

(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2019-524687

(P2019-524687A)

(43) 公表日 令和1年9月5日(2019.9.5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	4 C 0 7 6
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	4 H 0 4 5
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/18	
C 0 7 K 16/10 (2006.01)	C 0 7 K 16/10 Z N A	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 82 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2018-568875 (P2018-568875)	(71) 出願人	513032275
(86) (22) 出願日	平成29年6月30日 (2017. 6. 30)		グラクソスミスクライン、インテレクト
(85) 翻訳文提出日	平成31年2月28日 (2019. 2. 28)		アル、プロパティ、ディベロップメント
(86) 国際出願番号	PCT/IB2017/053979		、リミテッド
(87) 国際公開番号	W02018/002902		GLAXOSMITHKLINE INT
(87) 国際公開日	平成30年1月4日 (2018. 1. 4)		ELLECTUAL PROPERTY
(31) 優先権主張番号	62/357, 410		DEVELOPMENT LIMITED
(32) 優先日	平成28年7月1日 (2016. 7. 1)		イギリス国ミドルセックス、ブレントフォ
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		ード、グレート、ウエスト、ロード、9 8
		(74) 代理人	100091982
			弁理士 永井 浩之
		(74) 代理人	100091487
			弁理士 中村 行孝
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 抗体薬物複合体およびこれを用いた治療方法

(57) 【要約】

本発明は、式 (I) :

 $A b - [L - D_n]_x \quad (I)$

式中:

A b は、広域中和抗H I V抗体を含んでなり;

L は、前記広域中和抗H I V抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり;

D は、前記リンカー分子Lと共有結合したH I V治療用化合物を含んでなる1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の広域中和抗H I V抗体A bはH I Vエンベロップ糖タンパク質と特異的に結合し、前記1つ以上の薬物DはH I Vエンベロップ糖タンパク質と特異的に結合し;

n は、1 ~ 4 から選択され; および

x は、1 ~ 1 2 から選択される、
の抗体薬物複合体を開示する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) :

A b - L - D (I)

式中 :

A b は、H I V エンベロープ糖タンパク質に対する結合親和性を有する広域中和抗体を含んでなり ;

L は、前記広域中和抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり ; および

D は、前記リンカー分子と共有結合した 1 つ以上の薬物を含んでなり、前記 1 つ以上の薬物は前記 H I V エンベロープ糖タンパク質と結合することができる、
の抗体薬物複合体。

10

【請求項 2】

前記広域中和抗体が C D 4 結合部位と結合する、請求項 1 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 3】

前記広域中和抗体が、V R C 0 1、V R C 0 1 L S、V R C 0 7、V R C 0 7 - 5 2 3、3 B N C 1 1 7、N I H 4 5 - 4 6、P G V 0 4、b 1 2、C H 3 1、および C H 1 0 3 からなる群から選択される、請求項 2 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 4】

前記広域中和抗体が V R C 0 1 である、請求項 2 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 5】

前記広域中和抗体が V R C 0 1 L S である、請求項 2 に記載の抗体薬物複合体。

20

【請求項 6】

前記広域中和抗体が V R C 0 7 である、請求項 2 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 7】

前記広域中和抗体が g p 1 2 0 - g p 4 1 接合部分と結合する、請求項 1 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 8】

前記広域中和抗体が、8 A N C 1 9 5、3 5 O 2 2、および P G T 1 5 1 からなる群から選択される、請求項 7 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 9】

前記広域中和抗体が、g p 4 1 膜貫通部位近傍 (M P E R) と結合する、請求項 1 に記載の抗体薬物複合体。

30

【請求項 1 0】

前記広域中和抗体が、4 E 1 0、1 0 E 8、2 F 5、Z 1 3 e 1 からなる群から選択される、請求項 9 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 1 1】

前記広域中和抗体が 1 0 E 8 である、請求項 1 0 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 1 2】

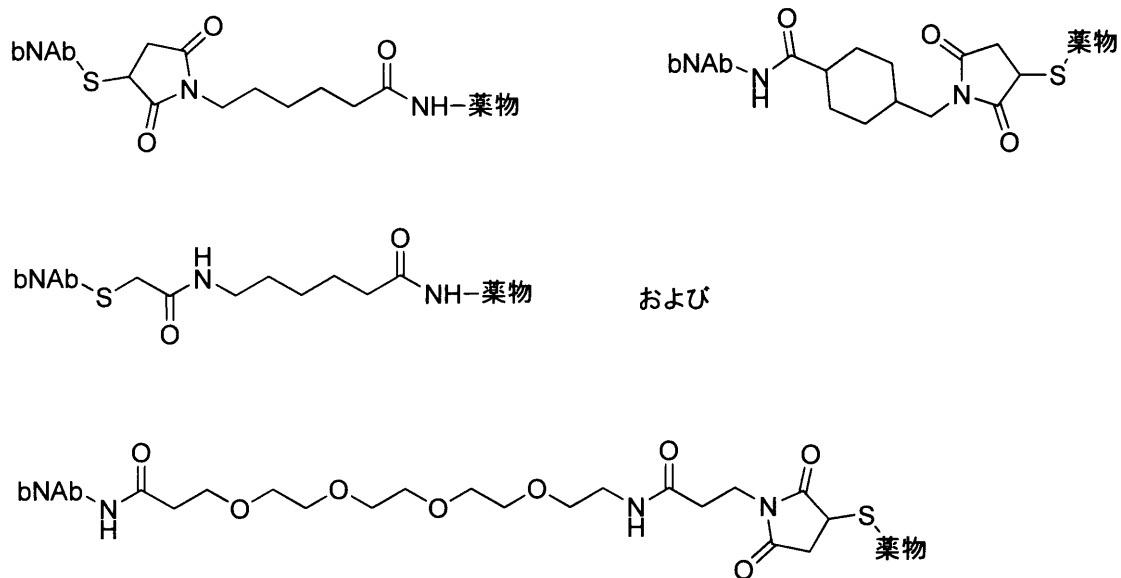
前記リンカー分子が、開裂できないリンカーである、請求項 1 に記載の抗体薬物複合体。

40

【請求項 1 3】

前記開裂できないリンカーが、

【化 1】



10

および

からかる群から選択される前記抗体薬物複合体中に存在する、請求項 1 2 に記載の抗体薬物複合体。

20

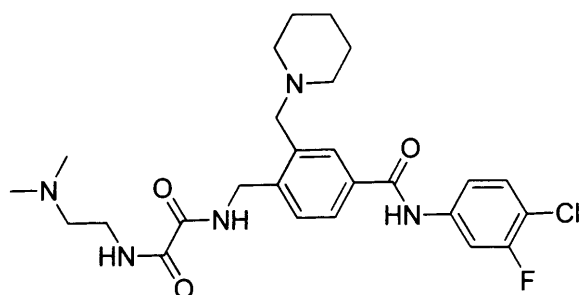
【請求項 14】

前記 1 つ以上の薬物が、付着阻害剤である、請求項 1 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 15】

前記 1 つ以上の薬物が、

【化 2】



30

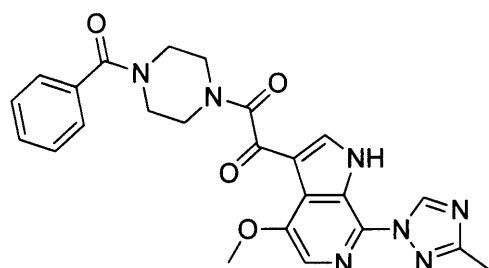
からなる群から選択される、請求項 1 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 16】

前記 1 つ以上の薬物が、式：

40

【化 3】



50

の化合物である、請求項 1 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 17】

前記 1 つ以上の薬物が、ペプチド：

A c - T y r - T h r - S e r - L e u - I l e - H i s - S e r - L e u - I l e -
G l u - G l u - S e r - G l n - A s n - G l n - G l n - G l u - L y s - A s n -
G l u - G l n - G l u - L e u - L e u - G l u L e u - A s p - L y s - T r p - A
l a - S e r - L e u - T r p - A s n - T r p - P h e - N H ₂

である、請求項 1 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 18】

請求項 1 ～ 17 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体、および薬剂的に許容可能な賦形剤を含んでなる、医薬組成物。

10

【請求項 19】

1 つ以上の追加の薬剤を含んでなる、請求項 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

請求項 1 ～ 17 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体を、対象に投与することを含む前記対象の H I V 感染症の治療方法。

【請求項 21】

請求項 18 または 19 に記載の医薬製剤を、対象に投与することを含む前記対象の H I V 感染症の治療方法。

【請求項 22】

20

式 (I)：

A b - [L - D _n] _x (I)

式中：

A b は、広域中和抗 H I V 抗体を含んでなり；

L は、前記広域中和抗 H I V 抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり；

D は、前記リンカー分子 L と共有結合した H I V 治療用化合物を含んでなる 1 つ以上の薬物を含んでなり、前記 1 つ以上の広域中和抗 H I V 抗体 A b は H I V エンベロープ糖タンパク質と特異的に結合し、前記 1 つ以上の薬物 D は H I V エンベロープ糖タンパク質と特異的に結合し；

n は、1 ～ 4 から選択され；および

30

x は、1 ～ 12 から選択される、

の抗体薬物複合体。

【請求項 23】

前記広域中和抗体 A b が、g p 160、g p 120 および g p 41 からなる群から選択される H I V エンベロープ糖タンパク質と結合する、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 24】

前記広域中和抗体 A b が、H I V エンベロープ糖タンパク質 g p 120 と結合する、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 25】

40

前記広域中和抗体 A b が、H I V エンベロープ糖タンパク質 g p 41 と結合する、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 26】

前記広域中和抗体 A b が、g p 120 / g p 41 接合部分において H I V エンベロープ糖タンパク質と結合する、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 27】

前記広域中和抗体 A b が、H I V エンベロープ糖タンパク質 g p 120 と結合する、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 28】

前記広域中和抗体 A b が、C D 4 結合部位において H I V エンベロープ糖タンパク質と

50

結合する、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 29】

前記広域中和抗体が、gp41 膜貫通部位近傍 (MPER) と結合する、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 30】

前記広域中和抗体が、2G12、2F5、3BC176、3BNC60、3BNC117、4E10、8ANC131、8ANC195、10E8、10-1074、12A12、35O22、b12、B2530、CH01-04、CH103、CH31、HJ16、M66、N6、N6-LS、NIH45-46、PG9、PG16、PGDM1400、PGT121、PGT128、PGT135、PGT141-PGT145、PGT151、PGV04、VRC01、VRC01-LS、VRC07、VRC07-523、VRC07-LS、および Z13 からなる群から選択される、請求項 1～28 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体。

10

【請求項 31】

前記広域中和抗体 Ab が、VRC01、VRC01-LS、VRC07、VRC07-523、VRC07-LS、3BNC117、NIH45-46、PGV04、b12、CH31、CH103、N6 および N6-LS からなる群から選択される、請求項 23 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 32】

前記広域中和抗体が VRC01 である、請求項 23 に記載の抗体薬物複合体。

20

【請求項 33】

前記広域中和抗体が VRC01-LS である、請求項 23 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 34】

前記広域中和抗体が VRC07 である、請求項 23 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 35】

前記広域中和抗体が、8ANC195、35O22、および PGT151 からなる群から選択される、請求項 30 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 36】

前記広域中和抗体が、4E10、10E8、2F5、Z13e1 からなる群から選択される、請求項 30 に記載の抗体薬物複合体。

30

【請求項 37】

前記広域中和抗体が、N6 である、請求項 30 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 38】

前記広域中和抗体が、次の 6 つの CDR: CDRH1 (配列番号 3)、CDRH2 (配列番号 4)、CDRH3 (配列番号 5)、CDRL1 (配列番号 6)、CDRL2 (配列番号 7) および CDRL3 (配列番号 8) を含んでなる、請求項 32 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 39】

前記広域中和抗体が、配列番号 9 と少なくとも 90% の配列同一性を有する重鎖および配列番号 10 と少なくとも 90% の配列同一性を有する軽鎖を含んでなる、請求項 32 に記載の抗体薬物複合体。

40

【請求項 40】

前記広域中和抗体が、配列番号 9 の重鎖可変領域および配列番号 10 の軽鎖可変領域を含んでなる、請求項 32 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 41】

前記広域中和抗体が、重鎖の 428 位におけるロイシン残基および重鎖の 434 位におけるセリン残基を含んでなる、請求項 32、および 38～40 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 42】

前記広域中和抗体が、配列番号 11 の重鎖を含んでなり、必要に応じて配列番号 13 の

50

軽鎖を含んでなる、請求項 32 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 43】

前記広域中和抗体が、次の 6 つの CDR：CDRH1（配列番号 14）、CDRH2（配列番号 15）、CDRH3（配列番号 16）、CDRL1（配列番号 17）、CDRL2（配列番号 18）および CDRL3（配列番号 19）を含んでなる、請求項 37 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 44】

前記広域中和抗体が、配列番号 20 と少なくとも 90% の配列同一性を有する重鎖および配列番号 21 と少なくとも 90% の配列同一性を有する軽鎖を含んでなる、請求項 43 に記載の抗体薬物複合体。

10

【請求項 45】

前記広域中和抗体が、配列番号 20 の重鎖可変領域および配列番号 21 の軽鎖可変領域を含んでなる、請求項 43 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 46】

前記広域中和抗体が、重鎖の 428 位におけるロイシン残基および重鎖の 434 位におけるセリン残基を含んでなる、請求項 37、および 43～45 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 47】

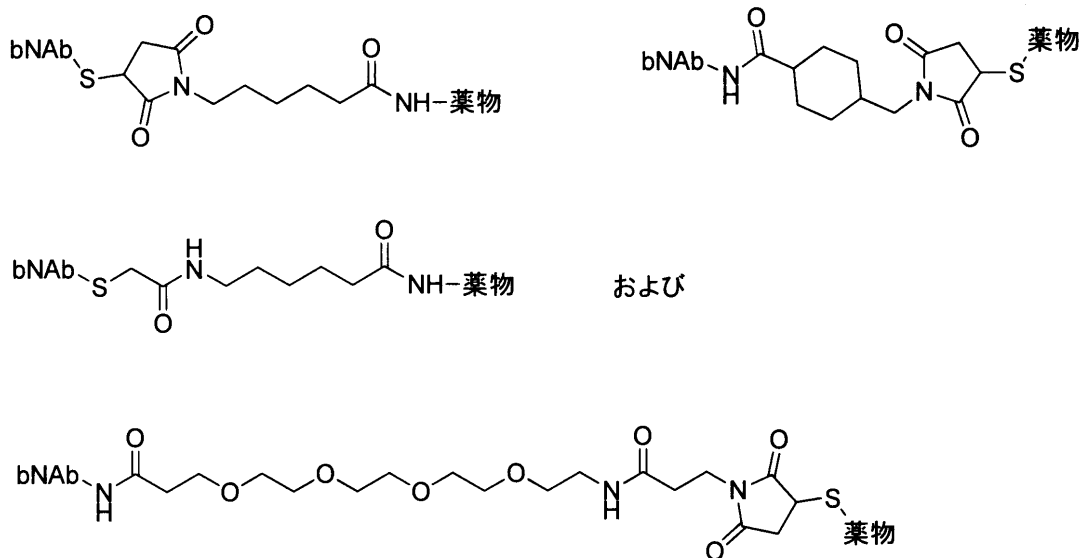
前記リンカー分子が、開裂できないリンカーである、請求項 22～46 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体。

20

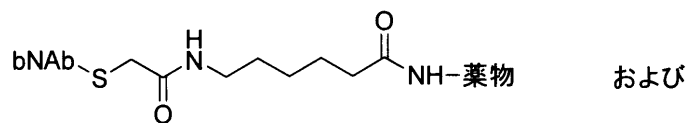
【請求項 48】

前記開裂できないリンカーが、

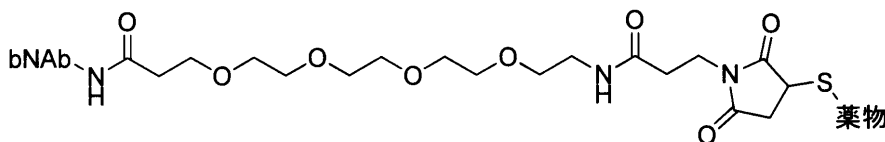
【化 4】



30



および



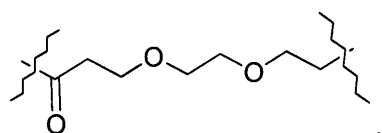
40

からなる群から選択される、請求項 47 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 49】

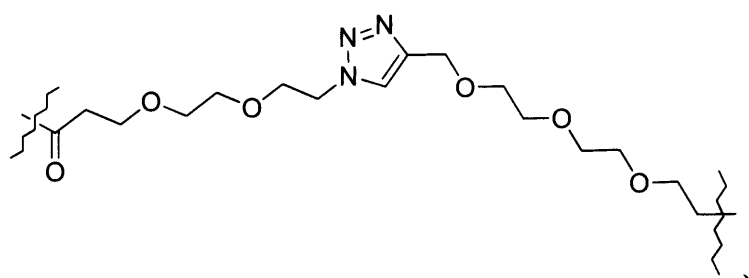
前記リンカーが、

【化 5】



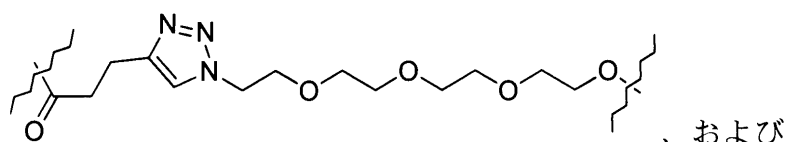
50

【化 6】

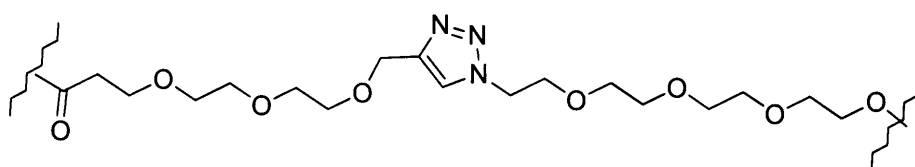


10

【化 7】



【化 8】



20

からなる群から選択される、請求項 4 7 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 5 0】

前記薬物 D が、g p 1 6 0、g p 1 2 0 および g p 4 1 からなる群から選択される H I V エンベロープ糖タンパク質と特異的に結合する、請求項 2 2 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 5 1】

前記薬物 D が、付着阻害剤である、請求項 2 2 に記載の抗体薬物複合体。

30

【請求項 5 2】

前記付着阻害剤が、g p 1 2 0 付着阻害剤、g p 1 6 0 付着阻害剤、または g p 4 1 付着阻害剤である、請求項 5 1 に記載の抗体薬物複合体。

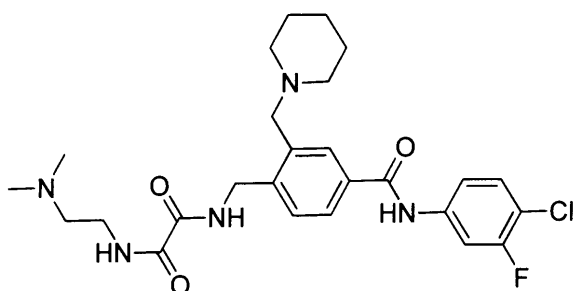
【請求項 5 3】

前記付着阻害剤が、g p 1 2 0 付着阻害剤または g p 1 6 0 付着阻害剤である、請求項 5 1 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 5 4】

前記薬物 D が、式：

【化 9】



40

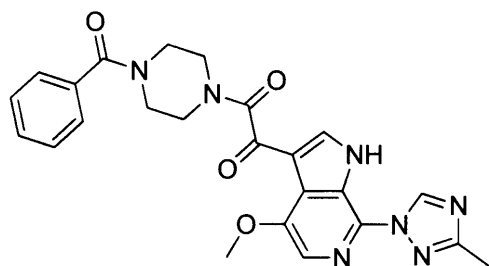
の化合物である、請求項 2 2 に記載の抗体薬物複合体。

50

【請求項 55】

前記薬物 D が、式：

【化 10】



10

の化合物である、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 56】

前記薬物 D が、CD4 と結合するペプチドである、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 57】

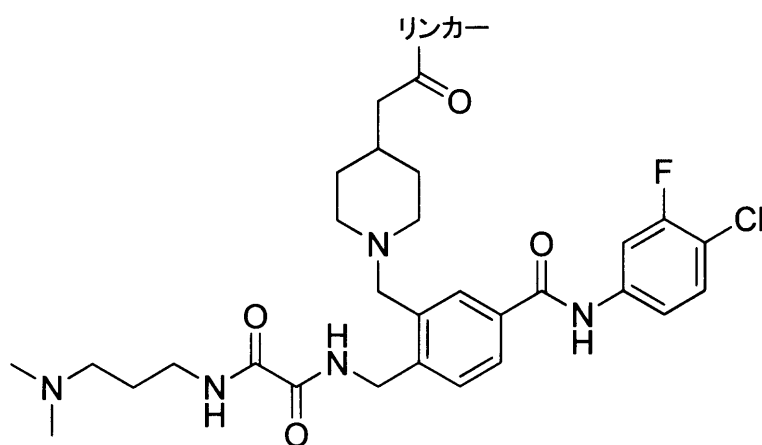
前記 1 つ以上の薬物が、配列番号 2 を含んでなるアミノ酸配列を有するペプチドである、請求項 56 に記載の抗体薬物複合体。

20

【請求項 58】

前記薬物 D およびリンカー L が、次の構造：

【化 11】



30

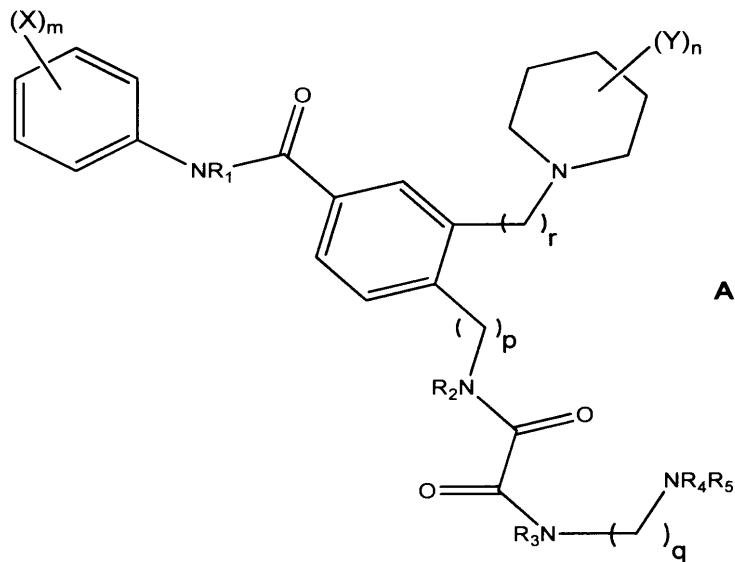
である、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 59】

前記薬物 D が、式 A：

40

【化 1 2】



10

式中：

20

XおよびYは、H、(C₁～C₆)アルキル、(C₁～C₆)アルコキシ、ハロ、オキソ、ハロアルキル、ビハロアルキル、トリハロアルキル、ハロアルコキシ、ビハロアルコキシ、トリハロアルコキシ、ヒドロキシル、アミノ、アミドおよび(C₁～C₆)アルキル-C(=O)からなる群から独立して選択され；

