

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-503214
(P2025-503214A)

(43)公表日 令和7年1月30日(2025.1.30)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 C 0 7 6
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 C 0 8 5
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68		4 C 0 8 6
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T	4 H 0 4 5
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全117頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-544709(P2024-544709)			(71)出願人	523116697
(86)(22)出願日	令和5年1月19日(2023.1.19)				デュアリティ バイオロジクス (スーチ
(85)翻訳文提出日	令和6年9月25日(2024.9.25)				ョウ) カンパニー, リミティド
(86)国際出願番号	PCT/CN2023/073130				中華人民共和国, チアンスー 2 1 5 0
(87)国際公開番号	WO2023/143365				0 0, スーチョウ, スーチョウ インダ
(87)国際公開日	令和5年8月3日(2023.8.3)				ストリアル パーク, チンクー ロード
(31)優先権主張番号	202210107800.8				ナンバー99, バイオメディカル イン
(32)優先日	令和4年1月28日(2022.1.28)				ダストリアル パーク フェーズ3, ゾー
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)				ン ビー, ビルディング 3, ユニット
(31)優先権主張番号	202310015113.8			(74)代理人	3 0 1
(32)優先日	令和5年1月5日(2023.1.5)				100099759
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)			(74)代理人	弁理士 青木 篤
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ			(74)代理人	100123582
		最終頁に続く			弁理士 三橋 真二
				(74)代理人	100117019
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 H E R 3 抗体－薬物結合体及びその使用

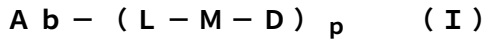
(57)【要約】

本発明は、H e r 3 に特異的に結合する抗H e r 3 抗体－薬物結合体及びそれを含む組成物を提供する。本発明の抗体－薬物結合体の使用方法及びその使用も提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物であって、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体が式（I）：



の構造を有し、式中、

L 及び M は、リンカー単位であり；

D は、細胞毒性薬であり；

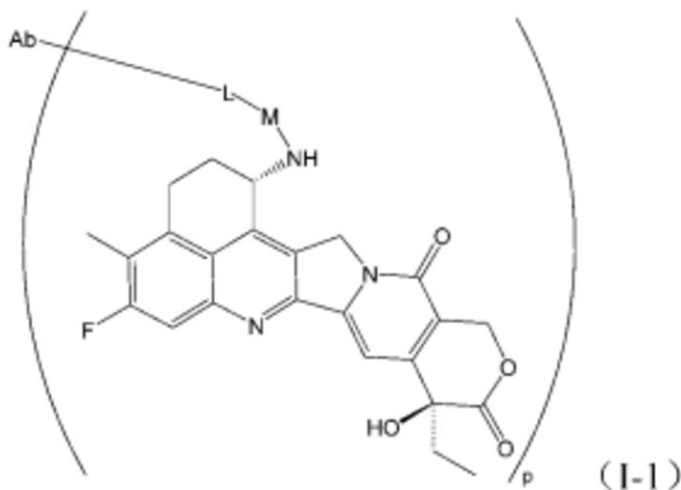
p は、平均接続数を表し、p は、1～10 の整数又は小数、好ましくは 3～8 の整数又は小数から選択され；

A b は、抗 H e r 3 抗体又はその抗原結合断片であり、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、配列番号 1、配列番号 2 及び配列番号 3 にそれぞれ示されるアミノ酸配列の H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5 及び配列番号 6 にそれぞれ示されるアミノ酸配列の L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項 2】

抗 H e r 3 抗体－薬物結合体が式（I-1）：

【化 1】



〔式中、

L 及び M は、リンカー単位であり；

p は、平均接続数を表し、p は、1～10 の整数又は小数、好ましくは 3～8 の整数又は小数から選択され；

A b は、抗 H e r 3 抗体又はその抗原結合断片であり、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、配列番号 1、配列番号 2 及び配列番号 3 にそれぞれ示されるアミノ酸配列の H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5 及び配列番号 6 にそれぞれ示されるアミノ酸配列の L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む）

の構造を有する、請求項 1 に記載の抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項 3】

抗 H e r 3 抗体又はその抗原結合断片が、

（I）配列番号 7 に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域、又はそれと少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 % もしくは 99 % の同一性を有する重鎖可変領域、及び配列番号 8 に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域、又はそれと少なくとも 95 %、96 %、9

7 %、98 %もしくは99 %の同一性を有する軽鎖可変領域；又は

(I I) 配列番号9に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域、又はそれと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは99 %の同一性を有する重鎖可変領域、及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域、又はそれと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %もしくは99 %の同一性を有する軽鎖可変領域；又は

(I I I) 配列番号10に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域、又はそれにと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %もしくは99 %の同一性を有する重鎖可変領域、及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域、又はそれにと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは99 %の同一性を有する軽鎖可変領域

を含む、請求項1又は2に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

10

【請求項4】

抗Her3抗体又はその抗原結合断片が、マウス抗体もしくはその断片、キメラ抗体もしくはその断片、又はヒト化抗体もしくはその断片である、請求項1又は2に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項5】

抗Her3抗体又はその抗原結合断片が、Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、scFv、F(ab')₂、sdAb、二特異性抗体、又は線状抗体から選択される、請求項1又は2に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

20

【請求項6】

抗体がIgG1、IgG2、IgG3又はIgG4のタイプである、請求項1又は2に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩又はそれらの混合物。

【請求項7】

抗Her3抗体又はその抗原結合断片が、

(1) 配列番号11に示されるアミノ酸配列の重鎖、又はそれと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %もしくは99 %の同一性を有する重鎖、及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖、又はそれと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %もしくは99 %の同一性を有する軽鎖；又は

30

(2) 配列番号13に示されるアミノ酸配列の重鎖、又はそれと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %もしくは99 %の同一性を有する重鎖、及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖、又はそれと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %もしくは99 %の同一性を有する軽鎖；又は

(3) 配列番号14に示されるアミノ酸配列の重鎖、又はそれと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %もしくは99 %の同一性を有する重鎖、及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖、又はそれと少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %もしくは99 %の同一性を有する軽鎖

を含む、請求項1～6のいずれか1項に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

40

【請求項8】

Mが、-L²-L³-X-L¹-であり；

L²が、-O-又は-S-であり；

L³が、-(C(R^{1a})(R^{1b}))_m-であり、mが、0、1、2又は3から選択され、ここで、L³がメチレン単位を含む場合、L³の0又は1個のメチレン単位は、-C(O)-又は-C(S)-で置換され得；

L¹が、-(C(R^{2a})(R^{2b}))_n-であり、nが、1、2又は3から選択され、ここで、L¹がメチレン単位を含み得る場合、L¹の0又は1個のメチレン単位は、-C(O)-又は-C(S)-で置換され得；

Xが、3～6員飽和カルボシクリル、3～6員飽和ヘテロシクリル、又は単結合から選

50

択され、ここで、3～6員飽和カルボシクリル及び3～6員飽和ヘテロシクリルは、0、1、2、又は3個の R^{3a} で場合により置換され、

ここで、各 R^{1a} 、各 R^{1b} 、各 R^{2a} 、各 R^{2b} 、及び各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換され得る C_{1-6} 脂肪族基であり得、

各Rは、独立して水素又はハロゲンであり得る、請求項1～7のいずれか1項に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項9】

L^3 が、単結合、 $-C(R^{1a})(R^{1b})-$ 、又は $-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-$ から選択され、

ここで、各 R^{1a} 及び各 R^{1b} は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換され得る C_{1-6} 脂肪族基であり得、

各Rは、独立して水素又はハロゲンであり得る、請求項8に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項10】

L^3 が、単結合、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、又は $-C(CH_3)_2CH-$ から選択される、請求項9に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項11】

L^1 が、 $-C(R^{2a})(R^{2b})-$ 、 $-C(R^{2a})(R^{2b})C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択され、

ここで、各 R^{2a} 及び各 R^{2b} は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換され得る C_{1-6} 脂肪族基であり得、

各Rは、独立して、水素又はハロゲンであり得る、請求項8に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項12】

L^1 が、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)-$ 、 $-CH(CH_3)C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択される、請求項11に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項13】

Xが0、1、2、もしくは3個の R^{3a} 、又は単結合で場合により置換される3～6員飽和カルボシクリルであり、

ここで、各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換され得る C_{1-6} 脂肪族基であり得、

各Rは、独立して、水素又はハロゲンであり得る、請求項8に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

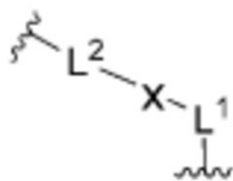
【請求項14】

Xが、3～6員飽和カルボシクリル又は単結合である、請求項13に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩又はそれらの混合物。

【請求項15】

$-M-$ が、

〔化2〕



〔式中、

L^2 が、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

X が、0、1、2 又は 3 個の R^{3a} で場合により置換される 3～6 員飽和カルボシクリルから選択され；

L^1 が、 $-C(R^{2a})(R^{2b})-$ 、 $-C(R^{2a})(R^{2b})C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択され、

ここで、各 R^{2a} 、各 R^{2b} 、又は各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換され得る C_{1-6} 脂肪族基であり得、

各 R は、独立して、水素又はハロゲンであり得る]

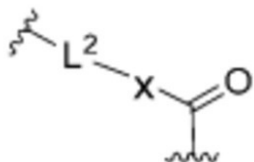
から選択される、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載の抗 Her3 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

10

【請求項 16】

$-M-$ が、

【化 3】



〔式中、

L^2 が、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

X が、3～6 員飽和カルボシクリルから選択される]

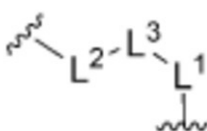
から選択される、請求項 15 に記載の抗 Her3 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

20

【請求項 17】

$-M-$ が、

【化 4】



〔式中、

L^2 が、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

L^3 が、 $-C(R^{1a})(R^{1b})-$ 又は $-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-$ から選択され；

L^1 が、 $-C(R^{2a})(R^{2b})-$ 、 $-C(R^{2a})(R^{2b})C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択され、

ここで、各 R^{1a} 、各 R^{1b} 、各 R^{2a} 、又は各 R^{2b} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換され得る C_{1-6} 脂肪族基であり得、

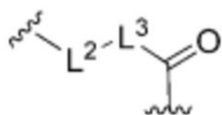
40

各 R は、独立して、水素又はハロゲンであり得る、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載の抗 Her3 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項 18】

$-M-$ が、

【化 5】



50

〔式中、

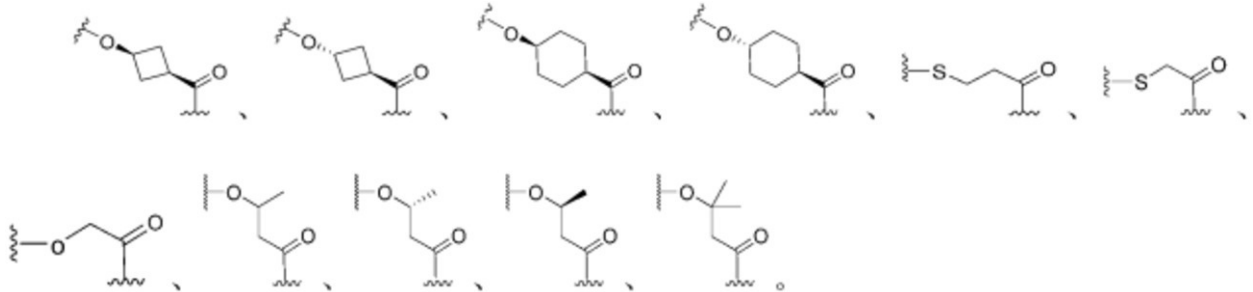
L^2 が、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

L^3 が、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、又は $-C(CH_3)_2CH_2-$ から選択され、請求項 17 に記載の抗 Her3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項 19】

$-M-$ が、

〔化 6〕



10

から選択される、請求項 1～18 のいずれか 1 項に記載の抗 Her3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

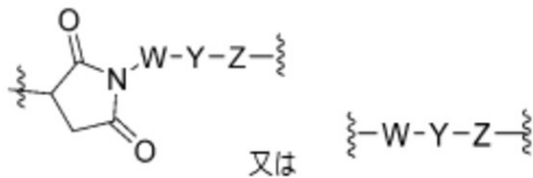
20

【請求項 20】

L が、 $-L_a-L_b-L_c-$ であり、

$-L_a-$ は、

〔化 7〕



30

〔式中、

W は、 $-(C(R^{Wa})(R^{Wb}))_{wn}-$ であり、 Y は、 $-(OCH_2CH_2)_{yn}-O_{yp}-$ であり、 Z は、 $-(C(R^{Za})(R^{Zb}))_{zn}$ であり、

ここで、 wn は、1、2、3 又は 6 であり、

W の 1 メチレン単位は、各々独立して、 $-Cyr-$ 、 $-N(R^{Wx})C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^{Wx})-$ 又は $-C(O)-$ で置換され；

ここで、 yn は、0、4 又は 8 であり、 yp は、0 又は 1 であり；

ここで、 zn は、1、2 又は 3 であり、

Z の 1 メチレン単位は、各々独立して、 $-Cyr-$ 、 $-N(R^{Zx})C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^{Zx})-$ 又は $-C(O)-$ で置換され；

40

$-Cyr-$ は、3～10 員飽和カルボシクリレンであり、ここで、 $-Cyr-$ は、非置換又は独立して 1～3 個の置換基 R^{Cx} で置換され；

ここで、各 R^{Wa} 、各 R^{Wb} 、各 R^{Za} 、各 R^{Zb} 、各 R^{Wx} 、各 R^{Zx} 及び各 R^{Cx} は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^r$ 、又は R^r で場合により置換される C_{1-6} 脂肪族基であり、

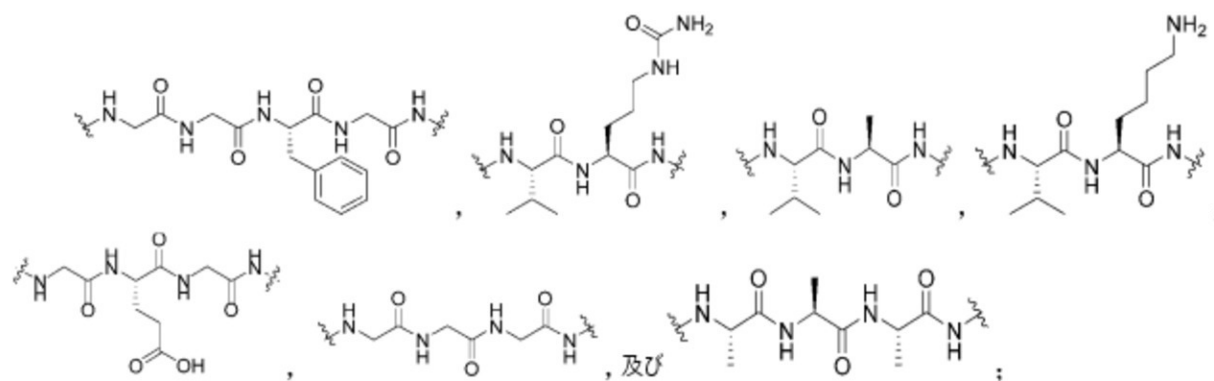
ここで、各 R^r は、独立して、水素、ハロゲン又は C_{1-6} 脂肪族基である〕

であり；

$-L_b-$ は、

50

10



- L_c - は、

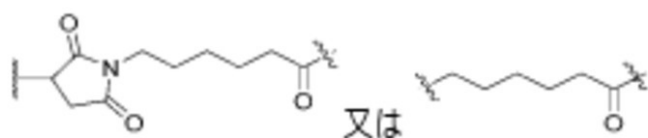
20



である、請求項 1 ～ 19 のいずれか 1 項に記載の抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

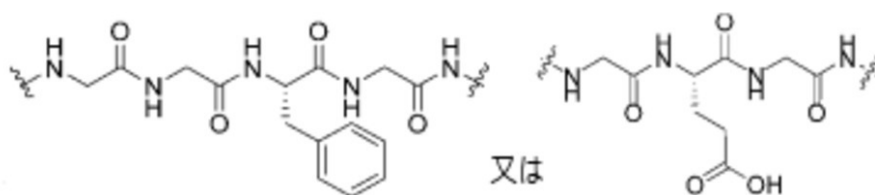
- L_a - は、

30



- L b - は、

40



- L c - は、

【化 1 2】

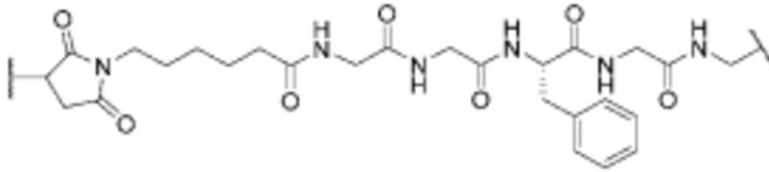


である、請求項 2 0 に記載の抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項 2 2】

L は、

【化 1 3】



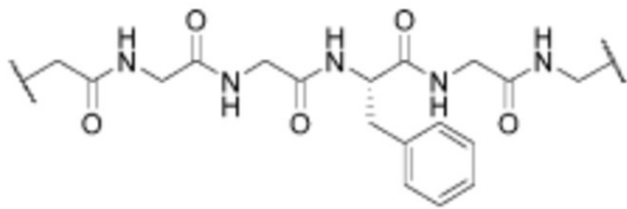
10

である、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載の抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項 2 3】

L は、

【化 1 4】



20

である、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載の抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

30

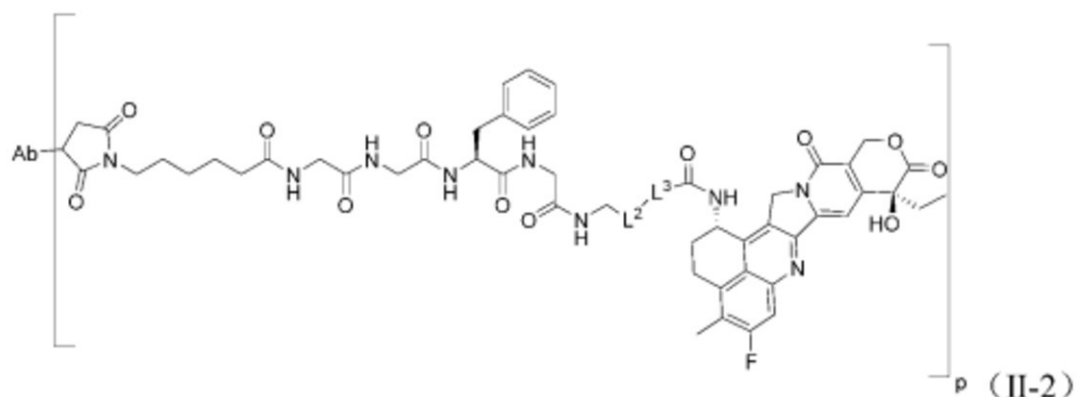
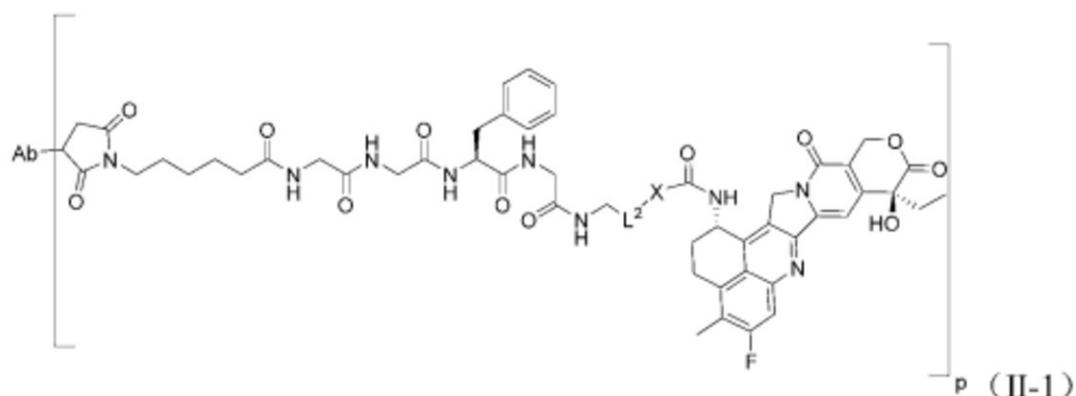
【請求項 2 4】

抗 H e r 3 抗体－薬物結合体が、式 (I I - 1) 又は (I I - 2) の構造：

40

50

【化 1 5】



〔式中、

p は、請求項 1 に記載される通りであり；

Ab は、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載される通りであり；

L² は、－O－又は－S－であり；X は、0、1、2 又は 3 個の R^{3a} で場合により置換される 3～6 員飽和カルボシクリルから選択され、

30

L³ は、－C(R^{1a})(R^{1b})－又は－C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})－から選択され、ここで、各 R^{1a}、各 R^{1b}、又は各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換され得る C₁～6 脂肪族基であり得、

ここで、各 R は、独立して水素又はハロゲンであり得る〕

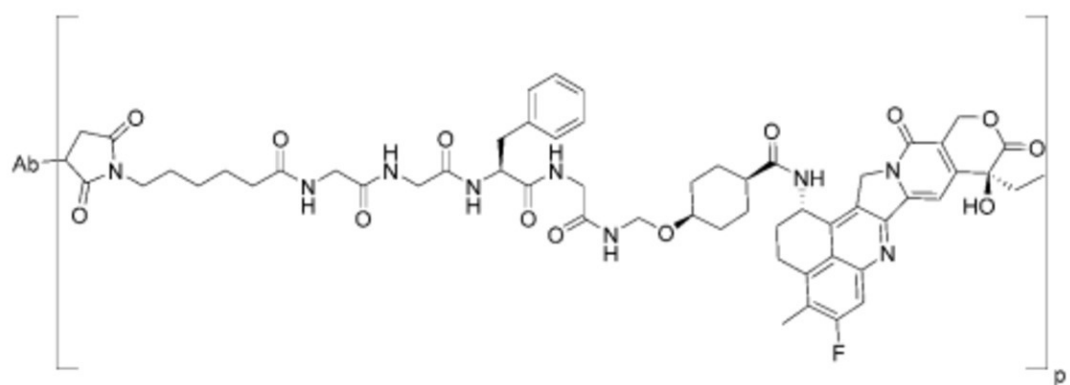
の構造を有する、請求項 1～23 のいずれか 1 項に記載の抗 Her3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

【請求項 2 5】

抗 Her3 抗体－薬物結合体が、以下の構造式：

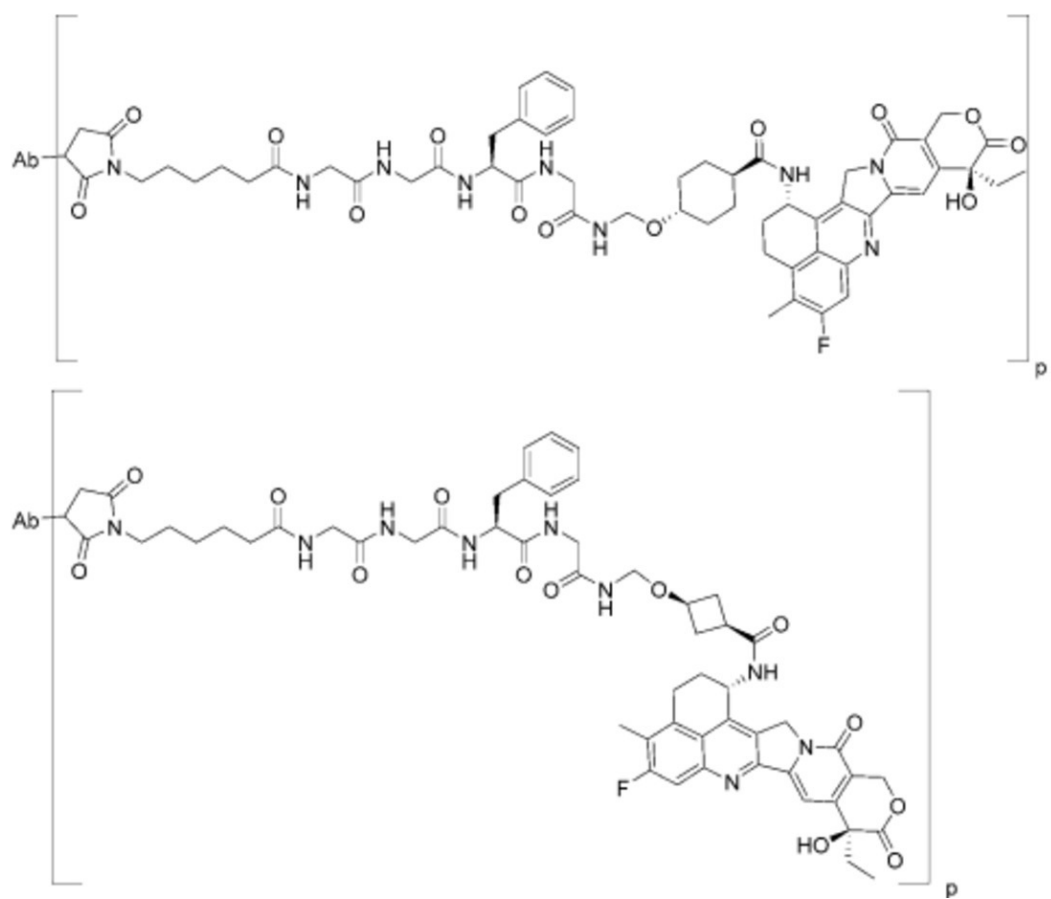
40

【化 1 6】

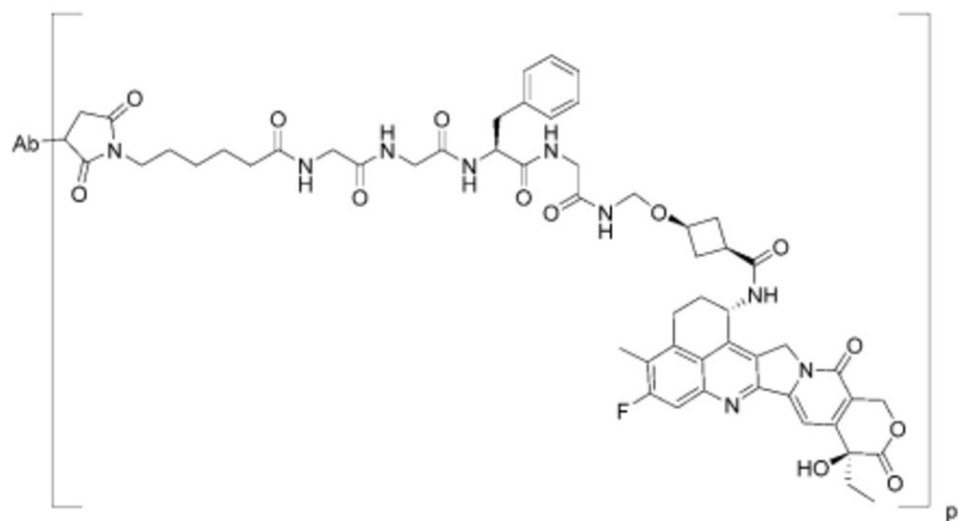


10

【化 1 7】



20

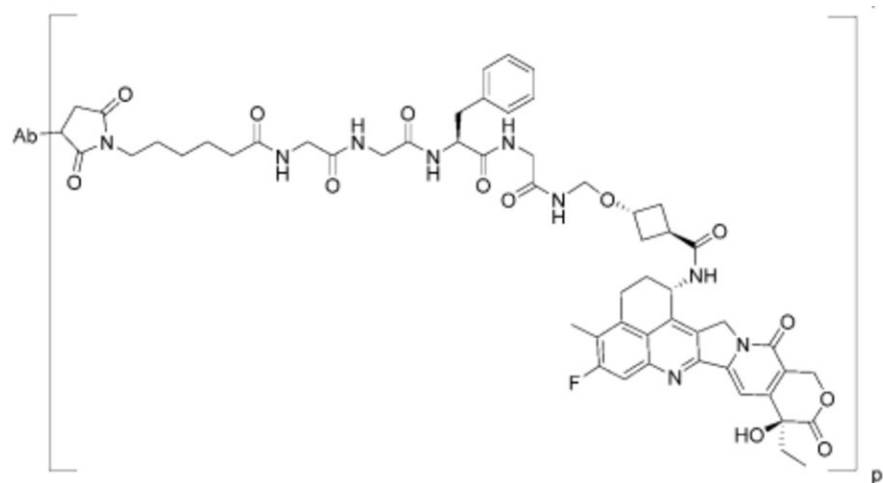


30

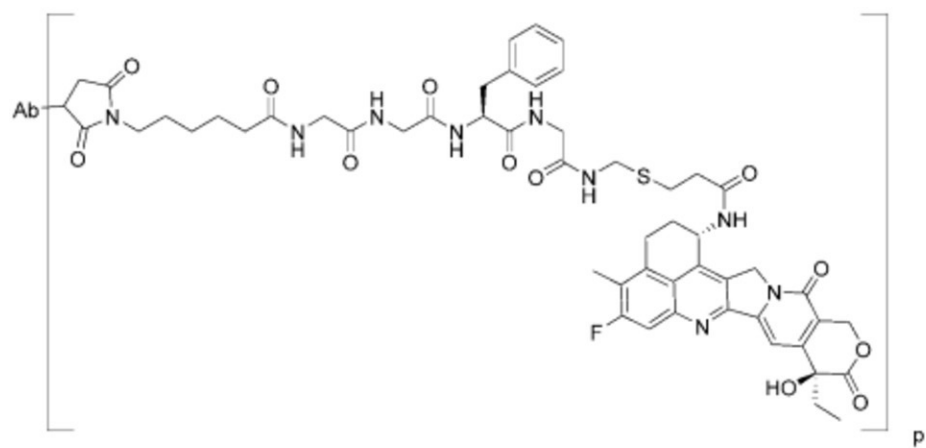
40

50

【化 18】



10



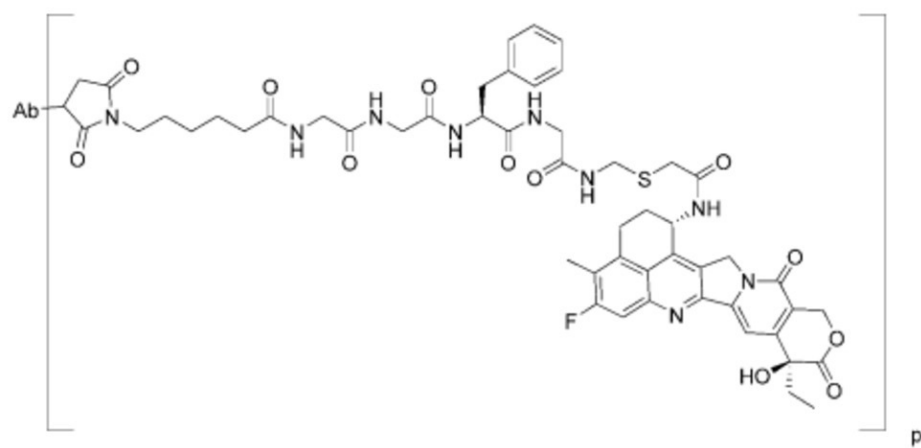
20

30

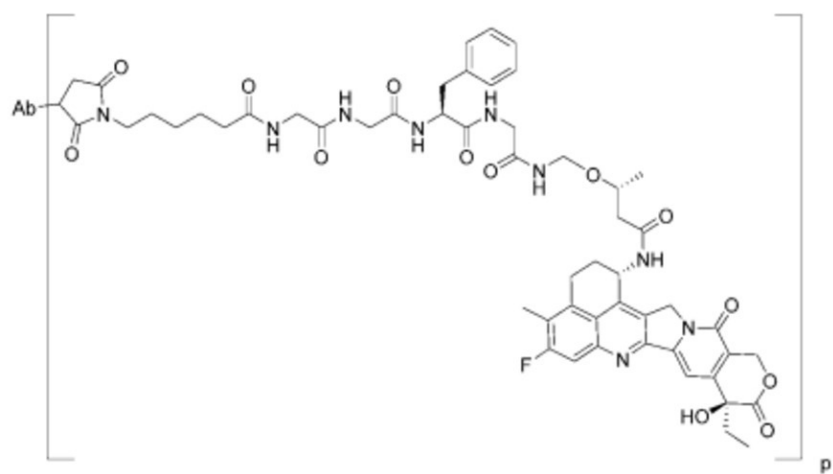
40

50

【化 19】



10



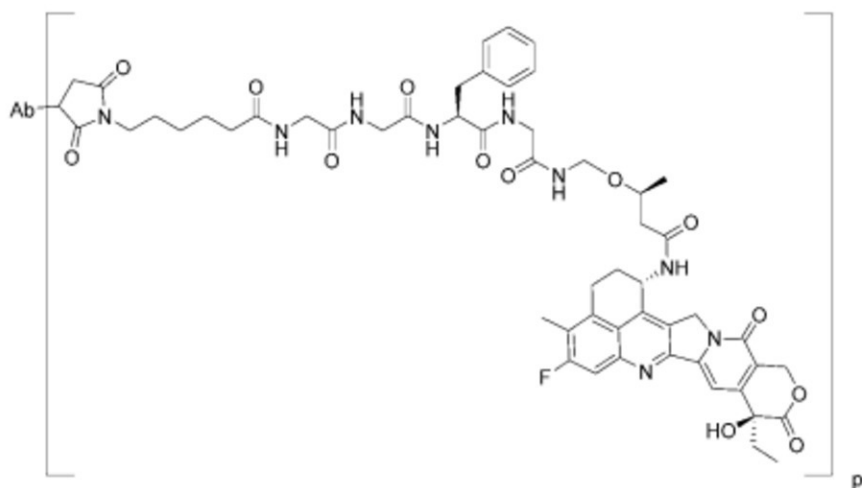
20

30

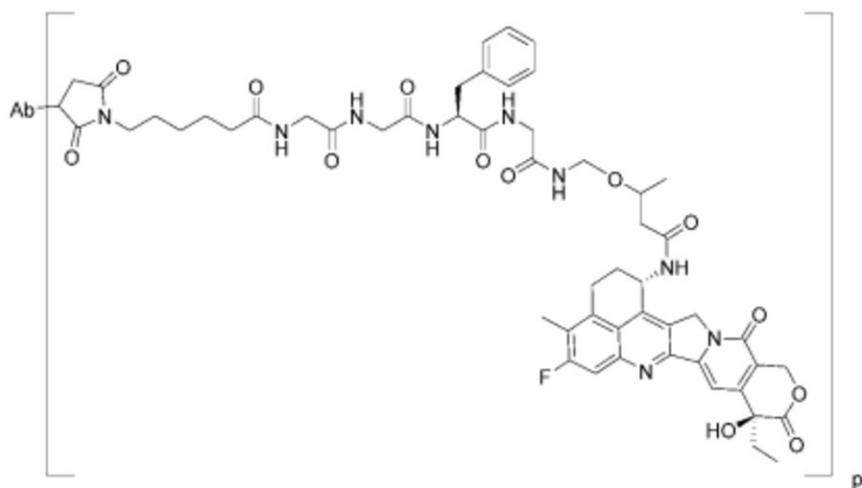
40

50

【化 2 0】

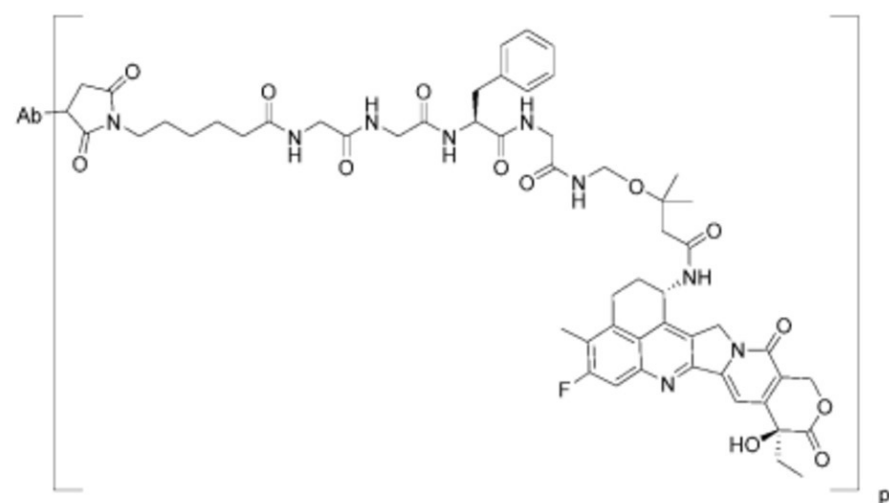


10



20

【化 2 1】



30

40

〔式中、

p は、請求項 1 に記載される通りであり；

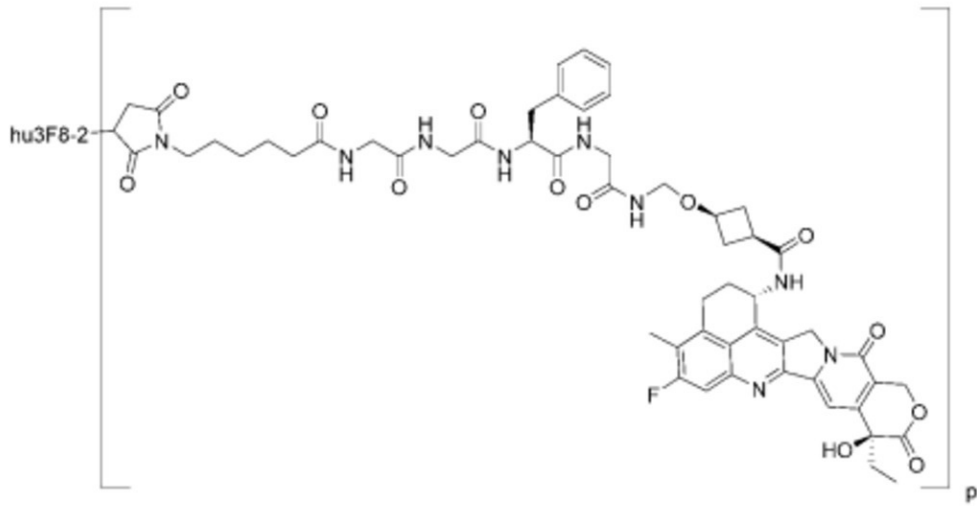
A b は、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載される通りである〕

から選択される、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか 1 項に記載の抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

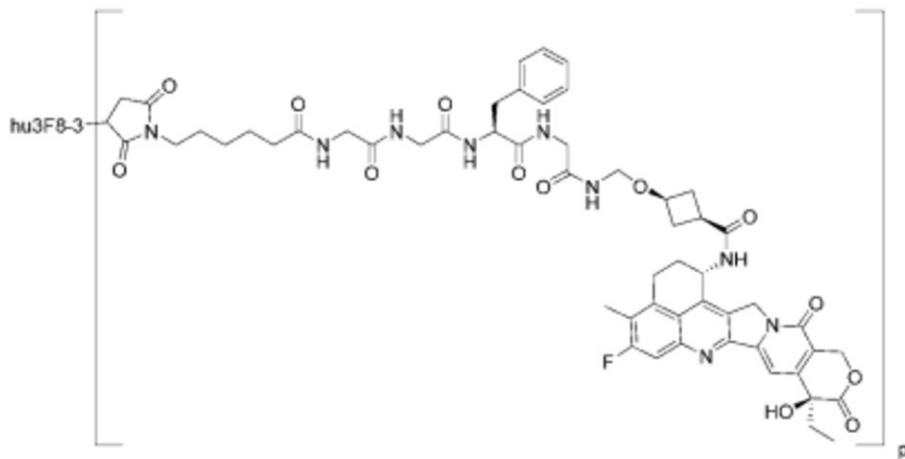
【請求項 2 6】

50

抗H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物であって、抗H e r 3 抗体－薬物結合体が、
【化 2 2 】



