



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0106606
(43) 공개일자 2023년07월13일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/6807 (2017.08)
A61K 47/6849 (2017.08)
- (21) 출원번호 10-2023-7015659
- (22) 출원일자(국제) 2021년11월09일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2023년05월09일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2021/060356
- (87) 국제공개번호 WO 2022/097117
국제공개일자 2022년05월12일
- (30) 우선권주장
63/111,478 2020년11월09일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
다케다 야쿠힌 교교 가부시키키가이샤
일본 오사카시 주오구 도쇼마찌 4-1-1
- (72) 발명자
쑤, 허
미국 02139 매사추세츠 케임브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 (내)
이, 홍명
미국 02139 매사추세츠 케임브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 (내)
아렌트, 크리스토퍼
미국 02139 매사추세츠 케임브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 (내)
- (74) 대리인
특허법인 남앤남

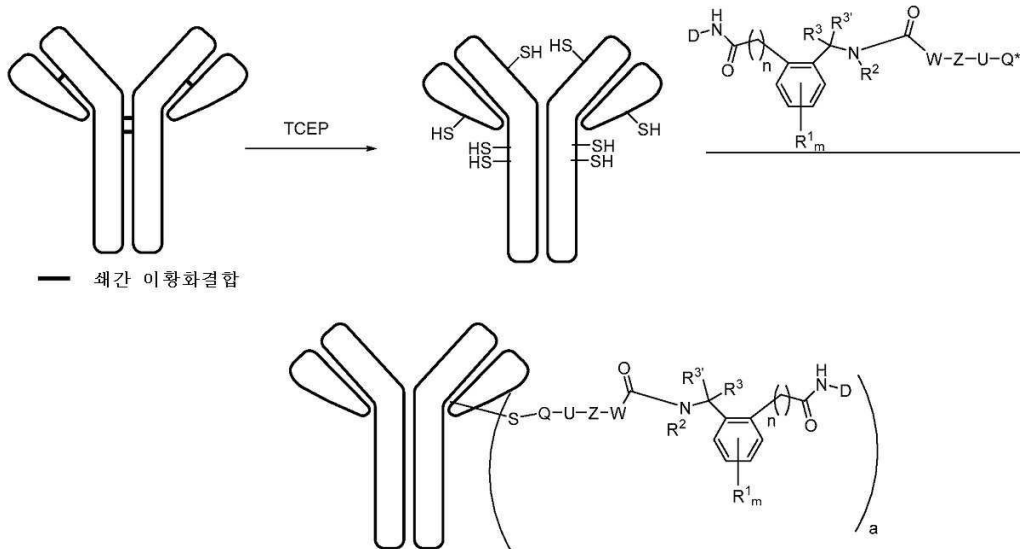
전체 청구항 수 : 총 60 항

(54) 발명의 명칭 항체 약물 접합체

(57) 요약

본 개시내용은 STING 조절제를 포함하는 항체 약물 접합체를 제공한다. 또한 항체 약물 접합체를 포함하는 조성물이 제공된다. 화합물 및 조성물은 이들을 필요로 하는 대상체의 면역 반응을 자극하는 데 유용하다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/6851 (2017.08)

A61K 47/6889 (2017.08)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

C07K 16/2866 (2013.01)

C07K 2317/94 (2013.01)

(30) 우선권주장

63/232,935 2021년08월13일 미국(US)

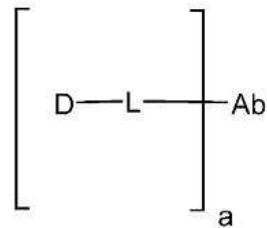
63/250,358 2021년09월30일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



(I)

식 중:

a는 1 내지 20의 정수이고;

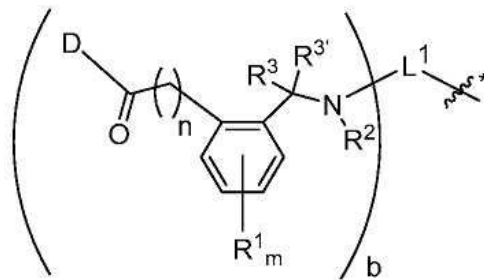
Ab는 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편이며;

D는 구아닌 염기, 구아닌 염기 유도체, 아데닌 염기 또는 아데닌 염기 유도체 상에 아미노기를 포함하는 STING 활성의 조절자이고; 그리고

L은 Ab에 공유 결합된 링커이고; 또한 D 상의 상기 아미노기에 공유결합된다.

청구항 2

제1항에 있어서, D-L은 하기 화학식 (Ia)로 표시되는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



(Ia)

식 중:

* 는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내고;

b는 1 내지 20의 정수이며;

m은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

n은 0 또는 1이며;

각각의 R¹은 C₁-C₄알킬, 0-C₁-C₄알킬 및 할로겐으로부터 독립적으로 선택되며;

R²는 C₁-C₄알킬 및 -(CH₂CH₂O)_s-CH₃로부터 선택되며; s는 1 내지 10의 정수이고;

R^3 및 $R^{3'}$ 는 각각 독립적으로 수소 및 C_1-C_3 알킬로부터 선택되며; 그리고

L^1 은 절단 가능한 링커 단편이다.

청구항 3

제2항에 있어서,

a는 1 내지 8의 정수이고;

b는 1 내지 10의 정수이며; 그리고

m은 0인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서,

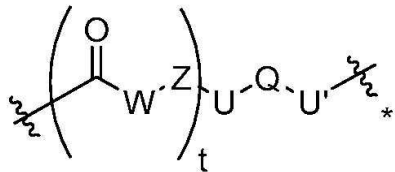
m은 0이고;

n은 0이며; 그리고

R^3 및 $R^{3'}$ 는 각각 수소인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 5

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, L^1 은



이고;

식 중:

는 화학식 (Ia)의 질소 원자에 대한 부착 지점이며;

는 Ab에 대한 부착 지점이며;

t는 1 내지 10의 정수이며;

W는 존재하지 않거나 또는 자기-희생기(self-immolative group)이고;

Z는 존재하지 않거나 또는 2 내지 5개 아미노산의 펩타이드이며;

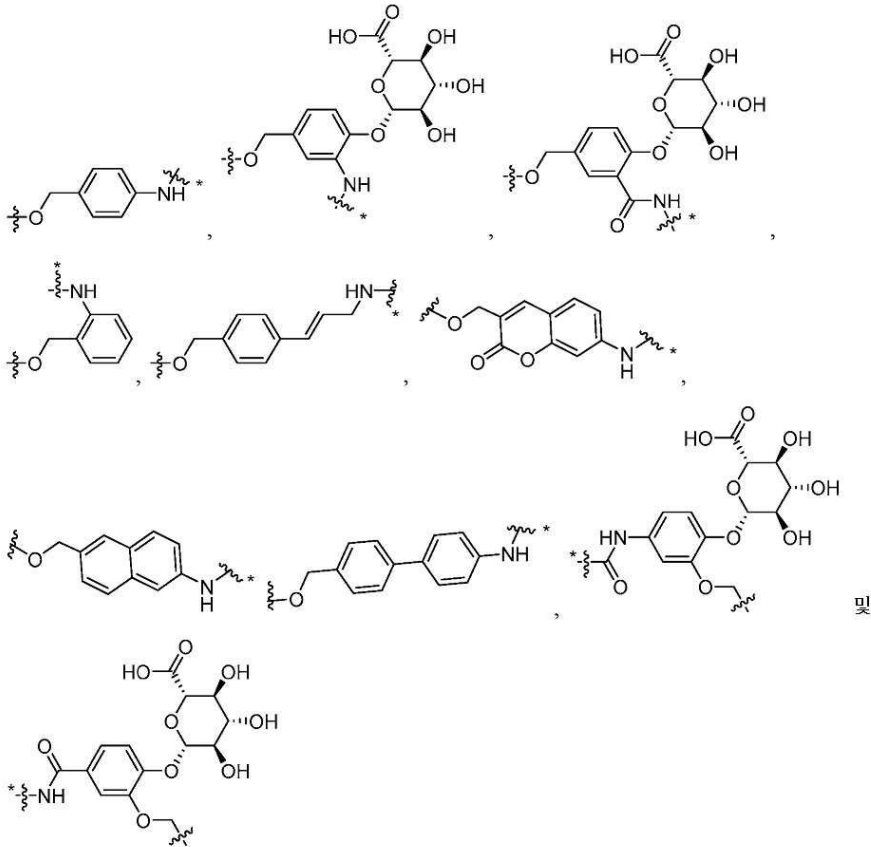
U 및 U'는 독립적으로 존재하지 않거나 또는 스페이서이고; 그리고

Q는 이형이작용성 기이며;

단, W와 Z는 둘 다 부존재는 아닌, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 6

제5항에 있어서, W는



로부터 선택된 자기-희생기

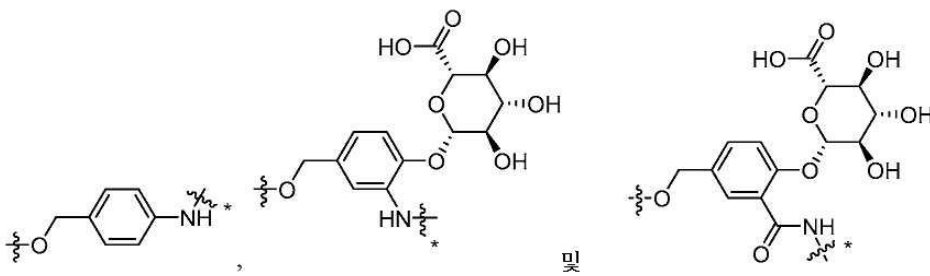
이 되;

는 카보닐기에 대한 부착 지점이며;

는 Z에 대한 부착 지점인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 7

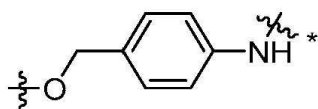
제5항 또는 제6항에 있어서, W는



제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, W는



인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 9

제5항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 효소적으로 절단될 수 있는 펩타이드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 10

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 카텝신 절단성(cathepsin cleavable)인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 11

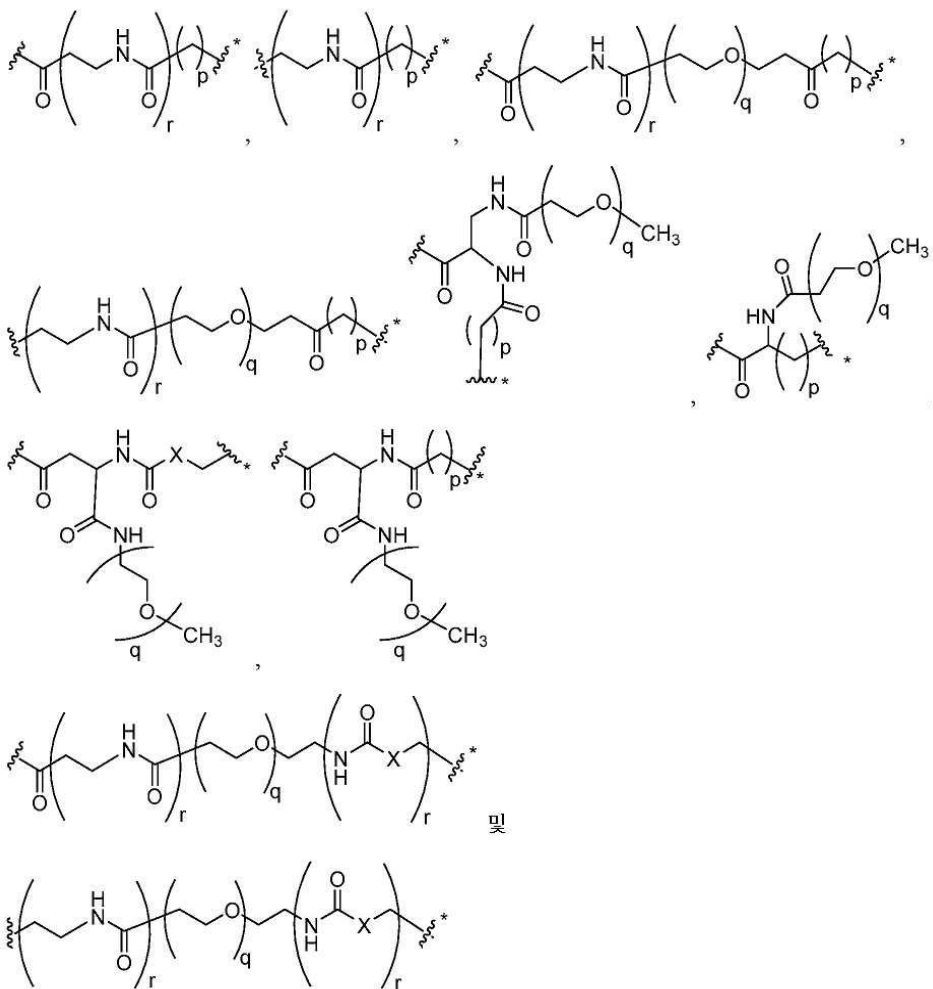
제5항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 Val-Cit, Cit-Val, Val-Ala, Ala-Val, Phe-Lys 및 Lys-Phe로부터 선택된 2-아미노산 펩타이드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 12

제5항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 Ala-Val 또는 Val-Ala인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 13

제5항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, U'는 존재하지 않고, U는



로부터 선택되되;

--- 는 Z에 대한 부착 지점이며;

*는 Q에 대한 부착 지점이고;

p는 1 내지 6의 정수이며;

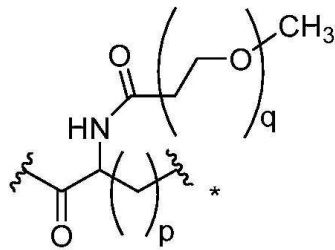
q는 1 내지 20의 정수이고;

X는 0 또는 -CH₂-이며; 그리고

각각의 r은 독립적으로 0 또는 1인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 14

제5항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, U'는 존재하지 않고, U는



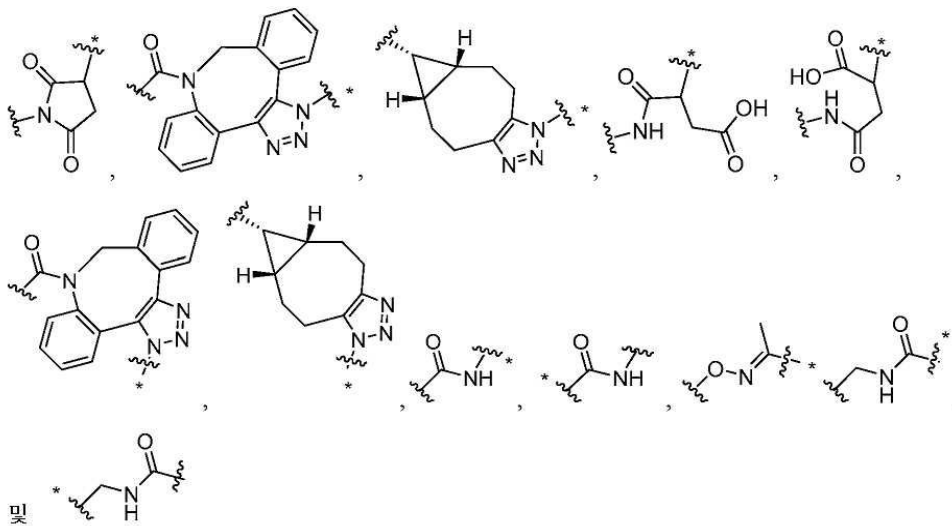
인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 15

제5항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, Q는 U'에 부착되거나 또는, U'가 존재하지 않을 때 화학적 또는 효소-매개 접합을 통해 Ab에 부착된, 이형이작용성 기인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 16

제5항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, Q는



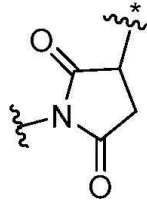
로부터 선택되되;

*는 U에 대한 부착 지점이거나, 또는 U가 존재하지 않을 때, Z에 대한 부착 지점이고; 그리고

*는 U'에 대한 부착 지점이거나, 또는 U'가 존재하지 않을 때, Ab에 대한 부착 지점인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 17

제5항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, Q는



인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 18

제5항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, t는 1인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 19

제2항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, R²는 -CH₃이고, R³ 및 R^{3'}은 각각 수소인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 20

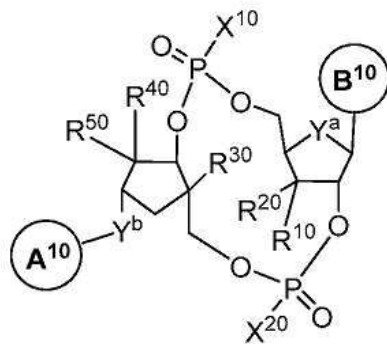
제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, a는 2 내지 6인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, b는 1인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, STING 활성을 조절하는 상기 아미노-치환 화합물은 하기 화학식 (II)의 화합물인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



(II)

식 중:

X¹⁰은 SH 또는 OH이고;

X²⁰은 SH 또는 OH이며;

Y^a는 O, S 또는 CH₂이고;

Y^b는 O, S, NH 또는 NR^a이되, R^a는 C₁-C₄알킬이며;

R¹⁰은 수소, 플루오로, OH, NH₂, OR^b 또는 NHR^b이고;

R²⁰은 수소 또는 플루오로이며;

R^{30} 은 수소이고; R^{40} 은 수소, 플루오로, OH, NH_2 , OR^b 또는 NHR^b 이거나; 또는 R^{30} 및 R^{40} 은 함께 CH_2O 를 형성하고;

R^{50} 은 수소 또는 플루오로이며;

R^b 는 C_1 - C_6 알킬, 할로(C_1 - C_6)알킬 또는 C_3 - C_6 사이클로알킬이고;

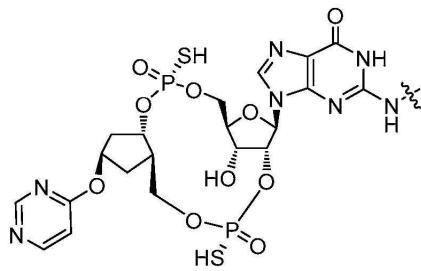
고리 A^{10} 은 N, O 또는 S로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 또는 6-원 단 환식 헤테로아릴, 또는 N, O 또는 S로부터 선택된 1 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 선택적으로 치환된 9 또는 10원 이환식 헤테로아릴 고리이되; 고리 A^{10} 은 상기 고리에 적어도 1개의 N 원자를 포함하고, Y^b 는 고리 A^{10} 의 탄소 원자에 부착되며; 그리고

고리 B^{10} 은 N, O 또는 S로부터 선택된 2 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 선택적으로 치환된 9 또는 10-원 이 환식 헤테로아릴 고리이되; 고리 B^{10} 은 상기 고리에 적어도 2개의 N 원자를 포함하고;

단, 고리 A^{10} 또는 고리 B^{10} 은 아미노기를 통해 화학식 (I)의 'L'에 부착된다.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, STING 활성을 조절하는 아미노-치환된 화합물은

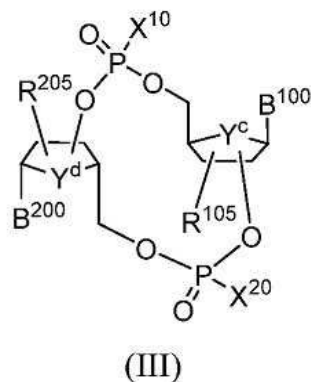


이되;

는 화학식 (I)의 'L'에 대한 부착 지점인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 24

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, STING 활성을 조절하는 상기 아미노-치환된 화합물은 하기 화학식 (III)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염인, 화합물:



식 중

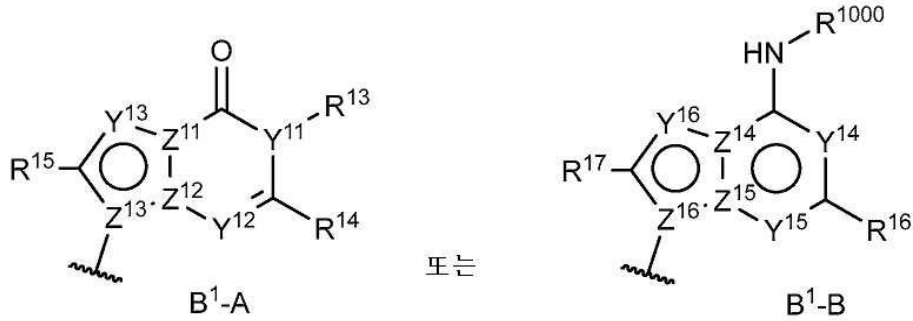
X^{10} 은 SH 또는 OH이고;

X^{20} 은 SH 또는 OH이며;

Y^c 는 O, S 또는 CH_2 이고;

Y^d 는 O, S 또는 CH_2 이며;

B^{100} 은 하기 화학식 (B^1-A) 또는 화학식 (B^1-B)로 표시되는 기이고:



R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} 및 R^{17} 은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

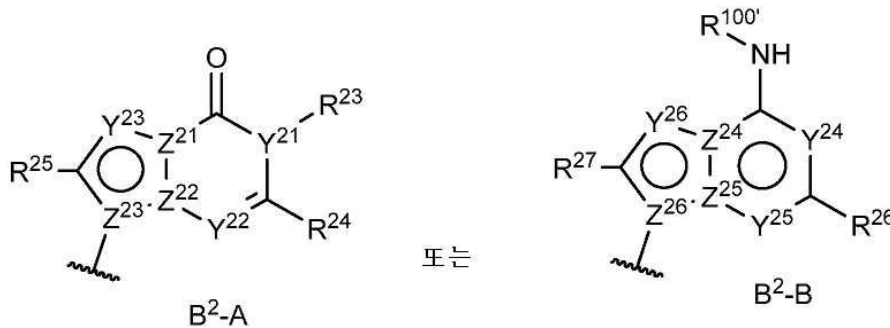
R^{1000} 은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

Y^{11} , Y^{12} , Y^{13} , Y^{14} , Y^{15} 및 Y^{16} 은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{1a} 이되, R^{1a} 는 수소 또는 치환체이며;

Z^{11} , Z^{12} , Z^{13} , Z^{14} , Z^{15} 및 Z^{16} 은 각각 독립적으로 N 또는 C이고;

R^{105} 는 수소 원자 또는 치환체이며;

B^{200} 은 하기 화학식 (B^2-A) 또는 화학식 (B^2-B)로 표시되는 기이고:



R^{23} , R^{24} , R^{25} , R^{26} 및 R^{27} 은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

$R^{100'}$ 은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

Y^{21} , Y^{22} , Y^{23} , Y^{24} , Y^{25} 및 Y^{26} 은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{2a} 이되, R^{2a} 는 수소 또는 치환체이며;

Z^{21} , Z^{22} , Z^{23} , Z^{24} , Z^{25} 및 Z^{26} 은 각각 독립적으로 N 또는 C이고; 그리고

R^{205} 는 수소 원자 또는 치환체이되; R^{105} 및 R^{205} 는 각각 독립적으로 이들이 각각 부착된 5-원 고리의 2- 또는 3- 위치에 부착되며;

단:

B^{100} 또는 B^{200} 중 하나는 아미노기를 통해 화학식 (I)의 'L'에 부착된다.

R^{23} , R^{24} , R^{25} , R^{26} 및 R^{27} 은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

$R^{100'}$ 은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

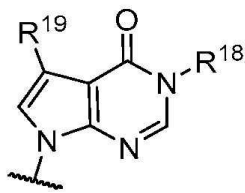
Y^{21} , Y^{22} , Y^{23} , Y^{24} , Y^{25} 및 Y^{26} 은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{2a} 이되, R^{2a} 는 수소 또는 치환체이며;

Z^{21} , Z^{22} , Z^{23} , Z^{24} , Z^{25} 및 Z^{26} 은 각각 독립적으로 N 또는 C이고; 그리고

R^{205} 는 수소 원자 또는 치환체이되; R^{105} 및 R^{205} 는 각각 독립적으로 이들이 각각 부착된 5-원 고리의 2- 또는 3- 위치에 부착되며;

단:

B^{100} 또는 B^{200} 중 하나는



이되;

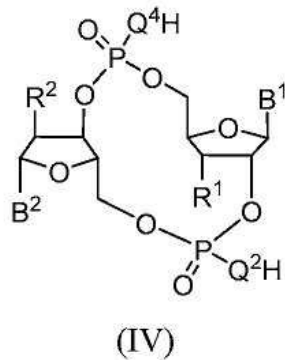
R^{18} 은 수소 또는 C_{1-6} 알킬이며; 그리고

R^{19} 는 할로젠 원자이고;

나머지는 -NH-기를 통해 화학식 (I)의 'L'에 부착된다.

청구항 26

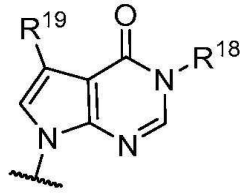
제1항 내지 제21항 및 제24항 중 어느 한 항에 있어서, STING 활성을 조절하는 상기 아미노-치환 화합물은 하기 화학식 (IV)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



식 중:

R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 하이드록시기 또는 할로젠 원자이고;

B^1 은:

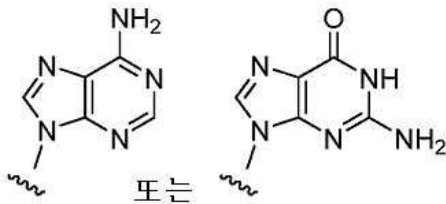


이고;

R¹⁸은 수소 또는 C₁₋₆ 알킬이며;

R¹⁹는 할로겐 원자이고;

B²는

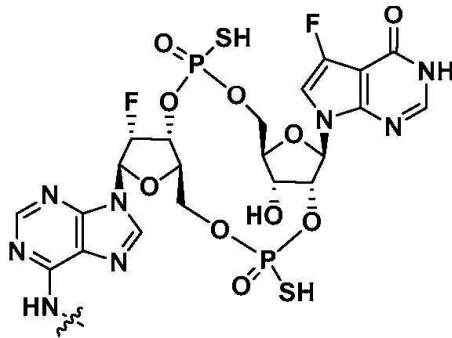



이며; 그리고

Q² 및 Q⁴는 각각 독립적으로 산소 원자 또는 황 원자이다.

청구항 27

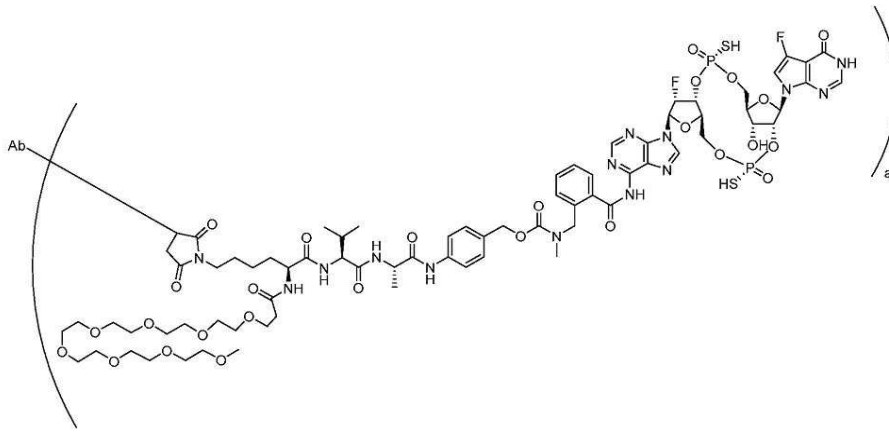
제1항 내지 제21항 및 제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, STING 활성을 조절하는 상기 아미노-치환 화합물은



또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이되, 는 L에 대한 부착 지점인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 28

제1항 내지 제21항 및 제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식 (VI)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



(VI)

식 중, a는 1 내지 6의 정수이다.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, Ab는 인간 CCR2 또는 이의 일부에 결합하는 항체 또는 이의 단편이고, CCR2에 대한 케모카인의 결합을 차단하고 CCR2의 기능을 저해할 수 있는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 항체는 단클론성 항체 1D9, 또는 인간 CCR2 또는 CCR2의 일부에 결합하기 위해 1D9와 경쟁할 수 있는 항체; MC-21; STI-B020X; UniTI-101; 및 4.40A68G로 이루어진 군으로부터 선택된, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 항체는 단클론성 항체 1D9, 또는 인간 CCR2 또는 CCR2의 일부에 결합하기 위해 1D9와 경쟁할 수 있는 항체인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 키메라 항체, 인간화된 항체, 인간 항체, 마우스 항체, 래트 항체, 염소 항체 또는 토끼 항체인, 화합물.

청구항 33

제31항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 24 내지 39를 포함하는 경쇄 CDR1; 서열번호 1의 아미노산 55 내지 61을 포함하는 경쇄 CDR2; 서열번호 1의 아미노산 94 내지 102를 포함하는 경쇄 CDR3; 서열번호 2의 아미노산 31 내지 35를 포함하는 중쇄 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 50 내지 68을 포함하는 중쇄 CDR2; 및 서열번호 2의 아미노산 101 내지 106을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 34

제31항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 35

제31항에 있어서, 상기 항체, 상기 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 36

제31항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 37

제31항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 38

제31항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 39

제31항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 인간 면역글로불린 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂ 중쇄 불변 영역으로부터 선택된 중쇄 불변 영역을 더 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 40

제31항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 인간 면역글로불린 IgG_k 및 IgG_λ 경쇄 불변 영역으로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 불변 영역을 더 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 41

제31항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 2의 가변 중쇄 영역 및 서열번호 1의 가변 경쇄 영역을 포함하는 항체와 동일한 에피토프에 결합하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 42

제31항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체는 서열번호 3의 중쇄 영역을 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 43

제31항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체는 서열번호 4의 경쇄 영역을 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 44

제31항에 있어서, 상기 항-CCR2 항체는 서열번호 3의 중쇄 영역 및 서열번호 4의 경쇄 영역을 포함하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 1종 이상의 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 46

제45항에 있어서, 항-PD-1 항체를 더 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체는 펌브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 피미발리맙, 스파르탈리주맙, 캄렐리주맙, 신털리맙, 티스렐리주맙, 토리팔리맙, 도스탈리맙, 예자벤리맙, INCMGA0012, AMP-224, AMP-514, SYM-021, LZM-009, CS-1003, SYN-125, GNR-051, MW-11, TY-101, BAT-1306, F520, 사산리맙, 펜폴리맙, 푸코텐리맙, CX-188, 짐베렐리맙 및 테보텔리맙으로 이루어진 군으로부터 선택된, 약제학적 조성물.

청구항 48

제45항에 있어서, 항-PD-L1 항체를 더 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두발루맙, 코시벨리맙, MSB-2311, ZKAB-001, FAZ-053, MDX-1105, CBT-502, IMC-001, RC-98, KL-A167, GR-1405, 로다폴리맙, 수계말리맙, 엔바폴리맙, 오푸콜리맙 및 가리블리맙으로 이루어진 군으로부터 선택된, 약제학적 조성물.

청구항 50

암 치료를 필요로 하는 대상체의 암 치료 방법으로서, 약제학적으로 허용 가능한 양의 제1항 내지 제44항 중 어느 한 항의 화합물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료 방법.

청구항 51

면역 반응의 자극을 필요로 하는 대상체에서의 면역 반응의 자극 방법으로서, 약제학적으로 허용 가능한 양의 제1항 내지 제44항 중 어느 한 항의 화합물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 면역 반응의 자극 방법.

청구항 52

제50항 또는 제51항에 있어서, 항-PD-1 항체를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 53

제50항 또는 제51항에 있어서, 항-PD-L1 항체를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 54

제52항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체는 펌브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 피미발리맙, 스파르탈리주맙, 캄렐리주맙, 신털리맙, 티스렐리주맙, 토리팔리맙, 도스탈리맙, 예자벤리맙, INCMGA0012, AMP-224, AMP-514, SYM-021, LZM-009, CS-1003, SYN-125, GNR-051, MW-11, TY-101, BAT-1306, F520, 사산리맙, 펜폴리맙, 푸코텐리맙, CX-188, 짐베렐리맙 및 테보텔리맙으로 이루어진 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 55

제53항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두발루맙, 코시벨리맙, MSB-2311, ZKAB-001, FAZ-053, MDX-1105, CBT-502, IMC-001, RC-98, KL-A167, GR-1405, 로다폴리맙, 수계말리맙, 엔바폴리맙, 오푸콜리맙 및 가리블리맙으로 이루어진 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 56

제52항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체 또는 상기 항-PD-L1 항체는 제1항 내지 제44항 중 어느 한 항의 화합물과 동시에 투여되는, 방법.

청구항 57

제52항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체 또는 상기 항-PD-L1 항체는 제1항 내지 제44항 중 어느 한 항의 화합물과 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 58

제50항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 방사선을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 방사선은 입자 방사선인, 방법.

청구항 60

제58항 또는 제59항에 있어서, 상기 방사선은 외부 빔 방사선에 의해 투여되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시내용은 STING 조절제를 포함하는 항체 약물 접합체를 제공한다. 또한 항체 약물 접합체를 포함하는 조성물이 제공된다. 화합물 및 조성물은 이들을 필요로 하는 대상체에서의 면역 반응을 자극하는 데 유용하다.

배경 기술

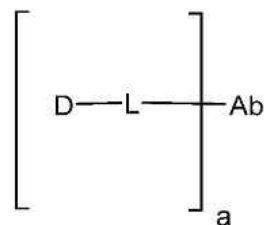
[0002] 빠르게 성장하는 표적 치료제 부류인 항체 약물 접합체(antibody drug conjugate: ADC)는 약물의 선택성 및 세포독성 활성을 개선시키는 것에 대해 유망한 새로운 접근을 나타낸다. 이들 치료제는 페이로드(payload) 약물에 연결되어 면역접합체를 형성할 수 있는 항체(또는 항체 단편)로 이루어진다. 항체는 ADC가 표적 세포에 결합하도록 지시한다. 이어서, ADC는 내재화될 수 있고, 세포에 대한 치료를 제공하는 이의 페이로드를 방출한다. ADC는 이의 표적화된 세포로 향하기 때문에, 접합 약물의 부작용은 동일한 제제를 전신 투여할 때 발생하는 것보다 낮을 수 있다.

[0003] 어댑터(adaptor) 단백질 STING(인터페론 유전자의 자극제(Stimulator of Interferon Gene))은 선천성 면역계에서 어떤 역할을 하는 것으로 나타났다. STING 경로의 활성화는 종양을 수축시키는 특이적 살해 T-세포의 생성을 초래하는 면역 반응을 촉발하며, 종양이 재발되지 않도록 장기 지속되는 면역을 제공할 수 있다. 활성화된 STING 경로는 또한 바이러스와 싸우고 선천성 면역계와 적응 면역계를 둘 다 동원하는 항바이러스 및 전염증 사이토카인을 생성함으로써 항바이러스 반응에 기여하고, 궁극적으로 병원성 바이러스에 대한 장기 지속되는 면역을 초래한다. 선천성 면역계와 적응 면역계를 둘 다 향상시키는 것의 잠재적인 치료적 이점은 STING을 약물 발견을 위한 매력적인 표적으로 만든다. 환식 다이뉴클레오타이드는 STING 작용제로서 작용할 수 있으며, 임상 시험에서 시험 중에 있다. 그러나, 이들의 음이온성 특성은 이들의 막 침투성을 불량하게 만드는데, 이는 세포 내에서 이들이 STING에 맞물리는 능력을 제한할 수 있고, 종종 혈류 내에서 이들 화합물의 원치않는 분포를 야기한다.

[0004] 새로운 STING 작용제뿐만 이들을 표적화된 세포에 전달하는 개선된 방법에 대한 필요가 여전히 있다.

발명의 내용

[0005] 제1 양상에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

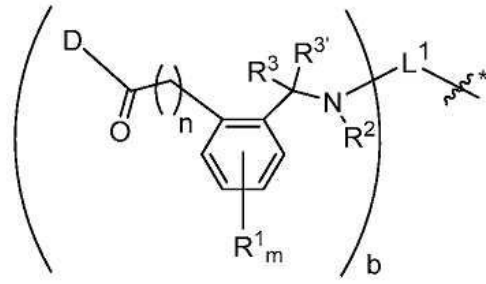


(I)

- [0006] ...
- [0007] 식 중:
- [0008] a는 1 내지 20의 정수이고;
- [0009] Ab는 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편이며;
- [0010] D는 구아닌 염기, 구아닌 염기 유도체, 아데닌 염기 또는 아데닌 염기 유도체 상에 아미노기를 포함하는 STING 활성의 조절자이고; 그리고

[0011] L은 Ab에 공유 결합된 링커이고; 또한 D 상의 상기 아미노기에 공유결합된다.