R₁、R₂、R₃、R₄およびR₅は、各々、Hまたは(C₁～C₆)アルキルから独立して選択され；

mは、0～5の範囲にあり；

nは、0～5の範囲にあり；

rは、1～6の範囲にあり；

pは、1～6の範囲にあり；および

30

qは、1～6の範囲にある、

である、請求項22に記載の抗体薬物複合体。

【請求項60】

Xは、C1およびFから選択され；

Yは、Hであり；

mは、2であり；

nは、1であり；

R₁、R₂、R₃、R₄およびR₅は、各々、Hであり；

rは、1～4の範囲にあり；

pは、1～4の範囲にあり；および

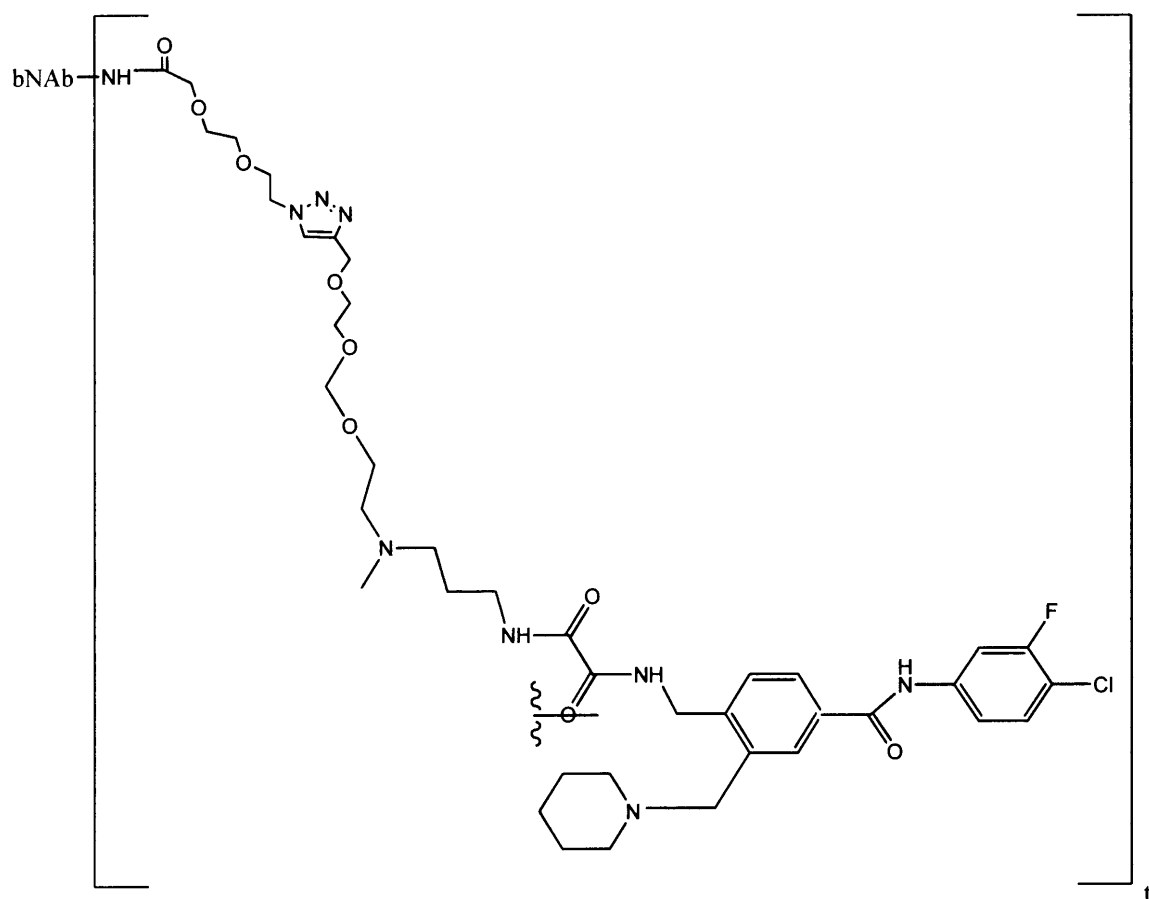
40

qは、1～4の範囲にある、

請求項59に記載の抗体薬物複合体。

【請求項61】

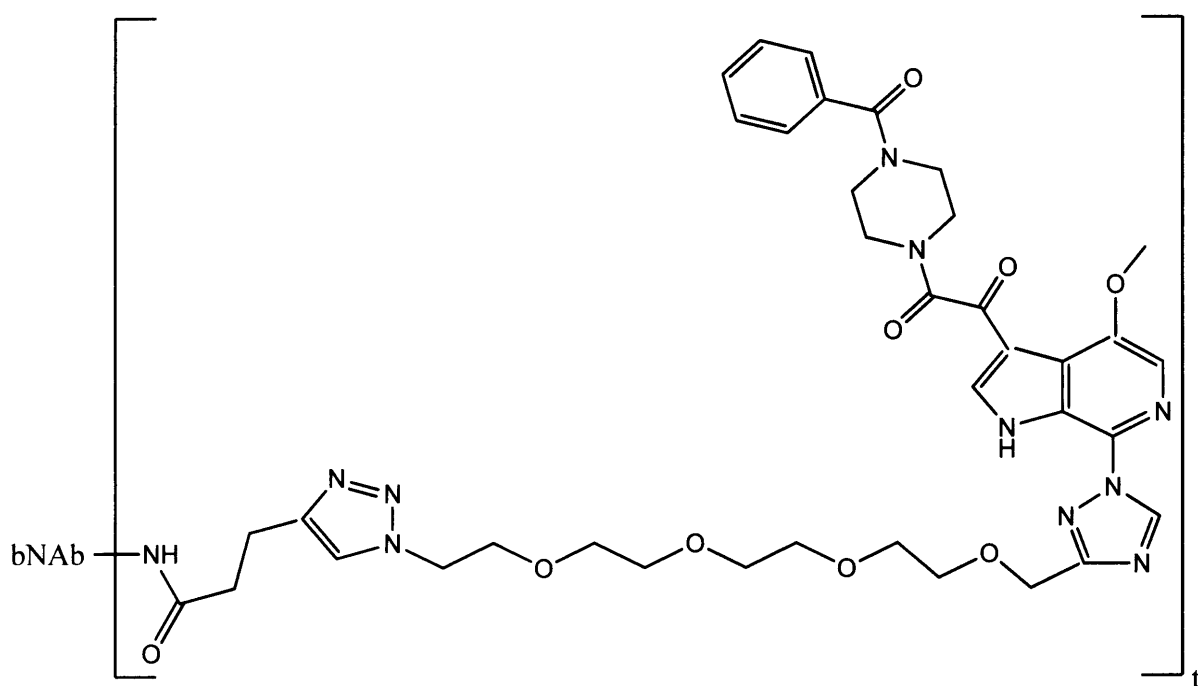
【化 1 3】



10

20

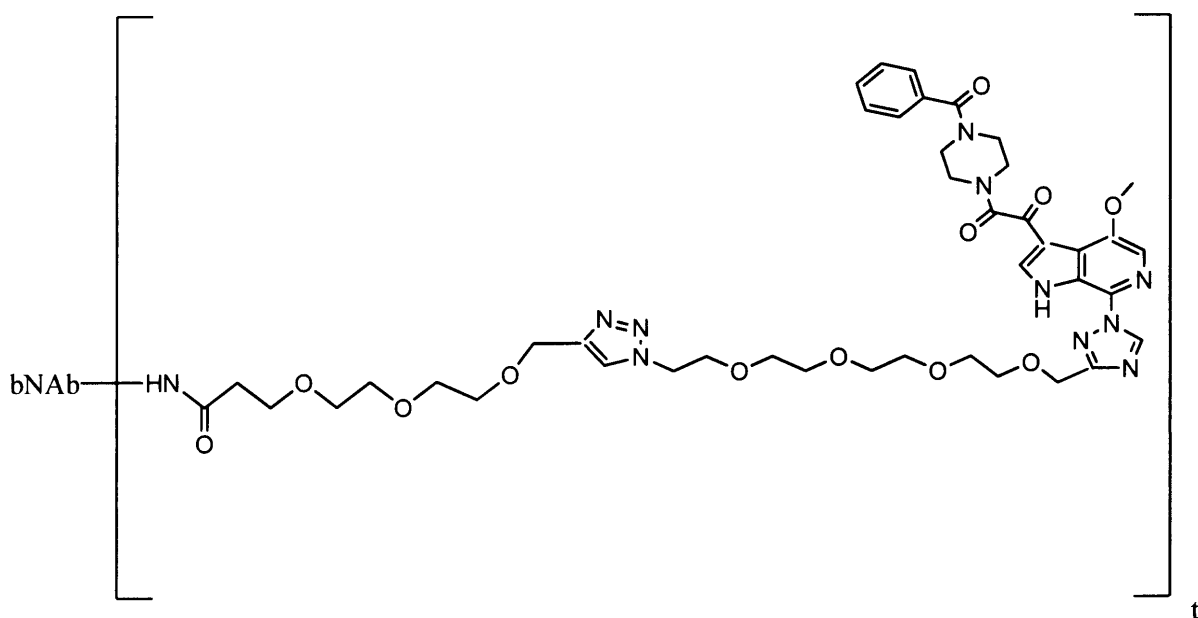
【化 1 4】



30

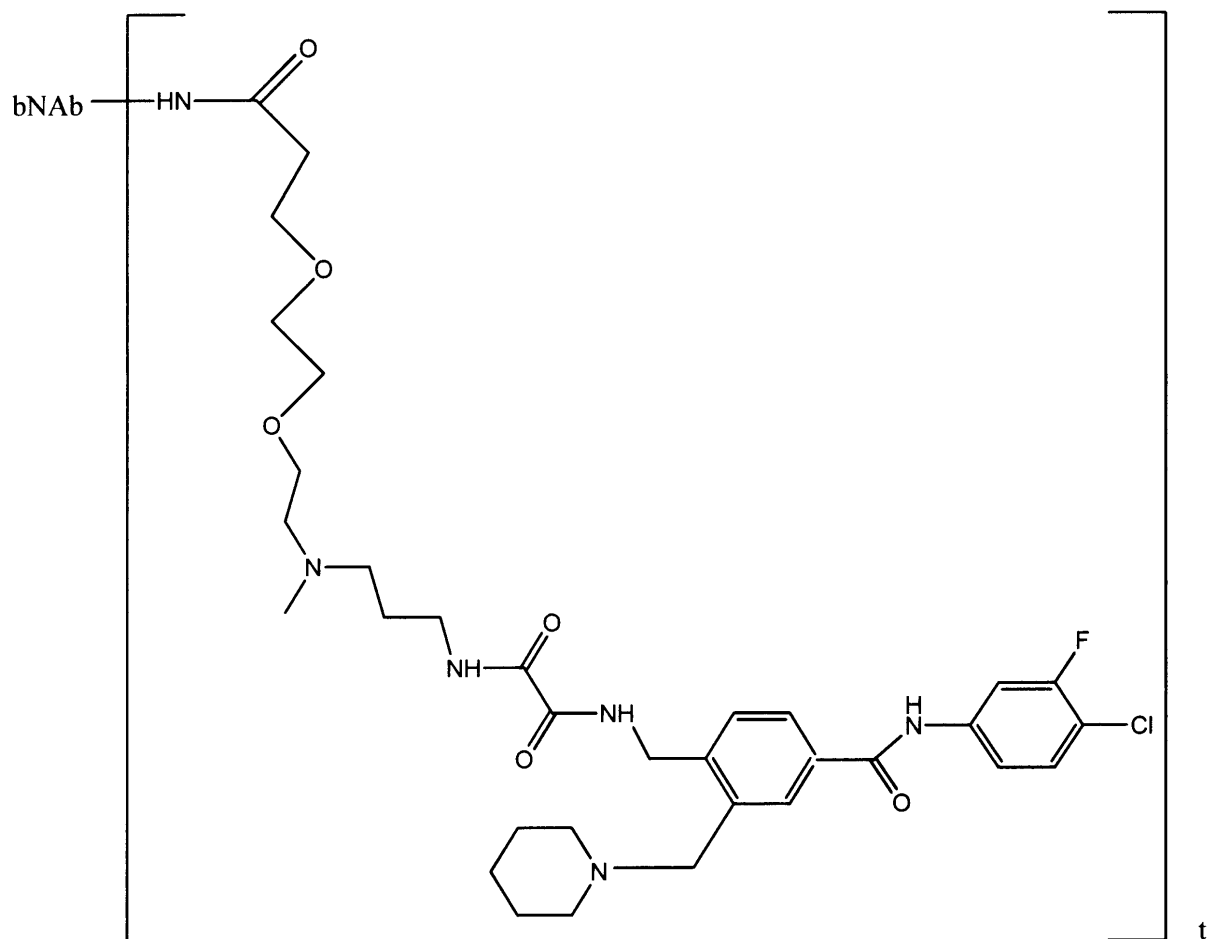
40

【化 1 5】



10

【化 1 6】



20

30

40

式中、t は 1 ～ 12 の範囲にある、
からなる群から選択される、抗体薬物複合体。

【請求項 6 2】

50

式 (I) :

$$A b - [L - D_n]_x \quad (I)$$

式中:

A b は、広域中和抗 H I V 抗体を含んでなり;

L は、前記広域中和抗 H I V 抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり;

D は、前記リンカー分子 L と共有結合した H I V 治療用化合物を含んでなる 1 つ以上の薬物を含んでなり、前記 1 つ以上の広域中和抗 H I V 抗体 A b は H I V エンベロープ糖タンパク質と特異的に結合し、前記 1 つ以上の薬物 D は H I V エンベロープ糖タンパク質と特異的に結合し;

n は、1 ~ 4 から選択され;

x は、1 ~ 12 から選択され、抗体薬物複合体は、(1) 前記広域中和抗体と共有結合している、第一リンカー分子 L と共有結合した第一薬物 D および (2) 前記広域中和抗体と共有結合している、第二リンカー分子 L と共有結合した第二薬物 D を含んでなる、の抗体薬物複合体。

【請求項 63】

第一薬物 D が、第二薬物 D と同じである、請求項 62 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 64】

第一薬物 D が、第二薬物 D と異なる、請求項 62 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 65】

前記 2 つの薬物が、g p 120 付着阻害剤、g p 160 付着阻害剤およびその組合せからなる群から選択される、請求項 62 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 66】

前記抗体薬物複合体が、重鎖および／または軽鎖の C 末端と融合された 1 つ以上のペプチドを含んでなる融合タンパク質であり、前記リンカーが、1 ~ 50 アミノ酸長である、請求項 22 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 67】

請求項 22 ~ 66 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体、および薬剂的に許容可能な賦形剤を含んでなる、医薬組成物。

【請求項 68】

1 つ以上の追加の H I V 治療薬を含んでなる、請求項 67 に記載の医薬組成物。

【請求項 69】

請求項 22 ~ 66 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体を対象に投与することを含む、前記対象の H I V 感染症の治療方法。

【請求項 70】

請求項 67 ~ 68 のいずれか一項に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、前記対象の H I V 感染症の治療方法。

【請求項 71】

請求項 22 ~ 66 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体を対象に投与することを含む、前記対象の H I V 感染症の治療方法。

【請求項 72】

請求項 22 ~ 66 のいずれか一項に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、前記対象の H I V 感染症の治療方法。

【請求項 73】

請求項 22 ~ 66 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体を対象に投与することを含む、前記対象の H I V 感染症の予防方法。

【請求項 74】

請求項 67 ~ 68 のいずれか一項に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、前記対象の H I V 感染症の予防方法。

【請求項 75】

医薬品用途の請求項 22 ~ 66 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体、または請求項

10

20

30

40

50

67～68のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項76】

HIV感染症治療に使用するための請求項22～66のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体、または請求項67～68のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項77】

HIV感染症治療用医薬品の製造における請求項22～66のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体、または請求項67～68のいずれか一項に記載の医薬組成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

関連出願

本願は、2016年7月1日に出願された米国特許仮出願第62/357,410号の優先権を主張する。この出願の内容はその全文を参照することにより本明細書に組み入れられるものとする。

【0002】

配列表

本願は、ASCIIフォーマットで電子的に出願された配列表を含み、その全文を参照することにより本明細書に組み入れられるものとする。2017年6月29二位に作成された前記ASCII複製物はPR66117__SL.txtというファイル名であり、37,133バイトの大きさである。

20

【0003】

技術分野

本発明は、抗体薬物複合体、医薬組成物、およびHIV感染した個体に関連したその使用方法に関する。

【背景技術】

【0004】

ヒト免疫不全ウイルス（HIV1型および2型）は、後天性免疫不全症候群（AIDS）の収縮をもたらす。残念ながら、HIVの症例数は増加し続けており、現在、世界で25百万超の個体がこのウイルスに苦しんでいる。現在、抗レトロウイルス薬によるウイルス複製の長期抑制がHIV感染症の治療のための唯一の選択肢である。事実、米国食品医薬品局は、患者の生存率および生活の質をかなり向上させることを示された6つの異なる阻害剤分類にわたる25の薬物を認可した。しかしながら、これに限定されないが、望ましくない薬物と薬物の相互作用；薬物と食物の相互作用；治療に忠実でないこと；ウイルス標的の変異による薬物耐性；およびHIV感染により引き起こされる免疫障害に関連する炎症を含む多くの問題のため、今なお、さらなる治療法を必要としている。

30

【0005】

現在、ほとんど全てのHIVポジティブ患者は、高活性抗レトロウイルス剤療法（「HAART」）と呼ばれる抗レトロウイルス合剤の治療レジメンで治療される。しかしながら、HAART治療は、異なる薬物合剤が薬物耐性HIV変異体の急速出現を避けるために患者に毎日投与されなければならないことが多いので、しばしば複雑である。患者の生存率に対するHAARTのプラス効果にもかかわらず、薬物耐性はまだ起こることがあり、生存率および生活の質は未感染の者と比較して正常化されていない[Lohse Ann Intern Med 2007 146;87-95]。事実、循環器疾患、虚弱、および神経認知障害などのいくつかの非AIDS罹患率および死亡率の発生率は、HAART抑制されHIV感染した対象において増加している[Deeks Annu Rev Med 2011;62:141-155]。非AIDS罹患率／死亡率の発生率増加は、HIV感染が原因である免疫障害に関連する全身炎症悪化に関連して起こり、かつ、潜在的に引き起こされる[Hunt J Infect Dis 2014] [Byakagwa J Infect Dis 2014] [Tenorio J Infect Dis 2014]。

40

【0006】

現代の抗レトロウイルス剤療法（ART）は、HIV複製を効果的に抑制する能力を有

50

し、H I V感染者の健康転帰を向上するが、個体内のH I Vウイルスリザーバーを完全に
 取り除くことはできないと考えられている。H I Vゲノムは、感染個体内のほとんどの免
 疫細胞内に潜在的に残ることができ、A R Tの中断後、ウイルス複製は通常数週間のうち
 に再開するように、いつでも再活性化し得る。わずかの個体では、このウイルスリザーバ
 ーの大きさは著しく減少し、A R Tの休止時、ウイルス複製の回復は遅延させられる [He
 nrich TJ J Infect Dis 2013] [Henrich TJ Ann Intern Med 2014]。一例では、ウイル
 スリザーバーは白血病治療中に取り除かれ、数年の経過観察中にウイルスの回復は観察さ
 れなかった [Hutter G N Engl J Med 2009]。これらの例は、ウイルスリザーバーの減少
 または除去は可能である場合があり、ウイルス寛解または治癒することができるという概
 念を示唆している。このようなものとして、C R I S P R / C a s 9システムを用いたウ
 イルスゲノムの切除を含む直接分子的手段によるウイルスリザーバーの除去、または潜在
 細胞が除去されるようにA R T中の潜在リザーバーの再活性化の誘発の方法が探求された
 。潜在リザーバーの誘導は通常ウイルスが可視化された後に潜在的に感染された細胞の直
 接死または免疫系による誘導細胞の殺生のいずれかをもたらす。A R T中にこれを行うと
 き、産生されたウイルスゲノムは、新しい細胞の感染をもたらさず、リザーバーの大きさは
 減衰し得ると考えられている。

【0007】

H A A R Tの成功にもかかわらず、長い期間をかけてウイルスは最終的に耐性を生じ、
 将来のA R Tの必要性を永続化させる。H I Vの生体異物治療に加えて、免疫系は、H I
 Vエンベロープタンパク質、g p 1 6 0を主に標的とした感染経過中にH I Vに対する抗
 体を産生する。これらの抗体は、ビリオンと結合し、さらなる標的細胞を感染するビリオ
 ンの能力を中和する。最近の技術は、感染個体由来の中和抗体を単離するためのプラット
 フォームを提供し、時間とともにg p 1 6 0の多様な配列を中和するより良好な抗体が発
 見された。様々な広域中和抗体 (b N A b) は、H I V感染個体または関連モデルへの注
 入により、A R Tとして探求されている。このようなb n A bは、既存A R T小分子と比
 較して、そのより長期の循環半減期が理由で、患者のコンプライアンスなどの問題にも取
 り組むことができ、毎月1回あるいはより長い用法さえもたすことができる。

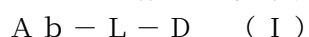
【0008】

上記観点では、H I V感染個体の治療のためのさらなる治療アプローチを開発し、患者
 コンプライアンスおよびA R T投薬回数の可能な減少などの問題に取り組むことの継続的
 なニーズが当技術分野において存在する。さらに、阻害されたg p 1 6 0の多様性の広さを
 増やし、複数の小分子により提供されるH A A R Tに類似した1つの薬剤における複数の
 抗ウイルス標的を提供することにより耐久性を向上しようとするためのg p 1 6 0を標
 的とする改良手段を使用するニーズがある。

【発明の概要】

【0009】

1つの態様では、本発明は、式 (I) :



式中:

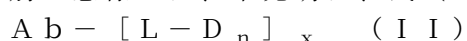
A bは、広域中和抗体を含んでなり;

Lは、前記広域中和抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり; および

Dは、前記リンカー分子と共有結合した1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の
 薬物は前記H I Vエンベロープ糖タンパク質と特異的に結合する、
 の抗体薬物複合体を提供する。

【0010】

別の態様では、本発明は、式 (I I) :



式中:

A bは、広域中和抗H I V抗体を含んでなり;

Lは、前記広域中和抗H I V抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり;

10

20

30

40

50

Dは、前記リンカー分子と共有結合したH I V付着阻害剤化合物を含んでなる1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の広域中和抗H I V抗体はH I Vエンベロープ糖タンパク質と特異的に結合し；

nは、1～4から選択され；および

xは、1～12から選択される、

の抗体薬物複合体を提供する。

【0011】

式(I)および(II)の抗体薬物複合体を含んでなる医薬組成物および式(I)および(II)の抗体薬物複合体を用いたH I V感染患者の治療方法も提供する。

【0012】

これらおよび他の態様は、本明細書に記載されているように本発明に包含される。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】広域中和抗体VRC01のサイズ排除クロマトグラフィー(SEC-HPLC)分析を示し；

【図2】広域中和抗体VRC01のドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE)を示す。

【図3】図3Aおよび3Bは、本発明の抗体薬物複合体の構造を示し；

【図4】図4Aおよび図4Bは、本発明の抗体薬物複合体の構造を示し；および

【図5】図5Aおよび5Bは、本発明の抗体薬物複合体の構造を示し；

【図6】抗体薬物複合体を用いて使用するための薬物リンカーの構造を示し；

【図7】抗体薬物複合体を用いて使用するための薬物の構造を示し；

【図8】抗体薬物複合体を用いて使用するための薬物リンカーの構造を示し；

【図9】抗体薬物複合体を用いて使用するための薬物の構造を示し；および

【図10】gp160付着阻害剤リンカーのサロゲート化合物の構造を示す。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本願全体を通して、化合物、組成物、および方法に関連する様々な実施形態を参照する。記載されている様々な実施形態は種々の例証となる実施例を提供することを意図しており、代替の種の記載と解釈されるべきでない。むしろ、本明細書で提供される様々な実施形態の記載は重複する範囲であってもよいことに注目すべきである。本明細書で考察される実施形態は単に例証であり、本発明の範囲を限定することを意図していない。

【0015】

本明細書で使用される用語は特定の実施形態を説明する目的だけのためであり、本発明の範囲を限定することを意図していないと理解されるべきである。本明細書および続く特許請求の範囲では、下記の意味を有すると定義されるべき多くの用語を参照するだろう。

【0016】

本明細書で参照される全ての発行された特許、公開特許出願および他の出版物は、その全文を参照することにより本明細書に組み入れられるものと見なされる。

【0017】

1つの態様では、本発明は、式(I)：

A b-L-D (I)

式中：

A bは、広域中和抗体を含んでなり；

Lは、前記広域中和抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり；および

Dは、前記リンカー分子と共有結合した1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の薬物は前記H I Vエンベロープ糖タンパク質と特異的に結合する、の抗体薬物複合体を提供する。

【0018】

別の態様では、本発明は、式(II)：

10

20

30

40

50

$$A b - [L - D_n]_x \quad (I I)$$

式中：

A b は、広域中和抗H I V抗体を含んでなり；

L は、前記広域中和抗H I V抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり；

D は、前記リンカー分子と共有結合したH I V付着阻害剤化合物を含んでなる1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の広域中和抗H I V抗体はH I Vエンベロップ糖タンパク質と特異的に結合し；

n は、1～4から選択され；および

x は、1～12から選択される、

の抗体薬物複合体を提供する。

10

【0019】

さらに別の態様では、本発明は、式（I I）：

$$A b - [L - D_n]_x \quad (I I)$$

式中：

A b は、広域中和抗H I V抗体を含んでなり；

L は、前記広域中和抗H I V抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり；

D は、前記リンカー分子と共有結合したH I V付着阻害剤化合物を含んでなる1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の広域中和抗H I V抗体はH I Vエンベロップ糖タンパク質と特異的に結合し；

n は、1～2から選択され；および

x は、2～4から選択される、

の抗体薬物複合体を提供する。

20

【0020】

さらに別の態様では、本発明は、式（I I）：

$$A b - [L - D_n]_x \quad (I I)$$

式中：

A b は、広域中和抗H I V抗体を含んでなり；

L は、前記広域中和抗H I V抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり；

D は、前記リンカー分子と共有結合したH I V付着阻害剤化合物を含んでなる1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の広域中和抗H I V抗体はH I Vエンベロップ糖タンパク質と特異的に結合し；

n は、1であり；および

x は、2である、

の抗体薬物複合体を提供する。

30

【0021】

別の態様では、本発明は、式（I）：

$$A b - L - D \quad (I)$$

式中：

A b は、H I Vエンベロップ糖タンパク質に対する結合親和性を有する広域中和抗体を含んでなり；

40

L は、前記広域中和抗体と共有結合した1つ以上のリンカー分子を含んでなり；および

D は、前記1つ以上のリンカー分子と共有結合した1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の薬物は前記H I Vエンベロップ糖タンパク質と結合可能である、の抗体薬物複合体を提供する。

【0022】

別の態様では、本発明は、式（I）：

$$A b - [L - D_n]_x \quad (I)$$

式中：

A b は、広域中和抗H I V抗体を含んでなり；

50

Lは、前記広域中和抗H I V抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり；

Dは、前記リンカー分子Lと共有結合したH I V治療用化合物を含んでなる1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の広域中和抗H I V抗体A bはH I Vエンベロープ糖タンパク質と特異的に結合し、前記1つ以上の薬物DはH I Vエンベロープ糖タンパク質と特異的に結合し；

nは、1～4から選択され；および

xは、1～12から選択される、

の抗体薬物複合体を提供する。

好ましくは、nは、1～2から選択され；および

xは、2～4から選択される。

より好ましくは、nは、1であり；および

xは、1または2である。

【0023】

別の態様では、本発明は、式（I）：

$A b - [L - D_n]_x$ （I）

式中：

A bは、広域中和抗H I V抗体を含んでなり；

Lは、前記広域中和抗H I V抗体と共有結合したリンカー分子を含んでなり；

Dは、前記リンカー分子Lと共有結合したH I V治療用化合物を含んでなる1つ以上の薬物を含んでなり、前記1つ以上の広域中和抗H I V抗体A bはH I Vエンベロープ糖タンパク質と特異的に結合し、前記1つ以上の薬物DはH I Vエンベロープ糖タンパク質と特異的に結合し；

nは、1～4から選択され；

xは、1～12から選択され、抗体薬物複合体は、（1）前記広域中和抗体と共有結合している、第一リンカー分子Lと共有結合した第一薬物Dおよび（2）前記広域中和抗体と共有結合している、第二リンカー分子Lと共有結合した第二薬物Dを含んでなる、の抗体薬物複合体を提供する。

【0024】

1つの実施形態では、第一薬物Dは、第二薬物Dと同じである。

【0025】

1つの実施形態では、第一薬物Dは、第二薬物Dと異なる。

【0026】

1つの実施形態では、第一リンカーおよび第二リンカーは、同じでも異なってもよい。1つの実施形態では、第一薬物および第一リンカーは第二薬物および第二リンカーと異なる位置で広域中和抗体と結合している。

【0027】

「抗体」は、抗原のエピトープ、またはそのフラグメントを特異的に認識し結合する少なくとも軽鎖または重鎖免疫グロブリン領域を含むポリペプチドと定義される。抗体は、重鎖および軽鎖からなり、その各々は可変重量（ V_H ）領域および可変軽（ V_L ）領域と呼ばれる可変領域を有する。一緒に、 V_H 領域および V_L 領域は抗体により認識された抗原との結合に関与している。抗体という語は、未変化の免疫グロブリン、ならびに単一可変ドメイン（例えば、 VH 、 VHH 、 VL 、ドメイン抗体（ DAB ））、 Fab' フラグメント、 $F(ab)'$ ₂フラグメント、単鎖 Fv タンパク質（「 $scFv$ 」）、ジスルフィド安定化 Fv タンパク質（「 $dsFv$ 」）、二重特異性抗体、 $TANDABS$ 、他、および上記のいずれかの改変型などの変異体およびその部分を含む。 $scFv$ タンパク質は、免疫グロブリンの軽鎖可変領域および免疫グロブリンの重鎖可変領域がリンカーにより結合している融合タンパク質であり、 $dsFv$ 中、鎖が変異し、ジスルフィド結合を誘導して鎖の会合を安定化する。用語は、キメラ抗体（例えば、ヒト化マウス抗体）、ヘテロコンジュゲート抗体（二重特異性抗体など）などの遺伝子改変した形態も含む。Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL); Kuby, J., Im

10

20

30

40

50

munology, 3rd Ed., W.H. Freeman & Co., New York, 1997も参照。

【0028】

用語「単一可変ドメイン」は、抗体可変ドメインを特徴とする配列を含んでなる折り畳みポリペプチドドメインを表す。したがって、この用語は、V_H、V_HHおよびV_Lなどの完全抗体可変ドメインならびに、例えば、1つ以上のループが抗体可変ドメインを特徴としない配列により置換された改変抗体可変ドメイン、またはN末端もしくはC末端延長、ならびに少なくとも完全長ドメインの結合活性および特異性を保持する可変ドメインの折り畳みフラグメントを短縮化もしくは含んでなる抗体可変ドメインを含む。単一可変ドメインは、異なる可変領域またはドメインの抗原またはエпитープと独立して結合することができる。「ドメイン抗体」または「DAB」は、「単一可変ドメイン」と同じと見なしてよい。単一可変ドメインはヒト単一可変ドメインであってよいが、げっ歯類、テンジクザメおよびラクダ科の動物V_HH DAB Sなどの他の種由来の単一可変ドメインも含む。ラクダ科の動物V_HHは、ラクダ、ラマ、アルパカ、ヒトコブラクダ、およびグアナコを含む種由来の免疫グロブリン単一可変ドメインポリペプチドであり、天然に軽鎖を欠いている重鎖抗体を産生する。このようなV_HHドメインは、当技術分野で利用可能な標準的技術によりヒト化してもよく、このようなドメインは「単一可変ドメイン」とであると見なされる。本明細書で使用されるとき、V_Hは、ラクダ科の動物V_HHドメインを含む。

10

【0029】

通常、天然免疫グロブリンは、ジスルフィド結合で相後接続した重（H）鎖および軽（L）鎖を有する。軽鎖の2つのタイプ、ラムダ（λ）およびカッパ（κ）がある。抗体分子の機能活性を決定する5つの主要な重鎖分類（またはアイソタイプ）がある：IgM、IgD、IgG、IgAおよびIgE。

20

【0030】

各重鎖および軽鎖は、定常領域および可変領域を含む（領域は「ドメイン」としても知られる）。組み合わせて、重鎖および軽鎖可変領域は抗原と特異的に結合する。軽鎖および重鎖可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」とも呼ばれる3つの超可変領域が割り込んだ「フレームワーク」領域を含む。フレームワーク領域およびCDRの範囲は定義されている（Kabat et al., Sequences of Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, 1991参照）。現在、Kabatデータベースはオンラインで維持されている。異なる軽鎖または重鎖のフレームワーク領域のヘア手得は、種内で比較的保存されている。構成軽鎖および重鎖の組合せフレームワーク領域である、抗体のフレームワーク領域は、三次元空間におけるCDRを位置決めし整列する働きをする。

30

【0031】

CDRは、主に、抗原のエピトープとの結合に関与している。各鎖のCDRは、通常、N末端から始まって順番に番号付与されたCDR1、CDR2、およびCDR3と呼ばれ、通常、特定のCDRが位置する鎖により識別される。したがって、V_H CDR3は、別名CDRH3として知られているが、見出される抗体の重鎖の可変ドメイン中に位置するCDR3であるが、V_L CDR1は、それ以外CDRL1として知られるが、見出される抗体の軽鎖の可変ドメインからのCDR1である。標的タンパク質と結合する抗体は、特定のV_H領域およびV_L領域配列、したがって、特定のCDR配列を有するだろう。異なる特異性（異なる抗原に対する異なる結合など）を有する抗体は、異なるCDRを有する。これは抗体から抗体へ変わるCDRであるが、CDR内の限られた数のみのアミノ酸位置は抗原結合に直接関与する。CDR内のこれらの位置は、特異性決定残基（SDR）と呼ばれる。本明細書全体を通して、可変ドメイン配列および完全長抗体配列中のアミノ酸残基は、Kabat番号付与規則に従って番号付与される。同様に、用語「CDR」、「VDRL1」、「CDRL2」、「CDRL3」、「CDRH1」、「CDRH2」、「CDRH3」は、特に断りがない限り、Kabat番号付与規則に従う。可変ドメイン配列および完全長抗体配列中のアミノ酸残基に関する代替の番号付与規則があることは、当業

40

50

者には明白であろう。C D R 配列に関する代替の番号付与規則もあり、例えば、Chothia et al. (1989) Nature 342: 877-883で立案されたものがある。抗体の構造およびタンパク質折り畳みは、他の残基がC D R 配列の一部と見なされ、当業者もそうであると理解しているだろう。当業者が利用可能なC D R 配列に関する他の番号付与規則としては、「A b M」（バース大学）および「コンタクト」（ユニバーシティ・カレッジ・ロンドン）の方法が挙げられる。K a b a t 法、C h o t h i a 法、A b M 法およびコンタクト法のうち少なくとも2つを用いた最小重複領域を決定し、「最小結合単位」を得ることができる。最小結合単位は、C D R のサブポーシオンであってよい。

【0032】

下表1は、各C D R または結合単位に関する各番号付与規則を用いた1つの定義を示している。K a b a t 番号付与スキームを使用して、表1中に可変ドメインアミノ酸配列を番号付与している。なお、C D R 定義のいくつかは、使用された個別の出版物により異なり得る。

【0033】

【表1】

表1

	Kabat CDR	Chothia CDR	AbM CDR	コ ン タ ク ト CDR	最小結合単位
H1	31-35/35A/ 35B	26-32/33/34	26-35/35A/35B	30-35/35A/35B	31-32
H2	50-65	52-56	50-58	47-58	52-56
H3	95-102	95-102	95-102	93-101	95-101
L1	24-34	24-34	24-34	30-36	30-34
L2	50-56	50-56	50-56	46-55	50-55
L3	89-97	89-97	89-97	89-96	89-96

【0034】

「V_H」または「VH」への言及は、F v、s c F v、d s F vまたはF a b のものを含む免疫グロブリン重鎖の可変領域を表す。「V_L」または「VL」への言及は、F v、s c F v、d s F vまたはF a b のものを含む免疫グロブリン軽鎖の可変領域を表す。

【0035】

結合特異性は絶対ではないが相対的特性であるので、抗原および1つ以上の参照抗原間の識別ができるならば、抗体または他の活性剤は、抗体と「結合（例えば、特異的に）」し、抗体に対して「特異的」であり、または抗体を「認識」する。その最も一般的形態（および定義される基準を指定しない場合）では、「結合」は、例えば、次の方法に従って決定されるとき、抗体または活性剤が対象の抗原および関係のない抗原間を識別する能力を表している。かかる方法は、これに限定されないが、ウェスタンブロット法、E L I S A 法、R I A - E C L 法、I R M A 法およびペプチドスキャンを含む。採点を、標準発色（例えば、ホースラディッシュペルオキシドを用いた二次抗体および過酸化水素を用いたテトラメチルベンジジン）により行ってもよい。特定のウェル中の反応を、例えば、450 nmにおける光学密度により採点する。通常、バックグラウンド（＝ネガティブ反応）は0.1 ODであり；通常のポジティブ反応は1 ODであり得る。これは、ポジティブ／ネガティブの差は、10倍超であり得ることを意味する。通常、結合特異性の決定を、単一参照抗原ではなく、粉乳、B S A、トランスフェリンまたは同様のものなど、一組の約

