(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2021-527640
(P2021-527640A)
(43)公表日　令和3年10月14日(2021.10.14)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/24	(2006.01)	C07K	16/24	ZNA	4C076
A61K 47/68	(2017.01)	A61K	47/68		4C085
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00		4H045
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	C	
		A61K	39/395	E	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 78 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-568439 (P2020-568439)
(86)(22)出願日　令和1年6月13日 (2019.6.13)
(85)翻訳文提出日　令和3年1月28日 (2021.1.28)
(86)国際出願番号　PCT/EP2019/065517
(87)国際公開番号　WO2019/243159
(87)国際公開日　令和1年12月26日 (2019.12.26)
(31)優先権主張番号　18178299.6
(32)優先日　平成30年6月18日 (2018.6.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁 (EP)

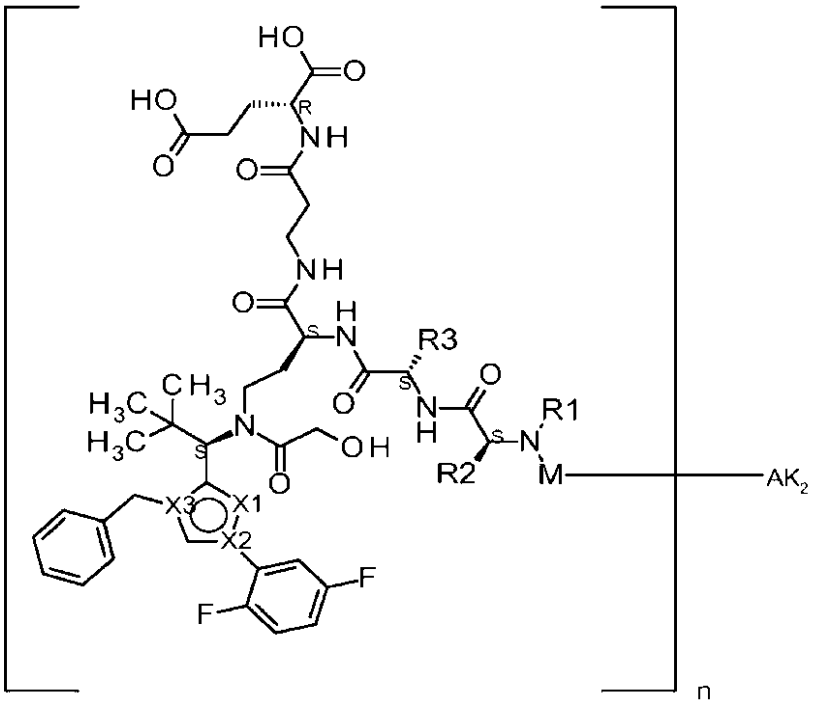
(71)出願人　591063187
バイエル　アクチェンゲゼルシャフト
Ｂａｙｅｒ　Ａｋｔｉｅｎｇｅｓｅｌｌｓｃｈａｆｔ
ドイツ・５１３７３・レーバークーゼン・カイザー－ヴィルヘルム－アレー・１
(74)代理人　100082072
弁理士　清原　義博
(72)発明者　ヨハンズ，サラ，アンナ，リーサ
ドイツ　４０７２３　ヒルデン　エルクハウスホーフ　１４
(72)発明者　ラーチェン，ハンス－ジョージ
ドイツ　５１３７５　レーバークーゼン　スールダーシュトラーセ　３

最終頁に続く

(54)【発明の名称】酵素的に切断可能なリンカーおよび改善された活性プロファイルを有する、ＣＸＣＲ５に対して向けられるバインダー／活性薬剤複合体

(57)【要約】
本発明は、改善された特性を有する新規なバインダー－薬物複合体、抗体薬物複合体（ＡＤＣ）の活性代謝物、およびその調製のためのプロセスに関する。本発明は、特に、ＣＸＣＲ５抗体および選択されたＫＳＰ阻害剤を含むＡＤＣに関する。本発明はさらに、疾患の処置および／または予防のための前記複合体の使用、および、疾患、特に、過剰増殖性疾患および／または血管新生疾患、例えば、癌疾患の処置および／または予防のための薬剤を生成するための前記複合体の使用に関する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩であって、
【化１】

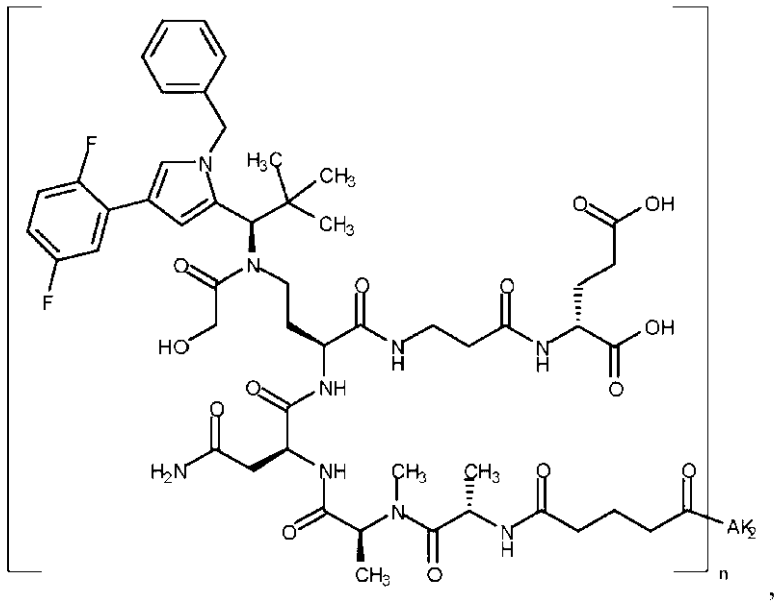


(I),

式中、
Ｘ$_{1}$はＮを表し、
Ｘ$_{2}$はＮを表し、および
Ｘ$_{3}$はＣを表し；
または
Ｘ$_{1}$はＣＨあるいはＣＦを表し、
Ｘ$_{2}$はＣを表し、および
Ｘ$_{3}$はＮを表し；
または
Ｘ$_{1}$はＮＨを表し、
Ｘ$_{2}$はＣを表し、および
Ｘ$_{3}$はＣを表し、
または
Ｘ$_{1}$はＣＨを表し、
Ｘ$_{2}$はＮを表し、および
Ｘ$_{3}$はＣを表し、
Ｒ^{1}は水素あるいはメチルを表し、
Ｒ^{2}は、メチル、エチル、－ＣＨ$_{2}$－ＣＨ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$、－ＣＨ$_{2}$－Ｃ（＝Ｏ）ＯＨ、あるいはイソプロピルを表し、
Ｒ^{3}は、メチル、エチル、－ＣＨ$_{2}$－ＣＨ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$、あるいは－ＣＨ$_{2}$－Ｃ（＝Ｏ）－ＮＨ$_{2}$を表し、
Ｍは、基：
＃－Ｃ（＝Ｏ）－ＣＨ（ＣＨ$_{3}$）－ＮＨ－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{2-8}$－Ｃ（＝Ｏ）

－＃＃＃、あるいは
＃－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_3$－Ｃ（＝Ｏ）－＃＃＃を表し、
ｎは１～５０の数字を表し、
ＡＫ$_2$は、バインダーあるいはその誘導体、好ましくは、抗体あるいは抗原結合断片を表し、
＃は前記活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、前記バインダーのリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す、
一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項２】
Ｘ$_1$はＣＨを表し、
Ｘ$_2$はＣを表し、および
Ｘ$_3$はＮを表し、
Ｒ^{1}は水素あるいはメチルを表し、
Ｒ^{2}は、メチル、－ＣＨ$_2$－ＣＨ（ＣＨ$_3$）$_2$、－ＣＨ$_2$－Ｃ（＝Ｏ）ＯＨ、あるいはイソプロピルを表し；
Ｒ^{3}は、メチル、エチル、－ＣＨ$_2$－ＣＨ（ＣＨ$_3$）$_2$、あるいは－ＣＨ$_2$－Ｃ（＝Ｏ）－ＮＨ$_2$を表し、
Ｍは、基：
＃－Ｃ（＝Ｏ）－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－ＮＨ－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_3$－Ｃ（＝Ｏ）－＃＃あるいは
＃－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_3$－Ｃ（＝Ｏ）－＃＃＃を表し、
ｎは１～５０の数字を表し、
ＡＫ$_2$は、バインダーあるいはその誘導体、好ましくは、抗体あるいは抗原結合断片を表し、
＃は前記活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、前記バインダーのリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す、
請求項１に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項３】
Ｘ$_1$はＣＨを表し、
Ｘ$_2$はＣを表し、および
Ｘ$_3$はＮを表し、
Ｒ^{1}は水素あるいはメチルを表し、
Ｒ^{2}はメチルまたはイソプロピルを表し、
Ｒ^{3}はメチルあるいは－ＣＨ$_2$－Ｃ（＝Ｏ）－ＮＨ$_2$を表し、
Ｍは、基：
＃－Ｃ（＝Ｏ）－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－ＮＨ－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_3$－Ｃ（＝Ｏ）－＃＃＃を表し、
ｎは１～５０の数字を表し、
ＡＫ$_2$は、バインダーあるいはその誘導体、好ましくは、抗体あるいは抗原結合断片を表し、
＃は前記活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、前記バインダーのリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す、
請求項１および２に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項４】
Ｘ$_1$はＣＨを表し、
Ｘ$_2$はＣを表し、および
Ｘ$_3$はＮを表し、

R^1はメチルを表し、
R^2はメチルを表し、
R^3は－CH_2－C（＝O）－NH_2を表し、
Mは、基：
＃－C（＝O）－CH（CH_3）－NH－C（＝O）－（CH_2）$_3$－C（＝O）－＃＃＃を表し、
nは１～５０の数字を表し、
AK_2は、バインダーあるいはその誘導体、好ましくは、抗体あるいは抗原結合断片を表し、＃は前記活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、前記バインダーのリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す、
請求項１－３に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項５】
R^1はメチルを表し、
R^2はメチルを表し、
R^3は－CH_2－C（＝O）－NH_2を表し、
Mは、基：
＃－C（＝O）－CH（CH_3）－NH－C（＝O）－（CH_2）$_3$－C（＝O）－＃＃＃を表し、
nは１～２０の数字を表し、
AK_2は、抗体あるいはその抗原結合抗体断片を表し、
＃は前記活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、前記抗体あるいはその抗原結合抗体断片のリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す、
請求項１－４に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項６】
以下の構造を有し、
【化２】



式中、
AK_2は、リジン側鎖のＮ原子上に結合した抗体を表し、および
nは１から５０である、
請求項１－４に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならび

に溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項７】
ｎは１から２０である、
請求項６に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項８】
ｎは１から８である、
請求項６および７に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項９】
ｎは４から８である、
請求項６－８に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項１０】
AK_2は、抗ＣＸＣＲ５抗体またはその抗原結合断片を表す、
請求項１－９に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項１１】
AK_2は、ＴＰＰ　１４５１１、ＴＰＰ　１４５０９、ＴＰＰ　１４４９９、ＴＰＰ　１４５０５、ＴＰＰ　１４５１４、およびＴＰＰ　１４４９５からなる群から選択される抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、またはその抗原結合抗体断片を表す、
請求項１－１０に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項１２】
R^1はメチルを表し、
R^2はメチルを表し、
R^3は$-CH_2-C(=O)-NH_2$を表し、
Ｍは、基：
$\#-C(=O)-CH(CH_3)-NH-C(=O)-(CH_2)_3-C(=O)-\#\#\#$を表し、
ｎは１～２０の数字を表し、
AK_2は、ＴＰＰ　１４５１１、ＴＰＰ　１４５０９、ＴＰＰ　１４４９９、ＴＰＰ　１４５０５、ＴＰＰ　１４５１４、およびＴＰＰ　１４４９５からなる群から選択される抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、またはその抗原結合抗体断片を表し、
＃は前記活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、前記抗体あるいはその抗原結合抗体断片のリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す、
請求項１－５に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項１３】
AK_2は、
（ｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、
（ｉｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－Ｃ

ＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、

（ｉｉｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、

（ｉｖ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、

（ｖ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、あるいは

（ｖｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５５）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、またはこれら抗体の抗原結合断片を表す、

請求項１－１２に記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。

【請求項１４】

AK_2は、

（ｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１によって示される重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５によって示される軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、

（ｉｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１によって示される重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５によって示される軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、

（ｉｉｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２１によって示される重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２５によって示される軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、
（ｉｖ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１によって示される重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３５によって示される軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、
（ｖ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４１によって示される重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４５によって示される軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、あるいは
（ｖｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１によって示される重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５５によって示される軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、またはこれらの抗体の抗原結合断片を表す、
請求項１－１２のいずれか１つに記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項１５】
AK_2は、
（ｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：９によって示される重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０によって示される軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、
（ｉｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９によって示される重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０によって示される軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、
（ｉｉｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２９によって示される重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０によって示される軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、
（ｉｖ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９によって示される重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４０によって示される軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、
（ｖ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４９によって示される重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５０によって示される軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、あるいは
（ｖｉ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５９によって示される重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６０によって示される軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、または、これらの抗体の抗原結合断片を表す、
請求項１－１２のいずれか１つに記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項１６】
前記抗体または前記抗原結合抗体断片は細胞外標的分子に結合する、請求項１－１５のいずれか１つに記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項１７】
前記抗体または前記抗原結合抗体断片は細胞外癌標的分子に結合する、請求項１－１６のいずれか１つに記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項１８】
細胞外標的分子に結合した後の前記抗体または前記抗原結合抗体断片は、標的細胞の結合を介して、前記標的細胞上で内在化する、請求項１－１７のいずれか１つに記載の一般式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩ならびに溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩。
【請求項１９】
不活性の無毒で薬学的に許容可能な賦形剤と組み合わせた、請求項１－１８の１つ以上に記載の少なくとも１つのバインダー／活性薬剤複合体を含む、医薬組成物。
【請求項２０】
疾患の処置および／または予防のための方法で使用される請求項１－１９のいずれか１つ以上に記載のバインダー／活性薬剤複合体。

【請求項２１】
過剰増殖性疾患および／または血管新生疾患の処置のための方法で使用される請求項１－２０のいずれか１つ以上に記載のバインダー／活性薬剤複合体。
【請求項２２】
癌および腫瘍の処置のための方法で使用される請求項１－２１のいずれか１つ以上に記載のバインダー／活性薬剤複合体。
【請求項２３】
癌免疫療法のための１つ以上の治療用組成物、または癌免疫療法からの分子標的に対して向けられる１つ以上の活性化合物と組み合わせた、癌および腫瘍の処置のための方法で使用される請求項１－２２のいずれか１つ以上に記載のバインダー／活性薬剤複合体。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
序文および先行技術
本発明は、新規なバインダー／活性薬剤複合体、例えば、改善された特性を有する抗体薬物複合体（ＡＤＣ）、このバインダー／活性薬剤複合体の活性代謝物、およびその調製のためのプロセスに関する。本発明は、疾患の処置および／または予防のためのこれらの複合体の使用、ならびに、過剰増殖性疾患および／または血管新生疾患、特に、癌などの薬剤の生成のための前記複合体の使用に関する。そのような処置は、単独療法として、または他の薬物あるいは追加の治療手段と組み合わせて行うことが可能である。本発明によれば、バインダーは、好ましくは抗体である。
【０００２】
癌は、種々様々な組織の制御されていない細胞増殖の結果である。多くの場合、新たな細胞が既存の組織へと浸透する（浸潤性増殖）か、または遠隔臓器へと移転する。癌は種々様々な臓器に出現し、しばしば、組織特異的な疾患経過を有する。したがって、総称としての用語「癌」とは、異なる臓器、組織、および細胞型の定義された疾患の大きなグループを言い表している。
【０００３】
初期段階におけるいくつかの腫瘍は、外科的処置および放射線療法によって除去され得る。転移した腫瘍は一般的に、化学療法剤により一時緩和的に処置される。そのような場合の目標は、生活の質の改善と延命の最適な組み合わせを達成することである。
【０００４】
１つ以上の活性薬剤分子を有するバインダータンパク質の複合体は、とりわけ、いわゆる「抗体薬物複合体」（ＡＤＣ）の形態で知られており、その形態では、腫瘍関連抗原に対して向けられる内在化抗体（ｉｎｔｅｒｎａｌｉｚｉｎｇ ａｎｔｉｂｏｄｙ）が、結合ユニット（「リンカー」）を介して細胞毒性薬剤に共有結合される。腫瘍細胞へのＡＤＣの導入および続く複合体の解離の後、細胞毒性薬それ自体またはそれから形成された他の細胞毒性代謝物のいずれかは、腫瘍細胞内で放出され、そこで直接的かつ選択的にその効果を発揮することができる。このように、正常組織への損傷は、従来の化学療法と比較して、非常に狭い制限内で保存され得る［例えば、Ｊ．Ｍ．Ｌａｍｂｅｒｔ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５，５４３－５４９（２００５）；Ａ．Ｍ．Ｗｕ ａｎｄ Ｐ．Ｄ．Ｓｅｎｔｅｒ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２３，１１３７－１１４６（２００５）；Ｐ．Ｄ．Ｓｅｎｔｅｒ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．１３，２３５－２４４（２００９）；Ｌ．Ｄｕｃｒｙ ａｎｄ Ｂ．Ｓｔｕｍｐ，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．２１，５－１３（２０１０）を参照］。ＷＯ２０１２／１７１０２０には、複数のトキソフォア分子（ｔｏｘｏｐｈｏｒｅ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ）がポリマーリンカーを介して抗体に付着するＡＤＣが記載される。可能性のあるトキソフォアがＷＯ２０１２／１７１０２０で述べられており、物質ＳＢ ７４３９２１、ＳＢ ７１５９９２（イスピネシブ）、ＭＫ ０３７１、ＡＺＤ８４７７、ＡＺ３１４６、およびＡＲＲＹ－５

２０を含む。
【０００５】
最後に挙げた物質は、いわゆるキネシンスピンドルタンパク質阻害剤である。キネシンスピンドルタンパク質（ＫＳＰ（Ｅｇ５、ＨｓＥｇ５、ＫＮＳＬｌ、またはＫＩＦｌｌとしても知られる））は、双極性有糸分裂紡錘体（ｂｉｐｏｌａｒ ｍｉｔｏｔｉｃ ｓｐｉｎｄｌｅ）の機能にとって不可欠なキネシン様モータータンパク質（ｋｉｎｅｓｉｎ－ｌｉｋｅ ｍｏｔｏｒ ｐｒｏｔｅｉｎ）である。ＫＳＰの阻害は、有糸分裂停止、および、比較的長期にわたってアポトーシス（Ｔａｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ ２００５ Ｊｕｌ ８（１），３９－５９）をもたらす。第１の細胞透過性ＫＳＰ阻害剤、モナストロールの発見に続いて、ＫＳＰ阻害剤は、新しい化学療法（Ｍａｙｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８６：９７１－９７４，１９９９）のクラスとして確立されるようになり、多数の特許（例えば、ＷＯ２００６／０４４８２５；ＷＯ２００５／０５１９２２；ＷＯ２００６／０６０７３７；ＷＯ０３／０６００６４；ＷＯ０３／０４０９７９、およびＷＯ０３／０４９５２７）の主題である。しかし、ＫＳＰは、有糸分裂期中の短期間しか活性でないため、ＫＳＰ阻害剤は、この期中、十分に高い濃度で存在しなければならない。特定のＫＳＰ阻害剤を有するＡＤＣは、ＷＯ２０１４／１５１０３０において開示される。
【０００６】
加えて、ここで記載されるＡＤＣのＫＳＰ阻害剤と構造的に異なるイミダゾールＫＳＰ阻害剤を有するＡＤＣは、ＷＯ２００６／００２２３６、ＷＯ２００７／０２１７９４、およびＷＯ２００８／０８６１２２から知られている。
【０００７】
さらに、イミダゾールおよびベンゾイミダゾールの誘導体は、ＵＳ７，６６２，５８１Ｂ１の活性化合物として知られている。
【０００８】
イミダゾール、オキサゾール、およびジアゼピンの誘導体も、ＷＯ２００４／１００８７３において活性化合物として記載されている。
【０００９】
本発明は、ピロールおよびピラゾールＫＳＰ阻害剤を有するＡＤＣに関する。
【００１０】
ＷＯ２０１５／０９６９８２、およびＷＯ２０１６／０９６６１０において、酵素的に切断可能なリンカーをも含み、かつ対応する活性プロファイルを有する、ＫＳＰ阻害剤を有するＡＤＣが開示される。しかし、明確により良い活性プロファイルを得ること、および／または改善された特性を示すことが望ましい。
【００１１】
したがって、改善された活性プロファイルおよび／または改善された特性を有する、新規なバインダー／活性薬剤複合体、特に、ＫＳＰ阻害剤および酵素的に切断可能なリンカーを有するＡＤＣを提供することが本発明の目的である。
【００１２】
例えば、レグマインは、腫瘍関連アスパラギンエンドペプチダーゼであり（Ｓ．Ｉｓｈｉｉ，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１９９４，２４４，６０４；Ｊ．Ｍ．Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．１９９７，２７２，８０９０）、例えば、とりわけ、ドキソルビシンおよびエトポシドの誘導体の小細胞毒性分子（ｓｍａｌｌ ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ）のプロドラッグの処理に使用された（Ｗ．Ｗｕ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２０ ２００６，６６，９７０；Ｌ．Ｓｔｅｍ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．２００９，２０，５００；Ｋ．Ｍ．Ｂａｊｊｕｒｉ ｅｔ ａｌ．ＣｈｅｍＭｅｄＣｈｅｍ ２０１１，６，５４）。
【００１３】
他のリソソーム酵素は、例えば、カテプシンまたはグリコシダーゼ、例えば、βグルク

ロニダーゼであり、プロドラッグの酵素的解離により活性化合物を放出するためにも使用されてきた。インビボで酵素的に切断可能な基は、特に、２－８のオリゴペプチド基またはグリコシドである。ペプチド切断部位は、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ. ２００２, １３, ８５５－８６９, ｉｎ Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ & Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｌｅｔｔｅｒｓ ８ （１９９８） ３３４１－３３４６ ａｎｄ ｉｎ Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ. １９９８, ９, ６１８－６２６において開示される。これらは、例えば、バリン－アラニン、バリン－リジン、バリン－シトルリン、アラニン－リジン、およびフェニルアラニン－リジン（随意に追加のアミド基を有する）を含む。

【発明の概要】

【００１４】

酵素的に切断可能なリンカーを有する様々な抗体薬物複合体（ＡＤＣ）が先行技術文献に記載されているが、それらの活性プロファイルは最適ではない。例えば、異なる細胞に対してより広い効果を示す、入手可能なＡＤＣを有していることが望ましい。加えて、そのようなＡＤＣは、より低い活性化合物の濃縮と改善された特性と同時に、良好な活性を有しているべきである。

【００１５】

したがって、本発明の目的は、比較的低濃度の投与後に長期にわたるアポトーシス作用を示し、したがって癌治療において有用である、より有効な化合物を提供することである。一方では、ＡＤＣから細胞内に放出される代謝産物のプロファイルは、決定的な役割を果たす。しばしば、ＡＤＣから形成された代謝産物は、排出ポンプの基質であり、および／または、細胞膜を介した高透過性を有する。この両方の事象は、短い滞留時間、したがって、腫瘍細胞における最適以下のアポトーシス作用に寄与する場合がある。

【００１６】

こうして、本発明の主題は、バインダー／活性薬剤複合体、特に、特異的な活性薬剤（トキソフォア）－リンカー－抗体の組成物を有するＡＤＣであり、効力および活性スペクトルに関して、とりわけ興味深い活性プロファイルを有している。ＡＤＣの腫瘍選択性およびその代謝産物をさらに改善するために、ＡＤＣには、レグマインなどのリソソームの腫瘍関連酵素により切断でき、したがって、代謝産物（トキソフォア）を放出することができるペプチドリンカーが備わっている。

【００１７】

適切な抗体は、例えば、ＣＸＣＲ５抗体の群から選択される抗体である。

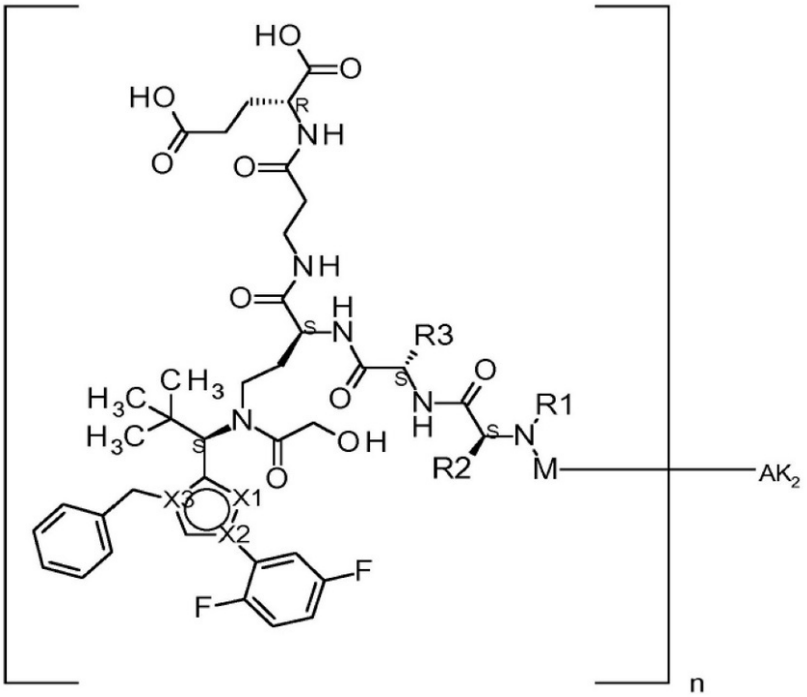
【００１８】

したがって、腫瘍選択性は、抗体の選択だけではなく、ペプチド誘導体の酵素的な解離によって、例えば、レグマインなどの腫瘍関連酵素によっても決定される。腫瘍細胞において本発明のＡＤＣから放出される代謝産物は、とりわけ興味深い特性プロファイルによっても特徴付けられる。上記代謝産物はさらに、腫瘍細胞からの低い排出を示し、腫瘍における活性薬剤への高い曝露をもたらす。したがって、高活性が腫瘍細胞において達成される一方、透過性が低いために、低い全身性の細胞毒性活性しか存在せず、低いオフターゲット毒性を結果としてもたらす。

【００１９】

本発明のＡＤＣで使用されるキネシンスピンドルタンパク質阻害剤は、効果に必須であるアミノ基を有する。ペプチド誘導体を有するこのアミノ基を修飾することにより、キネシンスピンドルタンパク質に対する効果が遮断され、したがって、細胞毒性効果の発生も阻害される。これらのペプチド誘導体も、抗体へのリンカーの構成要素である場合がある。しかし、レグマインなどの腫瘍関連酵素により、活性薬剤からこのペプチド残基またはペプチドリンカーが放出され得る場合、その効果は、制御された様式で腫瘍組織において再確立され得る。腫瘍において形成された代謝産物の特定の特性プロファイルは、分子中のアミノ基と異なる位置にあるキネシンスピンドルタンパク質阻害剤をさらに修飾することによって保証されるが、このことで、標的における高い効力を損なうことはない。

【００２０】
加えて、本発明のＡＤＣは、抗体の高負荷を可能にするが（ＤＡＲ（薬物と抗体との比）と呼ばれる）、非複合抗体（ｕｎｃｏｎｊｕｇａｔｅｄ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）と比較して、ＡＤＣの物理化学的挙動および薬物動態学的挙動に驚くほど悪影響を与えない。
【００２１】
驚いたことに、先行技術から知られている複合体と比較して優れた特性を有する、以下の一般式（Ｉ）の抗体活性薬剤複合体、およびその塩、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩が現在、発見されており、
【００２２】
【化１】



(I),

式中、
X_1はＮを表し、
X_2はＮを表し、および
X_3はＣを表し；
または、
X_1はＣＨあるいはＣＦを表し、
X_2はＣを表し、および
X_3はＮを表し；
または、
X_1はＮＨを表し、
X_2はＣを表し、および
X_3はＣを表し；
または、
X_1はＣＨを表し、
X_2はＮを表し、および
X_3はＣを表し、
R^1は水素あるいはメチルを表し、

R^2は、メチル、エチル、－CH_2－CH（CH_3）$_2$、－CH_2C（＝O）OH、あるいはイソプロピルを表し；
R^3は、メチル、エチル、－CH_2－CH（CH_3）$_2$あるいは－CH_2－C（＝O）－NH_2を表し、
Mは、基：
＃－C（＝O）－CH（CH_3）－NH－C（＝O）－（CH_2）$_{2-8}$－C（＝O）－＃＃＃あるいは＃－C（＝O）－（CH_2）$_3$－C（＝O）－＃＃＃を表し、
nは１～５０の数字を表し、
AK_2は、バインダーあるいはその誘導体、好ましくは、抗体あるいは抗原結合断片を表し、＃は活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、バインダーのリジン側鎖のＮ原子への結合を表す。

【００２３】

式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩が好ましく、
ここで、
X_1はＣＨを表し、
X_2はＣを表し、および
X_3はＮを表し；
R^1は水素あるいはメチルを表し、
R^2は、メチル、エチル、－CH_2－CH（CH_3）$_2$、－CH_2－C（＝O）OH、あるいはイソプロピルを表し；
R^3は、メチル、エチル、－CH_2－CH（CH_3）$_2$、あるいは－CH_2－C（＝O）－NH_2を表し、
Mは、基：
＃－C（＝O）－CH（CH_3）－NH－C（＝O）－（CH_2）$_3$－C（＝O）－＃＃＃あるいは＃－C（＝O）－（CH_2）$_3$－C（＝O）－＃＃＃を表し、
nは、１～５０の数字を表し、
AK_2は、バインダーあるいはその誘導体を表し、好ましくは、抗体あるいは抗原結合断片を表し、
＃は、活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、バインダーのリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す。

