

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-537940

(P2023-537940A)

(43)公表日 令和5年9月6日(2023.9.6)

(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
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68		4 C 0 8 5
A 6 1 K	31/55 (2006.01)	A 6 1 K	31/55		4 C 0 8 6
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	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183頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-509443(P2023-509443)	(71)出願人	521086291
(86)(22)出願日	令和3年8月12日(2021.8.12)		ボルト バイオセラピューティクス、インコーポレーテッド
(85)翻訳文提出日	令和5年2月8日(2023.2.8)		アメリカ合衆国、94063 カリフォルニア州、レッドウッド シティ、チェサピーク ドライブ 900
(86)国際出願番号	PCT/US2021/045752	(74)代理人	110002077
(87)国際公開番号	WO2022/036101		園田・小林弁理士法人
(87)国際公開日	令和4年2月17日(2022.2.17)	(72)発明者	クディルカ, ロマス
(31)優先権主張番号	63/065,219		アメリカ合衆国 カリフォルニア 94063, レッドウッド シティ, チェサピーク ドライブ 900
(32)優先日	令和2年8月13日(2020.8.13)	(72)発明者	サフィナ, ブライアン
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 94063, レッドウッド シティ, チェサ
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,)		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ピラゾロアゼピンイムノコンジュゲート、及びその使用

(57)【要約】

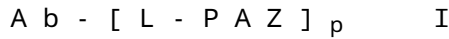
本発明は、1つ以上のピラゾロアゼピン誘導体へのコンジュゲーションによって連結された抗体を含む式(I)のイムノコンジュゲートを提供する。本発明はまた、反応性官能基を含むピラゾロアゼピン誘導体中間体組成物を提供する。そのような中間体組成物は、リンカーまたは連結部分を介したイムノコンジュゲートの形成に好適な基質である。本発明は、がんの治療方法に使用するための上記のイムノコンジュゲートをさらに提供する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

リンカーによって1つ以上の5 - アミノピラゾロアゼピン部分に共有結合した抗体を含み、式 I :



またはその薬学的に許容される塩を有する、イムノコンジュゲートであって、

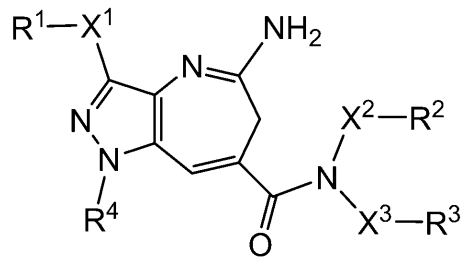
A b が、前記抗体であり、

p が、1 ~ 8 の整数であり、

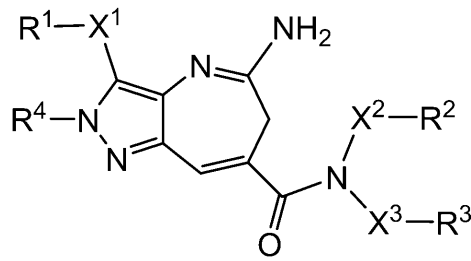
P A Z が、式 I I a 及び I I b :

【化 1】

10



I I a



I I b、

20

から選択される前記5 - アミノピラゾロアゼピン部分であり、

X¹、X²、及びX³が、結合、C(=O)、C(=O)N(R⁵)、O、N(R⁵)、S、S(O)₂、及びS(O)₂N(R⁵)からなる群から独立して選択され、

R¹、R²、R³、及びR⁴が、H、C₁-C₁₂アルキル、C₂-C₆アルケニル、C₂-C₆アルキニル、C₃-C₁₂カルボシクリル、C₆-C₂₀アリール、C₂-C₉ヘテロシクリル、及びC₁-C₂₀ヘテロアリールからなる群から独立して選択され、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル、及びヘテロアリールが、

- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、

- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - OR⁵、

- (C₃-C₁₂カルボシクリル)、

- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - *

- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *

- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、

- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - NR⁵ - C(=NR⁵)NR⁵ - *

- (C₆-C₂₀アリール)、

- (C₆-C₂₀アリールジイル) - *

- (C₆-C₂₀アリールジイル) - N(R⁵) - *

- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - (C₂-C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *

- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、

- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *

- (C₂-C₂₀ヘテロシクリル)、

- (C₂-C₂₀ヘテロシクリル) - *

- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *

- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、

- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - C(=O) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(

30

40

50

- R⁵) - *、
- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})NR⁵ - *、
 - (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - NR⁵ - (C₆ - C₂₀アリアルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
 - (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - (C₆ - C₂₀アリアルジイル) - *、
 - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアル)、
 - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - *、
 - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
 - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) 10
- 2、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *、
 - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
 - C(=O) - *、
 - C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
 - C(=O) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *、
 - C(=O)N(R⁵)₂、
 - C(=O)N(R⁵) - *、
 - C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - *、 20
 - C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O)N(R⁵) - *、
 - C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)R⁵、
 - C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
 - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)CO₂R⁵、
 - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
 - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
 - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₈アルキルジイル) - NR⁵(C₂ - C₅ヘテロアリアル)、 30
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - N(R⁵) - *、
 - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - *、
 - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
 - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *、
 - N(R⁵)₂、
 - N(R⁵) - *、
 - N(R⁵)C(=O)R⁵、
 - N(R⁵)C(=O) - *、 40
 - N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
 - N(R⁵)C(=O)N(R⁵) - *、
 - N(R⁵)CO₂R⁵、
 - N(R⁵)CO₂(R⁵) - *、
 - NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
 - NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵) - *、
 - NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
 - N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
 - N(R⁵) - (C₂ - C₅ヘテロアリアル)、
 - N(R⁵) - S(=O)₂ - (C₁ - C₁₂アルキル)、 50

- O - (C₁ - C₁₂アルキル)、
- O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N (R⁵)₂、
- O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N (R⁵) - *、
- OC (= O) N (R⁵)₂、
- OC (= O) N (R⁵) - *、
- S (= O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *、
- S (= O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N (R⁵)₂、
- S (= O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N R⁵ - *、及び
- S (= O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - OH、から選択される1つ以上の基で独立して任意選択で置換されており、
- または R² 及び R³ が一緒になって5員もしくは6員のヘテロシクリル環を形成し、R⁵ が、H、C₆ - C₂₀アリール、C₃ - C₁₂カルボシクリル、C₂ - C₂₀ヘテロシクリル、C₆ - C₂₀アリールジイル、C₁ - C₁₂アルキル、及び C₁ - C₁₂アルキルジイル、からなる群から選択されるか、または2つの R⁵ 基が一緒になって5員または6員のヘテロシクリル環を形成しており、
- R^{5a} が、C₆ - C₂₀アリール及び C₁ - C₂₀ヘテロアリールからなる群から選択され、
- 前記アスタリスク * が、Lの結合部位を示し、R¹、R²、R³ 及び R⁴ のうちの1つが、Lに結合しており、
- L が、
- C (= O) - PEG - 、
- C (= O) - PEG - C (= O) N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C (= O) - Gluc - 、
- C (= O) - PEG - O - 、
- C (= O) - PEG - O - C (= O) - 、
- C (= O) - PEG - C (= O) - 、
- C (= O) - PEG - C (= O) - PEP - 、
- C (= O) - PEG - N (R⁶) - 、
- C (= O) - PEG - N (R⁶) - C (= O) - 、
- C (= O) - PEG - N (R⁶) - PEG - C (= O) - PEP - 、
- C (= O) - PEG - N⁺ (R⁶)₂ - PEG - C (= O) - PEP - 、
- C (= O) - PEG - C (= O) - PEP - N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - 、
- C (= O) - PEG - C (= O) - PEP - N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) N (R⁶) C (= O) - (C₂ - C₅モノヘテロシクリルジイル) - 、
- C (= O) - PEG - SS - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - OC (= O) - 、
- C (= O) - PEG - SS - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C (= O) - 、
- C (= O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C (= O) - PEP - 、
- C (= O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C (= O) - PEP - N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - 、
- C (= O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C (= O) - PEP - N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N (R⁵) - C (= O)、
- C (= O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C (= O) - PEP - N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N (R⁶) C (= O) - (C₂ - C₅モノヘテロシクリルジイル) - 、
- スクシンイミジル - (CH₂)_m - C (= O) N (R⁶) - PEG - 、
- スクシンイミジル - (CH₂)_m - C (= O) N (R⁶) - PEG - C (= O) N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C (= O) - Gluc - 、

10

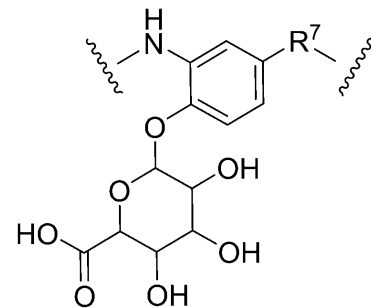
20

30

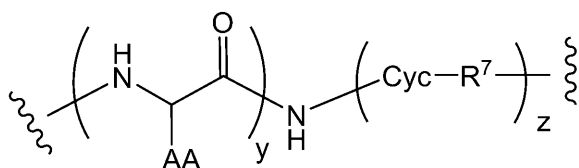
40

50

- スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - O - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - O - C(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - C(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - N(R⁵) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - N(R⁵) - C(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - C(=O) - PEP - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - SS - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - OC(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル)N(R⁶)C(=O) - 、及び
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル)N(R⁶)C(=O) - (C₂ - C₅モノヘテロシクリルジイル) - 、
- からなる群から選択されるリンカーであり、
R⁶が、独立してHまたはC₁ - C₆アルキルであり、
PEGが、式： - (CH₂CH₂O)_n - (CH₂)_m - を有し、mが1～5の整数であり、nが2～50の整数であり、
Glucが、式：
【化2】



を有し、
PEPが、式：
【化3】



を有し、AAが、天然もしくは非天然アミノ酸側鎖から独立して選択されるか、または1つ以上のAAと隣接する窒素原子が5員環プロリンアミノ酸を形成し、波線が結合点を示し、
Cycが、C₆ - C₂₀アリアルジイル及びC₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイルから選択され、任意選択で、F、Cl、NO₂、-OH、-OCH₃、及び：

10

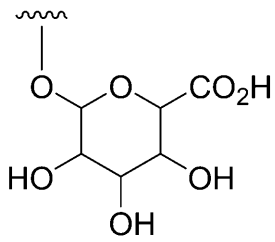
20

30

40

50

【化 4】



10

の構造を有するグルクロン酸から選択される1つ以上の基で置換されており、
 R^7 が、 $-CH(R^8)O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2N(R^8)-$ 、及び $-CH(R^8)O-C(=O)-$ からなる群から選択され、 R^8 が、 H 、 C_1-C_6 アルキル、 $C(=O)-C_1-C_6$ アルキル、及び $-C(=O)N(R^9)_2$ から選択され、 R^9 が、 H 、 C_1-C_{12} アルキル、及び $-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_m-OH$ からなる群から独立して選択され、 m が1~5の整数であり、 n が2~50の整数であり、または2つの R^9 基が一緒になって5員もしくは6員のヘテロシクリル環を形成し、

y が、2~12の整数であり、

z が、0または1であり、

アルキル、アルキルジイル、アルケニル、アルケニルジイル、アルキニル、アルキニルジイル、アリール、アリールジイル、カルボシクリル、カルボシクリルジイル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルジイル、ヘテロアリール、及びヘテロアリールジイルが、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 $-CN$ 、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-C(CH_3)_2OH$ 、 $-CH(OH)CH(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2SO_2CH_3$ 、 $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-CH_2CF_3$ 、 $-CH_2CHF_2$ 、 $-CH(CH_3)CN$ 、 $-C(CH_3)_2CN$ 、 $-CH_2CN$ 、 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2NH_2SO_2CH_3$ 、 $-CH_2NHCH_3$ 、 $-CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-COCH_3$ 、 $-CO_2CH_3$ 、 $-CO_2C(CH_3)_3$ 、 $-COCH(OH)CH_3$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHCH_3$ 、 $-CON(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_2CONH_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-NHCOCH_3$ 、 $-N(CH_3)COCH_3$ 、 $-NHS(O)_2CH_3$ 、 $-N(CH_3)C(CH_3)_2CONH_2$ 、 $-N(CH_3)CH_2CH_2S(O)_2CH_3$ 、 $-NHC(=NH)H$ 、 $-NHC(=NH)CH_3$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $=O$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、 $-OCH_2CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_mCO_2H$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_nH$ 、 $-OP(O)(OH)_2$ 、 $-S(O)_2N(CH_3)_2$ 、 $-SCH_3$ 、 $-S(O)_2CH_3$ 、及び $-S(O)_3H$ 、から独立して選択される1つ以上の基で独立して任意選択で置換される、前記イムノコンジュゲート。

20

30

40

【請求項 2】

前記抗体が、PD-L1に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトである、請求項1に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 3】

前記抗体が、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、及びアベルマブ、またはそれらのバイオシミラーもしくはバイオベターからなる群から選択される、請求項2に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 4】

前記抗体が、HER2に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトである、請求項1に記載のイムノコンジュゲート。

50

【請求項 5】

前記抗体が、トラスツズマブ及びペルツズマブ、またはそれらのバイオシミラーもしくはバイオベターからなる群から選択される、請求項 4 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 6】

前記抗体が、CEA に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトである、請求項 1 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 7】

前記抗体が、ラベツズマブ、またはそのバイオシミラーもしくはバイオベターである、請求項 6 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 8】

前記抗体が、TROP2 に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトである、請求項 1 に記載のイムノコンジュゲート。

10

【請求項 9】

前記抗体が、サシツズマブ、またはそのバイオシミラーもしくはバイオベターである、請求項 8 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 10】

X^1 が結合であり、 R^1 が H である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 11】

X^2 が結合であり、 R^2 が $C_1 - C_8$ アルキルである、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

20

【請求項 12】

X^2 及び X^3 がそれぞれ結合であり、 R^2 及び R^3 が、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-O-(C_1 - C_{12}$ アルキル)、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキルジイル)- OR^5 、 $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル)- $N(R^5)CO_2R^5$ 、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキル)- $OC(O)N(R^5)_2$ 、 $-O-(C_1 - C_{12}$ アルキル)- $N(R^5)CO_2R^5$ 、及び $-O-(C_1 - C_{12}$ アルキル)- $OC(O)N(R^5)_2$ 、から独立して選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 13】

R^2 が $C_1 - C_8$ アルキルであり、 R^3 が、 $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル)- $N(R^5)CO_2R^4$ である、請求項 12 に記載のイムノコンジュゲート。

30

【請求項 14】

R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が、 $-CH_2CH_2CH_2NHCO_2(t-Bu)$ 、 $-OCH_2CH_2NHCO_2$ (シクロブチル)、及び $-CH_2CH_2CH_2NHCO_2$ (シクロブチル)、から選択される、請求項 12 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 15】

R^2 及び R^3 が、それぞれ独立して、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CF_3$ 、 $-CH_2CH_2CF_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、及び $-CH_2CH_2CH_2OH$ から選択される、請求項 12 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 16】

R^2 及び R^3 が、それぞれ、 $-CH_2CH_2CH_3$ である、請求項 12 に記載のイムノコンジュゲート。

40

【請求項 17】

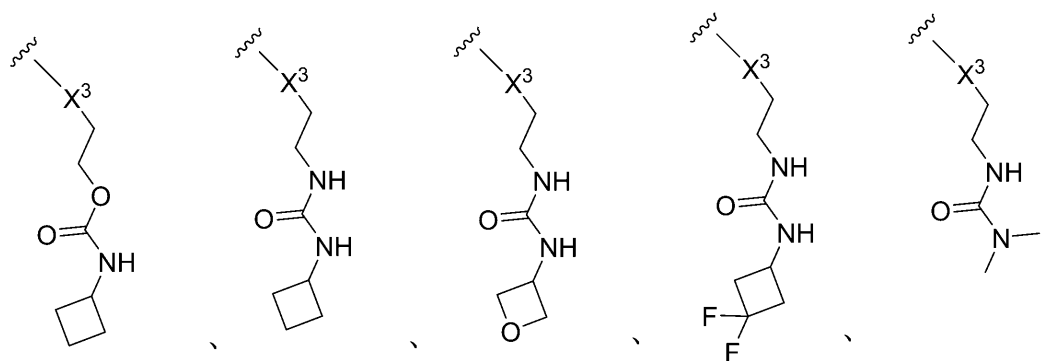
R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が $-OCH_2CH_3$ である、請求項 12 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 18】

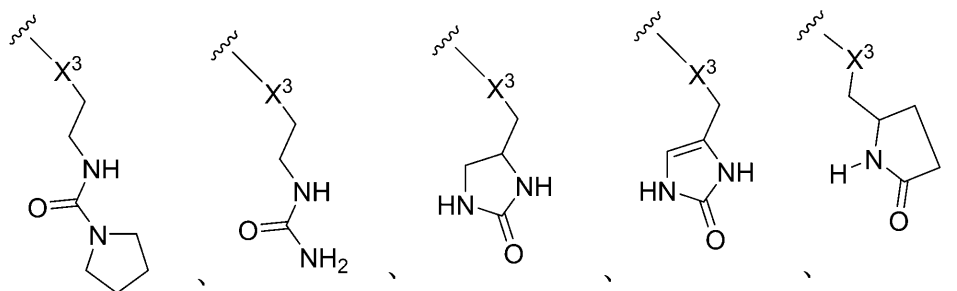
$X^3 - R^3$ が：

50

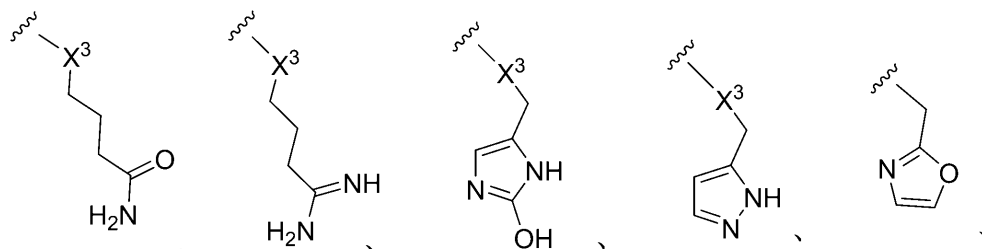
【化 5】



10



20



30



、及び

からなる群から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 19】

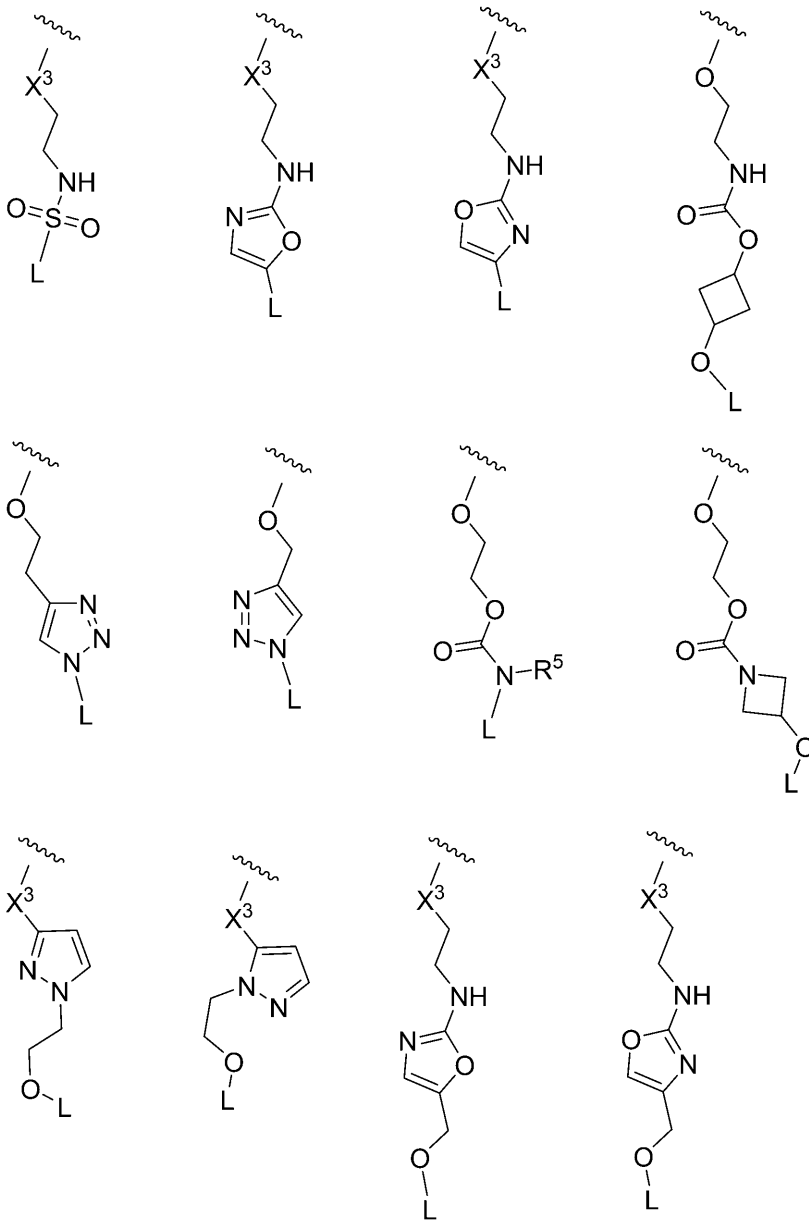
R² または R³ が、L に結合している、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 20】

X³ - R³ - L が：

40

【化 6】



10

20

30

からなる群から選択され、
波線がNへの結合点を示す、請求項19に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項21】

R⁴がC₁-C₁₂アルキルである、請求項1~9のいずれか1項に記載のイムノコンジュゲート。

40

【請求項22】

R⁴が-(C₁-C₁₂アルキルジイル)-N(R⁵)-*であり、前記アスタリスク*がLの結合部位を示す、請求項1~9のいずれか1項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項23】

Lが、-C(=O)-PEG-または-C(=O)-PEG-C(=O)-である、請求項1~9のいずれか1項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項24】

Lが、前記抗体のシステインチオールに結合している、請求項1~9のいずれか1項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項25】

50

前記 P E G について、m が 1 または 2 であり、n が 2 ~ 1 0 の整数である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

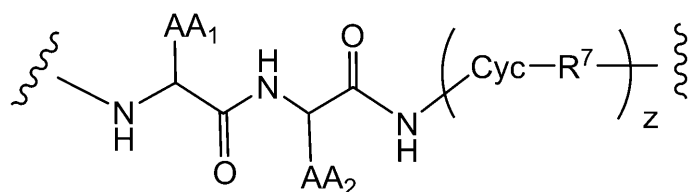
【請求項 2 6】

n が 1 0 である、請求項 2 5 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 2 7】

L が P E P を含み、P E P がジペプチドであり、式：

【化 7】



10

を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 2 8】

AA₁ 及び AA₂ が、H、-CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH₂(C₆H₅)、-CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂CH₂NHC(NH)NH₂、-CHCH(CH₃)CH₃、-CH₂SO₃H、及び -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ から独立して選択されるか、または AA₁ と AA₂ が 5 員環のプロリンアミノ酸を形成する、請求項 2 7 に記載のイムノコンジュゲート。

20

【請求項 2 9】

AA₁ が -CH(CH₃)₂ であり、AA₂ が -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ である、請求項 2 7 に記載のイムノコンジュゲート。

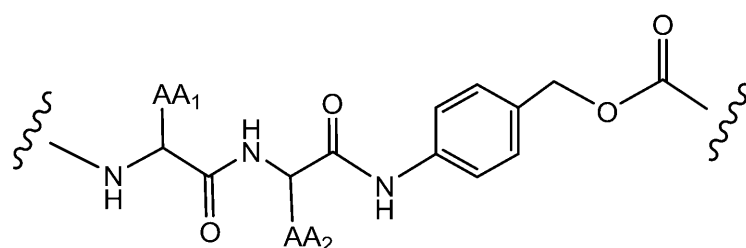
【請求項 3 0】

AA₁ 及び AA₂ が、G l c N A c アスパラギン酸、-CH₂SO₃H、及び -CH₂OPO₃H から独立して選択される、請求項 2 7 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 3 1】

P E P が、式：

【化 8】



30

を有し、AA₁ 及び AA₂ が、天然アミノ酸の側鎖から独立して選択される、請求項 2 7 に記載のイムノコンジュゲート。

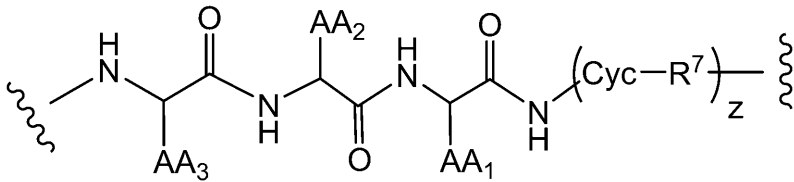
40

【請求項 3 2】

L が、P E P を含み、P E P が、トリペプチドであり、式：

50

【化 9】



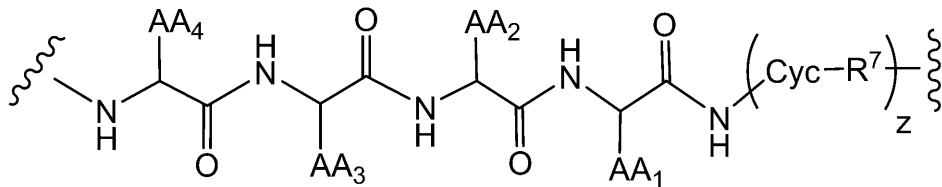
を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 33】

10

L が、PEP を含み、PEP が、テトラペプチドであり、式：

【化 10】



を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

20

【請求項 34】

AA₁ が、Abu、Ala、及び Val からなる群から選択され、

AA₂ が、Nle(O-Bzl)、Oic、及び Pro からなる群から選択され、

AA₃ が、Ala 及び Met(O)₂ からなる群から選択され、

AA₄ が、Oic、Arg(NO₂)、Bpa、及び Nle(O-Bzl) からなる群から選択される、請求項 33 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 35】

L が、PEP を含み、PEP が、Ala-Pro-Val、Asn-Pro-Val、

Ala-Ala-Val、Ala-Ala-Pro-Ala、Ala-Ala-Pro-

Val、及び Ala-Ala-Pro-Nva からなる群から選択される、請求項 1 ~ 9

30

のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

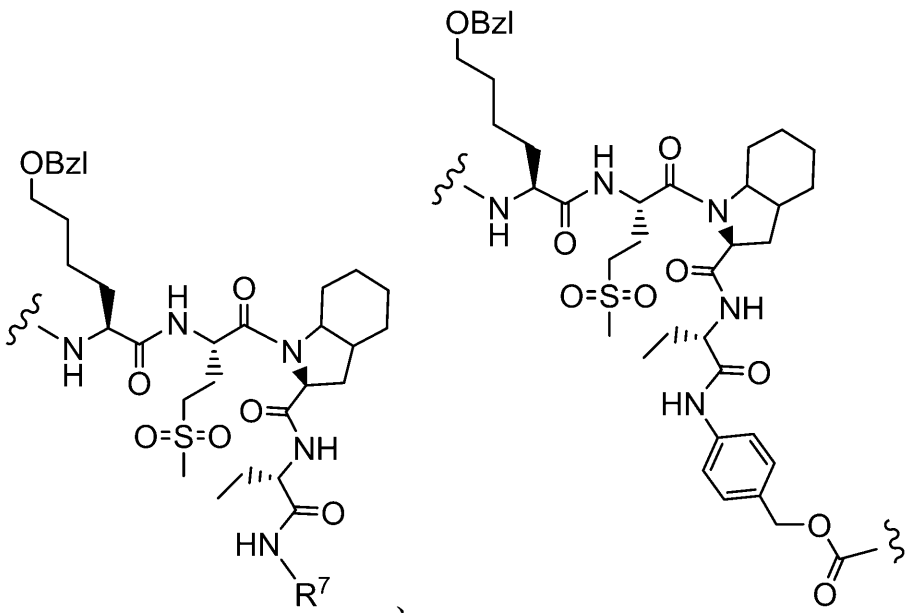
【請求項 36】

L が、PEP を含み、PEP が、構造：

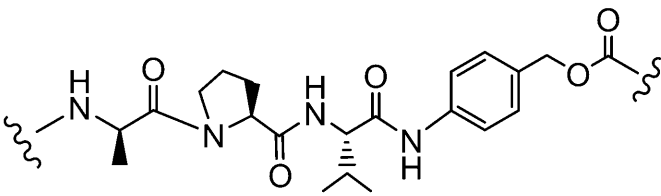
40

50

【化 1 1】

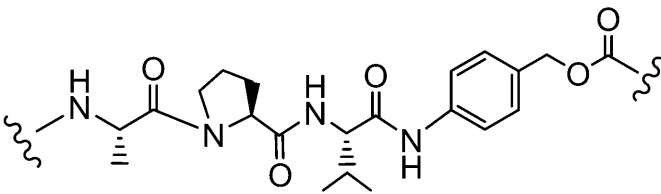


10



20

、及び



30

から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

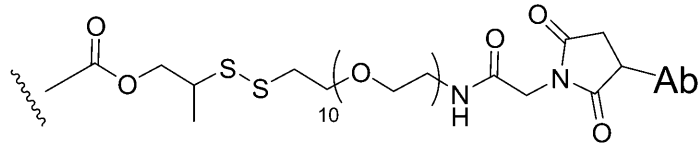
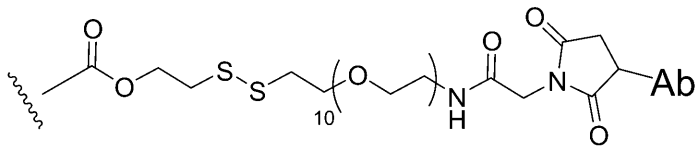
【請求項 37】

L が、構造：

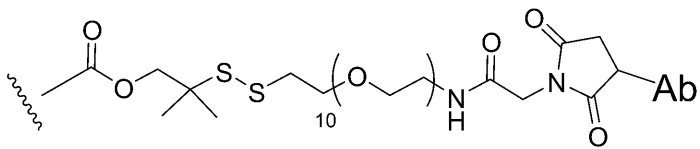
40

50

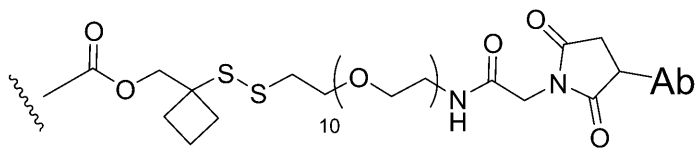
【化 1 2】



10



20



から選択され、

波線が R⁵ への結合を示す、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 3 8】

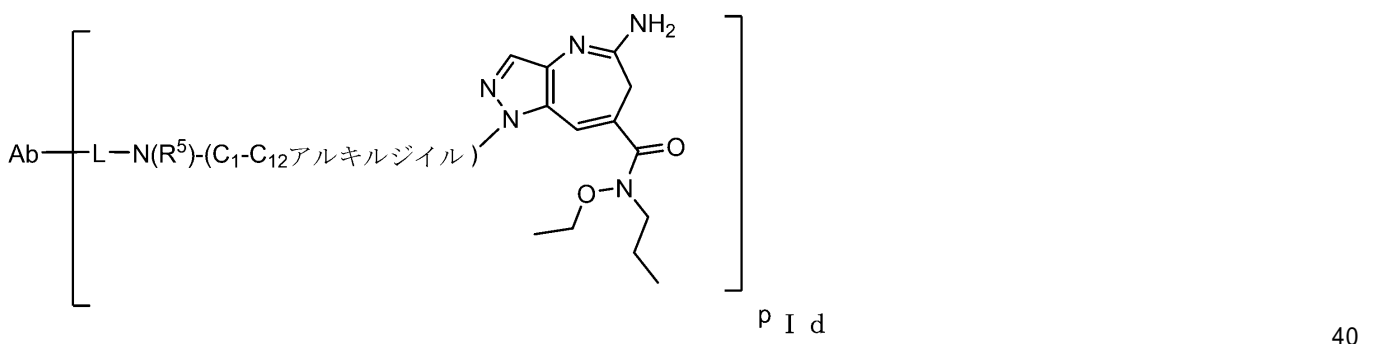
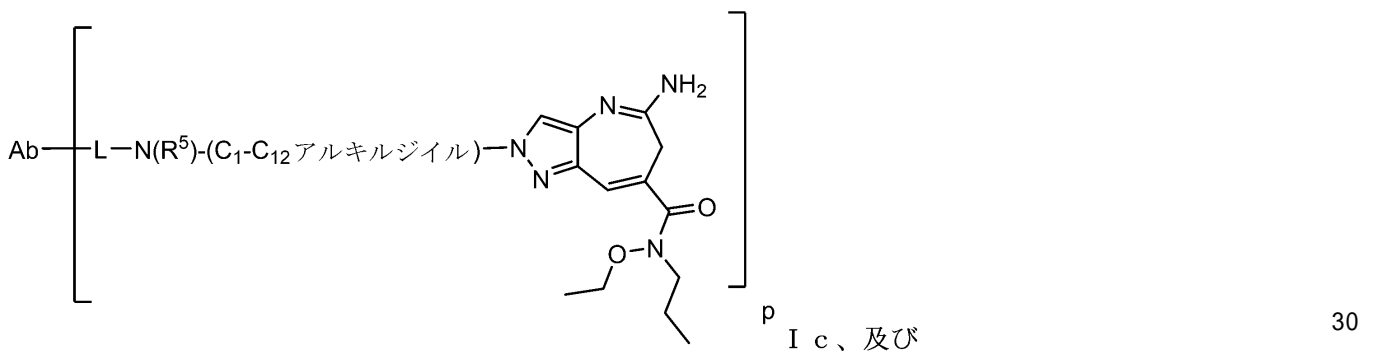
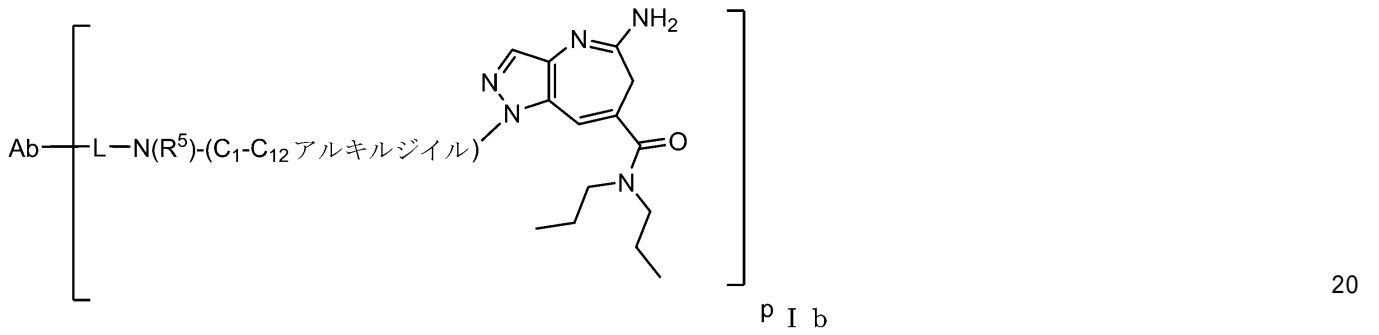
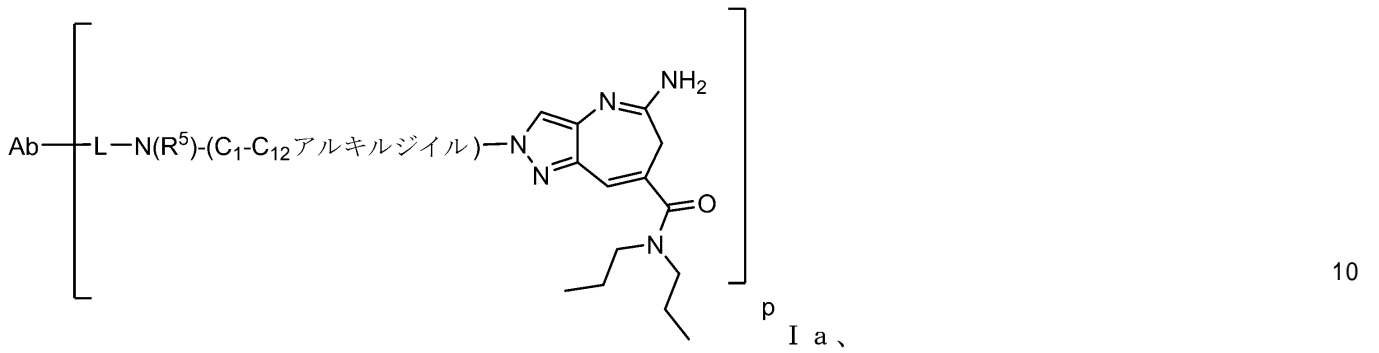
式 I a ~ I d :

30

40

50

【化 1 3】

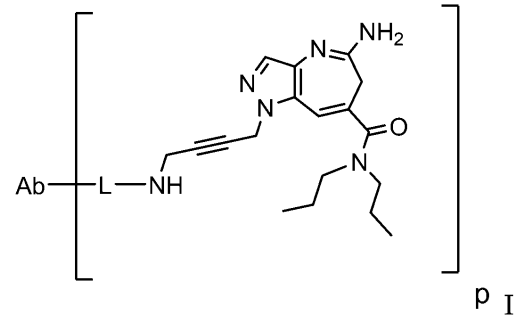
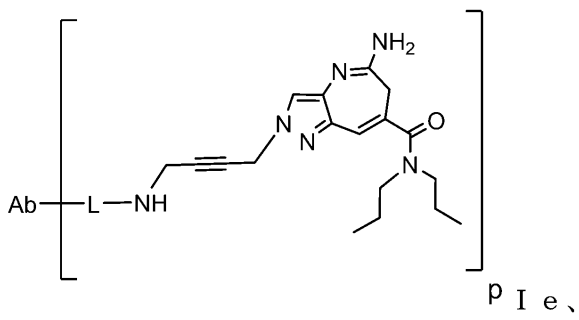


から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 39】

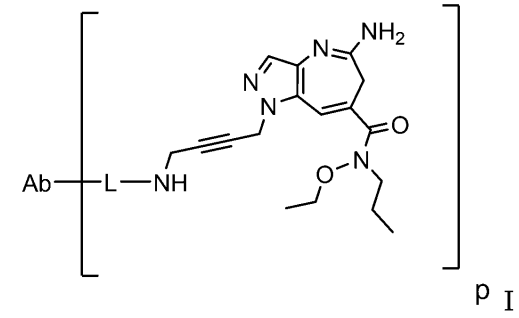
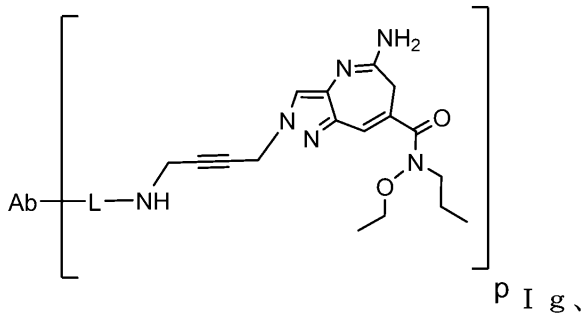
式 I e ~ I l :

【化 1 4】



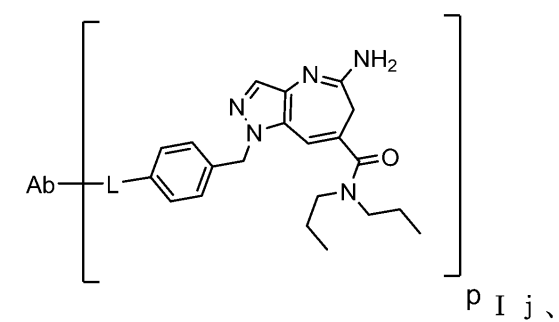
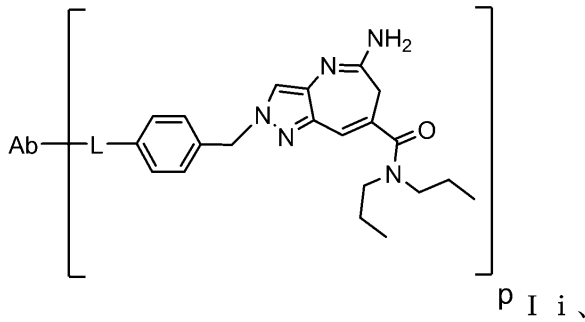
10

f、

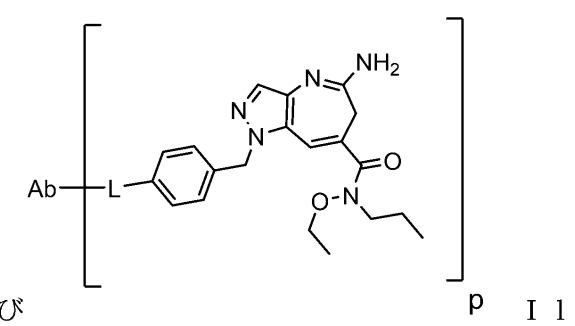
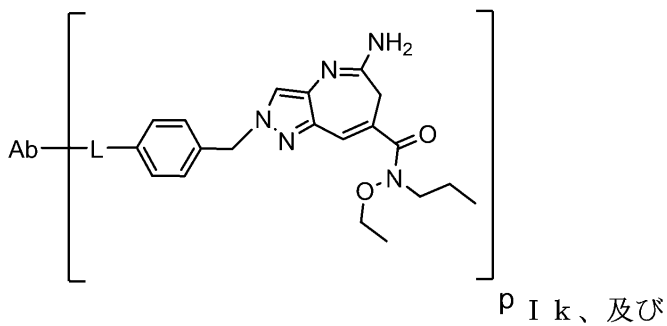


20

h、



30



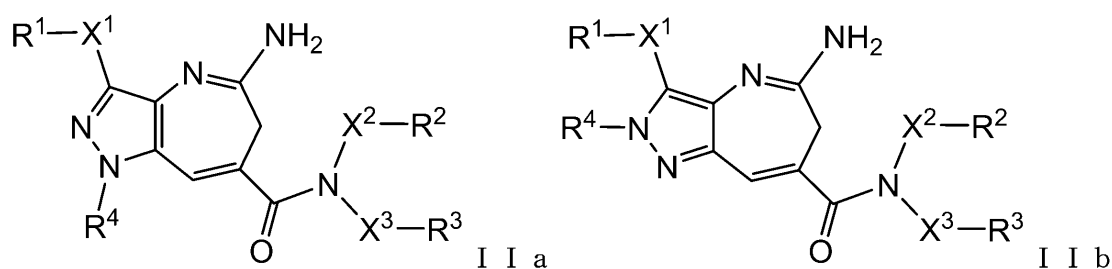
40

から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 40】

式 I I a 及び I I b :

【化 15】



10

から選択される 5 - アミノピラゾロアゼピン - リンカー化合物であって、

X^1 、 X^2 、及び X^3 が、結合、 $C(=O)$ 、 $C(=O)N(R^5)$ 、 O 、 $N(R^5)$ 、 S 、 $S(O)_2$ 、及び $S(O)_2N(R^5)$ からなる群から独立して選択され、
 R^1 、 R^2 、 R^3 、及び R^4 が、 H 、 $C_1 - C_{12}$ アルキル、 $C_2 - C_6$ アルケニル、 $C_2 - C_6$ アルキニル、 $C_3 - C_{12}$ カルボシクリル、 $C_6 - C_{20}$ アリール、 $C_2 - C_9$ ヘテロシクリル、及び $C_1 - C_{20}$ ヘテロアリールからなる群から独立して選択され、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル、及びヘテロアリールが、

- ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5) - *$ 、 20
- ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5)_2$ 、
- ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - OR^5 、
- ($C_3 - C_{12}$ カルボシクリル)、
- ($C_3 - C_{12}$ カルボシクリル) - $*$ 、
- ($C_3 - C_{12}$ カルボシクリル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $NR^5 - *$ 、
- ($C_3 - C_{12}$ カルボシクリル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5)_2$ 、
- ($C_3 - C_{12}$ カルボシクリル) - $NR^5 - C(=NR^5)NR^5 - *$ 、
- ($C_6 - C_{20}$ アリール)、
- ($C_6 - C_{20}$ アリールジイル) - $*$ 、
- ($C_6 - C_{20}$ アリールジイル) - $N(R^5) - *$ 、 30
- ($C_6 - C_{20}$ アリールジイル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5) - *$ 、
- ($C_6 - C_{20}$ アリールジイル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - ($C_2 - C_{20}$ ヘテロシクリルジイル) - $*$ 、
- ($C_6 - C_{20}$ アリールジイル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5)_2$ 、
- ($C_6 - C_{20}$ アリールジイル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $NR^5 - C(=NR^5)N(R^5) - *$ 、
- ($C_2 - C_{20}$ ヘテロシクリル)、
- ($C_2 - C_{20}$ ヘテロシクリル) - $*$ 、
- ($C_2 - C_9$ ヘテロシクリル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $NR^5 - *$ 、
- ($C_2 - C_9$ ヘテロシクリル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5)_2$ 、 40
- ($C_2 - C_9$ ヘテロシクリル) - $C(=O) - (C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5) - *$ 、
- ($C_2 - C_9$ ヘテロシクリル) - $NR^5 - C(=NR^5)NR^5 - *$ 、
- ($C_2 - C_9$ ヘテロシクリル) - $NR^5 - (C_6 - C_{20}$ アリールジイル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5) - *$ 、
- ($C_2 - C_9$ ヘテロシクリル) - ($C_6 - C_{20}$ アリールジイル) - $*$ 、
- ($C_1 - C_{20}$ ヘテロアリール)、
- ($C_1 - C_{20}$ ヘテロアリールジイル) - $*$ 、
- ($C_1 - C_{20}$ ヘテロアリールジイル) - ($C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5) - *$ 、 50

- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- C(=O) - *、
- C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- C(=O) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *、
- C(=O)N(R⁵)₂、
- C(=O)N(R⁵) - *、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - *、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O)N(R⁵) - *、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)R⁵、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)CO₂R⁵、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₈アルキルジイル) - NR⁵(C₂ - C₅ヘテロアリール)、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - N(R⁵) - *、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - *、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *、
- N(R⁵)₂、
- N(R⁵) - *、
- N(R⁵)C(=O)R⁵、
- N(R⁵)C(=O) - *、
- N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
- N(R⁵)C(=O)N(R⁵) - *、
- N(R⁵)CO₂R⁵、
- N(R⁵)CO₂(R⁵) - *、
- NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
- NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵) - *、
- NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
- N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- N(R⁵) - (C₂ - C₅ヘテロアリール)、
- N(R⁵) - S(=O)₂ - (C₁ - C₁₂アルキル)、
- O - (C₁ - C₁₂アルキル)、
- O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- OC(=O)N(R⁵)₂、
- OC(=O)N(R⁵) - *、
- S(=O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *、
- S(=O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- S(=O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル)

10

20

30

40

50

ル) - NR^5 - *、及び
 - $\text{S}(\text{=O})_2$ - (C_2 - C_{20} ヘテロシクリルジイル) - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - OHから選択される1つ以上の基で独立して任意選択で置換されており、
 または R^2 及び R^3 が一緒になって5員もしくは6員のヘテロシクリル環を形成し、
 R^5 が、H、 C_6 - C_{20} アリアル、 C_3 - C_{12} カルボシクリル、 C_2 - C_{20} ヘテロシクリル、 C_6 - C_{20} アリアルジイル、 C_1 - C_{12} アルキル、及び C_1 - C_{12} アルキルジイル、からなる群から選択されるか、または2つの R^5 基が一緒になって5員または6員のヘテロシクリル環を形成しており、
 R^{5a} が、 C_6 - C_{20} アリアル及び C_1 - C_{20} ヘテロアリアルからなる群から選択され

10

前記アスタリスク*が、Lの結合部位を示し、 R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 のうちの1つが、Lに結合しており、

Lが、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{C}(\text{=O})$ - Gluc -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - O -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - O - $\text{C}(\text{=O})$ -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})$ -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP -、

20

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - $\text{N}(\text{R}^6)$ -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - $\text{N}(\text{R}^6)$ - $\text{C}(\text{=O})$ -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - $\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - $\text{N}^+(\text{R}^6)_2$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP - $\text{N}(\text{R}^6)$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP - $\text{N}(\text{R}^6)$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) $\text{N}(\text{R}^6)$ $\text{C}(\text{=O})$ - (C_2 - C_5 モノヘテロシクリルジイル) -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - SS - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{OC}(\text{=O})$ -、

30

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - PEG - SS - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{C}(\text{=O})$ -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP - $\text{N}(\text{R}^6)$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP - $\text{N}(\text{R}^6)$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{N}(\text{R}^5)$ - $\text{C}(\text{=O})$ -、

Q - $\text{C}(\text{=O})$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP - $\text{N}(\text{R}^6)$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{N}(\text{R}^6)$ $\text{C}(\text{=O})$ - (C_2 - C_5 モノヘテロシクリルジイル) -、

Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG -、

Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{C}(\text{=O})$ - Gluc -、

40

Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG - O -、

Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG - O - $\text{C}(\text{=O})$ -、

Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})$ -、

Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG - $\text{N}(\text{R}^5)$ -、

Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG - $\text{N}(\text{R}^5)$ - $\text{C}(\text{=O})$ -、

Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP -、

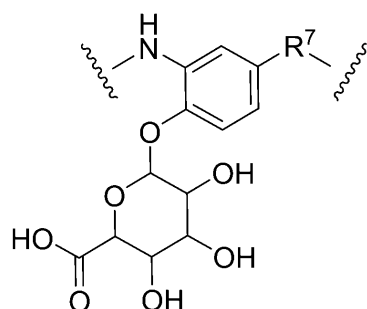
Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})\text{N}(\text{R}^6)$ - PEG - SS - (C_1 - C_{12} アルキルジイル) - $\text{OC}(\text{=O})$ -、

Q - $(\text{CH}_2)_m$ - $\text{C}(\text{=O})$ - PEP - $\text{N}(\text{R}^6)$ - (C_1 - C_{12} アルキルジイル)

50

-、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル})$
 $N(R^6)C(=O) -$ 、及び
 $Q - (CH_2)_m - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル})$
 $N(R^6)C(=O) - (C_2 - C_5 \text{モノヘテロシクリルジイル}) -$ 、からなる群から選
 択されるリンカーであり、
 R^6 が、独立してHまたは $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 PEG が、式： $-(CH_2CH_2O)_n - (CH_2)_m -$ を有し、 m が1~5の整数であ
 り、 n が2~50の整数であり、
 $Gluc$ が、式：

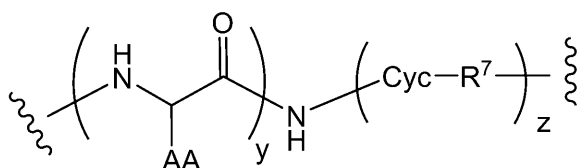
10



20

を有し、
 PEP が、式：

【化17】



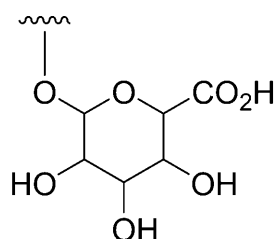
30

を有し、 AA が、天然もしくは非天然アミノ酸側鎖から独立して選択されるか、または1
 つ以上の AA と隣接する窒素原子が、5員環プロリンアミノ酸を形成し、波線が結合点を
 示し、

Cyc が、 $C_6 - C_{20}$ アリアルジイル及び $C_1 - C_{20}$ ヘテロアリアルジイルから選択
 され、任意選択で、 F 、 Cl 、 NO_2 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、及び：

【化18】

40



の構造を有するグルクロン酸から選択される1つ以上の基で置換されており、

R^7 が、 $-CH(R^8)O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2N(R^8)-$ 、及び $-CH(R^8)$
 $O-C(=O)-$ からなる群から選択され、 R^8 が、 H 、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C(=O)$

50

) - C₁ - C₆アルキル、及び - C(=O)N(R⁹)₂から選択され、R⁹が、H、C₁ - C₁₂アルキル、及び - (CH₂CH₂O)_n - (CH₂)_m - OHからなる群から独立して選択され、mが1～5の整数であり、nが2～50の整数であり、または2つのR⁹基が一緒になって5員もしくは6員のヘテロシクリル環を形成し、

yが、2～12の整数であり、

zが、0または1であり、

Qが、F、Cl、NO₂及びSO₃⁻から独立して選択される1つ以上の基で置換されたN-ヒドロキシスクシンイミジル、N-ヒドロキシスルホスクシンイミジル、マレイミド、及びフェノキシからなる群から選択され、

アルキル、アルキルジイル、アルケニル、アルケニルジイル、アルキニル、アルキニルジイル、アリール、アリールジイル、カルボシクリル、カルボシクリルジイル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルジイル、ヘテロアリール、及びヘテロアリールジイルが、F、Cl、Br、I、-CN、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH=CH₂、-C(CH₃)₂、-C(CH₃)₂CH₃、-CH₂CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH₂CH(CH₃)₂、-CH₂OH、-CH₂OCH₃、-CH₂CH₂OH、-C(CH₃)₂OH、-CH(OH)CH(CH₃)₂、-C(CH₃)₂CH₂OH、-CH₂CH₂SO₂CH₃、-CH₂OP(O)(OH)₂、-CH₂F、-CHF₂、-CF₃、-CH₂CF₃、-CH₂CHF₂、-CH(CH₃)CN、-C(CH₃)₂CN、-CH₂CN、-CH₂NH₂、-CH₂NHSO₂CH₃、-CH₂NHCH₃、-CH₂N(CH₃)₂、-CO₂H、-COCH₃、-CO₂CH₃、-CO₂C(CH₃)₃、-COCH(OH)CH₃、-CONH₂、-CONHCH₃、-CON(CH₃)₂、-C(CH₃)₂CONH₂、-NH₂、-NHCH₃、-N(CH₃)₂、-NHCOCH₃、-N(CH₃)COCH₃、-NHS(O)₂CH₃、-N(CH₃)C(CH₃)₂CONH₂、-N(CH₃)CH₂CH₂S(O)₂CH₃、-NHC(=NH)H、-NHC(=NH)CH₃、-NHC(=NH)NH₂、-NHC(=O)NH₂、-NO₂、=O、-OH、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-OCH₂CH₂OCH₃、-OCH₂CH₂OH、-OCH₂CH₂N(CH₃)₂、-O(CH₂CH₂O)_n - (CH₂)_mCO₂H、-O(CH₂CH₂O)_nH、-OP(O)(OH)₂、-S(O)₂N(CH₃)₂、-SCH₃、-S(O)₂CH₃、及び-S(O)₃H、から独立して選択される1つ以上の基で、任意選択で置換される、前記5-アミノピラゾロアゼピン-リンカー化合物。

【請求項41】

X¹が結合であり、R¹がHである、請求項40に記載の5-アミノ-ピラゾロアゼピン-リンカー化合物。

【請求項42】

X²が結合であり、R²がC₁ - C₈アルキルである、請求項40に記載の5-アミノ-ピラゾロアゼピン-リンカー化合物。

【請求項43】

X²及びX³が、それぞれ結合であり、R²及びR³が、C₁ - C₈アルキル、-O-(C₁ - C₁₂アルキル)、-(C₁ - C₁₂アルキルジイル)-OR⁵、-(C₁ - C₈アルキルジイル)-N(R⁵)CO₂R⁵、-(C₁ - C₁₂アルキル)-OC(O)N(R⁵)₂、-O-(C₁ - C₁₂アルキル)-N(R⁵)CO₂R⁵、及び-O-(C₁ - C₁₂アルキル)-OC(O)N(R⁵)₂から独立して選択される、請求項40に記載の5-アミノ-ピラゾロアゼピン-リンカー化合物。

【請求項44】

R²がC₁ - C₈アルキルであり、R³が-(C₁ - C₈アルキルジイル)-N(R⁵)CO₂R⁴である、請求項43に記載の5-アミノ-ピラゾロアゼピン-リンカー化合物。

【請求項45】

R²が-CH₂CH₂CH₃であり、R³が、-CH₂CH₂CH₂NHCO₂(t-Bu)、-OCH₂CH₂NHCO₂(シクロブチル)、及び-CH₂CH₂CH₂NHC

O₂ (シクロブチル) から選択される、請求項 43 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 46】

R² 及び R³ がそれぞれ、-CH₂CH₂CH₃、-OCH₂CH₃、-OCH₂CF₃、-CH₂CH₂CF₃、-OCH₂CH₂OH、及び -CH₂CH₂CH₂OH から独立して選択される、請求項 43 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 47】

R² 及び R³ がそれぞれ -CH₂CH₂CH₃ である、請求項 43 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

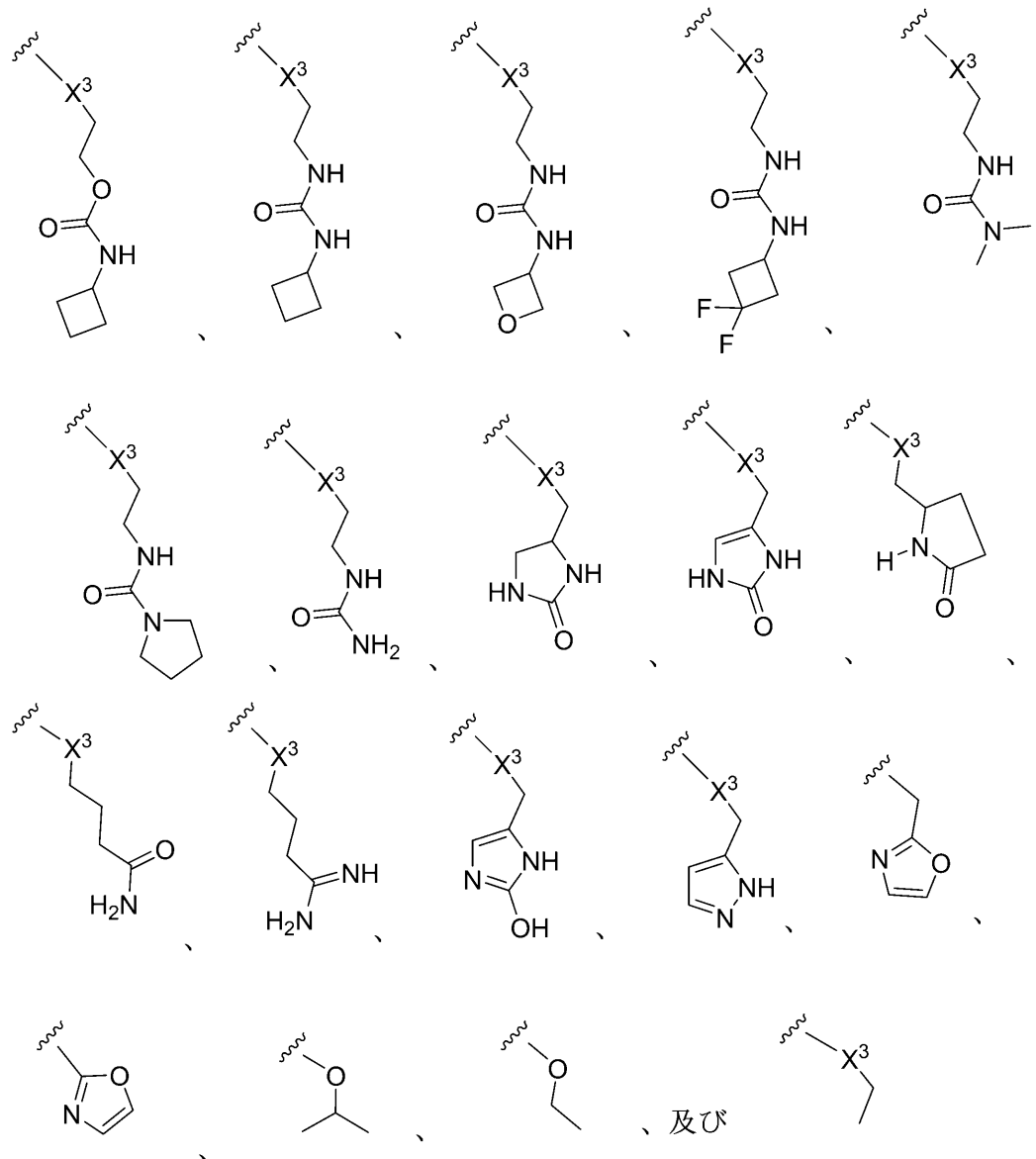
【請求項 48】

R² が -CH₂CH₂CH₃ であり、R³ が -OCH₂CH₃ である、請求項 43 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 49】

X₃ - R₃ が：

【化 19】



からなる群から選択される、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

10

20

30

40

50

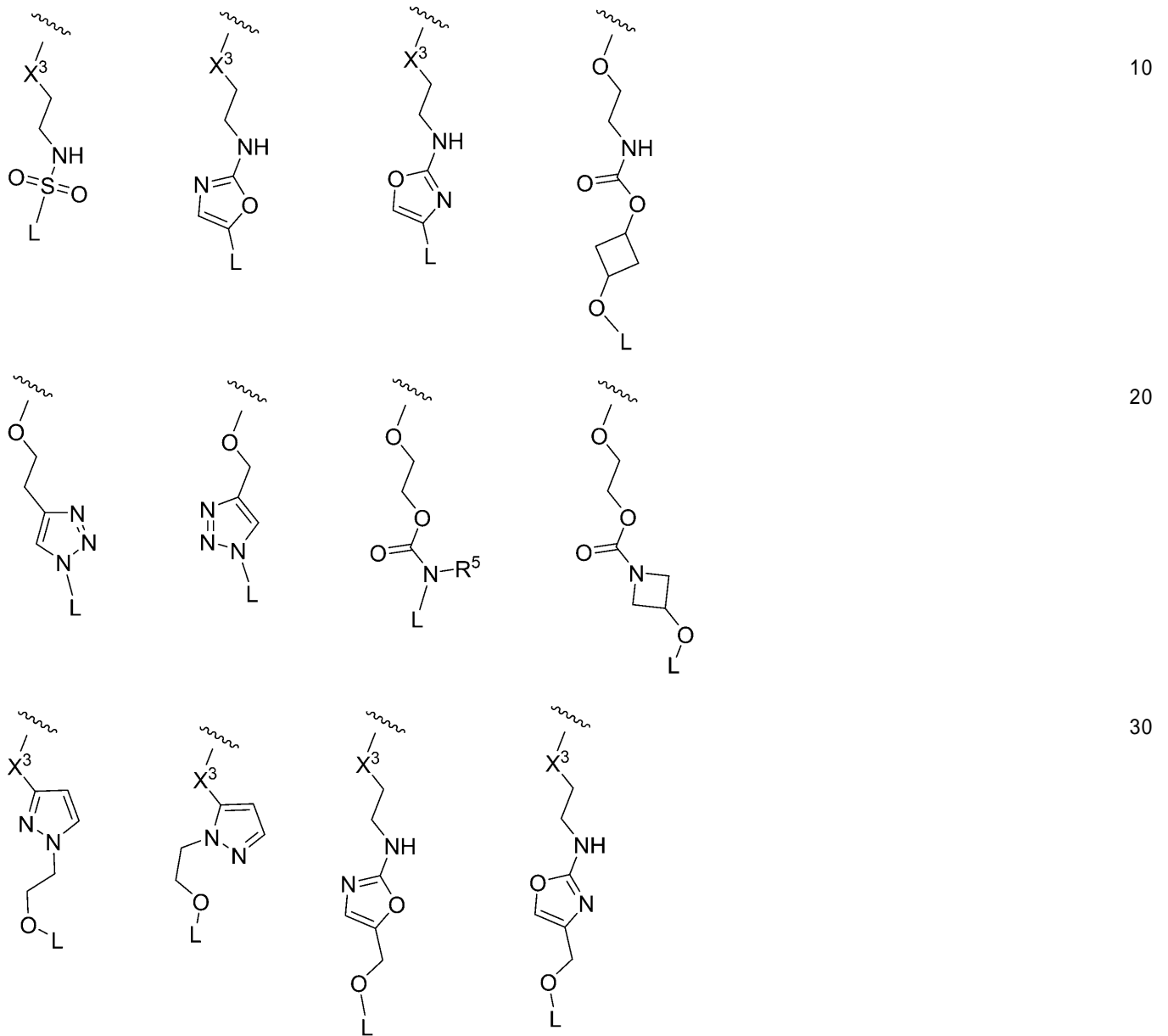
【請求項 5 0】

R² または R³ が、L に結合している、請求項 4 0 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 5 1】

X³ - R³ - L が：

【化 2 0】



からなる群から選択され、波線が N への結合点を示す、請求項 4 0 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 5 2】

R⁴ が C₁ - C₁₂ アルキルである、請求項 4 0 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 5 3】

R⁴ が - (C₁ - C₁₂ アルキルジイル) - N(R⁵) - * であり、前記アスタリスク* が、L の結合部位を示す、請求項 4 0 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 5 4】

L が、 $-C(=O)-PEG-$ または $-C(=O)-PEG-C(=O)-$ である、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 55】

前記 PEG について、m が 1 または 2 であり、n が 2 ~ 10 の整数である、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

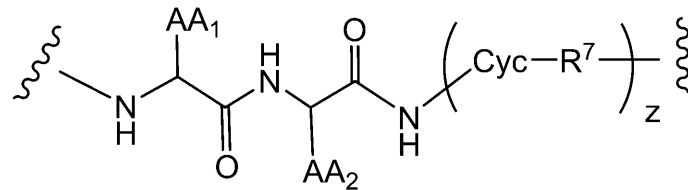
【請求項 56】

n が 10 である、請求項 55 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 57】

L が、PEP を含み、PEP が、ジペプチドであり、式：

【化 21】



を有する、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 58】

AA₁ 及び AA₂ が、H、 $-CH_3$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2(C_6H_5)$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH_2NHC(NH)NH_2$ 、 $-CHCH(CH_3)CH_3$ 、 $-CH_2SO_3H$ 、及び $-CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ から独立して選択されるか、または AA₁ と AA₂ が、5 員環のプロリンアミノ酸を形成する、請求項 57 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 59】

AA₁ が $-CH(CH_3)_2$ であり、AA₂ が $-CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ である、請求項 58 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