10



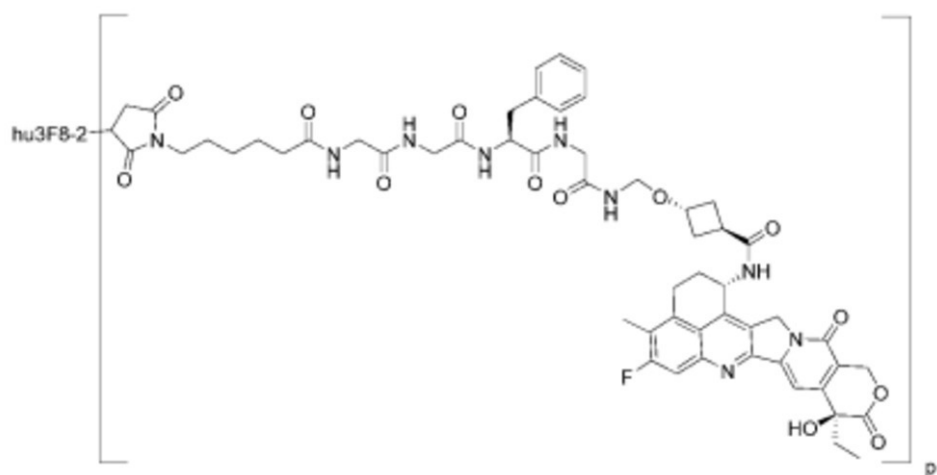
20

30

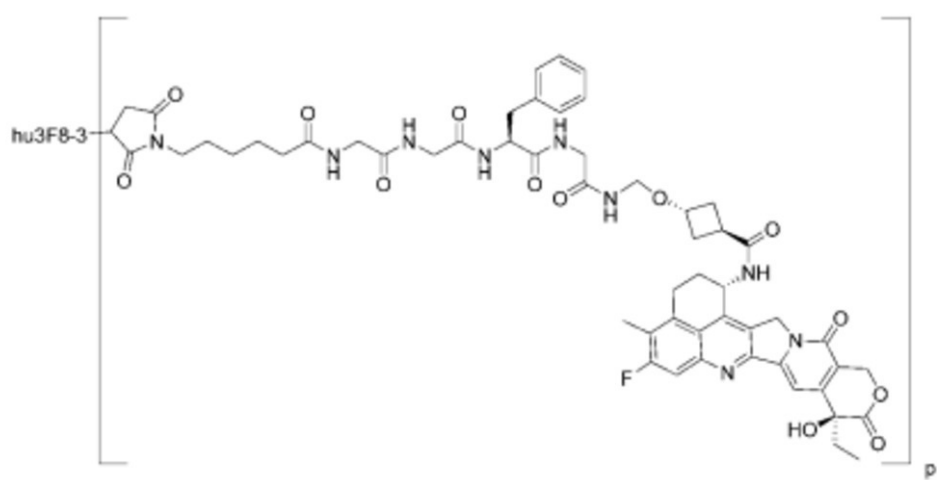
40

50

【化 2 3】



10



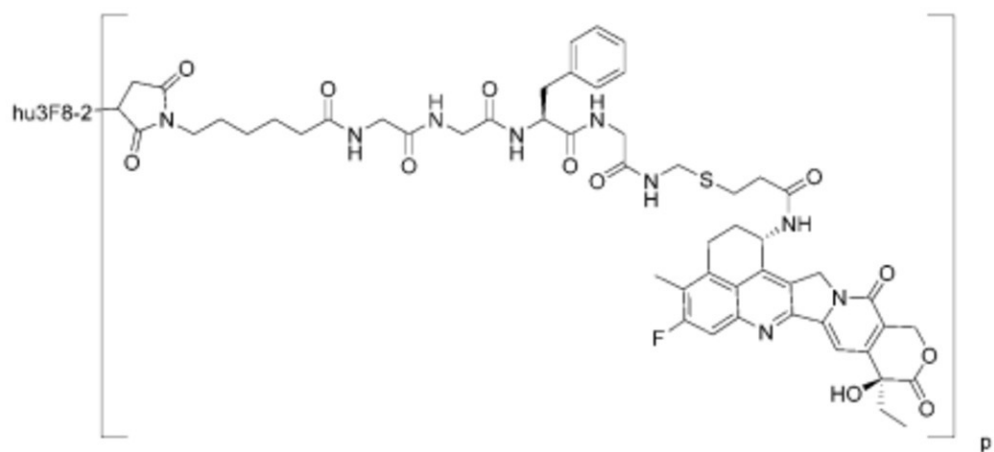
20

30

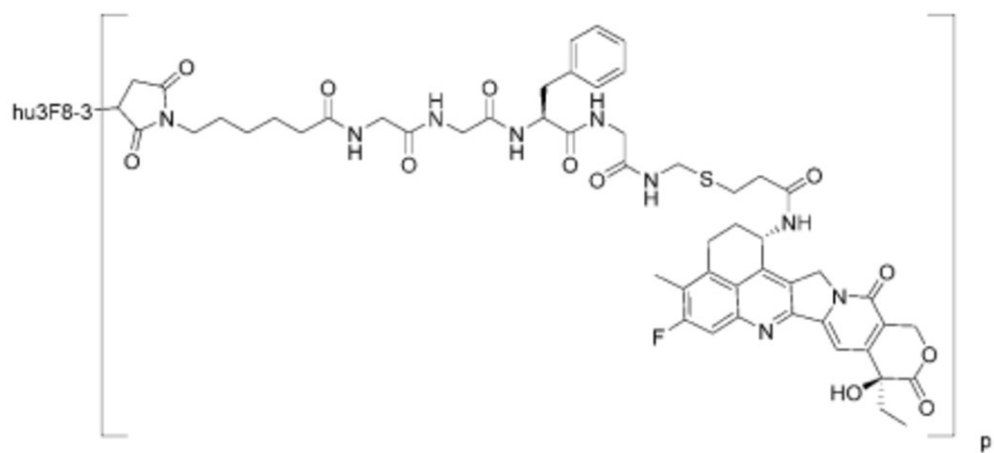
40

50

【化 2 4】



10



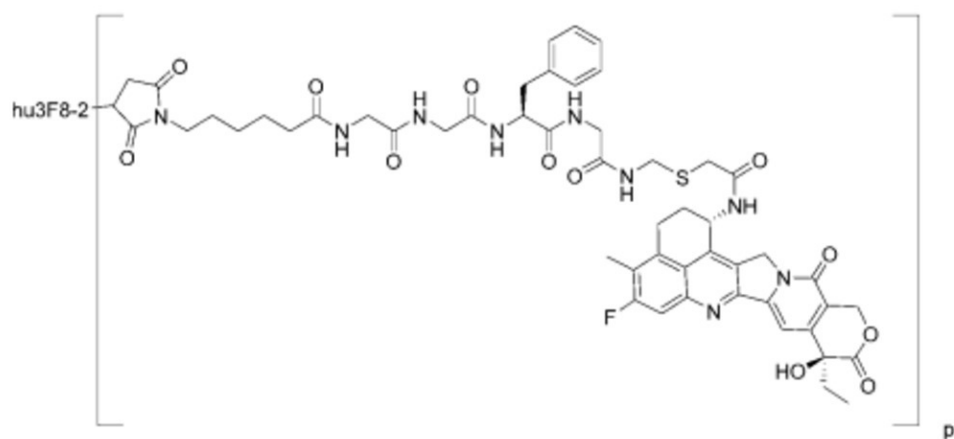
20

30

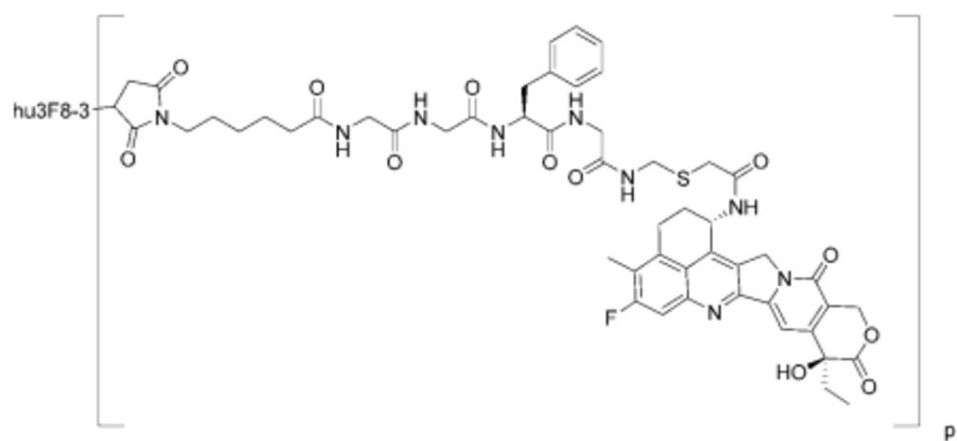
40

50

【化 2 5】



10



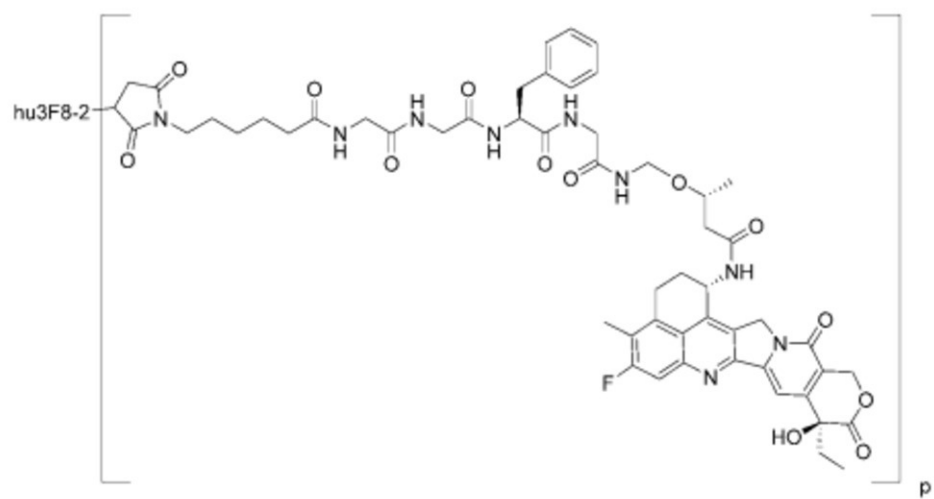
20

30

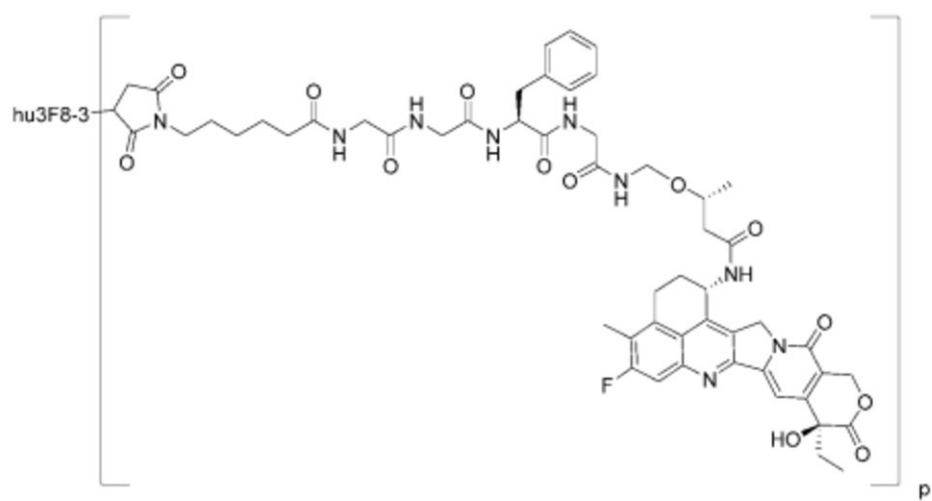
40

50

【化 2 6】



10



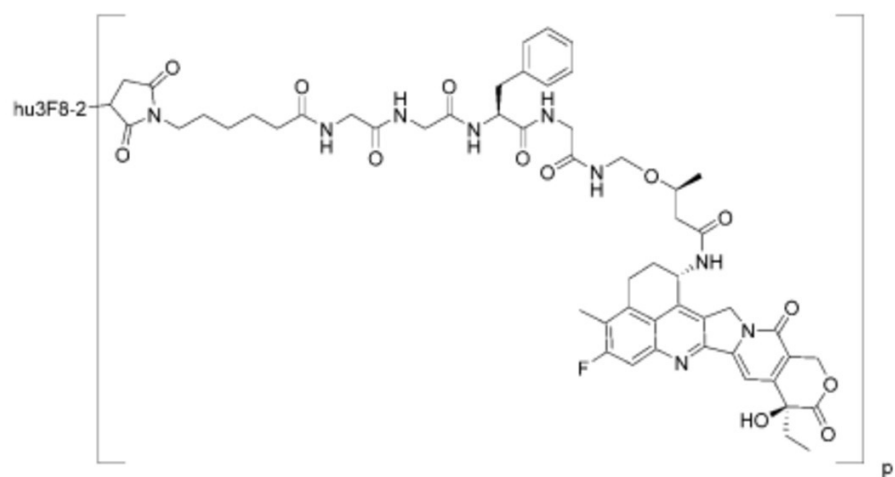
20

30

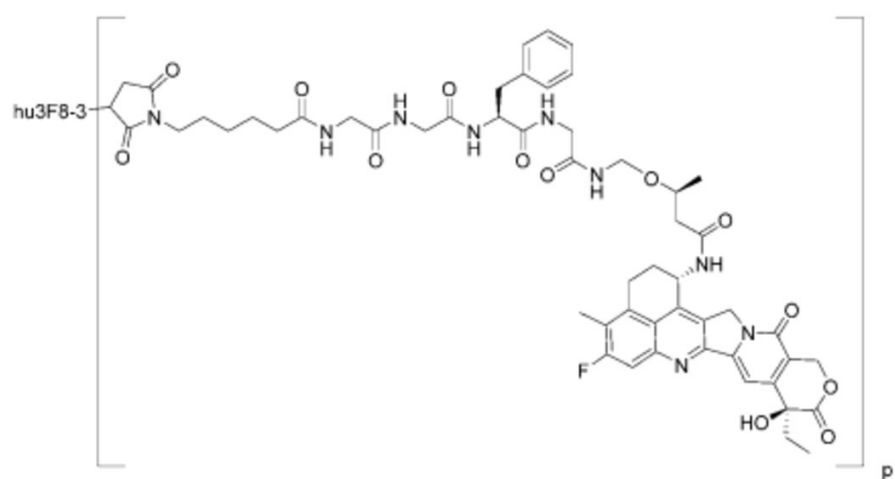
40

50

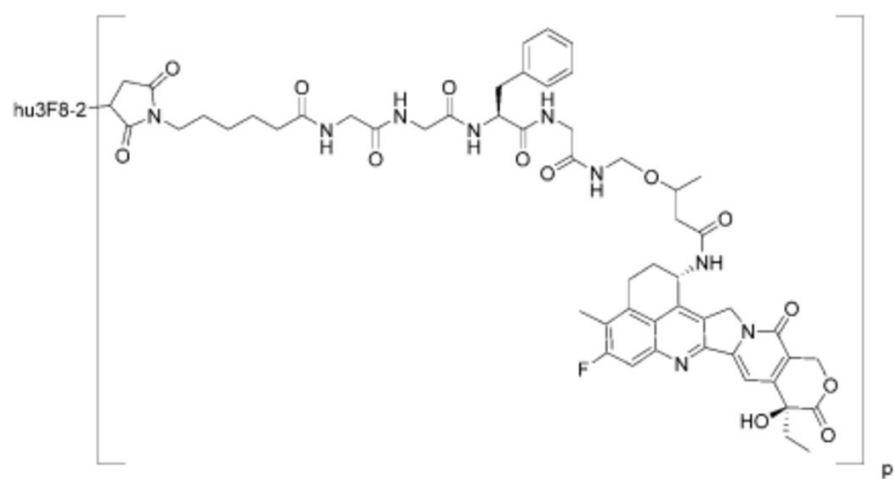
【化 2 7】



10



20

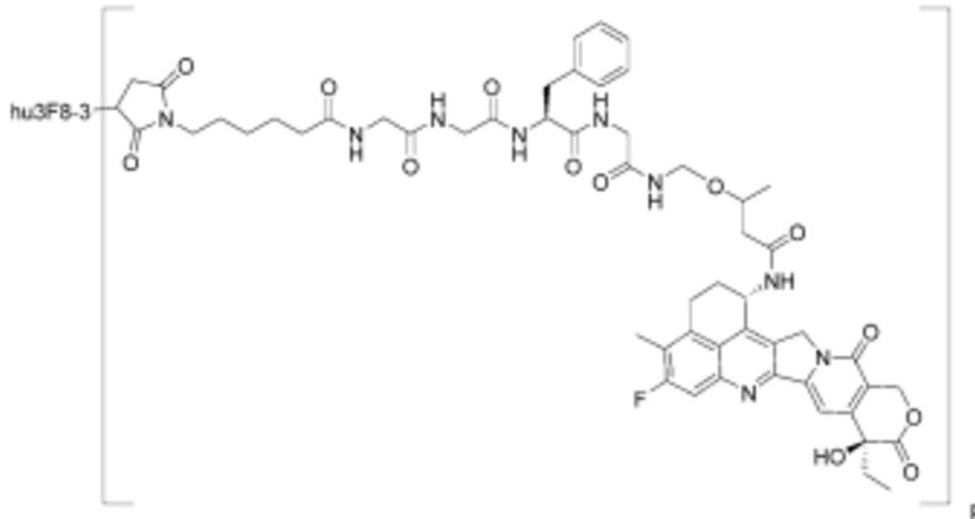


30

40

50

【化 28】



10

〔式中、

p は、平均接続数を表し、p は、1～10の整数又は小数、好ましくは3～8の整数又は小数から選択される〕

から選択される、抗Her3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物。

20

【請求項27】

請求項1～26のいずれか1項に記載の抗Her3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物と、薬学的に許容される担体又は賦形剤とを含む医薬組成物。

【請求項28】

Her3が介在する疾患又は状態を治療及び／又は予防するための医薬の調製における、請求項1～26のいずれか1項に記載の抗Her3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物、あるいは請求項27に記載の医薬組成物の使用であって、好ましくは、疾患又は状態はがんである；より好ましくは、がんは、肺がん、腎臓がん、尿路がん、結腸直腸がん、前立腺がん、多形膠芽腫、卵巣がん、膵臓がん、乳がん、黒色腫、肝臓がん、膀胱がん、胃がん、及び食道がんから選択される使用。

30

【請求項29】

Her3が媒介する疾患又は状態を治療及び／又は予防する方法であって、請求項1～26のいずれか1項に記載の抗Her3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物、あるいは請求項27に記載の医薬組成物を必要とする対象に投与することを含み、好ましくは、疾患又は状態はがんである；より好ましくは、がんは肺がん、腎臓がん、尿路がん、結腸直腸がん、前立腺がん、多形膠芽腫、卵巣がん、膵臓がん、乳がん、黒色腫、肝臓がん、膀胱がん、胃がん及び食道がんから選択される方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、Her3に特異的に結合する抗体－薬物結合体及びそれを含む組成物を提供する。本発明の抗体－薬物結合体の使用方法及びその使用も提供する。

【背景技術】

【0002】

上皮細胞増殖因子受容体（EGFR）は分子量約170kDaの大きな膜貫通型糖タンパク質であり、ErbB受容体ファミリーの一員である。EGFR受容体自体はチロシンキナーゼであり、EGFやTNF-αなどのリガンドと結合した後に二量体を形成し、リ

50

ン酸化の伝達を介して下流のシグナル（MAPK、PI3K、Statなどの経路）を活性化することで、細胞増殖が維持され、細胞分裂及び増殖が促進される。ErbBファミリー受容体は保存的であるため、EGFRは同ファミリーの他のタンパク質（Her2、Her3、Her4など）とヘテロ二量体を形成することもでき、それによって細胞増殖をより広く制御する。

【0003】

Her3はErbBファミリーの一員であり、細胞増殖、腫瘍転移、薬剤耐性において重要な役割を果たしている。EGFRとHer2を標的とする薬剤は、様々ながんの緩和において大きな臨床的利益を示しているが、がん治療のための抗Her3抗体を開発するこれまでの努力は繰り返し失敗しており、Her3のみの治療とその懸案であるアプローチでは、腫瘍増殖を抑制するのに十分でない可能性を示唆している。

10

【0004】

抗体薬物結合体（ADC）は、抗体又はその抗原結合断片（標的化）、リンカー、低分子薬物の3つの部分から構成される。抗体又はその抗原結合断片は、切断可能又は非切断可能なリンカーを介して、細胞毒性を有する細胞毒素などの生理活性低分子薬物と結合する。これにより、抗体又はその抗原結合断片の標的細胞（標的細胞）に対する特異性、あるいは高発現抗原に対する結合特異性、及び低分子薬物の高効率性が有効に利用され、非標的細胞に対する毒性の副作用が軽減又は回避される。すなわち、腫瘍用抗体薬物結合体は、従来の腫瘍用化学療法薬と比較して、腫瘍細胞を正確に標的とし、非腫瘍細胞への影響を低減することができる。

20

【0005】

当該技術分野では、親和性、特異性などに優れた抗Her3抗体－薬物結合体に対するニーズが残される。

【発明の概要】

【0006】

一態様では、本出願は、抗Her3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物を提供し、ここで、抗Her3抗体－薬物結合体は、式（I）：

$$Ab - (L - M - D)_p \quad (I)$$

の構造を有し、式中、

L及びMは、リンカー単位であり；

Dは、細胞毒性薬であり；

pは、平均接続数を表し、pは、1～10の整数又は小数、好ましくは3～8の整数又は小数から選択され；

Abは、抗Her3抗体又はその抗原結合断片であり、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、配列番号1、配列番号2及び配列番号3にそれぞれ示されるアミノ酸配列のHCDR1、HCDR2及びHCDR3を含み、軽鎖可変領域は、配列番号3、配列番号4、配列番号5及び配列番号6にそれぞれ示されるアミノ酸配列のLCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む。

【0007】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、抗Her3抗体－薬物結合体は、式（I-1）：

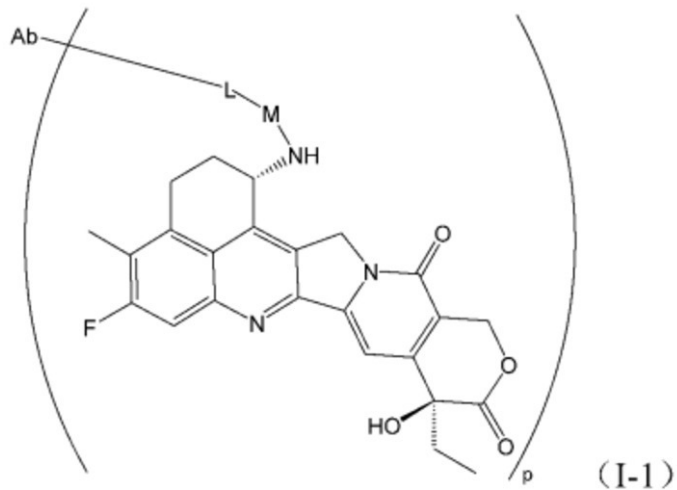
【0008】

30

40

50

【化 1】



10

【0009】

〔式中、

L 及び M は、リンカー単位であり；

p は、平均接続数を表し、n は、1～10の整数又は小数、好ましくは3～8の整数又は小数から選択され；

20

Ab は、抗 Her3 抗体又はその抗原結合断片であり、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、配列番号1、配列番号2及び配列番号3にそれぞれ示されるアミノ酸配列の HCDR1、HCDR2 及び HCDR3 を含み、軽鎖可変領域は、配列番号3、配列番号4、配列番号5及び配列番号6にそれぞれ示されるアミノ酸配列の LCDR1、LCDR2 及び LCDR3 を含む〕の構造を有する。

【0010】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 Her3 抗体又はその抗原結合断片は、

(I) 配列番号7に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する重鎖可変領域、及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する軽鎖可変領域；又は

30

(II) 配列番号9に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%、もしくは99%の同一性を有する重鎖可変領域、及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する軽鎖可変領域；又は

(III) 配列番号10に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する重鎖可変領域、及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する軽鎖可変領域を含む。

40

【0011】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 Her3 抗体又はその抗原結合断片は、

(I) 配列番号7に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域；又は

(II) 配列番号9に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域；又は

(III) 配列番号10に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域

50

を含む。

【0012】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗Her3抗体又は抗原結合断片は、マウス抗体又はその断片、キメラ抗体又は抗原結合断片、ヒト化抗体又は抗原結合断片、あるいは完全ヒト抗体又は抗原結合断片である。

【0013】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗Her3抗体又はその抗原結合断片は、ヒト化抗体又はその断片である。

【0014】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗Her3抗体又はその抗原結合断片は、Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、scFv、F(ab)₂sdAb、二特異性抗体、又は線状抗体から選択される。

【0015】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗Her3抗体はモノクローナル抗体である。

【0016】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4タイプのものである。

【0017】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗体はIgG1タイプである。

【0018】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗Her3抗体又はその抗原結合断片は、

(1) 配列番号11に示されるアミノ酸配列の重鎖、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する重鎖、及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する軽鎖；又は

(2) 配列番号13に示されるアミノ酸配列の重鎖、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する重鎖、及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する軽鎖；又は

(3) 配列番号14に示されるアミノ酸配列の重鎖、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する重鎖、及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖、又はそれと少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する軽鎖

を含む。

【0019】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗Her3抗体又はその抗原結合断片は、

(1) 配列番号11に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖；又は

(2) 配列番号13に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖；又は

(3) 配列番号14に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖

を含む。

【0020】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、

Mは、 $-L^2-L^3-X-L^1-$ であり；

L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

L^3 は、 $-(C(R^{1a})(R^{1b}))_m-$ であり、mは、0、1、2又は3から選択され、ここで、 L^3 はメチレン単位を含む場合、 L^3 の0又は1個のメチレン単位は、-

10

20

30

40

50

C (O) - 又は - C (S) - で置換され得；

L^1 は、 $-(C(R^{2a})(R^{2b}))_n-$ であり、 n は、1、2 又は 3 から選択され、ここで、 L^1 はメチレン単位を含み得る場合、 L^1 の 0 又は 1 個のメチレン単位は、 $-C(O)-$ 又は $-C(S)-$ で置換され得；

X は、3～6 員飽和カルボシクリル、3～6 員飽和ヘテロシクリル、又は単結合から選択され、ここで、3～6 員飽和カルボシクリル及び 3～6 員飽和ヘテロシクリルは、0、1、2、又は 3 個の R^{3a} で場合により置換され；

ここで、各 R^{1a} 、各 R^{1b} 、各 R^{2a} 、各 R^{2b} 、及び各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換され得る C_{1-6} 脂肪族基であり得、

各 R は、独立して水素又はハロゲンであり得る。

10

【0021】

一部の実施形態では、本明細書に記載の 3～6 員飽和ヘテロシクリルは、N、O、及び S から選択される 1～3 個のヘテロ原子を含む。

【0022】

一部の実施形態では、本発明における L^3 、 X は同時に単結合ではない。

【0023】

一部の実施形態では、本発明における L^2 は $-O-$ である。一部の実施形態では、本発明における L^2 は $-S-$ である。

【0024】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 Her 3 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、リンカー単位 M は、 L^2 末端でリンカー単位 L に連結され、 L^1 末端で細胞毒性薬 D に連結される。

20

【0025】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 Her 3 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L^3 は、単結合、 $-C(R^{1a})(R^{1b})-$ 、又は $-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-$ から選択され、

ここで、各 R^{1a} 及び各 R^{1b} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換されてもよい C_{1-6} 脂肪族基であり得、

ここで、各 R は、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

30

【0026】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 Her 3 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L^3 は、単結合、 $-C(R^{1a})(R^{1b})-$ 、又は $-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-$ から選択され、

ここで、各 R^{1a} 及び各 R^{1b} は、独立して、水素、ハロゲン、 CH_3 、又は CH_2CH_3 であり得る。

【0027】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 Her 3 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L^3 は、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、又は $-C(CH_3)_2CH_2-$ から選択される。

40

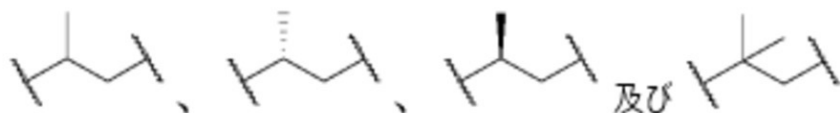
【0028】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 Her 3 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L^3 は、以下から選択される。

【0029】

50

【化 2】



【0030】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、 L^3 は、単結合から選択される。

10

【0031】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L^1 は、 $-C(R^{2a})(R^{2b})-$ 、 $-C(R^{2a})(R^{2b})C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択され、ここで、各 R^{2a} 及び各 R^{2b} は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換されてもよい C_{1-6} 脂肪族基であり得、

ここで、各Rは独立して水素又はハロゲンであり得る。

【0032】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L^1 は、 $-C(R^{2a})(R^{2b})-$ 、 $-C(R^{2a})(R^{2b})C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択され、ここで、各 R^{2a} 及び各 R^{2b} は、独立して、水素、ハロゲン、 CH_3 、又は CH_2CH_3 であり得る。

20

【0033】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L^1 は、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)-$ 、 $-CH(CH_3)C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択される。

【0034】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L^1 は、 $-C(O)-$ から選択される。

30

【0035】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、Xは、0、1、2又は3個の R^{3a} で場合により置換される3～6員飽和カルボシクリル又は単結合であり、ここで、各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換されてもよい C_{1-6} 脂肪族基であり得、

ここで、各Rは、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

【0036】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、Xは、0、1、2又は3個の R^{3a} で場合により置換される3～6員飽和カルボシクリル又は単結合であり、ここで、各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、 CH_3 、又は CH_2CH_3 であり得る。

40

【0037】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、Xは、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、又は単結合である。

【0038】

50

一部の実施形態では、本明細書には、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、X は、単結合である。

一部の実施形態では、本明細書には、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、X は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、又はシクロヘキシルであり、好ましくはシクロブチルである。

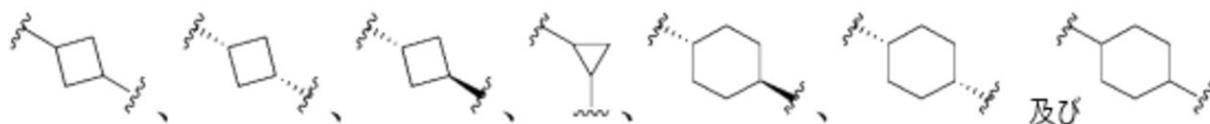
【0039】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、X は、

【0040】

【化3】

10



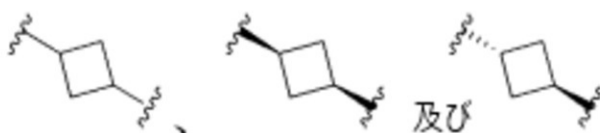
【0041】

であり、好ましくは、X は、以下である。

【0042】

【化4】

20



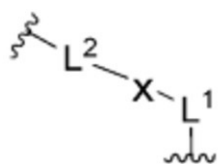
【0043】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、－M－は、

【0044】

【化5】

30



【0045】

から選択され、ここで、

40

L² は、－O－又は－S－であり；

X は、0、1、2 又は 3 個の R^{3a} で場合により置換される 3～6 員飽和カルボシクリルから選択され；

L¹ は、－C(R^{2a})(R^{2b})－、－C(R^{2a})(R^{2b})C(O)－、又は－C(O)－から選択され、

ここで、各 R^{2a}、各 R^{2b}、又は各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換されてもよい C₁－6 脂肪族基であり得、

ここで、各 R は、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

【0046】

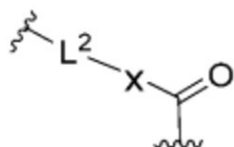
一部の実施形態では、本明細書には、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その

50

薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、 $-M-$ は、

【0047】

【化6】



【0048】

から選択され、ここで、

L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

X は、0、1、2又は3個の R^{3a} で場合により置換される3～6員飽和カルボシクリルから選択され、

ここで、各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換されてもよい C_{1-6} 脂肪族基であり得、

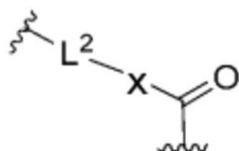
ここで、各 R は、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

【0049】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、 $-M-$ は、

【0050】

【化7】



【0051】

から選択され、ここで、

L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

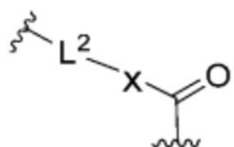
X は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル又はシクロヘキシルから選択される。

【0052】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、 $-M-$ は、

【0053】

【化8】



【0054】

から選択され、ここで、

L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

X は、以下から選択される。

【0055】

10

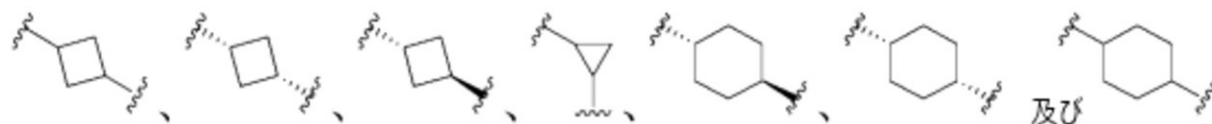
20

30

40

50

【化 9】



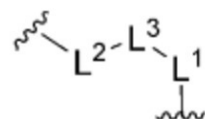
【0056】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、-M-は、

10

【0057】

【化10】



【0058】

から選択され、ここで、

L^2 は、-O-又は-S-であり；

20

L^3 は、-C(R^{1a})(R^{1b})-又は-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-から選択され；

L^1 は、-C(R^{2a})(R^{2b})-、-C(R^{2a})(R^{2b})C(O)-、又は-C(O)-から選択され、

ここで、各R^{1a}、各R^{1b}、各R^{2a}、又は各R^{2b}は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換されてもよいC₁-6脂肪族基であり得、

ここで、各Rは、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

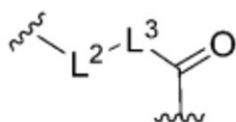
【0059】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、-M-は、

30

【0060】

【化11】



【0061】

から選択され、ここで、

L^2 は、-O-又は-S-であり；

40

L^3 は、-C(R^{1a})(R^{1b})-又は-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-から選択され、

ここで、各R^{1a}及び各R^{1b}は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換されてもよいC₁-6脂肪族基であり得、

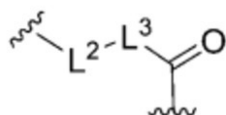
ここで、各Rは、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、-M-は、

【0062】

50

【化 1 2】



【0063】

から選択され、ここで、

 L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

L^3 は、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、又は $-C(CH_3)_2CH_2-$ から選択される。

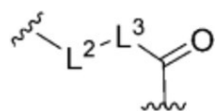
10

【0064】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 Her 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、 $-M-$ は、

【0065】

【化 1 3】



20

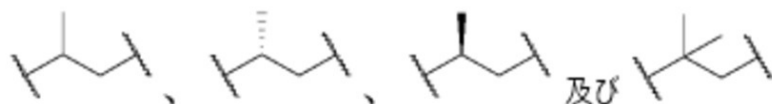
【0066】

から選択され、ここで、

 L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり； L^3 は、以下から選択される。

【0067】

【化 1 4】



30

【0068】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 Her 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、リンカー単位 M は、 L^2 末端でリンカー単位 L に連結される。

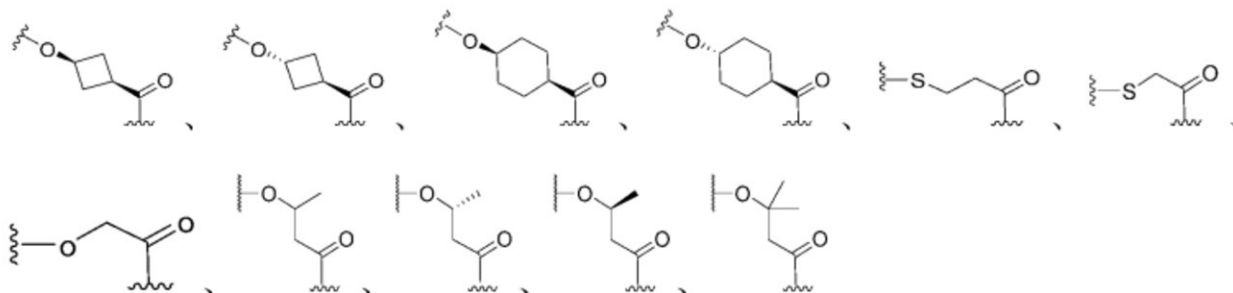
【0069】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 Her 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、 $-M-$ は、以下から選択される。

。

【0070】

【化 1 5】



40

50

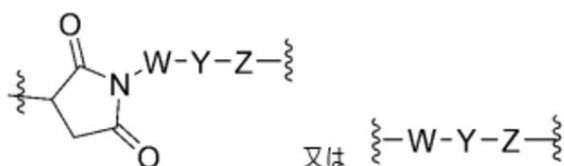
【0071】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、Lは、 $-L_a-L_b-L_c-$ であり、

$-L_a-$ は、

【0072】

【化16】



10

【0073】

であり、ここで、

Wは、 $-(C(R^{wa})(R^{wb}))_{wn}-$ であり、Yは、 $-(OCH_2CH_2)_{yn}-O_{yp}-$ であり、Zは、 $-(C(R^{za})(R^{zb}))_{zn}$ であり、

ここで、 wn は、1、2、3又は6であり、

Wの1メチレン単位は、各々独立して、 $-Cyr-$ 、 $-N(R^{wx})C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^{wx})-$ 又は $-C(O)-$ で置換され；

20

ここで、 yn は、0、4又は8であり、 yp は、0又は1であり；

ここで、 zn は、1、2又は3であり、

Zの1メチレン単位は、各々独立して、 $-Cyr-$ 、 $-N(R^{zx})C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^{zx})-$ 又は $-C(O)-$ で置換され；

$-Cyr-$ は、3～10員飽和カルボシクリレンであり、ここで、 $-Cyr-$ は非置換又は独立して1～3個の置換基 R^{cx} で置換され；

ここで、各 R^{wa} 、各 R^{wb} 、各 R^{za} 、各 R^{zb} 、各 R^{wx} 、各 R^{zx} 及び各 R^{cx} は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^r$ 、又は R^r で場合により置換される C_{1-6} 脂肪族基であり、

30

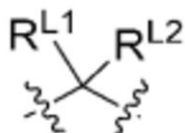
ここで、各 R^r は、独立して、水素、ハロゲン又は C_{1-6} 脂肪族基であり；

$-L_b-$ は、2～7個のアミノ酸からなるペプチド残基であり、 $-L_b-$ のペプチド残基は、フェニルアラニン、グリシン、アラニン、バリン、シトルリン、リジン、セリン、グルタミン酸及びアスパラギン酸からなる群から選択されるアミノ酸から形成されるペプチド残基であり；

$-L_c-$ は、

【0074】

【化17】



40

【0075】

であり、ここで、 R^{L1} 及び R^{L2} は、各々独立して、水素、ハロゲン、 $-OH$ 及び C_{1-6} 脂肪族基からなる群から選択される。

【0076】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、Lは、 $-L_a-L_b-L_c-$ であり、

50

【0082】

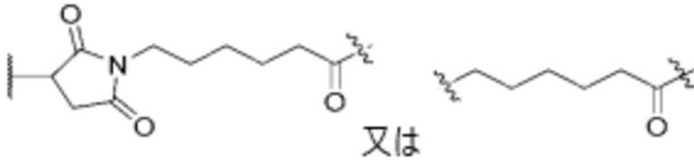
であり、ここで、 R^{L1} 及び R^{L2} は、各々独立して、水素、ハロゲン、 $-OH$ 及び C_{1-6} 脂肪族基からなる群から選択される。

【0083】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 $Her3$ 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 $-L_a-$ は、

【0084】

【化21】



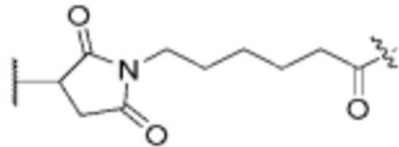
10

【0085】

であり、好ましくは

【0086】

【化22】



20

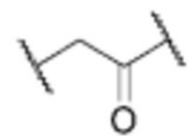
【0087】

である。

一部の実施形態では、本明細書には、抗 $Her3$ 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 $-L_a-$ は、以下である。

【0088】

【化23】



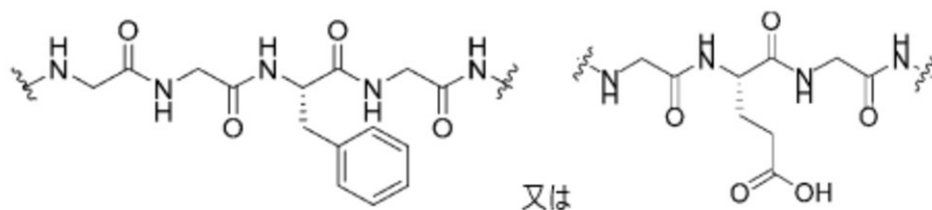
30

【0089】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 $Her3$ 抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 $-L_b-$ は、

【0090】

【化24】



40

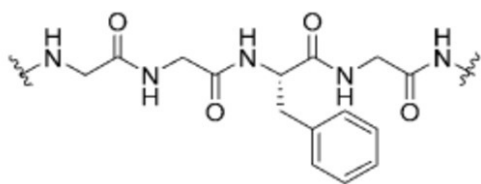
【0091】

であり、好ましくは

50

【 0 0 9 2 】

【 化 2 5 】



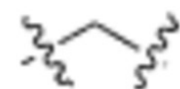
【 0 0 9 3 】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、－ L c － は、以下である。

10

【 0 0 9 4 】

【 化 2 6 】



【 0 0 9 5 】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるのは、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、リンカー単位 L は、L a 末端で A b に連結され、L c 末端でリンカー単位 M に連結される。

