



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0040067
(43) 공개일자 2024년03월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) A61K 45/06 (2006.01)
C07H 15/203 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/6849 (2017.08)
A61K 45/06 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7000099
- (22) 출원일자(국제) 2022년06월02일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년01월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2022/055167
- (87) 국제공개번호 WO 2022/254376
국제공개일자 2022년12월08일
- (30) 우선권주장
63/202,273 2021년06월03일 미국(US)
63/282,585 2021년11월23일 미국(US)

- (71) 출원인
오름테라퓨틱 주식회사
대전광역시 유성구 문지로 281-25, 2층(문지동)
브리스틀-마이어스 스쿼프 컴퍼니
미국, 뉴저지 08543-4000, 프린스턴, 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
- (72) 발명자
피쉬킨, 나탄
미국 02142 메사추세츠 캄브릿지 이스트 켄달 스트리트 650 입센 이노베이션 센터/바이오랩스 오름 테라퓨틱스
박, 피터 유.
미국 02142 메사추세츠 캄브릿지 이스트 켄달 스트리트 650 입센 이노베이션 센터/바이오랩스 오름 테라퓨틱스
바이, 첸
미국 02142 메사추세츠 캄브릿지 이스트 켄달 스트리트 650 입센 이노베이션 센터/바이오랩스 오름 테라퓨틱스
- (74) 대리인
양영준, 이귀동

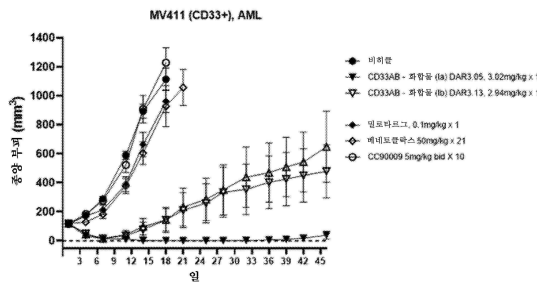
전체 청구항 수 : 총 48 항

(54) 발명의 명칭 **신규분해제 접합체**

(57) 요약

본 개시내용은 신규분해제 및 결합 모이어티에 접합된 신규분해제를 제공한다. 접합체를 포함하는 조성물이 또한 제공된다. 화합물 및 조성물은 질환 또는 상태, 예를 들어 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 상태, 예를 들어 암을 치료하는 데 유용하다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/6803 (2023.08)

A61K 47/6867 (2017.08)

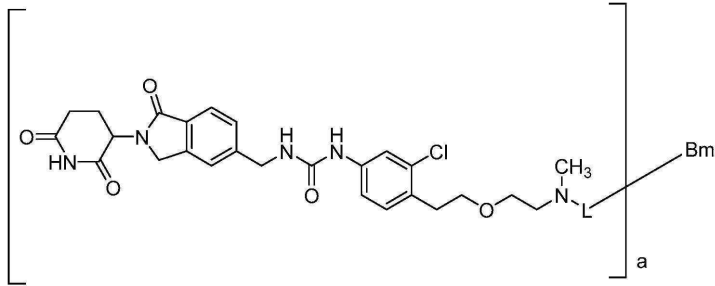
C07H 15/203 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (I)의 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염:

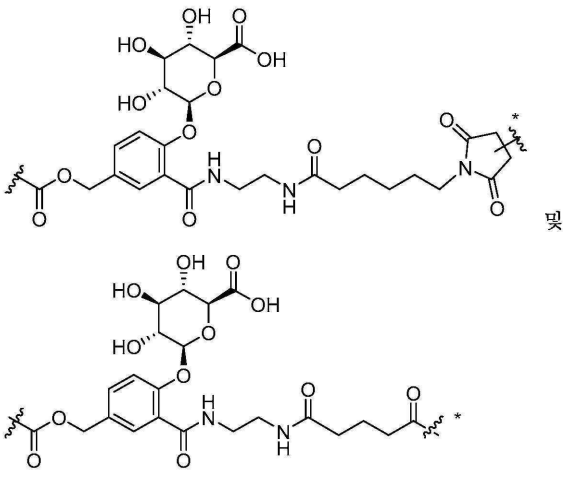


(I)

여기서:

a는 1 내지 10이고;

L은 하기로부터 선택된 링커이고:



여기서:

~ 은 질소 원자에 대한 부착 지점이고;

* ~ 은 Bm에 대한 부착 지점이고;

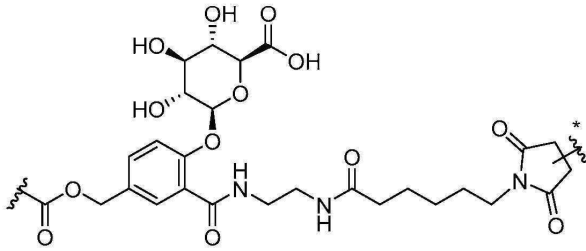
Bm은 세포 표면 항원인 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 결합 모이어티이다.

청구항 2

제1항에 있어서, a가 2 내지 8인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

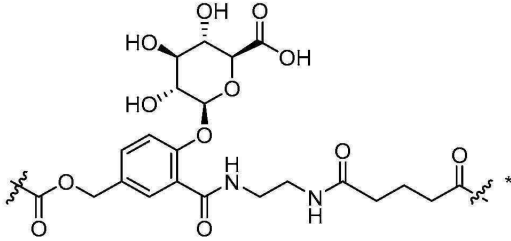
청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, L이 하기인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염:



청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, L이 하기인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염:



청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, Bm이 항체 또는 그의 항원 결합 부분인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 표면 항원이 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 접합체:

5T4, ACE, ADRB3, AKAP-4, ALK, 안드로겐 수용체 AOC3, APP, Axin1, AXL, B7H3, B7-H4, BCL2, BCMA, bcr-abl, BORIS, BST2, C242, C4.4a, CA 125, CA6, CA9, CAIX, CCL11, CCR5, CD123, CD133, CD138, CD142, CD15, CD15-3, CD171, CD179a, CD18, CD19, CD19-9, CD2, CD20, CD22, CD23, CD24, CD25, CD27L, CD28, CD3, CD30, CD31, CD300LF, CD33, CD352, CD37, CD38, CD4, CD40, CD41, CD44, CD44v6, CD5, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD71, CD72, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD90, CD97, CD125, CD138, CD141, CD147, CD152, CD154, CD326, CEA, CEACAM5, CFTR, 응집 인자, cKit, 클라우딘 3, 클라우딘 18.2, CLDN6, CLEC12A, CLL-1, c113, c-MET, 크립토 1 성장 인자, CS1, CTLA-4, CXCR2, CXORF61, 시클린 B1, CYP1B1, 카드헤린-3, 카드헤린-6, DLL3, E7, EDNRB, EFNA4, EGFR, EGFRvIII, ELF2M, EMR2, ENPP3, EPCAM, EphA2, 에프린 A4, 에프린 B2, EPHB4, ERBB2 (Her2/neu), ErbB3, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), ETBR, ETV6-AML, FAP, FCAR, FCRL5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, 플레이트 수용체 알파, 플레이트 수용체 베타, FOLR1, Fos-관련 항원 1, 푸코실 GM1, GCC, GD2, GD3, 글로보H, GM3, GPC1, GPC2, GPC3, gp100, GPNMB, GPR20, GPRC5D, GUCY2C, HAVCR1, HER2, HER3, HGF, HMI.24, HMWMAA, HPV E6, hTERT, ICAM, ICOS-L, IFN- α , IFN- γ , IGF-I 수용체, IGLL1, IL-2 수용체 (IL-2R α (즉, CD25), IL-2R β (즉, CD122), IL-2R γ (즉, CD132)), IL-4 수용체 (IL-4R, IL-2R γ /IL-13R α 1), IL-13 수용체 (IL-13R α 1, IL-13R α 2, IL-4R) IL-1 수용체 (IL-11Ra), IL-12 수용체 (IL-12R β 1, IL-12R β 2), IL-23 수용체 (IL-12R β 1, IL-23R), IL-22 수용체 (IL-22R α 1, IL-22R α 2, IL-10R β), IL-5 수용체 (IL-5R α , CSF2RB), IL-6 수용체 (IL-6R α , gp130), 인터페론 수용체, 인테그린 (예컨대 α 4, α v β 3, α v β 5, α v β 6, α 1 β 4, α 4 β 1, α 4 β 7, α 5 β 1, α 6 β 4, α 11b β 3 인테그린), 인테그린 알파V, 장 카르복실 에스테라제, KIT, LAGE-1a, LAIR1, LAMP-1, LCK, 레구마인, 루이스Y, LFA-1(CD11a), L-셀렉틴(CD62L), LILRA2, LIV-1, LMP2, LRRC15, LY6E, LY6K, LY75, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE A1, 멜란A/MART1, 메소텔린, ML-IAP, MSLN, 뮤신, MUC1, MUC16, mut hsp70-2, MYCN, 미오스타틴, NA17, NaPi2b, NCA-90, NCAM, 넥틴-4, NGF, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NY-BR-1, NY-ESO-1, o-아세틸-GD2, OR51E2, OY-YES1, p53, p53 돌연변이체, PANX3, PAP, PAX3, PAX5, p-CAD, PCTA- 1/갈락틴 8, PD-L1, PD-L2, PDGFR, PDGFR-베타, 포스포티딜세린, PIK3CA, PLAC1, 폴리시알산, 프로스타제, 프로스테인, 서바이빈 및 텔로머라제, PRSS21, PSCA, PSMA, PTK7, RAGE-1, RANKL, Ras 돌연변이체, 레서스 인자, RhoC, RON, ROR1, ROR2, RU1, RU2, SART3, SLAMF7, SLC44A4,

SLITRK6, 정자 단백질 17, 스펅고신-1-포스페이트, SSEA-4, SSX2, STEAP1, TAG72, TARP, TCR β , TEM1/CD248, TEM7R, 테나신 C, TF, TGF-1, TGF- β 2, TNF- α , TGS5, Tie 2, TIM-1, Tn Ag, TRAC, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TROP-2, TRP-2, TRPV1, TSHR, 종양 항원 CTA16.88, 티로시나제, UPK2, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, 비멘틴, 및 WT1, XAGE1.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 표면 항원이 HER2, CD20, CD38, CD33, BCMA, CD138, EGFR, FGFR4, GD2, PDGFR, TEM1/CD248 및 TROP-2로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 표면 항원이 CD33인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 9

제5항에 있어서, 항체가 리톡시맙, 트라스투주맙, 겐투주맙, CD33AB, 페르투주맙, 오비누투주맙, 오파투무맙, 올라라투맙, 온톡시맙, 이사톡시맙, 사시투주맙, U3-1784, 다라투무맙, STI-6129, 린투주맙, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, 발란타맙, 인다톡시맙, 세톡시맙, 디누톡시맙, 항-CD38 A2 항체, HuAT13/5 항체, 알렘투주맙, 이브리투모맙, 토시투모맙, 베바시주맙, 파니투무맙, 트레멜리무맙, 티실리무맙, 카투막소맙, 오레고보맙 및 벨투주맙으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 10

제5항에 있어서, 항체가 리톡시맙, 트라스투주맙, 페르투주맙, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, CD33AB, 린투주맙 또는 겐투주맙인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 11

제5항에 있어서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분이 서열식별번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 상보성 결정 영역 (CDR) 1 (VH-CDR1), 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) CDR1 (VL-CDR1), 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 12

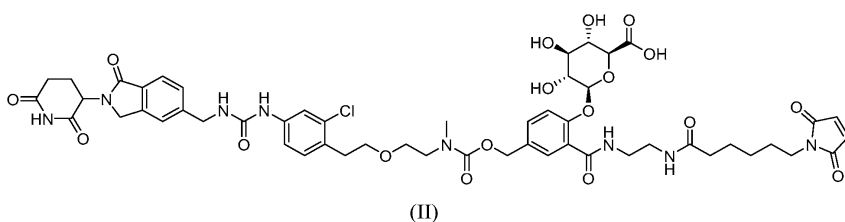
제12항에 있어서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분이 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 13

제11항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

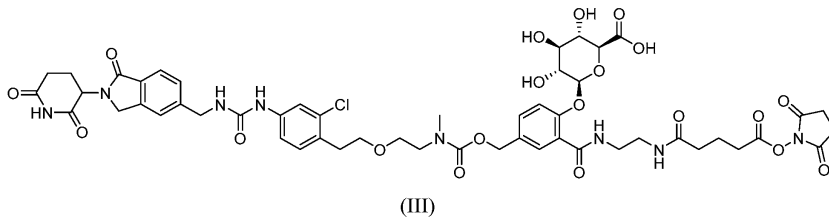
청구항 14

하기 화학식 (II)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염:



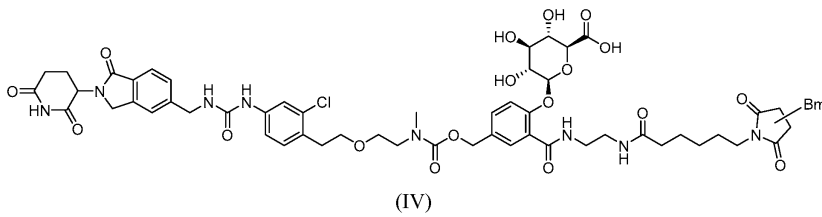
청구항 15

하기 화학식 (III)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염:



청구항 16

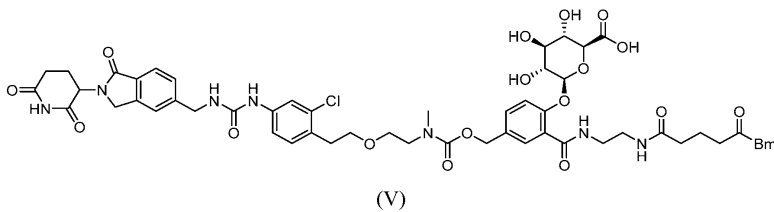
하기 화학식 (IV)의 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염:



여기서 Bm은 세포 표면 항원인 단백질에 특이적으로 결합하는 결합 모이어티이다.

청구항 17

하기 화학식 (V)의 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염:



여기서 Bm은 세포 표면 항원인 단백질에 특이적으로 결합하는 결합 모이어티이다.

청구항 18

제16항 또는 제17항에 있어서, Bm이 항체 또는 그의 항원 결합 부분인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 19

제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 표면 항원이 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 접합체:

5T4, ACE, ADRB3, AKAP-4, ALK, 안드로젠 수용체 AOC3, APP, Axin1, AXL, B7H3, B7-H4, BCL2, BCMA, bcr-abl, BORIS, BST2, C242, C4.4a, CA 125, CA6, CA9, CAIX, CCL11, CCR5, CD123, CD133, CD138, CD142, CD15, CD15-3, CD171, CD179a, CD18, CD19, CD19-9, CD2, CD20, CD22, CD23, CD24, CD25, CD27L, CD28, CD3, CD30, CD31, CD300LF, CD33, CD352, CD37, CD38, CD4, CD40, CD41, CD44, CD44v6, CD5, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD71, CD72, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD90, CD97, CD125, CD138, CD141, CD147, CD152, CD154, CD326, CEA, CEACAM5, CFTR, 응집 인자, cKit, 클라우딘 3, 클라우딘 18.2, CLDN6, CLEC12A, CLL-1, c113, c-MET, 크립토 1 성장 인자, CS1, CTLA-4, CXCR2, CXORF61, 시클린 B1, CYP1B1, 카드헤린-3, 카드헤린-6, DLL3, E7, EDNRB, EFNA4, EGFR, EGFRvIII, ELF2M, EMR2, ENPP3, EPCAM, EphA2, 에프린 A4, 에프린 B2, EPHB4, ERBB2 (Her2/neu), ErbB3, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), ETBR, ETV6-AML, FAP, FCAR, FCRL5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, 플레이트 수용체 알파, 플레이트 수용체 베타, FOLR1, Fos-관련 항원 1, 푸코실 GM1, GCC, GD2, GD3, 글로보H, GM3, GPC1, GPC2, GPC3, gp100, GPNMB, GPR20, GPRC5D, GUCY2C, HAVCR1, HER2, HER3, HGF, HMI.24, HMWMAA, HPV E6, hTERT, ICAM, ICOS-L, IFN- α, IFN- γ, IGF-I 수용체,

IGLL1, IL-2 수용체 (IL-2R α (즉, CD25), IL-2R β (즉, CD122), IL-2R γ (즉, CD132)), IL-4 수용체 (IL-4R, IL-2R γ /IL-13R α 1), IL-13 수용체 (IL-13R α 1, IL-13R α 2, IL-4R) IL-1 수용체 (IL-1 β 1Ra), IL-12 수용체 (IL-12R β 1, IL-12R β 2), IL-23 수용체 (IL-12R β 1, IL-23R), IL-22 수용체 (IL-22R α 1, IL-22R α 2, IL-10R β), IL-5 수용체 (IL-5R α , CSF2RB), IL-6 수용체 (IL-6R α , gp130), 인터페론 수용체, 인테그린 (예컨대 α ₄, α _v β ₃, α _v β ₅, α _v β ₆, α ₁ β ₄, α ₄ β ₁, α ₄ β ₇, α ₅ β ₁, α ₆ β ₄, α _{11b} β ₃ 인테그린), 인테그린 알파V, 장 카르복실 에스테라제, KIT, LAGE-1a, LAIR1, LAMP-1, LCK, 레구마인, 루이스Y, LFA-1(CD11a), L-셀렉틴(CD62L), LILRA2, LIV-1, LMP2, LRRC15, LY6E, LY6K, LY75, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE A1, 멜란A/MART1, 메소텔린, ML-IAP, MSLN, 뮤신, MUC1, MUC16, mut hsp70-2, MYCN, 미오스타틴, NA17, NaPi2b, NCA-90, NCAM, 넥틴-4, NGF, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NY-BR-1, NY-ESO-1, o-아세틸-GD2, OR51E2, OY-TES1, p53, p53 돌연변이체, PANX3, PAP, PAX3, PAX5, p-CAD, PCTA- 1/갈락틴 8, PD-L1, PD-L2, PDGFR, PDGFR-베타, 포스포티딜세린, PIK3CA, PLAC1, 폴리시알산, 프로스타제, 프로스테인, 서바이빈 및 텔로머라제, PRSS21, PSCA, PSMA, PTK7, RAGE-1, RANKL, Ras 돌연변이체, 레서스 인자, RhoC, RON, ROR1, ROR2, RU1, RU2, SART3, SLAMF7, SLC44A4, SLITRK6, 정자 단백질 17, 스프고신-1-포스페이트, SSEA-4, SSX2, STEAP1, TAG72, TARP, TCR β , TEM1/CD248, TEM7R, 테나신 C, TF, TGF-1, TGF- β 2, TNF- α , TGS5, Tie 2, TIM-1, Tn Ag, TRAC, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TROP-2, TRP-2, TRPV1, TSHR, 중앙 항원 CTAA16.88, 티로시나제, UPK2, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, 비렌틴, WT1, 및 XAGE1.

청구항 20

제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 표면 항원이 HER2, CD20, CD38, CD33, BCMA, CD138, EGFR, FGFR, GD2, PDGFR, TEM1/CD248 및 TROP-2로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 21

제18항에 있어서, 항체가 리톡시맙, 트라스투주맙, 겐투주맙, 페르투주맙, 오비누투주맙, 오파투주맙, 올라라투맙, 온톡시맙, 이사톡시맙, 사시투주맙, U3-1784, 다라투무맙, STI-6129, 린투주맙, huMy9-6, huMY9-6-IgG4-S228P, 발란타맙, 인다톡시맙, 세톡시맙, 디누톡시맙, 항-CD38 A2 항체, HuAT13/5 항체, CD33AB, 알렘투주맙, 이브리투모맙, 토시투모맙, 베바시주맙, 파니투무맙, 트레멜리무맙, 티실리무맙, 카투막소맙, 오레고보맙 또는 벨투주맙을 포함하는 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 22

제21항에 있어서, 항체가 리톡시맙, 트라스투주맙, 페르투주맙, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, CD33AB, 린투주맙 또는 겐투주맙인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 23

제18항에 있어서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분이 서열식별번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1, 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 24

제19항에 있어서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분이 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 25

제22항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항의 접합체 또는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 27

암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 제약상 허용되는 양의 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 접합체, 화합물 또는 조성물, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 암이 고형 종양인 방법.

청구항 29

제27항에 있어서, 혈액학적/혈액암인 방법.

청구항 30

제27항에 있어서, 암이 유방암, 위암, 림프종, 급성 골수성 백혈병, 다발성 골수종, 두경부암, 편평 세포 암종 및/또는 간세포성 암종인 방법.

청구항 31

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 밀로타르그(Mylotarg)에 대해 불응성 또는 저항성인 방법.

청구항 32

골수이형성 증후군 (MDS)의 치료를 필요로 하는 대상체에게 제약상 허용되는 양의 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 접합체, 화합물 또는 조성물, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 골수이형성 증후군 (MDS)을 치료하는 방법.

청구항 33

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 제1항 내지 제26항 중 어느 한 항의 접합체, 화합물 또는 조성물, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 전에, 후에, 또는 그와 동시에 제약상 허용되는 양의 추가의 작용제를 대상체에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 추가의 작용제가 세포독성제 또는 면역 반응 조절제인 방법.

청구항 35

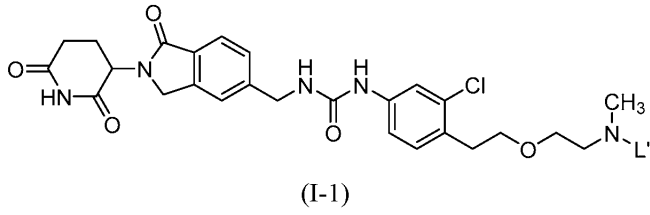
제34항에 있어서, 면역 반응 조절제가 체크포인트 억제제인 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 체크포인트 억제제가 PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, TIM3 억제제 및/또는 LAG-3 억제제를 포함하는 것인 방법.

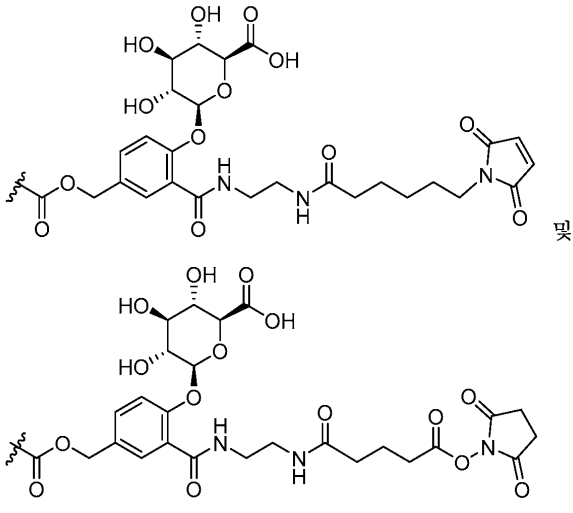
청구항 37

결합 모이어티를 하기 화학식 (I-1)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 반응시키는 것을 포함하는, 제1항의 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제조하는 방법:



여기서:

L'는 하기로부터 선택되고:



여기서:

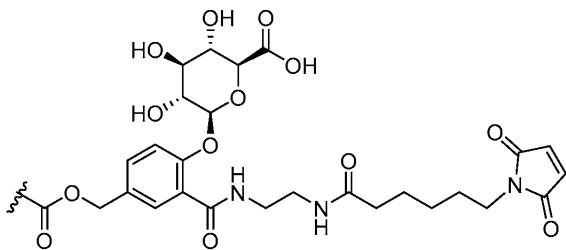
은 질소 원자에 대한 부착 지점이다.

청구항 38

제37항에 있어서, 화학식 (I-1)의 화합물과 반응시키기 전에 결합 모이어티를 환원시키는 것을 추가로 포함하는 방법.

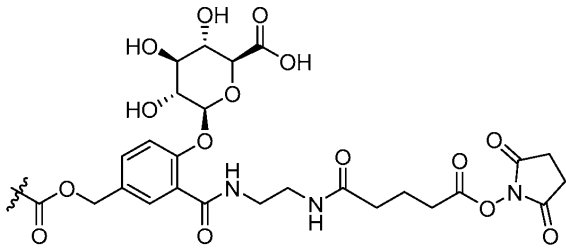
청구항 39

제37항 또는 제38항에 있어서, L'가 하기인 방법:



청구항 40

제37항 또는 제38항에 있어서, L'가 하기인 방법:



청구항 41

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (I-1)의 화합물을 항체 또는 그의 항원 결합 부분을 포함하는 결합 모이어티와 반응시키는 방법.

청구항 42

제37항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 모이어티가 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 표면 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 것인 방법:

5T4, ACE, ADRB3, AKAP-4, ALK, 안드로겐 수용체, AOC3, APP, Axin1, AXL, B7H3, B7-H4, BCL2, BCMA, bcr-abl, BORIS, BST2, C242, C4.4a, CA 125, CA6, CA9, CAIX, CCL11, CCR5, CD123, CD133, CD138, CD142, CD15, CD15-3, CD171, CD179a, CD18, CD19, CD19-9, CD2, CD20, CD22, CD23, CD24, CD25, CD27L, CD28, CD3, CD30, CD31, CD300LF, CD33, CD352, CD37, CD38, CD4, CD40, CD41, CD44, CD44v6, CD5, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD71, CD72, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD90, CD97, CD125, CD138, CD141, CD147, CD152, CD154, CD326, CEA, CEACAM5, CFTR, 응집 인자, cKit, 클라우딘 3, 클라우딘 18.2, CLDN6, CLEC12A, CLL-1, c113, c-MET, 크립토 1 성장 인자, CS1, CTLA-4, CXCR2, CXORF61, 시클린 B1, CYP1B1, 카드헤린-3, 카드헤린-6, DLL3, E7, EDNRB, EFNA4, EGFR, EGFRvIII, ELF2M, EMR2, ENPP3, EPCAM, EphA2, 에프린 A4, 에프린 B2, EPHB4, ERBB2 (Her2/neu), ErbB3, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), ETBR, ETV6-AML, FAP, FCAR, FCRL5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, 플레이트 수용체 알파, 플레이트 수용체 베타, FOLR1, Fos-관련 항원 1, 푸코실 GM1, GCC, GD2, GD3, 글로보H, GM3, GPC1, GPC2, GPC3, gp100, GPNMB, GPR20, GPRC5D, GUCY2C, HAVCR1, HER2, HER3, HGF, HMI.24, HMWMAA, HPV E6, hTERT, ICAM, ICOS-L, IFN- α , IFN- γ , IGF-1 수용체, IGLL1, IL-2 수용체 (IL-2R α (즉, CD25), IL-2R β (즉, CD122), IL-2R γ (즉, CD132)), IL-4 수용체 (IL-4R, IL-2R γ /IL-13R α 1), IL-13 수용체 (IL-13R α 1, IL-13R α 2, IL-4R) IL-1 수용체 (IL-1 1Ra), IL-12 수용체 (IL-12R β 1, IL-12R β 2), IL-23 수용체 (IL-12R β 1, IL-23R), IL-22 수용체 (IL-22R α 1, IL-22R α 2, IL-10R β), IL-5 수용체 (IL-5R α , CSF2RB), IL-6 수용체 (IL-6R α , gp130), 인터페론 수용체, 인테그린 (예컨대 α 4, α v β 3, α v β 5, α v β 6, α 1 β 4, α 4 β 1, α 4 β 7, α 5 β 1, α 6 β 4, α 11b β 3 인테그린), 인테그린 알파V, 장 카르복실 에스테라제, KIT, LAGE-1a, LAIR1, LAMP-1, LCK, 레구마인, 루이스Y, LFA-1(CD11a), L-셀렉틴(CD62L), LILRA2, LIV-1, LMP2, LRRC15, LY6E, LY6K, LY75, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE A1, 멜란A/MART1, 메소텔린, ML-IAP, MSLN, 뮤신, MUC1, MUC16, mut hsp70-2, MYCN, 미오스타틴, NA17, NaPi2b, NCA-90, NCAM, 넥틴-4, NGF, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NY-BR-1, NY-ESO-1, o-아세틸-GD2, OR51E2, OY-TES1, p53, p53 돌연변이체, PANX3, PAP, PAX3, PAX5, p-CAD, PCTA-1/갈락틴 8, PD-L1, PD-L2, PDGFR, PDGFR-베타, 포스포티딜세린, PIK3CA, PLAC1, 폴리시알산, 프로스타제, 프로스테인, 서바이빈 및 텔로머라제, PRSS21, PSCA, PSMA, PTK7, RAGE-1, RANKL, Ras 돌연변이체, 레서스 인자, RhoC, RON, ROR1, ROR2, RU1, RU2, SART3, SLAMF7, SLC44A4, SLITRK6, 정자 단백질 17, 스팅고신-1-포스페이트, SSEA-4, SSX2, STEAP1, TAG72, TARP, TCR β , TEM1/CD248, TEM7R, 테나신 C, TF, TGF-1, TGF- β 2, TNF- α , TGS5, Tie 2, TIM-1, Tn Ag, TRAC, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TROP-2, TRP-2, TRPV1, TSHR, 종양 항원 CTAA16.88, 티로시나제, UPK2, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, 비멘틴, WT1, 및 XAGE1.

청구항 43

제42항에 있어서, 표면 항원이 HER2, CD20, CD38, CD33, BCMA, CD138, EGFR, FGFR4, GD2, PDGFR, TEM1/CD248 및 Trop-2로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 44

제41항에 있어서, 항체가 리톡시맙, 트라스투주맙, 겐투주맙, 페르투주맙, 오비누투주맙, 오파투무맙, 올라라투맙, 온톡시맙, 이사톡시맙, 사시투주맙, U3-1784, 다라투무맙, STI-6129, 린투주맙, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, 발란타맙, 인다톡시맙, 세톡시맙, 디누톡시맙, 항-CD38 A2 항체, CD33AB, HuAT13/5 항체, 알렘투주맙, 이브리투모맙, 토시투모맙, 베바시주맙, 파니투무맙, 트레멜리무맙, 티실리무맙, 카투막소맙, 오레고보맙 또는 벨투주맙을 포함하는 것인 방법.

청구항 45

제41항에 있어서, 항체가 리톡시맙, 트라스투주맙, 페르투주맙, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, CD33AB, 린투주맙 또는 겐투주맙인 방법.

청구항 46

제41항에 있어서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분이 서열식별번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1, 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 것인 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분이 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 것인 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 전자적으로 제출된 서열 목록에 대한 참조
- [0002] 본 출원과 함께 출원된 ASCII 텍스트 파일 (명칭 4547_016PC02_Seqlisting_ST25; 크기: 24,777 바이트; 및 생성일: 2022년 5월 31일)의 전자적으로 제출된 서열 목록의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 기술분야
- [0004] 본 개시내용은 신규분해제가 결합 모이어티에 접합된 신규분해제 접합체를 제공한다. 접합체를 포함하는 조성물이 또한 제공된다. 접합체 및 조성물은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 데 유용하다.

배경 기술

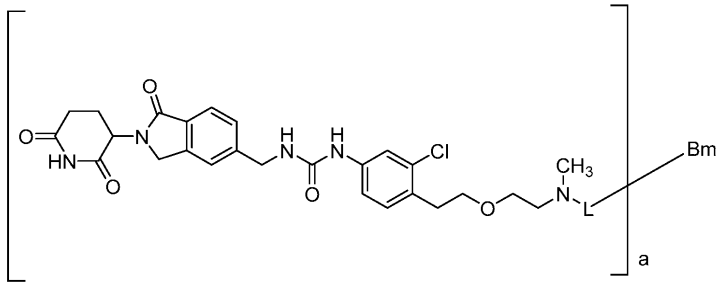
- [0005] 단백질 분해는 면역조정 이미드 약물의 유효성으로 인해 치료 전략으로서 검증되어 있다. 이들 화합물은 세레블론 (CRBN)에 결합하고, CRL4^{CRBN} E3 유비퀴틴 리가제에 의해 매개되는 기질 단백질의 동원 및 유비퀴틴화를 촉진하는 능력을 갖는다. 면역조정 이미드는 리가제와 신규기질 사이의 단백질 상호작용을 재프로그래밍하는 소수성 패치로서 결합 계면을 채우는 "분자 글루"로서 작용하는 것으로 여겨진다.
- [0006] 암에 대한 신규 치료로서의 이들 화합물에 대한 열망에도 불구하고, 현재까지 이들은 혈액 악성종양 예컨대 다발성 골수종 및 골수이형성 증후군 (MDS)에서의 사용으로 제한되어 있다. 다른 종양단백질을 분해함으로써 기 능할 수 있는 화합물 (이들 중 다수는 '약물화불가능한' 것으로 간주됨)의 라이브러리를 확장시키는 것은 약물 개발의 활발한 영역이다. 따라서, 이들 대안적 종양단백질을 표적화하고 광범위한 암을 치료할 수 있는 신규 화합물에 대한 지속적인 필요가 존재한다.

발명의 내용

- [0007] 소분자 GSPT1 분해제를 사용한 암 환자의 치료는 임상 반응을 유도하는 것으로 밝혀졌지만, 중증 유해 사건

(AE)과 연관되어 있다. 암은 종종 건강한 세포 상에서 발현되지 않거나 또는 훨씬 더 낮은 수준으로 발현되는 항원을 그의 표면 상에 발현한다. 본 발명은 GSPT1 분해 페이로드 분자를 암 세포 상의 세포 표면 항원에 결합하는 항체와 조합하는 것이 GSPT1 분해제의 임상 효능 및 내약성 둘 다를 개선시킬 수 있다는 발견에 기초한다.

[0008] 특정 측면에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (I)의 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:



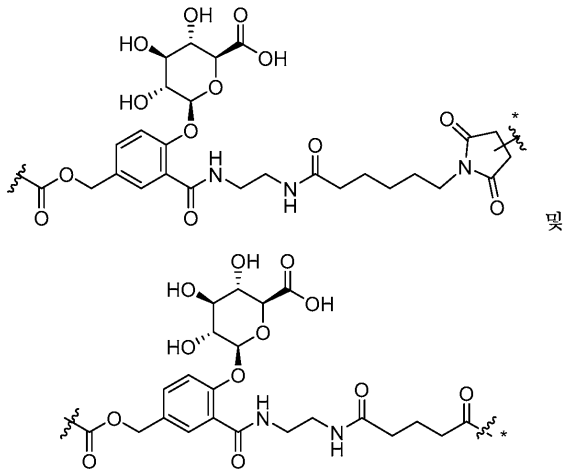
(I)

[0009]

[0010] 여기서:

[0011] a는 1 내지 10이고;

[0012] L은 하기로부터 선택된 링커이고:



[0013]

[0014] 여기서:

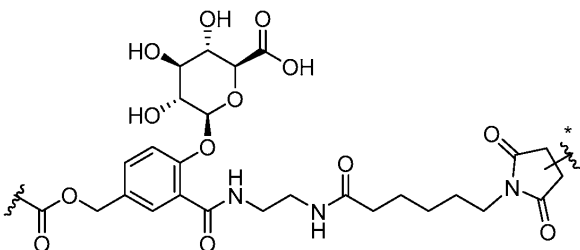
[0015] \sim 은 질소 원자에 대한 부착 지점이고;

[0016] \sim^* 은 Bm에 대한 부착 지점이고;

[0017] Bm은 단백질, 예를 들어 세포 표면 항원인 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 결합 모이어티이다.

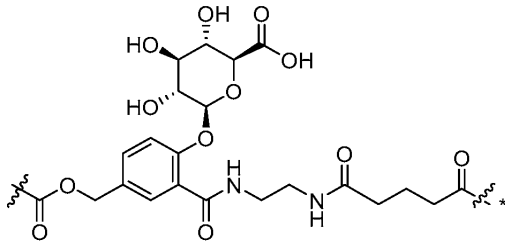
[0018] 특정 측면에서, 결합 모이어티는 항체, 항체 단편, 또는 항원-결합 단편이다. 일부 측면에서, a는 2 내지 8이다.