3～5つの関連のない抗原を用いることにより行う。加えて、「結合」、より特に「特異的結合」は、抗原の、標的抗原および参照点として使用される1つ以上の密接に関係する抗原間を識別する能力を言う。加えて、「結合」は、抗体の、その標的抗原の異なる部分、例えば、異なるドメインもしくは領域間、または1つ以上の主要アミノ酸残基もしくはアミノ酸残基の伸縮間を識別する能力に関し得る。

【0036】

「親和性」または「結合親和性」は、例えば、活性剤（例えば、抗体または分子）の一重結合部位およびその結合パートナー（例えば、抗原）間の非共有相互作用の合計の強度を表す。本明細書で使用されるとき、特に指示がない限り、「結合親和性」は、結合対（例えば、抗体および抗原）のメンバー間の1:1相互作用を反映する固有結合親和性を表す。親和性を、平衡法（例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）または放射免疫アッセイ（RIA））、または反応速度論（例えば、BIACORE分析）を含む、当技術分野で公知の一般的方法により測定することができる。親和性を測定するための特定方法は、表面プラズモン共鳴（SPR）である。

10

【0037】

用語「結合親和性」に関して、例えば、指定条件下、特定の標的タンパク質（例えば、gp120またはgp160）と選択的に結合し、サンプルまたは対象中に存在する他のタンパク質または多糖類と有意な量で結合しない抗体は、その標的と特異的に結合する抗体を表す。1つの実施形態では、親和性は、Frankel et al., Mol. Immunol., 16: 101-106, 1979に記載されているScatchard法の変法により算出される。別の実施形態では、結合親和性は、抗原/抗体解離速度により測定される。さらに別の実施形態では、結合親和性は、競合放射免疫アッセイにより測定される。いくつかの例では、高結合親和性は、約 $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ～約 $1 \times 10^{-12} \text{ M}$ 、より好ましくは約 $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ ～約 $1 \times 10^{-12} \text{ M}$ （10 nM～1 pM）の範囲であり得る。（例えば、国際公開第2012/106578号参照）

20

【0038】

「親和性」は、例えば、相互作用の結合価を考慮して、複数の部位における2つの分子の互いとの結合強度の合計である。

【0039】

問い合わせ核酸配列および対象核酸配列間の「同一性パーセント」は、ペアワイズBLASTNアライメントを行った後に対象核酸配列が問い合わせ核酸配列で100%問い合わせを網羅している場合、BLASTNアルゴリズムにより算出されるパーセンテージとして表される「同一性」の値である。問い合わせ核酸配列および対象核酸配列間のこのようなペアワイズBLASTNアライメントは、低複雑度領域のフィルターをオフにして、米国立バイオテクノロジー情報センタ（National Center for Biotechnology Institute）のウェブサイトで利用可能なBLASTNアルゴリズムの初期設定を用いることにより行う。重要なことに、問い合わせ核酸配列は、本明細書の1つ以上のクレーム中に確認される核酸配列により記載されていてもよい。

30

【0040】

問い合わせアミノ酸配列および対象アミノ酸配列間の「同一性パーセント」は、ペアワイズBLASTPアライメントを行った後に対象アミノ酸配列が問い合わせアミノ酸配列と100%問い合わせカバレッジを有する場合、BLASTPアルゴリズムにより算出されるパーセンテージとして表される「同一性」の値である。問い合わせアミノ酸配列および対象アミノ酸配列間のこのようなペアワイズBLASTPアライメントは、低複雑度領域のフィルターをオフにして、米国立バイオテクノロジー情報センタ（National Center for Biotechnology Institute）のウェブサイトで利用可能なBLASTPアルゴリズムの初期設定を用いることにより行う。重要なことに、問い合わせアミノ酸配列は、本明細書の1つ以上のクレーム中に確認されるアミノ酸配列により記載されていてもよい。

40

【0041】

問い合わせ配列は、対象配列と100%同一性であってもよく、同一性%が100%未

50

満になるように対象配列と比較したとき、特定の整数以下のアミノ酸またはヌクレオチド変化を含んでもよい。例えば、問い合わせ配列は、対象配列と少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一性である。このような変化は、少なくとも1つのアミノ酸欠失、置換（保存置換および非保存置換を含む）、または挿入を含み、前記変化は、問い合わせ配列のアミノ末端もしくはカルボキシ末端の位置または問い合わせ配列中のアミノ酸もしくはヌクレオチド中または問い合わせ配列内の1つ以上の近接基中にいずれか個別に散在した末端位間のどこで起こってもよい。

【0042】

同一性%は、CDRを含む問い合わせ配列の全長にわたって決定してもよい。あるいは、同一性%はCDRを除外してもよく、例えば、CDRが対象配列と100%同一性であり、同一性%の変動が問い合わせ配列の残りの部分にある結果、CDR配列は固定／インタクトである。

【0043】

VHまたはVL配列は10以下のアミノ酸置換、付加または欠失を有する変異体配列であってよい。例えば、変異体配列は、9以下、8つ、7つ、6つ、5つ、4つ、3つ、2つまたは1つのアミノ酸置換、付加または欠失を有してもよい。

【0044】

配列変動はCDRを除外してもよく、例えば、CDRがVHもしくはVL（またはHCもしくはLC）と同じであり、変動がVHもしくはVL（またはHCもしくはLC）配列の残りの部分にある結果、CDR配列は固定／インタクトである。

【0045】

いくつかの実施形態では、抗体の定常領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含み、抗体のインビボ半減期を最適化する。IgG Abの血清半減期は、胎児性Fc受容体（FcRn）により調節し得る。したがって、いくつかの実施形態では、抗体は、FcRnとの結合を増加するアミノ酸置換を含む。いくつかのこのような置換は、IgG定常領域T250QおよびM428L（例えば、Hinton et al., J Immunol., 176:346-356, 2006参照）；M428LおよびN434S（「LS」変異、例えば、Zalevsky, et al., Nature Biotechnology, 28:157-159, 2010参照）；N434A（例えば、Petkova et al., Int. Immunol., 18: 1759-1769, 2006参照）；T307A、E380A、およびN434A（例えば、Petkova et al., Int. Immunol., 18:1759-1769, 2006参照）；ならびにM252Y、S254T、およびT256E（例えば、Dall' Acqua et al., J. Biol. Chem., 281: 23514-23524, 2006参照）における置換など、当業者に公知である。開示された抗体は、上記置換のいずれかを含むFcポリペプチドを含んでなることができ、例えば、FcポリペプチドはM428LおよびN434を含むことができる。議論されているように、開示による抗体は、インビボでの血清半減期の増加、結果としてより体内の抗体の機能的活性のより長期の持続、または残留、時間を提供するようになされ得るかまたは改変され得る。適切に、このような改変された分子は、非適応分子（non-adapted molecule）と比較してクリアランスの増加および平均滞留時間の増加を有する。半減期の増加は、治療分子の薬物動態特性および薬力学特性を向上することができる。

【0046】

他の適切な半減期延長戦略：PEG化、ポリシアル化、HES化、組換えPEG擬態、N-グリコシル化、O-グリコシル化、Fc融合、人工改変Fc、IgG結合、アルブミン融合、アルブミン結合、アルブミンカップリングおよびナノ粒子を含む。

【0047】

理論に束縛されるものではないが、IgG抗体の長い半減期はFcRnとのその結合に依存することが報告されている。したがって、定常領域の人工改変による相互作用のpH依存性を維持しながら、pH6.0においてIgGのFcRnとの結合親和性を向上する置換が研究されてきた（KUO, T. T. & AVESON, V. G. 2011. Neonatal Fc receptor and IgG-based therapeutics. MAbs, 3, 422-30）。

10

20

30

40

50

【0048】

成体哺乳類では、胎児性Fc受容体としても公知のFcRnは、IgGアイソタイプの抗体と結合し分解から救助する保護受容体としての作用により血清抗体レベルを維持する主要な役割を果たすことができる。IgG分子は内皮細胞により形質膜陥入され、FcRnと結合する場合、循環中に再利用される。対照的に、FcRnと結合しないIgG分子は細胞に入り、これらが分解されるリソソーム経路を標的とされる。

【0049】

胎児性FcRn受容体は、抗体クリアランスおよび組織を横断するトランスサイトosisの双方に関与すると考えられている、Kuo and Aveson, (2011)。ヒトFcRnと相互作用し得るヒトIgG1残基としては、Ile253、Ser254、Lys288、Thr307、Gln311、Asn434およびHis435が挙げられる。この節に記載されたこれらの位置のいずれかにおけるスイッチは、本発明の抗体の血清半減期増加および／またはエフェクター特性の変更を可能とし得る。

【0050】

本明細書に記載されているように、本発明の方法の使用に適した抗体は、FcRnの定常ドメインまたはそのフラグメントの親和性を向上し得るアミノ酸修飾を有し得る。治療用および診断用IgGポリペプチドおよび他の生理活性分子の半減期増加は、例えば、これらの分子の投与の量および／または頻度の低減を含む利点を提供することができる。したがって、1つの実施形態では、1つ以上のアミノ酸修飾を有するIgG定常ドメインの全部または一部（FcRn結合部分）を含んでなる本発明による抗体を提供する。

【0051】

アラニンスキャニング変異誘発、ランダム変異誘発およびFcRnとの結合および／またはインビボ挙動を評価するためのスクリーニングを含む技術により生成され得るアミノ酸修飾を含む半減期増加をもたらすことができる多くの方法は公知である（Kuo and Aveson, (2011)）。計算戦略、それに次ぐ変異誘発を使用して変異するアミノ酸変異の1つを選択してもよい。

【0052】

定常領域における置換は治療用IgG抗体の機能を向上させることができるが、厳密に保存された定常領域における置換は、ヒトの免疫原性の潜在的危険性を有することがあり、多様性に富む可変領域配列における置換はより免疫原性でないであろう。可変領域に関する報告は、CDR残基を人工改変して抗原に対する結合親和性を向上させるもの、ならびにCDRおよびフレームワーク残基を人工改変して安定性を向上させて免疫原性の危険性を低減するものを含む。抗原に対する向上された親和性は、ランダム化されたライブラリーのファージディスプレイまたはリボソームディスプレイを用いた親和性成熟により行っても良い。

【0053】

改良された安定性は、配列ベースおよび構造ベースの合理的設計から得られる可能性がある。免疫原性の危険性（脱免疫化）の低減は、様々なヒト化の手法およびシリコ技術でを使用して予測され得るかまたはビトロアッセイにより決定され得るT細胞エピートプの除去により行うことができる。加えて、可変領域はより低いpIに人口改変された。より長期の半減期は同等なFcRn結合にもかかわらず野生型抗体と比較してこれらの抗体に関して観察された。pH依存性抗原結合を有する抗体を人工改変または選択して抗体および／または抗原半減期、例えば、IgG2抗体半減期を改変することは、抗原介在クリアランス機序が抗原に結合されている場合の抗体を正常に分解する場合に短縮化され得る。同様に、抗原：抗体複合体は抗原の半減期に影響することができ、通常の分解過程から抗原を保護することにより半減期を延長するか、または抗体介在分解による半減期の短縮化のいずれかである。

【0054】

抗体の産生時、特に、使用されるセルラインおよび抗原結合タンパク質の特定のアミノ酸配列に依存して、翻訳後修飾が起こり得る。例えば、翻訳後修飾としては、特定のリー

10

20

30

40

50

ダー配列の開裂、様々なグリコシル化およびリン酸化パターンにおける様々な糖部分の付加、脱アミド化、酸化、ジスルフィド結合スクランブリング、異性化、C末端リジンクリッピング、ならびにN末端グルタミン環化を挙げることができる。本発明は、1つ以上の翻訳後修飾に付されたか、または翻訳後修飾が行われた抗原結合タンパク質の使用を包含する。したがって、本発明の「抗体」は、上記に定義されたように、本明細書で記載されているような翻訳後修飾を行った「抗体」を含む。

【0055】

脱アミド化は、本来、アスパラギン（N）をイソアスパラギン酸（イソアスパラギン酸塩）およびアスパラギン酸（アスパラギン酸塩）に約3：1の比で変換する酵素反応である。したがって、この脱アミド化反応は、アスパラギン酸塩（D）のイソアスパラギン酸塩への異性化に関する。アスパラギンの脱アミド化およびアスパラギン酸塩の異性化の双方は、スクシンイミド中間体を含む。ずっと少ない程度、脱アミド化は同様にグルタミン残基でも起こり得る。CDR、Fab（非CDR領域）、またはFc領域において脱アミド化は起こり得る。

【0056】

産生および貯蔵中（すなわち、参加条件の存在下）、酸化が起こることができ、反応性酸素種により直接的または酸化的ストレスの二次副産物との反応により間接的のいずれかで誘導されたタンパク質の共有結合修飾をもたらす。主にメチオニン残基で酸化は起こるが、トリプトファンおよび遊離システイン残基において起こり得る。CDR、Fab（非CDR）領域、またはFc領域において酸化は起こり得る。

【0057】

ジスルフィド結合スクランブリングは、産生および塩基性貯蔵条件中に起こり得る。特定の環境下、ジスルフィド結合は開裂または不正確に形成して、対でないシステイン残基（-SH）をもたらす。これらの遊離（対でない）スルフヒドリル（-SH）はシャフリングを促進し得る。

【0058】

重鎖および／または軽鎖におけるN末端グルタミン（Q）およびグルタミン酸塩（グルタミン酸）（E）は、環化によりピログルタミン酸（pGlu）を生成する可能性がある。ほとんどのpGlu生成は、製造バイオリアクターで起こるが、処理条件および貯蔵条件のpHおよび温度に依存して非酵素的に生成することができる。N末端QまたはEの環化は通常、天然のヒト抗体において観察される。

【0059】

C末端リジンクリッピングは、カルボキシペプチダーゼにより触媒された酵素反応であり、組換えおよび天然ヒト抗体において通常に観察される。この処理の異型は、組換え宿主細胞の細胞酵素による1つまたは双方の重鎖からリジンを除去することを含む。ヒトへの投与時、対象／患者は、いずれかの残りのC末端リジンの除去をもたらす可能性がある。

【0060】

「リンカー」（「L」）は、抗体を1つ以上の薬物と結合させる物質（例えば、分子）を表す。リンカーは開裂可能なリンカーであってもよく、開裂できない可能なリンカーであってもよい。リンカーは好ましくは開裂できない。開裂できないリンカーは抗体に結合した薬物を保持する。あるいは、本発明の目的のため、リンカーは抗体を、例えば、1つ以上の薬物とカップリング、抱合、連結、接続、繋留などをし得る。他の実施形態では、リンカーの抗体および薬物との結合は共有結合によるものである。

【0061】

「gp120」は、HIV由来のエンベロープタンパク質と定義される。このエンベロープタンパク質は、gp160と命名された845～870アミノ酸の大きさのより長い前駆体タンパク質として最初に合成される。gp160は、細胞タンパク質分解酵素により開裂し、gp120およびgp41となる。gp120は、HIVエンベロープ糖タンパク質複合体の外部の表面露出したドメインのほとんどを含み、細胞CD4受容体および

10

20

30

40

50

細胞ケモカイン受容体（CCR5など）の両方と結合するgp120である。例えば、米国特許出願公開第2016/0009789号参照。

【0062】

「gp41」は、膜貫通ドメインを含み、三量体構成を保持するHIVタンパク質と定義され；非共有結合的にgp120と相互作用する。HIV-1のエンベロープタンパク質は、gp160と命名された845～870アミノ酸の大きさのより長い前駆体タンパク質として最初に合成される。gp160はホモ三量体を生成し、ゴルジ体内でグリコシル化する。それから、インビボで、細胞タンパク質分解酵素により開裂してgp120およびgp41となる。gp41の例のアミノ酸配列は、GENBANK、RTM、受託番号CAD20975（2009年10月16日に入手可能）（参照により本明細書に組み入れられる）に記述されている（配列番号1）。gp41の配列は、GENBANK、RTM、受託番号CAD20975で与えられたものから変わり得ると理解される。gp41は、膜貫通ドメインを含み、通常、三量体構成を保持し；非共有結合的にgp120と相互作用する。例えば、米国特許出願公開第2016/0009789号参照（gp120対gp41）。

10

【0063】

用語「gp160」は、160kDaの分子量を有するエンベロープタンパク質を表し、様々なグリコシル化部位を含む。gp160は、gp41およびgp120双方の前駆体となる。本発明の目的のため、gp160は代表的エンベロープタンパク質であり、HXB2Dはエンベロープ配列の非限定的例である。例えば、HXB2Dに関して、https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/REVIEWS/HXB2.html（この内容は参照により組み入れられる）参照。

20

【0064】

用語「エンベロープ糖タンパク質」または「糖タンパク質」または「Env」は、ポリペプチド側鎖と共有結合したオリゴ糖鎖（グリカン）を含み、HIVエンベロープの表面に曝されているタンパク質を表す。本発明の目的のため、対象への抗体薬物複合体の投与後、HIV gp160エンベロープ糖タンパク質は抗体薬物複合体により制約される。いくつかの実施形態では、HIV gp160エンベロープ糖タンパク質は、抗体薬物複合体の抗体部分と結合する。

30

【0065】

用語「広域中和抗体」（bNAb）は、非限定的例として、HIV-1エンベロープシールドタイプウイルスおよびウイルス分離株の大きなパネル（100超）の50%超、60%、70%、80%、90%、95%、99%以上で、インビトロ感染50%阻害によりHIVエンベロープ糖タンパク質（Env）（例えば、gp160）との結合によるウイルス付着および細胞侵入を阻害する抗体として定義される。例えば、米国特許出願公開第2012/0121597号参照。

【0066】

用語「薬物」は、例えば、適切に対象または細胞に投与された場合にHIVに関して所望の治療（therapeutic）効果、治療（treatment）効果、または予防効果を誘導することができる化学化合物または大きな分子（例えば、タンパク質またはペプチド）を包含するHIV治療薬を表す。例として、1つの実施形態では、抗体薬物複合体は、重鎖および／または軽鎖のC末端と融合された1つ以上のペプチドを含んでなる融合タンパク質であり、リンカーは1～50アミノ酸長である。

40

【0067】

本発明の目的のため、標的とされる1つの結合部位はCD4結合部位である。様々な実施形態では、広域中和抗体Abは、CD4結合視界におけるHIVエンベロープ糖タンパク質と結合する。本明細書で定義されるように、CD4は、分化因子4ポリペプチドのクラスター；MHC分類II分子との相互作用を介在するT細胞表面タンパク質である。CD4は、HIV-I感染中の細胞上のHIVに対する一次受容体部位としての役割を果た

50

す。CD4は、HIV由来のgp120と結合することが知られている。CD4前駆体の公知配列は、疎水性シグナルペプチド、約370アミノ酸の細胞外領域、分類II MHCベータ鎖の膜貫通ドメインと有意な同一性を有する高度に疎水性のストレッチ、および40の高度に荷電した細胞内配列を有する(Maddon, Cell 42:93, 1985)。用語「CD4」は、化学的(例えば、酵素)消化または遺伝子工学の手段のいずれかにより生成したCD4のフラグメントを含むCD4由来のポリペプチド分子を含む。このようなフラグメントは、1つ以上の全体のCD4タンパク質ドメインであり得る。CD4の細胞外ドメインは、4つの隣接する免疫グロブリン様領域(D1、D2、D3、およびD4、Sakihama et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 92:6444, 1995; 米国特許第6, 117, 655号参照)からなり、アミノ酸1~183は、gp120結合に含まれることが分かった。例えば、CD4由来の結合分子または結合ドメインは、CD4の結合フラグメントおよび天然またはウイルス結合部位間の特異的かつ機能的相互作用を介在するのにCD4タンパク質の十分な部分を含んでなるだろう。1つのこのような結合フラグメントは、より小さなフラグメントも特異的かつ機能的CD4様結合を提供し得るが、CD4のD1およびD2細胞外ドメイン(D1D2も可溶性CD4のフラグメント、またはD1、D2、D3およびD4からなるsCD4である)の両方を含む。gp120結合部位はCD4のD1にマッピングされている。例えば、米国特許出願公開第2012/0282264号参照。

10

【0068】

別の実施形態では、本発明は、gp120-gp41接合部分においてHIVエンベロープ糖タンパク質と結合する抗体を含む。このような抗体としては、8ANC195、35O22、およびPGT151から選択される抗体が挙げられるが、これに限定されない。8ANC195の例は、米国特許出願公開第2015/0361160号に記載されている。35O22の例は、米国特許出願公開第2016/0022803号に記載されている。PGT151の例は、米国特許出願公開第2015/0152167号に記載されている。

20

【0069】

別の実施形態では、本発明は、これに限定されないが、4E10、10E8、2F5およびZ13e1を含むgp41膜貫通部位近傍(MPER)と結合する抗体を含む。4E10の例は、米国特許出願公開第2016/0009789号に記載されている。10E8の例は、国際公開第2013/070776号に記載されている。2F5の例は、米国特許出願公開第2015/0158934号に記載されている。Z13e1の例は、米国特許出願公開第2012/0269821号に記載されている。この群中の好ましい抗体は、10E8である。

30

【0070】

HIVエンベロープ糖タンパク質との結合において使用される好ましい抗体としては、VRC01、VRC07、VRC07-523、3BNC117、NIH45-46、PGV04、b12、CH31、およびCH103が挙げられるが、これに限定されない。他の実施形態では、好ましい抗体としては、VRC01、VRC01-LS、VRC07、VRC07-LS、VRC07-523、3BNC117、NIH45-46、PGV04、b12、CH31、CH103、N6、およびN6-LSが挙げられるが、これに限定されない。特に好ましい抗体はVRC01であり、この例は、Zhou et al., "Structural Basis for Broad and Potent Neutralization of HIV-1 by Antibody VRC01", Science Express, 8 July 2010, pp. 1-102, www.sciencemag.org/cgi/content/full/science.1192819/DC1に開示されている。より詳細には、VRC01は、gp120と結合し得る。VRC01は、HIV系統/サブタイプの90%を中和することができる。gp120と結合するこのような抗体の別の例は、国際公開第2012/106578号に開示されているようにVRC01-LSである。gp120と結合するこのような抗体の別の例は、国際公開第2013/086533号に開示されているようにVRC07である。

40

【0071】

50

VRC07-523の例は、J. Virol, 88(21): pp. 12669-12682 (Nov. 2014)に記載されている。3BNC117の例は、米国特許出願公開第2014/0212458号に記載されている。NIH45-46の例は、米国特許出願公開第2015/0274813号に記載されている。PGV04の例は、米国特許出願公開第2013/0251726号に記載されている。b12の例は、米国特許出願公開第2016/0009789号に記載されている。CH31の例は、米国特許出願公開第2013/0251726号に記載されている。CH103の例は、米国特許出願公開第2014/0212458号に記載されている。

【0072】

様々な実施形態では、広域中和抗体Abは、2G12、2F5、3BC176、3BNC60、3BNC117、4E10、8ANC131、8ANC195、10E8、10-1074、12A12、35O22、b12、B2530、CH01-04、CH103、CH31、HJ16、M6.6、N6、N6-LS、NIH45-46、PG9、PG16、PGDM1400、PGT121、PGT128、PGT135、PGT141-PGT145、PGT151、PGV04、VRC01、VRC01-LS、VRC07、VRC07-523、VRC07-LS、およびZ13からなる群から選択される。

10

【0073】

上記観点では、特に好ましい抗体は、VRC01、VRC01-LS、N6、N6-LS、VRC07およびVRC07-523である。上記に加えて、VRC01の開示の例は、米国特許第8,637,036号に記載されている。VRC01-LSの開示の例は、国際公開第2012/106578号に記載されている。N6およびN6-LSの開示の例は、国際公開第2016/196975号に記載されている。VRC07およびVRC07-523の開示の例は、米国特許第8,637,036号、米国特許出願公開第2014/0322163(A1)号、国際公開第2016/196975号および国際公開第2017/79479号に記載されている。

20

【0074】

1つの実施形態では、広域中和抗体Abは、gp160、gp120およびgp41からなる群から選択されるHIVエンベロープ糖タンパク質と結合する。

【0075】

1つの実施形態では、広域中和抗体Abは、HIVエンベロープ糖タンパク質gp120と結合する。

30

【0076】

1つの実施形態では、広域中和抗体Abは、HIVエンベロープ糖タンパク質gp41と結合する。

【0077】

本発明の態様では、広域中和抗体は、次のCDR:CDRH1(配列番号3)、CDRH2(配列番号4)、CDRH3(配列番号5)、CDRL1(配列番号6)、CDRL2(配列番号7)およびCDRL3(配列番号8)のうちいずれか1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは全てを含んでなる。本発明の実施形態では、広域中和抗体は、配列番号9の重鎖可変領域および/または配列番号10の軽鎖可変領域を含んでなる。本発明の実施形態では、広域中和抗体は、重鎖の428位におけるロイシン残基および重鎖の434位におけるセリン残基を含んでなる。本発明の実施形態では、広域中和抗体は、配列番号11と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する重鎖および/または配列番号13と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する軽鎖を含んでなる。本発明の実施形態では、広域中和抗体は、配列番号12の重鎖を含んでなる。

40

【0078】

50

実施形態では、広域中和抗体は、配列番号 9 と少なくとも 90 % の配列同一性を有する重鎖および配列番号 10 と少なくとも 90 % の配列同一性を有する軽鎖を含んでなる。

【0079】

実施形態では、広域中和抗体は、配列番号 11 の重鎖を含んでなり、必要に応じて配列番号 13 の軽鎖を含んでなる。

【0080】

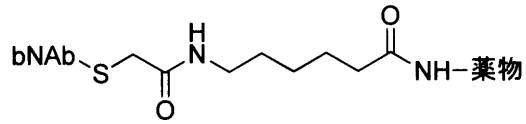
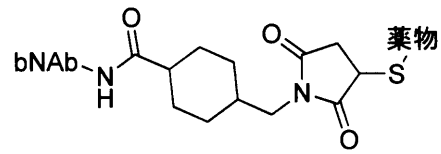
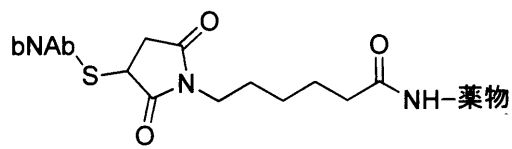
本発明の態様では、広域中和抗体は、次の CDR : CDRH1 (配列番号 14)、CDRH2 (配列番号 15)、CDRH3 (配列番号 16)、CDRL1 (配列番号 17)、CDRL2 (配列番号 18) および CDRL3 (配列番号 19) のうちいずれか 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つまたは全てを含んでなる。実施形態では、広域中和抗体は、配列番号 20 と少なくとも 90 % の配列同一性を有する重鎖および配列番号 21 と少なくとも 90 % の配列同一性を有する軽鎖を含んでなる。本発明の実施形態では、広域中和抗体は、配列番号 20 の重鎖可変領域および配列番号 21 の軽鎖可変領域を含んでなる。本発明の実施形態では、広域中和抗体は、重鎖の 428 位におけるロイシン残基および重鎖の 434 位におけるセリン残基を含んでなる。本発明の実施形態では、広域中和抗体は、配列番号 22 と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % の配列同一性を有する重鎖および配列番号 23 と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % の配列同一性を有する軽鎖を含んでなる。

【0081】

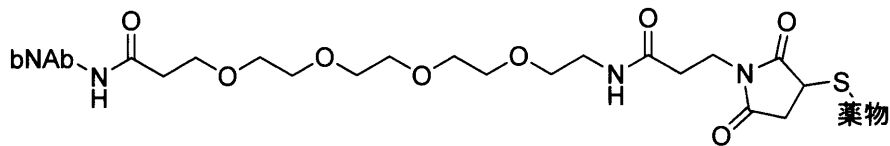
本発明によれば、リンカー分子は、広域中和抗体と共有結合している。このようなリンカーの例は当技術分野において公知であり、好ましくは、例えば、開裂可能リンカーおよび開裂しないリンカーが挙げられる。開裂しないリンカーの例としては、酸または塩基に敏感である (リンカーを含むヒドラゾンなど)、還元剤または酸化剤に敏感でない (ジスルフィド結合を含むものなど)、および細胞もしくは循環系内で見られ得る酵素に敏感でないポリエチレングリコール鎖またはポリエチレン鎖を含むリンカーが挙げられ得る。例えば、米国特許第 8,470,980 号および米国特許出願公開第 2009/020253 号参照。特に好ましいリンカーの例としては、これに限定されないが、下記の次の構造から選択されるものが挙げられる。これらの実施形態では、リンカーは、本発明による様々な抗体薬物複合体との関連で例証される。「bNAb」と示される化学部分は、各リンカーがリンカーの位置と結合し、該位置にある広域中和抗体を表す。同様に、用語「薬物」は、各リンカーがリンカーの位置と結合し、該位置にある HIV 付着阻害剤化合物を表す。