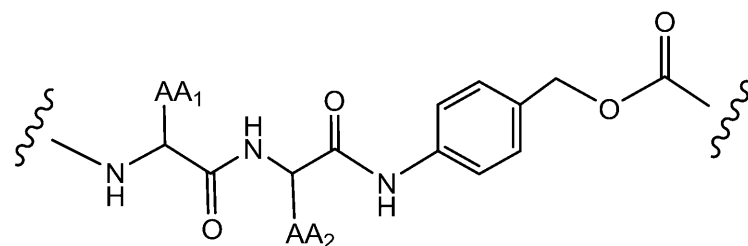
【請求項 60】

AA₁ 及び AA₂ が、GlcNAc アスパラギン酸、 $-CH_2SO_3H$ 、及び $-CH_2OPO_3H$ から独立して選択される、請求項 57 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 61】

PEP が、式：

【化 22】



を有し、AA₁ 及び AA₂ が、天然アミノ酸の側鎖から独立して選択される、請求項 57 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 62】

L が PEP を含み、PEP が、トリペプチドであり、式：

10

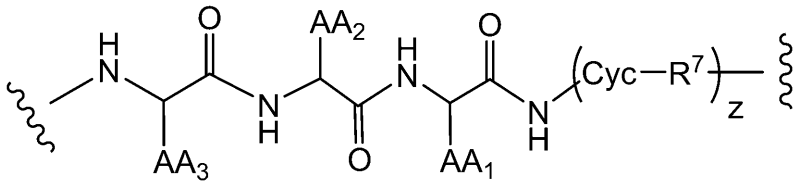
20

30

40

50

【化 2 3】



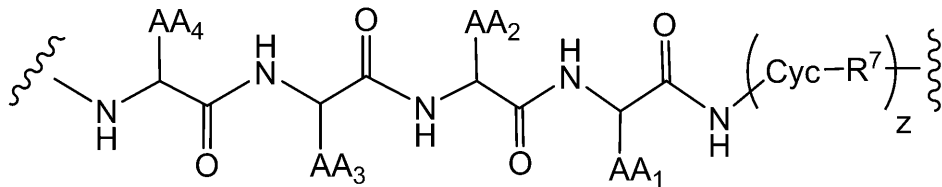
を有する、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 6 3】

10

L が PEP を含み、PEP が、テトラペプチドであり、式：

【化 2 4】



を有する、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

20

【請求項 6 4】

AA₁ が、Abu、Ala、及び Val からなる群から選択され、

AA₂ が、Nle(O-Bzl)、Oic、及び Pro からなる群から選択され、

AA₃ が、Ala 及び Met(O)₂ からなる群から選択され、

AA₄ が、Oic、Arg(NO₂)、Bpa、及び Nle(O-Bzl) からなる群から選択される、請求項 6 3 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 6 5】

L が PEP を含み、PEP が、Ala-Pro-Val、Asn-Pro-Val、Ala-Ala-Val、Ala-Ala-Pro-Ala、Ala-Ala-Pro-Val、及び Ala-Ala-Pro-Nva からなる群から選択される、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

30

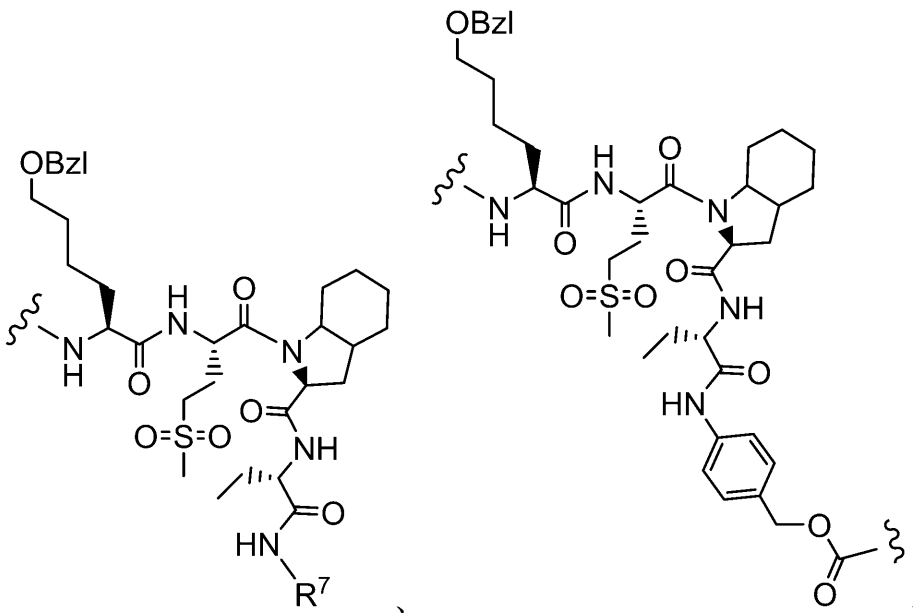
【請求項 6 6】

L が PEP を含み、PEP が、構造：

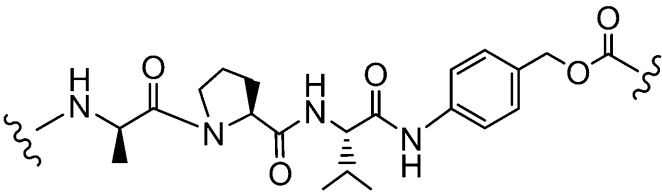
40

50

【化 2 5】

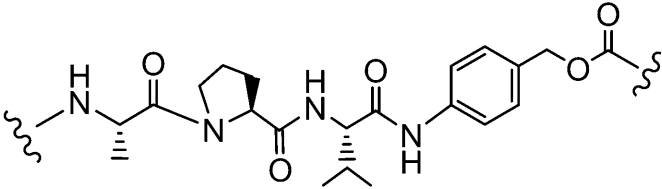


10



20

、及び



30

から選択される、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

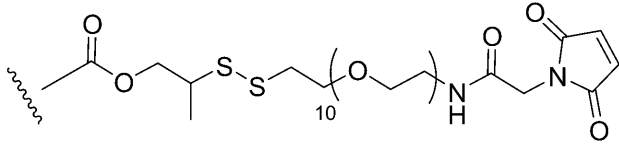
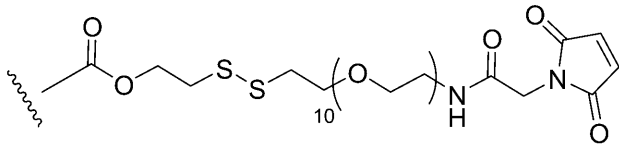
【請求項 67】

L が、構造：

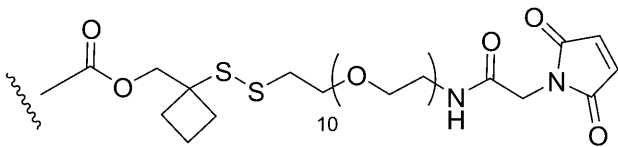
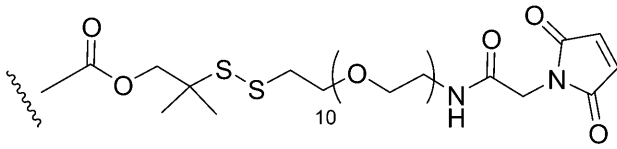
40

50

【化 2 6】



10



20

から選択され、

波線が R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 への結合を示す、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 68】

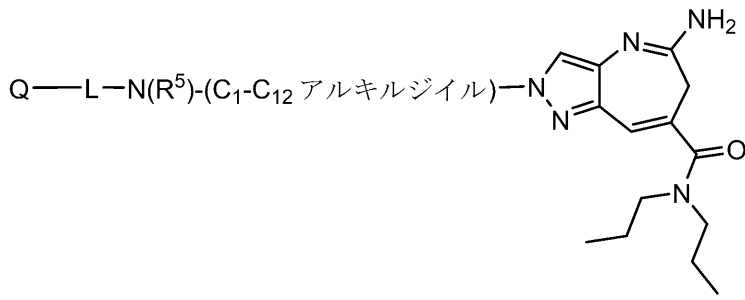
式 I Ia ~ I Id :

30

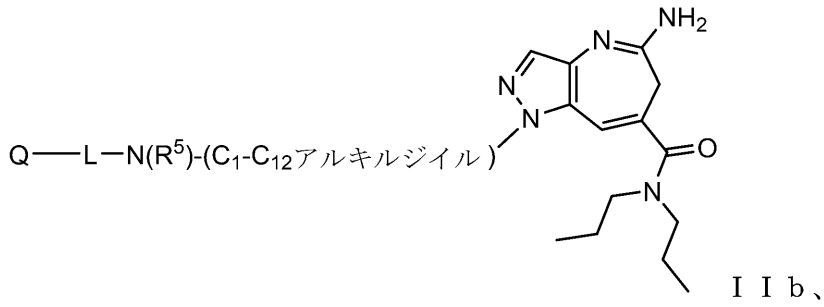
40

50

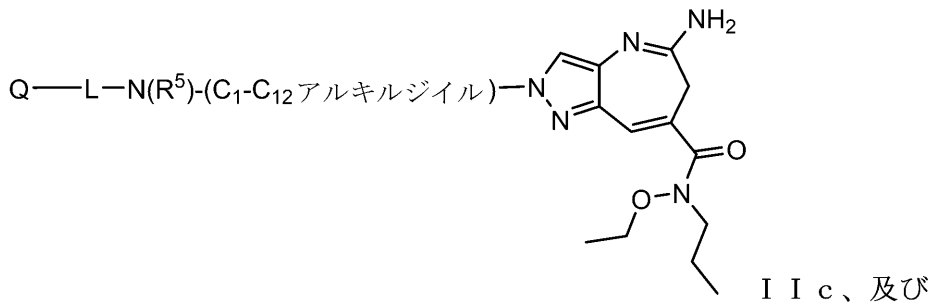
【化 2 7】



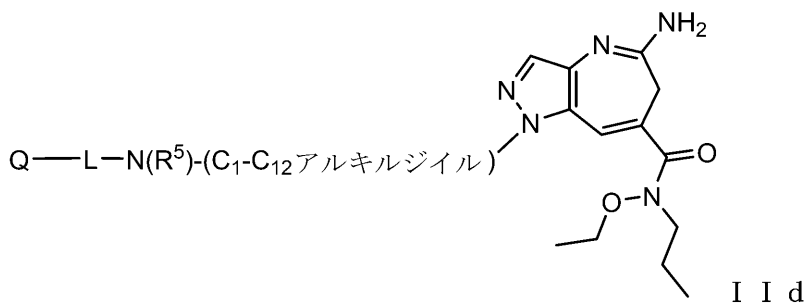
10



20



30



から選択される、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

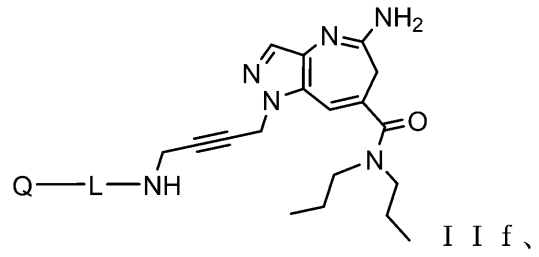
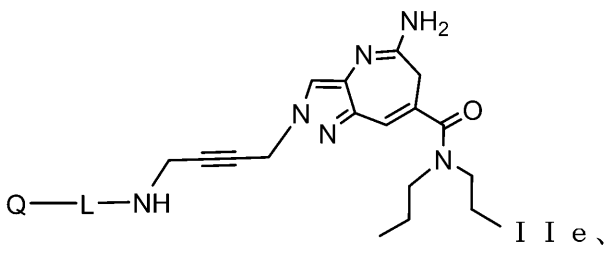
【請求項 69】

式 II e ~ II l :

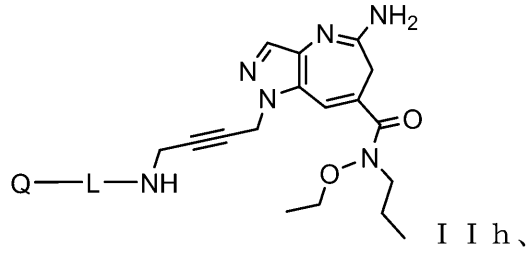
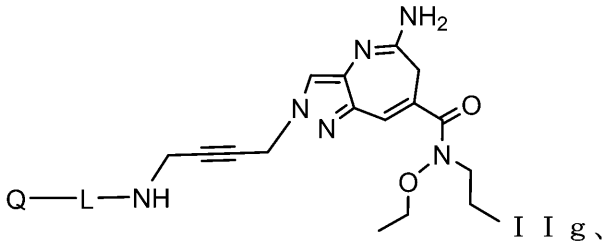
40

50

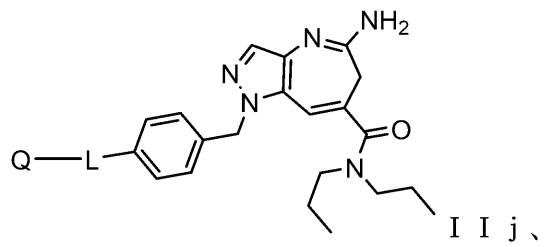
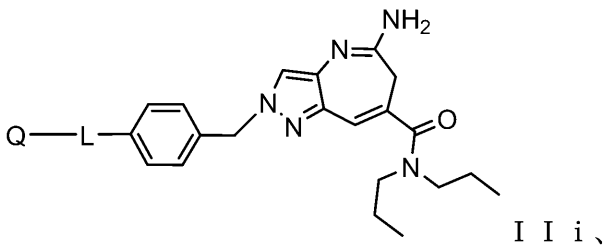
【化 2 8】



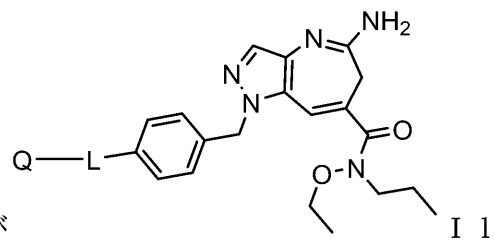
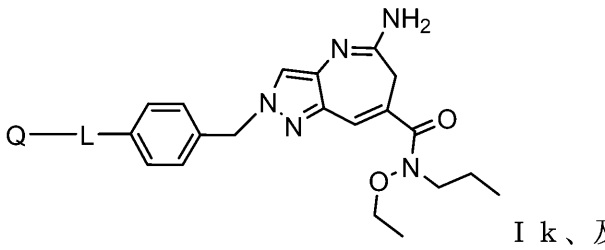
10



20



30

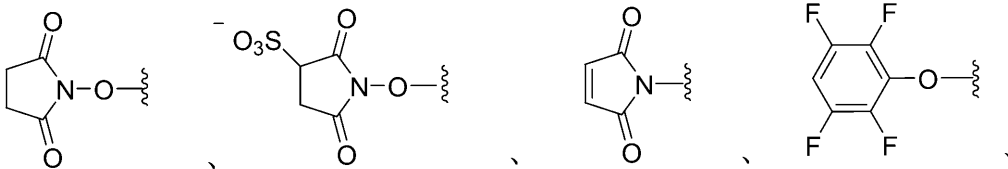


から選択される、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

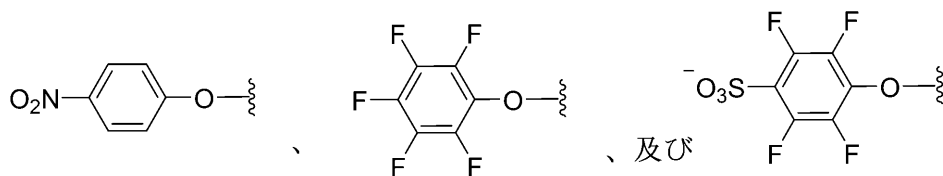
【請求項 7 0】

Q が、

【化 2 9】



40



から選択される、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 7 1】

50

Q が、1 つ以上の F でフェノキシ置換されている、請求項 70 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 72】

Q が、2, 3, 5, 6 - テトラフルオロフェノキシである、請求項 71 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 73】

Q がマレイミドである、請求項 70 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。

【請求項 74】

表 2 a 及び 2 b から選択される、請求項 40 に記載の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物。 10

【請求項 75】

請求項 40 の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物と抗体をコンジュゲートすることによって調製されるイムノコンジュゲート。

【請求項 76】

治療有効量の請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲート及び 1 つ以上の薬学的に許容される希釈剤、ビヒクル、担体または賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項 77】

治療有効量の請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲートを、それを必要とする患者に投与することを含む、がんの治療方法。 20

【請求項 78】

前記がんが、TLR7 及び/または TLR8 アゴニズムによって誘発される炎症誘発性応答に感受性である、請求項 77 に記載の方法。

【請求項 79】

前記がんが、PD-L1 発現がんである、請求項 77 に記載の方法。

【請求項 80】

前記がんが、HER2 発現がんである、請求項 77 に記載の方法。

【請求項 81】

前記がんが、CEA 発現がんである、請求項 77 に記載の方法。

【請求項 82】

前記がんが、TROP2 発現がんである、請求項 77 に記載の方法。 30

【請求項 83】

前記がんが、子宮頸癌、子宮内膜癌、卵巣癌、前立腺癌、膵臓癌、食道癌、膀胱癌、尿路癌、尿路上皮癌、肺癌、非小細胞肺癌、メルケル細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、及び乳癌から選択される、請求項 77 ~ 82 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 84】

前記乳癌が三種陰性乳癌である、請求項 83 に記載の方法。

【請求項 85】

前記メルケル細胞癌が転移性メルケル細胞癌である、請求項 83 に記載の方法。

【請求項 86】

前記胃癌が HER2 過剰発現胃癌である、請求項 83 に記載の方法。 40

【請求項 87】

前記癌が胃食道接合部腺癌である、請求項 83 に記載の方法。

【請求項 88】

がんを治療するための、請求項 1 ~ 36 のいずれか 1 項に記載のイムノコンジュゲートの使用。

【請求項 89】

請求項 40 に記載の式 I I の 5 - アミノ - ピラゾロアゼピン - リンカー化合物を、前記抗体とコンジュゲートする、請求項 1 に記載の式 I のイムノコンジュゲートの調製方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本非仮出願は、2020年8月13日出願の米国仮出願第63/065,219号の優先権の利益を主張するものであり、これらは各々、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

配列表

本出願は、ASCII形式で電子的に提出された配列表を含み、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。2021年8月5日作成の前記ASCIIコピーは、17019_009WO1_SL.txtと称され、サイズは63,469バイトである。

【0003】

本発明は一般に、1つ以上のピラゾロアゼピン分子にコンジュゲートされた抗体を含む、イムノコンジュゲートに関する。

【背景技術】

【0004】

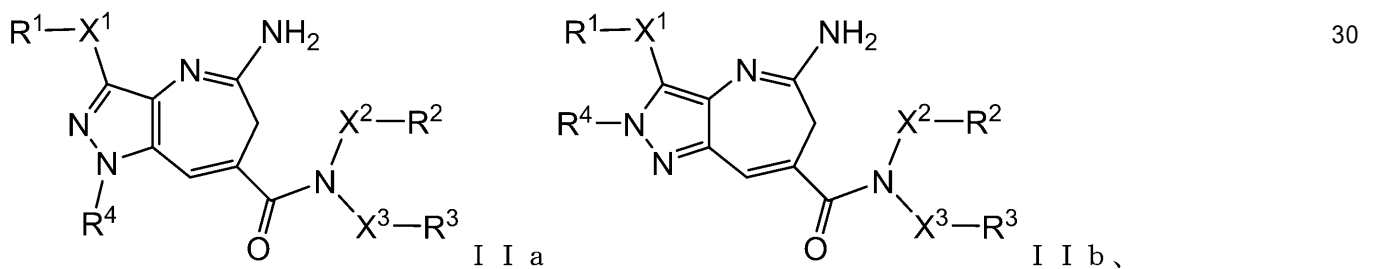
アクセスできない腫瘍に到達するため、及び/またはがん患者及び他の対象のための治療選択肢を拡大するために、抗体及び免疫アジュバントを送達するための新しい組成物及び方法が必要である。本発明は、そのような組成物及び方法を提供する。

【発明の概要】

【0005】

本開示は一般に、コンジュゲーションによって1つ以上のピラゾロアゼピン誘導体に連結した抗体を含むイムノコンジュゲートを対象とする。本発明はさらに、反応性官能基を含むピラゾロアゼピン誘導体中間体組成物に関する。そのような中間体組成物は、抗体が、リンカーLにより次式を有するピラゾロアゼピン(PAZ)部分に共有結合し得る、イムノコンジュゲートの形成に好適な基質であり、

【化1】



R¹、R²、R³及びR⁴のうち1つはLに結合する。X¹、X²、及びX³ならびにR¹、R²、R³及びR⁴置換基は本明細書中で定義されている。

【0006】

本発明は、疾病、具体的にはがんの治療における、そのようなイムノコンジュゲートの使用をさらに対象とする。

【0007】

本発明の一態様は、1つ以上のピラゾロアゼピン部分に共有結合しているリンカーに共有結合している抗体を含むイムノコンジュゲートである。

【0008】

本発明の別の態様は、式IIa及びIIbから選択される5-アミノピラゾロアゼピン-リンカー化合物であり、

10

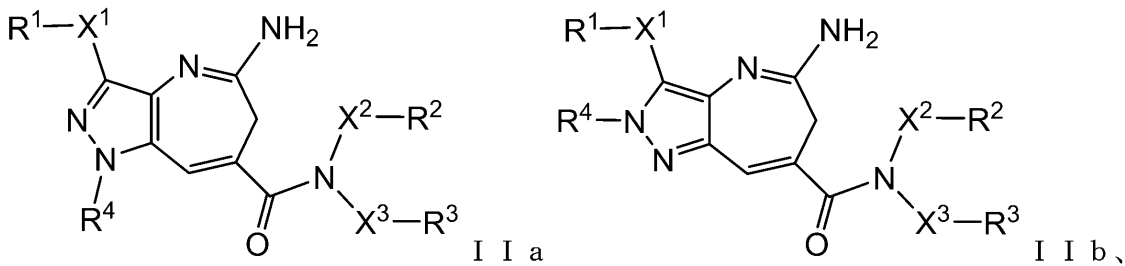
20

30

40

50

【化 2】



10

R¹、R²、R³、及びR⁴のうちの1つは、Lと結合している。

【0009】

本発明の別の態様は、1つ以上のピラゾロアゼピン部分へのコンジュゲーションによって連結された抗体を含む治療有効量のイムノコンジュゲートを投与することを含む、がんを治療するための方法である。

【0010】

本発明の別の態様は、がんを治療するための1つ以上のピラゾロアゼピン部分へのコンジュゲーションによって連結された抗体を含むイムノコンジュゲートの使用である。

【0011】

本発明の別の態様は、1つ以上のピラゾロアゼピン部分と抗体とのコンジュゲーションによってイムノコンジュゲートを調製する方法である。

20

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】ピラゾロアゼピン化合物PAZ-2、PAZ-4及びPAZ-11と、それに対する比較アジュバント化合物C-1及びC-2の24時間でのHEKヒトTLR7活性のグラフを示す。

【図2】ピラゾロアゼピン化合物PAZ-2、PAZ-4及びPAZ-11と、それに対する比較アジュバント化合物C-1及びC-2の24時間でのHEKヒトTLR8活性のグラフを示す。

30

【発明を実施するための形態】

【0013】

これより本発明のある特定の実施形態を詳細に参照するが、それらの例は、添付の構造及び式に例証されている。本発明は、列挙される実施形態と組み合わせて記載されるが、それらは、本発明をそれらの実施形態に限定することを意図するものではないことを理解されたい。逆に、本発明は、すべての代替形、修正形、及び同等物を網羅することが意図されており、それらは、特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲内に含まれ得る。

【0014】

当業者であれば、本発明の実施に使用することができる、本明細書に記載されるものに類似または同等である多くの方法及び材料を理解するであろう。本発明は、決して記載される方法及び材料に限定されるものではない。

40

【0015】

定義

「イムノコンジュゲート」という用語は、リンカーを介してアジュバント部分に共有結合している抗体コンストラクトを指す。「アジュバント」という用語は、アジュバントに曝露された対象において免疫応答を誘発することができる物質を指す。「アジュバント部分」という句は、本明細書に記載されるように、例えばリンカーを介して、抗体コンストラクトに共有結合しているアジュバントを指す。アジュバント部分は、抗体コンストラクトに結合している間、または対象へのイムノコンジュゲートの投与後の抗体コンストラク

50

トからの切断（例えば、酵素的切断）後に、免疫応答を誘発することができる。イムノコンジュゲートは、標的抗原に結合している間、活性アジュバント部分を標的化送達することができる。

【0016】

「アジュバント」は、アジュバントに曝露された対象において免疫応答を誘発することができる物質を指す。「アジュバント部分」という句は、本明細書に記載されるように、例えばリンカーを介して、抗体コンストラクトに共有結合されるアジュバントを指す。アジュバント部分は、抗体コンストラクトに結合している間、または対象へのイムノコンジュゲートの投与後の抗体コンストラクトからの切断（例えば、酵素的切断）後に、免疫応答を誘発することができる。

10

【0017】

「Toll様受容体」及び「TLR」という用語は、病原体関連分子パターンを認識し、自然免疫における重要なシグナル伝達要素として作用する、高度に保存された哺乳類タンパク質のファミリーの任意のメンバーを指す。TLRポリペプチドは、ロイシンリッチリピートを有する細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及びTLRシグナル伝達に關与する細胞内ドメインを含む特徴的な構造を共有している。

【0018】

「Toll様受容体7」及び「TLR7」という用語は、公開されているTLR7配列、例えば、ヒトTLR7ポリペプチドの場合はGenBankアクセッション番号AAZ99026、またはマウスTLR7ポリペプチドの場合はGenBankアクセッション番号AAK62676に対して、少なくとも約70%、約80%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%以上の配列同一性を共有する核酸またはポリペプチドを指す。

20

【0019】

「Toll様受容体8」及び「TLR8」という用語は、公開されているTLR7配列、例えば、ヒトTLR8ポリペプチドの場合はGenBankアクセッション番号AAZ95441、またはマウスTLR8ポリペプチドの場合はGenBankアクセッション番号AAK62677、に対して、少なくとも約70%、約80%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%以上の配列同一性を共有する核酸またはポリペプチドを指す。

30

【0020】

「TLRアゴニスト」は、TLR（例えば、TLR7及び/またはTLR8）に直接的または間接的に結合して、TLRシグナル伝達を誘導する物質である。TLRシグナル伝達の任意の検出可能な差は、アゴニストがTLRを刺激または活性化することを示し得る。シグナル伝達の差は、例えば、標的遺伝子の発現における変化、シグナル伝達成分のリン酸化における変化、核因子B（NF- κ B）などの下流要素の細胞内局在における変化、ある特定の成分（IL-1受容体関連キナーゼ（IRAK）など）と他のタンパク質もしくは細胞内構造体との会合における変化、またはキナーゼ（マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）など）などの成分の生化学的活性における変化として、明らかにすることができる。

40

【0021】

「抗体」は、免疫グロブリン遺伝子またはそのフラグメントからの抗原結合領域（相補性決定領域（CDR）を含む）を含むポリペプチドを指す。「抗体」という用語は、具体的には、所望される生物学的活性を呈する、モノクローナル抗体（完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）、及び抗体フラグメントを包含する。例示的な免疫グロブリン（抗体）構造単位は、四量体を含む。各四量体は、2つの同一のポリペプチド鎖対で構成され、各対は、ジスルフィド結合によって接続された1つの「軽」鎖（約25kDa）及び1つの「重」鎖（約50~70kDa）を有する。各鎖は、免疫グロブリンドメインと呼ばれる構造ドメインで構成されている。これらのドメインは、サイズ及び機能によって異なるカテゴリー、例えば、軽鎖

50

及び重鎖上の可変ドメインまたは領域（それぞれ、 V_L 及び V_H ）ならびに軽鎖及び重鎖上の定常ドメインまたは領域（それぞれ、 C_L 及び C_H ）、に分類されている。各鎖のN末端は、主に抗原認識に關与する、パラトープと呼ばれる、約100～110以上のアミノ酸の可変領域、すなわち、抗原結合ドメインを画定する。軽鎖は、またはのいずれかに分類される。重鎖は、 μ 、 δ 、 ϵ 、または γ として分類され、また、これらの重鎖によって、それぞれ、IgG、IgM、IgA、IgD及びIgEという免疫グロブリンクラスが定義される。IgG抗体は、4つのペプチド鎖で構成される約150kDaの大分子である。IgG抗体は、約50kDaの2つの同一のクラス重鎖と約25kDaの2つの同一の軽鎖を含み、したがって四量体の四次構造を含む。2つの重鎖は、ジスルフィド結合によって互いにかつそれぞれ軽鎖に連結している。得られた四量体は2つの半分の同一部分をも有し、これらが一緒になってY字形状を形成する。フォークの各端部は、同一の抗原結合ドメインを含有する。ヒトには4つのIgGサブクラス（IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4）があり、血清中の存在量の順に名付けられている（つまり、IgG1が最も豊富である）。典型的には、抗体の抗原結合ドメインは、がん細胞への結合の特異性及び親和性において最も重要である。

10

【0022】

特定の抗原を標的とする抗体には、特定の抗原を標的とする少なくとも1つの抗原結合領域を有する二重特異性抗体または多重特異性抗体が含まれる。いくつかの実施形態では、標的化モノクローナル抗体は、腫瘍細胞を標的とする少なくとも1つの抗原結合領域を有する二重特異性抗体である。そのような抗原として、メソテリン、前立腺特異的膜抗原（PSMA）、HER2、TROP2、CEA、EGFR、5T4、ネクチン4、CD19、CD20、CD22、CD30、CD70、B7H3、B7H4（08Eとしても知られる）、タンパク質チロシンキナーゼ7（PTK7）、グリピカン-3、RG1、フコシル-GM1、CTLA-4、及びCD44（WO2017/196598）が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0023】

「抗体コンストラクト」は、(i)抗原結合ドメイン及び(ii)Fcドメインを含む抗体または融合タンパク質を指す。

【0024】

いくつかの実施形態において、結合剤は、抗原結合抗体「フラグメント」であり、これは、抗体の少なくとも抗原結合領域を、単独で、または一緒に抗原結合コンストラクトを構成する他の成分と共に含むコンストラクトである。多くの異なるタイプの抗体「フラグメント」が当技術分野で知られており、例えば、(i) V_L 、 V_H 、 C_L 、及び C_H1 ドメインからなる一価フラグメントであるFabフラグメント、(ii)ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFabフラグメントを含む2価のフラグメントである、 $F(ab')_2$ フラグメント、(iii)抗体の単群の V_L 及び V_H ドメインで構成されたFvフラグメント、(iv)穏やかな還元条件を使用して $F(ab')_2$ フラグメントのジスルフィド架橋を切断した結果生じるFab'フラグメント、(v)ジスルフィド安定化Fvフラグメント(dsFv)、及び(vi)2つのドメインを単一のポリペプチド鎖として合成できるようにする合成リンカーによって結合されたFvフラグメントの2つのドメイン（すなわち、 V_L 及び V_H ）で構成された一価の分子である、単鎖Fv(scFv)が挙げられる。

30

40

【0025】

抗体または抗体フラグメントは、より大きなコンストラクト、例えば、付加領域への抗体フラグメントのコンジュゲートまたは融合コンストラクトの一部であり得る。例えば、いくつかの実施形態において、抗体フラグメントは、本明細書に記載されるように、Fc領域に融合され得る。他の実施形態において、抗体フラグメント（例えば、FabまたはscFv）は、例えば、膜貫通ドメイン（任意選択で介在するリンカーまたは「ストーク」（例えば、ヒンジ領域）を伴う）及び任意の細胞間シグナル伝達ドメインに融合することによって、キメラ抗原受容体またはキメラT細胞受容体の一部であり得る。例えば、抗

50

体フラグメントを、T細胞受容体のガンマ鎖及び/またはデルタ鎖に融合させて、PD-L1に結合するT細胞受容体様コンストラクトを提供することができる。さらに別の実施形態において、抗体フラグメントは、CD1またはCD3結合ドメイン及びリンカーを含む二重特異性T細胞誘導体(BiTE)の一部である。

【0026】

「エピトープ」は、抗原結合ドメインが結合する(すなわち、抗原結合ドメインのパラトープで)抗原の任意の抗原決定基またはエピトープ決定基を意味する。抗原決定基は通常、アミノ酸または糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面分類からなり、通常、特定の3次元構造特性ならびに特定の電荷特性を有する。

【0027】

「Fc受容体」または「FcR」という用語は、抗体のFc領域に結合する受容体を指す。Fc受容体には3つの主要なクラス:(1)IgGに結合するFcR、(2)IgAに結合するFcR、及び(3)IgEに結合するFcR、がある。FcRファミリーには、FcRI(CD64)、FcRIIA(CD32A)、FcRIIB(CD32B)、FcRIIIA(CD16A)、及びFcRIIIB(CD16B)などのいくつかのメンバーが含まれる。Fc受容体はIgGに対する親和性が異なり、IgGサブクラス(IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4など)に対する親和性も異なる。

【0028】

本明細書で参照される核酸またはアミノ酸配列の「同一性」は、目的の核酸またはアミノ酸配列を参照核酸またはアミノ酸配列と比較することによって決定することができる。同一性パーセントは、最適に整列された目的の配列と参照配列との間のものと同じである(すなわち、同一である)ヌクレオチドまたはアミノ酸残基の数を最長の配列の長さ(つまり、目的の配列または参照配列のいずれか長い方の長さ)で割ったものである。配列のアラインメント及び同一性パーセントの計算は、利用可能なソフトウェアプログラムを使用して実行することができる。そのようなプログラムの例としては、CLUSTAL-W、T-Coffee、及びALIGN(核酸及びアミノ酸配列のアラインメント用)、BLASTプログラム(例えば、BLAST2.1、BL2SEQ、BLASTp、BLASTnなど)及びFASTAプログラム(例えば、FASTA3x、FASTM、及びSEARCH)(配列アラインメント及び配列類似性検索用)が挙げられる。配列アラインメントアルゴリズムはまた、例えば、Altschul et al., J. Molecular Biol., 215(3):403-410(1990)、Beigert et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106(10):3770-3775(2009)、Durbin et al., eds., Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids, Cambridge University Press, Cambridge, UK(2009)、Soding, Bioinformatics, 21(7):951-960(2005)、Altschul et al., Nucleic Acids Res., 25(17):3389-3402(1997)、及びGusfield, Algorithms on Strings, Trees and Sequences, Cambridge University Press, Cambridge UK(1997))に開示されている。配列の同一性パーセント(%)は、例えば、 $100 \times [(\text{同一位置}) / \text{最小}(TGA, TGB)]$ として計算することもでき、TGA及びTGBは、TGA及びTGBを最小化するアラインメントのペプチド配列A及びBの残基数と内部ギャップ位置数の合計である。例えば、Russell et al., J. Mol Biol., 244:332-350(1994)を参照のこと。

【0029】

結合剤は、一緒に抗原結合部位を形成するIg重鎖及び軽鎖可変領域ポリペプチドを含む。重鎖及び軽鎖可変領域のそれぞれは、フレームワーク領域によって接続された3つの

10

20

30

40

50

相補性決定領域（CDR1、CDR2、及びCDR3）を含むポリペプチドである。結合剤は、Ig重鎖及び軽鎖を含む、当技術分野で知られているさまざまなタイプの結合剤のいずれかであり得る。例えば、結合剤は、抗体、抗原結合抗体「フラグメント」、またはT細胞受容体であり得る。

【0030】

「バイオシミラー」は、例えば、アテゾリズマブ（TECENTRIQ（商標）、Genentech, Inc.）、デュルバルマブ（IMFINZI（商標）、AstraZeneca）、及びアベルマブ（BAVENCIO（商標）、EMD Serono、Pfizer）などの以前に承認されたPD-L1標的化抗体コンストラクト；トラスツズマブ（HERCEPTIN（商標）、Genentech, Inc.）、及びペルツズマブ（PERJETA（商標）、Genentech, Inc.）などの以前に承認されたHER2標的化抗体コンストラクト、またはラベツズマブ（CEA-CIDE（商標）、MN-14、hMN14、Immunomedics）CAS登録番号219649-07-7）などのCEA標的化抗体と同様の活性特性を有する承認された抗体コンストラクトを指す。

10

【0031】

「バイオベター」は、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、トラスツズマブ、ペルツズマブ、及びラベツズマブなどの以前に承認された抗体コンストラクトの改良である承認された抗体コンストラクトを指す。バイオベターは、以前に承認された抗体コンストラクトに対して、1つ以上の修飾（例えば、変更されたグリカンプロファイル、または固有のエピトープ）を有することができる。

20

【0032】

「アミノ酸」は、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質に組み込むことができる任意のモノマー単位を指す。アミノ酸には、天然に存在する α -アミノ酸及びその立体異性体、ならびに非天然型（天然に存在しない）アミノ酸及びその立体異性体が含まれる。所与のアミノ酸の「立体異性体」は、同じ分子式及び分子内結合を有するが、結合及び原子の三次元配列が異なる異性体を指す（例えば、L-アミノ酸及び対応するD-アミノ酸）。アミノ酸は、グリコシル化（例えば、N-結合型グリカン、O-結合型グリカン、ホスホグリカン、C-結合型グリカン、もしくはグリピエーション（glypication））または脱グリコシル化することができる。アミノ酸は、本明細書では、広く知られている3文字の記号、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionによって推奨されている1文字の記号のいずれかによって表されていることがある。

30

【0033】

天然に存在するアミノ酸は、遺伝コードによってコードされるもの、ならびにそれらのアミノ酸が後で修飾されたもの、例えば、ヒドロキシプロリン、 γ -カルボキシグルタメート及びO-ホスホセリンである。天然に存在する α -アミノ酸には、アラニン（Ala）、システイン（Cys）、アスパラギン酸（Asp）、グルタミン酸（Glu）、フェニルアラニン（Phe）、グリシン（Gly）、ヒスチジン（His）、イソロイシン（Ile）、アルギニン（Arg）、リジン（Lys）、ロイシン（Leu）、メチオニン（Met）、アスパラギン（Asn）、プロリン（Pro）、グルタミン（Gln）、セリン（Ser）、スレオニン（Thr）、バリン（Val）、トリプトファン（Trp）、チロシン（Tyr）、及びそれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。天然に存在する α -アミノ酸の立体異性体としては、D-アラニン（D-Ala）、D-システイン（D-Cys）、D-アスパラギン酸（D-Asp）、D-グルタミン酸（D-Glu）、D-フェニルアラニン（D-Phe）、D-ヒスチジン（D-His）、D-イソロイシン（D-Ile）、D-アルギニン（D-Arg）、D-リジン（D-Lys）、D-ロイシン（D-Leu）、D-メチオニン（D-Met）、D-アスパラギン（D-Asn）、D-プロリン（D-Pro）、D-グルタミン（D-Gln）、D-セリン（D-Ser）、D-スレオニン（D-Thr）、D-バリン（D-Val）、D-

40

50

トリプトファン (D - T r p)、D - チロシン (D - T y r)、及びそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 3 4 】

天然に存在するアミノ酸には、シトルリン (C i t) などの翻訳後修飾によってタンパク質に形成されるアミノ酸が含まれる。

【 0 0 3 5 】

非天然型 (天然に存在しない) アミノ酸としては、天然に存在するアミノ酸と類似して機能する、アミノ酸アナログ、アミノ酸模倣物、合成アミノ酸、N - 置換グリシン、及び L - または D - 配置のいずれかの N - メチルアミノ酸が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、「アミノ酸アナログ」は、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造 (すなわち、水素に結合している炭素、カルボキシル基、アミノ基) を有するが、修飾された側鎖基または修飾されたペプチド骨格を有する非天然型アミノ酸、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、及びメチオニンメチルスルホニウムであり得る。「アミノ酸模倣体」とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様の形で機能する化学化合物を指す。

10

【 0 0 3 6 】

「リンカー」は、化合物または材料の 2 つ以上の部分を共有結合する官能基を指す。例えば、連結部分は、アジュバント部分をイムノコンジュゲート中の抗体コンストラクトに共有結合するように機能することができる。

【 0 0 3 7 】

「連結部分」は、化合物または材料の 2 つ以上の部分を共有結合する官能基を指す。例えば、連結部分は、アジュバント部分をイムノコンジュゲート中の抗体に共有結合するように機能することができる。連結部分をタンパク質及び他の材料に接続するための有用な結合には、アミド、アミン、エステル、カルバメート、尿素、チオエーテル、チオカルバメート、チオカーボネート、及びチオ尿素が含まれるが、これらに限定されない。

20

【 0 0 3 8 】

「二価」は、2 つの官能基を連結するための 2 つの結合点を含有する化学部分を指し、多価結合部分は、さらなる官能基を連結するための追加の結合点を有することができる。二価ラジカルは、接尾辞「ジイル」で示すことができる。例えば、二価連結部分には、二価ポリ (エチレングリコール)、二価シクロアルキル、二価ヘテロシクロアルキル、二価アリール、及び二価ヘテロアリール基などの二価ポリマー部分が含まれる。「二価シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、またはヘテロアリール基」は、分子または材料中の 2 つの部分に共有結合させるための 2 つの結合点を有するシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、またはヘテロアリール基を指す。シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、またはヘテロアリール基は、置換もしくは非置換であり得る。シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、またはヘテロアリール基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される 1 つ以上の基で置換することができる。

30

【 0 0 3 9 】

波線

40

【 化 3 】

(~~~~)

は、指定された化学部分の結合点を表す。指定された化学部分に、2 本の波線

50

【化 4】

(~~~~)

が存在する場合、その化学部分を両側で、つまり左から右または右から左に読み取るように使用することができることが理解される。いくつかの実施形態において、2本の波線

【化 5】

10

(~~~~)

が存在する指定された部分は、左から右へと読み取るように使用されると考えられる。

【0040】

「アルキル」は、示された炭素原子の数を有する、直鎖（線状）または分岐鎖の飽和脂肪族ラジカルを指す。アルキルには、任意の数、例えば1~12個の炭素を含めることができる。アルキル基の例として、メチル（Me、 $-CH_3$ ）、エチル（Et、 $-CH_2CH_3$ ）、1-プロピル（n-Pr、n-プロピル、 $-CH_2CH_2CH_3$ ）、2-プロピル（i-Pr、i-プロピル、 $-CH(CH_3)_2$ ）、1-ブチル（n-Bu、n-ブチル、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ ）、2-メチル-1-プロピル（i-Bu、i-ブチル、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ ）、2-ブチル（s-Bu、s-ブチル、 $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ ）、2-メチル-2-プロピル（t-Bu、t-ブチル、 $-C(CH_3)_3$ ）、1-ペンチル（n-ペンチル、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ ）、2-ペンチル（ $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$ ）、3-ペンチル（ $-CH(CH_2CH_3)_2$ ）、2-メチル-2-ブチル（ $-C(CH_3)_2CH_2CH_3$ ）、3-メチル-2-ブチル（ $-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$ ）、3-メチル-1-ブチル（ $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$ ）、2-メチル-1-ブチル（ $-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$ ）、1-ヘキシル（ $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ ）、2-ヘキシル（ $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$ ）、3-ヘキシル（ $-CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$ ）、2-メチル-2-ペンチル（ $-C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$ ）、3-メチル-2-ペンチル（ $-CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$ ）、4-メチル-2-ペンチル（ $-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$ ）、3-メチル-3-ペンチル（ $-C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$ ）、2-メチル-3-ペンチル（ $-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$ ）、2,3-ジメチル-2-ブチル（ $-C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$ ）、3,3-ジメチル-2-ブチル（ $-CH(CH_3)C(CH_3)_3$ ）、1-ヘブチル、1-オクチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。アルキル基は、置換または非置換であり得る。「置換アルキル」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキシ（=O）、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換することができる。

20

30

40

【0041】

「アルキルジイル」という用語は、二価のアルキルラジカルを指す。アルキルジイル基の例として、メチレン（ $-CH_2-$ ）、エチレン（ $-CH_2CH_2-$ ）、プロピレン（ $-CH_2CH_2CH_2-$ ）などが挙げられるが、これらに限定されない。アルキルジイル基は、「アルキレン」基と呼ばれる場合もある。

【0042】

「アルケニル」は、示された炭素原子の数と少なくとも1つの炭素-炭素二重結合 s p

50

2を有する、直鎖（線状）または分岐鎖の不飽和脂肪族ラジカルを指す。アルケニルは、2～約12個またはそれ以上の炭素原子を含み得る。アルケニル基は、「シス」及び「トランス」配向、または「E」及び「Z」配向を有するラジカルである。例として、エチレニルまたはビニル（ $-CH=CH_2$ ）、アリル（ $-CH_2CH=CH_2$ ）、ブテニル、ペンテニル、及びそれらの異性体が挙げられるが、これらに限定されない。アルケニル基は、置換または非置換であり得る。「置換アルケニル」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキソ（ $=O$ ）、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換され得る。

【0043】

「アルケニレン」または「アルケニルジイル」という用語は、直鎖または分岐鎖の二価炭化水素ラジカルを指す。例として、エチレニレンまたはビニレン（ $-CH=CH-$ ）、アリル（ $-CH_2CH=CH-$ ）などが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0044】

「アルキニル」は、示された炭素原子の数及び少なくとも1つの炭素-炭素三重結合spを有する、直鎖（線状）または分岐鎖の不飽和脂肪族ラジカルを指す。アルキニルは、2個～約12個またはそれ以上の炭素原子を含み得る。例えば、 C_2-C_6 アルキニルには、エチニル（ $-C\equiv CH$ ）、プロピニル（プロパルギル、 $-CH_2C\equiv CH$ ）、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル、及びそれらの異性体が含まれるが、これらに限定されない。アルキニル基は、置換または非置換であり得る。「置換アルキニル」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキソ（ $=O$ ）、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換され得る。

20

【0045】

「アルキニレン」または「アルキニルジイル」という用語は、二価のアルキニルラジカルを指す。

【0046】

「炭素環」、「カルボシクリル」、「環状炭素」及び「シクロアルキル」は、3～12個の環原子、または示された数の原子を含有する、飽和もしくは部分的な不飽和、単環式、縮合二環式、または架橋多環式環集合体を指す。飽和単環式炭素環式環には、例えば、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、及びシクロオクチルが含まれる。飽和二環式及び多環式炭素環式環には、例えば、ノルボルナン、[2.2.2]ピシクロオクタン、デカヒドロナフタレン及びアダマンタンが含まれる。炭素環式基は部分的に不飽和であり、環中に1つ以上の二重結合または三重結合を有することもできる。部分的に不飽和である代表的な炭素環式基として、シクロブテン、シクロペンテン、シクロヘキセン、シクロヘキサジエン（1,3-及び1,4-異性体）、シクロヘプテン、シクロヘプタジエン、シクロオクテン、シクロオクタジエン（1,3-、1,4-及び1,5-異性体）、ノルボルネン、及びノルボルナジエンが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0047】

「シクロアルキルジイル」という用語は、二価のシクロアルキルラジカルを指す。

【0048】

「アリール」は、親芳香環系の単一の炭素原子から1つの水素原子を除去することによって誘導される6～20個の炭素原子（ C_6-C_{20} ）の一価芳香族炭化水素ラジカルを指す。アリール基は、単環式であるか、縮合して二環式もしくは三環式基を形成するか、または結合によって連結してピアリール基を形成することができる。代表的なアリール基には、フェニル、ナフチル、及びピフェニルが含まれる。他のアリール基には、メチレン結合基を有するベンジルが含まれる。一部のアリール基、例としてフェニル、ナフタレン、またはピフェニルは、6～12個の環員を有する。他のアリール基、例としてフェニルやナフチルは、6～10個の環員を有する。

40

【0049】

「アリーレン」または「アリールジイル」という用語は、親芳香環系の2つの炭素原子

50

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6～20個の炭素原子(C₆-C₂₀)の二価芳香族炭化水素ラジカルを意味する。いくつかのアリールジイル基は、例示的な構造では「Ar」として表される。アリールジイルは、飽和環、部分的不飽和環、または芳香族の環状炭素に縮合した芳香族環を含む二環式ラジカルを含む。一般的なアリールジイル基として、ベンゼン(フェニルジイル)、置換ベンゼン、ナフタレン、アントラセン、ピフェニレン、インデニレン、インダニレン、1,2-ジヒドロナフタレン、1,2,3,4-テトラヒドロナフチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。アリールジイル基は「アリーレン」とも呼ばれ、任意選択で、本明細書に記載の1つ以上の置換基で置換される。

【0050】

「複素環」、「ヘテロシクリル」及び「ヘテロ環」という用語は、本明細書中では同じ意味で使用され、飽和または部分的不飽和(すなわち、環内に1つ以上の二重及び/または三重結合を有する)の3～約20個の環原子の炭素環ラジカルを指し、その場合、少なくとも1つの環原子が、窒素、酸素、リン及び硫黄から選択されるヘテロ原子であり、残りの環原子がCであり、1つ以上の環原子が、任意選択で、独立して、以下に記載する1つ以上の置換基で置換される。複素環は、3～7個の環員(2～6個の炭素原子ならびにN、O、P、及びSから選択される1～4個のヘテロ原子)を有する単環、または7～10個の環員(4～9個の炭素原子ならびにN、O、P、及びSから選択される1～6個のヘテロ原子)を有する二環、例えば:ピシクロ[4,5]、[5,5]、[5,6]、または[6,6]系であってもよい。複素環は、Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W. A. Benjamin, New York, 1968)、特に第1、3、4、6、7、及び9章; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 to present)、特に第13、14、16、19、及び28巻、ならびにJ. Am. Chem. Soc. (1960) 82: 5566に記載されている。「ヘテロシクリル」には、複素環ラジカルが飽和環、部分的不飽和環、または芳香族の炭素環もしくはヘテロ環と融合しているラジカルも含まれる。ヘテロ環の例として、モルホリン-4-イル、ピペリジン-1-イル、ピペラジニル、ピペラジン-4-イル-2-オン、ピペラジン-4-イル-3-オン、ピロリジン-1-イル、チオモルホリン-4-イル、S-ジオキソチオモルホリン-4-イル、アゾカン-1-イル、アゼチジン-1-イル、オクタヒドロピリド[1,2-a]ピラジン-2-イル、[1,4]ジアゼパン-1-イル、ピロリジニル、テトラヒドロフラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、テトラヒドロピラニル、ジヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、ピペリジノ、モルホリノ、チオモルホリノ、チオキサニル、ピペラジニル、ホモピペラジニル、アゼチジニル、オキセタニル、チエタニル、ホモピペリジニル、オキセパニル、チエパニル、オキサゼピニル、ジアゼピニル、チアゼピニル、2-ピロリニル、3-ピロリニル、インドリニル、2H-ピラニル、4H-ピラニル、ジオキサニル、1,3-ジオキソラニル、ピラゾリニル、ジチアニル、ジチオラニル、ジヒドロピラニル、ジヒドロチエニル、ジヒドロフラニル、ピラゾリジニルイミダゾリニル、イミダゾリジニル、3-アザピシクロ[3.1.0]ヘキサニル、3-アザピシクロ[4.1.0]ヘプタニル、アザピシクロ[2.2.2]ヘキサニル、3H-インドリルキノリジニル及びN-ピリジル尿素が挙げられるが、これらに限定されない。スピロヘテロシクリル部分もまた、この定義の範囲に含まれる。スピロヘテロシクリル部分の例として、アザスピロ[2.5]オクタニル及びアザスピロ[2.4]ヘプタニルが挙げられる。2つの環原子がオキソ(=O)部分で置換されている複素環基の例は、ピリミジノニル及び1,1-ジオキソ-チオモルホリニルである。本明細書の複素環基は、任意選択で、独立して、本明細書に記載の1つ以上の置換基で置換される。

【0051】

「ヘテロシクリルジイル」という用語は、3～約20個の環原子の二価、飽和または部

10

20

30

40

50

分的不飽和（すなわち、環内に1つ以上の二重結合及び/または三重結合を有する）炭素環ラジカルを指し、その場合、少なくとも1つの環原子が、窒素、酸素、リン及び硫黄から選択されるヘテロ原子であり、残りの環原子がCであり、1つ以上の環原子は、記載するように、任意選択で、独立して1つ以上の置換基で置換される。5員及び6員のヘテロシクリルジルの例として、モルホリニルジイル、ペリリジニルジイル、ペラジニルジイル、ピロリジニルジイル、ジオキサニルジイル、チオモルホリニルジイル、及びS-ジオキソチオモルホリニルジイルが挙げられる。

【0052】

「ヘテロアリール」という用語は、5、6、または7員環の一価芳香族ラジカルを指し、独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1つ以上のヘテロ原子を含む5～20原子の縮合環系（それらの少なくとも1つは芳香族である）を含む。ヘテロアリール基の例は、ピリジニル（例えば、2-ヒドロキシピリジニルを含む）、イミダゾリル、イミダゾピリジニル、ピリミジニル（例えば、4-ヒドロキシピリミジニルを含む）、ピラゾリル、トリアゾリル、ピラジニル、テトラゾリル、フリル、チエニル、イソキサゾリル、チアゾリル、オキサジアゾリル、オキサゾリル、イソチアゾリル、ピロリル、キノリニル、イソキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、インドリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾフラニル、シンノリニル、インダゾリル、インドリジニル、フタラジニル、ピリダジニル、トリアジニル、イソインドリル、プテリジニル、プリニル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、チアジニル、フラザニル、ベンゾフラザニル、ベンゾチオフエニル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、キナゾリニル、キノキサリニル、ナフチリジニル、及びフロピリジニルである。ヘテロアリール基は、任意選択で、独立して、本明細書に記載の1つ以上の置換基で置換される。

10

20

【0053】

「ヘテロアリールジイル」という用語は、5、6、または7員環の二価芳香族ラジカルを指し、独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1つ以上のヘテロ原子を含む5～20原子の縮合環系（それらの少なくとも1つは芳香族である）を含む。5員及び6員のヘテロアリールジイルの例として、ピリジルジイル、イミダゾリルジイル、ピリミジニルジイル、ピラゾリルジイル、トリアゾリルジイル、ピラジニルジイル、テトラゾリルジイル、フリルジイル、チエニルジイル、イソキサゾリルジイルジイル、チアゾリルジイル、オキサジアゾリルジイル、オキサゾリルジイル、イソチアゾリルジイル、及びピロリルジイルが挙げられる。

30

【0054】

複素環またはヘテロアリール基は、可能であれば、炭素（炭素結合）または窒素（窒素結合）で結合され得る。例として、限定されないが、炭素で結合された複素環またはヘテロアリールは、ピリジンの2、3、4、5、または6位、ピリダジンの3、4、5、または6位、ピリミジンの2、4、5、または6位、ピラジンの2、3、5、または6位、フラン、テトラヒドロフラン、チオフラン、チオフエン、ピロールまたはテトラヒドロピロールの2、3、4、または5位、オキサゾール、イミダゾールまたはチアゾールの2、4、または5位、イソキサゾール、ピラゾール、またはイソチアゾールの3、4、または5位、アジリジンの2または3位、アゼチジンの2、3、または4位、キノリンの2、3、4、5、6、7、または8位、あるいはイソキノリンの1、3、4、5、6、7、または8位で結合する。

40

【0055】

例として、限定されないが、窒素で結合された複素環またはヘテロアリールは、アジリジン、アゼチジン、ピロール、ピロリジン、2-ピロリン、3-ピロリン、イミダゾール、イミダゾリジン、2-イミダゾリン、3-イミダゾリン、ピラゾール、ピラゾリン、2-ピラゾリン、3-ピラゾリン、ペリリジン、ペラジン、インドール、インドリン、1H-インダゾールの1位、イソインドール、またはイソインドリンの2位、モルホリンの4位、及びカルバゾール、または -カルボリンの9位で結合する。

【0056】

50

「ハロ」及び「ハロゲン」という用語は、それ自体で、または別の置換基の一部として、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素原子を指す。

【0057】

「カルボニル」という用語は、それ自体で、または別の置換基の一部として、C(=O) または -C(=O)- を指し、すなわち、炭素原子は酸素に二重結合し、カルボニルを有する部分の他の2つの基に結合する。

【0058】

本明細書で使用される場合、「第四級アンモニウム塩」という句は、アルキル置換基（例えば、メチル、エチル、プロピル、またはブチルなどのC₁-C₄アルキル）で四級化された第三級アミンを指す。

【0059】

「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、軽減、寛解、症状の軽減、または症状、傷害、病状、もしくは状態を患者にとってより耐えられるものにする、症状の進行速度の低下、症状もしくは状態の頻度または期間を低減すること、あるいは、状況によっては、症状の発症を予防することなどの、任意の客観的または主観的パラメータを含む、傷害、病状、状態（例えば、がん）、または症状（例えば、認知障害）の治療または改善における成功の兆候を指す。症状の治療または改善は、例えば、身体検査の結果を含む、任意の客観的または主観的パラメータに基づることができる。

【0060】

「がん」、「新生物」、及び「腫瘍」という用語は、本明細書では、細胞が細胞増殖に勝る制御の有意な喪失を特徴とする異常な成長表現型を示すような、自律的な、未制御の成長を示す細胞を指すために使用される。本発明の文脈における検出、分析、及び/または治療の対象となる細胞としては、がん細胞（例えば、がんを有する個体からのがん細胞）、悪性がん細胞、前転移性がん細胞、転移性がん細胞、及び非転移がん細胞が挙げられる。実質的にすべての組織のがんは、既知である。「がん負荷量」という句は、対象中のがん細胞量またはがん体積を指す。したがって、がん負荷量を減少させることは、対象中のがん細胞数またはがん細胞体積を減少させることを指す。本明細書で使用される「がん細胞」という用語は、がん細胞である（例えば、個体を治療することができる任意のがんに由来するもの、例えば、がんを有する個体から単離されたもの）か、またはがん細胞に由来するもの、例えば、がん細胞のクローンである、任意の細胞を指す。例えば、がん細胞は、確立されたがん細胞株に由来することができ、がんを有する個体から単離された初代細胞であり得、がんを有する個体から単離された初代細胞からの子孫細胞等であり得る。いくつかの実施形態において、この用語はまた、細胞内部分、細胞膜部分、またはがん細胞の細胞溶解物などのがん細胞の一部を指すことができる。多くのタイプのがんは、当業者に知られており、細胞腫、肉腫、膠芽腫、メラノーマ、リンパ腫、及び骨髄腫などの固形腫瘍、ならびに白血病などの循環癌を含む。

【0061】

本明細書で使用される場合、「がん」という用語は、固形腫瘍癌（例えば、皮膚、肺、前立腺、乳房、胃、膀胱、結腸、卵巣、膵臓、腎臓、肝臓、神経膠芽腫、髄芽腫、平滑筋肉腫、頭頸部扁平上皮癌、黒色腫、及び神経内分泌）及び液体のがん（例、血液癌）、癌腫、軟部組織腫瘍、肉腫、奇形腫、黒色腫、白血病、リンパ腫、及び脳癌、例えば、微小残存病変、例として、原発性腫瘍及び転移性腫瘍の両方を含むがこれらに限定されない、任意の形態のがんを含む。

【0062】

「PD-L1発現」は、細胞の表面上にPD-L1受容体を有する細胞を指す。本明細書で使用される場合、「PD-L1過剰発現」は、対応する非がん細胞と比較してより多くのPD-L1受容体を有する細胞を指す。

【0063】

「HER2」は、タンパク質ヒト上皮成長因子受容体2を指す。

【0064】

10

20

30

40

50

「HER2発現」は、細胞の表面上にHER2受容体を有する細胞を指す。例えば、細胞は、細胞の表面上に約20,000～約50,000のHER2受容体を有し得る。本明細書で使用される場合、「HER2過剰発現」は、約50,000を超えるHER2受容体を有する細胞を指す。例えば、細胞は、対応する非がん細胞と比較して、HER2受容体の数が2、5、10、100、1,000、10,000、100,000、または10,000,000倍である（例えば、約100万または200万のHER2受容体）。HER2は乳癌の約25%～約30%で過剰発現していると推定されている。

【0065】

がんの「病理」には、患者の健康状態を損なうすべての現象が含まれる。これには、異常または制御不能な細胞成長、転移、隣接細胞の正常な機能への干渉、異常なレベルでのサイトカインまたは他の分泌産物の放出、炎症性または免疫応答の抑制または悪化、新生物、前悪性腫瘍、悪性腫瘍、及びリンパ節などの周囲または遠隔の組織または臓器への浸潤が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0066】

本明細書で使用される場合、「がん再発」及び「腫瘍再発」という句、ならびにそれらの文法的変形は、がんの診断後の腫瘍性またはがん性細胞のさらなる成長を指す。特に、がん性組織においてさらなるがん性細胞成長が起こると、再発が起こり得る。同様に、「腫瘍の広がり」は、腫瘍の細胞が局所または遠隔の組織や臓器に広がる時に発生し、したがって、腫瘍の広がりには腫瘍の転移を包含する。「腫瘍浸潤」は、腫瘍成長が局所的に広がり、正常な臓器機能の圧迫、破壊、または抑制によって関与する組織の機能を損なうときに発生する。

20

【0067】

本明細書で使用される場合、「転移」という用語は、元のがん性腫瘍の器官に直接接続されていない、器官または身体部分におけるがん性腫瘍の成長を指す。転移は、元のがん性腫瘍の器官に直接接続されていない器官または身体部分における検出不可能な量のがん性細胞の存在である微小転移を含むと理解されるであろう。転移はまた、元の腫瘍部位からのがん細胞の離脱、及び体の他の部分へのがん細胞の移動及び/または浸潤などのプロセスのいくつかのステップとして定義することができる。

【0068】

「有効量」及び「治療有効量」という句は、それが投与される治療効果を生み出すイムノコンジュゲートなどの物質の用量または量を指す。正確な用量は、治療の目的に依存し、また既知の技術を使用して当業者によって確認可能であろう（例えば、Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 1992); Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999); Pickar, Dosage Calculations (1999); Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th Edition (McGraw-Hill, 2006); 及び Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Edition, (Pharmaceutical Press, London, 2012)を参照のこと)。がんの場合、治療有効量のイムノコンジュゲートは、がん細胞の数を低下、腫瘍サイズを低下、末梢器官へのがん細胞浸潤を阻害（すなわち、ある程度の減速及び好ましくは停止）、腫瘍転移を阻害（すなわち、ある程度の減速及び好ましくは停止）、腫瘍成長をある程度阻害、及び/またはがんに関連する症状のうちの一つ以上をある程度軽減し得る。イムノコンジュゲートが、既存のがん細胞の成長を予防及び/またはそれらを殺滅し得る程度に、このイムノコンジュゲートは、細胞増殖抑制性及び/または細胞毒性であり得る。がん療法に関して、有効性は、例えば、疾患進行までの時間(TTP)の評価及び/または奏効率(RR)の決定によって、測定することができる。

30

40

【0069】

50

「レシピエント」、「個体」、「対象」、「宿主」、及び「患者」は互換的に使用され、診断、治療、または療法が望まれる任意の哺乳動物対象（例えば、ヒト）を指す。治療目的のための「哺乳動物」は、ヒト、飼育動物及び家畜、ならびに動物園、競技用、または愛玩動物、例えば、イヌ、ウマ、ネコ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ラクダ等を含む哺乳動物に分類される任意の動物を指す。ある特定の実施形態において、哺乳動物はヒトである。

【0070】

本発明の文脈における「相乗的アジュバント」または「相乗的組み合わせ」という句は、受容体アゴニスト、サイトカイン、及びアジュバントポリペプチドなどの2つの免疫モジュレーターの組み合わせを含み、これらは、いずれかの単独投与と比較して、組み合わせ 10
て、免疫に対する相乗効果を誘発する。特に、本明細書に開示されるイムノコンジュゲートは、特許請求されたアジュバント及び抗体コンストラクトの相乗的組み合わせを含む。投与時のこれらの相乗的組み合わせは、例えば、抗体コンストラクトまたはアジュバントが他の部分の非存在下で投与される場合と比較して、免疫に対してより大きな効果を誘発する。さらに、抗体コンストラクトまたはアジュバントのいずれかが単独で投与される場合と比較して、（抗体コンストラクトの総数またはイムノコンジュゲートの一部として投与されるアジュバントの総数によって測定される）イムノコンジュゲートの量を減らして投与することができる。

【0071】

本明細書で使用される場合、「投与する」という用語は、非経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、腫瘍内、病巣内、鼻腔内、または皮下投与、経口投与、坐剤としての投与、局所接触、髄腔内投与、または例えば、小型浸透圧ポンプなどの緩徐放出デバイスの対象への移植を指す。 20

【0072】

本明細書で数値を修正するために使用される「約」及び「およそ」という用語は、数値を取り巻く接近範囲を示す。したがって、「X」が値である場合、「約X」または「およそX」は、 $0.9X \sim 1.1X$ の値、例えば $0.95X \sim 1.05X$ または $0.99X \sim 1.01X$ の値を示す。「約X」または「およそX」への言及は、少なくとも値X、0.95X、0.96X、0.97X、0.98X、0.99X、1.01X、1.02X、1.03X、1.04X、及び1.05Xを具体的に示す。したがって、「約X」及び「 30
およそX」は、例えば「0.98X」のクレーム限定についての書面による説明の支持を教示及び提供することを意図している。

【0073】

抗体の標的

いくつかの実施形態では、イムノコンジュゲートの抗体は、5T4、ABL、ABCF 1、ACVR1、ACVR1B、ACVR2、ACVR2B、ACVRL1、ADORA 2A、アグリカン、AGR2、AICDA、AIF1、AIGI、AKAP1、AKAP 2、AMH、AMHR2、ANGPT1、ANGPT2、ANGPTL3、ANGPTL 4、ANPEP、APC、APOC1、AR、アロマターゼ、ATX、AX1、AZGP 1（ジンク-a-糖タンパク質）、B7.1、B7.2、B7-H1、BAD、BAFF 40
、BAG1、BAI1、BCR、BCL2、BCL6、BDNF、BLNK、BLR1（MDR15）、BIYS、BMP1、BMP2、BMP3B（GDFIO）、BMP4、BMP6、BMP8、BMPRTA、BMPR1B、BMPR2、BPAG1（プレクシン）、BRCA1、C19orf10（IL27w）、C3、C4A、C5、C5R1、CANT1、CAPRIN-1、CASP1、CASP4、CAV1、CCBP2（D6/JAB61）、CCLI（1-309）、CCLI1（エオタキシン）、CCL13（MCP-4）、CCL15（MIP-Id）、CCL16（HCC-4）、CCL17（TARC）、CCL18（PARC）、CCL19（MIP-3b）、CCL2（MCP-1）、MCAF、CCL20（MIP-3a）、CCL21（MEP-2）、SLC、exodus-2、CCL22（MDC/STC-1）、CCL23（MPIF-I）、 50