【００２４】

式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩が特に好ましく、
ここで、
X_1はＣＨを表し、
X_2はＣを表し、および
X_3はＮを表し；
R^1は水素あるいはメチルを表し、
R^2はメチルまたはイソプロピルを表し、
R^3はメチルあるいは－CH_2－C（＝O）－NH_2を表し、
Mは基：
＃－C（＝O）－CH（CH_3）－NH－C（＝O）－（CH_2）$_3$－C（＝O）－＃＃＃を表し、
nは１～５０の数字を表し、
AK_2は、バインダーあるいはその誘導体を表し、好ましくは、抗体あるいは抗原結合断片を表し、
＃は、活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、バインダーのリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す。

【００２５】

式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、および、その塩、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩が、とりわけ非常に好ましく、
ここで、
X_1はＣＨを表し、
X_2はＣを表し、および
X_3はＮを表し；
R^1はメチルを表し；
R^2はメチルを表し、
R^3は－ＣＨ$_2$－Ｃ（＝Ｏ）－ＮＨ$_2$を表し、
Ｍは基：
＃－Ｃ（＝Ｏ）－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－ＮＨ－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_3$－Ｃ（＝Ｏ）－＃＃＃を表し、
ｎは、１～５０の数字を表し、
ＡＫ$_2$は、バインダーあるいはその誘導体を表し、好ましくは、抗体あるいは抗原結合断片を表し、
＃は、活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、バインダーのリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す。

【００２６】

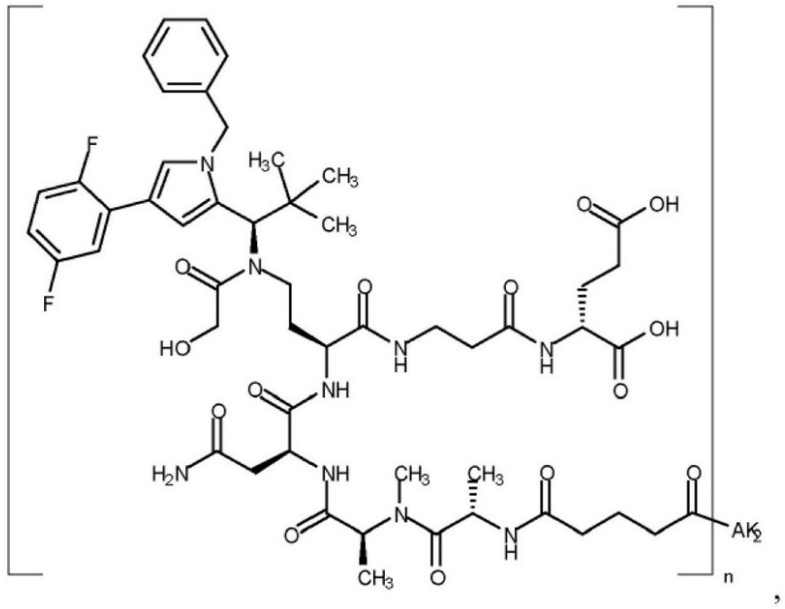
式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、および、その塩、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩が特に好ましく、
ここで、
R^1はメチルを表し、
R^2はメチルを表し、
R^3は－ＣＨ$_2$－Ｃ（＝Ｏ）－ＮＨ$_2$を表し、
Ｍは基：
＃－Ｃ（＝Ｏ）－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－ＮＨ－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_3$－Ｃ（＝Ｏ）－＃＃＃を表し、
ｎは１～２０の数字を表し、
ＡＫ$_2$は、抗体を表すか、あるいはその抗原結合抗体断片を表し、
＃は、活性薬剤への結合を表し、および
＃＃＃は、抗体あるいはその抗原結合抗体断片のリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す。

【００２７】

以下の構造の式（Ｉ）のバインダー／活性薬剤複合体、および、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩が選択され、

【００２８】

【化２】



式中、
ＡＫ$_2$は、リジン側鎖のＮ－原子上に連結した抗体を表し、および
ｎは１から５０である。

【００２９】
これらの中で好ましいのは、ｎが１から２０までである、バインダー／活性薬剤複合体、およびその塩、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩である。

【００３０】
ｎが１から８までである、バインダー／活性薬剤複合体、およびその塩、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩も好ましい。

【００３１】
ｎが４から８までである、バインダー／活性薬剤複合体、およびその塩、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩も好ましい。

【００３２】
ＡＫ$_2$が細胞外癌標的分子に特異的に結合するバインダーを表す、上述の式のバインダー／活性薬剤複合体が好まれる。好ましい実施形態において、標的細胞上のその細胞外標的分子に結合した後のバインダーは、その結合を介して、標的細胞によって内在化される。好ましくは、バインダーは抗体または抗原結合断片である。

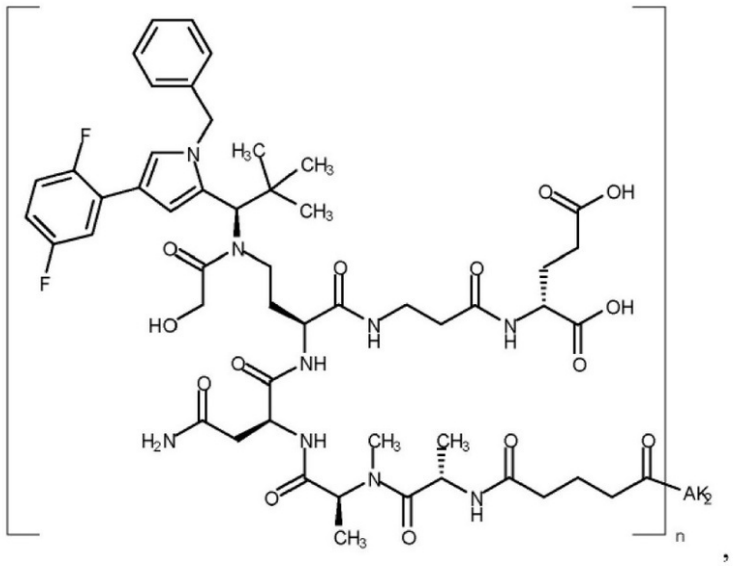
【００３３】
本発明の好ましい主題において、細胞外癌標的分子は、癌標的分子ＣＸＣＲ５からなる群から選択される。

【００３４】
本発明の好ましい主題において、バインダーＡＫ$_2$は、抗ＣＸＣＲ５抗体またはその抗原結合抗体断片である。

【００３５】
ＡＫ$_2$がＴＰＰ－１００６３、ＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、およびＴＰＰ－１４４９５からなる群から選択される抗体、またはその抗原結合断片を表す、上述の式のバインダー／活性薬剤複合体が好ましい。特に、ＡＫ$_2$がＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、およびＴＰＰ－１４４９５からなる群から選択される抗体、またはその抗原結合断片を表す、上述される式のバインダー／活性薬剤複合体が好ましい。

【図面の簡単な説明】
【００３６】
【図１－１】バインダー／活性薬剤複合体のための抗体の配列と、標的タンパク質の配列の配列表。
【図１－２】バインダー／活性薬剤複合体のための抗体の配列と、標的タンパク質の配列の配列表。
【図１－３】バインダー／活性薬剤複合体のための抗体の配列と、標的タンパク質の配列の配列表。
【図１－４】バインダー／活性薬剤複合体のための抗体の配列と、標的タンパク質の配列の配列表。
【図１－５】バインダー／活性薬剤複合体のための抗体の配列と、標的タンパク質の配列の配列表。
【図１－６】バインダー／活性薬剤複合体のための抗体の配列と、標的タンパク質の配列の配列表。
【発明を実施するための形態】
【００３７】
本発明は、バインダーまたはその誘導体と１つ以上の活性薬剤分子の複合体を提供し、ここで、上記活性薬剤分子は、キネシンスピンドルタンパク質阻害剤（ＫＳＰ阻害剤）である。
【００３８】
以下において、限定されることなく組み合わせて使用することができる、本発明の使用可能なバインダー、本発明のその使用可能なＫＳＰ阻害剤、および本発明の使用可能なリンカーが記載される。とりわけ、好ましいものとして、または特に好ましいものとして示されたバインダーは、好ましいものとして、または特に好ましいものとして示されたＫＳＰ阻害剤と組み合わせて、随意に、好ましいものとして、または特に好ましいものとして示されたそれぞれのリンカーと組み合わせて使用され得る。
【００３９】
特に好ましいＫＳＰ阻害剤複合体（バインダー／活性薬剤複合体）
本発明によれば、以下のＫＳＰ阻害剤複合体が特に好ましく、ここで、AK_2は、バインダーまたはその誘導体（好ましくは、抗体）を表し、ｎは、１～５０、好ましくは１～２０、好ましくは１～８、特に好ましくは４～８の数字を表す。AK_2は、好ましくは、リシン残基を介してＫＳＰ阻害剤バインダーに結合した抗体を表すか、または、ここで使用される抗体は、好ましくは本明細書で好ましいものと記載されるバインダーおよび抗体である。
【００４０】
特に好ましいものは、以下のバインダー／活性薬剤複合体である：
【００４１】

【化３】



,

【００４２】

特に好ましいものは、ＡＫ$_2$が細胞外癌標的分子に特異的に結合するバインダーを表す、示された式のバインダー／活性薬剤複合体である。好ましい実施形態において、標的細胞上のその細胞外標的分子に結合した後のバインダーは、結合を介して、標的細胞によって内在化される。

【００４３】

本発明の好ましい主題において、細胞外癌標的分子は、癌標的分子、特にＣＸＣＲ５からなる群から選択される。

【００４４】

本発明の好ましい主題において、バインダーＡＫ$_2$は、抗ＣＸＣＲ５抗体またはその抗原結合抗体断片である。

【００４５】

ＡＫ$_2$がＴＰＰ－１００６３、ＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、およびＴＰＰ－１４４９５からなる群から選択される抗体、または、その抗原結合断片を表す、上述の式のバインダー／活性薬剤複合体が好ましい。特に、ＡＫ$_2$がＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、およびＴＰＰ－１４４９５からなる群から選択される抗体、またはその抗原結合断片を表す、上述される式のバインダー／活性薬剤複合体が好ましい。

【００４６】

したがって、特に好ましいバインダー／活性薬剤複合体、およびその塩、溶媒和物ならびにこの溶媒和物の塩は、式（Ｉ）のものであり、

ここで、

Ｒ^{1}はメチルを表し、

Ｒ^{2}はメチルを表し、

Ｒ^{3}は－ＣＨ$_2$－Ｃ（＝Ｏ）－ＮＨ$_2$を表し、

Ｍは基：

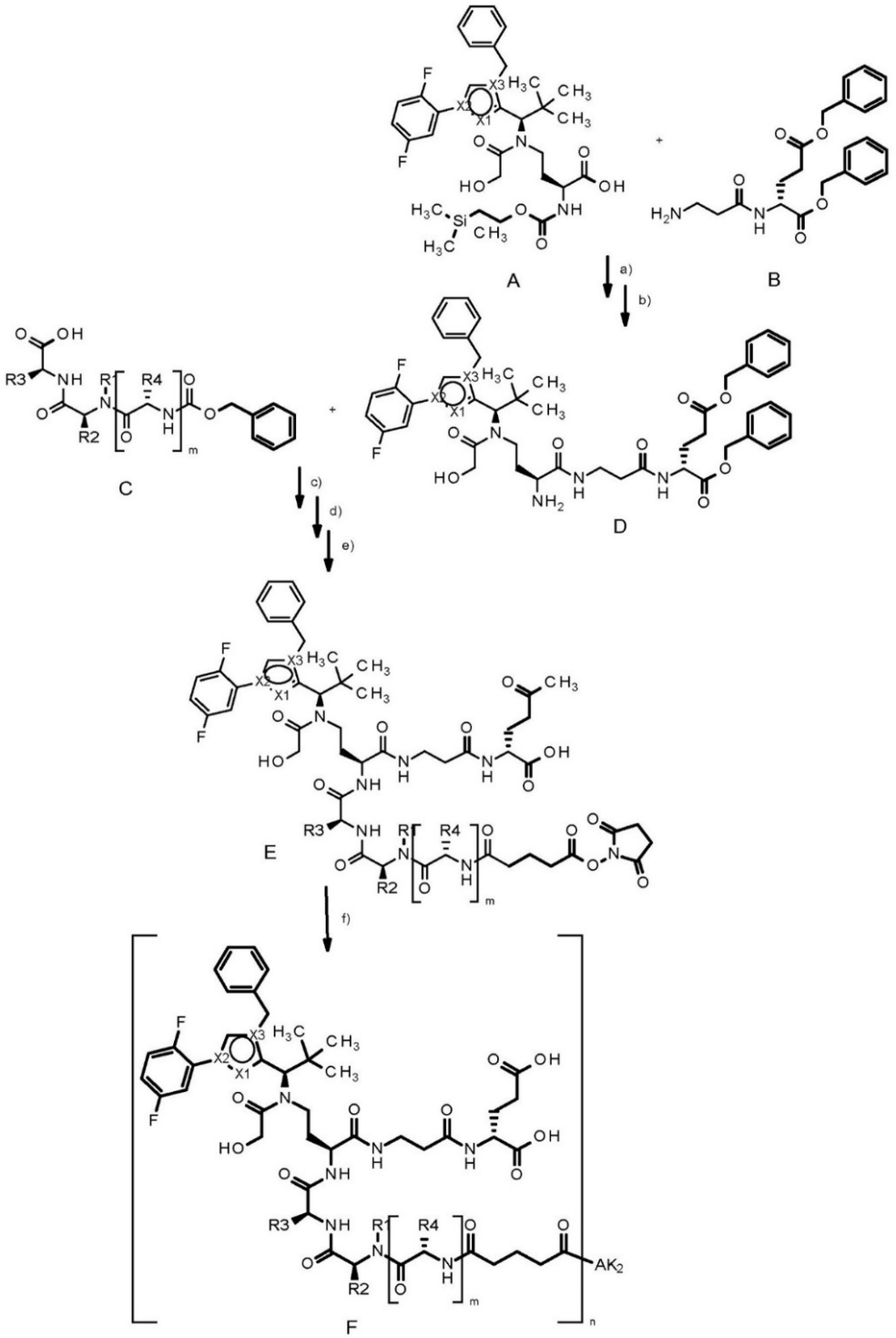
＃－Ｃ（＝Ｏ）－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－ＮＨ－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_3$－Ｃ（＝Ｏ）－＃＃＃を表し、

ｎは１～２０の数字を表し、

ＡＫ$_2$は、ＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、およびＴＰＰ－１４４９５からなる群から選択される抗ＣＸＣＲ５抗体を表すか、またはそれらの抗原結合抗体断片を表し、

＃は活性化合物への結合を表し、および
＃＃＃は、抗体あるいはその抗原結合抗体断片のリジン側鎖のＮ－原子への結合を表す。
【００４７】
ＫＳＰ阻害剤－リンカー中間体、および複合体の調製
本発明の複合体は、まず、その低分子量のＫＳＰ阻害剤が、リンカーを備えているように調製される。その後、このように調製された中間体をバインダー（好ましくは、抗体）と反応させる。
【００４８】
リジンラジカルと結合された中間体、およびその後の抗体との結合について、その反応は以下のように示され得る：
【００４９】

【化４】



【００５０】

上記の反応スキームにおいて、X_1、X_2、X_3、R^1、R^2、R^3、およびAK_2は、式（Ｉ）において与えられる意味を有し、ここで、R^4はメチルを表し、ｍは０または１である。

【００５１】

ビルディングブロックＡの合成はＷＯ２０１５／０９６９８２において記載されている。ペプチド誘導体ＢおよびＣは、ペプチド化学の古典的方法により調製された。中間体ＣおよびＤは、室温で、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンの存在下で、ＤＭＦにおいて

ＨＡＴＵを使用して結合された。その後、ベンジルオキシカルボニル保護基およびベンジルの両方は、活性炭上の１０％のパラジウム上で水素化分解により分離された。その後、完全に脱保護された中間体を、室温で、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンの存在下で、ＤＭＦ中の１，１’－［（１，５－ジオキソペンタン－１，５－ジイル）ビス（オキシ）］ジピロリジン－２，５－ジオンと反応させ、ＡＤＣ前駆体分子Ｅを形成した。その後、この活性エステルは、Ｂ－４の章で記載されるように、対応する抗体と結合した。

【００５２】

上記の反応スキームにおいて、X_1、X_2、X_3、R^1、R^2、R^3、およびAK_2は、式（Ｉ）において与えられる意味を有し、ここで、R^4はメチルを表し、ｎは１である。

【００５３】

類似の手順を使用して、ｍが０を表す化合物も調製され得る。

【００５４】

バインダー

用語「バインダー」は、最も広い意味で、バインダー／活性薬剤複合体で処置される特定の集団に存在する標的分子と結合する分子を意味すると理解される。用語「バインダー」は、最も広い意味で理解されるべきであり、例えば、レクチン、特定の糖鎖に結合することが可能であるタンパク質、またはリン脂質結合タンパク質も含む。そのようなバインダーは、例えば、高分子量のタンパク質（結合タンパク質）、ポリペプチドまたはペプチド（結合ペプチド）、非ペプチド性（例えば、アプタマー（ＵＳ５，２７０，１６３）Ｋｅｅｆｅ ＡＤ．，ｅｔ ａｌ．による総説論文，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ．２０１０；９：５３７－５５０）、あるいはビタミン）、および全ての他の細胞結合分子または細胞結合物質を含む。結合タンパク質は、例えば、抗体および抗体断片または抗体模倣物、例えば、アフィボディ（ａｆｆｉｂｏｄｉｅｓ）、アドネクチン（ａｄｎｅｃｔｉｎｓ）、アンチカリン（ａｎｔｉｃａｌｉｎｓ）、ＤＡＲＰｉｎｓ、アビマー（ａｖｉｍｅｒｓ）、ナノボディ（Ｇｅｂａｕｅｒ Ｍ．ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．２００９；１３：２４５－２５５；Ｎｕｔｔａｌｌ Ｓ．Ｄ．ｅｔ ａｌ．による総説論文，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ２００８；８：６０８－６１７）である。結合ペプチドは、例えば、リガンド受容体のリガンド、例えば、リガンド－受容体ペアＶＥＧＦ／ＫＤＲのＶＥＧＦ、例えば、リガンド－受容体ペアトランスフェリン／トランスフェリン受容体またはサイトカイン／サイトカイン受容体のトランスフェリン、例えば、リガンド－受容体ペアＴＮＦα／ＴＮＦα受容体のＴＮＦαである。

【００５５】

バインダーは結合タンパク質であり得る。バインダーの好ましい実施形態は、抗体、抗原結合抗体断片、多重特異性抗体、または抗体模倣物である。

【００５６】

バインダー、および特に抗体への有機分子の共有結合（結合）について、文献から様々な可能性も知られている。本発明によれば、抗体のシステイン残基の１つ以上の硫黄原子および／または抗体のリシン残基の１つ以上のＮＨ基よりも、抗原に対するトキソフォアの結合の方が好ましい。

【００５７】

しかし、遊離カルボキシル基を介して、または抗体の糖残基を介して、トキソフォアを抗体に結合することも可能である。「標的分子」は、最も広い意味で、標的細胞中に存在する分子を意味すると理解され、および、タンパク質（例えば、成長因子の受容体）または非ペプチド分子（例えば、糖またはリン脂質）であり得る。好ましくは、標的分子は受容体または抗原である。

【００５８】

用語「細胞外」標的分子は、細胞の外部に位置する細胞に結合した標的分子、あるいは細胞の外部に位置する標的分子の一部を説明するものであり、つまり、バインダーは、無

傷細胞をその細胞外標的分子に結合することができる。細胞外標的分子は細胞膜において固定される場合があるか、または細胞膜の成分である場合がある。当業者ならば、細胞外標的分子を識別するための方法を知っている。タンパク質の場合、これは、膜貫通ドメイン、および膜におけるタンパク質の配向を決定することにより行われ得る。この情報は通常、タンパク質データベース（例えば、ＳｗｉｓｓＰｒｏｔ）に蓄積される。

【００５９】

用語「癌標的分子」とは、同じ組織型の非癌細胞と比べて、１つ以上の癌細胞種上に増加した量で存在する標的分子を説明するものである。好ましくは、癌標的分子は、同じ組織型の非癌細胞と比較して、１つ以上の癌細胞種上に選択的に存在し、ここで、選択的とは、同じ組織型の非癌細胞と比較して、癌細胞上で少なくとも２倍豊富であることを説明する（「選択的な癌標的分子」）。癌標的分子の使用により、本発明の複合体を用いた癌細胞の選択的な治療が可能になる。

【００６０】

バインダーは、結合を介してリンカーに付着することができる。バインダーは、そのバインダーのヘテロ原子を介して連結することができる。連結のために使用され得る本発明のバインダーのヘテロ原子は、硫黄（一実施形態では、バインダーのスルフヒドリル基を介して）、酸素（本発明によれば、バインダーのカルボキシル基またはヒドロキシル基として）、および窒素（一実施形態では、バインダーの第一級あるいは第二級アミン基またはアミド基介して）である。これらのヘテロ原子は、天然バインダーに存在するか、または化学的方法あるいは分子生物学的方法によって導入され得る。本発明によれば、トキソフォアへのバインダーの付着は、標的分子へのバインダーの結合活性に対してわずかな効果しかない。好ましい実施形態において、上記連結は、標的分子へのバインダーの結合活性に対して効果がない。

【００６１】

本発明によれば、用語「抗体」は、その最も広い意味で理解されるべきであり、免疫グロブリン分子、例えば、無傷モノクローナル抗体または修飾モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、あるいは多特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）を含む。免疫グロブリン分子は、好ましくは、４つのポリペプチド鎖、２つの重鎖（Ｈ鎖）および２つの軽鎖（Ｌ鎖）を有する分子を含み、これらの鎖は、ジスルフィド架橋により典型的に連結される。各重鎖は、重鎖の１つの可変ドメイン（ＶＨと省略する）および重鎖の定常ドメインを含む。例えば、重鎖の定常ドメインは、ＣＨ１、ＣＨ２、およびＣＨ３の３つのドメインを含む場合がある。各軽鎖は、１つの可変ドメイン（ＶＬと省略する）および定常ドメインを含む。軽鎖の定常ドメインは、１つのドメイン（ＣＬと省略する）を含む。ＶＨおよびＶＬドメインは、相補性決定領域（ＣＤＲと省略する）とも呼ばれる超可変性を有する領域、および、より低い配列可変性を有する領域（「フレームワーク領域」（ＦＲと省略する））にさらに細分化することができる。各ＶＨ領域およびＶＬ領域は、典型的には、例えば、以下の順序：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４で、アミノ末端からカルボキシ末端まで、３つのＣＤＲと最大４つのＦＲで作られる。抗体は、これに適した各種、例えば、ウサギ、ラマ、ラクダ（ｃａｍｅ）、マウス、またはラットから得られ得る。一実施形態では、抗体はヒトまたはマウス起源のものである。例えば、抗体は、ヒト、またはヒト化、またはキメラであり得る。

【００６２】

用語「モノクローナル」抗体は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を示し、すなわち、集団の個別の抗体は、少数で存在し得る自然発生の突然変異を除いて同様である。モノクローナル抗体は、高い特異性を有する単一の抗原結合部位を認識する。用語「モノクローナル抗体」は、特定の製造プロセスを指さない。

【００６３】

用語「無傷」抗体は、軽鎖および重鎖の抗原－結合ドメインと定常ドメインの両方を含む抗体を指す。定常ドメインは、自然発生のドメインまたはいくつかの多数のアミノ酸位置が修飾されたその変異体であってもよく、かつグリコシル化されていてもよい。

【００６４】
用語は「修飾無傷」抗体は、抗体に由来しない付加的なポリペプチドまたはタンパク質との共有結合（例えば、ペプチド結合）によって、それらのアミノ末端またはカルボキシ末端を介して融合された無傷抗体を指す。加えて、抗体は、トキソフォアへのカップリングを容易にするべく、反応性システインが規定の位置で導入されるように修飾されてもよい（Ｊｕｎｕｔｕｌａ ｅｔ ａｌ. Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ. ２００８ Ａｕｇ； ２６（８）：９２５－３２を参照）。
【００６５】
ここでの「アミノ酸修飾」または「突然変異」は、ポリペプチド配列におけるアミノ酸の置換、挿入、および／または欠失を示す。本明細書における好ましいアミノ酸修飾は置換である。本明細書における「アミノ酸置換」または「置換」は、タンパク質配列における所定位置での、別のアミノ酸によるアミノ酸の置き換えを意味する。例えば、置換Ｙ５０Ｗは、位置５０でのチロシンがトリプトファンと置き換えられる親ポリペプチドの変異体を説明する。ポリペプチドの「変異体」は、基準ポリペプチド、典型的には、天然ポリペプチドまたは「親」ポリペプチドと実質的に同一のアミノ酸配列を有しているポリペプチドを説明する。ポリペプチド変異体は、天然アミノ酸配列における特定の位置での、１つ以上のアミノ酸の交換、欠失、および／または挿入を有し得る。
【００６６】
用語「ヒト」抗体は、ヒトから得られ得るか、合成ヒト抗体である抗体を指す。「合成」ヒト抗体は、ヒト抗体配列の解析に基づいて、インシリコ（ｉｎ ｓｉｌｉｃｏ）で合成配列から部分的に、またはかろうじて全体的に得られ得る抗体である。例えば、ヒト抗体は、ヒト起源の抗体配列のライブラリから単離された核酸によってコードされ得る。そのような抗体の一例が、Ｓｏｄｅｒｌｉｎｄ ｅｔ ａｌ.，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ. ２０００，１８：８５３－８５６において見られ得る。そのような「ヒト」および「合成」抗体は、ＰＮＧａｓｅＦでの脱グリコシルによって、または、重鎖のＮ２９７（カバットナンバリング）から任意の他のアミノ酸までの突然変異によって得られた、アグリコシル化（ａｇｌｙｃｏｓｙｌａｔｅｄ）変異体を含む。
【００６７】
用語「ヒト化」または「キメラ」抗体は、非ヒト配列部分およびヒト配列部分からなる抗体を説明する。これらの抗体において、ヒト免疫グロブリン（レシピエント）の配列の一部は、非ヒト免疫グロブリン（ドナー）の配列部分と置き換えられる。多くの場合、ドナーはマウス免疫グロブリンである。ヒト化抗体において、レシピエントのＣＤＲのアミノ酸は、ドナーのアミノ酸と置き換えられる。時折、フレームワークのアミノ酸も、ドナーに対応するアミノ酸と置き換えられる。場合によっては、ヒト化抗体は、抗体の最適化中に導入された、レシピエントにもドナーにも存在しなかったアミノ酸を含んでいる。キメラ抗体において、ドナー免疫グロブリンの可変ドメインは、ヒト抗体の定常領域と縮合される。そのような「ヒト化」および「キメラ」抗体は、ＰＮＧａｓｅＦによる脱グリコシルによって、または重鎖のＮ２９７（カバットナンバリング）から任意の他のアミノ酸までの突然変異によって、アグリコシル化された変異体を含む。
【００６８】
本明細書で使用される用語「相補性決定領域（ＣＤＲ）」は、抗原に結合するために必要な可変抗体ドメインのアミノ酸に関連する。各可変領域は典型的に３つのＣＤＲ領域を有しており、それらの領域はＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３と呼ばれる。各ＣＤＲ領域は、カバットの定義に従ったアミノ酸、および／またはＣｈｏｔｉａに従って定義された超可変ループのアミノ酸を含み得る。カバットによる定義は、例えば、可変軽鎖／ドメイン（ＶＬ）のアミノ酸位置２４－３４（ＣＤＲ１）、５０－５６（ＣＤＲ２）、および８９－９７（ＣＤＲ３）、ならびに、可変重鎖／ドメイン（ＶＨ）のアミノ酸位置３１－３５（ＣＤＲ１）、５０－６５（ＣＤＲ２）、および９５－１０２（ＣＤＲ３）の領域を含む（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ.，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ. Ｐｕｂｌｉｃ

Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ, Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ, Ｂｅｔｈｅｓｄａ, ＭＤ.（１９９１））。例えば、Ｃｈｏｔｉａによる定義は、可変軽鎖（ＶＬ）のアミノ酸位置２６－３２（ＣＤＲ１）、５０－５２（ＣＤＲ２）、および９１－９６（ＣＤＲ３）、ならびに、可変重鎖（ＶＨ）のアミノ酸位置２６－３２（ＣＤＲ１）、５３－５５（ＣＤＲ２）、および９６－１０１（ＣＤＲ３）（Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ; Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ １９６: ９０１－９１７（１９８７））からの領域を含む。場合によっては、ＣＤＲは、カバットおよびＣｈｏｔｉａに従って定義されたＣＤＲ領域からのアミノ酸を含み得る。

【００６９】

抗体は、重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、異なるクラスへと分類され得る。無傷抗体の５つの主要なクラス：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、およびＩｇＭがあり、それらのクラスのいくつかは、追加のサブクラス（アイソタイプ）、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、およびＩｇＡ２に細分化できる。異なるクラスに相当する重鎖の定常ドメインは、［アルファ／α］、［デルタ／δ］、［イプシロン／ε］、［ガンマ／γ］、および［ｍｙ／μ］として示される。抗体の三次元構造およびサブユニット構造の両方が知られている。

