

명세서

발명의 명칭: 인간 CLDN18.2에 대한 항체를 포함하는 항체 약물 접합체 및 이의 용도

기술분야

- [1] 본 발명은 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2)를 타겟팅하는 신규한 항체-약물 접합체(antibody-drug conjugate, ADC), 이들 ADC의 활성 대사물, 이들 ADC의 제조방법, 병의 치료 및/또는 예방을 위한 이들 ADC의 용도, 및 또한 병, 더 상세하게는 과증식 및/또는 혈관신생질환 예컨대, 암 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 약제를 생산하기 위한 이들 ADC의 용도에 관한 것이며, 보다 구체적으로, CLDN18.2에 결합하는 신규한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 항체-약물 접합체 및 이를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 암(cancer)은 신체 조직의 자율적인 과잉 성장에 의해 비정상적으로 자라난 덩어리로 인한 질환을 말하며, 다양한 조직에서 조절되지 않는 세포 성장의 결과이다. 초기 단계 종양은 수술 및 방사선치료 조치에 의해 제거될 수 있으며, 전이된 종양의 경우 일반적으로 화학요법에 의해 완화치료를 하게 된다.
- [4] 비경구로 투여되는 대다수 화학요법제는 전신 투여의 결과로서 원치 않는 부작용 및 심지어 독성이라는 심각한 효과를 유도할 수 있으며, 따라서 종양 세포 또는 바로 인접한 조직에서 이들 화학요법제의 개선되었으면서도 선택적인 적용을 통해 약효 증가 및 독성/부작용의 최소화를 동시에 이루기 위한 신규한 화학 요법제의 개발에 초점이 맞추어져 왔다.
- [5] 항체-약물 접합체(antibody-drug conjugate, ADC)는 항원과 결합하는 항체에 독소 또는 약물을 결합시킨 후 세포 내부에서 독성물질을 방출하면서 암 세포 등을 사멸에 이르게 하는 표적지향성 신기술이다. 건강한 세포에는 최소한으로 영향을 주면서 약물을 타겟 암세포에 정확하게 전달하고, 특정한 조건하에서만 방출되도록 해주기 때문에 항체 치료제 자체보다 효능이 우수하고 기존의 항암제들에 비해 부작용의 위험성을 크게 낮출 수 있는 기술이다.
- [6] 이러한 항체-약물 접합체의 기본 구조는 "항체-링커-저분자 약물(독소)"로 구성되어 있다. 여기서 링커는 단순히 항체와 약물을 연결시켜 주는 기능적인 역할뿐 아니라, 체내 순환시 안정하게 타겟 세포까지 도달 후 항체-약물 접합체가 세포 내로 들어가 항체-약물간 해리현상(예, 효소에 의한 가수분해에 의한 결과)에 의해 약물이 잘 떨어지면서 타겟 암세포에 약효를 나타내도록 해야 한다. 즉 링커의 안정성에 따라 항체-약물 접합체의 효능 및 전신독성(systemic toxicity) 등의 안전성 면에서 링커는 매우 중요한 역할을 한다(Discovery Medicine

2010, 10(53): 329-39). 85-8 2018-08-14)

- [7] 본 발명의 발명자는 혈장 내에서 보다 안정하고 체내 순환시에도 안정적이며 약물이 암세포 내에서 쉽게 방출되어 약효를 나타낼 수 있는 효과적인 자가-희생기(self-immolative group)를 포함하는 링커를 개발하여 이에 대해 특허를 확보한바 있다(한국등록특허 제1,628,872호). 한편 암 치료를 위한 단일클론 항체의 사용은 상당한 성공을 거두고 있다. 단일클론 항체는 종양 조직 및 종양 세포의 표적-지향된 어드레싱(addressing)에 적당하다. 항체 약물 접합체들은 림프종과 고형암 치료를 위해 강력하고 새로운 치료의 옵션이 되었으며, 최근 들어 면역 조절 항체들도 임상에서 상당한 성공을 거두고 있다. 치료 항체들의 개발은 암 혈청학, 단백질 엔지니어링 기술과 그 작용, 저항성의 기작들 및 면역 시스템과 암세포들 간의 상호 작용에 대한 깊은 이해를 바탕으로 한다.
- [8] 인간 암의 세포 표면에서 발현되는 항원의 정의는 정상 조직에 비해 과다 발현되거나 돌연변이 및 선택적으로 발현되는 광범위한 목표물들을 의미한다. 핵심적인 문제는 항체를 기반으로 한 치료법들에 적절한 항원을 동정하는 것이다. 이러한 치료제들은 항원이나 수용체 기능(즉, 자극제로서나 길항제로서의 기능)의 변화를 매개하고 Fc 과 T 세포 활성화를 통해 면역 시스템을 조절하며 특정한 항원을 목표로 하는 항체에 결합되는 특정한 약물의 전달을 통해 그 효능을 발휘한다. 항체 약동학(pharmacokinetics), 작용 기능, 사이즈와 면역 자극성을 변화시킬 수 있는 분자 기술들은 새로운 항체를 기반으로 한 치료법들의 개발에서 핵심적인 요소로 등장하고 있다. 암 환자들을 대상으로 한 치료 항체들의 임상 시도에서 얻은 증거들은 목표 항원과 항체들의 친화성 및 결합성, 항체 구조의 선택, 치료적 접근법(신호전달 차단이나 면역 작용 기능)을 포함하는 최적화된 항체들의 선택을 위한 접근법들의 중요성을 강조하고 있다.
- [9] 인간 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2)는 전장(full length) 261개의 아미노산으로 구성되며, 2개의 세포 외 루프와 4개의 막관통 도메인으로 이루어진 막관통형의 막단백질이다. 일부 정상 조직에 발현하는 CLDN18.1과는 세포외 도메인 루프 1까지의 아미노산 서열 일부가 다르다.
- [10] CLDN18.2는 밀착연접(tight junction)의 중요한 구성 요소인 클라우딘 계열(claudin family)에 속하는데 클라우딘(claudin) 단백질은 다양한 암 조직에서 발현하여, 진단 및 치료 양식의 잠재적 표적으로 알려져 있다. 또한 종양 형성과 염증 반응에 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있으며, 클라우딘 단백질 발현의 변화는 밀착연접의 기능 장애를 유발하고, 신호 전달 경로에 영향을 미치며, 일부 상피암에서 종양 촉진 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 또한, CLDN18.2는 일부 위 점막의 정단부(apical region)에서의 발현을 제외하면, 원발성 및 전이성 위암에서 특이적으로 발현하며, 악성 형질 전환과도 연관이 있는 암특이적 항원으로 알려져 있고, 췌장암, 식도암, 난소암, 폐암 등에서 이소성 활성화가 보고되어 있다.

- [11]
- [12] 이러한 기술적 배경하에서, 본 발명의 발명자는 정상 조직에서도 발현하는 CLDN18.1과는 구분되는 종양특이적 발현을 보이는 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체를 개발하기 위하여 노력한 결과, CLDN18.2에 우수한 결합력을 나타내는 항-CLDN18.2 항체를 개발하였으며, 항체의 효과를 더욱 강화하기 위하여 혈장 내에서 보다 안정하고 체내 순환시에도 안정적이며 약물이 암세포 내에서 쉽게 방출되어 약효를 나타낼 수 있는 효과적인 자가-희생기(self-immolative group)를 포함하는 링커를 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항암 치료용 항체에 적용하여, 과증식 및/또는 전이암 질환의 치료 및/또는 예방에 효과적인 CLDN18.2를 타겟팅하는 신규한 항체-약물 접합체(ADC)를 제공할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

[13]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [14] 본 발명은 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2)를 타겟팅하는 신규한 항체-링커 약물 접합체 또는 이의 염, 용매화물을 제공하고자 한다.
- [15] 본 발명은 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 및 이에 결합하는 약물을 포함하는 항체-약물 접합체 및 이를 포함하는 약학 조성물을 제공하고자 한다.
- [16] 본 발명에서는 또한 혈장 내에서 보다 안정하고 체내 순환시에도 안정적이며, 약물이 암세포 내에서 쉽게 방출되어 약효를 극대화할 수 있는 자가-희생기를 포함하는 링커 기술을 접목시켜, 약물 및/또는 독신이 표적 세포에 안정적으로 도달하여 약효를 효과적으로 발휘하면서도 독성을 크게 낮출 수 있는, 항체-링커-약물(독신) 시스템을 제공하고자 한다.

[17]

과제 해결 수단

- [18] 본 발명의 일 양태에서, 하기 일반식 I로 표시되는 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물이 제공된다:
- [19] [일반식 I]
- [20] $\text{Ab-[LINKER-(B)}_n\text{)]}_m$
- [21] 상기 식에서,
- [22] Ab는 중쇄 가변영역 및 경쇄 가변영역을 포함하는 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편이고,
- [23] 중쇄 가변영역은 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR1, 서열번호 4로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR2, 서열번호 6으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR3을 포함하고,
- [24] 경쇄 가변영역은 서열번호 9로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR1, 서열번호 11로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR2, 서열번호

- 13 으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR3을 포함하며,
- [25] LINKER는 링커이고,
- [26] B는 활성제 모이어티이며,
- [27] 1 및 m은 각각 독립적으로 1 내지 20 중에서 선택되는 정수이며,
- [28] 1이 2 이상의 정수인 경우, B는 각각 서로 동일하거나 상이할 수 있다.
- [29]
- [30] 본 발명의 일 양태에서, 상기 CLDN18.2(claudin 18 isoform 2)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편은 중쇄 가변영역 및 경쇄 가변영역을 포함하고,
- [31] 중쇄 가변영역은 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR1, 서열번호 4로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR2, 서열번호 6 으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR3을 포함하고,
- [32] 경쇄 가변영역은 서열번호 9로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR1, 서열번호 11로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR2, 서열번호 13 으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR3을 포함한다.
- [33] 또한, 상기 중쇄 가변영역은 인간 항체의 중쇄 FR을 포함하고, 상기 중쇄 FR을 암호화하는 유전자는 배선 V 유전자 IGHV3-23(germline V gene IGHV3-23)으로부터 유래될 수 있다. 구체적으로, 상기 중쇄 FR은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 FR1, 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 FR2, 서열번호 5로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 FR3, 서열번호 7로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 FR4를 포함할 수 있다.
- [34] 또한, 상기 경쇄 가변영역은 인간 항체의 경쇄 FR을 포함하고, 상기 경쇄 FR을 암호화하는 유전자는 배선 V 유전자 IGKV3-11 또는 IGKV3-15로부터 유래될 수 있다. 구체적으로, 상기 경쇄 FR은 서열번호 8로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 FR1, 서열번호 10으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 FR2, 서열번호 12로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 FR3, 서열번호 14로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 FR4를 포함할 수 있다.
- [35] 또한, 상기 경쇄 FR4는 링커와의 결합을 위해 C-말단에 서열번호 19로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지는 모이어티를 포함할 수 있다.
- [36] 본 발명의 일 양태에서, 상기 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편은 서열번호 15로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 가변영역 및 서열번호 16으로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 가변영역을 포함한다.
- [37] 보다 구체적으로, 상기 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편은 서열번호 15로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로

이루어진 중쇄 가변영역 및 서열번호 16으로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 가변영역을 포함하고, CLDN18.2에 특이적으로 결합한다.

- [38] 보다 더 구체적으로, 상기 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편은 서열번호 15로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 81% 이상, 82% 이상, 83% 이상, 84% 이상, 85% 이상, 86% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 99.5% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 가변영역 및 서열번호 16으로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 81% 이상, 82% 이상, 83% 이상, 84% 이상, 85% 이상, 86% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 99.5% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 가변영역을 포함하고, CLDN18.2에 특이적으로 결합한다.
- [39] 본 발명의 일 양태에서, 상기 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편은 서열번호 17로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 및 서열번호 18로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다.
- [40] 보다 구체적으로, 상기 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편은 서열번호 17로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 및 서열번호 18로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함하고, CLDN18.2에 특이적으로 결합한다.
- [41] 보다 더 구체적으로, 상기 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편은 서열번호 17로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 81% 이상, 82% 이상, 83% 이상, 84% 이상, 85% 이상, 86% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 99.5% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 및 서열번호 18로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 81% 이상, 82% 이상, 83% 이상, 84% 이상, 85% 이상, 86% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 99.5% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함하고, CLDN18.2에 특이적으로 결합한다.
- [42] 일 구현예에서 상기 서열번호 17로 표시되는 아미노산 서열에 대해 적어도

80% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄는 L237A, L238A 돌연변이를 포함한다.

- [43] 본 발명의 일 양태에서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단일클론 항체(monoclonal antibody), 도메인 항체(domain antibody; dAb), 단일 사슬 항체(single chain antibody; scAb), Fab 단편, Fab'단편, F(ab')₂ 단편, scFab 단편, Fv 단편, dsFv 단편, 단일 사슬 가변 항체(single chain variable fragment; scFv), scFv-Fc 단편, 단일 도메인 중쇄 항체(single domain heavy chain antibody), 단일 도메인 경쇄 항체(single domain light chain antibody), 항체 변이체(variant antibody), 다중 결합 항체(multimeric antibody), 미니바디, 다이아바디, 이중 특이적 항체(bispecific antibody) 및 다중 특이적 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [44]
- [45] 본 명세서에서 "링커"는 세포독성 화합물을 리간드에 공유결합시키는 화합물을 말한다.
- [46] 본 발명에 기재된 링커는 절단성, 비절단성, 친수성 또는 소수성 일 수 있다.
- [47] 절단성 링커는 세포 내 조건들 하에서 절단 가능하여 상기 링커의 절단으로 세포 내 환경에서 항체 구조물-활성제 접합체로부터 활성제를 방출한다.
- [48] 절단성 링커는 세포 내 환경(예를 들어, 리소솜 또는 엔도솜 또는 카베올레아(caveola) 내)에 존재하는 절단제에 의해 절단 가능하다. 절단성 링커는, 예컨대, 리소솜의 또는 엔도솜의 프로테아제를 포함하는 이에 제한되지 않는 세포 내 펩티다아제 또는 프로테아제 효소에 의해 절단되는 펩티딜 링커(peptidyl linker)일 수 있다. 일반적으로, 상기 펩티딜 링커는 적어도 2개의 아미노산 길이 또는 적어도 3개의 아미노산 길이이다. 절단제들은 카텝신 B 및 D 및 플라스민을 포함할 수 있으며, 이들 모두는 디펩타이드 약물 유도체들 가수분해하여 표적 세포들 내에서 활성 약물을 방출하는 것으로 알려져 있다(예를 들어, Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123 참조). 항원 발현 세포들 내에 존재하는 효소들에 의해 절단 가능한 펩티딜 링커들이 가장 일반적이다. 예를 들어, 암 조직에서 고도로 발현되는 티올-의존성 프로테아제 카텝신-B에 의해 절단 가능한 펩티딜 링커가 사용될 수 있다(예를 들어, Phe-Leu 또는 Gly-Phe-Leu-Gly 링커). 다른 이러한 링커들은, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,214,345에서 설명된다. 또한, 세포 내 프로테아제에 의해 절단 가능한 상기 펩티딜 링커는 예를 들어, Val-Cit 링커, Phe-Lys 링커(예를 들어, Val-Cit 링커를 이용한 독소루비신의 합성을 설명하는 미국 등록 특허 제6,214,345호 참조) 또는 Val-Ala 링커일 수 있다. Val-Cit 링커 또는 Val-Ala 링커는 펜타플루오로페닐 그룹을 함유할 수 있고, 숙신이미드 그룹 또는 말레이미드 그룹을 함유할 수 있다. 또는, PABA 그룹 및 펜타플루오로페닐 그룹을 함유할 수 있고, 4-아미노벤조산(4-Aminobenzoic acid, PABA) 그룹 및 말레이미드 그룹을 함유할 수 있으며, PABA 그룹 및 숙신이미드 그룹을 함유할 수 있다.

- [49] 본 발명의 명세서에서 사용된 용어 "세포 내 절단된(intracellularly cleaved)" 및 "세포 내 절단(intracellular cleavage)"은 항체 구조물-활성제 접합체에 대한 세포 내부의 대사 과정 또는 반응을 지칭하며, 이로써 활성제 (B) 및 항체 구조물 (Ab) 사이의 공유 부착, 예를 들어, 링커가 파괴되어 유리 약물 또는 세포 내 항체로부터 분리된 접합체의 다른 대사 산물이 야기된다.
- [50] 또한, 절단성 링커는 pH-민감, 즉, 특정 pH 값에서 쉽게 가수분해 될 수 있다. 일반적으로, 상기 pH-민감성 링커는 산성 조건들에서 가수분해될 수 있다. 예를 들어, 리소좀에서 가수분해될 수 있는 산-불안정성 링커(예를 들어, 하이드라존(hydrazone), 세미카르바존(semicarbazone), 티오세미카르바존(thiosemicarbazone), 시스-아코니틱 아미드(cis-aconitic amide), 오쏘에스테르(orthoester), 아세탈, 케탈 등)가 사용될 수 있다 (예를 들어, 미국 등록 특허 제5,122,368호; 제5,824,805호; 제5,622,929호; Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123; Neville et al., 1989, Biol. Chem. 264:14653-14661 참조). 이러한 링커들은 혈액과 같은 중성 pH 조건들에서 비교적 안정적이지만 리소좀의 대략적인 pH인 pH 5.5 또는 5.0 미만에서는 불안정하다. 가수분해성 링커의 예로는 티오에테르 링커(예를 들어, 아실하이드라존 결합을 통해 치료제에 부착된 티오에테르와 같은(예를 들어, 미국 등록 특허 제5,622,929호 참조)를 들 수 있다.
- [51] 또한, 링커는 환원 조건들 하에서 절단 가능하다(예를 들어, 디설파이드 링커). 예를 들어, SATA (N-숙신이미딜-5-아세틸티오아세테이트), SPDP (N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트), SPDB (N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)부티레이트) 및 SMPT (N-숙신이미딜-옥시카보닐-알파-메틸-알파-(2-피리딜-티오)톨루엔)-, SPDB 및 SMPT를 사용하여 형성될 수 있는 것들을 포함하는 다양한 디설파이드 링커들이 공지되어 있다 (예를 들어, Thorpe et al., 1987, Cancer Res. 47:5924-5931; 미국 등록 특허 제4,880,935호 참조).
- [52] 또한, 링커는 말로네이트 링커(Johnson et al., 1995, Anticancer Res. 15:1387-93), 말레이미도벤조일 링커(Lau et al., 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1299-1304), 3'-N-아미드 유사체(Lau et al., 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1305-12), 베타-글루쿠로나이드(β -Glucuronide) 링커(Jeffery et al., 2006, Bioconjug Chem. 17(3):832-40), 또는 베타-갈락토시다아제(β -galactosidase) 링커(Kolodych et al., 2017, Eur J Med Chem. Dec 15;142:376-382)일 수 있다.
- [53] 비절단성 링커는 말레이미도카프로일 링커일 수 있다. 말레이미도카프로일 링커는 N-말레이미도메틸사이클로헥산-1-카복실레이트를 포함할 수 있다. 말레이미도카프로일 링커는 숙신이미드 그룹을 함유할 수 있다. 말레이미도카프로일 링커는 펜타플루오로페닐 그룹을 함유할 수 있다. 링커는 말레이미드 그룹과 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자의 조합일 수 있다. 링커는 말레이미도카프로일 그룹과 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자의

조합일 수 있다. 링커는 말레이미드-PEG4 링커일 수 있다. 링커는 숙신이미드 그룹을 함유하는 말레이미도카프로일 링커 및 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자의 조합일 수 있다. 링커는 펜타플루오로페닐 그룹 및 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자를 함유하는 말레이미도카프로일 링커의 조합일 수 있다. 링커는 폴리에틸렌 글리콜 분자에 연결된 말레이미드를 함유할 수 있으며, 여기서 폴리에틸렌 글리콜은 더 많은 링커 가요성을 허용하거나 링커를 길게 사용할 수 있다. 링커는 (말레이미도카프로일)-(발린-시트룰린)-(파라-아미노벤질옥시카보닐) 링커일 수 있다.

[54]

[55] 본 발명의 일 양태에서, 링커는 절단성 링커일 수 있다.

[56] 본 발명의 일 양태에서, 링커는 프로테아제 절단성 링커, 산-절단성 링커, 디설파이드 링커, 자기-희생 링커(self-immolative linker) 또는 자기-안정화 링커(self-stabilizing linker), 말로네이트 링커, 말레이미도벤조일 링커, 3'-N-아미드 유사체, 베타-글루쿠로나이드(β -Glucuronide) 링커, 또는 베타-갈락토사이드(β -galactoside) 링커일 수 있다.

[57] 본 발명의 일 양태에서, 상기 프로테아제 절단성 링커는 티올반응성 스페이서(thiol-reactive spacer) 또는 디펩타이드를 포함할 수 있고, 보다 구체적으로, 상기 프로테아제 절단성 링커는 티올반응성 말레이미도카프로일 스페이서, 발린-시트룰린 디펩타이드 또는 p-아미노-벤질옥시카보닐 스페이서를 포함할 수 있다.

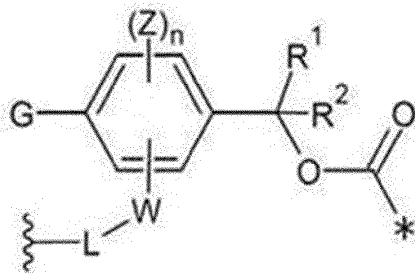
[58] 본 발명의 일 양태에서, 상기 산 절단성 링커는 하이드라진(hydrazine) 링커 또는 제4급 암모늄 링커일 수 있다.

[59]

[60] 본 발명의 일 양태에서, 상기 링커는 일반식 II의 구조를 갖는 것일 수 있다.

[61] [일반식 II]

[62]

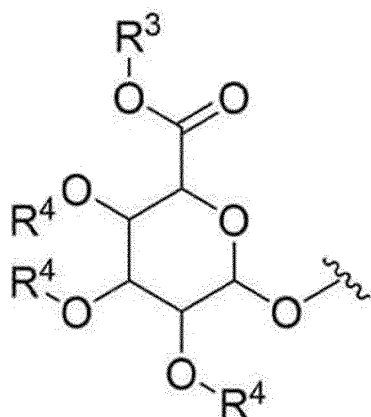


[63] 상기 식에서,

[64] 물결표시는 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편과 연결되는 부위, * 표시는 활성제와 연결되는 부위를 나타내며;

[65]

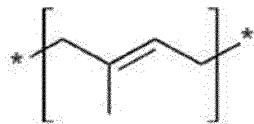
이고,



- [66] 상기 R³은 수소 또는 카르복실 보호기이며, 상기 각각의 R⁴는 독립적으로 수소 또는 하이드록실 보호기이고;
- [67] R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬 또는 C₃₋₈ 사이클로알킬이며;
- [68] W는 -C(O)-, -C(O)NR', -C(O)O-, -SO₂NR', -P(O)R''NR', -SONR' 또는 -PO₂NR'이고, 상기 C, S 또는 P는 직접적으로 페닐링(phenyl ring)에 결합하며, 상기 R' 및 R''는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₁₋₈ 알콕시, C₁₋₈ 알킬티오, 모노- 또는 다이-C₁₋₈ 알킬아미노, C₃₋₂₀ 헤테로아릴 또는 C₆₋₂₀ 아릴인 화합물이고;
- [69] Z는 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, 할로젠, 시아노 또는 나이트로이며;
- [70] n은 0 내지 3의 정수이고;
- [71] L은, 하기 A) 또는 B) 중 어느 하나이다:
- [72] A) C₁₋₅₀ 알킬렌 또는 1-50 원자 헤테로알킬렌이며, 하기 중 하나 이상을 만족한다:
- [73] (i) L은 하나 이상의 불포화 결합을 포함하고;
- [74] (ii) L 내의 2 개의 원자가 치환체와 같은 2가 치환체로 치환되고, 이는 헤테로아릴렌(heteroarylene)을 완성시키며;
- [75] (iii) L은 1 내지 50 원자 헤테로알킬렌이고;
- [76] (iv) 상기 알킬렌은 하나 이상의 C₁₋₂₀ 알킬로 치환되고;
- [77] B) 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의하여 인식될 수 있는 하기 일반식 III의 이소프레닐 유도체 유닛을 적어도 하나 이상 포함한다:

[78] [일반식 III]

[79]



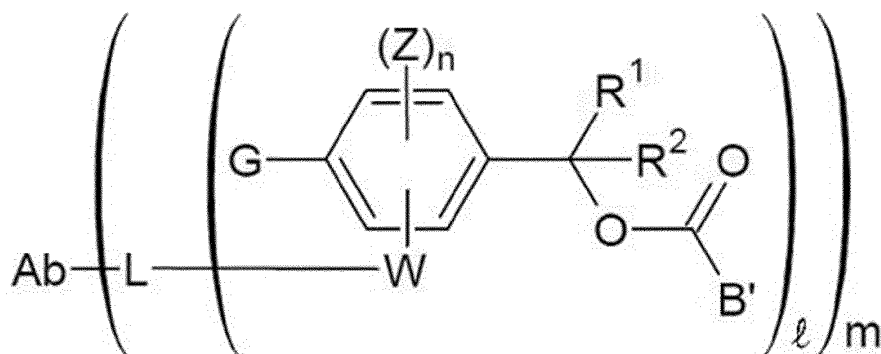
[80]

[81] 본 발명의 일 양태에서, 상기 접합체는 하기 일반식 IIa의 구조를 갖는 것일 수

있다.

[82] [일반식 IIa]

[83]

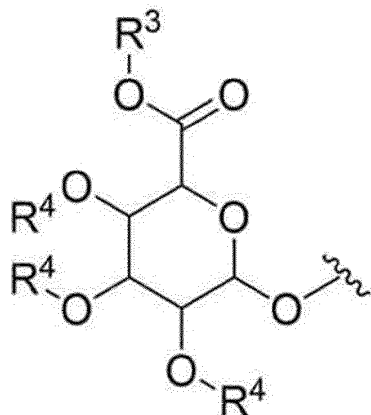


[84] 상기 식에서,

[85] Ab는 중쇄 가변영역 및 경쇄 가변영역을 포함하는 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편이고,

[86] B'는 각각 독립적으로 동일하거나 상이한 활성제이며,

[87] G는 각각 독립적으로 글루쿠론산 모이어티(glucuronic acid moiety) 또는 이고;



[88] 상기 R³은 수소 또는 카복실 보호기이며, 상기 각각의 R⁴는 독립적으로 수소 또는 하이드록실 보호기이고;

[89] R¹ 및 R²은 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬 또는 C₃₋₈ 사이클로알킬이며;

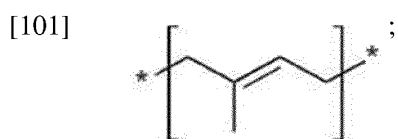
[90] W는 각각 독립적으로 -C(O)-, -C(O)NR', -C(O)O-, -SO₂NR', -P(O)R''NR', -SONR' 또는 -PO₂NR'이고, 상기 C, S 또는 P는 직접적으로 페닐링(phenyl ring)에 결합하며, 상기 NR'은 L에 결합하고, 상기 R' 및 R''는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₁₋₈ 알콕시, C₁₋₈ 알킬티오, 모노- 또는 다이-C₁₋₈ 알킬아미노, C₃₋₂₀ 헤테로아릴 또는 C₆₋₂₀아릴이며;

[91] Z는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, 할로젠, 시아노 또는 나이트로이고;

[92] n은 0 내지 3의 정수이며, n이 2 이상의 정수인 경우 각각의 Z는 서로 동일하거나 상이할 수 있고;

- [93] L은 각각 독립적으로, 하기 A) 또는 B) 중 어느 하나이고;
 [94] A) C₁₋₅₀ 알킬렌 또는 1-50 원자 헤테로알킬렌이며, 하기 중 하나 이상을 만족한다:
 [95] (i) L은 하나 이상의 불포화 결합을 포함하고;
 [96] (ii) L 내의 2개의 원자가 치환체와 같은 2가 치환체로 치환되고; 이는 헤테로아릴렌(heteroarylene)을 완성시키며;
 [97] (iii) L은 1 내지 50 원자 헤테로알킬렌이고;
 [98] (iv) 상기 알킬렌은 하나 이상의 C₁₋₂₀ 알킬로 더 치환된다;
 [99] B) 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의하여 인식될 수 있는 하기 일반식 III의 이소프레닐 유도체 유닛을 하나 이상 포함한다:

[100] [일반식 III]

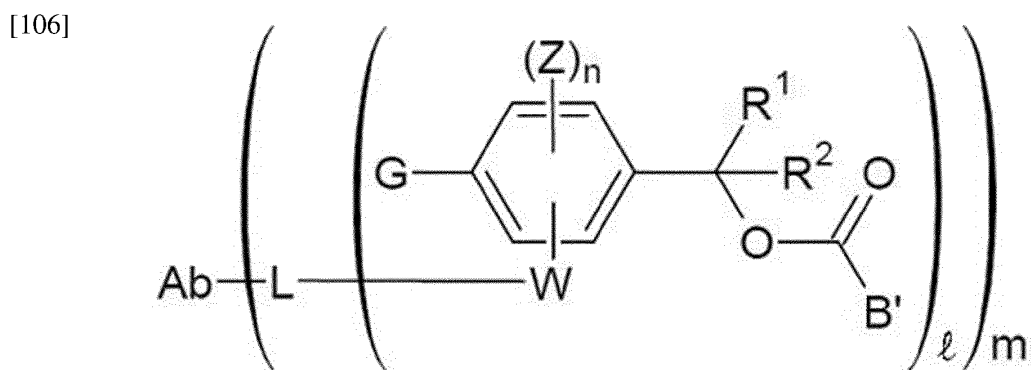


[102] m은 1 내지 20 중에서 선택되는 정수이다.

[103]

[104] 또한, 본 발명은 하기 일반식 IIa로 표시되는 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물에 관한 것이다.

[105] [일반식 IIa]

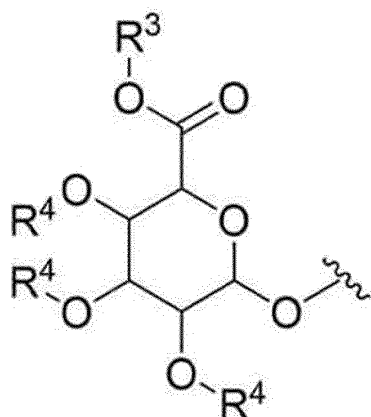


[107] 상기 식에서,

[108] Ab는 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편이고,

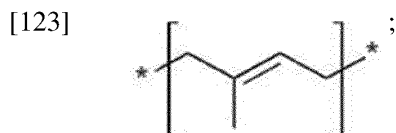
[109]

이고;



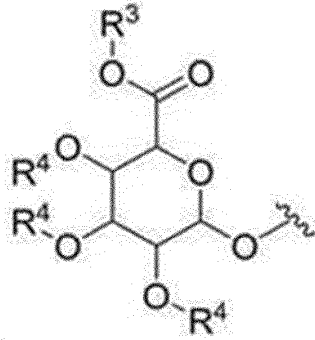
- [110] 상기 R³은 수소 또는 카복실 보호기이며, 상기 각각의 R⁴는 독립적으로 수소 또는 하이드록실 보호기이고;
- [111] R¹ 및 R²은 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬 또는 C₃₋₈ 사이클로알킬이며;
- [112] W은 각각 독립적으로 -C(O)-, -C(O)NR', -C(O)O-, -SO₂NR', -P(O)R''NR', -SONR' 또는 -PO₂NR' 이고, 상기 C, S 또는 P는 직접적으로 페닐링(phenyl ring)에 결합하며, 상기 NR'은 L에 결합하고, 상기 R' 및 R''는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₁₋₈ 알콕시, C₁₋₈ 알킬티오, 모노- 또는 다이-C₁₋₈ 알킬아미노, C₃₋₂₀ 헤테로아릴 또는 C₆₋₂₀ 아릴이며;
- [113] Z는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, 할로젠, 시아노 또는 나이트로이고;
- [114] n은 0 내지 3의 정수이며;
- [115] L은 각각 독립적으로, 하기 A) 또는 B) 중 어느 하나이고;
- [116] A) C₁₋₅₀ 알킬렌 또는 1-50 원자 헤테로알킬렌이며, 하기 중 하나 이상을 만족한다:
- [117] (i) L은 하나 이상의 불포화 결합을 포함하고;
- [118] (ii) L 내의 2개의 원자가 치환체와 같은 2가 치환체로 치환되고; 이는 헤테로아릴렌(heteroarylene)을 완성시키며;
- [119] (iii) L은 1 내지 50 원자 헤테로알킬렌이고;
- [120] (iv) 상기 알킬렌은 하나 이상의 C₁₋₂₀ 알킬로 치환된다;
- [121] B) 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의하여 인식될 수 있는 하기 일반식 III의 이소프레닐 유도체 유닛을 하나 이상 포함한다:

[122] [일반식 III]



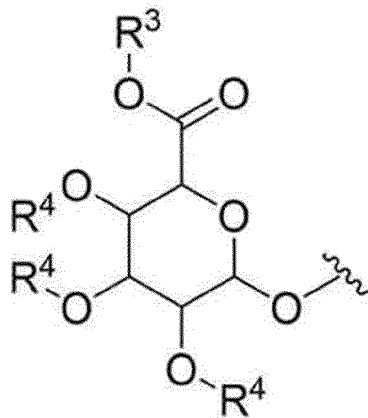
- [124] B'는 활성제이고,
- [125] Ab는 물결표시된 부분에 결합되고;

- [126] 1 및 m은 각각 독립적으로 1 내지 20 중에서 선택되는 정수이고,
 [127] 1이 2 이상인 경우, 활성제는 각각 동일하거나 상이할 수 있다.
 [128]
 [129] 본 발명의 일 양태에서, 상기 G는 글루쿠론산 모이어티(glucuronic acid moiety) 또는 하기 화학식 (IIIa) 구조의 화합물이다:
 [130] [화학식 (IIIa)]
 [131]



- [132] 여기에서,
 [133] R³는 수소 또는 카르복실 보호기이고,
 [134] 각 R⁴는 각각 독립적으로 수소 또는 하이드록실 보호기이다.
 [135] 본 발명의 일 양태에서, 상기 G는 각각 독립적으로

이고,



- [136] R³은 수소 또는 카복실 보호기이며,
 [137] 상기 각각의 R⁴는 독립적으로 수소 또는 하이드록실 보호기이다.
 [138] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R³는 수소이고, 각 R⁴는 수소이다.
 [139] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R¹ 및 R²는 각각 수소이다.
 [140] 또한, 상기 Z는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈알킬, 할로젠, 시아노 또는 니트로이다.
 [141] 또한, 상기 W는 -C(O)-, -C(O)NR'- 또는 -C(O)O-이고, 보다 구체적으로 상기 W는 -C(O)NR'-이며, 여기에서 C(O)가 페닐링과 연결되고, NR'은 L에 결합된다.

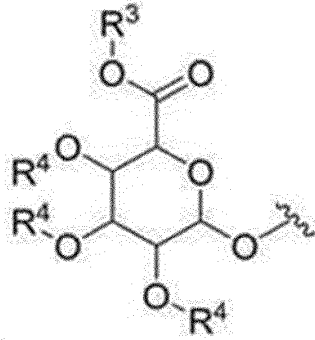
여기에서, 상기 R'은 수소, C₁₋₈ 알킬, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₁₋₈ 알콕시, C₁₋₈ 알킬티오, 모노- 또는 다이- C₁₋₈ 알킬아미노, C₃₋₂₀ 헤테로아릴 또는 C₆₋₂₀ 아릴이다.

[142] 또한, 상기 n은 0, 1, 2 또는 3이고, 보다 구체적으로 0, 1 또는 2이며, 보다 더 구체적으로 0이다.

[143] 보다 구체적으로, 상기 G는 하기 화학식 (IIIa) 구조의 화합물이고:

[144] [화학식 (IIIa)]

[145]



[146] 여기서,

[147] R³는 수소 또는 카르복실 보호기이고,

[148] 각 R⁴는 각각 독립적으로 수소 또는 하이드록실 보호기이며,

[149] W는 -C(O)NR'-이고, 여기에서 C(O)가 페닐링과 연결되며 NR'은 L에 결합하며, 각 Z는 C₁₋₈ 알킬, 할로젠, 시아노 또는 니트로이며, n은 0이고, m은 1이며, R₁ 및 R₂는 각각 수소이다.

[150] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 L은 1 내지 100개의 탄소 원자를 갖는 알킬렌이고, 여기에서 알킬렌의 탄소 원자는, N, O 및 S로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 또는 그 이상의 헤테로원자로 치환될 수 있으며, 알킬렌은 1 내지 20개의 탄소원자를 갖는 하나 이상의 알킬로 더 치환될 수 있다.