CCL24 (MPIF - 2 / エオタキシン - 2)、CCL25 (TECK)、CCL26
 (エオタキシン - 3)、CCL27 (CTACK / ILC)、CCL28、CCL3 (M
 IP - Ia)、CCL4 (MIPIb)、CCL5 (RANTES)、CCL7 (MCP
 - 3)、CCL8 (mcp - 2)、CCNA1、CCNA2、CCND1、CCNE1、
 CCNE2、CCR1 (CKR1 / HM145)、CCR2 (mcp - IRB / RA)、
 CCR3 (CKR3 / CMKBR3)、CCR4、CCR5 (CMKBR5 / ChemR
 13)、CCR6 (CMKBR6 / CKR - L3 / STRL22 / DRY6)、CCR7
 (CKR7 / EBI1)、CCR8 (CMKBR8 / TERI / CKR - L1)、CCR
 9 (GPR - 9 - 6)、CCRL1 (VSHK1)、CCRL2 (L - CCR)、CD1
 64、CD19、CDIC、CD2、CD20、CD21、CD200、CD - 22、C 10
 D24、CD27、CD28、CD3、CD33、CD35、CD37、CD38、CD
 3E、CD3G、CD3Z、CD4、CD38、CD40、CD40L、CD44、CD
 45RB、CD47、CD52、CD69、CD72、CD74、CD79A、CD79
 B、CD8、CD80、CD81、CD83、CD86、CD137、CD152、CD
 274、CDH1 (Eカドヘリン)、CDH10、CDH12、CDH13、CDH18
 、CDH19、CDH20、CDH5、CDH7、CDH8、CDH9、CDK2、CD
 K3、CDK4、CDK5、CDK6、CDK7、CDK9、CDKN1A (p21Wa
 p1 / Cip1)、CDKN1B (p27Kip1)、CDKN1C、CDKN2A (p
 16INK4a)、CDKN2B、CDKN2C、CDKN3、CEBPB、CERI、 20
 CHGA、CHGB、キチナーゼ、CHST10、CKLFSF2、CKLFSF3、C
 KLFSF4、CKLFSF5、CKLFSF6、CKLFSF7、CKLFSF8、C
 LDN3、CLDN7 (クローディン - 7)、CLDN18.2 (クローディン18.2
)、CLN3、CLU (クラステリン)、CMKLR1、CMKOR1 (RDC1)、C
 NR1、COL18A1、COLIA1、COL4A3、COL6A1、CR2、Cri
 pto、CRP、CSF1 (M - CSF)、CSF2 (GM - CSF)、CSF3 (GC
 SF)、CTL8、CTNNB1 (b - カテニン)、CTSB (カテプシンB)、CX3
 CL1 (SCYD1)、CX3CR1 (V28)、CXCL1 (GRO1)、CXCL1
 O (IP - IO)、CXCLI1 (1 - TAC / IP - 9)、CXCL12 (SDF1)
 、CXCL13、CXCL14、CXCL16、CXCL2 (GRO2)、CXCL3 (30
 GRO3)、CXCL5 (ENA - 78 / LIX)、CXCL6 (GCP - 2)、CXC
 L9 (MIG)、CXCR3 (GPR9 / CKR - L2)、CXCR4、CXCR6 (T
 YMSTR / STRL33 / Bonzo)、CYB5、CYC1、CYSLTR1、DA
 B2IP、DES、DKFZp451J0118、DNCL1、DPP4、E2F1、E
 nge1、Edge、Fenne1、EFNA3、EFNB2、EGF、EGFR、EL
 AC2、ENG、Eno1a、ENO2、ENO3、EPHA1、EPHA2、EPHA
 3、EPHA4、EPHA5、EPHA6、EPHA7、EPHA8、EPHA9、EP
 RA10、EPHB1、EPHB2、EPHB3、EPHB4、EPHB5、EPHB6
 、エフリン - A1、エフリン - A2、エフリンA3、エフリン - A4、エフリン - A5、
 エフリン - A6、エフリン - B1、エフリン - B2、エフリン - B3、EPHB4、EP
 G、ERBB2 (Her - 2)、EREG、ERK8、エストロゲン受容体、Ear1、 40
 ESR2、F3 (TF)、FADD、ファメシルトランスフェラーゼ、FasL、FAS
 Nf、FCER1A、FCER2、FCGR3A、FGF、FGF1 (aFGF)、FG
 F10、FGF11、FGF12、FGF12B、FGF13、FGF14、FGF16
 、FGF17、FGF18、FGF19、FGF2 (bFGF)、FGF20、FGF2
 1、FGF22、FGF23、FGF3 (int - 2)、FGF4 (HST)、FGF5
 、FGF6 (HST - 2)、FGF7 (KGF)、FGF8、FGF9、FGFR3、F
 IGF (VEGFD)、FIL1 (イプシロン)、FBL1 (ゼータ)、FLJ1258
 4、FLJ25530、FLRT1 (フィブロネクチン)、FLT1、FLT - 3、FO
 S、FOSL1 (FRA - 1)、FY (DARC)、GABRP (GABAa)、GAG
 EB1、GAGEC1、GALNAC4S - 6ST、GATA3、GD2、GDF5、G 50

FI1、GGT1、GM-CSF、GNAS1、GNRH1、GPR2(CCR10)、
 GPR31、GPR44、GPR81(FKSG80)、GRCC10(C10)、GRP、
 GSN(ゲルゾリン)、GSTP1、HAVCR2、HDAC、HDAC4、HDAC5、
 HDAC7A、HDAC9、ヘッジホッグ、HGF、HIF1A、HIP1、ヒスタミン及びヒスタミン受容体、HLA-A、HLA-DRA、HLA-E、HM74、HMOXI、HSP90、HUMCYT2A、ICEBERG、ICOSL、ID2、IFN-a、IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、EFNA6、BFNA7、IFNB1、IFN、IFNW1、IGBP1、IGF1、IGFIR、IGF2、IGFBP2、IGFBP3、IGFBP6、DL-1、ILIO、ILIORA、ILIORB、IL-1、IL1R1(CD121a)、IL1R2(CD121b)、IL-IRA、IL-2、IL2RA(CD25)、IL2RB(CD122)、IL2RG(CD132)、IL-4、IL-4R(CD123)、IL-5、IL5RA(CD125)、IL3RB(CD131)、IL-6、IL6RA、(CD126)、IR6RB(CD130)、IL-7、IL7RA(CD127)、IL-8、CXCR1(IL8RA)、CXCR2、(IL8RB/CD128)、IL-9、IL9R(CD129)、IL-10、IL10RA(CD210)、IL10RB(CDW210B)、IL-11、IL11RA、IL-12、IL-12A、IL-12B、IL-12RB1、IL-12RB2、IL-13、IL13RA1、IL13RA2、IL14、IL15、IL15RA、IL16、IL17、IL17A、IL17B、IL17C、IL17R、IL18、IL18BP、IL18R1、IL18RAP、IL19、ILIA、ILIB、ILIF10、ILIF5、IL1F6、ILIF7、IL1F8、DL1F9、ILIHVI、ILIR1、ILIR2、ILIRAP、ILIRAPLI、ILIRAPL2、ILIRL1、IL1RL2、ILIRN、IL2、IL20、IL20RA、IL21R、IL22、IL22R、IL22RA2、IL23、DL24、IL25、IL26、IL27、IL28A、IL28B、IL29、IL2RA、IL2RB、IL2RG、IL3、IL30、IL3RA、IL4、IL4、IL6ST(糖タンパク質130)、ILK、INHA、INHBA、INSL3、INSL4、IRAK1、IRAK2、ITGA1、ITGA2、ITGA3、ITGA6(6インテグリン)、ITGAV、ITGB3、ITGB4(4インテグリン)、JAG1、JAK1、JAK3、JTB、JUN、K6HF、KAI1、KDR、KITLG、KLF5(GCBoxBP)、KLF6、KLK10、KLK12、KLK13、KLK14、KLK15、KLK3、KLK4、KLK5、KLK6、KLK9、KRT1、KRT19(ケラチン19)、KRT2A、KRTHB6(毛髪特異的II型ケラチン)、LAMA5、LEP(レプチン)、Lingo-p75、Lingo-Troy、LPS、LTA(TNF-b)、LTB、LTB4R(GPR16)、LTB4R2、LTBR、MACMARCKS、MAGまたはOMgp、MAP2K7(c-Jun)、MCP-1、MDK、MIB1、ミッドカイン、MIF、MISRII、MJP-2、MK、MKI67(Ki-67)、MMP2、MMP9、MS4A1、MSMB、MT3(メタロチオネクチン-UI)、mTOR、MTSS1、MUC1(ムチン)、MYC、MYD88、NCK2、ニューロカン、ネクチン-4、NFKBI、NFKB2、NGFB(NGF)、NGFR、NgR-Lingo、NgRNogo66、(Nogo)、NgR-p75、NgR-Troy、NMEI(NM23A)、NOTCH、NOTCH1、NOX5、NPPB、NROB1、NROB2、NRID1、NR1D2、NR1H2、NR1H3、NR1H4、NR112、NR113、NR2C1、NR2C2、NR2E1、NR2E3、NR2F1、NR2F2、NR2F6、NR3C1、NR3C2、NR4A1、NR4A2、NR4A3、NR5A1、NR5A2、NR6A1、NRP1、NRP2、NT5E、NTN4、ODZI、OPRDI、P2RX7、PAP、PART1、PATE、PAWR、PCA3、PCDGF、PCNA、PDGFA、PDGFB、PDGFRA、PDGFRB、PECAMI、peg-アスパラギナーゼ、PF4(CXCL4)、PGF、PGR、ホスファカン、PIAS2、PI3キナーゼ、PIK3CG、PLAU(uPA)、PLG

10

20

30

40

50

、 PLXDCI、 PKC、 PKC - 、 PPBP (CXCL7)、 PPID、 PR1、 PRKCQ、 PRKD1、 PRL、 PROC、 PROK2、 PSAP、 PSCA、 PTA FR、 PTEN、 PTGS2 (COX-2)、 PIN、 RAC2 (P21Rac2)、 R ANK、 RANKリガンド、 RARB、 RGS1、 RGS13、 RGS3、 RNFI10 (ZNF144)、 Ron、 ROBO2、 RXR、 S100A2、 SCGB1D2 (リポフィリンB)、 SCGB2A1 (マンマグロピン2)、 SCGB2A2 (マンマグロピン1)、 SCYE1 (内皮単球活性化サイトカイン)、 SDF2、 SERPENA1、 S ERPINA3、 SERPINB5 (マスピン)、 SERPINEI (PAI-I)、 S ERPINFI、 SHIP-1、 SHIP-2、 SHB1、 SHB2、 SHBG、 Sfc AZ、 SLC2A2、 SLC33A1、 SLC43A1、 SLIT2、 SPP1、 SPR 10 1B (Spr1)、 ST6GAL1、 STAB1、 STATE、 STEAP、 STEAP2、 TB4R2、 TBX21、 TCP10、 TDGF1、 TEK、 TGFA、 TGFB1、 TGFB1I1、 TGFB2、 TGFB3、 TGFB1I、 TGEBR1、 TGFB2、 TGFB3、 THIL、 THBS1 (トロノスポンジン-1)、 THBS2、 T HBS4、 THPO、 TIE (Tie-1)、 TIMP3、 組織因子、 TLR1、 TLR 2、 TLR3、 TLR4、 TLR5、 TLR6、 TLR7、 TLR8、 TLR9、 TLR 10、 TLR11、 TNF、 TNF-a、 TNFAIP2 (B94)、 TNFAIP3、 TNFRSF11A、 TNFRSF1A、 TNFRSF1B、 TNFRSF21、 TNF 20 RSF5、 TNFRSF6 (Fas)、 TNFRSF7、 TNFRSF8、 TNFRSF 9、 TNFSF10 (TRAIL)、 TNFSF11 (TRANCE)、 TNFSF12 20 (APO3L)、 TNFSF13 (April)、 TNFSF13B、 TNFSF14 (H VEM-L)、 TNFRSF14 (HVEM)、 TNFSF15 (VEGI)、 TNFS F18、 TNFSF4 (OX40リガンド)、 TNFSF5 (CD40リガンド)、 TN FSF6 (FasL)、 TNFSF7 (CD27リガンド)、 TNFSF8 (CD30リ ガンド)、 TNFSF9 (4-1BBリガンド)、 TOLLIP、 Toll様受容体、 T OP2A (トポイソメラーゼ1ia)、 TP53、 TPM1、 TPM2、 TRADD、 T RAF1、 TRAF2、 TRAF3、 TRAF4、 TRAF5、 TRAF6、 TRKA、 TREM1、 TREM2、 TROP2、 TRPC6、 TSLP、 TWEAK、 チロシナー ゼ、 uPAR、 VEGF、 VEGFB、 VEGFC、 パーシカン、 VHL C5、 VLA - 4、 Wnt-1、 XCL1 (リンフォタクチン)、 XCL2 (SCM-Ib)、 XCR 30 I (GPR5/CCXCR1)、 YYI、 ZFPM2、 CLEC4C (BDCA-2、 D LEC、 CD303、 CLECSF7)、 CLEC4D (MCL、 CLECSF8)、 C LEC4E (ミンクル)、 CLEC6A (デクチン-2)、 CLEC5A (MDL-1、 CLECSF5)、 CLEC1B (CLEC-2)、 CLEC9A (DNDR-1)、 C LEC7A (デクチン-1)、 PDGFRa、 SLAMF7、 GP6 (GPVI)、 LI LRA1 (CD85I)、 LILRA2 (CD85H、 ILT1)、 LILRA4 (CD 85G、 ILT7)、 LILRA5 (CD85F、 ILT11)、 LILRA6 (CD8 5b、 ILT8)、 NCR1 (CD335、 LY94、 NKp46)、 NCR3 (CD3 35、 LY94、 NKp46)、 NCR3 (CD337、 NKp30)、 OSCAR、 T ARM1、 CD300C、 CD300E、 CD300LB (CD300B)、 CD300 40 LD (CD300D)、 KIR2DL4 (CD158D)、 KIR2DS、 KLRC2 (CD159C、 NKG2C)、 KLRK1 (CD314、 NKG2D)、 NCR2 (CD 336、 NKp44)、 PILRB、 SIGLEC1 (CD169、 SN)、 SIGLE C14、 SIGLEC15 (CD33L3)、 SIGLEC16、 SIRPB1 (CD1 72B)、 TREM1 (CD354)、 TREM2、 及びKLRF1 (NKp80) から 選択される1つ以上の標的に結合する(例えば、それらから選択される標的に特異的に結 合する)ことができる。

【0074】

いくつかの実施形態では、抗体は、FcR 結合受容体に結合する。いくつかの実施形 態では、FcR 結合受容体は、GP6 (GPVI)、LILRA1 (CD85I)、L 50

ILRA2 (CD85H、ILT1)、LILRA4 (CD85G、ILT7)、LILRA5 (CD85F、ILT11)、LILRA6 (CD85b、ILT8)、NCR1 (CD335、LY94、NKp46)、NCR3 (CD335、LY94、NKp46)、NCR3 (CD337、NKp30)、OSCAR、及びTARM1からなる群から選択される。

【0075】

いくつかの実施形態では、抗体は、DAP12結合受容体に結合する。いくつかの実施形態では、DAP12結合受容体は、CD300C、CD300E、CD300LB (CD300B)、CD300LD (CD300D)、KIR2DL4 (CD158D)、KIR2DS、KLR2C (CD159C、NKG2C)、KLRK1 (CD314、NKG2D)、NCR2 (CD336、NKp44)、PILRB、SIGLEC1 (CD169、SN)、SIGLEC14、SIGLEC15 (CD33L3)、SIGLEC16、SIRPB1 (CD172B)、TREM1 (CD354)、及びTREM2からなる群から選択される。

10

【0076】

いくつかの実施形態では、抗体は、hemITAM保有受容体に結合する。いくつかの実施形態では、hemITAM保有受容体はKLRF1 (NKp80)である。

【0077】

いくつかの実施形態では、抗体は、CLEC4C (BDCA-2、DLEC、CD303、CLECSF7)、CLEC4D (MCL、CLECSF8)、CLEC4E (ミンクル)、CLEC6A (デクチン-2)、CLEC5A (MDL-1、CLECSF5)、CLEC1B (CLEC-2)、CLEC9A (DNDR-1)、及びCLEC7A (デクチン-1)から選択される1つ以上の標的に結合することができる。いくつかの実施形態では、抗体は、CLEC6A (デクチン-2)またはCLEC5Aに結合することができる。いくつかの実施形態では、抗体は、CLEC6A (デクチン-2)に結合することができる。

20

【0078】

いくつかの実施形態では、抗体は、ATP5I (Q06185)、OAT (P29758)、AIFM1 (Q9Z0X1)、AOF (Q64133)、MTDC (P18155)、CMC1 (Q8BH59)、PREP (Q8K411)、YMEL1 (O88967)、LPPRC (Q6PB66)、LONM (Q8CGK3)、ACON (Q99KI0)、ODO1 (Q60597)、IDHP (P54071)、ALDH2 (P47738)、ATPB (P56480)、AATM (P05202)、TMM93 (Q9CQW0)、ERGI3 (Q9CQE7)、RTN4 (Q99P72)、CL041 (Q8BQR4)、ERLN2 (Q8BFZ9)、TERA (Q01853)、DAD1 (P61804)、CALX (P35564)、CALU (O35887)、VAPA (Q9WV55)、MOGS (Q80UM7)、GANAB (Q8BHN3)、ERO1A (Q8R180)、UGG1 (Q6P5E4)、P4HA1 (Q60715)、HYEP (Q9D379)、CALR (P14211)、AT2A2 (O55143)、PDIA4 (P08003)、PDIA1 (P09103)、PDIA3 (P27773)、PDIA6 (Q922R8)、CLH (Q68FD5)、PPIB (P24369)、TCPG (P80318)、MOT4 (P57787)、NICA (P57716)、BAS1 (P18572)、VAPA (Q9WV55)、ENV2 (P11370)、VAT1 (Q62465)、4F2 (P10852)、ENOA (P17182)、ILK (O55222)、GPNMB (Q99P91)、ENV1 (P10404)、ERO1A (Q8R180)、CLH、(Q68FD5)、DSG1A (Q61495)、AT1A1 (Q8VDN2)、HYOU1 (Q9JKR6)、TRAP1 (Q9CQN1)、GRP75 (P38647)、ENPL (P08113)、CH60 (P63038)、及びCH10 (Q64433)から選択される1つ以上の標的に結合する(例えば、それらから選択される標的に特異的に結合する)ことができる。上記のリストにおいて、括弧内に登録番号を示す

30

40

50

【 0 0 7 9 】

いくつかの実施形態では、抗体は、CDH1、CD19、CD20、CD29、CD30、CD38、CD40、CD47、EpCAM、MUC1、MUC16、EGFR、Her2、SLAMF7、及びgp75から選択される抗原に結合する。いくつかの実施形態では、抗原は、CD19、CD20、CD47、EpCAM、MUC1、MUC16、EGFR、及びHer2から選択される。いくつかの実施形態では、抗体は、Tn抗原及びトムゼン・フリーデンライヒ抗原から選択される抗原に結合する。

【 0 0 8 0 】

いくつかの実施形態では、抗体またはFc融合タンパク質は、アバゴボマブ、アバタセプト (ORENCIA (登録商標) としても知られる)、アブシキシマブ (REOPRO (登録商標)、c7E3 Fab としても知られる)、アダリムマブ (HUMIRA (登録商標) としても知られる)、アデカツムマブ、アレムツズマブ (CAMPATH (登録商標)、Mab Campath または Campath-1H としても知られる)、アルツモマブ、アフエリモマブ、アナツモマブ マフェナトクス、アネツムマブ、アンルキズマブ、アボリズマブ、アルシツモマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、アトロリムマブ、バピネオズマブ、バシリキシマブ (SIMULECT (登録商標) としても知られる)、バピツキシマブ、ベクツモマブ (LYMPHOSCAN (登録商標) としても知られる)、ベリムマブ (LYMPHO-STAT-B (登録商標) としても知られる)、ベルチリムマブ、ベシレソマブ、ベバシズマブ (AVASTIN (登録商標) としても知られる)、
 20
 ピシロマブ プラロバルピタール、ピバツズマブ メルタンシン、campath、カナキヌマブ (ACZ885 としても知られる)、カンツズマブ メルタンシン、カプロマブ (PROSTASCINT (登録商標) としても知られる)、カツマキソマブ (REMOVAB (登録商標) としても知られる)、セデリズマブ (CIMZIA (登録商標) としても知られる)、セルトリズマブ ペゴル、セツキシマブ (ERBITUX (登録商標) としても知られる)、クレノリキシマブ、ダセツズマブ、ダクリキシマブ、ダクリズマブ (ZENAPAX (登録商標) としても知られる)、デノスマブ (AMG162 としても知られる)、デツモマブ、ドルリモマブ アリトクス、ドルリキシズマブ、ダンツムマブ、ドゥリムルマブ (durimulumab)、ドゥルムルマブ (durmulumab)
 30
)、エクロメキシマブ、エクリズマブ (SOLIRIS (登録商標) としても知られる)、エドバコマブ、エドレコロマブ (Mab17-1A、PANOREX (登録商標) としても知られる)、エファリズマブ (RAPTIVA (登録商標) としても知られる)、エフングマブ (MYCOGRAB (登録商標) としても知られる)、エルシリモマブ、エンリモマブ ペゴル、エピツモマブ シツキセタン、エファリズマブ、エピツモマブ、エブラツズマブ、エルリズマブ、エルツマキソマブ (REXOMUN (登録商標) としても知られる)、エタネルセプト (ENBRELEL (登録商標) としても知られる)、エタラシズマブ (エタラツズマブ、VITAXIN (登録商標)、ABEGRIN (登録商標) としても知られる)、エクスビビルマブ、ファノレソマブ (NEUTROSPEC (登録商標) としても知られる)、ファラリモマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ (HUZAF (登録商標) としても知られる)、ガリキシマブ、ガンテネルマブ、ガビリモマブ (ABXCBL (登録商標) としても知られる)、ゲムツズマブ オゾガマイシン (MYLOTARG (登録商標) としても知られる)、ゴリムマブ (CNT0148 としても知られる)、ゴミリキシマブ、イバリズマブ (TNX-355 としても知られる)、イブリツモマブ チウキセタン (ZEVALLIN (登録商標) としても知られる)、イゴボマブ、イムシロマブ、インフリキシマブ (REMICADE (登録商標) としても知られる)、イノリモマブ、イノツズマブ オゾガマイシン、イピリムマブ (MDX-010、MDX-101 としても知られる)、イラツムマブ、ケリキシマブ、ラベツズマブ、レマレソマブ、レブリリズマブ、レルデリムマブ、レキサツムマブ (HGS-ETR2、ETR2-ST01 としても知られる)、レキシツムマブ、リビビルマブ、リンツズマブ、ルカツムマブ、ルミリキシマブ、マパツムマブ (HGSETR1、TRM-1 としても知られる)、
 40
 50

マスリモマブ、マツズマブ (EMD72000としても知られる)、メポリズマブ (BOSATRIA (登録商標)としても知られる)、メテリムマブ、ミラツズマブ、ミンレツモマブ、ミツモマブ、モロリムマブ、モタビズナブ (motavizumab) (NUMAX (登録商標)としても知られる)、ムロモナブ (OKT3としても知られる)、ナコロマブ タフェナトクス、ナブツモマブ エスタフェナトクス、ナタリズマブ (TYSA B R I (登録商標)、ANTEGREN (登録商標)としても知られる)、ネバクマブ、ネレリモマブ、ニモツズマブ (THERACIM hR3 (登録商標)、THERA-CIM-hR3 (登録商標)、THERALOC (登録商標)としても知られる)、ノフェツモマブ メルペンタン (VERLUMA (登録商標)としても知られる)、オクレリズマブ、オデュリモマブ、オフアツムマブ、オマリズマブ (XOLAIR (登録商標)としても知られる)、オレゴボマブ (OVAREX (登録商標)としても知られる)、オテリキシズマブ、バギバキシマブ、パリビズマブ (SYNAGIS (登録商標)としても知られる)、パニツムマブ (ABX-EGF、VECTIBIX (登録商標)としても知られる)、パスコリズマブ、ペムツモマブ (THERAGYN (登録商標)としても知られる)、ペルツズマブ (2C4、OMNITARG (登録商標)としても知られる)、ペキセリズマブ、ピンツモマブ、プリリキシマブ、プリツムマブ、ラニビズマブ (LUCENTIS (登録商標)としても知られる)、ラキシバクマブ、レガビルマブ、レスリズマブ、リツキシマブ (RITUXAN (登録商標)、MabTHERA (登録商標)としても知られる)、ロベリズマブ、ルプリズマブ、サツモマブ、セビルマブ、シブロットズマブ、シブリズマブ (MEDI-507としても知られる)、ソんツズマブ、スタムルマブ (MYO-029としても知られる)、スレソマブ (LEUKOSCAN (登録商標)としても知られる)、タカツズマブ テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、タブリツモマブ パプトクス、テフィバズマブ (AUREXIS (登録商標)としても知られる)、テリモマブ アリトクス、テネリキシマブ、テブリズマブ、チシリムマブ、トシリズマブ (ACTEMRA (登録商標)としても知られる)、トラリズマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ (HERCEPTIN (登録商標)としても知られる)、トレメリムマブ (CP-675,206としても知られる)、ツコツズマブ セルモロイキン、ツビルマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ (CNTO 1275としても知られる)、バパリキシマブ、ベルツズマブ、ベパリモマブ、ビシリズマブ (NUVION (登録商標)としても知られる)、ボロシキシマブ (M200としても知られる)、ボツムマブ (HUMASPECT (登録商標)としても知られる)、ザルツムマブ、ザノリムマブ (HUMAX-CD4としても知られる)、ジラリムマブ、ゾリモマブ アリトクス、ダラツムマブ、エロツクスマブ (elotuxumab)、オピンツズマブ (obintuzumab)、オララツマブ、ブレンツキシマブ ベドチン、アフィベルセプト (afibercept)、アバタセプト、ベラタセプト、アフィベルセプト (afibercept)、エタネルセプト、ロミブロスチム、SBT-040 (US2017/0158772に記載の配列)から選択される。いくつかの実施形態では、抗体はリツキシマブである。

10

20

30

【0081】

抗体

本発明のイムノコンジュゲートは抗体を含む。本発明の実施形態の範囲に含まれるのは、本明細書に記載の抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインの機能的バリエーションである。本明細書で使用される「機能的バリエーション」という用語は、親抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインと実質的または有意な配列同一性または類似性を有する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトを指し、この機能的バリエーションは、それがバリエーションである抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインの生物学的活性を保持する。機能的バリエーションは、例えば、限定されないが、PD-L1、HER2、CEAまたはTROP2を、親抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインと同様の程度、同程度、またはより高い程度に発現する標的細胞を認識する能力を保持する、本明細書に記載の抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメイン (親抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメイン) のバリエーションを包含する。

40

50

【0082】

抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインに関して、機能的バリエーションは、例えば、少なくとも約30%、約50%、約75%、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%またはそれ以上、アミノ酸配列が抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインと同一であり得る。

【0083】

機能的バリエーションは、例えば、少なくとも1つの保守的アミノ酸置換を有する親抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインのアミノ酸配列を含むことができる。代替的または追加的に、機能的バリエーションは、少なくとも1つの非保守的アミノ酸置換を有する親抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインのアミノ酸配列を含み得る。この場合、非保守的アミノ酸置換が機能的バリエーションの生物学的活性を妨害または阻害しないことが好ましい。非保守的アミノ酸置換は、機能的バリエーションの生物学的活性を増強することができ、その結果、機能的バリエーションの生物学的活性は、親抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインと比較して増加する。

【0084】

本発明のイムノコンジュゲートを含む抗体には、Fc操作バリエーションが含まれる。いくつかの実施形態において、1つ以上のFc受容体への結合調節をもたらすFc領域における変異は、以下の変異：SD(S239D)、SDIE(S239D/I332E)、SE(S267E)、SELF(S267E/L328F)、SDIE(S239D/I332E)、SDIEAL(S239D/I332E/A330L)、GA(G236A)、ALIE(A330L/I332E)、GASDALIE(G236A/S239D/A330L/I332E)、V9(G237D/P238D/P271G/A330R)、及びV11(G237D/P238D/H268D/P271G/A330R)のうち1つ以上、及び/または、以下のアミノ酸：E345R、E233、G237、P238、H268、P271、L328及びA330における1つ以上の変異、を含み得る。Fc受容体結合を調節するための追加のFc領域修飾は、例えば、US2016/0145350、US7416726、及びUS5624821に記載されており、これらは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0085】

本発明のイムノコンジュゲートを含む抗体には、アフコシル化などのグリカンバリエーションが含まれる。いくつかの実施形態において、結合剤のFc領域は、ネイティブ非修飾Fc領域と比較して、Fc領域のグリコシル化パターンの変更を有するように修飾される。

【0086】

本発明の抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインのアミノ酸置換は、好ましくは保守的アミノ酸置換である。保守的アミノ酸置換は当技術分野で知られており、ある特定の物理的及び/または化学的特性を有する1つのアミノ酸が、同じまたは類似の化学的または物理的特性を有する別のアミノ酸と交換されるアミノ酸置換を含む。例えば、保守的アミノ酸置換は、酸性/負に帯電した極性アミノ酸を別の酸性/負に帯電した極性アミノ酸(例えば、AspまたはGlu)で置換すること、非極性側鎖を有するアミノ酸を別の非極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、Ala、Gly、Val、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Trp、Cys、Valなど)で置換すること、塩基性/正に帯電した極性アミノ酸を別の塩基性/正に帯電した極性アミノ酸(例えば、Lys、His、Argなど)で置換すること、極性側鎖を有する非荷電アミノ酸を別の極性側鎖を有する非荷電アミノ酸(例えば、Asn、Gln、Ser、Thr、Tyrなど)で置換すること、ベータ分岐側鎖を有するアミノ酸を別のベータ分岐側鎖を有するアミノ酸(例えば、Ile、Thr、及びVal)で置換すること、芳香族側鎖を有するアミノ酸を別の芳香族側鎖を有するアミノ酸(例えば、His、Phe、Trp、及びTyr)で置換することなどであり得る。

【0087】

10

20

30

40

50

抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、他の成分、例えば他のアミノ酸が抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメイン機能的バリエーションの生物学的活性を実質的に変化させないように、本明細書に記載の特定のアミノ酸配列または複数の配列から本質的になり得る。

【0088】

いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体は、改変されたFc領域を含み、改変は、1つ以上のFc受容体へのFc領域の結合を調節する。

【0089】

いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体（例えば、少なくとも2つのアジュバント部分にコンジュゲートした抗体）は、Fc領域内に1つ以上の改変（例えば、アミノ酸挿入、欠失、及び/または置換）を含み、これにより、Fc領域に変異を有さない天然抗体と比較して、1つ以上のFc受容体（例えば、FcRI(CD64)、FcRIIA(CD32A)、及び/またはFcRIIB(CD32B)、FcRIIIA(CD16a)、及び/またはFcRIIIB(CD16b)）への結合が調節される（例えば、結合が増加または減少する）。いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体は、FcRIIBへの抗体のFc領域の結合を減少させるFc領域内の1つ以上の改変（例えば、アミノ酸挿入、欠失、及び/または置換）を含む。いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体は、Fc領域に変異を有さない天然抗体と比較して、FcRIIBへの抗体の結合を減少させる一方で、FcRI(CD64)、FcRIIA(CD32A)、及び/またはFcRIIIA(CD16a)に対して、同じ結合を維持するか、または結合を増加させる抗体のFc領域内の1つ以上の改変（例えば、アミノ酸挿入、欠失、及び/または置換）を含む。いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体は、FcRIIBへの抗体のFc領域の結合を増加させるFc領域内の1つ以上の改変を含む。

【0090】

いくつかの実施形態では、調節された結合は、抗体の天然のFc領域と比較した抗体のFc領域における変異によって提供される。変異は、CH2ドメイン、CH3ドメイン、またはそれらの組み合わせに存在させることができる。「天然Fc領域」は、「野生型Fc領域」と同義であり、天然に見出されるFc領域のアミノ酸配列と同一であるか、または天然抗体（例えば、セツキシマブ）に見出されるFc領域のアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を含む。天然配列ヒトFc領域には、天然配列ヒトIgG1Fc領域、天然配列ヒトIgG2Fc領域、天然配列ヒトIgG3Fc領域、及び天然配列ヒトIgG4Fc領域、ならびにそれらの天然のバリエーションが含まれる。天然配列Fcには、Fc γ sのさまざまなアロタイプが含まれる（Jefferys et al., (2009) mAbs, 1(4):332-338）。

【0091】

いくつかの実施形態では、免疫複合体の抗体のFc領域を、天然の未改変Fc領域と比較して、Fc領域のグリコシル化パターンを変化させるように改変する。ヒト免疫グロブリンは、各重鎖のC2ドメインのAsn297残基でグリコシル化されている。このN-結合型オリゴ糖は、コアの七糖であるN-アセチルグルコサミン4マンノース3(GlcNAc4Man3)からなる。エンドグリコシダーゼまたはPNGaseFによる七糖の除去は、抗体Fc領域のコンフォメーション変化を引き起こすことが知られており、活性化FcRに対する抗体結合親和性を有意に低下させ、エフェクター機能を低下させ得る。コア七糖は、多くの場合、ガラクトース、二分岐GlcNAc、フコース、またはシアル酸で修飾されており、活性化及び阻害性FcRへのFc結合に差次的影響を与える。さらに、2,6-シアル化はin vivoで抗炎症活性を増強し、一方、アフコシル化はFcRIIIa結合の向上ならびに抗体依存性細胞傷害及び抗体依存性食作用の10倍の増加をもたらすことが示されている。したがって、特定のグリコシル化パターンを使用して、炎症性エフェクター機能を制御することができる。

【0092】

いくつかの実施形態では、グリコシル化パターンを変化させるための改変は、変異であ

る。例えば、A s n 2 9 7での置換である。いくつかの実施形態では、A s n 2 9 7を、グルタミンに変異させる（N 2 9 7 Q）。F c R調節性シグナル伝達を調節する抗体を用いて免疫応答を制御する方法は、例えば、米国特許第7,416,726号及び米国特許出願公開第2007/0014795号及び第2008/0286819号に記載されており、これらは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0093】

いくつかの実施形態では、免疫複合体の抗体を、非天然のグリコシル化パターンを有する改変されたF a b領域を含むように改変する。例えば、ハイブリドーマを遺伝子改変して、F c R I I I a結合及びエフェクター機能を増加させ得る特定の変異を有する脱フコシル化m A b、脱シアル化m A bまたは脱グリコシル化F cを分泌させることができる。いくつかの実施形態では、免疫複合体の抗体を、脱フコシル化されるように改変する。

10

【0094】

いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体の全F c領域を、異なるF c領域と交換し、その結果、抗体のF a b領域を、非天然のF c領域に結合させる。例えば、通常はI g G 1 F c領域を含むセツキシマブのF a b領域を、I g G 2、I g G 3、I g G 4、またはI g Aに結合させることができ、あるいは、通常はI g G 4 F c領域を含むニボルマブのF a b領域をI g G 1、I g G 2、I g G 3、I g A 1、またはI g G 2に結合させることができる。いくつかの実施形態では、非天然F cドメインを有するF c改変抗体はまた、記載されるF cドメインの安定性を調節する、I g G 4 F c内のS 2 2 8 P変異などの1つ以上のアミノ酸改変を含む。いくつかの実施形態では、非天然F cドメインを有するF c改変抗体はまた、F c RへのF c結合を調節する、本明細書に記載の1つ以上のアミノ酸改変を含む。

20

【0095】

いくつかの実施形態では、F c RへのF c領域の結合を調節する改変は、天然の未改変抗体と比較した場合、抗体のF a b領域のその抗原への結合を変化させない。他の実施形態では、F c RへのF c領域の結合を調節する改変は、天然の未改変抗体と比較した場合、抗体のF a b領域のその抗原への結合も増加させる。

【0096】

例示的な実施形態において、本発明のイムノコンジュゲートは、P D - L 1を特異的に認識して結合する抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを含む。

30

【0097】

プログラム死 - リガンド1 (P r o g r a m m e d D e a t h - L i g a n d 1) (P D - L 1、分化クラスター274、C D 2 7 4、B 7ホモログ1、またはB 7 - H 1)は、B 7タンパク質スーパーファミリーに属し、プログラム細胞死タンパク質1 (P D - 1、P D C D 1、分化クラスター279、またはC D 2 7 9)のリガンドである。P D - L 1は、B 7 . 1 (C D 8 0)とも相互作用する可能性があり、そのような相互作用はT細胞のプライミングを阻害すると考えられている。P D - L 1 / P D - 1軸は、適応免疫応答の抑制に大きな役割を果たす。より具体的には、P D - L 1とその受容体であるP D - 1との結合により、T細胞の活性化と増殖を阻害するシグナルが伝達されると考えられている。P D - L 1に結合し、リガンドがP D - 1受容体に結合するのを防止する薬剤は、この免疫抑制を防止し、したがって、がんまたは感染症の治療の場合などの、所望の場合に免疫応答を高めることができる。P D - L 1 / P D - 1経路は、自己免疫の防止にも寄与するため、P D - L 1に対するアゴニスト剤、または免疫抑制性ペイロードを送達する薬剤が自己免疫疾患の治療に役立つ場合がある。

40

【0098】

アテゾリズマブ (T E C E N T R I Q (商標))、デュルバルマブ (I M F I N Z I (商標))、及びアベルマブ (B A V E N C I O (商標))を含む、P D - L 1を標的とするいくつかの抗体が、がんの治療用に関与されている。それにもかかわらず、P D - L 1に高い親和性で結合し、P D - L 1 / P D - 1シグナル伝達を効果的に防止する薬剤、及びP D - L 1発現細胞に治療用ペイロードを送達できる薬剤など、新しいP D - L 1結合

50

剤が引き続き必要とされている。さらに、自己免疫疾患及び感染症を治療するための新しいPD-L1結合剤が必要である。

【0099】

1つ以上のピラゾロアゼピン部分に共有結合しているリンカーに共有結合した抗PD-L1抗体を含むイムノコンジュゲートを、細胞または細胞を含む哺乳動物に投与することを含む、PD-L1を発現する細胞にピラゾロアゼピン誘導体ペイロードを送達する方法が提供される。

【0100】

哺乳動物の免疫応答を増強または低減または阻害するための方法、ならびにPD-L1阻害に応答する哺乳動物における疾患、障害、または状態を治療するための方法であって、そのPD-L1イムノコンジュゲートを哺乳動物に投与することを含む、方法もまた提供する。

【0101】

本発明は、免疫グロブリン重鎖可変領域ポリペプチド及び免疫グロブリン軽鎖可変領域ポリペプチドを含むPD-L1抗体を提供する。PD-L1抗体はPD-L1に特異的に結合する。抗体の結合特異性により、PD-L1発現細胞を標的にして、例えば、そのような細胞に治療用ペイロードを送達することができる。いくつかの実施形態において、PD-L1抗体は、ヒトPD-L1に結合する。ただし、任意のPD-L1フラグメント、ホモログまたはパラログに結合する抗体も含まれる。

【0102】

いくつかの実施形態において、PD-L1抗体は、PD-L1がその受容体であるPD-1に結合することを実質的に阻害または防止することなく、PD-L1に結合する。しかし、他の実施形態において、PD-L1抗体は、PD-L1が、その受容体であるPD-1に結合することを完全にまたは部分的に遮断（阻害または防止）することができ、したがって、抗体を使用してPD-L1/PD-1シグナル伝達を阻害することができる（例えば、治療目的で）。抗体または抗原結合抗体フラグメントは、PD-L1に対して単一特異的であってもよく、または二重特異的もしくは多重特異的であってもよい。例えば、二価もしくは多価抗体または抗体フラグメントにおいて、結合ドメインは、同じ抗原の異なるエピトープを標的とするか、または異なる抗原を標的とするように、異なっている可能性がある。多価結合コンストラクトを構築する方法は当技術分野で知られている。二重特異性及び多重特異性抗体は当技術分野で知られている。さらに、同じポリペプチド鎖上のV_HとV_Lの間のペアリングを可能にするには短すぎるペプチドリンカーによってV_Lに接続されたV_Hをそれぞれ含み、それにより、異なるV_H-V_Lポリペプチド鎖上の相補的ドメイン間のペアリングを駆動して、2つ、3つ、または4つの機能的な抗原結合部位を有する多量体分子を生成する、ポリペプチド鎖の二量体、三量体、または四量体である、ダイアボディ、トリアボディ、またはテトラボディを提供することができる。また、2つの異なる可変ドメインを有する小型scFvフラグメントであるbis-scFvフラグメントを生成して、2つの異なるエピトープに結合できる二重特異性bis-scFvフラグメントを生成することができる。Fab二量体（Fab₂）及びFab三量体（Fab₃）は、遺伝子工学的方法を使用して生成し、Fabフラグメントに基づいて多

【0103】

PD-L1抗体は、ヒト抗体、非ヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体、または対応する抗体フラグメントであり得るか、またはそれらから得ることができる。「キメラ」抗体は、典型的にはヒト定常領域及び非ヒト可変領域を含む抗体またはそのフラグメントである。「ヒト化」抗体は、典型的にはヒト抗体足場を含むが、少なくとも1つのCDR（例えば、1、2、3、4、5、または6つすべてのCDR）に非ヒト起源のアミノ酸または配列を有するモノクローナル抗体である。

【0104】

WO2021/150701に記載され、参照により本明細書に組み込まれているよう

10

20

30

40

50

に、PD-L1抗体を内在化することができ、またはWO2021/150702に記載され、参照により本明細書に組み込まれているように、PD-L1抗体を非内在化することができる。

【0105】

例示的な実施形態において、本発明のイムノコンジュゲートは、HER2を特異的に認識して結合する抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを含む。

【0106】

ある特定の実施形態において、本発明のイムノコンジュゲートは、抗HER2抗体を含む。本発明の一実施形態において、本発明のイムノコンジュゲートの抗HER2抗体は、参照により本明細書に具体的に組み込まれているUS5821337の表3に記載のように、ヒト化抗HER2抗体、例えば、huMAb4D5-1、huMAb4D5-2、huMAb4D5-3、huMAb4D5-4、huMAb4D5-5、huMAb4D5-6、huMAb4D5-7及びhuMAb4D5-8を含む。これらの抗体は、HER2に結合するマウス抗体(4D5)の相補性決定領域を有するヒトフレームワーク領域を含む。ヒト化抗体huMAb4D5-8はトラスツズマブとも呼ばれ、HERCEPTIN(商標)(Genentech, Inc.)の商品名で市販されている。

10

【0107】

トラスツズマブ(CAS 180288-69-1、HERCEPTIN(登録商標)、huMAb4D5-8、rhumaB HER2、Genentech)は、細胞ベースのアッセイにおいて、HER2の細胞外ドメインに高親和性で選択的に結合する(Kd = 5 nM)マウス抗HER2抗体(4D5)のヒト化バージョンである、組換えDNA由来のIgG1、モノクローナル抗体である(US 5677171; US 5821337; US 6054297; US 6165464; US 6339142; US 6407213; US 6639055; US 6719971; US 6800738; US 7074404; Coussens et al (1985) Science 230: 1132-9、Slamon et al (1989) Science 244: 707-12、Slamon et al (2001) New Engl. J. Med. 344: 783-792)。

20

【0108】

本発明の一実施形態において、抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、トラスツズマブのCDR領域を含む。本発明の一実施形態において、抗HER2抗体は、トラスツズマブのフレームワーク領域をさらに含む。本発明の一実施形態において、抗HER2抗体は、トラスツズマブの一方または両方の可変領域をさらに含む。

30

【0109】

本発明の別の実施形態において、本発明のイムノコンジュゲートの抗HER2抗体は、US7862817に記載されているように、ヒト化抗HER2抗体、例えば、ヒト化2C4を含む。例示的なヒト化2C4抗体は、ペルツズマブ(CAS登録番号380610-27-5)、PERJETA(商標)(Genentech, Inc.)である。ペルツズマブは、HER二量体化阻害剤(HDI)であり、他のHER受容体(EGFR/HER1、HER2、HER3、及びHER4など)と活性ヘテロ二量体またはホモ二量体を形成するHER2の能力を阻害するように機能する。例えば、Harari and Yarden, Oncogene 19: 6102-14 (2000); Yarden and Sliwkowski, Nat Rev Mol Cell Biol 2: 127-37 (2001); Sliwkowski Nat Struct Biol 10: 158-9 (2003); Cho et al. Nature 421: 756-60 (2003); 及びMalik et al. Pro Am Soc Cancer Res 44: 176-7 (2003)を参照のこと。PERJETA(商標)は乳癌の治療薬として承認されている。

40

【0110】

本発明の一実施形態において、抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、ペルツ

50

ズマブのCDR領域を含む。本発明の一実施形態において、抗HER2抗体は、ペルツズマブのフレームワーク領域をさらに含む。本発明の一実施形態において、抗HER2抗体は、ペルツズマブの一方または両方の可変領域をさらに含む。

【0111】

例示的な実施形態において、本発明のイムノコンジュゲートは、Caprin-1を特異的に認識して結合する抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを含む (Ellis JA, Luzio JP (1995) J Biol Chem. 270(35):20717-23; Wang B, et al (2005) J Immunol. 175(7):4274-82; Solomon S, et al (2007) Mol Cell Biol. 27(6):2324-42)。caprin-1は、GPIAP1、GPIP137、GRIP137、M11S1、RNG105、p137GPI、及び細胞周期関連タンパク質1としても知られている。

10

【0112】

細胞質の活性化/増殖関連タンパク質-1 (caprin-1) は、細胞周期制御関連遺伝子の制御に関するRNA結合タンパク質である。caprin-1は、c-Myc及びサイクリンD2 mRNAに選択的に結合し、G₁期からS期への細胞進行を加速し、細胞生存率を高め、細胞成長を促進し、caprin-1が、腫瘍形成に重要な役割を果たす場合があることを示している (Wang B, et al (2005) J Immunol. 175:4274-4282)。caprin-1は、単独で、またはRasGAPSH3ドメイン結合タンパク質1や脆弱X精神遅滞タンパク質などの他のRNA結合タンパク質と組み合わせて作用する。腫瘍形成プロセスにおいて、caprin-1は主に細胞増殖を活性化し、免疫チェックポイントタンパク質の発現をアップレギュレートすることによって機能する。ストレス顆粒の形成を通じて、caprin-1は腫瘍細胞が悪条件に適応するプロセスにも関与しており、これが放射線及び化学療法抵抗性に寄与している。種々の臨床悪性腫瘍におけるその役割を考えると、caprin-1はバイオマーカー及び新規治療薬の開発のターゲットとして使用される可能性を秘めている (Yang, Z-S, et al (2019) Oncology Letters 18:15-21)。

20

【0113】

治療及び検出のためにcaprin-1を標的とする抗体が記載されている (WO2011/096519; WO2013/125654; WO2013/125636; WO2013/125640; WO2013/125630; WO2013/018889; WO2013/018891; WO2013/018883; WO2013/018892; WO2014/014082; WO2014/014086; WO2015/020212; WO2018/079740)。

30

【0114】

例示的な実施形態において、本発明のイムノコンジュゲートは、CEAを特異的に認識して結合する抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを含む。CD66e (Cluster of Differentiation 66e) としても知られるがん胎児性抗原関連細胞接着分子5 (CEACAM5) は、がん胎児性抗原 (CEA) 遺伝子ファミリーのメンバーである。

40

【0115】

がん胎児性抗原 (CEA、CD66e、CEACAM5) の発現の上昇は、特に、腫瘍細胞接着、転移、細胞性免疫機構の遮断、及び抗アポトーシス機能を有することなど、新生物の種々の生物学的態様に関係している。CEAは、多くの癌腫の血液マーカーとしても使用されている。MN-14及びhMN14としても知られるラベツズマブ (CEA-CIDE (商標), Immunomedics, CAS登録番号219649-07-7) は、ヒト化IgG1モノクローナル抗体であり、結腸直腸癌の治療のために研究されている (Blumenthal, R. et al (2005) Cancer Immunology Immunotherapy 54(4):315-327)。カンプトテシ

50

ンアナログにコンジュゲートしたラベツズマブ（ラベツズマブゴビテカン（labetuzumab govitecan）、IMMU-130）は、がん胎児性抗原関連細胞接着分子5（CEACAM5）を標的とし、再発または難治性の転移性結腸直腸癌の患者において研究されている（Sharkey, R. et al, (2018), Molecular Cancer Therapeutics 17(1): 196-203; Cardillo, T. et al (2018) Molecular Cancer Therapeutics 17(1): 150-160）。

【0116】

本発明の実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、この目的のために、参照により本明細書に組み込まれるUS6676924に開示されている配列番号1のhMN-14/ラベツズマブの可変軽鎖（VLカッパ）を含む。

DIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQDVGTSVAWYQQKPGKAPKLLIYWTSRHTGVPSPRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIATYYCQQYSLYRSFGQGTKVEIK 配列番号1

【0117】

本発明の実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号2～8のhMN-14/ラベツズマブの軽鎖CDR（相補性決定領域）または軽鎖フレームワーク（LFR）配列を含む（US6676924）。

【表1】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
LFR1	DIQLTQSPSSLSASVGDVRTITC	1～23	23	2
CDR-L1	KASQDVGTSVA	24～34	11	3
LFR2	WYQQKPGKAPKLLIY	35～49	15	4
CDR-L2	WTSTRHT	50～56	7	5
LFR3	GVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIATYYC	57～88	32	6
CDR-L3	QQYSLYRS	89～96	8	7
LFR4	FGQGTKVEIK	97～106	10	8

【0118】

本発明の実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、この目的のために、参照により本明細書に組み込まれるUS6676924に開示されている配列番号9のhMN-14/ラベツズマブの可変重鎖（VH）を含む。

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFDFTTYWMSWVRQAPGKGLEWVAEIHPSSTINYPAPSLKDRFTISRDNISKNTLLF LQMDSL RPE DTGVYFCASLYFGFPWFAYWGQGTPVTVSS 配列番号9

【0119】

本発明の実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号10～16のhMN-14/ラベツズマブの重鎖CDR（相補性決定領域）または重鎖フレームワーク（HFR）配列を含む（US6676924）。

10

20

30

40

50

【表 2】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
HFR1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFDF T	1~30	30	10
CDR-H1	TYWMS	31~35	5	11
HFR2	WVRQAPGKGLEWVA	36~49	14	12
CDR-H2	EIHPDSSSTINYAPSLKD	50~66	17	13
HFR3	RFTISRDN SKNTLFLQMDSL RPEDTG VYF CAS	67~98	32	14
CDR-H3	LYFGFPWFAY	99~108	10	15
HFR4	WGQGTPVTVSS	109~119	11	16

10

【0120】

本発明の実施形態において、CEA 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、この目的のために、参照により本明細書に組み込まれる US 8 6 4 2 7 4 2 に開示されている配列番号 17 の h P R 1 A 3 の可変軽鎖 (V L カッパ) を含む。

20

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S A A V G T Y V A W Y Q Q K P
G K A P K L L I Y S A S Y R K R G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C H Q Y Y T Y P L F T F G Q G T K L E I K 配列番号 17

【0121】

本発明の実施形態において、CEA 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 18 ~ 24 の h P R 1 A 3 の軽鎖 C D R (相補性決定領域) または軽鎖フレームワーク (L F R) 配列を含む (U S 8 6 4 2 7 4 2) 。

30

【表 3】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
LFR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC	1~23	23	18
CDR-L1	KASAAVGTYVA	24~34	11	19
LFR2	WYQQKPGKAPKLLIY	35~49	15	20
CDR-L2	SASYRKR	50~56	7	21
LFR3	GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATY YC	57~88	32	22
CDR-L3	HQYYTYPLFT	89~98	10	23
LFR4	FGQGTKLEIK	99~108	10	24

40

【0122】

本発明の実施形態において、CEA 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 25 ~ 31 の h P R 1 A 3 の重鎖 C D R (相補性決定領域) または重鎖フレームワーク (H F R) 配列を含む (U S 8 6 4 2 7 4 2) 。

50

【表 4】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FT	1~30	30	25
CDR-H1	EFGMN	31~35	5	26
HFR2	WVRQAPGQGLEWMG	36~49	14	27
CDR-H2	WINTKTGEATYVEEFKG	50~66	17	28
HFR3	RVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CAR	67~98	32	29
CDR-H3	WDFAYYVEAMDY	99~110	12	30
HFR4	WGQGTTVTVSS	111~121	11	31

10

【0123】

本発明の実施形態において、CEA 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、この目的のために、参照により本明細書に組み込まれる US 7 2 3 2 8 8 に開示されている配列番号 3 2 の h M F E - 2 3 の可変軽鎖 (V L カッパ) を含む。

20

ENVLTQSPSSMSASVGD RVNIAC SASSSVSYMHWFQQKPG
KSPKLWIYSTSNLASGVPSRFS GSGSGTDYSLTIS SMQPE
DAATYYCQQRSSYP LTFGGG TKLEIK 配列番号 3 2

【0124】

本発明の実施形態において、CEA 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 3 3 ~ 4 0 の h M F E - 2 3 の軽鎖 C D R (相補性決定領域) または軽鎖フレームワーク (L F R) 配列を含む (US 7 2 3 2 8 8) 。この実施形態は、LFR 1 の 2 つのバリエーション、配列番号 3 3 及び配列番号 3 4 を含む。

30

【表 5】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
LFR1	ENVLTQSPSSMSASVGD RVNIAC	1~23	23	33
LFR1	EIVLTQSPSSMSASVGD RVNIAC	1~23	23	34
CDR-L1	SASSSVSYMH	24~33	10	35
LFR2	WFQQKPGKSPKLWIY	34~48	15	36
CDR-L2	STSNLAS	49~55	7	37
LFR3	GVPSRFSGSGSGTDYSLTIS SMQPEDAAT YYC	56~87	32	38
CDR-L3	QQRSSYP L T	88~96	9	39
LFR4	FGGGTKLEIK	97~106	10	40

40

【0125】

本発明の実施形態において、CEA 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメイン

50

は、配列番号 41 の h M F E - 23 の可変重鎖 (V H) を含む (U S 7 2 3 2 8 8 8) 。
 Q V K L E Q S G A E V V K P G A S V K L S C K A S G F N I K D S Y M H W L R Q G
 P G Q R L E W I G W I D P E N G D T E Y A P K F Q G K A T F T T D T S A N T A Y
 L G L S S L R P E D T A V Y Y C N E G T P T G P Y Y F D Y W G Q G T L V T V S S
 配列番号 41

【 0 1 2 6 】

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 42 ~ 49 の h M F E - 23 の重鎖 C D R (相補性決定領域) または重鎖フレームワーク (H F R) 配列を含む (U S 7 2 3 2 8 8 8) 。この実施形態は、H F R 1 の 2 つのバリエーション、配列番号 42 及び配列番号 43 を含む。

10

【 表 6 】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
HFR1	QVKLEQSGAEVVKPGASVKLSCKASGFNIK	1~30	30	42
HFR1	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGFNIK	1~30	30	43
CDR-H1	DSYMH	31~35	5	44
HFR2	WLRQGPQQRLEWIG	36~49	14	45
CDR-H2	WIDPENGDT EYAPKFQG	50~66	17	46
HFR3	KATFTTDT SANTAYLGLSSLRPEDTAVYYCNE	67~98	32	47
CDR-H3	GTPTGPYYFDY	99~109	11	48
HFR4	WGQGTLVTVSS	110~120	11	49

20

30

【 0 1 2 7 】

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 50 の S M 3 E の可変軽鎖 (V L カッパ) を含む (U S 7 2 3 2 8 8 8) 。
 E N V L T Q S P S S M S V S V G D R V T I A C S A S S S V P Y M H W L Q Q K P G
 K S P K L L I Y L T S N L A S G V P S R F S G S G S G T D Y S L T I S S V Q P E
 D A A T Y Y C Q Q R S S Y P L T F G G G T K L E I K 配列番号 50

【 0 1 2 8 】

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 51 ~ 56 及び 38 ~ 39 の S M 3 E の軽鎖 C D R (相補性決定領域) または軽鎖フレームワーク (L F R) 配列を含む (U S 7 2 3 2 8 8 8) 。この実施形態は、L F R 1 の 2 つのバリエーション、配列番号 51 及び配列番号 52 を含む。

40

50

【表 7】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
LFR1	ENVLTQSPSSMSVSVGDRVTIAC	1~23	23	51
LFR1	EIVLTQSPSSMSVSVGDRVTIAC	1~23	23	52
CDR-L1	SASSVPYMH	24~33	10	53
LFR2	WLQQKPGKSPKLLIY	34~48	15	54
CDR-L2	LTSNLAS	49~55	7	55
LFR3	GVPSRFSGSGSGTDYSLTISSVQPEDAATY YC	56~87	32	56
CDR-L3	QQRSSYPLT	88~96	9	39
LFR4	FGGGTKLEIK	97~106	10	40

10

【0129】

本発明の実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号57のNP-4/アルシツモマブの可変軽鎖を含む。

Q T V L S Q S P A I L S A S P G E K V T M T C R A S S S V T Y I H W Y Q Q K P G
S S P K S W I Y A T S N L A S G V P A R F S G S G S G T S Y S L T I S R V E A E
D A A T Y Y C Q H W S S K P P T F G G G T K L E I K 配列番号57

20

【0130】

本発明の実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号58~64のNP-4/アルシツモマブの軽鎖CDR（相補性決定領域）または軽鎖フレームワーク（LFR）配列を含む。

【表 8】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
LFR1	QTVLSQPAILSPGKVTMTC	1~23	23	58
CDR-L1	RASSSVTYIH	24~33	10	59
LFR2	WYQQKPGSSPKSWIY	34~48	15	60
CDR-L2	ATSNLAS	49~55	7	61
LFR3	GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAAT YYC	56~87	32	62
CDR-L3	QHWSSKPPT	88~96	9	63
LFR4	FGGGTKLEIK	97~106	10	64

30

40

【0131】

本発明の実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号65のNP-4/アルシツモマブの可変重鎖（VH）を含む。

E V K L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A T S G F T F T D Y Y M N W V R Q P
P G K A L E W L G F I G N K A N G Y T T E Y S A S V K G R F T I S R D K S Q S I

50

L Y L Q M N T L R A E D S A T Y Y C T R D R G L R F Y F D Y W G Q G T T L T V S
S 配列番号 65。

【0132】

本発明の実施形態において、CEA 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 66 ~ 72 の NP - 4 の重鎖 CDR (相補性決定領域) または重鎖フレームワーク (HFR) 配列を含む。

【表 9】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
HFR1	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTF T	1~30	30	66
CDR-H1	DYYMN	31~35	5	67
HFR2	WVRQPPGKALEWLG	36~49	14	68
CDR-H2	FIGNKANGYTTTEYSASVKG	50~68	19	69
HFR3	RFTISRDKSQSILYLQMNTLRAEDSATYYC TR	69~100	32	70
CDR-H3	DRGLRFYFDY	101~110	10	71
HFR4	WGQGTTTLTVSS	111~121	11	72

10

20

【0133】

本発明の実施形態において、CEA 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、この目的のために、参照により本明細書に組み込まれる US 7776330 に開示されている配列番号 73 の M5A / hT84 . 66 の可変軽鎖 (VL カッパ) を含む。

D I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A G E S V D I F G V G F L H W Y
Q Q K P G K A P K L L I Y R A S N L E S G V P S R F S G S G S R T D F T L T I S
S L Q P E D F A T Y Y C Q Q T N E D P Y T F G Q G T K V E I K 配列番号 73

30

【0134】

本発明の実施形態において、CEA 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 74 ~ 80 の M5A / hT84 . 66 の軽鎖 CDR (相補性決定領域) または軽鎖フレームワーク (LFR) 配列を含む (US 7776330)。

40

50

【表 1 0】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
LFR1	DIQLTQSPSSLASVGDRTITC	1~23	23	74
CDR-L1	RAGESVDIFGVGFLH	24~38	15	75
LFR2	WYQQKPGKAPKLLIY	39~53	15	76
CDR-L2	RASNLES	54~60	7	77
LFR3	GVPSRFSGSGSRRTDFTLTISLQPEDFAT YYC	61~92	32	78
CDR-L3	QQTNEDPYT	93~101	9	79
LFR4	FGQGTKVEIK	102~111	10	80

10

【0 1 3 5】

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 8 1 の M 5 A / h T 8 4 . 6 6 の可変重鎖 (V H) を含む (U S 7 7 7 6 3 3 0) 。

20

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F N I K D T Y M H W V R Q A
P G K G L E W V A R I D P A N G N S K Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A P F G Y Y V S D Y A M A Y W G Q G T L V T V S
S 配列番号 8 1

【0 1 3 6】

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 8 2 ~ 8 8 の M 5 A / h T 8 4 . 6 6 の重鎖 C D R (相補性決定領域) または重鎖フレームワーク (H F R) 配列を含む (U S 7 7 7 6 3 3 0) 。

【表 1 1】

30

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
HFR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF NIK	1~30	30	82
CDR-H1	DTYMH	31~35	5	83
HFR2	WVRQAPGKGLEWVA	36~49	14	84
CDR-H2	RIDPANGNSKYADSVKG	50~66	17	85
HFR3	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAV YYCAP	67~98	32	86
CDR-H3	FGYYVSDYAMAY	99~110	12	87
HFR4	WGQGLVTVSS	111~121	11	88

40

【0 1 3 7】

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、この目的のために、参照により本明細書に組み込まれる U S 9 6 1 7 3 4 5 に開示さ

50

れている配列番号 89 の h A b 2 - 3 の可変軽鎖 (V L カップ) を含む。

DIQMTQSPASLSASVGDRTITCRASENIFSYLAWYQQKPK
GKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRFSGSGSGTDFSLTISSLQP
EDFATYYCQHGYGTPFTFGSGTKLEIK 配列番号 89

【 0 1 3 8 】

本発明の実施形態において、 C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 90 ~ 96 の h A b 2 - 3 の軽鎖 C D R (相補性決定領域) または軽鎖フレームワーク (L F R) 配列を含む (U S 9 6 1 7 3 4 5) 。

【 表 1 2 】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
LFR1	DIQMTQSPASLSASVGDRTITC	1~23	23	90
CDR-L1	RASENIFSYLA	24~34	11	91
LFR2	WYQQKPGKSPKLLVY	35~49	15	92
CDR-L2	NTRTLAE	50~56	7	93
LFR3	GVPSRFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDFAT YYC	57~88	32	94
CDR-L3	QHGYGTPFT	89~97	9	95
LFR4	FGSGTKLEIK	98~107	10	96

10

20

【 0 1 3 9 】

本発明の実施形態において、 C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 97 の可変重鎖 (V H) を含む (U S 9 6 1 7 3 4 5) 。

EVQLQESGPGGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSYDMSWVRQT
PERGLEWVAYISSGGGITVAPSTVKGRFTVSRDNAKNTLY
LQMNSLTSEDTAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGTLLVTVSS

配列番号 97

【 0 1 4 0 】

本発明の実施形態において、 C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 98 ~ 104 の h A b 2 - 3 の重鎖 C D R (相補性決定領域) または重鎖フレームワーク (H F R) 配列を含む。

30

40

50

【表 1 3】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
HFR1	EVQLQESGPGGLVKPGGSLSLSCAASGFVFS	1~30	30	98
CDR-H1	SYDMS	31~35	5	99
HFR2	WVRQTPERGLEWVA	36~49	14	100
CDR-H2	YISSGGGITYAPSTVKG	50~66	17	101
HFR3	RFTVSRDNAKNTLYLQMNSLTSEDYAVY YCAA	67~98	32	102
CDR-H3	HYFGSSGPFAY	99~109	11	103
HFR4	WGQGLTVTVSS	110~120	11	104

10

【0141】

本発明の実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、この目的のために、参照により本明細書に組み込まれるUS9982063に開示されている配列番号105のA240VL-B9VH/AMG-211の可変軽鎖（VLカッパ）を含む。

20

QAVLTQPASLSASPGASASLTC TLRRGINVGAYSIIYWYQQ
KPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGSGVSSRFSASKDASANAGI
LLISGLQSEDEADYYCMIWHS GASAVFGGGTKLTVL 配列
番号105

【0142】

本発明の実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号106~112のA240VL-B9VH/AMG-211の軽鎖CDR（相補性決定領域）または軽鎖フレームワーク（LFR）配列を含む（US9982063）。

30

【表 1 4】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
LFR1	QAVLTQPASLSASPGASASLTC	1~22	22	106
CDR-L1	TLRRGINVGAYSIIY	23~36	14	107
LFR2	WYQQKPGSPPQYLLR	37~51	15	108
CDR-L2	YKSDSDKQQGS	52~62	11	109
LFR3	GVSSRFSASKDASANAGILLISGLQSEDE ADYYC	63~96	34	110
CDR-L3	MIWHS GASAV	97~106	10	111
LFR4	FGGGTKLTVL	107~116	10	112

40

【0143】

50

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 1 1 3 の B 9 V H の可変重鎖 (V H) を含む (U S 9 9 8 2 0 6 3) 。

E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A A S G F T V S S Y W M H W V R Q A
P G K G L E W V G F I R N K A N G G T T E Y A A S V K G R F T I S R D D S K N T
L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R D R G L R F Y F D Y W G Q G T T V T V S
S 配列番号 1 1 3

【 0 1 4 4 】

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 1 1 4 ~ 1 2 1 の重鎖 C D R (相補性決定領域) または重鎖フレームワーク (H F R) 配列を含む (U S 9 9 8 2 0 6 3) 。この実施形態は、C D R - H 2 の 2 つのバリエーション、すなわち配列番号 1 1 7 及び配列番号 1 1 8 を含む。

【 表 1 5 】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
HFR1	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVS	1~30	30	114
CDR-H1	SYWMH	31~35	5	115
HFR2	WVRQAPGKGLEWVG	36~49	14	116
CDR-H2	FIRNKANGGTTEYAASVKG	50~68	19	117
CDR-H2	FIRNKANS GTTEYAASVKG	50~68	19	118
HFR3	RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAR	69~100	32	119
CDR-H3	DRGLRFYFDY	101~110	10	120
HFR4	WGQGTTVTVSS	111~121	11	121