【００７０】

用語、抗体／免疫グロブリンの「機能性断片」または「抗原結合抗体断片」は、抗体／免疫グロブリンの断片（例えば、ＩｇＧの可変ドメイン）として定義され、抗体／免疫グロブリンの抗原結合ドメインを依然として含んでいる。抗体の「抗原結合ドメイン」は典型的に、抗体の１つ以上の超可変領域、例えば、ＣＤＲ、ＣＤＲ２、および／またはＣＤＲ３領域を含む。しかし、抗体の「フレームワーク」または「骨格」領域は、抗体を抗原に結合する役割も果たす場合がある。フレームワーク領域は、ＣＤＲの骨格を形成する。好ましくは、抗原結合ドメインは、少なくとも可変軽鎖のアミノ酸４～１０３および可変重鎖のアミノ酸５～１０９、より好ましくは可変軽鎖のアミノ酸３～１０７および可変重鎖のアミノ酸４～１１１、特に好ましくは、完全な可変軽鎖および可変重鎖、したがって、ゆえに、ＶＬのアミノ酸１～１０９およびＶＨのアミノ酸１～１１３を含む（ＷＯ９７／０８３２０に従いナンバリングされている）。

【００７１】

本発明の「機能性断片」または「抗原結合抗体断片」は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ならびにＦｖ断片、ダイアボディ、単一ドメイン抗体（ＤＡｂｓ）、直鎖抗体、単鎖抗体（単鎖Ｆｖ、（ｓｃＦｖと省略する））；および、抗体断片から形成される多特異性抗体、例えば、二重特異性抗体と三重特異性抗体的を非排他的に含む（Ｃ．Ａ．Ｋ．Ｂｏｒｒｅｂａｅｃｋ, ｅｄｉｔｏｒ（１９９５）Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（Ｂｒｅａｋｔｈｒｏｕｇｈｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ）, Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ；Ｒ．Ｋｏｎｔｅｒｍａｎｎ ＆ Ｓ．Ｄｕｅｂｅｌ, ｅｄｉｔｏｒｓ（２００１）Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ）, Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ）。「多特異性抗」または「多機能性」以外の抗体は、同一の結合部位を有するものである。多特異性抗体は、抗原の様々なエピトープに特異的であるか、または１つを超える抗原のエピトープに特異的であってもよい（例えば、ＷＯ９３／１７７１５；ＷＯ９２／０８８０２；ＷＯ９１／００３６０；ＷＯ９２／０５７９３；Ｔｕｔｔ, ｅｔ ａｌ., １９９１, Ｊ. Ｉｍｍｕｎｏｌ. １４７：６０ ６９; Ｕ. Ｓ. Ｐａｔ. Ｎｏｓ. ４,４７４,８９３; ４,７１４,６８１; ４,９２５,６４８; ５,５７３,９２０; ５,６０１,８１９; ｏｒ Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ ａｌ., １９９２, Ｊ. Ｉｍｍｕｎｏｌ. １４８: １５４７ １５５３を参照）。ＣｈｌドメインとＣＬドメインとの間に生じる分子間ジスルフィド相互作用の回数を減少させるか、あるいはこの相互作用を完全に防ぐことがきるように、Ｆ（ａｂ’）$_2$またはＦａｂ分子が構築され得る。

【００７２】

「エピトープ」は、免疫グロブリンまたはＴ細胞受容体に特異的に結合することができるタンパク質決定基を指す。エピトープ決定基は通常、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基からなり、通常、特異的な三次元構造的特性および荷電特性を有している。「機能性断片」または「抗原結合抗体断片」は、共有結合（例えば、ペプチド結合）を介して、そのアミノ末端またはカルボキシ末端を介して、抗体に由来しない追加のポリペプチドまたはタンパク質と融合され得る。加えて、抗体および抗原結合断片は、トキソフォアへのカップリングを促進するべく、反応性システインを規定の位置で導入することにより修飾されてもよい（Ｊｕｎｕｔｕｌａ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２００８ Ａｕｇ；２６（８）：９２５－３２を参照）。

【００７３】

ポリクローナル抗体は、当業者に知られている方法により調製され得る。モノクローナル抗体は当業者に既知の方法により調製され得る（Ｋｏｈｌｅｒ ｕｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ，２５６，４９５－４９７，１９７５）。ヒトまたはヒト化モノクローナル抗体は、当業者に既知の方法により調製され得る（Ｏｌｓｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈ Ｅｎｚｙｍｏｌ．９２，３－１６ ｏｒ Ｃａｂｉｌｌｙ ｅｔ ａｌ ＵＳ ４，８１６，５６７ ｏｒ Ｂｏｓｓ ｅｔ ａｌ ＵＳ ４，８１６，３９７）。

【００７４】

当業者ならば、ヒト抗体および断片を生成するための様々な方法、例えば、トランスジェニックマウスの使用（Ｎ Ｌｏｎｂｅｒｇ ｕｎｄ Ｄ Ｈｕｓｚａｒ，Ｉｎｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９９５；１３（１）：６５－９３）またはファージ提示技術（Ａｕｇ １５；３５２（６３３６）：６２４－８）を知っている。本発明の抗体は、例えば、多くの健康なボランティアから収集された多数の抗体のアミノ酸配列を含有する組換え抗体ライブラリから得られ得る。抗体はまた、既知の組換えＤＮＡを使用して調製されてもよい。抗体の核酸配列は、通常の配列決定により決定され得るか、または公開されているデータベースから得られ得る。「単離」抗体またはバインダーは、細胞の他の成分を除去するために精製されている。

【００７５】

診断的用途または治療的用途に干渉することができる細胞の汚染成分は、例えば、酵素、ホルモン、あるいは細胞の他のペプチドあるいは非ペプチドの成分である。好ましい抗体またはバインダーは、その抗体またはバインダーに基づいて９５重量％を超える程度（例えば、ローリー法、ＵＶ－Ｖｉｓ分光法、あるいはＳＤＳキャピラリーゲル電気泳動法により決定される）まで精製されているものである。加えて、アミノ末端または内部アミノ酸配列からの少なくとも１５のアミノ酸を決定することが可能である程度にまで精製されているか、または均一性まで精製された抗体であり、ここで、均一性は、還元条件あるいは非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥにより決定される（検出は、クマシー・ブルー（Ｃｏｏｍａｓｓｉｅ Ｂｌａｕ）染色あるいは好ましくは銀染色によって実行され得る）。しかし、抗体は通常、１つ以上の精製工程により調製される。

【００７６】

用語「特異的結合」または「特異的に結合する」は、あらかじめ決定された抗原／標的分子に結合する抗体またはバインダーに関連する。抗体またはバインダーの特異的結合は、典型的には、少なくとも10^{-7}Ｍ（Ｋｄ値として；したがって、好ましくは10^{-7}Ｍ未満のＫｄ値を有するもの）の親和性を有する抗体またはバインダーを説明し、ここで、上記抗体またはバインダーは、あらかじめ決められた抗原／標的分子でも、密接に関連する抗原／標的分子でもない非特異的な抗原／標的分子（例えば、ウシ血清アルブミンまたはカゼイン）に対する親和性と比べて、少なくとも２倍高いあらかじめ決められた抗原／標的分子に対する親和性を有している。抗体またはバインダーの特異的結合は、多数の抗原／標的分子（例えば、様々な種からの相同分子種）に結合する抗体またはバインダーの可能性を除外しない。言及される抗体は、少なくとも10^{-7}Ｍ（Ｋｄ値として；したがって、好ましくは10^{-7}Ｍ未満のＫｄ値を有するもの）、好ましくは少なくとも１０

10^{-8}M、特に好ましくは10^{-9}M～10^{-11}Mの範囲で、親和性を有する。Ｋｄ値は、例えば、表面プラズモン共鳴分光法により測定され得る。

【００７７】

本発明の抗体－活性薬剤複合体は同様に、これらの範囲の親和性を有している。好ましくは、親和性は、活性薬剤の結合により実質的に影響を受けない（親和性は一般的に１桁未満低下し、したがって、例えば、最大で10^{-8}Mから10^{-7}Mまでである）。

【００７８】

さらに、本発明に従って使用される抗体は、好ましくは高い選択性によって特徴付けられる。本発明の抗体が、無関係な他の抗原、例えば、ヒト血清アルブミン（親和性は、例えば、表面プラズモン共鳴分光法により決定され得る）に対する親和性と比較して、少なくとも２倍、好ましくは５倍、または特に好ましくは１０倍優れた標的タンパク質に対する親和性を有する場合、高い選択性が存在する。

【００７９】

加えて、本発明に従って使用される抗体は、好ましくは交差反応性であり得る。前臨床試験、例えば、毒性試験または有効性試験（例えば、異種移植片マウスにおける）を容易にするために、および、それらの試験をより明確に解釈するために、本発明に従って使用される抗体が、ヒト標的タンパク質に結合するだけでなく、試験に使用された種において使用される種の種標的タンパク質にも結合する場合が有利である。一実施形態では、本発明に従って使用される抗体は、ヒト標的タンパク質に加えて、少なくとも１つの追加の種の標的タンパク質と交差反応性である。げっ歯類、イヌ、および非ヒト霊長類ファミリーからの種は、好ましくは、毒物学および有効性試験に使用される。好ましいげっ歯類種はマウスおよびラットである。好ましい非ヒト霊長類は、アカゲザル、チンパンジー、および尾長マカク（ｌｏｎｇ－ｔａｉｌｅｄ　ｍａｃａｑｕｅｓ）である。

【００８０】

一実施形態では、本発明に従って使用される抗体は、ヒト標的タンパク質に加えて、マウス、ラット、および尾長マカク（カニクイザル（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ））からなる種の群から選択される少なくとも１つの追加の種の標的タンパク質に交差反応性である。本発明に従って使用されるとりわけ好ましい抗体は、ヒト標的タンパク質に加えて、サル標的タンパク質（例えば、チンパンジー）に対して少なくとも交差反応性であるものである。交差反応性抗体が好ましく、他の非ヒト種の標的タンパク質に対するその親和性は、ヒト標的タンパク質に対する親和性と５０倍を超えて、特に１０倍以下で相違しない。

【００８１】

癌標的分子に対する抗体

好ましくは、バインダー、例えば、抗体またはその抗原結合断片が向けられる標的分子は、癌標的分子である。用語「癌標的分子」は、同じ組織型の非癌細胞と比較して、１つ以上の型の癌細胞上に大量に存在する標的分子を説明する。好ましくは、癌標的分子は、組織型の同じの非癌細胞と比較して、１つ以上の癌細胞型に対して選択的に存在し、ここで、選択的とは、同じ組織型の非癌細胞に比較して、癌細胞の２倍豊富であることを意味する（「選択的な癌標的分子」）。癌標的分子の使用は、本発明の複合体を有する癌細胞の選択的な治療を可能にする。

【００８２】

抗原、例えば、癌細胞抗原に対して特異的な抗体は、当業者が熟知している方法（例えば、組換え発現）によって調製されるか、または、商業的に入手されてもよい（例えば、Ｍｅｒｃｋ　ＫＧａＡ，　Ｇｅｒｍａｎｙから）。癌治療における既知の市販されている抗体の例は、アービタックス（登録商標）（セツキシマブ、Ｍｅｒｃｋ　ＫＧａＡ）、アバスチン（登録商標）（ベバシズマブ、Ｒｏｃｈｅ）およびハーセプチン（登録商標）（トラスツズマブ、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）である。トラスツズマブは、細胞ベースのアッセイ（Ｋｄ＝５ｎＭ）において、ヒト表皮成長受容体の細胞外ドメインに高親和性で結合する、ＩｇＧ１κ型の組換えヒト化モノクローナル抗体である。抗体はＣＨＯ細胞において

組換え技術を使用して生成される。これらの抗体のすべては、ＰＮＧａｓｅ　Ｆを使用する脱グリコシルにより、または任意のアミノ酸への重鎖のＮ２９７（カバットナンバリング）の突然変異により、この抗体のアグリコシル化された変異体としても調製され得る。

【００８３】

好ましい実施形態において、標的分子は選択的な癌標的分子である。

【００８４】

とりわけ好ましい実施形態において、標的分子はタンパク質である。

【００８５】

癌標的分子は当業者に知られている。

【００８６】

本発明の好ましい主題において、癌標的分子は、ＣＸＣＲ５（ＣＤ１８５；Ｓｗｉｓｓ　Ｐｒｏｔ：Ｐ３２３０２；ＮＣＢＩ遺伝子ＩＤ　６４３、ＮＣＢＩ基準配列：ＮＰ＿００１７０７．１）である。

【００８７】

好ましい実施形態において、標的細胞上のその細胞外標的分子に結合した後のバインダーは、結合を介して、標的細胞によって内在化される。このことは、免疫複合体またはＡＤＣであり得るバインダー／活性薬剤複合体が、標的細胞によって取り込まれることを意味する。その後、バインダーは、好ましくは細胞内で、好ましくはリソソームで処理される。

【００８８】

一実施形態では、バインダーはバインダータンパク質である。好ましい実施形態において、バインダーは、抗体、抗原結合抗体断片、多特異性抗体、または抗体模倣物である。

【００８９】

好ましい抗体模倣剤は、アフィボディ、アドネクチン、アンチカリン、ＤＡＲＰｉｎ、アビマー、またはナノボディである。好ましい多特異性抗体は、二重特異性抗体および三重特異性抗体である。

【００９０】

好ましい実施形態において、バインダーは抗体または抗原結合抗体断片、より好ましくは単離された抗体あるいは単離された抗原結合抗体断片である。

【００９１】

好ましい抗原結合抗体断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、およびＦｖ断片、ダイアボディ、ＤＡｂｓ、直鎖抗体、およびｓｃＦｖである。Ｆａｂ、ダイアボディ、およびｓｃＦｖが特に好ましい。

【００９２】

特に好ましい実施形態において、バインダーは抗体である。モノクローナル抗体またはその抗原結合抗体断片が特に好ましい。さらに、ヒト、ヒト化、またはキメラ抗体、またはそれらの抗原結合抗体断片が特に好ましい。

【００９３】

癌標的分子に結合する抗体または抗原結合抗体断片は、既知のプロセス、例えば、化学合成、組換え発現を使用して、当業者によって調製され得る。癌標的分子のためのバインダーは商業的に入手され得るか、または既知のプロセス（例えば、化学合成、組換えの発現）を使用して、当業者によって調製され得る。抗体または抗原結合抗体断片を調製するための追加の方法は、ＷＯ２００７／０７０５３８（２２ページの「抗体」を参照）において記載されている。当業者ならば、いわゆるファージディスプレイライブラリ（例えば、Ｍｏｒｐｈｏｓｙｓ　ＨｕＣＡＬ　Ｇｏｌｄ）などの方法が作り出され、抗体または抗原結合抗体断片の発見に使用され得ることを知っている（ＷＯ２００７／０７０５３８、２４ページ以降および７０ページのＡＫ［抗体］実施例１、７２ページのＡＫ実施例２を参照）。Ｂ細胞からのＤＮＡライブラリを使用して抗体を調製する追加の方法が、例えば、２６ページに記載される（ＷＯ２００７／０７０５３８）。抗体をヒト化するための方法が、ＷＯ２００７／０７０５３８の３０－３２ページに記載され、Ｑｕｅｅｎ，　ｅｔ

al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86：10029－10033，1989またはWO90／0786に詳細に記載されている。加えて、当業者ならば一般に、タンパク質の組換え発現のプロセス、特に、抗体の組換え発現のプロセスを知っている（例えば、Berger and Kimmel（Guide to Molecular Cloning Techniques, Methods in Enzymology, Vol. 152, Academic Press, Inc.）；Sambrook, et al.,（Molecular Cloning: A Laboratory Manual,（Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor, N.Y.; 1989）Vol. 1－3）；Current Protocols in Molecular Biolony,（F. M. Ausabel et al.［Eds.］, Current Protocols, Green Publishing Associates, Inc. ／ John Wiley & Sons, Inc.）；Harlow et al.,（Monoclonal Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press（19881, Paul［Ed.］）；Fundamental Immunology,（Lippincott Williams & Wilkins（1998））；and Harlow, et al.,（Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press（1998）を参照）。当業者ならば、タンパク質／抗体の発現に必要な対応するベクター、プロモーター、およびシグナル伝達ペプチドを知っている。通常のプロセスが、WO2007／070538の41－45ページにも記載されている。IgG1抗体を調製するためのプロセスが、例えば、WO2007／070538の74ページ以降の実施例6に記載されている。例えば、抗原に結合した後の抗体の内在化を決定できるプロセスは、当業者によく知られており、WO2007／070538の80ページに記載されている。当業者は、他の標的分子特異性を有する抗体の調製と同様に、炭酸脱水酵素IX（Mn）抗体の調製に使用された、国際公開第2007／070538に記載されるプロセスを使用できる。

【0094】

細菌発現

当業者ならば、抗体、その抗原結合断片、またはその変異体を細菌発現の援助により調製することができる方法を知っている。

【0095】

所望のタンパク質の細菌発現に適している発現ベクターは、適切な翻訳開始および翻訳終止シグナルおよび機能的なプロモーターと共に機能的なリーディングフレームにおいて所望のタンパク質をコードするDNA配列を挿入することによって構築される。ベクターは、1つ以上の表現型的に選択可能なマーカーと、ベクターの保持および必要に応じて宿主内でのその増幅を可能にする複製起点と含む。形質転換に適している原核生物の宿主は、限定されないが、大腸菌、枯草菌、ネズミチフス菌、および、シュードモナス属、ストレプトマイシーズ属、ならびにスタフィロコッカス属からの様々な菌種を含む。細菌ベクターは、例えば、バクテリオファージ、プラスミド、またはファージミドに基づくものであってもよい。これらのベクターは、選択マーカーと、市販されているプラスミドに由来する細菌の複製起点とを含むことが可能である。多くの市販されているプラスミドは、周知のクローニングベクターpBR322（ATCC 37017）の典型要素を含んでいる。細菌系において、多数の有利な発現ベクターは、発現されるべきタンパク質の使用目的に基づいて選択されてもよい。

【0096】

適切な宿主株の形質転換、および適切な細胞密度までの宿主株の増殖後、選択されたプロモーターは、適切な手段（例えば、温度変化または化学的誘導）により脱抑制／誘導さ

れ、細胞はさらなる期間にわたり培養される。細胞は通常、遠心分離により採取され、必要に応じて、物理的手段または化学薬剤により消化され、結果として生成される粗抽出液はさらなる精製のために保持される。

【００９７】

したがって、本発明のさらなる実施形態は、本発明の新規な抗体をコードする核酸を含む発現ベクターである。

【００９８】

当然に、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、天然精製産物、化学合成由来の産物、および、原核生物の宿主、例えば、枯草菌、ネズミチフス菌、ならびにシュードモナス属、ストレプトマイシーズ属、ならびにスタフィロコッカス属からの大腸菌様々な種、好ましくは大腸菌の組換え技術により生成された産物を含む。

【００９９】

哺乳動物細胞発現

当業者であれば、抗体、その抗原結合断片、またはその変異体を哺乳動物細胞発現の援助により生成することができる方法を知っている。

【０１００】

哺乳動物細胞の宿主における発現に好ましい調節配列は、哺乳動物細胞における高い発現につながるウイルスエレメント、例えば、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）（ＣＭＶプロモーター／エンハンサーなどの）、サルウイルス４０（ＳＶ４０）（ＳＶ４０プロモーター／エンハンサーなどの）、アデノウイルス（例えば、アデノウイルスの主要後期プロモーター（ＡｄＭＬＰ））、およびポリオーマに由来するプロモーターおよび／または発現増幅因子を含む。抗体の発現は、構成的な様式または調節された様式で行うことができる（例えば、Ｔｅｔシステムと組み合わせたテトラサイクリンなどの小分子誘導物質の添加または除去によって誘導される）。

【０１０１】

ウイルスの調節エレメントおよびその配列のさらなる説明については、例えば、Ｓｔｉｎｓｋｉによる米国特許第５，１６８，０６２、ベルらによる米国特許第４，５１０，２４５、およびＳｃｈａｆｆｎｅｒらによる米国特許第４，９６８，６１５を参照する。組換え発現ベクターは同様に、複製起点および選択マーカーを含むことができる（例えば、米国特許第４，３９９，２１６、米国特許第４，６３４，６６５、および米国特許第５，１７９，０１７を参照）。適切な選択マーカーは、Ｇ４１８、ピューロマイシン、ヒグロマイシン、ブラストサイジン、ゼオシン／ブレオマイシン、またはメトトレキサートなどの物質に対する抵抗性を与える遺伝子、または、ベクターが細胞に挿入される場合にグルタミンシンセターゼ（Ｂｅｂｂｉｎｇｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（ＮＹ）．１９９２ Ｆｅｂ ；１０（２）：１６９－７５）などの宿主細胞の栄養要求性をもたらす選択マーカーを含む。

【０１０２】

例えば、ジヒドロ葉還元酵素（ＤＨＦＲ）遺伝子はメトトレキサートに対する抵抗性を与え、ｎｅｏ遺伝子はＧ４１８に対する抵抗性を与え、アスペルギルス・テレウスからのｂｓｄ遺伝子はブラストサイジンに対する抵抗性を与え、ピューロマイシンＮ－アセチル－トランスフェラーゼはピューロマイシンに対する抵抗性を与え、Ｓｈ ｂｌｅ遺伝子産物はゼオシンに対する抵抗性を与え、および、大腸菌ヒグロマイシン耐性遺伝子（ｈｙｇまたはｈｐｈ）は、ヒグロマイシンに対する抵抗性を与える。ＤＨＦＲまたはグルタミンシンセターゼなどの選択マーカーも、ＭＴＸおよびＭＳＸと組み合わせて増幅技術に有用である。

【０１０３】

宿主細胞への発現ベクターのトランスフェクションは、とりわけ、エレクトロポレーション、ヌクレオフェクション（ｎｕｃｌｅｏｆｅｃｔｉｏｎ）、リン酸カルシウム沈殿、リポフェクション、ポリカチオンベースのトランスフェクション、例えば、ポリエチレンイミン（ＰＥＩ）－ベースのトランスフェクションとＤＥＡＥデキストラントランスフェ

クションを使用して、標準技術を用いて行うことができる。

【０１０４】

抗体、その抗原結合断片、またはその変異体の発現に適している哺乳類の宿主細胞は、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、例えば、ＣＨＯ－Ｋｌ、ＣＨＯ－Ｓ、ＣＨＯ－ＫＩＳＶ［Ｒ．Ｊ．Ｋａｕｆｍａｎ ａｎｄ Ｐ．Ａ．Ｓｈａｒｐ（１９８２）Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５９：６０１－６２１に記載されるＤＨＦＲ選択可能なマーカーと共に使用される、Ｕｒｌａｕｂ ａｎｄ Ｃｈａｓｉｎ，（１９８０）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４２１６－４２２０およびＵｒｌａｕｂ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ．１９８３ Ｊｕｎ；３３（２）：４０５－１２に記載されるＤＨＦＲ－ＣＨＯ細胞、ならびに、Ｆａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ Ｂｉｏｅｎｇ．２０１２ Ａｐｒ；１０９（４）：１００７－１５）に列挙される他のノックアウト細胞を含む］、ＮＳＯ骨髄細胞、ＣＯＳ細胞、ＨＥＫ２９３細胞、ＨＫＢ１１細胞、ＢＨＫ２１細胞、ＣＡＰ細胞、ＥＢ６６細胞、およびＳＰ２細胞を含む。

【０１０５】

抗体、その抗原結合断片、またはその変異体の発現は、ＨＥＫ２９３、ＨＥＫ２９３Ｔ、ＨＥＫ２９３－ＥＢＮＡ、ＨＥＫ２９３Ｅ、ＨＥＫ２９３－６Ｅ、ＨＥＫ２９３－Ｆｒｅｅｓｔｙｌｅ、ＨＫＢ１１、Ｅｘｐｉ２９３Ｆ、２９３ＥＢＮＡＬＴ７５、ＣＨＯＦｒｅｅｓｔｙｌｅ、ＣＨＯ－Ｓ、ＣＨＯ－Ｋｌ、ＣＨＯ－ＫＩＳＶ、ＣＨＯＥＢＮＡＬＴ８５、ＣＨＯＳ－ＸＥ、ＣＨＯ－３Ｅ７、またはＣＡＰＴ細胞などの発現系において、一時的あるいは半安定した様式で行うことができる（例えば、Ｄｕｒｏｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２００２ Ｊａｎ １５；３０（２）：Ｅ９のように）。

【０１０６】

いくつかの実施形態では、発現ベクターは、宿主細胞が増殖している細胞培養培地に、発現されるべきタンパク質が分泌されるように構築される。抗体、その抗原結合断片、またはその変異体は、当業者に既知のタンパク質精製法を用いて細胞培養培地から得られ得る。

【０１０７】

精製

抗体、その抗原結合断片、またはその変異体は、例えば、硫酸アンモニウムあるいはエタノール沈澱、酸抽出、プロテインＡクロマトグラフィー、プロテインＧクロマトグラフィー、アニオンあるいはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロース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（ＨＩＣ）、親和性クロマトグラフィー、ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィー、およびレクチンクロマトグラフィーを含む周知の方法を使用して、組み換え細胞培養から得られ、かつ精製され得る。高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）も精製に使用され得る。例えば、Ｃｏｌｌｉｇａｎ，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，ｏｒ Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，ＮＹ，Ｎ．Ｙ．，（１９９７－２００１），例えば、１、４、６、８、９、１０章を参照。

【０１０８】

本発明の抗体またはその抗原結合断片、あるいはその変異体は、天然精製産物、化学合成法からの産物、および原核生物もしくは真核生物の宿主細胞において組換え技術を使用して調製された産物を含む。真核生物の宿主は、例えば、酵母菌、高等植物細胞、昆虫細胞、および哺乳動物細胞を含む。組換え発現のための選択される宿主細胞に応じて、発現されたタンパク質は、グリコシル化型または非グリコシル化型で存在する場合がある。

【０１０９】

好ましい実施形態において、抗体は、（１）例えば、ローリー法により、ＵＶ－Ｖｉｓ分光法またはＳＤＳキャピラリーゲル電気泳動法（例えば、Ｃａｌｉｐｅｒ ＬａｂＣｈ

ｉｐ　ＧＸＩ、ＧＸ　９０、もしくはＢｉｏｒａｄ　Ｂｉｏａｎａｌｙｚｅｒ器機を有する）により決定される９５重量％を超える程度まで、およびより好ましい実施形態では、９９重量％を超える程度まで、（２）Ｎ末端あるいは内部アミノ酸配列の少なくとも１５の残基の決定に適した程度まで、または（３）クマシー・ブルー、もしくは好ましくは銀染色を使用して、還元条件あるいは非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥにより決定される均一性まで精製される。

【０１１０】

通常、単離された抗体は、少なくとも１つのタンパク質精製工程を用いて得られる。

【０１１１】

抗ＣＸＣＲ５抗体

本発明によれば、抗ＣＸＣＲ５抗体が使用され得る。

【０１１２】

用語「抗ＣＸＣＲ５抗体」または「特異的にＣＸＣＲ５に結合する抗体」は、好ましくは、診断的および／または治療的用途のために十分な親和性で、癌標的分子ＣＸＣＲ５（ＮＣＢＩ基準配列：ＮＰ＿００１７０７．１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ　８１）に結合する抗体に関連するものである。特定の実施形態において、抗体ＣＸＣＲ５は、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭの解離定数（K_D）で結合する。

【０１１３】

ヒトＣＸＣＲ５に結合する抗体および抗原結合断片結合の例は、例えば、ＷＯ２０１４／１７７６５２に記載されるラット抗体クローンＲＦ８Ｂ２（ＡＣＣ２１５３）またはヒト抗体４０Ｃ０１として、当業者に知られている。

【０１１４】

抗ＣＸＣＲ５抗体であるＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、およびＴＰＰ－１４４９５が、本発明の文脈において特に好ましい。述べられた抗体の前駆体（例えば、ＴＰＰ－１００６３）は、ファージディスプレイ技術を使用してペプチドおよび細胞上で選択され、続いて、その特性はタンパク質工学を使用して最適化された。

【０１１５】

本発明のバインダー／活性薬剤複合体のための好ましい抗体および抗原結合抗体断片

本出願において、以下の好ましい抗体が、以下の表に示されるように、バインダー／活性薬剤複合体において使用される：ＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、およびＴＰＰ－１４４９５。

【０１１６】

【表１】

表: 抗体のタンパク質配列:

抗体 TPP-XXX	SEQ ID NO.: VH	SEQ ID NO.: H-CDR1	SEQ ID NO.: H-CDR2	SEQ ID NO. H-CDR3	SEQ ID NO.: VL	SEQ ID NO.: l-CDR1	SEQ ID NO.: L-CDR2	SEQ ID NO.: L-CDR3	SEQ ID NO.: IgG重鎖	SEQ ID NO.: IgG軽鎖
TPP-14495	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
TPP-14499	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
TPP-14505	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
TPP-14509	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
TPP-14511	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
TPP-14514	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
TPP-10063	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
40C01	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80

【０１１７】

ＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、ＴＰＰ－１４４９５、ＴＰＰ－１００６３、および４０Ｃ０１は、重鎖の可変領域（ＶＨ）または軽鎖の可変領域（ＶＬ）の上記表に示されるＣＤＲ配列（Ｈ－ＣＤＲ１、Ｈ－ＣＤＲ２、Ｈ－ＣＤＲ３、Ｌ－ＣＤＲ１、Ｌ－ＣＤＲ２、Ｌ－ＣＤＲ３）の１つ以上を含む抗体である。好ましくは、抗体は、特定の重鎖の可変領域（ＶＨ）および／または軽鎖の可変領域（ＶＬ）を含む。好ましくは、抗体は、特定の重鎖（ＩｇＧ重鎖）の領域および／または特定の軽鎖（ＩｇＧ軽鎖）の領域を含む。