[0019] 일부 측면에서, L은 하기이다:



[0020]

[0021] 일부 측면에서, L은 하기이다:



[0022]

[0023] 일부 측면에서, Bm은 항체 또는 그의 항원 결합 부분이다. 일부 측면에서, 결합 모이어티가 결합하는 단백질은 표면 항원이다. 일부 측면에서, 표면 항원은 하기를 포함한다:

[0024]

5T4, ACE, ADRB3, AKAP-4, ALK, 안드로겐 수용체 AOC3, APP, Axin1, AXL, B7H3, B7-H4, BCL2, BCMA, bcr-abl, BORIS, BST2, C242, C4.4a, CA 125, CA6, CA9, CAIX, CCL11, CCR5, CD123, CD133, CD138, CD142, CD15, CD15-3, CD171, CD179a, CD18, CD19, CD19-9, CD2, CD20, CD22, CD23, CD24, CD25, CD27L, CD28, CD3, CD30, CD31, CD300LF, CD33, CD352, CD37, CD38, CD4, CD40, CD41, CD44, CD44v6, CD5, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD71, CD72, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD90, CD97, CD125, CD138, CD141, CD147, CD152, CD154, CD326, CEA, CEACAM5, CFTR, 응집 인자, cKit, 클라우딘 3, 클라우딘 18.2, CLDN6, CLEC12A, CLL-1, c113, c-MET, 크립토 1 성장 인자, CS1, CTLA-4, CXCR2, CXORF61, 시클린 B1, CYP1B1, 카드헤린-3, 카드헤린-6, DLL3, E7, EDNRB, EFNA4, EGFR, EGFRvIII, ELF2M, EMR2, ENPP3, EPCAM, EphA2, 에프린 A4, 에프린 B2, EPHB4, ERBB2 (Her2/neu), ErbB3, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), ETBR, ETV6-AML, FAP, FCAR, FCRL5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, 플레이트 수용체 알파, 플레이트 수용체 베타, FOLR1, Fos-관련 항원 1, 푸코실 GM1, GCC, GD2, GD3, 글로보H, GM3, GPC1, GPC2, GPC3, gp100, GPNMB, GPR20, GPRC5D, GUCY2C, HAVCR1, HER2, HER3, HGF, HMI.24, HMWMAA, HPV E6, hTERT, ICAM, ICOS-L, IFN- α , IFN- γ , IGF-1 수용체, IGLL1, IL-2 수용체 (IL-2R α (즉, CD25), IL-2R β (즉, CD122), IL-2R γ (즉, CD132)), IL-4 수용체 (IL-4R, IL-2R γ /IL-13R α 1), IL-13 수용체 (IL-13R α 1, IL-13R α 2, IL-4R) IL-1 수용체 (IL-1 α), IL-12 수용체 (IL-12R β 1, IL-12R β 2), IL-23 수용체 (IL-12R β 1, IL-23R), IL-22 수용체 (IL-22R α 1, IL-22R α 2, IL-10R β), IL-5 수용체 (IL-5R α , CSF2RB), IL-6 수용체 (IL-6R α , gp130), 인터페론 수용체, 인테그린 (예컨대 α ₄, α _v β ₃, α _v β ₅, α _v β ₆, α ₁ β ₄, α ₄ β ₁, α ₄ β ₇, α ₅ β ₁, α ₆ β ₄, α _{11b} β ₃ 인테그린), 인테그린 알파V, 장 카르복실 에스테라제, KIT, LAGE-1a, LAIR1, LAMP-1, LCK, 레구마인, 루이스Y, LFA-1(CD11a), L-셀렉틴(CD62L), LILRA2, LIV-1, LMP2, LRRIC15, LY6E, LY6K, LY75, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE A1, 멜란A/MART1, 메소텔린, ML-IAP, MSLN, 뮤신, MUC1, MUC16, mut hsp70-2, MYCN, 미오스타틴, NA17, NaPi2b, NCA-90, NCAM, 넥틴-4, NGF, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NY-BR-1, NY-ESO-1, o-아세틸-GD2, OR51E2, OY-TES1, p53, p53 돌연변이체, PANX3, PAP, PAX3, PAX5, p-CAD, PCTA-1/갈락틴 8, PD-L1, PD-L2, PDGFR, PDGFR-베타, 포스포티딜세린, PIK3CA, PLAC1, 폴리시알산, 프로스타제, 프로스테인, 서바이빈 및 텔로머라제, PRSS21, PSCA, PSMA, PTK7, RAGE-1, RANKL, Ras, Ras 돌연변이체, 레서스 인자, RhoC, RON, ROR1, ROR2, RU1, RU2, SART3, SLAMF7, SLC44A4, SLITRK6, 정자 단백질 17, 스펅고신-1-포스페이트, SSEA-4, SSX2, STEAP1, TAG72, TARP, TCR β , TEM1/CD248, TEM7R, 테나신 C, TF, TGF-1, TGF- β 2, TNF- α , TGS5, Tie 2, TIM-1, Tn Ag, TRAC, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TROP-2, TRP-2, TRPV1, TSHR, 종양 항원 CTA16.88, 티로시나제, UPK2, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, 비멘틴, WT1, XAGE1, 또는 그의 조합.

[0025]

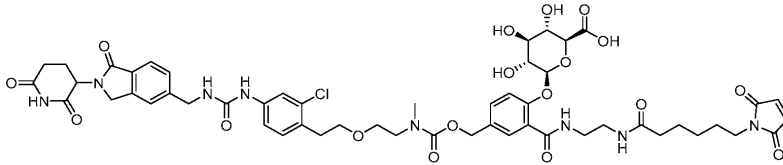
일부 측면에서, 표면 항원은 HER2, CD20, CD38, CD33, BCMA, CD138, EGFR, FGFR4, GD2, PDGFR, TEM1/CD248, TROP-2, 또는 그의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 표면 항원은 CD33을 포함한다.

[0026]

일부 측면에서, 항체는 리톡시맙, 트라스투주맙, 겐투주맙, CD33AB, 페르투주맙, 오비누투주맙, 오파투무맙, 올라라투맙, 온톡시맙, 이사톡시맙, 사시투주맙, U3-1784, 다라투무맙, STI-6129, 린투주맙, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, 발란타맙, 인다톡시맙, 세톡시맙, 디누톡시맙, 항-CD38 A2 항체, HuAT13/5 항체, 알렘투주맙, 이브리투모맙, 토시투모맙, 베바시주맙, 파니투무맙, 트레멜리무맙, 티실리무맙, 카투막소맙, 오레고보맙 및 벨투주맙으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 측면에서, 항체는 리톡시맙, 트라스투주맙, 페르투주맙, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, CD33AB, 린투주맙 또는 겐투주맙이다. 일부 측면에서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 서열식별번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 상보성 결정 영역 (CDR) 1 (VH-CDR1), 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 3에 제시된 아미노산 서열

을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) CDR1 (VL-CDR1), 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 측면에서, 항체는 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 측면에서, 항체는 CD33AB이다.

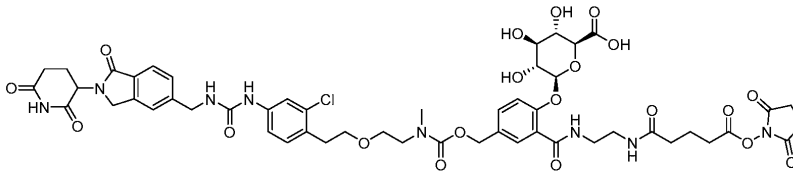
[0027] 특정 측면에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (II)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:



(II)

[0028]

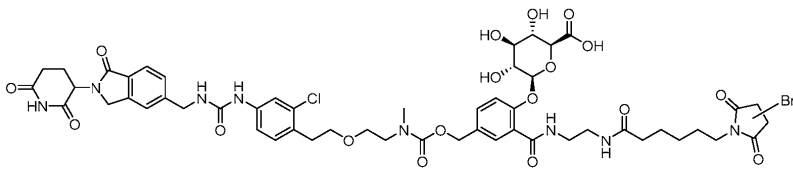
[0029] 특정 측면에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (III)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:



(III)

[0030]

[0031] 특정 측면에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (IV)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:

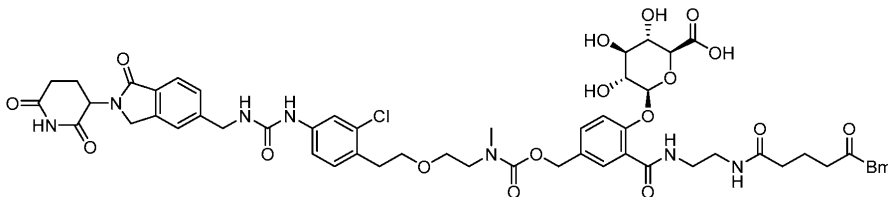


(IV)

[0032]

[0033] 여기서 Bm은 단백질, 예를 들어 세포 표면 항원인 단백질에 특이적으로 결합하는 결합 모이어티이다.

[0034] 특정 측면에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (V)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:



(V)

[0035]

[0036] 여기서 Bm은 단백질, 예를 들어 세포 표면 항원인 단백질에 특이적으로 결합하는 결합 모이어티이다.

[0037] 특정 측면에서, 본 개시내용은 Bm이 항체 또는 그의 항원 결합 부분인 화학식 (IV) 또는 (V)의 화합물을 제공한다. 특정 측면에서, 결합 모이어티가 특이적으로 결합하는 단백질은 표면 항원이다. 일부 측면에서, 표면 항원은 하기를 포함한다:

[0038] 5T4, ACE, ADRB3, AKAP-4, ALK, 안드로겐 수용체 AOC3, APP, Axin1, AXL, B7H3, B7-H4, BCL2, BCMA, bcr-ab1, BORIS, BST2, C242, C4.4a, CA 125, CA6, CA9, CAIX, CCL11, CCR5, CD123, CD133, CD138, CD142, CD15, CD15-3, CD171, CD179a, CD18, CD19, CD19-9, CD2, CD20, CD22, CD23, CD24, CD25, CD27L, CD28, CD3, CD30, CD31, CD300LF, CD33, CD352, CD37, CD38, CD4, CD40, CD41, CD44, CD44v6, CD5, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD71, CD72, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD90, CD97, CD125, CD138, CD141, CD147,

CD152, CD154, CD326, CEA, CEACAM5, CFTR, 응집 인자, cKit, 클라우딘 3, 클라우딘 18.2, CLDN6, CLEC12A, CLL-1, c113, c-MET, 크립토 1 성장 인자, CS1, CTLA-4, CXCR2, CXORF61, 시클린 B1, CYP1B1, 카드헤린-3, 카드헤린-6, DLL3, E7, EDNRB, EFNA4, EGFR, EGFRvIII, ELF2M, EMR2, ENPP3, EPCAM, EphA2, 에프린 A4, 에프린 B2, EPHB4, ERBB2 (Her2/neu), ErbB3, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), ETBR, ETV6-AML, FAP, FCAR, FCRL5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, 플레이트 수용체 알파, 플레이트 수용체 베타, FOLR1, Fos-관련 항원 1, 푸코실 GM1, GCC, GD2, GD3, 글로보H, GM3, GPC1, GPC2, GPC3, gp100, GPNMB, GPR20, GPRC5D, GUCY2C, HAVCR1, HER2, HER3, HGF, HMI.24, HMWMAA, HPV E6, hTERT, ICAM, ICOS-L, IFN- α , IFN- γ , IGF-I 수용체, IGLL1, IL-2 수용체 (IL-2R α (즉, CD25), IL-2R β (즉, CD122), IL-2R γ (즉, CD132)), IL-4 수용체 (IL-4R, IL-2R γ /IL-13R α 1), IL-13 수용체 (IL-13R α 1, IL-13R α 2, IL-4R) IL-1 수용체 (IL-1 β 1Ra), IL-12 수용체 (IL-12R β 1, IL-12R β 2), IL-23 수용체 (IL-12R β 1, IL-23R), IL-22 수용체 (IL-22R α 1, IL-22R α 2, IL-10R β), IL-5 수용체 (IL-5R α , CSF2RB), IL-6 수용체 (IL-6R α , gp130), 인터페론 수용체, 인테그린 (예컨대 α 4, α v β 3, α v β 5, α v β 6, α 1 β 4, α 4 β 1, α 4 β 7, α 5 β 1, α 6 β 4, α 11 β 3 인테그린), 인테그린 알파V, 장 카르복실 에스테라제, KIT, LAGE-1a, LAIR1, LAMP-1, LCK, 레구마인, 루이스Y, LFA-1(CD11a), L-셀렉틴(CD62L), LILRA2, LIV-1, LMP2, LRRC15, LY6E, LY6K, LY75, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE A1, 멜란A/MART1, 메소텔린, ML-IAP, MSLN, 뮤신, MUC1, MUC16, mut hsp70-2, MYCN, 미오스타틴, NA17, NaPi2b, NCA-90, NCAM, 넥틴-4, NGF, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NY-BR-1, NY-ESO-1, o-아세틸-GD2, OR51E2, OY-TE51, p53, p53 돌연변이체, PANX3, PAP, PAX3, PAX5, p-CAD, PCTA-1/갈락틴 8, PD-L1, PD-L2, PDGFR, PDGFR-베타, 포스파티딜세린, PIK3CA, PLAC1, 폴리시알산, 프로스타제, 프로스테인, 서바이빈 및 텔로머라제, PRSS21, PSCA, PSMA, PTK7, RAGE-1, RANKL, Ras 돌연변이체, 레서스 인자, RhoC, RON, ROR1, ROR2, RU1, RU2, SART3, SLAMF7, SLC44A4, SLITRK6, 정자 단백질 17, 스펅고신-1-포스페이트, SSEA-4, SSX2, STEAP1, TAG72, TARP, TCR β , TEM1/CD248, TEM7R, 테나신 C, TF, TGF-1, TGF- β 2, TNF- α , TGS5, Tie 2, TIM-1, Tn Ag, TRAC, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TROP-2, TRP-2, TRPV1, TSHR, 종양 항원 CTA16.88, 티로시나제, UPK2, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, 비멘틴, WT1, XAGE1, 또는 그의 조합.

[0039] 일부 측면에서, 표면 항원은 HER2, CD20, CD38, CD33, BCMA, CD138, EGFR, FGFR, GD2, PDGFR, TEM1/CD248, TROP-2, 또는 그의 조합을 포함한다.

[0040] 일부 측면에서, 항체는 리톡시맵, 트라스투주맵, 겐투주맵, 페르투주맵, 오비누투주맵, 오파투무맵, 올라라투맵, 온톡시맵, 이사톡시맵, 사시투주맵, U3-1784, 다라투무맵, STI-6129, 린투주맵, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, 발란타맵, 인다톡시맵, 세톡시맵, 디누톡시맵, 항-CD38 A2 항체, HuAT13/5 항체, CD33AB, 알렘투주맵, 이브리투모맵, 토시투모맵, 베바시주맵, 파니투무맵, 트레멜리주맵, 티실리주맵, 카투막소맵, 오레고보맵 또는 벨투주맵을 포함한다.

[0041] 일부 측면에서, 항체는 리톡시맵, 트라스투주맵, 페르투주맵, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, CD33AB, 린투주맵 또는 겐투주맵이다. 일부 측면에서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 서열식별번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1, 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 측면에서, 항체는 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 측면에서, 항체는 CD33AB이다.

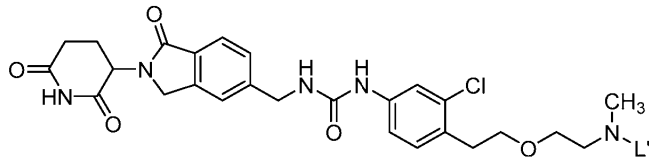
[0042] 일부 측면에서, 본 개시내용은 상기 기재된 바와 같은 접합체 또는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0043] 일부 측면에서, 본 개시내용은 암 또는 골수이형성 증후군 (MDS)의 치료를 필요로 하는 대상체에게 제약상 허용되는 양의 상기 기재된 바와 같은 접합체, 화합물 또는 조성물, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 암 또는 골수이형성 증후군 (MDS)을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 측면에서, 암은 고형 종양이다. 일부 측면에서, 암은 혈액학적/혈액암이다. 일부 측면에서, 암은 유방암, 위암, 림프종, 급성 골수성 백혈병, 다발성 골수종, 두경부암, 편평 세포 암종 및/또는 간세포성 암종이다. 일부 측면에서, 암은 밀로타르그(Mylotarg)에 대해 불응성 또는 저항성이다.

[0044] 일부 측면에서, 방법은 대상체에게 제약상 허용되는 양의 추가의 작용제를 접합체 또는 화합물 또는 그의 제약

상 허용되는 염의 전에, 후에 또는 그와 동시에 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 추가의 작용제는 세포독성제 또는 면역 반응 조절제이다. 일부 측면에서, 면역 반응 조절제는 체크포인트 억제제이다. 일부 측면에서, 체크포인트 억제제는 PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, TIM3 억제제 및/또는 LAG-3 억제제를 포함한다.

[0045] 특정 측면에서, 본 개시내용은 결합 모이어티를 하기 화학식 (I-1)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 반응시키는 것을 포함하는, 화학식 (I)의 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제조하는 방법을 제공한다:



(I-1)

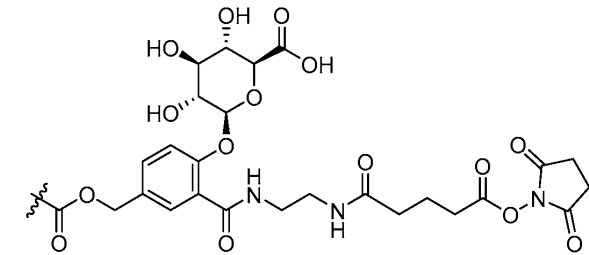
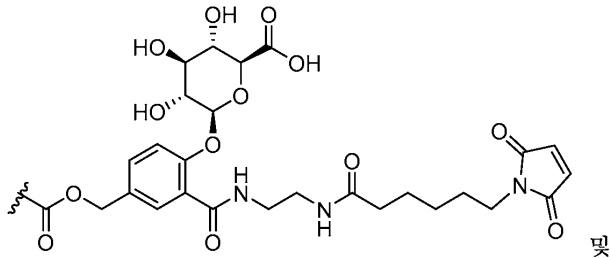
[0046]

여기서:

[0047]

L'는 하기로부터 선택되고:

[0048]



[0049]

여기서:

[0050]

은 질소 원자에 대한 부착 지점이다.

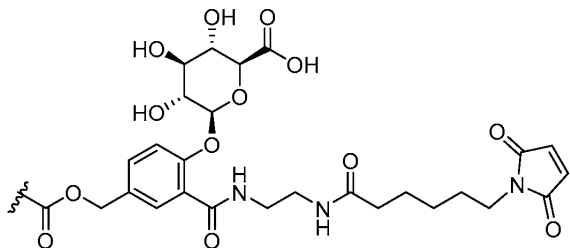
[0051]

일부 측면에서, 방법은 화학식 (I-1)의 화합물과 반응시키기 전에 결합 모이어티를 환원시키는 것을 추가로 포함한다.

[0052]

일부 측면에서, L'는 하기이다:

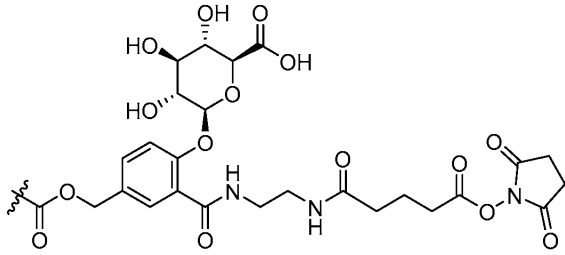
[0053]



[0054]

일부 측면에서, L'는 하기이다:

[0055]



[0056]

[0057]

[0058]

[0059]

일부 측면에서, 화학식 (I-1)의 화합물은 항체 또는 그의 항원 결합 부분을 포함하는 결합 모이어티와 반응한다.

일부 측면에서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 표면 항원에 결합한다. 일부 측면에서, 표면 항원은 하기를 포함한다:

5T4, ACE, ADRB3, AKAP-4, ALK, 안드로겐 수용체, AOC3, APP, Axin1, AXL, B7H3, B7-H4, BCL2, BCMA, bcr-abl, BORIS, BST2, C242, C4.4a, CA 125, CA6, CA9, CAIX, CCL11, CCR5, CD123, CD133, CD138, CD142, CD15, CD15-3, CD171, CD179a, CD18, CD19, CD19-9, CD2, CD20, CD22, CD23, CD24, CD25, CD27L, CD28, CD3, CD30, CD31, CD300LF, CD33, CD352, CD37, CD38, CD4, CD40, CD41, CD44, CD44v6, CD5, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD71, CD72, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD90, CD97, CD125, CD138, CD141, CD147, CD152, CD154, CD326, CEA, CEACAM5, CFTR, 응집 인자, cKit, 클라우딘 3, 클라우딘 18.2, CLDN6, CLEC12A, CLL-1, c113, c-MET, 크립토 1 성장 인자, CS1, CTLA-4, CXCR2, CXORF61, 시클린 B1, CYP1B1, 카트헤린-3, 카트헤린-6, DLL3, E7, EDNRB, EFNA4, EGFR, EGFRvIII, ELF2M, EMR2, ENPP3, EPCAM, EphA2, 에프린 A4, 에프린 B2, EPHB4, ERBB2 (Her2/neu), ErbB3, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), ETBR, ETV6-AML, FAP, FCAR, FCRL5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, 플레이트 수용체 알파, 플레이트 수용체 베타, FOLR1, Fos-관련 항원 1, 푸코실 GM1, GCC, GD2, GD3, 글로보H, GM3, GPC1, GPC2, GPC3, gp100, GPNMB, GPR20, GPRC5D, GUCY2C, HAVCR1, HER2, HER3, HGF, HMI.24, HMWMAA, HPV E6, hTERT, ICOS-L, IFN- α , IFN- γ , IGF-I 수용체, IGLL1, IL-2 수용체 (IL-2R α (즉, CD25), IL-2R β (즉, CD122), IL-2R γ (즉, CD132)), IL-4 수용체 (IL-4R, IL-2R γ /IL-13R α 1), IL-13 수용체 (IL-13R α 1, IL-13R α 2, IL-4R) IL-1 수용체 (IL-1 1Ra), IL-12 수용체 (IL-12R β 1, IL-12R β 2), IL-23 수용체 (IL-12R β 1, IL-23R), IL-22 수용체 (IL-22R α 1, IL-22R α 2, IL-10R β), IL-5 수용체 (IL-5R α , CSF2RB), IL-6 수용체 (IL-6R α , gp130), 인터페론 수용체, 인테그린 (예컨대 α ₄, α _v β ₃, α _v β ₅, α _v β ₆, α ₁ β ₄, α ₄ β ₁, α ₄ β ₇, α ₅ β ₁, α ₆ β ₄, α _{11b} β ₃ 인테그린), 인테그린 알파V, 장 카르복실 에스테라제, KIT, LAGE-1a, LAIR1, LAMP-1, LCK, 레구마인, 루이스Y, LFA-1(CD11a), L-셀렉틴(CD62L), LILRA2, LIV-1, LMP2, LRRRC15, LY6E, LY6K, LY75, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE A1, 멜란A/MART1, 메소텔린, ML-IAP, MSLN, 뮤신, MUC1, MUC16, mut hsp70-2, MYCN, 미오스타틴, NA17, NaPi2b, NCA-90, NCAM, 넥틴-4, NGF, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NY-BR-1, NY-ESO-1, o-아세틸-GD2, OR51E2, OY-TES1, p53, p53 돌연변이체, PANX3, PAP, PAX3, PAX5, p-CAD, PCTA- 1/갈락틴 8, PD-L1, PD-L2, PDGFR, PDGFR-베타, 포스파티딜세린, PIK3CA, PLAC1, 폴리시알산, 프로스타제, 프로스테인, 서바이빈 및 텔로머라제, PRSS21, PSCA, PSMA, PTK7, RAGE-1, RANKL, Ras 돌연변이체, 레서스 인자, RhoC, RON, ROR1, ROR2, RU1, RU2, SART3, SLAMF7, SLC44A4, SLITRK6, 정자 단백질 17, 스펅고신-1-포스페이트, SSEA-4, SSSX2, STEAP1, TAG72, TARP, TCR β , TEM1/CD248, TEM7R, 테나신 C, TF, TGF-1, TGF- β 2, TNF- α , TGS5, Tie 2, TIM-1, Tn Ag, TRAC, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TROP-2, TRP-2, TRPV1, TSHR, 종양 항원 CTAA16.88, 티로시나제, UPK2, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, 비멘틴, WT1, XAGE1, 또는 그의 조합.

[0060]

[0061]

[0062]

일부 측면에서, 표면 항원은 HER2, CD20, CD38, CD33, BCMA, CD138, EGFR, FGFR4, GD2, PDGFR, TEM1/CD248, Trop-2 또는 그의 조합을 포함한다.

일부 측면에서, 항체는 리톡시맙, 트라스투주맙, 겐투주맙, 페르투주맙, 오비누투주맙, 오파투무맙, 올라라투맙, 온톡시맙, 이사톡시맙, 사시투주맙, U3-1784, 다라투무맙, STI-6129, 린투주맙, huMy9-6, huMy9-6-IgG4-S228P, 발란타맙, 인다톡시맙, 세톡시맙, 디누톡시맙, 항-CD38 A2 항체, CD33AB, HuAT13/5 항체, 알렘투주맙, 이브리투모맙, 토시투모맙, 베바시주맙, 파니투무맙, 트레멜리우맙, 티실리우맙, 카투막소맙, 오레고보맙 또는 벨투주맙을 포함한다.

일부 측면에서, 항체는 리톡시맙, 트라스투주맙, 페르투주맙, huMy9-6, huMY9-6-IgG4-S228P, CD33AB, 린투주맙

또는 겐투주맙이다. 일부 측면에서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 서열식별번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1, 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 측면에서, 항체는 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0063]

도 1a는 MV411 (CD33+) 종양에 대한 대표적인 신규분해제 접합체의 생체내 활성을 도시한다. X축은 투여 후 일을 나타낸다. Y 축은 비히클, 3.02 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ia), 2.94 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ib), 0.1 mg/kg 밀로타르그, 50 mg/kg x 21 베네토클락스(Venetoclax), 또는 5 mg/kg bid x 10의 CC-90009를 투여한 후의 종양 부피 (mm³)를 나타낸다.

도 1b는 MV411 (CD33+) 종양에 대한 대표적인 신규분해제 접합체의 생체내 활성을 도시한다. X축은 투여 후 일을 나타낸다. Y 축은 비히클, 3 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ic), 2.83 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ie), 3.02 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ia), 2.99 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ih), 2.94 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ib), 0.1 mg/kg 밀로타르그, 50 mg/kg x 21 베네토클락스, 또는 5 mg/kg bid x 10의 CC-90009를 투여한 후의 종양 부피 (mm³)를 나타낸다.

도 2는 AML(CD33+) 세포 및 비-AML(CD33-) 세포에 대한 CD33AB-화합물 (Ia), CC-90009 및 밀로타르그의 시험관내 활성을 보여준다.

도 3은 MV4-11 (CD33+) 세포에 대한 CD33AB - 화합물 (Ia) 접합체의 시험관내 활성을 도시한다. X 축은 농도를 나타낸다. Y 축은 비-CD33 결합 항체 - 신규분해제 접합체, CD33AB, 신규분해제 P1, 베네토클락스, CC-885, CC-90009, 밀로타르그, 및 CD33AB - 화합물 (Ia)를 투여한 후의 % 세포 생존율을 나타낸다.

도 4는 환자-유래 원발성 재발성/불응성 AML 세포에 대한 CD33AB - 화합물 (Ia) 접합체, 밀로타르그, 및 CC-90009의 시험관내 활성을 나타낸다.

도 5는 콜로니 형성 세포 (CFC) 검정에서 측정 시 정상 적혈구, 골수 전구세포 및 거핵구 전구세포에서의 CD33AB - 화합물 (Ia) 접합체, CC-90009 및 밀로타르그의 시험관내 활성을 나타낸다.

도 6은 MV4-11 (CD33+) 종양에 대한 CD33AB - 화합물 (Ia)의 생체내 활성을 도시한다. 좌측 그래프에서, X 축은 투여 후 일을 나타내고, Y 축은 비히클, 5 mg/kg bid CD-90009, 0.1 mg/kg 밀로타르그, 50 mg/kg qd 베네토클락스, 및 3 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ia)를 투여한 후의 종양 부피 (mm³)를 나타낸다. 우측 그래프에서, X 축은 투여 후 일을 나타내고, Y 축은 비히클, 3 mg/kg CD33 비-결합 항체 신규분해제 접합체, 8 mg/kg 아자시티딘 및 50 mg/kg 베네토클락스, 1 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ia), 및 3 mg/kg CD33AB - 화합물 (Ia)를 투여한 후의 종양 부피 (mm³)를 나타낸다.

도 7은 MV4-11 및 OCI-AML2 세포에서의 CD33AB - 화합물 (Ia)의 생체내 활성을 도시한다.

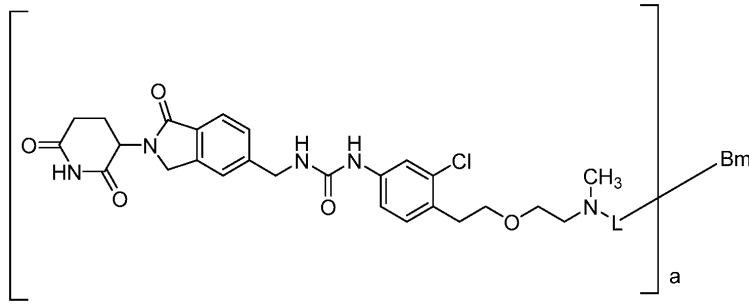
도 8은 MV4-11 세포를 CD33AB - 화합물 (Ia) 접합체로 시험관내 처리한 후의 GSPT1의 분해를 보여주는 웨스턴 블롯이다. GSPT1은 CD33AB - 화합물 (Ia) 접합체로 처리된 경우에 12시간 내에 완전히 분해된다.

도 9는 GSPT1에 대한 CD33AB - 화합물 (Ia)의 시험관내 지속 효과 (상단) 및 CD33AB - 화합물 (Ia) 접합체 (QDx1 IV)의 약동학 (하단)을 도시한다.

도 10a 및 10b는 밀로타르그-비감수성 AML 세포 (AML-193 (도 10a) 및 카수미(Kasumi)-6 (도 10b))에 대한 CD33AB-화합물 (Ia) 접합체의 시험관내 활성을 도시한다. X 축은 농도를 나타내고, Y 축은 처리 후 세포주의 퍼센트 생존율을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0064] 본 개시내용은 하기 화학식 (I)의 접합체 또는 그의 제약상 허용되는 염에 관한 것이다:



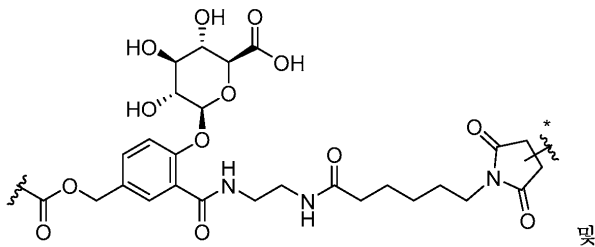
(I)

[0065]

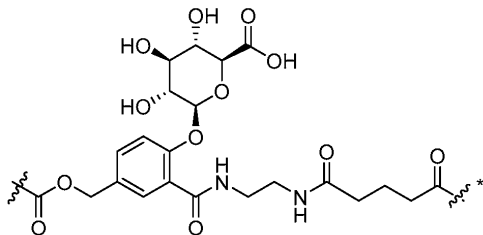
[0066] 여기서:

[0067] a는 1 내지 10이고;

[0068] L은 하기로부터 선택된 링커이고:



및



;

[0069]

[0070] 여기서:

[0071] 은 질소 원자에 대한 부착 지점이고;

[0072] 은 Bm에 대한 부착 지점이고;

[0073] Bm은 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 결합 모이어티이다. 일부 측면에서, 결합 모이어티는 항체, 항체 단편 또는 항원-결합 단편이다.

[0074] 본 개시내용은 또한 결합 모이어티에 융합된 상기 화합물, 화합물 또는 접합체를 포함하는 조성물, 또는 화합물 또는 접합체를 사용 또는 제조하는 방법을 제공한다.

[0075] I. 정의.

[0076] 본 설명을 보다 용이하게 이해할 수 있도록, 특정 용어를 먼저 정의한다. 추가의 정의가 상세한 설명 전반에 걸쳐 제시된다.

[0077] 단수 용어 형태의 대상은 그 대상 중 하나 이상을 지칭하며; 예를 들어, "뉴클레오티드 서열"은 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 나타내는 것으로 이해됨을 유념해야 한다. 따라서, 단수 용어, "하나 이상" 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 또한, 청구범위는 임의의 임의적인 요소를 배제하도록 작성될 수 있음을 유념한다. 이와 같이, 이러한 기재는 청구범위 요소의 언급과 관련하여 "단독으로", "단지" 등과 같은 배타적 용어의 사용, 또는 부정적 제한의 사용에 대한 선행 기초로서 기능하도록 의도된다.

[0078] 또한, 본원에 사용된 "및/또는"은 2개의 명시된 특색 또는 성분 각각을 다른 것과 함께 또는 다른 것 없이 구체

적으로 개시하는 것으로서 이해되어야 한다. 따라서, 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에 사용된 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A" (단독), 및 "B" (단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에 사용된 용어 "및/또는"은 각각의 하기 측면을 포괄하는 것으로 의도된다: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독).

[0079] 측면이 용어 "포괄하는"과 함께 본원에 기재된 모든 경우에, "이루어진" 및/또는 "본질적으로 이루어진"의 용어로 기재된 다른 유사한 측면이 또한 제공되는 것으로 이해된다.

[0080] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 개시내용이 관련된 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, 문헌 [Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; and the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press]은 통상의 기술자에게 본 개시내용에 사용된 많은 용어의 일반 사전을 제공한다.

[0081] 단위, 접두어 및 기호는 시스템 앙테르나시오날 드 유니테(Systeme International de Unites) (SI) 허용 형태로 표시된다. 수치 범위는 범위를 정의하는 숫자를 포함한다. 값의 범위가 언급되는 경우에, 그 범위의 언급된 상한치와 하한치 사이의 각각의 중간 정수 값 및 그의 각각의 부분이 또한 이러한 값 사이의 각각의 하위범위와 함께 구체적으로 개시된 것으로 이해되어야 한다. 임의의 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 범위에 포함되거나 또는 그로부터 배제될 수 있으며, 한계 중 어느 하나 또는 둘 다가 포함되지 않거나 또는 포함되는 각각의 범위가 또한 본 개시내용 내에 포괄된다. 따라서, 본원에 언급된 범위는 언급된 종점을 포함하여 범위 내의 모든 값에 대한 약칭인 것으로 이해된다. 예를 들어, 1 내지 10의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 및 10으로 이루어진 군으로부터의 임의의 수, 수의 조합, 또는 하위-범위를 포함하는 것으로 이해된다.

[0082] 값이 명백하게 언급되는 경우에, 언급된 값과 거의 동일한 수량 또는 양인 값이 또한 본 개시내용의 범주 내에 있는 것으로 이해되어야 한다. 조합이 개시되는 경우에, 그 조합의 요소의 각각의 하위조합이 또한 구체적으로 개시되고, 본 개시내용의 범주 내에 있다. 반대로, 상이한 요소 또는 요소의 군이 개별적으로 개시된 경우, 그의 조합이 또한 개시된다. 본 개시내용의 임의의 요소가 복수의 대안을 갖는 것으로 개시된 경우에, 각각의 대안이 단독으로 또는 다른 대안과의 임의의 조합으로 배제되는 본 개시내용의 예가 또한 본원에 개시되고; 본 개시내용의 하나 초과 요소가 이러한 배제를 가질 수 있고, 이러한 배제를 갖는 요소의 모든 조합이 본원에 개시된다.

[0083] 본원에 사용된 용어 "DAR"은 각각의 항체에 연결된 신규분해제-커팅 복합체의 평균 수인 접합체의 약물 항체 비를 지칭한다. 특정 측면에서, 본원에 기재된 접합체의 DAR은 1 내지 10이다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 접합체의 DAR은 1 내지 8이다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 접합체의 DAR은 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7.0, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9.0, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 또는 10이다.

