 아릴기 또는 치환된 아릴기를 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^3$ 은 다이아민 (예컨대 알킬렌 다이아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0285] 일부 구체예에서,  $L^4$ 는 (존재한다면) 폴리에틸렌 글리콜, 변형된 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 잔기, 알킬기, 치환된 알킬, 아릴기, 치환된 아릴기, 또는 다이아민을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^4$ 는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^4$ 는 변형된 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^4$ 는 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^4$ 는 알킬기 또는 치환된 알킬을 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^4$ 는 아릴기 또는 치환된 아릴기를 포함한다. 일부 구체예에서,  $L^4$ 는 다이아민 (예컨대 알킬렌 다이아민을 포함하는 연결기)을 포함한다.

[0286] 일부 구체예에서, L은  $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d-$ 를 포함하는 링커이고, 식에서:

[0287]  $-(L^1)_a-$ 는  $-(T^1-V^1)_a-$ 이고;

[0288]  $-(L^2)_b-$ 는  $-(T^2-V^2)_b-$ 이며;

[0289]  $-(L^3)_c-$ 는  $-(T^3-V^3)_c-$ 이고; 및

[0290]  $-(L^4)_d-$ 는  $-(T^4-V^4)_d-$ 이며,

[0291] 식에서,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 는, 존재한다면 테더기 (tether group)이고;

[0292]  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는, 존재한다면, 공유 결합 또는 연결용 작용기이고; 및

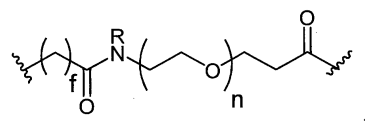
[0293] a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이며, 여기서 a, b, c 및 d의 합은 1 내지 4이다.

[0294] 상기에서 기술된 것과 같이, 특정 구체예에서,  $L^1$ 은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착된다 (예컨대 상기 식 (I)에서 나타난 것과 같이). 그와 같이, 특정 구체예에서,  $T^1$ 은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착된다 (예컨대 상기 식 (I)에서 나타난 것과 같이). 특정 구체예에서,  $L^2$ 는, 존재한다면,  $W^1$ 에 부착된다. 그와 같이, 특정 구체예에서,  $T^2$ 는, 존재한다면  $W^1$ 에 부착되고, 또는  $V^2$ 는, 존재한다면  $W^1$ 에 부착된다. 특정 구체예에서,  $L^3$ 은, 존재한다면,  $W^1$ 에 부착

된다. 그와 같이, 특정 구체예에서,  $T^3$ 은, 존재한다면  $W^1$ 에 부착되고, 또는  $V^3$ 은, 존재한다면  $W^1$ 에 부착된다. 특정 구체예에서,  $L^4$ 는, 존재한다면,  $W^1$ 에 부착된다. 그와 같이, 특정 구체예에서,  $T^4$ 는, 존재한다면  $W^1$ 에 부착되고, 또는  $V^4$ 는, 존재한다면  $W^1$ 에 부착된다.

[0295] 테더기,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 와 관련하여, 임의의 편리한 테더기가 본 링커에 이용될 수 있다. 일부 구체예에서,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 는 각각  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_h-$ , 피페리딘-4-아미노(4AP), 아세트알기, 다이설파이드, 하이드라진, 및 에스테르로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 기를 포함하고, 여기서  $w$ 는 1 내지 20의 정수이며,  $n$ 은 1 내지 30의 정수이고,  $p$ 는 1 내지 20의 정수이고,  $h$ 는 1 내지 12의 정수이다.

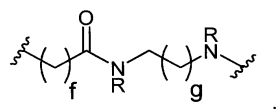
[0296] 특정 구체예에서,  $a$ ,  $b$ ,  $c$  및  $d$ 의 합이 2이고  $T^1-V^1$ ,  $T^2-V^2$ ,  $T^3-V^3$  또는  $T^4-V^4$  중 하나가  $(PEG)_n-CO$ 이면,  $n$ 은 6이 아니다. 예를 들어, 일부 경우에, 링커는 다음 구조를 가질 수 있다:



[0297]

[0298] 식에서  $n$ 은 6이 아니다.

[0299]  $a$ ,  $b$ ,  $c$  및  $d$ 의 합이 2이고  $T^1-V^1$ ,  $T^2-V^2$ ,  $T^3-V^3$  또는  $T^4-V^4$  중 하나가  $(C_1-C_{12})$ 알킬- $NR^{15}$ 이면,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은  $C_5$ -알킬이 아니다. 예를 들어, 일부 경우에, 링커는 다음의 구조를 가질 수 있다:



[0300]

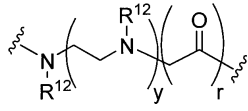
[0301] 식에서  $g$ 는 4가 아니다.

[0302] 특정 구체예에서, 테더기 (예컨대  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는  $(C_1-C_{12})$ 알킬 또는 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬을 포함한다. 특정 구체예에서,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 1 내지 12개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1 내지 8개의 탄소 원자, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 5개의 탄소 원자, 또는 1 내지 4개의 탄소 원자, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기이다. 일부 경우에,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $C_1-C_{12}$  알킬, 또는  $C_1-C_{10}$  알킬, 또는  $C_1-C_6$  알킬, 또는  $C_1-C_3$  알킬일 수 있다. 일부 경우에,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은  $C_2$ -알킬이다. 예를 들어,  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 알킬렌 또는 치환된 알킬렌, 예컨대  $C_1-C_{12}$  알킬렌, 또는  $C_1-C_{10}$  알킬렌, 또는  $C_1-C_6$  알킬렌, 또는  $C_1-C_3$  알킬렌일 수 있다. 일부 경우에  $(C_1-C_{12})$ 알킬은  $C_2$ -알킬렌이다.

[0303] 특정 구체예에서, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 1 내지 12개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1 내지 8개의 탄소 원자, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 5개의 탄소 원자, 또는 1 내지 4개의 탄소 원자, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 치환된 알킬기이다. 일부 경우에, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된 알킬, 예컨대 치환된  $C_1-C_{12}$  알킬, 또는 치환된  $C_1-C_{10}$  알킬, 또는 치환된  $C_1-C_6$  알킬, 또는 치환된  $C_1-C_3$  알킬일 수 있다. 일부 경우에, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된  $C_2$ -알킬이다. 예를 들어, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된 알킬렌, 예컨대 치환된  $C_1-C_{12}$  알킬렌, 또는 치환된  $C_1-C_{10}$  알킬렌, 또는 치환된  $C_1-C_6$  알킬렌, 또는 치환된  $C_1-C_3$  알킬렌일 수 있다. 일부 경우에 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬은 치환된  $C_2$ -알킬렌이다.

[0304] 특정 구체예에서, 테더기 (예컨대  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 에틸렌 다이아민 (EDA) 모이어티, 예컨대 EDA함유 테더를 포함한다. 특정 구체예에서,  $(EDA)_w$ 는 하나 이상의 EDA 모이어티를 포함하고, 예를 들어  $w$ 는 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6 (예컨대 1, 2, 3, 4, 5 또는 6)의 정수이다. 연결된 에틸렌 다이아민 (EDA) 모이어티는 임의의 편리한 치환기로, 예컨대 알킬, 치환된 알킬, 아실, 치환된 아실, 아릴 또는 치환된 아릴로 하나 이상의 편리한 위치에서 선택적으로 치환될 수 있다. 특정 구체예에서,

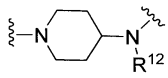
EDA 모이어티는 구조:



[0305] 에 의해 기술되며,

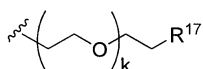
[0306] 식에서  $y$ 는 1 내지 6의 정수이고,  $r$ 은 0 또는 1이며, 각각의  $R^{12}$ 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택된다. 특정 구체예에서,  $y$ 는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다. 특정 구체예에서,  $y$ 는 1이고  $r$ 은 0이다. 특정 구체예에서,  $y$ 는 1이고  $r$ 은 1이다. 특정 구체예에서,  $y$ 는 2이고  $r$ 은 0이다. 특정 구체예에서,  $y$ 는 2이고  $r$ 은 1이다. 특정 구체예에서, 각각의  $R^{12}$ 는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 독립적으로 선택된다. 특정 구체예에서, EDA의 임의의 두 인접한  $R^{12}$ 기는 예컨대 피페라지닐 고리를 형성하기 위하여 고리상으로 연결될 수 있다. 특정 구체예에서,  $y$ 는 1이고 두 인접한  $R^{12}$ 기는 피페라지닐 고리를 형성하기 위하여 고리상으로 연결된 알킬기이다. 특정 구체예에서,  $y$ 는 1이고 인접한  $R^{12}$ 기는 수소, 알킬 (예컨대 메틸) 및 치환된 알킬 (예컨대 저급 알킬-OH, 예컨대 에틸-OH 또는 프로필-OH)로부터 선택된다.

[0307] 특정 구체예에서, 테더기는 4-아미노-피페리딘 (4AP) 모이어티 (또한 본원에서 피페리딘-4-아미노, P4A로 언급됨)를 포함한다. 4AP 모이어티는 임의의 편리한 치환기로, 예컨대 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 아실, 치환된 아실, 아릴 또는 치환된 아릴로 하나 이상의 편리한 위치에서 선택적으로 치환될 수 있다. 특정 구체예에서, 4AP 모이어티는 구조:



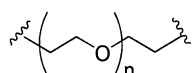
[0308] 에 의해 기술되며, 식에서  $R^{12}$ 는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티 (예컨대 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜), 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택된다. 특정 구체예에서,  $R^{12}$ 는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다. 특정 구체예에서,  $R^{12}$ 는 카르복시 변형된 폴리에틸렌 글리콜이다.

[0309] 특정 구체예에서,  $R^{12}$ 는 식:  $(PEG)_k$ 에 의해 기술된 를 포함하고, 상기 식은 구조:



[0310] 에 의해 표시될 수 있으며, 식에서  $k$ 는 1 내지 20, 예컨대 1 내지 18, 또는 1 내지 16, 또는 1 내지 14, 또는 1 내지 12, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 4, 또는 1 또는 2, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20의 정수이다. 일부 경우에,  $k$ 는 2이다. 특정 구체예에서,  $R^{17}$ 은 OH, COOH, 또는 COOR로부터 선택되고,  $R$ 은 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택된다. 특정 구체예에서,  $R^{17}$ 은 COOH이다.

[0311] 특정 구체예에서, 테더기 (예컨대  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는  $(PEG)_n$ 을 포함하고, 여기서  $(PEG)_n$ 은 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜 연결 단위이다. 특정 구체예에서,  $(PEG)_n$ 은 구조:



[0312] 에 의해 기술되고, 식에서  $n$ 은 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지

12 또는 1 내지 6, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20의 정수이다. 일부 경우에, n은 2이다. 일부 경우에, n은 3이다. 일부 경우에, n은 6이다. 일부 경우에, n은 12이다.

[0313]

특정 구체예에서, 테더기 (예컨대  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 (AA)<sub>p</sub>를 포함하고, 여기서 AA는 아미노산 잔기이다. 임의의 편리한 아미노산이 이용될 수 있다. 관심의 아미노산은, 한정하는 것은 아니지만, L- 및 D-아미노산, 자연적으로 발생하는 아미노산, 예컨대 20개의 일차 알파-아미노산 및 베타-알라닌 중 임의의 것, 자연적으로 발생하지 않는 아미노산 (예컨대 아미노산 유사체), 예컨대 자연적으로 발생하지 않는 알파-아미노산 또는 자연적으로 발생하지 않는 베타-아미노산 등을 포함한다. 특정 구체예에서, p는 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20의 정수이다. 특정 구체예에서, p는 1이다. 특정 구체예에서, p는 2이다.

[0314]

특정 구체예에서, 테더기 (예컨대  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및/또는  $T^4$ )는 식  $-(CR^{13}OH)_h-$ 에 의해 기술되는 모이어티를 포함하고, 이때 h는 0이거나 n은 1 내지 50, 예컨대 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 12 또는 1 내지 6, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12의 정수이다. 특정 구체예에서, h는 1이다. 특정 구체예에서, h는 2이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 선택된다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 수소이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>1-6</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-4</sub> 알킬 또는 C<sub>1-4</sub> 치환된 알킬, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬 또는 C<sub>1-3</sub> 치환된 알킬이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대 C<sub>2-6</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-6</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-4</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-4</sub> 치환된 알케닐, 또는 C<sub>2-3</sub> 알케닐 또는 C<sub>2-3</sub> 치환된 알케닐이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 알키닐 또는 치환된 알키닐이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 설포닐이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대 C<sub>5-8</sub> 아릴 또는 C<sub>5-8</sub> 치환된 아릴, 예컨대 C<sub>5</sub> 아릴 또는 C<sub>5</sub> 치환된 아릴, 또는 C<sub>6</sub> 아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 아릴이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5-8</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5-8</sub> 치환된 헤테로아릴, 예컨대 C<sub>5</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>5</sub> 치환된 헤테로아릴, 또는 C<sub>6</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>6</sub> 치환된 헤테로아릴이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 사이클로알킬 또는 치환된 사이클로알킬, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 사이클로알킬 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 사이클로알킬, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 사이클로알킬 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 사이클로알킬, 또는 C<sub>3-5</sub> 사이클로알킬 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 사이클로알킬이다. 특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴, 예컨대 C<sub>3-8</sub> 헤테로사이클릴 또는 C<sub>3-8</sub> 치환된 헤테로사이클릴, 예컨대 C<sub>3-6</sub> 헤테로사이클릴 또는 C<sub>3-6</sub> 치환된 헤테로사이클릴, 또는 C<sub>3-5</sub> 헤테로사이클릴 또는 C<sub>3-5</sub> 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0315]

특정 구체예에서,  $R^{13}$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택된다. 이 구체예들에서, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴은 상기  $R^{13}$ 에 대해 기술된 것과 같다.

[0316]

연결용 작용기,  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 와 관련하여, 임의의 편리한 연결용 작용기가 본 링커에 이용될 수 있다. 관심의 연결용 작용기는, 한정하는 것은 아니지만, 아미노, 카르보닐, 아미도, 옥시카르보닐, 카르복시, 설포닐, 설폭사이드, 설포닐아미노, 아미노설포닐, 티오, 옥시, 포스포, 포스포라미데이트, 티오포스포라미데이트, 등을 포함한다. 일부 구체예에서,  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 각각 공유 결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,



$-\text{CONR}^{15}-$ ,  $-\text{NR}^{15}\text{CO}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{OC}(\text{O})-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})-$ ,  $-\text{SO}_2-$ ,  $-\text{SO}_2\text{NR}^{15}-$ ,  $-\text{NR}^{15}\text{SO}_2-$  및  $-\text{P}(\text{O})\text{OH}-$ 로부터 독립적으로 선택되고, 여기서  $q$ 는 1 내지 6의 정수이다. 특정 구체예에서,  $q$ 는 1 내지 6 (예컨대 1, 2, 3, 4, 5 또는 6)의 정수이다. 특정 구체예에서,  $q$ 는 1이다. 특정 구체예에서,  $q$ 는 2이다.

[0317] 일부 구체예에서, 각각의  $\text{R}^{15}$ 는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설폰일, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 독립적으로 선택된다.

[0318] 각  $\text{R}^{15}$ 에 대한 다양한 가능성은 다음과 같이 보다 상세하게 기술된다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 수소이다. 특정 구체예에서, 각각의  $\text{R}^{15}$ 는 수소이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 알킬 또는 치환된 알킬, 예컨대  $\text{C}_{1-6}$  알킬 또는  $\text{C}_{1-6}$  치환된 알킬, 또는  $\text{C}_{1-4}$  알킬 또는  $\text{C}_{1-4}$  치환된 알킬, 또는  $\text{C}_{1-3}$  알킬 또는  $\text{C}_{1-3}$  치환된 알킬이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 알케닐 또는 치환된 알케닐, 예컨대  $\text{C}_{2-6}$  알케닐 또는  $\text{C}_{2-6}$  치환된 알케닐, 또는  $\text{C}_{2-4}$  알케닐 또는  $\text{C}_{2-4}$  치환된 알케닐, 또는  $\text{C}_{2-3}$  알케닐 또는  $\text{C}_{2-3}$  치환된 알케닐이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 알키닐 또는 치환된 알키닐이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 알콕시 또는 치환된 알콕시이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 아미노 또는 치환된 아미노이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 카르복실 또는 카르복실 에스테르이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 아실 또는 아실옥시이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 아실 아미노 또는 아미노 아실이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 알킬아미드 또는 치환된 알킬아미드이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 설폰일이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 티오알콕시 또는 치환된 티오알콕시이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 아릴 또는 치환된 아릴, 예컨대  $\text{C}_{5-8}$  아릴 또는  $\text{C}_{5-8}$  치환된 아릴, 예컨대  $\text{C}_5$  아릴 또는  $\text{C}_5$  치환된 아릴, 또는  $\text{C}_6$  아릴 또는  $\text{C}_6$  치환된 아릴이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 헤테로아릴 또는 치환된 헤테로아릴, 예컨대  $\text{C}_{5-8}$  헤테로아릴 또는  $\text{C}_{5-8}$  치환된 헤테로아릴, 예컨대  $\text{C}_5$  헤테로아릴 또는  $\text{C}_5$  치환된 헤테로아릴, 또는  $\text{C}_6$  헤테로아릴 또는  $\text{C}_6$  치환된 헤테로아릴이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 사이클로알킬 또는 치환된 사이클로알킬, 예컨대  $\text{C}_{3-8}$  사이클로알킬 또는  $\text{C}_{3-8}$  치환된 사이클로알킬, 예컨대  $\text{C}_{3-6}$  사이클로알킬 또는  $\text{C}_{3-6}$  치환된 사이클로알킬, 또는  $\text{C}_{3-5}$  사이클로알킬 또는  $\text{C}_{3-5}$  치환된 사이클로알킬이다. 특정 구체예에서,  $\text{R}^{15}$ 는 헤테로사이클릴 또는 치환된 헤테로사이클릴, 예컨대  $\text{C}_{3-8}$  헤테로사이클릴 또는  $\text{C}_{3-8}$  치환된 헤테로사이클릴, 예컨대  $\text{C}_{3-6}$  헤테로사이클릴 또는  $\text{C}_{3-6}$  치환된 헤테로사이클릴, 또는  $\text{C}_{3-5}$  헤테로사이클릴 또는  $\text{C}_{3-5}$  치환된 헤테로사이클릴이다.

[0319] 특정 구체예에서, 각각의  $\text{R}^{15}$ 는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴로부터 독립적으로 선택된다. 이 구체예들에서, 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴 치환기는  $\text{R}^{15}$ 에 대해 상기에서 기술된 것과 같다.

[0320] 특정 구체예에서, 테더기는 아세탈기, 다이설파이드, 하이드라진, 또는 에스테르를 포함한다. 일부 구체예에서, 테더기는 아세탈기를 포함한다. 일부 구체예에서, 테더기는 다이설파이드를 포함한다. 일부 구체예에서, 테더기는 하이드라진을 포함한다. 일부 구체예에서, 테더기는 에스테르를 포함한다.

[0321] 상기에서 기술된 것과 같이, 일부 구체예에서,  $\text{L}$ 은  $-(\text{T}^1-\text{V}^1)_a-(\text{T}^2-\text{V}^2)_b-(\text{T}^3-\text{V}^3)_c-(\text{T}^4-\text{V}^4)_d-$ 를 포함하는 링커이고, 여기서  $a$ ,  $b$ ,  $c$  및  $d$ 는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 여기서  $a$ ,  $b$ ,  $c$  및  $d$ 의 합은 1 내지 4이다.

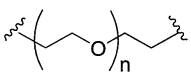
[0322] 일부 구체예에서, 본 링커에서:

[0323]  $T^1$ 은  $C_1$ - $C_{12}$ 알킬 및 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬로부터 선택되고;

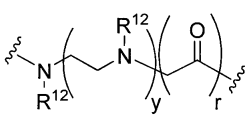
[0324]  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$ 는 각각  $(C_1-C_{12})$ 알킬, 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬,  $(EDA)_w$ ,  $(PEG)_n$ ,  $(AA)_p$ ,  $-(CR^{13}OH)_h-$ , 4-아미노-피페리딘 (4AP), 아세탈기, 다이설파이드, 하이드라진 및 에스테르로부터 독립적으로 선택되며; 및

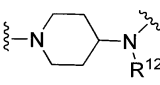
[0325]  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 각각 공유 결합,  $-CO-$ ,  $-NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}(CH_2)_q-$ ,  $-NR^{15}(C_6H_4)-$ ,  $-CONR^{15}-$ ,  $-NR^{15}CO-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-SO_2NR^{15}-$ ,  $-NR^{15}SO_2-$  및  $-P(O)OH-$ 로부터 독립적으로 선택되고, 여기서  $q$ 는 1 내지 6의 정수이며;

[0326] 상기에서:

[0327]  $(PEG)_n$ 은  이고, 여기서  $n$ 은 1 내지 30의 정수이며;

[0328] EDA는 다음 구조:

[0329]  를 가지는 에틸렌 다이아민 모이어티이고, 여기서  $y$ 는 1 내지 6의 정수이며  $r$ 은 0 또는 1 이고;

[0330] 4-아미노-피페리딘 (4AP)은  이며;

[0331] AA는 아미노산 잔기이고, 이때  $p$ 는 1 내지 20의 정수이며; 및

[0332] 각각의  $R^{15}$  및  $R^{12}$ 는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 임의의 두 인접한  $R^{12}$  기는 피페라지닐 고리를 형성하기 위해 고리상으로 연결될 수 있으며; 및

[0333]  $R^{13}$ 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴 및 치환된 아릴로부터 선택된다.

[0334] 특정 구체예에서,  $T^1$ ,  $T^2$ ,  $T^3$  및  $T^4$  및  $V^1$ ,  $V^2$ ,  $V^3$  및  $V^4$ 는 다음 표로부터, 예컨대 다음 표의 한 줄로부터 선택된다:

T <sup>1</sup>	V <sup>1</sup>	T <sup>2</sup>	V <sup>2</sup>	T <sup>3</sup>	V <sup>3</sup>	T <sup>4</sup>	V <sup>4</sup>
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-NR <sup>15</sup> -	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-NR <sup>15</sup> -	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-CO-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-CO-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-CO-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-SO <sub>2</sub> -	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-CO-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CONR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CO-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	치환된 (C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-SO <sub>2</sub> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	-	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-	(CR <sup>13</sup> OH) <sub>h</sub>	-CONR <sup>15</sup> -	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-NR <sup>15</sup> -	(PEG) <sub>n</sub>	-P(O)OH-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(EDA) <sub>w</sub>	-	(AA) <sub>p</sub>	-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -	-	-CO-	-	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CONR <sup>15</sup> -	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -	-	-CO-	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-NR <sup>15</sup> -
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	4AP	-CO-	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	(AA) <sub>p</sub>	-
(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	4AP	-CO-	(C <sub>1</sub> -C <sub>12</sub> )알킬	-CO-	-	-

[0335]

[0336] 특정 구체예에서, L은 -(L<sup>1</sup>)<sub>a</sub>-(L<sup>2</sup>)<sub>b</sub>-(L<sup>3</sup>)<sub>c</sub>-(L<sup>4</sup>)<sub>d</sub>-를 포함하는 링커이고, 여기서 -(L<sup>1</sup>)<sub>a</sub>-는 -(T<sup>1</sup>-V<sup>1</sup>)<sub>a</sub>-이며; -(L<sup>2</sup>)<sub>b</sub>-는 -(T<sup>2</sup>-V<sup>2</sup>)<sub>b</sub>-이고; -(L<sup>3</sup>)<sub>c</sub>-는 -(T<sup>3</sup>-V<sup>3</sup>)<sub>c</sub>-이며; 그리고 -(L<sup>4</sup>)<sub>d</sub>-는 -(T<sup>4</sup>-V<sup>4</sup>)<sub>d</sub>-이다.

[0337] 특정 구체예에서, T<sup>1</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이며, V<sup>1</sup>은 -CO-이고, T<sup>2</sup>는 (AA)<sub>p</sub>이며, V<sup>2</sup>는 -NR<sup>15</sup>-이고, T<sup>3</sup>은 (PEG)<sub>n</sub>이며, V<sup>3</sup>은 -CO-이고, T<sup>4</sup>는 없으며 V<sup>4</sup>는 없다.

[0338] 특정 구체예에서, T<sup>1</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고, V<sup>1</sup>은 -CO-이며, T<sup>2</sup>는 (EDA)<sub>w</sub>이고, V<sup>2</sup>는 -CO-이며, T<sup>3</sup>은 (CR<sup>13</sup>OH)<sub>h</sub>이고, V<sup>3</sup>은 -CONR<sup>15</sup>-이며, T<sup>4</sup>는 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고 V<sup>4</sup>는 -CO-이다.

[0339] 특정 구체예에서, T<sup>1</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고, V<sup>1</sup>은 -CO-이며, T<sup>2</sup>는 (AA)<sub>p</sub>이고, V<sup>2</sup>는 -NR<sup>15</sup>-이며, T<sup>3</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고, V<sup>3</sup>은 -CO-이며, T<sup>4</sup>는 없고 V<sup>4</sup>는 없다.

[0340] 특정 구체예에서, T<sup>1</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고, V<sup>1</sup>은 -CONR<sup>15</sup>-이며, T<sup>2</sup>는 (PEG)<sub>n</sub>이고, V<sup>2</sup>는 -CO-이며, T<sup>3</sup>은 없고, V<sup>3</sup>은 없으며, T<sup>4</sup>는 없고 V<sup>4</sup>는 없다.

[0341] 특정 구체예에서, T<sup>1</sup>은 (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)알킬이고, V<sup>1</sup>은 -CO-이며, T<sup>2</sup>는 (AA)<sub>p</sub>이고, V<sup>2</sup>는 없으며, T<sup>3</sup>은 없고, V<sup>3</sup>은 없으며,



$T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

[0342] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CONR}^{15}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{PEG})_n$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{NR}^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은 없고,  $V^3$ 은 없으며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

[0343] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{AA})_p$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{NR}^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(\text{PEG})_n$ 이고,  $V^3$ 은  $-\text{NR}^{15}-$ 이며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

[0344] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{EDA})_w$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^3$ 은 없고,  $V^3$ 은 없으며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

[0345] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CONR}^{15}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^2$ 는  $-\text{NR}^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은 없고,  $V^3$ 은 없으며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

[0346] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CONR}^{15}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{PEG})_n$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(\text{EDA})_w$ 이고,  $V^3$ 은 없으며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

[0347] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{EDA})_w$ 이고,  $V^2$ 는 없으며,  $T^3$ 은 없고,  $V^3$ 은 없으며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

[0348] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CONR}^{15}-$ ,  $T^2$ 는  $(\text{PEG})_n$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(\text{AA})_p$ 이고,  $V^3$ 은 없으며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

[0349] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{EDA})_w$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(\text{CR}^{13}\text{OH})_h$ 이고,  $V^3$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^4$ 는  $(\text{AA})_p$ 이고  $V^4$ 는 없다.

[0350] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{AA})_p$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{NR}^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^3$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^4$ 는  $(\text{AA})_p$ 이고  $V^4$ 는 없다.

[0351] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{AA})_p$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{NR}^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(\text{PEG})_n$ 이고,  $V^3$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^4$ 는  $(\text{AA})_p$ 이고  $V^4$ 는 없다.

[0352] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{AA})_p$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{NR}^{11}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(\text{PEG})_n$ 이고,  $V^3$ 은  $-\text{SO}_2-$ 이며,  $T^4$ 는  $(\text{AA})_p$ 이고  $V^4$ 는 없다.

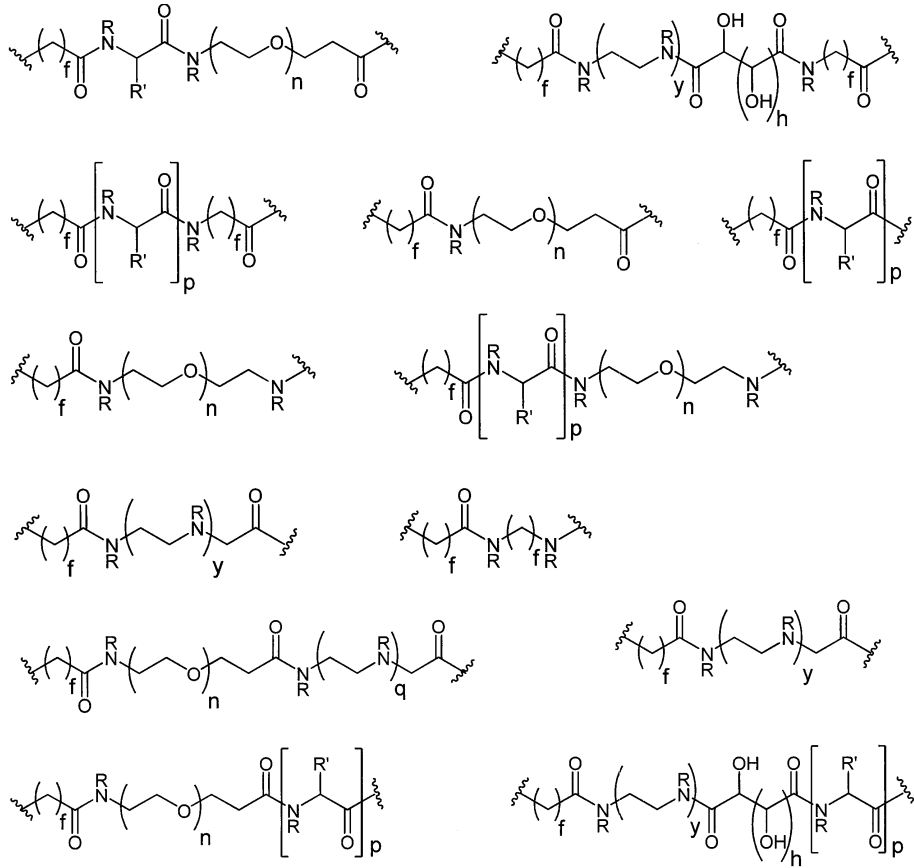
[0353] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{EDA})_w$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(\text{CR}^{13}\text{OH})_h$ 이고,  $V^3$ 은  $-\text{CONR}^{15}-$ 이며,  $T^4$ 는  $(\text{PEG})_n$ 이고  $V^4$ 는  $-\text{CO}-$ 이다.

[0354] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(\text{CR}^{13}\text{OH})_h$ 이고,  $V^2$ 는  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^3$ 은 없고,  $V^3$ 은 없으며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

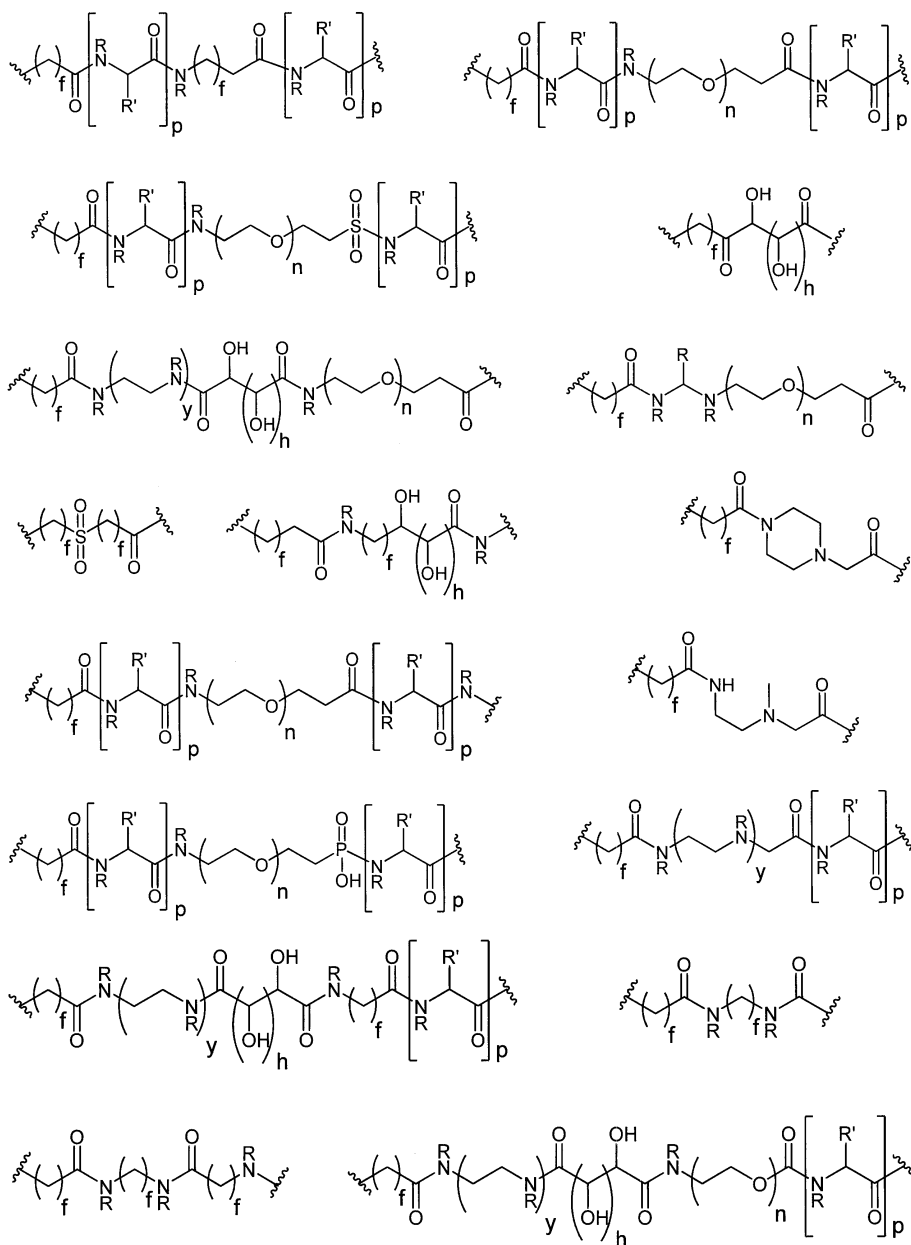
[0355] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-\text{CONR}^{15}-$ 이며,  $T^2$ 는 치환된  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^2$ 는  $-\text{NR}^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(\text{PEG})_n$ 이고,  $V^3$ 은  $-\text{CO}-$ 이며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

- [0356] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-SO_2-$ 이며,  $T^2$ 는  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^2$ 는  $-CO-$ 이며,  $T^3$ 은 없고,  $V^3$ 은 없으며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.
- [0357] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CONR^{15}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^2$ 는 없으며,  $T^3$ 은  $(CR^{13}OH)_h$ 이고,  $V^3$ 은  $-CONR^{15}-$ 이며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.
- [0358] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는  $(AA)_p$ 이고,  $V^2$ 는  $-NR^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(PEG)_n$ 이고,  $V^3$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^4$ 는  $(AA)_p$ 이고  $V^4$ 는  $-NR^{15}-$ 이다.
- [0359] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는  $(AA)_p$ 이고,  $V^2$ 는  $-NR^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은  $(PEG)_n$ 이고,  $V^3$ 은  $-P(O)OH-$ 이며,  $T^4$ 는  $(AA)_p$ 이고  $V^4$ 는 없다.
- [0360] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는  $(EDA)_w$ 이고,  $V^2$ 는 없으며,  $T^3$ 은  $(AA)_p$ 이고,  $V^3$ 은 없으며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.
- [0361] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는  $(EDA)_w$ 이고,  $V^2$ 는  $-CO-$ 이며,  $T^3$ 은  $(CR^{13}OH)_h$ 이고,  $V^3$ 은  $-CONR^{15}-$ 이며,  $T^4$ 는  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고  $V^4$ 는  $-CO(AA)_p-$ 이다.
- [0362] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CONR^{15}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^2$ 는  $-NR^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은 없고,  $V^3$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.
- [0363] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CONR^{15}-$ 이며,  $T^2$ 는  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^2$ 는  $-NR^{15}-$ 이며,  $T^3$ 은 없고,  $V^3$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^4$ 는  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고  $V^4$ 는  $-NR^{15}-$ 이다.
- [0364] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는  $(EDA)_w$ 이고,  $V^2$ 는  $-CO-$ 이며,  $T^3$ 은  $(CR^{13}OH)_h$ 이고,  $V^3$ 은  $-CONR^{15}-$ 이며,  $T^4$ 는  $(PEG)_n$ 이고  $V^4$ 는  $-CO(AA)_p-$ 이다.
- [0365] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는 4AP이고,  $V^2$ 는  $-CO-$ 이며,  $T^3$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^3$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^4$ 는  $(AA)_p$ 이고  $V^4$ 는 없다.
- [0366] 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는 4AP이고,  $V^2$ 는  $-CO-$ 이며,  $T^3$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^3$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다.

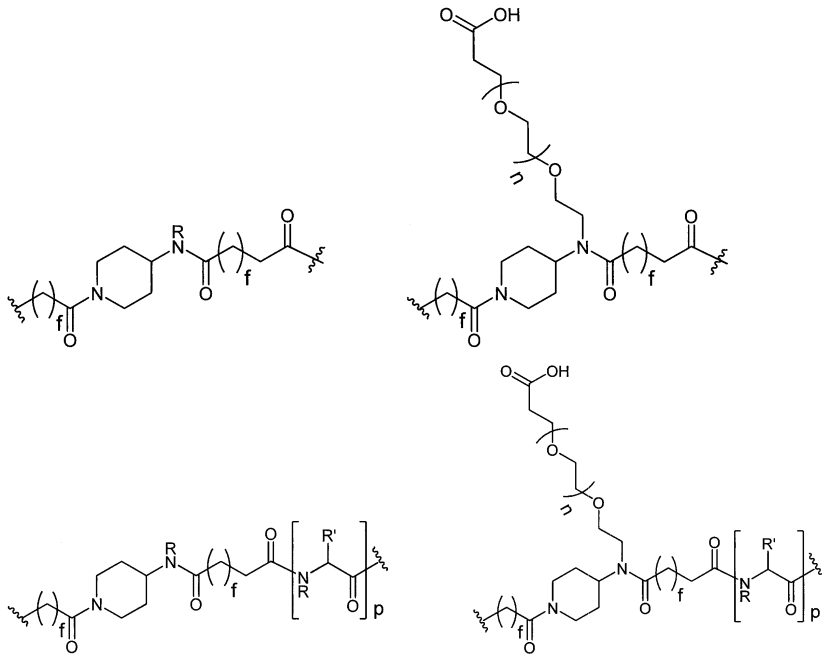
[0367] 특정 구체예에서, 링커는 다음 구조들 중 하나로 기술된다:



[0368]



[0369]



[0370]

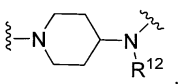
[0371]

상기 도시된 링커 구조들의 특정 구체예에서, 각각의  $f$ 는 독립적으로 0 또는 1 내지 12의 정수이고; 각각의  $y$ 는 독립적으로 0 또는 1 내지 20의 정수이며; 각각의  $n$ 은 독립적으로 0 또는 1 내지 30의 정수이고; 각각의  $p$ 는 독립적으로 0 또는 1 내지 20의 정수이며; 각각의  $h$ 는 독립적으로 0 또는 1 내지 12의 정수이고; 각각의  $R$ 은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴이며; 각각의  $R'$ 는 독립적으로 H, 아미노산의 측쇄, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 알콕시, 치환된 알콕시, 아미노, 치환된 아미노, 카르복실, 카르복실 에스테르, 아실, 아실옥시, 아실 아미노, 아미노 아실, 알킬아미드, 치환된 알킬아미드, 설포닐, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 및 치환된 헤테로사이클릴이다. 상기 도시된 링커 구조의 특정 구체예에서, 각각의  $f$ 는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고; 각각의  $y$ 는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이며; 각각의  $n$ 은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고; 각각의  $p$ 는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이며; 각각의  $h$ 는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다. 상기 도시된 링커 구조의 특정 구체예에서, 각각의  $R$ 은 독립적으로 H, 메틸 또는  $-(CH_2)_m-OH$ 이며, 여기서  $m$ 은 1, 2, 3 또는 4 (예컨대 2)이다.