[151] 구체적으로, 최소 하나의 L은 C₁₋₅₀ 알킬렌 또는 1-50 원자 헤테로알킬렌이고, 하기 중 하나 이상을 만족할 수 있다:

[152] (i) 하나 이상의 불포화 결합을 포함하고;

[153] (ii) L 내의 2 개의 원자가 치환체와 같은 2가 치환체로 치환되고; 이는 헤테로아릴렌(heteroarylene)을 완성시키며

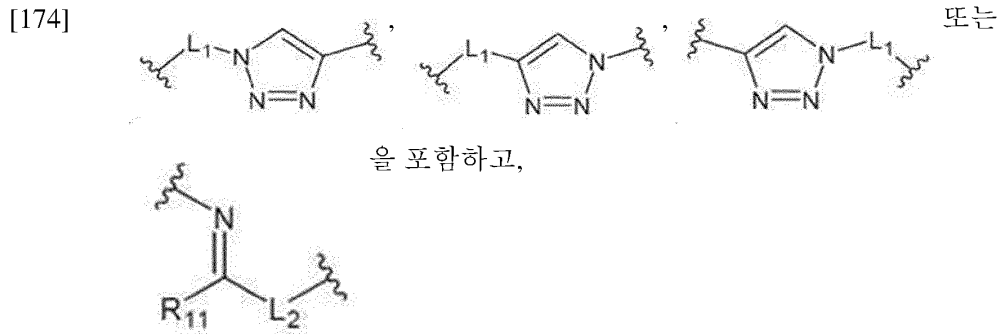
[154] (iii) L은 1 내지 50 원자 헤테로알킬렌이고;

[155] (iv) 상기 알킬렌은 하나 이상의 C₁₋₂₀ 알킬로 치환된다.

[156] 또한, 상기 최소 하나의 L은 질소 함유 1-50 원자 헤테로알킬렌이고, 링커는 친수성 아미노산의 2 이상의 원자를 포함하며, 상기 질소는 친수성 아미노산의 카르보닐과 펩타이드 결합을 형성할 수 있다.

[157] 본 발명의 일 양태에서, L은 C₂₋₅₀ 알킬렌, C₂₋₅₀ 헤테로알킬렌, 친수성 아미노산, -C(O)-, -C(O)NR'', -C(O)O-, -(CH₂)_s-NHC(O)-(CH₂)_t-, -(CH₂)_u-C(O)NH-(CH₂)_v-, -(CH₂)_s-NHC(O)-(CH₂)_t-C(O)-, -(CH₂)_u-C(O)NH-(CH₂)_v-C(O)-, -S(O)₂NR'',

- P(O)R^{'''}NR^{''}-, -S(O)NR^{''}-, 또는 -PO₂NR^{''}- 이고,
- [158] 여기에서, R^{''} 및 R^{'''}는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈알킬, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₁₋₈알콕시, C₁₋₈알킬티오, 모노- 또는 디-C₁₋₈알킬아미노, C₃₋₂₀헤테로아릴 또는 C₅₋₂₀아릴이며, s, t, u 및 v는 각각 독립적으로 0 내지 10의 정수이다.
- [159] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L은 질소 함유 1-5 원자 헤테로 알킬렌이고, 상기 링커는 친수성 아미노산의 2 이상의 원자를 포함하며, 상기 질소는 친수성 아미노산의 카르보닐과 펩타이드 결합을 형성한다.
- [160] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L은 티오에테르 결합에 의해 항체와 공유결합하고, 상기 티오에테르 결합은 항체의 시스테인의 황원자를 포함한다.
- [161] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 L은 친수성 아미노산(hydrophilic amino acid)이다.
- [162] 본 발명의 일 양태에서, 친수성 아미노산은 아르기닌, 아스파테이트, 아스파라긴, 글루타메이트, 글루타민, 히스티딘, 리신, 오르니틴, 프롤린, 세린, 또는 트레오닌일 수 있다.
- [163] 본 발명의 일 양태에서, 친수성 아미노산은 수용액에서 중성 pH에서 전하를 갖는 잔기를 갖는 측쇄를 포함하는 아미노산일 수 있다.
- [164] 본 발명의 일 양태에서, 친수성 아미노산은 아스파테이트 또는 글루타메이트이다.
- [165] 본 발명의 일 양태에서, 친수성 아미노산은 오르니틴 또는 리신이다.
- [166] 본 발명의 일 양태에서, 친수성 아미노산은 아르기닌이다.
- [167] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 L은 -C(O)-, -C(O)NR^{''}-, -C(O)O-, -S(O)₂NR^{''}-, -P(O)R^{'''}NR^{''}-, -S(O)NR^{''}-, 또는 -PO₂NR^{''}-이고, R^{''} 및 R^{'''}는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈알킬, C₃₋₈사이클로알킬, C₁₋₈알콕시, C₁₋₈알킬티오, 모노- 또는 디-C₁₋₈알킬아미노, C₃₋₂₀헤테로아릴, 또는 C₆₋₂₀아릴이다.
- [168] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 L은 -C(O)NR^{''}-, -(CH₂)_s-NHC(O)-(CH₂)_t-, -(CH₂)_u-C(O)NH-(CH₂)_v-, -(CH₂)_s-NHC(O)-(CH₂)_t-C(O)-, 또는 -(CH₂)_u-C(O)NH-(CH₂)_v-C(O)-이고, 여기에서, R^{''}은 수소, C₁₋₅알킬, C₃₋₈사이클로알킬, C₁₋₅알콕시, C₃₋₂₀헤테로아릴, 또는 C₆₋₂₀아릴이며, s, t, u 및 v는 각각 독립적으로 0 내지 10의 정수이다.
- [169] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 L은 -C(O)NR^{''}- 이고, R^{''}은 수소이다.
- [170] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 L은 -(CH₂)_s-NHCO-이고, s는 1 내지 5의 정수이다.
- [171] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 L은 -(CH₂)_u-C(O)NH-(CH₂)_v-C(O)-이고, u는 1 내지 5의 정수이며, v는 1 내지 5의 정수이다.
- [172]
- [173] 본 발명의 일 양태에서, L은,



[175] 여기에서 L_1 은 직접 결합 또는 1 내지 30개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이고, R_{11} 은 수소 또는 1 내지 10개의 탄소원자를 갖는 알킬이며, L_2 는 1 내지 30개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이다.

[176] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L은 일반식 VIII 또는 일반식 IX로 표시되는 제2 유닛을 더 포함한다.

[177] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 제2 유닛은 일반식 VIII 또는 일반식 IX로 표시된다:

[178] [일반식 VIII]

[179] $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$

[180] [일반식 IX]

[181] $-(CH_2CH_2X)_w-$

[182] 상기 V는 단일결합, -O-, -S-, $-NR^{21}-$, $-C(O)NR^{22}-$, $-NR^{23}C(O)-$, $-NR^{24}SO_2-$ 또는 $-SO_2NR^{25}-$ 이고;

[183] X는 -O-, C_{1-8} 알킬렌 또는 $-NR^{21}-$ 이며;

[184] R^{21} 내지 R^{25} 는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알킬 C_{6-20} 아릴 또는 C_{1-6} 알킬 C_{3-20} 헤테로아릴이고;

[185] r은 0 내지 10의 정수이며;

[186] p는 0 내지 10의 정수이고;

[187] q는 1 내지 20의 정수이며; 및

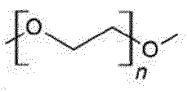
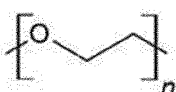
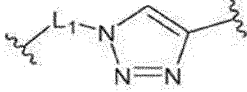
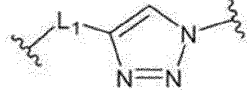
[188] w는 1 내지 20의 정수이다.

[189] 본 발명의 일 양태에서, q는 4 내지 20일 수 있고, 보다 구체적으로 5 내지 20일 수 있다. 또한, q는 1 내지 10, 또는 2 내지 12일 수 있고, 보다 구체적으로 2, 4, 5, 또는 11일 수 있다. 또한, r은 1 또는 2일 수 있다. 또한, p는 1 또는 2일 수 있다. 또한, V는 -O-일 수 있다.

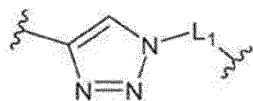
[190] 보다 구체적으로, r은 2이고, p는 2이며, q는 2, 4, 5 또는 11이고, V는 -O-일 수 있다.

[191] 또한, 본 발명의 일 양태에서, X는 -O-일 수 있다. 또한, w는 4 내지 20의 정수일 수 있다.

[192] 보다 구체적으로, X는 -O-이고, w는 1 내지 10, 또는 4 내지 20일 수 있다.

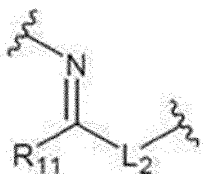
- [193] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 제2 유닛은 최소 하나의 폴리에틸렌 글리콜 유닛이고,  또는 의 구조를 가지며,
- [194] 여기서 n은 1 내지 12이다.
- [195] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 제2 유닛은 1 내지 12 -OCH₂CH₂-유닛, 또는 3 내지 12 -OCH₂CH₂-유닛, 또는 5 내지 12 -OCH₂CH₂-유닛, 또는 6 내지 12 -OCH₂CH₂-유닛, 또는 3 -OCH₂CH₂-유닛이다.
- [196] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 제2 유닛은 -(CH₂CH₂X)_w-이고,
- [197] 여기에서 X는 단일 결합, -O-, C₁₋₈ 알킬렌, 또는 -NR₂₁-이고;
- [198] R₂₁은 수소, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알킬-C₆₋₂₀아릴, 또는 C₁₋₆알킬-C₃₋₂₀헤테로아릴이며, w는 1 내지 20의 정수이고, 구체적으로는 1, 3, 6, 또는 12이다.
- [199] 본 발명의 일 양태에서 X는 -O-이고, w는 6 내지 20의 정수이다.
- [200] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 L은 옥심을 포함하고, 적어도 하나의 폴리에틸렌 글리콜 유닛은 옥심을 활성제에 공유 결합시킨다.
- [201] 본 발명의 일 양태에서, 링커는 1,3-양극성고리 첨가반응(1,3-dipolar cycloaddition reactions), 헤테로-디엘스-올더 반응(hetero-Diels-Alder reactions), 친핵성 치환(nucleophilic substitution) 반응, 비-알돌형 카르보닐 반응(non-aldol type carbonyl reactions), 탄소-탄소 다중 결합 첨가(addition to carbon-carbon multiple bond), 산화 반응(osidation reactions) 또는 클릭 반응(click reactions)에 의해 형성된 제3 유닛을 포함한다.
- [202] 본 발명의 일 양태에서, 제3 유닛은 알카인 및 아자이드 사이의 반응, 또는 알데하이드 또는 케톤기 및 하이드라진 또는 알콕시아민 사이의 반응에 의해 형성된다.
- [203] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L은 하기 일반식 IVa, IVb, IVc, IVd, 또는 IVe로 표시되는 제3 유닛을 더 포함한다.
- [204] [일반식 IVa]
- [205] 
- [206] [일반식 IVb]
- [207] 
- [208] [일반식 IVc]

[209]



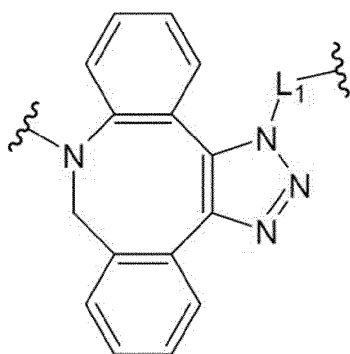
[210] [일반식 IVd]

[211]



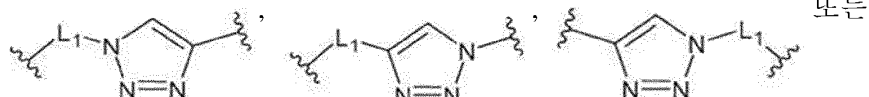
[212] [일반식 IVe]

[213]

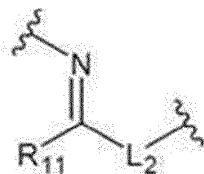
[214] 상기 식에서, L_1 은 단일 결합 또는 1 내지 30개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이고,[215] R_{11} 은 수소 또는 C_{1-10} 의 알킬이다.

[216] 본 발명의 일 양태에서, 제3 유닛은,

[217]



을 포함하고,



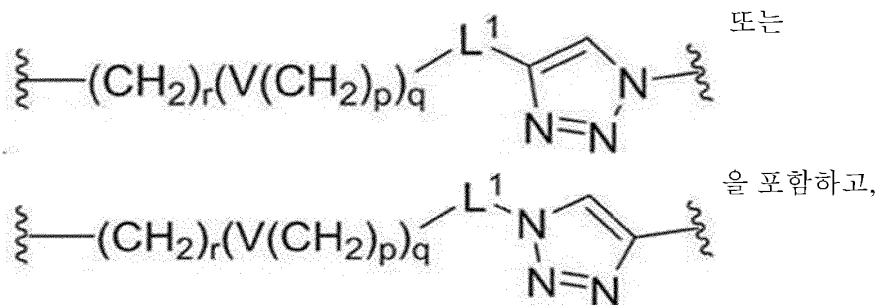
[218] 여기에서,

[219] L_1 은 단일 결합 또는 1 내지 30개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이고, 바람직하게는 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이며;[220] R_{11} 은 수소 또는 1 내지 10개의 탄소원자를 갖는 알킬이고, 구체적으로 메틸이고,[221] L_2 는 1 내지 30개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이다.

[222] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L_1 및 L_2 는 각각 독립적으로 단일결합 또는 C_{1-30} 의 알킬렌이고; R_{11} 은 수소 또는 C_{1-10} 의 알킬이다.

[223] 본 발명의 일 양태에서, L_1 은 단일 결합, 또는 11개의 탄소원자를 갖는 알킬렌, 또는 12개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이다.

[224] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 제3 유닛은



[225] 상기 V 는 단일 결합, $-O-$, $-S-$, $-NR^{21}-$, $-C(O)NR^{22}-$, $-NR^{23}C(O)-$, $-NR^{24}SO_2-$, 또는 $-SO_2NR^{25}-$ 이며;

[226] R^{21} 내지 R^{25} 는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알킬 C_{6-20} 아릴, 또는 C_{1-6} 알킬 C_{3-20} 헤테로아릴이고;

[227] r 은 1 내지 10의 정수이며;

[228] p 는 0 내지 10의 정수이고;

[229] q 는 1 내지 20의 정수이며; 및

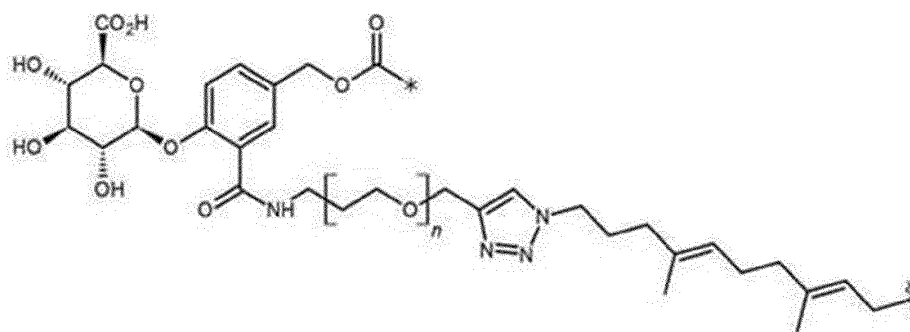
[230] L_1 은 단일결합이다.

[231] 본 발명의 일 양태에서, 상기 r 은 2 또는 3일 수 있다. 또한, p 는 1 또는 2일 수 있다. 또한, q 는 1 내지 6일 수 있다.

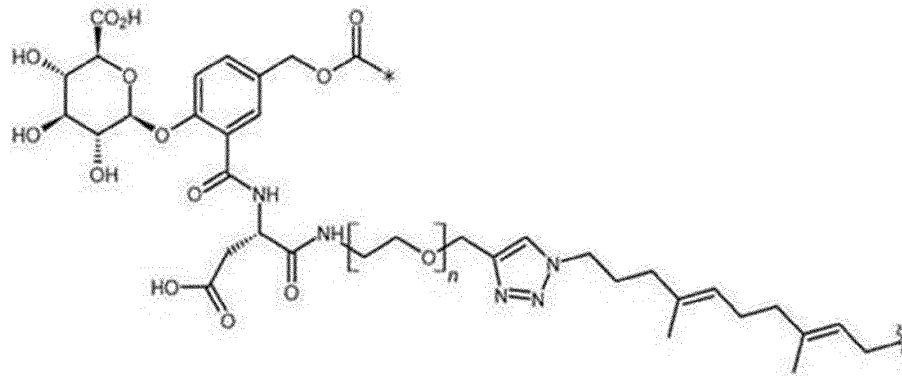
[232] 보다 구체적으로, 상기 제3 유닛에서 r 은 2 또는 3; p 는 1 또는 2; q 는 1 내지 6일 수 있다.

[233] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 제3 유닛을 포함하는 링커는

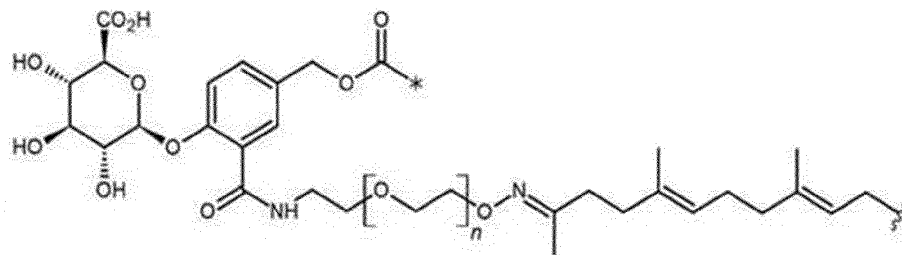
[234]



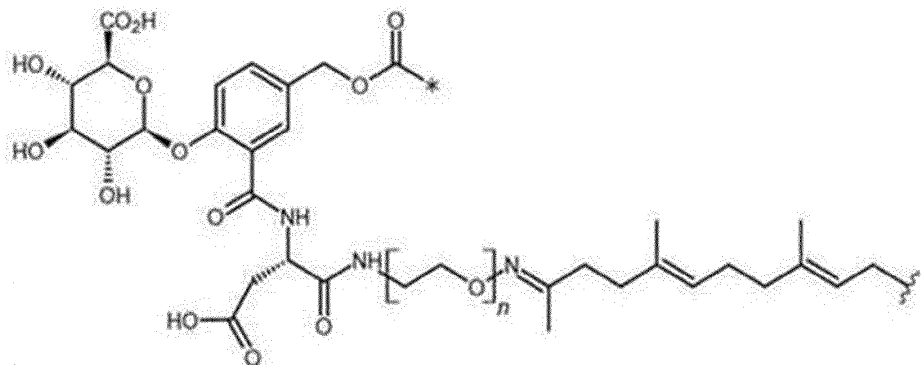
[235]



[236]



[237] 또는

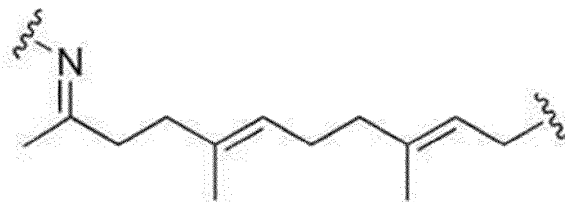


일 수

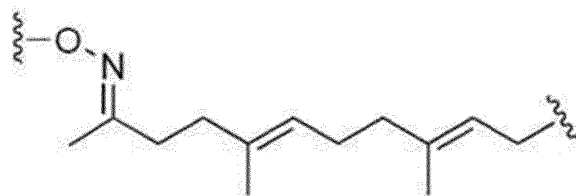
있고, 여기에서 물결표시는 항체 구조물과 연결되는 부위, * 표시는 활성제와 연결되는 부위를 나타내며, n 은 0 내지 20의 정수이다.

[238] 본 발명의 일 양태에서, 제3 유닛은

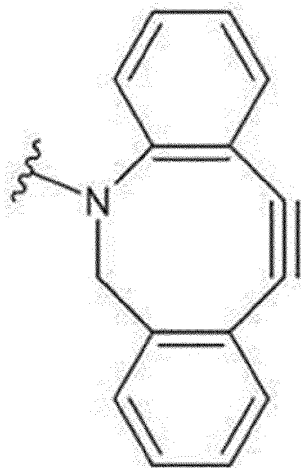
또는



을 포함한다.

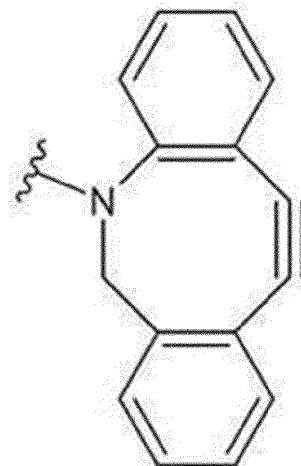


[239] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 링커는 전구체 상태에서

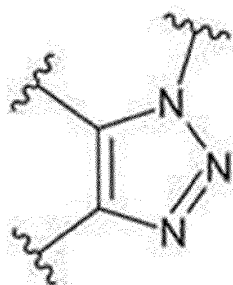


[240] 를 포함한다. 또한, 상기 구조에서 알카인 및 아자이드 사이의 반응, 상세하게는 클릭 반응에 의해 제3 유닛을 형성할 수 있다.

[241] 본 발명의 일 양태에서, 링커는 전구체 상태에서



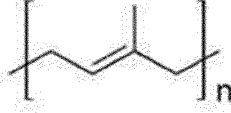
[242] 를 포함하고, 상기 구조를 통해 제3 유닛을 형성할 수 있으며, 제3 유닛은



[243] 를 포함한다.

[244] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L은 옥심을 포함하는 3 내지 50

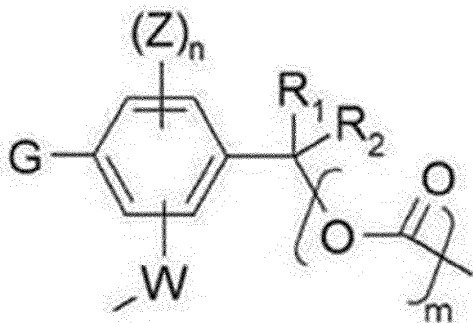
헤테로알킬렌이고,

- [245] 상기 옥심의 산소 원자는 **W**와 연결된 **L**의 측면에 있으며, 옥심의 탄소 원자는 **Ab**에 연결된 **L**의 측면에 있거나; 또는
- [246] 상기 옥심의 탄소 원자는 **W**에 연결된 **L**의 측면에 있으며, 옥심의 산소 원자는 **Ab**에 연결된 **L**의 측면에 있는 것이다.
- [247] 본 발명의 일 양태에서, 상기 **L**은 옥심을 포함하고, 하나 이상의 이소프레닐 유닛은 옥심을 **Ab**에 공유 결합시키는 것이다.
- [248] 본 발명의 일 양태에서, 링커는 의 구조를 갖는 최소 하나

이상의 이소프레닐 유닛을 추가로 함유할 수 있으며, 여기에서 **n**은 최소 2 이상이다.

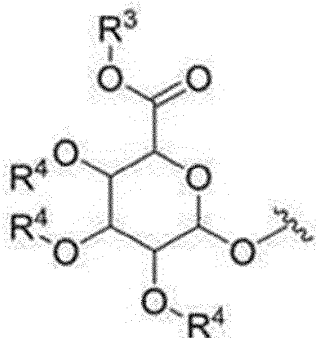
- [249] 본 발명의 일 양태에서, 최소 하나의 이소프레닐 유닛은 이소프레노이드 트랜스퍼라제의 기질 또는 이소프레노이드 트랜스퍼라제의 생성물이다.
- [250] 본 발명의 일 양태에서, 링커의 이소프레닐 유닛은 티오에테르 결합에 의해 항체와 공유결합하며, 티오에테르 결합은 항체 구조물의 시스테인의 황원자를 포함한다.
- [251] 또한, 이소프레닐 유닛은 링커에 포함된 옥심을 항체 구조물에 공유 결합시킬 수 있다.
- [252] 본 발명의 일 양태에서, 항체 구조물은 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의해 인식되는 아미노산 모티프를 포함하고, 티오에테르 결합은 아미노산 모티프의 시스테인의 황원자를 포함한다.
- [253] 본 발명의 일 양태에서, 항체 구조물은 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의해 인식되는 아미노산 모티프를 포함하고, 티오에테르 결합은 아미노산 모티프의 시스테인의 황원자를 포함한다.
- [254] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프는 **CXX**, **CXC**, **XCXC**, **XXCC**, 및 **CYYX**로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 서열이고, 여기에서 **C**는 시스테인을 나타내며; **Y**는 각 경우 독립적으로 지방족 아미노산을 나타내고; **X**는 각 경우 독립적으로 글루타민, 글루타메이트, 세린, 시스테인, 메티오닌, 알라닌, 또는 루신을 나타내고; 티오에테르 결합은 아미노산 모티프의 시스테인의 황원자를 포함한다.
- [255] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프는 **CYYX** 서열이고, **Y**는 각 경우 독립적으로 알라닌, 이소루신, 루신, 메티오닌 또는 발린이다.
- [256] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프는 **CVIM** 또는 **CVLL** 서열이다.
- [257] 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 모티프에 선행하는 1 내지 20 개의 아미노산 중 적어도 글리신, 아르기닌, 아스파르트산 및 세린으로부터 각각 독립적으로 선택될 수 있다.

- [258] 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 모티프에 선행하는 1 내지 20 개의 아미노산 중 적어도 하나가 글리신이다.
- [259] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프에 선행하는 1 내지 10개의 아미노산 중 하나 이상이 글리신, 아르기닌, 아스파르트산 및 세린으로부터 각각 독립적으로 선택될 수 있다. 예컨대, 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프에 선행하는 7개의 아미노산 중 적어도 하나는 글리신이다. 또는, 아미노산 모티프에 선행하는 7개의 아미노산 중 3개 이상이 글리신, 아르기닌, 아스파르트산 및 세린으로부터 각각 독립적으로 선택된다. 또는, 아미노산 모티프에 선행하는 1 내지 10개의 아미노산이 글리신, 구체적으로는 아미노산 모티프에 선행하는 최소 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산은 글리신이다.
- [260] 본 발명의 일 양태에서, 항체는 GGGGGGGCVIM의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [261] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L이 C-말단에 아미노산 서열 GGGGGGGCVIM을 포함하는 것일 수 있다.
- [262]
- [263] 본 발명의 또 다른 일 양태에서, Linker는,
- [264] (a) 하나 이상의 L; (b) 하나 이상의 제2 유닛; (c) 하나 이상의 제3 유닛; 및 (d) 하나 이상의 제4 유닛을 함유하는 것일 수 있다.
- [265] 여기에서 제2 유닛은 L과 제3 유닛, L과 제4 유닛 또는 제3 유닛과 제4 유닛을 연결하고,
- [266] 여기에서 하나 이상의 제4 유닛은 하나 이상의 약물 또는 독신을 방출할 수 있으며,
- [267] 여기에서 L은 제2 유닛과 제4 유닛, 제2 유닛과 제3 유닛 또는 제2 유닛을 또 다른 제2 유닛과 연결하는 것이다.
- [268]
- [269] 본 발명의 일 양태에서, 제4 유닛은 다음 화학식 (IIb)의 구조를 갖는다:
- [270] [화학식 (IIb)]
- [271]



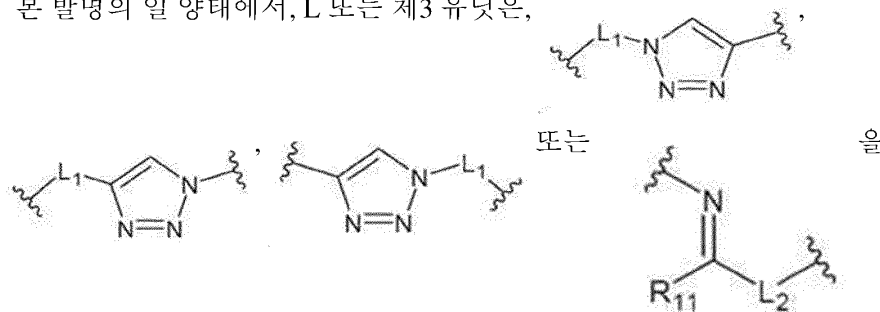
- [272] 상기 식에서,

- [273] G는 당(sugar), 당산(sugar acid), 또는 당 유도체(sugar derivatives)이고,
 [274] W는 $-C(O)-$, $-C(O)NR'$, $-C(O)O-$, $-S(O)_2NR'$, $-P(O)R''NR'$, $-S(O)NR'$, 또는 $-PO_2NR'$ 이고,
 [275] C(O), S, 또는 P가 페닐환과 바로 연결되는 경우, R' 및 R''은 각각 독립적으로 수소, (C_{1-8}) 알킬, (C_{3-8}) 사이클로알킬, (C_{1-8}) 알콕시, (C_{1-8}) 알킬티오, 모노- 또는 디- (C_{1-8}) 알킬아미노, (C_{3-20}) 헤테로아릴, 또는 (C_{6-20}) 아릴이며, W는 L 또는 제2 유닛과 연결되고,
 [276] 각 Z는 각각 독립적으로 수소, (C_{1-8}) 알킬, 할로젠, 시아노 또는 나이트로이고,
 [277] n은 1 내지 3의 정수이며,
 [278] m은 0 또는 1이고,
 [279] R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소, (C_{1-8}) 알킬 또는 (C_{3-8}) 사이클로알킬이거나, 또는 R₁ 및 R₂는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 (C_{3-8}) 사이클로알킬 환을 형성한다.
 [280] 본 발명의 일 양태에서, 상기 당 또는 당산은 모노사카라이드이다.
 [281] 본 발명의 일 양태에서, G는 하기 화학식 (IIIa) 구조의 화합물이다:
 [282] [화학식 (IIIa)]
 [283]



- [284] 여기에서,
 [285] R₃는 수소 또는 카르복실 보호기이고,
 [286] 각 R₄는 각각 독립적으로 수소 또는 하이드록실 보호기이다.
 [287] 본 발명의 일 양태에서, R₃는 수소이고, 각 R₄는 수소이다.
 [288] 본 발명의 일 양태에서, W는 $-C(O)NR'$ 이고, 여기에서 C(O)가 페닐환과 연결되며, NR'은 L 또는 제2 유닛과 연결된다.
 [289] 본 발명의 일 양태에서, Z는 수소이다.
 [290] 본 발명의 일 양태에서, R₁ 및 R₂는 각각 수소이다.
 [291] 본 발명의 일 양태에서, 제2 유닛은 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_{q-}$, $-((CH_2)_pV)_{q-}$, $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$, $-((CH_2)_pV)_q(CH_2)_r-$, $-Y((CH_2)_pV)_q-$ 또는 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qYCH_2-$ 로 나타내지며,
 [292] 여기에서,
 [293] r은 0 내지 10의 정수이고;

- [294] p는 1 내지 10의 정수이며;
 [295] q는 1 내지 20의 정수이고,
 [296] V 및 Y는 각각 독립적으로 단일결합, -O-, -S-, -NR₂₁-, -C(O)NR₂₂-, -NR₂₃C(O)-, -NR₂₄SO₂-, 또는 -SO₂NR₂₅-이고,
 [297] R₂₁ 내지 R₂₅는 각각 독립적으로 수소, (C₁₋₆)알킬, (C₁₋₆)알킬(C₆₋₂₀)아릴 또는 (C₁₋₆)알킬(C₃₋₂₀)헤테로아릴이다.
 [298] 본 발명의 일 양태에서, r은 2이다.
 [299] 본 발명의 일 양태에서, p는 2이다.
 [300] 본 발명의 일 양태에서, q는 6 내지 20의 정수이다.
 [301] 본 발명의 일 양태에서, q는 2, 5, 또는 11이다.
 [302] 본 발명의 일 양태에서, V 및 Y는 각각 독립적으로 -O-이다.
 [303] 본 발명의 일 양태에서, L 또는 제3 유닛은,



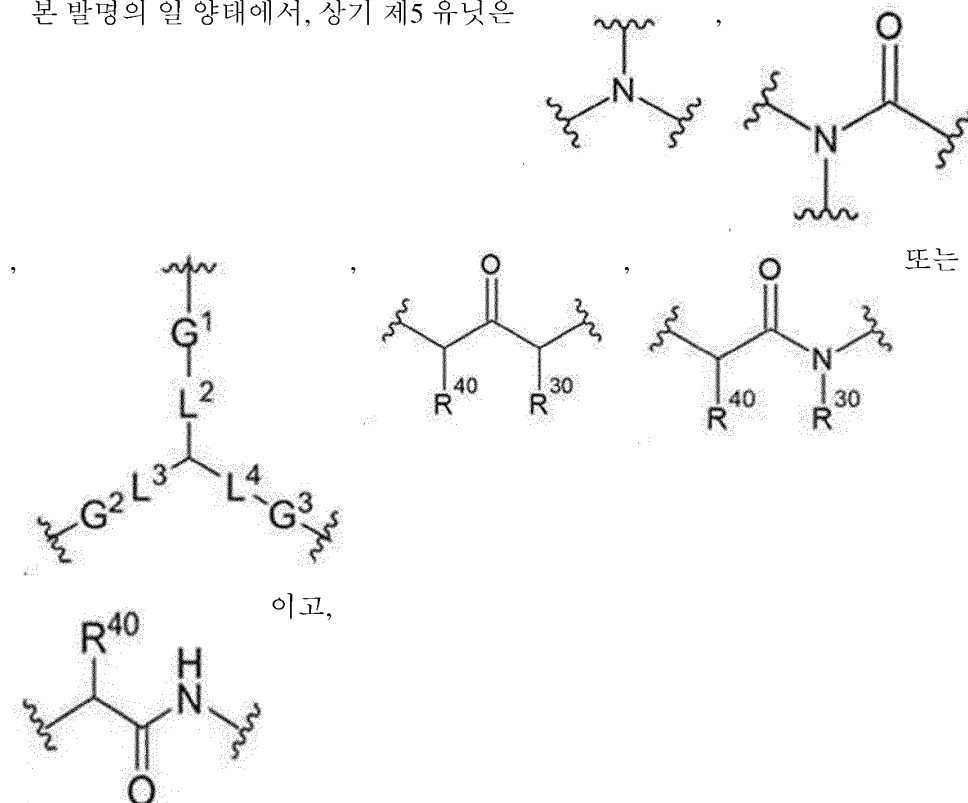
포함하고,

- [304] 여기에서 L₁은 직접 결합 또는 1 내지 30개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이고, R₁₁은 수소 또는 1 내지 10개의 탄소원자를 갖는 알킬이며, 구체적으로 메틸이고, L₂는 1 내지 30개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이다.
 [305] 본 발명의 일 양태에서, L₁은 12개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이다.
 [306] 본 발명의 일 양태에서, R₁₁은 메틸이다.
 [307] 본 발명의 일 양태에서, L₂는 11개의 탄소원자를 갖는 알킬렌이다.
 [308] 본 발명의 일 양태에서, 바인딩 유닛은 티오에테르 결합에 의해 항체와 공유결합하며, 티오에테르 결합은 항체의 시스테인의 황원자를 포함한다.
 [309] 본 발명의 일 양태에서, 항체는 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의해 인식되는 아미노산 모티프를 포함하고, 티오에테르 결합은 아미노산 모티프의 시스테인의 황원자를 포함한다.
 [310] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프는 CXX, CXC, XCXC, XXCC, 및 CYYX로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 서열이고, 여기에서 C는 시스테인을 나타내며; Y는 각 경우 독립적으로 지방족 아미노산을 나타내고; X는 각 경우 독립적으로 글루타민, 글루타메이트, 세린, 시스테인, 메티오닌, 알라닌, 또는 루신을 나타내고; 티오에테르 결합은 아미노산 모티프의 시스테인의 황원자를 포함한다.