[0012] 제1 양상의 제1 실시형태에서, 본 개시내용은 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공하되, D-L은 하기 화학식 (Ia)로 표시된다:



(Ia)

[0013]

[0014] 식 중:



[0015] *는 Ab에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0016] b는 1 내지 20의 정수이며;

[0017] m은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0018] n은 0 또는 1이며;

[0019] 각각의 R¹은 C₁-C₄알킬, 0-C₁-C₄알킬 및 할로젠으로부터 독립적으로 선택되며;

[0020] R²는 C₁-C₄알킬 및 -(CH₂CH₂O)_s-CH₃로부터 선택되며; s는 1 내지 10의 정수이고;

[0021] R³ 및 R^{3'}는 각각 독립적으로 수소 및 C₁-C₃알킬로부터 선택되며; 그리고

[0022] L¹은 절단 가능한 링커 단편이다.

[0023] 제1 양상의 제2 실시형태에서, 본 개시내용은 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공하되, D-L은 화학식 (Ia)로 표시되며:

[0024] a는 1 내지 8의 정수이고;

[0025] b는 1 내지 10의 정수이며; 그리고

[0026] m은 0이다.

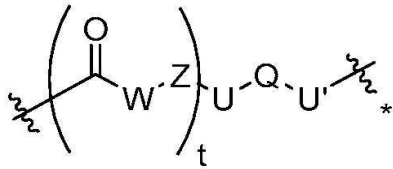
[0027] 제1 양상의 제3 실시형태에서, 본 개시내용은 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공하되, D-L은 화학식 (Ia)로 표시되며:

[0028] m은 0이고;

[0029] n은 0이며; 그리고

[0030] R³ 및 R^{3'}는 각각 수소이다.

[0031] 제1 양상의 제3 실시형태에서, 본 개시내용은 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공하되, D-L은 하기 화학식 (Ia)로 표시되며, L¹은 하기와 같다:



[0032]

[0033] 식 중:

[0034] --- 는 화학식 (1a)의 질소 원자에 대한 부착 지점이며;

[0035] --- *는 Ab에 대한 부착 지점이며;

[0036] t는 1 내지 10의 정수이며;

[0037] W는 존재하지 않거나 또는 자기-희생기(self-immolative group)이고;

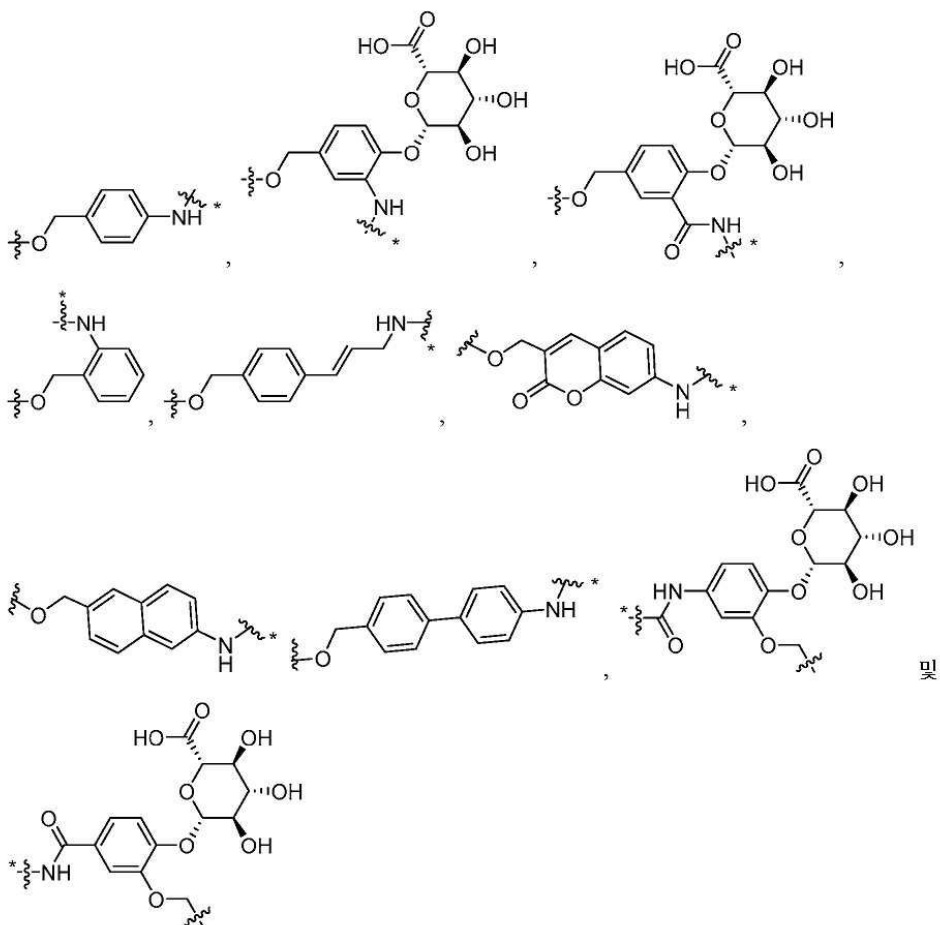
[0038] Z는 존재하지 않거나 또는 2 내지 5개 아미노산의 펩타이드이며;

[0039] U 및 U'는 독립적으로 존재하지 않거나 또는 스페이서이고; 그리고

[0040] Q는 이형이작용성 기이며;

[0041] 단, W와 Z는 둘 다 부존재(absent)는 아니다.

[0042] 제1 양상의 제4 실시형태에서, W는




[0043]

희생기이되;

로부터 선택된 자기-

[0044]

--- 는 카보닐기에 대한 부착 지점이며;

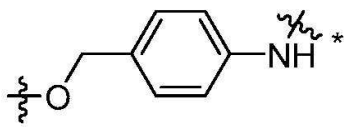
[0045]  는 Z에 대한 부착 지점이다.


[0046] 제1 양상의 제5 실시형태에서, W는



[0047]  이다.

[0048] 제1 양상의 제6 실시형태에서, W는



[0049]  이다.

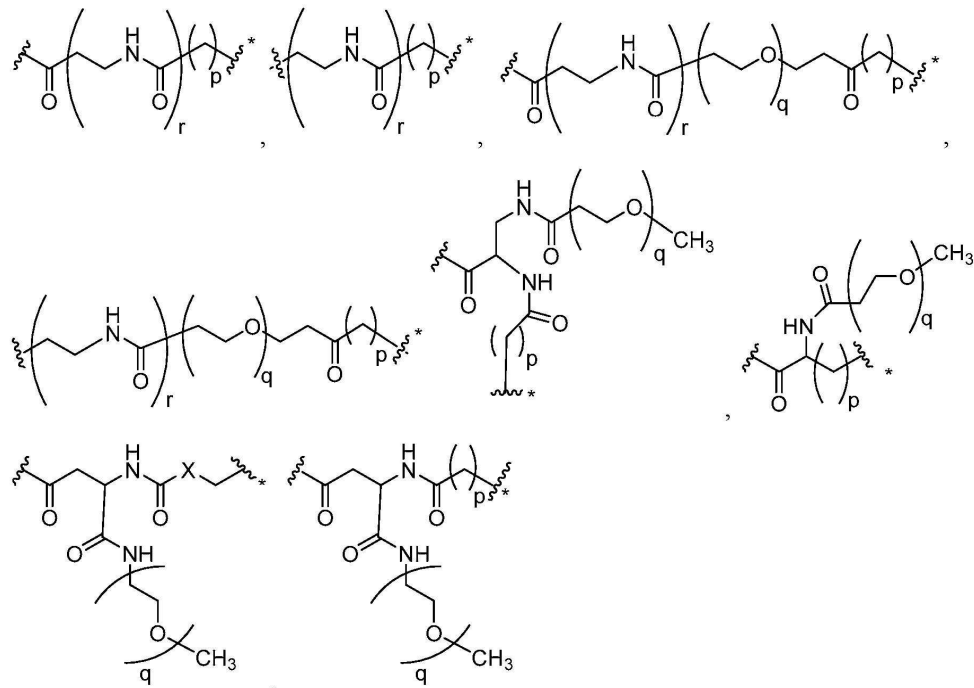
[0050] 제1 양상의 제7 실시형태에서, Z는 효소적으로 절단될 수 있는 펩타이드이다.

[0051] 제1 양상의 제8 실시형태에서, Z는 카텝신 절단성이다.

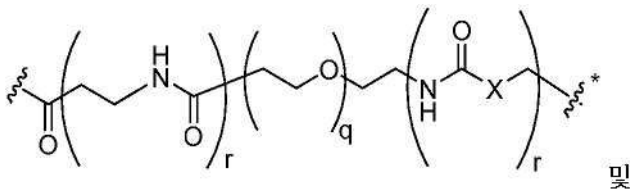
[0052] 제1 양상의 제9 실시형태에서, Z는 Val-Cit, Cit-Val, Val-Ala, Ala-Val, Phe-Lys 및 Lys-Phe로부터 선택된 2-아미노산 펩타이드이다.

[0053] 제1 양상의 제10 실시형태에서, Z는 Ala-Val 또는 Val-Ala이다.

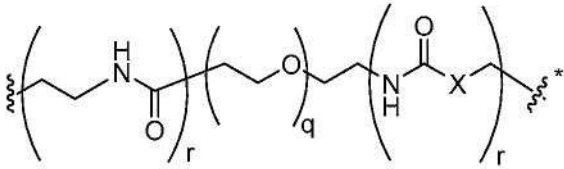
[0054] 제1 양상의 제11 실시형태에서, U'는 존재하지 않고, U는



[0055]





및



[0056] 로부터 선택되되;

[0057] 식 중:

[0058]  는 Z에 대한 부착 지점이며;

[0059]  *는 Q에 대한 부착 지점이고;

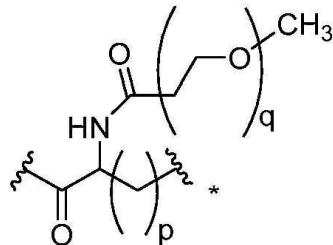
[0060] p는 1 내지 6의 정수이며;

[0061] q는 1 내지 20의 정수이고;

[0062] X는 0 또는 -CH₂-이며; 그리고

[0063] 각각의 r은 독립적으로 0 또는 1이다.

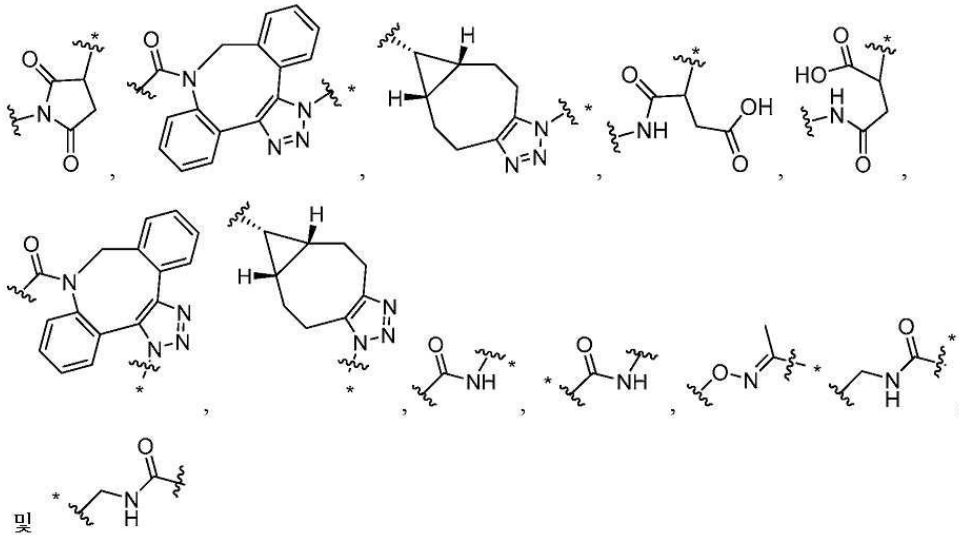
[0064] 제1 양상의 제12 실시형태에서, U'는 존재하지 않고, U는



[0065] 이다.

[0066] 제1 양상의 제13 실시형태에서, Q는 U'에 부착되는 이형이작용성기이거나 또는 U'가 존재하지 않을 때, 화학적 또는 효소-매개 접합을 통해 Ab에 부착된다.

[0067] 제1 양상의 제14 실시형태에서, Q는



[0068] 로부터 선택되되;

[0069] 식 중,

[0070] 는 U에 대한 부착 지점이거나, 또는 U가 존재하지 않을 때, Z에 대한 부착 지점이고; 그리고

[0071] *는 U'에 대한 부착 지점이거나, 또는 U'가 존재하지 않을 때, Ab에 대한 부착 지점이다.

[0072] 제1 양상의 제15 실시형태에서, Q는



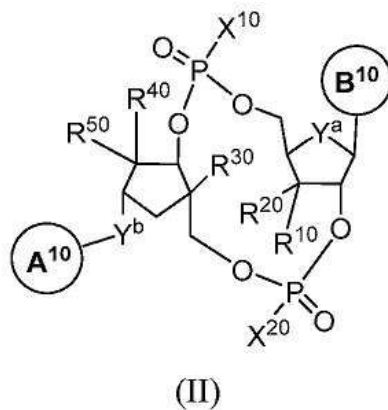
[0074] 제1 양상의 제16 실시형태에서, t는 1이다.

[0075] 제1 양상의 제17 실시형태에서, R²는 -CH₃이고, R³ 및 R^{3'}는 각각 수소이다.

[0076] 제1 양상의 제18 실시형태에서, a는 2 내지 6이다.

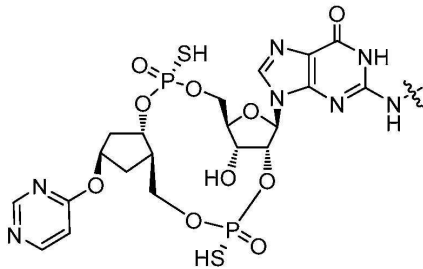
[0077] 제1 양상의 제19 실시형태에서, b는 1이다.

[0078] 제1 양상의 제20 실시형태에서, STING 활성을 조절하는 아미노-치환된 화합물은 하기 화학식 (II)의 화합물이다:




[0079]

- [0080] 식 중:
- [0081] X^{10} 은 SH 또는 OH이고;
- [0082] X^{20} 은 SH 또는 OH이며;
- [0083] Y^a 는 O, S 또는 CH_2 이고;
- [0084] Y^b 는 O, S, NH 또는 NR^a 이되, R^a 는 C_1 - C_4 알킬이며;
- [0085] R^{10} 은 수소, 플루오로, OH, NH_2 , OR^b 또는 NHR^b 이고;
- [0086] R^{20} 은 수소 또는 플루오로이며;
- [0087] R^{30} 은 수소이고; R^{40} 은 수소, 플루오로, OH, NH_2 , OR^b 또는 NHR^b 이거나; 또는 R^{30} 및 R^{40} 은 함께 CH_2O 를 형성하고;
- [0088] R^{50} 은 수소 또는 플루오로이며;
- [0089] R^b 는 C_1 - C_6 알킬, 할로(C_1 - C_6)알킬 또는 C_3 - C_6 사이클로알킬이고;
- [0090] 고리 A^{10} 은 N, O 또는 S로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 또는 6-원 단 환식 헤테로아릴, 또는 N, O 또는 S로부터 선택된 1 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 선택적으로 치환된 9 또는 10원 이환식 헤테로아릴 고리이되; 고리 A^{10} 은 고리에 적어도 1개의 N 원자를 포함하고, Y^b 는 고리 A^{10} 의 탄소 원자에 부착되며; 그리고
- [0091] 고리 B^{10} 은 N, O 또는 S로부터 선택된 2 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 선택적으로 치환된 9 또는 10-원 이 환식 헤테로아릴 고리이되; 고리 B^{10} 은 고리에 적어도 2개의 N 원자를 포함하고;
- [0092] 단, 고리 A^{10} 또는 고리 B^{10} 은 아미노기를 통해 화학식 (I)의 'L'에 부착된다.
- [0093] 제1 양상의 제21 실시형태에서, STING 활성을 조절하는 아미노-치환된 화합물은

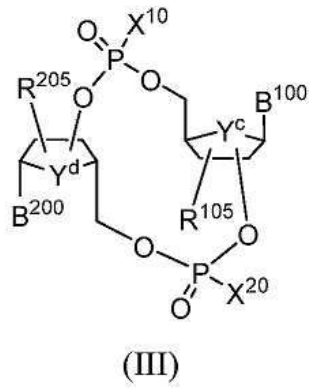


[0094] 이고;

[0095] 식 중,

[0096] 는 화학식 (I)의 'L'에 대한 부착 지점이다.

[0097] 제1 양상의 제22 실시형태에서, STING 활성을 조절하는 아미노-치환된 화합물은 하기 화학식 (III)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:



[0098]

[0099] 식 중

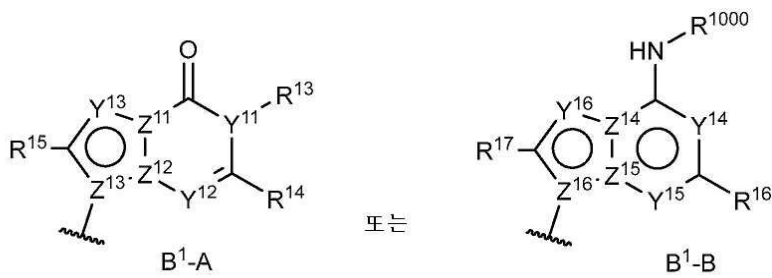
[0100] X^{10} 은 SH 또는 OH이고;

[0101] X^{20} 은 SH 또는 OH이며;

[0102] Y^c 는 O, S 또는 CH_2 이고;

[0103] Y^d 는 O, S 또는 CH_2 이며;

[0104] B^{100} 은 하기 화학식 (B^1-A) 또는 화학식 (B^1-B)로 표시되는 기이고:



[0105]

[0106] R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} 및 R^{17} 은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

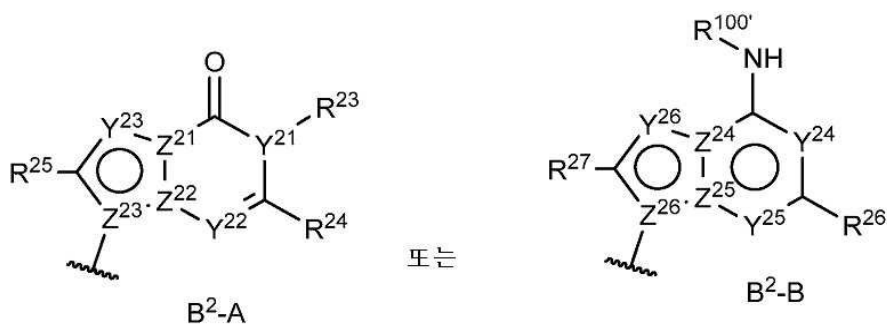
[0107] R^{1000} 은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

[0108] Y^{11} , Y^{12} , Y^{13} , Y^{14} , Y^{15} 및 Y^{16} 은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{1a} 이되, R^{1a} 는 수소 또는 치환체이며;

[0109] Z^{11} , Z^{12} , Z^{13} , Z^{14} , Z^{15} 및 Z^{16} 은 각각 독립적으로 N 또는 C이고;

[0110] R^{105} 는 수소 원자 또는 치환체이며;

[0111] B^{200} 은 하기 화학식 (B^2-A) 또는 화학식 (B^2-B)로 표시되는 기이고:



[0112]

[0113] R^{23} , R^{24} , R^{25} , R^{26} 및 R^{27} 은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

[0114] $R^{100'}$ 은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

[0115] Y^{21} , Y^{22} , Y^{23} , Y^{24} , Y^{25} 및 Y^{26} 은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{2a} 이되, R^{2a} 는 수소 또는 치환체이며;

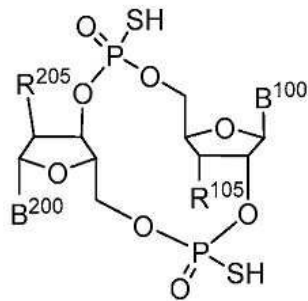
[0116] Z^{21} , Z^{22} , Z^{23} , Z^{24} , Z^{25} 및 Z^{26} 은 각각 독립적으로 N 또는 C이고; 그리고

[0117] R^{205} 는 수소 원자 또는 치환체이되; R^{105} 및 R^{205} 는 각각 독립적으로 이들이 각각 부착된 5-원 고리의 2- 또는 3- 위치에 부착되며;

[0118] 단:

[0119] B^{100} 또는 B^{200} 중 하나는 아미노기를 통해 화학식 (I)의 'L'에 부착된다.

[0120] 제1 양상의 제23 실시형태에서, STING 활성을 조절하는 아미노-치환된 화합물은 하기 화학식 (IIIa)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:

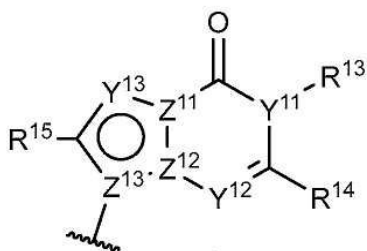


(IIIa)

[0121] .

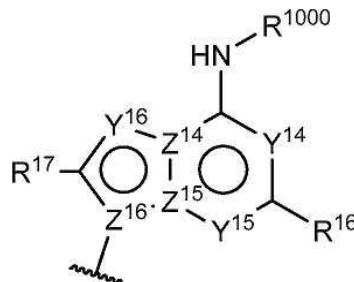
[0122] 식 중,

[0123] B^{100} 은 하기 화학식 (B^1 -A) 또는 화학식 (B^1 -B)로 표시되는 기이고:



B^1 -A

또는



B^1 -B

[0124] .

[0125] R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} 및 R^{17} 은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

[0126] R^{1000} 은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

[0127] Y^{11} , Y^{12} , Y^{13} , Y^{14} , Y^{15} 및 Y^{16} 은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{1a} 이되, R^{1a} 는 수소 또는 치환체이며;

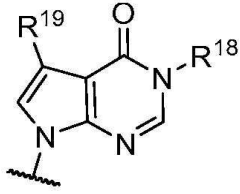
[0128] Z^{11} , Z^{12} , Z^{13} , Z^{14} , Z^{15} 및 Z^{16} 은 각각 독립적으로 N 또는 C이고;

[0129] R^{105} 는 수소 원자 또는 치환체이며;

[0130] B^{200} 은 하기 화학식 (B^2 -A) 또는 화학식 (B^2 -B)로 표시되는 기이고:

[0147] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 하이드록시기 또는 할로젠 원자이고;

[0148] B^1 은

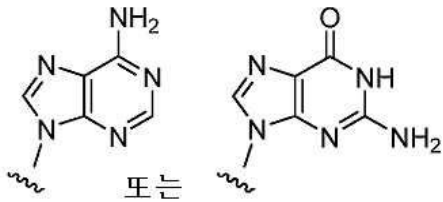


[0149] 이고;

[0150] R^{18} 은 수소 또는 C_{1-6} 알킬이며;

[0151] R^{19} 는 할로젠 원자이고;

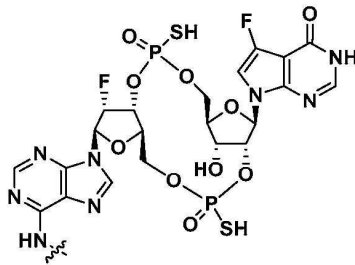
[0152] B^2 는



[0153] 이며; 그리고

[0154] Q^2 및 Q^4 는 각각 독립적으로 산소 원자 또는 황 원자이다.

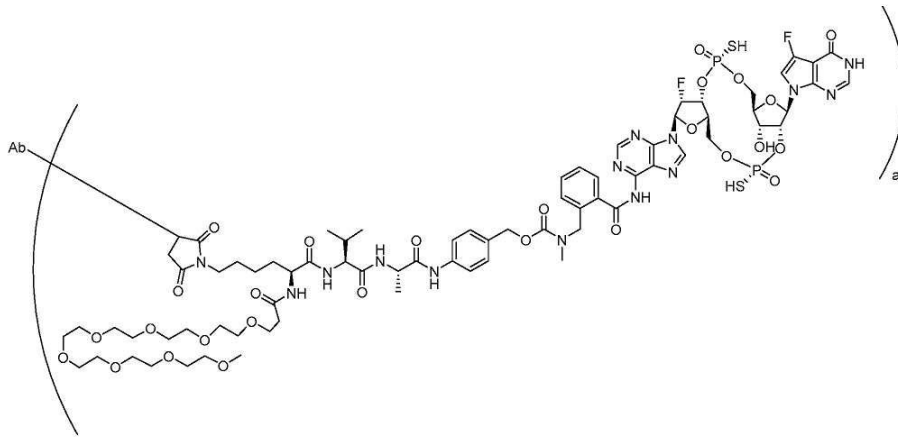
[0155] 제1 양상의 제25 실시형태에서, STING 활성을 조절하는 아미노-치환된 화합물은



[0156] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이되;

[0157] 는 L에 대한 부착 지점이다.

[0158] 제1 양상의 제26 실시형태에서, 본 개시내용은 화학식 (I)의 화합물 또는 하기 화학식 (VI)의 구조를 갖는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:



(VI)

- [0159] ;
- [0160] 식 중, a는 1 내지 6의 정수이다.
- [0161] 제1 양상의 제27 실시형태에서, Ab는 인간 CCR2 또는 이의 일부에 결합하는 항체 또는 이의 단편이고, CCR2에 대한 케모카인의 결합을 차단하고 CCR2의 기능을 저해할 수 있다.
- [0162] 제1 양상의 제28 실시형태에서, 항체는 단클론성 항체 1D9, 또는 인간 CCR2 또는 CCR2의 일부에 결합하기 위해 1D9와 경쟁할 수 있는 항체; MC-21; STI-B020X; UniTI-101; 및 4.40A68G로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0163] 제1 양상의 제29 실시형태에서, 항체는 단클론성 항체 1D9, 또는 인간 CCR2 CCR2의 일부에 대한 결합을 위해 1D9와 경쟁할 수 있는 항체이다.
- [0164] 제1 양상의 제30 실시형태에서, 항체는 키메라 항체, 인간화된 항체, 인간 항체, 마우스 항체, 래트 항체, 염소 항체 또는 토끼 항체이다.
- [0165] 제1 양상의 제31 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 24 내지 39를 포함하는 경쇄 CDR1; 서열번호 1의 아미노산 55 내지 61을 포함하는 경쇄 CDR2; 서열번호 1의 아미노산 94 내지 102를 포함하는 경쇄 CDR3; 서열번호 2의 아미노산 31 내지 35를 포함하는 중쇄 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 50 내지 68을 포함하는 중쇄 CDR2; 및 서열번호 2의 아미노산 101 내지 106을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다.
- [0166] 제1 양상의 제32 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0167] 제1 양상의 제33 실시형태에서, 항체, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0168] 제1 양상의 제34 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0169] 제1 양상의 제35 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0170] 제1 양상의 제36 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0171] 제1 양상의 제37 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 인간 면역글로불린 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂ 중쇄 불변 영역으로부터 선택된 중쇄 불변 영역을 추가로 포함한다.
- [0172] 제1 양상의 제38 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 인간 면역글로불린 IgG_k 및 IgG_λ 경쇄 불변 영역으로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 불변 영역을 추가로 포함한다.
- [0173] 제1 양상의 제39 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 2의

가변 중쇄 영역 및 서열번호 1의 가변 경쇄 영역을 포함하는 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

- [0174] 제1 양상의 제40 실시형태에서, 항-CCR2 항체는 서열번호 3의 중쇄 영역을 포함한다.
- [0175] 제1 양상의 제41 실시형태에서, 항-CCR2 항체는 서열번호 4의 경쇄 영역을 포함한다.
- [0176] 제1 양상의 제42 실시형태에서, 항-CCR2 항체는 서열번호 3의 중쇄 영역 및 서열번호 4의 경쇄 영역을 포함한다.
- [0177] 제2 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 1종 이상의 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0178] 제2 양상의 제1 실시형태에서, 약제학적 조성물은 화학식 (I)의 화합물 및 세포예정사 1에 결합하는 항체(PD-1, CD279, hSLE1 또는 SLEB2)를 포함한다.
- [0179] 제2 양상의 제2 실시형태에서, 약제학적 조성물은 화학식 (I)의 화합물 및 세포예정사 리간드 1에 결합하는 항체(PD-L1, CD274 또는 B7H1)를 포함한다.
- [0180] 제3 양상에서, 본 개시내용은 암 치료를 필요로 하는 대상체의 암 치료 방법을 제공하며, 상기 방법은 약제학적으로 허용 가능한 양의 화학식 (I)의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0181] 제3 양상의 제1 실시형태에서, 암 치료 방법은 약제학적으로 허용 가능한 양의 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 항-PD-1 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0182] 제3 양상의 제2 실시형태에서, 암 치료 방법은 약제학적으로 허용 가능한 양의 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 항-PD-L1 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0183] 제3 양상의 제3 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 항-PD-1 항체는 동시에 투여된다.
- [0184] 제3 양상의 제4 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 항-PD-1 항체는 순차적으로 투여된다.
- [0185] 제3 양상의 제5 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 항-PD-L1 항체는 동시에 투여된다.
- [0186] 제3 양상의 제6 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 항-PD-L1 항체는 순차적으로 투여된다.
- [0187] 제3 양상의 제7 실시형태에서, 상기 방법은 대상체에게 방사선을 투여하는 단계를 더 포함한다. 제3 양상의 제8 실시형태에서, 방사선은 입자 방사선이다. 제3 양상의 제9 실시형태에서, 방사선은 외부 빔 방사선이다.
- [0188] 제4 양상에서, 본 개시내용은 면역 반응의 자극을 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 자극하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 약제학적으로 허용 가능한 양의 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

- [0189] 도 1은 추계적(stochastic) 시스템인 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조를 도시한다.
- 도 2는 트랜스글루타미나제 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조를 도시한다.
- 도 3은 트랜스글루타미나제 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조를 도시한다.
- 도 4는 항체 약물 접합체 B-14의 마우스 PK 프로파일을 도시한다.
- 도 5는 항체 약물 접합체 B-15의 마우스 PK 프로파일을 도시한다.
- 도 6은 항체 약물 접합체 B-16의 마우스 PK 프로파일을 도시한다.
- 도 7은 항체 약물 접합체 B-17의 마우스 PK 프로파일을 도시한다.
- 도 8은 항체 약물 접합체 B-18의 마우스 PK 프로파일을 도시한다.

도 9는 ADC B-17을 투약한 마우스의 시간에 따른 체중 변화를 도시한다.

도 10은 ADC B-20을 투약한 마우스의 시간에 따른 체중 변화를 도시한다.

도 11은 페이로드 단독의 항종양 활성과 비교한 항체 약물 접합체 B-21의 항종양 활성을 도시한다.

도 12는 항체 약물 접합체 B-17을 투약한 후 비인간 영장류에서의 단핵구 및 MDSC에서의 CCR2 및 CD80 발현 변화를 도시한다.

도 13은 항체 약물 접합체 B-17을 투약한 후 비-인간 영장류에서의 혈청 IL-1RA, IL-6, TNF- α 및 IFN- γ 의 변화를 도시한다.

도 14는 항체 약물 접합체 B-17의 비인간 영장류 PK 프로파일을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0190] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 명세서에 지칭된 모든 특허 및 간행물은 이들의 전문이 참조에 의해 인용된다.

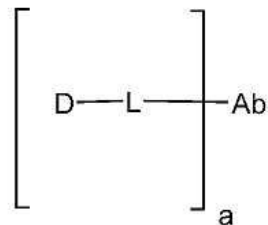
[0191] 단수 형태는 문맥에서 달리 지시되지 않는 한 복수의 대상을 포함한다.

[0192] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "또는"은 논리합(즉, 및/또는)이며, 분명하게 표시되지 않는 한, 배타적인 논리합, 예컨대 용어 "둘 중 하나", "~하지 않다면", "대안적으로" 및 유사한 효과의 단어를 나타내지 않는다.

[0193] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "약"은 $\pm 10\%$ 를 지칭한다.

[0194] 항체 약물 접합체

[0195] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공한다,



(I)

[0196] 식 중:

[0197] 식 중:

[0198] a는 1 내지 20의 정수이고;

[0199] Ab는 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편이며;

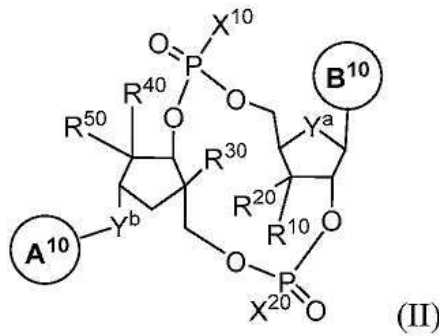
[0200] D는 구아닌 염기, 구아닌 염기 유도체, 아데닌 염기 또는 아데닌 염기 유도체 상에 아미노기를 포함하는 STING 활성의 조절자이고; 그리고

[0201] L은 Ab에 공유 결합된 링커이고; 또한 D 상의 상기 아미노기에 공유결합된다.

[0202] STING 조절자 모이어티

[0203] 본 개시내용은 STING 활성의 조절자를 포함하는 화합물을 제공한다. 특정 실시형태에서, STING 조절자는 길항제 또는 작용제로서 STING 경로를 표적화하는 화합물이다. 일부 실시형태에서, STING 조절체는 작용제이다. 특정 실시형태에서, STING 조절자는 구아닌 염기, 구아닌 염기 유도체, 아데닌 염기 또는 아데닌 염기 유도체 상의 아미노기를 포함한다. 일부 실시형태에서, STING 조절체는 환식 다이뉴클레오타이드, 또는 환식 다이뉴클레오타이드-유사 화합물(각각 CDN)이다.

