



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0119848
(43) 공개일자 2015년10월26일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 241/36 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01) C07K 17/06 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07D 241/36 (2013.01)
A61K 31/496 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-7019681</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2013년12월20일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2015년07월20일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2013/077306</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2014/100762
국제공개일자 2014년06월26일</p> <p>(30) 우선권주장
61/745,448 2012년12월21일 미국(US)
61/785,027 2013년03월14일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
바이오엘라이언스 씨.브이.
네덜란드 엔엘-1811썬알 알크마르
아우테흐라흐트202
어브게노믹스 인터내셔널 인코포레이티드
미국 델라웨어 19901 시티 오브 도버 카운티 오브
켄트 사우쓰 듀폰 하이웨이 3500</p> <p>(72) 발명자
린 통-화
미국 캘리포니아 94036 팔로 알토 주니퍼 레인 유
닛 지 4201
린 슈-야오
대만 114 타이페이 베이후 디스트릭트 리산 스트
리트 레인 105 넘버 1 7층
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
송봉식, 정삼영</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 72 항

(54) 발명의 명칭 **친수성 자기-희생 링커 및 그것의 포함체**

(57) 요약

본 발명은 친수성 자기-희생 링커를 가지는 화합물을 제공하는데, 그것은 적절한 조건 하에서 절단가능하고 화합물의 더 나은 용해도를 제공하기 위하여 친수성 기를 통합한다. 본 발명의 화합물은 약물 부분, 선택된 세포 집단을 표적화할 수 있는 표적화 부분 및 아실 유닛, 약물 부분과 표적화 부분 사이의 거리를 제공하기 위한 임의의 스페이서 유닛, 적절한 조건 하에서 절단될 수 있는 펩티드 링커, 친수성 자기-희생 링커 및 임의의 두 번째 자기-희생 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커를 함유하는 링커를 포함한다.

(52) CPC특허분류

A61K 47/48215 (2013.01)

A61K 47/48384 (2013.01)

A61K 47/48615 (2013.01)

A61K 47/48715 (2013.01)

C07K 17/06 (2013.01)

(72) 발명자

호시에 유-차이

대만 221 뉴 타이페이 시티 자이즈히 디스트릭트
동시 스트리트 넘버 54 12층

후양 치우-첸

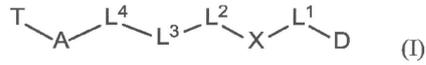
대만 114 타이페이 네이후 디스트릭트 네이후 로드
섹션 2 레인 339 넘버 2 4층

명세서

청구범위

청구항 1

다음 식 (I)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:



상기 식에서,

D는 약물 부분이고;

T는 표적화 부분이며;

X는 친수성 자기-희생 링커이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

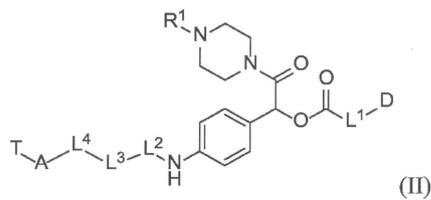
L³는 펩티드 링커이며;

L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이다.

청구항 2

다음 식 (II)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:



상기 식에서,

D는 약물 부분이고;

T는 표적화 부분이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

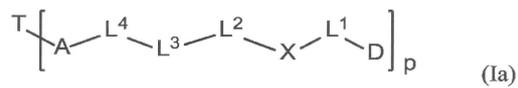
L³는 펩티드 링커이며;

L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이다.

청구항 3

다음 식 (Ia)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:



상기 식에서,

p는 1 내지 20이고;

D는 약물 부분이며;

T는 표적화 부분이고;

X는 친수성 자기-희생 링커이며;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이고;

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이며;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이고;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이며;

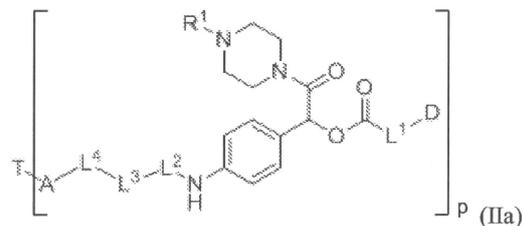
L³는 펩티드 링커이고;

L⁴는 결합 또는 스페이서이며;

A는 아실 유닛이다.

청구항 4

다음 식 (IIa)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:



상기 식에서,

p는 1 내지 20이며;

D는 약물 부분이고;

T는 표적화 부분이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L^2 는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L^1 이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L^2 는 결합이며;

L^2 가 두 번째 자기-희생 링커이면 L^1 은 결합이고;

L^3 는 펩티드 링커이며;

L^4 는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이다.

청구항 5

제 3항 또는 제 4항에 있어서, p는 1 내지 4인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 6

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, L^1 은 결합인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 7

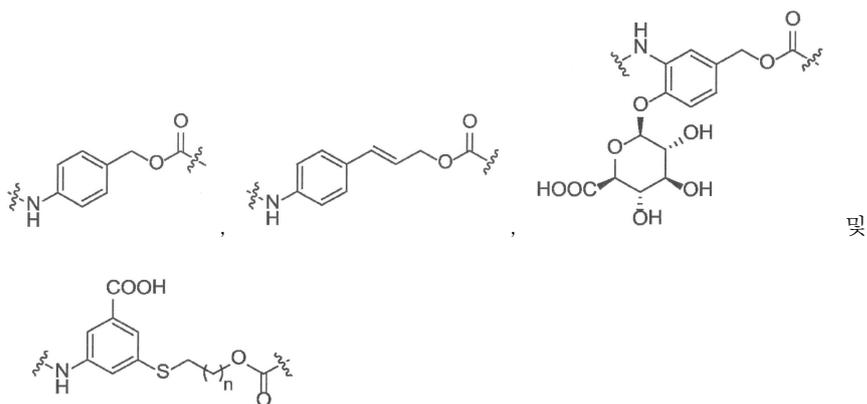
제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, L^1 은 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 8

제 7항에 있어서, L^1 은 아미노벤질옥시카보닐 링커인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 9

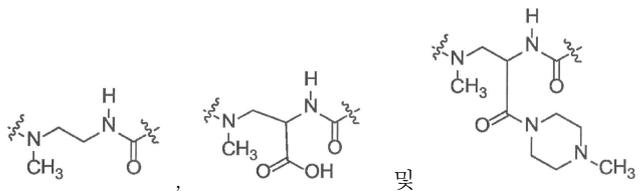
제 7항에 있어서, L^1 은 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물:



(식에서, n은 1 또는 2이다).

청구항 10

제 7항에 있어서, L^1 은 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물:



청구항 11

제 1항 내지 제 10항 중 어느 한 항에 있어서, L²는 결합인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 12

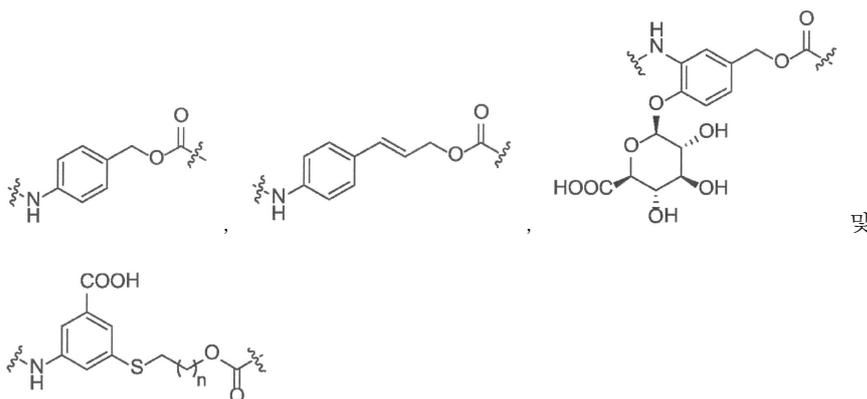
제 6항에 있어서, L²는 두 번째 자기-희생 링커인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 13

제 12항에 있어서, L²는 아미노벤질옥시카보닐 링커인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 14

제 12항에 있어서, L²는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물:



(식에서, n은 1 또는 2이다).

청구항 15

제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 있어서, L³는 1 내지 10 아미노산 잔기의 펩티드 링커인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 16

제 15항에 있어서, L³는 2 내지 4 아미노산 잔기의 펩티드 링커인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 17

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, L³는 적어도 하나의 라이신 또는 아르기닌 잔기를 포함하는 펩티드 링커인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 18

제 1항 내지 제 16항 중 어느 한 항에 있어서, L³는 라이신, D-라이신, 시트룰린, 아르기닌, 프롤린, 히스티딘, 오르니틴 및 글루타민으로부터 선택되는 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 19

제 1항 내지 제 16항 중 어느 한 항에 있어서, L^3 는 발린, 아이소로이신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 로이신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택된 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 20

제 15항에 있어서, L^3 는 발린-시트룰린, 프롤린-라이신, 메티오닌-D-라이신, 아스파라긴-D-라이신, 아이소로이신-프롤린, 페닐알라닌-라이신 및 발린-라이신으로부터 선택된 다이펩티드 유닛인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 21

제 20항에 있어서, L^3 는 발린-시트룰린인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 22

제 1항 내지 제 21항 중 어느 한 항에 있어서, L^4 는 결합인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 23

제 1항 내지 제 21항 중 어느 한 항에 있어서, L^4 는 스페이서인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 24

제 23항에 있어서, 스페이서는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 또는 폴리아민인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 25

제 23항에 있어서, L^4 는 $L^{4a}-C(O)$, $L^{4a}-C(O)-NH$, $L^{4a}-S(O)_2$ 또는 $L^{4a}-S(O)_2-NH$ 이고, 이때 각각의 L^{4a} 는 독립적으로 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 또는 폴리아민인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 26

제 23항에 있어서, L^4 는 $L^{4a}-C(O)$ 이고, 이때 L^{4a} 는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌 또는 폴리아민인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 27

제 23항에 있어서, L^4 는 $L^{4a}-C(O)$ 이고, 이때 L^{4a} 는 폴리알킬렌 글리콜인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 28

제 23항에 있어서, L^4 는 $L^{4a}-C(O)$ 이고, 이때 L^{4a} 는 폴리에틸렌 글리콜인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 29

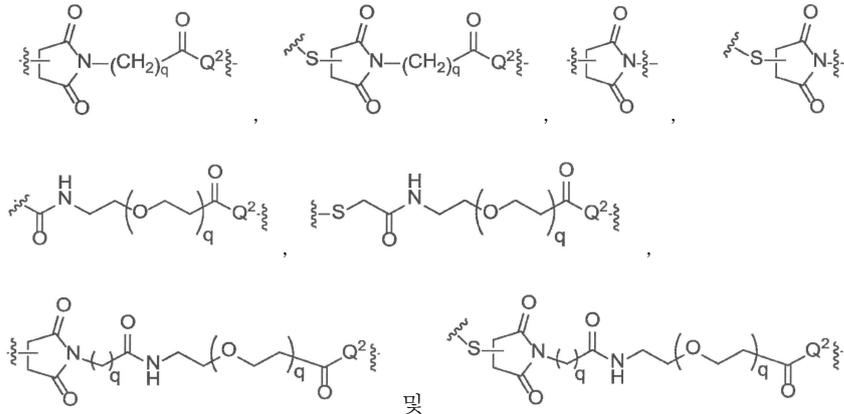
제 23항에 있어서, 스페이서는 식 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_m-CH_2-C(O)-$ 의 것이고, 이때 m 은 0 내지 30의 정수인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 30

제 23항에 있어서, L^4 는 $L^{4a}-C(O)$ 이고, 이때 L^{4a} 는 알킬렌인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 31

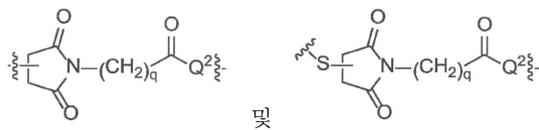
제 1 항 내지 제 30항 중 어느 한 항에 있어서, A는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물:



상기 식에서, 각각의 Q^2 는 NH 또는 O이고, 각각의 q는 독립적으로 1 내지 10의 정수이다.

청구항 32

제 31항에 있어서, A는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물:



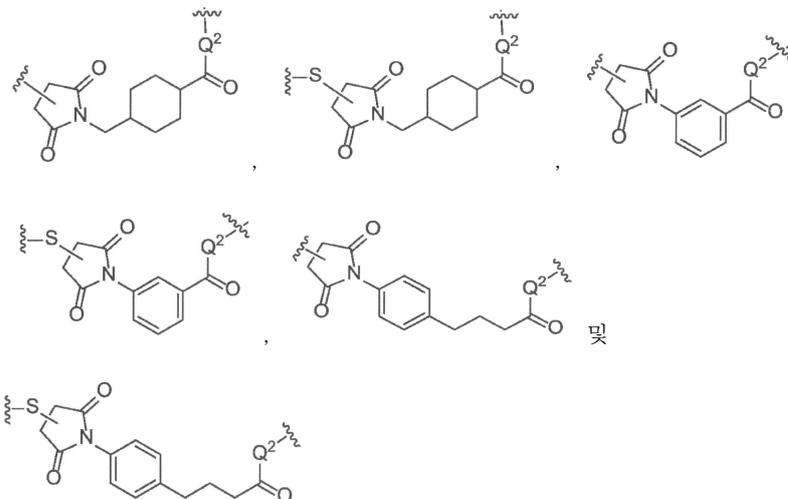
상기 식에서, 각각의 Q^2 는 독립적으로 NH 또는 O이고, 각각의 q는 독립적으로 1 내지 10의 정수이다.

청구항 33

제 32항에 있어서, q는 2, 3, 4 또는 5인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 34

제 1항 내지 제 30항 중 어느 한 항에 있어서, A는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물:



상기 식에서, 각각의 Q^2 는 독립적으로 NH 또는 O이다.

청구항 35

제 1항 내지 제 34항 중 어느 한 항에 있어서, T는 항체 표적화 분자인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 36

제 35항에 있어서, T는 h5F1Ca.1 또는 c5D7인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 37

제 35항 또는 제 36항에 있어서, 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 38

제 35항 내지 제 37항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 39

제 35항 내지 제 37항 중 어느 한 항에 있어서, 항체의 Fc 영역의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 40

제 39항에 있어서, 항체의 Fc 영역의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 EU 넘버링을 사용하여 위치 157, 169 및/또는 442에 있는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 41

제 35항 내지 제 40항 중 어느 한 항에 있어서, D는 첨가된 시스테인 잔기에 의해 T에 연결되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 42

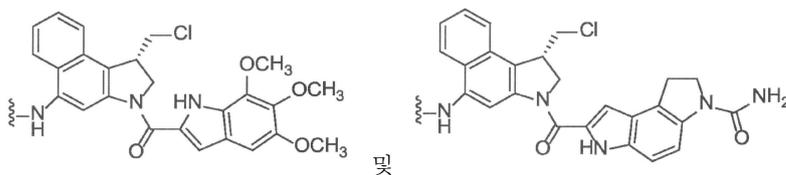
제 1항 내지 제 41항 중 어느 한 항에 있어서, D는 아미노-함유 약물 부분이고, 이때 그 약물은 아미노기를 통해 L¹ 또는 X에 연결되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 43

제 42항에 있어서, D는 듀오카르마이신, 돌라스타틴, 튜블라이신, 독소루비신(DOX), 파클리탁셀 또는 미토마이신 C(MMC) 또는 그것들의 아미노 유도체인 것을 특징으로 하는 화합물.

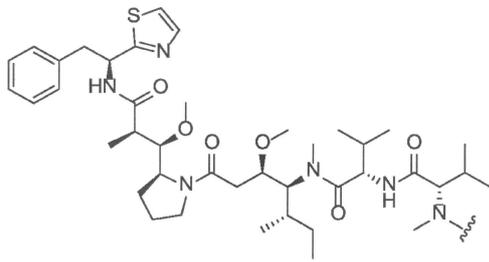
청구항 44

제 42항에 있어서, D는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된 듀오카르마이신의 아미노 유도체인 것을 특징으로 하는 화합물:



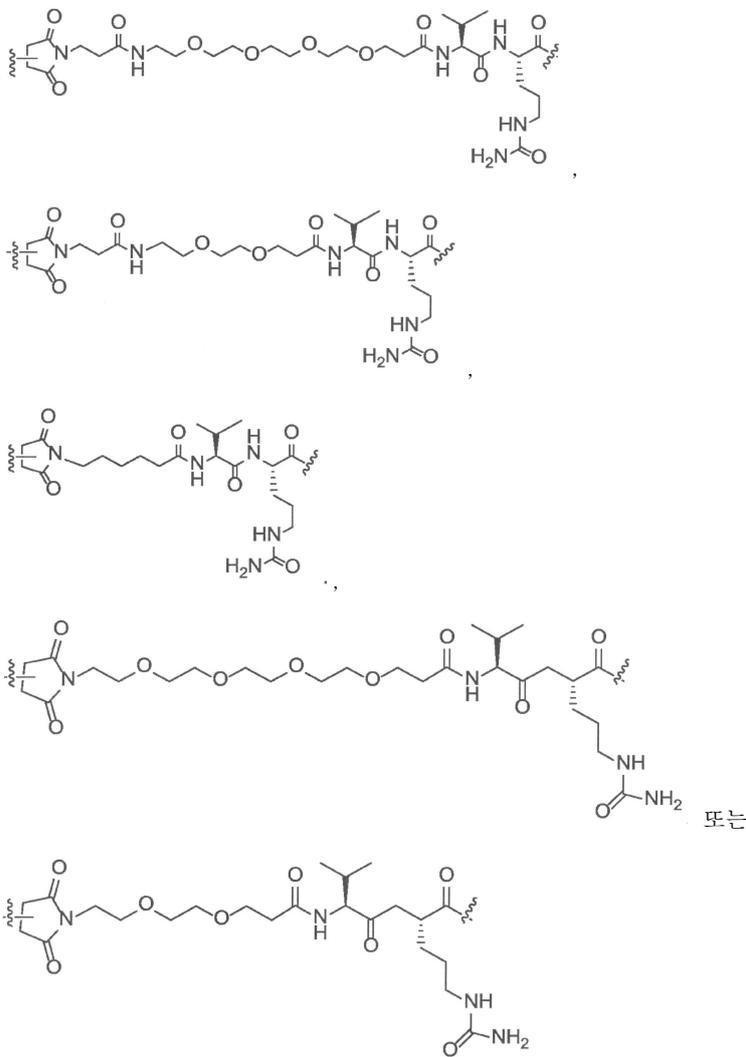
청구항 45

제 42항에 있어서, D는 돌라스타틴인 것을 특징으로 하는 화합물:



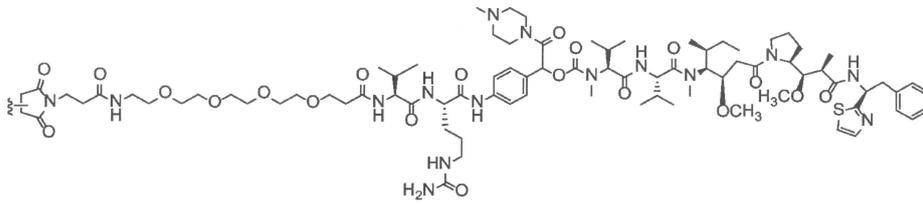
청구항 46

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, -A-L⁴-L³-L²-는 다음인 것을 특징으로 하는 화합물:



청구항 47

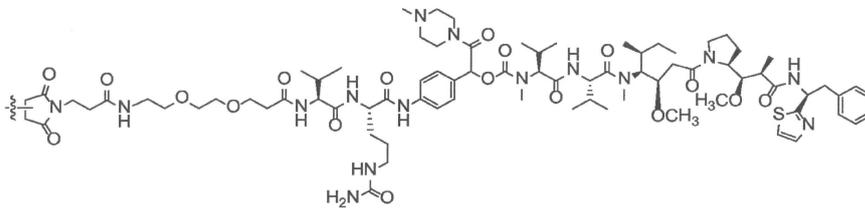
제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, -A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D는



인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 48

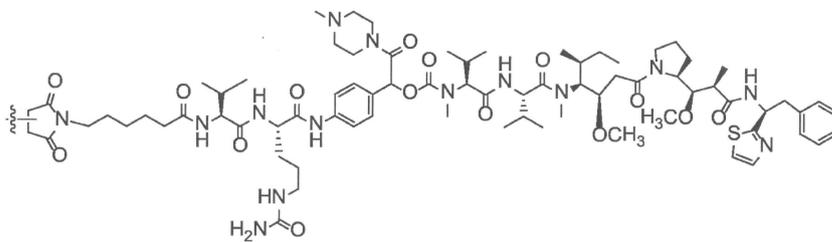
제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, -A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D는



인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 49

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, -A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D는



인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 50

제 1항 내지 제 49항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체; 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 51

세포를 사멸하기에 충분한 양의, 제 1항 내지 제 49항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 세포에 투여하는 것을 포함하는, 세포 사멸 방법.

청구항 52

제 51항에 있어서, 세포는 암세포인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 53

제 52항에 있어서, 암세포는 위암 세포, 췌장암 세포, 대장암 세포, 폐암 세포 또는 난소암 세포인 것을 특징으로

로 하는 방법.

청구항 54

제 1항 내지 제 49항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, 치료의 필요가 있는 개체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 55

제 54항에 있어서, 암은 위암, 췌장암, 대장암, 폐암 또는 난소암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 56

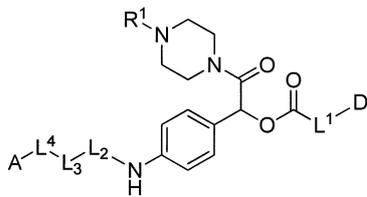
제 1항 내지 제 49항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 포함하는 키트.

청구항 57

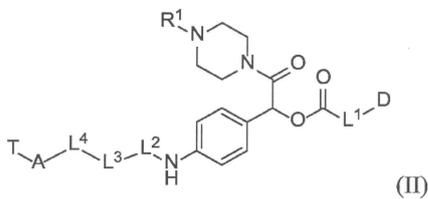
제 56항에 있어서, 암 치료에 사용하기 위한 지시사항을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 58

항체를 화합물 Z:



(화합물 Z)와 반응시키는 것을 포함하는, 다음 식 (II)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법:



상기 식에서,

D는 약물 부분이고;

T는 표적화 부분이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

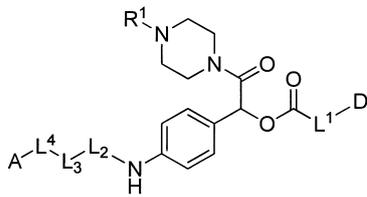
L³는 펩티드 링커이며;

L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

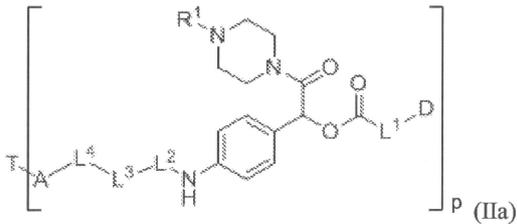
A는 아실 유닛이다.

청구항 59

항체를 화합물 Z:



(화합물 Z)와 반응시키는 것을 포함하는, 다음 식 (IIa)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법:



상기 식에서,

p는 1 내지 20이며;

D는 약물 부분이고;

T는 표적화 부분이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

L³는 펩티드 링커이며;

L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이다.

청구항 60

제 59항에 있어서, 항체는 하나 또는 그 이상의 설피하이드릴기를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

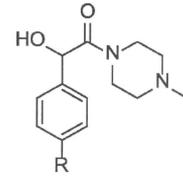
청구항 61

제 58항 내지 제 60항 중 어느 한 항을 따르는 방법에 의해 제조되고, 그 중 항체는 하나 또는 그 이상의 설피하이드릴기를 포함하는 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체.

청구항 62

제 61항의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물.

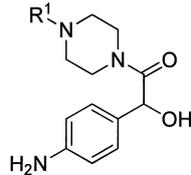
청구항 63

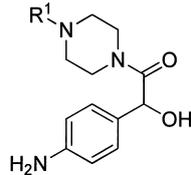


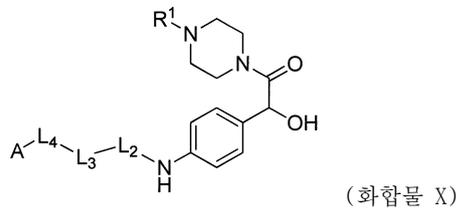
(XII) (식에서,

다음 식 (XII)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:
R은 NO₂ 또는 NH₂이다).

청구항 64



화합물 W: A-L⁴-L³-L²와 화합물 I:  를 반응시키는 것을 포함하는, 다음 화합물 X 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법:



상기 식에서,

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

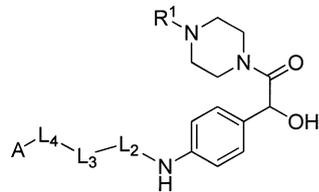
L³는 펩티드 링커이며;

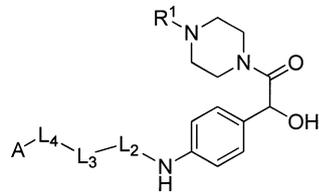
L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

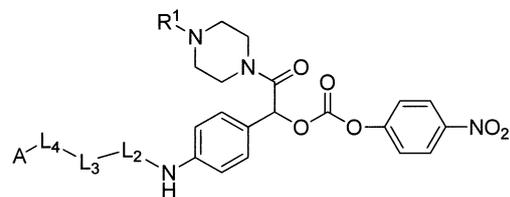
A는 아실 유닛이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

청구항 65



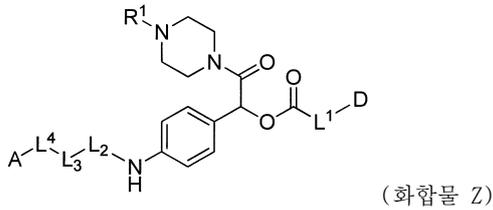
화합물 X:  와 p-니트로페닐클로로포메이트를 반응시켜서 화합물 Y:



를 형성시키고,

화합물 Y를 L¹-D를 포함하는 화합물과 반응시키는 것을 포함하는,

화합물 Z 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조방법:



상기 식에서,

D는 약물 부분이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

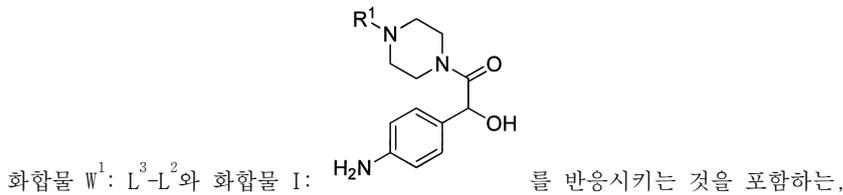
L³는 펩티드 링커이며;

L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

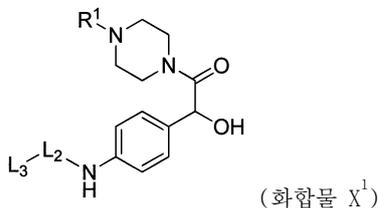
A는 아실 유닛이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

청구항 66



화합물 X¹ 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조방법:



상기 식에서,

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

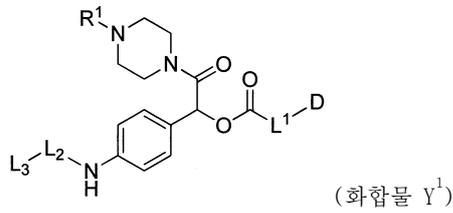
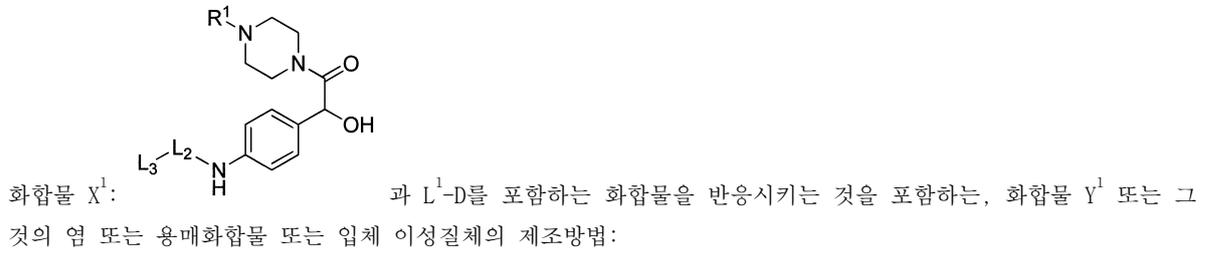
이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

L³는 펩티드 링커이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

청구항 67



상기 식에서,

D는 약물 부분이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

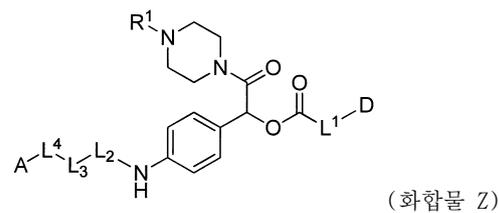
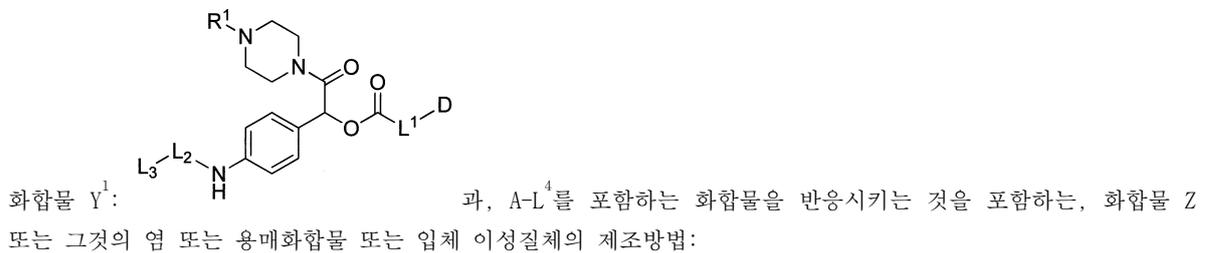
이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

L³는 펩티드 링커이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

청구항 68



상기 식에서,

D는 약물 부분이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

L³는 펩티드 링커이며;

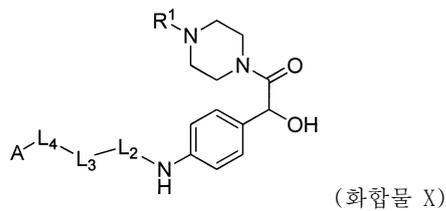
L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

청구항 69

다음 식의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:



상기 식에서,

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

L³는 펩티드 링커이며;

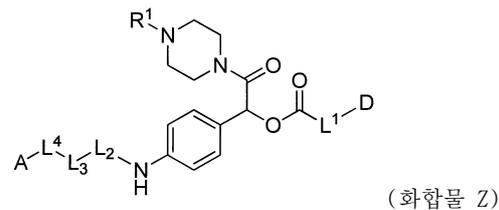
L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

청구항 70

다음 식의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:



상기 식에서,

D는 약물 부분이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

L³는 펩티드 링커이며;

L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

A는 아실 유닛이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

청구항 71

다음 식의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:



상기 식에서,

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

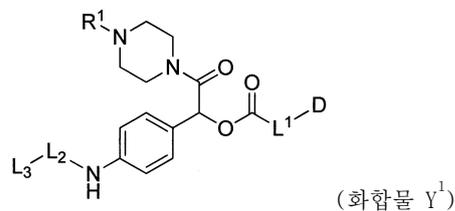
L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

L³는 펩티드 링커이며;

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

청구항 72

다음 식의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:



상기 식에서,

D는 약물 부분이고;

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

L^2 는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

이때 L^1 이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L^2 는 결합이며;

L^2 가 두 번째 자기-희생 링커이면 L^1 은 결합이고;

L^3 는 펩티드 링커이며;

R^1 은 수소, 비치환 또는 치환된 C_{1-3} 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원과의 교차-참조

[0002]

본 출원은 2012년 12월 21일에 출원된 미국 가특허 출원 번호 61/745,448 및 2013년 3월 14일에 출원된 미국 가특허 출원 번호 61/785,027의 우선권을 청구하며, 상기 출원들의 내용은 그것의 전체 내용이 참조로 포함된다.