【 0 1 4 5 】

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 1 2 2 の E 1 2 V H の可変重鎖 (V H) を含む (U S 9 9 8 2 0 6 3) 。

E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A A S G F T V S S Y W M H W V R Q A
P G K G L E W V G F I L N K A N G G T T E Y A A S V K G R F T I S R D D S K N T
L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R D R G L R F Y F D Y W G Q G T T V T V S
S 配列番号 1 2 2

【 0 1 4 6 】

本発明の実施形態において、C E A 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 1 2 3 ~ 1 2 9 の重鎖 C D R (相補性決定領域) または重鎖フレームワーク (H F R) 配列を含む (U S 9 9 8 2 0 6 3) 。

10

20

30

40

50

【表 16】

領域	配列フラグメント	残基	長さ	配列番号
HFR1	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFT VS	1~30	30	123
CDR-H1	SYWMH	31~35	5	124
HFR2	WVRQAPGKGLEWVG	36~49	14	125
CDR-H2	FILNKANGGTTEYAASVKG	50~68	19	126
HFR3	RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAR	69~100	32	127
CDR-H3	DRGLRFYFDY	101~110	10	128
HFR4	WGQGTTVTVSS	111~121	11	129

10

【0147】

本発明の一実施形態において、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号130のPR1A3 VHの可変重鎖(VH)を含む(US8642742)。

20

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNVWRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVTFITDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTITVTVSS 配列番号130

【0148】

例示的な実施形態において、本発明のイムノコンジュゲートは、TROP2を特異的に認識して結合する抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを含む。腫瘍関連カルシウムシグナルトランスデューサー2(TROP-2)は、TACSTD2遺伝子によってコードされる膜貫通糖タンパク質である(Linnenbach AJ, et al (1993) Mol Cell Biol. 13(3): 1507-15; Calabrese G, et al (2001) Cytogenet Cell Genet. 92(1-2): 164-5)。TROP2は細胞内カルシウムシグナルトランスデューサーであり、多くのがんで示差的に発現し、自己複製、増殖、浸潤、及び生存のために細胞にシグナルを伝達する。TROP2は幹細胞マーカーと考えられており、多くの正常組織で発現しているが、対照的に、多くのがんで過剰発現する(Ohmachi T, et al. (2006) Clin. Cancer Res., 12(10), 3057-3063; Muhlmann G, et al., (2009) J. Clin. Pathol., 62(2), 152-158; Fong D, et al., (2008) Br. J. Cancer, 99(8), 1290-1295; Fong D, et al., (2008) Mod. Pathol., 21(2), 186-191; Ning S, et al., (2013) Neurol. Sci., 34(10), 1745-1750)。TROP2の過剰発現は、予後的に重要である。TROP2と相互作用するいくつかのリガンドが提唱されている。TROP2は、さまざまな経路を介して細胞にシグナルを伝達し、いくつかの転写因子の複雑なネットワークによって転写調節される。

30

40

【0149】

ヒトTROP2(TACSTD2:腫瘍関連カルシウムシグナルトランスデューサー2、GA733-1、EGP-1、M1S1、以下、hTROP2と呼称する)は、323アミノ酸残基からなる1回膜貫通型1型の細胞膜タンパク質である。一方、ヒトの栄養

50

芽層及びがん細胞に共通する、免疫抵抗に關与する細胞膜タンパク質 (Faulk W P, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 75 (4): 1947 - 1951 (1978)) の存在が以前に示唆されており、ヒト絨毛癌細胞株の細胞膜タンパク質に対するモノクローナル抗体によって認識される抗原分子が同定され、ヒト栄養芽層で発現する分子の1つとしてTROP2と命名された (Lipinski M, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 78 (8), 5147 - 5150 (1981))。この分子はまた、胃癌細胞株による免疫によって得られたマウスモノクローナル抗体GA733によって認識される腫瘍抗原GA733-1 (Linnenbach A J, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 86 (1), 27 - 31 (1989)) または非小細胞肺癌細胞による免疫によって得られたマウスモノクローナル抗体RS7-3G11によって認識される上皮糖タンパク質 (EGP-1; Basu A, et al., Int. J. Cancer, 62 (4), 472 - 479 (1995)) とも命名された。しかしながら、1995年にTROP2遺伝子がクローニングされ、これらの分子はすべて同一分子であることが確認された (Fornaro M, et al., Int. J. Cancer, 62 (5), 610 - 618 (1995))。hTROP2のDNA配列及びアミノ酸配列は、公的データベースで入手可能であり、例えば登録番号NM_002353及びNP_002344 (NCBI) で参照することができる。

10

【0150】

そのようながんとの関連を示唆する情報を受けて、これまでに複数の抗hTROP2抗体が確立されており、その抗腫瘍効果が研究されている。これらの抗体の中には、例えば、ヌードマウス異種移植片モデルにおいてそれ自体で抗腫瘍活性を示す非コンジュゲート型抗体 (WO2008/144891、WO2011/145744、WO2011/155579、WO2013/077458) 及び細胞障害性薬物と共にADCとして抗腫瘍活性を示す抗体 (WO2003/074566、WO2011/068845、WO2013/068946、US7999083) が開示されている。しかしながら、その活性の強さや範囲は依然として不十分であり、治療標的としてのhTROP2に対する医学的ニーズは満たされていない。

20

【0151】

がん細胞におけるTROP2の発現は、薬剤耐性と相関している。抗体、抗体融合タンパク質、化学阻害剤、ナノ粒子などを含むいくつかの戦略は、がん細胞上のTROP2を標的とする。これらのさまざまな治療的処置を使用した*in vitro*研究及び前臨床研究では、マウスにおいて、*in vitro*と*in vivo*の両方で腫瘍細胞の増殖が有意に抑制された。臨床研究では、予後バイオマーカーとして、また耐性を逆転させるための治療標的としてのTROP2の潜在的な用途が調査されている。

30

【0152】

トポイソメラーゼ阻害薬に結合したTROP2指向抗体を含む抗体薬物複合体であるサシツズマブ ゴビテカン (TRODELVY (登録商標)、Immunomedics, IMMU-132) は、少なくとも2つの前治療を受けている成人患者の転移性三種陰性乳癌 (mTNBC) を治療することが示されている。サシツズマブ ゴビテカン中のTROP2抗体は、イリノテカンの活性代謝産物であるSN-38にコンジュゲートされている (US2016/0297890、WO2015/098099)。

40

【0153】

本発明の一実施形態では、TROP2標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、hRS7 (ヒト化RS7) の軽鎖CDR (相補性決定領域) 配列、配列番号131 ~ 133を含む (US7238785、参照により本明細書に組み込まれる)。

【表 1 7】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-L1	KASQDVSIAVA	131
CDR-L2	SASYRYT	132
CDR-L3	QQHYITPLT	133

10

【0 1 5 4】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、hRS7 (ヒト化RS7) の重鎖CDR (相補性決定領域) 配列、配列番号134~136を含む (US7238785、US9797907、US9382329、WO2020/142659、それぞれ参照により本明細書に組み込まれる)。

【表 1 8】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-H1	NYGMN	134
CDR-H2	WINTYTGEPTYTDDFKG	135
CDR-H3	GGFGSSYWYFDV	136

20

【0 1 5 5】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、AR47A6.4.2 の軽鎖CDR (相補性決定領域) 配列、配列番号131~133を含む (US7420040、参照により本明細書に組み込まれる)。

【表 1 9】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-L1	KASQDVSIAVA	131
CDR-L2	SASYRYT	132
CDR-L3	QQHYITPLT	133

30

【0 1 5 6】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、AR47A6.4.2 の重鎖CDR (相補性決定領域) 配列、配列番号134、137、138を含む (US7420040、参照により本明細書に組み込まれる)。

40

50

【表 2 0】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-H1	NYGMN	134
CDR-H2	WINTKTGEPTYAEFKG	137
CDR-H3	GGYGSSYWYFDV	138

10

【0 1 5 7】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、ヒト化 KM4097 の軽鎖 CDR（相補性決定領域）配列、配列番号 139～141 を含む（US2012/0237518、参照により本明細書に組み込まれる）。

【表 2 1】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-L1	KSSQSLNSGNQQNYLA	139
CDR-L2	GASTRES	140
CDR-L3	QSDHIYPYT	141

20

【0 1 5 8】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、ヒト化 KM4097 の重鎖 CDR（相補性決定領域）配列、配列番号 142～144 を含む（US2012/0237518、参照により本明細書に組み込まれる）。

【表 2 2】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-H1	IYWLG	142
CDR-H2	NIFPGSAYINYNEKFKG	143
CDR-H3	EGSNSGY	144

30

【0 1 5 9】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、hTINA1-H1L1 の軽鎖 CDR（相補性決定領域）配列、配列番号 132、133、145 を含む（US10,227,417、参照により本明細書に組み込まれる）。

40

50

【表 2 3】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-L1	KASQDVSTAVA	145
CDR-L2	SASYRYT	132
CDR-L3	QQHYITPLT	133

10

【0 1 6 0】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、hTINA1 - H1L1 の重鎖 CDR (相補性決定領域) 配列、配列番号 146 ~ 148 を含む (US 10, 227, 417、参照により本明細書に組み込まれる)。

【表 2 4】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-H1	TAGMQ	146
CDR-H2	WINTHSGVPKYAEDFKG	147
CDR-H3	SGFGSSYWYFDV	148

20

【0 1 6 1】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、hTINA1 - H1L1 の軽鎖 CDR (相補性決定領域) 配列、配列番号 149 ~ 151 を含む (US 8871908、参照により本明細書に組み込まれる)。

【表 2 5】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-L1	RASKSVSTS(X1)YSYMH X1 は、G、L、または N である	149
CDR-L2	LASNLES	150
CDR-L3	QHSRELPYT	151

30

【0 1 6 2】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、hTINA1 - H1L1 の重鎖 CDR (相補性決定領域) 配列、配列番号 152 ~ 157 を含む (US 8871908、参照により本明細書に組み込まれる)。

40

50

【表 2 6】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-H1	SYGVH	152
CDR-H1	GGSISSY	153
CDR-H1	GGSISSYGVH	154
CDR-H2	VIWT(X1)G(X2)TDYNSALM(X3) X1 は、G または S であり、X2 は、S または V であり、X3 は、S または G である	155
CDR-H2	WT(X1)G(X2) X1 は、G または S であり、X2 は、S または V である	156
CDR-H3	DGDYDRYTMDY	157

10

【0163】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、hTINA1-H1L1 の軽鎖 CDR (相補性決定領域) 配列、配列番号 150、151、158 を含む (US 8871908、参照により本明細書に組み込まれる)。

20

【表 2 7】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-L1	RASKSVSTSGYSYMH	158
CDR-L2	LASNLES	150
CDR-L3	QHSRELPYT	151

30

【0164】

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、hTINA1-H1L1 の重鎖 CDR (相補性決定領域) 配列、配列番号 152 ~ 154、157、159、160 を含む (US 8871908、参照により本明細書に組み込まれる)。

40

50

【表 28】

領域	CDR 配列フラグメント	配列番号
CDR-H1	SYGVH	152
CDR-H1	GGSISSY	153
CDR-H1	GGSISSYGVH	154
CDR-H2	VIWTSGVTDYNSALMG	159
CDR-H2	WTSGV	160
CDR-H3	DGDYDRYTMDY	157

10

【0165】

いくつかの実施形態において、抗体コンストラクトは、Fcドメインをさらに含む。ある特定の実施形態において、抗体コンストラクトは抗体である。ある特定の実施形態において、抗体コンストラクトは、融合タンパク質である。抗原結合ドメインは、単鎖可変領域フラグメント(scFv)であり得る。単鎖可変領域フラグメント(scFv)は、合成ペプチドを介して抗体軽鎖の可変(V)ドメインに連結した抗体重鎖のVドメインを含む短縮化Fabフラグメントであり、通常、組換えDNA技術技法を使用して生成することができる。同様に、ジスルフィド安定化可変領域フラグメント(dsFv)は、組換えDNA技術によって調製することができる。抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、抗PD-L1抗体、抗Her2抗体、抗CEA抗体、または抗TROP2抗体などの抗体の抗原結合ドメインの1つ以上の可変領域(例えば、2つの可変領域)を含んでもよく、各可変領域は、CDR1、CDR2、及びCDR3を含む。

20

【0166】

いくつかの実施形態において、イムノコンジュゲート中の抗体は、修飾されたFc領域を含み、修飾により、1つ以上のFc受容体へのFc領域の結合が調節される。

【0167】

いくつかの実施形態において、Fc領域は、トランスフォーミング増殖因子ベータ1(TGFβ1)に結合することができるTGFβ1受容体またはそのフラグメントを含めることによって修飾される。例えば、受容体は、TGFβ受容体II(TGFβRII)であり得る。いくつかの実施形態において、TGFβ受容体は、ヒトTGFβ受容体である。いくつかの実施形態において、IgGは、TGFβRII細胞外ドメイン(ECD)へのC末端融合を有する。「Fcリンカー」を使用して、IgGをTGFβRII細胞外ドメインに結合させることができる。Fcリンカーは、標的への結合特異性を維持しながら、分子の適切な三次元折り畳みが可能になる、短くかつ柔軟なペプチドであり得る。いくつかの実施形態において、TGFβ受容体のN末端は、(Fcリンカーの有無にかかわらず)抗体コンストラクトのFcに融合されている。いくつかの実施形態において、抗体コンストラクト重鎖のC末端は、(Fcリンカーの有無にかかわらず)TGFβ受容体に融合されている。いくつかの実施形態において、抗体コンストラクト重鎖のC末端リジン残基は、アラニンに変異している。

30

40

【0168】

いくつかの実施形態において、イムノコンジュゲート中の抗体は、グリコシル化されている。

【0169】

いくつかの実施形態において、イムノコンジュゲート中の抗体は、操作されたシステインがコンジュゲーションに利用可能である部位でのシステイン置換を通して抗体へのアダプタント、標識、または薬物部分の部位特異的コンジュゲーションを提供するが、免疫グ

50

ロブリンの折り畳み及び集合を乱さないか、または抗原結合及びエフェクター機能を改変しない、システイン操作抗体である。(Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8): 925-932; Dornan et al. (2009) Blood 114(13): 2721-2729; US7521541; US7723485; US2012/0121615; WO2009/052249)。「システイン操作抗体」または「システイン操作抗体バリエーション」は、抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換されている抗体である。システイン操作抗体を、均一な化学量論によりピラゾロアゼピン-リンカー化合物としてピラゾロアゼピンアジュバント部分にコンジュゲートさせることができる(例えば、単一の操作システイン部位を有する抗体では、抗体あたり最大2つのピラゾロアゼピン部分)。

10

【0170】

いくつかの実施形態において、表3のイムノコンジュゲートを調製するために使用されるシステイン操作抗体は、軽鎖(LC K149C)の149-リジン部位に導入されたシステイン残基を有する。他の実施形態において、システイン操作抗体は、重鎖(HC A118C)の118-アラニン部位(EU番号付け)に導入されたシステイン残基を有する。この部位には、順次付番で121、Kabata付番で114が付番されている。他の実施形態において、システイン操作抗体は、Kabata付番に従ってG64CまたはR142Cで軽鎖に、またはKabata付番に従ってD101C、V184CまたはT205Cで重鎖に導入されたシステイン残基を有する。

20

【0171】

ピラゾロアゼピンアジュバント化合物

本発明のイムノコンジュゲートは、ピラゾロアゼピンアジュバント部分を含む。本明細書に記載のアジュバント部分は、免疫応答を誘発する化合物(すなわち、免疫刺激剤)である。一般に、本明細書に記載のアジュバント部分は、TLRアゴニストである。TLRは、脊椎動物の自然免疫応答の開始に関与するI型膜貫通タンパク質である。TLRは、細菌、ウイルス、及び真菌からのさまざまな病原体関連分子パターンを認識し、侵入する病原体に対する防御の第一線として機能する。TLRは、細胞発現及びそれらが開始するシグナル伝達経路の違いにより、重複しているが異なる生物学的応答を誘発する。一旦関与すると(例えば、自然刺激または合成TLRアゴニストによって)、TLRはシグナル伝達カスケードを開始し、アダプタータンパク質骨髄分化一次応答遺伝子88(MyD88)及びIL-1受容体関連キナーゼ(IRAK)の動員を介して核因子- κ B(NF- κ B)の活性化をもたらす。IRAKのリン酸化は、TNF受容体関連因子6(TRAF6)の動員につながり、そうして、NF- κ B阻害剤I- κ Bがリン酸化される。その結果、NF- κ Bは細胞核に入り、そのプロモーターが、NF- κ B結合部位を含有する遺伝子、例としてサイトカインなどの転写を開始する。TLRシグナル伝達の追加の制御様式には、TIRドメイン含有アダプター誘導インターフェロン- γ (TRIF)依存性のTNF受容体関連因子6(TRAF6)の誘導、及びTRIF及びTRAF3を介したMyD88非依存性経路の活性化が含まれ、これによりインターフェロン応答因子3(IRF3)のリン酸化をもたらされる。同様に、MyD88依存性経路はまた、IRF5及びIRF7を含むいくつかのIRFファミリーメンバーを活性化し、一方、TRIF依存性経路はまた、NF- κ B経路を活性化する。

30

40

【0172】

典型的には、本明細書に記載のアジュバント部分は、TLR7及び/またはTLR8アゴニストである。TLR7とTLR8は両方とも、単球及び樹状細胞で発現している。ヒトでは、TLR7は形質細胞様樹状細胞(pDC)及びB細胞でも発現している。TLR8は主に骨髄由来の細胞、すなわち単球、顆粒球、及び骨髄樹状細胞で発現している。TLR7及びTLR8は、ウイルスの侵入に応答する手段として、細胞内の「外来」一本鎖RNAの存在を検出することができる。TLR8アゴニストによるTLR8発現細胞の治療は、高レベルのIL-12、IFN- γ 、IL-1、TNF- α 、IL-6、及び他の炎症性サイトカインの産生をもたらす可能性がある。同様に、TLR7アゴニストによる

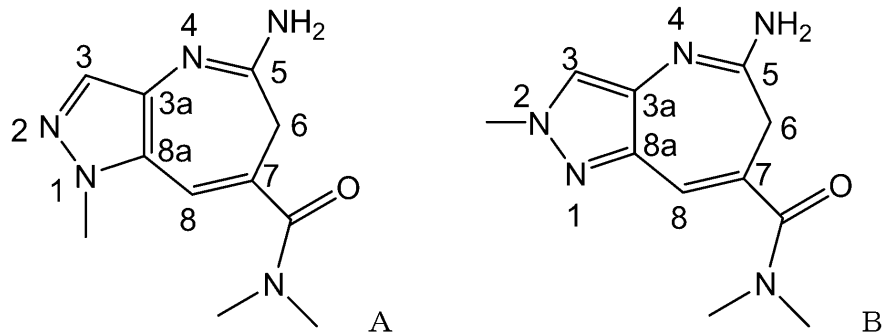
50

pDCなどのTLR7発現細胞の刺激は、高レベルのIFN- γ 及び他の炎症性サイトカインの産生をもたらす可能性がある。TLR7/TLR8関与及びその結果としてのサイトカイン産生は、樹状細胞及び他の抗原提示細胞を活性化し、腫瘍破壊につながる多様な自然免疫応答メカニズム及び獲得免疫応答メカニズムを促進する。

【0173】

本発明の例示的なピラゾロアゼピン化合物(PAZ)を表1に示す。各化合物は、質量分析によって特徴付けられ、示された質量を有することが示されている。本発明のピラゾロアゼピン化合物は、位置異性体A及びBを含み、IUPAC位置の番号付けは以下の通りである。

【化6】



【0174】

ヒトTLR7またはヒトTLR8を発現するHEK293 NF κ Bレポーター細胞に対する活性を、実施例202に従って測定した。表1のピラゾロアゼピン化合物は、がん及び他の障害を治療するための有用な治療活性を予測する場合があるTLR8アゴニスト選択性の驚くべき予想外の特性を示す。

【0175】

図1は、ピラゾロアゼピン化合物PAZ-2、PAZ-4、及びPAZ-11と、それに対する比較アジュバント化合物C-1及びC-2の24時間でのHEKヒトTLR7活性のグラフを示す。PAZ-2及びPAZ-11は、既知のTLR7アジュバントC-1と比較して同等のTLR7活性を有する一方で、非常に異なった構造的及び生物物理学的特徴を有する。

【0176】

図2は、ピラゾロアゼピン化合物PAZ-1及びPAZ-2と、それに対する比較アジュバント化合物C-1及びC-2の24時間でのHEKヒトTLR8活性のグラフを示す。PAZ-11は、既知のTLR8アジュバントC-2よりも優れたTLR8効力を有する。さらに、PAZ-11は、C-2に比べて親水性が向上している。向上した物理化学的特性とTLR8効力の増加により、はるかに効率的なアジュバントが得られる。

10

20

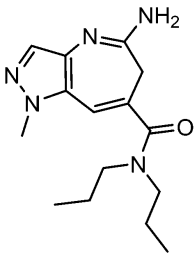
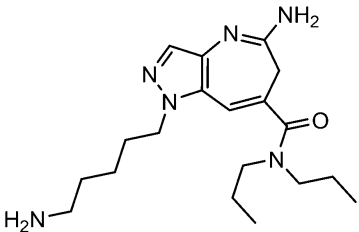
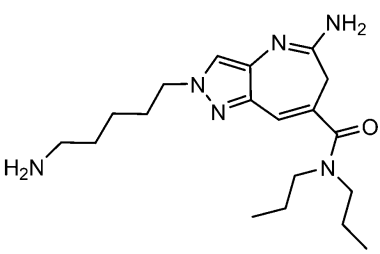
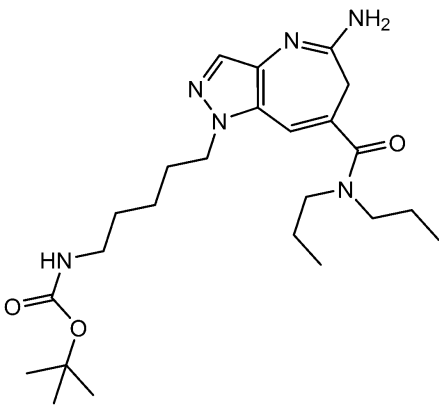
30

40

50

【表 29 - 1】

表 1 : ピラゾロアゼピン化合物 (PAZ)

PAZ 番号	構造	分子量	HEK293 hTLR7 EC50 (nM)	HEK293 hTLR8 EC50 (nM)
PAZ-1		289.4	>9000	4152
PAZ-2		360.5	>9000	2955
PAZ-3		360.5	>9000	>9000
PAZ-4		460.6	2920	3096

10

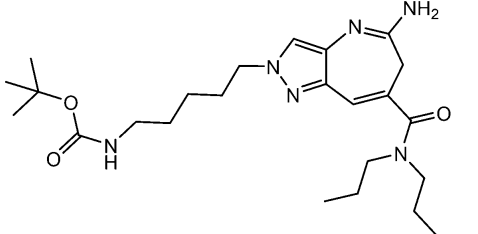
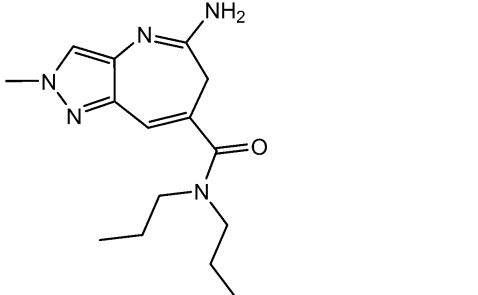
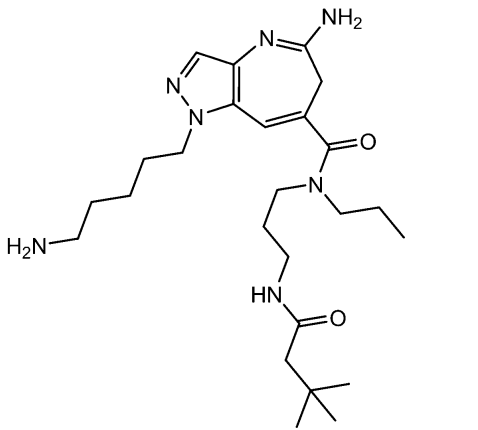
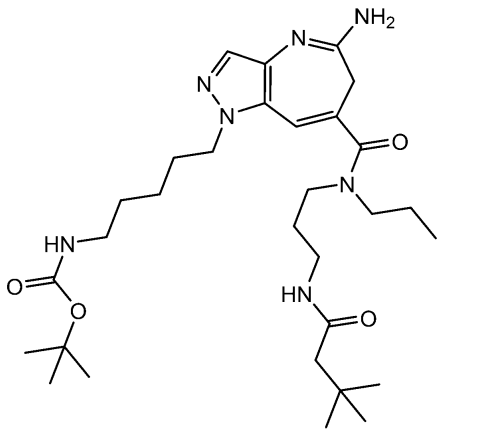
20

30

40

50

【表 29 - 2】

PAZ-5		460.6	>9000	>9000
PAZ-6		289.4	>9000	4046
PAZ-7		473.7	>9000	>9000
PAZ-8		573.8	2749	>9000

10

20

30

40

50

【表 2 9 - 3】

PAZ-9		473.7	>9000	>9000
PAZ-10		573.8	>9000	3230
PAZ-11		462.6	795	1490
PAZ-12		362.5	3210	290

10

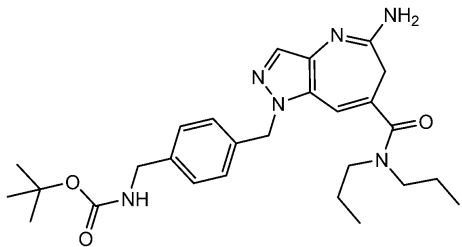
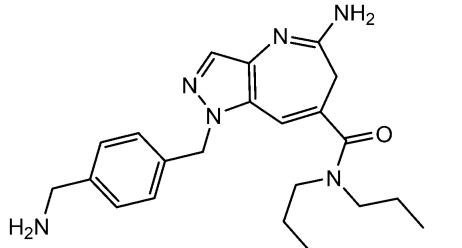
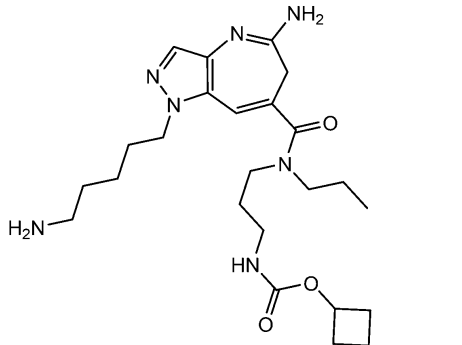
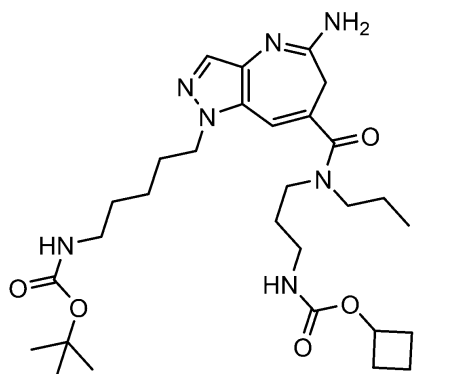
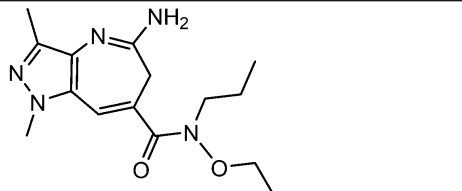
20

30

40

50

【表 2 9 - 4】

PAZ-13		494.6	881	3837
PAZ-14		394.5	5587	>9000
PAZ-15		473.6	>9000	>9000
PAZ-16		573.7		
PAZ-17		305.4		

10

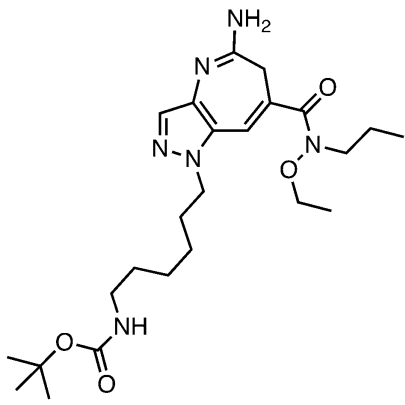
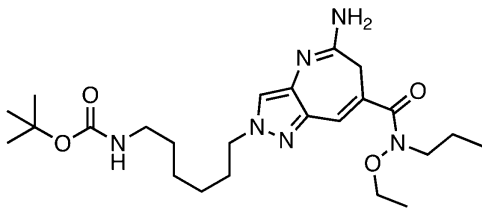
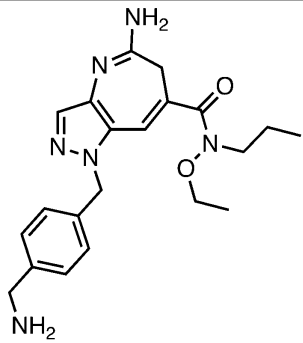
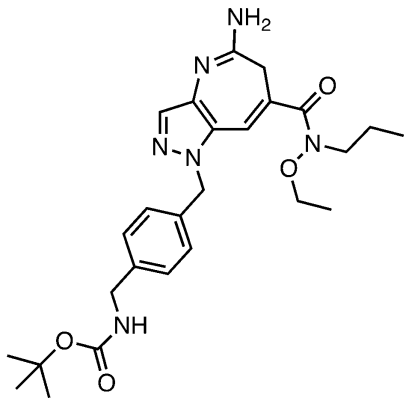
20

30

40

50

【表 2 9 - 5】

PAZ-18		476.6		
PAZ-19		476.6		
PAZ-20		369.5		
PAZ-21		496.6		

10

20

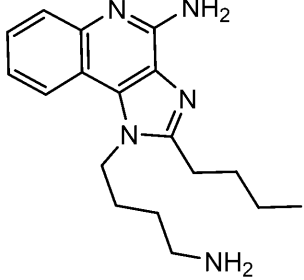
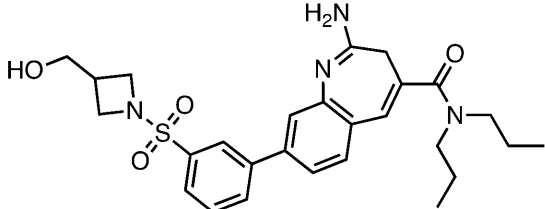
30

40

50

【表 3 0】

比較化合物：

比較化合物番号	構造	分子量	HEK293 hTLR7 EC50 (nM)	HEK293 hTLR8 EC50 (nM)
C-1		311.4	284	4053
C-2		510.7	>9000	1590

10

20

【0177】

ピラゾロアゼピン - リンカー化合物

本発明のイムノコンジュゲートは、抗体をピラゾロアゼピン - リンカー化合物とコンジュゲートすることによって調製される。ピラゾロアゼピン - リンカー化合物は、リンカーユニットに共有結合したピラゾロアゼピン (PAZ) 部分を含む。リンカーユニットは、イムノコンジュゲートの安定性、透過性、溶解性、及び他の薬物動態、安全性、及び有効性の特性に影響を与える官能基及びサブユニットを含む。リンカーユニットは、抗体の反応性官能基と反応する、すなわちコンジュゲートする反応性官能基を含む。例えば、抗体のリジン側鎖アミノなどの求核基は、PAZ - リンカー化合物の求電子反応性官能基と反応して、イムノコンジュゲートを形成する。また、例えば、抗体のシステインチオールは、PAZ - リンカー化合物のマレイミドまたはプロモアセトアミド基と反応して、イムノコンジュゲートを形成する。

30

【0178】

本発明のイムノコンジュゲートの設計に関する考慮事項には、(1) *in vivo* 循環中の PAZ 部分の時期尚早の放出を防止すること、及び(2) 生物学的に活性な形態の PAZ 部分が、所望の作用部位で十分な速度にて放出されることを確実にすることが含まれる。イムノコンジュゲートの複雑な構造とその機能特性には、抗体、複合体化部位、リンカー構造、及びピラゾロアゼピン化合物を含む分子のすべての成分の慎重な設計と選択が必要である。リンカーは、アジュバント放出のメカニズムと速度を決定する。

40

【0179】

一般的に、リンカーユニット (L) は、切断性または非切断性であり得る。切断性リンカーユニットは、ペプチドリリンカーユニットを認識して切断し、PAZアゴニストを抗体から分離するカテプシンなどの特定のプロテアーゼの基質であるペプチド配列を含み得る (Caculitan NG, et al (2017) Cancer Res. 77 (24) : 7027 - 7037)。

【0180】

50

切断性リンカーユニットには、酸感受性ジスルフィド基などの不安定な官能基が含まれ得る (Kellogg, B A et al (2011) Bioconjugate Chem. 22, 717-727; Ricart, A. D. et al (2011) Clin. Cancer Res. 17, 6417-6427; Pillow, T., et al (2017) Chem. Sci. 8, 366-370; Zhang D, et al (2016) ACS Med Chem Lett. 7(11): 988-993)。

【0181】

いくつかの実施形態では、リンカーは、生理学的条件下で非切断性である。本明細書で使用する場合、用語「生理学的条件」は、摂氏20～40度の温度範囲、大気圧（すなわち、1気圧）、約6～約8のpH、及び1つ以上の生理学的酵素、プロテアーゼ、酸、及び塩基を指す。イムノコンジュゲートにおける抗体とPAZ部分との間の非切断性リンカーの1つの利点は、時期尚早のペイロードの放出と対応する毒性を最小限に抑えることである。

10

【0182】

一実施形態では、本発明は、細胞結合剤と免疫刺激性PAZ部分との間にペプチド連結ユニットPEPを含み、これは、プロテアーゼ、例えば、カテプシン、腫瘍関連エラスターゼ酵素、またはプロテアーゼ様もしくはエラスターゼ様活性を有する酵素によって選択的に切断され得る特定のアミノ酸残基の直鎖配列に基づくペプチドラジカルを含む。ペプチドラジカルは、約2個～約12個のアミノ酸であり得る。ペプチドリナー内の結合の酵素的切断により、免疫刺激性PAZ部分の活性型が放出される。これは、本発明によるコンジュゲートの組織特異性を増加させ、したがって、他の組織型における本発明によるコンジュゲートの毒性をさらに減少させる。

20

【0183】

例示的な実施形態では、PEPは、

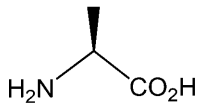
30

40

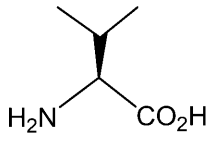
50

【表 3 1 - 1】

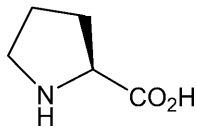
Ala



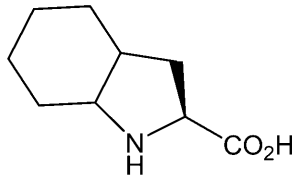
Val



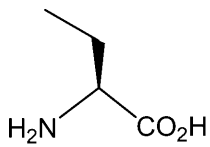
Pro



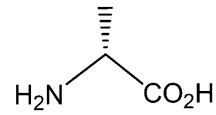
Oic



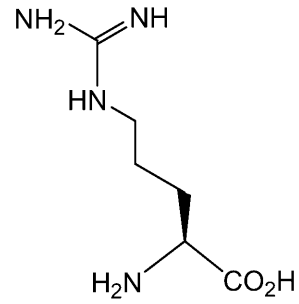
Abu



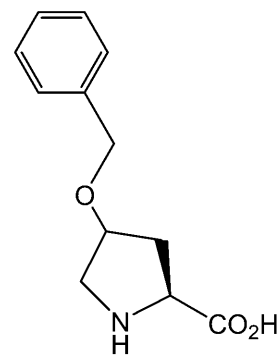
D-Ala



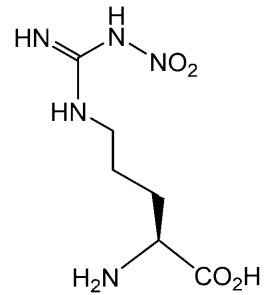
Arg



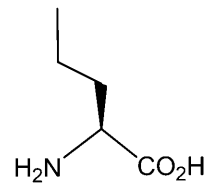
Hyp(O-Bzl)



Arg(NO2)



Nva



10

20

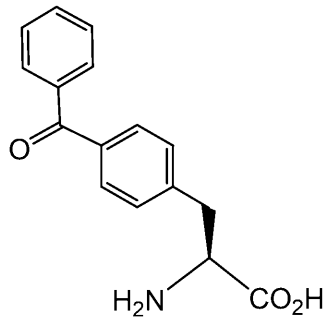
30

40

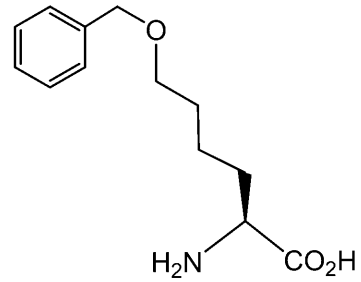
50

【表 3 1 - 2】

Bpa

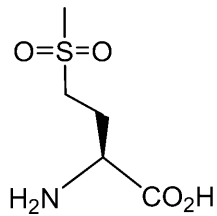


Nlc(O-Bzl)



10

及び

Met(O₂)

20

からなる群から選択されるアミノ酸のアミノ酸残基 (AA) からなる。

【0184】

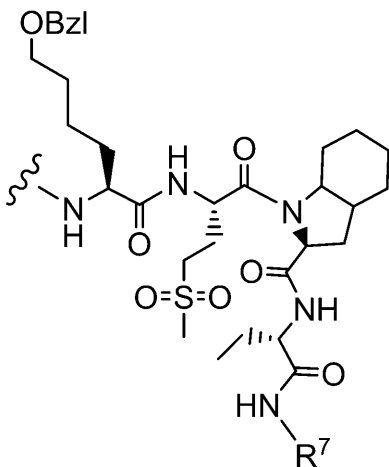
例示的な実施形態では、PEPは、Ala-Pro-Val、Asn-Pro-Val、Ala-Ala-Val、Ala-Ala-Pro-Ala、Ala-Ala-Pro-Val、及びAla-Ala-Pro-Nvaからなる群から選択される。

【0185】

例示的な実施形態において、PEPは、式：

【化7】

30



40

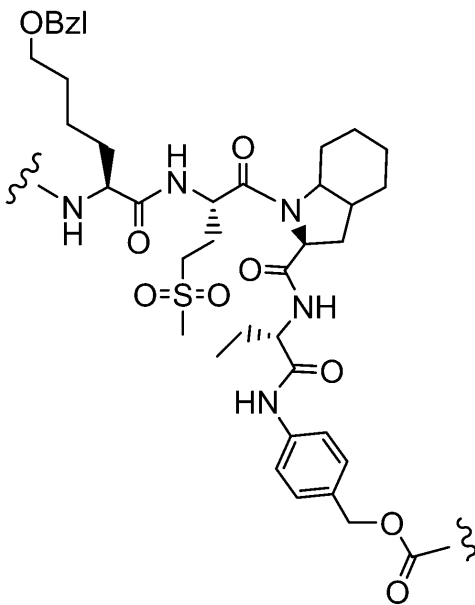
を有する。

【0186】

例示的な実施形態において、PEPは、式：

50

【化 8】



10

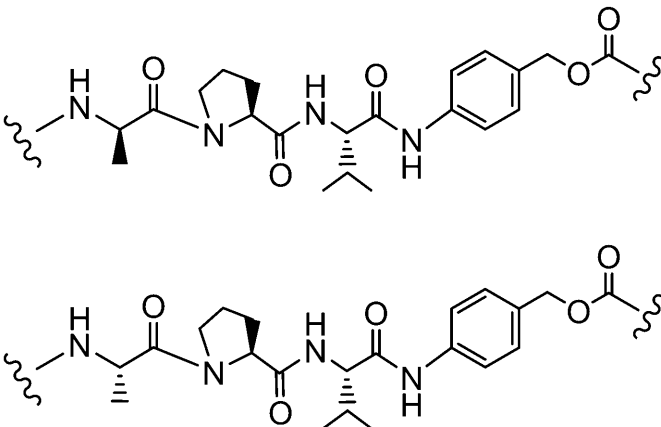
を有する。

20

【0187】

例示的な実施形態において、PEPは、式：

【化 9】



、及び

30

から選択される。

【0188】

リンカーは、生物学的媒体、例えば培地または血清中で、イムノコンジュゲートの十分な安定性を提供し、同時に、免疫刺激性PAZ部分、すなわち「ペイロード」の放出を伴う特異的な酵素的または加水分解的切断性の結果としての腫瘍組織内の所望の細胞内作用を提供する。

40

【0189】

プロテアーゼ、カテプシン、またはエラスターゼの酵素活性は、生理学的条件下でイムノコンジュゲートの共有結合の切断を触媒することができる。酵素活性は、腫瘍組織に関連する細胞の発現産物である。標的化ペプチドの切断部位での酵素活性により、イムノコンジュゲートが、標的化ペプチド及び連結基を含まない活性な免疫刺激薬に変換される。切断部位は、酵素によって特異的に認識され得る。カテプシンまたはエラスターゼは、特定のペプチドのC末端アミノ酸残基とイムノコンジュゲートの免疫刺激部分との間の特定

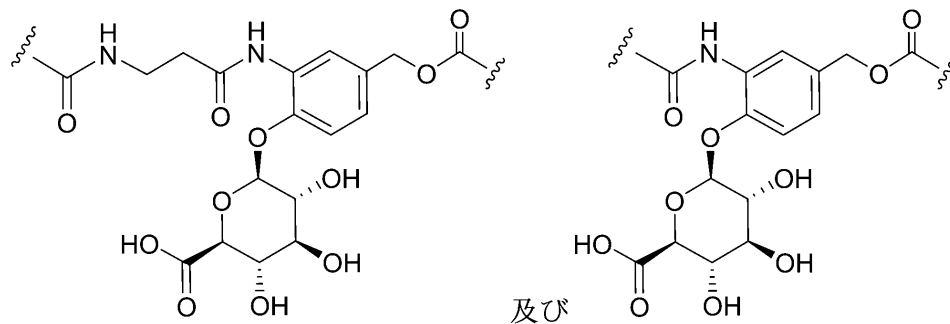
50

のペプチジル結合の切断を触媒し得る。

【0190】

一実施形態では、本発明は、グルクロニダーゼ (Jeffrey SC, et al (2006) *Bioconjug. Chem.* 17 (3) : 831 - 40)、またはスルファターゼ (Bargh JD, et al (2020) *Chem Sci.* 11 (9) : 2375 - 2380) 切断の基質を含む、細胞結合剤と免疫刺激部分との間の連結ユニット、すなわちLもしくはリンカーを含む。特に、Lは、Glucユニットを含み、

【化10】



から選択される式を含む。

【0191】

本発明のイムノコンジュゲートの特異的切断は、免疫系の腫瘍浸潤細胞及び白血球分泌酵素の存在を利用して、腫瘍部位での抗がん剤の活性化を促進する。

【0192】

PAZ-リンカー化合物に好適な求電子反応性官能基としては、N-ヒドロキシスクシンイミジル (NHS) エステル及びN-ヒドロキシスルホスクシンイミジル (スルホ-NHS) エステル (アミン反応性)、カルボジイミド (アミン及びカルボキシル反応性)、ヒドロキシメチルホスフィン (アミン反応性)、マレイミド (チオール反応性)、N-ヨードアセトアミドなどのハロゲン化アセトアミド (チオール反応性)、アリアルアジド (一級アミン反応性)、フッ素化アリアルアジド (炭素-水素 (C-H) 挿入を介して反応性)、ペンタフルオロフェニル (PF₅) エステル (アミン反応性)、テトラフルオロフェニル (TF₄) エステル (アミン反応性)、イミドエステル (アミン反応性)、イソシアネート (ヒドロキシル反応性)、ビニルスルホン (チオール、アミン、及びヒドロキシル反応性)、ピリジジルスルフィド (チオール反応性)、及びベンゾフェノン誘導体 (C-H 結合挿入を介して反応性)、が含まれるが、これらに限定されない。さらなる試薬としては、Hermanson, *Bioconjugate Techniques 2nd Edition*, Academic Press, 2008に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0193】

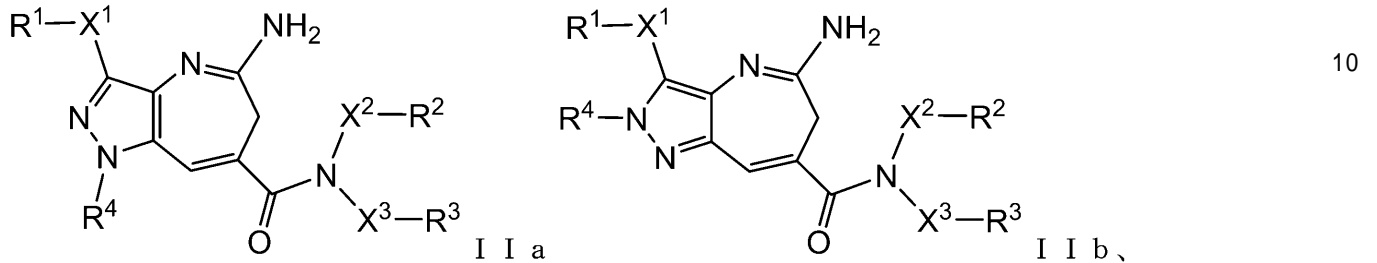
本発明は、イムノコンジュゲートの設計、調製及び使用に対する制限及び課題に対する解決策を提供する。一部のリンカーは、血流中で不安定であり、それにより、標的細胞内での内在化前に許容できない量のアジュバント/薬物を放出することがある (Khot, A. et al (2015) *Bioanalysis* 7 (13) : 1633 - 1648)。他のリンカーは、血流中では安定性を提供し得るが、細胞内放出の有効性に悪影響が及ぼされ得る。所望の細胞内放出を提供するリンカーは典型的には、血流中での安定性に乏しい。換言すると、血流安定性及び細胞内放出は典型的には、反比例関係にある。さらに、標準的なコンジュゲーションプロセスにおいて、抗体上に負荷されたアジュバント/薬物部分、すなわち薬物負荷の量、コンジュゲーション反応において形成される凝集体の量、及び得ることができる最終精製コンジュゲートの収率は、相互に関係する。例えば、凝集体の形成は一般に、抗体にコンジュゲートされるアジュバント/薬物部分及びその誘導

体の当量数に正相関する。高薬物負荷下では、形成された凝集体は、治療用途では除去されなければならない。結果として、薬物負荷媒介凝集体形成は、イムノコンジュゲートの収率を減少させ、プロセスの規模拡大を困難にする場合がある。

【0194】

例示的な実施形態は、式 I I a 及び I I b :

【化11】



の 5 - アミノピラゾロアゼピン - リンカー化合物を含み、

X¹、X²、及びX³は、結合、C(=O)、C(=O)N(R⁵)、O、N(R⁵)、S、S(O)₂、及びS(O)₂N(R⁵)からなる群から独立して選択され、

R¹、R²、R³、及びR⁴は、H、C₁-C₁₂アルキル、C₂-C₆アルケニル、C₂-C₆アルキニル、C₃-C₁₂カルボシクリル、C₆-C₂₀アリール、C₂-C₉ヘテロシクリル、及びC₁-C₂₀ヘテロアリールからなる群から独立して選択され、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル、及びヘテロアリールは、

- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - OR⁵、
- (C₃-C₁₂カルボシクリル)、
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - *
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - NR⁵ - C(=NR⁵)NR⁵ - *
- (C₆-C₂₀アリール)、
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - *
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - N(R⁵) - *
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - (C₂-C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *
- (C₂-C₂₀ヘテロシクリル)、
- (C₂-C₂₀ヘテロシクリル) - *
- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *
- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - C(=O) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})NR⁵ - *
- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - NR⁵ - (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - (C₆ - C₂₀アリールジイル) - *
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリール)、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - *
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- C(=O) - *
- C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- C(=O) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *
- C(=O)N(R⁵)₂、
- C(=O)N(R⁵) - *
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - *
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O)N(R⁵) - *
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)R⁵、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)CO₂R⁵、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₈アルキルジイル) - NR⁵(C₂ - C₅ヘテロアリール)、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - N(R⁵) - *
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - *
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *
- N(R⁵)₂、
- N(R⁵) - *
- N(R⁵)C(=O)R⁵、
- N(R⁵)C(=O) - *
- N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
- N(R⁵)C(=O)N(R⁵) - *
- N(R⁵)CO₂R⁵、
- N(R⁵)CO₂(R⁵) - *
- NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
- NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵) - *
- NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
- N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- N(R⁵) - (C₂ - C₅ヘテロアリール)、
- N(R⁵) - S(=O)₂ - (C₁ - C₁₂アルキル)、
- O - (C₁ - C₁₂アルキル)、
- O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- OC(=O)N(R⁵)₂、

10

20

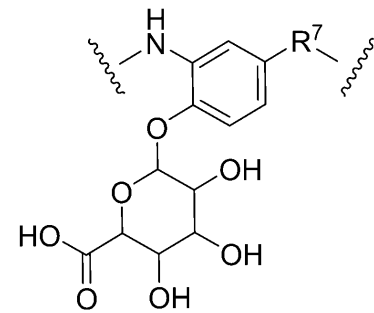
30

40

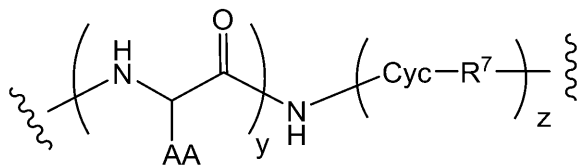
50

- $OC(=O)N(R^5) - *$ 、
 - $S(=O)_2 - (C_2 - C_{20} \text{ヘテロシクリルジイル}) - *$ 、
 - $S(=O)_2 - (C_2 - C_{20} \text{ヘテロシクリルジイル}) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - N(R^5)_2$ 、
 - $S(=O)_2 - (C_2 - C_{20} \text{ヘテロシクリルジイル}) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - NR^5 - *$ 、及び
 - $S(=O)_2 - (C_2 - C_{20} \text{ヘテロシクリルジイル}) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - OH$ から選択される1つ以上の基で独立して任意選択で置換されており、
 または R^2 及び R^3 は一緒になって5員もしくは6員のヘテロシクリル環を形成し、
 R^5 は、 H 、 $C_6 - C_{20}$ アリアル、 $C_3 - C_{12}$ カルボシクリル、 $C_2 - C_{20}$ ヘテロシクリル、 $C_6 - C_{20}$ アリアルジイル、 $C_1 - C_{12}$ アルキル、及び $C_1 - C_{12}$ アルキルジイル、
 10 からの群から選択されるか、または2つの R^5 基が一緒になって5員または6員のヘテロシクリル環を形成しており、
 R^{5a} は、 $C_6 - C_{20}$ アリアル及び $C_1 - C_{20}$ ヘテロアリアルからの群から選択され、
 アスタリスク $*$ は、 L の結合部位を示し、 R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 のうちの1つが、 L に結合しており、
 L は、
 $Q - C(=O) - PEG -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - C(=O)N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - C$ 20
 $(=O) - Gluc -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - O -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - O - C(=O) -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - C(=O) -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - C(=O) - PEP -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - N(R^6) -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - N(R^6) - C(=O) -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - N(R^6) - PEG - C(=O) - PEP -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - N^+(R^6)_2 - PEG - C(=O) - PEP -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) -$ 、 30
 $Q - C(=O) - PEG - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル})N(R^6)C(=O) - (C_2 - C_5 \text{モノヘテロシクリルジイル}) -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - SS - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - OC(=O) -$ 、
 $Q - C(=O) - PEG - SS - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - C(=O) -$ 、
 $Q - C(=O) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - C(=O) - PEP -$ 、
 $Q - C(=O) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) -$ 、
 $Q - C(=O) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - N(R^5) - C(=O)$ 、 40
 $Q - C(=O) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - N(R^6)C(=O) - (C_2 - C_5 \text{モノヘテロシクリルジイル}) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - C(=O)N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - C(=O) - Gluc -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - O -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - O - C(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - C(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - N(R^5) -$ 、 50

$Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - N(R^5) - C(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - C(=O) - PEP -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - SS - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - OC(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) N(R^6) C(=O) -$ 、及び
 $Q - (CH_2)_m - C(=O) - PEP - N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) N(R^6) C(=O) - (C_2 - C_5 \text{モノヘテロシクリルジイル}) -$ 、からなる群から選
 択されるリンカーであり、
 R^6 は、独立して、Hまたは $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 PEG は、式： $-(CH_2CH_2O)_n - (CH_2)_m -$ を有し、 m は1～5の整数であり、 n は2～50の整数であり、
 $Gluc$ は、式：
 【化12】



を有し、
 PEP は、式：
 【化13】



を有し、 AA は、天然もしくは非天然アミノ酸側鎖から独立して選択されるか、または1
 つ以上の AA と隣接する窒素原子が5員環プロリンアミノ酸を形成し、波線は結合点を示
 し、
 Cyc は、 $C_6 - C_{20}$ アリアルジイル及び $C_1 - C_{20}$ ヘテロアリアルジイルから選択
 され、任意選択で、 F 、 Cl 、 NO_2 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、及び：

10

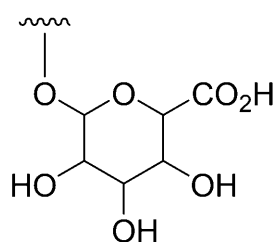
20

30

40

50

【化 1 4】



10

の構造を有するグルクロン酸から選択される1つ以上の基で置換されており、

R^7 は、 $-CH(R^8)O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2N(R^8)-$ 、及び $-CH(R^8)O-C(=O)-$ からなる群から選択され、 R^8 は、 H 、 C_1-C_6 アルキル、 $C(=O)-C_1-C_6$ アルキル、及び $-C(=O)N(R^9)_2$ から選択され、 R^9 は、 H 、 C_1-C_{12} アルキル、及び $-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_m-OH$ からなる群から独立して選択され、 m は1~5の整数であり、 n は2~50の整数であり、または2つの R^9 基が一緒になって5員もしくは6員のヘテロシクリル環を形成し、

y は、2~12の整数であり、

z は、0または1であり、

Q は、 F 、 Cl 、 NO_2 及び SO_3^- から独立して選択される1つ以上の基で置換された N -ヒドロキシスクシンイミジル、 N -ヒドロキシスルホスクシンイミジル、マレイミド、及びフェノキシからなる群から選択され、

20

アルキル、アルキルジイル、アルケニル、アルケニルジイル、アルキニル、アルキニルジイル、アリール、アリールジイル、カルボシクリル、カルボシクリルジイル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルジイル、ヘテロアリール、及びヘテロアリールジイルは、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 $-CN$ 、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-C(CH_3)_2OH$ 、 $-CH(OH)CH(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2SO_2CH_3$ 、 $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-CH_2CF_3$ 、 $-CH_2CHF_2$ 、 $-CH(CH_3)CN$ 、 $-C(CH_3)_2CN$ 、 $-CH_2CN$ 、 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2NH_2SO_2CH_3$ 、 $-CH_2NHCH_3$ 、 $-CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-COCH_3$ 、 $-CO_2CH_3$ 、 $-CO_2C(CH_3)_3$ 、 $-COCH(OH)CH_3$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHCH_3$ 、 $-CON(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_2CONH_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-NHCOCH_3$ 、 $-N(CH_3)COCH_3$ 、 $-NHS(O)_2CH_3$ 、 $-N(CH_3)C(CH_3)_2CONH_2$ 、 $-N(CH_3)CH_2CH_2S(O)_2CH_3$ 、 $-NHC(=NH)H$ 、 $-NHC(=NH)CH_3$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $=O$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、 $-OCH_2CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_mCO_2H$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_nH$ 、 $-OP(O)(OH)_2$ 、 $-S(O)_2N(CH_3)_2$ 、 $-SCH_3$ 、 $-S(O)_2CH_3$ 、及び $-S(O)_3H$ 、から独立して選択される1つ以上の基で、任意選択で置換される。

30

40

【0195】

式 I I のピラゾロアゼピン-リンカー化合物の例示的な実施形態は、 X^1 が結合であり、 R^1 が H であることを含む。

【0196】

式 I I のピラゾロアゼピン-リンカー化合物の例示的な実施形態は、 X^2 が結合であり、 R^2 が C_1-C_8 アルキルであることを含む。

【0197】

50

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 X^2 及び X^3 がそれぞれ結合であり、 R^2 及び R^3 が、独立して、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-O - (C_1 - C_{12}$ アルキル)、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - OR^5 、 $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル) - $N(R^5)CO_2R^5$ 、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキル) - $OC(O)N(R^5)_2$ 、 $-O - (C_1 - C_{12}$ アルキル) - $N(R^5)CO_2R^5$ 、及び $-O - (C_1 - C_{12}$ アルキル) - $OC(O)N(R^5)_2$ から選択されることを含む。

【0198】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 R^2 が $C_1 - C_8$ アルキルであり、 R^3 が $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル) - $N(R^5)CO_2R^4$ であることを含む。

10

【0199】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が、 $-CH_2CH_2CH_2NHCO_2(t-Bu)$ 、 $-OCH_2CH_2NHCO_2$ (シクロブチル)、及び $-CH_2CH_2CH_2NHCO_2$ (シクロブチル) から選択されることを含む。

【0200】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 R^2 及び R^3 が、それぞれ独立して、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CF_3$ 、 $-CH_2CH_2CF_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、及び $-CH_2CH_2CH_2OH$ から選択されることを含む。

20

【0201】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 R^2 及び R^3 が、それぞれ、 $-CH_2CH_2CH_3$ であることを含む。

【0202】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が $-OCH_2CH_3$ であることを含む。

【0203】

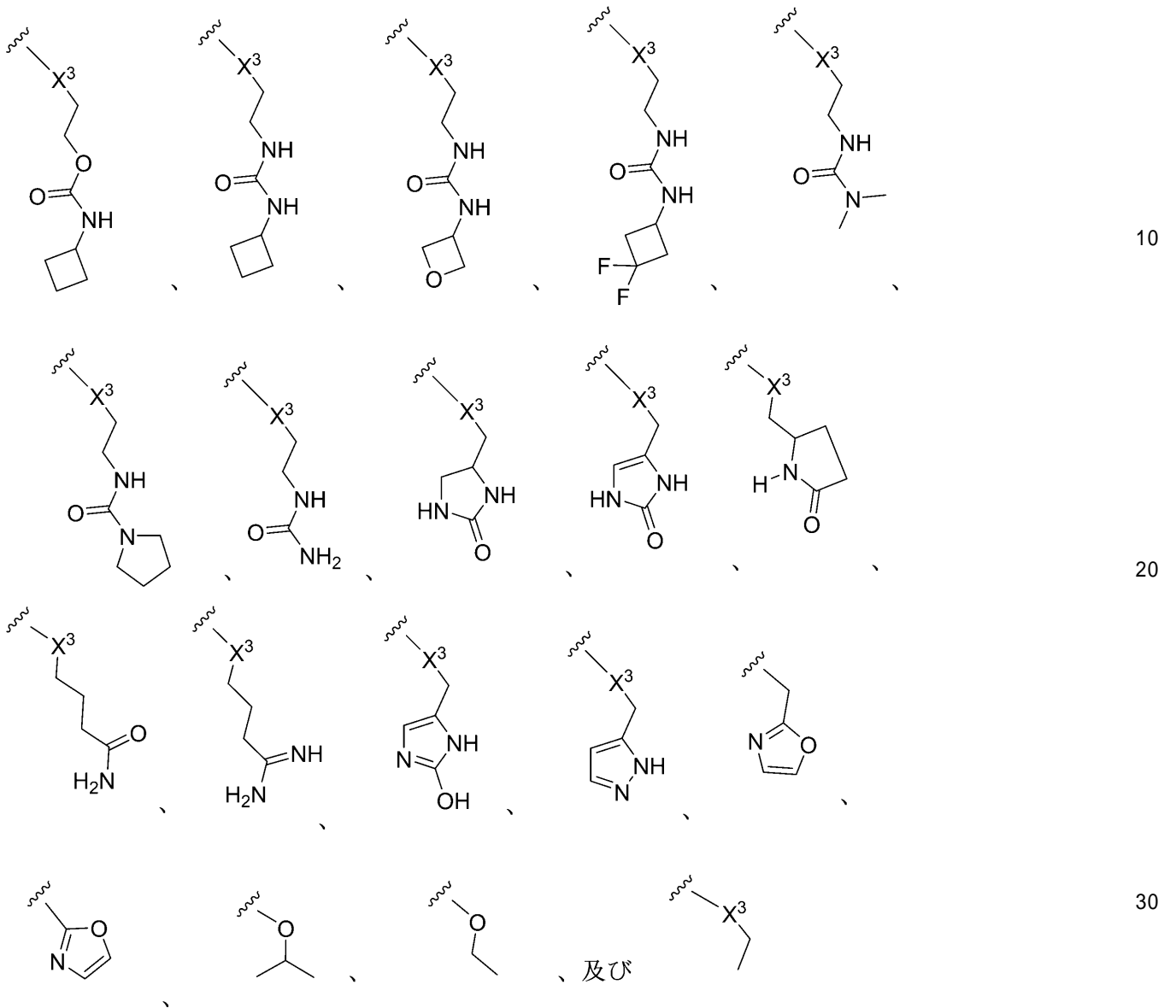
式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 $X^3 - R^3$ が、

30

40

50

【化 1 5】



からなる群から選択されることを含む。

【0204】

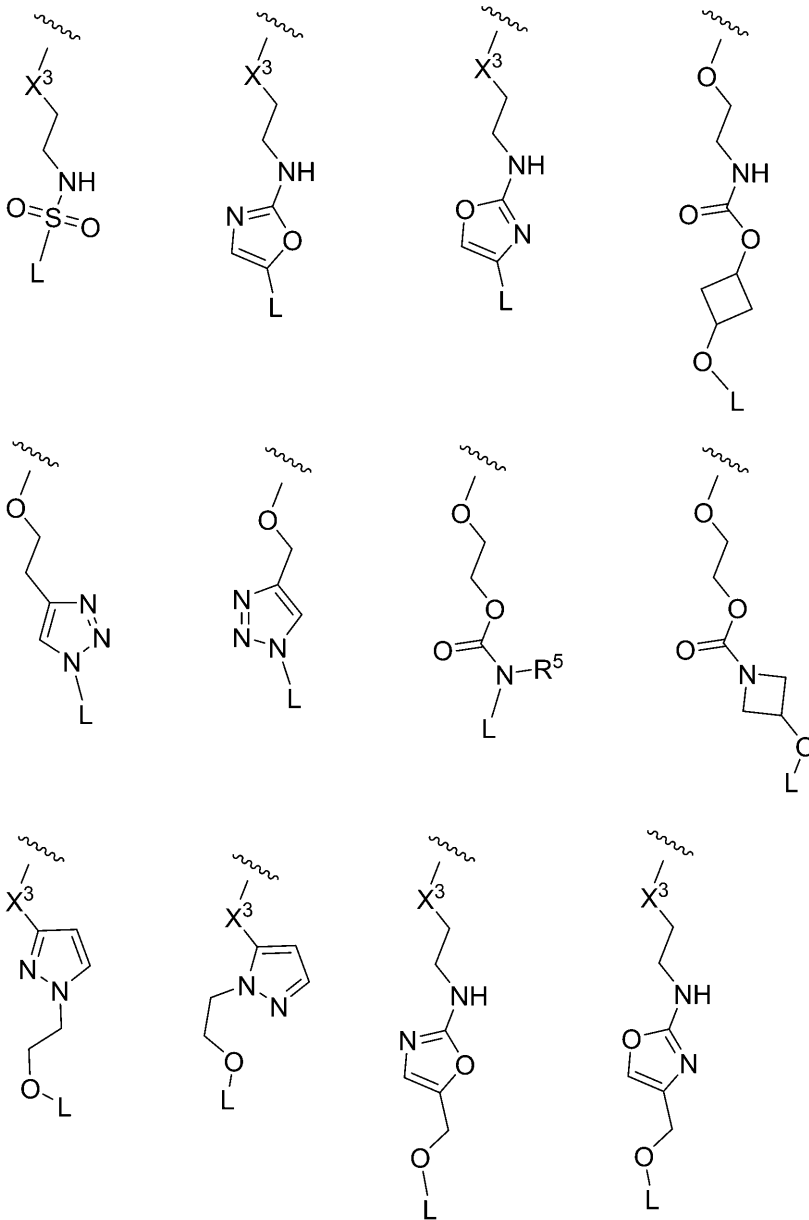
式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 R^2 または R^3 が L に結合していることを含む。

【0205】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 $X^3 - R^3 - L$ が

40

【化 1 6】



からなる群から選択されることを含み、
波線は、Nへの結合点を示す。

【0206】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 R^4 が $C_1 - C_{12}$ アルキルであることを含む。

【0207】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、 R^4 が $-(C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - $N(R^5)$ - * であることを含み、アスタリスク*は、Lの結合部位を示す。

【0208】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、Lが、 $-C(=O) - PEG -$ または $-C(=O) - PEG - C(=O) -$ であることを含む。

【0209】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、PEGについて、 m が 1 または 2 であり、 n が 2 ~ 10 の整数であることを含む。

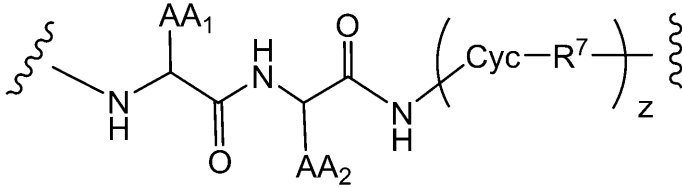
【0210】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、P E G について、 n が 10 であることを含む。

【0211】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、L が P E P を含み、P E P が、ジペプチドであり、式：

【化17】



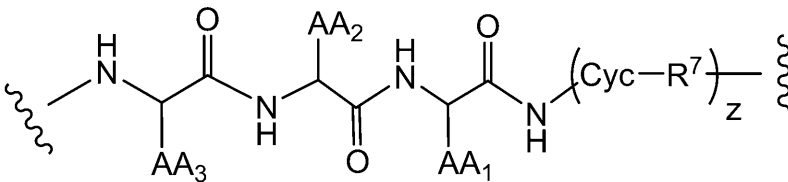
10

を有することを含む。

【0212】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、L が P E P を含み、P E P が、トリペプチドであり、式：