[0372]

링커  $L$ 의 특정 구체예에서,  $T^1$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는 4AP이고,  $V^2$ 는  $-CO-$ 이며,  $T^3$ 은  $(C_1-C_{12})$ 알킬이고,  $V^3$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다. 특정 구체예에서,  $T^1$ 은 에틸렌이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는 4AP이고,  $V^2$ 는  $-CO-$ 이며,  $T^3$ 은 에틸렌이고,  $V^3$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없다. 특정 구체예에서,  $T^1$ 은 에틸렌이고,  $V^1$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^2$ 는 4AP이고,  $V^2$ 는  $-CO-$ 이며,  $T^3$ 은 에틸렌이고,  $V^3$ 은  $-CO-$ 이며,  $T^4$ 는 없고  $V^4$ 는 없으며, 이때  $T^2$  (예컨대 4AP)는 다음의 구조를 갖는다:

[0373]

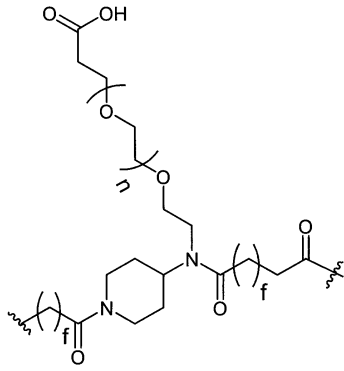


[0374]

식에서  $R^{12}$ 는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티 (예컨대 폴리에틸렌 글리콜 또는 변형된 폴리에틸렌 글리콜)이다.

[0375]

특정 구체예에서, 링커  $L$ 은 다음의 구조를 포함한다:



- [0376] ,
- [0377] 식에서, 각각의  $f$ 는 1 내지 12의 정수이고; 및
- [0378]  $n$ 은 1 내지 30의 정수이다.
- [0379] 특정 구체예에서,  $f$ 는 1이다. 특정 구체예에서,  $f$ 는 2이다. 특정 구체예에서, 하나의  $f$ 는 2이고 하나의  $f$ 는 1이다.
- [0380] 특정 구체예에서,  $n$ 은 1이다.
- [0381] 특정 구체예에서, 상기 링커 구조의 좌측은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착되고, 상기 링커 구조의 우측은 메탄탄신에 부착된다.
- [0382] 상기 구조들에 나타난 화학적 실체, 링커 및 커플링 모이어티 세트 중 어느 것이든지 본 화합물 및 콘주게이트에 사용하기 위해 적응될 수 있다.
- [0383] 하이드라지닐-인돌릴 및 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 및 콘주게이트의 제조 방법과 관련된 추가의 개시는 2013년 3월 11일에 출원된 미국 특허출원 공개 번호 2014/0141025, 및 2014년 11월 26일에 출원된 미국 특허출원 공개 번호 2015/0157736에서 찾아볼 수 있고, 상기 문헌들의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.
- [0384] **항-CD22 항체**
- [0385] 상기에서 주지된 것과 같이, 본 콘주게이트는 치환기  $W^2$ 로서 항-CD22 항체를 포함할 수 있고, 여기서 항-CD22 항체는 2-포르밀글리신 (FGly) 잔기를 포함하도록 변형되었다. 본원에서 사용되는 것과 같이, 아미노산은 그것들의 표준 명칭, 표준 3문자 약어 및/또는 표준 한문자 약어에 의해 언급될 수 있는데, 예컨대 알라닌 또는 Ala 또는 A; 시스테인 또는 Cys 또는 C; 아스파르트산 또는 Asp 또는 D; 글루탐산 또는 Glu 또는 E; 페닐알라닌 또는 Phe 또는 F; 글리신 또는 Gly 또는 G; 히스티딘 또는 His 또는 H; 아이소류신 또는 Ile 또는 I; 리신 또는 Lys 또는 K; 류신 또는 Leu 또는 L; 메티오닌 또는 Met 또는 M; 아스파라긴 또는 Asn 또는 N; 프롤린 또는 Pro 또는 P; 글루타민 또는 Gln 또는 Q; 아스파라긴 또는 Arg 또는 R; 세린 또는 Ser 또는 S; 트레오닌 또는 Thr 또는 T; 발린 또는 Val 또는 V; 트립토판 또는 Trp 또는 W; 및 티로신 또는 Tyr 또는 Y이다.
- [0386] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하고, 이때 에피토프는 CD22 항원 내의 아미노산 잔기들 (예컨대 도 8A 내지 8C에서 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1 내지 759 이내, 아미노산 1 내지 751 이내, 또는 아미노산 1 내지 670 이내)을 포함한다.
- [0387] CD22 에피토프는 도 8A 내지 8C에서 도시된 인간 CD22 이소형태 4 아미노산 서열의 약 500개의 아미노산 내지 약 670개의 아미노산의 인접한 연신부(stretch)에 대해 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 가지는 폴리펩타이드에 의해 형성될 수 있다. CD22 에피토프는 도 8A 내지 8C에서 도시된 인간 CD22 이소형태 3 아미노산 서열의 약 500개의 아미노산 내지 약 751개의 아미노산의 인접한 연신부에 대해 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 가지는 폴리펩타이드에 의해 형성될 수 있다. CD22 에피토프는 도 8A 내지 8C에서 도시된 인간 CD22 이소형태 2 아미노산 서열의 약 500개의 아미노산 내지 약 759개의 아미노산의 인접한 연신부에 대해 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 가지는 폴리펩타이드에 의해 형성될 수 있다. CD22 에피토프는 도 8A 내지 8C에서 도시된 인간 CD22 이소형태 1 아미노산 서열의 약 500개의 아미노산 내지 약 847개의 아미노산의 인접한 연



신부에 대해 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 가지는 폴리펩타이드에 의해 형성될 수 있다.

[0388] "CD22 항원" 또는 "CD22 폴리펩타이드"는 도 8A 내지 8C에서 도시된 CD22 이소형태 1, 2, 3 또는 4 아미노산 서열의 약 500개의 아미노산 (aa) 내지 약 847개의 아미노산 (이소형태 1), 약 500개의 아미노산 aa 내지 약 759개의 aa (이소형태 2), 약 500개의 아미노산 aa 내지 751개의 aa (이소형태 3), 또는 약 500개의 아미노산 aa 내지 약 670개의 aa (이소형태 4)의 인접한 연신부에 대해 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0389] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22에 대한 고친화성 결합을 나타낸다. 예를 들어, 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 적어도 약  $10^{-7}$  M, 적어도 약  $10^{-8}$  M, 적어도 약  $10^{-9}$  M, 적어도 약  $10^{-10}$  M, 적어도 약  $10^{-11}$  M, 또는 적어도 약  $10^{-12}$  M의 친화성, 또는  $10^{-12}$  M보다 큰 친화성으로 CD22에 결합한다. 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 약  $10^{-7}$  M 내지 약  $10^{-8}$  M, 약  $10^{-8}$  M 내지 약  $10^{-9}$  M, 약  $10^{-9}$  M 내지 약  $10^{-10}$  M, 약  $10^{-10}$  M 내지 약  $10^{-11}$  M, 또는 약  $10^{-11}$  M 내지 약  $10^{-12}$  M의 친화성, 또는  $10^{-12}$  M보다 큰 친화성으로 CD22 상에 존재하는 에피토프에 결합한다.

[0390] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 내의 항체와의 결합에 대해 제2 항-CD22 항체와 경쟁하거나 및/또는 CD22 내의 동일한 항체에 제2 항-CD22 항체로서 결합한다. 일부 경우에, CD22 내의 에피토프에의 결합에 대해 제2 항-CD22 항체와 경쟁하는 항-CD22 항체는 또한 제2 항-CD22 항체로서 에피토프에 결합한다. 일부 경우에, CD22 내의 에피토프에의 결합에 대해 제2 항-CD22 항체와 경쟁하는 항-CD22 항체는 제2 항-CD22 항체에 의해 결합된 에피토프와 중복하는 에피토프에 결합한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다.

[0391] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 세포 표면에 CD22를 발현하는 세포에서 세포자멸을 유도할 수 있다.

[0392] 본 콘주게이트에 사용하기에 적합한 항-CD22 항체는 일부 경우에 CD22를 과잉발현하는 인간 종양 세포의 증식을 억제할 것이고, 여기서 억제는 시험관내에서, 생체내에서, 또는 시험관내에서 및 생체내에서 모두 일어난다. 예를 들어, 일부 경우에, 본 콘주게이트에 사용하기에 적합한 항-CD22 항체는 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 또는 80% 이상, 예컨대 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% CD22를 과잉발현하는 인간 종양 세포의 증식을 억제한다.

[0393] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 CD22 항원 내 (예컨대 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1 내지 759 이내, 아미노산 1 내지 751 이내, 또는 아미노산 1 내지 670 이내)의 아미노산 잔기들을 포함하는 에피토프)에의 결합에 대해 **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGTTYPDIVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://) 및 **HSGYGSSYGVLFAF** (VH CDR3; SEQ ID NO://)로부터 선택된 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 CD22 항원 내 (예컨대 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1 내지 759 이내, 아미노산 1 내지 751 이내, 또는 아미노산 1 내지 670 이내)의 아미노산 잔기들을 포함하는 에피토프)에의 결합에 대해 **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **QQGNTLPWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)로부터 선택된 경쇄 CDR을 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다.

[0394] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 CD22 항원 내 (예컨대 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1 내지 759 이내, 아미노산 1 내지 751 이내, 또는 아미노산 1 내지 670 이내)의 아미노산 잔기들을 포함하는 에피토프)에의 결합에 대해 VH CDR **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGTTYPDIVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://) 및 **HSGYGSSYGVLFAF** (VH CDR3; SEQ ID NO://)를 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 CD22 항원 내 (예컨대 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1 내지 759 이내, 아미노산 1 내지 751 이내, 또는 아미노산 1 내지 670 이내)의 아미노산 잔기들을 포함하는 에피토프)에의 결합에 대해 VL CDR **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **QQGNTLPWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)를 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 CD22 항원 내 (예컨대 도

8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1 내지 759 이내, 아미노산 1 내지 751 이내, 또는 아미노산 1 내지 670 이내)의 아미노산 잔기들을 포함하는 에피토프)에의 결합에 대해 VH CDR **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGTTYYPDTVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://) 및 **HSGYGSSYGVLFAF** (VH CDR3; SEQ ID NO://), 및 VL CDR **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **QQGNTLPWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)를 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다.

[0395] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 VH CDR **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGTTYYPDTVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://) 및 **HSGYGSSYGVLFAF** (VH CDR3; SEQ ID NO://)를 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 VL CDR **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **QQGNTLPWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)를 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 VH CDR **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGTTYYPDTVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://) 및 **HSGYGSSYGVLFAF** (VH CDR3; SEQ ID NO://), 및 VL CDR **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **QQGNTLPWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)를 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다.

[0396] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 다음의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 VH 영역에 존재하는 VH CDR들을 포함한다:

[0397] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTTYYPDTVKGRTISRDNKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGYGSSYGVLFAFYGQGLTVTVSS (SEQ ID NO://). 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다.

[0398] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 다음의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 VL 영역에 존재하는 VL CDR들을 포함한다:

[0399] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO://). 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다.

[0400] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTTYYPDTVKGRTISRDNKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGYGSSYGVLFAFYGQGLTVTVSS (SEQ ID NO://)에 존재하는 VH CDR들 및 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO://)에 존재하는 VL CDR들을 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다.

[0401] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 a) 아미노산 서열 EVQLVESGGGLVKPGGSLX<sup>1</sup>LSCAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTTYYPDTVKGRTISRDNKX<sup>2</sup>LYLQMX<sup>3</sup>SLRAEDTAMYYCARHS GYGSSYGVLFAFYGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:1)을 가지는 VH 영역을 포함하는 중쇄, 여기서 X<sup>1</sup>은 K (Lys) 또는 R (Arg)이고; X<sup>2</sup>는 S (Ser) 또는 T (Thr)이며; 및 X<sup>3</sup>은 N (Asn) 또는 S (Ser)이고; 및 b) 면역글로불린 경쇄를 포함한다.

[0402] 경쇄는 그 결과의 항체가 CD22에 특이적으로 결합하는 한, 임의의 적합한 V<sub>L</sub> 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0403] 예시의 V<sub>L</sub> 아미노산 서열은

[0404] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO:7; VK1);

[0405] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO:8; VK2); 및

[0406] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO:9; VK4)을 포함한다.

[0407] 그러므로, 예컨대, 적합한 항-CD22 항체는 a) SEQ ID NO:1에 제시된 아미노산 서열을 가지는 VH 영역을 포함하는 중쇄; 및 VK1의 VL 영역을 포함하는 경쇄를 포함할 수 있다. 다른 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 a) SEQ ID NO:1에 제시된 아미노산 서열을 가지는 VH 영역을 포함하는 중쇄; 및 VK2의 VL 영역을 포함하는 경쇄를 포함할 수 있다. 또 다른 경우에, 본 항-CD22 항체는 a) SEQ ID NO:1에 제시된 아미노산 서열을 가지는 VH 영역을 포함

하는 중쇄; 및 VK4의 VL 영역을 포함하는 경쇄를 포함할 수 있다.

[0408] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 아미노산 서열 DIQMTQSPSSX<sup>1</sup>SASVGRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAX<sup>2</sup>KLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQX<sup>3</sup>EDFATYFCQQGNTLPWTFGG GTKVEIK (SEQ ID NO:2)를 포함하는 면역글로불린 경쇄, 여기서 X<sup>1</sup>은 L (Leu) 또는 V (Val)이고; X<sup>2</sup>는 V (Val) 또는 P (Pro)이며; 및 X<sup>3</sup>은 Q (Gln) 또는 P (Pro)이고; 및 면역글로불린 중쇄를 포함한다. 중쇄는

[0409] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTYYPD TVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGY GSSYGVLFA YWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:3; VH3);

[0410] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS AASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTYYPD TVKGRFTISRDNAKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGY GSSYGVLFA YWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:4; VH4);

[0411] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTYYPD TVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAMYYCARHSGY GSSYGVLFA YWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:5; VH5); 및

[0412] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTYYPD TVKGRFTISRDNAKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGY GSSYGVLFA YWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:6; VH6)로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0413] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 다음의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다:

[0414] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS AASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTYYPD TVKGRFTISRDNAKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGY GSSYGVLFA YWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO://).

[0415] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 다음의 아미노산 서열:

[0416] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS AASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTYYPD TVKGRFTISRDNAKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGY GSSYGVLFA YWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO://)을 포함하는 VH 영역 및 다음의 아미노산 서열:

[0417] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO://)을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

#### [0418] 변형된 불변 영역 서열

[0419] 상기 주지된 것과 같이, 항-CD22 항체의 아미노산 서열은 포르밀글리신 생성 효소 (FGE)의 작용에 의해 생체내에서 (예컨대 세포에서 ald 태그-함유 단백질의 번역시) 또는 시험관내에서 (예컨대 세포-유리 시스템에서 ald 태그-함유 단백질을 FGE와 접촉시킴으로써) 2-포르밀글리신 (FGly) 잔기로 변환 (산화)될 수 있는 세린 또는 시스테인 잔기를 함유하는 설파타제 모티프를 포함하도록 변형된다. 그런 설파타제 모티프는 또한 본원에서 FGE-변형 부위로서 언급될 수 있다.

#### [0420] 설파타제 모티프

[0421] 알테하이드 태그의 최소 설파타제 모티프는 보통 길이가 5 또는 6개의 아미노산 잔기, 보통 길이가 6개 이하의 아미노산 잔기이다. Ig 폴리펩타이드에 제공된 설파타제 모티프는 길이가 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 또는 7개 미만의 아미노산 잔기의 설파타제 모티프를 규정하기 위하여, 길이가 적어도 5 또는 6개의 아미노산 잔기이고, 예를 들면 5 내지 16, 6 내지 16, 5 내지 15, 6 내지 15, 5 내지 14, 6 내지 14, 5 내지 13, 6 내지 13, 5 내지 12, 6 내지 12, 5 내지 11, 6 내지 11, 5 내지 10, 6 내지 10, 5 내지 9, 6 내지 9, 5 내지 8, 또는 6 내지 8개의 아미노산 잔기의 길이일 수 있다.

[0422] 특정 구체예에서, 관심의 폴리펩타이드는 폴리펩타이드에서 설파타제 모티프의 서열을 제공하기 위한 천연 아미노산 서열에 비해 하나 이상의 아미노산 잔기, 예컨대 2개 이상, 또는 3개 이상, 또는 4개 이상, 또는 5개 이상, 또는 6개 이상, 또는 7개 이상, 또는 8개 이상, 또는 9개 이상, 또는 10개 이상, 또는 11개 이상, 또는 12개 이상, 또는 13개 이상, 또는 14개 이상, 또는 15개 이상, 또는 16개 이상, 또는 17개 이상, 또는 18개 이상, 또는 19개 이상, 또는 20개 이상의 아미노산 잔기가 삽입되었거나, 결실되었거나, 치환 (대체)되어 있는 것들을 포함한다. 특정 구체예에서, 폴리펩타이드는 폴리펩타이드의 천연 아미노산 서열에 비해 아미노산 서열의 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2개 미만의 아미노산 잔기의 변형 (삽입, 첨가, 결실 및/또는 치환/대체)을 포함한다. 폴리펩타이드 (예컨대 항-CD22 항체)에 대해 천연인 아미노산 서열이 원하는 설파타제 모티프의 하나 이상의 잔기를 함유하는 경우에, 잔기의 변형의 총 수는 예컨대 원하

는 설파타제 모티프의 서열을 제공하기 위하여 천연 아미노산 잔기의 양열의 아미노산 잔기들의 부위-특정 변형 (삽입, 첨가, 결실, 치환/대체)에 의해 감소될 수 있다. 특정 구체예에서, 표적 항-CD22 폴리펩타이드의 천연 아미노산 서열의 변형 정도는 최소화되어서, 삽입되고, 결실되고, 치환 (대체)되거나, 또는 첨가되는 (예컨대 N- 또는 C-말단에) 아미노산 잔기들의 수가 최소화될 수 있다. 표적 항-CD22 폴리펩타이드의 아미노산 서열 변형 정도를 최소화하는 것은 그런 변형들이 항-CD22 기능 및/또는 구조에 미칠 수 있는 영향을 최소화할 수 있다.

[0423] 특별히 관심이 있는 알데하이드 태그는 적어도 최소 설파타제 모티프 (또한 "공동 설파타제 모티프"로도 언급됨)를 포함하는 것들인 한편, 더 긴 알데하이드 태그가 본 개시에 의해 고려되고 포함되며 본 개시의 조성물 및 방법에 사용될 수 있다는 것이 쉽게 인지될 것이라는 것이 주지되어야 한다. 알데하이드 태그는 그러므로 5 또는 6개의 잔기의 최소 설파타제 모티프를 포함할 수 있거나, 또는 더 길 수 있고 추가의 아미노산 잔기들에 의해 모티프의 N- 및/또는 C-말단 쪽에서 플랭킹될 수 있는 최소 설파타제 모티프를 포함할 수 있다. 예를 들어, 5 또는 6개 아미노산 잔기의 알데하이드 태그가 고려될 뿐만 아니라, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상 또는 그 이상의 아미노산 잔기의 더 긴 아미노산 서열이 고려된다.

[0424] 알데하이드 태그는 Ig 중쇄의 C-말단에 또는 C-말단 가까이 존재할 수 있고; 예컨대 알데하이드 태그는 천연, 야생형 Ig 중쇄의 C-말단의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산 내에 존재할 수 있다. 알데하이드 태그는 Ig 중쇄의 CH2 도메인 내에 존재할 수 있다. 알데하이드 태그는 Ig 중쇄의 CH3 도메인 내에 존재할 수 있다. 알데하이드 태그는 Ig 경쇄 불변 영역에, 예컨대 카파 경쇄 불변 영역 또는 람다 경쇄 불변 영역에 존재할 수 있다.

[0425] 특정 구체예에서, 사용된 설파타제 모티프는 다음 식에 의해 표시될 수 있다:

[0426]  $X^1Z^{10}X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (I')

[0427] 식에서,

[0428]  $Z^{10}$ 은 시스테인 또는 세린이고 (또한 (C/S)로도 표시될 수 있음);

[0429]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며 (또한 (P/A)로도 표시될 수 있음);

[0430]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 (예컨대 아르기닌 (R)이고, 리신 (K) 또는 히스티딘 (H)일 수 있으며, 예컨대 리신임), 또는 지방족 아미노산 (알라닌 (A), 글리신 (G), 류신 (L), 발린 (V), 아이소류신 (I) 또는 프롤린 (P), 예컨대 A, G, L, V 또는 I)이고;

[0431]  $X^1$ 은 존재하거나 없는 것으로, 존재하는 경우, 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 L, M, V, S 또는 T, 예컨대 L, M, S 또는 V일 수 있으며, 단 설파타제 모티프가 표적 폴리펩타이드의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 은 존재하고; 및

[0432]  $X^2$  및  $X^3$ 은 독립적으로 임의의 아미노산일 수 있지만, 보통 지방족 아미노산, 극성, 대전되지 않은 아미노산, 또는 황 함유 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 S, T, A, V, G 또는 C, 예컨대 S, T, A, V 또는 G일 수 있다.

[0433] 항-CD22 중쇄 및/또는 경쇄의 아미노산 서열은 식  $X^1Z^{10}X^2Z^{20}X^3Z^{30}$ 의 적어도 5개의 아미노산 서열을 제공하기 위해 변형될 수 있다,

[0434] 식에서  $Z^{10}$ 은 시스테인 또는 세린이고;

[0435]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며;

[0436]  $Z^{30}$ 은 지방족 아미노산 또는 염기성 아미노산이고;

[0437]  $X^1$ 은 존재하거나 없는 것으로, 존재하는 경우, 임의의 아미노산이며, 단 이중성 설파타제 모티프가 폴리펩타이드

의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 은 존재하고;

[0438]  $X^2$  및  $X^3$ 은 각각 독립적으로 임의의 아미노산이며,

[0439] 서열은 Ig 불변 영역의 용매-접근 가능한 루프 영역 내에 또는 그것에 인접하여 있고, 서열은 Ig 중쇄의 C-말단에 있지 않다.

[0440] 설파타제 모티프는 일반적으로, 선택된 FGE, 예컨대 알데하이드 태그가 붙은 폴리펩타이드가 발현되는 숙주 세포에 존재하는 FGE 또는 시험관내 방법에서 세포 없이 알데하이드 태그가 붙은 폴리펩타이드와 접촉된 FGE에 의해 변환될 수 있도록 선택된다.

[0441] 예를 들어, FGE가 진핵생물 FGE (예컨대 인간 FGE를 포함하여 포유류 FGE)인 경우에, 설파타제 모티프는 다음 식의 것일 수 있다:

[0442]  $X^1CX^2PX^3Z^{30}$  (I")

[0443] 식에서

[0444]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있고, 존재하는 경우, 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 L, M, S 또는 V이며, 단 설파타제 모티프가 표적 폴리펩타이드의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 은 존재하고;

[0445]  $X^2$  및  $X^3$ 은 독립적으로 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 S, T, A, V, G 또는 C, 예컨대 S, T, A, V 또는 G일 수 있으며; 및

[0446]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 (예컨대 아르기닌 (R)이고, 리신 (K) 또는 히스티딘 (H)일 수 있으며, 예컨대 리신임), 또는 지방족 아미노산 (알라닌 (A), 글리신 (G), 류신 (L), 발린 (V), 아이소류신 (I) 또는 프롤린 (P), 예컨대 A, G, L, V 또는 I)이다.

[0447] 설파타제 모티프의 구체적인 예로는 LCTPSR (SEQ ID NO://), MCTPSR (SEQ ID NO://), VCTPSR (SEQ ID NO://), LCSPSR (SEQ ID NO://), LCAPSR (SEQ ID NO://), LCVPSR (SEQ ID NO://), LCGPSR (SEQ ID NO://), ICTPAR (SEQ ID NO://), LCTPSK (SEQ ID NO://), MCTPSK (SEQ ID NO://), VCTPSK (SEQ ID NO://), LCSPSK (SEQ ID NO://), LCAPSK (SEQ ID NO://), LCVPSK (SEQ ID NO://), LCGPSK (SEQ ID NO://), LCTPSA (SEQ ID NO://), ICTPAA (SEQ ID NO://), MCTPSA (SEQ ID NO://), VCTPSA (SEQ ID NO://), LCSPSA (SEQ ID NO://), LCAPSA (SEQ ID NO://), LCVPSA (SEQ ID NO://) 및 LCGPSA (SEQ ID NO://)를 포함한다.

[0448] FGly-함유 서열

[0449] 변형된 항-CD22 중쇄 및/또는 경쇄에 FGE가 작용할 때, 설파타제 모티프의 세린 또는 시스테인은 FGly로 변형된다. 그러므로, FGly-함유 설파타제 모티프는 다음 식의 것일 수 있다:

[0450]  $X^1(FGly)X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (I''')

[0451] 식에서

[0452] FGly는 포르밀글리신 잔기이고;

[0453]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며 (또한 (P/A)로도 표시될 수 있음);

[0454]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 (예컨대 아르기닌 (R)이고, 리신 (K) 또는 히스티딘 (H)일 수 있으며, 보통 리신임), 또는 지방족 아미노산 (알라닌 (A), 글리신 (G), 류신 (L), 발린 (V), 아이소류신 (I) 또는 프롤린 (P), 예컨대 A, G, L, V 또는 I)이고;

[0455]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있고, 존재하는 경우, 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 L, M, V, S 또는 T, 예컨대 L, M 또는 V일 수 있으며, 단 설파타제 모티프가 표적 폴리펩타이드의 N-말단에 있을



때,  $X^1$ 은 존재하고; 및

[0456]  $X^2$  및  $X^3$ 은 독립적으로 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 S, T, A, V, G 또는 C, 예컨대 S, T, A, V 또는 G일 수 있다.

[0457] 상기에서 기술된 것과 같이, FGly 잔기를 함유하는 변형된 폴리펩타이드는 FGly'-함유 설파타제 모티프를 생성하기 위해 FGly와 약물 (예컨대 상기 기술된 것과 같이 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티를 함유하는 약물)과 반응시킴으로써 약물 (예컨대 메이탄시노이드)에 콘주게이트될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 FGly'는 약물, 예컨대 메이탄시노이드 (예컨대 식 (I)의 변형된 아미노산 산기)에 커플링된 설파타제 모티프의 변형된 아미노산 잔기를 나타낸다. 그러므로, FGly'-함유 설파타제 모티프는 다음 식의 것일 수 있다:

[0458]  $X^1(\text{FGly}')X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (II)

[0459] 식에서

[0460] FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;

[0461]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며 (또한 (P/A)로도 표시될 수 있음);

[0462]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 (예컨대 아르기닌 (R)이고, 리신 (K) 또는 히스티딘 (H)일 수 있으며, 보통 리신임), 또는 지방족 아미노산 (알라닌 (A), 글리신 (G), 류신 (L), 발린 (V), 아이소류신 (I) 또는 프롤린 (P), 예컨대 A, G, L, V 또는 I)이고;

[0463]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있고, 존재하는 경우, 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 L, M, V, S 또는 T, 예컨대 L, M 또는 V일 수 있으며, 단 설파타제 모티프가 표적 폴리펩타이드의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 은 존재하고; 및

[0464]  $X^2$  및  $X^3$ 은 독립적으로 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 S, T, A, V, G 또는 C, 예컨대 S, T, A, V 또는 G일 수 있다.

[0465] 특정 구체예에서, 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 중쇄 불변 영역의 C-말단에 위치한다. 일부 경우에, 중쇄 불변 영역은 식 (II)의 서열을 포함한다:

[0466]  $X^1(\text{FGly}')X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (II)

[0467] 식에서

[0468] FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;

[0469]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며 (또한 (P/A)로도 표시될 수 있음);

[0470]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 (예컨대 아르기닌 (R)이고, 리신 (K) 또는 히스티딘 (H)일 수 있으며, 보통 리신임), 또는 지방족 아미노산 (알라닌 (A), 글리신 (G), 류신 (L), 발린 (V), 아이소류신 (I) 또는 프롤린 (P), 예컨대 A, G, L, V 또는 I)이고;

[0471]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있고, 존재하는 경우, 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 L, M, V, S 또는 T, 예컨대 L, M 또는 V일 수 있으며, 단 설파타제 모티프가 표적 폴리펩타이드의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 은 존재하고; 및

[0472]  $X^2$  및  $X^3$ 은 독립적으로 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 S, T, A, V, G 또는 C, 예컨대



S, T, A, V 또는 G일 수 있으며; 및

- [0473] 서열은 아미노산 서열 QKSLSLSPGK에 대해 C-말단이고, 서열은 천연, 야생형 중쇄 Ig 불변 영역에 존재하지 않는 1, 2, 3, 4, 5 또는 5 내지 10개의 아미노산을 포함할 수 있다.
- [0474] 특정 구체예에서, 중쇄 불변 영역은 예컨대 천연 SLSLSPGK (SEQ ID NO://) 서열 대신, Ig 중쇄의 C-말단에 있는 서열 SLSLSPGSL(FGly')TPSRGS를 포함한다.
- [0475] 특정 구체예에서, 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 경쇄 불변 영역에 위치한다. 특정 구체예에서, 경쇄 불변 영역은 식 (II)의 서열을 포함한다:
- [0476]  $X^1(FGly')X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (II)
- [0477] 식에서
- [0478] FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;
- [0479]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며 (또한 (P/A)로도 표시될 수 있음);
- [0480]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 (예컨대 아르기닌 (R)이고, 리신 (K) 또는 히스티딘 (H)일 수 있으며, 보통 리신임), 또는 지방족 아미노산 (알라닌 (A), 글리신 (G), 류신 (L), 발린 (V), 아이소류신 (I) 또는 프롤린 (P), 예컨대 A, G, L, V 또는 I)이고;
- [0481]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있고, 존재하는 경우, 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 L, M, V, S 또는 T, 예컨대 L, M 또는 V일 수 있으며, 단 설파타제 모티프가 표적 폴리펩타이드의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 은 존재하고; 및
- [0482]  $X^2$  및  $X^3$ 은 독립적으로 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 S, T, A, V, G 또는 C, 예컨대 S, T, A, V 또는 G일 수 있으며; 및
- [0483] 서열은 아미노산 서열 KVDNAL (SEQ ID NO://)에 대해 C-말단이고 및/또는 아미노산 서열 QSGNSQ (SEQ ID NO://)에 대해 N-말단이다.
- [0484] 특정 구체예에서, 경쇄 불변 영역은 서열 KVDNAL(FGly')TPSRQSGNSQ (SEQ ID NO://)를 포함한다.
- [0485] 특정 구체예에서, 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기는 항-CD22 항체의 중쇄 CH1 영역에 위치한다. 특정 구체예에서, 중쇄 CH1 영역은 식 (II)의 서열을 포함한다:
- [0486]  $X^1(FGly')X^2Z^{20}X^3Z^{30}$  (II)
- [0487] 식에서
- [0488] FGly'는 식 (I)의 변형된 아미노산 잔기이고;
- [0489]  $Z^{20}$ 은 프롤린 또는 알라닌 잔기이며 (또한 (P/A)로도 표시될 수 있음);
- [0490]  $Z^{30}$ 은 염기성 아미노산 (예컨대 아르기닌 (R)이고, 리신 (K) 또는 히스티딘 (H)일 수 있으며, 보통 리신임), 또는 지방족 아미노산 (알라닌 (A), 글리신 (G), 류신 (L), 발린 (V), 아이소류신 (I) 또는 프롤린 (P), 예컨대 A, G, L, V 또는 I)이고;
- [0491]  $X^1$ 은 존재하거나 없을 수 있고, 존재하는 경우, 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은 아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 L, M, V, S 또는 T, 예컨대 L, M 또는 V일 수 있으며, 단 설파타제 모티프가 표적 폴리펩타이드의 N-말단에 있을 때,  $X^1$ 은 존재하고; 및
- [0492]  $X^2$  및  $X^3$ 은 독립적으로 임의의 아미노산, 예컨대 지방족 아미노산, 황-함유 아미노산, 또는 극성, 대전되지 않은

아미노산 (즉 방향족 아미노산 또는 대전된 아미노산 이외의 아미노산), 예컨대 S, T, A, V, G 또는 C, 예컨대 S, T, A, V 또는 G일 수 있으며; 및

[0493] 서열은 아미노산 서열 SWNSGA (SEQ ID NO://)에 대해 C-말단이고 및/또는 아미노산 서열 GVHTFP (SEQ ID NO://)에 대해 N-말단이다.

[0494] 특정 구체예에서, 중쇄 CH1 영역은 서열 SWNSGAL(FGly')TPSRGVHTFP (SEQ ID NO://)를 포함한다.

[0495] 변형 부위

[0496] 상기에서 주지된 것과 같이, 의 아미노산 서열은 FGE의 작용에 의해 생체내에서 (예컨대 세포에서 ald 태그-함유 단백질의 번역시) 또는 시험관내에서 (예컨대 세포-유리 시스템에서 ald 태그-함유 단백질을 FGE와 접촉시킴으로써) FGly 잔기로 변환 (산화)될 수 있는 세린 또는 시스테인 잔기를 함유하는 설파타제 모티프를 포함하도록 변형된다. 본 개시의 콘주게이트를 생성하기 위해 사용된 항-CD22 폴리펩타이드는 적어도 Ig 불변 영역, 예컨대 Ig 중쇄 불변 영역 (예컨대 적어도 CH1 도메인; 적어도 CH1 및 CH2 도메인; CH1, CH2 및 CH3 도메인; 또는 CH1, CH2, CH3 및 CH4 도메인), 또는 Ig 경쇄 불변 영역을 포함한다. 그런 Ig 폴리펩타이드는 본원에서 "표적 Ig 폴리펩타이드" 또는 "표적 항-CD22 항체" 또는 "표적 항-CD22 Ig 폴리펩타이드"로서 언급된다.

[0497] 설파타제 모티프가 도입되는 항-CD22 항체의 부위는 임의의 편리한 부위일 수 있다. 상기에서 주지된 것과 같이, 일부 경우에, 표적 항-CD22 폴리펩타이드의 천연 아미노산 서열의 변형 정도는 삽입되고, 결실되고, 치환 (대체)되며 및/또는 첨가되는 (예컨대 N- 또는 C-말단에) 아미노산 잔기의 수를 최소화시키기 위해 최소화된다. 표적 항-CD22 폴리펩타이드의 아미노산 서열 변형 정도를 최소화시키는 것은 항-CD22 기능 및/또는 구조에 대해 그런 변형들이 미칠 수 있는 영향을 최소화시킬 수 있다.

[0498] 항-CD22 항체 중쇄 불변 영역은 임의의 중쇄 이소타입의 Ig 불변 영역, 자연적으로 발생하지 않는 Ig 중쇄 불변 영역 (공통 Ig 중쇄 불변 영역을 포함함)을 포함할 수 있다. Ig 불변 영역은 알데하이드 태그를 포함하도록 변형될 수 있고, 알데하이드 태그는 Ig 불변 영역의 용매-접근 가능한 루프 영역에 또는 그것에 인접하여 존재한다. Ig 불변 영역은 상기 기술된 설파타제 모티프의 아미노산 서열을 제공하기 위하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16개의 아미노산, 또는 16개 이상의 아미노산의 삽입 및/또는 치환에 의해 변형될 수 있다.

[0499] 일부 경우에, 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체는 알데하이드-태그가 붙은 Ig 중쇄 불변 영역 (예컨대 적어도 CH1 도메인; 적어도 CH1 및 CH2 도메인; CH1, CH2 및 CH3 도메인; 또는 CH1, CH2, CH3 및 CH4 도메인)을 포함한다. 알데하이드-태그가 붙은 Ig 중쇄 불변 영역은, FGE에 의해 FGly-변형된 Ig 폴리펩타이드를 생성하도록 변형될 수 있는 적어도 하나의 설파타제 모티프를 포함하도록 변형된, IgA, IgM, IgD, IgE, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 이소타입 중쇄 또는 그것의 임의의 알로타입 변종의 중쇄 불변 영역 서열, 예컨대 인간 중쇄 불변 영역 서열 또는 마우스 중쇄 불변 영역 서열, 하이브리드 중쇄 불변 영역, 합성 중쇄 불변 영역, 또는 공통 중쇄 불변 영역 서열, 등을 포함할 수 있다. Ig 중쇄의 알로타입 변종은 기술분야에 알려져 있다. 예컨대 Jefferis and Lefranc (2009) *MAbs* 1:4 참조.

[0500] 일부 경우에, 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체는 알데하이드-태그가 붙은 Ig 경쇄 불변 영역을 포함한다. 알데하이드-태그가 붙은 Ig 경쇄 불변 영역은, FGE에 의해 FGly-변형된 Ig 폴리펩타이드를 생성하도록 변형될 수 있는 적어도 하나의 설파타제 모티프를 포함하도록 변형된, 카파 경쇄, 람다 경쇄의 불변 영역 서열, 예컨대 인간 카파 또는 람다 경쇄 불변 영역, 하이브리드 경쇄 불변 영역, 합성 경쇄 불변 영역, 또는 공통 경쇄 불변 영역 서열, 등을 포함할 수 있다. 예시의 불변 영역은 인간 감마 1 및 감마 3 영역을 포함한다. 설파타제 모티프는 별도로 하고, 변형된 불변 영역은 야생형 아미노산 서열을 가질 수 있고, 또는 그것은 야생형 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 동일한 (예컨대 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일한) 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0501] 일부 구체예에서 설파타제 모티프는 Ig 폴리펩타이드 중쇄의 C-말단 이외의 위치에, 또는 C-말단 외의 위치에 있다. 상기 주지된 것과 같이, 분리된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 폴리펩타이드는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하도록 변형된 중쇄 불변 영역을 포함할 수 있고, 이때 설파타제 모티프는 항-CD22 폴리펩타이드 중쇄 불변 영역의 표면-접근 가능한 루프 영역에 또는 그 영역에 인접한 곳에 있다.

[0502] 일부 경우에, 표적 항-CD22 면역글로불린은 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하도록 변형되고, 이때 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 122-127; 2)

아미노산 137-143; 3) 아미노산 155-158; 4) 아미노산 163-170; 5) 아미노산 163-183; 6) 아미노산 179-183; 7) 아미노산 190-192; 8) 아미노산 200-202; 9) 아미노산 199-202; 10) 아미노산 208-212; 11) 아미노산 220-241; 12) 아미노산 247-251; 13) 아미노산 257-261; 14) 아미노산 269-277; 15) 아미노산 271-277; 16) 아미노산 284-285; 17) 아미노산 284-292; 18) 아미노산 289-291; 19) 아미노산 299-303; 20) 아미노산 309-313; 21) 아미노산 320-322; 22) 아미노산 329-335; 23) 아미노산 341-349; 24) 아미노산 342-348; 25) 아미노산 356-365; 26) 아미노산 377-381; 27) 아미노산 388-394; 28) 아미노산 398-407; 29) 아미노산 433-451; 및 30) 아미노산 446-451; 여기서 아미노산 넘버링은 도 9B에서 도시된 것과 같이 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다.

[0503] 일부 경우에, 표적 항-CD22 면역글로불린은 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하도록 변형되고, 이때 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (인간 IgG1 불변 영역; 도 9B에 도시된 서열)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다.

[0504] IgG1 중쇄의 예시적인 표면-접근 가능한 루프 영역은 도 9A 및 9B에 도시된 것과 같이, 다음을 포함한다: 1) ASTKGP (SEQ ID NO://); 2) KSTSGGT (SEQ ID NO://); 3) PEPV (SEQ ID NO://); 4) NSGALTS (SEQ ID NO://); 5) NSGALTSVHTFPVAVLQSSGL (SEQ ID NO://); 6) QSSGL (SEQ ID NO://); 7) VTV; 8) QTY; 9) TQTY (SEQ ID NO://); 10) HKPSN (SEQ ID NO://); 11) EPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG (SEQ ID NO://); 12) FPPKP (SEQ ID NO://); 13) ISRT (SEQ ID NO://); 14) DVSHEDPEV (SEQ ID NO://); 15) SHEDPEV (SEQ ID NO://); 16) DG; 17) DGVEVHNAK (SEQ ID NO://); 18) HNA; 19) QYNST (SEQ ID NO://); 20) VLTVL (SEQ ID NO://); 21) GKE; 22) NKALPAP (SEQ ID NO://); 23) SKAKGQPRE (SEQ ID NO://); 24) KAKGQPR (SEQ ID NO://); 25) PPSRKELTKN (SEQ ID NO://); 26) YPSDI (SEQ ID NO://); 27) NGQPENN (SEQ ID NO://); 28) TPPVLDSGDS (SEQ ID NO://); 29) HEALHNHYTQKSLSPGK (SEQ ID NO://); 및 30) SLSPGK (SEQ ID NO://).

