

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7407845号
(P7407845)

(45)発行日 令和6年1月4日(2024.1.4)

(24)登録日 令和5年12月21日(2023.12.21)

(51)国際特許分類

A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68
A 6 1 K	47/65 (2017.01)	A 6 1 K	47/65
A 6 1 K	31/4745(2006.01)	A 6 1 K	31/4745
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395
C 0 7 K	16/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395

F I

T
N

請求項の数 22 (全127頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-578171(P2021-578171)
 (86)(22)出願日 令和2年6月5日(2020.6.5)
 (65)公表番号 特表2022-542222(P2022-542222
 A)
 (43)公表日 令和4年9月30日(2022.9.30)
 (86)国際出願番号 PCT/CN2020/094767
 (87)国際公開番号 WO2020/259258
 (87)国際公開日 令和2年12月30日(2020.12.30)
 審査請求日 令和3年12月28日(2021.12.28)
 (31)優先権主張番号 201910577909.6
 (32)優先日 令和1年6月28日(2019.6.28)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 中国(CN)

(73)特許権者 510157476
 シャンハイ フダン - チャンジャン バイ
 オ - フアーマシューティカル カンパニー
 リミテッド
 中華人民共和国上海市浦東新区蔡倫路 3
 08号
 (74)代理人 110001519
 弁理士法人太陽国際特許事務所
 パオ、ピン
 中華人民共和国 201210 シャンハイ
 プトン ニュー エリア チャンチアン
 ハイ - テック パーク、ツァイルン ロー^ド、ナンバー 308
 (72)発明者 クオ、チンソン
 中華人民共和国 201210 シャンハイ
 最終頁に続く

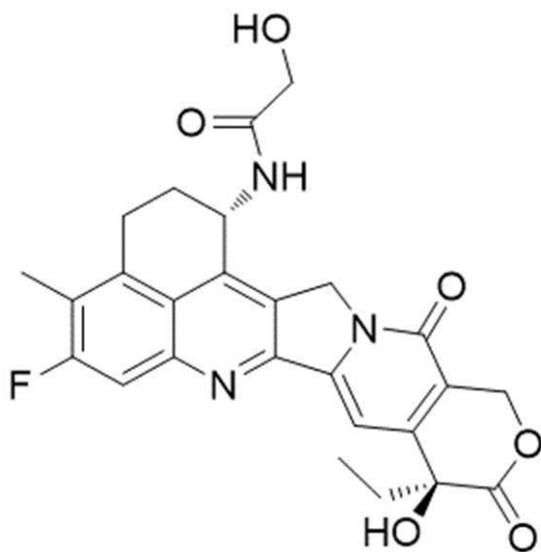
(54)【発明の名称】 抗体薬物複合体、その中間体、製造方法及び使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

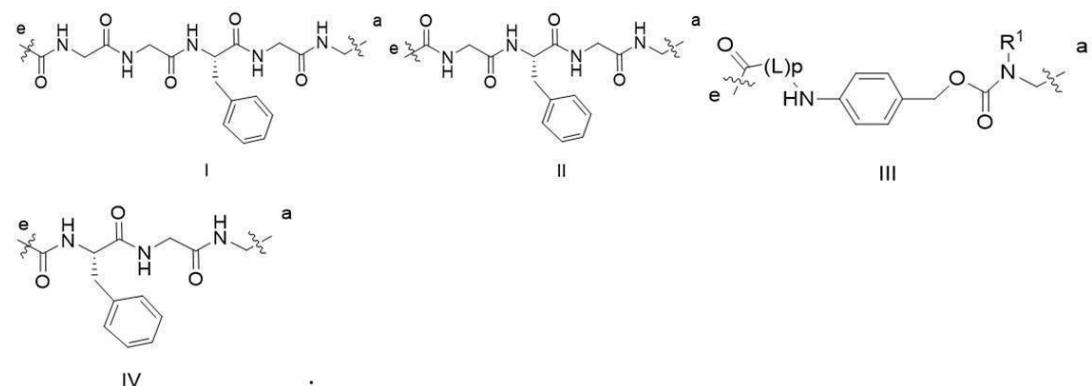
構造式が $A_b - (L_3 - L_2 - L_1 - D)_m$ である、抗体薬物複合体。
 (ここで、 A_b は抗体であり； D は細胞阻害性薬物としての

【化 1 】



であり；mは2～8であり；L₁の構造は式I、II、III、又はIVで表される通りであり、そのa端は前記細胞阻害性薬物に接続され、e端は前記L₂のc端に接続され；
【化2】

【化2】



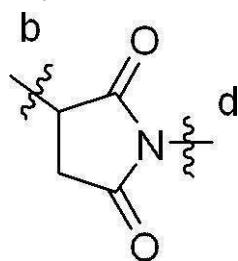
ここで、Lは独立してフェニルアラニン残基、アラニン残基、グリシン残基、グルタミン酸残基、アスパラギン酸残基、システイン残基、グルタミン酸残基、ヒスチジン残基、イソロイシン残基、ロイシン残基、リジン残基、メチオニン残基、プロリン残基、セリン残基、スレオニン残基、トリプトファン残基、チロシン残基又はバリン残基であり；pは2～4であり；

R¹ は - N R¹ - 1 R¹ - 2 置換の C₁ ~ C₆ アルキル、 R¹ - 3 S (O) 2 - 置換の C₁ ~ C₆ アルキル、 C₁ ~ C₆ アルキル、 C₃ ~ C₁₀ シクロアルキル、 C₆ ~ C₁₄ アリール又は 5 ~ 14 員ヘテロアリールであり；前記 5 ~ 14 員のヘテロアリールのヘテロ原子は、 N、 O 及び S から選択される 1 つ又は複数であり、ヘテロ原子の数は 1、 2、 3、 又は 4 であり；

前記 R¹⁻¹、R¹⁻² 及び R¹⁻³ は独立して C₁ ~ C₆ アルキルであり；

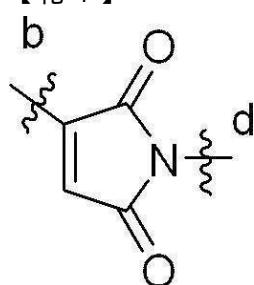
L₃ は

【化3】



又は

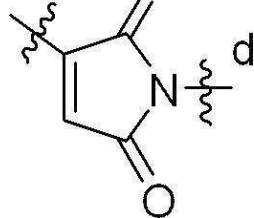
【化4】



10

【化5】

b

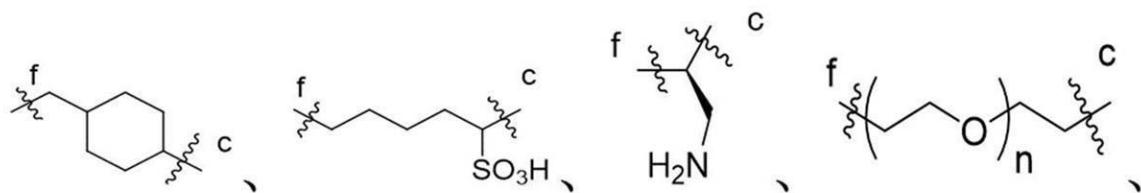


d

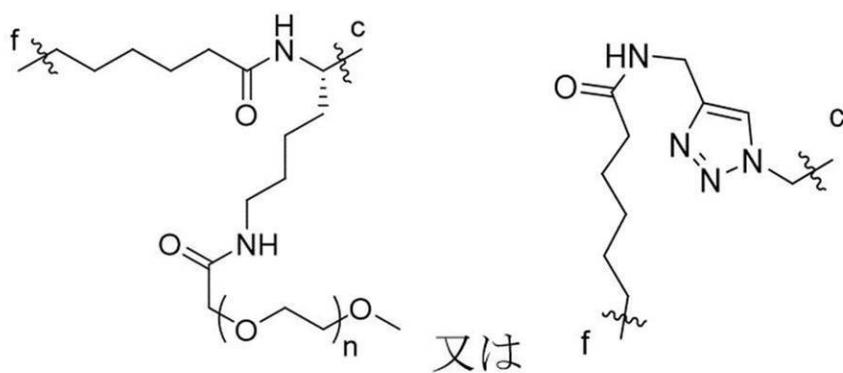
20

であり、ここで、b端は前記A bに接続され、d端は前記L₂のf端に接続され；
前記L₁の構造が式Iで表される通りである場合、前記L₂は

【化5】



30



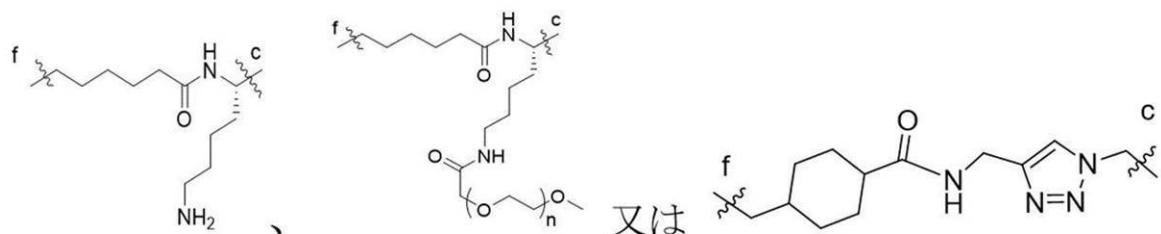
40

であり、ここで、nは独立して1～12であり、c端は前記L₁のe端に接続され、f端は前記L₃のd端に接続され、

前記L₁の構造が式IIで表される通りである場合、前記L₂は

50

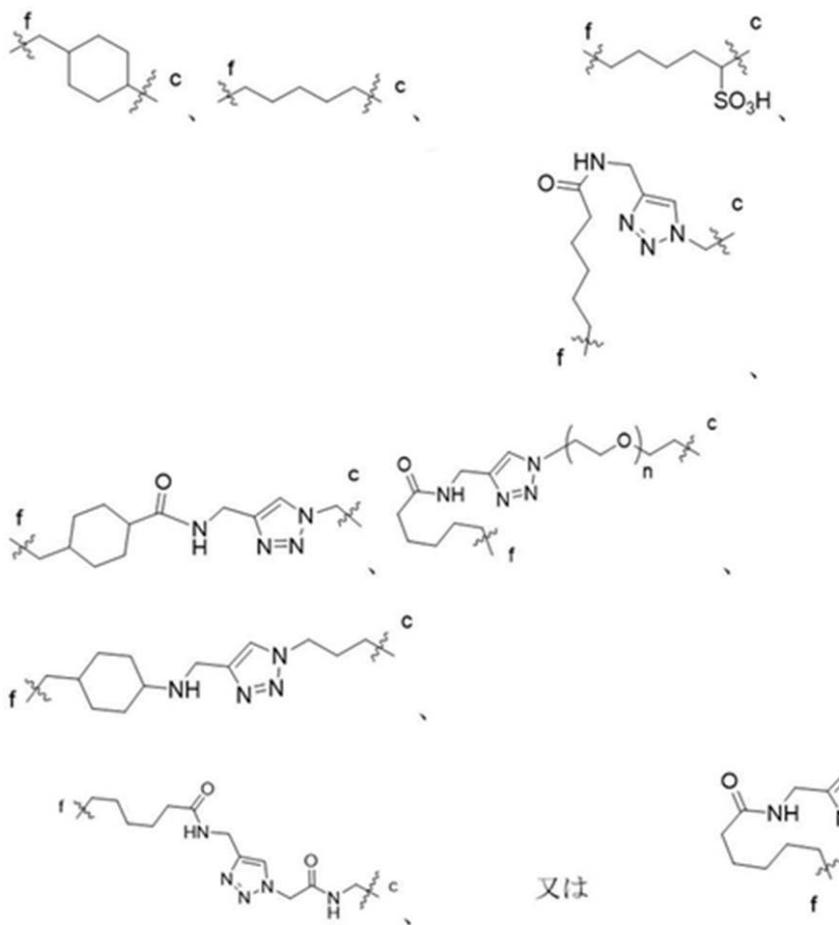
【化 6】



であり、ここで、 n は独立して1～12であり、 c 端は前記 L_1 の e 端に接続され、 f 端は前記 L_3 の d 端に接続され、
10

前記 L_1 の構造が式I-IIIで表される通りである場合、前記 L_2 は

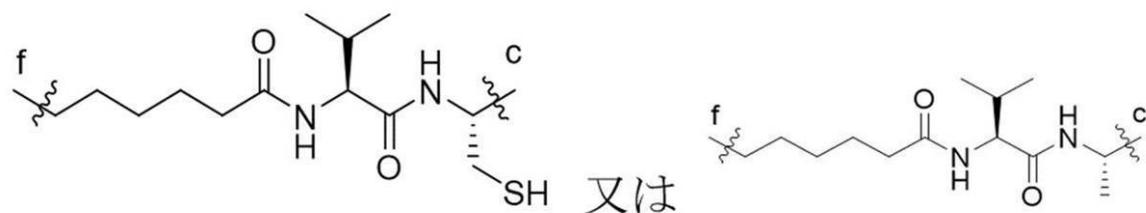
【化 7】



であり、ここで、 n は独立して1～12であり、 c 端は前記 L_1 の e 端に接続され、 f 端は前記 L_3 の d 端に接続され、
20

前記 L_1 の構造が式IVで表される通りである場合、前記 L_2 は

【化 8】



であり、ここで、c端は前記L₁のe端に接続され、f端は前記L₃のd端に接続される。
。)

【請求項 2】

前記抗体は、抗H E R 2 抗体Trastuzumab又はそのバリアント、抗B 7 - H 3 抗体P 2 E 5 又はそのバリアント、抗C laudin 18 . 2 抗体IMAB362 又はそのバリアント、又は抗T rop 2 抗体R S 7 又はそのバリアントであり；前記抗H E R 2 抗体Trastuzumabにおける軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号6に示された通りであり；前記抗B 7 - H 3 抗体P 2 E 5 の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号8に示された通りであり；前記抗C laudin 18 . 2 抗体IMAB362 の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号2に示された通りであり；前記抗T rop 2 抗体R S 7 の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号3に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号4に示された通りであり；前記抗H E R 2 抗体Trastuzumabバリアントは、前記抗H E R 2 抗体Trastuzumabの配列と比較して、少なくとも90%以上の相同性を有し；前記抗B 7 - H 3 抗体P 2 E 5 バリアントは前記抗B 7 - H 3 抗体P 2 E 5 と比較して、少なくとも90%以上の相同性を有し；前記抗T rop 2 抗体R S 7 バリアントは、前記抗T rop 2 抗体R S 7 の配列と比較して、少なくとも90%以上の相同性を有し；前記抗C laudin 18 . 2 抗体IMAB362 バリアントは、前記抗C laudin 18 . 2 抗体IMAB362 の配列と比較して、少なくとも90%以上の相同性を有し；

及び／又は、前記R¹が-NR¹-¹R¹-²置換のC₁～C₆アルキルである場合、前記C₁～C₆アルキルは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり；前記R¹-¹及びR¹-²は、それぞれ独立して、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり；

及び／又は、前記R¹がR¹-³S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルである場合、前記C₁～C₆アルキルは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又是tert-ブチルであり；前記R¹-³は、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又是tert-ブチルであり；

及び／又は、前記R¹がC₁～C₆アルキルである場合、前記C₁～C₆アルキルは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又是tert-ブチルであり；

及び／又は、前記mは、4～8であり；

及び／又は、前記nは、8～12である、請求項1に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 3】

前記抗体は、抗H E R 2 抗体Trastuzumab、抗B 7 - H 3 抗体P 2 E 5 、又は抗C laudin 18 . 2 抗体IMAB362 であり；

及び／又は、前記R¹が-NR¹-¹R¹-²置換のC₁～C₆アルキルである場合、前記C₁～C₆アルキルはエチルであり；前記R¹-¹及びR¹-²はメチルであり；

及び／又は、前記R¹がR¹-³S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルである場合、

10

20

30

40

50

前記 C₁ ~ C₆ アルキルはエチルであり；前記 R¹ ~ R³ はメチルであり；
及び／又は、前記 R¹ が C₁ ~ C₆ アルキルである場合、前記 C₁ ~ C₆ アルキルはメチル又はエチルであり；
及び／又は、前記 m は、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、8.0 である。

請求項 2 に記載の抗体薬物複合体。

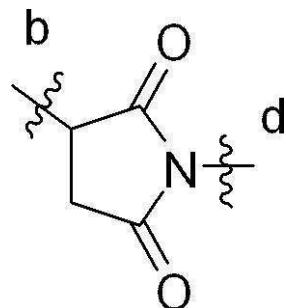
【請求項 4】

前記 L は、バリン残基又はアラニン残基であり、p は、2 であり；前記 (L)p のアミノ端は前記式 I I I で表されるカルボニル端に接続され；

及び／又は、前記 R¹ は、-N R¹ - R¹ - R² 置換の C₁ ~ C₆ アルキル、R¹ - R³ S (O) - 置換の C₁ ~ C₆ アルキル、又は C₁ ~ C₆ アルキルであり；

及び／又は、前記 L₃ は、

【化 9】

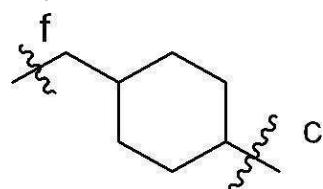


20

であり；

及び／又は、L₁ の構造が式 I で表される通りである場合、前記 L₂ は、

【化 10】

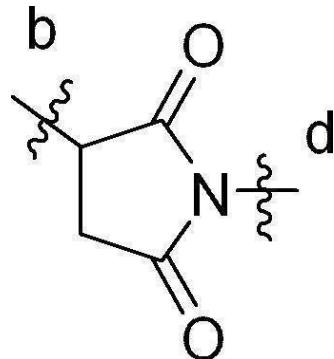


30

であり；

及び／又は、L₁ の構造が式 I I で表される通りである場合、前記 L₃ は、

【化 11】



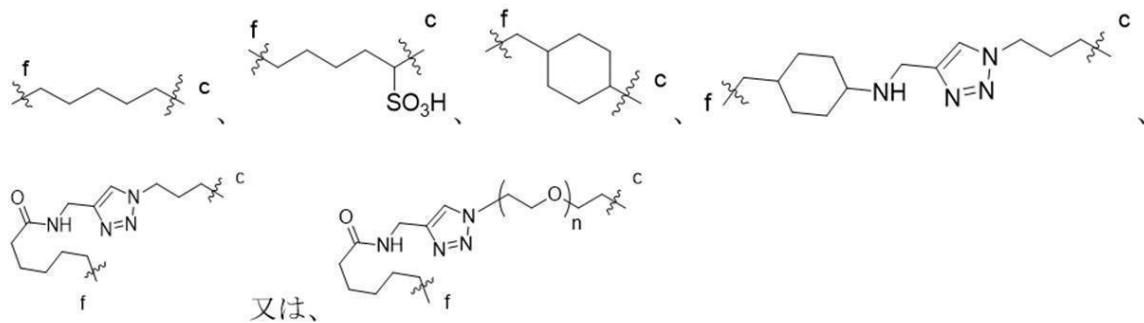
40

であり；

及び／又は、L₁ の構造が式 I I I で表される通りである場合、前記 L₂ は、

50

【化 1 2】

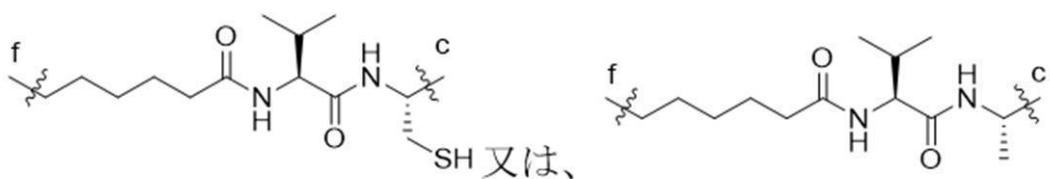


10

であり；

及び／又は、 L_1 の構造が式IVで表される通りである場合、前記 L_2 は、

【化 1 3】



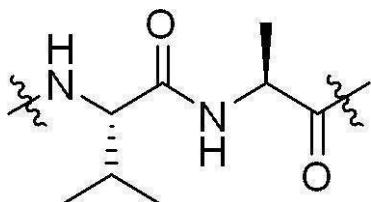
20

である、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 5】

前記（L）pは、

【化 1 4】



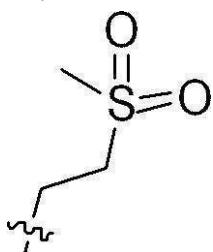
30

であり、ここで、アミノ端は前記式 I I I におけるカルボニル端に接続され；

及び／又は、

R^1 が $C_1 \sim C_6$ アルキル基である場合、前記 $C_1 \sim C_6$ アルキルは、メチル又はエチルであり；前記 $R^1 - S(O)_2 -$ 置換の $C_1 \sim C_6$ アルキルは、

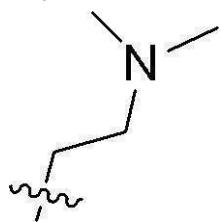
【化 1 5】



40

であり；前記 - N R¹ - 1 R¹ - 2 置換の C₁ ~ C₆ アルキルは、

【化16】

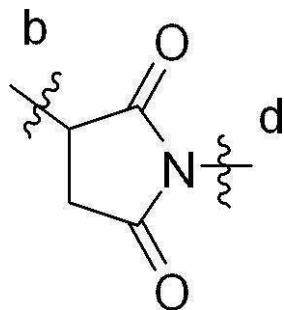


であり；

10

及び／又は、前記L₃は、

【化17】



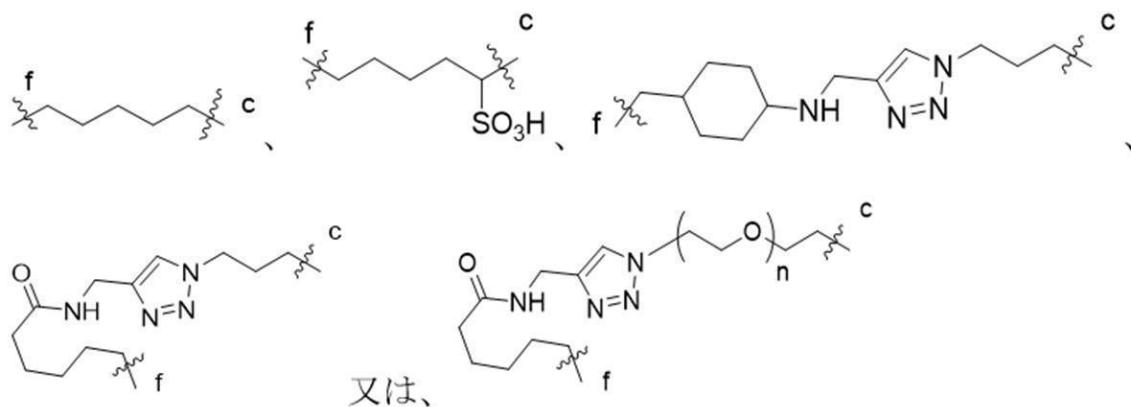
20

であり；

及び／又は

L₁の構造が式IIIで表される通りである場合、前記L₂は、

【化18】



30

である、

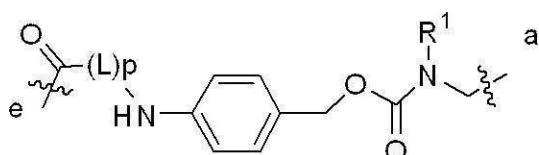
40

請求項4に記載の抗体薬物複合体。

【請求項6】

前記

【化19】

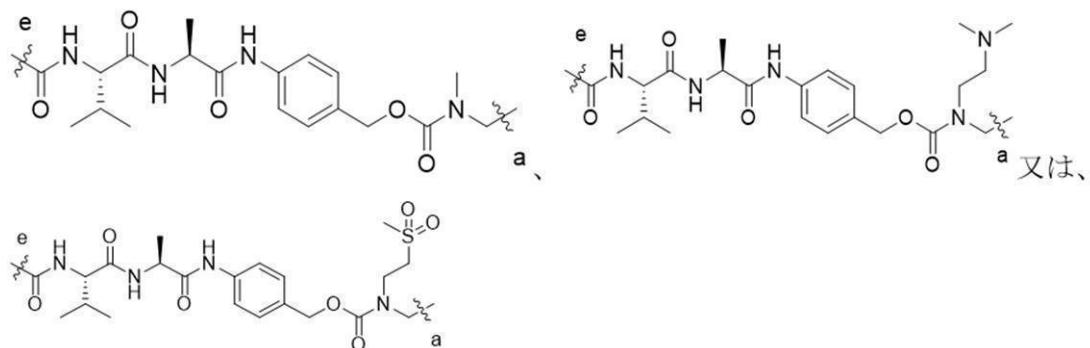


III

50

は、

【化 2 0】



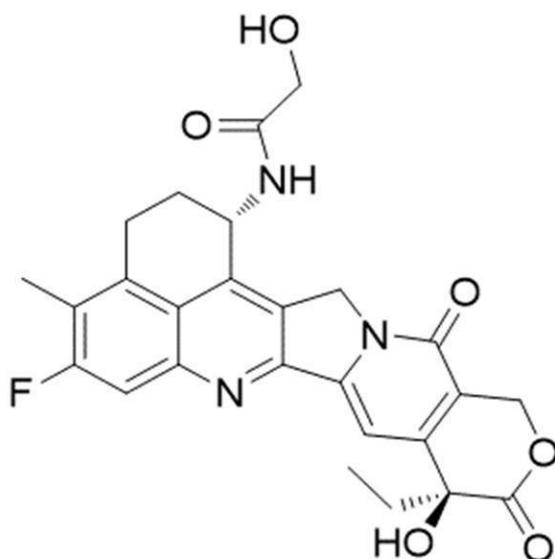
である、請求項 5 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 7】

前記 A b は、抗 H E R 2 抗体 T r a s t u z u m a b 、抗 B 7 - H 3 抗体 P 2 E 5 又はそのバリエント、又は、抗 C l a u d i n 1 8 . 2 抗体 I M A B 3 6 2 又はそのバリエントであり；前記 D は

【化 2 1】

20



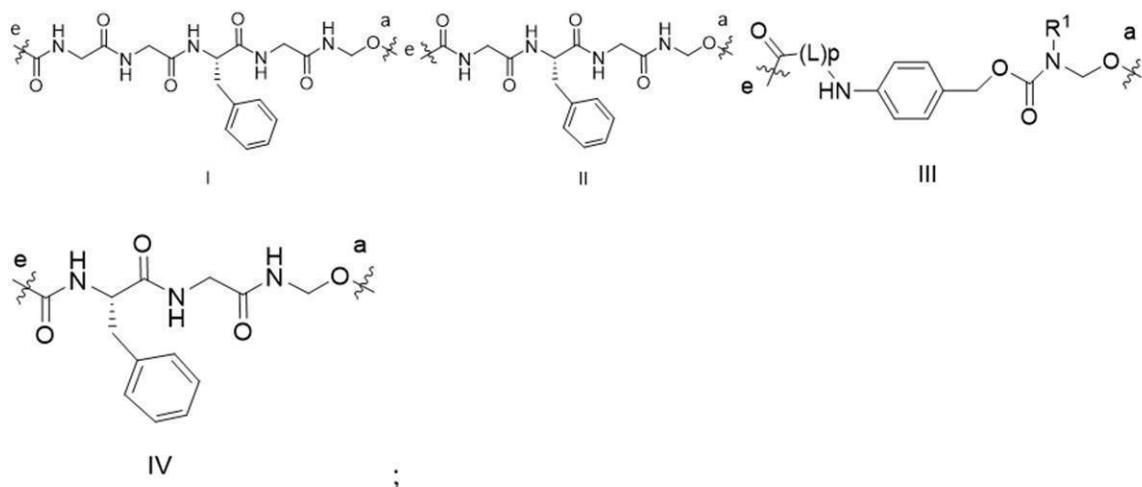
であり；前記 m は 2 ~ 8 であり；

前記 L 1 の構造は式 I 、 I I 、 I I I 、 又は I V で表される通りであり、

40

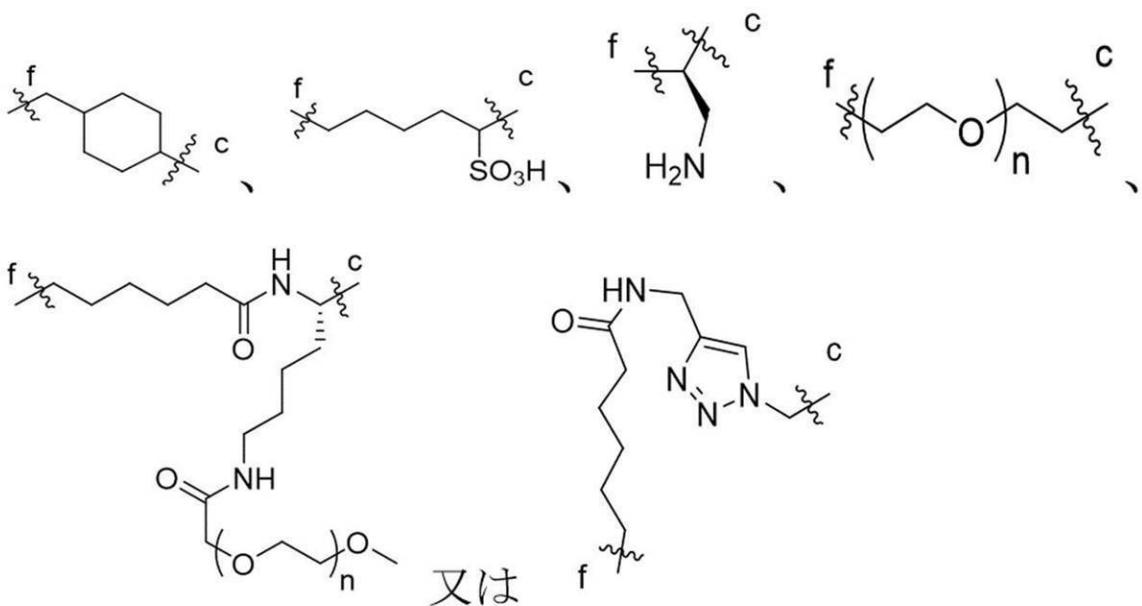
50

【化 2 2】



前記 L_1 の構造が式 I で表される通りである場合、前記 L_2 は

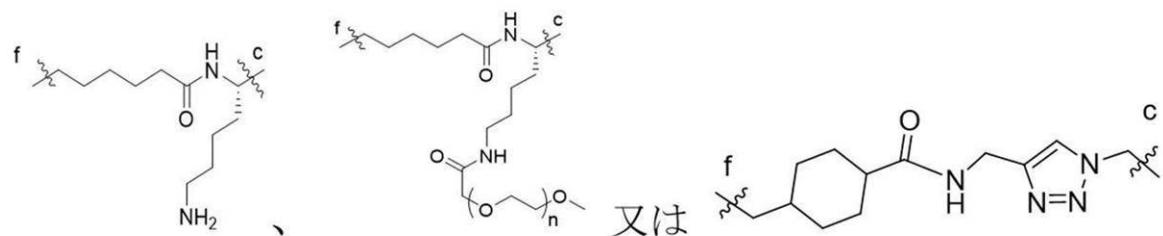
【化 2 3】



であり、前記 n は独立して 8 ~ 12 であり、

前記 L_1 の構造が式 II で表される通りである場合、前記 L_2 は

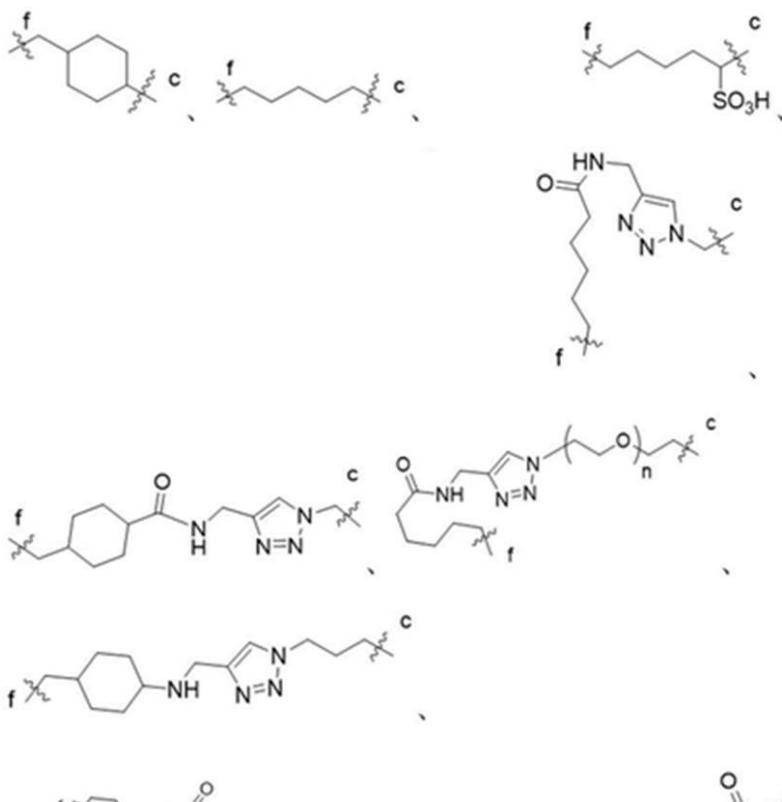
【化 2 4】



であり、前記 n は独立して 8 ~ 12 であり、

前記 L_1 の構造が式 III で表される通りである場合、前記 L_2 は

【化 2 5 】



10

20

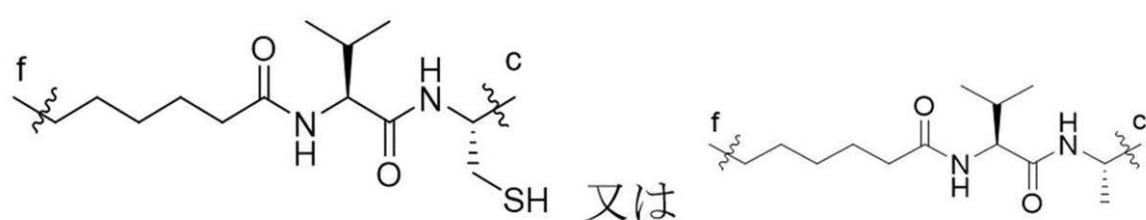
又は

であり、前記 n は独立して 8 ~ 12 であり、

前記 L_1 の構造が式 I V で表される通りである場合、前記 L_2 は

30

【化 2 6】

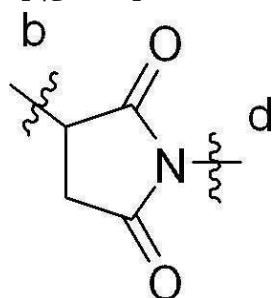


であり；

前記 L 3 は

40

【化 2 7】



50

であり；

前記 L は独立してバリン残基又はアラニン残基であり；前記 p は 2 ~ 4 であり；

前記 R¹ は - N R¹ - 1 R¹ - 2 置換の C₁ ~ C₆ アルキル、 R¹ - 3 S (O)₂ - 置換の C₁ ~ C₆ アルキル、又は C₁ ~ C₆ アルキルであり；

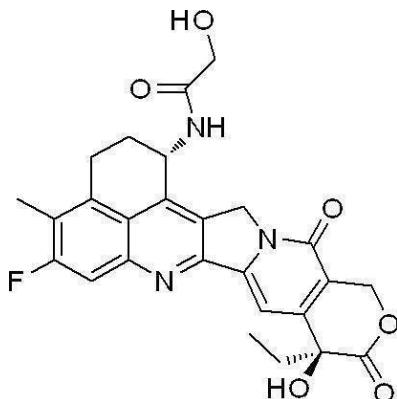
前記 R¹ - 1 、 R¹ - 2 及び R¹ - 3 はそれぞれ独立して C₁ ~ C₆ アルキルであり；

ここで、前記抗 H E R 2 抗体 Trastuzumab の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 5 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 6 に示された通りであり；前記抗 B 7 - H 3 抗体 P 2 E 5 の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 7 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 8 に示された通りであり；前記抗 C laudin 18 . 2 抗体 I M A B 3 6 2 の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 1 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 2 に示された通りである、請求項 1 で記載の抗体薬物複合体。 10

【請求項 8】

前記 A b は、抗 H E R 2 抗体 Trastuzumab 、抗 B 7 - H 3 抗体 P 2 E 5 又はそのバリエント、又は、抗 C laudin 18 . 2 抗体 I M A B 3 6 2 又はそのバリエントであり；前記 D は

【化 2 8】



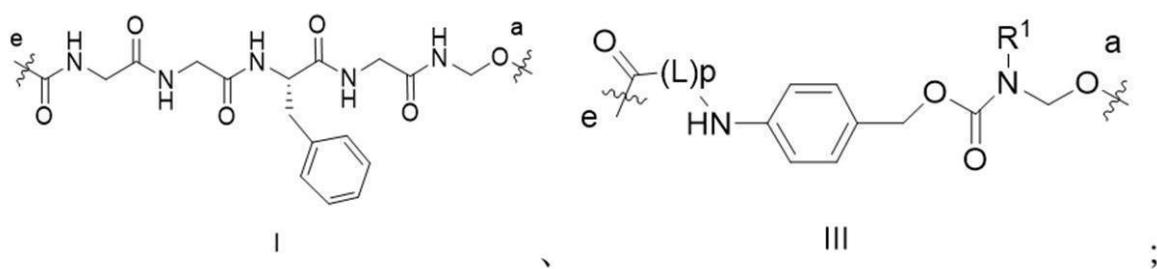
20

であり；前記 m は 7 ~ 8 であり；

30

前記 L₁ の構造は式 I 又は I I I で表される通りであり、

【化 2 9】

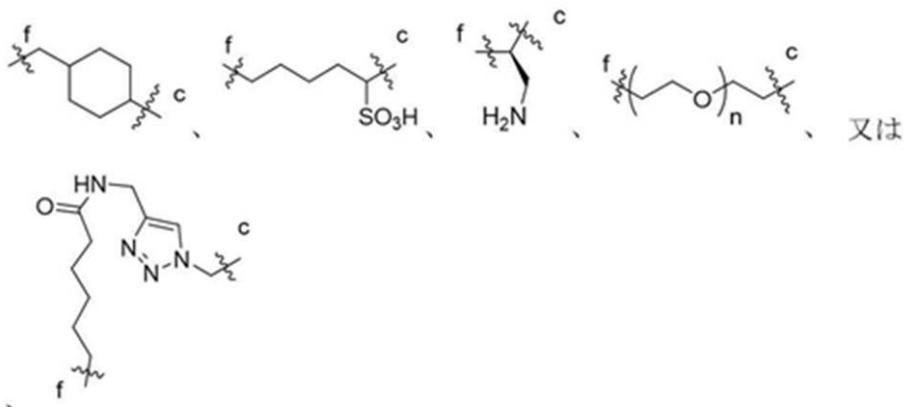


40

前記 L₁ の構造が式 I で表される通りである場合、前記 L₂ は

50

【化 3 0 】

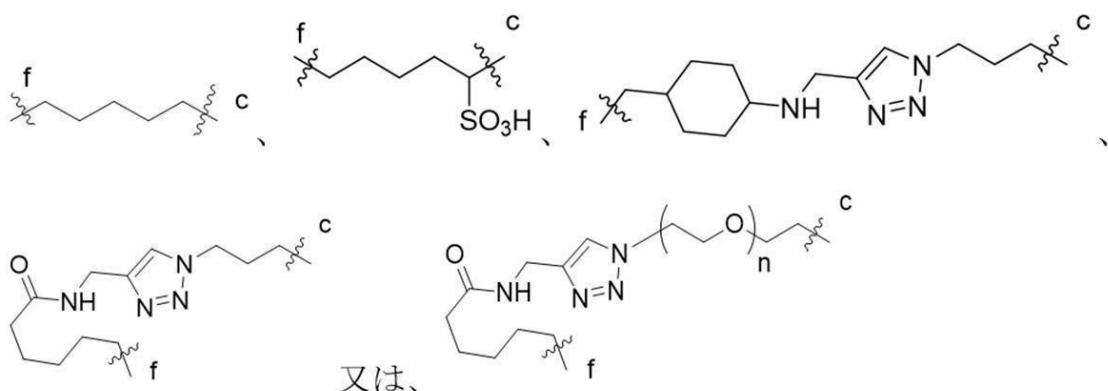


10

であり；前記 n は独立して 8 ~ 12 であり；

前記 L_1 の構造が式 III で表される通りである場合、前記 L_2 は

【化 3 1】

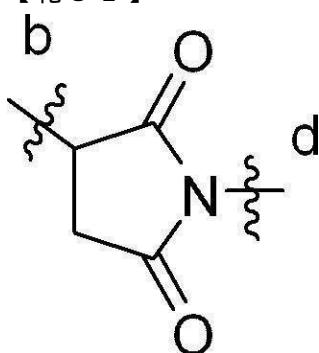


20

であり；前記 n は独立して 8 ~ 12 であり；

前記 L 3 は

【化 3 2】



40

であり；

前記 L は独立してバリン残基又はアラニン残基であり；前記 p は 2 ~ 4 であり；

前記 R^1 は $-NR^1-1R^1-2$ 置換の $C_1 \sim C_4$ アルキル、 $R^1-3S(O)_2$ - 置換の $C_1 \sim C_4$ アルキル、又は $C_1 \sim C_4$ アルキルであり；前記 R^1-1 、 R^1-2 及び R^1-3 は独立して $C_1 \sim C_4$ アルキルであり；

前記抗HER2抗体Trastuzumabの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番

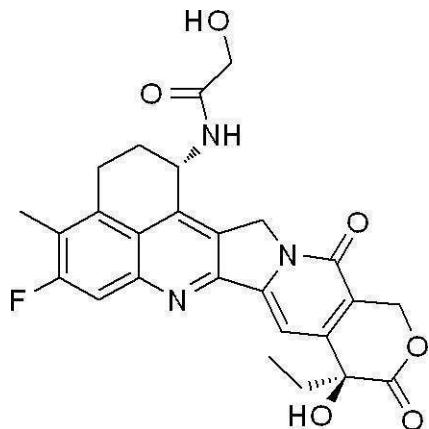
50

号 5 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 6 に示された通りであり；前記抗 B 7 - H 3 抗体 P 2 E 5 の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 7 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 8 に示された通りであり；前記抗 C laudin 18 . 2 抗体 I M A B 3 6 2 の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 1 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 2 に示された通りである、請求項 1 ~ 7 のいずれかの一項に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 9】

A b は抗体であり；D は

【化 3 3】

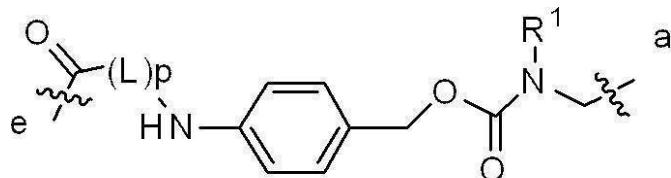


10

であり；

L 1 は

【化 3 4】



30

III

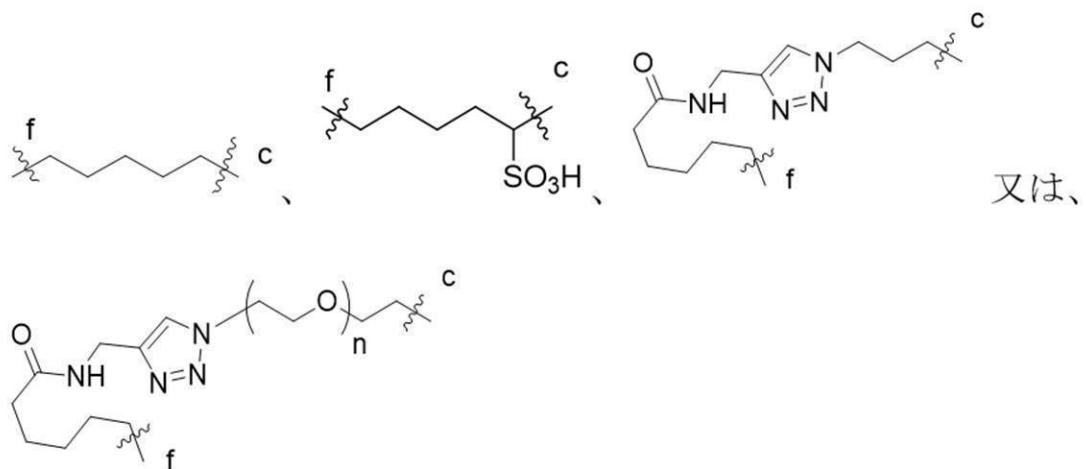
であり；ここで、L はバリン残基又はアラニン残基であり、p は 2 であり；R 1 は - N R 1 - 1 R 1 - 2 置換の C 1 ~ C 6 アルキル、R 1 - 3 S (O) 2 - 置換の C 1 ~ C 6 アルキル又は C 1 ~ C 6 アルキルであり；前記 R 1 - 1 、R 1 - 2 及び R 1 - 3 は独立して C 1 ~ C 4 アルキルであり；

L 2 は

40

50

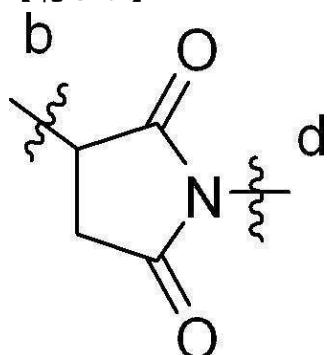
【化 3 5】



10

であり、ここで、n は、8 であり；L₃ は、

【化 3 6】



20

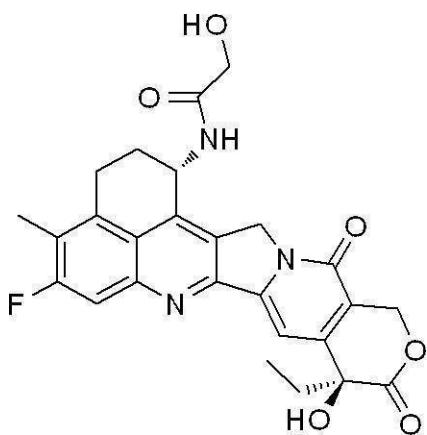
である、請求項 1 で記載の抗体薬物複合体。

30

【請求項 1 0】

A b は抗体であり；D は

【化 3 7】



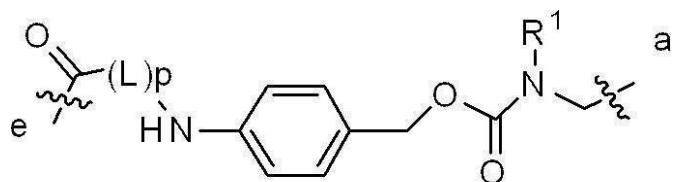
40

であり；

L₁ は

50

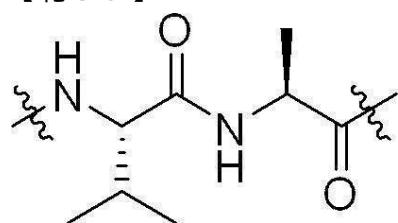
【化38】



10

であり；ここで、(L)pは、

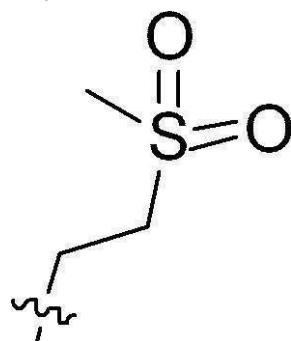
【化39】



20

であり；R¹は、R¹-³S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルであり；R¹-³は、メチルであり；前記R¹-³S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルは、

【化40】

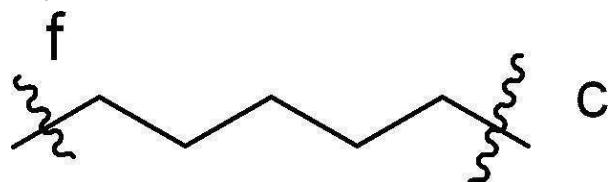


30

であり；

L₂は

【化41】

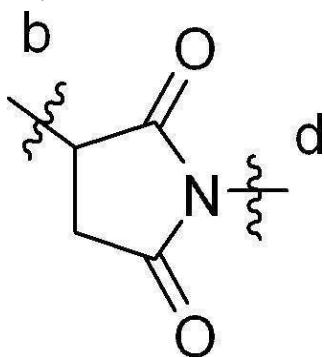


40

であり；L₃は、

50

【化42】



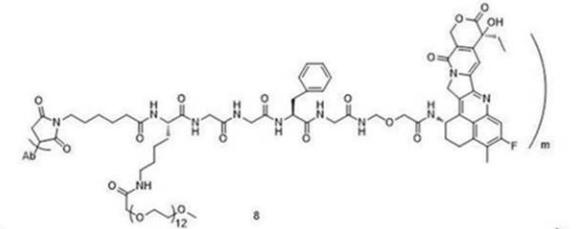
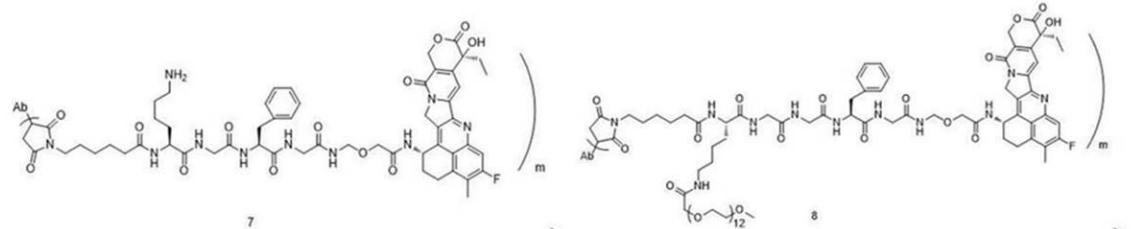
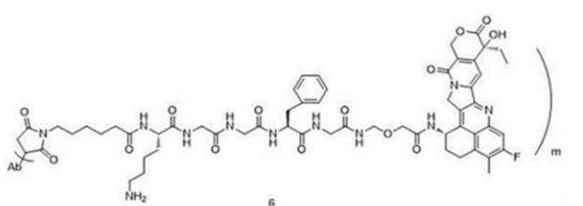
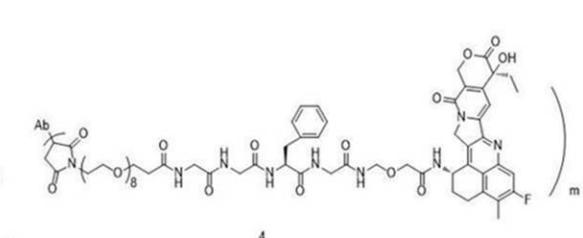
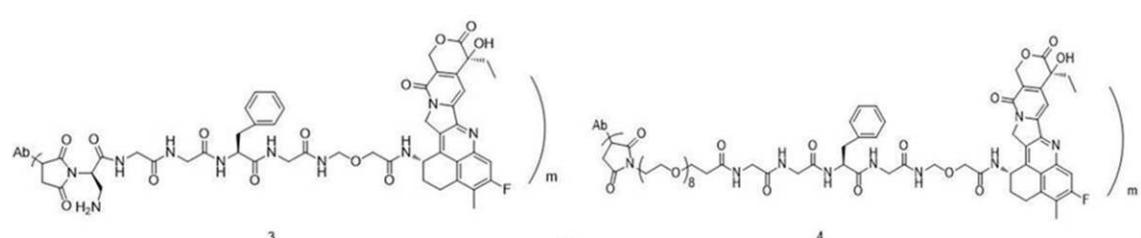
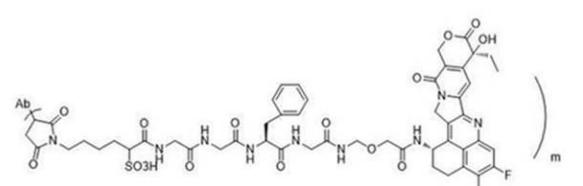
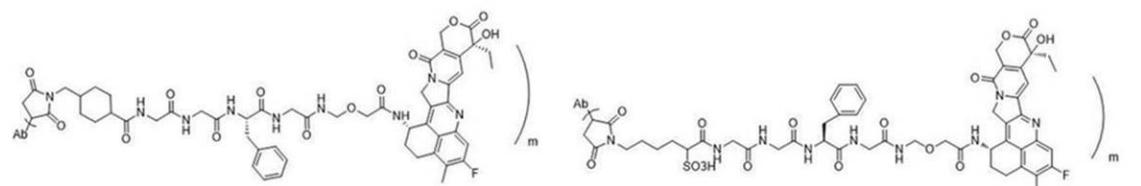
10