[0084] 본원에 사용된 용어 "항체"는 또한 전장 이뮤노글로불린 분자 또는 전장 이뮤노글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 즉 관심 표적 또는 그의 일부의 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 지칭하며, 이러한 표적은 암 세포 또는 자가면역 질환과 연관된 자가면역 항체를 생산하는 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본원에 개시된 이뮤노글로불린은 이뮤노글로불린 분자의 임의의 유형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD 및 IgA), 클래스 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위클래스의 것일 수 있다. 이뮤노글로불린은 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 그러나, 한 측면에서, 이뮤노글로불린은 인간, 무린 또는 토끼 기원의 것이다.

[0085] 나노바디로도 공지된 용어 "단일 도메인 항체"는 약 12 kDa 내지 약 15kDa의 분자량을 갖는 단일 단량체 가변 항체 도메인으로 이루어진 항체 단편이다. 단일체 항체는 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄를 기반으로 할 수 있다. 단일 도메인 항체의 예는 V_{HH} 단편 및 V_{NAR} 단편을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0086] "항체 단편"은 무순상 항체의 일부, 일반적으로 그의 항원 결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; Fab 발현 라이브러리에 의해 생산된 단편, 항-이디오타

입 (항-Id) 항체, CDR (상보성 결정 영역), 및 암 세포 항원, 바이러스 항원 또는 미생물 항원에 면역특이적으로 결합하는 상기 중 임의의 것의 에피토프-결합 단편, 단일쇄 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.

[0087] "무손상 항체"는 항원-결합 가변 영역 뿐만 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 그의 아미노산 서열 변이체일 수 있다.

[0088] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하며, 즉 집단을 구성하는 개별 항체는 미량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 모노클로날 항체는 단일 항원 부위에 대해 고도로 특이적이다. 또한, 상이한 결정기 (에피토프)를 지향하는 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와 달리, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정기를 지향한다. 그의 특이성 이외에도, 모노클로날 항체는 다른 항체에 의해 오염되지 않고 합성될 수 있다는 점에서 유리하다. 수식어 "모노클로날"은 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득되는 바와 같은 항체의 특징을 나타내고, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생산을 요구하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 개시내용에 따라 사용될 모노클로날 항체는 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다. "모노클로날 항체"는 또한 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0089] 본원에서 모노클로날 항체는 구체적으로 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 종으로부터 유래되거나 특정한 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이고, 쇠(들)의 나머지는 또 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라" 항체, 뿐만 아니라 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한 이러한 항체의 단편을 포함한다. 본원에서 관심 키메라 항체는 비-인간 영장류 (예를 들어, 구세계 원숭이, 유인원 등)로부터 유래된 가변 도메인 항원-결합 서열 및 인간 불변 영역 서열을 포함하는 "영장류화" 항체를 포함한다.

[0090] 모노클로날 항체 (MAb)를 생산하기 위해 다양한 방법이 사용되어 왔다. 단일 유형의 항체를 생산하는 클로닝된 세포주를 지칭하는 하이브리도마 기술은 마우스 (뮤린), 햄스터, 래트 및 인간을 비롯한 다양한 종의 세포를 사용한다. MAb를 제조하는 또 다른 방법은 재조합 DNA 기술을 비롯한 유전 공학을 사용한다. 이들 기술로부터 제조된 모노클로날 항체는 특히 키메라 항체 및 인간화 항체를 포함한다. 키메라 항체는 1종 초과 유형의 종으로부터의 DNA 코딩 영역을 조합한다. 예를 들어, 키메라 항체는 마우스로부터 가변 영역 및 인간으로부터 불변 영역이 유래될 수 있다. 인간화 항체는 비인간 부분을 함유하더라도 주로 인간으로부터 유래된다. 키메라 항체와 같이, 인간화 항체는 완전 인간 불변 영역을 함유할 수 있다. 그러나, 키메라 항체와 달리, 가변 영역은 인간으로부터 부분적으로 유래될 수 있다. 인간화 항체의 비인간 합성 부분은 종종 뮤린 항체 내의 CDR로부터 유래된다. 임의의 경우에, 이들 영역은 항체가 특이적 항원을 인지하고 이에 결합하게 하는 데 중요하다. 진단 및 단기 요법에 유용하지만, 뮤린 항체는 유해한 면역원성 반응의 위험을 증가시키지 않으면서 사람에게 장기간 투여될 수 없다. 인간 항-마우스 항체 (HAMA) 반응으로 불리는 이 반응은 인간 면역계가 뮤린 항체를 외래로 인지하고 이를 공격할 때 발생한다. HAMA 반응은 독성 쇼크 또는 심지어 사망을 유발할 수 있다.

[0091] 키메라 및 인간화 항체는 투여된 항체의 비인간 부분을 최소화함으로써 HAMA 반응의 가능성을 감소시킨다. 또한, 키메라 및 인간화 항체는 2차 인간 면역 반응, 예컨대 항체 의존성 세포독성 세포독성을 활성화시키는 추가의 이익을 가질 수 있다.

[0092] 무손상 항체는 항체의 Fc 영역 (천연 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인하는 생물학적 활성을 지칭하는 하나 이상의 "이펙터 기능"을 가질 수 있다. 항체 이펙터 기능의 예는 C1q 결합; 보체 의존성 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절 등을 포함한다.

[0093] 그의 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 무손상 항체는 상이한 "클래스"로 배정될 수 있다. 5가지 주요 클래스의 무손상 항체: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇몇은 "하위클래스" (이소형), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA 및 IgA2로 추가로 나뉠 수 있다. 상이한 클래스의 항체에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 불린다. 상이한 클래스의 이뮤노글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 형상은 널리 공지되어 있다.

[0094] 용어 "약"은 대략, 거의, 주위, 또는 영역 내를 의미하도록 본원에 사용된다. 용어 "약"이 수치 범위와 함께 사용되는 경우에, 이는 경계를 제시된 수치 값 초과 및 미만으로 확장함으로써 그 범위를 변경한다. 일반적인

로, 용어 "약"은 예를 들어 10 퍼센트 위 또는 아래 (더 높거나 더 낮음)의 변동에 의해 언급된 값의 위 및 아래의 수치 값을 수식할 수 있다.

[0095] 용어 "투여", "투여하는" 및 그의 문법적 변형은 본 개시내용의 조성물, 예컨대 EV (예를 들어, 엑소솜)를 제약상 허용되는 경로를 통해 대상체 내로 도입하는 것을 지칭한다. 조성물, 예컨대 본 개시내용의 EV (예를 들어, 엑소솜)의 대상체 내로의 도입은 중앙내로, 경구로, 정맥으로, 비강내로, 비경구로 (정맥내로, 동맥내로, 근육내로, 복강내로, 또는 피하로), 직장으로, 림프내로, 척수강내로, 안구주위로 또는 국소로를 포함한 임의의 적합한 경로에 의한 것이다. 투여는 자기-투여 및 또 다른 것에 의한 투여를 포함한다. 적합한 투여 경로는 조성물 또는 작용제가 그의 의도된 기능을 수행하도록 한다. 예를 들어, 적합한 경로가 정맥내인 경우에, 조성물은 조성물 또는 작용제를 대상체의 정맥 내로 도입함으로써 투여된다.

[0096] 본원에 사용된 용어 "항체"는 천연이든 또는 부분적으로 또는 완전히 합성적으로 생산되든 이뮤노글로불린 및 그의 단편을 포괄한다. 상기 용어는 또한 이뮤노글로불린 결합 도메인에 상동성인 결합 도메인을 갖는 임의의 단백질을 포함한다. "항체"는 항원에 특이적으로 결합하고 이를 인지하는 이뮤노글로불린 유전자 또는 그의 단편으로부터의 프레임워크 영역을 포함하는 폴리펩티드를 추가로 포함한다. 용어 항체의 사용은 전체 항체, 폴리클로날, 모노클로날 및 재조합 항체, 그의 단편을 포함하는 것으로 의도되고, 단일쇄 항체, 인간화 항체, 무린 항체, 키메라, 마우스-인간, 마우스-영장류, 영장류-인간 모노클로날 항체, 항-이디오타입 항체, 항체 단편, 예를 들어 scFv, (scFv)₂, Fab, Fab', 및 F(ab')₂, F(ab)₂, Fv, dAb, 및 Fd 단편, 디아바디, 및 항체-관련 폴리펩티드를 추가로 포함한다. 항체는 목적하는 생물학적 활성 또는 기능을 나타내는 한 이중특이적 항체 및 다중특이적 항체를 포함한다. 본 개시내용의 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함하는 분자이다.

[0097] 용어 "항체-약물 접합체" 및 "ADC"는 상호교환가능하게 사용되고, 치료제 (때때로 본원에서 작용제, 약물 또는 활성 제약 성분으로 지칭됨) 또는 작용제들에, 예를 들어, 공유결합으로 연결된 항체를 지칭한다. 본 개시내용의 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자는 항체-약물 접합체이다.

[0098] 본원에 사용된 용어 "대략"은 1개 이상의 관심 값에 적용되는 바와 같이, 언급된 참조 값과 유사한 값을 지칭한다. 특정 측면에서, 용어 "대략"은 달리 언급되거나 문맥으로부터 달리 명백하지 않는 한, 언급된 참조 값의 어느 한 방향 (초과 또는 미만)으로 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 또는 그 미만 내에 속하는 값의 범위를 지칭한다 (이러한 수가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우는 제외함).

[0099] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된 것이다. 염기성 측쇄 (예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 포함한, 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리가 관련 기술분야에 정의되어 있다. 따라서, 폴리펩티드 내의 아미노산이 동일한 측쇄 패밀리로부터의 또 다른 아미노산으로 교체되면, 치환은 보존적인 것으로 간주된다. 또 다른 측면에서, 아미노산의 스트링은 측쇄 패밀리 구성원의 순서 및/또는 조성이 상이한, 구조적으로 유사한 스트링으로 보존적으로 대체될 수 있다.

[0100] 본원에 사용된 용어 "보존된"은 비교되는 2개 이상의 서열의 동일한 위치에서 변경되지 않고 나타나는 것인, 폴리뉴클레오티드 서열 또는 폴리펩티드 서열의 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기 각각을 지칭한다. 비교적 보존된 뉴클레오티드 또는 아미노산은 서열 내의 다른 곳에 나타나는 뉴클레오티드 또는 아미노산보다 더 관련된 서열 사이에서 보존된 것이다.

[0101] 일부 측면에서, 2개 이상의 서열은 이들이 서로 100% 동일한 경우에 "완전히 보존된" 또는 "동일한" 것으로 언급된다. 일부 측면에서, 2개 이상의 서열은 이들이 서로 적어도 약 70% 동일한, 적어도 약 80% 동일한, 적어도 약 90% 동일한, 또는 적어도 약 95% 동일한 경우에 "고도로 보존된" 것으로 언급된다. 일부 측면에서, 2개 이상의 서열은 이들이 서로 적어도 약 30% 동일한, 적어도 약 40% 동일한, 적어도 약 50% 동일한, 적어도 약 60% 동일한, 적어도 약 70% 동일한, 적어도 약 80% 동일한, 적어도 약 90% 동일한, 또는 적어도 약 95% 동일한 경우에 "보존된" 것으로 언급된다. 서열의 보존은 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 전체 길이에 대해 적용될 수 있거나 또는 그의 부분, 영역 또는 특색에 대해 적용될 수 있다.

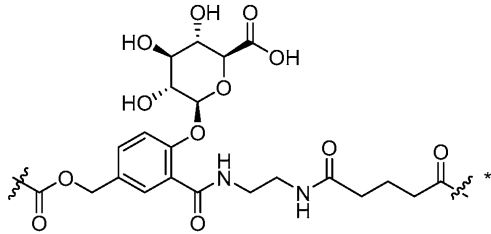
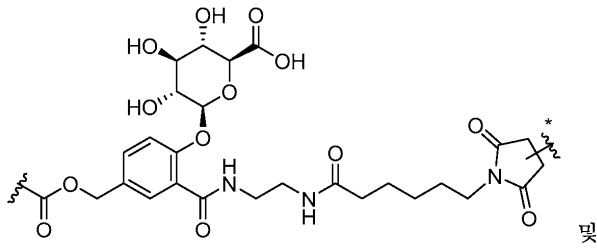
[0102] 본원에 사용된 용어 "연결하는" 및 "접합하는"은 상호교환가능하게 사용되고, 각각은 신규분해제 및 결합 모이

어티를 포함하는 2개 이상의 모이어티의 공유 또는 비-공유 부착을 지칭한다. 일부 측면에서, 연결 또는 접합은 링커를 포함할 수 있다.

- [0103] 용어 "아미노산 서열 변이체"는 천연 서열 폴리펩티드와 어느 정도 상이한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 지칭한다. 통상적으로, 아미노산 서열 변이체는 천연 항체의 적어도 1개의 수용체 결합 도메인 또는 천연 수용체의 적어도 1개의 리간드 결합 도메인과 적어도 약 70% 서열 동일성을 보유할 것이고, 전형적으로 이들은 이러한 수용체 또는 리간드 결합 도메인과의 서열에 대해 적어도 약 80%, 보다 전형적으로 적어도 약 90% 상동일 것이다. 아미노산 서열 변이체는 천연 아미노산 서열의 아미노산 서열 내의 특정 위치에 치환, 결실 및/또는 삽입을 보유한다. 아미노산은 통상적인 명칭, 1-문자 및 3-문자 코드에 의해 지정된다.
- [0104] "서열 동일성"은 서열을 정렬하고 필요한 경우에 갭을 도입하여 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성한 후에 동일한 아미노산 서열 변이체 내의 잔기의 백분율로서 정의된다. 정렬을 위한 방법 및 컴퓨터 프로그램은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 한 이러한 컴퓨터 프로그램은 제넨테크, 인크.(Genentech, Inc.)가 저작한 "얼라인 (Align) 2"이고, 이는 1991년 12월 10일에 미국 저작권청 (워싱턴 D.C. 20559)에 사용자 문서로 제출되었다.
- [0105] 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기재하는 데 사용된다. 예시적인 FcR은 천연 서열 인간 FcR이다. 또한, FcR은 IgG 항체 (감마 수용체)에 결합하는 것일 수 있고, Fc.감마.RI, Fc.감마.RII 및 Fc.감마.RIII 하위클래스의 수용체 (이들 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태 포함)를 포함한다. Fc.감마.RII 수용체는 Fc.감마.RIIA ("활성화 수용체") 및 Fc.감마.RIIB ("억제 수용체")를 포함하며, 이들은 주로 그의 세포질 도메인에 상이한 유사한 아미노산 서열을 갖는다. 활성화 수용체 Fc.감마.RIIA는 그의 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)를 함유한다. 억제 수용체 Fc.감마.RIIB는 그의 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)를 함유한다. 향후 확인될 것을 포함한 다른 FcR이 본원의 용어 "FcR"에 포괄된다. 상기 용어는 또한 태아로의 모체 IgG의 전달을 담당하는 신생아 수용체 FcRn을 포함한다.
- [0106] "보체 의존성 세포독성" 또는 "CDC"는 보체의 존재 하에 표적을 용해시키는 분자의 능력을 지칭한다. 보체 활성화 경로는 보체계의 제1 성분 (C1q)이 동족 항원과 복합체화된 분자 (예를 들어, 항체)에 결합함으로써 개시된다. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 검정을 수행할 수 있다.
- [0107] "천연 항체"는 통상적으로 2개의 동일한 경쇄 (L) 및 2개의 동일한 중쇄 (H)로 구성된 약 150,000 달톤의 이중 사량체 당단백질이다. 각각의 경쇄는 1개의 공유 디설피드 결합에 의해 중쇄에 연결되지만, 디설피드 연결의 수는 상이한 이뮤노글로불린 이소형의 중쇄에 따라 다양하다. 각각의 중쇄 및 경쇄는 또한 규칙적으로 이격된 쇠내 디설피드 가교를 갖는다. 각각의 중쇄는 한 말단에 가변 도메인 (VH), 이어서 다수의 불변 도메인을 갖는다. 각각의 경쇄는 한 말단에 가변 도메인 (VL) 및 그의 다른 말단에 불변 도메인을 갖는다. 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 특정한 아미노산 잔기는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 사이에 계면을 형성하는 것으로 여겨진다.
- [0108] 용어 "가변"은 가변 도메인의 특정 부분이 항체마다 서열에 있어서 광범위하게 상이하고, 각각의 특정한 항체의 그의 특정한 항원에 대한 결합 및 특이성에 사용된다는 사실을 지칭한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인 전반에 걸쳐 고르게 분포되지 않는다. 이는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 다에서 초가변 영역으로 불리는 3개의 절편에 집중되어 있다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역 (FR)으로 불린다. 천연 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각, 베타-시트 구조를 연결하고 일부 경우에는 베타-시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성하는 3개의 초가변 영역에 의해 연결된, 주로 베타-시트 형상을 취하는 4개의 FR을 포함한다. 각각의 쇠 내의 초가변 영역은 FR에 의해 매우 근접하게 함께 유지되고, 다른 쇠로부터의 초가변 영역과 함께 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다. 불변 도메인은 항원에 대한 항체의 결합에 직접 관여하지는 않지만, 다양한 이펙터 기능, 예컨대 항체 의존성 세포독성 (ADCC)에서의 항체의 참여를 나타낸다.
- [0109] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역"은 항원-결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변 영역은 일반적으로 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로부터의 아미노산 잔기 (예를 들어, 경쇄 가변 도메인 내의 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2) 및 89-97 (L3) 및 중쇄 가변 도메인 내의 31-35 (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3); 상기 문헌 [Kabat et al.] 및/또는 "초가변 루프"로부터의 잔기 (예를 들어, 경쇄 가변 도메인 내의 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2) 및 91-96 (L3) 및 중쇄 가변 도메인 내의 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3))를 포함한다. "프레임워크 영역" 또는 "FR" 잔기는 본원에 정의된 바와 같은 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

- [0110] 항체의 과과인 소화는 각각 단일 항원-결합 부위를 갖는 "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원-결합 단편, 및 그의 명칭이 용이하게 결정화되는 그의 능력을 반영하는 것인 나머지 "Fc" 단편을 생성한다. 펩신 처리는 2개의 항원-결합 부위를 갖고 여전히 항원에 가교할 수 있는 F(ab')₂ 단편을 생성한다.
- [0111] "Fv"는 완전한 항원-인지 및 항원-결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이 영역은 단단하게 비-공유 결합된 1개의 중쇄 및 1개의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 이루어진다. 이러한 구성에서 각각의 가변 도메인의 3개의 추가변 영역이 상호작용하여 VH-VL 이량체의 표면 상에 항원-결합 부위를 규정한다. 집합적으로, 6개의 추가변 영역은 항체에 항원-결합 특이성을 부여한다. 그러나, 심지어 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 단지 3개의 추가변 영역을 포함하는 Fv의 절반)도 전체 결합 부위보다 더 낮은 친화도일지라도 항원을 인지하고 결합하는 능력을 갖는다.
- [0112] Fab 단편은 또한 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 중쇄 CH1 도메인의 카르복시 말단에 항체 힌지 영역으로부터의 1개 이상의 시스테인을 포함하는 소수의 잔기가 추가된다는 점에서 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 적어도 1개의 유리 티올 기를 보유하는 Fab'에 대한 본원의 명칭이다. F(ab')₂ 항체 단편은 원래 그들 사이에 힌지 시스테인을 갖는 Fab' 단편의 쌍으로서 생산되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링이 또한 공지되어 있다.
- [0113] 임의의 척추동물 종으로부터의 항체의 "경쇄"는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로 하여 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 불리는 2개의 명백하게 구분되는 유형 중 하나로 지정될 수 있다.
- [0114] "단일쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 단일 폴리펩티드 쇠에 존재하는 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. Fv 폴리펩티드는 scFv가 항원 결합을 위한 목적하는 구조를 형성할 수 있게 하는, VH 및 VL 도메인 사이의 폴리펩티드 링커를 추가로 포함할 수 있다.
- [0115] 용어 "디아바디"는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 작은 항체 단편을 지칭하며, 단편은 동일한 폴리펩티드 쇠에서의 가변 경쇄 도메인 (VL)에 연결된 가변 중쇄 도메인 (VH) (VH-VL)을 포함한다. 동일한 쇠 상의 2개의 도메인 사이의 쌍형성을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인은 또 다른 쇠의 상보적 도메인과 쌍형성하여 2개의 항원-결합 부위를 생성하도록 강제된다.
- [0116] 비-인간 (예를 들어, 설치류) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 인간화는 무린 항원 결합 정보를 비-면역원성 인간 항체 수용자로 전달하는 방법이고, 많은 치료상 유용한 약물을 생성하였다. 인간화 방법은 일반적으로 모든 6개의 무린 상보성 결정 영역 (CDR)을 인간 항체 프레임워크 상에 전달함으로써 시작된다. 이들 CDR-그라프팅된 항체는 일반적으로 항원 결합에 대한 그의 원래 친화도를 유지하지 못하고, 실제로 친화도는 종종 심각하게 손상된다. CDR 이외에, 적절한 CDR 입체형태를 유지하기 위해 선택적인 비-인간 항체 프레임워크 잔기가 또한 혼입되어야 한다. 그라프팅된 CDR의 구조적 입체형태를 지지하기 위한 인간 수용자로서의 주요 마우스 프레임워크 잔기의 전달은 항원 결합 및 친화도를 회복시키는 것으로 밝혀졌다. 대부분의 경우에, 인간화 항체는 수용자의 추가변 영역으로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 비-인간 중 (공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류의 추가변 영역으로부터의 잔기로 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기에 의해 대체된다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능을 추가로 정밀화하기 위해 이루어진다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 추가변 루프는 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 이뮤노글로불린 서열의 것이다. 인간화 항체는 또한 임의로 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 이뮤노글로불린의 것을 포함할 것이다.
- [0117] "단리된" 항체는 그의 천연 환경의 성분으로부터 확인 및 분리 및/또는 회수된 항체이다. 그의 천연 환경의 오염 성분은 항체에 대한 진단 또는 치료 용도를 방해할 수 있는 물질이고, 효소, 호르몬, 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 항체는 (1) 로우리(Lowry) 방법에 의해 결정지에 항체의 95 중량% 초과, 또는 99 중량% 초과로, (2) 기체 상 단백질 서열분석기를 사용하여 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개의 잔기를 얻기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시 블루(Coomassie blue) 또는 은 염색을 사용하여 환원 또는 비환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의한 동질성의 정도로 정제될 것이다. 단리된 항체는 제조합 세포 내의 계내 항체를 포함하는 데, 이는 항체의 천연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 그러나, 통상적으로, 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

- [0118] "암"은 체내에서 비정상 세포의 비제어된 성장을 특징으로 하는 다양한 질환의 광범위한 군을 지칭한다. 비조절된 세포 분열 및 성장은 이웃 조직을 침습하는 악성 종양의 형성을 유발하고, 또한 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 원위 부분으로 전이될 수 있다. 본원에 사용된 "암"은 원발성, 전이성 및 재발성 암을 지칭한다.
- [0119] 본원에 사용된 용어 "면역 반응"은 외래 작용제에 대한 척추동물 내에서의 생물학적 반응을 지칭하며, 상기 반응은 이들 작용제 및 그에 의해 유발된 질환에 대해 유기체를 보호한다. 면역 반응은 면역계의 세포 (예를 들어, T 림프구, B 림프구, 자연 킬러 (NK) 세포, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 수지상 세포 또는 호중구) 및 이들 세포 중 임의의 것 또는 간에 의해 생산된 가용성 거대분자 (항체, 시토카인 및 보체 포함)의 작용에 의해 매개되며, 이는 침입 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암성 또는 다른 비정상 세포, 또는 자가면역 또는 병리학적 염증의 경우에 정상 인간 세포 또는 조직의 선택적 표적화, 그에 대한 결함, 그에 대한 손상, 그의 파괴 및/또는 척추동물 신체로부터의 그의 제거를 유발한다. 면역 반응은, 예를 들어 T 세포, 예를 들어 이펙터 T 세포 또는 Th 세포, 예컨대 CD4⁺ 또는 CD8⁺ T 세포의 활성화 또는 억제, 또는 Treg 세포의 억제를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "T 세포" 및 "T 림프구"는 상호교환가능하고, 흉선에 의해 생산 또는 프로세싱된 임의의 림프구를 지칭한다. 일부 측면에서, T 세포는 CD4⁺ T 세포이다. 일부 측면에서, T 세포는 CD8⁺ T 세포이다. 일부 측면에서, T 세포는 NKT 세포이다.
- [0120] "대상체"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 용어 "비인간 동물"은 척추동물, 예컨대 비인간 영장류, 양, 개, 및 설치류, 예컨대 마우스, 래트 및 기니 피그를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 측면에서, 대상체는 인간이다. 용어 "대상체" 및 "환자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.
- [0121] 용어 "치료 유효량" 또는 "치료 유효 투여량"은 목적하는 생물학적, 치료적 및/또는 예방적 결과를 제공하는 작용제 (예를 들어, 본원에 개시된 신규분해제 또는 신규분해제 접합체)의 양을 지칭한다. 상기 결과는 질환의 징후, 증상 또는 원인 중 하나 이상의 감소, 호전, 완화, 약화, 지연 및/또는 경감, 또는 생물학적 시스템의 임의의 다른 목적하는 변경일 수 있다. 고행 종양과 관련하여, 유효량은 종양 수축을 유발하고/거나 종양의 성장 속도를 감소시키거나 (예컨대 종양 성장을 억제함) 또는 다른 원치않는 세포 증식을 방지하거나 지연시키기에 충분한 양을 포함한다. 일부 측면에서, 유효량은 종양 발생을 지연시키기에 충분한 양이다. 일부 측면에서, 유효량은 종양 재발을 방지하거나 지연시키기에 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 조성물의 유효량은, 예를 들어 (i) 암 세포의 수를 감소시킬 수 있고/거나; (ii) 종양 크기를 감소시킬 수 있고/거나; (iii) 말초 기관으로의 암 세포 침윤을 어느 정도까지 억제, 지연, 둔화시킬 수 있고, 이를 정지시킬 수 있고/거나; (iv) 종양 전이를 억제 (즉, 어느 정도까지 둔화시키고, 정지시킬 수 있음)할 수 있고/거나; (v) 종양 성장을 억제할 수 있고/거나; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 방지 또는 지연시킬 수 있고/거나; (vii) 암과 연관된 증상 중 1종 이상을 어느 정도까지 완화시킬 수 있다.
- [0122] 일부 측면에서, "치료 유효량"은 암의 유의한 감소 또는 암, 예컨대 진행성 고행 종양의 진행 (퇴행)의 둔화에 영향을 미치는 것으로 임상적으로 입증된 신규분해제 또는 신규분해제 접합체의 양이다. 질환 퇴행을 촉진하는 치료제의 능력은 숙련된 진료의에게 공지된 다양한 방법을 사용하여, 예컨대 임상 시험 동안 인간 대상체에서, 인간에서의 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서, 또는 시험관내 검정에서 작용제의 활성을 검정함으로써 평가될 수 있다.
- [0123] 본원에 사용된 용어 "표준 관리"는 의료 전문가에 의해 특정 유형의 질환에 대한 적절한 치료로서 수용되고 건강관리 전문가에 의해 널리 사용되는 치료를 지칭한다. 상기 용어는 하기 용어 중 임의의 것과 상호교환가능하게 사용될 수 있다: "최선의 의료행위", "표준 의료 관리" 및 "표준 요법".
- [0124] 예로서, "항암제"는 대상체에서 암 퇴행을 촉진하거나 또는 추가의 종양 성장을 방지한다. 특정 측면에서, 약물의 치료 유효량은 암을 제거하는 시점까지 암 퇴행을 촉진한다.
- [0125] 치료와 관련하여 용어 "유효한" 및 "유효성"은 약리학적 유효성 및 생리학적 안전성 둘 다를 포함한다. 약리학적 유효성은 환자에서 암 퇴행을 촉진하는 약물의 능력을 지칭한다. 생리학적 안전성은 약물의 투여로부터 발생하는 세포, 기관 및/또는 유기체 수준에서의 독성, 또는 다른 유해 생리학적 효과 (유해 효과)의 수준을 지칭한다.
- [0126] 본원에 사용된 용어 "면역 체크포인트 억제제"는 1종 이상의 체크포인트 단백질을 완전히 또는 부분적으로 감소시키거나, 억제하거나, 방해하거나 또는 조정하는 분자를 지칭한다. 체크포인트 단백질은 T-세포 활성화 또는 기능을 조절한다. 수많은 체크포인트 단백질, 예컨대 CTLA-4 및 그의 리간드 CD80 및 CD86; 및 PD-1과 그의 리간드 PD-L1 및 PD-L2가 공지되어 있다. [Pardoll, D.M., Nat Rev Cancer 12(4):252-64 (2012)]. 이들 단백질



[0139]

[0140] 여기서:

[0141] 은 질소 원자에 대한 부착 지점이고;

[0142] 은 Bm에 대한 부착 지점이고;

[0143] 일부 측면에서, 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 종양 세포주에 대한 시험관내 항증식 활성을 갖는다. 일부 측면에서, 신규분해제 및 결합 모이어티를 포함하는 신규분해제 접합체는 신규분해제 단독 또는 결합 모이어티 단독보다 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100% 더 높은 시험관내 항증식 활성을 갖는다. 일부 측면에서, 신규분해제 및 결합 모이어티를 포함하는 신규분해제 접합체는 신규분해제 단독 또는 결합 모이어티 단독보다 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배 더 높은 시험관내 항증식 활성을 갖는다.

[0144] 일부 측면에서, 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 BT-474 유방암 세포주에 대한 시험관내 항증식 활성, 예를 들어 신규분해제 단독 또는 결합 모이어티 단독과 비교하여 BT-474 유방암 세포주에 대한 보다 높은 항증식 활성을 갖는다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 SK-BR-3 유방암 세포주에 대한 시험관내 항증식 활성, 예를 들어 신규분해제 단독 또는 결합 모이어티 단독과 비교하여 SK-BR-3 유방암 세포주에 대한 보다 높은 항증식 활성을 갖는다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 NCI-N87 위암 세포주에 대한 시험관내 항증식 활성, 예를 들어 신규분해제 단독 또는 결합 모이어티 단독과 비교하여, NCI-N87 위암 세포주에 대한 보다 높은 항증식 활성을 갖는다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 Daudi 림프종 세포주에 대한 시험관내 항증식 활성, 예를 들어 신규분해제 단독 또는 결합 모이어티 단독과 비교하여 Daudi 림프종 세포주에 대한 보다 높은 항증식 활성을 갖는다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 HL-60 급성 골수성 백혈병 세포주에 대한 시험관내 항증식 활성, 예를 들어 신규분해제 단독 또는 결합 모이어티 단독과 비교하여 HL-60 급성 골수성 백혈병 세포주에 대한 보다 높은 항증식 활성을 갖는다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 라모스 비-호지킨 림프종(Ramos non-Hodgkins lymphoma) 세포주에 대한 시험관내 항증식 활성, 예를 들어 신규분해제 단독 또는 결합 모이어티 단독과 비교하여 라모스 비-호지킨 림프종 세포주에 대한 보다 높은 항증식 활성을 갖는다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 MV411 AML 세포주에 대한 시험관내 항증식 활성, 예를 들어 신규분해제 단독 또는 결합 모이어티 단독과 비교하여 MV411 AML 세포주에 대한 보다 높은 항증식 활성을 갖는다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 인간 혈청의 존재 하에 그의 항증식 활성을 유지할 수 있다. 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 암의 치료에 사용될 수 있다.

[0145] 일부 측면에서, 항체 신규분해제 접합체 (AnDC)는 본원에 개시된 1종 이상의 신규분해제 및 본원에 개시된 항체 또는 그의 항원-결합 부분의 접합체이다.

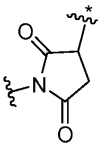
[0146] III.A. 링커

[0147] 본 개시내용의 신규분해제는 링커를 통해 결합 모이어티에 연결된다. 본원에 사용된 용어 "링커"는 결합 모이

어티 (Bm)를 신규분해제 P1에 연결시킬 수 있는 임의의 화학적 모이어티를 지칭한다.

[0148] 특정 측면에서, 링커는 이중이관능성 기를 함유할 수 있다. 본 개시내용에서, 용어 "이중이관능성 기"는 링커를 결합 모이어티에 연결하는 링커의 일부인 화학적 모이어티를 지칭한다. 이중이관능성 기는 화학적 모이어티의 어느 한 말단에 상이한 반응성 기를 갖는 것을 특징으로 한다. "Bm"에 대한 부착은 화학적 접합 또는 효소적 접합, 또는 둘 다의 조합을 통해 달성될 수 있다. 화학적 접합은 결합 모이어티의 표면 상의 접근가능한 아미노산 잔기와 이중이관능성 기 상의 반응 핸들의 제어된 반응을 수반한다. 화학적 접합의 예는 리신 아미드 커플링, 시스테인 커플링, 및 유전 공학에 의해 혼입된 비-천연 아미노산을 통한 커플링을 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 여기서 목적하는 반응 핸들을 갖는 비-천연 아미노산 잔기가 "Bm" 상에 설치된다. 효소적 접합에서, 효소는 링커와 결합 모이어티 상의 접근가능한 아미노 잔기의 커플링을 매개한다. 효소적 접합의 예는 소르타제를 사용한 펩티드교환, 미생물 트랜스글루타미나제를 사용한 펩티드교환, 및 N-글리칸 조작을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 화학적 접합 및 효소적 접합이 또한 순차적으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 효소적 접합은 또한 후속 화학적 접합에 이용될 고유한 반응 핸들을 "Bm" 상에 설치하는 데 사용될 수 있다.

[0149] 일부 측면에서, 이중이관능성 기는 하기이다:



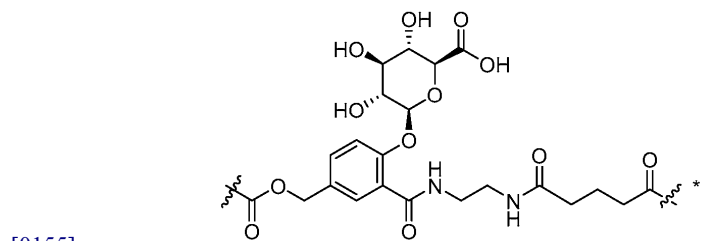
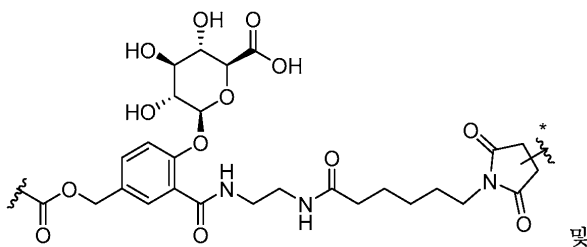
[0150] 여기서

[0151] 여기서

[0152] ~~~ 은 링커의 나머지 부분에 대한 부착 지점이고;

[0153] ~~~* 은 Bm에 대한 부착 지점이다.

[0154] 특정 측면에서, L은 베타-글루쿠로니다제 절단가능한 링커이다. 일부 측면에서, L은 하기로부터 선택된 베타-글루쿠로니다제 절단가능한 링커이다:



[0155] 여기서:

[0156] ~~~ 은 신규분해제 P1에 대한 부착 지점이고;

[0157] ~~~* 은 결합 모이어티에 대한 부착 지점이다.

[0158] III.B. 결합 모이어티

[0159] 본 개시내용은 결합 모이어티에 접합된 신규분해제를 제공한다. 본원에 사용된 용어 "결합 모이어티"는 세포 표면 마커 또는 수용체를 인지하고 이에 결합하는 임의의 분자를 지칭한다. 특정 측면에서, 결합 모이어티는 폴리펩티드 모이어티에 제한되지 않는 단백질에 결합한다. 결합 모이어티는, 신규분해제를 특이적 세포, 조직

또는 위치에 표적화하는 것 이외에도, 또한 특정 치료 효과, 예컨대 표적 세포 또는 경로에 대한 항증식성 (세포증식억제성 및/또는 세포독성) 활성을 가질 수 있다. 특정 측면에서, 결합 모이어티는 적어도 하나의 화학적 반응성 기, 예컨대 카르복실산, 아민, 티올, 또는 화학적 반응성 아미노산 모이어티 또는 측쇄를 포함할 수 있거나 또는 포함하도록 조작될 수 있다. 일부 측면에서, 결합 모이어티는 소정의 표적 세포 집단에 대한 세포 표면 분자, 예컨대 세포 표면 수용체 또는 항원과 결합하거나 복합체를 형성하는 표적화 모이어티를 포함할 수 있다. 수용체와의 특이적 결합 또는 복합체화 후에, 세포는 표적화 모이어티 또는 신규분해제 접합체의 흡수를 허용하고, 이는 이어서 세포 내로 내재화된다.