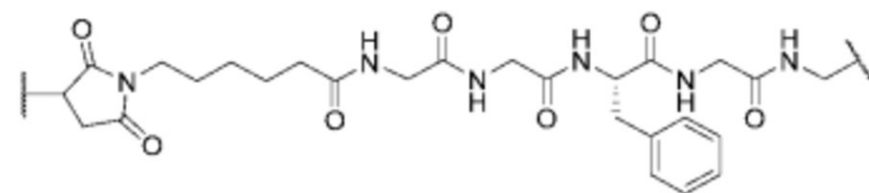
20

【 0 0 9 6 】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、L は、以下である。

【 0 0 9 7 】

【 化 2 7 】



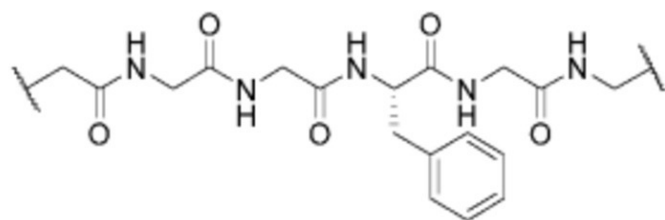
30

【 0 0 9 8 】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が提供され、L は、以下である。

【 0 0 9 9 】

【 化 2 8 】



40

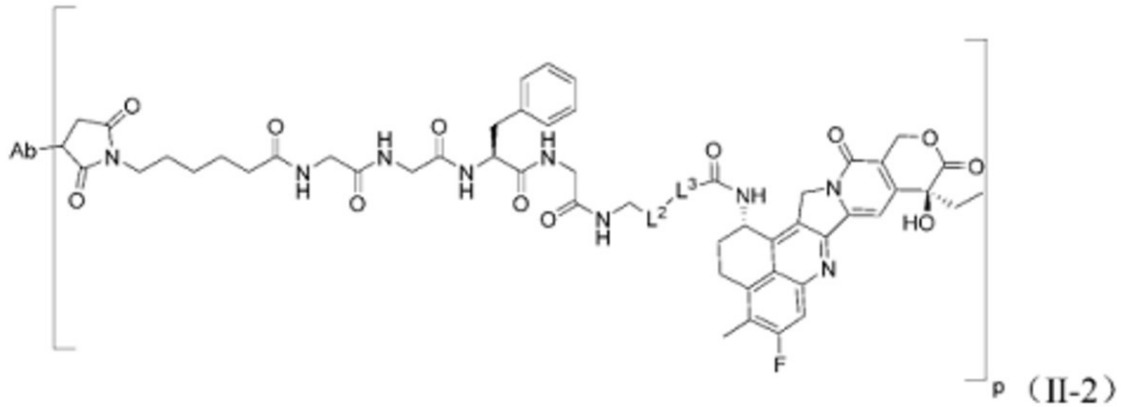
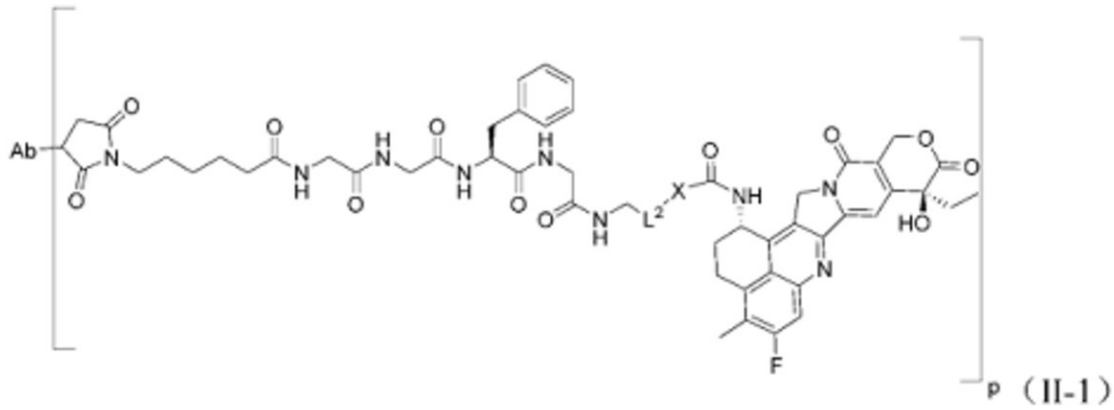
【 0 1 0 0 】

一部の実施形態では、本明細書には、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体は、式 (I I - 1) 又は (I I - 2) :

50

【 0 1 0 1 】

【 化 2 9 】



【 0 1 0 2 】

の構造を有し、ここで、

A b、L²、X、p、及びL³は、それぞれ本明細書の実施形態のいずれか1つに定義されている通りである。

一部の実施形態では、本明細書には、抗H e r 3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、抗H e r 3抗体－薬物結合体は、式（I I－1）又は（I I－2）：

【 0 1 0 3 】

10

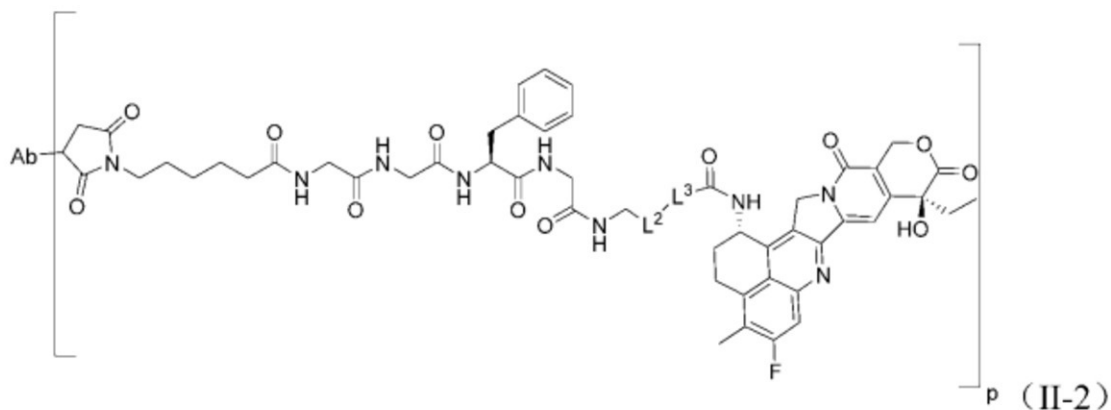
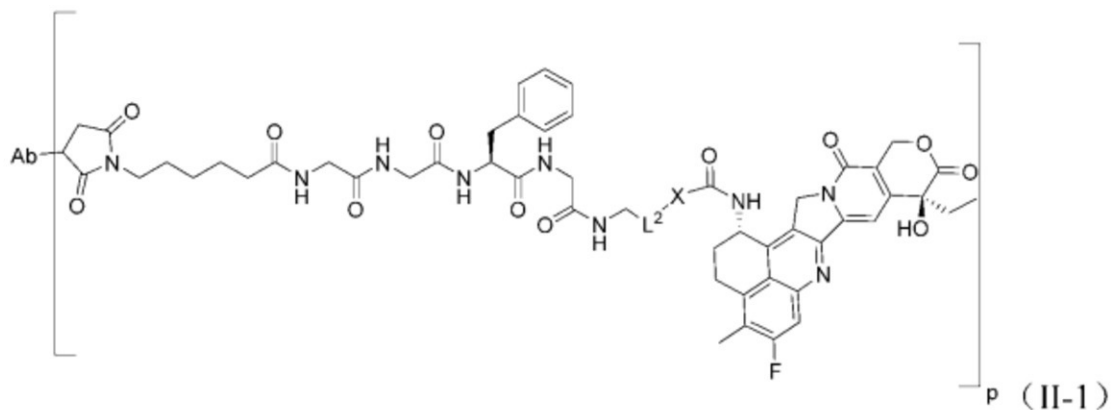
20

30

40

50

【化 3 0】



【0104】

の構造を有し、ここで、

p は、平均接続数を表し、p は、1～10の整数又は小数、好ましくは3～8の整数又は小数から選択され；

Ab は、本明細書の実施形態のいずれか1つに定義されている通りであり；

L² は、-O-又は-S-であり；

X は、0、1、2又は3個のR^{3a}で場合により置換される3～6員飽和カルボシクリルから選択され；

L³ は、-C(R^{1a})(R^{1b})-又は-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-から選択され、

ここで、各R^{1a}、各R^{1b}、又は各R^{3a}は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換されてもよいC₁₋₆脂肪族基であり得、

ここで、各Rは、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

【0105】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、抗Her3抗体-薬物結合体は、式(II-1)又は(II-2)：

【0106】

10

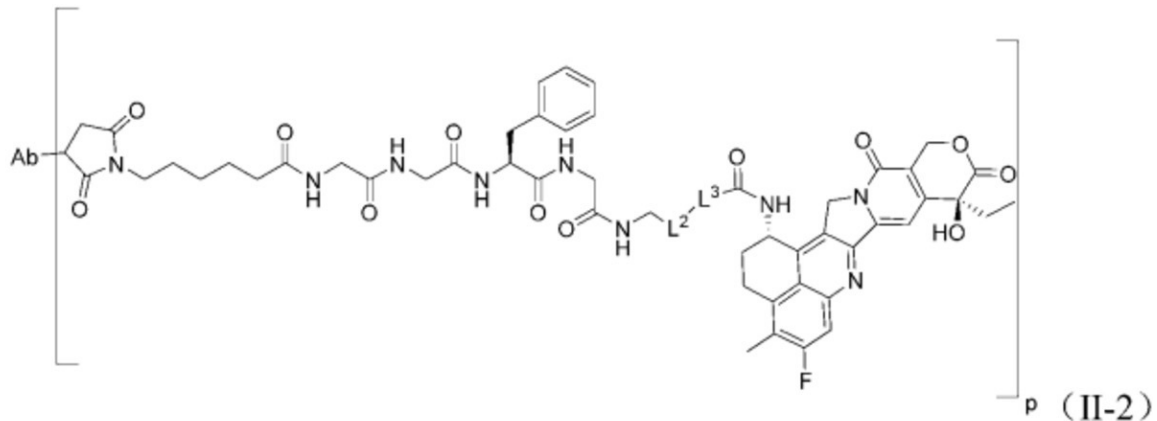
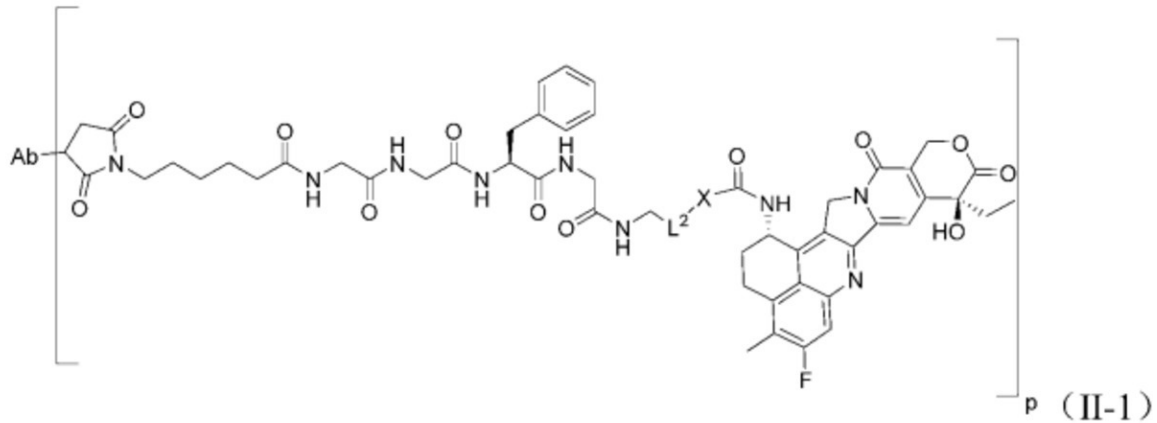
20

30

40

50

【化 3 1】



【0107】

の構造を有し、ここで、

p は、平均接続数を表し、p は、1～10の整数又は小数、好ましくは3～8の整数又は小数から選択され；

A b は、本明細書の実施形態のいずれか1つに定義されている通りであり；

L² は、－O－又は－S－であり；

X は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル又はシクロヘキシルから選択され；

L³ は、－CH₂－、－CH(CH₃)－、－C(CH₃)₂－、－CH₂CH₂－、－CH(CH₃)CH₂－、又は－C(CH₃)₂CH₂－から選択される。

【0108】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、抗Her3抗体－薬物結合体は、以下の構造式：

【0109】

10

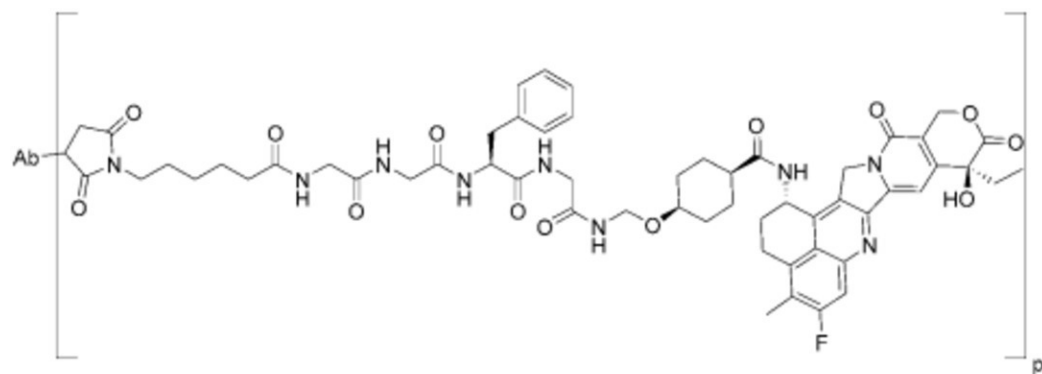
20

30

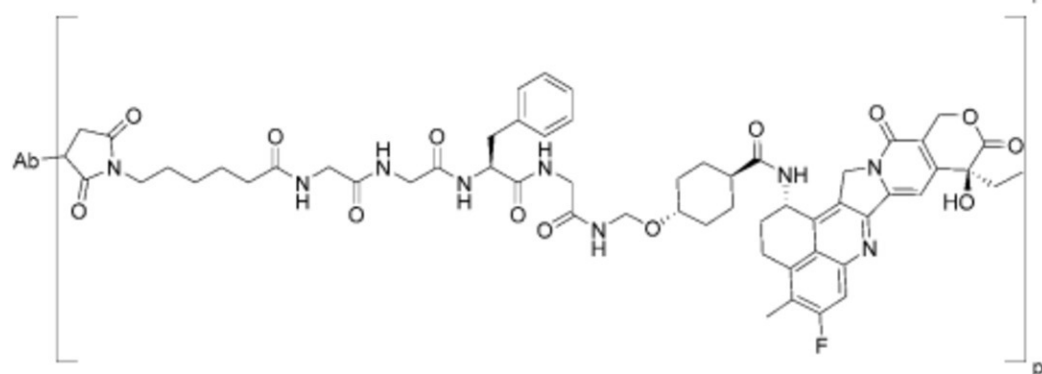
40

50

10



20

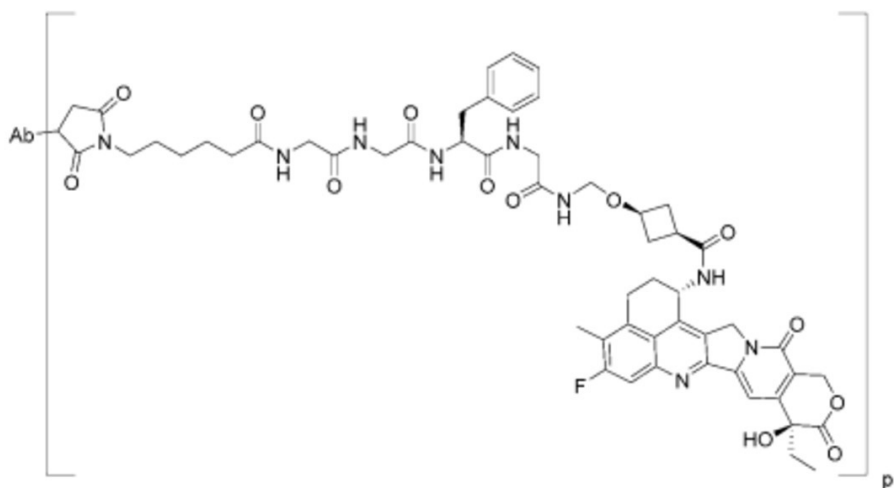


30

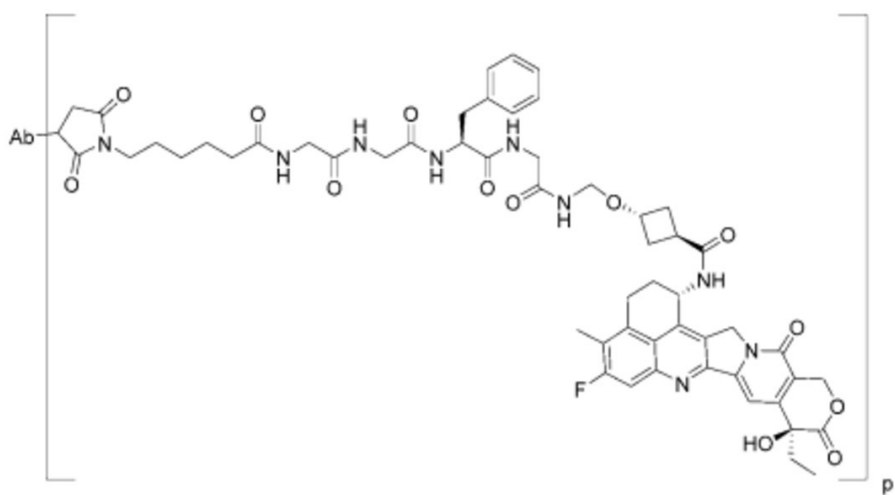
40

50

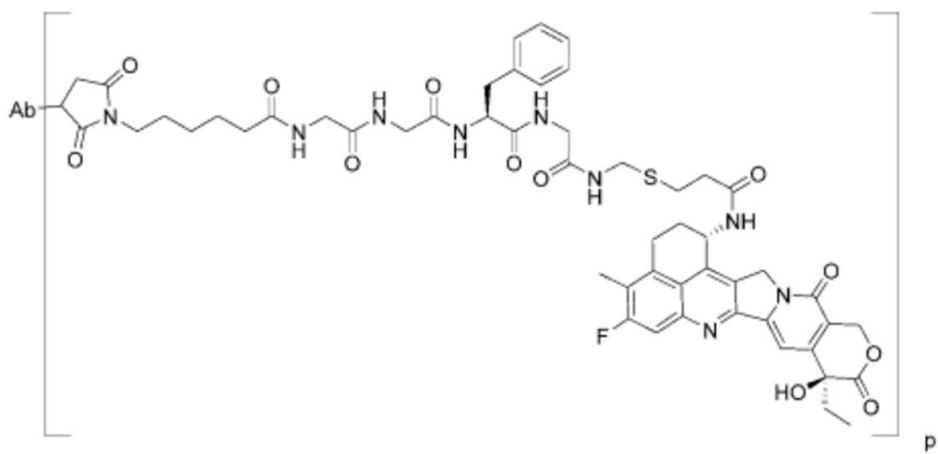
【化 3 3】



10



20



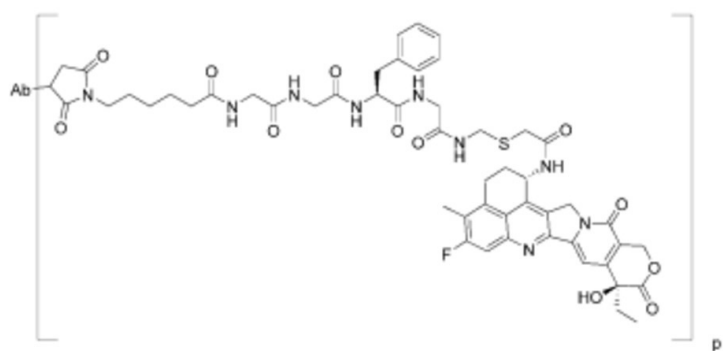
30

40

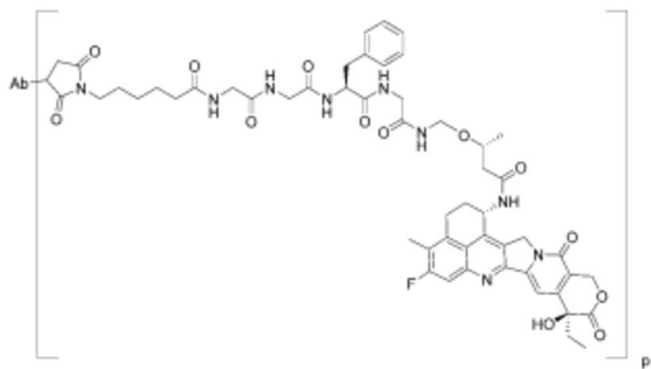
【 0 1 1 1】

50

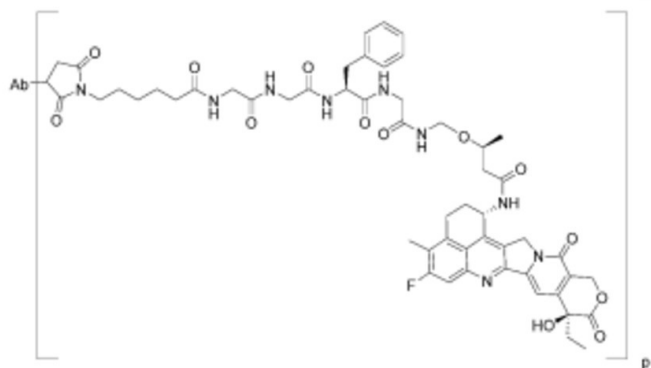
【化 3 4】



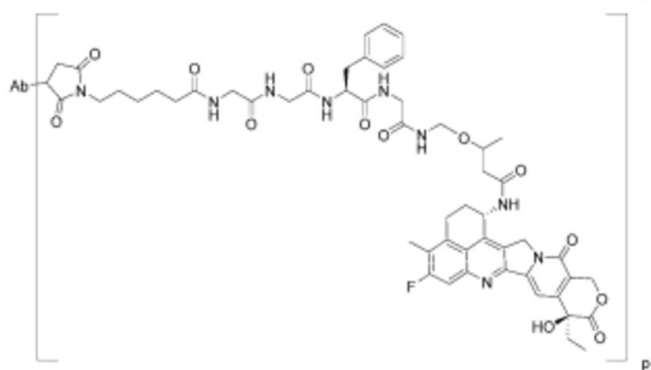
10



20



30

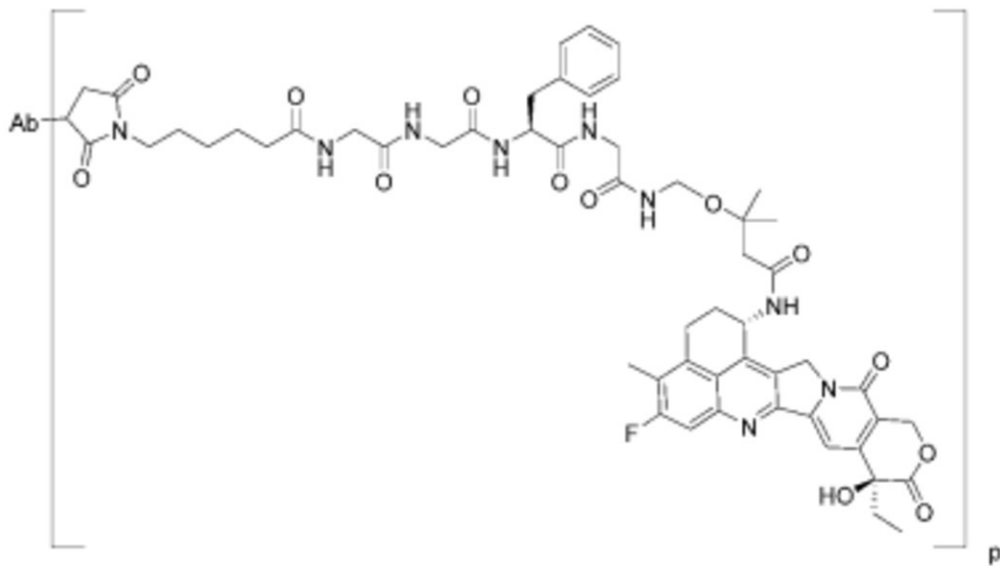


40

【 0 1 1 2 】

50

【化 3 5】



10

【 0 1 1 3 】

から選択され、ここで、

20

p は、平均接続数を表し、p は、1 ～ 1 0 の整数又は小数、好ましくは 3 ～ 8 の整数又は小数から選択され；

A b は、本明細書の実施形態のいずれか 1 つに定義されている通りである。

【 0 1 1 4 】

さらに別の態様では、本発明は、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物を提供し、ここで、抗 H e r 3 抗体－薬物結合体は、

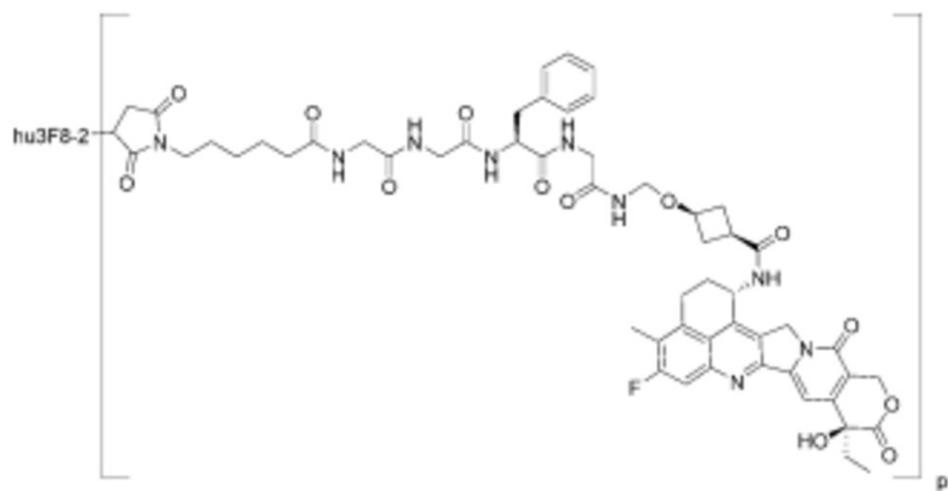
【 0 1 1 5 】

30

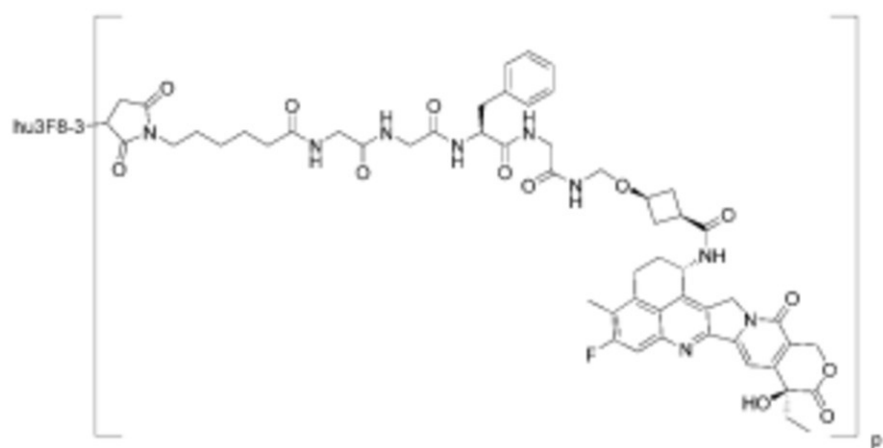
40

50

【化 3 6】



10



20

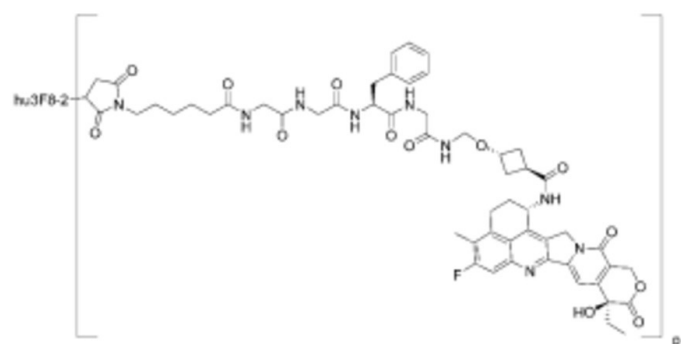
【 0 1 1 6】

30

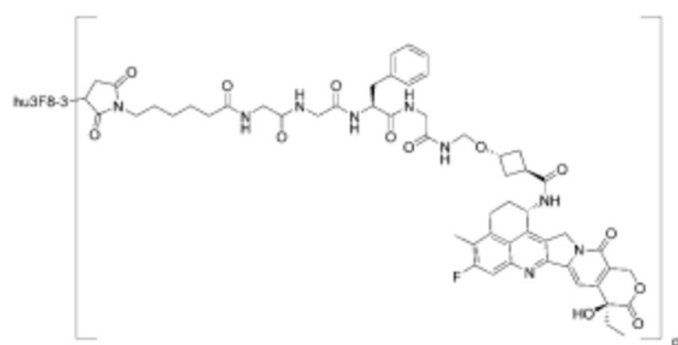
40

50

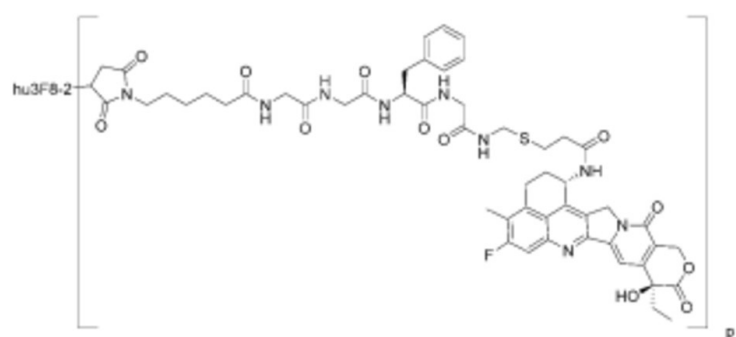
【化 3 7】



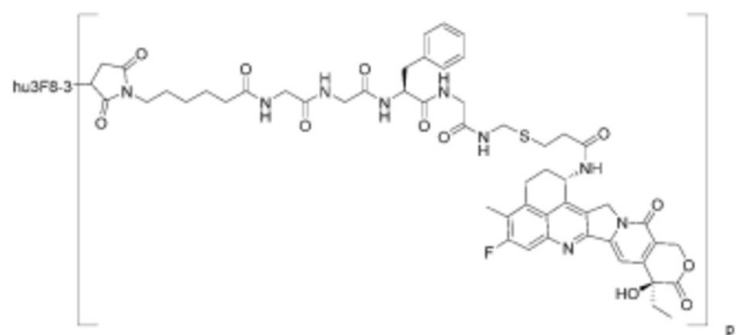
10



20



30

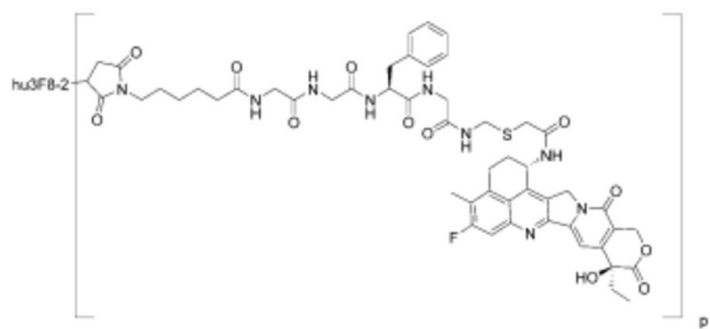


40

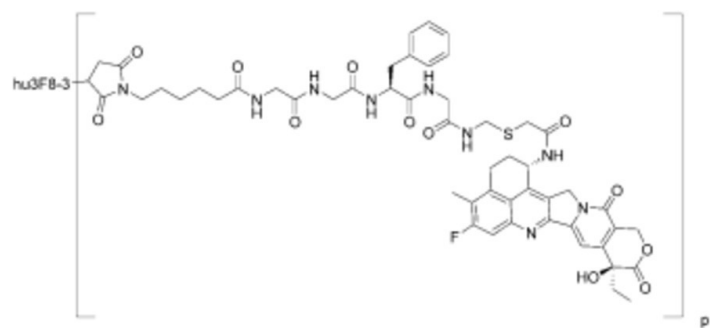
【 0 1 1 7】

50

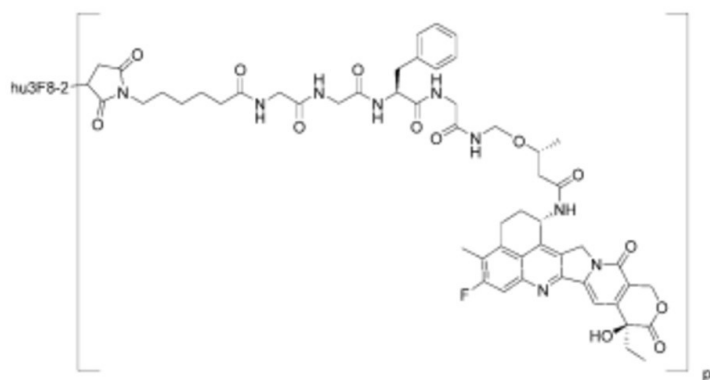
【化 3 8】



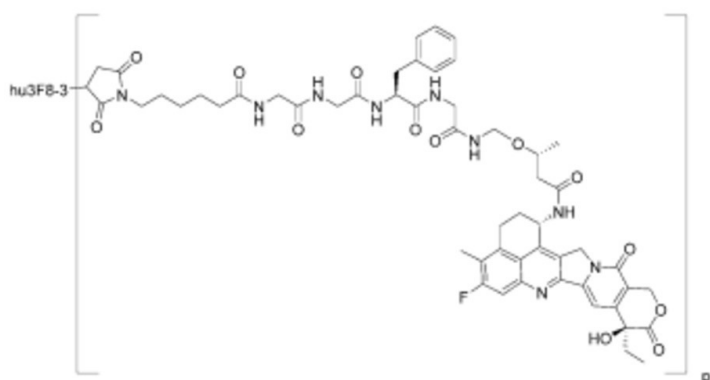
10



20



30

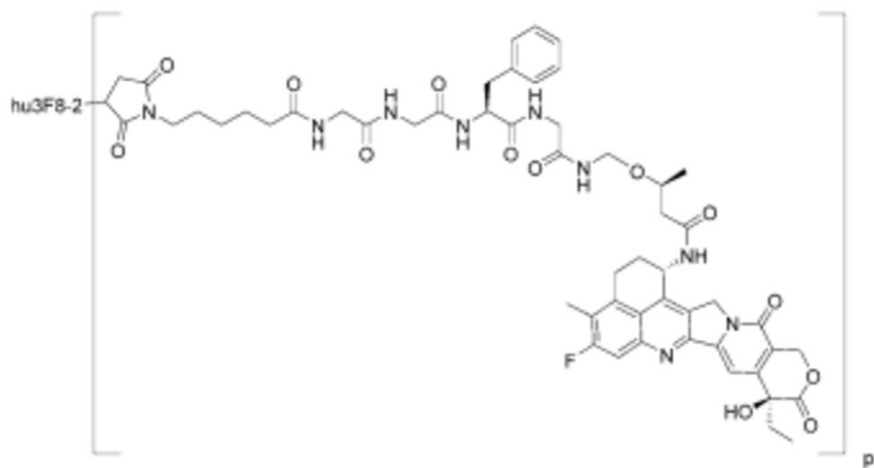


40

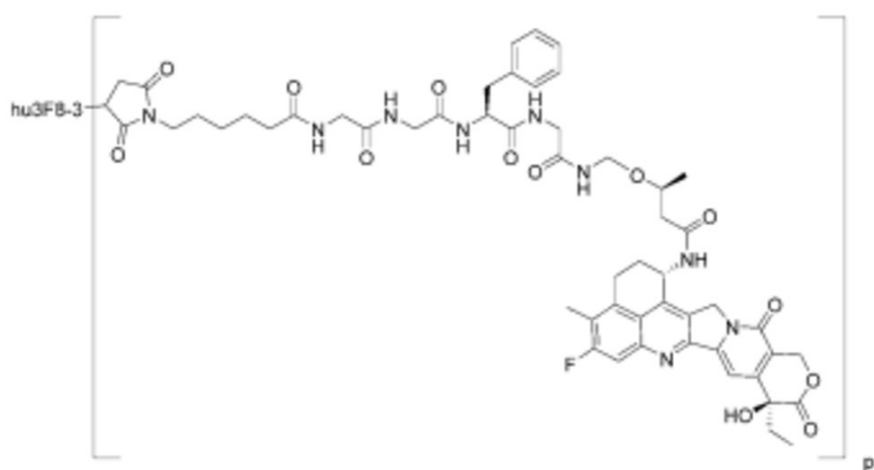
【 0 1 1 8】

50

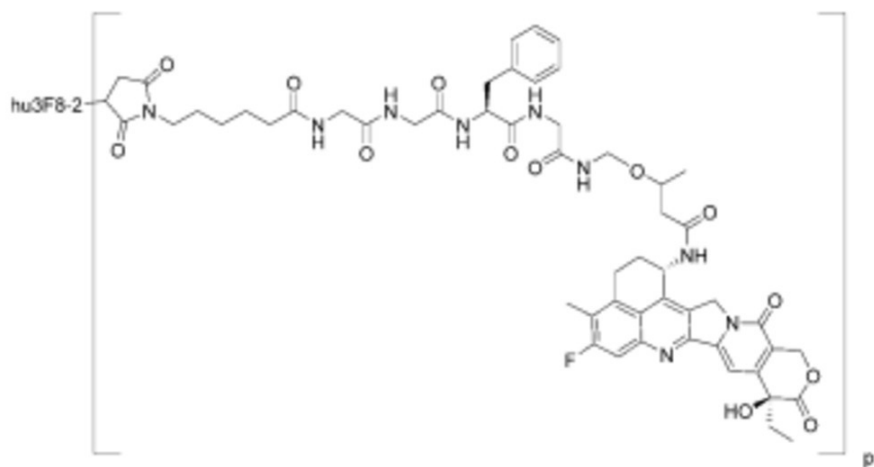
【化 3 9】



10



20



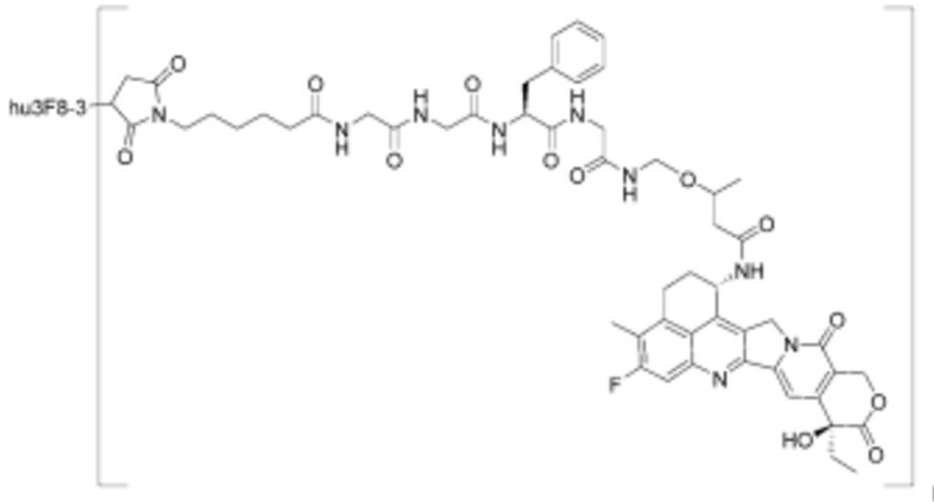
30

40

【 0 1 1 9】

50

【化 4 0】



10

【0120】

から選択され、ここで、

p は、平均接続数を表し、p は、1～10の整数又は小数、好ましくは3～8の整数又は小数から選択される。

20

【0121】

本発明におけるhu3F8-2及びhu3F8-3は抗Her2抗体である。抗Her2抗体hu3F8-2は、配列番号13に示される重鎖アミノ酸配列及び配列番号12に示される軽鎖アミノ酸配列を含み、抗Her2抗体hu3F8-3は、配列番号14に示される重鎖アミノ酸配列及び配列番号12に示される軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0122】

一部の実施形態では、本明細書に記載される平均接続数pは、2～8の整数又は小数とすることができる。例えば、平均接続数nは、3～8の整数又は小数とすることができる。例えば、平均接続数nは、1～2、2～3、3～4、4～5、5～6、6～7、7～8、8～9、又は9～10の整数又は小数とすることができる。

30

【0123】

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物と、薬学的に許容される担体又は賦形剤とを含む医薬組成物を提供する。

【0124】

さらに別の態様では、本発明は、Her3が介在する疾患又は状態を治療及び／又は予防するための医薬の調製における、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物、あるいは本明細書に記載の医薬組成物の使用を提供し、好ましくは、疾患又は状態はがんである。

【0125】

さらに別の態様では、本発明は、Her3を介する疾患又は状態を治療及び／又は予防するための方法を提供し、この方法は、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物、又は本明細書に記載の医薬組成物を、必要とする対象に投与することを含み、好ましくは、疾患又は状態はがんである。

40

【0126】

さらに別の態様では、本発明は、Her3が介在する疾患又は状態を治療及び／又は予防するための、本明細書に記載の抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物、あるいは医薬組成物を提供し、好ましくは、疾患又は状態はがんである。

【0127】

50

一部の実施形態では、本明細書に記載のがんは、肺がん、腎臓がん、尿路がん、結腸直腸がん、前立腺がん、多形膠芽腫、卵巣がん、膵臓がん、乳がん、黒色腫、肝臓がん、膀胱がん、胃がん、及び食道がんから選択される。

【0128】

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗体-薬物結合体もしくはその薬学的に許容される塩、又は本明細書に記載の医薬組成物と、1つ以上の追加の治療薬とを含む医薬組合せを提供する。