- [311] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프는 CYYX 서열이고, Y는 각 경우 독립적으로 알라닌, 이소루신, 루신, 메티오닌 또는 발린이다.
- [312] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프는 CVIM 또는 CVLL 서열이다.
- [313] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프에 선행하는 1 내지 20개의 아미노산 중 적어도 하나는 글리신이다.
- [314] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프에 선행하는 1 내지 20개의 아미노산 중 1개 이상이 글리신, 아르기닌, 아스파르트산 및 세린으로부터 각각 독립적으로 선택될 수 있다.
- [315] 본 발명의 일 양태에서, 아미노산 모티프에 선행하는 1 내지 20개의 아미노산이 글리신, 구체적으로는 아미노산 모티프에 선행하는 최소 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산은 글리신이다.
- [316] 본 발명의 일 양태에서, 항체는 GGGGGGGCVIM의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [317] 본 발명의 일 양태에서, 상기 이소프레노이드 트랜스퍼라제는 파네실 단백질 트랜스퍼라아제(FTase) 또는 게라닐게라닐 트랜스퍼라제(GGTase)이다.
- [318]
- [319] 본 발명의 일 양태에서, L은 Ab에 공유 결합된 하나 이상의 분지형 링커를 포함하고,
- [320] i) 각각의 분지형 링커는 제1 링커(PL)에 의해 Ab에 공유 결합된 제5 유닛을 포함하고;
- [321] ii) 각각의 분지형 링커는 제1 활성제가 제2 링커(SL) 및 절단 그룹(CG)에 의해 제5 유닛에 공유 결합된 제1 분지(B1)를 포함하며; 및
- [322] iii) 각각의 분지형 링커는 a) 제2 활성제가 제2 링커(SL) 및 절단 그룹(CG)에 의해 제5 유닛에 공유 결합된 제2 분지(B2); 또는 b) 폴리에틸렌 글리콜 모이어티가 제5 유닛에 공유 결합된 있는 제2 분지(B2)를 더 포함하고,
- [323] 상기 각각의 절단 그룹은 항체 구조물-활성제 접합체부터 활성제를 방출하기 위해 가수분해되는 것일 수 있다.
- [324] 본 발명의 일 양태에서, i) 분지된 링커는 제1 링커(PL)에 의해 반응성 모이어티에 공유 결합된 제5 유닛(BR)을 포함하고;
- [325] ii) 제5 유닛은 제1 분지(B1)에 공유 결합되고, 제2 링커(SL) 및 절단 그룹(CG)에 공유 결합된 제1 활성제를 포함하며;
- [326] iii) 제5 유닛은 제2 분지(B2)와 공유 결합되고, a) 제2 링커(SL) 및 절단 그룹(CG)과 공유 결합된 제2 활성제 또는 b) 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함하며, 여기에서 각 절단 그룹은 가수분해되어 활성제를 방출시킬 수 있다.
- [327] 본 발명의 일 양태에서, 상기 절단 그룹은 상기 화학식 II와 같다.
- [328] 본 발명에서, 제2 링커(예를 들어, 활성제를 제5 유닛과 연결하는 것)은 1,3-쌍극 부가환화 반응(1,3-dipolar cycloaddition reaction), 헤테로-디엘스-엘더 반응(hetero-Diels-Alder reaction), 친핵성 치환 반응(nucleophilic substitution

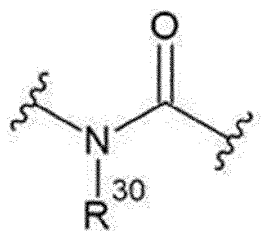
reaction), 비-알돌형 카보닐 반응(non-aldol type carbonyl reaction), 탄소-탄소 다중 결합에의 첨가(addition to a carbon-carbon multiple bond), 산화 반응(oxidation reaction) 또는 클릭 반응(click reaction)에 의하여 형성된 제3 유닛을 포함할 수 있다. 여기에서, 제3 유닛은 상기와 같이 알카인과 아자이드와의 반응, 또는 비-알돌형 카보닐 반응, 에컨대 알데하이드 또는 케톤 그룹과 하이드라진 또는 하이드록실아민과의 반응으로 형성될 수 있으며, 이는 활성화제 및/또는 절단 그룹과 L을 마일드 커플링(mild coupling)하도록 해준다.

[329] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제5 유닛은

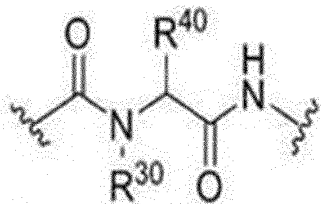


[330] 상기 L^2, L^3, L^4 는 각각 독립적으로 직접 결합 또는 $-C_nH_{2n}-$ 이며, 상기 n 은 1 내지 30의 정수이고,

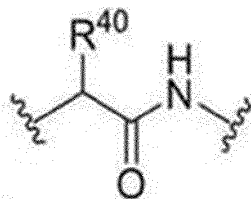
[331] 상기 G^1, G^2, G^3 은 독립적으로 직접 결합,



[332]

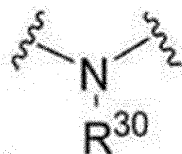


[333]



[334]

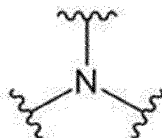
또는



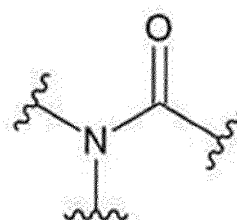
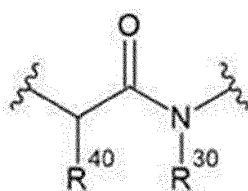
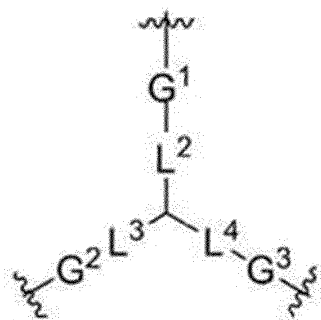
[335] 이며,

[336] 상기 R^{30} 은 수소 또는 C_{1-30} 알킬이고,[337] 상기 R^{40} 은 수소, C_{1-10} 알킬 또는 $-L^5-COOR^{50}$ 이며, 여기에서 L^5 는 직접 결합 또는 $-C_nH_{2n}-$ 이고,[338] 여기에서 n 은 1 내지 10의 정수이고, R^{50} 은 수소 또는 C_{1-30} 알킬이다.

[339] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제5 유닛은



또는



이고,

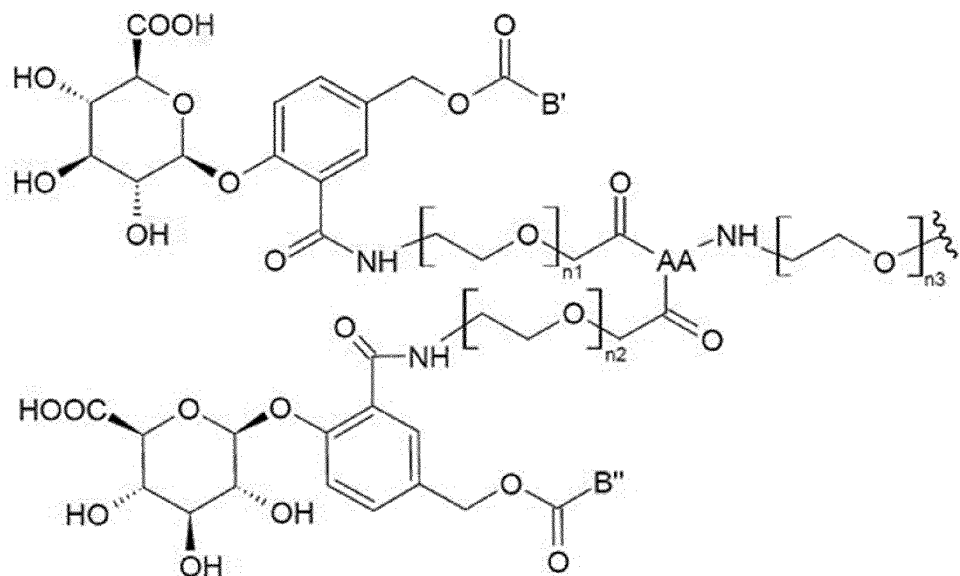
[340] 상기 $L^2, L^3, L^4, G^1, G^2, G^3, R^{30}, R^{40}$, 및 L^5 는 상기와 동일할 수 있다.

[341] 본 발명의 일 양태에서, 상기 절단 그룹은 표적 세포 내에서 절단가능하다.

[342] 본 발명의 일 양태에서, 상기 절단 그룹은 하나 이상의 활성제를 방출시킬 수 있다.

- [343] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 접합체는 Ab를 포함하고;
- [344] Ab에 공유 결합된 1, 2, 3 또는 4개 이상의 분지형 링커를 포함하며;
- [345] 각 분지형 링커가 1 또는 2개 이상의 활성제와 결합하고;
- [346] 여기에서 활성제는 각각 동일하거나, 상이한 것이다.
- [347] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 각각의 활성제는 절단 가능한 결합에 의해 분지형 링커에 결합된다.
- [348] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L은 적어도 하나의 제5 유닛 및 제1 링커(PL)을 포함하는 링커이다.
- [349] 본 발명의 일 양태에서, 항체-약물 접합체의 제1 링커는 1 내지 100개, 바람직하게는 1 내지 50개의 탄소원자를 갖는 알킬렌을 포함하고, 또는:
- [350] 알킬렌은 적어도 하나의 불포화 결합을 포함하고;
- [351] 알킬렌은 적어도 하나의 헤테로아릴렌을 포함하며;
- [352] 알킬렌의 탄소원자는 질소(N), 산소(O), 및 황(S)으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자에 의해 대체되고; 또는
- [353] 알킬렌은 1 내지 20개의 탄소원자를 갖는 하나 이상의 알킬로 더욱 치환된다.
- [354] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 각각의 분지형 링커는 제5 유닛을 포함하고, 각각의 활성제는 2차 링커를 통해 제5 유닛에 결합하고, 상기 제5 유닛은 1차 링커에 의해 항체에 결합된다.
- [355] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제5 유닛은 아미드이고, 1차 링커는 아미드의 카르보닐을 포함한다.
- [356] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제5 유닛은 리신 유닛이다.
- [357] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 알킬렌의 적어도 하나의 탄소원자는 질소로 대체되고, 제1 링커는 친수성 아미노산의 적어도 두 개의 원자를 포함하며, 그리고 질소는 친수성 아미노산의 주쇄 카보닐과 함께 펩타이드 결합을 형성한다. 친수성 아미노산은, 예를 들면, 아르기닌, 아스파테이트, 아스파라긴, 글루타메이트, 글루타민, 히스티딘, 리신, 오르니틴, 프롤린, 세린 또는 트레오닌일 수 있다.
- [358] 본 발명의 일 양태에서, 항체-활성제의 분지형 링커는 수용액 중의 중성 pH에서 전하를 갖는 모이어티를 갖는 측쇄를 갖는 아미노산, 바람직하게는 아르기닌, 아스파테이트, 글루타메이트, 리신 또는 오르니틴을 포함한다. 아미노산은 분지된 링커의 어느 곳에도 위치될 수 있다. 예를 들면, 분지형 링커의 옥심을 분지형 링커의 폴리에틸렌 글리콜 유닛에 공유 결합시킬 수 있다. 택일적으로 또는 부가적으로, 이러한 아미노산은 제2 링커에, 임의로 각각의 제2 링커 내에 존재할 수 있다.
- [359] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 링커-활성제는 하기 구조식 화합물을 포함한다.

[360]



[361] 을 포함하고,

[362] 상기 B' 및 B''는 동일하거나 상이할 수 있는 활성제를 나타내며;

[363] n1 내지 n3은 각각 독립적으로 0 내지 30의 정수를 나타내고;

[364] AA는 아미노산 그룹을 나타낸다.

[365] 본 발명의 일 양태에서, 상기 AA는 아미노산 그룹을 나타내며, 아미노산 그룹은 하나 이상의 아미노산이 결합된 형태를 의미한다.

[366] 본 발명의 일 양태에서, i) 링커는 다수의 아미노산의 펩타이드 서열을 포함하고; ii) 적어도 두 개의 활성제는 아미노산의 측쇄와 공유 결합으로 연결된다.

[367] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 그룹은 1 내지 20의 아미노산의 주쇄 결합되거나; 또는 측쇄 결합이다.

[368] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 그룹은 1 내지 20의 아르기닌, 아스파테이트, 아스파라긴, 글루타메이트, 글루타민, 히스티딘, 리신, 오르니틴, 프롤린, 세린 또는 트레오닌의 주쇄 결합; 또는 측쇄 결합에 의한 그룹이다.

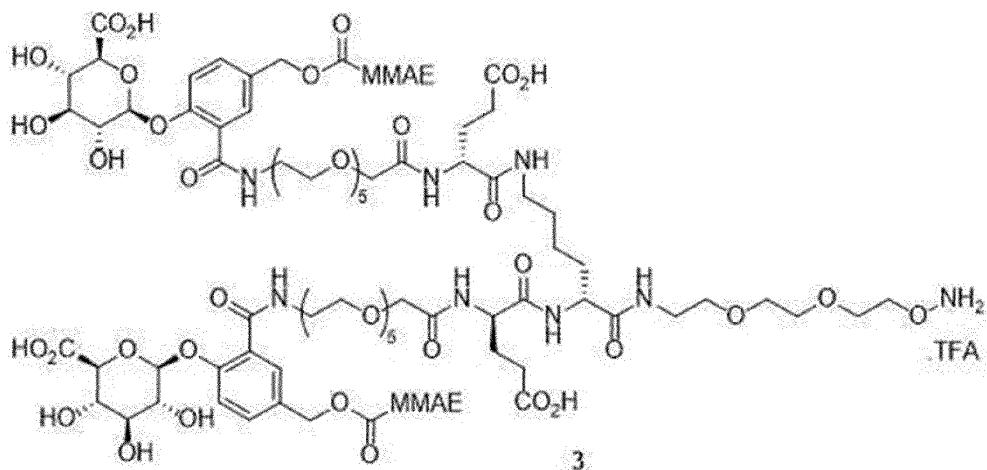
[369] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 그룹은 1 내지 20의 아르기닌, 아스파테이트, 글루타메이트, 리신 또는 오르니틴의 주쇄 결합; 또는 측쇄 결합에 의한 그룹이다.

[370] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 그룹은 1 내지 20의 아미노산 하나 이상의 리신을 포함한다.

[371] 또한, 상기 아미노산 그룹은 리신의 주쇄, 측쇄 결합을 포함한다.

[372]

[373]



[374] 일 수 있다.

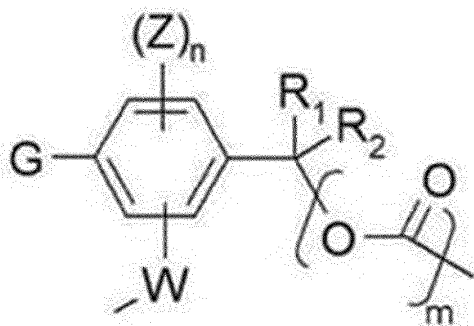
[375]

[376] 본 명세서에서, ‘활성제 모이어티’는 활성제를 포함하여 링커 또는 링커 일부에 공유결합시키는 화합물을 말한다.

[377] 본 발명에서, 활성제 모이어티는 링커에 직접결합할 수 있고, 링커에 하나 이상, 구체적으로, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상의 활성제 모이어티가 링커에 직접결합할 수 있다.

[378] 또한, 본 발명에서 활성제 모이어티는 활성제를 링커에 직접결합시키기 위한 화합물 단위를 포함할 수 있다. 또한, 본 발명에서 활성제 모이어티의 일부는 절단가능하고, 일부분이 절단되어 세포내 환경에서 활성제를 방출할 수 있다. 또한, 본 발명에서 활성제 모이어티 및 링커는 접합체의 DAR, 약리활성 등을 고려하여 결합개수를 정할 수 있다. 일 예에서, 활성제 모이어티는 하기 구조 및 활성제를 포함한 전체를 의미할 수 있고, 이를 통해 활성제와 링커를 직접결합할 수 있다. 다만, 이는 예시적인 것으로 이에 제한되는 것은 아니다.

[379]



[380] (여기에서, 각 부분은 상기 정의와 같다)

[381] 본 발명의 일 양태에서, 활성제는 각각 독립적으로 화학요법제 및 독신으로부터 선택된다.

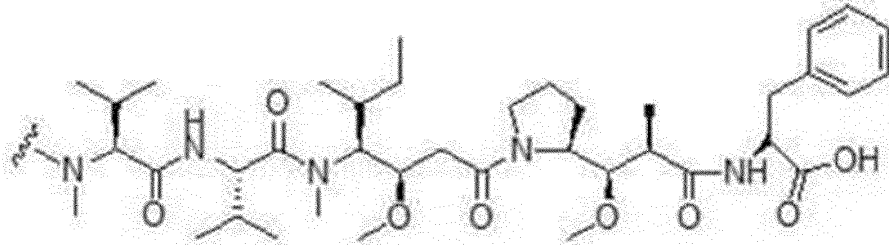
- [382] 또한, 활성제는 면역 조절 화합물, 항암제, 항바이러스제, 항균제, 항진균제, 항기생충제 또는 이들의 조합일 수 있고, 하기 나열된 활성제 중 선택적으로 사용할 수 있다:
- [383] (a) 엘로티닙(erlotinib), 보르테조미브(bortezomib), 플베스트란트(fulvestrant), 수텐트(sutent), 레트로졸(letrozole), 이마티닙 메실레이트(imatinib mesylate), PTK787/ZK 222584, 옥살리플라틴(oxaliplatin), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), 루코보린(leucovorin), 라파마이신(rapamycin), 라파티닙(lapatinib), 로나파르닙(lonafarnib), 소라페닙(sorafenib), 제피티닙(gefitinib), AG1478, AG1571, 티오테파(thiotepa), 사이클로포스파마이드(cyclophosphamide), 부숴판(busulfan), 임프로숴판(improsulfan), 피포숴판(piposulfan), 벤조도파(benzodopa), 카르보콘(carboquone), 메츄도파(meturedopa), 유레도파(uredopa), 에틸렌이민(ethylenimine), 알트레타민(altretamine), 트리에틸렌멜라민(triethylenemelamine), 트리에틸렌포스포라미드(triethylenephosphoramidate), 트리에틸렌티오포스포라미드(triethylenethiophosphoramidate), 트리메틸톨로멜라민(trimethylolomelamine), 불라타신(bullatacin), 불라타시논(bullatacinone), 캄토테신(camptothecin), 토포테칸(topotecan), 브리오스타틴(bryostatin), 칼리스타틴(callystatin), CC-1065, 아도젤레신(adozelesin), 카르젤레신(carzelesin), 비젤레신(bizelesin), 크립토피신 1(cryptophycin 1), 크립토피신 8(cryptophycin 8), 둘라스타틴(dolastatin), 듀오카마이신(duocarmycin), KW-2189, CB1-TM1, 엘루테로빈(eleutherobin), 판크라티스타틴(pancratistatin), 사르코딕틴(sarcodictyin), 스폰지스타틴(spongistatin), 클로람부실(chlorambucil), 클로르나파진(chlornaphazine), 클로로포스파미드(chlorophosphamide), 에스트라무스틴(estrामustine), 이포스파미드(ifosfamide), 메클로르에타민(mechlorethamine), 멜팔란(melphalan), 노벰비킨(novembichin), 페네스테린(phenesterine), 프레드니무스틴(prednimustine), 트로포스파미드(trofosfamide), 우라실 머스타드(uracil mustard), 카르무스틴(carmustine), 클로로코토신(chlorozotocin), 포테쿠스틴(fotemustine), 로무스틴(lomustine), 니무스틴(nimustine), 라니무스틴(ranimustine), 칼리키아미신(calicheamicin), 칼리키아미신 감마 1(calicheamicin gamma 1), 칼리키아미신 오메가 1(calicheamicin omega 1), 디네미신(dynemicin), 디네미신 A(dynemicin A), 클로드로네이트(clodronate), 에스페르아미신(esperamicin), 네오키노스타틴크로모포어(neocarzinostatin chromophore), 아클라시노마이신(aclacinomysins), 악티노마이신(actinomycin), 안트르마이신(antrmycin), 아자세린(azaserine), 블레오마이신(bleomycins), 캅티노마이신(cactinomycin), 카라비신(carabycin), 카르니노마이신(carninomycin), 카르지노필린(carzinophilin), 크로모마이신(chromomycins),

닥티노마이신(dactinomycin), 다우노루비신(daunorubicin),
 테토루부신(detorubicin),
 6-디아조-5-옥소-L-노르루신(6-diazo-5-oxo-L-norleucine),
 독소루비신(doxorubicin), 모르폴리노-독소루비신(morpholino-doxorubicin),
 시아노모르폴리노-독소루비신(cyanomorpholino-doxorubicin),
 2-피롤리노-독소루비신(2-pyrrolino-doxorubicin), 리포소말 독소루비신(liposomal
 doxorubicin), 테옥시독소루비신(deoxydoxorubicin), 에피루비신(epirubicin),
 에소루비신(esorubicin), 마르셀로마이신(marcellomycin), 미토마이신
 C(mitomycin C), 미코페놀산(mycophenolic acid), 노갈라마이신(nogalamycin),
 올리보마이신(olivomycins), 페플로마이신(peplomycin),
 포트피로마이신(potfiromycin), 퓨로마이신(puromycin),
 쿠엘라마이신(quelamycin), 로도루비신(rodorubicin),
 스트렙토미그린(streptomigrin), 스트렙토조신(streptozocin),
 투베르시딘(tubercidin), 우베니멕스(ubenimex), 지노스타틴(zinostatin),
 조루비신(zorubicin), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), 데노프테린(denopterin),
 메토트렉세이트(methotrexate), 프테로프테린(pteropterin),
 트리메트렉세이트(trimetrexate), 플루다라빈(fludarabine),
 6-머캅토피린(6-mercaptopurine), 티아미프린(thiamiprine), 티구아닌(thiguanine),
 안시타빈(ancitabine), 아자시티딘(azacitidine), 6-아자유리딘(6-azauridine),
 카르모푸르(carmofur), 시타라빈(cytarabine), 디테옥시유리딘(dideoxyuridine),
 독시플루리딘(doxifluridine), 에노시타빈(enocitabine), 플록수리딘(floxuridine),
 칼루스테론(calusterone), 드로모스타놀론(dromostanolone),
 프로피오네이트(propionate), 에피티오스타놀(epitioastanol),
 메피티오스테인(mepitioastane), 테스트락톤(testolactone),
 아미노글루테티미드(aminogluthethimide), 미토테인(mitotane),
 트릴로스테인(trilostane), 폴린산(folinic acid), 아세글라톤(aceglatone),
 알도포스파미드 글리코사이드(aldophosphamide glycoside),
 아미노레불린산(aminolevulinic acid), 에닐우라실(eniluracil),
 암사크린(amsacrine), 베스트라부실(bestrabucil), 비산트렌(bisantrene),
 에다트락세이트(edatraxate), 데포파민(defofamine), 데메콜신(demecolcine),
 디아지콘(diaziquone), 엘포르니틴(elformithine), 엘립티니움
 아세테이트(elliptinium acetate), 에토글루시드(etoglucid), 갈리움
 나이트레이트(gallium nitrate), 하이드록시우레아(hydroxyurea), 렌티난(lentinan),
 로니다이닌(lonidainine), 메이탄신(maytansine), 안사미토신(ansamitocins),
 미토구아존(mitoguazone), 미토잔트론(mitoxantrone), 모피단몰(mopidanmol),
 니트라에린(nitraerine), 펜토스타틴(pentostatin), 페나메트(phenamet),
 피라루비신(pirarubicin), 로소잔트론(losoxantrone),
 2-에틸하이드라지드(2-ethylhydrazide), 프로카르바진(procarbazine),

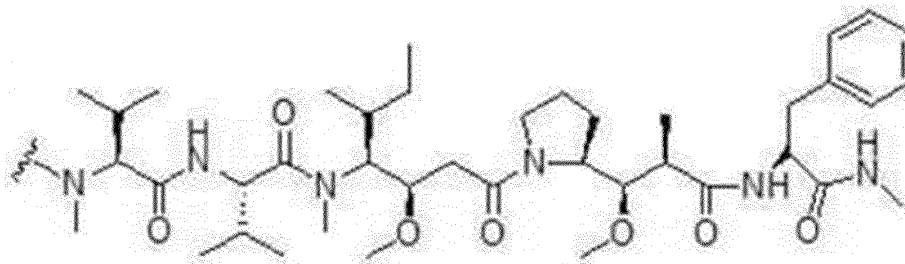
- 폴리사카라이드-k(polysaccharidek), 라죽세인(razoxane), 리조신(rhizoxin), 시조피란(sizofiran), 스피로게르마늄(spirogermanium), 테누아존산(tenuazonic acid), 트리아지쿤(triaziquone), 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민(2,2',2"-trichlorotriethylamine), T-2 독신, 베라큐린 A(verracurin A), 로리딘 A(roridin A), 안구이딘(anguidine), 우레탄(urethane), 빈데신(vindesine), 다카르바진(dacarbazine), 만노무스틴(mannomustine), 미토브로니톨(mitobronitol), 미톨락톨(mitolactol), 피포브로만(pipobroman), 가시토신(gacytosine), 아라비노사이드(arabinoside), 사이클로포스파미드(cyclophosphamide), 티오테파(thiotepa), 파클리탁셀(paclitaxel), 파클리탁셀, 파클리탁셀의 알부민-엔지니어드 나노파티클(albumin-engineered nanoparticle formulation of paclitaxel), 도세탁셀, 클로람부실, 젬시타빈, 6-티오구아닌, 머캅토포린, 시스플라틴, 카보플라틴(carboplatin), 빈블라스틴(vinblastine), 플래티늄(platinum), 에토포사이드(etoposide), 이포스파미드(ifosfamide), 미톡산트론(mitoxantrone), 빈크리스틴, 비노렐빈(vinorelbine), 노반트론(novantrone), 테니포사이드(teniposide), 에다트렉세이트(edatrexate), 다우노마이신(daunomycin), 아미노프테린(aminopterin), 젤로다(xeloda), 이반드로네이트(ibandronate), CPT-11, 토포이소머라아제 저해제 RFS 2000, 디플루오로메틸오르니틴(difluoromethylornithine), 레티노산(retinoic acid), 카페시타빈(capecitabine), 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 용매화물 또는 산;
- [384] (b) 모노카인(monokine), 림포카인(lympokine), 폴리펩타이드 호르몬(traditional polypeptide hormone), 부갑상선 호르몬(parathyroid hormone), 티록신(thyroxine), 릴렉신(relaxin), 프로릴렉신(pror relaxin), 당단백 호르몬(glycoprotein hormone), 여포자극호르몬(follicle stimulating hormone), 갑상샘자극호르몬(thyroid stimulating hormone), 황체형성호르몬(luteinizing hormone), 간 성장인자 섬유모세포성장인자(hepatic growth factor fibroblast growth factor), 프롤락틴(prolactin), 태반성 락토젠(placental lactogen), 종양괴사인자(tumor necrosis factor), 종양괴사인자- α , 종양괴사인자- β , 뮐러관 억제물질(mullerian inhibiting substance), 마우스 고나도트로핀-연관 펩타이드(mouse gonadotropin associated peptide), 인히빈(inhibin), 액티빈(activin), 혈관내피증식인자(vascular endothelial growth factor), 트롬보포이에틴(thrombopoietin), 에리스로포이에틴(erythropoietin), 골유도 인자(osteoinductive factor), 인터페론, 인터페론- α , 인터페론- β , 인터페론- γ , 콜로니자극인자(colony stimulating factor, CSF), 마크로파지-CSF, 과립구-마크로파지-CSF(granulocyte-macrophage-CSF), 과립구-CSF, 인터루킨(IL), IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, 종양괴사인자(tumor necrosis factor), 폴리펩타이드 인자, LIF, 키트 리간드(kit ligand), 또는 이들의 배합물;
- [385] (c) 디프테리아 독신, 보툴리눔 독신, 테타누스 독신, 디센터리 독신, 콜레라

- 독신, 아마니틴, α -아마니틴, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 유도체, 인돌리노벤조디아제핀, 피리디노벤조디아제핀, 테트로도독신, 브레베독신(brevetoxin), 시구아독신(ciguatoxin), 리신(ricin), AM 독신, 오리스타틴(auristatin), 튜불리신(tubulysin), 겔다나마이신(geldanamycin), 메이탄시노이드(maytansinoid), 칼리케아마이신(calicheamycin), 다우노마이신(daunomycin), 독소루비신(doxorubicin), 메토트렉세이트(methotrexate), 빈데신(vindesine), SG2285, 돌라스타틴(dolastatin), 돌라스타틴 유사체(dolastatin analog), 오리스타틴(auristatin), 크립토피신(cryptophycin), 캄토테신(camptothecin), 리족신(rhizoxin), 리족신 유도체(rhizoxin derivatives), CC-1065, CC-1065, 유사체 또는 유도체, 듀오카마이신(duocarmycin), 에네다인 항생제(enediye antibiotic), 에스페라마이신(esperamicin), 에포틸론(epothilone), 독소이드(toxoid), 또는 이들의 배합물;
- [386] (d) 친화성 리간드(affinity ligand), 여기에서 친화성 리간드는 기질, 저해제, 활성화제, 신경전달물질, 방사성 동위원소, 또는 이들의 배합물;
- [387] (e) 방사능표지(radioactive label), ^{32}P , ^{35}S , 형광다이, 전자밀도 반응제(electron dense reagent), 효소, 비오틴, 스트렙타비딘(streptavidin), 디옥시제닌(dioxigenin), 햅텐(hapten), 면역성 단백질(immunogenic protein), 타겟에 컴플러멘터리한 서열을 갖는 핵산 분자(nucleic acid molecule with a sequence complementary to a target) 또는 이들의 배합물;
- [388] (f) 면역조절 화합물(immunomodulatory compound), 항-암제(anticancer agent), 항-바이러스제(anti-viral agent), 항-박테리아제(anti-bacterial agent), 항-곰팡이제(anti-fungal agent), 및 항-기생충제(anti-parasitic agent), 또는 이들의 배합물;
- [389] (g) 타목시펜(tamoxifen), 랄록시펜(raloxifene), 드롤록시펜(droloxifene), 4-하이드록시타목시펜(4-hydroxytamoxifen), 트리옥시펜(trioxifene), 케옥시펜(keoxifene), LY117018, 오나프리스톤(onapristone) 또는 토레미펜(toremifene);
- [390] (h) 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 메제스톨 아세테이트(megestrol acetate), 엑스메스탄(exemestane), 레트로졸(letrozole), 또는 아나스트로졸(anastrozole)
- [391] (i) 플루타미드(flutamide), nil루타미드(nilutamide), 비칼루타미드(bicalutamide), 리우프롤라이드(leuprolide), 고세렐린(goserelin), 또는 트록사시타빈(troxacitabine);
- [392] (j) 아로마타아제 저해제;
- [393] (k) 단백질 키나아제 저해제;
- [394] (l) 리피드 키나아제 저해제;
- [395] (m) 안티센스 올리고뉴클레오티드;

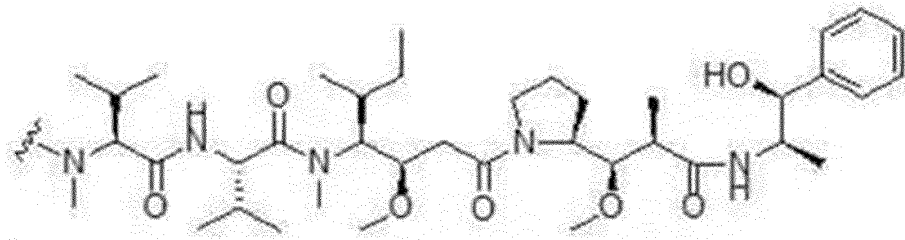
- [396] (n) 리보자임;
 [397] (o) 백신; 및
 [398] (p) 항-맥관형성제(anti-angiogenic agent)
 [399] 본 발명의 일 양태에서, 활성제는
 [400]



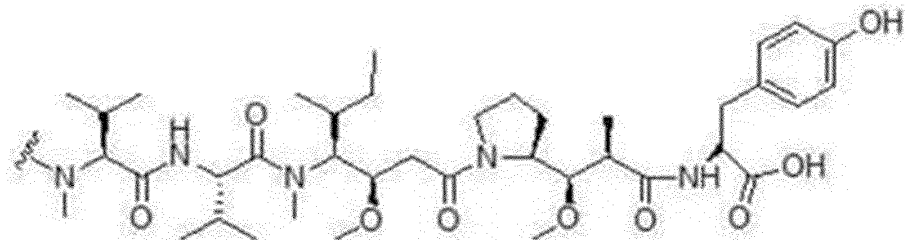
[401]



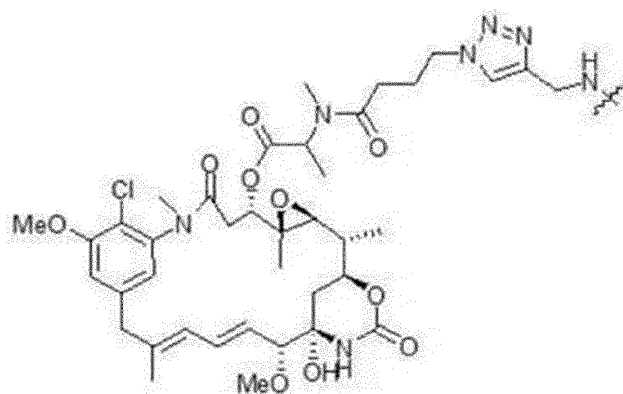
[402]



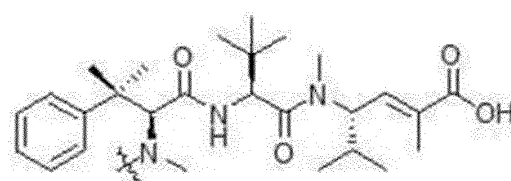
[403]



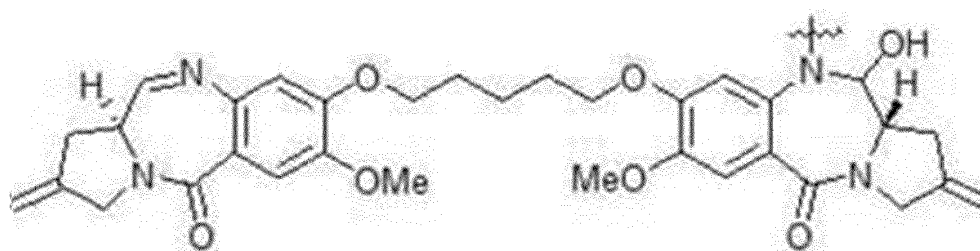
[404]



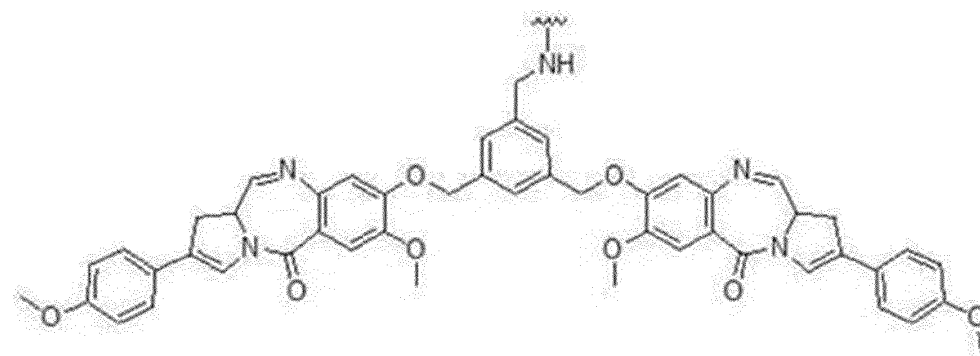
[405]



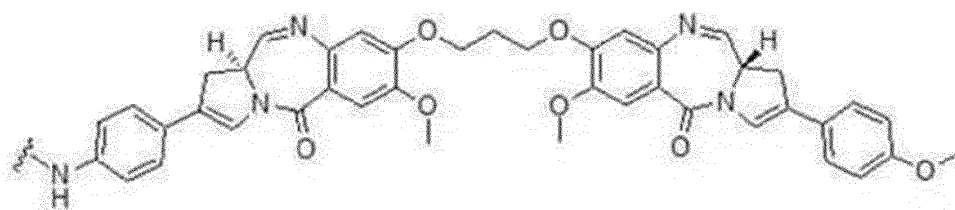
[406]



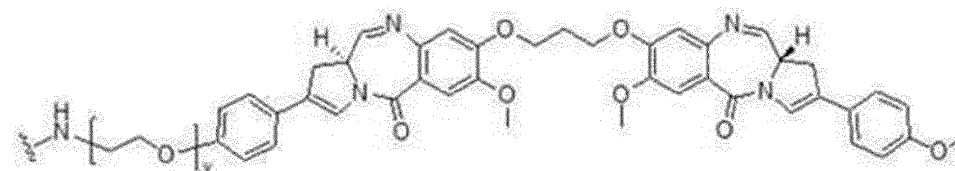
[407]



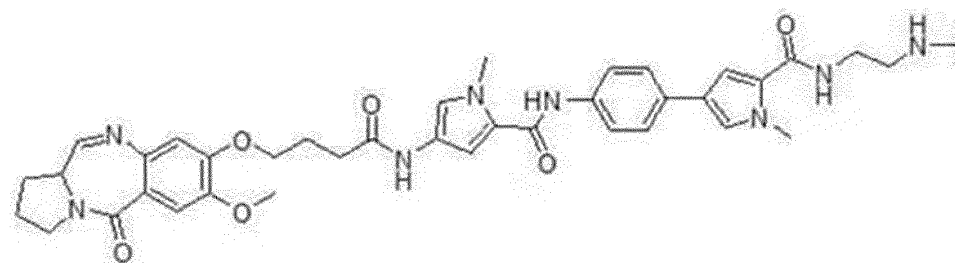
[408]



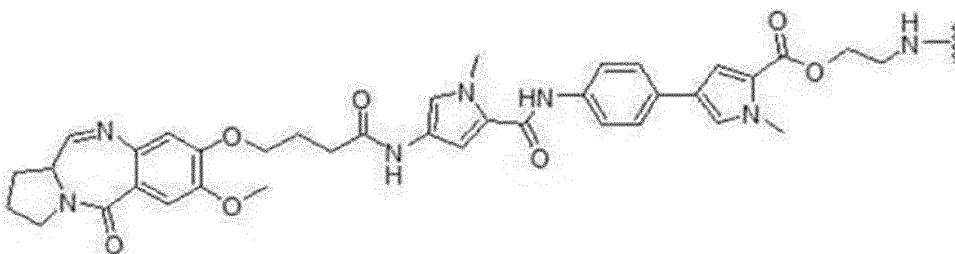
[409]



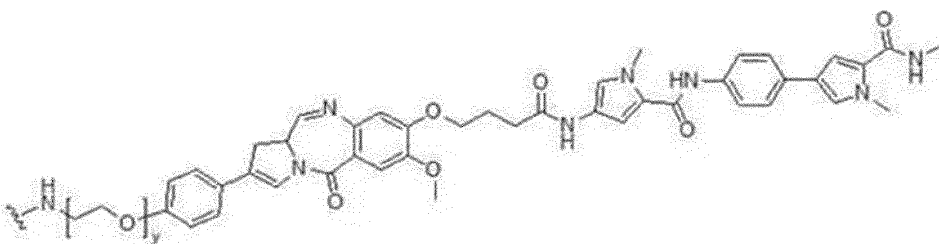
[410]



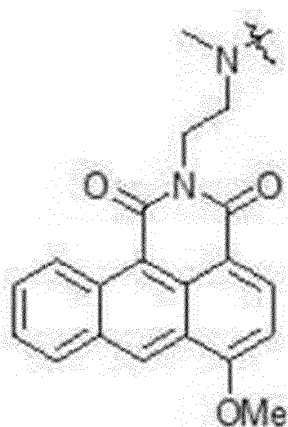
[411]



[412]

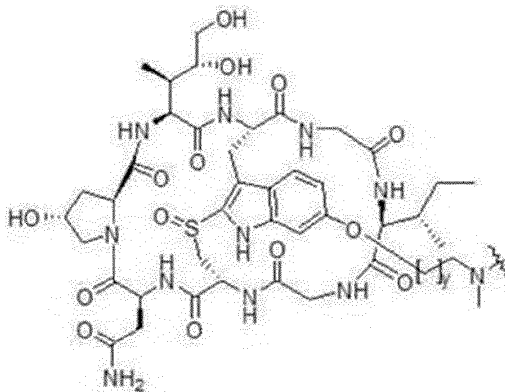


[413]

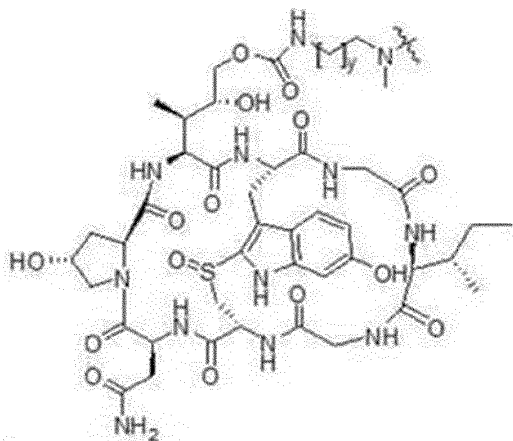


,

, 또는



이고,



[414] 여기에서 y는 1 내지 10의 정수이다.