【０１１８】

ＴＰＰ－１４４９５は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。

【０１１９】

ＴＰＰ－１４４９９は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２によって示される、重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４により示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。

【０１２０】

ＴＰＰ－１４５０５は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２２により示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２

配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２７に示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。

【０１２１】

ＴＰＰ－１４５０９は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。

【０１２２】

ＴＰＰ－１４５１１は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４８によって示される軽鎖（Ｌ－ＣＤＲ３）の可変ＣＤＲ３配列を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。

【０１２３】

ＴＰＰ－１４５１４は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。

【０１２４】

ＴＰＰ－１００６３は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６２によって示される重鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｈ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６３によって示される重鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｈ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６４によって示される重鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｈ－ＣＤＲ３）を含む重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６６によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ１配列（Ｌ－ＣＤＲ１）、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６７によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ２配列（Ｌ－ＣＤＲ２）、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６８によって示される軽鎖の可変ＣＤＲ３配列（Ｌ－ＣＤＲ３）を含む軽鎖の可変領域（ＶＬ）と、を含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。

【０１２５】

ＴＰＰ－１４４９５は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１に対応する重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５に対応する軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。

【０１２６】

ＴＰＰ－１４４９９は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１に対応する重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５に対応する軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。

【０１２７】
ＴＰＰ－１４５０５は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２１に対応する重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２５に対応する軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１２８】
ＴＰＰ－１４５０９は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１に対応する重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３５に対応する軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１２９】
ＴＰＰ－１４５１１は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４１に対応する重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４５に対応する軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３０】
ＴＰＰ－１４５１４は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１に対応する重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５５に対応する軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３１】
ＴＰＰ－１００６３は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１に対応する重鎖の可変領域（ＶＨ）と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６５に対応する軽鎖の可変領域（ＶＬ）とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３２】
ＴＰＰ－１４４９５は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：９に対応する重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０に対応する軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３３】
ＴＰＰ－１４４９９は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９に対応する重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０に対応する軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３４】
ＴＰＰ－１４５０５は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２９に対応する重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０に対応する軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３５】
ＴＰＰ－１４５０９は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９に対応する重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４０に対応する軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３６】
ＴＰＰ－１４５１１は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４９に対応する重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５０に対応する軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３７】
ＴＰＰ－１４５１４は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５９に対応する重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６０に対応する軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３８】
ＴＰＰ－１００６３は、好ましくは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６９に対応する重鎖の領域と、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７０に対応する軽鎖の領域とを含む抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１３９】
４０Ｃ０１は、ＷＯ２０１４／１７７６５２に記載され、かつ上記表で指定された配列（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７１－８０）によって本明細書で表される抗ＣＸＣＲ５抗体である。
【０１４０】
同位体、塩、溶媒和物、同位体変異体
本発明は、本発明の化合物の全ての適切な同位体変異体を含む。本発明の化合物の同位体変異体は、本発明の化合物中の少なくとも１つの原子が、同じ原子番号ではあるが、自然界において通常または支配的に生じる原子質量とは異なる原子質量を有する別の原子と

交換された化合物として定義される。本発明の化合物に組み込まれ得る同位体の例は、水素、炭素、窒素、酸素、リン、硫黄、フッ素、塩素、臭素、およびヨウ素の同位体、例えば、^{2}Ｈ（重水素）’、^{3}Ｈ（トリチウム）’、^{13}Ｃ’、^{14}Ｃ’、^{15}Ｎ’、^{17}Ｏ’、^{18}Ｏ’、^{32}Ｐ’、^{33}Ｐ’、^{33}Ｓ’、^{34}Ｓ’、^{35}Ｓ’、^{36}Ｓ’、^{18}Ｆ’、^{36}Ｃｌ、^{82}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{129}Ｉ、および^{131}Ｉである。本発明の化合物のある同位体変異体、特に、１つ以上の放射性同位体が組み込まれる体変異体は、調製および検出が比較的容易であることから、例えば、活性薬剤の作用機構または身体における活性薬剤の分布の研究のために有益であり得、特に、３Ｈまたは１４Ｃの同位体で標識された化合物である。加えて、同位体、例えば、重水素の取り込みにより、化合物の代謝安定性が向上した結果としての特定の治療利益、例えば、体内での半減期の延長または必要な有効量の減少がもたらされる。したがって、本発明の化合物のそのような修飾は、本発明の好ましい実施形態を随意に表すことが可能である。本発明の化合物の同位体変異体は、当業者に既知の方法に従って、ならびに、それぞれの試薬および／または開始化合物の対応する同位体の修飾を使用することによる典型的な実施形態の記載に従って調製され得る。

【０１４１】

本発明の文脈における好ましい塩は、本発明の化合物の生理学的に許容可能な塩である。医薬用途には不適切であるが、例えば、本発明の化合物の単離または精製のために使用することができる塩も含まれる。

【０１４２】

本発明の化合物の生理学的に許容可能な塩は、鉱酸、カルボン酸、スルホン酸の酸付加塩、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、ナフタレン二スルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、クエン酸、フマル酸、マレイン酸、および安息香酸の塩を含む。

【０１４３】

本発明の化合物の生理学的に許容可能な塩は、また通常の塩基の塩、例えばおよび好ましくは、アルカリ金属塩（例えば、ナトリウム塩およびカリウム塩）、アルカリ土類塩（例えば、カルシウム塩およびマグネシウム塩）、アルカリ金属塩（例えば、ナトリウム塩およびカリウム塩）、アルカリ土類塩（例えば、カルシウム塩およびマグネシウム塩）、およびアンモニアまたは１～１６Ｃの原子を有する有機アミン、例えば、好ましくは、エチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、エチルジイソプロピルアミン、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、ジメチルアミノエタノール、プロカイン、ジベンジルアミン、Ｎ－メチルピペリジン、Ｎ－メチルモルホリン、アルギニン、リジン、および１，２－エチレンジアミンに由来するおよびアンモニウム塩も含む。

【０１４４】

本発明の文脈において使用される溶媒和物は、溶媒分子との配位によって固体状態または液体状態の錯体を形成する、本発明の化合物の形態のものである。水和物は、水との配位が生じる溶媒和物の特定の形態である。本発明の文脈において好ましい溶媒和物は水和物である。

【０１４５】

治療用途

本発明の化合物を使用可能な処置における過剰増殖性疾患として、特に癌および腫瘍疾患の群が挙げられる。本発明に照らして、これらの疾患は、具体的に以下の疾患を意味するものと理解されるが、これらに限定されるものではない：乳癌および乳房腫瘍（乳管および乳頭のほか、インサイツを含む乳癌）、呼吸器系の腫瘍（小細胞癌、非小細胞癌、および気管支癌）、脳腫瘍（例えば、脳幹および視床下部の腫瘍、星細胞腫、上衣腫、膠芽腫、神経膠腫、髄芽腫、髄膜腫のほか、神経外胚葉、松果体部腫瘍）、消化器官の腫瘍（食道、胃、胆嚢、小腸、大腸、直腸、および肛門の癌）、肝臓腫瘍（肝細胞癌、肝内胆管

癌、および混合肝細胞性肝内胆管癌を含む）、頭頸部腫瘍（喉頭、下咽頭、鼻咽腔、口腔咽頭、唇、および口腔の癌、経口黒色腫）、皮膚腫瘍（基底細胞癌、有棘細胞癌、扁平細胞癌、カポジ肉腫、悪性黒色腫、非黒色腫性皮膚癌、メルケル細胞皮膚癌、肥満細胞腫）、支持組織および結合組織の腫瘍（特に軟部肉腫、骨肉腫、悪性線維性組織球腫、軟骨肉腫、線維肉腫、血管肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、リンパ肉腫、および横紋筋肉腫）、眼の腫瘍（眼球内黒色腫および網膜芽細胞腫を含む）、内分泌腺および外分泌腺の腫瘍（例えば甲状腺および副甲状腺の腫瘍、膵臓癌および唾液腺癌、腺癌）、尿路腫瘍（膀胱、陰茎、腎盂の腫瘍）、および生殖器の腫瘍（女性の子宮内膜、子宮頸、卵巣、膣、外陰部、および子宮の癌ほか、男性の前立腺および睾丸の癌）。さらに、固体形態および循環細胞としての血液、リンパ系、および骨髄の増殖性疾患、例えば白血病、リンパ腫、および脊髄増殖性疾患、例えば急性、骨髄性、急性リンパ芽球の、慢性リンパ球性、慢性骨髄性、およびヘアリー細胞の白血病のほか、ＡＩＤＳ関連リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、および中枢神経系リンパ腫も含まれる。

【０１４６】

このような疾患は、ヒトにおいて十分に特徴づけられるものであるが他の哺乳動物においても同等の病因と共に生じる場合があり、本発明の化合物により処置することができる。

【０１４７】

本明細書に記載されるＣＸＣＲ５を対象とするバインダーまたは抗体薬物複合体（ＡＤＣ）は、好ましくはＣＸＣＲ５発現癌などのＣＸＣＲ５発現障害を処置するために使用することができる。通常、このような癌細胞は、（例えばイムノアッセイにより）タンパク質レベルまたはＲＮＡレベルで測定されるＣＸＣＲ５の測定可能な量を示す。これら癌組織の一部は、好ましくは同じ患者において測定される同じ種類の非癌性組織と比較して高値のＣＸＣＲ５を示す。随意に、ＣＸＣＲ５の含有量を測定してから、抗体薬物複合体（ＡＤＣ）により癌が処置される（患者層別化）。ＣＸＣＲ５対象のバインダー－薬物結合体（ＡＤＣ）は好ましくは、造血組織およびリンパ組織の腫瘍、または造血性およびリンパ性悪性腫瘍など、ＣＸＣＲ５発現癌などのＣＸＣＲ５発現障害を処置するために使用することができる。ＣＸＣＲ５発現に関連付けられる癌の例として、バーキットリンパ腫、濾胞性リンパ腫、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、およびホジキンリンパ腫などのリンパ系疾患が挙げられる。加えて、ＣＸＣＲ５の発現増加は、乳腺腫瘍、前立腺、胃、および大腸の腫瘍などの固形腫瘍に見出すことができる。

【０１４８】

記載される本発明の方法はＣＸＣＲ５発現癌を患う患者の処置を含み、該方法は、本発明に係る抗体薬物複合体（ＡＤＣ）の投与を含む。

【０１４９】

本発明に係る化合物による前記癌の処置は、前記固形腫瘍の処置、およびそれらの転移形態または循環形態の処置の両方を含む。

【０１５０】

用語「処置」または「処置すること」は、本発明では従来の意味で使用されるものであり、例えば癌の症例において、疾患あるいは健康異常に対抗する、それらを減らす、寛解する、または緩和する、および前記疾患により損なわれる生活環境を改善するという目的をもって、患者に付き添い、看護し、ケアすることを意味する。

【０１５１】

ゆえに本発明の付加的な主題は、疾患、特に前記疾患の処置および／または予防のための本発明に係る化合物の使用である。

【０１５２】

本発明の付加的な主題は、疾患、特に前記疾患の処置および／または予防のための薬剤を調製するための本発明に係る化合物の使用である。

【０１５３】
本発明の付加的な主題は、疾患、特に前記疾患の処置および／または予防のための方法における本発明に係る化合物の使用である。
【０１５４】
本発明の付加的な主題は、有効量の本発明に係る化合物のうち少なくとも１つを用いて、疾患、特に前記疾患の処置および／または予防のための方法である。
【０１５５】
本発明に係る化合物は、単独で使用することができ、または、組み合わせにより望ましくなく受け入れがたい副作用が生じない限り、必要に応じて１つ以上の他の薬理学的に活性な薬剤と組み合わせて使用することができる。それゆえ本発明の付加的な主題は、特に前記の疾患の処置および／または予防を目的とする、本発明に係る化合物のうち少なくとも１つと１つ以上の追加の活性薬剤とを含む薬剤を提供することである。
【０１５６】
例えば本発明の化合物は、癌を処置するために既知の抗過剰増殖性、細胞増殖抑制性、細胞毒性、または免疫療法性の物質と組み合わせることができる。組み合わせるのに適切な活性薬剤の例として、以下が挙げられる：１３１　Ｉ－ｃｈＴＮＴ、アバレリクス、アベマシクリブ、アビラテロン、アカラブルチニブ、アクラルビシン、アダリムマブ、トラスツズマブエムタンシン、アファチニブ、アフリベルセプト、アルデスロイキン、アレクチニブ、アレムツズマブ、アレンドロン酸、アリトレチノイン、アルトレタミン、アミホスチン、アミノグルテチミド、ヘキシル－５－アミノレブリネート、アムルビシン、アムサクリン、アナストロゾール、アンセスチム、アネトールジチオールチオン、アネツマブラブタンシン、アンジオテンシンＩＩ、抗トロンビンＩＩＩ、アパルタミド、アプレピタント、アルシツモマブ、アルグラビン、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、アテゾリズマブ、アベルマブ、アキシカブタゲンシロロイセル、アキシチニブ、アザシチジン、バシリキシマブ、ベロテカン、ベンダムスチン、ベシレソマブ、ベリノスタット、ベバシズマブ、ベキサロテン、ビカルタミド、ビサントレン、ブレオマイシン、ブリナツモマブ、ボルテゾミブ、ブセレリン、ボスチニブ、ブレンツキシマブベドチン、ブリガチニブ、ブスルファン、カバジタキセル、カボザンチニブ、カルシトニン、ホリナートカルシウム、レボホリナートカルシウム、カペシタビン、カプロマブ、カルバマゼピン、カルボプラチン、カルボコン、カルフィルゾミブ、カルモフール、カルムスチン、カツマキソマブ、セレコキシブ、セルモロイキン、セリチニブ、セツキシマブ、クロラムブシル、クロルマジノン、クロルメチン、シドフォビル、シナカルセト、シスプラチン、クラドリビン、クロドロン酸、クロファラビン、コビメチニブ、コパンリシブ、クリサンタスパーゼ、クリゾチニブ、シクロホスファミド、シプロテロン、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダラツムマブ、ダーベポエチンα、ダブラフェニブ、ダロルタミド、ダサチニブ、ダウノルビシン、デシタビン、デガレリクス、デニロイキン・ディフティトックス、デノスマブ、デプレオチド、デスロレリン、デクスラゾキサン、ジブロスピジウムクロリド、ジアンヒドロガラクチトール、ジヌツキシマブ、ジクロフェナク、ドセタキセル、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、ドキソルビシン＋エストロン、ドロナビノール、デュルバルマブ、エクリズマブ、エドレコロマブ、エリプチシニウムアセタート、エンドスタチン、エノシタビン、エンザルタミド、エパカドスタット、エピルビシン、エピチオスタノール、エポエチンα、エポエチンβ、エポエチンζ、エプタプラチン、エリブリン、エルロチニブ、エソメプラゾール、エストラジオール、エストラムスチン、エトポシド、エチニルエストラジオール、エベロリムス、エキセメスタン、ファドロゾール、フェンタニル、フィルグラスチム、フルオキシメステロン、フロクスウリジン、フルダラビン、フルオロウラシル（ｆｌｕｏｒｕｒａｃｉｌ）、フルタミド、フォリニン酸、フォルメスタン、フォスアプレピタント、フォテムスチン、フルベストラント、ガドブトロール、ガドテリドール、ガドテル酸メグルミン塩、ガドベルセタミド、ガドキセト酸二ナトリウム塩（ｇｄ－ｅｏｂ－ｄｔｐａ二ナトリウム塩）、硝酸ガリウム、ガニレリクス、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、ゲムツズマブ、グルカルピダーゼ、グルトキシム、ゴセレリン、グ

ラニステロン、果粒球コロニー刺激因子（ｇ－ｃｓｆ）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ｇｍ－ｃｓｆ）、ヒスタミンジヒドロクロリド、ヒストレリン、ヒドロキシカルバミド、Ｉ－１２５－シード、ランソプラゾール、イバンドロン酸、イブリツモマブ・チウクセタン、イブルチニブ、イダルビシン、イホスファミド、イマチニブ、イミキモド、インプロスルファン、インジセトロン、インカドロン酸、インゲノールメブテート、イノツズマブオゾガマイシン、インターフェロンα、インターフェロンβ、インターフェロンγ、イオビトリドール、イオベングアン（１２３１）、イオメプロール、イピリムマブ、イリノテカン、イトラコナゾール、イクサベピロン、イキサゾミブ、ランレオチド、ランソプラゾール、ランソプラゾール（ｌａｎｓｏｐｒａｚｏｌ）、ラパチニブ、ラソコリン、レナリドミド、レンバチニブ、レノグラスチム、レンチナン、レトロゾール、リュープロレリン、レバミソール、レボノルゲストレル、レボチロキシンナトリウム、リペグフィルグラスチム、リスリド、ロバプラチン、ロムスチン、ロニダミン、ルテチウムＬｕ１７７ドータテート、マソプロコル、メドロキシプロゲステロン、メゲストロール、メラルソプロール、メルファラン、メピチオスタン、メルカプトプリン、メスナ、メタドン、メトトレキサート、メトキサレン、メチルアミノレブリネート、メチルプレドニゾロン、メチルテストステロン、メチロシン、ミドスタウリン、ミファムリチド、ミルテフォシン、ミリプラチン、ミトブロニトール、ミトグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、モガムリズマブ、モルグラモスチム、モピダモール、塩酸モルヒネ、硫酸モルヒネ、ｍｖａｓｉ、ナビロン、ナビキシモル、ナファレリン、ナロキソン＋ペンタゾシン、ナルトレキソン、ナルトグラスチム、ネシツムマブ、ネダプラチン、ネララビン、ネラチニブ、ネリドロン酸、ネツピタント／パロノセトロン、ニボルマブ、ニボルマブペンテトレオチド、ニロチニブ、ニルタミド、ニモラゾール、ニモツズマブ、ニムスチン、ニンテダニブ、ニラパリブ、ニトラクリン、ニボルマブ、オビヌツズマブ、オクトレオチド、オファツムマブ、オラパリブ、オララツマブ、オマセタキシンメペスクシナート、オメプラゾール、オンダンセトロン、オプレルベキン、オルゴテイン、オリロチモド、オシメルチニブ、オキサリプラチン、オキシコドン、オキシメトロン、オゾガマイシン、ｐ５３－ｇｅｎｔｈｅｒａｐｉｅ、パクリタキセル、パルボシクリブ、パリフェルミン、パラジウム－１０３シード、パロノセトロン、パミドロン酸、パニツムマブ、パノビノスタット、パントロプラゾール、パゾパニブ、ペガスパルガーゼ、ｐｅｇ－エポエチンβ（メトキシｐｅｇ－エポエチンβ）、ペンブロリズマブ、ペグフィルグラスチム、ｐｅｇ－インターフェロン－α－２ｂ、ペメトレキセド、ペンタゾシン、ペントスタチン、ペプロマイシン、ペルフロブタン、ペルホスファミド、ペルツズマブ、ピシバニール、ピロカルピン、ピラルビシン、ピクサントロン、プレリキサホル、プリカマイシン、ポリグルサム、リン酸ポリエストラジオール、ポリビニルピロリドン＋ヒアルロン酸ナトリウム、ポリサッカリドｋ、ポマリドミド、ポナチニブ、ポルフィマーナトリウム、プララトレキサート、プレドニムスチン、プレドニゾン、プロカルバジン、プロコダゾール、プロプラノロール、キナゴリド、ラベプラゾール、ラコツモマブ、ラジウム－２２３クロリド、ラドチニブ、ラロキシフェン、ラルチトレキセド、ラモセトロン、ラムシルマブ、ラニムスチン、ラスブリカーゼ、ラゾキサン、レファメチニブ、レゴラフェニブ、リボシクリブ、リセドロン酸、レニウム－１８６エチドロネート（ｅｔｉｄｒｏｎａｔ）、リツキシマブ、ロガラチニブ、ロラピタント、ロミデプシン、ロミプロスチム、ロムルチド（ｒｏｍｕｒｔｉｄ）、ロニシクリブ、ルカパリブ、サマリウム（１５３ｓｍ）レキシドロナム、サルグラモスチム、サリルマブ、サツモマブ、セクレチン、シルツキシマブ、シプリューセル－ｔ、ナトリウムグリシジダゾール、ソニデジブ、ソラフェニブ、スタノゾロール、シゾフィラン、オブゾキサン、ストレプトゾシン、スニチニブ、タラポルフィン、タリモジーン・ラハーパレプベック、タミバロテン、タモキシフェン、タペンタドール、タソネルミン、テセロイキン、テクネチウム（９９ｍｔｃ）ノフェツモマブメルペンタン、９９ｍｔｃ－ＨＹＮＩＣ－［ｔｙｒ３］－オクトレオチド、テガフール、テガフール＋ジメラシル＋オテラシル、テモポルフィン、テモゾロミド、テムシロリムス、テニポシド、テストステロン、テトロホスミン、サリドマイド、チオテパ、チマルファシン、チロトロ

ピンα、チオグアニン、チサゲンレクロイセル、トシリズマブ、トポテカン、トレミフェン、トシツモマブ、トラベクテジン、トラメチニブ、トラマドール、トラスツズマブ、トラスツズマブエムタンシン、トレオスルファン、トロホスファミド、トロンボポイエチン、トリプトファン、ウベニメクス、バルルビシン、バンデタニブ、バプレオチド（ｖａｐｒｅｏｔｉｄｗ）、バラチニブ、ベムラフェニブ、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、ビンフルニン、ビノレルビン（ｖｉｎｏｒｅｌｂｉｎｗ）、ビスモデギブ、ボリノスタット、ボロゾール（ｖｏｒｏｚｏｌｗ）、イットリウム－９０－ガラスマイクロビーズ、ジノスタチン、ジノスタチンスチマラマー、ゾレドロン酸、ゾルビシン。

【０１５７】

加えて本発明の化合物は、例えば次の標的、ＯＸ－４０、ＣＤ１３７／４－１ＢＢ、ＤＲ３、ＩＤＯ１／ＩＤＯ２、ＬＡＧ－３、ＣＤ４０に結合する場合があるバインダー（例えば抗体）と組み合わせることができる。

【０１５８】

バインダー－薬物複合体（ＡＤＣ）の非細胞浸透性のトキソフォア代謝産物は適応免疫系の細胞に有害な効果を及ぼすものではないため、癌または腫瘍の処置に使用される本発明に係るバインダー－薬物複合体（ＡＤＣ）と癌免疫療法薬との組み合わせは、本発明の付加的な主題である。細胞毒性バインダー／活性薬剤複合体の内因性機構は、腫瘍細胞の細胞死の直接誘導、したがって免疫応答を刺激可能な腫瘍抗原の放出を含む。さらに、ＫＳＰ阻害剤トキソフォア分類が、いわゆる免疫原性細胞死［ＩＣＤ］のマーカーをインビトロで誘導するということも示唆されている。ゆえに本発明のバインダー－薬物複合体（ＡＤＣ）と癌免疫療法の１つ以上の治療アプローチとの、または１つ以上の活性薬剤、好ましくは抗体との組み合わせは、癌免疫療法からの分子標的を対象とするものであり、癌または腫瘍を処置するための好ましい方法を表す。ｉ）癌免疫療法のための治療アプローチの例は、癌免疫療法、ワクチン、ＣＡＲ　Ｔ細胞、二重特異性Ｔ細胞動員抗体、腫瘍溶解性ウイルス、細胞ベースのワクチン接種アプローチからの標的を対象とする免疫修飾モノクローナル抗体および低分子量物質を含む。ｉｉ）免疫修飾モノクローナル抗体に適した癌免疫療法からの選択標的の例は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１／ＰＤＬ－１、ＯＸ－４０、ＣＤ１３７、ＤＲ３、ＩＤＯＩ、ＩＤＯ２、ＴＤＯ２、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ／ＩＣＯＳＬ、ＴＩＧＩＴ、ＧＩＴＲ／ＧＩＴＲＬ、ＶＩＳＴＡ、ＣＤ７０、ＣＤ２７、ＨＶＥＭ／ＢＴＬＡ、ＣＥＡＣＡＭＩ、ＣＥＡＣＡＭ６、ＩＬＤＲ２、ＣＤ７３、ＣＤ４７、Ｂ７Ｈ３、およびＴＬＲを含む。それゆえ、本発明に係るバインダー－薬物複合体（ＡＤＣ）と癌免疫療法薬との組み合わせにより、第１に、免疫原特性が弱い腫瘍の免疫原性を強くし、癌免疫療法薬の有効性を増強し、さらに長時間作用性の治療作用を広げることが可能である。

【０１５９】

加えて、本発明に係る化合物は、放射線治療および／または外科手術と組み合わせて使用することもできる。

【０１６０】

概して、以下の目標は、細胞増殖抑制性、細胞毒性、または免疫療法性の活性を持つ他の薬剤に本発明の化合物を組み合わせることで追求することができる：

・１つの活性薬剤での処置とは対照的に、腫瘍のサイズの低減、または腫瘍の完全な除去による、腫瘍増殖の遅延における効果の改善
・単独療法の場合よりも低用量の選択化学療法剤を使用する可能性
・単独療法に比べて副作用が少ない耐用性の優れた治療の可能性
・より広いスペクトルの腫瘍の処置の可能性
・より高速度での治療応答の達成
・現行の標準治療に比べて長い患者の生存期間

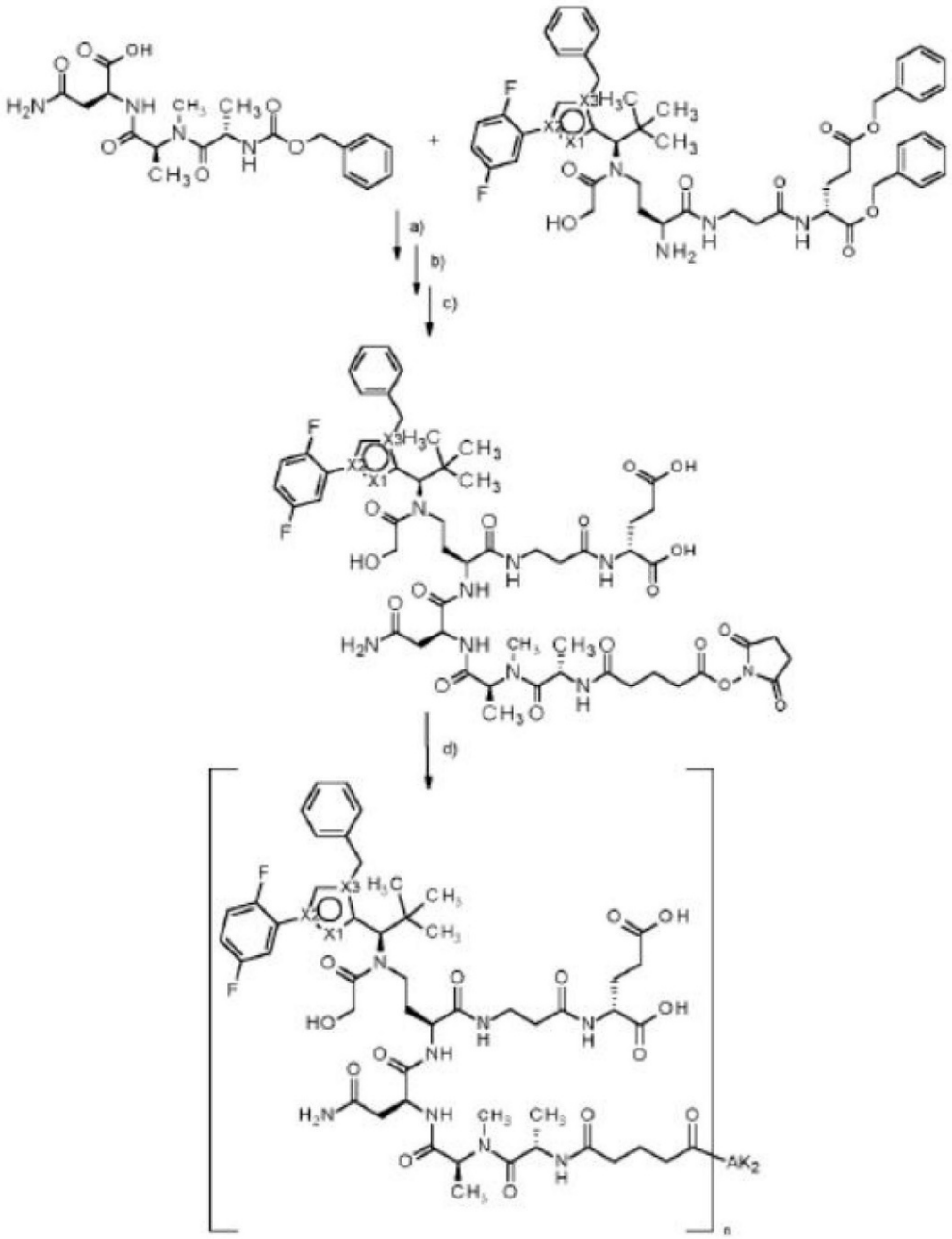
【０１６１】

加えて、本発明に係る化合物は、放射線治療および／または手術と組み合わせて使用することもできる。

【０１６２】
本発明の付加的な主題は、１つ以上の不活性で無毒である薬学的に許容可能な賦形剤と共に本発明に係る少なくとも１つの化合物を含む薬剤、および前記目的のための前記薬剤の使用である。
【０１６３】
本発明に係る化合物は全身および／または局所に作用することができる。この化合物は、この目的に適切な様式で、例えば非経口で、可能であれば吸入により、またはインプラントあるいはステントとして適用することができる。
【０１６４】
適切な投与形態にある本発明に係る化合物は、このような投与経路で投与することができる。
【０１６５】
非経口投与を行うと、吸収段階（例えば静脈内、動脈内、心臓内、脊髄内、または腰椎内）を回避し、または再吸収（例えば筋肉内、皮下、皮内、経皮、または腹腔内）を含むことができる。非経口投与に適した投与形態として、溶液、懸濁液、エマルジョン、または凍結乾燥体の形態にある注射および注入用の調製物が挙げられる。非経口投与、特に静脈内投与が好ましい。
【０１６６】
概して、非経口投与では、より有効な結果を達成するのに約０．１～２０ｍｇ／ｋｇ、好ましくは約０．３～１０ｍｇ／ｋｇの量を適用することが効果的であると認められている。そうではあっても、具体的には体重、投与経路、活性薬剤への個々の応答、調製物の性質、投与が行われる時間または間隔に応じて、上述の量から逸脱させる必要が時に存在する。例えば場合によっては、前記量は前述の最小量よりも少ない量で管理するのに十分な場合がある一方で、他の場合では前述の上限を超えなければならない。より多くの量を投与する必要があるとき、１日にわたり複数の個別投与量に分けることが都合の良い場合がある。
【実施例】
【０１６７】
以下の実施例は本発明を説明するものである。本発明はこれら実施例に限定されるものではない。別段の定めがない限り、以下の試験および実施例に提供されるパーセンテージは重量パーセントである。液体と液体との溶液に対するすべての溶離液比、希釈比、および濃度のデータは、体積で表される。
【０１６８】
合成経路：
後述の図は、典型的な実施形態に関する例を表す。
【０１６９】