[0204] 일부 실시형태에서, STING 조절제는 하기 화학식 (II)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:

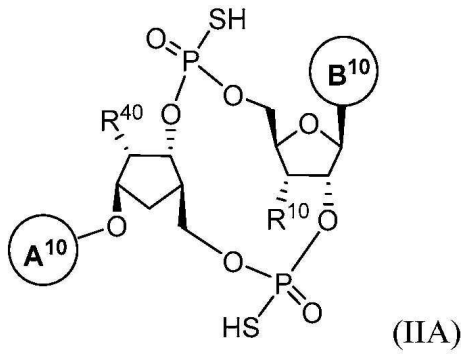


- [0205] 식 중:
- [0206] 식 중:
- [0207] X^{10} 은 -SH 또는 -OH이고;
- [0208] X^{20} 은 -SH 또는 -OH이며;
- [0209] Y^a 는 -O-, -S- 또는 -CH₂-이고;
- [0210] Y^b 는 -O-, -S-, -NH- 또는 -NR^{a-}이되, R^a는 C₁-C₄알킬이며;
- [0211] R¹⁰은 수소, 플루오로, -OH, -NH₂, -OR^b 또는 -NHR^b이고;
- [0212] R²⁰은 수소 또는 플루오로이며;
- [0213] R³⁰은 수소이거나; R⁴⁰은 수소, 플루오로, -OH, -NH₂, -OR^b 또는 -NHR^b이거나; 또는 R³⁰ 및 R⁴⁰은 함께 -CH₂O-를 형성하고;
- [0214] R⁵⁰은 수소 또는 플루오로이며;
- [0215] R^b는 C₁-C₆알킬, 할로(C₁-C₆)알킬 또는 C₃-C₆사이클로알킬이고;
- [0216] 고리 A¹⁰은 N, O 또는 S로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 또는 6-원 단환식 헤테로아릴, 또는 N, O 또는 S로부터 선택된 1 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 선택적으로 치환된 9 또는 10원 이환식 헤테로아릴 고리이되; 고리 A¹⁰은 고리에 적어도 1개의 N 원자를 포함하고, Y^b는 고리 A¹⁰의 탄소 원자에 부착되며; 그리고
- [0217] 고리 B¹⁰은 N, O 또는 S로부터 선택된 2 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 선택적으로 치환된 9 또는 10-원 이환식 헤테로아릴 고리이되; 고리 B¹⁰은 고리에 적어도 2개의 N 원자를 포함하며;
- [0218] 단, 고리 A¹⁰ 또는 고리 B¹⁰은 -NH-기를 통해 화학식 (I)의 'L'에 부착된다.
- [0219] 본 명세서에 기재된 바와 같은, 고리 A¹⁰ 및 고리 B¹⁰은 1개 이상의 치환체를 함유할 수 있고, 따라서, 선택적으로 치환될 수 있다. 헤테로아릴기의 불포화 탄소 원자 상의 적합한 치환체는 -할로, -NO₂, -CN, -R⁺, -C(R⁺)=C(R⁺)₂, -C≡C-R⁺, -OR⁺, -SR⁺, -S(O)R⁺, -SO₂R⁺, -SO₃R⁺, -SO₂N(R⁺)₂, -N(R⁺)₂, -NR⁺C(O)R⁺, -NR⁺C(S)R⁺, -NR⁺C(O)N(R⁺)₂, -NR⁺C(S)N(R⁺)₂, -N(R⁺)C(=NR⁺)-N(R⁺)₂, -N(R⁺)C(=NR⁺)-R⁺, -NR⁺CO₂R⁺, -NR⁺SO₂R⁺, -NR⁺SO₂N(R⁺)₂, -O-C(O)R⁺, -O-CO₂R⁺, -OC(O)N(R⁺)₂, -C(O)R⁺, -C(S)R⁺, -CO₂R⁺, -C(O)-C(O)R⁺, -C(O)N(R⁺)₂,

$-C(S)N(R^+)_2$, $-C(O)N(R^+)-OR^+$, $-C(O)N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)_2$, $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)-C(O)R^+$, $-C(=NR^+)-N(R^+)_2$, $-C(=NR^+)-OR^+$, $-N(R^+)-N(R^+)_2$, $-C(=NR^+)-N(R^+)-OR^+$, $-C(R^+)=N-OR^+$, $-P(O)(R^+)_2$, $-P(O)(OR^+)_2$, $-O-P(O)-OR^+$ 및 $-P(O)(NR^+)-N(R^+)_2$ 를 포함하고, 일반적으로 이들로부터 선택되며, R^+ 는 독립적으로, 수소 또는 선택적으로 치환된 지방족, 아릴, 헤테로아릴, 지환식 또는 헤테로사이클릴기이거나, 또는 R^+ 의 2가지 독립적 발생은 이들의 개재 원자(들)와 함께 선택적으로 치환된 5 내지 7원 아릴, 헤테로아릴, 지환식 또는 헤테로사이클릴을 형성한다. 일부 실시형태에서, R^+ 는 독립적으로 수소, C_{1-6} 지방족 또는 C_{3-6} 지환식이다. 각각의 R^+ 는, 독립적으로, 선택적으로 치환된 지방족, 아릴, 헤테로아릴, 지환식 또는 헤테로사이클릴기이다.

[0220] 상기 상세히 설명한 바와 같이, 일부 실시형태에서, R^+ (또는 본 명세서 및 청구범위에서 유사하게 정의되는 임의의 다른 변수)의 2가지 독립적 발생은 이들의 개재 원자(들)와 함께 3 내지 13원 지환식, 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 5개의 헤테로원자를 갖는 3 내지 12원 헤테로사이클릴, 6 내지 10원 아릴, 또는 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 5개의 헤테로원자를 갖는 5 내지 10원 헤테로아릴로부터 선택된 단환식 또는 이환식 고리를 형성한다.

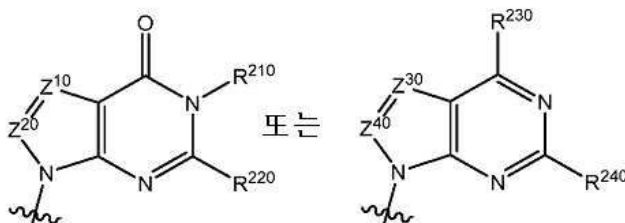
[0221] 일부 실시형태에서, STING 조절제는 하기 화학식 (IIA)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:



[0222] 식 중, R^{10} 및 R^{40} 은 각각 독립적으로 수소, 플루오로, $-OH$ 또는 $-OCH_2CF_3$ 이고, 고리 A^{10} 및 B^{10} 은 화학식 (II)의 화합물에 대해 정의된 바와 같고, 단, 고리 A^{10} 또는 고리 B^{10} 중 하나는 'L'에 $-NH-$ 기를 통해 부착된다.

[0224] 일부 실시형태에서, 고리 A^{10} 은 1, 2 또는 3개의 질소 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 6-원 단환식 헤테로아릴 고리이다.

[0225] 일부 실시형태에서, 고리 B^{10} 은:



[0226] 이고;

[0227] 식 중:

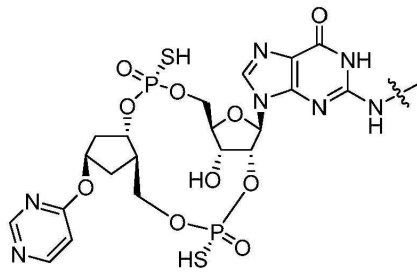
[0228] Z^{10} , Z^{20} , Z^{30} 및 Z^{40} 은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{200} 이고;

[0229] R^{210} 은 수소 또는 C_1-C_6 알킬, 할로(C_1-C_6)알킬 또는 C_3-C_6 사이클로알킬이며;

[0230] R^{230} 은 수소 또는 $-NH_2$ 이고; 그리고

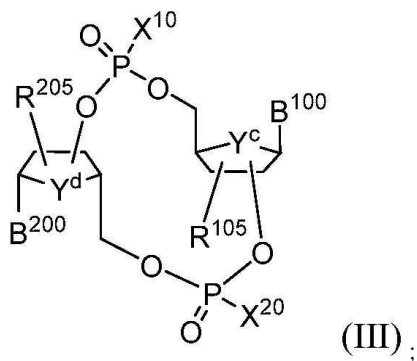
[0231] R^{200} , R^{220} 및 R^{240} 은 각각 독립적으로 수소, 할로젠, -OH, -NH₂, -CN, C₁-C₆알킬, 할로(C₁-C₆)알킬 또는 C₃-C₆사이클로알킬이다.

[0232] 일부 실시형태에서, STING 조절제는



[0233] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이고, 는 모분자 모이어티의 'L'기에 대한 부착지점이다.

[0234] 일부 실시형태에서, STING 조절제는 하기 화학식 (III)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:



[0235] 식 중:

[0237] X^{10} 은 SH 또는 OH이고;

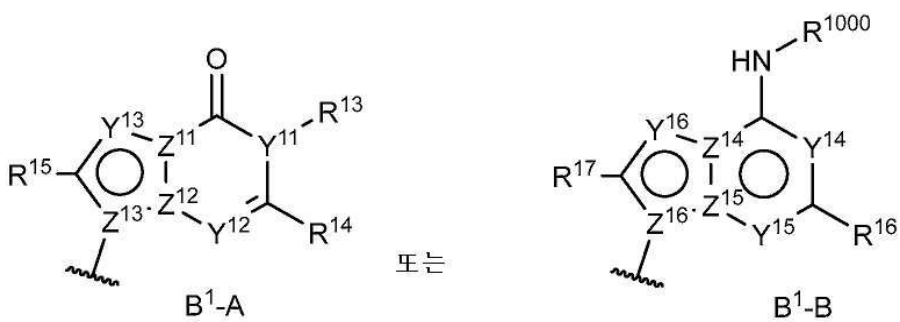
[0238] X^{20} 은 SH 또는 OH이며;

[0239] Y^c 는 O, S 또는 CH₂이고;

[0240] Y^d 는 O, S 또는 CH₂이며;

[0241] R^{105} 및 R^{205} 는 각각 독립적으로 수소 또는 치환체이되, R^{105} 및 R^{205} 는 각각 독립적으로 이들이 각각 부착된 5-원 고리의 2- 또는 3- 위치에 부착되며;

[0242] B^{100} 은 하기 화학식 (B¹-A) 또는 화학식 (B¹-B)로 표시되는 기이고:



[0243] ;

[0244] R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} 및 R^{17} 은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

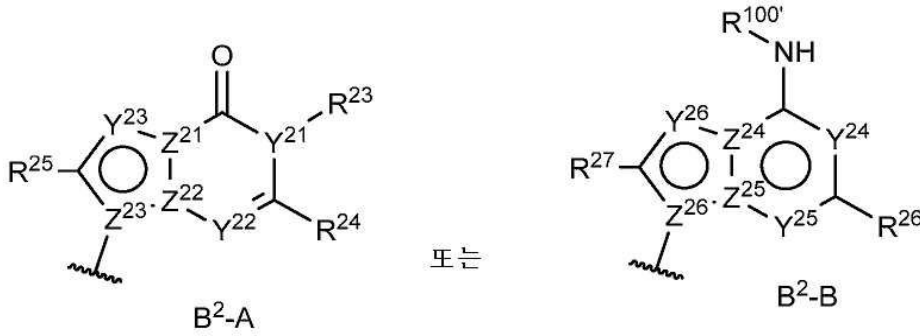
[0245] R^{1000} 은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

[0246] Y^{11} , Y^{12} , Y^{13} , Y^{14} , Y^{15} 및 Y^{16} 은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{1a} 이며;

[0247] Z^{11} , Z^{12} , Z^{13} , Z^{14} , Z^{15} 및 Z^{16} 은 각각 독립적으로 N 또는 C이고;

[0248] R^{1a} 는 수소 원자 또는 치환체이며;

[0249] B^{200} 은 하기 화학식 (B^2-A) 또는 화학식 (B^2-B)로 표시되는 기이고:



[0250]

[0251] R^{23} , R^{24} , R^{25} , R^{26} 및 R^{27} 은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

[0252] $R^{100'}$ 은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

[0253] Y^{21} , Y^{22} , Y^{23} , Y^{24} , Y^{25} 및 Y^{26} 은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{2a} 이고;

[0254] Z^{21} , Z^{22} , Z^{23} , Z^{24} , Z^{25} 및 Z^{26} 은 각각 독립적으로 N 또는 C이고; 그리고

[0255] R^{2a} 는 수소 원자 또는 치환체이고;

[0256] 단, B^{100} 또는 B^{200} 중 하나는 -NH-기를 통해 화학식 (I)의 카보닐기에 부착된다.

[0257] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 화학식 (III) 및 화학식 (IIIa)의 화합물(아래)은 특정 위치에서 치환체를 포함한다. 적합한 치환체는 할로겐 원자, 사이아노기, 나이트로기, 선택적으로 치환된 탄화수소기, 선택적으로 치환된 복소환식기, 아실기, 선택적으로 치환된 아미노기, 선택적으로 치환된 카바모일기, 선택적으로 치환된 티오 카바모일기, 선택적으로 치환된 설파모일기, 선택적으로 치환된 하이드록시기, 선택적으로 치환된 설파닐(SH)기 및 선택적으로 치환된 실릴기를 포함하되, 선택적으로 치환된 기는 치환체 기 A로부터 선택된 하나 이상의 치환체를 갖는다:

[0258] "치환체 기 A:"

[0259] (1) 할로겐 원자,

[0260] (2) 나이트로기,

[0261] (3) 사이아노기,

[0262] (4) 옥소기,

[0263] (5) 하이드록시기,

[0264] (6) 선택적으로 할로겐화된 C_{1-6} 알콕시기,

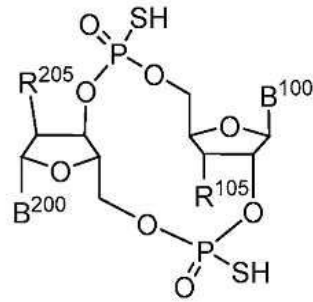
[0265] (7) C_{6-14} 아릴옥시기(예를 들어, 페녹시, 나프톡시),

[0266] (8) C_{7-16} 아랄킬옥시기(예를 들어, 벤질옥시),

[0267] (9) 5- 내지 14-원 방향족 헤테로사이클릴옥시기(예를 들어, 피리딜옥시),

- [0268] (10) 3- 내지 14-원 비방향족 헤테로사이클릴옥시기(예를 들어, 몰폴린일옥시, 피페리딘일옥시),
- [0269] (11) C₁₋₆ 알킬-카보닐옥시기(예를 들어, 아세톡시, 프로판오일옥시),
- [0270] (12) C₆₋₁₄ 아릴-카보닐옥시기(예를 들어, 벤조일옥시, 1-나프토일옥시, 2-나프토일옥시),
- [0271] (13) C₁₋₆ 알콕시-카보닐옥시기(예를 들어, 메톡시카보닐옥시, 에톡시카보닐옥시, 프로폭시카보닐옥시, 뷰톡시카보닐옥시),
- [0272] (14) 모노- 또는 다이-C₁₋₆ 알킬-카바모일옥시기(예를 들어, 메틸카바모일옥시, 에틸카바모일옥시, 다이메틸카바모일옥시, 다이에틸카바모일옥시),
- [0273] (15) C₆₋₁₄ 아릴-카바모일옥시기(예를 들어, 페닐카바모일옥시, 나프틸카바모일옥시),
- [0274] (16) 5- 내지 14-원 방향족 헤테로사이클릴카보닐옥시기(예를 들어, 니코틴오일옥시),
- [0275] (17) 3- 내지 14-원 비-방향족 헤테로사이클릴카보닐옥시기(예를 들어, 몰폴린일카보닐옥시, 피페리딘일카보닐옥시),
- [0276] (18) 선택적으로 할로겐화된 C₁₋₆ 알킬설포닐옥시기(예를 들어, 메틸설포닐옥시, 트라이플루오로메틸설포닐옥시),
- [0277] (19) C₁₋₆ 알킬기에 의해 선택적으로 치환된 C₆₋₁₄ 아릴설포닐옥시기(예를 들어, 페닐설포닐옥시, 톨루엔설포닐옥시),
- [0278] (20) 선택적으로 할로겐화된 C₁₋₆ 알킬티오기,
- [0279] (21) 5- 내지 14-원 방향족 복소환식기,
- [0280] (22) 3- 내지 14-원 비-방향족 복소환식기,
- [0281] (23) 폼일기,
- [0282] (24) 카복시기,
- [0283] (25) 선택적으로 할로겐화된 C₁₋₆ 알킬-카보닐기,
- [0284] (26) C₆₋₁₄ 아릴-카보닐기,
- [0285] (27) 5- 내지 14-원 방향족 헤테로사이클릴카보닐기,
- [0286] (28) 3- 내지 14-원 비-방향족 헤테로사이클릴카보닐기,
- [0287] (29) C₁₋₆ 알콕시-카보닐기,
- [0288] (30) C₆₋₁₄ 아릴옥시-카보닐기(예를 들어, 페닐옥시카보닐, 1-나프틸옥시카보닐, 2-나프틸옥시카보닐),
- [0289] (31) C₇₋₁₆ 아랄킬옥시-카보닐기(예를 들어, 벤질옥시카보닐, 펜에틸옥시카보닐),
- [0290] (32) 카바모일기,
- [0291] (33) 티오카바모일기,
- [0292] (34) 모노- 또는 다이-C₁₋₆ 알킬-카바모일기,
- [0293] (35) C₆₋₁₄ 아릴-카바모일기(예를 들어, 페닐카바모일),
- [0294] (36) 5- 내지 14-원 방향족 헤테로사이클릴카바모일기(예를 들어, 피리딜카바모일, 티에닐카바모일),
- [0295] (37) 3- 내지 14-원 비-방향족 헤테로사이클릴카바모일기(예를 들어, 몰폴린일카바모일, 피페리딘일카바모일),
- [0296] (38) 선택적으로 할로겐화된 C₁₋₆ 알킬설포닐기,

- [0297] (39) C₆₋₁₄ 아릴설폰일기,
- [0298] (40) 5- 내지 14-원 방향족 헤테로사이클릴설폰일기(예를 들어, 피리딜설폰일, 티에닐설폰일),
- [0299] (41) 선택적으로 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬설폰일기,
- [0300] (42) C₆₋₁₄ 아릴설폰일기(예를 들어, 페닐설폰일, 1-나프틸설폰일, 2-나프틸설폰일),
- [0301] (43) 5- 내지 14-원 방향족 헤테로사이클릴설폰일기(예를 들어, 피리딜설폰일, 티에닐설폰일),
- [0302] (44) 아미노기,
- [0303] (45) 모노- 또는 다이-C₁₋₆ 알킬아미노기(예를 들어, 메틸아미노, 에틸아미노, 프로필아미노, 아이소프로필아미노, 뷰틸아미노, 다이메틸아미노, 다이에틸아미노, 다이프로필아미노, 다이뷰틸아미노, N-에틸-N-메틸아미노),
- [0304] (46) 모노- 또는 다이-C₆₋₁₄ 아릴아미노기(예를 들어, 페닐아미노),
- [0305] (47) 5- 내지 14-원 방향족 헤테로사이클릴아미노기(예를 들어, 피리딜아미노),
- [0306] (48) C₇₋₁₆ 아랄킬아미노기(예를 들어, 벤질아미노),
- [0307] (49) 폼일아미노기,
- [0308] (50) C₁₋₆ 알킬-카보닐아미노기(예를 들어, 아세틸아미노, 프로판오일아미노, 부탄오일아미노),
- [0309] (51) (C₁₋₆ 알킬)(C₁₋₆ 알킬-카보닐) 아미노기(예를 들어, N-아세틸-N-메틸아미노),
- [0310] (52) C₆₋₁₄ 아릴-카보닐아미노기(예를 들어, 페닐카보닐아미노, 나프틸카보닐아미노),
- [0311] (53) C₁₋₆ 알콕시-카보닐아미노기(예를 들어, 메톡시카보닐아미노, 에톡시카보닐아미노, 프로톡시카보닐아미노, 뷰톡시카보닐아미노, tert-뷰톡시카보닐아미노),
- [0312] (54) C₇₋₁₆ 아랄킬옥시-카보닐아미노기(예를 들어, 벤질옥시카보닐아미노),
- [0313] (55) C₁₋₆ 알킬설폰일아미노기(예를 들어, 메틸설폰일아미노, 에틸설폰일아미노),
- [0314] (56) C₁₋₆ 알킬기에 의해 선택적으로 치환된 C₆₋₁₄ 아릴설폰일아미노기(예를 들어, 페닐설폰일아미노, 톨루엔설폰일아미노),
- [0315] (57) 선택적으로 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기,
- [0316] (58) C₂₋₆ 알켄일기,
- [0317] (59) C₂₋₆ 알킨일기,
- [0318] (60) C₃₋₁₀ 사이클로알킬기,
- [0319] (61) C₃₋₁₀ 사이클로알켄일기, 및
- [0320] (62) C₆₋₁₄ 아릴기.
- [0321] 일부 실시형태에서, STING 조절제는 화학식 (IIIa)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:

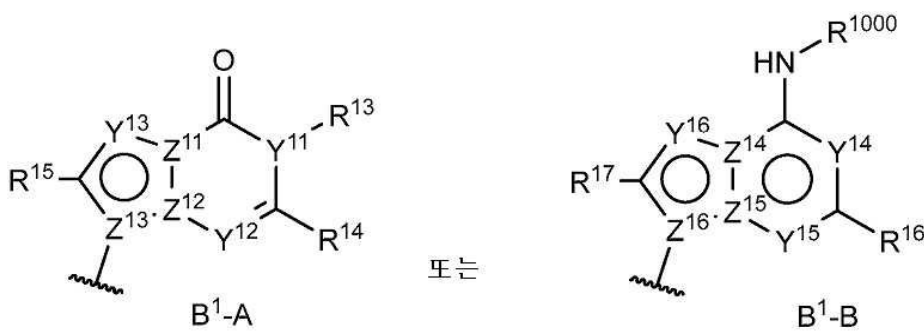


(IIIa)

[0322] ;

[0323] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염; 식 중

[0324] B¹⁰⁰은 하기 화학식 (B¹-A) 또는 화학식 (B¹-B)로 표시되는 기이고:



[0325] ;

[0326] R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ 및 R¹⁷은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

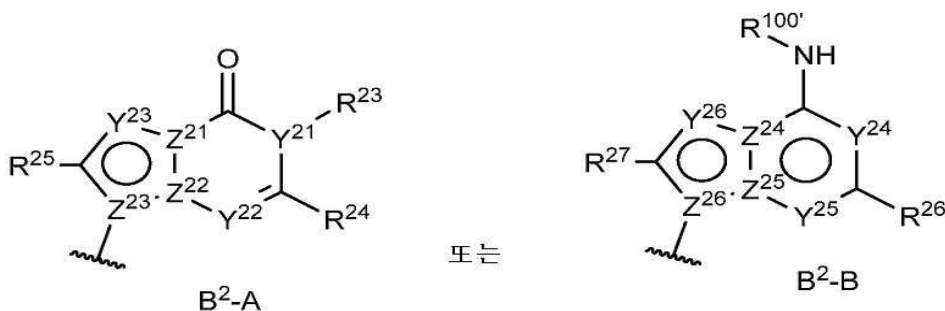
[0327] R¹⁰⁰⁰은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

[0328] Y¹¹, Y¹², Y¹³, Y¹⁴, Y¹⁵ 및 Y¹⁶은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{1a}이되, R^{1a}는 수소 또는 치환체이며;

[0329] Z¹¹, Z¹², Z¹³, Z¹⁴, Z¹⁵ 및 Z¹⁶은 각각 독립적으로 N 또는 C이고;

[0330] R¹⁰⁵는 수소 원자 또는 치환체이며;

[0331] B²⁰⁰은 하기 화학식 (B²-A) 또는 화학식 (B²-B)로 표시되는 기이고:



[0332] ;

[0333] R²³, R²⁴, R²⁵, R²⁶ 및 R²⁷은 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환체이며;

[0334] R^{100'}은 수소 또는 화학식 (I)의 카보닐기에 대한 결합이고;

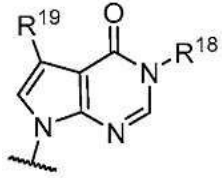
[0335] Y²¹, Y²², Y²³, Y²⁴, Y²⁵ 및 Y²⁶은 각각 독립적으로 N 또는 CR^{2a}이되, R^{2a}는 수소 또는 치환체이며;

[0336] Z^{21} , Z^{22} , Z^{23} , Z^{24} , Z^{25} 및 Z^{26} 은 각각 독립적으로 N 또는 C이고; 그리고

[0337] R^{205} 는 수소 원자 또는 치환체이되; R^{105} 및 R^{205} 는 각각 독립적으로 이들이 각각 부착된 5-원 고리의 2- 또는 3- 위치에 부착되며;

[0338] 단:

[0339] B^{100} 또는 B^{200} 중 하나는



[0340] 이고;

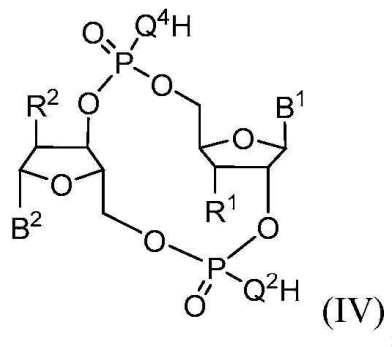
[0341] 식 중:

[0342] R^{18} 은 수소 또는 C_{1-6} 알킬이며; 그리고

[0343] R^{19} 는 할로젠 원자이고;

[0344] 나머지는 -NH-기를 통해 화학식 (I)의 카보닐기에 부착된다.

[0345] 일부 실시형태에서, STING 조절제는 화학식 (IV)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:

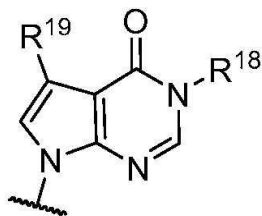


[0346] 이고;

[0347] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 식 중:

[0348] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 하이드록시기 또는 할로젠 원자이고;

[0349] B^1 은

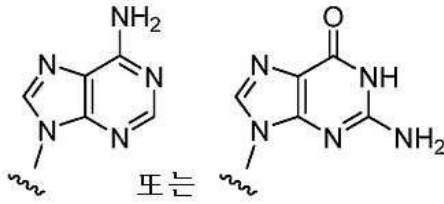


[0350] 이고;

[0351] R^{18} 은 수소 또는 C_{1-6} 알킬이며;

[0352] R^{19} 는 할로젠 원자이고;

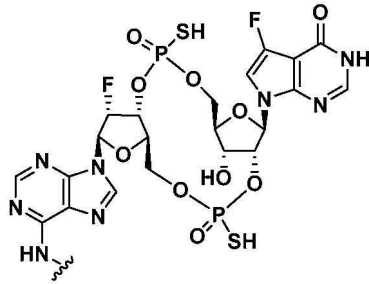
[0353] B^2 는



[0354] 이며; 그리고

[0355] Q² 및 Q⁴는 각각 독립적으로 산소 원자 또는 황 원자이다.

[0356] 일부 실시형태에서, 환식 다이뉴클레오타이드는



[0357] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이고;

[0358] 식 중, 는 'L'의 지점이다.

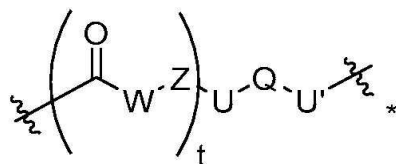
[0359] 링커 모이어티

[0360] "L"기는 링커이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "링커"는 항체, 항체 단편, 또는 항원-결합 단편(Ab)을 화학식 (I) 내지 (IV)의 화합물 내의 약물-함유 모이어티에 연결할 수 있는 화학적 모이어티를 지칭한다. 링커는 분지될 수 있고, 1 내지 20개의 약물-함유 모이어티로 치환될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 1 내지 10개의 약물-함유 모이어티로 치환될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 1 내지 5개의 약물-함유 모이어티로 치환될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 1 또는 2개의 약물-함유 모이어티로 치환될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 1개의 약물-함유 모이어티로 치환될 수 있다.

[0361] 일부 실시형태에서, 링커 "L"은 절단 가능한 링커이다. 특정 실시형태에서, 링커는 약물 및/또는 항체가 활성으로 남아있을 수 있는 조건 하에 산-유도 절단, 광-유도 절단, 효소 절단 등의 영향을 받기 쉬울 수 있다. 일부 실시형태에서, 절단 가능한 링커는 효소적으로 절단될 수 있다. 일부 실시형태에서, 절단 가능한 링커는 프로테아제, 펩티다제, 에스테라제, 글리코시다제, 포스포다이에스테라제, 포스파타제 또는 리파제에 의해 절단될 수 있다. 일부 실시형태에서, 절단 가능한 링커는 프로테아제에 의해 절단될 수 있다. 프로테아제의 예는 카텝신 B, VAGP 테트라펩타이드 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0362] 특정 실시형태에서, 링커는 전문이 참조에 의해 인용된 PCT 공개 WO 2018/200812, WO 2018/100558에 개시된 임의의 것일 수 있다.


[0363] 특정 실시형태에서, "L"은 하기 화학식을 가진다:



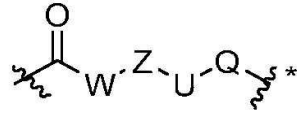
[0364] ;

[0365] 식 중:

[0366] 는 질소 원자에 대한 부착 지점이며; 그리고


[0367]  * 는 Ab에 대한 부착 지점이다.


[0368] 일부 실시형태에서, "L"은 하기 화학식을 가진다:



[0369]

[0370] 식 중:

[0371]  는 질소 원자에 대한 부착 지점이며;

[0372]  * 는 항체에 대한 부착 지점이고;

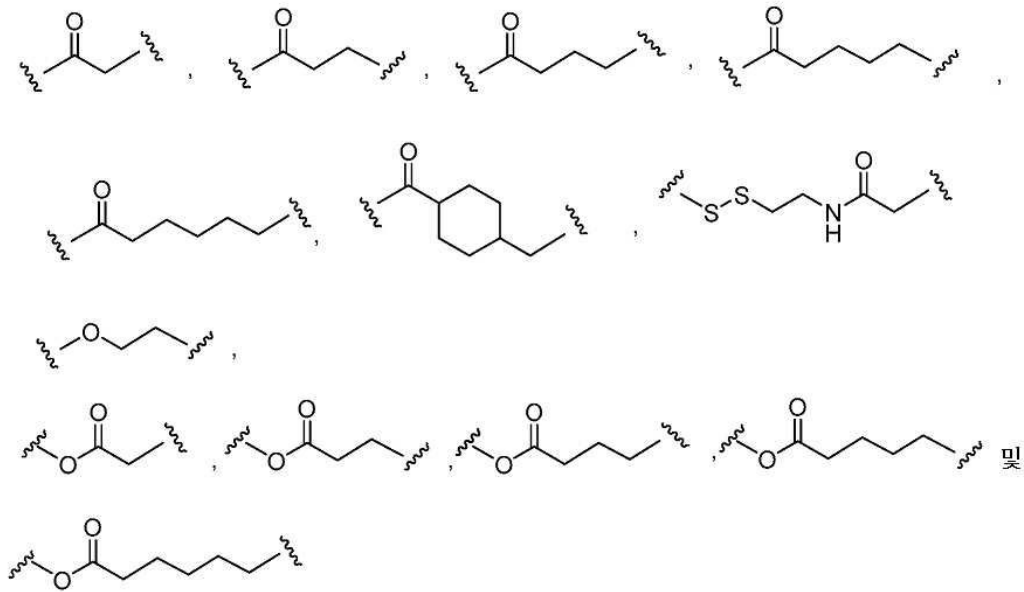
[0373] "W" 기는 존재하지 않거나 또는 자기-회생기이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "자기-회생기"는 부착된 기의 방출을 초래하는 전자 캐스케이드를 겪는 기를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 자기-회생기는 1,4-제거, 1,6-제거, 1,8-제거, 1,6-고리화 제거, 1,5-고리화 제거, 1,3-고리화 제거, 분자내 5-엑소-트리그(exo-trig) 고리화 및/또는 6-엑소-트리그 고리화를 겪을 수 있는 하나 이상의 기를 포함한다. 특정 실시형태에서, 자기-회생기는 전문이 참조에 의해 인용된 PCT 공개 WO 2018/200812, WO 2018/100558에 개시된 임의의 것일 수 있다.

[0374] "Z" 기는 존재하지 않거나 또는 2 내지 5개 아미노산의 펩타이드이다. 특정 실시형태에서, 펩타이드는 링커의 절단 부위이며, 세포내 프로테아제, 예컨대, 라이소좀 효소에 대한 노출 시 약물 방출을 촉진시킨다(Doronina et al. (2003) Nat. Biotechnol. 21:778-784). 2개의 아미노산을 갖는 펩타이드의 예는 알라닌-알라닌(Ala-Ala), 발린-알라닌(VA 또는 Val-Ala), 발린-시트룰린(VC 또는 Val-Cit), 알라닌-페닐알라닌(AF 또는 Ala-Phe); 페닐알라닌-라이신(FK 또는 Phe-Lys); 페닐알라닌-동형라이신(Phe-Homolys); 및 N-메틸-발린-시트룰린(Me-Val-Cit)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 3개의 아미노산을 갖는 펩타이드의 예는 글리신-발린-시트룰린(Gly-Val-Cit) 및 글리신-글리신-글리신(Gly-Gly-Gly)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 상기 아미노산 조합은 또한 역순(즉, Cit-Val)으로 존재할 수 있다.

[0375] 본 개시내용의 펩타이드는 천연-유래 및/또는 비천연 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 용어 "천연-유래 아미노산"은 Ala, Asp, Cys, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp 및 Tyr 을 지칭한다. "비천연 아미노산"(즉, 아미노산이 자연적으로 생기지 않음)은, 비제한적 예로서, 호모세린, 호모알기닌, 시트룰린, 페닐글리신, 타우린, 아이오도타이로신, 셀레노-시스테인, 노르류신("Nle"), 노르발린("Nva"), 베타-알라닌, L- 또는 D-나프탈알라닌, 오르니틴("Orn") 등을 포함한다. 펩타이드는 특정 효소, 예를 들어, 종양-관련 프로테아제, 카텝신 B, C 및 D, 또는 플라스민 프로테아제에 의한 효소 절단을 위해 설계되고, 최적화될 수 있다.

[0376] 아미노산은 또한 천연 및 비천연 아미노산의 D-형태를 포함한다. "D-"는 천연 유래 ("L-") 아미노산에서 입체배치와 대조적으로 "D"(우선성) 입체배치를 갖는 아미노산을 표기한다. 천연 및 비천연 아미노산은 상업적으로 (Sigma Chemical Co., Advanced Chemtech) 구입될 수 있거나 또는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 합성될 수 있다.

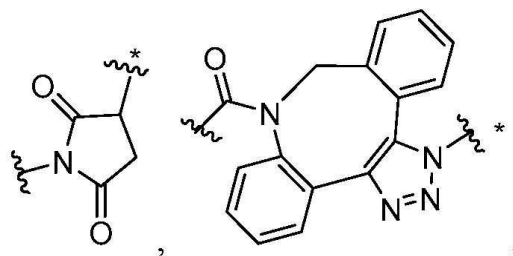
[0377] "U" 및 "U'"기는 독립적으로 존재하지 않거나 또는 스페이서이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "스페이서"는 연결기로서 작용하는 화학적 모이어티를 지칭한다. 본 개시내용에서, 스페이서는 항체, 항체 단편, 또는 항원 단편을 이형이작용성 기에 연결할 수 있고/있거나, 이형이작용성 기를 펩타이드 "Z"에 또는, "Z"가 존재하지 않을 때, "W" 기에 연결할 수 있다. 비제한적인 예시적인 스페이서는 -NH-, -S-, -O-, -NHC(=O)CH₂CH₂-, -S(=O)₂-CH₂CH₂-, -C(=O)NHNH-, -C(=O)O-, -C(=O)NH-, -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH₂=CH₂-, -C≡C-, -CH=N-O-, 폴리에틸렌, 글리콜(PEG),



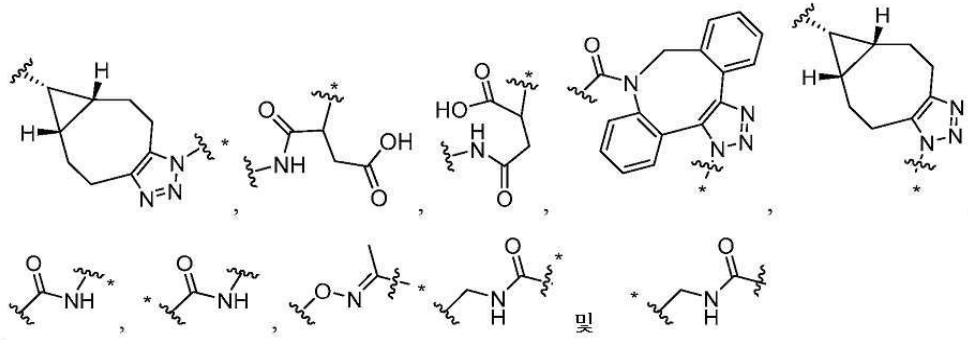
을 포함한다.

[0378] 본 개시내용의 화합물에서, "U"가 존재할 때, 이는 1 내지 10개의 "-C(O)-W-Z-" 기로 치환되는 분지된 기일 수 있다. 일부 실시형태에서, "U"는 1 내지 5개의 "-C(O)-W-Z-" 기에 의해 치환된다. 일부 실시형태에서, "U"는 1 또는 2개의 "-C(O)-W-Z-" 기로 치환된다. 일부 실시형태에서, "U"는 1개의 "-C(O)-W-Z-" 기로 치환된다. 특정 실시형태에서, 스페이서는 전문이 참조에 의해 인용된 PCT 공개 WO 2018/200812, WO 2018/100558에 개시된 임의의 것일 수 있다.