【0129】

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗体-薬物結合体又は本明細書に記載の医薬組成物を含むキットを提供する。

【図面の簡単な説明】

【0130】

【図1】図1は、マウス3F8がSP2/O-HER3細胞に特異的に結合することを示す。

【図2】図2は、ELISA法で測定したヒトHER3、HER2及びEGFRに対するマウス3F8の結合親和性を示す。

【図3】図3は、ELISA法で測定したマウス3F8のヒト及びサルHER3認識能を示す。

【図4】図4は、マウス3F8がNRG1に誘導されたHER3のリン酸化を阻害したことを示す。

【図5】図5は、マウス3F8が異なる表面HER3レベルの細胞に速やかに取り込まれたことを示す。

【図6】図6は、抗HER3抗体がBT474皮下異種移植モデルにおいて腫瘍増殖を阻害したことを示す。

【図7】図7は、胃PDXモデルGAS078における $[^{89}\text{Zr}] \text{Zr}-\text{ch3F8}$ イメージングである。

【図8】図8は、6つのPDXモデルにおける代表的な $[^{89}\text{Zr}] \text{Zr}-\text{ch3F8}$ イメージングを示す。

【図9A】図9A-9Cは、hu3F8が熱、酸、及び繰り返しの凍結融解のストレス試験後も結合親和性を保持していることを示している。図9A、hu3F8の3つのクローンをpH3.5で0、2、4及び6時間インキュベートし、結合親和性を測定するためにELISAにかけた。

【図9B】図9B、3つのhu3F8クローンを40℃で異なる日数インキュベートし、結合親和性を測定するためにELISAにかけた。

【図9C】図9C、hu3F8の3つのクローンを3サイクル又は5サイクル繰り返し凍結融解し、次にELISAに供して結合親和性を測定した。

【図10】図10は、抗体-薬物結合体の内在化活性を示す。

【図11A】図11A-11Cは、ADC-1-X1及びADC-1-X2によるHER3標的腫瘍細胞のインビトロ増殖阻害試験を示す。図11Aは、Her3を高発現するHCC1569腫瘍細胞を示す。

【図11B】図11Bは、Her3を高発現するMDA-MB-453腫瘍細胞を示す。

【図11C】図11Cは、Her3を発現しないMDA-MB-231腫瘍細胞を示す。

【図12A】図12A-12Bは、HCC1569担がんマウスにおける抗体-薬物結合体ADC-1-X1及びADC-1-X2のインビボ抗腫瘍効果を示す。図12Aは腫瘍体積の変化を示す。

【図12B】図12Bは腫瘍増殖阻害を示す。

【図13A】図13A-13Bは、Colo205担がんマウスにおける抗体-薬物結合体ADC-1-X1及びADC-1-X2のインビボ抗腫瘍効果を示す。図13Aは腫瘍体積の変化を示す。

【図13B】図13Bは腫瘍増殖抑制を示す。

10

20

30

40

50

【図 1 4】図 1 4 は、N C I－H 4 4 1 肺がん細胞担がんマウスにおける抗体－薬物結合体 A D C－1－X 2 のインビボ抗腫瘍効果を示す。

【図 1 5】図 1 5 は、ヒト肺がん L U 1 5 4 2 皮下異種移植担がんマウスにおける抗体－薬物結合体 A D C－1－X 2 のインビボ抗腫瘍効果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0 1 3 1】

以下、本発明の実施形態を具体例を参照して説明するが、本発明の他の利点及び効果は、本明細書の開示から当業者には容易に明らかであろう。

【0 1 3 2】

用語の定義

特に断らない限り、本発明の実施形態は、分子生物学（組換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学及び免疫学の従来技術を用いるが、これらはすべて当業者の技術範囲内である。

【0 1 3 3】

本発明の理解を容易にするために、いくつかの技術用語及び科学用語を以下のように具体的に定義する。本明細書で特に定義しない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野における通常の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。当該技術分野における定義及び用語については、当業者は特に *Current Protocols in Molecular Biology* (A u s u b e l) を参照することができる。アミノ酸残基の略号は、一般的に使用される 2 0 種類の L－アミノ酸の 1 つを示すために当該技術分野で使用される標準的な 3 文字及び／又は 1 文字のコードである。本明細書（特許請求の範囲を含む）で使用される単数形は、文脈上明確に指定されない限り、それらの複数形を含む。

【0 1 3 4】

用語「約」とは、一般に、記載値より 0.5%～10% 上又は下に変化することを意味し、例えば、記載値より 0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5% 又は 10% 上又は下に変化する。

【0 1 3 5】

用語「ヒト上皮細胞増殖因子受容体 3 (H e r 3)」は、受容体チロシンプロテインキナーゼ E R B B－3 (E R B B 3) としても知られ、E G F R／e r B B ファミリーのメンバーである。他の e r B B ファミリーのメンバーである H e r 2 や E G F R とは異なり、H e r 3 自身はキナーゼ活性を持たない。したがって、H e r 3 がヘテロ二量体として下流の活性を引き起こすには、キナーゼ活性を持つメンバーである E G F R 又は H e r 2 と結合しなければならない。天然リガンド N R G 1 に結合すると、H e r 3 はコンフォメーション変化、ヘテロ二量体化、リン酸化を起こし、シグナル伝達を介して M A P K、P I 3 K／A k t、P L C γ を活性化する。

【0 1 3 6】

用語「抗体」とは、所望の生理活性を有するあらゆる形態の抗体を指す。したがって、最も広い意味で使用され、具体的には、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、ヒト化抗体、完全ヒト抗体、キメラ抗体、及びラクダ化単一ドメイン抗体を含むが、これらに限定されない。

【0 1 3 7】

用語「モノクローナル抗体」とは、実質的に均質な抗体集団から得られた抗体を指す。すなわち、その集団を構成する抗体は、微量に存在する可能性のある天然由来の変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は特異性が高く、単一の抗原エピトープを標的とする。対照的に、従来の（ポリクローナル）抗体製剤は、通常、異なるエピトープを標的とする（又はそれに特異的な）多数の抗体を含む。修飾語である「モノクローナルの」は、実質的に均質な抗体集団から得られた抗体の特徴を示すものであり、特定の方法で抗体を

10

20

30

40

50

產生することを意味するものではない。

【0138】

用語「完全長抗体」とは、天然に存在する場合、2本の重鎖(H) (全長約50～70 kDa)と2本の軽鎖(L) (全長約25 kDa)がジスルフィド結合によって互いに結合した4本のペプチド鎖からなる免疫グロブリン分子を指す。各重鎖は、重鎖可変領域(本明細書ではVHと略記する)と重鎖定数領域(本明細書ではCHと略記する)からなる。重鎖定数領域は3つのドメイン(CH1、CH2及びCH3)からなる。各軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書ではVLと略記する)と軽鎖定数領域からなる。軽鎖定数領域は1つのドメインCLからなる。VH領域とVL領域はさらに、高い可変性を持つ相補性決定領域(CDR)と、CDRによって間隔を空けられたフレームワーク領域(FR)と呼ばれるより保守的な領域に分けられる。各VH又はVL領域は3つのCDRと4つのFRからなり、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって以下の順序で配列されている: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4である。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを構成する。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞(例えば、エフェクター細胞)と古典的補体系の第1成分(C1q)との結合を含め、免疫グロブリンと宿主組織又は因子との結合を仲介することができる。

10

【0139】

用語「CDR」とは、抗体可変配列内の相補性決定領域を指す。重鎖可変領域と軽鎖可変領域のそれぞれに3つのCDRが存在し、重鎖可変領域ではHCDR1、HCDR2及びHCDR3、軽鎖可変領域ではLCDR1、LCDR2及びLCDR3と命名される。本発明の抗体の可変領域CDRの正確なアミノ酸配列境界は、抗体の三次元構造とCDRループのトポロジーに基づくChothia (Chothia et al., (1989) Nature 342: 877-883; Al-Lazikani et al., Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins, Journal of Molecular Biology, 273, 927-948 (1997))、抗体配列可変性に基づくKabat (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4th edition, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987))、AbM (University of Bath)、Contact (University College London)、インターナショナルImmunogeneticsデータベース(IMG T) (1999 Nucleic Acids Research, 27, 209-212)、及び多数の結晶構造を用いた親和性伝播クラスタリングに基づくNorth CDR定義などの、多数の周知のスキームのいずれかを用いて決定することができる。本明細書で開示される抗体のCDRの境界は、当業者であれば、当該技術分野における任意のスキーム(例えば、異なる割り当てシステム又は組み合わせ)に従って決定することができる。

20

30

【0140】

異なる割り当てシステムによって決定された同じ抗体の可変領域のCDRの境界は異なる可能性があることに注意すべきである。すなわち、異なる割り当てシステムによって定義された同じ抗体の可変領域のCDR配列は異なる。したがって、本発明で定義された特定のCDR配列を有する抗体を定義する場合、抗体の範囲は、可変領域の配列が特定のCDR配列からなるが、異なるスキーム(例えば、異なる割り当てシステム又は組み合わせ)の適用により、クレームされたCDRの境界が本発明で定義された特定のCDRの境界と異なる抗体も包含する。

40

【0141】

抗体(「親抗体」)の「抗原結合断片」という用語には、一般的に親抗体の抗原結合領域又は可変領域(例えば、1つ以上のCDR)の少なくとも1つの断片を含み、親抗体の結合特異性の少なくとも一部を保持する、抗体の断片又は誘導体が含まれる。抗体の結合断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂及びFv断片; 二重特異性抗体; 線状抗体; scFvのような一本鎖抗体分子; ならびに抗体の断片によって形成されるナノボディ及び多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。結合断片又は誘導体は、一般に、抗原結合活性をモル濃度ベースで表した場合、その抗原結合活性の少なくと

50

も10%を保持する。好ましくは、結合断片又は誘導体は、親抗体の抗原結合親和性の少なくとも20%、50%、70%、80%、90%、95%又は100%以上を保持する。抗体の抗原結合断片は、その生物活性を有意に変化させない保存的又は非保存的アミノ酸置換（抗体の「保存的変異体」又は「機能保存的変異体」と呼ばれる）を含むことも企図されている。

【0142】

「キメラ抗体」とは、一次抗体の可変ドメインと二次抗体の定常ドメインを有する抗体であり、一次抗体と二次抗体は異なる生物種由来である。典型的には、可変ドメインはげっ歯類などの実験動物の抗体（「親抗体」）から得られ、定数ドメイン配列はヒト抗体から得られ、得られるキメラ抗体は、親となるげっ歯類抗体と比較して、ヒト対象において有害な免疫応答を誘導する可能性が低くなる。

10

【0143】

「ヒト化抗体」とは、ヒト抗体と非ヒト抗体（マウスおよびラットなど）の両方の配列を含む抗体形態を指す。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、超可変ループのすべて又は実質的にすべてが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、フレームワーク領域（FR）のすべて又は実質的にすべてがヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体は、任意でヒト免疫グロブリン定数領域（Fc）の少なくとも一部を含んでいてもよい。

【0144】

用語「完全ヒト抗体」とは、ヒト免疫グロブリン配列のみからなる抗体を指す。完全ヒト抗体は、マウス、マウス細胞、マウス細胞由来のハイブリドーマで産生された場合、マウス糖鎖を含むことがある。同様に、「マウス抗体」とは、マウス免疫グロブリン配列のみからなる抗体を指す。あるいは、ラット、ラット細胞、又はラット細胞由来のハイブリドーマで産生された場合、完全ヒト抗体はラット糖鎖を含むことがある。同様に、「ラット抗体」とは、ラットの免疫グロブリン配列のみからなる抗体を指す。

20

【0145】

抗体の「アイソタイプ」という用語は、重鎖定常領域遺伝子によって提供される抗体のタイプ（例えば、IgM、IgE及びIgG（IgG1、IgG2又はIgG4など））を指す。アイソタイプには、例えば、エフェクター機能又はFcレセプターへの結合を増強又は減弱させるなど、Fc機能を変化させるために修飾された、これらのタイプのいずれかの修飾型も含まれる。

30

【0146】

用語「Fc領域」は、定常領域の少なくとも一部からなる免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために用いられる。この用語には、ネイティブ配列Fc領域及び変異Fc領域が含まれる。一部の実施形態では、ヒトIgG重鎖のFc領域は、Cys226又はPro230から重鎖のカルボキシル末端まで延びる。しかしながら、Fc領域のC末端リジン（Lys447）は、存在してもしなくてもよい（この段落における番号付けは、EUIンデックスとしても知られるEU番号付けシステム、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991）による。

40

【0147】

用語「交差反応」とは、ヒト、サル及び／又はネズミ（マウス又はラット）由来の同じ標的分子の抗原性断片との結合を意味する。したがって、「交差反応」は、異なる種で発現する同一分子Xとの種間反応として理解されるべきである。ヒトHer3Rを認識するモノクローナル抗体の交差反応特異性と、サル及び／又はマウス（マウス又はラット）Her3Rの交差反応特異性は、FACS分析によって決定することができる。

【0148】

用語「親和性」又は「結合親和性」という用語は、結合対のメンバー間の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子XのパートナーYに対する親和性は、一般に、解離速度定数と会合速度定数の比（それぞれk_{dis}及びk_{on}）である平衡解離定数（KD

50

）によって表すことができる。親和性は、当技術分野で知られている一般的な方法で測定することができる。親和性を測定するための一つの特異的な方法は、本明細書に記載されている *ForteBio* 動力学結合アッセイである。

【0149】

タンパク質又は細胞「に結合しない」という用語は、そのタンパク質又は細胞に結合しないか、高い親和性で結合しないこと、すなわち、 K_D が $1.0 \times 10^{-6} M$ 以上、より好ましくは $1.0 \times 10^{-5} M$ 以上、さらに好ましくは $1.0 \times 10^{-4} M$ 以上、 $1.0 \times 10^{-3} M$ 以上、よりさらに好ましくは $1.0 \times 10^{-2} M$ 以上のタンパク質又は細胞に結合することを意味する。

【0150】

IgG 抗体の「高親和性」とは、抗原に対する K_D が $1.0 \times 10^{-6} M$ 以下、好ましくは $5.0 \times 10^{-8} M$ 以下、より好ましくは $1.0 \times 10^{-8} M$ 以下、 $5.0 \times 10^{-9} M$ 以下、さらに好ましくは $1.0 \times 10^{-9} M$ 以下であることを指す。他の抗体サブタイプでは、「高親和性」結合は異なる場合がある。例えば、*IgM* サブタイプの「高親和性」結合とは、 $10^{-6} M$ 以下、好ましくは $10^{-7} M$ 以下、より好ましくは $10^{-8} M$ 以下の K_D を指す。

【0151】

「細胞毒性薬」という用語は、一般に毒性薬物を指し、細胞毒性薬は腫瘍細胞内の化学分子で、腫瘍細胞の正常な増殖を阻害するのに十分な強度を持つ。細胞毒性薬は十分に高い濃度で腫瘍細胞を死滅させることができる。細胞毒性薬には、細菌、真菌、植物又は動物由来の低分子毒素又は酵素活性毒素などの毒素、放射性同位元素（例えば、 ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 又は Lu の放射性同位体）、毒性薬物、化学療法薬物、抗生物質及び核酸分解酵素；例えば、細胞毒性薬は、カンプトテシン誘導体を含むがこれらに限定されない毒性薬物であってもよく、例えば、カンプトテシン誘導体エキサテカン（化学名：（ $1S$ ， $9S$ ）-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2，3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H，12H-ベンゾ[デ]ピラノ[3'，4':6，7]イミダゾ[1，2-b]キノリン-10，13（9H，15H）-ジオン）であり得る。

【0152】

用語「リンカー単位」又は「リンカー構造」とは、一般に、一端がリガンドに連結され、他端が細胞毒性薬に連結されるか、又は細胞毒性薬に連結される前に他のリンカーに連結される化学構造断片又は結合を指す。リガンドとの直接的又は間接的な連結は、基が共有結合を介してリガンドに直接連結されることを意味する場合もあり、リンカー構造を介してリガンドに連結される場合もある。例えば、リンカー構造は、本明細書に記載の $-\text{Lax}-\text{Lb}-\text{Lc}-$ 及び／又は $-\text{La}-\text{Lb}-\text{Lc}-$ として示される構造であってもよい。例えば、リンカー構造として、酸不安定性リンカー構造（例えば、ヒドラゾン）、プロテアーゼ感受性（例えば、ペプチダーゼ感受性）リンカー構造、光不安定性リンカー構造、ジメチルリンカー構造又はジスルフィド含有リンカー構造からなる化学構造断片又は結合を使用することができる。

【0153】

構造が「場合により他の分子部分に連結されている」という用語は、一般に、その構造が他の化学構造に連結されていないか、又はその構造が、その構造とは異なる1つ以上の他の化学構造（例えば、本明細書に記載のリガンド）に（例えば、化学結合又はリンカー構造を介して）連結されていることを意味する。

【0154】

「リガンド-薬物結合体」という用語は、一般に、リガンドが安定な連結単位を介して生物学的に活性な細胞毒性薬に連結されていることを意味する。本出願において、「リガンド-薬物結合体」は抗体-薬物結合体（ADC）であってもよく、これはモノクローナル抗体又は抗体断片が安定な連結単位を介して生物学的に活性な細胞毒性薬に連結されていることを意味する。

10

20

30

40

50

【0155】

本出願において、「メチレン」という用語は、一般に、1個の炭素原子を有する基から2個の水素原子を除去することによって得られる残基を指す。メチレンは置換されていても置換されていなくてもよく、置換されていても置換されていなくてもよい。「アルキレン」という用語は、一般に、同じ炭素原子又は2つの異なる炭素原子から2つの水素原子を除去することによって親アルカンから誘導される2つの残基を有する飽和線状又は分枝状脂肪族炭化水素基を指し、それは、1～12個の炭素原子（例えば、1～6個の炭素原子）を含むアルキレンなどの、1～20個の炭素原子を含む線状又は分枝状の基であってもよい。アルキレンの非限定的な例としては、メチレン（ $-\text{CH}_2-$ ）、1,1-エチリデン（ $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ）、1,2-エチリデン（ $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ）、1,1-プロピリデン（ $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ ）、1,2-プロピリデン（ $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ）、1,3-プロピリデン（ $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ）、1,4-ブチリデン（ $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ）、1,5-ブチリデン（ $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ）などが挙げられる。アルキレン基は、置換されていても置換されていなくてもよく、置換されていても置換されていなくてもよい。例えば、置換されている場合、置換基による置換は、任意の利用可能な連結点で行われてもよく、置換基は、好ましくは、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルキルチオ、アルキルアミノ、ハロゲン、メルカプト、ヒドロキシ、ニトロ、シアノ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルコキシ、ヘテロシクロアルコキシ、シクロアルキルチオ、ヘテロシクロアルキルチオ、及びオキソのうちの1つ以上から任意に選択され、それは、例えば水素、プロチウム、重水素、トリチウム、ハロゲン、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{H}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{H})\text{SO}_2\text{H}$ 、又は C_{1-6} 脂肪族基であってもよい。

【0156】

用語「アリーレン」は、一般に、芳香環の同じ炭素原子又は2つの異なる炭素原子から2つの水素原子を除去することによって誘導される2つの残基を有する基を指す。用語「芳香族環」は、共役 π 電子系を有する6員～14員の全炭素単環式環又は縮合多環式環（すなわち、隣接する炭素原子の対を共有する環）を指し、ベンゼン及びナフタレンなどの6員～10員であってもよい。芳香族環は、ヘテロアリール、ヘテロシクリル又はシクロアルキル環に縮合することができ、親構造に連結した環はアリール環である。アリールは、置換されていても置換されていなくてもよく、置換されている場合、置換基は、好ましくは、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルキルチオ、アルキルアミノ、ハロゲン、メルカプト、ヒドロキシ、ニトロ、シアノ、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルコキシ、ヘテロシクロアルコキシ、シクロアルキルチオ及びヘテロシクロアルキルチオからなる群から独立して選択される1つ以上の基である。

【0157】

本出願において、「ヘテロアリーレン」という用語は、一般に、ヘテロ芳香環の同じ炭素原子又は2つの異なる炭素原子から2つの水素原子を除去することによって誘導される2つの残基を有する基を指す。ヘテロ芳香環」という用語は、1～4個のヘテロ原子と5～14個の環原子からなるヘテロ芳香族系を指し、ヘテロ原子は、酸素、硫黄及び窒素からなる群から選択され得る。ヘテロアリールは、5員～10員であってもよく、5員又は6員であってもよく、例えば、フラニル、チエニル、ピリジニル、ピロリル、N-アルキルピロリル、ピリミジニル、ピラジニル、イミダゾリル及びテトラゾリルなどが挙げられる。ヘテロアリール環は、アリール、ヘテロシクリル又はシクロアルキル環に縮合することができ、親構造に連結された環はヘテロアリール環である。ヘテロアリーレンは、場合により置換されていても置換されていなくてもよく、置換されている場合、置換基は、好ましくは、以下の基：アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルキルチオ、アルキルアミノ、ハロゲン、メルカプト、ヒドロキシ、ニトロ、シアノ、シクロアルキル

、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルコキシ、ヘテロシクロアルコキシ、シクロアルキルチオ及びヘテロシクロアルキルチオからなる群から独立して選択される1つ以上の基である。

【0158】

「ヘテロシクリレン」という用語は、一般に、3員から7員の単環構造、縮合した7員から10員の二環式複素環構造、又は架橋した6員から10員の二環式複素環構造を指し、安定で非芳香族である。これらの環状構造は、飽和又は部分飽和であってもよく、炭素原子に加えて1つ以上のヘテロ原子を含み、ヘテロ原子は、酸素、硫黄及び窒素からなる群から選択され得る。例えば、上記で定義したように、1～4個のヘテロ原子を含む。複素環式環状構造上の原子に言及するために使用される場合、用語「窒素」は、置換反応を受けた窒素を含むことができる。ヘテロシクリレンは、置換又は非置換であってもよい。

10

【0159】

用語「カルボシクリレン」は、一般に、炭素環の同じ炭素原子又は2つの異なる炭素原子から2つの水素原子を除去することによって誘導される2つの残基を有する基を指す。炭素環」という用語は、一般に、飽和又は部分的に不飽和の単環式又は多環式環状炭化水素を指し、3～20個の炭素原子を含み、3～12個の炭素原子を含み、3～10個の炭素原子を含み、3～8個の炭素原子、例えば、3～6個の炭素原子を含むことができる。単環式炭素環の非限定的な例としては、シクロプロパン、シクロブタン、シクロペンタン、シクロペンテン、シクロヘキサン、シクロヘキセン、シクロヘキサジエン、シクロヘプタン、シクロヘプタトリエン、シクロオクタンなどが挙げられ、多環式炭素環としては、スピロ炭素環、縮合炭素環、架橋炭素環などが挙げられる。例えば、「3－6員飽和カルボシクリル」には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロプロピレン、シクロブチレン、シクロペンチレン、又はシクロヘキシレンが含まれる。カルボシクリル及びカルボシクリレンは、置換又は非置換であってもよい。例えば、1つ以上のハロゲン、 C_{1-6} 脂肪族基、又はハロゲンで置換される C_{1-6} 脂肪族基で置換されていてもよい。

20

【0160】

本出願において、「部分不飽和」という用語は、一般に、環状構造が環分子間に少なくとも1つの二重結合又は三重結合を含むことを意味する。用語「部分的に不飽和」は、不飽和の複数の部位を有する環状構造を包含するが、本明細書で定義される芳香族又はヘテロ芳香族環を含むことは意図されない。「不飽和」という用語は、その部分が1つ以上の不飽和度を有することを意味する。

30

【0161】

「ハロゲン」という用語は、一般に、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素を指し、例えばフッ素又は塩素であってもよい。

【0162】

「脂肪族基」という用語は、一般に、1～12個の炭素原子を有する線状炭化水素、分枝炭化水素又は環状炭化水素を指し、炭化水素は、完全飽和炭化水素又は1つ以上の不飽和単位を有する炭化水素のいずれであってもよいが、不飽和単位は芳香族基ではない。例えば、好適な脂肪族基は、置換又は非置換の線状、分岐状又は環状のアルキル、アルケニル、アルキニル及びこれらの混合物、例えば（シクロアルキル）アルキル、（シクロアルケニル）アルキル又は（シクロアルキル）アルケニルを含み得る。例えば、脂肪族基は、1～12個、1～8個、1～6個、1～4個又は1～3個の炭素原子を有する。例えば、「 C_{1-6} 脂肪族基」とは、1～6個の炭素原子を有する上記のような脂肪族基を指し、1～6個の炭素原子を有する直鎖状、分岐状又は環状のアルキル、アルケニル、又はアルキニル、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、ヘキシルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0163】

本出願において、「任意の」又は「場合により」という用語は、一般に、その後に記載される事象又は状況が発生してもよいが、必ずしも発生する必要はなく、その事象又は状

50

況が発生する例又は発生しない例が記載に含まれることを意味する。例えば、「アルキルで場合により置換されるヘテロシクリル基」とは、アルキルが存在してもよいが、必ずしも存在する必要はなく、ヘテロシクリル基がアルキルで置換されている場合も置換されていない場合も本明細書に含まれることを意味する。

【0164】

「置換されている」という用語は、一般に、基中の1個以上の水素原子、例えば、最大5個（例えば、1～3個）の水素原子が、それぞれ独立に、対応する数の置換基で置換されていることを意味する。置換基は、その可能な化学的位置のみであり、当業者であれば、無理な努力をすることなく、（実験又は理論によって）可能な置換基又は不可能な置換基を決定することができるであろう。例えば、遊離水素を有するアミノ又はヒドロキシが不飽和（オレフィンなど）結合を有する炭素原子に結合すると不安定になることがある。

10

【0165】

本出願において、用語「0個以上（例えば、0個又は少なくとも1個、0個又は1個、又は0個）のメチレン単位が置換されている」とは、一般に、構造が1個以上のメチレン単位からなる場合、1

個以上のメチレン単位が置換されていないか、又はメチレンではない1個以上の基（例えば、 $\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{SO}-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{PH}-$ 、 $-\text{P}(=\text{O})\text{H}-$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(=\text{S})-$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-$ 、 $-\text{N}=\text{N}-$ 、 $-\text{C}=\text{N}-$ 、 $-\text{N}=\text{C}-$ 又は $-\text{C}(=\text{N}_2)-$ ）で置換され得る。

20

【0166】

基中の1つ以上の水素原子、例えば、最大5個（例えば、1～3個）の水素原子は、それぞれ独立に、対応する数の置換基で置換されている。置換基は、その可能な化学的位置にのみ存在し、当業者であれば、無理な努力をすることなく、可能な置換基又は不可能な置換基を（実験又は理論によって）決定することができるであろう。例えば、遊離水素を有するアミノ又はヒドロキシが不飽和（オレフィンなど）結合を有する炭素原子に結合すると不安定になることがある。

【0167】

「薬学的に許容される塩」という用語は、一般に、本明細書に開示される薬物結合体の塩を指す。このような塩は、哺乳動物に使用される場合に安全かつ／又は有効であり、必要な生物学的活性を有する可能性があり、本明細書に開示される抗体－薬物結合体は酸との塩を形成する可能性がある。薬学的に許容される塩の非限定的な例としては、以下が挙げられる：塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、コハク酸塩、アスコルビン酸塩、シュウ酸塩、硝酸塩、ソルビン酸塩、リン酸水素塩、リン酸二水素塩、サリチル酸塩、クエン酸水素塩、酒石酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、メシル酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩などである。

30

【0168】

「溶媒和物」又は「溶媒化合物」という用語は、一般に、本明細書に開示された薬物結合体と1つ以上の溶媒分子によって形成される医薬的に許容される溶媒和物を指し、溶媒分子の非限定的な例としては、水、エタノール、アセトニトリル、イソプロパノール、DMSO、および酢酸エチルなどが挙げられる。

40

【0169】

「薬物負荷」という用語は、一般に、リガンドあたりに負荷される細胞毒性薬の平均量を指し、抗体に対する細胞毒性薬の比として表すこともでき、細胞毒性薬負荷は、リガンド(Ab)あたり0～12（例えば、1～10）の細胞毒性薬の範囲であってもよい。本出願の実施形態において、薬物負荷はNaとして表され、例示的に1、2、3、4、5、6、7、8、9及び10の平均であり得る。カップリング反応後のADC分子あたりの薬物担持量は、UV／可視分光法、質量分析、ELISAアッセイ、およびHPLCなどの従来の方法により特徴付けることができる。

50

【0170】

「薬学的に許容される担体」とは、医薬製剤又は組成物中の活性成分以外の成分で、対象に無毒なものを指す。薬学的に許容される担体には、緩衝剤、賦形剤、安定剤又は保存剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0171】

用語「含む」、「含んでいる」、「含有する」又は「含有している」とは、一般に、他の要素を除外することなく、明示的に指定された特徴を含むことを意図している。用語「より大きい」及び「未満」という用語は、一般に、数そのものが含まれる状況を指す。

【0172】

「対象」には、ヒト又はヒト以外の動物が含まれる。「非ヒト動物」という用語には、すべての脊椎動物、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などの哺乳類及び非哺乳類が含まれる。本明細書で使用される場合、用語「サイノ (c y n o)」はサイノモグラグザルを指す。

10

【0173】

1つ以上の他の治療薬と「併用」する投与には、同時（共）投与や任意の順序での逐次投与が含まれる。

【0174】

「治療有効量」、「治療有効用量」及び「有効量」とは、細胞、組織又は対象に単独又は他の治療薬と組み合わせて投与した場合に、疾患又は状態の1つ又は複数の症状の予防又は改善、又は疾患又は状態の発症に有効な、本発明のHer3抗体又はその抗原結合断片の量を指す。治療有効量とは、症状の改善を引き起こすのに十分な抗体又はその抗原結合断片の量、例えば、関連する病態を治療、治癒、予防又は改善するための量、あるいはそのような病態の治療、治癒、予防又は改善を促進するための量も指す。有効成分が単独で個体に投与される場合、治療有効量とはその成分の量のみを指す。併用投与の場合、治療有効量とは、これらの有効成分が併用投与されるか、順次投与されるか、同時投与されるかにかかわらず、治療効果をもたらす有効成分の合算量を指す。治療薬の有効量は、診断指標又はパラメータを少なくとも10%、一般的には少なくとも20%、好ましくは少なくとも約30%、より好ましくは少なくとも40%、最も好ましくは少なくとも50%増加させる。

20

【0175】

本明細書において「がん」という用語は、異常に高いレベルの増殖と成長を示す細胞群を指す。がんは良性（良性腫瘍ともいう）、前悪性又は悪性の場合がある。がん細胞は、固形がん細胞又は白血病がん細胞である。本明細書で使用される「腫瘍」という用語は、がんを構成する1つ以上の細胞を指す。本明細書において「腫瘍増殖」という用語は、がんを構成する1つ以上の細胞の増殖又は成長を意味し、その結果、がんのサイズ又は範囲が対応するように増大する。

30

【0176】

抗Her3抗体

本出願は、インビトロ及びインビボで腫瘍細胞の増殖を効果的に阻害することができ、良好な安全性を有する新規抗HER3抗体を開示する。HER3抗体3F8は、ヒトHER3を過剰発現するSP2/0細胞で免疫したマウスハイブリドーマで同定された。3F8はヒト及びサルのHER3をナノモルの結合親和性で認識し、他のERBBファミリーメンバーに対しても高い選択性を持つ。さらに、HER3レベルの異なる細胞は、迅速かつ効果的にHER3を取り込むことができる。HER3は理想的なADC薬に不可欠な特性であると考えられている。PETイメージング研究により、PDXモデルの腫瘍に $[^89\text{Zr}]\text{Zr}-3\text{F}8$ が有意に集積することが示され、3F8が腫瘍細胞に細胞毒性をもたらす効果的なベクターである可能性が示された。3F8及びhu3F8は、PDXモデルにおいて、上記の結合親和性、選択性、腫瘍抑制特性を維持している。hu3F8は、良好な開発性を有し、凍結融解処理、酸インキュベーション、40℃での保存を繰り返すストレス試験において、結合親和性、凝集、翻訳後修飾にほとんど変化を示さない。

40

50

【0177】

本発明の「抗Her3抗体」、「抗Her3」、「Her3抗体」又は「Her3に結合する抗体」という用語は、Her3を標的とする診断及び／又は治療薬として使用できるように、十分な親和性でHer3タンパク質又はその断片に結合できる抗体を指す。

【0178】

本明細書に記載の抗Her3抗体又はその抗原結合断片は、出願番号PCT/CN2021/099998に記載の抗Her3抗体又はその抗原結合断片のいずれか1つを含み、その開示は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、本発明の薬物結合体、組成物、使用又は方法において使用される抗体のCDR配列は、PCT/CN2021/099998に記載される抗体hu3F8-2のCDR配列からなる。一部の実施形態では、本発明の薬物結合体、組成物又は使用において使用される抗体の可変領域配列は、PCT/CN2021/099998に記載される抗体hu3F8-1の可変領域配列からなる。一部の実施形態では、本発明の薬物結合体、組成物、使用又は方法において使用される抗体の可変領域配列は、PCT/CN2021/099998に記載される抗体hu3F8-2の可変領域配列からなる。一部の実施形態では、本発明の薬物結合体、組成物、又は使用において使用される抗体の可変領域配列は、PCT/CN2021/099998に記載されている抗体hu3F8-3の可変領域配列からなる。

【0179】

本明細書の実施例で使用される非限定的かつ例示的な抗体は、PCT/CN2021/099998に記載されているヒト化抗体hu3F8-1、hu3F8-2及びhu3F8-3から選択され、そのアミノ酸配列は以下の表に示されている。

【0180】

本明細書で使用するhu3F8-1、hu3F8-2及びhu3F8-3は、それぞれPCT/CN2021/099998のクローン1(clone-1)、クローン2(clone-2)及びクローン3(clone-3)に対応する。

【0181】

【表1】

ヒト化抗Her3抗体のアミノ酸配列(KABATスキーム)

ヒト化抗体	hu3F8-1	hu3F8-2	hu3F8-3
HCDR1	配列番号1	配列番号1	配列番号1
HCDR2	配列番号2	配列番号2	配列番号2
HCDR3	配列番号3	配列番号3	配列番号3
LCDR1	配列番号4	配列番号4	配列番号4
LCDR2	配列番号5	配列番号5	配列番号5
LCDR3	配列番号6	配列番号6	配列番号6
VH	配列番号7	配列番号9	配列番号10
VL	配列番号8	配列番号8	配列番号8
HC	配列番号11	配列番号13	配列番号14
LC	配列番号12	配列番号12	配列番号12

【0182】

本発明の抗体を産生するためには、抗体を産生するための任意の適切な方法を採用することができる。任意の適切な形態のHer3を抗体産生のための免疫原(抗原)として使用することができる。限定ではなく例として、任意のHer3変異体又はその断片を免疫原として使用することができる。一部の実施形態では、マウスモノクローナル抗ヒトHer3抗体を産生するハイブリドーマ細胞は、当技術分野で周知の方法により産生することができる。げっ歯類(例えば、マウス)由来の抗体は、インビボで治療薬として使用され

る場合、抗体の望ましくない免疫原性を誘導する可能性がある。これらの抗体を繰り返し使用すると、ヒトの体内で治療用抗体に対する免疫応答が誘導される。このような免疫応答は、少なくとも治療効果の損失をもたらし、重篤な場合には致死的なアレルギー反応を引き起こす可能性がある。げっ歯類抗体の免疫原性を低下させる1つの方法として、マウス可変領域をヒト定数領域に融合させたキメラ抗体を作製する方法がある (Liu et al., (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 3439-43)。しかしながら、キメラ抗体においてネズミの可変領域をそのまま保存することは、患者において依然として有害な免疫原性を誘発する可能性がある。ネズミの可変領域の相補性決定領域 (CDR) ループをヒトフレームワークに移植すること (すなわち、ヒト化) は、ネズミの配列をさらに最小化するために用いられてきた (Jones et al., (1986) Nature 321: 522; Verhoeyen et al., (1988) Science 239: 1534)。

10

【0183】

一部の実施形態では、本発明のキメラ抗体又はヒト化抗体は、調製したマウスモノクローナルハイブリドーマ抗体の配列に基づいて調製することができる。免疫グロブリン重鎖及び軽鎖をコードするDNAは、目的のマウスハイブリドーマから入手することができ、標準的な分子生物学的技術を用いて、非ムライン (例えば、ヒト) の免疫グロブリン配列からなるように操作することができる。

【0184】

一部の実施形態では、本明細書に記載のキメラHer3抗体は、ハイブリドーマ由来の免疫グロブリン重鎖及び軽鎖可変領域を、当技術分野で公知の方法 (例えば、Cabilllyらに対する米国特許第4,816,567号を参照) を用いてヒトIgG定数領域に作動可能に連結することにより、キメラ重鎖及びキメラ軽鎖を得ることによって調製することができる。一部の実施形態では、本発明のキメラ抗体は、IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4、好ましくはIgG4のような任意のヒトIgGサブタイプから選択され得る定常領域を含む。

20

【0185】

一部の実施形態では、本発明のキメラHer3抗体は、キメラ軽鎖発現プラスミドとキメラ重鎖発現プラスミドを「混合して適合する」させ、発現細胞をトランスフェクトすることによって得ることができる。このような「混合して適合させた」抗体のHer3結合は、上記の結合アッセイ及び他の従来 of 結合アッセイ (例えば、ELISA) を用いて試験することができる。

30

【0186】

本明細書に記載のヒト化抗体では、当技術分野で公知の方法を用いて、マウスCDR領域をヒト生殖細胞系列フレームワーク領域に挿入することができる。Winterらの米国特許第5,225,539号; 及びQueenらの米国特許第5,530,101号; 同第5,585,089号; 同第5,693,762号及び同第6,180,370号を参照された。

【0187】

一部の実施形態では、アミノ酸変化は、アミノ酸欠失、挿入、又は置換を含む。一部の実施形態では、本発明の抗Her3抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸欠失、挿入、又は置換によって変異しているが、それでもなお、上記の抗体のアミノ酸配列 (特に、上記の配列に規定されるCDR領域において) に対して少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の同一性を有する抗体を含む。一部の実施形態では、特定の配列に記載されたCDR領域と比較した場合、本発明の抗体は、CDR領域において1、2、3、4、又は5以上のアミノ酸変異 (欠失、挿入、又は置換) を有さない。

40

【0188】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体のFc領域に1つ以上のアミノ酸改変を導入して、Fc領域変異体を作製することができる。Fc領域変異体は、1つ又は複数のアミノ酸位置におけるアミノ酸改変 (置換など) を含むヒトFc領域配列 (ヒトIgG

50

1、IgG2、IgG3、又はIgG4Fc領域など）からなり得る。

【0189】

一部の実施形態では、システインエンジニアリングによって修飾された抗体、例えば抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換される「スルホ-MAb」を製造する必要があるかもしれない。

【0190】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、当該技術分野で知られており容易に入手可能な他の非タンパク質部位を含むようにさらに修飾することができる。抗体の誘導体化に適した部位としては、水溶性ポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール／プロピレングリコールコポリマー、カルボキシメチルセルロース、グルカン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキサン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマーなどが挙げられるが、これらに限定されない、ポリアミノ酸（ホモポリマー又はランダムコポリマー）、グルカン又はポリ（n-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（グリセロールなど）、ポリビニルアルコール、及びそれらの混合物である。

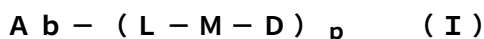
【0191】

薬物結合体

本出願は、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物を提供し、これらの抗Her3抗体-薬物結合体は、以下からなる群から選択される1つ以上の効果を有し得る：（1）腫瘍細胞のインビトロ増殖に対する阻害活性を有する；（2）ターゲティング阻害を有する；（3）血漿安定性を有する；（4）インビボ腫瘍阻害効果を有する；（5）バイスタンダー効果を有する；（6）トランスポーターによる輸送を阻害する能力を有する；（7）インビボ腫瘍標的能力を有する；及び（8）インビボにおいて良好な安全性を有する。

【0192】

本出願は、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物を提供し、ここで、抗Her3抗体-薬物結合体は式（I）：



の構造を有し、式中、

LおよびMは、リンカー単位であり；

Dは、細胞毒性薬であり；

pは、平均接続数を表し、pは、1～10の整数又は小数、好ましくは3～8の整数又は小数から選択され；

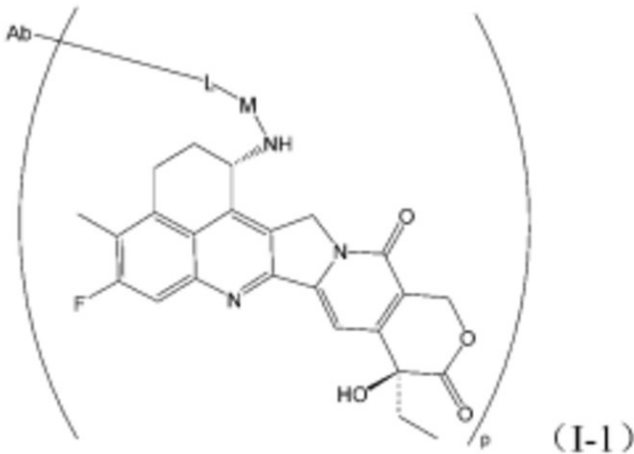
Abは、抗Her3抗体又はその抗原結合断片であり、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、配列番号1、配列番号2及び配列番号3にそれぞれ示されるアミノ酸配列のHCDR1、HCDR2及びHCDR3を含み、軽鎖可変領域は、配列番号3、配列番号4、配列番号5及び配列番号6にそれぞれ示されるアミノ酸配列のLCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む；好ましくは、本明細書に記載の抗Her3抗体又はその抗原結合断片は、（I）配列番号7に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域；又は（II）配列番号9に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域；又は（III）配列番号10に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域を含む；より好ましくは、本明細書に記載の抗Her3抗体又はその抗原結合断片は、（1）配列番号11に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖；又は（2）配列番号13に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖；又は（3）配列番号14に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖を含む。