である、請求項1に記載の抗体薬物複合体。

【請求項11】

以下に示されるいずれか一つの化合物である、抗体薬物複合体。

【化43】



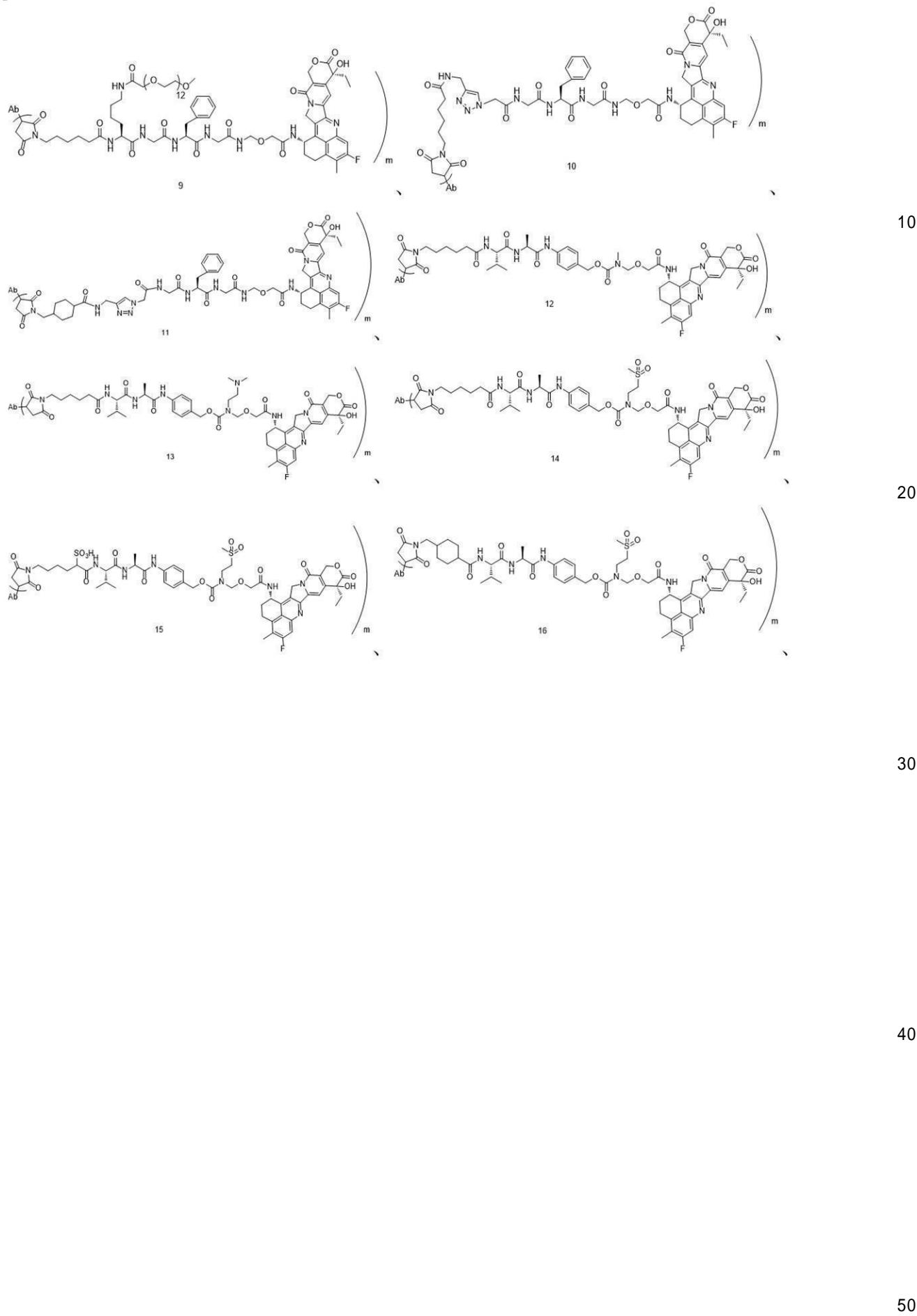
20

30

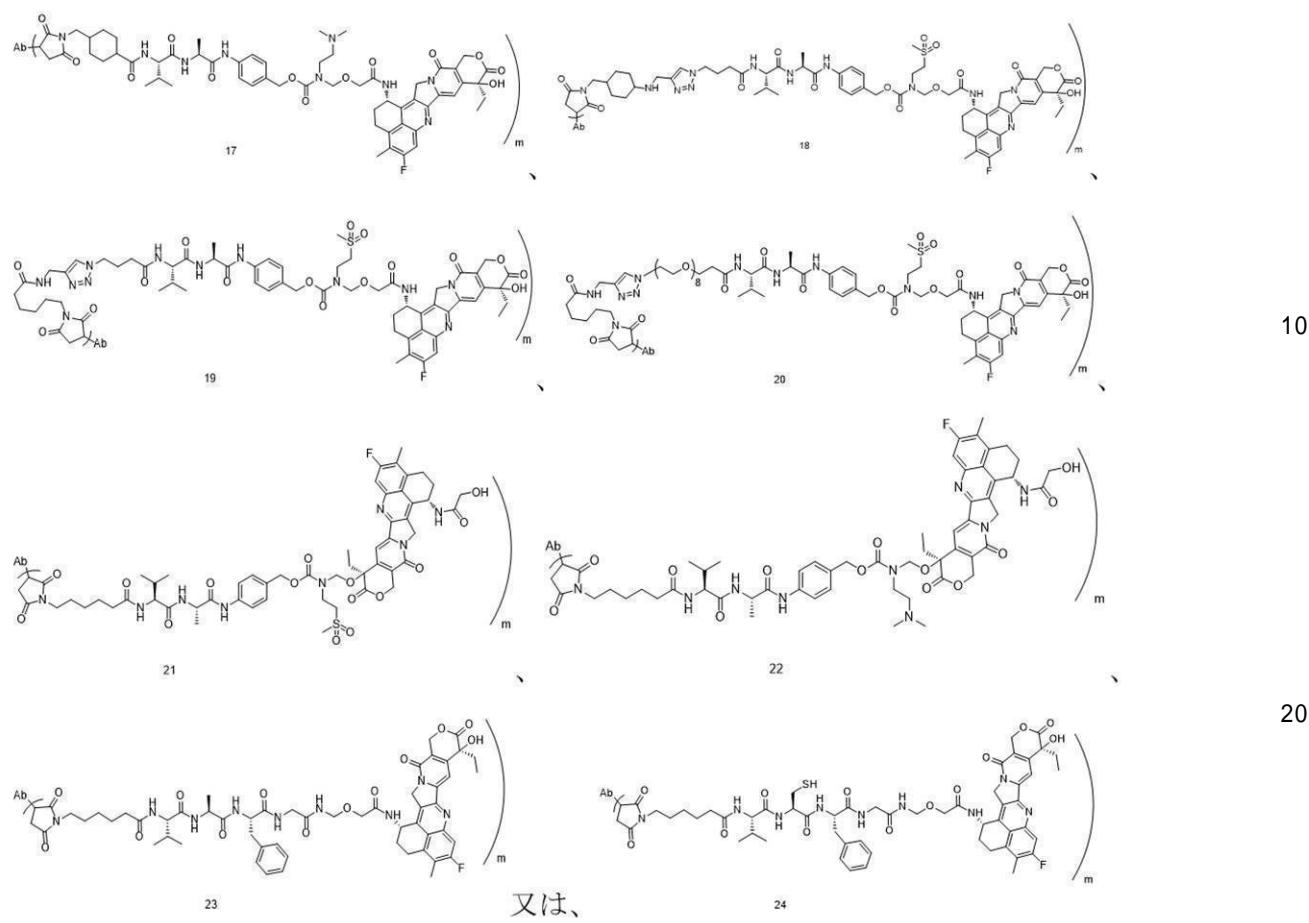
40

50

【化 4 4】



【化 4 5】

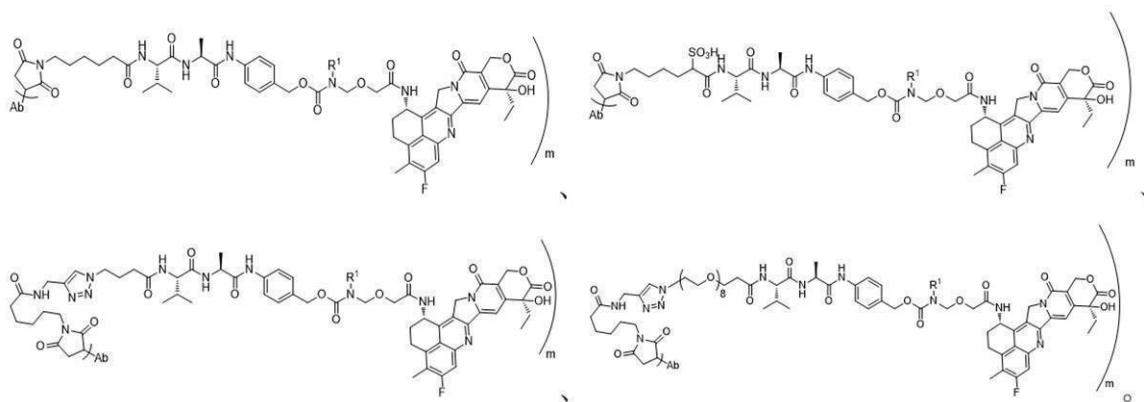


(ここで、mは7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8又は8.0であり；Abは抗HER2抗体Trastuzumab、抗B7-H3抗体P2E5又は抗C1audin18.2抗体IMAB362であり；前記Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号6に示された通りであり；前記抗B7-H3抗体P2E5の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号8に示された通りであり；前記抗C1audin18.2抗体IMAB362の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号2に示された通りである。)

【請求項12】

前記抗体薬物複合体は以下に示されるいずれか一つの化合物である、請求項1～11のいずれか1項に記載の抗体薬物複合体。

【化46】



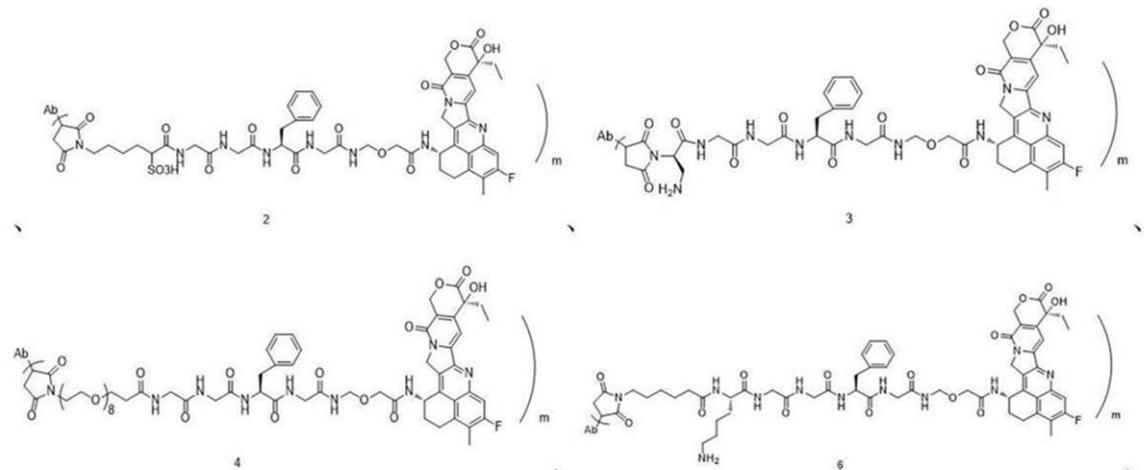
10

(ここで、Ab、m及びR¹は請求項1～11のいずれか1項に記載の通りである。)

【請求項13】

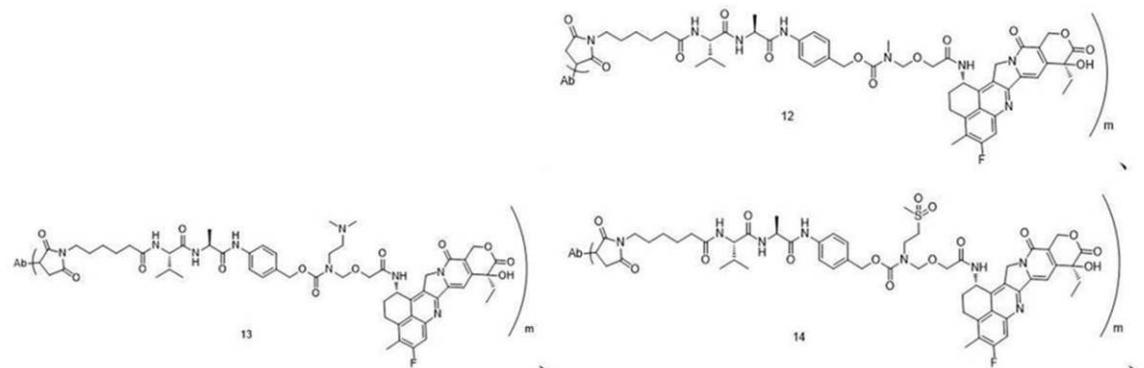
前記抗体薬物複合体は以下に示されるいずれか一つの化合物であり、

【化47】



20

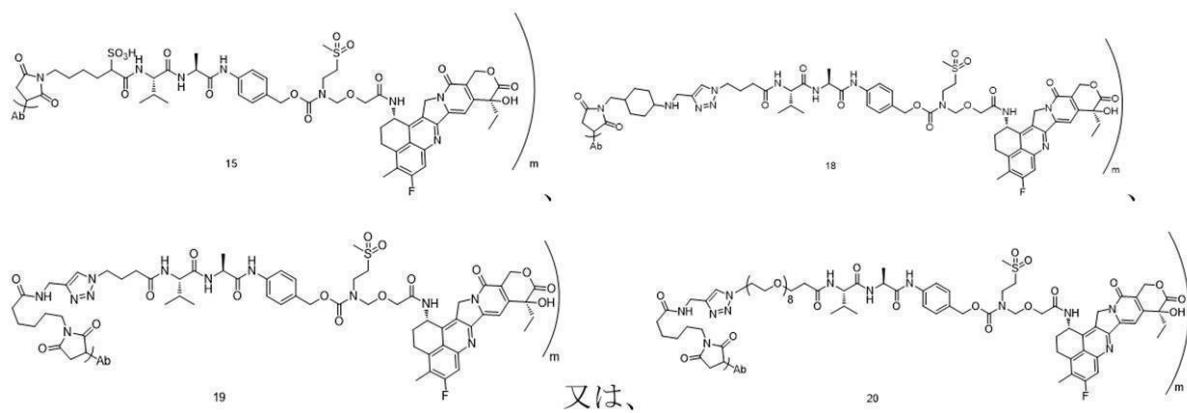
30



40

50

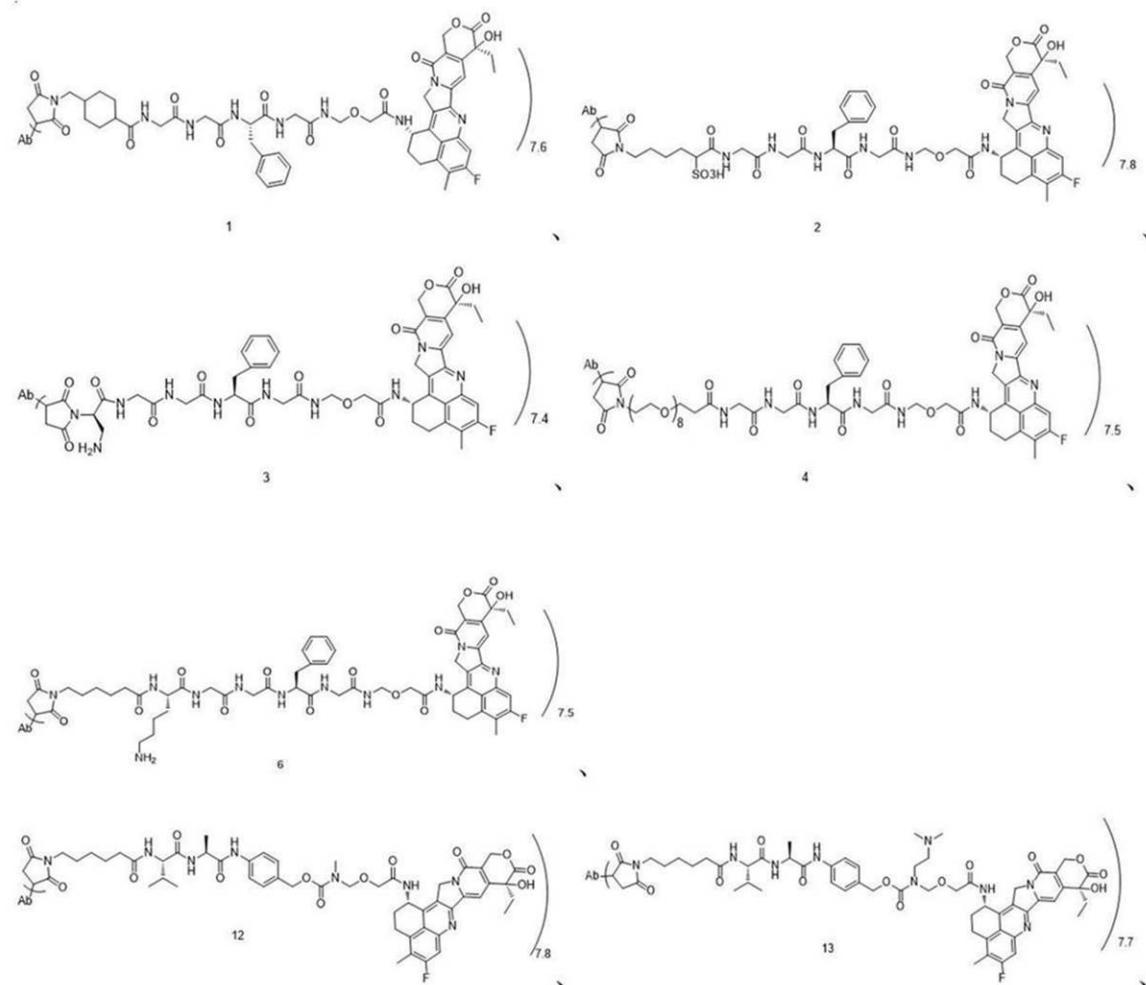
【化 4 8】



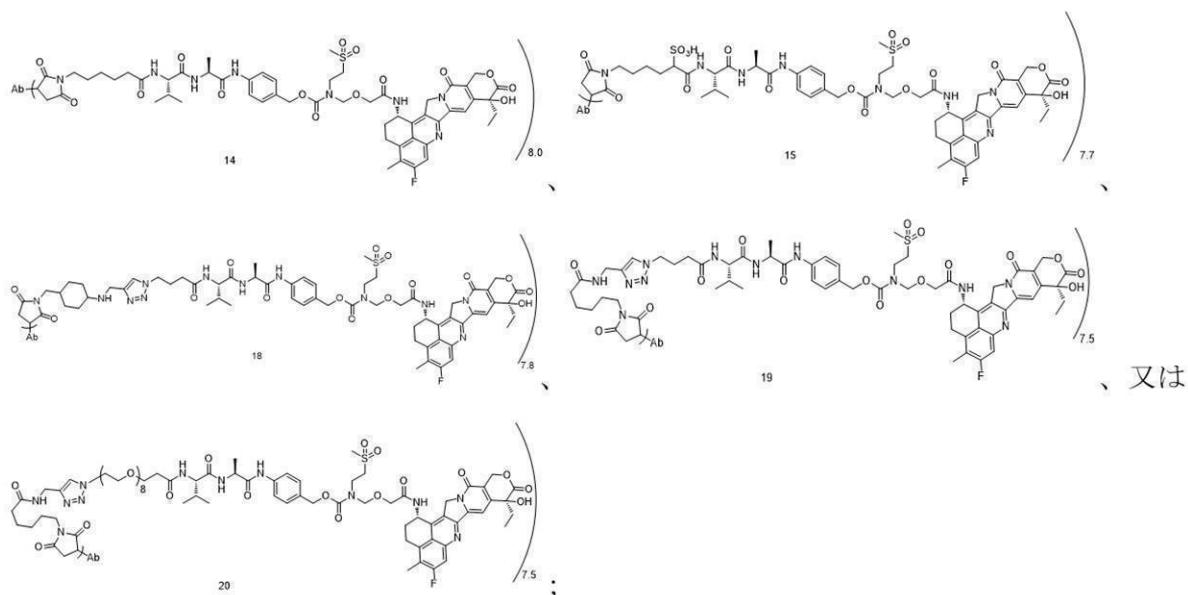
ここで、Abは抗HER2抗体Trastuzumabであり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号6に示された通りであり；ここで、mは7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8又は8.0であり；

又は、前記抗体薬物複合体は、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【化 4 9】



【化 5 0 】



ここで、Abは抗HER2抗体Trastuzumabであり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号6に示された通りであり；

又は、前記抗体薬物複合体は、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

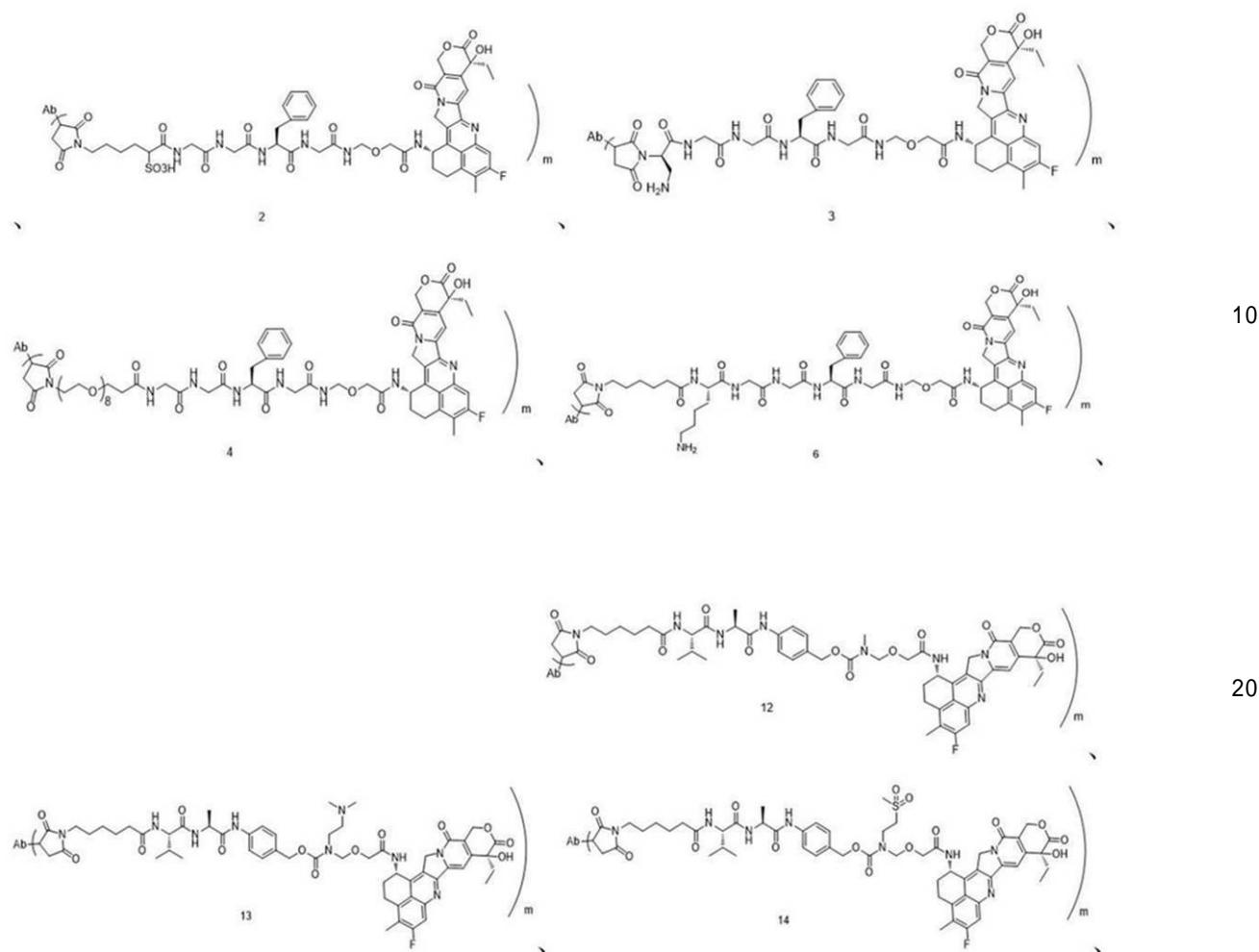
20

30

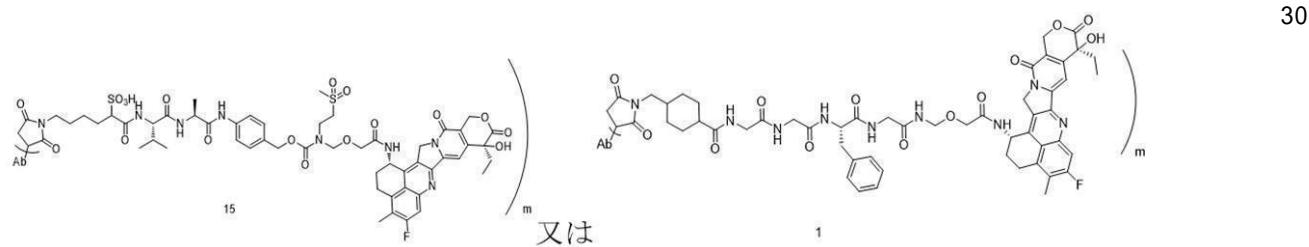
40

50

【化 5 1】



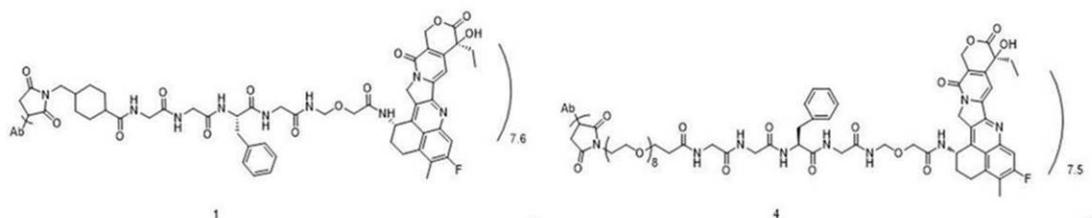
【化 5 2】



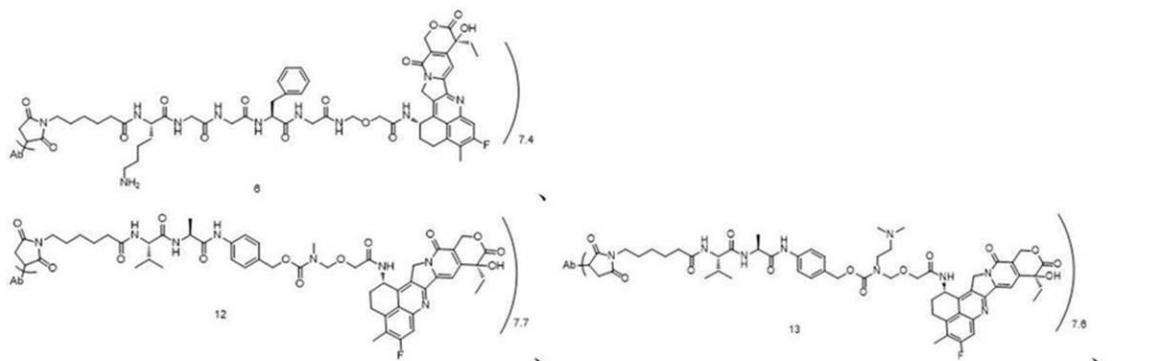
であり；ここで、Abは抗B7-H3抗体P2E5であり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号8に示された通りであり；ここで、mは7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8又は8.0であり；

又は、前記抗体薬物複合体は、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

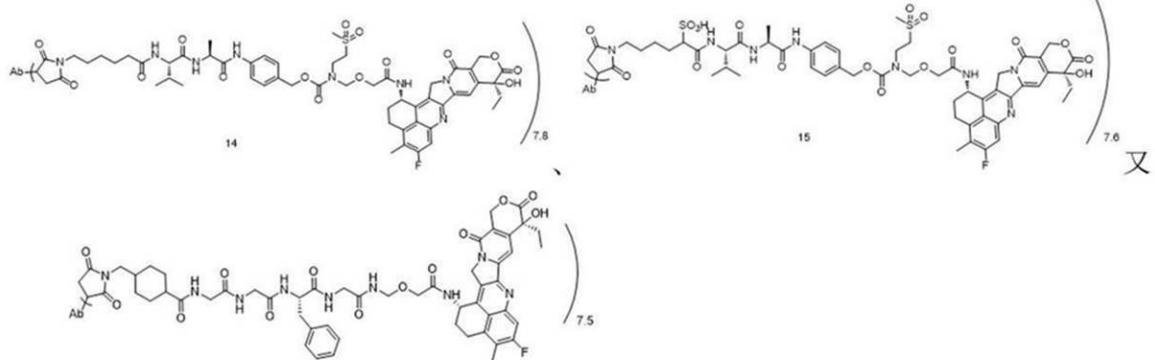
【化 5 3】



10



20



は、

30

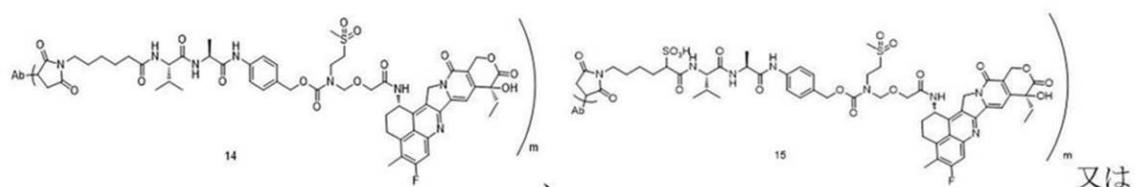
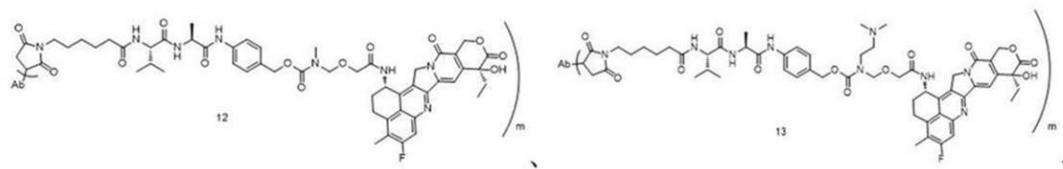
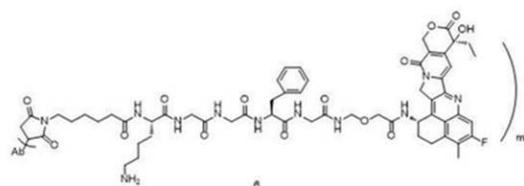
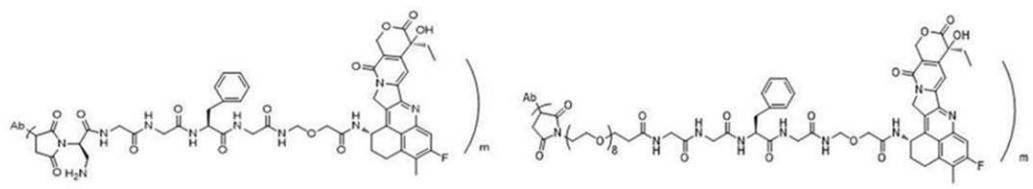
であり、ここで、AbはB7-H3抗体P2E5であり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号8に示された通りであり；

又は、前記抗体薬物複合体は、以下に示されるいずれかの一つの化合物であり：

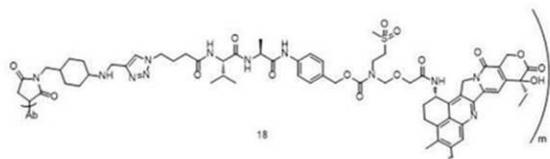
40

50

【化 5 4】



又は



であり、ここで、Abは抗C1a u d i n 18.2抗体IMAB362であり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号2に示された通りであり；ここで、mは7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8又は8.0であり；

又は、前記抗体薬物複合体は、以下に示されるいずれかの一つの化合物であり：

10

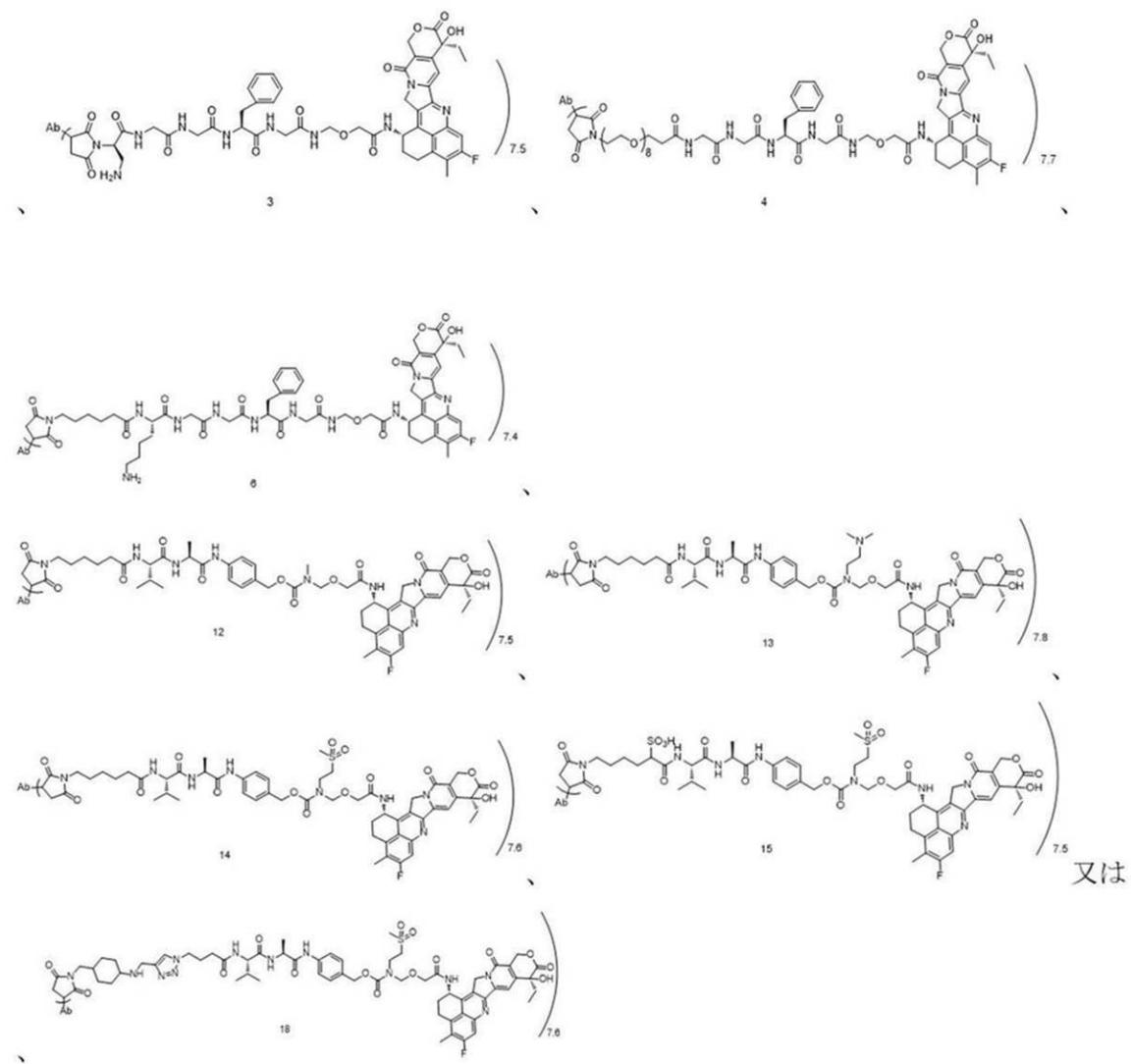
20

30

40

50

【化 5 5】



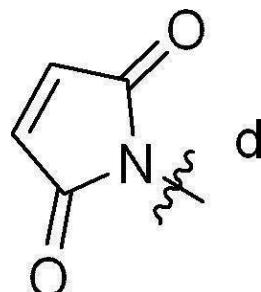
であり、ここで、Abは抗Claudin18.2抗体IMAB362であり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号2に示された通りである、請求項1に記載の抗体薬物複合体。

【請求項14】

構造式はL₄-L₂-L₁-Dであるリンカー-薬物複合体。

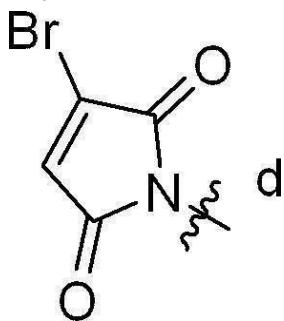
(ここで、L₄は

【化56】



又は

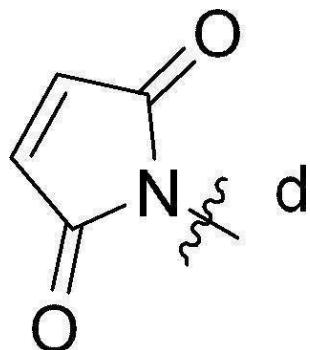
【化 5 7】



10

であり；L₂、L₁及びDは請求項1～13のいずれか一項に定義された通りであり、L₂のf端は前記L₄のd端に接続され；前記L₄が

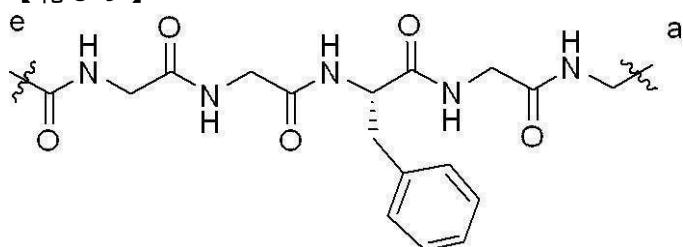
【化 5 8】



20

であり、前記L₁が

【化 5 9】

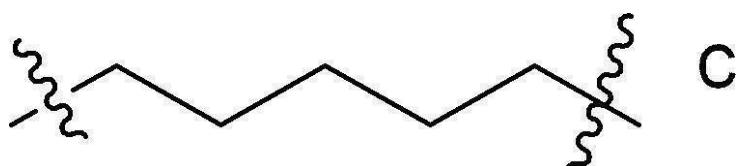


30

I

である場合、前記L₂は

【化 6 0】



40

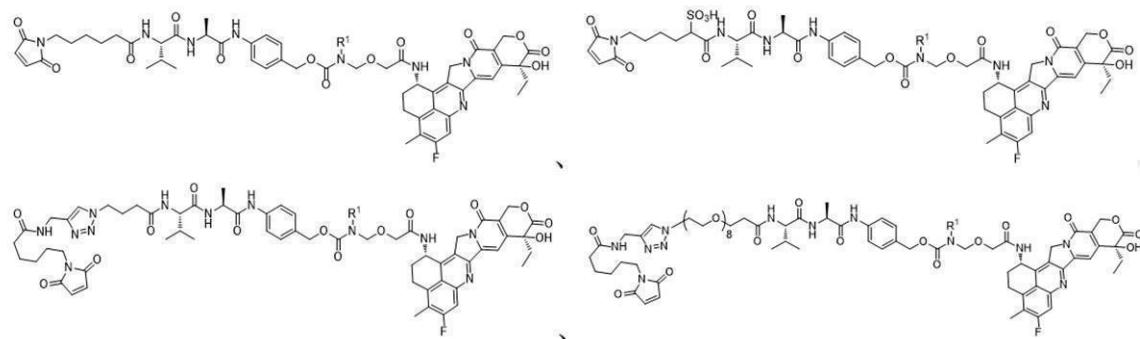
ではない。)

【請求項 15】

以下に示される化合物である、請求項14に記載のリンカー-薬物複合体。

50

【化 6 1】



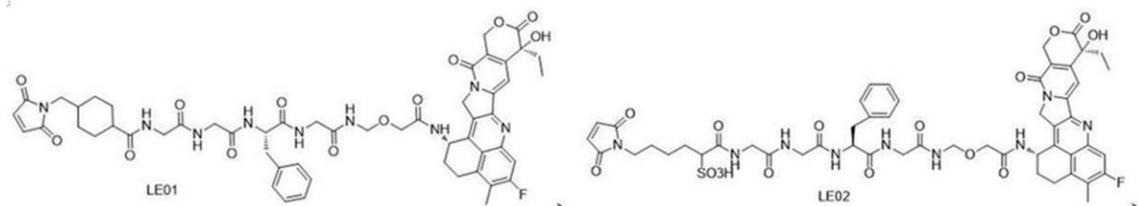
10

(ここで、R¹は請求項1～13のいずれか一項に定義される通りである。)

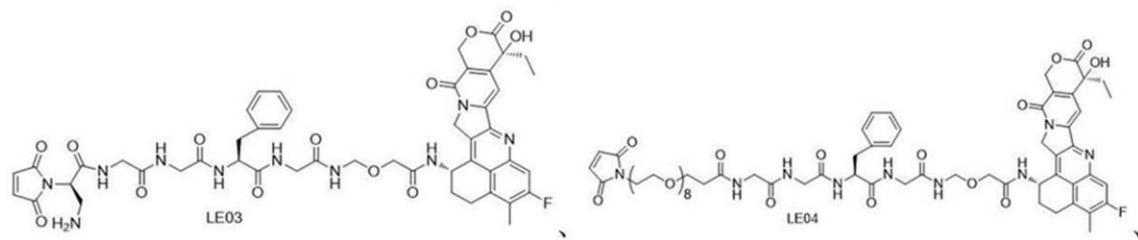
【請求項16】

以下に示されるいずれか一つの化合物であるリンカー-薬物複合体。

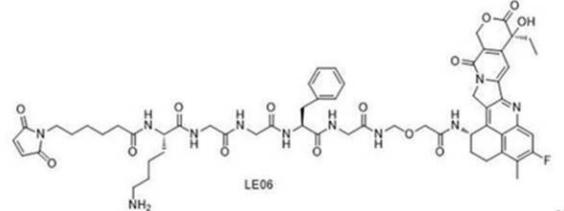
【化 6 2】



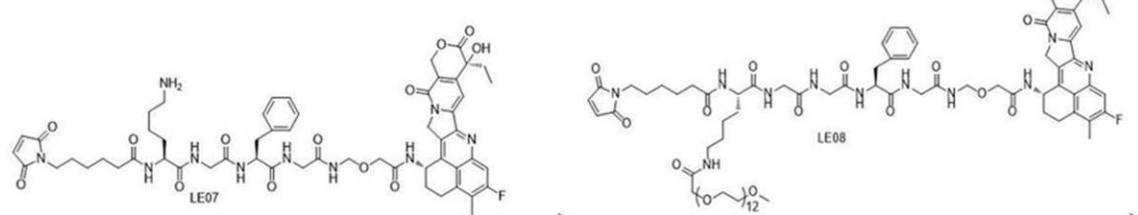
20



30

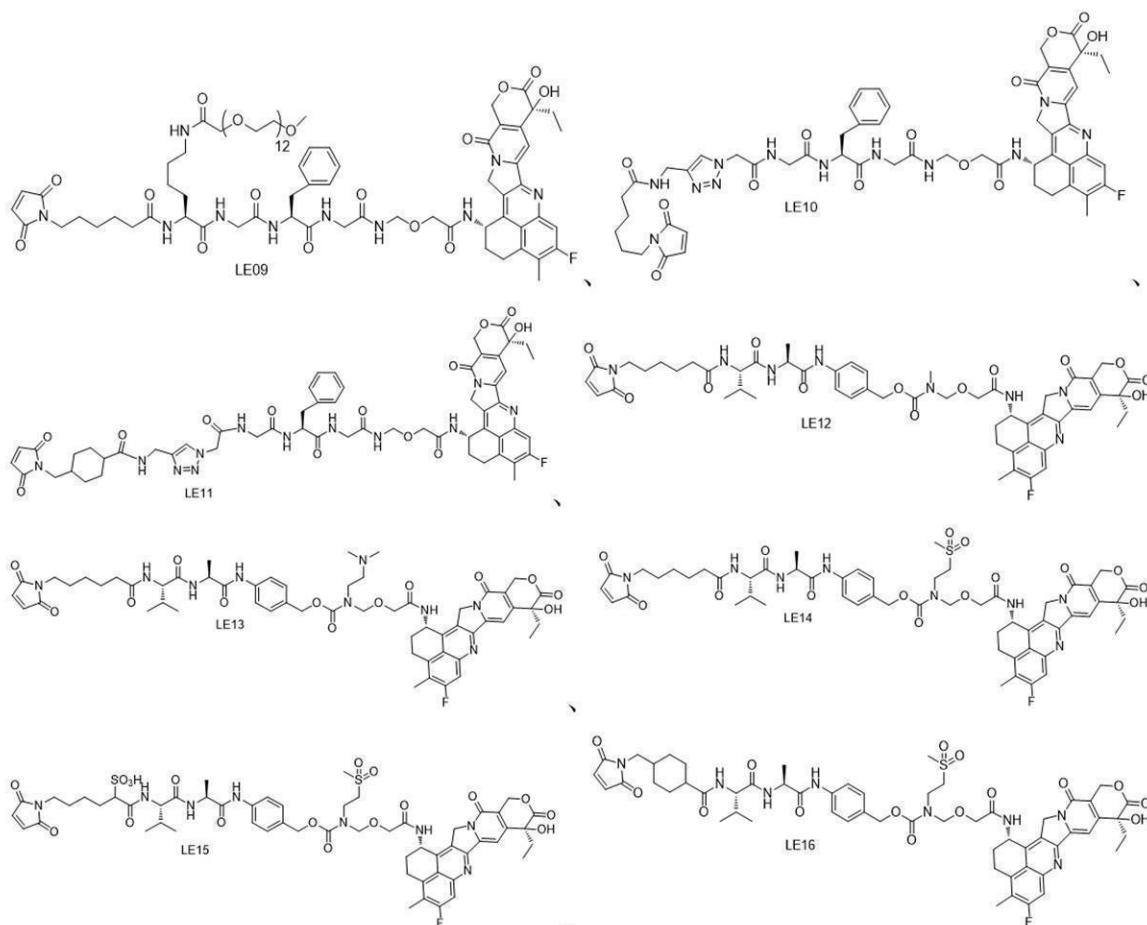


40



50

【化 6 3】



10

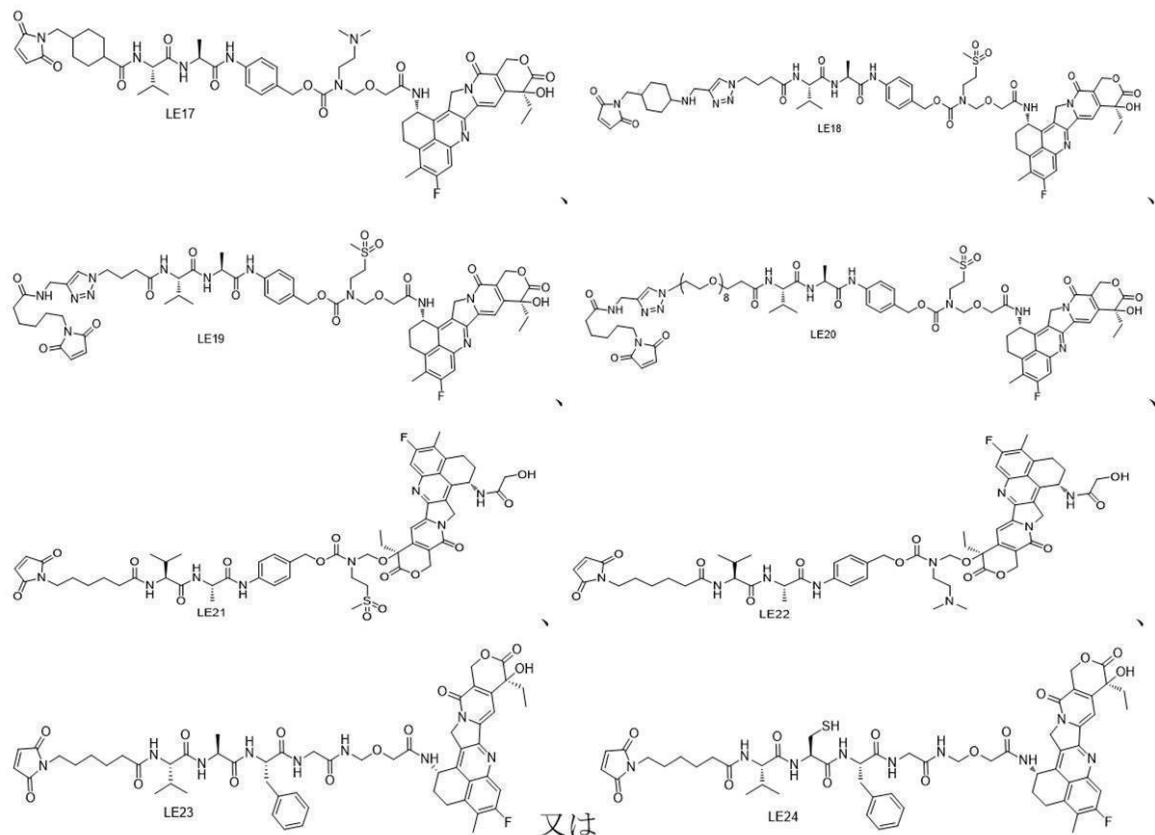
20

30

40

50

【化 6 4】



【請求項 17】

請求項 14～16 のいずれか一項に記載のリンカー-薬物複合体と請求項 1～13 のいずれか一項に記載の抗体をカップリングする工程を含む、請求項 1～13 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体の製造方法。

【請求項 18】

請求項 1～13 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項 19】

癌の予防及び/又は治療のための薬物の製造における、請求項 1～13 のいずれか一項に記載の抗体薬物複合体又は請求項 18 に記載の医薬組成物の使用。

10

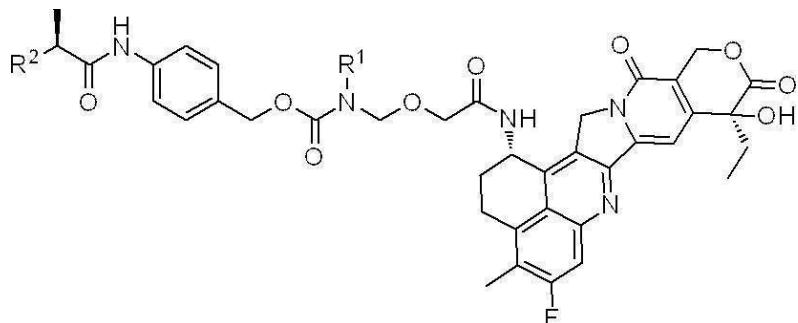
【請求項 20】

前記の癌は、胃癌、乳癌、非小細胞肺癌、尿路上皮癌又は、膵臓癌である、請求項 19 に記載の使用。

【請求項 21】

以下に示される化合物。

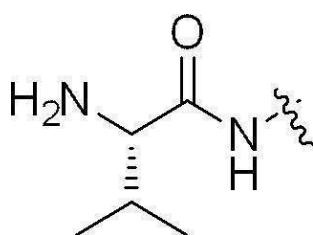
【化 6 5】



20

(ここで、R¹は請求項 1～13 のいずれか一項に定義される通りであり；
R²は -N₃、-NH₂、

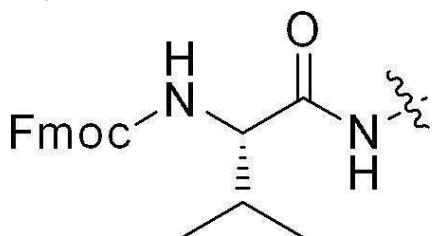
【化 6 6】



30

又は

【化 6 7】



40

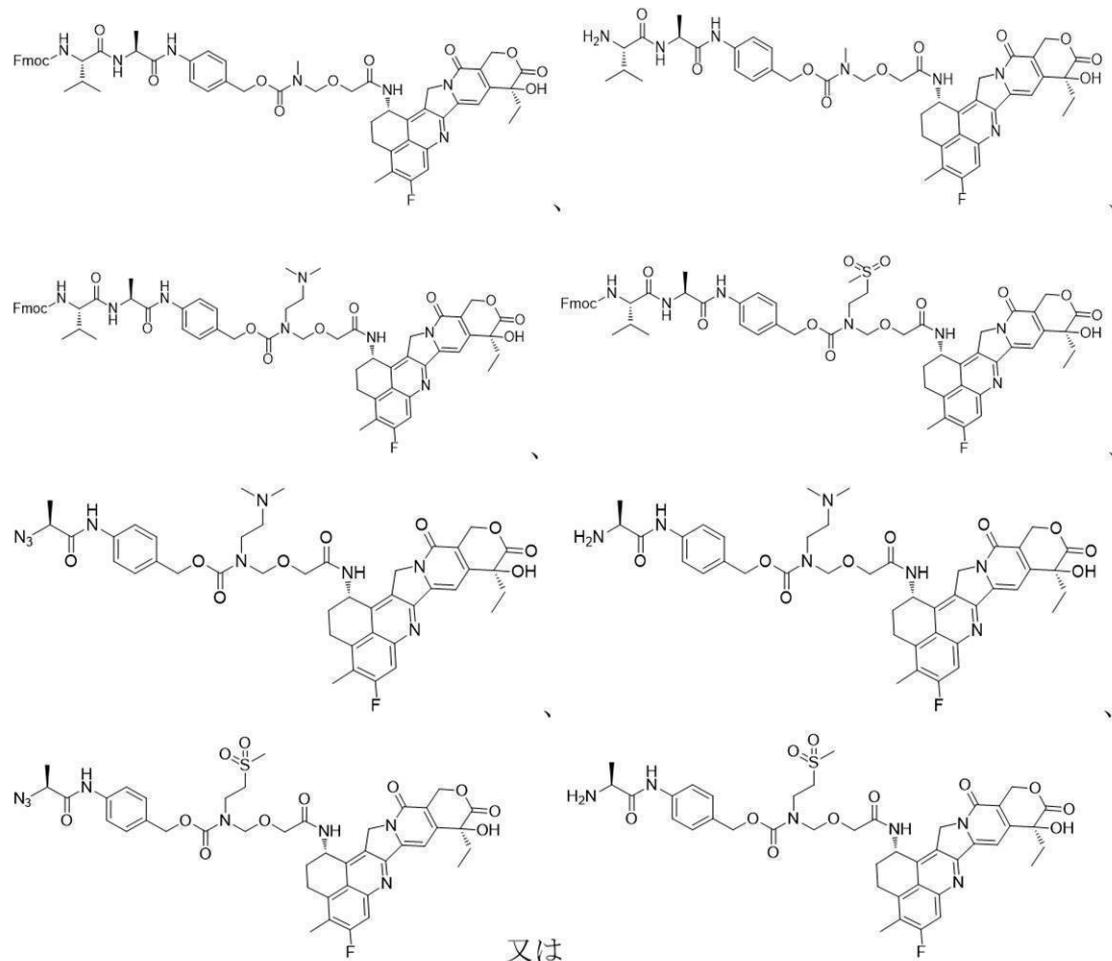
である。)

【請求項 22】

以下に示されるいずれか一つの化合物である、請求項 21 に記載の化合物。

50

【化 6 8】



10

20

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は出願日が2019年6月28である中国特許出願CN2019105779096の優先権を主張する。本出願は上記の中国特許出願の全文を引用する。

【0002】

本発明は、バイオテクノロジー及び医学の分野に属し、特に抗体薬物複合体、その中間体、製造方法及び使用に関する。

【背景技術】

【0003】

抗体薬物複合体(ADC)は、近年、製薬業界で注目されているテーマの一つである。多くの抗体薬物の不十分な臨床効果のために、多くの業界の巨人はますますADC薬に注意を向いている。現在、海外では、すでに7つのADC薬の販売が承認されている。2000年5月17日、FDAはPfizer社のGemtuzumab Ozogamicin(商品名Mylotarg)を、初めて掛かり、60歳以上で、CD33+、細胞阻害性化学療法に適合しない急性骨髄性白血病(AML)患者の治療薬として上場を承認し、2010年には市場から撤退したものの、2017年に再上場し、同年、Pfizer社のInotuzumab ozogamicin(商品名Besponsa)も、成人の再発難治性B細胞性ALLの治療薬として、FDAから上場承認を取得した。2011年8月19日、FDAは、Seattle Genetics社が開発したBrentuximab Vedotin(商品名Adcetris)をCD30陽性のホジキンリンパ腫(HL)及び希少疾患の全身性未分化大細胞リンパ腫(SALCL)の治療薬として、上場を承認した。2013年2月22日、Genentech社が開発したado-t

40

50

trastuzumab emtansine (T-DM1、商品名Kadcyla)は、FDAによる販売が承認され、主にHer2陽性の進行性(転移性)乳癌の治療に使用されている。特に2019年には、polatuzumab vedotin(商品名Polivy)、enfortumab vedotin(商品名Padcev)及びfam-trastuzumab deruxtecan(商品名Enhertu)の上場が続々承認された。更に、国内外で100種類以上のADC医薬品が臨床及び前臨床開発段階にある。