【化18】



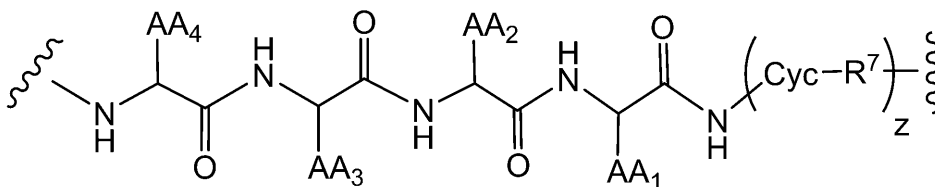
20

を有することを含む。

【0213】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、L が P E P を含み、P E P が、テトラペプチドであり、式：

【化19】



30

を有することを含む。

【0214】

式 I I L のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、L が P E P を含み、P E P がテトラペプチドであり、

AA₁ が、A b u、A l a、及び V a l からなる群から選択され、

AA₂ が、N l e (O - B z l)、O i c、及び P r o からなる群から選択され、

AA₃ が、A l a 及び M e t (O)₂ からなる群から選択され、

AA₄ が、O i c、A r g (N O₂)、B p a、及び N l e (O - B z l) からなる群から選択されることを含む。

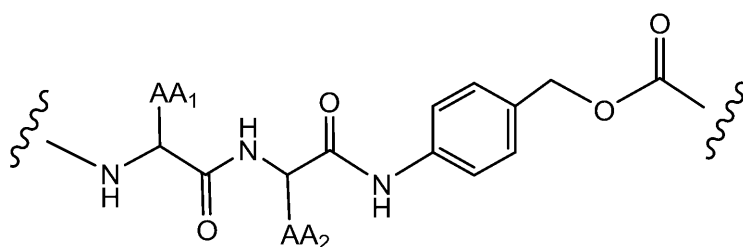
【0215】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、P E P が、式：

40

50

【化 2 0】



10

を有し、

AA₁ 及び AA₂ が、天然アミノ酸の側鎖から独立して選択されることを含む。

【0216】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、AA₁ 及び AA₂ が、H、-CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH₂(C₆H₅)、-CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂CH₂NHC(NH)NH₂、-CHCH(CH₃)CH₃、-CH₂SO₃H、及び -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ から独立して選択されるか、または AA₁ 及び AA₂ が、5員環のプロリンアミノ酸を形成することを含む。

【0217】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、AA₁ が -CH(CH₃)₂ であり、AA₂ が -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ であることを含む。

20

【0218】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、AA₁ 及び AA₂ が、GlcNAc アスパラギン酸、-CH₂SO₃H、及び -CH₂OPO₃H から独立して選択されることを含む。

【0219】

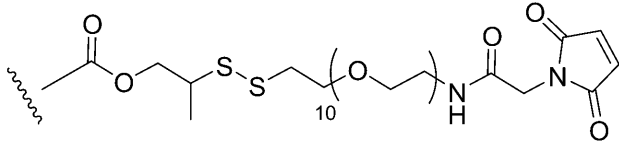
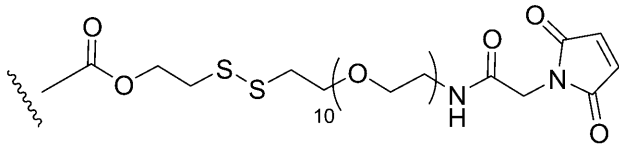
式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、L が、構造：

30

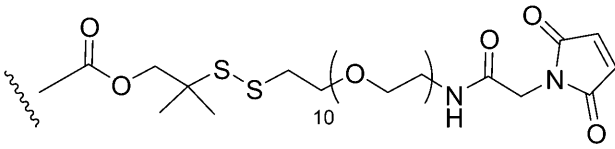
40

50

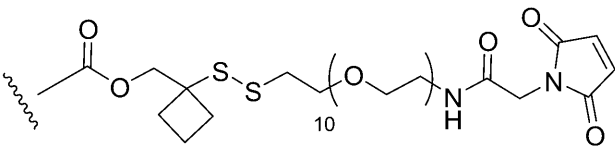
【化 2 1】



10



20



から選択されることを含み、
波線は、 R^1 、 R^2 、 R^3 、及び R^4 のうちの1つへの結合を示す。

【0220】

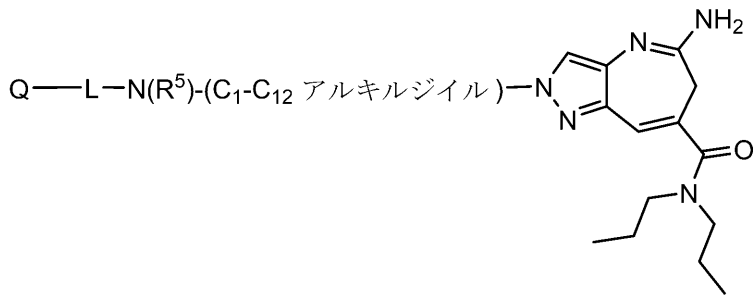
式IIのピラゾロアゼピンリンカー化合物の例示的な実施形態は、式IIa~IId:

30

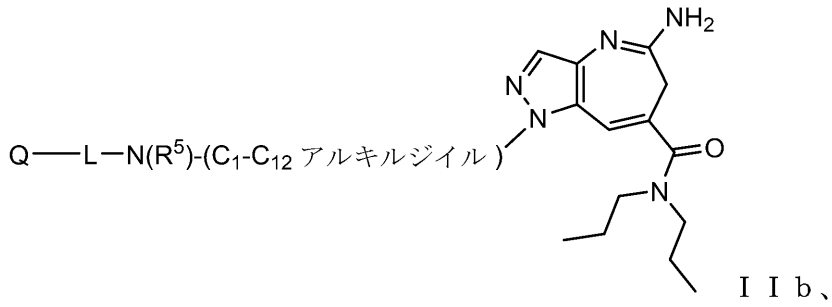
40

50

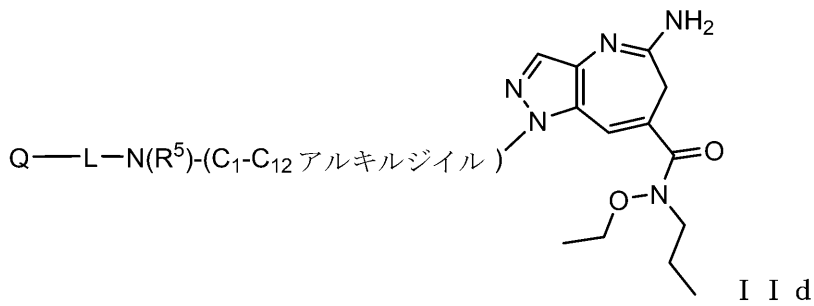
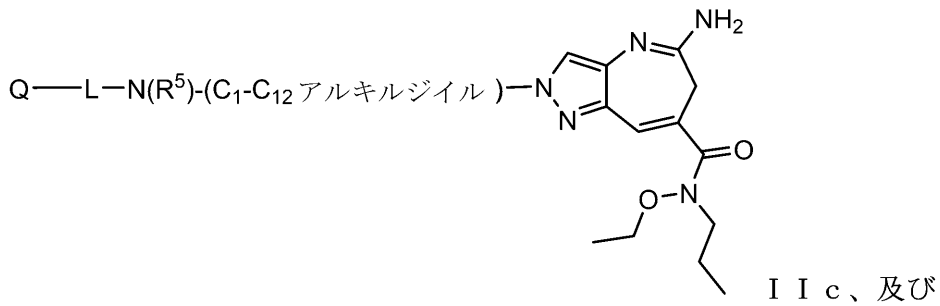
【化 2 2】



10



20



30

から選択される。

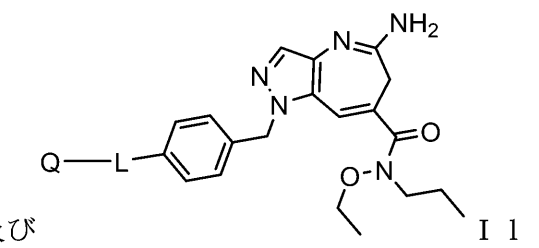
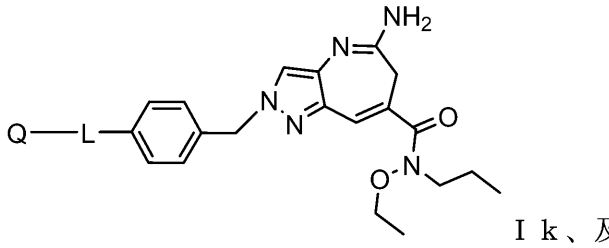
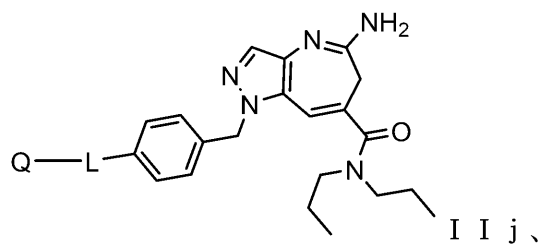
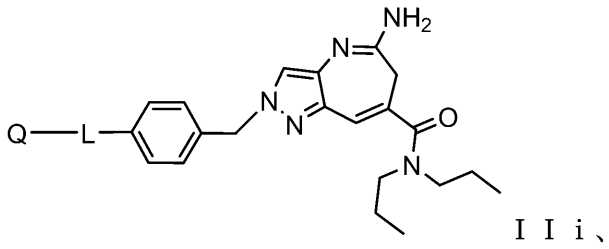
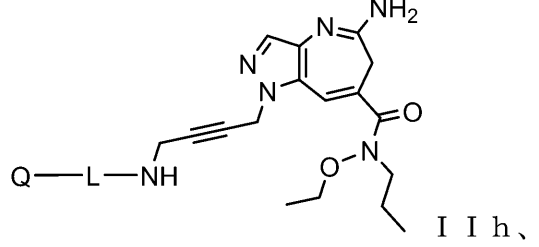
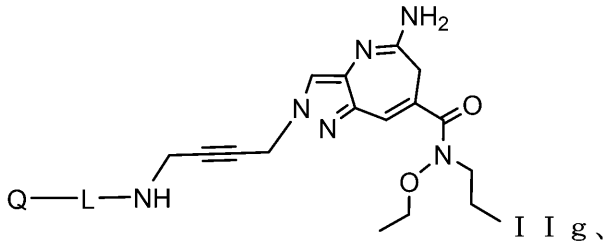
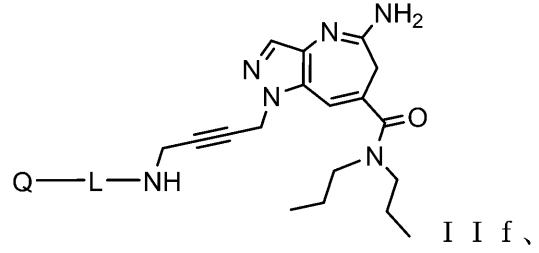
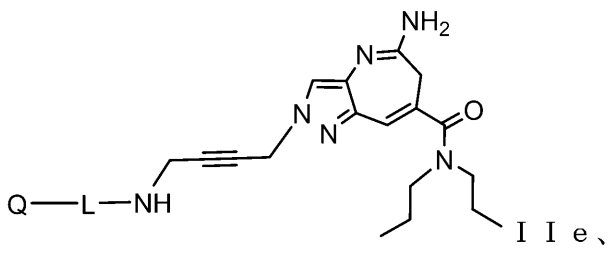
【0221】

式 I I のピラゾロアゼピンリンカー化合物の例示的な実施形態は、式 I I e ~ I I l :

40

50

【化 2 3】

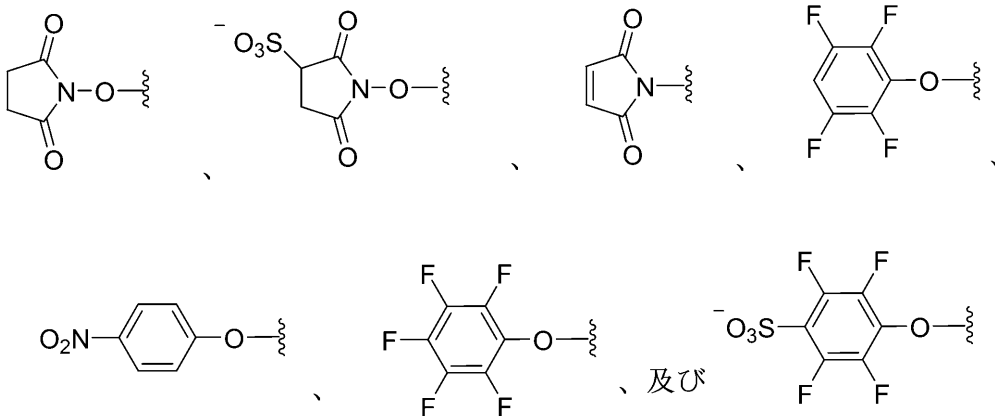


から選択される。

【 0 2 2 2】

式 II のピラゾロアゼピンリンカー化合物の例示的な実施形態は、Q が：

【化 2 4】



から選択されることを含む。

【 0 2 2 3】

10

20

30

40

50

式 I I のピラゾロアゼピンリンカー化合物の例示的な実施形態は、Q が、1 つ以上の F でフェノキシ置換されていることを含む。

【 0 2 2 4 】

式 I I のピラゾロアゼピンリンカー化合物の例示的な実施形態は、Q が、2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロフェノキシであることを含む。

【 0 2 2 5 】

式 I I のピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、Q がマレイミドであることを含む。

【 0 2 2 6 】

本発明は、式 I I の実施形態の特徴のすべての合理的な組み合わせ及び順列を含む。

10

【 0 2 2 7 】

ピラゾロアゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、表 2 a 及び 2 b から選択される。各化合物は、質量分析によって特徴付けられ、示された質量を有することが示された。表 2 a 及び 2 b のピラゾロアゼピン - リンカー化合物は、がん及び他の障害を治療するための有用な治療活性を予測し得る T L R 8 アゴニスト選択性の驚くべき予想外の特性を示す。

20

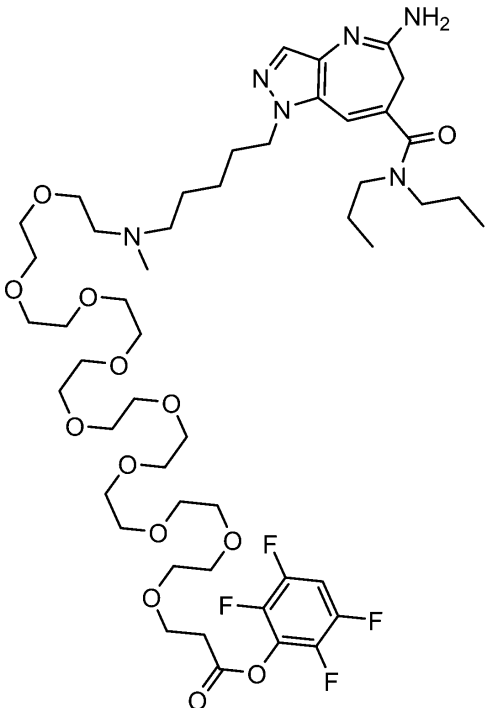
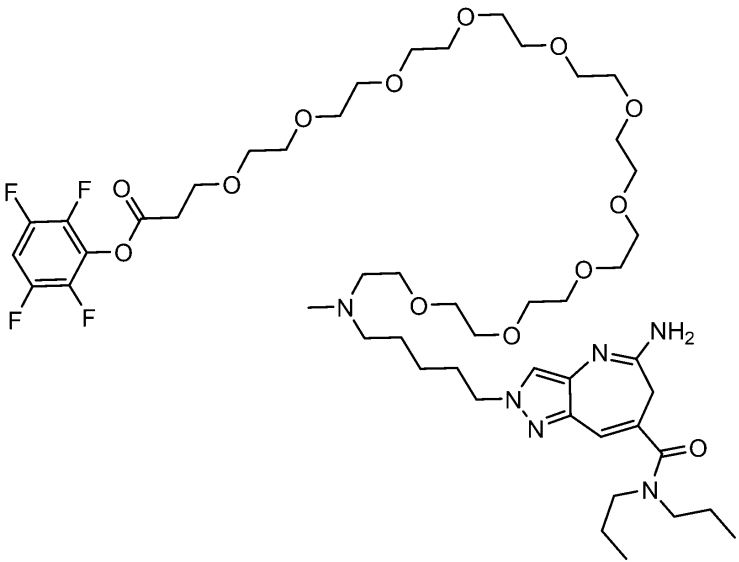
30

40

50

【表 3 2 - 1】

表 2 a ピラゾロアゼピン-リンカー 式 I I 化合物 (PAZ-L)

PAZ-L 番号	構造	分子量
PAZ-L-1		1035.2
PAZ-L-2		1035.2

10

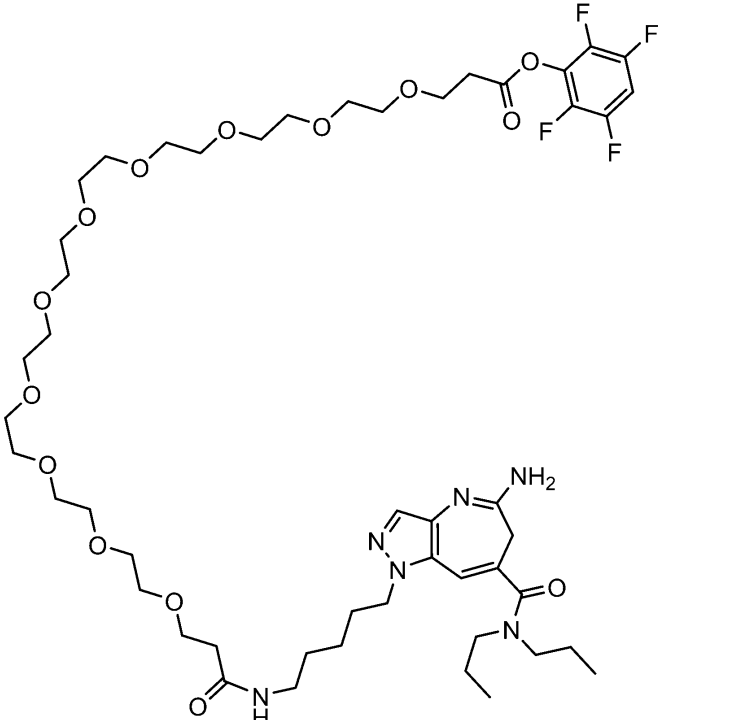
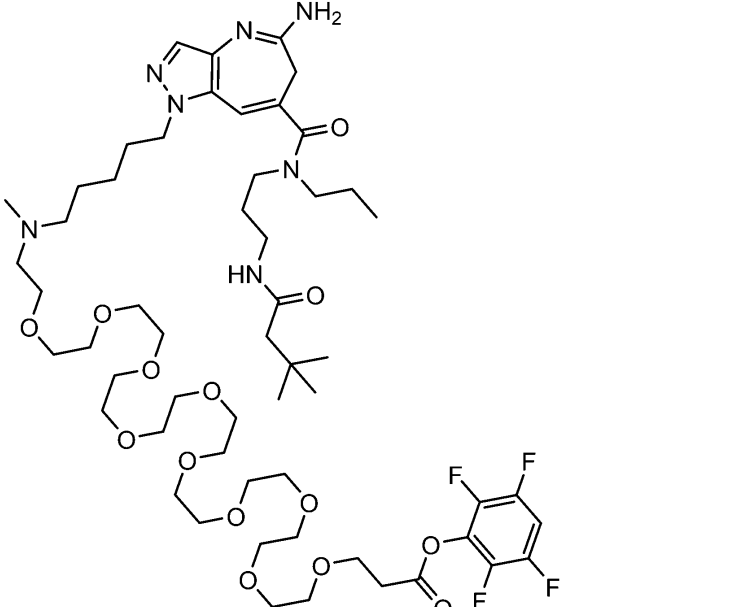
20

30

40

50

【表 3 2 - 2】

PAZ-L-3	 <p>The chemical structure of PAZ-L-3 features a central pyrazolo[1,5-a]pyridine ring system. This core is substituted with an amino group (-NH₂) at the 2-position, a diethylamino group (-N(CH₂CH₃)₂) at the 4-position, and a propylamino group (-NH(CH₂)₃) at the 7-position. The propylamino group is further linked to a long, flexible polyether chain consisting of seven repeating ethylene glycol units (-CH₂-CH₂-O-). The other end of this chain is connected to a 2,3,4,5-tetrafluorophenyl group via an ester linkage (-COO-).</p>	1049.2
PAZ-L-4	 <p>The chemical structure of PAZ-L-4 is a more complex molecule. It contains the same pyrazolo[1,5-a]pyridine core as PAZ-L-3, with an amino group (-NH₂) at the 2-position and a diethylamino group (-N(CH₂CH₃)₂) at the 4-position. However, the 7-position is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂) instead of a propylamino group. This dimethylamino group is connected to a long polyether chain consisting of six repeating ethylene glycol units (-CH₂-CH₂-O-). The other end of this chain is linked to a 2,3,4,5-tetrafluorophenyl group via an ester linkage (-COO-). Additionally, there is a tert-butyl group attached to the nitrogen atom of the dimethylamino group.</p>	1148.3

10

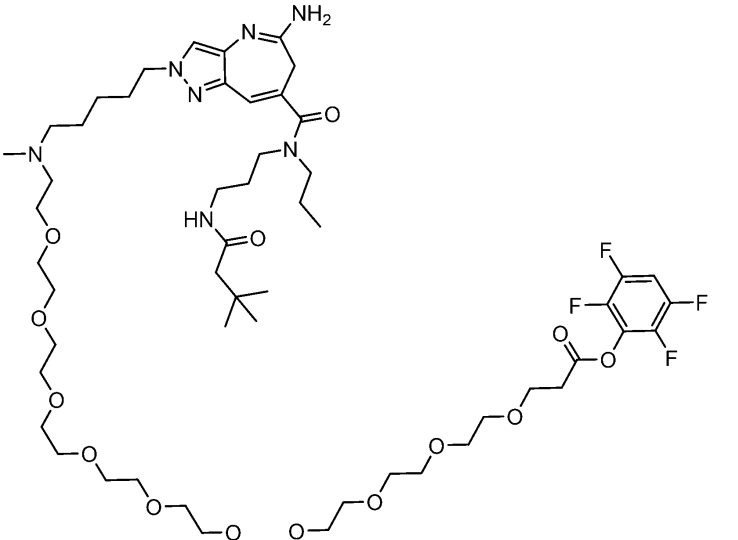
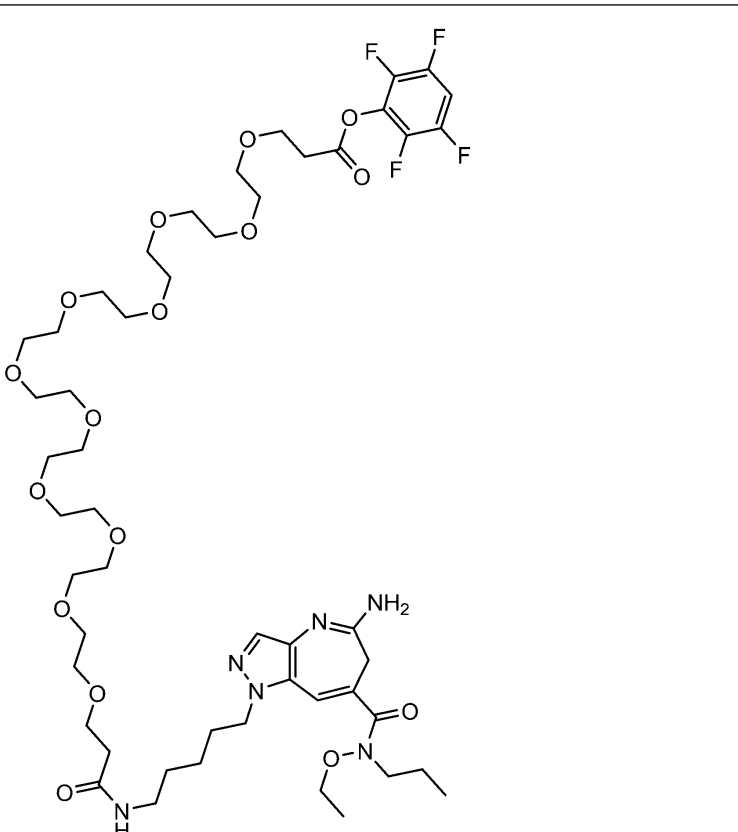
20

30

40

50

【表 3 2 - 3】

PAZ-L-5	 <p>The structure of PAZ-L-5 features a central pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-2-amine core. This core is substituted with a long, flexible polyether chain (approximately 12 oxygen atoms) that is terminated by a piperazine ring. The piperazine ring is further substituted with a tert-butyl amide group and a 2,4,6-trifluorophenoxy group. The trifluorophenoxy group is connected to the polyether chain via a propyl linker.</p>	1148.3
PAZ-L-6	 <p>The structure of PAZ-L-6 consists of a pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-2-amine core. This core is substituted with a long, flexible polyether chain (approximately 12 oxygen atoms) that is terminated by a piperazine ring. The piperazine ring is further substituted with a tert-butyl amide group and a 2,4,6-trifluorophenoxy group. The trifluorophenoxy group is connected to the polyether chain via a propyl linker.</p>	1095.2

10

20

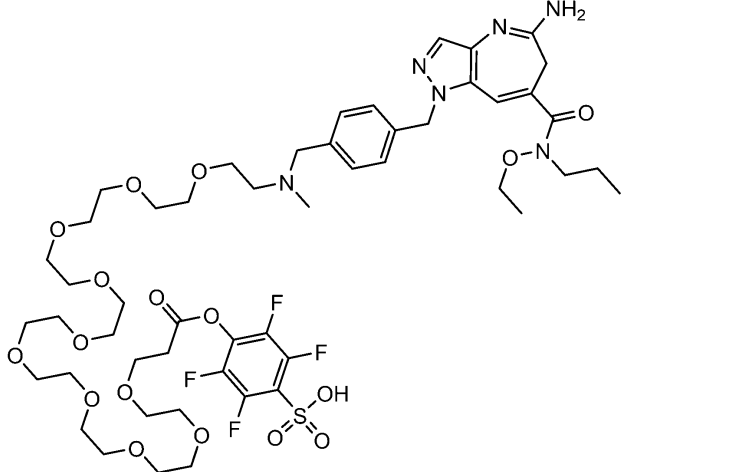
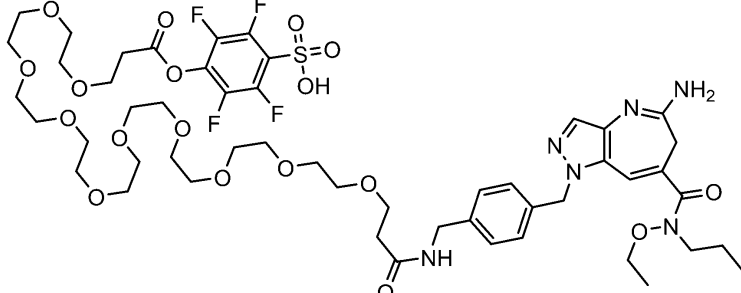
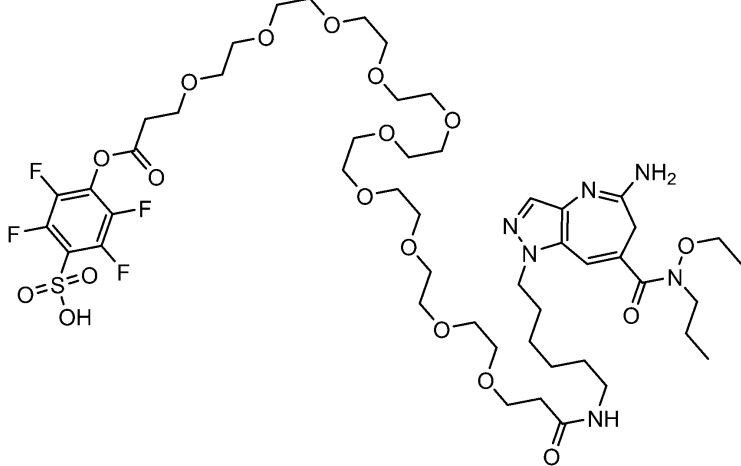
30

40

50

【表 3 3 - 1】

表 2 b ピラゾロアゼピンリンカー 式 I I 化合物 (PAZ-L)

PAZ-L 番号	構造	分子量
PAZ-L-11		1151.2
PAZ-L-12		1165.2
PAZ-L-13		1145.2

10

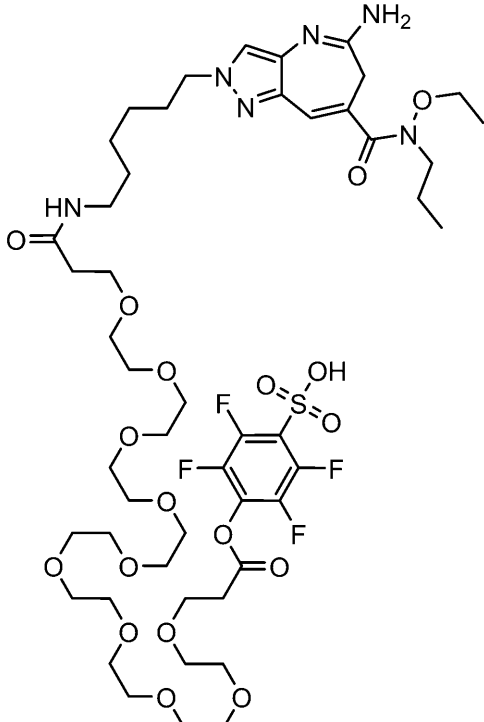
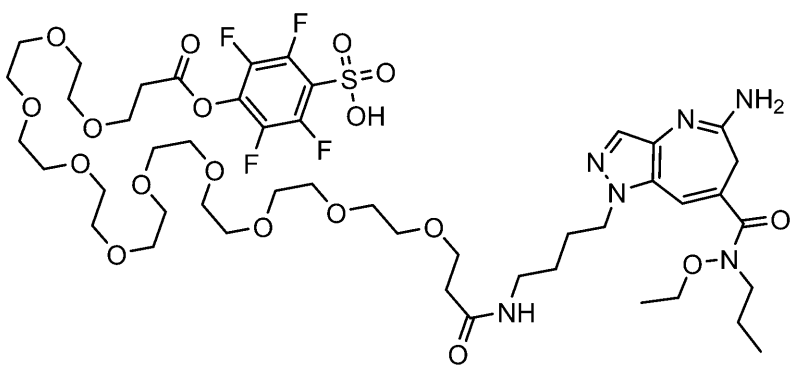
20

30

40

50

【表 3 3 - 2】

PAZ-L-14	 <p>The chemical structure of PAZ-L-14 features a central benzimidazole ring system. One nitrogen atom of the benzimidazole is substituted with a propyl group. The 2-position of the benzimidazole is linked via a methylene group to a pyridine ring. The pyridine ring has an amino group (-NH₂) at the 3-position and a carbonyl group at the 4-position. This carbonyl group is further substituted with a diethylamino group (-N(Et)₂). The 5-position of the pyridine ring is connected to a long, flexible polyether chain consisting of several ethylene glycol units. This chain terminates in a primary amide group (-NH-). The other end of the polyether chain is attached to a 2,4,6-trifluorophenyl ring. This phenyl ring also bears a sulfonic acid group (-SO₃H) and is linked via an ester bond to a 1,3-dioxane ring system.</p>	1145.2
PAZ-L-15	 <p>The chemical structure of PAZ-L-15 is a more complex derivative. It contains the same benzimidazole-pyridine core as PAZ-L-14. However, the diethylamino group on the pyridine ring is replaced by a diethylamino group that is part of a larger, more complex amine structure. The polyether chain from the pyridine ring is significantly longer and more branched, incorporating multiple 1,3-dioxane rings. This chain is linked to a 2,4,6-trifluorophenyl ring, which also has a sulfonic acid group. The phenyl ring is further connected via an ester bond to a 1,3-dioxane ring system, which is then linked to another primary amide group (-NH-).</p>	1117.2

10

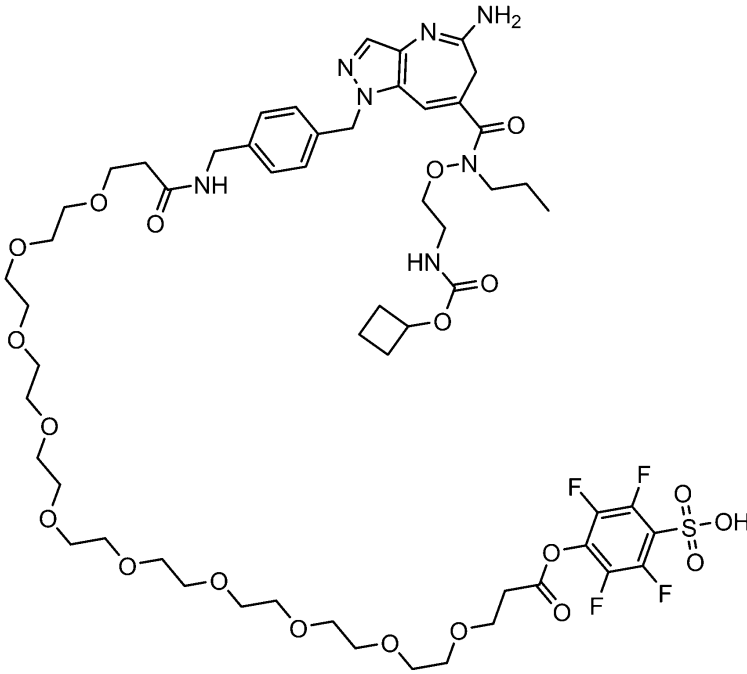
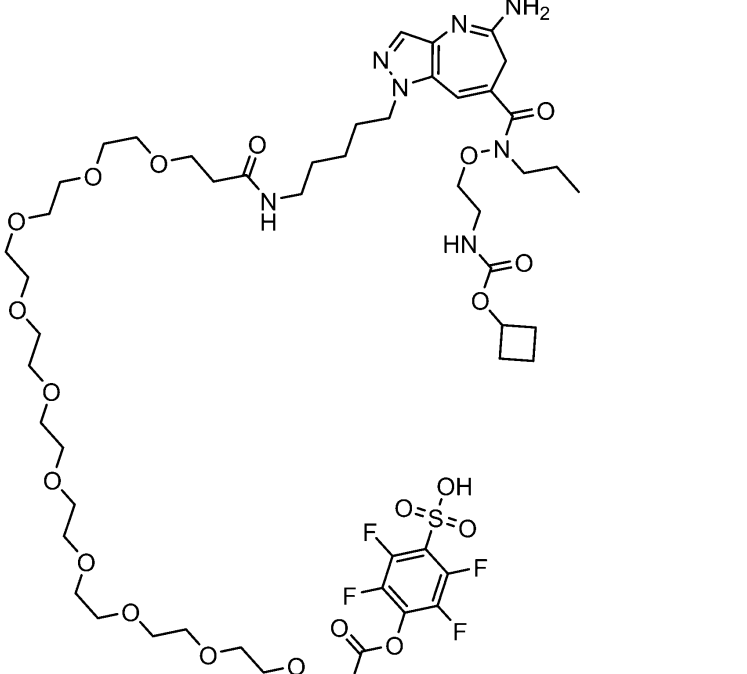
20

30

40

50

【表 3 3 - 3】

PAZ-L-16	 <p>The chemical structure of PAZ-L-16 features a long, flexible polyether chain (polyethylene glycol) with a terminal hydroxyl group. This chain is linked via an ester bond to a 2,4,6-trifluorophenyl ring, which also bears a sulfonic acid group (-SO₃H). The polyether chain is further connected through an amide linkage to a benzene ring, which is in turn linked to a pyrazolo[1,5-a]pyrimidine core. This core has an amino group (-NH₂) at the 2-position and a propylamino group (-NH-CH₂-CH₂-CH₂) at the 4-position. Additionally, a cyclobutane ring is attached to the structure via an amide linkage.</p>	1278.3
PAZ-L-17	 <p>The chemical structure of PAZ-L-17 is similar to PAZ-L-16, featuring a long polyether chain with a terminal hydroxyl group. However, the polyether chain is linked via an amide bond to a propyl chain, which is then connected to the pyrazolo[1,5-a]pyrimidine core. The core has an amino group (-NH₂) at the 2-position and a propylamino group (-NH-CH₂-CH₂-CH₂) at the 4-position. A cyclobutane ring is also attached via an amide linkage.</p>	1244.3

10

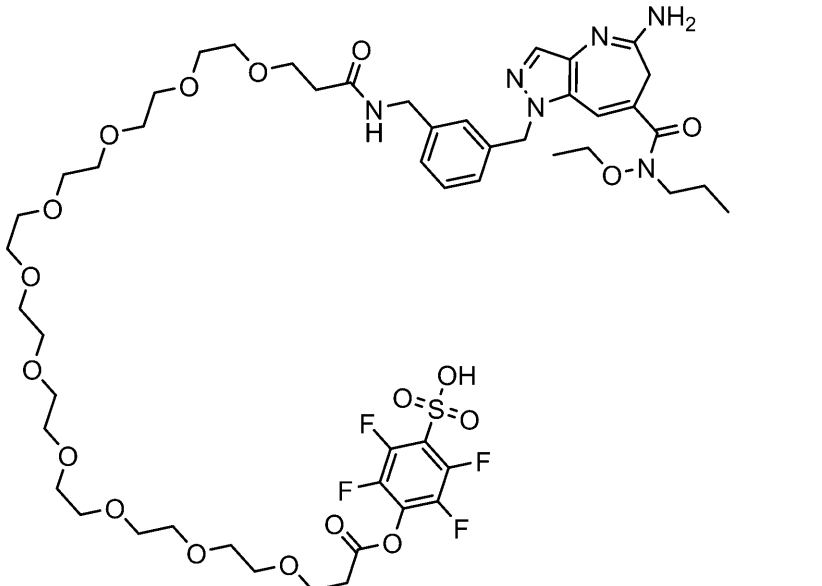
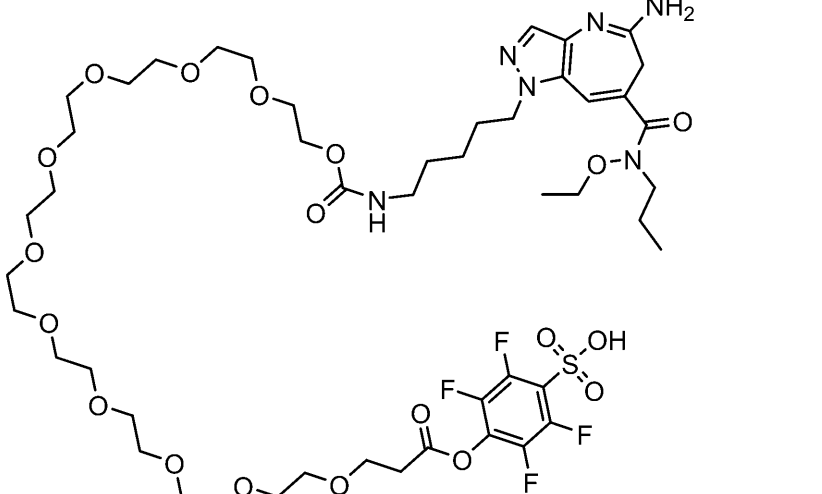
20

30

40

50

【表 3 3 - 4】

PAZ-L-18	 <p>The chemical structure of PAZ-L-18 features a large macrocyclic polyether chain with 10 oxygen atoms. Attached to this chain are three main moieties: a benzamide group (-NH-CH2-C6H4-), a 4-amino-1,2,3,4-tetrahydropyridin-5(1H)-one ring system, and a 2-(2-ethoxyethyl)ethylamino group (-N(Et)2-CH2-CH2-O-CH2-CH2-). A pentafluorophenyl sulfonamide group (-SO2OH-C6H2F5) is also attached to the macrocycle via an ester linkage.</p>	1165.2
PAZ-L-19	 <p>The chemical structure of PAZ-L-19 is similar to PAZ-L-18, featuring the same macrocyclic polyether chain. However, the benzamide group is replaced by a 4-amino-1,2,3,4-tetrahydropyridin-5(1H)-one ring system. The other moieties, including the 2-(2-ethoxyethyl)ethylamino group and the pentafluorophenyl sulfonamide group, remain the same as in PAZ-L-18.</p>	1147.2

10

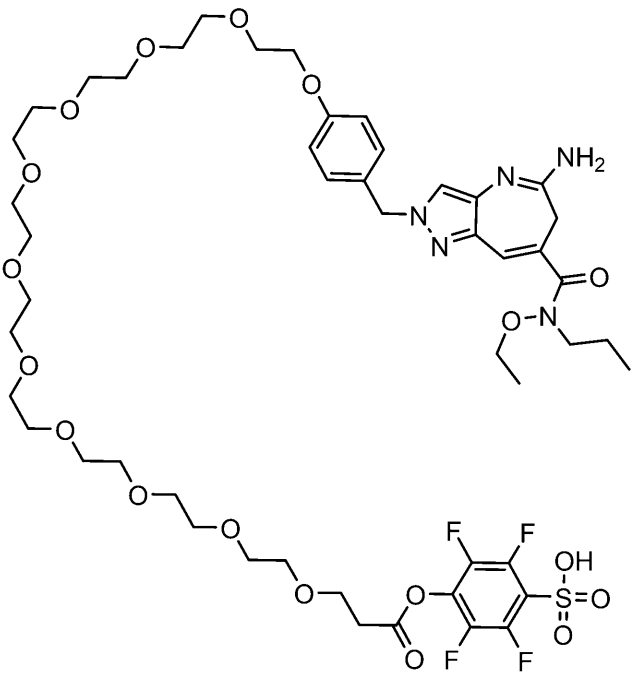
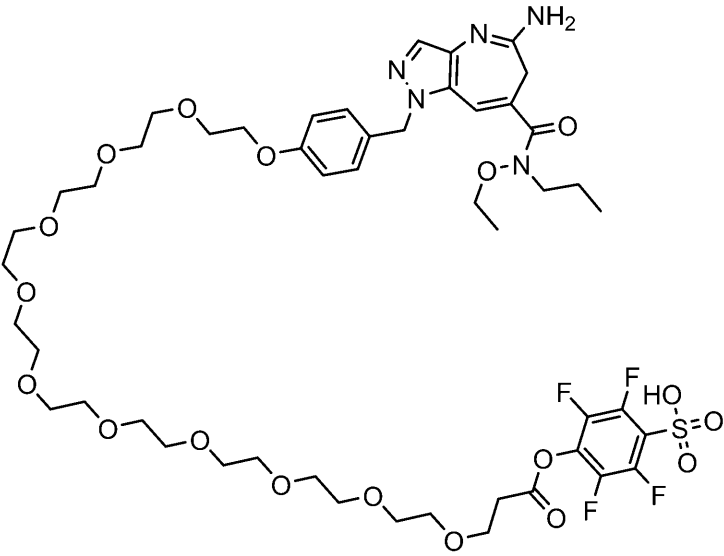
20

30

40

50

【表 3 3 - 5】

PAZ-L-20	 <p>The structure of PAZ-L-20 features a long, flexible polyether chain consisting of 12 repeating units of ethylene glycol (–CH₂–CH₂–O–). One end of the chain is terminated with a hydroxyl group (–OH), and the other end is linked via an ether oxygen to a 4-phenylene ring. This phenylene ring is further connected through a methylene bridge to the nitrogen atom of a fused bicyclic system. The bicyclic system consists of a 5-membered imidazole ring fused to a 6-membered ring containing an amino group (–NH₂) and a carbonyl group (–C(=O)–). The carbonyl group is part of a diethylcarbamate moiety (–N(OC₂H₅)₂).</p>	1124.2
PAZ-L-21	 <p>The structure of PAZ-L-21 is similar to PAZ-L-20 but includes a perfluorinated sulfonate group. It features the same long polyether chain and bicyclic core. The perfluorinated sulfonate group is attached to the chain via a propyl spacer (–CH₂–CH₂–CH₂–O–) and a carbonyl linkage (–C(=O)–). The sulfonate group is represented as a benzene ring with four fluorine atoms (–F) and one sulfonate group (–SO₃H).</p>	1124.2

10

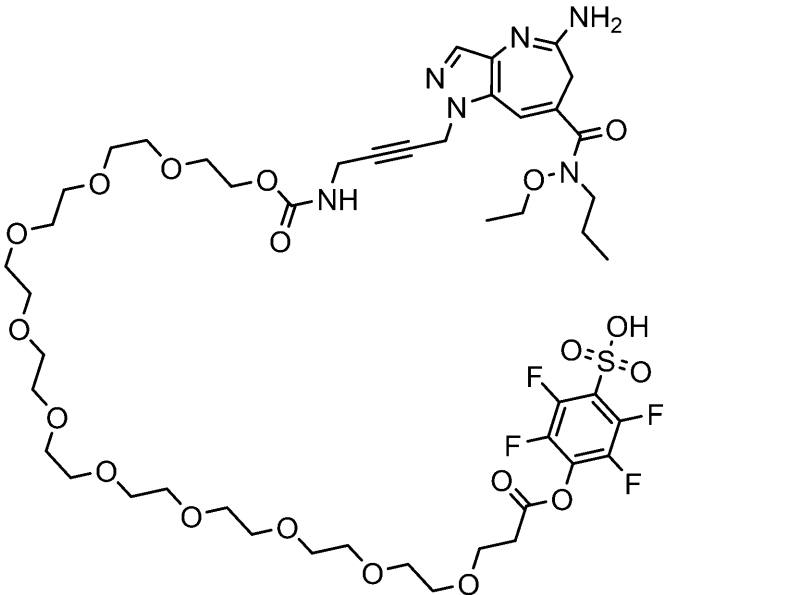
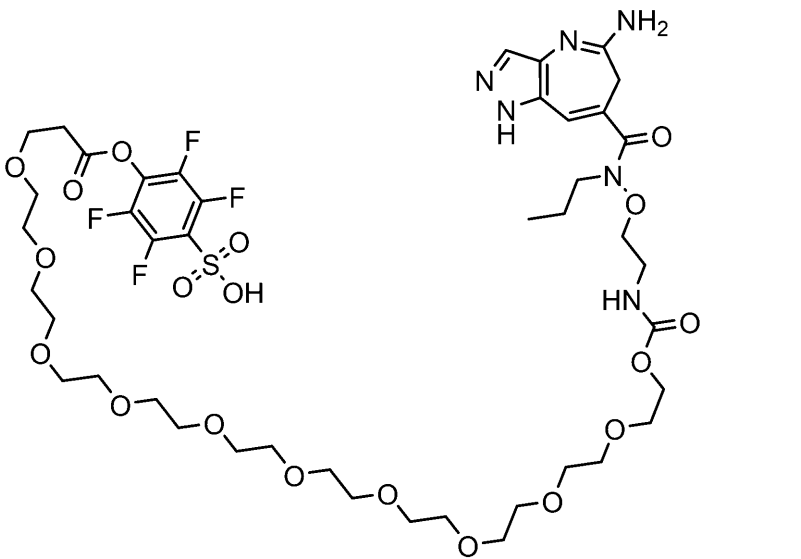
20

30

40

50

【表 3 3 - 6】

PAZ-L-22	 <p>The structure of PAZ-L-22 features a long, flexible polyether chain consisting of 12 repeating units of ethylene glycol. One end of the chain is terminated with a hydroxyl group, which is esterified to a pentafluorophenyl group. The other end of the chain is terminated with a primary amide group (-NH-). This amide group is linked via a propargyl spacer to a pyridine ring. The pyridine ring is substituted with an amino group (-NH₂) and a carbonyl group (-C(=O)-). The carbonyl group is further substituted with a diethylamino group (-N(Et)₂).</p>	1129.1
PAZ-L-23	 <p>The structure of PAZ-L-23 features a long, flexible polyether chain consisting of 12 repeating units of ethylene glycol. One end of the chain is terminated with a hydroxyl group, which is esterified to a pentafluorophenyl group. The other end of the chain is terminated with a primary amide group (-NH-). This amide group is linked via a propargyl spacer to a pyridine ring. The pyridine ring is substituted with an amino group (-NH₂) and a carbonyl group (-C(=O)-). The carbonyl group is further substituted with a diethylamino group (-N(Et)₂).</p>	1077.1

10

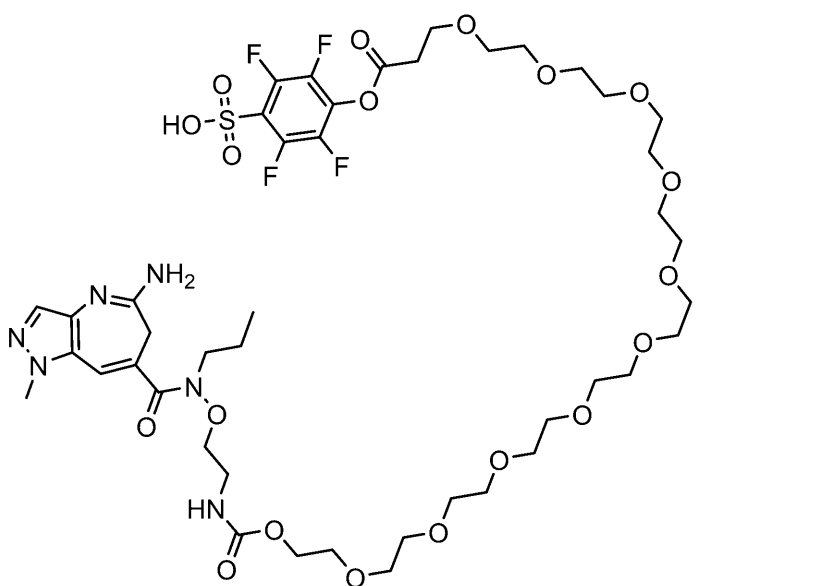
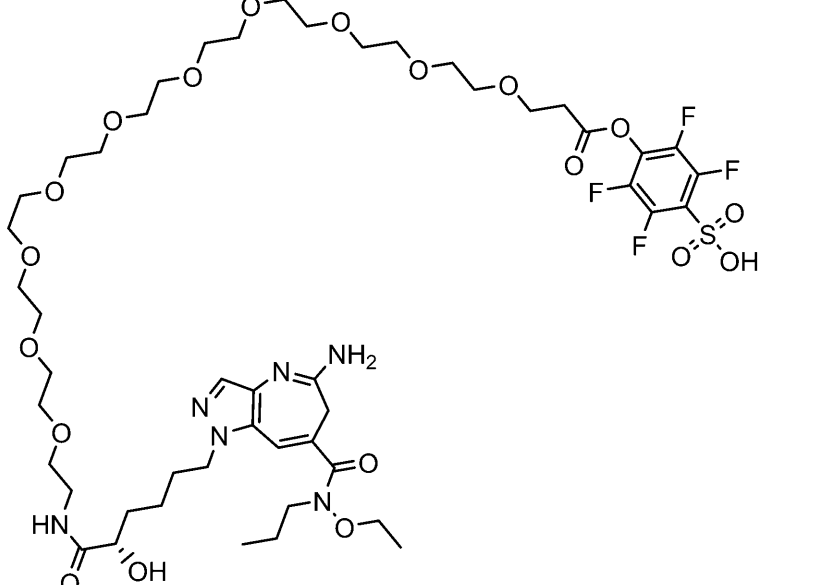
20

30

40

50

【表 3 3 - 7】

PAZ-L-24		1091.1
PAZ-L-25		1147.2

10

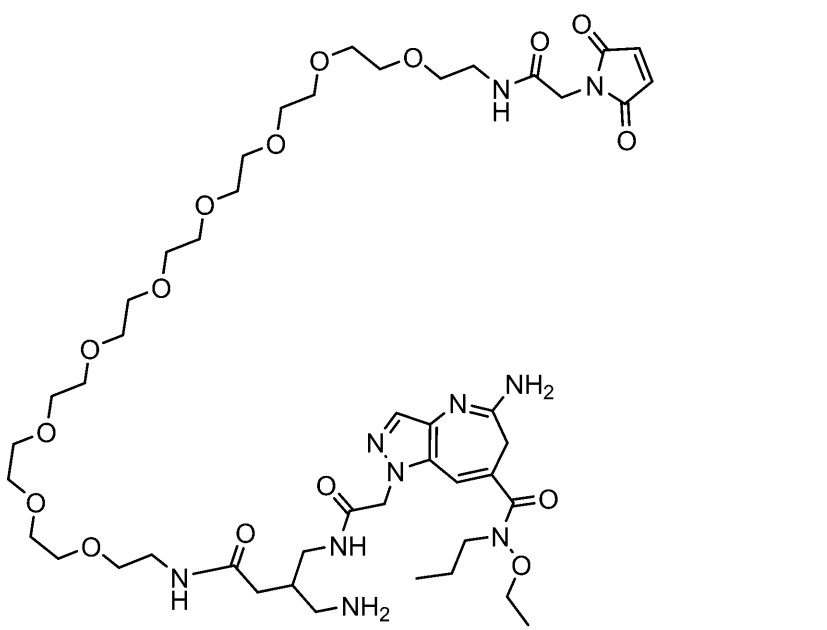
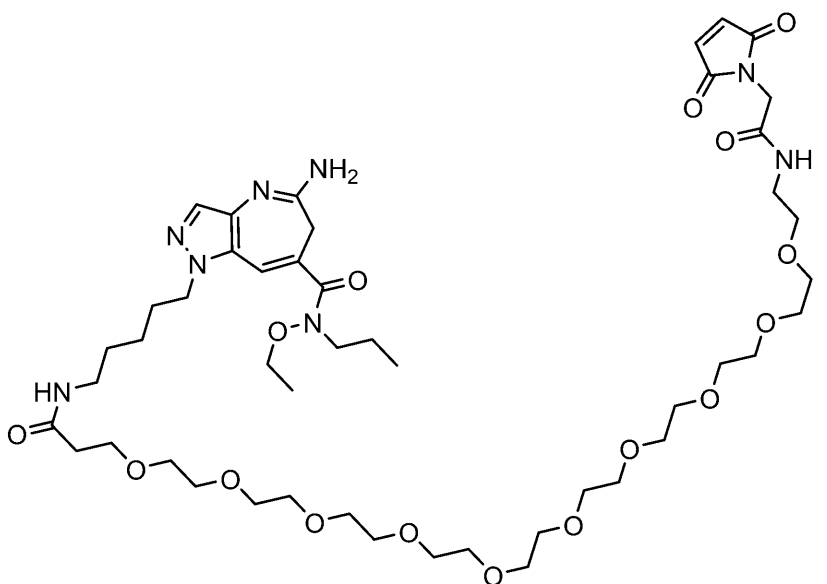
20

30

40

50

【表 3 3 - 8】

PAZ-L-26	 <p>The chemical structure of PAZ-L-26 features a central benzimidazole ring system. It is substituted with an amino group (-NH₂) at the 2-position, a carbonyl group (-C(=O)-) at the 4-position, and a propyl group attached to an oxygen atom at the 5-position. The 4-position carbonyl is linked to a chain containing a primary amine (-NH₂) and a secondary amide (-NH-C(=O)-). This secondary amide is further connected to a long, flexible polyether chain consisting of multiple repeating -CH₂-CH₂-O- units. The other end of this polyether chain is terminated by a primary amide group (-NH-C(=O)-) which is linked to a pyridin-2(1H)-one ring system.</p>	1025.2
PAZ-L-27	 <p>The chemical structure of PAZ-L-27 features a central benzimidazole ring system, identical to PAZ-L-26. It is substituted with an amino group (-NH₂) at the 2-position, a carbonyl group (-C(=O)-) at the 4-position, and a propyl group attached to an oxygen atom at the 5-position. The 4-position carbonyl is linked to a chain containing a secondary amide (-NH-C(=O)-) which is further connected to a long, flexible polyether chain consisting of multiple repeating -CH₂-CH₂-O- units. The other end of this polyether chain is terminated by a primary amide group (-NH-C(=O)-) which is linked to a pyridin-2(1H)-one ring system.</p>	1011.2

10

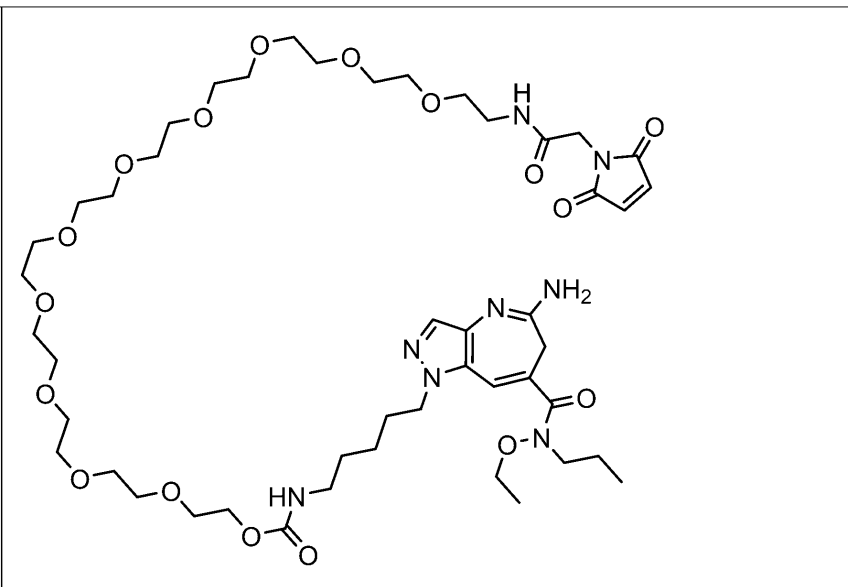
20

30

40

50

【表 3 3 - 9】

PAZ-L-28		1027.2
----------	--	--------

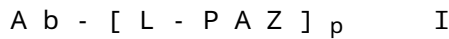
10

【 0 2 2 8 】

20

イムノコンジュゲート

イムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、リンカーによって1つ以上の5 - アミノピラゾロアゼピン (P A Z) 部分に共有結合し、式 I :



またはその薬学的に許容される塩を有する抗体を含み、

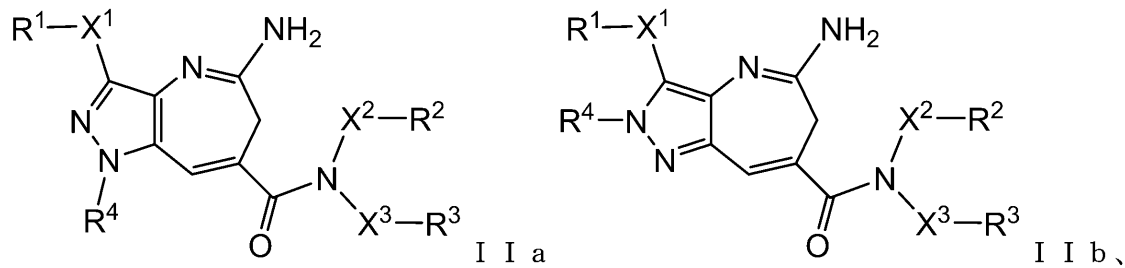
A b は、抗体であり、

p は、1 ~ 8 の整数であり、

P A Z は、式 I I a 及び I I b :

【化 2 5】

30



から選択される5 - アミノピラゾロアゼピン部分であり、

40

X¹、X²、及びX³は、結合、C(=O)、C(=O)N(R⁵)、O、N(R⁵)、S、S(O)₂、及びS(O)₂N(R⁵)からなる群から独立して選択され、

R¹、R²、R³、及びR⁴は、H、C₁-C₁₂アルキル、C₂-C₆アルケニル、C₂-C₆アルキニル、C₃-C₁₂カルボシクリル、C₆-C₂₀アリール、C₂-C₉ヘテロシクリル、及びC₁-C₂₀ヘテロアリールからなる群から独立して選択され、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル、及びヘテロアリールは、

- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - O R⁵、

50

- (C₃ - C₁₂カルボシクリル)、
- (C₃ - C₁₂カルボシクリル) - *、
- (C₃ - C₁₂カルボシクリル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *、
- (C₃ - C₁₂カルボシクリル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₃ - C₁₂カルボシクリル) - NR⁵ - C(=NR⁵)NR⁵ - *、
- (C₆ - C₂₀アリール)、
- (C₆ - C₂₀アリールジイル) - *、
- (C₆ - C₂₀アリールジイル) - N(R⁵) - *、
- (C₆ - C₂₀アリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- (C₆ - C₂₀アリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *、
- (C₆ - C₂₀アリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₆ - C₂₀アリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *、
- (C₂ - C₂₀ヘテロシクリル)、
- (C₂ - C₂₀ヘテロシクリル) - *、
- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *、
- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})NR⁵ - *、
- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - NR⁵ - (C₆ - C₂₀アリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - (C₆ - C₂₀アリールジイル) - *、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリール)、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - *、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- C(=O) - *、
- C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *、
- C(=O) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *、
- C(=O)N(R⁵)₂、
- C(=O)N(R⁵) - *、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - *、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O)N(R⁵) - *、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)R⁵、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)CO₂R⁵、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₈アルキルジイル) - NR⁵(C₂ - C₅ヘテロアリール)、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - N(R⁵) - *、

- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - *
 - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
 - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *
 - N(R⁵)₂、
 - N(R⁵) - *
 - N(R⁵)C(=O)R⁵、
 - N(R⁵)C(=O) - *
 - N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
 - N(R⁵)C(=O)N(R⁵) - *
 - N(R⁵)CO₂R⁵、
 - N(R⁵)CO₂(R⁵) - *
 - NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
 - NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵) - *
 - NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
 - N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
 - N(R⁵) - (C₂ - C₅ヘテロアリール)、
 - N(R⁵) - S(=O)₂ - (C₁ - C₁₂アルキル)、
 - O - (C₁ - C₁₂アルキル)、
 - O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
 - O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
 - OC(=O)N(R⁵)₂、
 - OC(=O)N(R⁵) - *
 - S(=O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *
 - S(=O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
 - S(=O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *、及び
 - S(=O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - OH、から選択される1つ以上の基で独立して任意選択で置換されており、
- またはR²及びR³は一緒になって5員もしくは6員のヘテロシクリル環を形成し、R⁵は、H、C₆ - C₂₀アリール、C₃ - C₁₂カルボシクリル、C₂ - C₂₀ヘテロシクリル、C₆ - C₂₀アリールジイル、C₁ - C₁₂アルキル、及びC₁ - C₁₂アルキルジイル、からなる群から選択されるか、または2つのR⁵基が一緒になって5員または6員のヘテロシクリル環を形成しており、
- R^{5a}は、C₆ - C₂₀アリール及びC₁ - C₂₀ヘテロアリールからなる群から選択され、
- アスタリスク*は、Lの結合部位を示し、R¹、R²、R³及びR⁴のうちの1つが、Lに結合しており、
- Lは、
- C(=O) - PEG - 、
 - C(=O) - PEG - C(=O)N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O) - Gluc - 、
 - C(=O) - PEG - O - 、
 - C(=O) - PEG - O - C(=O) - 、
 - C(=O) - PEG - C(=O) - 、
 - C(=O) - PEG - C(=O) - PEP - 、
 - C(=O) - PEG - N(R⁶) - 、
 - C(=O) - PEG - N(R⁶) - C(=O) - 、

- C(=O) - PEG - N(R⁶) - PEG - C(=O) - PEP - 、
 - C(=O) - PEG - N⁺(R⁶)₂ - PEG - C(=O) - PEP - 、
 - C(=O) - PEG - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - 、
 - C(=O) - PEG - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) N(R⁶) C(=O) - (C₂ - C₅モノヘテロシクリルジイル) - 、
 - C(=O) - PEG - SS - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - OC(=O) - 、
 - C(=O) - PEG - SS - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O) - 、
 - C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O) - PEP - 、
 - C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - 、
 - C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - C(=O) - 、
 - C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁶) C(=O) - (C₂ - C₅モノヘテロシクリルジイル) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - C(=O)N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C(=O) - Gluc - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - O - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - O - C(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - C(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - N(R⁵) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - N(R⁵) - C(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - C(=O) - PEP - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - SS - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - OC(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) N(R⁶) C(=O) - 、及び
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O) - PEP - N(R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) N(R⁶) C(=O) - (C₂ - C₅モノヘテロシクリルジイル) - 、
- からなる群から選択されるリンカーであり、
R⁶は、独立して、HまたはC₁ - C₆アルキルであり、
PEGは、式： - (CH₂CH₂O)_n - (CH₂)_m - を有し、mは1～5の整数であり、nは2～50の整数であり、
Glucは、式：

10

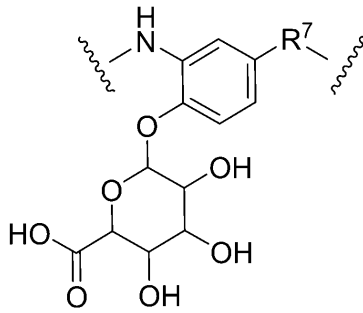
20

30

40

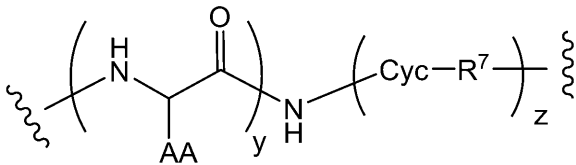
50

【化 2 6】



10

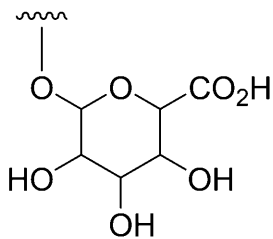
を有し、
PEPは、式：
【化 2 7】



20

を有し、AAは、天然もしくは非天然アミノ酸側鎖から独立して選択されるか、または1つ以上のAAと隣接する窒素原子が5員環プロリンアミノ酸を形成し、波線は結合点を示し、
Cycは、C₆-C₂₀アリールジイル及びC₁-C₂₀ヘテロアリールジイルから選択され、任意選択で、F、Cl、NO₂、-OH、-OCH₃、及び：
【化 2 8】