[0003]

기술분야

[0004]

본 발명은 약학 분야에 있고, 세포 집단에 약물을 전달하기 위한 약물 포함체를 제공하며, 세포 집단에서 선구 약물은 대사되고 활성 약물을 제공하기 위해 내인성 효소들에 의해 활성화된다.

배경 기술

[0005]

항체-약물 포함체(ADC)는 단클론성 항체(mAb)의 특이성을 세포독성 분자들의 잠재력과 조합시키는 치료제 부류이다. ADC는 두 성분의 특성들의 장점을 가지며 전신적인 노출과 관련된 독성을 최소화하는 동시에 표적 병변으로의 세포독성제의 전달을 최대화시키고, 그로써 치료 효율을 증가시킴으로써 세포독성 분자들의 치료 지수를 상당히 확대시킨다. 세포독성제인 MMAE와 포함된 항-CD30 항체인 브렌톡시맵 베도틴(SGN-35)은 이미 CD30-포지티브 재발성 림프종을 치료하는 것으로 승인받았다.

[0006]

표적 항원 선택, 종양 세포에 의한 ADC의 내재화 및 세포독성 약물의 잠재력은 ADC 개발에 대한 매개변수이다 (Carter 2008, Teicher 2009). 또한, ADC를 형성하기 위하여 이들 빌딩 블록에 공유적으로 결합시키기 위한 화학적 링커의 디자인 또한 ADC의 개발에 한 몫을 한다(Ducry 2010).

[0007]

예를 들어 링커는 건강한 조직에 대한 손상을 제한하기 위해 혈류 내에서 안정해야 한다. ADC의 분해 또는 붕괴는 표적 부위들에 세포독성 약물이 전달되기 전에 그것을 방출시킬 수 있다. 그러나 일단 ADC가 표적 부위들에 도달하게 되면, ADC는 세포독성 약물을 그것의 활성 형태로 효율적으로 방출해야 한다. 표적 세포에서 원형질 내 안정성과 효율적인 약물 방출 사이의 균형은 아직 밝혀지지 않았지만, 링커 디자인에 좌우될 수 있다.

[0008]

적어도 3가지 유형의 링커가 ADC 디자인에 적용되는데, 즉 화학적-가변성 링커, 효소-가변성 링커 및 비-절단성 링커이다(Ducry 2010). 화학적 가변성 링커, 예컨대 Mylotarg에 대한 히드라존 링커 및 DM1/DM4에 대한 이황화물-함유 4-메르캅토펜타노에이트 링커에 대해, 링커의 선택적 절단 및 ADC에 대한 하중 방출은 원형질과 일부 세포질 구획 사이의 링커의 상이한 특성들을 토대로 한다. 링커는 혈액의 중성 pH 환경에서는 비교적 안정하지만 세포 내부의 더 낮은 pH 환경에 ADC가 들어간 후에는 절단될 수 있다. 생체 내 실험으로 화학적-가변성 링커들은 자주 제한된 원형질 안정성을 경험하는 것으로 증명되었다.

[0009]

효소-가변성 링커는 약물 방출의 제어를 이루기 위해 대체 접근법 - 세포의 내부 및 외부에서의 프로테아제의 상이한 활성 - 을 취한다. 프로테아제는 정상적으로는 바람직하지 못한 pH 조건과 혈청 프로테아제 억제제의 존재로 인해 세포 외부에서는 작용하지 않는다. 약물은 항체에 펩티드 결합을 통해 포함될 수 있다. 약물은 세포 내부에 존재하는 리소솜성 프로테아제의 작용에 의해, 그리고 특정 유형의 종양에서 상승된 수준에서 항체로부터 특이적으로 절단될 수 있다(Koblinsk et al). 화학적-가변성 링커를 가지는 ADC와 비교하면, 효소-가변성 링커는 약물 방출의 더 나은 제어를 이룰 수 있다. 그러나, 일부 효소-가변성 링커의 증가된 관련 소수성은 ADC의 응집, 특히 강력하게 소수성인 약물과의 응집을 유도할 수 있다.

[0010]

세 번째 부류의 링커는 비-절단성 링커이다. 약물의 방출은 ADC의 내재화 및 이어서 리소솜에서 항체 성분의 분

해를 통해서 일어나고, 그 결과 여전히 링커에 부착된 약물이 방출되는 것으로 여겨진다. 이들 비-절단성 링커는 혈청에서는 안정하지만, 효소-가변성 링커에 비교하면, 방출된 약물이 충전되고 이웃 세포 안으로 확산될 수 없다는 사실로 인해 방관자 효과가 유발될 수 없다. 또한, ADC의 내재화가 약물 방출에 대한 요인이기 때문에, 효율은 항원-(및 그로써 항체-) 의존적이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

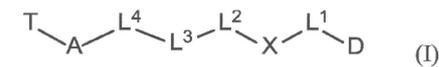
[0011] 링커 기술은 ADC 잠재력, 특이성 및 안전성에 영향을 미친다. 증가된 용해도뿐 아니라 혈청 안정성을 제공할 수 있어서 소수성 약물의 효율적인 포함 및 세포내 전달을 허용하는 ADC에 대한 링커에 대한 요구가 있다.

과제의 해결 수단

[0012] 발명의 요약

[0013] 본 발명의 화합물들은 약물 부분, 선택된 세포 집단을 표적화할 수 있는 표적화 부분, 및 아실 유닛, 약물 부분과 표적화 부분 사이의 거리를 제공하기 위한 임의의 스페이서 유닛, 적절한 조건하에서 절단될 수 있는 펩티드 링커, 친수성 자기-희생 링커(self-immolative linker) 및 임의의 두 번째 자기-희생 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커를 함유하는 링커를 포함한다.

[0014] 본 발명은 다음 식 (I)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체이성질체를 제공한다:



[0015]

[0016] 상기 식에서,

[0017] D는 약물 부분이고;

[0018] T는 표적화 부분이며;

[0019] X는 친수성 자기-희생 링커이고;

[0020] L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

[0021] L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0022] 이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

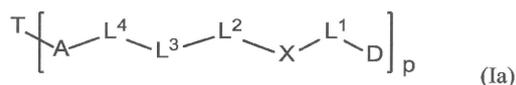
[0023] L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

[0024] L³는 펩티드 링커이며;

[0025] L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

[0026] A는 아실 유닛이다.

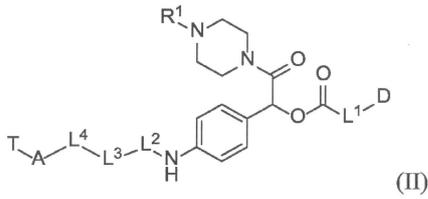
[0027] 어떤 구체예에서, 다음 식 (Ia)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체가 제공된다:



[0028]

[0029] 상기 식에서, D, T, X, L¹, L², L³, L⁴ 및 A는 식 (I)에 대해 정의된 것과 같고, p는 1 내지 20이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0030] 본 발명은 또한 다음 식 (II)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



[0031]

상기 식에서,

[0032]

D는 약물 부분이고;

[0033]

T는 표적화 부분이며;

[0034]

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0035]

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

[0036]

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0037]

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

[0038]

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

[0039]

L³는 펩티드 링커이며;

[0040]

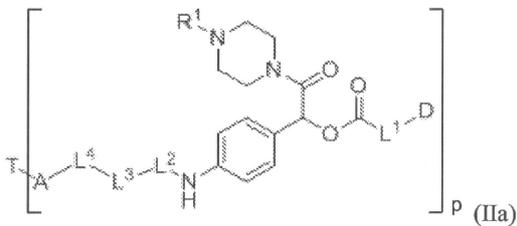
L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

[0041]

A는 아실 유닛이다.

[0042]

[0043] 어떤 구체예에서, 다음 식 (IIa)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체가 제공된다:

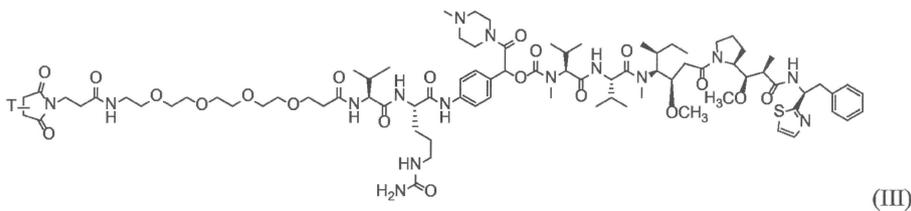


[0044]

상기 식에서, D, T, L¹, L², L³, L⁴ 및 A는 식 (II)에 대해 정의된 것과 같고, p는 1 내지 20이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0045]

[0046] 본 발명은 또한 다음 식 (III)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:

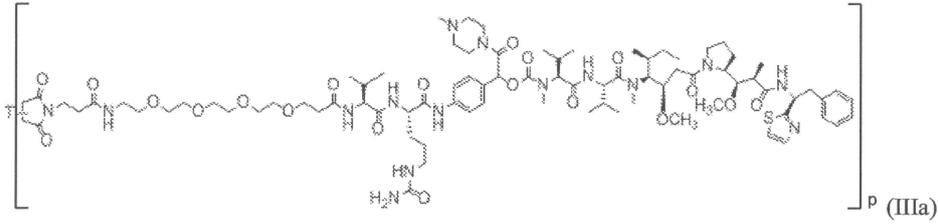


[0047]

상기 식에서, T는 표적화 부분이다.

[0048]

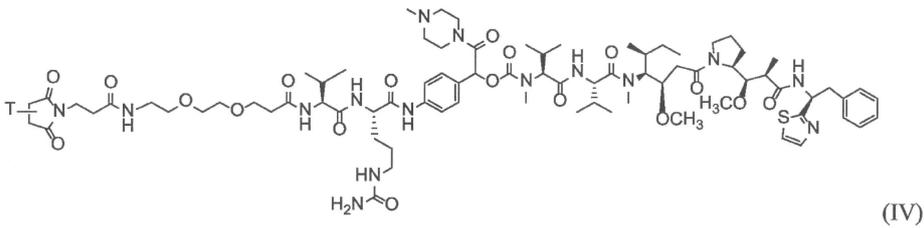
[0049] 어떤 구체예에서, 다음 식 (IIIa)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체가 제공된다:



[0050]

[0051] 상기 식에서, T는 표적화 부분이고 p는 1 내지 20이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

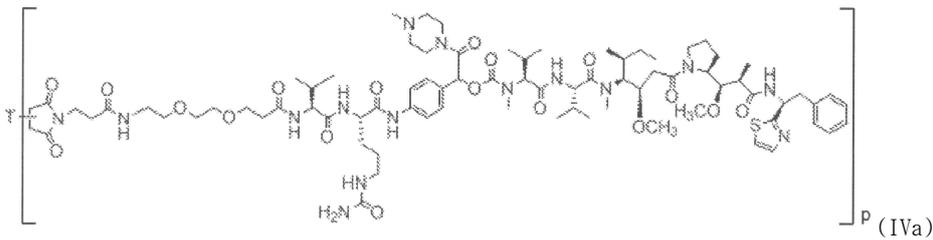
[0052] 본 발명은 또한 다음 식 (IV)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



[0053]

[0054] 상기 식에서, T는 표적화 부분이다.

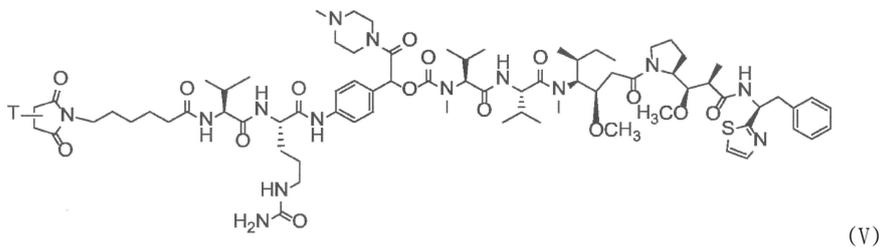
[0055] 어떤 구체예에서, 다음 식 (IVa) 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체가 제공된다:



[0056]

[0057] 상기 식에서, T는 표적화 부분이고 p는 1 내지 20이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

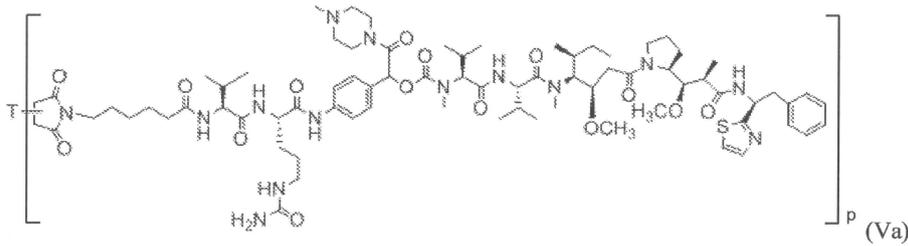
[0058] 본 발명은 또한 다음 식 (V)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



[0059]

[0060] 상기 식에서, T는 표적화 부분이다.

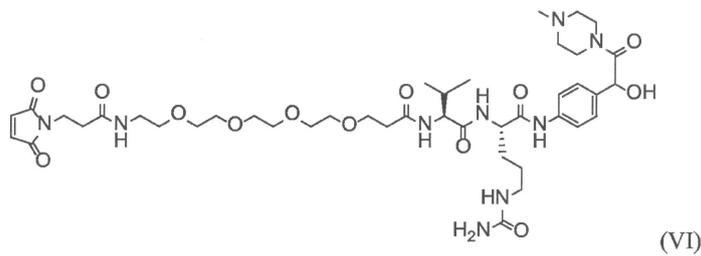
[0061] 어떤 구체예에서, 다음 식 (Va)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체가 제공된다:



[0062]

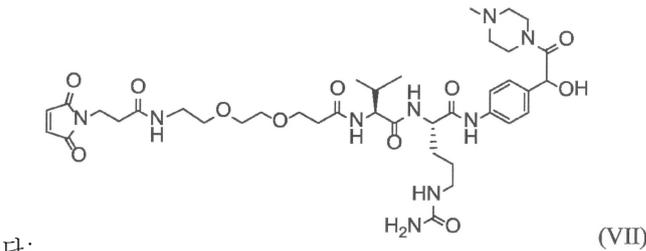
[0063] 상기 식에서, T는 표적화 부분이고 p는 1 내지 20이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0064] 본 발명은 다음 식 (VI)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물을 제공한다:



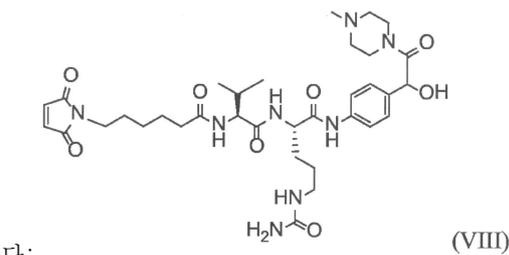
[0065]

[0066] 본 발명은 다음 식 (VII)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물을 제공한



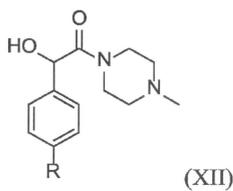
다:

[0067] 본 발명은 다음 식 (VIII)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물을 제공한



다:

[0068] 본 발명은 다음 식 (XII)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



[0069]

[0070] 상기 식에서, R은 NO₂ 또는 NH₂이다.

[0071] 특정 구체예에서, 화합물 (I) 내지 (XII)는 본원의 상세한 설명에서 기술되거나 예시되는 종들로부터 선택된 화

합물이다.

- [0072] 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물의 특정 구체예들에서, T는 항체 표적화 분자이다. 어떤 구체예에서, T는 항체 h5F1Ca.1 또는 c5D7이다. 추가의 구체예에서, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다(예컨대 원래의 항체에는 존재하지 않는 위치에서 시스테인 잔기를 포함하도록 공학처리된다). 어떤 구체예에서, 항체의 Fc 영역의 하나 또는 그 이상의 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다. 어떤 구체예에서, 항체의 Fc 영역의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 EU 넘버링을 사용하여 위치 157, 169 및/또는 442에 있다. 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물의 어떤 구체예들에서, D는 T에 첨가된(예컨대 공학처리된) 시스테인 잔기에 의해 연결된다.
- [0073] 추가의 측면으로, 본 발명은 적어도 하나의 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 구체예들에 따르는 약학 조성물은 추가로 약학적으로 허용되는 부형제를 포함할 수 있다. 본 발명은 또한 의약으로서 사용하기 위한 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.
- [0074] 다른 측면으로, 본 발명은 세포를 사멸하기에 충분한 양의 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물을 세포에 투여하는 것을 포함하는, 세포를 사멸하는 방법을 제공한다.
- [0075] 또 다른 측면으로, 본 발명은 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료할 필요가 있는 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0076] 발명의 추가의 구체예들, 특징들 및 장점들은 다음의 상세한 설명으로부터 및 발명의 실시를 통해 드러날 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0077] 도 1은 본 발명의 구체예들의 특정 ADC의 역상 HPLC 특성확인을 도시한다. 도 1(A)는 h5F1Ca.1/Tap-18H에 대한 크로마토그램을 도시한다. 도 1(B)는 h5F1Ca.1/MMAE에 대한 크로마토그램을 도시한다.
- 도 2는 위암 SNU-16에 대항하는 h5F1Ca.1/Tap18H에 의한 생체 내 항-종양 활성을 도시한다.
- 도 3은 위암 SNU-16에 대항하는 h5F1Ca.1-포함된 ADC의 생체 내 항-종양 활성을 도시한다.
- 도 4는 대장암 DLD-1에 대항하는 c5D7-포함된 ADC의 생체 내 항-종양 활성을 도시한다.
- 도 5는 Tap-18H의 NMR 스펙트럼을 도시한다.
- 도 6은 Tap-18Hr1의 NMR 스펙트럼을 도시한다.
- 도 7은 Tap-18Hr2의 NMR 스펙트럼을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0078] 정의
- [0079] 다음의 용어들은 다르게 표시되지 않는 한 다음의 의미들을 가진다. 정의되지 않은 임의의 용어들은 그것의 해당 기술분야에서 인지도된 의미를 가진다.
- [0080] "알킬"은 1 내지 10개의 탄소 원자, 바람직하게는 1 내지 6개의 탄소 원자를 가지는 일가의 포화된 지방족 하이드로카빌기를 말한다. 이 용어는 예를 들면, 선형 및 분지형 하이드로카빌기, 예컨대 메틸(CH₃-), 에틸(CH₃CH₂-), n-프로필(CH₃CH₂CH₂-), 아이소프로필((CH₃)₂CH-), n-부틸(CH₃CH₂CH₂CH₂-), 아이소부틸((CH₃)₂CHCH₂-), 이차부틸((CH₃)(CH₃CH₂)CH-), 삼차-부틸((CH₃)₃C-), n-펜틸(CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂-), 네오펜틸((CH₃)₃CCH₂-) 및 n-헥실(CH₃(CH₂)₅-)을 포함한다.
- [0081] "알킬렌"은 직쇄형 또는 분지형 중 어느 하나의, 바람직하게는 1 내지 10, 보다 바람직하게는 1 내지 3개의 탄소 원자를 가지는 이가의 지방족 하이드로카빌렌기를 말한다. 이 용어는 예를 들면, 메틸렌(-CH₂-), 에틸렌(-CH₂CH₂-), n-프로필렌(-CH₂CH₂CH₂-), 아이소-프로필렌(-CH₂CH(CH₃)-), (-C(CH₃)₂CH₂CH₂-), (-C(CH₃)₂CH₂C(O)-), (-C(CH₃)₂CH₂C(O)NH-), (-CH(CH₃)CH₂-) 등을 포함한다.

- [0082] "알케닐"은 2 내지 10개의 탄소 원자, 바람직하게는 2 내지 4개의 탄소 원자 및 적어도 하나, 바람직하게는 1 내지 2개의 이중 결합 불포화 부위를 가지는 직쇄 또는 분지된 하이드로카빌기를 말한다. 이 용어는 예를 들면 바이-비닐, 알릴 및 부트-3-엔-1-일을 포함한다. 이 용어에는 시스 및 트랜스 이성질체 또는 이들 이성질체의 혼합물이 포함된다.
- [0083] "알케닐렌"은 2 내지 10개의 탄소 원자, 바람직하게는 2 내지 4개의 탄소 원자 및 적어도 하나, 바람직하게는 1 내지 2개의 이중 결합 불포화 부위를 가지는 직쇄 또는 분지된 하이드로카빌렌기를 말한다. 이 용어는 예를 들면 바이-비닐, 알릴 및 부트-3-엔-1-일을 포함한다. 이 용어에는 시스 및 트랜스 이성질체 또는 이들 이성질체의 혼합물이 포함된다.
- [0084] "알키닐"은 2 내지 6개의 탄소 원자, 바람직하게는 2 내지 3개의 탄소 원자 및 적어도 하나, 바람직하게는 1 내지 2개의 삼중 결합 불포화 부위를 가지는 직쇄 또는 분지된 하이드로카빌기를 말한다. 그런 알키닐기의 예시는 아세틸레닐(-C≡CH) 및 프로파길(-CH₂C≡CH)을 포함한다.
- [0085] "알키닐렌"은 2 내지 6개의 탄소 원자, 바람직하게는 2 내지 3개의 탄소 원자 및 적어도 하나, 바람직하게는 1 내지 2개의 삼중 결합 불포화 부위를 가지는 직쇄 또는 분지된 하이드로카빌렌기를 말한다. 그런 알키닐기의 예시는 아세틸레닐(-C≡CH) 및 프로파길(-CH₂C≡CH)을 포함한다.
- [0086] "아미노"는 기 -NH₂를 말한다.
- [0087] "치환된 아미노"는 각각의 R이 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 선택되는 -NRR 기를 나타내고, 이때 적어도 하나의 R은 수소가 아니어야 한다.
- [0088] "아릴"은 단일 고리(예컨대 페닐 기에 존재하는) 또는 다중 축합 고리를 가지고 그런 축합된 고리들은 방향족이거나 그렇지 않을 수 있는 고리 시스템(그런 방향족 고리 시스템의 예시는 나프틸, 안트릴 및 인다닐을 포함한다)을 가지는 6 내지 18개의 탄소 원자의 일가의 방향족 탄소고리기를 나타내고, 이때 부착 지점은 방향족 고리의 원자를 통한 것이어야 한다. 이 용어는 예를 들면 페닐 및 나프틸을 포함한다. 아릴 치환체에 대한 정의에 의해 다르게 한정되지 않는 한, 그런 아릴기는 임의로 다음으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체 또는 1 내지 3개의 치환체로 치환될 수 있다: 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, 카르복실 에스테르, 시아노, 할로젠, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 설포닐아미노, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴, -SO₂-헤테로아릴 및 트라이할로메틸.
- [0089] "사이클로알킬"은 융합된, 가교된 및 스피로 고리 시스템을 포함하여, 단일 또는 다수의 고리형 고리를 가지는 3 내지 10개의 탄소 원자의 고리형 알킬기를 말한다. 적당한 사이클로알킬기의 예시로는, 예를 들면 아다만틸, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로옥틸 등을 포함한다. 그러한 사이클로알킬기는 예를 들면, 단일 고리 구조, 예컨대 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로옥틸 등, 또는 다중 고리 구조, 예컨대 아다만틸 등을 포함한다.
- [0090] "헤테로아릴"은 1 내지 15개의 탄소 원자, 예컨대 1 내지 10개의 탄소 원자 및 고리 내의 산소, 질소 및 황으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 10개의 헤테로원자의 방향족 기를 말한다. 그런 헤테로아릴기는 단일 고리(예컨대 피리디닐, 이미다졸릴 또는 퓨릴) 또는 고리 시스템으로 다중 축합 고리를 가질 수 있고(예를 들면 예컨대 인돌리지닐, 퀴놀리닐, 벤조퓨란, 벤즈이미다졸릴 또는 벤조티에닐과 같은 기에서와 같이), 이때 고리 시스템 내의 적어도 하나의 고리는 방향족이고 고리 시스템 내의 적어도 하나의 고리는 방향족이며, 단 부착 지점은 방향족 고리의 원자를 통해서이다. 특정 구체예에서, 헤테로아릴기의 질소 및/또는 황 고리 원자(들)는 임의로 산화되어 N-옥사이드(N→O), 설피닐 또는 설포닐 부분이 제공된다. 이 용어는 예를 들면 피리디닐, 피롤릴, 인돌릴, 티오펜릴 및 퓨라닐을 포함한다. 헤테로아릴 치환체에 대한 정의에 의해 다르게 한정되지 않는 한, 그런 헤테로아릴기는 임의로 다음으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체 또는 1 내지 3개의 치환체로 치환될 수 있다: 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, 카르복실 에스테르, 시아노, 할로젠, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 설폰닐아미노, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴, -SO₂-헤테로아릴 및 트라이할로메틸.

[0091] 헤테로아릴의 예시는, 그것들에 한정되는 것은 아니지만, 피롤, 이미다졸, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리미딘, 피리다진, 인돌리진, 아이소인돌, 인돌, 퓨린, 아이소퀴놀린, 퀴놀린, 프탈라진, 나프틸피리딘, 퀴녹살린, 퀴나졸린, 시놀린, 프테리딘, 카바졸, 카볼린, 페난트리딘, 아크리딘, 페난트롤린, 아이소티아졸, 페나진, 아이소옥사졸, 페녹사진, 페노티아진, 피페리딘, 피페라진, 프탈이미드, 4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜, 티아졸, 티오펜, 벤조[b]티오펜 등을 포함한다.

[0092] "헤테로고리", "헤테로고리형", "헤테로사이클로알킬" 또는 "헤테로사이클릴"은 융합된, 가교된 또는 스피로 고리 시스템을 포함하여 단일 고리 또는 다중 축합 고리를 가지고, 1 내지 10개의 헤테로 원자를 포함하여 3 내지 20개의 고리 원자를 가지는 포화된 또는 부분적으로 불포화된 기를 말한다. 이들 고리 원자는 탄소, 질소, 황 또는 산소로 이루어진 군으로부터 선택되는데, 융합된 고리 시스템에서, 하나 또는 그 이상의 고리는 사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고, 단 부착 지점은 비-방향족 고리를 통해서 부착되어야 한다. 특정 구체예에서, 헤테로고리형 기의 질소 및/또는 황 원자(들)는 임의로 산화되어 N-옥사이드, -S(O)- 또는 -SO₂- 부분이 제공된다.

[0093] 헤테로고리의 예시로는, 그것들에 한정되는 것은 아니지만, 아제티딘, 다이하이드로인돌, 인다졸, 퀴놀리진, 이미다졸리딘, 이미다졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌린, 1,2,3,4-테트라하이드로아이소퀴놀린, 티아졸리딘, 모폴리닐, 티오모폴리닐(또한 티아모폴리닐로도 언급된다), 1,1-다이옥소티오모폴리닐, 피페리디닐, 피롤리딘, 테트라하이드로피라닐 등을 포함한다.

[0094] 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기가 "치환된" 경우, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 치환체에 대한 정의에 의해 다르게 한정되지 않는 한, 그런 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 다음으로부터 선택된 1 내지 5개 또는 1 내지 3개의 치환체로 치환될 수 있다: 알킬, 치환된 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실 에스테르, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, 설폰닐아미노, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO-헤테로사이클릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴, -SO₂-헤테로아릴 및 -SO₂-헤테로사이클릴.

[0095] "폴리알킬렌 글리콜"은 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 및 폴리부틸렌 글리콜과 같은 직쇄형 또는 분지된 폴리알킬렌 글리콜 중합체를 말한다. 폴리알킬렌 글리콜 하위유닛은 단일 폴리알킬렌 글리콜 유닛이다. 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜 하위유닛은 사슬 종결 지점에서 수소로 캡핑된 에틸렌 글리콜, -O-CH₂-CH₂-O- 또는 프로필렌 글리콜, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-일 것이다. 폴리(알킬렌 글리콜)의 다른 예시로는, 그것들에 한정되는 것은 아니지만, PEG, PEG 유도체, 예컨대 메톡시폴리(에틸렌 글리콜)(mPEG), 폴리(에틸렌 옥사이드), PPG, 폴리(테트라메틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥사이드-코-프로필렌 옥사이드) 또는 그것들의 공중합체 및 조합물을 포함한다.

[0096] "폴리아민"은 폴리알킬렌아민에서와 같이 골격 안으로, 또는 폴리비닐 아민에서와 같이 펜던트기로 통합된, 단량체 유닛에 아민 기능성을 가지는 중합체를 말한다.

[0097] 본원에 개시된 것 외에, 용어 "치환된"은 명시된 기 또는 라디칼을 변형시키기 위해 사용될 때, 또한 그 명시된 기 또는 라디칼의 하나 또는 그 이상의 수소 원자가 각각 상호 독립적으로, 아래에서 정의되는 것과 같은 동일하거나 상이한 치환기로 대체될 수 있음을 의미할 수 있다.

[0098] 본원의 개별적인 용어들과 관련하여 개시된 기들 외에, 명시된 기 또는 라디칼의 포화 탄소 원자 상의 하나 또는 그 이상의 수소에 대해 치환하는 치환기(및 단일 탄소 상의 두 개의 수소는 =O, =NR⁷⁰, =N-OR⁷⁰, =N₂ 또는 =S

로 대체될 수 있다)는 다른 표시가 없는 한 다음과 같다: $-R^{60}$, 할로, $=O$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-NR^{80}R^{80}$, 트라이할로메틸, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-S(O)R^{70}$, $-SO_2R^{70}$, $-SO_2O^+M^+$, $-SO_2OR^{70}$, $-OSO_2R^{70}$, $-OSO_2O^+M^+$, $-OSO_2OR^{70}$, $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$, $-P(O)(OR^{70})_2$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-C(O)O^+M^+$, $-C(O)OR^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)O^+M^+$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}CO_2^+M^+$, $-NR^{70}CO_2R^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, 이때 R^{60} 은 임의로 치환된 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬알킬, 사이클로알킬알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴 및 헤테로아릴알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, 각각의 R^{70} 은 독립적으로 수소 또는 R^{60} 이며; 각각의 R^{80} 은 독립적으로 R^{70} 이거나 다르게는, 두 개의 R^{80} 은 그것들이 결합하는 질소 원자와 함께, 임의로 O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 동일하거나 상이한 추가 헤테로원자 중 1 내지 4개를 포함할 수 있는 3-, 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로사이클로알킬을 형성하며, 상기 헤테로원자 중 N은 -H, C₁-C₄알킬, -C(O)C₁₋₄알킬, -CO₂C₁₋₄알킬 또는 -SO₂C₁₋₄알킬로 치환될 수 있고; 각각의 M^+ 는 전체 단일 포지티브 전하를 가지는 카운터이온이다. 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 이가의 알칼리토 이온에 대한 카운터 이온으로서 작용할 수 있거나, 또는 구체예들의 이중으로 이온화된 화합물이 그런 이가의 알칼리토 이온에 대한 카운터 이온으로서 작용할 수 있음을 의미한다).

[0099]

본원에 개시된 것 외에, "치환된" 알켄, 알킨, 아릴 및 헤테로아릴기의 불포화 탄소 원자 상의 수소들에 대한 치환기는 다른 표시가 없는 한, $-R^{60}$, 할로, $-O^+M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-S^+M^+$, $-NR^{80}R^{80}$, 트라이할로메틸, $-CF_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-NO$, $-NO_2$, $-N_3$, $-S(O)R^{70}$, $-SO_2R^{70}$, $-SO_3^+M^+$, $-SO_3R^{70}$, $-OSO_2R^{70}$, $-OSO_3^+M^+$, $-OSO_3R^{70}$, $-PO_3^{-2}(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$, $-P(O)(OR^{70})_2$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-CO_2^+M^+$, $-CO_2R^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OCO_2^+M^+$, $-OCO_2R^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}CO_2^+M^+$, $-NR^{70}CO_2R^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 이고, 이때 R^{60} , R^{70} , R^{80} 및 M^+ 는 상기 정의된 것과 같고, 단 치환된 알켄 또는 알킨의 경우, 치환기는 $-O^+M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$ 또는 $-S^+M^+$ 가 아니어야 한다.