[0161] 일부 측면에서, 기 "Bm"은 세포 표면 분자에 특이적으로 결합할 수 있는 모이어티일 수 있다. 일부 측면에서, 기 "Bm"은 세포 표면 수용체 또는 항원에 결합하는 펩티드 또는 단백질일 수 있다.

[0162] 특정 측면에서, 기 "Bm"은 항체, 항체 단편, 또는 항원-결합 단편일 수 있다. 항체는 특이적 항원을 인지하고 이에 결합할 수 있는, 면역계에 의해 생성된 단백질이다. 표적 항원은 일반적으로 다수의 항체 상의 CDR에 의해 인지되는, 에피토프로도 불리는 다수의 결합 부위를 갖는다. 상이한 에피토프에 특이적으로 결합하는 각각의 항체는 상이한 구조를 갖는다. 따라서, 1종의 항원은 1종 초과와 상응하는 항체를 가질 수 있다. 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 구체적으로 모노클로날 항체, 단일 도메인 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 및 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함한다. 항체는 무린, 인간, 인간화, 키메라, 또는 다른 종으로부터 유래된 것일 수 있다.

[0163] 신규분해제에 접합될 수 있는 모노클로날 항체는 특정한 항원 결정기 (예를 들어, 암 세포 항원, 바이러스 항원, 미생물 항원, 단백질, 펩티드, 탄수화물, 화학물질, 핵산, 또는 그의 단편)에 대한 동종 항체 집단이다. 관심 항원에 대한 모노클로날 항체 (mAb)는 배양물 중 연속 세포주에 의한 항체 분자의 생산을 제공하는 관련 기술분야에 공지된 임의의 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 이들은 하이브리도마 기술, 인간 B 세포 하이브리도마 기술, 및 EBV-하이브리도마 기술을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 이러한 항체는 IgG, IgM, IgE, IgA 및 IgD를 포함한 임의의 이뮤노글로불린 클래스 및 그의 임의의 하위클래스의 것일 수 있다. 본 개시내용에 사용되는 mAb를 생산하는 하이브리도마는 시험관내 또는 생체내에서 배양될 수 있다.

[0164] 유용한 모노클로날 항체는 인간 모노클로날 항체, 인간화 모노클로날 항체, 항체 단편, 또는 키메라 인간-마우스 (또는 다른 종) 모노클로날 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 인간 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 수많은 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0165] 항체는 또한 이중특이적 항체일 수 있다. 이중특이적 항체를 제조하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 전장 이중특이적 항체의 전통적인 생산은 2개의 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 공동발현에 기초하며, 여기서 2개의 쇠는 상이한 특이성을 갖는다. 이뮤노글로불린 중쇄 및 경쇄의 무작위 편성으로 인해, 이들 하이브리도마 (퀴드로마)는 10종의 상이한 항체 분자의 잠재적 혼합물을 생산하며, 이들 중 단지 1종만이 정확한 이중특이적 구조를 갖는다. 통상적으로 친화성 크로마토그래피 단계를 사용하여 수행되는 정확한 분자의 정제는 다소 번거롭고, 생성물 수율이 낮다.

[0166] 상이한 접근법에 따르면, 원하는 결합 특이성 (항체-항원 결합 부위)이 있는 항체 가변 도메인이 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열에 융합된다. 융합은 힌지의 적어도 일부, CH2 및 CH3 영역을 포함하는 이뮤노글로불린 중쇄 불변 도메인과의 융합일 수 있다. 제1 중쇄 불변 영역 (CH1)은 융합체 중 적어도 하나에 존재하는 경쇄 결합에 필요한 부위를 함유할 수 있다. 이뮤노글로불린 중쇄 융합체 및 원하는 경우에 이뮤노글로불린 경쇄를 코딩하는 서열을 갖는 핵산을 개별 발현 벡터 내로 삽입하고, 적합한 숙주 유기체 내로 공동-형질감염시킨다. 이는 구축에 사용되는 3개의 폴리펩티드 쇠의 동일하지 않은 비가 최적의 수율을 제공하는 경우의 측면에서 3개의 폴리펩티드 단편의 상호 비율을 조정하는 데 있어서 큰 유연성을 제공한다. 그러나, 동일한 비의 적어도 2개의 폴리펩티드 쇠의 발현이 고수율을 초래하는 경우 또는 비가 특정한 유의성을 갖지 않는 경우에, 2개 또는 모든 3개의 폴리펩티드 쇠에 대한 코딩 서열을 1개의 발현 벡터에 삽입하는 것이 가능하다.

[0167] 이중특이적 항체는 하나의 아암에 제1 결합 특이성을 갖는 하이브리드 이뮤노글로불린 중쇄, 및 다른 아암에 하이브리드 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍 (제2 결합 특이성을 제공함)을 가질 수 있다. 이중특이적 분자의 한쪽 절반에만 이뮤노글로불린 경쇄가 존재하는 것이 용이한 분리 방식을 제공하기 때문에, 이러한 비대칭 구조는 원치 않는 이뮤노글로불린 쇠 조합물로부터의 원하는 이중특이적 화합물의 분리를 용이하게 한다. 이러한 기술을 사용하여, 이중특이적 항체를 본원에 정의된 바와 같은 질환의 치료 또는 예방에서 신규분해제에 대한 접합을 위해 제조할 수 있다.

- [0168] 하이브리드 또는 이중기능적 항체는 생물학적으로, 즉 세포 융합 기술에 의해, 또는 화학적으로, 특히 가교제 또는 디설피드-가교 형성 시약을 사용하여 유도할 수 있고, 전체 항체 또는 그의 단편을 포함할 수 있다.
- [0169] 항체는 암 세포 항원, 바이러스 항원, 또는 미생물 항원에 면역특이적으로 결합하는 항체의 기능적 활성 단편, 유도체 또는 유사체, 또는 중앙 세포 또는 매트릭스에 결합되는 다른 항체일 수 있다. 이와 관련하여, "기능적으로 활성인"은 단편, 유도체 또는 유사체가, 단편, 유도체 또는 유사체가 유래된 항체가 인지하는 것과 동일한 항원을 인지하는 항-항-이디오타입 항체를 유도할 수 있음을 의미한다. 구체적으로, 예시적인 측면에서 이뮤노글로불린 분자의 이디오타입의 항원성은 항원을 특이적으로 인지하는 CDR 서열에 대해 C-말단인 프레임워크 및 CDR 서열의 결실에 의해 증진될 수 있다. 어떤 CDR 서열이 항원에 결합하는지를 결정하기 위해, CDR 서열을 함유하는 합성 펩티드를 관련 기술분야에 공지된 임의의 결합 검정 방법에 의해 항원과의 결합 검정에 사용할 수 있다.
- [0170] 다른 유용한 항체는 항체의 단편, 예컨대 비제한적으로 항체 분자의 펩신 소화에 의해 생산될 수 있는 가변 영역, 경쇄 불변 영역 및 중쇄의 CH1 도메인을 함유하는 F(ab')₂ 단편, 및 F(ab')₂ 단편의 디설피드 가교를 환원 시킴으로써 생성될 수 있는 Fab 단편을 포함한다. 다른 유용한 항체는 항체의 중쇄 및 경쇄 이량체, 또는 그의 임의의 최소 단편, 예컨대 Fv 또는 단일 쇄 항체 (SCA), 또는 항체와 동일한 특이성을 갖는 임의의 다른 분자이다.
- [0171] 추가적으로, 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 제조될 수 있는, 인간 및 비-인간 부분 둘 다를 포함하는 재조합 항체, 예컨대 키메라 및 인간화 모노클로날 항체가 유용한 항체이다. 키메라 항체는 상이한 부분이 상이한 동물 종으로부터 유래된 분자, 예컨대 무린 모노클로날로부터 유래된 가변 영역 및 인간 이뮤노글로불린 불변 영역을 갖는 것이다. 인간화 항체는 비-인간 종으로부터의 하나 이상의 상보성 결정 영역 (CDR) 및 인간 이뮤노글로불린 분자로부터의 프레임워크 영역을 갖는 비-인간 종으로부터의 항체 분자이다. 이러한 키메라 및 인간화 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 공지된 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 수 있다.
- [0172] 완전 인간 항체는 내인성 이뮤노글로불린 중쇄 및 경쇄 유전자를 발현할 수 없지만 인간 중쇄 및 경쇄 유전자를 발현할 수 있는 트랜스제닉 마우스를 사용하여 생산될 수 있다. 트랜스제닉 마우스는 선택된 항원, 예를 들어 본 개시내용의 폴리펩티드의 전부 또는 일부로 정상적인 방식으로 면역화된다. 특정 항원을 지향하는 모노클로날 항체는 통상적인 하이브리도마 기술을 사용하여 수득될 수 있다. 트랜스제닉 마우스가 보유하는 인간 이뮤노글로불린 트랜스진은 B 세포 분화 동안 재배열되고, 후속적으로 클래스 전환 및 체세포 돌연변이를 겪는다. 따라서, 이러한 기술을 사용하여, 치료상 유용한 IgG, IgA, IgM 및 IgE 항체를 생산하는 것이 가능하다. 인간 항체를 생산하기 위한 상기 기술의 개관을 위해, 문헌 [Lonberg and Huszar (1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93)]을 참조한다. 다른 인간 항체는 예를 들어 아브게닉스, 인크.(Abgenix, Inc.) (캘리포니아주 프리몬트) 및 젠팜(Genpharm) (캘리포니아주 산호세)으로부터 상업적으로 입수할 수 있다.
- [0173] 선택된 에피토프를 인지하는 완전 인간 항체는 "가이드 선택"으로 지칭되는 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 이러한 접근법에서, 선택된 비-인간 모노클로날 항체, 예를 들어 마우스 항체가 동일한 에피토프를 인지하는 완전 인간 항체의 선택을 가이드하는 데 사용된다. 인간 항체는 또한 파지 디스플레이 라이브러리를 비롯한 관련 기술분야에 공지된 다양한 기술을 사용하여 생산될 수 있다.
- [0174] 항체는 항체 또는 그의 기능적 활성 단편의 융합 단백질일 수 있으며, 예를 들어 여기서 항체는 N-말단 또는 C-말단에서 공유 결합 (예를 들어, 펩티드 결합)을 통해 항체가 아닌 또 다른 단백질 (또는 그의 부분, 예컨대 단백질의 적어도 10, 20 또는 50개의 아미노산 부분)의 아미노산 서열에 융합된다. 항체 또는 그의 단편은 불변 도메인의 N-말단에서 다른 단백질에 공유 연결될 수 있다.
- [0175] 항체는 변형된, 즉 공유 부착이 항체가 그의 항원 결합 면역특이성을 보유하도록 하는 한 임의의 유형의 분자의 공유 부착에 의해 변형된 유사체 및 유도체를 포함한다. 예를 들어, 그러나 비제한적으로, 항체의 유도체 및 유사체는, 예를 들어 글리코실화, 아세틸화, PEG화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해적 절단, 세포 항체 단위 또는 다른 단백질에 대한 연결 등에 의해 추가로 변형된 것을 포함한다. 임의의 수많은 화학적 변형은 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화, 튜니카마이신의 존재 하의 대사 합성 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 공지된 기술에 의해 수행될 수 있다. 추가로, 유사체 또는 유도체는 1개 이상의 비천연 아미노산을 함유할 수 있다.
- [0176] 신규분해제 접합체 내의 항체는 Fc 수용체와 상호작용하는 아미노산 잔기에 변형 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)을 갖는 항체를 포함할 수 있다. 특히, 항체는 항-Fc 도메인과 FcRn 수용체 사이의 상호작용에 관여하는

것으로 확인된 아미노산 잔기에서의 변형을 갖는 항체를 포함한다. 암 세포 항원에 대해 면역특이적인 항체는, 예를 들어 제넨테크 (캘리포니아주 샌프란시스코)로부터 상업적으로 입수할 수 있거나, 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 예를 들어 화학적 합성 또는 재조합 발현 기술에 의해 생산할 수 있다. 암 세포 항원에 대해 면역특이적인 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은, 예를 들어 진뱅크 (GenBank) 데이터베이스 또는 그와 유사한 데이터베이스, 문헌 공개로부터, 또는 상용 클로닝 및 서열분석에 의해 획득될 수 있다.

[0177] 특정 측면에서, 신규분해제 접합체의 항체는 모노클로날 항체, 예를 들어 무린 모노클로날 항체, 키메라 항체, 또는 인간화 항체일 수 있다. 일부 측면에서, 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fab 단편일 수 있다.

[0178] 암의 치료 또는 예방을 위한 공지된 항체가 본원에 기재된 신규분해제에 접합될 수 있다. 암 세포 항원에 대해 면역특이적인 항체는 상업적으로 입수할 수 있거나, 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 예를 들어 재조합 발현 기술에 의해 생산될 수 있다. 암 세포 항원에 대해 면역특이적인 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은, 예를 들어 진뱅크(GenBank) 데이터베이스 또는 그와 유사한 데이터베이스, 문헌 공개로부터, 또는 상용 클로닝 및 서열분석에 의해 획득될 수 있다. 암의 치료에 이용가능한 항체의 예는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다:

[0179] 전이성 유방암을 갖는 환자의 치료를 위한 인간화 항-HER2 모노클로날 항체 헤르셉틴(HERCEPTIN)® (트라스투주맵); 비-호지킨 림프종을 갖는 환자의 치료를 위한 키메라 항-CD20 모노클로날 항체인 리투산(RITUXAN)® (리투시맵; 제넨테크); 난소암의 치료를 위한 무린 항체인 오바렉스(OvaRex)(오레고보맵; 알타렉스 코퍼레이션 (AltaRex Corporation), 매사추세츠주); 결장직장암의 치료를 위한 무린 IgG2a 항체인 파노렉스(Panorex) (에드레콜로맵, 글락소 웰컴(Glaxo Wellcome), 노스캐롤라이나주); 표피 성장 인자 양성 암, 예컨대 두경부암의 치료를 위한 항-EGFR IgG 키메라 항체인 세톡시맵 에르비투스(Cetuximab Erbitux) (세톡시맵, 임클론 시스템즈 인크.(Imclone Systems Inc.), 뉴욕주); 육종의 치료를 위한 인간화 항체인 비탁신(Vitaxin) (에타라시주맵, 메드이뮤, 인크.(MedImmune, Inc.), 메릴랜드주); 만성 림프구성 백혈병 (CLL)의 치료를 위한 인간화 IgG1 항체인 캄파트(Campath) I/H (알렘투주맵, 류코사이트(Leukosite), 매사추세츠주);

[0180] 급성 골수성 백혈병 (AML)의 치료를 위한 인간화 항-CD33 IgG 항체인 스마트(Smart) MI95 (프로테인 디자인 랩스, 인크.(Protein Design Labs, Inc.), 캘리포니아주); 비-호지킨 림프종의 치료를 위한 인간화 항-CD22 IgG 항체인 림포사이드(LymphoCide) (에프라투주맵, 이뮤노메디스, 인크.(Immunomedics, Inc.), 뉴저지주); 비-호지킨 림프종의 치료를 위한 인간화 항-HLA-DR 항체인 스마트 ID10 (프로테인 디자인 랩스, 인크.(Protein Design Labs, Inc.), 캘리포니아주); 비-호지킨 림프종의 치료를 위한 방사성표지된 무린 항-HLA-Dr10 항체인 온콜림(Oncolym)(테크니클론, 인크.(Techniclone, Inc.), 캘리포니아주); 호지킨병 또는 비-호지킨 림프종의 치료를 위한 인간화 항-CD2 mAb인 알로뮴(Allomune) (바이오투랜스플랜트(BioTransplant), 캘리포니아주); 폐암 및 결장직장암의 치료를 위한 항-VEGF 인간화 항체인 아바스틴(Avastin) (베바시주맵, 제넨테크, 인크., 캘리포니아주); 비-호지킨 림프종의 치료를 위한 항-CD22 항체인 에프라투주맵(Epratuzumab) (이뮤노메디스, 인크., 뉴저지주 및 암젠(Amgen), 캘리포니아주); 및 결장직장암의 치료를 위한 인간화 항-CEA 항체인 CEA사이드(CEAcide) (이뮤노메디스, 뉴저지주).

[0181] 신규분해제 접합체에 유용한 다른 항체는 트라스투주맵, 겐투주맵, 페르투주맵, 오비누투주맵, 오파투무맵, 다라투무맵, STI-6129, 린투주맵, huMy9-6, 발란타맵, 인다특시맵, 디누특시맵, 항-CD38 A2 항체, HuAT13/5 H3s 항체, 이브리투모맵, 토시투모맵, 파니투무맵, 트레멜리무맵, 티실리무맵, 카투막소맵 및 벨투주맵을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 특정 측면에서, 항체는 리투시맵, 트라스투주맵, 페르투주맵, huMy9-6-IgG4-S228P, 린투주맵 및 겐투주맵으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0182] 신규분해제 접합체에 유용한 다른 항체는 하기 항원에 대한 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다: CA125 (난소), CA15-3 (암종), CA19-9 (암종), L6 (암종), 루이스 Y (암종), 루이스 X (암종), 알파 태아단백질 (암종), CA 242 (결장직장), 태반 알칼리성 포스파타제 (암종), 전립선 특이적 항원 (전립선), 전립선 산 포스파타제 (전립선), 표피 성장 인자 (암종), MAGE-1 (암종), MAGE-2 (암종), MAGE-3 (암종), MAGE-4 (암종), 항-트랜스페린 수용체 (암종), p97 (흑색종), MUC1-KLH (유방암), CEA (결장직장), gp100 (흑색종), MART1 (흑색종), PSA (전립선), IL-2 수용체 (T-세포 백혈병 및 림프종), CD20 (비-호지킨 림프종), CD52 (백혈병), CD33 (백혈병), CD22 (림프종), 인간 융모성 고나도트로핀 (암종), CD38 (다발성 골수종), CD40 (림프종), 뮤신 (암종), P21 (암종), MPG (흑색종), 및 Neu 증양유전자 생성물 (암종). 일부 구체적인 유용한 항체는 BR96 mAb (Trail, P. A., et al. Science (1993) 261, 212-215), BR64 (Trail, P A, et al. Cancer Research (1997)

57, 100-105), CD40 항원에 대한 mAb, 예컨대 S2C6 mAb (Francisco, J. A., et al. Cancer Res. (2000) 60:3225-3231), CD70 항원에 대한 mAb, 예컨대 1F6 mAb, 및 CD30 항원에 대한 mAb, 예컨대 AC10을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 종양 연관 항원에 결합하는 다수의 다른 내재화 항체가 사용될 수 있고, 검토되었다.

[0183] 본 발명의 접합체가 결합할 수 있는 다른 항원은 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다:

[0184] 5T4, ACE, ADRB3, AKAP-4, ALK, 안드로겐 수용체 AOC3, APP, Axin1, AXL, B7H3, B7-H4, BCL2, BCMA, bcr-abl, BORIS, BST2, C242, C4.4a, CA 125, CA6, CA9, CAIX, CCL11, CCR5, CD123, CD133, CD138, CD142, CD15, CD15-3, CD171, CD179a, CD18, CD19, CD19-9, CD2, CD20, CD22, CD23, CD24, CD25, CD27L, CD28, CD3, CD30, CD31, CD300LF, CD33, CD352, CD37, CD38, CD4, CD40, CD41, CD44, CD44v6, CD5, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD71, CD72, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD90, CD97, CD125, CD138, CD141, CD147, CD152, CD154, CD326, CEA, CEACAM5, CFTR, 응집 인자, cKit, 클라우딘 3, 클라우딘 18.2, CLDN6, CLEC12A, CLL-1, c113, c-MET, 크립토 단백질, CS1, CTLA-4, CXCR2, CXORF61, 시클린 B1, CYP1B1, 카르헤린-3, 카르헤린-6, DLL3, E7, EDNRB, EFNA4, EGFR, EGFRvIII, ELF2M, EMR2, ENPP3, EPCAM, EphA2, 에프린 A4, 에프린 B2, EPHB4, ERBB2 (Her2/neu), ErbB3, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), ETBR, ETV6-AML, FAP, FCAR, FCRL5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, 플레이트 수용체 알파, 플레이트 수용체 베타, FOLR1, Fos-관련 항원 1, 푸코실 GM1, GCC, GD2, GD3, 글로보H, GM3, GPC1, GPC2, GPC3, gp100, GPNMB, GPR20, GPRC5D, GUCY2C, HAVCR1, HER2, HER3, HGF, HMI.24, HMWMAA, HPV E6, hTERT, 인간 텔로머라제 리버스 트랜스크립타제, ICAM, ICOS-L, IFN- α , IFN- γ , IGF-I 수용체, IGLL1, IL-2 수용체 (IL-2R α (즉, CD25), IL-2R β (즉, CD122), IL-2R γ (즉, CD132)), IL-4 수용체 (IL-4R, IL-2R γ /IL-13R α 1), IL-13 수용체 (IL-13R α 1, IL-13R α 2, IL-4R) IL-1 수용체 (IL-1 α), IL-12 수용체 (IL-12R β 1, IL-12R β 2), IL-23 수용체 (IL-12R β 1, IL-23R), IL-22 수용체 (IL-22R α 1, IL-22R α 2, IL-10R β), IL-5 수용체 (IL-5R α , CSF2RB), IL-6 수용체 (IL-6R α , gp130), 인터페론 수용체, 인테그린 (예컨대 α 4, α v β 3, α v β 5, α v β 6, α 1 β 4, α 4 β 1, α 4 β 7, α 5 β 1, α 6 β 4, α I1b β 3 인테그린), 인테그린 알파V, 장 카르복실 에스테라제, KIT, LAGE-1a, LAIR1, LAMP-1, LCK, 레구마인, 루이스Y, LFA-1(CD11a), L-셀렉틴(CD62L), LILRA2, LIV-1, LMP2, LRRC15, LY6E, LY6K, LY75, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE A1, 멜라A/MART1, 메소텔린, ML-IAP, MSLN, 뮤신, MUC1, MUC16, mut hsp70-2, MYCN, 미오스타틴, NA17, NaPi2b, NCA-90, NCAM, 넥틴-4, NGF, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NY-BR-1, NY-ESO-1, o-아세틸-GD2, OR51E2, OY-TES1, p53, p53 돌연변이체, PANX3, PAP, PAX3, PAX5, p-CAD, PCTA-1/갈렉틴 8, PD-L1, PD-L2, PDGFR, PDGFR-베타, 포스파티딜세린, PIK3CA, PLAC1, 폴리시알산, 프로스타제, 전립선 암종 세포, 프로스테인, 슈도모나스 아에루기노사, 광견병, 서바이빈 및 텔로머라제, PRSS21, PSCA, PSMA, PTK7, RAGE-1, RANKL, Ras 돌연변이체, 호흡기 세포융합 바이러스, 레서스 인자, RhoC, RON, ROR1, ROR2, RU1, RU2, 육종 전위 절단점, SART3, SLAMF7, SLC44A4, sLe, SLITRK6, 정자 단백질 17, 스펅고신-1-포스페이트, SSEA-4, SSX2, STEAP1, TAG72, TARP, TCR β , TEM1/CD248, TEM7R, 테나신 C, TF, TGF-1, TGF- β 2, TNF- α , TGS5, Tie 2, TIM-1, Tn Ag, TRAC, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TROP-2, TRP-2, TRPV1, TSHR, 종양 항원 CTA16.88, 티로시나제, UPK2, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, 비멘틴, WT1 및/또는 XAGE1.

[0185] 항원 제시 세포와 관련된 항원, 예컨대 CD40, OX40L, 엔도글린, DEC-205, 4-1BBL, CD36, CD36, CD204, MARCO, DC-SIGN, CLEC9A, CLEC5A, 렉틴 2, CLEC10A, CD206, CD64, CD32A, CD1A, HVEM, CD32B, PD-L1, BDCA-2, XCR-1, 및 CCR2에 결합하는 항체가 또한 신규분해제에 접합될 수 있다.

[0186] 신규분해제 접합체의 항체는 활성화된 림프구 상에서 발현된 수용체 또는 수용체 복합체 둘 다에 결합할 수 있다. 수용체 또는 수용체 복합체는 이뮤노글로불린 유전자 슈퍼패밀리 구성원, TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원, 인테그린, 시토카인 수용체, 케모카인 수용체, 주요 조직적합성 단백질, 렉틴 또는 보체 제어 단백질을 포함할 수 있다. 적합한 이뮤노글로불린 슈퍼패밀리 구성원의 비제한적 예는 CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD22, CD28, CD79, CD90, CD152/CTLA-4, PD-1 및 ICOS이다. 적합한 TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원의 비제한적 예는 CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, TNF-R1, TNFR-2, RANK, TACI, BCMA, 오스테오프로테게린, Apo2/TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4, 및 APO-3이다. 적합한 인테그린의 비제한적 예는 CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD41, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD103 및 CD104이다. 적합한 렉틴의 비제한적 예는 C-유형, S-유형 및 I-유형 렉틴이다.

[0187] 일부 측면에서, 본 개시내용에 유용할 수 있는 항체는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다:

[0188] 3F8, 8H9, 아바코보맙, 압식시맙 (레오프로(REOPRO)[®]), 아비투주맙, 아브레제키맙, 아브릴루맙, 악톡수맙, 아달리무맙 (휴미라(HUMIRA)[®]), 아테카투무맙, 아두카누맙, 아파세비쿠맙, 아펠리모맙, 아푸투주맙, 알라시주맙,

ALD518, 알렘투주맙 (캄파트(CAMPATH)[®]), 알리로쿠맙 (프랄루엔트(PRALUENT)[®]), 알투모맙, 아마톡시맙, 아나투모맙, 아네칼릭시맙, 아네투맙, 아니프롤루맙, 안루킨주맙, 아폴리주맙, 아프루투맙, 아르시투모맙 (세아-스칸(CEA-SCAN)[®]), 아스크린바쿠맙, 아셀리주맙, 아티도르톡수맙, 아틀리주맙 (토실리주맙, 악템라(ACTEMRA)[®]), 로악템라(ROACTEMRA)[®]), 아테줄리주맙 (테센트릭(TECENTRIQ)[®]), 아티누맙, 아톨롤리무맙, 아벨루맙 (바벤시오(Bavencio)), 아진톡시주맙, 발란타맙, 바피뉴주맙, 바실릭시맙 (시물렉트(SIMULECT)[®]), 바비톡시맙, BCD-100, 벡투모맙 (림포스칸(LYMPHOSCAN)[®]), 베젤로맙, 벨란타맙, 벨리무맙 (벤리스트아(BENLYSTA)[®]), 베마리투주맙, 벤랄리주맙 (파센라(FASENRA)[®]), 베르메키맙, 베르산리맙, 베르틸리무맙, 베실레소맙 (시니티문(SCINITIMUN)[®]), 베바시주맙 (아바스틴(AVASTIN)[®]), 베즐로톡수맙 (진플라바(ZINPLAVA)[®]), 비시로맙 (피브리시스트(FIBRISCINT)[®]), 비마그루맙, 비메키주맙, 비르타미맙, 비바투주맙, 블레셀루맙, 블리나투모맙, 블론투베투맙, 블로소주맙, 보코시주맙, 브라지쿠맙, 브렌톡시맙, 브리아키누맙, 브로달루맙 (실리크(SILIQ)[™]), 브로루시주맙 (베오부(BEOVU)[®]), 브론틱투주맙, 부로수맙 (크리스비타(CRYSVITA)[®]), 카비랄리주맙, 카플라시주맙 (카블리비(CABLIVI)[®]), 카미단루맙, 캄렐리주맙, 카나키누맙 (일라리스(ILARIS)[®]), 칸투주맙, 카프로맙, 카를루맙, 카로톡시맙, 카투막소맙 (레모바브(REMOVAB)[®]), cBR96, CC49, 세텔리주맙, 세미폴리맙 (립타요(LIBTAYO)[®]), 세르구투주맙, 세르트렐리맙, 세르톨리주맙, 세톡시맙 (에르비톡스(ERBITUX)[®]), 시비사타맙, 시름투주맙, 시타투주맙, 식수투무맙, 클라자키주맙, 클레놀릭시맙, 클리바투주맙, 코드리투주맙, 코페투주맙, 콜톡시맙, 코나투무맙, 콘시주맙, 코스프로빅시맙, CR6261, 크레네주맙, 크리잔리주맙 (아다크베오(ADAKVEO)[®]), 크로테두맙, 쿠사투주맙, 다세투주맙, 다클리주맙 (진브리타(ZINBRYTA)[®]), 달로투주맙, 다피롤리주맙, 다라투무맙 (다르잘렉스(DARZALEX)[®]), 텍트레쿠맙, 템시주맙, 테닌투주맙, 테노수맙 (프롤리아(PROLIA)[®]), 데파톡시주맙, 데를로톡시맙, 데투모맙, 데자미주맙, 디누톡시맙 (유니톡신(UNITUXIN)[®]), 디리다주맙, 도마그로주맙, 도스타를리맙, 도를리모맙, 도를릭시주맙, 드로지투맙, DS-8201, 돌리고투주맙, 두필루맙 (두픽센트(DUPIXENT)[®]), 두르발루맙 (임핀지(IMFINZI)[®]), 두시기투맙, 에크로멕시맙, 에쿨리주맙 (솔리리스(SOLIRIS)[®]), 에도바코맙, 에드레콜로맙 (파노렉스(PANOREX)[®]), 에팔리주맙 (랍티바(RAPTIVA)[®]), 에편구맙 (미코그라브(MYCOGRAB)[®]), 엘렐루맙, 엘레자누맙, 엘젬투맙, 엘로투주맙 (엠펙리시티(EMPLICITI)[®]), 엘실리모맙, 에막투주맙, 에마팔루맙 (가미판트(GAMIFANT)[®]), 에미베투주맙, 에미시주맙 (헴리브라(HEMLIBRA)[®]), 에나포타맙, 에나바투주맙, 엔포르투맙 (패드세브(PADCEV)[®]), 엔리모맙, 에노블리투주맙, 에노키주맙, 에노티쿠맙, 엔시톡시맙, 에피투모맙, 엡티네주맙 (비엡티(VYEPTI)[®]), 에프라투주맙, 에레누맙 (아이모비히(AIMOVIG)[®]), 에를리주맙, 에르투막소맙 (렉소문(REXOMUN)[®]), 에타라시주맙 (아베그린(ABEGRIN)[®]), 에티길리맙, 에트롤리주맙, 에비나쿠맙, 에블로쿠맙 (레파타(REPATHA)[®]), 엑스비비루맙, 파놀레소맙 (뉴트로스펙(NEUTROSPEC)[®]), 파랄리모맙, 파리시맙, 파를레투주맙, 파시누맙, FBTA05, 펠비주맙, 페자키누맙, 피바투주맙, 피클라투주맙, 피기투무맙, 피리부맙, 플란보투맙, 플레티쿠맙, 플로테투주맙, 폰톨리주맙 (후자프(HUZAF)[®]), 포랄루맙, 포라비루맙, 프레마네주맙 (아조비(AJOVY)[®]), 프레솔리무맙, 프로보시맙, 프룬베트맙, 플라누맙, 푸톡시맙, 갈카네주맙 (엠킨리티(EMGALITY)[®]), 갈릭시맙, 간코타맙, 가니투맙, 간테네투맙, 가빌리모맙, 게디부맙, 겐투주맙, 게보키주맙, 길베트맙, 김실루맙, 기렌톡시맙, 글렘바투무맙, 골리무맙 (심포니(SIMPONI)[®]), 고릴릭시맙, 구셀쿠맙 (트렘피아(TREMFYA)[®]), huMy9-6, huMY9-6-IgG4-S228P, 이아날루맙, 이발리주맙 (트로가르조(TROGARZO)[®]), IBI308, 이브리투모맙, 이크루쿠맙, 이다루시주맙 (프락스빈드(PRAXBIND)[®]), 이파보투주맙, 이고보맙 (인디마시스(INDIMACIS)-125), 일라다투주맙, IMAB362, 이말루맙, 이마프렐리맙, 임시로맙 (미오신트(MYOSCINT)[®]), 임가투주맙, 인클라쿠맙, 인다톡시맙, 인두사투맙, 이네빌리주맙, 인플릭시맙 (레미케이드(REMICADE)[®]), 인테투무맙, 이놀리모맙, 이노투주맙, 이오맙-B, 이필리무맙, 이라투무맙, 이사톡시맙 (사르클리사(SARCLISA)[®]), 이스칼리맙, 이스티라투맙, 이톨리주

맵, 익세키주맵 (탈츠(TALTZ)[®]), 켈릭시맵, 라베투주맵 (세아-사이드(CEA-CIDE)[™]), 락노투주맵, 라디라투주맵, 램팔리주맵, 라나텔루맵 (탁자이로(TAKHZYRO)[®]), 란도그로주맵, 라프리트주맵, 라르카빅시맵, 레브리키주맵, 레말레소맵, 렌달리주맵, 렌베르비맵, 렌질루맵, 레르멜리무맵, 레론리맵, 레소과부맵, 레틀리주맵, 렉사투무맵, 리비비루맵, 리파스투주맵, 리젤리주맵, 릴로토맵, 린투주맵, 리릴루맵, 로텔시주맵, 로키베트맵, 론카톡시맵, 로르보투주맵, 로사톡시주맵, 루카투무맵, 롤리주맵, 루밀릭시맵, 룸레투주맵, 루파르투맵, 루티키주맵, 마파투무맵, 마르케톡시맵, 마르스타시맵, 마슬리모맵, 마투주맵, 마브릴리무맵, 메폴리주맵 (누칼라(NUCALA)[®]), 메텔리무맵, 밀라투주맵, 민레투모맵, 미리키주맵, 미르베크시맵, 미투모맵, 모도톡시맵, 몰랄리주맵, 모가물리주맵 (포텔리게오(POTELIGEO)[®]), 모롤리무맵, 모수네투주맵, 모타비주맵 (누맥스(NUMAX)[®]), 목세투모맵 (루목시티(LUMOXITI)[®]), 무로모납-CD3 (오르토클론(ORTHOCLONE) OKT3[®]), 나콜로맵, 나밀루맵, 나프투모맵, 나라톡시맵, 나르나투맵, 나탈리주맵 (티사브리(TYSABRI)[®]), 나비식시주맵, 나비주맵, 낙시타맵, 네바쿠맵, 네시투무맵 (포르트라자(PORTRAZZA)[®]), 네몰리주맵, NEOD001, 네렐리모맵, 네스바쿠맵, 네타키맵, 니모투주맵 (테라심(THERACIM)[®]), 니르세비맵, 니볼루맵, 노페투모맵, 오빌톡삭시맵 (안팀(ANTHIM)[®]), 오비누투주맵, 오카라투주맵, 오크렐리주맵 (오크레부스(OCREVUS)[®]), 오돌리모맵, 오파투무맵 (아르제라(AZERRA)[®]), 올라라투맵 (라트루보(LARTRUVO)[®]), 올레클루맵, 올렌달리주맵, 올로키주맵, 오말리주맵 (졸레어(XOLAIR)[®]), 움부르타맵, OMS721, 오나르투주맵, 온테시주맵, 온톡시주맵, 온바틸리맵, 오피시누맵, 오포르투주맵, 오레고보맵 (오바렉스(OVAREX)), 오르티쿠맵, 오텔릭시주맵, 오텔리맵, 오텔레투주맵, 옥셀루맵, 오자네주맵, 오조가미신, 오조탈리주맵, 파기박시맵, 팔리비주맵 (시나기스(SYNAGIS)[®]), 팜레블루맵, 파니투무맵 (벡티빅스(VECTIBIX)[®]), 판코맵, 파노바쿠맵, 파르사투주맵, 파스콜리주맵, 파소톡시주맵, 파테클리주맵, 파트리투맵, PDR001, 팸브롤리주맵, 팸투모맵 (테라긴(THERAGYN)[®]), 페라키주맵, 페르투주맵 (옵니타르그(OMNITARG)[®]), 펙셀리주맵, 피딜리주맵, 피나투주맵, 핀투모맵, 플라쿨루맵, 플라투주맵 (폴리비(Polivy)), 프레잘루맵, 플로잘리주맵, 포갈리주맵, 포네주맵, 포르가빅시맵, 프라시네주맵, 프레잘리주맵, 프릴릭시맵, 프리톡사시맵, 프리투무맵, PRO 140, 켈리주맵, 라코투모맵, 라드레투맵, 라피비루맵, 랄판시주맵, 라무시루맵, 라네베트맵, 라니비주맵 (루센티스(LUCENTIS)[®]), 라바갈리맵, 라블리주맵 (올토미리스(ULTOMIRIS)[®]), 락시바쿠맵, 레파네주맵, 레가비루맵, REGN-EB3, 레나틀리맵, 렘틀루맵, 레슬리주맵 (신케어(CINQAIR)[®]), 릴로투무맵, 리누쿠맵, 리산키주맵 (스키리지(SKYRIZI)[®]), 리톡시맵 (리톡산(RITUXAN)[®]), 리바바주맵, rmab, 로바투무맵, 롤레두맵, 로밀키맵, 로모소주맵 (에비니티(EVENITY)[®]), 론탈리주맵, 로스만투주맵, 로발피투주맵, 로벨리주맵 (류카르레스트(LEUKARREST)[®]), 로자놀릭시주맵, 루폴리주맵 (안토바(ANTOVA)), SA237, 사시투주맵, 사말리주맵, 삼로타맵, 사틸루맵 (케브자라(KEVZARA)[®]), 사트랄리주맵, 사투모맵 펜테티드, 세쿠키누맵 (코센틱스(COSENTYX)[®]), 셀리크렐루맵, 세리반투맵, 세톡사시맵, 세트루수맵, 세비루맵, SGN-CD19A, SHP647, 시브로투주맵, 시팔리무맵, 실헉시맵, 심투주맵, 시플리주맵, 시르트라투맵, 시루쿠맵, 소피투주맵, 솔라네주맵, 솔리토맵, 소넵시주맵, 손투주맵, 스파르탈리주맵, 스타물루맵, STI-6129, 슬레소맵 (류코스칸(LEUKOSCAN)[®]), 수프타주맵, 수틸리맵, 수비주맵, 수브라톡수맵, 타발루맵, 타카투주맵 (AFP-CIDE)[®], 타도시주맵, 탈라코투주맵, 탈리주맵, 탐투베트맵, 타네주맵, 타플리투모맵 팜톡스, 타렉스투맵, 타블리맵, 테피바주맵 (아우레시스(AUREXIS)[®]), 텔리모맵, 텔리소투주맵, 테시돌루맵, 테트라크세탄, 테톨로맵, 테나투모맵, 테넬릭시맵, 테프로투무맵 (테페자(TEPEZZA)[®]), 테폴리주맵, 테제켈루맵, TGN1412, 티블리주맵, 티실리무맵 (트레멜리무맵(TREMELIMUMAB)[®]), 티가투주맵, 티미구투주맵, 티물루맵, 티라골루맵, 티라고투맵, 티셀리주맵, 티소투맵, 티옥세탄, 티드라키주맵 (일루미아(ILUMYA)[®]), TNX-650, 토실리주맵 (아틀리주맵, 악템라(ACTEMRA)[®]), 토무조톡시맵, 토랄리주맵, 토사톡수맵, 토시투모맵 (벅사르(BEXXAR)[®]), 토베투맵, 트랄로키누맵, 트라스투주맵 (헤르셉틴(HERCEPTIN)[®]), TRBS07, 트레갈리주맵, 트레멜리무맵, 트레보그루맵, 투코투주맵, 투비루맵, 우르톡사주맵, 우스테키누맵 (스텔레라(STELERA)[®]), 우블리톡시맵, 울로쿠플루맵, 우렐루맵, 우토밀루맵, 바다스톡시맵, 바날리맵, 반도르투주맵, 반틱투맵, 바누시주맵, 바팔릭시맵, 바리사쿠맵, 바를리루맵, 바텔리주맵, 베돌리주맵, 벨투주맵, 베팔리모맵, 베센쿠맵, 비실리주맵 (누비온

(NUVION)[®]), 보바릴리주맵, 볼로식시맵 (휴마스펙트(HUMASPECT)[®]), 본레롤리주맵, 보프라텔리맵, 보르세투주맵, 보투무맵, 부나키주맵, 크센투주맵, XMAB-5574, 잘루투무맵 (HuMEX-EGFr), 자놀리무맵 (HuMAX-CD4), 자톡시맵, 제노쿠투주맵, 지랄리무맵, 줄베톡시맵 또는 줄리모맵.