[0505] 일부 경우에, 표적 면역글로불린은 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하도록 변형되고, 이때 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG2 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 13-24; 3) 아미노산 33-37; 4) 아미노산 43-54; 5) 아미노산 58-63; 6) 아미노산 69-71; 7) 아미노산 78-80; 8) 87-89; 9) 아미노산 95-96; 10) 114-118; 11) 122-126; 12) 134-136; 13) 144-152; 14) 159-167; 15) 175-176; 16) 184-188; 17) 195-197; 18) 204-210; 19) 216-224; 20) 231-233; 21) 237-241; 22) 252-256; 23) 263-269; 24) 273-282; 25) 아미노산 299-302; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (인간 IgG2 불변 영역; 또한 도 9B에 도시됨)에 제시된 아미노산 서열의 넘버링을 기준으로 한다.

[0506] IgG2 중쇄의 예시적인 표면-접근 가능한 루프 영역은 도 9B에 도시된 것과 같이, 다음을 포함한다: 1) ASTKGP (SEQ ID NO://); 2) PCSRSTSESTAA (SEQ ID NO://); 3) FPEPV (SEQ ID NO://); 4) SGALTSVHTFP (SEQ ID NO://); 5) QSSGLY (SEQ ID NO://); 6) VTV; 7) TQT; 8) HKP; 9) DK; 10) VAGPS (SEQ ID NO://); 11) FPPKP (SEQ ID NO://); 12) RTP; 13) DVSHEDPEV (SEQ ID NO://); 14) DGVEVHNAK (SEQ ID NO://); 15) FN; 16) VLTVV (SEQ ID NO://); 17) GKE; 18) NKGLPAP (SEQ ID NO://); 19) SKTKGQPRE (SEQ ID NO://); 20) PPS; 21) MTKNQ (SEQ ID NO://); 22) YPSDI (SEQ ID NO://); 23) NGQPENN (SEQ ID NO://); 24) TPPMLDSGDS (SEQ ID NO://); 25) GNVF (SEQ ID NO://); 및 26) HEALHNHYTQKSLSPGK (SEQ ID NO://).

[0507] 일부 경우에, 표적 면역글로불린은 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하도록 변형되고, 이때 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG3 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 13-22; 3) 아미노산 33-37; 4) 아미노산 43-61; 5) 아미노산 71; 6) 아미노산 78-80; 7) 87-91; 8) 아미노산 97-106; 9) 111-115; 10) 147-167; 11) 173-177; 12) 185-187; 13) 195-203; 14) 210-218; 15) 226-227; 16) 238-239; 17) 246-248; 18) 255-261; 19) 267-275; 20) 282-291; 21) 아미노산 303-307; 22) 아미노산 313-

320; 23) 아미노산 324-333; 24) 아미노산 350-352; 25) 아미노산 359-365; 및 26) 아미노산 372-377; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (인간 IgG3; 또한 도 9B에 도시됨)에 제시된 아미노산 서열의 넘버링을 기준으로 한다.

[0508] IgG3 중쇄의 예시의 표면-접근 가능한 루프 영역은, 도 9B에 도시된 것과 같이 다음을 포함한다: 1) ASTKGP (SEQ ID NO://); 2) PCSRSTSGGT (SEQ ID NO://); 3) FPEPV (SEQ ID NO://); 4) SGALTSGVHTFPAVLQSSG (SEQ ID NO://); 5) V; 6) TQT; 7) HKPSN (SEQ ID NO://); 8) RVELKTPLGD (SEQ ID NO://); 9) CPRCPKP (SEQ ID NO://); 10) PKSCDTPPPCPRCPAPELLGG (SEQ ID NO://); 11) FPPKP (SEQ ID NO://); 12) RTP; 13) DVSHEDPEV (SEQ ID NO://); 14) DGVEVHNAK (SEQ ID NO://); 15) YN; 16) VL; 17) GKE; 18) NKALPAP (SEQ ID NO://); 19) SKTKGQPRE (SEQ ID NO://); 20) PPSREEMTKN (SEQ ID NO://); 21) YPSDI (SEQ ID NO://); 22) SSGQPENN (SEQ ID NO://); 23) TPPMLDSGS (SEQ ID NO://); 24) GNI; 25) HEALHNR (SEQ ID NO://); 및 26) SLSPGK (SEQ ID NO://).

[0509] 일부 경우에, 표적 면역글로불린은 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하도록 변형되고, 이때 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG4 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-5; 2) 아미노산 12-23; 3) 아미노산 32-36; 4) 아미노산 42-53; 5) 아미노산 57-62; 6) 아미노산 68-70; 7) 아미노산 77-79; 8) 아미노산 86-88; 9) 아미노산 94-95; 10) 아미노산 101-102; 11) 아미노산 108-118; 12) 아미노산 122-126; 13) 아미노산 134-136; 14) 아미노산 144-152; 15) 아미노산 159-167; 16) 아미노산 175-176; 17) 아미노산 185-186; 18) 아미노산 196-198; 19) 아미노산 205-211; 20) 아미노산 217-226; 21) 아미노산 232-241; 22) 아미노산 253-257; 23) 아미노산 264-265; 24) 269-270; 25) 아미노산 274-283; 26) 아미노산 300-303; 27) 아미노산 399-417; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (인간 IgG4; 또한 도 9B에 도시됨)에 제시된 아미노산 서열의 넘버링을 기준으로 한다.

[0510] IgG4 중쇄의 예시적인 표면-접근 가능한 루프 영역은 도 9B에 도시된 것과 같이, 다음을 포함한다: 1) STKGP (SEQ ID NO://); 2) PCSRSTSESTAA (SEQ ID NO://); 3) FPEPV (SEQ ID NO://); 4) SGALTSGVHTFP (SEQ ID NO://); 5) QSSGLY (SEQ ID NO://); 6) VTV; 7) TKT; 8) HKP; 9) DK; 10) YG; 11) CPAPEFLGGPS (SEQ ID NO://); 12) FPPKP (SEQ ID NO://); 13) RTP; 14) DVSEQEDPEV (SEQ ID NO://); 15) DGVEVHNAK (SEQ ID NO://); 16) FN; 17) VL; 18) GKE; 19) NKGLPSS (SEQ ID NO://); 20) SKAKGQPREP (SEQ ID NO://); 21) PPSQEEMTKN (SEQ ID NO://); 22) YPSDI (SEQ ID NO://); 23) NG; 24) NN; 25) TPPVLDSGS (SEQ ID NO://); 26) GNVF (SEQ ID NO://); 및 27) HEALHNHYTQKSLSLGK (SEQ ID NO://).

[0511] 일부 경우에, 표적 면역글로불린은 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하도록 변형되고, 이때 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgA 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-13; 2) 아미노산 17-21; 3) 아미노산 28-32; 4) 아미노산 44-54; 5) 아미노산 60-66; 6) 아미노산 73-76; 7) 아미노산 80-82; 8) 아미노산 90-91; 9) 아미노산 123-125; 10) 아미노산 130-133; 11) 아미노산 138-142; 12) 아미노산 151-158; 13) 아미노산 165-174; 14) 아미노산 181-184; 15) 아미노산 192-195; 16) 아미노산 199; 17) 아미노산 209-210; 18) 아미노산 222-245; 19) 아미노산 252-256; 20) 아미노산 266-276; 21) 아미노산 293-294; 22) 아미노산 301-304; 23) 아미노산 317-320; 24) 아미노산 329-353; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (인간 IgA; 또한 도 9B에 도시됨)에 제시된 아미노산 서열의 넘버링을 기준으로 한다.

[0512] IgA 중쇄의 예시적인 표면-접근 가능한 루프 영역은 도 9B에 도시된 것과 같이, 다음을 포함한다: 1) ASPTSPKVFPLSL (SEQ ID NO://); 2) QPDGN (SEQ ID NO://); 3) VQGFFPQEPL (SEQ ID NO://); 4) SGQGVARNFP (SEQ ID NO://); 5) SGDLYTT (SEQ ID NO://); 6) PATQ (SEQ ID NO://); 7) GKS; 8) YT; 9) CHP; 10) HRP (SEQ ID NO://); 11) LLGSE (SEQ ID NO://); 12) GLRDASGV (SEQ ID NO://); 13) SSGKSAVQGP (SEQ ID NO://); 14) GCYS (SEQ ID NO://); 15) CAEP (SEQ ID NO://); 16) PE; 17) SGNTFRPEVHLLPPPSEELALNEL (SEQ ID NO://); 18) ARGFS (SEQ ID NO://); 19) QGSQELPREKY (SEQ ID NO://); 20) AV; 21) AAED (SEQ ID NO://); 22) HEAL (SEQ ID NO://); 및 23) IDRLAGKPTHVNVSVVMAEVDGTCY (SEQ ID NO://).

[0513] 설파타제 모티프는 Ig 중쇄의 그런 변형 부위들의 이런 아미노산 서열들 중 하나 이상의 아미노산 서열 내에 또는 인접한 곳에 제공될 수 있다. 예를 들어, Ig 중쇄 폴리펩타이드는 이 변형 부위들에 대해 인접하고 N-말단에 및/또는 인접하고 C-말단에 설파타제 모티프를 제공하기 위하여 하나 이상의 이 아미노산 서열들에서 변형될 수 있다 (여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다). 다르게는 또는 또한,



Ig 중쇄 폴리펩타이드는 Ig 중쇄 변형 부위들의 임의의 두 잔기 사이에 설파타제 모티프를 제공하기 위하여 하나 이상의 이 아미노산 서열들에서 변형될 수 있다 (예컨대 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다). 일부 구체예에서, Ig 중쇄 폴리펩타이드는, 서로 인접해 있을 수 있거나, 또는 1, 2, 3, 4 또는 그 이상 (예컨대 약 1 내지 약 25, 약 25 내지 약 50, 또는 약 50 내지 약 100, 또는 그 이상)의 아미노산에 의해 떨어져 있을 수 있는 2개의 모티프를 포함하도록 변형될 수 있다. 다르게는 또는 또한, 천연 아미노산 서열이 설파타제 모티프 서열의 하나 이상의 아미노산 잔기를 제공하는 경우, Ig 중쇄 폴리펩타이드 아미노산 서열의 변형 부위들의 선택된 아미노산 잔기는 그 변형 부위에서 설파타제 모티프를 제공하기 위하여 변형될 수 있다 (예컨대 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다).

[0514] 그러므로 표면-접근 가능한 루프 영역의 아미노산 서열은 설파타제 모티프를 제공하도록 변형될 수 있고, 이때 변형은 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함할 수 있다. 예를 들어, 변형이 CH1 도메인에 있는 경우에, 표면-접근 가능한 루프 영역은 아미노산 서열 NSGALTSG (SEQ ID NO://)를 가질 수 있으며, 알데하이드-태그가 붙은 서열은 예컨대 NSGALCTPSRG (SEQ ID NO://)일 수 있고, 예컨대 NSGALTSG (SEQ ID NO://) 서열의 "TS" 잔기는 "CTPSR" (SEQ ID NO://)로 대체되어서 설파타제 모티프는 서열 LCTPSR (SEQ ID NO://)을 가진다. 다른 예로서, 변형이 CH2 도메인에 있는 경우에, 표면-접근 가능한 루프 영역은 아미노산 서열 NKALPAP (SEQ ID NO://)를 가질 수 있고, 알데하이드-태그가 붙은 서열은 예컨대 NLCTPSRAP (SEQ ID NO://)일 수 있으며, 예컨대 NKALPAP (SEQ ID NO://) 서열의 "KAL" 잔기는 "LCTPSR" (SEQ ID NO://)로 대체되어서 설파타제 모티프는 서열 LCTPSR (SEQ ID NO://)을 가진다. 또 다른 예로서, 변형이 CH2/CH3 도메인에 있는 경우에, 표면-접근 가능한 루프 영역은 아미노산 서열 KAKGQPR (SEQ ID NO://)을 가질 수 있고, 알데하이드-태그가 붙은 서열은 예컨대 KAKGLCTPSR (SEQ ID NO://)일 수 있으며, 예컨대 KAKGQPR (SEQ ID NO://) 서열의 "GQP" 잔기는 "LCTPS" (SEQ ID NO://)로 대체되어서, 설파타제 모티프는 서열 LCTPSR (SEQ ID NO://)을 가진다.

[0515] 상기에서 주지된 것과 같이, 분리된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 Ig 폴리펩타이드는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형된 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있고, 여기서 설파타제 모티프는 Ig 폴리펩타이드 경쇄 불변 영역의 표면-접근 가능한 루프 영역에 있거나 또는 그것에 인접해 있다. 경쇄 불변 영역의 표면-접근 가능한 루프 영역의 예시적인 예는 도 9A 및 9C에 제공된다.

[0516] 일부 경우에, 표적 면역글로불린은 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 1) 아미노산 130-135; 2) 아미노산 141-143; 3) 아미노산 150; 4) 아미노산 162-166; 5) 아미노산 163-166; 6) 아미노산 173-180; 7) 아미노산 186-194; 8) 아미노산 211-212; 9) 아미노산 220-225; 10) 아미노산 233-236 중 하나 이상에 상응하는 Ig 경쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있고; 여기서 아미노산 넘버링은 도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 표적 면역글로불린은 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107 중 하나 이상에 상응하는 Ig 경쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있고; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (인간 카파 경쇄; 도 9C에 도시된 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0517] Ig 경쇄 (예컨대 인간 카파 경쇄)의 예시의 표면-접근 가능한 루프 영역은 도 9A 및 9C에 도시된 것과 같이, 1) RTVAAP (SEQ ID NO://); 2) PPS; 3) Gly (예컨대 도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄 서열의 위치 150에 있는 Gly); 4) YPREA (SEQ ID NO://); 5) PREA (SEQ ID NO://); 6) DNALQSGN (SEQ ID NO://); 7) TEQDSKDST (SEQ ID NO://); 8) HK; 9) HQGLSS (SEQ ID NO://); 및 10) RGEC (SEQ ID NO://)를 포함한다.

[0518] Ig 람다 경쇄의 예시의 표면-접근 가능한 루프 영역은 도 9C에 도시된 것과 같이, QPKAAP (SEQ ID NO://), PPS, NK, DFYPGAV (SEQ ID NO://), DSSPVKAG (SEQ ID NO://), TTP, SN, HKS, EG 및 APTECS (SEQ ID NO://)를 포함한다.

[0519] 일부 경우에, 표적 면역글로불린은 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 121-22; 4) 아미노산 31-37; 5) 아미노산 44-51; 6) 아미노산 55-57; 7) 아미노산 61-62; 8) 아미노산 81-83; 9) 아미노산 91-92; 10) 아미노산 102-105 중 하나 이상에 상응하는 람다 Ig 경쇄 불변 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있고; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (서열

depicted in Figure 9C)에 제시된 래트 경쇄의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다.

- [0520] 일부 경우에, 설파타제 모티프는 항-CD22 중쇄 불변 영역의 CH1 영역으로 도입된다. 일부 경우에, 설파타제 모티프는 항-CD22 중쇄의 C-말단에 또는 그 가까이에 (예컨대 C-말단의 1 내지 10개 아미노산 이내에) 도입된다. 일부 경우에, 설파타제 모티프는 경쇄 불변 영역에 도입된다.
- [0521] 일부 경우에, 설파타제 모티프는 항-CD22 중쇄 불변 영역의 CH1 영역으로, 예컨대 도 9A에 도시된 IgG1 중쇄 아미노산 서열의 아미노산 121-219 내에 도입된다. 예를 들어, 일부 경우에, 설파타제 모티프는 아미노산 서열: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE (SEQ ID NO://)로 도입된다. 예를 들어, 이 구체예들의 일부에서, 아미노산 서열 GALTSGVH (SEQ ID NO://)은 GALCTPSRGVH (SEQ ID NO://)로 변형되고, 이때 설파타제 모티프는 LCTPSR (SEQ ID NO://)이다.
- [0522] 일부 경우에, 설파타제 모티프는 항-CD22 중쇄의 C-말단에 또는 그 가까이에 도입되고, 예컨대 설파타제 모티프는 항-CD22 중쇄의 C-말단에서 1 아미노산, 2 아미노산 (aa), 3 aa, 4 aa, 5 aa, 6 aa, 7 aa, 8 aa, 9 aa 또는 10 aa 내에서 도입된다. 한 비-제한적 예로서, 항-CD22 중쇄의 C-말단 리신 잔기는 아미노산 서열 SLCTPSRGS (SEQ ID NO://)로 대체될 수 있다.
- [0523] 일부 경우에, 설파타제 모티프는 항-CD22 항체의 경쇄의 불변 영역으로 도입된다. 한 비-제한적 예로서, 일부 경우에, 설파타제 모티프는 항-CD22 항체의 경쇄의 불변 영역으로 도입되고, 이때 설파타제 모티프는 KVDNAL (SEQ ID NO://)에 대해 C-말단이거나, 및/또는 QSGNSQ (SEQ ID NO://)에 대해 N-말단이다. 예를 들어, 일부 경우에, 설파타제 모티프는 LCTPSR (SEQ ID NO://)이고, 항-CD22 경쇄는 아미노산 서열 KVDNALLCTPSRQSGNSQ (SEQ ID NO://)를 포함한다.
- [0524] **예시의 항-CD22 항체**
- [0525] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1-759 이내, 아미노산 1-751 이내, 또는 아미노산 1-670 이내에 있는 에피토프)에의 결합에 대해 **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGTYYPDTVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://), 및 **HSGYSSSYGVLFAY** (VH CDR3; SEQ ID NO://)로부터 선택된 중쇄 VH CDR을 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.
- [0526] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1-759 이내, 아미노산 1-751 이내, 또는 아미노산 1-670 이내에 있는 에피토프)에의 결합에 대해 **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **TLPTWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)로부터 선택된 경쇄 CDR을 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 122-127; 2) 아미노산 137-143; 3) 아미노산 155-158; 4) 아미노산 163-170; 5) 아미노산 163-183; 6) 아미노산 179-183;



7) 아미노산 190-192; 8) 아미노산 200-202; 9) 아미노산 199-202; 10) 아미노산 208-212; 11) 아미노산 220-241; 12) 아미노산 247-251; 13) 아미노산 257-261; 14) 아미노산 269-277; 15) 아미노산 271-277; 16) 아미노산 284-285; 17) 아미노산 284-292; 18) 아미노산 289-291; 19) 아미노산 299-303; 20) 아미노산 309-313; 21) 아미노산 320-322; 22) 아미노산 329-335; 23) 아미노산 341-349; 24) 아미노산 342-348; 25) 아미노산 356-365; 26) 아미노산 377-381; 27) 아미노산 388-394; 28) 아미노산 398-407; 29) 아미노산 433-451; 및 30) 아미노산 446-451; 여기서 아미노산 넘버링은 도 9B에 도시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0527]

일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1-759 이내, 아미노산 1-751 이내, 또는 아미노산 1-670 이내에 있는 에피토프)에의 결합에 대해 VH CDR **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGITYYPDTVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://) 및 **HSYGSSYGVLFAY** (VH CDR3; SEQ ID NO://)를 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된 항체이다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0528]

일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1-759 이내, 아미노산 1-751 이내, 또는 아미노산 1-670 이내에 있는 에피토프)에의 결합에 대해 VL CDR **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **QQGNTLPWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)를 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된 항체이다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65;

8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0529]

일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 CD22 에피토프 (예컨대 도 8A 내지 8C에 도시된 CD22 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 847 이내, 아미노산 1-759 이내, 아미노산 1-751 이내, 또는 아미노산 1-670 이내에 있는 에피토프)에의 결합에 대해 VH CDR **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGTTYYPDTVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://) 및 **HSGYSSSYGVLFAY** (VH CDR3; SEQ ID NO://) 및 VL CDR **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **QQGNTLPWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)를 포함하는 항체와 경쟁한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0530]

일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 VH CDR **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGTTYYPDTVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://) 및 **HSGYSSSYGVLFAY** (VH CDR3; SEQ ID NO://)를 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0531]

일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 VL CDR **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **QQGNTLPWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)를 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산

209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0532] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 VH CDR **IYDMS** (VH CDR1; SEQ ID NO://), **YISSGGGTTYYPDTVKG** (VH CDR2; SEQ ID NO://) 및 **HSGYGSSYGVLFAFAY** (VH CDR3; SEQ ID NO://) 및 VL CDR **RASQDISNYLN** (VL CDR1; SEQ ID NO://), **YTSILHS** (VL CDR2; SEQ ID NO://) 및 **QQGNLTPWT** (VL CDR3; SEQ ID NO://)를 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0533] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 다음 아미노산 서열: EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTTYYPDTVKG RFTISRDNKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGYGSSYGVLFAFAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO://)을 포함하는 항-CD22 VH 영역에 존재하는 VH CDR들을 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0534] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 다음 아미노산 서열: DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSILHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCQQGNLTPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO://)을 포함하는 항-CD22 VL 영역에 존재하는 VL CDR들을 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22

항체는 인간화된다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0535] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTYYYPDTVKGRTISRDNKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGYGSSYGVLFAFWGQGLTLTVSS (SEQ ID NO://)에 존재하는 VH CDR들 및 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO://)에 존재하는 VL CDR들을 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 인간화된다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91; 11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함하며; 예컨대 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 Ig 카파 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 12-14; 3) 아미노산 21; 4) 아미노산 33-37; 5) 아미노산 34-37; 6) 아미노산 44-51; 7) 아미노산 57-65; 8) 아미노산 83-83; 9) 아미노산 91-96; 10) 아미노산 104-107; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9C에 도시된 인간 카파 경쇄; 아미노산 서열)를 기준으로 한다.

[0536] 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTYYYPDTVKGRTISRDNKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGYGSSYGVLFAFWGQGLTLTVSS (SEQ ID NO://)를 포함한다. 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 VL 아미노산 서열 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO://)을 포함한다. 일부 경우에, 적합한 항-CD22 항체는 VH 아미노산 서열 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFAFSIYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGTYYYPDTVKGRTISRDNKNSLYLQMSSLRAEDTAMYYCARHSGYGSSYGVLFAFWGQGLTLTVSS (SEQ ID NO://); 및 VL 아미노산 서열 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKR (SEQ ID NO://)을 포함한다. 일부 경우에, 항-CD22 항체는 상기 기술된 설파타제 모티프를 포함하기 위해 변형되고, 여기서 변형은 하나 이상의 아미노산 잔기 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, 설파타제 모티프는 다음 중 하나 이상에 상응하는 IgG1 중쇄 불변 영역의 영역 내에, 또는 그것에 인접하여 있다: 1) 아미노산 1-6; 2) 아미노산 16-22; 3) 아미노산 34-47; 4) 아미노산 42-49; 5) 아미노산 42-62; 6) 아미노산 34-37; 7) 아미노산 69-71; 8) 아미노산 79-81; 9) 아미노산 78-81; 10) 아미노산 87-91;



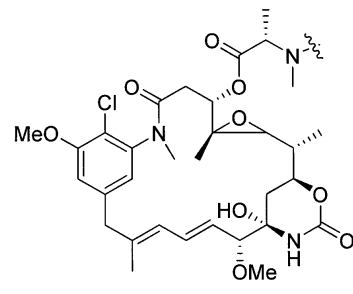
11) 아미노산 100-121; 12) 아미노산 127-131; 13) 아미노산 137-141; 14) 아미노산 149-157; 15) 아미노산 151-157; 16) 아미노산 164-165; 17) 아미노산 164-172; 18) 아미노산 169-171; 19) 아미노산 179-183; 20) 아미노산 189-193; 21) 아미노산 200-202; 22) 아미노산 209-215; 23) 아미노산 221-229; 24) 아미노산 22-228; 25) 아미노산 236-245; 26) 아미노산 217-261; 27) 아미노산 268-274; 28) 아미노산 278-287; 29) 아미노산 313-331; 및 30) 아미노산 324-331; 여기서 아미노산 넘버링은 SEQ ID NO:// (도 9B에 도시된 인간 IgG1 불변 영역)에 제시된 인간 IgG1의 아미노산 넘버링을 기준으로 한다.

[0537]

# 폴리펩타이드에의 콘주게이션을 위한 약물

[0538]

본 개시는 약물-폴리펩타이드 콘주게이트를 제공한다. 약물의 예로는 소분자 약물, 예컨대 암 화학요법제를 포함한다. 예를 들어, 폴리펩타이드가 종양 세포에 대한 특이성을 가지는 항체 (또는 그것의 단편)인 경우, 항체는 변형된 아미노산을 포함하도록 본원에서 기술된 것과 같이 변형될 수 있고, 그것은 계속해서 암 화학요법제, 예컨대 미세소관 작용제에 콘주게이트될 수 있다. 특정 구체예에서, 약물은 항증식 활성을 가지는 미세소관 작용제, 예컨대 메이탄시노이드이다. 특정 구체예에서, 약물은 다음 구조를 가지는 메이탄시노이드이다:



[0539]

식에서 ~~~ 는 식 (I)에서 메이탄시노이드와 링커 L 사이의 부착점을 나타낸다. "부착점"은 ~~~ 기호가 식 (I)에서, 메이탄시노이드의 N과 링커 L 사이의 결합을 나타내는 것을 의미한다. 예를 들어, 식 (I)에서, W<sup>1</sup>은 메이탄시노이드, 예컨대 상기 구조의 메이탄시노이드이고, 여기서 ~~~ 는 메이탄시노이드와 링커 L 사이의 부착점을 나타낸다.

[0540]

상기에서 기술된 것과 같이, 특정 구체예에서, L은 식 -(L<sup>1</sup>)<sub>a</sub>-(L<sup>2</sup>)<sub>b</sub>-(L<sup>3</sup>)<sub>c</sub>-(L<sup>4</sup>)<sub>d</sub>-에 의해 기술되는 링커이고, 식에서 L<sup>1</sup>, L<sup>2</sup>, L<sup>3</sup> 및 L<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 a 링커 단위이다. 특정 구체예에서, L<sup>1</sup>은 커플링 모이어티, 예컨대 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착된다 (예컨대 상기 식 (I)에서 보이는 것과 같이). 특정 구체예에서, L<sup>2</sup>는, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착된다. 특정 구체예에서, L<sup>3</sup>은, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착된다. 특정 구체예에서, L<sup>4</sup>는, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착된다.

[0541]

상기에서 기술된 것과 같이, 특정 구체예에서, 링커 -(L<sup>1</sup>)<sub>a</sub>-(L<sup>2</sup>)<sub>b</sub>-(L<sup>3</sup>)<sub>c</sub>-(L<sup>4</sup>)<sub>d</sub>-는 식 -(T<sup>1</sup>-V<sup>1</sup>)<sub>a</sub>-(T<sup>2</sup>-V<sup>2</sup>)<sub>b</sub>-(T<sup>3</sup>-V<sup>3</sup>)<sub>c</sub>-(T<sup>4</sup>-V<sup>4</sup>)<sub>d</sub>-에 의해 기술되고, 여기서 a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 0 또는 1이며, 이때 a, b, c 및 d의 합은 1 내지 4이다. 특정 구체예에서, 상기 기술된 것과 같이, L<sup>1</sup>은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착된다 (예컨대 상기 식 (I)에서 보이는 것과 같이). 그와 같이, 특정 구체예에서, T<sup>1</sup>은 하이드라지닐-인돌릴 또는 하이드라지닐-피롤로-피리디닐 커플링 모이어티에 부착된다 (예컨대 상기 식 (I)에서 보이는 것과 같이). 특정 구체예에서, V<sup>1</sup>은 W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착된다. 특정 구체예에서, 상기 기술된 것과 같이, L<sup>2</sup>는, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착된다. 그와 같이, 특정 구체예에서, T<sup>2</sup>는, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착되거나, 또는 V<sup>2</sup>는, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착된다. 특정 구체예에서, 상기 기술된 것과 같이, L<sup>3</sup>은, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착된다. 그와 같이, 특정 구체예에서, T<sup>3</sup>은, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착되거나, 또는 V<sup>3</sup>은, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착된다. 특정 구체예에서, 상기 기술된 것과 같이, L<sup>4</sup>는, 존재한다면, W<sup>1</sup> (메이탄시노이드)에 부착된다. 그와 같

[0542]

이, 특정 구체예에서,  $T^4$ 는, 존재한다면,  $W^1$  (메이탄시노이드)에 부착되거나, 또는  $V^4$ 는, 존재한다면,  $W^1$  (메이탄시노이드)에 부착된다.

[0543] 본 개시의 구체예들은 폴리펩타이드 (예컨대 항-CD22 항체)가 하나 이상의 약물 모이어티 (예컨대 메이탄시노이드), 예컨대 2개의 약물 모이어티, 3개의 약물 모이어티, 4개의 약물 모이어티, 5개의 약물 모이어티, 6개의 약물 모이어티, 7개의 약물 모이어티, 8개의 약물 모이어티, 9개의 약물 모이어티 또는 10개 또는 그 이상의 약물 모이어티에 콘쥬게이션되어 있는 콘쥬게이트를 포함한다. 약물 모이어티는 본원에서 기술되는 것과 같이, 폴리펩타이드의 하나 이상의 부위에서 폴리펩타이드에 콘쥬게이션된다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트는 0.1 내지 10, 또는 0.5 내지 10, 또는 1 내지 10, 예컨대 1 내지 9, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 7, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 5, 또는 1 내지 4, 또는 1 내지 3, 또는 1 내지 2의 범위의 평균 약물-대-항체 비율 (DAR) (몰비율)을 가진다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트는 1 내지 2, 예컨대 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9 또는 2의 평균 DAR을 가진다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트는 1.6 내지 1.9의 평균 DAR을 가진다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트는 1.7의 평균 DAR을 가진다. 평균은 산술적 평균을 의미한다.

#### [0544] 제형

[0545] 본 개시의 콘쥬게이트 (항체 콘쥬게이트를 포함함)는 다양한 상이한 방법으로 제형될 수 있다. 일반적으로, 콘쥬게이트가 폴리펩타이드-약물 콘쥬게이트인 경우에, 콘쥬게이트는 폴리펩타이드에 콘쥬게이션된 약물, 처리되는 조건 및 사용될 투여 경로와 부합하는 방식으로 제형된다.

[0546] 콘쥬게이트 (예컨대 폴리펩타이드-약물 콘쥬게이트)는 임의의 적합한 형태, 예컨대 제약학적으로 허용되는 염의 형태로 제공될 수 있고, 임의의 적합한 투여 경로, 예컨대 경구, 국소 또는 비경구 투여에 대해 제형될 수 있다. 콘쥬게이트가 주사 가능한 액체로서 제공되는 경우 (예컨대 정맥내로 투여되거나 또는 조직으로 직접 투여되는 그런 구체예들에서), 콘쥬게이트는 사용 준비가 되어 있는 투약 형태로서, 또는 복원 가능한 보관-안정한 분말 또는 제약학적으로 허용되는 담체 및 부형제로 구성된 액체로서 제공될 수 있다.

[0547] 콘쥬게이트를 제형하는 방법은 쉽게 활용할 수 있는 방법들로부터 적용될 수 있다. 예를 들어, 콘쥬게이트는 치료적 유효량의 콘쥬게이트 및 제약학적으로 허용되는 담체 (예컨대 식염수)를 포함하는 제약학적 조성물로 제공될 수 있다. 제약학적 조성물은 선택적으로 다른 첨가제 (예컨대 완충제, 안정화제, 보존제 등)를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 제형은 포유류에 투여하기에 적합한데, 예컨대 인간에 투여하기에 적합한 것들이다.

#### [0548] 치료 방법

[0549] 본 개시의 폴리펩타이드-약물 콘쥬게이트는 모 약물 (즉 폴리펩타이드에 콘쥬게이션되기 전의 약물)의 투여에 의한 치료를 잘 받아들이는 대상체에서 상태 또는 질환의 치료에 사용될 수 있다. "치료"는 숙주에 영향을 주는 상태와 관련된 증상들의 적어도 개선이 이루어지는 것을 의미하며, 여기서 개선은 치료되는 상태와 관련된 매개 변수, 예컨대 증상의 정도의 적어도 감소를 나타내기 위해 넓은 의미로 사용된다. 그와 같이, 치료는 또한 병리적 상태, 또는 적어도 그것과 관련된 증상들이 완전히 억제되어, 예컨대 발생하는 것이 예방되거나 중단되어, 예컨대 종결되어서, 더 이상 숙주가 그 상태로, 또는 그 상태를 특성화하는 적어도 증상들로 고생하지 않는 상황을 포함한다. 그러므로 치료는 (i) 임상적 증상들이 발생하지 않도록 유발하는 것, 예컨대 해로운 상태로의 질환 진행을 방지하는 것을 포함하여 예방, 즉 임상적 증상의 발생 위험을 감소시키는 것; (ii) 억제, 즉 임상적 증상들의 발생 또는 추가의 발달을 저지하는 것, 예컨대 활성 질환을 경감시키거나 완전히 억제하는 것; 및/또는 (iii) 완화, 즉 임상적 증상들의 퇴행을 유발하는 것을 포함한다.

[0550] 암의 맥락에서, 용어 "치료하는"은 고체 종양의 성장을 감소시키는 것, 암세포의 복제를 억제하는 것, 전체 종양 부담을 감소시키는 것, 그리고 암과 관련된 하나 이상의 증상을 개선하는 것 중 어느 것 또는 전부를 포함한다.

[0551] 치료되는 대상체는 치료를 필요로 하는 대상체일 수 있고, 치료되는 숙주는 모 약물을 사용한 치료를 잘 받아들이는 숙주이다. 따라서, 다양한 대상체가 본원에 개시된 폴리펩타이드-약물 콘쥬게이트를 사용하여 치료를 받을 수 있다. 일반적으로, 그런 대상체는 "포유류"이고, 인간이 관심의 대상이다. 다른 대상체들은 가정의 애완동물 (예컨대 개 및 고양이), 가축 (예컨대 소, 돼지, 염소, 말 등), 설치류 (예컨대 마우스, 기니아 피그 및 래트, 예컨대 질환의 동물 모델에서와 같음), 뿐만 아니라 비-인간 영장류 (예컨대 침팬지, 및 원숭이)를 포함할 수 있다.

[0552] 투여된 폴리펩타이드-약물 콘쥬게이트의 양은 처음에 모 약물의 용량 및/또는 투여 처방을 기반으로 결정될 수

있다. 일반적으로, 폴리펩타이드-약물 콘주게이트는 표적화된 전달 및/또는 결합된 약물의 향상된 혈청 반감기를 제공할 수 있고, 그러므로 투여 처방에서 적어도 하나의 감소된 용량 또는 감소된 투여를 제공할 수 있다. 그러므로, 폴리펩타이드-약물 콘주게이트는 본 개시의 폴리펩타이드-약물 콘주게이트에 콘주게이션되기 전의 모 약물에 비해 투여 처방에서 감소된 용량 및/또는 감소된 투여를 제공할 수 있다.

[0553] 나아가, 상기에서 주지된 것과 같이, 폴리펩타이드-약물 콘주게이트는 제어된 화학양론의 약물 전달을 제공할 수 있기 때문에, 폴리펩타이드-약물 콘주게이트의 투여량은 폴리펩타이드-약물 콘주게이트 기준 당 제공된 약물 분자의 수를 기반으로 계산될 수 있다.

[0554] 일부 구체예에서, 다중 용량의 폴리펩타이드-약물 콘주게이트가 투여된다. 폴리펩타이드-약물 콘주게이트의 투여 빈도는 다양한 요인들, 예컨대 증상의 심각성, 대상체의 상태 등 중의 임의의 요인에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 폴리펩타이드-약물 콘주게이트는 1개월에 1회, 1개월에 2회, 1개월에 3회, 격주마다, 주마다 (qwk), 주 2회, 주 3회, 주 4회, 주 5회, 주 6회, 격일, 매일 (qd/od), 1일에 2회 (bds/bid) 또는 1일에 3회 (tds/tid), 등으로 투여된다.

#### [0555] 암 치료 방법

[0556] 본 개시는 암을 가진 개체에 암 화학요법제를 전달하기 위한 방법을 제공한다. 방법은 암종, 육종, 백혈병 및 림프종을 포함하여, 매우 다양한 암을 치료하는 데 유용하다.

[0557] 본 방법을 사용하여 치료될 수 있는 암종은, 한정하는 것은 아니지만, 식도 암종, 간세포 암종, 기저 세포 암종 (피부암의 형태), 편평 세포 암종 (다양한 조직), 이행 세포 암종 (방광의 악성 신생물)을 포함하여 방광 암종, 기관지원성 암종, 결장 암종, 대장 암종, 위 암종, 폐의 소세포 암종 및 비-소세포 암종을 포함하여 폐 암종, 부신피질 암종, 갑상선 암종, 췌장 암종, 유방 암종, 난소 암종, 전립선 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭샘암종, 수질 암종, 신장 세포 암종, 관상피내 암종 또는 담관 암종, 융모막 암종, 정상피종, 배아 암종, 빌름 종양, 자궁경부 암종, 자궁 암종, 고환 암종, 골원성 암종, 상피 암종, 및 비인두 암종 등을 포함한다.

[0558] 본 방법을 사용하여 치료될 수 있는 육종은, 한정하는 것은 아니지만, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 척삭종, 골원성 육종, 골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관 내피 육종, 활막육종, 중피종, 유방 육종, 평활근육종, 횡문근 육종, 및 다른 연조직 육종들을 포함한다.

[0559] 본 방법을 사용하여 치료될 수 있는 다른 고체 종양은, 한정하는 것은 아니지만, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청각 신경종, 뱀지교세포종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종 및 망막모세포종을 포함한다.

[0560] 본 방법을 사용하여 치료될 수 있는 백혈병은, 한정하는 것은 아니지만, a) 만성 골수증식성 증후군 (다능성 조혈 줄기 세포의 신생물 장애); b) 급성 골수성 백혈병 (제한된 계통 잠재성의 다능성 조혈 줄기 세포 또는 조혈 세포의 신생 세포 변형); c) 만성 림프구성 백혈병 (CLL; 면역학적으로 미성숙하고 기능적으로 무능한 작은 림프구들의 클론성 증식), 이를테면 B-세포 CLL, T-세포 CLL 전림프구성 백혈병, 및 털세포 백혈병; 및 d) 급성 림프모세포성 백혈병 (림프모세포의 축적이 특징임)을 포함한다. 본 방법을 사용하여 치료될 수 있는 림프종은, 한정하는 것은 아니지만, B-세포 림프종 (버킷 림프종); 호지킨 림프종; 비-호지킨 B-세포 림프종; 등을 포함한다.

#### [0561] 실시예

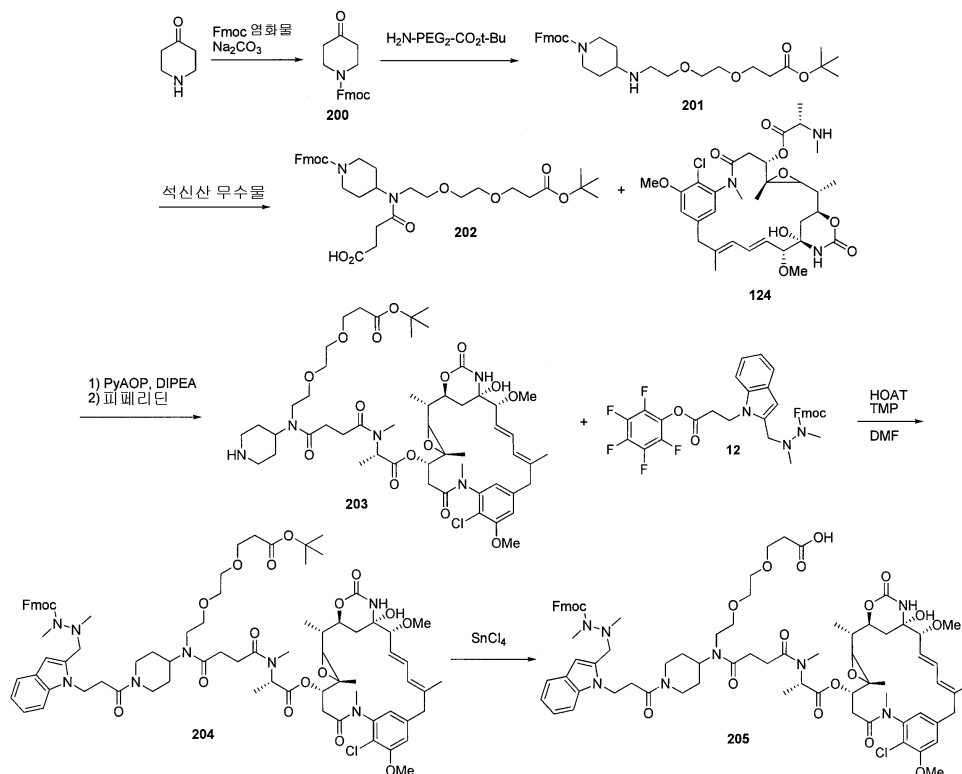
[0562] 다음의 실시예들은 본 발명을 만들고 사용하는 방법의 완전한 개시 및 설명을 기술분야에서 통상적인 지식을 가진 사람들에게 제공하기 위해 제시되고, 본 발명자들이 그들의 발명으로서 간주하는 것의 범주를 제한하려 하거나 본 발명자들이 하기의 실험이 그들이 수행한 전부이거나 유일한 실험인 것을 나타내기 위해 의도한 것이 아니다. 사용된 숫자 (예컨대 양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 보장하기 위한 노력을 기울였지만 일부 실험적 오류 및 편차가 해명되어야 한다. 다르게 표시되지 않는 한, 부는 중량에 의한 부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 온도이고, 압력은 대기압이거나 거의 대기압이다. "평균"은 산술적 평균을 의미한다. 표준 약어가 사용될 수 있는데, 예컨대 bp, 염기쌍(들); kb, 킬로염기쌍(들); pl, 피코리터(들); s 또는 sec, 제2(들); min, 분(들); h 또는 hr, 시간(들); aa, 아미노산(들); kb, 킬로염기(들); bp, 염기쌍(들); nt, 뉴클레오타이드(들); i.m., 근육내(로); i.p., 복강내(로); s.c., 피하(로); 등이다.