【0193】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるのは、抗H e r 3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物であり、抗H e r 3抗体－薬物結合体は式（I－1）：

【0194】

【化41】



10

【0195】

の構造を有し、式中、

20

L及びMは、リンカー単位であり；

pは平均接続数を表し、nは1～10の整数又は小数、好ましくは3～8の整数又は小数から選ばれ；

Abは、抗H e r 3抗体又はその抗原結合断片であり、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、配列番号1、配列番号2及び配列番号3にそれぞれ示されるアミノ酸配列のHCDR1、HCDR2及びHCDR3を含み、軽鎖可変領域は、配列番号3、配列番号4、配列番号5及び配列番号6にそれぞれ示されるアミノ酸配列のLCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む；好ましくは、本明細書に記載の抗H e r 3抗体又はその抗原結合断片は、（I）配列番号7に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域；又は（II）配列番号9に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域；又は（III）配列番号10に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号8に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域を含む；より好ましくは、本明細書に記載の抗H e r 3抗体又はその抗原結合断片は、（1）配列番号11に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖；又は（2）配列番号13に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖；又は（3）配列番号14に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号12に示されるアミノ酸配列の軽鎖を含む。

30

【0196】

一部の実施形態では、本明細書には、抗H e r 3抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、

40

Mは、 $-L^2-L^3-X-L^1-$ であり；

L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；

L^3 は、 $-(C(R^{1a})(R^{1b}))_m-$ であり、mは、0、1、2又は3から選択され、ここで、 L^3 は、メチレン単位を含む場合、 L^3 の0又は1個のメチレン単位は、 $-C(O)-$ 又は $-C(=S)-$ で置換されてもよく；好ましくは、 L^3 は、単結合、 $-C(R^{1a})(R^{1b})-$ 、又は $-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-$ から選択され；より好ましくは、 L^3 は、単結合、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、又は $-C(CH_3)_2CH_2-$ から選択され；

L^1 は、 $-(C(R^{2a})(R^{2b}))_n-$ であり、nは、1、2又は3から選択され

50

、 L^1 がメチレン単位を含み得る場合、 L^1 の0又は1個のメチレン単位は、 $-C(O)-$ 又は $-C(=S)-$ で置換されてもよく；好ましくは、 L^1 は、 $-C(R^{2a})(R^{2b})-$ 、 $-C(R^{2a})(R^{2b})C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択され；より好ましくは、 L^1 は、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)-$ 、 $-CH(CH_3)C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択され；

X は、3～6員飽和カルボシクリル、3～6員飽和ヘテロシクリル、又は単結合から選択され、ここで、3～6員飽和カルボシクリル及び3～6員飽和ヘテロシクリルは、0、1、2、又は3個の R^{3a} で場合により置換され；好ましくは、 X は0、1、2、又は3個の R^{3a} で場合により置換される3～6員飽和カルボシクリル、又は単結合であり；より好ましくは、 X は3～6員飽和カルボシクリル又は単結合であり；

ここで、各 R^{1a} 、各 R^{1b} 、各 R^{2a} 、各 R^{2b} 、及び各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換されてもよい C_{1-6} 脂肪族基であり得、

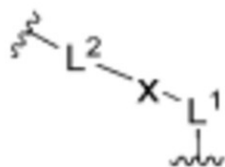
ここで、各 R は、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

【0197】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 $-M-$ は、

【0198】

【化42】



【0199】

から選択され、式中、

L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；好ましくは、 L^2 は、 $-O-$ であり；

X は、0、1、2、又は3個の R^{3a} で場合により置換される3～6員飽和カルボシクリルから選択され；好ましくは、 X は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、又はシクロヘキシルから選択され；より好ましくは、 X は、シクロプロピルであり；より好ましくは、 X は、シクロブチルであり；より好ましくは、 X は、シクロヘキシルであり；

L^1 は、 $-C(R^{2a})(R^{2b})-$ 、 $-C(R^{2a})(R^{2b})C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択され；好ましくは、 L^1 は $-C(O)-$ であり、

ここで、各 R^{2a} 、各 R^{2b} 、又は各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換されてもよい C_{1-6} 脂肪族基であり得、

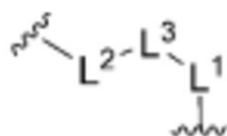
ここで、各 R は、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

【0200】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 $-M-$ は、

【0201】

【化43】



【0202】

から選択され、式中、

L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；好ましくは、 L^2 は、 $-O-$ であり；好ましくは、 L^2 は、 $-S-$ であり；

L^3 は、 $-C(R^{1a})(R^{1b})-$ 又は $-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-$ から選択され；好ましくは、 L^3 は、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、又は $-C(CH_3)_2CH_2-$ から選択され；好ましくは、 L^3 は、 CH_2- 、 $-CH(CH_3)-$ 、及び $-CH_2CH_2-$ から選択される。

【0203】

L^1 は、 $-C(R^{2a})(R^{2b})-$ 、 $-C(R^{2a})(R^{2b})C(O)-$ 、又は $-C(O)-$ から選択され；好ましくは、 L^1 は、 $-C(O)-$ であり；

10

ここで、各 R^{1a} 、各 R^{1b} 、各 R^{2a} 、又は各 R^{2b} は、独立して、水素、ハロゲン、又はRで場合により置換されてもよい C_{1-6} 脂肪族基であってもよく、ここで、各Rは、独立して、水素又はハロゲンであり得る。

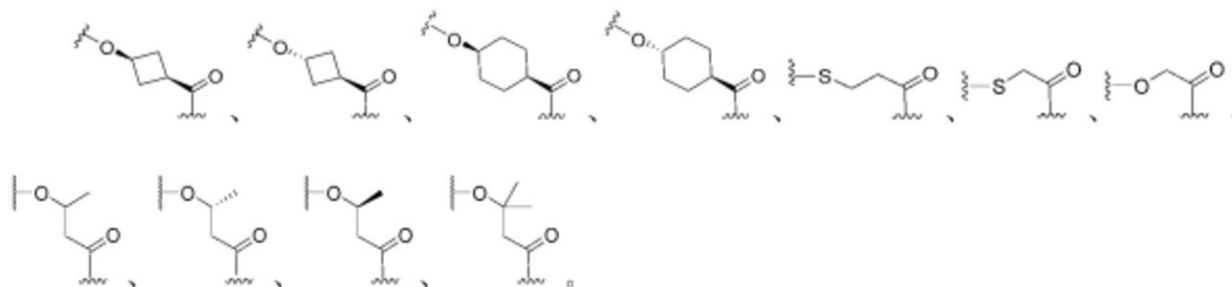
【0204】

一部の好ましい実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 $-M-$ は、以下から選択される。

【0205】

【化44】

20



【0206】

30

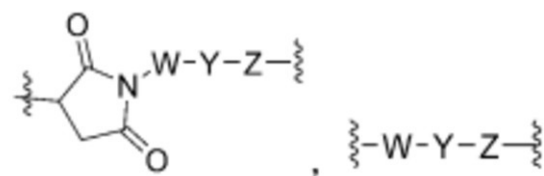
一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L は、 $-L_a-L_b-L_c-$ であり、

$-L_a-$ は、

【0207】

【化45】

40



【0208】

であり、式中、 W は、 $-(C(R^{wa})(R^{wb}))_{wn}-$ であり、ここで、 wn は、1、2、3又は6であり、 W の1個のメチレン単位は、各々独立して、 $-Cyr-$ 、 $-N(R^{wx})C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^{wx})-$ 、又は $-C(O)-$ で置換され；好ましくは、 W は、 $-(C(R^{wa})(R^{wb}))_2-$ 又は $-(C(R^{wa})(R^{wb}))_3-$ であり；好ましくは、 W は、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 又は $-CH_2CH_2-$ であり；

Y は、 $-(OCH_2CH_2)_{yn}-O_{yp}-$ であり、ここで、 yn は0、4又は8であり、 yp は、0又は1であり；好ましくは、 Y は、単結合であり；

50

Zは、 $-(C(R^{za})(R^{zb}))_{zn}$ であり、ここで、znは、1、2又は3であり、Zの1個のメチレン単位は、各々独立して、 $-Cyr-$ 、 $-N(R^{zx})C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^{zx})-$ 、又は $-C(O)-$ で置換され、ここで、 $-Cyr-$ は、3～10員飽和カルボシクリレンであり、ここで、 $-Cyr-$ は、非置換であるか、又は独立して、1～3個の置換基 R^{cx} で置換され；好ましくは、Zは、 $-(C(R^{wa})(R^{wb}))_2C(O)-$ 又は $-(C(R^{wa})(R^{wb}))_3C(O)-$ であり；好ましくは、Zは、 $-CH_2CH_2CH_2C(O)-$ 又は $CH_2CH_2C(O)-$ であり；

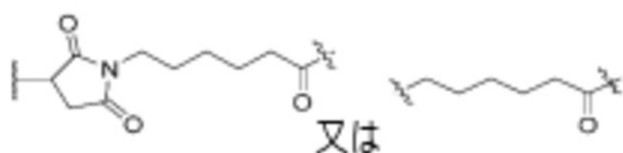
ここで、各 R^{wa} 、各 R^{wb} 、各 R^{za} 、各 R^{zb} 、各 R^{wx} 、各 R^{zx} 及び各 R^{cx} は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^r$ 、又は R^r で場合により置換される C_{1-6} 脂肪族基であり、

ここで、各 R^r は、独立して、水素、ハロゲン又は C_{1-6} 脂肪族基であり；

好ましくは、 $-L_a-$ は、

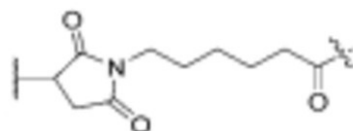
【0209】

【化46】



【0210】

【化47】

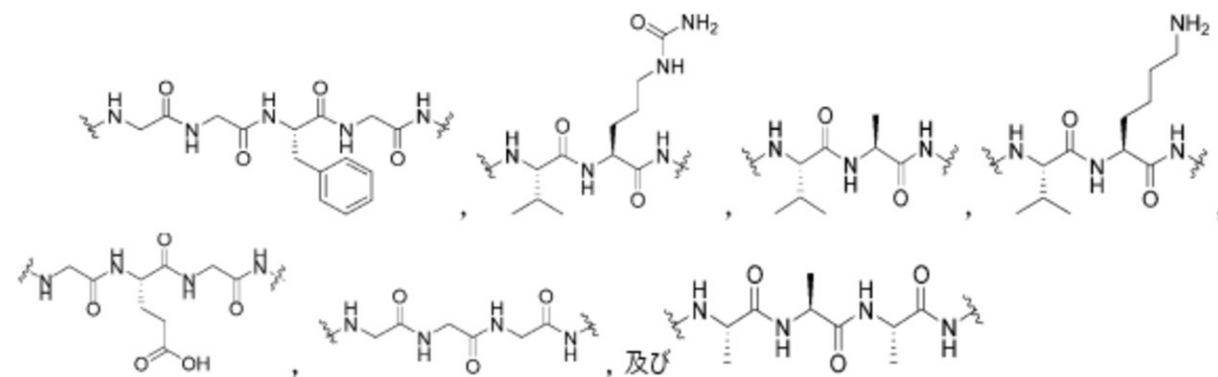


【0211】

であり、好ましくは、

【0212】

【化48】



【0213】

であり、 $-L_b-$ は、

【0214】

10

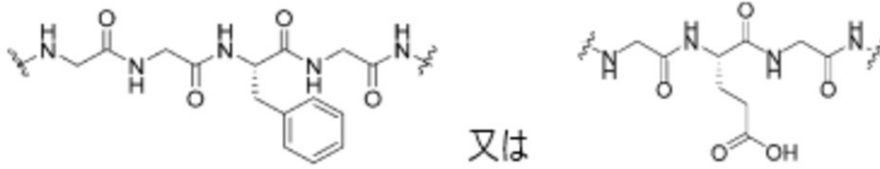
20

30

40

50

【化 4 9】

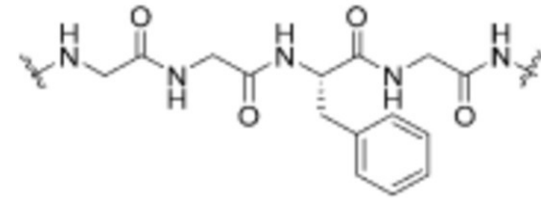


【 0 2 1 5】

からなる群から選択され、好ましくは、 $-L_b-$ は、

【 0 2 1 6】

【化 5 0】

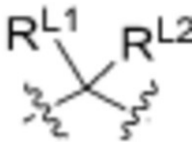


【 0 2 1 7】

であり、 $-L_c-$ は、

【 0 2 1 8】

【化 5 1】



【 0 2 1 9】

であり、ここで、 R^{L1} 及び R^{L2} は、各々独立して、水素、ハロゲン、 $-OH$ 、及び C_{1-6} 脂肪族基からなる群から選択され；好ましくは、 $-L_c-$ は、以下である。

【 0 2 2 0】

【化 5 2】

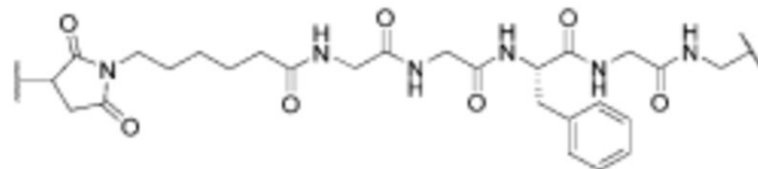


【 0 2 2 1】

一部の特に好ましい実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、ここで、 L は、以下である。

【 0 2 2 2】

【化 5 3】



10

20

30

40

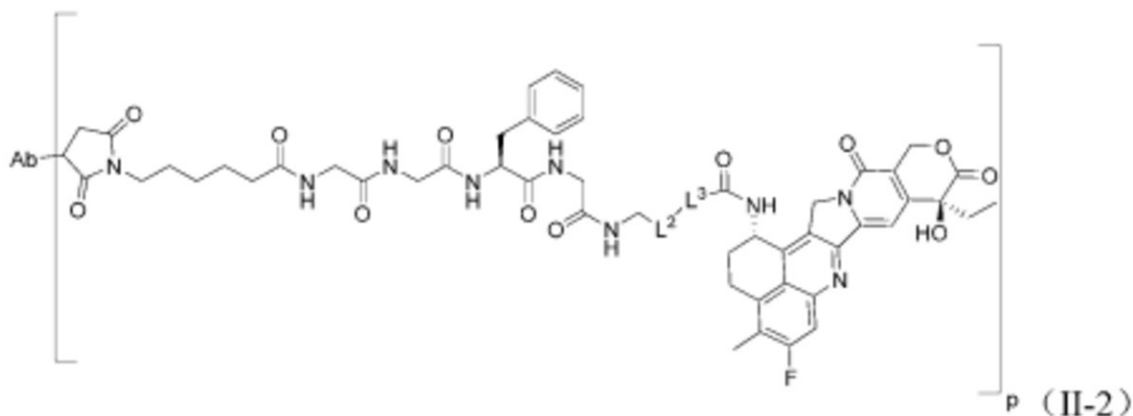
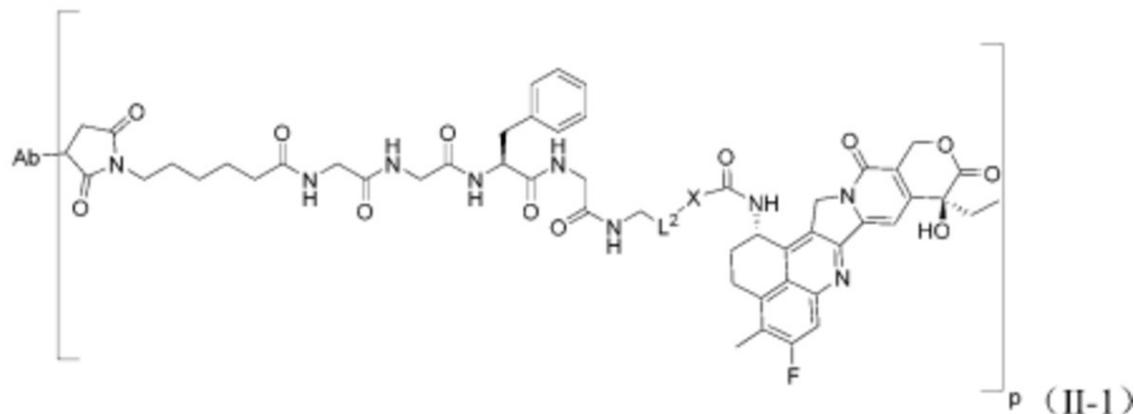
50

【0223】

一部の実施形態では、本明細書には、抗Her3抗体-薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物が記載され、抗Her3抗体-薬物結合体は、式(II-1)又は(II-2)：

【0224】

【化54】



【0225】

の構造を有し、式中、

L^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり；好ましくは、 L^2 は、 $-O-$ であり；好ましくは、 L^2 は、 $-S-$ であり；

X は、0、1、2 又は 3 個の R^{3a} で場合により置換される 3～6 員飽和カルボシクリルから選択され；好ましくは、 X は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル又はシクロヘキシルから選択され；

L^3 は、 $-C(R^{1a})(R^{1b})-$ 又は $-C(R^{1a})(R^{1b})C(R^{1a})(R^{1b})-$ から選択され、ここで、各 R^{1a} 、各 R^{1b} 、又は各 R^{3a} は、独立して、水素、ハロゲン、又は R で場合により置換されてもよい C_{1-6} 脂肪族基であり得、ここで、各 R は、独立して、水素又はハロゲンであり得；好ましくは、 L^3 は、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、又は $-C(CH_3)_2CH_2-$ から選択され；

p は、平均接続数を表し、 n は、1～10の整数又は小数、好ましくは3～8の整数又は小数から選択され；

Ab は、抗Her3抗体又はその抗原結合断片であり、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、配列番号1、配列番号2及び配列番号3にそれぞれ示されるアミノ酸配列のHCDR1、HCDR2及びHCDR3を含み、軽鎖可変領域は、配列番号3、配列番号4、配列番号5及び配列番号6にそれぞれ示されるアミノ酸配列のLCDR1、LCDR2及びLCDR3を含み；好ましくは、本明細書に記載の抗Her3抗体又

10

20

30

40

50

はその抗原結合断片は、（Ⅰ）配列番号 7 に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号 8 に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域；又は（ⅠⅠ）配列番号 9 に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号 8 に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域；又は（ⅠⅠⅠ）配列番号 10 に示されるアミノ酸配列の重鎖可変領域及び配列番号 8 に示されるアミノ酸配列の軽鎖可変領域を含む；より好ましくは、本明細書に記載の抗 H e r 3 抗体又はその抗原結合断片は、（1）配列番号 11 に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号 12 に示されるアミノ酸配列の軽鎖；又は（2）配列番号 13 に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号 12 に示されるアミノ酸配列の軽鎖；又は（3）配列番号 14 に示されるアミノ酸配列の重鎖及び配列番号 12 に示されるアミノ酸配列の軽鎖を含む。

【0226】

一部の実施形態では、本明細書に記載される平均接続数 p は、2～8 の整数又は小数とすることができる。例えば、平均接続数 n は、3～8 までの整数又は小数とすることができる。例えば、平均接続数 n は、1～2、2～3、3～4、4～5、5～6、6～7、7～8、8～9、又は 9～10 の整数又は小数とすることができる。

【0227】

医薬組成物及び医薬製剤

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗 H e r 3 抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物と、薬学的に許容される担体又は賦形剤とを含む医薬組成物を提供する。

【0228】

本明細書で提供される抗 H e r 3 抗体－薬物結合体もしくはその異性体、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの混合物又はそれらの医薬組成物は、組み合わせて投与するための製剤において、適切な担体、賦形剤及び他の試薬に組み込むことができ、したがって、改善された移行、送達、耐性などを提供することが理解されるべきである。

【0229】

「医薬組成物」という用語は、その中に含まれる有効成分の生物学的活性を有効な形で存在させることができ、製剤が投与される対象にとって許容できない毒性を有する追加成分を含まない製剤を指す。

【0230】

本明細書に記載の抗 H e r 3 抗体を含む医薬製剤は、好ましくは水溶液又は凍結乾燥製剤の形態で、所望の純度を有する本発明の抗 H e r 3 抗体－薬物結合体又はその薬学的に許容される塩を、1 つ以上の任意の医薬アジュバントと混合することにより調製することができる（Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. E d. (1980)）。

【0231】

本発明の医薬組成物又は製剤は、治療される特定の適応症に必要なとされる 1 つ又は複数の追加の活性成分をさらに含むことができ、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有する活性成分である。一部の実施形態では、追加の有効成分は、化学療法剤、免疫チェックポイント阻害剤、成長阻害剤、抗生物質、又は様々な公知の抗腫瘍剤もしくは抗がん剤であり、これらは好適には、意図された目的に有効な量で組み合わせて存在する。一部の実施形態では、本発明の医薬組成物は、抗 H e r 3 抗体をコードするポリヌクレオチドの組成物も含む。

【0232】

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗体－薬物結合体もしくはその薬学的に許容される塩、又は本明細書に記載の医薬組成物と、1 つ以上の追加の治療薬とを含む医薬組合せを提供する。

【0233】

さらに別の態様では、本発明はキットを提供し、このキットは、本明細書に記載の抗体－薬物結合体もしくはその異性体、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの混合物、又は本明細書に記載の医薬組成物を含み、好ましくはさらに薬物送達デバイスを含む。

医薬用途

10

さらに別の態様では、本発明は、H e r 3 が介在する疾患又は状態を治療及び／又は予防するための、本明細書に記載の抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物、又は本明細書に記載の医薬組成物を提供し、ここで、好ましくは、疾患又は状態はがんである。

さらに別の態様では、本発明は、Her3が介在する疾患又は病態を治療及び／又は予防するための方法を提供し、本明細書に記載の抗体－薬物結合体、その異性体、その薬学的に許容される塩、又はそれらの混合物、又は本明細書に記載の医薬組成物を、必要とする対象に投与することを含み、好ましくは、疾患又は病態はがんである。

一部の実施形態では、がんは、肺がん、腎臓がん、尿路がん、結腸直腸がん、前立腺がん、多形膠芽腫、卵巣がん、膵臓がん、乳がん、黒色腫、肝臓がん、膀胱がん、胃がん及び食道がんから選択される。

一部の実施形態では、本発明の投与経路としては、経口投与、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、動脈内投与、関節内投与（例えば、関節炎関節における）、吸入、エアロゾル送達、腫瘍内投与などが挙げられるが、これらに限定されない。

一部の実施形態では、本発明は、治療上有効な量を対象に共投与する1つ以上の療法（例えば、治療モダリティ及び／又は他の治療薬）を提供する。一部の実施形態では、治療法は、外科的治療及び／又は放射線治療を含む。

一部の実施形態では、本明細書で提供される方法又は使用は、個体に1つ以上の療法（例えば、治療様式及び／又は他の治療剤）を投与することをさらに含む。本発明の抗体－薬物結合体又はその薬学的に許容される塩は、治療において単独で、又は他の治療剤と組み合わせて使用することができる。例えば、少なくとも1つの追加の治療薬と共投与することができる。

本明細書に記載の薬物結合体は、インビトロでの腫瘍細胞の増殖に対して阻害活性を有し得る。阻害活性は次のようなものである：本明細書に開示される薬物結合体を腫瘍細胞を含む培地に添加すると、1%以上、2%以上、4%以上、5%以上、8%以上、10%以上、15%以上、18%以上、20%以上の減少をもたらす、25%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上、又は95%以上の腫瘍細胞の増殖能を、陰性対照又は参照薬剤を添加した場合と比較して低下させることができる。例えば、阻害活性は以下の通りである：腫瘍細胞に対するIC50値(nM)は、10000以下、5000以下、4000以下、3000以下、2000以下、1000以下、500以下、400以下、300以下、200以下、150以下、120以下、110以下、100以下、99以下、98以下、97以下、96以下、95以下、94以下、93以下、92以下、91以下、90以下、80以下、75以下、70以下、65以下、62以下、60以下、50以下、40以下、30以下、25以下、23以下、22以下、20以下、19以下、18以下、18.5以下、17以下、15以下、12以下、10以下、9以下、8.5以下、7以下、6.7以下、6以下、5.9以下、5.5、5.0以下、4.8以下、4.5以下、4.4以下、4以下、3.5以下、3以下

、2.5以下、2以下、1.5以下、1.0、0.5以下、0.3以下、0.29以下、0.25以下、0.21以下、0.20以下、0.18以下、0.17以下、0.15以下、0.12以下、0.10以下、0.09以下、0.08以下、0.07以下、0.06以下、0.05以下、0.04以下、0.03以下、0.02以下、又は0.01以下である。例えば、腫瘍細胞は、固形腫瘍細胞を含み得るが、これに限定されない；例えば、腫瘍細胞は、胃がん細胞又は乳がん細胞を含み得るが、これに限定されない；例えば、腫瘍細胞は、HCC1569細胞又はMDA-MB-453細胞を含み得るが、これに限定されない。

【0242】

本明細書に記載の薬物結合体は、標的化阻害を有することがある。ターゲティング阻害は、以下のようなものである：陰性対照又は参照薬剤が添加された特異的標的の高発現を有する腫瘍細胞の培地中と比較して、特異的標的の高発現を有する腫瘍細胞の増殖能が1%以上、2%以上、4%以上、5%以上減少する、8%以上、10%以上、15%以上、18%以上、20%以上、25%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上、又は95%以上である。例えば、標的阻害は、次のようなものである：特定の標的を高発現する腫瘍細胞に対するIC50値(nM)は、10000以下、5000以下、4000以下、3000以下、2000以下、1000以下、500以下、400以下、300以下、200以下、185以下、150以下、120以下、110以下、100以下である、99以下、98以下、97以下、95以下、91以下、80以下、74以下、70以下、65以下、62以下、60以下、50以下、40以下、30以下、25以下、23以下、22以下、20以下、19以下、18以下、18.5以下、17以下、15以下、12以下、10以下、9以下、8.5以下、7以下、6.7以下、6以下、5.9以下、5.5、5.0以下、4.8以下、4.5以下、4.4以下、4以下、3.5以下、3以下、2.5以下、2以下、1.5以下、1.0、0.5以下、0.3以下、0.29以下、0.25以下、0.21以下、0.20以下、0.18以下、0.17以下、0.15以下、0.12以下、0.10以下、0.09以下、0.08以下、0.07以下、0.06以下、0.05以下、0.04以下、0.03以下、0.02以下、又は0.01以下である。例えば、特異的標的の高発現を有する腫瘍細胞としては、固形腫瘍細胞が挙げられるが、これらに限定されない；例えば、特異的標的の高発現を有する腫瘍細胞としては、胃がん細胞又は乳がん細胞が挙げられるが、これらに限定されない；例えば、特異的標的の高発現を有する腫瘍細胞としては、HCC1569細胞又はMDA-MB-453細胞が挙げられるが、これらに限定されない。特異的標的としては、Her3が挙げられるが、これらに限定されない。

【0243】

本明細書に記載の薬物結合体は、血漿安定性を有することがある。血漿安定性は、本明細書に開示される薬物結合体が50%以下、40%以下、30%以下、20%以下、10%以下、7%以下、5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、1.9%以下、1.8%以下、1.7%以下、1.6%以下、1.5%以下、1.4%以下、1.3%以下、1.2%以下、1.1%以下、1.0%以下、0.9%以下、0.8%以下、0.7%以下、0.6%以下、0.5%以下、0.4%以下、0.3%以下、0.2%以下又は0.1%以下の細胞毒性薬を、薬物結合体を血漿に添加してから1日後、3日後、5日後、7日後、14日後、20日後又は30日後に投与する。

【0244】

本明細書に記載の薬物結合体は、インビボでの腫瘍抑制効果を有する可能性がある。腫瘍抑制効果は次のようなものである：陰性対照又は参照薬剤を動物に投与した場合と比較して、動物の腫瘍の体積が1%以上、2%以上、4%以上、5%以上、8%以上、10%以上、15%以上、18%以上、20%以上、25%以上、40%以上減少する、50%以上、55%以上、60%以上、70%以上、73%以上、75%以上、80%以上、90%以上又は95%以上本明細書に開示した薬物結合体を投与してから1日後、3日後、5日後、7日後、14日後、20日後、21日後又は30日後、あるいは動物の腫瘍の体

積が1.1倍以下、1.3倍以下、1.5倍以下、2倍以下、3倍以下、5倍以下、10倍以下、20倍以下、22倍以下、30倍以下、50倍以下、100倍以下、500倍以下、1000倍以下又は1500倍以下である。動物としては、哺乳動物が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、動物としては、ネコ、イヌ、ウマ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウサギ、マウス、ラット、サル又はヒトが挙げられるが、これらに限定されない。投与方法としては、経口投与、静脈注射、点滴、腹腔内注射、局所投与などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0245】

本明細書に記載の薬物結合体はバースタンダー効果を有することがある。バースタンダー効果とは、本明細書に開示される薬物結合体は、特定標的の発現が低い腫瘍細胞の細胞増殖に対する明らかな阻害効果を有さないが、特定標的の発現が低い腫瘍細胞と特定標的の発現が高い腫瘍細胞との共培養において、本明細書に開示される薬物結合体は、特定標的の発現が低い腫瘍細胞と特定標的の発現が高い腫瘍細胞との細胞増殖を同時に阻害し得る、ということであろう。例えば、特異的標的の発現量が低い腫瘍細胞と特異的標的の発現量が高い腫瘍細胞との共培養において、阻害活性は、以下のようになり得る：特定標的の発現量が低い腫瘍細胞に対するIC50値(nM)は、10000以下、5000以下、4000以下、3000以下、2000以下、1000以下、500以下、400以下、300以下、200以下、185以下、150以下、120以下、110以下、100以下である、99以下、98以下、97以下、95以下、91以下、80以下、74以下、70以下、65以下、62以下、60以下、50以下、40以下、30以下、25以下、23以下、22以下、20以下、19以下、18以下、18.5以下、17以下、15以下、12以下、10以下、9以下、8.5以下、7以下、6.7以下、6以下、5.9以下、5.5、5.0以下、4.8以下、4.5以下、4.4以下、4以下、3.5以下、3以下、2.5以下、2以下、1.5以下、1.0、0.5以下、0.3以下、0.29以下、0.25以下、0.21以下、0.20以下、0.18以下、0.17以下、0.15以下、0.12、0.10以下、0.09以下、0.08以下、0.07以下、0.06以下、0.05以下、0.04以下、0.03以下、0.02以下、又は0.01以下である。特異的標的の高発現を有する腫瘍細胞と比較して、特異的標的の低発現を有する腫瘍細胞における特異的標的の発現は、1%以上、2%以上、4%以上、5%以上、8%以上、10%以上、15%以上、18%以上、20%以上、25%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上又は95%以上減少し得る。例えば、特異的標的の高発現を有する腫瘍細胞としては、固形腫瘍細胞が挙げられるが、これらに限定されない；例えば、特異的標的の高発現を有する腫瘍細胞としては、胃がん細胞又は乳がん細胞が挙げられるが、これらに限定されない；例えば、特異的標的の高発現を有する腫瘍細胞としては、HCC1569細胞又はMDA-MB-453細胞が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、特定の標的の発現が低い腫瘍細胞としては、固形腫瘍細胞が挙げられるが、これらに限定されない；例えば、特定の標的の発現が低い腫瘍細胞としては、乳がん細胞が挙げられるが、これらに限定されない；例えば、特定の標的の発現が低い腫瘍細胞としては、HCC1187細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【0246】

本明細書に記載の薬物結合体は、トランスポーターによる輸送を阻害する能力を有する場合がある。輸送を阻害する能力は、輸送基質の標準と比較して、本明細書に記載の薬物結合体の流出比が1%以上、2%以上、4%以上、5%以上、8%以上、10%以上、15%以上、18%以上、20%以上、25%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上又は95%以上減少することである。例えば、流出比の試験は、当業者が一般的に用いる方法であってもよいし、本願の実施例に記載されている方法であってもよい。

【0247】

本明細書に記載の薬物結合体は、インビボ腫瘍標的化能を有することがある。インビボ

標的化能は、以下のようなものである：シグナル物質で標識された薬物結合体を動物に投与した場合、動物の他の組織及び器官と比較して、腫瘍組織における標識された薬物結合体の分布が1%以上、2%以上、4%以上増加する、5%以下、8%以下、10%以下、15%以下、18%以下、20%以下、25%以下、40%以下、50%以下、60%以下、70%以下、80%以下、90%以下又は95%以下、あるいは1.1倍以下、1.3倍以下、1.5倍以下、2倍以下、3倍以下、5倍以下、10倍以下、20倍以下、22倍以下、30倍以下、50倍以下、100倍以下、500倍以下、1000倍以下又は1500倍以下に増加させることができる。シグナル物質は放射性物質であってもよい。例えば、シグナル物質には125Iが含まれるが、これに限定されない。動物は哺乳動物を含むが、これに限定されない。例えば、ネコ、イヌ、ウマ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウサギ、マウス、ラット、サル、ヒトなどが挙げられるが、これらに限定されない。投与としては、経口投与、静脈内注射、点滴、腹腔内注射又は局所投与が挙げられるが、これらに限定されない。組織又は臓器としては、心臓、肝臓、脾臓、肺、腎臓、脳又は骨髄が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0248】

本明細書に記載の薬物結合体は、良好なインビボ安全性を有し得る。インビボ安全性は、本明細書に開示される薬物結合体が動物に投与された後、動物におけるインビボ遊離毒素の放出率が、50%以下、40%以下、30%以下、20%以下、10%以下、7%以下、5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、1.9%以下、1.8%以下、1.7%以下、1.6%以下、1.5%以下、1.4%以下、1.3%以下、1.2%以下、1.1%以下、1.0%以下、0.9%以下、0.8%以下、0.7%以下、0.6%以下、0.5%以下、0.4%以下、0.3%以下、0.2%以下、又は0.1%以下である。例えば、インビボでの安全性は以下の通りである：本明細書に記載の薬物結合体は、0.5mg/kg以上、1mg/kg以上、2mg/kg以上、3mg/kg以上、4mg/kg以上、5mg/kg以上、10mg/kg以上、20mg/kg以上、30mg/kg以上、50mg/kg以上、70mg/kg以上、100mg/kg以上、200mg/kg以上、500mg/kg以上又は1000mg/kg以上の濃度で、動物に毒性発現を引き起こすことなく投与することができる。例えば、動物としては、ネコ、イヌ、ウマ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウサギ、マウス、ラット、サル又はヒトが挙げられるが、これらに限定されない。投与方法としては、経口投与、静脈注射、点滴、腹腔内注射、局所投与などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

20

30

【0249】

試料分析

1. ADCのDAR値分析法－疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC-HPLC）

高速液体クロマトグラフWaters E2965高速液体クロマトグラフィーシステム。

クロマトグラフィーカラム：MabPac（商標）HIC-Butyl 5µm 4.6×100mm（製造元：Thermo）。

移動相A：1.5M（NH₄）₂SO₄+50mMリン酸カリウム（pH7.0）。

移動相B：50mMリン酸ナトリウム（pH7.0）／イソプロパノール（75：25V/V）。

40

【0250】

【表 2】

時間	移動相B
0～2分	0%～10%
2～22分	10%～65%
22～24分	65%～100%
24～26分	100%～0%
26～30分	0%

10

【0251】

溶出は以下の溶出手順に従って行った。

【0252】

検出条件：移動相の流速は1 mL / 分、検出波長は280 nm、カラム温度は30℃に設定した。

【0253】

2. SEC純度分析ーサイズ排除クロマトグラフィー (SEC-HPLC)

高性能液体クロマトグラフ Agilent 1260 液体クロマトグラフ。

クロマトグラフィーカラム Waters Xbridge BEH200 SEC (7.8 × 300 mm、3.5 μm)

20

移動相：50 mM リン酸カリウム + 200 mM アルギニン (pH 6.80) + 10% イソプロパノール

【0254】

【表 3】

時間	移動相
0～30分	100%

【0255】

検出条件：移動相の流速は0.5 mL / 分、検出波長は280 nm、カラム温度は30℃に設定した。

30

【0256】

本発明は、記載される特定の実施形態の任意の組み合わせを含む。本発明のさらなる実施形態及び適用可能な全範囲は、以下に提供される詳細な説明から明らかになるであろう。しかしながら、本発明の精神及び範囲内での様々な変更及び修正は、詳細な説明から当業者に明らかになるため、詳細な説明及び具体例は、本発明の好ましい実施形態を示しながら、例示のためにのみ提供されることを理解されたい。引用文献を含め、本明細書で引用した全ての刊行物、特許及び特許出願は、全ての目的のために参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【実施例】

40

【0257】

以下の実施例は、本発明のいくつかの好ましい実施形態及び態様を示し、さらに説明するために提供されるものであり、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。

【0258】

実施例 1. 抗 Her3 抗体

材料と方法：以下の試薬を Southern Biotech 社から購入し、所定の希釈度で使用した：ヤギ抗マウス IgG-HRP (1030-05、1:5000 希釈)、ヤギ抗ヒト IgG-PE (2040-09、1:1000 希釈)、ヤギ抗ヒトカップ IgG-HRP、(2061-05、1:20000 希釈)、ヤギ抗ウサギ IgG-HRP (

50

4030-05、1:5000希釈)、FITC標識ストレプトアビジン(7100-02、1:500希釈):マウス抗ヒトカップ-APC(9230-11、1:500希釈)、及びマウスIgG APC(0107-11、0.1mg/mL)であった。NRG1はOrigene(TP723155)から入手した。細胞培地Roswell Park Memorial Institute(RPMI)1640、Dulbecco's modified medium(DMEM)、ウシ胎児血清はHyclone社から入手した。組換えパトリツマブは自社で調製した。HER3抗体3F8はハイブリドーマ又は組換えにより産生された。m3F8はマウス3F8抗体を表し、ch3F8及びhu3F8はそれぞれキメラ及びヒト化3F8抗体を表す。

【0259】

細胞培養:SP2/0、SP2/0-HER3、SP2/0-HER2、SP2/0-EGFR、NCI-N87、MDA-MB-468、MDA-MB-453、7901、HT29、MCF-7、及びSK-BR-3はATCCから購入し、ATCCが推奨する適切な培地を用いて培養した。ヒトEGFR、HER2、HER3を安定的に発現するSP2/0-EGFR、SP2/0-HER2、SP2/0HER3細胞は、自社で作製した。

【0260】

抗HER3ハイブリドーマの調製:初日に、BALB/cマウス(雌、8~10週齢)に、ヒトHER3を発現するSP2/0-HER3細胞をフロイント完全アジュバントとともに $1 \sim 2 \times 10^6$ 個を腹腔内注射した。8日目には、フロイント不完全アジュバントと同数の細胞を用いて強化免疫を行った。14日目からは、3日おきに上記の細胞量で免疫し、この操作を3回繰り返した。最後の免疫から3日後、脾臓からBリンパ球を分離し、不死骨髓腫細胞NS-1と融合させてハイブリドーマ細胞を作製した。

【0261】

ハイブリドーマ細胞を96ウェルプレートで勾配希釈培養した。上清を回収し、フローサイトメトリーでSP2/0細胞表面に発現したHER3を認識する抗体をスクリーニングするか、ELISAで組み換えHER3抗体をスクリーニングした。

【0262】

抗体可変領域のDNAクローニングと配列決定:ハイブリドーマから抽出した全RNAをTrizol(ThermoFisher社製)を用いて最初のcDNA鎖に逆転写した後、5'RACEキット(Invitrogen社製、18374-058)の説明書に従ってPCRを用いて5'相補的DNA(5'RACE)を迅速に増幅し、可変領域をコードするDNA配列を増幅した。PCR産物をpGM-Tベクターにクローニングした。陽性クローンはDNA配列決定に供され、そこからタンパク質配列が推定された。可変領域のアミノ酸をKabatt番号付けスキームで分析した。

【0263】

抗体の発現:抗体の重鎖と軽鎖をコードするDNAを発現ベクターpCDNA3.1(+)(Invitrogen)にクローニングし、293T細胞で発現させた。抗体はプロテインA又はGカラム(GE)を用いて精製した。

【0264】

ヒト化:ヒト化はGenScript社によって行われた。まず、マウス抗体の重鎖の定数領域をヒトIgG1の定数領域配列で置換し、マウス抗体の軽鎖の定数領域をヒトIgκの定数領域配列で置換することにより、マウス-ヒトキメラ抗体(ch3F8)を作製した。その後、参考資料(Kuramochiら)に従ってキメラ抗体のヒト化を行った。親和性と特異性に必要なマウス抗体のフレームワーク残基は保持及び維持しながら、マウスフレームワークをヒト生殖細胞系列フレームワークで置換し、ヒト化抗体を作製した。