[415]

[416] 또한, 본 발명의 다른 일 양태에서, 활성제는 피롤로벤조디아제핀 다이머이고, 상기 피롤로벤조디아제핀 다이머의 N10 또는 N10' 위치를 통해 링커와 항체가 연결된다.

[417] 피롤로벤조디아제핀 다이머의 N10 및 N10' 위치에 각각 독립적으로 -C(O)O-*, -S(O)O-*, -C(O)-*, -C(O)NR-*, -S(O)₂NR-*, -(P(O)R')NR-*, -S(O)NR-*, 및 -PO₂NR-*기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 어느 하나가 부착되며,

[418] 여기에서 *은 링커가 부착되는 부분이고,

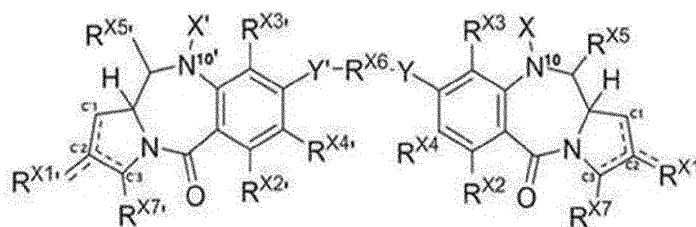
[419] 여기에서, R 및 R'은 각각 독립적으로 H, OH, N₃, CN, NO₂, SH, NH₂, ONH₂, NHNH₂, 할로, 치환되거나 비치환된 C₁₋₈알킬, 치환되거나 비치환된 C₃₋₈사이클로알킬, 치환되거나 비치환된 C₁₋₈알콕시, 치환되거나 비치환된 C₁₋₈알킬티오, 치환되거나 비치환된 C₃₋₂₀헤테로아릴, 치환되거나 비치환된 C₅₋₂₀아릴 또는 모노- 또는 다이-C₁₋₈알킬아미노이고,[420] 여기에서 C₁₋₈알킬, C₃₋₈사이클로알킬, C₁₋₈알콕시, C₁₋₈알킬티오, C₃₋₂₀헤테로아릴,

C₅₋₂₀아릴이 치환되는 경우, H, OH, N₃, CN, NO₂, SH, NH₂, ONH₂, NNH₂, 할로, C₁₋₆알킬, C₁₋₆알콕시 및 C₆₋₁₂아릴로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 치환기로 치환되는,

- [421] 피롤로벤조디아제핀 다이머 전구체(pyrrolobenzodiazepine dimer prodrug), 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물은 활성제로 사용할 수 있다.
- [422] 보다 구체적으로, 피롤로벤조디아제핀 다이머의 N10 위치에서 X 또는 N'10 위치에서 X'로 치환되고, 여기서 X 또는 X'는 피롤로벤조디아제핀 다이머를 링커에 연결하며;
- [423] X 및 X'는 각각 독립적으로 -C(O)O*, -S(O)O-*, -C(O)-*, -C(O)NR^X-, -S(O)₂NR^X-, -P(O)R'NR^X-, -S(O)NR^X-, 또는 -PO₂NR^X-*로부터 선택되고;
- [424] R^X 및 R^{X'}는 독립적으로 H, OH, N₃, CN, NO₂, SH, NH₂, ONH₂, NNH₂, 할로, C₁₋₈알킬, C₃₋₈사이클로알킬, C₁₋₈알콕시, C₁₋₈알킬티오, C₃₋₂₀헤테로아릴, C₅₋₂₀아릴 또는 모노- 또는 디(di)-C₁₋₈알킬아미노로부터 선택된다.
- [425]
- [426] 본 발명의 일 양태에서, 상기 활성제로 피롤로벤조디아제핀 다이머 전구체가 제공된다. 본 발명에 따른 전구체 형태로 투여하는 경우, 혈중 노출 시 추가적인 반응에 의해 유효한 약물로 전환되어야 할 필요가 있기 때문에 예상치 못한 링커의 분해 시에 생길 수 있는 부작용의 발생가능성을 미연에 방지할 수 있고, 정상세포에 대한 독성이 감소하며, 약물이 보다 안정적이라는 점에서 기존 PBD 약물에 비해 유리한 점이 있다.
- [427] 또한 항체-약물 접합체 제조 시, 기존 방법으로 제조한 항체-약물 접합체의 경우 불순물의 함량이 높고 노출된 이민 그룹이 뉴클레오프일(nucleophile)의 공격을 받아 원치 않는 구조의 약물이 생성될 우려가 있는 반면, 본 발명에 따른 방법으로 제조된 항체-약물 접합체는 순도가 높아 분리가 용이하다는 장점이 있고, 기존 PBD 또는 PBD 다이머에 비하여 물성이 보다 향상되는 것으로 나타났다.
- [428] 본 발명의 일 양태에서, 피롤로벤조디아제핀 다이머 전구체는 하기 일반식 X 또는 일반식 XI 구조를 갖는 것을 특징으로 하는, 피롤로벤조디아제핀 다이머 전구체, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

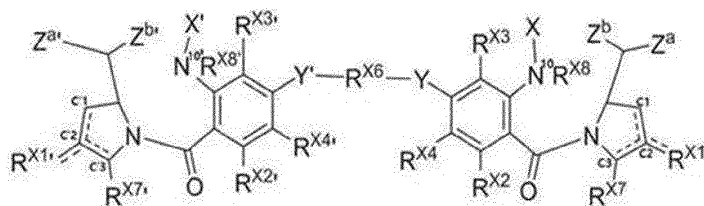
[429] [일반식 X]

[430]



[431] [일반식 XI]

[432]



[433] 상기 식에서,

[434] 상기 점선은 C1과 C2 사이, C2와 C3 사이, C'1과 C'2 사이, 또는 C'2과 C'3 사이의 이중 결합의 선택적 존재를 나타내며;

[435] R^{X1} 및 $R^{X1'}$ 는 독립적으로 H, OH, =O, =CH₂, CN, R^m, OR^m, =CH-R^{m'}=C(R^{m'})₂, O-SO₂-R^m, CO₂R^m, COR^m, 할로 및 디할로로부터 선택되고;[436] R^{m'}는 R^m, CO₂R^m, COR^m, CHO, CO₂H, 및 할로로부터 선택되며,[437] 각각의 R^m는 독립적으로 C₁₋₁₂ 알킬, C₂₋₁₂ 알케닐, C₂₋₁₂ 알키닐, C₅₋₂₀ 아릴, C₅₋₂₀ 헤테로아릴, C₃₋₆ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;[438] R^{X2}, R^{X2'}, R^{X3}, R^{X3'}, R^{X5}, 및 R^{X5'}는 독립적으로 H, R^m, OH, OR^m, SH, SR^m, NH₂, NHR^m, NR^{m2}, NO₂, 및 할로로부터 선택되며;[439] R^{X4} 및 R^{X4'}는 독립적으로 H, R^m, OH, OR^m, SH, SR^m, NH₂, NHR^m, NR^{m2}, NO₂, 할로, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알콕시, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₃₋₆ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C₅₋₁₂ 아릴, 5 내지 7-원 헤테로아릴, -CN, -NCO, -ORⁿ, -OC(O)Rⁿ, -OC(O)NRⁿR^{n'}, -OS(O)Rⁿ, -OS(O)₂Rⁿ, -SRⁿ, -S(O)Rⁿ, -S(O)₂Rⁿ, -S(O)NRⁿR^{n'}, -S(O)₂NRⁿR^{n'}, -OS(O)NRⁿR^{n'}, -OS(O)₂NRⁿR^{n'}, -NRⁿR^{n'}, -NRⁿC(O)R^o, -NRⁿC(O)OR^o, -NRⁿC(O)NR^oR^{o'}, -NRⁿS(O)R^o, -NRⁿS(O)₂R^o, -NRⁿS(O)NR^oR^{o'}, -NRⁿS(O)₂NR^oR^{o'}, -C(O)Rⁿ, -C(O)ORⁿ 및 -C(O)NRⁿR^{n'}로부터 선택되고;[440] X 및 X'는 독립적으로 -C(O)O*, -S(O)O*, -C(O)*, -C(O)NR^X*, -S(O)₂NR^X*, -P(O)RⁿNR^X*, -S(O)NR^X*, 또는 -PO₂NR^X*로부터 선택되며;[441] R^X 및 R^{X'}는 독립적으로 H, OH, N₃, CN, NO₂, SH, NH₂, ONH₂, NHNH₂, 할로, C₁₋₈ 알킬, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₁₋₈ 알콕시, C₁₋₈ 알킬티오, C₃₋₂₀ 헤테로아릴, C₅₋₂₀ 아릴 또는 모노- 또는 디(di)-C₁₋₈ 알킬아미노로부터 선택되며;

[442] Y 및 Y'는 독립적으로 O, S, 및 N(H)으로부터 선택되고;

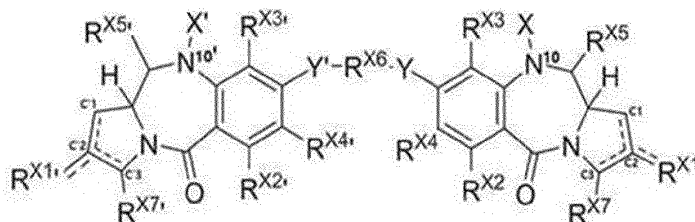
[443] R^{X6}는 독립적으로 C₃₋₁₂ 알킬렌, C₃₋₁₂ 알케닐렌, 또는 C₃₋₁₂ 헤테로알킬렌으로부터 선택되며;[444] R^{X7} 및 R^{X7'}는 독립적으로 H, C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₃₋₆ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C₆₋₁₀ 아릴, 5 내지 7-원 헤테로아릴, -OR^r, -OC(O)R^r, -OC(O)NR^rR^{r'}, -OS(O)R^r, -OS(O)₂R^r, -SR^r, -S(O)R^r, -S(O)₂R^r, -S(O)NR^rR^{r'}, -S(O)₂NR^rR^{r'}, -OS(O)NR^rR^{r'}, -OS(O)₂NR^rR^{r'}, -NR^rR^{r'}, -NR^rC(O)R^s, -NR^rC(O)OR^s, -NR^rC(O)NR^sR^{s'}, -NR^rS(O)R^s, -NR^rS(O)₂R^s, -NR^rS(O)NR^sR^{s'}, -NR^rS(O)₂NR^sR^{s'}, -C(O)R^r,

- C(O)OR^s 또는 -C(O)NR^rR^{r'}으로 부터 선택되고;
- [445] 각각의 R^r, R^{r'}, R^s, 및 R^{s'}은 독립적으로 H, C₁₋₇ 알킬, C₂₋₇ 알케닐, C₂₋₇ 알키닐, C₃₋₁₃ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C₅₋₁₀ 아릴, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴로 부터 선택되며;
- [446] 각 R^{x8} 및 R^{x8'}는 독립적으로 H, C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₃₋₆ 헤테로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C₅₋₁₀ 아릴, 5 내지 7-원 헤테로아릴, -S(O)R^m, -S(O)₂R^m, -S(O)NR^mR^{m'}, -S(O)₂NR^mR^{m'}, -NR^mR^{m'}, -NR^mC(O)R^m, -NR^mC(O)ORⁿ, -NR^mC(O)NRⁿR^{n'}, -NR^mS(O)Rⁿ, -NR^mS(O)₂Rⁿ, -NR^mS(O)NRⁿR^{n'}, -NR^mS(O)₂NRⁿR^{n'}, -C(O)R^m, -C(O)OR^m 및 -C(O)NR^mR^{m'}로 부터 선택되고;
- [447] Z^a는 OR^{x12a}, NR^{x12a}R^{x12a}, 또는 SR^{x12a}로 부터 선택되며;
- [448] Z^b는 OR^{x13a}, NR^{x13a}R^{x13a}, 또는 SR^{x13a}로 부터 선택되고;
- [449] Z^{a'}는 OR^{x12a'}, NR^{x12a'}R^{x12a'}, 또는 SR^{x12a'}로 부터 선택되며;
- [450] Z^{b'}는 OR^{x13a'}, NR^{x13a'}R^{x13a'} 또는 SR^{x13a'}로 부터 선택되고;
- [451] 각 R^{x12a}, R^{x12a'}, R^{x13a} 및 R^{x13a'}는 독립적으로 H, C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₃₋₆ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C₅₋₁₀ 아릴, 5 내지 7-원 헤테로아릴, -C(O)R^{x15a}, -C(O)OR^{x15a} 및 -C(O)NR^{x15a}R^{x15a'}로 부터 선택되고; 및
- [452] 각각의 R^{x15a} 및 R^{x15a'}는 독립적으로 C₁₋₁₂ 알킬, C₂₋₁₂ 알케닐, C₂₋₁₂ 알키닐, C₅₋₂₀ 아릴, C₅₋₂₀ 헤테로아릴, C₃₋₆ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴로부터 선택되며;
- [453] 상기 Z^a 및 Z^b는 이들이 부착된 원자와 함께 임의적으로 결합하여 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 또는 3 내지 7-원 헤테로아릴을 형성하고, 및 Z^{a'} 및 Z^{b'}는 이들이 부착된 원자와 함께 임의적으로 결합하여 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 또는 3 내지 7-원 헤테로아릴을 형성하며;
- [454] 상기 각각의 Rⁿ, R^{n'}, R^o, R^{o'}, R^p, 및 R^{p'}는 독립적으로 H, C₁₋₇ 알킬, C₂₋₇ 알케닐, C₂₋₇ 알키닐, C₃₋₁₃ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C₅₋₁₀ 아릴, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴로부터 선택된다.
- [455] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^m는 독립적으로 C₁₋₁₂ 알킬, C₂₋₁₂ 알케닐, C₂₋₁₂ 알키닐, C₅₋₂₀ 아릴, C₅₋₂₀ 헤테로아릴, C₃₋₆ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고,
- [456] 본 발명의 일 양태에서, R^m는 추가적으로 C₁₋₁₂ 알킬, C₂₋₁₂ 알케닐, C₂₋₁₂ 알키닐, C₅₋₂₀ 아릴, C₅₋₂₀ 헤테로아릴, C₃₋₆ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 또는 5 내지 7-원 헤테로아릴로 치환된다.
- [457] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{x4} 및 R^{x4'}는 독립적으로 H, R^m, OH, OR^m, SH, SR^m, NH₂, NHR^m, NR^mR^{m'}, NO₂, 할로, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알콕시, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₃₋₆ 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C₅₋₁₂ 아릴, 5 내지 7-원 헤테로아릴, -CN, -NCO, -ORⁿ, -OC(O)Rⁿ, -OC(O)NRⁿR^{n'}, -OS(O)Rⁿ, -OS(O)₂Rⁿ, -SR

n , $-S(O)R^n$, $-S(O)_2R^n$, $-S(O)NR^nR^n$, $-S(O)_2NR^nR^n$, $-OS(O)NR^nR^n$, $-OS(O)_2NR^nR^n$, $-NR^nR^n$, $-NR^nC(O)R^o$, $-NR^nC(O)OR^o$, $-NR^nC(O)NR^oR^o$, $-NR^nS(O)R^o$, $-NR^nS(O)_2R^o$, $-NR^nS(O)NR^oR^o$, $-NR^nS(O)_2NR^oR^o$, $-C(O)R^n$, $-C(O)OR^n$ 및 $-C(O)NR^nR^n$ 로 부터 선택되고,

- [458] 상기 R^{X4} 또는 $R^{X4'}$ 는 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-6} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C_{5-12} 아릴 또는 5 내지 7-원 헤테로아릴이고, 추가적으로 하나 이상의 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-6} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C_{5-10} 아릴, 5 내지 7-원 헤테로아릴, $-OR^p$, $-OC(O)R^p$, $-OC(O)NR^pR^p$, $-OS(O)R^p$, $-OS(O)_2R^p$, $-SR^p$, $-S(O)R^p$, $-S(O)_2R^p$, $-S(O)NR^pR^p$, $-S(O)_2NR^pR^p$, $-OS(O)NR^pR^p$, $-OS(O)_2NR^pR^p$, $-NR^pR^p$, $-NR^pC(O)R^q$, $-NR^pC(O)OR^q$, $-NR^pC(O)NR^qR^q$, $-NR^pS(O)R^q$, $-NR^pS(O)_2R^q$, $-NR^pS(O)NR^qR^q$, $-NR^pS(O)_2NR^qR^q$, $-C(O)R^p$, $-C(O)OR^p$ 또는 $-C(O)NR^pR^p$ 로 치환된다.
- [459] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{X7} 및 $R^{X7'}$ 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-6} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C_{6-10} 아릴, 5 내지 7-원 헤테로아릴, $-OR^r$, $-OC(O)R^r$, $-OC(O)NR^rR^r$, $-OS(O)R^r$, $-OS(O)_2R^r$, $-SR^r$, $-S(O)R^r$, $-S(O)_2R^r$, $-S(O)NR^rR^r$, $-S(O)_2NR^rR^r$, $-OS(O)NR^rR^r$, $-OS(O)_2NR^rR^r$, $-NR^rR^r$, $-NR^rC(O)R^s$, $-NR^rC(O)OR^s$, $-NR^rC(O)NR^sR^s$, $-NR^rS(O)R^s$, $-NR^rS(O)_2R^s$, $-NR^rS(O)NR^sR^s$, $-NR^rS(O)_2NR^sR^s$, $-C(O)R^r$, $-C(O)OR^s$ 또는 $-C(O)NR^rR^r$ 으로부터 선택되고,
- [460] 상기 R^{X7} 또는 $R^{X7'}$ 는 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-6} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C_{6-10} 아릴, 5 내지 7-원 헤테로아릴이고, 추가적으로 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-6} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C_{6-10} 아릴, 5 내지 7-원 헤테로아릴, $-OR^t$, $-OC(O)R^t$, $-OC(O)NR^tR^t$, $-OS(O)R^t$, $-OS(O)_2R^t$, $-SR^t$, $-S(O)R^t$, $-S(O)_2R^t$, $-S(O)NR^tR^t$, $-S(O)_2NR^tR^t$, $-OS(O)NR^tR^t$, $-OS(O)_2NR^tR^t$, $-NR^tR^t$, $-NR^tC(O)R^u$, $-NR^tC(O)OR^u$, $-NR^tC(O)NR^uR^u$, $-NR^tS(O)R^u$, $-NR^tS(O)_2R^u$, $-NR^tS(O)NR^uR^u$, $-NR^tS(O)_2NR^uR^u$, $-C(O)R^t$, $-C(O)OR^t$ 또는 $-C(O)NR^tR^t$ 로 치환되며,
- [461] 상기 R^r , R^r , R^s , R^s , R^t , R^t , R^u 및 R^u 는 독립적으로 H, C_{1-7} 알킬, C_{2-7} 알케닐, C_{2-7} 알키닐, C_{3-13} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C_{5-10} 아릴, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴로부터 선택된다.
- [462] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{X1} 및 $R^{X1'}$ 는 독립적으로 R^m 으로부터 선택되고; 및
- [463] R^m 은 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{5-7} 아릴 및 C_{3-6} 헤테로아릴로부터 선택된다.
- [464] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{X2} , $R^{X2'}$, R^{X3} , $R^{X3'}$, R^{X5} , 및 $R^{X5'}$ 은 독립적으로 H 또는 OH로부터 선택된다.
- [465] 본 발명의 일 양태에서, R^{X4} 및 $R^{X4'}$ 는 독립적으로 R^m 으로부터 선택되고; 및
- [466] R^m 은 C_{1-6} 알콕시이다.
- [467] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{X4} 및 $R^{X4'}$ 는 독립적으로 메톡시, 에톡시 및 부톡시로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이다.

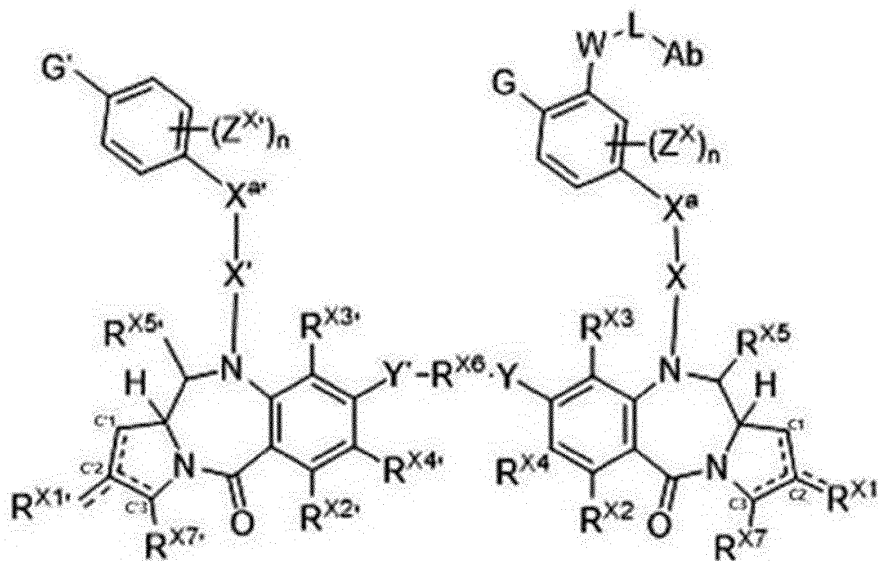
- [468] 본 발명의 일 양태에서, 상기 Y 및 Y'는 O이다.
- [469] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{X6} 는 C_{3-12} 알킬렌, C_{3-12} 알케닐렌 또는 C_{3-12} 헤테로알킬렌이고, 상기 R^{X6} 은 $-NH_2$, $-NHR^m$, $-NHC(O)R^m$, $-NHC(O)CH_2-[OCH_2CH_2]_n-R^{XX}$, 또는 $-[CH_2CH_2O]_n-R^{XX}$ 치환되고;
- [470] 상기 R^{XX} 는 H, OH, N_3 , CN, NO_2 , SH, NH_2 , ONH_2 , $NHNH_2$, 할로, C_{1-8} 알킬, C_{3-8} 사이클로알킬, C_{1-8} 알콕시, C_{1-8} 알킬티오, C_{3-20} 헤테로아릴, C_{5-20} 아릴 또는 모노- 또는 디- C_{1-8} 알킬 아미노; 및
- [471] n은 1 내지 6의 정수이다.
- [472]
- [473] 본 발명의 일 양태에서, 상기 피롤로벤조디아제핀 다이머는 하기 일반식 X로 표현되는 것이다.
- [474] [일반식 X]
- [475]



- [476] 상기 식에서,
- [477] 상기 점선은 C1과 C2 사이, C2와 C3 사이, C'1과 C'2 사이, 또는 C'2과 C'3 사이의 이중 결합의 선택적 존재를 나타내며;
- [478] R^{X1} 및 $R^{X1'}$ 는 각각 독립적으로 H, OH, $=O$, $=CH_2$, CN, R^m , OR^m , $=CH-R^m$, $=C(R^m)_2$, OSO_2-R^m , CO_2R^m , COR^m , 할로 또는 디할로로부터 선택되고;
- [479] R^{X2} , $R^{X2'}$, R^{X3} , 및 $R^{X3'}$ 는 각각 독립적으로 H, R^m , OH, OR^m , NR^{m_2} , NO_2 , 및 할로로부터 선택되며;
- [480] R^{X4} 및 $R^{X4'}$ 는 각각 독립적으로 H, R^m , OH, OR^m , SH, SR^m , NH_2 , NHR^m , NR^{m_2} , 할로, 및 C_{1-6} 알킬로부터 선택되고;
- [481] R^{X5} 및 $R^{X5'}$ 는 각각 독립적으로 H, R^m , OH, OR^m , SH, SR^m , NH_2 , NHR^m , NR^{m_2} , $-NR^{m'}R^{m'}$, NO_2 , $-NR^mC(O)R^{m'}$, $-NR^mC(O)OR^{m'}$, $-NR^mC(O)NR^mR^{m'}$, $-S(O)R^m$, $-S(O)_2R^m$, $-S(O)NR^mR^{m'}$, $-S(O)_2NR^mR^{m'}$, $-NR^mS(O)R^{m'}$, $-NR^mS(O)_2R^{m'}$, $-P(O)R^m$, $-P(O)_2R^m$, $-P(O)NR^mR^{m'}$, $-P(O)_2NR^mR^{m'}$, $-NR^mP(O)R^{m'}$, $-NR^mP(O)_2R^{m'}$, 및 할로로부터 선택되며;
- [482] Y 및 Y'는 각각 독립적으로 O, S, 또는 N(H)이고;
- [483] R^{X6} 는 독립적으로 C_{3-12} 알킬렌, C_{3-12} 알케닐렌, 또는 C_{3-12} 헤테로알킬렌이며; R^{X6} 은 $-NH_2$, $-NHR^m$, $-NHC(O)R^m$, $-NHC(O)CH_2-[OCH_2CH_2]_n-R^{XX}$, 또는 $-[CH_2CH_2O]_n-R^{XX}$ 로 치환되거나 비치환되고;
- [484] 상기 R^{XX} 는 H, OH, N_3 , CN, NO_2 , SH, NH_2 , ONH_2 , $NHNH_2$, 할로, C_{1-8} 알킬, C_{3-8}

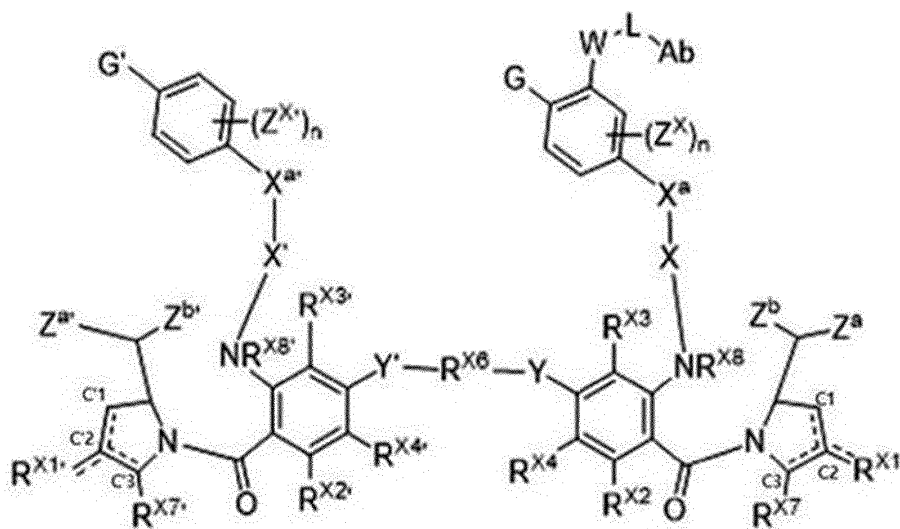
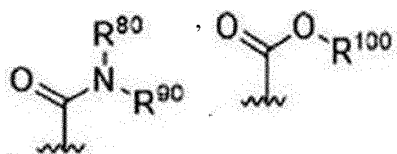
- 시클로알킬, C_{1-8} 알콕시, C_{1-8} 알킬 티오, C_{3-20} 헤테로아릴, C_{5-20} 아릴 또는 모노- 또는 디- C_{1-8} 알킬아미노이고, 여기에서 n 은 1 내지 6의 정수이며;
- [485] R^{x7} 및 $R^{x7'}$ 는 각각 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, $-C(O)R^r$, $-C(O)OR^s$ 또는 $-C(O)NR^rR^{r'}$ 이고;
- [486] R^r , $R^{r'}$, 및 R^s 는 각각 독립적으로 H, C_{1-7} 알킬, C_{2-7} 알케닐, C_{2-7} 알키닐, C_{3-13} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C_{5-10} 아릴 또는 5 내지 7-원 헤테로아릴로이며;
- [487] 각 R^m 는 독립적으로 R^m , CO_2R^m , COR^m , CHO , CO_2H , 및 할로로부터 선택되며,
- [488] 각 R^m 은 독립적으로 H, OH, C_{1-12} 알킬, C_{1-12} 알콕시, C_{2-12} 알케닐, C_{2-12} 알키닐, C_{5-20} 아릴, C_{5-20} 헤테로아릴, C_{3-6} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 C_{5-20} 아릴, C_{5-20} 헤테로아릴, C_{3-6} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴의 하나 이상의 수소원자는 OH, $=O$, C_{1-12} 알킬, 또는 C_{1-12} 알콕시로 치환될 수 있다.
- [489]
- [490] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{x1} 및 $R^{x1'}$ 는 각각 독립적으로 $=CH_2$; C_{1-6} 알킬; C_{1-6} 알콕시; C_{2-6} 알케닐; C_{5-7} 아릴; C_{3-6} 헤테로아릴; 또는 C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 알콕시로 치환된 C_{5-7} 아릴로부터 선택된다.
- [491] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{x2} , $R^{x2'}$, R^{x3} , 및 $R^{x3'}$ 은 각각 독립적으로 H 또는 OH로부터 선택된다.
- [492] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{x5} , 및 $R^{x5'}$ 은 각각 독립적으로 H, OH, $-S(O)R^m$, $S(O)_2R^m$, $-P(O)R^m$, 및 $-P(O)_2R^m$ 로 이루어진 군에서 선택되고, 여기에서 R^m 은 H, OH, C_{1-12} 알킬, C_{1-12} 알콕시, C_{2-12} 알케닐, 또는 C_{2-12} 알키닐이다.
- [493] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{x4} 및 $R^{x4'}$ 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알콕시이다.
- [494] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{x4} 및 $R^{x4'}$ 는 독립적으로 메톡시, 에톡시 및 부톡시로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이다.
- [495] 본 발명의 일 양태에서, 상기 Y 및 Y'는 O이다.
- [496] 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{x6} 는 C_{3-12} 알킬렌, C_{3-12} 알케닐렌 또는 C_{3-12} 헤테로알킬렌이고, 상기 R^{x6} 은 $-NH_2$, $-NHR^m$, $-NHC(O)R^m$, $-NHC(O)CH_2-[OCH_2CH_2]_n-R^{xx}$, 또는 $-[CH_2CH_2O]_n-R^{xx}$ 로 치환되며;
- [497] 상기 R^{xx} 는 H, OH, N_3 , CN, NO_2 , SH, NH_2 , ONH_2 , $NHNH_2$, 할로, C_{1-8} 알킬, C_{3-8} 사이클로알킬, C_{1-8} 알콕시, C_{1-8} 알킬티오, C_{3-20} 헤테로아릴, C_{5-20} 아릴 또는 모노- 또는 디- C_{1-8} 알킬 아미노이고; 및
- [498] n 은 1 내지 6의 정수이다.
- [499]
- [500] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 활성제는 일반식 XII 또는 일반식 XIII로 기재되는 피롤로벤조디아제핀 다이머이다;
- [501] [일반식 XII]

[502]



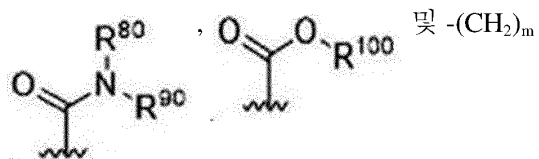
[503] [일반식 XIII]

[504]

[505] 상기 X^a 및 X^{a'}는 독립적으로 결합 또는 C₁₋₆ 알킬렌으로부터 선택되고;[506] Z^{x'} 및 Z^x는 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, 할로젠, 시아노, 나이트로, 또는 -(CH₂)_m-OCH₃로부터 선택되며;

[507] m은 0 내지 12의 정수이다.