[0379] "Q"기는 이형이작용성 기이다. 본 개시내용에서, 용어 "이형이작용성 기"는 항체, 항체 단편, 또는 항원-결합 단편에 대한 부분인 링커를 연결하는 화학적 모이어티를 지칭한다. 예를 들어, WO 2017/191579 참조. 이형이작용성 기는 화학적 모이어티의 말단 중 하나에서 상이한 반응기를 갖는 것을 특징으로 한다. 이형이작용성 기는 "Ab"에 직접 부착될 수 있거나 또는 대안적으로 링커 "U"를 통해 연결될 수 있다. "Ab"에 대한 부착은 화학적 또는 효소 접합, 또는 둘 다의 조합을 통해 달성될 수 있다. 화학적 접합은 "Q" 또는 "U" 상의 반응 핸들을 이용하는 항체 표면 상에서 접근 가능한 아미노산 잔기의 제어된 반응을 수반한다. 화학적 접합의 예는 라이신 아마이드 결합, 시스테인 결합 및 유전자 조작에 의해 혼입된 비천연 아미노산을 통한 결합을 포함하지만, 이들로 제한되지 않되, 목적하는 반응 핸들을 갖는 비천연 아미노산 잔기는 "Ab" 상에 설치된다. 효소 접합에서, 효소는 항체, 항체 단편, 또는 항원-결합 단편 상에서 접근 가능한 아미노산 잔기와 링커의 결합을 매개한다. 효소 접합의 예는 소르타제를 이용하는 펩타이드 전달, 미생물 트랜스글루타미나제를 이용하는 펩타이드 전달 및 N-글리칸 조작을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 화학적 접합 및 효소 접합은 또한 순차적으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 효소 접합은 또한 후속적 화학적 접합에서 이용될 "Ab" 상의 독특한 반응 핸들을 설치하는 데 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 이형이작용성 기는 전문이 참조에 의해 인용된 PCT 공개 WO 2018/200812, WO 2018/100558에 개시된 임의의 것일 수 있다.



[0380] 일부 실시형태에서, "Q"는



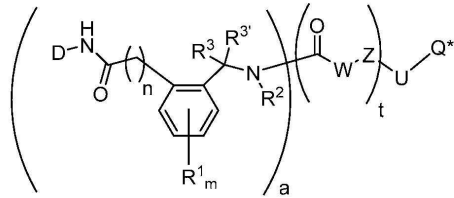
[0381] 로부터 선택되고;

[0382] 식 중,

[0383] 는 U에 대한 부착 지점이거나, 또는 U가 존재하지 않을 때, Z에 대한 부착 지점이고; 그리고

[0384] * 는 U'에 대한 부착 지점이거나, 또는 U'가 존재하지 않을 때, Ab에 대한 부착 지점이다.

[0385] 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 하기 화학식 (XX)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.



[0386] 식 중, n, m, a, t, D-NH-, R¹, R², R³, R^{3'}, W, Z 및 U는 본 명세서에 기재된 바와 같고, 여기서, Q*는 항체, 항체 단편, 또는 항원-결합 단편에 접합할 수 있는 반응성 작용기이다. 적합한 Q* 기의 예는 활성화된 카복실산, 에컨대, 산염화물 -C(O)-Cl 및 산 무수물, 할로아세트아마이드, 말레이미드, 알킨, 사이클로알킨, 에컨대, 사이클로옥틴, 옥사노보라다이에, 노보넨, 아자이드, 다이알릴 테트라진, 모노알릴 테트라진, 알데하이드, 케톤, 하이드록실아민, 비닐설폰 및 아지리딘을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, 반응성 작용기는 전문이 참조에 의해 인용된 PCT 공개 WO 2018/200812, WO 2018/100558에 개시된 임의의 것일 수 있다.

[0388] 항-CCR2 항체, 항체 단편 및 항원-결합 단편

[0389] "Ab"기는 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편이다. 항체는 특정 항원을 인식하고 결합할 수 있는 면역계에 의해 생성되는 단백질이다. 표적 항원은 일반적으로 다중 항체 상에서 CDR에 의해 인식되는 에피토프로 불리는데, 수많은 결합 부위를 가진다. 상이한 에피토프에 특이적으로 결합하는 각 항체는 상이한 구조를 가진다. 따라서, 하나의 항원은 하나 초과에 대응하는 항체를 가질 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 이들이 목적하는 생물학적 활성을 나타낸다면, 단클론성 항체, 단일도메인 항체, 다클론성 항체, 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체) 및 항체 단편을 구체적으로 아우른다. 항체는 무인, 인간, 인간화, 키메라일 수 있거나, 다른 종으로부터 유래될 수 있다. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York).

[0390] 유용한 항-CCR2 항체, 항체 단편 및 항원-결합 단편은 포유류 CC-케모카인 수용체 2(CCR2, CKR-2, CD192, MCP-1RA 또는 MCP-1RB로도 지칭됨) 또는 수용체의 일부에 결합하는 항체(면역글로불린) 또는 이의 기능성 단편(예를 들어, 항원-결합 단편)을 포함한다. 일 실시형태에서, 항체 또는 이의 단편은 인간 또는 레서스 CCR2 또는 이의 일부에 대해 특이성을 갖는다. 다른 실시형태에서, 항체 또는 단편은 수용체에 대한 리간드(예를 들어, MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4)의 결합을 차단하고, 수용체에 대한 리간드의 결합과 관련된 기능(예를 들어, 백혈구 수송)을 저해한다. 예를 들어, 본 명세서에 기재되는 바와 같이, 본 개시내용에서 유용한 항체 및 이의 단편은 인간 또는 레서스 CCR2 또는 이의 일부에 결합하고, 수용체에 대한 케모카인(예를 들어, MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4)의 결합을 차단할 수 있으며, 수용체에 대한 케모카인의 결합과 관련된 기능을 저해한다. 일 실시형태에

서, 항체는 단클론성 항체(mAb) LS132.1D9(1D9) 또는 인간 CCR2 또는 인간 CCR2의 일부에 대한 결합에 대해 1D9와 경쟁할 수 있는 항체이다. 앞서 언급한 항체의 기능성 단편이 또한 생각된다.

[0391] 일부 실시형태에서, CCR2에 대해 결합 특이성을 갖는 인간화된 면역글로불린 또는 이의 항원-결합 단편이 사용되며, 상기 면역글로불린은 비인간 유래(예를 들어, 설치류)의 항원 결합 영역 및 인간 유래의 면역글로불린의 적어도 일부(예를 들어, 인간 프레임워크 영역, 감마 유형의 인간 불변 영역)을 포함한다. 일 실시형태에서, 인간화된 면역글로불린 또는 이의 단편은 CCR2에 대한 결합에 대해 1D9와 경쟁할 수 있다. 일 실시형태에서, 인간화된 면역글로불린의 항원 결합 영역은 단클론성 항체 1D9(예를 들어, 아래에 나타내는 바와 같이 경쇄 및 중쇄의 가변 영역을 포함하는 면역글로불린)로부터 유래된다.

[0392] 예를 들어, 인간화된 면역글로불린 또는 이의 항원-결합 단편은 비인간 유래의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR), 및 인간 프레임워크 영역으로부터 유래된 프레임워크 영역(FR)을 포함하는 항원 결합 영역을 포함할 수 있다. 일 양상에서, CCR2에 대해 결합 특이성을 갖는 인간화된 면역글로불린은 CCR2 및 인간 유래의 경쇄로부터(예를 들어, HF-21/28로부터) 유래된 FR에 결합하는 비인간 유래의 항체로부터 유래된 적어도 하나의 CDR을 포함하는 경쇄 및 CCR2 및 인간 유래의 중쇄로부터(예를 들어, 4B4'CL로부터) 유래된 FR에 결합하는 비인간 유래의 항체로부터 유래된 CDR을 포함하는 중쇄를 포함한다. 다른 양상에서, 경쇄는 1D9 항체의 경쇄로부터 유래된 3개의 CDR을 포함하고, 중쇄는 1D9 항체의 중쇄로부터 유래된 3개의 CDR을 포함한다.

[0393] 일 실시형태에서, CCR2에 대해 결합 특이성을 갖는 인간화된 면역글로불린은 1D9 항체의 경쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 인간 경쇄 FR을 포함하고, 1D9 항체의 중쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 인간 중쇄 FR을 포함한다. 일 실시형태에서, 인간화된 면역글로불린은 본 명세서에 기재된 인간화된 중쇄 및 경쇄(예를 들어, 아래에 나타내는 경쇄의 가변 영역을 포함하는 인간화된 경쇄, 아래에 나타내는 중쇄의 가변 영역을 포함하는 인간화된 중쇄)를 포함한다. 또한 하나 이상의 인간화된 경쇄 및/또는 중쇄를 포함하는 인간화된 면역글로불린이 포함된다.

[0394] 다음은 인간화된 1D9 항체의 카파 경쇄 가변 영역(VL)의 아미노산 서열을 나타낸다. CDR을 볼드체로 강조한다:

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCKSSQSL DSDGKTFNLW FQQRPGQSPR
RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEADVGV YYCWQGTTHFP
YTFGQGRLE IK. (서열번호 1)

[0395]

[0396] 다음은 인간화된 1D9 항체의 중쇄 가변 영역(VH)의 아미노산 서열을 나타낸다. CDR을 볼드체로 강조한다:

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS AYAMNWVRQA PGKGLEWVGR
IRTKNNYAT YYADSVKDRF TISRDDSKNT LYLQMNSLKT EDTAVYYCTT
FYNGVWGQG TLVTVSS. (서열번호 2)

[0397]

[0398] 특정 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 24 내지 39를 포함하는 경쇄 CDR1; 서열번호 1의 아미노산 55 내지 61을 포함하는 경쇄 CDR2; 서열번호 1의 아미노산 94 내지 102를 포함하는 경쇄 CDR3; 서열번호 2의 아미노산 31 내지 35를 포함하는 중쇄 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 50 내지 68을 포함하는 중쇄 CDR2; 및 서열번호 2의 아미노산 101 내지 106을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다.

[0399] 일부 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0400] 일부 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0401] 일부 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다.

[0402] 일부 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다.

[0403] 일부 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산 서열

을 포함한다.

- [0404] 특정 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 중쇄 불변 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 중쇄 불변 영역은 인간 면역글로불린 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂ 중쇄 불변 영역으로부터 선택된다.
- [0405] 일부 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 경쇄 불변 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 불변 영역은 인간 면역글로불린 IgG_k 및 IgG_λ 경쇄 불변 영역으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0406] 특정 실시형태에서, 항-CCR2 항체, 항-CCR2 항체 단편 또는 항-CCR2 항원-결합 단편은 서열번호 2의 가변 중쇄 영역 및 서열번호 1의 가변 경쇄 영역을 포함하는 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.
- [0407] "동일성 백분율"은 두 서열(예를 들어, 아미노산 서열 또는 핵산 서열) 사이의 동일성 정도를 지칭한다. 동일성 백분율은 서열 사이의 동일성을 최대화하기 위해 갭을 도입하여 두 서열을 정렬함으로써 결정될 수 있다. 정렬은 당업계에서 공지된 프로그램을 이용하여 생성될 수 있다. 본 명세서의 목적을 위해, 뉴클레오타이드 서열의 정렬은 디폴트 파라미터의 blastn 프로그램 세트에 따라 수행될 수 있고, 아미노산 서열의 정렬은 디폴트 파라미터에서 blastp 프로그램 세트에 의해 수행될 수 있다(월드와이드 웹, ncbi.nlm.nih.gov에서 미국 국립생물정보센터(NCBI)를 참조한다).
- [0408] 참조 CCR2 항체"와 동일한 에피토프에 결합하는" CCR2 항체는 참조 CCR2 항체와 동일한 CCR2 아미노산 잔기에 결합하는 항체를 지칭한다. 참조 CCR2 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 CCR2 항체의 능력은 수소/중수소 교환 분석에 의해 결정된다(문헌[Coales *et al.* Rapid Commun. Mass Spectrom. 2009;23: 639-647]을 참조한다).
- [0409] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2에 열거된 항체의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 85% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 85% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0410] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 항체의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0411] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 96% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 96% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR1에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 97% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호의 VL 서열과 적어도 97% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0412] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1

및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 인간, 사이노몰거스 원숭이, 래트 및/또는 마우스 CCR2에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 85% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 85% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 인간, 사이노몰거스 원숭이, 래트 및/또는 마우스 CCR2에 결합한다.

[0413] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 항체의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 인간, 사이노몰거스 원숭이, 래트 및/또는 마우스 CCR2에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 인간, 사이노몰거스 원숭이, 래트 및/또는 마우스 CCR2에 결합한다.

[0414] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 96% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 96% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 인간, 사이노몰거스 원숭이, 래트 및/또는 마우스 CCR2에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 97% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 97% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 인간, 사이노몰거스 원숭이, 래트 및/또는 마우스 CCR2에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 인간, 사이노몰거스 원숭이, 래트 및/또는 마우스 CCR2에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CCR2에 결합하고, 서열번호 1 및 서열번호 2(즉, 서열번호 2의 3개의 VH CDR 및 서열번호 1의 3개의 VL CDR)에 열거된 항체의 6개의 CDR을 포함하며, 서열번호 2의 VH 서열과 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 1의 VL 서열과 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 인간, 사이노몰거스 원숭이, 래트 및/또는 마우스 CCR2에 결합한다.

[0415] 특정 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물은 PD-1에 결합하는 항체, 항체 단편 또는 항체의 항원-결합 단편 및/또는 PD-L1에 결합하는 항체, 항체 단편 및/또는 항체의 항원-결합 단편과 조합된다. PD-1은 이의 리간드 PD-L1의 결합 시, 예를 들어, 항원-특이적 T 세포의 세포자멸사를 촉진시키고 조절 T 세포의 세포자멸사를 감소시킴으로써, 면역계를 조절하는 활성화된 T 세포, B 세포 및 단핵구 상에서 발현되는 면역 관문 단백질이다. PD-L1은 면역계에 의한 종양 침윤 검출 및 제거를 돕기 위해 종양에 의해 발현될 수 있다. PD-1/PD-L1 상호작용의 길항적 저해는 유리하게는 T 세포 활성화를 증가시키고, 면역계에 의한 종양 세포의 인식 및 제거를 향상시킨다. 특정 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 펩블리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 피미발리맙, 스파르탈리주맙, 캄렐리주맙, 신틸리맙, 티스렐리주맙, 토리팔리맙, 도스탈리맙, 예자벤리맙, INCMGA0012, AMP-224, AMP-514, SYM-021, LZM-009, CS-1003, SYN-125, GNR-051, MW-11, TY-101, BAT-1306, F520, 사산리맙, 펜폴리맙, 푸코텐리맙, CX-188, 짐베렐리맙 및 테보텔리맙, 또는 인간 PD-1 또는 PD-1의 일부에 대한 결합을 위해 펩블리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 피미발리맙, 스파르탈리주맙, 캄렐리주맙, 신틸리맙, 티스렐리주맙, 토리팔리맙, 도스탈리맙, 예자벤리맙, INCMGA0012, AMP-224, AMP-514, SYM-021, LZM-009, CS-1003, SYN-125, GNR-051, MW-11, TY-101, BAT-1306, F520, 사산리맙, 펜폴리맙, 푸코텐리맙, CX-188, 짐베렐리맙 또는 테보텔리맙과 경쟁할 수 있는 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0416] 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 펩블리주맙이다.

[0417] 특정 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두발루맙, 코시벨리맙, MSB-2311, ZKAB-001, FAZ-053, MDX-1105, CBT-502, IMC-001, RC-98, KL-A167, GR-1405, 로다폴리맙, 수게말리맙, 엔바폴리맙, 오푸

콜리맵 및 가리불리맵 또는 인간 PD-L1 또는 PD-L1의 일부에 대한 결합에 대해 아테졸리주맵, 아벨루맵, 두발루맵, 코시벨리맵, MSB-2311, ZKAB-001, FAZ-053, MDX-1105, CBT-502, IMC-001, RC-98, KL-A167, GR-1405, 로다폴리맵, 수계말리맵, 엔바폴리맵, 오푸콜리맵 또는 가리불리맵과 경쟁할 수 있는 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0418] 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맵이다.
- [0419] 화학식 (I)의 화합물과의 조합에 유용한 추가적인 항-PD-1 항체는 NAT105(abcam ab5287); CAL20(abcam ab237728); EPR20665(abcam ab214421); NAT105-키메라(abcam ab216352); EPR4877(2)(abcam ab137132); EP23119-111(abcam ab 243644); SP269(abcam ab227681); PDCD1/1410R(abcam ab218475); EH12.22H7(abcam ab 223562); PDCD1/922(abcam ab216037); J43(abcam ab95789); J43.1(abcam ab 218768); SPM597(abcam ab218474); J116(abcam ab171267); RMP1-14(abcam ab171265); EPR18017-203(abcam ab242810); EPR18017-253(abcam ab242562); EPR22234-127(abcam ab259656); EPR22234-42(abcam ab259655); MAB10861(R&D Systems); MAB10864(R&D Systems); MAB1086(R&D Systems); MAB10863(R&D Systems); MAB8578(R&D Systems); MAB77381(R&D Systems); MAB7738(R&D Systems); MAB10866(R&D Systems); MAB10865(R&D Systems); MAB10867(R&D Systems); SJ01-91(HUABIO); 1F2(HUABIO); 3A11 PD-1 blocking Ab(HUABIO); J43(MyBioSource); RMP1-30(MyBioSource); 8A1(BIOSS Inc.); BSR1(Abeomics); PDCD1/922(Abeomics); PD1.3.1.3(Miltenyi Biotec); abx174170(Abbexa); PDCD1(Fitzgerald Industries Intl.); J116(United States Biological); BSR1(Nordic BioSite); PDCD1(BosterBio); 10B3(ProSci Inc.); 4C7(ProSci Inc.); mhT28 blocking(Sino Biological Inc.); HF06 중화(Sino Biological Inc.); 또는 TK12-02(Creative Diagnostics) 또는 PD-1 또는 PD-1의 일부에 대한 결합에 대해 앞서 언급한 항체 중 어느 것과 경쟁할 수 있는 항체이다.
- [0420] 화학식 (I)의 화합물과의 조합에 유용한 추가적인 항-PD-L1 항체는 28-8(abcam ab205921); EPR19759(abcam ab213524); CAL10(abcam ab237726); 73-10(abcam ab228415); EPR20529(abcam ab213480); SP142(abcam ab228462); BLR020E(abcam ab243877); RM1012(abcam ab282458); EPR23546-160(abcam ab252436); ABM4E54(abcam ab210931); PDL1/2744(abcam ab269674); MIH5(abcam ab269253); 29E.2A3(abcam ab259283); MIH6(abcam ab80276); BMS-5-28(abcam ab278010); EPR23939-25(abcam ab278009); MAB1561(R&D Systems); MAB90871(R&D Systems); MAB1562(R&D Systems); MAB90783(R&D Systems); MAB10348(R&D Systems); MAB1561R(R&D Systems); MAB9078(R&D Systems); MAB10355(R&D Systems); MIH1(Invitrogen); MIH5(Invitrogen); RM320(Invitrogen); JJ08-95(Invitrogen); 485(Invitrogen); MA5-37856(Invitrogen); 10D4(Invitrogen); 15(Invitrogen); 1-111A(Invitrogen); 2B11D11(Proteintech); OTI2C7(OriGene); UMAB228(OriGene); OR-5H8(OriGene); OTI9E12(OriGene); UMAB229(OriGene); OTI11G4(OriGene); OTI2C11(OriGene); OTI14H4(OriGene); OTI7D4(OriGene); OTI9E1(OriGene); OTI11G4(OriGene); OTI2F5(OriGene); OTI9A5(OriGene); OTI3F5(OriGene); OTI4G4(OriGene); OTI9E5(OriGene); OTI13G7(OriGene); OTI9E10(OriGene); OTI20G10(OriGene); OR-5E3(OriGene); OTI4D4(OriGene); OTI13D11(OriGene); OTI8C8(OriGene); OTI16H9(OriGene); OTI12G7(OriGene); OTI1B12(OriGene); OTI2E3(OriGene); OTI2B12(OriGene); OR-5E4(OriGene); BLR020E(Bethyl Laboratories); 3F2(Abnova); 3D2(Abnova); 2E6(Abnova); 2E11(Abnova); 1H3(Abnova); 2C4(Abnova); Ac10(Abnova); 3C10(Abnova); 또는 4C11(Abnova) 또는 PD-L1 또는 PD-L1의 일부에 대한 결합에 대해 임의의 앞서 언급한 항체와 경쟁할 수 있는 항체이다.
- [0421] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "항체"는 또한 전장 면역글로불린 분자 또는 전장 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 즉, 관심 대상의 표적 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 지칭하며, 이러한 표적은 암세포 또는 자가면역질환과 관련된 자가면역항체를 생성하는 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 개시된 면역글로불린은 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD 및 IgA), 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 면역글로불린 분자의 하위부류를 가질 수 있다. 면역글로불린은 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 그러나, 일 양상에서, 면역글로불린은 인간, 뮤린 또는 토끼 유래이다.
- [0422] 나노바디로도 알려진 "단일 도메인 항체"라는 용어는 분자량이 약 12kDa 내지 약 15kDa인 단일 단량체 가변 항체 도메인으로 이루어진 항체 단편이다. 단일 바디 항체는 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄에 기반할 수 있다. 단일 도메인 항체의 예는 V_HH 단편 및 V_{NAR} 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예를 들어, 문헌[Harmsen M. et al. *Applied Microbiology and Biotechnology* 77 (1): 13-22] 참조.
- [0423] "항체 단편"은 무손상 항체의 일부, 일반적으로 항원 결합 또는 이의 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는

Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 다이어바디(diabody); 선형 항체; Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편, 항-이디오타입(항-Id) 항체, CDR(상보성 결정 영역), 및 암세포 항원, 바이러스 항원 또는 미생물 항원, 단일쇄 분자에 면역특이적으로 결합하는 임의의 상기의 에피토프-결합 단편; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함한다.

- [0424] "무손상 항체"는 항원-결합 가변 영역뿐만 아니라 경쇄 불변 도메인(CL) 및 중쇄 불변 도메인, CH1, CH2 및 CH3 을 포함하는 것이다. 불변 도메인은 천연 서열 불변 도메인(예를 들어, 인간 천연 서열 불변 도메인) 또는 이의 아미노산 서열 변이체일 수 있다.
- [0425] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "단클론성 항체"는 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 얻은 항체를 지칭하며, 즉, 집단을 포함하는 개개 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 유래 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단클론성 항체는 고도로 특이적이며, 단일 항원 부위로 향한다. 더 나아가, 상이한 결정소(에피토프)로 향하는 상이한 항체를 포함하는 다클론성 항체 제조와 대조적으로, 각각의 단클론성 항체는 항원 상의 단일 결정소로 향한다. 이들의 특이성에 추가로, 단클론성 항체는 다른 항체에 의한 오염없이 합성될 수 있다는 점에서 유리하다. 수식어 "단클론성"은 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 얻어지는 바와 같은 항체의 특징을 나타내고, 임의의 특정 방법에 의해 항체 집단을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 예를 들어, 본 개시 내용에 따라 사용될 단클론성 항체는 문헌[Kohler et al (1975) Nature 256:495]에 의해 처음 기재된 하이브리도마 방법에 의해 생성될 수 있거나, 재조합 DNA 방법에 의해 생성될 수 있다(미국 특허 제4,816,567호 참조). "단클론성 항체"는 또한, 예를 들어, 문헌[Clackson et al (1991) Nature, 352:624-628; Marks et al (1991) J. Mol. Biol., 222:581-597]에 기재된 기법을 이용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.
- [0426] 본 명세서의 단클론성 항체는 이들이 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래된 항체에서 대응하는 서열과 동일하거나 상동성이거나 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 반면,쇄(들)의 나머지는 다른 종으로부터 유래된 항체에서 대응하는 서열과 동일하거나 상동성이거나 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 "키메라" 항체를 특이적으로 포함한다(미국 특허 제4,816,567호; 및 문헌[Morrison et al (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855]). 본 명세서의 관심 대상의 키메라 항체는 비인간 영장류(예를 들어, 구세계 원숭이, 유인원 등) 및 인간 불변 영역 서열로부터 유래된 가변 도메인 항원-결합 서열을 포함하는 "영장류화된" 항체를 포함한다.
- [0427] 단클론성 항체(MAb)를 생성하기 위해 다양한 방법이 사용되었다. 단일 유형의 항체를 생성하는 클로닝된 세포주를 지칭하는 하이브리도마 기술은 마우스(뮤린), 햄스터, 래트 및 인간을 포함하는 다양한 종의 세포를 사용한다. MAb를 제조하기 위해 사용되는 다른 방법은 재조합 DNA 기법을 포함하는 유전자 조작을 사용한다. 이들 기법으로부터 생성된 단클론성 항체는 특히 키메라 항체 및 인간화된 항체를 포함한다. 키메라 항체는 한 가지 초과 유형의 종으로부터의 영역을 암호화하는 DNA를 조합한다. 예를 들어, 키메라 항체는 마우스로부터의 가변 영역 및 인간으로부터의 불변 영역으로부터 유래될 수 있다. 인간화된 항체는 비인간 부분을 포함한다고 해도 대체로 인간으로부터 유래된다. 키메라 항체와 같이, 인간화된 항체는 완전 인간 불변 영역을 함유할 수 있다. 키메라 항체와 달리, 가변 영역은 인간으로부터 부분적으로 유래될 수 있다. 인간화된 항체의 비인간, 합성 부분은 종종 뮤린 항체에서의 CDR로부터 유래된다. 임의의 사건에서, 이들 영역은 항체가 특정 항원을 인식하고 이에 결합하는 것을 가능하게 하는 데 결정적이다. 진단 및 단기간 요법에 대해 유용하지만, 뮤린 항체는 유해한 면역원성 반응의 위험을 증가시키는 일 없이 장기간 동안 사람에게 투여될 수 없다. 인간 항-마우스 항체(HAMA)로 불리는 이 반응은 인간 면역계가 뮤린 항체를 이물질로서 인식하고 이를 공격할 때 일어난다. HAMA 반응은 독성 쇼크 또는 심지어 사망을 야기할 수 있다.
- [0428] 키메라 및 인간화된 항체는 투여된 항체의 비인간 부분을 최소화함으로써 HAMA 반응 가능성을 감소시킨다. 더 나아가, 키메라 및 인간화된 항체는 2차 인간 면역 반응, 예컨대, 항체 의존적 세포의 세포독성을 활성화시키는 추가적인 이점을 가질 수 있다.
- [0429] 무손상 항체는 항체의 Fc 영역(천연 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인하는 해당 생물학적 활성을 지칭하는 하나 이상의 "효과기 기능"을 가질 수 있다. 항체 효과기 기능의 예는 C1q 결합; 보체 의존적 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절 등을 포함한다.
- [0430] 이들의 중쇄 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라서, 무손상 항체는 상이한 "부류"가 부여될 수 있다. 무손상 항체의 5가지 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM가 있으며, 이들 중 몇몇은 "하위부류"(아이소타입), 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA 및 IgA2로 다시 분할될 수 있다. 상이한 부류의 항체에 대응하는 중쇄 불

변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다. 상이한 부류의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 입체 배치는 잘 공지되어 있다.

- [0431] 유용한 비면역반응성 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드 항체는 트랜스페린, 표피성장인자("EGF"), 붐베신, 가스트린, 가스트린-방출 펩타이드, 혈소판-유래 성장인자, IL-2, IL-6, 전환 성장 인자("TGF"), 예컨대, TGF-알파 및 TGF-베타, 백시니아 성장인자("VGF"), 인슐린 및 인슐린-유사 성장인자 I 및 II, 렉틴 및 저밀도 리포 단백질로부터의 아포단백질을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0432] 유용한 다클론성 항체는 면역화된 동물의 혈청으로부터 유래된 항체 분자의 이질적 집단이다. 당업계에서 잘 공지된 다양한 절차는 관심 대상의 항원에 대한 다클론성 항체의 생성을 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 다클론성 항체의 생성을 위해, 토끼, 마우스, 래트 및 기니피그를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 다양한 숙주 동물은 관심 대상의 항원 또는 이의 유도체에 의한 주사에 의해 면역화될 수 있다. 숙주 종에 따라 면역학적 반응을 증가시키기 위해 다양한 아쥬반트가 사용될 수 있으며, 프로인트(완전 및 불완전) 아쥬반트, 미네랄 겔, 예컨대, 수산화알루미늄, 표면 활성 물질, 예컨대, 라이소레스틴, 플루로닉 폴리올, 다가 음이온, 펩타이드, 오일 에멀션, 구멍샷갓조개 헤모시아닌, 다이아이트로페놀 및 잠재적으로 유용한 인강 아쥬반트, 예컨대, BCG(바실루스 칼메트-게링(bacille Calmette-Guerin)) 및 코리네박테리움 파뮴(corynebacterium parvum)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이러한 아쥬반트는 또한 당업계에 잘 공지되어 있다.
- [0433] 유용한 단클론성 항체는 특정 항원 결정소(예를 들어, 암세포 항원, 바이러스 항원, 미생물 항원, 단백질, 펩타이드, 탄수화물, 화학물질, 핵산 또는 이들의 단편)에 대한 항체의 균질한 집단이다. 관심 대상의 항원에 대한 단클론성 항체(mAb)는 배양물에서 연속적 세포주에 의해 항체 분자의 생성을 제공하는 당업계에 공지된 임의의 기법을 이용함으로써 제조될 수 있다. 이들은 본래 Kohler 및 Milstein에 의해 기재된 하이브리도마 기법(1975, Nature 256, 495-497), 인간 B 세포 하이브리도마 기법(Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72), 및 EBV-하이브리도마 기법(Cole et al., 1985, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이러한 항체는 IgG, IgM, IgE, IgA 및 IgD을 포함하는 임의의 면역글로불린 부류 및 이들의 임의의 하위부류를 가질 수 있다. 본 개시내용에서 사용되는 mAb를 생성하는 하이브리도마는 시험관내 또는 생체내에서 배양될 수 있다.
- [0434] 유용한 단클론성 항체는 인간 단클론성 항체, 인간화된 단클론성 항체, 항체 단편, 또는 키메라 인간-마우스(또는 다른 종) 단클론성 항체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 인간 단클론성 항체는 당업계에 공지된 임의의 수많은 기법에 의해 생성될 수 있다(예를 들어, 문헌[Teng et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80, 7308-7312; Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4, 72-79; 및 Olsson et al., 1982, Meth. Enzymol. 92, 3-16]).
- [0435] 항체는 또한 이중특이성 항체일 수 있다. 이중특이성 항체의 제조 방법은 당업계에 공지되어 있다. 전장 이중특이성 항체의 전통적인 생성은 두 면역글로불린 중쇄-경쇄쌍의 공동발현에 기반하며, 여기서, 두 쌍은 상이한 특이성을 가진다(Milstein et al., 1983, Nature 305:537-539). 면역글로불린 중쇄 및 경쇄의 무작위 분류(assortment) 때문에, 이들 하이브리도마(퀴드로마)는 10가지 상이한 항체 분자의 잠재적 혼합물을 생성하며, 이 중 하나만이 정확한 이중특이성 구조를 가진다. 보통 친화도 크로마토그래피 단계를 이용하여 수행되는 정확한 분자의 정제는 오히려 복잡하며, 생성물 수율이 낮다. 유사한 절차가 WO 93/08829, 및 문헌[Traunecker et al., EMBO J. 10:3655-3659 (1991)]에 개시되어 있다.
- [0436] 상이한 접근에 따르면, 목적하는 결합 특이성을 갖는 항체 가변 도메인(항체-항원 조합 부위)는 면역글로불린 불변 도메인 서열에 융합된다. 융합은 힌지, C_H2, 및 C_H3 영역의 적어도 일부를 포함하는 면역글로불린 중쇄 불변 도메인과의 융합일 수 있다. 제1 중쇄 불변 영역(C_H1)은 융합 중 적어도 하나에 존재하는 경쇄 결합에 필수적인 부위를 함유할 수 있다. 면역글로불린 중쇄 융합 및, 필요하다면, 면역글로불린 경쇄를 암호화하는 서열을 갖는 핵산은 별개의 발현 벡터에 삽입되며, 적합한 숙주 유기체에 공동 형질감염된다. 이는 작제물에서 사용되는 3개의 폴리펩타이드 쌍의 동일하지 않은 비가 최적의 수율을 제공할 때, 실시형태에서 3개의 폴리펩타이드 단편의 상호 비율을 조정함에 있어서 큰 유연성을 제공한다. 그러나, 동일한 비의 적어도 2개의 폴리펩타이드 쌍의 발현이 고수율을 초래할 때, 또는 비가 특정 유의도를 가질 때, 하나의 발현 벡터에서 2 또는 모두 3개의 폴리펩타이드 쌍에 대해 암호화 서열을 삽입할 수 있다.
- [0437] 이중특이성 항체는 하나의 아암에서 제1 결합 특이성을 갖는 혼성 면역글로불린 중쇄, 및 다른 아암에서 혼성 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍(제2 결합 특이성을 제공)을 가질 수 있다. 이 비대칭 구조는 원치않는 면역글로불린

쇄 조합물로부터의 목적하는 이중특이성 화합물의 분리를 용이하게 하는데, 이중특이성 분자 중 절반에서만 면역글로불린 경쇄의 존재가 손쉬운 분리 방법을 제공하기 때문이다(WO 94/04690; 문헌[Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 1986, 121:210; Rodrigues et al., 1993, *J. of Immunology* 151:6954-6961; Carter et al., 1992, *Bio/Technology* 10:163-167; Carter et al., 1995, *J. of Hematotherapy* 4:463-470; Merchant et al., 1998, *Nature Biotechnology* 16:677-681]). 이러한 기법을 이용하여, 이중특이성 항체는 본 명세서에 정의된 바와 같은 질환의 치료 또는 예방에서 ADC로서 접합을 위해 제조될 수 있다.

[0438] 혼성체 또는 이작용성 항체는 생물학적으로, 즉, 세포 융합 기법에 의해, 또는 화학적으로, 가교제 또는 이황화물-브리지 형성 시약에 의해 유래될 수 있으며, 전체 항체 또는 이의 단편을 포함할 수 있다(유럽 특허 제 105360호; WO 83/03679; 유럽 특허 제 217577호).

[0439] 항체는 암세포 항원, 바이러스 항원 또는 미생물 항원에 면역특이적으로 결합하는 항체 또는 종양 세포 또는 기질에 결합된 다른 항체의 기능적으로 활성인 단편, 유도체 또는 유사체일 수 있다. 이와 관련하여, "기능적으로 활성인"은 단편, 유도체 또는 유사체가, 단편, 유도체 또는 유사체가 유래된 항체가 인식하는 것과 동일한 항원을 인식하는 항-이디오타입 항체를 유발할 수 있다는 것을 의미한다. 구체적으로는, 예시적인 실시형태에서, 면역글로불린 분자의 이디오타입의 항원성은 항원을 특이적으로 인식하는 CDR 서열에 대해 C-말단인 CDR 서열 및 프레임워크에 의해 향상될 수 있다. CDR 서열이 항원에 결합하는지를 결정하기 위해, 당업계에서 공지된 임의의 결합 분석 방법에 의한 항원에 의한 결합 분석(예를 들어, BIA 코어 분석)에서 CDR 서열을 함유하는 합성 펩타이드가 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Kabat et al., 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md.; Kabat E et al., 1980, *J. of Immunology* 125 (3):961-969] 참조).

[0440] 다른 유용한 항체는 항체의 단편을 포함하며, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 가변 영역, 경쇄 불변 영역 및 중쇄의 CH1 도메인을 함유하는 F(ab')₂ 단편은 항체 분자, 및 F(ab')₂ 단편의 이황화 브리지를 환원시킴으로써 생성될 수 있는 Fab 단편의 펩신 분해에 의해 생성될 수 있다. 다른 유용한 항체는 항체의 중쇄 및 경쇄 이량체, 또는 이들의 임의의 최소 단편, 예컨대, Fv 또는 단일쇄 항체(SCA)(예를 들어, 미국 특허 제 4,946,778호; 문헌[Bird, 1988, *Science* 242:423-42; Huston et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; 및 Ward et al., (1989) *Nature* 334:544-54]에 기재됨), 또는 항체와 동일한 특이성을 갖는 임의의 다른 분자이다.