[0100]

본원의 개별적인 용어들과 관련하여 개시된 것들 외에, "치환된" 헤테로사이클로알킬 및 사이클로알킬기의 질소 원자 상의 수소들에 대한 치환기는 다른 표시가 없는 한, $-R^{60}$, $-O^+M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-S^+M^+$, $-NR^{80}R^{80}$, 트라이할로메틸, $-CF_3$, $-CN$, $-NO$, $-NO_2$, $-S(O)R^{70}$, $-S(O)_2R^{70}$, $-S(O)_2O^+M^+$, $-S(O)_2OR^{70}$, $-OS(O)_2R^{70}$, $-OS(O)_2O^+M^+$, $-OS(O)_2OR^{70}$, $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$, $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-C(O)OR^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}C(O)OR^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 이고, 이때 R^{60} , R^{70} , R^{80} 및 M^+ 는 상기에서 정의된 것과 같다.

[0101]

본원에 개시된 것 외에, 특정 구체예에서, 치환되는 기는 1, 2, 3 또는 4개의 치환체, 1, 2 또는 3개의 치환체, 1 또는 2개의 치환체 또는 1개의 치환체를 가진다.

[0102]

상기에서 정의된 모든 치환된 기에서, 그 자체에 대한 추가의 치환체로 치환체를 정의함으로써 이루어진 중합체들(예컨대 그 자체가 치환된 아릴기로 치환된 치환체로서 치환된 아릴기를 가지는 치환된 아릴, 그것은 추가로 치환된 아릴기에 의해 치환되는 등)은 본원에 포함되는 것으로 의도되지 않는 것이 인지되어야 한다. 그런 경우에, 그런 치환체의 최대 수는 3이다. 예를 들어 본원에서 특수하게 고려된 치환된 아릴기의 연속적인 치환은 치

환된 아틸-(치환된 아틸)-치환된 아틸로 한정된다.

- [0103] 다르게 표시되지 않는 한, 본원에서 명백하게 정의되지 않은 치환체들의 명명법은 기능성의 말단 부분과 이어져 부착 지점을 향한 인접한 기능성을 명명함으로써 이루어진다. 예를 들어 치환체 "아틸알킬옥시카보닐"은 기 (아틸)-(알킬)-O-C(O)-를 말한다.
- [0104] 하나 또는 그 이상의 치환체를 함유하는 본원에 개시된 기들 중 어느 것에 대해, 그런 기들은 물론 입체적으로 실행불가능하거나 및/또는 합성적으로 실현할 수 없는 어떠한 치환 또는 치환 패턴을 함유하지 않는 것이 인지되어야 한다. 또한 본 발명의 화합물들은 이들 화합물들의 치환으로부터 발생하는 모든 입체화학적 이성질체를 포함한다.
- [0105] 용어 "약학적으로 허용되는 염"은 환자, 예컨대 포유류에게 투여되는 것이 허용되는 염을 의미한다(주어진 단위 용량 처방에 대해 허용되는 포유류 안전성을 가지는 카운터이온을 가진 염). 그런 염들은 약학적으로 허용되는 무기 또는 유기 염기 및 약학적으로 허용되는 무기 또는 유기 산으로부터 유도될 수 있다. "약학적으로 허용되는 염"은 화합물의 약학적으로 허용되는 염을 말하고, 그 염은 해당 기술분야에 잘 알려져 있는 다양한 유기 및 무기 카운터 이온들로부터 유도되고, 예를 들면 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 암모늄, 테트라알킬암모늄 등을 포함하며; 부자가 염기성 기능성을 함유할 때 염은 유기 또는 무기 산의 염, 예컨대 염산염, 브롬화수소산염, 포르메이트, 타타레이트, 베실레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말레에이트, 옥살레이트 등을 포함한다.
- [0106] 용어 "그것의 염"은 산의 일부분이 양이온, 예컨대 금속 양이온 또는 유기 양이온 등에 의해 대체될 때 형성된 화합물을 의미한다. 적용할 수 있는 경우, 염은 약학적으로 허용되는 염이지만, 이것은 환자에게 투여되기 위해 의도되지 않은 중간 화합물들의 염에 대해서는 필요하지 않다. 예를 들어 본 발명의 화합물들의 염은 화합물이 무기 또는 유기 산에 의해 양성자화되어 양이온이 형성되는 경우를 포함하고, 이때 무기 또는 유기산의 포함체 염기는 염의 음이온 성분으로서 작용한다.
- [0107] "용매화합물"은 용매 분자와 용질의 분자 또는 이온들과의 조합에 의해 형성된 복합체이다. 용매는 유기 화합물, 무기 화합물 또는 이들 두 가지의 혼합물일 수 있다. 용매의 일부 예시로는, 그것들에 한정되는 것은 아니지만, 메탄올, *N,N*-다이메틸폼아미드, 테트라하이드로퓨란, 다이메틸설폭사이드 및 물을 포함한다. 용매가 물일 때, 형성된 용매화합물은 수화물이다.
- [0108] "입체 이성질체" 및 "입체 이성질체들"은 공간에서 동일한 원자 연결성을 갖지만 상이한 원자 배열을 가지는 화합물들을 말한다. 입체 이성질체들은 시스-트랜스 이성질체, *E* 및 *Z* 이성질체, 경상 이성질체 및 부분 입체 이성질체를 포함한다.
- [0109] "토토머"는 원자의 전자 결합 및/또는 양자의 위치에서만 상이한 분자의 대체 형태, 예컨대 에놀-케토 및 이민-엔아민 토토머 또는 $-N=C(H)-NH-$ 원자 배열을 함유한 헤테로아틸기의 토토머 형태, 예컨대 피라졸, 이미다졸, 벤즈이미다졸, 트리아아졸 및 테트라졸을 말한다. 해당 기술분야의 숙련자라면 다른 토토머 고리 원자 배열도 가능한 것을 인지할 것이다.
- [0110] 용어 "또는 그것의 염 또는 용매 화합물 또는 입체 이성질체"는 염, 용매 화합물 및 입체 이성질체의 모든 순열, 예컨대 본 발명의 화합물의 입체 이성질체의 약학적으로 허용되는 염의 용매 화합물을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0111] 본원에서 사용되는 것과 같이, 약물, 화합물, 포함체, 약물 포함체, 항체 약물 포함체 또는 약학적 조성물의 "유효한 단위용량" 또는 "유효량"은 유익한 또는 바람직한 결과를 이루기에 충분한 양이다. 예방 용도인 경우, 유익한 또는 바람직한 결과는 위험의 제거 또는 감소, 심각성의 완화, 또는 질병의 생화학적, 조직학적 및/또는 행동적 증상들, 그것의 합병증 및 질병의 발생 중에 나타나는 중간 병리학 현상들을 포함하여, 질병 개시의 지연과 같은 결과들을 포함한다. 치료용인 경우, 유익한 또는 바람직한 결과는 질병으로부터 유발되는 하나 또는 그 이상의 증상들의 감소, 질병으로 고생하는 대상들의 삶의 질의 증가, 질병을 치료하기 위해 필요한 다른 의약의 용량의 감소, 표적화를 통한 것과 같은 다른 의약의 효과의 증강, 질병의 진전의 지연 및/또는 생존의 연장과 같은 임상적 결과들을 포함한다. 암 또는 종양의 경우에, 약물의 유효량은 암세포의 수의 감소; 종양 크기의 감소; 암세포의 말초 기관으로의 침윤의 억제(즉 어느 정도도의 둔화 및 바람직하게는 정지); 종양 전이의 억제(즉 어느 정도도의 둔화 및 바람직하게는 정지); 어느 정도까지의 종양 성장의 억제; 및/또는 어느 정도까지 장애와 관련된 하나 또는 그 이상의 증상의 완화에 영향을 미칠 수 있다. 유효한 단위용량은 하나 또는 그 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 발명의 목적에 대해, 약물, 화합물 또는 약학적 조성물의 유효한 단위용량은 직접 또는 간접적으로 예방적 또는 치료적 치료를 이루기에 충분한 양이다. 임상적 맥락에서 인지되는 것과 같

이, 약물, 화합물 또는 약학적 조성물의 유효한 단위용량은 다른 약물, 화합물 또는 약학적 조성물과 함께 이루어질 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 그러므로, "유효한 단위용량"은 하나 또는 그 이상의 치료제를 투여하는 맥락에서 고려될 수 있고, 단일 제제는 만일 하나 또는 그 이상의 다른 제제와 조합되어 바람직한 결과가 이루어질 수 있거나 이루어진다면, 유효량으로 제공된 것으로 간주될 수 있다.

- [0112] 본원에서 사용된 것과 같이, "과 조합하여"는 다른 치료 양상에 첨가된 한 치료 양상의 투여를 말한다. 그러므로, "과 조합하여"는 개체에 다른 치료 양상이 투여되기 전, 투여 중 또는 투여 후에 한 치료 양상이 투여되는 것을 말한다.
- [0113] 본원에서 사용되는 것과 같이, "치료" 또는 "치료하는"은 바람직하게는 임상적 결과들을 포함하여 유익한 또는 바람직한 결과를 얻기 위한 접근법이다. 본 발명의 개시 목적에 대해, 유익한 또는 바람직한 임상적 결과들은, 그것들에 한정되는 것은 아니지만 다음 중 하나 또는 그 이상을 포함한다: 암성 세포의 증식의 감소(또는 파괴), 질병으로부터 유발되는 증상들의 감소, 질병으로 고생하는 것들의 삶의 질의 증가, 질병을 치료하기 위해 필요한 다른 의약들의 용량의 감소, 질병의 진전의 지연 및/또는 개체의 생존의 연장을 포함한다.
- [0114] 본원에서 사용된 것과 같이, "질병의 발생의 지연"은 질병(예컨대 암)의 발생을 유보, 방해, 둔화, 지체, 안정화 및/또는 연기시키는 것을 의미한다. 이런 지연은 질병의 이력 및/또는 치료되는 개체에 따라 다양한 시간이 걸릴 수 있다. 해당 기술분야의 숙련자에게 명백한 것과 같이, 충분한 또는 유의미한 지연은 실제로 개체가 질병을 발생시키지 않는다는 점에서 방지를 포함할 수 있다. 예를 들어 말기암, 예컨대 전이의 발생이 지연될 수 있다.
- [0115] "개체" 또는 "대상"은 포유류, 바람직하게는 인간이다. 포유류는 또한, 그것들에 한정되는 것은 아니지만, 농경용 가축, 경주용 동물, 애완 동물(예컨대 고양이, 개, 말), 영장류, 마우스 및 쥐를 포함한다.
- [0116] 본원에서 사용된 것과 같이, 용어 "특이적으로 인지한다" 또는 "특이적으로 결합한다"는 표적과 항체(또는 분자 또는 부분) 사이의 끌어당김 또는 결합과 같은 측정가능하고 재생가능한 상호작용을 말하고, 그것은 생물학적 분자를 포함하여 분자들의 이중성 집단의 존재 하에 표적의 존재를 측정할 수 있다. 예를 들어 구체적으로 또는 우선적으로 에피토프에 결합하는 항체는 이 에피토프에 더 큰 친화성, 결합력, 및/또는, 보다 쉽게는 표적 또는 비-표적 에피토프들 중 다른 에피토프들에 결합하는 것보다 더 긴 기간으로 결합하는 항체이다. 또한, 예를 들어 특이적으로 또는 우선적으로 첫 번째 표적에 결합하는 항체(또는 부분 또는 에피토프)는 두 번째 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하거나 그렇지 못할 수 있다. 그러므로 "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 반드시 배타적 결합을 (그것을 포함할 수는 있지만) 필요로 하지는 않는다. 표적에 특이적으로 결합하는 항체는 적어도 약 $10^3 M^{-1}$ 또는 $10^4 M^{-1}$, 때로는 약 $10^5 M^{-1}$ 또는 $10^6 M^{-1}$, 다른 경우에는 약 $10^6 M^{-1}$ 또는 $10^7 M^{-1}$, 약 $10^8 M^{-1}$ 내지 $10^9 M^{-1}$, 또는 약 $10^{10} M^{-1}$ 내지 $10^{11} M^{-1}$ 또는 더 높은 결합 상수를 가질 수 있다. 특별한 단백질과 특이적으로 면역반응하는 항체들을 선택하기 위해 다양한 면역분석 방식이 사용될 수 있다. 예를 들어 고체-상 ELISA 면역분석이 단백질과 특이적으로 면역반응하는 단클론성 항체를 선택하기 위해 기본적으로 사용될 수 있다. 예컨대 특이한 면역반응성을 측정하기 위해 사용될 수 있는 면역분석 방식 및 조건의 설명에 대해 Harlow and Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York 참조.
- [0117] 본원에서 사용되는 것과 같은 용어 "암", "종양", "암성" 및 "악성"은 전형적으로 제어되지 않은 세포 성장을 특징으로 하는 포유류의 생리적 조건을 말하거나 기술한다. 암의 예시로는, 그것들에 한정되는 것은 아니지만, 암종, 이질테면 선성암종, 림프종, 아세포종, 흑색종 및 육종을 포함한다. 그런 암의 보다 특별한 예시로는 편평상피암, 소-세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐 선암종, 폐 편평상피암종, 위장암, 호지킨 및 비-호지킨 림프종, 췌장암, 교아세포종, 자궁경부암, 신경교종, 난소암, 간암, 예컨대 간암종 및 간종양, 방광암, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막 또는 자궁암, 침샘 암종, 신장암, 예컨대 신장 세포 암종 및 빌름스 종양, 기조 세포 암종, 흑색종, 중피종, 전립선암, 갑상선암, 고환암, 식도암 및 두경부의 다양한 유형을 포함한다.
- [0118] 본원에서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 것과 같이, 단일 형태를 나타내는 단어들은 맥락이 명백하게 다르게 표시되지 않는 한 복수의 언급 대상을 포함한다. 예를 들어 "항체"에 대한 언급은 하나 내지 많은 항체들, 예컨대 물 양에 대한 언급이고, 해당 기술분야의 숙련자들에게 공지되어 있는 그것의 등가물 등을 포함한다.
- [0119] 본원에서 "약" 어떤 값 또는 매개변수에 대한 언급은 그 값 또는 매개변수 자체에 특정된 구체예들을 포함(및 설명)한다. 예를 들어 "약 X"에 대한 설명은 "X"에 대한 설명을 포함한다.
- [0120] 본원에서 설명된 발명의 측면 및 변화들은 측면들 및 변화들을 "포함하는" 및/또는 "본질적으로 그것들로 이루

어진"을 포함한다.

[0121] 다르게 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적으로 과학적인 용어들은 본 발명이 속하는 해당 기술분야에 통상적인 기술을 가진 사람에 의해 보편적으로 이해되는 것과 같은 의미를 가진다. 본원에 기술된 것들과 유사하거나 동등한 어떠한 방법 및 물질들이 또한 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있긴 하지만, 바람직한 방법 및 물질들을 이제 설명하기로 한다. 본원에서 언급된 모든 공보는 그 공보들이 관련되어 인용된 방법 및/또는 물질들을 개시하고 설명하기 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0122] 별다른 기재가 없으면, 본 발명의 구체예들의 방법 및 기법들은 일반적으로 해당 기술분야에 잘 알려져 있고 본 명세서를 통털어 인용되고 논의된 일반적인 보다 구체적인 다양한 참고문헌들에 기술되어 있는 것과 같은 종래 방법들을 따라 수행된다. 예를 들면 Loudon, Organic Chemistry, 4th edition, New York: Oxford University Press, 2002, pp. 360-361, 1084-1085; Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th edition, Wiley-Interscience, 2001 참조.

[0123] 본원에서 대상 화합물들을 명명하기 위해 사용된 명명법은 아래의 실시예에서 예시된다. 이 명명법은 일반적으로 상업적으로 입수가능한 AutoNom 소프트웨어(MDL, San Leandro, Calif.)를 사용하여 유도되었다.

[0124] 명료함을 위해 별도의 구체예들의 맥락으로 기술된 발명의 특정 특징들은 또한 단일 구체예로 조합되어 제공될 수 있음이 인지된다. 정반대로, 간단하게 단일 구체예의 맥락으로 기술된 발명의 다양한 특징들은 또한 별도로 또는 어떠한 적당한 하위조합으로 제공될 수 있다. 변수로 표시된 화학적 기들에 속하는 구체예들의 모든 조합은 본 발명에 의해 포함되고, 본원에서 각각의 및 모든 조합들이 개별적으로 및 실험적으로 개시되는 것처럼, 그런 조합들이 안정한 화합물인 화합물들(즉 분리되고, 특성확인되며, 생물학적 활성에 대해 시험될 수 있는 화합물들)을 포함하는 정도로 본원에 개시된다. 또한, 그런 변수들을 기술하는 구체예들에 열거된 화학적 기들의 모든 하위조합은 또한 구체적으로 본 발명에 포함되고, 각각의 및 모든 화학적 기들의 그런 하위조합이 개별적으로 및 실험적으로 본원에 개시된 것처럼 본 발명에 의해 구체적으로 포함된다.

[0125] 상세한 설명

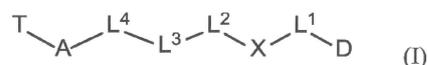
[0126] 본 발명은 친수성 자기-희생 링커를 가지는 화합물을 제공하는데, 그것은 적절한 조건하에서 절단가능하고 화합물의 더 좋은 용해도를 제공하기 위해 친수성 기를 통합한다. 친수성 자기 희생 링커는 자주 소수성인 세포독성 약물에 대한 약물 포함체의 증가된 용해도를 제공할 수 있다. 약물 포함체에 친수성 자기-희생 링커를 사용하는 다른 장점은 약물 포함체의 증가된 안정성 및 약물 포함체의 감소된 응집을 포함한다.

[0127] 본 발명은 월등한 혈청 안정성을 가질 수 있는 약물 포함체를 제공한다. 예를 들어 약물의 하이드록실기가 수성 완충액 또는 인간 혈청 중에서 신속한 가수분해에 영향을 받기 쉬운 가변성 카보네이트 연쇄를 통해 스페이서에 연결되어 있는 약물 포함체와는 대조적으로, 벤질옥시카보닐 연쇄를 활용하는 본 발명의 구체예의 약물 포함체는 동일한 조건하에서 상대적으로 더 안정할 수 있고, 프로테아제, 예컨대 카텡신 B로 처리될 때 선택적으로 단편화가 진행되어 약물이 방출될 수 있다. 혈청 안정성은 환자의 혈청에 비활성 약물을 투여하기 위해 고안된 경우, 리간드에 의해 표적에서 비활성 약물 농축물을 가지며, 그런 다음 표적 가까이에서만 활성 형태로 전환된 약물 포함체를 가지는, 약물 포함체에 대한 바람직한 특성이다.

[0128] 본 발명은 응집이 감소될 수 있는 약물 포함체를 제공한다. 일부 효소-가변성 링커의 증가된 결합된 소수성은 약물 포함체의 응집, 특히 강력한 소수성 약물과의 응집을 유도할 수 있다. 친수성 기의 링커 안으로의 통합으로, 약물 포함체의 응집은 감소될 수 있다.

[0129] 본 발명의 화합물들은 약물 부분, 선택된 세포 집단을 표적화할 수 있는 표적화 부분, 및 아실 유닛을 함유한 링커, 약물 부분과 표적화 부분 사이의 거리를 제공하기 위한 임의의 스페이서 유닛, 적절한 조건하에서 절단될 수 있는 펩티드 링커, 친수성 자기-희생 링커, 및 임의의 두 번째 자기-희생 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커를 포함한다. 각각의 특징은 아래에서 논의된다.

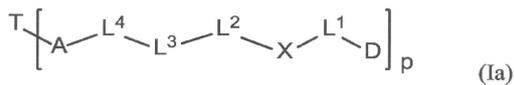
[0130] 본 발명은 다음 식 (I)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



[0131]

[0132] 상기 식에서,

- [0133] D는 약물 부분이고;
- [0134] T는 표적화 부분이며;
- [0135] X는 친수성 자기-희생 링커이고;
- [0136] L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;
- [0137] L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;
- [0138] 이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;
- [0139] L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;
- [0140] L³는 펩티드 링커이며;
- [0141] L⁴는 결합 또는 스페이서이고;
- [0142] A는 아실 유닛이다.
- [0143] 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 약물 부분에 결합하기 위한 하나 또는 그 이상의 부착 부위를 가진다. 예를 들어 표적 부분 T는 링커-약물 부분(예컨대 A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D)에 결합하기 위한 다중 부위를 가질 수 있다. 그러므로 또한 다음 식 (Ia)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체가 제공된다:



- [0144]
- [0145] 상기 식에서, D, T, X, L¹, L², L³, L⁴ 및 A는 식 (I)에 대해 정의된 것과 같고, p는 1 내지 20이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2이다. 어떤 구체예에서, p는 3이다. 어떤 구체예에서, p는 4이다.

[0146] 펩티드 링커

- [0147] 상기 식 (I)에서, L³는 펩티드 링커이다. 특정 구체예에서, L³는 1 내지 10개의 아미노산 잔기의 펩티드 링커이다. 특정 구체예에서, L³는 2내지 4의 아미노산 잔기의 펩티드 링커이다. 특정 구체예에서, L³는 다이펩티드 링커이다.

- [0148] 아미노산 잔기는 자연적으로 발생하는 또는 비-자연적 아미노산 잔기일 수 있다. 용어 "자연적인 아미노산" 및 "자연적으로 발생하는 아미노산"은 Ala, Asp, Cys, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp 및 Tyr을 말한다. "비-자연적 아미노산"(즉 자연적으로 발생하지 않는 아미노산)은 비-제한적인 예시에 의하면, 호모세린, 호모아르기닌, 시트룰린, 페닐글리신, 타우린, 요오도타이로신, 셀레노-시스테인, 노르로이신("Nle"), 노르발린("Nva"), 베타-알라닌, L- 또는 D-나프탈라닌, 오르니틴("Orn") 등을 포함한다.

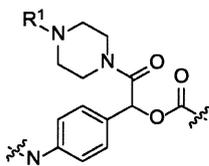
- [0149] 아미노산은 또한 자연 및 비-자연 아미노산의 D-형태를 포함한다. "D-"는 자연적으로 발생하는("L-") 아미노산의 배열과는 반대로 "D" (우회전) 배열을 가지는 아미노산을 나타낸다. 구체적인 배열이 표시되지 않은 경우 해당 기술분야의 숙련자는 그 아미노산이 L-아미노산일 것으로 이해할 것이다. 그러나 아미노산은 D- 및 L-배열의 라세미 혼합물로 존재할 수 있다. 자연 및 비-자연 아미노산은 상업적으로 구매하거나(Sigma Chemical Co.; Advanced Chemtech) 또는 해당 기술분야에 알려져 있는 방법을 사용하여 합성될 수 있다. 아미노산 치환은 그것들의 생물학적 활성이 보유되는 한, 잔기들의 극성, 전하, 용해도, 소수성, 친수성 및/또는 양친매성 성질의 유사성을 토대로 이루어질 수 있다.

- [0150] 아미노산 잔기 서열은 구체적으로 조정될 수 있어서 결과적으로 생성되는 유도체 약물-포합체로부터 하나 또는 그 이상의 종양-관련 프로테아제에 의해 선택적으로 효소적으로 절단될 것이다.

- [0151] 특정 구체예에서, L³는 적어도 하나의 라이신 또는 아르기닌 잔기를 포함하는 펩티드 링커이다.
- [0152] 특정 구체예에서, L³는 라이신, D-라이신, 시트룰린, 아르기닌, 프롤린, 히스티딘, 오르니틴 및 글루타민으로부터 선택된 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커이다.
- [0153] 특정 구체예에서, L³는 발린, 아이소로이신, 페닐알라닌, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 알라닌, 로이신, 트립토판 및 티로신으로부터 선택된 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드 링커이다.
- [0154] 특정 구체예에서, L³는 발린-시트룰린, 프롤린-라이신, 메티오닌-D-라이신, 아스파라긴-D-라이신, 아이소로이신-프롤린, 페닐알라닌-라이신 및 발린-라이신으로부터 선택된 다이펩티드 링커이다. 특정 구체예에서, L³는 발린-시트룰린이다.
- [0155] 본 발명에 사용하기에 적당한 많은 구체적인 펩티드 링커가 특별한 중앙-관련 프로테아제에 의한 효소적 절단에 대한 선택성으로 디자인되고 최적화될 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 특정 펩티드 링커는 프로테아제, 예컨대 카텡신 B 및 D에 대해 최적화되어 있는 것들이다.

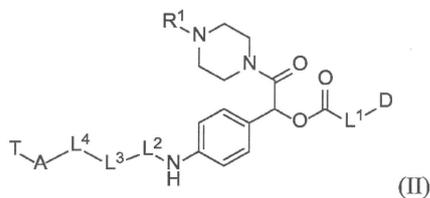
[0156] 친수성 자기-희생 링커

- [0157] 식 (I)에서, X는 친수성 자기-희생 링커이다.
- [0158] 본 발명의 화합물은 약물 부분과 표적화 부분 사이의 공간을 만들고 그것들을 함께 공유 결합시키며, 화합물의 더 나은 용해도를 제공하는 친수성 기를 통합하는 친수성 자기-희생 링커를 사용한다. 일부 효소-가변성 링커들의 증가된 관련된 소수성은 약물 포함체의, 특히 강력한 소수성 약물과의 응집을 유도할 수 있다. 링커 안에 친수성 기를 통합시키면, 약물 포함체의 응집이 감소될 수 있다.
- [0159] 자기-희생 스페이서는 두 개의 공간적으로 떨어져 있는 화학적 부분들을 공유적으로 함께 연결시켜서 정상적으로 안정적인 삼중구조 분자로 만들어서, 효소적 절단에 의해 삼중구조 분자로부터 공간적으로 떨어져 있는 화학적 부분들 중 하나를 방출시킬 수 있고; 효소적 절단에 이어서, 자연스럽게 분자의 나머지에서 절단하여 공간적으로 떨어져 있는 화학적 부분들 중 다른 것을 방출시킬 수 있는, 이중구조적 화학적 부분으로서 정의될 수 있다.
- [0160] 특정 구체예에서, X는 벤질옥시카보닐기이다. 특정 구체예에서, X는



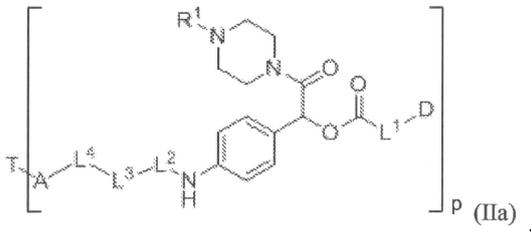
- [0161] 이고, 식에서, R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

- [0162] 그런 경우에, 본 발명은 다음 식 (II)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



- [0163] 상기 식에서,
- [0164] D는 약물 부분이고;
- [0165] T는 표적화 부분이며;

- [0167] R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;
- [0168] L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;
- [0169] L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;
- [0170] 이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;
- [0171] L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;
- [0172] L³는 펩티드 링커이며;
- [0173] L⁴는 결합 또는 스페이서이고;
- [0174] A는 아실 유닛이다.
- [0175] 어떤 구체예에서, 다음 식 (IIa)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체가 제공되고:

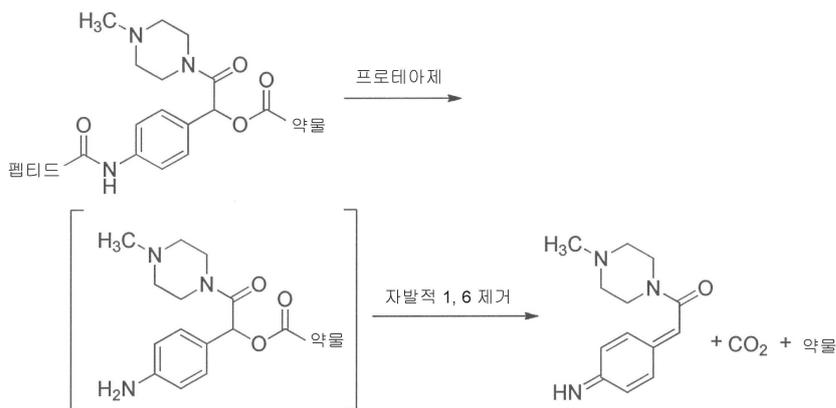


- [0177] 상기 식에서, D, T, L¹, L², L³, L⁴ 및 A는 식 (II)에 대해 정의된 것과 같고, p는 1 내지 20이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2이다. 어떤 구체예에서, p는 3이다. 어떤 구체예에서, p는 4이다.

[0178] 식 (II) 또는 (IIa)의 특정 구체예들에서, R¹은 수소이다. 특정한 경우에 R¹은 메틸이다.

[0179] 약물 부분의 방출은 아미노벤질옥시카보닐기의 자기-제거 반응을 토대로 한다. 예시를 목적으로, 약물과 펩티드가 부착되어 있는 아미노벤질옥시카보닐기를 사용한 반응 계획도를 아래에 제시한다:

[0180] 계획도 1



[0182] 계획도 1을 참조하면, 펩티드로부터 절단될 때, 아미노벤질옥시카보닐이 형성되고, 자발적 1,6 제거가 진행되어 사이클로헥사-2,5-다이엔이민 유도체 및 이산화탄소가 형성되고 약물이 방출된다.

[0183] 임의의 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커

[0184] 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커는 약물 부분을 방출하기 위해 화합물의 절단을 미세하게

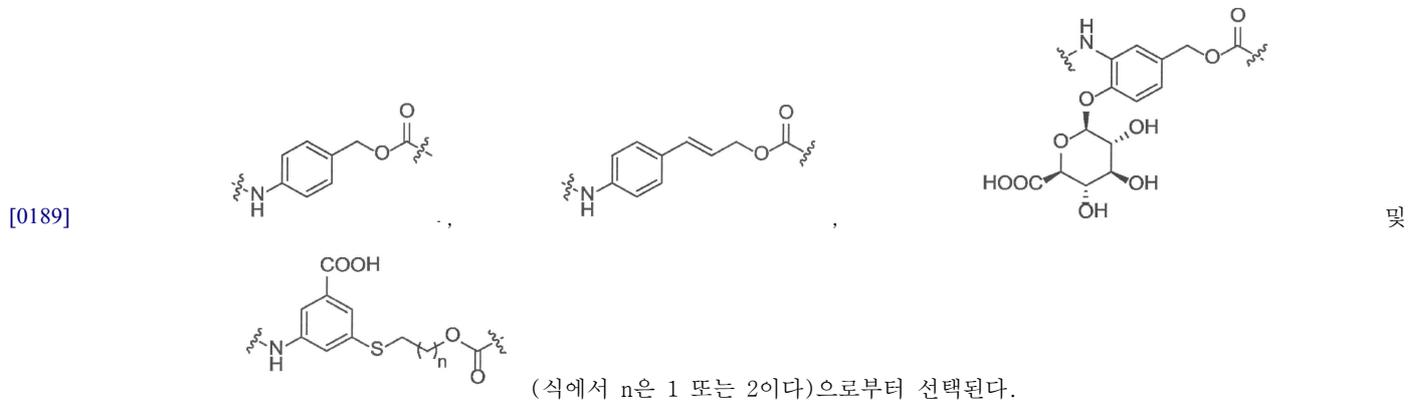
조정하는 것을 허용하기 위한 추가의 링커를 제공한다.

[0185] 식 (I) 또는 (Ia)에서, L^1 은 결합, 두 번째 자기-회생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이고; L^2 는 결합 또는 두 번째 자기-회생 링커이며; 만약 L^1 이 두 번째 자기-회생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커라면, L^2 는 결합이고; 만약 L^2 가 두 번째 자기-회생 링커이면 L^1 은 결합이다. 그러므로, 친수성 자기-회생 링커에 근접하여 임의의 두 번째 자기-회생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커가 존재한다.

[0186] 특정 구체예에서, L^1 은 결합이고 L^2 는 결합이다. 특정 구체예에서, L^1 은 두 번째 자기-회생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이고 L^2 는 결합이다. 특정 구체예에서, L^1 은 결합이고 L^2 는 두 번째 자기-회생 링커이다.