30



の構造を有するグルクロン酸から選択される1つ以上の基で置換されており、
R⁷は、-CH(R⁸)O-、-CH₂-、-CH₂N(R⁸)-、及び-CH(R⁸)O-C(=O)-からなる群から選択され、R⁸は、H、C₁-C₆アルキル、C(=O)-C₁-C₆アルキル、及び-C(=O)N(R⁹)₂から選択され、R⁹は、H、C₁-C₁₂アルキル、及び-(CH₂CH₂O)_n-(CH₂)_m-OHからなる群から独立して選択され、mは1~5の整数であり、nは2~50の整数であり、または2つのR⁹基が一緒になって5員もしくは6員のヘテロシクリル環を形成し、
yは、2~12の整数であり、
zは、0または1であり、

40

アルキル、アルキルジイル、アルケニル、アルケニルジイル、アルキニル、アルキニルジイル、アリール、アリールジイル、カルボシクリル、カルボシクリルジイル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルジイル、ヘテロアリール、及びヘテロアリールジイルは、F、Cl、Br、I、-CN、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C

50

CCH₃、-CH₂CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH₂CH(CH₃)₂、-CH₂OH、-CH₂OCH₃、-CH₂CH₂OH、-C(CH₃)₂OH、-CH(OH)CH(CH₃)₂、-C(CH₃)₂CH₂OH、-CH₂CH₂SO₂CH₃、-CH₂OP(O)(OH)₂、-CH₂F、-CHF₂、-CF₃、-CH₂CF₃、-CH₂CHF₂、-CH(CH₃)CN、-C(CH₃)₂CN、-CH₂CN、-CH₂NH₂、-CH₂NHSO₂CH₃、-CH₂NHCH₃、-CH₂N(CH₃)₂、-CO₂H、-COCH₃、-CO₂CH₃、-CO₂C(CH₃)₃、-COCH(OH)CH₃、-CONH₂、-CONHCH₃、-CON(CH₃)₂、-C(CH₃)₂CONH₂、-NH₂、-NHCH₃、-N(CH₃)₂、-NHCOCH₃、-N(CH₃)COCH₃、-NHS(O)₂CH₃、-N(CH₃)C(CH₃)₂CONH₂、-N(CH₃)CH₂CH₂S(O)₂CH₃、-NHC(=NH)H、-NHC(=NH)CH₃、-NHC(=NH)NH₂、-NHC(=O)NH₂、-NO₂、=O、-OH、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-OCH₂CH₂OCH₃、-OCH₂CH₂OH、-OCH₂CH₂N(CH₃)₂、-O(CH₂CH₂O)_n-(CH₂)_mCO₂H、-O(CH₂CH₂O)_nH、-OP(O)(OH)₂、-S(O)₂N(CH₃)₂、-SCH₃、-S(O)₂CH₃、及び-S(O)₃H、から独立して選択される1つ以上の基で独立して任意選択で置換される。

【0229】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、抗体が、PD-L1に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトであることを含む。

【0230】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、抗体が、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、及びアベルマブ、またはそれらのバイオシミラーもしくはバイオベターからなる群から選択されることを含む。

【0231】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、抗体が、HER2に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトであることを含む。

【0232】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、抗体が、トラスツズマブ及びペルツズマブ、またはそれらのバイオシミラーもしくはバイオベターからなる群から選択されることを含む。

【0233】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、抗体が、CEAに結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトであることを含む。

【0234】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、抗体が、ラベツズマブ、またはそのバイオシミラーもしくはバイオベターであることを含む。

【0235】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、抗体が、カプリン-1に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトであることを含む。

【0236】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、抗体が、TROP2に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトであることを含む。

【0237】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、抗体が、サシツズマブ、またはそのバイオシミラーもしくはバイオベターであることを含む。

【0238】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、X¹が結合であり、R¹がHであることを含む。

【0239】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 X^2 が結合であり、 R^2 が $C_1 - C_8$ アルキルであることを含む。

【0240】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 X^2 及び X^3 がそれぞれ結合であり、 R^2 及び R^3 が $C_1 - C_8$ アルキル、 $-O-(C_1 - C_{12}$ アルキル)、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) $-OR^5$ 、 $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル) $-N(R^5)CO_2R^5$ 、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキル) $-OC(O)N(R^5)_2$ 、 $-O-(C_1 - C_{12}$ アルキル) $-N(R^5)CO_2R^5$ 、及び $-O-(C_1 - C_{12}$ アルキル) $-OC(O)N(R^5)_2$ から独立して選択されることを含む。

【0241】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 R^2 が $C_1 - C_8$ アルキルであり、 R^3 が $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル) $-N(R^5)CO_2R^4$ であることを含む。

【0242】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が $-CH_2CH_2CH_2NHCO_2(t-Bu)$ 、 $-OCH_2CH_2NHCO_2$ (シクロブチル)、及び $-CH_2CH_2CH_2NHCO_2$ (シクロブチル) から選択されることを含む。

【0243】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 R^2 及び R^3 が、それぞれ独立して、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CF_3$ 、 $-CH_2CH_2CF_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、及び $-CH_2CH_2CH_2OH$ から選択されることを含む。

【0244】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 R^2 及び R^3 が、それぞれ $-CH_2CH_2CH_3$ であることを含む。

【0245】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が $-OCH_2CH_3$ であることを含む。

【0246】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 $X^3 - R^3$ が、

10

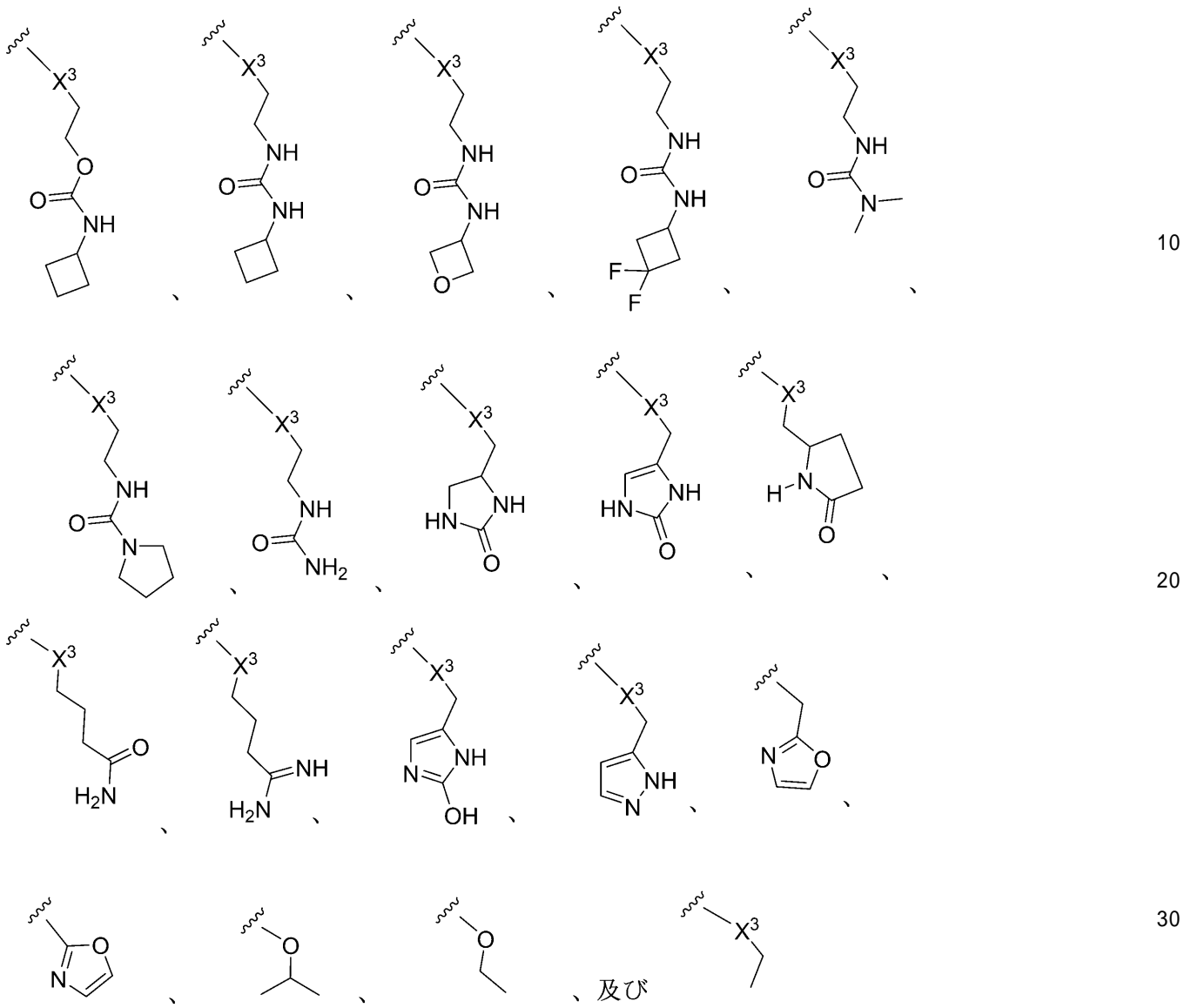
20

30

40

50

【化 2 9】



からなる群から選択されることを含む。

【0247】

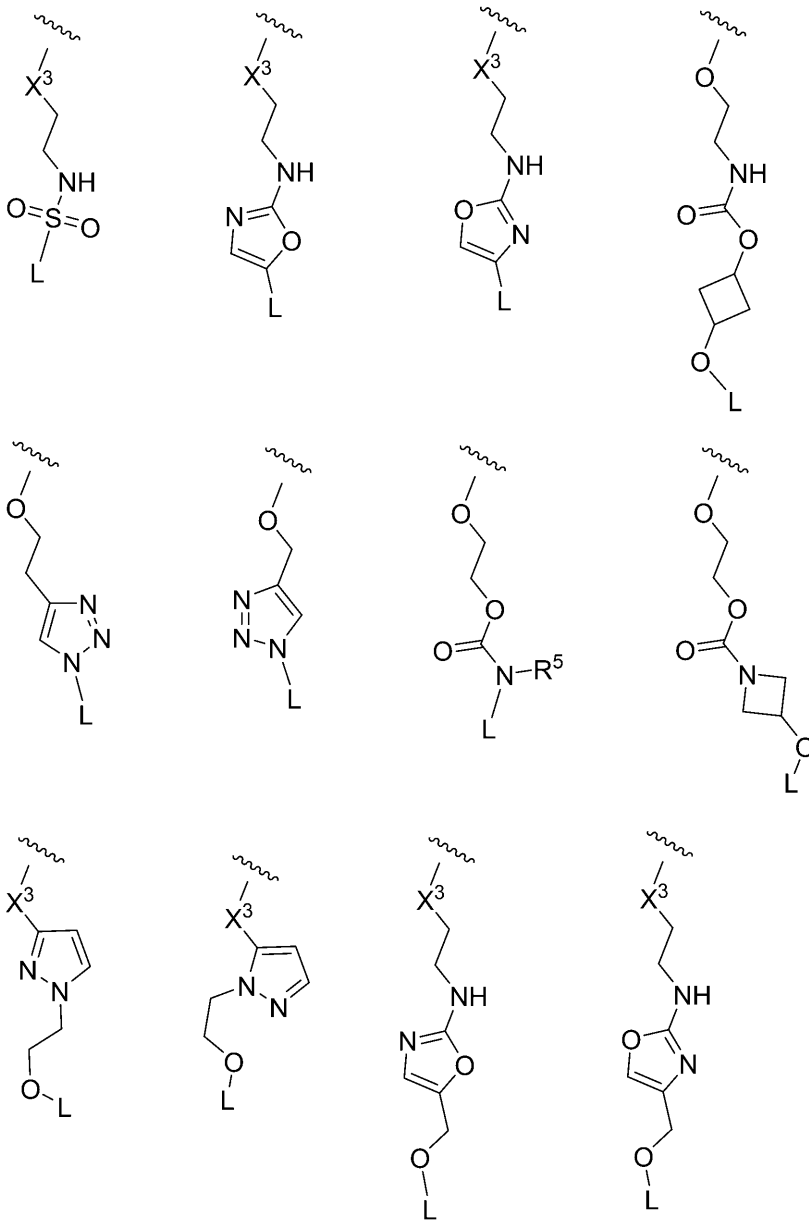
式Iのイミノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 R^2 または R^3 が、Lに結合していることを含む。

【0248】

式Iのイミノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 $X^3 - R^3 - L$ が、

40

【化 3 0】



10

20

30

からなる群から選択されることを含み、波線は、Nへの結合点を示す。

【0249】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 R^4 が、 $C_1 - C_{12}$ アルキルであることを含む。

【0250】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、 R^4 が、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) $-N(R^5)-*$ であり、アスタリスク $*$ は、Lの結合部位を示す。

【0251】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、Lが：
 $-C(=O)-PEG-$ または $-C(=O)-PEG-C(=O)-$ であることを含む。

【0252】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、Lが抗体のシステインチオールに結合していることを含む。

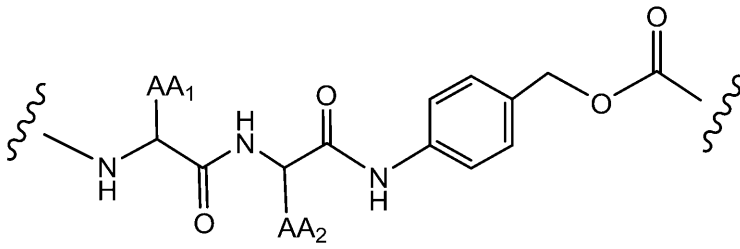
【0253】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、PEGについて、mが1または2

40

50

【化 3 4】



10

を有し、

AA₁ 及び AA₂ が、天然アミノ酸の側鎖から独立して選択されることを含む。

【0259】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、AA₁ 及び AA₂ が、H、-CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH₂(C₆H₅)、-CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂CH₂NHC(NH)NH₂、-CHCH(CH₃)CH₃、-CH₂SO₃H、及び -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ から独立して選択されるか、または AA₁ 及び AA₂ が 5 員環のプロリンアミノ酸を形成することを含む。

【0260】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、AA₁ が -CH(CH₃)₂ であり、AA₂ が -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ であることを含む。

20

【0261】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、AA₁ 及び AA₂ が、GlcNAc アスパラギン酸、-CH₂SO₃H、及び -CH₂OPO₃H から独立して選択されることを含む。

【0262】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、

AA₁ が、Abu、Ala、及び Val からなる群から選択され、

AA₂ が、Nle(O-Bzl)、Oic、及び Pro からなる群から選択され、

AA₃ が、Ala 及び Met(O)₂ からなる群から選択され、

AA₄ が、Oic、Arg(NO₂)、Bpa、及び Nle(O-Bzl) からなる群から選択されることを含む。

30

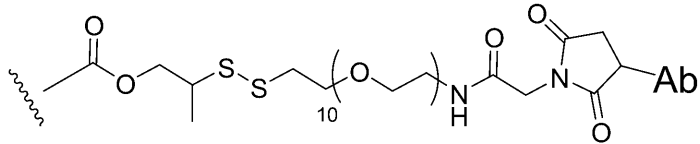
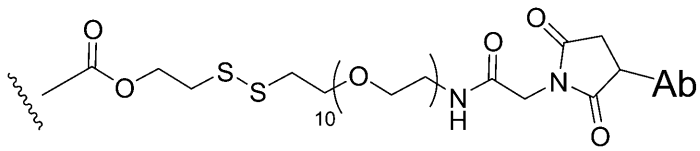
【0263】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、L が、構造：

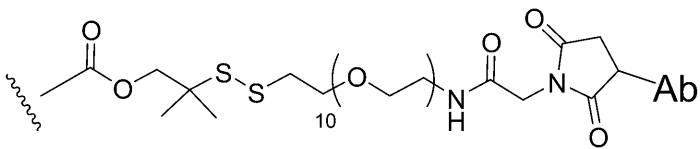
40

50

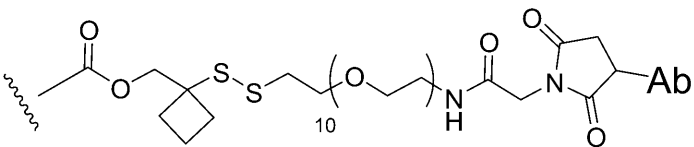
【化 3 5】



10



20



から選択されることを含み、
波線は、R⁵への結合を示す。

【 0 2 6 4】

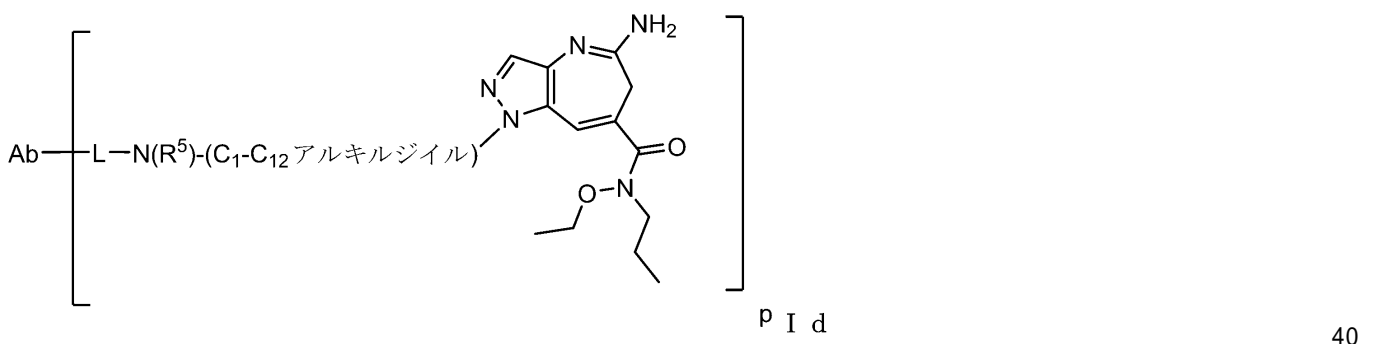
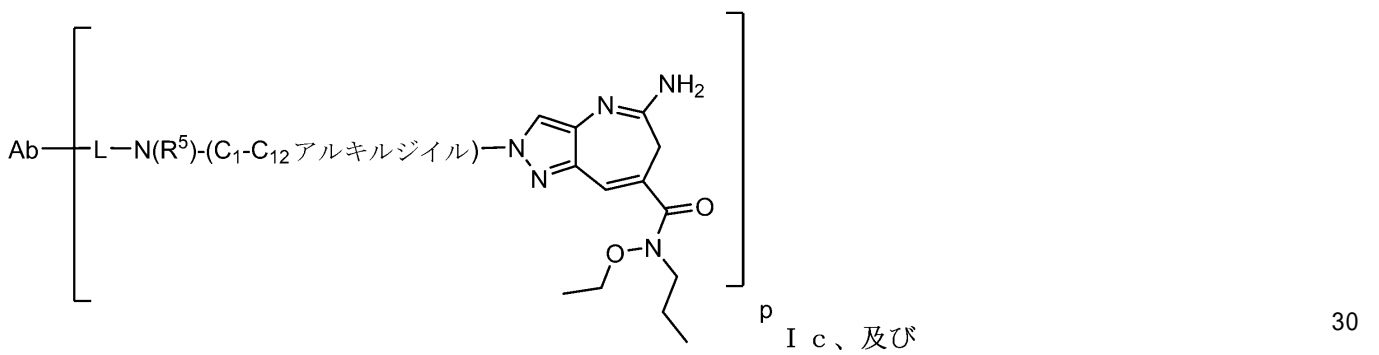
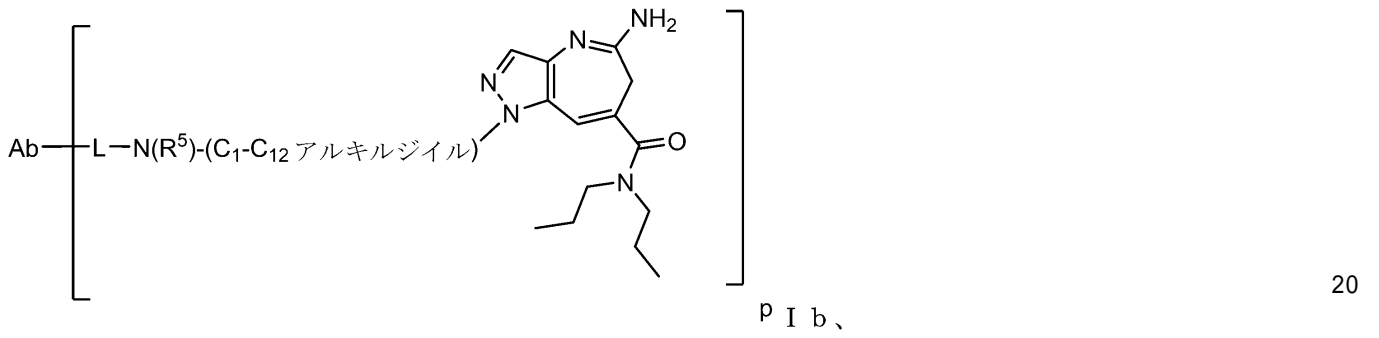
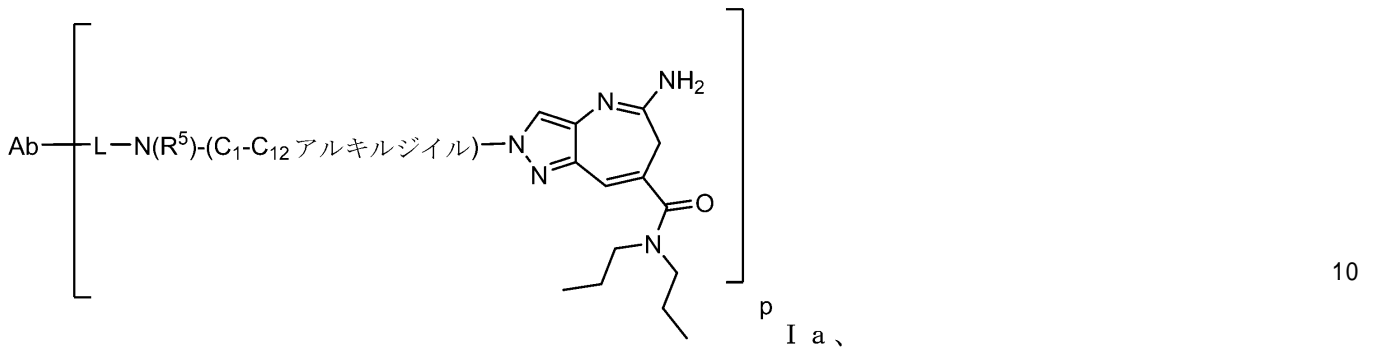
式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、式 I a ~ I d :

30

40

50

【化 3 6】

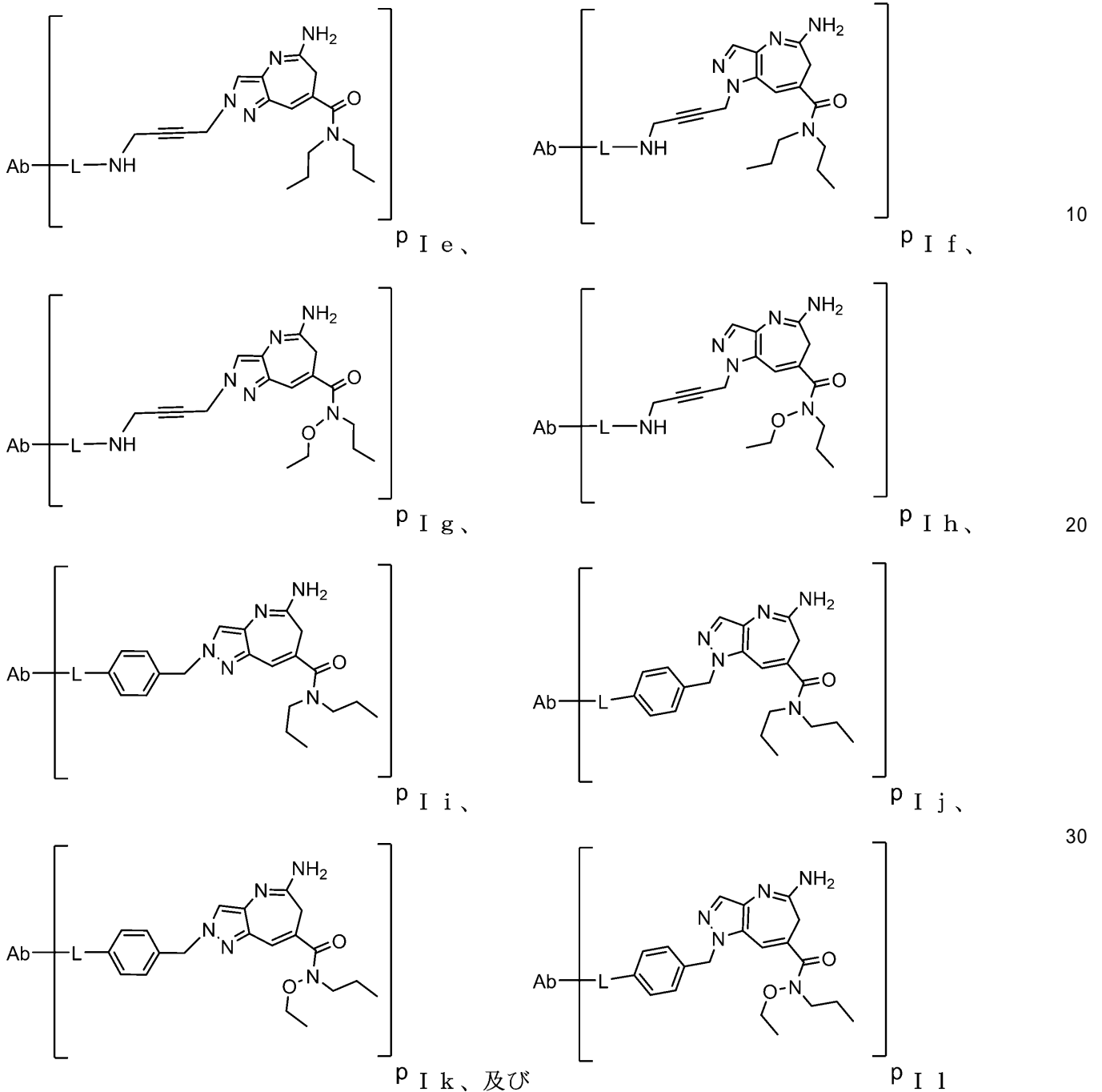


から選択される。

【0265】

式 I のイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、式 I e ~ I l :

【化 3 7】



から選択される。

【0266】

本発明は、式 I の実施形態のすべての合理的な組み合わせ、及び特徴の順列を含む。

【0267】

ある特定の実施形態において、本発明のイムノコンジュゲート化合物は、免疫刺激活性を有するものを含む。本発明の抗体 - 薬物コンジュゲートは、有効用量のピラゾロアゼピン薬物を腫瘍組織に選択的に送達し、それによって、非コンジュゲートピラゾロアゼピンと比較して治療指数（「治療濃度域」）を増加させながら、より高い選択性（すなわち、より低い効果的用量）が達成され得る。

【0268】

薬物負荷は、p によって表される、式 I のイムノコンジュゲートにおける 1 抗体当たり

の P A Z 部分の数である。薬物 (P A Z) 負荷は、1 抗体当たり 1 ~ 8 個の薬物部分 (D) の範囲であり得る。式 I のイムノコンジュゲートは、1 ~ 約 8 個の範囲の薬物部分にコンジュゲートされた抗体の混合物または集合体を含む。いくつかの実施形態において、抗体にコンジュゲートすることができる薬物部分の数は、リジン及びシステインなどの反応性または利用可能なアミノ酸側鎖残基の数によって限定される。いくつかの実施形態において、遊離システイン残基は、本明細書に記載される方法によって抗体アミノ酸配列中に導入される。そのような態様において、p は、1、2、3、4、5、6、7、または 8、及びその範囲、例として、1 ~ 8 または 2 ~ 5 であり得る。そのような態様において、p 及び n は等しい (すなわち、 $p = n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$ 、もしくは 8、またはその間の範囲)。式 I の例示的なイムノコンジュゲートとしては、1、2、3、または 4 つの操作されたシステインアミノ酸を有する抗体が挙げられるが、これらに限定されない (Lyon, R. et al. (2012) *Methods in Enzymol.* 502 : 123 - 138)。いくつかの実施形態において、1 つ以上の遊離システイン残基が、操作を使用することなく、抗体においてすでに存在して、鎖内ジスルフィド結合を形成する。その場合、既存の遊離システイン残基を使用して、抗体を薬物にコンジュゲートしてもよい。いくつかの実施形態において、抗体は、1 つ以上の遊離システイン残基を生成するために、抗体のコンジュゲーション前に還元条件に曝露される。

10

【0269】

一部の抗イムノコンジュゲートについて、p は、抗体上の結合部位の数によって限定され得る。例えば、本明細書に記載されるある特定の例示的な実施形態におけるように、結合がシステインチオールである場合、抗体は、1 つのみもしくは限定された数のシステインチオール基を有し得るか、または 1 つのみもしくは限定された数の反応性が十分なチオール基を有し得、それに、薬物が結合され得る。他の実施形態において、抗体中の 1 つ以上のリジンアミノ基が利用可能であり、式 I I の P A Z - リンカー化合物とのコンジュゲーションに対して反応性であり得る。ある特定の実施形態において、より高い薬物負荷、例えば、5 超の p は、ある特定の抗体 - 薬物コンジュゲートにおいて凝集、不溶性、毒性、または細胞透過性の喪失を引き起こし得る。ある特定の実施形態において、イムノコンジュゲートの平均薬物負荷は、1 ~ 約 8、約 2 ~ 約 6、または約 3 ~ 約 5 の範囲である。ある特定の実施形態において、抗体は、リジンまたはシステインなどの反応性求核基を明らかにするために変性条件に供される。

20

30

【0270】

イムノコンジュゲートの負荷 (薬物 / 抗体比) は、異なる方式で、ならびに例えば、(i) 抗体と比較してモル過剰の P A Z - リンカー中間体化合物を制限すること、(i i) コンジュゲーション反応時間または温度を制限すること、及び (i i i) 最適化された抗体反応性のための部分的または限定的な還元的変性条件によって制御され得る。

【0271】

抗体の 2 つ以上の求核性基が薬物と反応する場合、結果として生じる生成物は、抗体に結合した 1 つ以上の薬物部分が分布するイムノコンジュゲート化合物の混合物であることを理解されたい。1 抗体当たりの薬物平均数は、抗体に特異的かつ薬物に特異的である、二重 E L I S A 抗体アッセイによって混合物から算出されてもよい。個々のイムノコンジュゲート分子は、質量分析法によって混合物中で同定され、H P L C、例えば、疎水相互作用クロマトグラフィーによって、分離されてもよい (例えば、McDonagh et al (2006) *Prot. Engr. Design & Selection* 19 (7) : 299 - 307 ; Hamblett et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10 : 7063 - 7070 ; Hamblett, K. J., et al. "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," *Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27*

40

50

- 31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004; Alley, S.C., et al. "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates," Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004を参照されたい)。ある特定の実施形態において、単一の負荷値を有する同種のイムノコンジュゲートが、電気泳動またはクロマトグラフィーによってコンジュゲーション混合物から単離されてもよい。

10

【0272】

式Iのイムノコンジュゲートの例示的な実施形態は、表3a及び3bのイムノコンジュゲートから選択される。表3a及び3bのイムノコンジュゲートを、実施例203に記載の方法を利用して試験したところ、その大部分が活性を示した。

【表34】

表3a イムノコンジュゲート (IC)

イムノコンジュゲート番号	PAZ-リンカー 表2a	抗体 抗原	DAR	cDC 活性化 (TNF α 分泌)- EC ₅₀ (nM)
IC-1	PAZ-L-1	トラスツズマブ HER2	2.00	
IC-2	PAZ-L-2	トラスツズマブ HER2	2.76	
IC-3	PAZ-L-6	トラスツズマブ HER2	2.43	1.6 nM
IC-4	PAZ-L-7	トラスツズマブ HER2	2.25	
IC-5	PAZ-L-3	トラスツズマブ HER2	3.52	
IC-6	PAZ-L-10	トラスツズマブ HER2	2.20	

20

30

40

50

【表 3 5】

表 3 b イムノコンジュゲート (I C)

イムノコン ジュゲート 番号	PAZ-リンカー 表 2b	抗体 抗原	DAR	cDC 活性化 (TNF α 分泌)- EC ₅₀ (nM)
IC-7	PAZ-L-12	トラスツズマブ HER2	2.37	1.0 nM
IC-8	PAZ-L-13	トラスツズマブ HER2	2.03	
IC-9	PAZ-L-15	トラスツズマブ HER2	2.4	
IC-10	PAZ-L-17	トラスツズマブ HER2	2.35	
IC-11	PAZ-L-16	トラスツズマブ HER2	2.22	
IC-12	PAZ-L-14	トラスツズマブ HER2	2.29	
IC-13	PAZ-L-17	9-G1fhL2 CEA	2.29	
IC-14	PAZ-L-18	トラスツズマブ HER2	2.42	
IC-15	PAZ-L-23	トラスツズマブ HER2	2.39	
IC-16	PAZ-L-20	トラスツズマブ HER2	2.16	
IC-17	PAZ-L-21	トラスツズマブ HER2	2.30	
IC-18	PAZ-L-22	トラスツズマブ HER2	2.37	
IC-19	PAZ-L-19	トラスツズマブ HER2	2.30	
IC-20	PAZ-L-24	トラスツズマブ HER2	2.45	
IC-21	PAZ-L-25	トラスツズマブ HER2	2.38	
IC-22	PAZ-L-28	1-G1f TROP2	3.60	1.2 nM
IC-23	PAZ-L-27	1-G1f TROP2	3.48	
IC-24	PAZ-L-26	1-G1f TROP2	2.67	

10

20

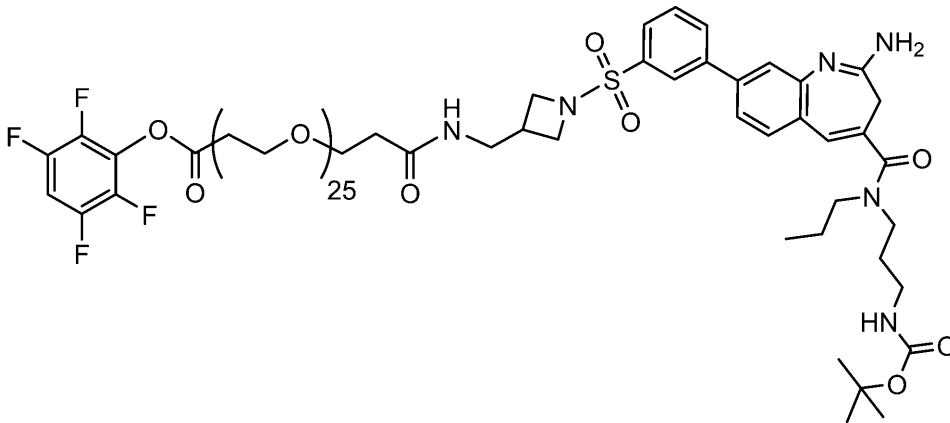
30

40

【 0 2 7 3 】

比較用イムノコンジュゲート A は、抗 H E R 2 抗体トラスツズマブとリンカー - アジュバント化合物との複合体化によって調製した。

【化 3 8】



10

【0274】

イムノコンジュゲートの組成物

本発明は、本明細書に記載の複数のイムノコンジュゲート及び任意選択でそのための担体、例えば、薬学的もしくは薬理学的に許容される担体を含む、組成物、例えば、薬学的もしくは薬理学的に許容される組成物または製剤を提供する。イムノコンジュゲートは、組成が同じであっても異なってもよい、すなわち、組成物は、抗体コンストラクト上の同じ位置に連結された同じ数のアジュバントを有するイムノコンジュゲート、及び/または抗体コンストラクト上の異なる位置に連結された同じ数のPAZアジュバントを有するイムノコンジュゲート、抗体コンストラクト上の同じ位置に連結された異なる数のアジュバントを有するイムノコンジュゲートか、もしくは抗体コンストラクト上の異なる位置に連結された異なる数のアジュバントを有するイムノコンジュゲート、を含み得る。

20

【0275】

例示的な実施形態において、イムノコンジュゲート化合物を含む組成物は、イムノコンジュゲート化合物の混合物を含み、イムノコンジュゲート化合物の混合物中の1抗体当たりの平均薬物(PAZ)負荷は、約2～約5である。

【0276】

本発明のイムノコンジュゲートの組成物は、約0.4対約10の平均アジュバント対抗体コンストラクト比(DAR)を有することができる。当業者は、抗体コンストラクトにコンジュゲートしたピラゾロアゼピンアジュバントの数が、本発明の複数のイムノコンジュゲートを含む組成物中のイムノコンジュゲートによって異なっている場合があることを認識するであろう。したがって、アジュバント対抗体コンストラクト(例えば、抗体)比を、平均として測定することができ、これは、薬物対抗体比(DAR)と呼ばれることがある。アジュバント対抗体コンストラクト(例えば、抗体)比は、任意の好適な手段によって評価することができ、その多くは当技術分野で知られている。

30

【0277】

コンジュゲーション反応からイムノコンジュゲートを調製する上での1抗体当たりのアジュバント部分の平均数(DAR)は、質量分析法、ELISAアッセイ、及びHPLCなどの従来的手段によって特徴付けることができる。pの単位での組成物中のイムノコンジュゲートの定量的分布もまた、決定することができる。いくつかの事例において、pがある特定の値である同種のイムノコンジュゲートの、他の薬物負荷を有するイムノコンジュゲートからの分離、精製、及び特性評価は、逆相HPLCまたは電気泳動などの手段によって達成されてもよい。

40

【0278】

いくつかの実施形態において、組成物は、1つ以上の薬学的または薬理学的に許容される賦形剤をさらに含む。例えば、本発明のイムノコンジュゲートは、静脈内投与または体腔または臓器の内腔への投与などの非経口投与のために製剤化することができる。あるいは

50

は、イムノコンジュゲートを腫瘍内に注射することができる。注射用の組成物は、一般に、薬学的に許容される担体に溶解したイムノコンジュゲートの溶液を含む。用いることができる許容されるビヒクル及び溶媒の中には、水及び塩化ナトリウムなどの1つ以上の塩の等張液、例えば、リンゲル液がある。加えて、滅菌不揮発性油を、溶媒または懸濁媒として慣習的に用いることができる。この目的のために、合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含む、任意の無刺激性不揮発性油を用いることができる。加えて、オレイン酸などの脂肪酸を、注射剤の調製において同様に使用することができる。これらの組成物は、望ましくは滅菌であり、一般に望ましくない物質を含まない。これらの組成物を、従来の、周知の滅菌技術によって滅菌することができる。組成物は、生理学的条件に近似させるために必要とされる、pH調整剤及び緩衝剤、浸透圧調整剤 (t o x i c i t y a d j u s t i n g a g e n t s) などの薬学的に許容可能な補助物質、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウムなどを含有してもよい。

【0279】

組成物は、任意の好適な濃度のイムノコンジュゲートを含有することができる。組成物中のイムノコンジュゲートの濃度は大きく変動する可能性があり、選択された特定の投与様式及び患者のニーズに従って、主に流体量、粘度、体重などに基づいて選択される。ある特定の実施形態において、注射用の溶液製剤中のイムノコンジュゲートの濃度は、約0.1% (w/w) ~ 約10% (w/w) の範囲である。

【0280】

イムノコンジュゲートによりがんを治療する方法

本発明は、がんを治療するための方法を提供する。この方法は、治療有効量の本明細書に記載のイムノコンジュゲートを（例えば、本明細書に記載の組成物として）それを必要とする対象、例えば、がんを有し、がんの治療を必要とする対象に投与することを含む。この方法は、表3a及び3bから選択される治療有効量のイムノコンジュゲート (I C) を投与することを含む。

【0281】

本発明のイムノコンジュゲートを使用して、種々の過剰増殖性疾患または障害、例えば、腫瘍抗原の過剰発現を特徴とするものを治療することができることが企図される。例示的な過剰増殖性障害には、良性または悪性の固形腫瘍、ならびに白血病及びリンパ系腫瘍などの血液学的疾患が含まれる。

【0282】

別の態様において、医薬として使用するためのイムノコンジュゲートが提供される。ある特定の実施形態において、本発明は、有効量のイムノコンジュゲートを個体に投与することを含む、個体を治療する方法における使用のためのイムノコンジュゲートを提供する。そのような一実施形態において、この方法は、例えば、本明細書に記載される、有効量の少なくとも1つの追加の治療剤を個体に投与することをさらに含む。

【0283】

さらなる態様において、本発明は、医薬の製造または調製における、イムノコンジュゲートの使用を提供する。一実施形態において、医薬は、がんの治療のためのものであり、この方法は、がんを有する個体に有効量の医薬を投与することを含む。そのような一実施形態において、この方法は、例えば、本明細書に記載される、有効量の少なくとも1つの追加の治療剤を個体に投与することをさらに含む。

【0284】

癌腫は、上皮組織に由来する悪性腫瘍である。上皮細胞は、体の外面を覆い、内部の空洞を裏打ちし、腺組織の裏打ちを形成する。癌腫の例としては、腺癌（乳癌、膵臓癌、肺癌、前立腺癌、胃癌、胃食道接合部癌、及び結腸癌などの腺（分泌）細胞で発生するがん）副腎皮質癌、肝細胞癌、腎細胞癌、卵巣癌、上皮内癌、腺管癌、乳癌、基底細胞癌、扁平上皮癌、移行上皮癌、結腸癌、鼻咽頭癌、多房性嚢胞状腎細胞癌、燕麦細胞癌、大細胞肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌などが挙げられるが、これらに限定されない。癌腫は、

前立腺、膵臓、結腸、脳（通常は二次転移として）、肺、乳房、及び皮膚に見られることがある。いくつかの実施形態において、非小細胞肺癌を治療するための方法は、PD-L1に結合することができる抗体コンストラクト（例えば、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、それらのバイオシミラー、またはそれらのバイオベター）を含有するイムノコンジュゲートを投与することを含む。いくつかの実施形態において、乳癌を治療するための方法は、PD-L1に結合することができる抗体コンストラクト（例えば、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、それらのバイオシミラー、またはそれらのバイオベター）を含有するイムノコンジュゲートを投与することを含む。いくつかの実施形態において、トリプルネガティブ乳癌を治療するための方法は、PD-L1に結合することができる抗体コンストラクト（例えば、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、それらのバイオシミラー、またはそれらのバイオベター）を含有するイムノコンジュゲートを投与することを含む。

10

【0285】

軟部組織腫瘍は、結合組織に由来する非常に多様な希少腫瘍の群である。軟部組織腫瘍の例としては、胞巣状軟部肉腫、血管腫様線維性組織球腫、軟骨粘液線維腫（chondromyxoid fibroma）、骨系統軟骨肉腫、骨外性粘液型軟骨肉腫、明細胞肉腫、維形成性小円形細胞腫瘍、隆起性皮膚線維肉腫、子宮内間質腫瘍、ユーイング肉腫、線維腫症（デスモイド）、乳児線維肉腫（fibrosarcoma, infantile）、消化管間質腫瘍、骨巨細胞腫瘍、腱鞘巨細胞腫、炎症性筋線維芽細胞腫瘍、子宮平滑筋腫、平滑筋肉腫、脂肪芽細胞腫、典型脂肪腫、紡錘細胞脂肪腫または多形性脂肪腫、異型脂肪腫、軟骨性脂肪腫、高分化型脂肪肉腫、粘液性/円形細胞脂肪肉腫、多形性脂肪腫、粘液性悪性線維性組織球腫、高悪性度悪性線維性組織球腫、粘液線維肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍、中皮腫、神経芽細胞腫、骨軟骨腫、骨肉腫、未分化神経外胚葉性腫瘍、胞巣状横紋筋肉腫、胎児型横紋筋肉腫、良性または悪性シュワン腫、滑膜肉腫、エバンズ腫瘍、結節性筋膜炎、デスモイド型線維腫症、孤立性線維性腫瘍、隆起性皮膚線維肉腫（DFSP）、血管肉腫、類上皮血管内皮腫、腱鞘巨細胞腫（TGCT）、色素性絨毛結節性滑膜炎（PVNS）、線維性骨異形成症、粘液線維肉腫、線維肉腫、滑膜肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍、神経線維腫、軟部組織の多形性腺腫、ならびに線維芽細胞、筋線維芽細胞、組織球、血管細胞/内皮細胞、及び神経鞘細胞に由来する新生物が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0286】

肉腫は、間葉系由来の細胞、例えば、軟骨、脂肪、筋肉、血管、線維組織、または他の結合組織もしくは支持組織を含む骨または体の軟組織で発生する希少なタイプのがんである。さまざまなタイプの肉腫は、がんが発生する場所に基づいている。例えば、骨肉腫は骨に、脂肪肉腫は脂肪に、横紋筋肉腫は筋肉に発生する。肉腫の例としては、アスキン腫瘍、ブドウ状肉腫、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、悪性血管内皮腫、悪性神経鞘腫、骨肉腫、及び軟部肉腫（例えば、胞巣状軟部肉腫、血管肉腫、葉状嚢胞肉腫、隆起性皮膚線維肉腫（DFSP）、デスモイド腫瘍、線維形成性小円形細胞腫瘍、類上皮肉腫、骨外性軟骨肉腫、骨外性骨肉腫、線維肉腫、消化管間質腫瘍（GIST）、血管周囲細胞腫、血管肉腫（hemangiosarcoma）（より一般的には「血管肉腫（angiosarcoma）」と呼ばれる）、カポジ肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、リンパ管肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍（MPNST）、神経線維肉腫、滑膜肉腫、及び未分化多形性肉腫）、が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0287】

奇形腫は、例えば、毛髪、筋肉、及び骨など、いくつかの異なるタイプの組織を含有する場合がある胚細胞腫瘍の一種である（例えば、3つの胚葉：内胚葉、中胚葉、及び外胚葉のいずれかが及び/またはすべてに由来する組織を含めることができる）。奇形腫は、女性において卵巣で、男性において睾丸で、及び子供において尾骨で最も頻繁に発生する。

【0288】

黒色腫は、メラノサイト（色素メラニンを作る細胞）で始まるがんの一形態である。黒

50

色腫は、ほくろ（皮膚黒色腫）で始まる場合があるが、目や腸などの他の色素性組織で始まる場合もある。

【0289】

メルケル細胞癌は、希少なタイプの皮膚癌であり、通常、顔、頭、または首に肌色または青みがかった赤色の結節として現れる。メルケル細胞癌は、皮膚の神経内分泌癌とも呼ばれる。いくつかの実施形態において、メルケル細胞癌を治療するための方法は、PD-L1に結合することができる抗体コンストラクト（例えば、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、それらのバイオシミラー、またはそれらのバイオベター）を含有するイムノコンジュゲートを投与することを含む。いくつかの実施形態において、メルケル細胞癌は、投与が行われるときに転移している。

10

【0290】

白血病は、骨髄などの造血組織で発生し、多数の異常な血球を生成させて血流に入れるがんである。例えば、白血病は、通常は血流で成熟する骨髄由来細胞において発生する可能性がある。白血病は、疾患の発症及び進行の速さ（例えば、急性と慢性）、及び影響を受ける白血球の種類（例えば、骨髄とリンパ球）にちなんで名付けられている。骨髄性白血病は、骨髄白血病または骨髄芽球性白血病とも呼ばれる。リンパ性白血病は、リンパ芽球性白血病またはリンパ球性白血病とも呼ばれる。リンパ性白血病細胞はリンパ節に集合し、腫脹する場合がある。白血病の例としては、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性骨髄性白血病（CML）、及び慢性リンパ球性白血病（CLL）、が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0291】

リンパ腫は、免疫系の細胞で始まるがんである。例えば、リンパ腫は、通常はリンパ系で成熟する骨髄由来細胞において発生する可能性がある。リンパ腫には2つの基本的なカテゴリーがある。リンパ腫の1つのカテゴリーはホジキンリンパ腫（HL）であり、リードシュテルンベルク細胞と呼ばれる細胞のタイプの存在によって特徴付けられる。現在、6種の認識されているHLのタイプが存在する。ホジキンリンパ腫の例としては、結節性硬化型古典的ホジキンリンパ腫（CHL）、混合細胞型CHL、リンパ球減少型CHL、リンパ球豊富型CHL、及び結節性リンパ球優位型HLが挙げられる。

【0292】

リンパ腫の他のカテゴリーは非ホジキンリンパ腫（NHL）であり、これには免疫系細胞のがんの大規模で多様な群を含む。非ホジキンリンパ腫は、緩徐な（成長の遅い）経過を有するがんと、攻撃的な（成長の速い）経過を有するがんにさらに分けることができる。現在、61種の認識されているNHLのタイプが存在する。非ホジキンリンパ腫の例としては、AIDS関連リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、血液免疫芽細胞性リンパ腫、芽細胞性NK細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、パーキット様リンパ腫（小型非開裂細胞性リンパ腫）、慢性リンパ球性白血病/小リンパ球性リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、びまん性大B細胞リンパ腫、腸症型T細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、肝脾ガンマ・デルタT細胞リンパ腫、T細胞白血病、リンパ芽球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、鼻T細胞リンパ腫、小児リンパ腫、末梢T細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、形質転換リンパ腫、治療関連T細胞リンパ腫、及びワルデンストレームマクログロブリン血症が挙げられるが、これらに限定されない。

30

40

【0293】

脳癌には、脳組織の任意のがんが含まれる。脳癌の例としては、神経膠腫（例えば、神経膠芽腫、星状細胞腫、乏突起膠腫、上衣腫など）、髄膜腫、下垂体腺腫、及び前庭神経鞘腫、原始神経外胚葉性腫瘍（髄芽腫）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0294】

本発明のイムノコンジュゲートは、治療法において、単独で、または他の薬剤と組み合わせてのいずれかで使用することができる。例えば、イムノコンジュゲートは、化学療法剤などの少なくとも1つの追加の治療剤と共に同時投与され得る。このような併用療法は、組み合わせた投与（2つ以上の治療剤が同じまたは別個の製剤中に含まれる）、及び別

50

個の投与を包含し、別個の投与の場合、イムノコンジュゲートの投与は、追加の治療剤及び/またはアジュバントの投与の前、それと同時、及び/またはその後に行われ得る。イムノコンジュゲートはまた、放射線療法と組み合わせて使用することもできる。

【0295】

本発明のイムノコンジュゲート（及び任意の追加の治療剤）は、非経口、肺内、及び鼻腔内、ならびに局所治療のために所望される場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。投薬は、投与が短期であるか、または長期であるかに部分的に依存して、任意の好適な経路、例として、静脈内または皮下注射などの注射によるものであってよい。種々の時点での単回または複数回投与、ボラス投与、及びパルス点滴を含むがこれらに限定されない種々の投薬スケジュールが、本明細書において企図される。

10

【0296】

アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、それらのバイオシミラー、及びそれらのバイオベターは、がん、特に乳癌、特にトリプルネガティブ（エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、及び過剰なHER2タンパク質の検査で陰性）乳癌、膀胱癌、及びメルケル細胞癌の治療に有用であることが知られている。本明細書に記載のイムノコンジュゲートを使用して、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、それらのバイオシミラー、及びそれらのバイオベターの場合と同じタイプのがん、特に乳癌、特にトリプルネガティブ（エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、及び過剰なHER2タンパク質の検査で陰性）乳癌、膀胱癌及びメルケル細胞癌を治療することができる。

20

【0297】

イムノコンジュゲートは、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、それらのバイオシミラー、及びそれらのバイオベターに利用される投薬レジメンなどの任意の好適な投薬レジメンを使用して、治療有効量でそれを必要とする対象に投与される。例えば、方法は、対象に約100ng/kg～約50mg/kgの用量を提供するためのイムノコンジュゲートを投与することを含むことができる。イムノコンジュゲートの用量は、約5mg/kg～約50mg/kg、約10μg/kg～約5mg/kg、または約100μg/kg～約1mg/kgの範囲であり得る。イムノコンジュゲートの用量は、約100、200、300、400、または500μg/kgであり得る。イムノコンジュゲートの用量は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10mg/kgであり得る。イムノコンジュゲートの用量は、特定のコンジュゲート、ならびに治療されるがんのタイプ及び重症度に応じて、これらの範囲外にもなり得る。投与の頻度は、週あたり単回投与から複数回投与までの範囲、またはより頻繁であり得る。いくつかの実施形態において、イムノコンジュゲートは、月に約1回～週に約5回投与される。いくつかの実施形態において、イムノコンジュゲートは、週に1回投与される。

30

【0298】

別の態様において、本発明は、がんを予防するための方法を提供する。この方法は、治療有効量のイムノコンジュゲートを（例えば、上記のような組成物として）対象に投与することを含む。ある特定の実施形態において、対象は、予防されるべきある特定のがんに感受性である。例えば、方法は、対象に約100ng/kg～約50mg/kgの用量を提供するためのイムノコンジュゲートを投与することを含むことができる。イムノコンジュゲートの用量は、約5mg/kg～約50mg/kg、約10μg/kg～約5mg/kg、または約100μg/kg～約1mg/kgの範囲であり得る。イムノコンジュゲートの用量は、約100、200、300、400、または500μg/kgであり得る。イムノコンジュゲートの用量は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10mg/kgであり得る。イムノコンジュゲートの用量は、特定のコンジュゲート、ならびに治療されるがんのタイプ及び重症度に応じて、これらの範囲外にもなり得る。投与の頻度は、週あたり単回投与から複数回投与までの範囲、またはより頻繁であり得る。いくつかの実施形態において、イムノコンジュゲートは、月に約1回～週に約5回投与される。いくつかの実施形態において、イムノコンジュゲートは、週に1回投与される。

40

50

【 0 2 9 9 】

本発明のいくつかの実施形態は、がんが乳癌である、上記のようながんを治療するための方法を提供する。乳癌は、乳房のさまざまな領域から発生する可能性があり、さまざまなタイプの複数の乳癌が特徴付けられる。例えば、本発明のイムノコンジュゲートは、非浸潤性乳管癌、浸潤性乳管癌（例えば、乳房の管状癌、髄様癌、粘液癌、乳頭癌、または篩状癌）、非浸潤性小葉癌、浸潤性小葉癌、炎症性乳癌、及びトリプルネガティブ（エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、及び過剰なHER2タンパク質の検査で陰性）乳癌などの他の形態の乳癌を治療するために使用することができる。いくつかの実施形態において、乳癌を治療するための方法は、HER2に結合することができる抗体コンストラクト（例えば、トラスツズマブ、ベルツズマブ、それらのバイオシミラー、またはバイオベター）及びPD-L1に結合することができる抗体コンストラクト（例えば、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、それらのバイオシミラー、またはバイオベター）を含有するイムノコンジュゲートを投与することを含む。いくつかの実施形態において、結腸癌、肺癌、腎癌、膵臓癌、胃癌、及び食道癌を治療するための方法は、CEA、またはCEAを過剰発現する腫瘍に結合することができる抗体コンストラクト（例えば、ラベツズマブ、それらのバイオシミラー、またはバイオベター）を含有するイムノコンジュゲートを投与することを含む。

10

【 0 3 0 0 】

いくつかの実施形態において、がんは、TLR7及び/またはTLR8によって誘発される炎症誘発性応答に感受性である。

20

【 0 3 0 1 】

いくつかの実施形態では、PD-L1、HER2、CEA、またはTROP2を発現するがんを治療する必要がある患者に、治療有効量のイムノコンジュゲートを投与する。

【 0 3 0 2 】

いくつかの実施形態では、子宮頸癌、子宮内膜癌、卵巣癌、前立腺癌、膵臓癌、食道癌、膀胱癌、尿路癌、尿路上皮癌、肺癌、非小細胞肺癌、メルケル細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、または乳癌を治療する必要がある患者に、治療有効量のイムノコンジュゲートを投与する。メルケル細胞癌は、転移性メルケル細胞癌であってもよい。乳癌は、三種陰性乳癌であってもよい。食道癌は、胃食道接合部腺癌であってもよい。

30

【 実施例 】

【 0 3 0 3 】

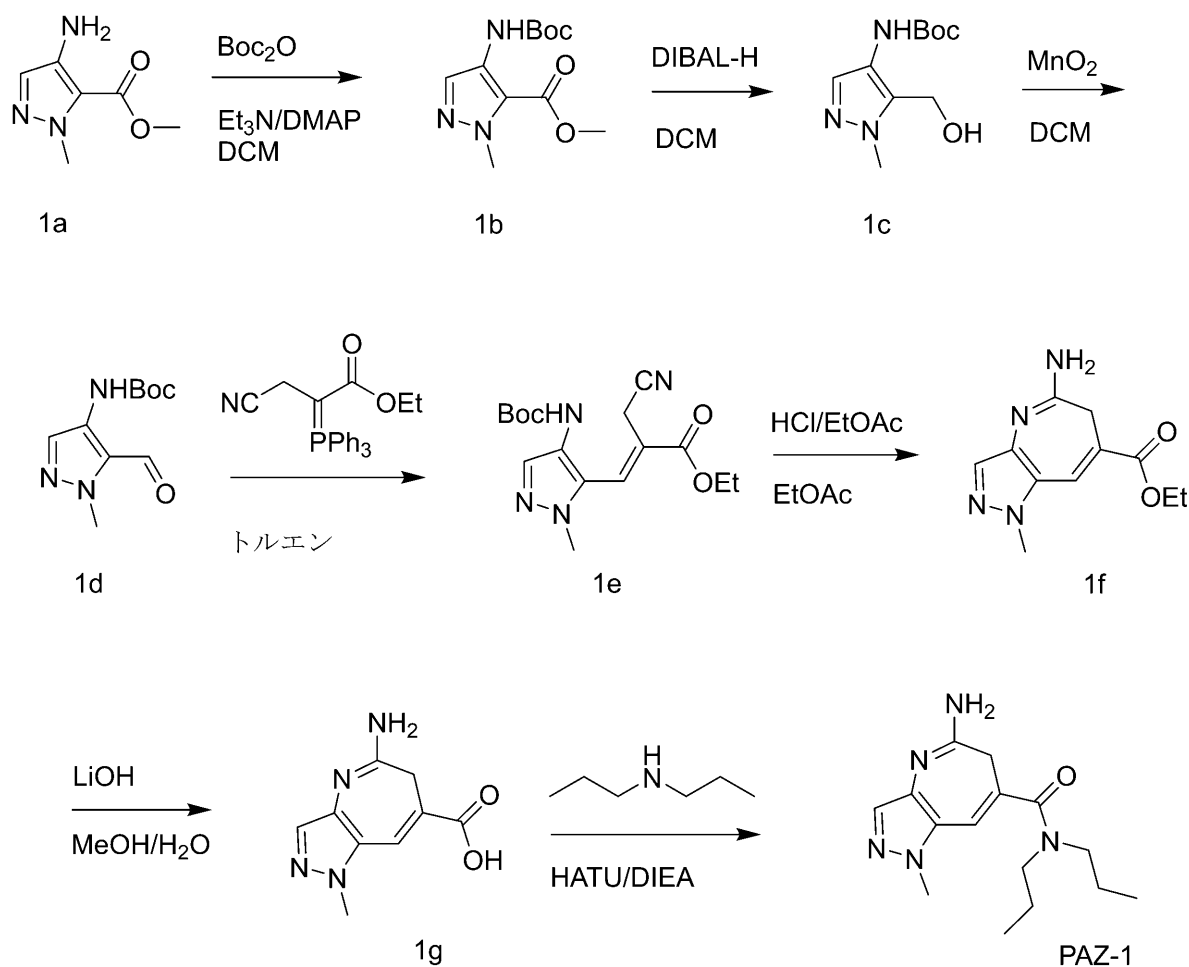
ピラゾロアゼピン化合物（PAZ）及び中間体の調製

実施例 1 5 - アミノ - 1 - メチル - N , N - ジプロピル - 1 , 6 - ジヒドロピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボキサミド、PAZ - 1 の合成

40

50

【化 3 9】



10

20

【0304】

4 - (tert - ブトキシカルボニルアミノ) - 2 - メチル - ピラゾール - 3 - カルボン酸メチル、1 b の調製 30

DCM (25 mL) 中の 4 - アミノ - 2 - メチル - ピラゾール - 3 - カルボン酸メチル、1 a (1 g、6.45 mmol、1 当量) の混合物に、TEA (1.96 g、19.3 mmol、2.69 mL、3 当量)、DMAP (78.7 mg、644 μmol (マイクロモル)、0.1 当量) 及び (Boc)₂O (2.81 g、12.9 mmol、2.96 mL、2 当量) を加え、次いで 15 で 10 時間攪拌した。混合物を濃縮し、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、石油エーテル / 酢酸エチル = 1 : 0 ~ 1 : 1) によって精製して、1 b (1 g、3.92 mmol、収率 60.78%) を黄色の油状物として得た。

【0305】

tert - ブチル N - [5 - (ヒドロキシメチル) - 1 - メチル - ピラゾール - 4 - イル] カルバメート、1 c の調製 40

DCM (5 mL) 中の 1 b (800 mg、3.13 mmol、1 当量) の混合物に、DIBAL - H (1 M、12.5 mL、4 当量) を 0 で加え、それを 15 で 10 時間攪拌した。反応混合物を水 (0.5 mL) でクエンチし、次いで Na₂SO₄ で乾燥させ、セライトで濾過し、濾液を濃縮して、1 c (400 mg、1.76 mmol、収率 56.2%) を黄色の油状物として得た。LC / MS [M + H] 228.1 (計算値) ; LC / MS [M + H] 228.0 (測定値)。

【0306】

tert - ブチル N - (5 - ホルミル - 1 - メチル - ピラゾール - 4 - イル) カルバメート、1 d の調製

50

DCM (10 mL) 中の 1c (300 mg、1.32 mmol、1 当量) 及び MnO₂ (1.15 g、13.2 mmol、10 当量) の混合物を 45 で 23 時間攪拌した。混合物をセライトで濾過し、濾液を濃縮して、1d (297 mg、1.32 mmol、収率 99.9%) を黄色の油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 10.01 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 4.11 (s, 3H), 1.53 (s, 9H)

【0307】

(E)-エチル 3-(4-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)-2-(シアノメチル)アクリレート、1e の調製

トルエン (10 mL) 中の 1d (270 mg、1.20 mmol、1 当量) と 3-シアノ-2-(トリフェニルホスファニリデン)プロパン酸エチル (650 mg、1.68 mmol、1.4 当量) の混合物を、80 で 10 時間攪拌した。混合物を濃縮し、粗生成物をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、石油エーテル/酢酸エチル = 1:0~1:2) で精製して、1e (300 mg、897.21 μmol、収率 74.9%) を黄色の油状物として得た。LC/MS [M+H]⁺ 335.2 (計算値); LC/MS [M+H]⁺ 335.2 (測定値)。

【0308】

5-アミノ-1-メチル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボン酸エチル、1f の調製

HCl/EtOAc (4 M、5 mL) 中の 1e (280 mg、837 μmol、1 当量) の混合物を 15 で 10 分間攪拌した。混合物を濃縮して、1f (120 mg、512 μmol、収率 61.17%) を黄色の固体として得た。

【0309】

5-アミノ-1-メチル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボン酸、1g の調製

EtOH (5 mL) 及び H₂O (1 mL) 中の 1f (120 mg、512 μmol、1 当量) の混合物に、LiOH·H₂O (43 mg、1.02 mmol、2 当量) を加え、それを 25 で 10 時間攪拌した。混合物を分取 HPLC (HCl 条件: カラム: Waters Xbridge BEH C18 100*30 mm*10 μm; 移動相: [水 (0.04% HCl) - ACN]; B%: 1%~20%、9 分) により精製して、1g (90 mg、436 μmol、収率 85.2%) を黄色の固体として得た。LC/MS [M+H]⁺ 207.1 (計算値); LC/MS [M+H]⁺ 207.1 (測定値)。

【0310】

5-アミノ-1-メチル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボン酸、PAZ-1 の調製

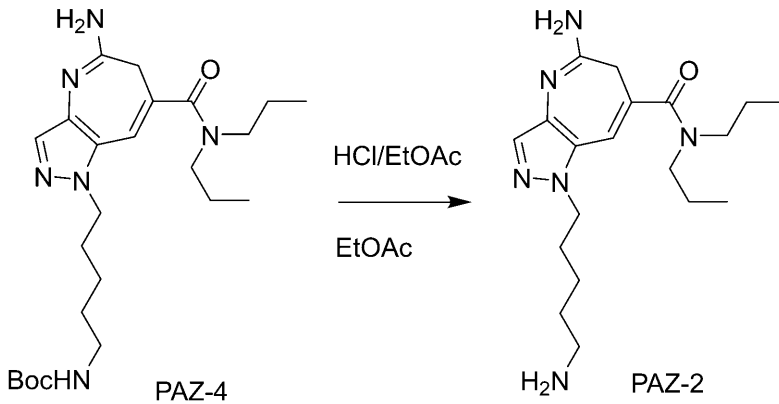
DMF (1 mL) 中の 5-アミノ-1-メチル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボン酸 (60 mg、291 μmol、1 当量) の混合物に、1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジニウム 3-オキシド ヘキサフルオロホスフェート、ヘキサフルオロホスフェートアザベンゾトリアゾールテトラメチルウロニウム、すなわち HATU (133 mg、349 μmol、1.2 当量) 及び DIEA (188 mg、1.45 mmol、253 μL、5 当量) を加えた。次いで、N-プロピルプロパン-1-アミン (147 mg、1.45 mmol、201 μL、5 当量) を混合物に加え、それを 15 で 10 時間攪拌した。混合物を濃縮し、次いで分取 HPLC (TFA 条件: カラム: Phenomenex Synergi C18 150*25*10 μm; 移動相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 15%~40%、10 分) により精製して、5-アミノ-1-メチル-N,N-ジプロピル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボキサミド (14 mg、48.4 μmol、収率 16.6%) を白色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) 7.61 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 3.51-3.35 (m, 4H), 3.34 (s, 2H), 1.73-1.64 (

m, 4 H), 1.02 - 0.85 (m, 6 H). LC/MS [M+H] 290.2 (計算値); LC/MS [M+H] 290.2 (測定値)。

【0311】

実施例2 5-アミノ-1-(5-アミノペンチル)-N,N-ジプロピル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボキサミド、PAZ-2の合成