[0189] 일부 측면에서, 본 개시내용에 유용한 결합 모이어티는 항-CD33 항체 또는 그의 항원-결합 부분을 포함한다. CD33은 급성 골수성 백혈병 (AML) 사례의 대략 90%에서 발현되고, 치료 항체의 표적으로서의 유용성이 입증되었다. AML 모세포 상에서의 높은 CD33 발현은 대략 30년 전에 보고되었다. CD33은 AML을 나타내는 환자의 85-90%의 모세포 뿐만 아니라 정상 골수성 전구세포 및 골수구 상에서 검출되었다. CD33은 조혈 세포에 제한되지만, 정상 조혈 줄기 세포에는 부재하여, AML 요법을 위한 이상적인 표적이 된다.

[0190] 본 개시내용의 접합체를 위한 항-CD33 항체는 CD33에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 항-CD33 항체는 인간 CD33에 높은 친화도로, 예를 들어 10^{-6} M 이하, 10^{-7} M 이하, 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M 이하, 10^{-10} M 이하, 10^{-11} M 이하, 10^{-12} M 이하, 10^{-12} M 내지 10^{-7} M, 10^{-11} M 내지 10^{-7} M, 10^{-10} M 내지 10^{-7} M, 또는 10^{-9} M 내지 10^{-7} M의 K_D 로 결합한다.

[0191] 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서 중쇄는 중쇄 가변 영역 (VH)을 포함하고, 경쇄는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고; 여기서 VH는 VH 상보성 결정 영역 (CDR) 1 (VH-CDR1), VH-CDR2, 및 VH-CDR3을 포함하고, VL은 VL-CDR1, VL-CDR2, 및 VL-CDR3을 포함하고; 여기서 VH-CDR3은 서열식별번호: 3에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 1의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CDR은 하기 표 1에 제시된 서열을 포함한다.

[0192] 표 1. CDR 서열 및 가변 영역 서열

VH-CDR1 (서열식별번호: 1)	DSNIH
VH-CDR2 (서열식별번호: 2)	YIYPYNGGTDYNQKFKN
VH-CDR3 (서열식별번호: 3)	GNPWLAY
VH (서열식별번호: 4)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLRWIGYIYPYNGGTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPWLAYWGQGTLVTVSS
VL-CDR1 (서열식별번호: 5)	RASESLDNYGIRFLT
VL-CDR2 (서열식별번호: 6)	AASNQGS
VL-CDR3 (서열식별번호: 7)	QQTKEVPWS
VL (서열식별번호: 8)	DIQLTQSPSTLSASVGDRTITCRASESLDNYGIRFLTWFAQKPKGKAPKLLMYAASNQGSVPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDFATFYCCQQTKEVPWSFGQGTKVEVK

[0193] 일부 측면에서, 항-CD33 항체 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약

99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0195] 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열식별번호: 8의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0196] 일부 측면에서, 항-CD33 항체 중쇄는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 11에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 10 또는 서열식별번호: 12에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0197] 표 2. 항-CD33 항체 아미노산 서열.

CD33AB 중쇄 (서열식별번호: 9)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLSEWIGYIYPYNGGTDYDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYFCVNGNPWLAAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSQGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTTQYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHEDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
CD33AB 경쇄 (서열식별번호: 10)	DIQLTQSPSTLSASVGDRTVITCRASELDNYGIRFLTWFOQKPGKAPKLLMYAASNQSGVPSRFSGSGTEFTLTISSLQPDFATYYCQQTKEVPWFSFGQGTKVEVKRITVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
갠투주맵 중쇄 (서열식별번호: 11)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLSEWIGYIYPYNGGTDYDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYFCVNGNPWLAAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSQGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLGK
갠투주맵 경쇄 서열식별번호: 12)	DIQLTQSPSTLSASVGDRTVITCRASELDNYGIRFLTWFOQKPGKAPKLLMYAASNQSGVPSRFSGSGTEFTLTISSLQPDFATYYCQQTKEVPWFSFGQGTKVEVKRITVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0198]

[0199] 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 9에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 10에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 용어 "CD33AB"는 서열식별번호: 9에 제시된 바와 같은 중쇄 및 서열식별번호: 10에 제시된 바와 같은 경쇄를 포함한다.

[0200] 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 11에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 12에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0201] 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 미국 특허 번호 5,585,089, US 5,693,762에 개시되어 있으며, 이들 각각은 명백하게 본원에 참조로 포함된다.

[0202] 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서 중쇄는 중쇄 가변 영역 (VH)을 포함하고, 경

쇄는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고; 여기서 VH는 VH 상보성 결정 영역 (CDR) 1 (VH-CDR1), VH-CDR2 및 VH-CDR3을 포함하고, VL은 VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3을 포함하고; 여기서 VH-CDR3은 서열식별번호: 15에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CDR은 하기 표 3에 제시된 서열을 포함한다.

[0203] 표 3. huMy9-6 및 huMy9-6-IgG4-S228P CDR 서열 및 가변 영역 서열

VH-CDR1 (서열식별번호: 13)	SYIIH
VH-CDR2 (서열식별번호: 14)	VIYPGNDDISYNQKFQG
VH-CDR3 (서열식별번호: 15)	EVRLRYFDV
VH (서열식별번호: 16)	QVQLQPGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYIIHWIKQTPGQGLEW VGVIYPGNDDISYNQKFQKATLTADKSSTTAYMQLSSTSEDSAVYY CAREVRLRYFDVWGQGTITVSS
VL-CDR1 (서열식별번호: 17)	KSSQSVFFSSSQKNYLA
VL-CDR2 (서열식별번호: 18)	WASTRES
VL-CDR3 (서열식별번호: 19)	HQYLSSRT
VL (서열식별번호: 20)	EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSSQKNYLAWYQQIPGQS PRLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTITSSVQPEDLAIYCHQYLS SRFTFGQGTKLEIK

[0204]

[0205] 일부 측면에서, 항-CD33 항체 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0206]

일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열식별번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0207]

일부 측면에서, 항-CD33 항체 중쇄는 서열식별번호: 21에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 10 또는 서열식별번호: 22에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0208] 표 4. huMy9-6-IgG4-S228P 항체 아미노산 서열.

중쇄 (서열식별번호: 21)	QVQLQQPGAIEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYIHWIKQTPGGLEW VGVVIYPGNDISYNQKFQGKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSEDSAVYY CAREVRLRYFDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAAL GCLLVKDYFPEPVTYVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGK
경쇄 (서열식별번호: 22)	EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSQKNYLAWYQQIPGQS PRLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTITSSVQPEDLAIYCHQYLS SRITFGQGTKEIKRTVAAPSVPFIAPPDEQLKSGTASVVLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0209]

[0210]

일부 측면에서, 항-CD33 항체는 서열식별번호: 21에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 22에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 항-CD33 항체는 서열식별번호: 21에 제시된 바와 같은 중쇄 및 서열식별번호: 22에 제시된 바와 같은 경쇄를 포함한다.

[0211]

분자 표적 또는 관심 항원에 "결합하는" 항체는 항체가 항원을 발현하는 세포를 표적화하는 데 유용하도록 충분한 친화도로 항원에 결합할 수 있는 것이다.

[0212]

본 개시내용에서, 기 "Bm"은 1종 초과와 신규분해제에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, "Bm"은 1 내지 10종의 신규분해제에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, "Bm"은 1 내지 9종의 신규분해제에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, "Bm"은 1 내지 8종의 신규분해제에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, "Bm"은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10종의 신규분해제에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, "Bm"은 7 또는 8종의 신규분해제에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, "Bm"은 5종의 신규분해제에 접합된다. 일부 측면에서, "Bm"은 6종의 신규분해제에 접합된다. 일부 측면에서, "Bm"은 7종의 신규분해제에 접합된다. 일부 측면에서, "Bm"은 8종의 신규분해제에 접합된다. 일부 측면에서, "Bm"은 9종의 신규분해제에 접합된다.

[0213]

IV. 조성물 및 사용 방법

[0214]

본원에 기재된 접합체 및/또는 화합물은 제약상 또는 제약상 허용되는 염의 형태일 수 있다. 일부 측면에서, 이러한 염은 무기 또는 유기 산 또는 염기로부터 유래된다.

[0215]

적합한 산 부가염의 예는 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠 술포네이트, 비술페이트, 부티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포르 술포네이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실술페이트, 에탄술포네이트, 푸마레이트, 루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미술페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 히드로아이오다이드, 2-히드록시에탄술포네이트, 락테이트, 말레에이트, 메탄술포네이트, 2-나프탈렌술포네이트, 니코티네이트, 옥살레이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼술페이트, 3-페닐-프로피오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 토실레이트 및 운데카노에이트를 포함한다.

[0216]

적합한 염기 부가염의 예는 암모늄 염; 알칼리 금속 염, 예컨대 나트륨 및 칼륨 염; 알칼리 토금속 염, 예컨대 칼슘 및 마그네슘 염; 유기 염기와 염, 예컨대 디시클로헥실아민 염, N-메틸-D-글루카민; 및 아미노산, 예컨대 아르기닌, 리신과의 염 등을 포함한다.

[0217]

예를 들어, 베르게(Berge)는 하기 FDA-승인된 상업적으로 상업적으로 입수가능한 염을 열거한다:

[0218]

음이온 아세테이트, 베실레이트 (벤젠술포네이트), 벤조에이트, 비카르보네이트, 비타르트레이트, 브로마이드, 칼슘 에테레이트 (에틸렌디아민테트라아세테이트), 캄실레이트 (캄포르술포네이트), 카르보네이트, 클로라이드, 시트레이트, 디히드로클로라이드, 에테레이트 (에틸렌디아민테트라아세테이트), 에디실레이트 (1,2-에탄디술포네이트), 에스톨레이트 (라우릴 술페이트), 에실레이트 (에탄술포네이트), 푸마레이트, 글루셉테이트 (글루코헵타노에이트), 글루코네이트, 글루타메이트, 글리콜릴아르사닐레이트 (글리콜아미도페닐아르소네이트), 헥실레조르시네이트, 히드라바민 (N,N'-디(데히드로아비에틸)에틸렌디아민), 히드로브로마이드, 히드로클로라이드, 히드록

시나프토에이트, 아이오다이드, 이세티오네이트 (2-히드록시에탄술포네이트), 락테이트, 락토비오네이트, 말레이트, 말레에이트, 만델레이트, 메실레이트 (메탄술포네이트), 메틸브로마이드, 메틸니트레이트, 메틸술포에이트, 뮤케이트, 나프실레이트 (2-나프탈렌술포네이트), 니트레이트, 파모에이트 (엠보네이트), 판토테네이트, 포스페이트/디포스페이트, 폴리갈락투로네이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 서브아세테이트, 숙시네이트, 술포에이트, 탄네이트, 타르트레이트, 테오클레이트 (8-클로로테오필리네이트) 및 트리에티오다이드; 유기 양이온 벤자틴 (N,N'-디벤질에틸렌디아민), 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 메글루민 (N-메틸글루카민) 및 프로카인; 및 금속성 양이온 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 칼륨, 나트륨 및 아연.

- [0219] 베르케는 추가로 하기 비-FDA-승인된 (미국 외) 상업적으로 상업적으로 입수가능한 염을 열거한다: 음이온 아디페이트, 알기네이트, 아미노살리실레이트, 안히드로메틸렌시트레이트, 아레콜린, 아스파르테이트, 비술포에이트, 부틸브로마이드, 캄포레이트, 디글루코네이트, 디히드로브로마이드, 디숙시네이트, 글리세로포스페이트, 헤미술포에이트, 히드로플루오라이드, 히드로아이오다이드, 메틸렌비스(살리실레이트), 나프디실레이트 (1,5-나프탈렌디술포네이트), 옥살레이트, 펙티네이트, 피술포에이트, 페닐에틸바르비투레이트, 피크레이트, 프로피오네이트, 티오시아네이트, 토실레이트 및 운데카노에이트; 유기 양이온 베네타민 (N-벤질페네타민), 클레미줄 (1-p-클로로벤질-2-피롤리딘-1'-일메틸벤즈이미다졸), 디에틸아민, 피페라진 및 트로메타민 (트리스(히드록시메틸)아미노메탄); 및 금속성 양이온 바륨 및 비스무트.
- [0220] 본원에 기재된 신규분해제 접합체를 포함하는 제약 조성물은 또한 투여 방식에 따라 상이할 수 있는 적합한 담체, 부형제 및 보조제를 포함할 수 있다.
- [0221] 일부 측면에서, 제약 조성물은 적합한 비경구 투여 형태로서 제제화될 수 있다. 상기 제제는 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다. 제약 조성물은 혈류 내로, 근육 내로, 또는 기관 내로 직접 투여될 수 있다. 비경구 투여에 적합한 수단은 정맥내, 동맥내, 복강내, 척수강내, 뇌실내, 요도내, 흉골내, 두개내, 근육내 및 피하를 포함한다. 비경구 투여에 적합한 장치는 바늘 시린지, 바늘-무함유 시린지 및 주입 기술을 포함한다.
- [0222] 비경구 조성물은 전형적으로 부형제, 예컨대 염, 탄수화물 및 완충제를 함유할 수 있는 수용액이다. 그러나, 조성물은 또한 멸균 비-수용액으로 또는 멸균 발열원-무함유 물과 같은 적합한 비히클과 함께 사용되는 건조 형태로서 제제화될 수 있다.
- [0223] 멸균 조건 하에, 예를 들어 동결건조에 의한 비경구 조성물의 제조는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 표준 기술을 사용하여 용이하게 달성될 수 있다.
- [0224] 비경구 투여용 조성물은 즉시 및/또는 변형 방출되도록 제제화될 수 있다. 변형 방출 제제는 지연-, 지속-, 펄스-, 제어-, 표적화, 및 프로그래밍 방출을 포함한다. 따라서, 조성물은 활성제의 변형 방출을 제공하는 이식된 데포로서 투여하기 위한 고체, 반고체 또는 요변성 액체로서 제제화될 수 있다.
- [0225] 비경구 제제는 비경구 투여 형태에 사용되는 다른 적합한 제약상 허용되는 부형제, 예컨대 비제한적으로 보존제와 혼합될 수 있다.
- [0226] 또 다른 측면에서, 제약 조성물은 적합한 경구 투여 형태, 예컨대 정제, 캡슐, 분말, 펠릿, 현탁액, 용액, 에멀전 등으로서 제제화될 수 있다. 다른 적합한 담체, 예컨대 붕해제, 희석제, 킬레이트화제, 결합제, 활택제, 운활제, 충전제, 벌킹제, 부착방지제 등이 존재할 수 있다.
- [0227] 경구 투여 제제는 또한 다른 적합한 제약 부형제, 예컨대 감미제, 비히클/습윤제, 착색제, 향미제, 보존제, 점도 증진제/증점제 등을 함유할 수 있다.
- [0228] 본원에 기재된 신규분해제 접합체는 다양한 암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 개시내용의 특정 접합체는 효능 발현, 약동학 (예를 들어, 흡수, 분포, 대사, 배출), 용해도 (예를 들어, 수용해도), 다른 의약과의 상호작용 (예를 들어, 약물-대사 효소 억제 작용), 안전성 (예를 들어, 급성 독성, 만성 독성, 유전적 독성, 생식 독성, 심장독성, 발암성, 중추 독성) 및/또는 안정성 (예를 들어, 화학적 안정성, 효소에 대한 안정성)의 관점에서 우월할 수 있고, 의약으로서 유용할 수 있다.
- [0229] 본 개시내용의 신규분해제 접합체는 의약, 예컨대 질환, 예를 들어 하기 암:
- [0230] -예를 들어, 결장직장암 (예를 들어, 결장직장암, 직장암, 항문암, 가족성 결장직장암, 유전성 비폴립증 결장직장암, 위장 기질 종양), 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 악성 중피종), 중피종, 췌장암 (예를 들어, 췌장관 암종, 췌장 내분비 종양), 인두암, 후두암, 식도암, 위(stomach/gastric)암 (예를 들어, 유두상

선암종, 점액성 선암종, 선편평상피 암종), 십이지장암, 소장암, 유방암 (예를 들어, 침습성 관 암종, 비-침습성 관 암종, 염증성 유방암), 난소암 (예를 들어, 난소 상피암, 생식선의 배세포 종양, 난소 배세포 종양, 난소 저-악성 잠재적 종양), 고환 종양, 전립선암 (예를 들어, 호르몬-의존성 전립선암, 비-호르몬 의존성 전립선암, 거세-저항성 전립선암), 간암 (예를 들어, 간세포성암, 원발성 간암, 간의 담관암), 갑상선암 (예를 들어, 수질성 갑상선 암종), 신암 (예를 들어, 신세포암 (예를 들어, 투명 세포 신세포암), 신우 및 요관의 이행 세포암), 자궁암 (예를 들어, 자궁경부암, 자궁체암, 자궁 육종), 임신성 용모막암종, 뇌 종양 (예를 들어, 수모세포종, 신경교종, 송과체 성상세포 종양, 모양세포 성상세포종, 미만성 성상세포종, 역형성 성상세포종, 뇌하수체 선종), 망막세포종, 피부암 (예를 들어, 기저세포종, 악성 흑색종), 육종 (예를 들어, 횡문근육종, 평활근육종, 연부 조직 육종, 방추 세포 육종), 악성 골 종양, 방광암, 혈액(hematological/blood)암 (예를 들어, 다발성 골수종, 백혈병 (예를 들어, 급성 골수성 백혈병), 악성 림프종, 호지킨병, 만성 골수증식성 질환), 원인불명 원발성 암의 예방 또는 치료를 위한 작용제; 암 성장 억제제; 암 전이 억제제; 아폽토시스 촉진제; 전암성 병변의 치료를 위한 작용제 (예를 들어, 골수이형성 증후군) 등으로서 사용될 수 있다.

[0231] 특정 측면에서, 본 개시내용의 신규분해제 접합체는 유방암, 위암, 난소암, 자궁암, 폐암, 췌장암, 간암, 림프종 또는 혈액암의 치료를 위한 의약으로서 사용될 수 있다.

[0232] 또한, 본 개시내용의 신규분해제 접합체는 비-약물 요법과 동시에, 그 전에 또는 그 후에 사용될 수 있다. 정확하게는, 접합체는 비-약물 요법, 예컨대 (1) 수술, (2) 안지오텐신 II 등을 사용하는 고혈압 화학요법, (3) 유전자 요법, (4) 열요법, (5) 동결요법, (6) 레이저 소작 및 (7) 방사선요법과 조합될 수 있다.

[0233] 예를 들어, 상기 언급된 수술 등의 전 또는 후에 본 개시내용의 신규분해제 접합체를 사용함으로써, 저항성 발생의 예방, 무질한 생존의 연장, 암 전이 또는 재발의 억제, 삶의 연장 등과 같은 효과가 제공될 수 있다.

[0234] 또한, 본 개시내용의 신규분해제 접합체를 사용한 치료를 하기 지지 요법과 조합하는 것이 가능하다: (i) 다양한 감염성 질환과의 합병증을 위한 항생제 (예를 들어, β-락탐 유형, 예컨대 판스포린 등, 마크롤리드 유형, 예컨대 클라리트로마이신 등)의 투여, (ii) 영양실조의 개선을 위한 고칼로리 수혈, 아미노산 제제 또는 일반적인 비타민 제제의 투여, (iii) 통증 완화를 위한 모르핀의 투여, (iv) 부작용, 예컨대 오심, 구토, 식욕부진, 설사, 백혈구감소증, 혈소판감소증, 감소된 헤모글로빈 농도, 탈모, 간병증, 신장병증, DIC, 열 등의 개선을 위한 제약 작용제의 투여 및 (v) 암의 다중 약물 내성을 억제하기 위한 제약 작용제의 투여 등.

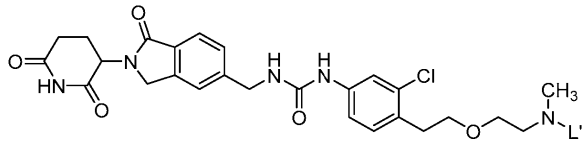
[0235] 일부 측면에서, 본 개시내용의 신규분해제 또는 신규분해제 접합체는 표준 관리 요법, 예를 들어 1종 이상의 치료제 (예를 들어, 항암제 및/또는 면역조절제)와 조합하여 사용될 수 있다. 따라서, 특정 측면에서, 본원에 개시된 종양을 치료하는 방법은 본 개시내용의 신규분해제 또는 신규분해제 접합체를 1종 이상의 추가의 치료제와 조합하여 투여하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 신규분해제 또는 신규분해제 접합체는, 예를 들어 면역 경로의 다중 요소가 표적화될 수 있도록 1종 이상의 항암제와 조합하여 사용될 수 있다. 일부 측면에서, 항암제는 면역 체크포인트 억제제를 포함한다 (즉, 특정한 면역 체크포인트 경로를 통한 신호전달을 차단함). 본 방법에 사용될 수 있는 면역 체크포인트 억제제의 비제한적 예는 CTLA-4 길항제 (예를 들어, 항-CTLA-4 항체), PD-1 길항제 (예를 들어, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체), TIM-3 길항제 (예를 들어, 항-TIM-3 항체), 또는 그의 조합을 포함한다.

[0236] 일부 측면에서, 본 개시내용의 신규분해제 또는 신규분해제 접합체는 추가의 치료제의 투여 전 또는 후에 대상체에게 투여된다. 다른 측면에서, 본 개시내용의 신규분해제 또는 신규분해제 접합체는 추가의 치료제와 공동으로 대상체에게 투여된다. 특정 측면에서, 본 개시내용의 신규분해제 또는 신규분해제 접합체 및 추가의 치료제는 제약상 허용되는 담체 중의 단일 조성물로서 공동으로 투여될 수 있다. 다른 측면에서, 본 개시내용의 신규분해제 또는 신규분해제 접합체 및 추가의 치료제는 별개의 조성물로서 공동으로 투여된다.

[0237] 일부 측면에서, 본 개시내용의 신규분해제 또는 신규분해제 접합체로 치료될 수 있는 대상체는 비인간 동물, 예컨대 래트 또는 마우스이다. 일부 측면에서, 치료될 수 있는 대상체는 인간이다.

[0238] V. 신규분해제 및 조성물의 제조 방법

[0239] 본 개시내용은 결합 모이어티를 하기 화학식 (I-1)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 반응시키는 것을 포함하는, 신규분해제 접합체를 제조하는 방법을 제공한다:



(I-1)

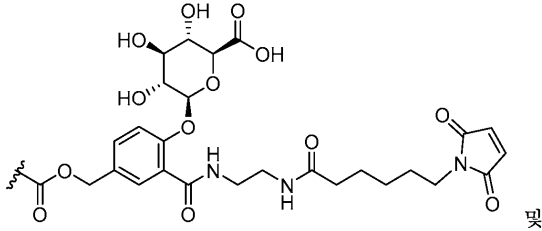
[0240]

[0241]

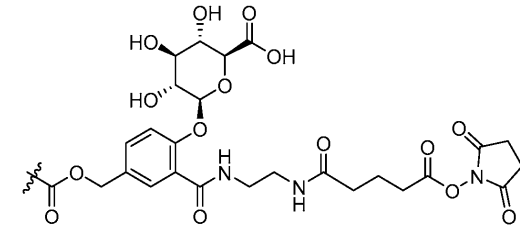
여기서:

[0242]

L'는 하기로부터 선택된 링커 전구체이고:



및



[0243]

[0244]

여기서:

[0245]

은 질소 원자에 대한 부착 지점이다.

[0246]

본원에 기재된 바와 같이, 링커 전구체는 결합 모이어티에 연결되는 이중이관능성 기를 함유한다.

[0247]

일부 측면에서, 결합 모이어티는 화학식 (I-1)의 화합물과 반응하기 전에 전처리된다. 특정 측면에서, 화학식 (I-1)의 화합물은 항체 또는 그의 항원 결합 부분을 포함하는 결합 모이어티와 반응한다. 결합 모이어티가 항체인 측면에서, 항체는 화학식 (I-1)의 화합물과의 반응 전에 쇠간 디설피드를 환원시키도록 전처리될 수 있다.

[0248]

실시예

[0249]

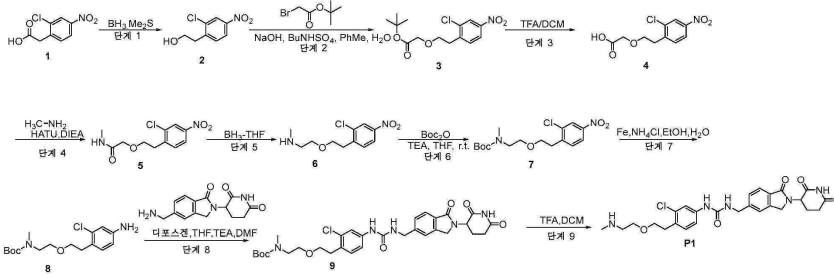
일반적 합성 방법 및 중간체

[0250]

본 개시내용의 화합물은 본 개시내용 및 관련 기술분야의 지식에 비추어, 및/또는 하기 제시된 반응식 및 합성 실시예를 참조하여 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 제조될 수 있다. 예시적인 합성 경로는 하기 반응식 및 실시예에 제시된다. 하기 반응식 및 실시예에 나타난 가변기 (예를 들어 "R" 기)는 본 출원의 다른 곳에 나타난 것들로부터 독립적으로 해석되어야 하는 것으로 이해되어야 한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 하기 제시된 반응식 및 실시예가 본원에 기재된 화합물의 제조를 예시하는 방법을 용이하게 이해할 것이다.

[0251]

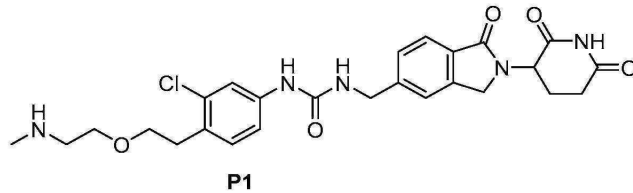
반응식에 사용된 약어는 일반적으로 관련 기술분야에 사용된 관례를 따른다. 명세서 및 실시예에 사용된 화학적 약어는 반응식에 사용된 약어가 일반적으로 관련 기술분야에 사용되는 규정에 따르는 바와 같이 정의된다. 명세서 및 실시예에 사용된 화학적 약어는 하기와 같이 정의된다: "Me"는 메틸; "Bu"는 부틸; "Ph"는 페닐; "TFA"는 트리플루오로아세트산, "DCM"은 디클로로메탄, "HATU"는 N-[(디메틸아미노)-1H-1,2,3-트리아졸로-[4,5-b]피리딘-1-일메틸렌]-N-메틸메탄아미늄 헥사플루오로포스페이트 N-옥시드; "THF"는 테트라히드로푸란; "BOC" 또는 "Boc"는 트리부톡시카르보닐; "TEA"는 트리에틸아민; "EtOH"는 에탄올; "DMF"는 N,N-디메틸포름아미드; "PE"는 석유 에테르; "EtOAc"는 에틸 아세테이트; "DIEA"는 디이소프로필에틸아민; "MeOH"는 "메탄올"; h는 시간; min은 분; "Ac"는 아세테이트; "EDCI"는 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드; "HOBT"는 1-히드록시벤조트리아졸 수화물; "ACN"은 아세토니트릴; "TCEP"는 (트리스(2-카르복시에틸)포스핀); "DMA"는 N,N-디메틸아세트아미드.



[0252]

[0253]

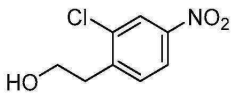
반응식 1: 신규분해제 P1의 제조



[0254]

[0255]

실시예 1: 신규분해제 P1의 합성



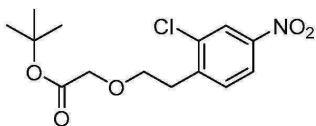
[0256]

[0257]

단계 1: 화합물 2의 합성

[0258]

THF (75.00 mL) 중 2-클로로-4-니트로페닐)아세트산 (화합물 1, 5.00 g, 23.19 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 0°C에서 BH₃-Me₂S (THF 중 10M) (5.80 mL, 58.0 mmol, 2.50 당량)를 적가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 70°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 생성된 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (PE:EtOAc = 1:1)에 의해 정제하여 2-(2-클로로-4-니트로페닐)에탄올 (3 g, 64%)을 황색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.26 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.10-8.05 (m, 1H), 7.50 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.99-3.91 (m, 2H), 3.16-3.09 (m, 2H).



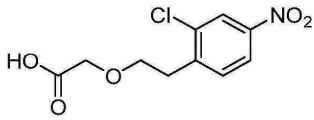
[0259]

[0260]

단계 2: 화합물 3의 합성

[0261]

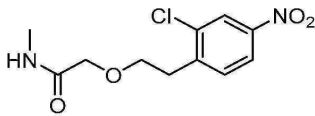
톨루엔 (150.00 mL) 중 2-(2-클로로-4-니트로페닐)에탄올 (화합물 2, 5.00 g, 24.800 mmol, 1.00 당량) 및 tert-부틸 2-브로모아세테이트 (29.0 mL, 148.28 mmol, 8.00 당량)의 교반 용액에 Bu₄NHSO₄ (6.74 g, 19.84 mmol, 0.80 당량)를 첨가하였다. 상기 혼합물에 NaOH (H₂O 중 5M) (500.00 mL)를 0°C에서 40분에 걸쳐 적가하였다. 생성된 혼합물을 25°C에서 추가로 2시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (3 x 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (400 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 여과한 후, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (PE:EtOAc = 4:1)에 의해 정제하여 tert-부틸 2-[2-(2-클로로-4-니트로페닐)에톡시]아세테이트 (8 g, 65%)를 황색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.23 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.10-8.04 (m, 1H), 7.60 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.09 (s, 2H), 3.83-3.80 (m, 2H), 3.17-3.14(m, 2H), 1.45(s, 9H).