[508] 상기 Z^x 및 Z^x 는 독립적으로 수소,



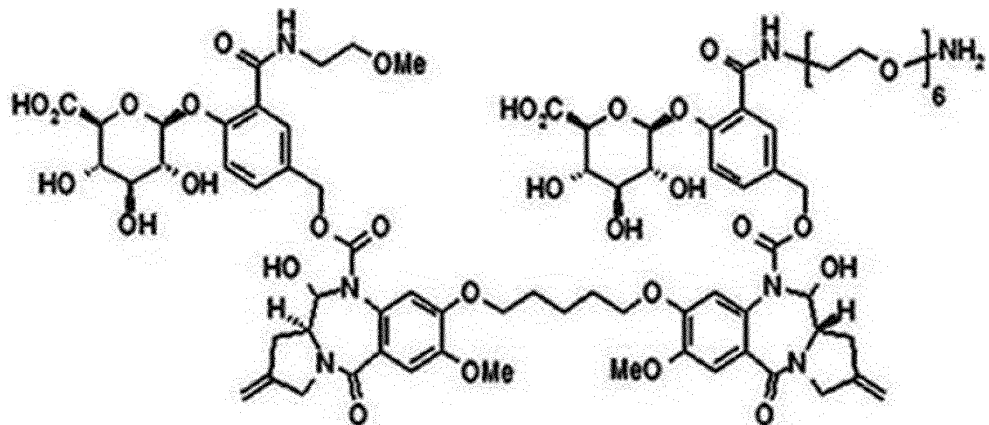
-OCH₃로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이고,

[509] 상기 각각의 R^{80} , R^{90} 및 R^{100} 는 수소, C₁₋₃ 알킬 및 C₁₋₃ 알콕시로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이며,

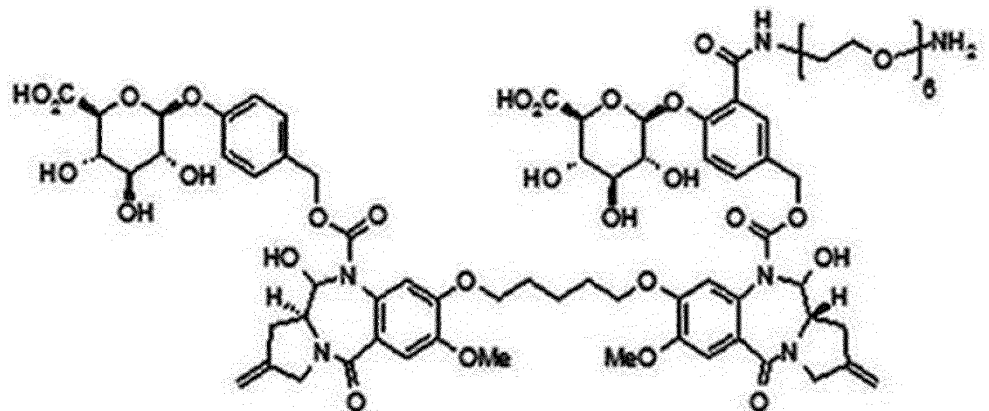
[510] m은 1 내지 6의 정수이다.

[511] 본 발명의 일 양태에서, 상기 [LINKER-(B)] 전구체는

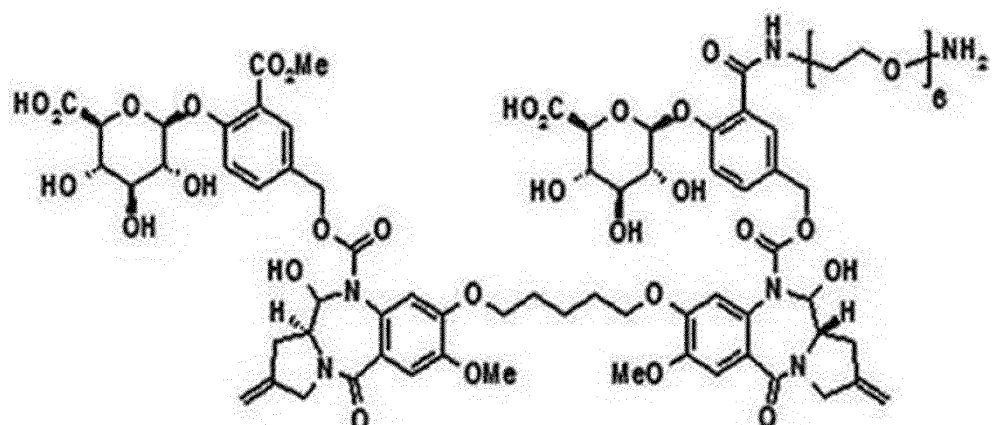
[512]



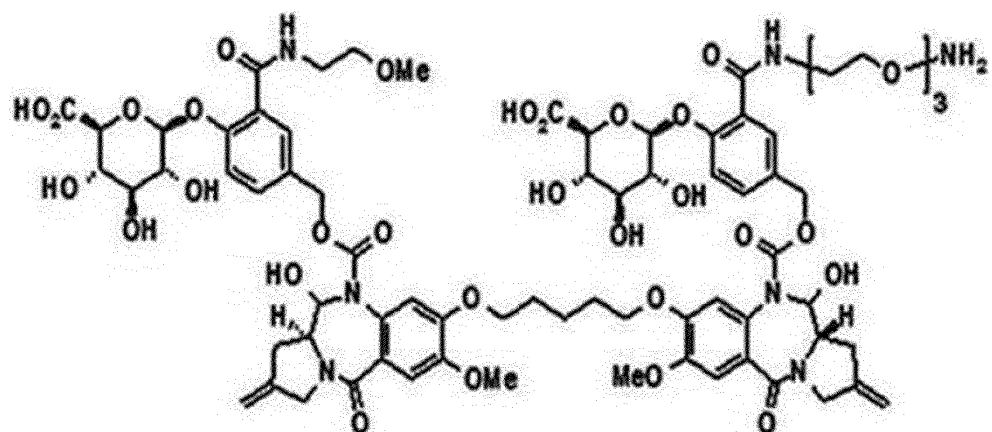
[513]



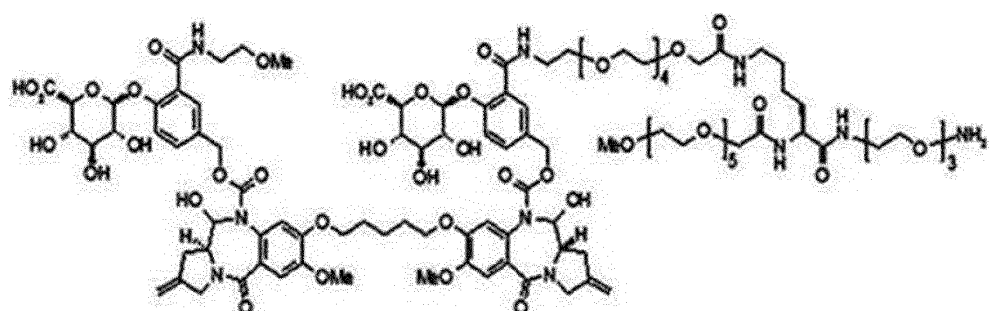
[514]



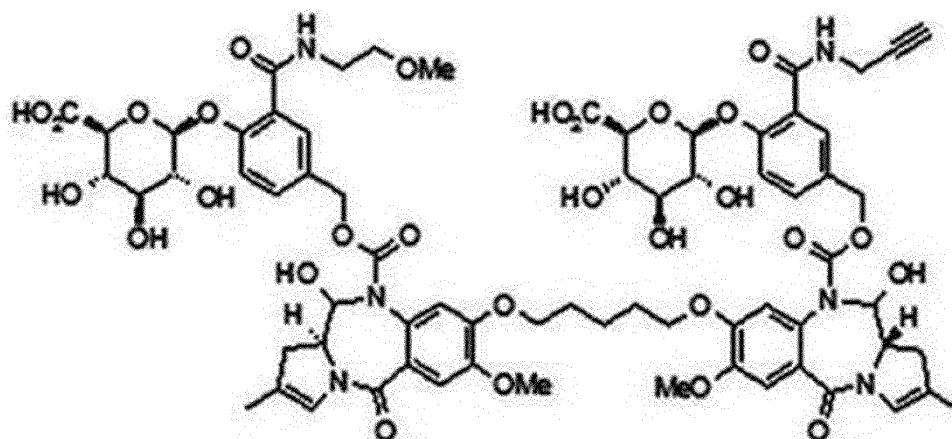
[515]



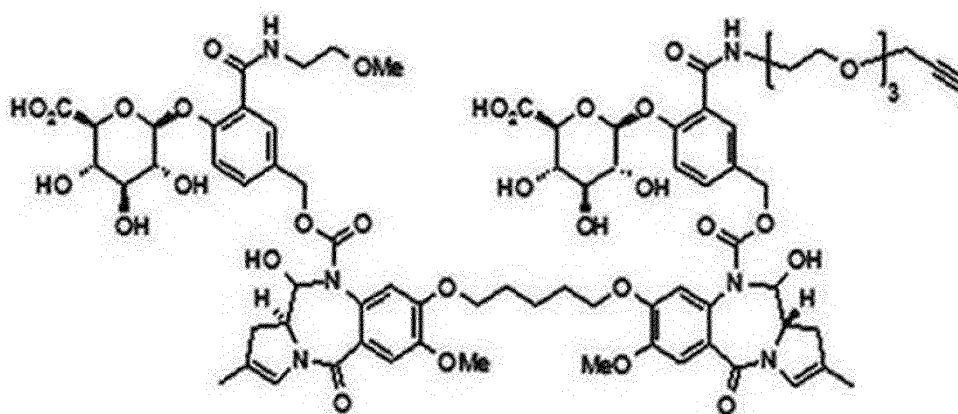
[516]



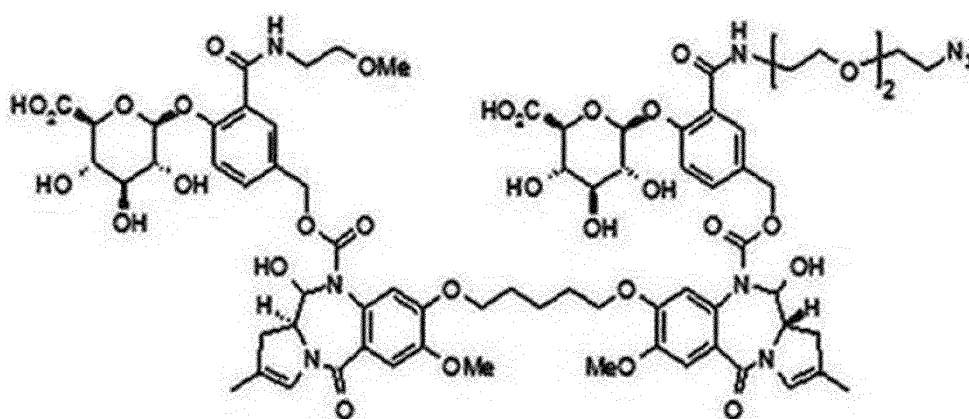
[517]



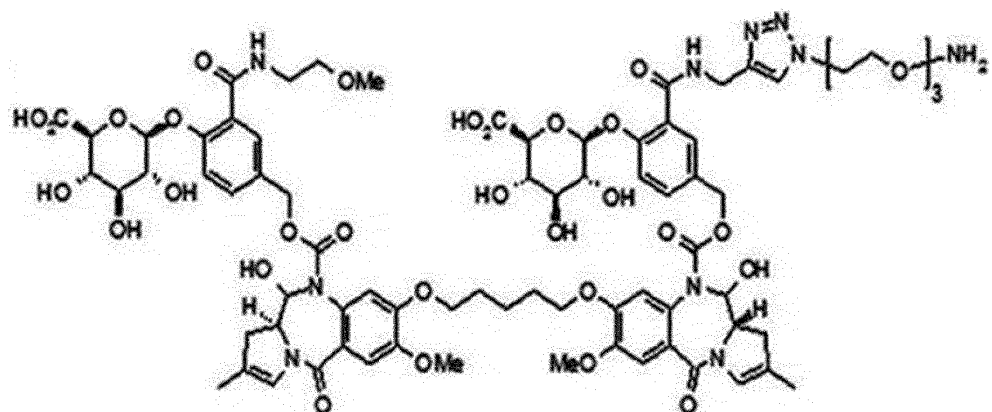
[518]



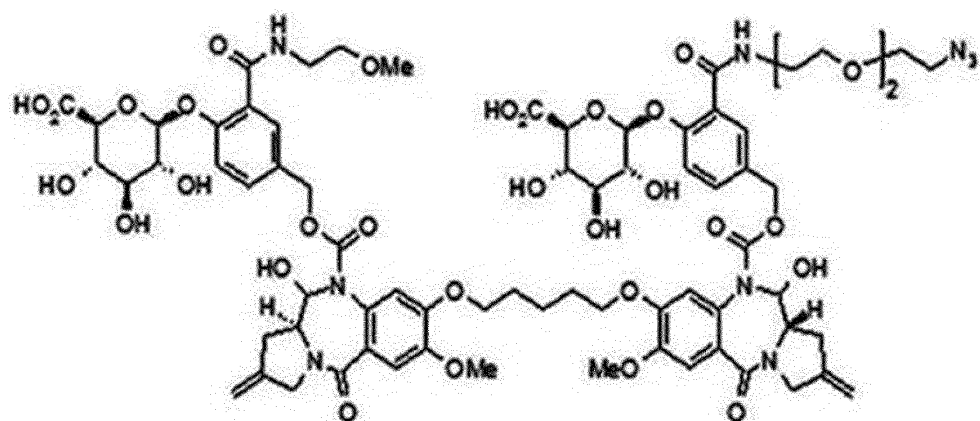
[519]



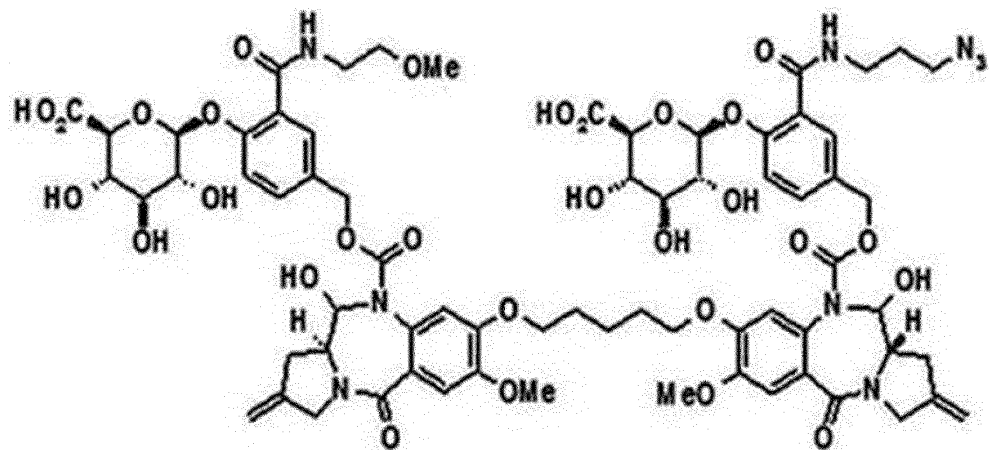
[520]



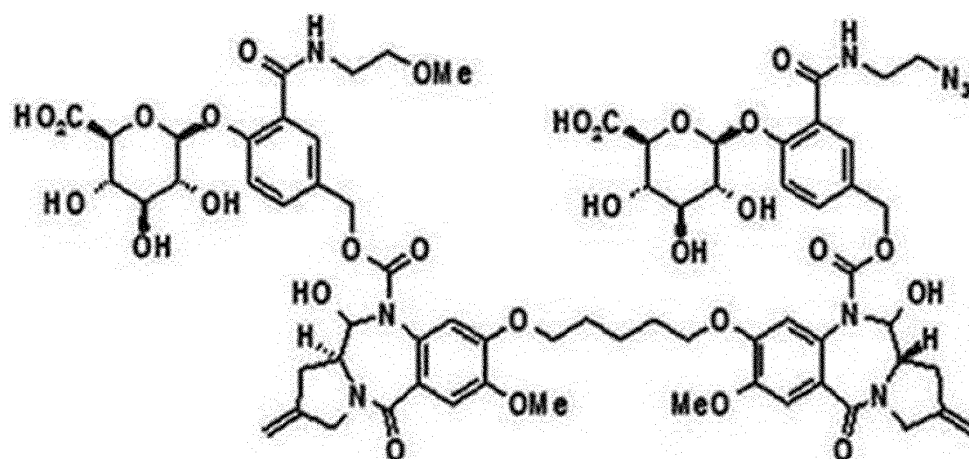
[521]



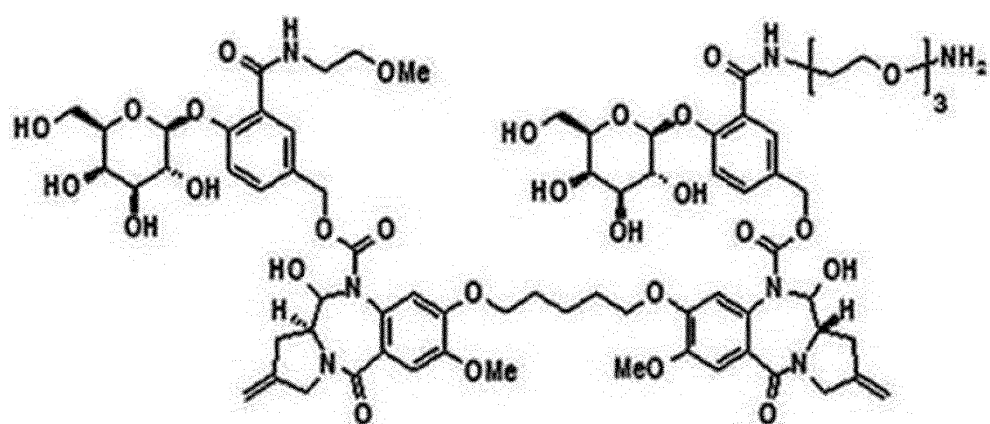
[522]



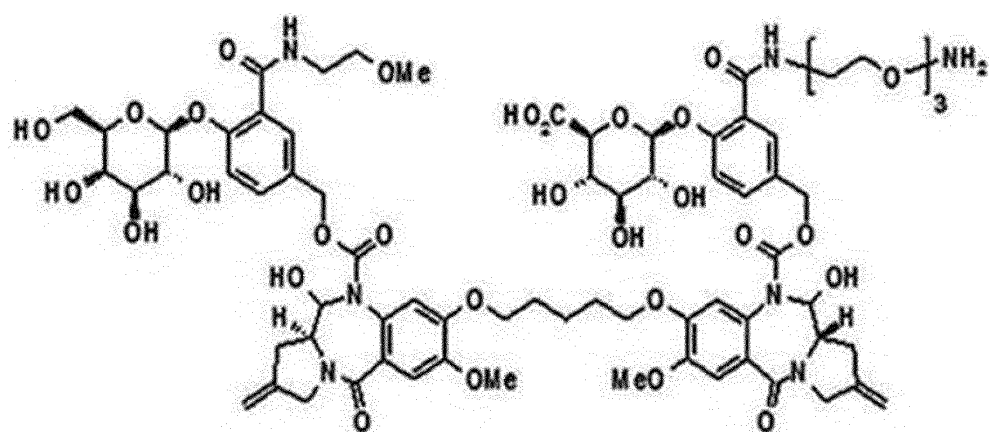
[523]



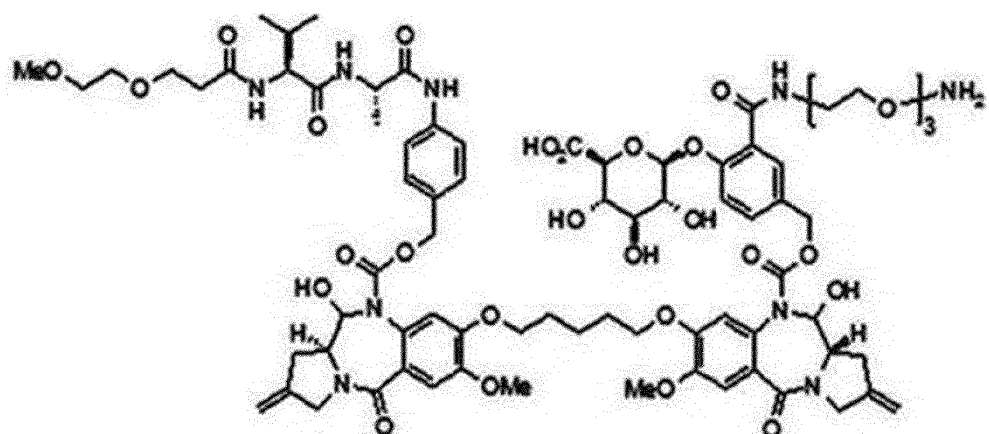
[524]



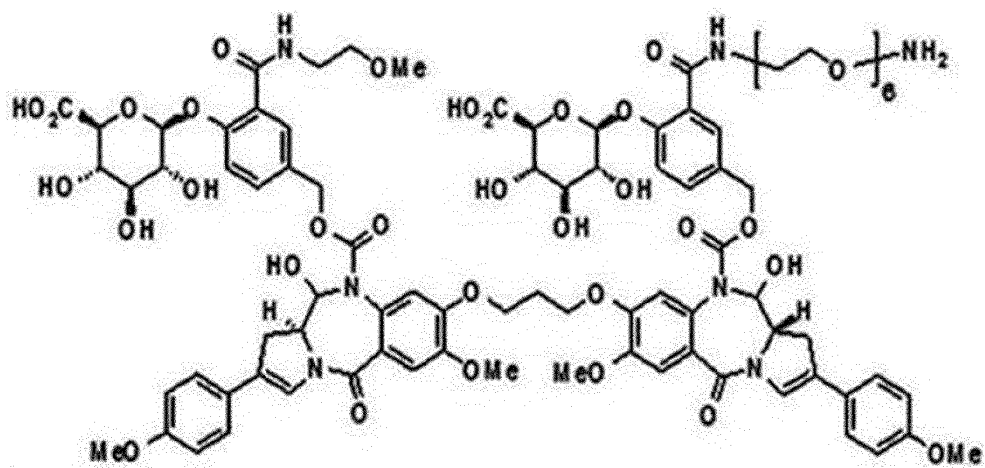
[525]



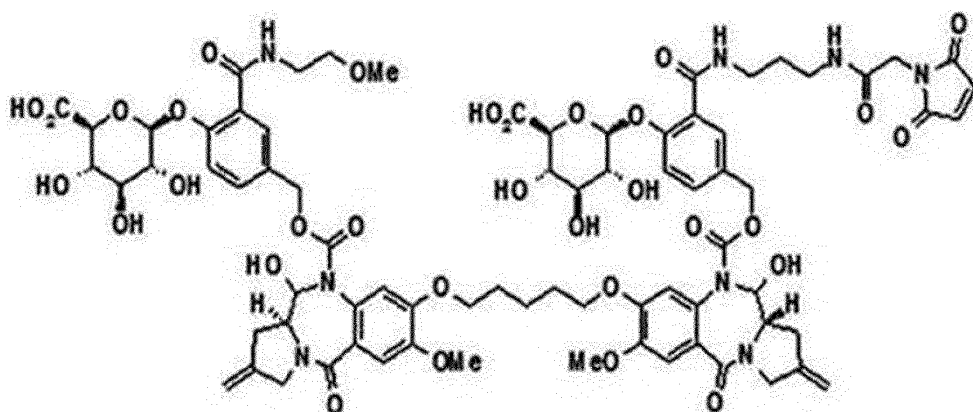
[526]



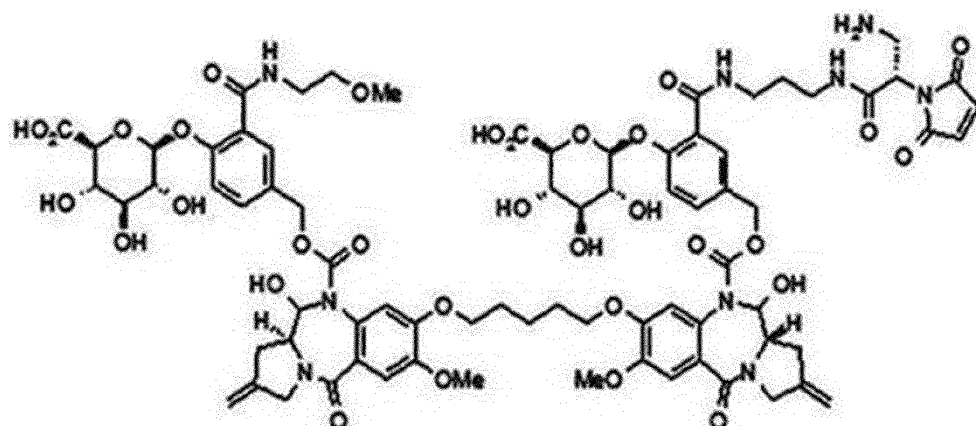
[527]



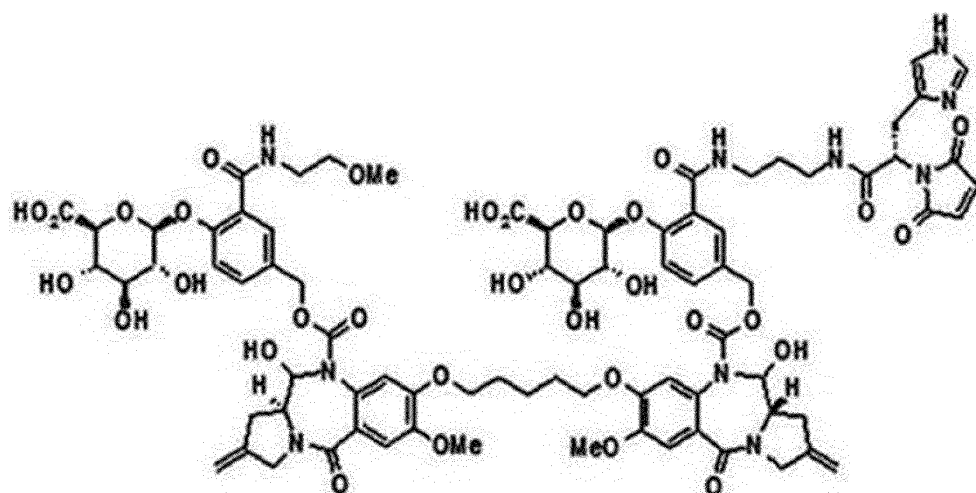
[528]



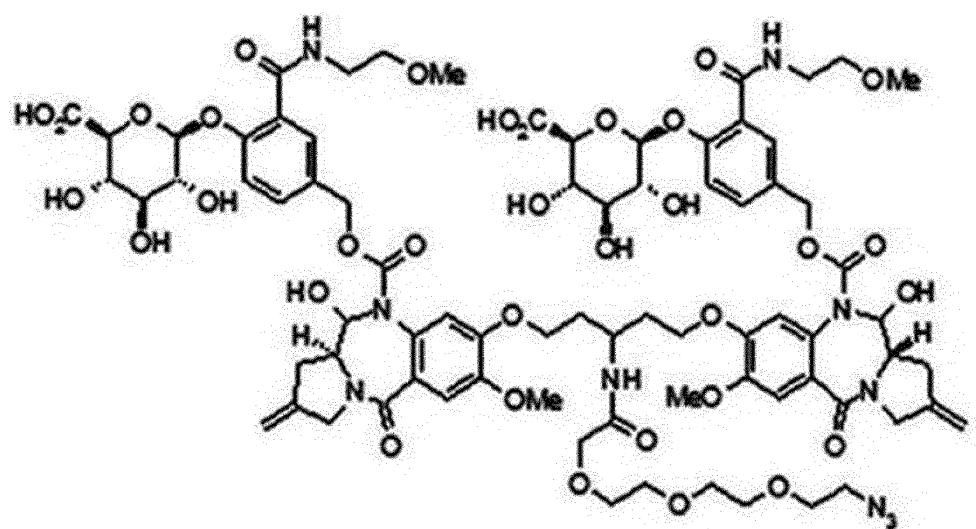
[529]



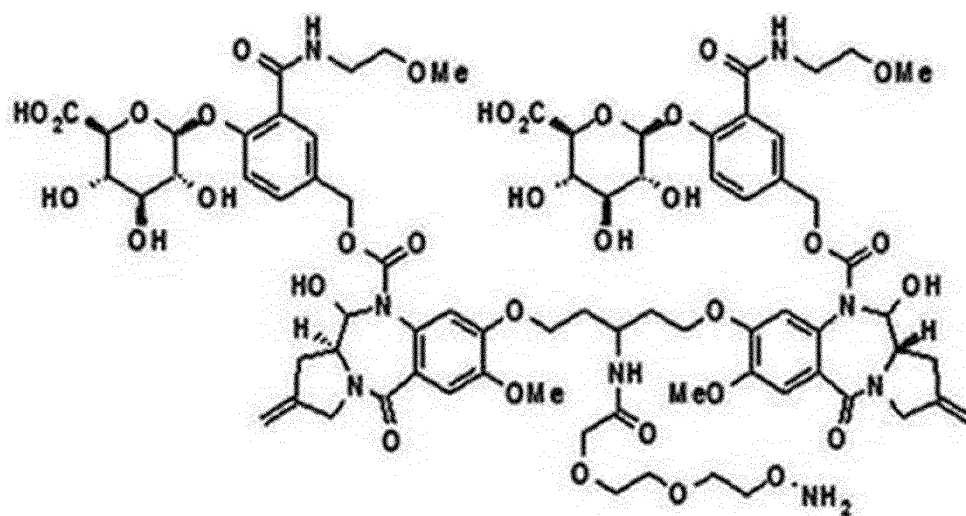
[530]



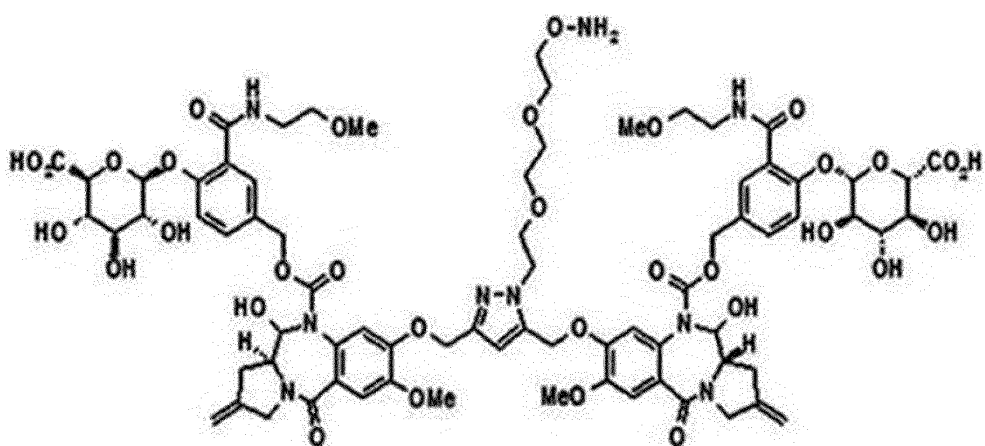
[531]



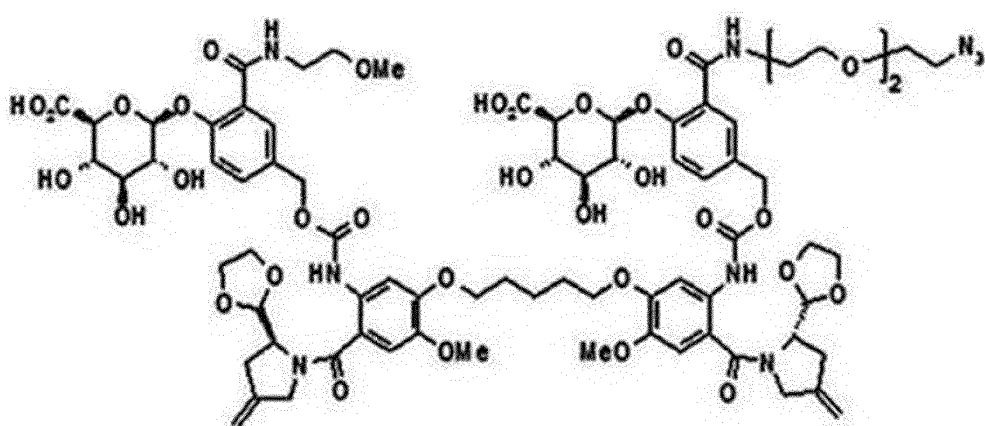
[532]



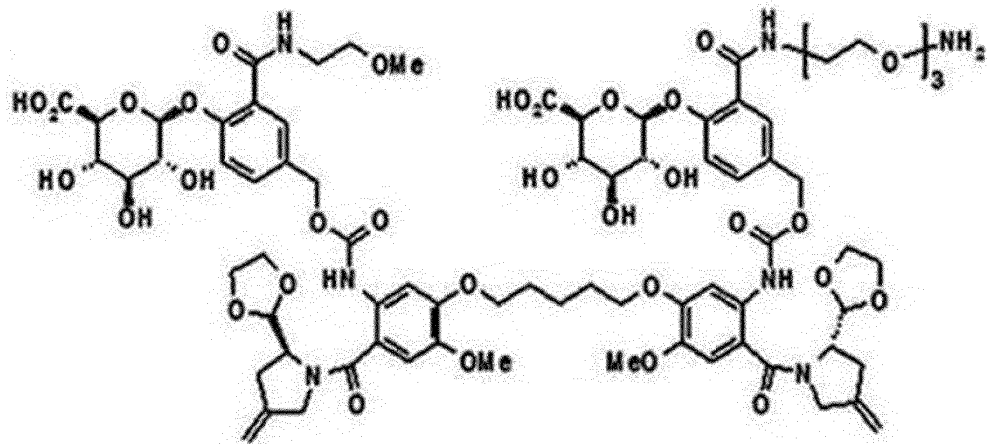
[533]



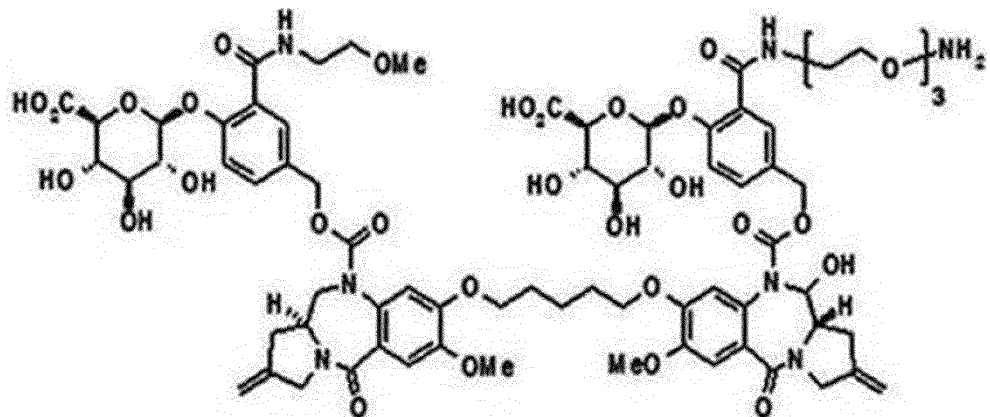
[534]



[535]

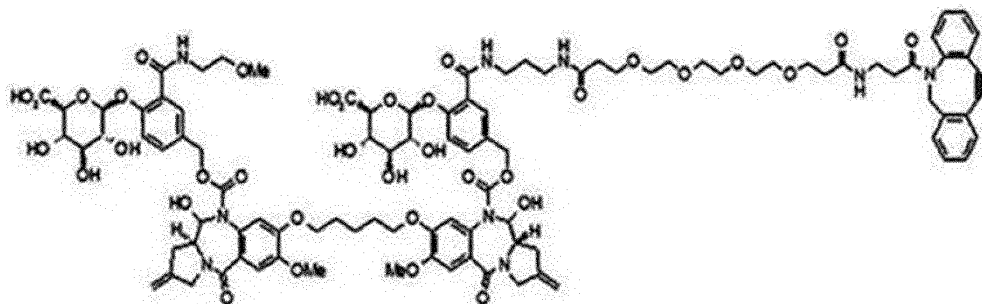


[536]



및

[537]

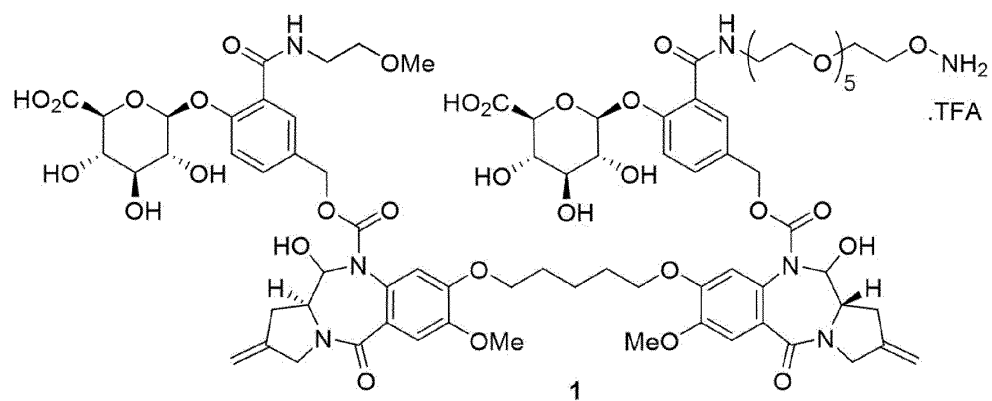


으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이다.

