

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-505638

(P2025-505638A)

(43)公表日 令和7年2月28日(2025.2.28)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68		4 C 0 7 6
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T	4 C 0 8 5
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	E	4 C 0 8 6
C 0 7 D	223/16 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	C	4 H 0 4 5
C 0 7 D	403/12 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全118頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-546369(P2024-546369)	(71)出願人	519211672
(86)(22)出願日	令和5年2月8日(2023.2.8)		ポルト バイオセラピューティクス、インコーポレーテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年8月21日(2024.8.21)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 6 3 , レッドウッド シティ , チェサピーク ドライブ 9 0 0
(86)国際出願番号	PCT/US2023/012576	(74)代理人	110002077
(87)国際公開番号	WO2023/154307		園田・小林弁理士法人
(87)国際公開日	令和5年8月17日(2023.8.17)	(72)発明者	アッカーマン , シェリー エリン
(31)優先権主張番号	63/308,275		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 6 3 , レッドウッド シティ , チェサピーク ドライブ 9 0 0
(32)優先日	令和4年2月9日(2022.2.9)	(72)発明者	アロンソ , マイケル エヌ .
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 6 3 , レッドウッド シティ , チェサ
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV)		ピーク ドライブ 9 0 0 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗体コンジュゲート 8 - スルホニル - ベンザゼピン化合物及びそれらの使用

(57)【要約】

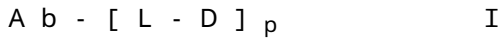
本発明は、1つ以上の8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン誘導体へのコンジュゲーションによって連結された抗体を含む式 (I) の免疫複合体を提供する。本発明は、反応性官能基を含む8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン誘導体中間体組成物も提供する。かかる中間体組成物は、リンカーまたは連結部分を介した本免疫複合体の形成に好適な基質である。本発明は、本免疫複合体を用いてがんを治療する方法を更に提供する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

リンカーによって1つ以上の8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン部分に共有結合した抗体を含み、かつ式 I :



を有する免疫複合体であって、

式中、

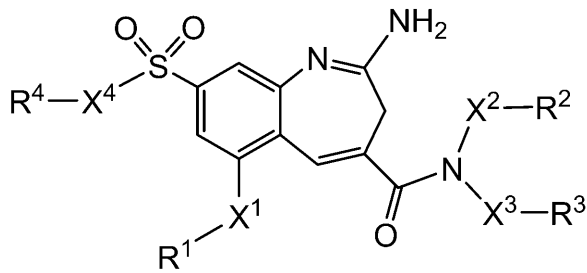
A b が、前記抗体であり、ここで、前記抗体が、P D - L 1、H E R 2、C E A、及び T R O P 2 から選択される標的に結合し、

p が、1 ~ 8 の整数であり、

L が、前記リンカーであり、

D が、式 :

【化 1】



を有する前記 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン部分であり、

R¹、R²、R³、及び R⁴ が独立して、H、C₁ - C₁₂ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₁₂ カルボシクリル、C₆ - C₂₀ アリール、C₂ - C₉ ヘテロシクリル、及び C₁ - C₂₀ ヘテロアリールからなる群から選択され、これらの各々が独立してかつ任意選択で、