【0265】

ヒト化抗体をコードするコドン最適化DNA配列はGenScript社によって合成された。

10

20

30

40

50

【0266】

抗体の発現と精製：上記の抗体DNA配列をコードするプラスミドをExp CHO-S (Catl. # A2910001, Gibco) 細胞にトランスフェクトした後、5% CO₂、32℃の培地で細胞を増殖させ、12日間維持した。4000g、30分間の遠心後、上清を回収し、0.22 μmのメンブレンでろ過した。プロテインA (Catl. # 17508001, GE) に結合する抗体を20mMリン酸ナトリウム (pH 7.0) で洗浄し、製造元のマニュアルで推奨されているように0.1Mグリシン (pH 3.0) で溶出した。溶出した画分を0.1M Trisバッファー (pH 9.0) で中和し、限外ろ過遠心によりPBSバッファーに切り替えた。タンパク質濃度はBCAで測定した。

10

【0267】

表面プラズモン共鳴 (SPR) による親和性アッセイ：抗体の動態と親和性はBiacore T200を用いて測定した。簡単に説明すると、組換えヒトHER3抗体をプロテインAチップ (GE, Cat. 29-1275-5) に固定化した。抗原濃度は、50 nMから最終濃度0.78125 nMまで、2倍連続希釈で作製し、親和性と動力学をチップを通して測定した。

【0268】

FACSアッセイ：培養細胞を0.25%トリプシン-EDTAで消化し、1500 rpmで5分間遠心した。5% FBSと0.2% ProClin 300を含むPBS FACS溶液を用いて、細胞ペレットを5×10⁶細胞/mLに再生した。50 μLの細胞懸濁液を100 μLの一次抗体 (濃度1 μg/mL) と氷上で1時間インキュベートした。ヤギ抗マウスIgG-PE (1:1000希釈) を含むFACS溶液100 μLを用いてペレットを再生し、暗所にて氷上で1時間インキュベートした。

20

【0269】

ウェスタンブロットアッセイ：SDS-PAGEで分離したタンパク質をニトロセルロース膜に移し、ウェスタンブロットした。使用した一次抗体は以下の通り：抗HER2 (細胞シグナル伝達, Catl # : 2165S)、抗HER3 (細胞シグナル伝達, Catl # : 12708)、抗p-HER3 (細胞シグナル伝達, Catl # : 4791)、抗β-アクチン (細胞シグナル伝達, Catl # : 4967)。

【0270】

ELISAアッセイ：ヒトHER2-ex-huFc、ヒトHER3-huFc、ヒトEGFR-hisを96ウェルプレートで2 μg/mL、50 μL/ウェルに希釈し、4℃で一晩インキュベートした。プレートを0.5×PBSTで洗浄した後、100 μLのブロッキングバッファー (PBS + 3% BSA) と共に37℃で2時間インキュベートし、0.5×PBSTで洗浄した。3F8抗体をブロッキングバッファーで1:3の連続勾配で希釈し、50 μL/ウェルで添加し、37℃で40~50分間インキュベートした後、0.5×PBSTで洗浄した。ヤギ抗マウスIgG-HRP (Southern Biotech, 1030-05) をブロッキングバッファーで1:20000に希釈し、50 μL/ウェルで添加し、暗所で30分間インキュベートした後、0.5×PBSTで洗浄した。アッセイに先立ち、50 μLのルミノールバッファーA+Bを各ウェルに1:1

30

40

【0271】

NRG1によって誘導されるHER3リン酸化：細胞を6ウェルプレートで培養し、コンフルエントが80%に達した時点で実験に用いた。実験当日、細胞をPBSで2回洗浄し、無血清培地で6時間培養した後、10 μg/mLの抗体で一晩誘導した。HER3のリン酸化を誘導するため、ウェスタンブロット用に細胞を回収する30分前に、NRG1を作業濃度100 ng/mLになるように添加した。

【0272】

抗体の安定性試験：5 mg/mLの精製抗体は、通常通り4℃で保存し、熱安定性評価のために40℃で7日間と14日間インキュベートし、酸安定性評価のためにpH 3.5

50

のグリシン溶液に移し替えて再生し、2、4および6時間保存し、凍結融解安定性評価のために4サイクルと6サイクルの凍結融解処理を繰り返した。凝集はSEC-HPLCで測定し、結合親和性はELISAで測定した。

【0273】

抗体 [^{89}Zr] Zr 標識：参考資料 (Zeglis and Lewis, 2015) に示されているように、DFO-NCSを抗体に結合させた。DFOと抗体を5:1のモル比で混合し、37℃で1時間インキュベートした。DFO結合抗体はSEC-HPLCで精製した。

【0274】

シュウ酸 Zr^{89} 溶液 (0.8 mCi) を HEPES / Na_2CO_2 緩衝液 (pH 7.0~7.5) 中で DFO 標識抗体 (0.2 mg/mL) と混合し、室温で30分間インキュベートした。放射化学的純度は TLC で評価した。 [^{89}Zr] Zr 抗体の Rf は 0~0.3 であり、遊離の ^{89}Zr の Rf は 0.6~1.0 であった。

【0275】

PET イメージング：各動物に約 100 μCi の [^{89}Zr] Zr 抗体を静脈注射した。注射後指示された時間に、小動物用 PET スキャナーを用いて画像を収集し、分析した。

【0276】

インビボ有効性試験：動物は IACUC ガイドラインに従って維持および使用された。BALB/c ノードマウス及び NPG マウスは、それぞれ Charles River 社及び SPF Bio tech 社から購入し、25℃、12時間の明暗サイクルで飼育した。患者由来異種移植 (PDX) モデルは、凍結保存した組織片を皮下に移植することで作製した。腫瘍サイズが 100~200 mm³ に達した時点で薬物治療を開始し、腫瘍サイズが 1000 mm³ に達した時点で安楽死させた。健康状態は毎日モニターした。腫瘍の大きさと体重は3日ごとにモニターし記録した。

【0277】

ソフトウェア：データは Olinda、GraphPad Prism 6.0、又は EXCEL を用いて分析した。

【0278】

実施例 1.1

マウス 3F8 を SP2/0 野生型細胞又は HER3、HER2 または EGFR を過剰発現した細胞と共培養した。結合強度は、PE-抗マウス二次抗体を用いて FACS 装置で測定した。

結果を図1に示す。3F8 は SP2/0-HER3 細胞に特異的に結合したが、他の細胞には結合しなかった。

【0279】

実施例 1.2

マウス 3F8 とヒト HER3、HER2 および EGFR との結合親和性は ELISA で決定した。

結果を図2に示す。マウス 3F8 は HER3 のみを認識し、HER2 や EGFR を認識しなかった。

【0280】

実施例 1.3

ヒト HER3、HER2、及び EGFR に対するマウス 3F8 の結合の EC50 を GraphPad Prism 6.0 を用いて分析した。結果を表1に示す。マウス 3F8 はサブナノモル領域で強い結合親和性を示した。

【0281】

10

20

30

40

50

【表 4】

表1. マウス3F8とヒトHER3、HER2、EGFRとの結合のEC50

3F8	huHER3	huHER2	huEGFR
EC50 (nM)	0.11	NA	NA
EC50 (ng/mL)	16.50	NA	NA
HillSlope	1.04	NA	NA
Rスクエア	0.99	NA	NA

10

【0282】

実施例 1. 4

ヒト、サル、ラット及びマウスのHER3に対するマウス3F8の種選択性はELISAによって決定された。結果を図3に示す。マウス3F8はヒトとサルのHER3を同程度の力価で認識したが、マウスとラットのHER3は認識しなかった。

【0283】

実施例 1. 5

ヒト、サル、ラットおよびマウスHER3に対するマウス3F8の結合のEC50をGraphPad Prism 6.0を用いて分析した。結果を表2に示す。マウス3F8は、ヒト及びカニクイザルHER3に対して、ナノモル以下の範囲で同じ結合親和性を示した。

20

【0284】

【表 5】

表2. ヒト、カニクイザル、ラット、マウスHER3に対するマウス3F8の結合EC50

	ヒトHER3	カニクイザル HER3	マウスHER3	ラットHER3
HillSlope	1.015	1.102	NA	NA
EC ₅₀ (nM)	0.1635	0.1855	NA	NA
EC ₅₀ (ng/mL)	24.525	27.825	NA	NA
Rスクエア	0.9957	0.9969	NA	NA

30

【0285】

実施例 1. 6

マウス3F8はNRG1によるHER3のリン酸化を阻害した。NCI-N87、MDA-MB-468及びMDA-MB-453をHER3リガンドであるNRG1で処理し、HER3の下流リン酸化を誘導した。NRG1によって誘導されたp-HER3を阻害するマウス3F8の効果は、ウェスタンブロットによって決定された。3D4は、HER3への結合においてNRG1と競合することが以前に証明された抗HER3抗体であり、本明細書では陽性対照として適用した。

40

【0286】

結果を図4に示す。このデータは、マウス3F8がHER3タンパク質のリン酸化レベルを低下させたが、総HER3タンパク質レベルには影響を及ぼさなかったことを示している。HER2のウェスタンブロットも、3F8がHER2タンパク質レベルには影響を及ぼさなかったことを示している。

【0287】

実施例 1. 7

マウス3F8は異なるHER3表面レベルの細胞に速やかに取り込まれた。異なるHER3表面レベルの細胞を、マウス3F8とともに氷上でインキュベート（コントロール）するか、37℃で1時間又は4時間インキュベートした。内在化率は、氷上インキュベ

50

トしたコントロールから 37℃インキュベートした細胞表面シグナルを差し引くことによって求めた。

【0288】

結果を図5に示す。このデータは、マウス3F8が細胞内に速やかに取り込まれたことを示している。大部分は1時間以内に取り込まれ、インキュベーション時間を4時間に延長すると、細胞内断片の数はわずかに増加し、3F8の内在化が迅速かつ連続的なプロセスであることが示された。

【0289】

実施例1.8

抗HER3抗体はBT474皮下異種移植モデルにおいて腫瘍増殖抑制に有効であった。抗HER3抗体3F8、3D4、又は3F8+3D4併用療法を25mg/kgで2週間に1回、3週間静脈内注射した。腫瘍の大きさは3-4日ごとにモニターした。3F8と3D4はともに抗HER3抗体である。3F8はマウス抗体である。

10

【0290】

結果を図6に示す。3F8と3D4はともに腫瘍増殖を有意に阻害し（一元配置分散分析、 $p < 0.05$ ）、3F8の方がより優れた有効性を示した。3F8と3D4の併用は3F8単独と同等の有効性を示した。

【0291】

実施例1.9

[⁸⁹Zr] Zr-ch3F8を胃PDXモデルGAS078の画像化に使用した。[⁸⁹Zr] Zr-ch3F8を胃モデルGAS078に静脈注射した。注射後4、24、48、72、96、168時間後に画像を収集した。各臓器の放射性取り込みはOlindeで分析し、%ID/g（注射投与量/組織グラム）で表した。

20

【0292】

図7は、GAS078モデルにおける[⁸⁹Zr] Zr-ch3F8の代表的な画像を示す。Ch3F8はキメラ3F8抗体を表す。このデータは、腫瘍における[⁸⁹Zr] Zr-ch3F8の取り込みが時間の経過とともに徐々に増加していることを示している。腫瘍への取り込みは注射後96時間で安定を保ち、その後注射後168時間でわずかに減少した。

【0293】

データは表3にも示されている。腫瘍及び心臓、肝臓、腎臓、脾臓の主要臓器における[⁸⁹Zr] Zr-ch3F8の取り込み量は、%ID/g（%注入量/組織g）で評価した。

30

【0294】

40

50

【表 6】

表3. 腫瘍及び主要臓器による放射性物質の取り込み

%ID/g		心臓	肝臓	腎臓	脾臓	腫瘍
4h	マウス1	23.03	20.37	11.64	15.28	5.26
	マウス2	14.75	14.97	8.77		5.38
24h	マウス1	12.39	10.59	7.94	7.84	10.33
	マウス2	8.66	8.41	6.41	9.74	10.31
48h	マウス1	6.02	8.36	6.72	10.69	12.15
	マウス2	3.44	6.77	6.31	5.15	11.33
72h	マウス1	3	8.28	3.51	12.13	12.67
	マウス2	2.19	7.09	4.19	12.64	10.86
96h	マウス1	1.61	6.94	3.42	11.49	12.07
	マウス2	1.44	6.93	2.81	10.89	8.2

10

【0295】

20

実施例 1. 10

〔⁸⁹Zr〕Zr-*ch3F8*を複数のPDXモデルの画像化に用いた。〔⁸⁹Zr〕Zr-*ch3F8*を静脈注射した。注射から72時間後に画像を収集した。図8は、6つの動物モデルにおける〔⁸⁹Zr〕Zr-*ch3F8*イメージングの代表的な画像を示す。表4は、ELISAによって決定された腫瘍組織におけるHER3発現レベル、及び注射72時間後の主要臓器及び腫瘍組織における放射性取り込みを示す。試験した6つのPDXモデル全てにおいて、かなりの腫瘍取り込みが認められた。

【0296】

【表 7】

30

表4. 腫瘍組織におけるHER3発現レベル(ng/mg)及び主要臓器と腫瘍組織における放射性物質取り込み(%ID/g)

No.	モデル	HER3 (ng/mg, Elisa)	心臓	腎臓	肝臓	脾臓	腫瘍
1	175P6	9.78	4.80	5.52	15.12	19.24	14.10
2	078P7	11.61	3.09	4.29	12.78	14.19	12.29
3	194P5	4.38 (P3)	7.37	5.56	5.48	15.42	14.92
4	142P7	0.05 (P6)	4.15	4.13	4.93	13.09	18.27
5	143P6	6.07	7.90	8.30	13.64	18.01	15.48
6	176R	13.15	5.12	31.61	11.89	9.03	5.37

40

【0297】

実施例 1. 11

ヒト化3F8 (hu3F8) とキメラ3F8の結合親和性。3つのヒト化3F8クローンとキメラ3F8の結合動態をBiacoreで測定した。3つのヒト化3F8クローン(クローン1、クローン2、クローン3)は、異なる重鎖と1つの同一の軽鎖を有してい

50

た。クローン 1、クローン 2、クローン 3 はそれぞれ h u 3 F 8 - 1、h u 3 F 8 - 2、h u 3 F 8 - 3 に相当した。

【 0 2 9 8 】

表 6 に記載されたすべてのデータは、B i a c o r e T 2 0 0 評価ソフトウェアバージョン 3 . 1 を用いて処理された。

【 0 2 9 9 】

【表 8】

表6. ヒト化3F8(hu3F8)とキメラ3F8の結合親和性

リガンド	分析物	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	Chi ² (RU2)
キメラ	His-HER3	6.28E+05	3.91E-04	6.24E-10	103.1	8.35E-02
クローン1	His-HER3	5.60E+05	6.12E-04	1.09E-09	110.1	9.52E-02
クローン2	His-HER3	6.66E+05	3.28E-04	4.92E-10	113.2	4.63E-02
クローン3	His-HER3	6.44E+05	3.84E-04	5.40E-10	124	3.60E-02

10

【 0 3 0 0 】

実施例 1 . 1 2

h u 3 F 8 の 3 つのクローンを p H 3 . 5 で 0、2、4 および 6 時間インキュベートした後、E L I S A に供して結合親和性を測定した。その結果（図 9 A）、酸処理は結合親和性にほとんど影響を及ぼさなかった。

20

【 0 3 0 1 】

h u 3 F 8 の 3 つのクローンについて、p H 3 . 5 で 0、2、4、および 6 時間インキュベートした後、E C 5 0 アッセイを行った。E C 5 0 は E L I S A 法で測定した。その結果（表 7）、酸処理は結合親和性にほとんど影響を及ぼさなかった。

【 0 3 0 2 】

【表 9】

表7. pH3. 5で0、2、4、6時間培養したhu3F8の3クローンのEC50

インキュベーション時間 (hr)	EC ₅₀ ng/mL		
	クローン1	クローン2	クローン3
0	38.74	45.04	38.71
2	38.11	48.31	41.71
4	40.89	44.54	39.45
6	38.96	41.18	38.06

30

【 0 3 0 3 】

h u 3 F 8 の 3 つのクローンを 4 0 °C で異なる時間インキュベートし、結合親和性を測定するために E L I S A にかけた。キメラ抗体も並行してアッセイした。結果を図 9 B に示す。

40

【 0 3 0 4 】

4 0 °C で異なる時間インキュベートした h u 3 F 8 の 3 つのクローンの E C 5 0 アッセイ。ヒト化 3 F 8 抗体 3 クローンを 4 0 °C の生理食塩水中で 7 日間又は 1 4 日間インキュベートし、熱ストレス試験後の結合親和性を E L I S A で測定した。キメラ抗体 3 F 8 も並行して測定した。その結果（表 8）、熱ストレスは結合親和性にほとんど影響しなかった。

【 0 3 0 5 】

50

【表 10】

表8. hu3F8の3つのクローンを40℃で異なる日数でインキュベートした場合のEC50

40℃でのインキュベーション時間(日)	EC ₅₀ ng/mL			
	キメラ抗体	クローン1	クローン2	クローン3
0	47.37	39.16	45.40	42.44
7	/	42.35	48.09	46.96
14	/	41.00	52.03	41.25

10

【0306】

hu3F8の3つのクローンを3サイクル又は5サイクル凍結融解し、ELISAに供して結合親和性を測定した。キメラ抗体も並行して測定した。その結果(図9C)、凍結融解の繰り返しは結合親和性にほとんど影響しなかった。

表9は、複数の凍結融解ストレス試験を受けたhu3F8の3クローンのEC50も示している。

【0307】

【表 11】

表9. 複数の凍結融解ストレス試験を受けたhu3F8の3クローンのEC50値

凍結融解サイクル	EC ₅₀ ng/mL			
	キメラ抗体	クローン1	クローン2	クローン3
0	47.06	45.41	42.46	42.25
3	/	44.29	46.66	37.42
5	/	38.58	43.79	33.63

20

【0308】

まとめると、hu3F8は熱、酸、凍結融解を繰り返しても結合親和性を維持し、安定性が高いことが示された。

30

【0309】

実施例 1. 13

安定性試験後のhu3F8 3クローンの凝集と4℃保存時の凝集評価。酸処理、凍結融解の繰り返し、40℃でのインキュベーション後の3つのhu3F8抗体の凝集をSEC-HPLCで測定し、4℃で保存した各抗体と比較した。結果を表10に示す。すべてのクローンがストレス試験後も95%以上のモノマーを保持しており、凝集傾向がほとんどないことが示された。

【0310】

40

50

【表 1 2】

表10. ストレス試験後のhu3F8の3クローンの凝集評価結果

試験項目	クローン1			クローン2			クローン3		
	単量体	二量体	四量体	単量体	二量体	四量体	単量体	二量体	四量体
保持時間	8.84– 8.85	7.33– 7.35	6.66– 6.68	8.86– 8.87	7.36– 7.37	6.70– 6.73	8.86– 8.87	7.36– 7.37	6.70– 6.73
4℃で保存した抗体	94.68%	4.36%	0.96%	96.67%	3.16%	0.17%	97.10%	2.90%	–
40℃で7日目	95.02%	4.22%	0.76%	96.94%	3.03%	0.03%	97.09%	2.91%	–
40℃で14日目	95.03%	4.22%	0.75%	96.44%	3.39%	0.17%	97.04%	2.96%	–
pH 3.5、2時間	94.63%	4.41%	0.96%	96.98%	2.99%	0.04%	97.04%	2.96%	–
pH 3.5、4時間	95.06%	4.22%	0.73%	96.52%	3.27%	0.22%	97.13%	2.87%	–
pH 3.5、6時間	94.80%	4.29%	0.91%	96.57%	3.27%	0.16%	97.06%	2.94%	–
凍結融解、3サイクル	94.63%	4.41%	0.96%	96.65%	3.22%	0.13%	96.97%	2.90%	0.13%
凍結融解、5サイクル	94.69%	4.43%	0.88%	96.31%	3.44%	0.25%	97.01%	2.87%	0.12%

【0 3 1 1】

実施例 1 . 1 4

h u 3 F 8 の翻訳後修飾（P T M）分析。P 1：h u 3 F 8 はストレスを与えなかった；P 2：h u 3 F 8 は4 0℃で2週間ストレスを与えた。ストレスを与えなかった、あるいは4 0℃で2週間ストレスを与えたh u 3 F 8 をトリプシンで消化し、翻訳後修飾を質量分析で分析した。その結果、H C：3 7 2 – 3 9 3 で脱アミド化がわずかに増加した。一般的に、P T Mはストレスの前後であまり変わらず、良好な現像性を示した。

【0 3 1 2】

10

20

30

40

50

【表 1 3】

表11. hu3F8のPTM分析結果

シリーズ	ペプチド断片	ペプチド配列	保持時間 (分)	翻訳後 修飾	EIC比 (%)	
					P1	P2
1	HC:1-13	QVQLQESGPGLVK	29.44	/	/	/
		<u>Q</u> VQLQESGPGLVK	37.65	pE (Q)	99.4	99.7
2	HC:58-65	NNFNPSLK	22.99	/		
		NNFNPSLK	24.67	脱アミド化 (N)	1.1	1.1
3	HC:250-256	DTLMISR	25.38	/	/	/
		DTLM <u>I</u> SR	22.07	酸化 (M)	2.2	3.1
5	HC:298-313	VVSVLTVVHQDWLNGK	62.21	/	/	/
		VVSVLTVVHQDWL <u>N</u> GK	63.86	脱アミド化 (N)	2.6	2.7
			63.55			
		VVSVLTVVHQDWL <u>N</u> GK	65.32	スクシンイミド 形成 (N)	3.9	3.9
6	HC:372-393	GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK	50.8	/	/	/
		GFYPSDIAVEWES <u>N</u> GQPENNY	51.73	脱アミド化 (N)	2.2	5.8
		GFYPSDIAVEWESNGQPENNY	51.55			
7	HC:418-440	WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK	37.78	/	/	/
		WQQGNVFSCSVMHEALH <u>N</u> HYTQK	38.52	脱アミド化 (N)	1.8	1.9
8		SLSLSPGK	23.18	/	/	/
		SLSLSPG <u>K</u>	27.46	-K	96.1	96.0
9	LC:127-142	SGTASVVCLLNNFYPR	64.43	/	/	/
		SGTASVVCLL <u>N</u> NFYPR	53.82	脱アミド化 (N)	0.9	1.0
			67.25			

【0 3 1 3】

本明細書で開示する抗体のアミノ酸配列を以下に示す。

マウス 3 F 8 軽鎖可変領域のアミノ酸配列：

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTFKLLIYYTSILHS
GVPSRFGSGSGTGDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGDTLPPTFGAGTKLELK (配列番号
1 5)

【0 3 1 4】

マウス 3 F 8 重鎖可変領域のアミノ酸配列：

DVQLQESGPGGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPDGKLEWMGYISYD
GRNNFNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTSGDTATYYCARDGDYDYFDYWGGGT
TLTVSS (配列番号 1 6)

【0 3 1 5】

ヒト化 3 F 8 重鎖のアミノ酸配列 (クローン 1 / h u 3 F 8 - 1)

QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSAYYWNWIRQPPGKGLEWIGYISYDG
RNNFNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGDYDYFDYWGGGT
TVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTT
CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番
号 1 1)

【0316】

ヒト化3F8重鎖（クローン2／h u 3 F 8－2）のアミノ酸配列

QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSAYYWNWIRQPFKGKLEWMGYISYD
 GRNNFNPSLKNRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGDYDYFDYWGGQ
 TTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
 HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
 TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
 TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (

10

【0317】

ヒト化3F8重鎖（クローン3／h u 3 F 8－3）のアミノ酸配列

QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSAYYWNWIRQPFKGKLEWMGYISYD
 GRNNFNPSLKNRVISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTATYYCARDGDYDYFDYWGGQ
 TTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
 HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
 TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
 TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (

20

【0318】

ヒト化3F8軽鎖（クローン1－3／h u 3 F 8－1－3）のアミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSLHS
 GVPSRFGSGSGTDYFTISSLQPEDIATYFCQQGDTLPPTFGGGTKLEIKRTVAAPS
 VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
 TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号12)

【0319】

実施例2．抗Her3抗体－薬物結合体（ADC）の調製

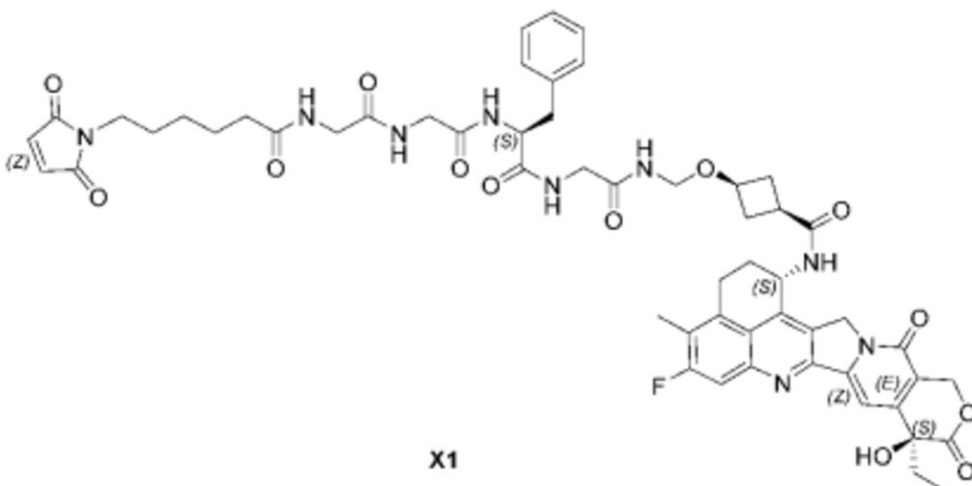
30

1．1．リンカーサイトトキシン（リンカーペイロード）の調製

リンカーペイロードX1

【0320】

【化55】

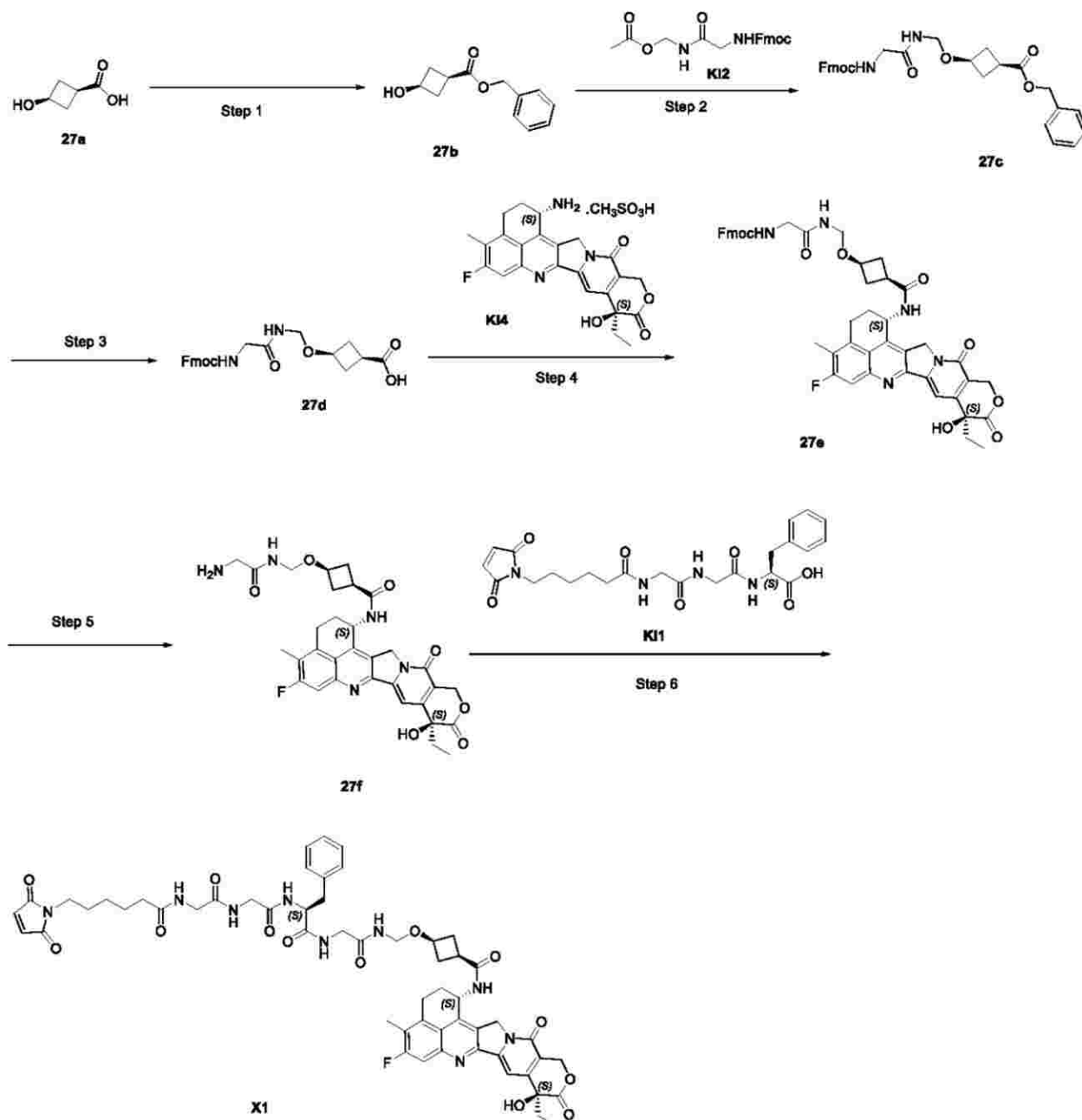


40

【0321】

50

【化 5 6】



10

20

30

40

50

【0322】

ステップ1

臭化ベンジル (11.0 g、64.6 mmol) を、窒素雰囲気下、DMF (50 mL) 中の 27a (5.00 g、43.0 mmol) 及び NaHCO₃ (10.9 g、129 mmol) の溶液に滴下添加し、混合物を 25℃で17時間反応させた。TLC (PE/E A = 2/1) で検出されるように反応が完了した後、反応溶液を水 (500 mL) に添加し、E A (250 mL) で2回抽出した。有機相を分離し、飽和塩化ナトリウム水溶液 (500 mL) で洗浄し、無水 Na₂SO₄ 上で乾燥し、濃縮し、カラムクロマトグラフィー (PE : E A = 3 : 2) で精製して、無色液体 (5.1 g、収率 57.1%) を得た。

【0323】

ステップ2

THF (10 mL) 中の 27b (4.50 g、21.8 mmol) の溶液を、窒素雰囲気下 0℃で、THF (30 mL) 中の KI2 (4.00 g、10.9 mmol) 及び TsOH (800 mg、4.65 mmol) の溶液に滴下添加し、混合物を 25℃で2時間反

応させた。TLC (PE/EA = 1/2) で検出されるように反応が完了した後、反応溶液を水 (200 mL) に加え、EA (200 mL) で2回抽出した。有機相を分離し、無水Na₂SO₄上で乾燥し、濃縮し、カラムクロマトグラフィー (PE/EA = 3/2) で精製して、白色固体 (1.56 g、収率26%) を得た。

【0324】

ステップ3

Pd/C (80 mg) をEtOH (8 mL) 及びEA (8 mL) 中の27c (800 mg、1.55 mmol) の混合溶液に水素雰囲気下0℃で添加し、混合物を0℃で2.5時間攪拌した。ろ液を濃縮し、THF (20 mL) に溶解し、ロータリーエバポレーションで乾燥して白色固体 (600 mg、収率91%) を得た。

10

【0325】

ステップ4

27d (220 mg、0.515 mmol)、HY-13631A (250 mg、0.47 mmol) 及びHATU (214 mg、0.56 mmol) のDMF (6 mL) 溶液にDIEA (152 mg、1.18 mmol) を窒素雰囲気下0℃で加え、0℃で2時間反応させた。LCMSで検出された反応終了後、反応液をクエン酸水溶液 (pH = 4) (150 mL) に加え、ろ過した。フィルターケーキを水 (175 mL) で洗浄し、濾過して乾燥させ、オイルポンプで乾燥して褐色固体 (260 mg、収率66%) を得た。

【0326】

ステップ5

ジエチルアミン (8 mL) を、窒素雰囲気下、0℃で、DCM (30 mL) 中の27e (260 mg、0.309 mmol) の溶液に滴下添加し、混合物を0℃で3時間反応させた。LCMSで検出されるように反応が完了した後、反応溶液を0℃で石油エーテル溶液 (600 mL) に添加し、固体を析出させた。得られた混合物を固体がフラスコの底に吸着するまで放置し、溶液を注いでオイルポンプで乾燥し、褐色の固体 (90 mg、収率47.1%) を得た。

20

【0327】

ステップ6

HATU (74 mg、0.19 mmol) を、DMF (2.5 mL) 中の27f (90 mg、0.13 mmol)、KI-1 (92 mg、0.19 mmol) 及びDIEA (50 mg、0.39 mmol) の溶液に、窒素雰囲気下、0℃で添加し、混合物を0℃で2時間反応させた。LCMSで検出されるように反応が実質的に完了した後、反応溶液を0℃でpH 4のクエン酸水溶液 (30 mL) に加え、凝集性固体を沈殿させた。得られた混合物を濾過し、調製プレート (DCM/MeCOH = 10/1) で精製し、X1を淡黄色固体として得た (9.2 mg、収率6%)。

30

MS m/z (ESI): 1074 [M+1]

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): 7.65 (d, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.30-7.21 (m, 5H), 6.79 (s, 2H), 5.69-5.65 (m, 1H), 5.57 (d, 1H), 5.43-5.10 (m, 3H), 4.70 (d, 2H), 4.48-4.39 (m, 2H), 4.10-4.05 (m, 1H), 4.01-3.75 (m, 5H), 3.46 (t, 2H), 3.22-3.15 (m, 2H), 3.07-3.00 (m, 1H), 2.75 (m, 1H), 2.62 (m, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.37-2.20 (m, 6H), 2.10-2.02 (m, 2H), 2.00-1.92 (m, 2H), 1.68-1.57 (m, 6H), 1.01 (t, 3H)

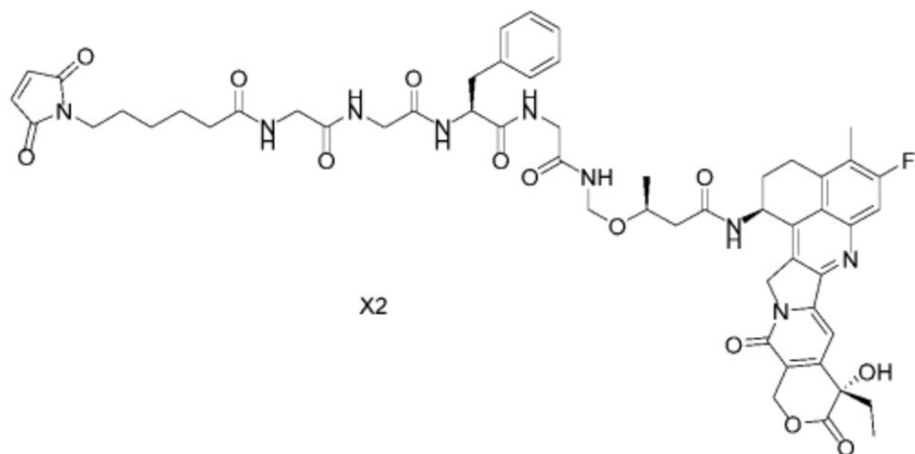
40

【0328】

リンカーペイロードX2

【0329】

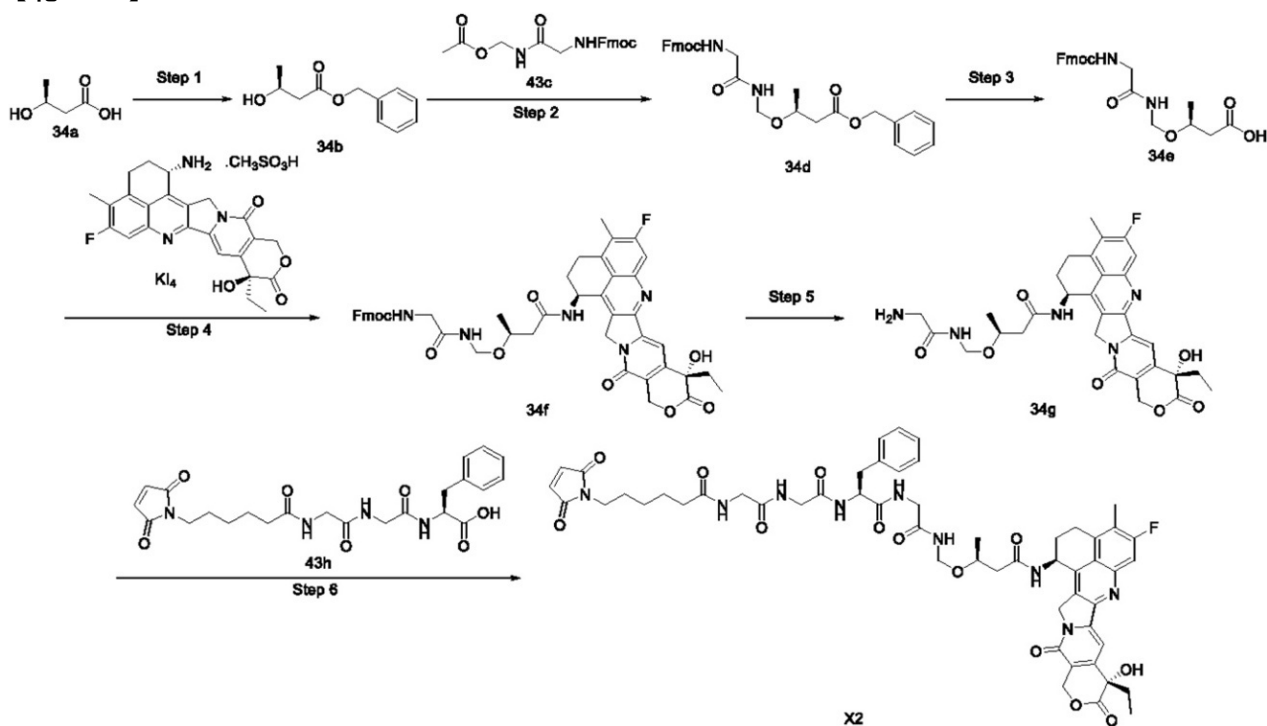
【化 5 7】



10

【 0 3 3 0】

【化 5 8】



20

30

【 0 3 3 1】

ステップ 1

34a (5 g、48.0 mmol) 及び K_2CO_3 (19.9 g、144.0 mmol) を DMF (20 mL) に溶解し、続いて臭化ベンジル (12.3 g、72.0 mmol) を滴下した。混合物を 25℃ で 17 時間反応させた。出発物質が TLC (PE / EA = 3 / 1) で検出されるように完全に消費された後、反応溶液を水 (200 mL) に加え、EA (250 mL) で抽出した。有機相を分離し、飽和 NaCl で洗浄し、無水 Na_2SO_4 上で乾燥し、濃縮し、カラムクロマトグラフィー (PE : EA = 2 : 1) で精製して、34b (8.7 g、収率 93%) を無色液体として得た。m/z 195.1 [M+H]⁺

40

【 0 3 3 2】

ステップ 2

34c (7.3 g、19.8 mmol) と TsOH (1.46 g、8.5 mmol) を THF (20 mL) に溶解し、混合物を窒素雰囲気下で 0℃ に冷却した。THF (10 mL) 中の 43b (7.7 g、39.6 mmol) の溶液を滴下し、添加後、混合物を 0℃

50

で2時間反応させた。TLC (PE/EA = 2/1) で検出されるように出発物質のほとんどが消費された後、反応溶液を水 (100 mL) に注ぎ、DCM (100 mL) で抽出した。有機相を分離し、飽和NaClで洗浄し、無水Na₂SO₄上で乾燥し、カラムクロマトグラフィー (PE/EA = 1/1) で精製して、34dを無色の粘着性物質として得た (3.9 g、収率39%)。MS-ESI: m/z 503.3 [M+H]⁺

【0333】

ステップ3

Pd/C (1 g、10 wt. %) をEtOH (100 mL) 及びEA (100 mL) 中の34d (1.9 g、3.78 mmol) の混合溶液に水素雰囲気下0℃で添加し、混合物を0℃で3時間反応させた。TLC (PE/EA = 2/1) で検出されるように反応が完了した後、反応溶液をセライトを通して濾過し、フィルターケーキをEA/EtOH (1:1、100 mL×3) で洗浄した。ろ液を濃縮し、THF (50 mL×3) に溶解し、ロータリーエバポレーションで乾燥した。この手順を3回繰り返し、34eを灰色の固体として得た (1 g、収率64%)。MS-ESI: m/z 435.2 [M+Na]⁺

10

【0334】

ステップ4

DMF (20 mL) 中の34e (426 mg、1.03 mmol)、KI4 (500 mg、0.94 mmol) 及びHATU (429 mg、1.13 mmol) の溶液に、窒素雰囲気下、0℃でDIEA (303 mg、2.35 mmol) を滴下添加し、添加終了後、混合物を0℃で2時間反応させた。LCMSで検出されるように反応が完了した後、反応溶液を水 (300 mL) に滴下添加した。得られた混合物を攪拌した後、5分間放置し、濾過し、濾過ケーキをDCM/MeOH (10:1、100 mL) 溶液に溶解した。得られた溶液を乾燥させ、回転蒸発により乾燥するまで濃縮し、残渣をシリカゲルと混合し、カラムクロマトグラフィー (EA: MeOH = 30:1) により精製して、34fを黄色固体として得た (600 mg、収率77%)。MS-ESI: m/z 830.3 [M+H]⁺

20

【0335】

ステップ5

ジエチルアミン (5 mL) を、窒素雰囲気下、0℃で、DCM (5 mL) 中の34f (150 mg、0.18 mmol) の溶液に滴下添加し、混合物を0℃で2時間反応させた。LCMSで検出されるように反応が完了した後、反応溶液に石油エーテル溶液 (100 mL×6) を添加したところ、固体が析出した。得られた混合物を固体が沈殿するまで放置し、溶液を注いだ。残渣をオイルポンプで乾燥し、34gを白色粉末として得た (120 mg、収率76%)。MS-ESI: m/z 608.3 [M+H]⁺

30

【0336】

ステップ6

HATU (45 mg、0.118 mmol) のDMF (1 mL) 中溶液を、窒素雰囲気下0℃で、34g (60 mg、0.099 mmol)、43h (51 mg、0.108 mmol) 及びDIEA (32 mg、0.25 mmol) のDMF (1 mL) 中溶液に添加し、混合物を0℃で2時間反応させた。出発物質がLCMSで検出されるように完全に消費された後、反応溶液を逆相カラムクロマトグラフィー (溶離液: (MeCN/MeOH = 1/1): H₂O = 60%: 40%) で直接精製し、X2を黄色固体として得た (14.8 mg、収率14%)。

40

MS-ESI: m/z 1062.4 [M+H]⁺

¹H NMR (400 MHz, Methanol-d₄) δ 7.69 - 7.61 (m, 2H), 7.22 - 7.16 (m, 2H), 7.16 - 7.09 (m, 3H), 6.76 (s, 2H), 5.70 - 5.64 (m, 1H), 5.60 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 5.40 - 5.31 (m, 2H), 5.26 (d, J = 19.0 Hz, 1H), 4.65 - 4.50 (m, 7H), 4.25 - 4.16 (m, 1H), 3.87 (d, J = 16.7 Hz, 1H), 3.83 - 3.76 (m, 3H), 3.72 (d, J = 17.0 Hz, 2H), 3.44 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.25 - 3.17 (m, 2H), 3.10 - 3.02 (m, 1H), 2.92 - 2.83 (m, 1H), 2.45 - 2.39 (m, 5H), 2.32 - 2.20 (m, 5H), 1.97 - 1.89 (m, 2H), 1.63 - 1.50 (m, 4H), 1.34 -

50

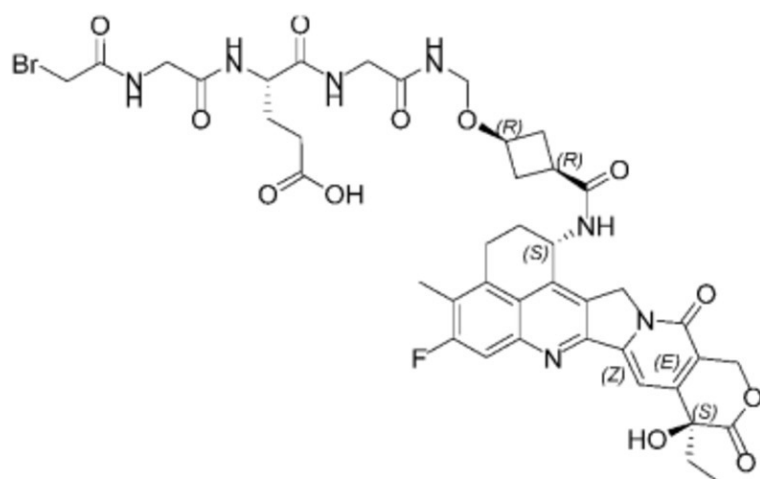
1.20 (m, 6H), 0.99 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H).