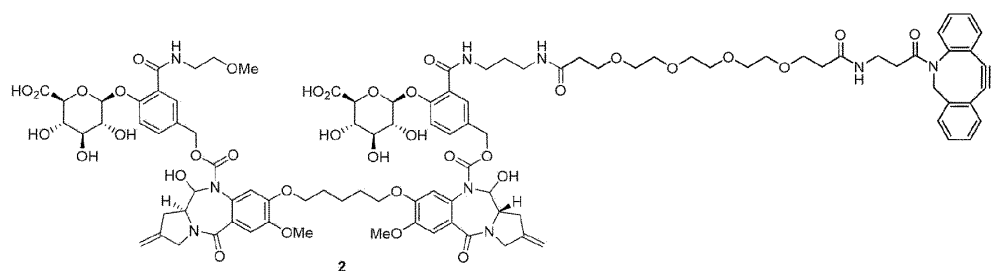
[538]

[539] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 [LINKER-(B)_n] 전구체는

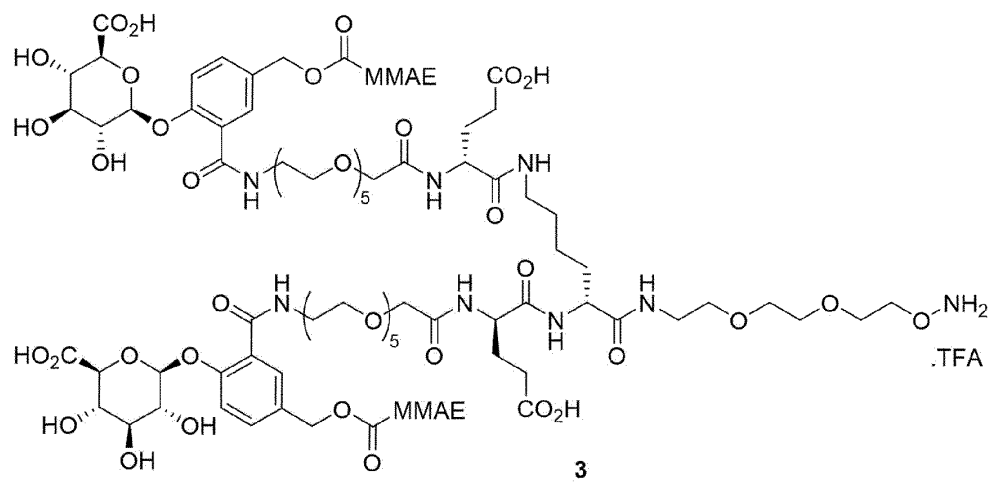
[540]



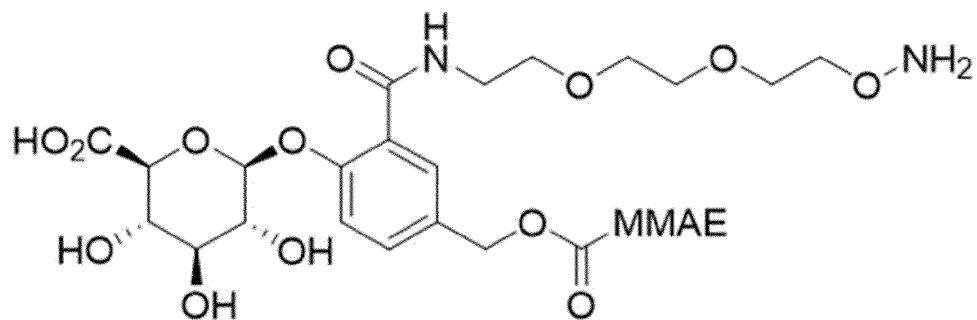
[541]



[542]

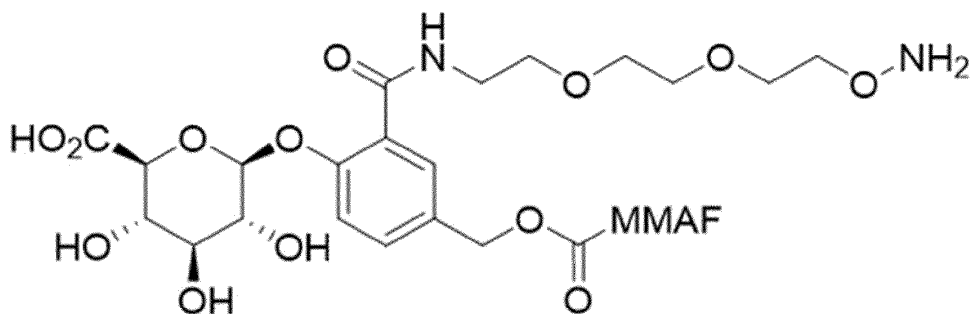


[543]



, 또는

[544]



이고,

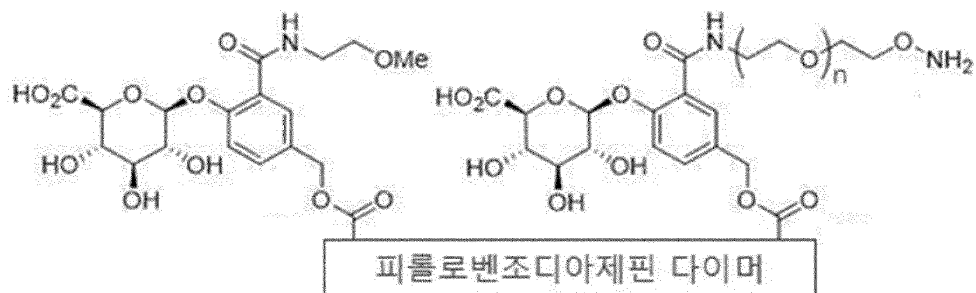
[545] 여기에서, MMAE는 모노메틸 오리스타틴 E(monomethyl auristatin E)이며,

[546] MMAF는 모노메틸 오리스타틴 F(monomethyl auristatin F)이다.

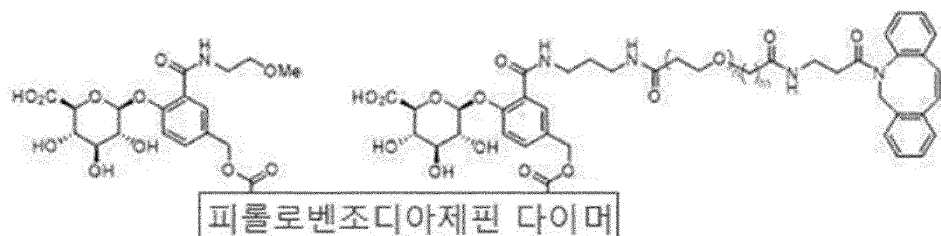
[547]

[548] 본 발명의 일 양태에서, 상기 [LINKER-(B)] 전구체는 하기 구조를 포함한다.

[549]

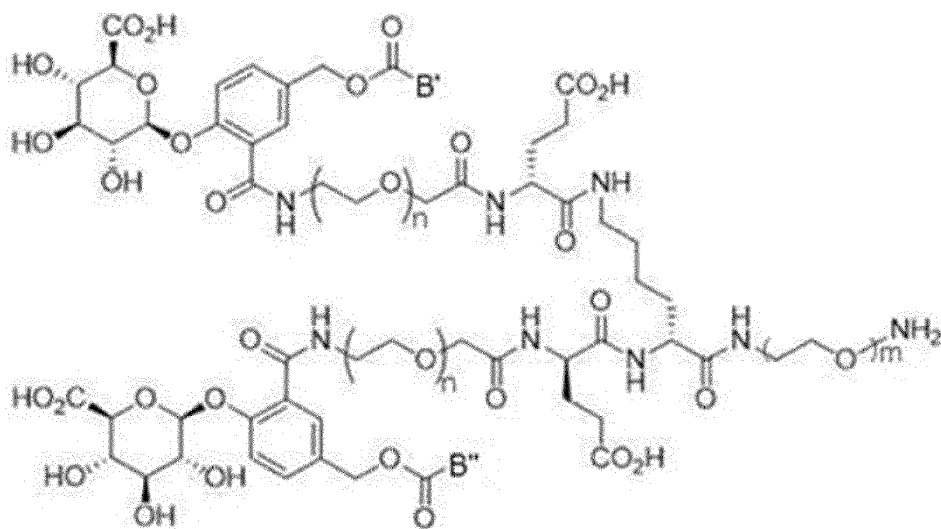


[550]



, 또는

[551]



[552]

이고,

[553]

상기 B' 및 B''는 동일하거나 상이할 수 있는 활성제를 나타내고;

[554]

m 및 n은 각각 독립적으로 0 내지 30의 정수를 나타낸다.

[555]

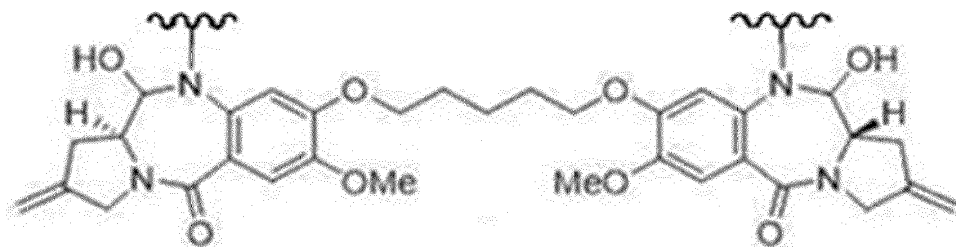
[556]

구체적으로, 상기

피롤로벤조디아제핀 다이머

는 일반식 X의 X

및 X'와 연결되는 부분을 의미한다. 더 구체적으로는



이다.

[557]

또한, 본 발명은 상기 접합체를 포함하는 과증식, 암 또는 혈관신생질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[558]

본 발명의 일 양태에서, 상기 약학적 조성물은 추가적으로 약학적으로 유효한 양의 화학 치료제(chemotherapeutic agent)를 포함한다.

[559]

본 발명의 일 양태에서, 상기 암은 폐암, 소세포성 폐암, 위장관암, 대장암, 장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 고환암, 간암, 신장암, 방광암, 췌장암, 뇌암, 육종, 골육종, 카포시 육종 및 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이다.

- [560] 또한, 본 발명은 상기 접합체를 포함하는 약학 제제에 관한 것이다.
- [561] 본 발명의 접합체 투여 경로는 예를 들면, 경구 또는 비경구 경로로 투여될 수 있다. 여기서, 비경구는 광의의 투여 경로를 의미하며, 예를 들면, 경피, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 피하, 비내, 설하, 척추강내(초내, intrathecal), 흡입, 눈, 직장, 질, 뇌실 투여 등을 포함한다.
- [562] 상기 조성물을 제제화할 경우, 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.
- [563] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명에 따른 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [564] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 주사제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비경구 투여를 위한 제제에서, 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [565] 본 발명에 따른 접합체는 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, “약제학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [566] 구체적으로, 본 발명에 따른 접합체의 유효량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 1 kg 당 0.01 mg 내지 150 mg, 보다 구체적으로 체중 1 kg 당 0.1 mg 내지 100 mg을 매일 또는 격일 투여하거나 1일 1 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 투여 경로, 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[567]

발명의 효과

[568] 본 발명에 따른 항체-약물 접합체는 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2) 발현 세포에 특이적으로 결합하여 세포 내로 내재화되는 항-CLDN18.2 항체를 포함함으로써, 약물을 효과적이면서도 특이적 및 선택적으로 전달할 수 있으며, 항체에 약물이 안정적으로 결합되어 생체내 안정성을 유지하면서 목적하는 세포독성을 나타낼 수 있도록 한다. 특히, 혈장 내에서 보다 안정하고 체내 순환시에도 안정적이며, 약물이 암세포 내에서 쉽게 방출되어 약효를 극대화할 수 있는 자가-희생기를 포함하는 링커 기술을 접목시킴으로써, 약물 및/또는 독신이 표적 세포에 안정적으로 도달하여 약효를 효과적으로 발휘하면서도 독성을 크게 낮출 수 있는, 약물-링커-리간드 시스템을 제공하는 효과를 나타낸다.

[569]

도면의 간단한 설명

[570] 도 1은 항체의 암세포 결합능을 확인하기 위해 수행한, 유세포 분석기를 이용한 세포결합 실험 결과를 도시한 것이다.

[571] 도 2 및 도 3은 ADC 시료의 *In vivo* 실험결과를 나타낸 도이다.

[572] 도 4 내지 7은 본 발명에 따른 ADC의 제조과정의 모식도이다.

[573]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[574] 본 발명은 항체가 중쇄 가변영역 및 경쇄 가변영역을 포함하는 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편이고, 중쇄 가변영역은 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR1, 서열번호 4로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR2, 서열번호 6으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR3을 포함하고, 경쇄 가변영역은 서열번호 9로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR1, 서열번호 11로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR2, 서열번호 13으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR3을 포함하는 접합체에 관한 것이다.

[575]

발명의 실시를 위한 형태

[576] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 통해 보다 상세히 설명한다.

[577] 하기 실시예 및 실험예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것이고, 본 발명의 권리범위를 이로 한정하려는 의도를 갖는 것은 아니다.

[578]

[579] <실시예 1> 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2) 특이적 항체 제조

- [580] CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체는 국제 출원특허 제PCT/CN2020/118650호에 기재된 방법으로 제조하였다. 또한, 상기 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체의 아미노산 서열은 하기 [표 1]에 나타내었다.

[581] [표1]

PR002726-heavy chain		서열번호
FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	1
CDR1	GFTFSSFVMS	2
FR2	WVRQAPGKGLEWVS	3
CDR2	TISGSGRSTYYADSVKG	4
FR3	RFTISRDN SKNTLHLQMNSLRAEDTAVYYCAK	5
CDR3	DAAAAGTKFDY	6
FR4	WGQGTLVTVSS	7
V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SFVMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGRSTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLHLQMNSLRAE DTAVYYCAKDAAAAGTKFDYWGQGTLVTVSS	15
HC	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SFVMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGRSTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLHLQMNSLRAE DTAVYYCAKDAAAAGTKFDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	17
PR002726-light chain		서열번호
FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	8

CDR1	RASQSVSSYLA	9
FR2	WYQQKPGQAPRLLIY	10
CDR2	DASNRAT	11
FR3	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYC	12
CDR3	QQRSNWPLT	13
FR4	FGGGTKVEIK	14
V _L	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSS YLAWEYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQR SNWPLTFGGGTKVEIK	16
LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSS YLAWEYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQR SNWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCCLNNFYFPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNR GEC	18

- [582] ADC 합성을 위해 표 1의 항체(PR002726)의 경쇄 FR4 (서열번호 14) C-말단에 CaaX 펩타이드 모이어티 (GGGGGGGCVIM; 서열번호 19)를 융합한 형태의 항체 클론 PR301839를 제작하고, CHO cell 기반의 임시발현을 통해 항체를 생산하였다. 생산된 PR301839 항체를 다음 ADC 합성에 사용하였다.

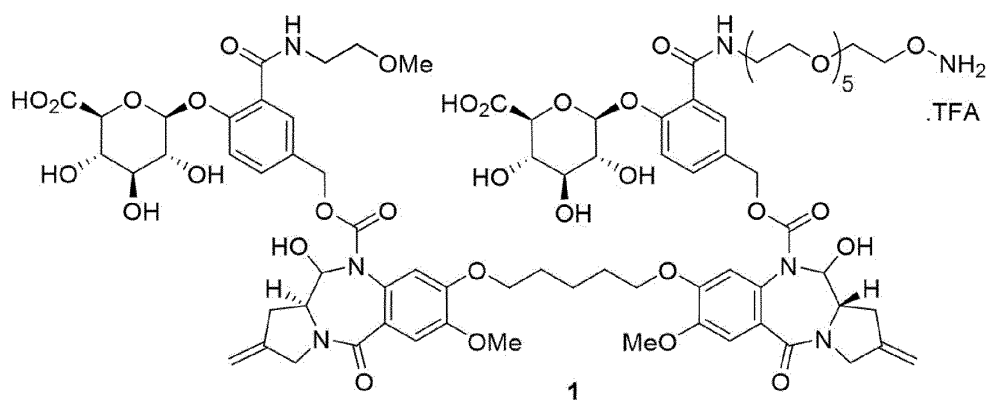
[583] [표2]

클론	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4	V _H /V _L
PR3018 39-V _H	EVQLL ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS	GFTFS SFVMS	WVRQ APGKG LEWVS	TISGSG RSTYY ADSVK G	RFTISR DNSKN TLHLQ MNSLR AEDTA VYYC AK	DAAA AGTKF DY	WGQG TLVTV SS	EVQLL ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GFTFS SFVMS WVRQ APGKG LEWVS TISGSG RSTYY ADSVK GRFTIS RDNSK NTLHL QMNSL RAEDT AVYY CAKD AAAA GTKFD YWGQ GTLVT VSS
서열번호	1	2	3	4	5	6	7	15
PR3018 39-V _L	EIVLT QSPAT LSLSP GERAT LSC	RASQS VSSYL A	WYQQ KPGQA PRLLIY	DASNR AT	GIPAR FSGSG SGTDF TLTISS LEPED FAVYY C	QQRSN WPLT	FGGGT KVEIK GGGG GGGC VIM	EIVLT QSPAT LSLSP GERAT LSCRA SQSVS SYLA WYQQ

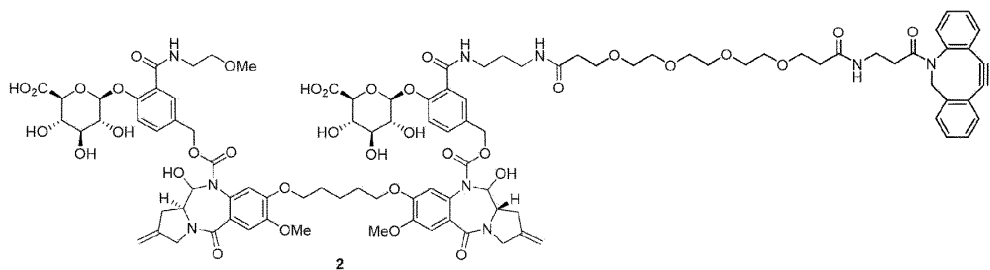
								KPGQA PRLLIY DASNR ATGIP ARFSG SGSGT DFTLTI SSLEPE DFAVY YCQQR SNWPL TFGGG TKVEI KGGG GGGG CVIM
서열번호	8	9	10	11	12	13	20	21

[584] <실시예 2> 화합물 1과 2의 제조

[585]



[586]



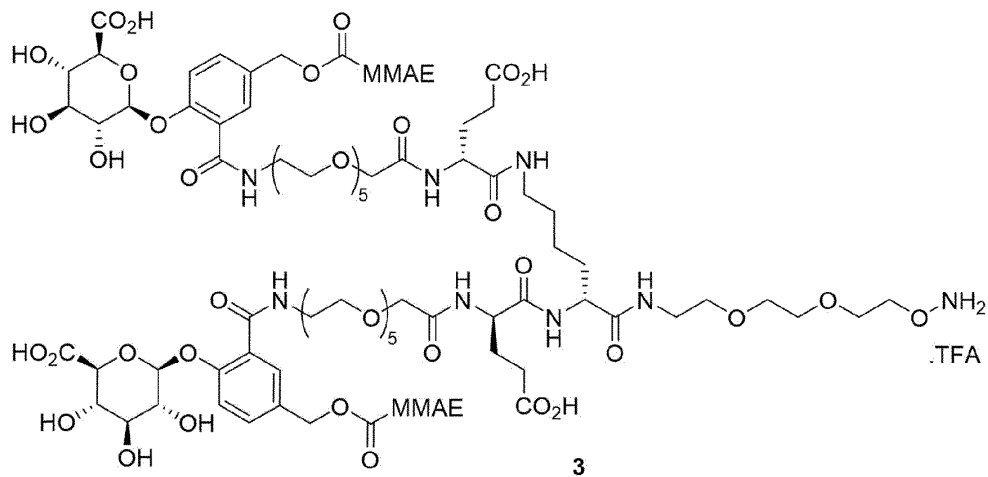
[587] 상기 화합물 1과 2는 대한민국 공개특허 10-2018-0110645호에 기재된 방법으로

제조하였다.

[588]

[589] <실시예 3> 화합물 3의 제조

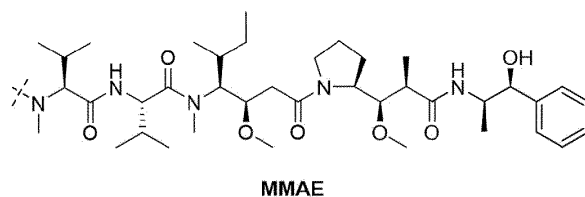
[590]



[591] 상기 화합물 3은 국제 공개특허 제WO2017-089895호에 기재된 방법으로 제조하였다.

[592] 상기 화합물 3에서 MMAE의 구조는 다음과 같다.

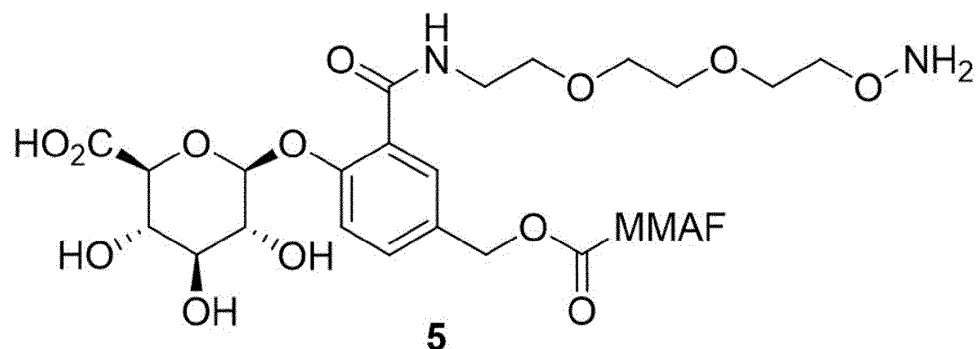
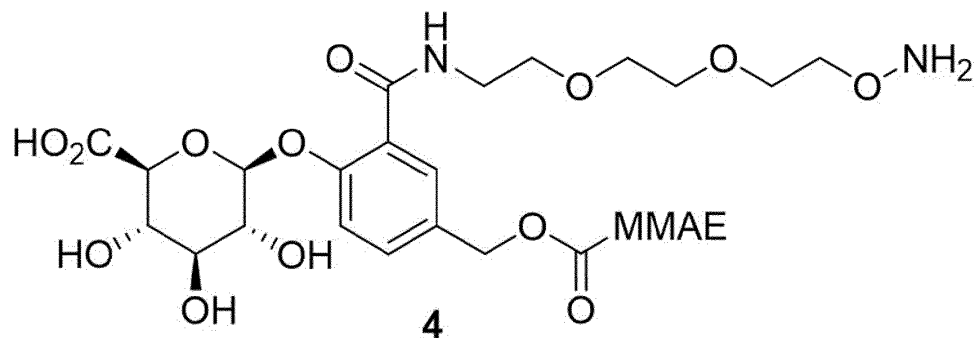
[593]



[594]

[595] <실시예 4> 화합물 4와 화합물 5의 제조

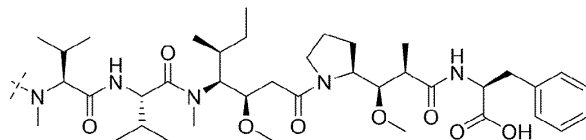
[596]



[597] 상기 화합물 4와 화합물 5는 특허 WO2017-089890에 기재된 방법으로 제조하였다.

[598] 상기 화합물 5에서 MMAF의 구조는 다음과 같다.

[599]

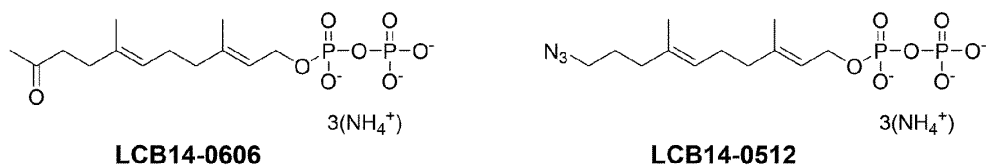


[600]

[601] <실시예 5> ADC의 제조

[602] ADC의 제조는 다음의 두 단계를 거쳐 제조되었으며, 공통적으로 사용한 LCB14-0606과 LCB14-0512는 대한민국 공개특허 제10-2014-0035393호에 기재된 방법으로 제조하였다. LCB14-0606과 LCB14-0512의 구조식은 다음과 같다:

[603]



[604]

[605] 1단계 : prenylated antibody의 제조

[606] 실시예 1에서 제조한 항체의 프레닐레이션 반응 혼합물을 제조하여 30°C에서 16시간 반응하였다. 반응혼합물은 24 μ M 항체, 400 nM FTase (Calbiochem #344145)와 0.25 mM LCB14-0511 또는 LCB14-0606을 포함하는 완충용액 (50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 5 mM $MgCl_2$, 10 μ M $ZnCl_2$, 0.25 mM DTT)으로 구성하였다. 반응 종료 후 프레닐레이션된 항체는 PBS 완충용액으로 평형화된 G25 Sepharose 컬럼 (AKTA purifier, GE healthcare)으로 제염시켰다.

[607]

[608] **2단계 : 약물-접합 (drug-conjugation) 방법**

[609] <옥심 결합 반응 (conjugation by oxime bond formation)>

[610] 프레닐레이션된 항체와 링커-약물간의 옥심본드 생성반응 혼합물은 100 mM Na-아세테이트 완충용액 pH 5.2, 10% DMSO, 20 μ M 항체와 200 μ M 링커-약물(in house, 실시예 1, 2의 화합물 1, 2, 3, 4, 5, 7 및 8번)을 섞어 제조하였으며 30°C에서 약하게 교반하였다. 6시간 또는 24시간 반응 후에 FPLC(AKTA purifier, GE healthcare) 과정을 거쳐 사용된 과량의 저분자 화합물들을 제거하였으며 단백질을 분획은 수집하여 농축하였다.

[611] <Copper-free 클릭 결합 반응 (conjugation by Copper-free click reaction)>

[612] 프레닐레이션된 항체와 링커-약물간의 Copper-free click 결합반응을 이용한 ADC는 PBS 완충용액 (pH 7.4), 1% DMSO, 10 μ M 프레닐레이션된 항체와 100 μ M 링커-약물(in house, 실시예 1의 화합물 2번)을 섞어서 반응 혼합물을 제조하고 25°C에서 6 시간 반응 후에 FPLC(AKTA purifier, GE healthcare) 또는 G25 Sepharose 컬럼 과정을 거쳐 사용된 과량의 저분자 화합물들을 제거하였으며 단백질 분획은 수집하여 농축하였다.

[613]

[614] [표3]

ADC 제조목록

ADCs	Antibody	linker-toxin
ADC1	PR301839	화합물1
ADC2		화합물2
ADC3		화합물3
ADC4		화합물4
ADC5		화합물5

[615] <실험예 1> 항체의 암세포 결합능 평가

[616] Anti-CLDN18.2 항체(PR002726)와 경쇄 FR4 C-말단에 CaaX 펩타이드가 융합된 형태의 ADC 제조에 사용한 항체(PR301839)의 암세포 결합능을 유세포 분석기(FACS)를 이용한 세포 결합 실험으로 확인하였다.

[617] 암세포로는 CLDN18.2를 발현한다고 알려진 위암세포주인 SNU-601, SNU-620

및 채장암 세포주인 PATU-8988s를 사용하였고 대조군 항체로 사람 IgG를 처리한 그룹과 2차 항체만 처리한 그룹을 사용하였다.

[618] 실험 결과 SNU-601에서 PR002726과 PR301839는 IgG 대조군 대비 각각 22.95배, 17.5배 강하게 결합하는 것을 확인하였다. SNU-620에서 PR002726과 PR301839는 대조군 대비 15.09배, 11.21배 강하게 결합하는 것을 확인하였다. PATU-8988s에서 PR301839는 대조군 대비 16.21배 강하게 결합하는 것을 확인하였다. 종합적으로 PR002726, PR301839 두 항체는 CLDN18.2가 발현하는 암세포에 결합 가능한 것을 확인하였다. (도 1 참조)

[619]

[620] < 실험예 2 > *In vitro* 세포 독성 평가

[621] 하기 표 4에 기재된 약물 및 ADC의 암세포주에 대한 세포증식억제 활성을 측정하였다. 암세포주로 시판 중인 사람 위암 세포주 NUGC-4, SNU-601 SNU-602 및 채장암 세포주 PATU-8988s를 사용하였고 정상세포주 HaCaT, Fa2N-4, HK-2, HS738.st/Int를 사용하였다. 약물로써, MMAE 및 SG2057을 ADC로써, 표 3의 ADC를 사용하였다. 96-웰 플레이트에 각 암세포주를 144시간 처리군은 웰당 2,500~10,000개씩 접종(seeding)하여 24시간 동안 배양한 뒤에 암세포주에서는 약물과 ADC를 0.256 pM~100 nM (5배 연속 희석) 농도로 처리하였고 정상 세포주에서는 약물과 ADC를 2.56 pM ~ 1,000 nM (5배 연속 희석) 농도로 처리하였다. 144시간 뒤에 살아있는 세포수를 SRB (Sulforhodamine B)염료를 사용하여 정량하였고 Hs738.st/Int 세포주는 Cell titer glo를 사용하여 정량하였다.

[622]

[표4]

Test sample s	IC50 (nM)							
	NUGC-4	SNU-601	SNU-620	PATU-8988s	HaCaT	Fa2N-4	HK-2	Hs738.st/Int
MMAE	0.29	0.51	0.71	0.145	0.14	3.0	21.9	N/D
SG2057	0.03	0.003	0.097	-	-	-	-	-
ADC1	17.11	0.028	20.2	-	-	-	-	-
ADC2	9.73	0.022	20.55	-	-	-	-	-
ADC3	6.72	0.81	18.14	2.073	32.7	365.7	>1,000	>1,000
ADC4	-	4.122	-	9.297	420.7	-	-	-
ADC5	-	2.278	-	27.26	562.5	-	-	-

[624] NUGC-4 세포주에서는 동일 시간 반응한 세포독성 시험에서 오리스타틴 계열의 항체-약물 복합체 (ADC3)가 피롤로벤조디아제핀 계열의 항체-약물복합체 (ADC1, ADC2) 보다 동등 이상의 세포독성을 보이는 것을 확인하였다. 또한 CLDN18.2 항체의 결합 정도가 강하고, 가장 강한 세포 독성을 보인 SNU-601 세포주에서는 동일 시간 반응한 세포독성 시험에서 오리스타틴 계열의 항체-약물 복합체 (ADC3, ADC4, ADC5) 보다 피롤로벤조디아제핀 계열의 항체-약물복합체 (ADC1, ADC2)가 강한 세포독성을 보이는 것을 확인하였다. 항체가 강하게 결합하는 것으로 나타난 SNU-620 세포주에서는 두 계열의 항체-약물 복합체의 항암 효능에는 큰 차이가 없는 것을 확인하였다. 췌장암 세포주인 PATU-8988s에서 오리스타틴 계열의 항체-약물 복합체 3종의 세포독성을 비교한 결과 3종 ADC 모두 강한 세포독성을 보이는 것을 확인하였다. 정상 세포주 HaCaT, Fa2N-4, HK-2 및 Hs738.st/Int에서는 ADC1 내지 5 모두 유효용량 범위에서 세포독성을 나타내지 않았고, toxin 단독 투여시, 또는 암세포주에 투여시보다 세포독성이 현저히 줄어드는 것으로 나타났는바, 본 발명에 따른 ADC는 암세포 특이적으로 세포독성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

[625]

[626] <실험예 3> *In vivo* 효능 평가

[627] 위암 세포주 SNU-601을 세포배양 후 20,000개 세포가 담긴 PBS 100 μ l에 Matrigel 100 μ l를 섞은 후 Balb/c-nude 생쥐에 생착시켰다. 종양의 크기가 150 ~ 200 mm³가 되었을 때 아래의 표5, 6과 같이 항체-약물 복합체를 정맥 주사로 투여하였다.

[628]

[629] [표5]

ADC 시료의 *In vivo* 효능 비교 (1차)

Test sample	개체수	Dose (mg/kg)	Dose interval
PBS	5	-	qdx1
ADC1	5	0.2	
	5	0.4	
ADC3	5	0.5	
	5	1	
	5	2	

[630] [표6]

ADC 시료의 *In vivo* 효능 비교 (2차)

Test sample	개체수	Dose (mg/kg)	Dose interval
PBS	5	-	qdx1
ADC3	5	1	
ADC4	5	2	
	5	4	
ADC5	5	2	
	5	4	

[631] 1차 실험결과 피롤로벤조디아제핀 계열의 항체-약물복합체 ADC1의 0.2, 0.4 mg/kg에서 모두 대조군 대비 종양 성장 억제 효능을 확인하였다. 올리스타틴 계열의 항체-약물 복합체 ADC3의 0.5, 1.0, 2.0 mg/kg에서 모두 대조군 대비 용량의존적으로 종양 성장 억제 효능을 확인하였다. ADC 시료의 *in vivo* 효능 비교 실험결과(1차)는 도2에 나타낸 바와 같다. 2차 실험결과에서 ADC3 1 mg/kg 그룹의 종양 성장 억제 효능은 1차 실험 결과와 유사함을 확인하였다. ADC4, ADC5의 모든 용량에서 용량의존적으로 종양 성장 억제 효능을 확인하였다. ADC 시료의 *in vivo* 효능 비교 실험결과(2차)는 도3에 나타낸 바와 같다.

[632]

[633] 참고문헌

[634] Duncan, A. R., J. M. Woof, L. J. Partridge, D. R. Burton, and G. Winter.

[635] 1988. Localisation of the binding site for the human high-affinity Fc receptor on IgG. *Nature* 332:563-564.

[637] Lund, J., G. Winter, P. T. Jones, J. D. Pound, T. Tanaka, M. R. Walker, P. J. Artymiuk, Y. Arata, D. R. Burton, R. Jefferis, and J. M. Woof. 1991. Human

[638] FcγRI and FcγRII interact with distinct but overlapping sites on human

[639] IgG. *J. Immunol.* 147:2657-2662.[640] Sarmay, G., J. Lund, Z. Rozsnayay, J. Gergeley, and R. Jefferis. 1992. Mapping and comparison of the interaction sites on the Fc region of IgG responsible for triggering antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC) through different types of human Fcγ receptor. *Mol. Immunol.* 29:633-639.

