



등록특허 10-2337414



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년12월10일

(11) 등록번호 10-2337414

(24) 등록일자 2021년12월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 47/48 (2006.01) A61K 31/4015 (2006.01)

A61K 38/05 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 47/6803 (2017.08)

A61K 31/4015 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-7018766

(22) 출원일자(국제) 2014년12월16일

심사청구일자 2019년12월03일

(85) 번역문제출일자 2016년07월12일

(65) 공개번호 10-2016-0110379

(43) 공개일자 2016년09월21일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/070493

(87) 국제공개번호 WO 2015/095124

국제공개일자 2015년06월25일

(30) 우선권주장

61/916,675 2013년12월16일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO2013177055 A2

WO2013041606 A1

(73) 특허권자

제넨테크, 인크.

미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

메디문 리미티드

영국 씨비21 6지에이치 캠프리지 그랜타 파크 밀스테인 빌딩

(72) 발명자

플라이게어, 존

미국, 캘리포니아 94080-4990, 사우스 샌프란시스코, 1 디엔에이 웨이, 제넨테크, 인크 내

건즈너-토스테, 자넷

미국, 캘리포니아 94080-4990, 사우스 샌프란시스코, 1 디엔에이 웨이, 제넨테크, 인크 내

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 1 항

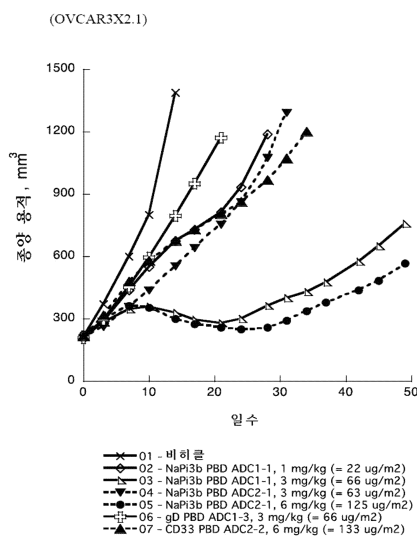
심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 펩타이드 모방체 화합물 및 이의 항체-약물 컨쥬게이트

(57) 요약

본 발명은 펩타이드 모방체 링커 및 이의 항체 약물 컨쥬게이트, 이들을 함유하는 약제학적 조성물, 및 암의 예방 또는 치료를 위한 요법에서 이들의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 38/05 (2013.01)

A61K 47/6849 (2017.08)

A61K 47/6889 (2017.08)

(72) 발명자

필로, 토마스

미국, 캘리포니아 94080-4990, 사우스 샌프란시스코, 1 디엔에이 웨이, 제넨테크, 인크 내

사피나, 브라이언

미국, 캘리포니아 94080-4990, 사우스 샌프란시스코, 1 디엔에이 웨이, 제넨테크, 인크 내

베르마, 비살

미국, 캘리포니아 94080-4990, 사우스 샌프란시스코, 1 디엔에이 웨이, 제넨테크, 인크 내

웨이, 빈칭

미국, 캘리포니아 94080-4990, 사우스 샌프란시스코, 1 디엔에이 웨이, 제넨테크, 인크 내

자오, 구일링

미국, 캘리포니아 94080-4990, 사우스 샌프란시스코, 1 디엔에이 웨이, 제넨테크, 인크 내

스타벤, 리에나

미국, 캘리포니아 94080-4990, 사우스 샌프란시스코, 1 디엔에이 웨이, 제넨테크, 인크 내

하워드, 필립, 윌슨

영국, 케임브리지셔 씨비1 7피에이치, 케임브리지, 그랜타 파크, 리버사이드 빌딩, 메디클 리미티드 내

마스터슨, 루크

영국, 케임브리지셔 씨비1 7피에이치, 케임브리지, 그랜타 파크, 리버사이드 빌딩, 메디클 리미티드 내

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

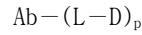
청구항 15

삭제

청구항 16

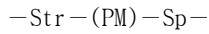
하기 화학식 I로 표시되는 항체-약물 컨쥬게이트 및 이의 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 암을 치료하기 위한 약제학적 조성물:

[화학식 I]

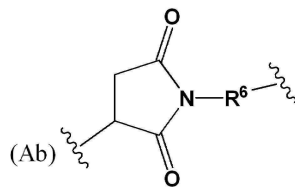


Ab는 종양 특이적 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고;

L은 하기 화학식:



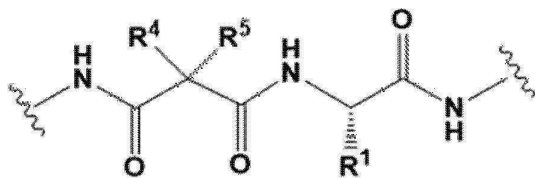
(식 중,



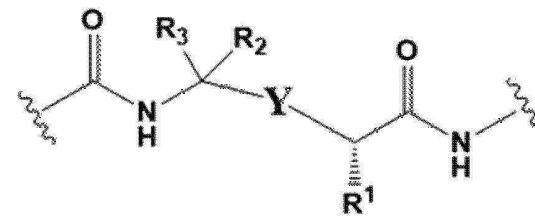
Str은 식 로 표시되는, Ab에 공유 부착된 스트레처 단위(stretcher unit)이고, 여기서 R⁶은 C₁-C₁₀알킬렌이고;

Sp는 약물 모이어티에 공유 부착된 -Ar-R^b-이고, 여기서 Ar은 페닐이고, R^b는 (C₁-C₁₀알킬렌)-C(=O)O-이며;

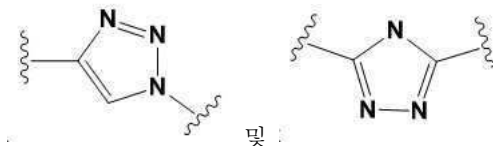
PM은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 비펩타이드 화학적 모이어티이고:



및



Y는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 모이어티이고:



및

각각의 R¹은 (C₁-C₁₀알킬)NHC(O)NH₂이며;

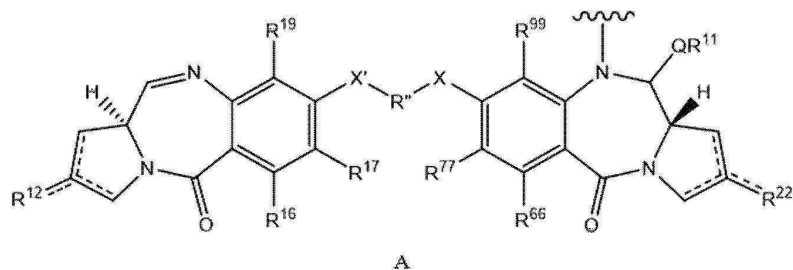
R³ 및 R²는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₁₀알킬이고;

R⁴와 R⁵는 함께 C₃-C₇사이클로알킬 고리를 형성한다)

으로 표시되는 펩타이드 모방체 링커이며;

p 는 1 내지 8의 정수이고;

D는 하기 화학식 A의 약물 모이어티 및 이들의 염 및 용매화물이다:



식 중,

물결선은 링커에 대한 공유적 부착 부위를 나타내고;

점선은 C1과 C2 또는 C2와 C3 사이의 이중 결합의 선택적 존재를 나타내며;

R²²는 H, =O, =CH₂, R^m, =CH-R^D, =C(R^D)₂로부터 독립적으로 선택되고, R^D는 R^m, CO₂ R^m, CO R^m, CHO, CO₂H 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

R^{66} 및 R^{99} 는 H이며;

R⁷⁷ 은 OMe이고;

$Q \neq 0$ 이며;

 R^{11} 은 H 이며;

R^m은 C₁-C₈ 알킬이고;

R^{12} , R^{16} , R^{19} 및 R^{17} 은 R^{22} , R^{66} , R^{99} 및 R^{77} 각각에 대해 정의한 바와 같으며;

R"은 C₃-C₁₂ 알킬렌기이며, 이의쇄는 벤젠에 의해 중단될 수 있고; 그리고

X 및 X' 은 0이다.

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항체-약물 컨쥬게이트(antibody-drug conjugate: ADC)의 링커로서 유용한 신규한 펩타이드 모방체(peptidomimetic) 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 펩타이드 모방체 링커 및 피롤로벤조다이아제핀(PBD)을 함유하는 ADC에 관한 것이다. 본 발명은 또한 인간에서 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 항암 약물을 종양 세포에 직접 전달하기 위한 단클론성 항체(monoclonal antibody: mAB)의 사용은 최근 수년간 크게 중점을 두게 되었다. 2종의 새로운 항체-약물 컨쥬게이트가 FDA에 의해 암치료용으로 승인되었다. 애드세트리스(Adcetris)(등록상표)(브렌톡시맵 베도틴)는 재발 또는 난치성 호지킨 림프종 및 전신 역형성 대세포 림프종(ALCL)의 치료용으로 나타난 CD30-관련 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)이다. 캐싸일라(Kadcyla)(등록상표)(아도-트라스투주맵 엠탄신)는 HER2-양성, 말기(전이성) 유방암을 지니는 환자에 대해 승인된 새로운 요법이다. ADC에서 강한 항종양 활성과 허용가능한 치료 지수 둘 다의 치료제를 얻기 위해, 몇몇 설계 양상이 최적화될 수 있다. 특히, 링커의 화학적 구조는 ADC의 효능과 안전성 둘 다에 대해 상당한 영향을 가질 수 있다는 것이 잘 알려져 있다(Ducry & Stump, Bioconjugate Chem, 2010, 21, 5-13). 정확한 링커를 선택하는 것은 암세포의 의도된 세포 구획에 대한 적절한 약물 전달에 영향을 미친다. 링커는 일반적으로 두 범주로 나누어질 수 있다: 절단가능(예컨대 펩타이드, 하이드르존, 또는 다이설파이드) 또는 비절단가능(예컨대 티오에터). 리소좀 효소(예컨대 카텝신 B)에 의해 가수분해될 수 있는 펩타이드 링커, 예컨대 발린-시트룰린(Val-Cit)은 약물을 항체와 연결하는데 사용되었다(미국 특허 제6214345호). 그들은 체순환에서 그들의 상대적 안정성 및 종양에서 약물을 효율적으로 방출시키는 능력에 부분적으로 기인하여 특히 유용하였다. Val-Cit 링커를 함유하는 ADC는 생체내에서 상대적으로 안정한 것으로 나타났다(7일까지 약물 방출에 대한 t1/2(Doronina et al (2008), Bioconjugate Chem., 19, 1960-1963). 그러나, 천연 펩타이드에 의해 표시되는 화학적 공간은 제한되고; 따라서, 펩타이드와 같이 작용하고 리소좀 프로테아제에 의해 효과적으로 절단될 수 있는 다양한 비펩타이드 링커를 갖는 것이 바람직하다. 비펩타이드 구조의 더 큰 밀도는 펩타이드 링커에 의해 제공되지 않는 신규하고, 유리한 특성을 수득할 수 있다. 본 명세서에서 리소좀 효소에 의해 절단될 수 있는 ADC에 대한 상이한 유형의 비펩타이드 링커가 제공된다.

발명의 내용

[0003] 본 발명은 하기 화학식 I로 표시되는 항체-약물 컨쥬게이트에 관한 것이다:

[0004] [화학식 I]

[0005] $Ab-(L-D)_p$,

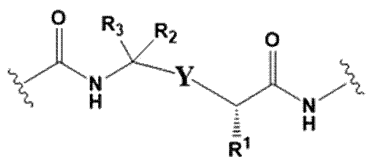
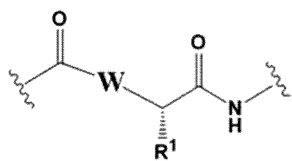
[0006] Ab는 항체이고;

[0007] L은 하기 화학식으로 표시되는 펩타이드 모방체 링커이며,

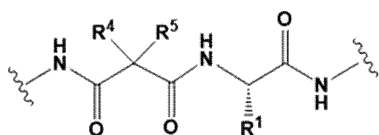
[0008] $-Str-(PM)-Sp-$

[0009] 식 중,

- [0010] Str은 Ab에 공유 부착된 스트레처 단위(stretcher unit)이고;
- [0011] Sp는 결합 또는 약물 모이어티에 공유 부착된 스페이서 단위이며;
- [0012] PM은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 비펩타이드 화학적 모이어티이고:

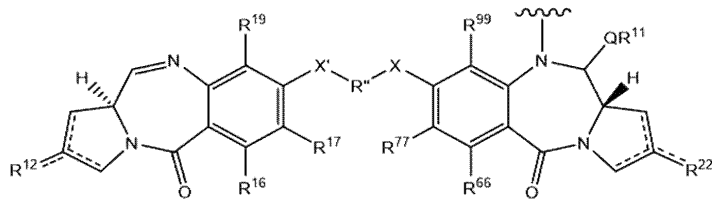


및

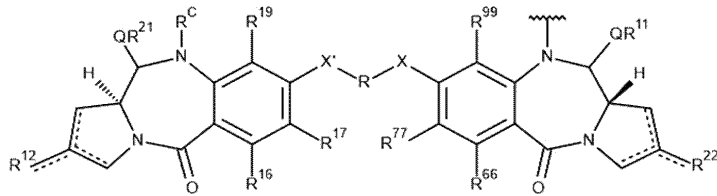


- [0013]
- [0014] W는 -NH-헤테로사이클로알킬- 또는 헤테로사이클로알킬이며;
- [0015] Y는 헤테로아릴, 아릴, -C(O)C₁-C₆알킬렌, C₁-C₆알켄일, C₁-C₆알킬렌일 또는 -C₁-C₆알킬렌-NH-이고;
- [0016] 각각의 R¹은 독립적으로 C₁-C₁₀알킬, C₁-C₁₀알켄일, (C₁-C₁₀알킬)NHC(NH)NH₂ 또는 (C₁-C₁₀알킬)NHC(O)NH₂이며;
- [0017] R³ 및 R²는 각각 독립적으로 H, C₁-C₁₀알킬, C₁-C₁₀알켄일, 아릴알킬 또는 헤테로아릴알킬이거나, 또는 R³과 R²는 함께 C₃-C₇사이클로알킬을 형성할 수 있고;
- [0018] R⁴ 및 R⁵는 각각 독립적으로 C₁-C₁₀알킬, C₁-C₁₀알켄일, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, (C₁-C₁₀알킬)OCH₂-이거나, 또는 R⁴ 및 R⁵는 C₃-C₇사이클로알킬 고리를 형성할 수 있으며;
- [0019] p는 1 내지 8의 정수이고;

[0020] D는 하기 화학식 A의 약물 모이어티 또는 하기 화학식 B의 약물 모이어티 또는 이들의 염 및 용매화물이며:



A



B

[0021]

[0022] 식 중,

[0023] 물결선은 링커에 대한 공유적 부착 부위를 나타내고;

[0024] 점선은 C1과 C2 또는 C2와 C3 사이의 이중 결합의 선택적 존재를 나타내며;

[0025] R^{22} 는 H, OH, =O, =CH₂, CN, R^m, O R^m, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂- R^m, CO₂ R^m 및 CO R^m으로부터 독립적으로 선택되고, 선택적으로 할로 또는 다이할로로부터 추가로 선택되되, R^D는 R^m, CO₂ R^m, CO R^m, CHO, CO₂H 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

[0026] R⁶⁶ 및 R⁹⁹는 H, R^m, OH, O R^m, SH, S R^m, NH₂, NH R^m, N R^m R^p, NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되며;

[0027] R⁷⁷은 H, R^m, OH, O R^m, SH, S R^m, NH₂, NH R^m, N R^m R^p, NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

[0028] Q는 O, S 및 NH로부터 독립적으로 선택되며;

[0029] R¹¹은 H, 또는 R^m 또는, Q가 O인 경우, SO₃M이고, 여기서 M은 금속 양이온이며;

[0030] R^m 및 R^p는 선택적으로 치환된 C₁-C₈ 알킬, C₂-C₈ 알켄일, C₂-C₈ 알킨일, C₃-C₈ 사이클로알킬, C₃-C₈ 헤테로사이클릴 C₅-C₂₀ 아릴 및 C₅-20 헤테로아릴기로부터 각각 독립적으로 선택되고, 선택적으로 N R^m R^p, R^m 및 R^p기와 관련하여 그들이 부착된 질소 원자와 함께 선택적으로 치환된 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로환식 고리를 형성하고;

[0031] R¹², R¹⁶, R¹⁹, R²¹ 및 R¹⁷은 R²², R⁶⁶, R⁹⁹, R¹¹ 및 R⁷⁷ 각각에 대해 정의한 바와 같으며;

[0032] Rⁿ은 C₃-C₁₂ 알킬렌기이며, 이의쇄는 하나 이상의 헤테로원자, 예를 들어, O, S, N(H), NMe 및/또는 방향족 고리, 예를 들어, 벤젠 또는 피리딘에 의해 중단될 수 있고, 이의 고리는 선택적으로 치환되고;

[0033] X 및 X'은 O, S 및 N(H)로부터 독립적으로 선택되며;

[0034] R^c는 캡핑기이다.

[0035] 본 발명은 또한 화학식 I의 항체-약물 컨쥬게이트의 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0036] 본 발명은 또한 암 치료방법, 요법에서 화학식 I의 항체-약물 컨쥬게이트의 용도, 및 암치료를 위한 의약의 제조에서 화학식 I의 항체-약물 컨쥬게이트의 용도에 관한 것이다.

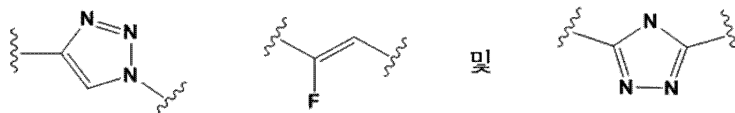
[0037] 본 발명은 또한 화학식 I의 항체-약물 컨쥬게이트의 제조방법에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

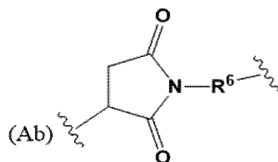
- [0038] 도 1은 OVCAR3X2.1 인간 난소 종양을 지니는 SCID-베이지 마우스에서 NaPi3b ADC(NaPi3b PBD ADC1-1 및 ADC2-1)의 효능 비교를 도시한 도면.
- 도 2는 OVCAR3X2.1 인간 난소 종양을 지니는 SCID-베이지 마우스에서 NaPi3b ADC(NaPi3b PBD ADC1-1 및 ADC3-1)의 효능 비교를 도시한 도면.
- 도 3은 EOL-1 인간 급성 골수성 백혈병 종양을 지니는 SCID 마우스에서 다양한 용량에서 CD33 PBD ADC2-2의 효능을 도시한 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0039] 본 명세서에서 리소좀 효소에 의해 절단될 수 있는 ADC에 대한 상이한 유형의 비펩타이드 링커가 제공된다. 예를 들어, 다이펩타이드(예를 들어, Val-Cit) 중간에서 아마이드 결합은 아마이드 모방체로 대체되고/되거나; 전체 아미노산(예를 들어, Val-Cit 다이펩타이드에서 발린 아미노산)은 비아미노산 모이어티(예를 들어, 사이클로알킬 다이카보닐 구조(예를 들어, 고리 크기 = 4 또는 5))로 대체되었다.
- [0040] 본 발명은 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다.
- [0041] 본 발명은 또한 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이되, Y는 헤테로아릴이고; R⁴와 R⁵는 함께 사이클로뷰틸 고리를 형성한다.
- [0042] 본 발명은 또한 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이되, Y는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 모이어티이다,

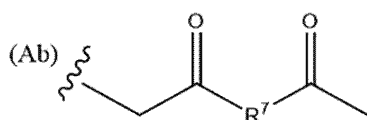


- [0043] 본 발명은 또한 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이되,
- [0044] Str은 하기 화학식으로 표시되는 화학적 모이어티이다:



- [0046]
- [0047] 식 중, R⁶은 C₁-C₁₀알킬렌, C₁-C₁₀알켄일, C₃-C₈사이클로알킬, (C₁-C₈알킬렌)O-, 및 C₁-C₁₀알킬렌-C(O)N(R^a)-C₂-C₆알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 각각의 알킬렌은 할로, 트라이플루오로메틸, 다이플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 사이아노, 설펜일, 설펜아마이드, 설펜사이드, 하이드록시, 알콕시, 에스터, 카복실산, 알킬티오 아릴, C₃-C₈사이클로알킬, C₄-C₇헤테로사이클로알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a는 독립적으로 H 또는 C₁-C₆알킬이며; Sp는 -Ar-R^b-이되, Ar은 아릴 또는 헤테로아릴이며, R^b는 (C₁-C₁₀알킬렌)-C(=O)O-이다.

- [0048] 본 발명은 또한 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이되, Str은 하기 화학식을 갖되:



- [0049]
- [0050] 식 중, R⁷은 C₁-C₁₀알킬렌, C₁-C₁₀알켄일, (C₁-C₁₀알킬렌)O-, N(R^c)-(C₂-C₆알킬렌)-N(R^c) 및 N(R^c)-(C₂-C₆알킬렌)으

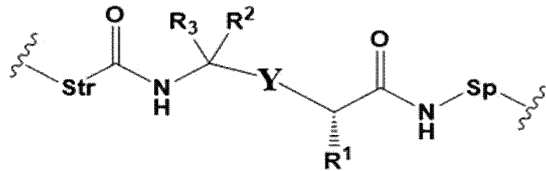
로부터 선택되며; 각각의 R^c 는 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이고; Sp 는 $-Ar-R^b-$ 이되, Ar은 아릴 또는 헤테로 아릴이고, R^b 는 $(C_1-C_{10}알킬렌)-C(=O)O-$ 이다.

[0051] 본 발명은 또한 하기로 표시되는 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다:

[0052] [화학식 I]

[0053] $Ab-(L-D)_p$

[0054] 식 중, Ab는 항체이고; L은 하기 화학식에 의해 표시된 비펩타이드 화학적 모이어티이고,



[0055]

[0056] R^1 은 C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알켄일, $(C_1-C_6알킬)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6알킬)NHC(O)NH_2$ 이며;

[0057] R^3 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, C_1-C_{10} 알킬이다.

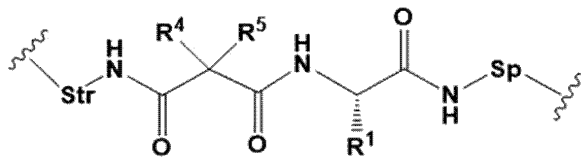
[0058] 본 발명은 또한 하기 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다:

[0059] [화학식 I]

[0060] $Ab-(L-D)_p$

[0061] 식 중, Ab는 항체이고;

[0062] L은 하기 화학식으로 표시되는 비펩타이드 화학적 모이어티이며,



[0063]

[0064] R^1 은 C_1-C_6 알킬, $(C_1-C_6알킬)NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6알킬)NHC(O)NH_2$ 이고;

[0065] R^4 와 R^5 는 함께 C_3-C_7 사이클로알킬 고리를 형성한다.

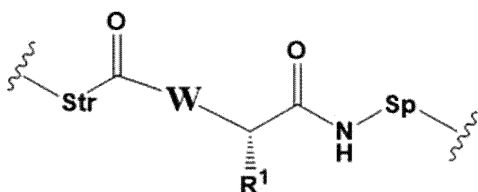
[0066] 본 발명은 또한 하기 식으로 표시되는 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다:

[0067] [화학식 I]

[0068] $Ab-(L-D)_p$

[0069] 식 중, Ab는 항체이고;

[0070] L은 하기 화학식으로 표시되는 비펩타이드 화학적 모이어티이다:

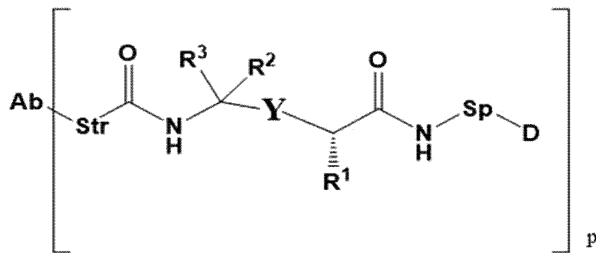


[0071]

[0072] R^1 은 C_1 - C_6 알킬, $(C_1$ - C_6 알킬) $NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1$ - C_6 알킬) $NHC(O)NH_2$ 이다.

[0073] 본 발명은 또한 하기 화학식으로 표시되는 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다:

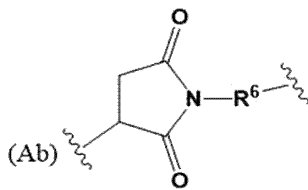
[0074] [화학식 II]



[0075]

[0076] 식 중,

[0077] Str은 하기 화학식으로 표시되는 화학적 모이어티이고:



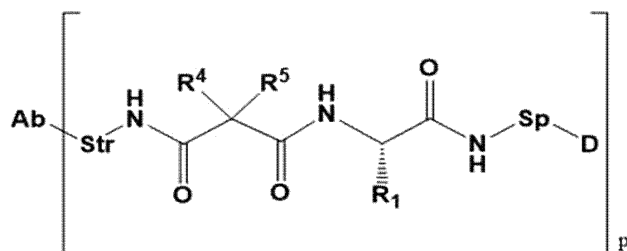
[0078]

[0079] R^6 은 C_1 - C_{10} 알킬렌, 및 C_1 - C_{10} 알킬렌- $C(O)N(R^a)$ - C_2 - C_6 알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 각각의 알킬렌은 할로, 트라이플루오로메틸, 다이플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 사이아노, 설펜일, 설펜아마이드, 설폭사이드, 하이드록시, 알콕시, 에스터, 카복실산, 알킬티오 아릴, C_3 - C_8 사이클로알킬, C_4 - C_7 헤테로사이클로알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a 는 독립적으로 H 또는 C_1 - C_6 알킬이며;

[0080] p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0081] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 표시된 화학식 I의 항체-컨쥬게이트에 관한 것이다:

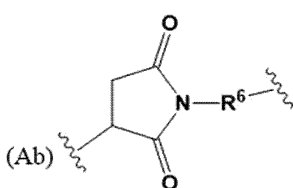
[0082] [화학식 III]



[0083]

[0084] 식 중,

[0085] Str은 하기 화학식으로 표시되는 화학적 모이어티이고:



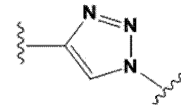
[0086]

[0087] R^6 은 C_1 - C_{10} 알킬렌, 및 C_1 - C_{10} 알킬렌- $C(O)N(R^a)$ - C_2 - C_6 알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 각각의 알킬렌은 할로, 트라이플루오로메틸, 다이플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 사이아노, 설포닐, 설포아마이드, 설펍사이드, 하이드록시, 알콕시, 에스터, 카복실산, 알킬티오 아릴, C_3 - C_8 사이클로알킬, C_4 - C_7 헤테로사이클로알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a 는 독립적으로 H 또는 C_1 - C_6 알킬이며;

[0088] p는 1, 2, 3 또는 4이다.

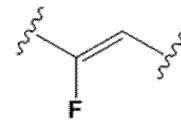
[0089] 본 발명은 또한 상기 항체-컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, Y는 헤테로아릴, 아릴 또는 알켄일이고; R^6 은 C_1 - C_{10} 알킬렌이다.

[0090] 본 발명은 또한 상기 항체-컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, Y는



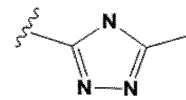
이다.

[0091] 본 발명은 또한 상기 항체-컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, Y는



이다.

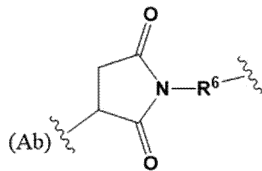
[0092] 본 발명은 또한 상기 항체-컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, Y는



이다.

[0093] 본 발명은 또한 상기 항체-컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되,

[0094] Str은 하기 화학식으로 표시되는 화학적 모이어티이고:

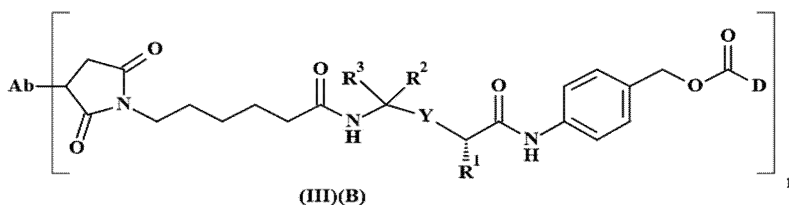


[0095]

[0096] R^6 은 C_1 - C_6 알킬렌이며;

[0097] Sp는 $-Ar-R^b-$ 이고, 여기서 Ar은 아릴이며, R^b 는 $(C_1-C_3$ 알킬렌)- $C(=O)O-$ 이다.

[0098] 본 발명은 또한 하기 화학식으로 표시되는 상기 항체-컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이다:



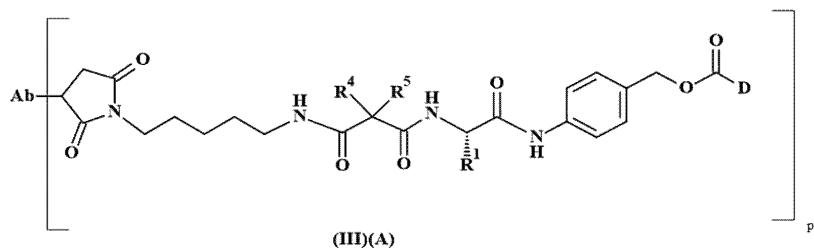
[0099]

[0100] 식 중,

[0101] R^1 은 C_1 - C_6 알킬- NH_2 , $(C_1-C_6$ 알킬) $NHC(NH)NH_2$ 또는 $(C_1-C_6$ 알킬) $NHC(O)NH_2$ 이고

[0102] p는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0103] 본 발명은 또한 하기 화학식에 의해 표시된 상기 항체-컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이다:



[0104]

[0105] 식 중,

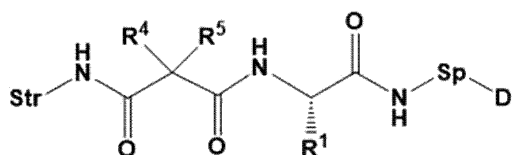
[0106] p는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0107] R¹은 C₁-C₆알킬-NH₂, (C₁-C₆알킬)NHC(NH)NH₂ 또는 (C₁-C₆알킬)NHC(O)NH₂이며;

[0108] R⁴ 및 R⁵는 각각 독립적으로 C₁-C₆알킬이되, 상기 알킬은 비치환되거나, 또는 R⁴ 및 R⁵는 C₃-C₇사이클로알킬 고리를 형성할 수 있다.

[0109] 본 발명은 또한 하기 화학식 IV의 비펩타이드 화합물에 관한 것이다:

[0110] [화학식 IV]



[0111]

[0112] 식 중,

[0113] Str은 항체에 공유 부착될 수 있는 스트레처 단위이고;

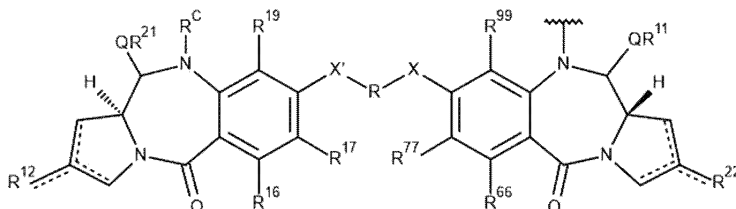
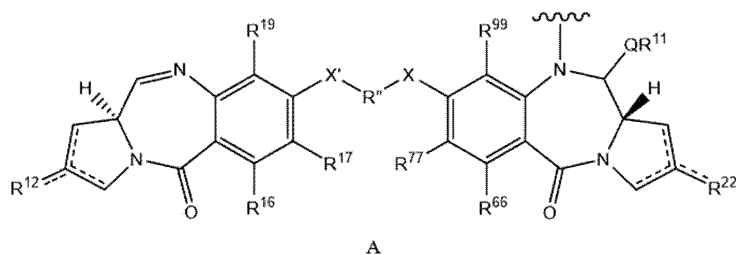
[0114] Sp는 결합 또는 약물 모이어티에 공유 부착된 스페이서 단위이며;

[0115] R¹은 C₁-C₁₀알킬, (C₁-C₁₀알킬)NHC(NH)NH₂ 또는 (C₁-C₁₀알킬)NHC(O)NH₂이고;

[0116] R⁴ 및 R⁵는 각각 독립적으로 C₁-C₁₀알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, (C₁-C₁₀알킬)OCH₂-이거나, 또는

[0117] R⁴ 및 R⁵는 C₃-C₇사이클로알킬 고리를 형성할 수 있으며;

[0118] D는 하기 화학식 A의 약물 모이어티 또는 하기 화학식 B의 약물 모이어티 및 이들의 염 및 용매화물이다:



[0119]

[0120]

[0121] 식 중:

[0122] 물결선은 링커에 대한 공유적 부착 부위를 나타내고;

[0123] 점선은 C1과 C2 또는 C2와 C3 사이의 이중 결합의 선택적 존재를 나타내며;

[0124] R^{22} 는 H, OH, =O, =CH₂, CN, R^m, O R^m, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂- R^m, CO₂ R^m 및 CO R^m으로부터 독립적으로 선택되고, 선택적으로 할로 또는 다이할로로부터 추가로 선택되며, R^D는 R^m, CO₂ R^m, CO R^m, CHO, CO₂H, 및 할로로부터 독립적으로 선택되며;

[0125] R⁶⁶ 및 R⁹⁹는 H, R^m, OH, O R^m, SH, S R^m, NH₂, NH R^m, N R^m R^p, NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

[0126] R⁷⁷은 H, R^m, OH, O R^m, SH, S R^m, NH₂, NH R^m, N R^m R^p, NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되며;

[0127] Q는 O, S 및 NH로부터 독립적으로 선택되고;

[0128] R¹¹은 H, 또는 R^m 또는, Q가 O인 경우, SO₃M이고, 여기서 M은 금속 양이온이며;

[0129] R^m 및 R^p는 선택적으로 치환된 C₁₋₈ 알킬, C₂₋₈ 알켄일, C₂₋₈ 알킨일, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₃₋₈ 헤테로사이클릴, C₅₋₂₀ 아릴 및 C₅₋₂₀ 헤테로아릴기로부터 각각 독립적으로 선택되고, 선택적으로 N R^m R^p, R^m 및 R^p기와 관련하여 그들이 부착된 질소 원자와 함께 선택적으로 치환된 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로환식 고리를 형성하며;

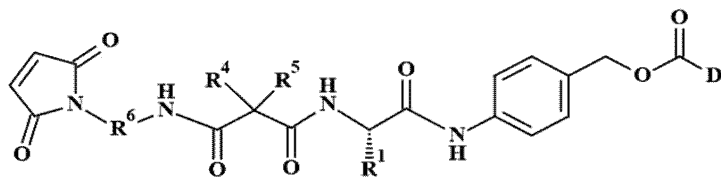
[0130] R¹², R¹⁶, R¹⁹, R²¹ 및 R¹⁷은 각각 R²², R⁶⁶, R⁹⁹, R¹¹ 및 R⁷⁷에 대해 정의한 바와 같고;

[0131] R''는 C₃-C₁₂ 알킬렌기이며, 이의쇄는 하나 이상의 헤테로원자, 예를 들어, O, S, N(H), NMe 및/또는 방향족 고리, 예를 들어, 벤젠 또는 피리딘에 의해 중단될 수 있고, 이의 고리는 선택적으로 치환되며;

[0132] X 및 X'은 O, S 및 N(H)로부터 독립적으로 선택되고;

[0133] R^C는 캡핑기이다.

[0134] 본 발명은 또한 하기 화학식(IV)(A)로 표시되는 비펩타이드 화합물에 관한 것이다:

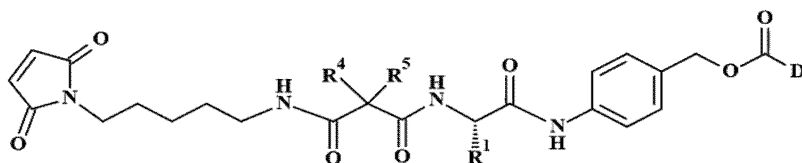


(IV)(A)

[0135]

[0136] 식 중, R₆은 C₁-C₁₀알킬렌이고; R⁴와 R⁵는 함께 C₃-C₇사이클로알킬 고리를 형성한다.

[0137] 본 발명은 또한 하기 화학식(IV)(B)로 표시되는 비펩타이드 화합물에 관한 것이다:



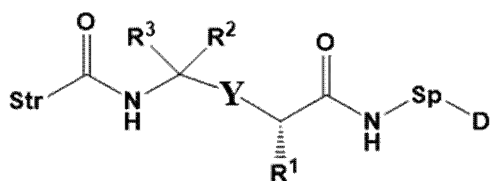
(IV)(B)

[0138]

[0139] 본 발명은 또한 하기 화학식 V의 비펩타이드 화합물에 관한 것이다:

[0140]

[화학식 V]



[0141]

[0142] 식 중,

[0143] Str은 항체에 공유 부착될 수 있는 스트레처 단위이고;

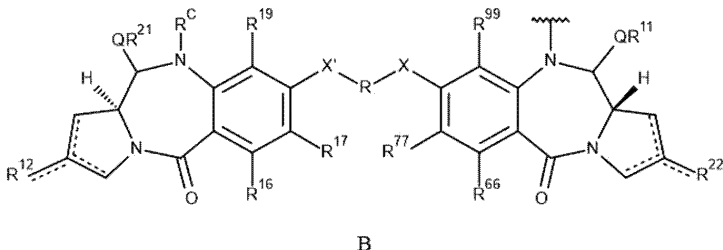
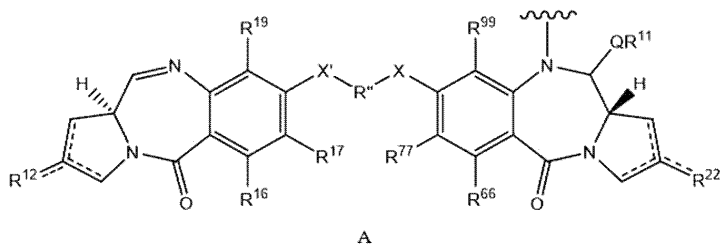
[0144] Sp는 약물 모이어티에 공유 부착된 선택적 스페이서 단위이며;

[0145] Y는 헤테로아릴, 아릴, -C(O)C₁-C₆알켄일, C₁-C₆알켄일 또는 -C₁-C₆알켄일-NH-이고;

[0146] R¹은 C₁-C₁₀알킬, (C₁-C₁₀알킬)NHC(NH)NH₂ 또는 (C₁-C₁₀알킬)NHC(O)NH₂이며;

[0147] R³ 및 R²는 각각 독립적으로 H, C₁-C₁₀알킬, 아릴알킬 또는 헤테로아릴알킬이거나, 또는 R³과 R²는 함께 C₃-C₇사이클로알킬을 형성하고;

[0148] D는 하기 화학식 A의 약물 모이어티 또는 하기 화학식 B의 약물 모이어티 및 이들의 염 및 용매화물이다:



[0149]

[0150] 식 중,

[0151] 물결선은 링커에 대한 공유적 부착 부위를 나타내고;

[0152] 점선은 C1과 C2 또는 C2와 C3 사이의 이중 결합의 선택적 존재를 나타내며;

[0153] R^{22} 는 H, OH, =O, =CH₂, CN, R^m, O R^m, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂- R^m, CO₂ R^m 및 CO R^m으로부터 독립적으로 선택되고, 선택적으로 할로 또는 다이할로로부터 추가로 선택되며, R^D는 R^m, CO₂ R^m, CO R^m, CHO, CO₂H, 및 할로로부터 독립적으로 선택되며;

[0154] R⁶⁶ 및 R⁹⁹는 H, R^m, OH, O R^m, SH, S R^m, NH₂, NH R^m, N R^m R^p, NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

[0155] R⁷⁷은 H, R^m, OH, O R^m, SH, S R^m, NH₂, NH R^m, N R^m R^p, NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되며;

[0156] Q는 O, S 및 NH로부터 독립적으로 선택되고;

[0157] R¹¹은 H, 또는 R^m 또는, Q가 O인 경우, SO₃M이고, 여기서 M은 금속 양이온이며;

[0158] R^m 및 R^p는 선택적으로 치환된 C₁₋₈ 알킬, C₂₋₈ 알켄일, C₂₋₈ 알킨일, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₃₋₈ 헤테로사이클릴, C₅₋₂₀ 아릴 및 C₅₋₂₀ 헤테로아릴기로부터 각각 독립적으로 선택되고, 선택적으로 N R^m R^p, R^m 및 R^p기와 관련하여 그들이 부착된 질소 원자와 함께 선택적으로 치환된 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로환식 고리를 형성하고;

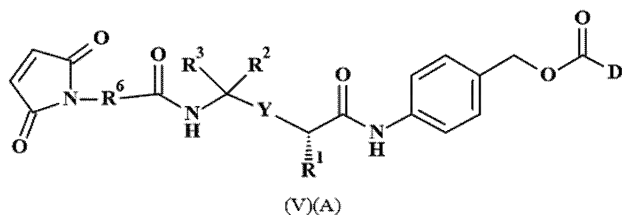
[0159] R¹², R¹⁶, R¹⁹ 및 R¹⁷은 각각 R²², R⁶⁶, R⁹⁹ 및 R⁷⁷에 대해 정의한 바와 같으며;

[0160] Rⁿ는 C₃₋₁₂ 알킬렌기이고, 이의쇄는 하나 이상의 헤테로원자, 예를 들어, O, S, N(H), NMe 및/또는 방향족 고리, 예를 들어, 벤젠 또는 피리딘에 의해 중단될 수 있고, 이의 고리는 선택적으로 치환되며;

[0161] X 및 X'은 O, S 및 N(H)로부터 독립적으로 선택되고;

[0162] R^C는 캡핑기이다.

[0163] 본 발명은 또한 하기 화학식(V)(A)로 표시되는 비펩타이드 화합물에 관한 것이다:

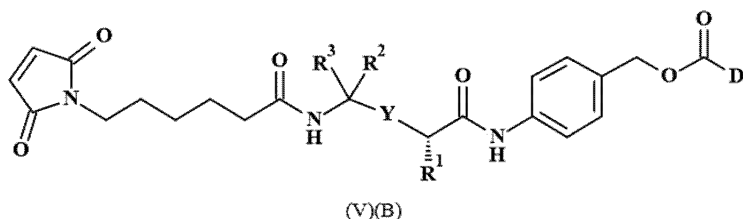


[0164]

[0165] 식 중,

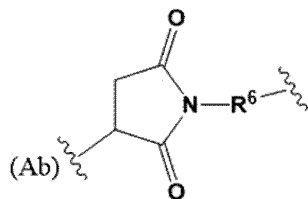
[0166] R_6 은 C_1 - C_{10} 알킬렌이다.