【化40】



10

tert-ブチル N-[5-[5-アミノ-7-(ジプロピルカルバモイル)-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-1-イル]ペンチル]カルバメート、PAZ-4を
実施例4の手順により調製した。EtOAc(1mL)中のPAZ-4(30mg、65
.1umol、1.0当量)の溶液に、HCl/EtOAc(4M、5mL)を加え、次
いで20で0.5時間攪拌した。混合物を真空中で濃縮して、5-アミノ-1-(5-
アミノペンチル)-N,N-ジプロピル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-
カルボキサミド(14.2mg、35.2umol、収率54.09%、純度98.48
%、HCl)を白色の固体として得た。¹H NMR (MeOD, 400 MHz)

20

7.66 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 4.27 (t, J =
7.2 Hz, 2H), 3.46 - 3.42 (m, 4H), 3.38 (s,
2H), 2.90 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 1.89 - 1.86
(m, 2H), 1.72 - 1.66 (m, 6H), 1.40 - 1.38 (m,
2H), 0.96 - 0.89 (m, 6H). LC/MS [M+H] 361.3
(計算値); LC/MS [M+H] 361.2 (測定値)。

30

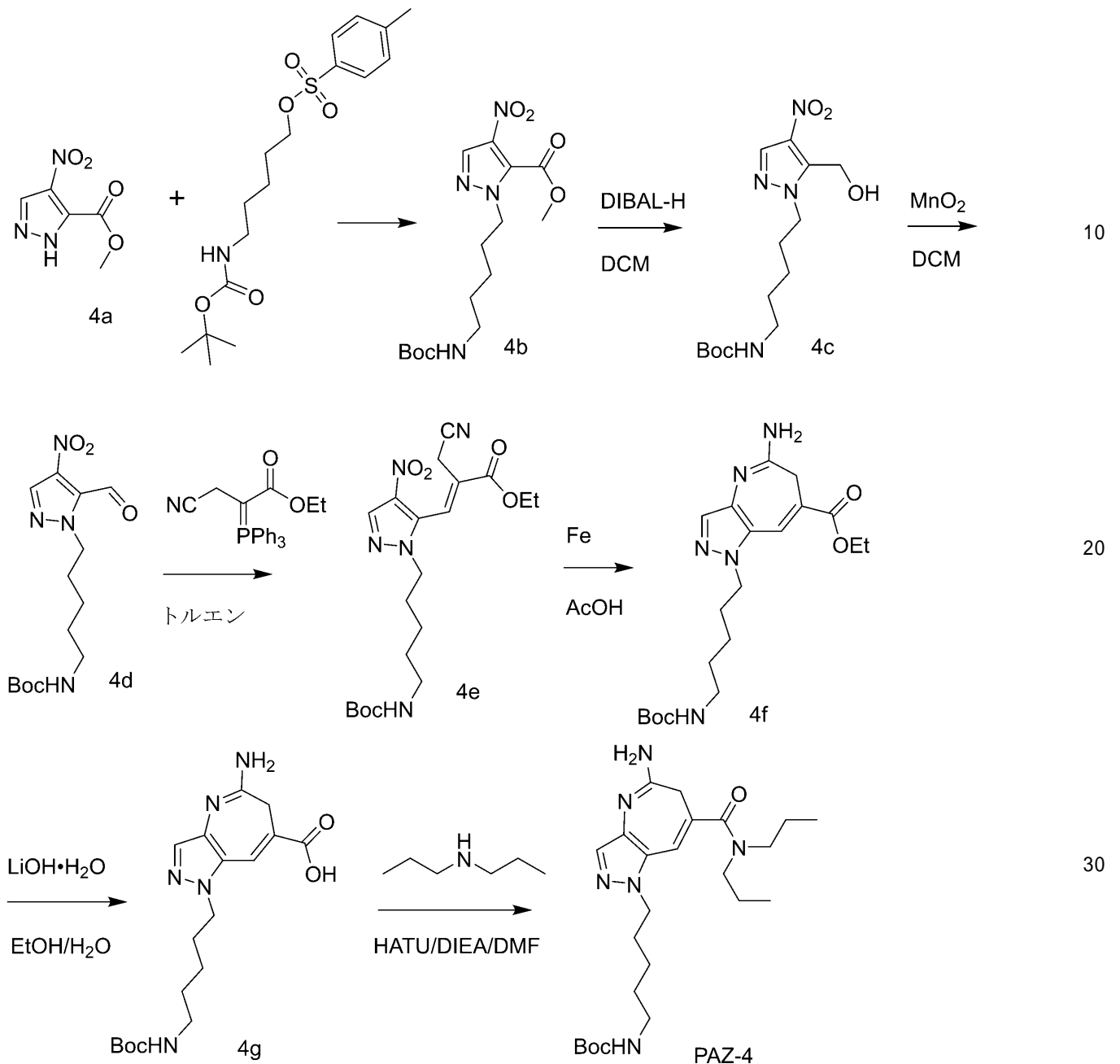
【0312】

実施例4 tert-ブチル N-[5-[5-アミノ-7-(ジプロピルカルバモイル)-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-]1-イル]ペンチル]カルバメート、PAZ-4の合成

40

50

【化 4 1】



2 - [5 - (tert - ブトキシカルボニルアミノ) ペンチル] - 4 - ニトロ - ピラゾール - 3 - カルボン酸メチル、4 b の調製

DMF (50 mL) 中の 4 - ニトロ - 1 H - ピラゾール - 5 - カルボン酸メチル、4 a (5 g、29.2 mmol、1.0 当量) の溶液に、 K_2CO_3 (20.2 g、146 mmol、5.0 当量) 及び 5 - (tert - ブトキシカルボニルアミノ) ペンチル 4 - メチルベンゼンスルホネート (10.5 g、29.2 mmol、1.0 当量) を、 N_2 下、25 で加えた。混合物を 60 で 3 時間攪拌した。次いで、 H_2O (200 mL) を加えてクエンチし、酢酸エチル (200 mL \times 3) で抽出した。合わせた有機相をブライン (100 mL) で洗浄し、無水 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (カラム高さ : 250 mm、直径 : 100 mm、100 ~ 200 メッシュシリカゲル、石油エーテル / 酢酸エチル = 50 / 1、0 / 1) により精製して、4 b (4.1 g、粗製) を黄色の油状物として、及び位置異性体 1 - [5 - (tert - ブトキシカルボニルアミノ) ペンチル] - 4 - ニトロ - ピラゾール - 3 - カ

10

20

30

40

50

ルボン酸メチル (6.1 g、粗製) を黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.03 (s, 1H), 4.26 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 4.03 (s, 3H), 3.11 (q, J = 6.8 Hz, 2H), 1.94 - 1.86 (m, 2H), 1.53 - 1.44 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.34 - 1.33 (m, 2H)。

【0313】

tert-ブチル N-[5-[5-(ヒドロキシメチル)-4-ニトロ-ピラゾール-1-イル]ペンチル]カルバメート、4cの調製

DCM (36 mL) 中の4b (3.6 g、10.1 mmol、1.0当量) の溶液を、0 でDIBAL-H (1M、40.4 mL、4.0当量) に加え、次いで0 で0.5 10
時間攪拌した。混合物を2 mLのH₂Oでクエンチし、10分間攪拌し、次いでNa₂SO₄で乾燥させ、酢酸エチル (50 mL x 4) で洗浄し、濾過し、加圧下で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (カラム高さ: 250 mm、直径: 100 mm、100 ~ 200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル = 100 / 1 ~ 0 / 1) で精製し、4c (2.4 g、7.31 mmol、収率72.35%) を黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.09 (s, 1H), 4.98 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 4.59 (s, 1H), 4.24 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.32 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 3.12 (q, J = 6.8 Hz, 2H), 1.96 - 1.92 (m, 2H), 1.53 - 1.49 (m, 2H), 1.44 (s, 20
9H), 1.38 - 1.34 (m, 2H)。

【0314】

tert-ブチル N-[5-(5-ホルミル-4-ニトロ-ピラゾール-1-イル)ペンチル]カルバメート、4dの調製

DCM (24 mL) 中の4c (2.4 g、7.31 mmol、1.0当量) の溶液に、MnO₂ (6.35 g、73.1 mmol、10.0当量) を加え、次いで50 で12 30
時間攪拌した。混合物を濾過し、加圧下で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (カラム高さ: 250 mm、直径: 100 mm、100 ~ 200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル = 100 / 1 ~ 0 / 1) により精製して、2d (0.93 g、2.85 mmol、収率38.99%) を黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 10.51 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 4.56 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.13 - 3.10 (m, 2H), 1.91 - 1.84 (m, 2H), 1.53 - 1.51 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.43 - 1.36 (m, 2H)。

【0315】

(E)-エチル 3-(1-(5-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ)ペンチル)-4-ニトロ-1H-ピラゾール-5-イル)-2-(シアノメチル)アクリレート、4eの調製

トルエン (10 mL) 中の3-シアノ-2-(トリフェニル-5-ホスファニリデン)プロパン酸エチル (1.21 g、3.13 mmol、1.10当量) の溶液に、2d (0.93 g、2.85 mmol、1.0当量) を加え、N₂下、70 で3時間攪拌した。その後、これを濃縮してトルエン (10 mL) を除去した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (カラム高さ: 250 mm、直径: 100 mm、100 ~ 200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル = 100 / 1 ~ 0 / 1 ~ 酢酸エチル/MeOH = 100 / 1 ~ 10 / 1) により精製して、4e (1.2 g、2.76 mmol、収率96.70%) を黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.22 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 4.58 (s, 1H), 4.45 - 4.40 (m, 2H), 4.10 - 4.07 (m, 2H), 3.41 (s, 2H), 3.11 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 1.93 - 1.89 (m, 2H), 1.54 - 1.50 (m, 2H), 1.45 50

- 1.42 (m, 12H), 1.34 - 1.32 (m, 2H)。

【0316】

5 - アミノ - 1 - [5 - (tert - ブトキシカルボニルアミノ) ペンチル] - 6 H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボン酸エチル、4 f の調製

AcOH (6 mL) 中の 4 e (600 mg、1.38 mmol、1.0 当量) の溶液に、Fe (385 mg、6.89 mmol、5.0 当量) を加え、次いで 70 で 3 時間攪拌した。混合物を濾過し、濃縮して AcOH を除去し、次いで 5 mL の H₂O を加え、酢酸エチル (10 mL × 5) で抽出した。合わせた有機相をブライン (5 mL) で洗浄し、無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマト

グラフィイー (カラム高さ : 250 mm、直径 : 100 mm、100 ~ 200 メッシュシリカゲル、石油エーテル / 酢酸エチル = 50 / 1 ~ 0 / 1 ~ 酢酸エチル / MeOH = 50 / 1 ~ 1 / 1) により精製して、4 f (150 mg、369.92 μ mol、収率 26.85 %) を黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7.69 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 4.36 - 4.31 (m, 2H), 4.20 - 4.16 (m, 2H), 3.13 (s, 2H), 3.10 - 3.09 (m, 2H), 1.89 - 1.84 (m, 2H), 1.52 - 1.49 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.39 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.32 - 1.31 (m, 2H)。

【0317】

5 - アミノ - 1 - [5 - (tert - ブトキシカルボニルアミノ) ペンチル] - 6 H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボン酸、4 g の調製

EtOH (0.5 mL) 中の 4 f (130 mg、321 μ mol、1.0 当量) の溶液に、H₂O (0.5 mL) 中の LiOH · H₂O (53.8 mg、1.28 mmol、4.0 当量) の溶液を加え、次いで 20 で 3 時間攪拌した。混合物の pH を HCl (4 M) で約 7 に調整し、次いで DCM / i - PrOH (3 / 1、10 mL × 3) で抽出した。合わせた有機相を無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、4 g (121 mg、320.58 μ mol、収率 99.99 %) を黄色の油状物として得た。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.66 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 4.23 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.41 (s, 2H), 2.99 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.86 - 1.82 (m, 2H), 1.48 - 1.45 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.29 - 1.26 (m, 2H)。

【0318】

tert - ブチル N - [5 - [5 - アミノ - 7 - (ジプロピルカルバモイル) - 6 H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 1 - イル] ペンチル] カルバメート、PAZ - 4 の調製

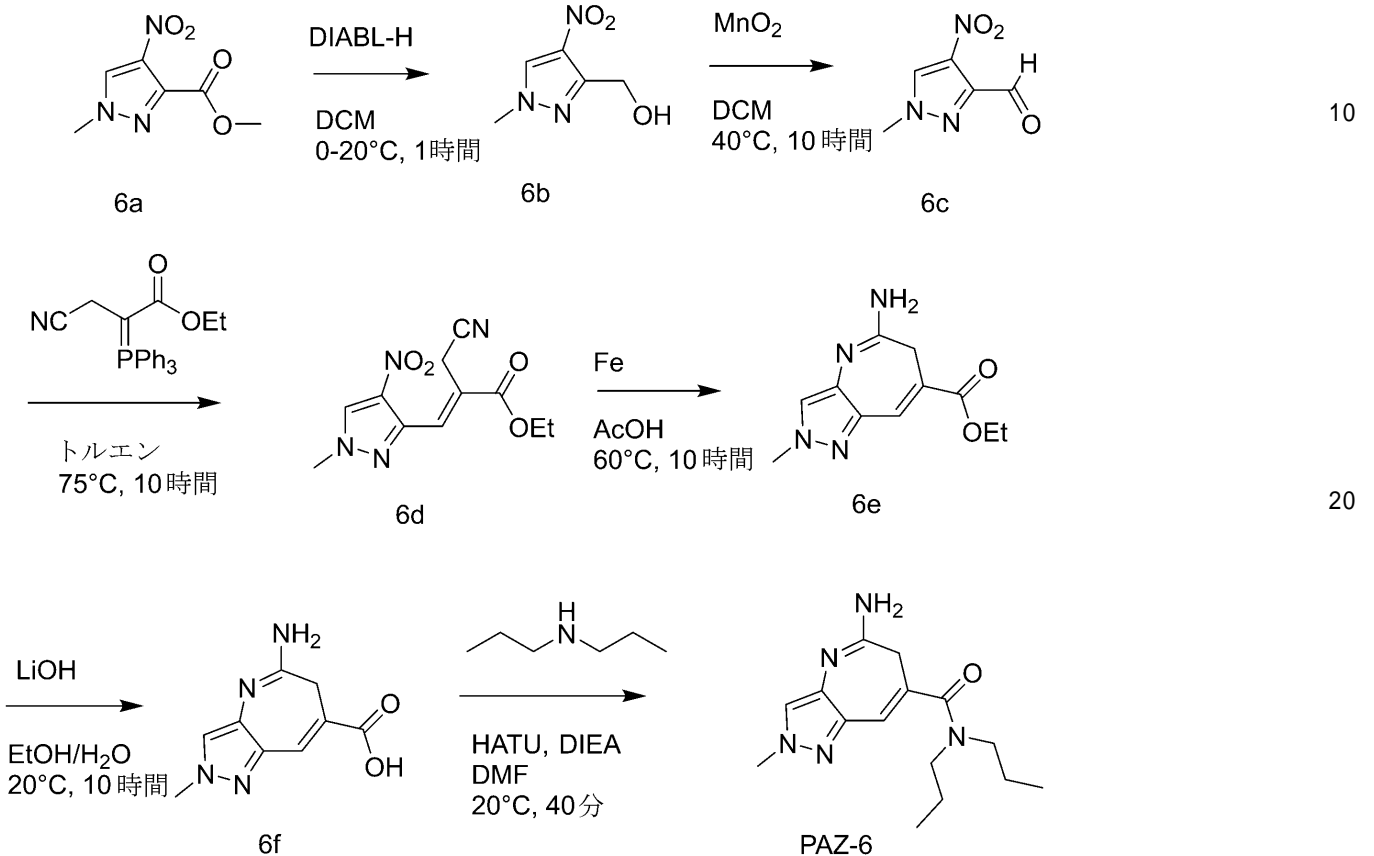
DMF (0.5 mL) 中の 4 g (100 mg、265 μ mol、1.0 当量) の溶液に、HATU (106 mg、278 μ mol、1.05 当量)、DIEA (103 mg、795 μ mol、3.0 当量) 及び N - プロピルプロパン - 1 - アミン (40.2 mg、397 μ mol、1.50 当量) を加えた。混合物を 20 で 0.5 時間攪拌した。次いで、それを濾過し、分取 HPLC (カラム : Phenomenex Synergi C18 150 * 25 * 10 μ m ; 移動相 : [水 (0.1 % TFA) - ACN] ; B % : 20 % ~ 45 %、9 分) により精製して、PAZ - 4 (105 mg、218.98 μ mol、収率 82.65 %、純度 96.06 %) を白色の固体として得た。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.63 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 4.25 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.46 - 3.45 (m, 4H), 3.37 (s, 2H), 2.98 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 1.84 - 1.83 (m, 2H), 1.73 - 1.67 (m, 4H), 1.45 - 1.44 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.31 - 1.27 (m, 2H), 0.96 - 0.89 (m, 6H)。LC / MS [M + H

] 461.3 (計算値); LC/MS [M+H] 461.3 (測定値)。

【0319】

実施例6 5-アミノ-2-メチル-N,N-ジブロピル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボキサミド、PAZ-6の合成

【化42】



(1-メチル-4-ニトロ-ピラゾール-3-イル)メタノール、6bの調製

DCM (40 mL) 中の1-メチル-4-ニトロ-ピラゾール-3-カルボン酸メチル、6a (4.00 g、21.6 mmol、1.0当量)の溶液に、DIABL-H (1 M、64.8 mL、3.0当量)をN₂下、0 で滴下し、次いで0 で1時間攪拌した。反応混合物を水 (1.2 mL) でクエンチし、濾過し、次いで濾液を真空中で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (カラム高さ: 250 mm、直径: 100 mm、100~200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル = 10/1、1/2) により精製して、6b (2.20 g、14.0 mmol、収率64.8%)を白色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.07 (s, 1H), 4.84 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.77 (t, J = 5.6 Hz, 1H)。

40

【0320】

1-メチル-4-ニトロ-ピラゾール-3-カルボアルデヒド、6cの調製

DCM (20 mL) 中の6b (2.20 g、14.0 mmol、1.0当量)の溶液に、MnO₂ (6.09 g、70.0 mmol、5.0当量)をN₂下、20 で一度に加え、次いで40 で10時間攪拌した。反応混合物を濾過し、濾液を真空中で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (カラム高さ: 250 mm、直径: 100 mm、100~200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル = 10/1、1/4) により精製して、6c (1.00 g、6.45 mmol、収率46.0%)を黄色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 10.38 (s, 1

50

H), 8.15 (s, 1H), 4.01 (s, 3H)。

【0321】

(E)-エチル 2-(シアノメチル)-3-(1-メチル-4-ニトロ-1H-ピラゾール-3-イル)アクリレート、6dの調製

トルエン(10mL)中の6c(1.00g、6.45mmol、1.0当量)及び3-シアノ-2-(トリフェニル-⁵-ホスファニリデン)プロパン酸エチル(3.25g、8.38mmol、1.3当量)の混合物に、N₂下、20℃で一度に、これを75℃で10時間攪拌した。反応混合物を真空中で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(カラム高さ:250mm、直径:100mm、100~200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル=10/1、1/1)により精製して、6d(1.10g、4.16mmol、収率64.5%)を黄色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.27 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 4.30 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.95 (s, 2H), 1.33 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

10

【0322】

5-アミノ-2-メチル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボン酸エチル、6eの調製

AcOH(18mL)中の6d(900mg、3.41mmol、1.0当量)の溶液に、Fe(951mg、17.0mmol、5.0当量)をN₂下、20℃で一度に加え、次いで60℃で10時間攪拌した。反応混合物を真空中で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(カラム高さ:250mm、直径:100mm、100~200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル=10/1、0/1、次いで酢酸エチル/メタノール=1/0、6/1)により精製して、6e(270mg、1.15mmol、収率33.8%)を黄色の固体として得た。

20

【0323】

5-アミノ-2-メチル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボン酸、6fの調製

EtOH(10mL)及びH₂O(2mL)中のPAZ-6e(120mg、512umol、1.0当量)の溶液に、LiOH·H₂O(107mg、2.56mmol、5.0当量)をN₂下、20℃で一度に加え、次いで20℃で10時間攪拌した。反応混合物に水(5mL)を加え、HCl(4M)でpHを約7に調整し、次いで混合物を真空中で濃縮し、濾過し、フィルターケーキを乾燥させて、6f(70.0mg、339umol、収率66.2%)を淡黄色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 7.56 (s, 1H), 7.19 (br s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.07 (s, 2H)。

30

【0324】

5-アミノ-2-メチル-N,N-ジプロピル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボキシ-アミド、PAZ-6の調製

DMF(1mL)中の6f(60.0mg、291umol、1.0当量)の溶液に、HATU(99.5mg、261umol、0.9当量)及びDIEA(112mg、873umol、152uL、3.0当量)をN₂下、20℃で加えた。10分後、N-プロピルプロパン-1-アミン(58.9mg、582umol、80.2uL、2.0当量)を加え、これを20℃でさらに0.5時間攪拌した。反応混合物を濾過し、濾液を分取HPLC(カラム:Phenomenex Luna C18 150*30mm*5um;移動相:[水(0.1%TFA)-ACN];B%:5%~40%、12分)により精製して、PAZ-6(25.6mg、86.7umol、収率29.8%、純度98.0%)を黄色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) 7.86 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.50-3.42 (m, 4H), 3.41 (s, 2H), 1.75-1.64 (m, 4H), 0.98-0.92 (m, 6H)。LC/MS [M+

40

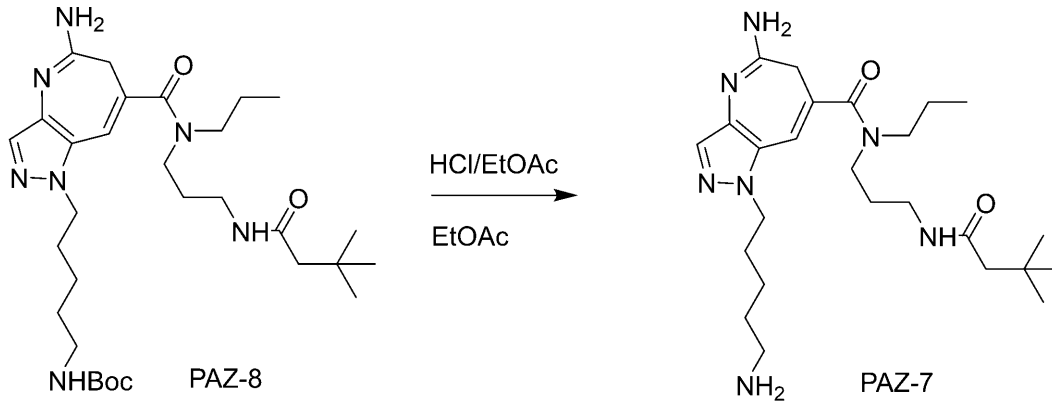
50

H] 290.2 (計算値); LC/MS [M+H] 290.2 (測定値)。

【0325】

実施例7 5-アミノ-1-(5-アミノペンチル)-N-[3-(3,3-ジメチルブタノイルアミノ)プロピル]-N-プロピル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボキサミド、PAZ-7の合成

【化43】



EtOAc (2 mL) 中の PAZ-8 (80 mg、139 μmol 、1.0 当量) の溶液に、HCl/EtOAc (4 M、1.05 mL、30.0 当量) を加え、次いで混合物を 20 で 0.5 時間攪拌した。混合物を圧力下で濃縮して、黄色の固体として取得した (75 mg、146 μmol 、収率 98% の PAZ-7、2 HCl)。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.67 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 4.28 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.52 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.45-3.41 (m, 4H), 3.32 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 2.91 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.07-2.04 (m, 2H), 1.90-1.85 (m, 4H), 1.69-1.66 (m, 4H), 1.40-1.36 (m, 2H), 1.02 (s, 9H), 0.97-0.87 (m, 3H)。LC/MS [M+H] 474.3 (計算値); LC/MS [M+H] 474.3 (測定値)。

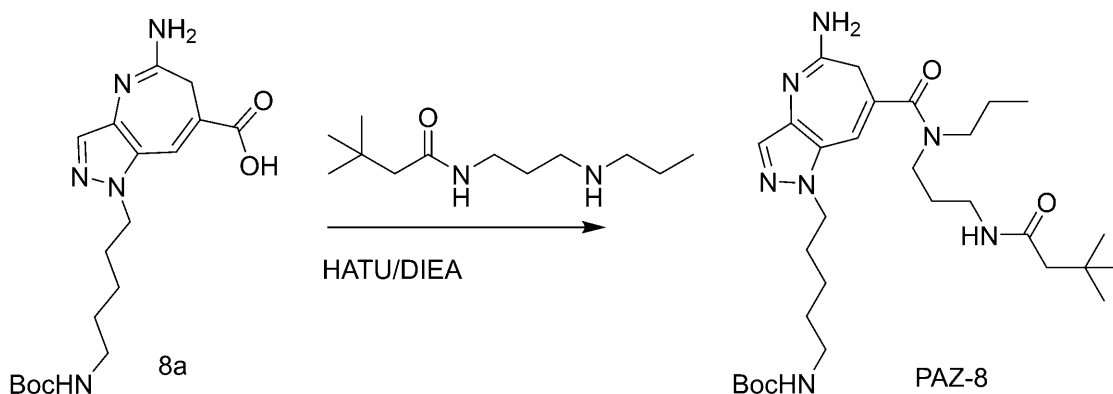
20

30

【0326】

実施例8 tert-ブチル N-[5-[5-アミノ-7-[3-(3,3-ジメチルブタノイルアミノ)プロピル]-プロピル-カルバモイル]-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-1-イル]ペンチル]カルバメート、PAZ-8の合成

【化44】



DMF (3 mL) 中の 8a (250 mg、662 μmol 、1.0 当量) の溶液に、H

50

ATU (252 mg、662 μmol 、1.0 当量)、DIEA (257 mg、1.99 mmol、346 μL 、3.0 当量) 及び 3,3-ジメチル-N-[3-(プロピルアミノ)プロピル]ブタンアミド (149 mg、695 μmol 、1.05 当量) を 20 で加え、これを 0.5 時間攪拌した。混合物を濾過し、分取 HPLC (カラム: Phenomenex Synergi C18 150*25*10 μm ; 移動相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 15% ~ 45%、10 分) により精製して、PAZ-8 (120 mg、195 μmol 、収率 29.44%、純度 93.23%) を白色の固体として得た。 $^1\text{H NMR}$ (MeOD, 400 MHz) 7.64 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 4.25 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.52 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.46 - 3.40 (m, 4H), 3.22 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 3.00 - 2.97 (m, 2H), 2.06 (s, 2H), 1.88 - 1.83 (m, 4H), 1.70 - 1.68 (m, 2H), 1.47 - 1.45 (m, 2H), 1.42 - 1.41 (m, 11H), 1.28 - 1.27 (m, 2H), 1.02 (s, 9H), 0.93 (s, 3H). LC/MS [M+H] 574.4 (計算値); LC/MS [M+H] 574.4 (測定値)。

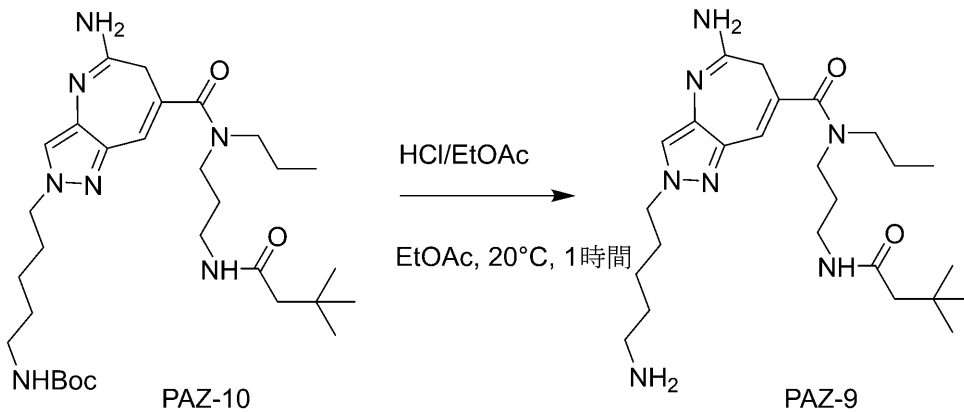
10

【0327】

実施例 9 5-アミノ-2-(5-アミノペンチル)-N-[3-(3,3-ジメチルブタノイルアミノ)プロピル]-N-プロピル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボキサミド、PAZ-9 の合成

20

【化45】



30

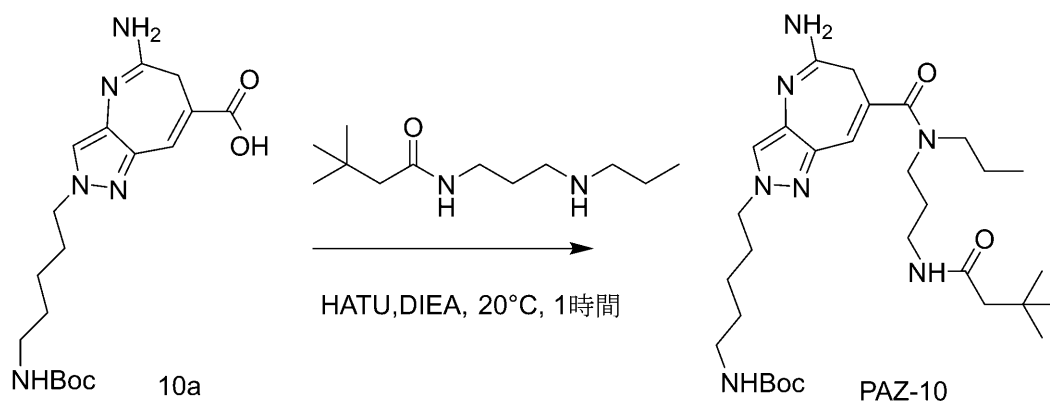
EtOAc (2 mL) 中の実施例 10 の tert-ブチル N-[5-[5-アミノ-7-[3-(3,3-ジメチルブタノイルアミノ)プロピル-プロピル-カルバモイル]-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-2-イル]ペンチル]カルバメート、PAZ-10 (80.0 mg、139 μmol 、1 当量) の溶液に、HCl/EtOAc (4 M、2 mL、57.0 当量) を加え、これを 20 で 1 時間攪拌した。混合物を濃縮して、PAZ-9 (70 mg、128 μmol 、収率 91.85%、2 HCl) を淡黄色の固体として得た。 $^1\text{H NMR}$ (MeOD- d_4 , 400 MHz) 7.93 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 4.25 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.52 (br t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.47 - 3.39 (m, 4H), 3.27 - 3.16 (m, 2H), 2.92 (br t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.08 - 2.01 (m, 2H), 1.99 - 1.91 (m, 2H), 1.90 - 1.80 (m, 2H), 1.75 - 1.63 (m, 4H), 1.44 - 1.40 (m, 2H), 1.01 (br s, 9H), 0.94 - 0.90 (m, 3H). LC/MS [M+H] 474.4 (計算値); LC/MS [M+H] 474.3 (測定値)。

40

【0328】

50

実施例 10 tert-ブチル N-[5-[5-アミノ-7-[3-(3,3-ジメチルブタノイルアミノ)プロピル-プロピル-カルバモイル]-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-2-イル]ペンチル]カルバメート、PAZ-10の合成
【化46】



DMF (5 mL) 中の 5-アミノ-2-[5-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)ペンチル]-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボン酸、10a (250 mg、662 μ mol、1 当量) の溶液に、HATU (252 mg、662 μ mol、1 当量)、DIEA (257 mg、2.00 mmol、346 μ L、3 当量) 及び 3,3-ジメチル-N-[3-(プロピルアミノ)プロピル]ブタンアミド (664 mg、2.70 mmol、4 当量、HCl) を加え、20 で 1 時間攪拌した。混合物を水 (30 mL) で希釈し、EtOAc (30 mL \times 3) で抽出した。有機層をブライン (20 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。残留物を分取 HPLC (カラム: Phenomenex Synergi C18 150 * 25 * 10 μ m; 移動相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 15% ~ 45%、8 分) により精製して、PAZ-10 (90 mg、131 μ mol、収率 19.76%、TFA) を淡黄色の固体として得た。¹H NMR (MeOD-d₄, 400 MHz) 7.88 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 4.22 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.52 (br t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.48 - 3.38 (m, 4H), 3.26 - 3.15 (m, 2H), 3.02 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.10 - 1.99 (m, 2H), 1.96 - 1.79 (m, 4H), 1.72 - 1.62 (m, 2H), 1.54 - 1.47 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.37 - 1.28 (m, 2H), 1.01 (s, 9H), 0.95 - 0.86 (m, 3H). LC/MS [M+H] 574.4 (計算値); LC/MS [M+H] 574.4 (測定値)。

【0329】

実施例 11 tert-ブチル N-[5-[5-アミノ-7-[エトキシ(プロピル)カルバモイル]-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-1-イル]ペンチル]カルバメート、PAZ-11の合成

10

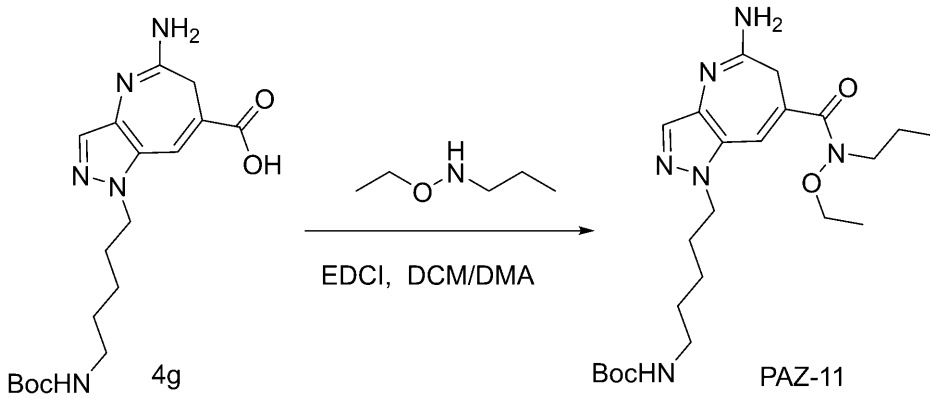
20

30

40

50

【化 4 7】



10

DCM (5 mL) 及びジメチルアセトアミド、すなわち DMA (5 mL) 中の 5 - アミノ - 1 - [5 - (tert - ブトキシカルボニルアミノ) ペンチル] - 6 H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボン酸、4 g (220 mg、582 μmol 、1 当量) 及び N - エトキシプロパン - 1 - アミン (122 mg、874 μmol 、1.5 当量、HCl) の溶液に、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩、すなわち EDCI (447 mg、2.33 mmol、4 当量) を加え、次いで 20

で 1 時間攪拌した。反応混合物を濾過し、減圧下で濃縮した。残留物を分取 HPLC (TFA 条件 : カラム : Phenomenex Gemini - NX 150 * 30 mm * 5 μm ; 移動相 : [水 (0.1% TFA) - ACN] ; B% : 25% ~ 55%、9 分) により精製して、PAZ - 11 (135 mg、234.13 μmol 、収率 40.17%、TFA) を白色の固体として得た。¹H NMR (MeOD - d₄, 400 MHz)

7.64 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 4.25 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.96 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.43 (s, 2H), 2.99 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.90 - 1.71 (m, 4H), 1.51 - 1.37 (m, 11H), 1.33 - 1.23 (m, 2H), 1.19 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.00 (t, J = 7.2 Hz, 3H). LC / MS [M + H] 463.3 (計算値) ; LC / MS [M + H] 463.3 (測定値) 。

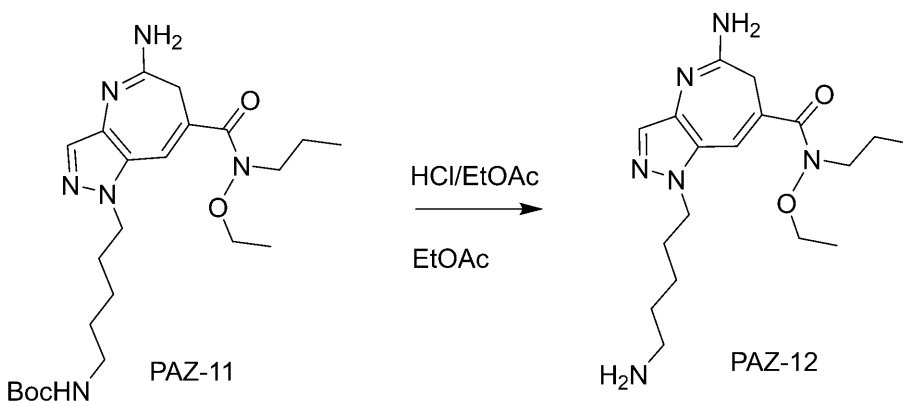
20

30

【 0 3 3 0 】

実施例 12 5 - アミノ - 1 - (5 - アミノペンチル) - N - エトキシ - N - プロピル - 6 H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボキサミド、PAZ - 12 の合成

【化 4 8】



40

50

EtOAc (1 mL) 中の PAZ - 11 (123 mg、265.90 μmol 、1 当量) の溶液に、HCl / EtOAc (4 M、10 mL、150 当量) を加え、これを 20 で 0.5 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、PAZ - 12 (100.5 mg、230.83 μmol 、収率 86.81%、2 HCl) を淡黄色の固体として得た。¹H NMR (MeOD - d₄, 400 MHz) 7.66 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 4.28 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.95 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.43 (s, 2H), 2.91 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.95 - 1.84 (m, 2H), 1.83 - 1.73 (m, 2H), 1.70 - 1.64 (m, 2H), 1.45 - 1.34 (m, 2H), 1.18 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.00 (t, J = 7.2 Hz, 3H). LC/MS [M+H] 363.2 (計算値); LC/MS [M+H] 363.1 (測定値)。

【0331】

実施例 13 tert - ブチル N - [[4 - [[5 - アミノ - 7 - (ジプロピルカルバモイル) - 6H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 1 - イル] メチル] フェニル] メチル] カルバメート、PAZ - 13 の合成

10

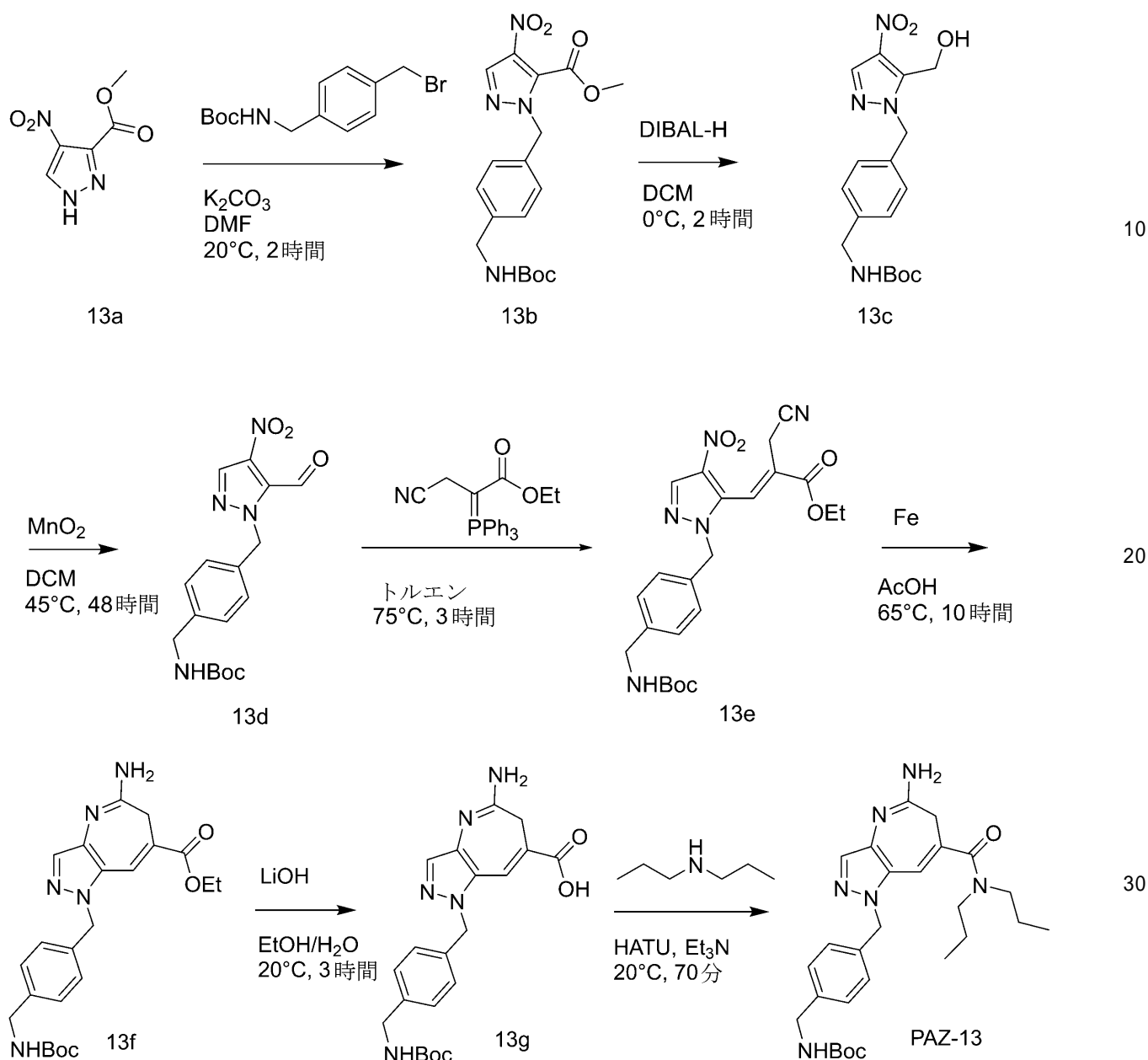
20

30

40

50

【化 4 9】



2 - [[4 - [(tert - ブトキシカルボニルアミノ) メチル] フェニル] メチル] - 4 - ニトロ - ピラゾール - 3 - カルボン酸メチル、13bの調製

DMF (5 mL) 中の 4 - ニトロ - 1H - ピラゾール - 5 - カルボン酸メチル、13a (200 mg、1.17 mmol、1.0 当量) 及び tert - ブチル N - [[4 - (プロモメチル) フェニル] メチル] カルバメート (350 mg、1.17 mmol、1.0 当量) の混合物に、K₂CO₃ (323 mg、2.34 mmol、2.0 当量) を、N₂ 下、20 で一度に加え、次いで 20 で 2 時間攪拌した。水 (20 mL) を加え、水相を酢酸エチル (10 mL × 3) で抽出し、合わせた有機相をブライン (20 mL) で洗浄し、無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (カラム高さ: 250 mm、直径: 100 mm、100 ~ 200 メッシュシリカゲル、石油エーテル / 酢酸エチル = 1 / 0、2 / 1) により精製して、13b (100 mg、256 μmol、収率 21.9%) を白色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) 8.18 (s, 1H), 7.32 - 7.21 (m, 4H), 5.50 (s, 2H), 4.23 (s, 2H),

3.92 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)。

【0332】

tert-ブチル N-[[4-[[5-(ヒドロキシメチル)-4-ニトロ-ピラゾール-1-イル]メチル]フェニル]メチル]カルバメート、13cの調製

DCM(20mL)中の13b(1.50g、3.84mmol、1.0当量)の溶液に、DIBAL-H(1M、15.3mL、4.0当量)をN₂下、0℃で滴下し、混合物を0℃で2時間攪拌した。反応混合物を氷水(3mL)でクエンチし、次いで混合物を濾過し、濾液を濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(カラム高さ:250mm、直径:100mm、100~200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル=1/0、1/1)により精製して、13c(600mg、1.66mmol、収率43.1%)を黄色の油状物として得た。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃-d) 8.05 (s, 1H), 7.23-7.20 (m, 2H), 7.14-7.11 (m, 2H), 5.36 (s, 2H), 4.85 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 4.22 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 1.38 (s, 9H)。

【0333】

tert-ブチル N-[[4-[(5-ホルミル-4-ニトロ-ピラゾール-1-イル)メチル]フェニル]メチル]カルバメート、13dの調製

DCM(10mL)中の13c(600mg、1.66mmol、1.0当量)の溶液に、MnO₂(1.44g、16.5mmol、10当量)をN₂下、20℃で一度に加え、次いで混合物を45℃で48時間攪拌した。反応混合物を濾過し、濾液を真空中で濃縮した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(カラム高さ:250mm、直径:100mm、100~200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル=1/0、2/1)により精製して、13d(500mg、1.39mmol、収率83.8%)を黄色の固体として得た。¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) 10.33 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.25 (s, 4H), 5.72 (s, 2H), 4.14 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 1.43 (s, 9H)。

【0334】

(E)-3-[[2-[[4-[(tert-ブトキシカルボニルアミノ)メチル]フェニル]メチル]-4-ニトロ-ピラゾール-3-イル]-2-(シアノメチル)プロパ-2-エン酸エチル、13eの調製

トルエン(10mL)中のPAZ-13d(380mg、1.05mmol、1.0当量)及び3-シアノ-2-(トリフェニル-⁵-ホスファニリデン)プロパン酸エチル(449mg、1.16mmol、1.1当量)の混合物を75℃で3時間攪拌した。反応混合物を真空中で濃縮し、次いで残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(カラム高さ:250mm、直径:100mm、100~200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル=10/1、2/1)により精製して、13e(370mg、788umol、収率74.7%)を褐色の固体として得た。

【0335】

5-アミノ-1-[[4-[(tert-ブトキシカルボニルアミノ)メチル]フェニル]メチル]-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボン酸エチル、13fの調製

AcOH(7mL)中の13e(370mg、788umol、1.0当量)の溶液に、N₂下、20℃でFe(220mg、3.94mmol、5.0当量)を一度に加え、次いでそれを65℃で10時間攪拌した。反応混合物を酢酸エチルで希釈し、次いで濾過した。濾液を真空中で濃縮した。残留物を分取HPLC(カラム:Phenomenex Luna C18 100*40mm*5um; 移動相:[水(0.1% TFA)-ACN]; B%:15%~40%、8分)により精製して、13f(180mg、409umol、収率51.9%)を黄色の固体として得た。¹H NMR(400 MHz,

MeOD) 7.73 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.24 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 5.44 (s, 2H), 4.28 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 4.21 (s, 2H), 3.05 (s, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.34 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

【0336】

5 - アミノ - 1 - [[4 - (tert - ブトキシカルボニルアミノ) メチル] フェニル] メチル] - 6 H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボン酸、13 g の調製 EtOH (4 mL) 及び H₂O (4 mL) 中の PAZ - 13 f (160 mg、364 μ mol、1.0 当量) の溶液に、LiOH · H₂O (61.1 mg、1.46 mmol、4.0 当量) を N₂ 下、20 °C で一度に加え、これを 20 °C で 3 時間攪拌した。反応混合物を HCl (4 M) で pH = 7 までクエンチし、次いで濃縮して EtOH を真空中で除去した。沈殿物を濾過して、13 g (120 mg、291 μ mol、収率 80.1%) を灰色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.66 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.18 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.04 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 5.39 (s, 2H), 4.09 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 2.90 (s, 2H), 1.39 (s, 9H)。

10

【0337】

PAZ - 13 の調製

DMF (2 mL) 中の 13 g (150 mg、364 μ mol、1.0 当量) の溶液に、HATU (138 mg、364 μ mol、1.0 当量) 及び Et₃N (110 mg、1.09 mmol、152 μ L、3.0 当量) を N₂ 下、20 °C で一度に加えた。10 分後、N - プロピルプロパン - 1 - アミン (110 mg、1.09 mmol、150 μ L、3.0 当量) を加え、これを 20 °C で 1 時間攪拌した。反応混合物を濾過し、濾液を分取 HPLC (カラム : Phenomenex Synergi C18 150 * 25 * 10 μ m ; 移動相 : [水 (0.1% TFA) - ACN] ; B% : 10% ~ 40%、10 分) により精製して、PAZ - 13 (110 mg、221 μ mol、収率 60.8%、純度 99.7%) を白色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, MeOD) 7.71 (s, 1H), 7.26 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.02 (s, 1H), 5.51 (s, 2H), 4.20 (s, 2H), 3.38 - 3.34 (m, 4H), 3.30 (s, 2H), 1.55 - 1.50 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 1.04 - 0.66 (m, 6H)。LC/MS [M + H] 495.3 (計算値) ; LC/MS [M + H] 495.2 (測定値)。

20

30

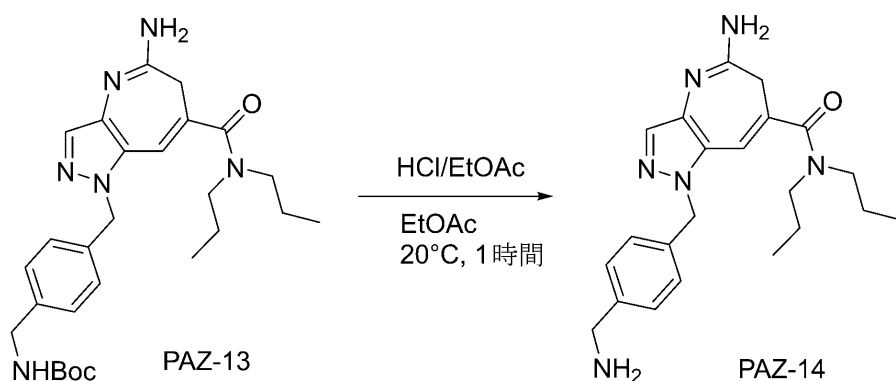
【0338】

実施例 14 5 - アミノ - 1 - [[4 - (アミノメチル) フェニル] メチル] - N , N - ジプロピル - 6 H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボキサミド、PAZ - 14 の合成

40

50

【化50】



10

EtOAc (2 mL) 中の tert - ブチル N - [[4 - [[5 - アミノ - 7 - (ジプロピルカルバモイル) - 6 H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 1 - イル] メチル] フェニル] メチル] カルバメート、PAZ - 13 (100 mg、202 μmol 、1.0 当量) の溶液に、HCl / EtOAc (4 M、2.53 mL、50 当量) を N_2 下、20 で一度に加え、次いで混合物を 20 で 1 時間攪拌した。反応混合物を真空中で濃縮して、PAZ - 14 (87.0 mg、196 μmol 、収率 97.1%、純度 97.2%、HCl) を褐色の油状物として得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) 7.74 (s, 1H), 7.46 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.25 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.06 (s, 1H), 5.56 (s, 2H), 4.11 (s, 2H), 3.35 (s, 2H), 3.33 - 3.31 (m, 4H), 1.72 - 1.54 (m, 4H), 1.01 - 0.71 (m, 6H). LC/MS [M+H] 395.2 (計算値); LC/MS [M+H] 395.1 (測定値)。

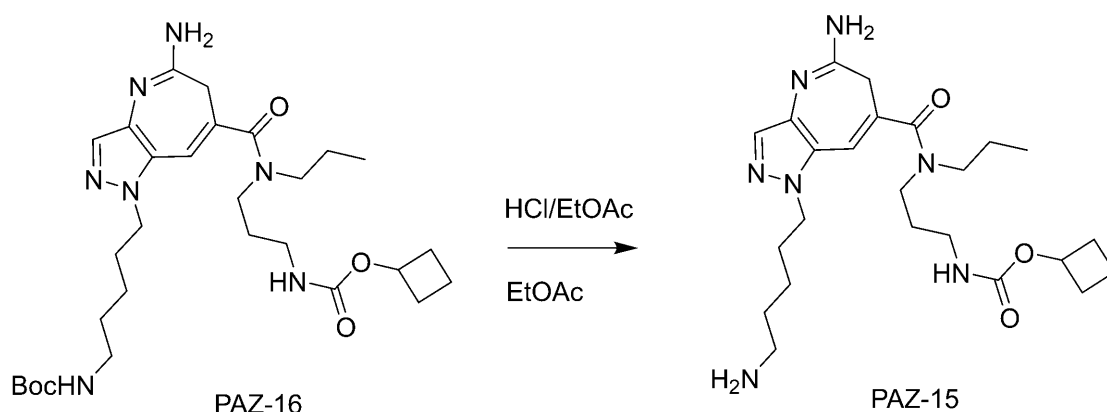
20

【0339】

実施例 15 シクロブチル (3 - (5 - アミノ - 1 - (5 - アミノペンチル) - N - プロピル - 1, 6 - ジヒドロピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボキサミド) プロピル) カルバメート、PAZ - 15 の合成

30

【化51】

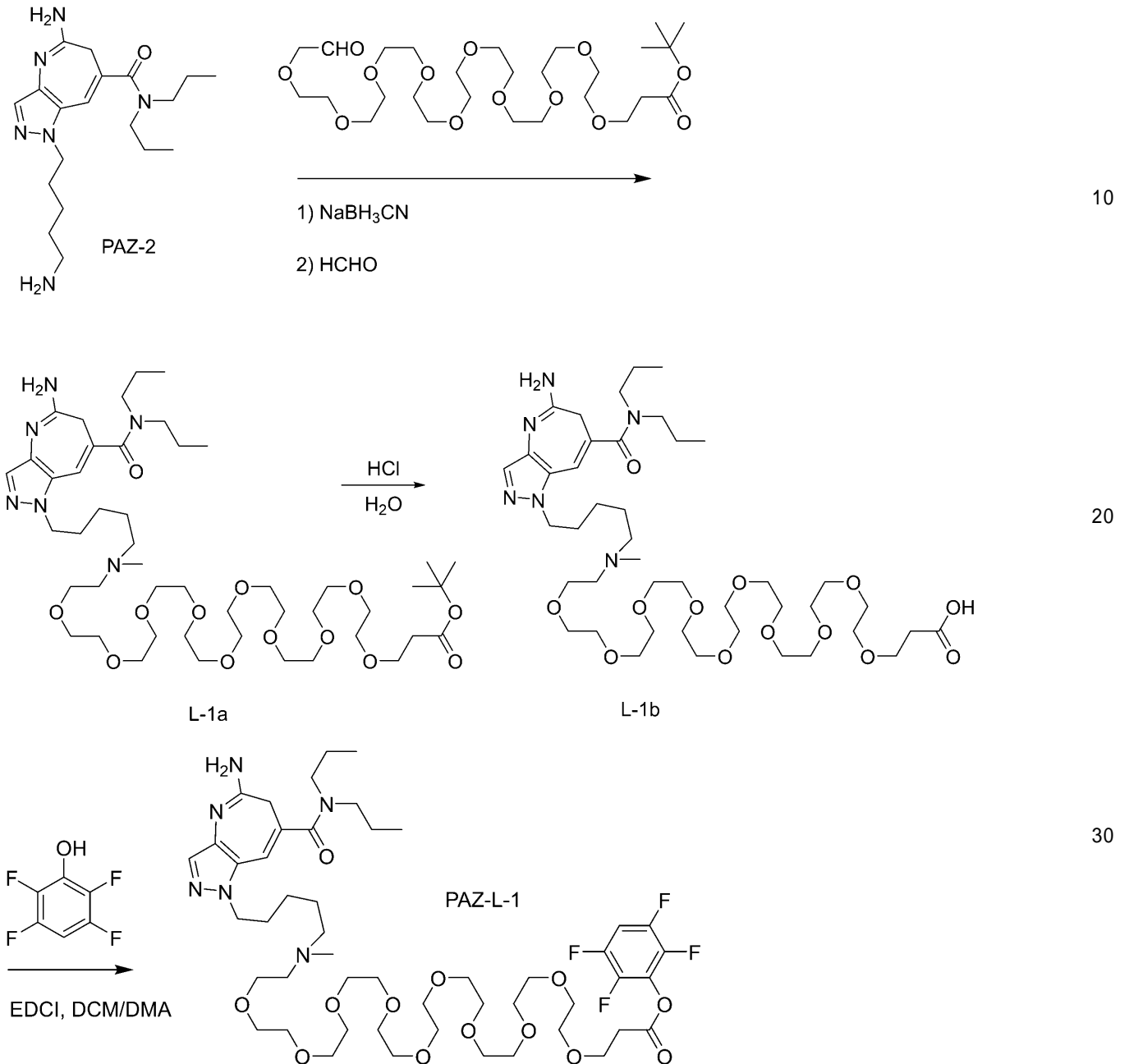


40

EtOAc (3 mL) 中の PAZ - 16 (200 mg、349 μmol 、1 当量) の溶液に、HCl / EtOAc (4 M、10 mL) を加え、次いで 25 で 1 時間攪拌した。混合物を減圧下で濃縮して、PAZ - 15 (170 mg、333 μmol 、収率 95.61%、HCl) を黄色の固体として得た。 $^1\text{H NMR}$ (MeOD - d_4 , 400 MHz) 7.67 (s, 1H), 7.17 (br s, 1H), 4.85 - 4.80 (m, 1H), 4.28 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3

50

トキシ]エトキシ]エトキシ]プロパノエート、PAZ-L-1の合成
【化53】



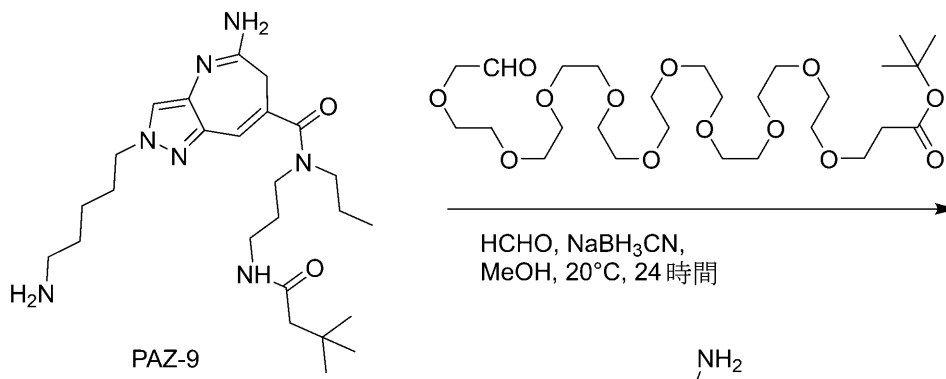
tert-ブチル 3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[5-[5-アミノ-7-(ジプロピルカルバモイル)-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-1-イル]ペンチル-メチル-アミノ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]プロパノエート、L-1aの調製

40

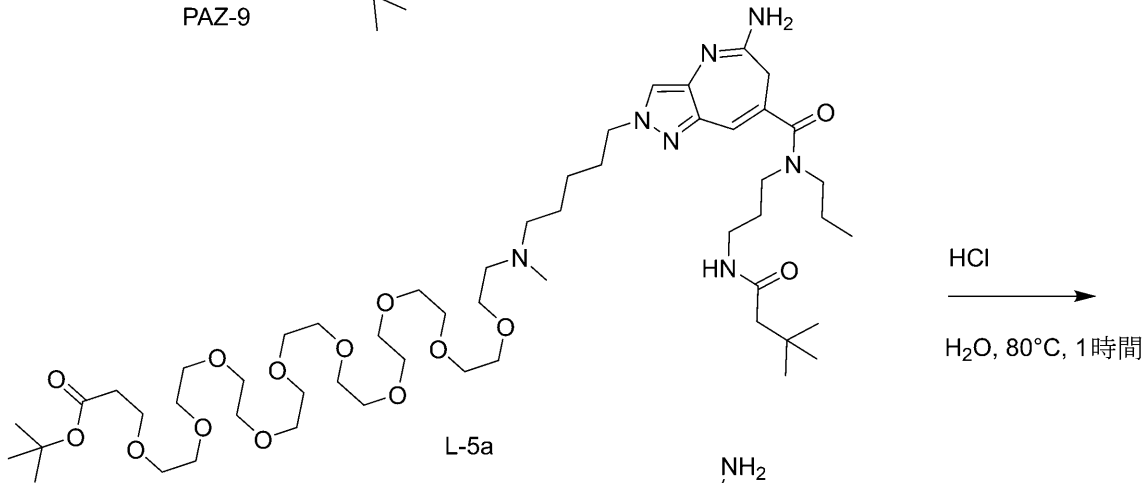
MeOH (2 mL) 中の 5-アミノ-1-(5-アミノペンチル)-N,N-ジプロピル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボキサミド、PAZ-2 (57 mg、143.59 μmol 、1.0 当量、HCl) の溶液に、tert-ブチル 3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-オキソエトキシ)エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]プロパノエート (218 mg、373 μmol 、2.60 当量) 及び NaBH_3CN (27.0 mg、431 μmol 、3.0 当量) を加え、混合物を 20 で 12 時間攪拌

50

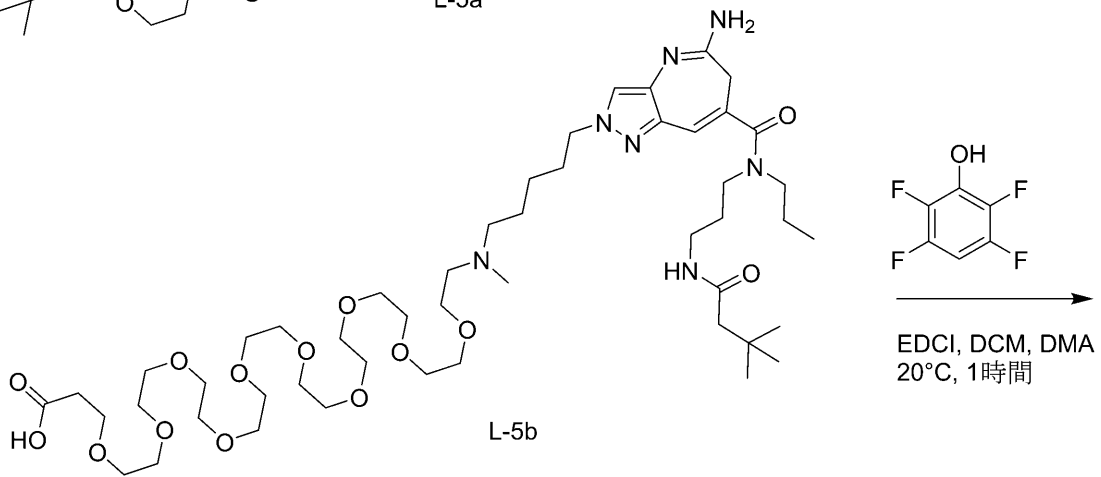
【化 5 5 - 1】



10



20



30

40

50

mol、1当量、HCl)の溶液に、2,3,5,6-テトラフルオロフェノール(58.0mg、347 μ mol、8当量)及びEDCI(83.0mg、434 μ mol、10当量)を加えた。混合物を20で1時間攪拌し、次いで濃縮し、濾過した。残留物を分取HPLC(カラム:Phenomenex Synergi C18 150*25*10 μ m;移動相:[水(0.1%TFA)-ACN];B%:20%~50%、8分)により精製して、PAZ-L-5(22mg、17.43 μ mol、収率40.15%、TFA)を淡黄色の油状物として得た。¹H NMR (MeOD-d₄, 400 MHz) 7.92 (s, 1H), 7.50-7.42 (m, 1H), 6.98 (s, 1H), 4.26 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.87 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.85-3.80 (m, 2H), 3.71-3.60 (m, 38H), 3.52 (br t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.49-3.35 (m, 6H), 3.26-3.07 (m, 4H), 2.98 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.91 (s, 3H), 2.10-1.92 (m, 4H), 1.89-1.75 (m, 4H), 1.69-1.65 (m, 2H), 1.47-1.36 (m, 2H), 1.02 (br s, 9H), 0.96-0.86 (m, 3H). LC/MS [M+H] 1148.6 (計算値); LC/MS [M+H] 1148.5 (測定値)。

10

【0350】

実施例L-6 2,3,5,6-テトラフルオロフェニル43-(5-アミノ-7-(エトキシ(プロピル)カルバモイル)ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-1(6H)-イル)-37-オキソ-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34-ウンデカオキサ-38-アザトリテトラコンタノエート、PAZ-L-6の合成

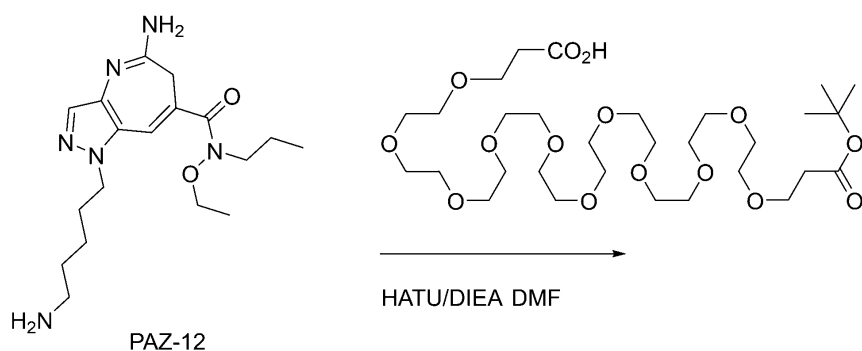
20

30

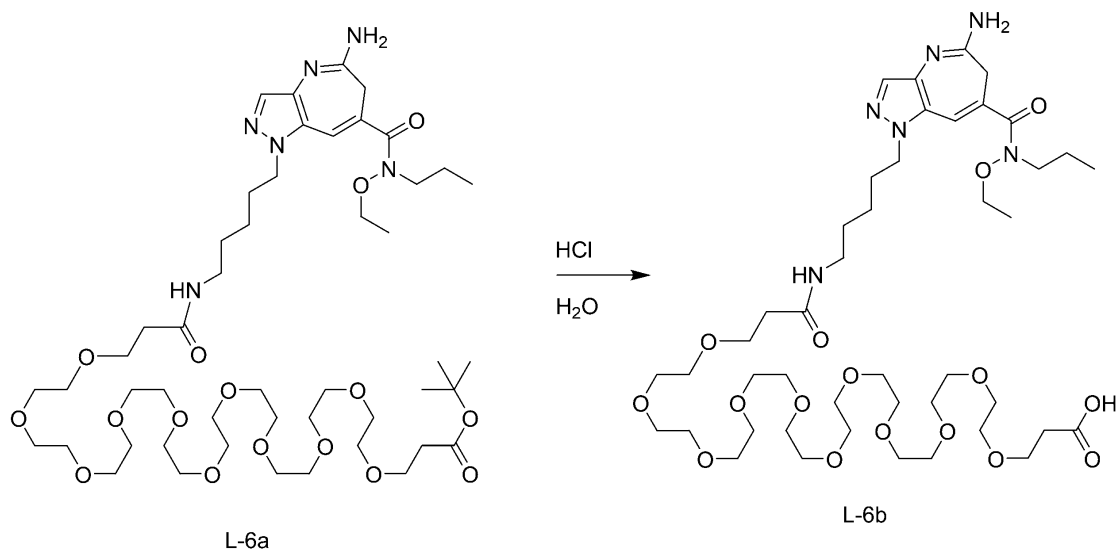
40

50

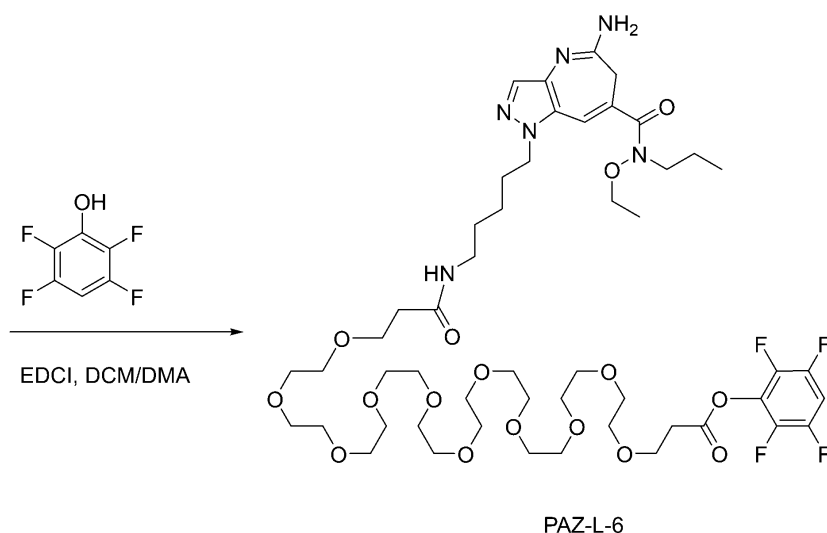
【化 5 6】



10



20



30

40

tert-ブチル 43-(5-アミノ-7-(エトキシ(プロピル)カルバモイル)ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-1(6H)-イル)-37-オキソ-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34-ウンデカオキサ-38-アザトリテトラコタノエート、L-6aの調製