【0004】

抗体薬物複合体の基本モジュールには、抗体、リンカー、エフェクター分子が含まれており、抗体を利用し、エフェクター分子を腫瘍に転移させて濃縮し、腫瘍細胞を死滅させる。従来のエフェクター分子は主に高活性の微小管タンパク質阻害剤であり、通常は比較的大きな毒性副作用があり、ADCの使用を制限した。最近では、Immunomedics社が、エフェクター分子としてカンプトテシン化合物を用いた新規なADC薬IMMU-132(ZL200980156218)を発明し、優れた抗腫瘍効果を示し、第一三共は、エフェクター分子のADC薬DS-8201a(ZL201380053256)として他のカンプトテシン化合物を発明し、同様に優れた抗腫瘍効果を示した。既存のADC技術では、カンプトテシン化合物と抗体を接続するために使用されるリンカーは殆ど研究されていない。一般的に、ADCの理想的なリンカーは、以下の要件を満たす必要があり：まず、血漿の中で小分子薬が抗体から分離しないことを確認し、細胞に入った後、リンカーは適切な条件下で切断され、活性小分子薬を素早く放出する；次に、リンカーは抗体に接続してコンジュゲートを形成できるように、優れた理化学的性質を備える必要があり；また、リンカーはADCの規模化生産の基礎を築くために製造が容易でなければならない。IMMU-132は、pH感受性リンカーを使用し、安定性が低い。DS-8201aはグリシン-グリシン-フェニルアラニン-グリシン(GGFG)を含有したテトラペプチド構造を使用しており、一般的なカテプシンB基質配列(例えば、バリン-シトルリン)に比べて酵素切断反応が遅く、理化学的性質が悪く、合成が難しいなどの問題がある。

【発明の概要】

【0005】

本発明が解決しようとする技術的課題は、既存の抗体薬物複合体の種類が单一化である欠点を克服するための、抗体薬物複合体、その中間体、調製方法及び使用を提供することである。抗体薬物複合体は、微小管類ADCに耐性のある腫瘍患者を治療するための、ADC分野での細胞阻害性薬物の幅広い使用を実現することができる。

【0006】

本発明は、哺乳動物腫瘍の増殖を阻害することができ、様々な癌を治療するために使用することができる、複数特定の構造リンカーを有する抗体薬物複合体を提供する。前記抗体薬物複合体は、より良い生物学的活性、安定性及び均一性を有し、毒性副作用を減らし、且つ腫瘍細胞内でより速い酵素切断の放出速度を持っている。

【0007】

本発明は、以下の技術的解決手段を通じて上記の技術的問題を解決する。

【0008】

本発明は、抗体薬物複合体を提供し、その構造式はAb-(L₃-L₂-L₁-D)_mであり；

ここで、Abは抗体であり；

Dは細胞阻害性薬物であり；

mは2～8であり；

L₁の構造は式I、II、III、又はIVで表される通りであり、そのa端は上記細胞阻害性薬物に接続され、e端は上記L₂のc端に接続され；

10

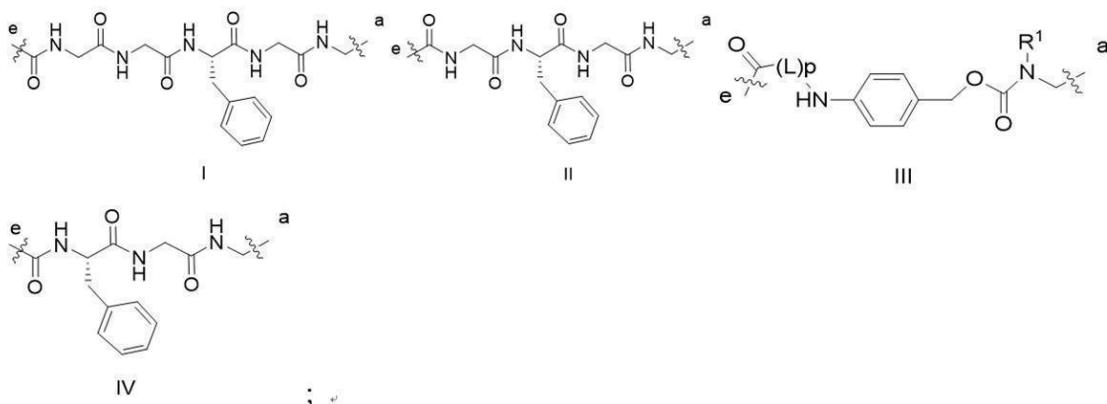
20

30

40

50

【化1】



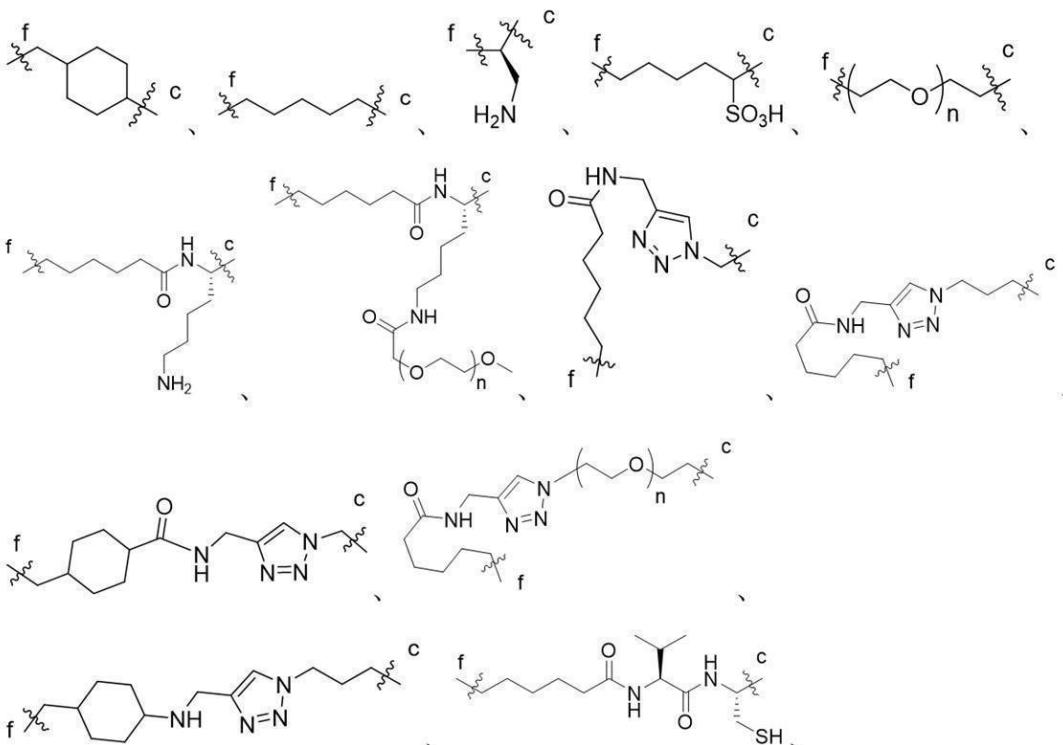
ここで、Lは独立してフェニルアラニン残基、アラニン残基、グリシン残基、グルタミン酸残基、アスパラギン酸残基、システイン残基、グルタミン酸残基、ヒスチジン残基、イソロイシン残基、ロイシン残基、リジン残基、メチオニン残基、プロリン残基、セリン残基、スレオニン残基、トリプトファン残基、チロシン残基又は、バリン残基であり；pは2～4であり；

R¹は-NR¹⁻¹-R¹⁻²置換のC₁～C₆アルキル、R¹⁻³S(=O)₂-置換のC₁～C₆アルキル、C₁～C₆アルキル、C₃～C₁₀シクロアルキル、C₆～C₁₄アリール又は、5～14員ヘテロアリールであり；前記5～14員のヘテロアリールのヘテロ原子は、N、O及びSから選択される1つ又は複数であり、ヘテロ原子の数は1、2、3、又は4であり；

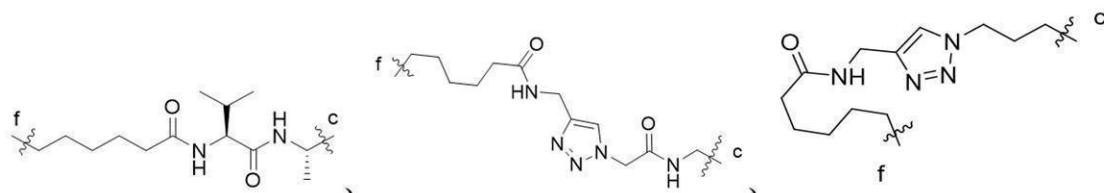
前記R¹⁻¹、R¹⁻²及びR¹⁻³は独立してC₁～C₆アルキルであり；

L₂は

【化2】

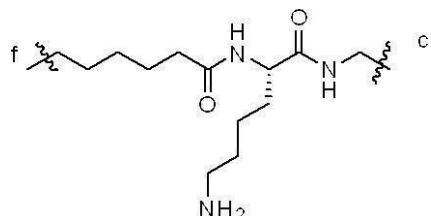


【化 3】



又は、

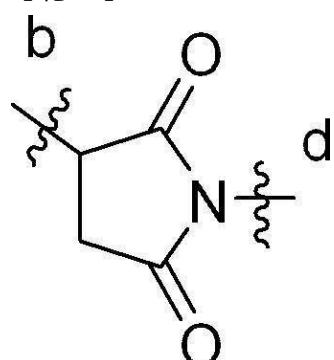
【化 4】



であり、ここで、nは独立して1～12であり、c端は前記L₁のe端に接続され、f端は前記L₃のd端に接続され；

L₃は

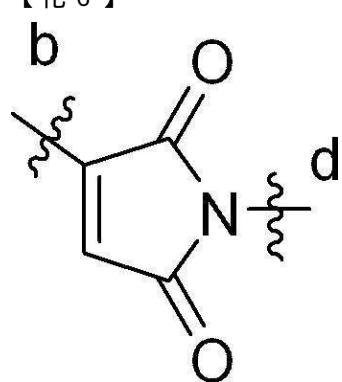
【化 5】



10

又は、

【化 6】



30

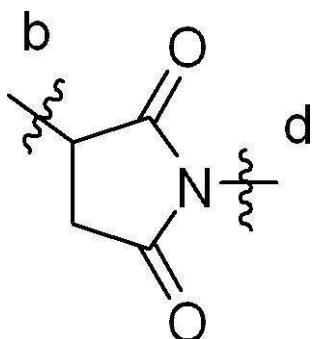
であり、ここで、b端は前記A bに接続され、d端は前記L₂のf端に接続され；

前記L₁の構造が式Iで表される通りである場合、前記L₃が

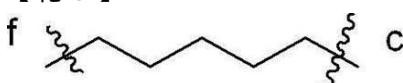
40

50

【化 7】

である場合、前記 L₂ は

【化 8】



ではない。

【0009】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体において、特定の基は以下の定義を有し、言及されていない群の定義は、上記の方案のいずれかに記載される通りである（以下、本段落の内容を「本発明の好ましい実施形態において」という）。

【0010】

前記の抗体は、抗腫瘍ADCの分野における従来の抗体であり得、本発明は、好ましくは、抗HER2抗体Trastuzumab又はそのバリアント、抗B7-H3抗体P2E5又はそのバリアント、抗Claudin18.2抗体IMAB362又はそのバリアント又は、抗Trop2抗体RS7又はそのバリアントであり、より好ましくは、抗HER2抗体Trastuzumab又はそのバリアント、抗B7-H3抗体P2E5又はそのバリアント、又は抗Claudin18.2抗体IMAB362又はそのバリアントであり、更により好ましくは、抗HER2抗体HER2抗体Trastuzumab又はそのバリアント、又は抗Claudin18.2抗体IMAB362又はそのバリアントであり、最も好ましくは、抗HER2抗体Trastuzumab又は、抗Claudin18.2抗体IMAB362である。前記抗HER2抗体Trastuzumabの軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号6に示された通りである。前記抗B7-H3抗体P2E5の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号8に示された通りである。前記抗Claudin18.2抗体IMAB362の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号2に示された通りである。前記抗Trop2抗体RS7の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号3に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号4に示された通りである。前記抗HER2抗体Trastuzumabバリアントは、前記抗HER2抗体Trastuzumabの配列と比較して、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%又は99%以上の相同性を有し；前記抗B7-H3抗体P2E5バリアントは前記抗B7-H3抗体P2E5と比較して、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%又は99%以上の相同性を有し；前記抗Trop2抗体RS7バリアントは、前記抗Trop2抗体RS7の配列と比較して、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%又は99%以上の相同性を有し；前記抗Claudin18.2抗体IMAB362バリアントは、前記抗Claudin18.2抗体IMAB362の配列と比較して、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%

10

20

30

40

50

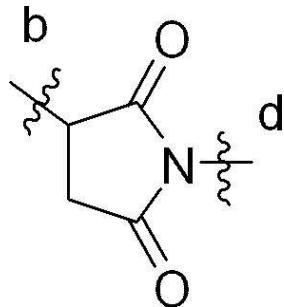
又は99%以上の相同意を有する。

【0011】

本発明の好ましい実施形態において、前記L₃のb端は、好ましくは、前記抗体のスルフヒドリル基と、チオエーテル結合の形態で接続されている。

【0012】

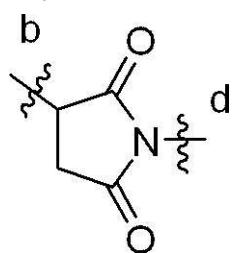
【化9】



10

を例として、

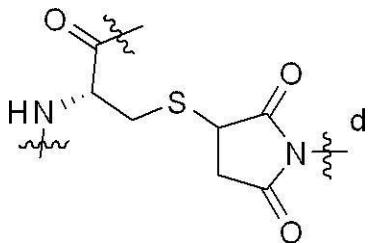
【化10】



20

と前記抗体のシステイン残基との接続形態は

【化11】



30

である。

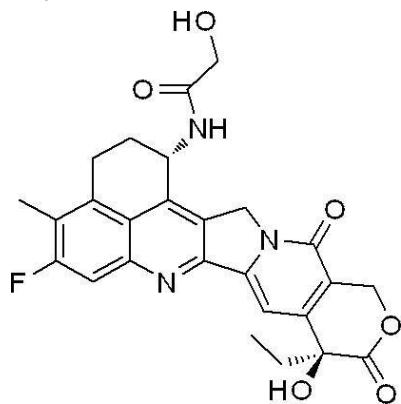
【0013】

本発明の好ましい実施形態において、前記細胞阻害性薬物はADC分野における従来の細胞阻害性薬物であり得、本発明は、特に好ましくは、ヒドロキシル基を含むトポイソメラーゼ阻害剤であり、より好ましくは、ヒドロキシル含むトポイソメラーゼI阻害剤であり、更により好ましくは、カンプトテシン化合物であり、又、更に好ましくは、

40

50

【化12】



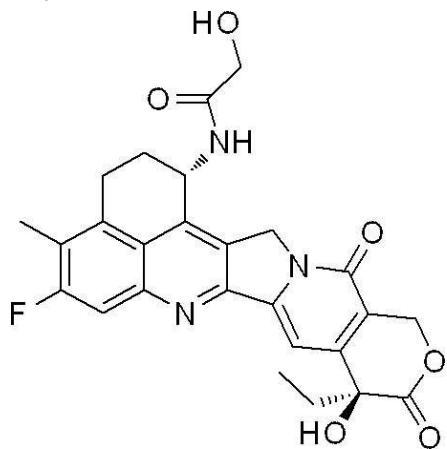
10

である。

【0014】

前記L₁は、好ましくは、前記細胞阻害性薬物のヒドロキシル基とエーテル結合の形態で接続されている。前記L₁と

【化13】

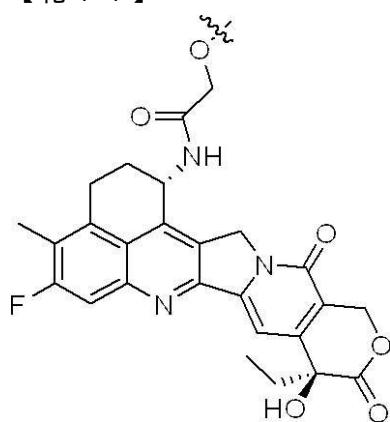


20

とが接続した後、前記抗体薬物複合体に残っている細胞阻害性薬物の断片は、好ましくは、

30

【化14】

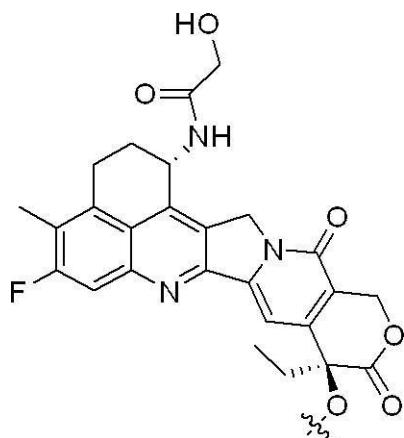


40

又は、

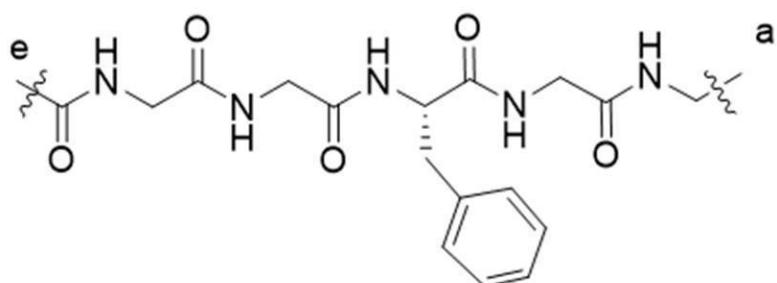
50

【化15】



である。

【化16】

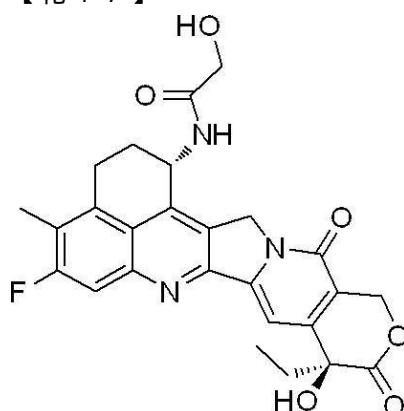


10

20

及び

【化17】

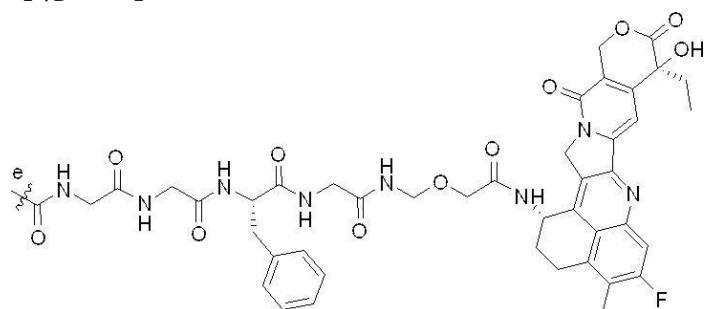


30

【0015】

を例として、前記-L₁-Dは

【化18】

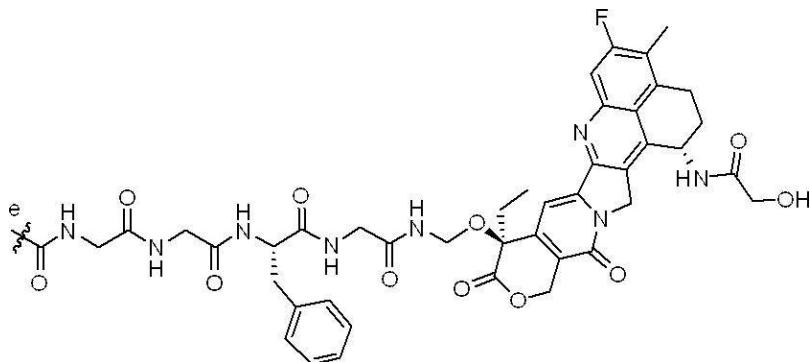


40

50

又は、

【化 1 9】



10

であり得る。

〔 0 0 1 6 〕

本発明の好ましい実施形態において、前記R¹が-NR¹-C₁R¹-²置換のC₁～C₆アルキルである場合、前記C₁～C₆アルキルは、好ましくは、C₁～C₄アルキルであり、より好ましくは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又は、tert-ブチルであり、最も好ましくは、エチルである。前記R¹-¹及びR¹-²は、それぞれ独立して、好ましくはC₁～C₄アルキル基であり、より好ましくは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり、最も好ましくは、メチルである。

20

【 0 0 1 7 】

本発明の好ましい実施形態において、前記 R¹ が R¹ - 3 S (O)₂ - 置換の C₁ ~ C₆ アルキルである場合、前記 C₁ ~ C₆ アルキルは、好ましくは、C₁ ~ C₄ アルキルであり、より好ましくは、メチル、エチル、n - プロピル、イソプロピル、n - プチル、イソブチル又は、tert - プチルであり、最も好ましくは、エチルである。前記 R¹ - 3 は、好ましくは、C₁ ~ C₄ アルキルであり、より好ましくは、メチル、エチル、n - プロピル、イソプロピル、n - プチル、イソブチル又はtert - プチルであり、最も好ましくは、メチルである。

30

【0016】 本発明の好ましい実施形態において、前記R¹がC₁～C₆アルキルである場合、前記C₁～C₆アルキルは、好ましくは、C₁～C₄アルキルであり、より好ましくは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり、最も好ましくは、メチル又はエチルである。

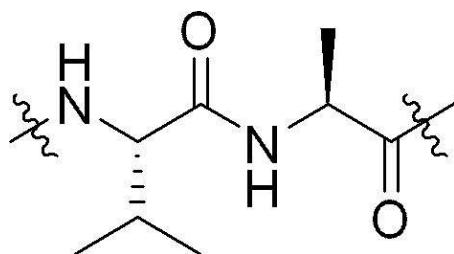
〔 0 0 1 9 〕

本発明の好ましい実施形態において、前記mは、好ましくは、4～8であり、より好ましくは、7～8である（例えば、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、8.0）。

【 0 0 2 0 】

本発明の好ましい実施形態において、前記Lは、好ましくは、バリン残基又はアラニン残基であり、pは好ましくは、2である。前記(L)pは更に好ましくは、

【化 2 0 】



40

〔 0 0 2 1 〕

であり、ここで、アミノ端は前記式 I I I で表されるカルボニル端に接続されている。

[0 0 2 2]

本発明の好ましい実施形態において、前記nは、好ましくは、8～12である（例えば、8及び12）。

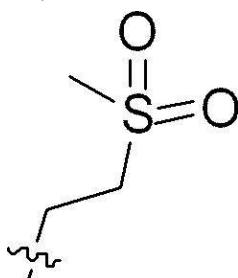
〔 0 0 2 3 〕

本発明の好ましい実施形態において、前記 R¹⁻¹、R¹⁻² 及び R¹⁻³ は、独立して、好ましくは、C₁～C₄アルキル基であり、より好ましくは、メチル、エチル、n-ブロピル、イソブロピル、n-ブチル、イソブチル又は t e r t - ブチルであり、最も好ましくは、メチルである。

[0 0 2 4]

本発明の好ましい実施形態において、前記R¹は、好ましくは、-NR¹-1R¹-2置換のC₁～C₆アルキル、R¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキル、又はC₁～C₆アルキルであり、より好ましくは、-NR¹-1R¹-2置換のC₁～C₆アルキル又は、R¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルであり、最も好ましくは、R¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルである。R¹がC₁～C₆アルキル基である場合、前記C₁～C₆アルキルは、好ましくは、メチル又はエチルである。前記R¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルは、好ましくは、

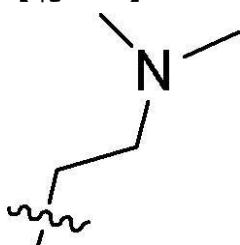
【化 2 1】



10

である。前記 - N R¹ - 1 R¹ - 2 置換の C₁ ~ C₆ アルキルは、好ましくは、

【化 2 2】



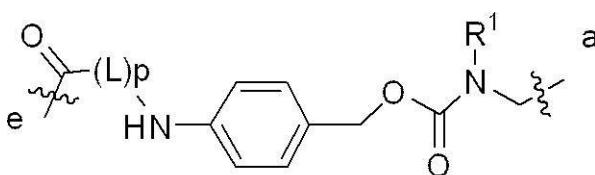
30

である。

〔 0 0 2 5 〕

本発明の好ましい実施形態において、前記

【化 2 3】



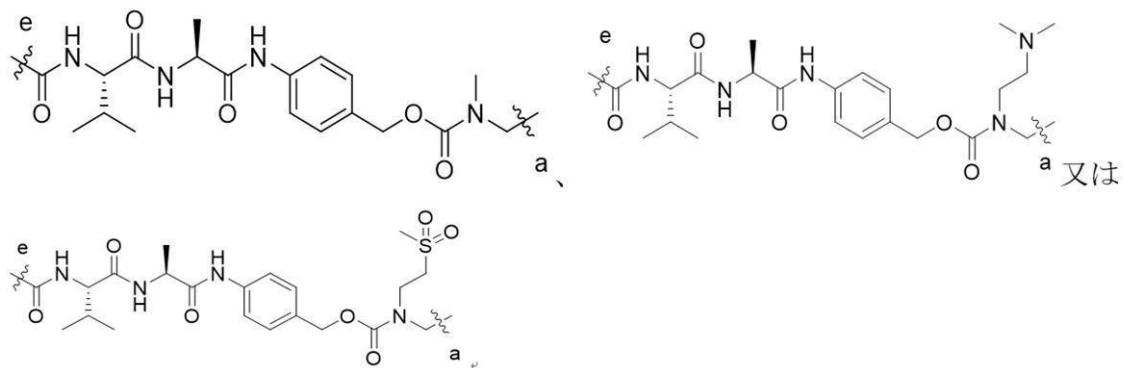
40

1

は、好みしくは、

50

【化24】



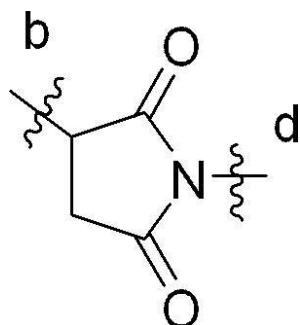
10

である。

【0026】

本発明の好ましい実施形態において、前記L₃は、好ましくは、

【化25】



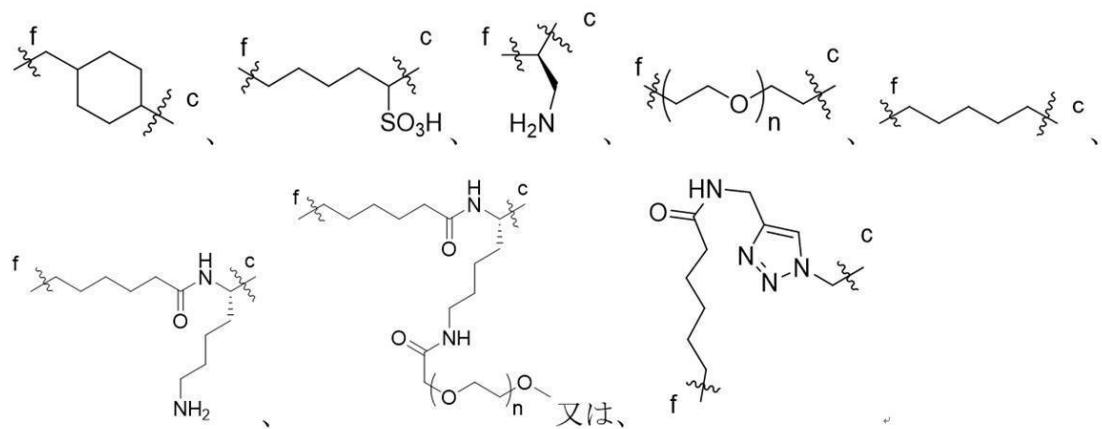
20

である。

【0027】

本発明の好ましい実施形態において、L₁の構造が式Iで表される通りである場合、前記L₂は、好ましくは、

【化26】



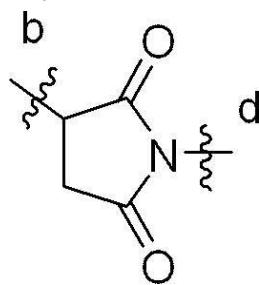
30

40

であり；前記L₃は、好ましくは、

50

【化 2 7 】



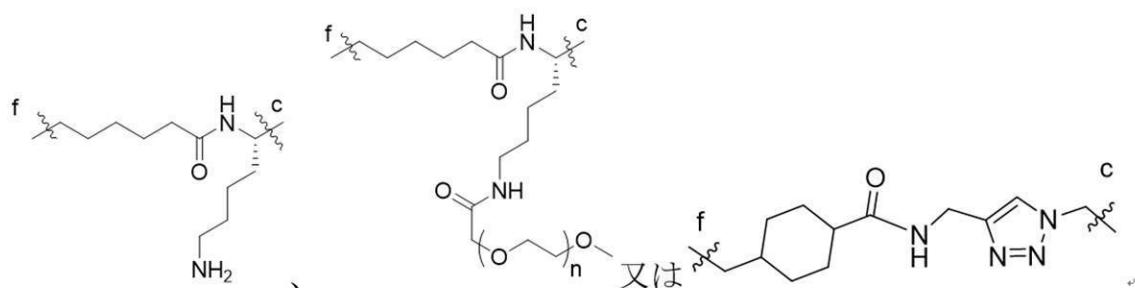
である。

10

【 0 0 2 8 】

本発明の好ましい実施形態において、 L_1 の構造が式IIで表される通りである場合、前記 L_2 は、好ましくは、

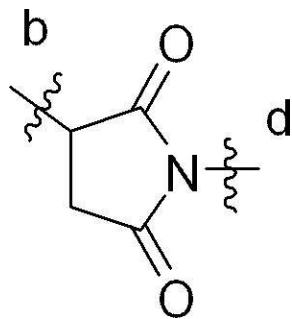
【化 2 8】



20

であり；前記 L_3 は、好ましくは、

【化 2 9 】



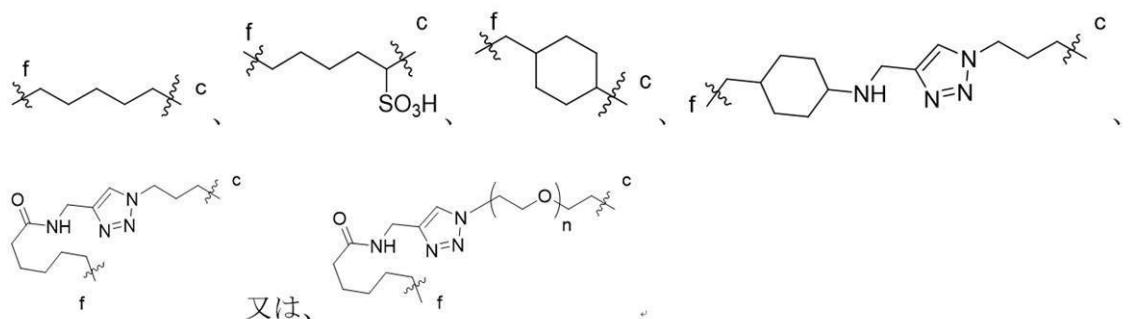
30

である。

【 0 0 2 9 】

本発明の好ましい実施形態において、 L_1 の構造が式IIIで表される通りである場合、前記 L_2 は、好ましくは、

【化 3 0 】

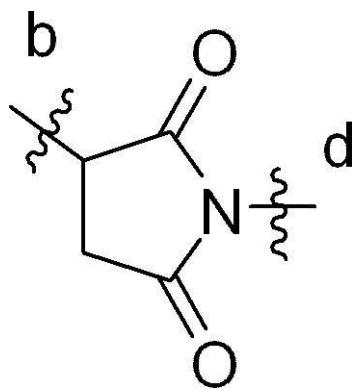


40

であり；前記 L_3 は、好ましくは、

50

【化31】



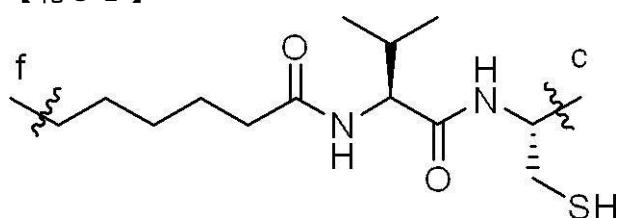
10

である。

【0030】

本発明の好ましい実施形態において、 L_1 の構造が式IVで表される通りである場合、前記 L_2 は、好ましくは、

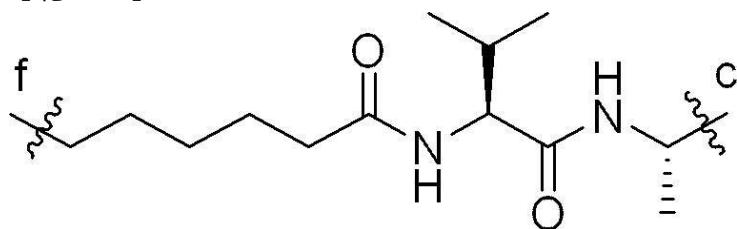
【化32】



20

又は、

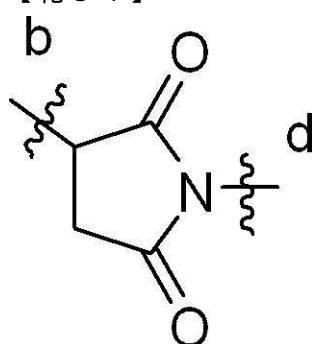
【化33】



30

であり；前記 L_3 は、好ましくは、

【化34】



40

である。

【0031】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_1 の構造は式I又はIIで表される通りである。

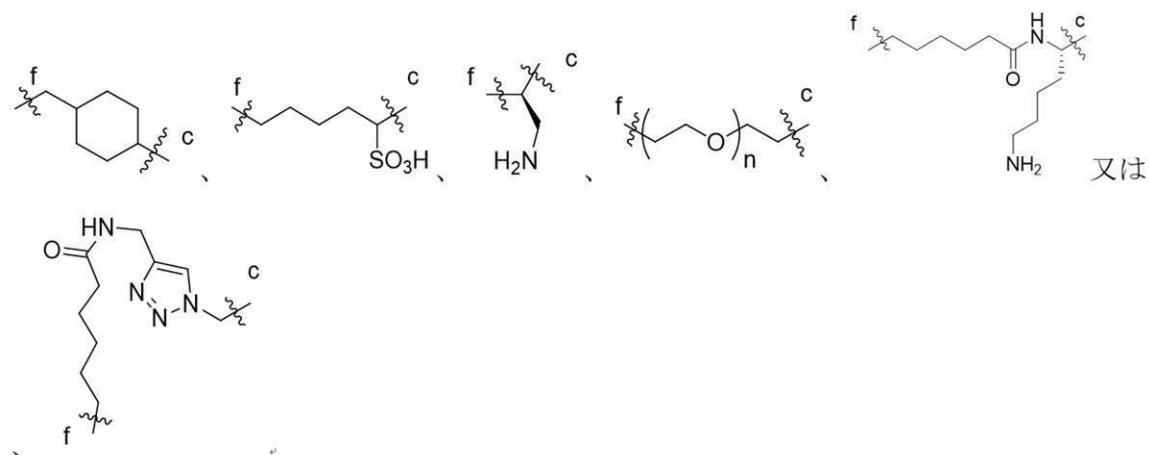
【0032】

本発明の好ましい実施形態において、 L_1 の構造が式Iで表される通りである場合、前

50

記 L₂ は

【化 3 5】



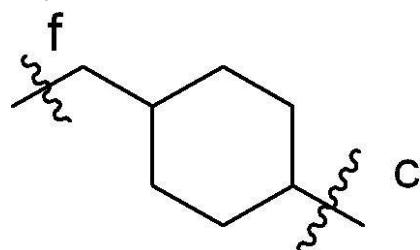
10

である。

【0033】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L₁ の構造が式 I で表される通りである場合
、前記 L₂ は

【化 3 6】



20

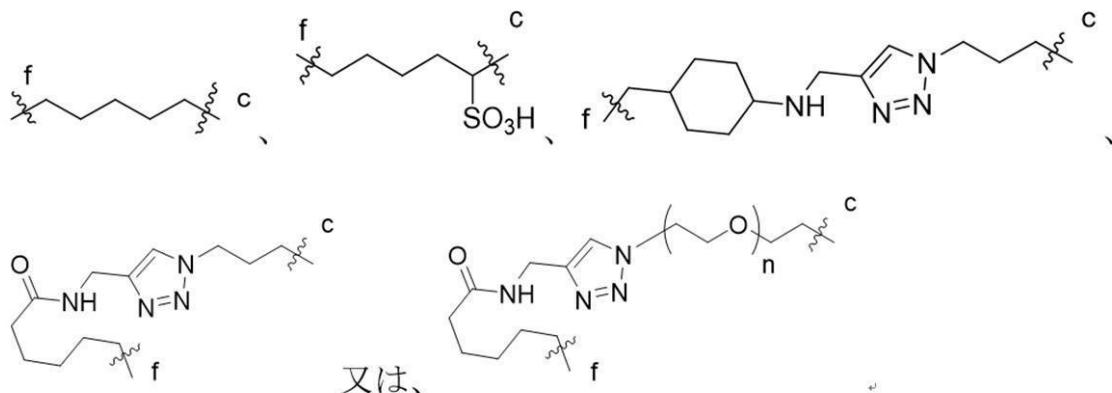
である。

【0034】

本発明の好ましい実施形態において、L₁ の構造が式 III で表される通りである場合
、前記 L₂ は

30

【化 3 7】



40

である。

【0035】

本発明の好ましい実施形態において、L₁ の構造が式 III で表される通りである場合
、前記 L₂ は

50

【化38】

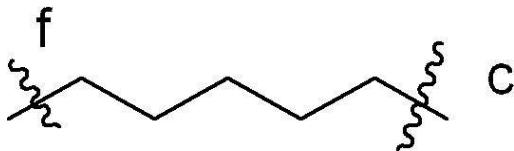


である。

【0036】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_1 の構造が式 III で表される通りである場合
、前記 L_2 は

【化39】

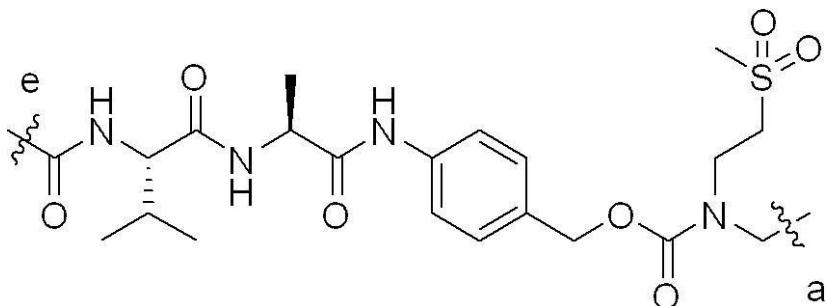


である。

【0037】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_1 の構造が式 III で表される通りである場合、好ましくは、

【化40】



10

20

30

である。

【0038】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体において、前記 A b は、抗 HER2 抗体 Trastuzumab、抗 B7-H3 抗体 P2E5 又はそのバリアントであり、又は抗 Claudin 18.2 抗体 IMAB362 又はそのバリアントであり；前記 D は細胞阻害性薬物であり；前記 m は 2 ~ 8 であり；

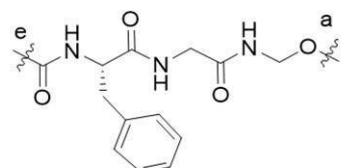
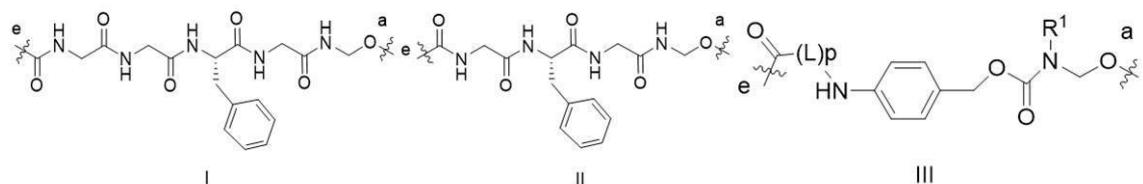
前記 L_1 の構造は式 I、II、III、又は IV で表される通りである。

【0039】

40

50

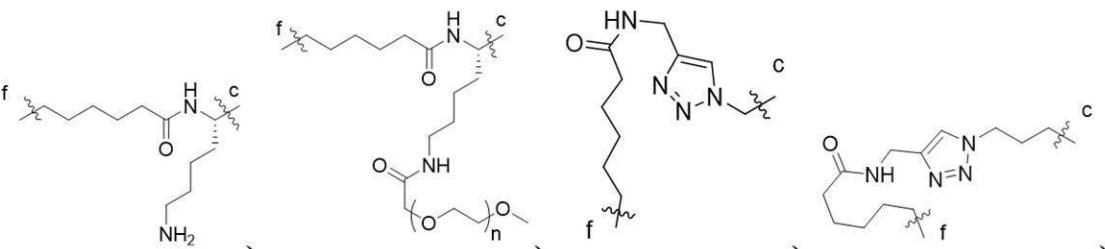
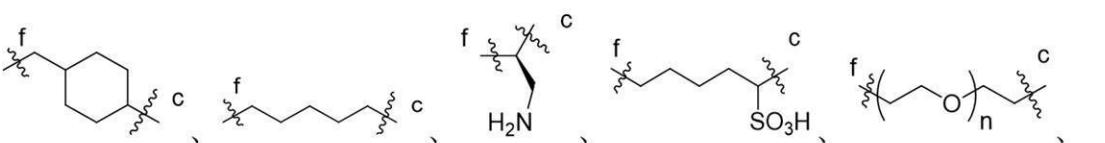
【化 4 1】



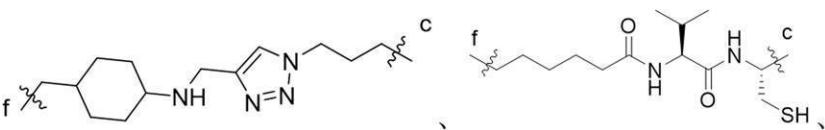
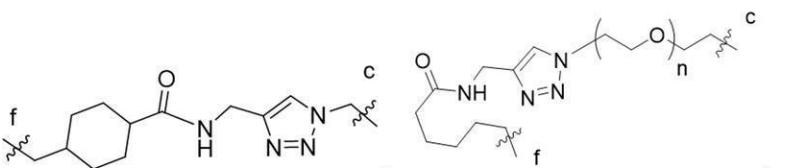
10

前記 L 2 は

前言 - 2

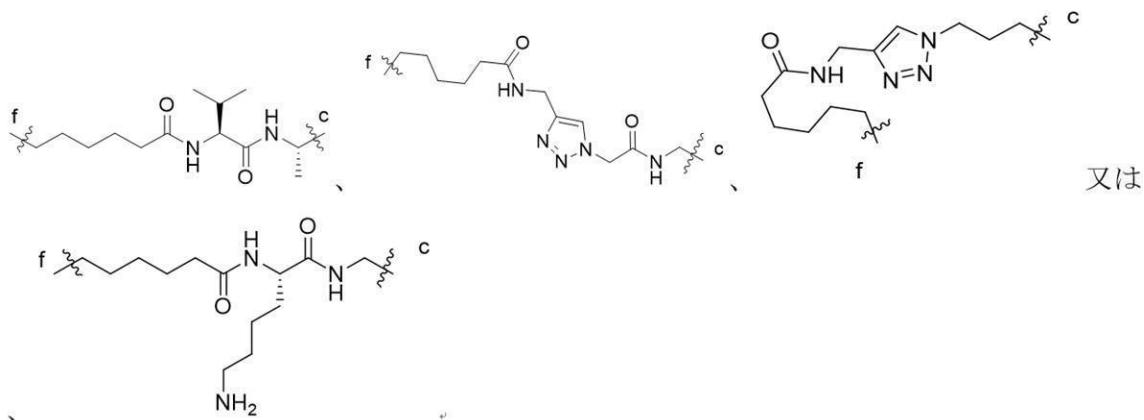


20



30

【化43】

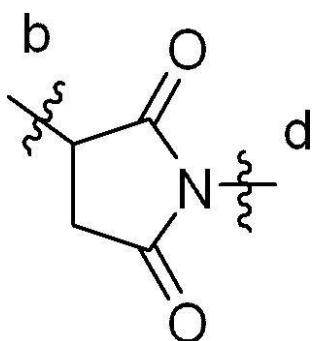


10

であり、前記nは独立して8～12であり；

前記L₃は

【化44】



20

であり；

前記Lは独立してバリン残基又はアラニン残基であり；前記pは2～4であり；

前記R¹は-NR¹-¹R¹-²置換のC₁～C₆アルキル、R¹-³S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキル、又はC₁～C₆アルキルであり；

30

前記R¹-¹、R¹-²及びR¹-³はそれぞれ独立してC₁～C₆アルキルであり；

ここで、前記抗HER2抗体Trastuzumabの軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号6に示された通りであり；前記抗B7-H3抗体P2E5の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号8に示された通りであり；前記抗Claudin18.2抗体IMAB362の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号2に示された通りである。

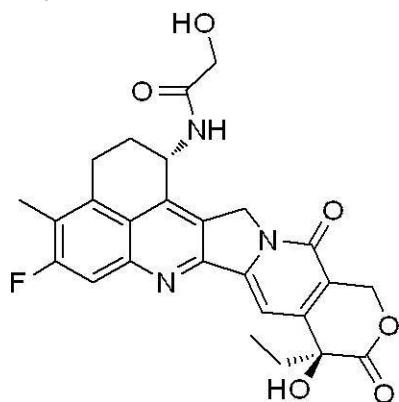
40

【0040】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体において、前記Abは、抗HER2抗体Trastuzumab、抗B7-H3抗体P2E5又はそのバリアント、又は抗Claudin18.2抗体IMAB362又はそのバリアントであり；前記Dは

50

【化45】

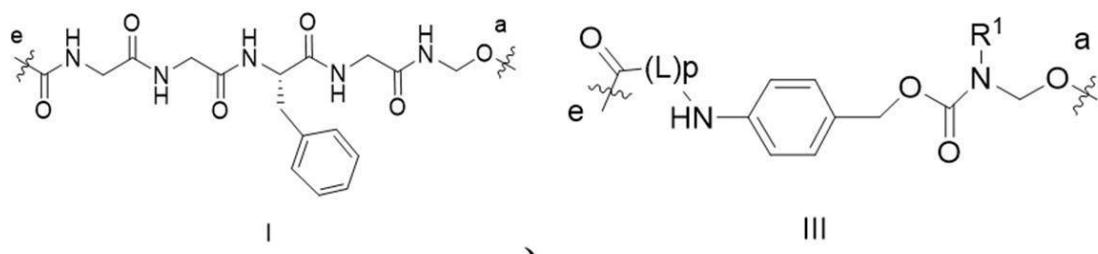


10

であり；前記mは7～8であり；

前記L₁の構造は式I又はIIで表される通りであり、

【化46】

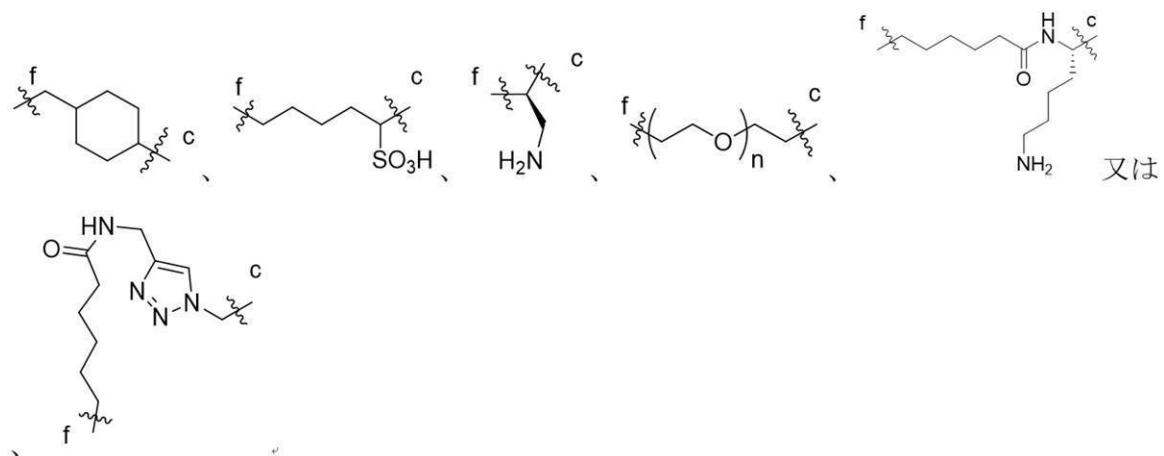


20

である；

前記L₁の構造が式Iで表される通りである場合、前記L₂は

【化47】



30

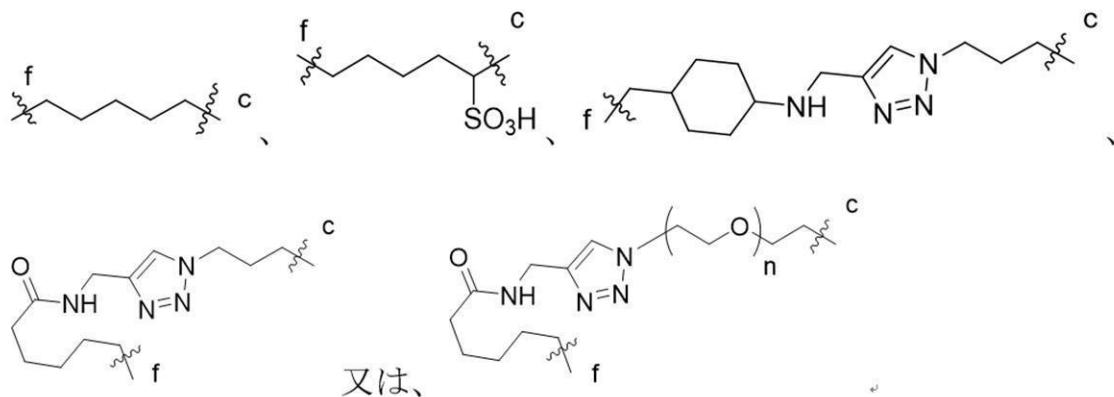
であり；前記nは独立して8～12であり；

前記L₁の構造が式IIで表される通りである場合、前記L₂は

40

50

【化48】

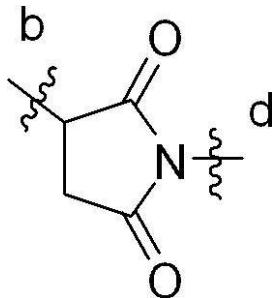


10

であり；前記nは独立して8～12であり；

前記L₃は

【化49】



20

であり；

前記Lは独立してバリン残基又はアラニン残基であり；前記pは2～4であり；

前記R¹は-NR¹-¹R¹-²置換のC₁～C₄アルキル、R¹-³S(O)₂-置換のC₁～C₄アルキル、又はC₁～C₄アルキルであり；前記R¹-¹、R¹-²及びR¹-³は独立してC₁～C₄アルキルであり；

30

前記抗H E R 2 抗体T r a s t u z u m a bの軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号6に示された通りであり；前記抗B 7 - H 3 抗体P 2 E 5の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号8に示された通りであり；前記抗C 1 a u d i n 1 8 . 2 抗体I M A B 3 6 2の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号2に示された通りである。

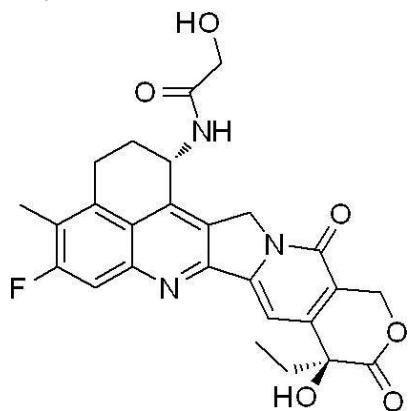
【0041】

本発明の好ましい実施形態において、A bは抗体であり、Dは

40

50

【化50】

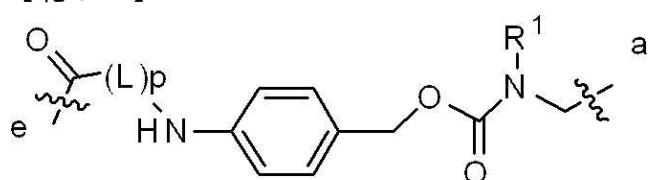


10

であり；

L₁は

【化51】

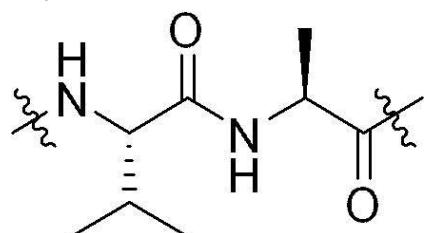


20

III

であり；ここで、Lはバリン残基又はアラニン残基であり、pは2であり、(L)pは好ましくは、

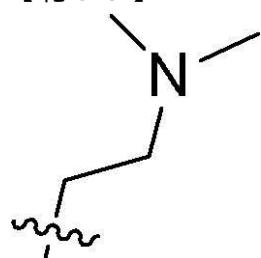
【化52】



30

であり；R¹は-NR¹-1R¹-2置換のC₁～C₆アルキル、R¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキル又はC₁～C₆アルキルであり、好ましくは、-NR¹-1R¹-2置換のC₁～C₆アルキル、又はR¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキル、より好ましくは、R¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルであり；前記R¹-1、R¹-2及びR¹-3は独立してC₁～C₄アルキルであり、好ましくは、メチルであり；前記-NR¹-1R¹-2置換のC₁～C₆アルキルは、好ましくは、