[0441] 추가적으로, 표준 재조합 DNA 기법을 이용하여 제조될 수 있는 인간과 비인간 부분을 둘 다 포함하는 재조합 항체, 예컨대, 키메라 및 인간화된 단클론성 항체가 유용한 항체이다. 키메라 항체는 상이한 부분이 상이한 동물 종으로부터 유래된 분자, 예컨대, 무린 단클론성으로부터 유래된 가변 영역 및 인간 면역글로불린 불변 영역을 갖는 것이다. (예를 들어, Cabilly 등의 미국 특허 제 4,816,567호; 및 Boss 등의 미국 특허 제 4,816,397호). 인간화된 항체는 비인간 종으로부터의 하나 이상의 상보성 결정 영역(complementarity determining region: CDR) 및 인간 면역글로불린 분자로부터의 프레임워크 영역을 갖는 비인간 종으로부터의 항체 분자이다. (예를 들어, Queen의 미국 특허 제 5,585,089호) 이러한 키메라 및 인간화된 단클론성 항체는 당업계에서 공지된 재조합 DNA 기법에 의해, 예를 들어, WO 87/02671; 유럽 특허 제 184,187호; 유럽 특허 제 171496호; 유럽 특허 제 173494호; WO 86/01533; 미국 특허 제 4,816,567호; 유럽 특허 제 12023호; 문헌[Berter et al., 1988, *Science* 240:1041-1043; Liu et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-3443; Liu et al., 1987, *J. Immunol.* 139:3521-3526; Sun et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-218; Nishimura et al., 1987, *Cancer. Res.* 47:999-1005; Wood et al., 1985, *Nature* 314:446-449; 및 Shaw et al., 1988, *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559; Morrison, 1985, *Science* 229:1202-1207; Oi et al., 1986, *BioTechniques* 4: 214]; 미국 특허 제 5,225,539호; 문헌[Jones et al., 1986, *Nature* 321 :552-525; Verhoeyan et al. (1988) *Science* 239:1534; 및 Beidler et al., 1988, *J. Immunol.* 141:4053-4060]에 기재된 방법을 이용하여 생성될 수 있다.

[0442] 완전 인간 항체는 내인성 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 유전자를 발현시킬 수 없지만, 인간 중쇄 및 경쇄 유전자를 발현시킬 수 있는 유전자이식 마우스를 이용하여 생성될 수 있다. 유전자이식 마우스는 선택된 항원, 예를 들어, 본 개시내용의 폴리펩타이드의 모두 또는 일부를 이용하여 정상적인 방식에서 면역화된다. 항원으로 향하는 단클론성 항체는 통상적인 하이브리도마 기술을 이용하여 얻을 수 있다. 유전자이식 마우스에 의해 보유된 인간 면역글로불린 이식유전자는 B 세포 분화 동안 재배열되며, 후속적으로, 종류 변환(class switching) 및 체 세포 돌연변이를 겪는다. 따라서, 이러한 기법을 이용하여, 치료적으로 유용한 IgG, IgA, IgM 및 IgE 항체를 생성할 수 있다. 인간 항체를 생성하기 위한 이 기술의 검토를 위해, Lonberg 및 Huszar의 문헌[1995, *Int. Rev.*

Immunol. 13:65-93]을 참조한다. 인간 항체 및 인간 단클론성 항체를 생성하기 위한 이런 기술 및 이러한 항체를 생성하기 위한 프로토콜의 상세한 논의를 위해, 예를 들어, 미국 특허 제5,625,126호; 제5,633,425호; 제5,569,825호; 제5,661,016호; 제5,545,806호 참조. 다른 인간 항체는, 예를 들어, Abgenix, Inc.(캘리포니아주 프리몬트에 소재) 및 Genpharm(캘리포니아주 새너제이에 소재)로부터 상업적으로 얻을 수 있다.

[0443] 선택된 에피토프를 인식하는 완전 인간 항체는 "가이드된 선택(guided selection)"으로 지칭되는 기법을 이용하여 생성될 수 있다. 이 접근에서, 동일한 에피토프를 인식하는 완전 인간 항체의 선택을 가이드하기 위해 선택된 비인간 단클론성 항체, 예를 들어, 마우스 항체가 사용된다. (Jespers et al. (1994) Biotechnology 12:899-903). 과거 디스플레이 라이브러리를 포함하는 당업계에서 공지된 다양한 기법을 이용하여 인간 항체가 또한 생성될 수 있다(Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991)).

[0444] 항체는 항체의 융합 단백질, 또는 이의 기능적으로 활성인 단편일 수 있으며, 예를 들어, 이때 항체가 아닌 다른 단백질의 아미노산 서열(또는 이의 일부, 예컨대, 단백질의 적어도 10, 20 또는 50개의 아미노산 부분)에 대해 N-말단 또는 C-말단에서 항체가 공유 결합(예를 들어, 펩타이드 결합)을 통해 융합된다. 항체 또는 이의 단편은 불변 도메인의 N-말단에서 다른 단백질에 공유적으로 연결될 수 있다.

[0445] 항체가 이의 항원 결합 면역특이성을 보유하는 것을 이러한 공유 부착이 가능하게 한다면, 항체는 변형된, 즉, 임의의 유형의 분자의 공유 부착에 의해 변형된 유사체 및 유도체를 포함한다. 예를 들어, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 항체의 유도체 및 유사체는, 예를 들어, 글리코실화, 아세틸화, 페길화, 포스포릴화, 아마이드화, 공지된 보호/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해 절단, 세포 항체 단위에 대한 결합 또는 다른 단백질 등에 의해 추가로 변형된 것을 포함한다. 임의의 수많은 화학적 변형은 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 폼일화, 투니카 마이신의 존재 하의 대사 합성 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 공지된 기법에 의해 수행될 수 있다. 추가적으로, 유사체 또는 유도체는 하나 이상의 비천연 아미노산을 함유할 수 있다.

[0446] 항체 약물 접합체에서 항체는 Fc 수용체와 상호작용하는 아미노산 잔기에서 변형(예를 들어, 치환, 결실 또는 첨가)을 갖는 항체를 포함한다. 특히, 항체는 항-Fc 도메인과 FcRn 수용체 사이의 상호작용에 관련된 것으로 확인된 아미노산 잔기에서 변형을 갖는 항체를 포함한다(예를 들어, WO 97/34631 참조). 암세포 항원에 면역특이적인 항체는, 예를 들어, Genentech(캘리포니아주 샌프란시스코에 소재)로부터 상업적으로 얻거나 또는 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예를 들어, 화학적 합성 또는 재조합 발현 기법에 의해 생성될 수 있다. 암세포 항원에 면역특이적인 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은, 예를 들어, GenBank 데이터베이스 또는 이와 유사한 데이터베이스, 문헌 간행물로부터 또는 일상적인 클로닝 및 서열분석에 의해 얻을 수 있다.

[0447] ADC의 항체는 단클론성 항체, 예를 들어, 무린 단클론성 항체, 키메라 항체, 또는 인간화된 항체일 수 있다. 항체는 항체 단편, 예를 들어, Fab 단편일 수 있다.

[0448] 암 치료 또는 예방을 위한 공지된 항-CCR2 항체는 ADC로서 접합될 수 있다. 암세포 항원에 면역특이적인 항체는 상업적으로 얻을 수 있거나, 또는, 예를 들어, 재조합 발현 기법과 같이 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 생성될 수 있다. 암세포 항원에 면역특이적인 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은, 예를 들어, GenBank 데이터베이스 또는 이와 유사한 데이터베이스, 문헌 간행물로부터 또는 일상적인 클로닝 및 서열분석에 의해 얻을 수 있다. 암 치료를 위해 이용 가능한 항체의 예는 STI-B020X(항-CCR2 단클론성 항체, Sorrento Therapeutics), MC-21(항-CCR2 인간화된 항체, University of Regensburg/MRC; 본 명세서에 참조에 의해 인용된 유럽 특허 제2004692호), 4.40A68G(Pfizer/Amgen; 본 명세서에 참조에 의해 인용된 미국 특허 제8710191호), UniTI-101(CSF-1R×CCR2 이중특이성 항체, Elstar Therapeutics), 및 본 명세서에 참조에 의해 인용된 WO97/31949를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0449] 용어 "아미노산 서열 변이체"는 천연 서열 폴리펩타이드와 일정 정도 다른 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 보통, 아미노산 서열 변이체는 천연 항체의 적어도 하나의 수용체 결합 도메인과 또는 천연 수용체의 적어도 하나의 리간드 결합 도메인과 적어도 약 70% 서열 동일성을 가질 것이며, 전형적으로, 이들은 이러한 수용체 또는 리간드 결합 도메인과 서열에 의해 적어도 약 80%, 더 전형적으로는, 적어도 약 90% 상동성일 것이다. 아미노산 서열 변이체는 천연 아미노산 서열의 아미노산 서열 내 특정 위치에서 치환, 결실 및/또는 삽입을 가진다. 아미노산은 통상적인 명칭, 1글자 및 3글자 암호에 의해 표기된다.

[0450] "서열 동일성"은 서열을 정렬하고, 필요하다면, 최대 서열 동일성 백분율을 달성하기 위해 갭을 도입한 후에 동일한 아미노산 서열 변이체 내 잔기의 백분율로서 정의된다. 정렬을 위한 방법 및 컴퓨터 프로그램은 당업계

에 잘 공지되어 있다. 한 가지 이러한 컴퓨터 프로그램은 1991년 12월 10일자에 워싱턴 D.C. 20559에 소재한 미국 저작권청에 사용자 문서와 함께 제출된 Genentech, Inc.가 만든 "Align 2"이다.

- [0451] 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기재하는 데 사용된다. 예시적인 FcR은 천연 서열 인간 FcR이다. 게다가, FcR은 IgG 항체에 결합하는 것(감마 수용체)일 수 있으며, 이들 수용체의 대립 유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함하는, Fc γ RI, Fc γ RII, 및 Fc γ RIII 하위부류의 수용체를 포함한다. Fc γ RII 수용체는 주로 이의 세포질 도메인에서 상이한 유사한 아미노산 서열을 갖는 Fc γ RIIA("활성화 수용체") 및 Fc γ RIIB("저해 수용체")를 포함한다. 활성화 수용체 Fc γ RIIA는 이의 세포질 도메인에서 면역수용체 타이로신-기반 활성화 모티프(ITAM)를 함유한다. 저해 수용체 Fc γ RIIB는 이의 세포질 도메인에서 면역수용체 타이로신-기반 저해 모티프(ITIM)를 함유한다. (문헌[M. in Daeron, Annu. Rev. Immunol., 15:203-234 (1997)] 참조). FcR은 문헌[Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol., 9:457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods, 4:25-34 (1994); 및 de Haas et al., J. Lab. Clin. Med., 126:330-41 (1995)]에서 검토되어 있다. 장래에 확인될 것을 포함하는 다른 FcR은 본 명세서에서 용어 "FcR"에 포함된다. 상기 용어는 또한 모계 IgG의 태아에 대한 전달을 초래하는 신생아 수용체인 FcRn을 포함한다(문헌[Guyer et al., J. Immunol., 117:587 (1976) 및 Kim et al., J. Immunol., 24:249 (1994)]).
- [0452] "보체 의존적 세포독성" 또는 "CDC"는 보체의 존재 하에 분자가 표적을 용해하는 능력을 지칭한다. 보체 활성화 경로는 동족 항원과 복합체화된 분자(예를 들어, 항체)에 대한 보체 시스템의 제1 성분(C1q)의 결합에 의해 저해된다. 보체 활성화를 평가하기 위해, 예를 들어, 문헌[Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods, 202:163 (1996)]에 기재된 바와 같은 CDC 분석이 수행될 수 있다.
- [0453] "천연 항체"는 보통 2개의 동일한 경쇄(L) 및 2개의 동일한 중쇄(H)로 구성된 약 150,000 달톤의 이형사량체 당단백질이다. 각 경쇄는 1개의 공유 이황화 결합에 의해 중쇄에 연결되는 한편, 이황화 결합의 수는 상이한 면역글로불린 아이소타입의 중쇄 중에서 변한다. 각 중쇄 및 경쇄는 또한 규칙적 간격을 갖는 쇠내 이황화 브리지를 가진다. 각 중쇄는 하나의 말단에 가변 도메인(VH)을 갖고, 이어서, 다수의 불변 도메인을 가진다. 각 경쇄는 하나의 말단에 가변 도메인(VL)을 갖고, 다른 말단에 불변 도메인을 가진다. 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인에 정렬되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인에 정렬된다. 특정 아미노산 잔기는 경쇄와 중쇄 가변 도메인 사이에 계면을 형성하는 것으로 여겨진다.
- [0454] 용어 "변수"는 가변 도메인의 특정 부분이 항체 중 서열에서 광범위하게 다르며 특정 항원에 대한 각 특정 항체의 결합 및 특이성에서 사용된다는 사실을 지칭한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인 전체적으로 균일하게 분포되지 않는다. 이는 경쇄와 중쇄 가변 도메인 둘 다에서 초가변 영역으로 불리는 3개의 세그먼트에 집중된다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역(FR)으로 불린다. 천연 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각 4개의 FR을 포함하며, 이는 주로 β -시트 입체배치를 채택하고, 3개의 초가변 영역에 의해 연결된 β -시트 구조의 루프 연결을 형성하고, 이의 일부를 형성한다. 각 쇠에서 초가변 영역은 FR에 의해 근위에 함께 유지되며, 다른 쇠로부터의 초가변 영역과 함께 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다(문헌[Kabat et al (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.] 참조). 불변 도메인은 항원에 대한 항체 결합에 직접 관련되지 않지만, 다양한 효과기 기능, 예컨대, 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC)에서 항체의 참여를 나타낸다.
- [0455] 본 명세서에 사용될 때 용어 "초가변 영역"은 항원-결합을 초래하는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변 영역은 일반적으로 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로부터의 아미노산 잔기(예를 들어, 경쇄 가변 도메인에서 잔기 24 내지 34(L1), 50 내지 56(L2) 및 89 내지 97(L3) 및 중쇄 가변 도메인에서 31-35 (H1), 50 내지 65(H2) 및 95 내지 102 (H3); 문헌[Kabat et al 상기 참조]) 및/또는 "초가변 루프"로부터의 잔기(예를 들어, 경쇄 가변 도메인에서 잔기 26 내지 32(L1), 50 내지 52(L2) 및 91 내지 96(L3) 및 중쇄 가변 도메인에서 26 내지 32(H1), 53 내지 55(H2) 및 96 내지 101(H3); 문헌[Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol., 196:901-917])를 포함한다. "프레임워크 영역" 또는 "FR" 잔기는 본 명세서에 정의된 바와 같은 초가변 영역 잔기 이외의 해당 가변 도메인 잔기이다.
- [0456] 항체의 파파인 분해는 "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원-결합 단편을 생성하며, 각각은 단일 항원-결합 부위, 잔여 "Fc" 단편을 가지고, 이의 명칭은 이것이 용이하게 결정화하는 능력을 반영한다. 펩신 처리는 2개의 항원-결합 부위를 갖고 여전히 항원에 가교할 수 있는 F(ab')₂ 단편을 수득한다.
- [0457] "Fv"는 완전한 항원-인식 및 항원-결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이 영역은 단단한, 비공유 결합에서 1개의 중쇄 및 1개의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 이루어진다. 이 입체배치에서 각 가변 도메인의 3개의 초

가변 영역은 VH-VL 이량체 표면 상에서 항원-결합 부위를 정하도록 상호작용한다. 총괄적으로, 6개의 추가변 영역은 항체에 대한 항원-결합 특이성을 부여한다. 그러나, 전체 결합 부위보다 더 낮은 친화도에도 불구하고, 단일 가변 도메인(또는 항원에 특이적인 3개의 추가변 영역만을 포함하는 Fv의 절반)조차 항원을 인식 및 결합하는 능력을 가진다.

[0458] Fab 단편은 또한 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카복시 말단에서 소수의 잔기의 첨가에 의해 Fab 단편과 다르다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 적어도 하나의 유리 티올기를 보유하는 Fab'에 대한 본 명세서의 표기이다. F(ab')₂ 항체 단편은 본래 이들 사이에 힌지 시스테인을 갖는 Fab' 단편의 쌍으로서 생성되었다. 항체 단편의 다른 화학적 결합이 또한 공지되어 있다.

[0459] 임의의 척추동물 종으로부터의 항체의 "경쇄"는 이들의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기반하여 카파 및 람다로 불리는 2개의 분명히 별개인 유형 중 하나에 부여될 수 있다.

[0460] "단일쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하되, 이들 도메인은 단일 폴리펩타이드쇄에 존재한다. Fv 폴리펩타이드는 scFv가 항원 결합의 목적하는 구조를 형성하는 것을 가능하게 하는 VH와 VL 도메인 사이에 폴리펩타이드 링커를 추가로 포함할 수 있다. scFv의 검토를 위해, 문헌[Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다. 항-ErbB2 항체 scFv 단편은 WO 93/16185; 미국 특허 제5,571,894호; 및 제5,587,458호에 기재되어 있다.

[0461] 용어 "다이어바디"는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 작은 항체 단편을 지칭하며, 이 단편은 동일한 폴리펩타이드쇄(VH-VL)에서 가변 경쇄 도메인(VL)에 연결된 가변 중쇄 도메인(VH)을 포함한다. 동일한 쇄 상의 두 도메인 사이에 짝지어지기에 너무 짧은 링커를 이용함으로써, 도메인은 다른 쇄의 상보성 도메인과 짝지어지게 하며, 2개의 항원-결합 부위를 생성한다. 다이어바디는, 예를 들어, 유럽 특허 제404,097호; WO 93/11161; 및 문헌[Hollinger et al (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448]에서 더 완전히 기재된다.

[0462] 비-인간(예를 들어, 설치류) 항체의 "인간화된" 형태는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 인간화는 무린 항체 결합 정보를 비-면역원성 인간 항체 수용체에 전달하는 방법이며, 다수의 치료적으로 유용한 약물을 초래한다. 인간화 방법은 일반적으로 인간 항체 프레임워크 상에 모두 6개의 무린 상보성 결정 영역(CDR)을 전달함으로써 시작된다(Jones et al, (1986) Nature 321:522-525). 이들 CDR-접합 항체는 일반적으로 항원 결합에 대한 이들의 본래 친화도를 보유하지 않으며, 사실, 친화도는 종종 심하게 손상된다. CDR 이외에, 선택 비-인간 항체 프레임워크 잔기는 또한 적절한 CDR 입체구조를 유지하도록 혼입되어야 한다(Chothia et al (1989) Nature 342:877). 접합된 CDR의 구조적 입체형태를 지지하기 위한 인간 억셉터(acceptor)에 대한 중요한 마우스 프레임워크 잔기의 전달은 항원 결합 및 친화도를 회복하는 것으로 나타났다(문헌[Riechmann et al., (1992) J. Mol. Biol. 224, 487-499; Foote and Winter, (1992) J. Mol. Biol. 224:487-499; Presta et al., (1993) J. Immunol. 151, 2623-2632; Werther et al., (1996) J. Immunol. Methods 157:4986-4995; 및 Presta et al (2001) Thromb. Haemost. 85:379-389]). 대부분에 대해, 인간화된 항체는 수용자의 추가변 영역으로부터의 잔기가 비-인간 종, 예컨대, 목적하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류의 추가변 영역으로부터의 잔기(공여자 항체)로 대체되는 인간 면역글로불린(수용자 항체)이다. 일부 예에서, 인간 면역글로불린의 프레임워크 영역(FR) 잔기는 대응하는 비-인간 잔기에 의해 대체된다. 더 나아가, 인간화된 항체는 수용자 항체에서 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 항체 성능을 추가로 개선하기 위해 이들 변형이 이루어진다. 일반적으로, 인간화된 항체는 적어도 1개, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이며, 이때 추가변 루프의 모두 또는 실질적으로 모두는 비-인간 면역글로불린의 추가변 루프에 대응하며, FR의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 면역글로불린 서열의 FR이다. 인간화된 항체는 선택적으로 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 면역글로불린의 적어도 일부를 포함할 것이다. 추가적인 상세한 설명을 위해, 미국 특허 제6,407,213호; 문헌[Jones et al (1986) Nature, 321:522-525; Riechmann et al (1988) Nature 332:323-329; 및 Presta, (1992) Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596]을 참조한다.

[0463] "모 항체"는 하나 이상의 아미노산 잔기가 하나 이상의 시스테인 잔기로 대체되는 아미노산 서열을 포함하는 항체이다. 모 항체는 천연 또는 야생형 서열을 포함할 수 있다. 모 항체는 항체의 다른 천연, 야생형 또는 변형된 형태에 대해 이미 존재하는 아미노산 서열 변형(예컨대, 첨가, 결실 및/또는 치환)을 가질 수 있다. 모 항체는 관심 대상의 표적 항원으로 향한다. 비폴리펩타이드 항원으로 향하는 항체(예컨대, 중앙-관련 당지질 항원; 미

국 특허 제5,091,178호 참조)가 또한 상정된다.

- [0464] "단리된" 항체는 이의 천연 환경으로부터 확인되고/되거나 분리되고/되거나 회수된 것이다. 천연 환경의 오염 성분은 항체에 대한 진단적 또는 치료적 용도를 방해하는 물질이며, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 항체는 (1) 로리법(Lowry method)에 의해 결정할 때, 95중량% 초과, 또는 99중량% 초과, (2) 기체상 단백질 서열분석기의 사용에 의해 N-말단 또는 내부의 아미노산 서열의 적어도 15개 잔기를 얻기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마씨 블루 또는 은 염색을 이용하는 환원 또는 비환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의한 균질성으로 정제될 것이다. 단리된 항체는 항체의 천연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문에 재조합 세포 내에서 인시투로 항체를 포함한다. 그러나, 보통, 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.
- [0465] 분자 표적 또는 관심 대상의 항원에 "결합하는" 항체는 해당 항원에 결합하여 항체가 항원을 발현시키는 세포를 표적화하는 데 유용하도록 충분한 친화도를 가질 수 있는 것이다.
- [0466] 용어 "치료하다" 또는 "치료"는 치료적 치료와 예방적 또는 방지적 척도를 둘 다 지칭하되, 목적은 원치않는 생리학적 변화 또는 장애, 예컨대 암의 발생 또는 확산을 방지하거나 늦추는(줄이는) 것이다. 본 개시내용의 목적을 위해, 유리한 또는 목적하는 임상 결과는 검출 가능한 검출 가능하지 않든, 증상의 완화, 질환 정도의 감소, 안정화된(즉, 악화되지 않는) 질환 상태, 질환 진행의 지연 또는 늦춤, 질환 상태의 개선 또는 경감, 및 (부분적이든 전체적이든) 관해를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. "치료"는 또한 치료를 받지 않는다면 예상되는 생존에 비해 장기간의 생존을 의미할 수 있다. 치료를 필요로 하는 대상체는 병태 또는 장애를 이미 갖는 대상체뿐만 아니라 병태 또는 장애를 갖는 경향이 있는 대상체 또는 병태 또는 장애가 예방될 대상체를 포함한다.
- [0467] "과지 디스플레이"는 변이체 폴리펩타이드가 과지 표면 상의 외피 단백질, 예를 들어, 섬유성 과지, 입자에 융합단백질로서 나타나는 기술이다. 과지 디스플레이의 한 가지 효용은 무작위화된 단백질 변이체의 거대 라이브러리 고친화도로 표적 분자에 결합하는 것에 대해 빠르고 효율적으로 분류될 수 있다는 사실에 놓여있다. 과지 상의 펩타이드 및 단백질 라이브러리의 디스플레이는 특이적 결합 특성을 갖는 것에 대해 수백만개의 폴리펩타이드를 선별하는 데 사용되었다. 다가 과지 디스플레이 방법은, 전형적으로 섬유성 과지의 PIII 또는 PVIII 중 하나에 대한 융합을 통해 작은 무작위 펩타이드 및 작은 단백질을 나타내는 데 사용되었다. 문헌[Wells and Lowman, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 3:355-362 (1992)], 및 이에 인용된 참고문헌. 1가 과지 디스플레이에서, 단백질 또는 펩타이드 라이브러리는 과지 외피 단백질 또는 이의 일부에 융합되고, 야생형 단백질의 존재 하에 저수준으로 발현된다. 결합활성(Avidity) 효과는 다가 과지에 비해 감소되며, 따라서 분류는 본래의 리간드 친화도에 기반하며, DNA 조작을 단순화하는 과지미드 벡터가 사용된다. 문헌[Lowman and Wells, *Methods: A companion to Methods in Enzymology*, 3:205-0216 (1991)]. 과지 디스플레이는 항체-유사 분자를 생성하기 위한 기법을 포함한다(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immunobiology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York, p 627-628).
- [0468] "과지미드"는 박테리아의 복제기점, 예를 들어, CoIE1, 및 박테리오파지의 유전자 사이 영역의 복제물을 갖는 플라스미드 벡터이다. 과지미드는 섬유성 박테리오파지 및 람다형 박테리오파지를 포함하는 임의의 공지된 박테리오파지에 대해 사용될 수 있다. 플라스미드는 또한 일반적으로 항생제 내성을 위한 선택 가능한 마커를 함유할 것이다. 이들 벡터에 클로닝된 DNA의 세그먼트는 플라스미드로서 증식될 수 있다. 이들 벡터를 보유하는 세포가 과지 입자의 생성에 필수적인 모든 유전자를 구비할 때, 플라스미드의 복제 방식은 회전원 복제(rolling circle replication)로 변화하여 플라스미드 DNA의 한 가닥의 복제물을 생성하고, 과지 입자를 패키징한다. 과지미드는 감염성 또는 비감염성 과지 입자를 형성할 수 있다. 이 용어는 이중성 폴리펩타이드가 과지 입자 표면에 나타나도록 유전자 융합으로서 이중성 폴리펩타이드 유전자에 연결된 과지 외피 단백질 유전자 또는 이의 단편을 함유하는 과지미드를 포함한다. 본 명세서에 기재된 화합물은 약제학적으로 또는 약제학적으로 허용 가능한 염의 형태일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 염은 무기 또는 유기산 또는 염기로부터 유래된다. 적합한 염의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Berge *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 1-19 및 Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Ed., A. Gennaro (ed.), Lippincott Williams & Wilkins (2000)]을 참조한다.
- [0469] 본 개시내용에서, "Ab"기(즉, 항체, 항체 단편, 및/또는 항원 단편)는 하나 초과와 약물-함유 모이어티에 접합될 수 있다. 일부 실시형태에서, "Ab"는 1 내지 20개의 약물-함유 모이어티에 접합될 수 있다. 일부 실시형태에서, "Ab"는 1 내지 10개의 약물-함유 모이어티에 접합될 수 있다. 일부 실시형태에서, "Ab"는 1 내지 5개의 약

물-함유 모이어티에 접합될 수 있다. 일부 실시형태에서, "Ab"는 1 또는 2개의 약물-함유 모이어티에 접합될 수 있다. 일부 실시형태에서, "Ab"는 1개의 약물-함유 모이어티에 접합될 수 있다.

- [0470] 본 개시내용의 일부 양상에서, ADC는 PD-1에 결합하는 항체 및/또는 PDL-1에 결합하는 항체와 조합된다.
- [0471] 본 명세서에 기재된 화합물은 약제학적으로 또는 약제학적으로 허용 가능한 염의 형태일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 염은 무기 또는 유기산 또는 염기로부터 유래된다. 적합한 염의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌 [Berge *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, **1977**, *66*, 1-19 및 *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Ed., A. Gennaro (ed.), Lippincott Williams & Wilkins (2000)]을 참조한다.
- [0472] 적합한 산 부가염의 예는 아세트산염, 아디프산염, 알긴산염, 아스파르트산염, 벤조산염, 벤젠 설펜산염, 중황산염, 뷰티르산염, 시트르산염, 캄포산염, 캄포 설펜산염, 사이클로펜탄프로피온산염, 다이글루콘산염, 도데실황산염, 에탄설펜산염, 푸마르산염, 루코헵탄산염, 글리세로인산염, 헤미황산염, 헵톤산염, 핵산산염, 염산염, 브로민화수소산염, 아이오딘화수소산염, 2-하이드록시에탄설펜산염, 락트산염, 말레산염, 메탄설펜산염, 2-나프탈렌설펜산염, 니코틴산염, 옥살산염, 파모산염, 펙틴산염, 과황산염, 3-페닐-프로피온산염, 피크르산염, 피발산염, 프로피온산염, 석신산염, 타르타르산염, 티오시안산염, 토실산염 및 운데칸산염을 포함한다.
- [0473] 적합한 염기 부가염의 예는 암모늄염; 알칼리금속염, 예컨대, 나트륨 및 칼륨염; 알칼리토금속 염, 예컨대, 칼슘 및 마그네슘염; 유기염기와 염, 예컨대, 다이사이클로헥실아민염, *N*-메틸-*D*-글루카민; 및 아미노산, 예컨대, 알기닌, 라이신 등과의 염을 포함한다.
- [0474] 예를 들어, Berge는 다음의 FDA-승인된 상업적으로 시판되는 염을 열거한다: 음이온 아세트산염, 베실산염 (벤젠 설펜산염), 벤조산염, 중탄산염, 중타르타르산염, 브로민화물, 에데트산칼슘(에틸렌다이아민테트라아세트산), 캄실산염(캄페설펜산염), 탄산염, 염화물, 시트르산염, 중염산염, 에데트산염(에틸렌다이아민테트라아세트산염), 에디실산염(1,2-에탄다이설펜산염), 에스톨산염(라우릴황산염), 에실산염(에탄설펜산염), 푸마르산염, 글루셉트산염(글루코헵톤산), 글루콘산염, 글루탐산염, 글리콜릴아르사닐산염(글리콜아미도페닐아르손산염), 핵실레조신산염, 하이드라바민(*N,N'*-다이(데하이드로아비에틸)에틸렌다이아민), 브로민화수소산염, 염산염, 하이드록시나프톤산, 아이오딘화물, 아세티온산(2-하이드록시에탄설펜산염), 락트산염, 락토바이온산염, 말레산염, 말레인산염, 만델산염, 메실산염(메탄설펜산염), 메틸브로민화물, 메틸질산염, 메틸황산염, 뮤케이트, 납실산염(2-나프탈렌설펜산염), 질산염, 파모산염(엠포산염), 판토텐산염, 인산염/이인산염, 폴리갈락투론산염, 살리실산염, 스테아르산염, 서브아세트산염, 석신산염, 황산염, 탄산염, 타르타르산염, 테오클레이트(8-클로로테오필린산염) 및 트라이에티오다이드; 유기 양이온 벤자틴(*N,N'*-다이벤질에틸렌다이아민), 클로로프로카인, 콜린, 다이에탄올아민, 에틸렌다이아민, 메글루민(*N*-메틸글루카민) 및 프로카인; 및 금속 양이온, 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 칼륨, 나트륨 및 아연.
- [0475] Berge는 추가적으로 다음의 비-FDA 승인 상업적으로 시판되는(미국 이외) 염을 열거한다: 음이온 아디프산염, 알긴산염, 아미노살리실산염, 무수메틸렌시트르산염, 아레콜린, 아스파르트산염, 중황산염, 뷰틸브로마이드, 캄포산염, 다이글루콘산염, 다이하이드로브로마이드, 다이석시네이트, 글리세로포스페이트, 헤미설펜레이트, 하이드로플루오라이드, 하이드로아이오다이드, 메틸렌비스(살리실레이트), 나파다이실레이트(1,5-나프탈렌다이설펜네이트), 옥살산염, 펙틴산염, 과황산염, 페닐에틸바르비투르산염, 피크르산염, 프로피온산염, 티오시안산염, 토실산염 및 운데칸산염; 유기 양이온 베네타민(*N*-벤질벤에틸아민), 클레미졸(1-*p*-클로로벤질-2-피롤리딘-1'-일메틸벤즈이미다졸), 다이에틸아민, 피페라진 및 트로메타민(트리스(하이드록시메틸)아미노메탄); 및 금속 양이온 바륨 및 비스무트.
- [0476] 본 명세서에 기재된 화합물은 또한 투여 방식에 따라 다를 수 있는 적합한 담체, 부형제 및 보조제를 포함할 수 있다.
- [0477] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 적합한 비경구 투약 형태로서 제형화될 수 있다. 상기 제형은 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다. 약제학적 조성물은 혈류에, 근육에 직접, 또는 기관에 직접 투여될 수 있다. 비경구 투여를 위한 적합한 수단은 정맥내, 동맥내, 복강내, 척추강내, 심실내, 요도내, 흉골내, 두개내, 근육내 및 피하를 포함한다. 비경구 투여를 위한 적합한 장치는 바늘 주사기, 무바늘 주사기 및 주입 기법을 포함한다.
- [0478] 비경구 조성물은 전형적으로 부형제, 예컨대, 염, 탄수화물 및 완충제를 함유할 수 있는 수용액이다. 그러나, 조성물은 또한 멸균 비수성 용액으로서 또는 적합한 비히클, 예컨대 멸균 무발열원수와 함께 사용될 건조 형태로 제형화될 수 있다.

- [0479] 평균 조건 하에, 예를 들어, 동결건조에 의한 비경구 조성물의 제조는 당업자에게 잘 공지된 표준 기법을 이용하여 용이하게 달성될 수 있다.
- [0480] 비경구 투여를 위한 조성물은 즉시 및/또는 변형 방출되도록 제형화될 수 있다. 변형 방출 제형은 지연-, 지속-, 펄스-, 제어-, 표적화 및 프로그래밍된 방출을 포함한다. 따라서, 조성물은 활성제의 변형 방출을 제공하는 이식된 데포로서 투여하기 위한 고체, 반고체 또는 요변성 액체로서 제형화될 수 있다.
- [0481] 비경구 제형은 비경구 투약 형태로 사용되는 다른 적합한 약제학적으로 허용 가능한 부형제, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 보존제와 함께 혼합될 수 있다.
- [0482] 다른 실시형태에서, 약제학적 조성물은 적합한 경구 투약 형태, 예컨대, 정제, 캡슐, 분말, 펠릿, 현탁액, 용액, 에멀션 등으로서 제형화될 수 있다. 다른 적합한 담체, 예컨대, 봉해제, 희석제, 킬레이트제, 결합제, 활택제, 윤활제, 충전제, 증량제, 부착 방지제 등으로 제공될 수 있다.
- [0483] 경구 투약 제형은 또한 다른 적합한 약제학적 부형제, 예컨대, 감미제, 비히클/습윤제, 착색제, 향미제, 보존제, 점도 향상제/증점제 등을 함유할 수 있다.
- [0484] 본 개시내용의 약제학적 조성물의 용량은 개개 환자에게 맞춤될 수 있다.
- [0485] 용어 "방사선"은 광자 방사선 또는 입자 방사선을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 방사선은 광자 방사선(x-선 및 감마선)일 수 있다. 이러한 실시형태에서, 광자는 코발트 또는 선형 가속기와 같은 방사성 선원으로부터의 고에너지 광자빔으로서 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 입자 방사선(예컨대, 전자, 광자, 중성자, 탄소 이온, 알파 입자 및 베타 입자)일 수 있다. 입자 방사선은 선형 가속화에 의해 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 전자빔일 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 광자빔일 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 중성자 빔일 수 있다.
- [0486] 일부 실시형태에서, 방사선은 외부 빔 방사선에 의해 전달될 수 있다. 일부 실시형태에서, 외부 빔 방사선은 3차원 입체조형 방사선 요법(3D-CRT)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 외부 빔 방사선은 강도 변조 방사선 요법(IMRT)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 외부 빔 방사선은 영상-유도 방사선 요법(IGRT)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 외부 빔 방사선은 강도 변조 양성자 요법(IMPT)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 외부 빔 방사선은 정위적 방사선 수술(SRS)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 외부 빔 요법은 분할 정위 방사선 요법일 수 있다. 일부 실시형태에서, 외부 빔 방사선은 체부 정위적 방사선 요법(SBRT)일 수 있다. SBRT를 전달하는 매치의 예는 Gamma Knife[®], X-Knife[®], CyberKnife[®] 및 Clinac[®]이다. 일부 실시형태에서, 방사선은 3차원 등각 또는 체부 정위적 방사선 요법 전달을 이용하여 투여될 수 있다.
- [0487] 일부 실시형태에서, 방사선은 내부 방사선 요법(근접치료)에 의해 전달될 수 있다. 이러한 실시형태에서, 내부 방사선 요법은, 예를 들어, 암 또는 종양 부위에 가깝게 위치된 작은 펠릿, 씨드, 와이어 또는 관을 이용하는 조직내 조사일 수 있다. 이러한 실시형태에서, 내부 방사선 요법은, 예를 들어, 체강에 위치될 수 있는 방사성 물질의 용기를 이용하는 강내 조사일 수 있다.
- [0488] 화합물 및 조성물의 사용 방법
- [0489] 본 명세서에 기재된 특정 화합물은 STING 작용제이고, 따라서, 면역 반응의 자극을 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 자극하는 데 유용하다. 조성물은 암 치료에서 사용될 수 있다.
- [0490] 본 개시내용의 화합물은 STING 조절/작용제 활성을 나타낸다. 본 개시내용의 특정 화합물은 효능 발현, 약물동력학 (예를 들어, 흡수, 분포, 대사, 배설), 용해도(예를 들어, 수 용해도), 다른 의약품과의 상호작용(예를 들어, 약물-대사 효소 저해 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)에 관해 우수할 수 있으며, 의약으로서 유용할 수 있다.
- [0491] 본 개시내용의 화합물은 포유류(예를 들어, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼, 고양이, 개, 소, 양, 원숭이, 인간)에서 STING 활성을 증가시키는 데 사용될 수 있다.
- [0492] 본 개시내용의 화합물은 STING에 의해 영향받을 수 있는 질환(본 명세서에서, 때때로 "STING-관련 질환"으로서 약칭됨), 예를 들어, 암 - 예를 들어, 결장직장암(예를 들어, 결장직장암, 직장암, 항문암, 가족성 결장직장암, 유전성 비용종성 결장직장암, 위장관 간질성 종양), 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 악성악성 중피종), 중피종, 췌장암(예를 들어, 췌장관 암종, 췌장 내분비 종양), 인두암, 후두암, 식도암, 위암(예를 들어,

유두모양샘암종, 점액성선암종, 샘평편상피암종), 십이지장암, 소장암, 유방암(예를 들어, 침윤성 유관암종, 비-침윤성 유관암종, 염증성 유방암), 난소암(예를 들어, 난소 상피암, 생식샘외종자세포종, 난소 배아 세포 종양, 난소 저등급 악성 종양), 고환 종양, 전립선암(예를 들어, 호르몬 의존적 전립선암, 비-호르몬 의존적 전립선암, 거세-저항성 전립선암), 간암(예를 들어, 간세포암, 원발성 간암, 간외담관암), 갑상선암(예를 들어, 갑상선 수질암), 콩팥암(예를 들어, 신세포암(예를 들어, 투명세포 신세포암), 신우 및 요관의 이행세포암), 자궁암(예를 들어, 자궁경부암, 자궁체암, 자궁 육종), 임신용모질환, 뇌 종양(예를 들어, 수모세포종, 신경교종, 송과성 위상종양, 모양세포성 성상세포종, 미만성 성상교종, 악성 성상세포종, 뇌하수체 선종), 망막모세포종, 피부암(예를 들어, 기저세포종, 악성 흑색종), 육종(예를 들어, 횡문근육종, 평활근육종, 연조직 육종, 방추 세포 육종), 악성 뼈 종양, 방광암, 혈액암(예를 들어, 다발성 골수종, 백혈병(예를 들어, 급성 골수성 백혈병), 악성 림프종, 호지킨병, 만성 골수증식성 질환), 원발부위 불명암의 예방 또는 치료를 위한 제제; 암 성장 저해제; 암 전이 저해제; 세포자멸사 촉진제; 전암성 병변(예를 들어, 골수형성이상 증후군)의 치료를 위한 제제 등과 같은 의약으로서 사용될 수 있다.