【0337】

リンカーペイロード X3

【0338】

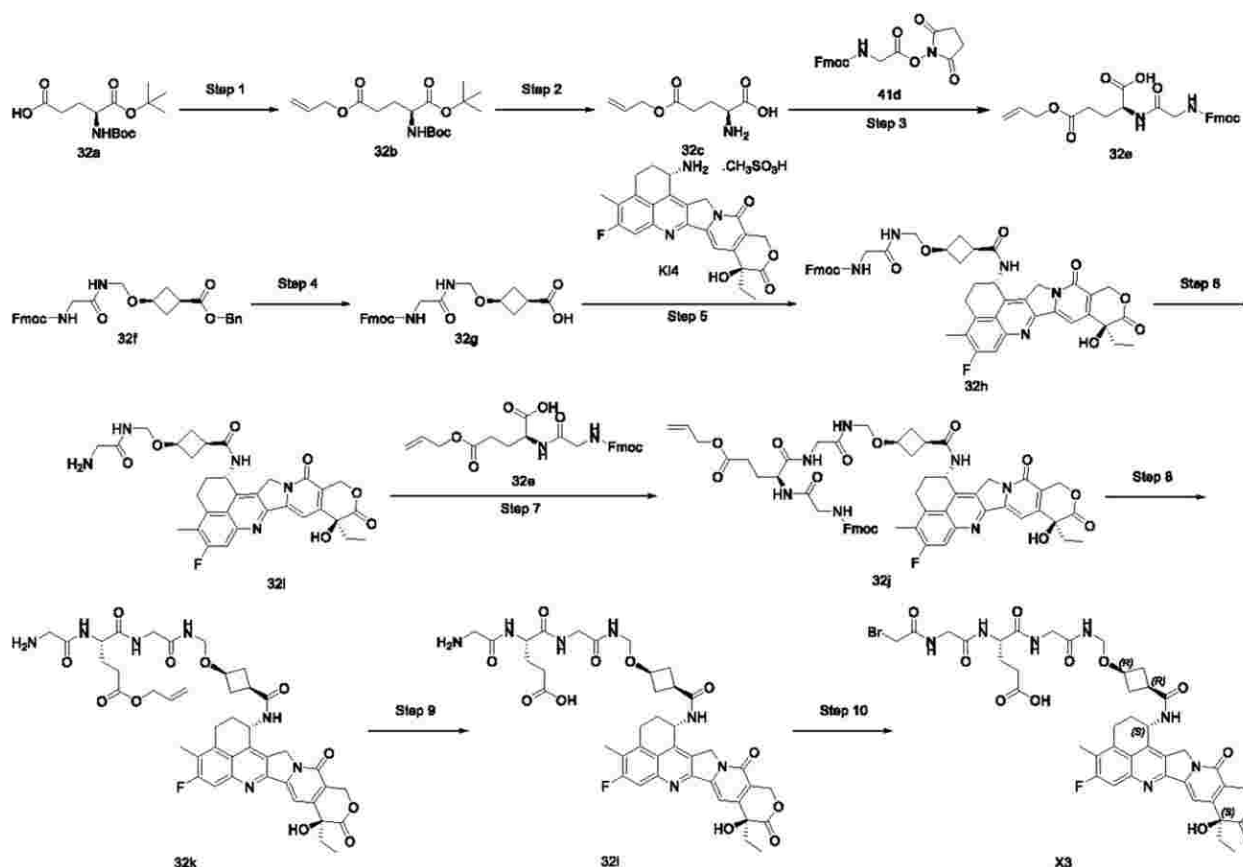
【化59】



X3

【0339】

【化60】



【0340】

ステップ1

プロモプロペン (960 mg、7.92 mmol) を、MeCN (20 mL) 中の 32a (2.00 g、6.6 mmol) 及び K_2CO_3 (1.82 g、13.2 mmol) に加え、混合物を 20℃ で 5 時間攪拌した。TLC (PE/EA = 1/2) で検出されるよ

うに反応が完了した後、反応溶液を水（100 mL）に注ぎ、pH 5に調整し、EA（100 mL）で3回抽出した。有機相を無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、ロータリーエバポレーションで濃縮乾固し、残渣をカラムクロマトグラフィー（PE/EA=2/1）で精製し、32bを白色固体として得た（1.83 g、収率81%）。

【0341】

ステップ2

TFA（10 mL）をDCM（10 mL）中の32b（1.38 g、4.02 mmol）に添加し、混合物を25℃で17時間攪拌した。TLC（PE/EA=1/3）によって検出されるように反応が完了した後、反応溶液を回転蒸発によって乾燥するまで濃縮し、32cを黄色の粘着性物質として得た（0.91 g、収率未計算）。

10

【0342】

ステップ3

41d（1.92 g、4.87 mmol）をDME/H₂O（20 mL/10 mL）中の32c（910 mg、4.87 mmol）及びNaHCO₃（613 mg、7.3 mmol）に添加し、混合物を25℃で3時間攪拌した。TLC（DCM/MeOH=1/1）で検出されるように反応が完了した後、反応溶液を水（100 mL）に注ぎ、aq. HCl（1 N）でpH 5に調整し、EA（150 mL）で2回抽出した。有機相を無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、ロータリーエバポレーションで濃縮乾固し、残渣をカラムクロマトグラフィー（DCM/MeOH=20/1）で精製して、32eを白色固体として得た（1.53 g、収率67%）。MS-ESI: m/z 467.4 [M+H]⁺

20

【0343】

ステップ4

Pd/C（600 mg）をMeOH（50 mL）中の32f（3 g、5.83 mmol）に添加し、混合物を水素雰囲気下、25℃で5時間攪拌した。TLC（EA）で検出されるように反応が完了した後、反応液を濾過し、濾液をロータリーエバポレーションで濃縮乾固して、32gを白色固体として得た（1.9 g、収率77%）。

【0344】

ステップ5

HATU（707 mg、1.86 mmol）をDMF（10 mL）中の32g（789 mg、1.86 mmol）、KI4（900 mg、1.69 mmol）及びトリエチルアミン（342 mg、3.38 mmol）に加え、混合物を0℃で3.5時間攪拌した。TLC（EA）で検出されるように反応が完了した後、反応溶液をH₂O（80 mL）に注ぎ、EA（100 mL）で2回抽出した。有機相を無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、ロータリーエバポレーションで濃縮乾固し、残渣をカラムクロマトグラフィー（EA）で精製し、32hを白色固体として得た（1.186 g、収率83%）。MS-ESI: m/z 842.3 [M+H]⁺

30

【0345】

ステップ6

32h（1.186 g、1.41 mmol）をDCM/ジエチルアミン（20 mL、20/1）中、25℃で17時間攪拌した。TLC（DCM/MeOH=10/1）で検出されるように反応が完了した後、反応溶液を石油エーテル（200 mL）に注ぎ、得られた混合物を濾過して32iを白色固体として得た（768 mg、収率88%）。MS-ESI: m/z 620.3 [M+H]⁺

40

【0346】

ステップ7

HATU（414 mg、1.09 mmol）を、DMF（10 mL）中の32i（676 mg、1.09 mmol）、32e（508 mg、1.09 mmol）及びDIEA（423 mg、3.27 mmol）に加え、混合物を20℃で17時間攪拌した。TLC（PE/EA=1/5）で検出されるように反応が完了した後、反応溶液を水（30 mL）に注いだ。得られた混合物を濾過し、フィルターケーキをカラムクロマトグラフィー（D

50

CM/MeOH=50/1)で精製し、32jを白色固体として得た(511mg、収率44%)。MS-ESI: m/z 1068.3 [M+H]⁺

【0347】

ステップ8

32j(482mg、0.451mmol)のジエチルアミン/DCM(10mL、1/5)溶液を10℃で17時間攪拌した。TLC(EA)で検出されるように反応が完了した後、反応溶液をPE(300mL)に注ぎ、得られた混合物を濾過して32kを白色固体として得た(301mg、収率は計算されていない)。

【0348】

ステップ9

モルホリン(93mg、1.07mmol)を、THF(5mL)中の32k(301mg、0.356mmol)及びPd(PPh₃)₄(82mg、0.071mmol)に加え、混合物を25℃で5時間攪拌した。LCMSで検出されるように反応が完了した後、反応液を分取クロマトグラフィーで精製して、32lを白色固体として得た(108mg、収率38%)。MS-ESI: m/z 806.3 [M+H]⁺

【0349】

ステップ10

ブロマセチルブロミド(27mg、0.134mmol)を、THF(2mL)及びDMF(2mL)中の32l(108mg、0.134mmol)及びトリエチルアミン(41mg、0.402mmol)に添加し、混合物を0℃で1時間攪拌した。反応がTLC(DCM/MeOH=10/1)で検出されるように完了した後、反応溶液を分取クロマトグラフィーで直接精製し、X3を白色固体として得た(15mg、収率12%)。

【0350】

MS-ESI: m/z 926.3 [M+H]⁺

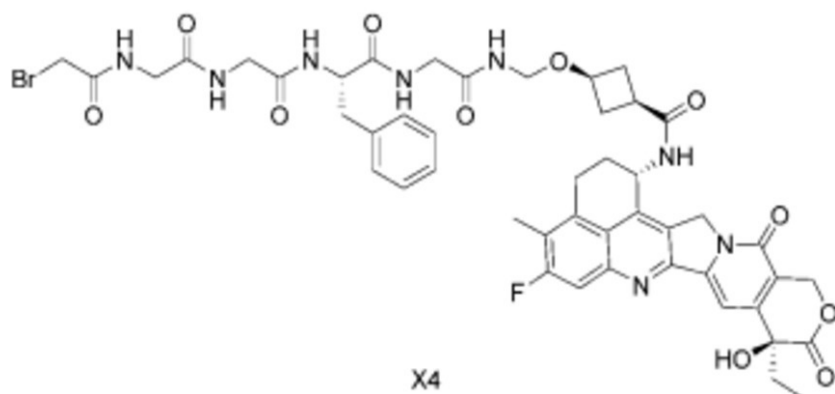
¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.11 (s, 1H), 8.54 - 8.42 (m, 3H), 8.27 - 8.16 (m, 2H), 7.78 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.61 - 5.51 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.20 - 5.05 (m, 2H), 4.56 - 4.42 (m, 2H), 4.32 - 4.22 (m, 1H), 3.96 - 3.87 (m, 3H), 3.79 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.70 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 3.25 - 3.08 (m, 2H), 2.61 - 2.53 (m, 2H), 2.45 - 2.36 (m, 4H), 2.36 - 2.22 (m, 3H), 2.20 - 2.03 (m, 4H), 1.99 - 1.68 (m, 4H), 0.87 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

【0351】

リンカーペイロードX4

【0352】

【化61】



【0353】

10

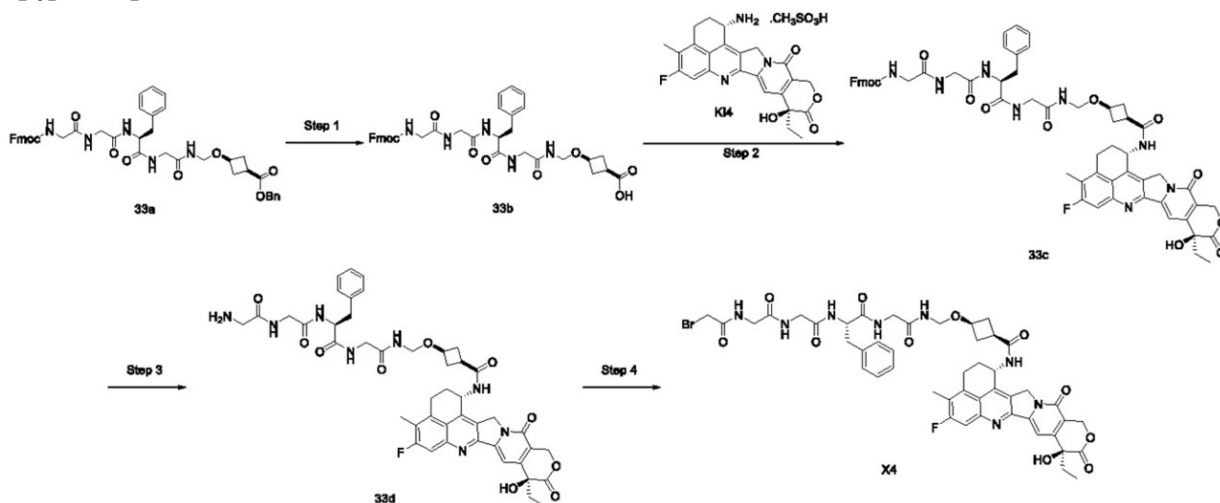
20

30

40

50

【化 6 2】



10

【0354】

ステップ1

MeOH (20 mL) 中の 33a (2.00 g、2.58 mmol) に Pd/C (400 mg、10 wt. %) を加え、混合物を 20℃ で 5 時間攪拌した。TLC (EA) で検出されるように反応が完了した後、反応溶液を濾過し、濾液をロータリーエバポレーションで濃縮乾固して、33b を白色固体として得た (1.3 g、収率 74%)。

20

【0355】

ステップ2

HATU (305 mg、0.802 mmol) を、DMF (5 mL) 中の 33b (0.55 g、0.802 mmol)、KI4 (427 mg、0.802 mmol) 及び DIPPEA (310 mg、2.40 mmol) に添加し、混合物を 0℃ で 2 時間攪拌した。TLC (DCM/MeOH = 1/10) で検出されるように反応が完了した後、反応溶液を水 (40 mL) に注いだ。得られた混合物を濾過して粗生成物を得、これをカラムクロマトグラフィー (DCM/MeOH = 20/1) で精製して 33c を黄色固体として得た (360 mg、収率 41%)。

30

【0356】

ステップ3

ジエチルアミン (2 mL) を DCM (10 mL) 中の 33c (360 mg、0.326 mmol) に加え、混合物を 25℃ で 17 時間攪拌した。TLC (DCM/MeOH = 5/1) で検出されるように反応が完了した後、反応溶液を PE (100 mL) に注ぎ、得られた混合物を濾過して 33d を白色固体として得た (205 mg、71% 収率)。MS-ESI: m/z 881.3 [M+H]⁺

【0357】

ステップ4

ブromoアセチルプロミド (94 mg、0.446 mmol) の THF (2 mL) 溶液を、DMF (1 mL) 及び水 (1 mL) 中の 33d (205 mg、0.233 mmol) 及びトリエチルアミン (118 mg、1.17 mmol) に加え、混合物を 0℃ で 1 時間攪拌した。

40

【0358】

MS-ESI: m/z 1001.2 [M+H]⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.57 - 8.50 (m, 1H), 8.50 - 8.43 (m, 2H), 8.35 - 8.29 (m, 1H), 8.19 - 8.12 (m, 2H), 7.80 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.27 - 7.14 (m, 7H), 6.53 (s, 1H), 5.59 - 5.51 (m, 1H), 5.44 - 5.39 (m, 2H), 5.20 - 5.07 (m, 2H), 4.56 - 4.44 (m, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.80 - 3.68 (m, 5H), 3.41 (s, 1H), 3.21 - 3.12 (m, 2H), 2.83 - 2.74 (m, 1H), 2.58 - 2

50

.55 (m, 3H), 2.39 (s, 4H), 2.18 - 2.03 (m, 4H), 1.93 - 1.78 (m, 2H), 0.87 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

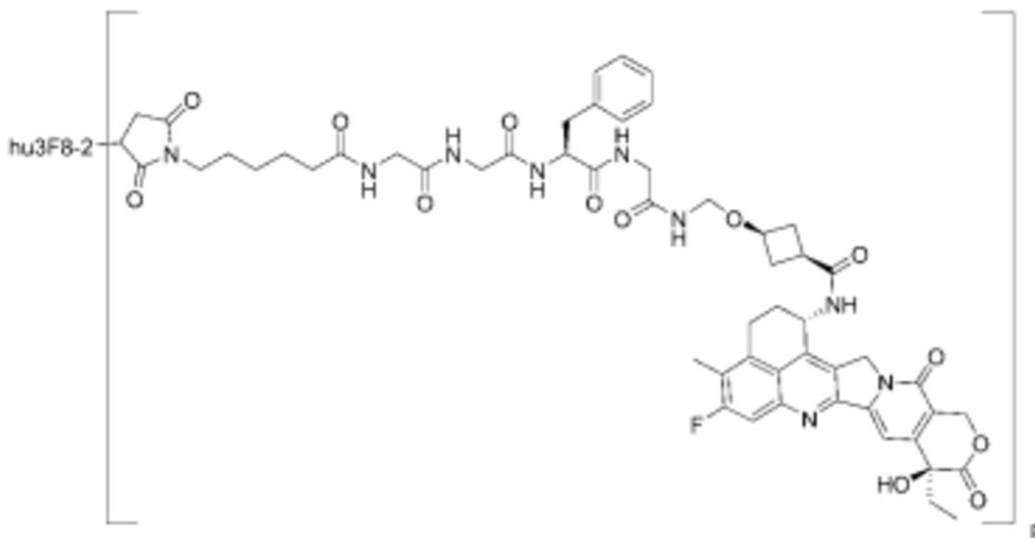
【0359】

2.2 抗Her3抗体-薬物結合体の調製

抗体薬物結合体ADC-1-X1 (hu3F8-2-X1) の調製

【0360】

【化63】



10

20

【0361】

還元剤と保護剤は、2 mg/mL TCEP (tris-2-カルボキシエチル-ホスフィン、製造元：Thermo) と 100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩 (製造元：Sigma) を超純水で調合した。150 mg の 7.4 mg/mL 抗Her3抗体 (hu3F8-2) を 50 mL 遠心チューブに入れ、50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.5) を加えて抗体反応濃度 5 mg/mL に希釈した。100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩を反応液全量の 5% の量で加え、得られた混合液を振とうしてよく混合した。ジメチルスルホキシド (製造元：Sinopharm) 中のリンカーペイロード X1 の 10 mg/mL 溶液を調製し、薬剤と抗体のモル比 18.0 : 1 に従ってゆっくりと添加した。得られた混合物を振とうしてよく混合し、サーモミキサー上で 4°C、1 時間反応させた。試料を限外ろ過チューブ (MWCO 30 KD、製造元：Millipore) を用いて保存用緩衝液に交換した。まず、10% ジメチルスルホキシドを含む 30 mM ヒスチジン酢酸緩衝液 (pH 5.5) を用いて限外濾過を 3 回行い、次に DMSO を含まない 30 mM ヒスチジン酢酸緩衝液 (pH 5.5) を用いて限外濾過を 3 回行い、限外濾過濃縮して ADC-1-X1 (濃度 26.8 mg/mL、収率 73%) を得た。純度と DAR 値はサイズ排除クロマトグラフィーと疎水クロマトグラフィーを用いて測定した。

30

【0362】

検査の結果、抗体薬物結合体 ADC-1-X1 の純度は 98.68% で、DAR 値 p は 7.12 であった。

40

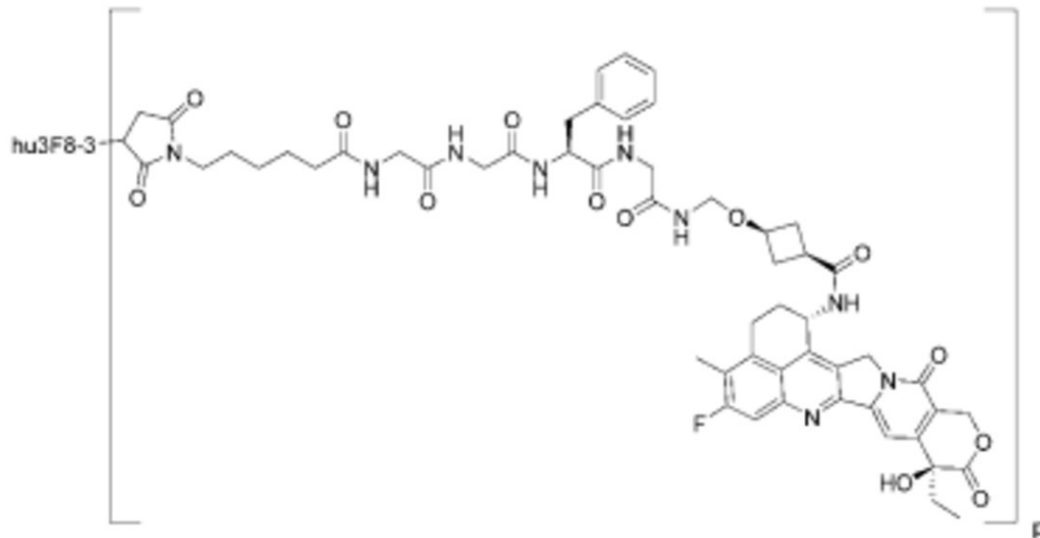
【0363】

抗体薬物結合体 ADC-2-X1 (hu3F8-3-X1) の調製

【0364】

50

【化 6 4】



10

【0365】

還元剤と保護剤は、 2 mg/mL TCEP (tris-2-カルボキシエチル-ホスフィン、製造元：Thermo) と 100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩 (製造元：Sigma) を超純水で調合した。 150 mg の 7.5 mg/mL 抗 Her 3 抗体 (hu3F8-3) を 50 mL 遠心チューブに入れ、 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH } 7.5$) を加えて抗体反応濃度 5 mg/mL に希釈した。 100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩を反応液全量の 5% の量で加え、得られた混合液を振とうしてよく混合した。ジメチルスルホキシド (製造元：Sinopharm) 中のリンカーペイロード X1 の 10 mg/mL 溶液を調製し、薬剤と抗体のモル比 $18.0:1$ に従ってゆっくりと添加した。得られた混合物を振とうしてよく混合し、サーモミキサー上で 4°C 、1 時間反応させた。試料を限外ろ過チューブ (MWCO 30 KD 、製造元：ミリポア) を用いて保存用緩衝液に交換した。まず、 10% ジメチルスルホキシドを含む 30 mM ヒスチジン酢酸緩衝液 ($\text{pH } 5.5$) を用いて限外ろ過を 3 回行い、次に DM SO を含まない 30 mM ヒスチジン酢酸緩衝液 ($\text{pH } 5.5$) を用いて限外ろ過を 3 回行った後、限外ろ過濃縮を行い、抗体薬物結合体 ADC-2-X1 (濃度 21.15 mg/mL 、収率 67.3%) を得た。純度と DAR 値はサイズ排除クロマトグラフィーと疎水クロマトグラフィーを用いて測定した。

20

30

【0366】

検査の結果、抗体薬物結合体 ADC-2-X1 の純度は 99.08% 、DAR 値 p は 7.01 であった。

【0367】

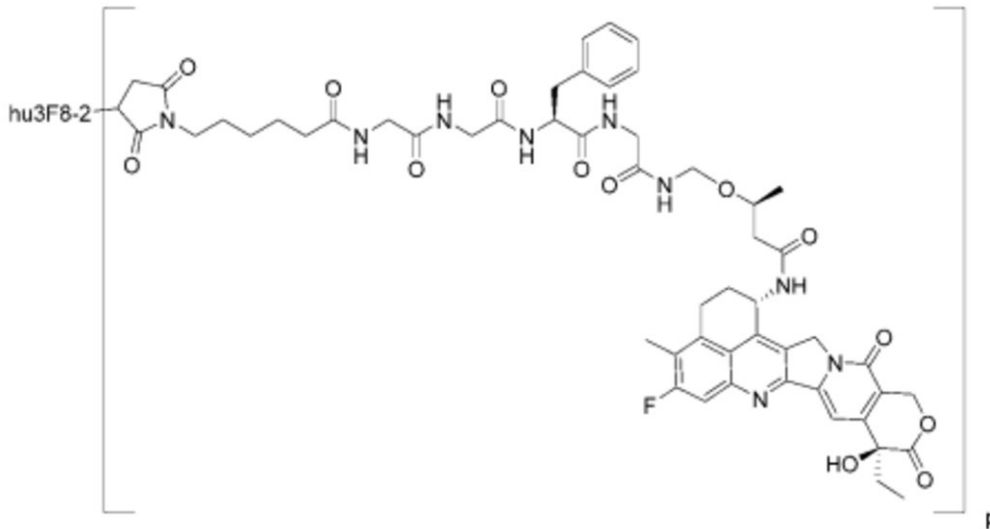
抗体薬物結合体 ADC-1-X2 (hu3F8-2-X2) の調製

【0368】

40

50

【化 6 5】



【0369】

還元剤と保護剤は、 2 mg/mL TCEP (tris-2-カルボキシエチル-ホスフィン、製造元：Thermo) と 100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩 (製造元：Sigma) を超純水で調合した。 150 mg の 7.4 mg/mL 抗 Her3 抗体 (hu3F8-2) を 50 mL 遠心チューブに入れ、 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH } 7.5$) を加えて抗体反応濃度 5 mg/mL に希釈した。 100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩を反応液全量の 5% の量で加え、得られた混合液を振とうしてよく混合した。ジメチルスルホキシド中のリンカーペイロード $\times 2$ の 10 mg/mL 溶液 (製造元：Sinopharm) を調製し、薬剤と抗体のモル比 $21:1$ に従ってゆっくりと添加した。得られた混合物を振とうしてよく混合し、サーモミキサー上で 4°C 、1 時間反応させた。試料を限外ろ過チューブ (MWCO 30 KD 、メーカー：ミリポア) を用いて保存用緩衝液に交換した。まず、 10% ジメチルスルホキシドを含む 30 mM ヒスチジン酢酸緩衝液 ($\text{pH } 5.5$) を用いて限外ろ過を 3 回行い、次に DMSO を含まない 30 mM ヒスチジン酢酸緩衝液 ($\text{pH } 5.5$) を用いて限外ろ過を 3 回行った後、限外ろ過濃縮を行い、抗体薬物結合体 ADC-1-X2 (濃度 20.56 mg/mL 、収率 64%) を得た。純度と DAR 値はサイズ排除クロマトグラフィーと疎水クロマトグラフィーを用いて測定した。

【0370】

試験の結果、抗体薬物結合体 ADC-1-X2 の純度は 99.02% 、DAR 値 p は 7.53 であった。

【0371】

抗体薬物結合体 ADC-2-X2 (hu3F8-3-X2) の調製

【0372】

10

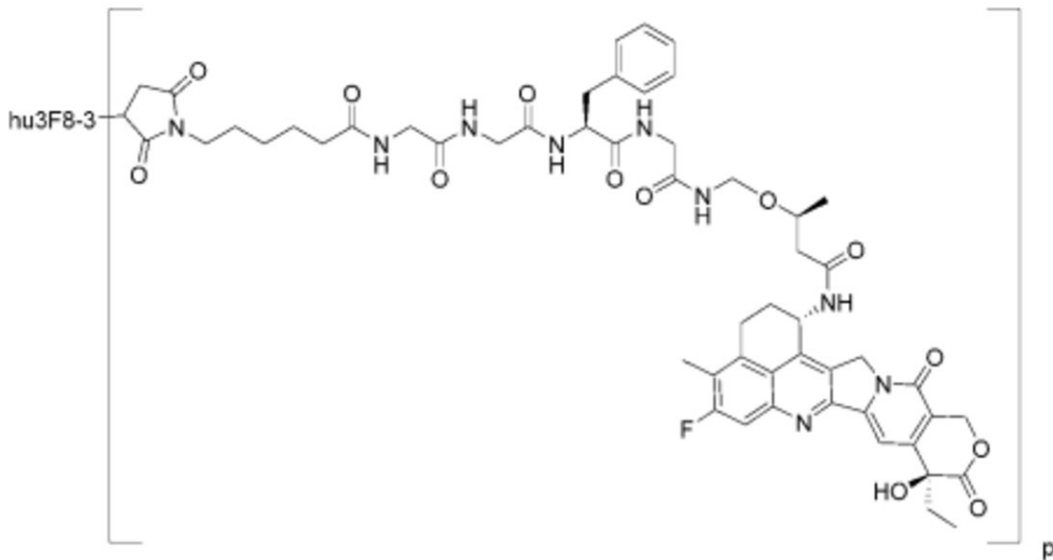
20

30

40

50

【化 6 6】



10

【0373】

還元剤と保護剤は、 2 mg/mL TCEP (tris-2-カルボキシエチル-ホスフィン、製造元：Thermo) と 100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩 (製造元：Sigma) を超純水で調合した。 150 mg の 7.5 mg/mL 抗Her3抗体 (hu3F8-3) を 50 mL 遠心チューブに入れ、 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH } 7.5$) を加えて抗体反応濃度 5 mg/mL に希釈した。 100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩を反応液全量の 5% の量で加え、得られた混合液を振とうしてよく混合した。ジメチルスルホキシド中のリンカーペイロード X2 の 10 mg/mL 溶液 (製造元：Sinopharm) を調製し、薬剤と抗体のモル比 $18.0:1$ に従ってゆっくりと添加した。得られた混合物を振とうしてよく混合し、サーモミキサー上で 4°C 、1時間反応させた。試料を限外ろ過チューブ (MWCO 30 KD 、メーカー：Millipore) を用いて保存用緩衝液に交換した。まず、 10% ジメチルスルホキシドを含む 30 mM ヒスチジン酢酸緩衝液 ($\text{pH } 5.5$) を用いて限外ろ過を3回行い、次にDMSOを含まない 30 mM ヒスチジン酢酸緩衝液 ($\text{pH } 5.5$) を用いて限外ろ過を3回行った後、限外ろ過濃縮を行い、抗体薬物結合体ADC-2-X2 (濃度 21.63 mg/mL 、収率 67.3%) を得た。純度とDAR値はサイズ排除クロマトグラフィーと疎水クロマトグラフィーを用いて測定した。

20

30

【0374】

検査の結果、抗体薬物結合体ADC-2-X2の純度は 99.24% 、DAR値 p は 7.11 であった。

【0375】

参照ADC-1 (U3-1402) の調製

還元剤と保護剤は超純水を用いて配合した： 2 mg/mL のTCEP (tris-2-カルボキシエチル-ホスフィン、製造元：Thermo) と 100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩 (製造元：Sigma)。 40 mg の 6.9 mg/mL パトリツマブモノクローナル抗体 (抗体配列は、特許「WO2007077028」の配列番号70に記載の重鎖と配列番号72に記載の軽鎖からなる；この抗体は、CHO細胞のトランスフェクションに続いてルーチンの抗体発現と精製によって産生され、純度は 95% 以上) を 50 mL の遠心チューブに入れ、 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH } 7.5$) を加えて抗体反応濃度 5 mg/mL に希釈した。 100 mmol/L エチレンジアミン四酢酸ナトリウム塩を反応液全量の 5% の量で加え、得られた混合液を振とうしてよく混合した。次に、 2 mg/mL TCEPをTCEP対抗体のモル比 $6.0:1$ で加えて抗体を還元し、得られた混合物を振とうしてよく混合し、 37°C のサーモミキサー上で2

40

50

時間反応させた。ジメチルスルホキシド（製造元：Sinopharm）中のDeruxtecane（CAS 1599440-13-7、Shanghai Haoyuan Chemexpress Co. Ltd. から購入）の10mg/mL溶液を調製し、薬剤と抗体のモル比18.0：1に従ってゆっくりと添加した。得られた混合物を振とうしてよく混合し、サーモミキサー上で4℃、1時間反応させた。試料を限外ろ過チューブ（MWCO 30KD、製造元：ミリポア）を用いて保存用緩衝液に交換した。まず、10%ジメチルスルホキシドを含む30mMヒスチジン酢酸緩衝液（pH 5.5）を用いて限外ろ過を3回行い、次にDMSOを含まない30mMヒスチジン酢酸緩衝液（pH 5.5）を用いて限外ろ過を3回行い、リファレンスADC-1（濃度8.77mg/mL、収率65%）を得た。純度とDAR値はサイズ排除クロマトグラフィーと疎水クロマトグラフィーを用いて測定した。

10

【0376】

検査の結果、リファレンスADC-1の純度は99.42%、DAR値pは7.58であった。

【0377】

実施例3. 抗体-薬物結合体の内在化活性

目的

HER3を発現するMDA-MB-453細胞における本願発明のHER3標的に対する抗体薬物結合体の取り込みを検出した。細胞、一定濃度の抗体薬物結合体（ADC）、及び内在化指示試薬pHrodoを共培養し、異なる時点で細胞内の抗体薬物結合体とともに細胞内に入ったpHrodoが生成する蛍光シグナル輝点の数を観察することにより、抗体薬物結合体のエンドサイトーシスを評価した。

20

【0378】

手法

1. 細胞培養：MDA-MB-453細胞は、10%FBS Leibovitz's L-15培地を用いて培養した。

2. 細胞の調製：対数期のMDA-MB-453細胞を採取し、PBSで一度洗浄した後、2~3mLのVerseneで2~3分間消化した。細胞が完全に消化された後、10~15mLの細胞培養液を加えて消化細胞を溶出させた。溶出液を1000rpmで5分間遠心し、上清を捨てた。得られた細胞を細胞培養液に再懸濁し、単一細胞懸濁液を得た。この懸濁液は、 3×10^5 細胞/mLの生存細胞密度に調整した。

30

3. 細胞プレーティング：細胞懸濁液を96ウェル細胞培養プレートに50μL/ウェルで添加した。培養プレートをインキュベーターで18時間培養した（37℃、5%CO₂）。

4. 試料添加：被験抗体-薬物結合体をFab-pHrodoと共インキュベートして複合体を形成させ、10nMの濃度に調整し、50μL/ウェルで細胞に添加した。

5. 細胞の培養：培養プレートをインキュベーターで2、4、6、24、または48時間培養した（37℃、5%CO₂）。

6. プレートの読み取り：対応する時点に達したら、96ウェル細胞培養プレートを取り出し、Hoechst33342を加えて細胞核染色を行い、撮影のためにプレートをoperetta CLSに入れ、細胞数と各細胞の蛍光輝点数を読み取った。細胞蛍光ドット数の平均は、Harmony（登録商標）イメージングおよび分析ソフトウェアを用いて算出した。

40

【0379】

【表 1 4】

表12. MDA-MB-453細胞における本願発明の抗体-薬物結合体の異なる時点での内在化により生じた蛍光シグナル輝点

抗体-薬物結合体	細胞における蛍光ドットの平均数				
アッセイ時間 (h)	2	4	6	24	48
参照ADC-1	1.0	1.5	1.8	2.7	2.8
ADC-1-X1	1.1	2.0	2.5	2.7	4.0
ADC-1-X2	2.1	2.3	2.5	3.4	3.7
ADC-2-X1	1.4	2.1	2.5	3.3	3.5
ADC-2-X2	1.4	2.1	2.6	2.6	3.9
IgG1	0.6	0.8	0.8	0.8	0.7

10

【0380】

結論：図10及び表12の結果によると、本願発明の抗体-薬物結合体は、HER3を高発現するMDA-MB-453細胞に対してアップテイクを示し、エンドサイトーシスは参照ADC-1よりも強い。

20

【0381】

実施例4. インビトロでのHER3標的抗体-薬物結合体による腫瘍細胞の増殖抑制目的

HER3を高発現しているHCC1569及びMDA-MB-453細胞、ならびにHER3を発現していないMDA-MB-231腫瘍細胞に対する、HER3を標的とする本願発明の抗体-薬物結合体の増殖阻害活性をインビトロで試験する。細胞を異なる濃度の抗体-薬物結合体でインビトロ処理し、6日間培養後、CTG試薬を用いて細胞の増殖を検出し、化合物のインビトロ活性を50%増殖阻害濃度(IC₅₀)値により評価した。

【0382】

30

手法

1. 細胞培養：HCC1569、MDA-MB-453、又はMDA-MB-231細胞を、10%FBSを含むRPMI-1640培地で培養した。

2. 細胞の調製：対数期のHCC1569、MDA-MB-453、又はMDA-MB-231細胞を採取し、PBSで1回洗浄した後、2~3mLのトリプシンで2~3分間消化した。細胞が完全に消化された後、10~15mLの細胞培養液を加えて消化細胞を溶出した。溶出液を1000rpmで5分間遠心し、上清を捨てた。得られた細胞を10~20mLの細胞培養液に再懸濁し、単一細胞懸濁液とした。細胞をトリパンブルーで染色し、生存細胞を数えた。

3. 細胞プレーティング：HCC1569、MDA-MB-453、又はMDA-MB-231単細胞懸濁液をよく混合し、細胞培養で生存細胞密度 6×10^4 細胞/mLに調整した。調整した密度の細胞懸濁液をよく混合し、96ウェル細胞培養プレートに50μL/ウェルで加えた。培養プレートをインキュベーターで18時間培養した(37℃、5%CO₂)。

40

4. 抗体-薬物結合体濃度：抗体-薬物結合体を100nMから0.0152nMまで3倍に希釈し、合計9濃度とした。

5. 試料の添加：異なる濃度で検出するために調製した試料を培養プレートに添加し、各試料について2つの重複ウェルを設定した。培養プレートをインキュベーターで6日間培養した(37℃、5%CO₂)。

6. 発色：96ウェル細胞培養プレートを取り出し、室温に平衡化するように30分間

50

放置した。CTG試薬を50 μL／ウェル添加し、プレートオービタルシェーカーで2分間振とうし、暗所、室温で10分間インキュベートした。

7. プレート読み取り：96ウェル細胞培養プレートを取り出し、2104 EnVisionマイクロプレートリーダーにセットし、マイクロプレートリーダーを用いて化学発光を測定した。