【0082】

【化 1】



10



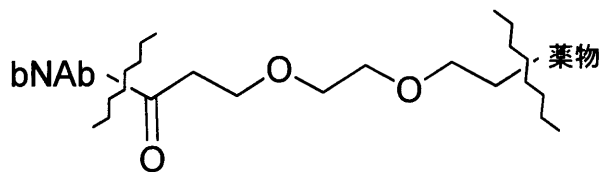
【 0 0 8 3】

リンカーの他の例としては、これに限定されないが、下記のものが挙げられる：

20

【 0 0 8 4】

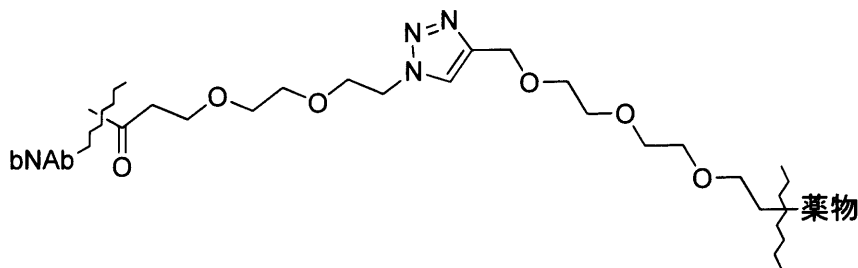
【化 2】



【 0 0 8 5】

【化 3】

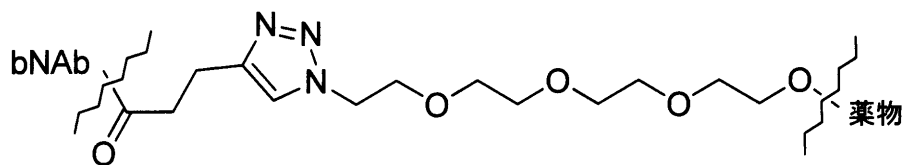
30



【 0 0 8 6】

40

【化 4】



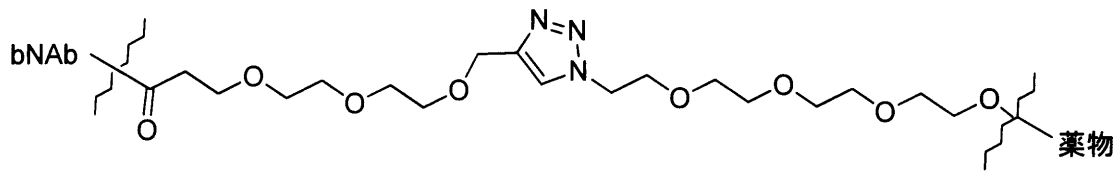
【 0 0 8 7】

および

【 0 0 8 8】

50

【化 5】



【0089】

上記実施形態では、bNAbおよび薬物は、各々、様々な抱合によりリンカーと結合している（例えば、システインおよびリジン）。適切な他のものを使用してもよい。

10

【0090】

特に適切なリンカーおよび抗体薬物複合体との結合方法の例は、Perez et al., Drug Discovery Today, Vol. 19, No. 7, (2014), pp. 869-881に開示されている。その中に記載されているように、化学結合の1つの非限定的例では、薬物-リンカーにペンドントした反応部分は、アミノ酸残基鎖、通常リジンのε-アミンにより抗体と共有結合し得る。マイロターゲット1で示されるように、ゲムツズマブのリジン残基の直接結合を、安定な結合を生成するために薬物-リンカーに付加されたN-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）エステルを用いて行うことが出来る（例えば、Bros, P.F., et al., Approval summary: gemtuzumab ozogamicin in relapsed acute myeloid leukemia, Clin. Cancer Res., 17, pp. 1490-1496 (2001)参照）。抗体の表面リジンが最初に修飾されてマレイミドなどの反応性基を導入し、それから、適切な反応性ハンドル（例えば、チオール）を含む薬物-リンカーと抱合する二工程過程も用いることができる（例えば、Junutula, J.R. et al., Site-specific conjugation of a cytotoxic drug to an antibody improves the therapeutic index, Nat. Biotechnol., 26: pp. 925-932 (2008)参照）。当技術分野で公知の様々な確立された部位特異的抱合方法を、ADCの製造に使用することができる。例えば、チオマブ（thiomab）薬物抱合、トランスグルタミナーゼによる抗体薬物複合体、抗体薬物複合体の非天然アミノ酸、スマータグ（SmarTag）など〔例えば、Christopher R Behrens & Bin Liu, Methods for site-specific drug conjugation to antibodies, mAbs, Vol 6, No. 1, pp. 46-53 (2014)参照〕。

20

30

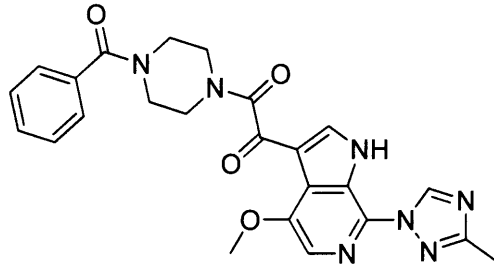
【0091】

本発明によれば、抗体薬物複合体は、前記リンカー分子と共有結合した1つ以上の薬物を含み、前記1つ以上の薬物は前記HIVエンベロープ糖タンパク質と結合可能である。1つの非限定的例として、該1つ以上の薬物は付着阻害剤から選択される。これは、bNAbと共有結合した第一リンカー分子と共有結合した第一薬物、およびbNAbと共有結合した第二リンカー分子と共有結合した第二薬物を有する実施形態も包含する。本明細書で使用されるとき、用語「付着阻害剤」は、HIVビリオンのヒト細胞との結合、融合およびHIVビリオンのヒト細胞への侵入を干渉することによるHIV感染症の治療のために使用される薬物または薬剤（例えば、抗レトロウイルス剤）を表す。付着阻害剤の例としては、gp120付着阻害剤およびgp160付着阻害剤が挙げられるが、これに限定されない。付着阻害剤の例としては、gp120付着阻害剤、gp160付着阻害剤、およびgp41付着阻害剤が挙げられるが、これに限定されない。理論に束縛されるものではないが、1つの実施形態では、付着阻害剤はgp160エンベロープタンパク質を標的とする（gp120+gp41）。付着阻害剤の例は、アザインドールオキソアセチルピペラジン誘導体、および特に好ましい付着阻害剤は、米国特許第7,501,420号；同第7,354,924号、および同第7,662,823号に記載されているような式：

40

【0092】

【化 6】



10

【0093】

である。

【0094】

薬物の他の例としては、例えば、米国特許第6,133,418号および同第6,475,491号に記載されているようなペプチド類が挙げられるが、これに限定されない。例えば、薬物はCD4と結合するペプチドであってよい。このような薬物の好ましい例は、下記配列番号2に記載されている：

Ac-Tyr-Thr-Ser-Leu-Ile-His-Ser-Leu-Ile-Glu-Glu-Ser-Gln-Asn-Gln-Gln-Glu-Lys-Asn-Glu-Gln-Glu-Leu-Leu-Glu-Leu-Asp-Lys-Trp-Ala-Ser-Leu-Trp-Asn-Trp-Phe-NH₂

20

【0095】

配列番号2は、Roche社から市販されている商品名フューゼオン（FUZEON）（登録商標）T-20として公知である。

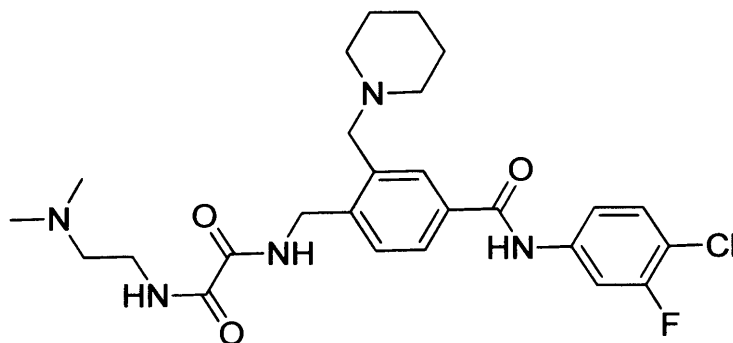
【0096】

適切な化合物の他の例としては、例えば、gp160付着阻害剤である下記に記載のもの：

【0097】

【化 7】

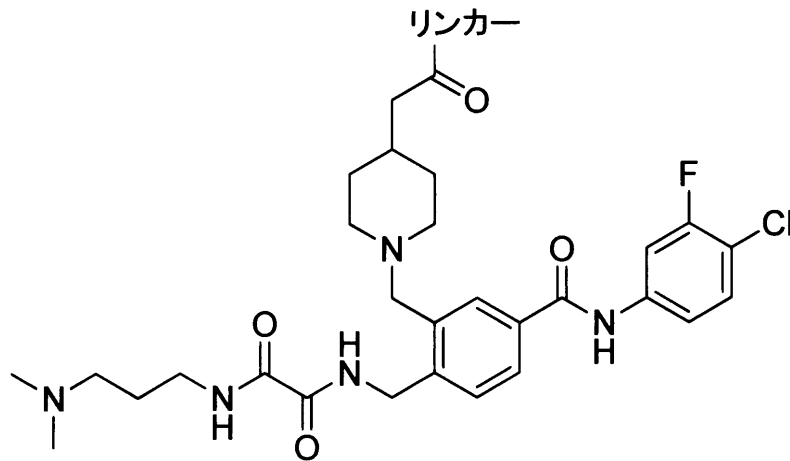
30



40

【0098】

【化 8】



10

【0099】

が挙げられる

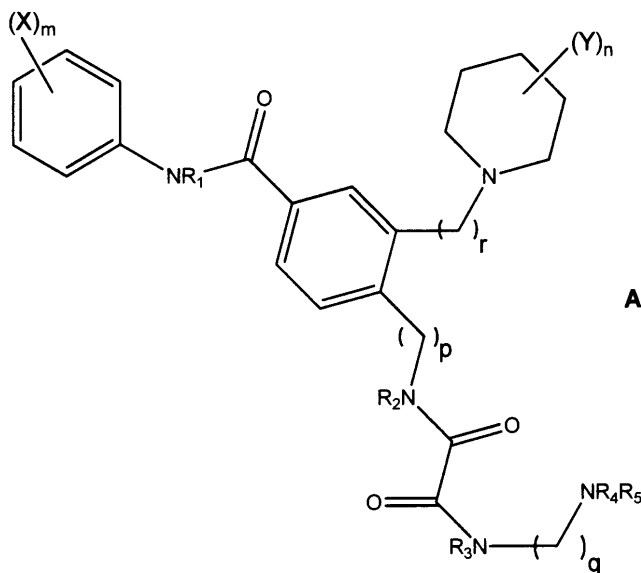
【0100】

本発明は、本明細書で開示される抗体薬物複合体における薬物として使用してもよい式 A の化合物も提供する：

20

【0101】

【化 9】



30

A

【0102】

式中：

X および Y は、H、(C₁ ~ C₆) アルキル、(C₁ ~ C₆) アルコキシ、ハロ、オキソ、ハロアルキル、ビハロアルキル、トリハロアルキル、ハロアルコキシ、ビハロアルコキシ、トリハロアルコキシ、ヒドロキシル、アミノ、アミドおよび (C₁ ~ C₆) アルキル - (C=O) - (C₁ ~ C₆) からなる群から独立して選択され；

R₁、R₂、R₃、R₄ および R₅ は、各々、H または (C₁ ~ C₆) アルキル から独立して選択され；

m は、0 ~ 5；より好ましくは 1 ~ 4 の範囲にあり；

n は、0 ~ 5；より好ましくは 1 ~ 4 の範囲にあり；

40

50

r は、0～6、より好ましくは1～6、最も好ましくは1～4の範囲にあり；
 p は、0～6、より好ましくは1～6、最も好ましくは1～4の範囲にあり；および
 q は、0～6、より好ましくは1～6、最も好ましくは1～4の範囲にあり；
 式Aの化合物は、R₄もしくはR₅；またはYによりリンカーと結合することができる。

。

【0103】

式Aの化合物に関する1つの実施形態では：

Xは、C1およびFから選択され；mは、2であり；

Yは、Hであり；

R₁、R₂、R₃、R₄およびR₅は、各々、Hであり；

10

r は、1～4の範囲にあり；最も好ましくは1であり；

p は、1～4の範囲にあり；最も好ましくは1であり；および

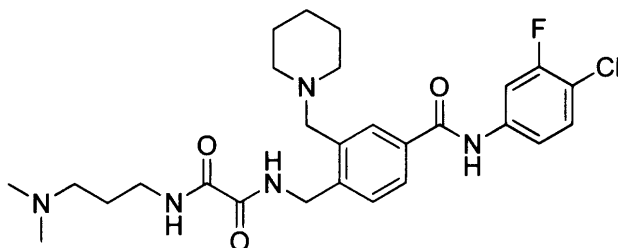
q は、1～4の範囲にあり；最も好ましくは2である。

【0104】

式Aの好ましい化合物は：

【0105】

【化10】



20

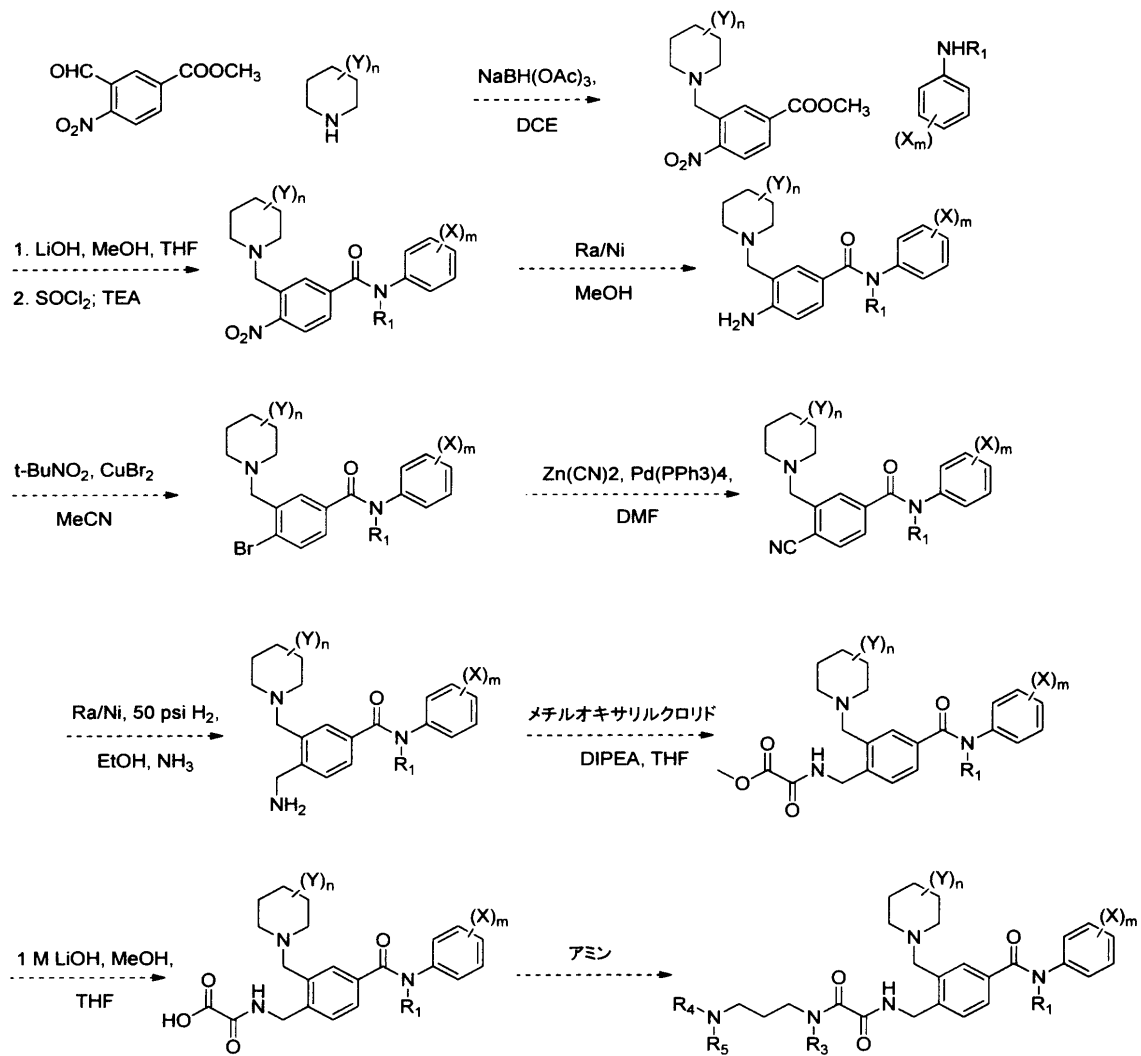
【0106】

である。

このような化合物を次の合成により製造してもよい。

【0107】

【化 1 1】



10

20

30

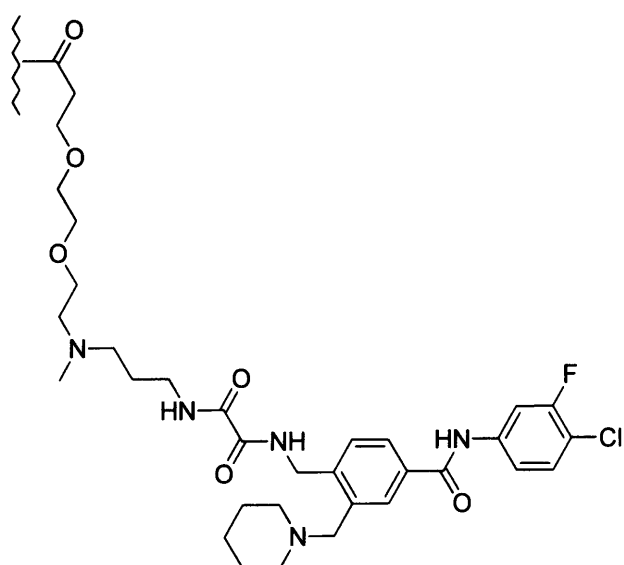
【0108】

式中、X、Y、m、n、 R_1 および R_4 は本明細書中上記に定義されている。

本発明による抗体と共に使用してもよい薬物-リンカー対の例としては、これに限定されないが、次のものである：

【0109】

【化 1 2】



gp160

10

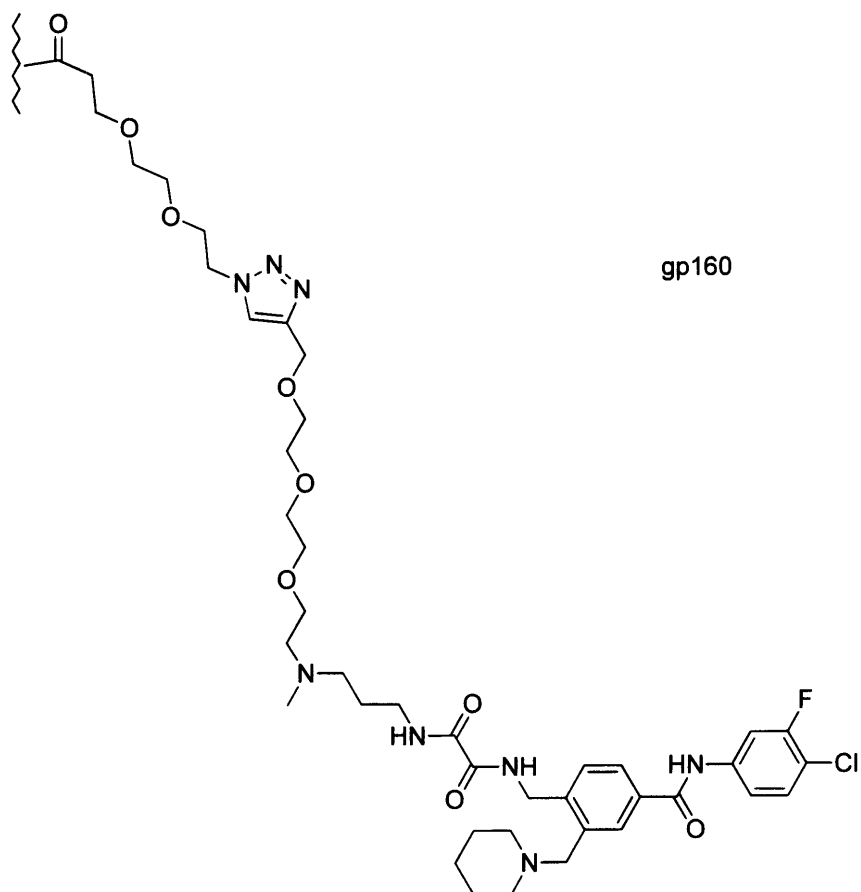
【 0 1 1 0】

:

20

【 0 1 1 1】

【化 1 3】



gp160

30

40

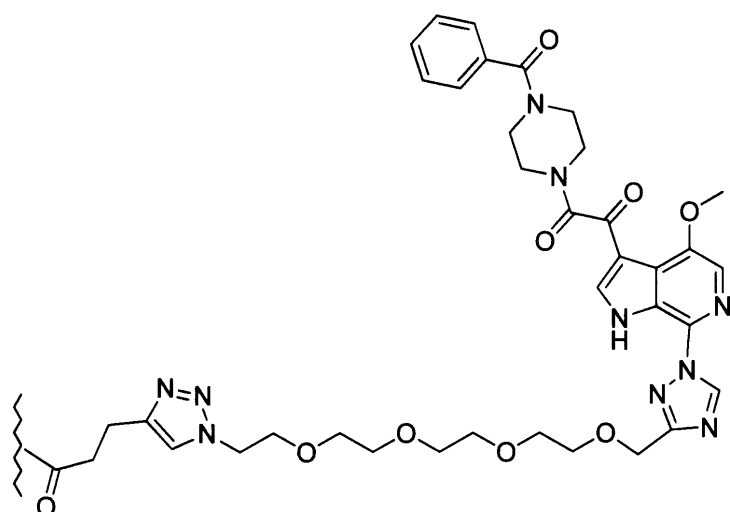
【 0 1 1 2】

:

50

【0113】

【化14】



gp120

10

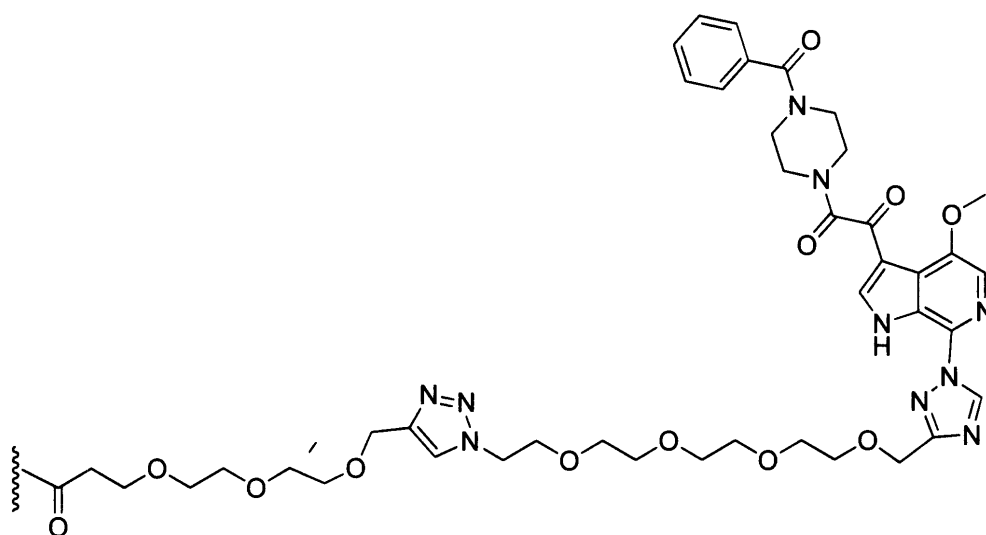
【0114】

および

【0115】

【化15】

20



gp120

30

【0116】

式中、

【0117】

【化16】

40



【0118】

はbNAbとの結合を表す。

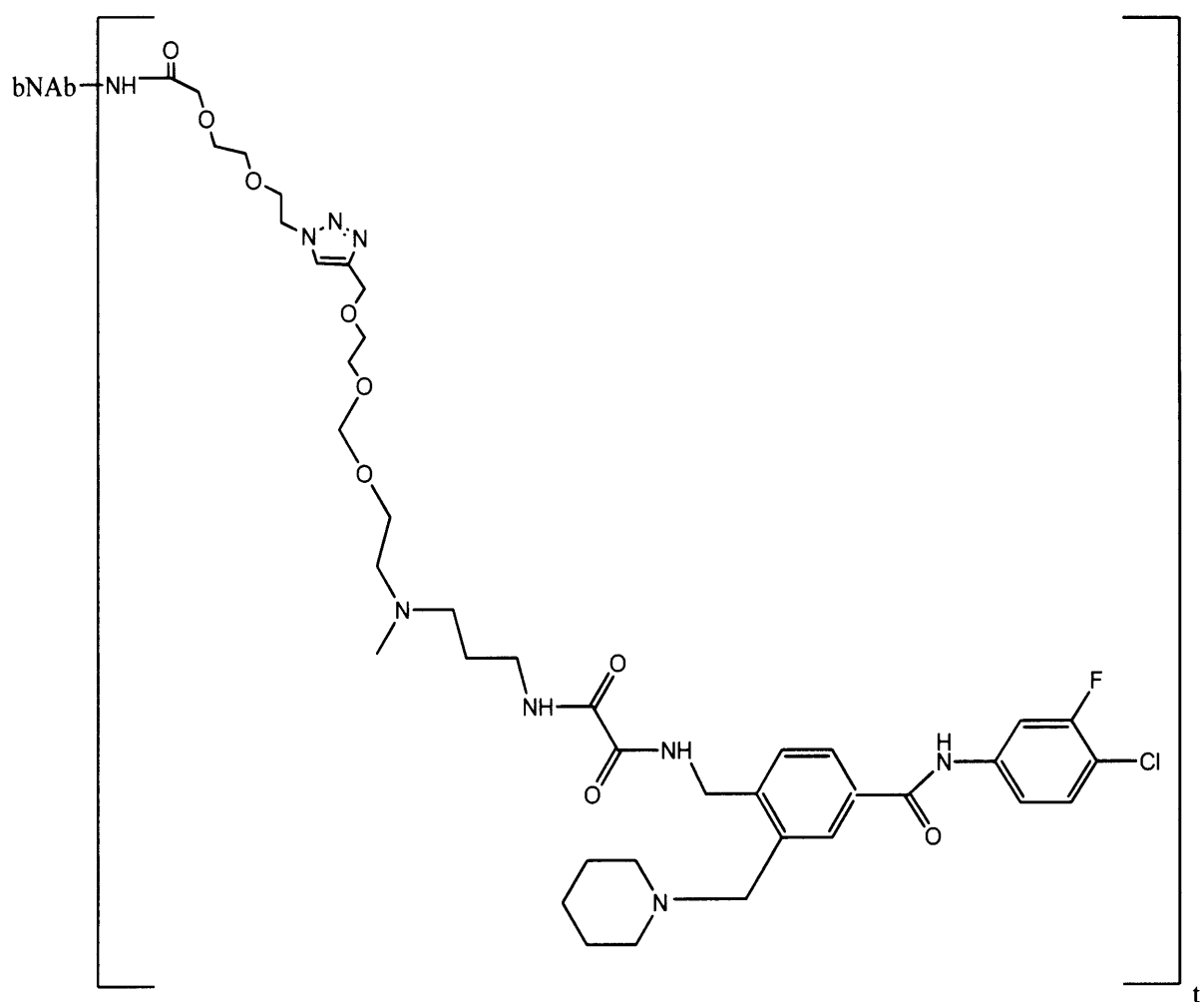
【0119】

抗体薬物複合体の特定の実施形態は次のものである：

【0120】

50

【化 1 7】



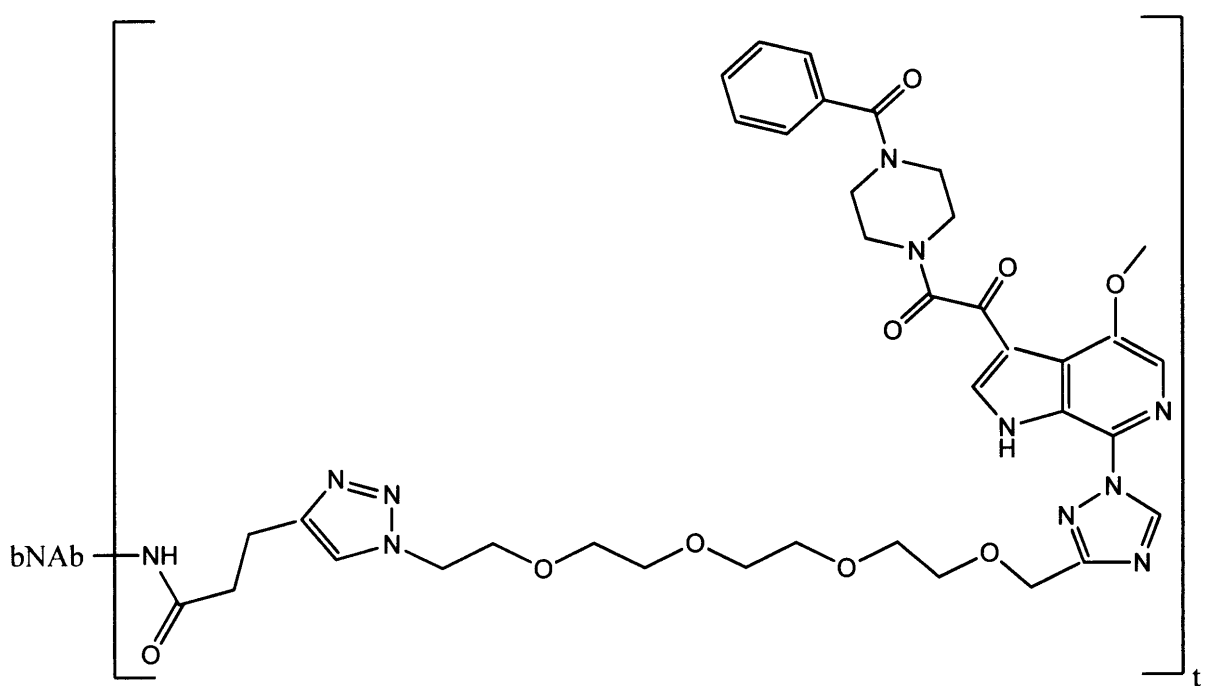
10

20

30

【 0 1 2 1】

【化 1 8】

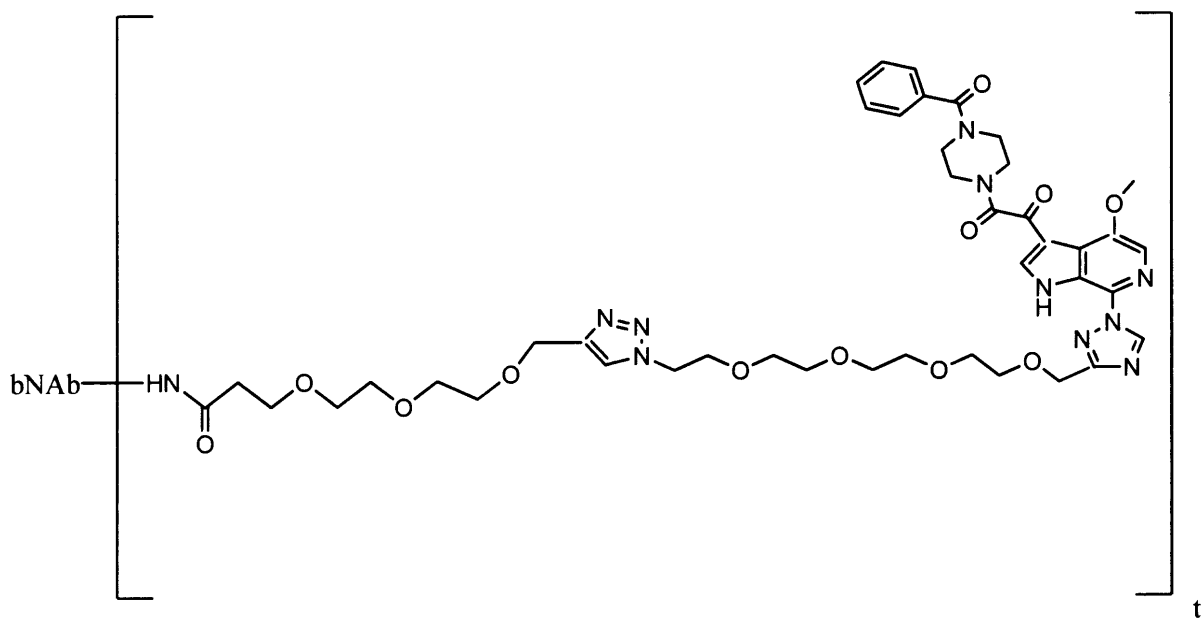


40

50

【 0 1 2 2 】

【 化 1 9 】

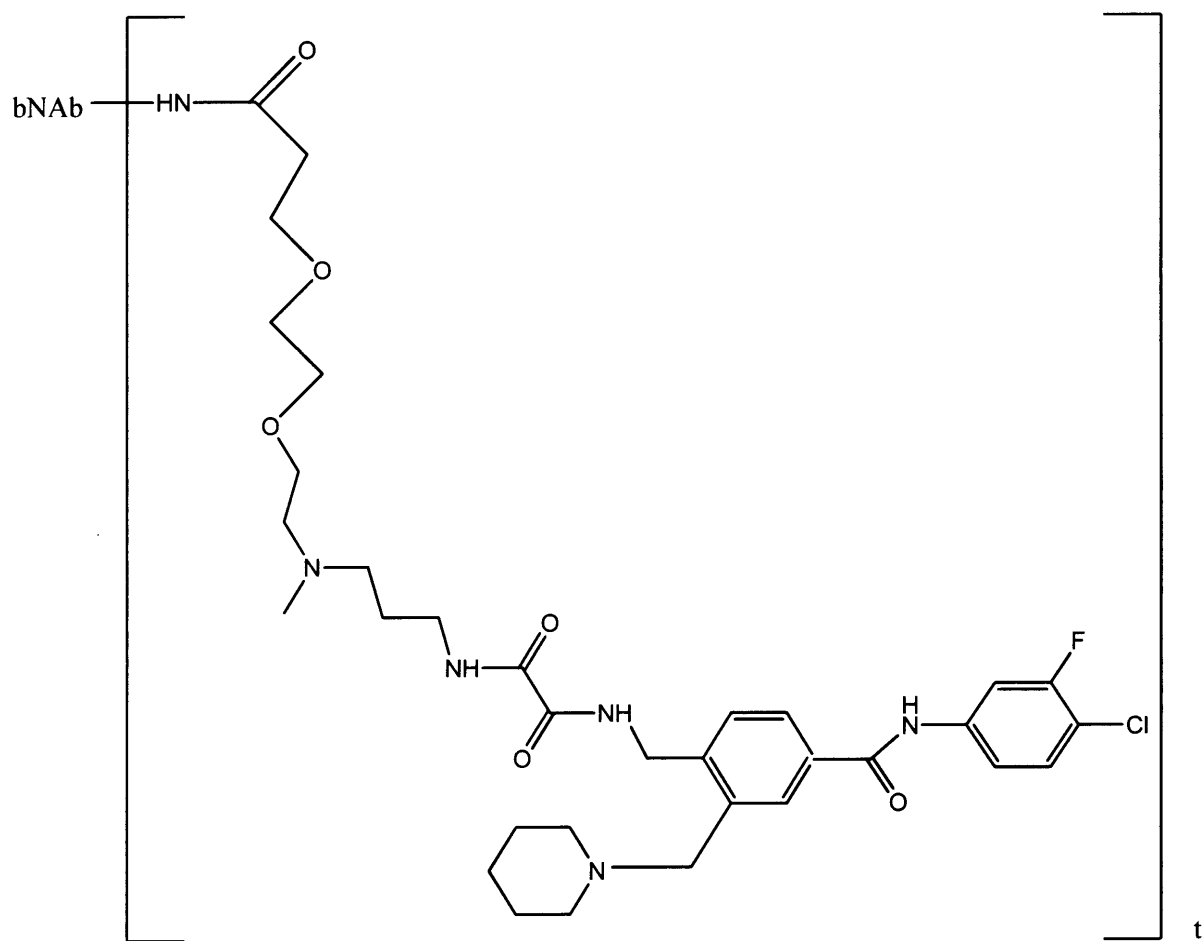


10

20

【 0 1 2 3 】

【 化 2 0 】



30

40

【 0 1 2 4 】

50

式中、 t は 1 ～ 12 の範囲にある。

【0125】

HIV 治療のための現在の化合物および薬剤の例としては、AMD070、BMS-488043、フォジブジンチドキシル (Fozivudine tidoxil)、GSK-873、140 (アブラビロック)、PRO 140、PRO 542、ペプチド T、SCH-D (ビクリビロック)、TNX-355、および UK-427, 857 (マラビロック) などの様々な他の侵入および融合阻害薬；米国特許第 9, 259, 433 号に記載されているような GS 9137、MK-0518 などのインテグラーゼ阻害薬が挙げられる。

【0126】

1 つの非限定的態様では、本発明は、抗体または抗原結合分子内の特定のアミノ酸における結合により、リンカーが抗体を薬剤と結合させる抗体薬物複合体を包含する。例えば、米国特許第 9, 302, 015 号参照。本発明のこの態様との関連で使用する事ができる例となるアミノ酸結合としては、例えば、リジン（例えば、米国特許第 5, 208, 020 号；米国特許出願公開第 2010/0129314 号；Hollander et al., Bioconjugate Chem., 2008, 19:358-361；国際公開第 2005/089808 号；米国特許第 5, 714, 586 号；米国特許出願公開第 2013/0101546 号；および米国特許出願公開第 2012/0585592 号参照）、システイン（例えば、米国特許出願公開第 2007/0258987 号；国際公開第 2013/055993 号；国際公開第 2013/055990 号；国際公開第 2013/053873 号；国際公開第 2013/053872 号；国際公開第 2011/130598 号；米国特許出願公開第 2013/0101546 号；および米国特許第 7, 750, 116 号参照）、セレノシステイン（例えば、国際公開第 2008/122039 号；および Hofer et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2008, 105:12451-12456 参照）、ホルミルグリシン（例えば、Carrico et al., Nat. Chem. Biol., 2007, 3:321-322；Agarwal et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2013, 110:46-51、および Rabuka et al., Nat. Protocols, 2012, 10:1052-1067 参照）、非天然アミノ酸（例えば、国際公開第 2013/068874 号、および国際公開第 2012/166559 号参照）、および酸性アミノ酸（例えば、国際公開第 2012/05982 号参照）が挙げられる。リンカーは、炭水化物（例えば、米国特許出願公開第 2008/0305497 号、国際公開第 2014/065661 号、および Ryan et al., Food & Agriculture Immunol., 2001, 13:127-130 参照）およびジスルフィドリンカー（例えば、国際公開第 2013/085925 号、国際公開第 2010/010324 号、国際公開第 2011/018611 号、および Shaunak et al., Nat. Chem. Biol., 2006, 2:312-313 参照）との結合によっても抗原結合タンパク質と抱合することができる。

【0127】

抗体薬物複合体中の薬物がペプチドまたはポリペプチド、例えば、DAB である実施形態では、リンカーは、融合タンパク質をもたらす抗体重鎖の 1 つもしくは両方または抗体軽鎖の 1 つもしくは両方と薬物ペプチドもしくは薬物ポリペプチドを結合させるアミノ酸リンカーであってよい。実施形態では、薬物ペプチドまたは薬物ポリペプチドを、抗体の重鎖の 1 つまたは両方の C 末端と融合する。実施形態では、アミノ酸リンカーは、0 ～ 150 アミノ酸長であり、より特に、別の実施形態の例として、0 ～ 50 アミノ酸長である。

【0128】

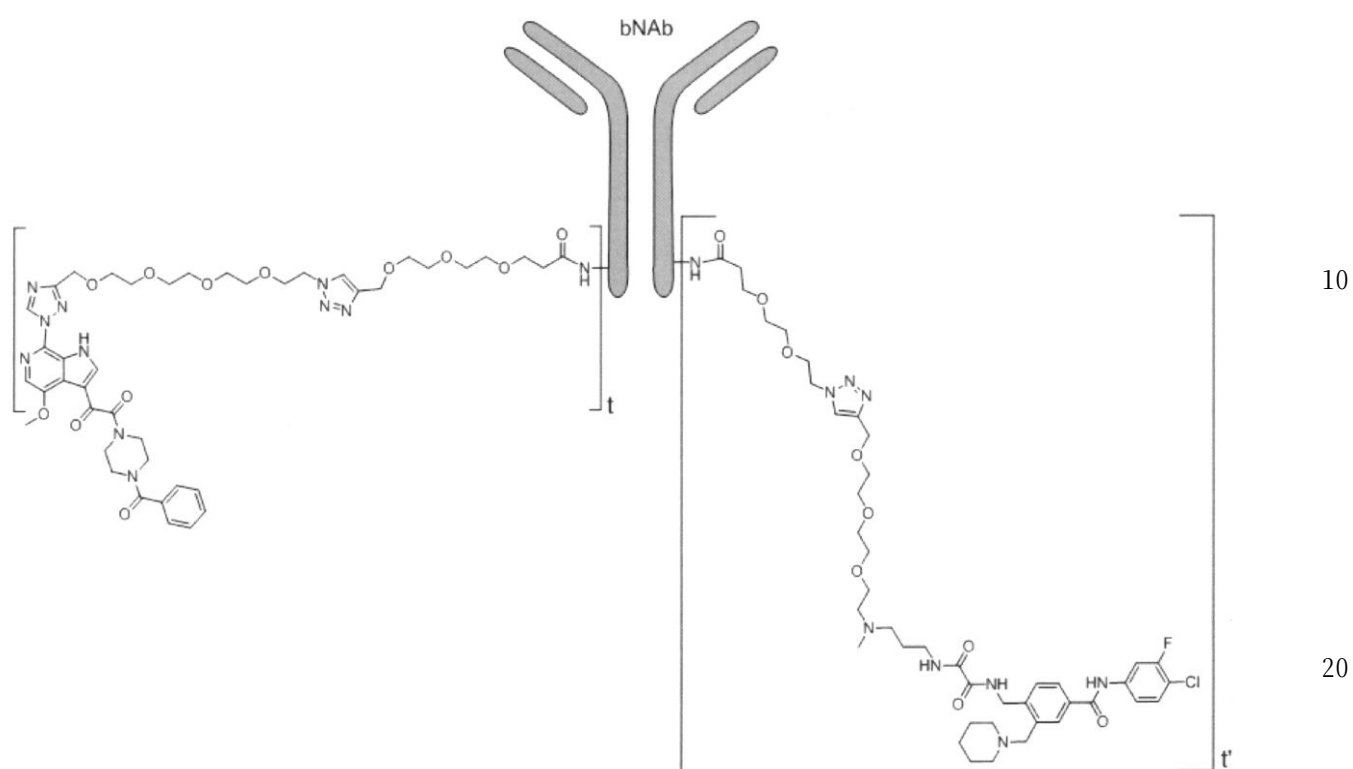
別の態様では、本明細書で定義されたように、本発明は、1 つ以上の薬物が 2 つ以上の別々の位置において抗体と結合している抗体薬物複合体を包含する。このような態様は、これに限定されないが、本明細書で定義された抗体、リンカーおよび薬物のいずれかを包含し得る。

【0129】

このような抗体薬物複合体の特定の例は、これに限定されないが：

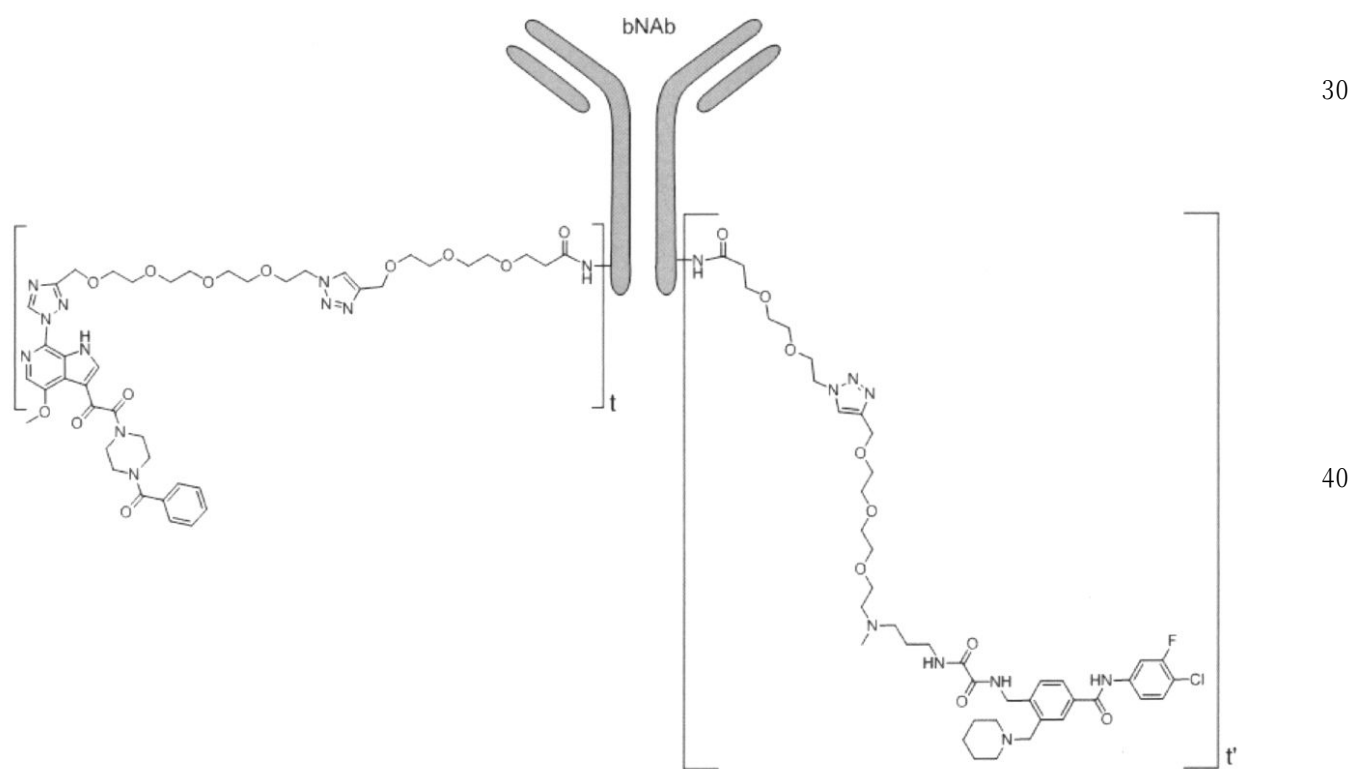
【0130】

【化 2 1】



【 0 1 3 1】

【化 2 2】



【 0 1 3 2】

50

式中、 t および t' は各々、独立して、1～12の範囲にある、である。

【0133】

患者の疾病を「治癒」または「治癒すること」は、定められた期間、ヒト免疫不全ウイルスもしくは症状の根絶、停止、休止もしくは終了、または症状もしくはウイルスの進行を示すために使用される。例として、1つの実施形態では、「治癒」または「治癒すること」は、他の治療介入なく、例として最短1年または2年後、ヒト免疫不全ウイルスの持続的ウイルス制御（例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）試験、bDNA（分岐鎖DNA）試験またはNASBA（核酸配列ベース増幅）試験による血漿ウイルス血症の検出不能レベル）を、単独または1つ以上の薬剤と併用して誘導して維持する治療投与または投与の組合せを表す。上記PCR、bDNAおよびNASBA試験は、当業者に公知でありなじみがある技術を用いて行われる。例として、ヒト免疫不全ウイルスもしくは症状の根絶、停止、休止もしくは終了、または症状もしくはウイルスの進行は、最短2年間持続し得る。

10

【0134】

患者の疾病の「治療すること」または「治療」は、1）病気に罹患することもしくは疾病症状をまだ示さない患者に疾病が起こることを防止すること；2）疾病を抑制もしくはその発症を抑止すること；または3）疾病を寛解させるもしくは疾病を軽減させることを表す。

【0135】

本発明の1つの実施形態によれば、本明細書に記載されている抗体薬物複合体および薬剤的に許容可能な賦形剤を含んでなる医薬組成物を提供する。

20

【0136】

本発明の1つの実施形態によれば、対象に、本明細書に記載されている抗体薬物複合体を投与することを含む、対象のHIV感染症の治癒方法を提供する。

【0137】

本発明の1つの実施形態によれば、対象に、本明細書に記載されている医薬組成物を投与することを含む、対象のHIV感染症の治癒方法を提供する。

【0138】

本発明の1つの実施形態によれば、対象に、本明細書に記載されている抗体薬物複合体を投与することを含む、対象のHIV感染症の治療方法を提供する。

30

【0139】

本発明の1つの実施形態によれば、対象に、本明細書に記載されている医薬組成物を投与することを含む、対象のHIV感染症の治療方法を提供する。

【0140】

本発明の1つの実施形態によれば、対象に、本明細書に記載されている抗体薬物複合体を投与することを含む、HIV感染症を発症する危険性のある対象のHIV感染症の予防方法を提供する。

【0141】

本発明の1つの実施形態によれば、対象に、本明細書に記載されている医薬組成物を投与することを含む、HIV感染症を発症する危険性のある対象のHIV感染症の予防方法を提供する。

40

【0142】

本発明の別の実施形態では、医薬品として使用するための、本明細書に記載されている抗体薬物複合体を提供する。

【0143】

本発明の別の実施形態では、HIV感染症の治癒に使用するための、本明細書に記載されている抗体薬物複合体を提供する。

【0144】

本発明の別の実施形態では、HIV感染症の治療に使用するための、本明細書に記載さ

50

れている抗体薬物複合体を提供する。

【0145】

本発明の別の実施形態では、H I V 感染の予防に使用するための、本明細書に記載されている抗体薬物複合体を提供する。

【0146】

本発明の別の実施形態では、抗体薬物複合体を提供し、該抗体薬物複合体をヒトのH I V 感染症の治療に使用するための、医薬品製造に使用する。

【0147】

本発明の別の実施形態では、抗体薬物複合体を提供し、該抗体薬物複合体をヒトのH I V 感染の予防に使用するための、医薬品製造に使用する。

10

【0148】

本発明の別の実施形態では、抗体薬物複合体を提供し、該抗体薬物複合体またはこの化合物の塩をヒトのH I V 感染症の治療に使用するための、医薬品製造に使用する。

【0149】

1つの実施形態では、抗体薬物複合体を含有する医薬製剤は、非経口投与に適した製剤である。別の実施形態では、製剤は長時間作用性の非経口用製剤である。

【0150】

本発明の抗体薬物複合体を、単独で使用してもよく、他の治療薬と併用して使用してもよい。したがって、他の実施形態では、対象のH I V 感染症の治療方法および／または予防方法は、抗体薬物複合体の投与に加えて、1つ以上の追加のH I V に対して活性を有する医薬品の投与をさらに含む。

20

【0151】

かかる実施形態では、H I V に対して活性を有する1つ以上の追加の薬剤は、ジドブジン、ジダノシン、ラミブジン、ザルシタビン、アバカビル、スタブジン、アデホビル、アデホビルピボキシル、ホジブジン、トドキシル、エムトリシタビン、アロブジン、アムドキシビル、エルブシタビン、ネビラピン、デラビルジン、エファビレンツ、ロビリド、イムノカル、オルチプラズ、カプラビリン、レルシビリン、G S K 2 2 4 8 7 6 1、T M C - 2 7 8、T M C - 1 2 5、エトラビリン、サキナビル、リトナビル、インジナビル、ネルフィナビル、アンプレナビル、ホスアンプレナビル、ブレカナビル、ダルナビル、アタザナビル、チプラナビル、パリナビル、ラシナビル、エンフビルチド、T - 2 0、T - 1 2 4 9、P R O - 5 4 2、P R O - 1 4 0、T N X - 3 5 5、B M S - 8 0 6、B M S - 6 6 3 0 6 8 および B M S - 6 2 6 5 2 9、5 - ヘリックス、ラルテグラビル、エルビテグラビル、ドルテグラビル、カボテグラビル、ビクリビロック (S c h - C)、S c h - D、T A K 7 7 9、マラビロック、T A K 4 4 9、ジダノシン、テノホビル、ロピナビル、およびダルナビルからなる群から選択される。

30

【0152】

このように、本発明の抗体薬物複合体および他の医薬活性剤を、一緒にまたは別々に投与してもよく、別々に投与する場合、いずれもの順番で同時にまたは順次投与を行ってもよい。本発明の抗体薬物複合体および他の医薬活性剤ならびに投与の相対的タイミングは、所望の組合せた治療効果を達成するように選択され得る。抗体薬物複合体と他の治療薬剤とを併用した投与は、(1) 両方の化合物を含む1つになった医薬組成物；または(2) 各々が化合物の1つを含む別々の医薬組成物で同時に投与することにより組み合わせてもよい。あるいは、1つに治療薬を最初に投与して他の2番目を投与するかその逆の場合、組合せは、順番に別々で投与してもよい。このような順番の投与は、時間を空けずに行ってもよく、時間的に遠くてもよい。抗体薬物複合体および他の医薬活性剤ならびに投与の相対的タイミングは、所望の組み合わせた治療効果を達成するように選択され得る。

40

【0153】

加えて、抗体薬物複合体を、H I V の予防、治療または治癒に有用であり得る1つ以上の他の薬剤と併用して使用してもよい。このような薬剤の例としては：

ジドブジン、ジダノシン、ラミブジン、ザルシタビン、アバカビル、スタブジン、アデ

50

ホビル、アデホビルピボキシル、ホジブジン、トドキシル、エムトリシタビン、アロブジン、アムドキシビル、エルブシタビン、TDF、TAFなどのヌクレオチド系逆転写酵素阻害薬および同様の薬剤；

ネビラピン、デラビルジン、エファビレンツ、ロビリド、イムノカル、オルチプラズ、カプラビリン、レルシビリン、GSK2248761、TMC-278、TMC-125、エトラビリン、および同様の薬剤などの非ヌクレオチド系逆転写酵素阻害薬（イムノカル、オルチプラズ、その他などの抗酸化活性を有する薬剤を含む）；

サキナビル、リトナビル、インジナビル、ネルフィナビル、アンプレナビル、ホスアンプレナビル、ブレカナビル、ダルナビル、アタザナビル、チプラナビル、パリナビル、ラシナビル、および同様の薬剤などのプロテアーゼ阻害薬；

ラルテグラビル、エルビテグラビル、ビクテグラビル、ドルテグラビル、カボテグラビルおよび同様の薬剤などのインテグラーゼ阻害薬；

PA-344およびPA-457、ならびに同様の薬剤などの成熟阻害薬；ならびにGSK2838232。

ビクリビロック（Sch-C）、Sch-D、TAK779、マラビロック（UK 427, 857）、TAK449などのCXCR4および／またはCCR5阻害薬、ならびに国際公開第02／74769号、国際出願PCT／US03／39644号、国際出願PCT／US03／39975号、国際出願PCT／US03／39619号、国際出願PCT／US03／39618号、国際出願PCT／US03／39740号、および国際出願PCT／US03／39732号に開示されているもの、および同様の薬剤が挙げられる。

【0154】

本発明の抗体薬物複合体をHIVの予防または治療に有用な1つ以上の薬剤と併用して使用してもよいさらなる例は、表2に示している。

【0155】

10

20

【表 2】

表 2

FDA 認可	商品名	一般名	製造者
ヌクレオシド系逆転写酵素阻害薬 (NRTI)			
1987	レトロビル (Retrovir)	ジドブジン、アジドチ ミジン、AZT、ZDV	GlaxoSmithKline
1991	ヴァイデックス (Videx)	ジダノシン、ジデオキ シイノシン、ddI	Bristol-Myers Squibb
1992	ハイビッド (Hivid)	ザルシタビン、ジデオ キシシチジン、ddC	Roche Pharmaceuticals
1994	ゼリット (Zerit)	スタブジン、d4T	Bristol-Myers Squibb
1995	エピビル (Epivir)	ラミブジン、3TC	GlaxoSmithKline
1997	コンビビル (Combivir)	ラミブジン+ジドブジ ン	GlaxoSmithKline
1998	ザイアジェン (Ziagen)	硫酸アバカビル、ABC	GlaxoSmithKline
2000	トリジビル (Trizivir)	アバカビル+ ラミブ ジン+ ジドブジン	GlaxoSmithKline
2000	ヴァイデックス (Videx) EC	腸溶性ジダノシン、 ddI EC	Bristol-Myers Squibb
2001	ビリアード (Viread)	テノホビルジソプロ キシルフマル酸塩、 TDF	Gilead Sciences
2003	エムトリバ (Emtriva)	エムトリシタビン、 FTC	Gilead Sciences
2004	エプジコム (Epzicom)	アバカビル+ ラミブ ジン	GlaxoSmithKline
2004	ツルバダ (Truvada)	エムトリシタビン+テ ノホビルジソプロキ シルフマル酸塩	Gilead Sciences
非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害薬 (NNRTIs)			
1996	ビラミューン (Viramune)	ネビラピン、NVP	Boehringer Ingelheim
1997	レスクリプター (Rescriptor)	デラビルジン、DLV	Pfizer
1998	サスティバ (Sustiva)	エファビレンツ、EFV	Bristol-Myers Squibb
2008	インテレンス (Intelence)	エトラビリン	Tibotec Therapeutics
プロテアーゼ阻害薬 (PIs)			
1995	インビラーゼ (Invirase)	メシル酸サキナビル、 SQV	Roche Pharmaceuticals

10

20

30

40

1996	ノービア (Norvir)	リトナビル、RTV	Abbott Laboratories
1996	ク リ キ シ バ ン (Crixivan)	インジナビル、IDV	Merck
1997	ビ ラ セ プ ト (Viracept)	ネルフィナビルメシ ル酸塩、NFV	Pfizer
1997	フ ォ ル ト バ ー ゼ (Fortovase)	サキナビル(販売中 止)	Roche Pharmaceuticals
1999	ア ジ エ ネ ラ ー ゼ (Agenerase)	アンプレナビル、APV	GlaxoSmithKline
2000	カレトラ (Kaletra)	ロピナビル+リトナビ ル、LPV/RTV	Abbott Laboratories
2003	レ イ ア タ ッ ツ (Reyataz)	アタザナビル硫酸塩、 ATV	Bristol-Myers Squibb
2003	レクシヴァ (Lexiva)	ホスアンプレナビル カルシウム、FOS-APV	GlaxoSmithKline
2005	ア プ テ ィ バ ス (Aptivus)	トリプラナビル、TPV	Boehringer Ingelheim
2006	プ リ ジ ス タ (Prezista)	ダルナビル	Tibotec Therapeutics
融合阻害剤			
2003	フゼオン (Fuzeon)	エンフビルチド、 T-20	Roche Pharmaceuticals & Trimeris
侵入阻害剤			
2007	シーエルセントリ (Selzentry)	マラビロック	Pfizer
インテグラーゼ阻害薬			
2007	ア イ セ ン ト レ ス (Isentress)	ラルテグラビル	Merck
2013	テビケイ (Tivicay)	ドルテグラビル	ViiV Healthcare
---	---	カボテグラビル	

【 0 1 5 6 】

本発明の抗体薬物複合体とH I V薬剤との併用の範囲は、上記のものに限定されないが、原則的に、H I Vの治癒、治療および／または予防に有用ないずれもの医薬組成物との併用を含む。上述の通り、このような併用において、本発明の抗体薬物複合体および他のH I V薬剤を別々にまたは併せて投与してもよい。加えて、1つの薬剤は他の薬剤の前でもよく、他の薬剤と同時でもよく、他の薬剤の後でもよい。

【 0 1 5 7 】

本発明を、H I Vの予防または治療のために薬品作用増強剤として有用な1つ以上の薬剤と、ならびに追加の化合物があってもなくても、併用して使用してもよい。このような薬品作用増強剤（または薬物動態ブースター）の例としては、リトナビル、G S - 9 3 5 0、およびS P I - 4 5 2が挙げられるが、これに限定されない。

【 0 1 5 8 】

リトナビルは、10-ヒドロキシ-2-メチル-5-(1-メチルエチル)-1-1[2-(1-メチルエチル)-4-チアゾリル]-3, 6-ジオキソ-8, 11-ビス(フェニルメチル)-2, 4, 7, 12-テトラアザトリデカン-13-酸5-チアゾリルメ

チルエステル、〔5S-（5S＊，8R＊，10R＊，11R＊）〕であり、ノルビル（Norvir）として、米国イリノイ州アボットパークのAbbott Laboratories社から入手可能である。リトナビルは、HIV感染症の治療のための他の抗レトロウイルス薬と共に指示されるHIVプロテアーゼ阻害薬である。リトナビルも、P-糖タンパク質（Pgp）細胞輸送系だけでなくP450介在薬物代謝を阻害し、それにより、生体内の活性化化合物濃度を増加させる。