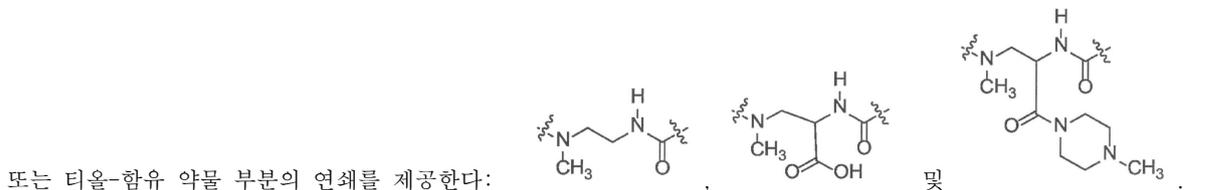
[0187] 식 (I) 또는 (Ia)에서, 특정 구체예에서, L^1 은 결합이다. 특정 구체예에서, L^1 은 두 번째 자기-회생 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커이고, 그것은 친수성 자기-회생 링커와 약물 부분을 분리시킨다. 특정 구체예에서, L^1 은 아미노벤질옥시카보닐 링커이다.

[0188] 특정 구체예에서, L^1 은 다음으로부터 선택된다:



[0190] 특정 경우에, 두 번째 자기-회생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커는 가능한 디자인에 사용될 수 있는 더욱 광범위한 부분들을 제공한다. 예를 들어 식 (II) 또는 (IIa)에서, 친수성 자기-회생 링커와 약물 부분 사이를 연결시키는 카바메이트 연쇄(-O-C(O)-N(H)-)는 안정한 약물 포함체를 제공하고 쉽게 절단되어 유리 약물 부분을 제공할 것이다. 친수성 자기-회생 링커는 전형적으로 옥시카보닐기(-O-C(O)-)로 종결될 것이다. 만약 약물 부분이 카바메이트기를 형성하기 위해 반응하기 위해 사용될 수 있는 아미노-반응성 기를 가진다면, 두 번째 자기-회생 유닛 또는 고리화 자기-제거 링커는 불필요하지만, 여전히 사용될 수는 있다. 그러나, 만약 약물이 아미노기를 함유하지는 않지만, 대신 일부 다른 반응성 기능성 기를 함유한다면, 그런 약물은 약물 부분과 아미노벤질옥시카보닐기 사이의 두 번째 중간 자기-회생 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커를 포함함으로써, 여전히 본 발명의 구체예들의 아미노벤질옥시카보닐-함유 화합물 안에 통합될 것이다.

[0191] 아래의 L^1 의 고리화 자기-제거 링커는 친수성 자기-회생 링커의 아미노벤질옥시카보닐기에 대한 하이드록시-함유

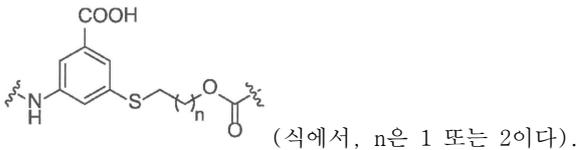
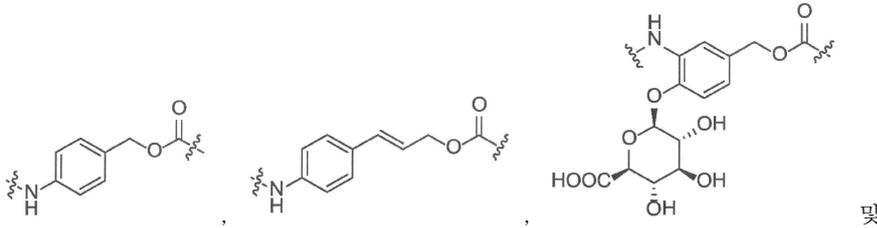


[0192] 구체예들의 화합물의 고리화 자기-제거 링커들은 약물 부분을 방출하기 위하여 화합물의 절단을 제공한다. 인접한 친수성 자기-회생 링커의 제거 메커니즘은 L^1 의 아미노기를 드러낼 것이다. 그 아미노기는 그런 다음 고리화 반응 중에 L^1 의 카바메이트기 또는 티오카바메이트 연쇄 및 약물 부분과 반응할 수 있어서 하이드록시-함유 또는 티올-함유 약물 부분이 방출될 수 있다.

[0193] 식 (I) 또는 (Ia)에서, L^2 는 결합이다. 특정 구체예에서, L^2 는 친수성 자기-회생 링커와 펩티드 링커를 분리시키

는 두 번째 자기-회생 스페이서이다. 특정 구체예에서, L²는 아미노벤질옥시카보닐 링커이다.

특정 구체예에서, L²는 다음으로부터 선택된다:



[0197] 입의의 스페이서

[0198] 식 (I) 또는 (Ia)에서, L⁴는 결합 또는 스페이서이다. 특정 구체예에서, L⁴는 결합이다. 특정 구체예에서, L⁴는 약물 부분과 표적화 부분 사이에 거리를 제공하는 스페이서이다.

[0199] 특정 구체예에서, 스페이서는 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로고리형, 치환된 헤테로고리형 및 헤테로 원자, 및 그것들의 조합으로부터 선택된다. 스페이서는 그것의 원자 함량에서 균일하거나 불균일할 수 있다(예컨대 탄소 원자만을 함유하는 스페이서 또는 탄소 원자뿐 아니라 스페이서 상에 존재하는 하나 또는 그 이상의 헤테로원자를 함유하는 스페이서). 바람직하게는, 스페이서는 1 내지 50개의 탄소 원자와 산소, 질소 및 황으로부터 선택된 0 내지 30개의 헤테로원자를 함유한다. 스페이서는 또한 키랄이거나 아키랄이고, 선형, 분지형 또는 고리형일 수 있다.

[0200] 특정 구체예에서, L⁴는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알킬닐렌 및 폴리아민으로부터 선택된다. 알케닐렌의 예시로는, 그것들에 한정되는 것은 아니지만 비닐렌(-CH=CH-), 알릴렌(-CH₂C=C-) 및 부트-3-엔-1-일렌(-CH₂CH₂C=CH-)을 포함한다. 알케닐렌의 예시로는, 그것들에 한정되는 것은 아니지만, 아세틸레닐렌(-C≡C-) 및 프로파르길렌(-CH₂C=C-)을 포함한다.

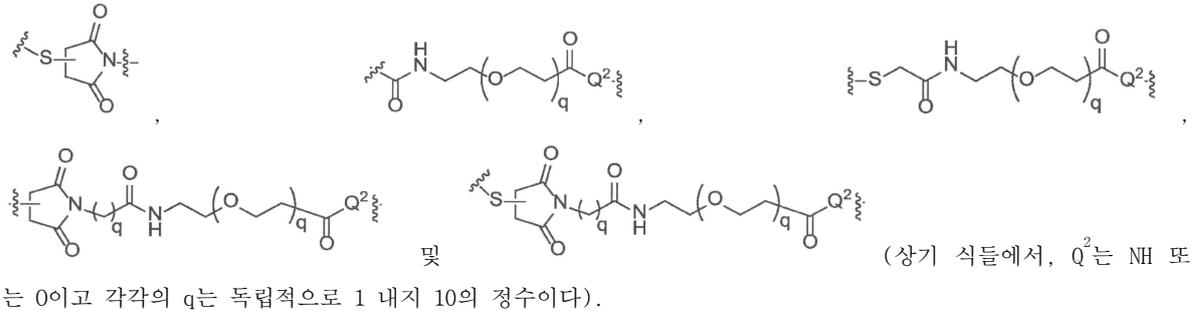
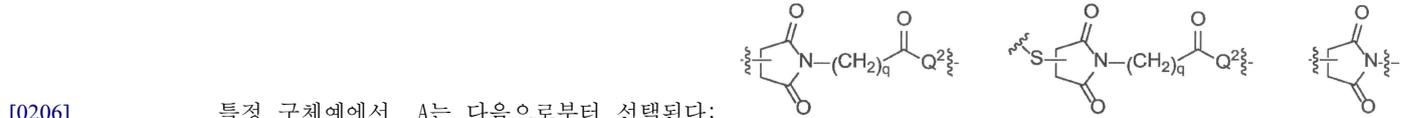
[0201] 특정 구체예에서, L⁴는 펩티드 연쇄의 말단부에 연쇄를 제공할 수 있는 기능성 기를 포함하는 스페이서이다. 기능성 기, 예컨대 C(O), C(O)-NH, S(O)₂ 및 S(O)₂-NH는 펩티드 연쇄의 말단부에 연쇄를 제공할 수 있다. 특정 경우에, L⁴는 L^{4a}-C(O), L^{4a}-C(O)-NH, L^{4a}-S(O)₂, L^{4a}-S(O)₂-NH이고, 이때 L^{4a}는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알킬닐렌 및 폴리아민으로부터 선택된다. 특정 경우에, L⁴는 L^{4a}-C(O)이고, 이때 L^{4a}는 폴리알킬렌 글리콜, 알킬렌, 알케닐렌, 알킬닐렌 및 폴리아민으로부터 선택된다.

[0202] 특정 구체예에서, L⁴는 L^{4a}-C(O)이고, 이때 L^{4a}는 폴리알킬렌 글리콜이다. 특정 구체예에서, L⁴는 L^{4a}-C(O)이고, 이때 L^{4a}는 폴리에틸렌 글리콜이다. 특정 구체예에서, 스페이서는 식 -CH₂-(CH₂-O-CH₂)_m-CH₂-C(O)-의 것이고, 이때 m은 0 내지 30의 정수이다.

[0203] 특정 구체예에서, L⁴는 L^{4a}-C(O)이고, 이때 L^{4a}는 알킬렌이다. 특정 구체예에서, L⁴는 L^{4a}-C(O)이고, 이때 L^{4a}는 C₁₋₁₀알킬렌, C₁₋₈알킬렌 또는 C₁₋₆알킬렌이다. 특정 구체예에서, L⁴는 L^{4a}-C(O)이고, 이때 L^{4a}는 C₄알킬렌, C₅알킬렌 또는 C₆알킬렌이다. 특정 구체예에서, L⁴는 L^{4a}-C(O)이고, 이때 L^{4a}는 C₅알킬렌이다.

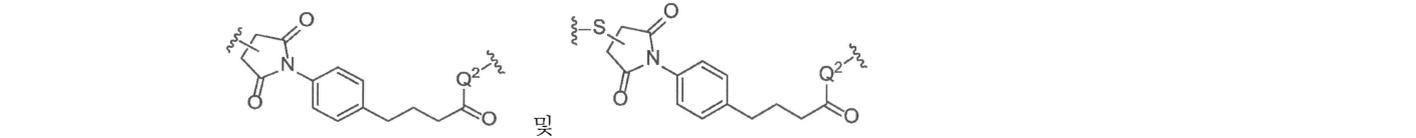
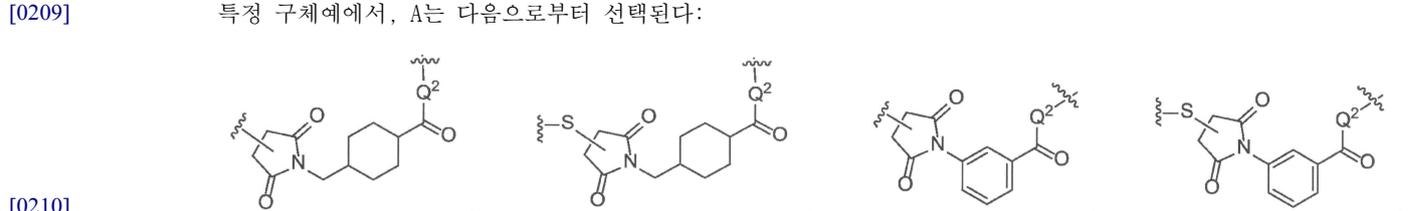
[0204] 아실 유닛

[0205] 식 (I) 또는 (Ia)에서, A는 아실 유닛이다. 특정 구체예에서, 아실 유닛 "A"는 황 원자를 포함하고, 표적화 부분으로부터 유도된 황 원자를 통해 표적화 부분에 연결된다. 그런 경우에 아실 유닛과 표적화 부분 사이에 다이티오 결합이 형성된다.



[0207] 특정 구체예에서, A는 이고, 식에서 Q²는 NH 또는 0이며 q는 1 내지 10의 정수이다. 특정 경우에, q는 2 내지 5의 수, 예컨대 2, 3, 4 또는 5이다.

[0208] 특정 구체예에서, A는 이고, 식에서 Q²는 NH 또는 0이며, q는 1 내지 10의 정수이다. 특정 경우에, q는 2 내지 5의 수, 예컨대 2, 3, 4 또는 5이다.



[0211] (상기 식들에서, Q²는 NH 또는 0이다).

[0212] 약물 부분

[0213] 본 발명의 구체예들의 약물 포함체는 해당하는 약물이 효과적인 보편적 목적에 대해 효과적이고, 표적 부분의 고유한, 원하는 세포에 그 약물을 수송하는 능력으로 인해 월등한 효능을 가지는데, 그것은 특히 유익하다.

[0214] 본 구체예들에 사용하기에 바람직한 약물은 세포독성 약물, 예컨대 암치료법에 사용된 것들이다. 그런 약물은 일반적으로 DNA 손상제, 대사 길항물질, 천연 생물물 및 그것들의 유사체를 포함한다. 특정 부류의 세포독성제로는, 예를 들면 효소 억제제, 예컨대 다이하이드로폴레이트 환원효소 억제제, 티미딜레이트 합성효소 억제제, DNA 삽입제, DNA 절단제, 토포아이스오메라제 억제제, 약물의 안트라사이클린 패밀리, 빈카 약물, 미토마이신, 블레오마이신, 세포독성 뉴클레오사이드, 약물의 프테리딘 패밀리, 디이넨, 포도필로톡신, 분화 유도제 및 탁솔을 포함한다. 그런 부류들의 어떤 유용한 구성원들은, 예를 들면 메토틱세이트, 메토프테린, 다이클로로메토틱

세이트, 5-플루오로우라실, 6-머캡토피린, 사이토신 아라비노사이드, 멜팔란, 로이로신, 로이로시데인, 악티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 미토마이신 C, 미토마이신 A, 카미노프테린, 탈리소마이신, 포도필로톡신 및 포도필로톡신 유도체, 예컨대 에토포시드 또는 에토포시드 포스페이트, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 탁솔, 탁소테르 레틴산, 부티르산, N⁸-아세틸 스피리미딘, 캄포테신 및 그것들의 유사체를 포함한다. 다른 약물로는 돌라스타틴과 듀오카르마이신이 있다.

[0215] 해당 기술분야의 숙련자는 발명의 포함체를 제조할 목적을 위하여 원하는 화합물의 반응을 더 편리하게 만들기 위해 그 화합물에 대해 화학적 변형을 만들 수 있다.

[0216] 특정 구체예에서, D는 그것에 의해 약물이 L¹ 또는 X에 결합하는 화학적 반응성 기능기를 가지는 약물 부분이다. 특정 경우에, 기능기는 일차 아민, 이차 아민, 하이드록실 및 설프하이드릴로부터 선택된다. 특정 경우에, 기능기는 일차 아민 또는 이차 아민이다. 특정 경우에 기능기는 하이드록실이다. 특정 경우에 기능기는 설프하이드릴이다.

[0217] 상기에서 논의된 것과 같이, 친수성 자기-회생 링커는 전형적으로 옥시카보닐기(-OC(O)-)로 종결될 것이다. 그러므로 아미노-함유 약물 부분은 옥시카보닐기와 쉽게 반응하여 카바메이트기를 형성할 수 있다. 특정 구체예에서, D는 아미노-함유 약물 부분이고, 이때 약물은 L¹ 또는 X에 아미노기를 통해 연결된다.

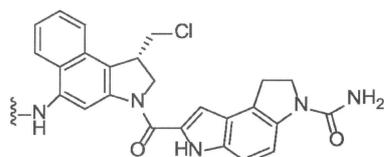
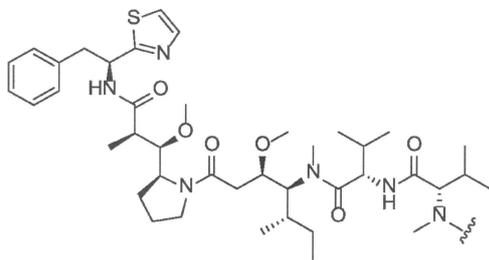
[0218] 그러나, 만약 약물 부분이 아미노기를 함유하지 않으면, L¹의 두 번째 자기-회생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커가 사용될 수 있는 보다 광범위한 부분들에 대해 가능한 디자인을 제공할 수 있다. 특정 구체예에서, D는 하이드록실-함유 또는 설프하이드릴-함유 약물 부분이고, 이때 약물은 L¹에 하이드록실 또는 설프하이드릴기를 통해 연결된다.

[0219] 대표적인 아미노-함유 약물은 미토마이신-C, 미노마이신-A, 다우노루비신, 독소루비신, 아미노프테린, 악티노마이신, 블레오마이신, 9-아미노 캄포테신, N⁸-아세틸 스피리미딘, 1-(2-클로로에틸)-1,2-다이메탄설폰닐 하이드라지드, 탈리소마이신, 시타라빈, 돌라스타틴 및 그것들의 유도체를 포함한다. 아미노-함유 약물은 또한 자연적으로 아미노기를 함유하지 않는 약물들의 아미노 유도체를 포함한다. 특정 구체예에서, D는 듀오카르마이신, 돌라스타틴, 투블라이신, 독소루비신(DOX), 파클리탁셀 또는 미토마이신 C(MMC) 또는 그것들의 아미노 유도체이다.

[0220] 대표적인 하이드록실-함유 약물은 에토포시드, 캄포테신, 탁솔, 에스페라미신, 1,8-다이하이드록시-바이사이클로[7.3.1] 트라이테카-4-9-다이엔-2,6-다이인-13-온(미국 특허 제 5,198,560호), 포로필로톡신, 안구이딘, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 모폴린-독소루비신, n-(5,5-다이아세톡시-펜틸) 독소루비신, 듀오카르마이신 및 그것들의 유도체를 포함한다.

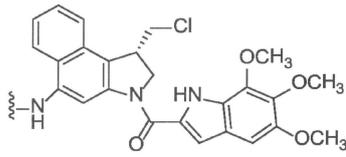
[0221] 대표적인 설프하이드릴-함유 약물은 에스페라미신 및 6-머캡토피린 및 그것들의 유도체를 포함한다.

[0222] 본 구체예에서 약물로서 사용하기 위한 세포독성제의 특정 기는 다음 식의 약물들을 포함한다:



[0223]

[0224]



(듀오카르마이신의 아미노 유도체).

[0225]

[0226]

표적화 부분

[0227]

본 명세서에서 기술된 것과 같은 표적화 부분은 주어진 세포 집단과 특이적으로 결합하거나, 그것과 복합체를 형성하거나, 그것과 반응하거나 또는 그것과 연합하는 부분 또는 분자를 말한다. 예를 들어 표적화 부분은 주어진 세포 집단과 연합된 수용적 부분 또는 수용체와 특이적으로 결합하거나, 복합체를 형성하거나, 반응하거나 또는 연합될 수 있다(예컨대 주어진 세포 집단은 치료적으로 처치되거나 그렇지 않으면 생물학적으로 변형시키거나 하는 것이다). 본원에 기술된 포합체에서, 본원에 기술된 표적화 부분은 링커를 통해 그 포합체의 약물 부분에 연결된다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 약물 부분을, 그것과 결합하거나, 그것과 복합체를 형성하거나, 그것과 반응하거나 또는 그것과 연합하는 특별한 표적 세포 집단에 전달할 수 있다.

[0228]

표적화 부분은 예를 들면 큰 분자량 단백질, 예를 들어 항체, 더 작은 분자량 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드 및 비-펩티드성 부분을 포함할 수 있다. 본원에 기술된 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드 부분은 예를 들면 트란스페린, 혈청 알부민, 상피 성장 인자("EGF"), 붐베신, 가스트린, 가스트린-방출 펩티드, 혈소판-유도 성장 인자, IL-2, IL-6, 종양 성장 인자("TGF"), 예컨대 TGF- α 및 TGF- β , 백시니아 성장 인자(VGF), 인슐린 및 인슐린-유사 성장 인자 I 및 II를 포함할 수 있다. 비-펩티드성 부분은 예를 들면 탄수화물, 락틴, 및 저밀도 리포단백질로부터 유래되는 아포단백질을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 단백질, 항체, 폴리펩티드 또는 펩티드는 그것의 비변형 형태, 예컨대 링커에 결합하기 위해 사용되는 것과 같은 본원에서 기술된 포합체에 사용되기 위해 변형된 형태 또는 본원에서 기술된 포합체에 존재하는 부분을 말한다.

[0229]

어떤 구체예에서, 표적화 부분은 항체(또는 항체 부분 또는 항체 표적화 부분)이다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 항체를 포함한다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 설프하이드릴(-SH)기(예컨대 자유 반응성 설프하이드릴(-SH)기)를 포함하거나 또는 그런 설프하이드릴기를 함유하도록 변형될 수 있다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 설프하이드릴기(예컨대 자유 반응성 설프하이드릴기)를 가지는 항체를 포함한다. 어떤 구체예에서, 자유 티올기를 가지는 항체와 같이 자유 티올기를 포함하거나 또는 그런 티올기를 함유하도록 변형될 수 있다. 어떤 구체예에서, 설프하이드릴기 또는 티올기를 포함하는 표적화 부분은 설프하이드릴기의 황 원자를 통해 링커에 결합한다.

[0230]

어떤 구체예에서, 표적화 부분(예컨대 항체 표적화 부분)은 약물 부분에 결합하기 위한 하나 또는 그 이상의 부착 부위를 가진다. 예를 들어 표적화 부분 T(예컨대 항체)는 링커-약물 부분(예컨대 A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D, 이때 A는 표적화 항체의 설프하이드릴기에 결합하기에 적합하다)에 결합하기 위한 다중 부위(예컨대 다중 설프하이드릴기)를 가질 수 있다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 1 내지 20개의 부착 부위를 가질 수 있다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 1 내지 20, 1 내지 10, 1 내지 8, 1 내지 6, 1 내지 4, 2 내지 8, 2 내지 4 또는 2 내지 4개의 부착 부위를 가질 수 있다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 부착 부위를 가질 수 있다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 2개의 부착 부위를 가질 수 있다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 1개의 부착 부위를 가질 수 있다. 어떤 구체예에서, 표적화 부분은 4개의 부착 부위를 가질 수 있다. 어떤 경우에, 어떤 잠재적인 부착 부위는 약물 부분에 결합하기 위해 접근이 어려울 수 있다. 그러므로 표적화 부분 T의 부착 부위의 수는 잠재적인 부착 부위의 수보다 적은 수의 약물 부분이 부착되어 있는 약물 포합체를 초래할 수 있다. 어떤 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 부착 부위는 약물 부분에 결합하기가 쉬울 수 있다. 예를 들어 항체 표적화 부분은 링커를 통해 약물 부분에 결합하기 쉬운 항체의 각 사슬상에 하나 또는 2개의 설프하이드릴기를 가질 수 있다.

[0231]

어떤 구체예에서, 표적화 부분은 항체 또는 항체 표적화 부분이다. 본원에 기술된 항체는 표적, 예컨대 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 폴리펩티드 등에 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자를 말하고, 이때 결합은 그 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 항원 인지 부위를 통해서 이루어진다. 본원에서 사용되는 것과 같이, 용어 "항체"는 무상 다클론성 또는 단클론성 항체뿐 아니라 그것의 항원-결합 단편(예컨대 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일 사슬(ScFv), 그것의 돌연변이, 항체 일부를 포함한 융합 단백질 및 항원 인지 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 어떠한 다른 변형 형태를 포함한다. 항체는 어떠한 부류의 항체

든지, 예컨대 IgG, IgA 또는 IgM(또는 그것들의 하위부류)를 포함한다. 그것의 중쇄의 불변 도메인의 항체 아미노산 서열에 따라 면역글로불린은 상이한 부류들로 배정될 수 있다. 면역글로불린에는 5가지의 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 있고, 이들 중 여러 개는 하위부류들(아이소타입), 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 더 나누어질 수 있다. 면역글로불린의 상이한 부류에 해당하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 불린다. 면역글로불린의 상이한 부류들의 하위유닛 구조 및 삼차원 형태는 잘 알려져 있다.

[0232]

본원에 기술된 표적화 부분(또는 항체 표적화 부분)는 에 포함되거나 사용된 항체는 단클론성 항체, 다클론성 항체, 항체 단편(예컨대 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fc 등), 키메라 항체, 인간화된 항체, 인간 항체(예컨대 전체 인간 항체), 단일 사슬(ScFv), 이중특이성 항체, 다중특이성 항체, 그것들의 돌연변이, 항체 일부를 포함하는 융합 단백질 및 필요한 특이성의 항원 인지부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 어떠한 다른 변형 형태를 포함할 수 있다. 항체는 쥐과 동물, 쥐, 낙타, 인간 또는 어떠한 다른 기원의 것일 수 있다(인간화된 항체를 포함함). 어떤 구체예에서, 본원에 기술된 표적화 부분(또는 항체 표적화 부분)에 사용된 항체는 다음 중 어느 하나이다: 이중특이성 항체, 다중특이성 항체, 단일-사슬, 이중기능성 및 항체의 적어도 하나의 초가변성 영역(HVR) 또는 상보성 결정 영역(CDR)에 의해 부여된 폴리펩티드에 대한 친화성을 가지는 키메라 및 인간화된 분자들. 본 발명에 사용된 항체는 또한 항체 중쇄의 가변 도메인 또는 항체 경쇄의 가변 도메인 중 어느 하나인 단일 도메인 항체를 포함할 수 있다. Holt *et al.*, *Trends Biotechnol.* 21:484-490, 2003. 항체로부터의 6개의 자연 발생적인 HVR 중 3개 또는 CDR을 함유하는, 항체 중쇄의 가변 도메인 또는 항체 경쇄의 가변 도메인 중 어느 하나를 포함하는 도메인 항체의 제조 방법 또한 해당 기술분야에 알려져 있다. 예컨대 Muyldermans, *Rev. Mol. Biotechnol.* 74:277-302, 2001 참조.

[0233]

어떤 구체예에서, 본원의 표적화 부분(또는 항체 표적화 부분)에 포함되거나 사용된 항체는 단클론성 항체이다. 본원에서 사용되는 것과 같이, 단클론성 항체는 실질적으로 동종성인 항체들의 항체를 말하는데, 즉 집단을 포함하는 개별적인 항체들이 미량으로 존재할 수 있는 가능한 자연-발생적인 돌연변이를 제외하고는 동일한 것을 말한다. 나아가, 전형적으로 상이한 결정기(에피토프)들에 대해 지시된 상이한 항체들을 포함하는 다클론성 항체 제제와 대조적으로, 단클론성 항체는 별개의 항체들의 혼합물이 아니다. 수식어 "단클론성"은 실질적으로 동종성인 항체들의 집단으로부터 얻어지는 것으로서의 항체의 특성을 나타내며, 어떠한 특별한 방법에 의한 항체의 생성을 필요로 하는 것으로 간주되어서는 안된다. 예를 들어, 본 명세서에서 사용된 단클론성 항체는 처음으로 Kohler and Milstein, 1975, *Nature*, 256:495에 기술된 하이브리도마 방법에 의해 제조되거나, 또는 미국 특허 제 4,816,567호에 기술되어 있는 것과 같은 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다. 단클론성 항체는 또한 예를 들면 McCafferty *et al.*, 1990, *Nature*, 348:552-554에 기술되어 있는 기법들을 사용하여 생성된 파지 라이브러리로부터 분리될 수 있다.

[0234]

어떤 구체예에서, 본원의 표적화 부분(또는 항체 표적화 부분)에 포함되거나 사용된 항체는 키메라 항체이다. 본원에서 사용되는 것과 같이, 키메라 항체는 첫 번째 종으로부터의 가변 영역 또는 가변 영역의 부분 및 두 번째 종으로부터의 불변 영역을 가지는 항체를 말한다. 온전한 키메라 항체는 키메라 경쇄의 두 개의 복사물과 키메라 중쇄의 두 개의 복사물을 포함한다. 키메라 항체의 제조는 해당 기술분야에 알려져 있다(Cabilly *et al.* (1984), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:3273-3277; Harlow and Lane (1988), *Antibodies: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory). 전형적으로, 이들 키메라 항체에서, 경쇄 및 중쇄 두 가지의 가변 영역은 포유류의 한 종으로부터 유도된 항체들의 가변 영역을 모방하는 한편, 불변 영역은 다른 종으로부터 유도된 항체들의 서열에 상동한다. 그런 키메라 형태의 분명한 한 가지 장점은 예를 들면, 가변 영역이 편리하게 현재 알려져 있는 공급원으로부터, 쉽게 활용할 수 있는 하이브리도마 또는 비-인간 숙주 유기체로부터의 B 세포를, 예를 들면 인산 세포 제제로부터 유도된 불변 영역과 함께 사용함으로써 유도될 수 있다는 것이다. 가변 영역은 제조가 용이한 장점을 가지고, 그 특이성은 그것의 공급원에 의해 영향을 받지 않는 한편, 인간인 불변 영역은 항체가 주입될 때 비-인간 공급원으로부터의 불변 영역보다는 인간 대상으로부터 면역 반응을 덜 유도하는 것 같다. 그러나, 이 정의는 이 특별한 예시에 한정되지 않는다.

[0235]

어떤 구체예에서, 본원에 기술된 표적화 부분(또는 항체 표적화 부분)에 포함되거나 사용된 항체는 인간화된 항체이다. 본원에서 사용되는 것과 같이, 인간화된 항체는 특이한 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 사슬 또는 비-인간 면역글로불린으로부터 유도된 최소 서열을 함유하는 그것의 단편(예컨대 Fv, Fab, F(ab')₂ 또는 항체의 다른 항원-결합 서열)인 비-인간(예컨대 쥐과 동물) 항체 형태를 말한다. 대부분, 인간화된 항체는 수용체의 HVR 또는 CDR로부터의 잔기들이 원하는 특이성, 친화성 및 수용능력을 가지는 비-인간 중(공여 항체), 예컨대 마우스, 쥐 또는 토끼의 HVR 또는 CDR로부터의 잔기들에 의해 대체되는 인간 면역글로불린(수용체 항체)이다.

어떤 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역(FR) 잔기들은 해당하는 비-인간 잔기들에 의해 대체된다. 나아가, 인간화된 항체는 수용체 항체에서나 도입된 HVR 또는 CDR 또는 프레임워크 서열에서 발견되지 않지만, 추가로 항체 성능을 개량하고 최적화하기 위하여 포함되는 잔기들을 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화된 항체는 실질적으로 적어도 하나, 적어도 2개의 가변 도메인을 모두 포함할 것이도, 이때 비-인간 면역글로불린의 HVR 또는 VDR 영역에 해당하는 모든 또는 실질적으로 모든 HVR 또는 CDR 영역 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 공통 서열의 것들이다. 인간화된 항체는 또한 가장 적합하게 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인(Fc)의 적어도 일부분, 전형적으로는 인간 면역글로불린의 그것을 포함할 것이다. 항체는 WO 99/58572에 기술된 것과 같이 변형된 Fc 영역을 가질 수 있다. 인간화된 항체의 다른 형태들은 원래의 항체와 관련하여 변경되던 하나 또는 그 이상(1, 2, 3, 4, 5, 6)의 HVR 또는 CDR을 가지고, 그것은 또한 원래의 항체로부터 하나 또는 그 이상의 HVR 또는 CDR"로부터 유도된" 하나 또는 그 이상의 HVR 또는 CDR로 언급된다.