【化５】

略図1:レグマイン切断可能リンカーを含むリジン結合ADCの合成



【０１７０】

上記反応スキームでは、X_1、X_2、X_3、ｎ、およびAK_2は、式（Ｉ）に特定される意味を持つ。

【０１７１】

ａ）ＨＡＴＵ、ＤＭＦ、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン、室温；ｂ）H_2、１０％Ｐｄ－Ｃ、メタノール１．５ｈ、室温；ｃ）１，１’－［（１，５－ジオキソペンタン－１，５－ジイル）ビス（オキシ）］ジピロリジン－２，５－ジオン、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン、ＤＭＦを室温で一晩撹拌；ｄ）ＰＢＳ中のAK_2、アルゴン下でＤＭＳＯに溶かした３～５当量の活性エステルを添加し、アルゴン下に室温で６０分間撹拌し、再びＤＭＳＯに溶かした３～５当量の活性エステルを添加し、アルゴン下に室温で６０分間撹拌し、ＰＤ　１０カラム（Ｓｅｐｈａｄｅｘ（登録商標）Ｇ－２５、ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）上で清浄し、ＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）で平衡化し、次いで超遠心

分離により濃縮し、ＰＢＳの緩衝液（ｐＨ７．２）により所望の濃度に調整する。インビボのバッチでは、続けて濾過滅菌を行ってもよい。

【０１７２】

Ａ．実施例

略語と頭字語：

【０１７３】

【表２－１】

ABCB1	ATP-結合カセットサブファミリーBメンバー1 (P-gpおよびMDRIと同義)
abs.	絶対
Ac	アセチル
ACN	アセトニトリル
aq.	水性、水溶液
ATP	アデノシン三リン酸
BCRP	乳癌耐性タンパク質、排出トランスポーター
BEP	2-ブロモ-1-エチルピリジニウムテトラフルオロボレート
Boc	*tert.*-ブトキシカルボニル
br.	広範 (NMRにおける)
Bsp.	実施例
C	濃度
approx.	およそ
CI	化学イオン化 (MSにおける)
DAR	薬物と抗体との比
D	二重線 (NMRにおける)
D	日
DC	薄層クロマトグラフィー
DCI	直接化学イオン化 (MSにおける)
DCM	ジクロロメタン
Dd	二重線の二重線 (NMRにおける)

【０１７４】

【表２－２】

DMAP	4-N,N-ジメチルアミノピリジン
DME	1,2-ジメトキシエタン
DMEM	ダルベッコ改変イーグル培地 (細胞培養のために標準化された栄養培地)
DMF	N,N-ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
D/P	色素 (蛍光色素)/タンパク質の比
DPBS, D-PBS	ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水溶液
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen [German Collection of Microorganisms and Cell Cultures]
PBS	PBS= DPBS = D-PBS, pH 7.4, Sigma, No. D8537 組成: 0.2 g KCl 0.2 g KH_2PO_4 (無水) 8.0 g NaCl 1.15 g Na_2HPO_4 (無水)、H_2Oを充填して1 L作成
Dt DTT	三重線の二重線 (NMRにおける)
d. Th.	DL-ジチオトレイトール
EDC	理論値 (化学収率) *N'*-(3-ジメチルアミノプロピル)-N-エチルカルボジイミドヒドロクロリド
EGFR	上皮成長因子受容体
EI	電子衝撃イオン化 (MSにおける)
ELISA	酵素結合免疫吸着検定法
eq.	当量
ESI	エレクトロスプレーイオン化 (MSにおける)
ESI-Micro-Tofq	ESI MicroTofq (質量分析装置の名称。Tof＝飛行時間、q＝四極子)
FCS	ウシ胎児血清

【０１７５】

【表２－３】

Fmoc	(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル
ges.	飽和
GTP	グアノシン-5'-トリホスフェート
H	時間
HATU	O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート
HBL-1	*ヒト腫瘍細胞株*
HEPES	4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-エタンスルホン酸
HOAc	酢酸
HOAt	1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール
HOBt	1-ヒドロキシ-I*H*-ベンゾトリアゾールハイドレート
HOSu	N-ヒドロキシスクシンイミド
HPLC	高圧高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	半最大阻害濃度
i.m.	筋肉内、筋肉への投与
i.v.	静脈内、静脈への投与
conc.	濃縮
LC-MS	液体クロマトグラフィー / 質量分析
LLC-PKI cells	ルイス肺癌ブタ腎細胞株
L-MDR	ヒトMDRIでトランスフェクトしたLLC-PKI細胞
M	三重線 (NMRにおける)
Me	メチル
MDR1	多剤耐性タンパク質1
MeCN	アセトニトリル
Min	分
MS	質量分析法
MTT	3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニル-2H-テトラゾリウムブロミド
NCI-H292	ヒト腫瘍細胞株
NMM	N-メチルモルホリン

【０１７６】

【表２－４】

NMP	N-メチル-2-ピロリジノン
NMR	核磁気共鳴分析法
NMRI	Naval Medical Research Institute (NMRI)のマウス株
Nude mouse	ヌードマウス (実験動物)
NSCLC	非小細胞肺癌 (非小細胞気管支癌)
Oci-Ly-1 PBS	ヒト腫瘍細胞株
Pd/C	リン酸緩衝生理食塩水溶液
P-gp	パラジウム活性炭素
PNGaseF	P-糖タンパク質、輸送タンパク質
quant.	糖を分離する酵素
Quart	量的 (収率)
Quint	四重線 (NMRにおける)
Rec-1	四重線 (NMRにおける)
Rf	ヒト腫瘍細胞株
RT	保持指数 (TLCにおける)
Rt	室温
s	保持時間 (HPLCにおける)
s.c.	一重線 (NMRにおける)
SCID Mouse	皮下、皮膚への投与
SU-DHL6	重症複合免疫不全症を患う実験マウス
T	ヒト腫瘍細胞株
TBAF	三重線 (NMRにおける)
TCEP TEMPO	テトラ-n-ブチルアンモニウムフルオリド
Teoc	トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン
	(2,2,6,6-テトラメチル-ピペリジン-1-イル)オキシル
	トリメチルシリルエトキシカルボニル

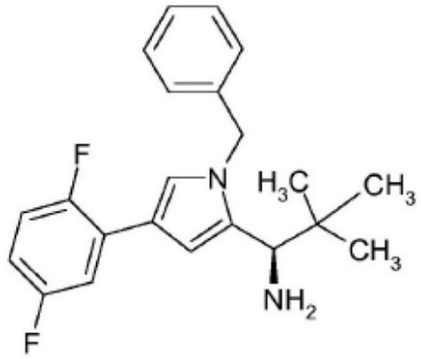
【０１７７】

【表２－５】

tert.	ターシャリ
TFA	トリフルオロ酢酸
THF	テトラヒドロフラン
T3P®	2,4,6-トリプロピル-1,3,5,2,4,6-トリオキサトリホスフィナン-2,4,6-トリオキシド
UV	紫外分光法
v/v	体積比 (溶液の)
Z	ベンジルオキシカルボニル

【０１７８】
ＨＰＬＣおよびＬＣ－ＭＳ方法：
方法１（ＬＣ－ＭＳ）：
機器：Ｗａｔｅｒｓ ＡＣＱＵＩＴＹ ＳＱＤ ＵＰＬＣシステム；カラム：Ｗａｔｅｒｓ Ａｃｑｕｉｔｙ ＵＰＬＣ ＨＳＳ Ｔ３ １．８μ ５０×１ｍｍ；溶離液Ａ：水１Ｌ＋９９％ギ酸０．２５ｍＬ、溶離液Ｂ：アセトニトリル１Ｌ＋９９％ギ酸０．２５ｍＬ；勾配：０．０分 ９０％ Ａ→１．２分 ５％ Ａ→２．０分 ５％ Ａ オーブン：５０℃；流量：０．４０ｍＬ／分；ＵＶ検出：２００～４００ｎｍ。
【０１７９】
方法６（ＬＣ－ＭＳ）：
機器：Ｗａｔｅｒｓ ＵＰＬＣ Ａｃｑｕｉｔｙを備えたＭｉｃｒｏｍａｓｓ Ｑｕａｔｔｒｏ Ｐｒｅｍｉｅｒ；カラム：Ｔｈｅｒｍｏ Ｈｙｐｅｒｓｉｌ ＧＯＬＤ １．９μ ５０×１ｍｍ；溶離液Ａ：水１Ｌ＋５０％ギ酸０．５ｍＬ、溶離液Ｂ：アセトニトリル１Ｌ＋５０％ギ酸０．５ｍＬ；勾配：０．０分 ９７％ Ａ→０．５分 ９７％ Ａ→３．２分 ５％ Ａ→４．０分 ５％ Ａ オーブン：５０℃；流量：０．３ｍＬ／分；ＵＶ検出：２１０ｎｍ。
【０１８０】
方法７（ＬＣ－ＭＳ）：
機器：Ａｇｉｌｅｎｔ ＭＳ Ｑｕａｄ ６１５０；ＨＰＬＣ：Ａｇｉｌｅｎｔ １２９０；カラム：Ｗａｔｅｒｓ Ａｃｑｕｉｔｙ ＵＰＬＣ ＨＳＳ Ｔ３ １．８μ ５０×２．１ｍｍ；溶離液Ａ：水１Ｌ＋９９％ギ酸０．２５ｍＬ、溶離液Ｂ：アセトニトリル１Ｌ＋９９％ギ酸０．２５ｍＬ；勾配：０．０分 ９０％ Ａ→０．３分 ９０％ Ａ→１．７分 ５％ Ａ→３．０分 ５％ Ａ オーブン：５０℃；流量：１．２０ｍＬ／分；ＵＶ検出：２０５～３０５ｎｍ。
【０１８１】
方法１２（ＬＣ－ＭＳ）：
機器ＭＳ：Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ ＦＴ－ＭＳ；機器ＵＨＰＬＣ＋：Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ ＵｌｔｉＭａｔｅ ３０００；カラム：Ｗａｔｅｒｓ，ＨＳＳＴ３，２．１×７５ ｍｍ，Ｃ１８ １．８μｍ；溶離液Ａ：水１Ｌ＋０．０１％ギ酸；溶離液Ｂ：アセトニトリル１Ｌ＋０．０１％ギ酸；勾配：０．０分 １０％ Ｂ→２．５分 ９５％ Ｂ→３．５分 ９５％ Ｂ；オーブン：５０℃；流量：０．９０ｍｌ／分；ＵＶ検出：２１０ｎｍ／最適積分経路２１０～３００ｎｍ。
【０１８２】
すべての試薬、または調製方法が以下に明確に記載されていない試薬を、一般的に利用可能な供給源から市販で購入した。他のすべての試薬、または調製方法が以下に明確に記載されていないほか、市販で入手不可能な、または通常利用できない供給源から購入される試薬については、その調製方法が記載される公開文献にて言及されている。
【０１８３】
出発化合物と中間体：

中間体Ｃ５２
（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロパン－１－アミン
【０１８４】
【化６】



【０１８５】
メチル－４－ブロモ－１Ｈ－ピロール－２－カルボキシレート１０．００ｇ（４９．０１ｍｍｏｌ）をＤＭＦ１００．０ｍＬに溶かしたものを容器に入れ、炭酸セシウム２０．７６ｇ（６３．７２ｍｍｏｌ）および臭化ベンジル９．２２ｇ（５３．９１ｍｍｏｌ）を添加した。反応混合物を室温で一晩撹拌した。反応混合物を水と酢酸エチルとに分け、水相を酢酸エチルで抽出した。組み合わせた有機質相を硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒を真空下で蒸発乾固させた。この反応をメチル－４－ブロモ－１Ｈ－ピロール－２－カルボキシレート９０．０ｇを用いて繰り返した。
【０１８６】
組み合わせた２つのバッチを分取ＲＰ－ＨＰＬＣ（カラム：Ｄａｉｓｏ　３００×１００；１０μ、流量：２５０ｍＬ／分、ＭｅＣＮ／水）により清浄した。溶離液を真空下で蒸発させ、残留物を高真空下で乾燥させた。生成物は、化合物メチル－１－ベンジル－４－ブロモ－１Ｈ－ピロール－２－カルボキシレート１２５．１５ｇ（理論値の８７％）であった。
【０１８７】
ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝１．１８分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝２９５［Ｍ＋Ｈ］$^+$。
【０１８８】
アルゴン下で、メチル－１－ベンジル－４－ブロモ－１Ｈ－ピロール－２－カルボキシレート４．８０ｇ（１６．３２ｍｍｏｌ）をＤＭＦに入れ、（２，５－ジフルオロフェニル）ボロン酸３．６１ｇ（２２．８５ｍｍｏｌ）、飽和炭酸ナトリウム溶液１９．２０ｍＬ、および［１，１’－ビス－（ジフェニルホスフィノ）－フェロセン］－ジクロロパラジウム（ＩＩ）：ジクロロメタン１．３３ｇ（１．６３ｍｍｏｌ）を添加した。反応混合物を８５℃で一晩撹拌した。反応混合物をセライトに通して濾過し、濾過ケークを酢酸エチルで洗浄した。有機質相を水で抽出した後、飽和ＮａＣｌ溶液で洗浄した。有機質相を硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒を真空下で蒸発させた。残留物をシリカゲ上で精製したル（移動相：１００：３のシクロヘキサン／酢酸エチル）。溶離液を真空下で蒸発させ、残留物を高真空下で乾燥させた。これにより、化合物メチル－１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－カルボキシレート３．６０ｇ（理論値の６７％）を得た。
【０１８９】
ＬＣ－ＭＳ（方法７）：R_t＝１．５９分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝３２８［Ｍ＋Ｈ］$^+$。
【０１９０】
メチル－１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－

カルボキシレート３．６０ｇ（１１．００ｍｍｏｌ）をＴＨＦ９０．０ｍＬに入れ、水素化アルミニウムリチウム１．０４ｇ（２７．５０ｍｍｏｌ）（ＴＨＦ中で２．４Ｍ）により０℃で処理した。反応混合物を０℃で３０分間撹拌した。飽和酒石酸ナトリウムカリウム溶液を０℃で添加し、酢酸エチルを反応混合物に添加した。有機質相を飽和酒石酸ナトリウムカリウム溶液で３回抽出された。有機質相を飽和ＮａＣｌ溶液で１回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させた。これを真空下で蒸発させ、残留物をジクロロメタン３０．０ｍＬに溶かした。次いで酸化マンガン（ＩＶ）３．３８ｇ（３２．９９ｍｍｏｌ）を添加し、混合物を室温で４８時間撹拌した。さらに酸化マンガン（ＩＶ）２．２０ｇ（２１．４７ｍｍｏｌ）を添加し、室温で一晩撹拌した。反応混合物をセライトに通して濾過し、濾過ケークをジクロロメタンで洗浄した。溶離液を真空下で蒸発させ、残留物として（１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－カルバルデヒド２．８０ｇをさらに精製することなく次の工程に使用した。

【０１９１】

ＬＣ－ＭＳ（方法７）：R_t＝１．４８分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝２９８［Ｍ＋Ｈ］$^+$。

【０１９２】

１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－カルバルデヒド２８．２１ｇ（９４．８８ｍｍｏｌ）を（Ｒ）－２－メチルプロパン－２－スルフィンアミド２３．００ｇ（１８９．７７ｍｍｏｌ）と共に絶対ＴＨＦ４０３．０ｍＬに入れ、チタン（ＩＶ）イソプロピレート６７．４２ｇ（２３７．２１ｍｍｏｌ）と混合し、室温で一晩撹拌した。飽和ＮａＣｌ溶液５００．０ｍＬと酢酸エチル１０００．０ｍＬを添加し、室温で１時間撹拌した。この溶液を珪藻土に通して濾過し、濾液を飽和ＮａＣｌ溶液で２回洗浄した。有機質相を硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶離液を真空下で蒸発し、残留物をＢｉｏｔａｇｅ　Ｉｓｏｌｅｒａ（シリカゲル、カラム１５００＋３４０ｇ　ＳＮＡＰ、流量２００ｍＬ／分、酢酸エチル／シクロヘキサン１：１０）を使用して精製した。

【０１９３】

ＬＣ－ＭＳ（方法７）：R_t＝１．６３分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝４０１［Ｍ＋Ｈ］$^+$。

【０１９４】

（Ｒ）－Ｎ－｛（Ｅ／Ｚ）－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－メチレン｝－２－メチルプロパン－２－スルフィンアミド２５．００ｇ（６２．４２ｍｍｏｌ）をアルゴン下で絶対ＴＨＦに入れ、－７８℃に冷却した。次いでｔｅｒｔ－ブチルリチウム１２．００ｇ（１８７．２７ｍｍｏｌ）（ペンタン中で１．７Ｍ溶液）を－７８℃で添加し、この温度で３時間撹拌した。その後、メタノール７１．４ｍＬおよび飽和塩化アンモニウム溶液２１４．３ｍＬを－７８℃で連続して添加し、反応混合物を室温に温めて、この温度で１時間撹拌した。これを酢酸エチルで希釈し、水で洗浄した。有機質相を硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒を真空下で蒸発させた。残留物（Ｒ）－Ｎ－｛（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝－２－メチルプロパン－２－スルフィンアミドをさらに精製することなく次の合成工程に使用した。

【０１９５】

ＬＣ－ＭＳ（方法６）：R_t＝２．９７分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝４５９［Ｍ＋Ｈ］$^+$。

【０１９６】

（Ｒ）－Ｎ－｛（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝－２－メチルプロパン－２－スルフィンアミド２８．００ｇ（６１．０５ｍｍｏｌ）を１，４－ジオキサン１８６．７ｍＬに入れ、次いで４５．８ｍＬのＨＣｌを１，４－ジオキサン溶液（４．０Ｍ）に溶かしたものを添加した。反応混合物を室温で２時間撹拌し、溶媒を真空下で蒸発させた。

残留物を分取ＲＰ－ＨＰＬＣ（カラム：Ｋｉｎｅｔｉｘ　１００×３０；流量：６０ｍＬ／分、ＭｅＣＮ／水）により精製した。アセトニトリルを真空下で蒸発させ、ジクロロメタンを残留物水溶液に添加した。有機質相を炭酸水素ナトリウム溶液で１回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させた。溶離液を真空下で蒸発させ、残留物を高真空下で乾燥させた。収率：１６．２ｇの表題化合物（理論値の７５％）。

【０１９７】

ＬＣ－ＭＳ（方法６）：R_t＝２．１０分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝３３８［Ｍ－ＮＨ２］＋、７０９［２Ｍ＋Ｈ］＋。^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ６）：δ［ｐｐｍ］＝０．８７（ｓ，９Ｈ），１．５３（ｓ，２Ｈ），３．５９（ｓ，１Ｈ），５．２４（ｄ，２Ｈ），６．５６（ｓ，１Ｈ），６．９４（ｍ，１Ｈ），７．１０（ｄ，２Ｈ），７．２０（ｍ，１Ｈ），７．２６（ｍ，２Ｈ），７．３４（ｍ，２Ｈ），７．４６（ｍ，１Ｈ）。

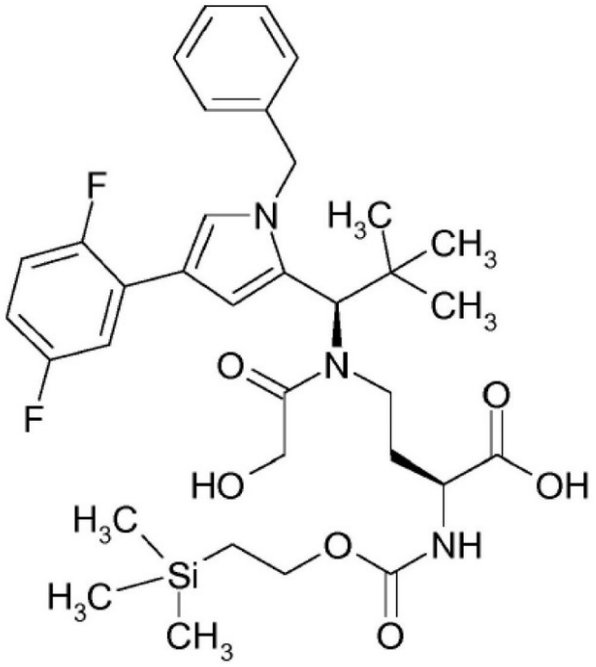
【０１９８】

中間体Ｃ５８

（２Ｓ）－４－［｛（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝（グリコロイル（ｇｌｙｃｏｌｏｙｌ））アミノ］－２－（｛［２（トリメチルシリル）エトキシ］カルボニル｝アミノ）ブタン酸

【０１９９】

【化７】



【０２００】

４．３ｇ（１２．２ｍｍｏｌ）の中間体Ｃ５２を５２５ｍＬのＤＣＭに溶かし、トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム３．６３ｇ（１７．１２ｍｍｏｌ）と酢酸８．４ｍＬを添加した。室温で５分間撹拌した後、８．９９ｇ（２４．５ｍｍｏｌ）の中間体Ｌ５７を１７５ｍＬのＤＣＭに溶かして添加し、反応混合物を室温でさらに４５分間撹拌した。その後、反応混合物を３００ｍＬのＤＣＭで希釈し、炭酸水素ナトリウム溶液１００ｍＬで２回、そして飽和ＮａＣｌ溶液で１回洗浄した。有機質相を硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒を真空下で蒸発させ、残留物を高真空下で乾燥させた。次いで残留物を分取ＲＰ－ＨＰＬＣ（カラム：Ｃｈｒｏｍａｔｏｒｅｘ　Ｃ１８）により精製した。対応する分画を精製した後、溶離液を真空下で蒸発させ、残留物を高真空下で乾燥させた。このように、メチル－（２Ｓ）－４－（｛（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝アミノ）－２－

（｛［２－（トリメチルシリル）－エトキシ］カルボニル｝アミノ）ブタノアート４．６ｇ（理論値の６１％）を得た。

【０２０１】

ＬＣ－ＭＳ（方法１２）：R_t＝１．９７分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝６１４［Ｍ＋Ｈ］$^+$。

【０２０２】

この中間体２．０６ｇ（３．３６ｍｍｏｌ）を７６ｍＬのＤＣＭに入れ、トリエチルアミン２．１ｍＬの存在下で２－クロロ－２－オキソエチルアセテート０．８１ｍＬ（７．１７ｍｍｏｌ）でアシル化した。室温で２０時間撹拌した後、さらに２－クロロ－２－オキソエチルアセテート０．３６ｍＬとトリエチルアミン０．９４ｍＬを添加し、反応混合物を室温でさらに１５分間撹拌した。次いで反応混合物を酢酸エチル５００ｍＬで希釈し、５％クエン酸３００ｍＬにより連続して２回、飽和炭酸水素ナトリウム溶液３００ｍＬで２回、そして飽和塩化ナトリウム溶液１００ｍＬで１回洗浄し、次いで硫酸マグネシウムで乾燥させ、蒸発により濃縮した。高真空下で乾燥した後、保護された中間体２．１７ｇ（理論値の７９％）を得た。

【０２０３】

ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝１．４８分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝７１４［Ｍ＋Ｈ］$^+$。

【０２０４】

この中間体２．１７ｇ（２．６４ｍｍｏｌ）を５４ｍＬのＴＨＦおよび２７ｍＬの水に溶かし、２モル水酸化リチウム溶液２６ｍＬを添加した。反応混合物を室温で３０分間撹拌した後、１．４ｍＬのＴＦＡによりｐＨを３～４に調整した。反応混合物を真空下で濃縮した。大半のＴＨＦを蒸留した後、水溶液をＤＣＭで２回抽出し、真空下で蒸発乾固させた。残留物を分取ＨＰＬＣ（カラム：Ｃｈｒｏｍａｔｏｒｅｘ　Ｃ１８）により精製した。分画を組み合わせた後、溶離液を真空下で蒸発させ、残留物をアセトニトリル／水から凍結乾燥した。このように、表題化合物１．１ｇ（理論値の６３％）を得た。

【０２０５】

ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝１．３４分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝６５６［Ｍ＋Ｈ］$^-$。

【０２０６】

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ６）：δ［ｐｐｍ］＝０．０３（ｓ，９Ｈ），０．５８（ｍ，１Ｈ），０．７４－０．９２（ｍ，１Ｈ），１．４０（ｍ，１Ｈ），３．３（ｍ，２Ｈ），３．７（ｍ，１Ｈ），３．８－４．０（ｍ，２Ｈ），４．１５（ｑ，２Ｈ），４．９および５．２（２ｄ，２Ｈ），５．６１（ｓ，１Ｈ），６．９４（ｍ，２Ｈ），７．１３－７．３８（ｍ，７Ｈ），７．４８（ｓ，１Ｈ），７．６０（ｍ，１Ｈ），１２．３５（ｓ，１Ｈ）。

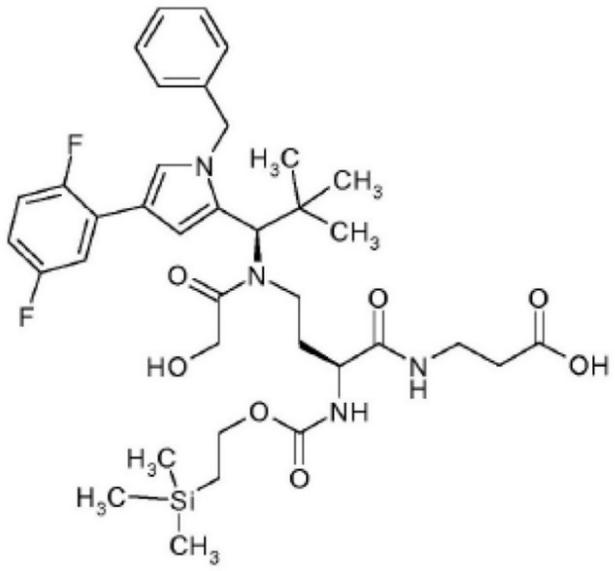
【０２０７】

中間体Ｃ６１

Ｎ－［（２Ｓ）－４－［｛（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝（グリコロイル）アミノ］－２－（｛［２－（トリメチルシリル）エトキシ］カルボニル｝アミノ）ブタノイル］－ベーターアラニン

【０２０８】

【化８】



【０２０９】

６０ｍｇ（０．０９１ｍｍｏｌ）の中間体Ｃ５８をメチルβ－アラニナートとカップリングし、次いで２Ｍ水酸化リチウム溶液によりエステル開裂を行うことで、表題化合物を調製した。これにより２工程にわたり表題化合物６７ｍｇ（理論値の６１％）を得た。

【０２１０】

ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝１．２９分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝７２９［Ｍ＋Ｈ］$^+$。

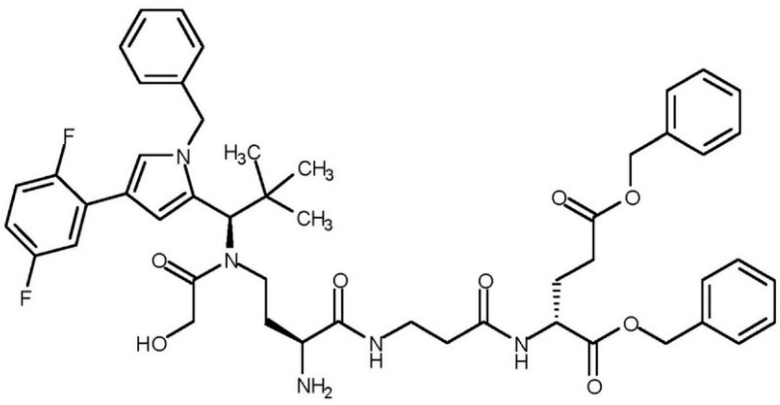
【０２１１】

中間体Ｃ１１０（Ｄ）

ジベンジル－Ｎ－｛（２Ｓ）－２－アミノ－４－［｛（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝（グリコロイル）アミノ］ブタノイル｝－ベーター－アラニル－Ｄ－グルタメート