[0167] 본 발명은 또한 하기 화학식(V)(B)로 표시되는 비펩타이드 화합물에 관한 것이다:



[0168]

[0169] 본 발명은 또한 임의의 상기 비펩타이드 화합물에 관한 것이되, Str은 하기 화학식을 가진다:



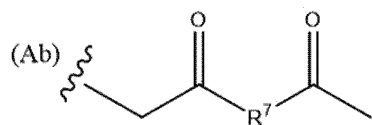
[0170]

[0171] 식 중, R^6 은 C_1 - C_{10} 알킬렌, C_3 - C_8 사이클로알킬, O -(C_1 - C_8 알킬렌), 및 C_1 - C_{10} 알킬렌- $C(=O)N(R^a)$ - C_2 - C_6 알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 각각의 알킬렌은 할로, 트라이플루오로메틸, 다이플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 사이아노, 설펜일, 설펜아마이드, 설펜사이드, 하이드록시, 알콕시, 에스터, 카복실산, 알킬티오 아릴, C_3 - C_8 사이클로알킬, C_4 - C_7 헤테로사이클로알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a 는 독립적으로 H 또는 C_1 - C_6 알킬이며; Sp 는 $-Ar-R^b-$ 이며, 여기서 Ar은 아릴 또는 헤테로아릴이고, R^b 는 (C_1 - C_{10} 알킬렌)- $C(=O)$ -O-이다.

[0172] 본 발명은 또한 비펩타이드 화합물에 관한 것이되, R^6 은 C_1 - C_{10} 알킬렌, Sp 는 $-Ar-R^b-$ 이고, Ar은 아릴이며, R^b 는 (C_1 - C_6 알킬렌)- $C(=O)$ -O-이다.

[0173] 본 발명은 또한 비펩타이드 화합물에 관한 것이며, R_6 은 $-(CH_2)_q$ 이고, 1 내지 10이다;

[0174] 본 발명은 또한 비펩타이드 화합물에 관한 것이며, Str은 하기 화학식을 가진다:



[0175]

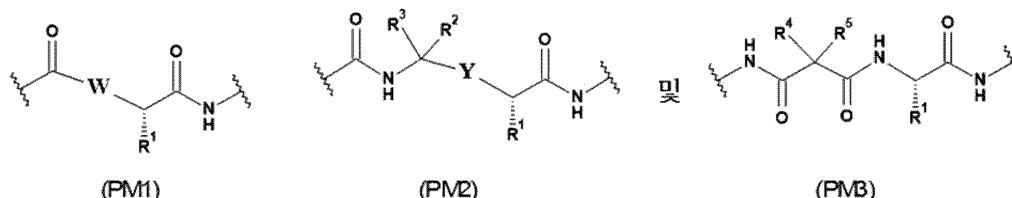
[0176] 식 중, R^7 은 C_1 - C_{10} 알킬렌, C_1 - C_{10} 알킬렌-O-, $N(R^c)$ -(C_2 - C_6 알킬렌)- $N(R^c)$ 및 $N(R^c)$ -(C_2 - C_6 알킬렌)으로부터 선택되며; 각각의 R^c 는 독립적으로 H 또는 C_1 - C_6 알킬이고;

[0177] Sp는 $-\text{Ar}-\text{R}^b-$ 이며, Ar은 아릴 또는 헤테로아릴이고, R^b 는 $(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ 알킬렌)-C(=O)-O-이다.

[0178] 본 발명은 또한 비펩타이드 화합물에 관한 것이되, R^6 은 C_1-C_{10} 알킬렌이고, Sp는 $-\text{Ar}-\text{R}^b-$ 이며, Ar은 아릴이고, R^b 는 (C_1-C_6) 알킬렌)-C(=O)-O-이다.

[0179] PM

[0180] 상기 기재한 바와 같이, PM은 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 비펩타이드 화학적 모이어티이다:

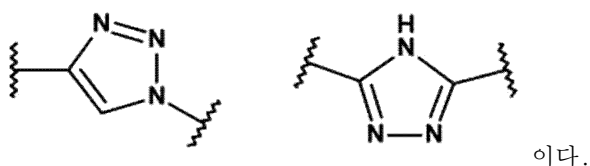


[0181]

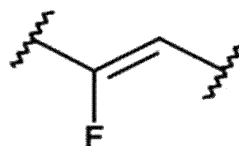
[0182] 각각의 PM1, PM2 및 PM3에서, R^1 은 독립적으로 C_1-C_{10} 알킬, C_1-C_{10} 알켄일, $(\text{C}_1-\text{C}_{10})\text{알킬})\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 또는 $(\text{C}_1-\text{C}_{10})\text{알킬})\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 이다. 일부 실시형태에서, R^1 은 C_1-C_6 알킬, $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬})\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 또는 $(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{알킬})\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 이다. 일부 실시형태에서, R^1 은 $\text{C}_3\text{H}_6\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 이다.

[0183] PM1에서, W는 $-\text{NH}-$ 헤테로사이클로알킬- 또는 헤테로사이클로알킬이다. 일부 실시형태에서, ...

[0184] PM2에서, Y는 헤테로아릴, 아릴, $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6$ 알킬렌, C_1-C_6 알켄일, C_1-C_6 알킬렌일 또는 $-\text{C}_1-\text{C}_6$ 알킬렌-NH-이다. 일부 실시형태에서, Y는 헤테로아릴이다. 이들 실시형태의 일부에서, Y는

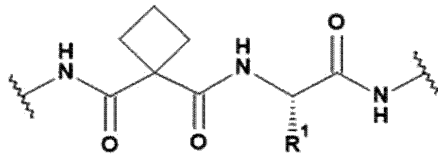


[0185] 다른 실시형태에서, Y는 C_1-C_6 알킬렌일이다. 이들 실시형태의 일부에서, Y는



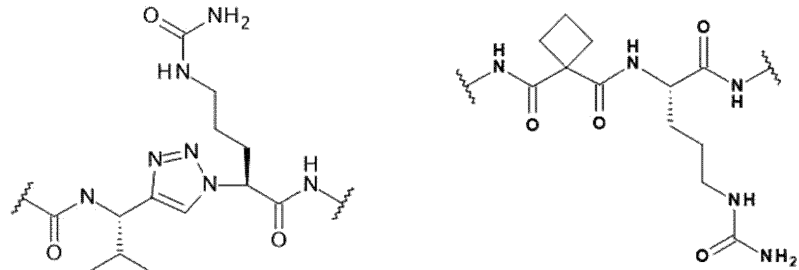
[0186] PM2에서, R^3 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, C_1-C_{10} 알킬, C_1-C_{10} 알켄일, 아릴알킬 또는 헤테로아릴알킬이거나, 또는 R^3 과 R^2 는 함께 (그들이 부착된 탄소 원자와 함께) C_3-C_7 사이클로알킬을 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, R^2 및 R^3 은 각각 독립적으로 H 또는 C_1-C_{10} 알킬이다. 하나의 이러한 실시형태에서, R^2 는 H이고, R^3 은 아이소-프로필이다.

[0187] PM3에서, R^4 및 R^5 는 각각 독립적으로 C_1-C_{10} 알킬, C_1-C_{10} 알켄일, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, $(\text{C}_1-\text{C}_{10})\text{알킬})\text{OCH}_2-$ 이거나, 또는 R^4 및 R^5 는 (그들이 부착된 탄소 원자와 함께) C_3-C_7 사이클로알킬 고리를 형성할 수 있다. 이들 실시형태의 일부에서, R^4 와 R^5 는 함께 (그들이 부착된 탄소 원자와 함께) C_3-C_7 사이클로알킬 고리를 형성한다. 특히,



그들은 PM3가

이 되도록, 사이클로뷰틸기를 형성할 수 있다.

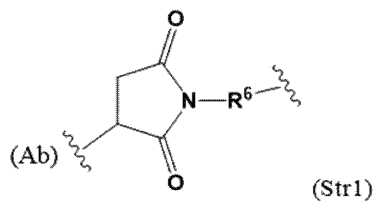


[0188] 일부 실시형태에서, PM 기는 다.

[0189] Str

[0190] 상기 기재한 바와 같이, Str은 Ab에 공유 부착된 스트레처 단위이다.

[0191] 일부 실시형태에서, Str은 하기 화학식으로 표시되는 화학적 모이어티이다:



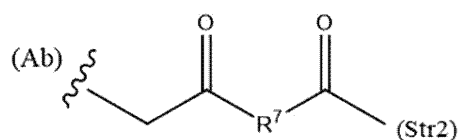
[0192]

[0193] 식 중, R⁶은 C₁-C₁₀알킬렌, C₁-C₁₀알켄일, C₃-C₈사이클로알킬, (C₁-C₈알킬렌)O-, 및 C₁-C₁₀알킬렌-C(O)N(R^a)-C₂-C₆알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 각각의 알킬렌은 할로, 트라이플루오로메틸, 다이플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 사이아노, 설펜일, 설펜아마이드, 설펜사이드, 하이드록시, 알콕시, 에스터, 카복실산, 알킬티오 아릴, C₃-C₈사이클로알킬, C₄-C₇헤테로사이클로알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a는 독립적으로 H 또는 C₁-C₆알킬이며; Sp는 -Ar-R^b-이되, Ar은 아릴 또는 헤테로아릴이고, R^b는 (C₁-C₁₀알킬렌)O-이다.

[0194] 이들 실시형태의 일부에서, R⁶은 C₁-C₁₀알킬렌, 및 C₁-C₁₀알킬렌-C(O)N(R^a)-C₂-C₆알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 각각의 알킬렌은 할로, 트라이플루오로메틸, 다이플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 사이아노, 설펜일, 설펜아마이드, 설펜사이드, 하이드록시, 알콕시, 에스터, 카복실산, 알킬티오 아릴, C₃-C₈사이클로알킬, C₄-C₇헤테로사이클로알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환체에 의해 치환될 수 있고, 각각의 R^a는 독립적으로 H 또는 C₁-C₆알킬이다.

[0195] 일부의 이들 실시형태에서, R⁶은 C₁-C₁₀알킬렌, C₁₋₆ 알킬렌이다. 특정 실시형태에서, R⁶은 C₅ 알킬렌이다.

[0196] 일부 실시형태에서, Str은 하기 화학식을 가진다:



[0197]

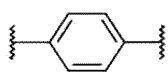
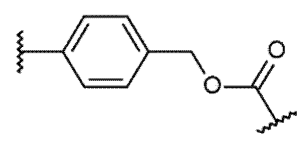
[0198] 식 중, R^7 은 C_1 - C_{10} 알킬렌, C_1 - C_{10} 알켄일, $(C_1$ - C_{10} 알킬렌)O-, $N(R^c)$ -(C_2 - C_6 알킬렌)- $N(R^c)$ 및 $N(R^c)$ -(C_2 - C_6 알킬렌)으로부터 선택되며; 각각의 R^c 는 독립적으로 H 또는 C_1 - C_6 알킬이다.

[0199] 이들 실시형태의 일부에서, R^7 은 C_1 - C_{10} 알킬렌, C_1 - C_{10} 알켄일, $(C_1$ - C_{10} 알킬렌)O-, $N(R^c)$ -(C_2 - C_6 알킬렌)- $N(R^c)$ 및 $N(R^c)$ -(C_2 - C_6 알킬렌)으로부터 선택되며; 각각의 R^c 는 독립적으로 H 또는 C_1 - C_6 알킬이다.

[0200] Sp

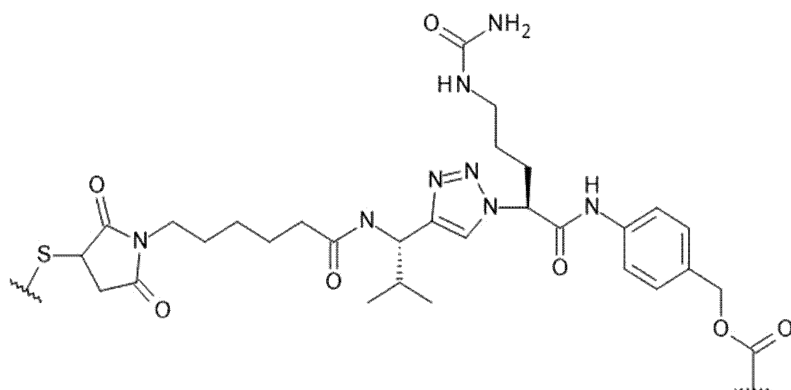
[0201] Sp 는 결합 또는 약물 모이어티에 공유 부착된 스페이서 단위이다.

[0202] 일부 실시형태에서, Sp 는 $-Ar-R^b-$ 이되, Ar 은 아릴 또는 헤테로아릴이고, R^b 는 $(C_1$ - C_{10} 알킬렌)OC(=O)-이다. 이들 실시형태의 일부에서, R^b 는 $(C_1$ - C_3 알킬렌)OC(=O)-이다. 추가의 이들 실시형태에서, R^b 는 $-CH_2-OC(=O)-$ 이다.

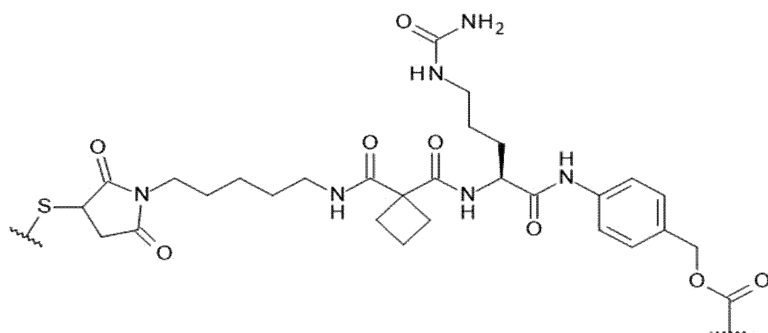
일부 실시형태에서, Ar 은 페닐렌이고, 이것은  일 수 있다. 따라서 Sp 는  일 수 있다.

[0203] Str , PM , Sp

[0204] 일부 실시형태에서, $-Str-PM-Sp-$ 는 하기로부터 선택된다:



[0205]



[0206]

[0207] R^c

[0208] 기 R^c 는 PBD 모이어티의 N10 위치로부터 제거되어 N10 내지 C11 이민 결합, 카빈올아민, 치환된 카빈올아민을, QR^{11} 이 OSO_3M 인 경우, 중아황산염 부가물, 티오카빈올아민, 치환된 티오카빈올아민, 또는 치환된 카빈알라민을

이탈시킬 수 있다.

[0209] 일 실시형태에서, R^C 는 N10 내지 C11 이민 결합, 카빈올아민, 치환된 카빈올아민을 이탈시키기 위해, 또는, QR^{21} 이 OSO_3M 인 경우, 중아황산염 부가물을 이탈하기 위해 제거될 수 있는 보호기일 수 있다. 일 실시형태에서, R^C 는 N10 내지 C11 이민 결합을 이탈시키기 위해 제거될 수 있는 보호기이다.

[0210] R^C 기는, 예를 들어 N10 내지 C11 이민 결합, 카빈올아민 등을 수득하기 위해 펩타이드 모방체 링커의 절단에 필요한 것과 동일한 조건 하에 제거가능한 것으로 의도된다. 캡핑기는 N10 위치에서 의도된 작용기에 대한 보호기로서 작용한다. 캡핑기는 항체에 대해 반응하지 않으며, 따라서, 예를 들어, R^C 는 Str-(PM)-Sp-가 아니다.

[0211] 캡핑기는 WO 00/12507에 정의된 바와 같은(이 정의는 본 명세서에 참고로 포함됨) 치료적으로 제거가능한 질소 보호기로서 지칭될 수 있다.

[0212] 일 실시형태에서, R^C 기는 펩타이드 모방체기인 PM을 절단하는 조건 하에서 제거가능하다. 따라서, 일 실시형태에서, 캡핑기는 효소 작용에 의해 절단가능하다.

[0213] 캡핑기는 N10 내지 C11 이민 결합을 위한 마스크로서 사용될 수 있다. 캡핑기는 화합물에서 이민 작용기가 필요한 때에 제거될 수 있다. 캡핑기는 또한 상기 기재한 바와 같이 카빈올아민, 치환된 카빈올아민 및 중아황산염 부가물에 대한 마스크이다.

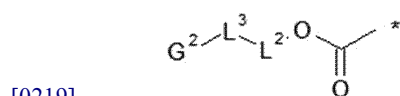
[0214] 일 실시형태에서, R^C 는 카바메이트 보호기이다.

[0215] 일 실시형태에서, 카바메이트 보호기는 Alloc, Fmoc, Boc, Troc 및 Teoc로부터 선택된다.

[0216] 일 실시형태에서, R^C 는 항체에 대한 연결을 위해 작용기가 없는 링커기 Str-(PM)-Sp-로부터 유도된다.

[0217] 본 출원은 특히 카바메이트인 해당 R^C 기에 관한 것이다.

[0218] 일 실시형태에서, R^C 는 하기 기이다:



[0220] 여기서, 별표는 N10 위치에 대한 부착지점을 나타내고, G^2 는 말단기이며, L^3 은 공유 결합 또는 절단가능한 링커 L^1 이고, L^2 는 공유 결합이거나 또는 $OC(=O)$ 와 함께 자기 희생 링커를 형성한다. 대안적으로, L^3 은 PM일 수 있고, L^2 는 $OC(=O)$ 와 함께 Sp를 형성한다.

[0221] L^3 과 L^2 가 둘 다 공유 결합인 경우, G^2 와 $OC(=O)$ 는 함께 상기 정의한 바와 같은 카바메이트 보호기를 형성한다.

[0222] L^1 은 바람직하게는 절단가능한 링커이고, 절단을 위한 링커의 활성화에 대한 촉발자로서 지칭될 수 있다.

[0223] L^1 및 L^2 의 특성은, 존재한다면, 매우 다를 수 있다. 이들 기는 컨쥬게이트가 전달되는 부위에서 조건에 의해 좌우될 수 있는 그들의 절단 특징에 기반하여 선택된다. 링커는 pH (예를 들어, 산 또는 염기 불안정), 온도의 변화에 의해 또는 조사 시(광 불안정) 절단가능한 링커가 또한 사용될 수 있지만, 효소 작용에 의해 절단되는 링커가 바람직하다. 환원 또는 산화 조건 하에서 절단가능한 링커는 또한 본 발명에서의 용도를 발견할 수 있다.

[0224] L^1 은 아미노산의 인접한 서열을 포함할 수 있다. 아미노산 서열은 효소적 절단을 위한 표적 기질일 수 있고, 이에 의해 N10 위치로부터 R^{10} 을 방출시킨다.

[0225] 일 실시형태에서, L^1 은 효소 작용에 의해 절단될 수 있다. 일 실시형태에서, 효소는 에스테라제 또는 펩티다제이다.

[0226] 일 실시형태에서, L^2 가 존재하며 $-C(=O)O-$ 와 함께 자기 희생 링커를 형성한다. 일 실시형태에서, L^2 는 효소적 활

성을 위한 기질이며, 이에 의해 N10 위치로부터 R¹⁰을 방출시킨다.

[0227] 일 실시형태에서, L¹은 효소 작용에 의해 절단될 수 있고, L²가 존재하는 경우, 효소는 L¹과 L² 사이의 결합을 절단한다.

[0228] L¹ 및 L²는, 존재한다면, 하기로부터 선택된 결합에 의해 연결될 수 있다:

[0229] -C(=O)NH-,

[0230] -C(=O)O-,

[0231] -NHC(=O)-,

[0232] -OC(=O)-,

[0233] -OC(=O)O-,

[0234] -NHC(=O)O-,

[0235] -OC(=O)NH-, 및

[0236] -NHC(=O)NH-.

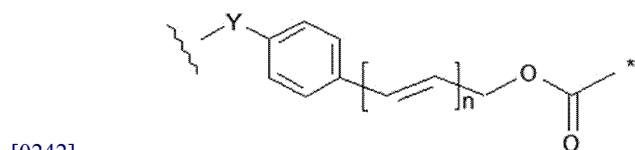
[0237] L²에 연결되는 L¹의 아미노기는 아미노산의 N-말단일 수 있거나, 또는 아미노산 측쇄, 예를 들어 라이신 아미노산 측쇄의 아미노기로부터 유도될 수 있다.

[0238] L²와 연결되는 L¹의 카복실기는 아미노산의 C-말단일 수 있거나, 또는 아미노산 측쇄, 예를 들어 글루탐산 아미노산 측쇄의 카복실기로부터 유도될 수 있다.

[0239] L²와 연결되는 L¹의 하이드록실기는 아미노산 측쇄, 예를 들어 세린 아미노산 측쇄의 하이드록실기로부터 유도될 수 있다.

[0240] 용어 "아미노산 측쇄"는: (i) 천연 유래 아미노산, 예컨대 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 아이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 타이로신 및 발린; (ii) 부수적 아미노산, 예컨대 오르니틴 및 시트룰린; (iii) 비천연 아미노산, 베타-아미노산, 천연 유래 아미노산의 합성 유사체 및 유도체; 및 (iv) 모든 거울상 이성질체, 부분입체 이성질체, 이성질체가 풍부하고, 동위원소가 표지된(예를 들어, ²H, ³H, ¹⁴C, ¹⁵N), 보호된 형태, 및 이들의 라세미 혼합물로 발견되는 해당 기를 포함한다.

[0241] 일 실시형태에서, -C(=O)O- 및 L²는 함께 하기 기를 형성한다:



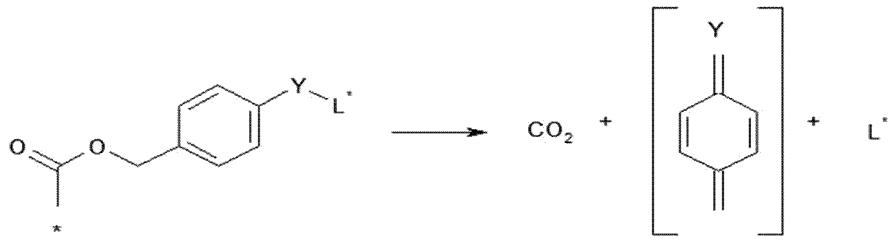
[0243] 식 중, 별표는 N10 위치에 대한 부착지점을 표시하고, 물결선은 링커 L¹에 대한 부착지점을 나타내며, Y는 -N(H)-, -O-, -C(=O)N(H)- 또는 -C(=O)O-이고, n은 0 내지 3이다. 페닐렌 고리는 본 명세서에 기재된 바와 같은 1, 2, 또는 3개의 치환체로 선택적으로 치환된다. 일 실시형태에서, 페닐렌기는 할로, NO₂, R 또는 OR로 선택적으로 치환된다.

[0244] 일 실시형태에서, Y는 NH이다.

[0245] 일 실시형태에서, n은 0 또는 1이다. 바람직하게는, n은 0이다.

[0246] Y가 NH이고 n이 0인 경우, 자기-희생 링커는 p-아미노벤질카보닐 링커(PABC)로서 지칭될 수 있다.

[0247] 자기-희생 링커는 먼 부위가 활성화될 때 보호된 화합물을 방출시킬 수 있으며, 이하에 나타낸 선을 따라 진행된다(n=0에 대해):

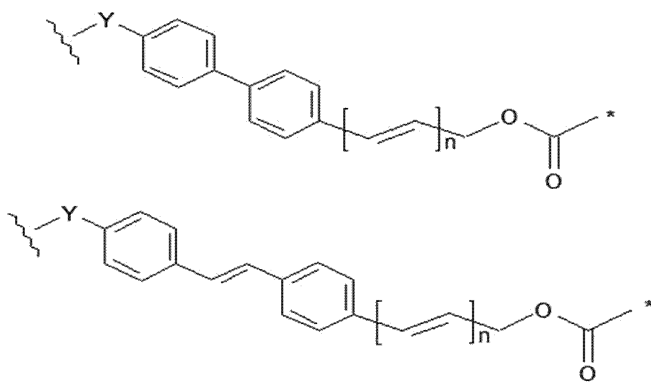


[0248]

[0249] 식 중, L^* 은 링커의 남아있는 부분의 활성화된 형태이다. 이들을 보호되는 화합물로부터 활성화 부위를 분리시키는 이점을 가진다. 상기 기재한 바와 같이, 페닐렌기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0250] 본 명세서에 기재된 일 실시형태에서, 기 L^* 은 본 명세서에 기재된 바와 같은 링커 L^1 이며, 이는 다이펩타이드기를 포함할 수 있다.

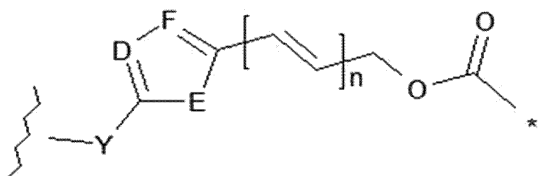
[0251] 다른 실시형태에서, $-C(=O)O-$ 및 L^2 는 함께 하기로부터 선택된 기를 형성한다:



[0252]

[0253] 식 중, 별표, 물결선, Y 및 n 은 상기 정의한 바와 같다. 각각의 페닐렌 고리는 본 명세서에 기재된 바와 같은 1, 2 또는 3개의 치환체로 선택적으로 치환된다. 일 실시형태에서, Y 치환체를 갖는 페닐렌 고리는 선택적으로 치환되고, Y 치환체를 갖지 않는 페닐렌 고리는 비치환된다. 일 실시형태에서, Y 치환체를 갖는 페닐렌 고리는 비치환되고, Y 치환체를 갖지 않는 페닐렌 고리는 선택적으로 치환된다.

[0254] 다른 실시형태에서, $-C(=O)O-$ 와 L^2 는 함께 하기로부터 선택된 기를 형성한다:



[0255]

[0256] 식 중, 별표, 물결선, Y 및 n 은 상기 정의된 바와 같고, E 는 O , S 또는 NR 이며, D 는 N , CH 또는 CR 이고, F 는 N , CH 또는 CR 이다.

[0257] 일 실시형태에서, D 는 N 이다.

[0258] 일 실시형태에서, D 는 CH 이다.

[0259] 일 실시형태에서, E 는 O 또는 S 이다.

[0260] 일 실시형태에서, F 는 CH 이다.

[0261] 바람직한 실시형태에서, 링커는 카텝신 불안정 링커이다.

[0262] 일 실시형태에서, L^1 은 다이펩타이드를 포함한다. 다이펩타이드는 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 로 표시될 수 있으며, 여기서

-NH- 및 -CO-는 각각 아미노산기 X_1 및 X_2 의 N- 및 C-말단을 표시한다. 다이펩타이드의 아미노산은 천연 아미노산의 임의의 조합물일 수 있다. 링커가 카텝신 불안정 링커인 경우, 다이펩타이드는 카텝신-매개 절단에 대한 작용부위일 수 있다.

[0263] 추가적으로, 카복실 또는 아미노 측쇄 작용기를 갖는 해당 아미노산기, 예를 들어 각각 Glu 및 Lys에 대해, CO 및 NH는 해당 측쇄 작용기를 표시할 수 있다.

[0264] 일 실시형태에서, 다이펩타이드에서 $-X_1-X_2-$ 기, 즉, $-NH-X_1-X_2-CO-$ 는 하기로부터 선택된다:

[0265] $-Phe-Lys-$,

[0266] $-Val-Ala-$,

[0267] $-Val-Lys-$,

[0268] $-Ala-Lys-$,

[0269] $-Val-Cit-$,

[0270] $-Phe-Cit-$,

[0271] $-Leu-Cit-$,

[0272] $-Ile-Cit-$,

[0273] $-Phe-Arg-$,

[0274] $-Trp-Cit-$

[0275] 여기서 Cit는 시트룰린이다.

[0276] 바람직하게는, 다이펩타이드에서 $-X_1-X_2-$ 기, 즉, $-NH-X_1-X_2-CO-$ 는 하기로부터 선택된다:

[0277] $-Phe-Lys-$,

[0278] $-Val-Ala-$,

[0279] $-Val-Lys-$,

[0280] $-Ala-Lys-$,

[0281] $-Val-Cit-$.

[0282] 가장 바람직하게는, 다이펩타이드에서 $-X_1-X_2-$ 기, 즉, $-NH-X_1-X_2-CO-$ 는 $-Phe-Lys-$ 또는 $-Val-Ala-$ 이다.

[0283] 본 명세서에 참고로 포함된 문헌[Dubowchik *et al.*, *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13,855-869]에 의해 기재된 것을 포함하는, 다른 다이펩타이드 조합물이 사용될 수 있다.

[0284] 일 실시형태에서, 적절한 경우, 아미노산 측쇄가 유도체화된다. 예를 들어, 아미노산 측쇄의 아미노기 또는 카복시기가 유도체화된다.

[0285] 일 실시형태에서, 측쇄 아미노산, 예컨대 라이신의 아미노기 NH_2 는 NHR 및 NRR' 로 이루어진 군으로부터 선택된 유도체화된 형태이다.

[0286] 일 실시형태에서, 측쇄 아미노산, 예컨대 아스파르트산의 카복시기 $COOH$ 는 $COOR$, $CONH_2$, $CONHR$ 및 $CONRR'$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 유도체화된 형태이다.

[0287] 일 실시형태에서, 아미노산 측쇄는 적절하다면 화학적으로 보호된다. 측쇄 보호기는 R^L 기와 관련하여 이하에 논의되는 바와 같은 기일 수 있다. 본 발명자들은 보호된 아미노산 서열이 효소에 의해 절단될 수 있다는 것을 확립하였다. 예를 들어, Boc 측쇄-보호된 Lys 잔기를 포함하는 다이펩타이드 서열은 카텝신에 의해 절단가능하다는 것이 확립되었다.

[0288] 아미노산의 측쇄에 대한 보호기는 당업계에 잘 공지되어 있고, 노바바이오클(Novabiochem) 카탈로그에 기재되어 있다. 추가적인 보호기 전략은 문헌[Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts]에 제시되어

있다.

[0289] 가능한 측쇄 보호기를 반응성 측쇄 작용기를 갖는 해당 아미노산에 대해 이하에 나타낸다:

[0290] Arg: Z, Mtr, Tos;

[0291] Asn: Trt, Xan;

[0292] Asp: Bzl, t-Bu;

[0293] Cys: Acn, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me, Trt;

[0294] Glu: Bzl, t-Bu;

[0295] Gln: Trt, Xan;

[0296] His: Boc, Dnp, Tos, Trt;

[0297] Lys: Boc, Z-Cl, Fmoc, Z, Alloc;

[0298] Ser: Bzl, TBDMS, TBDPS;

[0299] Thr: Bz;

[0300] Trp: Boc;

[0301] Tyr: Bzl, Z, Z-Br.

[0302] 일 실시형태에서, 측쇄 보호는 존재한다면 캡핑기로서, 캡핑기의 부분으로서 제공되는 기와 수직이 되도록 선택된다. 따라서, 측쇄 보호기의 제거는 캡핑기, 또는 캡핑기의 부분인 임의의 보호기 작용기를 제거하지 않는다.

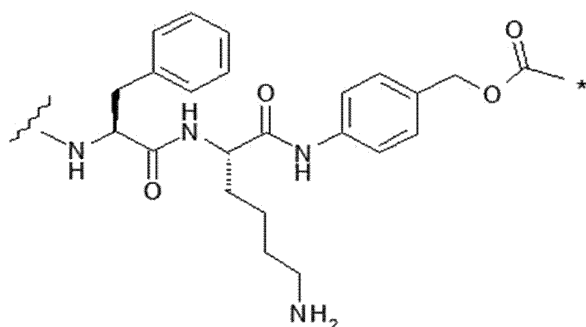
[0303] 본 발명의 다른 실시형태에서, 선택된 아미노산은 반응성 측쇄 작용기가 없는 것이다. 예를 들어, 아미노산은 Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro 및 Val로부터 선택될 수 있다.

[0304] 일 실시형태에서, 다이펩타이드는 자기-희생 링커와 조합하여 사용된다. 자기-희생 링커는 $-X_2-$ 에 연결될 수 있다.

[0305] 자기-희생 링커가 존재하는 경우, $-X_2-$ 는 자기-희생 링커에 직접 연결된다. 바람직하게는 $-X_2-CO-$ 기는 Y에 연결되며(여기서, Y는 NH임), 이에 의해 $-X_2-CO-NH-$ 기를 형성한다.

[0306] $-NH-X_1-$ 은 A에 직접 연결된다. A는 작용기 $-CO-$ 를 포함하고, 이에 의해 $-X_1-$ 과의 아마이드 연결을 형성할 수 있다.

[0307] 일 실시형태에서, L^1 과 L^2 는 $-OC(=O)-$ 와 함께 $NH-X_1-X_2-CO-PABC-$ 기를 포함한다. PABC 기는 N10 위치에 직접 연결된다. 바람직하게는, 자기-희생 링커와 다이펩타이드는 함께 이하에 도시하는 $-NH-Phe-Lys-CO-NH-PABC-$ 기를 형성한다:

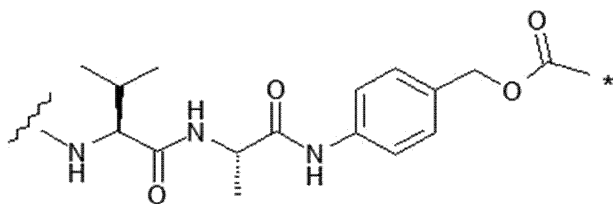


[0308]

[0309] 식 중, 별표는 N10 위치에 대한 부착지점을 나타내고, 물결선은 링커 L^1 의 남아있는 부분에 대한 부착지점 또는 A에 대한 부착지점을 나타낸다. 바람직하게는, 물결선은 A에 대한 부착지점을 나타낸다. Lys 아미노산의 측쇄는

상기 기재한 바와 같이, 예를 들어 Boc, Fmoc 또는 Alloc로 보호될 수 있다.

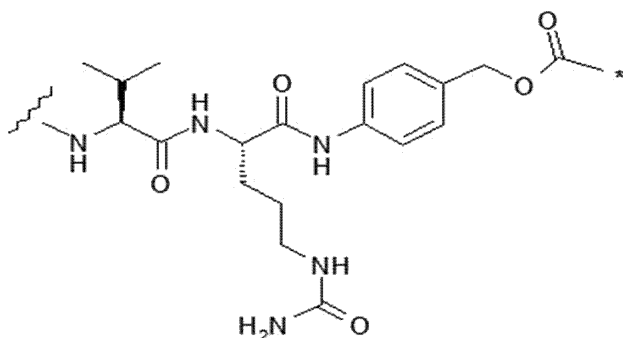
[0310] 대안적으로, 자기-희생 링커 및 다이펩타이드는 함께 이하에 도시하는 -NH-Val-Ala-CO-NH-PABC- 기를 형성한다:



[0311]

[0312] 식 중, 별표 및 물결선은 상기 정의한 바와 같다.

[0313] 대안적으로, 자기-희생 링커 및 다이펩타이드는 함께 이하에 도시하는 -NH-Val-Cit-CO-NH-PABC- 기를 형성한다:



[0314]

[0315] 식 중, 별표 및 물결선은 상기 정의한 바와 같다.

[0316] 잘 공지된 보호기에 기반한 것을 포함하는 다양한 말단기를 이하에 기재한다.

[0317] 일 실시형태에서 L^3 은 절단가능한 링커 L^1 이고, L^2 는 $OC(=O)$ 와 함께 자기-희생 링커를 형성한다. 일 실시형태에서, G^2 는 Ac (아세틸) 또는 Moc, 또는 이하로부터 선택된 카바메이트 보호기이다:

[0318] Alloc, Fmoc, Boc, Troc, Teoc, Psec, Cbz 및 PNZ.

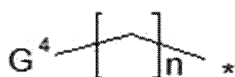
[0319] 선택적으로, 카바메이트 보호기는 추가로 Moc로부터 선택된다.

[0320] 다른 실시형태에서, G^2 는 아실기 $-C(=O)G^3$ 이고, 여기서 G^3 은 알킬(사이클로알킬, 알켄일 및 알킨일을 포함함), 헤테로알킬, 헤테로사이클릴 및 아릴(헤테로아릴 및 카보아릴을 포함함)로부터 선택된다. 이들 기는 선택적으로 치환될 수 있다. L^3 또는 L^2 의 아미노기화 함께 아실기는 적절한 경우, 아마이드 결합을 형성할 수 있다. L^3 또는 L^2 의 하이드록시기와 함께 아실기는 적절한 경우 에스터 결합을 형성할 수 있다.

[0321] 일 실시형태에서, G^3 은 헤테로알킬이다. 헤테로알킬기는 폴리에틸렌 글리콜을 포함할 수 있다. 헤테로알킬기는 아실기에 인접한 헤테로원자, 예컨대 O 또는 N을 가질 수 있고, 이에 의해 적절한 경우 L^3 또는 L^2 기에 존재하는 헤테로원자와 함께 적절한 경우 카바메이트 또는 카보네이트기를 형성할 수 있다.

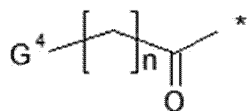
[0322] 일 실시형태에서, G^3 은 NH_2 , NHR 및 NRR' 로부터 선택된다. 바람직하게는, G^3 은 NRR' 이다.

[0323] 일 실시형태에서 G^2 는 하기 기이다:



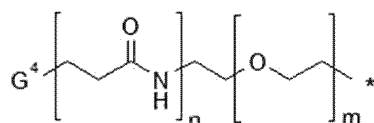
[0324]

[0325] 식 중, 별표는 L^3 에 대한 부착지점을 나타내고, n 은 0 내지 6이고, G^4 는 OH, OR, SH, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR', NH₂, NHR, NRR', NO₂, 및 할로로부터 선택된다. OH, SH, NH₂ 및 NHR기는 보호된다. 일 실시형태에서, n 은 1 내지 6이고, 바람직하게는 n 은 5이다. 일 실시형태에서, G^4 는 OR, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR' 및 NRR'이다. 일 실시형태에서, G^4 는 OR, SR 및 NRR'이다. 바람직하게는 G^4 는 OR 및 NRR'로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 G^4 는 OR이다. 가장 바람직하게는 G^4 는 OMe이다.



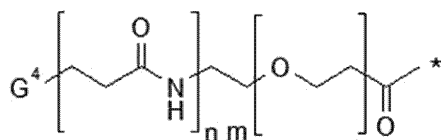
[0326] 일 실시형태에서, G^2 기는 이다:

[0327] 식 중, 별표는 L^3 에 대한 부착지점을 나타내고, n 및 G^4 는 상기 정의한 바와 같다.



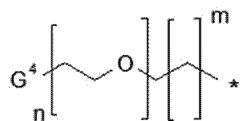
[0328] 일 실시형태에서, G^2 기는 이다:

[0329] 식 중, 별표는 L^3 에 대한 부착지점을 나타내고, n 은 0 또는 1이며, m 은 0 내지 50이고, G^4 는 OH, OR, SH, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR', NH₂, NHR, NRR', NO₂ 및 할로로부터 선택된다. 바람직한 실시형태에서, n 은 1이고, m 은 0 내지 10, 1 내지 2, 바람직하게는 4 내지 8, 및 가장 바람직하게는 4 또는 8이다. 다른 실시형태에서, n 은 1이고 m 은 10 내지 50, 바람직하게는 20 내지 40이다. OH, SH, NH₂ 및 NHR기는 보호된다. 일 실시형태에서, G^4 는 OR, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR' 및 NRR'이다. 일 실시형태에서, G^4 는 OR, SR 및 NRR'이다. 바람직하게는 G^4 는 OR 및 NRR'으로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 G^4 는 OR이다. 바람직하게는 G^4 는 OMe이다.



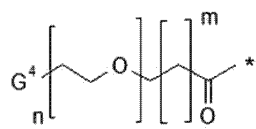
[0330] 일 실시형태에서, G^2 기는 이다:

[0331] 식 중, 별표는 L^3 에 대한 부착지점을 나타내고, n , m 및 G^4 는 상기 정의한 바와 같다.



[0332] 일 실시형태에서, G^2 기는 이다:

[0333] 식 중, n 은 1 내지 20이고, m 은 0 내지 6이며, G^4 는 OH, OR, SH, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR', NH₂, NHR, NRR', NO₂ 및 할로로부터 선택된다. 일 실시형태에서, n 은 1 내지 10이다. 다른 실시형태에서, n 은 10 내지 50, 바람직하게는 20 내지 40이다. 일 실시형태에서, n 은 1이다. 일 실시형태에서, m 은 1이다. OH, SH, NH₂ 및 NHR기는 보호된다. 일 실시형태에서, G^4 는 OR, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR' 및 NRR'이다. 일 실시형태에서, G^4 는 OR, SR 및 NRR'이다. 바람직하게는 G^4 는 OR 및 NRR'으로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 G^4 는 OR이다. 바람직하게는 G^4 는 OMe이다.



일 실시형태에서, G^2 기는 이다:

식 중, 별표는 L^3 에 대한 부착지점을 나타내고, n, m 및 G^4 는 상기 정의한 바와 같다.

각각의 실시형태에서, 상기 G^4 는 OH, SH, NH_2 및 NHR일 수 있다. 이들 기는 바람직하게는 보호된다.

일 실시형태에서, OH는 Bzl, TBDMS 또는 TBDPS로 보호된다.

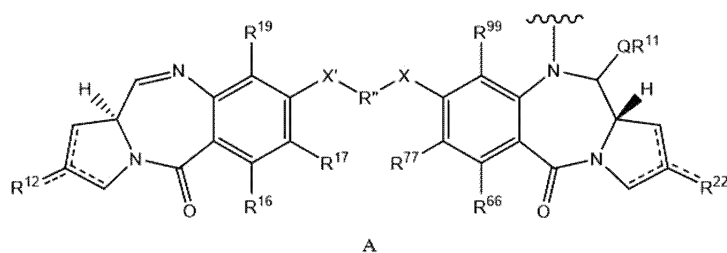
일 실시형태에서, SH는 Acn, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me 또는 Trt로 보호된다.

일 실시형태에서, NH_2 또는 NHR은 Boc, Moc, Z-Cl, Fmoc, Z 또는 Alloc으로 보호된다.

일 실시형태에서, G^2 기는 다이펩타이드 기인 L^3 기와 조합하여 존재한다.

캡핑기는 세포 결합제에 대한 연결에 대해 의도되지 않는다. 따라서, 이량체에 존재하는 다른 단량체는 링커를 통해 세포 결합제에 대한 연결 지점으로서 작용한다. 따라서, 캡핑기에 존재하는 작용기는 세포 결합제와의 반응을 위해 이용가능하지 않은 것이 바람직하다. 따라서, 반응 작용기, 예컨대 OH, SH, NH_2 , COOH는 바람직하게는 회피된다. 그러나, 이러한 작용기는 상기 기재한 바와 같이 보호된다면 캡핑기에 존재할 수 있다.