[0236]

어떤 구체예에서, 본원에 기술된 표적화 부분(또는 항체 표적화 부분)에 포함되거나 사용된 항체는 인간 항체이다. 본원에서 사용되는 것과 같이, 인간 항체는 인간에 의해 생성된 및/또는 해당 기술분야에 공지되어 있는 인간 항체를 제조하기 위한 기법들 중 어느 것을 사용하여 제조된 항체의 아미노산 서열에 해당하는 아미노산 서열을 가지는 항체를 의미한다. 본원에 사용된 인간 항체는 적어도 하나의 인간 중쇄 폴리펩티드 또는 적어도 하나의 인간 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체들을 포함한다. 하나의 그런 실례는 쥐과 동물의 경쇄 및 인간 중쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체이다. 인간 항체는 해당 기술분야에 공지되어 있는 다양한 기법들을 사용하여 제조될 수 있다. 한 구체예에서, 인간 항체는 파지 라이브러리로부터 선택되고, 이때 파지 라이브러리는 인간 항체를 발현한다(Vaughan *et al.*, 1996, Nature Biotechnology, 14:309-314; Sheets *et al.*, 1998, PNAS, (USA) 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol., 227:381; Marks *et al.*, J. Mol. Biol., 222:581). 인간 항체는 또한 인간 면역글로불린 유전자좌를 유전자도입 동물, 예컨대 마우스에 도입함으로써 제조될 수 있는데, 마우스 안에서 내인성 면역글로불린 유전자들은 부분적으로 또는 완전하게 비활성화되어 있다. 이런 접근법은 미국 특허 제 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016호에 기술되어 있다. 다르게는, 인간 항체는 표적 항원에 대해 지시된 항체를 생성하는 인간 B 림프구를 불멸화시킴으로써 제조될 수 있다(그런 B 림프구는 개체로부터 회수되거나 시험관 내에서 면역화될 수 있다). 예컨대 Cole *et al.*, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, 1991, J. Immunol., 147 (1):86-95; and U.S. Patent No. 5,750,373 참조.

[0237]

어떤 구체예에서, 본원에 기술된 표적화 부분(또는 항체 표적화 부분)에 포함되거나 사용된 항체는 비조혈성 암 세포(예컨대 대장, 췌장 또는 위암 세포)와 같은 암세포 상의 항원에 특이적으로 결합한다. 어떤 구체예에서, 항체는 예를 들면 미국 특허 제 7,674,605호, 제 7,982,017호, PCT/US2007/013587(공개 번호 WO 2007/146172) 또는 PCT/US2008/087515(공개 번호 WO 2009/079649, 이것들의 각각의 내용은 본원에 참고로 포함된다)에 기술된 항체인 CD43 상의 탄수화물-함유 에피토프에 특이적으로 결합한다. 어떤 구체예에서, 항체는 h5F1Ca.1 항체이다.

[0238]

아래의 표 1은 인간화된 5F1Ca.1(h5F1Ca.1) 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열을 보여준다.

표 1

A: h5F1Ca.1 중쇄 아미노산 서열(SEQ ID NO:1)(일부 구체예의 Kabat CDR에 밑줄이 표시된다; 불변 영역의 서열은 이탤릭체로 기술된다)

1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWIRQAPGQGLEWIGYINPYNGGTQY
 61 NEKFKGRATLTSDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRTFPPYFDYWGQGTLTSSAS
 121 *TKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS*GVHTFPAVLQSSGL
 181 *YLS*SSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
 241 *VFL*PPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
 301 *YRV*SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI~~SKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL~~T
 361 *KNQ*VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
 421 *GNV*FSCSVMEALHNHYTQKSLSPGK (SEQ ID NO:1)

B: h5F1Ca.1 경쇄 아미노산 서열(SEQ ID NO:1)(일부 구체예의 Kabat CDR에 밑줄이 표시된다; 불변 영역의 서열은 이탤릭체로 기술된다)

1 DVVMTQTPLSLPVTLGEPASISCRSSQSLHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYK~~VSNRF~~
 61 SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHAPLTFGGGTKLEIKR~~TVAAPSV~~
 121 *FIF*PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK~~STYSL~~
 181 *SSTL*TL~~SKADY~~EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:2)

[0239]

[0240]

어떤 구체예에서, 항체는 항체 h5F1Ca.1 또는 항체 h5F1Ca.1로부터 유도된 항체이다. h5F1Ca.1의 중쇄 및 경쇄 서열은 각각 SEQ ID NO:1 및 SEQ ID NO:2에 나타난다. 어떤 구체예에서, 항체는 항체 h5F1Ca.1(또는 항체 h5F1Ca.1로부터 유도된 항체)의 경쇄 및/또는 중쇄로부터 1, 2 또는 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함한다. 어떤 구체예에서, 항체는 항체 h5F1Ca.1의 단편 또는 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 단편은 항체 h5F1Ca.1의 경쇄를 포함한다. 다른 구체예에서, 단편은 항체 h5F1Ca.1의 중쇄를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 단편은 항체 h5F1Ca.1(h5F1Ca.1로부터 유도된 항체)의 경쇄 및/또는 중쇄로부터의 하나 또는 그 이상의 가변 영역을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 단편은 항체 h5F1Ca.1(h5F1Ca.1로부터 유도된 항체)의 경쇄 및/또는 중쇄로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함한다. 어떤 구체예에서, 항체 h5F1Ca.1로부터 유도된 하나 또는 그 이상의 HVR(또는 CDR)은 h5F1Ca.1의 적어도 하나, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5 또는 적어도 6개의 HVR(또는 CDR)에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하다. 어떤 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO:1로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 SEQ ID NO:2로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 어떤 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO:1로부터의 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 SEQ ID NO:2로부터의 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 어떤 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO:1의 아미노산 1 내지 118을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는

SEQ ID NO:2의 아미노산 1 내지 113을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 어떤 구체예에서, 항체는 인간화된 항체이다.

[0241]

어떤 구체예에서, 본원에 기술된 표적화 부분(또는 항체 표적화된 부분)에 포함되거나 사용된 항체는 비조혈성 암세포(예컨대 폐, 난소, 유방, 전립선, 간, 자궁내막, 대장, 췌장 또는 위 암세포)에 의해 발현된 트랜스페린 수용체(예컨대 인간 트랜스페린 수용체)에 특이적으로 결합한다. 항체는 비조혈성 암세포에 의해 발현된 트랜스페린 수용체 상의 변형(예컨대 탄수화물)에 특이적으로 결합할 수 있다. 어떤 구체예에서, 항체는 비조혈성 암세포에 의해 발현된 트랜스페린 수용체 상의 탄수화물에 특이적으로 결합한다. 어떤 구체예에서, 항체는 트랜스페린 수용체 상의 탄수화물-함유 에피토프에 특이적으로 결합하는데, 예를 들면 2012년 1월 6일에 출원된 미국 임시 특허 출원 번호 61/584,125 또는 PCT 특허 출원 번호 PCT/US2013/020263(공개번호 WO 2013/103800)에 기술된 항체를 예로 들 수 있고, 상기 문헌들의 내용은 전체적으로 본원에 참고로 포함된다. 어떤 구체예에서, 항체는 키메릭 5D7-54.17 항체(c5D7), 5D7-54.17 또는 5D7-54.17로부터 유도된 항체이다(미국 임시 특허 출원 61/584,125에 기술된 것과 같음). 어떤 구체예에서, 항체는 c5D7 항체이다.

[0242]

아래의 표 2는 c5D7 항체의 중쇄 서열 및 경쇄 서열의 아미노산 서열을 보여준다.

표 2

A: c5D7 중쇄 서열(SEQ ID NO:3)(일부 구체예의 Kabat CDR에 밑줄이 표시된다; 불변 영역의 서열은 이탤릭체로 기술된다)

1 EVQLQQSGPEVVKPGASMKMSCKTSGYKFTGYMDWVKQSLGASFEWIGRVIPSNGDTRY
 61 NQKFEKGATLTVDRSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARKPLSGNAADYWGQGTSTVSTA
 121 *STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG*
 181 *LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGP*
 241 *SVFLFPPKPKDTLMI^SSRTPETVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS*
 301 *TYRVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDEL*
 361 *TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ*
 421 *QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:3)

B: c5D7 경쇄 서열(SEQ ID NO:4)(일부 구체예의 Kabat CDR에 밑줄이 표시된다; 불변 영역의 서열은 이탤릭체로 기술된다)

1 ETTVTQSPASLSVATGEKVTIRCITSTDIDDDMNWYQQKPGEPKLLISDGNTLRPGVPS
 61 RFSSSGYGTDFVFTIENTLSE^DITDY^CMQSDNMPFTFGSGTKLEIKR^{TVAAPS}VFIFPP
 121 *SDEQLKSGTASVCLLNFPYQKQKWDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITL*
 181 *LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:4)

[0243]

어떤 구체예에서, 항체는 c5D7 항체 또는 c5D7 항체로부터 유도된 항체이다. c5D7 항체의 중쇄 및 경쇄 서열은 각각 SEQ ID NO:3 및 SEQ ID NO:4에 나타낸다(표 2 참조). 어떤 구체예에서, 항체는 c5D7 항체(또는 c5D7 항체

로부터 유도된 항체)의 경쇄 및/또는 중쇄로부터 1, 2 또는 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함한다. 어떤 구체예에서, 항체는 항체 c5D7 항체의 단편 또는 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 단편은 c5D7 항체의 경쇄를 포함한다. 다른 구체예에서, 단편은 c5D7 항체의 중쇄를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 단편은 c5D7 항체(c5D7 항체로부터 유도된 항체)의 경쇄 및/또는 중쇄로부터의 하나 또는 그 이상의 가변 영역을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 단편은 c5D7 항체(c5D7 항체로부터 유도된 항체)의 경쇄 및/또는 중쇄로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함한다. 어떤 구체예에서, c5D7 항체로부터 유도된 하나 또는 그 이상의 HVR(또는 CDR)은 c5D7 항체의 적어도 하나, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5 또는 적어도 6개의 HVR(또는 CDR)에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하다. 어떤 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO:3으로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 SEQ ID NO:4로부터의 1, 2 또는 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 어떤 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO:3으로부터의 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 SEQ ID NO:4로부터의 3개의 HVR(또는 CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 어떤 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO:3의 아미노산 1 내지 119를 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 SEQ ID NO:4의 아미노산 1 내지 108을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 어떤 구체예에서, 항체는 키메릭 항체이다. 어떤 구체예에서, 항체는 인간화된 항체이다.

[0245]

본원에서 사용되는 것과 같이, 서열과 관련하여 "퍼센트(%) 아미노산 서열 동일성" 및 "상동성"은 필요하다면, 최대 퍼센트 서열 동일성을 이루기 위하여 서열들을 배열하고 갭을 도입한 후에, 서열 동일성의 일부로서 어떠한 보존적 치환을 고려하지 않고, 특이한 서열의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열의 아미노산 잔기의 백분율을 말한다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 측정할 목적의 배열은 해당 기술분야의 지식 내에 있는 다양한 방법들로, 예를 들면 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 MEGALIGN™(DNASTAR) 소프트웨어와 같은 대중적으로 활용할 수 있는 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 이루어질 수 있다. 해당 기술분야의 숙련자들은 비교할 서열들의 전체 길이에 걸쳐 최대의 배열을 이루기 위해 필요한 어떠한 알고리즘을 포함하여, 배열을 측정하기 위한 적절한 매개변수들을 측정할 수 있다.

[0246]

어떤 구체예에서, 본원에 기술된 CDR은 Kabat CDR, Chothia CDR 또는 접촉 CDR이다. 어떤 구체예에서, CDR은 Kabat CDR이다. 어떤 구체예에서, CDR은 Chothia CDR이다. 다른 구체예에서, CDR은 Kabat와 Chothia CDR의 조합이다(또한 "조합된 CDR" 또는 "확장된 CDR"로도 불린다). 다른 말로 표현하면, 하나 이상의 CDR을 함유하는 어떠한 주어진 구체예에 대해 CDR은 Kabat, Chothia 및/또는 조합된 CDR 중 어느 것일 수 있다. CDR을 측정하는 방법은 기술분야에 알려져 있다.

[0247]

항체의 가변 영역은 단독의 또는 조합된 상태의 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 말한다. 일반적으로, 가변 영역(들)은 항원 결합을 중재하고 그것의 특별한 항원에 대한 특별한 항체의 특이성을 규정한다. 가변 영역들은 "초가변성 영역"("HVR")(예컨대 각각 9 내지 12 아미노산 길이의 HVR)으로 불리는 매우 가변적인 더 짧은 영역에 의해 분리되는, 프레임워크 영역(FR)(예컨대 15 내지 30 아미노산의 FR)로 불리는 상대적으로 변하지 않는 스트레치를 가질 수 있다. 어떤 구체예에서, 자연 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인들은 각각 대부분 베타-시트 형태를 채택하고, 연결하는 루프를 형성하면서 어떤 경우에는 베타-시트 구조의 일부를 형성하는 3개의 초가변 영역에 의해 연결된 4개의 FR을 포함한다. 각 사슬의 초가변 영역은 FR에 의해 매우 근접하게 함께 보유될 수 있고, 이때 다른 사슬로부터의 초가변 영역들은 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991) 참조). 불변 도메인들은 항원에 대한 항체 결합에 직접적으로는 포함되지 않을 수 있지만, 다양한 이펙터 기능, 예컨대 항체 의존성 세포의 세포독성(ADCC)에 항체의 참여를 나타낼 수 있다. 항체의 불변 영역은 단독의 또는 조합된 상태의 항체 경쇄의 불변 영역 또는 항체 중쇄의 불변 영역을 말한다. 항체의 불변 영역은 일반적으로 구조적 안정성과 다른 생물학적 기능들, 예컨대 항체 사슬 결합, 분비, 태반을 통과하는 이동성 및 보체 결합을 제공하지만, 항원에 대한 결합에는 포함되지 않는다. 불변 영역의 유전자의 아미노산 서열 및 해당하는 엑손 서열은 그것이 유도되는 종에 따라 좌우될 것이다; 그러나 아미노산 서열의 변동은 종 내의 특별한 불변 영역에 대해 상대적으로 한정될 알로타입을 유발한다. 각 사슬의 가변 영역은 연결 폴리펩티드 서열에 의해 불변 영역에 결합된다. 연쇄 서열은 경쇄 유전자에서 "J" 서열, 및 중쇄 유전자에서는 "D" 서열과 "J" 서열의 조합에 의해 코드화된다.

[0248]

용어 "초가변 영역"("HVR")은 본원에서 사용될 때, 항원-결합에 책임을 지는 항체의 아미노산 잔기를 말한다. 초가변 영역은 일반적으로 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로부터의 아미노산 잔기(예컨대 VL의 대략 약 잔기 24

내지 34(L1), 50 내지 56(L2) 및 89 내지 97(L3), 및 VH의 대략 약 31 내지 35B(H1), 50 내지 65(H2) 및 95 내지 102(H3)(한 구체예에서, H1은 대략 약 31 내지 35이다); Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991) 및/또는 "초가변 루프"로부터의 아미노산 잔기(예컨대 VH의 잔기 26 내지 32(L1), 50 내지 62(L2) 및 91 내지 96(L3), 및 VH의 26 내지 32(H1), 53 내지 55(H2) 및 96 내지 101(H3); Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))를 포함한다. CDR을 측정하는 방법은 많이 있는데, 예를 들면 교차-종 서열 가변성을 토대로 한 접근법(즉 Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)); 및 항원-항체 복합체의 결정학 연구를 토대로 한 접근법(AI-lazikani et al. (1997) J. Mol. Biol. 273:927-948))이 있다. Kabat 상보성-결정 영역(CDR)인 HVR은 서열 가변성을 토대로 하고 가장 흔하게 사용된다(Kabat et al., 상기 동일). Chothia는 대신 구조적 루프의 위치를 언급한다(Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). AbM HVR은 Kabat CDR과 Chothia 구조적 루프 사이의 절충안을 나타내며, Oxford Molecular's AbM 항체-모델화 소프트웨어에 의해 사용된다. "접촉" HVR은 활용할 수 있는 복합체 결정 구조의 분석을 토대로 한다. 본원에서 사용되는 것과 같이, CDR은 상기 접근법들 중 어느 하나에 의해 또는 접근법들 중 어떠한 둘 또는 세 가지의 조합에 의해 정의된 CDR일 수 있다. CDR은 Kabat CDR, Chothia CDR 또는 접촉 CDR일 수 있다. 이들 HVR의 각각으로부터의 잔기들을 아래에 나타낸다.

[0249]	Loop Kabat	AbM	Chothia	접촉
[0250]	L1 L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
[0251]	L2 L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
[0252]	L3 L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
[0253]	H1 H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B(Kabat 넘버링)
[0254]	H1 H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35(Chothia 넘버링)
[0255]	H2 H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
[0256]	H3 H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0257] HVR은 다음과 같은 "확장된 HVR"을 포함할 수 있다: VL의 24 내지 36 또는 24 내지 34(L1), 46 내지 56 또는 50 내지 56(L2) 및 89 내지 97 또는 89 내지 96(L3), 및 VH의 26 내지 35(H1), 50 내지 65 또는 49 내지 65(바람직한 구체예)(H2) 및 93 내지 102, 94 내지 102 또는 95 내지 102(H3). 가변 도메인 잔기는 이들 확장된-HVR 정의 각각에 대해 Kabat 등의 상기 설명에 따라 넘버링된다.

[0258] 어떤 구체예에서, 항체는 중쇄 또는 경쇄의 자유 시스테인 아미노산을 포함하는 시스테인 공학처리된 항체이다. 항체에 자유 시스테인 아미노산의 공학처리는 특이한 부위에서 약물 분자와 항체-약물 포함체(ADC)와 같은 화합물과의 항체 포함(즉 부위-특이적 포함)을 추가로 가능하게 할 수 있는 반응성 친전자적 기능성을 제공할 수 있다. 시스테인 공학처리된 항체 및 시스테인 공학처리된 항체들을 제조하기 위한 수단들의 예시는 다음 문헌에 의해 제공된다: Junutula, JR et al., (2008) *Nat. Biotech.* 26(8):925-932; Lyons, A et al., (1990) *Prot. Engineering* 3(8):703-708; and Stimmel, JB et al., (2000) *J. Biol. Chem.* 275(39):30445-30450. 어떤 구체예에서, 항체는 하나 또는 그 이상의 시스테인 잔기를 가지는 중쇄 또는 경쇄 상의 아미노산 잔기(예컨대 자연 발생적인 아미노산)를 치환하기 위해 공학처리되는데, 단 시스테인 잔기의 반응성 티올기는 항체 접합 또는 어셈블리에 거의 영향을 미치지 못하거나 영향을 주지 않아야 하고, 항원 결합을 유의미하게 변경시키지 않아야 한다. 어떤 구체예에서, 시스테인 잔기는 새롭게 도입되고 공학처리된 시스테인 티올기의 반응성에 대해 평가된다. 티올 반응성 값은 0 내지 1.0의 상대적인 숫자 용어이고, 어떠한 시스테인 공학처리된 항체에 대해서도 측정될 수 있다. 어떤 구체예에서, 발명의 시스테인 공학처리된 항체의 티올 반응성 값은 약 0.6 내지 1.0 | 0.7 내지 1.0; 또는 0.8 내지 1.0 중 어느 것이다. 부위-특이적 포함에 대한 시스테인 공학처리된 항체들은 다음에 의해 제공된다: WO 2006/034488, WO 2010/141902, WO 2013/093809, WO 2008/038024, WO 2008/070593, WO 2009/092011, WO 2011/005481 및 WO 2011/156328.

[0259] 시스테인 공학처리된 항체는 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기를 시스테인 공학처리된 항체를 코드화하기 위하여 시스테인으로 대체함으로써 모(parent) 항체의 핵산 서열을 돌연변이시키고; 그 시스테인 공학처리된 항체를 발현시킨 후; 시스테인 공학처리된 항체를 분리함으로써 제조될 수 있다. 어떤 구체예에서, 시스테인 공학처리된 항체는 항체 단편, 예를 들면 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv 또는 단일 사슬(ScFv) 항체이다. 어떤 구체예에서,

항체는 아미노산 잔기 S157, T169 및 S442(EU 넘버링)의 하나 또는 그 이상의 시스템인 치환체를 포함하도록 공학처리된다. 발명의 어떤 구체예에서, h5F1Ca.1, c5D7 항체 및 h5F1Ca.1 또는 c5D7 항체로부터 유도된 항체는 하나 또는 그 이상의 자유 시스템인 잔기를 포함하도록 공학처리된다.

- [0260] 어떤 구체예에서, IgG 중쇄의 다음 위치들 중 어떠한 하나 또는 그 이상에 있는 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스템인 잔기로 대체된다: 40, 43, 84, 88, 103, 112, 113, 114, 115, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 161, 168, 172, 234, 235, 237, 239, 246, 249, 265, 267, 269, 270, 276, 278, 282, 283, 284, 287, 289, 292, 293, 297, 298, 299, 300, 302, 303, 312, 314, 315, 318, 320, 324, 326, 327, 330, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 339, 345, 347, 354, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 370, 373, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 398, 390, 392, 393, 400, 401, 404, 411, 413, 414, 416, 418, 419, 421, 422, 428, 431, 432, 437, 438, 439, 440, 442, 443 및 444; Kabat 등의 EU 색인에 따름(1991, NIH Publication 91- 3242, National Technical Information Service, Springfield, VA, 이하 "Kabat").
- [0261] 어떤 구체예에서, IgG 중쇄의 다음 위치들 중 어떠한 조합에 있는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스템인 잔기로 대체된다: 40, 43, 84, 88, 103, 112, 113, 114, 115, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 161, 168, 172, 234, 235, 237, 239, 246, 249, 265, 267, 269, 270, 276, 278, 282, 283, 284, 287, 289, 292, 293, 297, 298, 299, 300, 302, 303, 312, 314, 315, 318, 320, 324, 326, 327, 330, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 339, 345, 347, 354, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 370, 373, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 398, 390, 392, 393, 400, 401, 404, 411, 413, 414, 416, 418, 419, 421, 422, 428, 431, 432, 437, 438, 439, 440, 442, 443 및 444; 넘버링은 Kabat의 EU 색인에 따른다.
- [0262] 어떤 구체예에서, Kabat의 EU 색인에 따라, IgG 램다 경쇄의 다음 위치들 중 어떠한 하나 또는 그 이상에 있는 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스템인 잔기로 대체된다: 7, 15, 20, 22, 25, 43, 110, 111, 125, 144, 149, 155, 158, 161, 168, 185, 188, 189, 191, 197, 205, 206, 207, 208 및 210.
- [0263] 어떤 구체예에서, Kabat의 EU 색인에 따라, IgG 램다 경쇄의 다음 위치들 중 어떠한 하나 또는 그 이상에 있는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스템인 잔기로 대체된다: 7, 15, 20, 22, 25, 43, 110, 111, 125, 144, 149, 155, 158, 161, 168, 185, 188, 189, 191, 197, 205, 206, 207, 208 및 210.
- [0264] 어떤 구체예에서, Kabat의 EU 색인에 따라, IgG 카파 경쇄의 다음 위치들 중 어떠한 하나 또는 그 이상에 있는 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스템인 잔기로 대체된다: 7, 15, 20, 22, 25, 43, 110, 111, 144, 168, 183 및 210.
- [0265] 어떤 구체예에서, Kabat의 EU 색인에 따라, IgG 카파 경쇄의 다음 위치들 중 어떠한 하나 또는 그 이상에 있는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스템인 잔기로 대체된다: 7, 15, 20, 22, 25, 43, 110, 111, 144, 168, 183 및 210.
- [0266] 어떤 구체예에서, 항체는 분리된다. 분리된 항체는 확인되었고 그것의 천연 환경의 성분으로부터 분리되고 및/또는 회수된 항체를 말한다. 어떤 구체예에서, 항체는 실질적으로 순수하다. 용어 "실질적으로 순수한"은 적어도 50% 순수한(즉 오염물이 없는), 보다 바람직하게는 적어도 90% 순수한, 보다 바람직하게는 적어도 95% 순수한, 보다 바람직하게는 적어도 98% 순수한, 보다 바람직하게는 99% 순수한 물질을 말한다. 어떤 구체예에서, 항체는 단클론성 항체이다. 어떤 구체예에서, 항체는 인간화된 항체이다. 어떤 구체예에서, 항체는 키메라 항체이다. 어떤 구체예에서, 항체는 인간 항체이다. 어떤 구체예에서, 항체는 IgG(예컨대 IgG₁, IgG₂ 또는 IgG₄)이다. 어떤 구체예에서, 항체는 인간 IgG₁과 같은 인간 IgG이다.
- [0267] 본원에 기술된 항체는 공유 부착이 항체의 항원 결합 면역특이성을 유지하는 것을 허용하는 한, 어떠한 유형의 분자의 공유 부착에 의해 변형되는 유사체 및 유도체를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어 항체의 유도체와 유사체는 예컨대 글리코실화, 아세틸화, 페길화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호/차단제에 의한 유도체화, 단백질 가수분해성 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에의 연쇄 등에 의해 추가로 변형된 것들을 포함한다. 화학적 변형은 공지된 기법들, 이를테면, 그것들에 한정되는 것은 아니지만 특이한 화학적 절단, 아세틸화, 제형 등에 의해 수행될 수 있다. 추가로, 유사체 또는 유도체는 하나 또는 그 이상의 비자연 아미노산을 함유할 수 있다.
- [0268] 어떤 구체예에서, 식 (I) 내지 (V)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 항체 표적

화 부분 T는 약물 부분과 부분적으로 포함된 항체여서, 그것은 추가의 약물 부분에 더 연결될 수 있다. 그러므로 어떤 구체예에서, 식 (I)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체는 식 (Ia) 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, 식 (II)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체는 식 (IIa) 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 포함하는 것으로 의도되고; 식 (III)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체는 식 (IIIa) 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 포함하는 것으로 의도되며; 식 (IV)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체는 식 (IVa) 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 포함하는 것으로 의도되고; 식 (V)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체는 식 (Va) 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 포함하는 것으로 의도된다.

[0269]

본원에 기술된 항체는 암세포에 면역특이적인 항체들 또는 암 치료를 위한 항체를 포함할 수 있다. 암세포 항원에 면역특이적인 항체의 제조 방법은 해당 기술분야에 공지되어 있다. 항체들은 다음 중 어느 것을 포함할 수 있다: 항-HER2 항체, 예컨대 인간화된 항-HER2 항체(예컨대 HERCEPTIN (트라스투주맙; Genentech, CA)), 항-CD20 항체, 예컨대 키메릭 항-CD20 단클론성 항체(예컨대 RITUXAN (리투시맙; Genentech)), OvaRex(AltaRex Corporation, MA), Panorex(Glaxo Wellcome, NC), BEC2(ImClone Systems Inc., NY), IMC-C225(ImClone Systems Inc., NY), Vitaxin(MedImmune, Inc., MD), Campath I/H(Leukosite, MA), Smart MI95(Protein Design Labs, Inc., CA), LymphoCide(Immunomdics, Inc., NJ), Smart ID10(Protein Design Labs, Inc., CA), Oncolym(Techniclone, Inc., CA), 항-CD2 항체, 예컨대 인간화된 항-CD2 mAb(예컨대 Allomune (BioTransplant, CA)), 항-VEGF 항체, 예컨대 인간화된 항-VEGF 항체(예컨대, 베바시주맙(Genentech, Inc., CA)), CEAcide(Immunomedics, NJ), 항-KDR 항체, 예컨대 항-KDR 키메릭 항체(예컨대, IMC-1C11(ImClone Systems, NJ)), 항-EGFR 항체, 예컨대 항-EGFR 키메릭 항체(예컨대 세톡시맙(ImClone, NJ)), BR96 mAb(Trail, P.A. et al., Science 1993, 261, 212-215), BR64(Trail, P A et al., Cancer Research 1997, 57, 100-105), 항-CD30 항체 및 CD40 항원에 대한 mAb, 예컨대 S2C6 mAb. 항체는 추가로 다음 항원들 중 어느 것에 대한 항체를 포함할 수 있다: CA125, CA15-3, CA19-9, L6, Lewis Y, Lewis X, 알파 태아단백질, CA 242, 탄산 탈수 효소 IX(CAIX / CA9), CA6, 크립토, 메소텔린, αv-인티그린, LIV-1(SLC39A6 또는 ZIP6으로도 알려져 있다), SLC44A4(AGS-5), 구아닐릴 사이클라제 C(GCC), ENPP3, FOLR1, EGFRvIII, MUC16, 내피 수용체 ETB(ETBR), NaPi2b(나트륨-의존성 포스페이트 수송 단백질 2b, SLC34A2로도 알려져 있다), 전립선-특이적 막 항원(PSMA), 5T4, STEAP1, Nectin-4, GPNMB, 내피 세포 부착 분자(EpCAM), EphA2, 플레이트 수용체 알파(FRA), CanAg, 인간 비-근육 미오신 중쇄 유형 A(nmMHCA), SLITRK6, T 세포 면역글로불린 및 뮤신 도메인 1(TIM-1, HAVCR1으로도 알려져 있다), 조직 인자(TF), 태반 알칼리성 포스파타제, 전립선 특이적 항원, 전립선 산 포스파타제, 내피 성장 인자, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, 항-트랜스페린 수용체, p97, MUC1-KLH, CEA, gp100, MART1, PSA, IL-2 수용체, CD20, CD52, CD33, CD22, CD138(Syndecan-1), CD79b, CD74, CD70, CD56, CD37, CD19, 암태아성 항원-관련 세포 부착 분자 5(CEACAM5, CD66e로도 알려져 있다), 내피 당단백질-1(EGP-1, TROP2, TACSTD2, GA733-1, M1S1으로도 알려져 있다), 인간 용모성 고키나드트로핀, CD38, CD40, 뮤신, P21, MPG 및 Neu 발암유전자 생성물.

[0270]

본원에 기술된 항체는 추가로 활성화된 림프구 상에 발현된 수용체 또는 수용체 복합체 둘 다에 결합할 수 있는 항체들을 포함할 수 있다. 수용체 또는 수용체 복합체는 면역글로불린 유전자 슈퍼패밀리 구성원, TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원, 인티그린, 사이토킨 수용체, 케모카인 수용체, 주요 조직부합성 단백질, 렉틴 또는 보체 조절 단백질을 포함할 수 있다. 적당한 면역글로불린 슈퍼패밀리 구성원의 비-제한적인 예시는 CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD22, CD28, CD79, CD90, CD152/CTLA-4, PD-1 및 ICOS이다. 적당한 TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원의 비-제한적인 예시는 CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, TNF-R1, TNFR-2, RANK, TACI, BCMA, 오스테오프로티그린, Apo2/TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4 및 APO-3이다. 적당한 인티그린의 비-제한적인 예시는 CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD41, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD103 및 CD104이다. 적당한 렉틴의 비-제한적인 예시는 C-형, S-형 및 I-형 렉틴이다. 본원에 기술된 항체들은 추가로 바이러스 또는 미생물 항원에 면역특이적인 항체들을 포함한다. 바이러스 항원은 다음 중 어느 것을 포함할 수 있다: 바이러스 펩티드, 면역 반응을 유도할 수 있는 폴리펩티드 단백질(예컨대 HIV gp120, HIV nef, RSV F 당단백질, 인플루엔자 바이러스 뉴라미니다제, 인플루엔자 바이러스 헤마글루티닌, HTLV 택스, 단순 포진 바이러스 당단백질(예컨대 gB, gC, gD 및 gE) 및 B형 간염 표면 항원). 미생물 항원은 다음 중 어느 것을 포함할 수 있다: 미생물 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 당, 다당 또는 면역 반응을 유도할 수 있는 지질 분자(예컨대 박테리아, 진균, 병원성 프로토조아 또는 예컨대 LPS 및 캡슐형 다당 5/8을 포함한 효모 폴리펩티드).

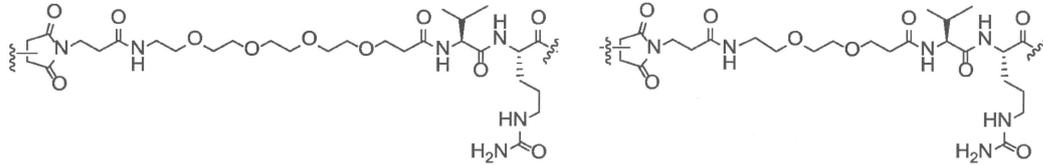
[0271]

표적화 부분(예컨대 항체, 폴리펩티드, 펩티드 또는 비-펩티드성 부분)의 제조 방법은 해당 기술분야에 공지되어 있는데, 예를 들면 미국 특허 제 7,674,605호, 제 7,982,017호, PCT/US2007/013587(공개 번호 WO

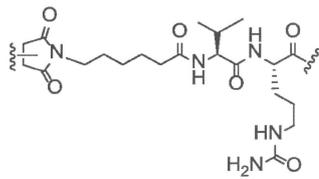
2007/146172) 또는 PCT/US2008/087515(공개 번호 WO 2009/079649)에 기술되어 있는 방법들이 있다.