[0262]

[0263] 단계 3: 화합물 4의 합성

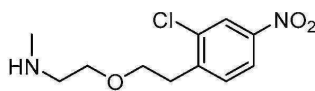
[0264] DCM (80.00 mL) 중 tert-부틸 2-[2-(2-클로로-4-니트로페닐)에톡시]아세테이트 (화합물 3, 8.00 g, 16.14 mmol, 1.00 당량, 63.7%)의 교반 용액에 TFA (16.00 mL)를 실온에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 생성된 혼합물을 물 (500 mL)로 희석하였다. 혼합물을 EtOAc (3 x 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (200 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 여과한 후, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 이에 따라 [2-(2-클로로-4-니트로페닐)에톡시]아세트산 (6.5 g, 조 물질)을 황색 오일로서 수득하였다. LCMS (ESI): 517 (2M-H)-



[0265]

[0266] 단계 4: 화합물 5의 합성

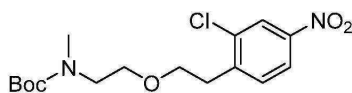
[0267] DMF (65.00 mL) 중 [2-(2-클로로-4-니트로페닐)에톡시]아세트산 (화합물 4, 6.30 g, 21.84 mmol, 1.00 당량, 90%) 및 HATU (12.46 g, 32.76 mmol, 1.50 당량)의 교반 용액에 CH₃NH₂.HCl (1.77 g, 26.21 mmol, 1.20 당량) 및 DIEA (15.20 g, 117.8 mmol, 4.00 당량)를 실온에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 물로 희석하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (50 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 여과한 후, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (DCM:MeOH = 10:1)에 의해 정제하여 2-[2-(2-클로로-4-니트로페닐)에톡시]-N-메틸아세트아미드 (10 g, 순도:50%, 수율:84%)를 황색 오일로서 수득하였다. LCMS (ESI): 273.28 (M+H)⁺



[0268]

[0269] 단계 5: 화합물 6의 합성

[0270] THF (35.00 mL) 중 2-[2-(2-클로로-4-니트로페닐)에톡시]-N-메틸아세트아미드 (화합물 5, 3.3 g, 12.10 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 실온에서 BH₃-THF (THF 중 1M) (12.10 mL, 12.10 mmol, 1.00 당량)를 적가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 70°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 MeOH로 킨칭하였다. 잔류물을 1N HCl을 사용하여 pH 6으로 산성화시켰다. 생성된 혼합물을 EtOAc (20 mL)로 추출하였다. 수성 상을 포화 NaHCO₃ (포화, 수성)를 사용하여 pH 8로 염기성화시켰다. 생성된 혼합물을 EtOAc (3 x 100 mL)로 추출하고, 염수 (50 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 여과한 후, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 이에 따라 [2-[2-(2-클로로-4-니트로페닐)에톡시]에틸](메틸)아민 (2.5 g, 80%)을 황색 오일로서 수득하였다. LCMS (ESI): 259.26 (M+H)⁺

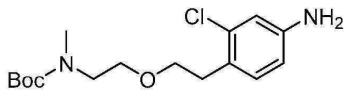


[0271]

[0272] 단계 6. 화합물 7의 합성

[0273] THF (40 mL) 중 [2-[2-(2-클로로-4-니트로페닐)에톡시]에틸](메틸)아민 (화합물 6, 2.50 g, 9.69 mmol, 1.00 당량) 및 Boc₂O (2.53 g, 11.6 mmol, 1.20 당량)의 교반 용액에 TEA (1.17 g, 11.6 mmol, 1.20 당량)를 25°C에서 적가하였다. 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (DCM:MeOH = 5:1)에 의해 정제하여 tert-부틸 N-[2-[2-(2-클로로-4-니트로페

닐)에톡시]에틸]-N-메틸카르바메이트(1.70 g, 50%)를 황색 오일로서 수득하였다. LCMS (ESI): 359.36 (M+H)⁺



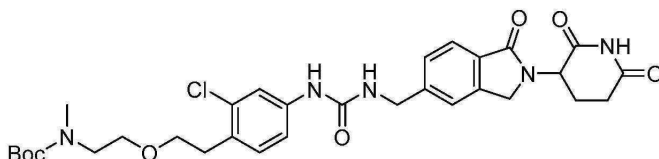
[0274]

[0275]

[0276]

단계 7: 화합물 8의 합성

EtOH (85 mL) 및 H₂O (17 mL) 중 tert-부틸 N-[2-[2-(2-(2-클로로-4-니트로페닐)에톡시)에틸]-N-메틸카르바메이트 (화합물 7, 1.70 g, 4.74 mmol, 1.00 당량) 및 NH₄Cl (750 mg, 14.2 mmol, 3.00 당량)의 교반 용액에 25°C에서 Fe (1.3g, 23.7 mmol, 5.00 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 생성된 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 EtOH (3 x 50 mL)로 세척하였다. 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (PE:EtOAc = 4:1)에 의해 정제하여 tert-부틸 N-[2-[2-(4-아미노-2-클로로페닐)에톡시]에틸]-N-메틸카르바메이트 (900 mg, 58%)를 황색 오일로서 수득하였다. LCMS (ESI): 329.33 (M+H)⁺



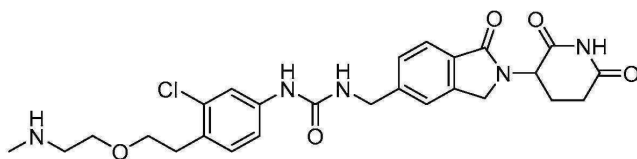
[0277]

[0278]

[0279]

단계 8: 화합물 9의 합성

THF (10 mL) 중 tert-부틸 N-[2-[2-(4-아미노-2-클로로페닐)에톡시]에틸]-N-메틸카르바메이트 (화합물 8, 500 mg, 1.52 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 디포스겐 (601 mg, 3.04 mmol, 2.00 당량)을 25°C에서 적가하였다. 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시키고, DMF (5 mL) 중에 재용해시켰다. DMF (20 mL) 중 3-[5-(아미노메틸)-1-옥소-3H-이소인돌-2-일]피페리딘-2,6-디온 (INT1, 하기 기재된 바와 같이 제조됨, 499 mg, 1.82 mmol, 1.20 당량) 및 TEA (1.56 g, 15.45 mmol, 10.00 당량)의 교반 혼합물에 상기 언급된 용액을 25°C에서 적가하였다. 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 빙수 40 mL로 희석하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (3 x 40 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (5x40 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 여과한 후, 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (DCM: MeOH = 10:1)에 의해 정제하여 tert-부틸 (2-(2-클로로-4-(3-((2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소이소인돌린-5-일)메틸)우레이도)페네톡시)에틸)(메틸)카르바메이트 (670 mg, 70%)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS: (ESI): 628.63 (M+H)⁺



[0280]

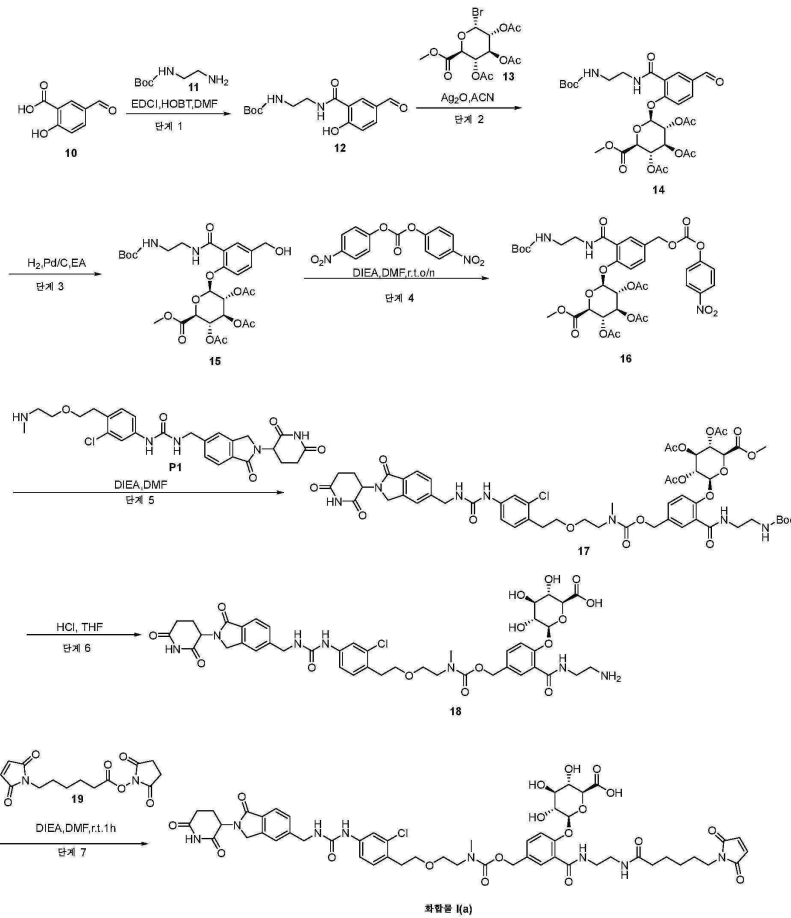
[0281]

[0282]

단계 9: 신규분해제 P1의 합성

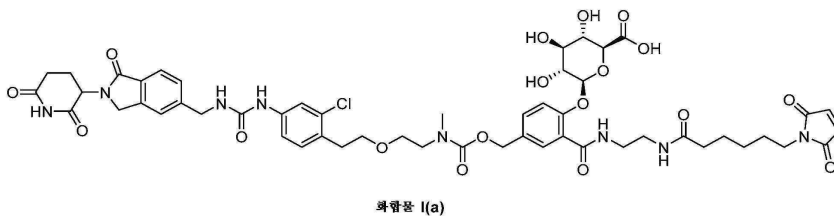
DCM (10 mL) 중 tert-부틸 N-[2-(2-[2-클로로-4-([2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸)카르바모일)아미노]페닐)에톡시]에틸]-N-메틸카르바메이트 (화합물 9, 670 mg, 1.07 mmol, 1 당량)의 교반 용액에 TFA (2.5 mL)를 0°C에서 적가하였다. 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 조 생성물을 정제용 HPLC에 의해 하기 조건: 칼럼, 선파이어(SunFire) C18 OBD 정제용 칼럼, 100 μm, 19x250 mm; 이동상, 물 (0.05% TFA) 및 ACN (30분 내에 5% 상 B에서 60%까지); 검출기, UV 220nm 을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 동결건조시켜 1-(3-클로로-4-[2-[2-(메틸아미노)에톡시]에틸]페닐)-3-[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]우레아 (500 mg, 89%)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS (ESI): 528.53 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 7.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.57-7.53 (m, 2H), 7.49 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 5.19-5.1 (m, 1H), 4.55-4.41 (m, 4H), 3.75-

3.67 (m, 4H), 3.21-3.15 (m, 2H), 3.03-3.96 (m, 2H), 2.96-2.84 (m, 1H), 2.83-2.73 (m, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.55-2.42 (m, 1H), 2.21-2.12 (m, 1H).



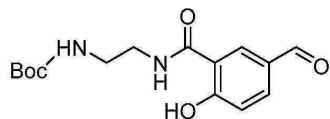
[0283]

[0284] 반응식 2: 신규분해제 P1-β-글루쿠로니드 링커 복합체 (화합물 (Ia))의 합성



[0285]

[0286] 실시예 2: 화합물 (Ia)의 합성



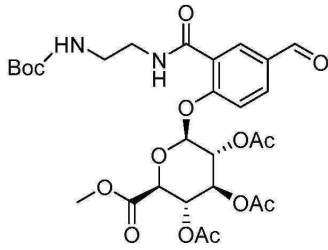
[0287]

[0288] 단계 1: 화합물 12의 합성

[0289]

DMF (200 mL) 중 5-포르밀-2-히드록시벤조산, 10 (20 g, 120.38 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 0°C에서 EDCI (28 g, 144.44 mmol, 1.20 당량), HOBT (20 g, 144.46 mmol, 1.20 당량) 및 tert-부틸 N-(2-아미노에틸)카르바메이트, 11 (23 g, 144.46 mmol, 1.20 당량)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 물로 켄칭하고, 에틸 아세테이트 (3x200 mL)로 추출하였다. 합한 유기부를 염수 (200 mL)로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시켰다. 여과한 후, 여과물을 진공 하에 농축 건조시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 PE / EA (2:3)로 용리시키면서 정제하여 tert-부틸 N-[2-[(5-포르밀-2-히드록시페닐)포름아미도]에틸]카르바메이트,

12 (23 g, 53%)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 209 [M+H-100]⁺, 309 [M+H]⁺, 331 [M+Na]⁺.



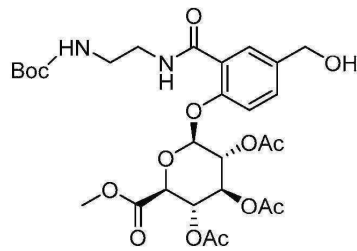
[0290]

[0291]

단계 2: 화합물 14의 합성

[0292]

ACN (600 mL) 중 tert-부틸 N-[2-[(5-포르밀-2-히드록시페닐)포름아미도]에틸]카르바메이트, 12 (23 g, 74.59 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 0°C에서 Ag₂O (34.57 g, 149.17 mmol, 2.00 당량) 및 메틸 (2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-브로모옥산-2-카르복실레이트, 13 (32.6 g, 82.05 mmol, 1.10 당량)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 여과한 후, 여과물을 진공 하에 농축 건조시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 PE / EA (1:4)로 용리시키면서 정제하여 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-[(2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]에틸]카르바모일)-4-포르밀페녹시]옥산-2-카르복실레이트, 14 (38 g, 76%)를 녹색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 525 [M+H-100]⁺, 625 [M+H]⁺, 647 [M+Na]⁺.



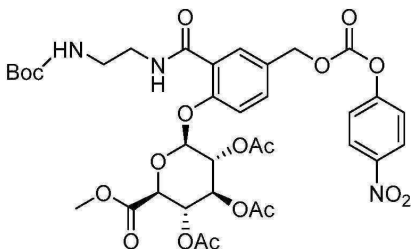
[0293]

[0294]

단계 3: 화합물 15의 합성

[0295]

EA (200 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-[(2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]에틸]카르바모일)-4-포르밀페녹시]옥산-2-카르복실레이트, 14 (20 g, 32.02 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 실온에서 Pd/C (4.0 g, 10%)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 수소 분위기 하에 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 여과한 후, 여과물을 진공 하에 농축 건조시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 DCM / MeOH (19:1)로 용리시키면서 정제하여 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-[(2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]에틸]카르바모일)-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트, 15 (12.5 g, 58%)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 527 [M+H-100]⁺, 627 [M+H]⁺, 649 [M+Na]⁺.



[0296]

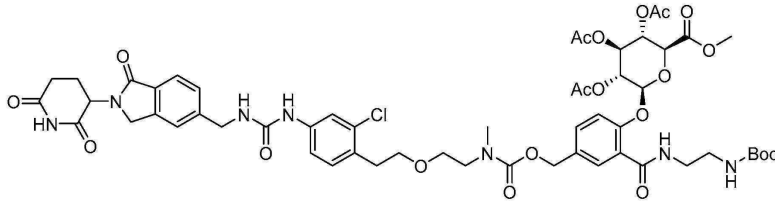
[0297]

단계 4: 화합물 16의 합성

[0298]

DMF (50 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-[(2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]에틸]카르바모일)-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트, 15 (5.0 g, 7.98 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 0°C에서 비스(4-니트로페닐) 카르보네이트 (2.67 g, 8.77 mmol, 1.10 당량) 및 DIEA

(2.0 g, 15.94 mmol, 2.00 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 역 플래쉬 크로마토그래피에 의해 하기 조건: 칼럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN (0.1% FA), 40분 내 10%에서 70% 구배; 검출기, UV 254 nm을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 진공 하에 농축 건조시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-((2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]에틸)카르바모일)-4-[[4-니트로페녹시카르보닐]옥시]메틸]페녹시]옥산-2-카르복실레이트, 16 (5.3 g, 78%)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 692 [M+H]⁺, 792 [M+H]⁺, 814 [M+Na]⁺.



[0299]

[0300]

단계 5: 화합물 17의 합성

[0301]

DMF (6.0 mL) 중 메틸 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-((2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]에틸)카르바모일)-4-[[4-니트로페녹시카르보닐]옥시]메틸]페녹시]옥산-2-카르복실레이트, 16 (550 mg, 0.69 mmol, 1.00 당량) 및 1-(3-클로로-4-{2-[2-(메틸아미노)에톡시]에틸}페닐)-3-{[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸}우레아, P1 (367 mg, 0.69 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 실온에서 DIEA (180 mg, 1.38 mmol, 2.00 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 역 플래쉬 크로마토그래피에 의해 하기 조건: 칼럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN (0.1% FA), 40분 내 10%에서 70% 구배; 검출기, UV 254 nm을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 진공 하에 농축시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-((2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]에틸)카르바모일)-4-[[2-(2-(2-클로로-4-[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일)아미노]페닐)에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시]메틸]페녹시]옥산-2-카르복실레이트, 17 (670 mg, 77%)을 녹색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 1080 [M+H]⁺, 1180 [M+H]⁺, 1202 [M+Na]⁺.

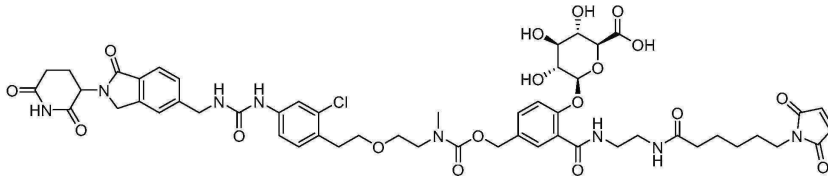
[0302]

[0303]

단계 6: 화합물 18의 합성

[0304]

THF (12 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-((2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]에틸)카르바모일)-4-[[2-(2-(2-클로로-4-[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일)아미노]페닐)에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시]메틸]페녹시]옥산-2-카르복실레이트, 17 (660 mg, 0.56 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 45°C에서 HCl (12 mL, 6.0N)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 45°C에서 4시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 역 플래쉬 크로마토그래피에 의해 하기 조건: 칼럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN (0.1% FA), 30분 내 10%에서 40% 구배; 검출기, UV 254 nm을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 동결건조시켜 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-((2-아미노에틸)카르바모일)-4-[[2-(2-(2-클로로-4-[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일)아미노]페닐)에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시]메틸]페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (320 mg, 54%), 18을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 940 [M+H]⁺, 962 [M+Na]⁺.



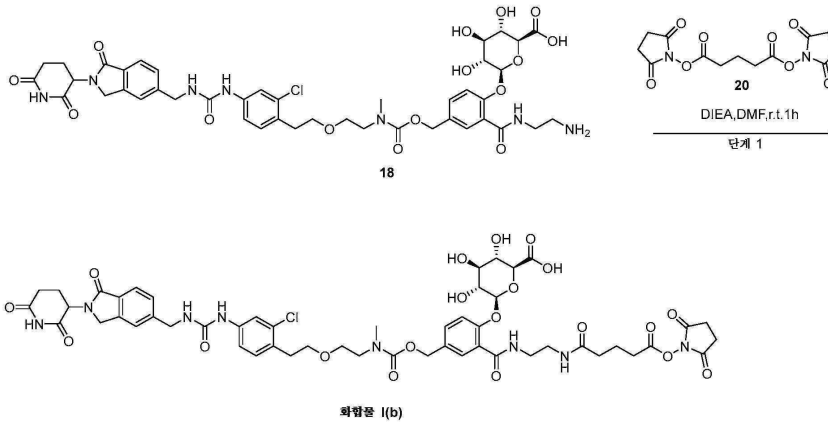
[0305]

[0306]

단계 7: 화합물 (Ia)의 합성

[0307]

DMF (1.00 mL) 중 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-{2-[(2-아미노에틸)카르바모일]-4-[(2-[(2-[(2-클로로-4-[(2-[(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸}카르바모일]아미노]페닐)에톡시)에틸](메틸)카르바모일}옥시)메틸]페녹시}-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산, 18 (100 mg, 0.11 mmol, 1.00 당량) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 6-(2,5-디옥소피롤-1-일)헥사노에이트, 19 (36 mg, 0.12 mmol, 1.10 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 실온에서 DIEA (27 mg, 0.21 mmol, 2.0 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 정제용 HPLC에 의해 하기 조건: 엑셀렉트(Xselect) CSH F-페닐 OBD 칼럼, 19x250 mm; 이동상 A: 물 (0.1%FA), 이동상 B: ACN; 유량: 25 mL/분; 검출기, UV 254 nm을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 동결건조시켜 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-{4-[(2-[(2-클로로-4-[(2-[(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸}카르바모일]아미노]페닐)에톡시)에틸](메틸)카르바모일}옥시)메틸]-2-[(2-[6-(2,5-디옥소피롤-1-일)헥사아미도]에틸)카르바모일]페녹시}-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산, 화합물 (Ia) (46 mg, 37%)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS (ES, m/z): 568 [M/2+H]⁺, 1133 [M+H]⁺, 1155 [M+Na]⁺. ¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆): 10.98 (s, 1H), 8.87 (br s, 1H), 8.30 (t, J=6Hz, 1H), 7.86 (t, J=3Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.70-7.69 (m, 2H), 7.51-7.42 (m, 3H), 7.30-7.10 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.93 (br s, 1H), 5.79-5.77 (m, 1H), 5.36 (d, J=4.2Hz, 1H), 5.13-5.02 (m, 4H), 4.47-4.28 (m, 4H), 3.95 (d, J=9.0Hz, 1H), 3.540-3.49 (m, 4H), 3.39-3.36(m, 4H), 3.24-3.22(m, 2H), 2.86-2.81(m, 7H), 2.62-2.51(m, 1H), 2.49-2.41(m, 3H), 2.06-1.99(m, 3H), 1.49-1.42(m, 4H), 1.23-1.16(m, 2H).



[0308]

[0309]

반응식 3: 신규분해제 P1-β-글루쿠로니드 링커 복합체 (화합물 (Ib))의 합성

[0310]

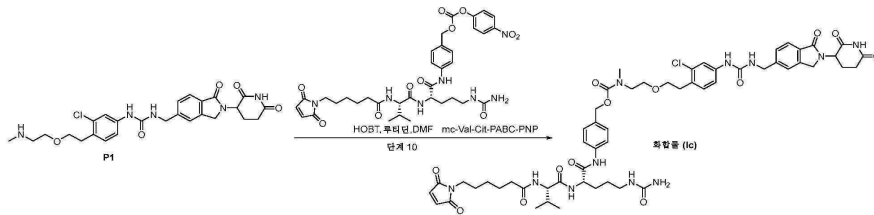
[0311]

실시예 3: 화합물 (Ib)의 합성

[0312]

DMF (3.00 mL) 중 비스(2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 펜타디오에이트 (62 mg, 0.19 mmol, 1.2 당량) 및 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-{2-[(2-아미노에틸)카르바모일]-4-[(2-[(2-[(2-클로로-4-[(2-[(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸}카르바모일]아미노]페닐)에톡시)에틸](메틸)카르바모일}옥시)메틸]페녹시}-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산, 9 (150 mg, 0.16 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 실온에서 DIEA (41 mg, 0.32 mmol, 2.00 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에

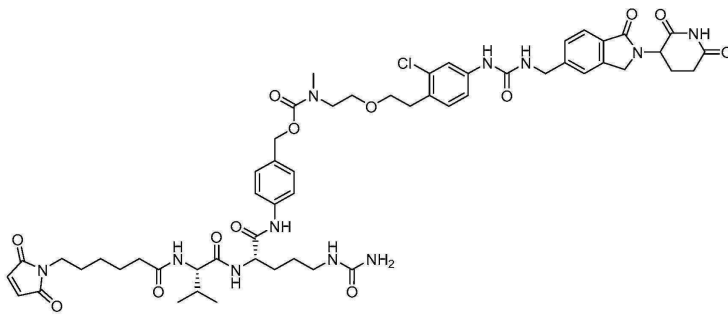
서 1시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 조 생성물을 정제용 HPLC에 의해 하기 조건 (칼럼: 이동상 A: 물 (0.05% TFA), 이동상 B: ACN; 유량: 60 mL/분;)을 사용하여 정제하였다. 용액을 동결건조시켜 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-{4-[(2-{2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일}메틸)카르바모일)아미노}페닐}에톡시)에틸(메틸)카르바모일}옥시)메틸]-2-[(2-{5-[(2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시]-5-옥소펜탄아미도}에틸)카르바모일}페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산, 화합물 (Ib) (50 mg, 26%)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 576 [M/2+H]⁺, 1151 [M+H]⁺, 1173 [M+Na]⁺. ¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆): 12.90 (br s, 1H), 10.98 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.31 (t, J=3.0Hz, 1H), 7.92 (t, J=3.0Hz, 1H), 7.77 (d, J=3.0 Hz, 1H), 7.70-7.66 (m, 2H), 7.51-7.43 (m, 3H), 7.25-7.09 (m, 3H), 6.82 (t, J=3.0 Hz, 1H), 5.80-5.20 (m, 2H), 5.12-5.02 (m, 4H), 4.47-4.27 (m, 4H), 3.98 (d, J=9.3Hz, 1H), 3.52-3.44 (m, 5H), 3.30-3.05 (m, 7H), 2.97-2.73 (m, 9H), 2.72-2.62 (m, 3H), 2.45-2.35 (m, 1H), 2.30-2.15 (m, 2H), 2.05-1.90 (m, 1H), 1.90-1.70 (m, 2H).



[0313]

[0314]

반응식 4: 화합물 (Ic)의 제조



[0315]

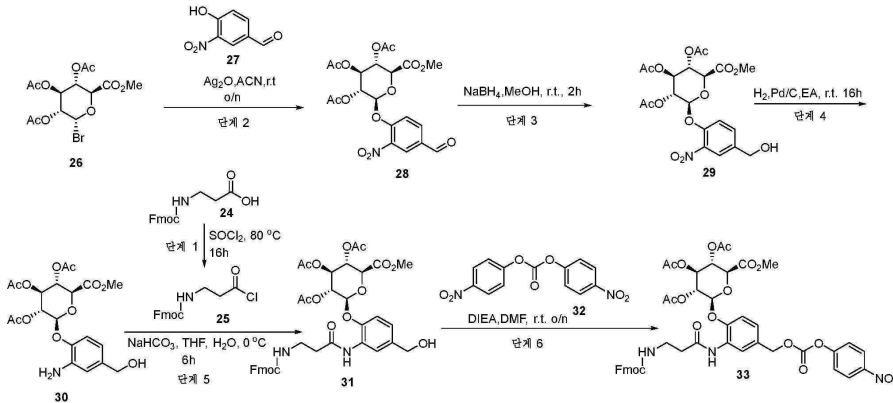
[0316]

실시예 4: 화합물 (Ic)의 합성

[0317]

DMF (10 mL) 중 1-(3-클로로-4-[2-[2-(메틸아미노)에톡시)에틸]페닐)-3-[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]우레아 (신규분해제 P1, 200 mg, 0.38 mmol, 1.00 당량) 및 루티딘 (81 mg, 0.76 mmol, 2.00 당량)의 교반 혼합물에 HOBT (26 mg, 0.19 mmol, 0.50 당량) 및 [4-[(2S)-5-(카르바모일아미노)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-디옥소피롤-1-일)핵산아미도]-3-메틸부탄아미도]펜탄아미도]페닐]메틸 4-니트로페닐 카르보네이트 (279 mg, 0.38 mmol, 1.00 당량)를 실온에서 조금씩 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소 분위기 하에 40°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각시킨 후, 반응물을 물 (30 mL)로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 DCM (3 x 30 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 (2 x 30 mL), 염수 (30 mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 여과한 후, 여과물을 진공 하에 농축 건조시켰다. 잔류물을 역상 칼럼 (C18, 이동상 A: 물 중 0.1% FA, B: ACN)에 의해 정제하였다. 수집된 분획을 진공 하에 농축 건조시켰다. 조 생성물 (60 mg)을 정제용 HPLC에 의해 하기 조건 (칼럼: 엑스셀렉트 CSH OBD 칼럼 30x150mm 5um, n; 이동상 A: 물(0.1%FA), 이동상 B: ACN; 유량: 60 mL/분; 구배: 7분 내에 33 B에서 50 B; 220 nm; RT1: 5.27분)을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 동결건조시켜 [4-[(2S)-5-(카르바모일아미노)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-디옥소피롤-1-일)핵산아미도]-3-메틸부탄아미도]펜탄아미도]페닐]메틸 N-[2-(2-[2-클로로-4-[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸)카르바모일)아미노}페닐]에톡시)에틸]-N-메틸카르바메이트 (23.8 mg, 5%)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS (ESI): 1126.11 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.99(s, 1H), 10.00(s, 1H), 8.88(s, 1H), 8.12-8.08(m, 1H), 7.85-7.81(m, 2H), 7.70-7.67(m, 2H), 7.60-7.58(m, 1H), 7.51(s, 1H), 7.47-7.44(m, 1H), 7.28-7.25(m, 2H), 7.18-7.12(m, 2H), 7.00(s, 2H), 6.90(br s, 1H), 5.97-5.95(m, 1H), 5.42(s, 2H), 5.12-5.05(m, 1H), 4.98(s, 2H), 4.42-4.32(m, 4H), 4.18-4.15(m, 1H), 3.56-3.40(m, 4H), 3.37-3.36(m, 3H), 3.05-2.90(m, 3H), 2.89-2.85(m, 5H), 2.72-2.55(m, 2H), 2.40-2.33(m, 2H), 2.25-2.15(m, 2H), 2.00-1.87(m, 2H),

1.74-1.57(m, 2H), 1.50-1.42(m, 5H), 1.22-1.10(m, 3H), 0.85-0.80(m, 6H).



[0318]

[0319]

[0320]

[0321]

반응식 5A: 신규분해제 P1-β-글루쿠로니드 링커 복합체의 합성

단계 1. 화합물 25의 합성

SOCl₂ (25 mL) 중 3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]-프로판산 (화합물 24, 5.00 g, 16.06 mmol, 1.00 당량)의 교반 혼합물에 실온에서 첨가하였다. 생성된 혼합물을 80°C에서 16시간 동안 교반하였다. 목적 생성물을 LCMS (MeOH를 갖는 유도체 MS=326)에 의해 검출할 수 있었다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켜 9H-플루오렌-9-일메틸 N-(3-클로로-3-옥소프로필)카르바메이트 (화합물 25, 7.5 g, 조 물질)를 황색 오일로서 수득하였다. 조 생성물을 후속 단계에 직접 추가 정제 없이 사용하였다. ¹H-NMR 분석은 이것이 목적 생성물 (MeOH를 갖는 유도체)임을 나타내었다. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.81-7.77 (m, 2H), 7.63-7.59 (m, 2H), 7.46-7.40 (m, 2H), 7.40-7.31 (m, 2H), 5.33 (s, 1H), 4.42 (d, J=3.0 Hz, 2H), 4.24 (t, J=6.0 Hz, 1H), 3.74-3.67 (m, 3H), 3.50 (d, J=3.0 Hz, 2H), 2.59 (t, J=6.0 Hz, 2H).

[0322]

단계 2. 화합물 28의 합성

[0323]

ACN (100 mL, 190.24 mmol, 75.00 당량) 중 4-포르밀-2-니트로페놀 (화합물 27, 4.21 g, 25.19 mmol, 1.00 당량) 및 Ag₂O (7.00 g, 30.20 mmol, 1.20 당량)의 교반 용액에 N₂ 분위기 하에 실온에서 화합물 26 (10.00 g, 25.17 mmol, 1.00 당량)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂ 분위기 하에 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 DCM (50 mlx3)으로 세척하였다. 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 PE/EA(PE:EA=1:2)로 용리시키면서 정제하여 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-(4-포르밀-2-니트로페녹시)옥산-2-카르복실레이트 (화합물 28, 10.5 g, 86%)를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H-NMR 분석은 이것이 목적 생성물임을 나타내었다. LCMS(ES, m/z):484 [M+1]⁺. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.00 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.13-8.09 (m, 1H), 7.52 (d, J=3.0 Hz, 1H), 5.47-5.29 (m, 4H), 4.37-4.35 (m, 1H), 3.75-3.73 (m, 3H), 2.17-2.06 (m, 9H).

[0324]

단계 3. 화합물 29의 합성

[0325]

MeOH (50 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-(4-포르밀-2-니트로페녹시)옥산-2-카르복실레이트 (화합물 28, 6.00 g, 12.41 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 N₂ 분위기 하에 실온에서 NaBH₄ (0.47 g, 12.42 mmol, 1.00 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂ 분위기 하에 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응물을 실온에서 물로 킨칭하였다. 생성물을 Na₂SO₄에 의해 건조하였다. 생성된 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 DCM으로 세척하였다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[4-(히드록시메틸)-2-니트로페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 29, 5.5 g, 91%)를 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):486 [M+H]⁺.

[0326]

단계 4. 화합물 30의 합성

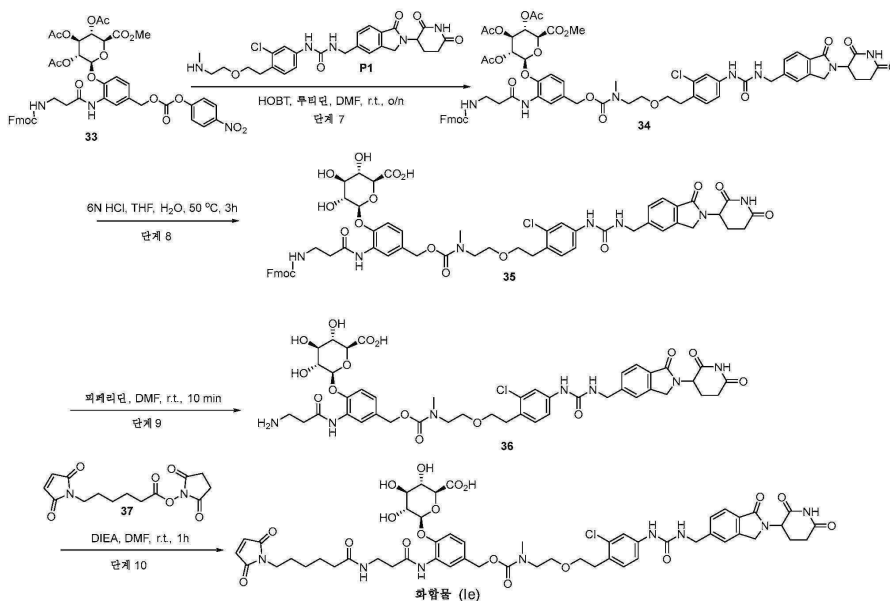
[0327] EA (60 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[4-(히드록시메틸)-2-니트로페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 29, 5.50 g, 11.33 mmol, 1.00 당량)의 교반 혼합물에 실온에서 Pd/C (1.10 g, 10%)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 H₂ 분위기 하에 실온에서 16시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 DCM 및 MeOH로 세척하고, 여과물을 진공 하에 농축시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-아미노-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 30, 4.0 g, 77%)를 고체로서 수득하였다. 조 생성물을 후속 단계에 직접 추가 정제 없이 사용하였다. LCMS(ES, m/z):456[M+H]⁺.

[0328] 단계 5. 화합물 31의 합성

[0329] THF (10 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-아미노-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 30, 1.00 g, 2.19 mmol, 1.00 당량) 및 NaHCO₃ (0.20 g, 2.40 mmol, 1.1 당량)의 교반 용액에 N₂ 분위기 하에 0°C에서 화합물 25 (0.87 g, 2.62 mmol, 1.20 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂ 분위기 하에 0°C에서 6시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응물을 실온에서 물로 킨칭하였다. 생성된 혼합물을 DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 PE/EA(EA=100%)로 용리시키면서 정제하여 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]-프로판아미도)-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 31, 1.1 g, 66%)를 담황색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):749 [M+H]⁺.

[0330] 단계 6. 합성 화합물 33

[0331] DMF (15 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 31, 1.50 g, 2.00 mmol, 1.00 당량) 및 비스(4-니트로페닐) 카르보네이트 (화합물 32, 0.68 g, 2.24 mmol, 1.12 당량)의 교반 혼합물에 N₂ 분위기 하에 0°C에서 DIEA (0.52 g, 4.01 mmol, 2.00 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 역 플래쉬 크로마토그래피에 의해 하기 조건: 칼럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN (0.1% FA), 40분 내 10%에서 90% 구배; 검출기, UV 254 nm를 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 진공 하에 농축 건조시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)-4-[[[4-니트로페녹시]카르보닐]옥시]메틸]페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 33, 1.4 g, 48%)를 황색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):914 [M+H]⁺.



[0332]

[0333] 반응식 5B: 신규분해제 P1-β-글루쿠로니드 링커 복합체의 합성

[0334] 단계 7. 합성 화합물 34

[0335] DMF (10 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-(3-[[[(9H-플루오렌-9-일)메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)-4-[[[(4-니트로페녹시)카르보닐]옥시]메틸]페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 33, 1.00 g, 1.09 mmol, 1.00 당량) 및 1-(3-클로로-4-[2-[2-(메틸아미노)에톡시]에틸]페닐)-3-[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]우레아 (신규분해제 P1, 0.58 g, 1.09 mmol, 1.00 당량)의 교반 혼합물에 N₂ 분위기 하에 실온에서 HOBt (1.18 g, 8.72 mmol, 8.00 당량) 및 2,4-디메틸피리딘 (1.07 g, 8.72 mmol, 8.00 당량)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂ 분위기 하에 실온에서 16시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 추가 정제에 사용하였다. 잔류물을 역 플래쉬 크로마토그래피에 의해 하기 조건: 칼럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN (0.1% FA), 40분 내 10%에서 80% 구배; 검출기, UV 254 nm을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 진공 하에 농축시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]-2-(3-[[[(9H-플루오렌-9-일)메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도]페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 34, 800 mg, 56%)를 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):1302[M+H]⁺.