【0383】

データ分析

検出された化合物の阻害率（IR）は、以下の式に従って算出した： $IR(\%) = (1 - (RLU_{化合物} - RLU_{空白対照}) / (RLU_{ビヒクル対照} - RLU_{空白対照})) \times 100\%$ 。異なる濃度の化合物の阻害率はMicrosoft Excelを用いて計算し、データはGraphpad Prism 9を用いて処理および分析した。

【0384】

【表15】

表13. 本願発明の抗体-薬物結合体によるHCC1569及びMDA-MB-453細胞のインビトロ増殖阻害のIC₅₀値

抗体-薬物結合体	HCC1569	MDA-MB-453	MDA-MB-231
	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
参照ADC-1	40.7	9.619	—
ADC-1-X1	0.115	0.042	—
ADC-1-X2	5.167	0.094	—

注：「—」は増殖阻害活性無しを示す

【0385】

結論：表13及び図11（11A／11B／11C）に示す結果によれば、本願発明の抗体-薬物結合体は、Her3陽性高発現細胞HCC1569及びMDA-MB-453の増殖に対して有意な阻害活性を有し、その阻害活性は参照ADC-1の阻害活性よりも強く、一方、HER3を発現していないMDA-MB-231細胞の増殖に対しては阻害活性を有さず、したがって、良好な選択性を有する。

【0386】

実施例5. HCC1569腫瘍保有マウスにおける抗体薬物結合体の有効性の評価
目的

HCC1569乳がん細胞を皮下異種移植した雌性NOD／SCIDマウスモデルを用いて、本願発明の抗体-薬物結合体の抗腫瘍効果を評価する。

1. 試験化合物及び材料

空白対照（陰性対象群）：PBS

参照ADC-1（陽性対照群）：1mg／kg

ADC-1-X1（治療群）：1mg／kg

ADC-1-X2（治療群）：1mg／kg

2. 調製法：すべての試料をPBSで希釈した。

3. 実験動物

8～10週齢のNOD／SCIDマウスはJiangsu GemPharmatech Co., Ltd. から購入した。

4. 実験プロセス

PBS／マトリゲル（1：1）混合液（0.1mL／マウス）に懸濁した 2×10^6 HCC1569細胞を右肩甲骨前面に皮下接種した。腫瘍の成長をモニターした。腫瘍が平均体積100～150mm³まで成長した時点で、腫瘍の大きさとマウスの体重に応じて

マウスを無作為にグループ分けし、1グループあたり6匹ずつ投与した。各群の投与日を0日目とした。

【0387】

投与は尾静脈注射で1週間に1回行い、投与21日後に実験を終了した。腫瘍体積と重量を週2回測定し、データを記録した。実験終了後、マウスを安楽死させ、腫瘍増殖抑制率TGI%を以下のように算出した： $(TGI = (1 - (Ti - T0) / (Vi - V0)))$ 。Ti：投与i日目の治療群及び陽性対照群の平均腫瘍体積；T0：投与0日目の治療群及び陽性対照群の平均腫瘍体積；Vi：投与i日目の陰性対照群の平均腫瘍体積；V0：投与0日目の陰性対照群の平均腫瘍体積。

【0388】

データ分析

データはExcel2016統計ソフトを用いて分析し、平均値はavg、SD値はSTDEV、群間差のP値はTTESTとして算出した。

【0389】

実験結果を表14と図12に示す。実験終了時、ブランク対照群の平均腫瘍体積は1078.32mm³であった。

【0390】

【表16】

表14. HCC1569担がんマウスにおける本願発明の抗体-薬物結合体のインビボ腫瘍抑制効果

抗体-薬物結合体	平均腫瘍体積	腫瘍増殖阻害%
参照ADC-1	308.64 ± 66.78mm ³	71.38%
ADC-1-X1	254.63 ± 57.6 mm ³	76.39%
ADC-1-X2	25.84 ± 14.38 mm ³	97.60%

【0391】

実施例6. Colo205腫瘍保有マウスにおける抗体-薬物結合体の有効性の評価目的

試験動物としてBALB/cヌードマウスを用い、本願発明の抗体-薬物結合体の抗腫瘍効果を評価すること；

腹腔内注射した後に、Colo205異種移植腫瘍を有するヌードマウスにおいて、ADC-III-28及び参照ADC-2の有効性を評価すること。

1. 試験化合物および材料

ブランク対照（陰性対照群）：PBS

参照ADC-1（陽性対照群）：1mg/kg

ADC-1-X1（治療群）：1mg/kg

ADC-1-X2（治療群）：1mg/kg

2. 調製法：すべてPBSで希釈した。

3. 実験動物

8～10週齢のBALB/cヌードマウス（Jiangsu GemPharmatech Co., Ltd. から購入）。

4. 実験プロセス

Colo205細胞をマウスの右脇腹に1×10⁷（100μL/マウス）皮下接種した。腫瘍が80～120mm³まで成長した時点で、動物を無作為に群分けし、1群5匹とした。各群の投与日を0日目とした。投与は2週間ごとに1回尾静脈注射で行い、投与22日後に実験を終了した。腫瘍の体積と重量を週2回測定し、データを記録した。実験終了後、マウスを安楽死させ、腫瘍増殖抑制率TGI%を以下のように算出した： $(TGI = (1 - (Ti - T0) / (Vi - V0)))$ 。Ti：投与i日目の治療群及び陽性対照

群の平均腫瘍体積； T_0 ：投与0日目の治療群及び陽性対照群の平均腫瘍体積； V_i ：投与*i*日目の陰性対照群の平均腫瘍体積； V_0 ：投与0日目の陰性対照群の平均腫瘍体積。

【0392】

データはExcel 2016統計ソフトを用いて分析し、平均値はavg、SD値はSTDEV、群間差のP値はTTESTとして算出した。

【0393】

実験結果を表15と図13に示す。実験終了時、ブランク対照群の平均腫瘍体積は515.92 mm³であった。

【0394】

【表17】

10

表15. Colo205担がんマウスにおける本願発明の抗体-薬物結合体のインビボ腫瘍抑制効果

抗体-薬物結合体	平均腫瘍体積	腫瘍増殖阻害%
参照ADC-1	545.75±252 mm ³	-6.38%
ADC-1-X1	385.11±111 mm ³	24.33%
ADC-1-X2	263.20 ±105mm ³	49.09%

【0395】

結論：本願発明の抗体薬物結合体は、腫瘍体積を有意に減少させることができる。さらに、本願発明の抗体薬物結合体では、参照用ADC-1よりも低い投与濃度で腫瘍抑制効果が認められた。

20

【0396】

実施例7. NCI-H441肺がん細胞腫瘍保有マウスにおける抗体薬物結合体の有効性の評価

目的

本願発明の抗体薬物結合体の抗腫瘍効果を、雄性NU/NUヌードマウスを試験動物として用い、NCI-H441担がんマウスで評価する。

1. 試験化合物および材料

ブランク対照（陰性対照群）：生理食塩水

参照ADC-1（陽性対照群）：0.3 mg/kg又は1 mg/kg

ADC-1-X2（治療群）：0.3 mg/kg又は1 mg/kg

2. 調製法：すべて生理食塩水で希釈した。

3. 試験動物：6～8週齢のNU/NUヌードマウス（Vital River Laboratory Animal Technology Co. から購入）

4. 実験プロセス

試験マウスは 5×10^6 NCI-H441細胞を右背部に皮下接種され、細胞は0.1 mLのPBSとマトリゲル（1：1）に懸濁された。腫瘍の成長を定期的にモニターした。腫瘍が平均体積115.24 mm³まで成長した時点で、マウスを腫瘍の大きさとマウスの体重に応じて無作為にグループ分けし、1グループ6匹ずつ投与した。各群の投与日を0日目とした。投与は尾静脈注射で1回行い、投与28日後に実験を終了した。腫瘍の体積と重量を週2回測定し、データを記録した。実験終了後、マウスを安楽死させ、腫瘍増殖抑制率TGI%を以下のように算出した： $TGI = (1 - (T_i - T_0) / (V_i - V_0))$ 。 T_i ：投与*i*日目の治療群及び陽性対照群の平均腫瘍体積； T_0 ：投与0日目の治療群及び陽性対照群の平均腫瘍体積； V_i ：投与*i*日目の陰性対照群の平均腫瘍体積； V_0 ：投与0日目の陰性対照群の平均腫瘍体積。

40

【0397】

データはExcel 2016統計ソフトを用いて分析し、平均値はavg、SD値はSTDEV、群間差のP値はTTESTとして算出した。

【0398】

50

実験結果を表 1 6 と図 1 4 に示す。実験終了時、ブランク対照群の平均腫瘍体積は 1 1 3 8 . 8 5 mm³ であった。

【 0 3 9 9 】

【表 1 8 】

表 16. NCI-H441 担がんマウスにおける本願発明の抗体-薬物結合体のインビボ腫瘍抑制効果

グループ	投与	用量 (mg/kg)	28日間			
			腫瘍体積 (平均 ± SEM)	T/C (%)	TGI (%)	p値 (ブランク対 照との比較)
1	ブランク対照	-	882.81 ± 114.09	-	-	-
2	ADC-1-X2	1	162.00 ± 42.47	18.35	81.65	0.00787
3	ADC-1-X2	0.3	546.52 ± 109.10	61.91	38.09	0.497
4	参照ADC-1	1	760.76 ± 208.92	86.17	13.83	0.987
5	参照ADC-1	0.3	823.01 ± 109.69	93.23	6.77	1

10

【 0 4 0 0 】

結論：本願発明の抗体-薬物結合体は、腫瘍体積を有意に減少させることができ、本願発明の抗体-薬物結合体は、同一濃度下で参照 A D C - 1 よりも優れた腫瘍抑制効果をする。

【 0 4 0 1 】

実施例 8 . ヒト肺がん L U 1 5 4 2 皮下異種移植腫瘍保有マウスにおける抗体-薬物結合体の有効性の評価

目的

雌性 B A L B / c ヌードマウスを試験動物として用い、ヒト肺がん L U 1 5 4 2 皮下異種移植腫瘍担がんマウスにおける本願発明の抗体-薬物結合体の抗腫瘍効果を評価する。

1 . 試験化合物及び材料

ブランク対照 (陰性対照群) : P B S

参照 A D C - 1 (陽性対照群) : 3 m g / k g 又は 1 0 m g / k g

A D C - 1 - X 2 (治療群) : 3 m g / k g 又は 1 0 m g / k g

2 . 調製法 : すべて P B S で希釈した。

3 . 試験動物 : 6 ~ 8 週齢の B A L B / c ヌードマウス (B e i j i n g A n i K e e p e r B i o t e c h C o . , L t d . から購入)。

4 . 実験プロセス

H u P r i m e (登録商標) 肺がん異種移植モデル L U 1 5 4 2 の担がんマウスから腫瘍組織を採取し、直径 2 ~ 3 m m の腫瘍塊に切断した後、B a l b / c ヌードマウスの右肩甲骨前面に皮下接種した。担がんマウスの平均腫瘍体積が 1 3 6 . 8 m m³ に達した時点で、マウスを無作為に群分けし、1 群 6 匹とした。各群の投与日を 0 日目とした。投与は尾静脈注射で 1 回行い、投与 2 8 日後に実験を終了した。腫瘍の体積と重量を週 2 回測定し、データを記録した。実験終了後、マウスを安楽死させ、腫瘍増殖抑制率 T G I % を以下のように算出した : $(TGI = (1 - (Ti - T0) / (Vi - V0)))$ 。Ti : 投与 i 日目の治療群及び陽性対照群の平均腫瘍体積 ; T0 : 投与 0 日目の治療群及び陽性対照群の平均腫瘍体積 ; Vi : 投与 i 日目の陰性対照群の平均腫瘍体積 ; V0 : 投与 0 日目の陰性対照群の平均腫瘍体積。

20

30

40

【 0 4 0 2 】

データは E x c e l 2 0 1 6 統計ソフトを用いて分析し、平均値は a v g 、S D 値は S T D E V 、群間差の P 値は T T E S T として算出した。

【 0 4 0 3 】

実験結果を表 1 7 と図 1 5 に示す。実験終了時、ブランク対照群の平均腫瘍体積は 1 5 8 0 . 0 9 m m³ であった。

【 0 4 0 4 】

50

【表 19】

表17. NCI-H441担がんマウスにおける本願発明の抗体-薬物結合体のインビボ腫瘍抑制効果

抗体-薬物結合体	平均腫瘍体積	腫瘍増殖阻害%
ADC-1-X2 3mg/kg	461.39±106.26 mm ³	77.50%
ADC-1-X2 10mg/kg	302.78±129.69 mm ³	88.49%
参照ADC-1 3 mg/kg	1219.23 ±187.13 mm ³	24.98%
参照ADC-1 10 mg/kg	602.13± 898 mm ³	67.75%

10

【0405】

結論：本願発明の抗体薬物結合体は、腫瘍体積を有意に減少させることができる。さらに、本願発明の抗体-薬物結合体は、参照ADCよりも低い投与濃度で腫瘍抑制効果が認められ、本願発明の抗体-薬物結合体は、同一濃度下でより優れた腫瘍抑制効果を有する。

【0406】

【表20-1】

本願発明の配列(配列番号)

No.	説明	配列
1	HCDR1	SAYYWN
2	HCDR2	YISYDGRNNFNPSLKN
3	HCDR3	DGDYDYFDY
4	LCDR1	RASQDISNYLN
5	LCDR2	YTSILHS
6	LCDR3	QQGDTLPPT
7	hu3F8-1 VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSAYYWNWIRQPPGKGLEWIG YISYDGRNNFNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDG DYDYFDYWGQGTTTVTVSS
8	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKLLIYYT SILHSGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISSLPEDATYFCQQGDTLPPTFGGGT KLEIK
9	hu3F8-2 VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSAYYWNWIRQPPGKGLEWMG YISYDGRNNFNPSLKNRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDG DYDYFDYWGQGTTTVTVSS
10	hu3F8-3 VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSAYYWNWIRQPPGKGLEWMG YISYDGRNNFNPSLKNRVISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTATYYCARDG DYDYFDYWGQGTTTVTVSS
11	hu3F8-1 HC	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSAYYWNWIRQPPGKGLEWIG YISYDGRNNFNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDG DYDYFDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK

20

30

40

【0407】

50

【表 2 0 - 2】

12	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYT SILHSGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYFCQQGDTLPPTFGGGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
13	hu3F8-2 HC	QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSAYYWNWIRQPFKGLEWMG YISYDGRNNFNPSLKNRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDG DYDYFDYWGGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
14	hu3F8-3 HC	QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSAYYWNWIRQPFKGLEWMG YISYDGRNNFNPSLKNRVISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTATYYCARDG DYDYFDYWGGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
15	m3f8-VL	DIQMTQTTSSLSASLGDRVITISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTFKLLIYYT SILHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGDTLPPTFG AGTKLELK
16	m3f8-VH	DVQLQESGPGGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGDKLEWM GYISYDGRNNFNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTSGDTATYYCARDG DYDYFDYWGGTTTLTVSS

【図 面】

【図 1】

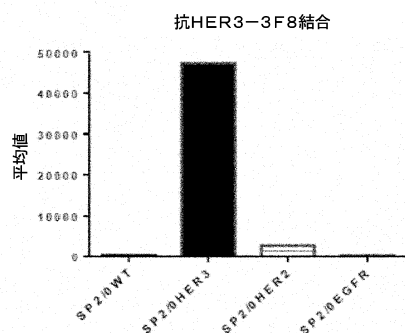


図1

【図 2】

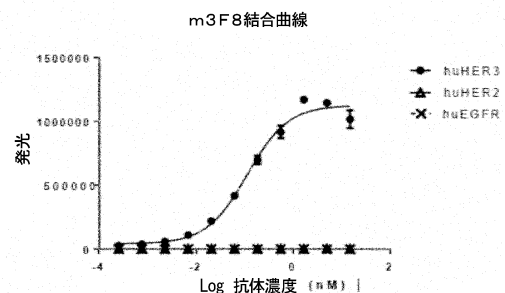


図2

10

20

30

40

50

【図 3】

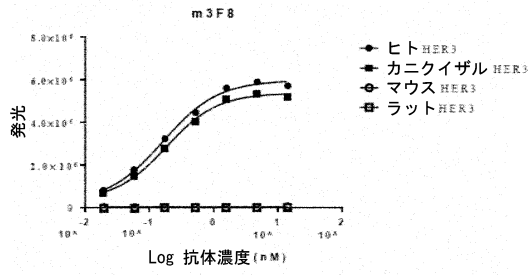


図3

【図 4】

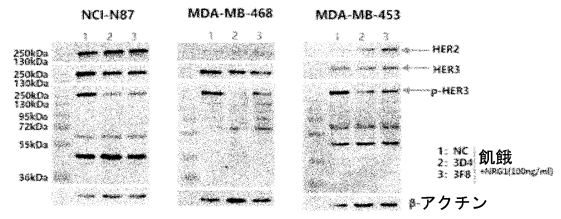


図4

10

【図 5】

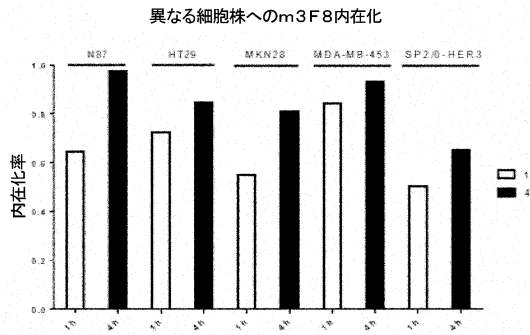


図5

【図 6】

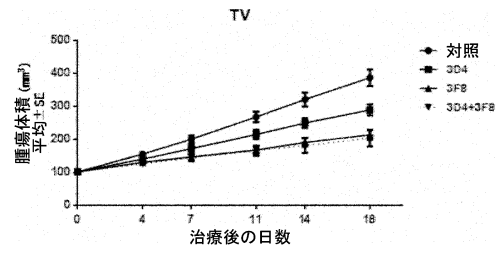


図6

20

30

40

50

【図 7】

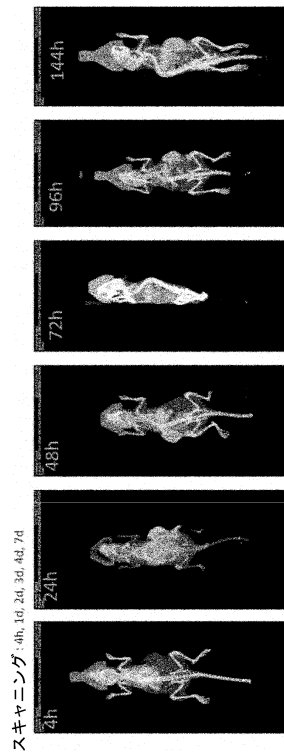


図7

【図 8】

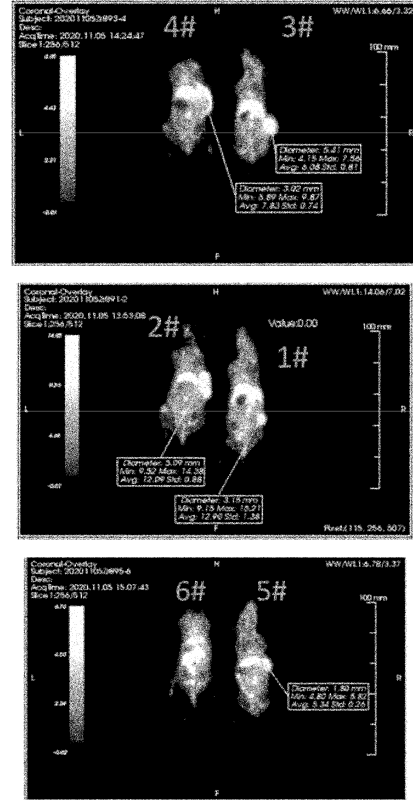


図8

【図 9 A】

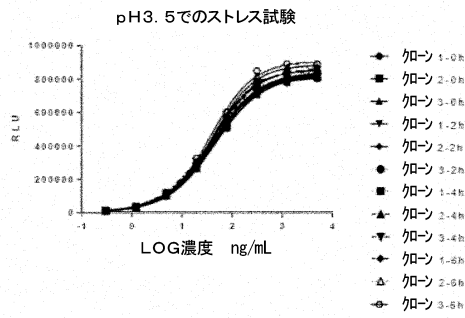


図9A

【図 9 B】

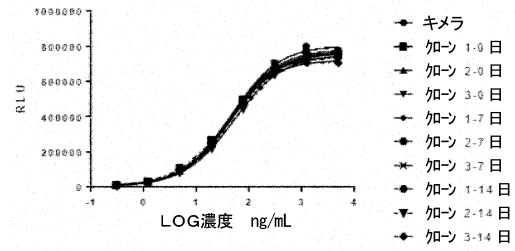


図9B

10

20

30

40

50

【図 9 C】

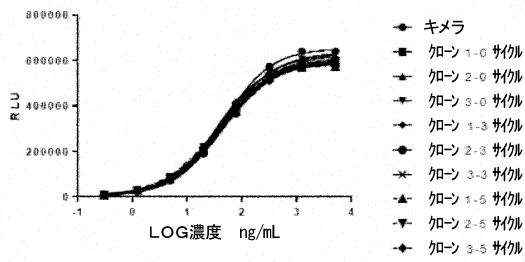


図9C

【図 10】

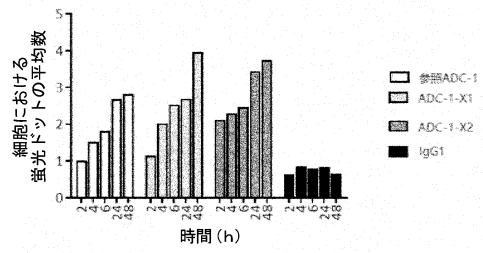


図10

10

【図 11 A】

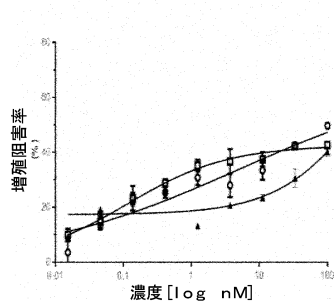


図11A

【図 11 B】

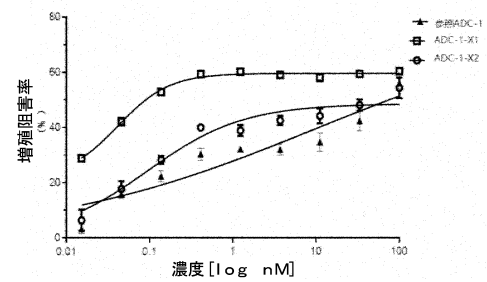


図11B

20

【図 11 C】

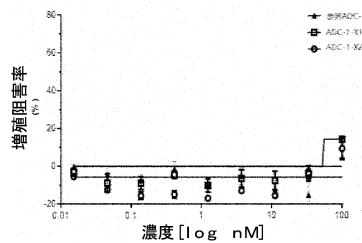


図11C

【図 12 A】

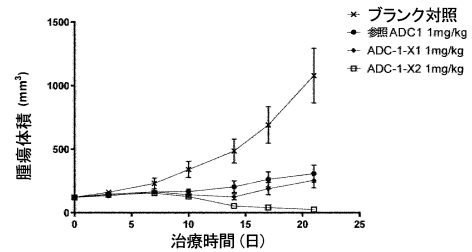


図12A

30

40

50

【図 1 2 B】

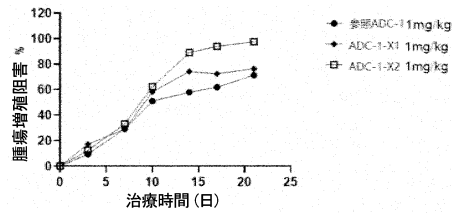


図12B

【図 1 3 A】

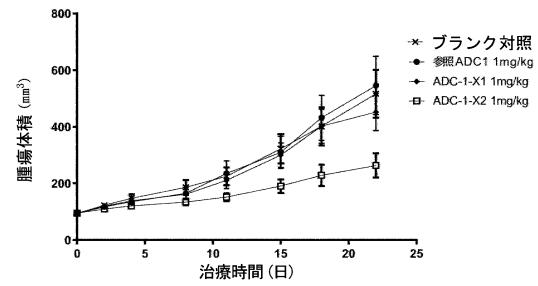


図13A

10

【図 1 3 B】

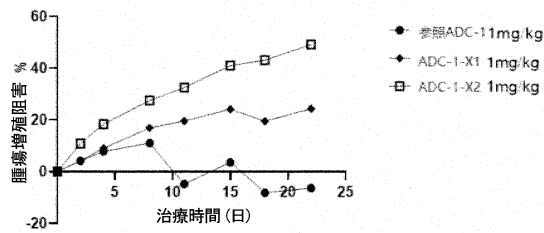


図13B

【図 1 4】

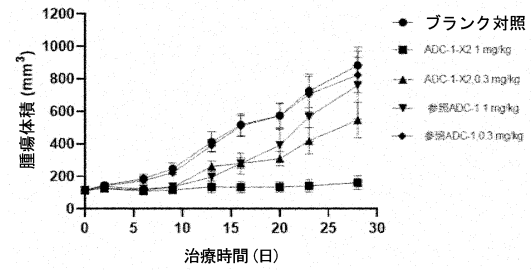


図14

20

【図 1 5】

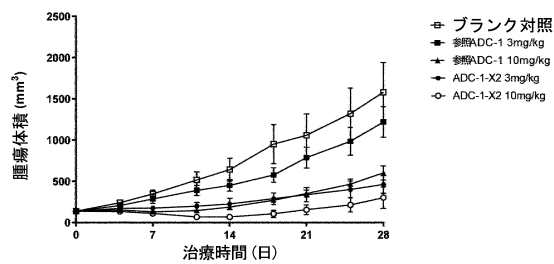


図15

30

【配列表】

2025503214000001.xml

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2023/073130
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K47/68(2017.01)i;C07K16/28(2006.01)i;A61K31/4745(2006.01)i;A61K47/65(2017.01)i;A61K35/00(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P C07K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Data base: CIPD, CNTXT, DWPI, ENTXTC, WPABSC, CNABS, VEN, CNKI, PUBMED, STN; search terms: 氨基酸序列 SEQ ID NO: 1-6, 171335-80-1, 依沙替康, 依喜替康, DX-8951, Her3, 偶联, 缀合, ADC, Gly-Gly-Phe-Gly, GGFG, 琥珀酰亚胺, 映恩生物制药, exatecan, conjugate, succinimidyl		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 106163559 A (DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED; U3 PHARMA GMBH) 23 November 2016 (2016-11-23) claims 1-38	1-22, 24-26, 27-28 (in part)
A	CN 112912109 A (DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) 04 June 2021 (2021-06-04) claims 9-10, 14, 16	1-22, 24-26, 27-28 (in part)
A	WO 2020063676 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.; SHANGHAI HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 02 April 2020 (2020-04-02) claims 3-46	1-22, 24-26, 27-28 (in part)
PY	WO 2022068878 A1 (DUALITY BIOLOGICS (SUZHOU) CO., LTD.) 07 April 2022 (2022-04-07) claims 63, 66, 72-73, 100-101	1-22, 24-26, 27-28 (in part)
Y	WO 2022068878 A1 (DUALITY BIOLOGICS (SUZHOU) CO., LTD.) 07 April 2022 (2022-04-07) claims 63, 66, 72-73, 100-101	23, 27-28 (in part)
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 08.4月2023(08.04.2023)		Date of mailing of the international search report 29 April 2023
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073130

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PY	WO 2022262772 A1 (BEIJING SINOTAU BIO-PHARMACEUTICALS TECHNOLOGY CO., LTD.) 22 December 2022 (2022-12-22) embodiments 1-21	1-22, 24-26, 27-28 (in part)
Y	WO 2022262772 A1 (BEIJING SINOTAU BIO-PHARMACEUTICALS TECHNOLOGY CO., LTD.) 22 December 2022 (2022-12-22) embodiments 1-21	23, 27-28 (in part)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073130

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. ☐ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☒ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073130

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **29**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 29 relates to a method for treating and/or preventing Her3-mediated diseases or conditions, which belongs to methods for treatment of diseases, and therefore belongs to the cases set out in PCT Rule 39.1(iv) for which a search is not required.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073130

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	106163559	A	23 November 2016	KR	20220068270	A	25 May 2022
				KR	102445502	B1	21 September 2022
				KR	20200077620	A	30 June 2020
				KR	102186027	B1	03 December 2020
				MX	2016010533	A	12 December 2016
				CA	2939802	A1	15 October 2015
				CA	2939802	C	01 November 2022
				KR	20190004837	A	14 January 2019
				KR	102127623	B1	29 June 2020
				JP	6148422	B1	14 June 2017
				JP	2017197515	A	02 November 2017
				JP	2022180416	A	06 December 2022
				LT	3129063	T	25 June 2021
				US	2019151328	A1	23 May 2019
				US	11298359	B2	12 April 2022
				RS	61711	B1	31 May 2021
				TW	201542230	A	16 November 2015
				TWI	704928	B	21 September 2020
				RU	2019143766	A	20 February 2020
				HRP	20210593	T1	14 May 2021
				KR	20200136052	A	04 December 2020
				KR	102239413	B1	12 April 2021
				KR	20210115056	A	24 September 2021
				KR	102351755	B1	14 January 2022
				JP	2017503784	A	02 February 2017
				JP	6105171	B2	29 March 2017
				JP	2019135248	A	15 August 2019
				JP	6707696	B2	10 June 2020
				KR	20230021173	A	13 February 2023
				IL	248239	A0	30 November 2016
				IL	248239	B	01 July 2022
				SI	3129063	T1	31 August 2021
				TW	202108176	A	01 March 2021
				TWI	745021	B	01 November 2021
				ES	2859648	T3	04 October 2021
				US	2017021031	A1	26 January 2017
				US	10383878	B2	20 August 2019
				AU	2020200227	A1	06 February 2020
				AU	2020200227	B2	07 October 2021
				JP	2021169515	A	28 October 2021
				JP	7138750	B2	16 September 2022
				BR	112016017893	A2	17 October 2017
				BR	112016017893	B1	23 August 2022
				KR	20210041126	A	14 April 2021
				SG	10201907807	XA	27 September 2019
				IL	293177	A	01 July 2022
				RU	2016143351	A	15 May 2018
				RU	2016143351	A3	05 March 2019
				RU	2711640	C2	17 January 2020
				EP	3129063	A1	15 February 2017

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073130

Patent document cited in search report				Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
				EP	3129063	B1		27 January 2021	
				PL	3129063	T3		12 July 2021	
				DK	3129063	T3		06 April 2021	
				KR	20160144396	A		16 December 2016	
				KR	101937549	B1		10 January 2019	
				JP	2020143114	A		10 September 2020	
				JP	6918182	B2		11 August 2021	
				SG	11201608309	PA		29 November 2016	
				EP	3789042	A1		10 March 2021	
				KR	20220012402	A		03 February 2022	
				KR	102399277	B1		18 May 2022	
				AU	2021286320	A1		20 January 2022	
				HUE	054411	T2		28 September 2021	
				TW	202218685	A		16 May 2022	
				AU	2015245122	A1		18 August 2016	
				AU	2015245122	B2		24 October 2019	
				PH	12016501711	A1		19 December 2016	
				WO	2015155998	A1		15 October 2015	
				KR	20220132025	A		29 September 2022	
				KR	102495426	B1		06 February 2023	
				JP	2017222638	A		21 December 2017	
				JP	6513128	B2		15 May 2019	
				PT	3129063	T		01 April 2021	
CN	112912109	A	04 June 2021	US	2022072144	A1		10 March 2022	
				CA	3113207	A1		26 March 2020	
				JPWO	2020059772	A1		30 August 2021	
				KR	20210062005	A		28 May 2021	
				EP	3854418	A1		28 July 2021	
				EP	3854418	A4		27 July 2022	
				TW	202024133	A		01 July 2020	
				WO	2020059772	A1		26 March 2020	
				BR	112021005246	A2		15 June 2021	
WO	2020063676	A1	02 April 2020	CA	3114137	A1		02 April 2020	
				JP	2022511351	A		31 January 2022	
				BR	112021004656	A2		01 June 2021	
				EP	3858386	A1		04 August 2021	
				EP	3858386	A4		12 October 2022	
				KR	20210066833	A		07 June 2021	
				US	2021353764	A1		18 November 2021	
				AU	2019349207	A1		08 April 2021	
				TW	202027795	A		01 August 2020	
WO	2022068878	A1	07 April 2022	TW	202214230	A		16 April 2022	
WO	2022262772	A1	22 December 2022	None					

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/073130

A. 主题的分类 A61K47/68(2017.01)i;C07K16/28(2006.01)i;A61K31/4745(2006.01)i;A61K47/65(2017.01)i;A61K35/00(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) A61K A61P C07K 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称,和使用的检索词(如使用)) 数据库: CJFD, CNXT, DWPI, ENTXTC, WPABSC, CNABS, VEN, CNKI, PUBMED, STN; 关键词: 氨基酸序列SEQ ID NO:1-6, 171335-80-1, 依沙替康, 依喜替康, DX-8951, Her3, 偶联, 缀合, ADC, Gly-Gly-Phe-Gly, GGFG, 琥珀酰亚胺, 映恩生物制药, exatecan, conjugate, succinimidyl		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 106163559 A (第一三共株式会社, U3制药有限公司) 2016年11月23日 (2016 - 11 - 23) 权利要求1-38	1-22、24-26、27-28 (部分)
A	CN 112912109 A (第一三共株式会社) 2021年6月4日 (2021 - 06 - 04) 权利要求9-10、14、16	1-22、24-26、27-28 (部分)
A	WO 2020063676 A1 (江苏恒瑞医药股份有限公司, 上海恒瑞医药有限公司) 2020年4月2日 (2020 - 04 - 02) 权利要求3-46	1-22、24-26、27-28 (部分)
PY	WO 2022068878 A1 (映恩生物制药(苏州)有限公司) 2022年4月7日 (2022 - 04 - 07) 权利要求63、66、72-73, 100-101	1-22、24-26、27-28 (部分)
Y	WO 2022068878 A1 (映恩生物制药(苏州)有限公司) 2022年4月7日 (2022 - 04 - 07) 权利要求63、66、72-73, 100-101	23、27-28 (部分)
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。 * 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 08. 4月2023 (08. 04. 2023)		国际检索报告邮寄日期 2023年4月29日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 韦轶 电话号码 (+86) 010-62412193

PCT/ISA/210 表(第2页) (2022年7月)

国际申请号

PCT/CN2023/073130

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
PY	WO 2022262772 A1 (BEIJING SINOTAU BIO PHARMACEUTICALS TECH CO LTD) 2022年12月22日 (2022 - 12 - 22) 实施例1-21	1-22、24-26、 27-28 (部分)
Y	WO 2022262772 A1 (BEIJING SINOTAU BIO PHARMACEUTICALS TECH CO LTD) 2022年12月22日 (2022 - 12 - 22) 实施例1-21	23、27-28 (部分)

10

20

30

40

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/073130

第1栏	核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列表进行的:
- a. ☐ 作为国际申请的一部分提交的;
- b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交 (细则13之三, 1(a)),
☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。
2. ☒ 本报告是在没有收到符合WIPO ST. 26标准的序列表的情况下, 考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 在可进行有意义检索的范围内做出的。
3. 补充意见:

10

20

30

40

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2023/073130
第II栏	某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)	
根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：		
1.	☒ 权利要求： 29 因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即： 权利要求29为治疗和/或预防Her3介导的疾病或病症的方法，属于疾病的治疗方法，因此属于PCT实施细则第39.1(iv)规定的无须检索的情况。	10
2.	☐ 权利要求： 因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：	
3.	☐ 权利要求： 因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。	20
		30
		40
		50

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/073130

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	106163559	A	2016年11月23日	KR	20220068270	A	2022年5月25日
				KR	102445502	B1	2022年9月21日
				KR	20200077620	A	2020年6月30日
				KR	102186027	B1	2020年12月3日
				MX	2016010533	A	2016年12月12日
				CA	2939802	A1	2015年10月15日
				CA	2939802	C	2022年11月1日
				KR	20190004837	A	2019年1月14日
				KR	102127623	B1	2020年6月29日
				JP	6148422	B1	2017年6月14日
				JP	2017197515	A	2017年11月2日
				JP	2022180416	A	2022年12月6日
				LT	3129063	T	2021年6月25日
				US	2019151328	A1	2019年5月23日
				US	11298359	B2	2022年4月12日
				RS	61711	B1	2021年5月31日
				TW	201542230	A	2015年11月16日
				TWI	704928	B	2020年9月21日
				RU	2019143766	A	2020年2月20日
				HRP	20210593	T1	2021年5月14日
				KR	20200136052	A	2020年12月4日
				KR	102239413	B1	2021年4月12日
				KR	20210115056	A	2021年9月24日
				KR	102351755	B1	2022年1月14日
				JP	2017503784	A	2017年2月2日
				JP	6105171	B2	2017年3月29日
				JP	2019135248	A	2019年8月15日
				JP	6707696	B2	2020年6月10日
				KR	20230021173	A	2023年2月13日
				IL	248239	A0	2016年11月30日
				IL	248239	B	2022年7月1日
				SI	3129063	T1	2021年8月31日
				TW	202108176	A	2021年3月1日
				TWI	745021	B	2021年11月1日
				ES	2859648	T3	2021年10月4日
				US	2017021031	A1	2017年1月26日
				US	10383878	B2	2019年8月20日
				AU	2020200227	A1	2020年2月6日
				AU	2020200227	B2	2021年10月7日
				JP	2021169515	A	2021年10月28日
				JP	7138750	B2	2022年9月16日
				BR	112016017893	A2	2017年10月17日
				BR	112016017893	B1	2022年8月23日
				KR	20210041126	A	2021年4月14日
				SG	10201907807	XA	2019年9月27日
				IL	293177	A	2022年7月1日
				RU	2016143351	A	2018年5月15日
				RU	2016143351	A3	2019年3月5日
				RU	2711640	C2	2020年1月17日
				EP	3129063	A1	2017年2月15日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2022年7月)

10

20

30

40

50

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/073130

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		EP 3129063 B1	2021年1月27日
		PL 3129063 T3	2021年7月12日
		DK 3129063 T3	2021年4月6日
		KR 20160144396 A	2016年12月16日
		KR 101937549 B1	2019年1月10日
		JP 2020143114 A	2020年9月10日
		JP 6918182 B2	2021年8月11日
		SG 11201608309 PA	2016年11月29日
		EP 3789042 A1	2021年3月10日
		KR 20220012402 A	2022年2月3日
		KR 102399277 B1	2022年5月18日
		AU 2021286320 A1	2022年1月20日
		HUE 054411 T2	2021年9月28日
		TW 202218685 A	2022年5月16日
		AU 2015245122 A1	2016年8月18日
		AU 2015245122 B2	2019年10月24日
		PH 12016501711 A1	2016年12月19日
		WO 2015155998 A1	2015年10月15日
		KR 20220132025 A	2022年9月29日
		KR 102495426 B1	2023年2月6日
CN 112912109 A	2021年6月4日	JP 2017222638 A	2017年12月21日
		JP 6513128 B2	2019年5月15日
		PT 3129063 T	2021年4月1日
		US 2022072144 A1	2022年3月10日
		CA 3113207 A1	2020年3月26日
		JPWO 2020059772 A1	2021年8月30日
		KR 20210062005 A	2021年5月28日
		EP 3854418 A1	2021年7月28日
		EP 3854418 A4	2022年7月27日
		TW 202024133 A	2020年7月1日
WO 2020063676 A1	2020年4月2日	WO 2020059772 A1	2020年3月26日
		BR 112021005246 A2	2021年6月15日
		CA 3114137 A1	2020年4月2日
		JP 2022511351 A	2022年1月31日
		BR 112021004656 A2	2021年6月1日
		EP 3858386 A1	2021年8月4日
		EP 3858386 A4	2022年10月12日
		KR 20210066833 A	2021年6月7日
		US 2021353764 A1	2021年11月18日
		AU 2019349207 A1	2021年4月8日
WO 2022068878 A1	2022年4月7日	TW 202027795 A	2020年8月1日
		TW 202214230 A	2022年4月16日
		WO 2022262772 A1	2022年12月22日
		无	

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2022年7月)

10

20

30

40

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 15/13 (2006.01)
A 6 1 K 31/4745(2006.01)

F I

C 1 2 N 15/13
A 6 1 K 31/4745

テーマコード (参考)

,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,D
E,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,S
M,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,
AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,
ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,L
A,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL
,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,V
N,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100141977

弁理士 中島 勝

(74)代理人 100138210

弁理士 池田 達則

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(72)発明者 チュー チョンユアン

中華人民共和国, シャンハイ 201204, プートン ニュー エリア, インホア ロード 868
, ユニット 1106

(72)発明者 チャン ユイ

中華人民共和国, シャンハイ 201204, プートン ニュー エリア, インホア ロード 868
, ユニット 1106

(72)発明者 リー シー

中華人民共和国, シャンハイ 201204, プートン ニュー エリア, インホア ロード 868
, ユニット 1106

F ターム (参考)

4C076 AA95 BB13 CC27 CC41 EE59
4C085 AA14 AA16 AA21 AA26 BB01 BB11 BB41 BB43 GG02 GG06
4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 NA13 ZB26
4H045 AA10 AA11 BA72 CA40 DA76 EA20 FA74