- [0493] 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 화합물은 결장직장암, 유방암, 피부암, 악성 림프종 또는 폐암에 대한 의약으로서 사용될 수 있다.
- [0494] 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 화합물은 항체 요법과 동시에 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 요법은 항-PD-1 항체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 요법은 항-PD-L1 항체를 포함한다.
- [0495] 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 화합물은 항체 요법 및 방사선 요법과 동시에 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선 요법은 광자 방사선 요법일 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선 요법은 입자 방사선 요법일 수 있다.
- [0496] 더 나아가, 본 개시내용의 화합물은 비-약물 요법과 동시에 사용될 수 있다. 정확함을 위해, 본 개시내용의 화합물 또는 본 개시내용의 조합체는 비-약물 요법, 예컨대, (1) 수술, (2) 안지오텐신 II 등을 이용하는 고혈압 화학요법, (3) 유전자 요법, (4) 온열요법, (5) 신장분사치료, (6) 레이저 소작(cauterization) 및 (7) 방사선 요법과 조합될 수 있다.
- [0497] 예를 들어, 상기 언급한 수술 전에 또는 후에, 또는 이들의 둘 또는 세가지 종류의 조합 치료 전에 또는 후에 본 개시내용의 화합물을 이용함으로써, 저항성 출현의 방지, 무질환 생존의 연장, 암 전이 또는 재발의 억제, 수명 연장 등과 같은 효과가 얻어질 수 있다.
- [0498] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 방사선의 조합으로 치료하는 암 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 의한 환자의 암 치료 방법에 관한 것이다.
- [0499] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 1종 이상의 관문 저해제 및 방사선의 조합으로 치료하는 암 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 의한 환자의 암 치료 방법에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 1종 이상의 관문 저해제는 항체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 1종 이상의 관문 저해제는 항-PD-1 항체를 포함하고, 일부 실시형태에서, 1종 이상의 관문 저해제는 항-PD-L1 항체를 포함한다.
- [0500] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 환자의 암 치료를 위해 관문 저해제 및 방사선과 조합한 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도에 관한 것이다.
- [0501] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 환자의 암을 치료하는 데 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물에 관한 것이되, 환자는 또한 1종 이상의 관문 저해제 및 방사선으로 치료 중이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 환자에서 암을 치료하는 데 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물에 관한 것이되, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 1종 이상의 관문 저해제 및 방사선과 조합된다. 일부 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물은 관문 저해제, 방사선 및/또는 이들의 조합물과 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료를 필요로 하는 환자에게 치료적 유효량의 화학식 (I)의 화합물, 1종 이상의 관문 저해제 및 방사선의 조합을 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법에 관한 것이다.
- [0502] 일부 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 5시간 전에 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 10시간 전에 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 20시간 전에 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 40

시간 전에 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 80시간 전에 투여될 수 있다.

[0503] 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일에 투여될 수 있고, 2 내지 8주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일에 투여될 수 있고, 6 내지 8주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일에 투여될 수 있고, 2주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일에 투여될 수 있고, 3주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일에 투여될 수 있고, 4주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일에 투여될 수 있고, 5주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일에 투여될 수 있고, 6주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일에 투여될 수 있고, 7주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일에 투여될 수 있고, 8주 동안 반복된다.

[0504] 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일의 임의의 2일에 투여될 수 있고, 5 내지 8주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일의 임의의 2일에 투여될 수 있고, 6 내지 8주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일의 임의의 2일에 투여될 수 있고, 5주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일의 임의의 2일에 투여될 수 있고, 6주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일의 임의의 2일에 투여될 수 있고, 7주 동안 반복된다. 일부 실시형태에서, 방사선은 매주 각각의 제1 내지 제5일의 임의의 2일에 투여될 수 있고, 8주 동안 반복된다.

[0505] 일부 실시형태에서, 관문 저해제는 12주마다 1회, 4주마다 1회, 3주마다 1회, 2주마다 1회, 1주 1회, 1주 2회, 1주 3회 또는 매일 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 관문 저해제는 2주마다 1회 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 관문 저해제는 3주마다 1회 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 관문 저해제는 4주마다 1회 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 관문 저해제는 12주마다 1회 투여될 수 있다.

[0506] 특정 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 40시간 전에 투여된다. 특정 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 30시간 전에 투여된다. 특정 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 20시간 전에 투여된다. 특정 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 10시간 전에 투여된다. 특정 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 5시간 전에 투여된다. 특정 실시형태에서, 방사선은 관문 저해제 및/또는 화학식 (I)의 화합물 투여의 적어도 1시간 전에 투여된다.

[0507] 일부 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물 및/또는 관문 저해제는 환자가 방사선에 의한 치료를 받고 1일 내지 3개월 후에 환자에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물 및/또는 관문 저해제는 환자가 방사선에 의한 치료를 받고 1일 내지 2개월 후에 환자에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물 및/또는 관문 저해제는 환자가 방사선에 의한 치료를 받고 1일 내지 1개월 후에 환자에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물 및/또는 관문 저해제는 환자가 방사선에 의한 치료를 받고 1일 내지 15일 후에 환자에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 화학식 (I)의 화합물 및/또는 관문 저해제는 환자가 방사선에 의한 치료를 받고 1일 내지 7일 후에 환자에게 투여될 수 있다.

[0508] 일부 실시형태에서, 방사선은 약 1 Gy 내지 약 100 Gy의 분획 용량(fraction dose)으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 1 Gy 내지 약 50 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 1 Gy 내지 약 20 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 5 Gy 내지 약 20 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 6 Gy 내지 약 18 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 8 Gy 내지 약 16 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 5 Gy 내지 약 10 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 10 Gy 내지 약 15 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 15 Gy 내지 약 20 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 8 Gy 또는 약 16 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다.

[0509] 일부 실시형태에서, 방사선은 약 1 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 2 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 3 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 4 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 5 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 6 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부

실시형태에서, 방사선은 약 7 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 8 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 9 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 10 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 11 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 12 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 13 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 14 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 15 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 16 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 17 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 18 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 19 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 약 20 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다.

[0510] 일부 실시형태에서, 방사선은 분획으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1 내지 10 분획으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1 내지 5 분획으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1 분획으로, 또는 2 분획으로 또는 3분획으로 또는 4분획으로 또는 5 분획으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1 분획으로 또는 3 분획으로 투여될 수 있다.

[0511] 일부 실시형태에서, 방사선은 1 내지 3 분획에 대해 약 1 내지 5 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1 내지 3 분획에 대해 약 5 내지 10 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1 내지 3 분획에 대해 약 10 내지 15 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1 내지 3 분획에 대해 약 15 내지 20 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1 내지 3 분획에 대해 약 5 내지 10 Gy 또는 1 내지 3 분획에 대해 15 내지 20 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1분획에 대해 약 8 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 3분획에 대해 약 8 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1분획에 대해 약 16 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선은 1분획에 대해 약 8 Gy, 또는 3 분획에 대해 약 8 Gy 또는 1분획에 대해 약 16 Gy의 분획 용량으로 투여될 수 있다.

[0512] 또한, 본 개시내용의 화합물 또는 본 개시내용의 조합체에 의한 치료와 지지요법: (i) 다양한 감염성 질환에 의한 합병증에 대한 항생제(예를 들어, β-락탐형, 예컨대, 판스포린 등, 매크로라이드형, 예컨대, 클라리트로마이신 등) 투여, (ii) 영양실조 개선을 위한 고열량 투입, 아미노산 제제 또는 일반적 비타민 제제의 투여, (iii) 통증 완화를 위한 몰핀의 투여, (iv) 부작용, 예컨대, 구역, 구토, 식욕부진, 설사, 백혈구감소증, 혈소판 감소증, 감소된 헤모글로빈 농도, 탈모, 간장애, 신장병증, DIC, 발열 등을 개선시키기 위한 약제학적 제제의 투여 및 (v) 암의 다제내성을 억제하기 위한 약제학적 제제의 투여 등을 조합할 수 있다.

[0513] 실시예

[0514] 정의

[0515] Ab 항체

[0516] ACN 아세토나이트릴

[0517] ADA 항-약물 항체

[0518] ADC 항체 약물 접합체

[0519] BLQ 정량 하한

[0520] C 썩씨

[0521] CCR2 C-C 모터프 케모카인 수용체 2

[0522] CR 완전 반응

[0523] CD 분화 클러스터

[0524] DAR 약물 항체비

[0525] DMA *N,N*-다이메틸아세트아마이드

[0526] DMSO 다이메틸설폭사이드

- [0527] DTT 다이티오프레이틀
- [0528] ϵ 흡광 계수
- [0529] E 0.1% 0.1% 용액 흡광 계수
- [0530] EC₅₀ 절반 최대 유효 농도
- [0531] EDTA 에틸렌다이아민테트라아세트산
- [0532] h 시간
- [0533] HIC 소수성 상호작용 크로마토그래피
- [0534] hIgG 인간 면역글로불린 G
- [0535] HPLC 고압 액체 크로마토그래피
- [0536] IACUC 실험동물운영위원회
- [0537] IFN 인터페론
- [0538] IgG 면역글로불린 G
- [0539] IgM 면역글로불린 M
- [0540] IL 인터류킨
- [0541] IP 인터페론 감마-유도 단백질
- [0542] LC 액체 크로마토그래피
- [0543] LCMS 액체 크로마토그래피 질량분석법
- [0544] M 마이크로몰
- [0545] MCP 단핵구 화학솔림 단백질
- [0546] MDSC 골수 유래 억제 세포
- [0547] mL 밀리리터
- [0548] MS 질량분석법
- [0549] MTD 최대허용용량
- [0550] NA 이용 가능하지 않음
- [0551] Ac 아세트산염
- [0552] PBS 인산염 완충 식염수
- [0553] PEG 폴리에틸렌글리콜
- [0554] QTOF 사중극자 시간비행
- [0555] rt 실온
- [0556] SEC 크기 배제 크로마토그래피
- [0557] STING 인터페론 유전자의 자극제
- [0558] TCEP (트리스(2-카복시에틸)포스핀)
- [0559] TNF 중양 괴사 인자
- [0560] TPPTS 3,3',3"-포스판트라이일트리스(벤젠설폰산) 3나트륨염
- [0561] Tris 트리스(하이드록시메틸)아미노메탄

- [0562] UFLC 초고속 액체 크로마토그래피
- [0563] UV 자외선
- [0564] 분석 방법
- [0565] 분석 SEC 조건:
- [0566] 280nm에서 SEC 칼럼(전형적으로 Tosoh Biosep TSK 겔, G3000SWx1; P/N 8541; 250A; 5 μ m; 7.8mm \times 300mm)을 이용하는 다이오드 어레이 검출기를 갖는 Hewlett-Packard HP1100 또는 Agilent 1100 시리즈 LC 시스템 상에서 SEC 스펙트럼을 기록하였다. 이동상은 100mM 인산나트륨, 300mM 염화나트륨, pH 6.8, 10% 아세트나이트릴(v/v) 또는 1 \times PBS였다. 전형적 실행은 20분 동안 1mL/분의 유속에서 등용매였다.
- [0567] 분석 HIC 조건:
- [0568] 280nm에서 HIC 칼럼(전형적으로 Tosoh 뷰틸-NPR, 4.6 \times 35mm, 2.5 μ m, P/N: 14947)을 이용하는 다이오드 어레이 검출기를 갖는 Hewlett-Packard HP1100 또는 Agilent 1100 시리즈 LC 시스템 상에서 HIC 스펙트럼을 기록하였다. 이동상 A는 25mM 인산나트륨, 1.5M 황산암모늄, pH 7이었고, 이동상 B는 75% 25mM 인산나트륨, pH 7, 25% 아이소프로판올이었다. 전형적인 20분 실행에 대해, 등용매 유동의 초기 간격과 최종 간격 사이에 95%/5% A/B 내지 100%B의 12분 선형 구배를 사용하였다.
- [0569] LC-QTOF 조건:
- [0570] 80 $^{\circ}$ C로 가열한 역상 칼럼(전형적으로 Agilent, PLRP-S, 5 μ m, 1000 Å , 2.1mm \times 50mm)을 이용하여 Agilent 6545 QTOF 질량 분광기에 연결된 Agilent 1260 Bioinert 시리즈 LC 시스템 상에서 LCMS 스펙트럼을 기록하였다. 화합물을 최고로 특성구명하기 위해 다양한 구배 및 실행 시간을 선택하였다. 이동상은 ACN/물 구배에 기반하고, 0.1% 폼산을 함유하였다. 사용한 용매 구배의 일례는 표 1에 나타내는 조건으로 95% 이동상 A(이동상 A = 99% 물 + 1% ACN + 0.1% 폼산) 내지 100% 이동상 B(이동상 B = 95% ACN + 5% 물 + 0.1% 폼산)였다.

표 1

시간 (분)	유동 (mL/분)	A %	B %
0	0.35	82	18
1	0.35	82	18
2	0.35	70	30
19	0.5	50	50
19.5	0.5	10	90
21	0.5	10	90
21.1	0.5	82	18
22	0.5	82	18

- [0571]
- [0572] 샘플은 무손상 또는 환원(37 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 4 μ L의 0.5M DTT 용액으로 처리한 20 μ L의 1 내지 5mg/ml ADC)이었다. 단백질 분자량(들)을 얻기 위해 Agilent BioConfirm 소프트웨어를 이용하여 적절한 질량 범위 내에서 원 데이터를 디콘볼팅하였고, Agilent DAR 계산기를 사용하여 DAR을 계산하였다.
- [0573] LC/MS/MS 조건:
- [0574] Shimadzu UFLC LC-20AD XR 이원 펌프 및 SIL-30AC MP 오토샘플러 시스템 및 AB SCIEX Triple Quad 4500 ESI 질

량분석법을 이용하여 LC/MS/MS 분석을 수행하였다.

[0575] 전형적으로, Waters Xselect C18 CSH 3.5u 2.1mm ID×30mm 칼럼을 통해 통과시킨 후에 5 μ l 샘플 분취액을 LC/MS/MS에 주사하였다. 이동상 A는 수 중 0.1% 폼산을 함유하였고, 이동상 B는 95% 아세트나이트릴과 함께 5% 물 중의 0.1% 폼산을 함유하였다. 총 실행 시간은 1.5분 유속에 걸쳐 100% A 내지 100% B의 선형 구배로 1.5ml/분에서 3분이었다. 초기에, 기기는 0.5분 동안 100% 수성 이동상 용매에서 실행하였고, 이어서, 이를 다음 1.5분에 100% 유기 용매로 증가시켰다.

[0576] 분취 SEC:

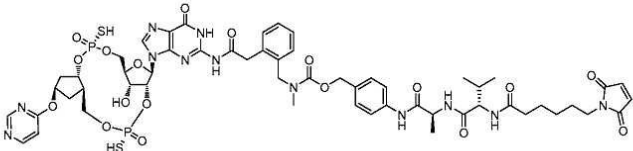
[0577] SEC 칼럼(전형적으로 GE Superdex 200 Increase 10/300 GL)을 이용하는 UV 검출기를 갖는 Gilson 분취 HPLC 시스템 상에서 분취 SEC 정제를 수행하였다. 이동상은 1×PBS(pH 7.4)였다. 전형적 실행은 30분 동안 1ml/분의 유속에서 등용매였다. 분획 수집은 (214 및 280nm에서) UV 역치에 기반하여 촉발되었다.

[0578] ADC 농도:

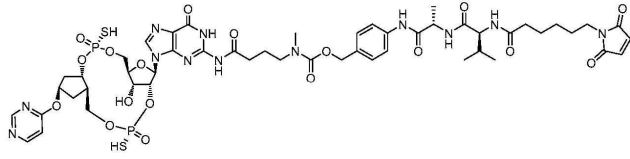
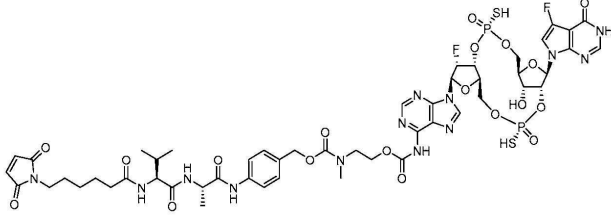
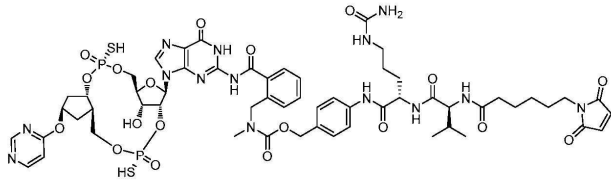
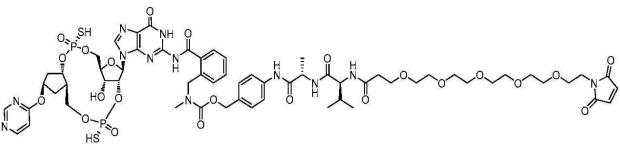
[0579] 대응하는 링커-페이로드 작제물로부터의 UV 흡광도의 차감 후에 NanoDrop (2000c; Fisher Scientific) 상관계수에 의해 측정된 280nm에서의 UV 흡광도로부터 ADC 농도를 계산하였다.

[0580] 표 2는 ADC 제조를 위해 사용한 링커-페이로드 작제물을 열거한다. 화합물은 페이로드로서 화합물 번호 14(WO2018/100558A2에 기재) 또는 화합물 I-5c(WO2019/092660에 기재됨)를 포함한다. 링커-페이로드 작제물의 합성은 PCT 출원 PCT/IB2020/054400에 기재되어 있었다.

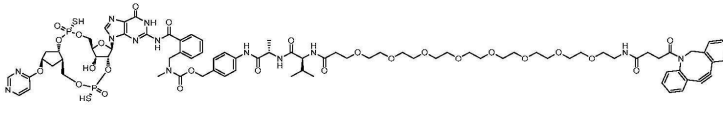
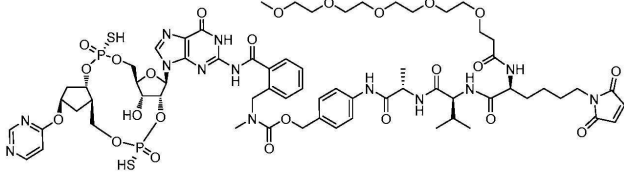
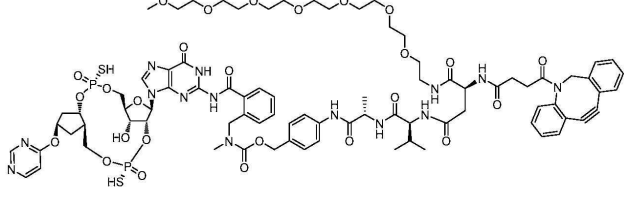
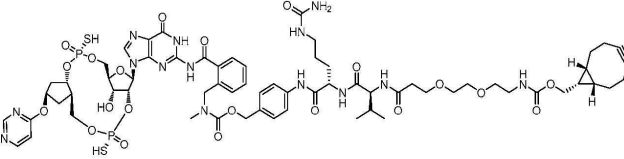
표 2

링커-페이로드 작제물	구조
C-2	

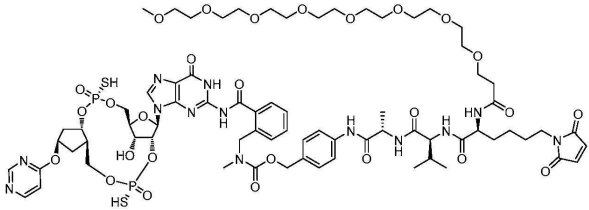
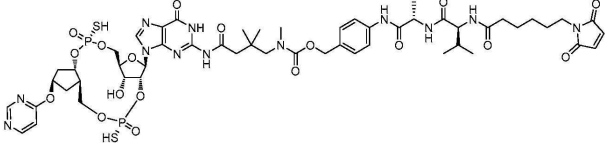
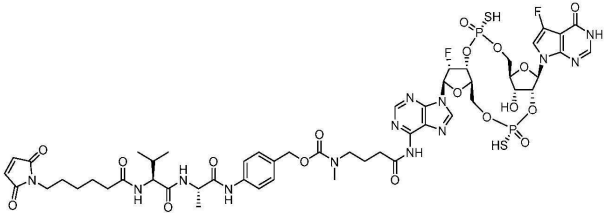
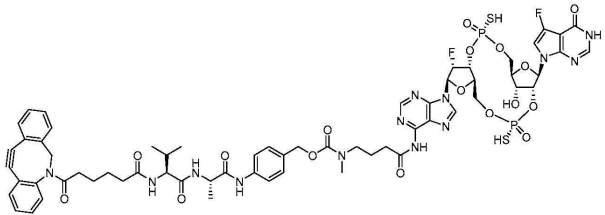
[0581]

<p>C-3</p>	
<p>C-4</p>	
<p>C-5</p>	
<p>C-8</p>	

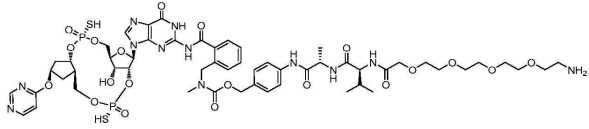
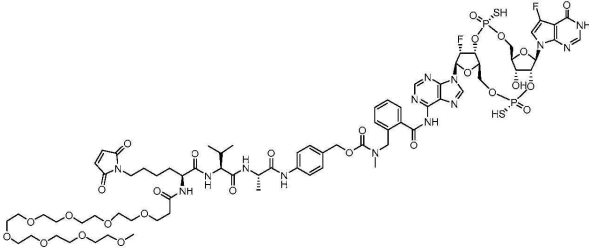
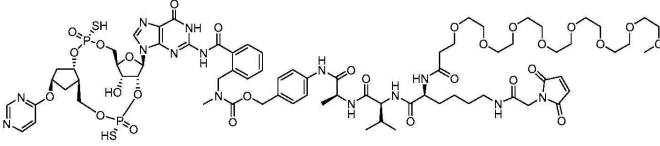
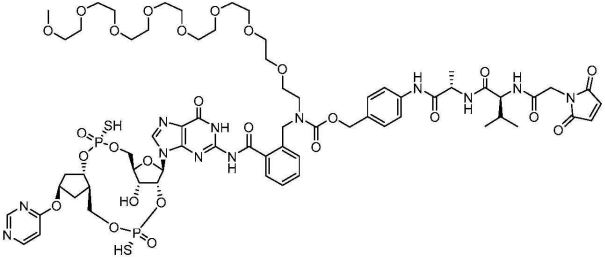
[0582]

<p>C-9</p>	
<p>C-10</p>	
<p>C-13</p>	
<p>C-15</p>	

[0583]

<p>C-18</p>	
<p>C-20</p>	
<p>C-21</p>	
<p>C-22</p>	

[0584]

<p>C-30</p>	
<p>C-38</p>	
<p>C-39</p>	
<p>C-41</p>	

[0585]

[0586]

1D9 마우스 단클론성 항체의 중쇄 및 경쇄의 인간화된 가변 도메인 및 TAK-202로도 불리는 인간 IgG1 중쇄 및 인간 카파 경쇄의 불변 도메인으로 구성된 항-인간 CCR2 단클론성 항체(아래의 hIgG1 아이소타입로도 지칭될 수 있는 인간화된 1D9)를 US 7,473,421 B2에 기재된 바와 같이 생성하였다. 인간화된 1D9의 hIgG4 아이소타입을 문헌[*Anticancer Research* March-April 2006 vol. 26 no. 2A 1057-1063]에 기재된 방법과 유사한 방식으로 제조하였다.

[0587] 인간화된 1D9의 서열

중쇄:

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS AYAMNWVRQA PGKGLEWVGR
 IRTKNNNYAT YYADSVKDRF TISRDDSKNT LYLQMNSLKT EDTAVYYCTT
 FYGNGVWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF
 PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC
 NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELAGAPSV FLFPPKPKDT
 LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY
 RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
 LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS
 DGSFFLYSKL TVDKSRWQOG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK (서열번호 3)

경쇄:

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCKSSQSLD DSDGKTFLNW FQQRPGQSPR
 RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGFHFP
 YTFGQGRLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSL SSSLTSLKAD YEKHKVYACE
 VTHQGLSSPV TKSFNREGC (서열번호 4)

[0588]

[0589] 인간화된 1D9 hIgG4 아이소타입의 서열

중쇄:

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSAYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRTKN
 NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTFYNGVWGQG
 TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
 TFPVAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPC
 PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHN
 AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP
 REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS
 DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG (서열번호 5)

경쇄:

DVVMTQSPLSLPVTGQPASISCKSSQSLDSDGKTFLNWFQQRPGQSPRRLIYLVSK
 LDGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCWQGFHFPYTFGQGRLEIKRTV
 AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
 SKDSTYSLSSSSLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 6)

[0590]

[0591] 실시예 1

[0592] 추계적 시스테인 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조를 위한 절차

[0593] 50mM 히스티딘, 125mM 아르기닌 및 pH 6.1 완충제 중 항-CCR2 항체(인간화된 1D9, 10mg/ml)의 용액에 TCEP(H₂O

중 1mM 용액, 2 내지 3 당량)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤으로 퍼지하고, rt 또는 37℃에서 1 내지 3시간 동안 부드럽게 진탕하면서 인큐베이션시켰다. 이어서, 목적하는 링커-페이로드 작제물(DMA 중 5mM 용액, 6 내지 9 당량)을 상기 혼합물에 서서히 첨가하였다. 반응물을 아르곤으로 퍼지하고, rt 또는 ℃에서 다시 1 내지 2시간 동안 부드럽게 진탕하면서 인큐베이션시켰다. 본 명세서에 기재한 분취 SEC 방법에 따라 반응 혼합물을 정제하여 ADC를 제공하였다. 분석 방법에 기재한 바와 같이 UV 흡광도, 분석 SEC 및 LC-QTOF에 의해 각각 ADC 농도, 응집 백분율 및 DAR을 결정하였다.

- [0594] 이 절차의 개략도를 도 1에 나타낸다
- [0595] 위에 기재한 것과 유사한 절차를 사용하여 다른 항체 접합체를 제조하였다.

실시예 2

[0597] *추계적 시스템인 접합을 통한 추가적인 Ab-STING 작용제 접합체의 제조*

[0598] 출발 물질로서 나타낸 출발 링커-페이로드 작제물 및 항체를 이용하여 실시예 1에 기재한 바와 같이 표 3에 열거한 항체 약물 접합체를 제조하였다.

표 3

ADC 생성물	링커 페이로드	인간화된 1D9 아이소타입	페이로드	DAR	응집%	수율%
ADC-B1	C-3	hIgG4	화합물 I-5c	3.7	BLQ	75
ADC-B2	C-21	hIgG4	화합물 번호 14	4.3	BLQ	80
ADC-B3	C-20	hIgG4	화합물 I-5c	2.4	BLQ	40
ADC-B5	C-4	hIgG4	화합물 번호 14	3.4	BLQ	100
ADC-B6	C-5	hIgG4	화합물 I-5c	3.1	BLQ	56

[0599]

ADC-B7	C-2	hIgG4	화합물 I-5c	3.2	BLQ	92
ADC-B8	C-10	hIgG4	화합물 I-5c	3.9	BLQ	50
ADC-B13	C-8	hIgG4	화합물 I-5c	3.9	BLQ	44
ADC-B14	C-18	hIgG1	화합물 I-5c	4.0	BLQ	74
ADC-B16	C-41	hIgG1	화합물 I-5c	4.1	BLQ	51
ADC-B17	C-38	hIgG1	화합물 번호 14	3.8	BLQ	74

[0600]

[0601]

실시예 3

[0602]

트랜스글루타미나제 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조를 위한 절차

[0603]

탈글리코실화: 50mM 히스티딘, 125mM 아르기닌, pH 6.1 완충제 중 항-CCR2 항체(US 7,473,421 B2에 기재된 바와 같이 생성된 인간화된 1D9, 60mg/ml)의 용액을 동일한 용적의 pH 7.2 PBS로 희석시켰다. 용액에 N-글리코시다제 F(New England Biolabs, P0704S, 1mg의 항체당 500,000개의 단위/ml, 300개의 단위)를 첨가하고, 반응 혼합물을 밤새 부드럽게 혼합하면서 37°C까지 가열하였다. 얻어진 탈글리코실화된 인간화된 1D9를 PBS pH 7.2와 완충제 교환하였다.

[0604]

트랜스글루타미나제 접합: 위에서 제조한 PBS 중 탈글리코실화된 인간화된 1D9 용액(10 내지 20mg/ml)에 아민-PEG-아자이드의 0.1M DMSO 용액(40 당량) 다음에 트랜스글루타미나제(ACTIVA™, Ajinomoto, 1mg의 항체당 5 내지 10mg)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새 부드럽게 혼합하면서 37°C까지 가열하였다. 본 명세서에 기재한 분취 SEC 방법에 따라 생성물을 정제하여 인간화된 1D9-NH-PEG-아자이드를 제공하였다.

[0605]

변형-축진된 아자이드-알킨 첨가 환화: 상기 제조한 인간화된 1D9-NH-PEG-아자이드 접합체 용액(PBS 중 2 내지 15mg/ml)에 링커-페이로드 작제물(DMSO<10%의 총 용매 용적인 3 내지 5 당량)를 함유하는 변형-알킨의 4 내지 10mM DMSO 용액을 첨가하였다. 얻어진 용액을 rt에서 밤새 부드럽게 교반하였다. 본 명세서에 기재한 분취 SEC 방법에 따라 생성물을 정제하여 ADC를 제공하였다. 분석 방법에 기재한 바와 같이 UV 흡광도, 분석 SEC 및 LC-QTOF에 의해 각각 ADC 농도, 응집 백분율 및 DAR을 결정하였다.

[0606]

이 절차의 개략도를 도 2에 나타낸다(RG=N₃). 위에 기재한 것과 유사한 절차를 사용하여 다른 항체 접합체를 제조하였다.

[0607]

실시예 4

[0608]

트랜스글루타미나제 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조

[0609]

표에 출발 물질로서 나타난 출발 링커-페이로드 작제물을 이용하여 실시예 3에 기재한 바와 같이 표 4에 열거한 항체 약물 접합체를 제조하였다.

표 4

ADC 생성물	링커-페이로드	인간화된 ID9 아이소타입	PEG 길이	페이로드	DAR	응집%	수율%
ADC-B4	C-22	hIgG4	2	화합물 번호 14	1.8	BLQ	70
ADC-B9	C-15	hIgG4	35	화합물 I-5c	2.0	BLQ	42
ADC-B10	C-15	hIgG4	23	화합물 I-5c	2.1	BLQ	70
ADC-B11	C-13	hIgG4	23	화합물 I-5c	2.0	BLQ	80
ADC-B12	C-9	hIgG4	9	화합물 I-5c	1.7	BLQ	50

[0610]

[0611]

실시에 5

[0612]

트랜스글루타미나제 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조를 위한 절차

[0613]

트랜스글루타미나제 접합(변형 후 문헌[Tumey, L. N. *et al. Mol. Pharmaceutics* 2019, 16, 6, 2795-2807]에 기재된 절차에 따름): pH 6.1 인산염 완충제 중 트랜스글루타미나제(ACTIVA™, Ajinomoto, 1mg의 항체당 50mg)의 용액에 PBS 중 탈글리코실화된 인간화된 ID9 용액(10 내지 20mg/ml, 실시에 3에 기재된 탈글리코실화 절차에 따라 제조됨)을 첨가한 후에, pH 6.1 인산염 완충제 중 30mM 시스타민·2HCl(50 당량) 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새 부드럽게 혼합하면서 37°C까지 가열하였다. 20mM 인산염 pH 7.0로 처음 세척하고, 이어서, 0.1M 시트르산 pH 4.0으로 ADC를 용리시킴으로써 HiTrap 단백질 A HP 칼럼(GE Healthcare, 17-0402-01)을 이용하여 생성물을 정제하였다. 본 명세서에 기재한 분취 SEC 방법 상의 추가 정제로 인간화된 ID9-NH-(CH₂)₂-S-S-(CH₂)₂-NH₂를 제공하였다.

[0614]

말레이미드 첨가: 위에 제조한 인간화된 ID9-NH-(CH₂)₂-S-S-(CH₂)₂-NH₂접합체의 용액(20mM pH 5 NaOAc 완충제 중 2 내지 15mg/ml)에 0°C에서 수 중 5mM TPPTS 용액(5 당량)을 첨가하였다. 얻어진 용액을 0°C에서 밤새 인큐베이션시켰다. 투석에 의한 소분자의 제거 후에, 용액을 0°C에서 다시 24시간 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 목적하는 링커-페이로드 작제물(DMA 중 5mM 용액, 2.05 당량)을 상기 혼합물에 서서히 첨가하였다. 반응물을 부드럽게 진탕하면서 0°C에서 1.5 내지 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 본 명세서에 기재한 분취 SEC 방법에 따라 반응 혼합물을 정제하여 ADC를 제공하였다. 분석 방법에 기재한 바와 같이 UV 흡광도, 분석 SEC 및 LC-QTOF에 의해 각각 ADC 농도, 응집 백분율 및 DAR을 결정하였다.

[0615]

이 절차의 개략도를 도 2에 도시한다(RG=SH). 위에 기재한 것과 유사한 절차를 사용하여 다른 항체 접합체를 제조하였다.

[0616]

실시에 6

[0617]

트랜스글루타미나제 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조

[0618] 표에 출발 물질로서 나타낸 출발 링커-페이로드 작제물을 이용하여 실시예 5에 기재한 바와 같이 표 5에 열거한 항체 약물 접합체를 제조하였다.