[0272] 대표적인 링커

[0273] 특정 경우에, 식 (I), (Ia), (II) 또는 (IIa)의 화합물에서 "-A-L⁴-L³-L²-" 또는 "-A-L⁴-L³-" 부분은 다음과 같다:

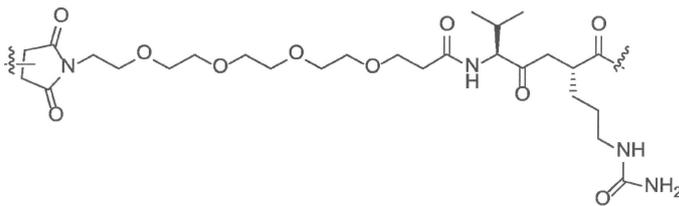


[0274]



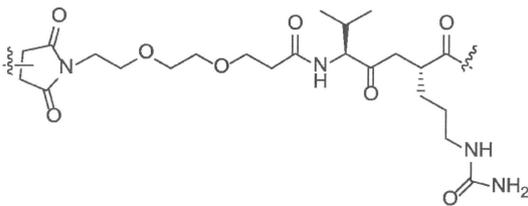
[0275] 또는 이다.

[0276] 특정 경우에, 식 (I), (Ia), (II) 또는 (IIa)의 화합물에서 "-A-L⁴-L³-L²-" 또는 "-A-L⁴-L³-" 부분은 다음과 같다:



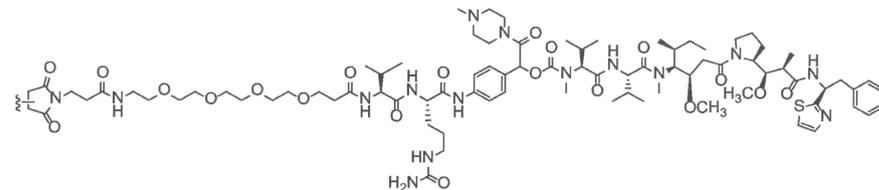
[0277]

[0278] 특정 경우에, 식 (I), (Ia), (II) 또는 (IIa)의 화합물에서 "-A-L⁴-L³-L²-" 또는 "-A-L⁴-L³-" 부분은 다음과 같다:



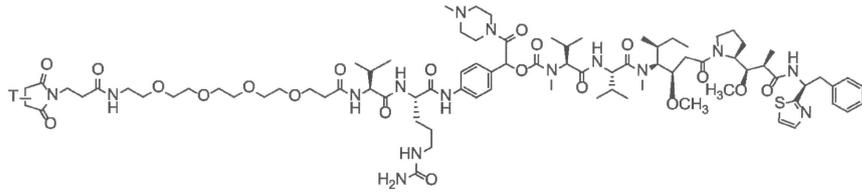
[0279]

[0280] 특정 경우에, 식 (I), (Ia), (II) 또는 (IIa)의 화합물에서 "-A-L⁴-L³-L²-" 또는 "-A-L⁴-L³-" 부분은 다음과 같다:



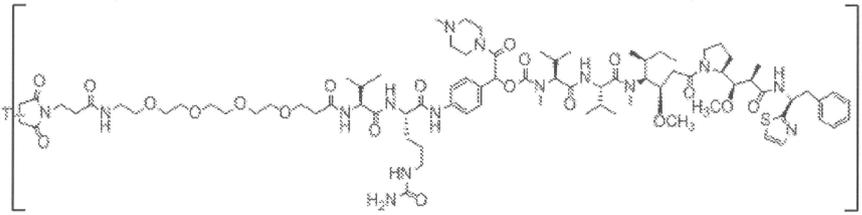
[0281]

[0282] 그런 경우에, 본 발명은 다음 식 (III)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



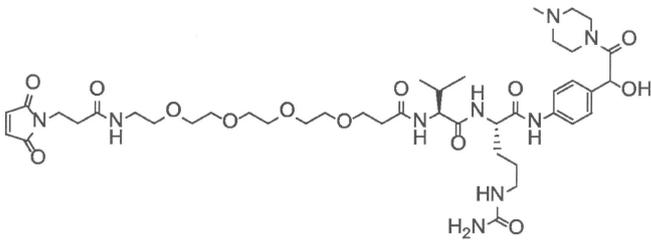
[0283] (III)(상기 식에서, T는 표적화 부분이다). 특정 경우에, 식 (III)에서, T는 항체이다. 특정 구체예에서, 항체는 h5F1Ca.1 또는 c5D7이다.

[0284] 어떤 구체예에서, 다음 식 (IIIa)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체가 제공된다:



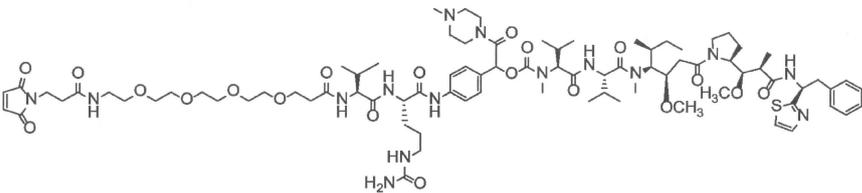
[0285] (식에서, T는 표적화 부분이고 p는 1 내지 20이다). 어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2이다. 어떤 구체예에서, p는 3이다. 어떤 구체예에서, p는 4이다. 어떤 경우에, 식 (IIIa)에서, T는 항체이고, 항체에서, 임의로 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다. 특정 구체예에서, 항체는 h5F1Ca.1, 또는 c5D7, 또는 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 h5F1Ca.1 또는 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 c5D7이다.

[0286] 특정 구체예에서, 본 발명은 식 (I)의 화합물의 합성을 위한 중간체를 제공한다. 본 발명은 다음 식 (VI)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물을 제공한다:



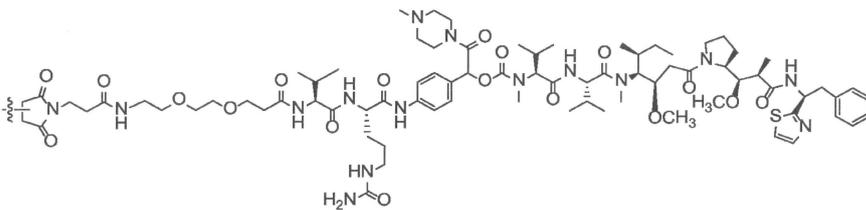
[0287] (VI)

[0288] 본 발명은 다음 식 (IX)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물을 제공한다:



[0289] (IX)

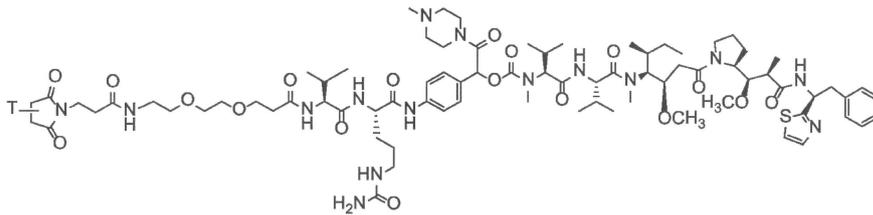
[0290] 특정 경우에, 식 (I), (Ia), (II) 또는 (IIa)의 화합물에서 "-A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D" 부분은 다음과 같다:



[0291]

[0292]

그런 경우에, 본 발명은 다음 식 (IV)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



(IV)

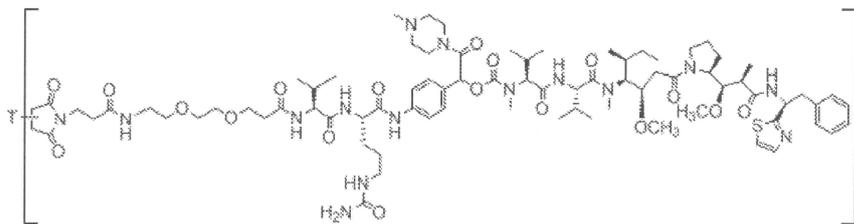
[0293]

[0294]

(상기 식에서, T는 표적화 부분이다). 특정 경우에, 식 (IV)에서, T는 항체이다. 특정 구체예에서, 항체는 h5F1Ca.1 또는 c5D7이다.

[0295]

어떤 구체예에서, 다음 식 (IVa)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체이성질체가 제공된다:



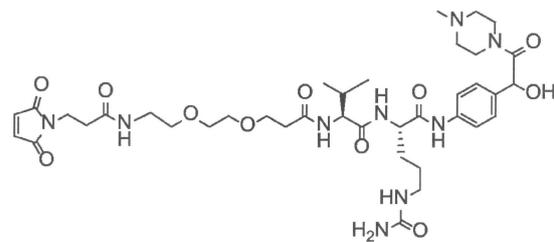
(IVa)(식에서, T는 표적화 부분이고 p는 1 내지 20이다).

[0296]

어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2이다. 어떤 구체예에서, p는 3이다. 어떤 구체예에서, p는 4이다. 특정 경우에, 식 (IVa)에서, T는 항체이고, 항체에서, 임의로 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다. 특정 구체예에서, 항체는 h5F1Ca.1, 또는 c5D7, 또는 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 h5F1Ca.1 또는 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 c5D7이다.

[0297]

특정 구체예에서, 본 발명은 식 (I) 또는 (Ia)의 화합물의 합성을 위한 중간체를 제공한다. 본 발명은 다음 식 (VII)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물을 제공한다:

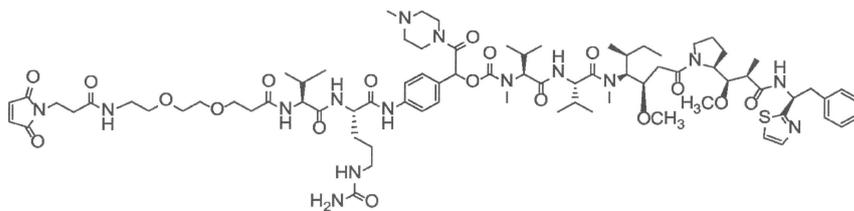


(VII)

[0298]

[0299]

본 발명은 다음 식 (X)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물을 제공한다:

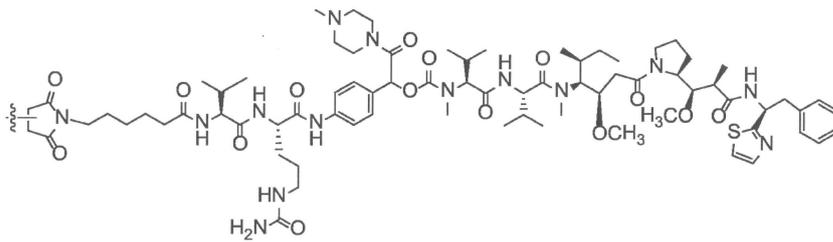


(X)

[0300]

[0301]

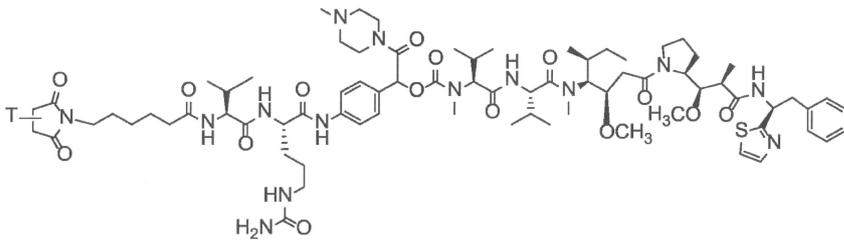
특정 경우에, 식 (I), (Ia), (II) 또는 (IIa)의 화합물에서 "-A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D" 부분은 다음과 같다:



[0302]

[0303]

그런 경우에, 본 발명은 다음 식 (V)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



(V)

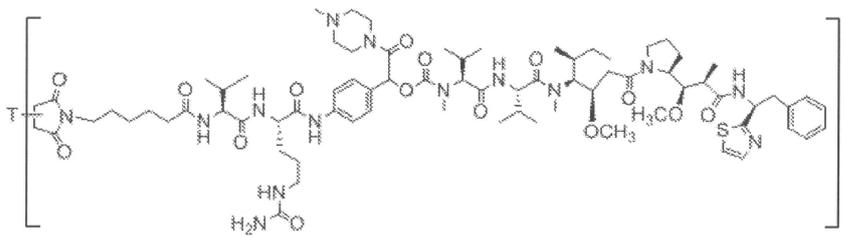
[0304]

[0305]

(식에서 T는 표적화 부분이다). 특정 경우에, 식 (V)에서, T는 항체이다. 특정 구체예에서, 항체는 h5F1Ca.1 또는 c5D7이다.

[0306]

어떤 구체예에서, 다음 식 (Va)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체가 제공된다:



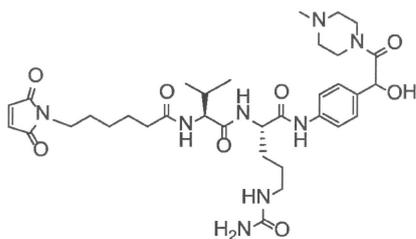
(Va) (식에서, T는 표적화 부분이고 p는 1 내지 20이다).

[0307]

어떤 구체예에서, p는 1 내지 8이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 6이다. 어떤 구체예에서, p는 1 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2 내지 4이다. 어떤 구체예에서, p는 1, 2, 3 또는 4이다. 어떤 구체예에서, p는 2이다. 어떤 구체예에서, p는 3이다. 어떤 구체예에서, p는 4이다. 특정 경우에, 식 (Va)에서, T는 항체이고, 항체에서, 임의로 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다. 특정 구체예에서, 항체는 h5F1Ca.1, 또는 c5D7, 또는 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 h5F1Ca.1 또는 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 c5D7이다.

[0308]

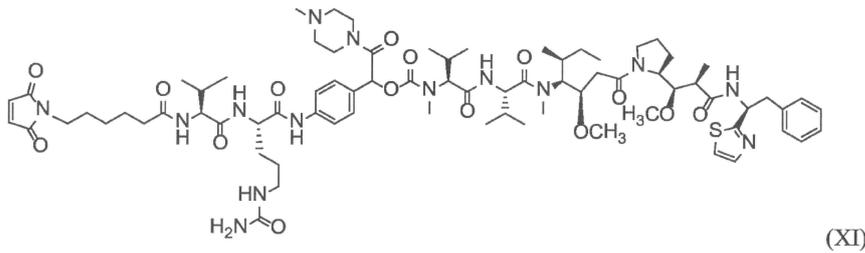
특정 구체예에서, 본 발명은 식 (I)의 화합물의 합성을 위한 중간체를 제공한다. 본 발명은 다음 식 (VIII)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물을 제공한다:



(VIII)

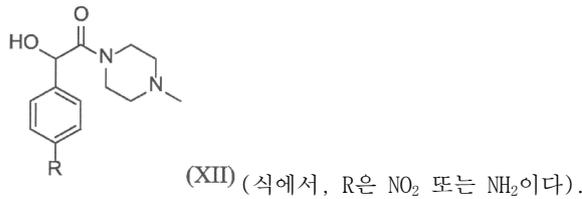
[0309]

[0310] 본 발명은 다음 식 (XI)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물을 제공한다:



[0311]

[0312] 본 발명은 다음 식 (XII)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



[0313]

[0314] 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물들은 약학적으로 허용되는 염으로서 제조 및/또는 제형될 수 있다. 약학적으로 허용되는 염은 자유 염기의 원하는 약리학적 활성을 가진 화합물의 자유 염기 형태의 비-독성 염이다. 이들 염은 무기 또는 유기산으로부터 유도될 수 있다. 약학적으로 허용되는 염의 비-제한적인 예는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 포스페이트, 일수소-포스페이트, 이수소포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트, 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 아이소부티레이트, 카프로에이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바세이트, 푸마레이트, 말레에이트, 부탄-1,4-다이오에이트, 헥신-1,6-다이오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 다이니트로벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 설포네이트, 메틸설포네이트, 프로필설포네이트, 베실레이트, 자일렌설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, γ-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 타타레이트 및 만델레이트를 포함한다. 약학적으로 허용되는 다른 적당한 염의 목록은 문헌: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th Edition, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985에서 찾아볼 수 있다.

[0315] 기본 질소를 함유하는 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va) 중 어느 하나의 화합물에 대해, 약학적으로 허용되는 염은 해당 기술분야에서 활용할 수 있는 어떠한 적당한 방법, 예를 들면 자유 염기를 무기 산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 설페산, 질산, 붕산, 인산 등으로, 또는 유기산, 예컨대 아세트산, 페닐아세트산, 프로피온산, 스테아르산, 락트산, 아스코르브산, 말레산, 하이드록시말레산, 이세티논산, 석신산, 말레르산, 푸마르산, 말론산, 피루브산, 옥살산, 글리콜산, 살리실산, 올레산, 팔미트산, 라우르산, 피라노시딜산, 예컨대 글루쿠론산 또는 갈락투론산, 알파-하이드록시산, 예컨대 만델산, 시트르산 또는 타타르산, 아미노산, 예컨대 아스파르트산 또는 글루탐산, 방향족 산, 예컨대 벤조산, 2-아세톡시벤조산, 나프토산 또는 신남산, 설페산, 예컨대 라우릴설페산, p-톨루엔설페산, 메탄설페산 또는 에탄설페산, 또는 본원에 예시로서 주어진 것들과 같은 산들의 어떠한 부합하는 혼합물, 및 이 기법에서 통상적인 기술 수준으로 볼 때 등가물 또는 허용되는 치환체로서 간주되는 어떠한 다른 산 및 그것의 혼합물로 처리됨으로써 제조될 수 있다.

[0316] 또한 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 하나 또는 그 이상의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 포함하는 조성물이 제공된다. 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체에서, 표적화 부분은 약물 부분에 연결하기 위한 하나 또는 그 이상의 부착 부위를 가질 수 있다. 표적화 부분의 부착 부위의 접근가능성 및 포함체를 형성할 때 약물 부분의 상대적인 농도에 따라, 부착 부위의 부분은 형성된 포함체에서 약물 부분에 결합되지 않을 수 있다. 각 표적화 부분에 다양한 수의 약물 부분을 가지는 화합물들의 혼합물이 형성될 수 있다. 그러므로 또한, 식 (Ia) 내지 (Va)의 하나 또는 그 이상의 화합물, 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 포함하는 조성물이 제공된다. 예를 들어 4개의 부착 부위를 가지는 표적화 분자에 대해, 조성물은 p가 1인 식 (Ia)의 화합물, p가 2인 식 (Ia)의 화합물, p가 3인 식 (Ia)의 화합물 및 p가 4인 식 (Ia)의 화합물로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화합물을 포함할 수 있다. 조성물에서 화합물들의 상대적인 양은 약물 부분과 표적화 부분 사이의 바람직

한 비율을 이루도록 조정될 수 있다. 어떤 구체예들에서, 조성물은 화합물들 중 하나 또는 두 개를 주로 포함한다.

[0317] 발명의 화합물 또는 조성물 중의 "약물-항체 비율"(DAR)은 화합물 또는 조성물 중의 약물 부분과 화합물 또는 조성물 중의 항체들 사이의 몰비율로서 정의된다. 항체가 하나 이상의 부착 부위를 가지는 경우에, 하나 이상의 약물 부분이 각 항체에 연결될 수 있다. 어떤 경우에, 하나 이상의 항체-약물 포함체(ADC) 분자를 포함하는 혼합물이 얻어진다. 항체-약물 포함체의 약물-항체 비율은 해당 기술분야에 공지되어 있는 분석적 방법들, 예를 들면 문헌: Jeffrey, et al., *Bioconjug. Chem.* 24(7):1256-1263 (2013); and Sun et al., *Bioconjug. Chem.* 16(5):1282-1290 (2005)에 기술되어 있는 것과 같은 방법들에 의해 측정될 수 있다. 어떤 구체예에서, 본원에 상세하게 기술된 하나 또는 그 이상의 ADC를 포함하는 조성물은 약 0.5 내지 약 6, 약 1 내지 약 5, 약 1 내지 약 4, 약 1.5 내지 약 3.5 또는 약 2 내지 약 4의 평균 DAR을 가진다. 바람직한 어떤 구체예에서, 조성물은 약 1.5 내지 약 3.5 또는 약 2 내지 약 3, 또는 약 2 또는 약 3의 평균 DAR을 가진다. 다른 바람직한 어떤 구체예에서, 조성물은 약 2.5±10%의 평균 DAR을 가진다. 어떤 구체예에서, 표적화 항체는 시스테인 공학처리된 부착 부위를 함유하고 조성물은 약 2.0의 평균 DAR을 가진다.

[0318] 약학적 조성물

[0319] 치료 목적에 대해, 구체예들의 약학적 조성물은 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 적어도 하나의 화합물, 또는 그것의 약학적으로 허용되는 염을 포함한다. 약학적 조성물은 추가로 하나 또는 그 이상의 약학적으로 허용되는 부형제 또는 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 부형제는 비-독성이고, 그렇지 않으면 대상에 투여하기에 생물학적으로 적당한 물질이다. 그런 부형제는 본원에 기술된 화합물들의 투여를 용이하게 하고 활성 성분과 부합한다. 약학적제로 허용되는 부형제의 예시로는 안정화제, 윤향제, 계면활성제, 희석제, 항-산화제, 결합제, 착색제, 벌크화제, 유화제 또는 맛-변형제를 포함한다. 바람직한 어떤 구체예에서, 구체예들에 따르는 약학적 조성물은 멸균 조성물이다. 약학적 조성물은 공지된 또는 해당 기술분야의 숙련자들이 활용할 수 있게 되는 합성 기법들을 사용하여 제조될 수 있다.

[0320] 멸균 조성물은 또한 그런 조성물을 관리하는 연방 및 지방 규제에 따르는 조성물들을 포함하여, 구체예들에 의해 고려될 수 있다.

[0321] 본원에 기술된 약학적 조성물 및 화합물들은 다양한 단위용량 형태를 제조하기 위해 해당 기술분야에 공지되어 있는 종래 방법들에 따라 고체 담체들과 함께, 용액, 에멀션, 현탁액, 분산액 또는 봉입 복합체, 예컨대 적당한 약학적 용매 또는 담체 중의 사이클로덱스트린, 또는 환, 정제, 당의정, 좌제, 사제, 드라제, 과립, 분말, 재구성용 분말 또는 캡슐로서 제형될 수 있다. 구체예들의 약학적 조성물은 적당한 전달 경로에 의해, 예컨대 경구, 비경구, 직장, 비강, 국소 또는 눈 경로에 의해, 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다. 바람직하게는 조성물은 정맥내 또는 경구 투여를 위해 제형된다.

[0322] 경구 투여를 위해, 구체예들의 화합물은 고체 형태, 예컨대 정제 또는 캡슐로, 또는 용액, 에멀션 또는 현탁액으로서 제공될 수 있다. 경구용 조성물을 제조하기 위하여, 구체예들의 화합물은 예컨대 매일 약 0.01 내지 약 50 mg/kg, 또는 매일 약 0.05 내지 약 20 mg/kg 또는 매일 약 0.1 내지 약 10 mg/kg의 단위용량을 생성하도록 제형될 수 있다. 경구용 정제는 희석제, 붕괴제, 결합제, 윤향제, 감미제, 풍미제, 착색제 및 보존제와 같은 부합되는 약학적으로 허용되는 부형제와 혼합된 활성 성분(들)을 포함할 수 있다. 적당한 비활성 충전제는 나트륨 및 칼슘 카보네이트, 나트륨 및 칼슘 포스페이트, 락토스, 전분, 당, 글루코스, 메틸 셀룰로스, 마그네슘 스테아레이트, 만니톨, 솔비톨 등을 포함한다. 예시적인 액체 경구용 부형제로는 에탄올, 글리세롤, 물 등을 포함한다. 전분, 폴리비닐-피롤리돈(PVP), 나트륨 전분 글리콜레이트, 미정질 셀룰로스 및 알긴산은 예시적인 붕괴제이다. 결합제는 전분 및 젤라틴을 포함할 수 있다. 윤향제는, 존재한다면, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 탈크일 수 있다. 필요하다면, 정제는 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 다이스테아레이트와 같은 물질로 코팅되어 위장관에서의 흡수를 지연시킬 수 있거나, 또는 장용 코팅으로 코팅될 수 있다.

[0323] 경구 투여용 캡슐은 경질 및 연질 젤라틴 캡슐을 포함한다. 경질 젤라틴 캡슐을 제조하기 위하여, 활성 성분(들)이 고체, 반-고체 또는 액체 희석제와 혼합될 수 있다. 연질 젤라틴 캡슐은 활성 성분을 물, 오일, 예컨대 땅콩 오일 또는 올리브유, 액체 파라핀, 짙은 사슬 지방산들의 모노 및 다이-글리세라이드의 혼합물, 폴리에틸렌 글리콜 400 또는 프로필렌 글리콜과 혼합시킴으로써 제조될 수 있다.

[0324] 경구 투여용 액체는 현탁액, 용액, 에멀션 또는 시럽의 형태일 수 있거나, 또는 물 또는 다른 적당한 비휘발성 사용 전에 재구성될 수 있는 건조 생성물로서 동결건조되거나 제공될 수 있다. 그런 액체 조성물은 임의로 약학

적으로 허용되는 부형제, 예컨대 현탁제(예를 들면 솔비톨, 메틸 셀룰로스, 나트륨 알긴산염, 젤라틴, 하이드록시에틸셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스, 알루미늄 스테아레이트 겔 등); 비-수성 비히클, 예컨대 오일(예를 들면 아몬드유 또는 분별중류된 코코넛유), 프로필렌 글리콜, 에틸 알코올 또는 물; 보존제(예를 들면 메틸 또는 프로필 p-하이드록시벤조에이트 또는 소르브산); 습윤제, 예컨대 레시틴; 및 필요에 따라 풍미제 또는 착색제를 함유할 수 있다.

[0325] 구체예들의 조성물은 좌제로서 직장 투여를 위해 제형될 수 있다. 정맥 내, 근육 내, 복강 내, 비강 내 또는 피하 경로를 포함하여 비경구로 사용하기 위하여, 구체예들의 제제는 적절한 pH 및 등장성으로 완충되거나 비경구적으로 허용되는 오일 중에 완충된 멸균 수용액 또는 현탁액으로 제공될 수 있다. 적당한 수성 비히클은 링커액 및 등장성 염화 나트륨을 포함한다. 그런 형태는 앰플 또는 일회용 주사 장치와 같은 단위-용량 형태로, 적절한 용량을 빼낼 수 있는 바이알과 같은 다중-용량 형태로, 또는 주사용 제형을 제조하기 위해 사용될 수 있는 고체 형태 또는 사전-농축물로 제공될 수 있다. 예시적인 주입 용량 범위는 수분 내지 수일 범위의 기간에 걸쳐 약학적 담체와 혼합상태인 제제의 1 내지 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ /분의 범위이다.

[0326] 비강, 흡입 또는 경구 투여를 위해서는, 구체예들의 약학적 조성물은 예를 들면 적당한 담체를 또한 함유하는 스프레이 제형을 사용하여 투여될 수 있다.

[0327] 국소 적용을 위해서는, 구체예들의 화합물은 바람직하게는 크림 또는 연고 또는 국소 투여에 적당한 유사한 비히클로서 제형된다. 국소 투여를 위해서, 발명의 화합물들은 약학적 담체와 약 0.1% 내지 약 10% 농도의 약물과 비히클에 혼합될 수 있다. 구체예들의 제제를 투여하는 다른 방식은 경피 전달을 이루기 위한 패치 제형을 활용할 수 있다.

[0328] 본 발명은 세포를 사멸하기에 충분한 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물의 양을 세포에 투여하는 것을 포함하는, 세포의 사멸방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 세포는 암세포이다. 특정 구체예에서, 암세포는 위암 세포, 췌장암 세포, 대장암 세포, 폐암 세포 또는 난소암 세포이다.

[0329] 다른 측면으로, 본 발명은 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, 치료의 필요가 있는 개체의 암을 치료하는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 암세포는 위암 세포, 췌장암 세포, 대장암 세포, 폐암 세포 또는 난소암 세포이다.

[0330] 키트

[0331] 본 발명은 암의 치료 또는 방지에 유용한 식 (I) 내지 (V) 또는 (Ia) 내지 (Va)의 화합물을 포함하는 하나 또는 그 이상의 용기를 포함하는 약학적 팩 또는 키트를 제공한다. 키트는 추가로 암 치료에 사용하기 위한 지시사항을 포함할 수 있다.

[0332] 본 발명은 또한 본 구체예의 약학적 조성물의 하나 또는 그 이상의 성분을 포함하는 하나 또는 그 이상의 용기를 포함하는 약학적 팩 또는 키트를 제공한다. 약물 또는 생물학적 제품의 제조, 용도 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 처방된 형태의 주의사항이 임의로 그런 용기(들)에 포함될 수 있고, 그 주의사항은 제조기관에 의한 승인, 인간 투여를 위한 용도 또는 판매를 반영한다.

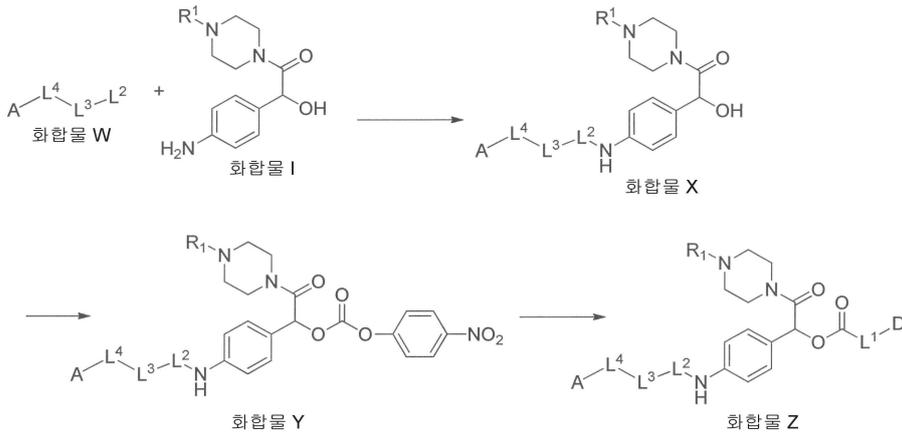
[0333] 약물 포함체의 합성

[0334] 구체예들은 또한 본 발명의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제조하는 데 유용한 방법 및 중간체들에 관련된다.

[0335] 통상적으로 공지된 화학적 합성 계획도 및 개시된 화합물을 합성하기에 유용한 조건들을 제공하는 많은 일반적인 참고문헌들이 활용가능하다(예컨대 Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Fifth Edition, Wiley-Interscience, 2001 참조).

[0336] 본원에 기술된 것과 같은 화합물들은 해당 기술분야에 공지되어 있는 수단들, 이를테면 크로마토그래피 수단, 예컨대 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 제조용 박막 크로마토그래피, 플래쉬 칼럼 크로마토그래피 및 이온 교환 크로마토그래피중 어느 것에 의해 정제될 수 있다. 정상 및 역상뿐 아니라 이온 수지를 포함하여 어떠한 적당한 정지상이 사용될 수 있다. 가장 전형적으로, 개시된 화합물들은 실리카 겔 및/또는 알루미늄 크로마토그래피를 통해 정제된다. 예컨대 Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2nd ed., ed. L. R. Snyder and J. J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; and Thin Layer Chromatography, E. Stahl (ed.), Springer-Verlag, New York, 1969 참조.

[0347] 계획도 4



[0348]

[0349]

계획도 4를 참조하면, 화합물 I은 본 구체예들의 화합물에 친수성 자기-희생 링커 부분을 제공한다. 화합물 I의 아미노기는 표준 펩티드 커플링 조건을 통해 화합물 W와 반응하여 화합물 X를 생성할 수 있다. DIEA 또는 해당 기술분야의 숙련자에게 친숙한 다른 염기와 같은 염기의 존재 하에 적절한 용매 중에서 EDCI/HOBt, HOBt, PyBOP, HATU 또는 BEM(Carpino, L. A. J. Am. Chem. Soc. 1993, 115, 4397. Carpino, L. A.; El-Faham, A. J. Am. Chem. Soc. 1995, 117, 5401. Li, P.; Xu, J. C. J. Pept. Res. 2001, 58, 129)과 같은 시약이 사용될 수 있다.