#### [0563] 일반적인 합성 과정



- [0564] 개시된 화합물들을 합성하기에 유용한 통상적으로 공지된 화학적 합성 계획들 및 조건들을 제공하는 많은 일반적인 참고문헌들이 이용될 수 있다 (예컨대 Smith and March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Fifth Edition, Wiley-Interscience, 2001; 또는 Vogel, *A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis*, Fourth Edition, New York: Longman, 1978 참조).
- [0565] 본원에 기술된 화합물들은 크로마토그래피, 예컨대 HPLC, 제조용 박막 크로마토그래피, 플래시 칼럼 크로마토그래피 및 이온 교환 크로마토그래피를 포함하여, 기술분야에 공지되어 있는 임의의 정제 프로토콜에 의해 정제될 수 있다. 이온 수지뿐 아니라 정상 상 및 역상을 포함하여, 임의의 적합한 정지상이 사용될 수 있다. 특정 구체예에서, 개시된 화합물들은 실리카겔 및/또는 알루미나 크로마토그래피를 통해 정제된다. 예컨대 *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2nd Edition, ed. L. R. Snyder and J. J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; 및 *Thin Layer Chromatography*, ed E. Stahl, Springer-Verlag, New York, 1969 참조.
- [0566] 본 화합물의 제조 과정들 중 어느 과정 중에도, 관련된 임의의 화합물 상에서 민감한 또는 반응성 기들을 보호하는 것이 필요하거나 및/또는 바람직할 수 있다. 이것은 표준 작업에서 기술된 것과 같이 종래의 보호기에 의해 이루어질 수 있다, 예컨대 J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, in T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, in "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, in "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4<sup>th</sup> edition, Vol. 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, in H.-D. Jakubke and H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982, and/or in Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. 보호기들은 기술분야에 알려져 있는 방법들을 사용하여 편리한 후속 단계에서 제거될 수 있다.
- [0567] 본 화합물들은 상업적으로 입수 가능한 출발 물질 및/또는 종래의 합성 방법들에 의해 제조된 출발 물질을 사용하여 다양한 상이한 합성 경로를 통해 합성될 수 있다. 본원에 개시된 화합물들을 합성하기 위해 사용될 수 있는 합성 경로들의 다양한 예는 하기 계획들로 기술된다.
- [0568] **실시예 1**
- [0569] 4-아미노-피페리딘 (4AP)기를 함유한 링커를 하기 나타난 계획 1에 따라 합성하였다.

[0570] 계획 1



[0571]

[0572] (9*H*-플루오렌-9-일)메틸 4-옥소피페리딘-1-카르복실레이트 (200)의 합성

[0573]

자기 교반 막대를 가진 100 mL의 둥근 바닥 플라스크에 피페리딘-4-온 염산염 일수화물 (1.53 g, 10 mmol), 염화 Fmoc (2.58 g, 10 mmol), 소듐 카보네이트 (3.18 g, 30 mmol), 다이옥산 (20 mL) 및 물 (2 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 EtOAc (100 mL)로 희석하고 물 (1 x 100 mL)로 추출하였다. 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압하에 농축하였다. 그 결과의 물질을 진공 건조시켜서 화합물 200을 백색 고체로서 얻었다 (3.05 g, 95% 수율).

[0574]

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.78 (d, 2H, *J* = 7.6), 7.59 (d, 2H, *J* = 7.2), 7.43 (t, 2H, *J* = 7.2), 7.37 (t, 2H, *J* = 7.2), 4.60 (d, 2H, *J* = 6.0), 4.28 (t, 2H, *J* = 6.0), 3.72 (br, 2H), 3.63 (br, 2H), 2.39 (br, 2H), 2.28 (br, 2H).

[0575]

MS (ESI) *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>3</sub>에 대한 계산값 322.4; 실측값 322.2.

[0576]

(9*H*-플루오렌-9-일)메틸 4-((2-(2-(3-(*tert*-부톡시)-3-옥소프로폭시)에톡시)에틸)아미노)피페리딘-1-카르복실레이트 (201)의 합성

[0577]

자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 피페리딘온 200 (642 mg, 2.0 mmol), H<sub>2</sub>N-PEG<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>t-Bu (560 mg, 2.4 mmol), 4 Å 분자체 (활성화 분말, 500 mg) 및 1,2-다이클로로에탄 (5 mL)을 첨가하였다. 그 혼합물을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물에 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 (845 mg, 4.0 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 5일 동안 실온에서 교반하였다. 그 결과의 혼합물을 EtOAc로 희석하였다. 유기층을 포화 NaHCO<sub>3</sub> (1 x 50 mL), 및 식염수 (1 x 50 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과한 후, 감압하에 농축하여 화합물 201을 오일로서 얻었고, 그것을 추가의 정제 없이 계속 사용하였다.

[0578]

13-(1-(((9*H*-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)피페리딘-4-일)-2,2-다이메틸-4,14-다이옥소-3,7,10-트라이옥사-13-아자헵타데칸-17-오산 (202)의 합성

[0579]

자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 이전 단계로부터의 *N*-Fmoc-피페리딘-4-아미노-PEG<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>t-Bu (201), 석신산 무수물 (270 mg, 2.7 mmol), 및 다이클로로메탄 (5 mL)을 첨가하였다. 그 혼합물을 18시간 동안

실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc와 포화 NaHCO<sub>3</sub> 사이에서 분배하였다. 수성 층을 EtOAc (3x)로 추출하였다. 수성 층을 pH가 ~3이 될 때까지 HCl (1 M)로 산성화하였다. 수성 층을 DCM으로 추출하였다 (3x). 조합한 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과한 후, 감압하에 농축하였다. 반응 혼합물을 C18 플래시 크로마토그래피 (0.1% 아세트산으로 10 내지 100% MeCN/물을 용출함)에 의해 정제하였다. 생성물 함유 분획을 감압하에 농축한 후 톨루엔 (3 x 50 mL)으로 공비혼합물로 만들어서 잔류하는 아세트산을 제거하여 534 mg (42%, 2 단계)의 화합물 **202**를 백색 고체로서 얻었다.

[0580] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.96 (br, 1H), 7.89 (d, 2H, *J* = 7.2), 7.63 (d, 2H, *J* = 7.2), 7.42 (t, 2H, *J* = 7.2), 7.34 (t, 2H, *J* = 7.2), 4.25-4.55 (m, 3H), 3.70-4.35 (m, 3H), 3.59 (t, 2H, *J* = 6.0), 3.39 (m, 5H), 3.35 (m, 3H), 3.21 (br, 1H), 2.79 (br, 2H), 2.57 (m, 2H), 2.42 (q, 4H, *J* = 6.0), 1.49 (br, 3H), 1.37 (s, 9H).

[0581] MS (ESI) *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>35</sub>H<sub>47</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>에 대한 계산값 639.3; 실측값 639.2.

[0582] (2*S*)-1-(((1<sup>4</sup>*S*,1<sup>6</sup>*S*,3<sup>3</sup>*S*,2*R*,4*S*,10*E*,12*E*,14*R*)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일)옥시)-2,3-다이메틸-1,4,7-트라이옥소-8-(피페리딘-4-일)-11,14-다이옥사-3,8-다이아자헵타데칸-17-오산 (203)의 합성

[0583] 2 mL의 DMF 중의 에스테르 **202** (227mg, 0.356 mmol), 다이아이소프로필에틸아민 (174 μL, 1.065 mmol), *N*-테아세틸 메탄산 **124** (231 mg, 0.355 mmol)의 용액에 PyAOP (185 mg, 0.355 mmol)를 첨가하였다. 그 용액을 30 분 동안 교반하였다. 그 반응 혼합물에 피페리딘 (0.5 mL)을 첨가하고 추가로 20분 동안 교반하였다. 미정제 반응 혼합물을 0 내지 100% 구배의 아세토니트릴:물을 사용하여 C18 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 203.2 mg (55%, 2 단계)의 화합물 **203**을 얻었다.

[0584] 17-(*tert*-부틸) 1-(((1<sup>4</sup>*S*,1<sup>6</sup>*S*,3<sup>3</sup>*S*,2*R*,4*S*,10*E*,12*E*,14*R*)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일) (2*S*)-8-(1-(3-(2-((2-(((9*H*-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-1,2-다이메틸하이드라지닐)메틸)-1*H*-인돌-1-일)프로파노일)피페리딘-4-일)-2,3-다이메틸-4,7-다이옥소-11,14-다이옥사-3,8-다이아자헵타데칸다이오에이트 (204)의 합성

[0585] 1 mL의 DMF 중의 피페리딘 **203** (203.2 mg, 0.194 mmol), 에스테르 **12** (126.5 mg, 0.194 mmol), 2,4,6-트라이메틸피리딘 (77 μL, 0.582 mmol), HOAT (26.4 mg, 0.194 mmol) 용액을 30분 동안 교반하였다. 미정제 반응을 0.1% 포름산이 첨가된 아세토니트릴:물의 0 내지 100% 구배를 사용하여 C18 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 280.5 mg (97% 수율)의 화합물 **204**를 얻었다.

[0586] MS (ESI) *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>81</sub>H<sub>106</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>18</sub>에 대한 계산값 1513.7; 실측값 1514.0.

[0587] (2*S*)-8-(1-(3-(2-((2-(((9*H*-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-1,2-다이메틸하이드라지닐)메틸)-1*H*-인돌-1-일)프로파노일)피페리딘-4-일)-1-(((1<sup>4</sup>*S*,1<sup>6</sup>*S*,3<sup>3</sup>*S*,2*R*,4*S*,10*E*,12*E*,14*R*)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일)옥시)-2,3-다이메틸-1,4,7-트라이옥소-11,14-다이옥사-3,8-다이아자헵타데칸-17-오산 (205)의 합성

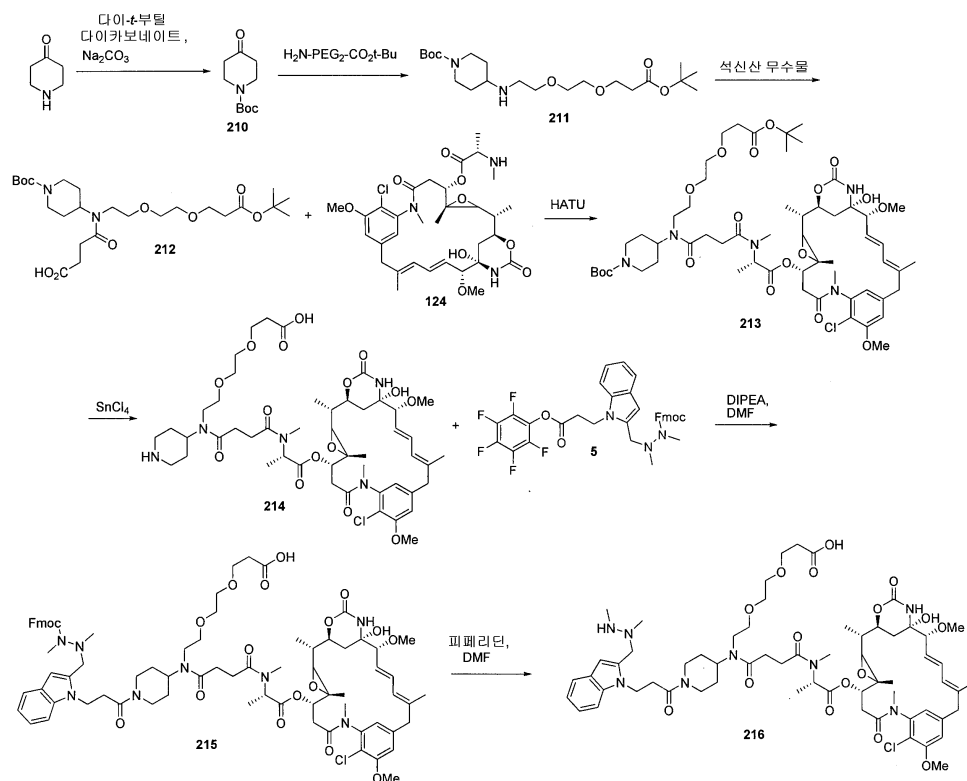
[0588] 500 μL의 무수 DCM 중의 화합물 **204** (108 mg, 0.0714 mmol)의 용액에 DCM 중의 1 M SnCl<sub>4</sub> 용액 357 μL를 첨가하였다. 불균일한 혼합물을 1시간 동안 교반한 후 0.1% 포름산이 첨가된 아세토니트릴:물의 0 내지 100% 구배를 사용하여 C18 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 78.4 mg (75% 수율)의 화합물 **205**를 얻었다.

[0589] MS (ESI) *m/z*: [M-H]<sup>-</sup> C<sub>77</sub>H<sub>96</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>18</sub>에 대한 계산값 1455.7; 실측값 1455.9.

[0590] 실시예 2

[0591] 4-아미노-피페리딘 (4AP)기를 함유한 링커를 하기 나타낸 계획 2에 따라 합성하였다.

[0592] **계획 2**



[0593]

[0594] ***tert*-부틸 4-옥소피페리딘-1-카르복실레이트 (210)의 합성**

[0595] 자기 교반 막대를 가진 100 mL 둥근 바닥 플라스크에 피페리딘-4-온 염산염 일수화물 (1.53 g, 10 mmol), 다이-*tert*-부틸 다이카보네이트 (2.39 g, 11 mmol), 탄산 나트륨 (1.22 g, 11.5 mmol), 다이옥산 (10 mL) 및 물 (1 mL)을 첨가하였다. 그 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 (100 mL)로 희석하고 EtOAc (3 x 100 mL)로 추출하였다. 조합한 유기층을 식염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과한 후 감압하에 농축하였다. 그 결과의 물질을 진공 중에서 건조시켜서 1.74 g (87%)의 화합물 **210**을 백색 고체로서 얻었다.

[0596] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 3.73 (t, 4H, J = 6.0), 2.46 (t, 4H, J = 6.0), 1.51 (s, 9H).

[0597] MS (ESI) m/z: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>3</sub>에 대한 계산값 200.3; 실측값 200.2.

[0598] ***tert*-부틸 4-((2-(2-(3-(*tert*-부톡시)-3-옥소프로폭시)에톡시)에틸)아미노)피페리딘-1-카르복실레이트 (211)의 합성**

[0599] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 *tert*-부틸 4-옥소피페리딘-1-카르복실레이트 (399 mg, 2 mmol), H<sub>2</sub>N-PEG<sub>2</sub>-COOt-Bu (550 mg, 2.4 mmol), 4 Å 분자체 (활성화 분말, 200 mg) 및 1,2-다이클로로에탄 (5 mL)을 첨가하였다. 그 혼합물을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물에 소듐 트라이아세톡시보로하이드라이드 (845 mg, 4 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 3일 동안 실온에서 교반하였다. 그 결과의 혼합물을 EtOAc와 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> 사이에서 분배하였다. 유기층을 식염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과한 후, 감압하에 농축하여 850 mg의 화합물 **211**을 점성 오일로서 얻었다.

[0600] MS (ESI) m/z: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>21</sub>H<sub>41</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>에 대한 계산값 417.3; 실측값 417.2.

[0601] **13-(1-(*tert*-부톡시카르보닐)피페리딘-4-일)-2,2-다이메틸-4,14-다이옥소-3,7,10-트라이옥사-13-아자헵타데칸-17-오산 (212)의 합성**

[0602] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 *tert*-부틸 4-((2-(2-(3-(*tert*-부톡시)-3-옥소프로폭시)에톡

시)에틸)아미노)피페리딘-1-카르복실레이트 **211** (220 mg, 0.5 mmol), 석신산 무수물 (55 mg, 0.55 mmol), 4-(다이메틸아미노)피리딘 (5 mg, 0.04 mmol) 및 다이클로로메탄 (3 mL)을 첨가하였다. 그 혼합물을 24시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 부분적으로 플래시 크로마토그래피 (50 내지 100%의 EtOAc/헥산으로 용출함)에 의해 정제하여 117 mg의 화합물 **212**를 투명한 오일로서 얻었고, 그것을 추가의 특성확인 없이 계속 사용하였다.

[0603] MS (ESI) m/z: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>25</sub>H<sub>45</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>에 대한 계산값 517.6; 실측값 517.5.

[0604] 17-(*tert*-부틸) 1-(((1<sup>4</sup>S,1<sup>6</sup>S,3<sup>3</sup>S,2R,4S,10E,12E,14R)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일) (2S)-8-(1-(*tert*-부톡시카르보닐)피페리딘-4-일)-2,3-다이메틸-4,7-다이옥소-11,14-다이옥사-3,8-다이아자헵타데칸다이에이트 (213)의 합성

[0605] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 13-(1-(*tert*-부톡시카르보닐)피페리딘-4-일)-2,2-다이메틸-4,14-다이옥소-3,7,10-트라이옥사-13-아자헵타데칸-17-오산 **212** (55 mg, 0.1 mmol), *N*-데아실 메이탄신 **124** (65 mg, 0.1 mmol), HATU (43 mg, 0.11 mmol), DMF (1 mL) 및 다이클로로메탄 (0.5 mL)을 첨가하였다. 그 혼합물을 8시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 바로 C18 플래시 크로마토그래피 (5 내지 100%의 MeCN/물로 용출함)에 의해 정제하여 18 mg (16%)의 화합물 **213**을 백색 필름으로서 얻었다.

[0606] MS (ESI) m/z: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>57</sub>H<sub>87</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>17</sub>에 대한 계산값 1148.6; 실측값 1148.7.

[0607] (2S)-1-(((1<sup>4</sup>S,1<sup>6</sup>S,3<sup>3</sup>S,2R,4S,10E,12E,14R)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일)옥시)-2,3-다이메틸-1,4,7-트라이옥소-8-(피페리딘-4-일)-11,14-다이옥사-3,8-다이아자헵타데칸-17-오산 (214)의 합성

[0608] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 메이탄시노이드 **213** (31 mg, 0.027 mmol) 및 다이클로로메탄 (1 mL)을 첨가하였다. 그 용액을 0℃로 냉각하고 4염화 제2주석(tin(IV) tetrachloride) (다이클로로메탄 중의 1.0 M 용액, 0.3 mL, 0.3 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 0℃에서 교반하였다. 반응 혼합물을 바로 C18 플래시 크로마토그래피 (5 내지 100%의 MeCN/물로 용출함)에 의해 정제하여 16 mg (60%)의 화합물 **214**를 백색 고체로서 얻었다 (16 mg, 60% 수율).

[0609] MS (ESI) m/z: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>48</sub>H<sub>71</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>15</sub>에 대한 계산값 992.5; 실측값 992.6.

[0610] (2S)-8-(1-(3-(2-((2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-1,2-다이메틸하이드라지닐)메틸)-1H-인돌-1-일)프로파노일)피페리딘-4-일)-1-(((1<sup>4</sup>S,1<sup>6</sup>S,3<sup>3</sup>S,2R,4S,10E,12E,14R)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일)옥시)-2,3-다이메틸-1,4,7-트라이옥소-11,14-다이옥사-3,8-다이아자헵타데칸-17-오산 (215)의 합성

[0611] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 메이탄시노이드 **214** (16 mg, 0.016 mmol), (9H-플루오렌-9-일)메틸 1,2-다이메틸-2-((1-(3-옥소-3-(피플루오로페녹시)프로필)-1H-인돌-2-일)메틸)하이드라진-1-카르복실레이트 (**5**) (13 mg, 0.02 mmol), DIPEA (8 μL, 0.05 mmol) 및 DMF (1 mL)을 첨가하였다. 그 용액을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 바로 C18 플래시 크로마토그래피 (5 내지 100%의 MeCN/물로 용출함)에 의해 정제하여 18 mg (77%)의 화합물 **215**를 백색 고체로서 얻었다.

[0612] MS (ESI) m/z: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>77</sub>H<sub>98</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>18</sub>에 대한 계산값 1457.7; 실측값 1457.9.

[0613] (2S)-1-(((1<sup>4</sup>S,1<sup>6</sup>S,3<sup>3</sup>S,2R,4S,10E,12E,14R)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일)옥시)-8-(1-(3-(2-((1,2-다이메틸하이드라지닐)메틸)-1H-인돌-1-일)프로파노일)피페리딘-4-일)-2,3-다이



**메틸-1,4,7-트라이옥소-11,14-다이옥사-3,8-다이아자헵타데칸-17-오산 (216)의 합성**

[0614] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 메이탄시노이드 **215** (18 mg, 0.012 mmol), 피페리딘 (20  $\mu$  L, 0.02 mmol) 및 DMF (1 mL)을 첨가하였다. 그 용액을 20분 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 바로 C18 플래스 크로마토그래피 (5 내지 100%의 MeCN/물로 용출함)에 의해 정제하여 수율 15 mg (98%)의 화합물 **216** (본원에서 HIPS-4AP-메이탄신 또는 HIPS-4-아미노-피페리딘-메이탄신으로도 언급됨)을 백색 고체로서 얻었다.

[0615] MS (ESI) m/z:  $[M+H]^+$   $C_{62}H_{88}ClN_8O_{16}$ 에 대한 계산값 1235.6; 실측값 1236.0.

**실시예 3****실험 과정****일반 사항**

[0619] 실험들을 부위-특이적으로 콘주게이션된 항체-약물 콘주게이트 (ADC)를 생성하기 위해 수행하였다. 부위-특이적 ADC 생성은 비-천연 아미노산인 포르밀글리신 (FGly)의 단백질 서열 안으로의 통합을 포함하였다. FGly를 설치하기 위하여 (도 1), 짧은 공통 서열, CXPXR (여기서 X는 세린, 트레오닌, 알라닌 또는 글리신임)을 항체 중쇄 또는 경쇄의 보존된 영역의 원하는 위치에 표준 분자 생물학 클로닝 기법들을 사용하여 삽입하였다. 이런 "태그가 붙은" 구성물을, 태그 내의 시스테인을 FGly 잔기로 공동번역적으로 변환시켜서 알데하이드 작용기 (또한 본원에서 알데하이드 태그로도 언급됨)를 생성시키는 포르밀글리신-생성 효소 (FGE)를 발현하는 세포에서 재조합에 의해 제조하였다. 알데하이드 작용기는 생물직교(bioorthogonal) 콘주게이션을 위한 화학적 손잡이로서 작용하였다. 하이드라지노-*iso*-피켈-슈펩글리 (HIPS) 결합을 사용하여 페이로드 (예컨대 약물, 예컨대 세포독소 (예컨대 메이탄신))를 FGly와 연결시켜서, 결과적으로 안정한, 공유 C-C 결합을 세포독소 페이로드와 항체 사이에 형성한다. 이런 C-C 결합은 순환 및 FcRn 재활용 중에 ADC에 의해 만나게 되는 생리적으로 관련된 조건, 예컨대 프로테아제, 낮은 pH, 및 환원 시약에 대해 안정할 것으로 예상되었다. 알데하이드 태그를 가지는 항체는 다양한 위치에서 제조될 수 있다. 중쇄 C-말단 (CT)에 알데하이드 태그를 삽입시키는 효과를 테스트하기 위해 실험을 수행하였다. 생물물리학적 및 기능적 특성확인을 그 결과로 HIPS 링커를 통해 메이탄신 페이로드에의 콘주게이션에 의해 만들어진 ADC에 대해 수행하였다.

**태그가 붙은 항체의 클로닝, 발현 및 정제**

[0621] 알데하이드 태그 서열을 표준 분자 생물학 기법을 사용하여 중쇄 C-말단 (CT)에 삽입하였다. 소규모 제조를 위해, CHO-S 세포를 인간 FGE 발현 구성물로 트랜스펙션하고 FGE-과잉발현 세포의 풀을 항체의 일시적인 제조를 위해 사용하였다. 대규모 제조를 위해, GPEx 기술 (Catalent, Inc., Somerset, NJ)을 사용하여 인간 FGE (GPEx)를 과잉발현하는 클론성 세포주를 생성하였다. 그런 다음, FGE 클론을 사용하여 항체-발현 세포의 안정한 벌크 풀을 생성하였다. 항체를 조건 배지로부터 단백질 A 크로마토그래피 (MabSelect, GE Healthcare Life Sciences, Pittsburgh, PA)를 사용하여 정제하였다. 정제된 항체를 순간 냉동시켜서 추후 사용할 때까지  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

**바이오콘주게이션, 정제 및 HPLC 분석론**

[0623] C-말단에 알데하이드-태그가 붙은  $\alpha$ CD22 항체 (15 mg/mL)를 HIPS-4AP-메이탄신 (8 mol. 당량 약물:항체)에 72 시간 동안  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 0.85% DMA를 함유하고 있는 50 mM 시트레이트 나트륨, 50 mM NaCl pH 5.5에서 콘주게이션하였다. 콘주게이션되지 않은 항체를 제조-규모 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC; GE Healthcare 17-5195-01) (이동상 A: 1.0 M 암모늄 설페이트, 25 mM 인산 나트륨 pH 7.0, 및 이동상 B: 25% 아이소프로판올, 18.75 mM 인산 나트륨 pH 7.0)를 사용하여 제거하였다. 33% B의 등용매성 구배를 사용하여 콘주게이션되지 않은 물질을 용출한 후, 41 내지 95% B의 선형 구배로 단일- 및 이중콘주게이션된 종을 용출하였다. 최종 생성물의 DAR을 측정하기 위하여, ADC를 분석용 HIC (Tosoh #14947, Grove City, OH)에 의해, 이동상 A: 1.5 M 암모늄 설페이트, 25 mM 인산 나트륨 pH 7.0, 및 이동상 B: 25% 아이소프로판올, 18.75 mM 인산 나트륨 pH 7.0으로 조사하였다. 응집을 측정하기 위하여, 샘플을 300 mM NaCl, 25 mM 인산 나트륨 pH 6.8의 이동상을 포함하는 분석용 크기 축출 크로마토그래피 (SEC; Tosoh #08541)를 사용하여 분석하였다.

**결과**

[0625] 중쇄 C-말단 (CT)에서 알데하이드 태그를 함유하도록 변형된  $\alpha$ CD22 항체를 상기 기술한 것과 같이 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘주게이션하였다. 콘주게이션 반응이 완료되었을 때, 콘주게이션되지 않은

항체를 제조용 HIC에 의해 제거하고 남아있는 유리 약물을 접선 유동 여과에 의해 완충제 교환 중에 제거하였다. 반응은 =84% 콘쥬게이션 효율 및 >70% 총 수율의 고수율이었다. 그 결과의 ADC는 1.6 내지 1.9의 약물-대-항체 비율 (DAR)을 가졌고 모노머가 우세하였다. 도 2 내지 5는 HIC 및 역상 PLRP 크로마토그래피에 의해 측정된 각각의 미정제 반응 및 정제된 ADC로부터의 DAR을 나타내고, SEC에 의해 측정된 모노머 통합성을 나타낸다.

[0626] 도 2는 C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘쥬게이션된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체의 소수성 상호작용 칼럼 (HIC) 흔적을 도시한다. 도 2는 HIC에 의해 측정된 바 미정제 DAR이 1.68이었음을 나타낸다.

[0627] 도 3은 C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘쥬게이션된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체의 HIC 흔적을 도시한다. 도 3은 HIC에 의해 측정된 바 최종 DAR이 1.77이었음을 나타낸다.

[0628] 도 4는 C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘쥬게이션된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체의 역상 크로마토그래피 (PLRP) 흔적을 도시한다. 도 4는 PLRP에 의해 측정된 바 최종 DAR이 1.81이었음을 나타낸다.

[0629] 도 5는 C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘쥬게이션된 알데하이드-태그가 붙은 항-CD22 항체의 분석적 크기 추출 크로마토그래피 (SEC) 흔적을 도시한다. 도 5에 나타난 것과 같이, 분석적 SEC는 최종 생성물에 대해 98.2% 모노머를 나타냈다.

### [0630] 시험관내 세포독성

[0631] D22-포지티브 B-세포 림프종 세포주, 라모스 (Ramos) 및 WSU-DLCL2를 각각 ATCC 및 DSMZ 세포 은행으로부터 얻었다. 세포들을 10% 우태아 혈청 (Invitrogen, Grand Island, NY) 및 글루타맥스 (Invitrogen)가 첨가된 RPMI-1640 배지 (Cellgro, Manassas, VA)에서 유지시켰다. 플레이팅하기 24시간 전에, 세포들을 계대시켜서 로그-상 성장을 보장하였다. 플레이팅하는 날에, 5000 세포/웰을 96-웰 플레이트 상에서 10 IU 페니실린 및 10 µg/mL의 스트렙토마이신 (Cellgro)이 첨가된 90 µL의 정상 성장 배지에 시딩하였다. 세포를 10 µL의 희석된 분석물로 다양한 농도에서 처리하고, 플레이트를 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>의 분위기에서 인큐베이션하였다. 5일 후에, 100 µL/웰의 세포 역가-Glo 시약 (Promega, Madison, WI)을 첨가하고, 분자 장치 SpectraMax M5 플레이트 판독기를 사용하여 발광을 측정하였다. GraphPad Prism 소프트웨어를 데이터 분석에 사용하였다.

### [0632] 결과

[0633] αCD22 CT HIPS-4AP-메이탄신은 유리 메이탄신에 비교하여 시험관내에서 WSU-DLCL2 및 라모스 세포에 대해 매우 강력한 활성을 나타냈다 (도 6). IC<sub>50</sub> 농도는 WSU-DLCL2 세포에 대해 ADC 및 유리 약물에 대해 각각 0.018 및 0.086 nM이었고, 라모스 세포에 대해 ADC 및 유리 약물에 대해 각각 0.007 및 0.040 nM이었다.

[0634] 도 6A는 C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘쥬게이션된 항-CD22 ADC에 대한 WSU-DLCL2 세포에 대한 시험관내 효능 (% 생존을 대비 로그 항체-약물 콘쥬게이트 (ADC) 농도 (nM))의 그래프를 도시한다. 도 6B는 C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘쥬게이션된 항-CD22 ADC에 대한 라모스 세포에 대한 시험관내 효능 (% 생존을 대비 로그 항체-약물 콘쥬게이트 (ADC) 농도 (nM))의 그래프를 도시한다.

### [0635] 이종이식 연구

[0636] 암컷 ICR SCID 마우스들 (8마리/그룹)을  $5 \times 10^6$  WSU-DLCL2 세포로 피하로 접종하였다. 치료를 종양이 평균 262 mm<sup>3</sup>에 도달했을 때 시작하였는데, 그 시점에 동물들에게 비히클을 단독으로 또는 CT-태그가 붙은 αCD22 HIPS-4AP-메이탄신 (10 mg/kg)으로 정맥내 투약하였다. 투약을 4일마다 총 4회 용량 (q4d x 4)으로 진행하였다. 동물들을 체중 및 종양 크기에 대하여 주 2회 모니터링하였다. 종양이 2000 mm<sup>3</sup>에 도달했을 때 동물들을 안락사시켰다.

### [0637] 결과

[0638] 비히클 대조표준 그룹에서 동물들에 대한 종점에 이르는 중간 시간은 16일이었다; 그러므로, 종양 성장 억제 (TGI%)를 그 날에 계산하였다. TGI%를 다음 식으로 규정하였다:



[0639] 
$$TGI (\%) = (TV_{\text{대조표준 그룹}} - TV_{\text{처리 그룹}}) / TV_{\text{대조표준}} \times 100,$$

[0640] 식에서 TV는 종양 부피이다.

[0641] αCD22 HIPS-4AP-메이탄신을 투약받은 동물들은 16일에 90% TGI를 나타냈고, 8개의 종양 중 5개가 완전한 퇴행으로 진행되었다 (도 7). 이 완료된 퇴행 중 3개는 연구가 끝날 때까지 (58일) 지속되었다. 도 7은 C-말단 (CT)에서 HIPS-4AP 링커에 부착된 메이탄신 페이로드에 콘주게이션된 항-CD22 ADC에 대한 WSU-DLCL2 이종이식 모델에 대한 생체내 효능 (평균 종양 부피 (mm<sup>3</sup>) 대비 일)을 나타내는 그래프를 도시한다. 도 7에서 수직 화살표는 총 4회의 용량 (q4d x 4)에 대해 4일마다 발생한 투약을 나타낸다.

#### [0642] 실시예 4

##### [0643] 서론

[0644] 혈액학적으로 유래된 종양이 미국에서 연간 진단된 암 사례의 거의 10%를 구성한다. 이것들 중에서 비-호지킨 림프종 (NHL) 지정은 전세계적으로 가장 흔하게 진단받는 10개의 암 중에서 종합적으로 순위를 차지하는 암의 다양한 그룹을 나타낸다. 비록 장기간 생존 동향이 개선되고 있지만, 재발된 또는 난치성 질환을 가진 환자들을 돕기 위한 치료에 대한 임상적 요구가 상당히 충족되지 못한채로 남아 있고, 그중 한 가지 원인은 외부물질 펌프, 예컨대 MDR1의 상향조절을 통한 약물 배출이다. CD22에 대해 표적화되고 MDR1-매개 배출에 대해 내성인 절단될 수 없는 메이탄신 페이로드를 포함하고 있는 부위-특이적으로-콘주게이션된 항체-약물 콘주게이트를 제조하였다. 구성물은 CD22+ NHL 이종이식에 대해 효력을 나타냈고 시노몰구스 원숭이에서 60 mg/kg으로 반복적으로 투약될 수 있으며 이때 부작용을 관찰되지 않았다. 데이터는 함께, 이 약물이 이전 치료법들에 대해 MDR1-관련 내성을 발생시킨 CD22+ 종양을 가진 환자들에서 효과적으로 사용될 잠재력을 가진 것을 나타냈다. CD22는 NHL 및 ALL의 치료를 위한 임상적으로 확인된 표적이다. 본 개시에 따르는 항-CD22 항체-약물 콘주게이트 (ADC)는 재발된/난치성 NHL 및 ALL 환자들의 치료를 위해 사용될 수 있다.

##### [0645] 물질 및 방법

[0646] 항-CD22 항체를, 알테하이드 태그 기술을 사용하여 절단될 수 없는 메이탄신 페이로드에 부위-특이적으로 콘주게이션하였다. ADC를 시험관내에서 생물물리화학적으로 및 기능적으로 특성화하였다. 그런 다음 생체내 효능을 마우스에서 두 이종이식 모델을 사용하여 측정하였고 독성 연구를 래트와 시노몰구스 원숭이 둘 다에서 수행하였다. 약물역학적 연구를 원숭이에서 수행하였고, 약물동역학 및 독물동역학 연구를 효능 및 독성 연구에서 총 ADC 노출에 비교하였다.

##### [0647] 결과

[0648] ADC는 생체내에서, 유출 펌프, MDR1을 과잉발현하기 위해 구성된 세포주에 대해서도 매우 강력하였다. 구성물은 NHL 이종이식 종양 모델에 대해 10 mg/kg x 4 용량에서 효과적이었고, 시노몰구스 독성 연구에서, ADC를 60 mg/kg에서 2회 투약하였는데, 부작용은 관찰되지 않았다. 이 용량들에서 총 ADC에 대한 노출 (AUC<sub>0-inf</sub>에 의해 평가되는 바)은 효능을 이루기 위해 필요로 하는 노출은 허용 한계 아래였음을 나타냈다. 마지막으로, 처리된 원숭이에서 약물역학 반응의 조사는 B-세포 구획이 선택적으로 고갈되었고, 그것은 유지할만한 표적-외 독성 없이 ADC가 표적화된 세포를 제거하였음을 나타내는 것임을 증명하였다.

[0649] 결과들은 이전 치료법들에 대해 MDR1-관련 내성을 발생시킨 CD22+ 종양을 가진 환자들에서 ADC가 효과적으로 사용될 수 있음을 나타냈다.

#### [0650] 실시예 5

##### [0651] 서론

[0652] 백혈병, 림프종 및 골수종은 집단에서 매우 만연되어 있는데, 2015년 동안 미국에서 새롭게 진단된 모든 암 사례의 거의 10%를 차지한다. 이 암들 중에서, B-세포 유래된 악성종양이 비-호지킨 림프종 (NHL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 및 급성 림프모세포성 백혈병 (ALL)을 포함하는 크고 다양한 그룹을 구성한다. 유사하게, 범주로서, NHL은 약 60개의 림프종 하위세트를 지정하고, 그 중에서 약 85%가 B-세포 유래되며, 광범위 큰 B세포 림프종 (DLBCL), 소포성 림프종 (FL), 및 맨틀세포 림프종 (MCL)을 포함한다. 종합적으로, NHL 질환은 관찰된 가장 흔한 암 유형 중에 있고, 미국에서 7번째로 흔한 암으로 순위를 차지하며, 2012년도에 전세계적으로 진단된 10번째로 가장 흔한 암이다. 장기간 동향은 대부분의 혈액암 진단에 대해 5-년 생존율의 개선을 보이는 한편, 임

상적 요구를 상당히 충족시키지 못한 채로 남아 있고, 예컨대 2004년부터 2010년까지 진단된 CLL 환자의 16%, ALL 환자의 30% 및 NHL 환자의 30%가 5-년 생존 중점을 충족하지 못하였다.

[0653] CD22는 대부분의 B-세포 혈액학적 악성 종양에서 발현되지만, 조혈 줄기 세포, 메모리 B 세포, 또는 다른 정상적인 비-혈액학적 조직에서는 발현되지 않는 B-세포 계통-제한된 세포 표면 당단백질이다. 그것의 발현 패턴 및 신속한 내부화 동역학은 그것을 항체-약물 콘쥬게이트 (ADC) 치료법에 대한 표적으로 만들고, 그 자체로서 NHL 및 ALL에 대한 임상 실험에서 확인되었다.

[0654] 본원에서 기술된 실험에서, 알데하이드 태그 및 하이드라지노-*iso*-피켓-슈펩글러 (HIPS) 화학을 기반으로 한 부위-특이적 콘쥬게이션 기술을 사용하여 항체 중쇄 C-말단에 절단될 수 없는 링커를 통해 커플링된 메이탄신 페이로드를 놓았다. 유전자상에 암호화된 알데하이드 태그는 6개의 아미노산 서열, LCTPSR을 통합하였다. 공동변역으로, 과잉발현된 포르밀글리신 생성 효소 (FGE)는 공통 서열 내의 시스테인을 알데하이드 작용기를 가진 포르밀글리신 잔기로 변환시켰고, 그것은 HIPS-링커-페이로드와 반응하여 ADC를 생성하였다. 이 접근법은 페이로드 배치 및 DAR 둘 다보다 높은 대조표준을 제공하였고, 고도로 균질한 ADC 제제를 생성하였다. 부위-특이적으로 콘쥬게이션된 ADC는, 아마도 제제에 비효과적거나 또는 과잉으로 독성인 분자들을 각각 유발할 수 있는 하향- 및 과잉콘쥬게이션된 중들이 없기 때문에, 확률론적 콘쥬게이트에 비해 개선된 약물역학 (PK) 및 효능을 나타냈다. 나아가, 항-CD22 ADC에서 사용된 절단될 수 없는 링커-메이탄신 페이로드는 MDR1에 의한 유출에 대해 내성이었고 표적-외 또는 무고한 사멸을 매개하지 않았다. 이 특징들은 함께, 전임상 연구에서 관찰된 항-CD22 ADC의 효능 및 안전성에 기여하였다.