본 발명의 일부 실시형태에서, D는 화학식 A의 약물 모이어티 및 이의 염 및 용매화물이다:



식 중:

물결선은 링커에 대한 공유적 부착 부위를 나타내고;

점선은 C1과 C2 또는 C2와 C3 사이의 이중 결합의 선택적 존재를 나타내며;

R^{22} 는 독립적으로 H, OH, =O, =CH₂, CN, R^m , O R^m , =CH- R^D , =C(R^D)₂, O-SO₂- R^m , CO₂ R^m 및 CO R^m 으로부터 선택되고, 선택적으로 할로 또는 다이할로로부터 추가로 선택되되, R^D 는 R^m , CO₂ R^m , CO R^m , CHO, CO₂H, 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

R^{66} 및 R^{99} 는 H, R^m , OH, O R^m , SH, S R^m , NH_2 , NH R^m , N R^m R^p , NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되며;

R^{77} 은 H, R^m , OH, O R^m , SH, S R^m , NH_2 , NH R^m , N R^m R^p , NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

Q는 O, S 및 NH로부터 독립적으로 선택되며;

R^{11} 은 H, 또는 R^m 또는, Q가 O인 경우, SO₃M이고, 여기서 M은 금속 양이온이며;

R^m 및 R^p 는 선택적으로 치환된 C₁-C₈ 알킬, C₃-C₈ 헤테로사이클릴 및 C₅-C₂₀ 아릴기로부터 각각 독립적으로 선택되고, 선택적으로 N R^m R^p , R^m 및 R^p 기와 관련하여 그들이 부착된 질소 원자와 함께 선택적으로 치환된 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로환식 고리를 형성하고;

- [0353] R^{12} , R^{16} , R^{19} 및 R^{17} 은 R^{22} , R^{66} , R^{99} 및 R^{77} 에 대해 각각 정의된 바와 같으며;
- [0354] R'' 는 C_3-C_{12} 알킬렌기이며, 이의쇄는 하나 이상의 헤테로원자, 예를 들어, O, S, N(H), NMe 및/또는 방향족 고리, 예를 들어, 벤젠 또는 피리딘에 의해 중단될 수 있고, 이의 고리는 선택적으로 치환되며;
- [0355] X 및 X'은 O, S 및 N(H)으로부터 독립적으로 선택된다.
- [0356] 본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이며, 여기서 p는 2이다.
- [0357] 본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩타이드 중 하나 이상에 결합된다:
- [0358] BMPR1B;
- [0359] E16;
- [0360] STEAP1;
- [0361] 0772P;
- [0362] MPF;
- [0363] Napi3b;
- [0364] Sema 5b;
- [0365] PSCA hlg;
- [0366] ETBR;
- [0367] MSG783;
- [0368] STEAP2;
- [0369] TrpM4;
- [0370] CRIPTO;
- [0371] CD21;
- [0372] CD79b;
- [0373] FcRH2;
- [0374] HER2;
- [0375] NCA;
- [0376] MDP;
- [0377] IL20Ra;
- [0378] 브레비칸(Brevican);
- [0379] EphB2R;
- [0380] ASLG659;
- [0381] PSCA;
- [0382] GEDA;
- [0383] BAFF-R;
- [0384] CD22;
- [0385] CD79a;
- [0386] CXCR5;

[0387]	HLA-DOB;
[0388]	P2X5;
[0389]	CD72;
[0390]	LY64;
[0391]	FcRH1;
[0392]	IRTA2;
[0393]	TENB2;
[0394]	PMEL17;
[0395]	TMEFF1;
[0396]	GDNF-Ra1;
[0397]	Ly6E;
[0398]	TMEM46;
[0399]	Ly6G6D;
[0400]	LGR5;
[0401]	RET;
[0402]	LY6K;
[0403]	GPR19;
[0404]	GPR54;
[0405]	ASPHD1;
[0406]	타이로시나제;
[0407]	TMEM118;
[0408]	GPR172A;
[0409]	MUC16 및
[0410]	CD33.
[0411]	본 발명은 또한 인간에게 유효량의 제1항의 항체 약물 컨쥬게이트를 투여하는 단계를 포함하는, 치료가 필요한 인간에서 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.
[0412]	본 발명은 또한 제1항의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
[0413]	본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 폴리펩타이드에 결합된다:
[0414]	STEAP1;
[0415]	Napi3b;
[0416]	STEAP2;
[0417]	TrpM4;
[0418]	CRIPTO;
[0419]	CD21;

- [0420] CD79b;
- [0421] FcRH2;
- [0422] HER2;
- [0423] CD22;
- [0424] CD79a;
- [0425] CD72;
- [0426] LY64;
- [0427] Ly6E;
- [0428] MUC16; 및
- [0429] CD33.
- [0430] 본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, 항체는 CD33에 결합된다.
- [0431] 본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, 항체는 CD33에 결합하고, 항-CD33 항체는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.
- [0432] 본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, 항체는 CD33에 결합하고, 항-CD33 항체는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인 및 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다.
- [0433] 일부 실시형태에서, 항체-약물 컨쥬게이트의 항체는 CD33에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항체-약물 컨쥬게이트의 항체는 (a) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열번호 21로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.
- [0434] 일부 실시형태에서, 항체는 상기 제공된 임의의 실시형태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시형태에서와 같은 VL을 포함한다. 일 실시형태에서, 항체는 해당 서열의 번역후 변형을 포함하는 서열번호 25 및 서열번호 26에서 각각 VL 및 VH 서열을 포함한다.
- [0435] 본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, 항체는 NaPi3b에 결합한다.
- [0436] 본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, 항체는 NaPi3b에 결합되며, NaPi3b 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.
- [0437] 본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이며, 항체는 NaPi3b에 결합하고, NaPi3b 항체는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다.
- [0438] 본 발명은 또한 상기 항체-약물 컨쥬게이트 중 임의의 하나에 관한 것이되, 항체는 NaPi3b에 결합하고, NaPi3b 항체는 서열번호 9의 아미노산 서열 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0439] **정의**
- [0440] 달리 언급되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 다음의 용어 및 어구는 다음의 의미를 갖는 것으로 의도되며: 상표명이 본 명세서에서 사용될 때, 출원인은 상표명 제품 제형, 일반적 약물 및 상표명 제품의 활성 약제학적 성분(들)을 독립적으로 포함하는 것을 의도한다.
- [0441] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "펩타이드 모방체" 또는 PM은 비펩타이드 화학적 모이어티를 의미한다. 펩타이드는 하나의 아미노산의 카복실기가 다른 아미노산의 아미노기와 반응할 때 형성된 공유 화학 결합인 펩

타이드(아마이드) 결합에 의해 연결된 아미노산 단량체의 단쇄이다. 가장 짧은 펩타이드는 단일 펩타이드 결합, 다음에 트라이펩타이드, 테트라펩타이드 등에 의해 결합된 2개의 아미노산으로 이루어진 다이펩타이드이다. 펩타이드 모방체 화학적 모이어티는 비아미노산 화학적 모이어티를 포함한다. 펩타이드 모방체 화학적 모이어티는 또한 하나 이상의 비아미노산 화학적 단위에 의해 분리된 하나 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. 펩타이드 모방체 화학적 모이어티는 그의 화학적 구조의 임의의 부분에서 펩타이드 결합에 의해 연결된 2 이상의 인접한 아미노산을 함유하지 않는다.

[0442] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "아미노산"은 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 타이로신, 시스테인, 메티오닌, 라이신, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민 또는 시트룰린을 의미한다.

[0443] 본 명세서에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 그들이 목적으로 하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 단클론성 항체, 다클론성 항체, 이량체, 다량체, 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체), 및 항체 단편을 구체적으로 아우른다(Miller et al (2003) Jour. of Immunology 170:4854-4861). 항체는 무인, 인간, 인간화된, 키메라일 수 있거나 또는 다른 종으로부터 유래된다. 항체는 특이적 항원을 인식하고 특이적 항원에 결합할 수 있는 면역계에 의해 생성된 단백질이다(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) Immuno Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York). 표적 항원은 일반적으로 다중 항체 상의 CDR에 의해 인식되는, 에피토프로도 불리는 수많은 결합 부위를 가진다. 상이한 에피토프에 특이적으로 결합하는 각각의 항체는 상이한 구조를 가진다. 따라서, 하나의 항원은 하나 이상의 대응하는 항체를 가질 수 있다. 항체는 전장 면역글로불린 분자 또는 전장 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인 부분, 즉, 관심 대상의 표적 또는 이의 부분의 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 포함하며, 이러한 표적은 암세포 또는 자가면역질환과 관련된 자가면역 항체를 생성하는 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 개시된 면역글로불린은 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD 및 IgA), 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 면역글로불린 분자의 하위부류를 가질 수 있다. 면역글로불린은 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 그러나, 일 양상에서, 면역글로불린은 인간, 무인 또는 토끼 유래이다.

[0444] 본 명세서에서 사용되는 용어 "항체 단편(들)"은 전장 항체의 일부, 일반적으로 이의 항원 결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 다이어바디; 선형 항체; 미니바디(Olafsen et al (2004) Protein Eng. Design & Sel. 17(4):315-323), Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편, 항-유전자형(항-Id) 항체, CDR(상보성 결정 영역), 및 암 세포 항원, 바이러스 항원 또는 미생물 항원에 면역특이적으로 결합된 임의의 상기의 에피토프-결합 단편, 단쇄 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함한다.

[0445] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "단클론성 항체"는 실질적으로 동종의 항체의 집단으로부터 얻은 항체를 지칭하며, 즉, 집단을 포함하는 개개 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 유래 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단클론성 항체는 고도로 특이성이며, 단일 항원 부위로 향한다. 더 나아가, 상이한 결정소(에피토프)로 향하는 상이한 항체를 포함하는 다클론성 항체 제조와 대조적으로, 각각의 단클론성 항체는 항원 상의 단일 결정소로 향한다. 그들의 특이성에 추가적으로, 단클론성 항체는 그들이 다른 항체에 의해 오염되지 않고 합성될 수 있다는 점에서 유리하다. 수식어 "단클론성"은 실질적으로 동종의 항체 집단으로부터 얻은 것과 같은 항체의 특징을 나타내며, 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생성을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 단클론성 항체는 문헌[Kohler et al (1975) Nature, 256:495]에 의해 처음 기재된 혼성세포 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다(예를 들어: 미국 특허 제4816567호; 미국 특허 제5807715호 참조). 단클론성 항체는 또한, 예를 들어 문헌[Clackson et al (1991) Nature, 352:624-628; Marks et al (1991) J. Mol. Biol., 222:581-597]에 기재된 기법을 이용하여 과거 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0446] 본 명세서에서 단클론성 항체는, 그들이 목적으로 하는 생물학적 활성을 나타낸다면, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래되거나 또는 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 대응하는 서열과 동일하거나 또는 이에 대해 상동성인 반면,쇄(들)의 나머지는 다른 종으로부터 유래되거나 또는 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체뿐만 아니라 이러한 항체의 단편에서 대응하는 서열과 동일하거나 또는 상동성인 "키메라 항체"를 포함한다(미국 특허 제4816567호; 및 문헌[Morrison et al (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855]). 본 명세서에서 관심 대상의 키메라 항체는 비인간 영장류(예를 들어, 긴꼬리 원숭이, 유인원 등)로부터 유래된 가변 도메인 항원 결합 서열 및 인간 불변 영역 서열을 포함하는 "영장류화된" 항체를 포함한다.

다.

- [0447] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "무결합 항체"는 VL 및 VH 도메인뿐만 아니라 경쇄 불변 도메인(CL) 및 중쇄 불변 도메인, CH1, CH2 및 CH3을 포함하는 것이다. 불변 도메인은 천연 서열 불변 도메인(예를 들어, 인간 천연 서열 불변 도메인) 또는 이의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 무결합 항체는 항체의 Fc 불변 영역(천연 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인하는 해당 생물학적 활성을 지칭하는 하나 이상의 "효과기 기능"을 가질 수 있다. 항체 효과기 기능의 예는 C1q 결합; 상보체 의존적 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC); 식세포작용; 및 세포 표면 수용체, 예컨대 B 세포 수용체 및 BCR의 하향 조절을 포함한다.
- [0448] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 의미한다. 상기 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226으로부터, 또는 Pro230으로부터, 중쇄의 카복실-말단까지 연장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 라이신(Lys447)은 존재할 수도 있거나 존재하지 않을 수도 있다. 본 명세서에서 달리 구체화되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역의 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌[Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바와 같은 EU 지수로도 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다.
- [0449] 본 명세서에서 사용되는 용어 "프레임워크" 또는 "FR"은 추가변 영역(hypervariable region: HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인(FR1, FR2, FR3 및 FR4)로 이루어진다. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH(또는 VL)에서 다음의 서열로 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.
- [0450] 그들의 중쇄 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라서, 무결합 항체는 상이한 "부류"로 배정될 수 있다. 5가지 주요 부류의 무결합 면역글로불린 항체(IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM)가 있으며, 이들 중 몇몇은 "하위부류"(아이스타입), 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA 및 IgA2로 추가로 나누어질 수 있다. 상이한 부류의 항체에 대응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다. 상이한 부류의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 입체배치는 잘 공지되어 있다. Ig 형태는 힌지-변형 또는 무힌지 형태를 포함한다(Roux et al (1998) J. Immunol. 161:4083-4090; Lund et al (2000) Eur. J. Biochem. 267:7246-7256; 미국 특허 제 2005/0048572호; 미국 특허 제 2004/0229310호).
- [0451] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생성되거나 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-암호화 서열을 이용하는 비인간 공급원으로부터 유래된 항체의 아미노산 서열에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 항체를 지칭한다. 인간 항체의 이런 정의는 비인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화된 항체를 특이적으로 제외한다.
- [0452] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "인간 공통 프레임워크"는 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택에서 가장 통상적으로 생기는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크를 지칭한다. 일반적으로, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위그룹으로부터 유래된다. 일반적으로, 서열의 하위그룹은 문헌[Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3]에서와 같은 하위그룹이다. 일 실시형태에서, VL에 대해, 하위그룹은 문헌[Kabat et al., 상기참조]에서와 같은 하위그룹 카파 I이다. 일 실시형태에서, VH에 대해, 하위그룹은 문헌[Kabat et al., 상기참조]에서와 같은 하위그룹 III이다.
- [0453] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "인간화된 항체"는 비인간 HVR로부터의 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 인간화된 항체는 적어도 하나 및 전형적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이며, 여기서, 모든 또는 실질적으로 모든 HVR(예를 들어, CDR)은 비인간 항체의 그것에 대응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 그것에 대응한다. 인간화된 항체는 선택적으로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어, 비인간 항체의 "인간화된 형태"는 인간화를 겪은 항체를 지칭한다.
- [0454] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "추가변 영역" 또는 "HVR"은 서열에서 추가변이고/이거나 구조적으로 한정된 루프("추가변 루프")를 형성하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 천연의 4쇄 항체는 6개의 HVR(VH에서 3개(H1, H2, H3) 및 VL에서 3개(L1, L2, L3))를 포함한다. HVR은 일반적으로 추가변 루프로부터의 및/또는 "상보성 결정 영역"(CDR)으로부터의 아미노산 잔기를 포함하며, 후자는 서열 가변성이 가

장 높고/높거나 항원 인식에 연루된다. 예시적인 추가변 루프는 아미노산 잔기 26-32(L1), 50-52(L2), 91-96(L3), 26-32(H1), 53-55(H2) 및 96-101(H3)에서 일어난다(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). 예시적인 CDR(CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3)은 L1의 아미노산 잔기 24-34, L2의 50-56, L3의 89-97, H1의 31-35B, H2의 50-65 및 H3의 95-102에서 생긴다(Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)). VH에서 CDR1을 제외하고, CDR은 일반적으로 추가변 루프를 형성하는 아미노산 잔기를 포함한다. CDR은 또한 항원과 접촉되는 잔기인 "특이성 결정 잔기" 또는 "SDR"을 포함한다. SDR은 약어-CDR, 또는 a-CDR로 불리는 CDR의 영역 내에 포함된다. 예시적인 a-CDR(a-CDR-L1, a-CDR-L2, a-CDR-L3, a-CDR-H1, a-CDR-H2 및 a-CDR-H3)은 아미노산 잔기 L1의 잔기 31-34, L2의 50-55, L3의 89-96, H1의 31-35B, H2의 50-58 및 H3의 95-102에서 생긴다(문헌[Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)] 참조). 달리 표시되지 않는 한, 가변 도메인(예를 들어, FR 잔기)에서 HVR 잔기 및 다른 잔기는 문헌[Kabat et al., 상기 참조]에 따라 본 명세서에서 넘버링된다.

[0455] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항원에 항체를 결합시키는데 수반된 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄(각각 VH 및 VL)의 가변 도메인은 일반적으로 유사한 구조를 가지며, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(FR) 및 3개의 추가변 영역(HVR)을 포함한다(예를 들어, 문헌[Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., 페이지 91 (2007)] 참조). 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 더 나아가, 특정 항원에 결합하는 항체는 상보성 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 각각 선별하기 위해 VH 또는 VL 도메인을 이용하여 항원에 결합하는 항체로부터 단리될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)] 참조.

[0456] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "백터"는 그것이 연결된 다른 핵산을 증식시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자기-복제 핵산 구조로서 백터뿐만 아니라 그것이 도입된 숙주 세포의 게놈 내로 혼입된 백터를 포함한다. 특정 백터는 그들이 작동가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 백터는 본 명세서에서 "발현 백터"로서 지칭된다.

[0457] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "유리 시스테인 아미노산"은 모 항체 내로 공학 처리되고, 티올 작용기(-SH)를 가지며, 분자내 또는 분자간에 이황화 브릿지로서 짝지어지지 않는 시스테인 아미노산 잔기를 지칭한다.

[0458] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "링커", "링커 단위" 또는 "연결하다"는 항체에 약물 모이어티를 공유 부착하는 원자의 쉘을 포함하는 화학적 모이어티를 의미한다. 다양한 실시형태에서, 링커는 L로서 구체화된 2가 라디칼이다.

[0459] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "약물 모이어티"는 세포 기능을 저해하거나 또는 방지하고/하거나 세포 사 또는 파괴를 야기하는 물질을 의미한다. 세포독성제는 방사성 동위원소(예를 들어, ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{212}Pb 및 Lu의 방사성 동위원소); 화학치료제 또는 약물(예를 들어, 메토평렉세이트, 아드리아마이신, 빈카 알칼로이드(빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포사이드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 끼어 들어가는 제제(intercalating agent)); 성장 저해제; 이의 효소 및 단편, 예컨대 핵산분해 효소; 및 이하에 개시된 다양한 항종양제 또는 항암제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0460] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "아실"은 -C(O)R' 기를 지칭하며, 여기서 R'은 알킬, C₃-C₆사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴이며, 각각은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0461] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "알콕시"는 -OR' 기를 지칭하며, 여기서 R'은 상기 정의한 바와 같은 C₁-C₄알킬 또는 C₃-C₆사이클로알킬이다. "알콕시"의 예는 메톡시, 에톡시, 아이소프로폭시, 프로폭시, 뷰톡시, t-뷰톡시, 아이소뷰톡시, 사이클로프로폭시 및 사이클로뷰톡시, 및 이의 할로젠화된 형태, 예를 들어, 플루오로메톡시 및 다이플루오로메톡시를 포함한다.

[0462] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "알킬"은 비치환이거나 또는 본 발명 내에 포함된 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 다양한 정도의 치환으로 치환될 수 있는 1 내지 12개(C₁-C₁₂)의 탄소 원자를 갖는 직선 또는 분지형, 1가 또는 2가 탄화수소 쉘 라디칼을 지칭한다. 치환체의 예는 할로, 트라이플루오

로메틸, 다이플루오로메틸, 아미노, 알킬아미노, 사이아노, 설펜일, 설펜아마이드, 설펜사이드, 하이드록시, 알콕시, 에스터, 카복실산 및 알킬티오로 이루어진 군으로부터 선택된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "알킬"의 예는 메틸(Me, $-\text{CH}_3$), 에틸(Et, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1-프로필(n-Pr, n-프로필, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-프로필(i-Pr, i-프로필, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1-부틸(n-Bu, n-부틸, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-메틸-1-프로필(i-Bu, i-부틸, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2-부틸(s-Bu, s-부틸, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-메틸-2-프로필(t-Bu, t-부틸, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1-펜틸(n-펜틸, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-펜틸($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-펜틸($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2-메틸-2-부틸($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-메틸-2-부틸($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3-메틸-1-부틸($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2-메틸-1-부틸($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1-헥실($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-헥실($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-헥실($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)$), 2-메틸-2-펜틸($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-메틸-2-펜틸($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4-메틸-2-펜틸($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3-메틸-3-펜틸($-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2-메틸-3-펜틸($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,3-다이메틸-2-부틸($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,3-다이메틸-2-부틸($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$)뿐만 아니라 2가("알킬렌") 및 이의 치환된 형태를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 치환된 알킬의 예는 하이드록시메틸, 다이플루오로메틸 및 트라이플루오로메틸을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0463] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "알켄일"은 적어도 하나의 불포화 부위, 즉, 탄소-탄소, sp^2 이중 결합을 지니는 2 내지 8개의 탄소 원자($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)의 임의의 길이의 선형 또는 분지형, 1가 또는 2가 탄화수소쇄 라디칼을 의미하되, 알켄일 라디칼은 선택적으로 "알킬"의 정의에서 상기 기재된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환될 수 있고, "시스" 및 "트랜스" 배양, 또는 대안적으로 "E" 및 "Z" 배향을 갖는 라디칼을 포함한다. 알켄일의 예는, 에틸렌 또는 비닐($-\text{CH}=\text{CH}_2$), 프로프-1-엔일($-\text{CH}=\text{CHCH}_3$), 프로프-2-엔일($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2-메틸프로프-1-엔일, 부트-1-엔일, 부트-2-엔일, 부트-3-엔일, 부타-1,3-다이엔일, 2-메틸부타-1,3-다이엔, 헥스-1-엔일, 헥스-2-엔일, 헥스-3-엔일, 헥스-4-엔일, 헥사-1,3-다이엔일뿐만 아니라 2가("알켄일렌") 및 이의 치환된 형태를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0464] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "알킨일"은 적어도 하나의 불포화 부위, 즉, 탄소-탄소, sp 삼중 결합을 지니는 2 내지 8개의 탄소 원자($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)의 임의의 길이의 선형 또는 분지형, 1가 또는 2가 탄화수소쇄 라디칼을 의미하되, 알킨일 라디칼은 선택적으로 알킬의 정의에서 상기 기재한 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환될 수 있고, 알킨일의 예는 에틸일($-\text{C}\equiv\text{CH}$), 프로프-1-인일($-\text{C}\equiv\text{CCH}_3$), 프로프-2-인일(프로파길, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 부트-1-인일, 부트-2-인일 및 부트-3-인일뿐만 아니라 2가("알킨일렌") 및 이들의 치환된 형태를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0465] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "알킬아미노"는 $-\text{NR}'\text{R}$ 기를 지칭하되, R' 는 H, $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 또는 $\text{C}_3\text{-C}_6$ 사이클로알킬이고, R 은 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 또는 $\text{C}_3\text{-C}_6$ 사이클로알킬이며, 알킬아미노의 예는 메틸아미노, 다이메틸아미노, 에틸아미노, 다이에틸아미노, 프로필아미노 및 사이클로프로필아미노를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0466] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "아마이드"는 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'\text{R}$ 기를 지칭하되, R' 및 R 은 각각 독립적으로 H, $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 또는 $\text{C}_3\text{-C}_6$ 사이클로알킬이고; 아마이드의 예는 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_3$ 및 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0467] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "아릴"은 방향족, 탄화수소, 고리계를 지칭한다. 고리계는 치환 또는 비치환된 단환식 또는 축합된 다환식(예를 들어, 이환식, 삼환식 등)일 수 있다. 다양한 실시형태에서, 단환식 아릴 고리는 $\text{C}_5\text{-C}_{10}$ 또는 $\text{C}_5\text{-C}_7$ 또는 $\text{C}_5\text{-C}_6$ 이며, 이들 탄소수는 고리계를 형성하는 탄소 원자의 수를 지칭한다. C_6 고리계, 즉 페닐 고리는 아릴기이다. 다양한 실시형태에서, 다환식 고리는 이환식 아릴기이고, 이환식 아릴기의 예는 $\text{C}_8\text{-C}_{12}$ 또는 $\text{C}_9\text{-C}_{10}$ 를 포함한다. 10개 탄소 원자를 갖는 나프틸 고리는 다환식 아릴기이다. 아릴에 대한 치환체의 예는 이하의 "선택적으로 치환된"의 정의에서 기재된다.

[0468] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "사이아노"는 $-\text{CN}$ 기를 지칭한다.

[0469] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "사이클로알킬"은 비방향족, 치환 또는 비

치환, 포화 또는 부분적으로 불포화된 탄화수소 고리기를 지칭한다. 치환체의 예는 "선택적으로 치환된"의 정의에 기재되어 있다. 일 예에서, 사이클로알킬기는 3 내지 12개의 탄소 원자(C_3-C_{12})이다. 다른 예에서, 사이클로알킬은 C_3-C_8 , C_3-C_{10} 또는 C_5-C_{10} 이다. 다른 예에서, 1고리로서 사이클로알킬기는 C_3-C_8 , C_3-C_6 또는 C_5-C_6 이다. 다른 예에서, 2고리로서 사이클로알킬기는 C_7-C_{12} 이다. 다른 예에서, 스피로계로서 사이클로알킬기는 C_5-C_{12} 이다. 단환식 사이클로알킬의 예는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 1-사이클로펜트-1-엔일, 1-사이클로펜트-2-엔일, 1-사이클로펜트-3-엔일, 사이클로헥실, 퍼듀테리오사이클로헥실, 1-사이클로헥스-1-엔일, 1-사이클로헥스-2-엔일, 1-사이클로헥스-3-엔일, 사이클로헥사다이엔일, 사이클로헵틸, 사이클로옥틸, 사이클로노닐, 사이클로데실, 사이클로운데실 및 사이클로도데실을 포함한다. 7 내지 12개의 고리 원자를 갖는 이환식 사이클로알킬의 예시적인 배열은 [4,4], [4,5], [5,5], [5,6] 또는 [6,6] 고리계를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예시적인 브릿지된 이환식 사이클로알킬은 바이사이클로[2.2.1]헵탄, 바이사이클로[2.2.2]옥탄 및 바이사이클로[3.2.2]노난을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 스피로 사이클로알킬의 예는 스피로[2.2]펜탄, 스피로[2.3]헥산, 스피로[2.4]헵탄, 스피로[2.5]옥탄 및 스피로[4.5]데칸을 포함한다.

[0470] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "에스터"는 $-C(O)OR'$ 기를 지칭하며, 여기서 R'은 C_1-C_6 알킬 또는 C_3-C_6 사이클로알킬이다.

[0471] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "헤테로사이클", "헤테로사이클로알킬" 또는 "헤테로사이클릴"은 2 내지 12개 고리 탄소 원자 및 1 내지 3개 고리 헤테로원자를 함유하는 비치환 및 치환된 모노- 또는 다환식 비방향족 고리계를 지칭한다. 다환식 고리계는 축합된 2- 또는 3환식, 스피로이거나 또는 브릿지될 수 있다. 헤테로원자의 예는 N-옥사이드, 황 옥사이드, 및 다이옥사이드를 포함하여, N, O 및 S를 포함한다. 일 실시형태에서, 고리는 3 내지 8원이고, 완전히 포화되거나 또는 하나 이상의 불포화도를 가진다. 다양한 정도의 치환이 본 발명 내에 포함된다. 치환체의 예는 본 명세서에서 이하에서 정해진다. "복소환식" 기의 예는 테트라하이드로퓨란일, 피란일, 1,4-다이옥산일, 1,3-다이옥산일, 옥솔란일, 옥세탄일, 2-옥사-6-아자스피로[3.3]헵탄-6-일, 피페리딘일, 피롤리딘일, 몰롤린일, 아제티딘일, 피페라진일, 피롤리딘은일, 피페라지논일, 피라졸리딘일, 이미다졸린일, 이미다졸리딘일 및 그들의 다양한 호변체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0472] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "헤테로아릴"은 1 내지 9개의 탄소(들) 및 적어도 하나의 헤테로원자를 포함하는 방향족 고리계를 지칭한다. 헤테로원자의 예는 N, O 및 S를 포함한다. 헤테로아릴은 치환 또는 비치환된 단환식 또는 다환식일 수 있다. 단환식 헤테로아릴기는 고리 내에 2 내지 6개의 고리 탄소 원자 및 1 내지 3개의 고리 헤테로원자를 가질 수 있는 반면, 다환식 헤테로아릴은 3 내지 9개의 고리 탄소 원자 및 1 내지 5개의 고리 헤테로원자를 포함할 수 있다. 다환식 헤테로아릴 고리는 축합, 스피로 또는 브릿지된 고리 접합을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 이환식 헤테로아릴은 다환식 헤테로아릴이다. 이환식 헤테로아릴 고리는 8 내지 12원 원자를 포함할 수 있다. 단환식 헤테로아릴 고리는 5 내지 8원 원자(탄소 및 헤테로원자)를 포함할 수 있다. 예시적인 헤테로아릴기는 벤조퓨란일, 벤조티오페닐, 퓨란일, 이미다졸릴, 인돌릴, 아자인돌릴, 아자벤즈이미다졸릴, 벤조옥사졸릴, 벤즈티아졸릴, 벤조티아다리아졸릴, 벤조트리아졸릴, 벤조이미다졸릴, 테트라진일, 테트라졸릴, 아이소티아졸릴, 옥사졸릴, 아이소옥사졸릴, 피라진일, 피라졸릴, 피리다진일, 피리딘일, 피리미딘일, 피롤릴, 퀴놀린일, 퀴나졸린일, 퀴녹살린일, 트리아진일, 트리아아졸릴, 티아졸릴 및 티오페닐을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 헤테로아릴에 대한 치환체의 예는 이하의 "선택적으로 치환된"의 정의에 기재되어 있다.

[0473] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "헤테로아릴알킬"은 (헤테로아릴) C_1-C_3 알킬기를 의미한다.

[0474] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "아릴알킬"은 (아릴) C_1-C_3 알킬기를 의미한다.

[0475] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "유레아"는 $-NR'C(O)NR''$ 기를 지칭하되, R' 및 R''는 각각 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬, 또는 C_3-C_6 사이클로알킬이다.

[0476] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "선택적으로"는 후속적으로 기재된 사건(들)이 일어날 수도 있거나 일어나지 않을 수도 있고, 일어나는 사건(들)과 일어나지 않는 사건(들)을 둘

다 포함한다는 것을 의미한다.

- [0477] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 어구 "선택적으로 치환된", "치환된" 또는 이의 변형은 하나 이상의 치환체, 예를 들어 1, 2 또는 3개의 다양한 정도의 치환을 포함하는 선택적 치환을 의미한다. 어구는 본 명세서에 기재되고 도시된 치환과 동일한 것으로 이해되어서는 안 된다. 예시적인 선택적 치환체는 아실, C₁-C₆알킬, 설펜일, 아미노, 설펜아마이드, 설펜사이드, 알콕시, 사이아노, 할로, 유레아, 에스터, 카복실산, 아마이드, 하이드록시, 옥소 및 나이트로를 포함한다.
- [0478] 할로: F, Cl, Br 및 I.
- [0479] 하이드록시: OH.
- [0480] 알콕시: OR(여기서, R은 알킬기, 예를 들어, C₁₋₈ 알킬기이다). C₁₋₈ 알콕시기의 예는 -OMe (메톡시), -OEt (에톡시), -O(nPr)(n-프로톡시), -O(iPr)(아이소프로톡시), -O(nBu)(n-뷰톡시), -O(sBu)(sec-뷰톡시), -O(iBu)(아이소뷰톡시) 및 -O(tBu)(tert-뷰톡시)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0481] 옥소(케토, -온): =O.
- [0482] 아실(케토): -C(=O)R(여기서 R은 아실 치환체, 예를 들어, C₁₋₈ 알킬기(또한 C₁₋₈알킬아실 또는 C₁₋₈ 알카노일로서 지칭됨), C₂₋₈ 알켄일기(또한 C₂₋₈알켄일아실로서 지칭됨), C₂₋₈ 알킨일기(또한 C₂₋₈ 알킨일아실로서 지칭됨), C₃₋₈ 사이클로알킬기(또한 C₃₋₈사이클로알킬아실로서 지칭됨), C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기(또한 C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴아실로서 지칭됨), C₅₋₂₀ 아릴기(또한 C₅₋₂₀ 아릴아실로서 지칭됨), 또는 C₅₋₂₀ 헤테로아릴기(또한 C₅₋₂₀ 헤테로아릴아실로서 지칭됨), 바람직하게는 C₁₋₈ 알킬기이다). 아실기의 예는 -C(=O)CH₃ (아세틸), -C(=O)CH₂CH₃ (프로피온일), -C(=O)C(CH₃)₃(t-뷰틸) 및 -C(=O)Ph(벤조일, 페논)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0483] 카복시(카복실산): -C(=O)OH.
- [0484] 에스터(카복실레이트, 카복실산 에스터, 옥시카보닐): -C(=O)OR(여기서, R은 에스터 치환체, 예를 들어, C₁-C₈ 알킬, C₂-C₈ 알켄일, C₂-C₈ 알킨일, C₃-C₈ 사이클로알킬, C₃-C₈ 헤테로사이클릴, C₅-C₂₀ 아릴 또는 C₅₋₂₀ 헤테로아릴기, 바람직하게는 C₁₋₈ 알킬기이다. 에스터기의 예는 -C(=O)OCH₃, -C(=O)OCH₂CH₃, -C(=O)OC(CH₃)₃ 및 -C(=O)OPh를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0485] 아미노: -NR¹R², (여기서, R¹ 및 R²는 독립적으로 아미노 치환체, 예를 들어, 수소, C₁-C₈ 알킬, C₂-C₈ 알켄일, C₂-C₈ 알킨일, C₃-C₈ 사이클로알킬, C₃-C₈ 헤테로사이클릴, C₅-C₂₀ 아릴 또는 C₅₋₂₀ 헤테로아릴기, 바람직하게는 H 또는 C₁₋₈ 알킬기이거나, 또는, "환식" 아미노기의 경우에, R¹ 및 R²는 그들이 부착된 질소 원자와 함께 4 내지 8 개의 고리 원자를 갖는 헤테로환식 고리를 형성한다. 아미노기는 1차(-NH₂), 2차(-NHR¹) 또는 3차(-NHR¹R²)일 수 있고, 양이온성 형태에서 4차(-⁺NR¹R²R³)일 수 있다. 아미노기의 예는 -NH₂, -NHCH₃, -NHC(CH₃)₂, -N(CH₃)₂, -N(CH₂CH₃)₂ 및 -NHPh를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 환식 아미노기의 예는 아지리디노, 아제티디노, 피롤리디노, 피페리디노, 피페라지노, 몰폴리노 및 티오몰폴리노를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0486] 아미도(카바모일, 카바밀, 아미노카보닐, 카복스아마이드): -C(=O)NR¹R²(여기서, R¹ 및 R²는 독립적으로 아미노기에 대해 정의된 바와 같은 아미노 치환체이다). 아미도기의 예는 -C(=O)NH₂, -C(=O)NHCH₃, -C(=O)N(CH₃)₂, -C(=O)NHCH₂CH₃ 및 -C(=O)N(CH₂CH₃)₂뿐만 아니라 아미도기를 포함하지만, 이들로 제한되지 않으며, 이때 R¹ 및 R²는 그들이 부착된 질소 원자와 함께, 예를 들어 피페리디노카보닐, 몰폴리노카보닐, 티오몰폴리노카보닐 및 피페라지노카보닐에서와 같은 복소환식 구조를 형성한다.
- [0487] 나이트로: -NO₂.
- [0488] 사이아노(나이트릴, 카보나이트릴): -CN.

- [0489] 설펜(설펜일, 설펜사이드): $-S(=O)R$ (R은 설펜 치환체, 예를 들어, C_1-C_8 알킬, C_2-C_8 알켄일, C_2-C_8 알킨일, C_3-C_8 사이클로알킬, C_3-C_8 헤테로사이클릴, C_5-C_{20} 아릴 또는 C_{5-20} 헤테로아릴기, 바람직하게는 C_{1-8} 알킬기이다). 설펜기의 예는 $-S(=O)CH_3$ 및 $-S(=O)CH_2CH_3$ 을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0490] 설펜 (설펜일): $-S(=O)R$ (여기서, R은 설펜 치환체, 예를 들어, C_1-C_8 알킬, C_2-C_8 알켄일, C_2-C_8 알킨일, C_3-C_8 사이클로알킬, C_3-C_8 헤테로사이클릴, C_5-C_{20} 아릴 또는 C_{5-20} 헤테로아릴기, 바람직하게는 C_{1-8} 알킬기(예를 들어, 플루오린화 또는 퍼플루오린화된 C_{1-8} 알킬기를 포함함)이다). 설펜기의 예는 $-S(=O)_2CH_3$ (메탄설펜일, 메실), $-S(=O)_2CF_3$ (트라이플릴), $-S(=O)_2CH_2CH_3$ (에실), $-S(=O)_2C_4F_9$ (노나플릴), $-S(=O)_2CH_2CF_3$ (트레실), $-S(=O)_2CH_2CH_2NH_2$ (타우릴), $-S(=O)_2Ph$ (페닐설펜일, 베실), 4-메틸페닐설펜일(토실), 4-클로로페닐설펜일(클로실), 4-브로모페닐설펜일(브로실), 4-나이트로페닐(노실), 2-나프탈렌설펜포네이트(나프실) 및 5-다이메틸아미노-나프탈렌-1-일설펜포네이트(단실)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0491] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "치료"는 구체화된 병태를 완화시키는 것, 병태의 하나 이상의 증상을 제거 또는 감소시키는 것, 병태의 진행을 늦추거나 또는 제거하는 것을 지칭한다.
- [0492] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "유효량"은, 예를 들어 연구자 또는 임상의로 인해 추구되는 조직, 시스템, 동물 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 유발할 약물 또는 약제학적 제제의 양을 의미한다.
- [0493] 청구범위에서 달리 한정되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "치료적 유효량"은 이러한 양을 받지 않은 대응하는 대상체에 비해, 질환, 장애 또는 부작용의 치료를 야기하거나 또는 질환 또는 장애의 진행을 감소시키는 임의의 양을 의미한다. 상기 용어는 또한 그의 범주 내에서 정상 생리학적 기능을 향상시키는데 효과적인 양을 포함한다. 치료에서 사용을 위해, 화합식 I의 화합물뿐만 아니라 이의 염의 치료적 유효량은 원 화합물로서 투여될 수 있다. 추가적으로, 활성 성분은 약제학적 조성물로서 제공될 수 있다.
- [0494] 본 발명은 또한 실험 부문에서 실시예 중 임의의 하나에 관한 것이다.
- [0495] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 어구 "약제학적으로 허용가능한 염"은 항체-약물 컨쥬게이트(ADC) 또는 링커-약물 모이어티의 약제학적으로 허용가능한 유기 또는 무기염을 지칭한다. 예시적인 염은 설페이트, 시트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 나이트레이트, 바이설페이트, 포스페이트, 산 포스페이트, 아이소니코티네이트, 락테이트, 살리실레이트, 산 시트레이트, 타르테이트, 올리에이트, 탄네이트, 판토테네이트, 바이타르테이트, 아스코베이트, 숙시네이트, 말리에이트, 젠티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 사카레이트, 포메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄설펜포네이트, 에탄설펜포네이트, 벤젠설펜포네이트, *p*-톨루엔설펜포네이트 및 파모에이트(즉, 1,1'-메틸렌-비스-(2-하이드록시-3-나프토에이트)) 염을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 약제학적으로 허용가능한 염은 다른 분자, 예컨대 아세테이트 이온, 숙시네이트 이온 또는 다른 반대이온의 포함을 수반할 수 있다. 반대이온은 모 화합물 상에서 전하를 안정화시키는 임의의 유기 또는 무기 모이어티일 수 있다. 더 나아가, 약제학적으로 허용가능한 염은 그의 구조에서 하나 이상의 하전된 원자를 가질 수 있다. 다중 하전 원자가 약제학적으로 허용가능한 염의 부분인 예는 다중 반대 이온을 가질 수 있다. 따라서, 약제학적으로 허용가능한 염은 하나 이상의 하전된 원자 및/또는 하나 이상의 반대이온을 가질 수 있다.
- [0496] 약제학적으로 허용가능하지 않은 다른 염은 본 발명의 화합물의 제조에서 유용할 수 있으며, 이들은 본 발명의 추가 양상을 형성하는 것으로 고려되어야 한다. 이들 염, 예컨대 옥살 또는 트라이플루오로아세테이트는, 그 자체로는 약제학적으로 허용가능하지 않지만, 본 발명의 화합물 및 그들의 약제학적으로 허용가능한 염을 얻는 것에 있어서 중간체로서 유용한 염의 제조에서 유용할 수 있다.
- [0497] 본 발명의 화합물은 고체 또는 액체 형태로 존재할 수 있다. 고체 상태에서, 결정질 또는 비결정질 형태로 또는 이들의 혼합물로서 존재할 수 있다. 당업자는 약제학적으로 허용가능한 용매화물이 결정질 또는 비결정질 화합물에 대해 형성될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 결정질 용매화물에서, 용매 분자는 결정화 동안 결정질 격자 내로 혼입된다. 용매화물은 에탄올, 아이소프로판올, DMSO, 아세트산, 에탄올아민 또는 에틸 아세테이트와 같지만, 이들로 제한되지 않는 비수성 용매를 수반할 수 있거나, 또는 그들은 결정질 격자 내로 혼입되는 용매로서 물을 수반할 수 있다. 물이 결정질 격자 내로 혼입되는 용매인 용매화물은 전형적으로 "수화물"로서 지칭된다.

수화물은 화학량론적 수화물뿐만 아니라 가변적 양의 물을 함유하는 조성물을 포함한다. 본 발명은 모든 이러한 용매화물을 포함한다.

[0498] 당업자는 결정질 형태로 존재하는 본 발명의 특정 화합물(이의 다양한 용매화물을 포함)이 다형성(즉, 상이한 결정질 구조로 생기는 능력)을 나타낼 수 있다는 것을 추가로 인식할 것이다. 이들 상이한 결정질 형태는 전형적으로 "다형체"로서 알려져 있다. 본 발명은 모든 이러한 다형체를 포함한다. 다형체는 동일한 화학적 조성물을 갖지만, 패킹, 기하학적 배열 및 결정질 고체 상태의 다른 설명적 특성이 상이하다. 따라서, 다형체는 상이한 물리적 특성, 예컨대 형상, 밀도, 경도, 변형성, 안정성 및 용해 특성을 가질 수 있다. 다형체는 전형적으로 동정을 위해 사용될 수 있는 상이한 용점, IR 스펙트럼 및 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 당업자는, 예를 들어 화합물을 제조하는데 사용되는 반응 조건 또는 시약을 변화 또는 조절함으로써 상이한 다형체가 생성될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 예를 들어, 온도, 압력 또는 용매의 변화는 다형체를 초래할 수 있다. 추가로, 하나의 다형체는 특정 조건 하에서 다른 다형체로 자발적으로 전환될 수 있다.

[0499] 본 발명의 화합물 또는 이의 염은 입체이성질체 형태로 존재할 수 있다(예를 들어, 이는 하나 이상의 비대칭 탄소 원자를 포함한다). 개개 입체이성질체(거울상 이성질체 및 부분입체 이성질체) 및 이들의 혼합물은 본 발명의 범주 내에 포함된다. 마찬가지로, 화합물 또는 화학식 I의 염은 화학식에 나타난 것 이외의 호변체 형태로 존재할 수 있고, 또한 본 발명의 범주 내에 포함된다는 것이 이해된다. 본 발명은 본 명세서에서 상기 정의된 특정 기의 모든 조합 및 서브세트를 포함한다는 것이 이해되어야 한다. 본 발명의 범주는 입체이성질체의 혼합물뿐만 아니라 정제된 거울상 이성질체 또는 거울상체적으로/부분입체이성질체적으로 풍부한 혼합물을 포함한다. 본 발명은 본 명세서에서 상기 정의한 특정 기의 모든 조합 및 서브세트를 포함한다는 것이 이해되어야 한다.

[0500] 본 발명은 또한 하나 이상의 원자는 보통 천연에서 발견되는 원자질량 또는 질량수와 상이한 원자질량 또는 질량수를 갖는 원자로 대체된다는 사실을 제외하고 본 발명의 화합물의 동위원소 표지 형태를 포함한다. 본 발명의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용가능한 염에 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 황, 플루오린, 요오드 및 염소, 예컨대 2H, 3H, 11C, 13C, 14C, 15N, 17O, 18O, 31P, 32P, 35S, 18F, 36Cl, 123I 및 125I의 동위원소를 포함한다.