【０２１２】

【化９】



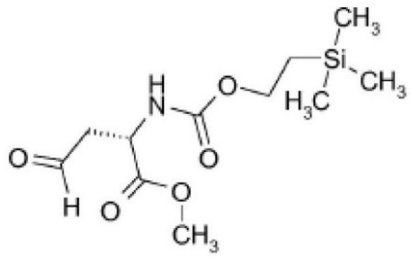
【０２１３】

先に酢酸エチルと５％炭酸水素ナトリウム溶液とに分けることでそのｐトルエンスルホン酸塩からジベンジル－Ｄ－グルタメートを放出させ、これをＨＡＴＵおよびＮ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンの存在下で中間体Ｃ６１とカップリングさせ、次いで塩化亜鉛をトリフルオロエタノールに溶かしたものでＴｅｏｃ保護基を分割することで、表題化合物を調製した。

【０２１４】

ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝１．０８分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ　８９４［

Ｍ＋Ｈ］$^{+}$。
【０２１５】
中間体Ｌ５７
メチル－（２Ｓ）－４－オキソ－２－（｛［２－（トリメチルシリル）エトキシ］カルボニル｝アミノ）ブタノアート
【０２１６】
【化１０】



【０２１７】
Ｌ－アスパラギン酸メチルエステルヒドロクロリド５００．０ｍｇ（２．７２ｍｍｏｌ）および２－（トリメチルシリル）エチル－２，５－ジオキソピロリジン－１－カルボキシレート７０６．３ｍｇ（２．７２ｍｍｏｌ）を１，４－ジオキサン５．０ｍＬに入れ、トリエチルアミン８２６．８ｍｇ（８．１７ｍｍｏｌ）を添加した。反応混合物を室温で一晩撹拌した。反応混合物を分取ＲＰ－ＨＰＬＣ（カラム：Ｒｅｐｒｏｓｉｌ　２５０×４０；１０μ、流量：５０ｍＬ／分、ＭｅＣＮ／水、０．１％のＴＦＡ）により直接精製した。次いで溶離液を真空下で蒸発させ、残留物を高真空下で乾燥させた。これにより化合物（３Ｓ）－４－メトキシ－４－オキソ－３－（｛［２－（トリメチルシリル）エトキシ］－カルボニル｝－アミノブタン酸５８３．９ｍｇ（理論値の７４％）を得た。
【０２１８】
ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝０．８９分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝２９０［Ｍ＋Ｈ］$^{-}$。
【０２１９】
（３Ｓ）－４－メトキシ－４－オキソ－３－（｛［２－（トリメチルシリル）エトキシ］カルボニル｝アミノ）ブタン酸５９２．９ｍｇを１，２－ジメトキシエタン１０．０ｍＬに入れ、－１５℃に冷却し、４－メチルモルホリン２０５．８ｍｇ（２．０４ｍｍｏｌ）およびクロロギ酸イソブチル２７７．９ｍｇ（２．０４ｍｍｏｌ）を添加した。沈殿物を１５分後に吸引濾過し、１，２－ジメトキシエタン１０．０ｍＬでそれぞれ２回洗浄した。濾液を－１０℃に冷却し、水素化ホウ素ナトリウム１１５．５ｍｇ（３．０５ｍｍｏｌ）を水１０ｍＬに溶かし、激しく撹拌しながら添加した。この相を分離し、有機質層を飽和炭酸水素ナトリウム溶液で１回、そして飽和ＮａＣｌで１回洗浄した。有機質相を硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶離液を真空下で蒸発させ、残留物を高真空下で乾燥させた。これにより化合物メチル－Ｎ－｛［２－（トリメチルシリル）エトキシ］カルボニル｝－Ｌ－ホモセリネート５１５．９ｍｇ（理論値の９１％）を得た。
【０２２０】
ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝０．８７分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝２７８［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$。
【０２２１】
メチル－Ｎ－｛［２－（トリメチルシリル）エトキシ］カルボニル｝－Ｌ－ホモセリネート５５４．９ｍｇ（２．００ｍｍｏｌ）をジクロロメタン３０．０ｍＬに入れ、デズ・マーティン・ペルヨージナン１．２７ｇ（３．０ｍｍｏｌ）およびピリジン４７４．７ｍｇ（６．００ｍｍｏｌ）を添加した。反応混合物を室温で一晩撹拌した。４時間後、反応混合物をジクロロメタンで希釈し、有機質層を１０％$Na_2S_2O_3$溶液、１０％クエン酸溶液、および飽和炭酸水素ナトリウム溶液でそれぞれ３回洗浄した。有機質相を硫酸マ

グネシウムで乾燥させ、溶媒を真空下で蒸発させた。これにより表題化合物５６５．７ｍｇ（理論値の９７％）を得た。

【０２２２】

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ６）：δ［ｐｐｍ］＝０．０３（ｓ，９Ｈ），０．９１（ｍ，２Ｈ），２．７０－２．７９（ｍ，１Ｈ），２．８８（ｄｄ，１Ｈ），３．６３（ｓ，３Ｈ），４．０４（ｍ，２Ｈ），４．５５（ｍ，１Ｈ），７．５４（ｄ，１Ｈ），９．６０（ｔ，１Ｈ）。

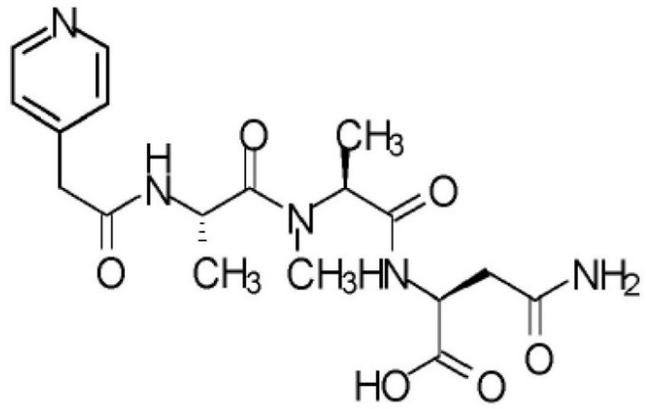
【０２２３】

中間体Ｌ１１１

Ｎ－（ピリジン－４－イルアセチル）－Ｌ－アラニル－Ｎ－メチル－Ｌ－アラニル－Ｌ－アスパラギン

【０２２４】

【化１１】



【０２２５】

ペプチド化学の標準分析法に従い、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンの存在下でＮ－［（ベンジルオキシ）カルボニル］－Ｌ－アラニンとｔｅｒｔ－ブチル－Ｎ－メチル－Ｌ－アラニナートヒドロクロリドとのＨＡＴＵカップリングを行い、トリフルオロ酢酸をＤＣＭに溶かしたもので脱保護することにより、表題化合物を合成した。これに続き、ＨＡＴＵおよびＮ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンの存在下でｔｅｒｔ－ブチル－Ｌ－アスパラギナートとのカップリングを行い、室温で標準水素圧下での活性炭の１０％のパラジウム上で、ＤＣＭ／メタノール１：１でＺ保護基の水素添加による（ｈｙｄｒｏｇｅｎｏｌｙｔｉｃ）分割を行った。最後に、ＨＡＴＵおよびＮ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンの存在下での４－ピリジン－酢酸とのカップリング、およびリフルオロ酢酸をＤＣＭに溶かしたものによるカルボキシル基の脱保護によって、中間体を表題化合物に変換した。

【０２２６】

ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝０．１６分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝４０８［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$。

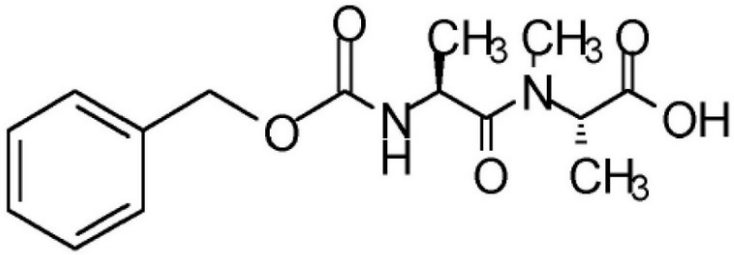
【０２２７】

中間体Ｌ１１６

Ｎ－［（ベンジルオキシ）カルボニル］－Ｌ－アラニル－Ｎ－メチル－Ｌ－アラニン

【０２２８】

【化１２】



【０２２９】

ペプチド化学の標準分析法を使用して、ＨＡＴＵの存在下でｔｅｒｔ－ブチル－Ｎ－メチル－Ｌ－アラニナートヒドロクロリドとカップリングし、最後にＴＦＡによりｔｅｒｔ－ブチルエステル保護基から分割することによって、市販のＮ－［（ベンジルオキシ）カルボニル］－Ｌ－アラニンから表題化合物を調製した。

【０２３０】

ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝０．６８分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝３０９［Ｍ＋Ｈ］$^+$。

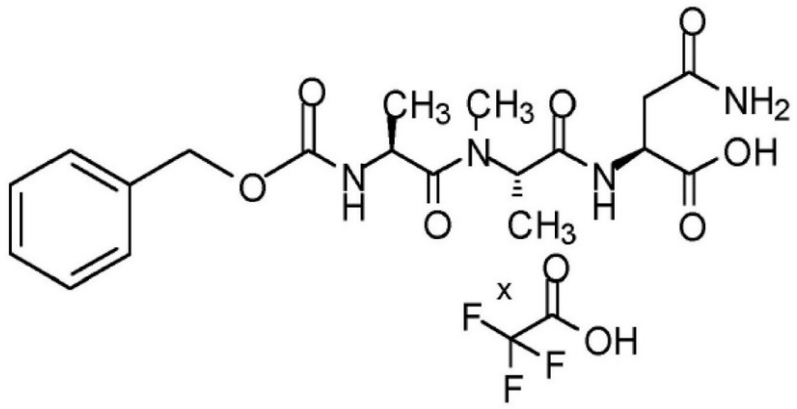
【０２３１】

中間体Ｌ１１７

Ｎ－［（ベンジルオキシ）カルボニル］－Ｌ－アラニル－Ｎ－メチル－Ｌ－アラニル－Ｌ－アスパラギン－トリフルオロ酢酸塩

【０２３２】

【化１３】



【０２３３】

ペプチド化学の標準分析法を使用して、ＨＡＴＵの存在下でＮ－［（ベンジルオキシ）カルボニル］－Ｌ－アラニル－Ｎ－メチル－Ｌ－アラニン（中間体Ｌ１１６）をカップリングし、最終的にＴＦＡによりｔｅｒｔ－ブチルエステル保護基から分割することによって、市販の４－ｔｅｒｔ－ブチル－Ｌ－アスパラギナートから表題化合物を調製した。

【０２３４】

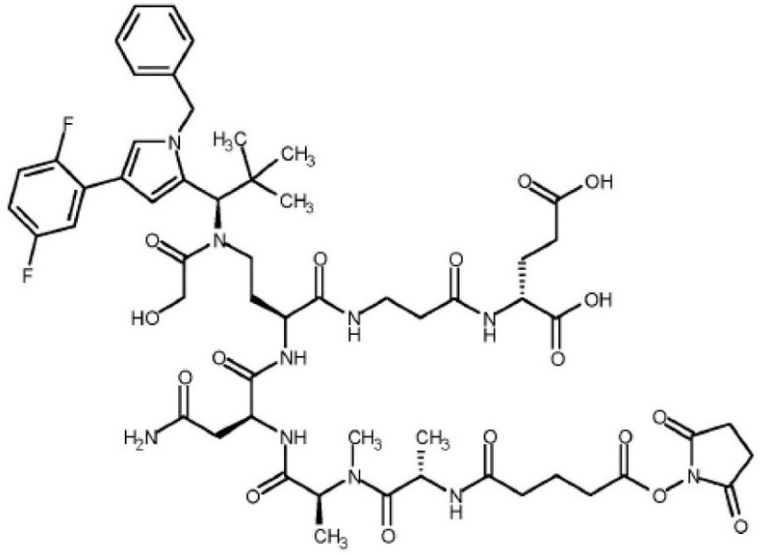
ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝０．５７分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝４２１［Ｍ－Ｈ］$^-$。

【０２３５】

中間体Ｏ２

Ｎ－｛５－［（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）オキシ］－５－オキソペンタノイル｝－Ｌ－アラニル－Ｎ－メチル－Ｌ－アラニル－Ｎ^1－｛（２Ｓ）－４－［｛（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝（グリコロイル）アミノ］－１－［（３－｛［（１Ｒ）－１，３－ジカルボキシプロピル］アミノ｝－３－オキソプロピル）アミノ］－１－｝オキソブタン－２－イル｝－Ｌ－アスパルトアミド

【０２３６】
【化１４】



【０２３７】
ＨＡＴＵおよびＮ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンの存在下で中間体Ｌ１１７とカップリングさせることにより化合物Ｃ１１０Ｄから表題化合物を調製した。次の工程において、全保護基を、室温で標準水素圧下でのＤＣＭメタノール１：１で活性炭の１０％のパラジウム上で１時間水素添加することにより全保護基を除去し、次いで、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンの存在下で１，１’－［（１，５－ジオキソペンタン－１，５－ジイル）ビス－（オキシ）］ジピロリジン－２，５－ジオンと反応させることによって、脱保護中間体を表題化合物に変換した。
【０２３８】
ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝０．９３分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝１１９５［Ｍ＋Ｈ］$^+$。
【０２３９】
Ｂ：抗体／薬物複合体（ＡＤＣ）の調製
Ｂ－１．抗体を生成するための一般方法
使用される抗体、例えばＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、ＴＰＰ－１４４９５、ＴＰＰ－１００６３、および４０Ｃ０１のタンパク質配列（アミノ酸配列）を、当業者に既知の方法によって対応するタンパク質をコードするＤＮＡ配列に変換し、一過性哺乳動物細胞培養で適切な発現ベクターに挿入した（Ｔｏｍ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｘｐｒｅｓｓ：Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍｉｃｈａｅｌ Ｒ．Ｄｙｓｏｎ ａｎｄ Ｙｖｅｓ Ｄｕｒｏｃｈｅｒ編、Ｓｃｉｏｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｌｔｄ，２００７の第１２章に記載）。
【０２４０】
Ｂ－２．哺乳動物細胞における抗体の発現のための一般方法
Ｔｏｍ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｘｐｒｅｓｓ：Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍｉｃｈａｅｌ Ｒ．Ｄｙｓｏｎ ａｎｄ Ｙｖｅｓ Ｄｕｒｏｃｈｅｒ編、Ｓｃｉｏｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｌｔｄ，２００７の第１２章に記載されるように、抗体、例えばＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、ＴＰＰ－１４４９５、ＴＰＰ－１００６３を、一過性哺乳動物細胞培養で生成した。
【０２４１】
Ｂ－３．細胞上清からの抗体の一般精製方法
抗体、例えばＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ

－１４５０５、ＴＰＰ－１４５１４、ＴＰＰ－１４４９５、およびＴＰＰ１００６３を細胞培養上清から得た。細胞上清を遠心分離により細胞から取り除いた。その後、細胞上清を、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　Ｓｕｒｅ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）のクロマトグラフィーカラム上で親和性クロマトグラフィーにより精製した。このために、カラムをＤＰＢＳ　ｐＨ７．４（Ｓｉｇｍａ／Ａｌｄｒｉｃｈ）において平衡化し、細胞上清を適用し、カラムをおよそ１０カラム体積のＤＰＢＳ　ｐＨ７．４＋塩化ナトリウム５００ｍＭで洗浄した。抗体を５０ｍＭの酢酸ナトリウムｐＨ３．５＋５００ｍＭの塩化ナトリウムにおいて溶出し、次いでＤＰＢＳ　ｐＨ７．４においてＳｕｐｅｒｄｅｘ２００カラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）上でゲル濾過クロマトグラフィーによりさらに精製した。

【０２４２】

標準クロマトグラフィー方法（プロテインＡクロマトグラフィー、分取ゲル濾過クロマトグラフィー（ＳＥＣ－サイズ排除クロマトグラフィー））を使用して商品から市販の抗体を精製した。

【０２４３】

Ｂ－４．リジン側鎖へのカップリングのための一般方法

以下の抗体をカップリング反応に使用した：

【０２４４】

【表３】

実施例 x:	TPP-14495
TPP-14499	
TPP-14505	
TPP-14509	
TPP-14511	
	TPP-14514
TPP-10063	
40C01	

【０２４５】

カップリング反応は通常、アルゴン下で実行した。

【０２４６】

１ｍｇ／ｍＬ～２０ｍｇ／ｍＬ、好ましくは約１０ｍｇ／ｍＬの濃度範囲におけるＰＢＳ緩衝液中の適切な抗体の溶液に、所望の負荷量に応じて、ＤＭＳＯ中の溶液としてカップリングされる２～１０当量の前駆体化合物を添加した。室温で３０分～６時間撹拌した後、同量の前駆体化合物をＤＭＳＯに入れた状態で添加した。このプロセスでは、ＤＭＳＯの体積は全体積の１０％を超えてはならない。室温で３０分～６時間撹拌した後、反応混合物を、ＰＢＳにおいて平衡化したＰＤ１０－カラム（Ｓｅｐｈａｄｅｘ（登録商標）Ｇ－２５、ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に適用し、ＰＢＳ緩衝液により溶出した。ＰＤ１０カラム上で精製した後、各事例において、ＰＢＳ緩衝液中の適切なＡＤＣ溶液を得た。その後、超遠心分離により濃縮し、サンプルを随意にＰＢＳ緩衝液によって再希釈した。低分子量成分をさらに除去する必要がある場合、ＰＢＳ緩衝液での再希釈後に限外濾過による濃縮を繰り返した。動物実験のために、必要に応じて、０．５～１５ｍｇ／ｍＬの範囲の濃縮を、再希釈により最終ＡＤＣサンプルにおいて確立させた。

【０２４７】

例示的実施形態におけるＡＤＣ溶液に対するそれぞれの特定のタンパク濃度を求めた。加えて、抗体（活性薬剤／ｍＡｂの比）の負荷をＢ－６下に記載の方法を使用して検出した。

【０２４８】
ＡＫ$_2$には、示される構造式に以下の有意性がある：
【０２４９】
【表４】

実施例x: TPP-14495 - NH§^{2}

TPP-14499 - NH§^{2}

TPP-14505 - NH§^{2}

TPP-14509 - NH§^{2}

TPP-14511 - NH§^{2}

TPP-14514 - NH§^{2}

TPP-10063 - NH§^{2}

40C01 - NH§^{2}

ここで、

§^{2}はカルボニル基との結合を表し、

および

NHは抗体のリジン残基の側鎖アミノ基を表す。

【０２５０】
本発明に係る複合体（ｃｏｎｉｕｇａｔｅｓ）の精製と特徴づけ
反応が生じた後、場合によっては、反応混合物を例えば限外濾過により濃縮し、次いで脱塩し、例えばＳｅｐｈａｄｅｘ（登録商標）Ｇ－２５上でクロマトグラフィーにより精製した。例えばリン酸緩衝生理食塩水溶液（ＰＢＳ）により溶出を行った。次いでこの溶液を滅菌濾過し、凍結させた。代替的に複合体を凍結乾燥してもよい。
【０２５１】
Ｂ－５．ＡＤＣの抗原結合の確認
カップリングを行った後に標的分子へのバインダーの結合能を確認した。このための多くの方法が当業者に知られている。例えば、ＥＬＩＳＡ技術の表面プラズモン共鳴解析（ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）測定）を使用し複合体の親和性を確認することができる。当業者は従来の方法を使用して、例えば蛋白定量により抗体複合体のために複合濃度を測定することができる（Ｄｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．；Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２００３；２１：７７８－７８４ ａｎｄ Ｐｏｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ ２００７；１１０２：６１６－６２３も参照）。
【０２５２】
Ｂ－６．抗体およびトキソフォア負荷の判定
例示的実施形態において記載されるように得られたＰＢＳ緩衝液中の複合体のトキソフォア負荷（ＤＡＲ、表中の薬物と抗体との比として示す）を以下のように判定した：
【０２５３】
以下にＳＥＣ－ＵＶと省略される、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）中のＵＶ吸収により、結合部位とは無関係に抗体（ＤＡＲ）のトキソフォア負荷を求めた。この目的のために、５０μＬのＡＤＣをＳＥＣにより分析した。この分析は、２６０ｎｍでの検出、および２８０ｎｍでの検出によりＡｇｉｌｅｎｔ １２６０ ＨＰＬＣシステム上で行った。均一濃度条件下において１ｍｌ／分の流量でのＧＥ ＨｅａｌｔｈｃａｒｅのＳｕｐｅｒｄｅｘ ２００ １０／３００カラム（ロット番号１０１９４０３７）（１０×

３１０ｍｍ、１μｍの粒径）を使用した。移動相はＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）から成った。ＨＰＬＣクロマトグラムからの活性薬剤重点を求めるために、２６０ｎｍと２８０ｎｍとの単量体ピークのピーク面積の比Ｒを求めた。そこから薬物負荷（ＤＡＲ）を次のように求めた：

【０２５４】

【数１】

$$DAR = \frac{\varepsilon_{Ab}^{\lambda_{drug}} - R \cdot \varepsilon_{Ab}^{280}}{R \cdot \varepsilon_{D}^{280} - \varepsilon_{D}^{\lambda_{drug}}}$$

【０２５５】

ここで、εは抗体（Ａｂ）および薬物（Ｄ）のモル減衰係数を表す。λ_{drug}は２６０ｎｍの波長を表し、２８０は２８０ｎｍを表す。２８０ｎｍおよび２６０ｎｍの抗体減衰係数を実験に基づき求めた。様々な抗体に対するこれら判定の平均値をＤＡＲ計算に使用した。２８０ｎｍおよび２６０ｎｍのモル減衰係数も、ＫＳＰトキソフォアに対して実験に基づき求めた。以下の波長および減衰係数をＤＡＲ計算に使用した：

【０２５６】

【表５】

	(λ_{drug}) (nm)	ε(280 nm) [1/μM]	ε(260 nm) [1/μM]
抗体		0.2284	0.1163
KSP	260	0.010	0.014

【０２５７】

ＡＤＣの濃度を、２８０ｎｍにてＵＶ吸収を測定することにより求めた。この濃度は、それぞれの抗体の分子減衰係数を介して求められた。２８０ｎｍのトキソフォア吸収も考慮するために、２８０ｎｍにて測定された濃度を、以下の式を使用して補正した：

【０２５８】

濃度＝予備濃度／（１＋ＤＡＲｕｖ＊（□トキソフォア２８０ｎｍ／□抗体２８０ｎｍ））

【０２５９】

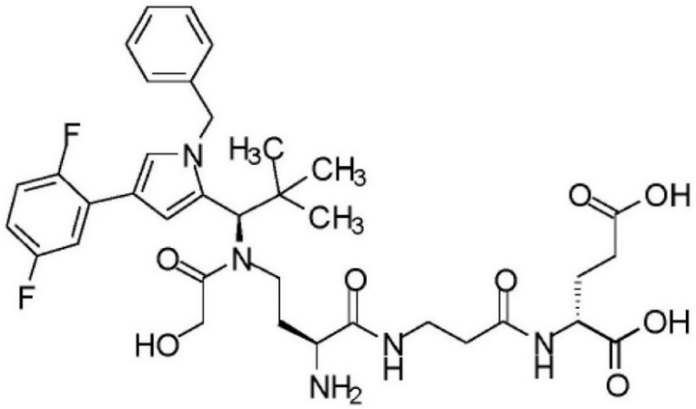
ここで、「予備濃度」は抗体の吸収係数のみを使用して算出された濃度を表し、ＤＡＲｕｖはＳＥＣ－ＵＶにより求められたそれぞれのＡＤＣのＤＡＲであり、□トキソフォア２８０ｎｍおよび□抗体２８０ｎｍは２８０ｎｍでのトキソフォアおよび抗体それぞれの減衰係数である。

【０２６０】

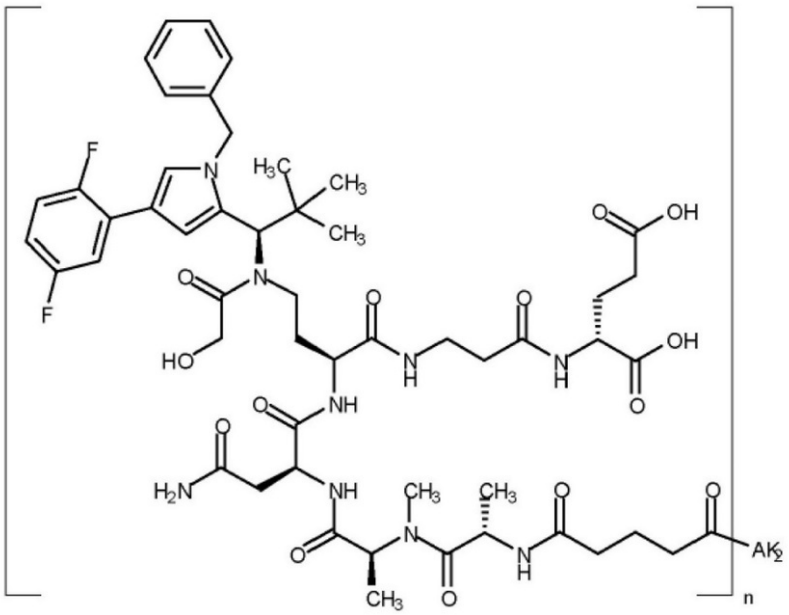
場合によっては、リジン結合ＡＤＣのＤＡＲ判定も、個々の複合体種の分子量の質量分光定量により行った。これにより、抗体およびカップリングされたリンカー－トキソフォア種も確認した。このために、まず抗体複合体をＰＮＧａｓｅＦにより脱グリコシル化し、サンプルを酸性化して、ＨＰＬＣ分離／脱塩後に、ＥＳＩ－ＭｉｃｒｏＴｏｆＱ（Ｂｒｕｋｅｒ　Ｄａｌｔｏｎｉｋ）により質量分光測定で分析した。ＴＩＣ（全イオンクロマトグラム）のシグナルにわたるスペクトルすべてを共に加えて、様々な複合体種の分子量をＭａｘＥｎｔ逆重畳積分に基づき算出した。様々な種のシグナルを積分した後、ＤＡＲ（＝薬物／抗体の比）を算出した。この目的のために、種すべてのトキソフォア数の荷重積分結果の合計を、種すべての単純な（ｓｉｍｐｌｙ）荷重積分結果で割った。タンパク分析をカップリング前に実行した。脱グリコシル化および／または変性の後の分子量判定に加えて、この目的のためにトリプシンの消化を実行し、変性、減少、および誘導体化の後に、タンパク質の同一性を、実証されたトリプシンペプチドに基づいて確認した。

【０２６１】

代謝産物の例示的実施形態
実施例Ｍ１
Ｎ－｛（２Ｓ）－２－アミノ－４－［｛（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝（グリコロイル）アミノ］ブタノイル｝－ベーター－アラニル－Ｄ－グルタミン酸
【０２６２】
【化１５】



【０２６３】
室温で標準水素圧下でのエタノール中の活性炭の１０％パラジウム上で１時間の水素添加を行うことにより、中間体Ｃ１１０Ｄを表題化合物に変換した。
【０２６４】
ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝１．７８分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝７１４［Ｍ＋Ｈ］$^+$。
【０２６５】
実施例として下記に示すＡＤＣは好ましい代謝産物Ｍ１を放出することができる。この代謝産物は好ましい薬理学特性を有している。
【０２６６】
例示的実施形態－ＡＤＣ
実施例１
【０２６７】
【化１６】



【０２６８】
基本手順Ａ：

対象の抗体２．９ｍｇを０．３ｍＬのＰＢＳ（ｃ＝１０ｍｇ／ｍＬ）に入れたものに、アルゴン下に１０Ｅｑ（０．２ｍｇ）の中間体Ｑ２を３０μＬのＤＭＳＯに溶かしたものに添加した。室温で１時間撹拌した後、再び同じ量を添加し、反応混合物を室温でさらに１時間撹拌した。その後、反応混合物をＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）により２．５ｍＬに希釈し、Ｓｅｐｈａｄｅｘカラム上で精製し、超遠心分離により濃縮し、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）により再希釈した。

【０２６９】

基本手順Ｂ：

対象の抗体６０ｍｇをＰＢＳ緩衝液６ｍＬ（ｐＨ７．２）（ｃ＝１０ｍｇ／ｍＬ）に入れたものに、アルゴン下に、１０Ｅｑ（４．７８ｍｇ）の中間体Ｑ２を３００μＬのＤＭＳＯに溶かしたものに添加した。その後、反応混合物をＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）により１０ｍＬに希釈し、Ｓｅｐｈａｄｅｘカラム上で精製し、超遠心分離により濃縮し、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）により再希釈し、再び濃縮して、滅菌濾過した。

【０２７０】

【表６】

実施例	抗体	手順	C [mg/mL]	DAR
1x-14495	TPP-14495	B	7.99	6.2
1x-14499	TPP-14499	B	8.95	5.4
1x-14505	TPP-14505	A	1.5	3.8
1x-14509	TPP-14509	B	8.19	5.1
1x-14511	TPP-14511	B	10.37	5.4
1x-14514	TPP-14514	A (1.9 mg AK)	1.26	3.7
1x-10063	TPP-10063	A (5mg AK)	1.69	4.2
1x-40C01	40C01	A (2.5 mg AK)	1.87	5.3