[0655] **물질 및 방법**

[0656] **일반적 사항**

[0657] 모든 동물 연구를 동물실험윤리위원회 지침에 따라 수행하였고 찰스 리버 실험실 (Charles River Laboratories), 아라겐 바이오사이언스 (Aragen Bioscience), 또는 코반스 실험실 (Covance Laboratories)에서 수행하였다. 쥐과의 항-메이탄신 항체를 ProMab에 의해 제조하였고, 내부에서 확인하였다. 토끼 항-AF488 항체를 라이크 테크놀로지스 (Life Technologies)로부터 구매하였다. 양고추냉이 과산화효소 (HRP)-콘쥬게이션된 이차 항체는 잭슨 이뮤노리서치 (Jackson ImmunoResearch)사의 것이었다. 약물역학 연구에 사용한 항체는 BD Pharmingen으로부터 온 것이었다. 세포주들은 ATCC 및 DSMZ 세포 은행으로부터 얻었는데, 그것들은 형태, 염색체 분석 및 PCR 기반 접근법에 의해 진짜인 것으로 증명되었다.

[0658] **태그가 붙은 항체의 클로닝, 발현 및 정제**

[0659] 항체를 표준 클로닝 및 정제 기법 및 GPEx® 발현 기술을 사용하여 생성하였다.

[0660] **바이오콘쥬게이션, 정제 및 HPLC 분석학**

[0661] ADC를 Drake et al., *Bioconjugate Chem.*, 2014, 25, 1331-41에 기술된 대로 제조하고 특성확인하였다.

[0662] **MDR1+ 세포주의 생성**

[0663] MDR1 (ABCB1) cDNA를 Sino Biological로부터 얻어서 하이그로마이신 선택 마커를 가진 pEF 플라스미드에 클로닝하였다. AMAXA Nucleofector™ 기구를 사용하여 라모스 (ATCC CRL-1923) 및 WSU-DLCL2 (DSMZ ACC 575) 세포를 제조자의 설명을 따라 전기천공하였다. 하이그로마이신 (Invitrogen 10687010)으로 선택한 후, 풀을 파클리탁셀 처리 (최대 10일 동안 25 nM)로 풍부하게 하여 추가로 기능적 MDR1을 가진 세포들을 선택하였다. 그 결과의 세포들을 10% 우태아 혈청 (FBS) 및 1X 글루타맥스 (Gibco 35050-079)가 첨가된 RPMI (Gibco 21870-092)에서 하이그로마이신 선택 하에 유지시켰다.

[0664] **시험관내 세포독성 분석**

[0665] 세포주들을 96-웰 플레이트 (Costar 3610)에서 100  $\mu$ L의 성장 배지 중에  $5 \times 10^4$  세포/웰로 플레이트하고 5시간 동안 놓아두었다. 테스트 샘플의 연속 희석을 RPMI에서 최종 농도의 6x로 수행하였고, 20  $\mu$ L를 세포에 첨가하였다. 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>로 5일 동안 인큐베이션한 후에, Promega CellTiter 96® Aqueous One Solution 세포 증식 분석 (G3581)을 제조자의 설명을 따라 사용하여 생존율을 측정하였다. GI<sub>50</sub> 곡선을 ADC의 약물-대-항체 비율 (DAR) 값을 사용하여 GraphPad Prism에서 계산하여 용량을 페이로드 농도에 대해 표준화하였다.

[0666] 이종이식 연구

[0667] 암컷 CB17 ICR SCID 마우스들을 50% 마트리젤 중의 WSU-DLCL2 또는 라모스 세포 중 어느 하나로 피하 접종하였다. 종양을 주 2회 측정하였고 종양 부피를 식:  $\text{종양 부피 (mm}^3\text{)} = \frac{w^2 \times l}{2}$  (식에서 w = 종양 폭 및 l = 종양 길이)에 따라 산정하였다. 종양이 원하는 평균 부피에 도달했을 때, 동물들을 무작위로 8 내지 12마리 마우스의 그룹으로 나누고, 하기 기술하는 것과 같이 투약하였다. 동물들을 연구를 마칠 때 또는 종양이 2000 mm<sup>3</sup>에 도달했을 때 안락사시켰다.

[0668] 래트 독물학 연구 및 독물동역학 (TK) 분석

[0669] 수컷 스프래그-다울리 래트 (연구 시작할 때 8 내지 9주)에 6, 20, 40 또는 60 mg/kg의 단일 정맥내 용량의 항-CD22 ADC (5 마리/그룹)를 주었다. 동물들을 투약 후 12일 동안 관찰하였다. 체중을 0, 1, 4, 8 및 11일에 기록하였다. 모든 동물로부터 8시간, 5, 9 및 12일에 혈액을 수집하여 독물동역학 분석 (모든 시점)에 대해 및 임상 화학 및 혈액학 분석 (5일 및 12일)에 대해 사용하였다. 독물동역학 분석을 ELISA에 의해, 약물동역학 분석에 대해 기술된 것과 동일한 조건 및 시약을 사용하여 수행하였다.

[0670] 비-인간 영장류 독물학 및 TK 연구

[0671] 시노몰구스 원숭이 (2마리/성별/그룹)에게 2 용량 (21일마다)의 10, 30 또는 60 mg/kg의 항-CD22 ADC를 주고 이어서 21일 동안 관찰하였다. 체중을 1일에 투약 전에 측정하고, 8, 15, 22 (용량 전), 29, 36 및 42일에 측정하였다. 표 2에 제시한 스케줄을 따라 독물동역학, 임상 화학 및 혈액학 분석을 위해 혈액을 수집하였다. 독물동역학 분석을 ELISA에 의해, 약물동역학 분석에 대해 기술된 것과 동일한 조건 및 시약을 사용하여 수행하고, 단 CD22-His 단백질을 총 항체 및 총 ADC 측정을 위한 포획 시약으로서 사용하였다.

표 2

[0672] 항-CD22 ADC로 3 mg/kg으로 투약된 래트에서 약물동역학적 발견의 요약

변수, 평균 (SD)	총 Ab	총 ADC	총 콘주게이트
AUC <sub>0-inf</sub> (일 · μg/mL)	304 (40)	218 (18)	261 (26)
클리어런스 (mL/일/kg)	10.0 (1)	13.8 (1)	11.6 (1)
C <sub>0.04 d</sub>	73.2 (5)	83.9 (16)	76.8 (6)
t <sub>1/2 effective</sub> (일)*	9.48 (1)	6.13 (0.6)	7.22 (0.6)
V <sub>ss</sub> (mL/kg)	41.1 (3)	36.7 (7)	39.2 (3)

[0673] 총 항체는 콘주게이션된 및 콘주게이션되지 않은 Ab를 측정하고; 총 ADC는 DAR-민감성 측정이며; 총 콘주게이트는 DAR=1인 모든 분석물을 측정한다. SD, 표준 편차; AUC<sub>0-inf</sub>, 시간 0으로부터 무한대까지 농도 대비 시간 곡선 아래의 면적; C<sub>0.04 d</sub>, 1시간에 관찰된 농도; t<sub>1/2 effective</sub>, 효과적인 반감기; V<sub>ss</sub>, 정지 상태에서 분포 부피. \* 반감기에 대한 불확실성이 표준 오류로서 제공된다.

[0674] 비-인간 영장류 약물역학 연구

[0675] 항-CD22 ADC 독물학 연구에서 등록한 시노몰구스 원숭이들로부터의 전혈 샘플을 유동 세포분석에 의해 분석하여 CD3+, CD20+, 및 CD3-/CD20- 백혈구 집단을 평가하였다. 간단히 설명하면, 100 μL의 전혈 부분표본에, 플루오레세인 및 파이코에리트린-콘주게이션된 이소타입 대조표준 항체 또는 플루오레세인-콘주게이션된 항-CD20 및 파이코에리트린-콘주게이션된 항-CD3 항체 중 어느 하나를 첨가하고 얼음에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음, 적혈구를 염화 암모늄 용액 (Stem Cell Technologies)으로 용해시키고, 세포를 인산염 완충 식염수 + 1% FBS에서 2회 세척하였다. 표지된 세포를 FACSDiva<sup>TM</sup> 소프트웨어를 작동시키는 FACSCanto<sup>TM</sup> 기구 상에서 유동 세포분석에 의해 분석하였다.

[0676] 약물동역학 (PK) 연구 디자인

[0677] 마우스 연구를 위해, 라모스 이종이식 실험에 사용한 동물들을 제1 용량-투약 후 1시간째에 시작할 때 3그룹으로 샘플링하고 계속해서 기간 내내 관찰하였다. 래트 연구를 위해, 수컷 스프래그-다울리 래트 (그룹당 3마리)

를 단일한 3 mg/kg 볼루스의 ADC를 정맥내로 투약하였다. 투약 후 1시간, 8시간 및 24시간, 및 2, 4, 6, 8, 10, 14 및 21일에 혈장을 수집하였다. 혈장 샘플을 사용할 때까지 -80℃에서 보관하였다.

[0678] PK 및 TK 샘플 분석

[0679] 총 항체, 총 ADC (DAR-민감성), 및 총 콘주게이트 (DAR =1)의 농도를 도 10에서 다이어그램으로 도시한 것과 같이 ELISA에 의해 정량하였다. 총 항체에 대해, 콘주게이트를 항-인간 IgG-특이적 항체로 포획하고 HRP-콘주게이션된 항-인간 Fc-특이적 항체로 검출하였다. 총 ADC에 대해, 콘주게이트를 항-인간 Fab-특이적 항체로 포획하고 마우스 항-메이탄신 일차 항체로, 이어서 HRP-콘주게이션된 항-마우스 IgG-하위부류 1-특이적 이차 항체로 검출하였다. 총 콘주게이트에 대해, 콘주게이트를 항-메이탄신 항체로 포획하고 HRP-콘주게이트d 항-인간 Fc-특이적 항체로 검출하였다. 결합된 이차 항체를 울트라 TMB 1-단계 ELISA 기질 (Thermo Fisher)을 사용하여 검출하였다. 반응을 황산으로 퀸칭한 후, 신호를 SoftMax Pro 소프트웨어가 장착된 분자 장치 스펙트라 Max M5 플레이트 판독기상에서 450 nm에서의 흡광도를 채택함으로써 판독하였다. 데이터를 GraphPad Prism 및 마이크로소프트 엑셀 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[0680] 간접적인 ELISA CD22 항원 결합

[0681] Maxisorp 96-웰 플레이트 (Nunc)를 밤새 4℃에서 PBS 중의 1 µg/mL의 인간 CD22-His (Sino Biological)로 코팅하였다. 플레이트를 카세인 완충제 (ThermoFisher)로 차단한 후, 항-CD22 야생형 항체 및 ADC를 200 ng/mL에서 시작하여 2-배 희석하는 시리즈의 11-단계 시리즈에 플레이트팅하였다. 플레이트를 진동시키면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 인산염-완충 식염수 (PBS) 0.1% 트윈-20에서 세척 후에, 결합된 분석물을 당나귀 항-인간 Fc-γ-특이적 양고추냉이 과산화효소 (HRP)-콘주게이션된 이차 항체로 검출하였다. 신호를 울트라 TMB (Pierce)로 시각화하고 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 퀸칭하였다. 450 nm에서의 흡광도를 분자 장치 SpectraMax M5 플레이트 판독기를 사용하여 측정하고 데이터를 GraphPad Prism을 사용하여 분석하였다.

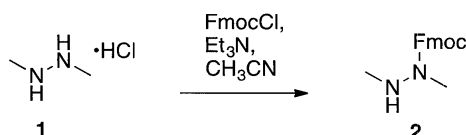
[0682] CD22+ NHL 세포주 상에서 항-CD22 ADC 매개된 CD22 내부화

[0683] 라모스, Granta-519, 및 WSU-DLCL2 세포 (1e6/테스트)를 표지화 완충액 단독에서 [PBS+ 1% 우태아 혈청 (FBS)], 또는 항-CD22 ADC (1 µg/테스트)가 첨가된 표지화 완충액에서 인큐베이션하였다. 샘플을 4 또는 37℃에서 2시간 동안 놓아두었다. 그런 다음 세포를 얼음에서 20분 동안 플루오레세인-표지된 항-CD22와 함께 인큐베이션하였다. 표지화 완충액 중에서 2x로 세척한 후, 세포를 FACSDiva<sup>TM</sup> 소프트웨어를 작동시키는 FACSCanto<sup>TM</sup> 기구 상에서 유동 세포분석에 의해 분석하였다. 4 및 37℃ ± ADC에서 세포 사이의 형광의 차이를 항-CD22 ADC-매개된 내부화로서 해석하였다.

[0684] 시노몰구스 및 인간 조직 교차-반응성 연구

[0685] 조직 교차-반응성 연구를 Ensigna Biosystems Inc. (Richmond, CA)에 의해 비오틴화된 항-CD22 ADC 및 비오틴화된 HIPS-4AP-메이탄신 링커 페이로드-콘주게이션된 이소타입 항체를 대조표준으로서 사용하여 수행하였다. 피부, 심장, 폐, 신장, 간, 췌장, 위, 소장, 대장, 및 비장 (포지티브 대조표준)을 함유한 조직 마이크로어레이를 사용하였다. 일차 항체를 양고추냉이 과산화효소에 콘주게이션된 스트렙트아비딘을 사용하여 검출하고 이어서 DAB 기질로 시각화하였다.

[0686] HIPS-4AP-메이탄신 링커 페이로드의 합성

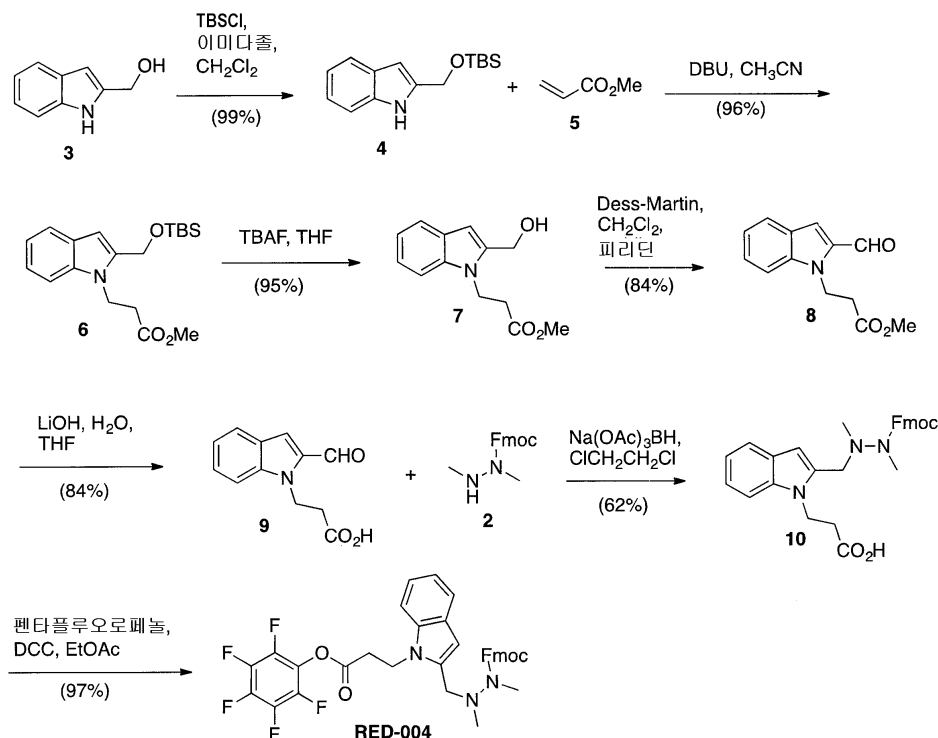


[0687]

[0688] (9H-플루오렌-9-일)메틸 1,2-다이메틸하이드라진-1-카르복실레이트 (2).

[0689] MeNHNHMe · 2HCl (1) (5.0 g, 37.6 mmol)을 CH<sub>3</sub>CN (80 mL)에 용해시켰다. 거기에 Et<sub>3</sub>N (22 mL, 158 mmol)을 첨가하고 형성된 침전물을 여과에 의해 제거하였다. 남아있는 MeNHNHMe의 용액에 FmocCl (0.49 g, 18.9 mmol, 0.5 eq) 용액을 적하 방식으로 2.5시간에 걸쳐 -20℃에서 첨가하였다. 그런 다음 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하고, H<sub>2</sub>O, 식염수로 세척한 후, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔기를 실리카 상에서 플래시 크로마토그래피 (헥산:EtOAc = 3:2)에 의해 정제하여 3.6 g (34%)의 화합물 2를 얻었다.

[0690]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.75–7.37 (m, 8 H), 4.48 (br s, 2H), 4.27 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 3.05 (s, 3H), 2.55 (br s, 3H).



[0691]

[0692] 2-(((*tert*-부틸다이메틸실릴)옥시)메틸)-1*H*-인돌 (4)

[0693] 오븐-건조된 플라스크를 인돌-2-메탄올, **3**, (1.581 g, 10.74 mmol), TBSCl (1.789 g, 11.87 mmol) 및 이미다졸 (2.197 g, 32.27 mmol)로 채우고, 이 혼합물을  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40 mL, 무수)에 현탁시켰다. 16시간 후에, 반응 혼합물은 오렌지색 잔류물로 농축되었다. 미정제 혼합물을  $\text{Et}_2\text{O}$  (50 mL)에 넣고, 수성 AcOH (5% v/v, 3 x 50 mL) 및 식염수 (25 mL)로 세척하였다. 조합한 유기층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고 농축하여 2.789 g (99%)의 화합물 **4**를 결정성 고체로서 얻었고, 그것을 추가의 정제 없이 사용하였다.

[0694]  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.29 (s, 1H), 7.57 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.37 (dd,  $J$  = 8.1, 0.6 Hz, 1H), 7.19 – 7.14 (m, 1H), 7.12 – 7.07 (m, 1H), 6.32 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 1H), 4.89 (s, 2H), 0.95 (s, 9H), 0.12 (s, 6H).

[0695]  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  138.3, 136.0, 128.6, 121.7, 120.5, 119.8, 110.9, 99.0, 59.4, 26.1, 18.5, –5.2.

[0696] HRMS (ESI)  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{NOSi}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ 에 대한 계산값: 262.1627; 실측값: 262.1625.

[0697] 메틸 3-(2-(((*tert*-부틸다이메틸실릴)옥시)메틸)-1*H*-인돌-1-일)프로파노에이트 (6)

[0698]  $\text{CH}_3\text{CN}$  (25 mL) 중의 인돌 **4** (2.789 g, 10.67 mmol)의 용액에 메틸 아크릴레이트, **5**, (4.80 mL, 53.3 mmol)와 이어서 1,8-다이아자비사이클로[5.4.0]운데크-7-엔 (800  $\mu\text{L}$ , 5.35 mmol)을 첨가하고, 그 결과의 혼합물을 환류시켰다. 18시간 후에, 용액을 냉각시키고 오렌지색으로 농축하여 그것을 실리카겔 크로마토그래피 (9:1 헥산:EtOAc)에 의해 정제하여 3.543 g (96%)의 화합물 **6**을 무색 오일로서 얻었다.

[0699]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.58 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.34 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 7.23 – 7.18 (m, 1H), 7.12 – 7.07 (m, 1H), 6.38 (s, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.54 – 4.49 (m, 2H), 2.89 – 2.84 (m, 2H), 0.91 (s, 9H), 0.10 (s, 6H).



- [0700]  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.0, 138.5, 137.1, 127.7, 122.0, 121.0, 119.8, 109.3, 101.8, 58.2, 51.9, 39.5, 34.6, 26.0, 18.4, -5.2.
- [0701] HRMS (ESI)  $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{NO}_3\text{Si}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ 에 대한 계산값: 348.1995; 실측값: 348.1996.
- [0702] **메틸 3-(2-(하이드록시메틸)-1H-인돌-1-일)프로파노에이트 (7)**
- [0703] 0°C의 THF (20 mL) 중의 화합물 **6** (1.283 g, 3.692 mmol)의 용액에 THF (3.90 mL, 3.90 mmol) 중의 테트라부틸 암모늄 플루오라이드의 1.0 M 용액을 첨가하였다. 15분 후에, 반응 혼합물을  $\text{Et}_2\text{O}$  (20 mL)로 희석하고  $\text{NaHCO}_3$  (sat. aq., 3 x 20 mL)로 세척하고, 농축하여 담녹색 오일이 되었다. 오일을 실리카겔 크로마토그래피 (2:1 헥산:EtOAc)에 의해 정제하여 822 mg (95%)의 **7**을 백색 결정성 고체로서 얻었다.
- [0704]  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.60 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.34 (dd,  $J$  = 8.2, 0.4 Hz, 1H), 7.27 - 7.23 (m, 1H), 7.16 - 7.11 (m, 1H), 6.44 (s, 1H), 4.77 (s, 2H), 4.49 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.87 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 2.64 (s, 1H).
- [0705]  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.3, 138.5, 137.0, 127.6, 122.2, 121.1, 119.9, 109.3, 102.3, 57.1, 52.0, 39.1, 34.3.
- [0706] HRMS (ESI)  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NNaO}_3$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 에 대한 계산값: 256.0950; 실측값: 256.0946.
- [0707] **메틸 3-(2-포르밀-1H-인돌-1-일)프로파노에이트 (8)**
- [0708] 데스-마틴 피요오디난 (5.195 g, 12.25 mmol)을  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL)와 피리딘 (2.70 mL, 33.5 mmol)의 혼합물에 현탁시켰다. 5분 후에, 그 결과의 현탁액을  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) 중의 메틸 3-(2-(하이드록시메틸)-1H-인돌-1-일)프로파노에이트 (**7**; 2.611 g, 11.19 mmol)의 용액에 옮겨서 적갈색 현탁액을 유발하였다. 1시간 후에, 반응을 티오황산 나트륨 (10% 수용액, 5 mL) 및  $\text{NaHCO}_3$  (포화 수용액, 5 mL)으로 킁칭하였다. 수성 층을  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 20 mL)로 추출하고; 조합한 추출물을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과한 후 농축하여 갈색 오일이 되었다. 그것을 실리카겔 크로마토그래피 (헥산 중의 5 내지 50% EtOAc)에 의해 정제하여 2.165 g (84%)의 화합물 **8**을 무색 오일로서 얻었다.
- [0709]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.87 (s, 1H), 7.73 (dt,  $J$  = 8.1, 1.0 Hz, 1H), 7.51 (dd,  $J$  = 8.6, 0.9 Hz, 1H), 7.45 - 7.40 (m, 1H), 7.29 (d,  $J$  = 0.9 Hz, 1H), 7.18 (ddd,  $J$  = 8.0, 6.9, 1.0 Hz, 1H), 4.84 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 3.62 (s, 3H), 2.83 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H).
- [0710]  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  182.52, 171.75, 140.12, 135.10, 127.20, 126.39, 123.46, 121.18, 118.55, 110.62, 51.83, 40.56, 34.97.
- [0711] HRMS (ESI)  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 에 대한 계산값: 254.0793; 실측값: 254.0786.
- [0712] **3-(2-포르밀-1H-인돌-1-일)프로판산 (9)**
- [0713] 다이옥산 (100 mL)에 용해시킨 인돌 **8** (2.369 g, 10.24 mmol)의 용액에 LiOH (4 M 수용액, 7.68 mL, 30.73 mmol)를 첨가하였다. 여러 시간에 걸쳐 두꺼운 백색 침전물이 점차로 형성되었다. 21시간 후, HCl (1 M 수용액, 30 mL)을 적하방식으로 첨가하여 pH = 4인 용액을 얻었다. 그 용액을 농축하고 그 결과의 담갈색 오일을 EtOAc (50 mL)에 용해시키고 물 (2 x 50 mL) 및 식염수 (20 mL)로 세척하였다. 유기층을 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축하여 오렌지색 고체가 되었다. 그것을 실리카겔 크로마토그래피 (0.1% 아세트산이 첨가된 헥산 중의 10 내지 50% EtOAc)에 의해 정제하여 1.994 g (84%)의 화합물 **9**를 담황색 고체로서 얻었다.
- [0714]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.89 (s, 1H), 7.76 (dt,  $J$  = 8.1, 0.9 Hz, 1H), 7.53 (dd,  $J$  = 8.6, 0.9 Hz, 1H), 7.48 - 7.43 (m, 1H), 7.33 (d,  $J$  = 0.8 Hz, 1H), 7.21 (ddd,  $J$  = 8.0, 6.9, 1.0 Hz, 1H), 4.85 (t,  $J$  =



7.2 Hz, 2H), 2.91 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H).

[0715]  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  182.65, 176.96, 140.12, 135.02, 127.33, 126.42, 123.53, 121.27, 118.76, 110.55, 40.19, 34.82.

[0716] HRMS (ESI)  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{NO}_3$   $[\text{M}-\text{H}]^-$ 에 대한 계산값: 216.0666; 실측값: 216.0665.

[0717] **3-(2-((2-((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-1,2-다이메틸하이드라지닐)메틸)-1H-인돌-1-일)프로판산 (10)**

[0718] 1,2-다이클로로에탄 (무수, 25 mL) 중의 화합물 **9** (1.193 g, 5.492 mmol) 및 (9H-플루오렌-9-일)메틸 1,2-다이메틸하이드라진카르복실레이트, **2**, (2.147 g, 7.604 mmol)의 용액에 소듐 트라이아세톡시 보로하이드라이드 (1.273 g, 6.006 mmol)를 첨가하였다. 그 결과의 황색 현탁액을 2시간 동안 교반한 후  $\text{NaHCO}_3$  (포화 수용액, 10 mL)으로 퀀칭하고, 이어서 HCl (1 M 수용액)을 pH 4까지 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 x 10 mL)로 추출하였다. 모아진 유기 추출물을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 농축하여 오렌지색 오일이 되었다. 그것을 C18 실리카겔 크로마토그래피 (물 중의 20 내지 90%  $\text{CH}_3\text{CN}$ )에 의해 정제하여 1.656 g (62%)의 화합물 **10**을 밀랍형 핑크색 고체로서 얻었다.

[0719]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.76 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.70 - 7.47 (br m, 3H), 7.42 - 7.16 (br m, 6H), 7.12 - 7.05 (m, 1H), 6.37 (s, 0.6H), 6.05 (s, 0.4H), 4.75 - 4.30 (br m, 4H), 4.23 (m, 1H), 4.10 (br s, 1H), 3.55 (br d, 1H), 3.11 - 2.69 (m, 5H), 2.57 (br s, 2H), 2.09 (br s, 1H).

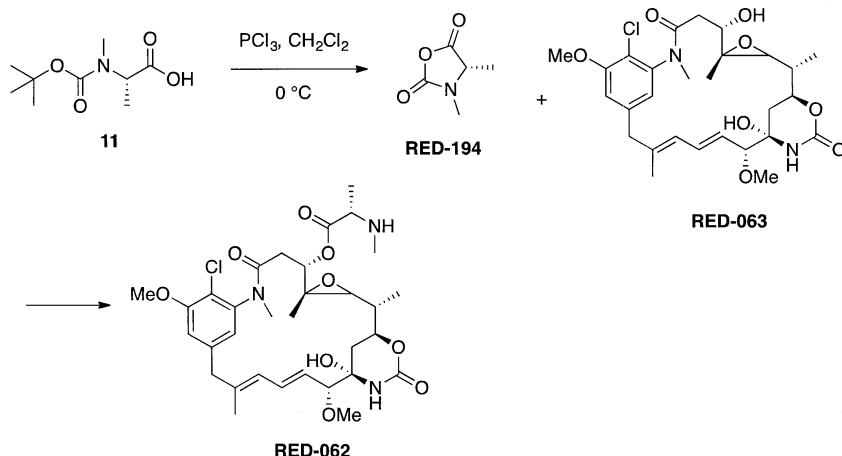
[0720]  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  174.90, 155.65, 143.81, 141.42, 136.98, 134.64, 127.75, 127.48, 127.12, 124.92, 122.00, 120.73, 120.01, 119.75, 109.19, 103.74, 67.33, 66.80, 51.39, 47.30, 39.58, 39.32, 35.23, 32.10.

[0721] HRMS (ESI)  $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ 에 대한 계산값: 484.2236; 실측값: 484.2222.

[0722] **(9H-플루오렌-9-일)메틸 1,2-다이메틸-2-((1-(3-옥소-3-(피플루오로페녹시)프로필)-1H-인돌-2-일)메틸)하이드라진-1-카르복실레이트 (RED-004).**

[0723] 화합물 **10** (5.006 g, 10.4 mmol)을 건조된 교반 막대를 가진 건조된 100 mL 2-목 둥근 바닥 플라스크에 첨가하였다. 거기에 무수 EtOAc, 40 mL을 주사기로 첨가하고, 그 용액을 20°C에서 5분 동안 교반하여 투명한 담황-녹색 용액을 얻었다. 용액을 얼음 수조에서 0°C로 냉각하고 3 mL의 무수 EtOAc 중의 펜타플루오로페놀 (2098.8 mg, 11.4 mmol)을 적하 방식으로 첨가하였다. 그 용액을 0°C에서 5분 동안 교반하였다. 7 mL의 무수 EtOAc 중의 DCC (2348.0 mg, 11.4 mmol)를 주사기에 의해 적하 방식으로 서서히 첨가하였다. 그 용액을 0°C에서 5분 동안 교반한 후, 수조로부터 제거하고 20°C로 가온하였다. 반응을 2시간 동안 교반하고, 0°C로 냉각하고, 여과하여 투명한, 담황-녹색 용액을 얻었다. 용액을 50 mL의 EtOAc로 희석하고, 2 x 25 mL  $\text{H}_2\text{O}$ , 1 x 25 mL 5 M NaCl로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시켰다. 용액을 여과하고, 증발시키고, 고진공하에 건조시켜서 6552.5 mg (97%)의 RED-004를 녹색을 띤 백색 고체로서 얻었다.

[0724]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.80 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 7.58 (m, 3H), 7.45-7.22 (m, 6H), 7.14 (dd(appt. t),  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 6.42 & 6.10 (2 br s, 1H), 4.74 (dd(appt. t),  $J$  = 5.4 Hz, 2H), 3.65-3.18 (br, 3H), 3.08 & 2.65 (2 br s, 3H), 2.88 (s, 3H).



[0725]

[0726]

(S)-3,4-다이메틸옥사졸리딘-2,5-다이온 (RED-194).

[0727]

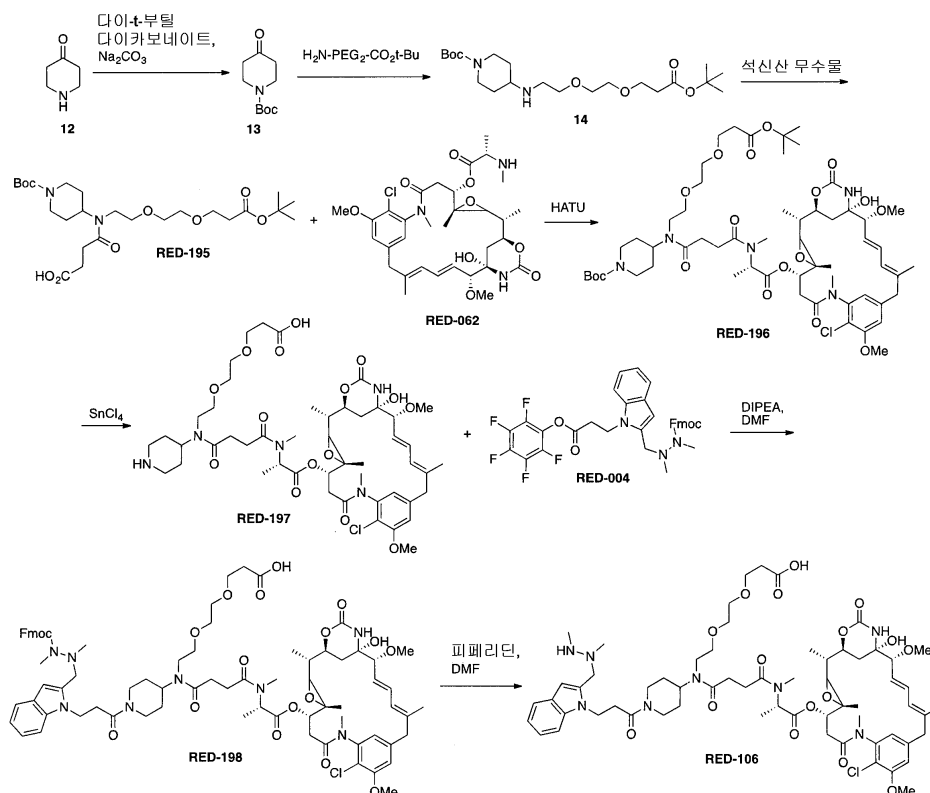
0℃의 염화 메틸렌 (25 ml) 중의 *N*-Boc-Ala-OH (11) (0.005 mol) 용액에, 질소 하에서 1.2 당량의 3염화 인을 첨가하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 0℃에서 교반하고, 용매를 감압하에 제거하고 잔류물을 4염화탄소 (3 x 20 ml)로 세척하여 RED-194를 얻었다.

[0728]

(1<sup>4</sup> S, 1<sup>6</sup> S, 3<sup>2</sup> R, 3<sup>3</sup> R, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>, 14-다이메톡시-3<sup>3</sup>, 2, 7, 10-테트라메틸-1<sup>2</sup>, 6-다이옥소-7-아자-1(6, 4)-옥사진이나나-3(2, 3)-옥시라나-8(1, 3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10, 12-다이엔-4-일메틸-L-알라니네이트 (RED-062).

[0729]

메이탄시놀 (RED-063) (4.53g, 8 mmol)을 에 용해시켜서 투명한, 무색 용액을 얻었고, 그것을 N<sub>2</sub> 하에 건조된 2-목 둥근 바닥 플라스크에 옮겼다. 거기에 무수 THF (44 mL)를 첨가하고 이어서 DIPEA (8.4 mL, 48 mmol)를 첨가하였다. RED-194 (5.4 g, 42 mmol)의 용액을 첨가하여 투명한, 무색 용액을 얻었다. 제습된, 미세하게 갈린 Zn(OTf)<sub>2</sub> (8.7 g, 24 mmol)를 교반 용액에 첨가하고 반응 혼합물을 20℃에서 2일 동안 교반하였다. 반응을 70 mL의 1.2 M NaHCO<sub>3</sub> 용액 및 70 mL의 EtOAc를 첨가함으로써 쿼칭하였다. 그 결과의 혼합물을 교반함에 따라 백색 침전물이 생성되었고 그것을 여과에 의해 제거하였다. 여과물을 EtOAc (5 x 70 mL)로 추출하고, 건조시키고 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 농축하여 적색을 띤 오렌지색이 되었다. 이것을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL)에 용해시키고 Biotage 시스템 (2x Biotage Ultra 10 g 샘플릿 상에서 흡수됨, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 중의 MeOH의 0 내지 20% 구배로 2x Biotage Ultra 100 g 카트리지가 상에서 정제)을 사용하여 정제하여 4.38 g의 RED-062를 연한 복숭아색 고체 (95% de, 93.7% 원하는 부분입체 이성질체)로서 얻었다.



#### **tert-부틸 4-옥소피페리딘-1-카르복실레이트 (13).**

자기 교반 막대를 가진 100 mL의 둥근 바닥 플라스크에 피페리딘-4-온 염산염 일수화물 (12) (1.53 g, 10 mmol), 다이-*tert*-부틸 다이카보네이트 (2.39 g, 11 mmol), 탄산 나트륨 (1.22 g, 11.5 mmol), 다이옥산 (10 mL), 및 물 (1 mL)을 첨가하였다. 그 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 (100 mL)로 희석하고 EtOAc (3 x 100 mL)로 추출하였다. 조합한 유기 층을 식염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과한 후, 감압하에 농축하였다. 그 결과의 물질을 진공 중에서 건조시켜서 1.74 g (87%)의 화합물 13을 백색 고체로서 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 3.73 (t, 4H, *J* = 6.0), 2.46 (t, 4H, *J* = 6.0), 1.51 (s, 9H).

MS (ESI) *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>3</sub>에 대한 계산값 200.3; 실측값 200.2.

#### **tert-부틸 4-((2-(2-(3-(*tert*-부톡시)-3-옥소프로폭시)에톡시)에틸)아미노)피페리딘-1-카르복실레이트 (14).**

자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 화합물 13 (399 mg, 2 mmol), H<sub>2</sub>N-PEG<sub>2</sub>-COO*t*-Bu (550 mg, 2.4 mmol), 4 Å 분자체 (활성화 분말, 200 mg), 및 1,2-다이클로로에탄 (5 mL)을 첨가하였다. 그 혼합물을 1 시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물에 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 (845 mg, 4 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 3일 동안 실온에서 교반하였다. 그 결과의 혼합물을 EtOAc와 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> 사이에서 분배하였다. 유기 층을 식염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과한 후, 감압하에 농축하여 850 mg의 화합물 14를 점성 오일로서 얻었다.

MS (ESI) *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> C<sub>21</sub>H<sub>41</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>에 대한 계산값 417.3; 실측값 417.2.

#### **13-(1-(*tert*-부톡시카르보닐)피페리딘-4-일)-2,2-다이메틸-4,14-다이옥소-3,7,10-트라이옥사-13-아자헵타데칸-17-오산 (RED-195).**

자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 화합물 14 (220 mg, 0.5 mmol), 석신산 무수물 (55 mg, 0.55 mmol), 4-(다이메틸아미노)피리딘 (5 mg, 0.04 mmol), 및 다이클로로메탄 (3 mL)을 첨가하였다. 그 혼합물을 24시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 플래시 크로마토그래피 (50 내지 100% EtOAc/헥산으로

용출함)에 의해 부분적으로 정제하여 117 mg의 화합물 RED-195를 투명한 오일로서 얻었고, 그것을 추가의 특성 확인 없이 계속 사용하였다.

[0740] MS (ESI) m/z:  $[M+H]^+$  C<sub>25</sub>H<sub>45</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>에 대한 계산값 517.6; 실측값 517.5.

[0741] 17-(*tert*-부틸) 1-(((1<sup>4</sup>S,1<sup>6</sup>S,3<sup>3</sup>S,2R,4S,10E,12E,14R)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일) (2S)-8-(1-(*tert*-부톡시카르보닐)피페리딘-4-일)-2,3-다이메틸-4,7-다이옥소-11,14-다이옥사-3,8-다이하자헵타데칸다이오에이트 (RED-196).

[0742] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 RED-195 (445 mg, 0.86 mmol), HATU (320 mg, 0.84 mmol), DIPEA (311 mg, 2.42 mmol), 및 다이클로로메탄 (6 mL)을 첨가하였다. 그 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다. 그 결과의 용액을 RED-062 (516 mg, 0.79 mmol)에 첨가하고 반응 혼합물을 추가로 30분 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 바로 플래시 크로마토그래피 (3 내지 10% MeOH/DCM으로 용출함)에 의해 정제하여 820 mg (90%)의 RED-196을 밝은 갈색 고체로서 얻었다.

[0743] MS (ESI) m/z:  $[M+H]^+$  C<sub>57</sub>H<sub>87</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>17</sub>에 대한 계산값 1148.6; 실측값 1148.8.

[0744] (2S)-1-(((1<sup>4</sup>S,1<sup>6</sup>S,3<sup>3</sup>S,2R,4S,10E,12E,14R)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일)옥시)-2,3-다이메틸-1,4,7-트라이옥소-8-(피페리딘-4-일)-11,14-다이옥사-3,8-다이하자헵타데칸-17-오산 (RED-197).

[0745] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 RED-196 (31 mg, 0.027 mmol) 및 다이클로로메탄 (1 mL)을 첨가하였다. 그 용액을 0℃로 냉각하고 4염화 제2주석 (다이클로로메탄 중의 1.0 M 용액, 0.3 mL, 0.3 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 0℃에서 교반하였다. 반응 혼합물을 바로 C18 플래시 크로마토그래피 (5 내지 100%의 MeCN/물로 용출함)에 의해 정제하여 16 mg (60%)의 화합물 RED-197을 백색 고체로서 얻었다 (16 mg, 60% 수율).

[0746] MS (ESI) m/z:  $[M+H]^+$  C<sub>48</sub>H<sub>71</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>15</sub>에 대한 계산값 992.5; 실측값 992.6.