[0336] 단계 8. 화합물 35의 합성

[0337] THF (80 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]-2-(3-[[[(9H-플루오렌-9-일)메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도]페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 34, 800.00 mg, 0.61 mmol, 1.00 당량)의 교반 혼합물에 N₂ 분위기 하에 실온에서 HCl (6N, 80 mL)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 50°C에서 3시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 역 플래쉬 크로마토그래피에 의해 하기 조건: 칼럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN (0.1% FA), 40분 내 0%에서 80% 구배; 검출기, UV 254 nm을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 동결건조시켜 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]-2-(3-[[[(9H-플루오렌-9-일)메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도]페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (화합물 35, 230 mg, 32%)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):1162[M+H]⁺.

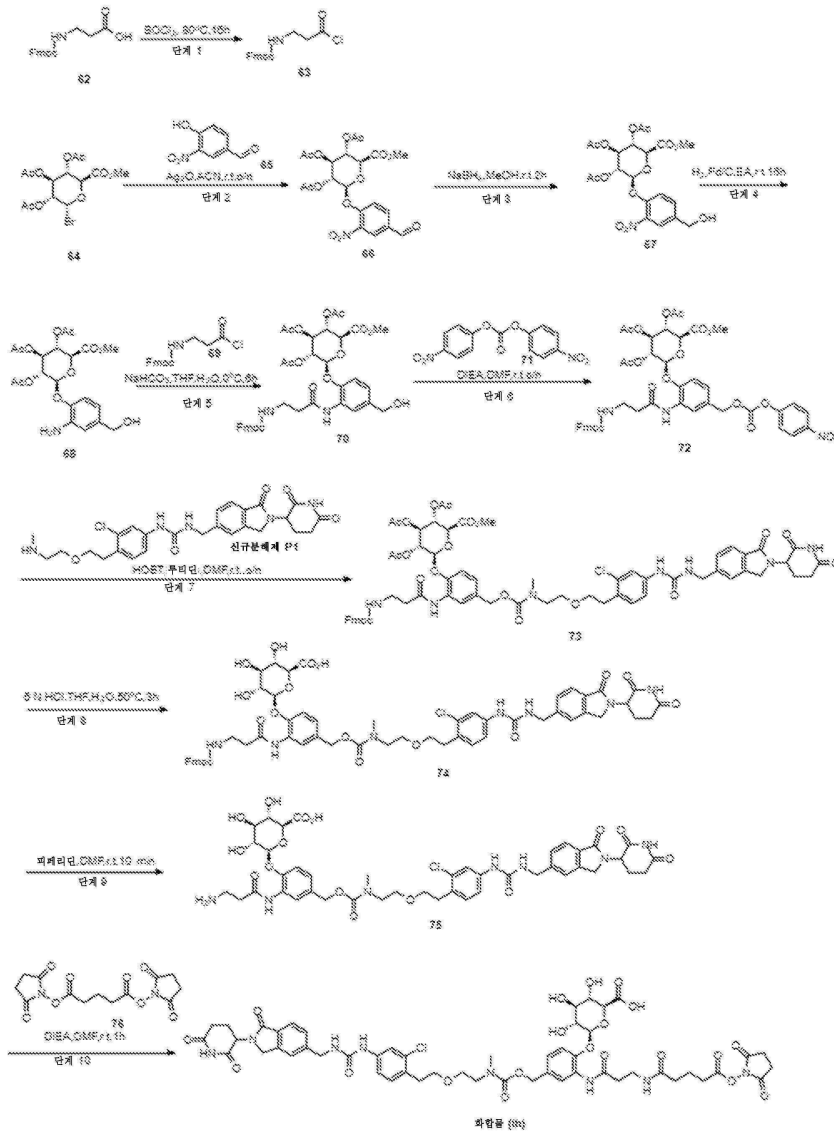
[0338] 단계 9. 화합물 36의 합성

[0339] DMF (2 mL) 중 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]-2-(3-[[[(9H-플루오렌-9-일)메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도]페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (화합물 35, 230 mg, 0.2 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 실온에서 피페리딘 (0.4 mL)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 10분 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 정제용 HPLC에 의해 하기 조건 (칼럼: 엑스셀렉트 CSH 정제용 C18 OBD 칼럼, 19x250 mm, 5um; 이동상 A: 물 (0.05% TFA), 이동상 B: ACN; 유량: 25 mL/분; 구배: 7분 내 20 B에서 40 B; 220 nm; RT 1:5.78분)을 사용하여 직접 추가로 정제하여 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-아미노프로판아미도)-4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (화합물 36, 35 mg, 18%)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 940[M+H]⁺.

[0340] 단계 10. 화합물 (Ie)의 합성

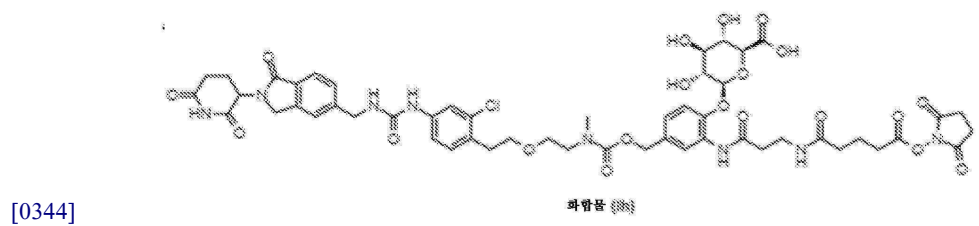
[0341] DMF (3 mL) 중 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-아미노프로판아미도)-4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (화합물 36, 30 mg, 0.03 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 실온에서 DIEA (13 mg, 0.10 mmol, 3.00 당량) 및 화합물 37 (30 mg, 0.10 mmol, 3.00 당량)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 정제용 HPLC에 의해 하기 조건 (칼럼: 엑스셀렉트 CSH OBD 칼럼 30 x 150mm 5um, 이동상 A: 물 (0.1% FA), 이동상 B: ACN; 유량: 60 mL/분; 구배: 10분 내에 21 B에서 36 B; 220

nm; RT 1:11.15분)을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 동결건조시켜 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일)아미노]페닐]에톡시)에틸]-(메틸)카르바모일]옥시)메틸]-2-[3-[6-(2,5-디옥소피롤-1-일)헥산아미도]프로판아미도]페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (화합물 (Ie), 10.5 mg, 28%)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):1133[M+H]⁺. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 10.9 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.92-7.68 (m, 4H), 7.52 (s, 1H), 7.44 (d, J=3.0 Hz, 1H), 7.18-6.99 (m, 7H), 5.76 (s, 1H), 5.20-5.10 (m, 2H), 4.98 (br s, 2H), 4.76-4.74 (m, 1H), 4.42-4.33 (m, 4H), 3.65 (br s, 1H), 3.58-3.54 (m, 5H), 3.35 (d, J=6 Hz, 2H), 2.90-2.83 (m, 7H), 2.57-2.55 (m, 3H), 2.45-2.30 (m, 1H), 2.02-1.98 (m, 4H), 1.48-1.42 (m, 5H), 1.40-1.20 (m, 3H).



[0342]

[0343] 반응식 6: 신규분해제 P1-β-글루쿠로니드 링커 복합체 (화합물 (Ih))의 합성



[0344]

[0345] 실시예 6: 화합물 (Ih)의 합성

[0346]

단계 1. 화합물 63의 합성

[0347]

3-[[(9H-플루오렌-9-일메톡시)카르보닐]아미노]프로판산 (화합물 62, 5.00 g, 16.06 mmol, 1.00 당량)의 교반 혼합물에 SOCl_2 (25 mL)를 실온에서 첨가하였다. 생성된 혼합물을 80°C에서 16시간 동안 교반하였다. 목적 생성물을 LCMS (MeOH를 갖는 유도체 MS=326)에 의해 검출할 수 있었다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켜 9H-플루오렌-9-일메틸 N-(3-클로로-3-옥소프로필)카르바메이트 (화합물 63, 7.5 g, 조 물질)를 황색 오일로서 수득하였다. 조 생성물을 직접 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다. ^1H NMR 분석은 이것이 목적 생성물 (MeOH를 갖는 유도체)임을 나타내었다. ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.81-7.77 (m, 2H), 7.63-7.59 (m, 2H), 7.46-7.40 (m, 2H), 7.40-7.31 (m, 2H), 5.33 (s, 1H), 4.42 (d, J=3.0 Hz, 2H), 4.24 (t, J=6.0 Hz, 1H), 3.74-3.67 (m, 3H), 3.50 (d, J=3.0 Hz, 2H), 2.59 (t, J=6.0 Hz, 2H).

[0348]

단계 2. 화합물 66의 합성

[0349]

ACN (100 mL, 190.24 mmol, 75.00 당량) 중 4-포르밀-2-니트로페놀 (화합물 65, 4.21 g, 25.19 mmol, 1.00 당량) 및 Ag_2O (7.00 g, 30.20 mmol, 1.20 당량)의 교반 용액에 N_2 분위기 하에 실온에서 메틸 (2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-브로모옥산-2-카르복실레이트 (화합물 64, 10.00 g, 25.17 mmol, 1.00 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N_2 분위기 하에 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 DCM (50 mL x 3)으로 세척하였다. 여과물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 PE/EA(PE:EA=1:2)로 용리시키면서 정제하여 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-(4-포르밀-2-니트로페녹시)옥산-2-카르복실레이트 (화합물 66, 10.5 g, 86%)를 백색 고체로서 수득하였다. ^1H -NMR 분석은 이것이 목적 생성물임을 나타내었다. LCMS(ES, m/z):484 $[\text{M}+1]^+$. ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10.00 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.13-8.09 (m, 1H), 7.52 (d, J=3.0 Hz, 1H), 5.47-5.29 (m, 4H), 4.37-4.35 (m, 1H), 3.75-3.73 (m, 3H), 2.17-2.06 (m, 9H).

[0350]

단계 3. 화합물 67의 합성

[0351]

MeOH (50 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-(4-포르밀-2-니트로페녹시)옥산-2-카르복실레이트 (화합물 66, 6.00 g, 12.41 mmol, 1.00 당량)의 교반 용액에 N_2 분위기 하에 실온에서 NaBH_4 (0.47 g, 12.42 mmol, 1.00 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N_2 분위기 하에 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응물을 실온에서 물로 킨칭하였다. 생성물을 Na_2SO_4 에 의해 건조시켰다. 생성된 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 DCM으로 세척하였다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[4-(히드록시메틸)-2-니트로페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 67, 5.5 g, 91%)를 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):486 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0352]

단계 4. 화합물 68의 합성

[0353]

EA (60 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[4-(히드록시메틸)-2-니트로페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 67, 5.50 g, 11.33 mmol, 1.00 당량)의 교반 혼합물에 실온에서 Pd/C (1.10 g, 10%)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 H_2 분위기 하에 실온에서 16시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 DCM 및 MeOH로 세척하고, 여과물을 진공 하에 농축시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-아미노-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 68, 4.0 g, 77%)를 고체로서 수득하였다. 조 생성물을 후속 단계에 직접 추가 정제 없이 사용하였다. LCMS(ES, m/z):456 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0354]

단계 5. 화합물 70의 합성

[0355]

THF (10 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-아미노-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 68, 1.00 g, 2.19 mmol, 1.00 당량) 및 NaHCO_3 (0.20 g, 2.40 mmol, 1.1 당량)의 교반 용액에 N_2 분위기 하에 0°C에서 9H-플루오렌-9-일메틸 N-(3-클로로-3-옥소프로필)카르바메이트 (화합물 69, 0.87 g, 2.62 mmol, 1.20 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N_2 분위기 하에 0°C에서 6시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응물을 실온에서 물로 킨칭하였다. 생성된 혼합물을

DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 PE/EA(EA=100%)로 용리시키면서 정제하여 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 70, 1.1 g, 66%)를 담합색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):749 [M+H]⁺.

[0356] 단계 6. 화합물 72의 합성

[0357] DMF (15 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)-4-(히드록시메틸)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 70, 1.50 g, 2.00 mmol, 1.00 당량) 및 비스(4-니트로페닐) 카르보네이트 (화합물 71, 0.68 g, 2.24 mmol, 1.12 당량)의 교반 혼합물에 N₂ 분위기 하에 0°C에서 DIEA (0.52 g, 4.01 mmol, 2.00 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 역 플래쉬 크로마토그래피에 의해 하기 조건: 칼럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN (0.1% FA), 40분 내 10%에서 90% 구배; 검출기, UV 254 nm를 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 진공 하에 농축 건조시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)-4-[[[4-니트로페녹시]카르보닐]옥시]메틸]페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 72, 1.4 g, 48%)를 황색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):914 [M+H]⁺.

[0358] 단계 7. 화합물 73의 합성

[0359] DMF (10 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)-4-[[[4-니트로페녹시]카르보닐]옥시]메틸]페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 72, 1.00 g, 1.09 mmol, 1.00 당량) 및 1-(3-클로로-4-[2-[2-(메틸아미노)에톡시]에틸]페닐)-3-[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]우레아 (신규분해체 P1, 0.58 g, 1.09 mmol, 1.00 당량)의 교반 혼합물에 N₂ 분위기 하에 실온에서 HOBt (1.18 g, 8.72 mmol, 8.00 당량) 및 2,4-디메틸피리딘 (1.07 g, 8.72 mmol, 8.00 당량)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂ 분위기 하에 실온에서 16시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 추가 정제에 사용하였다. 잔류물을 역 플래쉬 크로마토그래피에 의해 하기 조건: 칼럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN (0.1% FA), 40분 내 10%에서 80% 구배; 검출기, UV 254 nm를 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 진공 하에 농축시켜 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시]메틸]-2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 73 (800 mg, 56%)를 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):1302[M+H]⁺.

[0360] 단계 8. 화합물 74의 합성

[0361] THF (80 mL) 중 메틸 (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-트리스(아세틸옥시)-6-[4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]-2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)페녹시]옥산-2-카르복실레이트 (화합물 73 (800.00 mg, 0.61 mmol, 1.00 당량)의 교반 혼합물에 N₂ 분위기 하에 실온에서 HCl (6N, 80 mL)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 50°C에서 3시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 역 플래쉬 크로마토그래피에 의해 하기 조건: 칼럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN (0.1% FA), 40분 내 0%에서 80% 구배; 검출기, UV 254 nm를 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 동결건조시켜 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]-2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (화합물 74, 230 mg, 32%)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z):1162[M+H]⁺.

[0362] 단계 9. 화합물 75의 합성

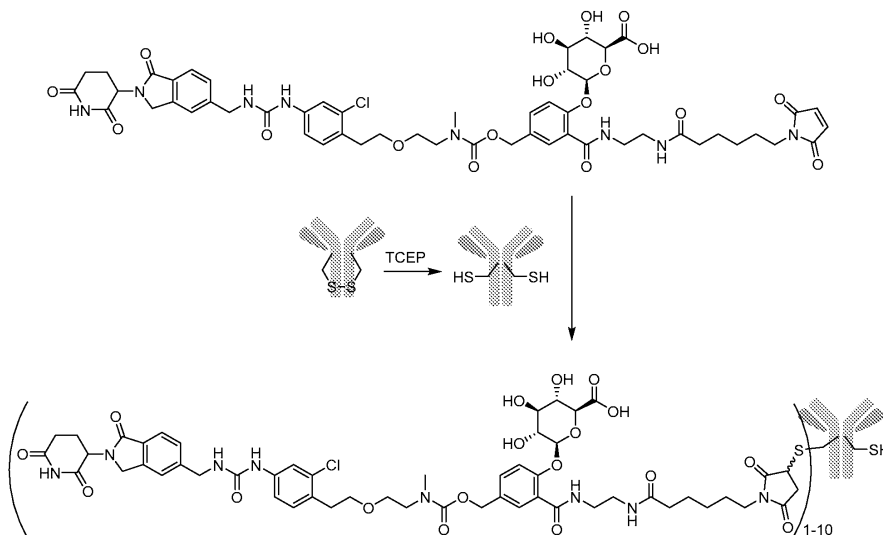
[0363] DMF (2 mL) 중 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일]아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]-2-(3-[[[9H-플루오렌-9-일메톡시]카르보닐]아미노]프로판아미도)페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산, 74 (230 mg, 0.2 mmol,

1.00 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 실온에서 피페리딘 (0.4 mL)을 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 10분 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 생성된 혼합물을 직접 정제용 HPLC에 의해 하기 조건 (칼럼: 엑스셀렉트 CSH 정제용 C18 OBD 칼럼, 19x250mm, 5µm; 이동상 A: 물 (0.05%TFA), 이동상 B: ACN; 유량: 25 mL/분; 구배: 7분 내 20 B에서 40 B; 220 nm; RT1:5.78분)을 사용하여 추가로 정제하여 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-아미노프로판아미도)-4-[[[2-(2-[2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일)아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (화합물 75, 35 mg, 18%)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 940[M+H]⁺.

[0364] 단계 10. 화합물 (Ih)의 합성

[0365] DMF (2.0 mL) 중 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-아미노프로판아미도)-4-[[[2-(2-{2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일)아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (화합물 75, 110 mg, 0.12 mmol, 1.00 당량) 및 비스(2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 펜탄디오에이트 (화합물 76, 46 mg, 0.14 mmol, 1.2 당량)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 실온에서 DIEA (30 mg, 0.23 mmol, 2.0 당량)를 조금씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 정제용 HPLC에 의해 하기 조건 (칼럼: 키네틱스(Kinetex) EVO 정제용 C18, 30*150, 5µm; 이동상 A: 물(0.05%TFA), 이동상 B: ACN; 유량: 60 mL/분; 구배: 7분 내 21% B에서 41% B, 41% B; 파장: 254 nm; RT1(분): 5.8)을 사용하여 정제하였다. 수집된 분획을 동결건조시켜 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-{4-[[[2-(2-{2-클로로-4-[[[2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소-3H-이소인돌-5-일]메틸]카르바모일)아미노]페닐]에톡시)에틸](메틸)카르바모일]옥시)메틸]-2-(3-{5-[(2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시]-5-옥소펜탄아미도}프로판아미도)페녹시]-3,4,5-트리히드록시옥산-2-카르복실산 (화합물 (Ih), 48 mg, 34%)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS(ES, m/z): 1151 [M+H]⁺, 1173 [M+Na]⁺. ¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆): 12.80 (br s, 1H), 10.98 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.68-7.66 (m, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.44 (d, J=8.1 Hz, 1H), 7.25-7.00 (m, 4H), 6.82-6.80 (m, 1H), 5.86 (s, 1H), 5.39-5.30 (m, 2H), 5.14-5.07 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.84 (d, J=7.2 Hz, 1H), 4.47-4.27 (m, 4H), 3.90 (d, J=9.6 Hz, 1H), 3.56-3.48 (m, 4H), 3.45-3.36 (m, 6H), 2.95-2.80 (m, 8H), 2.75-2.65 (m, 3H), 2.62-2.55 (m, 2H), 2.49-2.35 (m, 1H), 2.21-2.16 (m, 2H), 2.01-1.95 (m, 1H), 1.85-1.80 (m, 2H).

[0366] 실시예 7: 신규분해제 접합체의 제조 및 특징화를 위한 일반적인 절차

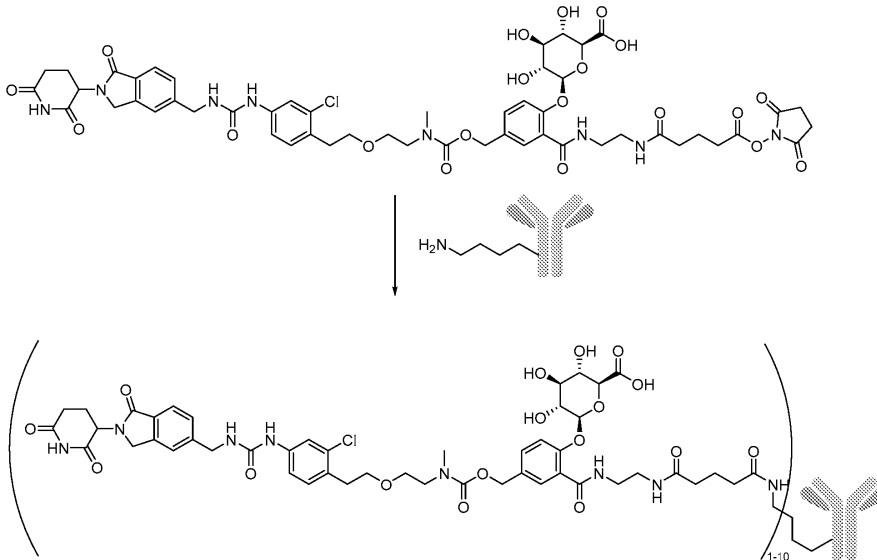


[0367] 반응식 7: CD33AB-화합물 (Ia)의 합성

[0369] CD33AB-화합물 (Ia)의 합성

[0370] 2.25 몰 당량의 TCEP를 50 mM EPPS, 5 mM EDTA pH 7.0 중 CD33AB의 7.8 mg/mL 용액에 첨가하고, 혼합물을 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 부분적으로 환원된 항체를 주위 온도로 냉각시킨 후, 8 몰 당량의 화합물 (Ia)를 항체의 최종 농도가 7.0 mg/mL이고 DMA의 최종 농도가 10% (v/v)가 되도록 DMA 중 원액으로서 첨가하였

다. 반응물을 주위 온도에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 생성된 접합체를 제바(Zeba) 40K 탈염 칼럼을 사용한 겔 여과에 이어서 슬라이드-a-라이저(Slide-a-Lyzer) 카세트 (10 K MWCO)를 사용한 투석에 의해 20 mM 속신산나트륨, 8% 수크로스, 0.01% 트윈(Tween)-20 pH 5.5 제제 완충제로 정제하였다. 정제된 AnDC는 SEC에 의해 100% 단량체, 환원 RPLC-MS에 의해 3.1 약물/항체의 평균 약물 로딩, 및 RPLC에 의해 < 1.5% 비접합된 화합물 (Ia)를 갖는 것으로 밝혀졌다.



[0371]

[0372]

반응식 8: CD33AB-화합물 (Ib)의 합성

[0373]

CD33AB -화합물 (Ib)의 합성

[0374]

3.8 몰 당량의 화합물 (Ib)를 항체의 최종 농도가 6.4 mg/mL이고 DMA의 최종 농도가 10% (v/v)가 되도록 DMA 중 원액으로서 50 mM EPPS pH 8.0 완충제 중 CD33AB의 용액에 첨가하였다. 반응물을 주위 온도에서 3시간 동안 인큐베이션하였다. 생성된 접합체를 제바 40K 탈염 칼럼을 사용한 겔 여과에 이어서 슬라이드-a-라이저 카세트 (10 K MWCO)를 사용한 투석에 의해 20 mM 속신산나트륨, 8% 수크로스, 0.01% 트윈-20 pH 5.5 제제 완충제로 정제하였다. 정제된 AnDC는 SEC에 의해 100% 단량체, 무손상 RPLC-MS에 의해 3.1 약물/항체의 평균 약물 로딩, 및 RPLC에 의해 < 1.5% 비접합된 화합물 (Ib)를 갖는 것으로 밝혀졌다.

[0375]

농도 및 단량체는 5 μm 입자를 갖는 7.8 x 300 mm TSKGel 3000SWXL 칼럼 (토소 바이오사이언스(Tosoh Bioscience))을 사용하여, 30분 동안 0.5 mg/mL로 전개되는 400 mM 과염소산나트륨, 50 mM 인산나트륨, 5% (v/v)이소프로판올 이동상으로 등용매적으로 용리시키는 크기 배제 크로마토그래피에 의해 결정하였다. 신규분해 접합체를 214 nm에서 검출하는 항체 표준 곡선으로부터 정량화하였다.

[0376]

약물 대 항체 비 (DAR)를 2.5 μm 입자를 갖는 4.6 x 35 mm TSK겔 부틸-NPR 칼럼을 사용하여 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 결정하였다. 이동상 A는 1.5 M 황산암모늄, 25 mM 인산나트륨 pH 7.0이었다. 이동상 B는 25 mM 인산나트륨 pH 7.0, 25% (v/v)이소프로판올이었다. 분석물을 0.6 mL/분의 유량으로 12분 내에 0-100% B의 선형 구배로 용리시켰다. 검출은 214 nm에서 이루어졌다.

[0377]

유리 링커-페이로드를 2.5 μm 입자를 갖는 4.6 x 250 mm HISEP 칼럼 (수펠코(Supelco))을 사용하여 혼합-모드 크로마토그래피에 의해 결정하였다. 이동상 A는 100 mM 아세트산암모늄이었다. 이동상 B는 100% 아세트오니트릴이었다. 분석물을 0.7 mL/분의 유량으로 25분 내에 25-40% B, 이어서 2분 내에 40-100% B의 구배로 용리시켰다. 칼럼 온도는 35°C였다. 유리 링커-페이로드를 254 nm에서 검출하는 외부 표준 곡선을 사용하여 정량화하였다.

[0378]

추가된 신규분해 접합체는 적절한 링커-신규분해제를 리신 또는 시스테인 반응성 접합 핸들로 치환하여 상기 기재된 절차를 이용하여 제조할 수 있다.

[0379]

실시예 8: 항-CD33 항체-신규분해제 접합체를 사용한 급성 골수성 백혈병 (AML)의 치료

[0380]

CD33AB-신규분해제 화합물을 무흉선 누드 마우스 (Cr1:NU(NCr)-Foxn1^{nu}, 찰스 리버(Charles River))에서 시험하

였다. 50% 매트리지겔(Matrigel) 중 1 x 10⁷개 MV411 인간 급성 단핵구성 백혈병 세포 (ATCC[®] CRL-5991[™])를 마우스의 측복부에 피하로 주사하였다 (0.1 mL/마우스). 종양이 100 - 150 mm³의 평균 크기에 도달하면 마우스에게 항-CD33 항체-신규분해제 접합체, 비-표적화 신규분해제 접합체, 및 비히클 대조군을 투여하였다.

[0381] CD33AB-화합물 (Ia), CD33AB-화합물 (Ib)의 원액을 비히클로 희석하여 0.302 및 0.294 mg/mL 투여 용액을 수득하였으며, 이를 각각의 동물의 체중에 대해 조정된 10 mL/kg (20 g 마우스당 0.2 mL)의 투여 부피로 3.02 및 2.94 mg/kg로 제공하였다. 이 투여 전략은 확실히 각각의 시험 군으로의 동일한 양의 페이로드를 전달하였다. 밀로타르그를 0.9% 염화나트륨 용액 중에 0.01 mg/mL로 희석하였으며, 이를 10 mL/kg (20 g 마우스당 0.2 mL)의 투여 부피로 3 mg/kg로 제공하였다. 베네토클락스를 초음파처리를 통해 60% PG, 30% PEG400, 10%에탄올로 구성된 용매 중에 제제화하여 5 mg/mL의 투여 현탁액을 수득하였으며, 이를 10 mL/kg의 부피로 투여하는 경우에 50 mg/kg로 전달하였다. CC-90009를 원심분리하여 바다에서 분말을 수집한 다음; N-메틸-2-피롤리디논 (NMP), PEG400 및 염수를 첨가하고, 하나씩 잘 혼합하여 5% NMP, 45% PEG400 및 50% 염수 중 0.5 mg/mL 투여 용액을 수득하였고, 이를 10 mL/kg의 부피로 투여하는 경우에 5 mg/kg로 전달하였다.

[0382] 마우스를 다음과 같이 6개의 치료군 (N=9/군)으로 나누었다: 1) 비히클; 2) CD33AB-화합물 (Ia) (3.02 mg/kg, iv, qd x 1); 3) CD33AB-화합물 (Ib) (2.94 mg/kg, iv, qd x 1); 4) 밀로타르그 (0.1 mg/kg, iv, qd x 1); 5) 베네토클락스 (50 mg/kg, po, qd x 21); 6) CC-90009 (5 mg/kg, ip, bid x 10). 군 1-4에 대한 시험 물품을 체중에 대해 조정된 부피 (0.200 mL/20 g 마우스)로 단일 용량 (qd x 1)으로서 정맥내로 (i.v.) 투여하였다. 각각의 동물의 BW에 비례하는 10 mL/kg (20 g 마우스당 0.2 mL)의 투여 부피로 베네토클락스를 경구로 (po) 투여하는 한편, CC-90009를 복강내로 (ip) 투여하였다.

[0383] 종양을 캘리퍼를 사용하여 1주에 2회 측정하고, 각각의 동물을 그의 종양이 종점 부피 (2,000 mm³)에 도달하였을 때 또는 연구의 마지막 날 (제45일)에, 어느 쪽이든 먼저 일어났을 때 안락사시켰다. MTV(n)는 종양이 종점 부피에 도달하지 않은 남아있는 동물의 수 (n) 중 연구의 마지막 날의 중앙 종양 부피로서 정의되었다.

[0384] 도 1a에 제시된 바와 같이, 두 신규분해제 접합체 모두는 비히클과 비교하여 시간 경과에 따라 보다 느린 종양 성장을 제공하였다.

[0385] 활성을 추가로 확인하고, 대안적 접합 및 링커-방출 양식을 평가하기 위해, CD33AB-기반 접합체의 패널을 시험하고, 각각 임상 투여 수준에서의 임상 시험에서 밀로타르그 - 임상적으로 승인된 CD33-표적화 ADC, 및 CC-90009 - 소분자 GSPT1 분해제와 비교하였다. 도 1b에 제시된 바와 같이, 또한 시험관내 관찰과 일치하게, CD33AB-기반 접합체를 사용한 CD33-양성 AML 모델 종양 (MV4-11)의 생체내 치료는 신규분해제 P1을 방출함으로써 종양 퇴행을 유발하였으며, 베타-글루쿠코나이드 방출 촉발인자 및 시스테인 접합을 함유하는 접합체에서 가장 강력한 효과가 관찰되었다. 베타-glu 링커의 2종의 변이체 (화합물 (Ie) 대 화합물 (Ia))의 비교는 화합물 (Ia) 접합체가 화합물 (Ie)에 비해 더 긴 지속성으로 반응을 나타냄을 보여주었다.

[0386] 실시예 9: 항-CD33 항체-신규분해제 접합체를 사용한 인간 백혈병 모델의 치료

[0387] CD33-양성 및 CD33-음성 모델의 스펙트럼에 걸쳐 활성을 확인하기 위해, 인간 백혈병 모델 (CD33-양성 AML 및 CD33-음성 악성종양 포함)의 시험관내 패널에서 종양 세포 사멸을 유도하는 CD33AB-화합물 (Ia) 접합체의 효능을 평가하였다. 시험 물품 (TA)의 세포독성을 CD33-양성 급성 골수성 백혈병 세포주의 패널 및 비-AML CD33-음성 세포의 패널을 사용하여 측정하였다. 사전 결정된 농도의 세포를 96 웰 플레이트에 플레이팅하고, 37°C /5%CO₂에서 밤새 인큐베이션한 후, 각각의 시험 물품 (TA)의 연속 희석물을 세포에 첨가하였다. 세포를 시험 물품과 함께 72시간 동안 인큐베이션하고, 생존율을 셀타이터-글로(CellTiter-Glo)[®] 시약 (프로메가(Promega))으로 검출하였다. 발광 값을 각각의 세포주에 대해 정규화하고, IC50을 프리즘(Prizm) 소프트웨어를 사용하여 계산하였다. 결과를 도 2에 나타내었다. 접합체는 여러 CD33+ 세포에서 우수한 활성을 나타내었지만, 유리하게는 접합체는 CD33-음성 세포 모델에서 불활성이었다.

[0388] 실시예 10: 항-CD33 항체-신규분해제 접합체의 세포독성

[0389] 접합체의 세포독성을 MV4-11 CD33-양성 급성 골수성 백혈병 세포를 사용하여 측정하였다. 세포를 96 웰 플레이트에 검정 배지 중에 플레이팅하고, 검정 배지 중에 제조된 CD33AB-화합물 I(a) 접합체, 베네토클락스, 밀로타르그, CC-885, CC-90009, CD33AB (비접합 항체) 또는 비-결합 AnDC 대조군의 연속 희석물을 세포에 첨가하였다. 세포를 72시간 동안 인큐베이션한 다음, 세포 생존율을 셀 카운팅 키트-8 (도진도(Dojindo)) 또는 셀타이터-글로[®] 시약 (프로메가)으로 검출하였다. 도 3에 제시된 바와 같이, 결과는 접합체가 CC885 또는 밀로타르그

CD33-양성 AML 세포와 대등한 전반적 시험관내 효능을 나타냈고, 일부 경우에는 우월한 효능을 나타냈음을 가리켰다.

- [0390] 실시예 11: AML 환자 유래 세포에서의 항-CD33 항체-신규분해제 접합체의 활성화
- [0391] CD33AB-화합물 (Ia) 접합체를 여러 AML 환자 원발성 모세포에서 시험관내 평가하였다. 최종 처리 후에 수집된 성인 AML 환자로부터의 동결된 골수 샘플을 해동시키고, 접합체, 밀로타르그 또는 CC-90009의 연속 희석물을 함유하는 96 웰 플레이트에 플레이팅하였다. 플레이트를 37°C/5%CO₂에서 48시간 동안 인큐베이션한 다음, 각각의 웰 내의 적혈구를 용해시키고, 남아있는 세포를 아넥신(Annexin) V와 함께 모세포 마커 항체 (각각의 공여자에 대한 최상의 모세포 항체는 사전에 결정됨)로 염색하였다. 샘플을 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. 종양 세포 생존을 각각의 샘플에서 생존 종양 세포의 절대 수에 의해 결정하고, 비처리 웰에서의 수에 의해 정규화하였다. 도 4에 제시된 바와 같이, 항-CD33 항체-신규분해제 접합체는 표준 관리 치료 (밀로타르그) 또는 탐색적 소분자 GSPT1 분해제 (CC-90009)와 비교하여 환자-유래 세포에서, 세포독성에 의해 측정된 바와 같이 우월한 활성을 나타내었다.
- [0392] 실시예 12: 인간 전구 CFC 증식에 대한 항-CD33 항체-신규분해제 접합체의 활성화
- [0393] CD33이 정상 골수 전구 세포 집단에서 발견되고 정상 세포의 골수억제가 밀로타르그에 대해 관찰된 유해 사건 (AE)이기 때문에, 정상 적혈구, 골수성 전구세포 및 거핵구 전구세포에 대한 CD33AB-화합물 (Ia) 접합체, 밀로타르그 및 CC-90009의 활성을 콜로니 형성 검정에서 측정하였다. 정상 인간 골수 광 밀도 세포를 실험일에 해동시키고, 세척하고, rhIL-3 (10 ng/mL), rhGMCSF (10 ng/mL), 및 rhSCF (50 ng/mL)로 보충된 엑스비보(XVivo) 15 배지 중 24 웰 플레이트에 플레이팅하였다. CD33AB-화합물 I(a) 접합체, 밀로타르그 및 CC-90009를 웰에 첨가하고, 세포를 72시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 400 μ L의 각각의 세포 현탁액을 골수성 및 적혈구계 전구세포에 대해 rhIL-3 (10 ng/mL), rh SCF (50 ng/mL), rhGM-CSF (10 ng/mL), 및 rhEpo (3 U/mL)로 보충된 메틸셀룰로스-기반 배지를 함유하는 튜브에 첨가하였다. 거핵구 전구세포에 대해, 세포를 rhIL-3 (10 ng/mL), rhIL-6 (10 ng/mL) 및 rhTpo (50 ng/mL)로 보충된 반고체 콜라겐-기반 매트릭스를 함유하는 35 mm 디쉬에 첨가하였다. 인큐베이션 14일 후에, 골수 및 적혈구 전구세포의 콜로니를 현미경으로 평가하였다. 콜로니를 크기에 의해 여러 카테고리로 나누었다: CFU-E (콜로니-형성 단위-적혈구; 본 콜로니-형성 세포는 200개 미만의 적모구를 함유하는 작은 콜로니를 생산함) 및 BFU-E-적혈구 전구세포 (버스트(Burst)-형성 단위-적혈구; 이는 보다 미분화 콜로니-형성 세포이고, 이는 200개 초과적 적모구를 함유하는 보다 큰 콜로니를 생산함), CFU-GM-과립구-단핵구 전구세포 (콜로니-형성 단위 - 과립구, 대식세포; 본 골수성 콜로니-형성 세포는 40개 이상의 과립구-단핵구 및/또는 대식세포 세포를 갖는 콜로니를 생산할 수 있음), 및 CFU-GEMM-다능성 전구세포 (콜로니-형성 단위 - 과립구, 적혈구, 대식세포, 거핵구; 본 미분화 콜로니-형성 세포는 적혈구 세포 뿐만 아니라 20개 이상의 과립구, 대식세포 및 거핵구를 함유하는 콜로니를 생산할 수 있음).
- [0394] 거핵구의 경우, 14일의 인큐베이션 후에, 세포를 유리 슬라이드로 옮기고, 고정시키고, CD41 항체 및 알칼리성 포스페이트 검출 시스템으로 염색하였다. 콜로니를 크기에 의해 3개의 카테고리로 나누었다: CFU-Mk (3-20), CFU-Mk (21-49), CFU-Mk (\geq 50). 결과를 비처리 샘플 내의 콜로니의 수에 의해 정규화하고, IC50을 프리즘 소프트웨어를 사용하여 계산하였다. 결과를 도 5에 나타내었다.
- [0395] 실시예 13: 현행 표준 관리와 비교한, AML 종양에서의 항-CD33 항체-신규분해제 접합체의 활성화
- [0396] 피하 종양 모델 MV4-11 인간 급성 골수구성 백혈병 세포 (0.1 mL 중 1×10^6 개 세포)를 암컷 무흉선 누드 마우스의 우측 측복부에 피하로 접종하였다. 종양 크기가 150 mm³에 도달했을 때 시작하여 마우스를 측면 꼬리 정맥 내로의 정맥내 주사, 복강내 주사, 경구 위관영양, 또는 그의 조합에 의해 TA로 치료하였다. 종양 크기 및 마우스 체중을 1주에 2회 측정하였다. 도 6에 제시된 바와 같이, CD33AB-화합물 (Ia) 접합체는 최선의 이용가능한 관리 옵션보다 우월한 효능을 나타내었다.
- [0397] 실시예 14: 과중성 AML 모델에서의 항-CD33 항체-신규분해제 접합체의 활성화
- [0398] AML은 다중 골수 함요의 병변을 갖고 혈류에서 순환하는, 환자 전신에 걸쳐 빈번하게 과중되는 질환이기 때문에, 과중된 AML 생체내 모델에서 CD33AB-화합물 (Ia) 접합체의 활성을 연구하였다.
- [0399] 과중성 모델 MV4-11 세포 (0.2 mL 중 3×10^6 개 세포)를 암컷 NCG 마우스의 외측 꼬리 정맥에 정맥내로 주사하였다. 치료는 종양 세포 주사 13일 후에 시작하였다. 마우스를 이환율, 사망률 및 임상 관찰에 대해 매일 체크

하였다. 체중을 1주에 2회 측정하였다. 생물발광 영상화 10분 전에 5 $\mu\text{L/g}$ 의 D-루시페린의 주사에 의해 마취 하에 1주에 1회 종양 발생의 영상화 분석을 수행하였다.