[0501] 본 발명의 화합물 및 앞서 언급한 동위원소 및/또는 다른 원자의 다른 동위원소를 함유하는 상기 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염은 본 발명의 범주 내에 있다. 본 발명의 동위원소 표지 화합물, 예를 들어 방사성 동위원소, 예컨대 3H, 14C가 혼입된 것은 약물 및/또는 기질 조직 분포 분석에서 유용하다. 삼중 수소, 즉, 3H, 및 탄소-14, 즉, 14C, 동위원소는 통상적으로 제조 및 검출능력의 그들의 용이함에 대해 사용된다. 11C 및 18F 동위원소는 PET(양전자 방출 단층 촬영술)에서 유용하며, 125I 동위원소는 SPECT(단일 광자 방출 단층촬영)에서 유용하며, 이들 모두 뇌 영상화에서 유용하다. 추가로, 중수소, 즉, 2H와 같은 더 무거운 동위원소에 의한 치환은 더 큰 대사 안정성으로부터 초래되는 특정 치료적 이점을 얻을 수 있고, 예를 들어 생체내 반감기가 증가되거나 또는 제형 요구가 감소되고, 따라서, 일부 환경에서 바람직할 수 있다. 화학식 I의 동위원소 표지된 화합물 및 본 발명의 하기는 일반적으로 반응식에서 및/또는 이하의 실시예에서 개시된 절차를 수행함으로써, 용이하게 이용가능한 동위원소 표지 시약을 비동위원소 표지 시약으로 치환함으로써 제조될 수 있다.

[0502] ADCS의 약제학적 조성물

[0503] 본 발명의 치료적 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)의 약제학적 제형은 전형적으로 약제학적으로 허용가능한 비경구 비히클과 함께 그리고 단위 투약량 주사가 가능 형태로 비경구 투여를 위해, 즉, 볼루스, 정맥내, 종양내 주사를 위해 제조된다. 목적으로 하는 정도의 순도를 갖는 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)는 선택적으로 동결건조 제형 또는 수용액 형태로 약제학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 부형제 또는 안정제(Remington's Pharmaceutical Sciences (1980) 16th edition, Osol, A. Ed.)와 혼합된다.

[0504] 시스테인 공학처리 항체

[0505] 본 발명의 화합물은 시스테인 공학 처리된 항체를 포함하는 항체-약물 컨쥬게이트를 포함하며, 야생형 또는 모 항체의 하나 이상의 아미노산은 시스테인 아미노산으로 대체된다. 항체의 임의의 형태는 이렇게 공학 처리, 즉, 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 모 Fab 항체 단편은 본 명세서에서 "티오Fab"로서 지칭되는 시스테인 공학 처리된 Fab를 형성하기 위해 공학 처리될 수 있다. 유사하게, 모 단클론성 항체는 "티오Mab"를 형성하기 위해 공학 처리될 수 있다. 단일 부위 돌연변이는 티오Fab에서 단일 공학 처리된 시스테인 잔기를 획득하는 반면, 단일 부위 돌연변이는 IgG 항체의 이량체 특성에 기인하여 티오Mab에서 2개의 공학 처리된 시스테인 잔기를 획득

한다는 것이 주목되어야 한다. 대체된 ("공학 처리된") 시스테인(Cys) 잔기를 지니는 돌연변이는 새로 도입된, 공학 처리된 시스테인 티올기의 반응성에 대해 평가된다. 티올 반응성 값은 0 내지 1.0 범위에서의 상대적, 수치적인 용어이며, 임의의 시스테인 공학 처리된 항체에 대해 측정될 수 있다. 본 발명의 시스테인 공학 처리된 항체의 티올 반응성 값은 0.6 내지 1.0; 0.7 내지 1.0; 또는 0.8 내지 1.0의 범위에 있다.

[0506] 돌연변이유발에 의해 시스테인 공학 처리된 항체를 제조하기 위해, 출발 폴리펩타이드의 아미노산 서열 변이체를 암호화하는 DNA는 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 제조된다. 이들 방법은 폴리펩타이드를 암호화하는 더 조기에 제조된 DNA의 부위 지정(또는 올리고뉴클레오타이드 매개) 돌연변이유발, PCR 돌연변이유발 및 카세트 돌연변이유발에 의한 제조를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 재조합 항체의 변이체는 제한 단편 조작에 의해 또는 합성 올리고뉴클레오타이드를 이용하는 중복 연장 PCR에 의해 구성될 수 있다. 돌연변이 프라이머는 시스테인 코돈 대체(들)를 암호화한다. 표준 돌연변이유발 기법은 이러한 돌연변이체 시스테인 공학 처리된 항체를 암호화하는 DNA를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 일반적 길잡이는 문헌[Sambrook et al Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989; 및 Ausubel et al Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York, N.Y., 1993]에서 찾을 수 있다.

[0507] 시스테인 아미노산은 항체의 반응성 부위에서 공학처리될 수 있고, 쇠내 또는 분자간 이황화 연결을 형성하지 않는다(Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan et al (2009) Blood 114(13):2721-2729; 미국 특허 제7521541호; 미국 특허 제7723485호; WO2009/052249, Shen et al (2012) Nature Biotech., 30(2):184-191; Junutula et al (2008) Jour of Immun. Methods 332:41-52). 공학 처리된 시스테인 티올은 티올-반응성, 친전자성기, 예컨대 말레이미드 또는 알파-할로 아마이드를 갖는 본 발명의 링커 시약 또는 링커-약물 중간체와 반응하여 시스테인 공학 처리된 항체(티오Mabs) 및 약물(D) 모이어티를 지니는 ADC를 형성한다. 따라서 약물 모이어티의 위치는 설계되고, 제어되며 알려질 수 있다. 공학 처리된 시스테인 티올기가 전형적으로 티올 반응성 링커 시약 또는 링커-약물 중간체와 고수율로 반응하기 때문에 약물 부하는 제어될 수 있다. 중쇄 또는 경쇄 상의 단일 부위에서 치환에 의해 시스테인 아미노산을 도입하도록 항체를 공학처리하는 것은 대칭적 항체 상에서 2개의 새로운 시스테인을 제공한다. 2개 근처의 약물 부하는 컨쥬게이션 산물 ADC의 거의 동질함을 달성할 수 있다.

[0508] 본 발명의 시스테인 공학 처리된 항체는 바람직하게는 그들의 야생형, 모 항체 상대의 항원 결합 능력을 보유한 다. 따라서, 시스테인 공학 처리된 항체는 바람직하게는 항원에 특이적으로 결합할 수 있다. 이러한 항원은, 예를 들어, 종양 결합 항원(TAA), 세포 표면 수용체 단백질 및 다른 세포 표면 분자, 막관통 단백질, 신호전달 단백질, 세포 생존 조절 인자, 세포 증식 조절 인자, 조직 발생 또는 분화와 관련된 (예를 들어, 이에 대해 기능적으로 기여하는 것으로 알려져 있거나 또는 의심되는) 분자, 림포카인, 사이토카인, 세포주기 조절에 연루된 분자, 혈관형성에 수반된 분자 및 신생혈관형성과 관련된(예를 들어, 이에 대해 기능적으로 기여하는 것으로 알려져 있거나 또는 의심되는) 분자를 포함한다. 종양 관련 항원은 클러스터 분화 인자(즉, CD 단백질)일 수 있다. 시스테인 공학 처리된 항체가 결합할 수 있는 항원은 상기 언급한 범주 중 하나의 서브세트의 구성원일 수 있되, 상기 범주의 다른 서브세트(들)는 별개의 특징을 갖는 (관심대상의 항원에 대해) 다른 분자/항원을 포함한다. 시스테인 공학 처리된 항체는 쇠내 이황화기의 환원 및 재산화에 의한 링커-약물 중간체와의 컨쥬게이션을 위해 제조된다.

[0509] **종양-관련 항원:**

[0510] 암치료에서 본 발명의 항체-약물 컨쥬게이트에서 유용할 수 있는 시스테인 공학 처리된 항체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 항체는 세포 표면 수용체 및 종양 결합 항원(TAA)에 대한 항체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 특정 종양 결합 항원은 당업계에 공지되어 있으며, 당업계에 잘 공지된 방법 및 정보를 이용하여 항체를 생성하는데 사용하기 위해 제조될 수 있다. 암 진단 및 요법을 위한 효과적인 세포 표적을 발견하기 위한 시도에서, 연구자들은 하나 이상의 정상 비암성 세포(들) 상에서와 비교하여 암 세포의 하나 이상의 특정 유형(들)의 표면 상에서 특이적으로 발현되는 막관통 또는 다른 종양 관련 폴리펩타이드를 동정하도록 추구되었다. 종종, 이러한 종양 관련 폴리펩타이드는 비암성 세포의 표면상에서와 비교하여 암세포 표면상에서 더 풍부하게 발현된다. 이러한 종양 관련 세포 표면 항원 폴리펩타이드의 동정은 항체 기반 요법을 통한 파괴를 위해 암세포를 더 특이적으로 표적화하는 능력이 생기게 하였다.

[0511] 종양 결합 항원 TAA의 예는 이하에 열거된 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 편의를 위해, 이들 항원에 관한 정보(이들 모두는 당업계에 공지되어 있음)를 이하에 열거하며, 명칭, 대안의 명칭, 제네코 수탁번호

및 주요 참고문헌, 미국 국립생물공학센터(National Center for Biotechnology Information: NCBI)에 대한 다음의 핵산 및 단백질 서열 동정 규약을 포함한다. 이하에 열거된 TAA에 대응하는 핵산 및 단백질 서열은 젠뱅크와 같은 공중의 데이터베이스에서 입수가 가능하다. 항체에 의해 표적화된 종양 관련 항원은 인용 참고문헌에서 동정되는 서열에 대해 적어도 약 70%, 80%, 85%, 90%, 또는 95% 서열 동일성을 갖는 모든 아미노산 서열 변이체 및 아이소폼을 포함하고/하거나 인용 참고문헌에서 발견되는 서열을 갖는 TAA와 실질적으로 동일한 생물학적 특성 또는 특징을 나타낸다. 예를 들어, 변이체 서열을 갖는 TAA는 일반적으로 열거된 대응하는 서열을 지니는 TAA에 특이적으로 결합되는 항체에 특이적으로 결합할 수 있다. 본 명세서에 구체적으로 열거된 참고문헌의 서열 및 개시내용은 명확하게 참고로 포함된다.

- [0512] (1) BMPR1B(뼈형성 단백질 수용체 IB형, 젠뱅크 수탁 번호 NM_001203)
- [0513] 문헌[ten Dijke,P., et al Science 264 (5155):101-104 (1994), Oncogene 14 (11):1377-1382 (1997)]; WO2004063362(제2항); WO2003042661(제12항); 미국 특허 제2003134790-A1(페이지 38-39); WO2002102235(제13항; 페이지 296); WO2003055443 (페이지 91-92); WO200299122(실시예 2; 페이지 528-530); WO2003029421(제6항); WO2003024392(제2항; 도 112); WO200298358(제1항; 페이지 183); WO200254940 (페이지 100-101); WO200259377(페이지 349-350); WO200230268(제27항; 페이지 376); WO200148204(실시예; 도 4)
- [0514] NP_001194 뼈형성 단백질 수용체, IB형/pid=NP_001194.1 -
- [0515] 상호참조: MIM:603248; NP_001194.1; AY065994
- [0516] (2) E16 (LAT1, SLC7A5, 젠뱅크 수탁 번호 NM_003486)
- [0517] 문헌[Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2), 283-288 (1999), Nature 395 (6699):288-291 (1998), Gaugitsch, H.W., et al (1992) J. Biol. Chem. 267 (16):11267-11273]; WO2004048938(실시예 2); WO2004032842(실시예 IV); WO2003042661(제12항); WO2003016475(제1항); WO200278524(실시예 2); WO200299074(제19항; 페이지 127-129); WO200286443(제27항; 페이지 222, 393); WO2003003906(제10항; 페이지 293); WO200264798(제33항; 페이지 93-95); WO200014228(제5항; 페이지 133-136); 미국 특허 제2003224454호(도 3); WO2003025138(제12항; 페이지 150);
- [0518] NP_003477 용질 운반체 패밀리 7(양이온성 아미노산 수송체, y+ 시스템), 구성원 5 /pid=NP_003477.3 - 호모 사피엔스(Homo sapiens)
- [0519] 상호참조: MIM:600182; NP_003477.3; NM_015923; NM_003486_1
- [0520] (3) STEAP1(전립선의 6개 막관통 상피 항원, 젠뱅크 수탁 번호 NM_012449)
- [0521] 문헌[Cancer Res. 61 (15), 5857-5860 (2001), Hubert, R.S., et al (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (25):14523-14528]; WO2004065577(제6항); WO2004027049(도 1L); 유럽 특허 제1394274호(실시예 11); WO2004016225(제2항); WO2003042661(제12항); 미국 특허 제2003157089호(실시예 5); 미국 특허 제2003185830호(실시예 5); 미국 특허 제2003064397호(도 2); WO200289747(실시예 5; 페이지 618-619); WO2003022995(실시예 9; 도 13A, 실시예 53; 페이지 173, 실시예 2; 도 2A);
- [0522] NP_036581 전립선의 6개 막관통 상피 항원
- [0523] 상호참조: MIM:604415; NP_036581.1; NM_012449_1
- [0524] (4) 0772P (CA125, MUC16, 젠뱅크 수탁 번호 AF361486)
- [0525] 문헌[J. Biol. Chem. 276 (29):27371-27375 (2001)]; WO2004045553(제14항); WO200292836(제6항; 도 12); WO200283866(제15항; 페이지 116-121); 미국 특허 제2003124140호(실시예 16); 상호참조: GI:34501467; AAK74120.3; AF361486_1
- [0526] (5) MPF (MPF, MSLN, SMR, 거핵세포 효력증가 인자, 메소텔린, 젠뱅크 수탁 번호 NM_005823) 문헌[Yamaguchi, N., et al Biol. Chem. 269 (2), 805-808 (1994), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (20):11531-11536 (1999), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93 (1):136-140 (1996), J. Biol. Chem. 270 (37):21984-21990 (1995)]; WO2003101283(제14항); (WO2002102235(제13항; 페이지 287-288); WO2002101075(제4항; 페이지 308-309); WO200271928(페이지 320-321); WO9410312 (페이지 52-57); 상호참조: MIM:601051; NP_005814.2; NM_005823_1

- [0527] (6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, 용질 운반체 패밀리 34(인산나트륨), 구성원 2, II형 나트륨-의존적 포스페이트 수송체 3b, 젠뱅크 수탁 번호 NM_006424)
- [0528] 문헌[J. Biol. Chem. 277 (22):19665-19672 (2002), Genomics 62 (2):281-284 (1999), Feild, J.A., et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 258 (3):578-582]; WO2004022778(제2항); EP1394274(실시예 11); WO2002102235(제13항; 페이지 326); 유럽 특허 제875569호(제1항; 페이지 17-19); WO200157188 (제20항; 페이지 329); WO2004032842(실시예 IV); WO200175177(제24항; 페이지 139-140);
- [0529] 상호참조: MIM:604217; NP_006415.1; NM_006424_1
- [0530] (7) Sema 5b(FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, 세마포린 5b Hlog, 세마 도메인, 7개 트롬보스폰딘 반복체(1형 및 1형 유사), 막관통 도메인(TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 5B, 젠뱅크 수탁 번호 AB040878)
- [0531] 문헌[Nagase T., et al (2000) DNA Res. 7 (2):143-150]; WO2004000997(제1항); WO2003003984(제1항); WO200206339(제1항; 페이지 50); WO200188133(제1항; 페이지 41-43, 48-58); WO2003054152(제20항); WO2003101400(제11항);
- [0532] 수탁 번호: Q9P283; EMBL; AB040878; BAA95969.1. Genew; HGNC:10737;
- [0533] (8) PSCA hlg(2700050C12Rik, C530008016Rik, RIKEN cDNA 2700050C12, RIKEN cDNA 2700050C12 유전자, 젠뱅크 수탁 번호 AY358628); 문헌[Ross et al (2002) Cancer Res. 62:2546-2553]; 미국 특허 제2003129192호(제2항); 미국 특허 제2004044180호(제12항); 미국 특허 제2004044179호(제11항); 미국 특허 제2003096961(제11항); 미국 특허 제2003232056호(실시예 5); WO2003105758(제12항); 미국 특허 제2003206918호(실시예 5); EP1347046호(제1항); WO2003025148(제20항);
- [0534] 상호참조: GI:37182378; AAQ88991.1; AY358628_1
- [0535] (9) ETBR(엔도텔린 유형 B 수용체, 젠뱅크 수탁 번호 AY275463);
- [0536] 문헌[Nakamuta M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 177, 34-39, 1991; Ogawa Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 248-255, 1991; Arai H., et al Jpn. Circ. J. 56, 1303-1307, 1992; Arai H., et al J. Biol. Chem. 268, 3463-3470, 1993; Sakamoto A., Yanagisawa M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 656-663, 1991; Elshourbagy N.A., et al J. Biol. Chem. 268, 3873-3879, 1993; Haendler B., et al J. Cardiovasc. Pharmacol. 20, s1-S4, 1992; Tsutsumi M., et al Gene 228, 43-49, 1999; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16899-16903, 2002; Bourgeois C., et al J. Clin. Endocrinol. Metab. 82, 3116-3123, 1997; Okamoto Y., et al Biol. Chem. 272, 21589-21596, 1997; Verheij J.B., et al Am. J. Med. Genet. 108, 223-225, 2002; Hofstra R.M.W., et al Eur. J. Hum. Genet. 5, 180-185, 1997; Puffenberger E.G., et al Cell 79, 1257-1266, 1994; Attie T., et al, Hum. Mol. Genet. 4, 2407-2409, 1995; Auricchio A., et al Hum. Mol. Genet. 5:351-354, 1996; Amiel J., et al Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996; Hofstra R.M.W., et al Nat. Genet. 12, 445-447, 1996; Svensson P.J., et al Hum. Genet. 103, 145-148, 1998; Fuchs S., et al Mol. Med. 7, 115-124, 2001; Pingault V., et al (2002) Hum. Genet. 111, 198-206]; WO2004045516(제1항); WO2004048938(실시예 2); WO2004040000(제151항); WO2003087768(제1항); WO2003016475(제1항); WO2003016475(제1항); WO200261087(도 1); WO2003016494 (도 6); WO2003025138(제12항; 페이지 144); WO200198351(제1항; 페이지 124-125); 유럽 특허 제522868호(제8항; 도 2); WO200177172(제1항; 페이지 297-299); 미국 특허 제2003109676; 미국 특허 제6518404호(도 3); 미국 특허 제5773223호(제1a항; Col 31-34); WO2004001004;
- [0537] (10) MSG783 (RNF124, 가설 단백질 FLJ20315, 젠뱅크 수탁 번호 NM_017763);
- [0538] WO2003104275(제1항); WO2004046342(실시예 2); WO2003042661(제12항); WO2003083074(제14항; 페이지 61); WO2003018621(제1항); WO2003024392(제2항; 도 93); WO200166689(실시예 6);
- [0539] 상호참조: 좌위ID:54894; NP_060233.2; NM_017763_1
- [0540] (11) STEAP2 (HGNC_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, 전립선 암 관련 유전자 1, 전립선 암 관련 단백질 1, 전립선 2의 6개 막관통 상피 항원, 6개 막관통 전립선 단백질, 젠뱅크 수탁 번호 AF455138)
- [0541] 문헌[Lab. Invest. 82 (11):1573-1582 (2002)]; WO2003087306; 미국 특허 제2003064397(제1항; 도 1);

WO200272596(제13항; 페이지 54-55); WO200172962(제1항; 도 4B); WO2003104270(제11항); WO2003104270(제16항); 미국 특허 제2004005598 (제22항); WO2003042661(제12항); 미국 특허 제2003060612(제12항; 도 10); WO200226822 (제23항; 도 2); WO200216429(제12항; 도 10);

[0542] 상호참조: GI:22655488; AAN04080.1; AF455138_1

[0543] (12) TrpM4(BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, 일시적 수용체 잠재적 양이온 통로, 서브패밀리 M, 구성원 4, 젠뱅크 수탁 번호 NM_017636)

[0544] 문헌[Xu, X.Z., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (19):10692-10697 (2001), Cell 109 (3):397-407 (2002), J. Biol. Chem. 278 (33):30813-30820 (2003)]; 미국 특허 제2003143557호(제4항); WO200040614(제14항; 페이지 100-103); WO200210382(제1항; 도 9A); WO2003042661(제12항); WO200230268(제27항; 페이지 391); 미국 특허 제2003219806호(제4항); WO200162794(제14항; 도 1A-D);

[0545] 상호참조: MIM:606936; NP_060106.2; NM_017636_1

[0546] (13) CRIPTO(CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, 기형암종-유래 성장인자, 젠뱅크 수탁 번호 NP_003203 또는 NM_003212)

[0547] 문헌[Ciccodicola, A., et al EMBO J. 8 (7):1987-1991 (1989), Am. J. Hum. Genet. 49 (3):555-565 (1991)]; 미국 특허 제2003224411(제1항); WO2003083041(실시예 1); WO2003034984(제12항); WO200288170(제2항; 페이지 52-53); WO2003024392(제2항; 도 58); WO200216413(제1항; 페이지 94-95, 105); WO200222808(제2항; 도 1); 미국 특허 제5854399(실시예 2; Col 17-18); 미국 특허 제5792616 (도 2);

[0548] 상호참조: MIM:187395; NP_003203.1; NM_003212_1

[0549] (14) CD21(CR2(상보적 수용체 2) 또는 C3DR(C3d/엡스타인 바르 바이러스 수용체) 또는 Hs.73792 젠뱅크 수탁 번호 M26004)

[0550] 문헌[Fujisaku et al (1989) J. Biol. Chem. 264 (4):2118-2125); Weis J.J., et al J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988; Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987; Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998; Weis J.J., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 5639-5643, 1986; Sinha S.K., et al (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320]; WO2004045520(실시예 4); 미국 특허 제2004005538호(실시예 1); WO2003062401(제9항); WO2004045520(실시예 4); WO9102536 (도 9.1-9.9); WO2004020595(제1항);

[0551] 수탁번호: P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1.

[0552] (15) CD79b(CD79B, CD79 β , Igb(면역글로불린-관련 베타), B29, 젠뱅크 수탁 번호 NM_000626 또는 11038674)

[0553] 문헌[Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7):4126-4131, Blood (2002) 100 (9):3068-3076, Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6):1621-1625]; WO2004016225(제2항, 도 140); WO2003087768, 미국 특허 제2004101874호(제1항, 페이지 102); WO2003062401(제9항); WO200278524(실시예 2); 미국 특허 제2002150573(제5항, 페이지 15); 미국 특허 제5644033; WO2003048202 (제1항, 페이지 306 및 309); WO 99/558658, 미국 특허 제6534482호(제13항, 도 17A/B); WO200055351(제11항, 페이지 1145-1146);

[0554] 상호참조: MIM:147245; NP_000617.1; NM_000626_1

[0555] (16) FcRH2(IFGP4, IRTA4, SPAP1A (포스포타제 고정 단백질 1a를 포함하는 SH2 도메인), SPAP1B, SPAP1C, 젠뱅크 수탁 번호 NM_030764, AY358130)

[0556] 문헌[Genome Res. 13 (10):2265-2270 (2003), Immunogenetics 54 (2):87-95 (2002), Blood 99 (8):2662-2669 (2002), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (17):9772-9777 (2001), Xu, M.J., et al (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun. 280 (3): 768-775]; WO2004016225(제2항); WO2003077836; WO200138490(제5항; 도 18D-1-18D-2); WO2003097803(제12항); WO2003089624 (제25항);

[0557] 상호참조: MIM:606509; NP_110391.2; NM_030764_1

[0558] (17) HER2(ErbB2, 젠뱅크 수탁 번호 M11730)

[0559] 문헌[Coussens L., et al Science (1985) 230(4730):1132-1139); Yamamoto T., et al Nature 319, 230-234, 1986; Semba K., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82, 6497-6501, 1985; Swiercz J.M., et al J. Cell

Biol. 165, 869-880, 2004; Kuhns J.J., et al J. Biol. Chem. 274, 36422-36427, 1999; Cho H.-S., et al Nature 421, 756-760, 2003; Ehsani A., et al (1993) Genomics 15, 426-429]; WO2004048938(실시예 2); WO2004027049(도 11); WO2004009622; WO2003081210; WO2003089904(제9항); WO2003016475(제1항); 미국 특허 제2003118592호; WO2003008537(제1항); WO2003055439(제29항; 도 1A-B); WO2003025228(제37항; 도 5C); WO200222636(실시예 13; 페이지 95-107); WO200212341(제68항; 도 7); WO200213847(페이지 71-74); WO200214503(페이지 114-117); WO200153463(제2항; 페이지 41-46); WO200141787(페이지 15); WO200044899(제52항; 도 7); WO200020579(제3항; 도 2); 미국 특허 제5869445호(제3항; Col 31-38); WO9630514(제2항; 페이지 56-61); 유럽 특허 제1439393호(제7항); WO2004043361(제7항); WO2004022709; WO200100244(실시예 3; 도 4);

[0560] 수탁번호: P04626; EMBL; M11767; AAA35808.1. EMBL; M11761; AAA35808.1.

[0561] (18) NCA(CEACAM6, 젠뱅크 수탁 번호 M18728);

[0562] 문헌[Barnett T., et al Genomics 3, 59-66, 1988; Tawaragi Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 150, 89-96, 1988; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99:16899-16903, 2002; WO2004063709; 유럽 특허 제1439393호(제7항); WO2004044178(실시예 4); WO2004031238; WO2003042661(제12항); WO200278524(실시예 2); WO200286443(제27항; 페이지 427); WO200260317(제2항);

[0563] 수탁번호: P40199; Q14920; EMBL; M29541; AAA59915.1. EMBL; M18728;

[0564] (19) MDP(DPEP1, 젠뱅크 수탁 번호 BC017023)

[0565] 문헌[Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26):16899-16903 (2002)]; WO2003016475(제1항); WO200264798 (제33항; 페이지 85-87); 일본 특허 제05003790호(도 6 내지 8); WO9946284(도 9);

[0566] 상호참조: MIM:179780; AAH17023.1; BC017023_1

[0567] (20) IL20R α (IL20R α, ZCYTOR7, 젠뱅크 수탁 번호 AF184971);

[0568] 문헌[Clark H.F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Mungall A.J., et al Nature 425, 805-811, 2003; Blumberg H., et al Cell 104, 9-19, 2001; Dumoutier L., et al J. Immunol. 167, 3545-3549, 2001; Parrish-Novak J., et al J. Biol. Chem. 277, 47517-47523, 2002; Pletnev S., et al (2003) Biochemistry 42:12617-12624; Sheikh F., et al (2004) J. Immunol. 172, 2006-2010]; EP1394274(실시예 11); 미국 특허 제2004005320호(실시예 5); WO2003029262 (페이지 74-75); WO2003002717(제2항; 페이지 63); WO200222153(페이지 45-47); 미국 특허 제2002042366호(페이지 20-21); WO200146261(페이지 57-59); WO200146232(페이지 63-65); WO9837193(제1항; 페이지 55-59);

[0569] 수탁번호: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; AAF01320.1.

[0570] (21) 브레비칸(BCAN, BEHAB, 젠뱅크 수탁 번호 AF229053)

[0571] 문헌[Gary S.C., et al Gene 256, 139-147, 2000; Clark H.F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16899-16903, 2002]; 미국 특허 제2003186372호(제11항); 미국 특허 제2003186373호(제11항); 미국 특허 제2003119131호(제1항; 도 52); 미국 특허 제2003119122호(제1항; 도 52); 미국 특허 제2003119126호(제1항); 미국 특허 제2003119121호(제1항; 도 52); 미국 특허 제2003119129호(제1항); 미국 특허 제2003119130호(제1항); 미국 특허 제2003119128호(제1항; 도 52); 미국 특허 제2003119125호(제1항); WO2003016475(제1항); WO200202634(제1항);

[0572] (22) EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5, 젠뱅크 수탁 번호 NM_004442)

[0573] 문헌[Chan, J. and Watt, V.M., Oncogene 6 (6), 1057-1061 (1991) Oncogene 10 (5):897-905 (1995), Annu. Rev. Neurosci. 21:309-345 (1998), Int. Rev. Cytol. 196:177-244 (2000)]; WO2003042661(제12항); WO2000053216(제1항; 페이지 41); WO2004065576(제1항); WO2004020583(제9항); WO2003004529(페이지 128-132); WO2000053216(제1항; 페이지 42);

[0574] 상호참조: MIM:600997; NP_004433.2; NM_004442_1

[0575] (23) ASLG659 (B7h, 젠뱅크 수탁 번호 AX092328)

[0576] 미국 특허 제20040101899호(제2항); WO2003104399(제11항); WO2004000221 (도 3); 미국 특허 제2003165504호(제1항); 미국 특허 제2003124140호(실시예 2); 미국 특허 제2003065143호(도 60); WO2002102235(제13항; 페이지

지 299); 미국 특허 제2003091580호(실시예 2); WO200210187(제6항; 도 10); WO200194641(제12항; 도 7b); WO200202624(제13항; 도 1A-1B); 미국 특허 제2002034749호(제54항; 페이지 45-46); WO200206317(실시예 2; 페이지 320-321, 제34항; 페이지 321-322); WO200271928(페이지 468-469); WO200202587(실시예 1; 도 1); WO200140269(실시예 3; 페이지 190-192); WO200036107(실시예 2; 페이지 205-207); WO2004053079(제12항); WO2003004989(제1항); WO200271928(페이지 233-234, 452-453); WO 0116318;

[0577] (24) PSCA(전립선 줄기 세포 항원 전구체, 젠뱅크 수탁 번호 AJ297436)

[0578] 문헌[Reiter R.E., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 1735-1740, 1998; Gu Z., et al Oncogene 19, 1288-1296, 2000; Biochem. Biophys. Res. Commun. (2000) 275(3): 783-788]; WO2004022709; EP1394274(실시예 11); 미국 특허 제2004018553(제17항); WO2003008537(제1항); WO200281646(제1항; 페이지 164); WO2003003906(제10항; 페이지 288); WO200140309(실시예 1; 도 17); 미국 특허 제2001055751호(실시예 1; 도 1b); WO200032752(제18항; 도 1); WO9851805(제17항; 페이지 97); WO9851824(제10항; 페이지 94); WO9840403(제2항; 도 1B);

[0579] 수탁번호: 043653; EMBL; AF043498; AAC39607.1.

[0580] (25) GEDA (젠뱅크 수탁 번호 AY260763);

[0581] AAP14954 지방중 HMGIC 융합-상대-유사 단백질/pid=AAP14954.1 - 호모 사피엔스

[0582] 종: 호모 사피엔스 (인간)

[0583] WO2003054152 (제20항); WO2003000842(제1항); WO2003023013(실시예 3, 제20항); 미국 특허 제2003194704(제45항);

[0584] 상호참조: GI:30102449; AAP14954.1; AY260763_1

[0585] (26) BAFF-R (B 세포-활성화 인자 수용체, BLyS 수용체 3, BR3, 젠뱅크 수탁 번호 AF116456); BAFF 수용체 /pid=NP_443177.1 - 호모 사피엔스

[0586] 문헌[Thompson, J.S., et al Science 293 (5537), 2108-2111 (2001)]; WO2004058309; WO2004011611; WO2003045422(실시예; 페이지 32-33); WO2003014294(제35항; 도 6B); WO2003035846(제70항; 페이지 615-616); WO200294852(Col 136-137); WO200238766(제3항; 페이지 133); WO200224909(실시예 3; 도 3);

[0587] 상호참조: MIM:606269; NP_443177.1; NM_052945_1; AF132600

[0588] (27) CD22(B-세포 수용체 CD22-B 아이소폼, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814, 젠뱅크 수탁 번호 AK026467);

[0589] 문헌[Wilson et al (1991) J. Exp. Med. 173:137-146]; WO2003072036(제1항; 도 1);

[0590] 상호참조: MIM:107266; NP_001762.1; NM_001771_1

[0591] (28) CD79a (CD79A, CD79a, 면역글로불린-관련 알파, Ig 베타(CD79B)와 공유적으로 상호작용하고 Ig M 분자와 표면 상에서 복합체를 형성하며, B-세포 분화에 연루되는 신호를 전달도입하는 B 세포-특이적 단백질), pI: 4.84, MW: 25028 TM: 2 [P] 유전자 염색체: 19q13.2, 젠뱅크 수탁 번호 NP_001774.10)

[0592] WO2003088808, 미국 특허 제20030228319호; WO2003062401(제9항); 미국 특허 제2002150573호(제4항, 페이지 13-14); WO9958658(제13항, 도 16); WO9207574(도 1); 미국 특허 제5644033호; 문헌[Ha et al (1992) J. Immunol. 148(5):1526-1531; Mueller et al (1992) Eur. J. Biochem. 22:1621-1625; Hashimoto et al (1994) Immunogenetics 40(4):287-295; Preud'homme et al (1992) Clin. Exp. Immunol. 90(1):141-146; Yu et al (1992) J. Immunol. 148(2) 633-637; Sakaguchi et al (1988) EMBO J. 7(11):3457-3464];

[0593] (29) CXCR5(버킷 림프종 수용체 1, CXCL13 케모카인에 의해 활성화되고, 림프구 이동 및 체액성 방어에서 기능하며, HIV-2 감염에서 어떤 역할을 하고, AIDS, 림프종, 골수종 및 백혈병의 발생에서 어떤 역할을 할 가능성이 있는 G 단백질 결합 수용체); 372 aa, pI: 8.54 MW: 41959 TM: 7 [P] 유전자 염색체: 11q23.3, 젠뱅크 수탁 번호 NP_001707.1)

[0594] WO2004040000; WO2004015426; 미국 특허 제2003105292호(실시예 2); 미국 특허 제6555339호(실시예 2); WO200261087(도 1); WO200157188(제20항, 페이지 269); WO200172830(페이지 12-13); WO200022129(실시예 1, 페

이지 152-153, 실시예 2, 페이지 254-256); W09928468(제1항, 페이지 38); 미국 특허 제5440021호(실시예 2, col 49-52); W09428931(페이지 56-58); W09217497(제7항, 도 5); 문헌[Dobner et al (1992) Eur. J. Immunol. 22:2795-2799; Barella et al (1995) Biochem. J. 309:773-779];

- [0595] (30) HLA-DOB(펩타이드에 결합하고 그것을 CD4+ T 림프구에 제시하는 MHC 클래스 II 분자의 베타 서브유닛(Ia 항원)); 273 aa, pI: 6.56 MW: 30820 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 6p21.3, 젠뱅크 수탁 번호 NP_002111.1)
- [0596] 문헌[Tonnelle et al (1985) EMBO J. 4(11):2839-2847; Jonsson et al (1989) Immunogenetics 29(6):411-413; Beck et al (1992) J. Mol. Biol. 228:433-441; Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899-16903; Serenius et al (1987) J. Biol. Chem. 262:8759-8766; Beck et al (1996) J. Mol. Biol. 255:1-13; Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59:512-519]; W09958658(제13항, 도 15); 미국 특허 제 6153408호(Col 35-38); 미국 특허 제5976551호(col 168-170); 미국 특허 제6011146호(col 145-146); 문헌 [Kasahara et al (1989) Immunogenetics 30(1):66-68; Larhammar et al (1985) J. Biol. Chem. 260(26):14111-14119];
- [0597] (31) P2X5(퓨린 수용체 P2X 리간드 개폐 이온 통로 5, 세포의 ATP에 의해 개폐된 이온 통로는 시냅스 전달 및 신경생성에 수반될 수 있고, 결핍증은 특발성 배뇨근 불안정의 병리 생리학에 기인할 수 있음); 422 aa, pI: 7.63, MW: 47206 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 17p13.3, 젠뱅크 수탁 번호 NP_002552.2)
- [0598] 문헌[Le et al (1997) FEBS Lett. 418(1-2):195-199]; W02004047749; W02003072035(제10항); 문헌[Touchman et al (2000) Genome Res. 10:165-173]; W0200222660(제20항); W02003093444(제1항); W02003087768(제1항); W02003029277 (페이지 82);
- [0599] (32) CD72 (B-세포 분화 항원 CD72, Lyb-2) PROTEIN SEQUENCE Full maeaity...tafrfpd (1..359; 359 aa), pI: 8.66, MW: 40225 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 9p13.3, 젠뱅크 수탁 번호 NP_001773.1)
- [0600] W02004042346(제65항); W02003026493(페이지 51-52, 57-58); W0200075655 (페이지 105-106); 문헌[Von Hoegen et al (1990) J. Immunol. 144(12):4870-4877; Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899-16903];
- [0601] (33) LY64(림프구 항원 64(RP105), 류신 풍부 반복체(LRR) 패밀리의 I형 막 단백질은 B 세포 활성화 및 세포자멸사를 조절하며, 기능상실은 전신 홍반성 루푸스를 지니는 환자에서의 증가된 질환 활성과 관련됨); 661 aa, pI: 6.20, MW: 74147 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 5q12, 젠뱅크 수탁 번호 NP_005573.1)
- [0602] 미국 특허 제2002193567호; W09707198 (제11항, 페이지 39-42); 문헌[Miura et al (1996) Genomics 38(3):299-304; Miura et al (1998) Blood 92:2815-2822]; W02003083047; W09744452(제8항, 페이지 57-61); W0200012130(페이지 24-26);
- [0603] (34) FcRH1(C2 형 Ig-유사 및 ITAM 도메인을 포함하는 면역글로불린 Fc 도메인에 대한 추정 수용체인 Fc 수용체-유사 단백질 1은 B-림프구 분화에서 어떤 역할을 할 수 있다); 429 aa, pI: 5.28, MW: 46925 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 1q21-1q22, 젠뱅크 수탁 번호 NP_443170.1)
- [0604] W02003077836; W0200138490(제6항, 도 18E-1-18-E-2); 문헌[Davis et al (2001) Proc. Natl. Acad. Sci USA 98(17):9772-9777]; W02003089624(제8항); 유럽 특허 제1347046호(제1항); W02003089624(제7항);
- [0605] (35) IRTA2(B 세포 발생 및 림프종 발생에서 가능한 역할을 지니는 추정적 면역수용체인 면역글로불린 슈퍼패밀리 수용체 전좌 관련 2; 전좌에 의한 유전자의 하향조절은 일부 B 세포 악성종양에서 생김); 977 aa, pI: 6.88 MW: 106468 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 1q21, 젠뱅크 수탁 번호 인간:AF343662, AF343663, AF343664, AF343665, AF369794, AF397453, AK090423, AK090475, AL834187, AY358085; Mouse:AK089756, AY158090, AY506558; NP_112571.1
- [0606] W02003024392(제2항, 도 97); 문헌[Nakayama et al (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277(1):124-127]; W02003077836; W0200138490(제3항, 도 18B-1-18B-2);
- [0607] (36) TENB2(TMEFF2, 토모레굴린, TPEF, HPP1, TR, 즉, 성장인자 및 폴리스타틴의 EGF/헤레굴린 패밀리와 관련된 추정적 막관통 프로테오글리칸); 374 aa, NCBI 수탁번호: AAD55776, AAF91397, AAG49451, NCBI RefSeq: NP_057276; NCBI 유전자: 23671; OMIM: 605734; SwissProt Q9UIK5; 젠뱅크 수탁 번호 AF179274; AY358907, CAF85723, CQ782436

- [0608] W02004074320(서열번호 810); 일본 특허 제2004113151호(서열번호 2, 4, 8); W02003042661(서열번호 580); W02003009814(서열번호 411); 유럽 특허 제1295944호(페이지 69-70); W0200230268(페이지 329); W0200190304(서열번호 2706); 미국 특허 제2004249130호; 미국 특허 제2004022727호; W02004063355; 미국 특허 제2004197325; 미국 특허 제2003232350호; 미국 특허 제2004005563호; 미국 특허 제2003124579호; 문헌[Horie et al (2000) Genomics 67:146-152; Uchida et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:593-602; Liang et al (2000) Cancer Res. 60:4907-12; Glynne-Jones et al (2001) Int J Cancer. Oct 15;94(2):178-84];
- [0609] (37) PMEL17(은 상동체; SILV; D12S53E; PMEL17; (SI); (SIL); ME20; gp100) BC001414; BT007202; M32295; M77348; NM_006928; 문헌[McGlinchey, R.P. et al (2009) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106 (33), 13731-13736; Kummer, M.P. et al (2009) J. Biol. Chem. 284 (4), 2296-2306];
- [0610] (38) TMEFF1(EGF-유사 및 2개의 폴리스타틴-유사 도메인 1을 지니는 막관통 단백질; 토모레굴린-1; H7365; C9orf2; C9ORF2; U19878; X83961) NM_080655; NM_003692; Harms, P.W. (2003) Genes Dev. 17 (21), 2624-2629; Gery, S. et al (2003) Oncogene 22 (18):2723-2727;
- [0611] (39) GDNF-Ra1(GDNF 패밀리 수용체 알파 1; GFRA1; GDNFR; GDNFRA; RETL1; TRNR1; RET1L; GDNFR-알파1; GFR-알파-1; U95847; BC014962; NM_145793) NM_005264; 문헌[Kim, M.H. et al (2009) Mol. Cell. Biol. 29 (8), 2264-2277; Treanor, J.J. et al (1996) Nature 382 (6586):80-83];
- [0612] (40) Ly6E(림프구 항원 6 복합체, 좌위 E; Ly67,RIG-E,SCA-2,TSA-1) NP_002337.1; NM_002346.2; 문헌[de Nooij-van Dalen, A.G. et al (2003) Int. J. Cancer 103 (6), 768-774; Zammit, D.J. et al (2002) Mol. Cell. Biol. 22 (3):946-952];
- [0613] (41) TMEM46(시사(shisa) 상동체 2(제노푸스 라에비스(Xenopus laevis))); SHISA2) NP_001007539.1; NM_001007538.1; 문헌[Furushima, K. et al (2007) Dev. Biol. 306 (2), 480-492; Clark, H.F. et al (2003) Genome Res. 13 (10):2265-2270];
- [0614] (42) Ly6G6D(림프구 항원 6 복합체, 좌위 G6D; Ly6-D, MEGT1) NP_067079.2; NM_021246.2; 문헌[Mallya, M. et al (2002) Genomics 80 (1):113-123; Ribas, G. et al (1999) J. Immunol. 163 (1):278-287];
- [0615] (43) LGR5(류신-풍부 반복체-함유 G 단백질 결합 수용체 5; GPR49, GPR67) NP_003658.1; NM_003667.2; 문헌[Salanti, G. et al (2009) Am. J. Epidemiol. 170 (5):537-545; Yamamoto, Y. et al (2003) Hepatology 37 (3):528-533];
- [0616] (44) RET(ret 원암유전자; MEN2A; HSCR1; MEN2B; MTC1; (PTC); CDHF12; Hs.168114; RET51; RET-ELE1) NP_066124.1; NM_020975.4; 문헌[Tsakamoto, H. et al (2009) Cancer Sci. 100 (10):1895-1901; Narita, N. et al (2009) Oncogene 28 (34):3058-3068];
- [0617] (45) LY6K(림프구 항원 6 복합체, 좌위 K; LY6K; HSJ001348; FLJ35226) NP_059997.3; NM_017527.3; 문헌[Ishikawa, N. et al (2007) Cancer Res. 67 (24):11601-11611; de Nooij-van Dalen, A.G. et al (2003) Int. J. Cancer 103 (6):768-774];
- [0618] (46) GPR19(G 단백질 결합 수용체 19; Mm.4787) NP_006134.1; NM_006143.2; 문헌[Montpetit, A. and Sinnett, D. (1999) Hum. Genet. 105 (1-2):162-164; O'Dowd, B.F. et al (1996) FEBS Lett. 394 (3):325-329];
- [0619] (47) GPR54(KISS1 수용체; KISS1R; GPR54; HOT7T175; AXOR12) NP_115940.2; NM_032551.4; 문헌[Navenot, J.M. et al (2009) Mol. Pharmacol. 75 (6):1300-1306; Hata, K. et al (2009) Anticancer Res. 29 (2):617-623];
- [0620] (48) ASPHD1(아스팔테이트 베타-하이드록실라제 도메인 포함 1; LOC253982) NP_859069.2; NM_181718.3; 문헌[Gerhard, D.S. et al (2004) Genome Res. 14 (10B):2121-2127];
- [0621] (49) 타이로시나제(TYR; OCA1A; OCA1A; 타이로시나제; SHEP3) NP_000363.1; NM_000372.4; 문헌[Bishop, D.T. et al (2009) Nat. Genet. 41 (8):920-925; Nan, H. et al (2009) Int. J. Cancer 125 (4):909-917];
- [0622] (50) TMEM118(고리 핑거 단백질, 막관통 2; RNFT2; FLJ14627) NP_001103373.1; NM_001109903.1; 문헌[Clark, H.F. et al (2003) Genome Res. 13 (10):2265-2270; Scherer, S.E. et al (2006) Nature 440 (7082):346-351];
- [0623] (51) GPR172A(G 단백질 결합 수용체 172A; GPCR41; FLJ11856; D15Erttd747e) NP_078807.1; NM_024531.3; 문헌[Ericsson, T.A. et al (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100 (11):6759-6764; Takeda, S. et al (2002)

FEBS Lett. 520 (1-3):97-101].