【化53】

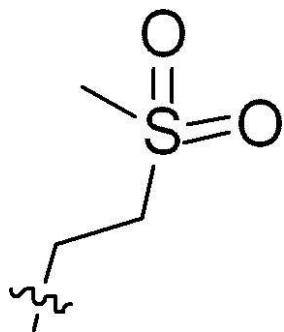


40

であり；前記R¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルは、好ましくは、

50

【化 5 4】

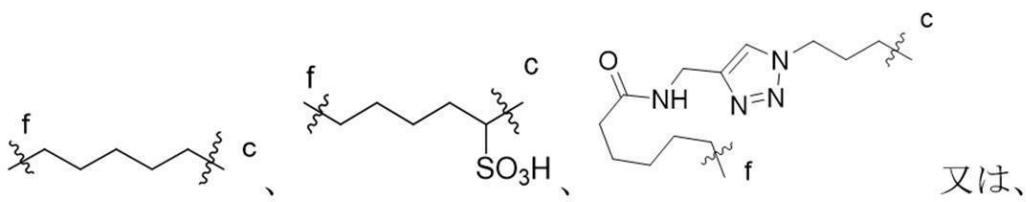


10

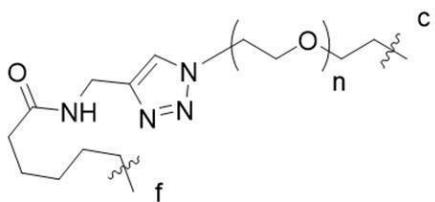
であり；

 L_2 は

【化 5 5】

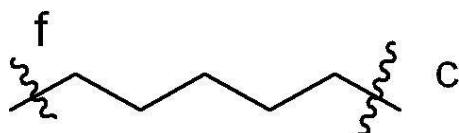


20

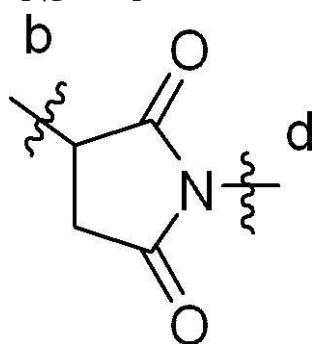
であり、ここで、 n は好ましくは、8 であり； L_2 は好ましくは、

30

【化 5 6】

であり； L_3 は

【化 5 7】



40

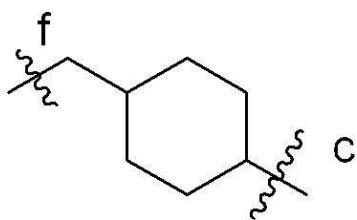
である。

【0042】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は

50

【化 5 8】

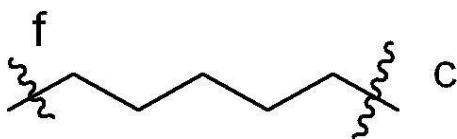


である。

【0 0 4 3】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は

【化 5 9】

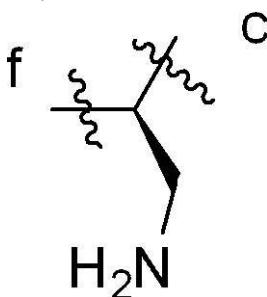


である。

【0 0 4 4】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は

【化 6 0】

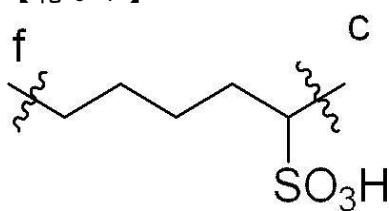


である。

【0 0 4 5】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は

【化 6 1】

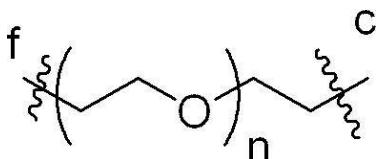


である。

【0 0 4 6】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は

【化 6 2】



である。

【0 0 4 7】

10

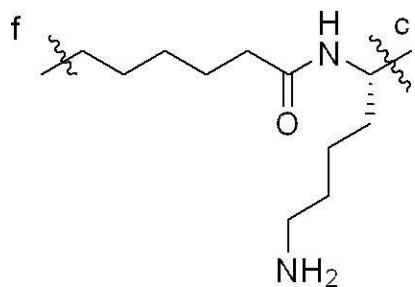
20

30

40

50

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は
【化 6 3】



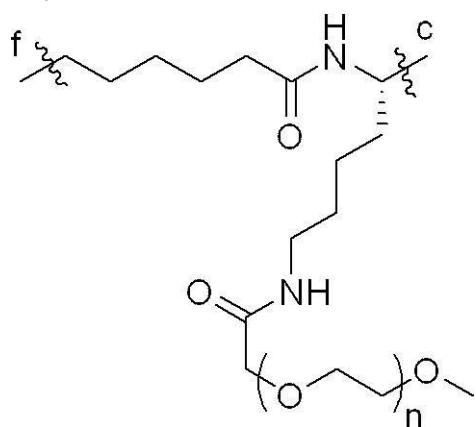
10

である。

【0048】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は

【化 6 4】



20

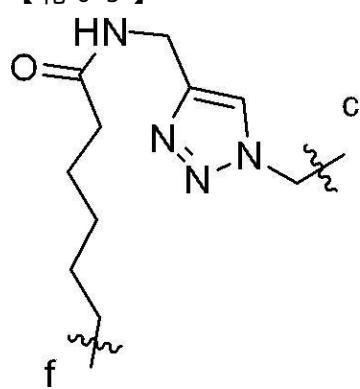
である。

【0049】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は

【化 6 5】

30



40

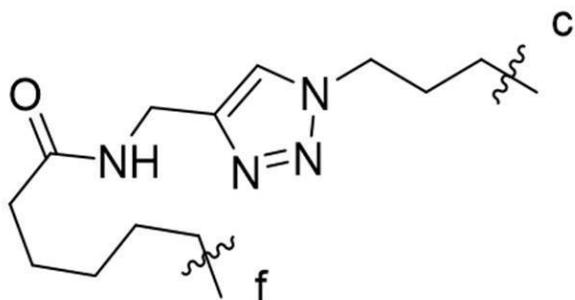
である。

【0050】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は

50

【化66】



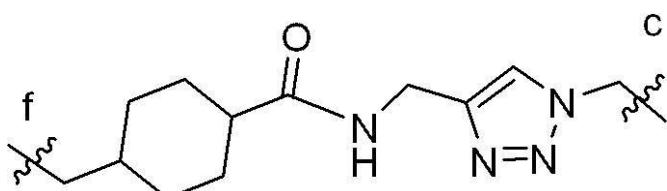
10

である。

【0051】

本発明の好ましい実施形態において、前記L₂は

【化67】



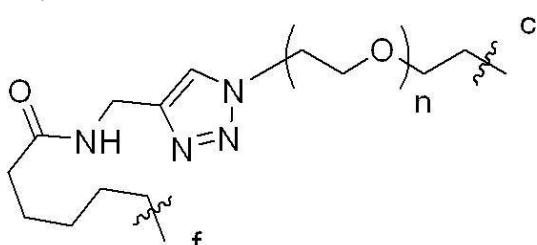
20

である。

【0052】

本発明の好ましい実施形態において、前記L₂は

【化68】



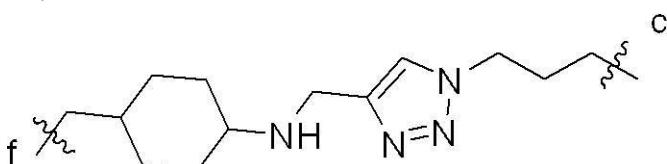
30

である。

【0053】

本発明の好ましい実施形態において、前記L₂は

【化69】



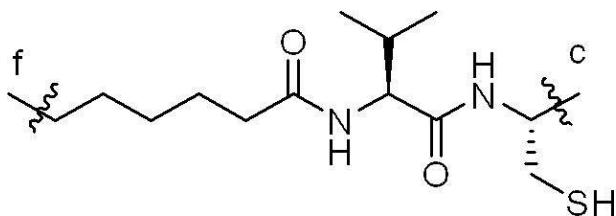
40

である。

【0054】

本発明の好ましい実施形態において、前記L₂は

【化70】

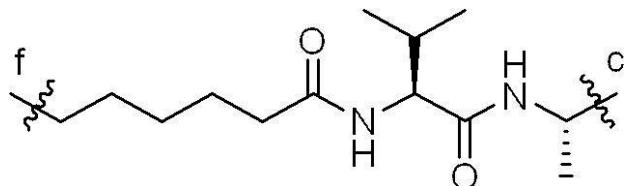


50

である。

【0055】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は
【化71】

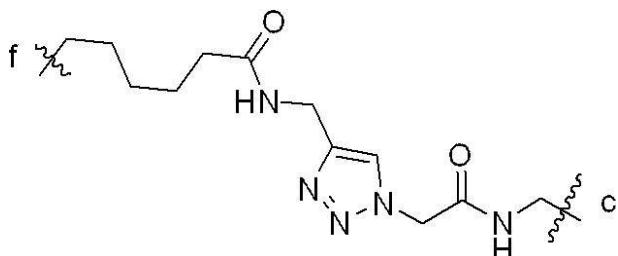


10

である。

【0056】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は
【化72】

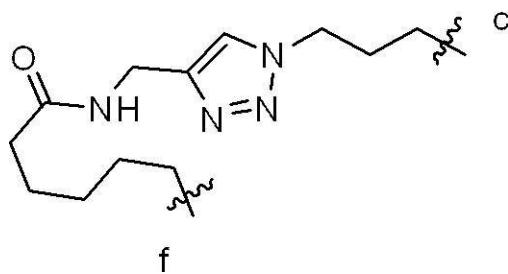


20

である。

【0057】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は
【化73】

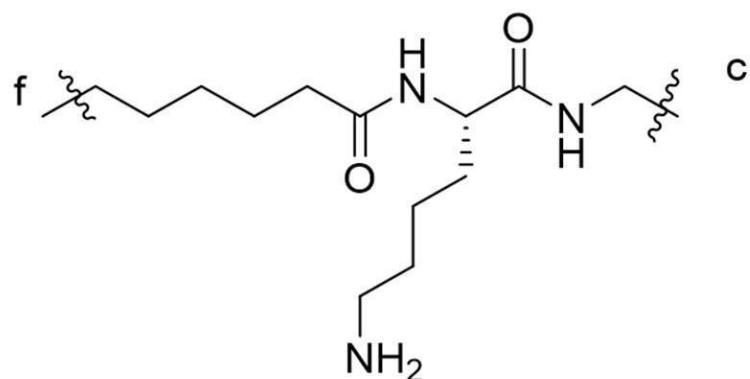


30

である。

【0058】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_2 は
【化74】



40

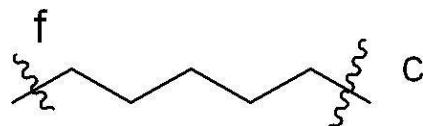
である。

50

【0059】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L_1 の構造が式 IIII で表される通りである場合、前記 L_2 は

【化75】



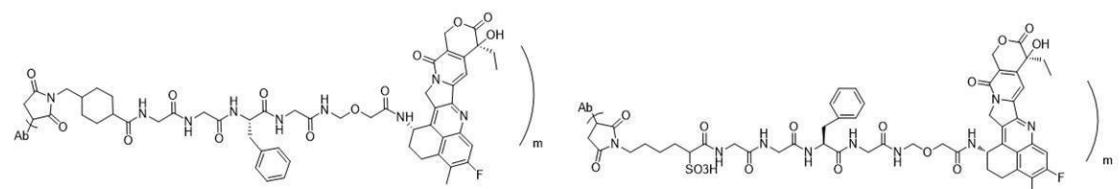
である。

【0060】

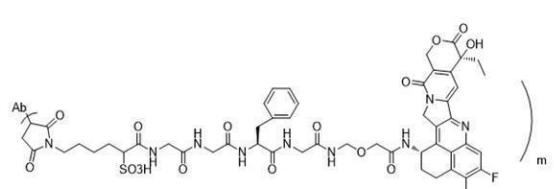
本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【0061】

【化76】

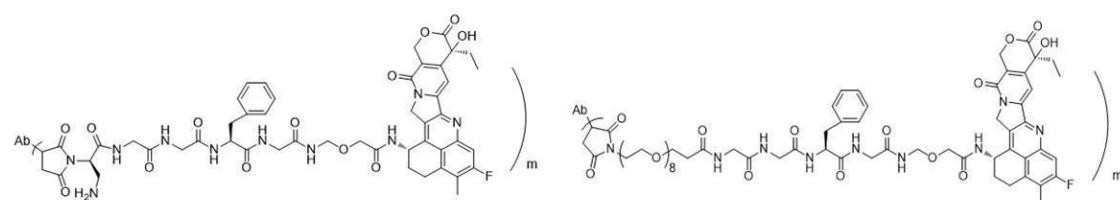


1

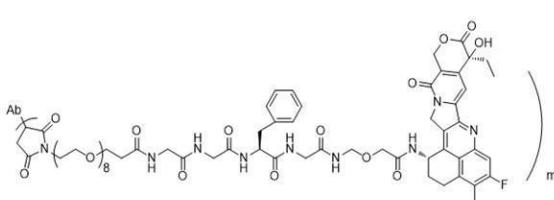


2

10

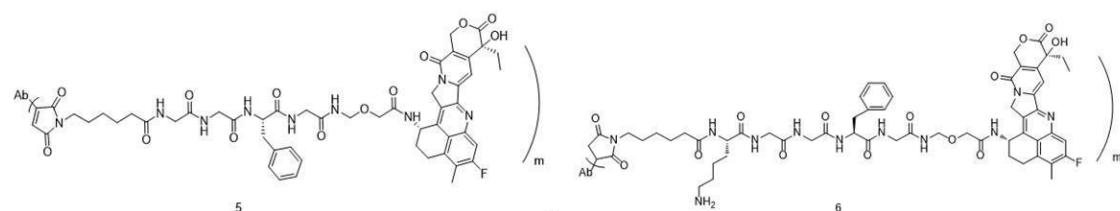


3

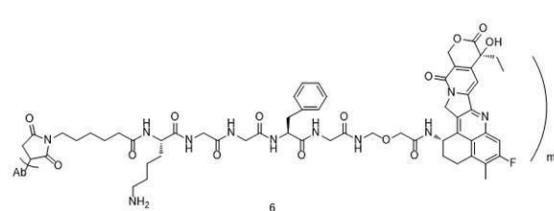


4

20



5



6

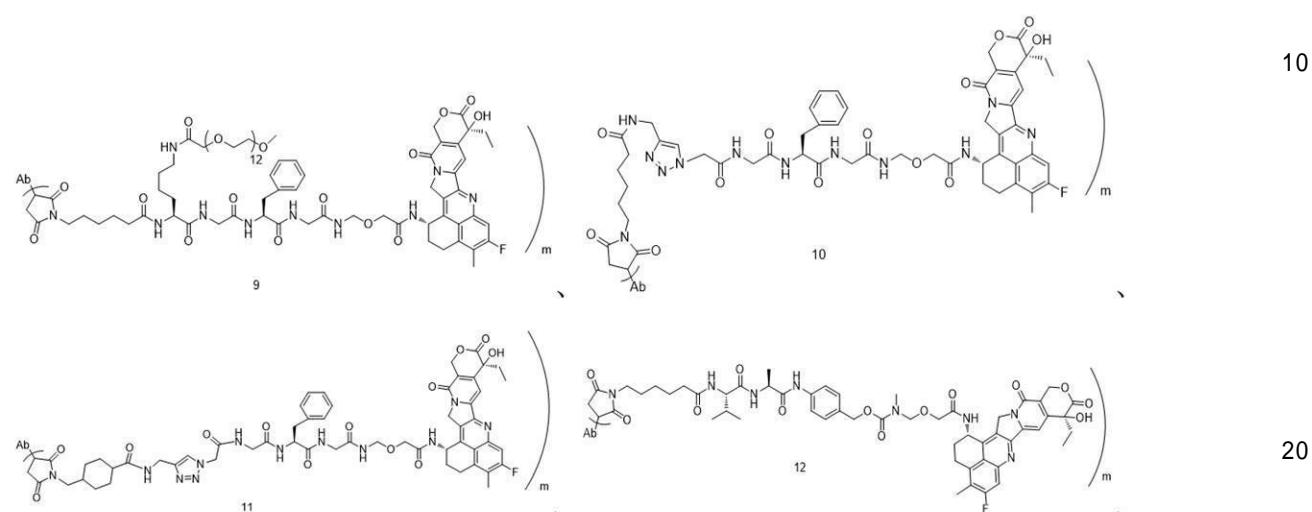
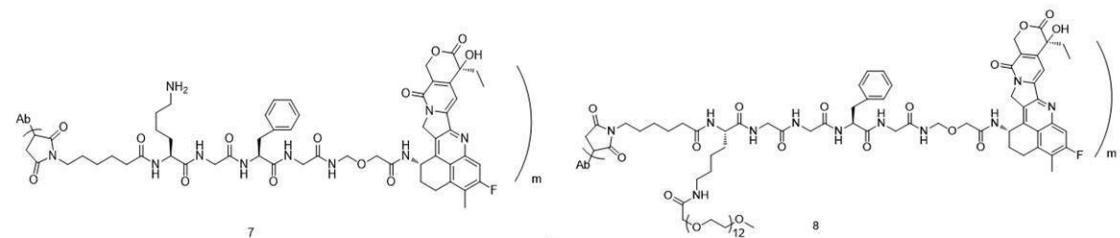
30

【0062】

40

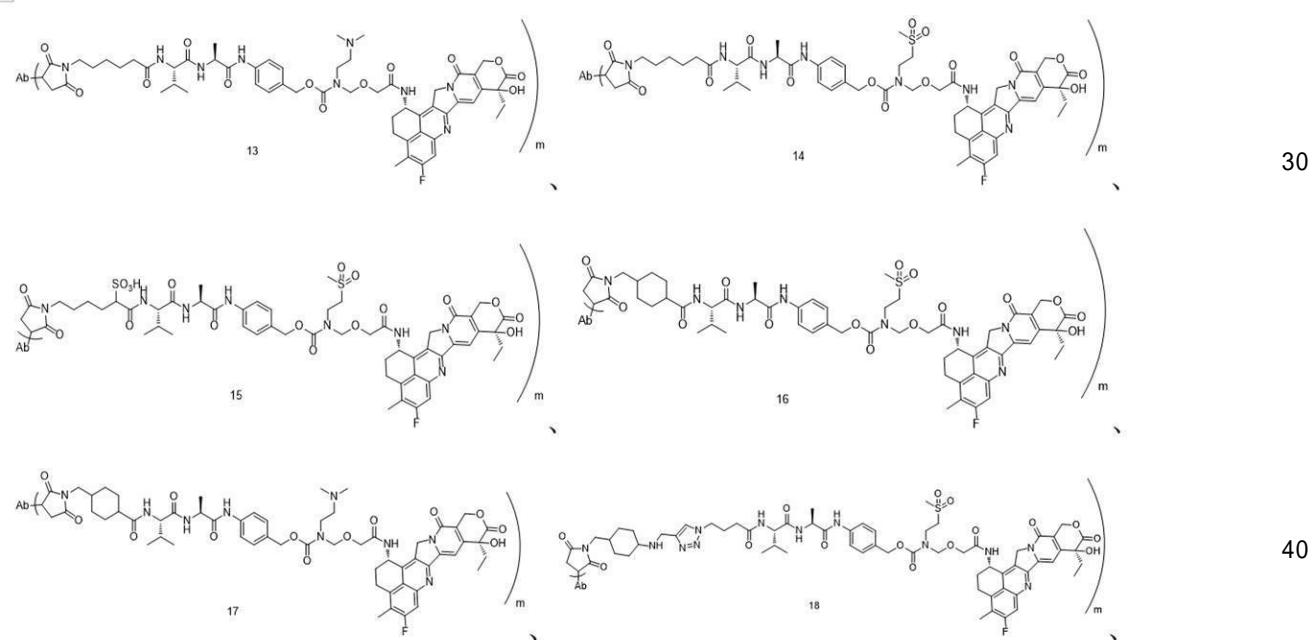
50

【化 7 7 】



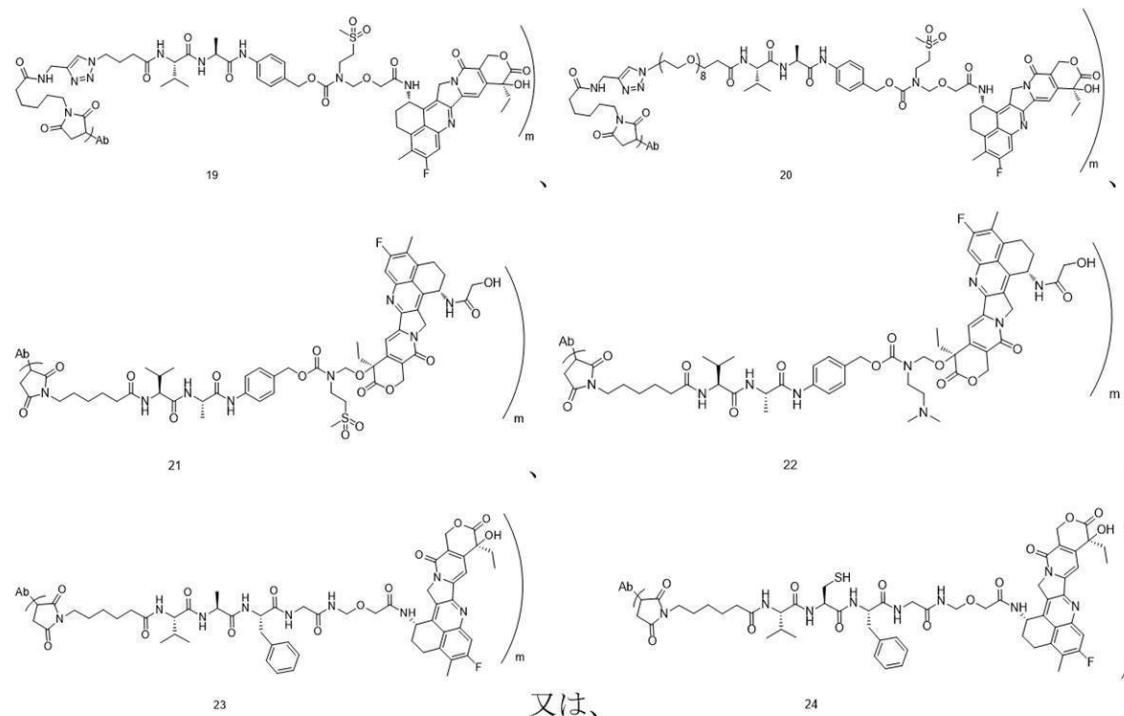
【 0 0 6 3 】

【化 7 8 】



【 0 0 6 4 】

【化 7 9】



であり、

ここで、mは2～8、好ましくは、7～8であり、例えば7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8又は8.0であり；

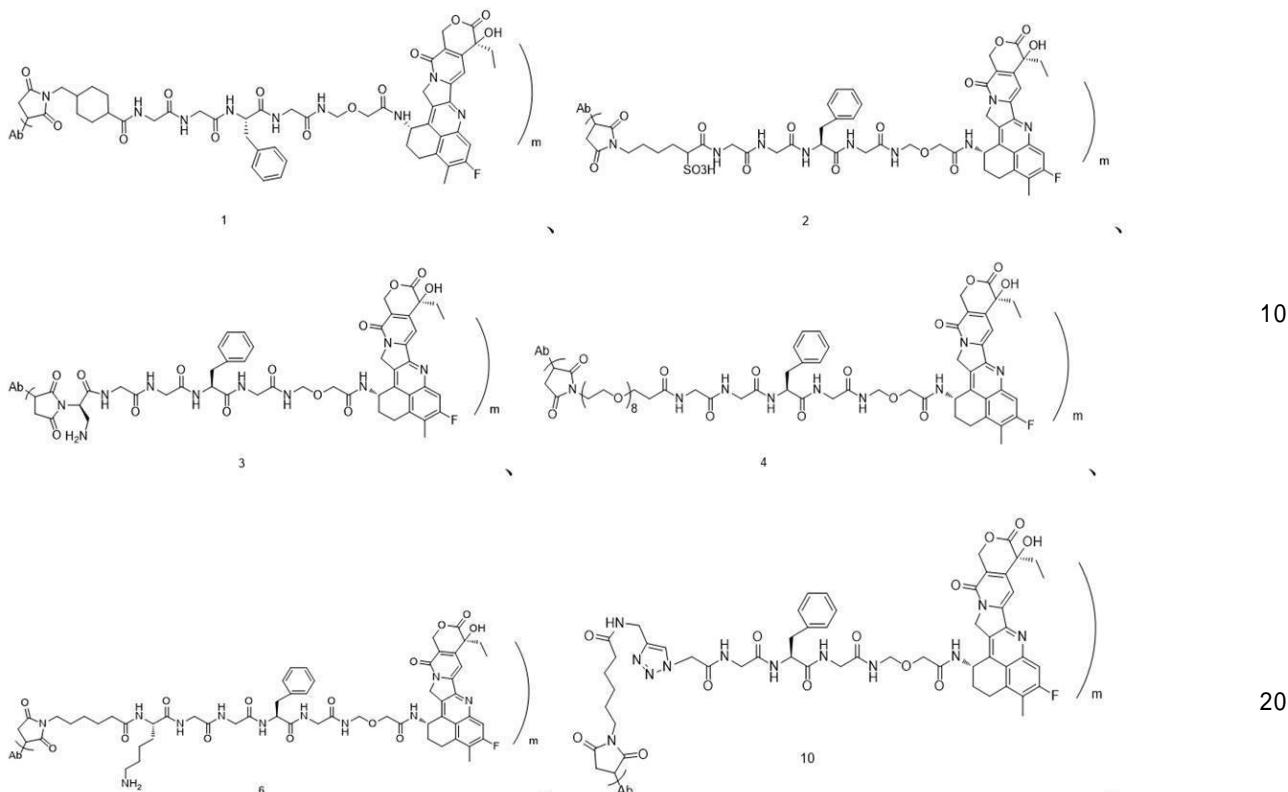
A bは抗H E R 2抗体T r a s t u z u m a b、抗B 7 - H 3抗体P 2 E 5又は抗C 1 a u d i n 1 8 . 2抗体I M A B 3 6 2であり；前記A bの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号6に示された通りであり；前記抗B 7 - H 3抗体P 2 E 5の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号8に示された通りであり；前記抗C 1 a u d i n 1 8 . 2抗体I M A B 3 6 2の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号2に示された通りである。

【0065】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

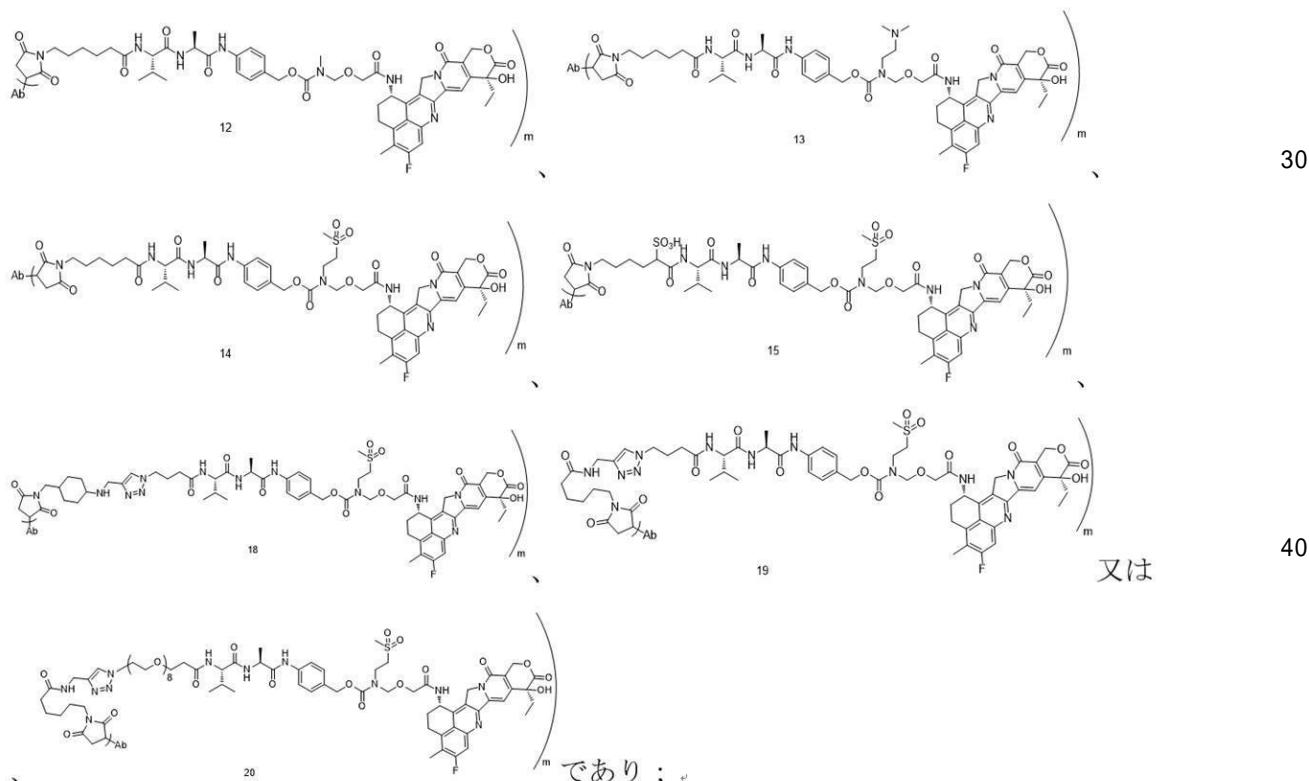
【0066】

【化 8 0】



【0 0 6 7】

【化 8 1】



【0 0 6 8】

ここで、Abは抗HER2抗体Trastuzumabであり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列リストの配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列

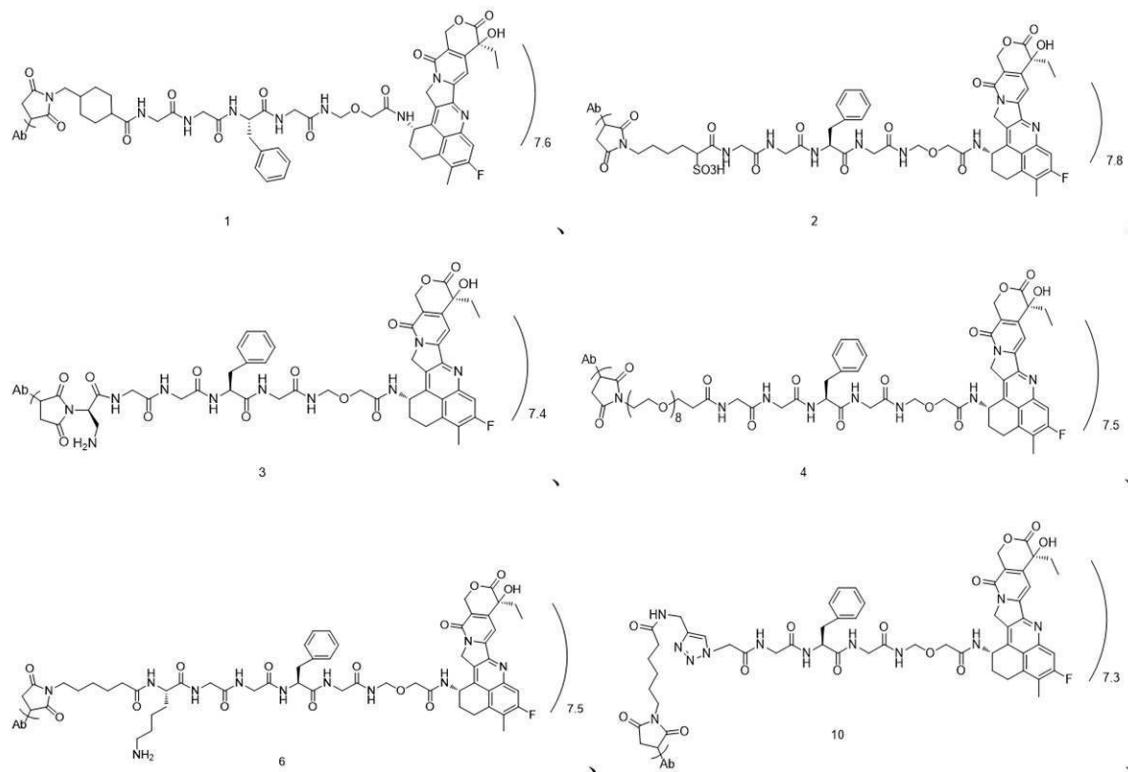
表の配列番号 6 に示された通りであり；ここで、m は 2 ~ 8、好ましくは、7 ~ 8 であり、例えば 7 . 3、7 . 4、7 . 5、7 . 6、7 . 7、7 . 8 又は 8 . 0 である。

【0069】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【0070】

【化 82】



【0071】

10

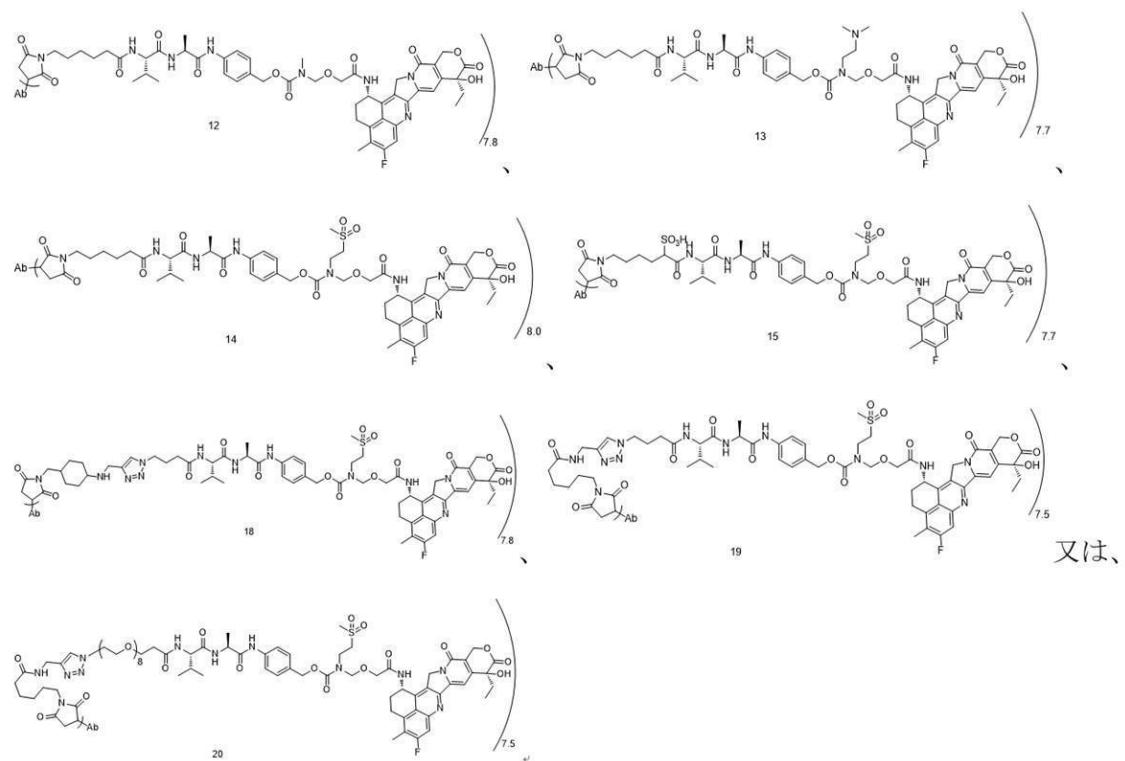
20

30

40

50

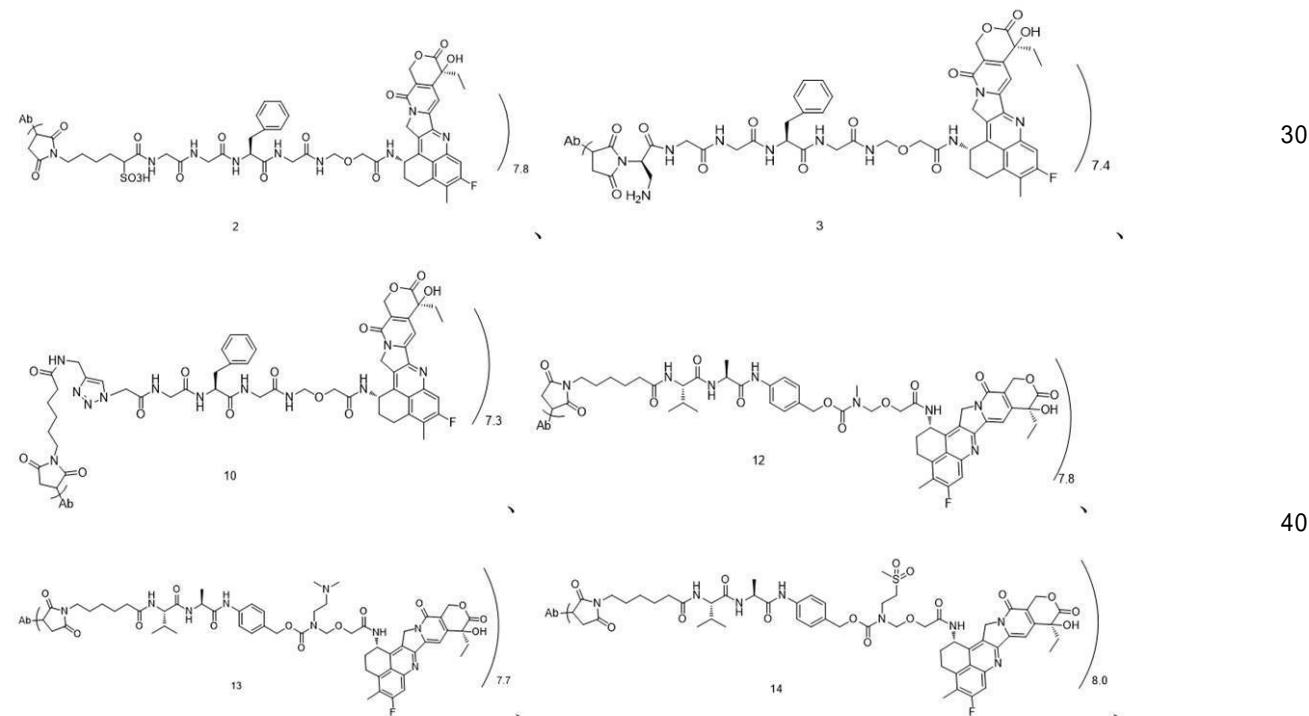
【化 8 3】



であり、好ましくは、

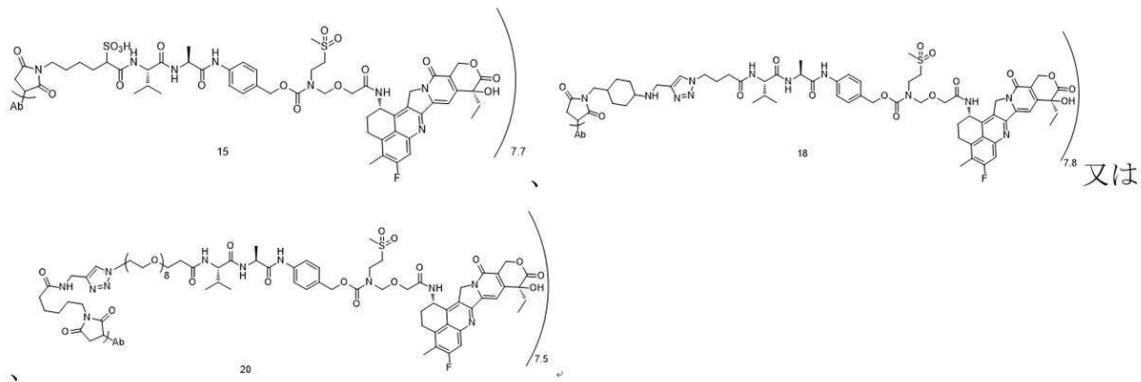
【0072】

【化 8 4】



【0073】

【化 8 5】



であり；

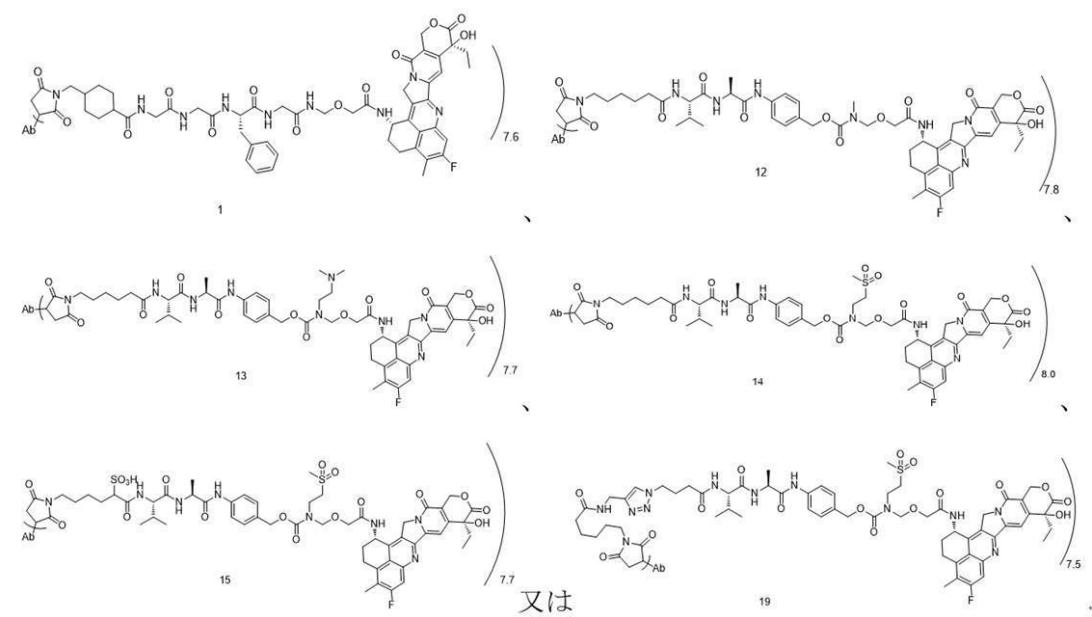
ここで、Abは抗HER2抗体Trastuzumabであり；又は、Abにおける軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号6に示された通りである。

【0074】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【0075】

【化 8 6】



であり；

ここで、Abは抗HER2抗体Trastuzumabであり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号6に示された通りである。

【0076】

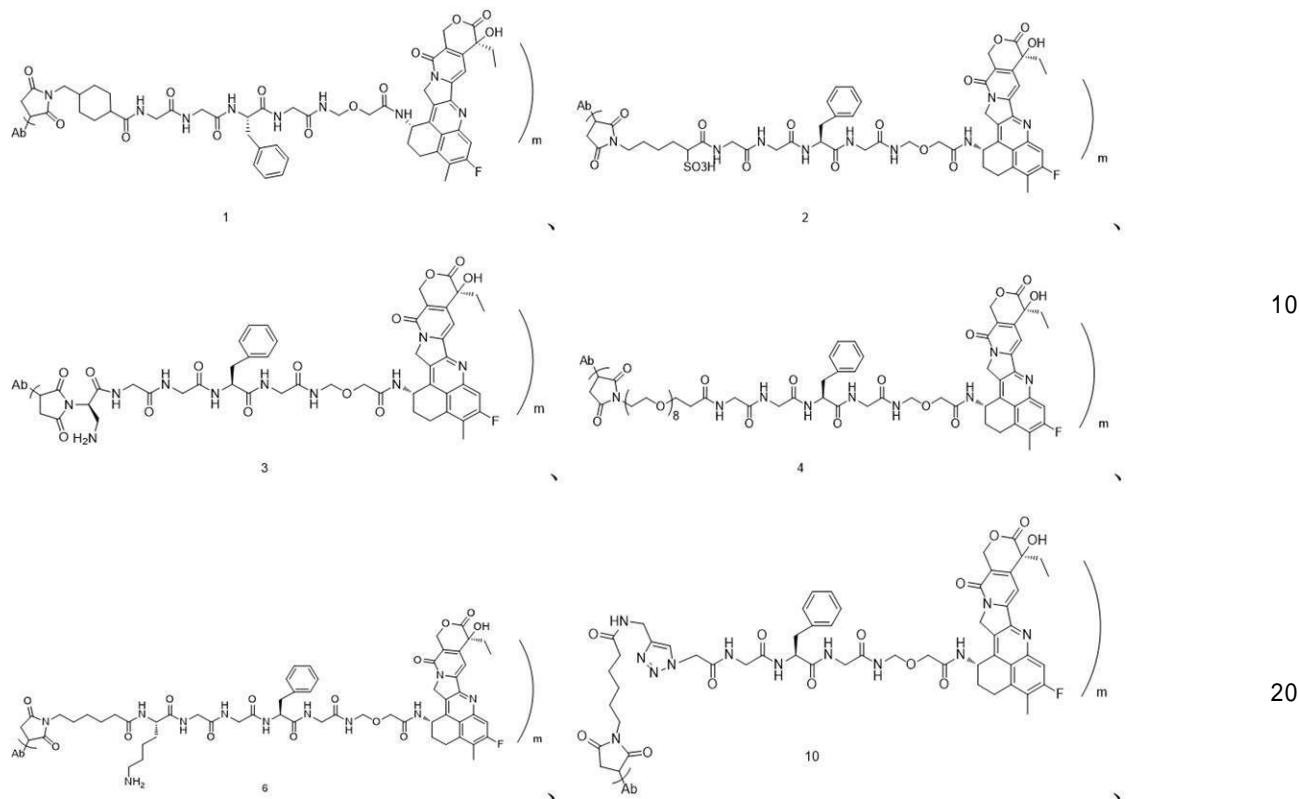
本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【0077】

40

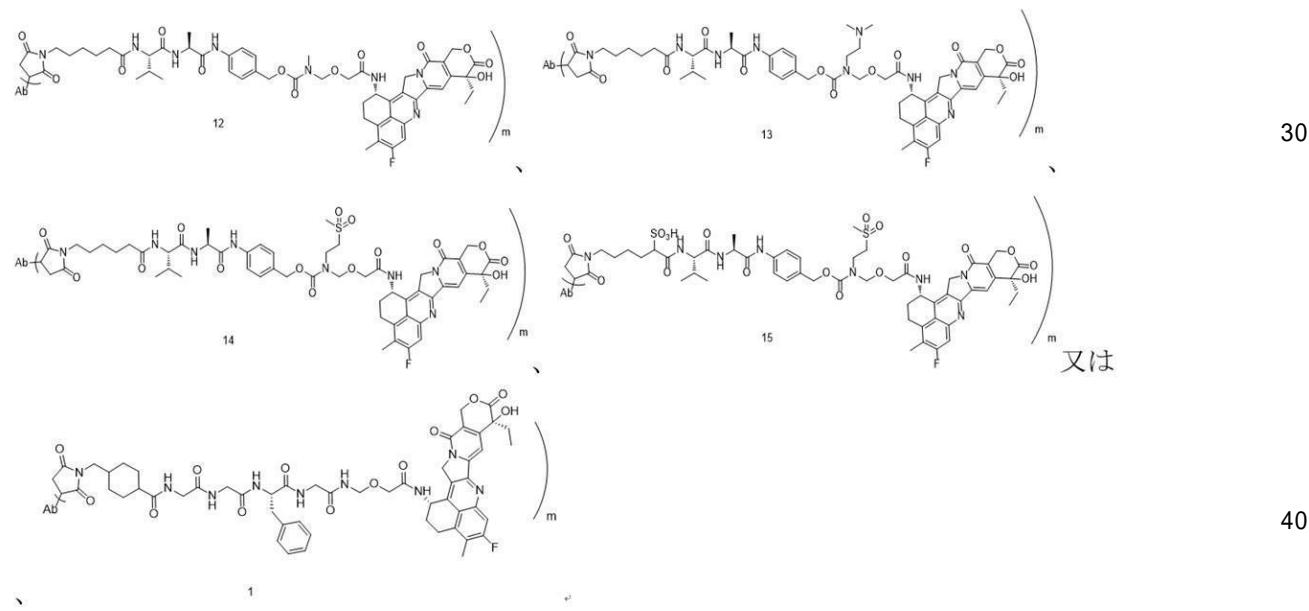
50

【化 8 7】



【0078】

【化 8 8】



であり；

ここで、Abは抗B7-H3抗体P2E5であり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号8に示された通りであり；ここで、mは2～8、好ましくは、7～8であり、例えば7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8又は8.0である。

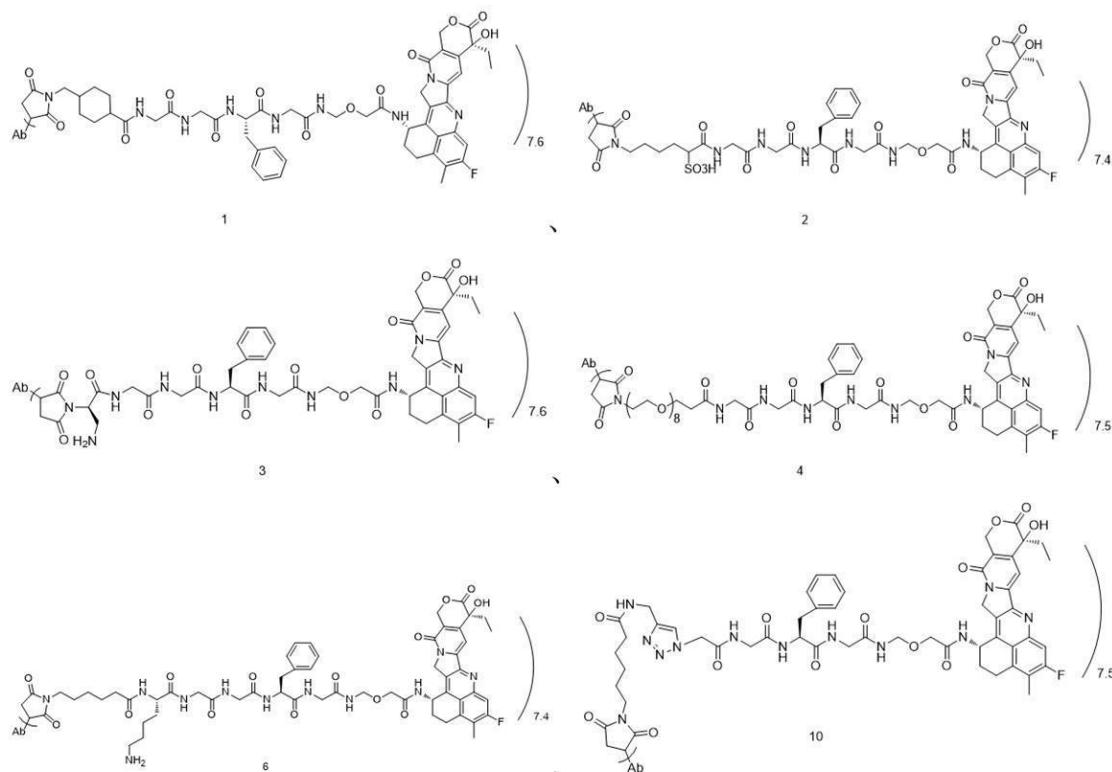
【0079】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示さ

れるいずれか一つの化合物であり：

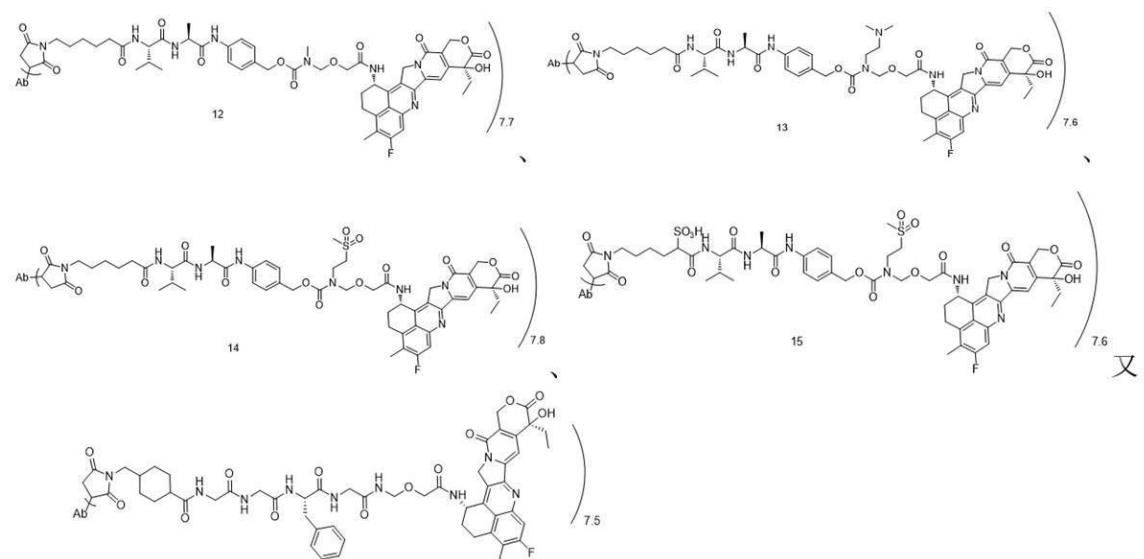
【0080】

【化89】



【0081】

【化90】



は、

であり；

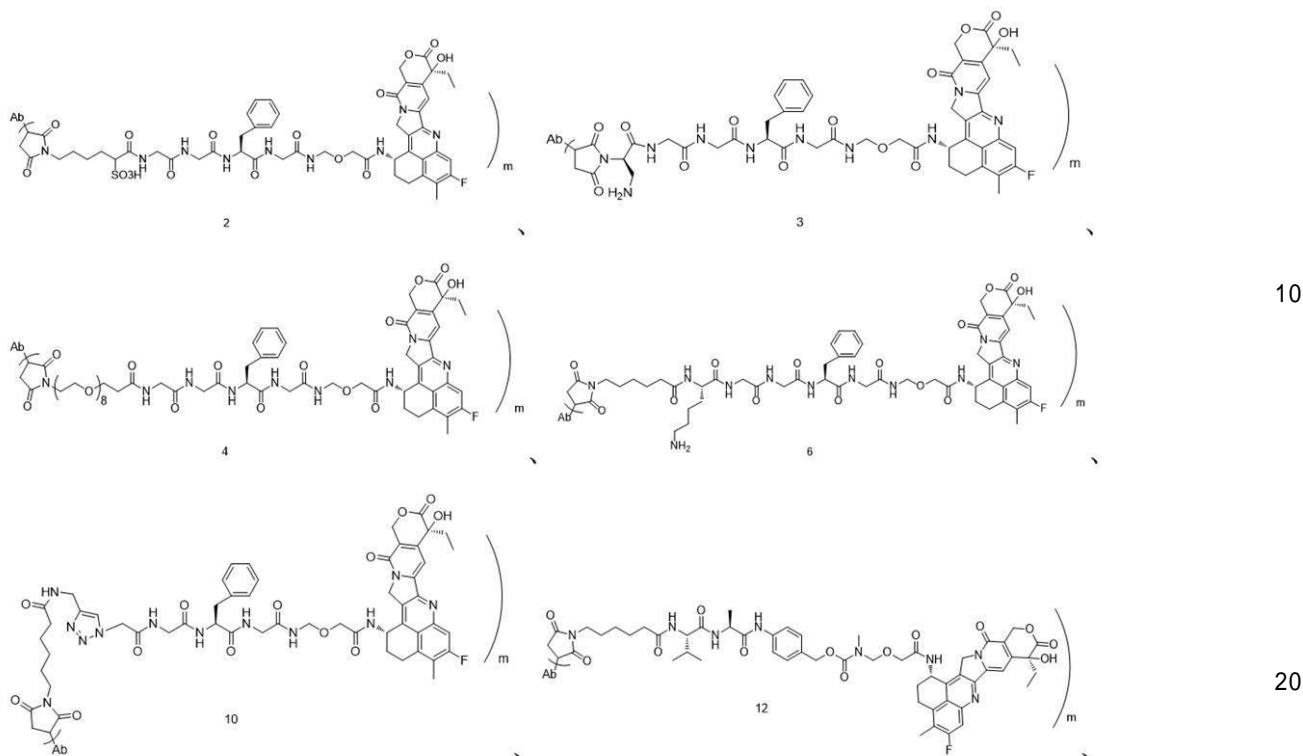
ここで、Abは抗B7-H3抗体P2E5であり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号8に示された通りである。