【0159】

GS-9350は、薬品作用増強剤として米国カリフォルニア州フォスターシティのGilead Sciences社により開発された化合物である。

【0160】

SPI-452は、薬品作用増強剤として、米国メリーランド州ゲイザースバーグのSequoia Pharmaceuticals社により開発された化合物である。

【0161】

本明細書に記載されている化学成分との併用で使用される場合、上記他の治療薬を、例えば、医薬品便覧（PDR）に示された量、さもなければ当業者により決定された量で使用してもよい。

【0162】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の治療方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含む。

【0163】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の治療方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含み、前記ウイルスはHIVウイルスである。いくつかの実施形態では、HIVウイルスはHIV-1ウイルスである。

【0164】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の治療方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含み、HIVウイルスに対する活性を有する1つ以上の薬剤の治療効果量を投与することをさらに含む。

【0165】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の治療方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含み、HIVウイルスに対する活性を有する1つ以上の薬剤の治療効果量を投与することをさらに含み、前記HIVウイルスに対する活性を有する薬剤はヌクレオチド系逆転写酵素阻害薬；非ヌクレオチド系逆転写酵素阻害薬；プロテアーゼ阻害薬；侵入、付着および融合阻害薬；インテグラーゼ阻害薬；成熟阻害薬；CXCR4阻害薬；ならびにCCR5阻害薬から選択される。

【0166】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の予防方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含む。

【0167】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の予防方法を提供し、該方法は前記ウ

10

20

30

40

50

ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含み、前記ウイルスはH I Vウイルスである。いくつかの実施形態では、H I VウイルスはH I V－1ウイルスである。

【0168】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の予防方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含み、H I Vウイルスに対する活性を有する1つ以上の薬剤の治療効果量を投与することをさらに含む。

【0169】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の治療方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含む。

【0170】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の治療方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含み、前記ウイルスはH I Vウイルスである。いくつかの実施形態では、H I VウイルスはH I V－1ウイルスである。

【0171】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の治療方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含み、H I Vウイルスに対する活性を有する1つ以上の薬剤の治療効果量を投与することをさらに含む。

【0172】

本発明の別の実施形態では、ウイルスのレトロウイルスファミリーのウイルスにより少なくとも部分的に介在される哺乳類のウイルス感染の治療方法を提供し、該方法は前記ウイルス感染と診断された哺乳類または前記ウイルス感染の発症の危険性を有する哺乳類に抗体薬物複合体を投与することを含み、H I Vウイルスに対する活性を有する1つ以上の薬剤の治療効果量を投与することをさらに含み、前記H I Vウイルスに対する活性を有する薬剤はヌクレオチド系逆転写酵素阻害薬；非ヌクレオチド系逆転写酵素阻害薬；プロテアーゼ阻害薬；侵入、付着および融合阻害薬；インテグラーゼ阻害薬；成熟阻害薬；C X C R 4阻害薬；ならびにC C R 5阻害薬から選択される。

【0173】

別の実施形態では、薬剤的に許容可能な希釈剤および抗体薬物複合体の治療有効量を含んでなる医薬組成物を提供する。

【0174】

本明細書で使用されるとき、用語「薬剤的に許容可能な」は、健全な医療判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、または他の問題もしくは副作用なしで、ヒトおよび動物の組織と接触して使用するのに適している抗体薬物複合体、薬剤、化合物、物質、組成、および剤形を表す。

【0175】

本明細書に記載されている薬物の投与は、これに限定されないが、経口、舌下、皮下、静脈内、経鼻、局所、経皮、腹腔内、筋肉内、肺内、腔内、直腸内、または眼内を含む同様な有用性を果たす薬剤投与の許容される方法のいずれかによることができる。いくつかの実施形態では、経口投与を使用してもよく非経口投与を使用してもよい。投与の1つの例は静脈内投与であり、そのような場合、静脈内投与に適した医薬製剤を使用する。投与の別の例は筋肉内投与であり、そのような場合、筋肉内投与に適した医薬製剤を使用する

10

20

30

40

50

。投与の別の例は、皮下投与であり、そのような場合、皮下投与に適した医薬製剤を使用する。

【0176】

医薬組成物または医薬製剤としては、上記投与のいずれかに有用な、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、液剤、懸濁剤、坐薬、エアロジル剤または同様のものなどの固体、半固体、液体およびエアロジル剤形が挙げられる。抗体薬物複合体を、所定の速度での長時間および／または時限投与、パルス投与のための、デポ注射剤、浸透圧ポンプ、丸剤、経皮（エレクトロトランスポートを含む）パッチ剤、および同様のものを含む持続放出または制御放出剤形でも投与することができる。特定の実施形態では、組成物を、正確な用量の単回投与に適した単位剤形で提供する。

10

【0177】

本明細書に記載されている抗体薬物複合体を、単独またはより通常、従来の医薬担体、賦形剤または同様のもの（例えば、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、滑石、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、グルコース、ゼラチン、ショ糖、炭酸マグネシウム等）と組合せて投与することができる。必要に応じて、医薬組成物は、湿潤剤、乳化剤、可溶化剤、pH緩衝剤および同様のもの（例えば、酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、シクロデキストリン誘導体、ソルビタンラウリン酸モノエステル、酢酸トリエタノールアミン、オレイン酸トリエタノールアミン等）などの無毒性助剤物質を少量含むこともできる。概して、目的の投与方法に依存して、医薬組成物は、約0.005重量%～95重量%；特定の実施形態では、約0.5重量%～50重量%のADCを含むだろう。このような剤形の実際の製造方法は公知であり、または当業者に明白であろう；例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania参照。

20

【0178】

特定の実施形態では、組成物は丸剤または錠剤の形態をとり、したがって、組成物は、有効成分と共に、ラクトース、ショ糖、リン酸二カルシウム等の希釈剤；ステアリン酸マグネシウム等の潤滑剤；およびデンプン、アカシアゴム、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、セルロース、セルロース誘導体等のバインダーを含むだろう。別の固体剤形では、散剤、マルメ（marume）、液剤または懸濁剤（例えば、炭酸プロピレン、植物油またはトリグリセリド中）をゼラチンカプセル内にカプセル化する。

30

【0179】

液体の薬剂的に管理できる組成物を、例えば、溶解、分散、その他により、担体（例えば、水、生理食塩水、水性デキストリン、グリセロール、グリコール、エタノール等）中に少なくとも1つの抗体薬物複合体および必要に応じて医薬アジュバントを製剤して液剤または懸濁剤を製造する。注射剤を、液体の液剤または懸濁剤として、乳化剤として、または注射前に液体中に溶解もしくは懸濁するのに適した固体のいずれか、従来の形態で製剤することができる。このような非経口用組成物に含有される抗体薬物複合体のパーセントは、その特定の性質、ならびに化学成分の活性および対象のニーズに大きく依存する。しかしながら、液剤中、0.01%～10%の有効成分のパーセントを使用することができる。組成物を後で上記パーセントまで希釈する固形剤である場合はより高くなるだろう。特定の実施形態では、組成物は、液剤中、約0.2～2%の活性薬を含んでなるだろう。

40

【0180】

本明細書に記載されている抗体薬物複合体の医薬組成物を、単独またはラクトースなどの不活性担体と併用して、エアロゾルもしくはネブライザー用液剤、または吸入剤用極微小散剤として気道に投与してもよい。このような場合、医薬組成物の粒子は、50ミクロン未満の径、特定の実施形態では、10ミクロン未満の径を有する。

【0181】

概して、提供される抗体薬物複合体は、類似の有用性をもたらす薬剤に対する許容される投与方法のいずれかにより、治療有効量で投与されるだろう。抗体薬物複合体の実際の量は、治療される疾病の重度、対象の年齢および相対的健康、使用される抗体薬物複合体

50

の作用強度、投与経路および形態、ならびに他の因子に依存するだろう。抗体薬物複合体を、1日1回または2回など、1日に1回以上投与することができる。

【0182】

本明細書に記載されている抗体薬物複合体の治療有効量は、約0.01~100mg/kg/日、例えば、約0.01~50mg/kg/日など1日当たりレシピエントの体重キログラム当たり約0.01~200mgの範囲であってよい。したがって、70kgの人への投与のため、投薬量範囲は、1日約1~1000mgであってよい。

【0183】

概して、抗体薬物複合体を、次の経路のいずれか1つにより医薬組成物として投与するだろう：経口、全身（例えば、経皮、鼻内または坐薬により）、または非経口（例えば、筋肉内、静脈内または皮下）投与。特定の実施形態では、病気の程度に応じて調節することができる簡便な毎日の用法で経口投与を使用してよい。組成物は、錠剤、丸剤、カプセル剤、半固体剤、散剤、徐放製剤、液剤、懸濁剤、エリキシル剤、エアロゾル剤、または他の適切な組成物の形態をとることができる。提供された化学成分を投与するための別の方法は吸入である。

【0184】

製剤の選択は、薬物投与の方法および抗体薬物複合体のバイオアベイラビリティなどの様々な因子に依存する。吸入による送達のため、化学成分を、液体の液剤、懸濁剤、エアロゾル噴霧剤または乾燥散剤として製剤して、適切な投与用ディスペンサーに収容することができる。いくつかの種類の医薬用吸入デバイス—ネブライザー吸入器、定量噴霧式吸入器（MDI）およびドライパウダー吸入器（DPI）がある。ネブライザーデバイスは、治療薬剤（液体で製剤されている）を患者の気道に運ぶミストとして噴霧させる高速エアの流れを生成する。MDIは、通常、圧縮ガスでパッケージ化された製剤である。作動時、デバイスは、圧縮ガスにより測定された量の治療薬を放出し、したがって、設定量の薬剤の信頼ある投与方法を得る。DPIは、デバイスによる呼吸中の患者の吸気の気流で分散することができる易流動性散剤の形態で治療薬を分配する。易流動性散剤を得るために、治療薬をラクトースなどの賦形剤と共に製剤する。測定された量の治療薬をカプセルの形態で収容し、各操作により分配する。

【0185】

近年、医薬組成物は、バイオアベイラビリティは表面積の増加、すなわち、粒子径の減少により増大することができるという原理に基づいて不良なバイオアベイラビリティを示す薬物のために開発されてきた。例えば、米国特許第4,107,288号は、活性物質が高分子の架橋マトリックスで支持されている10~1,000nmの範囲の大きさの粒子を有する医薬製剤を記載している。米国特許第5,145,684号は、薬物物質が表面改質剤の存在下でナノ粒子（400nmの平均粒子径）に微粉碎されてから、液体媒体で分散されて極めて高いバイオアベイラビリティを示す医薬製剤を得る、医薬製剤の製造を記載している。

【0186】

組成物は、概して、少なくとも1つの薬剂的に許容可能な賦形剤と組み合わせて、本明細書に記載されている少なくとも1つの抗体薬物複合体からなる。許容可能な賦形剤は無毒性であり、投与を助け、本明細書に記載されている少なくとも1つの活性薬の治療効果に悪影響を及ぼさない。このような賦形剤は、当業者が通常に入手可能である、いずれもの固体、液体、半固体またはエアロゾル組成物の場合ガス状賦形剤であってよい。

【0187】

固体医薬品賦形剤としては、デンプン、セルロース、タルク、グルコース、ラクトース、ショ糖、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦、チョコレート、シリカゲル、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸ナトリウム、グリセロールモノステアレート、塩化ナトリウム、乾燥スキンミルクなどが挙げられる。液体および半固体賦形剤は、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノールおよび石油、動物、植物または合成起源のもの、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、ミネラルオイル、ゴマ油などを含む様々な油から選択され得る。

注射液用の液体担体としては、水、生理食塩水、水性デキストロース、およびグリコール類が挙げられる。

【0188】

圧縮ガスを使用して、エアロゾルの形態で本明細書に記載されている抗体薬物複合体を分散してもよい。この目的のための不活性ガスは、窒素、二酸化炭素などである。他の適切な医薬品賦形剤およびその製剤は、E. W. Martinにより編集されたRemington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, 18th ed., 1990)に記載されている。

【0189】

組成物中の抗体薬物複合体の量は、当業者により使用される最大範囲内で変わり得る。通常、組成物は、1つ以上に適切な医薬品賦形剤とバランスをとりながら、重量パーセント（重量％）基準で、全組成物に対して、約0.01～99.99重量％の本明細書に記載されている抗体薬物複合体成分を含有するだろう。特定の実施形態では、本明細書に記載されている抗体薬物複合体は、約1～80重量％のレベルで存在する。

10

【0190】

様々な広域中和抗体（bnAb）は、HIV感染個体または関連モデルへの注入により、ARVとして、大した成果もなく探求されてきた。用語「ARV」は、レトロウイルス、すなわち、HIVによる感染をかかえるウイルスの繁殖を阻止するように治療するための薬物である「抗レトロウイルス薬を表す。bnAbsに対する耐性は、小分子ARVで観察されるものと同様な治療中に生成する。この目的を達成するために、bnAbおよび本発明によるgp160を標的とする小分子付着阻害剤からなる二官能性分子は、阻害されるgp160多様性の広さを増大することができ、複数の小分子により提供されるHAARTと類似した1つの分子における複数の抗ウイルス標的を得ることにより耐久性を向上すると考えられる。用語「HAART」は、HIV治療のための1つより多い（例えば、2、3または4）薬物の組合せである「極めて活性な抗ウイルス療法」を表す。

20

【実施例】

【0191】

実施例1

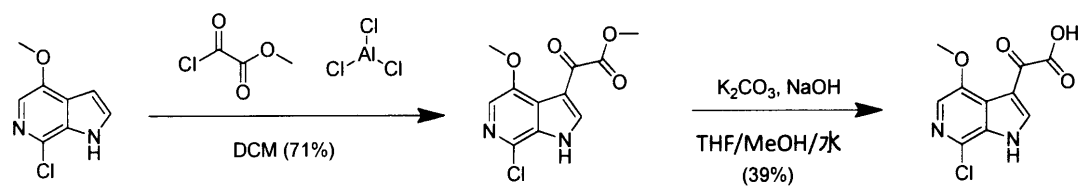
— gp160付着阻害剤の合成

次の経路を使用して、本発明による抗体薬物複合体において使用される薬物を製造した（スキーム1）：

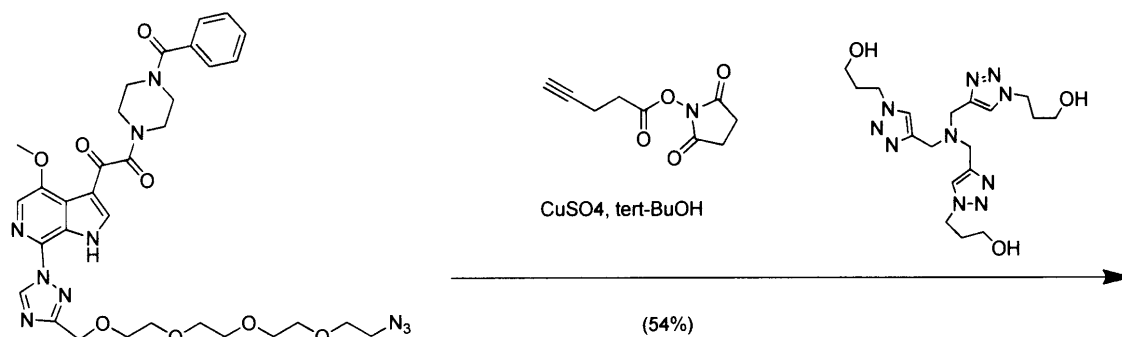
30

【0192】

【化 2 3】



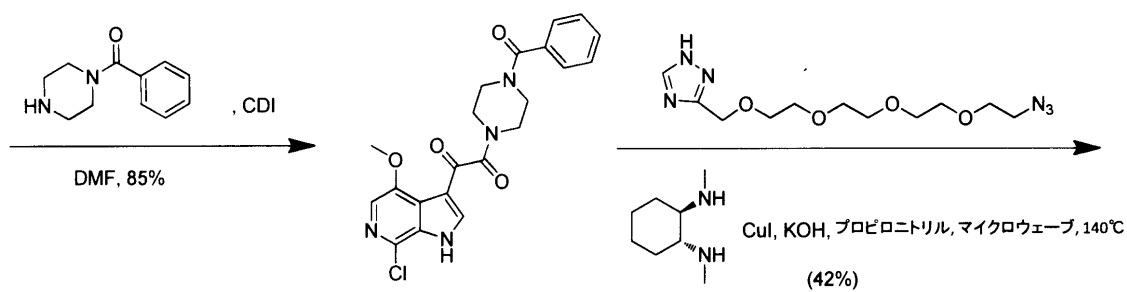
10



20

【 0 1 9 3 】

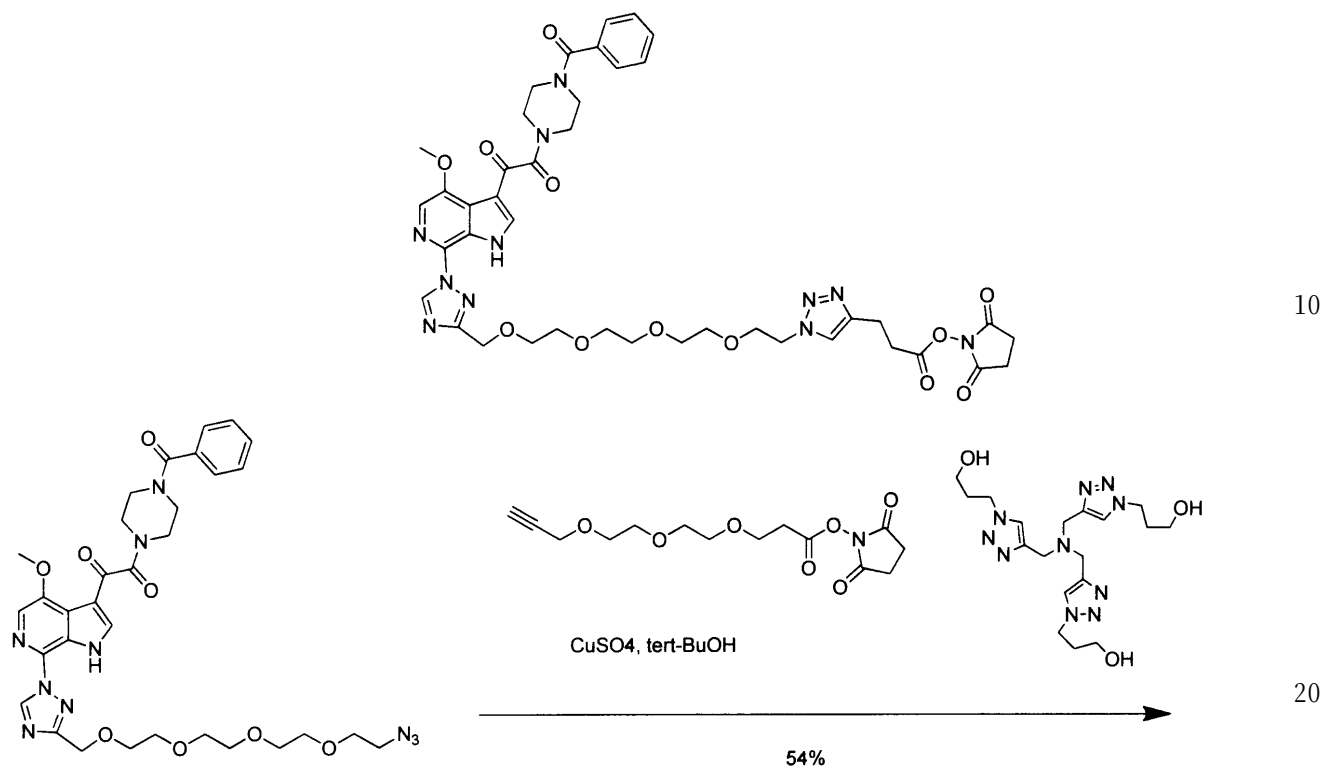
【化 2 4】



30

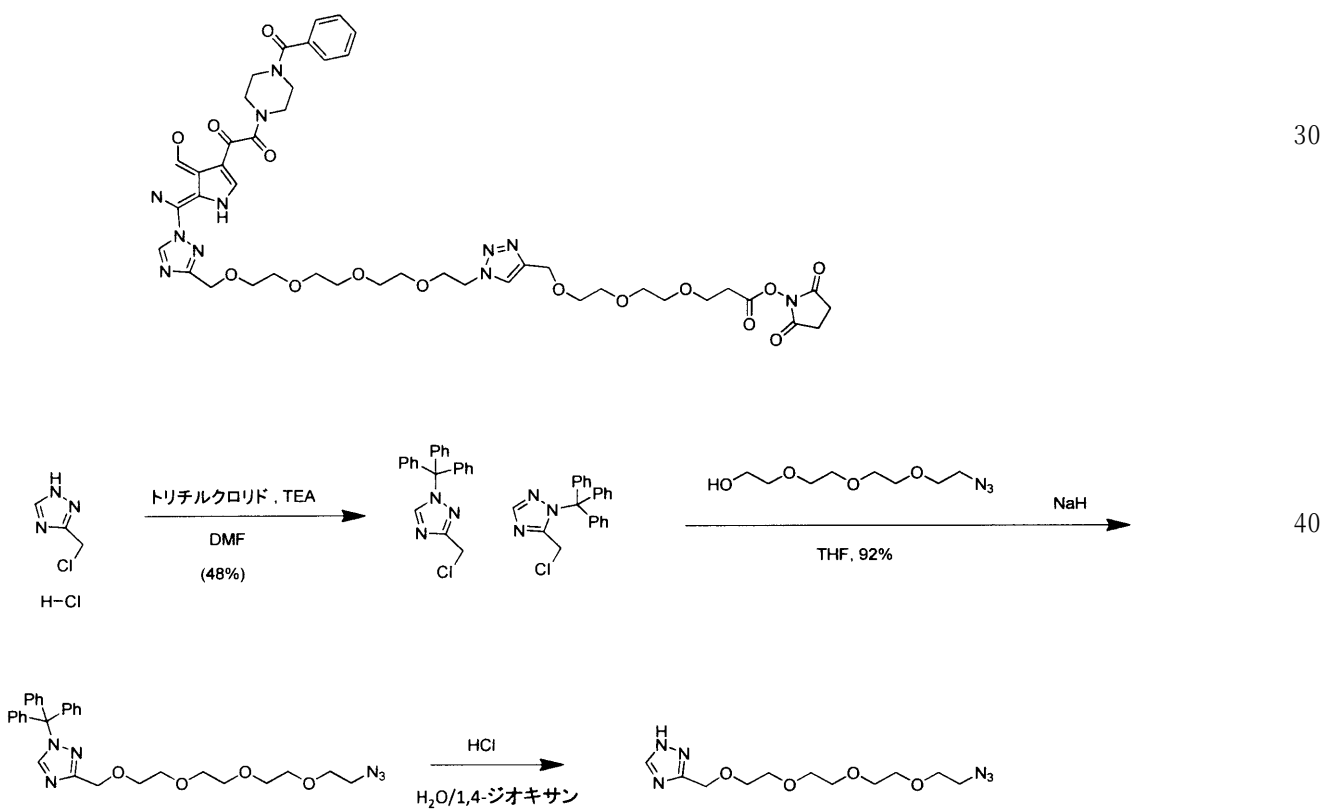
【 0 1 9 4 】

【化 2 5】



【 0 1 9 5】

【化 2 6】



【 0 1 9 6】

実施例 2

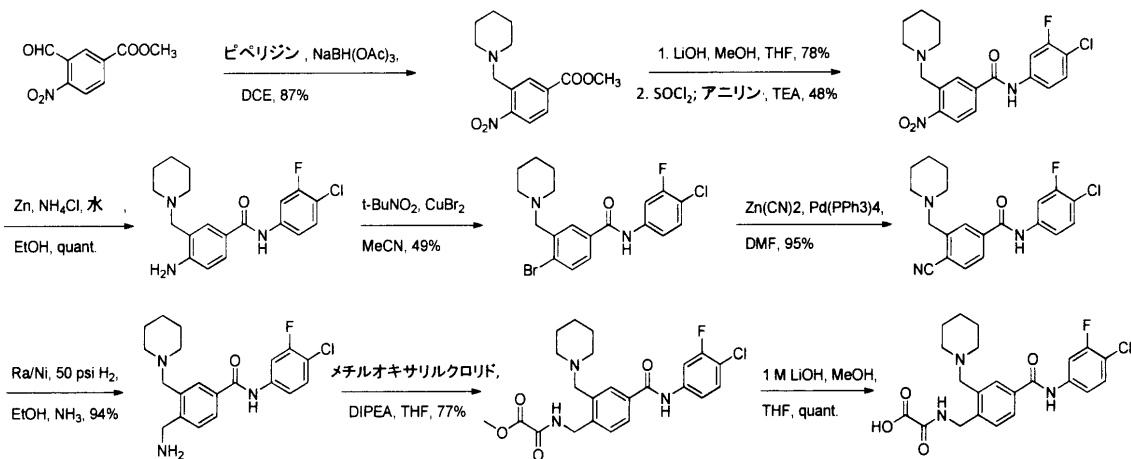
実験手順

g p 1 6 0 およびリンカーと共に V R C 0 1 へのコンジュゲーター A を次のスキーム 1 ～ 4 で製造した。この実施例では、リジン抱合を V R C 0 1 と行い；したがって、サクシニミジルエステルをコンジュゲーターに組み入れた。これら全ての修飾後、生理活性を検証する試みを行う代理として、化合物 B も製造した。

スキーム 2

【 0 1 9 7 】

【 化 2 7 】



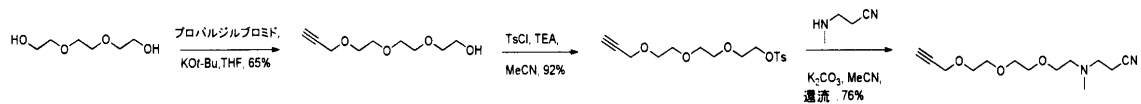
10

【 0 1 9 8 】

スキーム 3

【 0 1 9 9 】

【 化 2 8 】



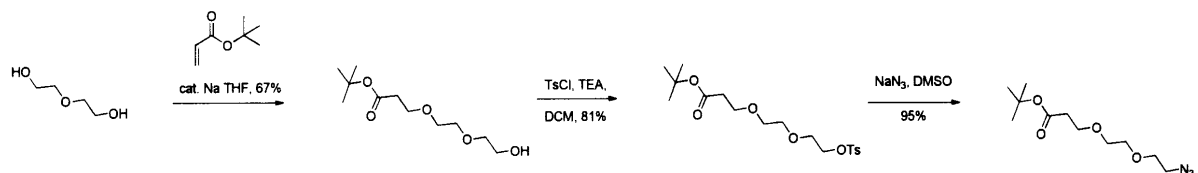
30

【 0 2 0 0 】

スキーム 4

【 0 2 0 1 】

【 化 2 9 】



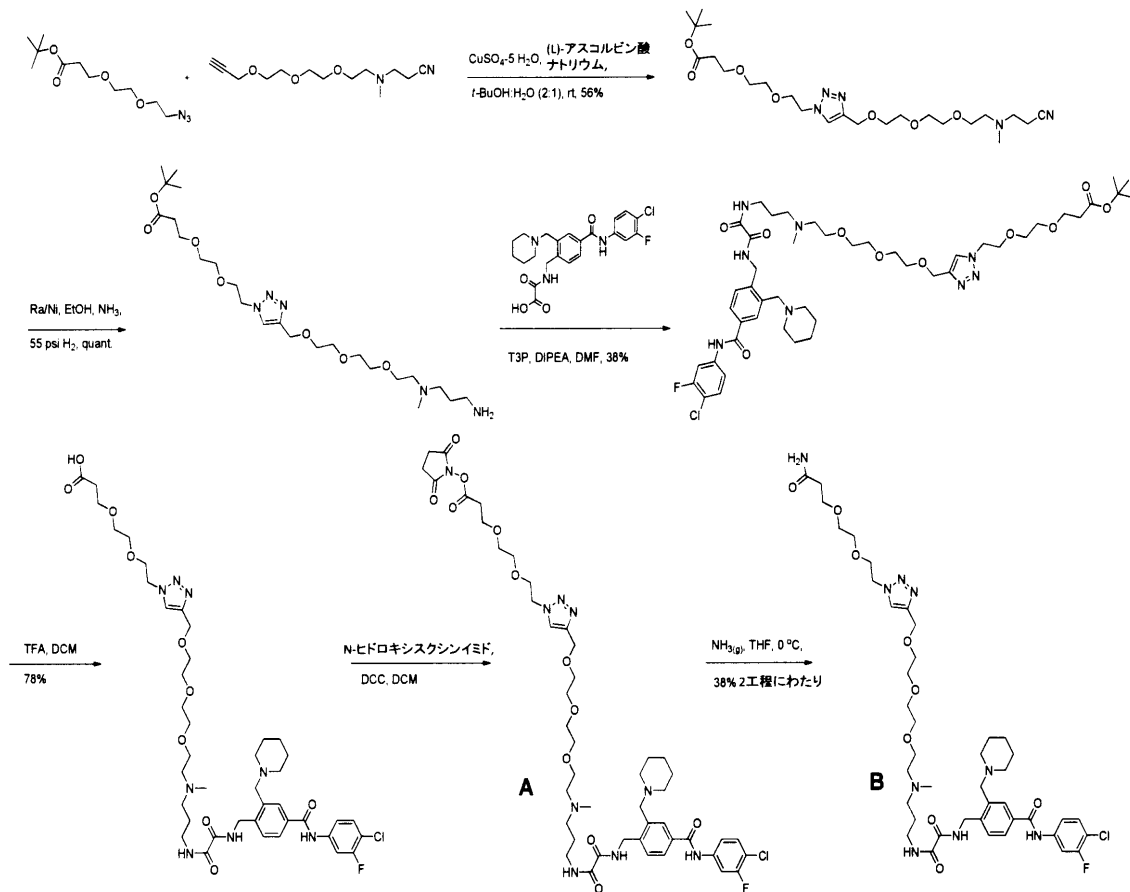
40

【 0 2 0 2 】

スキーム 5

【 0 2 0 3 】

【化 3 0】



10

20

【0204】

例えば、システイン抱合および他の部位特異的抱合方法などの他の抱合も考え得る。これらの様々な抱合に関して、適切なコンジュゲーターを本明細書に記載された類似の化学スキームに従って製造することができる。