[641]

산업상 이용가능성

[642] 본 발명은 클라우딘 18 아형 2를 타겟팅하는 신규한 항체-약물 접합체, 이의 활성 대사물, 이의 제조방법, 이의 용도, 및 이를 포함하는 약학 조성물을 통해, 의약분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] 하기 일반식 I로 표시되는 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물:
 [일반식 I]

$$\text{Ab} \text{--} [\text{LINKER} \text{--} (\text{B})_i]_m$$
 상기 식에서,
 Ab는 중쇄 가변영역 및 경쇄 가변영역을 포함하는 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편이고,
 중쇄 가변영역은 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR1, 서열번호 4로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR2, 서열번호 6으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 CDR3을 포함하고,
 경쇄 가변영역은 서열번호 9로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR1, 서열번호 11로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR2, 서열번호 13으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 CDR3을 포함하며,
 LINKER는 링커이고,
 B는 활성제 모이어티이며,
 1 및 m은 각각 독립적으로 1 내지 20 중에서 선택되는 정수이며,
 1이 2 이상의 정수인 경우, B는 각각 서로 동일하거나 상이할 수 있다.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
 중쇄 가변영역은 인간 항체의 중쇄 FR을 포함하고, 상기 중쇄 FR을 암호화하는 유전자는 배선 V 유전자 IGHV3-23(germline V gene IGHV3-23)으로부터 유래된, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서,
 중쇄 FR은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 FR1, 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 FR2, 서열번호 5로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 FR3, 서열번호 7로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 FR4를 포함하는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
 경쇄 가변영역은 인간 항체의 경쇄 FR을 포함하고, 상기 경쇄 FR을 암호화하는 유전자는 배선 V 유전자 IGKV3-11 또는 IGKV3-15로부터 유래된, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,

경쇄 FR은 서열번호 8로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 FR1;
 서열번호 10으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 FR2;
 서열번호 12로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 FR3;
 서열번호 14로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 FR4, 또는
 서열번호 20으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 FR4를
 포함하는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 6]

제1항에 있어서,
 CLDN18.2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편은 서열번호
 15로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 80%의 상동성을 갖는
 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 가변영역; 및
 서열번호 16으로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 80%의
 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 가변영역을 포함하는,
 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 7]

제1항에 있어서,
 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단일클론 항체(monoclonal
 antibody), 도메인 항체(domain antibody; dAb), 단일 사슬 항체(single chain
 antibody; scAb), Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, scFab 단편, Fv 단편, dsFv
 단편, 단일 사슬 가변 항체(single chain variable fragment; scFv), scFv-Fc
 단편, 단일 도메인 중쇄 항체(single domain heavy chain antibody), 단일
 도메인 경쇄 항체(single domain light chain antibody), 항체 변이체(variant
 antibody), 다중 결합 항체(multimeric antibody), 미니바디, 다이아바디,
 이중 특이적 항체(bispecific antibody) 및 다중 특이적 항체로 이루어진
 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 접합체 또는 이의 약학적으로
 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

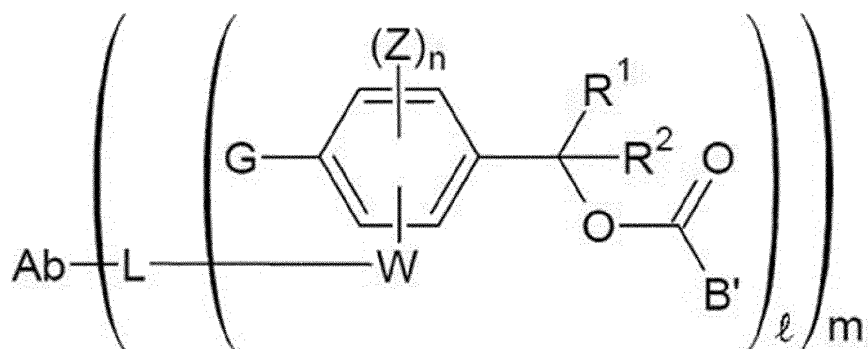
[청구항 8]

제1항에 있어서,
 상기 항체와 활성제 사이의 링커는 절단 가능한 것인, 접합체 또는 이의
 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 9]

제1항에 있어서,
 상기 접합체는 하기 일반식 IIa의 구조를 갖는 것인, 항체 접합체 또는
 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물:

[일반식 IIa]

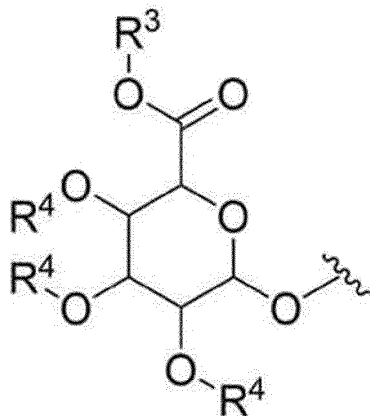


상기 식에서,

Ab는 중쇄 가변영역 및 경쇄 가변영역을 포함하는 CLDN18.2에
특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편이고,

B'은 각각 독립적으로 동일하거나 상이한 활성제이며,

G 및 G'은 각각 독립적으로 글루쿠론산 모이어티(glucuronic acid moiety)
또는 이고;



상기 R³은 수소 또는 카복실 보호기이며, 상기 각각의 R⁴는 독립적으로
수소 또는 하이드록실 보호기이고;

R¹ 및 R²은 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬 또는 C₃₋₈ 사이클로알킬이며;

W은 각각 독립적으로 -C(O)-, -C(O)NR', -C(O)O-, -SO₂NR', -P(O)R''NR',
-SONR' 또는 -PO₂NR'이고, 상기 C, S 또는 P는 직접적으로 페닐링(phenyl
ring)에 결합하며, 상기 NR'은 L에 결합하고, 상기 R' 및 R''는 각각
독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₁₋₈ 알콕시, C₁₋₈ 알킬티오,
모노- 또는 다이-C₁₋₈ 알킬아미노, C₃₋₂₀ 헤테로아릴 또는 C₆₋₂₀ 아릴이며;

Z는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, 할로젠, 시아노 또는 나이트로이고;
n은 0 내지 3의 정수이며, n이 2 이상의 정수인 경우 각각의 Z는 서로
동일하거나 상이할 수 있고;

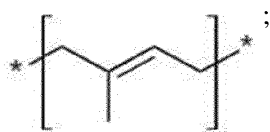
L은 각각 독립적으로, 하기 A) 또는 B) 중 어느 하나이고:

A) C₁₋₅₀ 알킬렌 또는 1-50 원자 헤테로알킬렌이며, 하기 중 하나 이상을

만족한다:

- (i) L은 하나 이상의 불포화 결합을 포함하고;
 - (ii) L 내의 2개의 원자가 치환체와 같은 2가 치환체로 치환되고; 이는 헤테로아릴렌(heteroarylene)을 완성시키며;
 - (iii) L은 1 내지 50 원자 헤테로알킬렌이고;
 - (iv) 상기 알킬렌은 하나 이상의 C₁₋₂₀ 알킬로 더 치환된다;
- B) 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의하여 인식될 수 있는 하기 일반식 III의 이소프레닐 유도체 유닛을 하나 이상 포함한다:

[일반식 III]

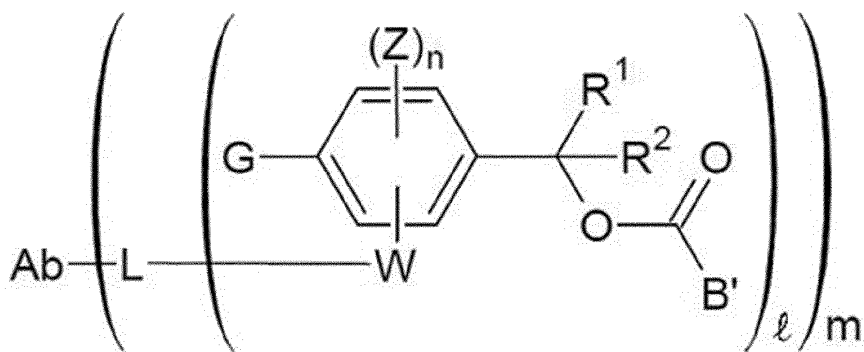


m은 1 내지 20 중에서 선택되는 정수이다.

[청구항 10]

하기 일반식 IIa로 표시되는 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물:

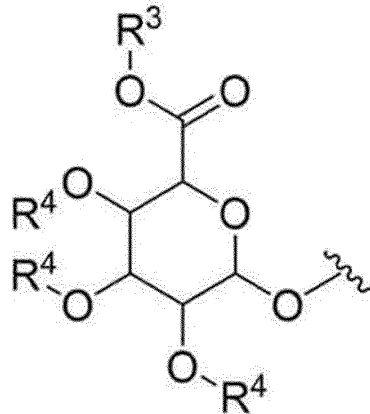
[일반식 IIa]



상기 식에서,

Ab는 클라우딘 18 아형 2(claudin 18 isoform 2, CLDN18.2)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합단편이고,

이고;



상기 R³은 수소 또는 카복실 보호기이며, 상기 각각의 R⁴는 독립적으로 수소 또는 하이드록실 보호기이고;

R¹ 및 R²은 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬 또는 C₃₋₈ 사이클로알킬이며;
W은 각각 독립적으로 -C(O)-, -C(O)NR', -C(O)O-, -SO₂NR', -P(O)R''NR',
-SONR' 또는 -PO₂NR'이고, 상기 C, S 또는 P는 직접적으로 페닐링(phenyl ring)에 결합하며, 상기 NR'은 L에 결합하고, 상기 R' 및 R''는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, C₃₋₈ 사이클로알킬, C₁₋₈ 알콕시, C₁₋₈ 알킬티오, 모노- 또는 다이-C₁₋₈ 알킬아미노, C₃₋₂₀ 헤테로아릴 또는 C₆₋₂₀ 아릴이며;;
Z는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₈ 알킬, 할로젠, 시아노 또는 나이트로이고;
n은 0 내지 3의 정수이며;

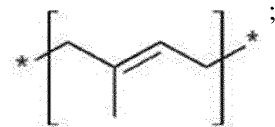
L은 각각 독립적으로, 하기 A) 또는 B) 중 어느 하나이고;

A) C₁₋₅₀ 알킬렌 또는 1-50 원자 헤테로알킬렌이며, 하기 중 하나 이상을 만족한다:

- (i) L은 하나 이상의 불포화 결합을 포함하고;
- (ii) L 내의 2개의 원자가 치환체와 같은 2가 치환체로 치환되고; 이는 헤테로아릴렌(heteroarylene)을 완성시키며;
- (iii) L은 1 내지 50 원자 헤테로알킬렌이고;
- (iv) 상기 알킬렌은 하나 이상의 C₁₋₂₀ 알킬로 치환된다;

B) 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의하여 인식될 수 있는 하기 일반식 III의 이소프레닐 유도체 유닛을 하나 이상 포함한다:

[일반식 III]



B'는 활성제이고,

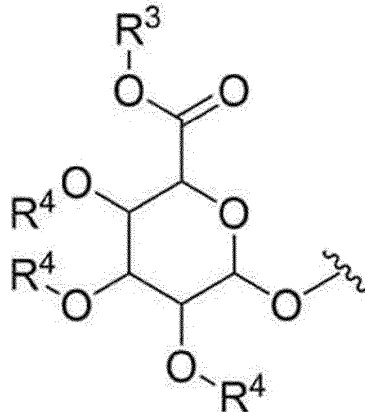
Ab는 물결표시된 부분에 결합되고;

1 및 m은 각각 독립적으로 1 내지 20 중에서 선택되는 정수이고,
1이 2 이상인 경우, 활성제는 각각 동일하거나 상이할 수 있다.

[청구항 11]

제9항 또는 제10항에 있어서,
상기 G는 각각 독립적으로

이고,



R³은 수소 또는 카복실 보호기이며,

상기 각각의 R⁴는 독립적으로 수소 또는 하이드록실 보호기인 것인,
접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 12]

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 R¹ 및 R²은 모두 수소이고;

n은 0이며;

상기 W는 각각 독립적으로 -C(O)NR'-이고, 상기 C는 직접적으로

페닐링(phenyl ring)에 결합하며, 상기 R'은 수소, C₁-₈ 알킬, C₃-₈

사이클로알킬, C₁-₈ 알콕시, C₁-₈ 알킬티오, 모노- 또는 다이-C₁-₈

알킬아미노, C₃-₂₀ 헤테로아릴 또는 C₆-₂₀ 아릴이며, NR'은 L에 결합하는

것인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 13]

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 L은 질소 함유 1-5 원자 헤테로 알킬렌이고,

상기 링커는 친수성 아미노산의 2 이상의 원자를 포함하며,

상기 질소는 친수성 아미노산의 카르보닐과 펩타이드 결합을 형성하는
것인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 14]

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 L은 티오에테르 결합에 의해 항체와 공유결합하고,

상기 티오에테르 결합은 항체의 시스테인의 황원자를 포함하는 것인,

접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 15]

제14항에 있어서,

상기 항체는 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의하여 인식될 수 있는
아미노산 모티프를 항체의 C-말단에 포함하고,

상기 티오에테르 결합은 상기 아미노산 모티프의 시스테인의 황원자를

- 포함하는 것인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 16] 제15항에 있어서,
상기 아미노산 모티프는 CYYX 서열이고, C가 시스테인이고, Y가 지방족 아미노산이며, X가 글루타민, 글루타메이트, 세린, 시스테인, 메티오닌, 알라닌 및 류신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이며; 및
상기 티오에테르 결합은 상기 아미노산 모티프의 시스테인의 황원자를 포함하는 것인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 17] 제15항에 있어서,
상기 아미노산 모티프는 CYYX 서열이고, Y가 알라닌, 이소류이신, 류신, 메티오닌 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이거나; 또는
CVIM 또는 CVLL 서열인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 18] 제15항에 있어서,
아미노산 모티프에 선행하는 1 내지 20 개의 아미노산 중 적어도 하나가 글리신인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 19] 제9항 또는 제10항에 있어서,
상기 L은 C-말단에 아미노산 서열 GGGGGGGCVIM을 포함하는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 20] 제9항 또는 제10항에 있어서,
상기 L은 옥심을 포함하는 3 내지 50 헥테로알킬렌이고,
상기 옥심의 산소 원자는 W와 연결된 L의 측면에 있으며,
옥심의 탄소 원자는 Ab에 연결된 L의 측면에 있거나; 또는
상기 옥심의 탄소 원자는 W에 연결된 L의 측면에 있으며,
옥심의 산소 원자는 Ab에 연결된 L의 측면에 있는 것인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 21] 제9항 또는 제10항에 있어서,
상기 L은 옥심을 포함하고, 하나 이상의 이소프레닐 유닛은 옥심을 Ab에 공유 결합시키는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 22] 제9항 또는 제10항에 있어서,
상기 L은 일반식 VIII 또는 일반식 IX로 표시되는 제2 유닛을 더 포함하는 것인, 항체 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물:
[일반식 VIII]
 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$

[일반식 IX]

$-(CH_2CH_2X)_w-$

상기 V는 단일결합, -O-, -S-, -NR²¹-, -C(O)NR²²-, -NR²³C(O)-, -NR²⁴SO₂- 또는 -SO₂NR²⁵-이고;

X는 -O-, C₁₋₈ 알킬렌 또는 -NR²¹-이고;

R²¹ 내지 R²⁵는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알킬 C₆₋₂₀ 아릴 또는 C₁₋₆ 알킬 C₃₋₂₀ 헤테로아릴이고;

r은 0 내지 10의 정수이고;

p는 0 내지 10의 정수이고;

q는 1 내지 20의 정수이고; 및

w는 1 내지 20의 정수이다.

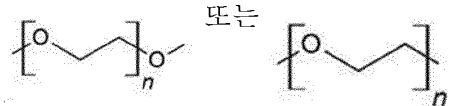
[청구항 23] 제22항에 있어서,
상기 q는 1 내지 10의 정수이고;

r 및 p는 각각 1 또는 2이며;

V는 -O-인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 24] 제22항에 있어서,
상기 X는 -O-이고;
w는 1 내지 10의 정수인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 25] 제21항에 있어서,
상기 L은



하나의 폴리에틸렌 글리콜 유닛을 포함하는 것인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

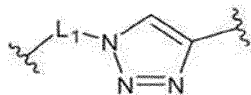
[청구항 26] 제21항에 있어서,
상기 L은 옥심을 포함하고,
적어도 하나의 폴리에틸렌 글리콜 유닛은 옥심을 활성제에 공유 결합시키는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 27] 제9항 또는 제10항에 있어서,
상기 L은 알카인과 아지드와의 반응, 또는 알데히드 또는 케톤 그룹과 하이드라진 또는 하이드록실아민과의 반응으로 형성되는 제3 유닛을 더 포함하는 것인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

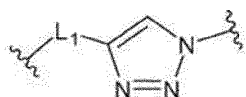
[청구항 28] 제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 L은 하기 일반식 IVa, IVb, IVc, IVd, 또는 IVe로 표시되는 L 또는 제3 유닛을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 항체 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물:

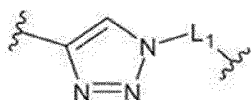
[일반식 IVa]



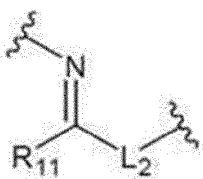
[일반식 IVb]



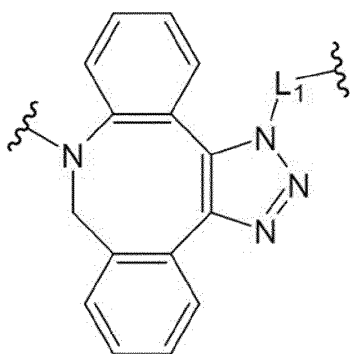
[일반식 IVc]



[일반식 IVd]



[일반식 IVe]



상기 식에서,

상기 L₁ 및 L₂는 각각 독립적으로 단일결합 또는 C₁₋₃₀의 알킬렌이고;

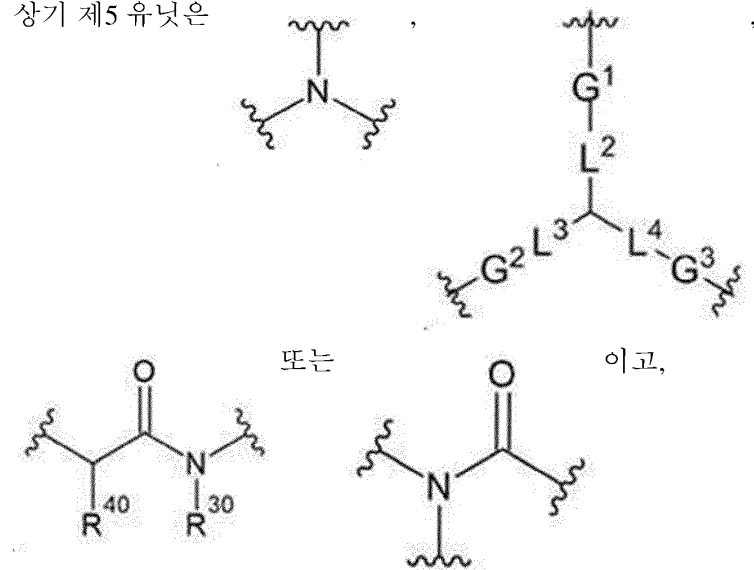
R₁₁은 수소 또는 C₁₋₁₀의 알킬이다.

[청구항 29]

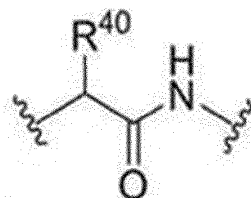
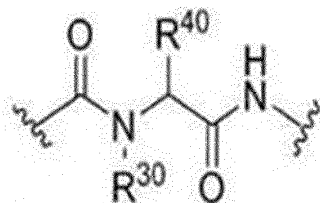
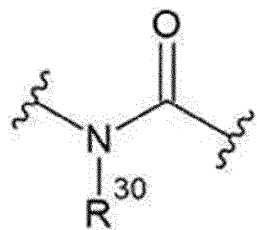
제28항에 있어서,

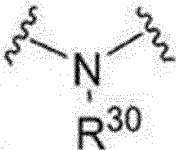
상기 L₁ 및 L₂는 각각 독립적으로 단일결합; 또는 C₁₁의 알킬렌; 또는 C₁₂의

- [청구항 30] 알킬렌인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
제9항 또는 제10항에 있어서,
이소프레노이드 트랜스퍼라제는 파네실 단백질 트랜스퍼라아제(FTase)
또는 게라닐게라닐 트랜스퍼라제(GGTase)인, 접합체 또는 이의
약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 31] 제9항 또는 제10항에 있어서,
L은 Ab에 공유 결합된 하나 이상의 분지형 링커를 포함하고,
i) 각각의 분지형 링커는 제1 링커(PL)에 의해 Ab에 공유 결합된 제5
유닛을 포함하고;
ii) 각각의 분지형 링커는 제1 활성제가 제2 링커 (SL) 및 절단 그룹(CG)에
의해 제5 유닛에 공유결합된 제1 분지(B1)를 포함하며; 및
iii) 각각의 분지형 링커는 a) 제2 활성제가 제2 링커 (SL) 및 절단
그룹(CG)에 의해 제5 유닛에 공유 결합된 제2 분지 (B2); 또는 b)
폴리에틸렌 글리콜 모이어티(moiety)가 제5 유닛에 공유 결합되어 있는
제2 분지를 포함하고,
상기 각각의 절단 그룹은 접합체부터 활성제를 방출하기 위해
가수분해되는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의
용매화물.
- [청구항 32] 제31항에 있어서,
상기 제5 유닛은



상기 L², L³, 및 L⁴는 각각 독립적으로 직접 결합 또는 -C_nH_{2n}-이며, 상기 n은
1 내지 30의 정수이고,
상기 G¹, G², 및 G³은 각각 독립적으로 직접 결합,



또는 이며,

상기 R^{30} 은 수소 또는 C_{1-30} 알킬이고;

상기 R^{40} 은 수소 또는 L^5-COOR_6 이며;

상기 L^5 는 직접 결합 또는 $-C_nH_{2n}-$ 이고, 여기에서 n 은 1 내지 10의 정수이고, R_6 는 수소 또는 C_{1-30} 알킬인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 33]

제31항에 있어서,

상기 절단 그룹은 표적 세포 내에서 절단가능하거나; 또는 하나 이상의 활성제를 방출시킬 수 있는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 34]

제33항에 있어서,

접합체는 Ab를 포함하고;

Ab에 공유 결합된 1, 2, 3 또는 4개 이상의 분지형 링커를 포함하며;

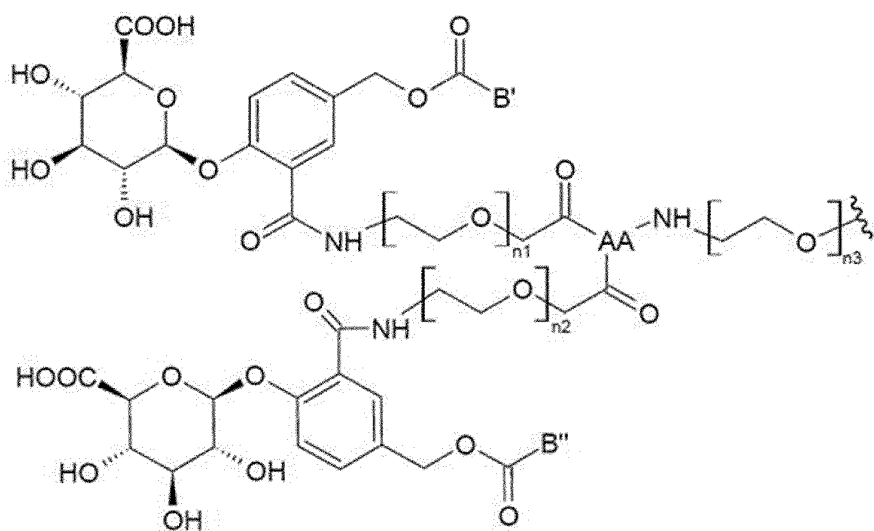
각 분지형 링커가 1 또는 2개 이상의 활성제와 결합하고;

여기에서 활성제는 각각 동일하거나, 상이한 것인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

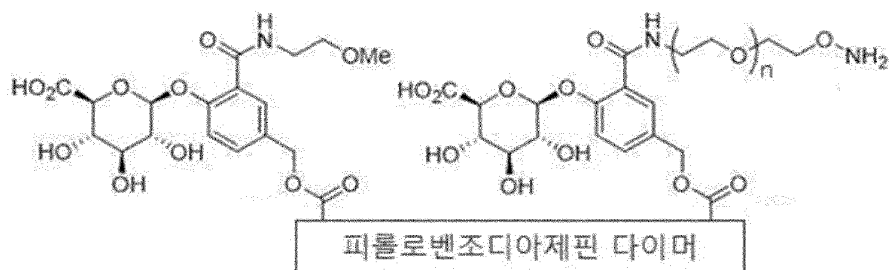
[청구항 35]

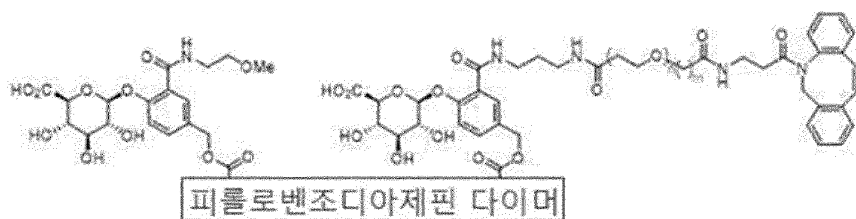
제32항에 있어서,

- 각각의 분지형 링커는 제5 유닛을 포함하고, 각각의 활성제는 2차 링커를 통해 제5 유닛에 결합하고, 상기 제5 유닛은 1차 링커에 의해 항체에 결합되는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 36] 제35항에 있어서,
상기 제5 유닛은 아미드이고, 1차 링커는 아미드의 카르보닐을 포함하는 것이거나; 또는
리신 유닛인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 37] 제33항에 있어서,
하기 구조식:

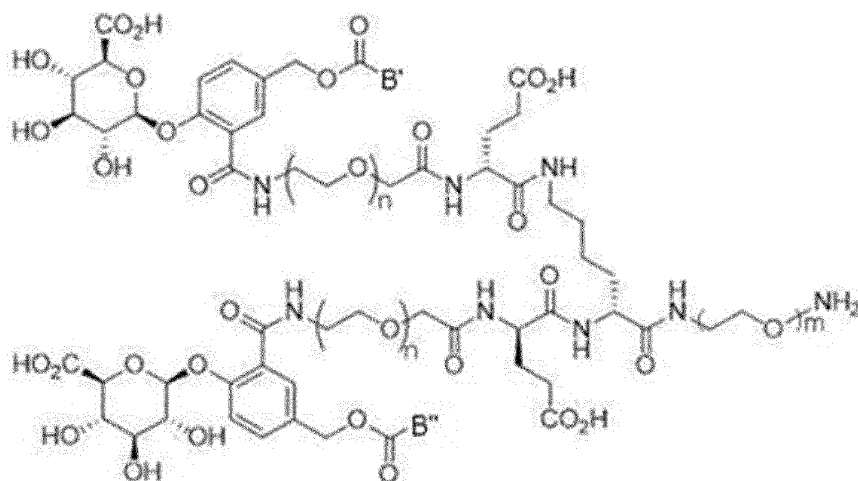


- 을 포함하고,
상기 B' 및 B''는 동일하거나 상이할 수 있는 활성제를 나타내며;
n1 내지 n3은 각각 독립적으로 0 내지 30의 정수를 나타내고;
AA는 아미노산 그룹을 나타내는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.
- [청구항 38] 하기 구조식으로 표현되는, [LINKER-B] 구조를 포함하는 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물:





, 또는



이고,

상기 B' 및 B''는 동일하거나 상이할 수 있는 활성제를 나타내고;

m 및 n은 각각 독립적으로 0 내지 30의 정수를 나타낸다.

[청구항 39]

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 활성제는 화학요법제 또는 독신인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 40]

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 활성제는 면역 조절 화합물, 항암제, 항바이러스제, 항균제, 항진균제, 항기생충제 또는 이들의 조합인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 41]

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 활성제는 하기로부터 선택되는 어느 하나인, 항체 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물:

(a) 엘로티닙(erlotinib), 보르테조미(bortezomib), 풀베스트란트(fulvestrant), 수텐트(sutent), 레트로졸(letrozole), 이마티닙 메실레이트(imatinib mesylate), PTK787/ZK 222584, 옥살리플라틴(oxaliplatin), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), 루코보린(leucovorin),

라파마이신(rapamycin), 라파티닙(lapatinib), 로나파르닙(lonafarnib),
 소라페닙(sorafenib), 제피티닙(gefitinib), AG1478, AG1571,
 티오테파(thiotepa), 사이클로포스파마이드(cyclophosphamide),
 부숴판(busulfan), 임프로숴판(improsulfan), 피포숴판(piposulfan),
 벤조도파(benzodopa), 카르보콘(carboquone), 메추도파(meturedopa),
 유레도파(uredopa), 에틸렌이민(ethylenimine), 알트레타민(altretamine),
 트리에틸렌멜라민(triethylenemelamine),
 트리에틸렌포스포라미드(triethylenephosphoramidate),
 트리에틸렌티오포스포라미드(triethylenethiophosphoramidate),
 트리메틸롤로멜라민(trimethylolomelamine), 불라타신(bullatacin),
 불라타시논(bullatacinone), 캄토테신(camptothecin), 토포테칸(topotecan),
 브리오스타틴(bryostatins), 칼리스타틴(callystatin), CC-1065,
 아도젤레신(adozelesin), 카르젤레신(carzelesin), 비젤레신(bizelesin),
 크립토피신 1(cryptophycin 1), 크립토피신 8(cryptophycin 8),
 돌라스타틴(dolastatin), 듀오카마이신(duocarmycin), KW-2189, CB1-TM1,
 엘루테로빈(eleutherobin), 판크라티스타틴(pancratistatin),
 사르코딕티인(sarcodictyin), 스폰지스타틴(spongistatin),
 클로람부실(chlorambucil), 클로르나파진(chloronaphazine),
 클로로포스파미드(chlorophosphamide), 에스트라무스틴(estramustine),
 이포스파미드(ifosfamide), 메클로르에타민(mechlorethamine),
 멜팔란(melphalan), 노벰비킨(novembichin), 페네스테린(phenesterine),
 프레드니무스틴(prednimustine), 트로포스파미드(trofosfamide), 우라실
 머스타드(uracil mustard), 카르무스틴(carmustine),
 클로로코토신(chlorozotocin), 포테쿠스틴(fotemustine),
 로무스틴(lomustine), 니무스틴(nimustine), 라니무스틴(ranimustine),
 칼리키아미신(calicheamicin), 칼리키아미신 감마 1(calicheamicin gamma
 1), 칼리키아미신 오메가 1(calicheamicin omega 1), 디네미신(dynemicin),
 디네미신 A(dynemicin A), 클로드로네이트(clodronate),
 에스페르아미신(esperamicin),
 네오카르지노스타틴크로모포어(neocarzinostatin chromophore),
 아클라시노마이신(aclacinomysins), 악티노마이신(actinomycin),
 안트르마이신(antrmycin), 아자세린(azaserine), 블레오마이신(bleomycins),
 캅티노마이신(cactinomycin), 카라비신(carabycin),
 카르니노마이신(carninomycin), 카르지노필린(carzinophilin),
 크로모마이신(chromomycins), 닥티노마이신(dactinomycin),
 다우노루비신(daunorubicin), 데토루부신(detorubicin),
 6-디아조-5-옥소-L-노르루신(6-diazo-5-oxo-L-norleucine),
 독소루비신(doxorubicin),

모르폴리노-독소루비신(morpholino-doxorubicin),
 시아노모르폴리노-독소루비신(cyanomorpholino-doxorubicin),
 2-피롤리노-독소루비신(2-pyrrolino-doxorubicin), 리포소말
 독소루비신(liposomal doxorubicin), 데옥시독소루비신(deoxydoxorubicin),
 에피루비신(epirubicin), 에소루비신(esorubicin),
 마르셀로마이신(marcellomycin), 미토마이신 C(mitomycin C),
 미코페놀산(mycophenolic acid), 노갈라마이신(nogalamycin),
 올리보마이신(olivomycins), 페플로마이신(peplomycin),
 포트피로마이신(potfiromycin), 퓨로마이신(puromycin),
 쿠엘라마이신(quelamycin), 로도루비신(rodorubicin),
 스트렙토미그린(streptomigrin), 스트렙토조신(streptozocin),
 투베르시딘(tubercidin), 우베니멕스(ubenimex), 지노스타틴(zinostatin),
 조루비신(zorubicin), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil),
 데노프테린(denopterin), 메토틱렉세이트(methotrexate),
 프테로프테린(pteropterin), 트리메트렉세이트(trimetrexate),
 플루다라빈(fludarabine), 6-머캅토푸린(6-mercaptopurine),
 티아미프린(thiamiprine), 티구아닌(thiguanine), 안시타빈(ancitabine),
 아자시티딘(azacitidine), 6-아자유리딘(6-azauridine),
 카르모푸르(carmofur), 시타라빈(cytarabine),
 디데옥시유리딘(dideoxyuridine), 독시플루리딘(doxifluridine),
 에노시타빈(enocitabine), 플록수리딘(floxuridine), 칼루스테론(calusterone),
 드로모스타놀론(dromostanolone), 프로피오네이트(propionate),
 에피티오스타놀(epitostanol), 메피티오스테인(mepitostane),
 테스트락톤(testolactone), 아미노글루테티미드(aminogluthethimide),
 미토테인(mitotane), 트릴로스테인(trilostane), 폴린산(folinic acid),
 아세글라톤(aceglatone), 알도포스파미드 글리코사이드(aldophosphamide
 glycoside), 아미노레블린산(aminolevulinic acid), 에닐우라실(eniluracil),
 암사크린(amsacrine), 베스트라부실(bestabucil), 비산트렌(bisantrene),
 에다트락세이트(edatraxate), 데포파민(defofamine),
 데메콜린(demecolcine), 디아지콘(diaziquone), 엘포르니틴(elfornithine),
 엘립티니움 아세테이트(elliptinium acetate), 에토글루시드(etoglucid),
 갈륨 나이트레이트(gallium nitrate), 하이드록시우레아(hydroxyurea),
 렌티난(lentinan), 로니다이닌(lonidainine), 메이탄신(maytansine),
 안사미토신(ansamitocins), 미토구아존(mitoguazone),
 미토잔트론(mitoxantrone), 모피단몰(mopidanmol), 니트라에린(nitraerine),
 펜토스타틴(pentostatin), 페나메트(phenamet), 피라루비신(pirarubicin),
 로소잔트론(losoxantrone), 2-에틸하이드라지드(2-ethylhydrazide),
 프로카르바진(procarbazine), 폴리사카라이드-k(polysaccharidek),

라족세인(razoxane), 리조신(rhizoxin), 시조피란(sizofiran),
 스피로게르마늄(spirogermanium), 테누아존산(tenuazonic acid),
 트리아지쿤(triaziquone), 2,2',2''-트리클로로트리에틸아민(2,2',2''-trichlorotriethylamine), T-2 독신, 베라큐린 A(verracurin A), 로리딘 A(roridin A),
 안구이딘(anguidine), 우레탄(urethane), 빈데신(vindesine),
 다카르바진(dacarbazine), 만노무스틴(mannomustine),
 미토브로니톨(mitobronitol), 미토락톨(mitolactol),
 피포브로만(pipobroman), 가시토신(gacytosine),
 아라비노사이드(arabinoside), 사이클로포스파미드(cyclophosphamide),
 티오테파(thiotepa), 파클리탁셀(paclitaxel), 파클리탁셀, 파클리탁셀의
 알부민-엔지니어드 나노파티클(albumin-engineered nanoparticle
 formulation of paclitaxel), 도세탁셀, 클로람부실, 켄시타빈, 6-티오구아닌,
 머캅토피린, 시스플라틴, 카보플라틴(carboplatin),
 빈블라스틴(vinblastine), 플래티늄(platinum), 에토포사이드(etoposide),
 이포스파미드(ifosfamide), 미톡산트론(mitoxantrone), 빈크리스틴,
 비노렐빈(vinorelbine), 노반트론(novantrone), 테니포사이드(teniposide),
 에다트렉세이트(edatrexate), 다우노마이신(daunomycin),
 아미노프테린(aminopterin), 젤로다(xeloda), 이반드로네이트(ibandronate),
 CPT-11, 토포이소머라아제 저해제 RFS 2000,
 디플루오로메틸오르니틴(difluoromethylornithine), 레티노산(retinoic acid),
 카페시타빈(capecitabine), 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 용매화물
 또는 산;
 (b) 모노카인(monokine), 림포카인(lympokine), 폴리펩타이드
 호르몬(traditional polypeptide hormone), 부갑상선 호르몬(parathyroid
 hormone), 티록신(thyroxine), 릴렉신(relaxin), 프로릴렉신(prorelaxin),
 당단백 호르몬(glycoprotein hormone), 여포자극호르몬(follicle stimulating
 hormone), 갑상샘자극호르몬(thyroid stimulating hormone),
 황체형성호르몬(luteinizing hormone), 간 성장인자
 섬유모세포성장인자(hepatic growth factor fibroblast growth factor),
 프롤락틴(prolactin), 태반성 락토젠(placental lactogen), 종양괴사인자
 (tumor necrosis factor), 종양괴사인자- α , 종양괴사인자- β , 뮐러관
 억제물질(mullerian inhibiting substance), 마우스 고나도트로핀-연관
 펩타이드(mouse gonadotropin associated peptide), 인히빈(inhibin),
 액티빈(activin), 혈관내피증식인자(vascular endothelial growth factor),
 트롬보포이에틴(thrombopoietin), 에리스로포이에틴(erythropoietin),
 골유도 인자(osteoinductive factor), 인터페론, 인터페론- α , 인터페론- β ,
 인터페론- γ , 콜로니아자극인자(colony stimulating factor, CSF),
 마크로파지-CSF, 과립구-마크로파지-CSF(granulocyte-macrophage-CSF),

과립구-CSF, 인터루킨(IL), IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, 폴리펩타이드 인자, LIF, 키트 리간드(kit ligand), 또는 이들의 배합물;

(c) 디프테리아 독신, 보툴리눔 독신, 테타누스 독신, 디센터리 독신, 콜레라 독신, 아마니틴, α -아마니틴, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 유도체, 인돌리노벤조디아제핀, 피리디노벤조디아제핀, 테트로도독신, 브레베크톡신(brevetoxin), 시구아톡신(ciguatoin), 리신(ricin), AM 독신, 오리스타틴(auristatin), 투불리신(tubulysin), 겔다나마이신(geldanamycin), 메이탄시노이드(maytansinoid), 칼리케아마이신(calicheamycin), 다우노마이신(daunomycin), 독소루비신(doxorubicin), 메토트렉세이트(methotrexate), 빈데신(vindesine), SG2285, 돌라스타틴(dolastatin), 돌라스타틴 유사체(dolastatin analog), 크립토피신(cryptophycin), 캄토테신(camptothecin), 리족신(rhizoxin), 리족신 유도체(rhizoxin derivatives), CC-1065, CC-1065 유사체 또는 유도체, 듀오카마이신(duocarmycin), 에네다인 항생제(enediyn antibiotic), 에스페라마이신(esperamicin), 에포틸론(epothilone), 독소이드(toxoid), 또는 이들의 배합물;

(d) 친화성 리간드(affinity ligand), 여기에서 친화성 리간드는 기질, 저해제, 활성화제, 신경전달물질, 방사성 동위원소, 또는 이들의 배합물;

(e) 방사능표지(radioactive label), ^{32}P , ^{35}S , 형광다이, 전자밀도 반응제(electron dense reagent), 효소, 비오틴, 스트렙타비딘(streptavidin), 디옥시제닌(dioxigenin), 햅텐(hapten), 면역성 단백질(immunogenic protein), 타겟에 컴플러멘터리한 서열을 갖는 핵산 분자(nucleic acid molecule with a sequence complementary to a target) 또는 이들의 배합물;

(f) 면역조절 화합물(immunomodulatory compound), 항-암제(anti-cancer agent), 항-바이러스제(anti-viral agent), 항-박테리아제(anti-bacterial agent), 항-곰팡이제(anti-fungal agent), 및 항-기생충제(anti-parasitic agent), 또는 이들의 배합물;

(g) 타목시펜(tamoxifen), 랄록시펜(raloxifene), 드롤록시펜(droloxifene), 4-하이드록시타목시펜(4-hydroxytamoxifen), 트리옥시펜(trioxifene), 케옥시펜(keoxifene), LY117018, 오나프리스톤(onapristone) 또는 토레미펜(toremifene);

(h) 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 메제스톨 아세테이트(megestrol acetate), 엑스메스탄(exemestane), 레트로졸(letrozole), 또는 아나스트로졸(anastrozole)

(i) 플루타미드(flutamide), nil루타미드(nilutamide), 비칼루타미드(bicalutamide), 리우프롤라이드(leuprolide),

고세렐린(goserelin), 또는 트록사시타빈(troxacitabine);

(j) 아로마타아제 저해제;

(k) 단백질 키나아제 저해제;

(l) 리피드 키나아제 저해제;

(m) 안티센스 올리고뉴클레오티드;

(n) 리보자임;

(o) 백신; 및

(p) 항-맥관형성제(anti-angiogenic agent).