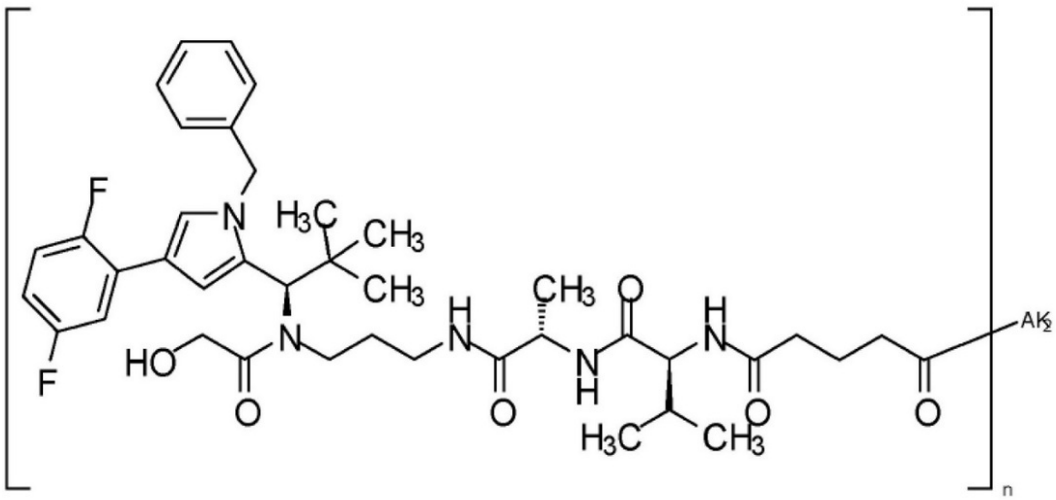
【０２７１】

以下のＡＤＣを比較目的のために調製した：

【０２７２】

【化１７】

基準実施例R1



【０２７３】

この種のＡＤＣは、例えばセツキシマブおよびトラスツズマブを含む様々な抗体と共にＷＯ２０１５／０９６９８２およびＷＯ２０１６／０９６６１０に開示された。比較のために、その中に開示されている前駆体中間体Ｆ１９４を、抗ＣＸＣＲ５の抗体ＴＰＰ－１４４９５、ＴＰＰ－１４４９９、ＴＰＰ－１４５０９、およびＴＰＰ－１４５１１と反応させた。以下のＡＤＣを比較目的のために使用した：

【０２７４】

【表７】

実施例	抗体 TPP-	C [mg/mL]	DAR
Rlx-14495	14495	0.71	1.8
Rlx-14499	14499	3.37	2.4
Rlx-14509	14509	3.06	1.8
Rlx-14511	14511	2.01	3.7

【０２７５】

ＷＯ２０１５／０９６９８２中の基準実施例Ｒ１に関して、そこから形成される代謝産物実施例９８を記載した。これは本明細書中で基準実施例ＲＩＭとして示される。

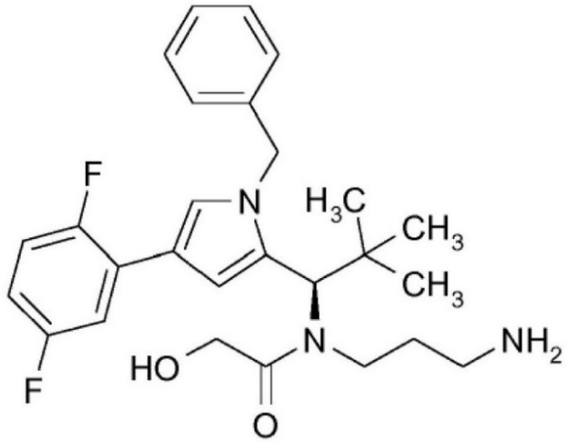
【０２７６】

基準実施例Ｒ１Ｍ：

Ｎ－（３－アミノプロピル）－Ｎ－｛（ＩＲ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－ＩＨ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝－２－ヒドロキシアセトアミド

【０２７７】

【化１８】



【０２７８】

この調製を、実施例９８としてＷＯ２０１５／０９６９８２に記載されるように行った。

【０２７９】

これら基準化合物に関する生物データは、前述の出願に開示されるか、または新たな基準化合物と共に得られるものであり、Ｃ章に記載するものとする。

【０２８０】

Ｃ：生物活性の評価

本発明に係る化合物の生物活性を、後述のアッセイにより実証することができる。

【０２８１】

Ｃ－１ａ　ＡＤＣの細胞毒性活性の判定

ＡＤＣの細胞毒性活性の分析を様々な細胞株に実行する：Ｒｅｃ－１：ヒト・マントル細胞リンパ腫細胞（Ｂ細胞非ホジキンリンパ腫）ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－３００４、標準培地：ＲＰＭＩ　１６４０（Ｇｉｂｃｏ、Ｎｏ．２１８７５－０３４）＋ＧｌｕｔａＭＡＸＩ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　６１８７０）＋１０％ＦＣＳ　ｓｕｐｅｒｉｏｒ（Ｂｉｏｃｈｒｏｍ、Ｎｏ．Ｓ０６１５）。）ＣＸＣＲ５陽性。

【０２８２】

ＨＢＬ－１：ヒトＢ細胞リンパ腫細胞（びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫）ＡＴＴＣＲＬ－ＲＲＩＤ（Ｒｅｓｏｕｒｃｅ　Ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ　Ｉｎｉｔｉａｔｉｖｅ）：ＣＶＣＬ＿４２１３、Ａｂｅ　ｅｔ　ａｌ．　Ｃａｎｃｅｒ　６１：４８３－４９０（１９８８）に最初に記載、Ｐｒｏｆ　Ｌｅｎｚ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｍｕｎｓｔｅｒにより取得；標準培地：ＲＰＭＩ　１６４０（Ｂｉｏｃｈｒｏｍ；＃ＦＧ１２１５、ｓｔａｂ．グルタミン）＋１０％ＦＣＳ（Ｂｉｏｃｈｒｏｍ；＃Ｓ０４１５）、Ｒｅｃ－Ｉ細胞と同様に培養；ＣＸＣＲ５陽性。

【０２８３】

ＮＣＩ－Ｈ２９２：ヒト粘膜表皮の肺癌細胞、ＡＴＣＣ－ＣＲＬ－１８４８、標準培地：ＲＰＭＩ　１６４０（Ｂｉｏｃｈｒｏｍ；＃ＦＧ１２１５、ｓｔａｂ．グルタミン）＋１０％ＦＣＳ（Ｓｉｇｍａ＃Ｆ２４４２）、ＴＷＥＡＫＲ陽性；ＥＧＦＲ陽性。

【０２８４】

Ｏｃｉ－Ｌｙ－１：ヒトＢ細胞リンパ腫細胞（胚中心Ｂ細胞洋亜型に割り当てられる、Ｂ細胞非ホジキンリンパ腫）、ＤＳＭＺ　ＡＣＣ－７２２、標準培地：ＩＭＤＭ（Ｇｉｂｃｏ、Ｎｏ．３１９８０－２２）＋２０％ＦＣＳ　ｓｕｐｅｒｉｏｒ（Ｂｉｏｃｈｒｏｍ、Ｎｏ．Ｓ０６１５）；ＣＸＣＲ５陽性。

【０２８５】

ＳＵ－ＤＨＬ－６：ヒトＢ細胞リンパ腫細胞（びまん性の混合小細胞型および大細胞型として記載されるＢ細胞非ホジキン；細胞株）ＡＴＣＣ－ＣＲＬ－２９５９、標準培地：Ｌ－グルタミン、Ｈｅｐｅｓ、ピルビン酸ナトリウム＋１０％ＦＣＳ（ＥＵ承認の熱不活性化されたＦＢＳ　Ｇｉｂｃｏ　１０５００－０６４）を含むＲＰＭＩ－１６４０高グルコース（ＡＴＣＣ　３０－２００１）、ＣＸＣＲ５陽性。

【０２８６】

それぞれの細胞株に対してＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｉｓｓｕｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ）またはＬｅｉｂｎｉｚ－Ｉｎｓｔｉｔｕｔ　ＤＳＭＺ－Ｄｅｕｔｓｃｈｅ　Ｓａｍｍｌｕｎｇ　ｖｏｎ　Ｍｉｋｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｅｎ　ｕｎｄ　Ｚｅｌｌｋｕｌｔｕｒｅｎ　ＧｍｂＨ（ＤＳＭＺ）に特定されるように、標準分析法に従い細胞培養を行う。

【０２８７】

ＣＴＧアッセイ

細胞を標準分析方法により培養し、成長媒体をＣ－１下に特定した。検査を行うために、懸濁させた細胞を計数し、白色底を伴う９６ウェルの培養皿に蒔いた（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ，ＮＯ１０７７５５８４）（７５μＬ／ウェル；１つのウェル当たりの結果として生じる細胞数は、Ｒｅｃ－１：３０００細胞／ウェル、ＨＢＬ－１およびＯｃｉ－Ｌｙ－１：６０００細胞／ウェルである）、３７℃と５％二酸化炭素でインキュベータ中に培養した。２４時間、２５μＬ培養培地（４倍濃縮）中の抗体－活性薬剤複合体を細胞に適用し、そうすることで3×10^{-7}Ｍ～3×10^{-12}Ｍの抗体－活性薬剤複合体の最終濃度を細胞上で達成した（三連）。その後、細胞を３７℃と５％二酸化炭素でインキュベータ中に培養した。平行プレートにおいて、Ｃｅｌｌ　Ｔｉｔｅｒ　Ｇｌｏｗ（ＣＴＧ）Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ　Ｃｅｌｌ　Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ　Ａｓｓａｙ（Ｐｒｏｍｅｇａ　＃Ｇ７５７３および＃Ｇ７５７１）により活性薬剤処置の開始時（０日目）に細胞活力を判定した。この目的のために、基質１００μＬを細胞バッチ１つごとに添加した。その後、プレートをアルミホイルで覆い、プレートシェーカーにより１８０ｒｐｍで２分間

浸透させ、実験台上で８分間静置させた後、照度計（Ｖｉｃｔｏｒ Ｘ２，Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ）により測定した。基質から生細胞中のＡＴＰ含量を検出し、強度が細胞活力に正比例する発光シグナルを生成した。抗体－活性薬剤複合体でのインキュベーションの７２時間後、これら細胞の活力も、上述のようにＣｅｌｌ Ｔｉｔｅｒ Ｇｌｏｗ（ＣＴＧ）Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ Ｃｅｌｌ Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ Ａｓｓａｙを使用して判定した。測定されたデータから、４つのパラメータフィッテイングに基づいてＤＲＣ（用量反応曲線）Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｓｐｒｅａｄｓｈｅｅｔを使用して、未処理細胞および０日目と比較して増殖阻害のIC_{50}を算出した。ＤＲＣ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｓｐｒｅａｄｓｈｅｅｔは、ＩＤＢＳ Ｅ－ＷｏｒｋＢｏｏｋ Ｓｕｉｔｅプラットフォーム（ＩＤＢＳ：ＩＤ Ｂｕｓｉｎｅｓｓ Ｓｏｌｕｔｉｏｎｓ Ｌｔｄ.，Ｇｕｉｌｄｆｏｒｄ，ＵＫ）に基づくＢａｙｅｒ Ｐｈａｒｍａ ＡＧおよびＢａｙｅｒ Ｂｕｓｉｎｅｓｓ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ開発のＢｉｏｂｏｏｋ Ｓｐｒｅａｄｓｈｅｅｔである。

【０２８８】

ＭＴＴアッセイ

Ｃ－１下で特定された成長培地を用いて標準分析法に従い細胞を培養した。実行のために、細胞をＰＢＳ（Ｂｉｏｃｈｒｏｍ ＡＧ ＃Ｌ２１４３）のＡｃｃｕｔａｓｅ溶液により分離し、小球状にし、培養培地で再懸濁し、計数して、白色底を伴う９６ウェルの培養皿（Ｃｏｓｔａｒ ＃３６１０）（ＮＣＩ Ｈ２９２：２５００細胞／ウェル；１００μＬの全体積における）に蒔いた。その後、細胞を３７℃と５％二酸化炭素でインキュベータ中に培養した。４８時間後に培地を変更した。その後、10^{-5}Ｍ～10^{-13}Ｍの濃度の１０μＬ培養培地中の抗体－活性薬剤複合体を細胞上にピペッティングしてから（三連）、混合物を３７℃と５％二酸化炭素でインキュベータ中に培養した。懸濁液中の細胞を計数し、白色底を伴う９６ウェルの培養皿（Ｃｏｓｔａｒ ＃３６１０）（＃３６１０）（Ｒｅｃ－１：１００μＬの全体積で３０００細胞／ウェル）に蒔いた。３７℃と５％二酸化炭素でのインキュベータ中のインキュベーションの６時間後、培地を変更し、10^{-5}Ｍ～10^{-13}Ｍの濃度の１０μＬ培養培地中の抗体－活性薬剤複合体または代謝産物を９０μＬにおいて細胞上にピペッティングした（三連）。反応混合物を３７℃と５％二酸化炭素でインキュベータ中にインキュベートした。９６時間後、ＭＴＴアッセイ（ＡＴＣＣ，Ｍａｎａｓｓａｓ，Ｖｉｒｇｉｎｉａ，ＵＳＡ，Ｃａｔａｌｏｇ Ｎｏ．３０－１０１０Ｋ）を使用して細胞増殖を検出した。このために、ＭＴＴ試薬を細胞により４時間にわたりインキュベートしてから、洗浄剤を添加することで一晩かけて細胞を溶解した。生じた色を５７０ｎｍで検出した（Ｉｎｆｉｎｉｔｅ Ｍ１０００ ｐｒｏ、Ｔｅｃａｎ）。測定データに基づき、ＤＲＣ（用量反応曲線）を使用して増殖阻害のIC_{50}を算出した。試験物質を用いないが全く同じに処置された細胞による増殖を１００％の値として定める。

【０２８９】

以下の表１ａには、このアッセイからの代表的な例示的実施形態のIC_{50}値を示す：

【０２９０】

【表８】

表 1a

実施例	Rec-1 IC_{50} [M] CTG	HBL1 IC_{50} [M] CTG	Oci-Ly-1 IC_{50} [M] CTG	Rec-1 IC_{50} [M] MTT
1x-14495	1.09E-08	8.30E-08	5.llE-10	n.d.
1x-14499	8.29E-09	5.33E-08	2.80E-10	*2.5E-09*
1x-14505	1.25E-08	9.35E-08	1.96E-10	2.6E-09
1x-14509	3.06E-09	2.71E-08	2.06E-10	8.3E-10
1x-14511	9.80E-09	7.96E-08	4.35E-10	2.9E-09
1x-14514	2.03E-08	1.41E-07	6.26E-10	8.7E-10
1x-10063	1.00E-08	4.54E-08	4.llE-10	2.1E-08
1x-40C01	9.62E-08	>3.00E-07		3.3E-08

【０２９１】

以下の表１ｂに、このアッセイからの基準実施例のＩＣ$_{50}$値を示す。

【０２９２】

【表９】

表 1b

実施例	**Rec-1 IC_{50} [M]** CTG
R1x-14495	>3.00 E-07
R1x-14499	>3.00 E-07
R1x-14509	>3.00 E-07
R1x-14511	>3.00 E-07

【０２９３】

特定された活性データは、本実験セクションに記載される特定された活性薬剤／ｍＡＢ比を伴う例示的実施形態に関連する。この値は他の活性薬剤／ｍＡＢ比において相違する場合がある。このＩＣ$_{50}$値は、様々な独立実験からの平均値、または単一の値である。抗体－活性薬剤複合体の効果はそれぞれのアイソタイプ対照に対して選択的であった。この対照にはそれぞれ適切なリンカーおよびトキソフォアが含まれていた。本発明に係るＡＤＣは全体として、対応する基準実施例よりも明らかに改善された細胞毒性効力を示す。

【０２９４】

Ｃ－１ｂ　選択された実施例を使用するキネシンスピンドルタンパク質ＫＳＰ／Ｅｇ５の

阻害の判定

ヒトキネシンスピンドルタンパク質ＫＳＰ／Ｅｇ５（ｔｅｂｕ－ｂｉｏ／Ｃｙｔｏｓｋｅｌｅｔｏｎ Ｉｎｃ，Ｎｏ．０２７ＥＧ０１－ＸＬ）のモータードメインを、１５ｍＭのＰＩＰＥＳ、ｐＨ６．８（５ｍＭのＭｇＣｌ２および１０ｍＭのＤＴＴ、Ｓｉｇｍａ）において室温で５分間、タキソール５０μｇ／ｍｌ（Ｓｉｇｍａ Ｎｏ．Ｔ７１９１－５ＭＧ）で安定させたマイクロチューブ（ウシまたはブタ、ｔｅｂｕ－ｂｉｏ／Ｃｙｔｏｓｋｅｌｅｔｏｎ Ｉｎｃ）により１０ｎＭの濃度でインキュベートした。新たに調製した混合物を３８４ＭＴＰ（Ｃｏｒｎｉｎｇ由来）へと等分した。この後に、１．０×１０$^{-6}$Ｍ～１．０×１０$^{-13}$Ｍの濃度で調査するべく阻害剤、およびＡＴＰ（最終濃度５００μＭ；Ｓｉｇｍａ）を添加した。混合物を室温で２時間インキュベートした。マラカイトグリーン（Ｂｉｏｍｏｌ）により産生された無機リン酸塩の検出によりＡＴＰアーゼ活性を求めた。試薬を添加した後に室温で５０分間インキュベートし、その後に吸収を６２０ｎｍの波長で検出した。モナストロール（Ｓｉｇｍａ、Ｍ８５１５－１ｍｇ）およびイスピネシブ（ＡｄｏｏＱバイオサイエンスＡ１０４８６）を陽性対照として使用した。投与量効果曲線に関する個々のデータは８倍測定（ｅｉｇｈｔ－ｆｏｌｄ ｄｅｔｅｒｍｉｎａｔｉｏｎ）に由来する。IC_{50}値は２つの独立実験から得た平均値である。１００％対照は、阻害剤で処置されていないサンプルであった。

【０２９５】

以下の表２は、記載されるアッセイおよび対応する細胞毒性データから得た代表的な例示的実施形態のIC_{50}値を要約するものである（ＭＴＴアッセイ）。

【０２９６】

【表１０】

表2

実施例	KSP Assay IC_{50} [M]	NCI-H292 IC_{50} [M] MTT	Rec-1 IC_{50} [M] MTT	Rec-1 IC_{50} [M] CTG
M1	1.59E-09	1.74E-07	3.87E-07	3.09E-07
R1M	1.09E-09	2.70E-10	2.93E-10	2.05E-10

【０２９７】

提示される活性データは、本実験セクションに記載される例示的実施形態に関連する。

【０２９８】

Ｃ－１ｃ 酵素アッセイ

レグマインアッセイ

レグマインアッセイを組み換えヒト酵素と共に行った。レグマイン（ｒｈｌｅｇｕｍａｉｎ）酵素溶液（Ｃａｔａｌｏｇ＃２１９９－ＣＹ，Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）を、５０ｍＭのＮａアセテート緩衝液／１００ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ４．０の中で所望の濃度に希釈し、３７℃で２時間予めインキュベートした。次いで、５０ｍＭのＭＥＳ緩衝液、２５０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ５．０においてレグマインを１ｎｇ／μＬの最終濃度に調整した。各レグマイン切断プロドラッグを調査するために、反応混合物をマイクロ反応容器（０．５ｍｌ、Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ）の中で構成した。このために、５０ｍＭのＭＥＳ緩衝液、２５０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ５．０により基質溶液を所望の濃縮（２倍濃縮）により調整した。酵素反応の反応速度測定のために、まずレグマイン溶液２５０μＬを得て、基質溶液２５０μＬ（最終濃度、単回濃縮；３μＭ）を添加することで酵素反応を開始させた。サンプル５０μＬをそれぞれ様々な時間に取得した。その後直ちに、氷冷メタノール１００μＬをサンプルに添加して酵素反応を止め、－２０℃で凍結させた。選択したサンプリング時間は、０．５、１、３、および２４時間後であった。その後、サンプルをＲＰ－

ＨＰＬＣ分析、およびＬＣ－ＭＳにより検査した。放出されられたトキソフォアの判定により、酵素反応の半分の時間$t_{1/2}$の判定が可能となった。

【０２９９】

レグマイン媒介性の解離を実証する代表的な例として、モデル化合物をレグマインアッセイのための基質として調製した。

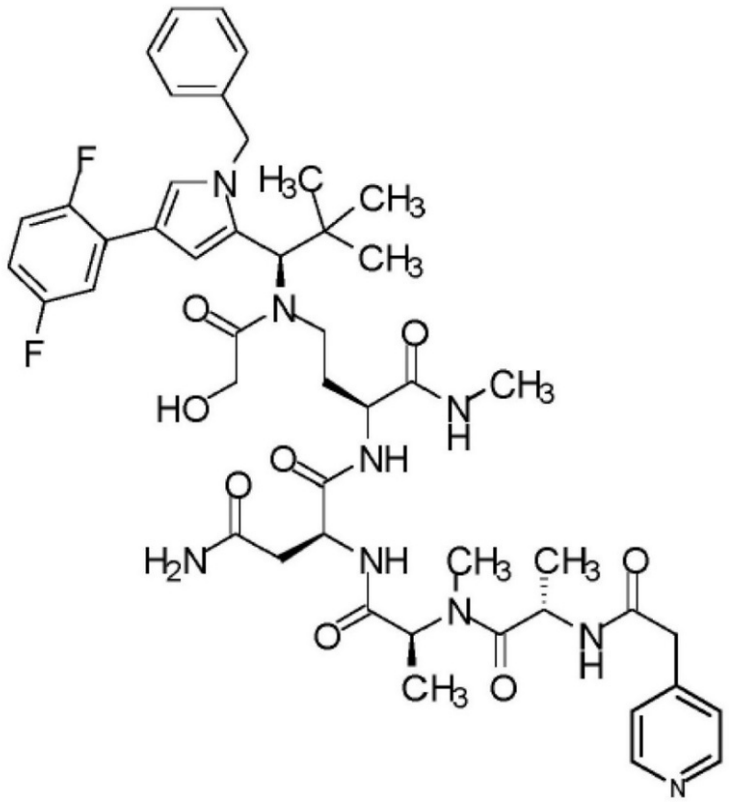
【０３００】

基準実施例のモデル化合物Ａ

Ｎ－（ピリジン－４－イルアセチル）－Ｌ－アラニル－Ｎ－メチル－Ｌ－アラニル－Ｎ１－（２Ｓ）－４－［｛（ＩＲ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－ＩＨ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝（グリコロイル）アミノ］－１－（メチルアミノ）－１－オキソブタン－２－イル］－Ｌ－アスパルトアミド

【０３０１】

【化１９】



【０３０２】

まず、ＷＯ２０１５０９６９８２Ａ１に記載されるように、トリフルオロ酢酸（２Ｓ）－２－アミノ－４－［｛（１Ｒ）－１－［１－ベンジル－４－（２，５－ジフルオロフェニル）－１Ｈ－ピロール－２－イル］－２，２－ジメチルプロピル｝（グリコロイル）アミノ］－Ｎ－メチルブタンアミドを調製した。次いで、ＨＡＴＵおよびＮ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンの存在下でＤＭＦにおいて中間体Ｌ１１１とカップリングすることにより、標題化合物をこの中間体から調製した。

【０３０３】

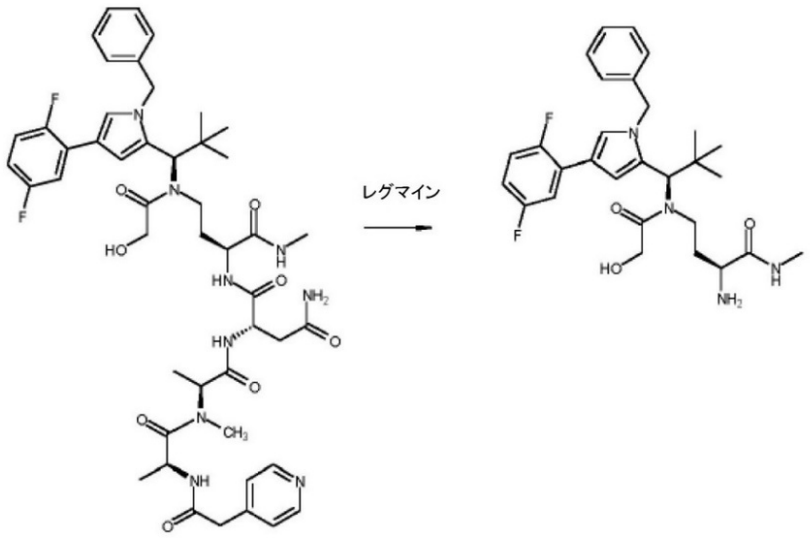
ＬＣ－ＭＳ（方法１）：R_t＝０．８３分；ＭＳ（ＥＳｉｐｏｓ）：ｍ／ｚ＝９１６［Ｍ＋Ｈ］$^+$。

【０３０４】

上述の条件下では、モデル化合物Ａを０．５時間の半減期を有するレグマインから分割した。

【０３０５】

【化２０】



モデル化合物Ａ

【０３０６】

Ｃ－２　懸濁した細胞を用いる内在化アッセイ

内在化は、抗体薬物複合体（ＡＤＣ）による抗原発現癌細胞における細胞毒性ペイロードの特異的かつ効率的な調製を可能とする、重要なプロセスである。このプロセスは、特異抗体およびアイソタイプ対照抗体の蛍光標識により行われる。この目的のために、まず蛍光色素を抗体のリジンに複合させた。この抱合は、ｐＨ８．３でＣｙｐＨｅｒ　５ＥモノＮＨＳエステル（Ｂａｔｃｈ　３５７３９２，ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）の２～１０倍のモル過剰で実施した。カップリングの完了後、反応混合物をゲルクロマトグラフィー（Ｚｅｂａ　Ｓｐｉｎ　Ｄｅｓａｌｔｉｎｇ　Ｃｏｌｕｍｎｓ，４０Ｋ，Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｎｏ．　８７７６８；　ｅｌｕｔｉｏｎ　ｂｕｆｆｅｒ：ＤＵＬＢＥＣＣＯ’Ｓ　ＰＢＳ，Ｓｉｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｎｏ．　Ｄ８５３７）により精製して、過剰な色素を排除してｐＨを調整した。ＶＩＶＡＳＰＩＮ　５００カラム（Ｓａｒｔｏｒｉｕｓ　ｓｔｅｄｉｍ　ｂｉｏｔｅｃ）を使用してタンパク質溶液を濃縮した。抗体の色素負荷の判定を、分光光度分析（ＮａｎｏＤｒｏｐ）、次いで計算（Ｄ／Ｐ＝A_{dye}□$_{protein}$：（A_{280}－０．１６A_{dye}）□$_{dye}$）により行った。

【０３０７】

抗体の色素負荷をここで調査し、アイソタイプ対照はほぼ同じ桁であった。細胞結合アッセイでは、検査を行い、カップリングは抗体の親和性に何の変化も引き起こさなかったことを確認した。

【０３０８】

研究対照の抗原は造血性の懸濁細胞により発現されるため、ＦＡＣＳに基づいた内在化アッセイにおいて内在化を検査した。

【０３０９】

標的発現レベルが様々な細胞を調べた。細胞（５×１０^{4}／ウェル）を、１００μＬの全体積で９６－ＭＴＰ（Ｇｒｅｉｎｅｒ　ｂｉｏ－ｏｎｅ，ＣＥＬＬＳＴＡＲ，６５０１８０，Ｕ底）に蒔いた。１０μｇ／ｍｌの最終濃度で標的特異抗体を添加した後、反応混合物を３７℃で様々な時間（１時間、２時間、６時間の三通りの判定）にわたりインキュベートした。アイソタイプを同一条件下で確認した。平行反応混合物を絶えず保持し、４℃（陰性対照）でインキュベートした。Ｇｕａｖａフローサイトメーター（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）によりＦＡＣＳ解析を行った。蛍光強度の測定により動的評価を行い、ｇｕａｖａＳｏｆｔ　２．６ソフトウェア（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を使用して測定を行った。有

意かつ特異的な内在化を、本明細書に記載される標的特異抗体に対して様々な細胞において検出した。これらの検査では、本発明に係る抗体ＴＰＰ－１４４９５、ＴＰＰ１４４９９、ＴＰＰ－１４５０５、ＴＰＰ－１４５０９、ＴＰＰ－１４５１１、ＴＰＰ－１４５１４の内在化は、ＴＰＰ－１００６３および４０Ｃ０１とは対照的に（ＴＰＰ－１４４９５はＳＵ－ＤＨＬ－６に対し改善を示さなかった）、Ｒｅｃ－１およびＳＵ－ＤＨＬ－６細胞に対して改善された。アイソタイプ対照は内在化を示さなかった。

【０３１０】

ＣＸＣＲ５高発現Ｒｅｃ－１細胞株および適度のＣＸＣＲ５発現ＳＵ－ＤＨＬ６細胞株に対して観察された蛍光強度（ＭＦＩ）を表３に要約する。

【０３１１】

【表１１】

表3

抗体の例	内在化 **Rec-1 [MFI]**	内在化 **SU-DHL-6 [MFI]**
TPP-14495	84	12
TPP-14499	122	55
TPP-14505	135	61
TPP-14509	129	51
TPP-14511	99	24
TPP-14514	134	53
TPP-10063	65	22
40C01	49	13
アイソタイプ対照	2	1