【0082】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

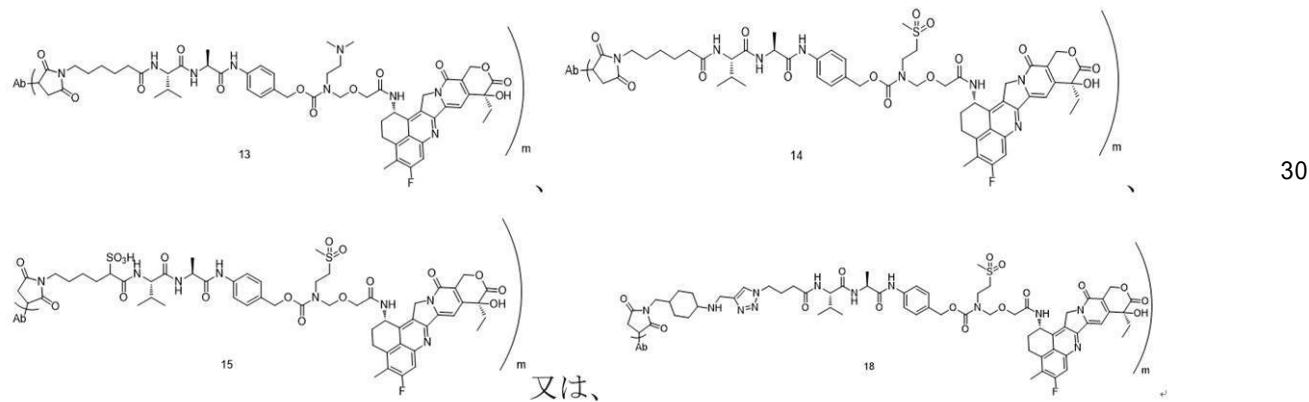
【 0 0 8 3 】

【化 9 1】



【 0 0 8 4 】

【化 9 2】



であり、

【 0 0 8 5 】

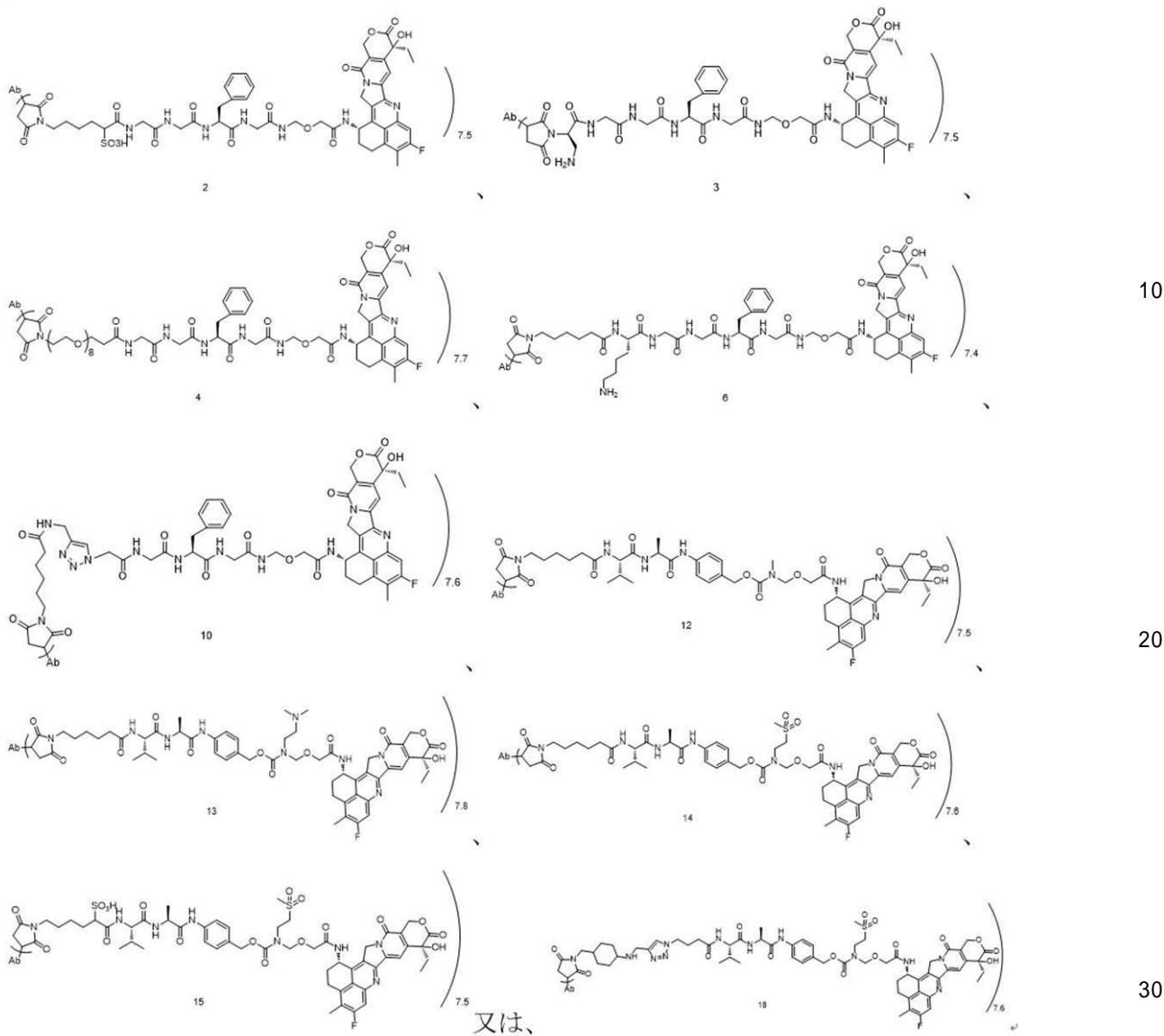
ここで、Abは抗C1a und in 18.2抗体IMAB362であり；又は、Abの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号2に示された通りであり；ここで、mは2～8、好ましくは、7～8であり、例えば7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8又は8.0である。

【 0 0 8 6 】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいづれか一つの化合物であり：

【 0 0 8 7 】

【化 9 3】



であり、

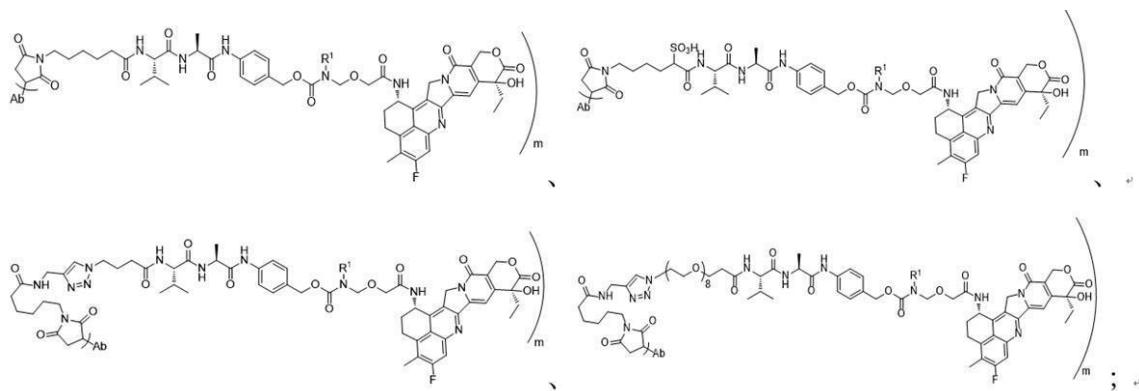
ここで、A b は抗 C 1 a u d i n 1 8 . 2 抗体 I M A B 3 6 2 であり；又は、A b の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 1 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号 2 に示された通りである。

【 0 0 8 8 】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下の化合物であり：

【 0 0 8 9 】

【化94】



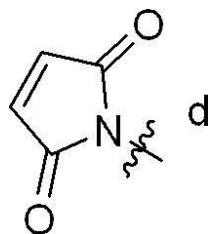
10

ここで、Ab、m及びR¹は上記と同様である。

【0090】

本発明は、更にリンカー-薬物複合体を提供し、その構造式はL₄-L₂-L₁-Dであり；ここで、L₄は

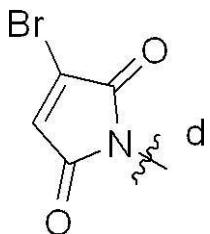
【化95】



20

又は、

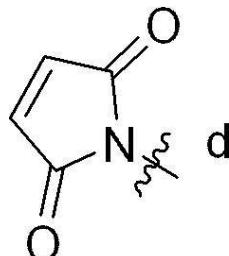
【化96】



30

であり；L₂、L₁及びDは上記で定義された通りであり、L₂のf端は前記L₄のd端に接続され；前記のL₄が

【化97】

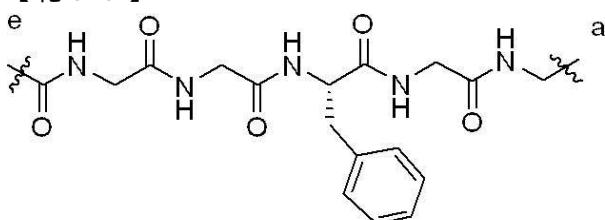


40

であり、前記のL₁が

50

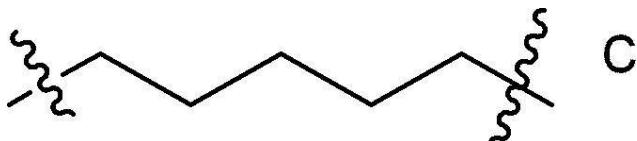
【化98】



I

である場合、前記の L₂ は

【化99】



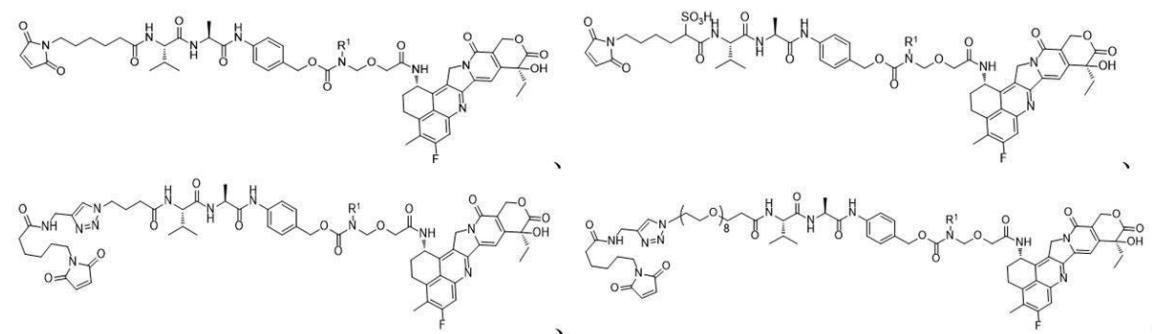
ではない。

【0091】

本発明の好ましい実施形態において、前記リンカー-薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり、

【0092】

【化100】



10

20

30

であり；

ここで、R₁ は上記と同様である。

【0093】

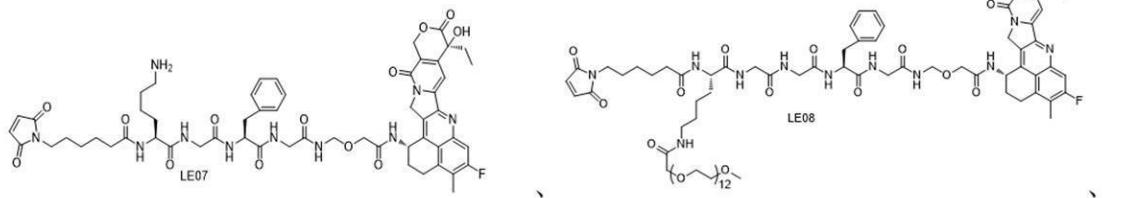
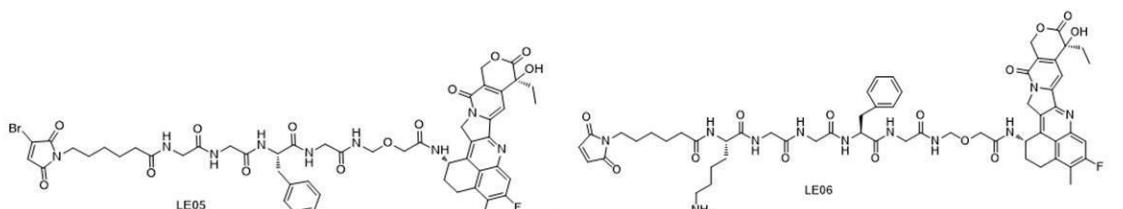
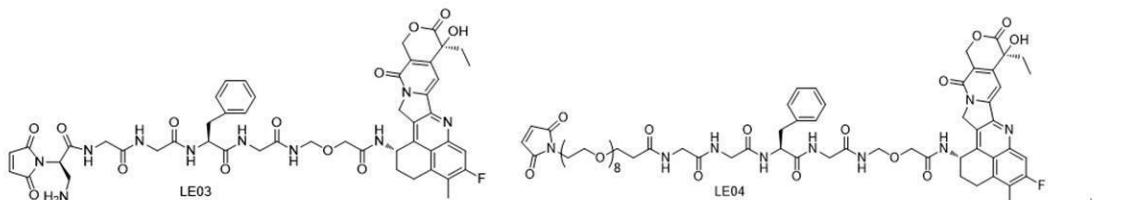
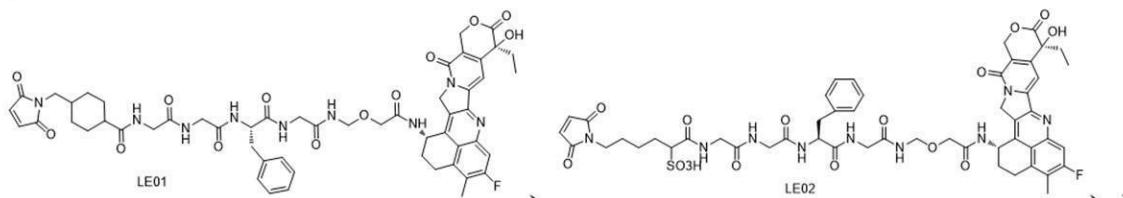
本発明の好ましい実施形態において、前記リンカー-薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【0094】

40

50

【化 1 0 1】



【0 0 9 5】

10

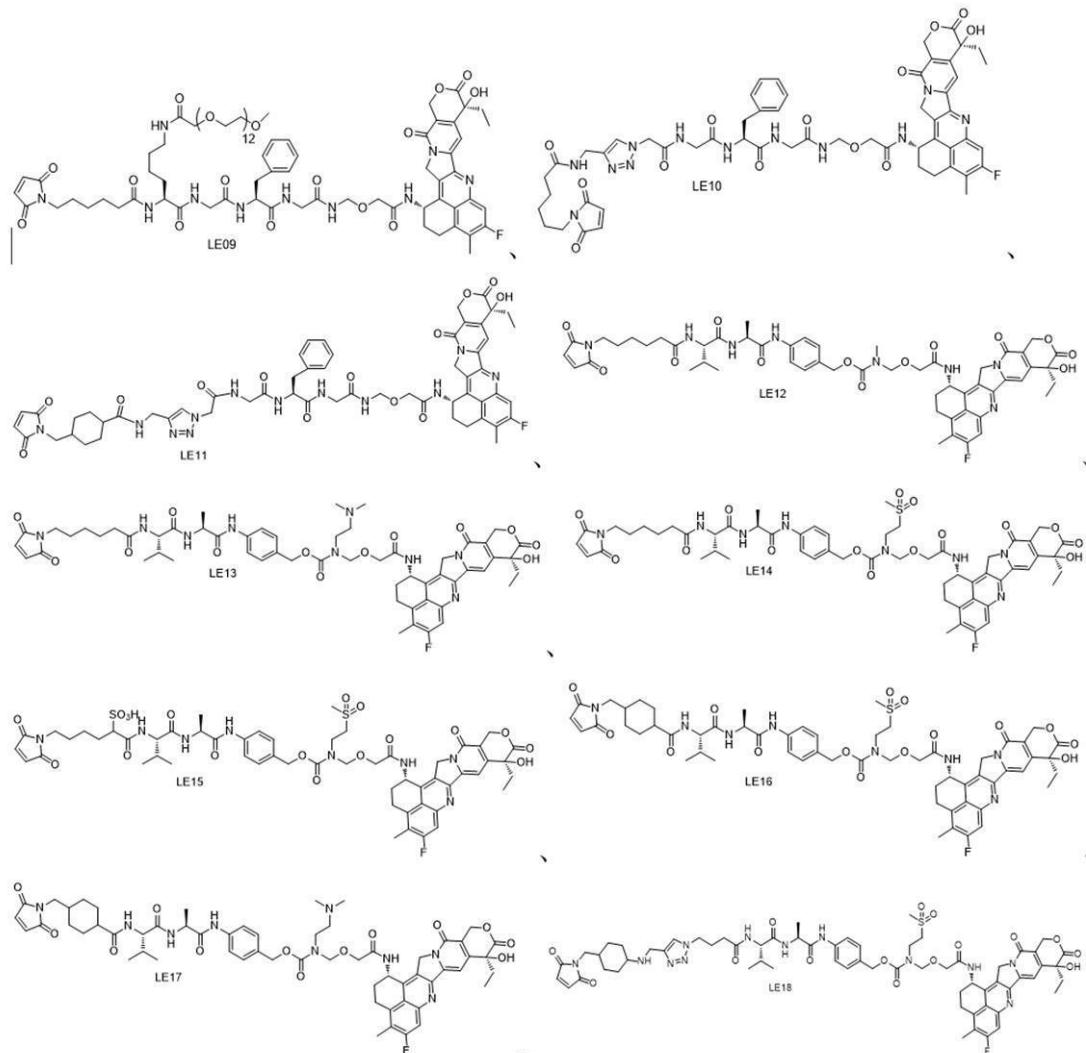
20

30

40

50

【化102】



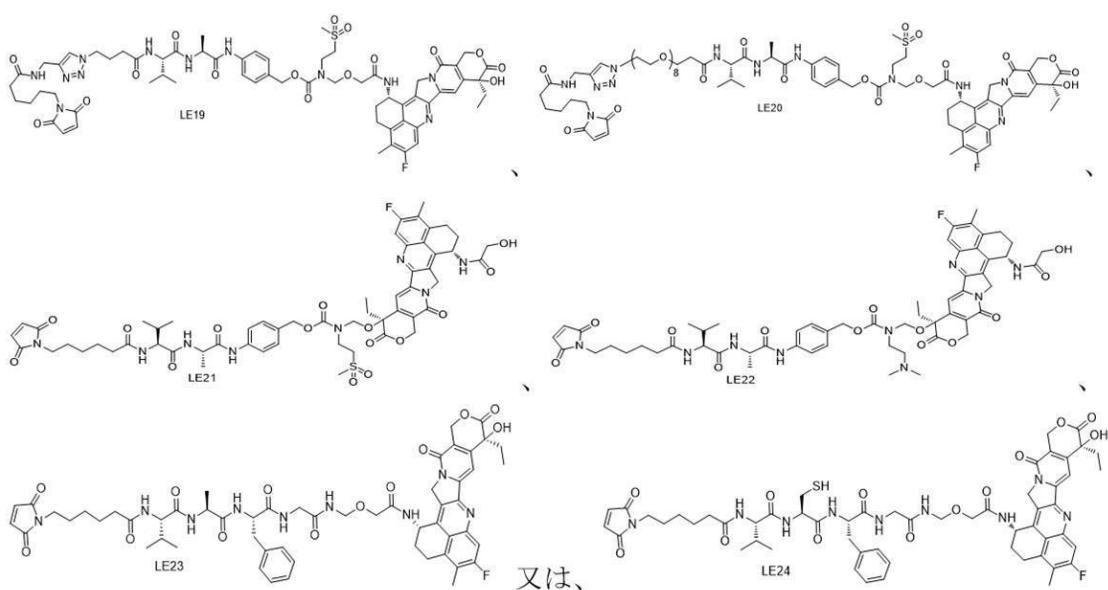
10

20

30

【0096】

【化103】



40

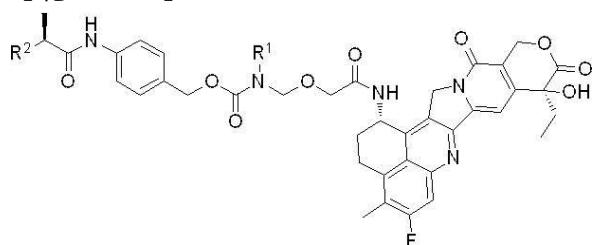
である。

50

【0097】

本発明は、更に、以下に示される化合物を提供し、

【化104】

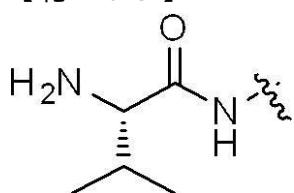


10

ここで、R¹は上記で定義された通りであり；

R²は-N₃、-NH₂、

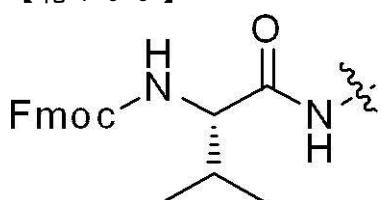
【化105】



又は、

20

【化106】



である。

【0098】

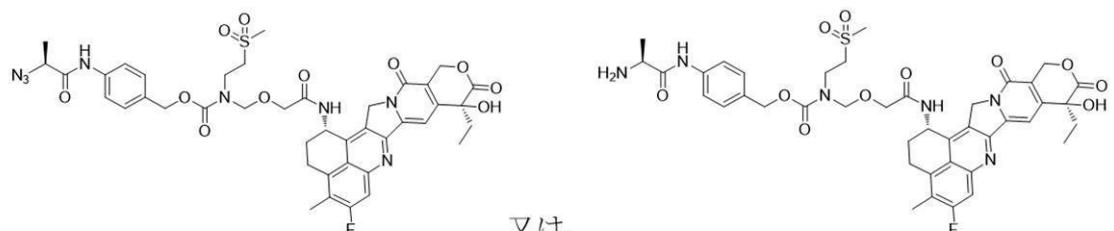
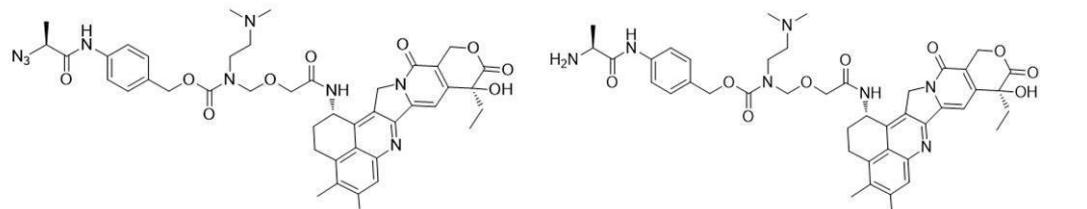
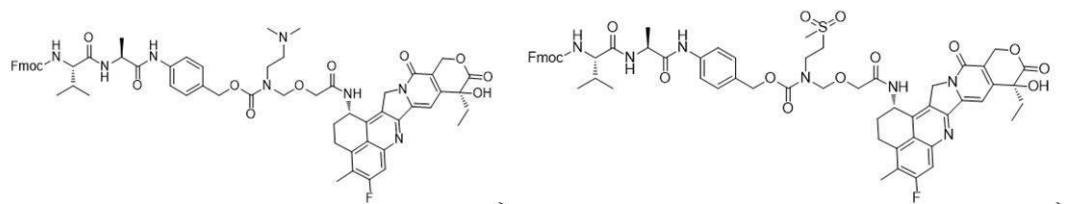
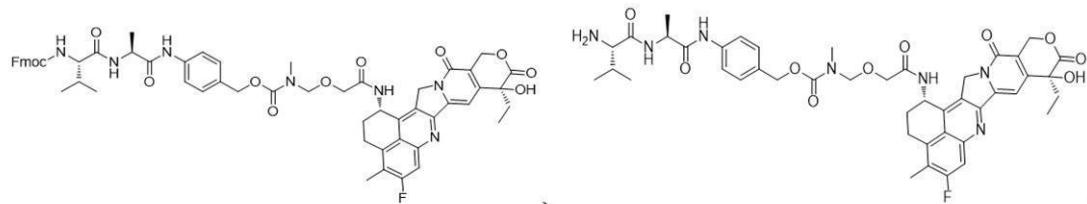
本発明は、更に、以下に示される化合物を提供し、

30

40

50

【化 1 0 7】



10

20

である。

(0 0 9 9)

本発明は、抗体薬物複合体を提供し、その構造式は $A - b - (L_3 - L_2 - L_1 - D)_m$ で
あり：

ここで、 $A\beta$ は抗体であり、

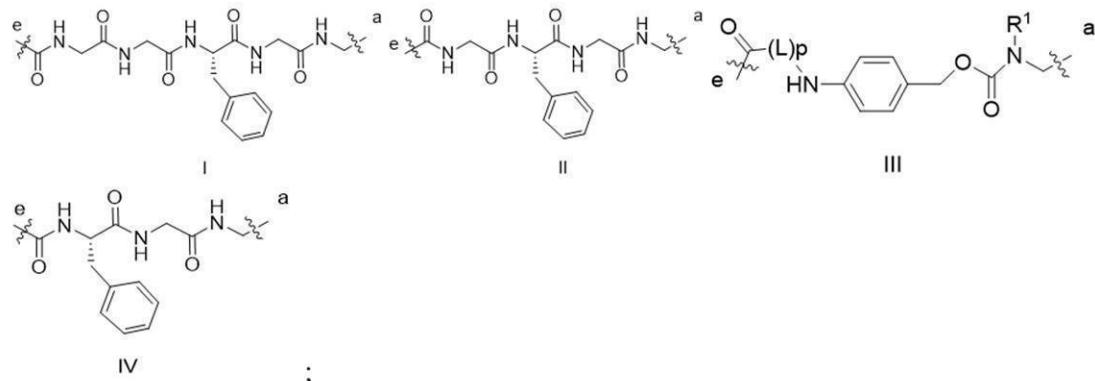
Dは細胞阻害性薬物であり；

m は 2 ~ 8 であり；

L_1 の構造は式 I 、 II 、 III 、又は IV で表される通りであり、その a 端は前記細胞阻害性薬物に接続され、 e 端は前記 L_2 の c 端に接続されている。

【 0 1 0 0 】

【化 1 0 8 】

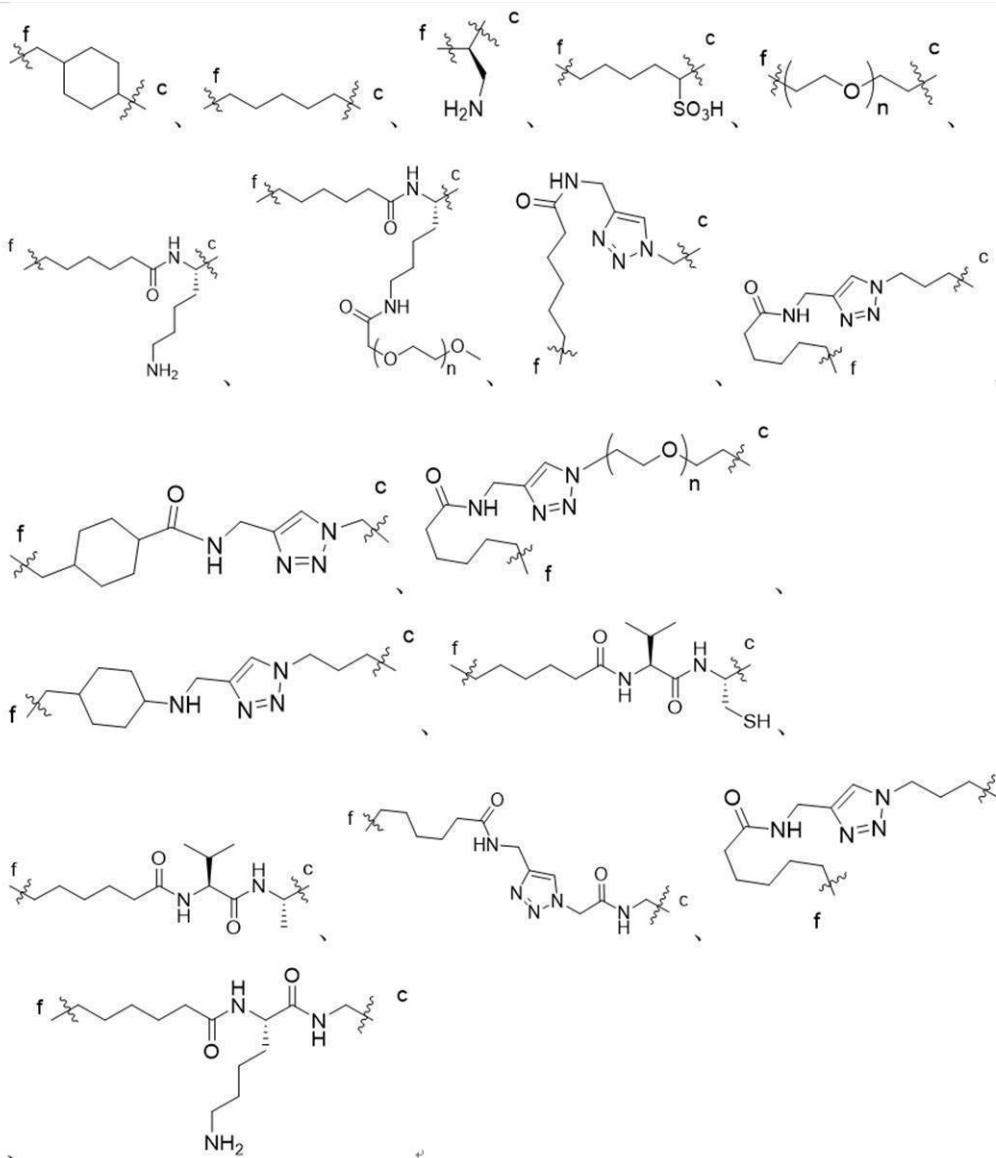


40

L₂ は

50

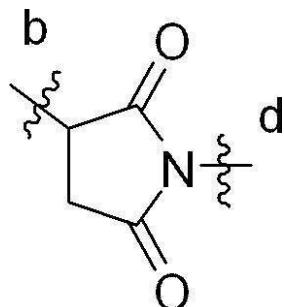
【化109】



であり、ここで、nは独立して1～12であり、c端は前記L₁のe端に接続され、f端は前記L₃のd端に接続され；

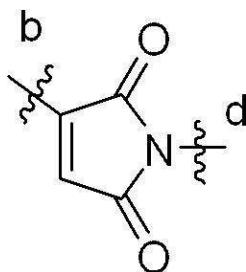
L₃は

【化110】



又は、

【化111】



であり、ここで、b端は前記A bに接続され、d端は前記L₂のf端に接続され；

10

ここで、Lは独立してフェニルアラニン残基、グリシン残基、グルタミン酸残基、アスパラギン酸残基、システイン残基、グルタミン酸残基、ヒスチジン残基、イソロイシン残基、ロイシン残基、リジン残基、メチオニン残基、プロリン残基、セリン残基、スレオニン残基、トリプトファン残基、チロシン残基又はバリン残基であり；pは2～4であり；

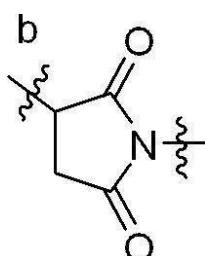
R₁は-NR¹⁻¹R¹⁻²置換のC₁～C₆アルキル、R¹⁻³S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキル、C₁～C₆アルキル、C₃～C₁₀シクロアルキル、C₆～C₁₄アリール又は5～14員ヘテロアリールであり；前記5～14員のヘテロアリールのヘテロ原子は、N、O及びSから選択される1つ又は複数であり、ヘテロ原子の数は1、2、3、又は4であり；

前記R¹⁻¹、R¹⁻²及びR¹⁻³は独立してC₁～C₆アルキルであり；

20

前記L₁の構造が式Iで表される通りである場合、前記L₃が

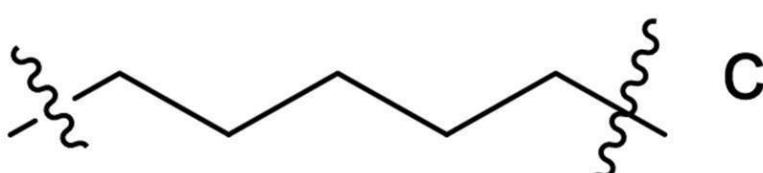
【化112】



である場合、前記L₂は

30

【化113】



ではない。

【0101】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体において、特定の基は以下の定義を有し、言及されていない基の定義は、上記の方法のいずれかに記載された通りであり（以下、本段落の内容で「本発明の好ましい実施形態において」という）：

40

【0102】

前記抗体は、抗腫瘍ADCの分野における従来の抗体であり得、本発明は、好ましくは、抗HER2抗体Trastuzumab又はそのバリアント、抗B7-H3抗体P2E5又はそのバリアント、抗Claudin18.2抗体IMAB362又はそのバリアント、又は抗Trastuzumab又はそのバリアント、抗B7-H3抗体P2E5又はそのバリアント、又は抗Claudin18.2抗体IMAB362又はそのバリアントであ

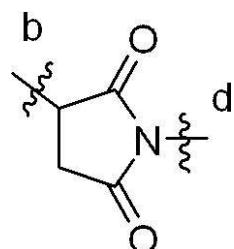
50

り、更により好ましくは、抗HER2抗体HER2抗体Trastuzumab又はそのバリアント、又は抗Claudin18.2抗体IMAB362又はそのバリアントであり、最も好ましくは、抗HER2抗体Trastuzumab又は抗Claudin18.2抗体IMAB362である。前記抗HER2抗体Trastuzumabの軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号6に示された通りである。前記抗B7-H3抗体P2E5の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号8に示された通りである。前記抗Claudin18.2抗体IMAB362の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号2に示された通りである。前記抗Trop2抗体RS7の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号3に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号4に示された通りである。

【0103】

本発明の好ましい実施形態において、前記L₃のb端は、好ましくは、前記抗体のスルフヒドリル基と、チオエーテル結合の形態で接続されている。

【化114】

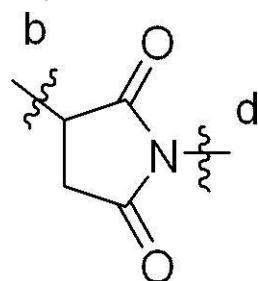


10

20

を例として、

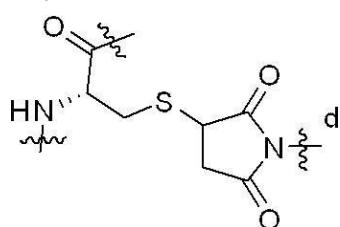
【化115】



30

と前記抗体のシステイン残基への接続形態は

【化116】



40

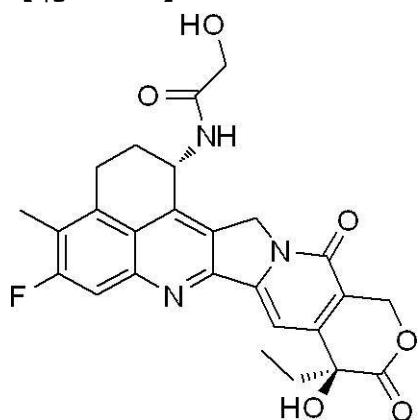
である。

【0104】

本発明の好ましい実施形態において、前記細胞阻害性薬物はADC分野における従来の細胞阻害性薬物であり得、本発明は、特に好ましくは、ヒドロキシル基を含むトポイソメラーゼ阻害剤であり、より好ましくは、ヒドロキシル基を含むトポイソメラーゼI阻害剤であり、更により好ましくは、カンプトテシン又はその誘導体であり、又、更に好ましくは、

50

【化117】

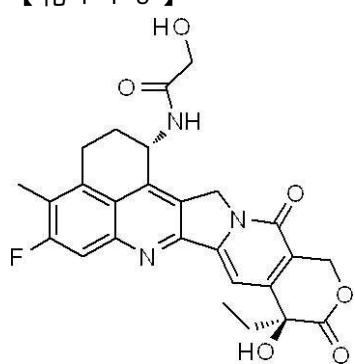


10

である。

前記L₁は、好ましくは、前記細胞阻害性薬物のヒドロキシル基とエーテル結合の形態で接続されている。前記L₁が

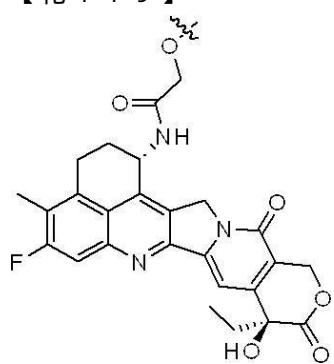
【化118】



20

と接続した後、前記抗体薬物複合体に残っている細胞阻害性薬物の断片は、好ましくは、

【化119】



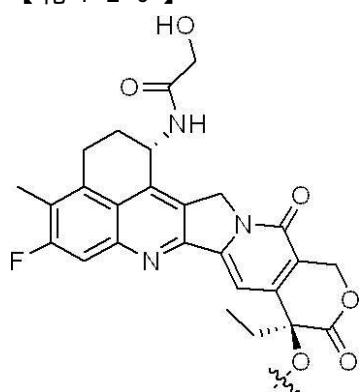
30

又は、

40

50

【化120】

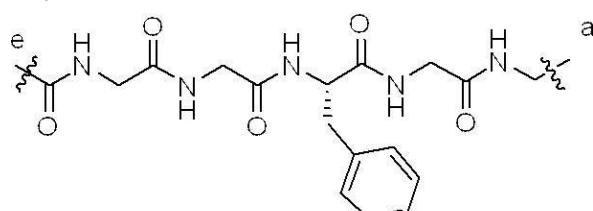


10

である。

【0105】

【化121】

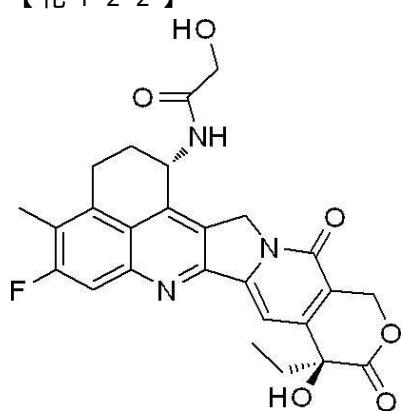


20

I

及び

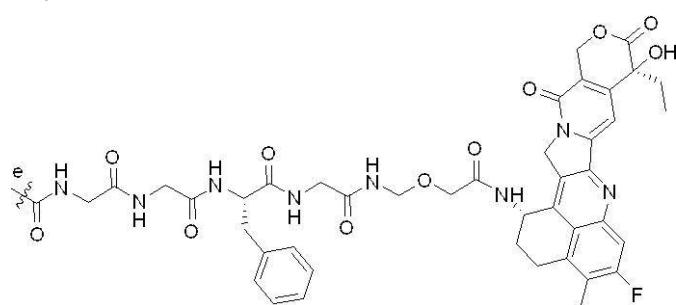
【化122】



30

を例として、前記 - L₁ - D は

【化123】

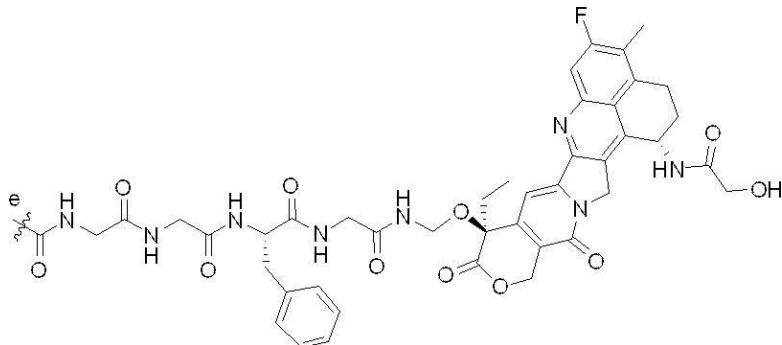


40

又は、

50

【化124】



10

であり得る。

【0106】

本発明の好ましい実施形態において、前記R¹が-NR¹-1R¹-2置換のC₁～C₆アルキルである場合、前記C₁～C₆アルキルは、好ましくは、C₁～C₄アルキルであり、より好ましくは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり、最も好ましくは、エチルである。前記R¹-1及びR¹-2は、それぞれ独立して、好ましくはC₁～C₄アルキル基であり、より好ましくはメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり、最も好ましくはメチルである。

20

【0107】

本発明の好ましい実施形態において、前記R¹がR¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキルである場合、前記C₁～C₆アルキルは、好ましくは、C₁～C₄アルキルであり、より好ましくは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり、最も好ましくは、エチルである。前記R¹-3は、好ましくは、C₁～C₄アルキルであり、より好ましくは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり、最も好ましくは、メチルである。

【0108】

本発明の好ましい実施形態において、前記R¹がC₁～C₆アルキルである場合、前記C₁～C₆アルキルは、好ましくは、C₁～C₄アルキルであり、より好ましくは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり、最も好ましくは、メチルである。

30

【0109】

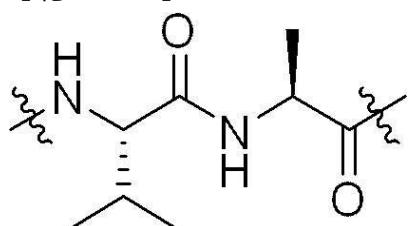
本発明の好ましい実施形態において、前記mは、好ましくは、4～8であり、より好ましくは、7～8である（例えば、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8）。

【0110】

本発明の好ましい実施形態において、前記Lは、好ましくは、バリン残基又はアラニン残基であり、pは好ましくは、2である。前記(L)pは、更に好ましくは、

40

【化125】



であり、アミノ端が式IIIで表されるカルボニル端に接続されている。

【0111】

本発明の好ましい実施形態において、前記nは好ましくは、8～12である（例えば、

50

8 及び 12)。

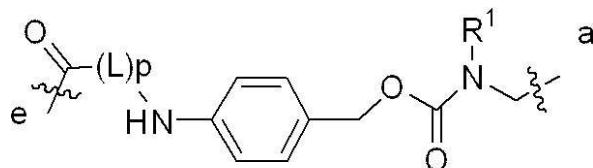
【0112】

本発明の好ましい実施形態において、前記 R¹⁻¹、R¹⁻² 及び R¹⁻³ は、独立して、好ましくは、C₁ ~ C₄ アルキル基であり、より好ましくは、メチル、エチル、n-ブロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又は、tert-ブチルであり、最も好ましくは、メチルである。

【0113】

本発明の好ましい実施形態において、前記

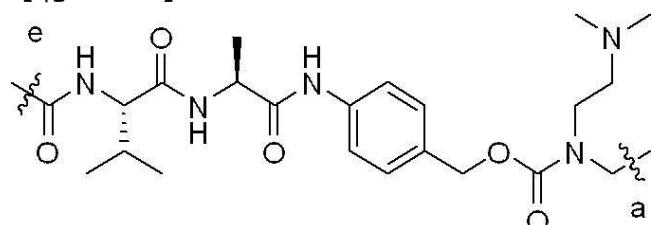
【化126】



10

は、好ましくは、

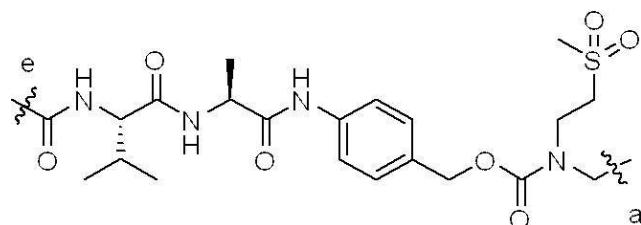
【化127】



20

又は

【化128】



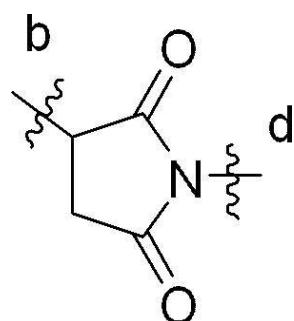
30

である。

【0114】

本発明の好ましい実施形態において、前記 L₃ は、好ましくは、

【化129】



40

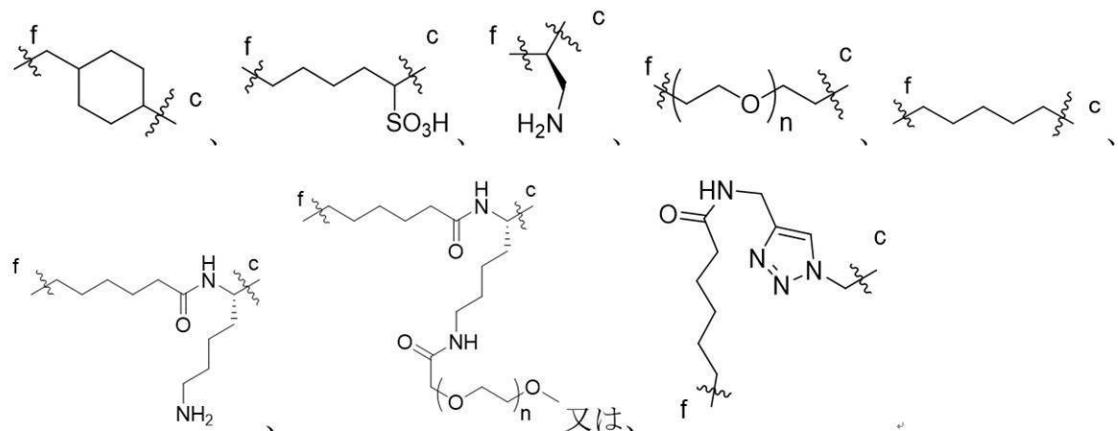
である。

【0115】

50

本発明の好ましい実施形態において、 L_1 の構造が式Iで表される通りである場合、前記 L_2 は

【化130】



10

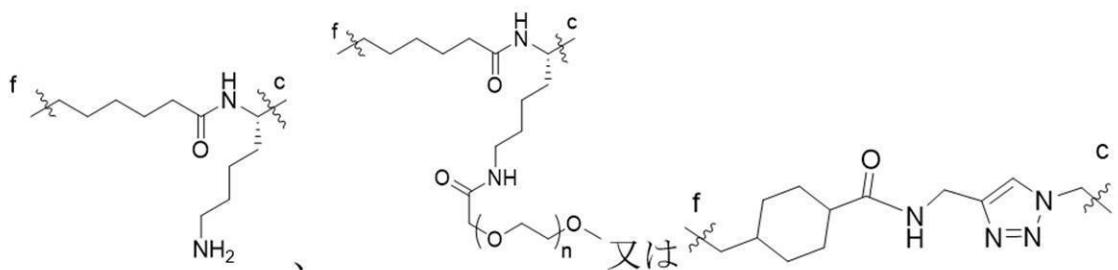
である。

【0116】

本発明の好ましい実施形態において、 L_1 の構造が式IIで表される通りである場合、前記 L_2 は、好ましくは、

20

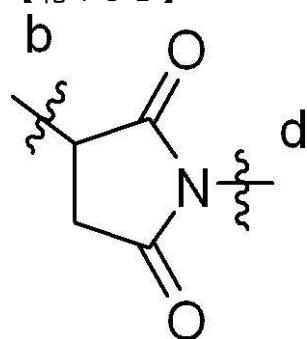
【化131】



30

であり；前記 L_3 は、好ましくは、

【化132】



40

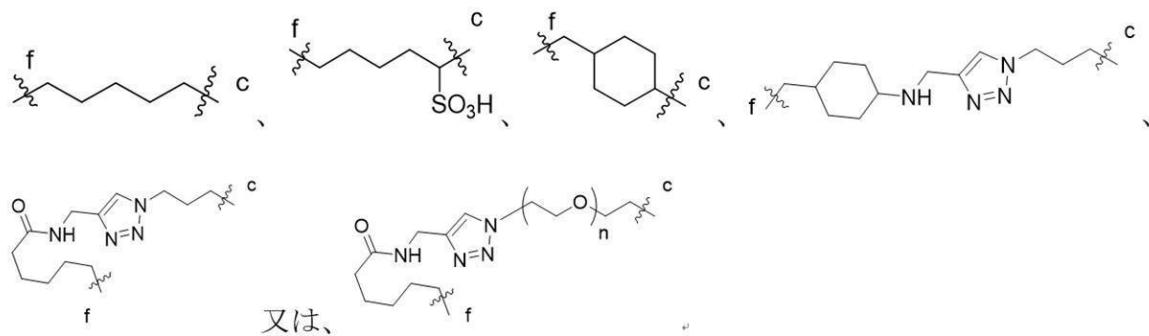
である。

【0117】

本発明の好ましい実施形態において、 L_1 の構造が式IIIで表される通りである場合、前記 L_2 は、好ましくは、

50

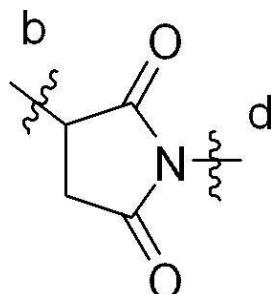
【化133】



10

であり；前記L₃は、好ましくは、

【化134】



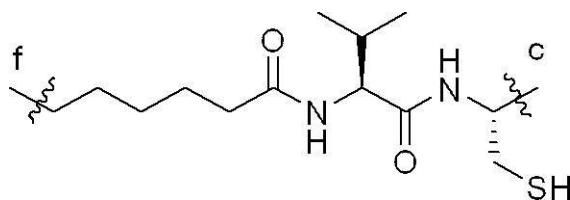
20

である。

【0118】

本発明の好ましい実施形態において、L₁の構造が式IVで表される通りである場合、前記L₂は、好ましくは、

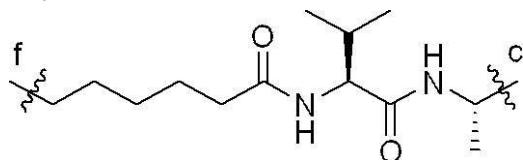
【化135】



30

又は、

【化136】

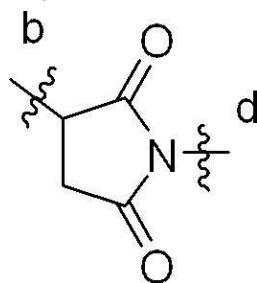


40

であり；前記L₃は、好ましくは、

50

【化137】



である。

10

【0119】

本発明の好ましい実施形態において、前記R¹は、好ましくは、-NR¹-1R¹-2置換のC₁～C₆アルキル、R¹-3S(O)₂-置換のC₁～C₆アルキル又はC₁～C₆アルキルである。

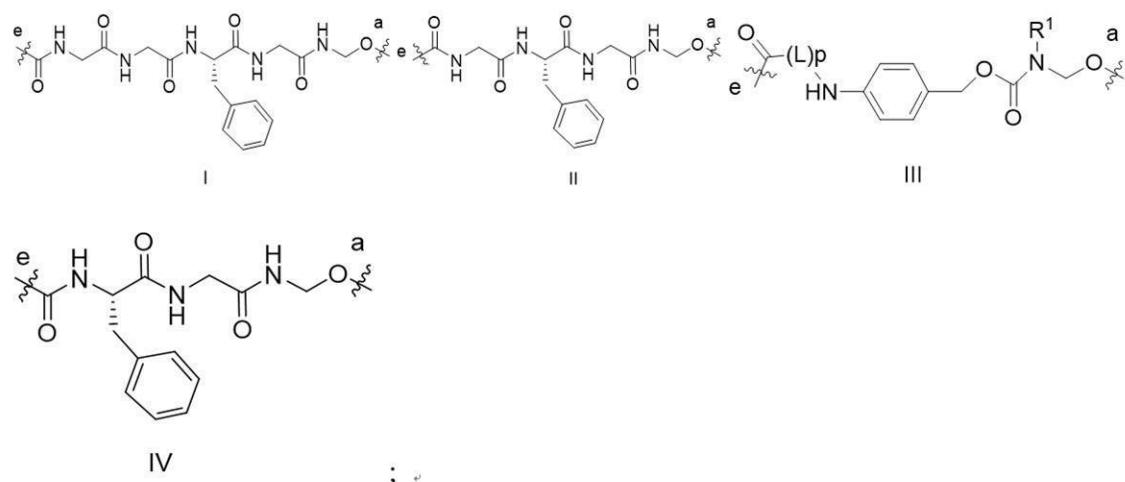
【0120】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体において、前記Abは、抗HER2抗体Trastuzumab、抗B7-H3抗体P2E5又はそのバリエント、又は抗Caludin18.2抗体IMAB362又はそのバリエントであり；前記Dは細胞阻害性薬物であり；前記mは2～8であり；