- [0624] 일 실시형태에서, 항체는 다음의 폴리펩타이드 중 하나 이상에 결합한다: BMPR1B; E16; STEAP1; 0772P; MPF; Napi3b; Sema 5b; PSCA hlg; ETBR; MSG783; STEAP2; TrpM4; CRIPTO; CD21; CD79b; FcRH2; HER2; NCA; MDP; IL20Ra; 브레비칸; EphB2R; ASLG659; PSCA; GEDA; BAFF-R; CD22; CD79a; CXCR5; HLA-DOB; P2X5; CD72; LY64; FcRH1; IRTA2; TENB2; PMEL17; TMEFF1; GDNF-Ra1; Ly6E; TMEM46; Ly6G6D; LGR5; RET; LY6K; GPR19; GPR54; ASPHD1; 타이로시나제; TMEM118; GPR172A; 및 CD33.
- [0625] 일 실시형태에서, 항체는 BMPR1B에 결합한다;
- [0626] 일 실시형태에서, 항체는 E16에 결합한다;
- [0627] 일 실시형태에서, 항체는 STEAP1에 결합한다;
- [0628] 일 실시형태에서, 항체는 0772P에 결합한다;
- [0629] 일 실시형태에서, 항체는 MPF에 결합한다;
- [0630] 일 실시형태에서, 항체는 Napi3b에 결합한다;
- [0631] 일 실시형태에서, 항체는 Sema 5b에 결합한다;
- [0632] 일 실시형태에서, 항체는 PSCA hlg에 결합한다;
- [0633] 일 실시형태에서, 항체는 ETBR에 결합한다;
- [0634] 일 실시형태에서, 항체는 MSG783에 결합한다;
- [0635] 일 실시형태에서, 항체는 STEAP2에 결합한다;
- [0636] 일 실시형태에서, 항체는 TrpM4에 결합한다;
- [0637] 일 실시형태에서, 항체는 CRIPTO에 결합한다;
- [0638] 일 실시형태에서, 항체는 CD21에 결합한다;
- [0639] 일 실시형태에서, 항체는 CD79b에 결합한다;
- [0640] 일 실시형태에서, 항체는 FcRH2에 결합한다;
- [0641] 일 실시형태에서, 항체는 HER2에 결합한다;
- [0642] 일 실시형태에서, 항체는 NCA에 결합한다;
- [0643] 일 실시형태에서, 항체는 MDP에 결합한다;
- [0644] 일 실시형태에서, 항체는 IL20R α에 결합한다;
- [0645] 일 실시형태에서, 항체는 브레비칸에 결합한다;
- [0646] 일 실시형태에서, 항체는 EphB2R에 결합한다;
- [0647] 일 실시형태에서, 항체는 ASLG659에 결합한다;
- [0648] 일 실시형태에서, 항체는 PSCA에 결합한다;
- [0649] 일 실시형태에서, 항체는 GEDA에 결합한다;
- [0650] 일 실시형태에서, 항체는 BAFF-R에 결합한다;
- [0651] 일 실시형태에서, 항체는 CD22에 결합한다;
- [0652] 일 실시형태에서, 항체는 CD79a에 결합한다;
- [0653] 일 실시형태에서, 항체는 CXCR5에 결합한다;
- [0654] 일 실시형태에서, 항체는 HLA-DOB에 결합한다;
- [0655] 일 실시형태에서, 항체는 P2X5에 결합한다;

- [0656] 일 실시형태에서, 항체는 CD72에 결합한다;
- [0657] 일 실시형태에서, 항체는 LY64에 결합한다;
- [0658] 일 실시형태에서, 항체는 FcRH1에 결합한다;
- [0659] 일 실시형태에서, 항체는 IRTA2에 결합한다;
- [0660] 일 실시형태에서, 항체는 TENB2에 결합한다;
- [0661] 일 실시형태에서, 항체는 PMEL17에 결합한다;
- [0662] 일 실시형태에서, 항체는 TMEFF1에 결합한다;
- [0663] 일 실시형태에서, 항체는 GDNF-Ra1에 결합한다;
- [0664] 일 실시형태에서, 항체는 Ly6E에 결합한다;
- [0665] 일 실시형태에서, 항체는 TMEM46에 결합한다;
- [0666] 일 실시형태에서, 항체는 Ly6G6D에 결합한다;
- [0667] 일 실시형태에서, 항체는 LGR5에 결합한다;
- [0668] 일 실시형태에서, 항체는 RET에 결합한다;
- [0669] 일 실시형태에서, 항체는 LY6K에 결합한다;
- [0670] 일 실시형태에서, 항체는 GPR19에 결합한다;
- [0671] 일 실시형태에서, 항체는 GPR54에 결합한다;
- [0672] 일 실시형태에서, 항체는 ASPHD1에 결합한다;
- [0673] 일 실시형태에서, 항체는 타이로시나제에 결합한다;
- [0674] 일 실시형태에서, 항체는 TMEM118에 결합한다;
- [0675] 일 실시형태에서, 항체는 GPR172A에 결합한다;
- [0676] 일 실시형태에서, 항체는 CD33에 결합한다.
- [0677] 또 항체는 또한 알부민-결합 펩타이드(ABP) 서열을 포함하는 융합 단백질일 수 있다(Dennis et al. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" J Biol Chem. 277:35035-35043; WO 01/45746). 본 발명의 항체는: (i) Dennis et al (2002) J Biol Chem. 277:35035-35043, 표 III 및 IV, 페이지 35038; (ii) 미국 특허 제20040001827호 [0076]; 및 (iii) WO 01/45746 페이지 12-13(이들 모두는 본 명세서에 참고로 포함됨)에 의해 교시된 ABP 서열을 지니는 융합 단백질을 포함한다.
- [0678] 항체는, 예를 들어 미국 특허 제4816567호에 기재되고 당업계에 공지된 바와 같은 제조법 방법 및 조성물을 이용하여 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체는 진핵 숙주 세포(예를 들어, 포유류 숙주 세포)에서 생성된다. 일부 실시형태에서, 항체는 원핵 숙주 세포(예를 들어, 이콜라이(E. coli)에서 생성된다. 특정 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 본 명세서에 제공된 항체의 Fc 영역에 도입되고, 이에 의해 Fc 영역 변이체를 생성할 수 있다. Fc 영역 변이체는 하나 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열(예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.
- [0679] 특정 실시형태에서, 본 발명은 일부이지만, 모두는 아닌 효과기 기능을 갖는 항체 변이체를 상정하는데, 이는 특정 효과기 기능(예컨대 상보체 및 ADCC)이 불필요하거나 또는 유해한 적용에 대해 바람직한 후보로 만들며, 이때 생체내 항체의 반감기는 중요하다. 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 분석은 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들어, Fc 수용체(FcR) 결합 분석은 해당 항체가 FcγR 결합을 결여하지만(따라서 ADCC 활성을 결여할 가능성이 있음), FcRn 결합 능력을 보유한다는 것을 보장하기 위해 수행될 수 있다.
- [0680] **ADC의 약물 부하**
- [0681] 약물 부하는 항체 당 약물 모이어티의 평균수이다. 약물 부하는 항체(Ab) 당 1 내지 8의 범위에 있을 수

있으며, 즉 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 및 8개의 약물 모이어티는 항체에 공유 부착된다. ADC의 조성물은 1 내지 8의 약물 범위로 컨쥬게이팅된 항체의 수집물을 포함한다. 컨쥬게이션 반응으로부터 ADC의 제제에서 항체 당 약물의 평균수는 질량 분석법, ELISA 분석, 전기영동 및 HPLC와 같은 통상적인 수단에 의해 특성규명될 수 있다. p에 대한 ADC의 정량적 분포가 또한 결정될 수 있다. ELISA에 의해, ADC의 특정 제제에서 p의 평균값이 결정될 수 있다(Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852). 그러나, p(약물)값의 분포는 ELISA의 항체-항원 결합 및 검출 제한에 의해 인식될 수 없다. 또한, 항체-약물 컨쥬게이트의 검출을 위한 ELISA 분석은 약물 모이어티가 항체, 예컨대 중쇄 또는 경쇄 단편 또는 특정 아미노산 잔기에 부착되는 경우에 결정하지 않는다. 일부 예에서, 동종의 ADC의 분리, 정제 및 특성규명(p는 다른 약물 부하에 의한 ADC로부터의 특정 값임)은 역상 HPLC 또는 전기영동과 같은 수단에 의해 달성될 수 있다. 일부 항체-약물 컨쥬게이트에 대해, p는 항체 상의 부착 부위의 수에 의해 제한될 수 있다. 예를 들어, 항체는 단지 하나 또는 몇몇 시스테인 티올기를 가질 수 있거나, 링커를 통해 부착될 수 있는 단지 하나 또는 몇몇의 충분히 반응성인 티올기를 가질 수 있다. 더 높은 약물 부하(예를 들어, $p > 5$)는 특정 항체-약물 컨쥬게이트의 응집, 불용해성, 독성, 또는 세포 투과의 손실을 야기할 수 있다.

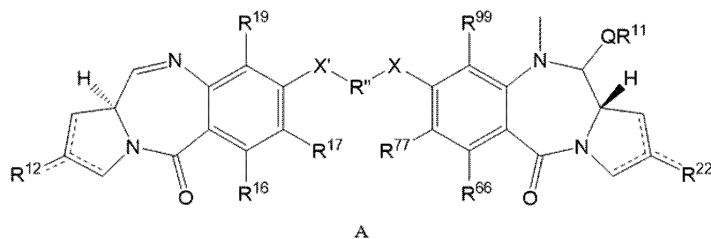
[0682] 전형적으로, 약물 모이어티의 이론적 최대값보다 더 적은 수가 컨쥬게이션 반응 동안 항체에 컨쥬게이션된다. 항체는, 예를 들어 링커-약물 중간체(X-L-D) 또는 링커 시약과 반응하지 않는 다수의 라이신 잔기를 함유할 수 있다. 대부분의 반응성 라이신기만이 아민-반응성 링커 시약과 반응할 수 있다. 또한 대부분의 반응성 시스테인 티올기만이 티올-반응성 링커 시약 또는 링커-약물 중간체와 반응할 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 다수의, 만약에 있다면, 유리 및 반응성 시스테인 티올기를 함유하지 않는다. 화합물의 항체에서 대부분의 시스테인 티올 잔기는 이황화 브릿지로서 존재하며, 부분적 또는 전체 환원 조건 하에 환원제, 예컨대 다이티오프레이트(DTT) 또는 TCEP를 이용하여 환원되어야 한다. ADC의 부하(약물/항체비, "DAR")는 (i) 항체에 대한 몰 과량의 링커-약물 중간체 또는 링커 시약, (ii) 컨쥬게이션 반응 시간 또는 온도를 제한, 및 (iii) 시스테인 티올 변형을 위한 부분적 또는 제한적 환원 조건을 포함하는 몇몇 상이한 방식으로 제어될 수 있다.

[0683] 항체의 하나 이상의 친핵성 또는 친전자성기가 링커-약물 중간체, 또는 링커 시약 다음에 이량체 약물 모이어티 시약과 반응하는 경우에, 이어서, 얻어진 생성물은 항체에 부착된 약물 모이어티의 분포(예를 들어, 1, 2, 3 등)가 있는 항체-약물 컨쥬게이트의 혼합물이다. 액체 크로마토그래피 방법, 예컨대 중합체 역상(PLRP) 및 소수성 상호작용(HIC)은 약물 부하값에 의해 혼합물에서 화합물을 분리시킬 수 있다. 단일 부하값(p)를 지니는 ADC의 제제는 분리될 수 있지만, 그러나 이들 단일 부하값 ADC는 여전히 이질적 혼합물일 수 있는데, 약물 모이어티가 항체 상의 상이한 부위에서 링커를 통해 부착될 수 있기 때문이다. 따라서, 항체가 하나 이상의 약물 모이어티를 가지는 경우 그리고 약물 모이어티가 다양한 아미노산 잔기에서 항체에 부착될 수 있는 경우 본 발명의 항체-약물 컨쥬게이트 조성물은 항체-약물 컨쥬게이트 화합물의 혼합물을 포함한다.

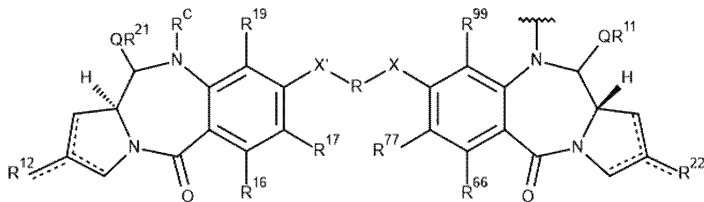
[0684] 따라서, 본 발명은 또한 각각의 컨쥬게이트가 p를 제외하고 동일한 식을 갖는 경우 컨쥬게이트의 수집물을 포함한다.

[0685] **예시적인 약물 모이어티**

[0686] ADC의 비제한적인 예시적 PBD 이량체 구성성분은 화학식 A 또는 B 및 이들의 염 및 용매화물을 가진다:



A



B

[0687]

[0688] 식 중,

[0689] 물결선은 링커에 대한 공유적 부착 부위를 나타내고;

[0690] 점선은 C1과 C2 또는 C2와 C3 사이의 이중 결합의 선택적 존재를 나타내며;

[0691] R^{22} 는 H, OH, =O, =CH₂, CN, R^m, O R^m, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂- R^m, CO₂ R^m 및 CO R^m로부터 독립적으로 선택되고, 선택적으로 할로 또는 다이할로로부터 추가로 선택되되, R^D는 R^m, CO₂ R^m, CO R^m, CHO, CO₂H, 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

[0692] R⁶⁶ 및 R⁹⁹는 H, R^m, OH, O R^m, SH, S R^m, NH₂, NH R^m, N R^m R^P, NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되며;

[0693] R⁷⁷은 H, R^m, OH, O R^m, SH, S R^m, NH₂, NH R^m, N R^m R^P, NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

[0694] Q는 O, S 및 NH로부터 독립적으로 선택되며;

[0695] R¹¹은 H, 또는 R^m 또는, Q가 O인 경우, SO₃M이고, 여기서 M은 금속 양이온이며;

[0696] R^m 및 R^P는 선택적으로 치환된 C₁-C₈ 알킬, C₂-C₈ 알켄일, C₂-C₈ 알킨일, C₃-C₈ 사이클로알킬, C₃₋₈ 헤테로사이클릴, C₅-C₂₀ 아릴 및 C₅-C₂₀ 헤테로아릴기로부터 각각 독립적으로 선택되고, 선택적으로 N R^m R^P, R^m 및 R^P 기와 관련하여, 그들이 부착된 질소 원자와 함께 선택적으로 치환된 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로환식 고리를 형성하고;

[0697] R¹², R¹⁶, R¹⁹, R²¹ 및 R¹⁷은 R²², R⁶⁶, R⁹⁹, R¹¹ 및 R⁷⁷에 대해 각각 정의한 바와 같으며;

[0698] Rⁿ은 C₃-C₁₂ 알킬렌기이고, 이의쇄는 하나 이상의 헤테로원자, 예를 들어, O, S, N(H), NMe 및/또는 방향족 고리, 예를 들어, 벤젠 또는 피리딘에 의해 중단될 수 있으며, 이의 고리는 선택적으로 치환되고;

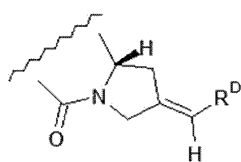
[0699] X 및 X'은 O, S 및 N(H)로부터 독립적으로 선택되며;

[0700] R^C는 캡핑기이다.

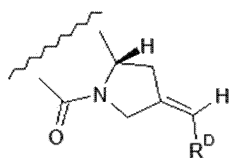
[0701] 일부 실시형태에서, R⁹⁹ 및 R¹⁹는 H이다.

[0702] 일부 실시형태에서, R⁶⁶ 및 R¹⁶은 H이다.

- [0703] 일부 실시형태에서, R^{77} 및 R^{17} 은 둘 다 OR^{7A} 이며, 여기서 R^{7A} 는 선택적으로 치환된 C_1 - C_4 알킬이다. 일부 실시형태에서, R^{7A} 는 Me이다. 다른 실시형태에서, R^{7A} 는 CH_2Ph 이다.
- [0704] 일부 실시형태에서, X는 O이다.
- [0705] 일부 실시형태에서, R^{11} 은 H이다. 다른 실시형태에서, R^{11} 은 SO_3M 이며, 여기서 M은 금속 양이온이다. 양이온은 Na^+ 일 수 있다.
- [0706] 일부 실시형태에서, C1와 C2 사이, 그리고 C2와 C3 사이에 존재하는 이중 결합은 없다.
- [0707] 일부 실시형태에서, 각각의 단량체 단위에서 C2와 C3 사이에 이중 결합이 있다.
- [0708] 일부 실시형태에서, R^{12} 및/또는 R^{22} 가 C_{5-20} 아릴 또는 C_{1-8} 알킬일 때 이중 결합은 C2와 C3 사이에 존재한다.
- [0709] 일부 실시형태에서, 각각의 단량체 단위에서 C1과 C2 사이에 이중 결합이 있다.
- [0710] 일부 실시형태에서, R^{12} 및/또는 R^{22} 가 C_{5-20} 아릴 또는 C_{1-8} 알킬일 때, 이중 결합은 C1과 C2 사이에 존재한다.
- [0711] 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 H, =O, $=CH_2$, R^m , $=CH-R^D$ 및 $=C(R^D)_2$ 로부터 독립적으로 선택된다.
- [0712] 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 H 및 R^m 으로부터 독립적으로 선택된다.
- [0713] 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 H이다.
- [0714] 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 독립적으로 R^m 이다. 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 독립적으로 선택적으로 치환된 C_5 - C_{20} 아릴이다. 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 독립적으로 선택적으로 치환된 C_{5-7} 아릴이다. 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 독립적으로 선택적으로 치환된 C_{8-10} 아릴이다. 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 독립적으로 선택적으로 치환된 페닐이다.
- [0715] 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 독립적으로 1 내지 3개의 치환체기를 보유하며, 1 및 2개가 더 바람직하고, 하나씩 치환된기가 가장 바람직하다. 치환체는 임의의 위치일 수 있다.
- [0716] R^{22} 및/또는 R^{12} 가 C_{5-7} 아릴기인 경우, 단일 치환체는 바람직하게는 화합물의 나머지에 결합에 인접하지 않은 고리 원자 상에 있고, 즉, 바람직하게는 화합물의 나머지에 대한 결합에 대해 β 또는 γ 이다. 따라서, C_{5-7} 아릴기가 페닐인 경우, 치환체는 바람직하게는 메타- 또는 파라- 위치에 있고, 더 바람직하게는 파라-위치에 있다.
- [0717] R^{22} 및/또는 R^{12} 가 선택적으로 치환된 C_5 - C_{20} 아릴인 경우, 치환체는 할로, 하이드록실, 에터, 폼일, 아실, 카복시, 에스터, 아실옥시, 아미노, 아미도, 아실아미도, 아미노카보닐옥시, 유레이도, 나이트로, 사이아노 및 티오에터로부터 선택될 수 있다.
- [0718] 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 =O, $=CH_2$, $=CH-R^D$, 및 $=C(R^D)_2$ 로부터 독립적으로 선택된다. PBD 화합물 내에서, $=CH-R^D$ 기는 이하에 나타내는 입체배지 중 하나를 가질 수 있다:



(I)



(II)

[0719]

[0720] 일부 실시형태에서, 입체배지는 입체배지 (I)이다.

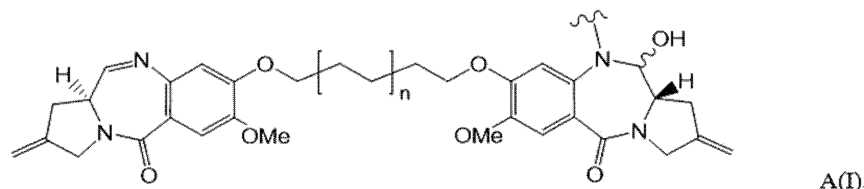
[0721] 일부 실시형태에서, R^{22} 및 R^{12} 는 $=CH_2$ 이다.

[0722] 일부 실시형태에서, R'' 은 C_3 , C_5 , C_7 , C_9 및 C_{11} 알킬렌기로부터 선택된다.

[0723] 일부 실시형태에서, R'' 은 C_3 , C_5 및 C_7 알킬렌기로부터 선택된다.

[0724] 일부 실시형태에서, R'' 은 C_3 알킬렌기 또는 C_5 알킬렌기이다.

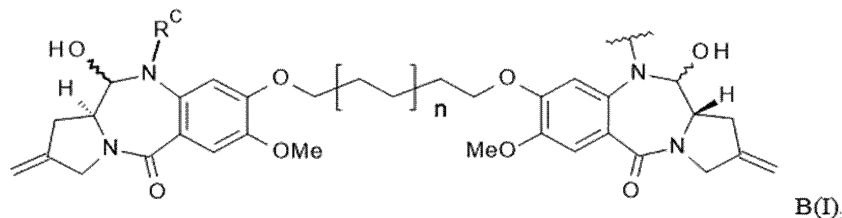
[0725] 일부 실시형태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 구성성분은 화학식 A(I)의 구조를 가진다:



[0726]

[0727] 식 중, n 은 0 또는 1이다.

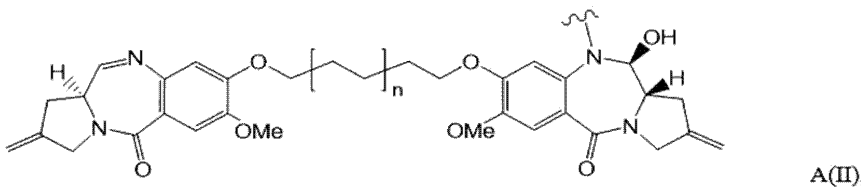
[0728] 일부 실시형태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 구성성분은 화학식 B(I)의 구조를 가진다:



[0729]

[0730] 식 중, n 은 0 또는 1이다.

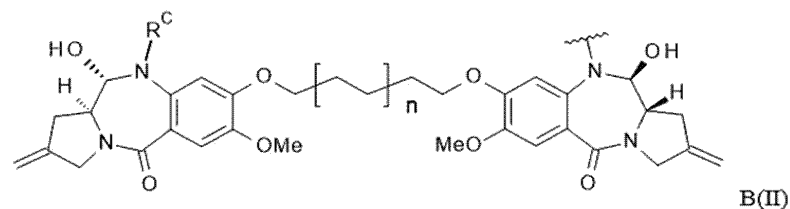
[0731] 일부 실시형태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 구성성분은 화학식 A(II)의 구조를 가진다:



[0732]

[0733] 식 중, n 은 0 또는 1이다.

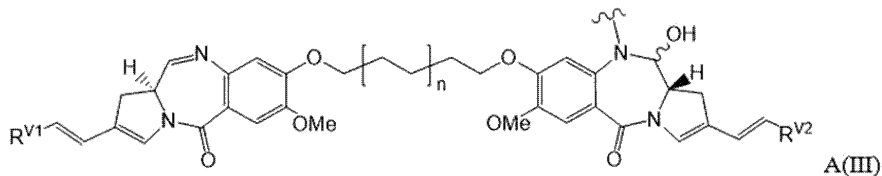
[0734] 일부 실시형태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 구성성분은 화학식 B(II)의 구조를 가진다:



[0735]

[0736] 식 중, n 은 0 또는 1이다.

[0737] ADC의 추가적인 비제한적인 예시적 PBD 이량체 구성성분은 화학식 A(III)를 가진다:



[0738]

[0739] 식 중,

[0740] 물결선은 링커에 대한 공유적 부착 부위를 나타내고;

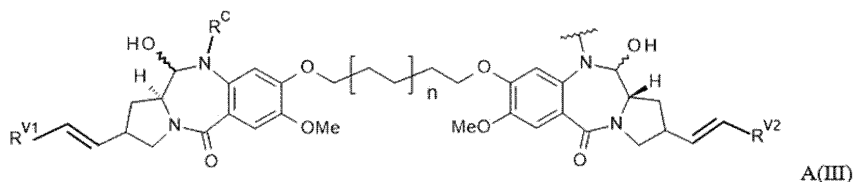
[0741] OH에 연결된 물결선은 S 또는 R 입체배치를 나타내며;

[0742] R^{V1} 및 R^{V2} 는 H, 메틸, 에틸 및 페닐(페닐은 특히 4번 위치에서 플루오로로 선택적으로 치환될 수 있음) 및 C_{5-6} 헤테로사이클로알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0743] n은 0 또는 1이다.

[0744] 일부 실시형태에서, R^{V1} 및 R^{V2} 는 H, 페닐 및 4-플루오로페닐로부터 독립적으로 선택된다.

[0745] ADC의 추가적인 비제한적인 예시적 PBD 이량체 구성성분은 화학식 B(III)를 가진다:



[0746]

[0747] 식 중,

[0748] 물결선은 링커에 대한 공유적 부착 부위를 나타내고;

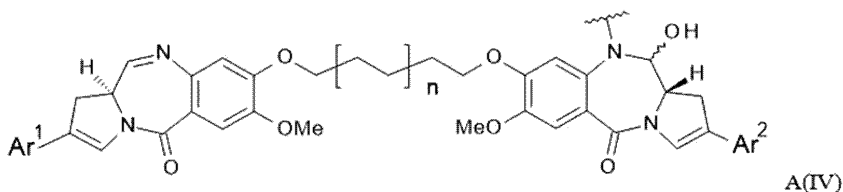
[0749] OH에 연결된 물결선은 S 또는 R 입체배치를 나타내며;

[0750] R^{V1} 및 R^{V2} 는 H, 메틸, 에틸 및 페닐(페닐은 특히 4번 위치에서 플루오로로 선택적으로 치환될 수 있음) 및 C_{5-6} 헤테로사이클로알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0751] n은 0 또는 1이다.

[0752] 일부 실시형태에서, R^{V1} 및 R^{V2} 는 H, 페닐 및 4-플루오로페닐로부터 독립적으로 선택된다.

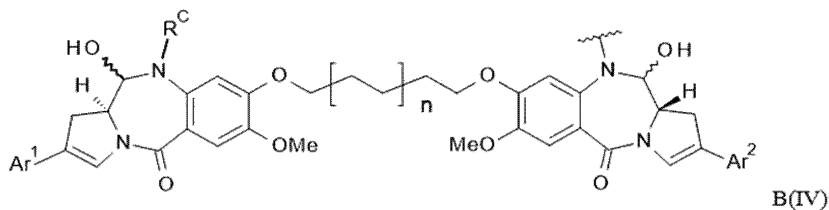
[0753] 일부 실시형태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 구성성분은 하기 화학식 A(IV)의 구조를 가진다:



[0754]

[0755] 식 중, Ar^1 및 Ar^2 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된 C_{5-20} 아릴 또는 C_{5-20} 헤테로아릴이고, n은 0 또는 1이다. Ar^1 와 Ar^2 는 동일 또는 상이할 수 있다.

[0756] 일부 실시형태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 구성성분은 화학식 B(IV)의 구조를 가진다:



[0757]

[0758] 식 중, Ar¹ 및 Ar²는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된 C₅₋₂₀ 아릴 또는 C₅₋₂₀ 헤테로아릴이고, n은 0 또는 1이다. Ar¹과 Ar²는 동일 또는 상이할 수 있다.

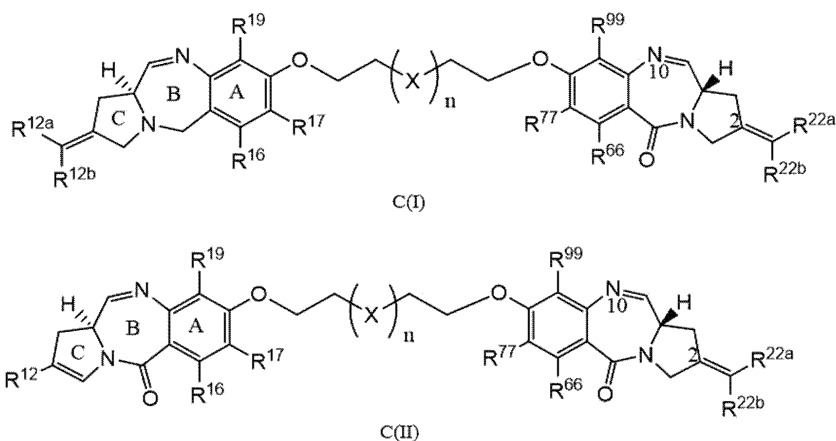
[0759] 일 실시형태에서, 상기 각각의 실시형태에서 Ar¹ 및 Ar²는 선택적으로 치환된 페닐, 플란일, 티오펜일 및 피리딜로부터 각각 독립적으로 선택된다.

[0760] 일 실시형태에서, 상기 각각의 실시형태에서 Ar¹ 및 Ar²는 선택적으로 치환된 페닐이다.

[0761] 일 실시형태에서, 상기 각각의 실시형태에서 Ar¹ 및 Ar²는 선택적으로 치환된 티엔-2-일 또는 티엔-3-일이다.

[0762] 일부 실시형태에서, 링커는 B 고리의 N10 이민, C 고리의 C-2 엔도/엑소 위치, 또는 A 고리를 연결하는 연결 단위를 포함하는, PBD 이량체 약물 모이어티의 다양한 부위 중 하나에 부착될 수 있다(이하의 구조 C(I) 및 C(II) 참조).

[0763] ADC의 비제한적인 예시적 PBD 이량체 구성성분은 화학식 C(I) 및 C(II)를 포함한다:



[0764]

[0765] 화학식 C(I) 및 C(II)는 그들의 N10 내지 C11 이민 형태로 나타낸다. 예시적인 PBD 약물 모이어티는 또한 카빈올아민 및 보호된 카빈올아민 형태뿐만 아니라 이하의 표에 나타내는 것을 포함한다:

 이민	 카빈올 아민	 보호된 카빈올 아민
---------------	-------------------	-----------------------

[0766]

[0767] 식 중:

[0768] X는 CH₂ (n = 1 내지 5), N 또는 O이고;

[0769] R⁷⁷ 및 R¹⁷은 OR^m 및 NR^{22b}로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 R^m은 1 내지 5개의 탄소 원자를 함유하는 1차, 2차 또는 3차 알킬체이고;

[0770] R^{22a} , R^{12a} , R^{22b} 및 R^{12b} 는 H, C_1-C_8 알킬, C_2-C_8 알켄일, C_2-C_8 알킨일, C_5-C_{20} 아릴(치환된 아릴을 포함), C_5-C_{20} 헤테로아릴기, $-NH_2$, $-NHMe$, $-OH$ 및 $-SH$ 로부터 각각 독립적으로 선택되며, 여기서, 일부 실시형태에서, 알킬, 알켄일 및 알킨일쇄는 5개까지의 탄소 원자를 포함하고;

[0771] R^{66} 및 R^{16} 은 H, OR, NHR 및 NR^{22b} 로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 R은 1 내지 5개의 탄소 원자를 함유하는 1차, 2차 또는 3차 알킬쇄이고;

[0772] R^{99} 및 R^{19} 는 H, Me 및 OMe로부터 독립적으로 선택되며;

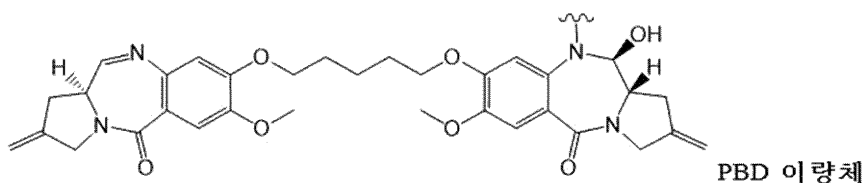
[0773] R^{11a} 는 C_1-C_8 알킬, C_2-C_8 알켄일, C_2-C_8 알킨일, C_{5-20} 아릴(할로, 나이트로, 사이아노, 알콕시, 알킬, 헤테로사이클릴에 의해 치환된 아릴을 포함) 및 C_5-C_{20} 헤테로아릴기로부터 선택되고, 일부 실시형태에서, 알킬, 알켄일 및 알킨일쇄는 5개까지의 탄소 원자를 포함하며;

[0774] R^{11} 은 H, C_1-C_8 알킬, 또는 보호기(예컨대 아세틸, 트라이플루오로아세틸, t-부톡시카보닐(BOC), 벤질옥시카보닐(CBZ), 9-플루오렌일메틸렌옥시카보닐(Fmoc), 또는 자기 희생 단위, 예컨대 발린-시트룰린-PAB를 포함하는 모이어티)이고;

[0775] R^{11a} 는 H, C_1-C_8 알킬, 또는 보호기이며;

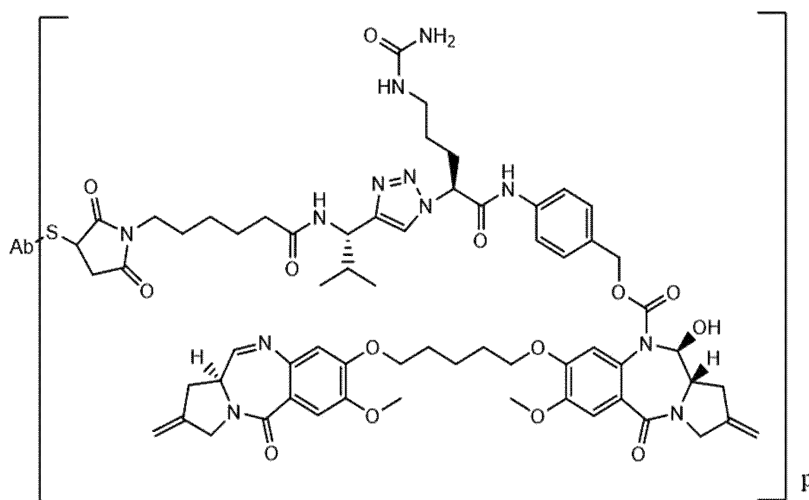
[0776] R_1 , R^{22a} , R^{12a} , R^{22b} , R^{12b} 또는 R^{11a} 중 하나의 수소 또는 A 고리 사이의 $-OCH_2CH_2(X)_nCH_2CH_2O-$ 스페이서의 수소는 ADC의 링커에 연결된 결합으로 대체된다.

[0777] ADC의 예시적인 PDB 이량체 부분은 하기를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다(물결선은 링커에 대한 공유 부착 부위를 나타냄):



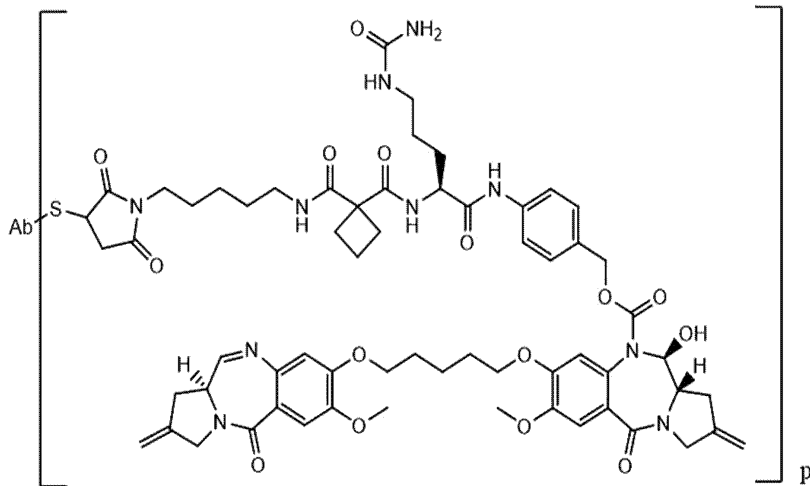
[0778]

[0779] PDB 이량체 및 펩타이드 모방체 링커를 포함하는 ADC의 비제한적인 예시적 실시형태는 다음의 구조를 포함한다:



[0780]

[0781] PBD 이량체-PML-PAB-Ab;



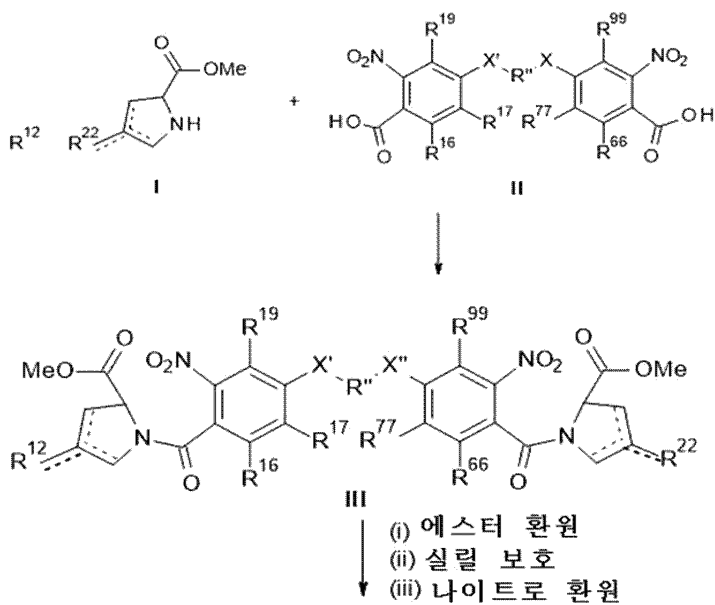
[0782]

[0783] PBD 이량체-PML-PAB-Ab;

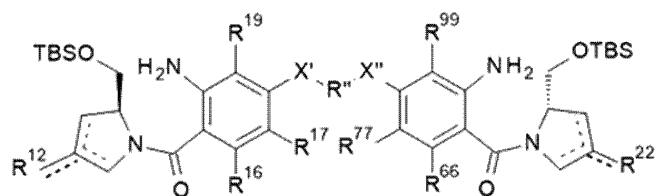
[0784] PBD 이량체 및 PBD 이량체를 포함하는 ADC는 당업계에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, WO 2009/016516; 미국 특허 제2009/304710호; 미국 특허 제2010/047257호; 미국 특허 제2009/036431호; 미국 특허 제2011/0256157호; WO 2011/130598; WO 2013/055987 참조.

[0785] 합성

[0786] 화학식 VIII의 이량체 중간체에 대한 하나의 가능한 합성 경로를 이하에 나타낸다:

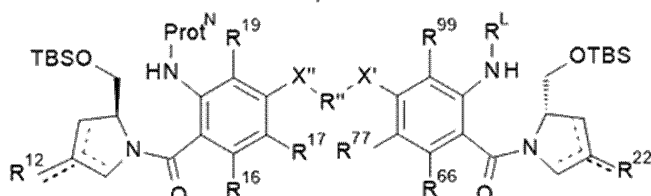


[0787]



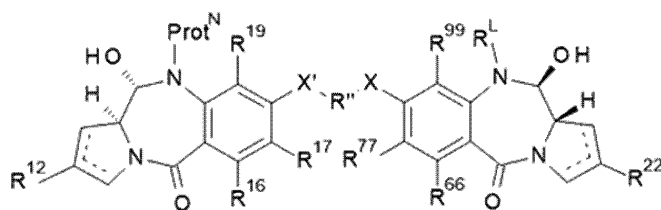
IV

(i) N10 보호
(ii) 아이소사이아네이트-매개 링커 첨가



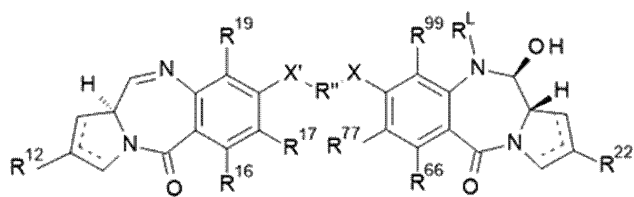
VI

(i) 실릴 탈보호
(ii) 고리화



VII

(i) N10 탈보호



VIII

[0788]

[0789]

상기 반응식에서, R^L 은 항체에 연결된 기, 즉, L/Str-PM-Sp-, 또는 해당 기의 전구체를 나타낸다. 일부 합성 방법에서, 첨가된 처음의 기는 보호 PM-Sp- 일 수 있고 Str 기는 탈보호 후에 첨가된다.

[0790]

비결합 PBD 단위가 N10 위치에서 R^C 를 갖는 화합물은 상기 접근의 변형에 의해 이루어질 수 있으며, 여기서 $Prot^N$ 은 R^C (또는 전구체, 후속적 형질전환에 의함)에 의해 대체된다.

[0791]

일반적으로, 비대칭 이량체는, 그들의 N10 내지 C11 결합에 대해, 분자의 대칭을 파괴시키기 위해 화학식 IV의 비스-아미노 화합물을 클로로포메이트 시약 1당량으로 처리함으로써 제조될 수 있다. 이어서, 남아있는 유리 아민은 연결기 전구체(R^L)를 독립적으로 도입하기 위해 작용기화될 수 있다. PBD B-고리에 가깝게 추가 작용기의 조작은 보호기를 제거하여 표적 분자를 얻는다.

[0792]

화학식 IV의 화합물은 전형적으로 화학식 II의 A고리 함유 이량체에 적합하기 작용기화된 C-고리 단편(I)을 결합시킴으로써 제조된다. C-고리 단편은 공지된 카바메이트 보호 메틸 4-옥소프롤리네이트 빌딩 블록으로부터 제조될 수 있다. 윌링(Wittig) 또는 호너-에몬스(Horner-Emmons) 조건 하에서 올레핀화는 엔도- 또는 엑소-불포화

알켄을 제공하기 위해 사용될 수 있다. C-고리 및 A-고리 단편은 A-고리 단편의 산 염화물 유도체를 이용하여 트라이에틸아민의 존재에서 표준 조건 하에 결합되어 화학식 III의 분자를 제공할 수 있다. 대칭은 또한 상이한 C-고리를 도입함으로써 이 단계에서 파괴될 수 있다. 유형 III의 화합물은 엔도 또는 엑소 C-고리 불포화에 영향을 미치는 일 없이 아세트산 또는 폼산 중의 아연을 이용하여 환원시켜 화학식 IV를 얻을 수 있다.