30

【0205】

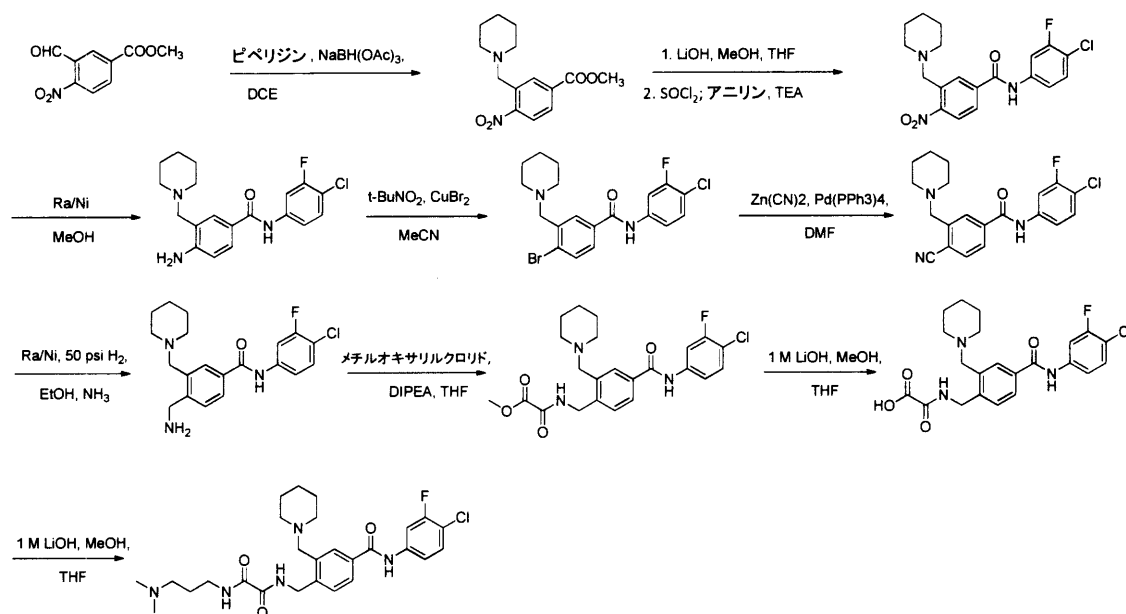
実施例 3

g p 1 6 0 付着阻害剤の合成

g p 1 6 0 付着阻害剤を次の合成経路により製造した：

【0206】

【化 3 1】



10

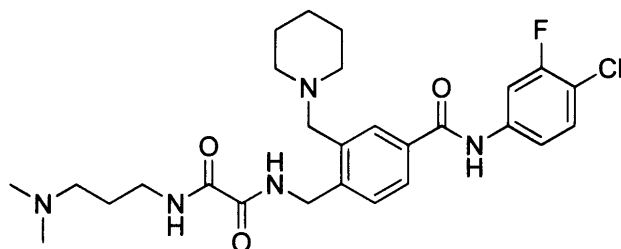
【0207】

20

N1-(4-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)カルバモイル)-2-(ピペリジン-1-イルメチル)ベンジル)-N2-(3-(ジメチルアミノ)プロピル)オキサリルアミド

【0208】

【化 3 2】



30

【0209】

工程 1

4-ニトロ-3-(ピペリジン-1-イルメチル)安息香酸メチル

1, 2-ジクロロエタン (DCE) (150 mL) 中の 3-ホルミル-4-ニトロ安息香酸メチル (15 g, 71.7 mmol) およびピペリジン (14.17 mL, 143 mmol) の溶液を酢酸 (8.21 mL, 143 mmol) で処理した。30 分後、反応混合物をトリアセトキシ水素化ホウ素 (24.32 g, 115 mmol) で処理し、一夜攪拌した。反応を飽和 NaHCO_3 で停止し、DCM で抽出し、飽和 NaHCO_3 、塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し、ろ過して濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (EtOAc/ヘキサン勾配) により精製して、4-ニトロ-3-(1-ピペリジニルメチル)安息香酸メチル (16.14 g, 58.0 mmol, 収率 81%) を得た。LC/MS (m/z) $\text{ES}^+ = 279.3 (\text{M}+1)^+$

40

【0210】

工程 2

N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-4-ニトロ-3-(ピペリジン-1-イルメチル)ベンズアミド

50

テトラヒドロフラン (THF) (100 mL) 中の 4-ニトロ-3-(1-ピペリジニルメチル)安息香酸メチル (16.05 g、57.7 mmol) の溶液およびメタノール (100 mL) を LiOH (250 mL、250 mmol) で処理し、周囲温度において 4 時間撹拌した。混合物を濃縮して粗 4-ニトロ-3-(1-ピペリジニルメチル)安息香酸 (20.51 g) を得た。酸中間体を SOCl₂ (50 mL、685 mmol) 中に懸濁し、1.5 時間還流し、濃縮して塩化 4-ニトロ-3-(1-ピペリジニルメチル)ベンゾイル (MeOH 中 LCMS、ES+ 279、メチルエステル) を得た。塩化アシルをジクロロメタン (DCM) (100 mL) 中に懸濁し、4-クロロ-3-フルオロアニリン (7.97 g、54.8 mmol)、Et₃N (12.06 mL、87 mmol) で処理し、周辺温度で一晩撹拌した。さらに Et₃N (4 mL)、DCM (11 mL)、およびアニリン (418 mg) を添加し、反応物を一晩撹拌した。懸濁液を飽和 NaHCO₃ で停止し、DCM (2×) で抽出し、飽和 NaHCO₃ (1×)、塩水で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥し、ろ過して濃縮した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (0~50% EtOAc/ヘキサン) により精製して、黄色固体の N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-4-ニトロ-3-(1-ピペリジニルメチル)ベンズアミド (13.86 g、35.4 mmol、収率 61.3%) を得た。LC/MS (m/z) ES+= 279.3 (M+1) +

10

【0211】

工程 3

4-アミノ-N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-3-(ピペリジン-1-イルメチル)ベンズアミド

20

メタノール (130 mL) 中の N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-4-ニトロ-3-(1-ピペリジニルメチル)ベンズアミド (13 g、33.2 mmol) 溶液を、メタノール (130 mL) 中のヒドラジン水化物 (16.14 mL、332 mmol) およびラネー 2800 ニッケル (4.2 g、33.2 mmol) の還流混合物中にゆっくりと添加した。反応物を 1 時間還流し、周囲温度まで冷却し、セライトによりろ過し、MeOH および DCM で洗浄してから、濃縮して淡黄色固体の粗 4-アミノ-N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-3-(1-ピペリジニルメチル)ベンズアミド (11.56 g、31.9 mmol、収率 96%) を得た。LC/MS (m/z) ES+= 362.3 (M+1) +

30

【0212】

工程 4

4-ブロモ-N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-3-(ピペリジン-1-イルメチル)ベンズアミド

アセトニトリル (20 mL) 中の臭化銅 (II) (0.648 g、2.90 mmol) の氷冷した混合物を亜硝酸 t-ブチル (0.730 mL、5.53 mmol) で処理した後、4-アミノ-N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-3-(1-ピペリジニルメチル)ベンズアミド (1.000 g、2.76 mmol) で処理し、得られた暗混合物を周囲温度で一晩撹拌した。飽和 NaHCO₃ を添加して、酢酸エチルで希釈した。混合物をセライトパッドによりろ過し、水層を EA で抽出した。抽出物を塩水で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥し、ろ過して濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (0~10% MeOH/DCM 勾配) により精製して暗残渣 (482 mg、32%) を得た。¹H NMR (400 MHz, メタノール-d₄) δ ppm 1.50 (d, J=5.07 Hz, 2H), 1.56~1.71 (m, 4H), 2.53 (br. s., 4H), 3.67 (s, 2H), 7.37~7.48 (m, 2H), 7.68~7.76 (m, 2H), 7.78~7.87 (m, 1H), 8.05 (d, J=1.95 Hz, 1H); LC/MS (m/z) ES+= 425 (M+1)。

40

【0213】

工程 5

N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-4-シアノ-3-(ピペリジン-1-イル

50

ルメチル) ベンズアミド

N, N-ジメチルホルムアミド (DMF) (23.49 mL) 中の4-ブromo-N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-3-(1-ピペリジニルメチル) ベンズアミド (2 g、4.70 mmol) および $Zn(CN)_2$ (0.386 g、3.29 mmol) の懸濁液を N_2 で5分間脱気してから、 $Pd(PPh_3)_4$ (0.271 g、0.235 mmol) で処理した。反応混合物を120℃で20分間、マイクロ波で照射した。反応混合物を水に注ぎ入れて EtOAc で抽出した。合わせた抽出物を塩水で洗浄し、乾燥 (Na_2SO_4) し、ろ過して濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (0~50% EtOAc/ヘキサン類) により精製して、N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-4-シアノ-3-(1-ピペリジニルメチル) ベンズアミド (1.66 g、4.46 mmol、収率95%) を得た。LC/MS (m/z) ES+=372.3 (M+1)。

【0214】

工程6

4-(アミノメチル)-N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-3-(ピペリジン-1-イルメチル) ベンズアミド

アンモニアガスを飽和したエタノール (100 mL) 中の N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-4-シアノ-3-(1-ピペリジニルメチル) ベンズアミド (5.00 g、13.45 mmol) の混合物をラネー2800 ニッケル (12 mL、13.45 mmol) で処理してから、水素ガス50 psi 下72時間攪拌した。混合物をセライトでろ過し、酢酸エチル、DCM、および MeOH で洗浄した。ろ液を濃縮して淡緑色の色合いを帯びた固体として表題の化合物生成物を得た。 ^1H NMR (400 MHz, メタノール-d₄) δ ppm 1.56 (br. s., 6H), 2.48 (br. s., 4H), 3.61 (s, 2H), 3.90 (s, 2H), 7.38~7.55 (m, 3H), 7.76~7.90 (m, 3H); LC/MS (m/z) ES+=376 (M+1)。

【0215】

工程7

2-((4-((4-クロロ-3-フルオロフェニル)カルバモイル)-2-(ピペリジン-1-イルメチル)ベンジル)アミノ)-2-オキソ酢酸メチル

テトラヒドロフラン (THF) (20 mL) 中の 4-(アミノメチル)-N-(4-クロロ-3-フルオロフェニル)-3-(1-ピペリジニルメチル) ベンズアミド (1.000 g、2.66 mmol) およびヒューニツヒ塩基 (0.697 mL、3.99 mmol) の氷冷した混合物を、塩化メチルオキサリル (0.270 mL、2.93 mmol) でゆっくりと処理した。混合物を5分間攪拌し、LCMSにより反応完了したことを判断した。混合物を酢酸エチルで希釈し、飽和 $NaHCO_3$ 、それから塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し、ろ過して濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (0~10% MeOH/DCM) により精製して淡黄色固体として表題化合物を得た。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.33~1.46 (m, 2H), 1.46~1.57 (m, 4H), 2.37 (br. s., 4H), 3.57 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 4.56 (d, J=6.06 Hz, 2H), 7.43 (d, J=8.01 Hz, 1H), 7.51~7.62 (m, 2H), 7.80 (d, J=1.56 Hz, 1H), 7.85 (dd, J=8.01, 1.76 Hz, 1H), 7.91~7.97 (m, 1H), 9.51 (t, J=6.06 Hz, 1H), 10.49 (s, 1H); LC/MS (m/z) ES+=462 (M+1)。

【0216】

工程8

2-((4-((4-クロロ-3-フルオロフェニル)カルバモイル)-2-(ピペリジン-1-イルメチル)ベンジル)アミノ)-2-オキソ酢酸

MeOH (5 mL) および THF (5 mL) 中の 2-((4-((4-クロロ-3-フルオロフェニル)カルバモイル)-2-(ピペリジン-1-イルメチル)ベンジル)アミノ)-2-オキソ酢酸メチル (288 mg、0.623 mmol) の溶液を、1 M Li

OH (1 mL) で処理した。2 時間後、反応混合物を真空で濃縮し、表題の化合物を得た (279 mg、106%)。LC/MS (m/z) ES+ = 448.3 (M+1)。

【0217】

工程 9

N1 - (4 - ((4 - クロロ - 3 - フルオロフェニル) カルバモイル) - 2 - (ピペリジン - 1 - イルメチル) ベンジル) - N2 - (3 - (ジメチルアミノ) プロピル) オキサ
ルアミド

N, N - ジメチルホルムアミド (DMF) (1.0 mL) 中の ({ [4 - { [4 - クロ
ロ - 3 - フルオロフェニル] アミノ] カルボニル} - 2 - (1 - ピペリジニルメチル) フ
ェニル] メチル} アミノ) (オキソ) 酢酸 (30.0 mg、0.066 mmol)、N, 10
N - ジメチル - 1, 3 - プロパンジアミン (0.017 mL、0.132 mmol) およ
びヒューニツヒ塩基 (0.035 mL、0.198 mmol) の混合物を T3P (0.0
79 mL、0.132 mmol) で処理してから、周囲温度で 5 分間攪拌した。混合物を
RP - HPLC (TFA 修飾) により精製してわずかに不純物を含む所望の生成物を得て
、これを RP - HPLC (NH₄OH 修飾) によりさらに精製して白色固体として所望の
生成物を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) δ ppm 1.40 (br. s., 2H), 1.49 ~ 1.64 (m, 6H), 2.09 (s, 6H), 2.
18 (t, J = 7.02 Hz, 2H), 2.37 (br. s., 4H), 3.15 (q, J = 6.57 Hz, 2H), 3.57 (s, 2H), 4.52 (d, J = 6.24 Hz, 2H), 7.42 (d, J = 7.80 Hz, 1H), 7.52 ~ 7.66 (m, 2H) 20
, 7.79 (s, 1H), 7.84 (dd, J = 7.90, 1.46 Hz, 1H), 7.89 ~ 8.00 (m, 1H), 8.85 (t, J = 5.95 Hz, 1H), 9.23 ~ 9.
36 (m, 1H), 10.48 (s, 1H); LC/MS (m/z) ES+ = 532 (M+1)。

【0218】

実施例 4 ~ 8

抗体薬物複合体の製造

下記記載されている抗体薬物複合体を下記に記載の通り製造した。

実験材料：

VRC01 は CHO 細胞内で発現された。細胞培養上澄みを回収し、タンパク質 A カラ
ムおよび SEC カラムで精製した。広域中和抗体 VRC01 を 20 mM ヒスチジン緩衝液
(5% ショ糖を含む、pH 6.0) 中で貯蔵した。純度をサイズ排除クロマトグラフィー
(SEC - HPLC、図 1) 分析およびドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル
電気泳動法 (SDS - PAGE、図 2) により確認した。

【0219】

10

20

30

【表 3】

表 3

WBPコード	733
製造ロット #	20160407-733A
分子タイプ	IgG1
クライアント ID	VRC01
セルライン	CHO
発現科学者	
発酵体積	5L
収穫日数	D11
処方	20mM ヒスチジン, 5% ショ糖, pH6.0
SDS-PAGE低減による純度	97.8%
SEC-HPLCによる純度	98.12%
エンドトキシン (LAL)	< 1 EU/mg
タンパク質濃度	10.76 mg/mL
体積	21.88 mL

10

20

【0220】

抱合に使用される4つの異なるペイロードーリンカー (PL) を設計し次のように製造した:

化合物 # 1 (ペイロード A、化合物 LA)

化合物 # 2 (ペイロード A、化合物 SA)

化合物 # 3 (ペイロード B、化合物 SB)

化合物 # 4 (ペイロード B、化合物 LB)

式中:

LA: 長いリンカーペイロード A

SA: 短いリンカーペイロード A

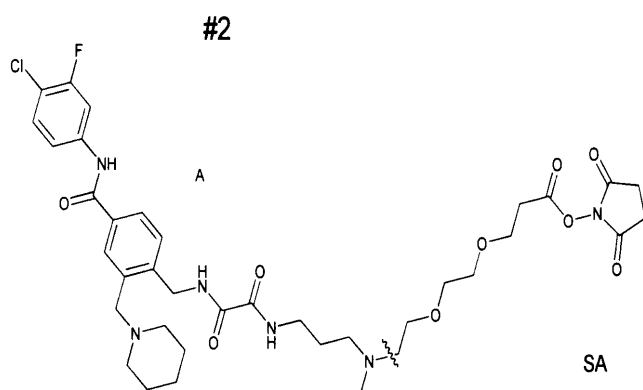
SB: 短いリンカーペイロード B

LB: 長いリンカーペイロード B

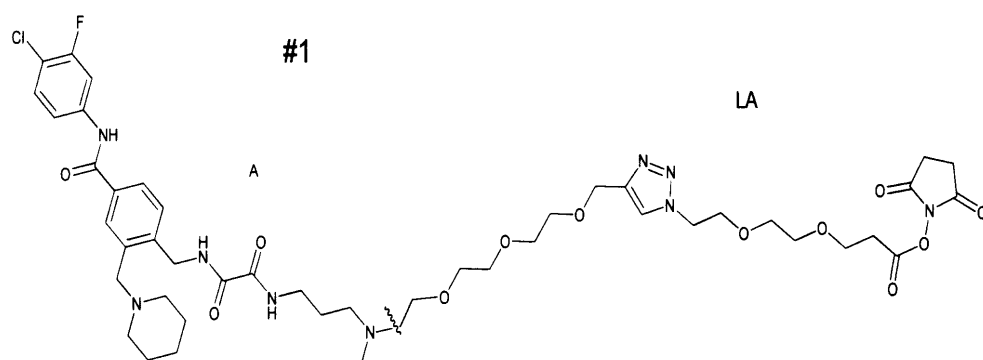
30

【0221】

【化 3 3】



10

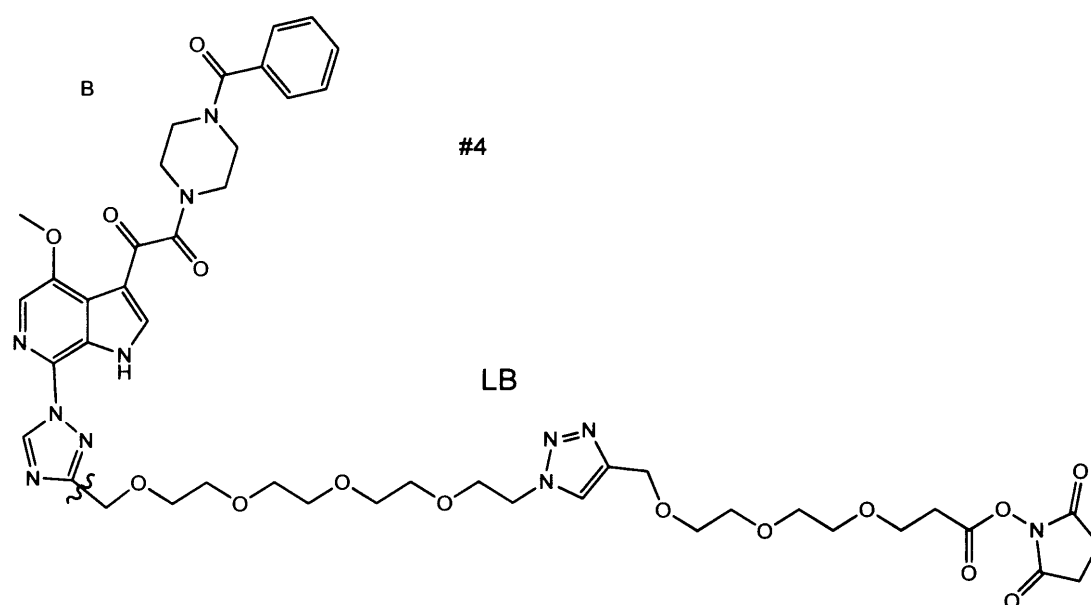
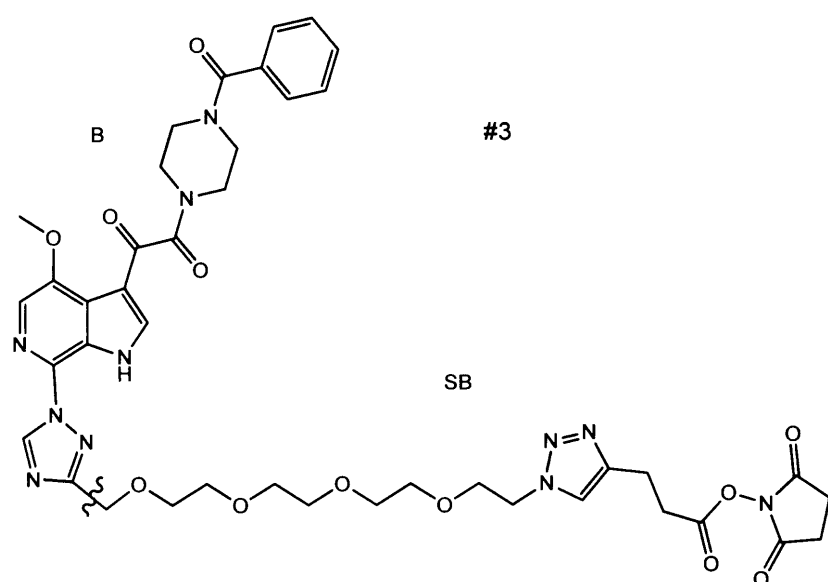


20

【 0 2 2 2】

30

【化 3 4】



【 0 2 2 3】

分析方法

H P L C 法

S E C 分析方法

【 0 2 2 4】

【表 4】

表 4

カラム	TOSON - G3000SW _{XL} No. 008541	
カラムオープン温度	22℃	
波長	280 nm	
ロード体積	10 ~ 20 μ L	
移動相	0.2 M K_2HPO_4/KH_2PO_4 , 0.25 M KCl, 15% (v/v) 2-プロパノール, pH 7.0	
勾配プログラム	時間 (分)	流速 (mL/分)
	0.0	0.75
	18.0	0.75

10

20

【0225】

遊離薬物アッセイを、実施例 4 で示された詳細と共に表 5 に記載されている。

【0226】

【表 5】

表 5

カラム：	Supelco HISEP, 4.6*250 mm, 5 μ m, CJ-00002975			
検出波長：	315 nm & 260 nm			
カラムオープン温度：	30 ℃			
サンプラー温度：	4 ℃			
停止時間：	45 分			
注入品質：	60 μ g または 20 μ L			
移動相：	移動相 A：100 mM 酢酸アンモニウム 移動相 B：100% アセトニトリル			
勾配プログラム：	時間 (分)	A (%)	B (%)	流量 (mL/分)
	0.0	75	25	0.5
	25.0	60	40	0.7
	27.0	0	100	0.7
	29.0	0	100	0.7
	29.5	75	25	0.7
	30.0	75	25	1.0
	45.0	75	25	1.0

30

40

【0227】

50

D A Rを決定するためのU V法：ランベルト・ベールの法則 $A = E * c * l$ に基づいた
U V／可視およびS E C（U V検出器）

$$A_{280} = E^{m A b}_{280} * [m A b] * l + E^{P L}_{280} * [P L] * l$$

$$A_{315} = E^{m A b}_{315} * [m A b] * l + E^{P L}_{315} * [P L] * l$$

[m A b]：m A b濃度

P L：ペイロードーリンカー

[P L]：ペイロードーリンカー濃度

E：モル吸光係数

c：濃度

l：光路（ナノドロップ：0.1 cm）

10

【0228】

実施例4

ジメチルアセトアミド中の化合物S Bの溶液（DMA、10 mg/mL）を、1.2 mgの化合物S B（化合物#3）を0.12 mLのDMAに溶解することにより製造した。DMA中の化合物L Bの溶液（10 mg/mL）を、2.1 mgの化合物L B（化合物#4）を0.21 mLのDMAに溶解することにより製造した。アセトニトリル中の化合物L Aの溶液（ACN、10 mg/mL）を、1.7 mgの化合物L Aを0.17 mLのACNに溶解することにより製造した。ACN中化合物S Aの溶液（10 mg/mL）を、1.3 mgの化合物S A（化合物#2）を0.13 mLのACNに溶解することにより製造した。

20

【0229】

ペイロードーリンカーの保持時間を決定するため、上記製造されたL A、S AおよびL B、S Bの溶液を、希釈緩衝液（50% 100 mM NH_4OAc + 50% アセトニトリル）で1 mg/mLまで希釈した。L A、S AおよびL B、S B全て、HPLCにおいて2つのピークを示した（親O-Suおよび加水分解した-COOH）。最終の抗体薬物複合体（ADC）サンプルをHPLC（混合モデルRPカラム）に付して、遊離ペイロードーリンカーレベルを決定した。全ADC生成物は3.3分（抗体関連）において目立つピークを有し、スペクトル中に他のピークは現れなかった。結果は、ADC溶液中の残りの遊離ペイロードーリンカー濃度は検出限界未満であった。

【0230】

遊離ペイロードーリンカー検出限界を決定するために、L A、S AおよびL B、S Bの異なる濃度を製造し、これらをHPLC（混合モデルRPカラム）に付し、結果は、全4つのペイロードーリンカーの検出限界は0.0024 $\mu\text{g/mL}$ 未満であることを示した。

30

薬物抗体比（本明細書で「D A R」と言う）M S

【0231】

実施例5

サンプル調製

100 μg のタンパク質サンプルを1.5 mLチューブに添加し、2 μL の1モル/Lのトリス-HCl緩衝液、2.5 μL のPNGase F溶液およびミリQ水を用いて100 μL に調製した。これを十分に混合し、37°C、4時間インキュベートした。

40

【0232】

400 μL の50 mMリン酸ナトリウム緩衝液を、限外ろ過管を用いてサンプルに添加し、次いで13000 rpmで15分間遠心分離した。それから、サンプルを1.5 mLチューブに移し、50 mMのリン酸ナトリウムを添加して最終体積を100 μL とした。1 μL のシアリダーゼAおよび2 μL のO-グリカナーゼを添加し、37°C、2時間インキュベートした。

【0233】

【表 6】

表 6

HPLC 条件

カラム	Agilent, PLRP-S 1000A 2.1 X50 mm, 8 μ m			
カラムオープン温度	80℃			
サンプル温度	4℃			
波長	280 nm			
ロード体積	5 μ L			
移動相	移動相 A: 水中 0.05% TFA			
	移動相 B: CAN 中 0.04% TFA			
勾配プログラム	時間 (分)	%A	%B	流速 (mL/分)
	0.0	95	5	0.4
	0.1	95	5	0.4
	0.5	70	30	0.4
	2.0	70	30	0.4
	5.0	58	42	0.4
	5.5	58	42	0.4
	5.6	5	95	0.4
	6.4	5	95	0.4
	6.5	95	5	0.4
	8.0	95	5	0.4

10

20

30

【0 2 3 4】

【表 7】

表 7

MS 条件

イオン極性	正極
データ保存	プロファイル
ガス温度	325 °C (特定サンプルに依存)
乾燥ガス	12 L/分 (特定サンプルに依存)
ネブライザー	55 psig (特定サンプルに依存)
キャピラリー電圧	3500 V (特定サンプルに依存)
フラグメンター	300 V (特定サンプルに依存)
スキマー	65 V (特定サンプルに依存)
OCT1 RF Vpp	750 V (特定サンプルに依存)
取得モード	MS (seg) (特定サンプルに依存)
質量範囲	500-8000 m/z (特定サンプルに依存)
取得速度	1 スペクトル/秒 (特定サンプルに依存)
取得時間	0.5-7.0 分 (特定サンプルに依存)
アナライザーモード	拡張質量範囲 (20000 m/z)

10

20

【0235】

実施例 6

VRC01-LAおよびVRC01-SAの製造

反応セットアップ (LAおよびSA) : VRC01-LAおよびVRC01-SA、それぞれ、図3Aおよび図3B参照、VRC01-LAおよびVRC01-SAを製造した。 CH_3CN を、PBS緩衝液 (pH 7.5) 中のVRC01溶液に添加し、反応物を混合して、 CH_3CN 中のLAまたはSA溶液を添加した。抱合溶液中の全 CH_3CN 含有率は、ペイロードーリンカー添加後20%であった。それから、反応混合物を22°Cインキュベーター内のショッカー (150回転毎分) 中に2時間入れた。2時間後、反応混合物を取り出し、緩衝液を貯蔵用緩衝液に交換し、スピン脱塩カラムおよびアミコン限外ろ過 (30 kDa) を用いて遊離ペイロードーリンカーを除去した。約20~25 mgの最終製品を得て、反応変換は約60%および90%であった。

30

【0236】

【表 8】

表 8

CmAb (mg/mL)	抱合 温度	抱合 時間	CH ₃ CN (%)	CH ₃ CN 中 の C 薬物	抱合緩 衝液	貯蔵用緩衝液	スケール (mg)
10	22 ℃	2 時間	20	LA: 7.63 mg/mL	PBS pH 7.5	20 mM ヒスチジン、5% ショ糖	30

10

エントリー	LA eq	UV DAR	SEC DAR	MS DAR		アグリゲート (%)	D0 (%)
				脱 N	脱-N, 0		
VRC01-LA	18	2.28	2.01	非該当	3.4	1.83	4.81

* 30 mg VRC01-LA 生成

CmAb (mg/mL)	抱合 温度	抱合 時間	CH ₃ CN (%)	CH ₃ CN 中 の C 薬物	抱合緩 衝液	貯蔵用緩衝液	スケール (mg)
10	22 ℃	2 時間	20	SA: 7.84 mg/mL	PBS pH 7.5	20 mM ヒスチジン、5% ショ糖	30

20

エントリー	SA eq	UV DAR	SEC DAR	MS DAR		アグリゲート (%)	D0 (%)
				脱 N	脱-N, 0		
VRC01-SA	27	1.62	1.28	非該当	3.0	2.07	5.02