L₁の構造は式I、II、III、又はIVで表される通りである。

20

【化138】



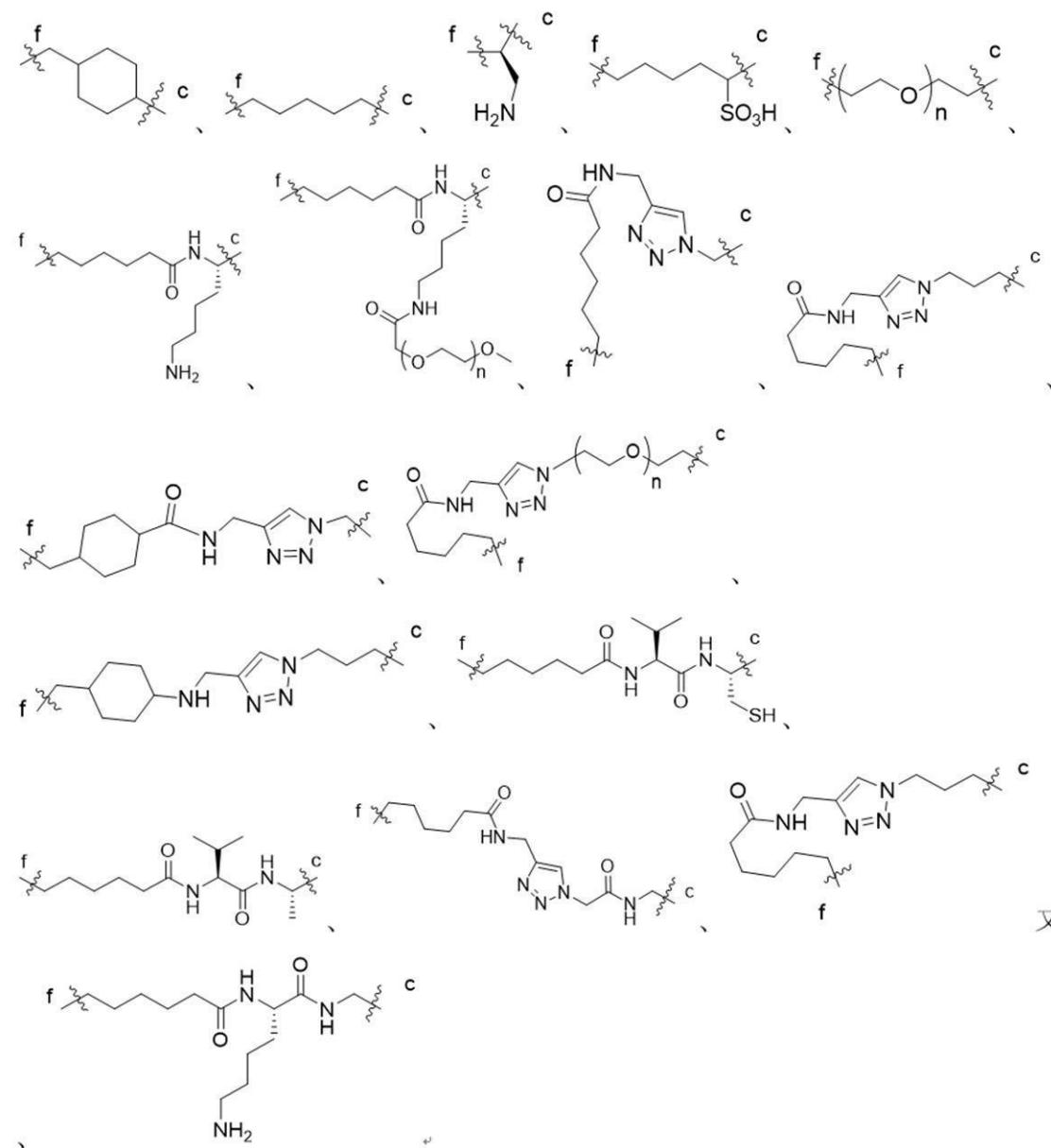
前記L₂は

30

40

50

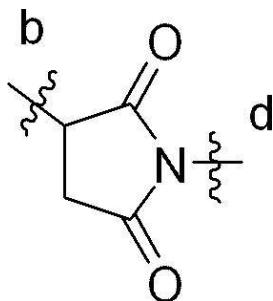
【化139】



であり、前記 n は独立して 8 ~ 12 であり；

前記 L_3 は

【化140】



であり；

前記 L は独立してバリン残基又はアラニン残基であり；前記 p は 2 ~ 4 であり；

前記 R^1 は $-NR^1-^1R^1-^2$ 置換の $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $R^1-^3S(O)_2-$ 置換の $C_1 \sim C_6$ アルキル又は $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

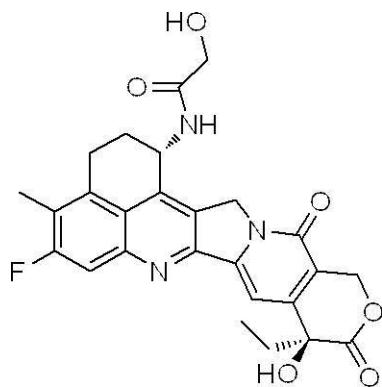
前記 R¹ - 1、R¹ - 2 及び R¹ - 3 はそれぞれ独立して C₁ ~ C₆ アルキルであり；ここで、前記抗 H E R 2 抗体 T r a s t u z u m a b の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 5 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 6 に示された通りであり；前記抗 B 7 - H 3 抗体 P 2 E 5 の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 7 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 8 に示された通りであり；前記抗 C l a u d i n 1 8 . 2 抗体 I M A B 3 6 2 の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 1 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 2 に示された通りである。

【0121】

10

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体において、前記 A_b は、抗 H E R 2 抗体 T r a s t u z u m a b 、抗 B 7 - H 3 抗体 P 2 E 5 又はそのバリエント、又は抗 C l a u d i n 1 8 . 2 抗体 I M A B 3 6 2 又はそのバリエントであり；前記 D は

【化141】

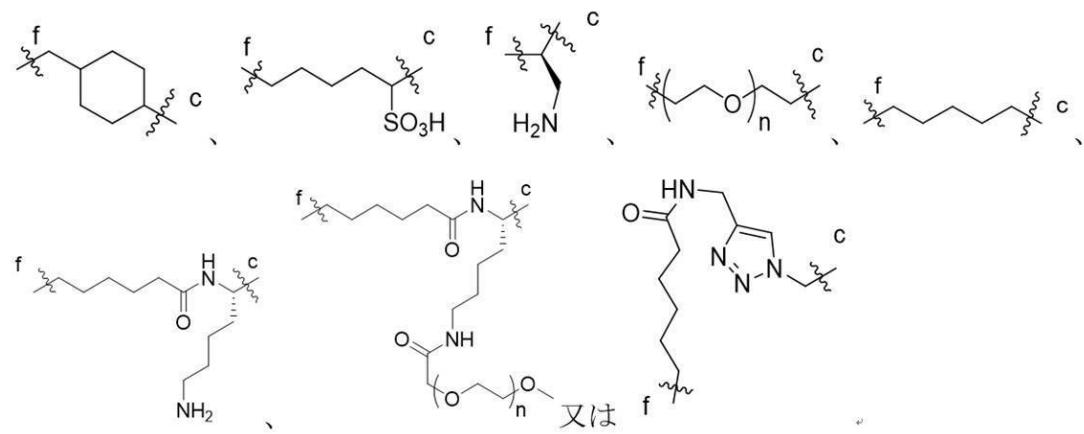


20

であり；前記 m は 7 ~ 8 であり；

前記 L₁ の構造が式 I で表される通りである場合、前記 L₂ は

【化142】



30

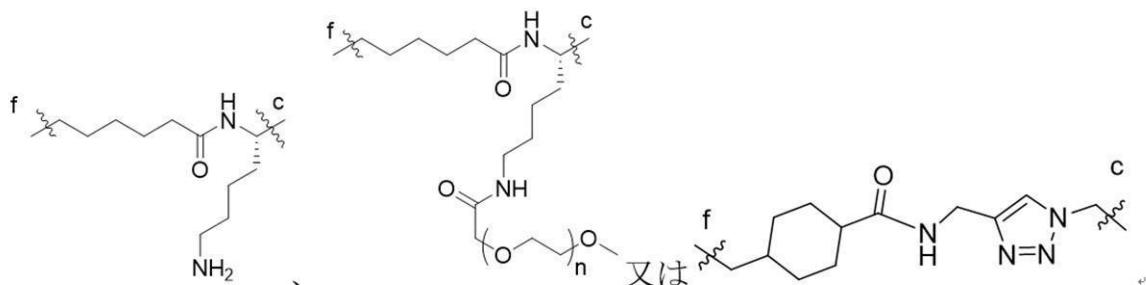
であり；前記 n は独立して 8 ~ 12 であり；

前記 L₁ の構造が式 I I で表される通りである場合、前記 L₂ は

40

50

【化 1 4 3】

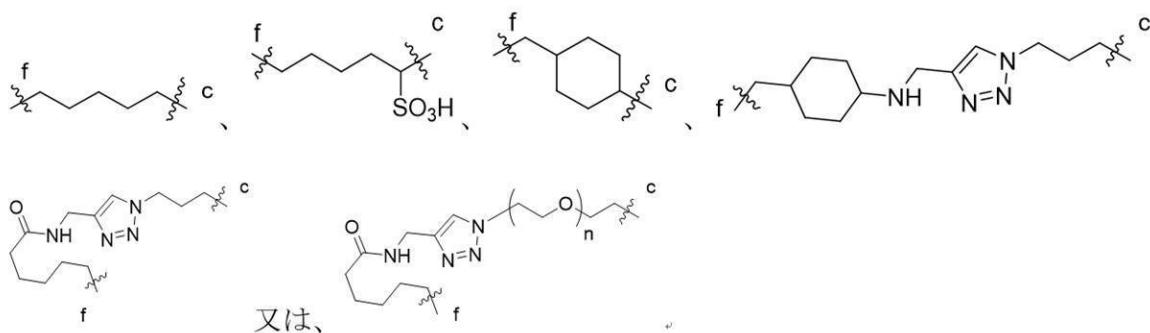


10

であり；前記 n は独立して 8 ~ 12 であり；

前記 L_1 の構造が式 III で表される通りである場合、前記 L_2 は

【化 1 4 4】

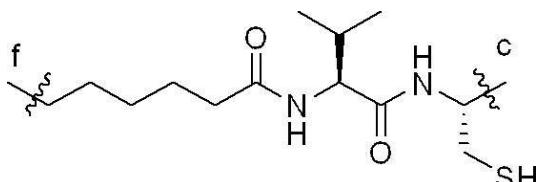


20

であり；前記 n は独立して 8 ~ 12 であり；

前記 L_1 の構造が式 I V で表される通りである場合、前記 L_2 は

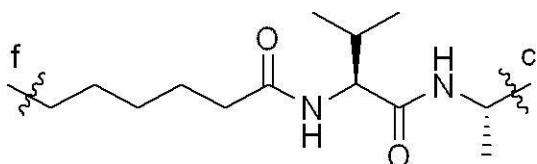
【化 1 4 5 】



30

又は、

【化 1 4 6】

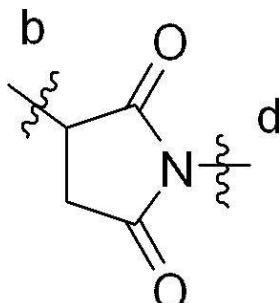


40

であり；

前記 L 3 は

【化 1 4 7】



50

であり；

前記 L は独立してバリン残基又はアラニン残基であり；前記 p は 2 ~ 4 であり；

前記 R¹ は - N R¹ - 1 R¹ - 2 置換の C₁ ~ C₄ アルキル、R¹ - 3 S(O)₂ - 置換の C₁ ~ C₄ アルキル、又は C₁ ~ C₄ アルキルであり；前記 R¹ - 1、R¹ - 2 及び R¹ - 3 は独立して C₁ ~ C₄ アルキルであり；

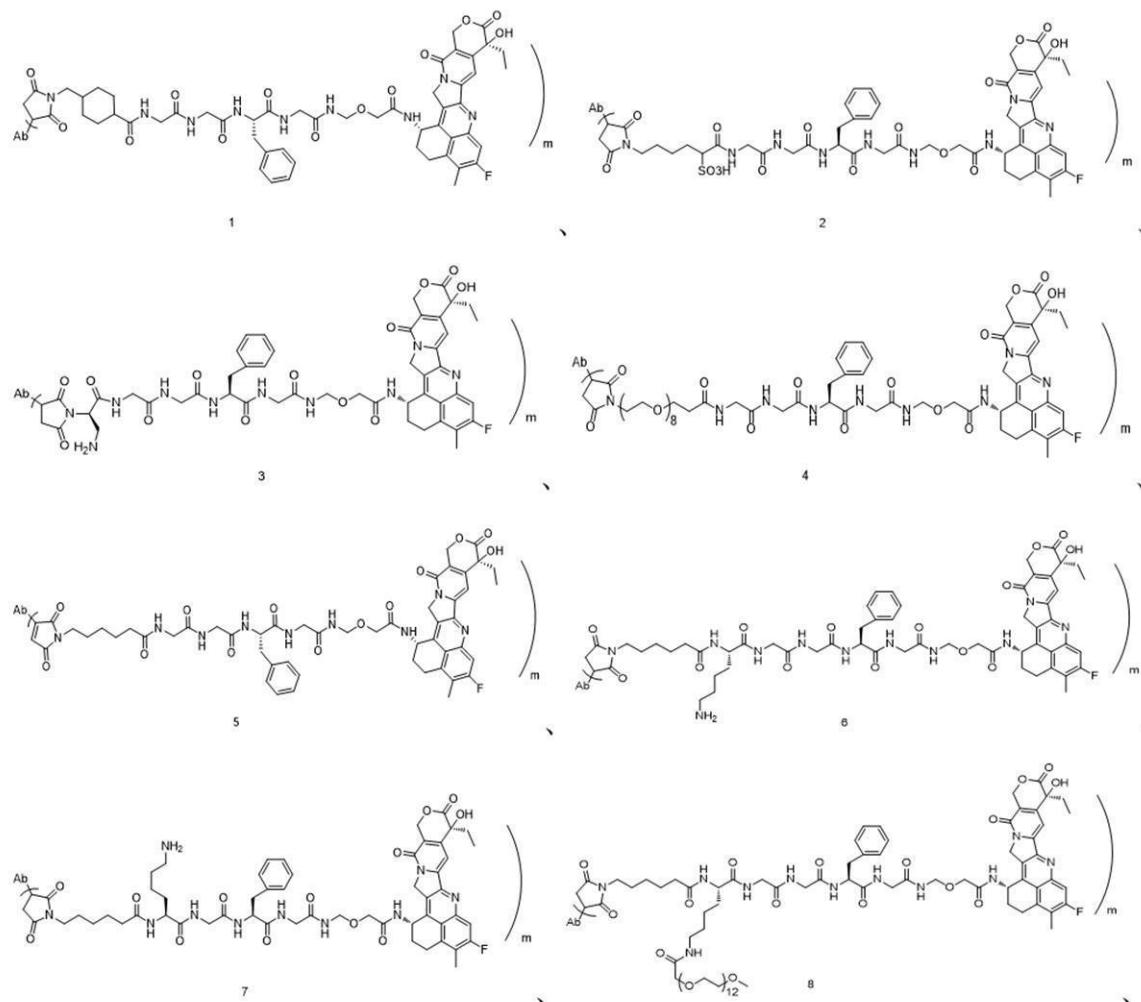
前記抗 H E R 2 抗体 Trastuzumab の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 5 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 6 に示された通りであり；前記抗 B 7 - H 3 抗体 P 2 E 5 の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 7 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 8 に示された通りであり；前記抗 C 1 a u d i n 1 8 . 2 抗体 I M A B 3 6 2 の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 1 に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号 2 に示された通りである。

【 0 1 2 2 】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

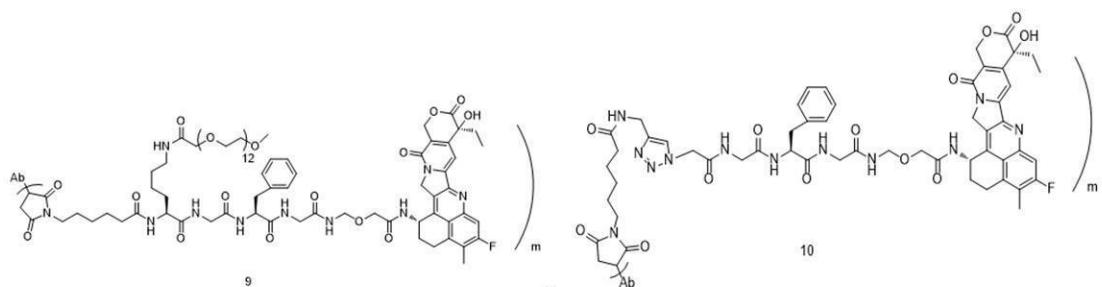
【 0 1 2 3 】

【 化 1 4 8 】

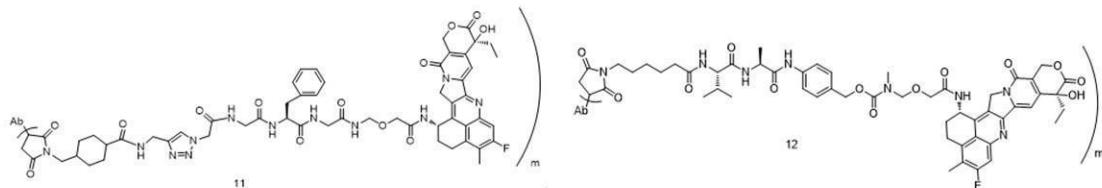


【 0 1 2 4 】

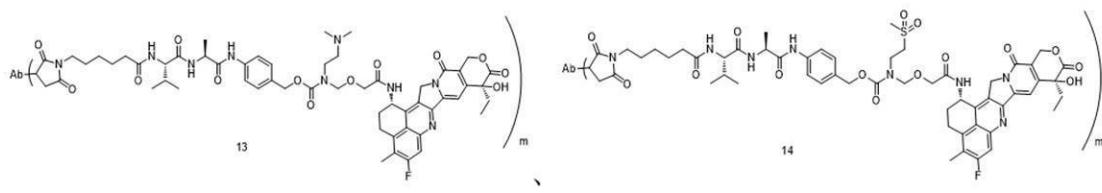
【化 1 4 9】



10

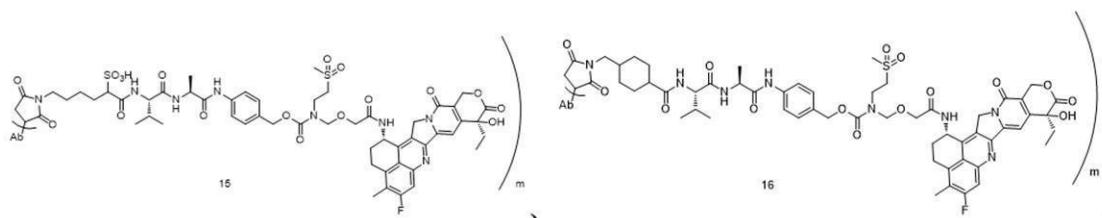


20



【0 1 2 5】

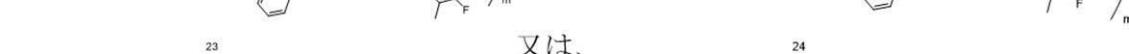
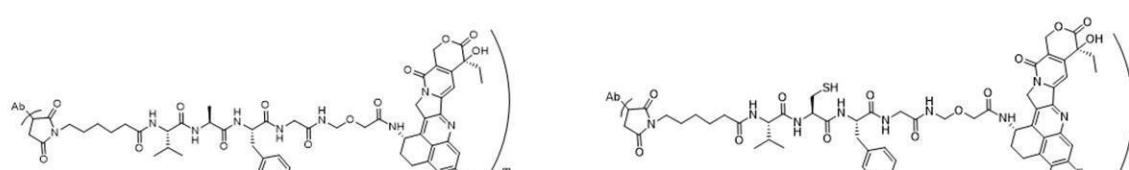
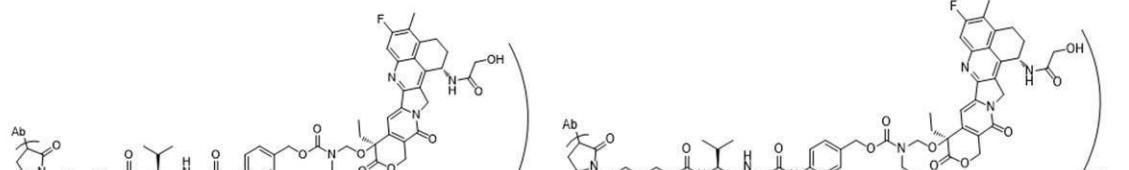
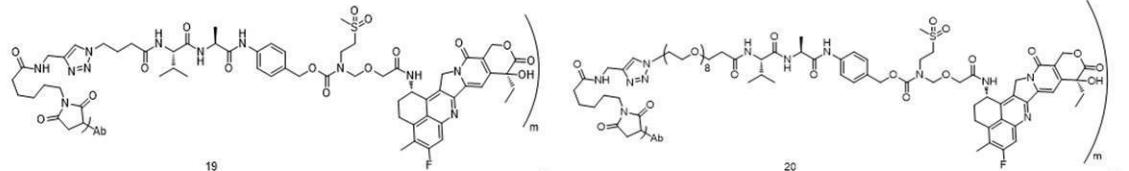
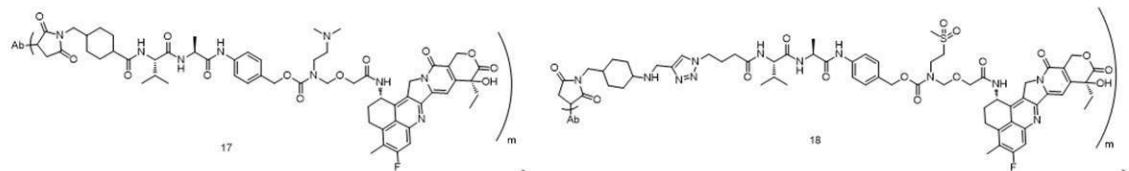
30



40

50

【化 150】



又は、

【0126】

であり、ここで、Abは抗HER2抗体Trastuzumab、抗B7-H3抗体P2E5又は抗Claudin18.2抗体IMAB362であり、mは7.3、7.4、7.5、7.6、7.7又は7.8であり；前記抗HER2抗体Trastuzumabの軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号6に示された通りであり；前記抗B7-H3抗体P2E5の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号8に示された通りであり；前記抗Claudin18.2抗体IMAB362の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号2に示された通りである。

【0127】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【0128】

10

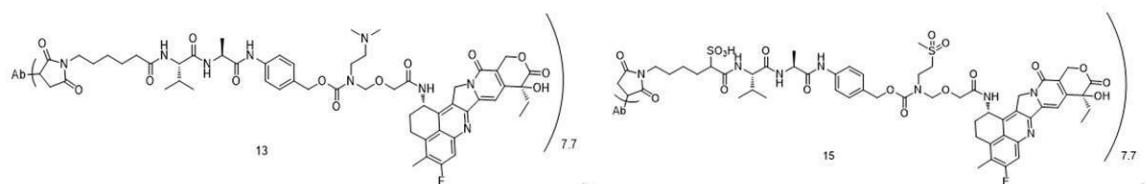
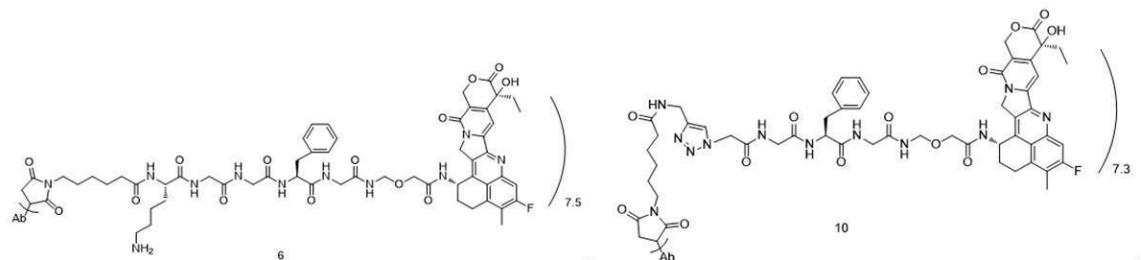
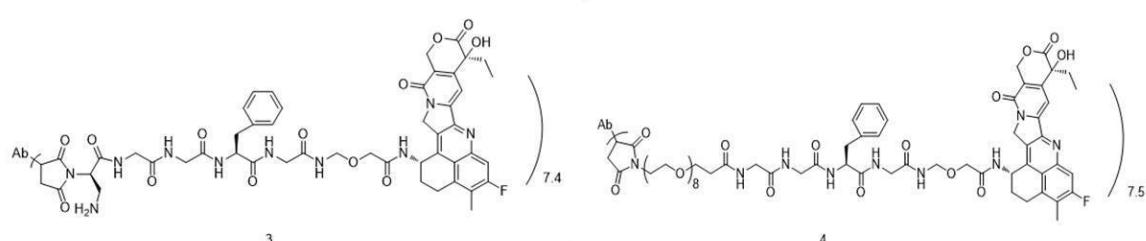
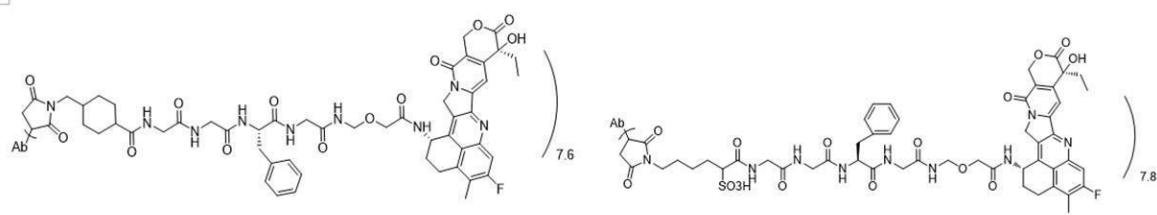
20

30

40

50

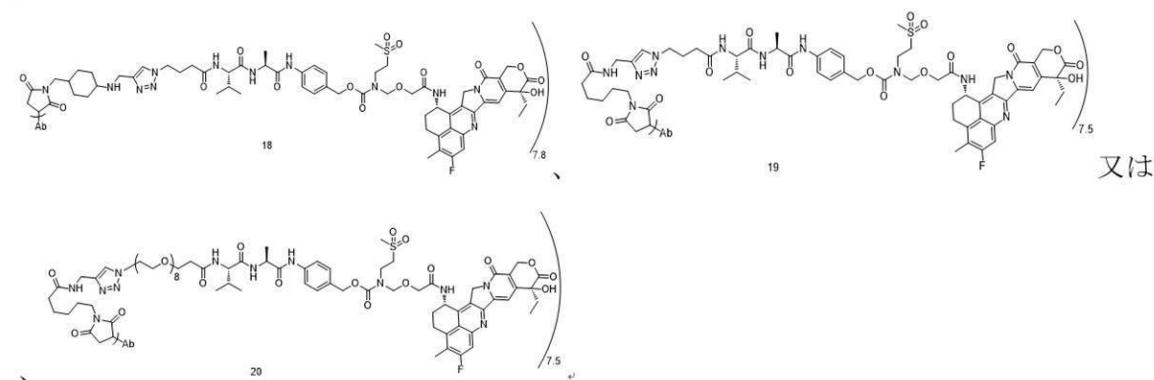
【化151】



【0129】

30

【化152】



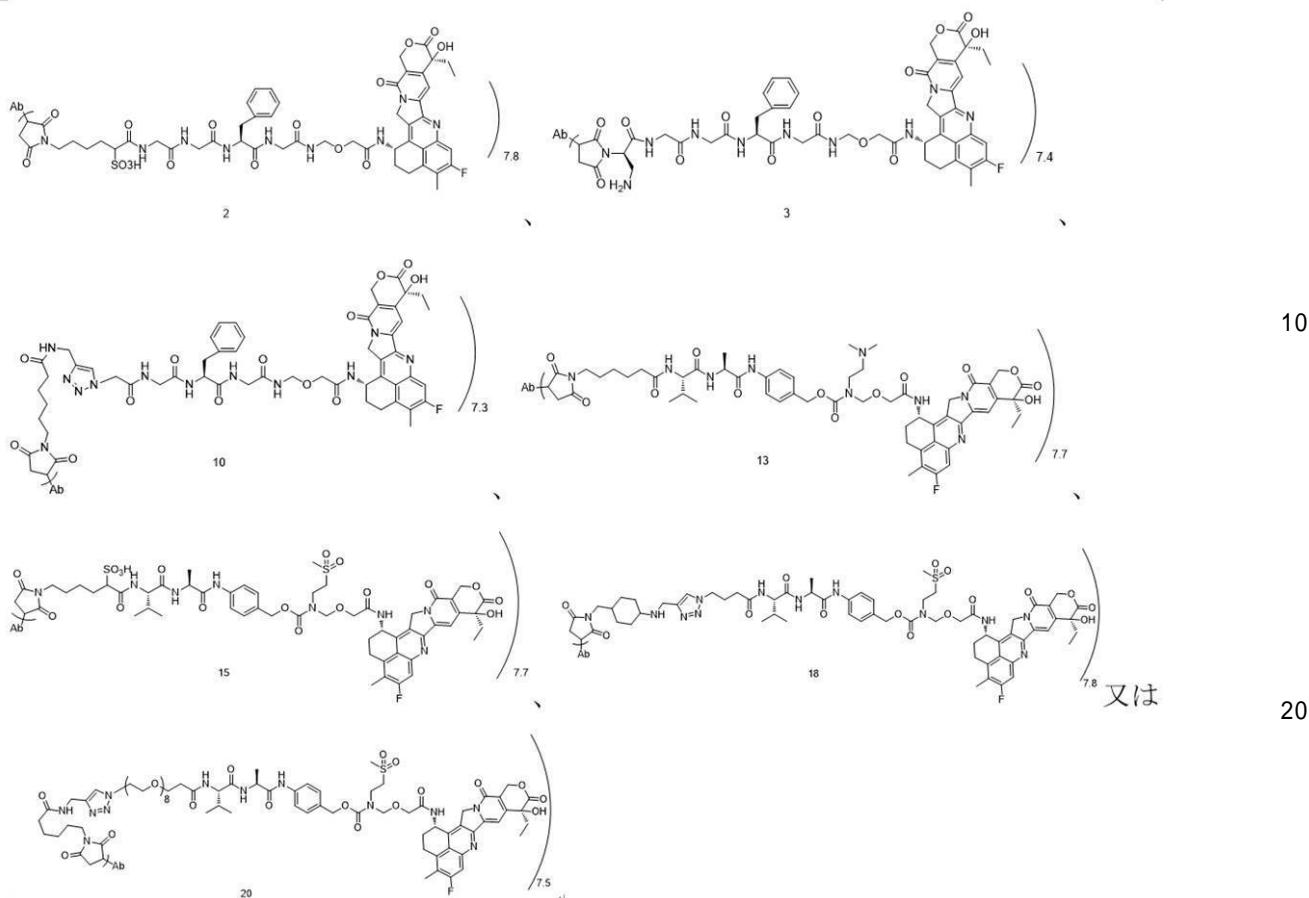
であり、好ましくは、

【0130】

40

50

【化 15 3】



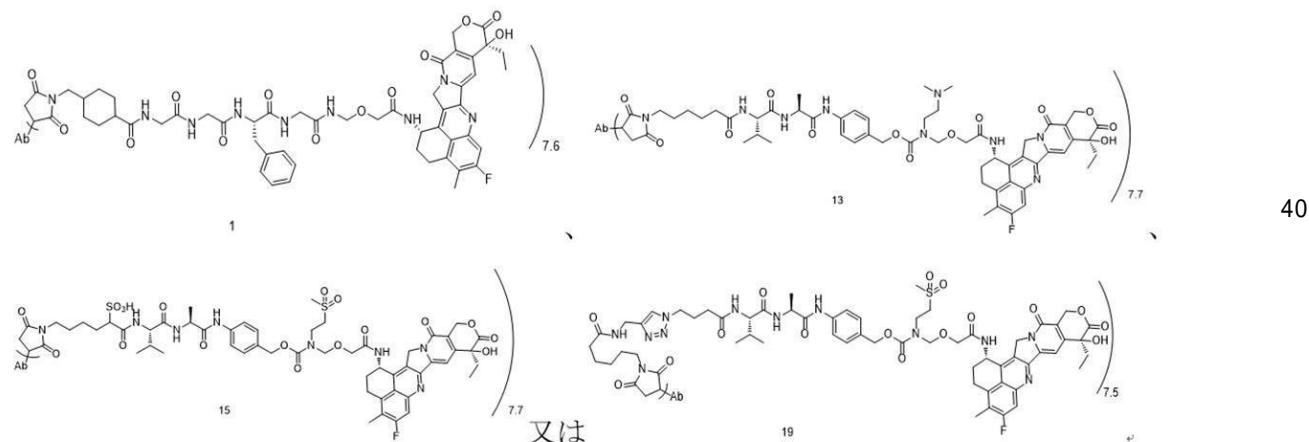
であり、ここで、Abは抗HER2抗体Trastuzumabであり；前記抗HER2抗体Trastuzumabの軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号6に示された通りである。

【0131】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【0132】

【化 15 4】



であり、ここで、Abは抗HER2抗体Trastuzumabであり；前記抗HER2抗体Trastuzumabの軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号6に示さ

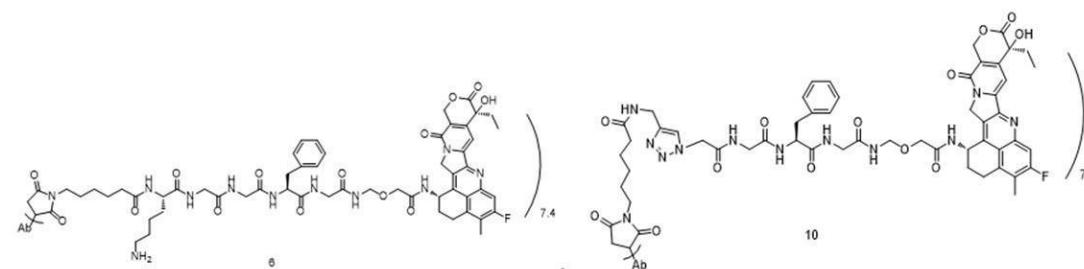
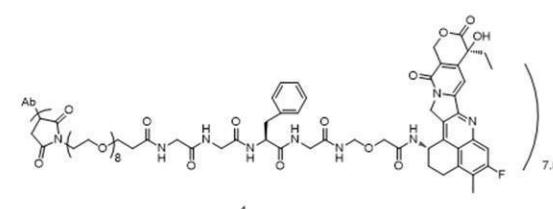
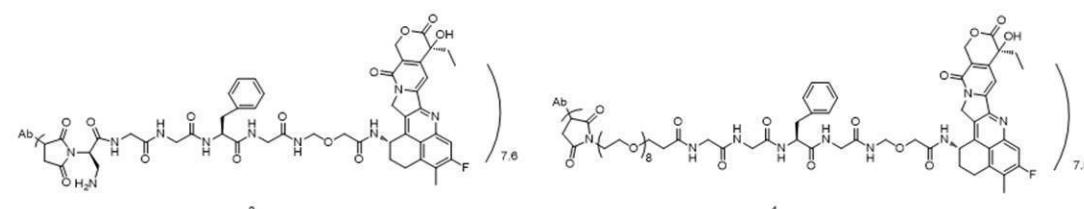
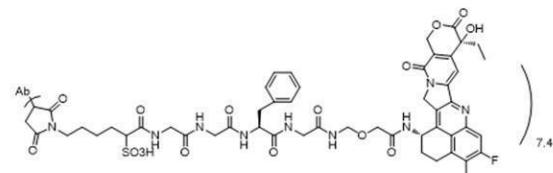
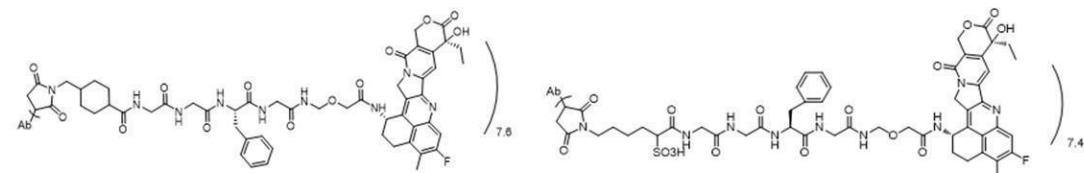
れた通りである。

【0133】

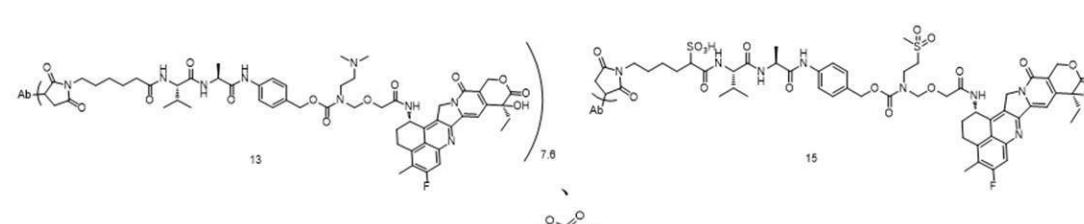
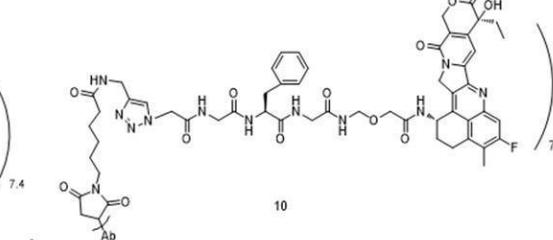
本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【0134】

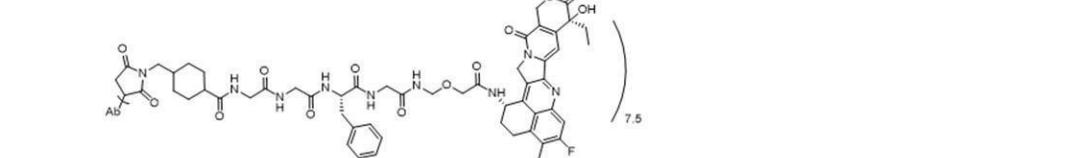
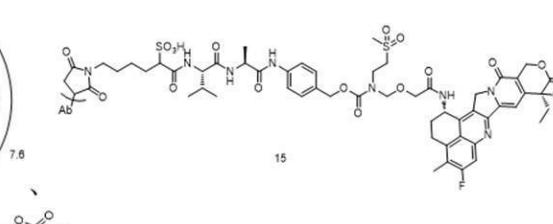
【化155】



10



15



又は、

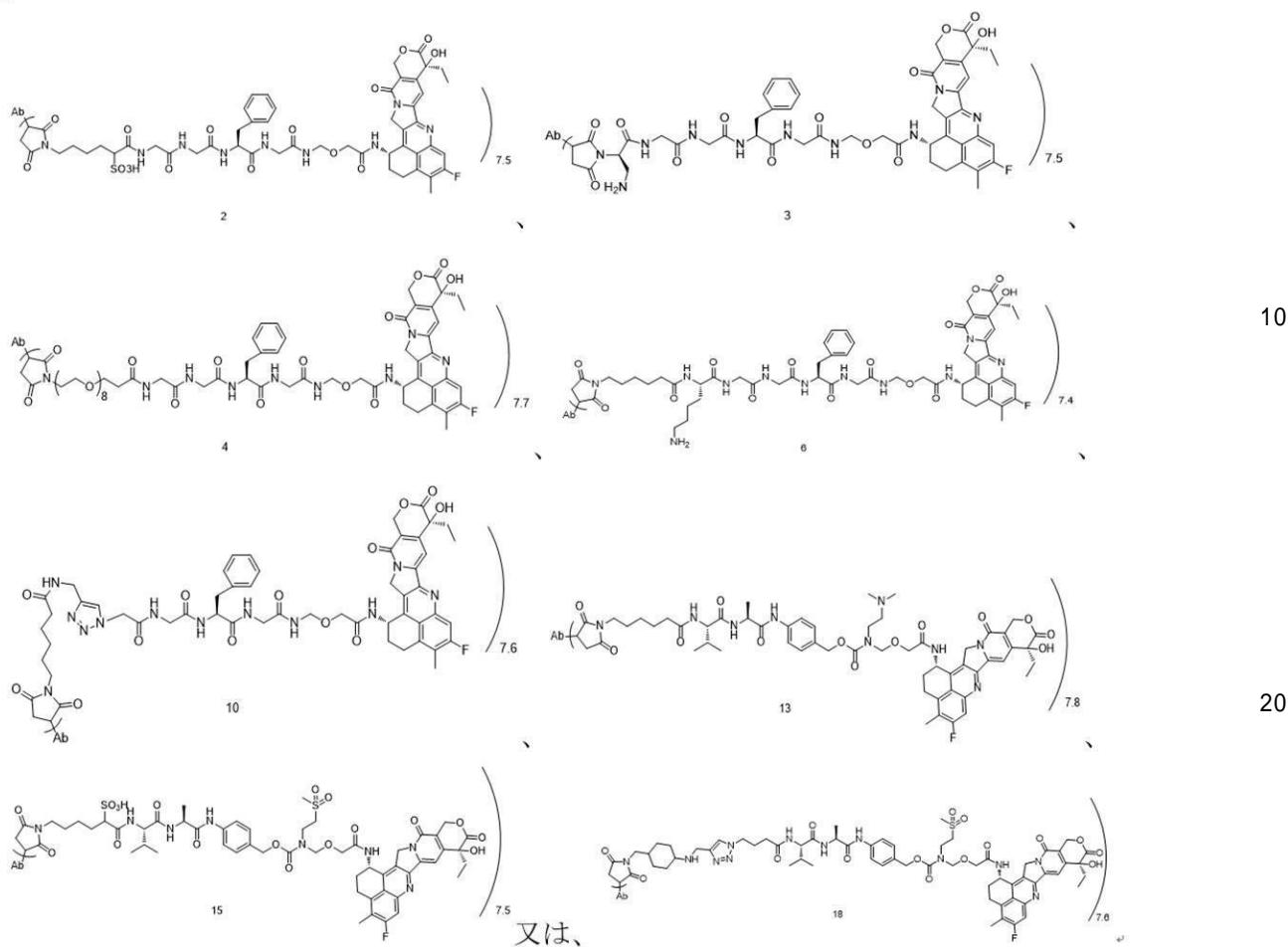
であり、ここで、AbはB7-H3抗体P2E5であり；前記抗B7-H3抗体P2E5の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号8に示された通りである。

【0135】

本発明の好ましい実施形態において、前記抗体薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいずれか一つの化合物であり：

【0136】

【化156】

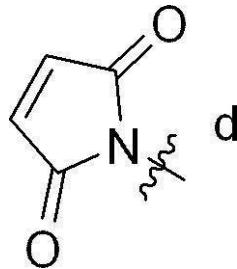


であり、ここで、Abは抗C1a undin18.2抗体IMAB362であり；前記抗C1a undin18.2抗体IMAB362の軽鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、好ましくは、配列表の配列番号2に示された通りである。

【0137】

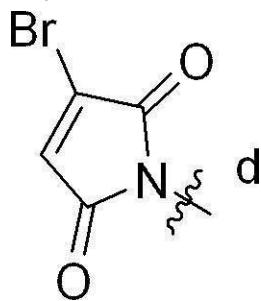
本発明は、更にリンカー-薬物複合体を提供し、その構造式はL₄-L₂-L₁-Dであり；ここで、L₄は

【化157】



又は、

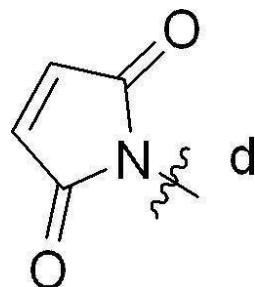
【化158】



10

であり；L₂、L₁及びDは上記で定義された通りであり、L₂のf端は前記のL₄のd端に接続され；前記のL₄が

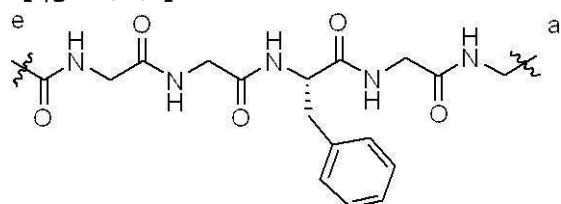
【化159】



20

であり、前記のL₁が

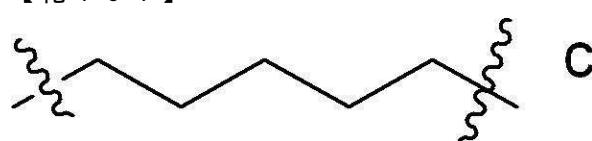
【化160】



30

である場合、前記のL₂は

【化161】



ではない。

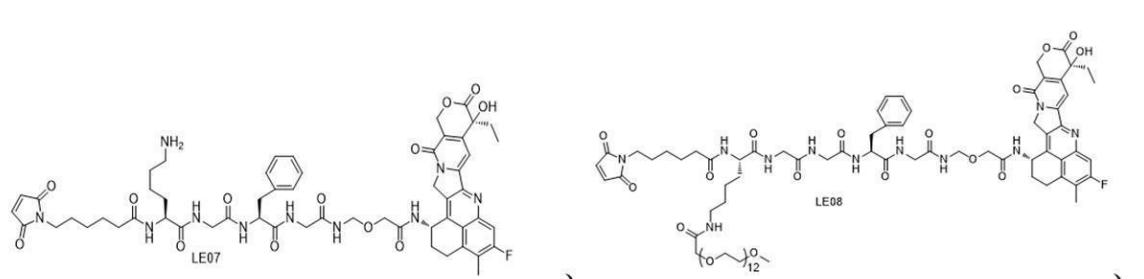
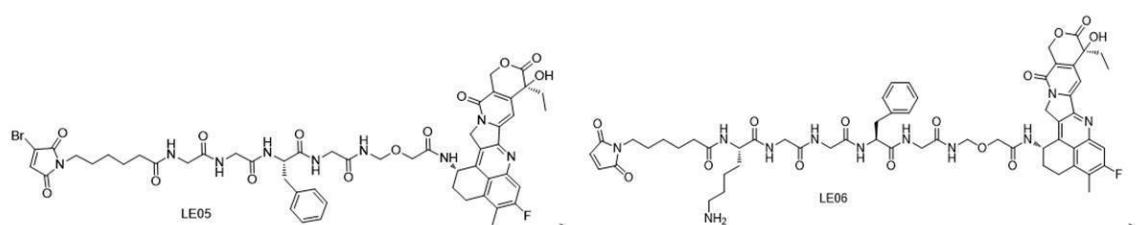
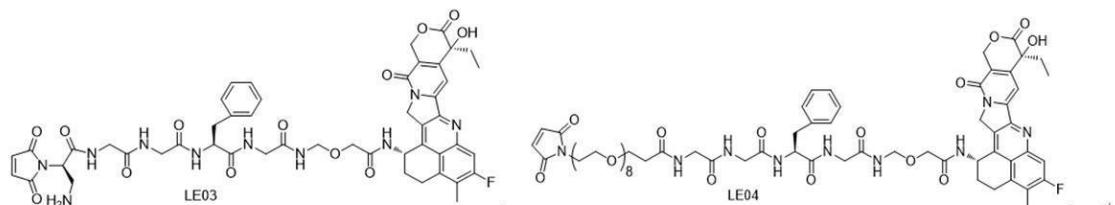
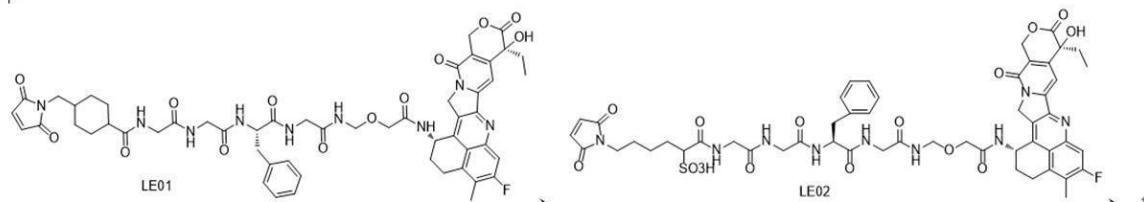
【0138】

本発明の好ましい実施形態において、前記リンカー-薬物複合体は、好ましくは、以下に示されるいづれか一つの化合物であり：

40

50

【化 1 6 2】



【0 1 3 9】

10

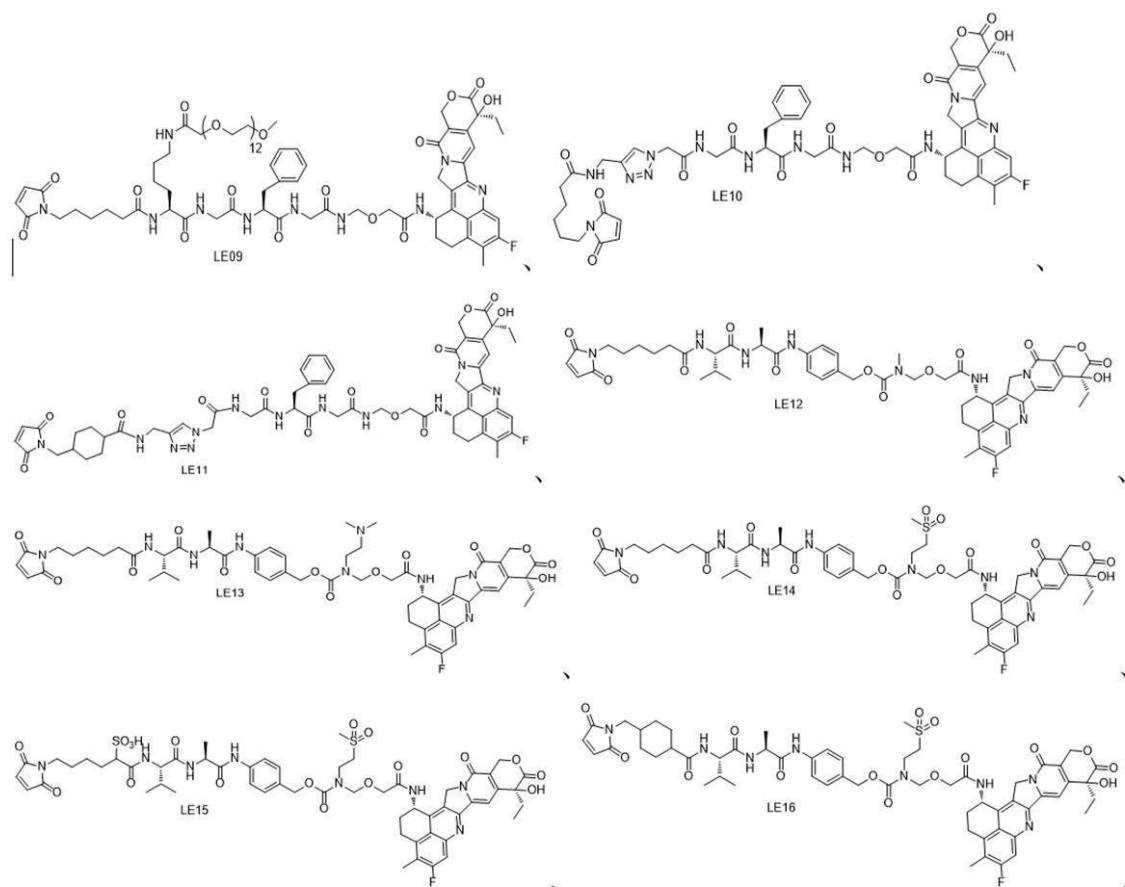
20

30

40

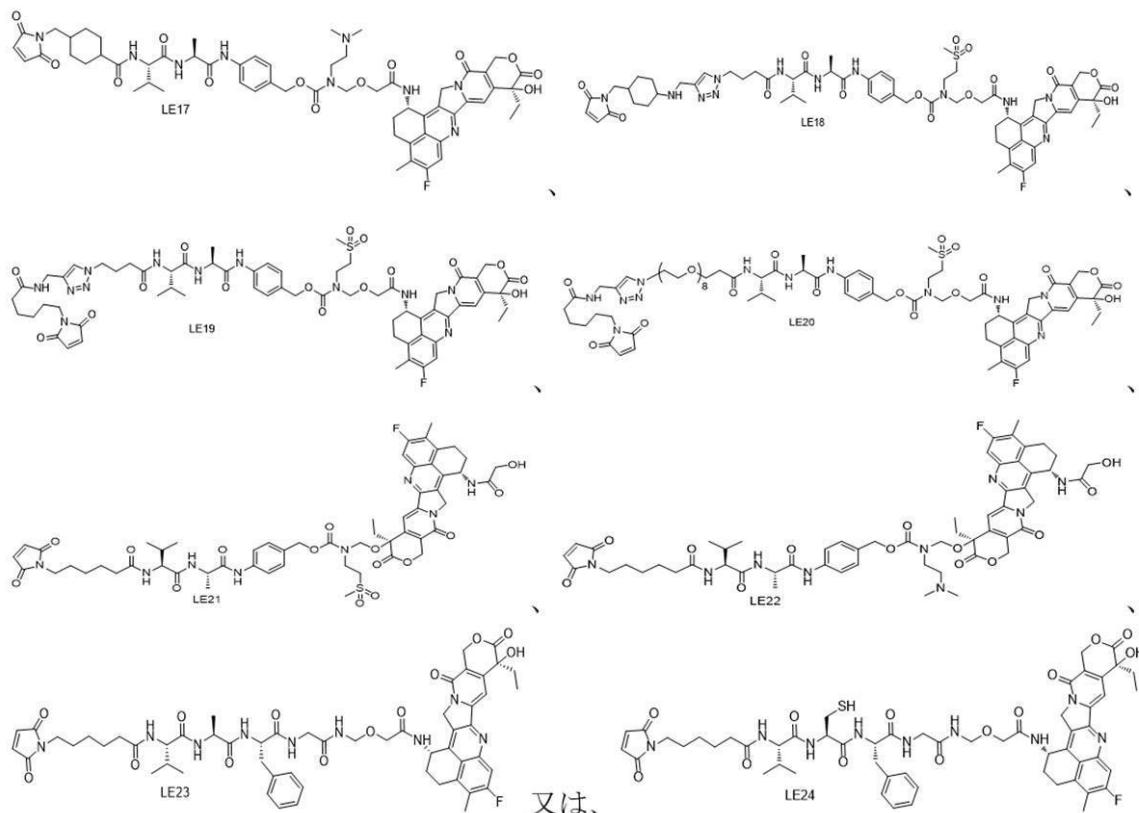
50

【化163】



【0140】

【化164】

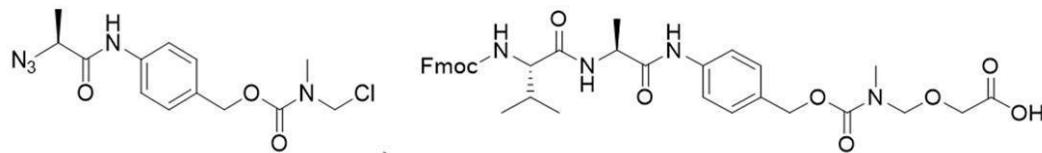


である。

【0141】

本発明は、更に、以下に示される化合物を提供し、

【化165】



である。

【0142】

本発明は、上記リンカー - 薬物複合体と上記抗体をカップリングさせる工程を含む上記抗体薬物複合体の製造方法を提供する。

【0143】

本発明において、前記のカップリングの条件及び操作は、当技術分野におけるカップリングの通常の条件及び操作である。

【0144】

本発明は、更に上記の抗体薬物複合体及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。

【0145】

本発明は、更に癌を予防又は治療する医薬の製造における上記抗体薬物複合体又は上記医薬組成物の使用を提供する。前記癌は、好ましくは、胃癌、乳癌、非小細胞肺癌、尿路上皮癌又は膵臓癌である。

【0146】

本発明は、更に治療有効量の上記抗体薬物複合体又は上記医薬組成物を患者に投与することを含む、癌を予防及び/又は治療するための方法を提供する。前記癌は、好ましくは、胃癌、乳癌、非小細胞肺癌、尿路上皮癌又は膵臓癌である。