[0793] 대안적으로, 적합한 4-하이드록시 피롤리딘 빌딩 블록은 화학식 II의 이량체 코어에 결합될 수 있다. 하이드록실기는 케톤으로 산화될 수 있고, 이어서, 엔올 트라이플레이트로 전환된다. 스즈키 결합을 이용하여 프로 C2 치환체(예를 들어, 아릴, 알켄일 등)를 도입할 수 있다. 이어서, 나이트로기는 아민으로 환원될 수 있고, 하나의 아민은 보호되고 링커기를 보유하지 않는 다른 아민기는 이탈된다.

[0794] 유형 VI의 비대칭 카바메이트는 유형 IV의 비스-아민을 피리딘 또는 트라이에틸아민의 존재하에서 단일 당량의 상업적으로 입수가 가능한(또는 용이하게 제조되는) 클로로포메이트로 처리함으로써 제조될 수 있다. 프로-링커기(R^L)에서 사용된 것과 수직인 적절한 카바메이트계 질소 보호기(Prot^N)를 얻기 위해 클로로포메이트가 선택될 수 있다. R^L 카바메이트는 남아있는 아미노기를 아이소시아나이트로 전환시킴으로써 그리고 그것을 R^L 알코올로 퀴청시킴으로써 도입될 수 있다. 대안적으로 R^L 알코올은 클로로포메이트 또는 작용기 동등물(플루오로포메이트, *p*-나이트로카보네이트, 펜타플루오로카보네이트 또는 하이드록시벤조트라이아졸 카보네이트)로 전환될 수 있다. 최종적으로, 남아있는 아미노기는 반응성 *p*-나이트로카바메이트, 펜타플루오로카바메이트 또는 하이드록시벤조트라이아졸 카바메이트로 전환될 수 있는데, 이는 R^L 알코올로 대체되어 화학식 VI의 분자를 얻을 수 있다.

[0795] 화학식 VII의 분자는, 예를 들어 수성 아세트산을 이용하여 실릴 보호기를 제거함으로써 화학식 VI의 분자로부터 제조될 수 있다. 데스-마틴(Dess-Martin) 페리오디난(또는 대안적으로 TPAP/NMO, PDC 또는 스웬(Swern) 조건 하에서)을 이용하는 산화로 고리가 닫힌 생성물을 얻는다.

[0796] 화학식 V의 컨주게이트는 카바메이트계 질소 보호기의 제거에 의해 화학식 VII의 분자로부터 제거될 수 있다.

[0797] 화합물 II

[0798] 화학식 II의 화합물의 합성은 WO 2006/111759에 기재되어 있으며, 그렉슨(Gregson) 등(*J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1161-1174)에 의해 기재되어 있다. 그것에 기재되어 있는 화합물(II)의 제조는 본 명세서에서 참고로 구체적으로 포함된다.

[0799] 또한 문헌[Antonow, D. and Thurston, D.E., *Chem. Rev.* **2011** 111 (4), 2815-2864]에서 검토된 것을 포함하는 PBD 이량체의 공지된 합성 방법이 언급된다.

[0800] 추가의 적절한 개시내용은 WO 2010/091150에서 찾을 수 있다. WO 2010/091150에 기재된 중간체 화합물은 또한 상기 기재된 방법으로 사용될 수 있다.

[0801] 처리 지시 및 방법

[0802] 본 발명의 항체-약물 컨주게이트(ADC)는, 예를 들어 종양 항원의 과발현을 특징으로 하는 다양한 질환 또는 장애를 치료하기 위해 사용될 수 있다는 것이 상정된다. 예시적인 병태 또는 과증식성 장애는 양성 또는 악성 고형 종양 및 혈액학적 장애, 예컨대 백혈병 및 림프성 악성종양을 포함한다. 다른 것은 뉴런, 신경교, 성상세포, 시상하부, 선상, 대식세포, 상피, 기질, 할강, 염증성, 혈관신생 및 자가면역을 포함하는 면역학적 장애를 포함한다. 특정 실시형태에서, 상기 기재한 것과 같은 항-NaPi3b 항체를 포함하는 본 발명의 ADC는 고형 종양, 예를 들어, 난소를 치료하는 방법에서 사용된다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 것과 같은 항-CD33 항체를 포함하는 본 발명의 ADC는 혈액학적 악성종양, 예컨대 비호지킨 림프종(NHL), 미만성 대형 조혈 림프종, 여포성 림프종, 맨틀 세포 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병(AML) 및 골수성 세포 백혈병(MCL)(B-세포 관련 암 및 증식성 장애를 포함)을 치료하는 방법에서 사용된다. 미국 특허 제8226945호; 문헌[Li et al (2013) *Mol. Cancer. Ther.* 12(7):1255-1265; Polson et al (2010) *Leukemia* 24:1566-1573; Polson et al (2011) *Expert Opin. Investig. Drugs* 20(1):75-85]을 참조하며, 이들의 내용은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0803] 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 것과 같은 항-MUC16 항체를 포함하는 본 발명의 ADC는 난소암, 유방암 및 췌장암을 치료하는 방법에서 사용된다. 암은 MUC16/CA125/0772P 폴리펩타이드의 발현 또는 활성과 관련된 수 있다. WO 2007/001851; 미국 특허 제798595호; 미국 특허 제8449883호; 미국 특허 제7723485호; 문헌[Chen et al (2007) *Cancer Res.* 67(10): 4924-4932; Junutula, et al., (2008) *Nature Biotech.*, 26(8):925-932]을 참

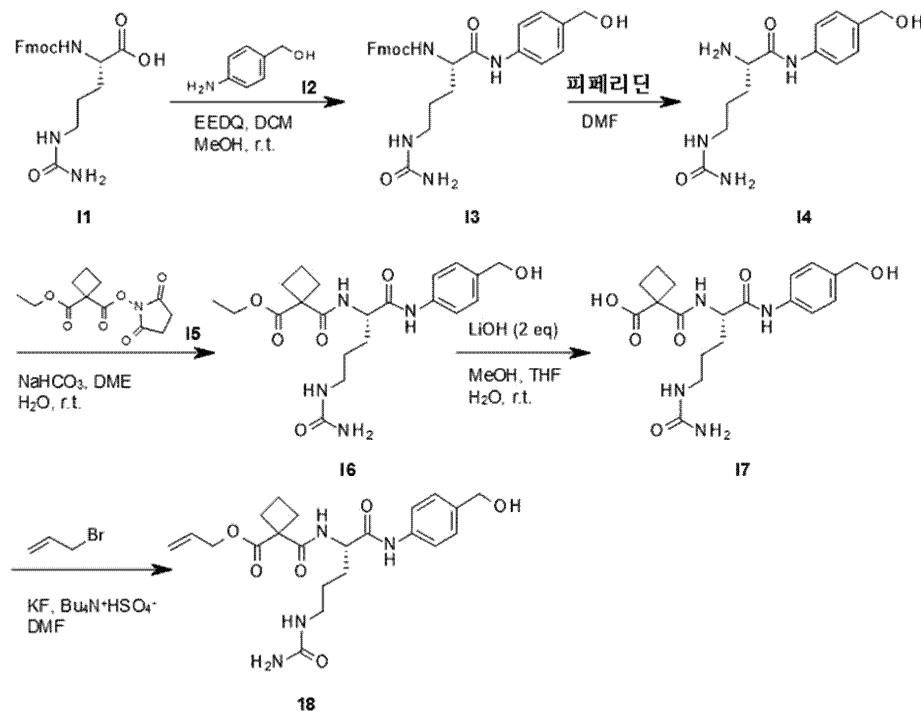
조하며, 이들의 내용은 본 명세서에 참고로 포함된다.

- [0804] 특정 실시형태에서, 상기 기재한 것과 같은 항-HER2 항체를 포함하는 본 발명의 ADC는 암, 예를 들어 유방암 또는 위암, 더 구체적으로는 HER2+ 유방암 또는 위암을 치료하는 방법에서 사용되되, 상기 방법은 이러한 치료가 필요한 환자에게 이러한 ADC를 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 이러한 실시형태에서, ADC는 항-HER2 항체 트라스투주맙 또는 페루주맙을 포함한다.
- [0805] 일반적으로, 치료될 질환 또는 장애는 과증식성 질환, 예컨대 암이다. 본 명세서에서 치료될 암의 예는 암종, 림프종, 아세포종, 육종 및 백혈병 또는 림프성 악성종양을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이러한 암의 더 구체적인 예는 편평세포 암(예를 들어, 상피 편평세포암), 소세포 폐암, 비소세포폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평상피 암종을 포함하는 폐암, 배막암, 간세포암, 위 또는 위암(위장암을 포함), 췌장암, 교아세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 직장암, 결장직장암, 자궁내막암 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장 또는 신세포암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 간암종, 항문암, 음경암뿐만 아니라 두경부암을 포함한다.
- [0806] 치료에서 항체-약물 컨쥬게이트가 사용될 수 있는 자가면역 질환은 류마티스 장애(예컨대, 류마티스 관절염, 쇼그렌 증후군, 피부경화증, 낭창, 예컨대 전신 홍반성 낭창(SLE) 및 낭창성 신염, 다발성근염/피부근육염, 한냉 글로불린혈증, 항-인지질 항체 증후군, 및 건선성 관절염), 골관절염, 자가면역 위장 및 간 장애(예컨대, 예를 들어, 염증성 장질환(예를 들어, 궤양성 대장염 및 크론병), 자가면역 위염 및 악성빈혈, 자가면역 간염, 원발성 담즙성 간경화증, 원발 경화성 담관염 및 쉐리악병), 혈관염(예컨대, 예를 들어, 처그 스트라우스(Churg-Strauss) 혈관염을 포함하는 ANCA-관련 혈관염, 베게너 육아종증, 및 다발 동맥염), 자가면역 신경학적 장애(예컨대, 예를 들어, 다발성 경화증, 안구간대경련-근간대경련 증후군, 중증 근무력증, 시신경척수염, 파킨슨병, 알츠하이머병 및 자가면역 다발신경병증), 신장 장애(예컨대, 예를 들어, 사구체신염, 구드파스트어 증후군, 및 버거씨병), 자가면역 피부과학 장애(예컨대, 예를 들어, 건선, 두드러기, 발진, 심상성 천포창, 유천포창 및 피부 홍반 낭창), 조혈 장애(예컨대, 예를 들어, 혈소판 감소성 자반병, 혈전성 혈소판 감소성 자반병, 수혈후 자반증, 및 자가면역 용혈성 빈혈), 죽상 동맥 경화증, 포도막염, 자가면역 청각 질환(예컨대, 예를 들어, 내이질환 및 청력손실), 베체트병, 레이노 증후군, 장기 이식, 및 자가면역 내분비 장애(예컨대, 예를 들어, 당뇨병 관련 자가면역 질환, 예컨대 인슐린-의존성 당뇨병(IDDM), 애디슨병, 및 자가면역 갑상선 질환(예를 들어, 그레이브스병 및 갑상선염))을 포함한다. 더 바람직한 이러한 질환은, 예를 들어, 류마티스 관절염, 궤양성 대장염, ANCA-관련 혈관염, 낭창, 다발성 경화증, 쇼그렌 증후군, 그레이브스병, IDDM, 악성빈혈, 갑상선염 및 사구체신염을 포함한다.
- [0807] 질환의 예방 또는 치료를 위해, ADC의 적절한 투약량은 상기 정의한 바와 같은 치료될 질환의 유형, 질환의 중증도 및 과정, 분자가 예방적 또는 치료적 목적을 위해 투여되는지의 여부, 이전의 치료, 환자의 임상 이력 및 항체에 대한 반응 및 담당 의사의 판단에 의존할 것이다. 분자는 동시에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적합하게 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라서, 약 1 μ g/kg 내지 15mg/kg(예를 들어, 0.1 내지 20mg/kg)의 분자는, 예를 들어 1회 이상의 별도의 투여에 의하든, 또는 연속적 주입에 의하든 환자에 대한 투여를 위한 초기 후보 투약량이다. 전형적인 1일 투약량은 상기 언급한 인자에 따라서 약 1 μ g/kg 내지 100mg/kg 이상의 범위에 있을 것이다. 환자에게 투여될 ADC의 예시적인 투약량은 환자 체중의 약 0.1 내지 약 10 mg/kg의 범위에 있다.
- [0808] **실험**
- [0809] **일반적 실험 방법**
- [0810] **분석적 HPLC 방법**
- [0811] 물(A)(품산 0.1%) 및 아세트나이트릴(B)(품산 0.1%)의 이동상을 이용하는 LC/MS(시마즈(Shimadzu) LCMS-2020). 구매: 초기 조성물 5% B는 0.25분에 걸쳐 보유하고, 이어서, 2분의 기간에 걸쳐 5% B로부터 100%로 증가된다. 조성물은 100% B에서 0.50분동안 보유하고있고, 이어서, 0.05분에 5% B로 복귀되며, 0.05분 동안 그렇게 유지되었다. 총 구매 실행 시간은 3분이다. 유속 0.8ml/분. 파장 검출 범위: 190 내지 800nm. 오븐 온도: 50°C. 칼럼: 워터스 액퀴티(Waters Acquity) UPLC BEH 셸드 RP18 1.7 μ m 2.1x50mm.
- [0812] **분취 HPLC 방법**
- [0813] 분취 작업을 위해 페노메넥스 제미니(Phenomenex Gemini) NX 5 μ C-18 150 x 21.20mm 칼럼 상에서 역상 초고성능 액체 크로마토그래피(UPLC)를 수행하였다. 구매 조건을 이용하여 모든 실험을 수행하였다: 15분에 걸쳐 초기

고정 조성물 13% B 내지 75% B를 75% B에서 2.0분 동안 유지하고, 이어서, 0.10분 내에 75% B 내지 13% B를 2.90분 동안 13%에서 유지하였다. 구배 실행의 총 지속기간은 20.00분이었다. 사용한 용리액은 용매 A(0.1% 폼산과 함께 H₂O) 및 용매 B(0.1% 폼산과 함께 CH₃CN)였다. 사용한 유속은 분취 HPLC에 대해 20.0 ml/분이었다. 254 및 280nm에서 검출하였다.

[0814] 중간체의 합성

[0815] a) 알릴 1-[[[(1S)-1-[[4-(하이드록시메틸)페닐]카바모일]-4-유레이도-뷰틸]카바모일]사이클로부탄카복실레이트 (18)



[0816]

[0817] (i) DCM과 MeOH(100ml/50ml)의 혼합물 중의 화합물 11(4.0g, 10.0mmol)의 용액에 4-아미노-페닐-메탄올 (12)(1.60g, 13mmol, 1.3 eq) 및 EEDQ(3.2g, 13mmol, 1.3 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 N₂ 하에서 교반시킨 후에, LCMS는 화합물 11이 소모되었음을 나타내었다. 혼합물을 농축시켜 갈색 고체를 제공하고, MTBE(200ml)를 첨가하고 나서, 혼합물을 15℃에서 2시간 동안 교반시켰다. 고체를 수집하고 나서 MTBE로 세척하여(50ml x 2) 13(4.2g, 84%)를 오렌지색 고체로서 제공하였다. LCMS(ESI, 5-95 /1.5분): RT = 0.807분, M+H⁺ = 503.0; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.98 (s, 1H), 7.89 (d, *J* = 7.2 Hz, 2 H), 7.73 (d, *J* = 4.8 Hz, 2 H), 7.70 - 7.65 (m, 1 H), 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H), 7.41 (d, *J* = 7.2 Hz, 2 H), 7.33 - 7.32 (m, 2 H), 7.24 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H), 5.99 (m, 1 H), 5.42 (s, 2 H), 5.11 - 5.08 (t, *J* = 5.6 Hz, 1 H), 4.36 (d, *J* = 5.6 Hz, 2 H), 4.27 (s, 2 H), 4.26 - 4.18 (m, 2 H), 3.33 - 2.94 (m, 2 H), 1.67 - 1.59 (m, 2 H), 1.47 - 1.40 (m, 2H).

[0818]

(ii) 건조 DMF(20ml) 중의 화합물 13(4.2g, 8.3mmol)의 교반 용액에 피페리딘(1.65ml, 17mmol, 2.0 eq)을 실온에서 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반시키고 나서, 고체를 침전시키기 시작하였다. 건조 DCM(50 ml)을 첨가하고 나서, 혼합물은 즉시 투명하게 되었다. 혼합물을 실온에서 다른 30분 동안 교반시키고, LCMS는 화합물 13이 소모되었음을 나타내었다. 그것을 감압 하에 농축시켜 피페리딘을 제거하고, 잔사를 EtOAc와 H₂O(50ml/20ml)로 나누었다. 수성상을 EtOAc로 세척하고 나서(50ml x 2) 농축시켜 오일로서(소량의 DMF를 함유함) 화합물 14(2.2g, 94%)를 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.95 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H), 7.23 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H), 5.96 - 5.93 (m, 1 H), 5.37 (s, 2 H), 5.15 - 5.05 (m, 1 H), 4.42 (s, 2 H), 3.25 (m, 1 H), 3.0 - 2.9 (m, 2 H), 1.65 - 1.35 (m, 4 H).

[0819]

(iii) DME(50ml) 중의 화합물 15(8.0g, 29.7mmol)의 용액에 물(30ml) 중에서 화합물 14(6.0g, 21.4mmol) 및

NaHCO_3 (7.48g, 89.0mmol)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 감압 하에 농축건조시키고, 잔사를 칼럼 크로마토그래피(DCM : MeOH = 10:1)에 의해 정제하여 백색 고체로서 조질의 화합물 **I6**(6.4g, 68.7%)을 제공하였다. LCMS(ESI, 5-95 /1.5분): RT = 0.692분, $\text{M}+\text{H}^+$ = 435.0.

[0820]

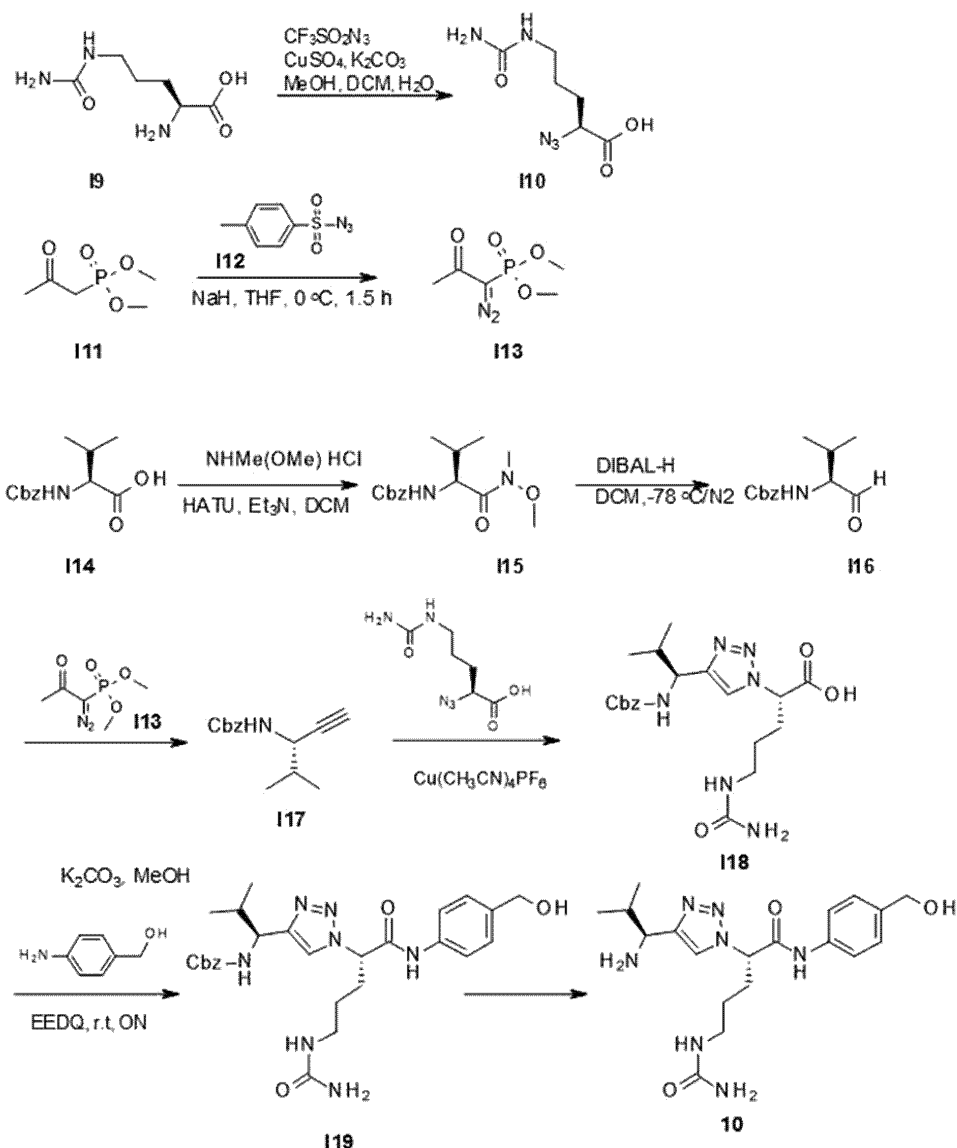
(iv) THF/MeOH(20mℓ/10mℓ) 중의 화합물 **I6** (6.4g, 14.7mmol)의 교반 용액에 실온에서 H_2O (20mℓ) 중의 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1.2g, 28.6mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시킨 후에, 용매를 감압 하에 제거하고, 잔사를 분취-HPLC에 의해 정제하여 화합물 **I7**(3.5g, 58.5%)를 제공하였다. LCMS (ESI, 5-95 /1.5 분): RT = 0.575분, $\text{M}+\text{H}^+$ = 406.9. ^1H NMR (400 MHz, 메탄올- d_4) δ 8.86 (d, J = 8.4 Hz, 2 H), 8.51 (d, J = 8.4 Hz, 2 H), 5.88-5.86 (m, 2 H), 5.78 (s, 2 H), 4.51- 4.49 (m, 3 H), 4.38 - 4.36 (m, 1 H), 3.86 - 3.84 (m, 1 H), 3.84-3.82 (m, 2 H), 3.82-3.80 (m, 1 H), 3.30-3.06 (m, 3 H), 2.96 - 2.91 (m, 1 H), 2.82-2.74 (m, 2 H).

[0821]

(v) DMF(10mℓ) 중의 화합물 **I7**(1.30g, 3.2mmol)의 혼합물에 KF (0.557g, 9.6mmol) 및 $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{HSO}_4^-$ (0.101g, 0.9mmol)를 첨가하였다. 화합물 **I8**(0.50mℓ, 과량)을 적가하였다. 혼합물을 13℃에서 2시간 동안 교반시키고, LCMS는 254 nm에서 화합물 **I8**(86%)의 형성을 나타내었다. 혼합물을 농축시키고 나서, 칼럼 크로마토그래피(DCM 중의 10% 내지 15% MeOH)에 의해 정제하여 오일로서 생성물(1.1 g)을 제공하였다. 오일을 수 중에 용해시키고 나서, 동결건조에 의해 건조시켜 분말로서 **I8**(1.0g, 70%)을 제공하였다. SFC 분석은 89.4% ee를 나타내었다. LCMS (ESI, 5-95 /1.5분): RT = 0.721분, $\text{M}+\text{H}^+$ = 447.0. ^1H NMR (400 MHz, 메탄올- d_4) δ 7.58 (d, J = 8.8 Hz, 2 H), 7.31 (d, J = 8.0 Hz, 2 H), 6.01 - 5.93 (m, 1 H), 5.35 (dd, J = 16.8 Hz, 1 H), 5.24 - 5.21 (m, J = 9.6 Hz, 1 H), 4.69 - 4.68 (d, J = 5.6 Hz, 1 H), 4.56 - 4.53 (m, 3 H), 3.25 - 3.05 (m, 2 H), 2.70 - 2.50 (m, 4 H), 2.10 - 2.00 (m, 1 H), 2.00 - 1.89 (m, 2 H), 1.76 - 1.58 (m, 1H), 1.58 - 1.49 (m, 2H).

[0822]

b)(2S)-2-[4-[(1S)-1-아미노-2-메틸-프로필]트라이아졸-1-일]-N-[4-(하이드록시메틸)페닐]-5-유레이도-펜탄아마이드(10)



[0823]

[0824]

(i) NaN_3 (20g, 285.7mmol)의 용액을 증류시킨 H_2O (75ml) 중에 용해시키고 나서, DCM (100ml)을 첨가하였다. 그것을 빙욕에서 냉각시키고 나서, Tf_2O (19.2ml, 114.28mmol)을 30분에 걸쳐 서서히 첨가한 한편, 3시간 동안 교반을 계속하였다. 혼합물을 분별 깔때기에 두고, CH_2Cl_2 상을 수집하였다. 수성 부분을 CH_2Cl_2 로 추출하였다 ($50\text{ml} \times 2$). 트라이플릴 아자이드를 함유하는 유기 분획을 폴링하고, 포화된 Na_2CO_3 (150ml)로 1번 세척하고 나서, 추가 정제 없이 사용하였다. 화합물 19 (10g, 57.14mmol)를 K_2CO_3 (11.83g, 85.7mmol) 및 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1.43g, 5.71mmol) 증류시킨 H_2O (50ml) 및 MeOH (100ml)와 합하였다. 상기 생성한 CH_2Cl_2 (120ml) 중의 트라이플릴 아자이드를 첨가하고 나서, 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 후속적으로, 유기 용매를 감압 하에 제거하고 나서, 수성 슬러리를 H_2O (100ml)로 희석시켰다. 그것을 진한 HCl 을 이용하여 pH 6으로 산성화시키고 나서, 0.2M 인산염 완충제 (150ml)를 이용하여 pH 6.2로 희석시키고, EtOAc 로 세척하여 ($100\text{ml} \times 3$) 설포아마이드 부산물을 제거하였다. 이어서, 수성상을 진한 HCl 을 이용하여 pH 2로 산성화시켰다. 그것을 EtOAc/MeOH (20:1) ($100\text{ml} \times 4$)를 이용하여 추출하였다. EtOAc/MeOH 추출물을 합하고 나서, Na_2SO_4 로 건조시키고, 증발시켜 추가 정제 없이 화합물 110 (10g, 87 %)을 제공하였다.

[0825]

(ii) 무수 THF (300ml) 중의 화합물 111의 용액 (18.00g, 108.36mmol)에 0°C 에서 NaH (5.2g, 130.03mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C 에서 1시간 동안 교반시키고, 이어서, 화합물 112 (25.64g, 130.03mmol)를 혼합물에 서서히 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C 에서 0.5시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 여과시키고 나서, 농축시키고, 실리카겔 상의 칼럼 크로마토그래피 (PE: $\text{EtOAc} = 1:1$)에 의해 정제하여 목적으로 하는 생성물 113 (20g, 96 %)을 제공하였다.

다.

[0826] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.84 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.25 (s, 3H).

[0827] (iii) 무수 DCM(150ml) 중의 화합물 **I14**(20.0g, 79.59mmol)의 혼합물에 Et_3N (24.16g, 238.77mmol) 및 HATU(45.40g, 119.39mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반시키고, 이어서, NHMe(OMe) HCl(11.65g, 119.39mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 혼합물을 DCM으로 희석시키고 나서, 포화된 수성 $\text{Na}_2\text{CO}_3(100\text{ml} \times 3)$, 포화된 시트르산($100\text{ml} \times 3$) 및 염수(100ml)로 세척하였다. 유기층을 건조시키고 나서, 농축시키고, 실리카겔 상의 칼럼 크로마토그래피(PE: EtOAc = 10:1)에 의해 정제하여 목적으로 하는 생성물 **I15**(20.0g, 85.4%)을 제공하였다. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.97 (s, 1H), 7.73 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.36-7.29 (m, 5H), 6.01 (s, 1H), 5.40 (dd, J = 5.2 Hz, 1H), 5.08-4.99 (m, 2H), 4.58 (dd, J = 2.8 Hz, 1H), 2.99-2.94 (m, 2H), 2.21-2.02 (m, 4H), 1.02-1.33 (m, 2H), 0.86-0.77 (m, 6H).

[0828] (iv) 화합물 **I15**(12g, 40.77mmol)를 무수 DCM(40ml) 중에 용해시키고 나서, 얻어진 용액을 드라이아이스/아세톤 욕을 이용하여 -78°C 로 냉각시켰다. DIBAL-H(122.3ml , 122.3mmol, 톨루엔 중의 1.0M)를 적가하고 나서, 얻어진 용액을 -78°C 에서 4시간 동안 교반시켰다. 과량의 수소화물을 MeOH(40ml)의 첨가에 의해 -78°C 에서 퀀칭시키고 나서, 얻어진 용액을 실온으로 가온시켰다. 용액을 증발시켜 추가 정제 없이 화합물 **I16**(~ 9.2g, 96%)을 제공하였다.

[0829] (v) MeOH(150ml) 중의 화합물 **I16**(조질, ~9.2g, 39.1mmol) 및 화합물 **I13**(11.27g, 58.65mmol)의 용액에 $\text{K}_2\text{CO}_3(16.2\text{g}, 117.3\text{mmol})$ 을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 혼합물을 진공에서 농축시키고 나서, 실리카겔 상의 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여(PE: EtOAc = 50:1) 목적으로 하는 생성물 **I17**(4g, 44%)을 제공하였다.

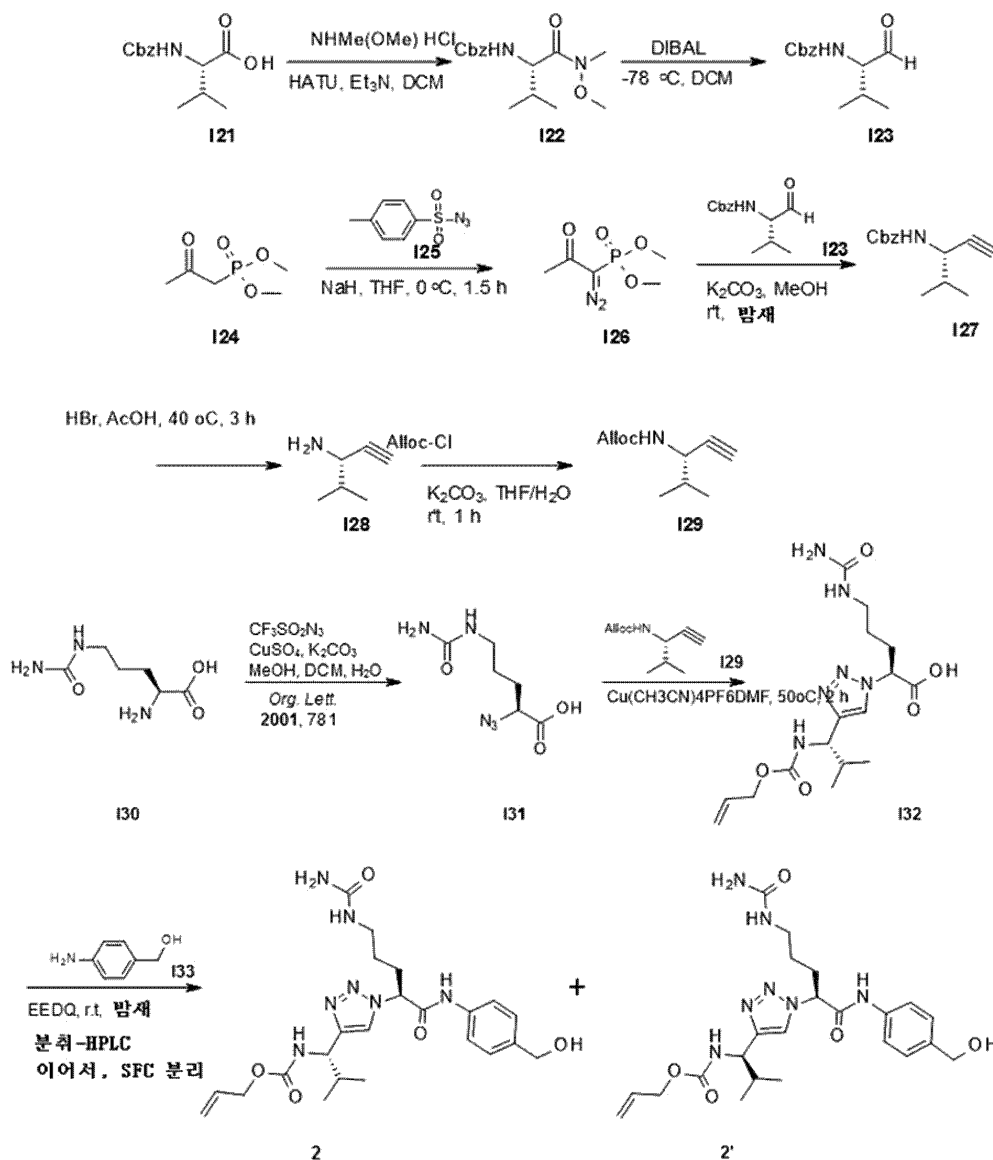
[0830] (vi) DMF(15ml) 중의 화합물 **I17**(4.0g, 17.29mmol) 및 화합물 **I10**(4.17g, 20.75mmol)의 용액에 $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6(1.29\text{g}, 3.46\text{mmol})$ 을 첨가하였다. 반응 혼합물을 60°C 에서 2시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 정제하여 화합물 **I18**(5.0g, 66.8%)을 제공하였다.

[0831] ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.97 (s, 1H), 7.73 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.36-7.29 (m, 5H), 6.01 (s, 1H), 5.40 (dd, J = 5.2 Hz, 1H), 5.08-4.99 (m, 2H), 4.58 (dd, J = 2.8 Hz, 1H), 2.99-2.94 (m, 2H), 2.21-2.02 (m, 4H), 1.02-1.33 (m, 2H), 0.86-0.77 (m, 6H).

[0832] (vii) DMF(15ml) 중의 화합물 **I18**(조질, ~3.8g, 8.79mmol)의 용액에 0°C 에서 EEDQ($4.34\text{g}, 17.58\text{mmol}$) 및 화합물 **I19**($1.62\text{g}, 13.18\text{mmol}$)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 N_2 하에 밤새 교반시켰다. 혼합물을 분취-HPLC에 의해 정제하여 화합물 **I20**(650mg, 13.7%)을 제공하였다. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.52 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.72 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 7.33-7.23 (m, 7H), 6.01 (s, 1H), 5.47-5.43 (m, 3H), 5.04-4.96 (m, 2H), 4.59-4.54 (m, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.04-2.94 (m, 3H), 2.09-1.97 (m, 4H), 1.24 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 0.82-0.74 (m, 6H).

[0833] (viii) MeOH(15ml) 중의 화합물 **I20**(650mg, 1.21mmol)의 반응물에 Pd/C(300mg)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 H_2 하에 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 여과시키고 나서, 여과액을 농축시켜 **10**(450mg, 92%)을 제공하였다. LCMS (ESI): RT = 0.611분, $\text{M}+\text{H}^+$ = 404.0. 방법 = 5-95 /1.5분. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.55 (s, 1H), 8.03 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.4, 2H), 6.05 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 5.46-5.42 (m, 3H), 5.14 (s, 1H), 4.40 (s, 2H), 3.76 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 3.00-2.93 (m, 3H), 2.09-2.04 (m, 2H), 1.90-1.87 (m, 1H), 1.25-1.21 (m, 2H), 0.82-0.77 (m, 6H).

[0834] (c) 알릴 N-[(1S)-1-[1-[(1S)-1-[[4-(하이드록시메틸)페닐]카바모일]-4-유레이도-뷰틸]트라이아졸-4-일]-2-메틸-프로필]카바메이트(2)



[0835]

[0836]

(i) 무수 DCM(150ml) 중의 화합물 **I21**(20.0g, 79.59mmol)의 혼합물에 Et_3N (24.16g, 238.77mmol) 및 **HATU**(45.40g, 119.39mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반시킨 후에, NHMe(OMe)HCl (11.65g, 119.39mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 혼합물을 DCM으로 희석시키고 나서, 포화된 수성 Na_2CO_3 (100ml $\times$ 3), 포화된 시트르산(100ml $\times$ 3) 및 염수(100ml)로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고 나서, 농축시키고, 실리카겔 상의 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여(PE: EtOAc = 2:1) 목적으로 하는 생성물 **I22**(20.0g, 85.4%)을 제공하였다.

[0837]

(ii) 화합물 **I22**(5.0g, 16.99mmol)를 무수 CH_2Cl_2 (20ml) 중에 용해시키고 나서, 얻어진 용액을 드라이아이스/아세톤욕에서 -78°C 로 냉각시켰다. **DIBAL-H**(51.0ml, 51.00mmol, 톨루엔 중의 1.0M)을 적가하고 나서 얻어진 용액을 -78°C 에서 4시간 동안 교반시켰다. 과량의 수소화물을 **MeOH**(10ml)의 첨가에 의해 -78°C 에서 퀀칭시키고 나서, 얻어진 용액을 실온으로 가온시켰다. 용액을 증발시켜 추가 정제 없이 화합물 **I23**(~ 3.2g, 80%)을 제공하였다.

[0838]

(iii) 무수 THF(200ml) 중의 화합물 **I24**(6.00g, 36.12mmol)의 용액에 0°C 에서 **NaH**(1.73g, 43.34mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C 에서 1시간 동안 교반시키고, 이어서, 화합물 **I25**(7.12g, 36.12mmol)를 서서히 첨가하였다. 얻어진 혼합물을 0°C 에서 0.5시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 여과시키고 나서, 농축시키고, 실리카겔 상의 칼럼 크로마토그래피(EtOAc)에 의해 정제하여 목적으로 하는 생성물(6.0g, 86.5%)을 제공하였다. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 3.76 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 2.22 (s, 3H).

[0839]

(iv) **MeOH**(50ml) 중의 화합물 **I23**(조질, ~3.20g, 13.60mmol) 및 화합물 **I26**(5.23g, 27.20mmol)의 용액에

K_2CO_3 (5.64g, 40.80mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 혼합물을 진공에서 농축시키고 나서, 실리카겔 상의 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여(PE: EtOAc = 5:1) 목적으로 하는 생성물 **I27**(2.00g, 63.6%)을 제공하였다. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.77 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.39 - 7.30 (m, 5H), 5.04 (s, 2H), 4.12 - 4.07 (m, 1H), 3.19 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 1.83 - 1.74 (m, 1H), 0.94 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.90 (d, J = 6.8 Hz, 3H).

[0840] (v) HOAc(20ml) 중의 화합물 **I27**(2.90g, 12.54mmol)의 용액에 수성 HBr 용액(30ml, 148.31mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 40℃에서 3시간 동안 교반시킨 후에, 그것을 진공에서 농축시키고 나서 용매를 제거하였다. 잔사를 H_2O (40ml)에 의해 취하고 나서, EtOAc로 세척하였다(20ml $\times$ 3). 수층을 Na_2CO_3 용액에 의해 pH 10으로 조절하고 나서, 다시 EtOAc로 추출하였다(20ml $\times$ 3). 합한 유기층을 Na_2SO_4 로 건조시키고 나서, 여과 후, HCOOH에 의해 pH 5로 조절하고, 농축시켜 목적으로 하는 생성물 **I28**(1.20g, 66.8%)을 얻으로서 제공하였다. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 3.89 (dd, J = 5.2 Hz, 2.0 Hz, 1H), 3.59 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 1.83 - 1.74 (m, 1H), 0.96 (dd, J = 6.4, 4.8 Hz, 6H).

[0841] (vi) THF/ H_2O (20ml/4ml) 중의 화합물 **I28**(1.30g, 9.08mmol)의 용액에 K_2CO_3 (3.76g, 27.24mmol)를 첨가하였다. Alloc-Cl(1.64g, 13.62mmol)을 0℃에서 혼합물에 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 0.5시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 EtOAc로 추출하고 나서(20ml $\times$ 3) H_2O (20ml)로 세척하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 상의 칼럼 크로마토그래피(PE: EtOAc = 5:1)에 의해 정제하여 화합물 **I29**(1.3g, 79.0%)을 제공하였다. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.71 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.96 - 5.86 (m, 1H), 5.31 - 5.26 (m, 1H), 5.20 - 5.16 (m, 1H), 4.48 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 4.09 - 4.04 (m, 1H), 3.19 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 1.82 - 1.73 (m, 1H), 0.94 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.89 (d, J = 6.8 Hz, 3H).

[0842] (vii) NaN_3 (7.80g, 119.98mmol)의 용액을 증류시킨 H_2O (20ml) 중에서 용해시키고 나서 CH_2Cl_2 (40ml)을 첨가하였다. 그것을 빙욕에서 냉각시키고 나서, Tf_2O (3.0ml, 19.65mmol)를 5분에 걸쳐 서서히 첨가하고 나서, 추가 2시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 분별 깔때기에 두고 나서, CH_2Cl_2 상을 수집하였다. 수성 부분을 CH_2Cl_2 로 추출하였다(30ml $\times$ 2). 트라이플릴 아자이드를 함유하는 유기 분획을 풀링시키고 나서, 포화된 Na_2CO_3 (40ml)로 1회 세척하고, 추가 정제 없이 사용하였다. 화합물 **I30**(1.80g, 10.27mmol), K_2CO_3 (2.13g, 15.41mmol) 및 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (257mg, 1.03mmol)를 증류시킨 H_2O (40ml) 및 MeOH(80ml) 중에서 혼합하였다. 상기 생성한 CH_2Cl_2 (100ml) 중의 트라이플릴 아자이드를 첨가하고 나서, 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 후속적으로, 유기 용매를 감압 하에 제거하고 나서, 수성 슬러리를 H_2O (50ml)로 희석시켰다. 그것을 진한 HCl을 이용하여 pH 6으로 산성화시키고 나서, 0.2 M pH 6.2 인산염 완충제(50ml)로 희석시키고, EtOAc로 세척하여(100ml $\times$ 3) 설폰아마이드 부산물을 제거하였다. 이어서, 수성상을 진한 HCl을 이용하여 pH 2로 산성화시켰다. 그것을 EtOAc/MeOH(20:1)를 이용하여 추출하였다(100ml $\times$ 4). 이들 EtOAc/MeOH 추출물을 합하고, Na_2SO_4 로 건조시키고 나서, 증발시켜 추가 정제 없이 화합물 **I31**(1.6g, 77.4%)을 제공하였다.

[0843] (viii) DMF(10ml) 중의 화합물 **I31**(1.70g, 8.45mmol) 및 화합물 **I29**(1.23g, 6.76mmol)의 용액에 $Cu(CH_3CN)_4PF_6$ (315mg, 0.85mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 50℃에서 2시간 동안 교반시키고 나서, 혼합물을 다음 단계를 위해 직접 사용하였다.

[0844] (ix) DMF(15ml) 중의 화합물 **I32**(조질, ~2.50g, 6.54mmol)의 혼합물에 EEDQ(2.42g, 9.81mmol) 및 화합물 **I33**(1.21g, 9.81mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃ 내지 r.t.에서 N_2 보호 하에 밤새 교반시켰다. 혼합물을 분취-HPLC(FA)에 의해 정제하여 조절의 생성물을 제공하고, 이어서, MTBE로 세척하여 순수한 생성물을 제공하였다. SFC 분리 후에, **2**(1.10g, 34.5%) 및 **2'**(220mg, 6.9%)을 얻었다.