[0350]

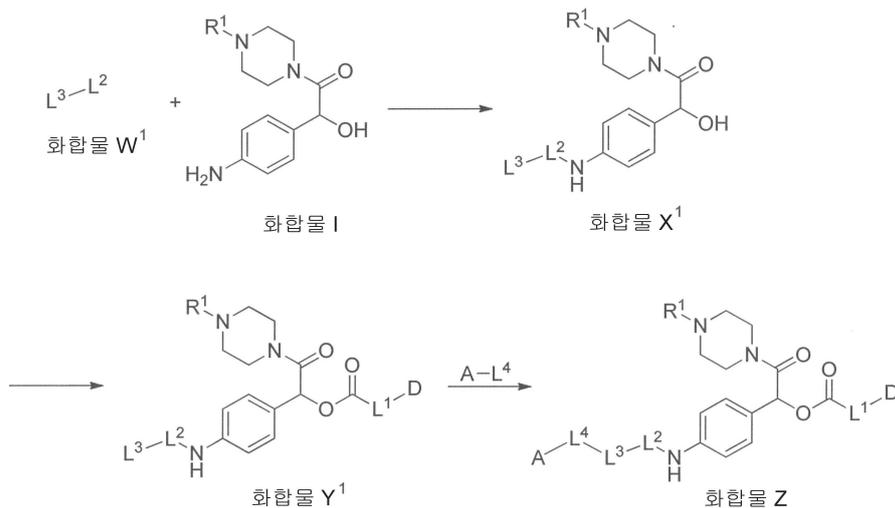
계속해서 계획도 4를 참조하면, 화합물 X의 하이드록실기는 4-니트로페닐 클로로포메이트를 사용하여 활성화된 카보네이트로 전환된다. 화합물 Y를 보면, 아미노기를 가지는 약물과의 반응으로 화합물 Z를 생성할 수 있다. 만약 약물이 아미노기를 함유하지 않으면, 두 번째, 중간 자기-희생 스페이서 또는 고리화 자기-제거 링커는 상기에서 논의된 것과 같이, 약물 부분과 아미노벤질옥시카보닐기 사이에 위치할 수 있다.

[0351]

특정 구체예에서, 아래의 계획도 5를 참조하면, 링커의 -L³-L²- 부분은 화합물 I에 부착된다. 그런 다음 -A-L⁴-부분이 부착된다.

[0352]

계획도 5



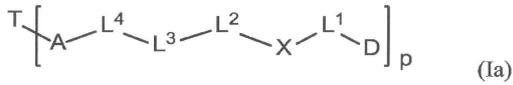
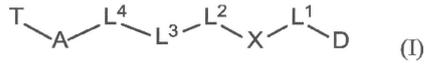
[0353]

[0354]

본 구체예들의 화합물의 제조 방법은 원충액 중에 항체의 용액을 제조하고 환원제, 예컨대 TCEP의 용액으로 처리하는 것을 포함한다. 자유 티올의 양은 측정된다. 자유 티올의 양이 예정된 양에 도달할 때, 부분적으로 환원된 항체는 링커-약물 부분으로 알킬화된다.

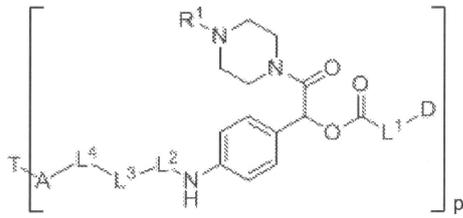
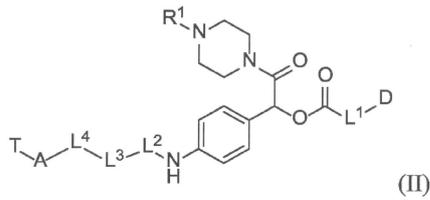
[0355]

어떤 구체예에서, 표적화 부분 T를 포함하는 화합물을 식: A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D의 화합물로 처리하는 것을 포함하는, 식 (I) 또는 (Ia)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법이 제공된다:

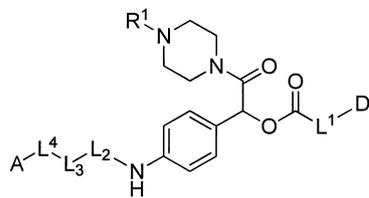


(상기 식에서, D, T, X, L¹, L², L³, L⁴, A 및 p는 적용되는 경우, 식 (I) 또는 (Ia)에 대해 정의된 것과 같다). 어떤 구체예에서, 그 방법에 의해 제조되는 화합물이 제공된다. 추가로 그 방법에 의해 제조된 하나 또는 그 이상의 화합물을 포함하는 조성물이 제공된다.

어떤 구체예에서, 다음 식 (II) 또는 (IIa)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체:

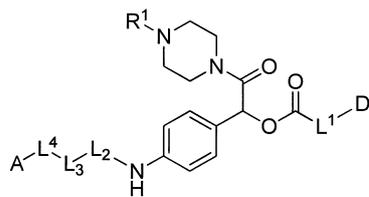


(II) 또는 (IIa)에 대해 정의된 것과 같다)의 제조방법이 제공되는데, 그 방법은 하나 또는 그 이상의 자유 티올(또는 설피하이드릴기)을 포함하는 항체를 화합물 Z와 반응시키는 것을 포함한다:

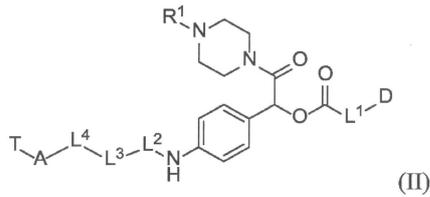


(화합물 Z). 어떤 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 자유 티올(또는 설피하이드릴기)을 포함하는 항체는 h5F1Ca.1 또는 c5D7이다. 어떤 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 자유 티올(또는 설피하이드릴기)을 포함하는 항체는 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 h5F1Ca.1 또는 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체된 c5D7이다. 어떤 구체예에서, 그 방법은 본원에 상세하게 설명된 것과 같이 화합물 Z를 유도하는 하나 또는 그 이상의 합성 중간체(예컨대 화합물 Y 및 화합물 X)를 제조하는 방법을 더 포함한다. 어떤 구체예에서, 본원에 상세하게 설명된 방법들 중 어느 것에 의해 제조된 화합물이 제공된다. 추가로 본원에 상세하게 설명된 방법들 중 어느 것에 의해 제조된 하나 또는 그 이상의 화합물을 포함하는 조성물이 제공된다.

어떤 구체예에서, 항체를 화합물 Z:



(화합물 Z), 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체와 반응시키는 것을 포함하는, 다음 식 (II)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법이 제공된다:



[0365]

상기 식에서,

[0366]

D는 약물 부분이고;

[0367]

T는 항체이며;

[0368]

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0369]

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

[0370]

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0371]

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

[0372]

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

[0373]

L³는 펩티드 링커이며;

[0374]

L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

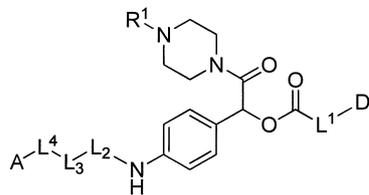
[0375]

A는 아실 유닛이다.

[0376]

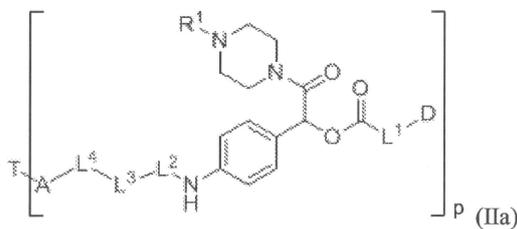
어떤 구체예에서, 항체를 화합물 Z:

[0377]



[0378]

(화합물 Z), 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체와 반응시키는 것을 포함하는, 다음 식 (IIa)의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법이 제공된다:



[0379]

상기 식에서,

[0380]

p는 1 내지 20이며;

[0381]

D는 약물 부분이고;

[0382]

T는 항체이며;

[0383]

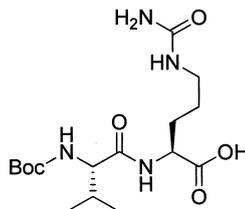
R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이고;

[0384]

- [0385] L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;
- [0386] L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;
- [0387] 이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;
- [0388] L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;
- [0389] L³는 펩티드 링커이며;
- [0390] L⁴는 결합 또는 스페이서이고;
- [0391] A는 아실 유닛이다.

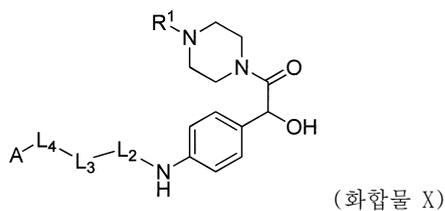
[0392] 추가로, 본원에 상세하게 설명된 것과 같은 화합물들의 구성 방법 및/또는 화합물의 제조 방법들 중 어느 것에 의해 제조된 화합물이 제공된다. 또한 본원에 상세하게 설명된 것과 같은 화합물들의 구성 방법 및/또는 화합물의 제조 방법들 중 어느 것에 의해 제조된 하나 또는 그 이상의 화합물을 포함하는 조성물(예컨대 약학적 조성물)이 제공된다.

[0393] 본 발명은 계획도 4 및 5의 화합물 및 중간체의 제조 방법을 제공한다. 계획도 4 및 5에 나타난 화합물들은 전체 원자가를 가지거나 또는 적절할 때 임의의 보호기 또는 이탈기로 적절하게 캡핑된 것을 의미한다. 예를 들어



계획도 "화합물 TAP-18H의 합성"에 나타난 것과 같이, L³-L²는 일 수 있다.

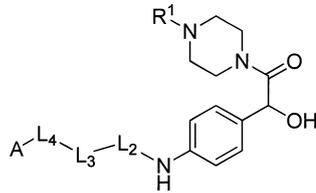
[0394] 본 발명은 화합물 W: A-L⁴-L³-L²를 화합물 I:  와 반응시키는 것을 포함하는, 화합물 X 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법을 제공한다:



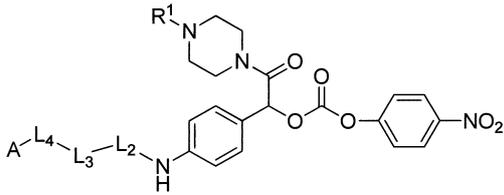
- [0395] 상기 식에서,
- [0396] L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;
- [0397] 이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;
- [0398] L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;
- [0400] L³는 펩티드 링커이며;
- [0401] L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

[0402] A는 아실 유닛이며;

[0403] R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

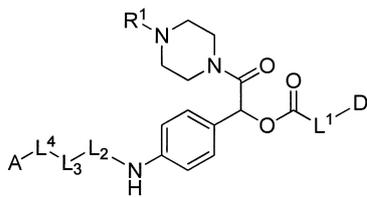


[0404] 본 발명은 화합물 X: 와 p-니트로페닐클로로포메이트를 반응시켜 화합물 Y:



를 형성하고;

[0405] 화합물 Y를 L¹-D를 포함하는 화합물과 반응시키는 것을 포함하는, 화합물 Z 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법을 제공한다:



(화합물 Z)

[0406] 상기 식에서,
[0407] D는 약물 부분이고;

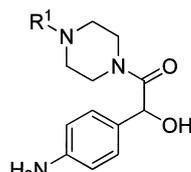
[0408] L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;
[0409] L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0410] 이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;
[0411] L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

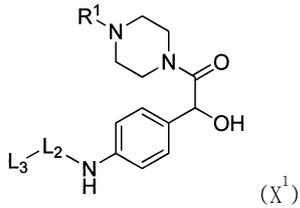
[0412] L³는 펩티드 링커이며;
[0413] L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

[0414] A는 아실 유닛이며;

[0415] R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.



[0416] 본 발명은 화합물 W¹: L³-L²를 화합물 I: 와 반응시키는 것을 포함하는, 화합물 X¹ 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법을 제공한다:



[0418]

상기 식에서,

[0419]

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0420]

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

[0421]

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

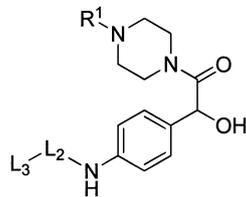
[0422]

L³는 펩티드 링커이며;

[0423]

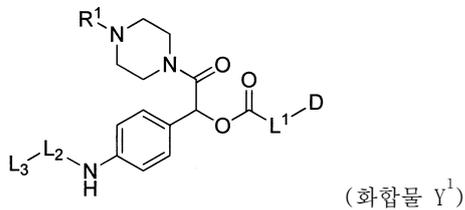
R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0424]



[0425]

본 발명은 화합물 X¹: 과, L¹-D를 포함하는 화합물을 반응시키는 것을 포함하는, 화합물 Y¹ 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법을 제공한다:



[0426]

상기 식에서,

[0427]

D는 약물 부분이고;

[0428]

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

[0429]

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0430]

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

[0431]

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

[0432]

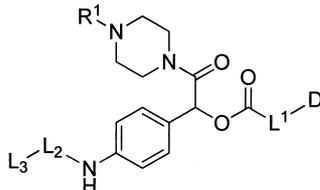
L³는 펩티드 링커이며;

[0433]

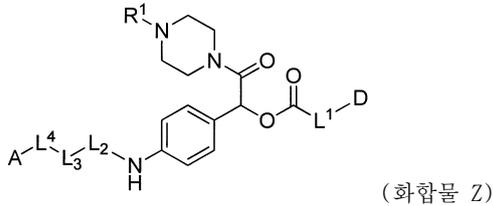
R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0434]

[0435]

본 발명은 화합물 Y¹:  과, A-L⁴를 포함하는 화합물을 반응시키는 것을 포함하는, 화합물 Z 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체의 제조 방법을 제공한다:

[0436]



[0437]

상기 식에서,

[0438]

D는 약물 부분이고;

[0439]

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

[0440]

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0441]

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

[0442]

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

[0443]

L³는 펩티드 링커이며;

[0444]

L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

[0445]

A는 아실 유닛이며;

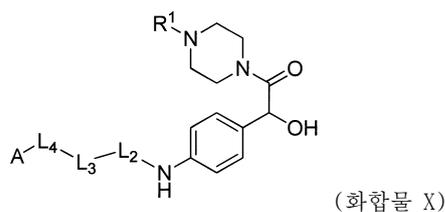
[0446]

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0447]

본 발명은 다음 식의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:

[0448]



[0449]

상기 식에서,

[0450]

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0451]

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

[0452]

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

[0453]

L³는 펩티드 링커이며;

[0454]

L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

[0455]

A는 아실 유닛이며;

[0456] R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃알킬 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0457] 본 발명은 다음 식의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



(화합물 Z)

[0458] 상기 식에서,

[0459] D는 약물 부분이고;

[0460] L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

[0461] L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0462] 이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

[0463] L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

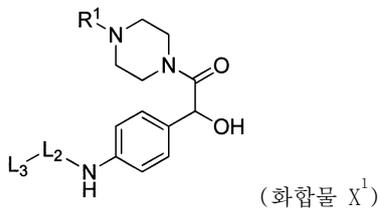
[0464] L³는 펩티드 링커이며;

[0465] L⁴는 결합 또는 스페이서이고;

[0466] A는 아실 유닛이며;

[0467] R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0468] 본 발명은 다음 식의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



(화합물 X¹)

[0470] 상기 식에서,

[0471] L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

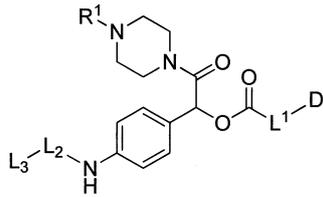
[0472] 이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

[0473] L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

[0474] L³는 펩티드 링커이며;

[0475] R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0476] 본 발명은 다음 식의 화합물 또는 그것의 염 또는 용매화합물 또는 입체 이성질체를 제공한다:



(화합물 Y¹)

[0478]

상기 식에서,

[0479]

D는 약물 부분이고;

[0480]

L¹은 결합, 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이며;

[0481]

L²는 결합 또는 두 번째 자기-희생 링커이고;

[0482]

이때 L¹이 두 번째 자기-희생 링커 또는 고리화 자기-제거 링커이면 L²는 결합이며;

[0483]

L²가 두 번째 자기-희생 링커이면 L¹은 결합이고;

[0484]

L³는 펩티드 링커이며;

[0485]

R¹은 수소, 비치환 또는 치환된 C₁₋₃알킬, 또는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클릴이다.

[0486]

다음의 실시예는 발명을 제한하는 것이 아닌 설명하기 위해 제공된다.

[0487]

실시예 1

[0488]

재료 및 방법

[0489]

5F1 항체의 인간화

[0490]

상보성 결정 영역(CDR) 이식을 사용하여 인간화된 5F1Ca.1(h5F1Ca.1)의 가변 영역을 생성시켰다. 간단히 설명하자면, 쥐과 동물의 5F1 영역의 CDR을 인간 가변 영역의 프레임워크에 재조합 DNA 기법에 의해 통합시켰다. 인간 프레임워크 수용체들의 선택을 전체 비-중복 Genebank 데이터베이스에 대한 BLASTP 탐색에 의해 실행하였다. 쥐과 동물 5F1 중쇄 가변 영역에 대해 67.8% 동일한 인간 항체 CAA79298(Genebank no. CAA79298)의 VH 및 쥐과 동물 5F1 경쇄 가변 영역에 대해 80.4% 동일한 인간 항체 ABI74084(Genebank no. ABI74084)의 VL을 수용체 항체로서 사용하였다. 수용체 항체의 일부 잔기를 쥐과 동물 대응 잔기로 돌연변이시켜서 가변 영역의 형태 변화를 피하였다. h5F1Ca.1 중쇄 및 경쇄의 최종 아미노산 서열을 표 1에 제시한다.

[0491]

그런 다음 VH 및 VL 단편을 pcDNA5-FRT-hIgG1κ 벡터 안에 중쇄 및 경쇄에 대해 각각 NheI 부위 및 AvrII 부위를 통해 삽입하였다. h5F1Ca.1의 중쇄 및 경쇄 유전자 두 가지를 모두 함유하는, 완전히 조립된 플라스미드 h5F1Ca.1/pcDNA5-FRT-hIgG1를 사용하여 h5F1Ca.1 항체를 발현시켰다.

[0492]

링커-약물의 합성

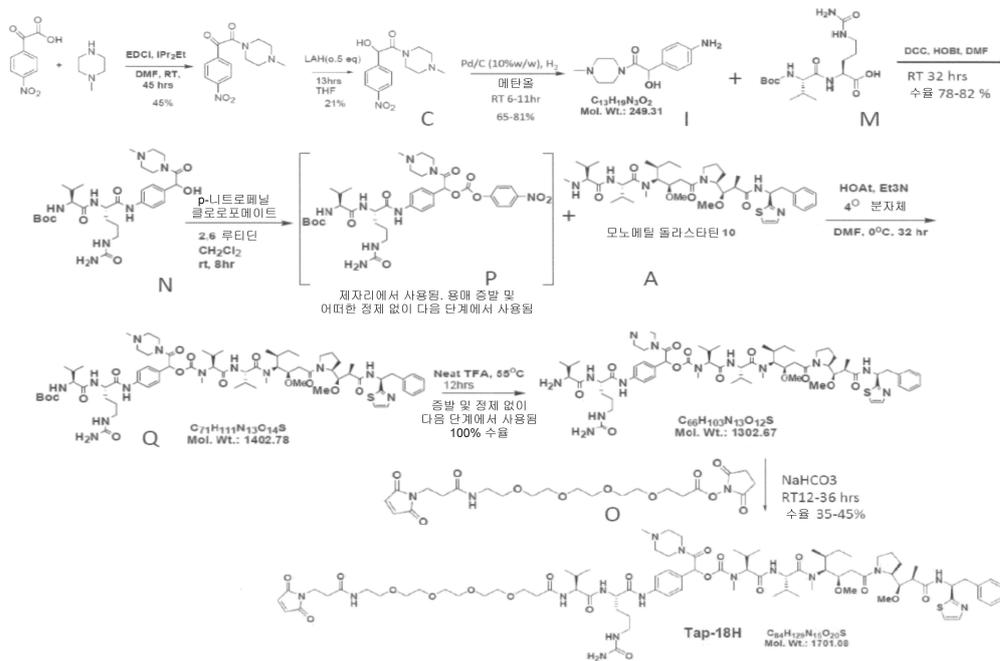
[0493]

화합물 Tap-18H의 합성을 아래의 계획도에 도시한다. 중간 화합물 M 및 O의 합성 역시 아래의 계획도에 도시한다.

[0494]

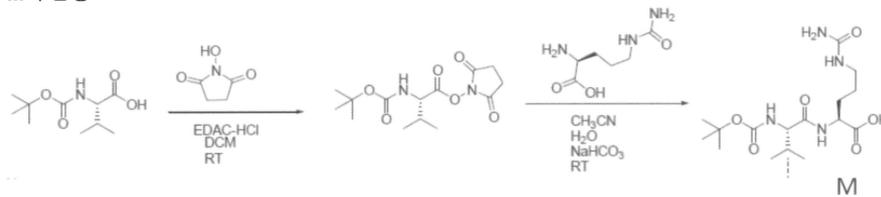
[0495]

TAP-18H의 합성

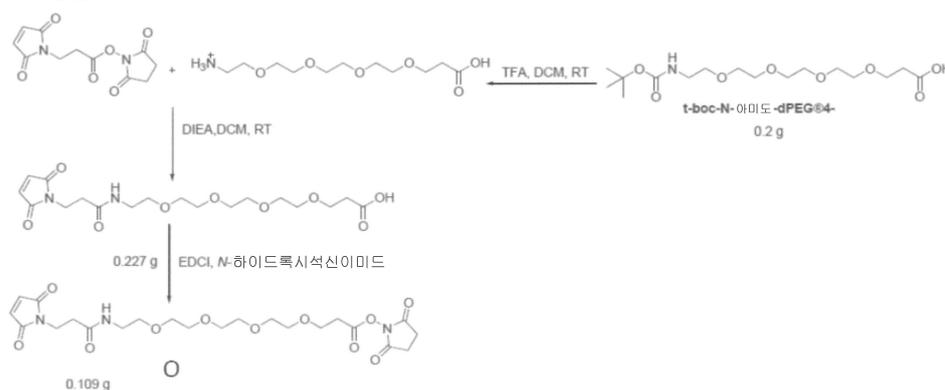


[0496]

M의 합성



O의 합성



[0497]

[0498]

화합물 Tap-18H의 합성 계획도를 참조하여, 상업적으로 활용가능한 4-니트로페닐글리콜산을 DMF 중의 PCl_5 또는 EDCI 및 IPr_2Et , 또는 CH_2Cl_2 및 N-메틸모폴린 중의 2-클로로-4,6-다이메톡시-1,3,5-트리아진을 커플링제로서 사용하여 N-메틸피페라진으로 축합하여 원하는 케토아미드를 생성하였다. 전형적인 과정에서, CH_2Cl_2 (20 ml), N-메틸모폴린 (15 mmol) 중의 2-클로로-4,6-다이메톡시-1,3,5-트리아진 (5mmol)의 용액을 0 내지 5°C에서 연속적인 교반 하에 첨가하였다. 30 내지 40분 후에 백색 현탁액이 형성되었고, 이 혼합물에 CH_2Cl_2 (10 ml) 중의 4-니트로페닐글리콜산을 첨가하였고, 그 결과 투명한 용액이 형성되었다. 그 혼합물을 1시간 동안 교반한 후에 N-메틸피페라진 (5mmol)을 실온에서 첨가하였다. 반응이 완료된 후 (TLC, 10분)에, 그 혼합물을 10% 수성 $NaHCO_3$ 용액 (2x10ml)으로 세척한 후 H_2O (3x10ml)로 세척하였다. 유기층을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고 감압하에 용매를 제거하여 미정제 생성물을 얻었고, 그것을 추가로 재결정화 또는 칼럼 크로마토그래피(석유 에테르:에틸

아세테이트=8:2)에 의해 한층 더 정제하였다.

[0499] 케토아미드 화합물을 THF 또는 DIBAL-H 또는 나트륨 보로하이드라이드의 존재 하에 LiAlH₄의 0.5 당량의 양에 의해 더 환원시켜서 니트로 화합물 C를 얻었다[B. P. Bandgar and S. S. Pandit, Tetrahedron Letters 44 (2003) 3855-3858].

[0500] 니트로 화합물 C를 SnCl₂로의 처리에 의해 또는 메탄올 중의 촉매로서 Pd/C (10% w/w)로의 촉매적 수소화 중 어느 하나에 의해 실온에서 약 6 내지 11시간 동안 아닐린 화합물 I으로 환원시켰고, 65 내지 81%의 수율을 얻었다. 그것은 RB04-50 반응기 B가 달린 MultiMaxIR 시스템을 사용하여 다음의 과정을 통해 얻을 수 있었다. 반응기를 먼저 35ml의 메탄올, 0.03mg의 10% Pd/C 및 0.0252 mol의 니트로 화합물 C로 채우고, 최대 6.2 bar의 압력의 반응기에 수소를 첨가하였다(H₂, const.).

[0501] 화합물 M의 합성 개략도를 참조하면, Boc-보호된 DCM 중의 *N*-하이드록시석신이미드 및 EDAC-HCl 또는 DCM 중의 *N*-하이드록시석신이미드 및 EDC로 처리하여 석신이미드 에스테르를 얻었다. 이 활성화된 에스테르를 L-시트룰린 및 CH₃CN, H₂O, NaHCO₃와 반응시켜서 Boc-보호된 화합물 M을 완성시켰다.

[0502] 화합물 Tap-18H의 합성 계획도를 참조하면, 아닐린 화합물 I을 Boc-보호된 화합물 M과 DMF 중의 DCC/HOBt에 의하여 실온에서 32시간 동안 커플링시켜 화합물 N을 얻거나(수율 78 내지 82%), PS-카보다이이미드로 커플링시키는데, 그 반응에서 화합물 N의 합성은 100mg의 화합물 M과 1.5 당량의 아닐린 화합물 I으로 출발하여 2당량의 PS-카보다이이미드 및 1.7 당량의 DCM 중의 HOBt의 존재하에 24시간 동안 수행하였다. LC/MS에 의한 분석은 원하는 질량과 대략 50 내지 60% 전환을 가진 피크를 나타냈다.

[0503] 그런 다음 커플링된 생성 화합물 N을 DCM 중의 2,6-루티딘의 존재하에 4-니트로페닐 클로로포메이트와 RT에서 8시간 동안 반응시켜서 카보네이트 화합물 P를 얻었고, LC/MS는 원하는 질량을 가진 피크를 나타냈다.

[0504] 카보네이트 화합물 P를 DMF 중의 HOAt와 Et₃N의 존재하에 모노메틸 돌라스타틴으로 처리한 결과 화합물 Q가 형성되었다.

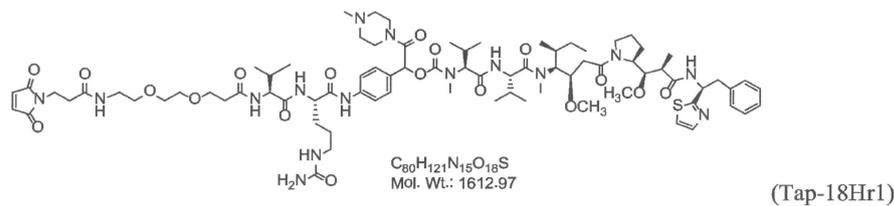
[0505] 화합물 O의 합성 계획도를 참조하면, β-알라닌을 DMF 중에서 말레산 무수물로 처리하고, 그렇게 얻어진 산을 DCC 커플링 하에 *N*-하이드록시석신이미드(NHS)와 반응시켜서 NHS-에스테르를 얻었다. 상업적으로 활용가능한 t-blc-N-아미도-dPEG4-산의 BOC 보호기를 TFA로 처리하여 제거하여 아민의 TFA 염을 얻었고, 그것을 사전에 합성한 NHS 에스테르와 반응시켰다. 그렇게 얻어진 카복실산을 분리하고, EDCI를 사용하여 *N*-하이드록시석신이미드와 커플링시켜서 NHS 에스테르 화합물 O를 완성시켰다.

[0506] 화합물 Tap-18H의 합성 계획도를 참조하면, 화합물 Q의 Boc-기는 TFA로 제거되었고, 자유 아민을 무수 아세트니트릴 및 NaHCO₃ 중에서 NHS 에스테르 화합물 O와 실온에서 12 내지 36시간 동안 커플링시켜서 최종 생성물 Tap-18H를 35 내지 45% 수율로 얻었다.

[0507] 도 5는 Tap-18H의 NMR 스펙트럼을 도시한다.

[0508] 화합물 TAP-18Hr1의 합성

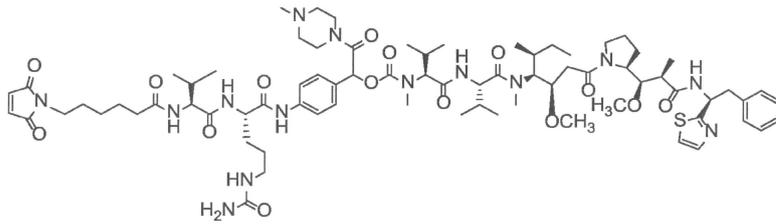
[0509] 아래에 나타낸 식을 가지는 Tap-18Hr1을 합성하였다. 도 6은 Tap-18Hr1의 NMR 스펙트럼을 도시한다.



[0510]

[0511] 화합물 TAP-18Hr2의 합성

[0512] 아래에 나타낸 식을 가지는 Tap-18Hr2를 합성하였다. 도 7은 Tap-18Hr2의 NMR 스펙트럼을 도시한다.



[0513]

[0514] 항체 약물 포함체(ADC)의 제조

[0515] h5F1Ca.1을 전통적인 방법에 의해 제조하였다. DTT와 DTPA를 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO)로부터 얻었다. TCEP를 Acros(Morris Plains, NJ)로부터 얻었다. DTNB를 Thermo Scientific(Rockford, IL)으로부터 얻었다. 나트륨 포스페이트, 붕산 나트륨 및 염화 나트륨을 J.T. Baker(Center Valley, PA)로부터 얻었다. 시스테인을 Alfa Aesar(Ward Hill, MA)로부터 얻었다.

[0516] h5F1Ca.1을 약 1.3 당량의 TCEP로 0.025M 붕산 나트륨 pH 8, 0.025M NaCl, 1mM DTPA 중에서 2시간 동안 37°C에서 환원시켰다. 단백질 농도를 1.0mg/mL 용액에 대한 280 nm에서의 1.42의 흡광도 값을 사용하여 정량하고, 150,000 g/mol의 분자량을 사용하여 몰 농도를 측정하였다. 생성된 mAb-시스테인 티올의 농도를 DTNB로 적정함으로써 측정하였다. 전형적으로 1.3 몰당량의 TCEP를 사용하였을 때 액 2.0 내지 2.5 티올/mAb의 결과를 얻었다.

[0517] 부분적으로 환원된 h5F1Ca.1을 1.2몰의 말레이미도카프로일-약물/mAb-시스테인 티올 또는 말레이미도-약물/mAb-시스테인 티올로 알킬화하였다. 알킬화 반응을 10°C에서 60분 동안 수행하였다. 시스테인(1 mM 최종)을 사용하여 어떠한 미반응의 과잉량의 말레이미도카프로일-약물 또는 말레이미도-약물을 킨칭하였다. ADC를 먼저 1M 아세트산으로 pH 5로 조정하고 HiTrap™ SP FF 칼럼(GE Healthcare)에 1mL/분의 유속으로 적용하였다. 칼럼 크기는 10 mg의 ADC당 1mL이었다. 칼럼을 사전에 5 칼럼 부피의 결합 완충액, 15% DMSO pH 5가 첨가된 25mM의 아세트산 나트륨으로 평형화하였다. 적용 후, 칼럼을 10 칼럼 부피의 결합 완충액으로 세척한 다음, 용출 완충액, 25 mM 아세트산 나트륨 pH 5, 0 내지 15% DMSO, 300 mM NaCl로 용출하였다. 정제된 ADC를 밤새 4°C에서의 투석에 의해 인산염 완충된 식염수로 바꾸었다.