【0147】

本発明において、mは細胞阻害性薬物分子とAbのモル比(DARとも言う、即ち抗体薬物複合体比である)を表し、mは整数又は小数であり得る、好ましいは:モノクローナル抗体分子を細胞障害性薬物にカップリングし、得られる抗体薬物複合体中の薬物分子とモノクローナル抗体分子のモル比の平均値は、一般に疎水性クロマトグラフィー(Hydrophobic-Interaction Chromatography, HIC)、ポリアクリルアミド-SDSゲル電気泳動(SDS-PAGE, electrophoresis)、液体質量クロマトグラフィー(liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS)などで測定することができる理解される。

【0148】

本発明において、用語「C₁ ~ C₆アルキル」は、単独で又は組み合わせて1~6、特に1~4個の炭素原子を含む飽和直鎖又は分岐アルキル基を意味し、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル又はtert-ブチルであり、好ましくは、「C₁ ~ C₆アルキル」はメチル又はエチルである。

【0149】

本発明の抗体は、ハイブリドーマ法、組換えDNA技術、ファージディスプレイ技術、合成技術、又はこれらの技術の組み合わせ、又はこの分野で既知の他の技術など、この分野で既知の技術を用いて製造することができる。

【0150】

バリエントとは、天然ポリペプチドと同等の生物学的活性が保持されているという条件で、抗体のアミノ酸配列の突然変異体や、天然ポリペプチドの共有結合誘導体を指す。ア

ミノ酸配列の突然変異体と天然アミノ酸配列との違いは、一般に、天然アミノ酸配列中の1つ又は複数のアミノ酸が置換され又はポリペプチド配列での1つ又は複数のアミノ酸が欠失及び/又は挿入することである。欠失突然変異体には、天然ポリペプチドの断片と、N端及び/又はC端切断型突然変異体が含まれる。一般に、アミノ酸配列の突然変異体は、天然の配列と比較して、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、又は99%以上の相同性を有する。

【0151】

用語「治療」又は他の類似の同義語が、例えば癌に適用される場合、患者の体内の癌細胞の数を減らす、又は除去すること、又は癌の症状を軽減するための手順又はプロセスを指す。癌又は他の増殖性障害における「治療」は、必ずしも癌細胞又は他の障害が実際に解消されること、細胞又は障害の数が実際に軽減すること、又は、癌又は他の障害の症状が実際に減少することを意味するわけではない。通常、成功の可能性が低くても、癌の治療法が実行されるが、患者の病歴と推定生存期間を考慮すると、全体的に有益な行動方針を誘導するために行われることがある。

10

【0152】

用語「薬学的に許容される担体」は、有効量の本発明の活性物質を送達することができ、活性物質の生物学的活性を妨害せず、又宿主や患者に毒性副作用を有さない任意の製剤又は水、油、野菜及びミネラル、クリームベース、ローションベース、軟膏ベースなどを含む担体媒体の代表的担体を指す。これらのベースには、懸濁剤、粘着付与剤、浸透促進剤などが含まれる。それらの製剤は、化粧品領域又は局所薬物の分野の当業者によく知られている。

20

【0153】

本分野の常識に反しないことを前提に、上記各好適な条件を任意に組み合わせれば、本発明の各好適な実例が得られる。

【0154】

本発明で用いられる試薬及び原料はいずれも市販品として得られる。

【0155】

本発明の積極的な進歩効果は：本発明の抗体薬物複合体は、優れた生物学的活性、安定性及び均一性を有し、毒性副作用を減らし、又腫瘍細胞内でより速い酵素の放出速度を持っている。このような新規な抗体薬物複合体の使用は、細胞障害性薬剤を実現し、特に、微小管ADCに耐性のある腫瘍患者の治療のために、ADC分野におけるカンプトテシン化合物の幅広い使用を実現することが可能になる。

30

【発明を実施するための形態】

【0156】

表1 略語の説明

40

50

【表1】

SMCC	4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボン酸スクシンイミジルエステル
DMF	N、N-ジメチルホルムアミド
ESI-MS	エレクトロスプレー質量分析
HATU	2-(7-ベンゾトリアゾールオキシド)-N、N'、N'-テトラメチル尿素ヘキサフルオロホスフェート
TCEP	トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン
DMSO	ジメチルスルホキシド
UV	紫外線可視光
V/V	体積比
mmol	ミリモル
h	時間
g	グラム
IC ₅₀	半分の阻害濃度
PB	リン酸緩衝液
EDTA	エチレンジアミン四酢酸
MMT	4-メトキシトリチル

10

20

30

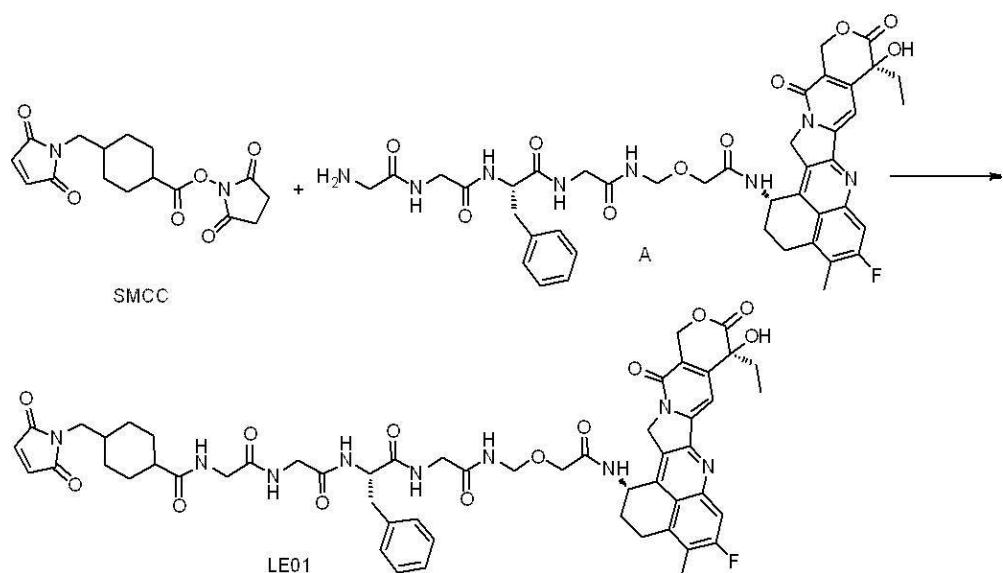
【0157】

以下、実施例の形によってさらに本発明を説明するが、これによって本発明を記載された実施例の範囲内に限定するわけではない。以下の実施例において、具体的な条件が記載されていない実験方法は、通常の方法及び条件、或いは商品の説明書に従って選ばれる。

【0158】

実施例1: LE01の合成

【化166】



40

【0159】

市販のSMCC(1mmol、0.32g)及び化合物A(0.5mmol、0.42g)の両者を10mLのDMFに溶解し、室温で3時間攪拌し、減圧下で蒸留して、溶媒

50

を除去し、粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー < クロロホルム ~ クロロフォーム : メタノール = 9 : 1 (V / V) > で精製して、淡黄色固体の形態で表題化合物 (0.5 g, 0.47 mmol) を得、収率 94 %、ESI-MS m/z : 1060.3 (M + H) であり；ここで、化合物 A は、WO2015146132A1 で報告されている既知の方法に従って合成することができる。

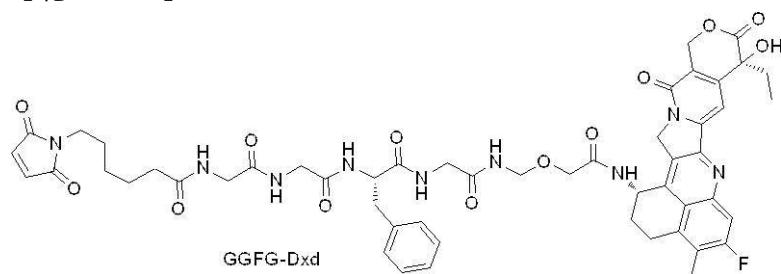
〔 0 1 6 0 〕

化合物 GGF G - D x d (構造は以下の通り) も WO 2015146132A1 で報告された既知の方法を参照して合成された。 E S I - M S m/z : 1034.5 (M + H⁺), ¹H - N M R (400 MHz, DMSO - d₆) 8.61 (t, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.50 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 8.28 (t, J = 5.1 Hz, 1 H), 8.11 (d, J = 7.5 Hz, 1 H), 8.05 (t, J = 5.7 Hz, 1 H), 7.99 (t, J = 5.9 Hz, 1 H), 7.77 (d, J = 11.0 Hz, 1 H), 7.31 (s, 1 H), 7.25 - 7.16 (m, 5 H), 6.98 (s, 2 H), 6.51 (s, 1 H), 5.59 (dt, J = 7.4, 4.1 Hz, 1 H), 5.41 (s, 2 H), 5.20 (s, 2 H), 4.64 (d, J = 6.1 Hz, 2 H), 4.53 - 4.40 (m, 1 H), 4.02 (s, 2 H), 3.74 - 3.37 (m, 8 H), 3.18 - 3.00 (m, 2 H), 3.04 - 2.97 (m, 1 H), 2.77 (dd, J = 13.5, 9.4 Hz, 1 H), 2.38 (s, 3 H), 2.19 (dd, J = 14.9, 8.5 Hz, 2 H), 2.11 - 2.05 (m, 2 H), 1.86 (dd, J = 14.0, 6.7 Hz, 2 H), 1.45 (s, 4 H), 1.20 - 1.14 (m, 2 H), 0.87 (t, J = 7.1 Hz, 3 H)。

20

[0 1 6 1]

【化 1 6 7】



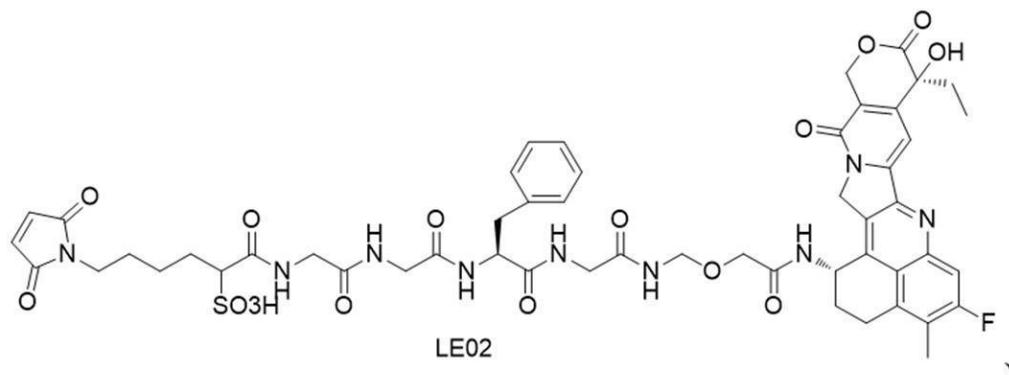
30

〔 0 1 6 2 〕

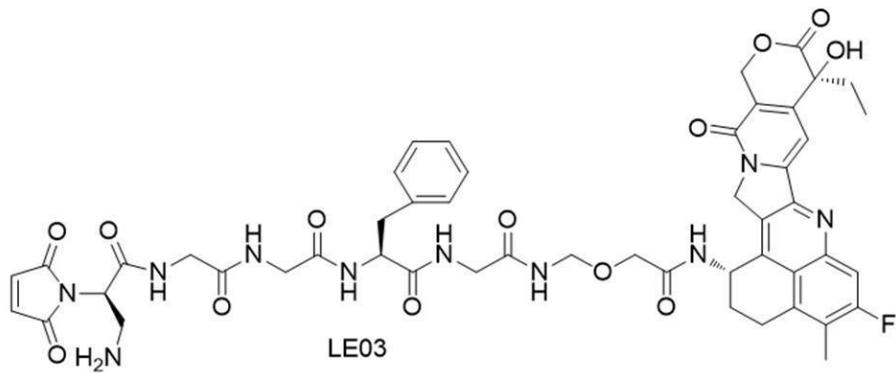
実施例2：LE02-LE06及びLE08の合成

[0 1 6 3]

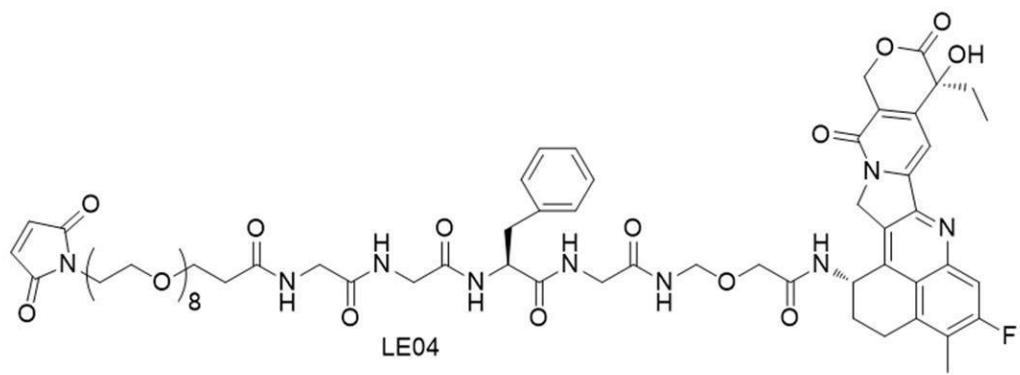
【化 1 6 8 】



10



20



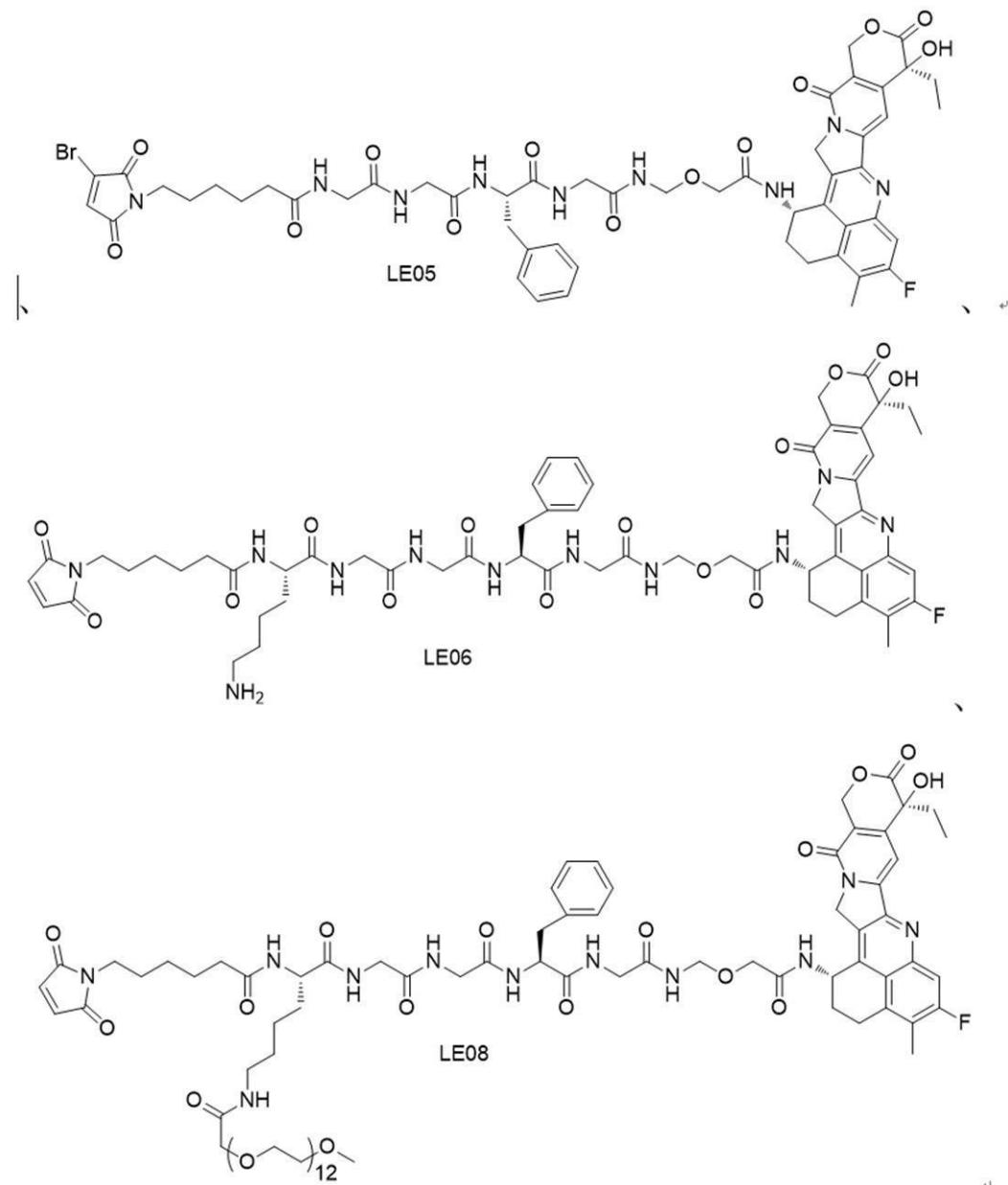
30

【 0 1 6 4 】

40

50

【化169】



【0165】

実施例1を参照し、適切なマレアミドフラグメントと化合物Aを縮合反応させて（LE02、LE03及びLE06は、縮合反応後に酸性化する必要がある）得た。具体的に使用されたマレアミドフラグメントの構造については、表2に示された通りである。化合物LE02：淡黄色固体、ESI-MS m/z : 1114.2 ($M + H$)；化合物LE03：淡黄色固体、ESI-MS m/z : 1007.2 ($M + H$)；化合物LE04：淡黄色固体、ESI-MS m/z : 1344.5 ($M + H$)；化合物LE05：黄色固体、ESI-MS m/z : 1112.3 ($M + H$)；化合物LE06：黄色固体、ESI-MS m/z : 1162.5 ($M + H$)；化合物LE08：淡黄色のオイル、ESI-MS m/z : 1719.1 ($M + H$)。

【0166】

表2：LE02 - LE06及びLE08の合成に使用されるマレアミドフラグメントの構造

10

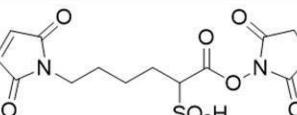
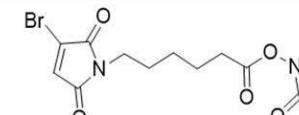
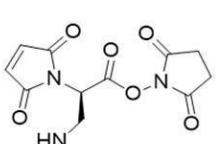
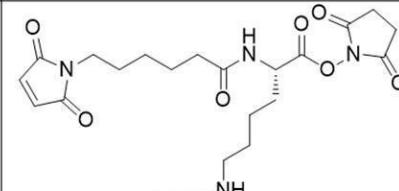
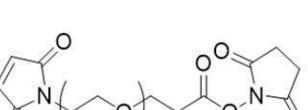
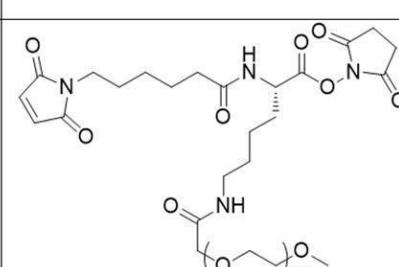
20

30

40

50

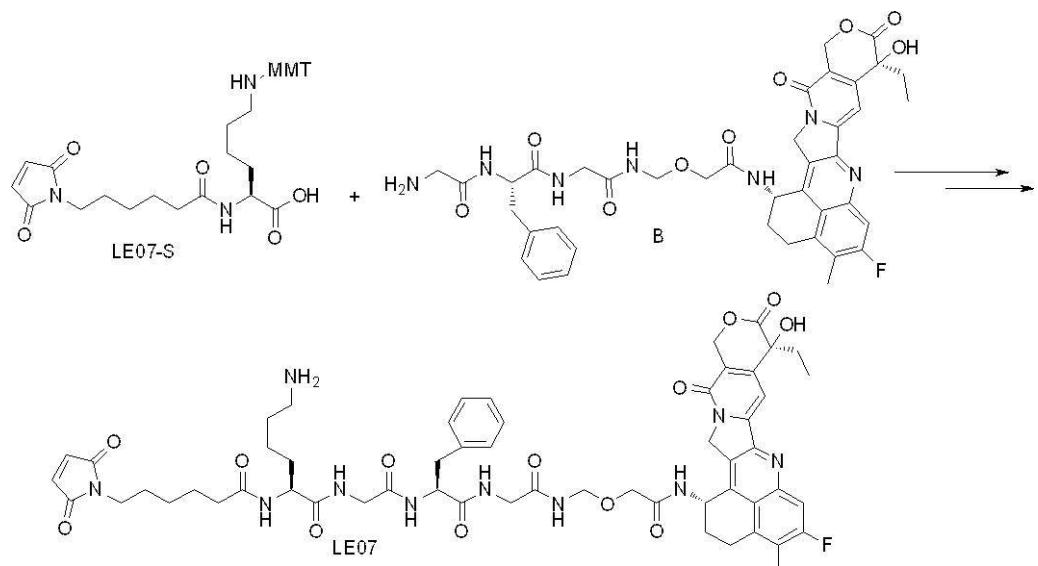
【表2】

製品	マレアミドフラグメント構造	製品	マレアミドフラグメント構造
LE02		LE05	
LE03		LE06	
LE04		LE08	

【 0 1 6 7 】

実施例 3 : L E 0 7 の合成

【化 170】



【 0 1 6 8 】

市販の L E 0 7 - S (1 m m o l 、 0 . 3 4 g) 及び化合物 B (0 . 5 m m o l 、 0 . 3 8 g) の両者を 1 0 m L の D M F に溶解し、 H A T U (0 . 5 m m o l 、 0 . 1 9 g) 、 0 . 5 m l のトリエチルアミンを添加し、 室温で 3 時間攪拌し、 0 . 5 m L のトリフルオロ口酢酸を添加し、 室温で 1 0 分間攪拌し、 減圧下で蒸留して溶媒を除去し、 粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー < クロロホルム ~ クロロフォーム : メタノール = 9 : 1 (V / V) > で精製して、 淡黄色固体の形態で表題化合物トリフルオロ口酢酸塩 (0 . 3 3 g 、 0 . 3 m m o l) を得た、 収率 6 0 % 、 E S I - M S m / z : 1 1 0 5 . 3 (

10

20

30

40

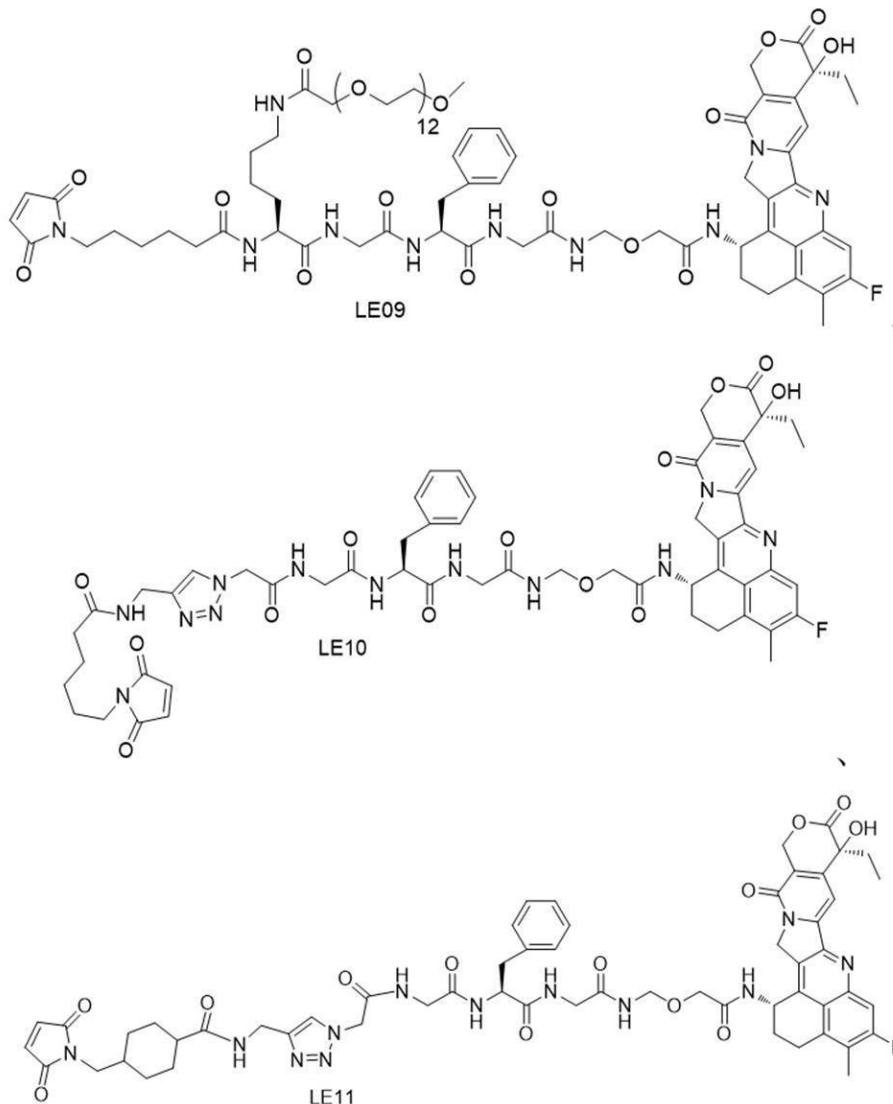
50

M + H)。ここで、化合物 B は、WO 2015146332 A1 に報告されている既知の方法に従って合成することができる。

【0169】

実施例 4 : LE09 - LE11 の合成

【化171】



【0170】

実施例 3 の方法を参照して合成し、縮合剤との縮合反応により、化合物 B 及び適切なカルボン酸フラグメント（購入して獲得できる）を得た。具体的に使用されたカルボン酸フラグメントの構造については、表 3 に示された通りである。化合物 LE09 : 淡黄色油状物、ESI-MS m/z : 1705.9 (M + H)。化合物 LE10 : ESI-MS : 40 m/z : 1115.9 (M + H), ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 8.66 (t, J = 6.7 Hz, 1H), 8.53 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.47 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 8.37 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.81 (s, 1H), 7.78 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.20 (dd, J = 21.9, 7.3 Hz, 5H), 7.00 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 6.54 (s, 1H), 5.60 (dd, J = 13.7, 6.8 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.20 (s, 2H), 5.10 (s, 2H), 4.64 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 4.55 - 4.45 (m, 1H), 4.26 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 4.02 (s, 2H), 3.74 (dd, J = 31.4, 16.7, 5.6 Hz, 6H), 3.17 (dd, J = 14.3,

8.5 Hz, 2 H), 3.02 (dd, $J = 14.1, 4.3$ Hz, 1 H), 2.74 (dd, $J = 13.4, 10.0$ Hz, 1 H), 2.38 (s, 3 H), 2.23-2.15 (m, 2 H), 2.05 (t, $J = 7.4$ Hz, 2 H), 1.90-1.80 (m, 2 H), 1.46 (dd, $J = 14.7, 7.3$ Hz, 4 H), 1.19-1.14 (m, 2 H), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H)。化合物 L E 11：淡黄色固体、E S I - M S m/z : 1141.5 ($M + H$)。

【0171】

表3：L E 09 - L E 11の合成に使用されるカルボン酸フラグメントの構造

【表3】

製品	カルボン酸フラグメントの構造
L E 09	
L E 10	
L E 11	

【0172】

実施例5：L E 23 - L E 24の合成

10

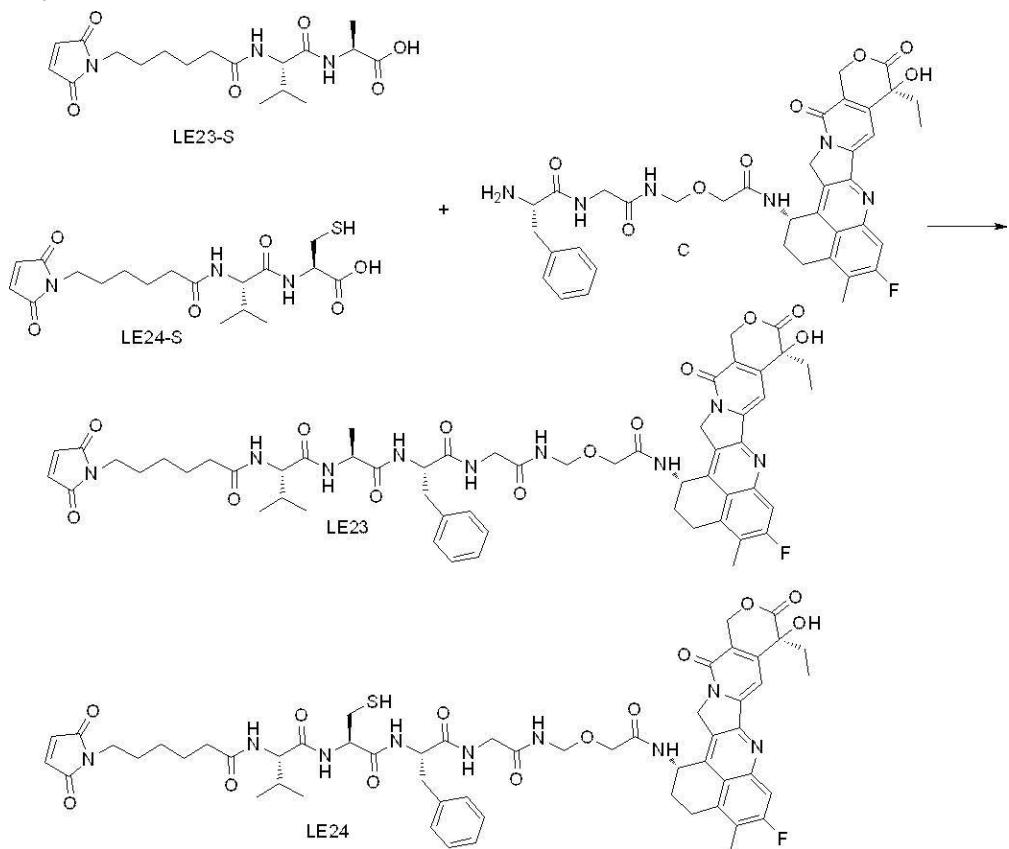
20

30

40

50

【化172】



【0173】

市販の化合物 L E 2 3 - S 又は 1 L E 2 4 - S (2 当量) 及び化合物 C (1 当量) の両者を適量の D M F に溶解し、室温で 3 時間攪拌し、減圧下で蒸留して溶媒を除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー < クロロホルム ~ クロロホルム : メタノール = 10 : 1 (V / V) > で精製して、淡黄色固体の形態で表題化合物を得た。ここで、化合物 C は、W O 2 0 1 5 1 4 6 1 3 2 A 1 に報告されている既知の方法に従って合成することができる。化合物 L E 2 3 : 黄色固体、E S I - M S m / z : 1 0 9 0 . 2 (M + H) ; 化合物 L E 2 4 : 黄色固体、E S I - M S m / z : 1 1 2 2 . 1 (M + H) 。

【0174】

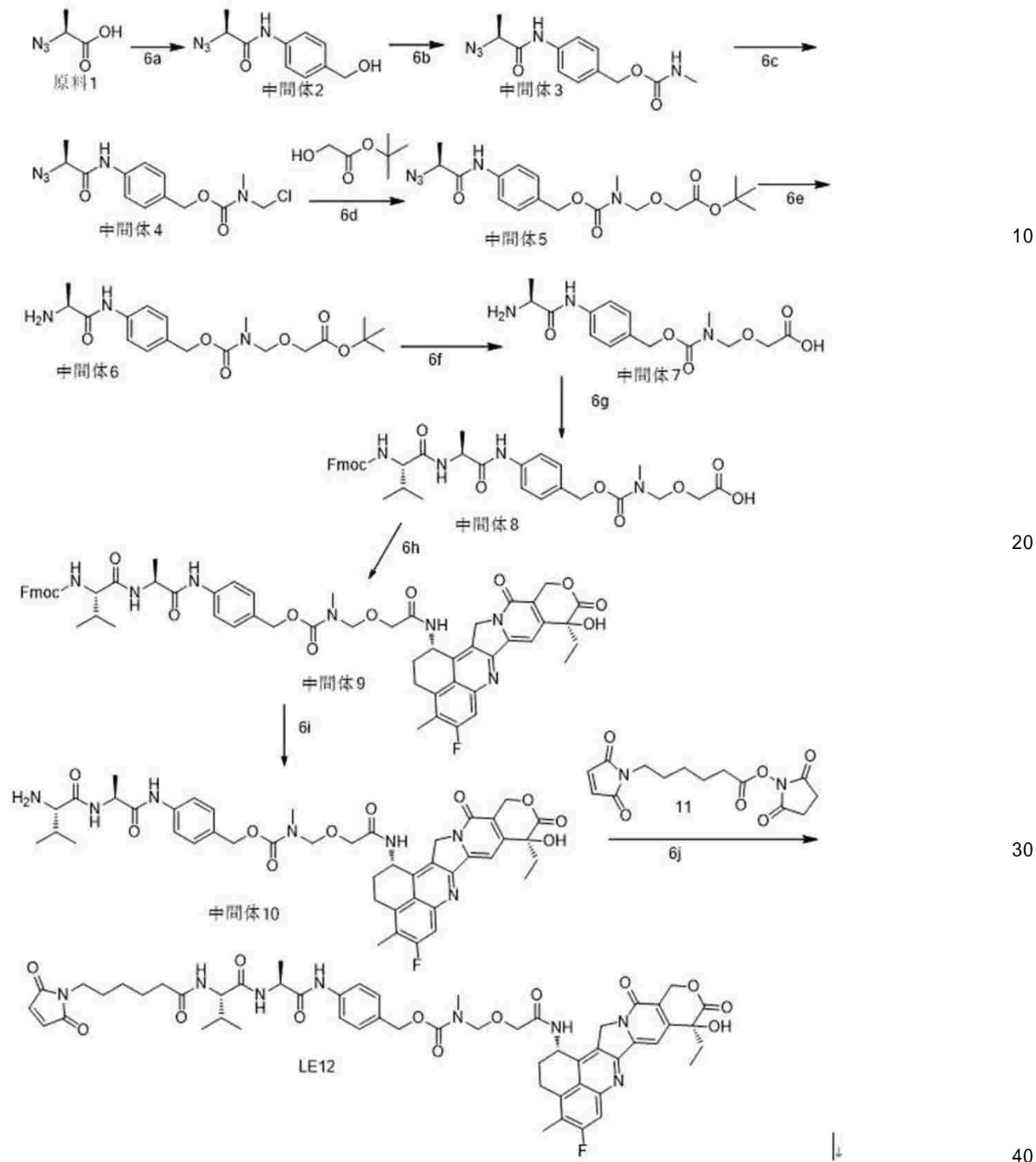
実施例 6 : L E 1 2 の合成

30

40

50

【化173】



【0175】

中間体2の合成：

【0176】

(S)-2-アジドプロピオン酸(10g、86.9mmol)及び4-アミノベンジルアルコール(21.40g、173.8mmol)を300mLのジクロロメタン及びメタノールの混合溶媒(体積比2:1)に溶解し、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン(21.49g、86.9mmol)を添加し、室温で5時間反応させた後、減圧下で溶媒を蒸発させた後、粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー<ジクロロメタン:酢酸エチル=1:1(v/v)>で、精製して、中間体2

(16.3 g、収率85%)、ESI-MS m/z: 221 (M+H)を得た。

【0177】

中間体3の合成：

中間体2(15 g、68.2 mmol)及びビス(p-ニトロベンゼン)カーボネート(22.82 g、75.02 mmol)を200 mLの無水N,N-ジメチルホルムアミドに溶解混合し、25 mLのトリエチルアミンを添加し、室温で2時間反応させた。液体クロマトグラフィーで原料の反応終了をモニタリングした後、メチルアミン塩酸塩(6.91 g、102.3 mmol)を添加し、室温で1時間反応を続けた。反応終了後、減圧蒸留して、溶媒の大部分を除去し、200 mLの水、200 mLの酢酸エチルを添加し、分離後、有機相を回収し、有機相を乾燥させ濃縮した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー<ジクロロメタン：酢酸エチル=10:1(v/v)>により精製して、中間体3を得た(18.9 g、収率100%)、ESI-MS m/z: 278 (M+H)。

【0178】

中間体5の合成：

中間体3(10 g、36.1 mmol)及びパラホルムアルデヒド(1.63 g、54.2 mmol)を150 mLの無水ジクロロメタンに溶解して混合し、トリメチルクロロシラン(6.28 g、57.76 mmol)をゆっくりと添加し、室温で2時間反応させ、中間体4の粗溶液を得、サンプリングしメタノールを加えてクエンチした後、液体質量分析法で反応をモニタリングし、反応終了後、反応液を濾過し、濾液にtert-ブチルヒドロキシアセテート(9.54 g、72.2 mmol)及びトリエチルアミン(10 mL、72.2 mmol)を添加し、室温で2時間反応を続けた。反応終了後、減圧蒸留して、溶媒の大部分を除去し、粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー<石油エーテル：酢酸エチル=3:1(v/v)>により精製して、中間体5を得た(11.2 g、収率74%)、ESI-MS m/z: 422 (M+H)。

【0179】

中間体6の合成：

中間体5(10 g、23.8 mmol)を80 mLの無水テトラヒドロフランに溶解し、80 mLの水を添加した後、トリス(2-カルボキシエチルホスフィン)塩酸塩(13.6 g、47.6 mmol)を添加し、室温で4時間反応させた。反応終了後、減圧下で蒸留して、テトラヒドロフランを除去し、酢酸エチルで抽出した後、得られた有機相を乾燥、減圧蒸発して溶媒を除去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー<ジクロロメタン：メタノール=10:1(v/v)>により精製して、中間体6を得た(8.1 g、収率86%)、ESI-MS m/z: 396 (M+H)。

【0180】

中間体8の合成：

中間体6(5 g、12.7 mmol)を60 mLのジクロロメタン及びメタノールの混合溶媒(v/v=2:1)に溶解し、3 mLのトリフルオロ酢酸をゆっくりと添加し、室温で30分間反応させた。反応終了後、同じ体積量の水及び酢酸エチルを添加し、有機相を乾燥濃縮し、得られた粗生成物を直接次の工程に使用した。

【0181】

上記の工程で得られた粗生成物を50 mLの無水N,N-ジメチルホルムアミドに溶解し、Fmoc-バリンヒドロキシスクシンイミドエステル(8.3 g、19.1 mmol)、トリエチルアミン(5 mL)を添加し、室温で2時間反応させた。反応終了後、減圧蒸留して、溶媒の大部分を除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー<ジクロロメタン：メタノール=10:1(v/v)>により精製して、中間体8を得た(5.4 g、収率64%)、ESI-MS m/z: 661 (M+H)。

【0182】

中間体9の合成：

中間体8(1 g、1.5 mmol)及びExatecanメシリ酸塩(0.568 g、

10

20

30

40

50

1 mmol) を 30 mL の無水 N,N -ジメチルホルムアミドに混合し、2-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)- N,N,N',N' -テトラメチルウロニウムヘキサフルオロスフェート (1.14 g, 3.0 mmol)、2 mL のトリエチルアミンを添加し、室温で 2 時間反応させた。反応終了後、減圧蒸留して、溶媒を除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム:メタノール = 10:1 (v/v))により精製して、中間体 9を得た (0.94 g、収率 87%)、ESI-MS m/z: 1078 (M+H)。

【0183】

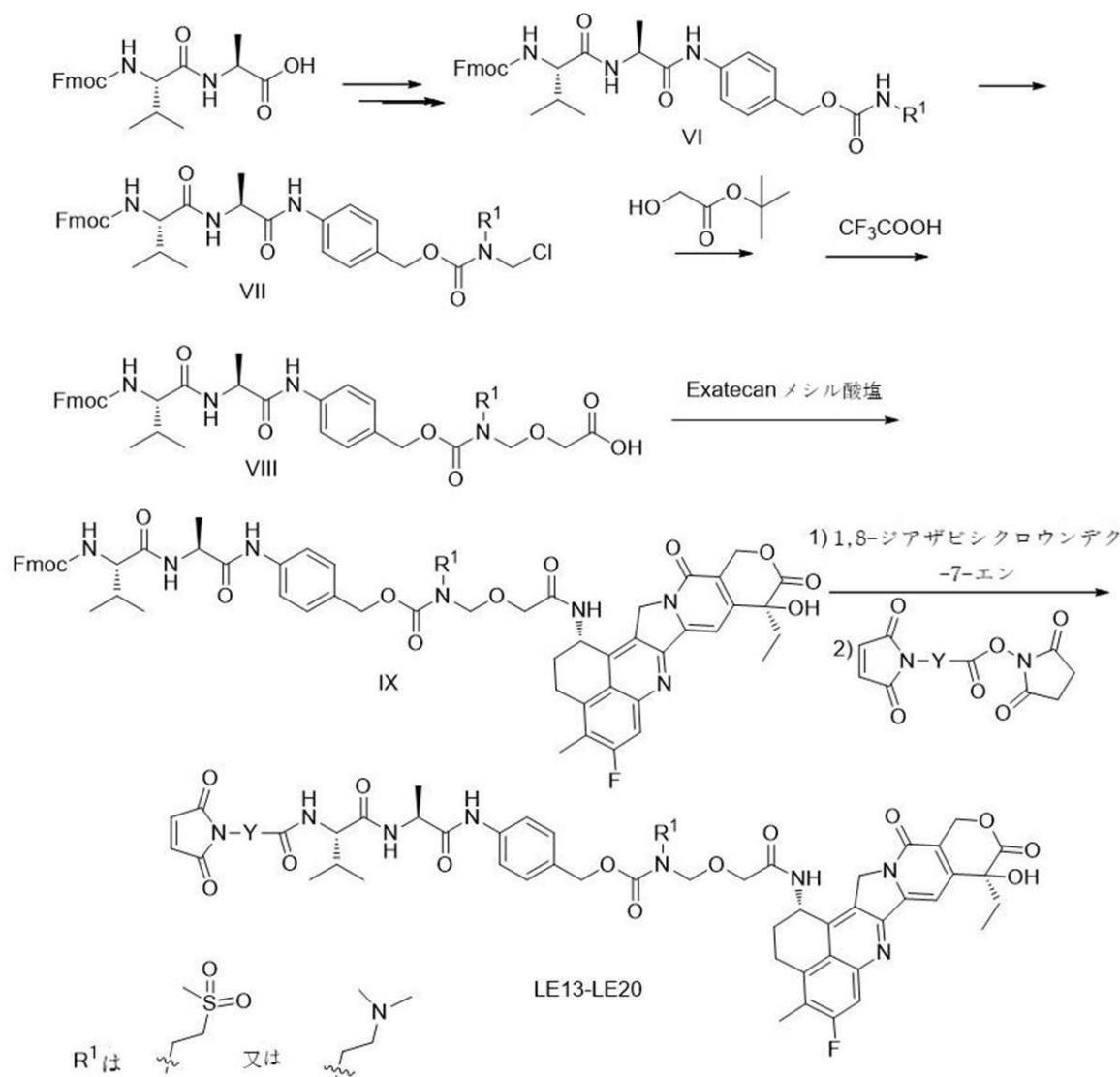
化合物 LE12 の合成：

中間体 9 (1 g, 0.929 mmol) を 20 mL の無水 DMF に溶解し、0.5 mL の 1,8-ジアザビシクロウンデカ-7-エンを添加し、室温で 1 時間反応させた。反応終了後、6-(マレイミド)ヘキサン酸スクシンイミジルエステル (428.5 mg, 1.39 mmol) を直接添加し、室温で 1 時間攪拌した。減圧蒸留して、溶媒を除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム:メタノール = 8:1 (v/v))により精製して、表題化合物を得た (0.7 g、収率 73%)、ESI-MS m/z: 1035 (M+H)。

【0184】

実施例 7：LE13-LE20 の合成

【化174】



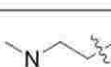
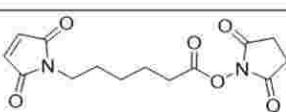
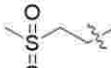
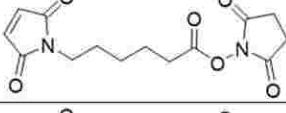
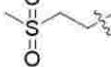
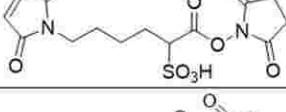
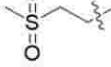
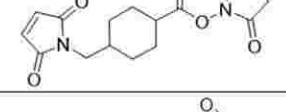
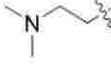
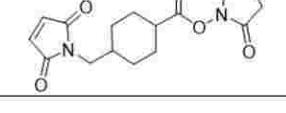
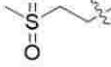
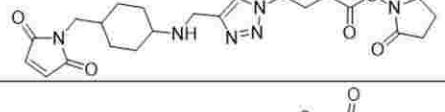
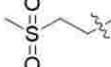
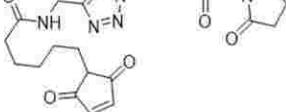
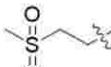
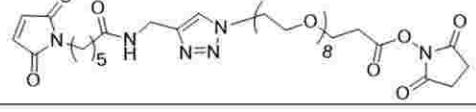
【0185】

中間体 VI は、Fmoc-L-バリン-L-アラニンを出発原料として、実施例 6 の中間体 3 の合成方法の工程 6 a 及び 6 b を参考し、工程 6 b のメチルアミン塩酸塩を対応する市販のアミノ化合物に置き換えることにより製造される。後続の工程は中間 VI から出発し、実施例 6 の工程 6 c、6 d、6 f 及び 6 h と同様な方法に従って、中間体 9 と似ている中間体 IX を得、次に実施例 6 の工程 6 i 及び 6 j と同様な方法に従って、アミノ保護基を除去し、その後、異なる市販のマレイミドと縮合することにより最終生成物を得た。使用したアミノ化合物及びマレイミド構造は表 4 に示された通りである。化合物 LE 13 : 淡黄色固体、ESI-MS m/z : 1106.5 ($M + H$) ; 化合物 LE 14 : 淡黄色固体、ESI-MS m/z : 1141.4 ($M + H$) ; 化合物 LE 15 : オフホワイト固体、ESI-MS m/z : 1121.2 ($M + H$) ; 化合物 LE 16 : 淡黄色固体、ESI-MS m/z : 1167.1 ($M + H$) ; 化合物 LE 17 : 黄色固体、ESI-MS m/z : 1132.3 ($M + H$) ; 化合物 LE 18 : 淡黄色固体、ESI-MS m/z : 1305.4 ($M + H$) ; 化合物 LE 19 : 淡黄色固体、ESI-MS m/z : 1307.4 ($M + H$) ; 化合物 LE 20 : 淡黄色固体、ESI-MS m/z : 1337.6 ($M + H$)。

【0186】

表4 : LE 13 - LE 20 の合成に使用される中間体

【表4】

製品	R ¹	アミノ化合物	マレイミド構造
LE 13		ジメチルエチルアミン塩酸塩	
LE 14		メチルスルホンエチルアミン塩酸塩	
LE 15		メチルスルホンエチルアミン塩酸塩	
LE 16		メチルスルホンエチルアミン塩酸塩	
LE 17		ジメチルエチルアミン塩酸塩	
LE 18		メチルスルホンエチルアミン塩酸塩	
LE 19		メチルスルホンエチルアミン塩酸塩	
LE 20		メチルスルホンエチルアミン塩酸塩	

【0187】

10

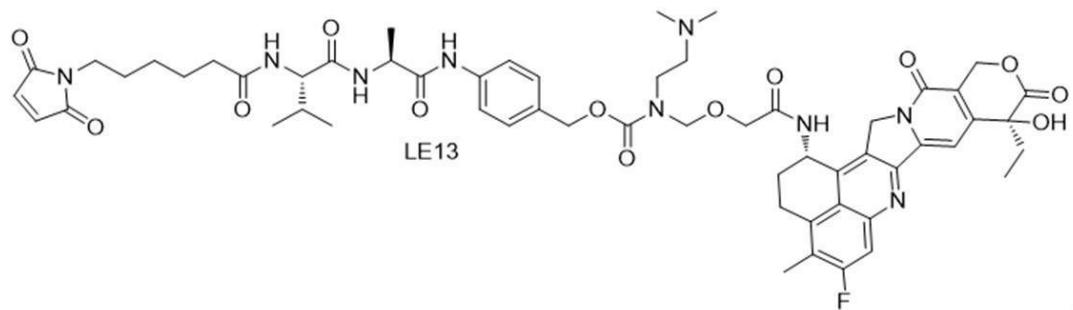
20

30

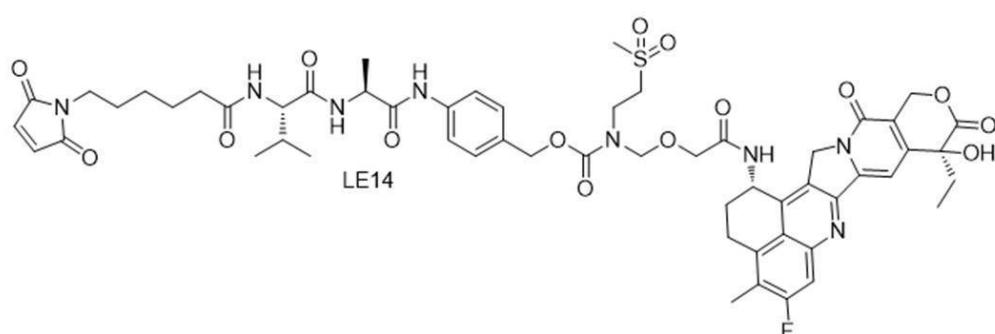
40

50

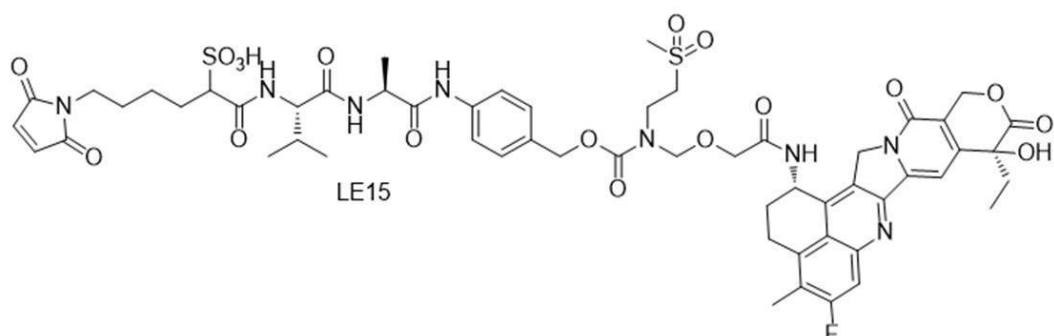
【化 1 7 5 】



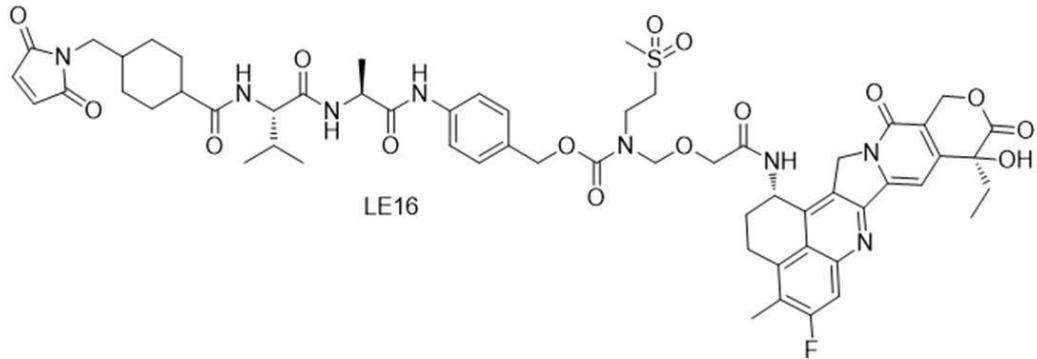
10



20



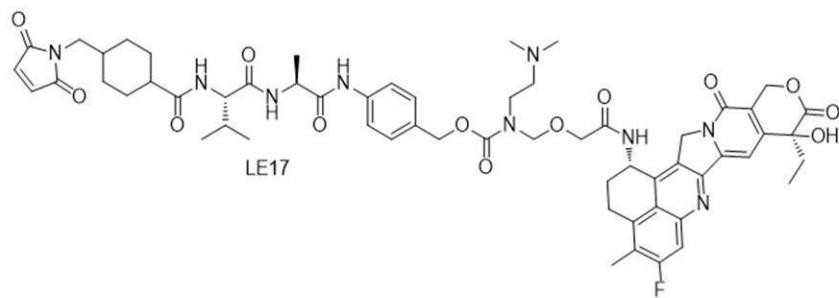
30



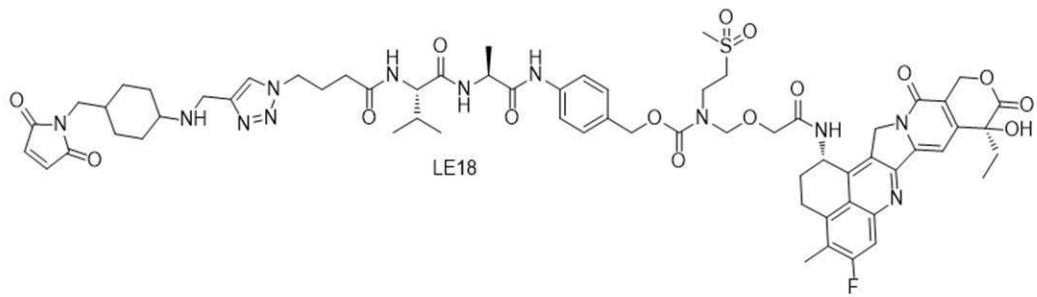
40

【 0 1 8 8 】

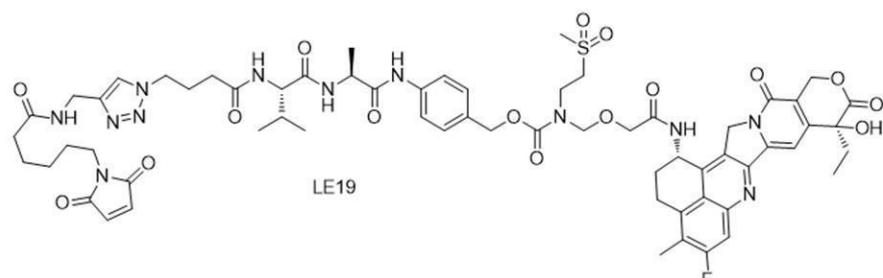
【化 1 7 6 】



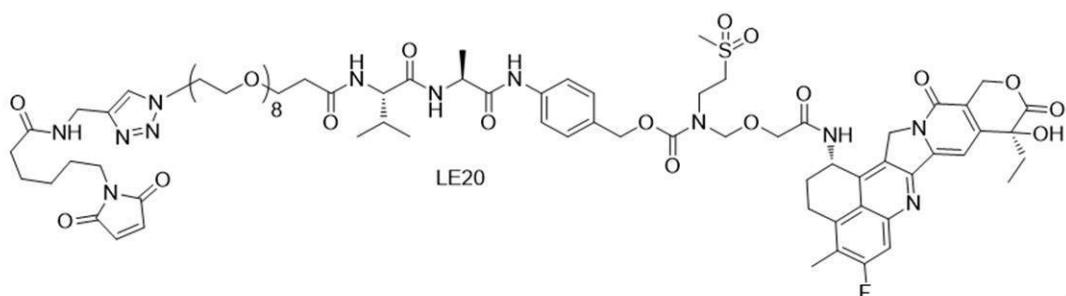
10



20



30

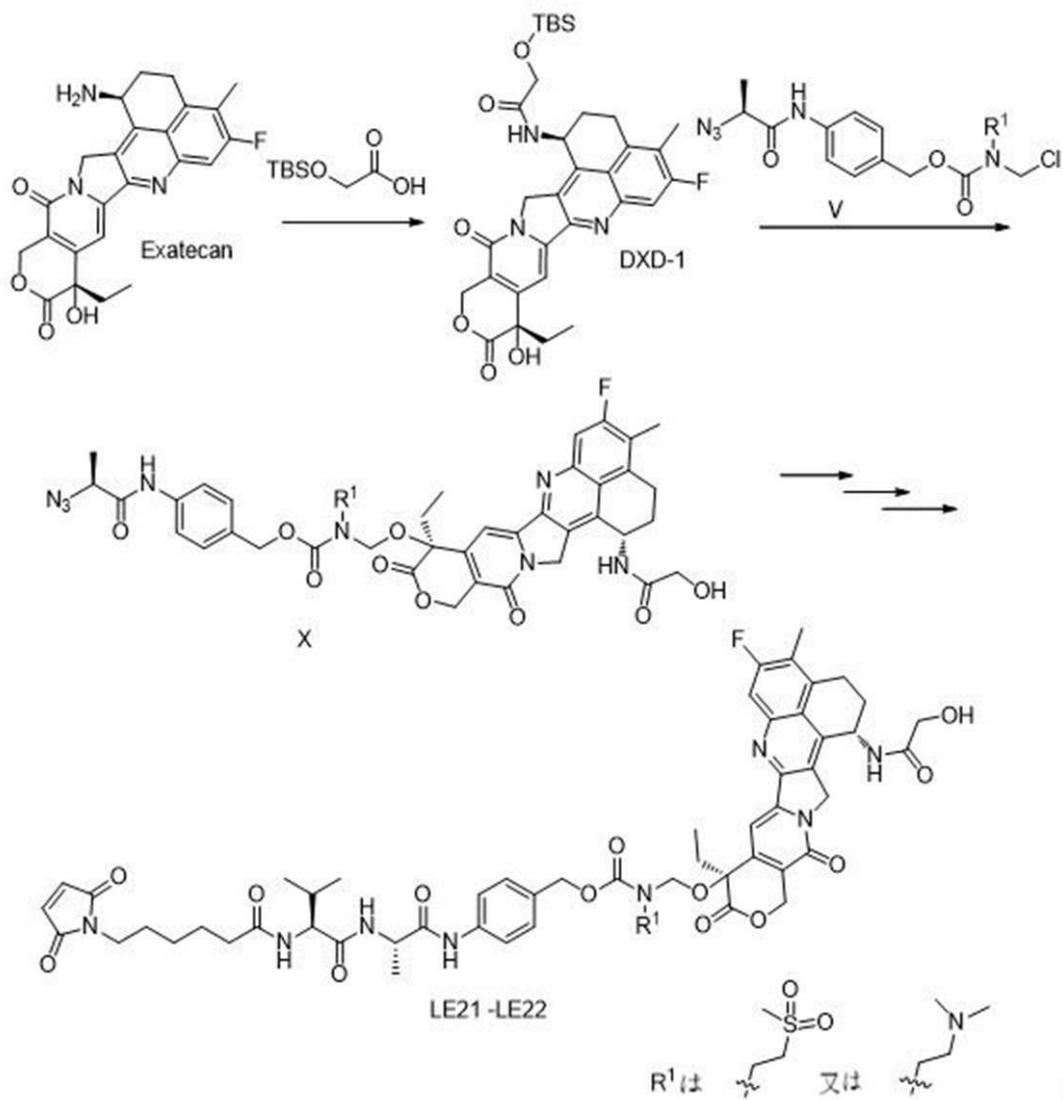


【 0 1 8 9 】

実施例 8 : L E 2 1 - L E 2 2 の合成

40

【化177】



【0190】

化合物DXD-1の合成

【0191】

市販のExatecanメシリ酸塩(0.568 g, 1 mmol)及び市販の2-(tert-ブチルジメチルシロキシ)酢酸(CAS: 105459-05-0, 0.38 g, 2 mmol)を20 mLの無水ジクロロメタンに混合し、縮合剤HATU(0.76 g, 2 mmol)及び1 mLのピリジンを添加して、室温で2時間攪拌した。反応終了後、溶媒を減圧蒸発させ、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィー<ジクロロメタン:メタノール=50:1(v/v)>により精製して、表題化合物DXD-1を得た(0.55 g、収率90%)、ESI-MS m/z: 608.1 (M+H)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.73 (d, J=10.5 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.05 (d, J=9.2 Hz, 1H), 5.80-5.62 (m, 2H), 5.41-5.14 (m, 4H), 4.29-4.15 (m, 2H), 4.08-4.03 (m, 1H), 3.27-3.07 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.38-2.28 (m, 2H), 1.96-1.81 (m, 2H), 1.04 (t, J=7.4 Hz, 3H), 0.80 (s, 9H), 0.11 (s, 3H), 0.03 (s, 3H)。