[0845] **2**: LCMS (ESI): RT = 0.973분, $M+H^+$ = 488.0. 방법 = 10-80 /2분. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.53 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.66 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 7.54 (dd, J = 6.8, 2.0 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.02 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 5.94 - 5.87 (m, 1H), 5.48 (dd, J = 8.8, 6.8 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.28 (dd, J = 17.2, 1.6 Hz, 1H), 5.16 (dd, J = 10.4, 1.2 Hz, 1H), 5.13 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.58 (dd, J = 9.2,

6.8 Hz, 1H), 4.49 - 4.46 (m, 2H), 4.44 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.04 - 2.97 (m, 2H), 2.14 - 2.01 (m, 3H), 1.29 - 1.23 (m, 2H), 0.85 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.78 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H).

[0846] 2': LCMS (ESI): RT = 0.980분, $M+H^+ = 488.0$. 방법 = 10-80 /2분. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.52 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.64 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.27 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.02 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 5.95 - 5.86 (m, 1H), 5.47 (dd, $J = 8.8, 6.8$ Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.28 (dd, $J = 16.8, 1.2$ Hz, 1H), 5.16 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 5.13 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.57 (dd, $J = 9.2, 7.2$ Hz, 1H), 4.49 - 4.46 (m, 2H), 4.44 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.06 - 2.94 (m, 2H), 2.16 - 2.02 (m, 3H), 1.29 - 1.25 (m, 2H), 0.85 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.78 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H).

[0847] HPLC 분리 조건(2 & 2'):

[0848] 기기: 시마즈(SHIMADZU) LC-8A

[0849] 칼럼: 시너지(synergi)-10 μ m, 250 $\times$ 50mm I.D.

[0850] 이동상: H₂O(2% FA 첨가, v/v)를 위해 A 및 MeCN를 위해 B

[0851] 구배: B 10 내지 50%

[0852] 유속: 80ml/분

[0853] 모니터링한 파장: 220nm/254nm

[0854] 실행 길이: 22분/25분

[0855] SFC 분리 조건(2 & 2'):

[0856] 기기: Thar SFC 80

[0857] 칼럼: 카이랄(Chiral) PAK AD, 5 μ m, 다이셀 케미컬 인터스트리즈, 리미티드(Daice Chemical Industries, Ltd)

[0858] 250 $\times$ 30mm I.D.

[0859] 이동상: A: 초임계 CO₂, B: EtOH(0.1% NH₃H₂O 함유), 60ml/분에서 A:B =70:30

[0860] 칼럼 온도: 38℃

[0861] 노즐 압력: 100Bar

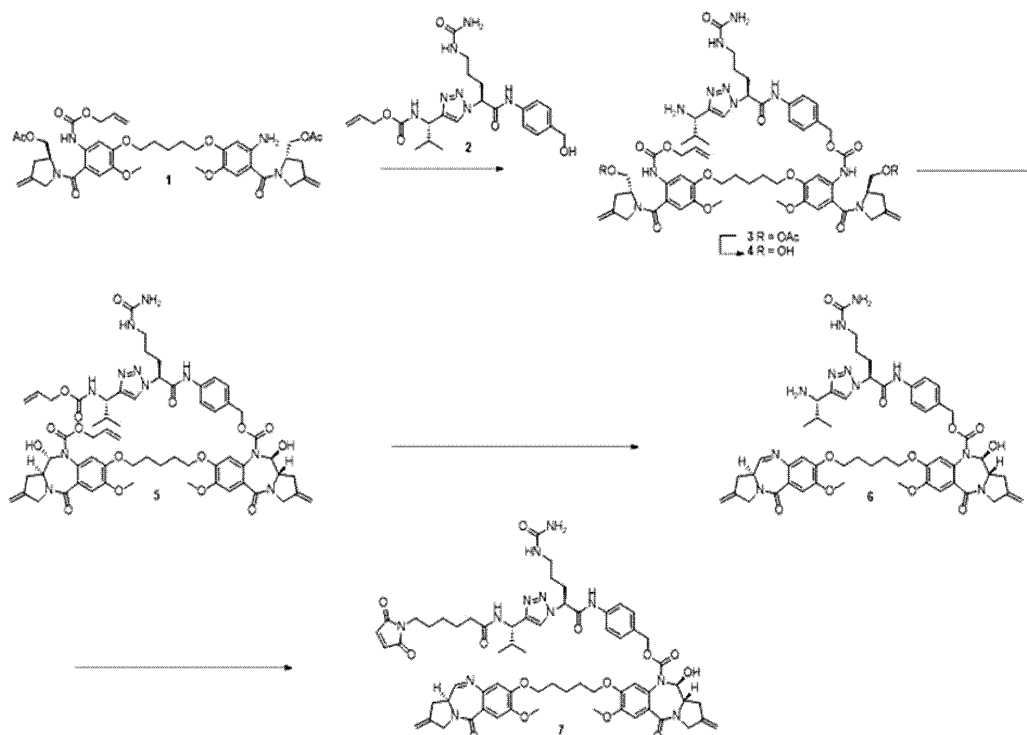
[0862] 노즐 온도: 60℃

[0863] 증발기 온도: 20℃

[0864] 트리머 온도: 25℃

[0865] 파장: 220nm

[0866] 실시예 1: [4-[[[(2S)-2-[4-[(1S)-1-[6-(2,5-다이옥소피롤-1-일)헥산오일아미노]-2-메틸-프로필]트라이아졸-1-일]-5-유레이도-펜탄오일]아미노]페닐]메틸(6S,6aS)-3-[5-[[[(6aS)-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-7,9-다이하이드로-6aH-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-3-일]옥시]펜트옥시]-6-하이드록시-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-6,6a,7,9-테트라하이드로피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5-카복실레이트(PBD-LD2)의 제조



[0867]

[0868]

화합물 1은 WO 2011/130598의 화합물 6이다

[0869]

(i) 4-((S)-2-(4-((S)-1-아미노-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질 (5-((5-((알릴옥시)카보닐)아미노)-4-((R)-2-(아세톡시메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시펜옥시)펜틸)옥시)-2-((R)-2-(아세톡시메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-4-메톡시페닐)카바메이트(3)

[0870]

트라이에틸아민(0.55g, 0.76ml 5.5mmol, 2.2 eq.)을 아르곤 분위기 하에 건조 THF(25ml) 중에서 모노-alloc 보호된 비스-아닐린 1(1.98g, 2.5mmol, 1.0 eq.) 및 트라이포스겐(0.27g, 0.9mmol, 0.36 eq.)의 교반 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 40℃로 가열하고 나서, 샘플을 메탄올로 처리하고 나서, 메틸 카바메이트로서 LCMS에 의해 분석하였다.

[0871]

건조 THF/DMF(40ml/5ml) 중의 벤질 알코올 2(1.58g, 3.24mmol, 1.3 eq.)의 용액을 새로 제조한 아이소사이아네이트에 적가하였다. 반응 혼합물을 LCMS에 의해 모니터링하고, 40℃에서 4.5시간 후에 완료되었다. 반응 혼합물을 여과시키고 나서, 여과액을 감압 하에 증발시켰다. 잔사를 플래시 칼럼 크로마토그래피[구배 용리 CHCl₃/MeOH 3% 내지 6%, 1% 증분]에 의해 정제하여 백색 거품으로서 생성물(1.83g, 56%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.72분; MS (ES⁺) m/z(상대적 강도) 1306([M + H]⁺, 40).

[0872]

(ii) 4-((S)-2-(4-((S)-1-아미노-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질 (5-((5-((5-((알릴옥시)카보닐)아미노)-4-((R)-2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시펜옥시)펜틸)옥시)-2-((R)-2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-4-메톡시페닐)카바메이트(4)

[0873]

H₂O(7ml) 중의 K₂CO₃(0.96g, 7.0mmol, 5.0 eq.)의 용액을 MeOH(40ml) 중의 아세테이트 3(1.82g, 1.39mmol, 1.0 eq.)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시켰다. 메탄올을 감압 하에 증발시키고, 잔사를 H₂O(100ml)로 희석시키고 나서, 1M 시트르산을 이용하여 pH 3으로 산성화시켰다. 혼합물을 DCM으로 추출하였다(5 x 100ml). 합한 추출물을 포화된 염수(200ml)로 세척하고 나서, 건조시키고(MgSO₄) 감압 하에 증발시켜 백색 거품(1.51g, 88%)으로서 생성물을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.57분; MS (ES⁺) m/z (상대적 강도) 1222([M + H]⁺, 45).

[0874]

(iii) 알릴 (11S, 11aS)-8-((5-(((11S, 11aS)-10-(((4-((S)-2-(4-((S)-1-((알릴옥시)카보닐)아미노)-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-11-하이드

록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10(5H)-카복실레이트(5)

[0875] 안정화된 45중량% 2-아이오독시벤조산(IBX)(1.78g, 2.9mmol, 2.4 eq.)을 건조 DMSO(90ml) 중의 비스-알코올 4의 용액(1.46g, 1.19mmol, 1.0 eq.)에 일 부분 첨가하였다. 용액을 30℃에서 32시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 H₂O(500ml)에 첨가하고 이를 DCM으로 추출하였다(5 x 150ml). 합한 추출물을 포화 수성 중탄산나트륨 용액(300ml), H₂O(300ml), 염수(300ml)로 세척하고 나서, 건조시켰다(MgSO₄). 용매를 회전 증발기에 의해 감압 하에 제거하여 조질의 생성물을 제공하였다. 플래시 칼럼 크로마토그래피[구배 용리 CHCl₃/MeOH 0% 내지 8%, 1% 증분]에 의한 정제로 백색 고체로서 생성물(0.8g, 55%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.52분; MS (ES⁺) *m/z* (상대적 강도) 1218([*M* + H]⁺, 100).

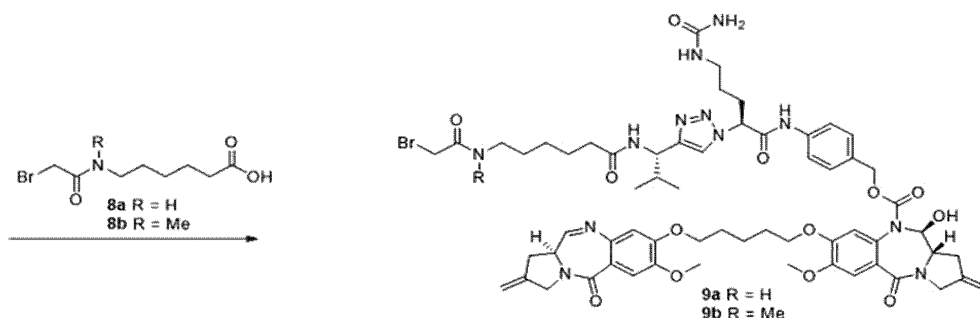
[0876] (iv) 4-((S)-2-(4-((S)-1-아미노-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질 (11S, 11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((5-((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10(5H)-카복실레이트(6)

[0877] Pd(PPh₃)₄(14mg, 12.4 μmol 0.05 eq.)를 아르곤 분위기 하에 p건조 DCM(20ml) 중에서 비스-alloc 화합물 5(0.30g, 0.25mmol, 1.0 eq.) 및 피롤리딘(39mg, 45 μl, 0.86mmol, 2.2 eq.)의 용액에 첨가하였다. 용액을 실온에서 30분 동안 교반시켜 혼합한 현탁액을 제공하였다. 용매를 절반 감압 하에 증발시키고, 이어서, 다이에틸 에터로 희석시켰다. 침전시킨 생성물을 여과에 의해 수집하고 나서, 다이에틸 에터로 세척하였다(x 2). 이것으로 백색 분말로서 생성물을 얻었고, 추가 정제 없이 사용하였다(0.25g, 100%). 분석 데이터: RT 1.15분; MS (ES⁺) *m/z* (상대적 강도) 1032([*M* + H]⁺, 10).

[0878] (v) 4-((S)-2-(4-((S)-1-(6-(2,5-다이옥소-2,5-다이하이드로-1H-피롤-1-일)헥산아미도)-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질 (11S, 11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((5-((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10(5H)-카복실레이트(7)

[0879] EEDQ(12.6mg, 51 μmol, 1.5 eq.)을 건조 DCM/MeOH(5ml/1ml) 중의 아민/이민 6(35mg, 34 μmol, 1.0 eq.) 및 말레이미드 카프론산(7.2mg, 34 μmol 1.0eq.)의 용액에 첨가하였다. 용액을 실온에서 18시간 동안 교반시켰다. EEDQ(12.6mg, 51 μmol, 1.5 eq.)의 추가 부분을 첨가하고 나서, 반응물을 추가 18시간 동안 교반시켰다. 용매를 감압 하에 증발시키고 나서, 잔사를 분취 HPLC에 의해 정제하여 동결건조 후에 백색 거품으로서 생성물(5.5mg, 13%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.41분; MS (ES⁺) *m/z* (상대적 강도) 1225([*M* + H]⁺, 60).

[0880] 실시예 2



[0881]

[0882] (a) 4-((S)-2-(4-((S)-1-(6-(2-브로모아세트아미도)헥산아미도)-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질 (11S, 11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((5-((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10(5H)-카복실레이트(9a)

[0883] EEDQ(36mg, 0.15mmol, 1.5 eq.)를 건조 DCM/MeOH(6ml/3ml) 중의 아민/이민 6(101mg, 98 μmol, 1.0 eq.) 및 브로모아세트아미도카프론산 8a(30mg, 0.12mmol 1.2eq.)의 용액에 첨가하였다. 용액을 실온에서 5일 동안

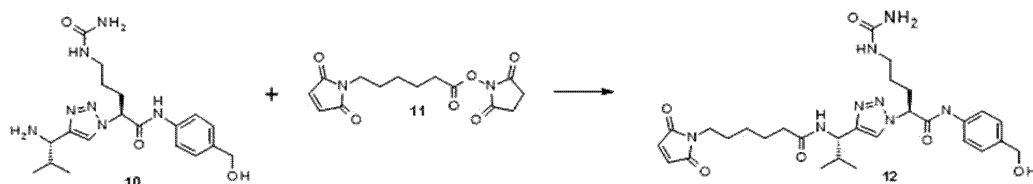
교반시켰다. 용매를 감압 하에 증발시키고 나서, 잔사를 분취 HPLC에 의해 정제하여 동결건조 시, 백색 거품으로서 생성물(25mg, 20%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.42분; MS (ES+) m/z (상대적 강도) 1267([M + H]⁺, 20).

[0884] (b) 4-((S)-2-(4-((S)-1-(6-(2-브로모-N-메틸아세트아미도)헥산아미도)-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질(11S, 11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((5-((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10(5H)-카복실레이트(9b)

[0885] EEDQ(36mg, 0.15mmol, 1.5 eq.)를 건조 DCM/MeOH(6mL/3mL) 중의 아민/이민 6(100mg, 98 μ mol, 1.0 eq.) 및 N 메틸브로모아세트아미도카프론산 8b(30mg, 0.12mmol 1.2eq.)의 용액에 첨가하였다. 용액을 실온에서 5일 동안 교반시켰다. 용매를 감압 하에 증발시키고 나서, 잔사를 분취 HPLC에 의해 정제하여 동결건조 시, 백색 거품으로서 생성물(16mg, 13%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.44분; MS (ES+) m/z (상대적 강도) 1280([M + H]⁺, 20).

[0886] 실시예 3: [4-[[[(2S)-2-[4-[(1S)-1-[6-(2,5-다이옥소피롤-1-일)헥산오일아미노]-2-메틸-프로필]트리아졸-1-일]-5-유레이도-펜탄오일]아미노]페닐]메틸(6S,6aS)-3-[5-[[[(6aS)-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-7,9-다이하이드로-6aH-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-3-일]옥시]펜트옥시]-6-하이드록시-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-6,6a,7,9-테트라하이드로피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5-카복실레이트(PBD-LD2)의 대안의 제조

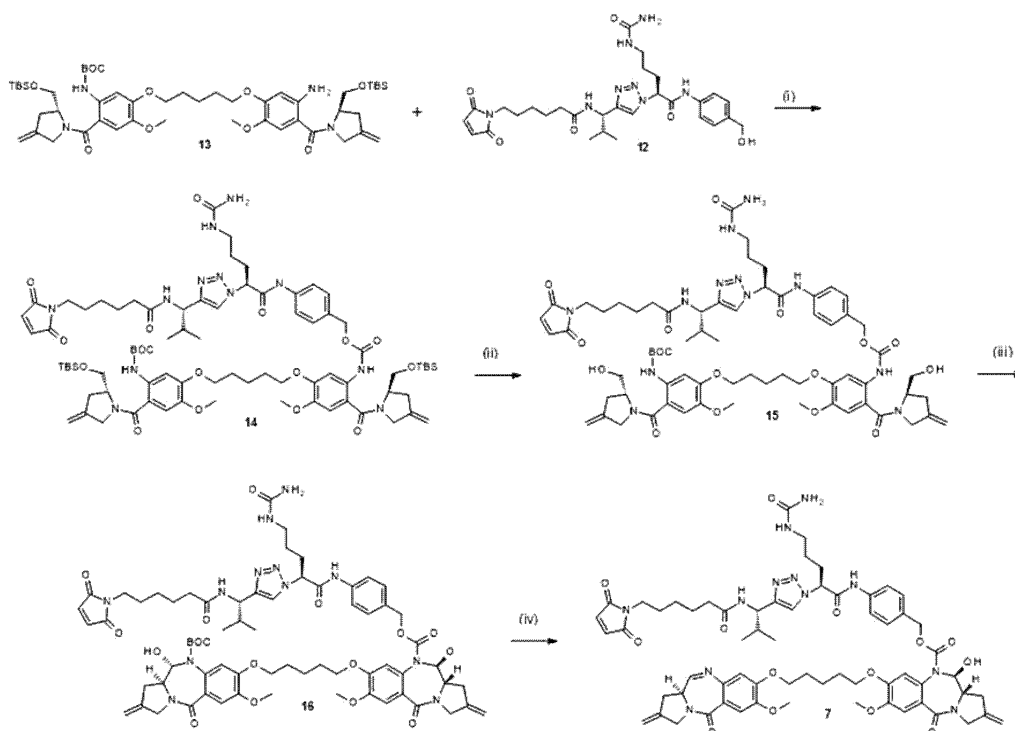
[0887] (a) 6-(2,5-다이옥소-2,5-다이하이드로-1H-피롤-1-일)-N-((S)-1-(1-((S)-1-((4-(하이드록시메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-유레이도펜탄-2-일)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)-2-메틸프로필)헥산아마이드 (12)



[0888]

[0889] 아민 10(4.37g, 10.8mmol, 1.0 eq) 및 2,5-다이옥소피롤리딘-1-일 6-(2,5-다이옥소-2,5-다이하이드로-1H-피롤-1-일) 헥사노에이트 11(3.67g, 11.9mmol, 1.1 eq)를 교반시키면서 무수 DMF(100mL) 중에서 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 용매를 감압 하에 증발시켜 점성의 황색 오일로서 생성물 12(6.0g, 92%)를 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.20분; MS (ES⁺) m/z (상대적 강도) 597([M + H]⁺, 100).

[0890] (b) [4-[[[(2S)-2-[4-[(1S)-1-[6-(2,5-다이옥소피롤-1-일)헥산오일아미노]-2-메틸-프로필]트리아졸-1-일]-5-유레이도-펜탄오일]아미노]페닐]메틸(6S,6aS)-3-[5-[[[(6aS)-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-7,9-다이하이드로-6aH-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-3-일]옥시]펜트옥시]-6-하이드록시-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-6,6a,7,9-테트라하이드로피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5-카복실레이트(7, PBD-LD2)



[0891]

[0892] 요약

[0893] (i) 트라이포스젠, 피리딘, THF

[0894] (ii) AcOH, THF, H₂O

[0895] (iii) IBX, DMSO

[0896] (iv) 95% TFA

[0897] 화합물 13은 WO 2013/055987의 화합물 9이다.

[0898] (i) 4-((S)-2-(4-((S)-1-(6-(2,5-다이옥소-2,5-다이하이드로-1H-피롤-1-일)헥산아미도)-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질 (5-((5-(5-((tert-부톡시카보닐)아미노)-4-((R)-2-(((tert-부틸다이메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시펜옥시)펜틸)옥시)-2-((R)-2-(((tert-부틸다이메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-4-메톡시페닐)카바메이트 (**14**)

[0899] 트라이에틸아민(0.13g, 0.18ml 1.3mmol, 2.2 eq.)을 아르곤 분위기 하에 실온에서 건조 THF(15ml) 중에서 모노-boc 보호 비스-아닐린 **13**(0.555g, 0.58mmol, 1.0 eq.) 및 트라이포스젠(0.062g, 0.21mmol, 0.36 eq.)의 교반 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 40℃로 가열하였고, 샘플을 메탄올로 처리하고 나서, 메틸 카바메이트로서 LCMS에 의해 분석하였다.

[0900] 건조 THF/피리딘(3ml/3ml) 중의 벤질 알코올 **12**(0.51g, 0.85mmol, 1.45 eq.)의 용액을 새로 제조한 아이소사시아네이트에 첨가하였다. 반응 혼합물을 LCMS에 의해 모니터링하고, 4시간 후에 40℃에서 완료되었다. 반응 혼합물을 여과시키고 나서, 여과액을 감압 하에 증발시켰다. 잔사를 CHCl₃(100ml) 중에서 취하고 나서, 포화된 CuSO₄ 용액(2 x 150ml), 포화된 염수(150ml)으로 세척하였고, 건조시키고(MgSO₄) 감압 하에 증발시켜 황색 거품을 제공하였다. 플래시 칼럼 크로마토그래피[구배 용리 CHCl₃/2% MeOH 내지 5% MeOH, 1% 증분]에 의한 정제로 백색 거품으로서 생성물(0.26g, 29%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 2.23분; MS (ES⁺) m/z (상대적 강도) 1577([M + H]⁺, 100).

[0901] (ii) 4-((S)-2-(4-((S)-1-(6-(2,5-다이옥소-2,5-다이하이드로-1H-피롤-1-일)헥산아미도)-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질 (5-((5-(5-((tert-부톡시카보닐)아미노)-4-((R)-2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시펜옥시)펜틸)옥시)-2-((R)-2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌피롤리

딘-1-카보닐)-4-메톡시페닐)카바메이트(15)

[0902] AcOH/H₂O(1.5/1)(42ml)를 THF(17ml) 중의 화합물 14의 용액(0.934g, 0.6mmol, 1.0 eq)에 첨가하였고, 얻어진 용액을 실온에서 72시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 포화 탄산 수소 나트륨 용액을 이용하여 pH 8로 염기화하였다. 혼합물을 DCM로 추출하고 나서(4 x 100ml) 합한 추출물을 포화된 탄산수소나트륨 용액(300ml), H₂O(200ml), 포화 염수(250ml)로 세척하고 나서, 건조시키고(MgSO₄) 감압 하에 증발시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피[구배 용리 CHCl₃/MeOH 2% 내지 9%, 1% 증분]에 의한 잔사의 정제로 백색 거품으로서 생성물(0.573g, 72%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.6분; MS (ES⁺) m/z (상대적 강도) 1347([M + H]⁺, 100).

[0903] (iii) tert-부틸(11S, 11aS)-8-((5-(((11S, 11aS)-10-(((4-((S)-2-(4-((S)-1-(6-(2,5-다이옥소-2,5-다이하이드로-1H-피롤-1-일)헥산아미도)-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10(5H)-카복실레이트(16)

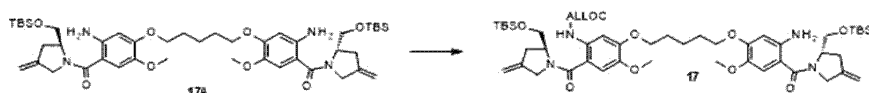
[0904] 안정화된 45중량% 2-아이오독시벤조산(IBX)(0.635g, 1.02mmol, 2.4 eq.)을 건조 DMSO(30ml) 중의 비스 알코올(15)(0.573g, 0.425mmol, 1.0 eq.)의 용액에 일 부분 첨가하였다. 용액을 30℃에서 21시간 동안 교반시켰다. IBX의 추가 부분(26mg, 42.5 μmol, 0.1 eq)을 첨가하고 나서, 반응을 추가 24시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 염수 용액(500ml)에 첨가하고 나서, 이를 DCM으로 추출하였다(5 x 100ml). 합한 추출물을 포화된 수성 중탄산나트륨 용액(300ml), H₂O (200ml), 염수(300ml)로 세척하고 나서, 건조시켰다(MgSO₄). 용매를 회전 증발기에 의해 감압 하에 제거하여 조질의 생성물을 제공하였다. 플래시 칼럼 크로마토그래피[구배 용리 CHCl₃/MeOH 0% 내지 6%, 1% 증분]에 의한 정제로 백색 고체로서 생성물(0.35g, 61%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.53분; MS (ES⁺) m/z (상대적 강도) 1343([M + H]⁺, 97).

[0905] (iv) 4-((S)-2-(4-((S)-1-(6-(2,5-다이옥소-2,5-다이하이드로-1H-피롤-1-일)헥산아미도)-2-메틸프로필)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-5-유레이도펜탄아미도)벤질 (11S, 11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((5-(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10(5H)-카복실레이트(7)

[0906] 95% 트라이플루오로아세트산(16ml)의 냉각(빙욕) 용액을 화합물 16에 첨가하고, 이를 빙욕에서 냉각시켰다. LCMS에 의해 완료된 것으로 나타났을 때, 용액을 0℃에서 15분 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 얼음과 포화된 탄산수소나트륨 용액의 혼합물에 적가하여 트라이플루오로아세트산 용액을 중화시켰다. 혼합물을 10%MeOH/CHCl₃으로 추출하고(4 x 100ml) 합한 추출물을 포화된 염수(200ml)로 세척하고 나서, 건조시키고(MgSO₄) 감압 하에 증발시켜 황색 고체로서 생성물(0.337g, 106%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.45분; MS (ES⁺) m/z (상대적 강도) 1225([M + H]⁺, 100).

[0907] 실시예 4: [4-[[[(2S)-2-[[1-[5-(2,5-다이옥소피롤-1-일)펜틸카바모일]사이클로부탄카보닐]아미노]-5-유레이도-펜탄오일]아미노]페닐]메틸(6S,6aS)-3-[5-[[[(6aS)-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-7,9-다이하이드로-6aH-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-3-일]옥시]펜트옥시]-6-하이드록시-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-6,6a,7,9-테트라하이드로피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5-카복실레이트(24, PBD-LD3)의 제조

[0908] (a) 알릴 (5-((5-(5-아미노-4-((S)-2-(((tert-부틸다이메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시펜옥시)펜틸)옥시)-2-((S)-2-(((tert-부틸다이메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-4-메톡시페닐)카바메이트(17)



[0909]

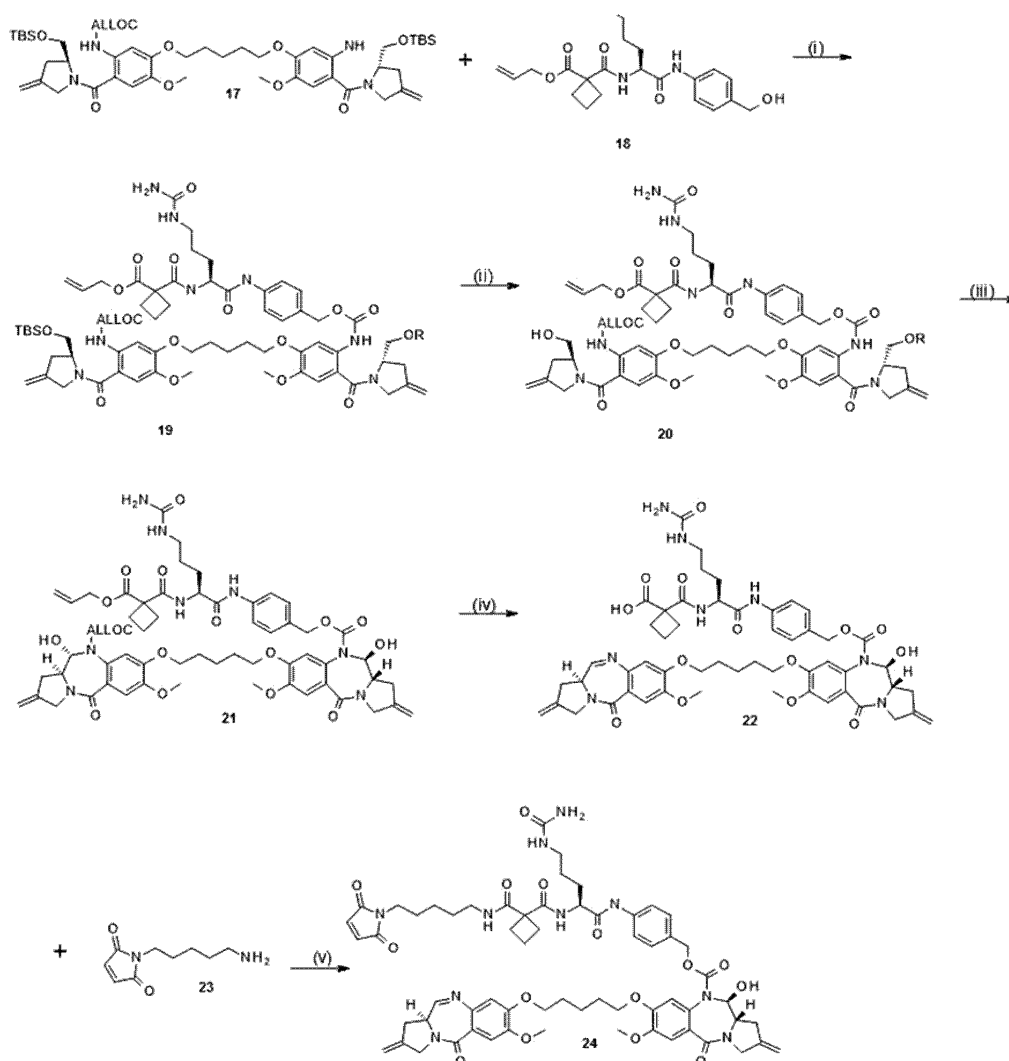
[0910] 화합물 17A는 WO 2013/055987의 화합물 8이다.

[0911] 건조 DCM(10ml) 중의 알릴 클로로포메이트 17A(0.38g, 0.34mmol, 3.2mmol, 1.0 eq.)의 용액을 아르곤 분위기 하에 -78℃에서(드라이아이스/아세톤) 건조 DCM(30ml) 중의 비스-아닐린(2.72g, 3.2mmol, 1.0 eq.) 및 건조 피리딘

(0.5g, 0.52ml, 6.4mmol, 2.0 eq.)의 용액에 적가하였다. 얻어진 용액을 -78℃에서 1시간 동안 교반시키고, 이어서, 실온에 도달되게 하였다. 반응 혼합물을 DCM (50ml)으로 희석시키고 나서, 포화된 황산구리 용액(2 x 200ml), 물(200ml), 염수(200ml)로 세척하고, 건조 후(MgSO₄) 감압 하에 증발시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피[구배 용리 60% *n*-헥산/40% EtOAc 내지 100% EtOAc, 10% 증분]에 의한 정제로 회백색 거품으로서 생성물(1.45g, 48%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 2.25분; MS (ES⁺) *m/z* (상대적 강도) 937([*M* + H]⁺, 100), 959([*M* + Na]⁺, 60).

[0912]

(b) [4-[[[(2*S*)-2-[[1-[5-(2,5-다이옥소피롤-1-일)펜틸카바모일]사이클로부탄카보닐]아미노]-5-유레이도-펜탄오일]아미노]페닐]메틸(6*S*, 6*aS*)-3-[5-[[[(6*aS*)-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-7,9-다이하이드로-6*aH*-피롤로[2,1-*c*][1,4]벤조다이아제핀-3-일]옥시]펜트옥시]-6-하이드록시-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-6,6*a*,7,9-테트라하이드로피롤로[2,1-*c*][1,4]벤조다이아제핀-5-카복실레이트(24)



[0913]

[0914]

요약

[0915]

(i) 트라이포스젠, 피리딘, THF

[0916]

(ii) TBAF, THF

[0917]

(iii) IBX, DMSO

[0918]

(iv) Pd(PPh₃)₄, 피롤리딘, CH₂Cl₂

[0919]

(v) BOP-Cp, DIEA, DMF

[0920]

(i) 알릴 1-(((*S*)-1-((4-(((5-((5-5-((알릴옥시)카보닐)아미노)-4-((*S*)-2-(((*tert*-부틸다이메틸실릴)옥시)

메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시펜옥시)펜틸)옥시)-2-((S)-2-(((tert-부틸다이메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-4-메톡시페닐)카바모일)옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-유레이도펜탄-2-일)카바모일)사이클로부탄-1-카복실레이트 (19)

[0921] 트라이에틸아민(1.85g, 0.26ml 1.85mmol, 2.2 eq.)을 아르곤 분위기 하에 실온에서 건조 THF(20ml) 중에서 모노-alloc 보호된 비스-아닐린 17(0.79g, 0.84mmol, 1.0 eq.) 및 트라이포스겐(90mg, 0.3mmol, 0.36 eq.)의 교반 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 40℃로 가열하고 나서, 샘플을 메탄올로 처리하고, 메틸 카바메이트로서 LCMS에 의해 분석하였다.

[0922] 건조 THF(20ml) 중의 벤질 알코올 18의 용액(0.49g, 1.1mmol, 1.3 eq.)을 새로 제조한 아이소시아네이트에 첨가하였다. 반응 혼합물을 LCMS에 의해 모니터링하고 나서, 40℃에서 5시간 후에 완료되었다. 반응 혼합물을 여과시키고 나서, 여과액을 감압 하에 증발시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피[구배 용리 EtOAc/0% MeOH 내지 6% MeOH, 1% 증분]에 의한 정제로 백색 거품으로서 생성물(0.73g, 61%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 2.20분; MS (ES^+) m/z (상대적 강도) 1410($[M + H]^+$, 50), 1431($[M + Na]^+$, 50).

[0923] (ii) 알릴 1-((S)-1-((4-(((5-((5-((알릴옥시)카보닐)아미노)-4-((S)-2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시펜옥시)펜틸)옥시)-2-((S)-2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-4-메톡시페닐)카바모일)옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-유레이도펜탄-2-일)카바모일)사이클로부탄-1-카복실레이트 (20)

[0924] 테트라-N-부틸암모늄 플루오라이드(THF 중의 1.0M, 1.1ml, 2.2 eq.)를 아르곤 분위기 하에 건조 THF(20ml) 중의 비스-TBS 화합물 19 (0.7g, 0.5mmol, 1.0 eq) 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반시켰다. 용매를 감압 하에 증발시켜 잔사를 DCM 중에서 재용해시키고, 염수(x 1)로 세척 후, 건조시키고 ($MgSO_4$) 증발시켜 연한 황색 오일을 제공하였다. 플래시 칼럼 크로마토그래피[구배 용리 EtOAc/MeOH 5% 내지 15%, 2.5% 증분]에 의한 정제로 백색 거품으로서 생성물(0.46g, 79%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.55분; MS (ES^+) m/z (상대적 강도) 1181($[M + H]^+$, 100).

[0925] (iii) 알릴 (11S, 11aS)-8-((5-(((11S, 11aS)-10-(((4-((S)-2-(1-((알릴옥시)카보닐)사이클로부탄-1-카복시아미도)-5-유레이도펜탄아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10(5H)-카복실레이트 (21)

[0926] 안정화된 45중량% 2-아이오독시벤조산 (IBX)(0.545g, 0.88mmol, 2.4 eq.)을 건조 DMSO(31ml) 중의 비스 알코올 20(0.43g, 0.365mmol, 1.0 eq.)의 용액에 일부분 첨가하였다. 용액을 30℃에서 18시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 염수 용액에 첨가하고, 이를 DCM으로 추출하였다(5 x 75ml). 합한 추출물을 포화 수성 중탄산나트륨 용액(200ml), 물(200ml), 염수(200ml)로 세척하고 나서, 건조시켰다($MgSO_4$). 용매를 회전 증발기에 의해 감압 하에 제거하여 조질의 생성물을 제공하였다. 플래시 칼럼 크로마토그래피[구배 용리 $CHCl_3$ /MeOH 0% 내지 6%, 1% 증분]에 의한 정제로 백색 거품으로서 생성물(0.21g, 48%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.48분; MS (ES^+) m/z (상대적 강도) 1177($[M + H]^+$, 100).

[0927] (iv) 1-((S)-1-((4-(((11S, 11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((5-((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10-카보닐)옥시)메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-유레이도펜탄-2-일)카바모일)사이클로부탄-1-카복실산 (22)

[0928] $Pd(PPh_3)_4$ (6mg, 5.1 μ mol 0.06 eq.)을 건조 DCM(5ml) 중에서 아르곤 분위기 하에 화합물 21(0.1g, 85 μ mol, 1.0 eq.) 및 피롤리딘(15mg, 17 μ l, 0.21mmol, 2.5 eq.)의 용액에 첨가하였다. 용액을 실온에서 35분 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 다이에틸 에터(xs)로 희석시켜 생성물을 침전시켰고, 이를 여과에 의해 수집하고 나서, 다이에틸 에터로 세척하였다(x 2). 이것으로 백색 분말로서 생성물을 얻었고, 추가 정제 없이 사용하였다. 분석 데이터: RT 1.34분; MS (ES^+) m/z (상대적 강도) 1035($[M + H]^+$, 100).

[0929] (v) 4-((S)-2-(1-((5-2,5-다이옥소-2,5-다이하이드로-1H-피롤-1-일)펜틸)카바모일)사이클로부탄-1-카복시아미도)-5-유레이도펜탄아미도)벤질 (11S, 11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((5-((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-8-일)옥시)펜틸)옥시)-2-메틸렌-5-옥소-

2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10(5H)-카복실레이트(24)

[0930] N,N-다이아이소프로필에틸아민(15mg, 20 μ l, 116 μ mol, 3.0 eq)을 교반시키면서 아르곤 분위기 하에 건조 DMF(5ml) 중에서 비스(2-옥소-3-옥사졸리딘일)포스핀 클로라이드(12mg, 46.4 μ mol, 1.2 eq) 및 산 22(40mg, 39.1 μ mol, 1.0 eq)의 용액에 첨가하였다. 5-(2,5-다이옥소-2,5-다이하이드로-1H-피롤-1-일)펜탄-1-아미늄 클로라이드 23(9mg, 39.1 μ mol, 1.0 eq)을 첨가하고 나서, 혼합물을 밤새 실온에서 교반시켰다. 혼합물을 시트르산으로 퀀칭시키고 나서, DCM으로 추출하였다(3 x 50ml). 합한 추출물을 포화된 염수(100ml)로 세척하고 나서, 건조 시키고(MgSO₄) 감압 하에 증발시켜 황색 고체를 제공하였다. 분취 HPLC에 의해 정제하여 동결건조 시 백색 거품으로서 생성물(4.5mg, 10%)을 제공하였다. 분석 데이터: RT 1.42분; MS (ES⁺) m/z (상대적 강도) 1199([M + H]⁺, 60).

[0931] ADC의 제조방법

[0932] 환원 및 산화환원에 의한 컨쥬게이션을 위한 시스테인 공학 처리된 항체의 제조

[0933] 특정 조건 하에서, 시스테인 공학 처리된 항체를 환원제, 예컨대 DTT(클릴랜드(Cleland) 시약, 다이티오프레일) 또는 TCEP(트리스(2-카복시에틸)포스핀 하이드로클로라이드; 문헌[Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; 매사추세츠주 비버리에 소재한 솔텍 벤처스(Soltec Ventures)])로 처리에 의해 표 4에서와 같은 링커-약물 중간체와의 컨쥬게이션에 대해 반응성으로 만들 수 있다. CHO 세포에서 발현시킨 전장, 시스테인 공학 처리된 단클론성 항체(티오Mab)(Gomez et al (2010) Biotechnology and Bioeng. 105(4):748-760; Gomez et al (2010) Biotechnol. Prog. 26:1438-1445)를, 예를 들어 약 50배 과량의 DTT를 이용하여 밤새 실온에서 환원시켜 새로 도입된 시스테인 잔기와 배양 배지에 존재하는 시스테인 간에 형성될 수 있는 이황화 결합을 환원시켰다.

[0934] 경쇄 아미노산은 카바트(Kabat)에 따라 넘버링한다(Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, (1991) 5th Ed., US Dept of Health and Human Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD). 중쇄 아미노산은 카바트 시스템으로서 언급한 경우를 제외하고 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링한다(Edelman et al (1969) Proc. Natl. Acad. of Sci. 63(1):78-85). 한 글자 아미노산 약어를 사용한다.

[0935] CHO 세포에서 발현시킨 전장, 시스테인 공학 처리된 단클론성 항체(티오Mab)는 시스테인 부산물(시스틴)을 보유하거나 또는 세포 배양 조건에 기인하여 공학 처리된 시스테인 상에서 글루타티오닐화된다. 공학 처리된 시스테인의 반응성 티올기를 유리시키기 위해, 티오Mab을 pH 8.0에서 500mM 봉산나트륨 및 500mM 염화나트륨 중에 용해시키고, 37°C에서 약 1 내지 2시간 동안 약 50 내지 100배 과량의 1mM TCEP(트리스(2-카복시에틸)포스핀 하이드로클로라이드(Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; 매사추세츠주 비버리에 소재한 솔텍 벤처스)로 환원시켰다. 대안적으로, DTT를 환원제로서 사용할 수 있다. 비환원성 SDS-PAGE에 의해 또는 역상 HPLC PLRP 칼럼 크로마토그래피를 변성시킴으로써 채간 이황화결합의 형성을 모니터링하였다. 환원된 티오Mab를 희석시키고, 10 mM 아세트산나트륨, pH 5 중의 하이트랩(HiTrap SP FF 칼럼) 상에 장입시키고, 0.3M 염화나트륨을 함유하는 PBS 또는 150mM 염화나트륨을 함유하는 50mM 트리스-Cl, pH 7.5로 용리시켰다.

[0936] 재산화할 수행함으로써 모 Mab에 존재하는 시스테인 잔기 사이에 이황화 결합을 재확립시켰다. 용리시킨 환원 티오Mab을 15X 또는 2 mM 테하이드로아스코르브산(dhAA)을 이용하여 pH 7에서 3시간 동안 또는 50 mM 트리스-Cl, pH 7.5에서 3시간 동안, 또는 2mM 수성 황산구리(CuSO₄)를 이용하여 실온에서 밤새 처리하였다. 다른 산화제, 즉 산화제, 및 당업계에 공지된 산화 조건이 사용될 수 있다. 외기 산화가 또한 효과적일 수 있다. 이 온화한, 부분적 재산화 단계는 높은 정확도로 채내 이황화를 효율적으로 형성한다. 완충제는 세파덱스(Sephadex) G25 수지에 걸쳐 용리에 의해 교환하고 나서, 1mM DTPA를 이용하여 용리시킨다. 용액의 280nm에서의 흡광도로부터 환원 항체 농도 및 DTNB(위스콘신주 밀워키에 소재한 알드리치(Aldrich))와의 반응에 의한 티올 농도를 결정함으로써 그리고 412nm에서 흡광도의 결정에 의해 티올/Ab 값을 확인한다.