[0747] (2S)-8-(1-(3-(2-((2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)-1,2-다이메틸하이드라진)메틸)-1H-인돌-1-일)프로파노일)피페리딘-4-일)-1-(((1<sup>4</sup>S,1<sup>6</sup>S,3<sup>3</sup>S,2R,4S,10E,12E,14R)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일)옥시)-2,3-다이메틸-1,4,7-트라이옥소-11,14-다이옥사-3,8-다이하자헵타데칸-17-오산 (RED-198).

[0748] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 RED-197 (16 mg, 0.016 mmol), (9H-플루오렌-9-일)메틸 1,2-다이메틸-2-((1-(3-옥소-3-(피플루오로페녹시)프로필)-1H-인돌-2-일)메틸)하이드라진-1-카르복실레이트 (12) (13 mg, 0.02 mmol), DIPEA (8 μL, 0.05 mmol), 및 DMF (1 mL)를 첨가하였다. 그 용액을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 바로 C18 플래시 크로마토그래피 (5 내지 100% MeCN/물로 용출함)에 의해 정제하여 18 mg (77%)의 RED-198을 백색 고체로서 얻었다.

[0749] MS (ESI) m/z:  $[M+H]^+$  C<sub>77</sub>H<sub>98</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>18</sub>에 대한 계산값 1457.7; 실측값 1457.9.

[0750] (2S)-1-(((1<sup>4</sup>S,1<sup>6</sup>S,3<sup>3</sup>S,2R,4S,10E,12E,14R)-8<sup>6</sup>-클로로-1<sup>4</sup>-하이드록시-8<sup>5</sup>,14-다이메톡시-3<sup>3</sup>,2,7,10-테트라메틸-1<sup>2</sup>,6-다이옥소-7-아자-1(6,4)-옥사진아나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤젠아사이클로테트라데카판-10,12-다이엔-4-일)옥시)-8-(1-(3-(2-((1,2-다이메틸하이드라진)메틸)-1H-인돌-1-일)프로파노일)피페리딘-4-일)-2,3-다이메틸-1,4,7-트라이옥소-11,14-다이옥사-3,8-다이하자헵타데칸-17-오산 (RED-106).

[0751] 자기 교반 막대를 가진 건조된 신틸레이션 바이알에 RED-197 (18 mg, 0.012 mmol), 피페리딘 (20 μL, 0.02 mmol), 및 DMF (1 mL)를 첨가하였다. 그 용액을 20분 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 바로 C18 플레

시 크로마토그래피 (1 내지 60% MeCN/물로 용출함)에 의해 정제하여 15 mg (98%)의 **RED-106**을 백색 고체로서 얻었다.

[0752] MS (ESI) m/z:  $[M+H]^+$  C<sub>62</sub>H<sub>88</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>16</sub>에 대한 계산값 1235.6; 실측값 1236.0.

## [0753] 결과 및 논의

### [0754] 항-CD22 ADC의 제조 및 초기 특성확인

[0755] (CAT-02)를 사용한 항-CD22 항체는 RFB4 항체의 인간화된 변종이었다. C-말단에서 태그가 붙은 항-CD22 항체를 GPEX® 클론성 세포주를 사용하여 만들었고, 이때 생물반응기 역가는 1.6 g/L 및 시스테인의 포르밀글리신으로의 전환율은 97%였다. HIPS-4AP-메이탄신 링커 페이로드를 합성하였고 (상기 기술된 것과 같이) 알데하이드-태그가 붙은 항체에 콘주게이션하였다. 그 결과의 ADC를 크기 축출 크로마토그래피에 의해 특성확인하여 (도 11) % 모노머를 평가하였고 (99.2%), 소수성 상호작용 (HIC) 및 역상 (PLRP) 크로마토그래피에 의해 약물-대-항체 비율 (DAR)을, 1.8인 것으로 평가하였다. ADC를 야생형 (태그 없음) 항-CD22 항체와, ELISA-기반 방법 (도 12) 및 유동 세포분석-기반 방법 (도 13)을 각각 사용하여 인간 CD22 단백질에 대한 친화성 및 CD22+ 세포상에서의 내부화의 관점에서 비교하였다. 두 기능적 척도에 대해, ADC는 야생형 항체와 동등하게 잘 수행하였고, 이것은 콘주게이션이 이 변수들에 영향을 미치지 않는 것을 나타낸다.

### [0756] 항-CD22 ADC는 MDR1에 대한 기질이 아니었고 표적-외 또는 무고한 사멸을 촉진하지 않는다

[0757] 항-CD22 ADC의 효능을 라모스 및 WSU-DLCL2 HNL 종양 세포주에 대해 시험관내에서 테스트하였다. 활성을 유리 메이탄신 및 절단 가능한 발린-시트룰린 다이펩타이드 링커를 통해 메이탄신에 콘주게이션된 CAT-02 항-CD22 항체로 만들어진, 관련된 ADC의 그것들과 비교하였다. 두 ADC는 모두 야생형 라모스 및 WSU-DLCL2 세포에 대해 나노몰보다 작은 활성을 보였다 (도 14, 패널 A 및 패널 C). 생체 이물 유출 펌프, MDR1을 발현하도록 엔지니어링된 이 세포들의 변종에서, 본 개시의 항-CD22 ADC만이 그것의 원래의 효능을 보유했다 (도 14, 패널 B 및 패널 D). 대조적으로, 유리 메이탄신은 거의 10-배 덜 효과적이었고, 절단 가능한 메이탄신을 포함한 ADC는 본질적으로 활성이 없었다. 대조표준 실험에서, WSU-DLCL2 세포와, MDR1 억제제인 사이클로스포린과의 공동치료는 야생형 세포에는 영향을 미치지 않았지만 유리 메이탄신과 MDR1+ 세포에서 절단 가능한 ADC의 원래의 효능을 복원시켰다 (도 14, 패널 E 및 패널 F). 이 결과들은 함께, 본 개시의 항-CD22 ADC의 활성 대사물이 MDR1 유출의 기질이 아니었다는 것을 나타냈다. 관련된 시험관내 세포독성 연구에서, 본 개시의 항-CD22 ADC는 항원-네거티브 세포주, NCI-N87에는 영향을 미치지 않았고 (도 15), 그것은 5-일 세포 배양 기간이 지나 표적-외 활성을 나타내지 않았음을 나타낸다. 나아가, HIPS-4AP-메이탄신 링커 페이로드에 콘주게이션된 항-HER2-기반 ADC는 항원-포지티브 세포와의 배양에서 항원-네거티브 세포의 무고한 사멸을 매개하지 않았고 (도 16), 그것은 항-HER2 ADC 콘주게이트의 활성 대사물과 동일한 것일 본 개시의 항-CD22 ADC의 활성 대사물이 또한 무고한 사멸을 매개하지 않았을 것임을 함축한다.

### [0758] 항-CD22 ADC는 NHL 이중이식 모델에 대해 효과적이었다

[0759] 항-CD22 ADC의 생체내 효능을, 각각 상대적으로 더 높은 및 더 낮은 양의 CD22를 발현한 (도 18), WSU-DLCL2 및 라모스 이중이식 모델에 대해 평가하였다 (도 17). 단일 용량 연구에서, WSU-DLCL2 종양을 가진 마우스들에게 10 mg/kg의 항-CD22 ADC 또는 비히클 대조표준을 제공하였다. 투약은 종양이 118 mm<sup>3</sup>에 도달했을 때 시작하였다. ADC를 받은 동물들 중에서 25% (8마리 중 2마리)가 부분 반응을 보였는데, 종양은 31일에 4 mm<sup>3</sup>로 퇴행하였다. 항-CD22 ADC-치료된 및 비히클 대조표준 그룹은 31일에 각각 415 및 1783 mm<sup>3</sup>의 평균 종양 부피를 나타냈다. 다음에, 다중용량 연구에서, WSU-DLCL2 이중이식을 가진 마우스들을 10 mg/kg의 항-CD22 ADC 또는 비히클 대조표준으로 4일마다 총 4회 용량으로 치료하였다. 투약은 종양이 평균 262 mm<sup>3</sup>가 되었을 때 시작하였다. ADC를 받은 동물들 중에서, 75% (8마리 중 6마리)가 완전한 반응을 보였는데, 이들 중 38% (8마리 중 3마리)가 마지막 투약 후 43일 후인 연구의 끝 (59일)까지 지속되었다. 대조적으로, 비히클 대조표준 그룹은 17일에 2191 mm<sup>3</sup>의 평균 종양 부피에 도달하였다. 마지막으로, 다중용량 연구에서, 라모스 이중이식을 가진 마우스들을 5 또는 10 mg/kg의 항-CD22 ADC 또는 비히클 대조표준으로 4일마다 총 4회의 용량으로 치료하였다. 투약은 종양이 평균 246 mm<sup>3</sup>가 되었을 때 시작하였다. 예상과 같이, 용량 효과를 5 또는 10 mg/kg 용량을 받은 그룹으로 관찰하였는데, 각각 63% 또는 87% 종양 성장 지연이 나타났다. 특히적으로, 비히클 대조표준, 5- 및 10 mg/kg 투약 그룹에 대해 종점까지의 중간 시간은 각각 12, 19 및 22일이었다. 모든 3개의 연구에서, 항-CD22 ADC 투약 그룹



에서 마우스 체중에 대해 관찰된 효과는 없었다 (도 19).

[0760] **항-CD22 ADC는 래트 및 시노물구스 원숭이에서 최대 60 mg/kg으로 꽤 허용되었다**

[0761] 항-CD22 ADC는 설치류 CD22에 결합하지 않았지만, 이 동물들에 ADC를 투약하는 것은 링커-페이로드의 표적-외 독성 및 안전성과 관련된 정보를 제공하였다. 상기에서 언급된 것과 같이, 마우스 이중이식 연구에서 체중 또는 임상적 관찰에 대해 관찰된 투약의 효과는 없었다. 탐색 래트 독성 연구에서 (도 20), 동물들 (그룹당 5마리)에게 6, 20, 40, 또는 60 mg/kg의 단일 정맥내 용량의 항-CD22 ADC를 주었고, 투약 후 12일 동안 관찰하였다. 모든 동물은 연구가 끝날 때까지 생존하였다. 60 mg/kg을 투약받은 동물들은 비히클 대조표준 그룹과 관련하여 체중의 10% 감소를 경험하였다. 최소 내지 경미한 간담즙 손상과 부합하는 임상 화학 변화는  $\geq 40$  mg/kg을 받은 동물들에서 5일에 발생하였고 알라닌 아미노트랜스페라제 (ALT), 아스파테이트 트랜스아미나제 (AST), 및 알칼리 포스파타제 (ALP)의 증가된 활성을 포함하였다. 대부분의 변화는 12일에 반전되었다. 혈액학과 관련하여, 중간 내지 현저하게 감소된 혈소판 수는  $\geq 40$  mg/kg을 받은 동물들에서 5일에 발생하였고 12일에 완전히 반전되었다. 염증과 부합하는 변화들은  $\geq 40$  mg/kg을 받은 동물들에서 5일 및 12일에 발생하였고 약간 내지 중간 증가된 호중구 및 단핵세포 수, 약간 증가된 글로불린 농도 및 감소된 알부민:글로불린 비율을 포함하였다.

[0762] 항-CD22 ADC는 시노물구스 CD22에 결합하지 않았고 (도 21) 인간과 비교하여 원숭이에서 유사한 조직 교차-반응성 프로파일을 나타냈다 (도 22). 그러므로, 시노물구스 원숭이는 이 ADC의 표적-위 및 표적-외 독성 둘 다를 테스트하는 적절한 모델을 나타냈다. 탐색적인 반복 용량 연구에서, 원숭이 (2마리/성별/그룹)에게 10, 30 또는 60 mg/kg의 항-CD22 ADC를 3주마다 1회씩 총 2 용량을 제공한 후 21일 동안 관찰 기간을 가졌다. 모든 동물은 연구가 종료될 때까지 생존하였다. 임상 관찰, 체중 또는 음식 소모에서 항-CD22 ADC-관련 변화는 발생하지 않았다. 임상 병리 변화는 대부분  $\geq 30$  mg/kg을 받은 동물들에서 발생하였고, 최소 간 손상, 증가된 혈소판 소모 및/또는 격리, 및 염증과 일관되었다 (도 23). 이 변화들은 30 및 60 mg/kg에서 유사하였고 제1 및 제2 용량 후에, 현미경 변화 또는 임상 효과와 관련된 것으로 예상되지 않는 정도의 것이었다.  $\geq 30$  mg/kg을 받은 동물들에서 최소 간 손상과 부합하는 변화들은 증가된 ALT, AST 및 ALP 활성으로 구성되었고 그것들은 21일 및 42일에 부분적으로 반전되었다. 투약한 주에 관찰되었던 약한 내지 중간 감소된 혈소판 수는 21일 및 42일에 대부분 반전되었다. 염증과 부합하는 변화는 최소 내지 중간 증가된 호중구 및 단핵세포 수, 약한 내지 중간 증가된 글로불린 농도 및 최소한으로 감소된 알부민 농도로 구성되었다.

[0763] **항-CD22 ADC의 투여는 시노물구스 원숭이에서 B-세포 고갈을 유도하였다**

[0764] 교차-반응 중에서 항-CD22 ADC의 약물역학적 효과를 평가하기 위하여, 말초혈 단핵세포 집단을 반복 용량 독성 연구에서 등록된 시노물구스 원숭이들로부터 취한 샘플에서 모니터링하였다. 구체적으로, 유동 세포분석을 사용하여 용량-전 및 7, 14, 28, 및 35일에 동물들에서 관찰된 B 세포 (CD20+), T 세포 (CD3+), 및 NK 세포 (CD20-/CD3-)의 비율을 검출하였다 (도 5). 용량-전 항-CD22 ADC-치료된 동물들에서, B 세포는 평균 총 림프구의 11.6%를 포함하였고; 이 값은 35일에 평균 3.8%로 떨어졌으며, 측정된 B 세포 집단에서 기준선 수준에 비하여 68%의 평균 감소를 나타낸다 (도 24). B 세포 고갈은 10 내지 60 mg/kg의 모든 투약 그룹에 걸쳐 유사하였고, 그것은 최저 용량이 효과를 얻기에 충분하였음을 나타낸다. 한편, 비히클 대조표준-처리된 동물에서 B 세포, 및 모든 그룹에서 T 세포 및 NK 세포 (도시되지 않음)는 치료 과정에 걸쳐 크게 변하지 않았다. 결과는 항-CD22 ADC가 불리한 표적-외 독성을 유도하지 않으면서 생체내에서 시노물구스 CD22+ 세포의 고갈을 선택적으로 매개할 수 있음을 나타냈다.

[0765] **마우스, 래트 및 시노물구스 원숭이에서 항-CD22 ADC의 약물- 및 독물동역학**

[0766] 항-CD22 ADC의 생체내 안정성을 평가하기 위하여, 래트에서 약물동역학 (PK) 연구를 수행하였다. 단일 3 mg/kg 용량의 항-CD22 ADC를 받은 후 21일 동안 총 항체, 총 ADC, 및 총 콘쥬게이트의 농도를 동물의 말초혈에서 모니터링하였다 (표 2 및 도 25). 도 10에서 나타난 것과 같이, 총 ADC 및 총 콘쥬게이트 분석은 DAR-민감성 및 DAR-둔감성 측정을 각각 사용하였다. 3개의 분석물 전부에 대해 얻어진 PK 변수들을 유사하였고, 그것은 콘쥬게이트가 순환에서 크게 안정한 것을 나타낸다. 예를 들어, 총 항체, 총 ADC, 및 총 콘쥬게이트의 제거 반감기는 각각 9.48, 6.13, 및 7.22일이었다.

[0767] 다음에, 항-CD22 ADC 분석물 농도를 상기 기술된 라모스 다중용량 효능 연구로부터의 마우스들의 말초혈에서 시간 경과에 따라 측정하였다. 이 분석의 목적은 이중이식 연구에서 유효 용량에서 이루어진 총 ADC 노출 수준을 측정하는 것이었다 (도 26). 이 기준점을 위해, 22일에 걸쳐 10 mg/kg x 4 용량이 라모스 모델에서 87%의 종양 성장 지연을 유도하였고, 28일에 걸쳐 10 mg/kg x 4 용량이 WSU-DLCL2 모델에서 동물들의 75%가 완전한 반응



(뚜렷한 종양 잔류가 없음)을 나타내는 것을 유도하였음을 상기하도록 한다. 마우스에서 10 mg/kg x 4 용량에 대해 시간 0으로부터 무한대까지 농도 대비 시간 곡선 아래의 평균 면적 ( $AUC_{0-inf}$ )은  $2530 \pm 131$  (S.D.) 일 ·  $\mu$ g/mL이었다.

[0768] 마지막으로, 앞서 기술된 래트 및 시노물구스 원숭이 독성 연구에서 투약된 동물들로부터의 독물동역학적 혈장 샘플에서 항-CD22 ADC 분석물 농도를 평가하였다 (도 26). 이 분석의 목적은 관찰된 독성의 존재 또는 부재와 상관이 있는 용량에서 이루어진 총 ADC 노출 수준을 측정하는 것이었다. 래트 연구와 관련하여,  $C_{max}$  및  $AUC_{0-inf}$  값은 일반적으로 용량에 비례하였다. 60 mg/kg 용량에 대한 평균  $AUC_{0-inf}$ 는  $5201 \pm 273$  일 ·  $\mu$ g/mL이었다. 원숭이 연구와 관련하여,  $C_{max}$  및  $AUC_{0-inf}$  값은 일반적으로 용량에 비례하였다. 제1 60 mg/kg 용량에 대한 평균  $AUC_{0-inf}$ 는  $6140 \pm 667$  일 ·  $\mu$ g/mL이었다. 항체는 시노물구스 모델에서 항원에 결합하였지만, 클리어런스 (제시되지 않음)는 모든 투약 그룹 중에서 유사하였다. 이것은 저 (10 mg/kg) 용량이 표적-매개된 클리어런스 메커니즘을 포화시키기에 충분하였고, 그러므로 항원-매개된 클리어런스가 이 연구의 결과에 유의미하게 영향을 미치지 않았음을 나타냈다. 이런 관찰은 그 정도가 모든 투약 그룹에 걸쳐 유사한, B-세포 고갈에 대한 항-CD22 ADC 치료의 약물역학적 효과와 일치하였다.

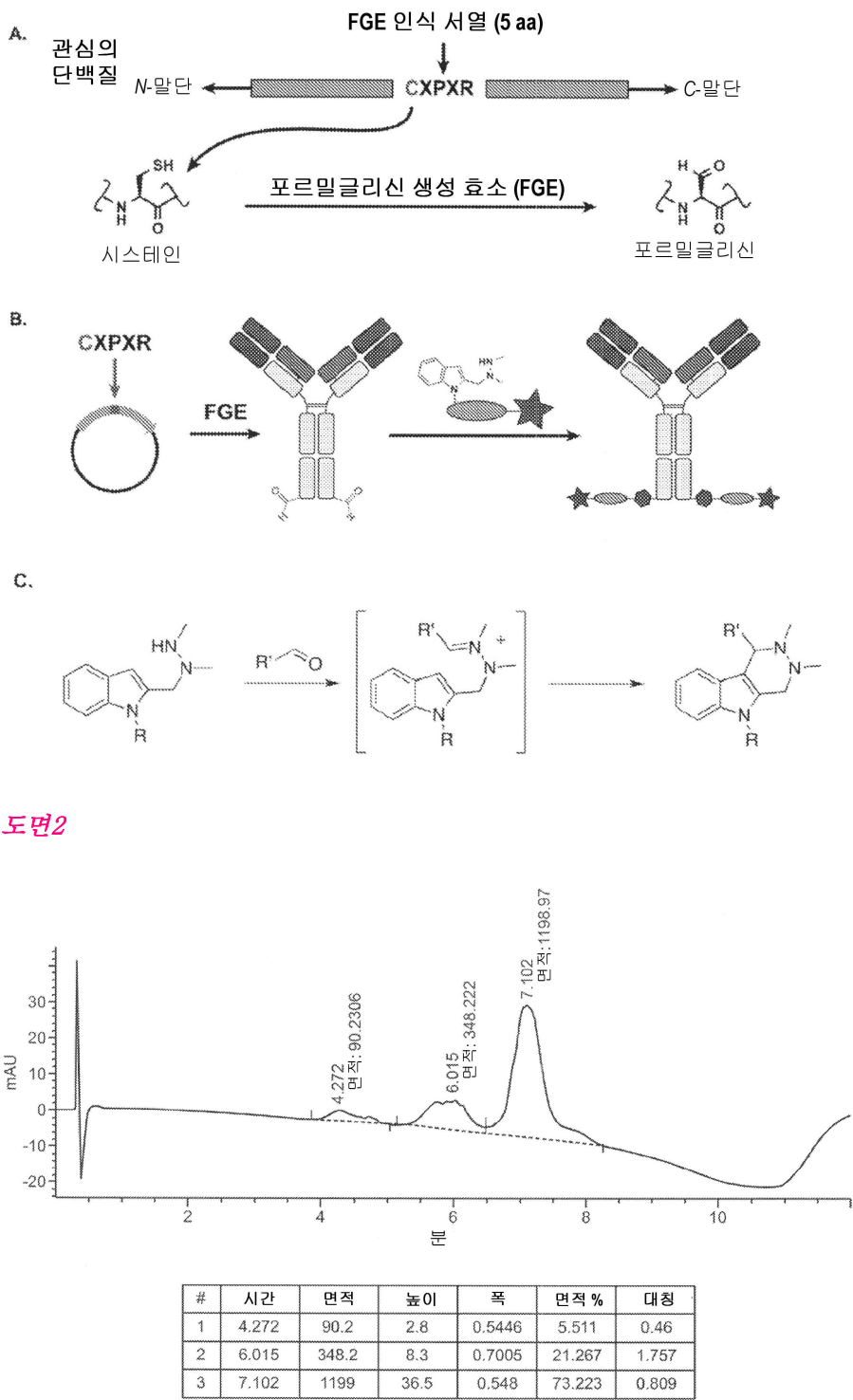
[0769] **결론**

[0770] MDR1-발현 세포에 의한 유출에 대해 내성인 메이탄신 페이로드에 부위-특이적으로 콘쥬게이션된 CD22-표적화된 ADC가 제조되었다. ADC는 1.8의 DAR을 가졌고, 양호한 생물물리적 특성을 나타냈으며, 두 개의 NHL 이중이식 모델에 대해 생체내에서 유의미한 (87%) 종양 성장 지연으로부터 완전한 반응에 이르는 범위의 효능을 매개하였다. 이 효능은 독성과 관련된 노출 수준보다 꽤 아래의 노출 수준에서 이루어졌다; 실제로, 반복 용량 시노물구스 독성 연구에서, 60 mg/kg의 최고 용량에서조차 관찰되는 부작용은 주지되지 않았고, 그것은 더 높은 용량이 사용될 수 있음을 가리킨다. 항-CD22 ADC는 효능과 안정성의 조합을 가졌다. 추가된 장점으로서, 표적 항원, 모 항체, 및 메이탄신-기반 세포독성 페이로드를 포함하여 많은 기저 성분들이 인간에서 사용되었고, 안전성 및 독성에 관련하여 잘 연구되었다. 인간 약물동역학 및 독성 프로파일을 기획하기 위한 타당한 모델인 시노물구스 원숭이를 기반으로, 이 연구들의 결과는 항-CD22 ADC가 NHL 환자들, 예컨대 MDR1의 상향조절로 인해 난치성 질환이 발달된 환자들에게 치료적으로 사용될 수 있다는 것을 가리킨다.

[0771] 본 발명이 특정 구체예를 참조로 기술된 한편, 기술분야에 숙련된 사람들에게 발명의 진정한 사상 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 다양한 변화가 이루어질 수 있고 동등물이 대체될 수 있다는 것이 주지되어야 한다. 또한, 본 발명의 목적, 사상 및 범주에 대해 특정 상황, 물질, 물질의 조성, 방법, 방법의 단계 또는 단계들을 적용하기 위해 많은 변형이 이루어질 수 있다. 그런 모든 변형은 첨부되는 청구범위의 범주 내에 있는 것으로 의도된다.

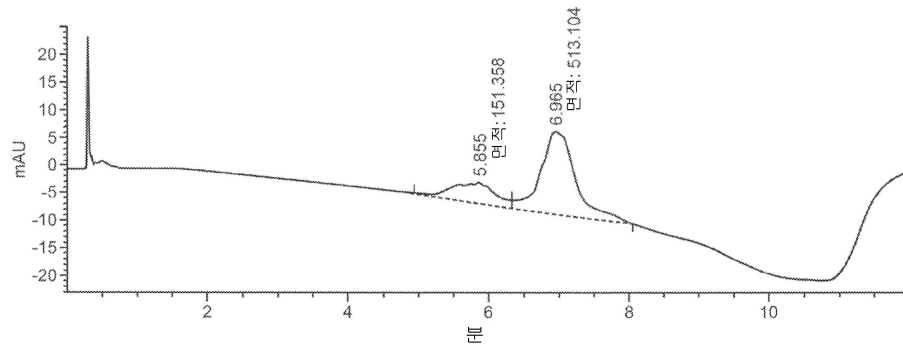
도면

도면1



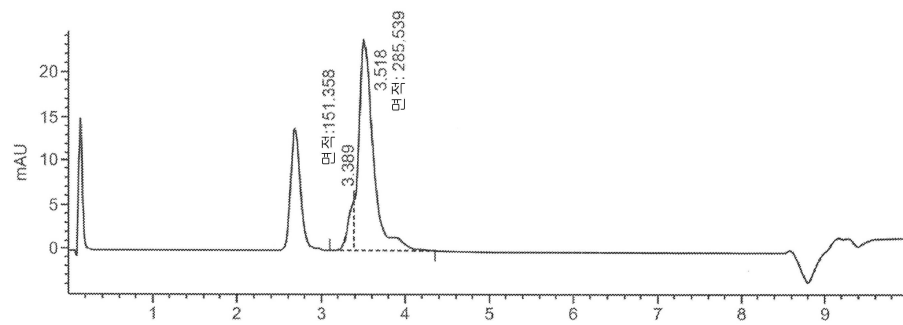
도면2

도면3



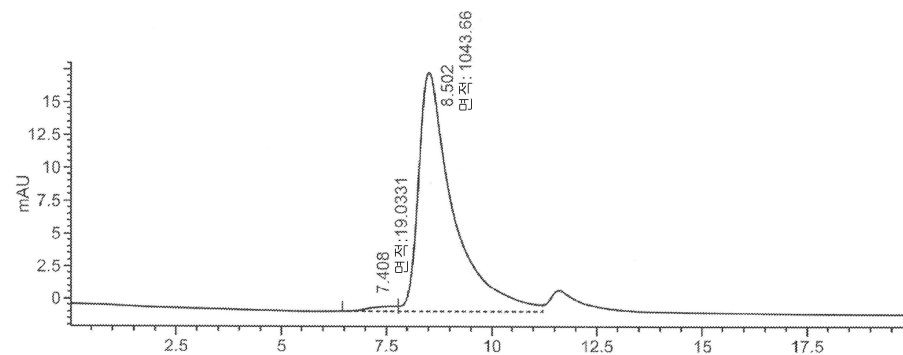
#	시간	면적	높이	폭	면적 %	대칭
1	5.855	151.4	3.6	0.7039	22.779	1.421
2	6.965	513.1	14.7	0.5819	77.221	0.65

도면4



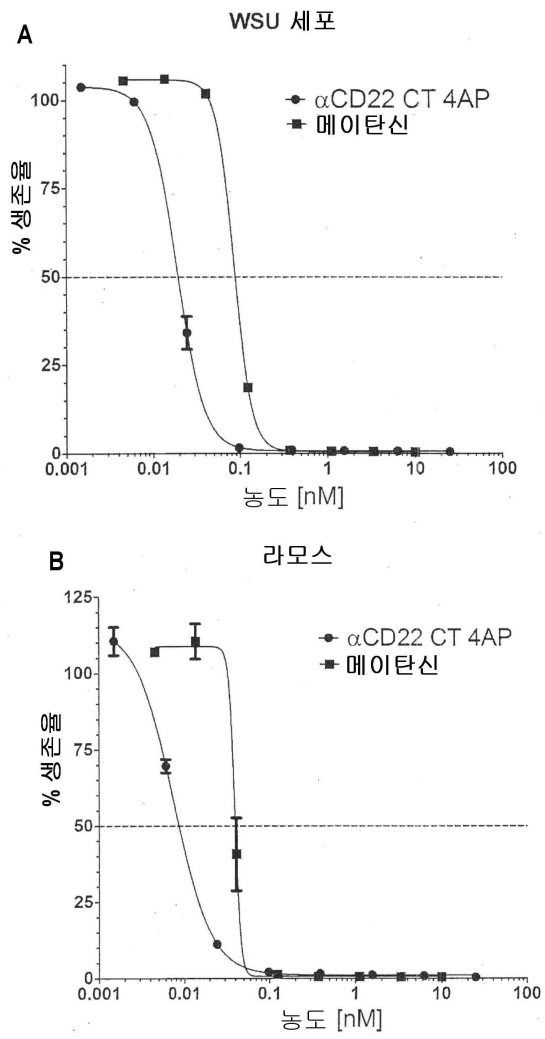
#	시간	면적	높이	폭	면적 %	대칭
1	3.389	30.5	5.6	0.0913	9.281	1729.18
2	3.516	298.5	23.7	0.2102	90.719	0.54

도면5

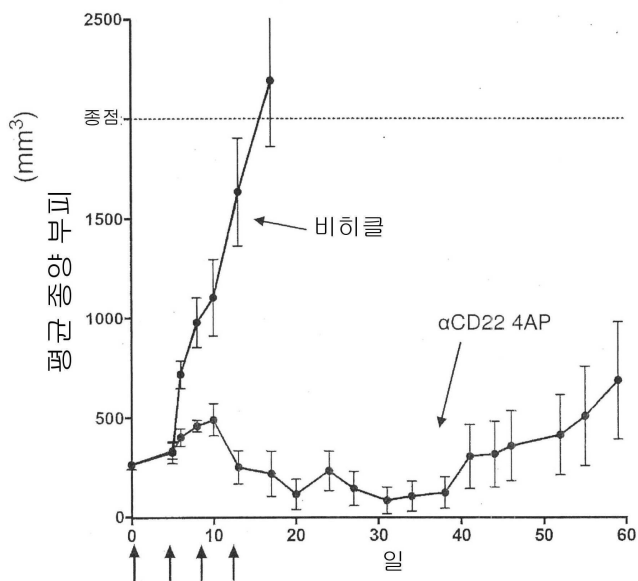


#	시간	면적	높이	폭	면적 %	대칭
1	7.408	19	4E-1	0.7939	1.791	1.355
2	8.502	1043.7	18	0.9658	98.209	0.423

도면6



도면7



도면8a

```

아이소형태 2 MHLGWPWLLLLVLEYLAFSDSSKWVFEHPETLYAWEGACVWIPCTYRALDGDLESFILFH 60
아이소형태 4 MHLGWPWLLLLVLEYLAFSDSSKWVFEHPETLYAWEGACVWIPCTYRALDGDLESFILFH 60
아이소형태 1 MHLGWPWLLLLVLEYLAFSDSSKWVFEHPETLYAWEGACVWIPCTYRALDGDLESFILFH 60
아이소형태 3 MHLGWPWLLLLVLEYLAFSDSSKWVFEHPETLYAWEGACVWIPCTYRALDGDLESFILFH 60
*****

아이소형태 2 NPEYNKNTSKFDGTRLYEYESTKDGVKVPSEQKRVQFLGDKNKNCTLSIHPVHLNDSGQLGLR 120
아이소형태 4 NPEYNKNTSKFDGTRLYEYESTKDGVKVPSEQKRVQFLGDKNKNCTLSIHPVHLNDSGQLGLR 120
아이소형태 1 NPEYNKNTSKFDGTRLYEYESTKDGVKVPSEQKRVQFLGDKNKNCTLSIHPVHLNDSGQLGLR 120
아이소형태 3 NPEYNKNTSKFDGTRLYEYESTKDGVKVPSEQKRVQFLGDKNKNCTLSIHPVHLNDSGQLGLR 120
*****

아이소형태 2 MESKTEKWMERIHLNVSRPFPFPHIQLPPEIQESQEVTLTCLLNFSYGYPIQLQWLLEG 180
아이소형태 4 MESKTEKWMERIHLNVSRPFPFPHIQLPPEIQESQEVTLTCLLNFSYGYPIQLQWLLEG 180
아이소형태 1 MESKTEKWMERIHLNVSRPFPFPHIQLPPEIQESQEVTLTCLLNFSYGYPIQLQWLLEG 180
아이소형태 3 MESKTEKWMERIHLNVSRPFPFPHIQLPPEIQESQEVTLTCLLNFSYGYPIQLQWLLEG 180
*****

아이소형태 2 VPMRQAAVTSTSLTIKSVFTRSELKFSPOWSHHGKIIVTCQLQDADGKFLSNDTVQLNVKH 240
아이소형태 4 VPMRQAAVTSTSLTIKSVFTRSELKFSPOWSHHGKIIVTCQLQDADGKFLSNDTVQLNVKH 240
아이소형태 1 VPMRQAAVTSTSLTIKSVFTRSELKFSPOWSHHGKIIVTCQLQDADGKFLSNDTVQLNVKH 240
아이소형태 3 VPMRQAAVTSTSLTIKSVFTRSELKFSPOWSHHGKIIVTCQLQDADGKFLSNDTVQLNVKH 240
*****

아이소형태 2 TPKLEIKVTPSDAIVREGDSVTMTCEVSSSNPEYTTVSWLKDGTSLKKQNTFTLNLRVET 300
아이소형태 4 -----PPK 243
아이소형태 1 TPKLEIKVTPSDAIVREGDSVTMTCEVSSSNPEYTTVSWLKDGTSLKKQNTFTLNLRVET 300
아이소형태 3 TPKLEIKVTPSDAIVREGDSVTMTCEVSSSNPEYTTVSWLKDGTSLKKQNTFTLNLRVET 300
*****

아이소형태 2 KDQSGKYCCQVSNVDVGPGRSEEVFLQVQ----- 328
아이소형태 4 -----PPK 243
아이소형태 1 KDQSGKYCCQVSNVDVGPGRSEEVFLQVQYAPPEPSTVQILHSPAPEGSGQVEFLCMLANPL 360
아이소형태 3 KDQSGKYCCQVSNVDVGPGRSEEVFLQVQYAPPEPSTVQILHSPAPEGSGQVEFLCMLANPL 360

```

도면8b

```

아이소형태 2 -----YPPK 332
아이소형태 4 -----PPK 243
아이소형태 1 PTNYTWYHNGKEMQGRTEEKVHIPKILPWHAGTYSVAENILGTGQRGPGAELDVQYPPK 420
아이소형태 3 PTNYTWYHNGKEMQGRTEEKVHIPKILPWHAGTYSVAENILGTGQRGPGAELDVQYPPK 420
***

아이소형태 2 KVTTVIQNPMPIREGDVTTLSCNYNSSNPSVTRYEWKPHGAWEEPGLVKIQNVGWDNT 392
아이소형태 4 KVTTVIQNPMPIREGDVTTLSCNYNSSNPSVTRYEWKPHGAWEEPGLVKIQNVGWDNT 303
아이소형태 1 KVTTVIQNPMPIREGDVTTLSCNYNSSNPSVTRYEWKPHGAWEEPGLVKIQNVGWDNT 480
아이소형태 3 KVTTVIQNPMPIREGDVTTLSCNYNSSNPSVTRYEWKPHGAWEEPGLVKIQNVGWDNT 480
*****

아이소형태 2 TIACAACNSWCSWASPVALNVQYAPRDVVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKVEQ 452
아이소형태 4 TIACAACNSWCSWASPVALNVQYAPRDVVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKVEQ 363
아이소형태 1 TIACAACNSWCSWASPVALNVQYAPRDVVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKVEQ 540
아이소형태 3 TIACAACNSWCSWASPVALNVQYAPRDVVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKVEQ 540
*****

아이소형태 2 FFEKNGRLLGKESQLNFDNISPEDAGSYSCWVNNISIGQTASKAWTLEVLVYAPRRLRVSM 512
아이소형태 4 FFEKNGRLLGKESQLNFDNISPEDAGSYSCWVNNISIGQTASKAWTLEVLVYAPRRLRVSM 423
아이소형태 1 FFEKNGRLLGKESQLNFDNISPEDAGSYSCWVNNISIGQTASKAWTLEVLVYAPRRLRVSM 600
아이소형태 3 FFEKNGRLLGKESQLNFDNISPEDAGSYSCWVNNISIGQTASKAWTLEVLVYAPRRLRVSM 600
*****

아이소형태 2 SPGDQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQKRLRLEPVKVQHSWAYWCQ 572
아이소형태 4 SPGDQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQKRLRLEPVKVQHSWAYWCQ 483
아이소형태 1 SPGDQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQKRLRLEPVKVQHSWAYWCQ 660
아이소형태 3 SPGDQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQKRLRLEPVKVQHSWAYWCQ 660
*****

아이소형태 2 GTNSVGKGRSPLSTLTVYYSPETIGRRVAVGLGSLAILILAICGLKLRWRKRTQSQQG 632
아이소형태 4 GTNSVGKGRSPLSTLTVYYSPETIGRRVAVGLGSLAILILAICGLKLRWRKRTQSQQG 543
아이소형태 1 GTNSVGKGRSPLSTLTVYYSPETIGRRVAVGLGSLAILILAICGLKLRWRKRTQSQQG 720
아이소형태 3 GTNSVGKGRSPLSTLTVYYSPETIGRRVAVGLGSLAILILAICGLKLRWRKRTQSQQG 720
*****

```

## 도면8c

```

아이소형태 2 LQENSSGQSFFVRNKKVRRAPLSEGPLSLGCYNPMMEDGISYTTLRFPENIIPRTGDAES 692
아이소형태 4 LQENSSGQSFFVRNKKVRRAPLSEGPLSLGCYNPMMEDGISYTTLRFPENIIPRTGDAES 603
아이소형태 1 LQENSSGQSFFVRNKKVRRAPLSEGPLSLGCYNPMMEDGISYTTLRFPENIIPRTGDAES 780
아이소형태 3 LQENSSGQSFFVRNKKRCRVLR-----DAET 746
***** *
아이소형태 2 SEMQRPPDCDDTVTYSALHKRQVG DYENVIPDFPEDEGIHYSELIQFGVGERPQAQENV 752
아이소형태 4 SEMQRPPDCDDTVTYSALHKRQVG DYENVIPDFPEDEGIHYSELIQFGVGERPQAQENV 663
아이소형태 1 SEMQRPPDCDDTVTYSALHKRQVG DYENVIPDFPEDEGIHYSELIQFGVGERPQAQENV 840
아이소형태 3 SPGLR----- 751
*
아이소형태 2 DYVILKH 759
아이소형태 4 DYVILKH 670
아이소형태 1 DYVILK- 846
아이소형태 3 -----

```

## 도면9a

경쇄 보존 영역:

```

140 150 160 170 180 189
RYVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPRKVKQ WKVDNALQSC NSQESVTEQD
200 210 220 230 236
SKDSTYSLSS TLTLKADYE NKKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNCEC

```

중쇄 보존 영역:

```

130 140 150 160 170 180
ASTKGSVFEP LAPSSKSTSC GTAAAGCLVK DYFPEPTVS WNSCALTSQV HTFPAVLQSS
190 200 210 220 230 240
QYSLSSVVT VPSSSLGTI YICNVNKKPS NTKVDKKVEE KSCDRTIKCF PCFAPELLGG
250 260 270 280 290 300
PSVFLFPKP KDTLMISRTT EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDQVEVHNA KTKPREEQYN
310 320 330 340 350 360
SYRVVSFLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPARIERTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE
370 380 390 400 410 420
MTKNQVSLTC LVRGYPSPDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LSSDGSFPLY SKLTVDKSRW
430 440 450
QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