30

*30 mg VRC01-SA生成

【0237】

実施例 7

VRC01-LBおよびVRC01-SBの製造

反応セットアップ (LBおよびSB) : VRC01-LBおよびVRC01-SB、それぞれ、図4Aおよび図4B参照、DMAをPBS緩衝液 (pH 7.5) 中のVRC01溶液に添加し、反応物を適宜混合し、DMA中のLBまたはSB溶液を添加した。抱合溶液中の全DMA含有率は、ペイロードーリンカー添加後10%であった。それから、反応混合物を22℃インキュベーター内のショッカー (150回転毎分) 中に2時間入れた。2時間後、反応混合物を取り出し、緩衝液を貯蔵用緩衝液に交換し、スピン脱塩カラムを用いて遊離薬物を除去した。約20~25mgの最終製品を得て、反応変換率は約70%および80%であった。

40

【0238】

【表 9】

表 9

CmAb (mg/mL)	抱合 温度	抱合 時間	CH ₃ CN (%)	CH ₃ CN 中 の C 薬物	抱合緩衝 液	貯蔵用緩衝液	スケール (mg)
10	22 °C	2 時 間	10	10 mg/mL	PBS pH 7.5	20 mM ヒスチ ジン、5% ショ 糖	25 (SB) 30 (LB)

10

エントリー	PL eq	UV DAR	SEC DAR	MS DAR		アグリゲート (%)	D0 (%)
				脱 N	脱-N, O		
VRC01-SB	6.0	5.28	8.53	非該当	3.9	2.02	3.49
VRC01-LB	6.0	5.18	7.86	非該当	3.8	1.97	4.65

* 25～30 mg の VRC01-LB および SB 生成；PL：ペイロードーリンカー

20

【0239】

遊離ペイロードーリンカーの除去

透析カセット（0.5～3 mL 容量、MWCO：10,000）中の全 4 ADC 製品（1.9 mL の VRC01-SB、2.1 mL の VRC01-LB、1.65 mL の VRC01-LA および 1.15 mL の VRC01-SA）を、それぞれ、500 mL の緩衝液（20 mM ヒスチジン、pH 6.0）に対して 6 回透析し、遊離ペイロードーリンカーを除去した。透析後、得られた ADC 製品の濃度、遊離薬物含有率およびエンドトキシンを、UV/可視、HPLC（混合モデル RP カラム）およびマイクロプレートリーダーにより決定した。それから、5% ショ糖を ADC 溶液それぞれに添加した。ADC 製品の DAR およびアグリゲート含有率を SEC-HPLC により決定した。

30

【0240】

【表 10】

表 10

全 ADC の特性決定（遊離ペイロードーリンカーは検出されなかった：＜0.0024 μg/mL）

化合物 ID	UV-DAR	SEC-DAR	アグリゲート (%)	濃度 (mg/mL)	エンドトキシン (EU/mg)
VRC01-SB	5.60	8.43	2.53	4.93	0.133
VRC01-LB	5.11	7.79	2.09	5.98	0.129
VRC01-LA	2.60	1.71	1.17	4.90	0.163
VRC01-SA	2.20	1.29	1.95	6.41	0.052

40

【0241】

実施例 8

VRC01-LA-SB および VRC01-LA-LB の製剤

反応セットアップ：下記合成から得られた最終構造生成物は、図 5 A および図 5 B に表

50

している。CH₃CNを、PBS緩衝液（pH 7.5）中のVRC01溶液に添加し、反応物を適宜混合して、CH₃CN中のLA溶液を添加した。抱合溶液中の全CH₃CN含有率は20%であり、反応物の最終mAb濃度は10 mg/mLであった。ペイロードローリンカーの添加後、反応混合物をインキュベーター内で22℃、2時間、ロータリープラットフォーム（10回転毎分）に置いた。それから、反応混合物を取り出し、遊離ペイロードローリンカー（LA）を、アミコン限外ろ過（50 kDa）を用いて取り除いた。約2 mgのADCを、DAR測定およびアグリゲーション決定のためインタクトMSおよびSECに付した。

【0242】

残りの18 mgの反応混合物を2つのバイアルに分割（各9.0 mg）し、それぞれ、SBおよびLBとの次の抱合に付した。DMAおよびDMA中のSB溶液、LB溶液を、上記調製されたADC PBS緩衝液に添加した。抱合反応物中、DMA含有率は20%であり、ADC濃度は10 mg/mLであった。抱合溶液を、22℃インキュベーター内に2時間、ロータリープラットフォーム（10回転毎分）に置いた。それから、反応混合物に対して、緩衝液を貯蔵用緩衝液に交換し、アミコン限外ろ過（50 kDa）を用いて遊離ペイロードローリンカーを取り除いた。最後に、反応混合物を透析し、検出不能レベルまで遊離ペイロードローリンカーをさらに取り除き、緩衝液を交換した（3日、6回緩衝液交換）。約4.5 mg（各）の最終製品を得て、反応変換率は約50%であった。

【0243】

これらのADC製品における遊離薬物レベルの決定

mAbおよび遊離ペイロードローリンカーの保持時間を決定するため、LA、LB、およびSBの溶液（薬物の全濃度は10 mg/mLであった）を希釈用緩衝液（50% 100 mM NH₄Ac + 50% アセトニトリル）で0.2 mg/mLまで希釈した。それから、ペイロードローリンカー溶液をmAbと混合し、サンプル中の最終薬物濃度およびmAb濃度は、それぞれ、0.1 mg/mLおよび1 mg/mLであった。LA、LB、およびSBは、HPLCにおいて2つのピークを示した（Supelco HISEP、4.6 × 250 mm、5 μm、CJ-00005105）。サンプル中のmAb濃度が1 mg/mLである場合、3.3分に示すピークはなかった。mAb濃度が3 mg/mLまで増加する場合、3.3分において観察される対応するピークがあり、これはmAb保持時間が3.3分であることを示した。

【0244】

ADCサンプルをHPLCに付し、遊離ペイロードローリンカーレベルを決定した。ADC製品は3.3分にピークを有し、他観察されたピークはないが、これは該ADC中の遊離ペイロードローリンカー濃度が検出限界未満であったことを示した。検出限界を決定するために、LA、LB、およびSBの異なる濃度を調製し、HPLCに付し、結果は、LA、LB、およびSBの検出限界が全て0.006 μg/mL未満であることを示した。

【0245】

【表11】

表11

VRC01-LA-SBの特性決定

MS-DAR (LA)	MS-DAR (LB)	濃度 (mg/mL)	遊離薬物 (%)	エンドトキシン	D0 (%)	アグリゲート (%)
1.6	1.3	4.81	検出限界未満	0.219 EU/mg	8.44	2.35

*サンプルを脱Nグリコシル化および脱Oグリコシル化に付してから、MSにより測定してMS DARを得た。

*貯蔵用緩衝液：20 mMヒスチジン、5%ショ糖、pH 6.0

【0246】

【表12】

表12

VRC01-LA-LB の特性決定

MS-DAR (LA)	MS-DAR (LB)	濃度 (mg/mL)	遊離薬物 (%)	エンドトキシン	D0 (%)	アグリゲート (%)
1.6	1.2	6.56	検出限界未満	0.137 EU/mg	5.43	2.11

*サンプルを脱Nグリコシル化および脱Oグリコシル化に付し、MSにより測定してMS-DARを得た。

*貯蔵用緩衝液：20mMヒスチジン、5%ショ糖、pH6.0

10

【0247】

生物学データ手順

シュードタイプウイルスアッセイ (PSV) を使用して、様々なHIV侵入阻害剤の作用強度を評価した。複製欠損ウイルスを、NL4-3プロウイルス [エンベロープオープンリーディングフレーム (ORF) における変異およびnef ORFを置換するルシフェラーゼレポーター遺伝子を含む] を含むプラスミドおよび様々なHIV-gp160エンベロープクロンのORFを含むCMV-プロモーター発現プラスミドの同時トランスフェクションにより製造した。収穫されたウイルスを、小さなアリコートに-80℃で貯蔵し、ウイルス価を測定し抗ウイルスアッセイのための強いシグナルを得た。

20

【0248】

安定に形質転換してヒトCD4を発現するU373細胞、HIV侵入のための一次受容体および感染のための標的細胞としてHIV侵入を必要とするコレセプターであるCXCR4あるいはヒトCCR5のいずれかを用いて、PSVアッセイを行った。対象の分子 (これに限定されないが、HIVの小分子阻害剤、HIVの中和抗体、HIVの抗体薬物複合体阻害剤、HIVのペプチド阻害剤、および様々なコントロールが挙げられる) を組織培養培地中に希釈し、段階希釈により希釈して投与範囲の濃度を作製した。この投与範囲をU373細胞に適用し、前以て製造されたシュードタイプウイルスを添加した。培養3日後に得たルシフェラーゼシグナル量を使用してシュードタイプウイルス感染レベルを反映した。IC50、または阻害剤を含まない感染からPSV感染を50%低減するのに要する阻害剤の濃度を算出した。細胞傷害性を測定するアッセイを同時に行い、阻害剤に対して観察された抗ウイルス活性が標的細胞生存率の低下と見分けられることを確認した。

30

【0249】

表13に、下表14～16に記載されている結果および各構造を詳細に示す図に参照される材料 (すなわち、薬物、リンカー、抗体、抗体薬物複合体 (「ADC」)) を示す。

【0250】

【表 1 3】

表 1 3

参照 No.	対応する図
1	6
2	7
3	8
4	9
5	10
6	3A
7	3B
8	4A
9	4B
10	5A
11	5B

10

20

【0 2 5 1】

表 1 4 に、薬物および薬物－リンカー材料の作用強度値を示す。

【0 2 5 2】

【表 1 4】

表 1 4

参照 No. (表 13)	IC50 (μM)	IC50 (μM)	IC50 (μM)
1	0.007	0.002	10
2	0.001	0.0002	10
3	0.0112	0.00017	10
4	0.0173	0.00017	4.25
EFV	0.0019	0.00153	0.0016

30

40

EFV は、エファビレンツである。

【0 2 5 3】

表 1 5 に、薬物、薬物－リンカー材料およびADC（モノペイロード）の様々な値を示す。

【0 2 5 4】

【表 1 5】

表 1 5

参照 No. (表 13)	CCIC50 (μM)	IC50 (N=1)	IC50 (N=2)
ADC 用 VRC01 bnAb (配列番号?参照)	> 100	> 100 μg/mL 約 667 nM	> 100 μg/mL 約 667 nM
2 (付着阻害剤)	> 100	2.9 nM	1.7 nM
1 (付着阻害剤+ リンカー)	> 100	7 nM	非該当
4 (gp160 阻害 剤)	5.16	7.4 nM	4.2 nM
5 (gp160 阻害剤 +リンカー)	> 100	25 nM	7.6 nM
6 (ADC)	> 100	0.0753 μg/mL 約 0.5 nM	0.0413 μg/mL 約 0.27 nM
7 (ADC)	> 100	0.4183 μg/mL 約 2.7 nM	0.2258 μg/mL 約 1.5 nM
9 (ADC)	> 100	0.6169 μg/mL 約 4 nM	0.7721 μg/mL 約 5 nM
8 (ADC)	> 100	0.5263 μg/mL 約 3.4 nM	0.3 μg/mL 約 1.9 nM

【0 2 5 5】

表 1 6 に、薬物、薬物－リンカー材料および A D C (二重ペイロード) の様々な値を示す。

【0 2 5 6】

【表 1 6】

表 1 6

参照 No. (表 13)	CCIC50 (μM)	IC50 (N=1)	IC50 (N=2)
ADC 用 VRC01 bnAb (配列番号?)	> 100	> 100 μg/mL 約 667 nM	> 100 μg/mL 約 667 nM
2 (付着阻害剤)	> 100	2.9 nM	1.7 nM
1 (付着阻害剤+リ ンカー)	> 100	7 nM	N/A
4 (gp160 阻害剤)	5.16	7.4 nM	4.2 nM
5 (gp160 阻害剤 +リンカー)	> 100	25 nM	7.6 nM
10 (二重リンカー ADC)	> 100	0.1038 μg/mL 約 0.7 nM	0.1061 μg/mL 約 0.7 nM
11 (二重リンカー ADC)	> 100	0.1542 μg/mL 約 1.0 nM	0.1070 μg/mL 約 0.7 nM

【0 2 5 7】

本発明は有利であり、当技術分野に貢献する。A D C 技術により、この双方が相補的ウイルスカバレッジプロファイルを有すると考えられる、b N A b およびエンベロープ標的小分子を繋ぐことにより、広いウイルスカバレッジを達成することができる。b N A b (好ましくは半減期延長変異を有する)の薬物動態特性を有利に利用することができる。理論に束縛されるものではないが、単一のb N A bを用いたH I V 治療は、耐性発現に対する効果を有すると考えられる。A D C は、エスケープ変異体の選択を妨げ、耐性プロファイルを向上し得るウイルスエンベロープを全標的とする複数の抗ウイルス作用機序(M o A)を有することができる。b N A b に繋がっている小分子A R V は、ウイルス以外の他の細胞／組織による最小限の望ましくない取込みを有してもよく、これは、その安全性プロファイル、耐容性、および効果的投与量の低減を改善する能力を有する。

10

【0258】

要約すれば、本発明は、抗体薬物複合体が二重特異性分子として機能するという極めて有利である。より詳細には、リンカーにより連結された抗体および薬物は、2つの別々で独立した作用機序を使用して、H I V エンベロープを標的とする。したがって、本発明は他の抗体薬物複合体と比較して独自のものであり、H I V の治療、予防または治癒に有用である。

【0259】

【表 17】

配列表

配列番号	配列の説明
1	(gp41) の実施例のアミノ酸配列
2	付着阻害剤 (T-20: 「エンフビルチド」) のアミノ酸配列
3	VRC01 CDRH1
4	VRC01 CDRH2
5	VRC01 CDRH3
6	VRC01 CDRL1
7	VRC01 CDRL2
8	VRC01 CDRL3
9	VRC01 重鎖可変領域 (VH) アミノ酸配列
10	VRC01 軽鎖可変領域 (VL) アミノ酸配列
11	VRC01 重鎖完全長アミノ酸配列
12	VRC01-“LS” Fc 領域重鎖アミノ酸配列
13	VRC01 軽鎖完全長アミノ酸配列
14	N6 CDRH1
15	N6 CDRH2
16	N6 CDRH3
17	N6 CDRL1
18	N6 CDRL2
19	N6 CDRL3
20	N6 重鎖可変領域 (VH) アミノ酸配列
21	N6 軽鎖可変領域 (VL) アミノ酸配列
22	N6 重鎖完全長アミノ酸配列
23	N6 軽鎖完全長アミノ酸配列
24	N6-“LS” Fc 領域重鎖アミノ酸配列
25	(gp120) の実施例のアミノ酸配列
26	VRC07-523 重鎖可変領域 (VH) アミノ酸配列
27	VRC07-523 軽鎖可変領域 (VL) アミノ酸配列

【0260】

配列番号 1

AVGIGALFLGFLGAAGSTMGAASMTLTVQARQLLSGIVQ

QQNNLLRAIEAQQHLLQLTVW
 GIKQLQARILAVERYLKDQQLLGIWGCSGKLICTTAVPWN
 ASWSNKSLEQIWNHTTWMEW
 DREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWN
 WFNITNWLWYIKLFI MIVGG
 LVGLRIVFAVLSIVNRVRQGYSPLSFQTHLPTPRGPDRPE
 GIEEEGGERDRDRSIRLVNG
 SLALIWD D LRS LCLFSYHRLRD LLLIVTRIVE LLGRRGWE
 ALKYWWNLLQYWSQELKNSA
 VSL LNATAIAVAEGTDRVIEVVQGACRAIRHIPRRIRQGL 10
 ERILL

配列番号 2

Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF
-NH₂

配列番号 3

DCTLNW

配列番号 4

LKPRGGAVNYARPLQG

配列番号 5

GKNCDYNWDFEH 20

配列番号 6

RTSQYGS LA

配列番号 7

SGSTRAA

配列番号 8

QQYEF

配列番号 9

QVQLVQSGGQMKKPGESMRISCRASGYEFIDCTLNWIRL
 APGKRPEWMGWLKPRGGA VNYARPLQGRVTMTTRDVYSDT
 AFLELRSLTVDDTAVYFCTRGKNCDYNWDFEHWGRGTPVI 30
 VS

配列番号 10

EIVLTQSPGTLSSLSPGETAIIISCRTSQYGS LAWYQQRPG
 QAPRLV IYSGSTRAAGIPDRFSGSRWGP DYNLTISNLESG
 DFGVYYCQQYEFFGQGTKVQVDIKRT

配列番号 11

QVQLVQSGGQMKKPGESMRISCRASGYEFIDCTLNWIRL
 APGKRPEWMGWLKPRGGA VNYARPLQGRVTMTTRDVYSDTA
 FLELRSLTVDDTAVYFCTRGKNCDYNWDFEHWGRGTPVI V
 SSPSTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT 40
 VSWNSGALTS G VHTFP AVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGT
 QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
 DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
 PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNH
 YTQKSLSSLSPGK

配列番号 12

QVQLVQSGGQMKKPGESMRISCRASGYEFIDCTLNWIRL 50

A P

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

10

配列番号 1 3

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

配列番号 1 4

A H I L F

配列番号 1 5

W I K P Q Y G A V N F G G G F R D

20

配列番号 1 6

D R S Y G D S S W A L D A

配列番号 1 7

Q T S Q G V G S D L H

配列番号 1 8

H T S S V E D

配列番号 1 9

Q V L Q F

配列番号 2 0

30

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

配列番号 2 1

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

配列番号 2 2

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

40

50

HYTQKSLSLSPGK

配列番号 2 3

YIHVTQSPSSLSVSI GDRVTINCQTSQGVGSDLHWYQHK
PGRAPKLLIHHTSSSVEDGVPS
RFSGSGFHTSFNLTISDLQADDIATYYCQVLQFFGRGSRL
HIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDS TYSSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKS FNRGEC

配列番号 2 4

RAHLVQSGTAMKKPGASVRVSCQTSGYTFTAHILFWFRQ
APGRGLEWVGWIKPQYGAVNFGGGFRDRVTLTRDVYREIA
YMDIRGLKPDDTAVYYCARDRSYGDSSWALDAWGQGTTVV
VSAASTKGPSVFP LAPSSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEALHS
HYTQKSLSLSPGK

配列番号 2 5

KLWVTVYYGVVPWKEATTTLFCASDAKAYDTEVHN VWAT
HACVPTDPNPQEVVLVNV TEN
FNMWKNDMVEQMHEIDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVSLKCT
DLKNDTNTNSSSGRMIMEKG
EIKNCSFNISTSI RGKVQKEYAFFYKLDIIPIDNDTTSYK
LTSCNTSVITQACPKVSFEP
IPIHYCAPAGFAILKCNKTFNGTG PCTNVSTVQCTHGIR
PVVSTQLLLNGSLAE EEEVVI
RSVNFTDNAKTIIVQLNTSVEINCTRPNNNTRKRIRIRIQRG
PGRAFVTIGKIGNMRQAHCN
ISRAKWNNTL KQIASKLREQFGNNKTIIFKQSSGGDPEIV
THSFNCGGEFFYCNSTQLFN
STWFNSTWSTEGSNNT EGSDTITLPCR IKQIINMWQKV GK
AMYAPPISGQIRCSSNITGL
LLTRDGGNSNNESEIFRPGGGDMRDNWRSELYKYKVVKIE
PLGVAPT KAKRRVVQREKR

配列番号 2 6

QVRLSQSGGQMKKPGDSMRI SCRASGYEFINCPINWIRL
APGKRPEWMGWMKPRHGAVSYARQLQGRVTMTTRDMYSETA
FLELRSLTSDDTAVYFCTR GK YCTARDYYNWDFEHWGQGT
PVTVSS

配列番号 2 7

SLTQSPGTL SLSLSPGETAIIIS CRTSQYGS LAWYQQRPGQA
PRLVIYSGSTRAAGIPDRFSGSRWGP DYNLT I SNLESGD
FGVYYCQQYEFFGQGTKVQVDIK

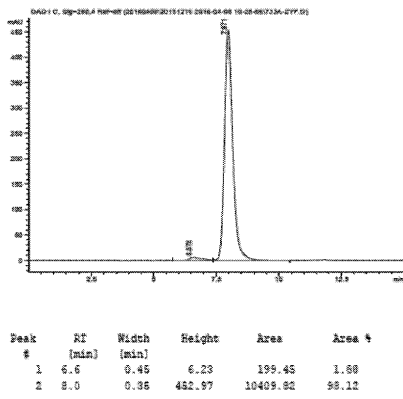
10

20

30

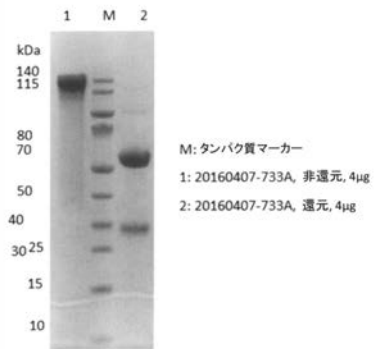
40

【 図 1 】

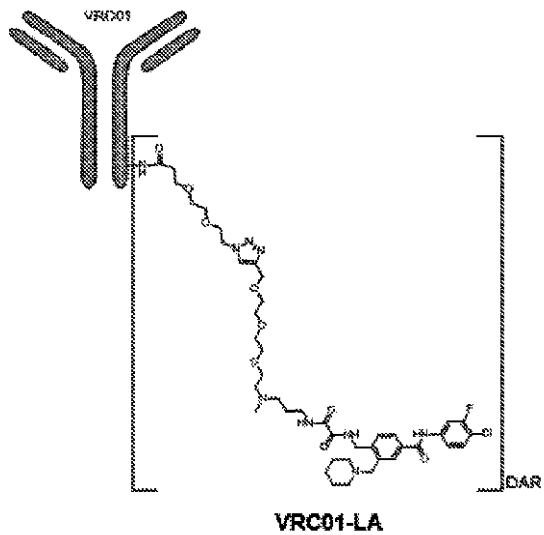
FIGURE 1
SEC-HPLC

【 図 2 】

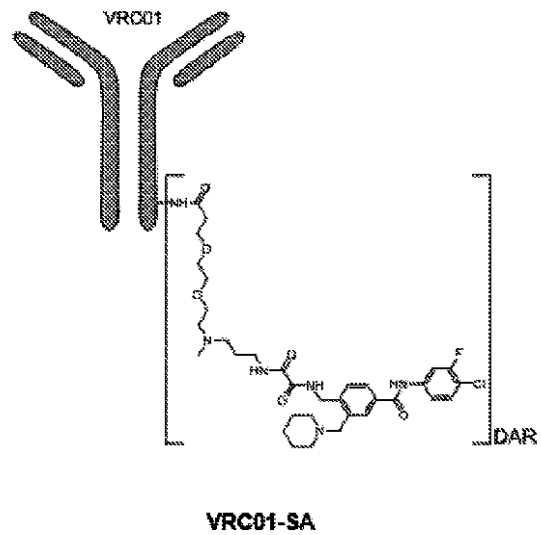
SDS-PAGE



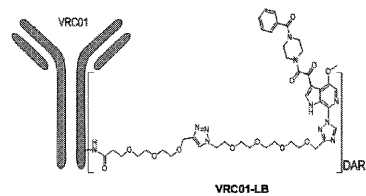
【 図 3 A 】

FIGURE 3A

【 図 3 B 】

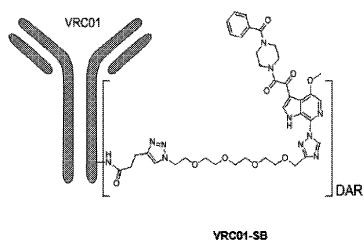
FIGURE 3B

【 図 4 A 】

FIGURE 4A

【図 4 B】

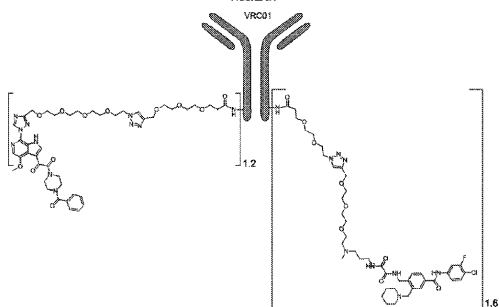
FIGURE 4B



VRC01-SB

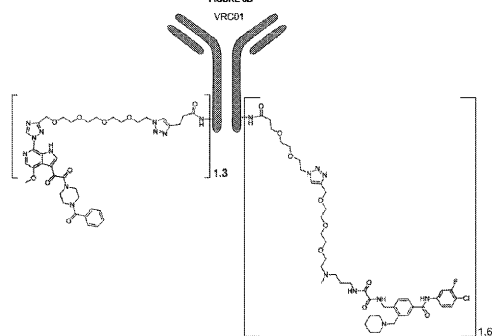
【図 5 A】

FIGURE 5A



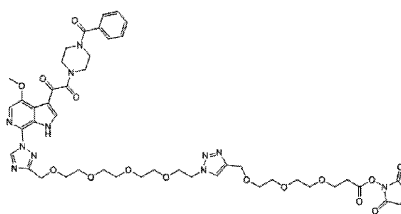
【図 5 B】

FIGURE 5B



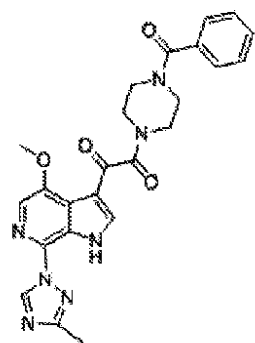
【図 6】

FIGURE 6



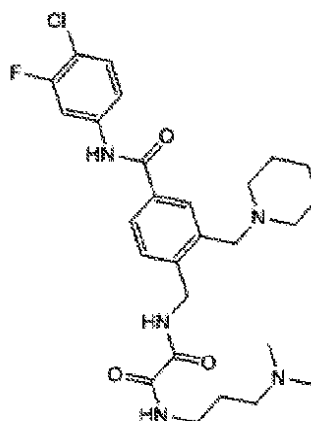
【図 7】

FIGURE 7



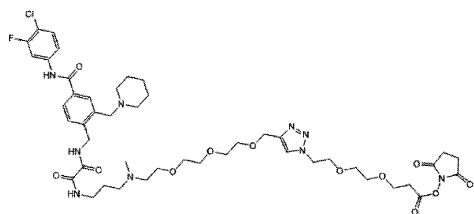
【図 9】

FIGURE 9



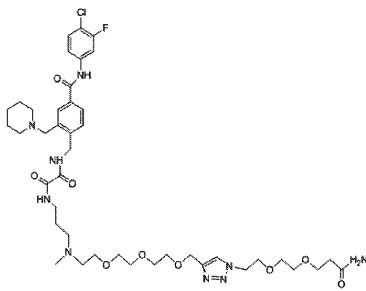
【図 8】

FIGURE 8



【図 10】

FIGURE 10



【配列表】

2019524687000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2017/053979

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K47/68 A61P31/18
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, 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 A	WO 2011/079315 A1 (SCRIPPS RESEARCH INST [US]; BARBAS III CARLOS F [US]; BAN HITOSHI [JP]) 30 June 2011 (2011-06-30) paragraphs [0302] - [0315] schemes 18-20 figure 4 ----- -/--	1-14, 18-53, 62-65, 67-77 15,16, 54,55, 58-61

☒ 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

13 September 2017

Date of mailing of the international search report

21/09/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bliem, Barbara

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2017/053979

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	J. GAVRILYUK ET AL: "Antibody Conjugation Approach Enhances Breadth and Potency of Neutralization of Anti-HIV-1 Antibodies and CD4-IgG", JOURNAL OF VIROLOGY., vol. 87, no. 9, 20 February 2013 (2013-02-20), pages 4985-4993, XP55405673, US ISSN: 0022-538X, DOI: 10.1128/JVI.03146-12	1-14, 18-53, 62-65, 67-77
A	abstract figures 1,3 tables 1-5 -----	15,16, 54,55, 58-61
X	WO 2012/061548 A1 (IBC PHARMACEUTICALS INC [US]; CHANG CHIEN-HSING [US]; GOLDENBERG DAVID) 10 May 2012 (2012-05-10) paragraphs [0002], [0006] - [0008] figure 7 examples 7,10 -----	1-14, 17-53, 56,57, 62-77

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2017/053979

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011079315 A1	30-06-2011	CA 2785410 A1 EP 2515914 A1 US 2012289682 A1 US 2014378668 A1 WO 2011079315 A1	30-06-2011 31-10-2012 15-11-2012 25-12-2014 30-06-2011
WO 2012061548 A1	10-05-2012	AU 2011323354 A1 CA 2812442 A1 CN 103328001 A EP 2635300 A1 WO 2012061548 A1	21-03-2013 10-05-2012 25-09-2013 11-09-2013 10-05-2012

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
C O 7 K	14/00	(2006.01)	C O 7 K	14/00
C O 7 K	19/00	(2006.01)	C O 7 K	19/00

(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

(74)代理人 100082991
弁理士 佐藤 泰和

(74)代理人 100105153
弁理士 朝倉 悟

(74)代理人 100143971
弁理士 藤井 宏行

(74)代理人 100126099
弁理士 反町 洋

(72)発明者 ジェリー、ジェフリー
アメリカ合衆国ノースカロライナ州、リサーチ、トライアングル、パーク、ファイブ、ムーア、ドライブ

(72)発明者 ジュン、タン
アメリカ合衆国ノースカロライナ州、リサーチ、トライアングル、パーク、ファイブ、ムーア、ドライブ

(72)発明者 ビンセント、ウィンーファイ、タイ
アメリカ合衆国ノースカロライナ州、リサーチ、トライアングル、パーク、ファイブ、ムーア、ドライブ

(72)発明者 デイビッド、テメルコフ
アメリカ合衆国ノースカロライナ州、リサーチ、トライアングル、パーク、ファイブ、ムーア、ドライブ

(72)発明者 エミル、ジョハン、フェルトハイゼン
アメリカ合衆国ノースカロライナ州、リサーチ、トライアングル、パーク、ファイブ、ムーア、ドライブ

(72)発明者 ジェイソン、ゴードン、ウェザーヘッド
アメリカ合衆国ノースカロライナ州、リサーチ、トライアングル、パーク、ファイブ、ムーア、ドライブ

Fターム(参考) 4C076 AA95 CC07 CC35 CC41 EE59
4C084 AA19 BA01 BA08 BA19 BA23 NA05 NA13 ZC55
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA11 BA12 BA13 BA14 BA15 BA16
BA17 BA18 BA19 BA41 BA72 CA40 DA75 DA76 EA20