표 5

ADC 생성물	링커-페이로드	인간화된 ID9 아이소타입	페이로드	DAR	응집%	수율%
ADC-B18	C-18	hIgG1	화합물 I-5c	2.0	BLQ	80
ADC-B19	C-39	hIgG1	화합물 I-5c	2.0	BLQ	89
ADC-B20	C-38	hIgG1	화합물 번호 14	1.9	BLQ	80

[0619]

[0620] 실시예 7

[0621] 트랜스글루타미나제 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조

[0622] PBS 중 탈글리코실화된 인간화된 ID9 용액(10 내지 20mg/ml, 실시예 3에 기재한 탈글리코실화 절차에 따라 제조)에 1M Tris, 5M NaCl, pH 8.0 완충제(총 용적의 10 내지 20%)를 첨가하여 pH를 8.0까지 조절하였다. 용액에 1차 아민-함유 링커-페이로드 작제물(20 당량) 다음에 트랜스글루타미나제(ACTIVA™, Ajinomoto, 1mg의 항체 당 100 내지 150mg)의 10mM DMSO 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새 부드럽게 혼합하면서 37℃까지 가열하였다. 20mM 인산염 pH 7.0로 처음 세척하고, 이어서, 0.1M 시트르산 pH 4.0으로 ADC를 용리시킴으로써 HiTrap 단백질 A HP 칼럼(GE Healthcare, 17-0402-01)을 이용하여 생성물을 정제하였다. 본 명세서에 기재한 분취 SEC 방법에 따라 생성물을 추가로 정제하여 ADC를 제공하였다. 분석 방법에 기재한 바와 같이 UV 흡광도, 분석 SEC 및 LC-QTOF에 의해 각각 ADC 농도, 응집 백분율 및 DAR을 결정하였다.

[0623] 이 절차의 개략도를 도 3에 도시한다. 위에 기재한 것과 유사한 절차를 사용하여 다른 항체 접합체를 제조하였다.

[0624] 실시예 8

[0625] 트랜스글루타미나제 접합을 통한 Ab-STING 작용제 접합체의 제조

[0626] 표에 출발 물질로서 나타낸 출발 링커-페이로드 작제물을 이용하여 실시예 7에 기재한 바와 같이 표 6에 열거한 항체 약물 접합체를 제조하였다.

표 6

ADC 생성물	링커-페이로드	인간화된 ID9 아이소타입	페이로드	DAR	응집%	수율%
ADC-B15	C-30	hIgG1	화합물 I-5c	1.6	BLQ	64

[0627]

[0628] 실시예 9

[0629] 추계적 시스템인 접합을 통한 마우스 Ab-STING 작용제 접합체의 제조를 위한 절차

[0630] 25mM 시트르산나트륨 중 항-mCCR2 MC-21 항체(Universitaetsklinikum Regensburg, 독일 레겐스부르크 소재; 문헌[Mack, M. et al. J. Immunol. 2001, 166, 4697-4704] 및 WO 2007/115713에 기재됨)(중쇄에서 L235A-G237A-

E318A 돌연변이를 갖는 mIgG2a)의 용액에, pH 5.5 완충제(3.4mg/ml)에 0.5M tris, 25mM EDTA, pH 8 용액(총 용적의 10%) 및 TCEP(H₂O 중 10mM 용액, 20 당량)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤으로 퍼지하고, 37°C에서 1.5시간 동안 부드럽게 진탕하면서 인큐베이션시켰다. 본 명세서에 기재한 분취 SEC 방법에 따라 반응 혼합물을 정제하였다. 정제된 환원 항체 용액을 4°C까지 냉각시켰다. DMSO 중 데하이드로아스코르브산 용액(2mM, 환원 항체에 대해 3 당량)을 첨가하고, 얻어진 혼합물을 4°C에서 밤새 보관하였다. 용액을 rt까지 가온시키고, 이어서, 목적하는 링커-페이로드 작제물(DMA 중 5mM 용액, 환원 항체에 대해 7 당량)을 서서히 첨가하였다. 반응물을 부드럽게 진탕하면서 실온에서 다시 1.5 내지 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 본 명세서에 기재한 분취 SEC 방법에 따라 반응 혼합물을 정제하여 ADC를 제공하였다. 분석 방법에 기재한 바와 같이 UV 흡광도, 분석 SEC 및 LC-QTOF에 의해 각각 ADC 농도, 응집 백분율 및 DAR을 결정하였다.

[0631] 이 절차의 개략도를 도 1에 도시한다.

[0632] 실시예 10

[0633] 추계적 시스템인 접합을 통한 추가적인 마우스 Ab-STING 작용제 접합체의 제조

[0634] 출발 물질로서 나타낸 출발 링커-페이로드 작제물 및 항체를 이용하여 실시예 9에 기재한 바와 같이 표 7에 열거한 항체 약물 접합체를 제조하였다.

표 7

ADC 생성물	링커-페이로드	mAb	페이로드	DAR	응집%	수율%
ADC-B21	C-38	MC-21	화합물 번호 14	3.6	BLQ	63

[0635]

[0636] 실시예 11

[0637] 혈장 안정성 분석 조건

[0638] 시험 화합물을 10µg/ml의 농도로 1ml의 혈장과 섞고, 이어서, 5 등가 용적의 분취액을 2ml의 에펜도르프 마이크로튜브(0, 24, 48, 72 및 96시간을 라벨링)에 제공하였다. 0시간 시점에 대해, 관을 -80°C에서 즉시 보관하고, 남아있는 관을 보통으로 진탕하면서 37°C에서 인큐베이션시켰다. 분취액을 이들의 대응하는 시점에 인큐베이터로부터 제거하고, -80°C에서 보관하였다. 모든 샘플을 수집한 후에, 이들을 rt에서 해동시키고, 젖은 얼음 상에 두었다. 50µl의 각 샘플을 96-웰 미량정량관에 3회 제공하였다. 50nM의 내부 표준을 함유하는 200µl의 빙랭 메탄올로 샘플의 반응을 중단시켰다. 샘플을 2분 동안 교반하고, 이어서, 3000rpm에서 10분 동안 원심 분리시켰다. 185µl의 상청액을 깨끗한 주사 플레이트에 옮기고, 이어서, 40°C에서 N₂ 기체 하에 건조시켰다. 건조시킨 샘플 추출물을 100µl의 LCMS 등급수로 재구성하고, 이어서, LC-MS/MS 분석을 위한 제조에서 1분 동안 교반하였다.

[0639] 물(용매 A) 중 0.1% 폼산 및 아세트나이트릴(용매 B) 중 0.1% 폼산으로 이루어진 구배를 이용하여 40°C에서 Synergi 2.5µ Polar-RP 100A C18 칼럼(2.0mm×30mm), (Phenomenex®)을 이용하여 역상 HPLC에 의해 각 샘플을 분리시켰다. SCIEX API 4500 QTRAP 기기를 이용하여 다중-반응 모니터링(MRM) 모드에서 양이온 분무에 의해 분석물을 검출하였다. 다양한 시점에 인간, 영장류 및 마우스 혈장의 페이로드 상실 백분율을 표 8에 보고한다.

표 8

ADC	인간 혈장에서의 페이로드 손실(%)				사이노물거스 혈장에서의 페이로드 손실(%)				마우스 혈장에서의 페이로드 손실(%)			
	1d	2d	3d	4d	1d	2d	3d	4d	1d	2d	3d	4d
ADC-B2	NA	NA	NA	NA	4.5	9.9	15.6	21.7	NA	NA	NA	NA
ADC-B5	1.0	1.8	2.8	3.3	0.7	0.9	2.2	1.4	2.2	3.9	6.4	7.6
ADC-B6	0.3	1.0	1.6	2.4	0.6	1.0	1.8	2.1	1.4	2.0	3.1	3.9
ADC-B7	2.5	6.2	11.0	16.0	4.8	10.2	16.9	22.6	3.2	6.5	9.6	13.3
ADC-B14	1.8	3.4	4.9	5.9	1.4	3.0	3.9	5.5	4.5	6.8	16.0	19.4
ADC-B17	0.7	1.1	1.6	2.2	0.6	0.8	1.4	1.7	2.7	4.1	11.1	9.9

[0640]

[0641] 실시예 12

[0642] *THP1* 이중 *Lucia* 리포터 유전자 분석 조건

[0643] THP1-Dual™ KI-hSTING-R232 세포(InvivoGen #thpd-r232)는 내인성 인간 HAQ STING 유전자의 안정한 이중대립 유전자 녹아웃 및 인간 STING의 R232 변이체의 녹아웃(knockin)에 의해 인간 THP-1 단핵구 세포주로부터 유래되었다. 이들 세포는 또한 5가지 IFN-자극 반응 요소(ISRE)와 함께 ISG54(인터페론-자극 유전자) 최소 프로모터의 제어 하에 유도성 분비된 Lucia 루시퍼라제 리포터 유전자를 안정하게 발현시킨다. 리포터 유전자의 발현은 Lucia 루시퍼라제의 활성을 평가함으로써 IFN 조절 인자(IRF) 경로 연구를 가능하게 한다. 인간 STING 및 루시퍼라제에 추가로, 이들 세포를 인간 CCR2를 안정하게 발현시키도록 조작하여 IRF 경로의 표적-매개 활성화 연구를 가능하게 하였다. THP-1 세포는 인간 CCR2를 과발현시키기 위해 조작된 세포에 비해 훨씬 더 낮은 밀도에서 내인성 인간 CCR2를 발현시킨다. 따라서, 빈 백터 세포는 여전히 음성 대조군으로서 사용할 수 있었다.

[0644] 실험일에, 세포를 성장 배지(RPMI 1640, 2mM L-글루타민, 25mM HEPES, 10% 열-비활성화 소 태아 혈청, 100µg/ml Normocin™, 100 U/ml-100µg/ml Pen-Strep, 10µg/ml의 블라스티시딘, 100µg/ml의 Zeocin, 및 1µg/ml의 퓨로마이신)에서 웰 밀도당 15,000개의 세포/25µl로 배양, 384-웰 플레이트(Corning 356661)에 플레이팅하였다. 세포 펠릿에 5µl의 hCCR2-표적화-ADC 샘플 또는 화합물 샘플을 투약하고, 이어서, 37°C에서 20시간 동안 인큐베이션시켰다. 인큐베이션의 마지막에, 10µl/웰의 QUANTI-Luc™(InvivoGen # rep-qlc1)을 첨가하고, LeadSeeker를 이용하여 발광을 즉시 측정하였다.

[0645] 상기 기재한 분석 방법에 대해, 다양한 농도에서 각 시험 ADC 또는 시험 화합물에 대한 발광 신호 유도%를 비처리 및 대조군 처리 샘플에 대해 계산하였다. 신호 유도 곡선 백분율에 대한 화합물 농도를 적합화시켜 EC₅₀ 값을 생성하였다. 당업자는 EC₅₀ 값으로서 생성된 값이 실험 변동의 대상임을 인식할 것이다. 관찰된 EC₅₀ 및 Emax를 표 9에 보고한다. 표 9의 데이터는 인간화된 1D9 또는 이의 IgG4 아이소타입에 대한 화합물 번호 14 또는 화합물 I-5c 중 하나의 접합이 hCCR2-과발현 THP1 세포주에서 시험관내 효력을 극적으로 증가시킨다는 것을 분명히 나타낸다.

표 9

ADC/화합물	hCCR2-과발현		벡터 THP1	
	EC ₅₀ nM	E _{max}	EC ₅₀ nM	E _{max}
ADC-B1	NA	NA	>370	0.6
ADC-B2	2.63	75.1	193	61.8
ADC-B3	NA	NA	>160	4.6
ADC-B4	NA	NA	>214	5.3
ADC-B5	NA	NA	98.6	24.5
ADC-B14	0.53	102	366	48.5
ADC-B15	302	59.2	>1000	1.28
ADC-B16	2.46	107	>1000	34.5
ADC-B17	1.14	97.8	>1000	25.8
ADC-B18	48.2	56.1	>1000	1.52
ADC-B19	3.09	78.3	>200	2.19
화합물 번호 14	760	97	710	129
화합물 I-5c	850	100	790	126

[0646]

[0647] 실시예 13

[0648] 마우스에서의 약물동력학 평가

[0649] 미경험 Balb/C 마우스에서 ADC의 생체내 평가를 위해, 6 내지 8주령의 암컷 Balb/C 마우스(Jackson Laboratory 로부 구입)를 사용하였다. 마우스에 보통식(normal diet)을 공급하고, 실험 동물의 관리 및 사용에 관한 지침(Guide for Care and Use of Laboratory Animals) 및 실험동물윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 규제에 따라 SPF 동물 시설에 수용하였다. 동물을 18 내지 26℃의 온도, 50 ± 20%의 상대 습도 및 12시간의 간헐적 명암 주기에서 유지하고, 사료 및 물은 임의로 이용 가능하였다.

[0650] Balb/C 마우스에 ADC의 주사 후에 ADC의 약물동력학을 연구하였다. 혈청 샘플을 다양한 시점에 취하고, 분석을 위해 냉동 저장하였다.

[0651] 총 항체 및 접합 페이로드의 마우스 혈장 수준을 Sciex 6500 QTRAP 질량 분광기에 접속된 Shimadzu UHPLC 시스템 상의 2-인-1 면역포획 기반 LC/MS 분석에 의해 측정하였다. 간략하게, 마우스 혈장 샘플을 실온에서 45분 동안 항-인간 IgG 코팅 자기 비드와 함께 인큐베이션시키고, 이어서, PBST(pH 7.4의 PBS 완충제, 0.05% tween 20 함유) 및 PBS 완충제로 자기 비드를 연속해서 세척함으로써 비특이적으로 결합된 단백질을 제거하였다. 이후에, 네이키드(naked) 항체(DAR=0)와 ADC(DAR≥1)를 둘 다 자기 비드로부터 0.1% 트라이플루오로아세트산에 용리시켰다. 안정한 동위원소 표지 내부 표준에서 용리액을 중화시키고, 섞은 후에, 샘플의 하나의 분취액을 피펫팅하고, 과과인으로 1시간 동안 37℃에서 분해시키고, 이어서, 접합 페이로드의 LC/MS 분석을 위해 사용하였다. 남아있는 샘플을 트립신/lys-C 분해로 1시간 동안 70℃에서 처리하고, 이어서, 총 항체의 LC/MS 분석을 위해 사용하였다.

[0652] 또한 혈장 단백질 침전을 수행한 후에 LC/MS에 의해 순환에서 유리 페이로드를 측정하였다. 간략하게, 마우스 혈장을 안정한 동위원소 표지 내부 표준을 함유하는 8 용적의 메탄올과 혼합하고, 이어서 상청액을 약한 질소 증기 하에 40℃에서 증발건조시켰다. 최종적으로, LC/MS 분석 전에 LC/MS 등급수에서 잔사를 재구성하였다.

[0653] ADC-B14, ADC-B15, ADC-B16, ADC-B17 및 ADC-B18의 PK 프로파일을 표 10에 요약한다. 혈장 PK의 그래프 표현을 도 4 내지 도 8에 나타낸다.

표 10

ADC (페이로드 용량)		반감기(h)	AUC (최종) (h*nM)
ADC-B14 (0.05 mg/kg)	접합된 페이로드	41	47600
	항체	68	14370
ADC-B15 (0.05 mg/kg)	접합된 페이로드	53	37282
	항체	73	13434
ADC-B16 (0.05 mg/kg)	접합된 페이로드	44	39200
	항체	58	12300
ADC-B17 (0.05 mg/kg)	접합된 페이로드	36	58200
	항체	59	20400
ADC-B18 (0.05 mg/kg)	접합된 페이로드	49	65400
	항체	60	39300

[0654]

[0655] 실시예 14

[0656] 마우스에서의 내약성 평가

[0657] 미경험 C57BL/6 마우스에서 ADC의 내약성을 평가하였다. 연구 제0일에, 동물의 체중을 재고, 이어서, 표시된 양 (페이로드 농도에 의함)의 ADC를 정맥내로 투여하였다. 이어서, 동물을 투약 후 적어도 14일 동안 정기적으로 체중을 재고(각 측정 사이는 3일 이하임), 투약 전 시작 체중을 기준으로 각 측정 후에 체중을 계산하였다. 20% 초과 체중 감소가 있거나, 또는 빈사 상태이거나 또는 다르게는 인간 연구 종점을 초과하는 곤란 징후를 나타낸 임의의 동물을 연구로부터 제거하고, IACUC 프로토콜 내에서 가이드라인에 따라 안락사시켰다. 20% 초과 체중 감소 또는 다르게 인간 종점을 초과함으로 인해, 최대허용용량(MTD)을 어떤 동물도 사망한 것으로 또는 연구로부터 제거될 필요가 있는 것으로 발견되지 않은 가장 높은 용량(페이로드 농도에 의함)으로서 계산하였다. ADC-B17의 MTD는 200µg/kg(페이로드 농도에 의함, 도 9)였고, ADC-B20의 MTD는 250µg/kg(페이로드 농도에 의함, 도 10)이었다.

[0658] 실시예 15

[0659] 마우스에서의 항종양 활성 평가

[0660] 화합물 번호 14와 비교되는 ADC-B21의 효능을 C57BL/6 마우스 모델을 보유하는 MC38(뮤린 결장 선암종)에서 평가하였다. 종양 이식에 대해, 1×10^6 개의 MC38 세포를 C57BL/6 마우스에 피하로 주사하였고, 마우스를 후속적으로 종양 성장에 대해 모니터링하였다. 종양 용적이 대략 평균 100mm³에 도달되었을 때, 동물을 종양 용적에 따라 무작위화하였고, 100µl의 비히클, 2000µg/kg에서 화합물 번호 14, 또는 50µg/kg에서 ADC-B21을 정맥내로 투약하였다. 투약 첫 날은 연구 제0일로 간주하였다. 화합물 번호 14 및 비히클을 연구 제3일 및 제6일에 다시 투약한 한편, 연구 제0일에 ADC-B21을 단일 투여로서 투여하였다. 연구 종료까지 1주에 적어도 2회 종양 용적 및 체중 측정을 취하였고, 시작 체중으로부터 20% 초과 체중 감소 또는 2000mm³을 초과하는 종양 용적의 경우 동물을 제거하였다. 연구 제63일까지, 화합물 번호 14 처리 동물은 6회 중 총 1회의 완전 반응을 가졌고, 이를 6회 중 총 4회의 완전 반응을 갖는 ADC-B21 처리와 비교하였다.

[0661] 관찰한 항종양 활성의 그래프 표현을 도 11에 나타내며, 이는 페이로드 단독과 비교할 때 훨씬 더 낮은 용량 수준에서 항-CCR2 ADC의 유의미하게 향상된 효능을 입증한다.

[0662] 실시예 16

[0663] 비인간 영장류에서의 독성/약리학 평가

[0664] 사이노몰거스 원숭이에서의 독성 연구에서 2개의 ADC 변이체를 평가하였다.

[0665] 0.15, 0.5, 1.5 또는 5mg/kg(2마리의 원숭이/성별/그룹)(단백질 용량)에서 ADC-B2의 정맥내 투여에 따른 단일 용량 연구를 수행하였다. 5mg/kg ADC-B2의 투여는 비접합 페이로드(화합물 번호 14)를 이용하는 이전의 연구와

비슷한 폐 독성으로 인한 제2일의 두 동물에서의 조기 사망과 관련되었다(감소된 신체 창백한 점막의 임상 징후, 및 감소된 심장을 및 육안적 적색 변색과 상관관계가 있는 경증의 폐 혈관 울혈 및 급성 폐포 출혈의 조직학적 소견, 하치조 부종 및 피브린, 증가된 폐포대식세포 및 호중구성 침윤물, 및 하나의 동물에서, 늑막 및 심장막삼출). 이들 조기 사망 동물에 고유한 다른 소견은 골수(감소된 조혈 세포질, 단세포 괴사 및 증가된 조직구), 간(괴사의 다핵소성 무작위 병소) 및 림프 조직(비장 및 편도에서의 배중심의 감소된 세포질 및/또는 괴사, 및 흉선에서의 단세포 괴사)에 존재하였다. 샘플을 이용 가능한 한 마리의 조기 사망 동물의 임상 병리학 및 사이토카인 분석은 전염증/급성기 반응의 증거이며, IP-10, IL-6, MCP 1, 및 TNF- α 사이토카인 수준의 상승은 말기 안락사까지 생존한 동물과 유사하였다. 말기 안락사까지 생존한 동물에서의 조직학적 소견은 (림프구 및 조직구성 세포의 증가로 인해) 1.5mg/kg 이상에서의 림프절 증가 세포질, 및 한 마리 동물에서 5mg/kg에서의 림프절 배중심 괴사로 제한된다. 연구에 첨가한 약리학적 증점은 단핵구 집단을 평가하기 위한 유세포분석으로 이루어지고, 제1일: 투약 후 6 및 24시간에 고전적, 중간 및 비고전적 단핵구 및 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 상대 백분율의 용량-의존적 감소와 함께 제1일: 투약 후 48시간까지 부분적 회복의 상대 백분율의 용량-의존적 감소를 확인하였다.

[0666]

0.3, 1 또는 3mg/kg에서의 총 3회 용량(단백질 용량)(2마리 원숭이/성별/그룹)에 대해 2주마다 예정된 ADC-B17의 정맥내 투여에 의한 반복 용량 연구를 수행하였지만; 그러나, 제15일의 제2 용량 후 3mg/kg 용량 그룹으로부터의 2마리 동물의 조기 사망으로 인해, 그룹 4에서 남아있는 2마리의 동물은 제29일에 2mg/kg의 감소된 투약량(제3/최종 용량)을 받았다. 0.3mg/kg 이상의 ADC-B17의 반복 투여는 제15일 후 1 이상의 시점에서 12마리 중 10마리의 동물에서 항-약물 항체(ADA)의 개발과 관련되었고(신호/노이즈비의 10배 내지 10^3 배 증가), 대부분 ADC의 면역자극 페이로드로 향하였으며, 일부 ADA는 또한 ADC의 항체 구성성분을 향한 시간 과정의 종료 시 관찰되었다. 이들 ADA는 대부분의 ADA-양성 동물에서 제3 용량 후 노출(Cmax)의 감소와 관련되었다. ADC-B17-관련 조기 사망은 1mg/kg 이상에서 관찰되었다. 1mg/kg에서 한 마리의 동물을 제29일, 용량 후 대략 7시간에 빈사 상태에서 안락사시켰다. 3mg/kg에서, 제15일에 용량 후 대략 6시간에 1마리의 동물이 사망한 채로 발견되었고, 제15일, 용량 후 대략 7시간에 1마리의 동물을 빈사 상태에서 안락사시켰다. 사망 전에 이들 동물에서 ADC-B17-관련 임상 징후는 붉은 피부(얼굴), 감소된 활성, 등이 굽은 자세, 체중 감소, 과도한 침흘림, 부분적으로 감긴 눈, 건조한 점막, 증가된 체온, 심잡음 및/또는 상승된 심박수 및/또는 호흡 속도를 포함하였다. 사망 원인은 면역원성/과민반응으로 인한 가능성이 있는 것으로 간주되는 면역-관련 효과로 인한 것이지만, ADC-B17의 직접 효과를 판명할 수 없었다. 모두 3마리의 조기 사망자로부터의 혈청 화학 소견은 일반적으로 말기 안락사까지 생존한 동물과 유사하였고, 전신 전염증 반응 및 근육 및/또는 간세포 손상과 일치하였다. 제29일에 안락사시킨 동물에서 혈액학 및 응고 파라미터를 평가하였지만, 제15일의 동물에서는 평가하지 않았고; 스트레스로 인한 림프구 및 호중구의 최소 감소가 있었으며, 응고 파라미터의 변화는 없었다. 관찰된 면역표현형 변화는 아래에 기재하는 생존 동물과 유사하였다. 제15일에 조기 사망한 동물에서의 대부분의 현미경 소견은 말기 안락사까지 생존한 동물과 유사하였지만 더 중증이었고, 최소 간세포 괴사 및 면역 매개 효과를 갖는 전신 소견(간 굴백판, 부신, 폐 간질 및 비장에서 면역 세포 침윤물; 폐 모세혈관의 혈전증; 비장에서의 괴사/피브린 침착; 심근 변성; 및 부신 및 심장외막 지방의 미세출혈)으로 이루어졌다. 조기 사망에 고유한 추가적인 소견은 스트레스 또는 빈사 상태(감소된 흉선 중량 및 췌장 선포 세포 퇴행에 관해 감소된 흉선 세포질)에 이차적인 것으로 간주하였다. 제29일에 빈사 상태로 안락사시킨 동물에서, 유일한 소견은 최소 부신 출혈이었다.

[0667]

말기 안락사까지 생존한 동물에서, 아스파르트이트 아미노트랜스퍼라제, 알라닌 아미노트랜스퍼라제, 글루타메이트 탈수소효소 및 크레아틴 키나제 중 1가지 이상의 약간 내지 보통의 증가로 이루어진 임상 병리 소견이 제3일의 0.3mg/kg 이상에서 관찰되었다. 이들 소견은 근육 및/또는 간세포 유래와 일치되었고, 분명한 조직학적 상관관계가 없었다. 제3일의 다른 소견은 다중 조직에서 염증 세포 침윤물과 조직학적으로 상관관계가 있는 전신 전염증 반응/급성기 반응(최소 내지 약간 증가된 글로불린 및 c 반응성 단백질 및 총 단백질, 알부민 및 알부민/글로불린 비의 최소 내지 약간의 감소), 또는 조직학적 상관관계가 없는 탈수(약간 증가된 유레아, 크레아티닌 및 인)와 일치되었다. 이들 변화 각각은 제30일까지 부분적 내지 완전히 회복되었다. 수컷에서 제14일 및/또는 제30일에 추가적인 혈청 화학 변화는 글로불린의 약간의 증가, 약간 상승된 총 빌리루빈으로만 이루어졌고, 이들 둘 다 진행 중인 급성기 염증 반응과 일치되었다. 제30일의 말기 안락사 시 0.3mg/kg 이상에서의 개개 동물에서의 혈액학 및 응고 소견은 백혈구 수, 호중구 수, 피브리노겐 및 활성화된 부분적 트롬보플라스틴 시간의 약간의 증가, 및 적혈구 수, 헤모글로빈, 헤마토크리트의 약간의 감소로 이루어진다. 이들 소견은 전신 전염증 반응/급성기 반응과 일치되었다.

[0668]

단핵구 및 MDSC 수뿐만 아니라 단핵구 상에서의 CCR2, CD80 및 CD86 발현을 평가하기 위해 설계한 유세포분석

패널을 이용하여 혈장 샘플에서의 단핵구 및 MDSC의 변화를 평가하였다. 이 평가로부터의 소견은 0.3mg/kg 이상의 ADC-B17의 예상된 약리학과 일치되었고, 각 용량 후 고전적 단핵구, 비고전적 단핵구, 및 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 절대 수의 용량-반응의 약간 내지 심한 감소로 이루어졌으며, 유세포분석에 의해 측정되는 바와 같이 각각의 후속 용량 전 기준선을 향한 또는 기준선 초과회복이 있었다. 고전적 단핵구에서의 CCR2 발현은 투약 후에 감소되었고, 후속 용량 전 모든 용량에서 기준선 근처까지 회복이 있었다(도 12, 상단). 또한, 고전적 단핵구뿐만 아니라 MDSC 둘 다에서의 CD80의 발현은 각 용량 후에 증가하는 것으로 발견되었고, 이어서, 후속 투약 전 기준선 수준에서 또는 기준선 미만으로 회복되었다(도 12, 각각 중간 및 하단).

[0669] 혈장 샘플에서 사이토카인의 변화를 또한 평가하였고, 0.3mg/kg 이상에서 ADC-B17이 약리학의 잠재적 바이오마커인 혈청 IP-10 및 MCP-1 농도의 대규모 용량 독립적 증가로 이루어졌고, 용량 후 6시간에 최대가 되고 용량 후 24시간에 기준선 값으로 복귀되거나 복귀하는 경향이 있다는 것이 나타났다. 투약 후 6시간에 최대가 되고 용량 후 24시간 또는 다음의 용량 전에 기준선 값으로 복귀되거나 복귀하는 경향이 있는 혈청 IL-1RA, IL-6, TNF- α 및 IFN- γ 의 추가적인 상승이 관찰되었다(도 13).

[0670] 말기 안락사 시 동물의 조직학적 소견은 0.3mg/kg 이상에서의 임상 병리 상관관계 없이 다병소성 간세포 괴사로 이루어졌다. 1mg/kg 이상에서, 적혈구와 골수의 골수성 전구체 둘 다의 최소 내지 약간 감소된 세포질이 있었고 (약간 감소된 적혈구의 혈액학 소견, 1마리의 동물에서, 현저하게 감소된 림프구와 상관관계가 있음), 혼합 세포 침윤물은 약간 증가된 비장 체중 및 십이지장 또는 심장의 최소 병소 출혈과 상관관계가 있는 비장 적비수의 부신 및 간 굴핵판, 증가된 세포질(혼합 세포) 내에서 산발적으로 관찰되었다. 염증 세포 침윤물/출혈이 있는 이들 기관은 전신 전염증 반응의 일부일 가능성이 있는 것으로 간주하였고, 직접 표적 기관 독성으로 간주하지 않았다. 면역 복합체 형성 및 조직 침착이 면역 세포 침윤물 및/또는 조직 손상 영역에 존재하는지의 여부를 결정하기 위해 인간 IgG, 원숭이 IgG 및 IgM, C3, 및/또는 C9에 대한 면역조직화학을 수행하였다. 면역 복합체 형성을 나타내는 과립 침착물은 검출되지 않았다.

[0671] 실시예 17

[0672] 비인간 영장류에서의 약물동력학 평가

[0673] 혈청 샘플을 다양한 시점에 실시예 16에 기재한 ADC-B17을 투약한 비인간 영장류로부터 취하고, 분석을 위해 냉동 저장하였다. 총 항체 및 접합 페이로드의 원숭이 혈장 수준을 Sciex 6500+ QTRAP 질량 분광기에 접속된 Shimadzu UHPLC 시스템 상의 2-인-1 면역포획 기반 LC/MS 분석에 의해 측정하였다. 간략하게, 원숭이 혈장 샘플을 실온에서 60분 동안 항-이디오타입 항체 코팅된 자기 비드와 함께 인큐베이션시키고, 이어서, PBS 완충제로 자기 비드를 3회 세척함으로써 비특이적으로 결합된 단백질을 제거하였다. 이후에, 네이키드 항체(DAR=0)와 ADC(DAR \geq 1)를 둘 다 자기 비드로부터 0.1% 트라이플루오로아세트산에 용리시켰다. 안정한 동위원소 표지 내부 표준에서 용리액을 증화시키고, 섞은 후에, 샘플의 하나의 분취액을 피펫팅하고, 트립신/lys-C로 1시간 동안 60 $^{\circ}$ C에서 분해시키고, 이어서, 총 항체의 LC/MS 분석을 위해 사용하였다. 남아있는 샘플을 파파인 분해로 1시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 처리하고, 이어서, 접합 페이로드의 LC/MS 분석을 위해 사용하였다.

[0674] 또한 혈장 단백질 침전을 수행한 후에 LC/MS에 의해 순환에서 유리 페이로드를 측정하였다. 요약하면, 원숭이 혈장을 안정적인 동위원소 표지 화합물 번호 14와 처음 섞은 후에, 메탄올을 이용하여 단백질을 침전시키고, 이어서, 상청액을 약한 질소 증기 하에 증발 건조시켰다. 최종적으로, LC/MS 분석 전에 아세트산 암모늄 용액을 이용하여 잔사를 재구성하였다.

[0675] ADC-B17의 PK 프로파일을 표 11에서 요약한다. 혈장 PK의 그래프 표현을 도 14에 나타낸다.

표 11

ADC-B17 단백질 용량		반감기(h)	AUC (최종) (h*nM)
3mg/kg	접합된 페이로드	25	33310
	항체	40	14470
1mg/kg	접합된 페이로드	17	9648
	항체	52	4092
0.3mg/kg	접합된 페이로드	11	2220
	항체	18	885

[0676]

- [0677] 실시예 18(예언적)
- [0678] PD-1/PD-L1 항체와의 병용 요법
- [0679] 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 항체와 조합한 ADC의 내약성을 미경험 C57BL/6 마우스에서 평가할 수 있다.
- [0680] 사용할 수 있는 ADC 및 항-PD-1/항-PD-L1 조합을 표 12에 나타낸다.

표 12

ADC 생성물	링커-페이로드 작제물	인간화된 ID9 아이소타입	페이로드	항체
ADC-B2	C-21	hIgG4	화합물 번호 14	PD-1
ADC-B5	C-4	hIgG4	화합물 번호 14	PD-1
ADC-B17	C-38	hIgG1	화합물 번호 14	PD-1
ADC-B4	C-22	hIgG4	화합물 번호 14	PD-1
ADC-B20	C-38	hIgG1	화합물 번호 14	PD-1
ADC-B21	C-38	MC-21	화합물 번호 14	PD-1
ADC-B2	C-21	hIgG4	화합물 번호 14	PD-L1
ADC-B5	C-4	hIgG4	화합물 번호 14	PD-L1
ADC-B17	C-38	hIgG1	화합물 번호 14	PD-L1
ADC-B4	C-22	hIgG4	화합물 번호 14	PD-L1
ADC-B20	C-38	hIgG1	화합물 번호 14	PD-L1
ADC-B21	C-38	MC-21	화합물 번호 14	PD-L1

- [0681]
- [0682] 내약성 연구를 위해, 표 12에 나타난 바와 같은 ADC를 0.05mg/kg로 투약할 수 있고, 항-PD-1 및 항-PD-L1 항체를 0.5, 5 또는 50mg/kg로 투약할 수 있다. 항-PD-1 항체 캄블리주맙이 설치류 PD-1과 교차 반응하지 않기 때문에, 마우스는 래트 항-마우스 PD-1 항체 J43 및 래트 항-마우스 PD-L1 항체 MIH5를 각각 0.5, 5 및 50mg/kg에서 투여 받을 것이다.
- [0683] 연구 제0일에, 동물의 체중을 재고, 이어서, 표시된 양의 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 항체와 조합하여 표시된 양의 ADC를 정맥내로 투여하였다. 이어서, 동물을 투약 후 적어도 14일 동안 정기적으로 체중을 재고(각 측정 사

이는 3일 이하임), 투약 전 시작 체중을 기준으로 각 측정 후에 체중을 계산할 수 있다. 20% 초과 체중 감소가 있거나, 또는 빈사 상태를 나타내거나 또는 다르게는 인간 연구 종점을 초과하는 곤란 징후를 나타낸 임의의 동물을 연구로부터 제거할 수 있고, IACUC 프로토콜 내에서 가이드라인에 따라 안락사시켰다. 20% 초과 체중 감소 또는 다르게 인간 종점을 초과함으로 인해, 최대허용용량(MTD)을 어떤 동물도 사망한 것으로 또는 연구로부터 제거될 필요가 있는 것으로 발견되지 않은 가장 높은 용량(페이로드 농도+PD-1/PD-L1 항체 농도에 의함)으로서 계산할 수 있다. ADC 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 중 하나에 의해 만족스러운 내약성이 달성된다면, ADC 및 항-PD-1 및 항-PD-L1 항체에 의한 병용 요법이 유사한 방식으로 수행될 수 있다.

[0684] *마우스에서의 병용요법에 대한 효능 연구*

[0685] 항-PD-1 항체 J43 또는 항-PD-L1 항체 MIH5와 조합한 표 12에 나타낸 바와 같은 ADC의 효능을 MC38(뮤린 결합 선암종) 종양 보유 C57BL/6 마우스 모델에서 시험할 수 있다. 종양 이식에 대해, 1×10^6 개의 MC38 세포를 C57BL/6 마우스에 피하로 주사할 수 있고, 마우스를 후속적으로 종양 성장에 대해 모니터링할 수 있다. 종양 용적이 평균적으로 대략 100mm³에 도달되었을 때, 동물을 종양 용적에 따라 무작위화하였고, 100 μ l의 비히클, 50 μ g/kg의 표 12의 각각의 ADC 및 0.5, 5 또는 50mg/kg의 J43 또는 0.5, 5 또는 50mg/kg의 MIH5로 정맥내로 투약하였다. 투약 첫 날은 연구 제0일로 간주할 수 있다. 연구 종료까지 1주에 적어도 2회 종양 용적 및 체중 측정을 취할 수 있고, 시작 체중으로부터 20% 초과 체중 감소 또는 2000mm³을 초과하는 종양 용적의 경우 동물을 연구로부터 제거할 수 있다. 완전한 반응 및 부분적 반응에 대해 연구 제63일에 동물을 평가할 수 있다. ADC와 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 중 하나와의 조합에 의해 종양 용적의 만족스러운 감소가 달성되지 않는다면, ADC 및 항-PD-1 및 항-PD-L1 항체에 의한 병용 요법이 유사한 방식으로 수행될 수 있다.