```



도면9ba

호모 사피엔스 IgG1 불변 영역; GenBank P01857.1  
 호모 사피엔스 IgG2 불변 영역; GenBank P01859.2  
 호모 사피엔스 IgG3 불변 영역; GenBank P01860.2  
 호모 사피엔스 IgG4 불변 영역; GenBank AAB59394.1  
 호모 사피엔스 IgA 불변 영역; GenBank AAT74070

```

IgG1  --ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP-EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL 178
IgG3  --ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAAALGCLVKDYFP-EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
IgG2  --ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP-EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
IgG4  STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP-EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
IgA    --ASPTSPKVFPLSLCS-TQPDGNVVIACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQGV TARNFPPSQ
      *...*.****. : * : . . . . .***.:** **:*:*... . :.*.

IgG1  QSSG-LYSLSSVVTGPS-SSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKKVE----- 220
IgG3  QSSG-LYSLSSVVTGPS-SSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCP
IgG2  QSSG-LYSLSSVVTGPS-SNFGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKTVR-----
IgG4  QSSG-LYSLSSVVTGPS-SSLGTRTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVES-----
IgA    DASGDLTYTSSQLTLPATQCLAGKSVTCHVKHY-TNPSQDVTVPCLP-----
      : ** *: ** :*: . . . : : *:* * :.. * *

IgG1  -----PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP 249
IgG3  EPKSCDTPPCPRCPPEPKSCDTPPCPRCPPEPKSCDTPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPP
IgG2  -----KCCVE---CPPCPAPPVAG-PSVFLFPP
IgG4  -----KYGPPCPSCPAPPELLGGPSVFLFPP
IgA    -----VPSTPTSPSTPTPTSPSPSCCHPRLSLHR
      . *:* . : :

IgG1  KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV 309
IgG3  KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVSV
IgG2  KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSV
IgG4  KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
IgA    PALEDLLLGSEANLTCTLTGLR-DASGVTFWTGPS--SGKSAVQGPDRDLGCGYSVSSV
      . : *:. . :*: . . : * * * . . : * * * * :. : * * *
    
```

도면9bb

```

IgG1  LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS- 368
IgG3  LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS-
IgG2  LTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS-
IgG4  LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS-
IgA    LSGCAEPWNHGKTFCTAAYPESKTPLTATLSKS-GNTRFPEVHLLPPSEELALNELVT
      *: : * ** :*. . : : : *:* : *.. .*: *:. :*: *:.

IgG1  LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ--PENNYKTPPVLDSDG---SFFLYSKLTVDKSRWQQ 423
IgG3  LTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQ--PENNYNTTPPMLDSG---SFFLYSKLTVDKSRWQQ
IgG2  LTCLVKGFYPSDISVEWESNGQ--PENNYKTPPMLDSG---SFFLYSKLTVDKSRWQQ
IgG4  LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ--PENNYKTPPVLDSDG---SFFLYSRLTVDKSRWQE
IgA    LTCLARGFSPKDVLRVWLQGSQELPREKYLTVASRQEPESQGTTFAVTSILRVAAEDWKK
      *****.:** *:. : * * . . . * . : : * * * . : : * * *

IgG1  GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK----- 451
IgG3  GNIFSCSVMHEALHNRTQKSLSLSPGK-----
IgG2  GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK-----
IgG4  GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK-----
IgA    GDTFSCMVGHEALPLAFTQKTIDRLAGKPTHVNVSVVMAEVDGTCY
      *: * * * * * :*: :. **
    
```

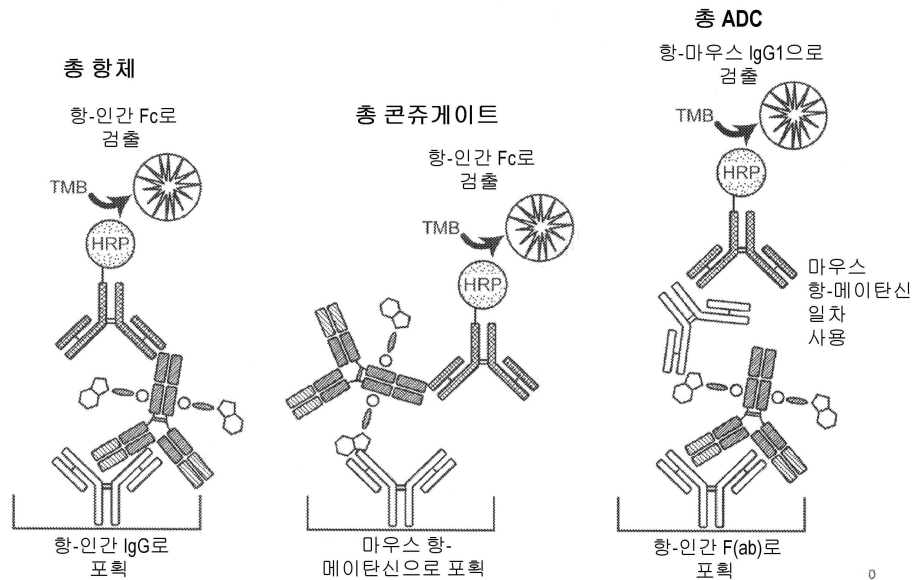
### 도면9c

Seq1 = 호모 사피엔스 카파 경쇄 불변 영역; GenBank CAA75031.1  
 Seq2 = 호모 사피엔스 카파 경쇄 불변 영역; GenBank BAC0168.1  
 Seq3 = 호모 사피엔스 람다 경쇄 불변 영역; GenBank CAA75033  
 Seq4 = 무스 무스쿨루스 경쇄 불변 영역; GenBank AAB09710.1  
 Seq5 = 라투스 노르베기쿠스 경쇄 불변 영역; GenBank AAD10133

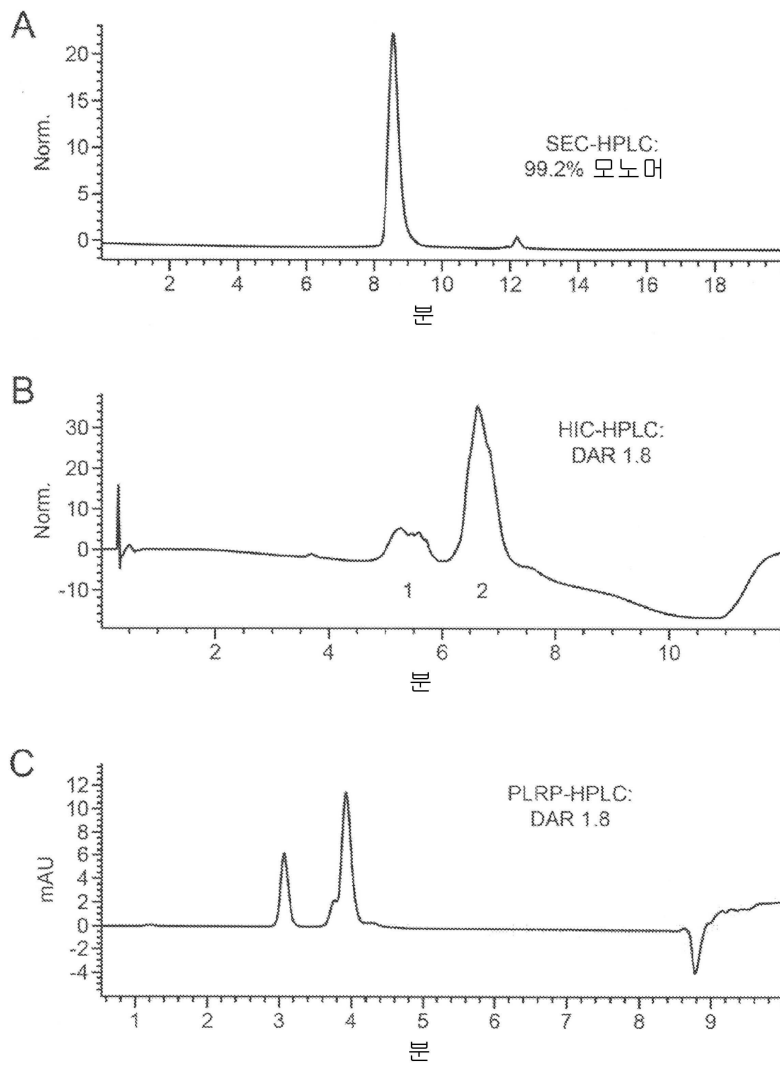
```
seq1  RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD 189
seq2  RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
seq4  RADAAPTTSIFPPSDEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEERQNGVLNSWTDQD
seq5  RADAAPTTSIFPPSDEQLTSGGATVVCFLNNFYPRDISVKWKIDGSEERQNGVLNSWTDQD
seq3  QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSSPVKAGVETTTTFSKQ
    .. **:* :*** *: * :. *:***::*** . * * * : . : . :

seq1  SKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 236
seq2  SKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
seq4  SKDSTYMSSTLTLTDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRGEC
seq5  SKDSTYMSSTLTSLTKVEYERHNLTYCEVTHKTSSSPVVKSFNRNEC
seq3  S-NNKYAASSYLSLTPEQWKS HKSYSCQVTHEG--STVEKTVAPTECS
    * :..* : * * : : : * : * : : * : * : * : * : * : * : *
```

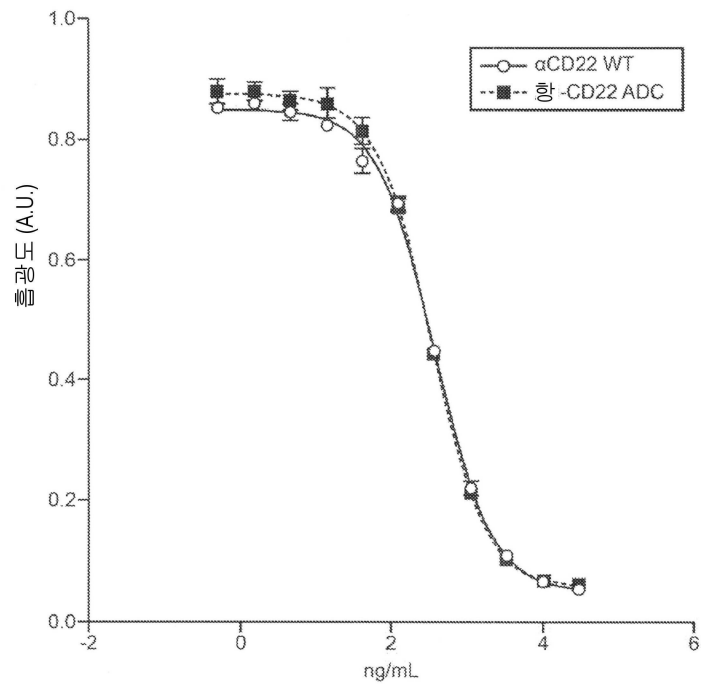
### 도면10



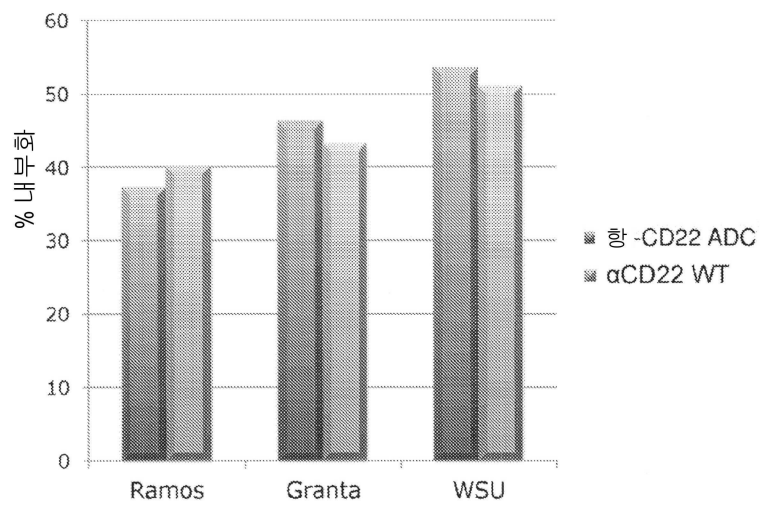
도면11



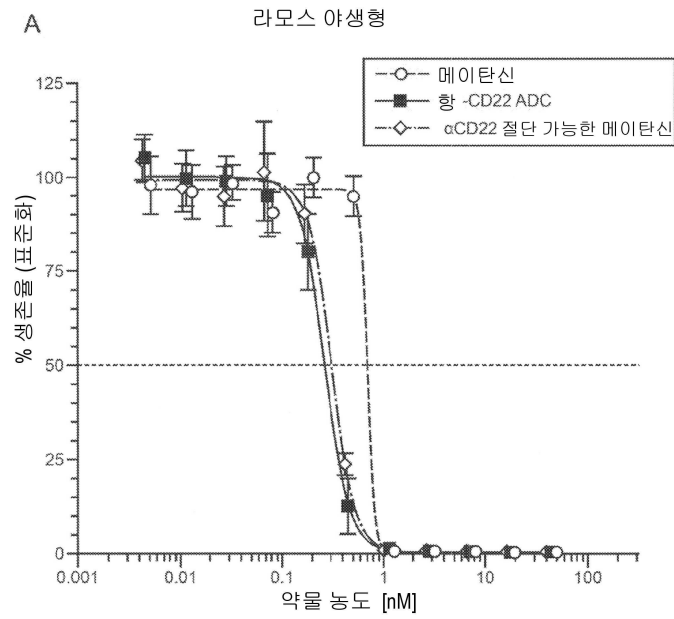
도면12



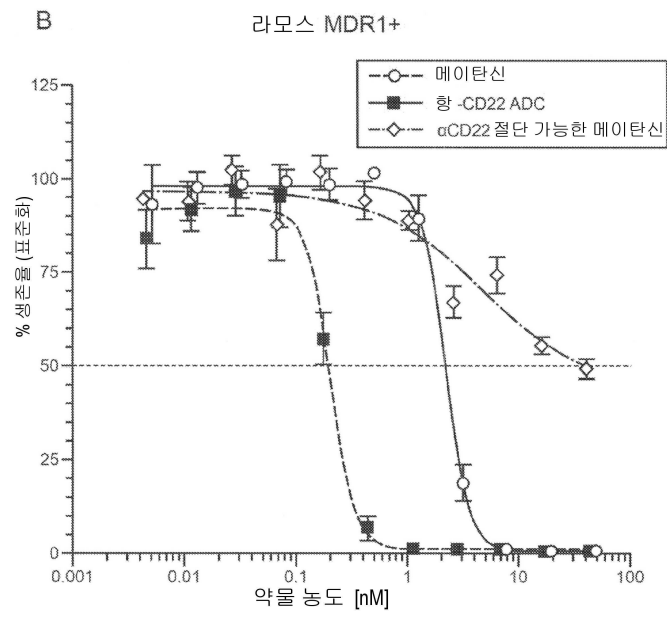
도면13



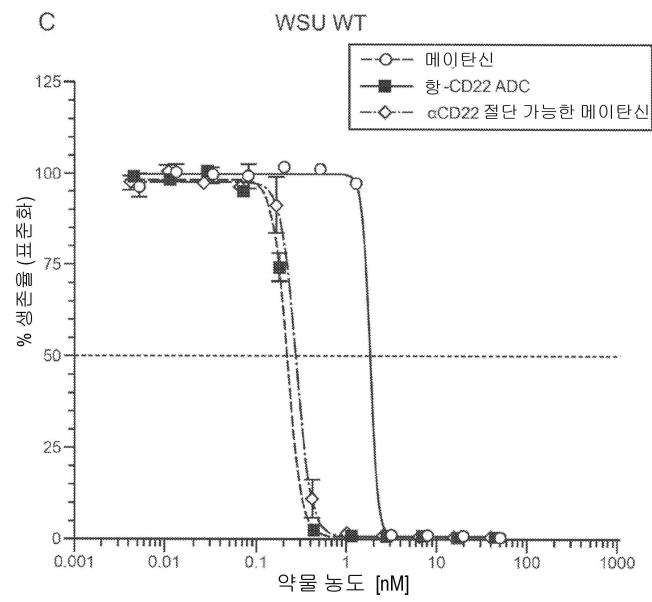
도면14a



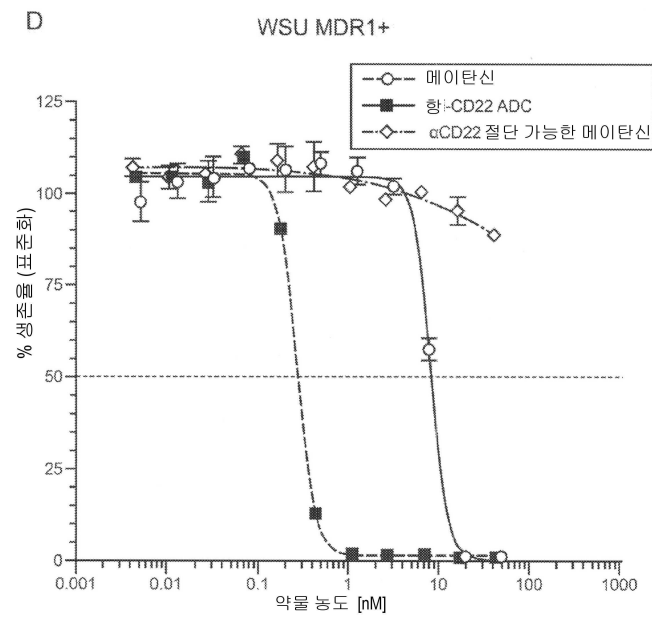
도면14b



도면14c

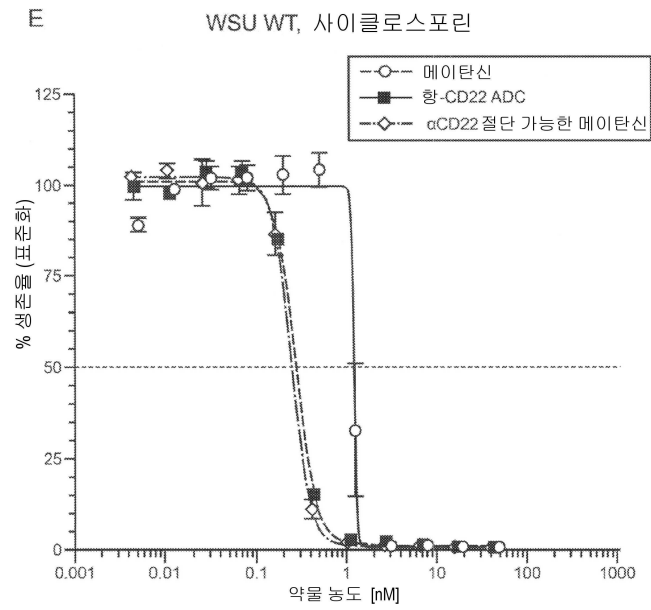


도면14d

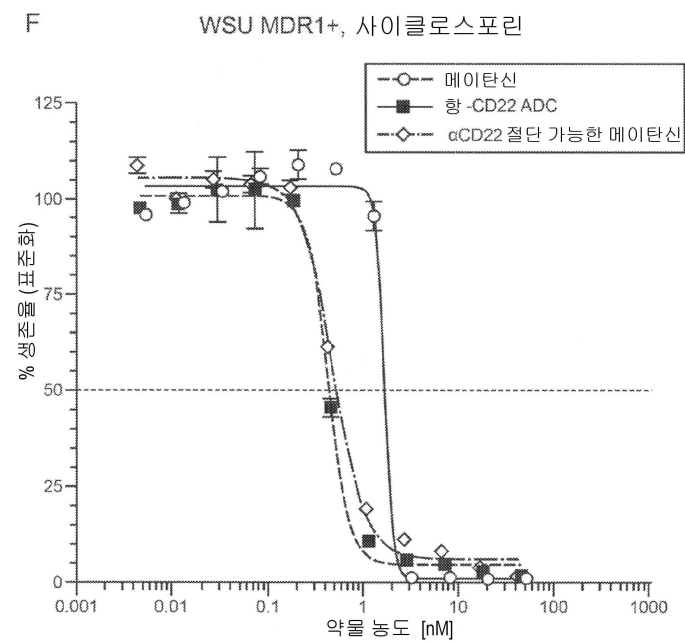




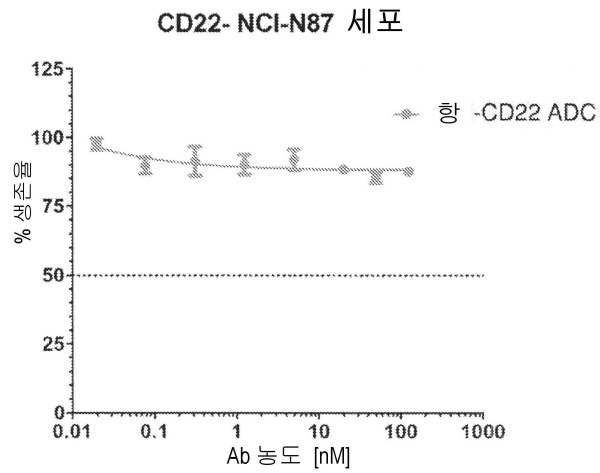
도면14e



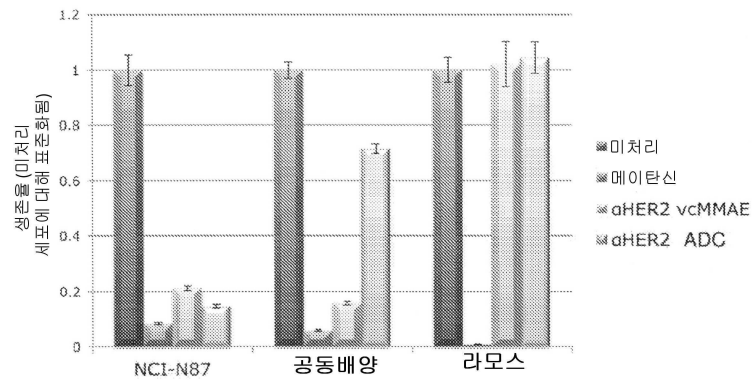
도면14f



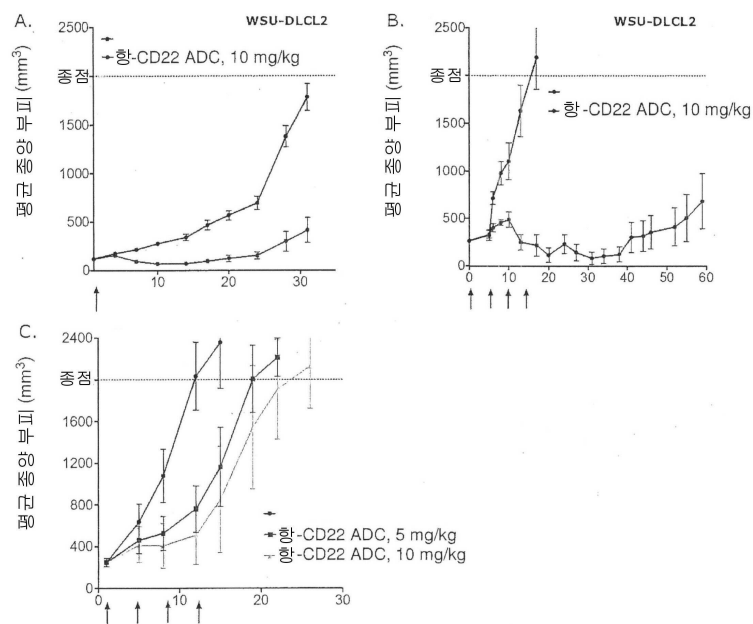
도면15



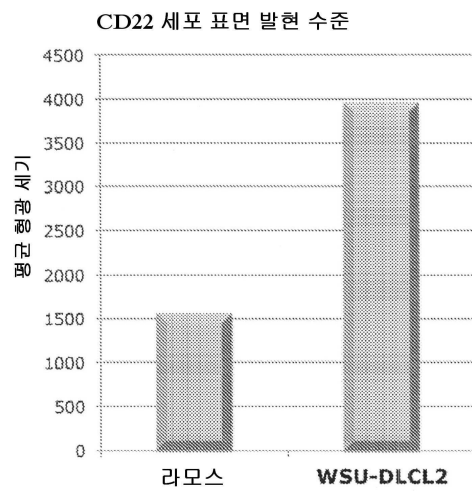
도면16



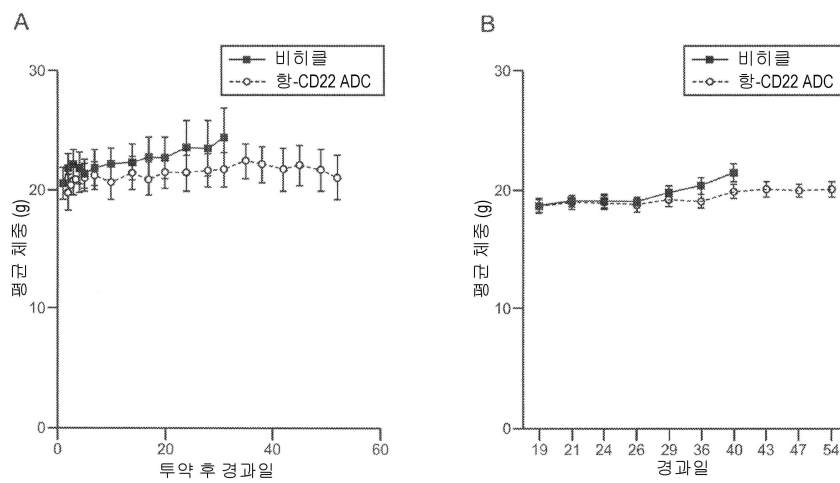
도면17



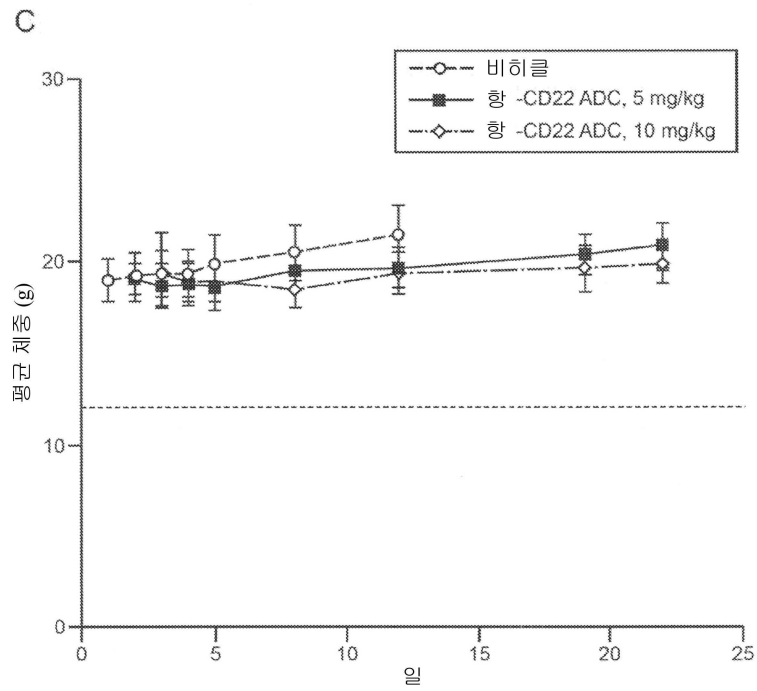
도면18



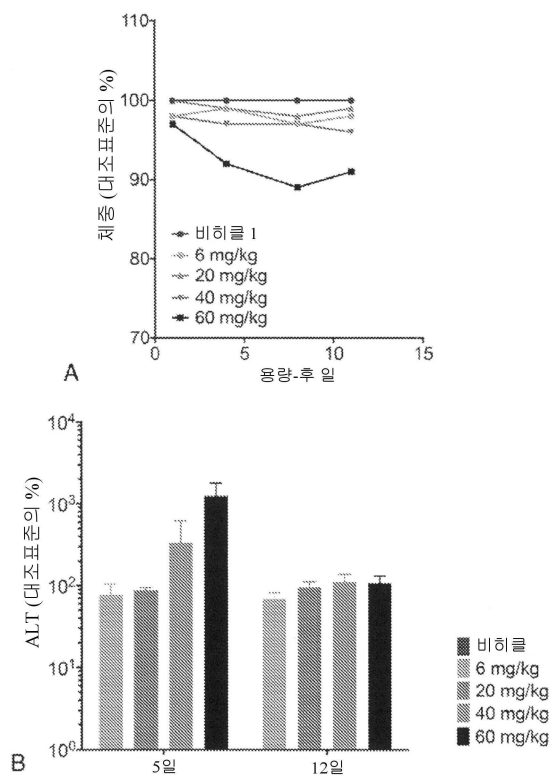
도면19ab



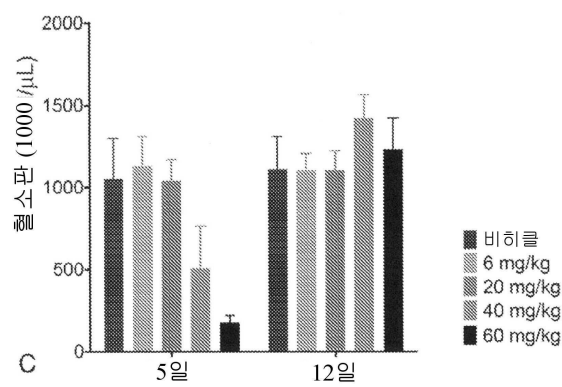
도면19c



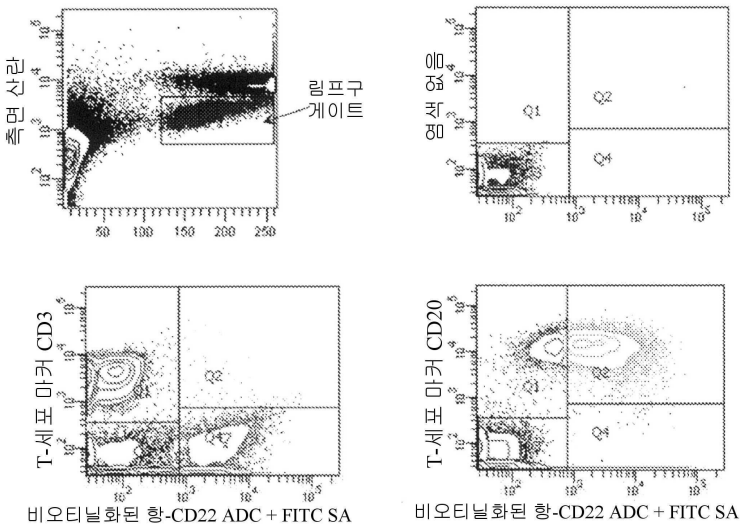
도면20ab



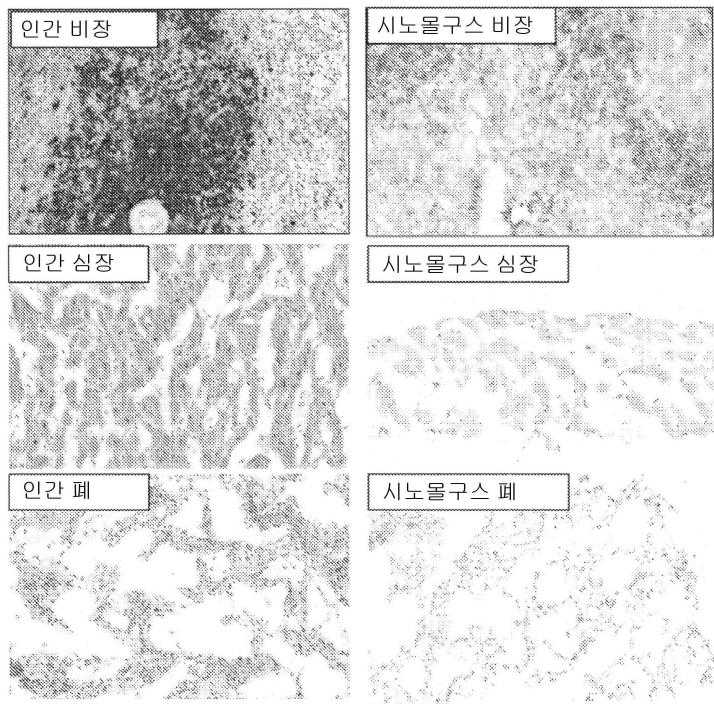
도면20c



도면21

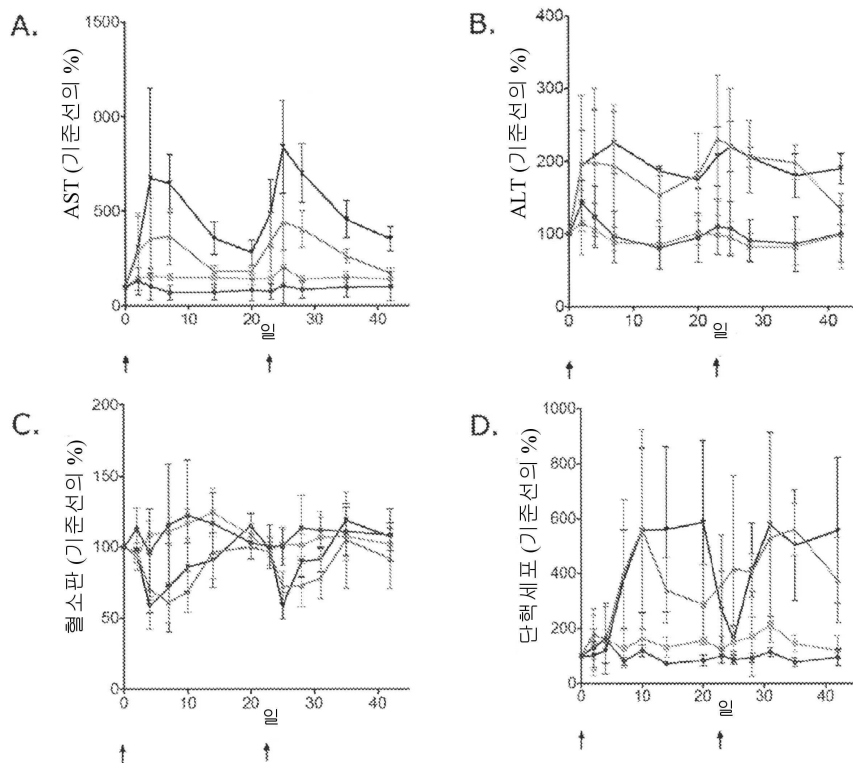


도면22



도면23

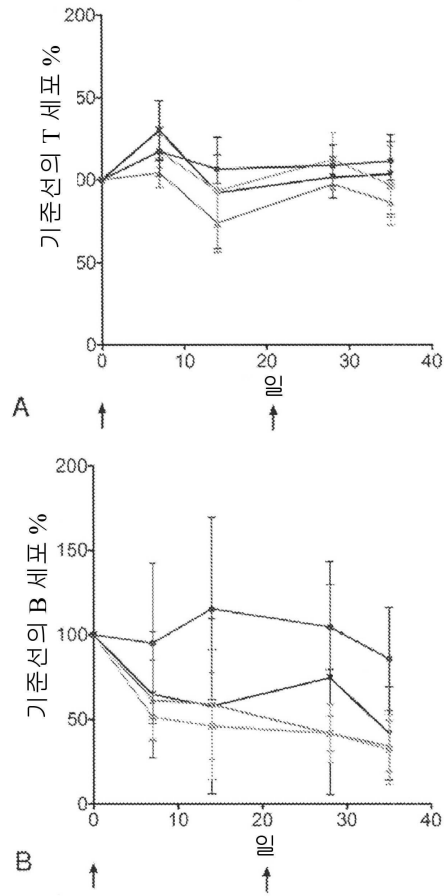
◆ 비히클  
 ≡ 10 mg/kg  
 ≡ 30 mg/kg  
 ≡ 60 mg/kg



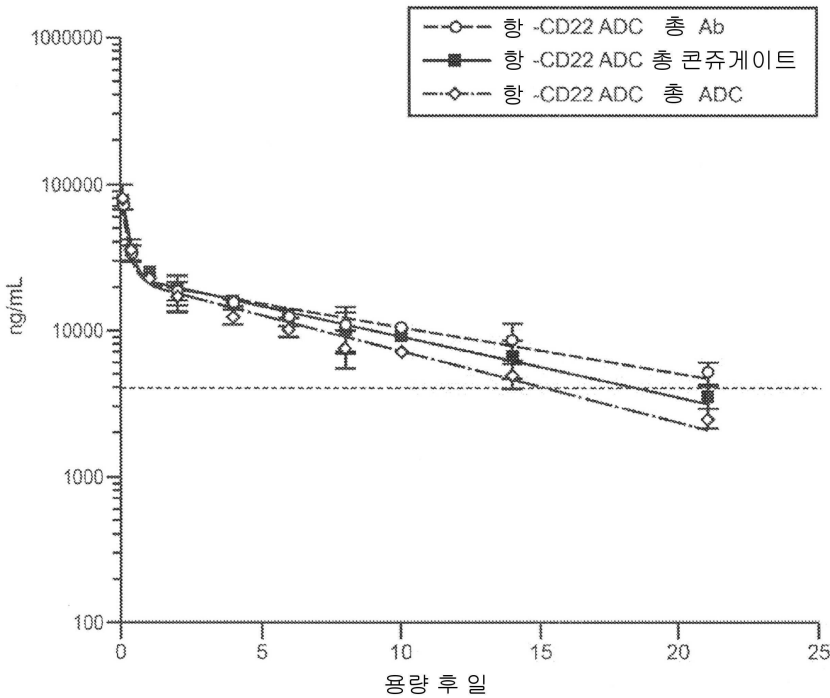


도면24

- ◆ 비히클
- ◇ 10 mg/kg
- ◇ 30 mg/kg
- ◆ 60 mg/kg



도면25



도면26

표 3. 항-CD22 ADC로 투약된 동물에서 총 ADC 값의 평균 (± SD) 약물동역학 (PK) 및 독물동역학 (TK) 매개변수들의 요약

마우스 (q4d x 4) <sup>a</sup>			랫트 (단일 용량)		시노물구스 원숭이 (q3w x 2) <sup>a</sup>	
용량 (mg/kg)	C <sub>max</sub> 제1 용량 (μg/mL)	AUC <sub>0-inf</sub> (day·μg/mL)	C <sub>max</sub> (μg/mL)	AUC <sub>0-inf</sub> (day·μg/mL)	C <sub>max</sub> 제1 용량 (μg/mL)	AUC <sub>0-inf</sub> (day·μg/mL)
3			83.9 (16)	218 (18.4)		
5	74.4 (5.48)	1500 (45.1)				
6			110 (38.5)	660 (143)		
10	136 (4.57)	2530 (131)			318 (110)	1360 (556)
20			382 (63.0)	2280 (325)		
30					1030 (57.4)	4200 (768)
40			687 (52.8)	3740 (185)		
60			1020 (158)	5201 (273)	1630 (138)	6140 (667)

<sup>a</sup>AUC 계산은 모든 용량을 포함한다.

<sup>b</sup>제1 용량 단독으로부터의 AUC 계산

SD, 표준 편차; AUC<sub>0-inf</sub>, 시간 0으로부터 무한대까지 농도 대비 시간 곡선 아래의 면적; C<sub>max</sub>, 다음과 같이 각 연구로부터 제1 샘플링 시점에 관찰된 최고 농도; 마우스 및 랫트 PK, 1 시간; 랫트 TK, 8시간; 시노물구스 TK, 5분

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Rabuka, David

McFarland, Jesse M.

Drake, Penelope M.

Barfield, Robyn M.