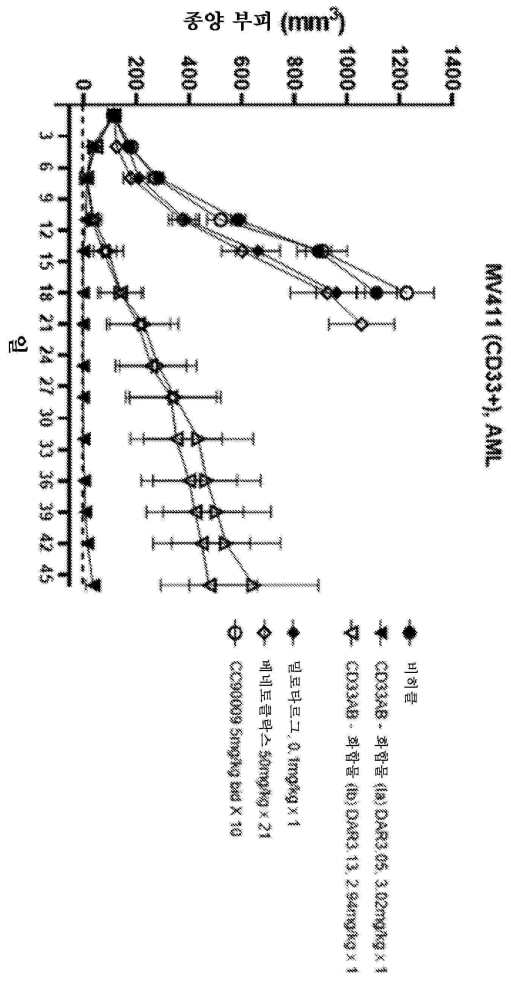
- [0400] 과중성 모델 OCI-AML2 인간 급성 골수구성 백혈병 세포 (0.2 mL 중 1×10^7 개 세포)를 암컷 NOG 마우스의 외측 꼬리 정맥에 정맥내로 주사하였다. 치료는 종양 세포 주사 9일 후에 시작하였다. 마우스를 이환율, 사망률 및 임상 관찰에 대해 매일 체크하였다. 체중을 1주에 2회 측정하였다. 생물발광 영상화 10분 전에 5 $\mu\text{L/g}$ 의 D-루시페린의 주사에 의해 마취 하에 1주에 1회 종양 발생의 영상화 분석을 수행하였다.
- [0401] 도 7에 제시된 바와 같이, 종양 세포의 사멸의 마커인 루시페린 신호의 지속적인 퇴행과 함께, 두 모델 (MV4-11 및 OCI-AML2) 모두에서 강력한 단일-용량 반응이 관찰되었다.
- [0402] 실시예 15: CD33AB-화합물 (Ia) 접합체에 의한 GSPT1의 분해
- [0403] CD33AB-화합물 (Ia) 접합체의 작용 메커니즘을 웨스턴 블롯에 의해 GSPT1의 분해를 모니터링함으로써 확인하였다. CD33AB-화합물 (Ia) 접합체, 신규분해제 P1, CC-90009 또는 밀로타르그에 의해 6, 12 및 18시간 동안 처리된 MV4-11 CD33-양성 AML 세포로부터 전세포 용해물을 제조한 다음, 단백질을 전기영동에 의해 분리하고, 폴리비닐리덴 플루오라이드 (PVDF) 막으로 옮겼다. GSPT1을 상업적으로 입수가 가능한 토끼-항-GSPT1 항체 (압캠 (Abcam))에 이어서 항-토끼 HRP 접합된 2차 항체 (셀 시그널링 테크놀로지(Cell Signaling Technology))에 의해 프로빙하고, 화학발광 기질 (써모피셔(ThermoFisher))에 의해 검출하였다. 이어서 PVDF 막을 스트리핑하고, 베타-액틴-HRP 접합된 항체 (셀 시그널링 테크놀로지)로 재프로빙하였다. 결과를 도 8에 나타내었다. 이들 데이터는 CD33AB에 대한 신규분해제 P1의 접합이 세포내 노출을 증진시켜 선택적 GSPT1 분해를 유도한다는 것을 지지한다. 투여 후 6시간만큼 짧은 시간 내에 접합체 및 소분자, 신규분해제 P1 및 CC-90009에 대해 GSPT1 수준의 유사한 용량-의존성 감소가 관찰되었다. 12시간 시점에서 GSPT1 수준의 반등을 나타내는 신규분해제 P1 및 CC-90009에서 관찰되는 일시적 고갈과 대조적으로, 접합체로의 처리는 투여 후 18시간까지 지속적인 고갈을 나타내었다. 이들 데이터는 투여 후 활성 페이로드의 연장된 노출에 대한 잠재력을 지지하며 - 이는 보다 강한 반응 지속기간 및 덜 빈번한 투여에 대한 잠재력과 일치한다.
- [0404] 실시예 16: 항-CD33 항체-신규분해제 접합체의 약동학적 및 약역학적 효능
- [0405] CD33AB-화합물 (Ia) 접합체의 노출 및 약역학적 활성을, 종양 퇴행을 확립하기 위해 이전에 관찰된 용량에 대해 평가하였다. 피하 종양 모델 MV4-11 인간 급성 골수구성 백혈병 세포 (0.1 mL 중 1×10^6 개 세포)를 암컷 무흉선 누드 마우스의 우측 측복부에 피하로 접종하였다. 마우스를 0.5 mg/kg, 1 mg/kg 및 3 mg/kg의 CD33AB-화합물 (Ia)의 외측 꼬리 정맥 주사로 정맥내 치료하였다. 투여 전, 투여 후 10분, 30분, 1시간, 6시간, 24시간, 72시간, 및 120시간 시점에 피하 MV4-11종양 모델 마우스로부터 말단 심장 천자 혈액 및 종양을 수집하였다. 혈액을 EDTA 혈장으로 처리하고, 종양을 액체 질소에서 급속 동결시켰다.
- [0406] 약동학적 분석: 접합체 페이로드 수준을 LC-MS/MS에 의해 혈장 샘플에서 정량화하였다. 방법은 접합체로부터 신규분해제 P1 페이로드를 방출하기 위한 b-글루쿠로니다제 소화, 이어서 유리 및 방출된 페이로드를 수집하기 위한 단백질 침전 추출, 및 MRM 획득을 사용한 LC-MS/MS 분석을 포함하였다. 방법을 정성화하고, 선형성, 특이성, 이월(carryover), 정확도 및 정밀도에 따른 소분자 분석을 위한 비-GLP 생물분석 정량화 LC-MS/MS의 허용 기준을 충족시켰다. 관련 약동학적 파라미터를 윈논린(WinNonLin) (V8.3)을 사용하여 계산하였다.
- [0407] 약역학적 분석 - 종양 조직을 프로테아제 및 포스파타제 억제제를 함유하는 RIPA 용해 완충제를 사용하여 균질화하고, 폴리클로날 토끼 항-GSPT1 항체 (압캠 ab126090)를 사용하여 웨스턴 블롯팅을 수행하였다. 시험관내에서 관찰된 GSPT1의 지속적인 고갈과 일치하게, 접합체의 단일 생체내 용량은 최대 120시간 동안 감소된 수준의 GSPT1을 유지하기에 충분하였다 (도 9, 상단). 또한, CD33AB에의 신규분해제 P1의 접합은 64시간 초과 P1의 지속적인 반감기를 초래하였으며 (도 9, 하단), 이는 페이로드의 지속적인 노출 및 덜 빈번한 투여에 대한 잠재력을 지지한다.
- [0408] 실시예 17: 밀로타르그-비감수성 세포주에 대한 항CD33 신규분해제 접합체의 활성
- [0409] 시험 물품 (TA)의 시험관내 세포독성을 밀로타르그 비감수성인 것으로 공지된 CD33 양성 급성 골수성 백혈병 세포주 (AML193 및 카수미-6)의 패널을 사용하여 측정하였다. 사전 결정된 농도의 세포를 96 웰 플레이트에 플레이트팅하고, 37°C/5% CO₂에서 밤새 인큐베이션한 후, 각각의 시험 물품 (TA)의 연속 희석물을 세포에 첨가하였다. 세포를 시험 물품과 함께 72시간 동안 인큐베이션하고, 생존율을 셀타이터-글로® 시약 (프로메가)으로 검출하

였다. 발광 값을 각각의 세포주에 대해 정규화하고, IC50을 프리즘 소프트웨어를 사용하여 계산하였다.

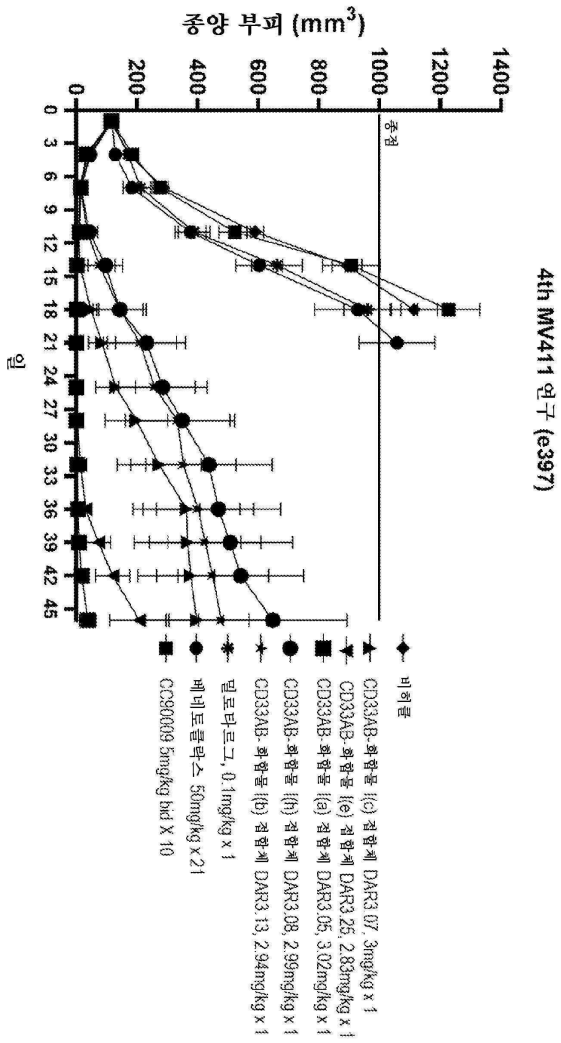
- [0410] 도 10a 및 10b에 제시된 바와 같이, 접합체는 두 세포주 모두에 대해 우수한 활성을 가졌다.
- [0411] 발명의 내용 및 요약서 섹션이 아닌 상세한 설명 섹션은 청구범위를 해석하는 데 사용되는 것을 의도하는 것으로 이해하여야 한다. 발명의 내용 및 요약서 섹션은 본 발명자(들)에 의해 고려된 바와 같은 본 개시내용의 하나 이상의, 그러나 전부는 아닌 예시적인 측면을 제시할 수 있고, 따라서 어떠한 방식으로든 본 개시내용 및 첨부된 청구범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0412] 본 개시내용은 명시된 기능 및 그의 관계의 구현을 예시하는 기능적 빌딩 블록의 도움으로 상기 기재되었다. 이들 기능적 빌딩 블록의 경계는 설명의 편의를 위해 본원에서 임의로 정의되었다. 명시된 기능 및 그의 관계가 적절하게 수행되는 한, 대안적 경계가 정의될 수 있다.
- [0413] 구체적 측면에 대한 상기 기재는 본 개시내용의 일반적 성질을 충분히 드러낼 것이며, 다른 사람들은 관련 기술 분야의 기술 내의 지식을 적용함으로써, 과도한 실험 없이, 본 개시내용의 일반적 개념으로부터 벗어나지 않으면서, 이러한 구체적 측면을 다양한 적용에 대해 용이하게 변형 및/또는 적응시킬 수 있다. 따라서, 이러한 적합화 및 변형은 본원에 제시된 교시 및 지침에 기초하여 개시된 측면의 등가물의 의미 및 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 본 명세서의 용어 또는 어구가 교시 및 지침에 비추어 통상의 기술자에 의해 해석되도록, 본원의 어구 또는 용어는 설명을 위한 것이며 제한하려는 것이 아님이 이해되어야 한다.
- [0414] 본 개시내용의 범위 및 범주는 상기 기재된 예시적인 측면 중 임의의 것에 의해 제한되어서는 안되며, 단지 하기 청구범위 및 그의 등가물에 따라 정의되어야 한다.

도면

도면1a



도면1b



도면2

CD33+ AML 세포

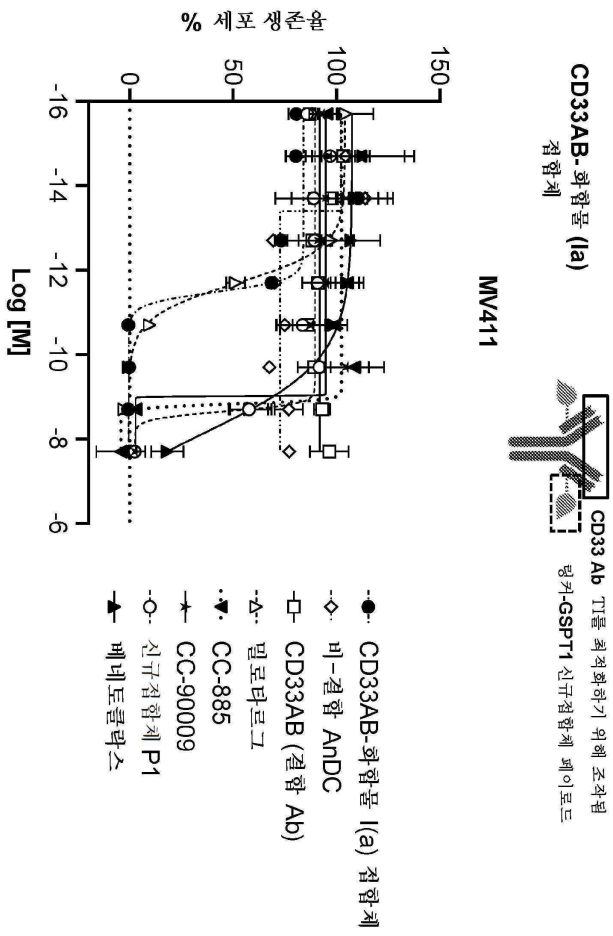
세포주	CC-90009 IC50 (nM)	CD33AB- 화합물 (a) 적합체 IC50 (nM)	멜포르비드 IC50 (nM)
MM-4-11	1.20E-08	9.00E-11	7.00E-11
ML-2	9.10E-09	9.00E-11	2.00E-11
HL-60	7.84E-09	1.10E-10	9.00E-11
SKNO-1	4.94E-09	1.60E-10	4.00E-11
F-36P	3.69E-09	2.00E-10	>2.00E-08
카수리-6	>2.00E-08	3.40E-10	>2.00E-08
OCI-AML-4	8.26E-09	3.60E-10	1.00E-10
Molm-13	>2.00E-08	3.60E-10	3.00E-11
AML-193	9.59E-09	4.30E-10	>2.00E-08
EoL-1	1.18E-08	5.20E-10	3.00E-11
HNT-34	1.33E-09	1.01E-09	5.20E-10
카수리-3	1.16E-09	1.12E-08	>2.00E-08
OCI-AML-1	6.44E-09	>2.00E-08	9.00E-11
KG-1a	1.27E-08	>2.00E-08	>2.00E-08
NOMO-1	>2.00E-08	>2.00E-08	>2.00E-08
카수리-1	>2.00E-08	>2.00E-08	>2.00E-08
OCI-M1	>2.00E-08	>2.00E-08	>2.00E-08
PLB-985	1.72E-08	>2.00E-08	>2.00E-08

비+AML (CD33-) 세포

세포주	CC-90009 IC50 (nM)	CD33AB- 화합물 (a) 적합체 IC50 (nM)	멜포르비드 IC50 (nM)
BSA-11	4.50E-09	>2.00E-08	5.60E-10
CRF-CRM	8.01E-09	>2.00E-08	8.96E-09
TAL-1	4.12E-09	>2.00E-08	2.92E-09
NALM-16	9.60E-09	>2.00E-08	8.07E-09
Mol-4	1.13E-08	>2.00E-08	4.30E-10
LC4-1	1.31E-08	>2.00E-08	1.47E-09
Rch	1.37E-08	>2.00E-08	5.80E-10
Loucy	4.07E-09	>2.00E-08	3.31E-09
ATN-1	>2.00E-08	>2.00E-08	8.03E-09
SUP-11	>2.00E-08	>2.00E-08	8.01E-09
SUP-B15	>2.00E-08	>2.00E-08	1.79E-09
Jurkat, 클론 E6-1	>2.00E-08	>2.00E-08	1.02E-08
THP-1	>2.00E-08	>2.00E-08	2.57E-09
ARRH-7	>2.00E-08	>2.00E-08	8.91E-09
SKM-1	>2.00E-08	>2.00E-08	4.50E-10
Kopn-8	>2.00E-08	>2.00E-08	4.10E-10
CMK-86	8.01E-09	>2.00E-08	>2.00E-08
CMK-11-5	5.74E-09	>2.00E-08	>2.00E-08
KU812	1.49E-08	>2.00E-08	>2.00E-08
TF-1a	8.15E-09	>2.00E-08	>2.00E-08
GDM-1	6.91E-09	>2.00E-08	>2.00E-08

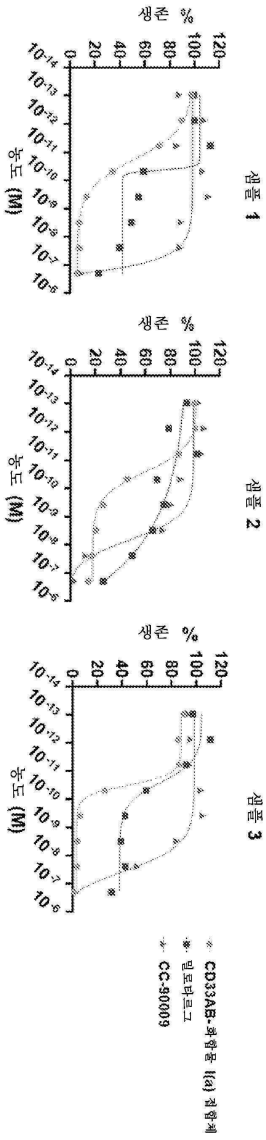
효능
고도로 효과적인
중간
낮음

도면3



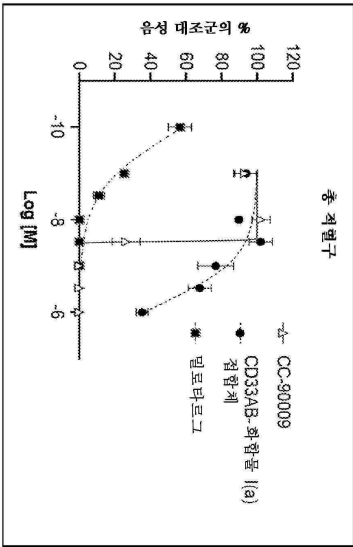
도면4

원발성 재발성/불응성 AML 세포

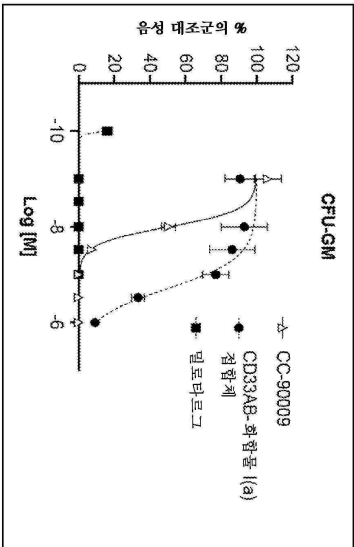


샘플	성별	연령	사원 정보	불응병이
1	남성	31	1 ^차 : 시타라빈, 이다루비신 (7+3), 반응: CR 2 ^차 : 시타라빈, 반응: PD	IDH2 P140Q SRSF2 P95H
2	남성	83	폐사마비, 반응: CR	NRAS Q61H/Q61K/G12D
3	여성	29	1 ^차 : 시타라빈, 이다루비신 (7+3), 반응: PR 2 ^차 : 미복합치료, 에토포시드, 시타라빈, 반응: PD	NRAS Q61K KRAS G12V

도면5



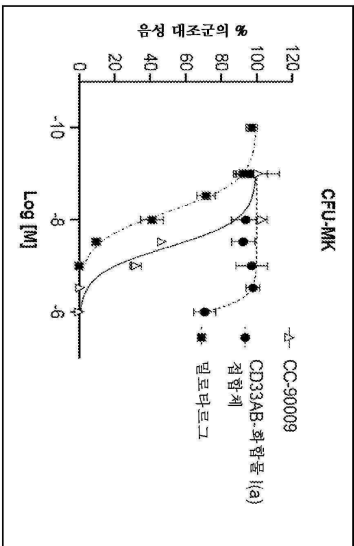
좌렬구: CFU-E + BFU-E



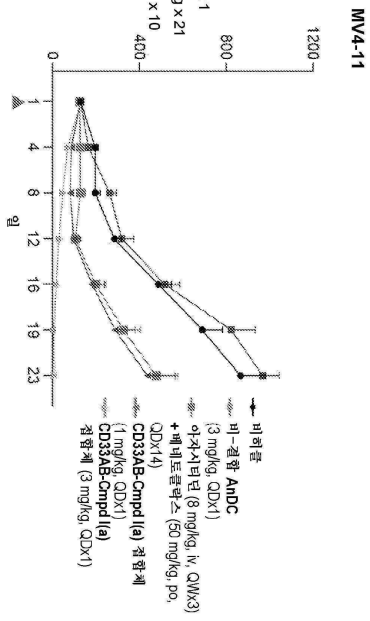
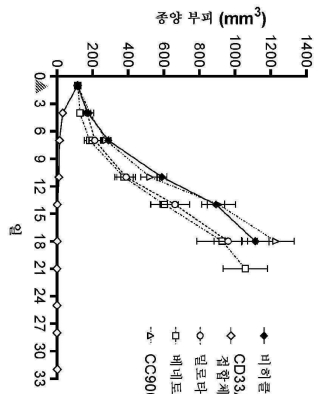
인간 전구세포 CFC 증식에 대한 AndC의
시험관내 평가

IC50 (M)	총 적렬구	CFU-GM	CFU-MK
CC90009	2.80E-08	1.00E-08	4.00E-08
CD33A-Cmpd (a)	5.80E-07	1.95E-07	> 1.00E-06
밀포타르그	2.40E-10	<1.0E-10	6.70E-09

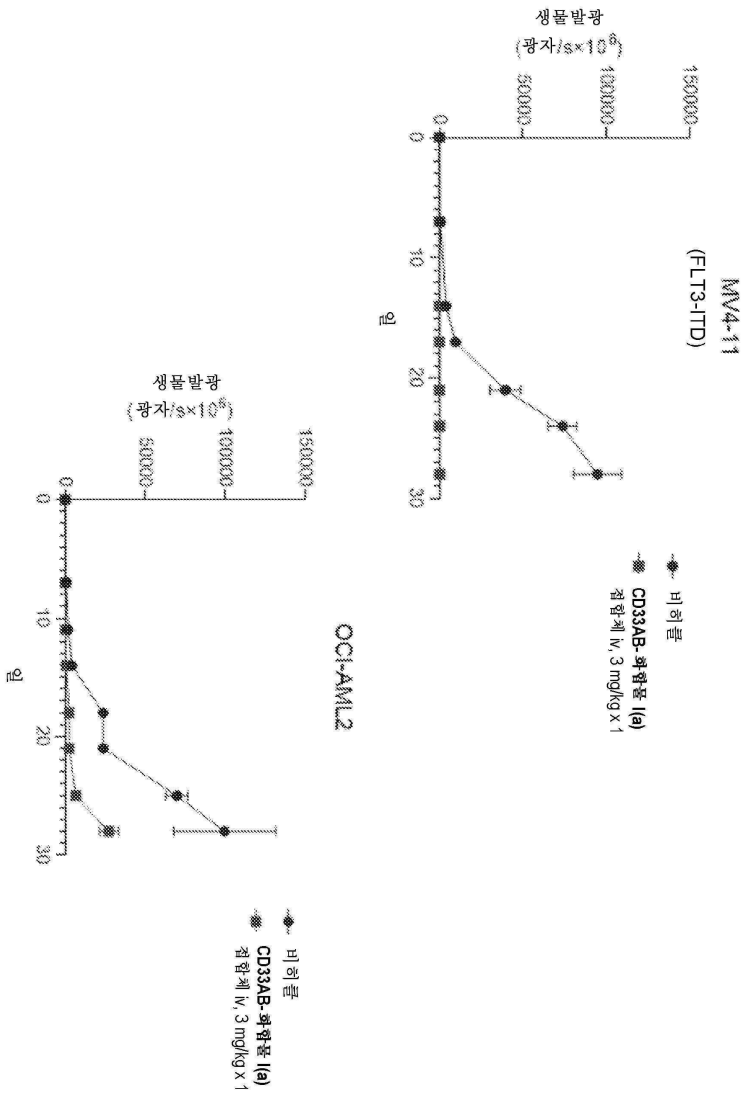
CFU-GM



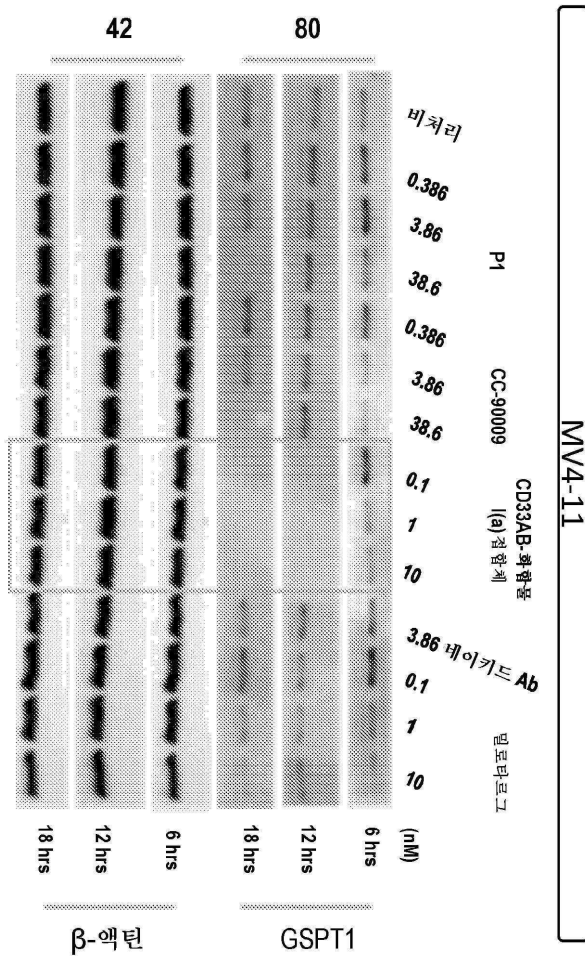
도면6



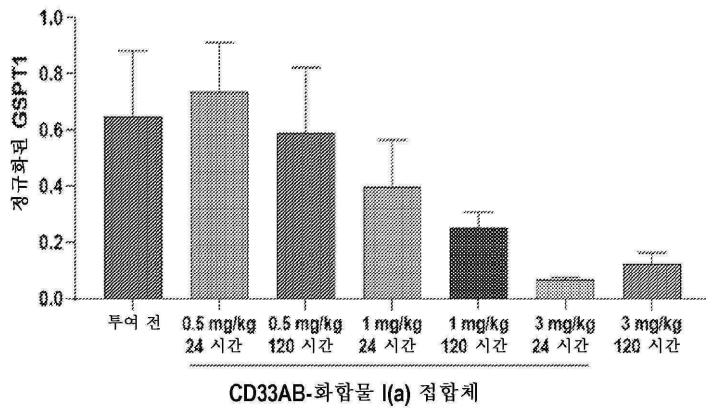
도면7



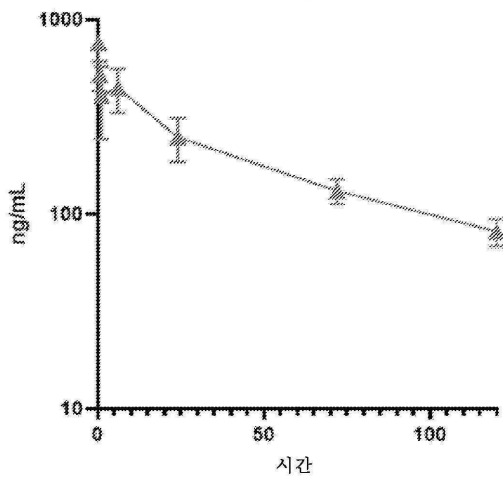
도면8



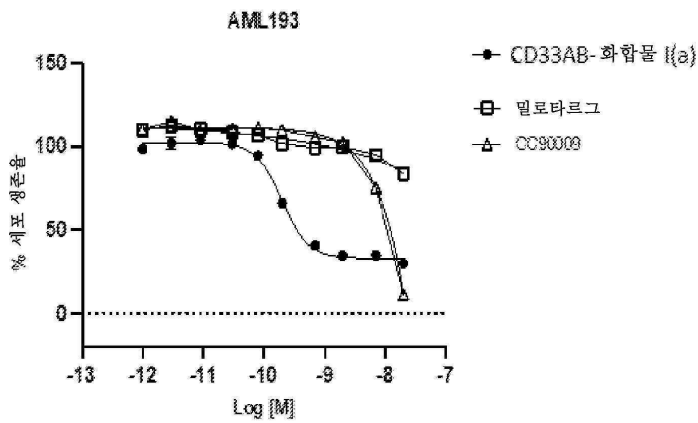
도면9



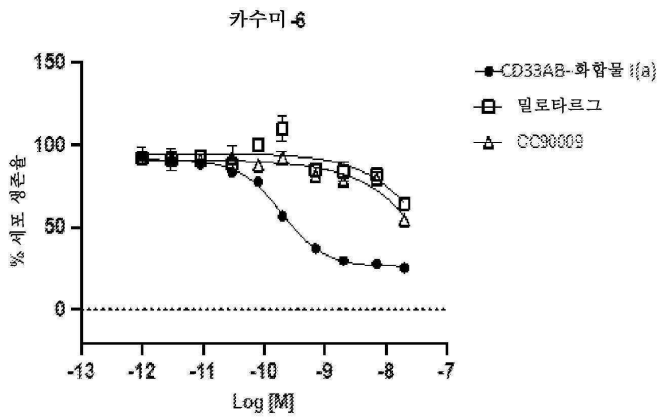
MV411 마우스 혈장 : 3 mpk CD33AB-화합물 I(a) 접합체



도면10a



도면10b



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> ORUM THERAPEUTICS, INC.

<120> NEODEGRADER CONJUGATES

<130> 4547.016PC02

<150> US 63/282,585

<151> 2021-11-23

<150> US 63/202,273

<151> 2021-06-03

<160> 22

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain CDR1

<400> 1

Asp Ser Asn Ile His

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain CDR2

<400> 2

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

1 5 10 15
Asn

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain CDR3

<400> 3

Gly Asn Pro Trp Leu Ala Tyr

1 5

<210> 4

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Variable Region

<400> 4

Glu 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 Tyr Thr Ile Thr Asp Ser

20 25 30

Asn Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Asn Pro Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Asn Gly Asn Pro Trp Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 5

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain CDR1

<400> 5

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

1 5 10 15

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain CDR2

<400> 6

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain CDR3

<400> 7

Gln Gln Thr Lys Glu Val Pro Trp Ser

1 5

<210> 8

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Variable Region

<400> 8

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr

 20 25 30

Gly Ile Arg Phe Leu Thr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

 35 40 45

Lys Leu Leu Met Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser

 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Lys

 85 90 95

Glu Val Pro Trp Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys

 100 105 110

<210> 9

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD33AB Heavy Chain

<400> 9

Glu 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 Tyr Thr Ile Thr Asp Ser

 20 25 30

Asn Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile

 35 40 45

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

 50 55 60

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Asn Pro Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

 85 90 95

Val Asn Gly Asn Pro Trp Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
 340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
 405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 12
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Gemtuzumab Light Chain
 <400> 12

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr
 20 25 30

Gly Ile Arg Phe Leu Thr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Met Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60

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

Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Lys

85 90 95

Glu Val Pro Trp Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys Arg

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMy9-6 Heavy Chain CDR1

<400> 13

Ser Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMy9-6 Heavy Chain CDR2

<400> 14

Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15
 Gly

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMy9-6 Heavy Chain CDR3

<400> 15

Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 16

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMy9-6 Heavy Chain Variable Region

<400> 16

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMy9-6 Light Chain CDR1

<400> 17

Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMy9-6 Light Chain CDR2

<400> 18

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 19

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMy9-6 Light Chain CDR3

<400> 19

His Gln Tyr Leu Ser Ser Arg Thr

1 5

<210> 20

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMy9-6 Light Chain Variable Region

<400> 20

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

1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser
 20 25 30

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

Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
 85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 21

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMy9-6-IgG4-S228P Heavy Chain

<400> 21

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Tyr Ile His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu 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