[0686] *비-인간 영장류에서의 병용 요법에 대한 효능 연구*

[0687] 0.3, 0.5 또는 1mg/kg의 총 3회 용량(단백질 용량)(2마리의 원숭이/성별/그룹)에 대해 2주마다(제1일 내지 제29일) 사이노몰거스 원숭이에게 항-PD-1 항체 팜브롤리주맙 또는 항-PD-L1 항체 아테졸리주맙과 조합한 ADC를 정맥내로 투여할 수 있다. 팜브롤리주맙을 0.5 또는 15mg/kg으로 투약할 수 있고, 아테졸리주맙을 0.5 또는 15mg/kg으로 투약할 수 있다. 동물을 혈액학적 및 응고 파라미터, 일반적 혈청 화학에 대해 평가할 수 있고, 연구 종료 시 조직학적으로 평가할 수 있다.

[0688] 다양한 시점에 비인간 영장류로부터 혈액 샘플을 취할 수 있고, 총 항체 및 접합 페이로드의 원숭이 혈장 수준을 위에 기재한 바와 같이 Sciex 6500+ QTRAP 질량 분광기에 접속된 Shimadzu UHPLC 시스템 상의 2-인-1 면역 포획 기반 LC/MS 분석에 의해 측정할 수 있다. 또한 위에 기재한 바와 같이 혈장 단백질 침전을 수행한 후에 LC/MS에 의해 순환에서 유리 페이로드를 측정할 수 있다.

[0689] 실시예 19(예언적)

[0690] *방사선과의 병용 요법*

[0691] *내약성 연구*

[0692] 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 항체 및 방사선과 조합한 ADC의 내약성을 미경험 C57BL/6 마우스에서 평가할 수 있다.

[0693] 사용할 수 있는 ADC, 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 항체 및 방사선 조합을 표 13에 나타낸다.

표 13

ADC 생성물	항체	방사선
ADC-B2	PD-1	0.5 Gy
ADC-B5	PD-1	0.5 Gy
ADC-B17	PD-1	0.5 Gy
ADC-B4	PD-1	0.5 Gy
ADC-B20	PD-1	0.5 Gy
ADC-B21	PD-1	0.5 Gy
ADC-B2	PD-L1	0.5 Gy
ADC-B5	PD-L1	0.5 Gy
ADC-B17	PD-L1	0.5 Gy
ADC-B4	PD-L1	0.5 Gy
ADC-B20	PD-L1	0.5 Gy
ADC-B21	PD-L1	0.5 Gy
ADC-B2	PD-1	1 Gy
ADC-B5	PD-1	1 Gy
ADC-B17	PD-1	1 Gy
ADC-B4	PD-1	1 Gy
ADC-B20	PD-1	1 Gy
ADC-B21	PD-1	1 Gy
ADC-B2	PD-L1	1 Gy
ADC-B5	PD-L1	1 Gy
ADC-B17	PD-L1	1 Gy
ADC-B4	PD-L1	1 Gy
ADC-B20	PD-L1	1 Gy
ADC-B21	PL-L1	1 Gy

[0694]

[0695]

내약성 연구를 위해, ADC를 0.05mg/kg로 투약할 수 있고, 항-PD-1 및 항-PD-L1 항체를 0.5, 5 또는 50mg/kg로 투약할 수 있으며, 방사선을 0.5 Gy 및 1 Gy에서 투약할 수 있다.

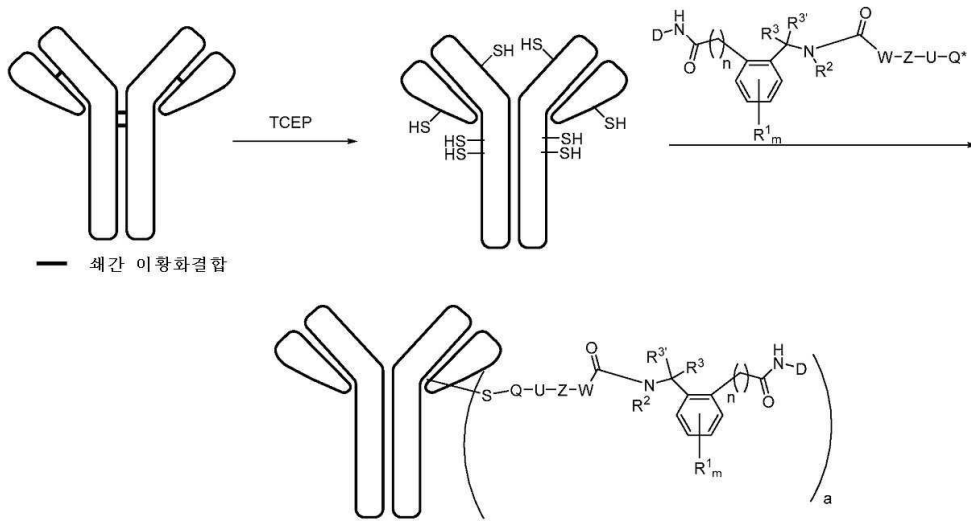
[0696]

연구 제0일에, 동물의 체중을 재고, 표시된 양의 항-PD-1 J43 및/또는 항-PD-L1 MIH5 항체와 조합한 표시된 양의 ADC의 정맥내 투여의 약 5시간 전에 방사선을 투여하였다. 이어서, 동물을 투약 후 적어도 14일 동안 정기적으로 체중을 재고(각 측정 사이는 3일 이하임), 투약 전 시작 체중을 기준으로 각 측정 후에 체중을 계산할 수 있다. 20% 초과 체중 감소가 있거나, 또는 빈사 상태를 나타내거나 또는 다르게는 인간 연구 중점을 초과하는 곤란 징후를 나타낸 임의의 동물을 연구로부터 제거할 수 있고, IACUC 프로토콜 내에서 가이드라인에 따라 안락 사시켰다. 20% 초과 체중 감소 또는 다르게 인간 중점을 초과함으로써 인해, 최대허용용량(MTD)을 어떤 동물도 사망한 것으로 또는 연구로부터 제거될 필요가 있는 것으로 발견되지 않은 가장 높은 용량의 병용 요법의 방사선으로서 계산할 수 있다. ADC 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체와 방사선에 의해 만족스러운 내약성이 달성된다면, ADC 및 항-PD-1 및 항-PD-L1 항체와 방사선에 의한 병용 요법이 유사한 방식으로 수행될 수 있다.

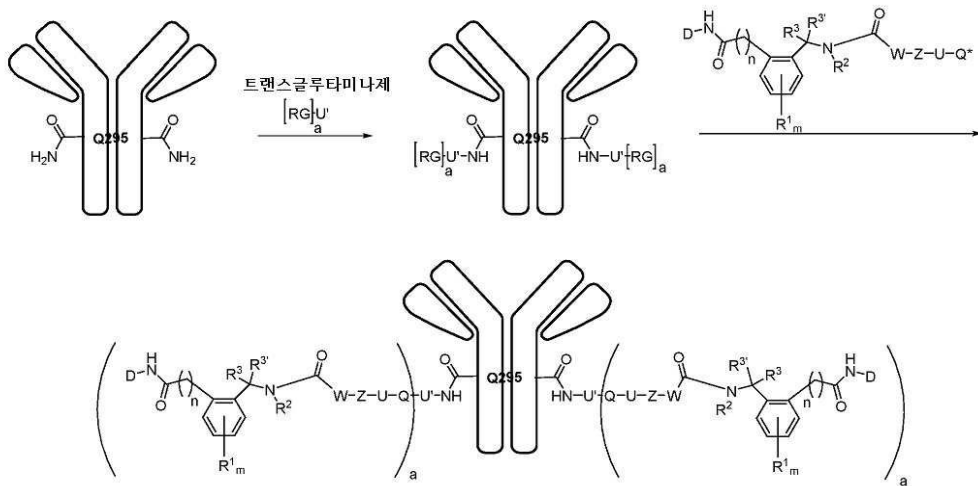
- [0697] *마우스에서의 방사선과의 병용요법에 대한 효능 연구*
- [0698] 표 13에 나타난 바와 같이 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 항체와 방사선과 조합한 ADC의 효능을 MC38(뮤린 결장 선암종) 종양 보유 C57BL/6 마우스 모델에서 시험할 수 있다. 종양 이식에 대해, 1×10^6 개의 MC38 세포를 C57BL/6 마우스에 피하로 주사할 수 있고, 마우스를 후속적으로 종양 성장에 대해 모니터링할 수 있다. 종양 용적이 대략 평균 100mm³에 도달될 때, 동물을 종양 용적에 따라 무작위화할 수 있고, 0.5 Gy 또는 1 Gy 방사선 중 하나로 방사선 조사하고, 100 μ l의 비히클, 50 μ g/kg의 표 13의 각각의 ADC 및 0.5, 5 또는 50mg/kg의 항-PD1 항체 J43 또는 0.5, 5 또는 50mg/kg의 항-PD-L1 항체 MIH5를 정맥내로 투약하였다. 투약 첫 날은 연구 제0일로 간주할 수 있다. 연구 종료까지 1주에 적어도 2회 종양 용적 및 체중 측정을 취할 수 있고, 시작 체중으로부터 20% 초과와 체중 감소 또는 2000mm³을 초과하는 종양 용적의 경우 동물을 연구로부터 제거할 수 있다. 완전한 반응 및 부분적 반응에 대해 연구 제63일에 동물을 평가할 수 있다. ADC와 방사선 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 중 하나와의 조합에 의해 종양 용적의 만족스러운 감소가 달성되지 않는다면, ADC와 방사선 및 항-PD-1 및 항-PD-L1 항체에 의한 병용 요법이 유사한 방식으로 수행될 수 있다.
- [0699] *비-인간 영장류에서의 방사선과의 병용요법에 대한 효능 연구*
- [0700] 사이노몰거스 원숭이를 ADC 및 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 항체의 투여 전에 0.8 Gy 및 1.2 Gy로 처리할 수 있다. 0.3, 0.5 또는 1mg/kg의 총 3회 용량(단백질 용량)(2마리의 원숭이/성별/그룹)에 대해 2주마다(제1일 내지 제29일) 사이노몰거스 원숭이에게 방사선 요법 후에 항-PD-1 항체 펩브롤리주맙 또는 항-PD-L1 항체 아테졸리주맙과 조합한 ADC를 정맥내로 투여할 수 있다. 펩브롤리주맙을 0.5 또는 15mg/kg으로 투약할 수 있고, 아테졸리주맙을 0.5 또는 15mg/kg으로 투약할 수 있다. 동물을 혈액학적 및 응고 파라미터, 일반적 혈청 화학에 대해 평가할 수 있고, 연구 종료 시 조직학적으로 평가할 수 있다.
- [0701] 다양한 시점에 비인간 영장류로부터 혈액 샘플을 취할 수 있고, 총 항체 및 접합 페이로드의 원숭이 혈장 수준을 위에 기재한 바와 같이 Sciex 6500+ QTRAP 질량 분광기에 접속된 Shimadzu UHPLC 시스템 상의 2-인-1 면역 포획 기반 LC/MS 분석에 의해 측정할 수 있다. 또한 위에 기재한 바와 같이 혈장 단백질 침전을 수행한 후에 LC/MS에 의해 순환에서 유리 페이로드를 측정할 수 있다. 방사선 후 혈액학적 회복 및 골수의 독성을 동물에서 평가할 수 있다.
- [0702] 상세한 설명 부문 및 발명의 내용 및 요약 부문은 청구범위를 해석하기 위해 사용될 것으로 의도된다는 것이 인식되어야 한다. 발명의 내용 및 요약 부문은 1회 이상 제시될 수 있지만, 본 발명자(들)에 의해 상정되는 바와 같은 본 개시내용의 모든 예시적인 실시형태를 제시하는 것은 아니며, 따라서, 본 개시내용 및 첨부하는 청구범위를 임의의 방법으로 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0703] 본 개시내용은 구체화된 기능의 실행 및 이의 관계를 예시하는 기능적 빌딩 블록의 도움을 받아 상기 기재하였다. 이들 기능적 빌딩 블록의 경계는 설명의 편리함을 위해 본 명세서에 임의의 정의되었다. 구체화된 기능 및 이의 관계가 적절하게 수행되는 한, 교변의 경계가 정의될 수 있다.
- [0704] 구체적 실시형태의 앞서 언급한 설명은 본 개시내용의 일반적 특성을 완전히 나타낼 것이며, 다른 사람들은, 당 업계의 기술 이내인 지식을 적용함으로써 과도한 실험을 하지 않고, 본 개시내용의 일반적 개념으로부터 벗어나는 일 없이, 다양한 적용을 위해 이러한 구체적 실시형태를 용이하게 변형 및/또는 적용할 수 있다. 따라서, 이러한 각색 및 변형은 본 명세서에 제시된 교시 및 가이드에 기반하여 개시된 실시형태의 동등물의 의미 및 범주 이내인 것으로 의도된다. 본 명세서의 어법 또는 용어는 설명을 목적을 위한 것이며, 제한이 아니므로, 본 명세서의 용어 또는 어법은 교시 및 가이드에 비추어 당업자가 해석하여야 한다.
- [0705] 본 개시내용의 폭 및 범주는 임의의 상기 기재한 예시적 실시형태에 의해 제한되어서는 안 되지만, 다음의 청구 범위 및 이들의 균등물에 따라서만 정의되어야 한다.

도면

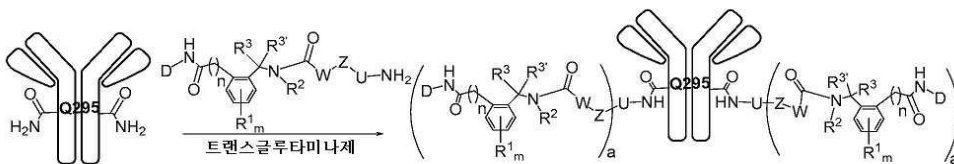
도면1



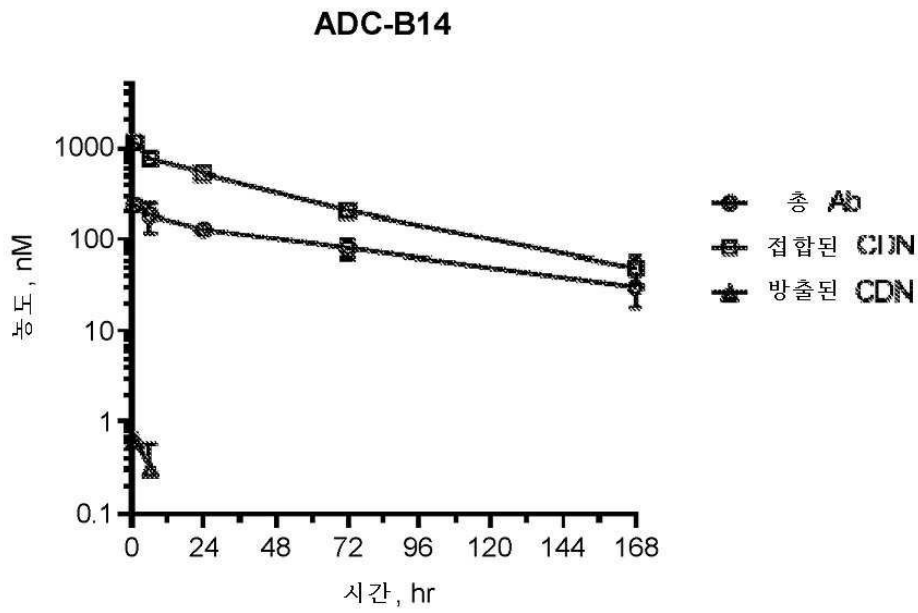
도면2



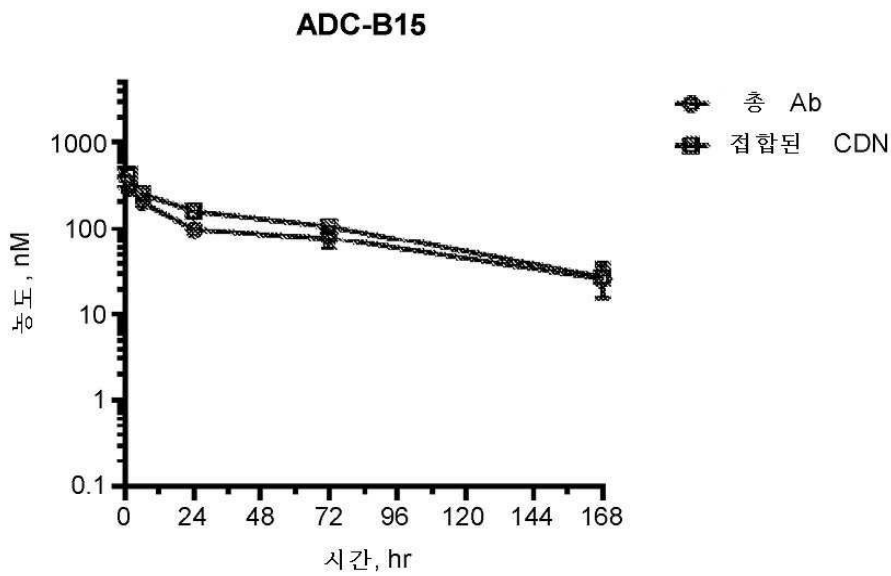
도면3



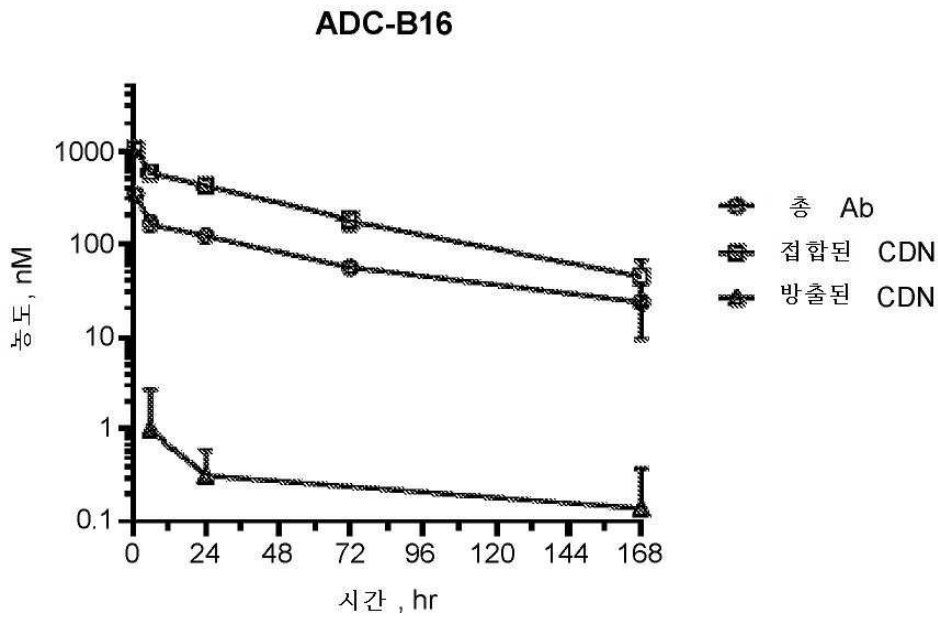
도면4



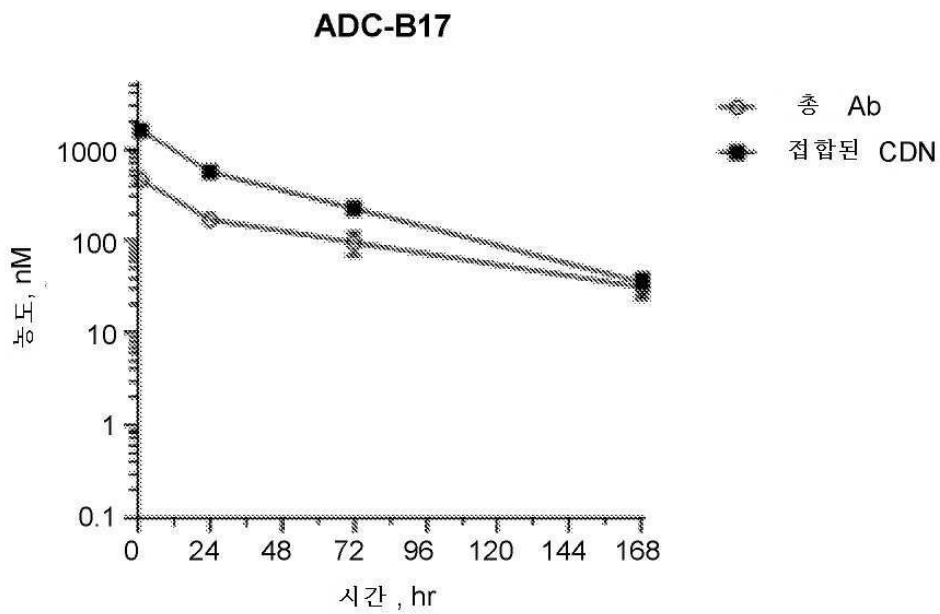
도면5



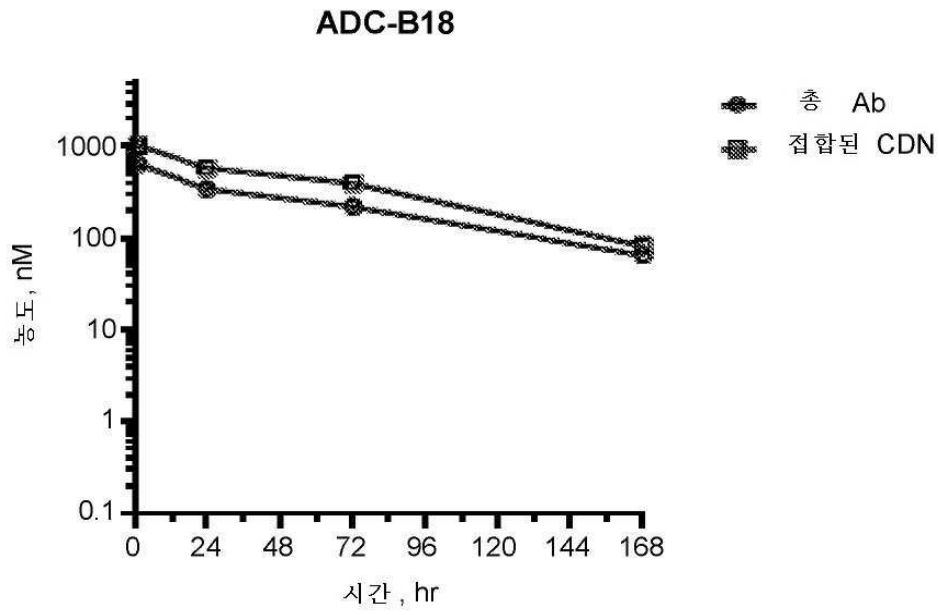
도면6



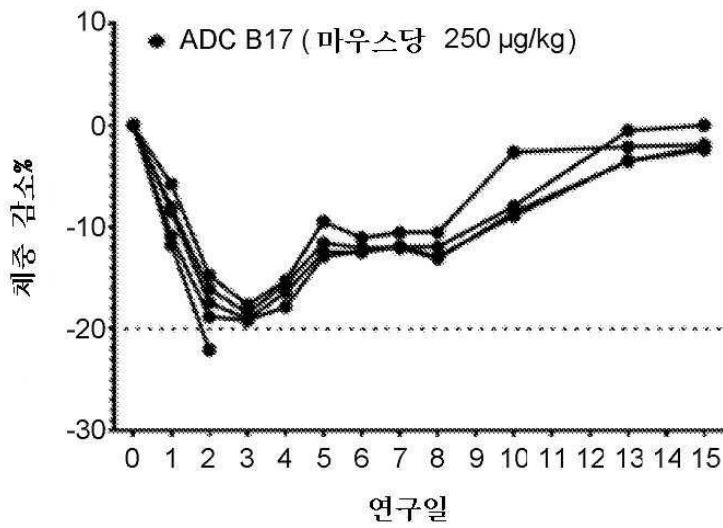
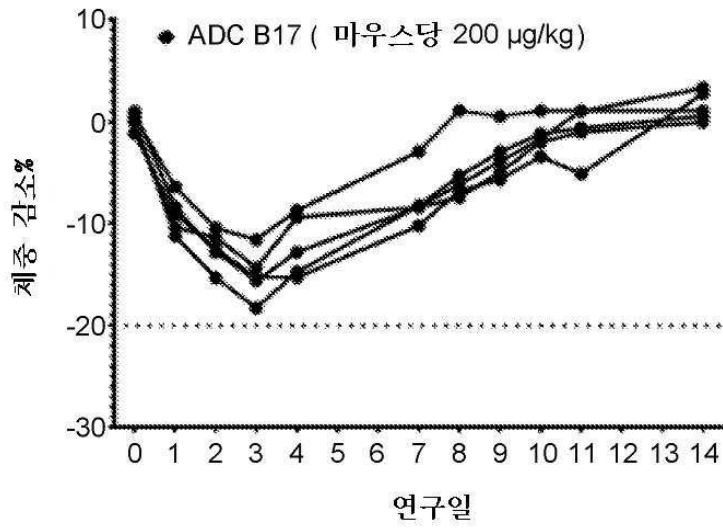
도면7



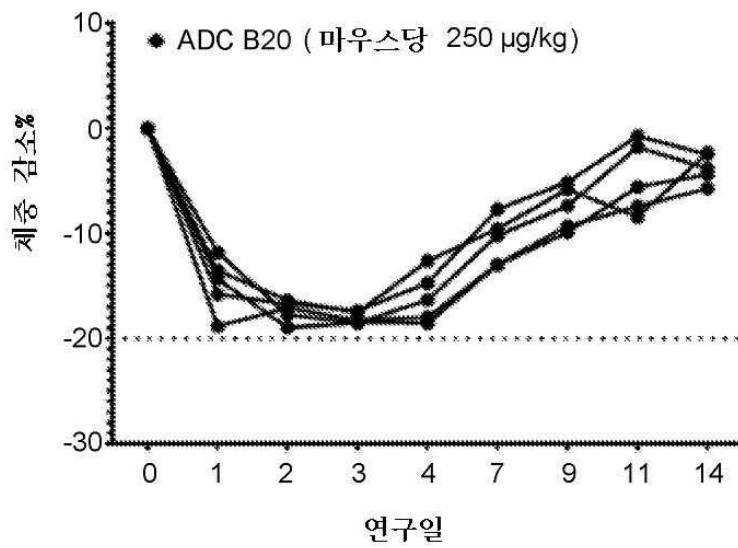
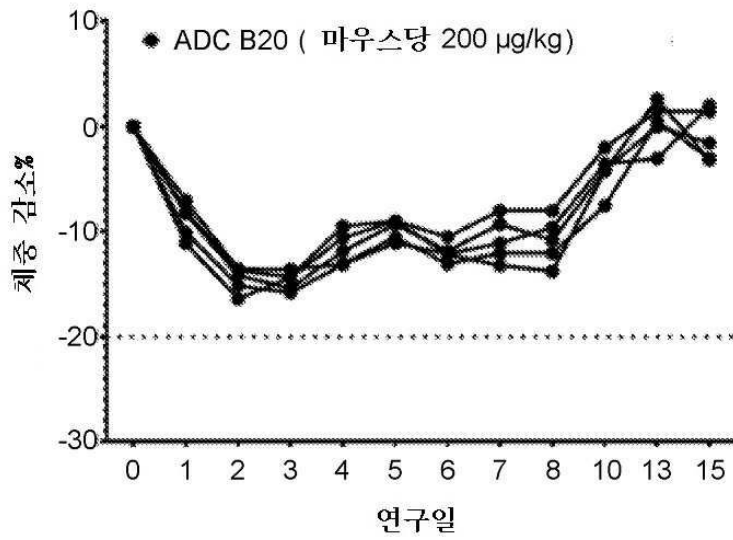
도면8



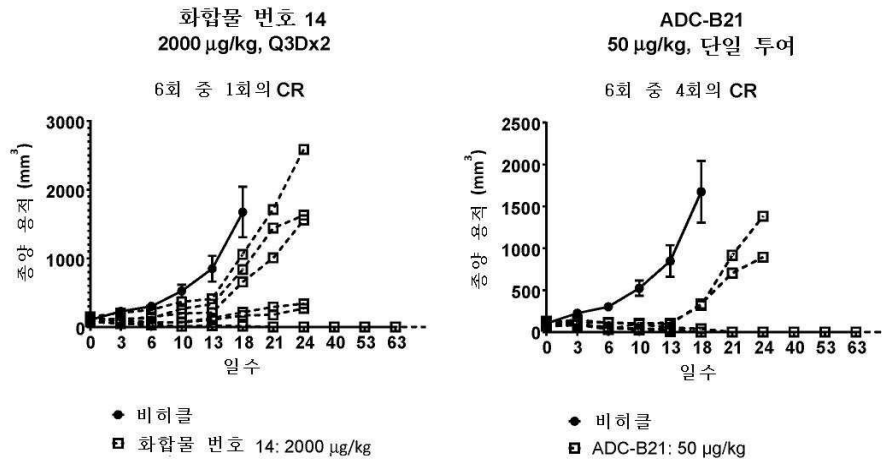
도면9



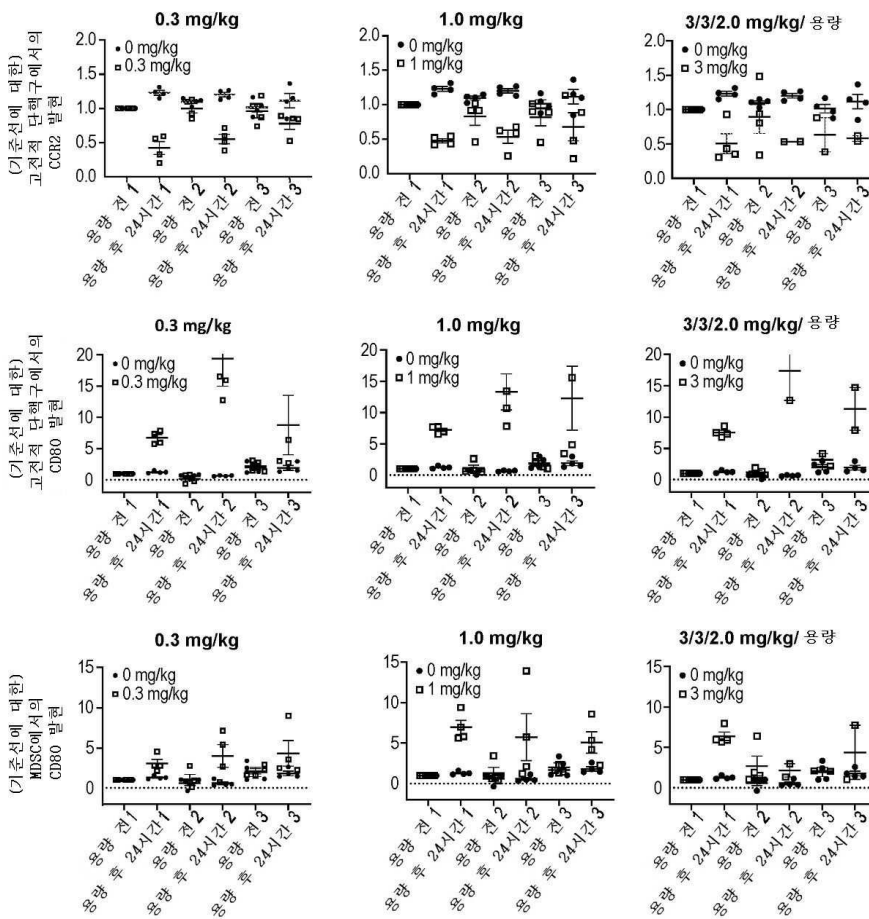
도면10



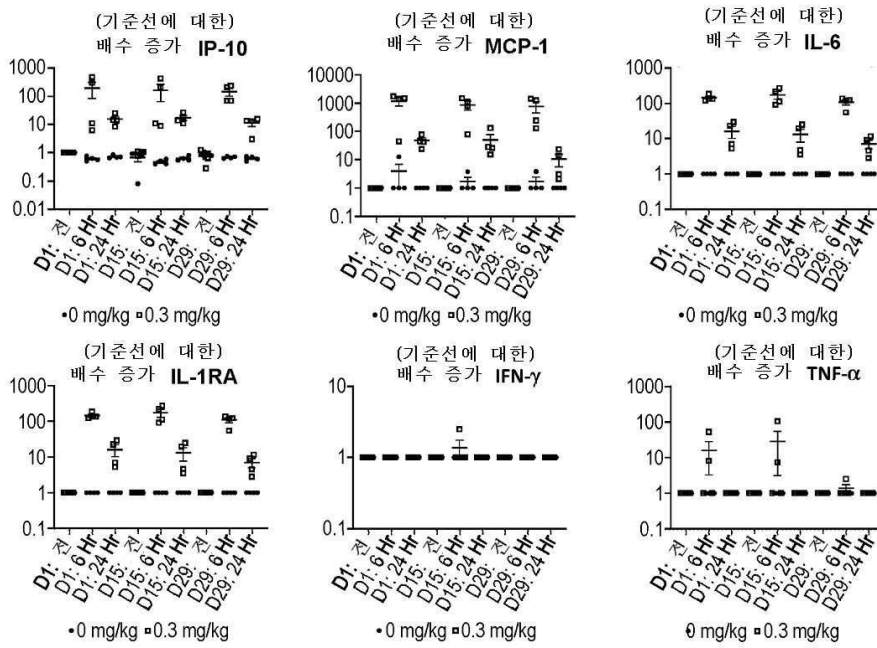
도면11



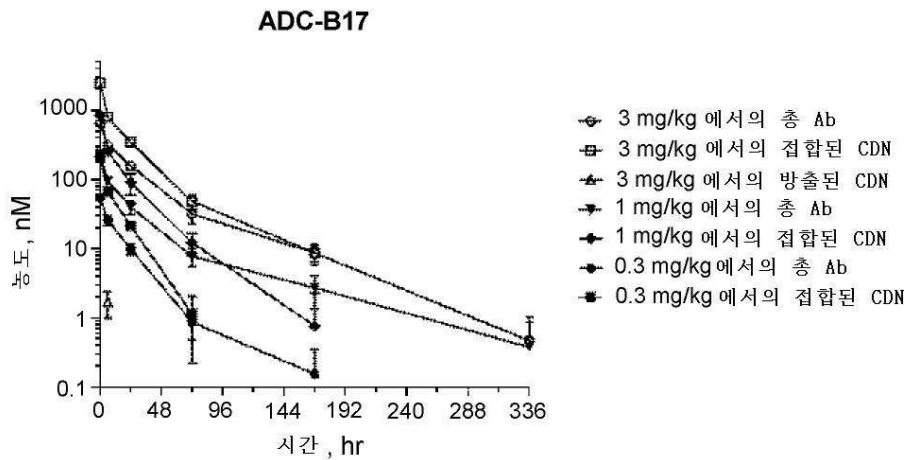
도면12



도면13



도면14



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LTD.

<120> ANTIBODY DRUG CONJUGATES

<130> WO/2022/097117

<140> PCT/IB2021/060356

<141> 2021-11-09

<150> US 63/111,478

<151> 2020-11-09
 <150> US 63/232,935
 <151> 2021-08-13
 <150> US 63/250,358
 <151> 2021-09-30
 <160> 6
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Kappa Light Chain Variable Region (VL) of the Humanized 1D9
 antibody
 <400> 1

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

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

<210> 2
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Variable Region (VH) of the Humanized 1D9 Antibody

<400> 2

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

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

<210> 3

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Humanized 1D9 Heavy Chain

<400> 3

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

50

55

60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Phe Tyr Gly Asn Gly Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

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

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

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

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

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

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 4

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized 1D9 Light Chain

<400> 4

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Gly Lys Thr Phe Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

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

<210> 5

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized 1D9 hIgG4 Isotype Heavy Chain

<400> 5

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

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Asn Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr Phe Tyr Gly Asn Gly Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys

 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn

 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 225 230 235 240
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 245 250 255
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe

 260 265 270
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 275 280 285

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 6

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized 1D9 hIgG4 Isotype Light Chain

<400> 6

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Gly Lys Thr Phe Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg 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