<120> ANTI-CD22 ANTIBODY-MAYTANSINE CONJUGATES AND METHODS OF USE  
THEREOF

<130> RDWD-019WOA

<150> US 62/252,985  
 <151> 2015-11-09  
 <160> 163  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (19)..(19)  
 <223> Xaa may be Lys or Arg.  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (78)..(78)  
 <223> Xaa may be Ser or Thr.  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (84)..(84)  
 <223> Xaa may be Asn or Ser.  
 <400> 1

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly
1			5						10					15	
Ser	Leu	Xaa	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ala	Phe	Ser	Ile	Tyr
			20						25					30	
Asp	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35						40						45	
Ala	Tyr	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Thr	Val
		50					55					60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Xaa	Leu	Tyr
65				70						75				80	
Leu	Gln	Met	Xaa	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
				85						90				95	
Ala	Arg	His	Ser	Gly	Tyr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gly	Val	Leu	Phe	Ala	Tyr

100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	
<210> 2		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> Artificial sequence		
<220><223> Synthetic polypeptide		
<220><221> MISC_FEATURE		
<222> (11)..(11)		
<223> Xaa may be Leu or Val.		
<220><221> MISC_FEATURE		
<222> (44)..(44)		
<223> Xaa may be Val or Pro.		
<220><221> MISC_FEATURE		
<222> (80)..(80)		
<223> Xaa may be Gln or Pro.		
<400> 2		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Xaa Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr		
20	25	30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Xaa Lys Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Tyr Thr Ser Ile Leu His 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 Xaa		
65	70	75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp		
85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	

<210> 3

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ile Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 4

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 4

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ile Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr 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 Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg His Ser Gly Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Val Leu Phe Ala Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 5

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 5

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15  
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ile Tyr  
 20 25 30  
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr 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 Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg His Ser Gly Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Val Leu Phe Ala Tyr  
 100 105 110



Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 6

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 6

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ile Tyr

20

25

30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr 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 Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85

90

95

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

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 7

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 7

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

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr  
20 25 30  
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Val Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Tyr Thr Ser Ile Leu His 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 Gln  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
100 105

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr  
20 25 30  
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Val Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Tyr Thr Ser Ile Leu His 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 Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
100 105

<210> 9

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 9

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

1	5	10	15
Asp	Arg	Val	Thr
Ile	Thr	Cys	Arg
Ala	Ser	Gln	Asp
Ile	Ser	Asn	Tyr
20	25	30	
Leu	Asn	Trp	Tyr
Gln	Gln	Lys	Pro
Gly	Lys	Ala	Pro
Lys	Leu	Leu	Ile
35	40	45	
Tyr	Tyr	Thr	Ser
Ile	Leu	His	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	Phe	Cys
Gln	Gln	Gly	Asn
Thr	Leu	Pro	Trp
85	90	95	
Thr	Phe	Gly	Gly
Gly	Thr	Lys	Val
Glu	Ile	Lys	Arg
100	105		

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be present or absent, when present, may be any amino

acid, with the proviso that when the sequence is at the

N-terminus of the conjugate, Xaa is present.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is the modified amino acid residue of formula (I), FGly'.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa may be any amino acid.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa may be Pro or Ala.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa may be any amino acid.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa may be a basic amino acid or an aliphatic amino acid.

<400> 10

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is the modified amino acid residue of formula (I), FGly'.

<400> 11

Leu Xaa Thr Pro Ser Arg

1 5

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 12

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is the modified amino acid residue of formula (I), FGly'.

<400> 13

Ser Pro Gly Ser Leu Xaa Thr Pro Ser Arg Gly Ser

1 5 10

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 14

Lys Val Asp Asn Ala Leu

1 5

<210> 15

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 15

Gln Ser Gly Asn Ser Gln

1 5

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is the modified amino acid residue of formula (I), FGly'.

<400> 16

Lys Val Asp Asn Ala Leu Xaa Thr Pro Ser Arg Gln Ser Gly Asn Ser

1 5 10 15

Gln

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 17

Ser Trp Asn Ser Gly Ala

1 5

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 18

Gly Val His Thr Phe Pro

1 5

<210> 19

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is the modified amino acid residue of formula (I), FGly'.

<400> 19



Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Xaa Thr Pro Ser Arg Gly Val His Thr  
 1 5 10 15  
 Phe Pro

<210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Ser, Thr, Ala or Gly.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa may be Ser, Thr, Ala or Gly.

<400> 20

Cys Xaa Pro Xaa Arg

1 5

<210> 21

<211> 759

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met His Leu Leu Gly Pro Trp Leu Leu Leu Leu Val Leu Glu Tyr Leu

1 5 10 15

Ala Phe Ser Asp Ser Ser Lys Trp Val Phe Glu His Pro Glu Thr Leu

20 25 30

Tyr Ala Trp Glu Gly Ala Cys Val Trp Ile Pro Cys Thr Tyr Arg Ala

35 40 45

Leu Asp Gly Asp Leu Glu Ser Phe Ile Leu Phe His Asn Pro Glu Tyr

50 55 60

Asn Lys Asn Thr Ser Lys Phe Asp Gly Thr Arg Leu Tyr Glu Ser Thr

65 70 75 80

Lys Asp Gly Lys Val Pro Ser Glu Gln Lys Arg Val Gln Phe Leu Gly  
 85 90 95  
 Asp Lys Asn Lys Asn Cys Thr Leu Ser Ile His Pro Val His Leu Asn  
 100 105 110  
  
 Asp Ser Gly Gln Leu Gly Leu Arg Met Glu Ser Lys Thr Glu Lys Trp  
 115 120 125  
 Met Glu Arg Ile His Leu Asn Val Ser Glu Arg Pro Phe Pro Pro His  
 130 135 140  
 Ile Gln Leu Pro Pro Glu Ile Gln Glu Ser Gln Glu Val Thr Leu Thr  
 145 150 155 160  
 Cys Leu Leu Asn Phe Ser Cys Tyr Gly Tyr Pro Ile Gln Leu Gln Trp  
 165 170 175  
  
 Leu Leu Glu Gly Val Pro Met Arg Gln Ala Ala Val Thr Ser Thr Ser  
 180 185 190  
 Leu Thr Ile Lys Ser Val Phe Thr Arg Ser Glu Leu Lys Phe Ser Pro  
 195 200 205  
 Gln Trp Ser His His Gly Lys Ile Val Thr Cys Gln Leu Gln Asp Ala  
 210 215 220  
 Asp Gly Lys Phe Leu Ser Asn Asp Thr Val Gln Leu Asn Val Lys His  
 225 230 235 240  
  
 Thr Pro Lys Leu Glu Ile Lys Val Thr Pro Ser Asp Ala Ile Val Arg  
 245 250 255  
 Glu Gly Asp Ser Val Thr Met Thr Cys Glu Val Ser Ser Ser Asn Pro  
 260 265 270  
 Glu Tyr Thr Thr Val Ser Trp Leu Lys Asp Gly Thr Ser Leu Lys Lys  
 275 280 285  
 Gln Asn Thr Phe Thr Leu Asn Leu Arg Glu Val Thr Lys Asp Gln Ser  
 290 295 300  
  
 Gly Lys Tyr Cys Cys Gln Val Ser Asn Asp Val Gly Pro Gly Arg Ser  
 305 310 315 320  
 Glu Glu Val Phe Leu Gln Val Gln Tyr Pro Pro Lys Lys Val Thr Thr

325	330	335
Val Ile Gln Asn Pro Met Pro Ile Arg Glu Gly Asp Thr Val Thr Leu		
340	345	350
Ser Cys Asn Tyr Asn Ser Ser Asn Pro Ser Val Thr Arg Tyr Glu Trp		
355	360	365
Lys Pro His Gly Ala Trp Glu Glu Pro Ser Leu Gly Val Leu Lys Ile		
370	375	380
Gln Asn Val Gly Trp Asp Asn Thr Thr Ile Ala Cys Ala Ala Cys Asn		
385	390	395
Ser Trp Cys Ser Trp Ala Ser Pro Val Ala Leu Asn Val Gln Tyr Ala		
405	410	415
Pro Arg Asp Val Arg Val Arg Lys Ile Lys Pro Leu Ser Glu Ile His		
420	425	430
Ser Gly Asn Ser Val Ser Leu Gln Cys Asp Phe Ser Ser Ser His Pro		
435	440	445
Lys Glu Val Gln Phe Phe Trp Glu Lys Asn Gly Arg Leu Leu Gly Lys		
450	455	460
Glu Ser Gln Leu Asn Phe Asp Ser Ile Ser Pro Glu Asp Ala Gly Ser		
465	470	475
Tyr Ser Cys Trp Val Asn Asn Ser Ile Gly Gln Thr Ala Ser Lys Ala		
485	490	495
Trp Thr Leu Glu Val Leu Tyr Ala Pro Arg Arg Leu Arg Val Ser Met		
500	505	510
Ser Pro Gly Asp Gln Val Met Glu Gly Lys Ser Ala Thr Leu Thr Cys		
515	520	525
Glu Ser Asp Ala Asn Pro Pro Val Ser His Tyr Thr Trp Phe Asp Trp		
530	535	540
Asn Asn Gln Ser Leu Pro Tyr His Ser Gln Lys Leu Arg Leu Glu Pro		
545	550	555
Val Lys Val Gln His Ser Gly Ala Tyr Trp Cys Gln Gly Thr Asn Ser		
565	570	575

Val Gly Lys Gly Arg Ser Pro Leu Ser Thr Leu Thr Val Tyr Tyr Ser  
580 585 590

Pro Glu Thr Ile Gly Arg Arg Val Ala Val Gly Leu Gly Ser Cys Leu  
595 600 605

Ala Ile Leu Ile Leu Ala Ile Cys Gly Leu Lys Leu Gln Arg Arg Trp  
610 615 620

Lys Arg Thr Gln Ser Gln Gln Gly Leu Gln Glu Asn Ser Ser Gly Gln  
625 630 635 640

Ser Phe Phe Val Arg Asn Lys Lys Val Arg Arg Ala Pro Leu Ser Glu  
645 650 655

Gly Pro His Ser Leu Gly Cys Tyr Asn Pro Met Met Glu Asp Gly Ile  
660 665 670

Ser Tyr Thr Thr Leu Arg Phe Pro Glu Met Asn Ile Pro Arg Thr Gly  
675 680 685

Asp Ala Glu Ser Ser Glu Met Gln Arg Pro Pro Pro Asp Cys Asp Asp  
690 695 700

Thr Val Thr Tyr Ser Ala Leu His Lys Arg Gln Val Gly Asp Tyr Glu  
705 710 715 720

Asn Val Ile Pro Asp Phe Pro Glu Asp Glu Gly Ile His Tyr Ser Glu  
725 730 735

Leu Ile Gln Phe Gly Val Gly Glu Arg Pro Gln Ala Gln Glu Asn Val  
740 745 750

Asp Tyr Val Ile Leu Lys His  
755

<210> 22

<211> 670

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Met His Leu Leu Gly Pro Trp Leu Leu Leu Leu Val Leu Glu Tyr Leu  
1 5 10 15

Ala Phe Ser Asp Ser Ser Lys Trp Val Phe Glu His Pro Glu Thr Leu

				20								25								30			
Tyr	Ala	Trp	Glu	Gly	Ala	Cys	Val	Trp	Ile	Pro	Cys	Thr	Tyr	Arg	Ala								
35								40								45							
Leu	Asp	Gly	Asp	Leu	Glu	Ser	Phe	Ile	Leu	Phe	His	Asn	Pro	Glu	Tyr								
50								55								60							
Asn	Lys	Asn	Thr	Ser	Lys	Phe	Asp	Gly	Thr	Arg	Leu	Tyr	Glu	Ser	Thr								
65								70								75				80			
Lys	Asp	Gly	Lys	Val	Pro	Ser	Glu	Gln	Lys	Arg	Val	Gln	Phe	Leu	Gly								
				85								90								95			
Asp	Lys	Asn	Lys	Asn	Cys	Thr	Leu	Ser	Ile	His	Pro	Val	His	Leu	Asn								
100								105								110							
Asp	Ser	Gly	Gln	Leu	Gly	Leu	Arg	Met	Glu	Ser	Lys	Thr	Glu	Lys	Trp								
115								120								125							
Met	Glu	Arg	Ile	His	Leu	Asn	Val	Ser	Glu	Arg	Pro	Phe	Pro	Pro	His								
130								135								140							
Ile	Gln	Leu	Pro	Pro	Glu	Ile	Gln	Glu	Ser	Gln	Glu	Val	Thr	Leu	Thr								
145								150								155				160			
Cys	Leu	Leu	Asn	Phe	Ser	Cys	Tyr	Gly	Tyr	Pro	Ile	Gln	Leu	Gln	Trp								
				165								170								175			
Leu	Leu	Glu	Gly	Val	Pro	Met	Arg	Gln	Ala	Ala	Val	Thr	Ser	Thr	Ser								
180								185								190							
Leu	Thr	Ile	Lys	Ser	Val	Phe	Thr	Arg	Ser	Glu	Leu	Lys	Phe	Ser	Pro								
195								200								205							
Gln	Trp	Ser	His	His	Gly	Lys	Ile	Val	Thr	Cys	Gln	Leu	Gln	Asp	Ala								
210								215								220							
Asp	Gly	Lys	Phe	Leu	Ser	Asn	Asp	Thr	Val	Gln	Leu	Asn	Val	Lys	His								
225								230								235				240			
Pro	Pro	Lys	Lys	Val	Thr	Thr	Val	Ile	Gln	Asn	Pro	Met	Pro	Ile	Arg								
				245								250								255			
Glu	Gly	Asp	Thr	Val	Thr	Leu	Ser	Cys	Asn	Tyr	Asn	Ser	Ser	Asn	Pro								
260								265								270							

Ser Val Thr Arg Tyr Glu Trp Lys Pro His Gly Ala Trp Glu Glu Pro  
275 280 285

Ser Leu Gly Val Leu Lys Ile Gln Asn Val Gly Trp Asp Asn Thr Thr  
290 295 300

Ile Ala Cys Ala Ala Cys Asn Ser Trp Cys Ser Trp Ala Ser Pro Val  
305 310 315 320

Ala Leu Asn Val Gln Tyr Ala Pro Arg Asp Val Arg Val Arg Lys Ile  
325 330 335

Lys Pro Leu Ser Glu Ile His Ser Gly Asn Ser Val Ser Leu Gln Cys  
340 345 350

Asp Phe Ser Ser Ser His Pro Lys Glu Val Gln Phe Phe Trp Glu Lys  
355 360 365

Asn Gly Arg Leu Leu Gly Lys Glu Ser Gln Leu Asn Phe Asp Ser Ile  
370 375 380

Ser Pro Glu Asp Ala Gly Ser Tyr Ser Cys Trp Val Asn Asn Ser Ile  
385 390 395 400

Gly Gln Thr Ala Ser Lys Ala Trp Thr Leu Glu Val Leu Tyr Ala Pro  
405 410 415

Arg Arg Leu Arg Val Ser Met Ser Pro Gly Asp Gln Val Met Glu Gly  
420 425 430

Lys Ser Ala Thr Leu Thr Cys Glu Ser Asp Ala Asn Pro Pro Val Ser  
435 440 445

His Tyr Thr Trp Phe Asp Trp Asn Asn Gln Ser Leu Pro Tyr His Ser  
450 455 460

Gln Lys Leu Arg Leu Glu Pro Val Lys Val Gln His Ser Gly Ala Tyr  
465 470 475 480

Trp Cys Gln Gly Thr Asn Ser Val Gly Lys Gly Arg Ser Pro Leu Ser  
485 490 495

Thr Leu Thr Val Tyr Tyr Ser Pro Glu Thr Ile Gly Arg Arg Val Ala  
500 505 510

Val Gly Leu Gly Ser Cys Leu Ala Ile Leu Ile Leu Ala Ile Cys Gly



515 520 525  
 Leu Lys Leu Gln Arg Arg Trp Lys Arg Thr Gln Ser Gln Gln Gly Leu  
 530 535 540  
 Gln Glu Asn Ser Ser Gly Gln Ser Phe Phe Val Arg Asn Lys Lys Val  
 545 550 555 560

Arg Arg Ala Pro Leu Ser Glu Gly Pro His Ser Leu Gly Cys Tyr Asn  
 565 570 575  
 Pro Met Met Glu Asp Gly Ile Ser Tyr Thr Thr Leu Arg Phe Pro Glu  
 580 585 590  
 Met Asn Ile Pro Arg Thr Gly Asp Ala Glu Ser Ser Glu Met Gln Arg  
 595 600 605  
 Pro Pro Pro Asp Cys Asp Asp Thr Val Thr Tyr Ser Ala Leu His Lys  
 610 615 620

Arg Gln Val Gly Asp Tyr Glu Asn Val Ile Pro Asp Phe Pro Glu Asp  
 625 630 635 640  
 Glu Gly Ile His Tyr Ser Glu Leu Ile Gln Phe Gly Val Gly Glu Arg  
 645 650 655  
 Pro Gln Ala Gln Glu Asn Val Asp Tyr Val Ile Leu Lys His  
 660 665 670

<210> 23

<211> 846

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met His Leu Leu Gly Pro Trp Leu Leu Leu Leu Val Leu Glu Tyr Leu

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

Asn Lys Asn Thr Ser Lys Phe Asp Gly Thr Arg Leu Tyr Glu Ser Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Lys Asn Lys Asn Cys Thr Leu Ser Ile His Pro Val His Leu Asn

100 105 110

Asp Ser Gly Gln Leu Gly Leu Arg Met Glu Ser Lys Thr Glu Lys Trp

115 120 125

Met Glu Arg Ile His Leu Asn Val Ser Glu Arg Pro Phe Pro Pro His

130 135 140

Ile Gln Leu Pro Pro Glu Ile Gln Glu Ser Gln Glu Val Thr Leu Thr

145 150 155 160

Cys Leu Leu Asn Phe Ser Cys Tyr Gly Tyr Pro Ile Gln Leu Gln Trp

165 170 175

Leu Leu Glu Gly Val Pro Met Arg Gln Ala Ala Val Thr Ser Thr Ser

180 185 190

Leu Thr Ile Lys Ser Val Phe Thr Arg Ser Glu Leu Lys Phe Ser Pro

195 200 205

Gln Trp Ser His His Gly Lys Ile Val Thr Cys Gln Leu Gln Asp Ala

210 215 220

Asp Gly Lys Phe Leu Ser Asn Asp Thr Val Gln Leu Asn Val Lys His

225 230 235 240

Thr Pro Lys Leu Glu Ile Lys Val Thr Pro Ser Asp Ala Ile Val Arg

245 250 255

Glu Gly Asp Ser Val Thr Met Thr Cys Glu Val Ser Ser Ser Asn Pro

260 265 270

Glu Tyr Thr Thr Val Ser Trp Leu Lys Asp Gly Thr Ser Leu Lys Lys

275 280 285

Gln Asn Thr Phe Thr Leu Asn Leu Arg Glu Val Thr Lys Asp Gln Ser

290 295 300

Gly Lys Tyr Cys Cys Gln Val Ser Asn Asp Val Gly Pro Gly Arg Ser

305                      310                      315                      320  
 Glu Glu Val Phe Leu Gln Val Gln Tyr Ala Pro Glu Pro Ser Thr Val  
  
                          325                      330                      335  
 Gln Ile Leu His Ser Pro Ala Val Glu Gly Ser Gln Val Glu Phe Leu  
                          340                      345                      350  
 Cys Met Ser Leu Ala Asn Pro Leu Pro Thr Asn Tyr Thr Trp Tyr His  
                          355                      360                      365  
 Asn Gly Lys Glu Met Gln Gly Arg Thr Glu Glu Lys Val His Ile Pro  
                          370                      375                      380  
 Lys Ile Leu Pro Trp His Ala Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Glu Asn  
  
 385                      390                      395                      400  
 Ile Leu Gly Thr Gly Gln Arg Gly Pro Gly Ala Glu Leu Asp Val Gln  
                          405                      410                      415  
 Tyr Pro Pro Lys Lys Val Thr Thr Val Ile Gln Asn Pro Met Pro Ile  
                          420                      425                      430  
 Arg Glu Gly Asp Thr Val Thr Leu Ser Cys Asn Tyr Asn Ser Ser Asn  
                          435                      440                      445  
 Pro Ser Val Thr Arg Tyr Glu Trp Lys Pro His Gly Ala Trp Glu Glu  
  
                          450                      455                      460  
 Pro Ser Leu Gly Val Leu Lys Ile Gln Asn Val Gly Trp Asp Asn Thr  
 465                      470                      475                      480  
 Thr Ile Ala Cys Ala Ala Cys Asn Ser Trp Cys Ser Trp Ala Ser Pro  
                          485                      490                      495  
 Val Ala Leu Asn Val Gln Tyr Ala Pro Arg Asp Val Arg Val Arg Lys  
                          500                      505                      510  
 Ile Lys Pro Leu Ser Glu Ile His Ser Gly Asn Ser Val Ser Leu Gln  
  
                          515                      520                      525  
 Cys Asp Phe Ser Ser Ser His Pro Lys Glu Val Gln Phe Phe Trp Glu  
                          530                      535                      540  
 Lys Asn Gly Arg Leu Leu Gly Lys Glu Ser Gln Leu Asn Phe Asp Ser  
 545                      550                      555                      560

Ile Ser Pro Glu Asp Ala Gly Ser Tyr Ser Cys Trp Val Asn Asn Ser  
565 570 575

Ile Gly Gln Thr Ala Ser Lys Ala Trp Thr Leu Glu Val Leu Tyr Ala  
580 585 590

Pro Arg Arg Leu Arg Val Ser Met Ser Pro Gly Asp Gln Val Met Glu  
595 600 605

Gly Lys Ser Ala Thr Leu Thr Cys Glu Ser Asp Ala Asn Pro Pro Val  
610 615 620

Ser His Tyr Thr Trp Phe Asp Trp Asn Asn Gln Ser Leu Pro Tyr His  
625 630 635 640

Ser Gln Lys Leu Arg Leu Glu Pro Val Lys Val Gln His Ser Gly Ala  
645 650 655

Tyr Trp Cys Gln Gly Thr Asn Ser Val Gly Lys Gly Arg Ser Pro Leu  
660 665 670

Ser Thr Leu Thr Val Tyr Tyr Ser Pro Glu Thr Ile Gly Arg Arg Val  
675 680 685

Ala Val Gly Leu Gly Ser Cys Leu Ala Ile Leu Ile Leu Ala Ile Cys  
690 695 700

Gly Leu Lys Leu Gln Arg Arg Trp Lys Arg Thr Gln Ser Gln Gln Gly  
705 710 715 720

Leu Gln Glu Asn Ser Ser Gly Gln Ser Phe Phe Val Arg Asn Lys Lys  
725 730 735

Val Arg Arg Ala Pro Leu Ser Glu Gly Pro His Ser Leu Gly Cys Tyr  
740 745 750

Asn Pro Met Met Glu Asp Gly Ile Ser Tyr Thr Thr Leu Arg Phe Pro  
755 760 765

Glu Met Asn Ile Pro Arg Thr Gly Asp Ala Glu Ser Ser Glu Met Gln  
770 775 780

Arg Pro Pro Pro Asp Cys Asp Asp Thr Val Thr Tyr Ser Ala Leu His  
785 790 795 800

Lys Arg Gln Val Gly Asp Tyr Glu Asn Val Ile Pro Asp Phe Pro Glu

805 810 815  
 Asp Glu Gly Ile His Tyr Ser Glu Leu Ile Gln Phe Gly Val Gly Glu  
 820 825 830  
 Arg Pro Gln Ala Gln Glu Asn Val Asp Tyr Val Ile Leu Lys

835 840 845

<210> 24

<211> 751

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Met His Leu Leu Gly Pro Trp Leu Leu Leu Leu Val Leu Glu Tyr Leu

1 5 10 15

Ala Phe Ser Asp Ser Ser Lys Trp Val Phe Glu His Pro Glu Thr Leu

20 25 30

Tyr Ala Trp Glu Gly Ala Cys Val Trp Ile Pro Cys Thr Tyr Arg Ala

35 40 45

Leu Asp Gly Asp Leu Glu Ser Phe Ile Leu Phe His Asn Pro Glu Tyr

50 55 60

Asn Lys Asn Thr Ser Lys Phe Asp Gly Thr Arg Leu Tyr Glu Ser Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Lys Asn Lys Asn Cys Thr Leu Ser Ile His Pro Val His Leu Asn

100 105 110

Asp Ser Gly Gln Leu Gly Leu Arg Met Glu Ser Lys Thr Glu Lys Trp

115 120 125

Met Glu Arg Ile His Leu Asn Val Ser Glu Arg Pro Phe Pro Pro His

130 135 140

Ile Gln Leu Pro Pro Glu Ile Gln Glu Ser Gln Glu Val Thr Leu Thr

145 150 155 160

Cys Leu Leu Asn Phe Ser Cys Tyr Gly Tyr Pro Ile Gln Leu Gln Trp

165	170	175
Leu Leu Glu Gly Val Pro Met Arg Gln Ala Ala Val Thr Ser Thr Ser		
180	185	190
Leu Thr Ile Lys Ser Val Phe Thr Arg Ser Glu Leu Lys Phe Ser Pro		
195	200	205
Gln Trp Ser His His Gly Lys Ile Val Thr Cys Gln Leu Gln Asp Ala		
210	215	220
Asp Gly Lys Phe Leu Ser Asn Asp Thr Val Gln Leu Asn Val Lys His		
225	230	235
		240
Thr Pro Lys Leu Glu Ile Lys Val Thr Pro Ser Asp Ala Ile Val Arg		
245	250	255
Glu Gly Asp Ser Val Thr Met Thr Cys Glu Val Ser Ser Ser Asn Pro		
260	265	270
Glu Tyr Thr Thr Val Ser Trp Leu Lys Asp Gly Thr Ser Leu Lys Lys		
275	280	285
Gln Asn Thr Phe Thr Leu Asn Leu Arg Glu Val Thr Lys Asp Gln Ser		
290	295	300
Gly Lys Tyr Cys Cys Gln Val Ser Asn Asp Val Gly Pro Gly Arg Ser		
305	310	315
		320
Glu Glu Val Phe Leu Gln Val Gln Tyr Ala Pro Glu Pro Ser Thr Val		
325	330	335
Gln Ile Leu His Ser Pro Ala Val Glu Gly Ser Gln Val Glu Phe Leu		
340	345	350
Cys Met Ser Leu Ala Asn Pro Leu Pro Thr Asn Tyr Thr Trp Tyr His		
355	360	365
Asn Gly Lys Glu Met Gln Gly Arg Thr Glu Glu Lys Val His Ile Pro		
370	375	380
Lys Ile Leu Pro Trp His Ala Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Glu Asn		
385	390	395
		400
Ile Leu Gly Thr Gly Gln Arg Gly Pro Gly Ala Glu Leu Asp Val Gln		
405	410	415

Tyr Pro Pro Lys Lys Val Thr Thr Val Ile Gln Asn Pro Met Pro Ile  
420 425 430

Arg Glu Gly Asp Thr Val Thr Leu Ser Cys Asn Tyr Asn Ser Ser Asn  
435 440 445

Pro Ser Val Thr Arg Tyr Glu Trp Lys Pro His Gly Ala Trp Glu Glu  
450 455 460

Pro Ser Leu Gly Val Leu Lys Ile Gln Asn Val Gly Trp Asp Asn Thr  
465 470 475 480

Thr Ile Ala Cys Ala Ala Cys Asn Ser Trp Cys Ser Trp Ala Ser Pro  
485 490 495

Val Ala Leu Asn Val Gln Tyr Ala Pro Arg Asp Val Arg Val Arg Lys  
500 505 510

Ile Lys Pro Leu Ser Glu Ile His Ser Gly Asn Ser Val Ser Leu Gln  
515 520 525

Cys Asp Phe Ser Ser Ser His Pro Lys Glu Val Gln Phe Phe Trp Glu  
530 535 540

Lys Asn Gly Arg Leu Leu Gly Lys Glu Ser Gln Leu Asn Phe Asp Ser  
545 550 555 560

Ile Ser Pro Glu Asp Ala Gly Ser Tyr Ser Cys Trp Val Asn Asn Ser  
565 570 575

Ile Gly Gln Thr Ala Ser Lys Ala Trp Thr Leu Glu Val Leu Tyr Ala  
580 585 590

Pro Arg Arg Leu Arg Val Ser Met Ser Pro Gly Asp Gln Val Met Glu  
595 600 605

Gly Lys Ser Ala Thr Leu Thr Cys Glu Ser Asp Ala Asn Pro Pro Val  
610 615 620

Ser His Tyr Thr Trp Phe Asp Trp Asn Asn Gln Ser Leu Pro Tyr His  
625 630 635 640

Ser Gln Lys Leu Arg Leu Glu Pro Val Lys Val Gln His Ser Gly Ala  
645 650 655

Tyr Trp Cys Gln Gly Thr Asn Ser Val Gly Lys Gly Arg Ser Pro Leu



660 665 670  
Ser Thr Leu Thr Val Tyr Tyr Ser Pro Glu Thr Ile Gly Arg Arg Val  
675 680 685

Ala Val Gly Leu Gly Ser Cys Leu Ala Ile Leu Ile Leu Ala Ile Cys  
690 695 700  
Gly Leu Lys Leu Gln Arg Arg Trp Lys Arg Thr Gln Ser Gln Gln Gly  
705 710 715 720  
Leu Gln Glu Asn Ser Ser Gly Gln Ser Phe Phe Val Arg Asn Lys Lys  
725 730 735  
Arg Cys Arg Val Leu Arg Asp Ala Glu Thr Ser Pro Gly Leu Arg  
740 745 750

<210> 25

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

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> 26

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

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 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 Lys  
 325 330

<210> 27

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

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 Lys

325 330

<210> 28

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

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

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 29

<211> 377

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

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 Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro  
 100 105 110  
 Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg  
 115 120 125  
 Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys  
 130 135 140  
 Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro  
  
 145 150 155 160  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 165 170 175  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 180 185 190  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr  
 195 200 205  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
  
 210 215 220  
 Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 225 230 235 240  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 245 250 255  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
 260 265 270  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
  
 275 280 285  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 290 295 300  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 305 310 315 320  
 Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 325 330 335  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile



340                                      345                                      350  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln  
 355                                      360                                      365  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 370                                      375  
 <210> 30  
 <211> 326  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 30  
 Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser  
 1                                      5                                      10                                      15  
 Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe  
 20                                      25                                      30  
 Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly  
 35                                      40                                      45  
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu  
 50                                      55                                      60  
 Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr  
 65                                      70                                      75                                      80  
 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg  
 85                                      90                                      95  
 Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu  
 100                                      105                                      110  
 Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 115                                      120                                      125  
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 130                                      135                                      140  
 Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 145                                      150                                      155                                      160  
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
 165                                      170                                      175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
195 200 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn  
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
260 265 270

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

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys  
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
305 310 315 320

Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 31

<211> 353

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr

1 5 10 15

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe  
20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val  
35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr

50                      55                      60  
 Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly  
  
 65                      70                      75                      80  
 Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp  
                     85                      90                      95  
 Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro  
                     100                      105                      110  
 Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser  
                     115                      120                      125  
 Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn  
  
 130                      135                      140  
 Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe  
 145                      150                      155                      160  
 Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Asp  
                     165                      170                      175  
 Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Ser Gly Cys  
                     180                      185                      190  
 Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr  
  
 195                      200                      205  
 Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn  
                     210                      215                      220  
 Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu  
 225                      230                      235                      240  
 Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe Ser  
                     245                      250                      255  
 Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro  
  
 260                      265                      270  
 Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln Gly  
                     275                      280                      285  
 Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp  
                     290                      295                      300

Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu  
 305 310 315 320  
 Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro

325 330 335  
 Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys  
 340 345 350  
 Tyr

<210> 32

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

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> 33

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

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 Leu 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> 34

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

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

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu  
 65                      70                      75                      80  
 Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser  
                     85                      90                      95  
 Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 35

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 35

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Met Glu

1 5 10 15

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Thr Val Val Cys Phe Val Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Asp Ile Ser Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Gln

35 40 45

Arg Asp Gly Val Leu Asp Ser Val Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser

50 55 60

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Ser Leu Thr Lys Val Glu Tyr Glu

65 70 75 80

Arg His Asn Leu Tyr Thr Cys Glu Val Val His Lys Thr Ser Ser Ser

85 90 95

Pro Val Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

100 105

<210> 36

<211> 105

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 36

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu

1 5 10 15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe

20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val

35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys

50                      55                      60  
Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
65                      70                      75                      80  
His Lys Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
85                      90                      95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
100                      105

<210> 37

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Cys or Ser.

<400> 37

Leu Xaa Thr Pro Ser Arg

1                      5

<210> 38

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is the formylglycine residue, FGly.

<400> 38

Leu Xaa Thr Pro Ser Arg

1                      5

<210> 39

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence



<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 39

Ile Tyr Asp Met Ser

1 5

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 40

Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 41

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 41

His Ser Gly Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Val Leu Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 42

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 43

Tyr Thr Ser Ile Leu His Ser

1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 44

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr

1 5

<210> 45

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be present or absent and, when present, may be any amino acid, with the proviso that when the sulfatase motif is at the

N-terminus of the target polypeptide, Xaa is present.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Cys or Ser.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa may be any amino acid.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa may be Pro or Ala.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa may be any amino acid.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa may be a basic amino acid.

<400> 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 46

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be present or absent and, when present, may be any amino acid, with the proviso that when the sulfatase motif is at the N-terminus of the target polypeptide, Xaa is present.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa may be any amino acid.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa may be any amino acid.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa may be a basic amino acid.

<400> 46

Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa

1 5

<210> 47

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 47

Leu Cys Thr Pro Ser Arg

1 5

<210> 48

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 48

Met Cys Thr Pro Ser Arg

1 5

<210> 49

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 49

Val Cys Thr Pro Ser Arg

1 5

<210> 50

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 50

Leu Cys Ser Pro Ser Arg

1 5

<210> 51

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 51

Leu Cys Ala Pro Ser Arg

1 5

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 52

Leu Cys Val Pro Ser Arg

1 5

<210> 53

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 53

Leu Cys Gly Pro Ser Arg

1 5

<210> 54

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 54

Ile Cys Thr Pro Ala Arg

1 5

<210> 55

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 55

Leu Cys Thr Pro Ser Lys

1 5  
 <210> 56  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 56

Met Cys Thr Pro Ser Lys

1 5  
 <210> 57  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 57

Val Cys Thr Pro Ser Lys

1 5  
 <210> 58  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 58

Leu Cys Ser Pro Ser Lys

1 5  
 <210> 59  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 59

Leu Cys Ala Pro Ser Lys

1 5  
 <210> 60

<211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 60  
 Leu Cys Val Pro Ser Lys  
 1 5  
 <210> 61  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 61  
 Leu Cys Gly Pro Ser Lys  
 1 5  
  
 <210> 62  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 62  
 Leu Cys Thr Pro Ser Ala  
 1 5  
 <210> 63  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 63  
 Ile Cys Thr Pro Ala Ala  
 1 5  
 <210> 64  
 <211> 6  
 <212> PRT

<213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 64  
 Met Cys Thr Pro Ser Ala  
 1 5  
 <210> 65  
 <211  
 > 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 65  
 Val Cys Thr Pro Ser Ala  
 1 5  
 <210> 66  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 66  
 Leu Cys Ser Pro Ser Ala  
 1 5  
 <210> 67  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 67  
 Leu Cys Ala Pro Ser Ala  
 1 5  
 <210> 68  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence



<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 68

Leu Cys Val Pro Ser Ala

1 5

<210> 69

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 69

Leu Cys Gly Pro Ser Ala

1 5

<210> 70

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be present or absent and, when present, may be any amino

acid, with the proviso that when the sulfatase motif is at the  
N-terminus of the target polypeptide, Xaa is present.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is the formylglycine residue, FGly.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa may be any amino acid

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa may be Pro or Ala.

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa may be any amino acid

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223>

> Xaa may be a basic amino acid.

<400> 70

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 71

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 71

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

1 5 10

<210> 72

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is the modified amino acid residue of formula (I), FGly'.

<400> 72

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Leu Xaa Thr Pro Ser Arg Gly Ser

1 5 10 15

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 73

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

1 5

<210> 74

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 74

Ala Ser Thr Lys Gly Pro

1 5

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 75

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

1 5

<210> 76

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 76

Pro Glu Pro Val

1

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 77

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly

1 5

<210> 78

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 78

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

1 5 10 15

Gln Ser Ser Gly Leu

20

<210> 79

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 79

Gln Ser Ser Gly Leu

1 5

<210> 80

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 80

Thr Gln Thr Tyr

1

<210> 81

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 81

His Lys Pro Ser Asn

1 5

<210> 82

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 82

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly

20

<210> 83

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 83

Phe Pro Pro Lys Pro

1 5

<210> 84

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 84

Ile Ser Arg Thr Pro

1 5

<210> 85

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 85

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

1 5

<210> 86

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 86

Ser His Glu Asp Pro Glu Val

1 5

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 87

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

1 5

<210> 88

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 88

Gln Tyr Asn Ser Thr

1 5

<210> 89

<211>

> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 89

Val Leu Thr Val Leu

1 5

<210> 90

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 90

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

1 5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 91

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

1 5

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 92

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

1 5

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 93

Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn

1 5 10

<210> 94

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 94

Tyr Pro Ser Asp Ile

1 5

<210> 95

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 95

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

1 5

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 96

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

1 5 10

<210> 97

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 97

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Pro Gly Lys

<210> 98

<211> 6

<212> PRT



<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 98

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

1 5

<210> 99

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 99

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

1 5 10

<210> 100

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 100

Phe Pro Glu Pro Val

1 5

<210> 101

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 101

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

1 5 10

<210> 102

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 102

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

1 5

<210>

103

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 103

Val Ala Gly Pro Ser

1 5

<210> 104

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 104

Val Leu Thr Val Val

1 5

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 105

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro

1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 106

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

1 5

<210> 107

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 107

Met Thr Lys Asn Gln

1 5

<210> 108

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 108

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser

1 5 10

<210> 109

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 109

Gly Asn Val Phe

1

<210> 110

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 110

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Gly Gly Thr

1 5 10

<210> 111

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 111

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Ser Ser Gly

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 112

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp

1 5 10

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 113

Cys Pro Arg Cys Pro Lys Pro

1 5

<210> 114

<211> 21

<212> PRT

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 114

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala Pro

1                      5                      10                      15

Glu Leu Leu Gly Gly

20

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 115

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

1                      5                      10

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 116

Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn

1                      5

<210> 117

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 117

His Glu Ala Leu His Asn Arg

1                      5

<210> 118

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 118

Ser Thr Lys Gly Pro

1                      5

<210> 119

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 119

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser

1                      5                      10

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 120

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val

1                      5

<210> 121

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 121

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser

1                      5

<210>

> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 122

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

1                      5                      10

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 123

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn

1 5 10

<210> 124

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 124

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Leu Gly Lys

<210> 125

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 125

Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu

1 5 10

<210> 126

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 126

Gln Pro Asp Gly Asn

1 5

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 127

Val Gln Gly Phe Phe Pro Gln Glu Pro Leu

1 5 10

<210> 128

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 128

Ser Gly Gln Gly Val Thr Ala Arg Asn Phe Pro

1 5 10

<210> 129

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 129

Ser Gly Asp Leu Tyr Thr Thr

1 5

<210> 130

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 130

Pro Ala Thr Gln

1

<210> 131



<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 131

His Arg Pro Ala

1

<210> 132

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 132

Leu Leu Gly Ser Glu

1 5

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 133

Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val

1 5

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 134

Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro

1 5 10

<210> 135

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400>

> 135

Gly Cys Tyr Ser

1

<210> 136

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 136

Cys Ala Glu Pro

1

<210> 137

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 137

Ser Gly Asn Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser

1                      5                      10                      15

Glu Glu Leu Ala Leu Asn Glu Leu

20

<210> 138

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 138

Ala Arg Gly Phe Ser

1                      5

<210> 139

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 139

Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro Arg Glu Lys Tyr

1 5 10

<210> 140

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 140

Ala Ala Glu Asp

1

<210> 141

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 141

His Glu Ala Leu

1

<210> 142

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 142

Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro Thr His Val Asn Val Ser Val Val

1 5 10 15

Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys Tyr

20 25

<210> 143

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 143

Asn Ser Gly Ala Leu Cys Thr Pro Ser Arg Gly

1 5 10

<210> 144

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 144

Cys Thr Pro Ser Arg

1 5

<210> 145

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 145

Asn Leu Cys Thr Pro Ser Arg Ala Pro

1 5

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 146

Lys Ala Lys Gly Leu Cys Thr Pro Ser Arg

1 5 10

<210> 147

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic polypeptide  
 <400> 147

Leu Cys Thr Pro Ser

1 5

<210> 148

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 148

Arg Thr Val Ala Ala Pro

1 5

<210> 149

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 149

Tyr Pro Arg Glu Ala

1 5

<210> 150

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 150

Pro Arg Glu Ala

1

<210> 151

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 151

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn

1 5

<210> 152

<211>

> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 152

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

1 5

<210> 153

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 153

His Gln Gly Leu Ser Ser

1 5

<210> 154

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 154

Arg Gly Glu Cys

1

<210> 155

<211>

6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 155

Gln Pro Lys Ala Ala Pro

1 5

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 156

Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val

1 5

<210> 157

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 157

Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly

1 5

<210>

> 158

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 158

Ala Pro Thr Glu Cys Ser

1 5

<210> 159

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

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

<210> 160

<211>

8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His

1 5

<210> 161

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 161

Gly Ala Leu Cys Thr Pro Ser Arg Gly Val His

1 5 10

<210> 162

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 162



Ser Leu Cys Thr Pro Ser Arg Gly Ser

1 5

<210> 163

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 163

Lys Val Asp Asn Ala Leu Leu Cys Thr Pro Ser Arg Gln Ser Gly Asn

1 5 10 15

Ser Gln