【０３１２】

Ｃ－３　細胞浸透性の判定のためのインビトロ検査

物質の細胞浸透性は、Ｃａｃｏ－２細胞を使用するフラックスアッセイでのインビトロ検査により調べることができる［Ｍ．Ｄ．Ｔｒｏｕｔｍａｎ　ａｎｄ　Ｄ．Ｒ．Ｔｈａｋｅｒ，Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．２０（８），１２１０－１２２４（２００３）］。この目的のために、細胞を１５～１６日間２４ウェルのフィルタプレート上で培養した。浸透を判定するために、ＨＥＰＥＳ緩衝液における試験物質それぞれを細胞の頂側（Ａ）または底側（Ｂ）に配置し、２時間インキュベートした。０時間および２時間後、サンプルをシス区画およびトランス区画から取り出した。逆相カラムを使用するＨＰＬＣ（Ａｇｉｌｅｎｔ　１２００，Ｂｏｂｌｉｎｇｅｎ，Ｇｅｒｍａｎｙ）によりサンプルを分離した。ＨＰＬＣシステムを、ターボイオンスプレーインターフェース上でＡＰＩ　４０００三連四重極質量分析計（ＡＢ　ＳＣＩＥＸ　Ｄｅｕｔｓｃｈｌａｎｄ　ＧｍｂＨ，Ｄａｒｍｓｔａｄｔ，Ｇｅｒｍａｎｙ）につなげた。P_{app}値に基づいて浸透性を評価した。P_{app}値はＳｃｈｗａｂ　ｅｔ　ａｌ．により公開された式を使用して計算したものである［Ｄ．Ｓｃｈｗａｂ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４６，１７１６－１７２５（２００３）］。P_{app}（Ｂ－Ａ）とP_{app}（Ａ－Ｂ）との比（排出比）が＞２または＜０．５であった場合、物質を動的に輸送されると分類した。

【０３１３】

細胞内で放出されるトキソフォアに対して決定的に重要なのは、ＢからＡまでの浸透性［P_{app}（Ｂ－Ａ）］およびP_{app}（Ｂ－Ａ）とP_{app}（Ａ－Ｂ）との比（排出比）である。この浸透性が低くなるほど、Ｃａｃｏ－２細胞の単層による物質の動的輸送と

受動的輸送は遅くなる。そうなると、細胞内放出後に物質はさらに長く細胞内にとどまる。代謝産物のこの細胞内持続性により、生化学物質標的（本明細書では、キネシンスピンドルタンパク質、ＫＳＰ／Ｅｇ５）との相互作用の可能性が高まり、細胞毒性効果の改善が生じる。

【０３１４】

以下の表４は、このアッセイから得た代表的な例示的実施形態の浸透性データを示す：

【０３１５】

【表１２】

表4

例示的実施形態	P_{app} (B-A) [nm/s]	排出比
M1	2.7	1.6
R1M	213	16

【０３１６】

本発明に係るバインダー／活性薬剤複合体から形成可能な代謝産物Ｍ１は、基準実施例のバインダー／活性薬剤複合体から形成可能な基準代謝産物Ｒ１Ｍと比較した場合、細胞からの輸送の著しい減少、および排出比の減少両方を示す。

【０３１７】

Ｃ－４　Ｐ－糖タンパク質（Ｐ－ｇｐ）の基質特性の判定のためのインビトロ検査

多くの腫瘍細胞が活性化合物に対して輸送タンパク質を発現する。この発現には細胞増殖抑止剤に対する抵抗性の発達が付随することが多い。それゆえ、Ｐ－糖タンパク質（Ｐ－ｇｐ）またはＢＣＲＰなど、このような輸送タンパク質の基質でない物質は、活性プロファイルの改善を示す場合がある。

【０３１８】

Ｐ－ｇｐを過剰発現するＬＬＣ－ＰＫｌ細胞（Ｌ－ＭＤＲｌ－細胞）を使用するフラックスアッセイにより、Ｐ－ｇｐに対する物質（ＡＢＣＢｌ）の基質特性を求めた［Ａ．Ｈ．Ｓｃｈｉｎｋｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｃｌｉｎ．　Ｉｎｖｅｓｔ．９６，１６９８－１７０５（１９９５）］。このために、ＬＬＣ－ＰＫｌ－細胞またはＬ－ＭＤＲｌ細胞を３～４日間９６ウェルのフィルタプレート上で培養した。浸透性を判定するために、それぞれの試験物質を、単独で、またはＨＥＰＥＳ緩衝液中の阻害剤（イベルメクチンあるいはベラパミルなどの）の存在下で、細胞の頂側（Ａ）または底側（Ｂ）のいずれかに適用し、２時間インキュベートした。０時間後および２時間後に、サンプルをシス区画およびトランス区画から取得した。逆相カラムを使用してＨＰＬＣによりサンプルを分離した。ＨＰＬＣシステムを、ターボイオンスプレーインターフェース上で、ＡＰＩ３０００（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ａｐｐｌｅｒａ，Ｄａｒｍｓｔａｄｔ，Ｄｅｕｔｓｃｈｌａｎｄ）三連四重極質量分析計に繋げた。P_{app}値に基づいて浸透性を評価した。P_{app}値はＳｃｈｗａｂ　ｅｔ　ａｌ．により公開された式を使用して計算したものである［Ｄ．Ｓｃｈｗａｂ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４６，１７１６－１７２５（２００３）］。P_{app}（Ｂ－Ａ）とP_{app}（Ａ－Ｂ）との排出比が＞２の場合、物質をＰ－ｇｐ基質として分類した。

【０３１９】

Ｐ－ｇｐ基質特性を評価するための追加基準として、Ｌ－ＭＤＲｌ細胞とＬＬＣ－ＰＫｌ細胞との排出比、または阻害剤の存在下あるいは不在下での排出比を互いに比較してもよい。これら値が２倍より多く異なる場合、対象の物質はＰ－ｇｐ基質である。

【０３２０】

Ｃ－５　薬物動態

実施例１ｘ－１００６３、１ｘ－１４４９５、１ｘ－１４４９９、１ｘ－１４５０９、

および１ｘ－１４５１１の薬物動態パラメータをオスのウィスターラットにおいて求める。研究対象の物質を静脈用注射液として投与する。物質の投与前の血液採取を単純化するために、シリコーンカテーテルを各動物の右頚静脈に配する。少なくとも１日イソフルラン麻酔をかけて外科手術行ってから、実験を行う。物質の投与後、最大１６８時間にわたり動物から血液を採取する。血漿を採取するために、サンプルをＥＤＴＡチューブの中で遠心分離し、次の処理まで－２０℃で随意に保管する。クリアランス（ＣＬ）、曲線下面積（ＡＵＣ）、および末端半減期（$t_{1/2}$）などのＡＤＣの薬物動態特徴を、記録された血漿濃度時間曲線から算出する。適切なＥＬＩＳＡ（酵素結合免疫吸着測定法）方法を使用して化合物を定量化した。

【０３２１】

表５では、実施例１ｘ－１００６３、１ｘ－１４４９５、１ｘ－１４４９９、１ｘ－１４５０９、および１ｘ－１４５１１の薬物動態パラメータを要約する。

【０３２２】

【表１３】

表 5

実施例		1x10063	1x-14495	1x-14499	1x-14509	1x-14511
AUC_{norm}	[kg* h / L]	2515	3193	4063	2899	4292
Cl_{matrix}	[mL / h / kg]	0.4	0.31	0.25	0.34	0.23
V_{ss}	[L / kg]	0.13	0.08	0.08	0.09	0.1
$t_{1/2}$	[h]	239	194	229	187	318

【０３２３】

静脈内投与後のこの予備的なラットＰＫ試験では、典型的なＩｇＧプロファイルを実施例すべてに対して観察した。実施例間に大きな差はなかった。

【０３２４】

使用されるＡＤＣの定量のための解析

血漿サンプル中の完全ＩｇＧ濃度としてリガンド結合アッセイ（ＥＬＩＳＡ）によりＡＤＣのＤｅｒ抗体分画を求めた。サンドイッチＥＬＩＳＡフォーマットを使用した。このＥＬＩＳＡは、血漿および腫瘍サンプル中のＡＤＣの濃度を求めるのに適している。ＥＬＩＳＡプレートをヤギ抗ヒトＩｇＧ－Ｆｃ抗体で覆った。このサンプルでのインキュベーション後、プレートを洗浄し、サル抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）抗体およびホースラディッシュペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）からの検出器複合体とインキュベートさせた。追加の洗浄工程の後、ＨＲＰ基質ＯＰＤを添加し、発色現像が４９０ｎｍでの吸収を介して生じた。４つのパラメータ式を使用して既知のＩｇＧ濃度の標準サンプルをフィッティングした。定量化の下限（ＬＬＯＱ）と上限（ＵＬＯＱ）との間で、未知の濃度を補間により求めた。

【０３２５】

Ｃ５ａ：インビトロでの内在化後のＡＤＣ代謝産物の特定

方法の説明：

免疫複合体による内在化検査を行い、細胞内で産生される代謝産物を分析する。このために、適切な腫瘍細胞（３×１０^{5}／ウェル）を６ウェルのプレートに蒔き、一晩（３７℃、５％CO_2）インキュベートした。研究対象の物質１０μｇ／ｍＬ（６６ｎＭ）により処置を行う。内在化を３７℃と５％CO_2で実施した。詳しい分析のために様々な時点（０、４、２４、４８、７２時間）で細胞サンプルを取得する。まず、上清（およそ５ｍＬ）を採取し、次いで遠心分離（２分、ＲＴ、１０００ｒｐｍのＨｅｒａｅｕｓ　Ｖａｒｉｏｆｕｇｅ　３．０Ｒ）を行い、－８０℃で保管する。細胞をＰＢＳで洗浄し、アキュターゼと取得した細胞数により分離する。再び洗浄した後、規定数の細胞（２×１０^{5}）

を溶解緩衝液１００ｍＬ（Ｍａｍｍａｌｉａｎ Ｃｅｌｌ Ｌｙｓｉｓ Ｋｉｔ（Ｓｉｇｍａ ＭＣＬｌ））と混合し、タンパク質ＬｏＢｉｎｄチューブ（Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ Ｃａｔ．Ｎｏ．００３０ １０８．１１６）の中で連続振盪によりインキュベートする。インキュベーション後、溶解物を遠心分離し（１０分、４℃、１２０００ｇ、Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ ５４１５Ｒ）、上清を採取した。得られた上清を－８０℃で保管する。その後、サンプルをすべて以下のように分析する。

【０３２６】

培養液上清／細胞溶解物５０μＬを後処理するために、これを沈殿試液１５０μＬ（メタノール）と混合し、１０秒間振盪させる。沈殿試液には、適切な濃度（一般的に２０～１００μｇ／Ｌの範囲）の内部標準（ＩＳＴＤ）が含まれている。１８８１ｇで１０分間の遠心分離後、上清をオートサンプラーバイアルに移し、溶離液に適した緩衝液３００μＬで構成して、１８８１ｇでさらに１０分間遠心分離する。

【０３２７】

最後に、細胞溶解物および上清サンプルを、ＡＢ ＳＣＩＥＸ Ｄｅｕｔｓｃｈｌａｎｄ ＧｍｂＨからのＨＰＬＣ連結ＡＰＩ４５００三連四重極質量分析計を用いて分析した。

【０３２８】

較正のために、適切な濃度（０．１～１０００μｇ／Ｌ）でブランク溶解物またはブランク上清を添加する。検出限界（ＬＬＯＱ）はおよそ０．２μｇ／Ｌである。

【０３２９】

妥当性を検査するための品質対照は、４および４０μｇ／Ｌを含む。

【０３３０】

Ｃ５ｂ：インビボでのＡＤＣ代謝産物の特定

３～３０ｍｇ／ｋｇの様々なＡＤＣの静脈投与後、ＡＤＣの血漿および腫瘍濃度のほか、潜在的に生じる代謝産物を測定し、かつ、クリアランス（ＣＬ）、曲線下面積（ＡＵＣ）、および半減期（$t_{1/2}$）などの薬物動態パラメータを算出することができる。

【０３３１】

生じる可能性のある代謝産物の定量のための分析

血漿、腫瘍、肝臓、および腎臓中の化合物の測定を、三連四重極質量分析計（ＭＳ）に連結された高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）を用いて、通常はメタノールでタンパク質を沈殿させた後に行う。

【０３３２】

血漿５０μＬの後処理のために、これを沈殿試薬（通常はメタノール）１５０μＬと混合し、１０秒間振盪させる。沈殿試薬には、好適な濃度で（通常は、２０～１００μｇ／Ｌの範囲）内部標準（ＩＳＴＤ）が含まれている。１８８１ｇで１０分間遠心分離した後、上清をオートサンプラーバイアルに移し、溶離液に適した緩衝液３００μＬで構成し、再度振盪する。

【０３３３】

腫瘍または器官材料の後処理では、それぞれの材料を３～２０倍体積の抽出緩衝液と混合する。抽出緩衝液は、組織タンパク質抽出試薬５０ｍＬ（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）、完全プロテアーゼ阻害剤カクテル（Ｒｏｃｈｅ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ ＧｍｂＨ，Ｍａｎｎｈｅｉｍ，Ｇｅｒｍａｎｙ）の２つのペレット、および最終濃度１ｍＭでのフェニルメチルスルホニルフルオリド（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ． Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）を含む。組織の種類（硬：腫瘍；軟：肝臓、腎臓）に基づき、Ｐｒｅｓｃｅｌｌｙｓ ２４溶解および均質化システム（Ｂｅｒｔｉｎ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）の溶解と均質化のプログラムを選択する（ｗｗｗ．ｐｒｅｓｃｅｌｌｙｓ．ｃｏｍ）。均質化サンプルを４℃で一晩静置した。ホモジネート（ｈｏｍｏｇｅｎｉｚａｔｅ）５０μＬをオートサンプラーバイアルに移し、ＩＳＴＤを含むメタノール１５０μＬで構成し、１０秒間振盪し、５分間静置する。酢酸アンモニウム緩衝液３００μＬ（ｐＨ６．８）を添加し、短時間振盪した後、サンプルを１８８１ｇで１０分間遠心分離する。

【０３３４】
血漿サンプルの較正では血漿を添加し、組織サンプルでは濃度０．６～１０００μｇ／Ｌのブランクマトリクスを添加する。サンプルの種類または組織の種類に応じて、検出限界（ＬＯＱ）は１～２０μｇ／Ｌである。
【０３３５】
最後に、血漿およびマトリクスサンプルを、ＡＢ　ＳＣＩＥＸ　Ｄｅｕｔｓｃｈｌａｎｄ　ＧｍｂＨからのＨＰＬＣ連結ＡＰＩ６５００三連四重極質量分析計を用いて分析する。
【０３３６】
妥当性を調べるための品質対照は、４、４０、および４００μｇ／Ｌを含む。
【０３３７】
Ｃ－６：インビボでの活性試験
本発明に係る複合体の活性を、例えば異種移植モデルを用いて検査した。当業者であれば、本発明に係る化合物の活性を検査可能な先行技術の方法について熟知している（例えば、ＷＯ２００５／０８１７１１；Ｐｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．２００９　Ｍａｒ　１５；６９（６）：２３５８－６４参照）。例えば、げっ歯類（例えばマウス）に、バインダーの標的分子を発現する腫瘍細胞系が移植される。次に、本発明に係る複合体、アイソタイプ抗体対照複合体、対照抗体または等張性生理食塩水を移植動物に投与した。投与は１回または複数回行った。数日のインキュベーション時間後、腫瘍の大きさを判定して複合体で処置した動物と対照群とを比較した。複合体で処置した動物の腫瘍の方が小さかった。
【０３３８】
Ｃ－６ａ．マウスにおける増殖阻害／実験腫瘍の退行
抗体－活性化合物複合体に対する抗原を発現するヒト腫瘍細胞を、免疫抑制マウス、例えばＮＭＲｉヌードマウスまたはＳＣＩＤマウスの側腹部に皮下接種する。１００万～１０００万個の細胞を細胞培養液から分離し、遠心分離し、培地またマトリゲルで再懸濁させる。細胞懸濁液をマウスの皮下に注射する。
【０３３９】
数日以内にこの部位にて腫瘍が増殖し始める。腫瘍サイズおよそ１００mm^3で腫瘍が確立された後に、処置を開始する。比較的大きな腫瘍に対する効果を調べるため、腫瘍サイズが２００～５００mm^3の場合にのみ処置を開始することも可能である。
【０３４０】
ＡＤＣによる処置は、マウスの尾静脈に対し静脈（ｉ．ｖ．）経路を介して行う。ＡＤＣを５ｍＬ／ｋｇの体積で投与する。
【０３４１】
処置スケジュールは、抗体の薬物動態に左右される。本発明に係る複合体により、標準の処置スケジュールを１～３週間にわたり週に１回実施する。迅速な評価のために、単回処置のスケジュールが適切な場合もある。しかし、処置をさらに継続するか、または、後の時点で３処置日を伴う第２のサイクルを実施してもよい。
【０３４２】
標準方法として、処置群当たり動物１０～１２匹を用いる。活性物質を投与される群に加えて、同じスケジュールに従い、対照群として１つの群を緩衝液のみで処置する。
【０３４３】
実験中、腫瘍面積を、カリパスを用いて２次元（長さ／幅）で定期的に測定する。この腫瘍面積を（長さ×幅^2）／２として求める。処置群と対照群との平均腫瘍体積の比を、（％Ｔ／Ｃ＝［処置群の平均腫瘍体積／対照群の平均腫瘍体積］×１００）で記載される％Ｔ／Ｃ体積と特定する。
【０３４４】
実験中のすべての群が処置の終了後に同時に止められる場合、腫瘍を除去して計量することができる。処置群と対照群との平均腫瘍重量の比を、％Ｔ／Ｃ重量（％Ｔ／Ｃ＝［処

置群の平均腫瘍重量／対照群の平均腫瘍重量］×１００）と特定する。

【０３４５】

奏効率を追加の有効性エンドポイントとして評価する。これは、処置後の完全かつ部分的な腫瘍退行（特定の日に、腫瘍のサイズが処置の開始時よりも少なくとも３０％小さくなる）を伴うマウスの数に相当する。

【０３４６】

Ｃ－６ｂ．様々な腫瘍モデルにおける本発明に係るＣＸＣＲ５　ＡＤＣの活性

腫瘍細胞（例えばＲＥＣ－１、ＯＣＩ－ＬＹ１）を、メスのＳＣＩＤマウス（Ｊａｎｖｉｅｒ）の側腹部に皮下移植した。最大２８０ｍｍ^{3}の平均腫瘍サイズ／群では、ＣＸＣＲ５－ＡＤＣによる静脈内処置を行った。処置後、さらに一部の症例に対して腫瘍増殖を随意に追跡した。

【０３４７】

本発明に係るＣＸＣＲ５－ＡＤＣによる処置によって、対照群および複合アイソタイプ対照抗体に比べて腫瘍増殖は著しく、時には長時間持続して阻害された。表７は、処置の開始後に算出される、試験の終わりの各日に腫瘍体積を介して求められたＴ／Ｃ値を示す。

【０３４８】

【表１４】

表 7:

腫瘍モデル	実施例	用量	投与スケジュール	%T/C 容量[a]	奏効率[b]
REC-1 (ヒトマントル細胞リンパ腫)	lx-14495	10 mg/kg	QDxl	3	10/10
	lx-14499			4	9/10
	lx-14509			4	9/10
	lx-14511			4	10/10
OCI-LY1 (ヒト DLBCL)	lx-14495	10 mg/kg	QDxl	3	10/10
	lx-14499			3	10/10
	lx-14509			3	10/10
	lx-14511			3	10/10

a) %T/C容量。REC-1では処置の11日後、OCI-LY-1では処置の13日後。

b) 奏効率。REC-1では処置の45日後、OCI-LY-1では処置の41日後。

調べたすべてのCXCR5-ADCは単回処置後に非常に高い効果を呈した。T/C<10%であり、マウスの90～100%に長期の腫瘍退行が見られる。

【図１－１】

SEQ ID NO:1
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTRYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTQRRELGATNWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:2
NYWMS

SEQ ID NO:3
AISGSGGSTRYADSVKG

SEQ ID NO:4
QRRELGATN

SEQ ID NO:5
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:6
TGSSSNIGAGYVVH

SEQ ID NO:7
SNNQRPS

SEQ ID NO:8
QSYDSSLSGVV

SEQ ID NO:9
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTRYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTQRRELGATNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:10
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO:11
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWGSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTVQRRELGATNWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:12
NYWGS

SEQ ID NO:13
AISGSGGSTYYADSVKG

【図１－２】

SEQ ID NO:14
LRRELGATN

SEQ ID NO:15
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:16
TGSSSNIGAGYVVH

SEQ ID NO:17
SNNQRPS

SEQ ID NO:18
QSYDSSLSGVV

SEQ ID NO:19
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWGSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTVLRRELGATNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:20
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO:21
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNNWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNVQRRELGATNWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:22
NNWMS

SEQ ID NO:23
AISGSGGSTYYADSVKG

SEQ ID NO:24
QRRELGATN

SEQ ID NO:25
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:26
TGSSSNIGAGYVVH

SEQ ID NO:27
SNNQRPS

SEQ ID NO:28

【図１－３】

QSYDSSLSGVV

SEQ ID NO:29
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNNWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNVQRRELGATNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:30
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO:31
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTVQRRELGATNWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:32
NYWMS

SEQ ID NO:33
AISGSGGSTYYADSVKG

SEQ ID NO:34
QRRELGATN

SEQ ID NO:35
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:36
TGSSSNIGAGYVVH

SEQ ID NO:37
SNNQRPS

SEQ ID NO:38
QSYDSSLSGVV

SEQ ID NO:39
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTVQRRELGATNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:40
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

【図１－４】

SEQ ID NO:41
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTQRRELGATNWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:42
NYWMS

SEQ ID NO:43
AISGSGGTTYYADSVKG

SEQ ID NO:44
QRRELGATN

SEQ ID NO:45
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:46
TGSSSNIGAGYVVH

SEQ ID NO:47
SNNQRPS

SEQ ID NO:48
QSYDSSLSGVV

SEQ ID NO:49
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTQRRELGATNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:50
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO:51
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNNWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTVQRRELGATNWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:52
NNWMS

SEQ ID NO:53
AISGSGGSTYYADSVKG

SEQ ID NO:54
QRRELGATN

SEQ ID NO:55

【図１－５】

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:56
TGSSSNIGAGYVVH

SEQ ID NO:57
SNNQRPS

SEQ ID NO:58
QSYDSSLSGVV

SEQ ID NO:59
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNNWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTVQRRELGATNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:60
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO:61
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTLRRELGATNWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:62
NYWMS

SEQ ID NO:63
AISGSGGSTYYADSVKG

SEQ ID NO:64
LRRELGATN

SEQ ID NO:65
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:66
TGSSSNIGAGYVVH

SEQ ID NO:67
SNNQRPS

SEQ ID NO:68
QSYDSSLSGVV

SEQ ID NO:69
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTLRRELGATNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV

【図１－６】

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:70
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO:71
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYVMWWVRQAPGKGLEWVSGISPSGGVTRYAASVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIRKEMTTISYFFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:72
RYVMV

SEQ ID NO:73
GISPSGGVTRYAASVKG

SEQ ID NO:74
IRKEMTTISYFFDY

SEQ ID NO:75
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVDAYVAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTL
TISSLQPEDVATYYCQSHNAAVVTFGQGTRLEIK

SEQ ID NO:76
RASQGVDAYVA

SEQ ID NO:77
STSTLAS

SEQ ID NO:78
QSHNAAVVT

SEQ ID NO:79
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYVMWWVRQAPGKGLEWVSGISPSGGVTRYAASVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIRKEMTTISYFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:80
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVDAYVAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTL
TISSLQPEDVATYYCQSHNAAVVTFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:81
MNYPLTLEMDLENLEDLFWELDRLDNYNDTSLVENHLCPATEGPLMASFKAVFVPVAYSLIFLLGVIGNVLVLVI
LERHRQTRSSTETFLFHLAVADLLLVFILPFAVAEGSVGWVLGTFLCKTVIALHKVNFYCSSLLLACIAVDRYLAI
VHAVHAYRHRRLLSIHITCGTIWLVGFLLALPEILFAKVSQGHHNNSLPRCTFSQENQAETHAWFTSRFLYHVA
GFLLPMLVMGWCYVGVVHRLRQARRPQRQKAVRVAILVTSIFFLCWSPYHIVIFLDTLARLKAVDNTCKLNG
SLPVAITMCEFLGLAHCCLNPMLYTFAGVKFRSDLSRLLTKLGCTGPASLCQLFPSWRRSSLSESENATSLTTF

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/065517

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K47/65 A61K47/68 A61P35/00 C07K16/28
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 A61P C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2018/114578 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]; BAYER AG [DE]) 28 June 2018 (2018-06-28) the whole document examples 2,3,5,6,8,9	1-23
X	WO 2016/207089 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]) 29 December 2016 (2016-12-29) claims 1,20; example 29 Seite 174, Punkt (45)	1-23
X	WO 2017/162663 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]) 28 September 2017 (2017-09-28) claims 1,9,10,35; example 24 page 83, lines 7-20	1-23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"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	Date of mailing of the international search report
5 September 2019	19/09/2019

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Mooren, Nicolai

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2019/065517

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018114578 A1	28-06-2018	AR 110418 A1	27-03-2019
		AU 2017380871 A1	11-07-2019
		CA 3047489 A1	28-06-2018
		TW 201827086 A	01-08-2018
		WO 2018114578 A1	28-06-2018
WO 2016207089 A1	29-12-2016	AU 2016282723 A1	18-01-2018
		BR 112017027813 A2	28-08-2018
		CA 2990076 A1	29-12-2016
		CN 108025084 A	11-05-2018
		EP 3310440 A1	25-04-2018
		JP 2018524321 A	30-08-2018
		KR 20180018808 A	21-02-2018
		PE 6102018 A1	09-04-2018
		RU 2018102153 A	25-07-2019
		SG 11201710639Y A	30-01-2018
		TW 201703798 A	01-02-2017
		US 2018169256 A1	21-06-2018
		WO 2016207089 A1	29-12-2016
WO 2017162663 A1	28-09-2017	AU 2017236431 A1	27-09-2018
		BR 112018069483 A2	30-07-2019
		CA 3018630 A1	28-09-2017
		CL 2018002699 A1	18-01-2019
		CN 108883195 A	23-11-2018
		CO 2018010026 A2	28-09-2018
		EP 3432934 A1	30-01-2019
		JP 2019512517 A	16-05-2019
		KR 20180123047 A	14-11-2018
		PE 18522018 A1	03-12-2018
		SG 11201808167V A	30-10-2018
		TW 201735954 A	16-10-2017
		US 2019077752 A1	14-03-2019
		UY 37168 A	31-10-2017
		WO 2017162663 A1	28-09-2017

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2019/065517

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. A61K47/65 A61K47/68 A61P35/00 C07K16/28
ADD.

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
A61K A61P C07K

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X,P	WO 2018/114578 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]; BAYER AG [DE]) 28. Juni 2018 (2018-06-28) das ganze Dokument Beispiele 2,3,5,6,8,9	1-23
X	WO 2016/207089 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]) 29. Dezember 2016 (2016-12-29) Ansprüche 1,20; Beispiel 29 Seite 174, Punkt (45)	1-23
X	WO 2017/162663 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]) 28. September 2017 (2017-09-28) Ansprüche 1,9,10,35; Beispiel 24 Seite 83, Zeilen 7-20	1-23

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen ☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
5. September 2019	19/09/2019

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Mooren, Nicolai

1

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (April 2005)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2019/065517

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2018114578 A1	28-06-2018	AR 110418 A1	27-03-2019
		AU 2017380871 A1	11-07-2019
		CA 3047489 A1	28-06-2018
		TW 201827086 A	01-08-2018
		WO 2018114578 A1	28-06-2018
WO 2016207089 A1	29-12-2016	AU 2016282723 A1	18-01-2018
		BR 112017027813 A2	28-08-2018
		CA 2990076 A1	29-12-2016
		CN 108025084 A	11-05-2018
		EP 3310440 A1	25-04-2018
		JP 2018524321 A	30-08-2018
		KR 20180018808 A	21-02-2018
		PE 6102018 A1	09-04-2018
		RU 2018102153 A	25-07-2019
		SG 11201710639Y A	30-01-2018
		TW 201703798 A	01-02-2017
		US 2018169256 A1	21-06-2018
		WO 2016207089 A1	29-12-2016
WO 2017162663 A1	28-09-2017	AU 2017236431 A1	27-09-2018
		BR 112018069483 A2	30-07-2019
		CA 3018630 A1	28-09-2017
		CL 2018002699 A1	18-01-2019
		CN 108883195 A	23-11-2018
		CO 2018010026 A2	28-09-2018
		EP 3432934 A1	30-01-2019
		JP 2019512517 A	16-05-2019
		KR 20180123047 A	14-11-2018
		PE 18522018 A1	03-12-2018
		SG 11201808167V A	30-10-2018
		TW 201735954 A	16-10-2017
		US 2019077752 A1	14-03-2019
		UY 37168 A	31-10-2017
		WO 2017162663 A1	28-09-2017

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I		テーマコード（参考）
	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｌ
	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｔ

(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,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,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,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,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,JO,JP,KE,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,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(72)発明者　ステルテールートヴィッヒ，ベアトリクス
ドイツ　４２４８９　ヴュルフラート　ゲルツハイデ　１０エフ
(72)発明者　ルジューヌ，パスカル
ドイツ　１３４６９　ベルリン　アルプタールヴェグ　２５
(72)発明者　ジョリセン，ハンナ
ドイツ　４２５７９　ハイリゲンハウス　ボルクムシュトラーセ　３１
(72)発明者　マーラー，クリストフ
ドイツ　４２１１１　ヴッパータール　クラニヒヴェグ　１１
(72)発明者　グレーベン，シモーネ
ドイツ　４１５４１　ドルマーゲン　アム・シュネッケナッカー　４５
(72)発明者　マーシュ，ステファン
ドイツ　５０７３３　ケルン　クライネ・ハートヴィヒシュトラーセ　２５
(72)発明者　ハンマー，ステファニー
ドイツ　１０２４７　ベルリン　ノイエ・ヴェルト　１２

Ｆターム(参考)　4C076 AA95 EE41 EE59 FF67 FF68
4C085 AA13 AA14 AA26 BB01 BB11 CC21 DD62 EE01 GG01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 BA51 BA72 DA76 EA20
FA10 GA25