[청구항 42]

제1항에 있어서,

상기 활성제는 피롤로벤조디아제핀 다이머이고;

상기 피롤로벤조디아제핀 다이머는 N10 위치에서 X 또는 N'10 위치에서 X'로 치환되고, 여기서 X 또는 X'는 피롤로벤조디아제핀 다이머를 링커에 연결하며;

X 및 X'는 각각 독립적으로 -C(O)O-*, -또는 -C(O)-*이고;

*는 피롤로벤조디아제핀 다이머와 링커 사이의 결합 지점인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

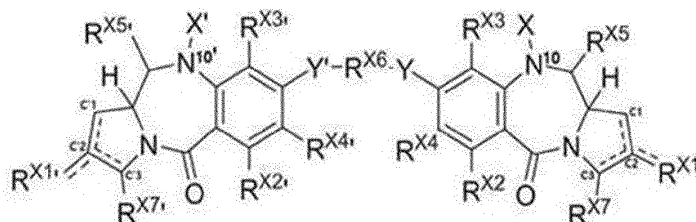
[청구항 43]

제42항에 있어서,

상기 피롤로벤조디아제핀 다이머는 하기 일반식 X 또는 일반식 XI로

표현되는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물:

[일반식 X]



상기 식에서,

상기 점선은 C1과 C2 사이, C2와 C3 사이, C'1과 C'2 사이, 또는 C'2과 C'3 사이의 이중 결합의 선택적 존재를 나타내며;

R^{X1} 및 R^{X1'}는 각각 독립적으로 H, OH, =O, =CH₂, CN, R^m, OR^m, =CH-R^m, =C(R^m)₂, OSO₂-R^m, CO₂R^m, COR^m, 할로 또는 디할로로부터 선택되고;

R^{X2}, R^{X2'}, R^{X3}, 및 R^{X3'}는 각각 독립적으로 H, R^m, OH, OR^m, NR^m₂, NO₂, 및 할로로부터 선택되며;

R^{X4} 및 R^{X4'}는 각각 독립적으로 H, R^m, OH, OR^m, SH, SR^m, NH₂, NHR^m, NR^m₂, 할로, 및 C₁₋₆ 알킬로부터 선택되고;

R^{X5} 및 R^{X5'}는 각각 독립적으로 H, R^m, OH, OR^m, SH, SR^m, NH₂, NHR^m, NR^m₂, -NR^mR^{m'}, NO₂, -NR^mC(O)R^{m'}, -NR^mC(O)OR^{m'}, -NR^mC(O)NR^mR^{m'}, -S(O)R^m,

$-S(O)_2R^m$, $-S(O)NR^mR^{m'}$, $-S(O)_2NR^mR^{m'}$, $-NR^mS(O)R^{m'}$, $-NR^mS(O)_2R^{m'}$, $-P(O)R^m$, $-P(O)_2R^m$, $-P(O)NR^mR^{m'}$, $-P(O)_2NR^mR^{m'}$, $-NR^mP(O)R^{m'}$, $-NR^mP(O)_2R^{m'}$, 및 할로로부터 선택되며;

Y 및 Y'는 각각 독립적으로 O, S, 또는 N(H)이고;

R^{X6} 는 독립적으로 C_{3-12} 알킬렌, C_{3-12} 알케닐렌, 또는 C_{3-12}

헤테로알킬렌이며; R^{X6} 은 $-NH_2$, $-NHR^m$, $-NHC(O)R^m$, $-NHC(O)CH_2-[OCH_2CH_2]_n-R^{XX}$, 또는 $-[CH_2CH_2O]_n-R^{XX}$ 로 치환되거나 비치환되고;

상기 R^{XX} 는 H, OH, N_3 , CN, NO_2 , SH, NH_2 , ONH_2 , $NHNH_2$, 할로, C_{1-8} 알킬, C_{3-8} 시클로알킬, C_{1-8} 알콕시, C_{1-8} 알킬 티오, C_{3-20} 헤테로아릴, C_{5-20} 아릴 또는 모노- 또는 디- C_{1-8} 알킬아미노이고, 여기에서 n은 1 내지 6의 정수이며;

R^{X7} 및 $R^{X7'}$ 는 각각 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐,

$-C(O)R^r$, $-C(O)OR^s$ 또는 $-C(O)NR^rR^{r'}$ 이고;

R^r , $R^{r'}$, 및 R^s 는 각각 독립적으로 H, C_{1-7} 알킬, C_{2-7} 알케닐, C_{2-7} 알키닐, C_{3-13} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, C_{5-10} 아릴 또는 5 내지 7-원 헤테로아릴로이며;

각 R^m 는 독립적으로 R^m , CO_2R^m , COR^m , CHO, CO_2H , 및 할로로부터 선택되며,

각 R^m 은 독립적으로 H, OH, C_{1-12} 알킬, C_{1-12} 알콕시, C_{2-12} 알케닐, C_{2-12} 알키닐, C_{5-20} 아릴, C_{5-20} 헤테로아릴, C_{3-6} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 C_{5-20} 아릴, C_{5-20} 헤테로아릴, C_{3-6} 사이클로알킬, 3 내지 7-원 헤테로사이클릴, 3 내지 7-원 헤테로사이클로알킬, 및 5 내지 7-원 헤테로아릴의 하나 이상의 수소원자는 OH, =O, C_{1-12} 알킬, 또는 C_{1-12} 알콕시로 치환될 수 있다.

[청구항 44] 제43항에 있어서,

상기 R^{X1} 및 $R^{X1'}$ 는 각각 독립적으로 $=CH_2$; C_{1-6} 알킬; C_{1-6} 알콕시; C_{2-6} 알케닐; C_{5-7} 아릴; C_{3-6} 헤테로아릴; 또는 C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 알콕시로 치환된 C_{5-7} 아릴로부터 선택되는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

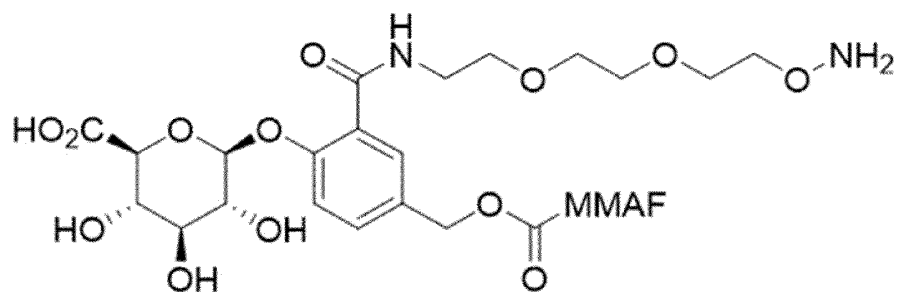
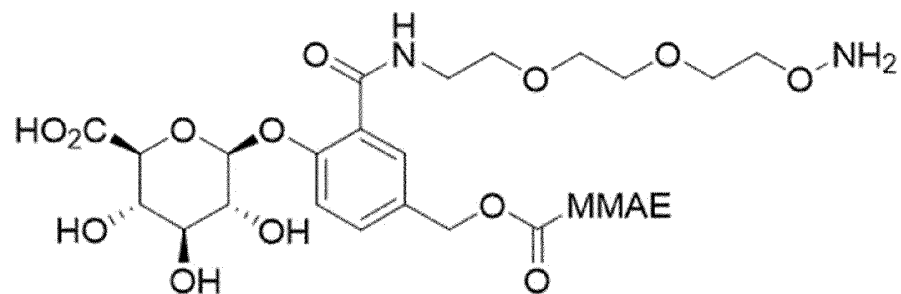
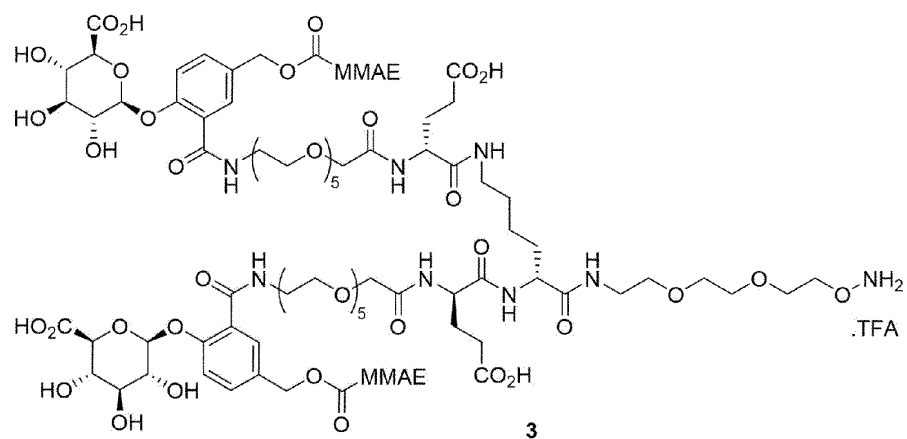
[청구항 45] 제43항에 있어서,

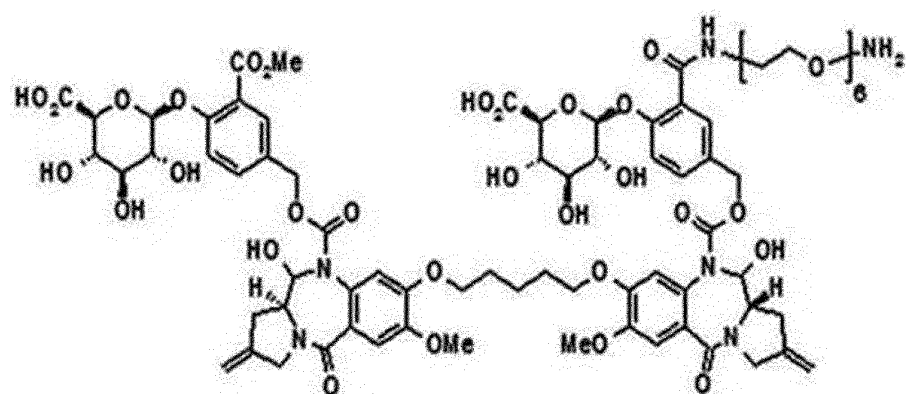
상기 R^{X2} , $R^{X2'}$, R^{X3} , 및 $R^{X3'}$ 은 각각 독립적으로 H 또는 OH로부터 선택되는, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

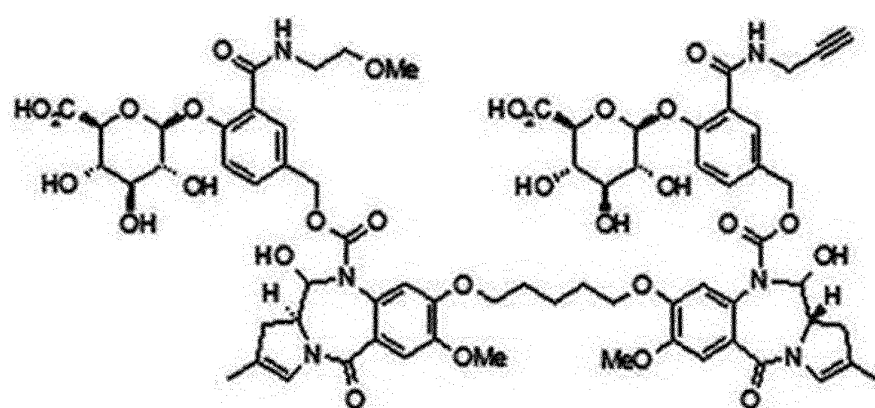
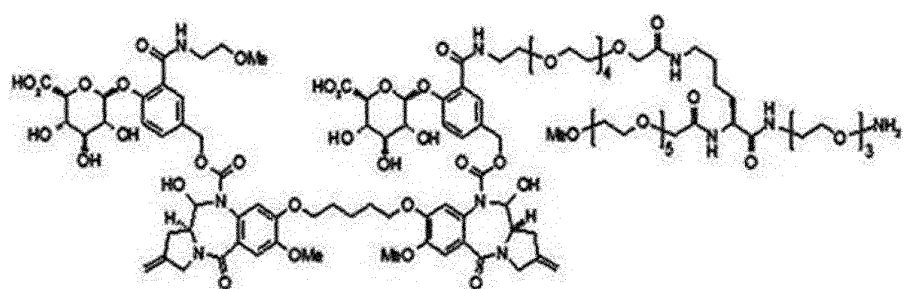
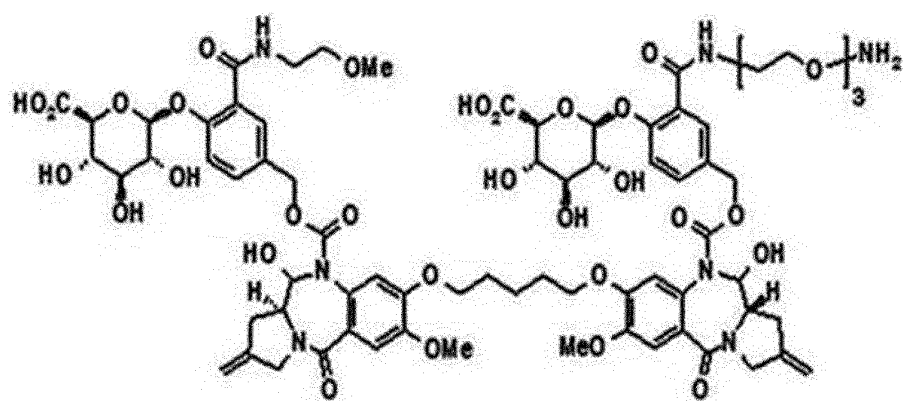
[청구항 46] 제43항에 있어서,

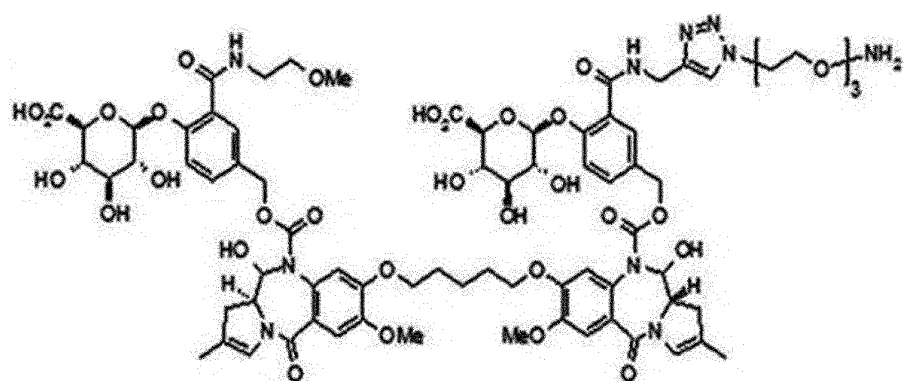
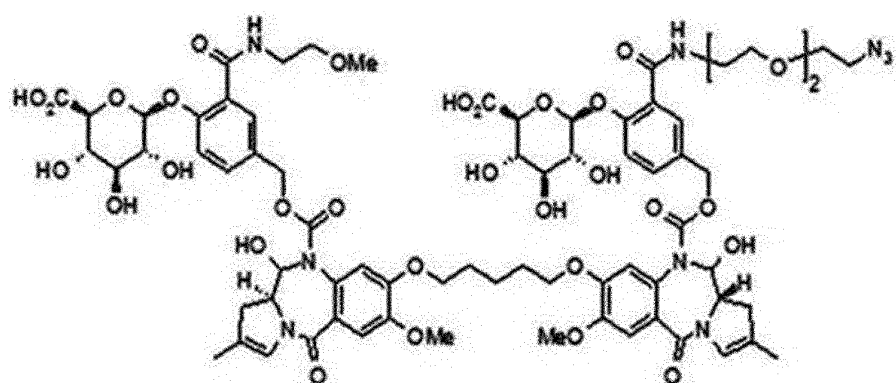
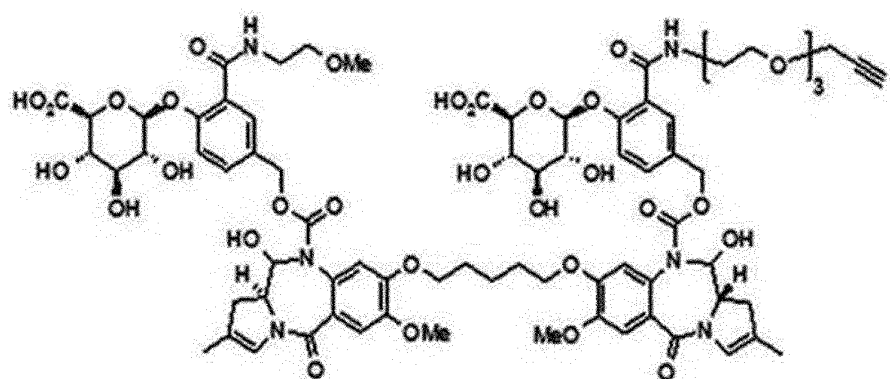
R^{X5} , 및 $R^{X5'}$ 은 각각 독립적으로 H, OH, $-S(O)R^m$, $S(O)_2R^m$, $-P(O)R^m$, 및 $-P(O)_2R^m$ 로 이루어진 군에서 선택되고, 여기에서 R^m 은 H, OH, C_{1-12} 알킬, C_{1-12} 알콕시, C_{2-12} 알케닐, 또는 C_{2-12} 알키닐인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

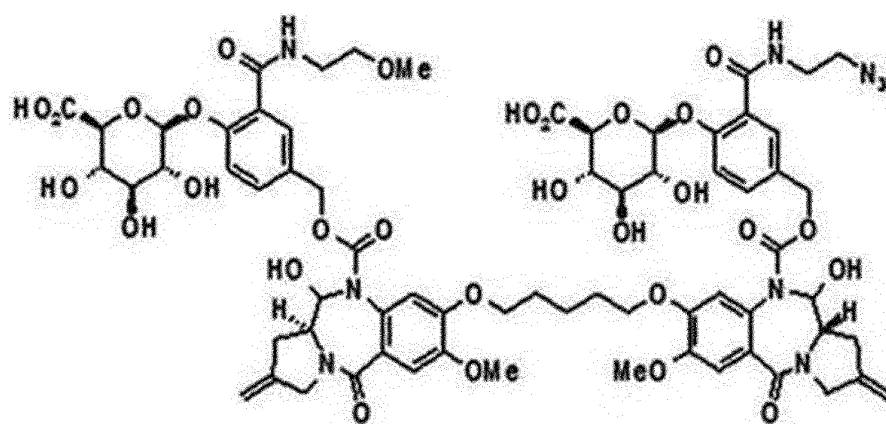
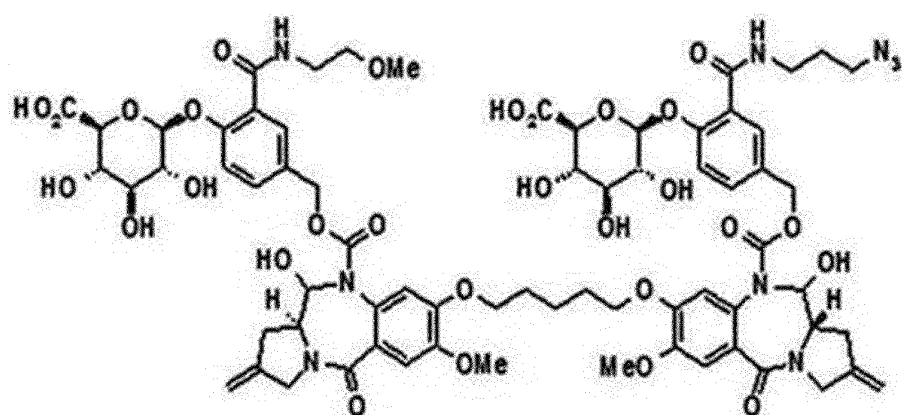
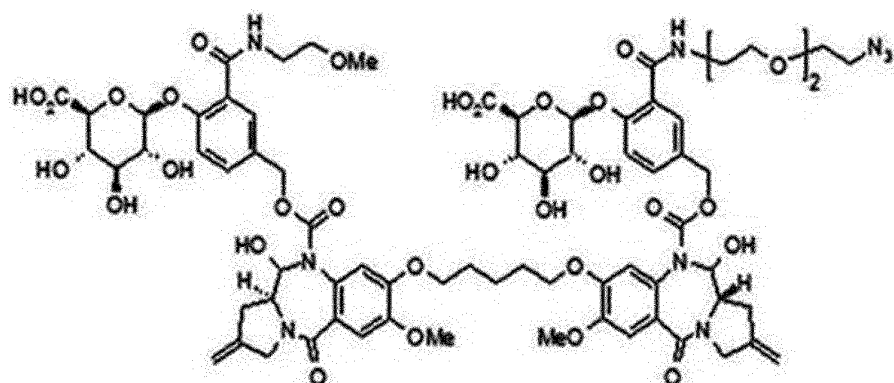
[청구항 47] 제43항에 있어서,

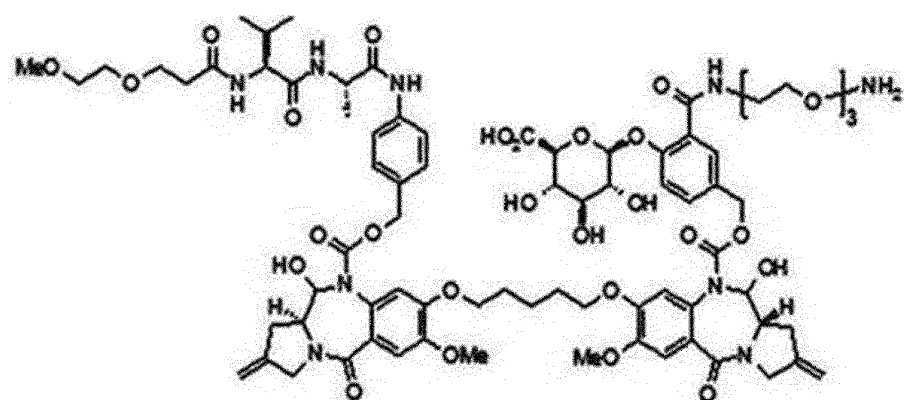
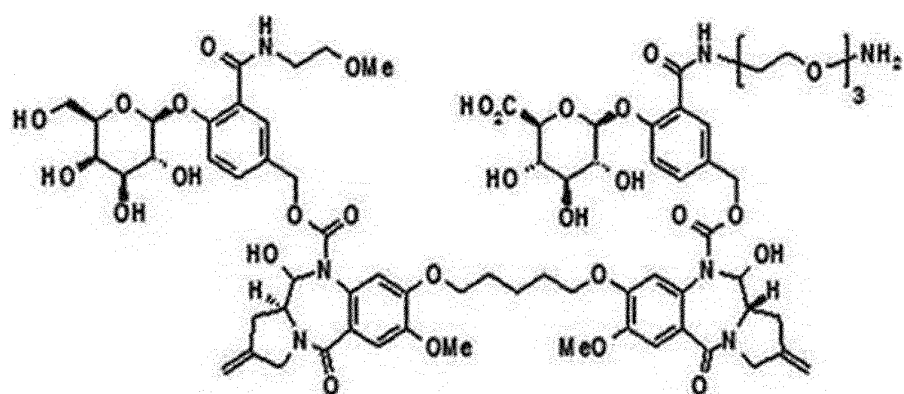
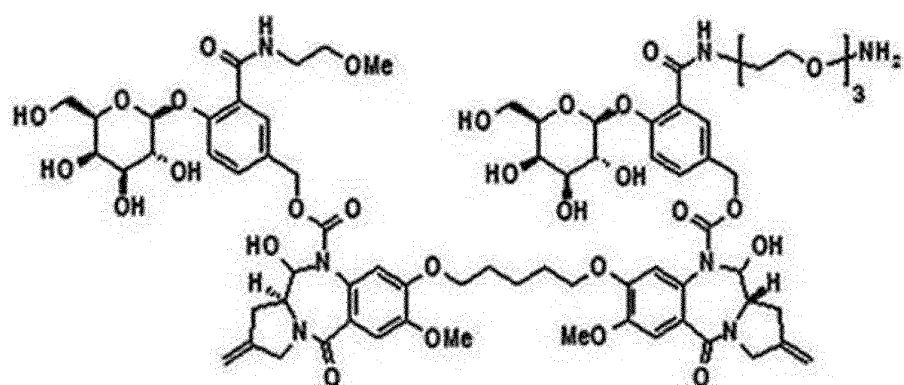


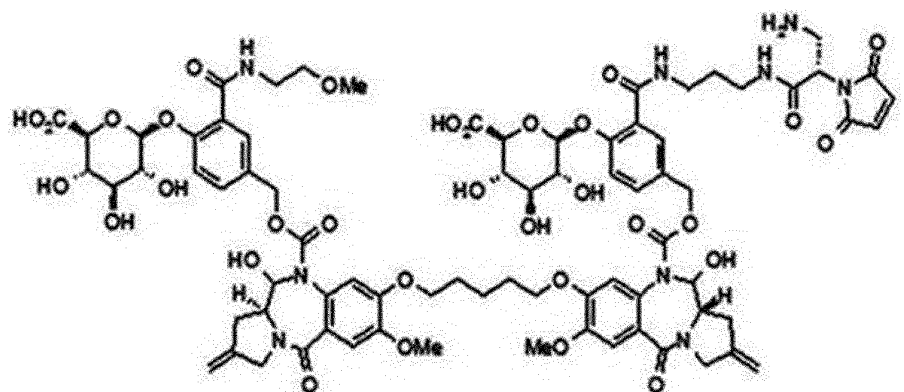


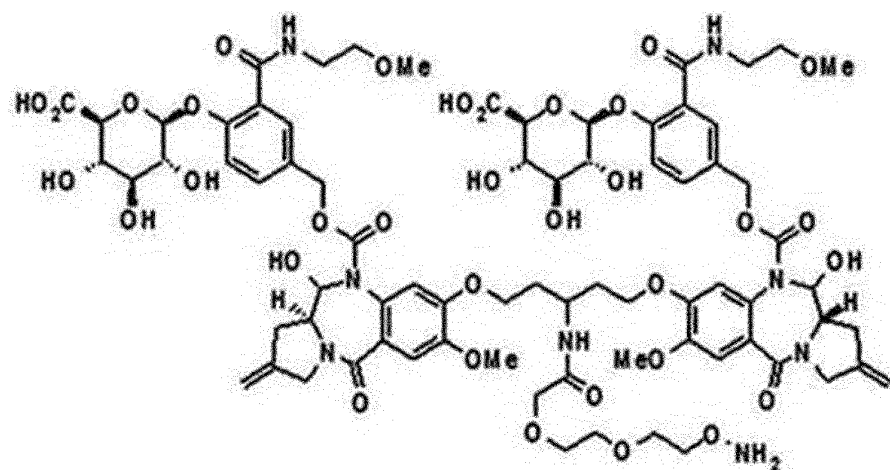
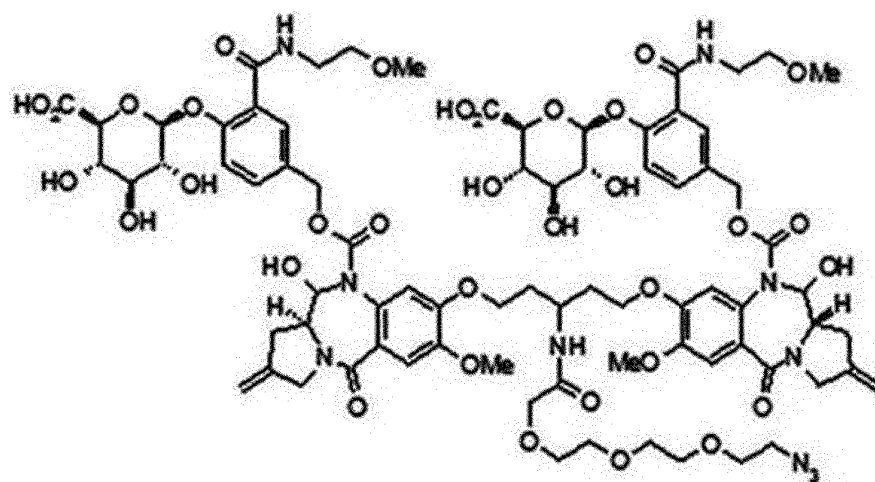
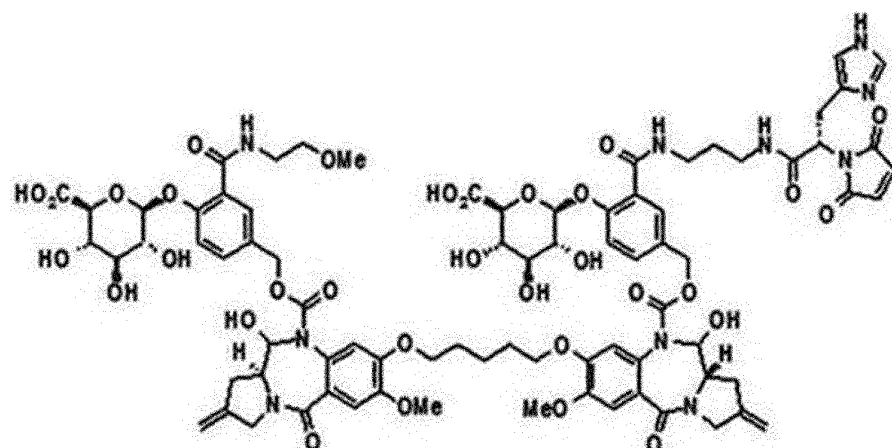


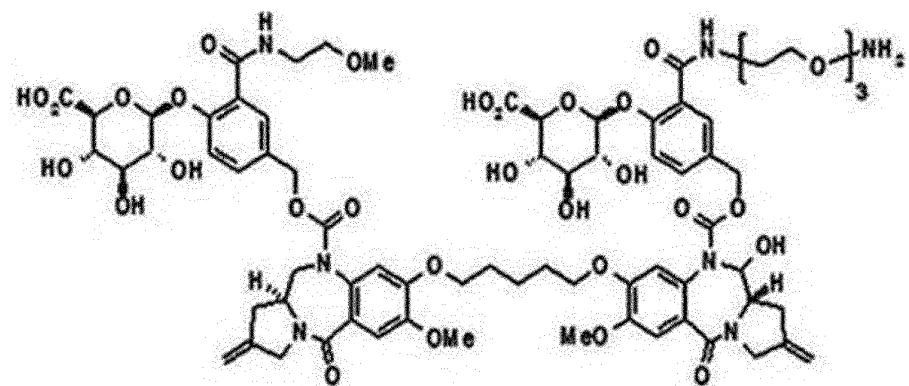
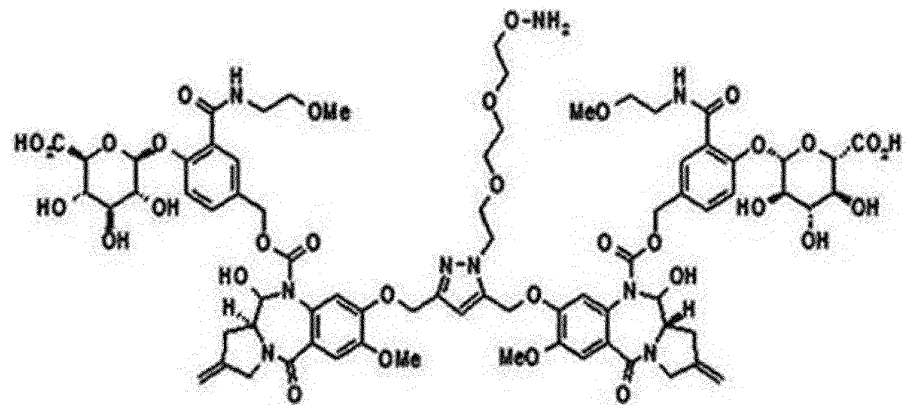




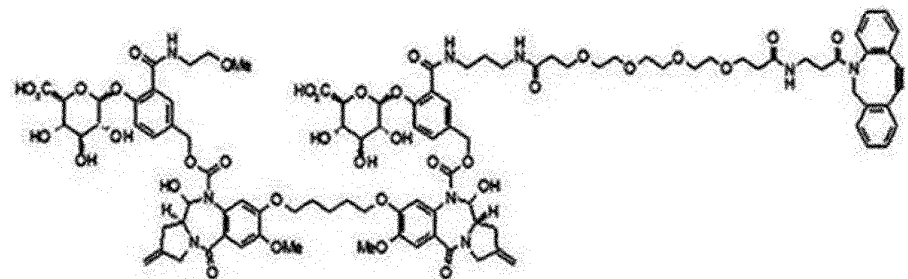








, 및



로 이루어진 군에서 선택되고,

여기에서, MMAE는 모노메틸 오리스타틴 E(monomethyl auristatin E)이며, MMAF는 모노메틸 오리스타틴 F(monomethyl auristatin F)인, 접합체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 용매화물.

[청구항 51] 제1항 또는 제10항의 접합체를 포함하는 과증식, 암 또는 혈관신생질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[청구항 52] 제51항에 있어서,
추가적으로 약학적으로 유효한 양의 화학 치료제(chemotherapeutic agent)를 포함하는, 약학적 조성물.

- [청구항 53] 제51항에 있어서,
상기 암은 폐암, 소세포성 폐암, 위장관암, 대장암, 장암, 유방암, 난소암,
전립선암, 고환암, 간암, 신장암, 방광암, 췌장암, 뇌암, 육종, 골육종,
카포시 육종 및 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인,
약학적 조성물.
- [청구항 54] 제1항 또는 제10항의 접합체, 및 약제학적으로 허용되는 담체를
포함하는, 주사제, 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제, 현탁제,
내용액제, 유제, 시럽제, 유제, 동결건조제, 및 좌제로 이루어진
군으로부터 선택되는, 약학 제제.