[0518] 셀라인

[0519] 위암 세포 SNU-16(BCRC, Cat. No. 60212), 대장암 세포 COLO 205(ATCC, Cat. No. CCL-222), DLD-1(ATCC, Cat. No. CCL-221) 및 SW480(ATCC, Cat. No. CCL-228)을 10% FBS(GIBCO, Cat. No. 26140) 및 100 U/mL 페니실린/100 mg/mL 스트렙토마이신(GIBCO, Cat. No. 15140)이 첨가된 RPMI 배지 1640(GIBCO, Cat. No. 22400)에서 배양하였다.

[0520] 대장암 셀라인 DLD-1(BCRC, Cat. No. 60132)을 10% FBS, 1 mM 피루브산 나트륨(GIBCO, Cat. No. 11360) 및 100 U/mL 페니실린/100 mg/mL 스트렙토마이신이 첨가된 RPMI 배지 1640에서 배양하였다.

[0521] 췌장암 셀라인 PANC-1(BCRC, Cat. No. 60284)을 10% FBS 및 100 U/mL 페니실린/100 mg/mL 스트렙토마이신이 첨가된 돌베코 변형 이글스 배지(GIBCO, Cat. No. 11965)에서 배양하였다.

[0522] 췌장암 세포 Panc 02.03B를 Panc 02.03 (ATCC, Cat. No. CRL-2553)로부터 채택하여 15% FBS, 100 U/mL 페니실린/100 mg/mL 스트렙토마이신 및 1mM 피루브산 나트륨(GIBCO, Cat. No. 11360)이 첨가된 RPMI 배지 1640에서 인슐린 없이 배양하였다.

[0523] 역상 HPLC에 의한 ADC의 분석

[0524] ADC를 변성 및 환원 조건 하에서 25mM DTT, 3M 구아니딘 염산염으로 80°C에서 10분 동안 가열함으로써 분석하였다. 50mg의 변성된 ADC를 PLRP-S 칼럼(2.1 x 150 mm, 8mm, 1000Å, Aligent(Santa Clara, CA))에 적용하였다. 유속은 0.8mL/분이었으며, 칼럼 온도는 80°C였다. 용매 A는 물 중의 0.05% 트라이플루오로아세트산이었고 용매 B는 아세토니트릴 중의 0.04% 트라이플루오로아세트산이었다. 방법은 다음을 포함하였다: 3분 동안 등용매 25% B; 50% B까지 25-분 선형 구배; 95% B까지 2-분 선형 구배; 25% B로 1-분 선형 구배; 및 등용매 25% B에서 2분. 피크 배정을 비포함 h5F1Ca.1로 만들었다(LO 및 HO). L1, H1, H2 및 H3를 그것들의 용출 시간, UV 스펙트럼(A248/280 비율은 약물 로딩으로 인해 증가한다) 및 SDS-PAGE 프로파일(경쇄 및 중쇄)에 의해 배정하였다.

[0525]

WST-1 분석에 의한 시험관 내 세포독성

[0526]

암세포 SNU-16, Panc 02.03B, COLO 205 및 SW480을 각각 96-웰 미세역가 플레이트 상에 1×10^4 , 3×10^3 , 2×10^4 및 1.2×10^4 세포/웰로 시딩하였다. 암세포 DLD-1 및 PANC-1을 96-웰 미세역가 플레이트 상에 1×10^4 세포/웰로 시딩하였다. h5F1Ca.1/Tap18H ADC, h5F1Ca.1/Tap18Hr1 또는 네이키드 항체 h5F1Ca.1을 삼중으로, 3 mg/mL 및 1 mg/mL의 최종 농도 또는 최종 표시된 농도로 및 200 mL/웰의 최종 부피로 첨가하였다. 그런 다음 세포를 37°C 및 5% CO₂에서 인큐베이션하고, 세포 생존력을 72시간 동안 또는 96시간 동안 세포 증식 시약 WST-1(Roche (Nutley, NJ), Cat. No. 11644807001)에 의해, 제조자의 지시사항을 따라 검출하였다. 간단히 설명하면, 인큐베이션이 종료될 때 100 mL의 배지를 제거하고, 10 mL/웰의 WST-1을 시험된 셀라인에 첨가하였다. 최적의 색이 발색된 후에(미처리 대조표준의 OD₄₅₀이 ≥ 1.00 일 때), 450nm에서의 흡광도(OD₄₅₀ 값)를 분광계(Molecular Devices (Sunnyvale, CA), VERSAmax microplate reader)에 의해 측정하였다. 세벌의 평균을 얻었고, 바탕값(배지 대조표준)을 뺐다. 그 결과의 OD₄₅₀ 값을 그런 다음, 다음 식에 따라 % 억제를 계산하는 데 사용하였다: $[(OD_{450} \text{ 용매} - OD_{450} \text{ 샘플}) / (OD_{450} \text{ 용매})] * 100$. 용매는 미처리 대조표준을 나타낸다.

[0527]

암 이중이식 모델에서 ADC 치료

[0528]

피하 이중이식 모델을 수립하기 위하여, 5×10^6 SNU-16 세포를 C.B-17 SCID 마우스(Lasco, Taipei, Taiwan)의 우측 옆구리에 이식하였다. 평균 중앙 부피가 110 내지 120 mm³에 도달했을 때(1일로 표시함) ADC 치료를 시작하였다. h5F1Ca.1/Tap18H 또는 h5F1Ca.1/Tap18Hr1을 정맥 내로 100mL 중의 1 또는 2 mg/kg으로 주입하였다. 중앙 부피를 1주일에 2회 캘리퍼를 사용하여 2차원 직각으로 측정하고, 식 $(0.52 * \text{길이} * \text{폭} * \text{폭})$ 에 따라 계산하였다.

[0529]

결과

[0530]

역상 HPLC에 의한 ADC의 분석

[0531]

환원 및 변성 역상 HPLC를 사용하여 상이한 약물을 가지는 경쇄 및 중쇄를 F분리하고 특성을 확인하였다. 이 방법에서, ADC를 3M의 구아니딘 염산염 및 과잉량의 DTT로 80°C에서 사전 처리함으로써 항체를 변성시키고 사슬 내 및 사슬 간 이황화 결합을 파괴하여 0 또는 1개의 약물을 가진 경쇄(L0 및 L1) 및 0, 1, 2, 3개의 약물을 가진 중쇄(H0, H1, H2, H3)의 분리를 가능하게 하였다(도 1). 일반적으로, 돌라스타틴-10은 MMAE보다 더 소수성이다. 그러나, 데이터는 돌라스타틴-10 약물을 가진 중쇄 및 경쇄가 L1, H1, H2 및 H3 피크에서 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE) 약물보다 더 빨리 용출되었음을 보여준다. 이것은 돌라스타틴-10 기저 약물의 엑스트라 피페라진 기가 분자의 소수성을 감소시켰음을 나타낸다. 피페라진의 이런 특성은 돌라스타틴-10의 소수성에 의해 유발되는 고약물 로딩 ADC의 가능한 응집을 감소시킬 수 있다.

[0532]

도 1은 ADC의 역상 HPLC 특성확인을 보여준다. 도 1(A)는 h5F1Ca.1/Tap-18H에 대한 크로마토그램을 도시한다. 도 1(B)는 h5F1Ca.1/MMAE에 대한 크로마토그램을 도시한다. 0 또는 1개의 약물을 가진 경쇄(L0 및 L1) 및 0, 1, 2, 3개의 약물을 가진 중쇄(H0, H1, H2, H3)가 도시된다.

[0533]

시험관 내 세포독성

[0534]

h5F1Ca.1/Tap18H의 시험관 내 세포독성 활성을 h5F1Ca.1 포지티브 암 셀라인(SNU-16, COLO 205 및 Panc02.03B) 및 항원 네거티브 셀라인(SW480)에서 평가하였다. 네이키드 h5F1Ca.1 항체에 의한 세포독성 또한 동시에 시험하였다. 표 3에 나타난 것과 같이, h5F1Ca.1은 단독으로는 시험된 농도(3 및 1 mg/mL)에서 세포독성을 유도할 수 없었던 한편, h5F1Ca.1/Tap18H는 암 셀라인 SNU-16, COLO 205 및Panc02.03B의 성장을 효과적으로 억제하였다. 항원 네거티브 셀라인 SW480에서는 독성이 관찰되지 않았는데, 그것은 ADC 사멸이 특이한 표적화 메커니즘을 통해 일어나는 것을 나타낸다. 이들 결과는 ADC가 표적 암세포에 대한 세포독성 약물을 항원 특이성으로 전달했음을 증명한다.

표 3

[0535]

h5F1Ca.1/Tap18H에 의한 시험관 내 세포독성 활성

(% 억제)		3 mg/mL	1 mg/mL
SNU-16	h5F1Ca.1/Tap18H	95.7	90.6
	h5F1Ca.1	-13.7	-0.1

COLO 205	h5F1Ca.1/Tap18H	90.1	82.4
	h5F1Ca.1	-11.0	-7.2
Panc 02.03B	h5F1Ca.1/Tap18H	81.0	78.4
	h5F1Ca.1	-12.5	-6.4
SW480	h5F1Ca.1/Tap18H	-20.9	-12.4
	h5F1Ca.1	-9.2	-3.8

[0536] 주: 네거티브 값은 시험된 웰에서 억제제가 관찰되지 않았음을 가리킨다.

[0537] h5F1Ca.1/Tap18Hr1의 세포독성 활성을 또한 별도의 실험으로 평가하였다. 유사하게, 효과적인 억제는 결합-포지티브 위암 셀라인 SNU-16에서 h5F1Ca.1/Tap18Hr1에 의해 유도되었지만, 결합-네거티브 대장 셀라인 SW480에서는 관찰되지 않았다(표 4).

표 4

[0538] h5F1Ca.1/Tap18Hr1에 의한 시험관 내 세포독성 활성

(% 억제)		3 mg/mL	1 mg/mL
SNU-16	h5F1Ca.1/Tap18Hr1	98.2	97.0
	h5F1Ca.1	4.0	3.3
SW480	h5F1Ca.1/Tap18Hr1	5.4	1.9
	h5F1Ca.1	-3.0	1.2

[0539] 주: 10% 아래의 억제는 분석의 바탕값으로 여겨진다. 네거티브 값은 시험된 웰에서 억제제가 관찰되지 않았음을 가리킨다.

[0540] ADC의 생체 내 평가

[0541] ADC h5F1Ca.1/Tap18H의 잠재력을 위암 세포 SNU-16에 대해 생체 내에서 평가하였다. 접종했을 때 종양 크기는 120 mm³에 도달하였고(1일로 표시함), 마우스들을 단일 용량의 ADC 또는 비히클로 2mg/kg으로 처리하였다. 종양이 빠르게 성장하고 12일에 대략 400mm³에 도달했던 비히클 그룹에 비교하여, h5F1Ca.1/Tap18H 그룹은 5일에 퇴행을 나타냈고, 평균 종양 크기는 12일에 <20 mm³로 더 억제되었다(도 2). 이들 마우스의 체중은 처리 및 비히클 그룹 둘 다에서 모두 변하지 않은 채로 유지되었다. 그러므로, 데이터는 h5F1Ca.1/Tap18H는 SCID 마우스에서 항원-포지티브 종양의 성장을 효과적으로 억제할 수 있음을 나타낸다.

[0542] 도 2는 위암 SNU-16에 대한 h5F1Ca.1/Tap18H에 의한 생체 내 항-종양 활성의 그래프를 도시한다.

[0543] ADC h5F1Ca.1/Tap18Hr1의 잠재력을 위암 세포 SNU-16에 대해 생체 내에서 평가하였다. 접종했을 때 종양 크기는 100 mm³에 도달하였고(1일로 표시함), 마우스들을 2주 용량의 비히클 또는 ADC로 2mg/kg으로 처리하였다. 도 3에서 알 수 있는 것과 같이, h5F1Ca.1/Tap18Hr1의 투여는 종양 퇴행을 유발하였고, 평균 종양 크기는 <10 mm³로 억제되었다. 이들 마우스의 체중은 처리 및 비히클 그룹 둘 다에서 모두 변하지 않은 채로 유지되었다. 그러므로, 본 발명자들의 데이터는 h5F1Ca.1/Tap18Hr1이 SCID 마우스에서 항원-포지티브 종양의 성장을 효과적으로 억제할 수 있음을 나타낸다.

실시예 2: 종양 성장의 억제에서 항-TfR 항체 기저 항체 약물 포함체(ADC)의 효과

[0545] 항체 약물 포함체(ADC)의 제조

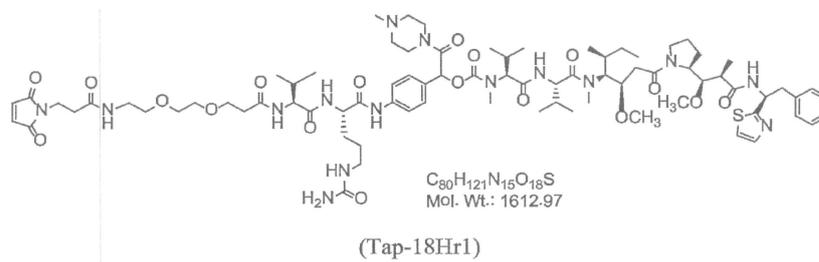
[0546] 키메릭 5D7-54.17(c5D7)을 쥐과 동물 5D7-54.17의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자들을 함유하고 있는 발현 벡터 pcDNA5-FRT-hIgG1으로 형질전환된 Flp-In CHO 세포로부터 제조하였다. 그런 다음 c5D7 항체를 세포독성 약물 모노메틸 돌라스타틴 10에 포함하여 피페라진 함유 링커를 통한 그것의 생체 내 항-종양 효과를 평가하였다(구조에 대해서는 표 5 참조). 한 실례에서, 정제된 c5D7을 먼저 0.025M 붕산 나트륨 pH 8, 0.025M NaCl, 1mM DTPA

(또는 펜테트산 또는 다이에틸렌 트라이아민 펜타아세트산) 중의 3.0 당량의 TCEP(또는 트리스(2-카복시에틸)포스핀)으로 2h 동안 37°C에서 환원시켰다. 단백질 농도를 1.0 mg/mL 용액에 대해 280 nm에서 1.346의 흡광도 값을 사용하여 정량하고, 몰농도를 145,194 g/mol의 분자량을 사용하여 측정하였다. 생성된 mAb-시스테인 티올의 농도를 DTNB(또는 5,5'-다이티오비스-(2-니트로벤조산))으로 적정함으로써 측정하였다. 전형적으로 3.0 몰당량의 TCEP를 사용할 때 4.0 내지 4.5 티올/mAb가 생성되었다. 부분적으로 환원된 c5D7을 2.4몰의 말레이미도카프로일-모노메틸 돌라스타틴 10/mAb-시스테인 티올로 알킬화하였다. 알킬화 반응을 10°C에서 30분 동안 수행하였다. 시스테인(1mM 최종)을 사용하여 어떠한 미반응된 과잉량의 말레이미도카프로일-모노메틸 돌라스타틴 10 약물을 킨칭하였다. 그 결과의 ADC를 밤새 4°C에서의 투석에 의해 인산염 완충된 식염수로 바꾸었다.

[0547] Tap-18Hr1을 아래의 식을 사용하여 합성하였다. 도 6은 Tap-18Hr1의 NMR 스펙트럼을 도시한다.

표 5

항체-약물 포함체의 링커-약물 부분



[0548]

[0549] 본 발명자들은 추가로 결합-포지티브 대장암 셀라인 DLD-1 및 결합-네거티브 췌장 셀라인 PANC-1에서 c5D7/Tap18Hr1의 시험관 내 세포독성 활성을 조사하였다. 상기에서 제공한 데이터와 일관되게, DLD-1 세포에서의 효과적인 성장 억제제가 c5D7/Tap18Hr1에 의해서 유도되었지만, c5D7 항체 단독에 의해서는 유도되지 않았다(표 6). 표시된 용량에서 결합-네거티브 셀라인 PANC-1에서는 어떠한 억제도 관찰되지 않았다. 이들 결과를 함께 취하면, 본 발명자들의 ADC는 특이한 항원을 발현하는 표적 암세포에 세포독성 약물만을 전달했음을 증명한다.

표 6

[0550]

c5D7/Tap18Hr1에 의한 시험관 내 세포독성 활성

(% 억제)		0.3 mg/mL	0.1 mg/mL
DLD-1	c5D7/Tap18Hr1	62.0	35.4
	c5D7	-0.3	0.6
PANC-1	c5D7/Tap18Hr1	1.4	2.9
	c5D7	4.5	4.6

[0551] 주: 10% 아래의 억제는 분석의 바탕값으로 여겨진다. 네거티브 값은 시험된 웰에서 억제가 관찰되지 않았음을 가리킨다.

[0552] 암 이중이식 모델에서 ADC 치료

[0553] 피하 이중이식 모델을 수립하기 위하여, 5x10⁶ DLD-1 대장암 세포를 C.B-17 SCID 마우스(Lasco, Taipei, Taiwan)의 우측 옆구리에 이식하였다. 약물-포함된 c5D7 ADC를 1일 및 중앙 접종 5일 후에 3 mg/kg으로 정맥 내로 투여하였다. 중앙 부피를 캘리퍼를 사용하여 2차원 직각으로 주 2회 측정하고, 식 (0.52×길이×폭×폭)을 따라 계산하였다.

[0554] 결과

[0555] 키메릭 5D7-54.17 항체(c5D7)를 항체 약물 포함체(ADC), c5D7/Tap18Hr1의 제조에 사용하였다(ADC의 제조 방법

에 대해서는 상기 참조). c5D7/Tap18Hr1의 항-종양 활성을 DLD-1 이식된 SCID 마우스에서 생체 내 평가하였다. 치료는 1일 및 3mg/kg의 비히클 또는 ADC로 종양 접종한 후 5일에 치료를 시작하였다. 종양이 14일에 500 mm³에 도달한 비히클 그룹에 비교하여, c5D7/Tap18Hr1은 연구 기간을 통해 종양 성장을 완전히 억제하였다(도 4). 어느 그룹으로부터의 마우스든지 치료 후에 체중의 변화는 없었다(평균 25g). 데이터는 항-트랜스페린 수용체 c5D7에 의한 세포독성 약물의 암 표적화 전달이 생체 내에서 종양 성장을 효과적으로 억제함을 나타낸다.

[0556] 참고문헌

[0557] 1. Carter, PJ and Senter, PD. Antibody-drug conjugates for cancer therapy. Cancer J. 2008; 14:154-169)

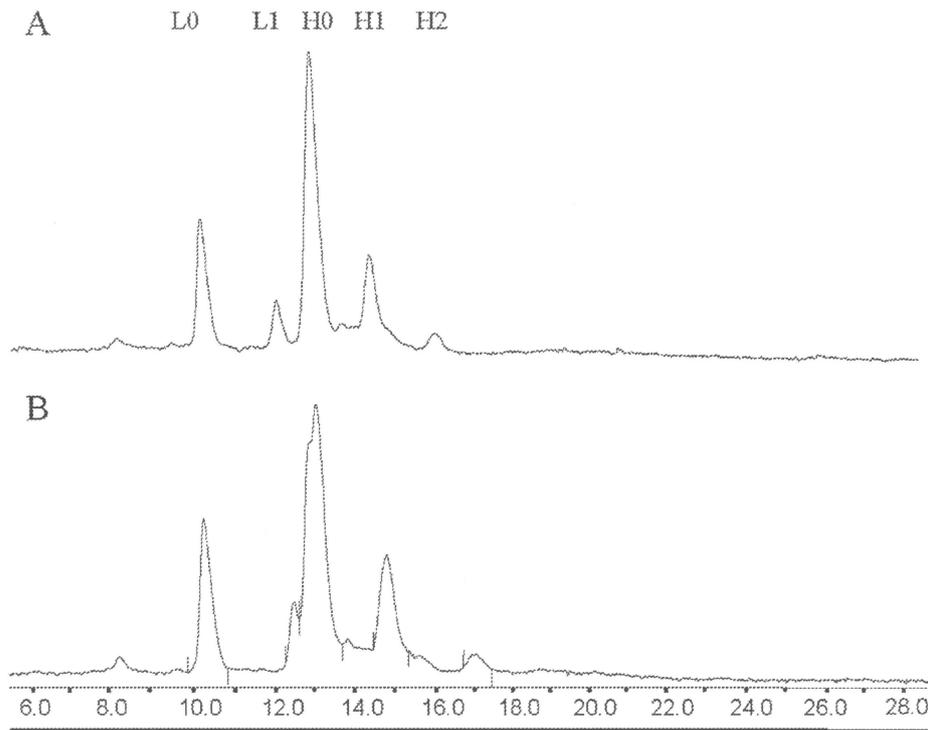
[0558] 2. Teicher, BA. Antibody-drug conjugate targets. Current cancer Drug Targets 2009, 9:982-1004.

[0559] 3. Ducry, L and Stump, B. Antibody-drug conjugates: linking cytotoxic payloads to monoclonal antibodies. Bioconjugate chem., 2010, 21:5-13.

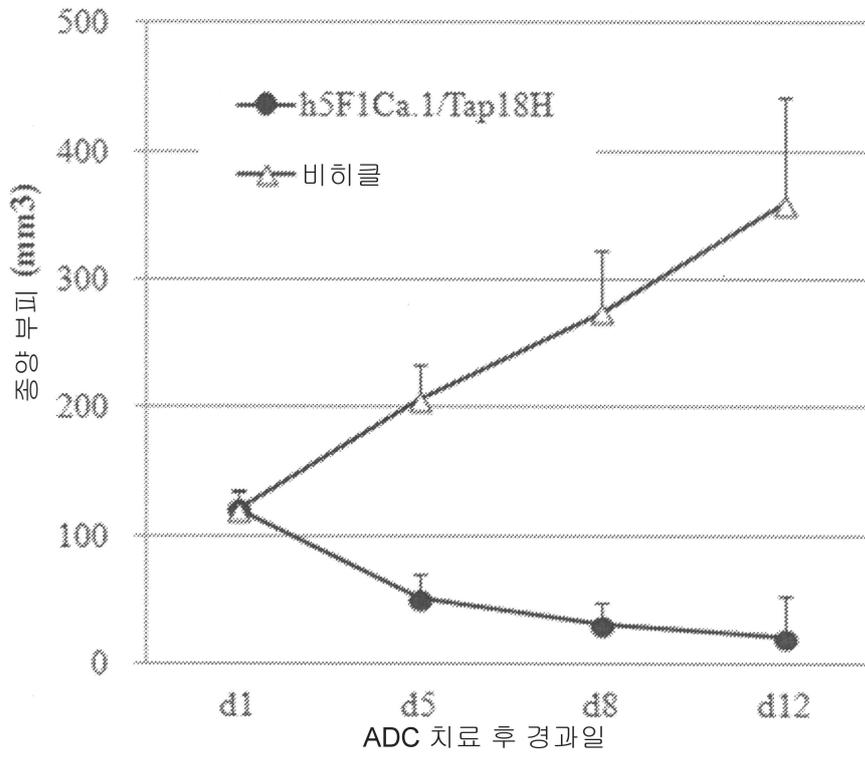
[0560] 4. Koblinski, JE., Ahram, M and Sloane, BF. Unraveling the role of proteases in cancer. Clin. Chem. Acta 2000; 291:113-135.

도면

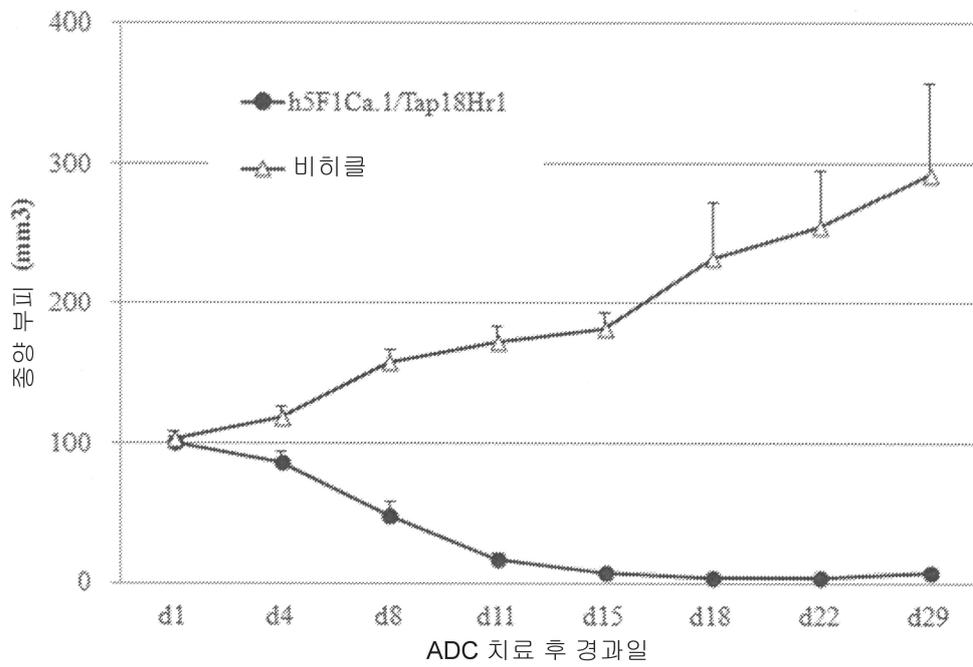
도면1



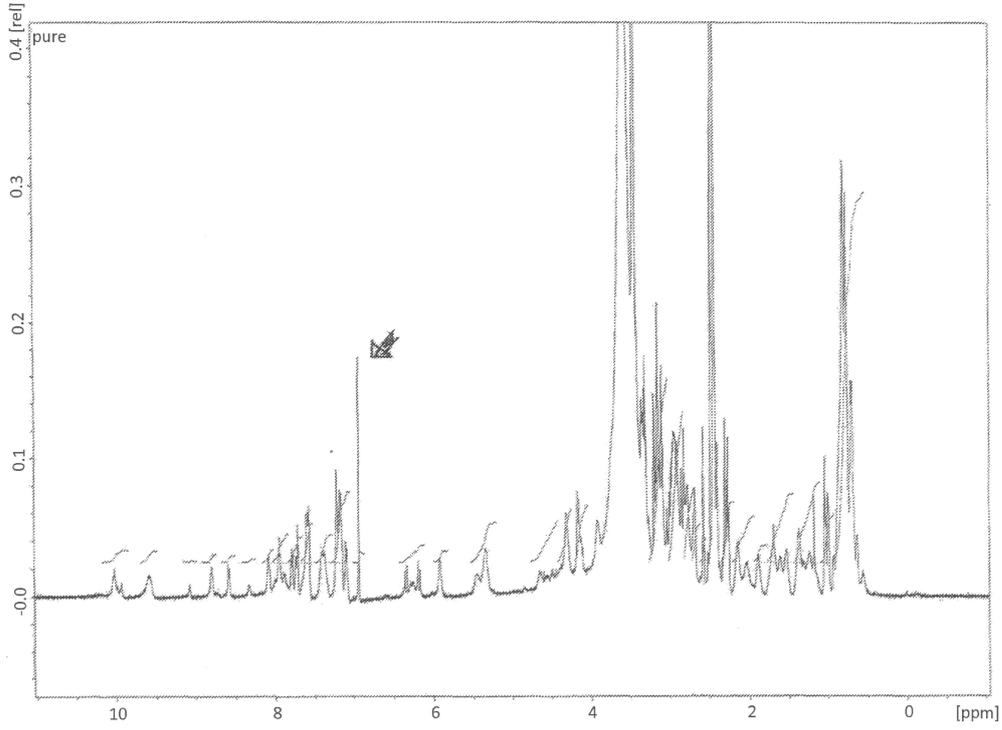
도면2



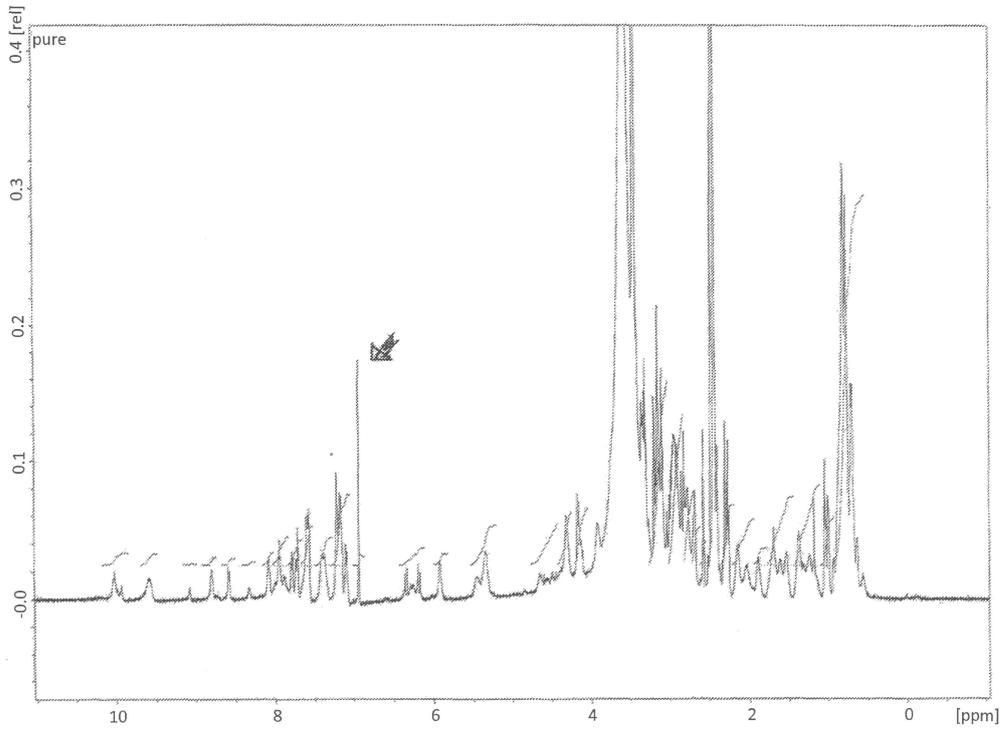
도면3



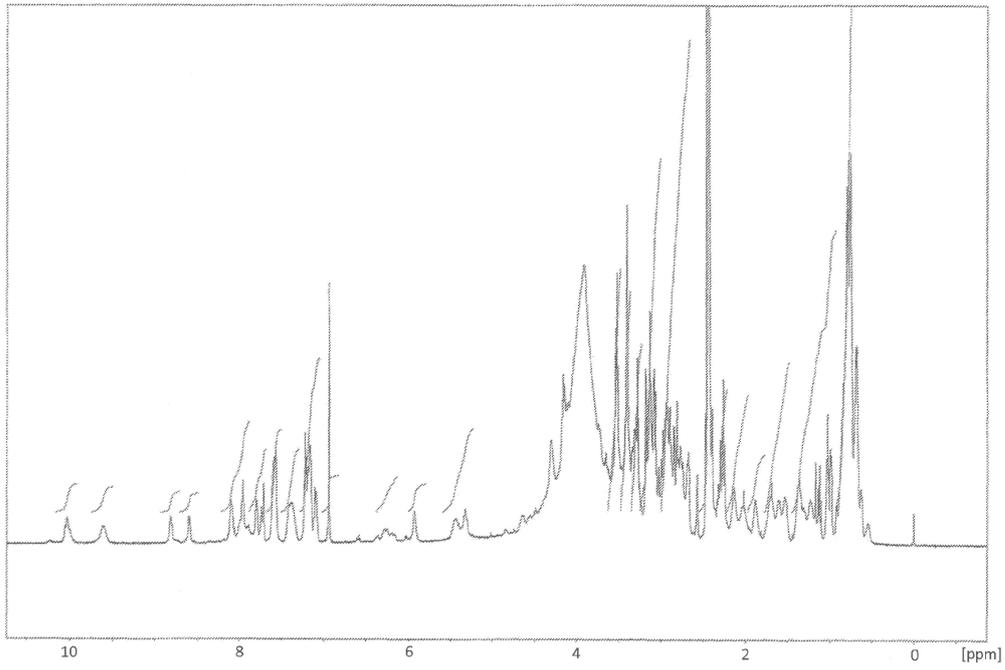
도면4



도면5



도면6



도면7