DMF(0.5mL)中の2,2-ジメチル-4-オキソ-3,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-ドデカオキサテトラコタン-40-oi c 酸(54.5mg、82.7umol、1.2当量)の溶液に、HATU(28.8mg、75.8umol、1.1当量)及びDIPEA(44.5mg、344umol、5当量)を加えた。5分後、5-アミノ-1-(5-アミノペンチル)-N-エトキシ

50

- N - プロピル - 6 H - ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボキサミド、 P A Z - 1 2 (3 0 m g 、 6 8 . 9 0 u m o l 、 1 当量、 2 H C l) を反応混合物に加え、 1 5 で 2 5 分間攪拌した。反応混合物を濾過し、減圧下で濃縮した。残留物を分取 H P L C (T F A 条件 : カラム : P h e n o m e n e x S y n e r g i C 1 8 1 5 0 * 2 5 * 1 0 u m ; 移動相 : [水 (0 . 1 % T F A) - A C N] ; B % : 1 5 % ~ 4 5 % 、 1 0 分) により精製して、 L - 6 a (4 0 m g 、 3 5 . 8 0 u m o l 、 収率 5 1 . 9 6 % 、 T F A) を、淡黄色の油状物として得た。 L C / M S [M + H] 1 0 0 3 . 6 (計算値) ; L C / M S [M + H] 1 0 0 3 . 8 (測定値) 。

【 0 3 5 1 】

4 3 - (5 - アミノ - 7 - (エトキシ (プロピル) カルバモイル) ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 1 (6 H) - イル) - 3 7 - オキソ - 4 , 7 , 1 0 , 1 3 , 1 6 , 1 9 , 2 2 , 2 5 , 2 8 , 3 1 , 3 4 - ウンデカオキサ - 3 8 - アザトリテトラコンタン酸、 L - 6 b の調製

H₂O (3 m L) 中の L - 6 a (4 0 m g 、 3 5 . 8 u m o l 、 1 当量、 T F A) の溶液に、 H C l (1 2 M 、 2 0 当量) を加え、混合物を 8 0 で 0 . 5 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、 L - 6 b (4 0 m g 、 粗製、 H C l) を淡黄色の油状物として得た。 L C / M S [M + H] 9 4 7 . 6 (計算値) ; L C / M S [M + H] 9 4 7 . 7 (測定値) 。

【 0 3 5 2 】

P A Z - L - 6 の調製

D M A (0 . 2 m L) 及び D C M (1 m L) 中の L - 6 b (3 0 m g 、 3 0 . 5 u m o l 、 1 当量、 H C l) 及び 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロフェノール (5 0 . 6 m g 、 3 0 5 u m o l 、 1 0 当量) の溶液に、 E D C I (5 8 . 5 m g 、 3 0 5 u m o l 、 1 0 当量) を加え、これを 1 5 で 1 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮した。残留物を分取 H P L C (T F A 条件 : カラム : P h e n o m e n e x S y n e r g i C 1 8 1 5 0 * 2 5 * 1 0 u m ; 移動相 : [水 (0 . 1 % T F A) - A C N] ; B % : 2 5 % ~ 5 0 % 、 8 分) により精製して、 P A Z - L - 6 (1 3 m g 、 1 0 . 7 5 u m o l 、 収率 3 5 . 2 5 % 、 T F A) を、淡黄色の油状物として得た。¹H N M R (M e O D - d₄ , 4 0 0 M H z) 7 . 6 6 (s , 1 H) , 7 . 4 8 (s , 1 H) , 7 . 4 7 - 7 . 3 8 (m , 1 H) , 4 . 2 6 (t , J = 6 . 8 H z , 2 H) , 3 . 9 7 (q , J = 6 . 8 H z , 2 H) , 3 . 8 8 (t , J = 6 . 0 H z , 2 H) , 3 . 7 7 - 3 . 6 7 (m , 4 H) , 3 . 6 6 - 3 . 6 4 (m , 4 H) , 3 . 6 4 - 3 . 5 8 (m , 3 6 H) , 3 . 4 3 (s , 2 H) , 3 . 3 5 (s , 2 H) , 3 . 1 4 (t , J = 6 . 8 H z , 2 H) , 2 . 9 8 (t , J = 6 . 0 H z , 2 H) , 2 . 4 0 (t , J = 6 . 0 H z , 2 H) , 1 . 9 1 - 1 . 7 0 (m , 4 H) , 1 . 5 2 - 1 . 4 6 (m , 2 H) , 1 . 3 4 - 1 . 2 4 (m , 2 H) , 1 . 2 0 (t , J = 7 . 2 H z , 3 H) , 1 . 0 0 (t , J = 7 . 2 H z , 3 H) . L C / M S [M + H] 1 0 9 5 . 5 (計算値) ; L C / M S [M + H] 1 0 9 5 . 4 (測定値) 。

【 0 3 5 3 】

実施例 L - 7 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロフェニル 3 9 - (5 - アミノ - 7 - (エトキシ (プロピル) カルバモイル) ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 1 (6 H) - イル) - 3 4 - メチル - 4 , 7 , 1 0 , 1 3 , 1 6 , 1 9 , 2 2 , 2 5 , 2 8 , 3 1 - デカオキサ - 3 4 - アザノナトリアコンタノエート、 P A Z - L - 7 の合成

10

20

30

40

50

6 mg、138 μmol 、2当量)を15 で加えた。30分後、 NABH_3CN (8.66 mg、137.81 μmol 、2当量)を15 で加え、得られた混合物をこの温度で12時間攪拌した。 HCHO (41.38 mg、413.42 μmol 、37.97 μL 、純度30%、6当量)及び NaBH_3CN (8.66 mg、137.81 μmol 、2当量)を15 で混合物に加え、15 で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮した。残留物を分取HPLC (TFA条件:カラム:Phenomenex Synergi C18 150 * 25 * 10 μm ; 移動相:[水(0.1% TFA) - ACN]; B%:25%~43%、8分)により精製して、L-7a (45 mg、38.36 μmol 、収率55.67%、2 TFA)を、淡黄色の油状物として得た。LC/MS [M+H] 945.6 (計算値); LC/MS [M+H] 945.5 (測定値)。

10

【0354】

3 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [5 - [5 - アミノ - 7 - [エトキシ(プロピル)カルバモイル] - 6H - ピラゾロ[4,3-b]アゼピン - 1 - イル]ペンチル - メチル - アミノ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]プロパン酸、L-7bの調製

H_2O (3 mL)中のL-7a (45 mg、38.36 μmol 、1当量、2 TFA)の溶液に、 HCl (12 M、63.9 μL 、20当量)を加え、次いで混合物を80 で1時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、L-7b (40 mg、粗製、2 HCl)を淡黄色の油状物として得た。LC/MS [M+H] 889.5 (計算値); LC/MS [M+H] 889.6 (測定値)。

20

【0355】

PAZ-L-7の調製

DCM (3 mL)及び DMA (0.3 mL)中のL-7b (40 mg、41.58 μmol 、1当量、2 HCl)及び2,3,5,6-テトラフルオロフェノール (69.0 mg、416 μmol 、10当量)の溶液に、EDCI (79.7 mg、415 μmol 、10当量)を加え、次いでこれを15 で1時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮した。残留物を分取HPLC (TFA条件:カラム:Phenomenex Synergi C18 150 * 25 * 10 μm ; 移動相:[水(0.1% TFA) - ACN]; B%:25%~50%、8分)により精製して、PAZ-L-7 (19.5 mg、15.41 μmol 、収率37.07%、2 TFA)を、淡黄色の油状物として得た。 $^1\text{H NMR}$ (MeOD- d_4 , 400 MHz) 7.67 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.45 - 7.38 (m, 1H), 4.29 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.95 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.88 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.82 (br d, J = 3.6 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.71 - 3.55 (m, 38H), 3.43 (s, 2H), 3.26 - 3.03 (m, 2H), 2.98 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.91 (s, 3H), 1.97 - 1.87 (m, 2H), 1.78 - 1.74 (m, 4H), 1.44 - 1.32 (m, 2H), 1.18 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.00 (t, J = 7.6 Hz, 3H)。LC/MS [M+H] 1037.5 (計算値); LC/MS [M+H] 1037.4 (測定値)。

30

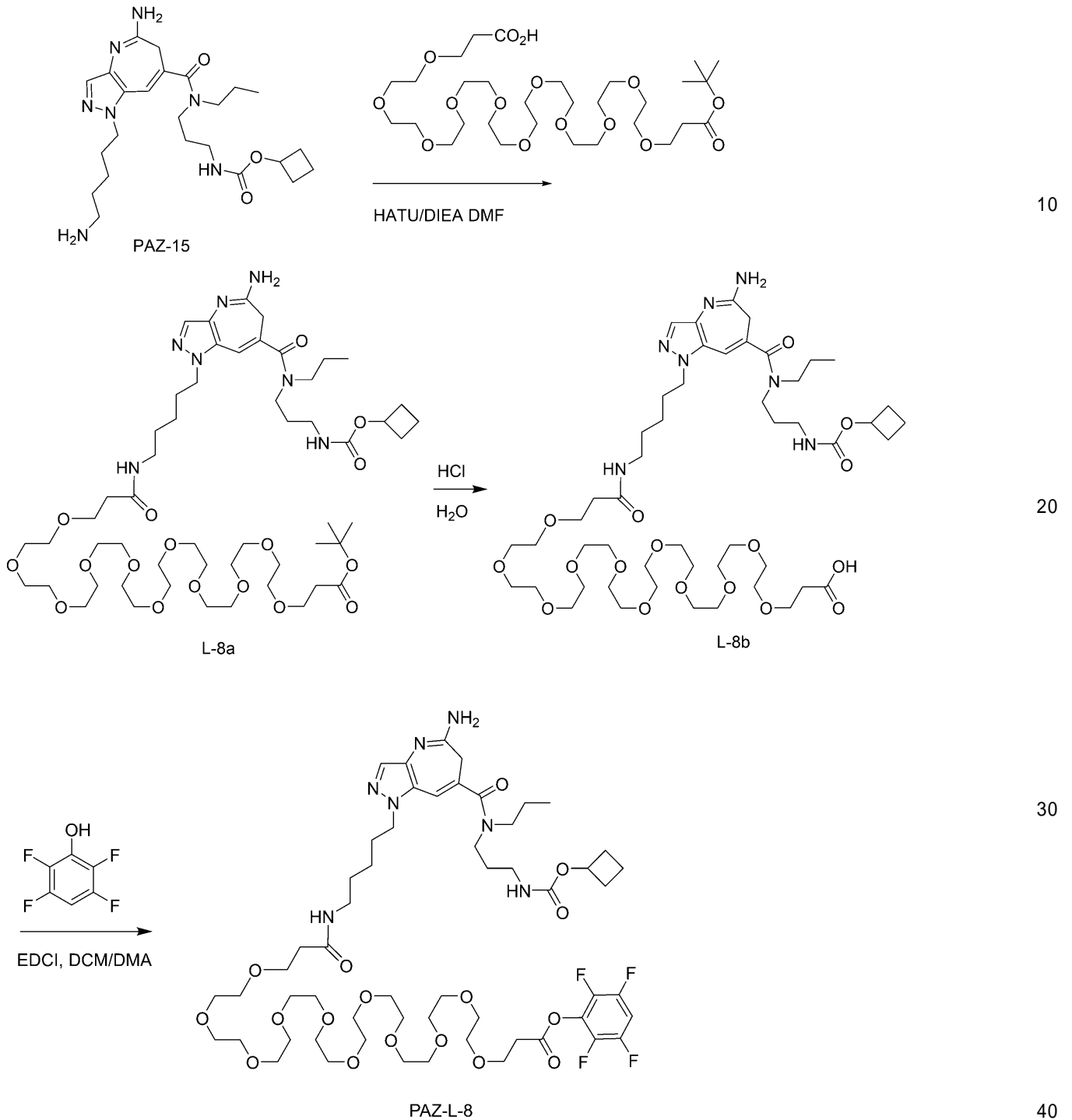
40

【0356】

実施例 L-8 2,3,5,6-テトラフルオロフェニル43-(5-アミノ-7-(3-(シクロブトキシカルボニル)アミノ)プロピル)(プロピル)カルバモイル)ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-1(6H)-イル)-37-オキソ-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34-ウンデカオキサ-38-アザトリテトラコンタノエート、PAZ-L-8の合成

50

【化 5 8】



tert-ブチル 43-(5-アミノ-7-(3-(シクロブチルカルボニル)アミノ)プロピル)(プロピル)カルバモイル)ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-1(6H)-イル)-37-オキソ-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34-ウンデカオキサ-38-アザトリテトラコンタノエート、L-8aの調製

DMF(0.5mL)中の2,2-ジメチル-4-オキソ-3,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-ドデカオキサテトラコンタン-40-oi c 酸(77.5mg、117umol、1当量)の溶液に、HATU(49.2mg、129umol、1.1当量)及びDIEA(76.0mg、588umol、102u L、5当量)を加え、次いでシクロブチル(3-(5-アミノ-1-(5-アミノペンチ

10

20

30

40

50

ル) - N - プロピル - 1, 6 - ジヒドロピラゾロ [4, 3 - b] アゼピン - 7 - カルボキ
 サミド) プロピル) カルバメート、PAZ - 15 (60 mg、117.6 μ mol、1当
 量、HCl) を加えた。混合物を 25 で 0.5 時間攪拌した。残基を濾過し、減圧下で
 濃縮し、次いで分取 HPLC (TFA 条件 ; カラム : Phenomenex Luna
 C18 100 * 40 mm * 5 μ m ; 移動相 : [水 (0.1 % TFA) - ACN] ; B %
 : 10 % ~ 45 %、8 分) により精製して、L - 8 a (90 mg、73.3 μ mol、収
 率 62.29 %、TFA) を黄色の油状物として得た。¹H NMR (MeOD - d₄
 , 400 MHz) 7.66 (s, 1H), 7.16 (br s, 1H),
 4.90 - 4.89 (m, 1H), 4.26 (t, J = 7.2 Hz, 2
 H), 3.72 - 3.68 (m, 4H), 3.65 - 3.57 (m, 4H
) , 3.55 - 3.43 (m, 4H), 3.39 (br s, 2H), 3.
 17 - 3.11 (m, 2H), 2.47 (t, J = 6.4 Hz, 2H)
 , 2.40 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.29 - 2.23 (m,
 2H), 2.05 - 1.99 (m, 2H), 1.90 - 1.80 (m, 4H
) , 1.77 - 1.56 (m, 4H), 1.53 - 1.41 (m, 12H) ,
 1.32 - 1.25 (m, 2H), 0.98 - 0.89 (m, 3H)

10

【 0357 】

43 - (5 - アミノ - 7 - ((3 - ((シクロブトキシカルボニル) アミノ) プロピル)
 (プロピル) カルバモイル) ピラゾロ [4, 3 - b] アゼピン - 1 (6H) - イル) - 3
 7 - オキソ - 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34 - ウンデ
 カオキサ - 38 - アザトリテトラコンタン酸、L - 8 b の調製

20

水 (2 mL) 中の L - 8 a (50 mg、44.9 μ mol、1 当量、TFA) の溶液に
 、HCl (12 M、74.8 μ L、20 当量) を加え、次いで混合物を 80 で 0.5 時
 間攪拌した。混合物を減圧下で濃縮して、L - 8 b (40 mg、37.8 μ mol、収率
 84.24 %) を無色の油状物として得た。

【 0358 】

PAZ - L - 8 の調製。

DCM (1 mL) 及び DMA (0.1 mL) 中の L - 8 b (40 mg、34.0 μ mol
 、1 当量、TFA) の溶液に、2, 3, 5, 6 - テトラフルオロフェノール (45.3
 mg、273 μ mol、8 当量) 及び EDCI (65.4 mg、341 μ mol、10 当
 量) を加え、これを 25 で 0.5 時間攪拌した。残留物を濾過し、減圧下で濃縮し、分
 取 HPLC (TFA 条件 ; カラム : Phenomenex Synergi C18 1
 50 * 30 mm * 4 μ m ; 移動相 : [水 (0.1 % TFA) - ACN] ; B % : 25 % ~
 50 %、8 分) により精製して、PAZ - L - 8 (30 mg、22.7 μ mol、収率 6
 6.65 %、TFA) を黄色の固形物として得た。¹H NMR (メタノール - d₄
 , 400 MHz) 7.65 (s, 1H), 7.49 - 7.38 (m, 1H),
 7.16 (s, 1H), 4.90 - 4.89 (m, 1H), 4.25 (t,
 J = 6.8 Hz, 2H), 3.88 (t, J = 6.0 Hz, 2H)
 , 3.72 - 3.55 (m, 4H), 3.54 - 3.44 (m, 4H),
 3.38 (br s, 2H), 3.18 - 3.12 (m, 2H), 2.98
 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 6.0 Hz,
 2H), 2.32 - 2.24 (m, 2H), 2.04 - 1.98 (m, 2H
) , 1.89 - 1.80 (m, 4H), 1.80 - 1.56 (m, 4H),
 1.55 - 1.42 (m, 2H), 1.32 - 1.26 (m, 2H), 0.
 96 - 0.89 (m, 3H) . LC / MS [M + H] 1206.6 (計算値
) ; LC / MS [M + H] 1206.6 (測定値) 。

30

40

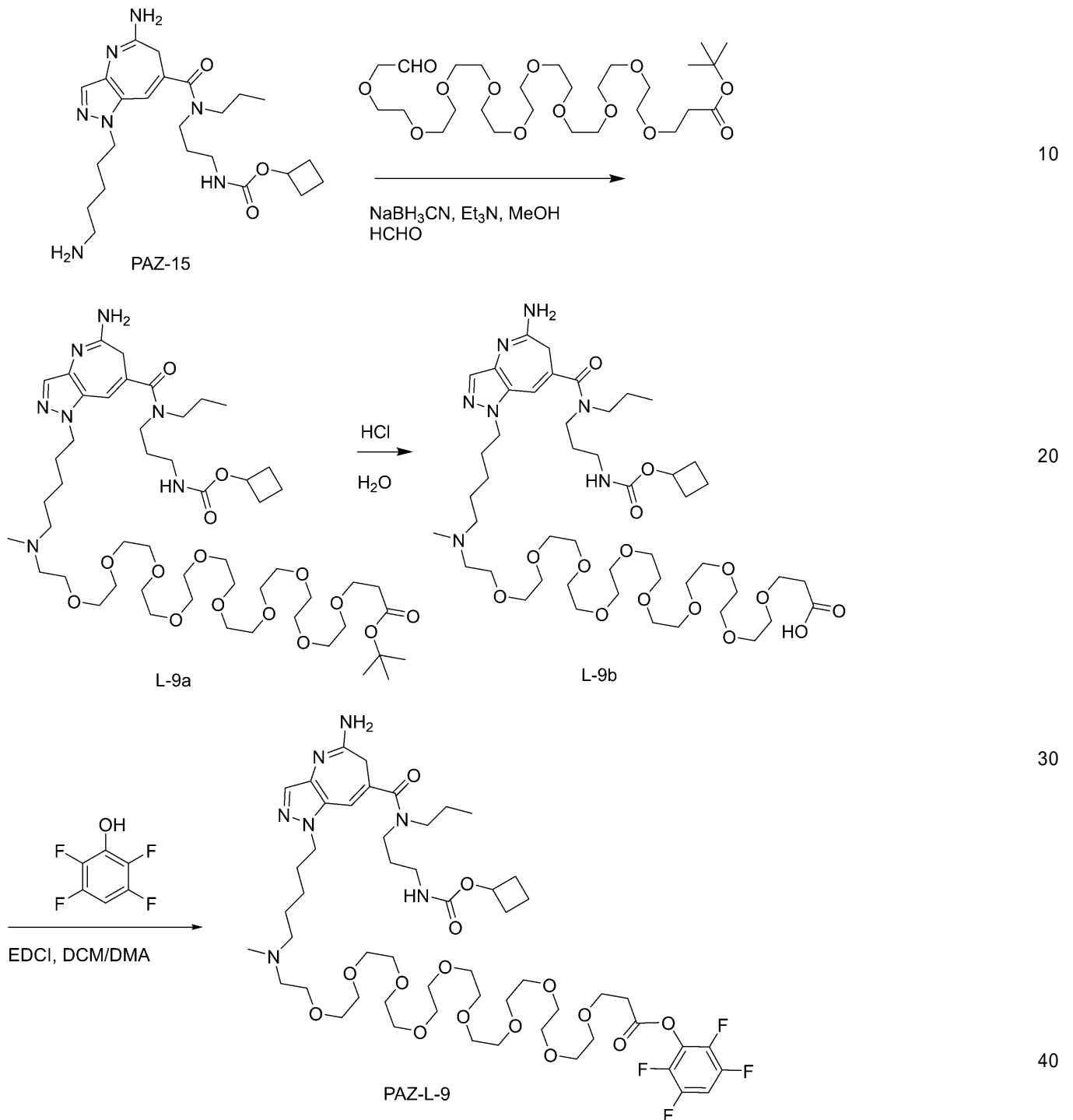
【 0359 】

実施例 L - 9 2, 3, 5, 6 - テトラフルオロフェニル 39 - (5 - アミノ - 7 - ((3 - ((シクロブトキシカルボニル) アミノ) プロピル) (プロピル) カルバモイル) ピラゾロ [4, 3 - b] アゼピン - 1 (6H) - イル) - 34 - メチル - 4, 7, 10, 1

50

3, 16, 19, 22, 25, 28, 31 - デカオキサ - 34 - アザノナトリアコンタノエート、PAZ-L-9の合成

【化59】



tert - ブチル 39 - (5 - アミノ - 7 - ((3 - ((シクロブトキシカルボニル) アミノ) プロピル) (プロピル) カルバモイル) ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 1 (6 H) - イル) - 34 - メチル - 4 , 7 , 10 , 13 , 16 , 19 , 22 , 25 , 28 , 31 - デカオキサ - 34 - アザノナトリアコンタノエート、L - 9 a の調製

MeOH (2 mL) 中のシクロブチル (3 - (5 - アミノ - 1 - (5 - アミノペンチル) - N - プロピル - 1 , 6 - ジヒドロピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボキサミド) プロピル) カルバメート、PAZ - 15 (70 mg 、 137 μmol 、 1 当量、H

C1) 及び tert - ブチル 1 - オキソ - 3 , 6 , 9 , 12 , 15 , 18 , 21 , 24 , 27 , 30 - デカオキサトリリアコンタン - 33 - オエート (185 mg、316 μ mol、2.3 当量) の溶液に、NaBH₃CN (17.3 mg、274.5 μ mol、2 当量) 及び Et₃N (13.9 mg、137 μ mol、1 当量) を加え、これを 25 で 16 時間攪拌した。次いで、ホルムアルデヒド (22.3 mg、274.5 μ mol、20.4 μ L、純度 37%、2 当量) 及び NaBH₃CN (17.3 mg、274.5 μ mol、2 当量) を混合物に加え、これを 25 でさらに 0.5 時間攪拌した。残留物を濾過し、減圧下で濃縮し、分取 HPLC (TFA 条件 ; カラム : Phenomenex gemini - NX C18 75 * 30 mm * 3 μ m ; 移動相 : [水 (0.1% TFA) - ACN] ; B% : 20% ~ 40%、8 分) により精製して、L - 9a (90 mg、76.90 μ mol、収率 56.03%、TFA) を黄色の油状物として得た。 10

【 0360 】

39 - (5 - アミノ - 7 - ((3 - ((シクロブトキシカルボニル) アミノ) プロピル) (プロピル) カルバモイル) ピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 1 (6H) - イル) - 34 - メチル - 4 , 7 , 10 , 13 , 16 , 19 , 22 , 25 , 28 , 31 - デカオキサ - 34 - アザノナトリリアコンタン酸、L - 9b の調製
水 (2 mL) 中の L - 9a (90 mg、76.9 μ mol、1 当量、TFA) の溶液に、HCl (12 M、128 μ L、20 当量) を加え、混合物を 80 で 0.5 時間攪拌した。混合物を減圧下で濃縮して、L - 9b (70 mg、67.5 μ mol、収率 87.81%、HCl) を無色の油状物として得た。 20

【 0361 】

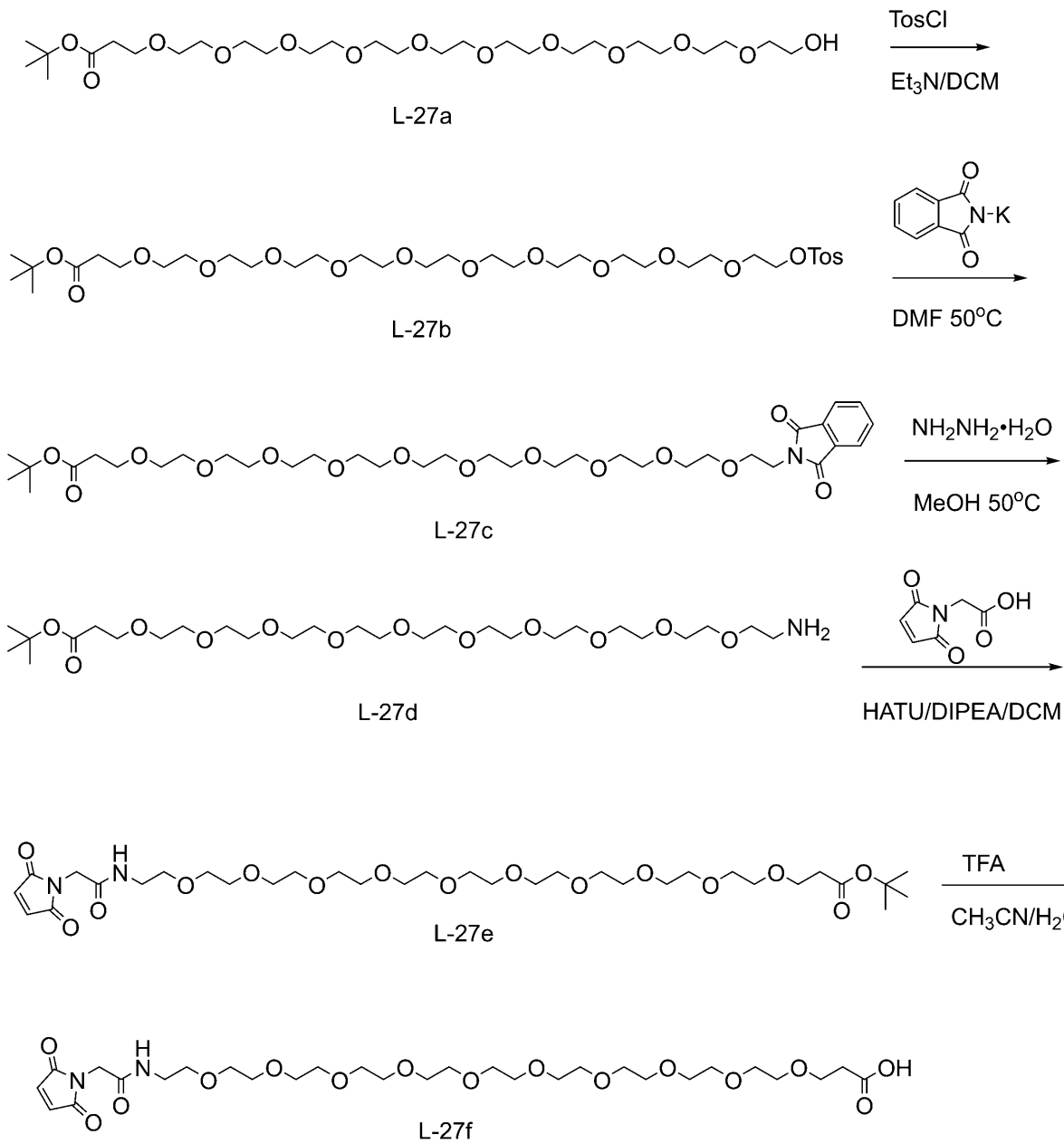
PAZ - L - 9 の調製

DCM (2 mL) 及び DMA (0.1 mL) 中の L - 9b (70 mg、62.8 μ mol、1 当量、TFA) の溶液に、2, 3, 5, 6 - テトラフルオロフェノール (83.5 mg、503 μ mol、8 当量) 及び EDCI (120 mg、628 μ mol、10 当量) を加え、次いで混合物を 25 で 0.5 時間攪拌した。残留物を濾過し、減圧下で濃縮し、次いで分取 HPLC (TFA 条件 ; カラム : Phenomenex Synergi C18 150 * 30 mm * 4 μ m ; 移動相 : [水 (0.1% TFA) - ACN] ; B% : 25% ~ 50%、8 分) により精製して、PAZ - L - 9 (40 mg、31.69 μ mol、収率 50.44%、TFA) を黄色の固体として得た。¹H NMR (MeOD - d₄, 400 MHz) 7.68 (s, 1H), 7.50 - 7.39 (m, 1H), 7.16 (br s, 1H), 4.80 - 4.76 (m, 1H), 4.29 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.88 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.83 (br s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 3.8H), 3.53 - 3.48 (m, 2H), 3.44 (br d, J = 7.2 Hz, 2H), 3.38 (br s, 2H), 3.29 - 3.19 (m, 2H), 3.16 - 3.05 (m, 2H), 2.99 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.91 (s, 3H), 2.28 - 2.24 (m, 2H), 2.04 - 1.98 (m, 2H), 1.96 - 1.90 (m, 2H), 1.89 - 1.72 (m, 6H), 1.71 - 1.62 (m, 2H), 1.42 - 1.36 (m, 2H), 0.96 - 0.93 (m, 3H). LC / MS [M + H] 1148.6 (計算値) ; LC / MS [M + H] 1148.6 (測定値) 。 30

【 0362 】

実施例 L - 27 5 - アミノ - 1 - (1 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) - 2 , 36 - ジオキソ - 6 , 9 , 12 , 15 , 18 , 21 , 24 , 27 , 30 , 33 - デカオキサ - 3 , 37 - ジアザドテトラコンタン - 42 - イル) - N - エトキシ - N - プロピル - 1 , 6 - ジヒドロピラゾロ [4 , 3 - b] アゼピン - 7 - カルボキサミド、PAZ - L - 27 の合成 40

【化 6 0 - 1】



10

20

30

40

50

DMF (1000 mL) の L-27b (127 g、171 mmol、1 当量) の溶液に、(1,3-ジオキソイソイドリン-2-イル)カリウム (41.3 g、223 mmol、1.3 当量) を 25 で加え、次いで 50 で 12 時間攪拌した。反応混合物を氷水 (3000 mL) に注ぎ、次いで EtOAc (800 mL × 6) で抽出した。合わせた有機層をブライン (300 mL × 3) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。残留物を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、石油エーテル：酢酸エチル = 1 : 0 ~ 0 : 1)、次いで (SiO₂、EtOAc : MeOH = 1 : 0 ~ 10 : 1) により精製して、L-27c (142 g、粗製) を黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7.85 (dd, J = 3.2, 5.6 Hz, 2H), 7.72 (dd, J = 3.2, 5.6 Hz, 2H), 3.96 - 3.86 (m, 2H), 3.76 - 3.69 (m, 4H), 3.68 - 3.55 (m, 36H), 2.51 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.45 (s, 9H)。

10

【0364】

tert-ブチル 3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-アミノエトキシ)エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]プロパノエート、L-27d の調製

MeOH (1000 mL) 中の L-27c (100 g、140 mmol、1 当量) の溶液に、NH₂NH₂ · H₂O (28.54 g、559 mmol、27.71 mL、純度 98%、4 当量) を 25 で加え、次いで 50 で 8 時間攪拌した。反応混合物を 25 に冷却し、濾過し、濾液を減圧下で濃縮した。粗生成物を 25 で 30 分間、MTBE (500 mL × 3) でさらに粉碎し、次いで濾過し、減圧下で濃縮して、L-27d (113.7 g、粗製) を淡黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 3.74 - 3.58 (m, 38H), 3.51 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.86 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.50 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.45 (s, 9H)。LC/MS [M+H] 586.4 (計算値); LC/MS [M+H] 586.4 (測定値)。

20

【0365】

tert-ブチル 3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,5-ジオキソピロール-1-イル)アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]プロパノエート、L-27e の調製

30

DCM (100 mL) 中の L-27d (11.3 g、19.3 mmol、1 当量)、2-(2,5-ジオキソピロール-1-イル)酢酸 (3 g、19.3 mmol、1 当量) 及びジイソプロピルエチルアミン、DIPEA (10.0 g、77.4 mmol、13.5 mL、4 当量) の溶液に、0 で HATU (8.09 g、21.3 mmol、1.1 当量) を加え、次いで 0 で 30 分間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮した。残留物を分取 HPLC (TFA 条件; カラム: Phenomenex Luna c18 250 mm × 100 mm × 10 μm; 移動相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B% : 25% ~ 55%、25 分) により精製して、L-27e (4.5 g、6.23 mmol、収率 32.2%) を、黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 6.88 - 6.80 (m, 1H), 6.78 (s, 2H), 4.22 (s, 2H), 3.77 - 3.54 (m, 40H), 3.47 (q, J = 5.2 Hz, 2H), 2.51 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 1.46 (s, 9H)。

40

【0366】

3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,5-ジオキソピロール-1-イル)アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]プロパン酸、L-27f の調製

50

CH₃CN (25 mL) 及び H₂O (25 mL) 中の L-27e (4.5 g、6.23 mmol、1 当量) の溶液に、TFA (5.68 g、49.8 mmol、3.69 mL、8 当量) を加え、次いで 80 で 1 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して CH₃CN を除去した。残留物を MTBE (10 mL × 3) で抽出し、廃棄した。水相を減圧下で濃縮し、残留物を得た。この残留物を分取 HPLC (TFA 条件; カラム: Phenomenex Luna c18 250 mm × 100 mm × 10 μm; 移動相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 0% ~ 25%、24 分) により精製して、L-27f (1.6 g、2.40 mmol、収率 38.6%) を淡黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 6.95 (br s, 1H), 6.78 (s, 2H), 4.22 (s, 2H), 3.78 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.70 - 3.63 (m, 36H), 3.60 - 3.54 (m, 2H), 3.46 (q, J = 5.2 Hz, 2H), 2.61 (t, J = 6.0 Hz, 2H). LC/MS [M+H] 667.3 (計算値); LC/MS [M+H] 667.2 (測定値)。

【0367】

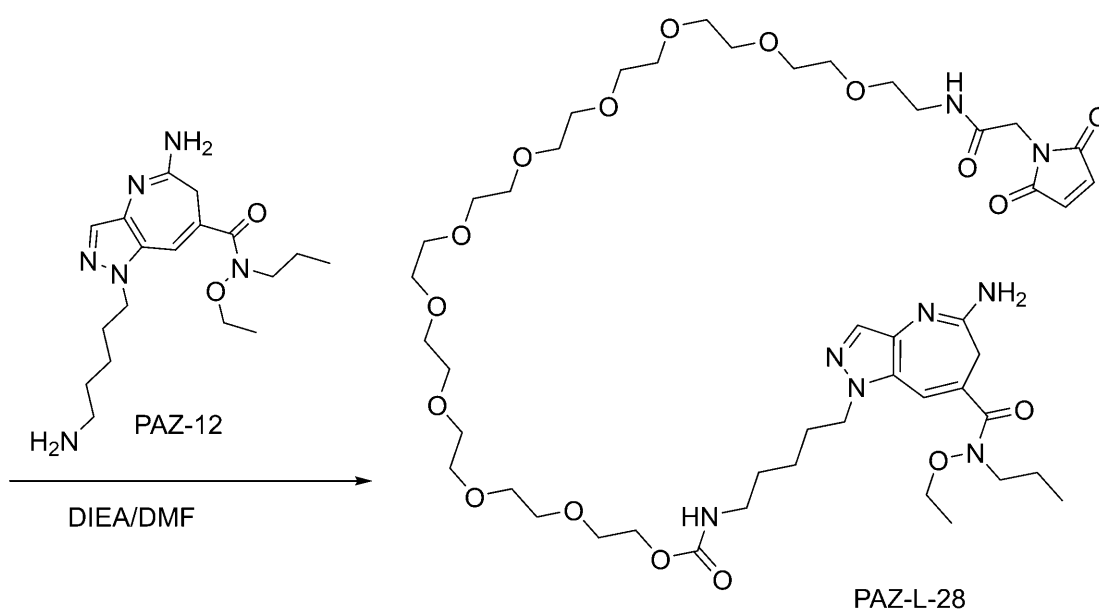
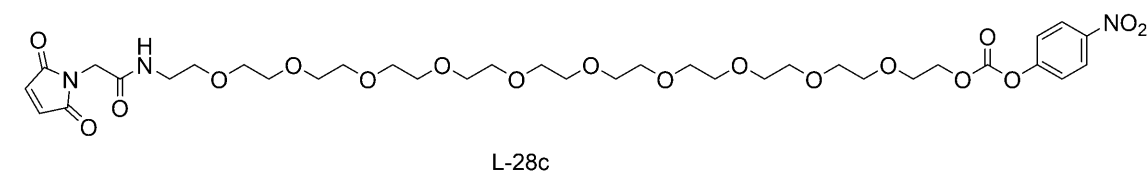
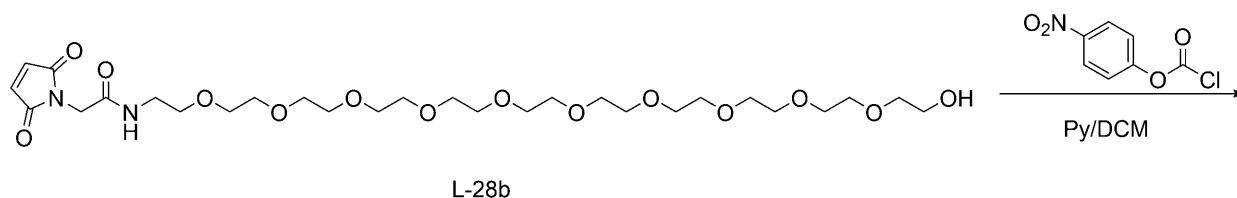
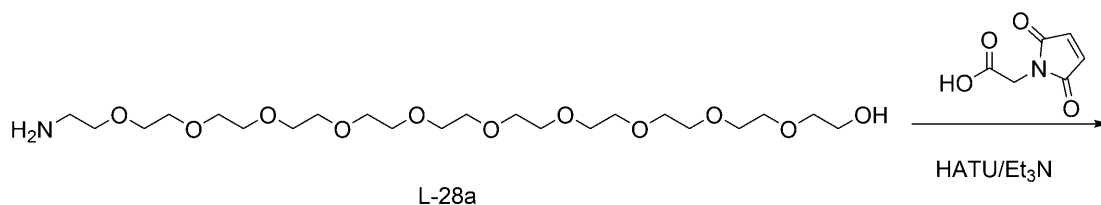
PAZ-L-27 の調製

DMF (0.5 mL) 中の L-27f (79.0 mg、119 μmol (マイクロモル)、1.0 当量) の混合物に、HATU (45.1 mg、119 μmol、1.0 当量)、DIEA (61.3 mg、474 μmol、82.6 μL (マイクロリットル)、4.0 当量) 及び 5-アミノ-1-(5-アミノペンチル)-N-エトキシ-N-プロピル-6H-ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-7-カルボキサミド、PAZ-12 (70.0 mg、119 μmol、1.0 当量、2 TFA) を 25 で加え、次いでこの温度で 0.5 時間攪拌した。混合物を分取 HPLC (カラム: Phenomenex Luna 80 × 30 mm × 3 μm; 移動相: [水 (TFA) - ACN]; B%: 5% ~ 30%、8 分) により精製して、PAZ-L-27 (40.4 mg、39.95 μmol、収率 33.70%) を淡黄色の油状物として得た。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.66 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 6.90 (s, 2H), 4.26 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 4.17 (s, 2H), 3.97 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.69 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.66 - 3.55 (m, 38H), 3.44 (s, 2H), 3.40 - 3.35 (m, 2H), 3.14 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.90 - 1.71 (m, 4H), 1.56 - 1.45 (m, 2H), 1.34 - 1.24 (m, 2H), 1.20 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.00 (t, J = 7.6 Hz, 3H). LC/MS [M+H] 1011.6 (計算値); LC/MS [M+H] 1011.5 (測定値)。

【0368】

実施例 L-28 1-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-オキソ-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-デカオキサ-3-アザペントリアコンタン-35-イル(5-(5-アミノ-7-(エトキシ(プロピル)カルバモイル)ピラゾロ[4,3-b]アゼピン-1(6H)-イル)ペンチル)カルバメート、PAZ-L-28 の合成

【化 6 1】



2 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) - N - (3 2 - ヒドロキシ - 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 , 2 4 , 2 7 , 3 0 - デカオキサドリアコンチル) アセトアミド、L - 2 8 b の調製

DCM (5 mL) 中の 2 - (2 , 5 - ジオキソピロール - 1 - イル) 酢酸 (3 0 9 mg 、 1 . 9 9 mmol 、 1 当量) 及び 2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - (2 - アミノエトキシ) エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エタノール、L - 2 8 a (1 g 、 1 . 9 9 mmol 、 1 当量) の混合物に、HATU (7 9 6 mg 、 2 . 0 9 mmol 、 1 . 0 5 当量) 及び Et₃N (3 0 2 mg 、 2 . 9 9 mmol 、 4 1 6 μ L 、 1 . 5 当量) を N₂ 下、0 で加え、次いで 0 で 1 時間攪拌した。反応混合物を H₂O (2 0 mL * 2) で洗浄し、有機相を無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過して真空中で濃縮して L - 2 8 b を無

10

20

30

40

50

色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 6.78 (s, 2H), 6.71 - 6.76 (m, 1H), 4.21 (s, 2H), 3.55 - 3.79 (m, 42H), 3.60 - 3.45 (m, 2H)。

【0369】

1 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) - 2 - オキソ - 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 - デカオキサ - 3 - アザペントリアコンタン - 35 - イル (4 - ニトロフェニル) カルボネート、L - 28c の調製

DCM (20 mL) 中の L - 28b (1 g、1.57 mmol、1 当量) 及び (4 - ニトロフェニル) カルボノクロリド (473 mg、2.35 mmol、1.5 当量) の混合物に、ピリジン、Py (247 mg、3.13 mmol、252 μ L、2 当量) を N₂ 下、25 °C で加え、次いで 25 °C で 2 時間攪拌した。混合物を H₂O (20 mL)、次いでブライン (20 mL) で洗浄し、有機相を無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残留物は、シリカゲルクロマトグラフィ (カラム高さ: 250 mm、直径: 100 mm、100 ~ 200 メッシュシリカゲル、石油エーテル / 酢酸エチル = 1 / 1、0 / 1 ~ EtOAc / MeOH = 10 / 1) により精製して、L - 28c (750 mg、933.07 μ mol、収率 59.59%) を淡黄色の油状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.23 - 8.33 (m, 2H), 7.37 - 7.45 (m, 2H), 6.78 (s, 2H), 6.62 - 6.69 (m, 1H), 4.41 - 4.48 (m, 2H), 4.21 (s, 2H), 3.79 - 3.87 (m, 2H), 3.62 - 3.73 (m, 36H), 3.56 - 3.61 (m, 2H), 3.43 - 3.49 (m, 2H)。

【0370】

PAZ - L - 28 の調製

DMF (0.5 mL) 中の 5 - アミノ - 1 - (5 - アミノペンチル) - N - エトキシ - N - プロピル - 6H - ピラゾロ [4, 3 - b] アゼピン - 7 - カルボキサミド、PAZ - 12 (70 mg、119 μ mol、1.0 当量、2 TFA) 及び L - 28c (95.2 mg、118 μ mol、1 当量) の混合物に、DIEA (61.3 mg、474 μ mol、82.6 μ L、4.0 当量) を 25 °C で一度に加え、次いで 25 °C で 0.5 時間攪拌した。混合物を濾過し、濾液を分取 HPLC (カラム: Phenomenex Luna 80 * 30 mm * 3 μ m; 移動相: [水 (TFA) - ACN]; B% : 5% ~ 30%、8 分) により精製して、PAZ - L - 28 (23.1 mg、22.4 μ mol、収率 18.9%) を淡黄色の油状物として得た。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.66 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 6.90 (s, 2H), 4.26 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 4.17 (s, 2H), 4.14 - 4.09 (m, 2H), 3.97 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.67 - 3.60 (m, 38H), 3.55 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.44 (s, 2H), 3.40 - 3.35 (m, 2H), 3.05 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.91 - 1.72 (m, 4H), 1.55 - 1.41 (m, 2H), 1.34 - 1.23 (m, 2H), 1.20 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.00 (t, J = 7.6 Hz, 3H)。LC/MS [M+H]⁺ 1027.6 (計算値); LC/MS [M+H]⁺ 1027.5 (測定値)。

【0371】

実施例 201 イムノコンジュゲート (IC) の調製

例示的な手順では、リジンベースのコンジュゲーションを調製するために、Zeba (商標) スピン脱塩カラム (Thermo Fisher Scientific) を使用して、pH 8.3 で、100 mM のホウ酸、50 mM の塩化ナトリウム、1 mM のエチレンジアミンテトラ酢酸を含有するコンジュゲーション緩衝液へ抗体をバッファー交換する。バッファー交換した抗体の濃度を、コンジュゲーション緩衝液を使用しておよそ 5 ~ 2

5 mg/ml に調整し、滅菌濾過した。ピラゾロアゼピンリンカー 式 I I 化合物 (P A Z - L) を、ジメチルスルホキシド (D M S O) またはジメチルアセトアミド (D M A) のいずれかに溶解し、5 ~ 20 mM の濃度とする。コンジュゲーションのために、抗体を 4 ~ 20 モル当量の P A Z - L と混合する。いくつかの例では、最大 20 % (体積 / 体積) の追加の D M A または D M S O を加えて、コンジュゲーション緩衝液中の P A Z - L の溶解度を向上させた。反応は、20 または 30 または 37 で、およそ 30 分 ~ 4 時間、進行させることができる。得られたコンジュゲートを、2 つの連続した Z e b a (商標) スピン脱塩カラムを使用して未反応の P A Z - L を除去して精製する。カラムは、リン酸緩衝生理食塩水 (P B S)、p H 7 . 2 で事前に平衡化しておく。X e v o (商標) G 2 - X S T O F 質量分析計 (W a t e r s C o r p o r a t i o n) に接続された A C Q U I T Y (商標) U P L C H クラス (W a t e r s C o r p o r a t i o n , M i l f o r d , M A) の C 4 逆相カラムを使用した液体クロマトグラフィー質量分析によって、アジュバント - 抗体比 (D A R) を推定する。

10

【 0 3 7 2 】

例示的な手順では、システインベースのコンジュゲーションを調製するために、Z e b a (商標) スピン脱塩カラム (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) を使用して、2 mM E D T A を含む P B S、p H 7 . 2 を含有するコンジュゲーション緩衝液へ抗体をバッファー交換する。2 ~ 4 モル過剰のトリス (2 - カルボキシエチル) ホスフィン (T C E P) またはジチオトレイトール (D T T) を使用して、鎖間ジスルフィドを 37 で 30 分間 ~ 2 時間還元する。コンジュゲーション緩衝液で事前に平衡化した Z e b a (商標) スピン脱塩カラムを使用して、過剰な T C E P または D T T を除去した。バッファー交換した抗体の濃度を、コンジュゲーション緩衝液を使用しておよそ 5 ~ 20 mg/ml に調整し、滅菌濾過した。P A Z - L をジメチルスルホキシド (D M S O) またはジメチルアセトアミド (D M A) のいずれかに溶解し、5 ~ 20 mM の濃度とする。コンジュゲーションのために、抗体を 10 ~ 20 モル当量の P A Z - L と混合する。いくつかの例では、最大 20 % (体積 / 体積) の追加の D M A または D M S O を加えて、コンジュゲーション緩衝液中での P A Z - L の溶解度を向上させた。反応は、20 でおよそ 30 分 ~ 4 時間進行させることができる。得られたコンジュゲートを、2 つの連続した Z e b a (商標) スピン脱塩カラムを使用して未反応の P A Z - L を除去して精製する。カラムは、リン酸緩衝生理食塩水 (P B S)、p H 7 . 2 で事前に平衡化しておく。X E V O (商標) G 2 - X S T O F 質量分析計 (W a t e r s C o r p o r a t i o n) に接続された A C Q U I T Y (商標) U P L C H クラス (W a t e r s C o r p o r a t i o n , M i l f o r d , M A) の C 4 逆相カラムを使用した液体クロマトグラフィー質量分析によって、アジュバント - 抗体比 (D A R) を推定する。

20

30

【 0 3 7 3 】

コンジュゲーション後、未反応の P A Z - L 及び / または高分子量凝集体を潜在的に除去するために、サイズ排除クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、限外濾過、遠心限外濾過、タンジェンシャルフロー濾過、及びそれらの組み合わせをさらに使用して、コンジュゲートを精製してもよい。

40

【 0 3 7 4 】

別の例示的な手順では、抗体を、G - 2 5 S E P H A D E X (商標) 脱塩カラム (S i g m a - A l d r i c h , S t . L o u i s , M O) を使用して、p H 8 . 3 で、100 mM ホウ酸、50 mM 塩化ナトリウム、1 mM エチレンジアミン四酢酸を含有するコンジュゲーション緩衝液にバッファー交換する。次いで、溶出液を、緩衝液を使用してそれぞれ約 1 ~ 10 mg/ml の濃度に調整し、次に滅菌濾過する。抗体を、20 ~ 30 に予熱し、2 ~ 20 (例えば、7 ~ 10) モル当量の P A Z - L と急速に混合する。反応を 30 で約 16 時間進行させ、p H 7 . 2 のリン酸緩衝生理食塩水 (P B S) で平衡化した 2 つの連続する G - 2 5 脱塩カラムを実行することにより、イムノコンジュゲート (I C) を反応物から分離し、表 2 のイムノコンジュゲート (I C) を提供する。アジュバン

50

ト - 抗体比 (DAR) を、XEVO (商標) G2 - XS TOF 質量分析計 (Waters Corporation) に接続された ACQUITY (商標) UPLC H クラス (Waters Corporation, Milford, MA) の C4 逆相カラムを使用した液体クロマトグラフィー質量分析によって決定する。

【0375】

コンジュゲーションの場合、抗体を、抗体の安定性または抗原結合特異性に悪影響を及ぼさない、当技術分野で知られている水性緩衝液系に溶解してもよい。リン酸緩衝生理食塩水を使用することができる。PAZ-L を、本明細書の別の箇所に記載される少なくとも1つの極性非プロトン性溶媒を含む溶媒系に溶解する。いくつかのそのような態様において、PAZ-L を、pH 8 のトリス緩衝液 (例えば、50 mM のトリス) 中に、約 5 mM、約 10 mM、約 20 mM、約 30 mM、約 40 mM、または約 50 mM、及びこれらの範囲、例えば、約 5 mM ~ 約 50 mM または約 10 mM ~ 約 30 mM の濃度になるまで溶解する。いくつかの態様において、PAZ-L は、DMSO (ジメチルスルホキシド)、DMA (ジメチルアセトアミド) もしくはアセトニトリル中、または別の好適な双極性非プロトン溶媒中に溶解される。

10

【0376】

あるいは、コンジュゲーション反応において、当量過剰の PAZ-L 溶液を、希釈し、抗体溶液と合わせてもよい。PAZ-L 溶液を、少なくとも1つの極性非プロトン性溶媒及び少なくとも1つの極性プロトン性溶媒で好適に希釈することができ、これらの例としては、水、メタノール、エタノール、n-プロパノール、及び酢酸が挙げられる。PAZ-L の抗体に対するモル当量は、約 1.5 : 1、約 3 : 1、約 5 : 1、約 10 : 1、約 15 : 1 または約 20 : 1、及びこれらの範囲内、例えば、約 1.5 : 1 ~ 約 20 : 1、約 1.5 : 1 ~ 約 15 : 1、約 1.5 : 1 ~ 約 10 : 1、約 3 : 1 ~ 約 15 : 1、約 3 : 1 ~ 約 10 : 1、約 5 : 1 ~ 約 15 : 1、または約 5 : 1 ~ 約 10 : 1 であり得る。反応は、LC-MS などの当技術分野で知られている方法によって完了について好適にモニタリングされ得る。コンジュゲーション反応は、典型的には、約 1 時間から約 16 時間の範囲で完了する。反応が完了した後、試薬を反応混合物に加えて、反応をクエンチしてもよい。抗体のチオール基が、PAZ-L のマレイミドなどのチオール反応性基と反応している場合、未反応の抗体チオール基は、キャッピング試薬と反応し得る。好適なキャッピング試薬の一例は、エチルマレイミドである。

20

30

【0377】

コンジュゲーション後に、イムノコンジュゲートを、例えば、サイズ排除クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、限外濾過、遠心限外濾過、タンジェンシャルフロー濾過、及びこれらの組み合わせなどであるが、これらに限定されない、当技術分野で知られている精製方法によって、精製し、非コンジュゲート反応体及び/またはコンジュゲート凝集体から分離することができる。例えば、精製の前に、イムノコンジュゲートを 20 mM のコハク酸ナトリウム、pH 5 などで希釈することができる。希釈した溶液をカチオン交換カラムに適用し、続いて、例えば、少なくとも 10 カラム体積の 20 mM コハク酸ナトリウム、pH 5 で洗浄する。コンジュゲートは、PBS などの緩衝液で好適に溶出することができる。

40

【0378】

実施例 202 HEK レポーターアッセイ

ヒト TLR7 またはヒト TLR8 を発現する HEK293 レポーター細胞を InvivoGen から購入し、ベンダーのプロトコルに従って細胞増殖及び実験を行った。要約すると、細胞を、10% FBS、ゼオシン、及びプラストサイジンを含む DMEM 中で 5% CO₂ にて、80 ~ 85% のコンフルエンスまで成長させた。次に、細胞を、HEK 検出培地及び免疫刺激分子を含有する基質を含む 4 × 10⁴ 細胞/ウェルの 96 ウェル平底プレートに播種した。プレートリーダーを使用して、620 ~ 655 nm の波長で活性を測定した。

【0379】

50

実施例 203 in vitroでのイムノコンジュゲート活性の評価

この実施例は、本発明のイムノコンジュゲートが、樹状細胞などにおいて骨髄活性化を誘発するのに有効であり、したがってがんの治療に有用であることを示している。

【0380】

ヒト従来型樹状細胞の単離：ヒト従来型樹状細胞(cDC)を、密度勾配遠心分離によって、健康な血液ドナー(Stanford Blood Center, Palo Alto, California)から得られたヒト末梢血からネガティブに選択した。簡潔に述べると、細胞を最初に、ROSETTESEP(商標) Human CD3 Depletion Cocktail(Stem Cell Technologies, Vancouver, Canada)を使用することによって濃縮して、細胞調製物からT細胞を除去する。次いで、EASYP(商標) Human Myeloid DC Enrichment Kit(Stem Cell Technologies)を使用したネガティブセレクションにより、cDCをさらに濃縮する。

10

【0381】

cDC活性化アッセイ： 8×10^4 APCを、ISAC標的抗原を発現する腫瘍細胞と、10:1のエフェクター(cDC)-標的(腫瘍細胞)比で共培養した。細胞を、10% FBS、及び示される場合、種々の濃度の示された本発明のイムノコンジュゲート(上記の例に従って調製されたもの)を補充したRPMI-1640培地を含有する96ウェルプレート(Corning, Corning, NY)中でインキュベートした。約18時間の一晚インキュベーション後、無細胞上清を回収し、BioLegend LEGENDPLEX サイトカインビーズアレイを使用して、サイトカイン(TNFを含む)分泌を分析した。

20

【0382】

異なる骨髄細胞集団を利用する記載したアッセイに加えて、さまざまなスクリーニングアッセイを使用して、骨髄細胞型の活性化を測定することができる。これらには、以下が含まれる：健康なドナー血液から分離された単球、M-CSF分化マクロファージ、GM-CSF分化マクロファージ、GM-CSF+IL-4単球由来樹状細胞、健康なドナー血液から分離された従来型樹状細胞(cDC)、及び免疫抑制状態に極性化された骨髄細胞(骨髄由来サブレッサー細胞またはMDSCとも呼ばれる)。MDSC極性化細胞の例として、M2a M(IL4/IL13)、M2c M(IL10/TGFb)、GM-CSF/IL6 MDSC、及び腫瘍によって教育された単球(TEM)などの免疫抑制状態に分化した単球が挙げられる。TEM分化は、腫瘍馴化培地(例えば、786.O、MDA-MB-231、HCC1954)を使用して実行することができる。原発腫瘍関連骨髄細胞には、解離させた腫瘍細胞懸濁液(Discovery Life Sciences)に存在する原発細胞も含まれ得る。

30

【0383】

記載した骨髄細胞集団の活性化の評価は、単培養として、またはISACが抗体のCDR領域を介して結合し得る目的の抗原を発現する細胞との共培養として実施してもよい。18~48時間のインキュベーション後、フローサイトメトリーを使用した細胞表面共刺激分子のアプレギュレーションによって、または分泌された炎症性サイトカインを測定することによって、活性化を評価してもよい。サイトカイン測定では、無細胞上清を回収し、フローサイトメトリーを使用してサイトカインビーズアレイ(例えば、BioLegend製のLegendplex)により分析する。

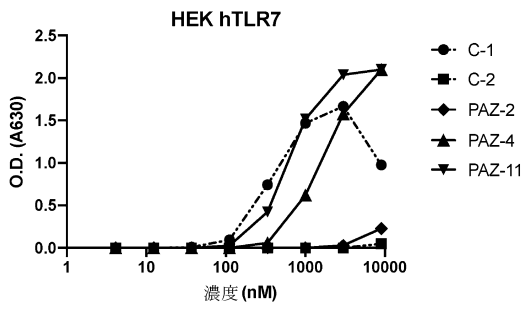
40

【0384】

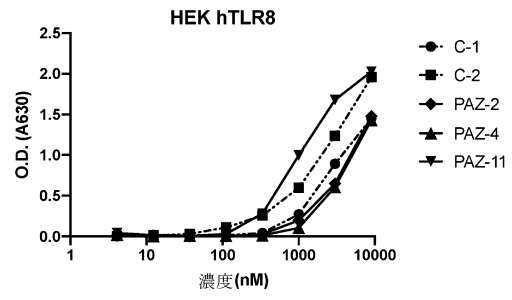
本明細書で引用される出版物、特許出願、及び特許を含むすべての参考文献は、各々の参考文献が参照によって個々に具体的に組み込まれるものと示され、その全体が本明細書で示されているのと同じ程度に参照によって本明細書に組み込まれる。

【 図面 】

【 図 1 】



【 図 2 】



10

【 配列表 】

2023537940000001.app

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/045752

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K47/68 A61P35/00 ADD.		
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		
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) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2018/140831 A2 (SILVERBACK THERAPEUTICS INC [US]) 2 August 2018 (2018-08-02) e.g. table 30 -----	1-89
A	WO 2018/170179 A1 (SILVERBACK THERAPEUTICS INC [US]) 20 September 2018 (2018-09-20) e.g. table 2 -----	1-89
A	WO 2019/118884 A1 (SILVERBACK THERAPEUTICS INC [US]) 20 June 2019 (2019-06-20) e.g. tables 2-3 -----	1-89
A	WO 2018/009916 A1 (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR [US]; BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 11 January 2018 (2018-01-11) e.g. claims -----	1-89
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> 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 *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 10 November 2021		Date of mailing of the international search report 25/11/2021
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Burema, Shiri

10

20

30

40

2

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/045752

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2019/222676 A1 (BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]; UNIV LELAND STANFORD JUNIOR [US]) 21 November 2019 (2019-11-21) e.g. paragraph [0238] -----	1-89
A	WO 2018/112108 A1 (BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 21 June 2018 (2018-06-21) e.g. paragraph [0134] -----	1-89
A,P	WO 2021/081402 A1 (BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 29 April 2021 (2021-04-29) claims -----	1-89
A,P	WO 2021/081407 A1 (BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 29 April 2021 (2021-04-29) claims -----	1-89
A,P	WO 2020/252294 A1 (BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 17 December 2020 (2020-12-17) claims -----	1-89
A,P	WO 2020/252254 A1 (BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 17 December 2020 (2020-12-17) claims -----	1-89

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/045752

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018140831 A2	02-08-2018	CA 3049791 A1	02-08-2018
		EP 3574018 A2	04-12-2019
		US 2019336615 A1	07-11-2019
		WO 2018140831 A2	02-08-2018

WO 2018170179 A1	20-09-2018	AU 2018236272 A1	17-10-2019
		BR 112019019116 A2	05-05-2020
		CA 3055652 A1	20-09-2018
		CN 110612104 A	24-12-2019
		DK 3595668 T3	18-10-2021
		EP 3595668 A1	22-01-2020
		JP 2020514419 A	21-05-2020
		KR 20200031560 A	24-03-2020
		PT 3595668 T	21-10-2021
		RU 2019132260 A	15-04-2021
		SG 10202110181R A	28-10-2021
		SG 10202110182P A	28-10-2021
		SG 10202110183V A	28-10-2021
		SG 10202110184X A	28-10-2021
		SG 11201908131R A	30-10-2019
		US 2018258048 A1	13-09-2018
		US 2019062306 A1	28-02-2019
		US 2019169164 A1	06-06-2019
US 2019169165 A1	06-06-2019		
US 2020031798 A1	30-01-2020		
WO 2018170179 A1	20-09-2018		

WO 2019118884 A1	20-06-2019	AU 2018385693 A1	18-06-2020
		CA 3084667 A1	20-06-2019
		CN 111601822 A	28-08-2020
		EP 3724222 A1	21-10-2020
		JP 2021506827 A	22-02-2021
		KR 20200100113 A	25-08-2020
		US 2021154317 A1	27-05-2021
		WO 2019118884 A1	20-06-2019

WO 2018009916 A1	11-01-2018	AU 2017292934 A1	17-01-2019
		BR 112019000071 A2	02-07-2019
		CA 3029902 A1	11-01-2018
		CN 109843327 A	04-06-2019
		EP 3484518 A1	22-05-2019
		JP 2019520352 A	18-07-2019
		KR 20190026761 A	13-03-2019
		US 2019076547 A1	14-03-2019
		US 2020206357 A1	02-07-2020
		WO 2018009916 A1	11-01-2018

WO 2019222676 A1	21-11-2019	AU 2019270178 A1	07-01-2021
		CA 3100544 A1	21-11-2019
		CN 112153988 A	29-12-2020
		EP 3793613 A1	24-03-2021
		JP 2021524447 A	13-09-2021
		KR 20210013096 A	03-02-2021
		US 2021154316 A1	27-05-2021
		WO 2019222676 A1	21-11-2019

WO 2018112108 A1	21-06-2018	AU 2017376460 A1	20-06-2019
		CA 3046790 A1	21-06-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/045752

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		CN 110290810 A	27-09-2019
		EP 3554550 A1	23-10-2019
		JP 2020511501 A	16-04-2020
		KR 20190095329 A	14-08-2019
		US 2019015516 A1	17-01-2019
		US 2020108151 A1	09-04-2020
		WO 2018112108 A1	21-06-2018

WO 2021081402	A1	29-04-2021	NONE

WO 2021081407	A1	29-04-2021	TW 202128226 A
			US 2021128744 A1
			WO 2021081407 A1

WO 2020252294	A1	17-12-2020	TW 202112752 A
			US 2020390899 A1
			WO 2020252294 A1

WO 2020252254	A1	17-12-2020	NONE

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	15/14	(2006.01)	A 6 1 P	15/14
A 6 1 P	1/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/00
A 6 1 P	35/04	(2006.01)	A 6 1 P	35/04

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,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,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
G,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,VN,WS,ZA,ZM,ZW

ピーク ドライブ 9 0 0

F ターム (参考) 4C076 AA95 BB11 CC16 CC17 CC27 CC41 EE41 EE59 FF63
4C085 AA14 AA25 BB31 CC23 DD62 EE01 GG01
4C086 AA01 AA02 CB11 MA01 MA04 NA05 NA13 ZA66 ZA81 ZB26
4H045 AA11 AA20 AA30 BA50 DA76 EA22 EA28 FA50 GA21