【0192】

中間体Vの製造

中間体Vは、実施例6の化合物4の製造方法を参照し、工程6bのメチルアミン塩酸塩

を、対応する市販のアミノ化合物で置き換えることにより得ることができる。

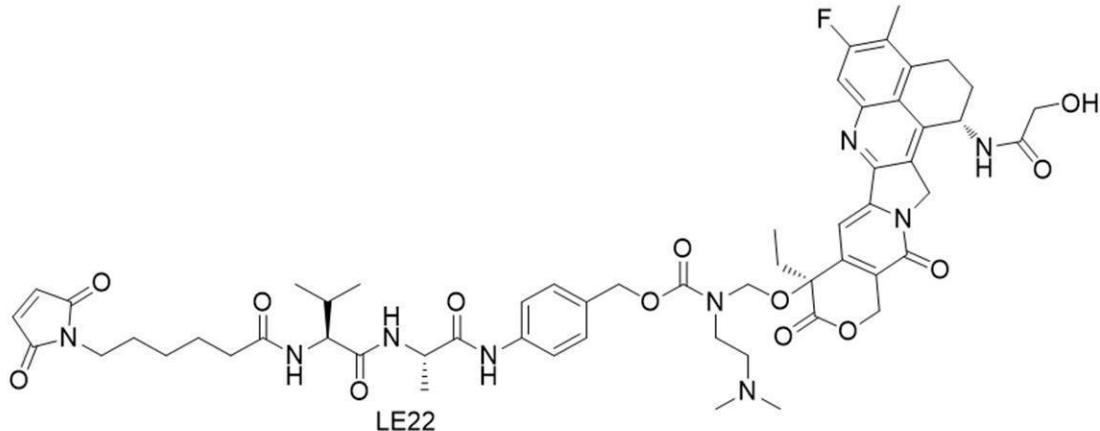
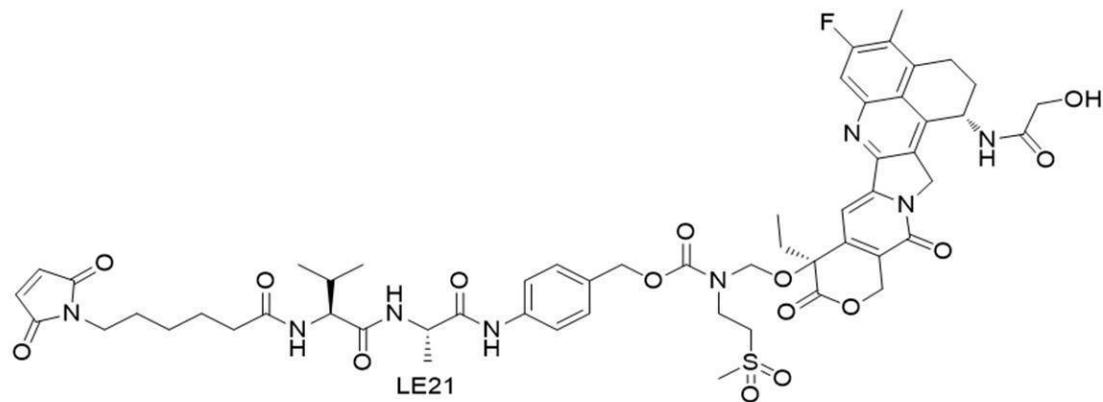
【 0 1 9 3 】

LE21 - LE22 の合成

中間体VとDXD-1を反応させ、10%のトリフルオロ酢酸/ジクロロメタン溶液処理により中間体Xを得、次に、中間体Xを実施例6の化合物5の後工程6e、6g、6i及び6jを参照して反応させ：中間体Xを還元してアミノ化合物を得、得られたアミノ化合物とFmoc-バリンヒドロキシスクシンイミドエステルを縮合させ、得られた生成物のFmoc保護基を除去し、得られたアミノ生成物を更に6-(マレイミド)ヘキサン酸スクシンイミジルエステルと反応させて最終生成物を得た。化合物LE21：黄色固体、ESI-MS m/z: 1141.2 (M+H)；化合物LE22：黄色固体、ESI-MS m/z: 1106.6 (M+H)。

【 0 1 9 4 】

【化 1 7 8 】



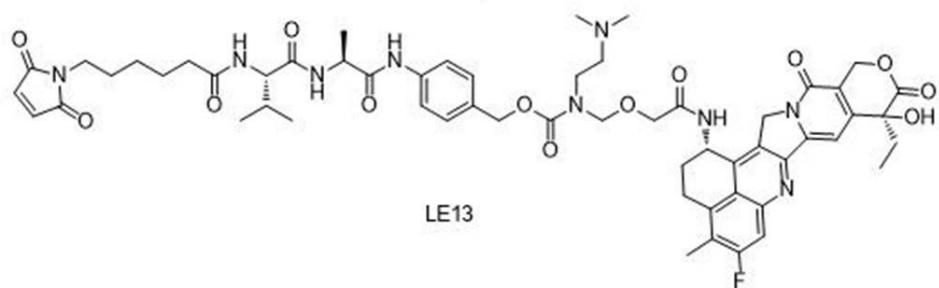
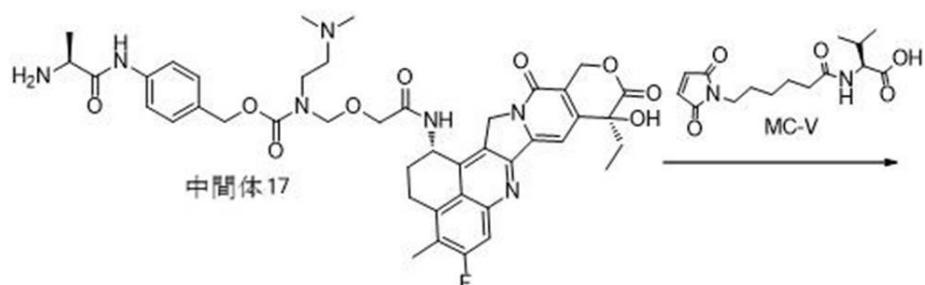
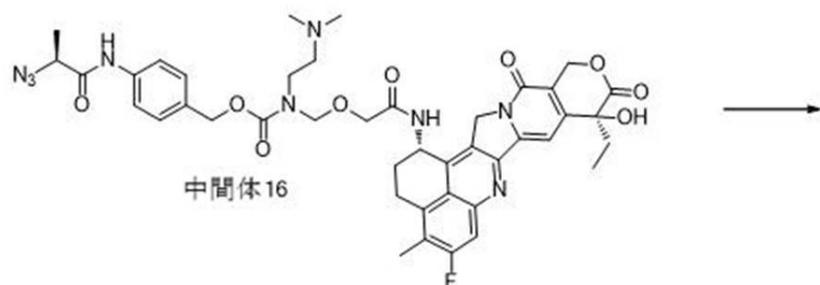
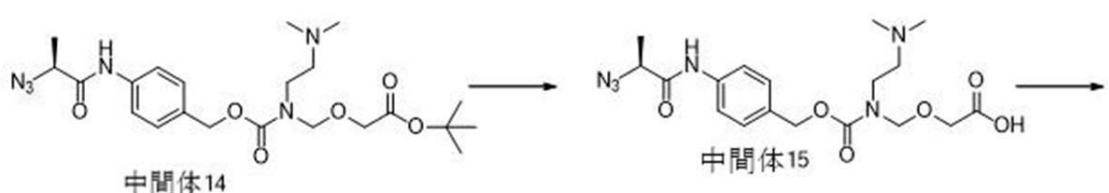
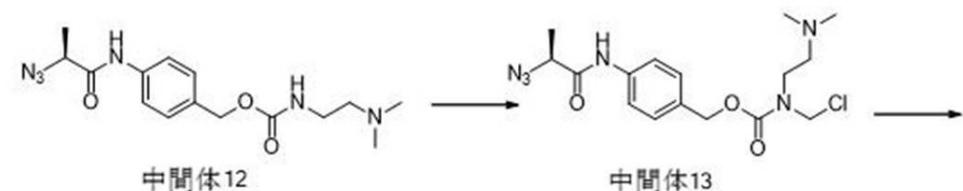
【 0 1 9 5 】

実施例 9：化合物 L-E-1-3 の合成

化合物 L E 13 は、更に以下の合成経路に従って製造することができる：

【 0 1 9 6 】

【化179】



【0197】

具体的な製造工程は以下に示された通りである：

【0198】

中間体14の合成

市販の中間体12 (267mg, 0.8mmol) 及びパラホルムアルデヒド (50mg, 1.6mmol) を20mlの無水ジクロロメタンに混合溶解し、トリメチルクロロシラン (0.3ml, 3.4mmol) をゆっくりと添加し、添加完了後室温で2時間反応させた。その後、サンプリングしメタノールでクエンチした後の液体質量分析法で反応をモニタリングし、反応終了後に反応溶液を濾過し、濾液にグリコール酸tert-ブチ

10

20

30

40

50

ル (211 mg、 1.6 mmol) 及び 0.5 mL のパンピジンを添加し、室温で約 2 時間反応を継続し、反応終了後、減圧下で蒸留して溶媒の大部分を除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー <ジクロロメタン : メタノール = 20 : 1 (v / v) > により精製して、中間体 14 を得た (260 mg、 収率 68 %)、 ESI-MS m/z : 479 (M + H)。

【 0199 】

中間体 15 の合成

中間体 14 (238 mg、 0.50 mmol) を 6 mL のジクロロメタン及びメタノールの混合溶媒 (v / v = 2 : 1) に溶解し、 0.3 mL のトリフルオロ酢酸をゆっくりと添加し、室温で 30 分間反応させた。反応終了後、同じ体積量の水及び酢酸エチルを添加し、有機相を乾燥後、濃縮し、得られた粗生成物を直接次の工程に使用した。

10

【 0200 】

中間体 16 の合成

上記の工程で得られた粗生成物及び Exatecan メシリル酸塩 (170 mg、 0.30 mmol) を 5 mL の無水 N,N-ジメチルホルムアミドに混合し、 2-(7-アザベニゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (341 mg、 0.90 mmol)、 0.60 mL のトリエチルアミンを添加し、室温で 2 時間反応させた。反応終了後、減圧蒸留により溶媒のを除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー <クロロホルム : メタノール = 10 : 1 (v / v) > により精製して、中間体 16 を得た (210 mg、 収率 83 %)、 ESI-MS m/z : 840 (M + H)。

20

【 0201 】

中間体 17 の合成

中間体 16 (100 mg、 0.12 mmol) を 15 mL の無水テトラヒドロフランに溶解し、 3 mL の水を添加した後、 0.3 mL の 1 mol / L のトリエチルホスフィン水溶液を添加し、室温で 4 時間反応させた。反応をモニタリングした後、反応溶液を減圧蒸留によりテトラヒドロフランを除去し、残りの水溶液に重炭酸ナトリウムを添加して、 pH を中性に調整し、ジクロロメタンを添加して、抽出し、得られた有機相を乾燥させ、減圧下で蒸留して、溶媒を除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー <ジクロロメタン : メタノール = 10 : 1 (v / v) > で、精製して、中間体 17 を得た (69 mg、 収率 71 %)、 ESI-MS m/z : 814 (M + H)。

30

【 0202 】

化合物 LE 13 の合成

前工程の合成法で得られた中間体 17 (120 mg、 0.15 mmol) 及び市販の原料 MC-V (102 mg、 0.33 mmol) を 40 mL のジクロロメタンに混合し、縮合剤 2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン (82 mg、 0.33 mmol) を添加し、室温で一晩反応後、反応終了後、減圧下で溶媒を蒸発させ、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー <ジクロロメタン : メタノール = 10 : 1 (v / v) > により精製して、化合物 LE 13 を得た (116 mg、 収率 70 %)、 ESI-MS m/z : 1106.5 (M + H)。

40

【 0203 】

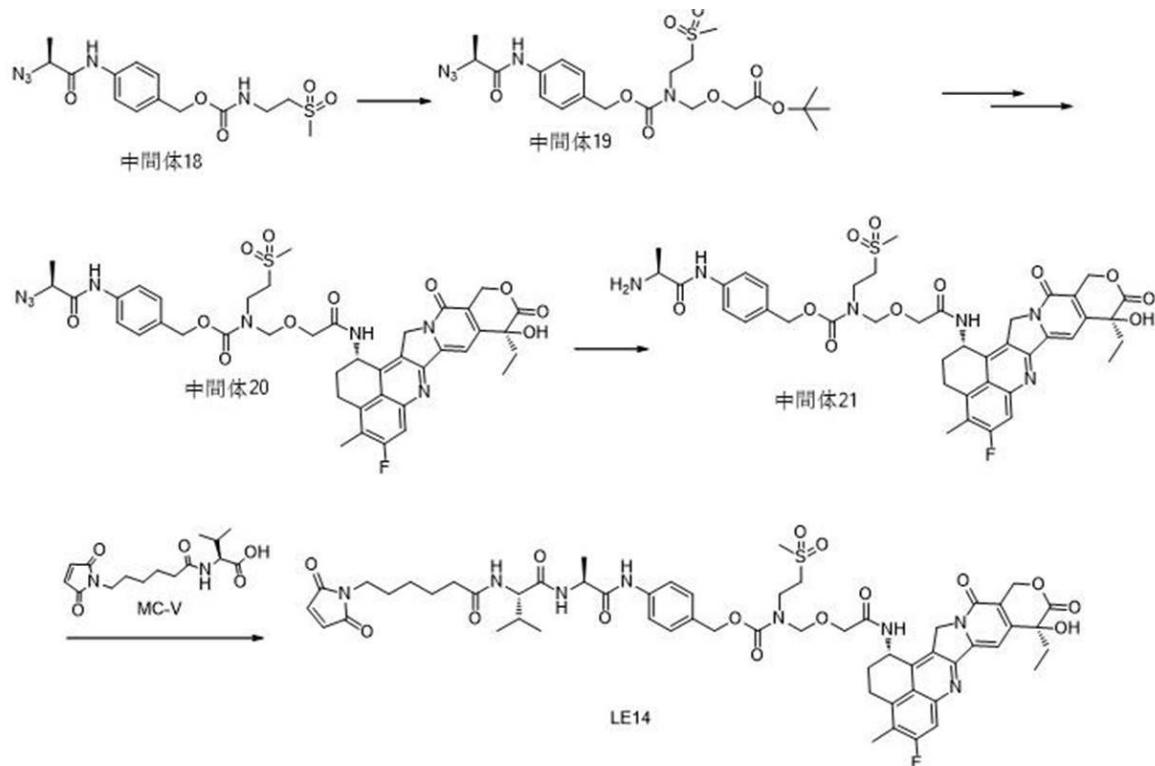
実施例 10 : 化合物 LE 14 の合成

【 0204 】

化合物 LE 14 は、また、以下の合成経路に従って製造することができる：

50

【化180】



【0205】

具体的な製造工程は以下に示された通りである：

【0206】

中間体19の合成

市販の中間体18 (300 mg, 0.8 mmol) とパラホルムアルデヒド (50 mg, 1.6 mmol) を20 mLの無水ジクロロメタンに混合して溶解し、トリメチルクロロシラン (0.3 mL, 3.4 mmol) をゆっくりと添加し、室温で2時間反応させ、サンプリングしてメタノールでクエンチした後、液体質量分析法で反応をモニタリングした。反応終了後、反応溶液を濾過し、濾液にグリコール酸tert-ブチル (211 mg, 1.6 mmol) 及びトリエチルアミン (0.22 mL, 1.6 mmol) を添加し、室温で2時間反応を続け、反応終了後、減圧蒸留して、溶媒の大部分を除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー<ジクロロメタン:メタノール=20:1 (v/v)>により精製して、中間体19を得た (349 mg、収率85%)、ESI-MS m/z: 514 (M+H), ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.13 (s, 1H), 7.56 (d, J=7.5 Hz, 2H), 7.35 (s, 2H), 5.14 (s, 2H), 4.91 (s, 2H), 4.25 (q, J=7.1 Hz, 1H), 3.99 (d, J=42.5 Hz, 2H), 3.85 (t, J=6.2 Hz, 2H), 3.40 (dd, J=18.5, 7.6 Hz, 2H), 2.89 (d, J=48.6 Hz, 3H), 1.65 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.46 (s, 9H)。

【0207】

中間体20の合成

中間体19 (257 mg, 0.50 mmol) を6 mLのジクロロメタン及びメタノールの混合溶媒 (v/v=2:1) に溶解し、0.3 mLのトリフルオロ酢酸をゆっくりと添加し、室温で30分間反応させた。反応終了後、同じ体積の水及び酢酸エチルを添加し、有機相を乾燥して、濃縮し、得られた粗生成物を直接次の工程に使用した。

【0208】

得られた粗生成物及びExatecanメシリ酸塩 (170 mg, 0.30 mmol) を5 mLの無水N,N-ジメチルホルムアミドに混合し、2-(7-アザベンゾトリアゾ

10

20

30

40

50

ール - 1 - イル) - N, N, N', N' - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロスフェート (341 mg, 0.90 mmol)、0.06 mL のトリエチルアミンを添加し、室温で 2 時間反応させた。反応終了後、減圧蒸留して、溶媒を除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー <ジクロロメタン : メタノール = 20 : 1 (v/v)> により精製して、中間体 20 を得た (212 mg、収率 81%)、ESI-MS m/z : 875 (M+H)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.27 (d, J = 34.7 Hz, 1H), 7.63 - 7.35 (m, 5H), 7.21 - 7.10 (m, 1H), 5.71 - 5.48 (m, 2H), 5.24 - 4.95 (m, 3H), 4.95 - 4.72 (m, 4H), 4.45 (s, 1H), 4.33 - 3.97 (m, 3H), 3.75 (s, 2H), 3.39 - 2.99 (m, 4H), 2.76 (d, J = 15.3 Hz, 3H), 2.43 - 2.15 (m, 5H), 2.04 (s, 1H), 1.94 - 1.75 (m, 2H), 1.62 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 1.11 - 0.89 (m, 3H)。
10

【0209】

中間体 21 の合成

中間体 20 (77 mg, 0.09 mmol) を 12 mL の無水テトラヒドロフランに溶解し、3 mL の水を添加した後、1 mol/L のトリエチルホスフィン水溶液を 0.3 mL 添加し、室温で 4 時間反応させた。反応終了後、減圧下で蒸留して、テトラヒドロフランを除去し、残りの水溶液に重炭酸ナトリウムを添加して、pH を中性に調整し、ジクロロメタンを添加して、抽出し、得られた有機相を乾燥させ、減圧下で蒸留して、溶媒を除去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー <ジクロロメタン : メタノール = 10 : 1 (v/v)> により精製して、中間体 21 を得た (53 mg、収率 69%)、ESI-MS m/z : 849 (M+H)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.52 (s, 1H), 7.79 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.67 - 7.55 (m, 2H), 7.47 - 7.21 (m, 3H), 6.51 (s, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.52 - 5.32 (m, 2H), 5.30 - 5.11 (m, 2H), 5.11 - 4.94 (m, 2H), 4.94 - 4.74 (m, 2H), 4.02 (s, 2H), 3.81 - 3.66 (m, 2H), 3.60 - 3.35 (m, 4H), 3.24 - 3.08 (m, 2H), 2.94 (d, J = 30.8 Hz, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.28 - 2.04 (m, 2H), 2.00 - 1.73 (m, 2H), 1.22 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.96 - 0.70 (m, 3H)。
20

【0210】

化合物 LE14 の合成

中間体 21 (134 mg, 0.16 mmol) 及び市販の原料 MC-V (102 mg, 0.33 mmol) を 40 mL のジクロロメタンに混合し、縮合剤 2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン (82 mg, 0.33 mmol) を添加し、室温で一晩反応後、反応終了後、減圧下で溶媒を蒸留し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー <ジクロロメタン : メタノール = 10 : 1 (v/v)> により精製して、化合物 LE14 を得た (137 mg、収率 75%)、ESI-MS m/z : 1141.4 (M+H)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.97 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.27 - 8.09 (m, 1H), 7.88 - 7.70 (m, 2H), 7.63 - 7.51 (m, 2H), 7.28 (s, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.51 (s, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.50 - 5.32 (m, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 4.85 (d, J = 17.3 Hz, 2H), 4.43 - 4.33 (m, 1H), 4.21 - 4.12 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 3.74 - 3.64 (m, 2H), 3.20 - 3.03 (m, 3H), 3.02 - 2.84 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.23 - 2.09 (m, 4H), 2.01 - 1.90 (m, 1H), 1.90 - 1.78 (m, 2H), 1.55 - 1.39 (m, 4H), 1.30 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 1.23 - 1.11 (m, 2H), 0.93 - 0.77 (m, 9H)。
40

【0211】

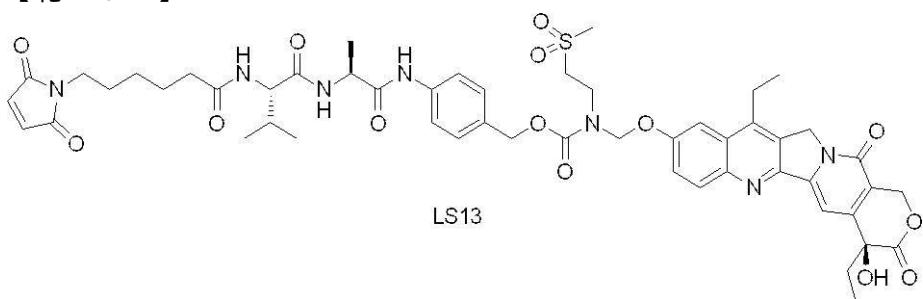
実施例11：化合物LS13の合成

実施例7のLE14の合成方法を参照して、SN-38(7-エチル-10-ヒドロキシカンプトテシン)を中間体VII(R¹はメチルスルホンエチル)と反応させた後、脱保護し、縮合などの工程で、化合物LS13を得た：¹H NMR(400MHz, DMSO) 9.92(d, J=22.4Hz, 1H), 8.14(s, 1H), 8.08(d, J=9.1Hz, 1H), 7.81(d, J=8.0Hz, 1H), 7.70-7.50(m, 3H), 7.47(d, J=7.2Hz, 1H), 7.27(s, 1H), 7.20(s, 1H), 6.98(s, 2H), 6.51(s, 1H), 5.61(s, 2H), 5.48-5.35(m, 2H), 5.27(s, 2H), 5.10(d, J=20.6Hz, 2H), 4.36(s, 1H), 4.21-4.07(m, 1H), 3.84(s, 2H), 3.48(s, 2H), 3.21-2.92(m, 6H), 2.25-2.04(m, 2H), 2.04-1.78(m, 3H), 1.55-1.36(m, 4H), 1.36-1.10(m, 9H), 0.95-0.71(m, 10H)。

10

【0212】

【化181】



20

【0213】

実施例12：リンカー-薬物複合体と抗体を連結する通常の方法

抗B7-H3抗体P2E5、抗Claudin18.2抗体IMAB362、抗HER2抗体Trastuzumab(濃度15mg/mL)をそれぞれG25脱塩カラムを用いて、50mM PB/1.0mM EDTA緩衝液(pH7.0)に置換し、12当量のTECPを添加し、37℃で2時間攪拌し、抗体鎖間のジスルフィド結合を完全に開き、リン酸を用いて還元された抗体溶液のpHを6.0に調整し、水浴温度を25℃に下げ、カップリング反応を準備した。実施例1~11で調製したリンカー-薬物複合体及びGGFG-DxdをそれぞれDMSOで溶解し、中から12当量のリンカー-薬物複合体リンカーを吸収し、還元後の抗体溶液に一滴ずつ滴下し、またDMSOを補充して、最終濃度を10%(v/v)にし、25℃で0.5時間攪拌して反応させ、反応の終了後、0.22μmメンブレンで、試料を濾過した。タンジェンシャルフロー限外濾過システムにより精製し、非結合小分子を除去し、緩衝液を50mM PB/1.0mM EDTA溶液(pH6.0)にし、精製後最終濃度6%のショ糖を添加し、-20℃の冷蔵庫で保存した。UV法で280nm及び370nmでの吸光度値をそれぞれ測定し、DAR値を計算し、結果は下記の表5に示された通りである。抗HER2抗体Trastuzumabの軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号5に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号6に示された通りである。抗B7-H3抗体P2E5の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号7に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号8に示された通りである。前記抗Claudin18.2抗体IMAB362の軽鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号1に示された通りであり、重鎖のアミノ酸配列は、配列表の配列番号2に示された通りである。

30

【0214】

表5：異なる抗体結合薬(ADC)のUV法で測定したDAR値

40

50

【表 5】

ADC番号	抗体	リンカーニー薬物複合体	DAR値
ADC-8201	Trastuzumab	GGFG-Dxd	7. 6
ADC001	Trastuzumab	LE01	7. 6
ADC002	Trastuzumab	LE02	7. 8
ADC003	Trastuzumab	LE03	7. 4
ADC004	Trastuzumab	LE04	7. 5
ADC005	Trastuzumab	LE06	7. 5
ADC006	Trastuzumab	LE10	7. 3
ADC007	Trastuzumab	LE13	7. 7
ADC008	Trastuzumab	LE15	7. 7
ADC009	Trastuzumab	LE18	7. 8
ADC010	Trastuzumab	LE19	7. 5
ADC011	Trastuzumab	LE20	7. 5
ADC029	Trastuzumab	LE14	8. 0
ADC030	Trastuzumab	LS13	8. 0
ADC033	Trastuzumab	LE12	7. 8
ADC012	P2E5	LE01	7. 6
ADC013	P2E5	LE02	7. 4
ADC014	P2E5	LE03	7. 6
ADC015	P2E5	LE04	7. 5
ADC016	P2E5	LE06	7. 4
ADC017	P2E5	LE10	7. 5
ADC018	P2E5	LE13	7. 6
ADC019	P2E5	LE15	7. 6
ADC020	P2E5	LE01	7. 5
ADC031	P2E5	LE14	7. 8
ADC034	P2E5	LE12	7. 7
ADC021	IMAB362	LE02	7. 5
ADC022	IMAB362	LE03	7. 5
ADC023	IMAB362	LE04	7. 7
ADC024	IMAB362	LE06	7. 4
ADC025	IMAB362	LE10	7. 6
ADC026	IMAB362	LE13	7. 8
ADC027	IMAB362	LE15	7. 5
ADC028	IMAB362	LE18	7. 6
ADC032	IMAB362	LE14	7. 6
ADC035	IMAB362	LE12	7. 5

10

20

30

40

【0215】

効果実施例 1：体外細胞活性試験

安定的にトランスフェクトしたC laudin 18.2を高発現させたH E K 2 9 3 細胞、H E R 2を高発現させたS K - B R - 3 細胞及びN C I - N 8 7 細胞を本実験の体外活性測定用の細胞株として選択した。N C I - N 8 7 細胞はB 7 - H 3 も高度に発現する。細胞死滅に対する異なる抗体薬物複合体の使用量効果を観察した。各細胞のシードプレート密度を初步的に選択し： 2×10^3 細胞 / ウェル、1 6 ~ 2 4 時間後に細胞阻害活性を測定し；次に、実施例 1 2 で製造した抗体薬物複合体を測定し、添加後最終濃度として5 0 0 0 n Mを開始濃度に設定し、5 0 0 0 ~ 0 . 0 0 6 n Mで1 0 個濃度（4 ~ 1 0 倍希釈）を設計し、9 6 時間での死滅（又は阻害）変化を観察し、C e l l T i t e r - G

50

lo (登録商標) Luminescent Cell Viability Assay で化学発光染色し、蛍光データを読み取って IC₅₀ を計算した。活性試験の結果 (表 6 を参照) から、すべての ADC が所定の抗腫瘍活性を示し、一部の ADC の活性が ADC-8201 以上であることが分かった。

【0216】

表 6 : 異なる ADC の体外細胞阻害活性

【表 6】

ADC番号	IC ₅₀ (nM)		
	SK-BR-3細胞	NCI-N87細胞	HEK293細胞
ADC-8201	0.729	0.586	>5 μM
ADC001	0.535	0.651	>5 μM
ADC002	0.683	0.468	>5 μM
ADC003	0.411	0.510	>5 μM
ADC004	0.951	1.256	>5 μM
ADC005	5.609	3.595	>5 μM
ADC006	0.362	0.419	>5 μM
ADC007	0.185	0.278	>5 μM
ADC008	0.103	0.169	>5 μM
ADC009	0.297	0.190	>5 μM
ADC010	0.334	0.624	>5 μM
ADC011	0.621	0.323	>5 μM
ADC029	0.480	0.641	未検出
ADC030	15 μM*	11 μM*	未検出
ADC033	0.615	0.701	未検出
ADC012	未検出	1.690	>5 μM
ADC013	未検出	3.158	>5 μM
ADC014	未検出	2.160	>5 μM
ADC015	未検出	1.578	>5 μM
ADC016	未検出	1.268	>5 μM
ADC017	未検出	1.463	>5 μM
ADC018	未検出	10.361 nM	>5 μM
ADC019	未検出	2.891	>5 μM
ADC020	未検出	0.863	>5 μM
ADC031	未検出	0.732	未検出
ADC034	未検出	0.624	未検出
ADC021	未検出	>5 μM	0.278
ADC022	未検出	>5 μM	0.676
ADC023	未検出	>5 μM	0.335
ADC024	未検出	>5 μM	0.125
ADC025	未検出	>5 μM	0.924
ADC026	未検出	>5 μM	0.115
ADC027	未検出	>5 μM	0.364
ADC028	未検出	>5 μM	0.824
ADC032	未検出	>5 μM	0.391
ADC035	未検出	未検出	0.352

* : 本データは、30 μM を開始濃度とし、本効果実施例と同様な実験操作で得られた。

【0217】

効果実施例 2 : 体外血漿安定性試験

10

20

30

40

50

本実施例では、実施例 1 2 の抗体薬物複合体のヒト血漿中での安定性を評価した。具体的には、本実施例では、実施例 1 2 の抗体薬物複合体の一部をヒト血漿に添加し、37 の水浴に 1、3、7、14、21、28 日目に内部標準（内部標準物質としてのイキシノテカン）を入れて、抽出し、高速液体クロマトグラフィーにより遊離薬物の放出量を検出し、結果を表 7 に示した。

【0218】

表 7：異なる A D C のヒト血漿中での安定性評価

【表 7】

遊離薬物の比率 試料名	1 日目	3 日目	7 日目	14 日目	21 日目	28 日目
ADC-8201	0. 4%	0. 7%	0. 9%	1. 3%	1. 1%	2. 5%
ADC001	0. 3%	0. 8%	0. 9%	1. 2%	1. 0%	2. 0%
ADC007	0. 1%	0. 3%	0. 6%	0. 7%	1. 0%	1. 5%
ADC008	0. 2%	0. 3%	0. 5%	0. 8%	0. 9%	1. 1%
ADC010	0. 5%	0. 6%	0. 8%	1. 0%	1. 2%	2. 0%
ADC011	0. 4%	0. 7%	1. 1%	1. 3%	1. 8%	2. 5%
ADC029	0. 2%	0. 3%	0. 8%	1. 1%	1. 3%	1. 5%
ADC030	0. 2%	0. 9%	2. 0%	3. 5%	4. 7%	5. 5%

10

20

【0219】

血漿安定性の結果は、新しい技術方案を用いて得られた A D C の安定性が A D C - 8201 に劣らず、一部はより優れていることを示し、同時に上記活性試験の結果も、得られた一部の A D C の活性が A D C - 8201 より優れていることを証明していた。

【0220】

効果実施例 3：異なるリンカーと薬物複合体の評価

リンカー - 薬物複合体が異なる抗体とカップリングする場合、その普遍性は、凝集体、回収率、及び沈殿の有無に反映される。T r a s t u z u m a b は A D C - 8201 のリンカー - 薬物複合体の G G F G - D x d とカップリングする過程で沈殿は生じないが、本発明で挙げされた抗体の中で P 2 E 5 及び I M A B 3 6 2 の 2 つの抗体は G G F G - D x d とカップリングする過程で沈殿が生じるので、本実験では、P 2 E 5、I M A B 3 6 2 及び T r a s t u z u m a b を選択して、本発明のリンカー - 薬物複合体の普遍性を評価し、実施例 1 2 の方法に従って、カップリング反応を行い、試料を最高 D A R に従って製造し（即ちオーバーカップリング）結果は表 8 に示した。

30

【0221】

表 8：異なるリンカー - 薬物複合体が異なる抗体とカップリングした場合の状況

40

50

【表8】

リンカー-薬物複合体	P2E 5カップリング状況			IMAB362 カップリング状況			Trastuzumab カップリング状況		
	沈殿の有無	ポリマー比率	回収率	沈殿の有無	ポリマー比率	回収率	沈殿の有無	ポリマー比率	回収率
GGFG-Dxd	有	20%	30%	沈殿	35%	32%	無	0.1%	90%
LE01	無	2.1%	/	無	2.0%	/	無	0.2%	80%
LE02	無	1.3%	/	無	1.8%	/	無	0.2%	80%
LE03	無	1.1%	80%	無	1.5%	86%	無	0.2%	87%
LE04	無	2.5%	76%	無	2.1%	85%	無	0.1%	88%
LE05	無	1.6%	80%	無	2.3%	82%	無	0.1%	86%
LE06	無	1.2%	72%	無	1.7%	/	無	0.5%	85%
LE07	無	1.3%	/	無	1.6%	/	無	0.5%	/
LE08	無	2.2%	/	無	2.3%	/	無	0.2%	/
LE09	無	2.6%	90%	無	1.5%	90%	無	0.1%	/
LE10	無	2.5%	85%	無	1.2%	88%	無	0.1%	90%
LE11	無	3.1%	79%	無	1.4%	82%	無	0.2%	90%
LE12	無	1.0%	83%	無	2.9%	/	無	0.3%	86%
LE13	無	1.5%	/	無	2.3%	/	無	0.1%	85%
LE14	無	1.3%	/	無	2.5%	/	無	0.3%	91%
LE15	無	2.1%	/	無	1.6%	/	無	0.2%	90%
LE16	無	2.0%	/	無	1.5%	/	無	0.5%	80%
LE17	無	1.5%	/	無	1.6%	/	無	0.1%	82%
LE18	無	1.6%	/	無	2.1%	/	無	0.1%	95%
LE19	無	1.2%	/	無	1.4%	/	無	0.2%	90%
LE20	無	3.0%	/	無	1.2%	/	無	0.2%	80%
LE21	無	2.2%	/	無	2.3%	/	無	0.2%	90%
LE22	無	2.1%	/	無	1.5%	/	無	0.5%	90%
LE23	無	1.9%	/	無	1.6%	/	無	0.1%	88%
LE24	無	1.2%	/	無	2.0%	/	無	0.1%	92%

10

20

30

“/”は回収率を計算しなかったことを意味する

【0222】

実際の研究では、更にADC-8201のリンカー-薬物複合体のGGFG-Dxdが他の抗体とカップリングする場合、沈殿が生じ、ポリマー比率が高く、普遍性がなかったことが分かった。一方、本技術的解決策における大部分のリンカー-薬物複合体は、異なる抗体とカップリングを試し、沈殿は生じず、且つポリマー比率も正常な範囲であったことから、本発明により提供されるリンカー-薬物複合体は、より良い理化学的性質を有することが示された。

【0223】

効果実施例4：リンカー-薬物複合体の体外酵素切断実験

リンカー-薬物複合体(LE14及びGGFG-Dxd)及びカテプシンBは3つの異なるpH(5.0、6.0、7.0)緩衝液で共にインキュベートされ、異なる時点でサンプリングして高速液体クロマトグラフィー-質量分析計に入り、外部標準法(Dxdを外部標準とする)により薬物の放出率を確定した。試験結果(表9に示す)は、GGFG-Dxdが使用されたpH範囲においてより遅い酵素切断速度を有する一方で、本発明のLE14は、pH5.0～pH7.0の範囲において迅速に酵素切断され得ることが示された。

【0224】

表9：異なるpHにおけるLE14及びGGFG-Dxdの体外酵素切断形態

40

50

【表9】

時間 (h)	試料中に放出された薬物の割合%					
	G G F G - D x d			L E 1 4		
	p H 5. 0	p H 6. 0	p H 7. 0	p H 5. 0	p H 6. 0	p H 7. 0
0	21. 62	23. 58	22. 98	15	14. 28	17. 59
1	25	24. 8	26. 53	96. 93	95. 98	98. 05
2	25. 85	27. 02	29. 52	98. 35	96. 8	99. 08
3	27. 76	29. 29	31. 95	99. 01	98. 45	99. 33
4	29. 72	31. 37	34. 78	99. 21	98. 81	99. 2
5	31. 69	33. 05	36. 17	99. 32	98. 9	100
6	34. 17	35. 95	38. 25	97. 39	99	99. 39

【0225】

効果実施例5：ADC030の体外酵素切断実験

実験細胞株としてNCI-N87細胞株を選択し、試料をカテプシンB系(100mM)の酢酸ナトリウム-酢酸緩衝液、4mMのジチオスレイトール、pH5.0)で、37度4時間インキュベートした後、得られた試料を培地で異なる濃度に希釈して、SN-38濃度70nM~0.003nMで8つの濃度(1.5~10倍希釈)に設定し、細胞株の殺傷(阻害)能力の変化を144時間観察し、CellTiter-Glo(登録商標)Luminescent Cell Viability Assay化学発光染色を使用し、蛍光データを読み取り、IC₅₀値を計算した。

【0226】

以上のカテプシンB系で37度4時間インキュベートした酵素切断試料を適当量のエタノールで沈殿して、タンパク質を除去し、高速液体クロマトグラフィーで放出された小分子化合物を検出し、同量のSN-38を基準として、4時間の放出率を検出した結果、99%の放出率を達した。

【0227】

試験結果(表10に示す)は、酵素切断後のADC030の細胞阻害活性は同量のSN-38とほぼ同じであり、更にADC030がカテプシンBの作用下でSN-38をほぼ完全に放出して効果的に機能したが、ADC030のリソソームへのエンドサイトーシスにより予測できない変化を引き起こし、SN-38が効果的に機能しない可能性があったことを示した。

【0228】

表10：カテプシンB系による酵素切断前後のNCI-N87細胞株に対するADC030の殺傷活性の変化

10

20

30

40

50

【表 10】

		I C 5 0 (S N - 3 8 相当で計算、nM)	
試料	酵素切断前	酵素切断後	
A D C 0 3 0	> 7 0 nM	7. 0 1 1 nM	
S N 3 8	6. 4 7 1 nM	6. 8 5 3 nM	

10

【0229】

効果実施例 6：体内評価 1

6～8週齢の雌のBalb/c nudeマウスに、100uLのPBS溶液に溶解した 5×10^6 個のヒト肺臓癌細胞(Capan-1)を首の後ろに皮下注射した。平均腫瘍体積が約 160 mm^3 になった時、腫瘍の大きさに応じてランダムに群を分け、前記ヌードマウス36匹をランダムに6つの群に分け、各群に6匹にし、群に分け尾静脈に注射投与した：01はブランク対照群、02はADC-8201(5mg/kg)、03はADC-8201(2mg/kg)、04はADC-029(5mg/kg)、05はADC-029(2mg/kg)、06はADC-030(5mg/kg)であり、1回投与した。週2回実験動物の体重と腫瘍の体積を測定し、実験中の動物の生存状態を観察した。実験結果(表11に示す)は、ADC-029が比較的良好な体内抗腫瘍活性を持っていることを示し、同時にすべての実験マウスは死亡がなく、体重減少がなかったため、ADC-029が非常に良い安全性を持っていることを示した。

20

【0230】

表11：ADCの体内薬効評価実験の結果

【表11】

群別	観察日数									
	13	15	19	22	26	29	33	36	40	43
平均腫瘍体積/ mm^3										
01	165.97	188.05	220.11	288.34	375.37	487.37	652.21	731.11	886.69	1013.90
02	166.24	191.68	120.85	97.49	84.33	78.49	84.20	84.11	87.65	91.82
03	165.86	179.77	117.95	112.81	110.70	96.03	95.66	105.63	142.51	189.84
04	166.11	174.06	103.92	80.47	57.99	46.15	36.92	35.36	49.96	47.78
05	166.47	193.01	130.30	120.07	118.62	123.08	154.60	178.78	212.77	236.80
06	165.97	189.25	206.11	268.34	335.26	427.46	552.21	611.66	726.69	832.58
標準偏差										
01	8.80	11.86	10.55	25.68	42.69	60.51	86.63	100.19	118.87	143.97
02	10.16	10.13	10.78	11.27	14.13	15.29	19.38	22.54	29.99	37.98
03	8.46	5.52	9.79	11.62	12.07	14.78	19.00	16.67	30.07	42.31
04	10.26	10.76	10.85	8.58	11.41	12.49	9.57	9.89	16.65	15.96
05	9.67	17.59	12.76	13.26	20.41	32.95	39.89	53.93	70.96	80.51
06	9.10	10.86	11.27	20.54	33.63	40.89	66.52	87.45	90.87	124.27

30

【0231】

効果実施例 7：体内評価 2

6～8週齢の雌のBalb/c nudeマウスに、100uLのPBS溶液に溶解した 1×10^7 個のヒト由来胃癌細胞(NCI-N87)を首の後ろに皮下注射した。平均腫瘍体積が約 200 mm^3 になった時、腫瘍の大きさに応じてランダムに群を分け、前記ヌードマウス42匹をランダムに7つの群に分け、各群に6匹にし、群に分け尾静脈注射

40

50

投与した：01はプランク対照群、02はADC-8201(2mg/kg)、03はADC-8201(1mg/kg)、04はADC-029(4mg/kg)、05はADC-029(2mg/kg)、06はADC-029(1mg/kg)、07はADC-030(4mg/kg)であり、1回投与した。週2回実験動物の体重と腫瘍の体積を測定し、実験中の動物の生存状態を観察した。実験結果(表12に示す)はADC029が比較的良好な体内抗腫瘍活性を持っていることを示し、同時にすべての実験マウスは死亡がなく、体重減少がなかったため、ADC029が非常に良い安全性を持っていることを示した。

【0232】

表12：ADCの体内薬効評価実験の結果

【表12】

群別	観察日数										
	5	7	11	14	18	21	25	28	32	35	39
	平均腫瘍体積/mm ³										
01	205.31	283.81	395.50	489.36	621.74	721.41	783.85	890.79	994.80	1176.9 2	1348.8 3
02	205.35	280.96	235.65	202.27	250.53	341.51	363.76	412.44	479.74	527.30	655.96
03	205.54	315.13	332.46	284.41	419.84	489.93	529.24	628.75	725.02	892.29	1065.8 5
04	206.12	272.70	183.81	92.97	86.30	103.46	120.85	134.44	190.95	205.07	260.94
05	206.94	339.51	288.58	192.55	191.16	217.61	250.78	273.13	324.77	368.20	426.12
06	205.32	296.64	320.03	307.45	386.87	510.03	595.45	699.04	809.63	922.72	1192.7 4
07	205.41	292.72	355.89	449.40	521.77	701.56	752.56	830.29	924.29	989.50	1248.8 3
標準偏差											
01	11.93	26.98	38.06	34.44	32.84	19.24	21.21	35.51	47.44	75.40	72.37
02	11.17	23.58	35.14	36.43	47.43	59.92	56.95	73.14	88.12	90.84	135.74
03	11.39	29.11	42.69	50.34	85.78	88.24	100.84	111.58	131.43	180.36	196.79
04	12.53	33.17	38.18	15.98	19.11	28.83	40.77	46.78	59.68	59.36	65.89
05	12.72	23.80	30.81	36.69	47.20	72.84	83.71	87.46	101.84	113.68	142.41
06	10.90	32.35	33.83	34.59	44.27	43.55	68.98	57.29	87.10	89.34	136.02
07	12.69	30.12	39.85	39.29	54.12	82.53	78.29	94.24	100.23	111.47	137.98

【0233】

効果実施例8：安全性評価

ICRマウスを雄雌半々の2群に分け、ADC-8201とADC029をそれぞれ300mg/kgの用量で投与し、投与時の体重は18.6~21.8gであり、尾静脈注射により投与した。投与後14日目までの各時点でのマウスの体重を測定した。結果の統計は以下の表に示された通りである。ここで、01及び02群にはADC-8201を投与し、03及び04群にはADC029を投与し、01及び03群は雄のマウスであり、02及び04群は雌のマウスである。試験結果(表13に示す)は、マウスへのADC029の投与量が300mg/kgに達した際、マウスの体重が有意に減少しなかったことを

10

20

30

40

50

示し、当該 A D C の安全性は良好であることを示した。

【 0 2 3 4 】

表 1 3 : A D C マウスの体内安全性評価

【表 1 3 】

群	観察日数						
	0	1	2	3	7	10	14
体重／グラム							
01	20.9	19.8	19.8	20.5	25.2	28.2	32.4
02	19.8	19.0	18.3	18.7	22.5	23.1	25.3
03	21.0	20.0	19.7	20.0	25.9	28.8	33.0
04	19.8	18.5	18.0	18.5	22.0	22.5	25.5
標準偏差							
01	0.4	0.4	0.6	3.1	4.4	4.7	4.0
02	0.4	1.2	1.1	0.7	1.7	1.4	3.8
03	0.4	0.8	0.4	1.2	5.0	3.1	2.4
04	0.5	2.1	1.7	4.2	1.7	4.1	6.3

10

20

【 0 2 3 5 】

以上、本発明の具体的な実施形態を説明したが、当業者にとって、これらは例示の説明だけで、本発明の原理と実質に反しないという前提下において、これらの実施形態に対して様々な変更や修正をすることができる。そのため、本発明の保護範囲は添付の請求の範囲によって限定される。

【配列表】

0007407845000001.app

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

	F I			
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/00	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	C 0 7 K	16/30	
A 6 1 P	1/14 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	Z N A
A 6 1 P	1/18 (2006.01)	A 6 1 P	1/14	
A 6 1 P	13/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	15/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/18	
		A 6 1 P	13/00	
		A 6 1 P	15/00	

イ プ ト ン ニ ュ ー エ リ ア チ ャ ン チ ア ン ハ 伊 - テ ッ ク パ ー ク 、 ツ ア イ ル ン ロ ー ド 、 ナ ン バ ー 3 0 8

(72)発明者 カオ、ペイ

中華人民共和国 2 0 1 2 1 0 シ ャ ン ハ 伊 プ ト ン ニ ュ ー エ リ ア チ ャ ン チ ア ン ハ 伊 - テ ッ ク
パ ー ク 、 ツ ア イ ル ン ロ ー ド 、 ナ ン バ ー 3 0 8

(72)発明者 チヤン、イーファン

中華人民共和国 2 0 1 2 1 0 シ ャ ン ハ 伊 プ ト ン ニ ュ ー エ リ ア チ ャ ン チ ア ン ハ 伊 - テ ッ ク
パ ー ク 、 ツ ア イ ル ン ロ ー ド 、 ナ ン バ ー 3 0 8

(72)発明者 チウ、シュエフェイ

中華人民共和国 2 0 1 2 1 0 シ ャ ン ハ 伊 プ ト ン ニ ュ ー エ リ ア チ ャ ン チ ア ン ハ 伊 - テ ッ ク
パ ー ク 、 ツ ア イ ル ン ロ ー ド 、 ナ ン バ ー 3 0 8

(72)発明者 ヤン、トン

中華人民共和国 2 0 1 2 1 0 シ ャ ン ハ 伊 プ ト ン ニ ュ ー エ リ ア チ ャ ン チ ア ン ハ 伊 - テ ッ ク
パ ー ク 、 ツ ア イ ル ン ロ ー ド 、 ナ ン バ ー 3 0 8

(72)発明者 シエン、イーチュン

中華人民共和国 2 0 1 2 1 0 シ ャ ン ハ 伊 プ ト ン ニ ュ ー エ リ ア チ ャ ン チ ア ン ハ 伊 - テ ッ ク
パ ー ク 、 ツ ア イ ル ン ロ ー ド 、 ナ ン バ ー 3 0 8

(72)発明者 チヤン、ウェンポー

中華人民共和国 2 0 1 2 1 0 シ ャ ン ハ 伊 プ ト ン ニ ュ ー エ リ ア チ ャ ン チ ア ン ハ 伊 - テ ッ ク
パ ー ク 、 ツ ア イ ル ン ロ ー ド 、 ナ ン バ ー 3 0 8

(72)発明者 ルヴ、ウェイ

中華人民共和国 2 0 0 0 6 2 シ ャ ン ハ 伊 シ ャ ン ハ 伊 、 チ ョ ン シ ャ ン ロ ー ド (エ ヌ .) ナ ン バ
ー 3 6 6 3

(72)発明者 ワン、レイ

中華人民共和国 2 0 0 0 6 2 シ ャ ン ハ 伊 シ ャ ン ハ 伊 、 チ ョ ン シ ャ ン ロ ー ド (エ ヌ .) ナ ン バ
ー 3 6 6 3

審査官 石井 裕美子

(56)参考文献 国際公開第2 0 1 4 / 0 5 7 6 8 7 (WO , A 1)

国際公開第2 0 1 6 / 0 6 4 7 4 9 (WO , A 1)

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2
A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9
A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0
A 6 1 K 3 9 / 0 0 - 3 9 / 4 4
C 0 7 K 1 6 / 0 0 - 1 6 / 4 6
A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
N)