[0937] 연장된 질량 범위를 지니는 TSQ 쿼드립 트리플 쿼드러폴(TSQ Quantum Triple quadrupole)(상표명) 질량분석기(캘리포니아주 새너제이에 소재한 써모 일렉트론(Thermo Electron)) 상에서 액체 크로마토그래피/질량 분석을 수행하였다. 샘플을 75°C로 가열한 PRLP-S(등록상표), 1000 A, 마이크로보어 칼럼(50mm x 2.1mm, 영국 슈롭셔에 소재한 폴리머 래버러토리즈(Polymer Laboratories)) 상에서 크로마토그래피하였다. 30 내지 40% B로부터의 선형 구배(용매 A: 수 중의 0.05% TFA, 용매 B: 아세트나이트릴 중의 0.04% TFA)를 사용하여, 전자분무 공급원을 이용하여 용리액을 직접 이온화시켰다. 엑스칼리버(Xcalibur)(등록상표) 데이터 시스템에 의해 데이터를 수집하고

나서, 프로매스(ProMass)(등록상표)(뉴저지주에 소재한 노바티아 엘엘씨(Novatia LLC))를 이용하여 테콘볼루션을 수행하였다). LC/MS 분석 전에, 항체 또는 약물 컨쥬게이트(50 마이크로그램)를 PNGase F(2단위/ml; 캘리포니아주 샌리엔드로에 소재한 프로자임(PROzyme))를 이용하여 37℃에서 2시간 동안 처리하여 N-연결된 탄수화물을 제거하였다.

[0938] 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 샘플을 뷰틸 HIC NPR 칼럼(2.5 마이크로 입자 크기, 4.6mm × 3.5cm)(토소 바이오사이언스(Tosoh Bioscience)) 상에 주사하고 나서, 0.8 ml/분에서 0 내지 70% B의 선형 구배를 이용하여 용리시켰다(A: 50mM 인산칼륨 중의 1.5mM 황산암모늄, pH 7, B: 50mM 인산칼륨 pH 7, 20% 아이소프로판올). 다중 파장 검출기 및 켐스테이션(Chemstation) 소프트웨어를 구비한 애질런트(Agilent) 1100 시리즈 HPLC 시스템을 사용하여 항체 당 상이한 비의 약물로 항체를 용해시키고 양을 재었다. 본 발명의 시스템인 공학 처리된 항체를 상기 기재한 일반적 방법에 따라 제조할 수 있다.

[0939] 항체에 대한 링커-약물 중간체의 컨쥬게이션(절차 1)

[0940] 공학 처리한 항체 시스템을 CHO 세포에서 발현시킨 대로 글루타티온 및/또는 시스테인과 혼합 다이설파이드로서 차단시켰다. 이들 시스템은 컨쥬게이션 전에 "탈차단"되어야 했다.

[0941] 20 mM 숙시네이트, 150mM NaCl, 2mM EDTA 중의 탈차단 항체(5 내지 12mg/ml)를 75 내지 100mM 트리스, pH 7.5 내지 8(1M 트리스를 이용)로 만들었다. 공용매(DMSO, DMF 또는 DMA)를 항체 용액 다음에 링커-약물에 (DMSO 또는 DMF 중에서) 첨가하여 유기 용매의 최종 %를 10 내지 13%로 그리고 항체 농도에 대한 링커 약물의 최종 농도를 2.5 내지 10X로 제공하였다. 반응물을 (최대 컨쥬게이션이 달성될 때까지) 1 내지 12시간 동안 실온에서 처리하였다. 일회용 칼럼(각각 S 맥시(S maxi) 또는 제바(Zeba))을 이용하는 양이온 교환 크로마토그래피 및/또는 겔 여과를 통해 컨쥬게이션 반응을 정제하였다. 조질의 컨쥬게이션이 분석 SEC에 따라 유의하게 응집된다면(예를 들어, >10%) 분취 겔 여과(S200 칼럼)에 의한 추가적인 정제를 수행하였다. 겔 여과 또는 투석을 이용하여 컨쥬게이션을 후속적으로 제형 완충제(20mM His-아세트이트, pH 5.5, 240mM 수크로스)로 교환하였다. 트윈-20을 후속적으로 최종 농도 0.02%에 도달하도록 정제된 컨쥬게이트에 첨가하였다. 최종 컨쥬게이트 농도는 2.4 내지 7.5mg/ml의 범위에 있었다(수율%: 34 내지 81% 탈차단 항체). LCMS에 의해 컨쥬게이트를 분석하여 1.3 내지 2.1의 범위에 있는 약물-항체비(DAR)의 측정을 얻었다(평균: 1.8). 또한 분석 SEC(제닉스(Zenix) 또는 쇼덱스(Shodex) 칼럼)를 이용하여 고분자량 응집물의 존재에 대해 분석하였고; 최종적으로, 정제 컨쥬게이트는 0 내지 10%의 범위에 있는 응집을 나타내었다. 내독소 오염에 대해 컨쥬게이트를 또한 평가하였고, 이 경우에, 1.3 EU/mg을 초과하지 않았다. 유리, 비컨쥬게이션 약물은 최종 컨쥬게이트의 1%를 초과하지 않았다.

[0942] 항체에 대한 링커-약물 중간체의 컨쥬게이션(절차 2, 대안의 절차)

[0943] 상기 실시예의 환원 및 재산화 절차 후에, 항체를 PBS(인산염 완충제 식염수) 완충제 중에 용해시키고 나서, 열음에서 냉각시킨다. 티올-반응성 작용기, 예컨대 말레이미드 또는 브로모-아세트아마이드를 지니는 과량의 약 1.5몰 내지 20당량의 링커-약물 중간체를 DMSO 중에 용해시키고 나서, 아세트나이트릴 및 수 중에서 희석시키고, PBS 중에서 냉각 환원, 재산화시킨 항체에 첨가하였다. 약 1시간 후에, 과량의 말레이미드를 첨가하여 반응을 퀸칭시키고 나서, 임의의 비반응 항체 티올기를 캡핑하였다. 컨쥬게이션 혼합물을 장입시키고 나서 하이트랩 SP FF 칼럼을 통해 용리시켜 과량의 약물-링커 중간체 및 다른 불순물을 제거할 수 있다. 반응 혼합물을 원심분리 한외여과에 의해 농축시키고 나서, 시스테인 공학 처리된 항체 약물 컨쥬게이트를 정제하고, PBS 중의 G25 수지를 통한 용리에 의해 탈염시키고, 멸균 조건 하에서 0.2μm 필터를 통해 여과시키고 나서, 저장을 위해 냉동시켰다.

[0944] 본 발명의 ADC는 상기 부문에 기재한 절차에 따라 준비할 수 있다.

[0945] **분석**

[0946] 이어서, 선택 링커를 시험하고 나서, 시험관내 및 생체내 분석에서 활성을 발견하였다. 절단 데이터를 이하의 표에 나타낸다.

[0947] 카텝신 B 절단 분석

[0948] 펩타이드 링커와 마찬가지로, ADC에 대한 비펩타이드 링커는 적절한 약물 방출을 위해 리소솜에서 절단가능한 것으로 예상된다. 세포의 소화 세포소기관으로서, 리소솜은 산성 pH에서 최적의 가수분해 활성을 나타내는 일부 프로테아제가 풍부하다. 카텝신 B는 대표적인 리소솜 프로테아제이며, ADC 펩타이드 링커(기준)의 활성화에 기여하는 것으로 나타났다. 최소 선별로서, 항체와의 컨쥬게이션에 적합한 절단가능한 링커-약물 작제물을 동정하

기 위해 정제된 카텡신 B를 이용하여 분석을 진행시켰다. 노르플록사신을 이용하여 링커-약물의 약물 구성성분을 나타내었다. 대조군 펩타이드(예컨대 Val-Cit)에 대한 절단%를 주어진 시점뿐만 아니라 절단 반응의 역학적 매개변수(K_m 및 V_{max})에서 측정하였다. 분석의 상세한 설명을 이하에 나타낸다. 이 분석으로부터, 다양한 단백질 분해적으로 활성이고 구조적으로 다양한 링커를 동정하였고, 이후에 ADC를 제조함에 있어서 사용하였다.

[0949] LC/MS를 이용하여 노르플록사신의 방출을 모니터링함으로써 기질로서 실험 링커-약물을 이용하는 카텡신 B 절단 활성을 측정하였다. 다양한 농도의 링커-약물(3배 연속 희석)을 20 nM 카텡신 B(EMD 밀리포어(EMD Millipore) 카탈로그 #219364, 인간 간), 10 mM MES pH 6.0, 1mM DTT, 0.03% CHAPS 및 25nM 노르플록사신-d5 내부 표준(산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology), 카탈로그 #sc-301482)을 함유하는 20 μ l 반응물에서 인큐베이션시켰다. 반응물을 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 인큐베이션시킨 다음에, 60 μ l의 2% 폼산을 첨가하여 반응물을 원청시켰다. 워터스 액티비 UPLC BEH 페닐 칼럼(2.1mm x 50mm, 워터스 카탈로그 #186002884) 상에서 2 μ l의 중단 반응물을 주사함으로써 샘플을 분석하였다. 샘플을 워터스 액티비 UPLC 상에서 아세토나이트릴, 0.1% 폼산의 선형 2분 구배(0% 내지 80%)를 이용하여 정제하였다. 양의 MRM 방식(노르플록사신 320 $\rightarrow$ 233 m/z, 노르플록사신-d5 325 $\rightarrow$ 233 m/z)에서 작동하는 AB Sciex QTrap 5500 삼중 사중극자 질량분석기를 이용하여 노르플록사신 및 노르플록사신-d5 내부 표준을 검출하였다. 정량화한 노르플록사신(내부 표준을 이용하여 정규화함)을 링커-약물 농도에 대해 플롯팅하였고, 역학 상수 K_m 및 V_{max} 에 대해 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 소프트웨어를 이용하여 얻어진 플롯을 미하엘리스-멘텐(Michaelis-Menten) 적합화로 곡선 적합화시켰다.

[0950] 시험관내 세포 증식 분석

[0951] 다음의 프로토콜을 사용하는 세포 증식 분석에 의해 ADC의 효능을 측정하였다(셀타이터 글로(CELLTITER GLO)(상표명) 발광 세포 생존도 분석, 프로메가 코포레이션(Promega Corp.) 기술회보 TB288; 문헌[Mendoza et al (2002) Cancer Res. 62:5485-5488]):

- [0952] 1. 배지에서 약 10^4 개 세포를 함유하는 100 μ l 세포 배양물의 분취액(SKBR-3, BT474, MCF7 또는 MDA-MB-468)을 96웰, 불투명한 벽의 플레이트의 각각의 웰에 두었다.
- [0953] 2. 배지를 함유하는 그리고 세포가 없는 대조군 웰을 준비하였다.
- [0954] 3. ADC를 실험웰에 첨가하고 나서, 3 내지 5일 동안 인큐베이션시켰다.
- [0955] 4. 실온에서 대략 30분 동안 플레이트를 실온으로 평형상태로 만들었다.
- [0956] 5. 각각의 웰에 존재하는 세포 배양 배지와 동일한 용적의 셀타이터 글로(상표명) 시약의 용적을 첨가하였다.
- [0957] 6. 내용물을 오비탈 진탕기 상에서 2분 동안 혼합하여 세포 용해를 유도하였다.
- [0958] 7. 플레이트를 실온에서 10분 동안 인큐베이션시켜 발광 신호를 안정화시켰다.
- [0959] 8. 발광을 기록하고 나서, RLU = 상대적 발광 단위로서 그래프에 기록하였다.

[0960] 데이터를 표준 편차 오차 막대와 함께, 각각의 복제물 세트에 대한 발광 수단으로서 플롯팅한다. 프로토콜은 셀타이터 글로(상표명) 발광 세포의 변형이다.

[0961] 배지: 50/50/10%FBS/글루타민/250 μ g/ml G-418 OVCAR-3에서 성장시킨 SK-BR-3을 RPMI/20%FBS/글루타민에서 성장시킨다

[0962] 생체내 분석

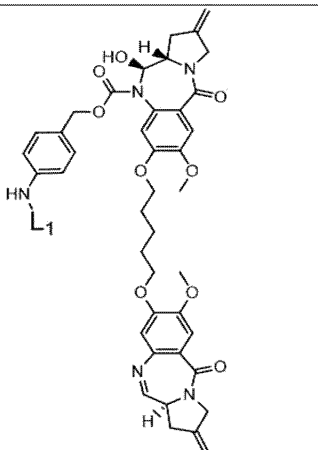
[0963] 1. 항-CD33 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)의 효능을 HL-60 또는 EOL-1(인간 급성 골수성 백혈병)의 마우스 이종이식 모델에서 조사하였다. HL-60 세포주를 ATCC(버지니아주 매너서스에 소재한 미국 미생물 보존센터)로부터 얻었고, EOL-1 세포주를 DSMZ(독일 브라운슈바이크에 소재한 독일 미생물 및 세포배양물 보존센터)로부터 얻었다.

[0964] 암컷 C.B-17 SCID 마우스(캘리포니아주 홀리스터에 소재한 찰스 리버 래버러토리즈(Charles River Laboratories))를 오픈구리 부분에 HL-60 또는 EOL-1의 5백 만개 세포로 각각 피하 접종하였다. 이종이식 종양이 평균 용적 100 내지 300mm³에 도달되었을 때(제0일로서 지칭함), 동물을 각각 7 내지 10마리 마우스의 그룹으로 무작위화하고 나서, ADC의 단일 정맥내 주사를 받았다. ADC 투여의 대략 4시간 전에, 동물에 과량의(30mg/kg) 항-gD 대조군 항체로 복강내로 투약하여 종양 세포 상의 가능한 비특이적 항체 결합 부위를 차단시켰다. 마우스의 종양 및 체중을 연구 전체적으로 1주 1 내지 2회 측정하였다. 체중손실이 그들의 시작 체중의 20% 초과가 되었을 때 마우스를 즉시 안락사시켰다. 종양이 3000mm³에 도달되거나 케양에 임박한 징후를 나타내기 전에 모든

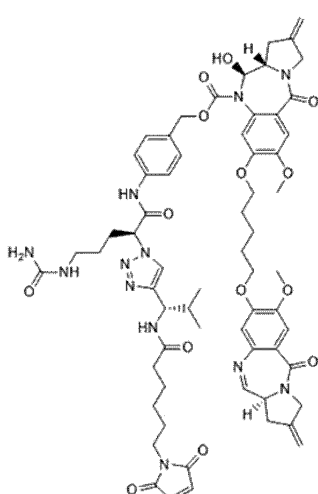
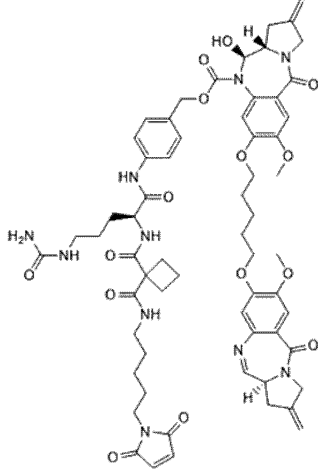
동물을 안락사시켰다.

- [0965] 2. 항-Napi2B 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)의 효능을 OVCAR3-X2.1(인간 난소암)의 마우스 이종이식 모델에서 조사하였다. OVCAR3 세포주를 ATCC(버지니아주 매너서스에 소재한 미국 미생물 보존센터)로부터 얻었고, 하위 계통 OVCAR3-X2.1을 마우스에서의 최적 성장을 위해 제넨테크(Genentech)에서 생성하였다.
- [0966] 암컷 C.B-17 SCID-베이지 마우스(캘리포니아주 샌디에이고에 소재한 찰스 리버 래버러토리즈)를 천만개의 OVCAR3-X2.1 세포를 지니는 가슴 유방 지방 패드 면적에서 각각 접종시켰다. 이종이식 종양이 평균 종양 용적 100 내지 300mm³에 도달되었을 때(제0일로서 지칭함), 동물을 각각 7 내지 10마리 마우스의 그룹으로 무작위화하고 나서, ADC의 단일 정맥내 주사를 받았다. 마우스의 종양 및 체중을 연구 전체적으로 1주 1 내지 2회 측정하였다. 체중손실이 그들의 시작 체중의 20% 초과가 되었을 때 마우스를 즉시 안락사시켰다. 종양이 3000mm³에 도달되거나 궤양에 임박한 징후를 나타내기 전에 모든 동물을 안락사시켰다.
- [0967] 3. 항-CD22 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)의 효능을 BJAB-luc(인간 버킷 림프종) 또는 WSU-DLCL2(인간 미만성 거대 B-세포 림프종)의 마우스 이종이식 모델에서 조사하였다. BJAB 세포주를 DSMZ(독일 브라운슈바이크에 소재한 독일 미생물 및 세포배양물 보존센터)로부터 얻었고, 루시페라제 유전자를 안정하게 발현시키기 위해 하위 계통 BJAB-luc를 제넨테크에서 생성하였다. WSU-DLCL2 세포주를 또한 DSMZ로부터 얻는다.
- [0968] 암컷 C.B-17 SCID 마우스(캘리포니아주 홀리스터에 소재한 찰스 리버 래버러토리즈)를 옆구리 부분에 BJAB-luc 또는 WSU-DLCL2의 2천 만개 세포로 각각 피하 접종하였다. 이종이식 종양이 평균 종양 용적 100 내지 300mm³에 도달되었을 때(제0일로서 지칭함), 동물을 각각 7 내지 10마리 마우스의 그룹으로 무작위화하고 나서, ADC의 단일 정맥내 주사를 받았다. 마우스의 종양 및 체중을 연구 전체적으로 1주 1 내지 2회 측정하였다. 체중손실이 그들의 시작 체중의 20% 초과가 되었을 때 마우스를 즉시 안락사시켰다. 종양이 3000mm³에 도달되거나 궤양에 임박한 징후를 나타내기 전에 모든 동물을 안락사시켰다.
- [0969] 4. 항-Her2 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)의 효능을 MMTV-HER2 창시자 #5(뮤린 유방 종양)의 마우스 이형이식 모델에서 조사한다. MMTV-HER2 창시자 #5(Fo5) 모델(제넨테크에서 발생)은 뮤린 유방 종양 바이러스 프로모터(MMTV-HER2)의 전사 조절 하에 인간 HER2 유전자가 유방 상피에서 과발현되는 유전자이식 마우스 모델이다. 과발현은 인간 HER2 수용체를 과발현시키는 유방 종양의 자발적 발생을 야기한다. 창시자 동물 중 하나로부터의 유방 종양(창시자 #5, Fo5)을 종양 단편의 연속 이식에 의해 FVB 마우스(찰스 리버 래버러토리즈)에서 증식시켰다.
- [0970] 효능 연구를 위해, Fo5 유전자이식 유방 종양을 평균 종양 용적의 크기가 대략 2mm x 2mm인 종양 단편으로서 암컷 nu/nu 마우스(캘리포니아주 홀리스터에 소재한 찰스 리버 래버러토리즈)의 가슴 유방 지방 패드에 수술로 이식한다. 이형이식 종양이 평균 종양 용적 100 내지 300mm³에 도달되었을 때(제0일로서 지칭함), 동물을 각각 7 내지 10마리 마우스의 그룹으로 무작위화하고 나서, ADC의 단일 정맥내 주사를 받았다. 마우스의 종양 및 체중을 연구 전체적으로 1주 1 내지 2회 측정하였다. 체중손실이 그들의 시작 체중의 20% 초과가 되었을 때 마우스를 즉시 안락사시켰다. 종양이 3000mm³에 도달되거나 궤양에 임박한 징후를 나타내기 전에 모든 동물을 안락사시켰다.
- [0971] **생물학적 데이터**

[0972] ADC 링커-약물 구조

실시예	대응하는 ADC	구조	명칭
PBD-LD1	Napi3b PBD ADC1-1		L ₁ 은 절단가능한 링커임

[0973]

PBD-LD2	Napi3b PBD ADC2-1, CD33 CBI- PBD ADC2-2, MUV16 PBD ADC2-4		[4-[[(2S)-2-[4-[(1S)-1-[6-(2,5-다이옥소피롤-1-일)헥산오일아미노]-2-메틸-프로필]트라이아졸-1-일]-5-유레이도-펜탄오일]아미노]페닐]메틸 (6S,6aS)-3-[5-[[(6aS)-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-7,9-다이하이드로-6aH-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-3-일]옥시]펜톡시]-6-하이드록시-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-6,6a,7,9-테트라하이드로피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5-카복실레이트
PBD-LD3	Napi3b PBD ADC3-1 and CD33 CBI- PBD ADC3-2		[4-[[(2S)-2-[[1-[5-(2,5-다이옥소피롤-1-일)펜틸카바모일]사이클로부탄카보닐]아미노]-5-유레이도-펜탄오일]아미노]페닐]메틸 (6S,6aS)-3-[5-[[(6aS)-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-7,9-다이하이드로-6aH-피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-3-일]옥시]펜톡시]-6-하이드록시-2-메톡시-8-메틸렌-11-옥소-6,6a,7,9-테트라하이드로피롤로[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5-카복실레이트

[0974]

[0975] PBD-LD1는 WO 2011/130598의 화합물 87이다.

[0976]

서열

[0977]

NaPi3b 인간화된 항체:

[0978]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 Napi3b 항체는 3개의 경쇄 추가변 영역 및 3개의 중쇄 추가변 영역(서열번호 1 내지 6)을 포함하며, 이들의 서열을 이하에 나타낸다.

[0979]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 Napi3b 항체는 서열번호 7의 가변 경쇄 서열 및 서열번호 8의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

[0980]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 NaPi3b 항체는 서열번호 9의 경쇄 서열 및 서열번호 10의 중쇄 서열을 포함한다.

10H1.11.4B HVR-L1	RSSETLVHSSGNTYLE	서열번호 1
10H1.11.4B HVR-L2	RVSNRFS	서열번호 2
10H1.11.4B HVR-L3	FQGSFNPLT	서열번호 3
10H1.11.4B HVR-H1	GFSFSDFAMS	서열번호 4
10H1.11.4B HVR-H2	ATIGRVAFHTYYPDSMKG	서열번호 5
10H1.11.4B HVR-H3	ARHRGFDVGHFDF	서열번호 6
10H1.11.4B V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSETLVHSSGNTYLEWYQQKPGKAPKLLIYRVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCFQGSFNPLTFGQGQIKVEIKR	서열번호 7
10H1.11.4B V _H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSDFAMSWVRQAPGKGLEWVATIGRVAFHTYYPDSMKGRTISRDNSTNLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHRGFDVGHFDFWGQGITLVTVSS	서열번호 8
10H1.11.4B 경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSETLVHSSGNTYLEWYQQKPGKAPKLLIYRVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCFQGSFNPLTFGQGQIKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	서열번호 9
10H1.11.4B 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSDFAMSWVRQAPGKGLEWVATIGRVAFHTYYPDSMKGRTISRDNSTNLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHRGFDVGHFDFWGQGITLVTVSSCSTKGPSVFPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 10

[0981]

[0982]

항-CD33 인간화 항체:

[0983]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 3개의 경쇄 추가변 영역 및 3개의 중쇄 추가변 영역을 포함하며, 이의 서열(서열번호 11 내지 16)을 이하에 나타낸다.

[0984]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열번호 17의 가변 경쇄 서열 및 서열번호 18의 가변 중쇄

서열을 포함한다.

15G15.33-HVR L1	RSSQSLHNSNGYNYLD	서열번호 11
15G15.33-HVR L2	LGVNSVS	서열번호 12
15G15.33-HVR L3	MQALQTPWT	서열번호 13
15G15.33-HVR H1	NHAIS	서열번호 14
15G15.33-HVR H2	GIIPIFGTANYAQKFQG	서열번호 15
15G15.33-HVR H3	EWADVFDI	서열번호 16
15G15.33-V _L	EIVLTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGVNSVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIK	서열번호 17
15G15.33-V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGIFSNHAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAFMELSSLRSEDTAVYYCAREWADVFDIWGQGTMTVTVSS	서열번호 18

[0985]

[0986]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열번호 19의 경쇄 서열 및 서열번호 20의 중쇄 서열을 포함한다.

[0987]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 3개의 경쇄 추가변 영역 및 3개의 중쇄 추가변 영역을 포함하고, 이의 서열(서열번호 19 내지 24)을 이하에 나타낸다.

[0988]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열번호 25의 가변 경쇄 서열 및 서열번호 26의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

[0989]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열번호 27의 가변 경쇄 서열 및 서열번호 28의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

[0990]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열번호 29의 가변 경쇄 서열 및 서열번호 30의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

[0991]

일 실시형태에서, 본 발명의 ADC의 항-CD33 항체는 서열번호 31의 가변 경쇄 서열 및 서열번호 32의 가변 중쇄 서열을 포함한다.

9C3-HVR L1	RASQGIRNDLG	서열번호 19
9C3-HVR L2	AASSLQS	서열번호 20
9C3-HVR L3	LQHNSYPWT	서열번호 21
9C3-HVR H1	GNYMS	서열번호 22
9C3-HVR H2	LIYSGDSTYYADSVKG	서열번호 23
9C3-HVR H3	DGYYVSDMVV	서열번호 24
9C3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKLEIK	서열번호 25
9C3 V _H	EVQLVESGGGALIQPGGSLRLSCVASGFTISGNYMSWVRQAPGKGLEWVSLIYSGDSTYYADSVKGRFNISSRDISKNTVYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDGYVSDMVVWGKGTTTVTVSS	서열번호 26
9C3.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKLEIK	서열번호 27
9C3.2 V _H	EVQLVESGGGALIQPGGSLRLSCVASGFTISGNYMSWVRQAPGKGLEWVSLIYSGDSTYYADSVKGRFTISRDISKNTVYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDGYVSDMVVWGKGTTTVTVSS	서열번호 28
9C3.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKLEIK	서열번호 29
9C3.3 V _H	EVQLVESGGGALIQPGGSLRLSCVASGFTISGNYMSWVRQAPGKGLEWVSLIYSGDSTYYADSVKGRFSISRDISKNTVYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDGYVSDMVVWGKGTTTVTVSS	서열번호 30
9C3.4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKLEIK	서열번호 31
9C3.4 V _H	EVQLVESGGGALIQPGGSLRLSCVASGFTISGNYMSWVRQAPGKGLEWVSLIYSGDSTYYADSVKGRFAISRDISKNTVYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDGYVSDMVVWGKGTTTVTVSS	서열번호 32

[0992]

[0993]

ADC 시험관내 데이터

[0994]

다음의 ADC를 상기 기재한 시험관내 분석에서 시험하고, 활성이 되는 것을 발견하였다. 상기 ADC의 활성을 이하의 표에서 예시한다.

암호	항체 ID	EOL-1 IC ₅₀ (ng/mL)
Napi3b PBD ADC1-1	10H1.11.4B	NA
gD PBD ADC1-3		NA
Napi3b PBD ADC2-1	10H1.11.4B	NA
CD33 PBD ADC2-2	15G15.33	0.49
MUC16 PBD ADC2-4		196.3
Napi3b PBD ADC3-1	10H1.11.4B	65.2
CD33 PBD ADC3-2	15G15.33	0.18

[0995]

[0996]

ADC 생체내 데이터

[0997]

다음의 ADC를 상기 기재한 생체내 분석에서 시험하고, 활성이 되는 것을 발견하였다. 상기 ADC의 활성을 도 1 내지 3 및 이하의 설명에서 예시한다.

[0998]

도 1은 SCID-베이지 마우스에서 NaPi3b ADC의 OVCAR3X2.1 인간 난소 종양과의 효능 비교를 나타낸다. NaPi3b PBD ADC1-1과 ADC2-1은 둘 다 비히클군에 비해 종양 성장의 용량 의존적 저해를 나타내었다. 비표적 대조군 gD 또는 CD33 PBD ADC는 종양 성장에 대한 현저한 효과를 가졌지만; 그러나, 매칭 용량에서 대응하는 NaPi3b PBD ADC의 효과는 더 우수하였다.

[0999]

도 2는 SCID-베이지 마우스에서 NaPi3b ADC의 OVCAR3X2.1 인간 난소 종양과의 효능 비교를 나타낸다. NaPi3b

PBD ADC1-1과 ADC3-1은 둘 다 비히클군에 비해 종양 성장의 용량 의존적 저해를 나타내었다. 비표적 대조군 CD33 PBD ADC3-2는 종양 성장에 대해 최소 효과를 가졌다.

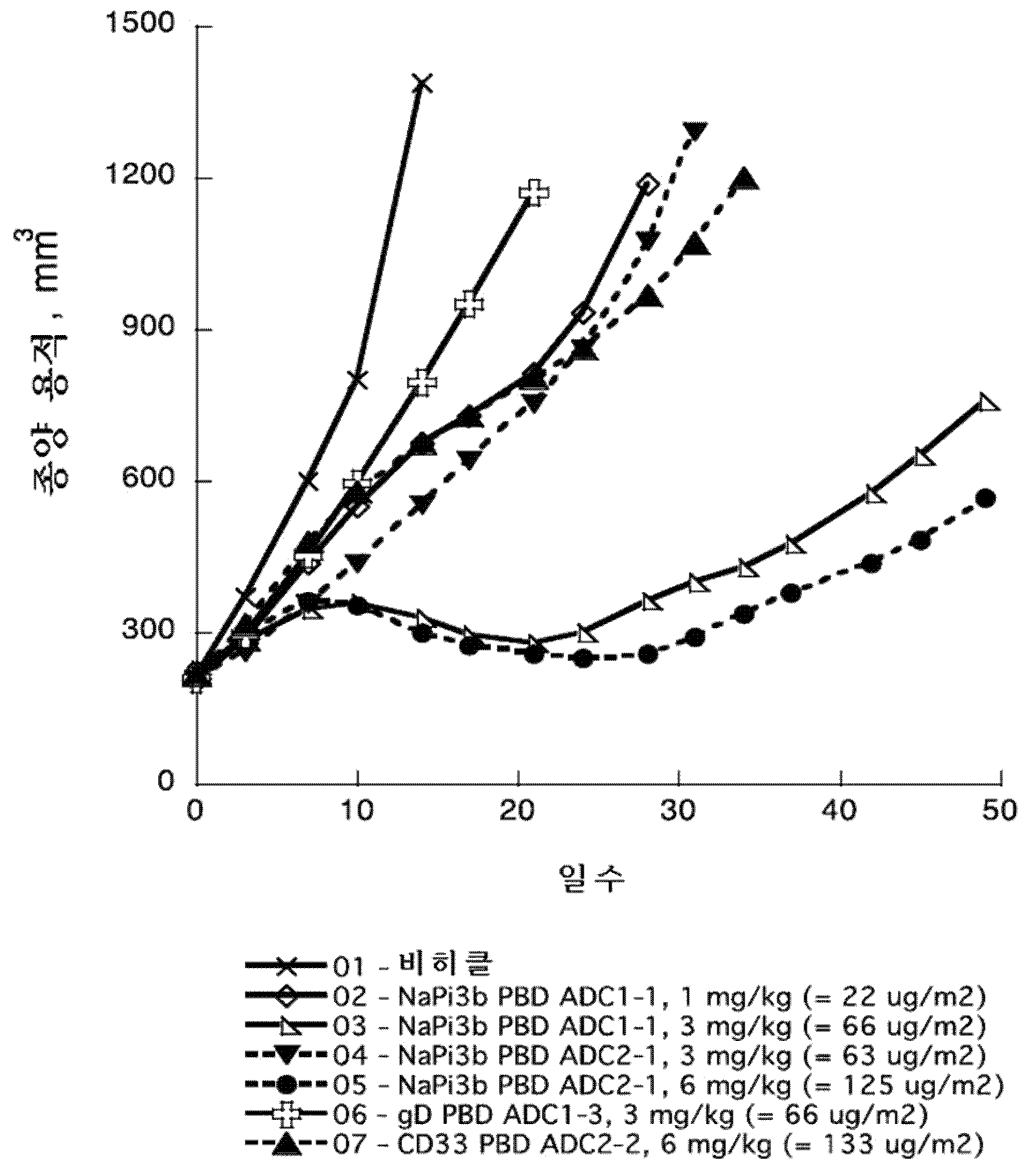
[1000]

도 3은 EOL-1 인간 급성 골수성 백혈병 종양을 지니는 SCID 마우스에서 다양한 용량에서 CD33 PBD ADC2-2의 효능을 나타낸다. CD33 PBD ADC2-2는 종양 성장의 용량 의존적 저해를 입증하였고; 0.2mg/kg의 항체 용량에서 종양 정체 및 0.5mg/kg 이상에서 종양 완화를 야기하였다.

도면

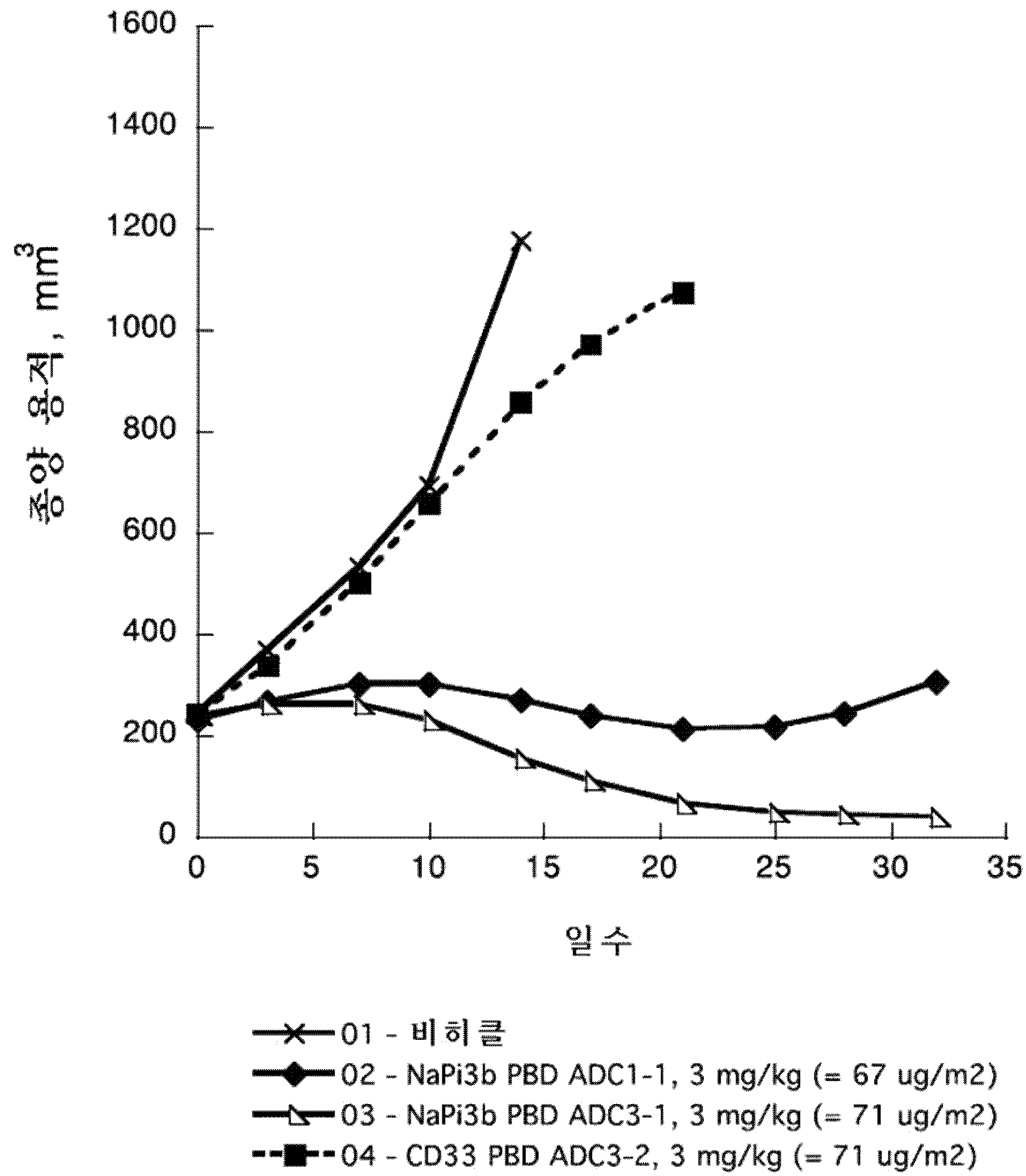
도면1

(OVCAR3X2.1)



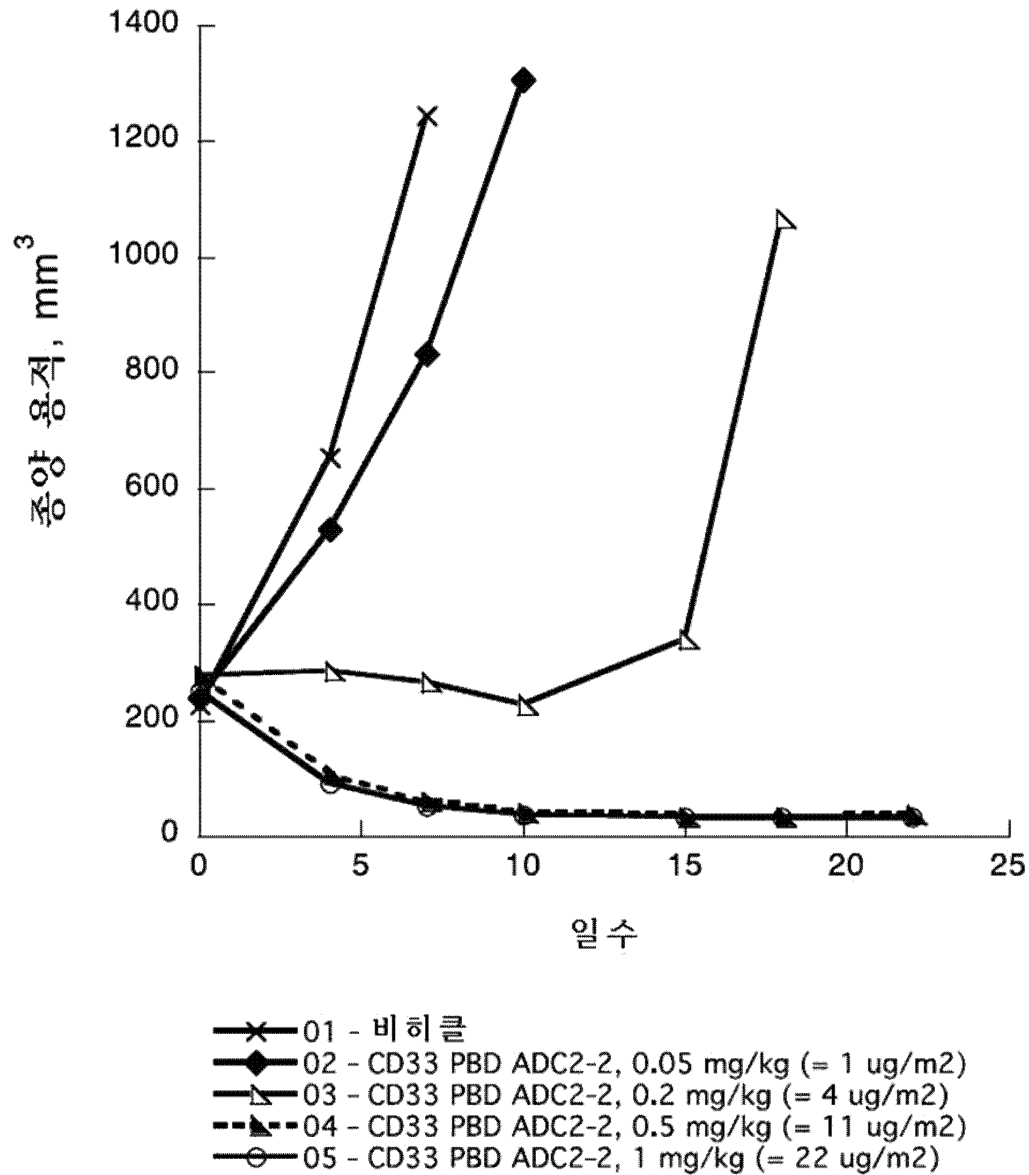
도면2

(OVCAR3X2.1)



도면3

(EOL-1)



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Genentech Inc.

Medimmune Limited

<120> Peptidomimetic Compounds and Antibody - Drug Conjugates Thereof

<130> IPA160578-GB

<140> PCT/US2014/070493

<141> 2014-12-16

<150> US 61/916,675

<151> 2013-12-16

<160> 32

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, light chain
hypervariable region

<400> 1

Arg Ser Ser Glu Thr Leu Val His Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, light chain
hypervariable region

<400> 2

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, light chain
hypervariable region

<400> 3

Phe Gln Gly Ser Phe Asn Pro Leu Thr

1 5

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, heavy chain
hypervariable region

<400> 4

Gly Phe Ser Phe Ser Asp Phe Ala Met Ser

1 5 10

<210> 5

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, heavy chain
hypervariable region

<400> 5

Ala Thr Ile Gly Arg Val Ala Phe His Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Met

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, heavy chain
hypervariable region

<400> 6

Ala Arg His Arg Gly Phe Asp Val Gly His Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 7

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, variable light

chain sequence

<400> 7

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Glu Thr Leu Val His Ser
20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser Phe Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 8

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, variable heavy

chain sequence

<400> 8

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asp Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Gly Arg Val Ala Phe His Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Met
50 55 60

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

<210> 9

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, light chain
sequence

<400> 9

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Glu Thr Leu Val His Ser
20 25 30
Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95
Ser Phe Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

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

180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 10

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: NaPi3b humanized antibody, heavy chain
sequence

<400> 10

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 11
 <211> 16
 <212>
 > PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, light chain
 hypervariable region
 <400> 11
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15
 <210> 12
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, light chain
 hypervariable region
 <400> 12
 Leu Gly Val Asn Ser Val Ser
 1 5

 <210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, light chain
hypervariable region

<400> 13

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, heavy chain
hypervariable region

<400> 14

Asn His Ala Ile Ser

1 5

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, heavy chain
hypervariable region

<400> 15

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, heavy chain
hypervariable region

<400> 16

Glu Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile

1 5

<210> 17

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable light chain sequence

<400> 17

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Val Asn Ser Val Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 18

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable heavy chain sequence

<400> 18

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

1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Asn His
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, light chain
 hypervariable region

<400> 19

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1 5 10

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, light chain
 hypervariable region

<400> 20

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, light chain

 hypervariable region

<400> 21

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 22

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223>

> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, heavy chain

 hypervariable region

<400> 22

Gly Asn Tyr Met Ser

1 5

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, heavy chain

 hypervariable region

<400> 23

Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, heavy chain

hypervariable region

<400> 24

Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val

1 5 10

<210> 25

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable light

chain sequence

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable heavy

chain sequence

<400> 26

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Ile Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Gly Asn

20 25 30

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

35 40 45

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 27

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable light chain sequence

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

<210> 28

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable heavy
 chain sequence

<400> 28

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Ile Gln Pro Gly Gly

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

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

<210> 29

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable light

chain sequence

<400> 29

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 30

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable heavy

chain sequence

<400> 30

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Ile Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Gly Asn

20 25 30

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

35 40 45

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr

100

105

110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 31

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable light
chain sequence

<400> 31

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp

85

90

95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 32

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct: Anti-CD33 humanized antibody, variable heavy chain sequence

<400> 32

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Ile Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Gly Asn

20 25 30

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

35 40 45

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115