- (C₁ - C₁₂ アルキルジイル) - N(R⁵) - *、

- (C₁ - C₁₂ アルキルジイル) - N(R⁵)₂、

- (C₁ - C₁₂ アルキルジイル) - O R⁵、

- (C₃ - C₁₂ カルボシクリル)、

- (C₃ - C₁₂ カルボシクリル) - *、

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

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

- (C₃ - C₁₂ カルボシクリル) - N R⁵ - C (= N R⁵) N R⁵ - *、

- (C₆ - C₂₀ アリール)、

- (C₆ - C₂₀ アリールジイル) - *、

- (C₆ - C₂₀ アリールジイル) - N (R⁵) - *、

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

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

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

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

- (C₂ - C₂₀ ヘテロシクリル)、

- (C₂ - C₂₀ ヘテロシクリル) - *、

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

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

- O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N (R⁵)₂、
 - O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N (R⁵) - *、
 - O - C (= O) N (R⁵)₂、
 - O - C (= O) N (R⁵) - *、
 - O - (R⁵) - *、
 - O R⁵、
 - S (= O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *、
 - S (= O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N (R⁵)₂、
 - S (= O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N R⁵ - *、及び
 - S (= O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - O H から選択される1つ以上の基で置換されるか、
 - または R² と R³ が一緒に5員もしくは6員ヘテロシクリル環を形成し、
 - X¹、X²、X³、及びX⁴が独立して、結合、C (= O)、C (= O) N (R⁵)、O、N (R⁵)、S、S (O)₂、及びS (O)₂ N (R⁵) からなる群から選択され、
 - R⁵が独立して、H、C₆ - C₂₀アリール、C₃ - C₁₂カルボシクリル、C₆ - C₂₀アリールジイル、C₁ - C₁₂アルキル、及びC₁ - C₁₂アルキルジイルからなる群から選択されるか、または2つのR⁵基と一緒に5員もしくは6員ヘテロシクリル環を形成し、
 - R^{5a}が、C₆ - C₂₀アリール及びC₁ - C₂₀ヘテロアリールからなる群から選択され、
- ここで、アスタリスク*がLの結合部位を示し、R¹、R²、R³、及びR⁴のうちの1つがLに結合しており、
- Lが、
- C (= O) - P E G - 、
 - C (= O) - P E G - C (= O) N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) -
 - C (= O) - G l u c - 、
 - C (= O) - P E G - O - 、
 - C (= O) - P E G - O - C (= O) - 、
 - C (= O) - P E G - C (= O) - 、
 - C (= O) - P E G - C (= O) - P E P - 、
 - C (= O) - P E G - N (R⁶) - 、
 - C (= O) - P E G - N (R⁶) - C (= O) - 、
 - C (= O) - P E G - N (R⁶) - P E G - C (= O) - P E P - 、
 - C (= O) - P E G - N⁺ (R⁶)₂ - P E G - C (= O) - P E P - 、
 - C (= O) - P E G - C (= O) - P E P - N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - 、
 - C (= O) - P E G - C (= O) - P E P - N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) N (R⁶) C (= O) - (C₂ - C₅モノヘテロシクリルジイル) - 、
 - C (= O) - P E G - S S - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - O C (= O) - 、
 - C (= O) - P E G - S S - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C (= O) - 、
 - スクシンイミジル - (C H₂)_m - C (= O) N (R⁶) - P E G - 、
 - スクシンイミジル - (C H₂)_m - C (= O) N (R⁶) - P E G - C (= O) N (R⁶) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - C (= O) - G l u c - 、
 - スクシンイミジル - (C H₂)_m - C (= O) N (R⁶) - P E G - O - 、
 - スクシンイミジル - (C H₂)_m - C (= O) N (R⁶) - P E G - O - C (= O) -) - 、
 - スクシンイミジル - (C H₂)_m - C (= O) N (R⁶) - P E G - C (= O) -

10

20

30

40

50

- スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - N(R⁵) -
 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - N(PEG - CO₂H) - PEG - N(R⁵) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - C(=O)N(PEG - CO₂H) - PEG - N(R⁵) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - N(R⁵) - C(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - N(PEG - CO₂H) - PEG - C(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - C(=O)N(PEG - CO₂H) - PEG - C(=O) - 、
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - C(=O) - PEP - 、及び
 - スクシンイミジル - (CH₂)_m - C(=O)N(R⁶) - PEG - SS - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - OC(=O) - からなる群から選択される前記リンカーであり、

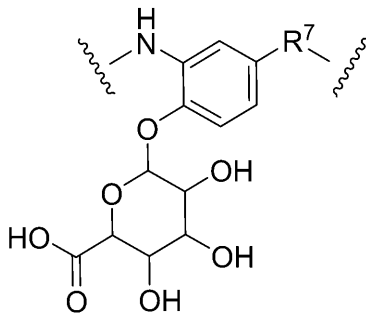
10

R⁶が独立して、HまたはC₁ - C₆アルキルであり、
 PEGが、式： - (CH₂CH₂O)_n - (CH₂)_m - を有し、mが、1 ~ 5の整数であり、nが、2 ~ 50の整数であり、

20

Glucが、式：

【化2】

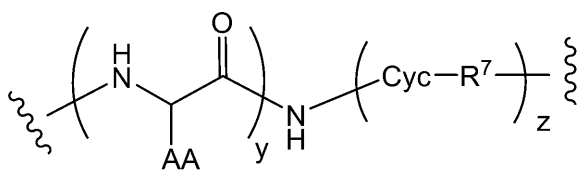


30

を有し、

PEPが、式：

【化3】



40

を有し、

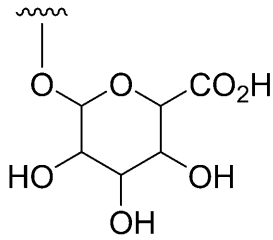
式中、AAが独立して、天然もしくは非天然アミノ酸側鎖から選択されるか、またはAのうちの1つ以上と隣接する窒素原子とが5員環プロリンアミノ酸を形成し、波線が結

50

合点を示し、

C y c が、任意選択で F、Cl、NO₂、-OH、-OCH₃、及び構造：

【化 4】



10

を有するグルクロン酸から選択される 1 つ以上の基で置換される、C₆ - C₂₀ アリール
ジイル及び C₁ - C₂₀ ヘテロアリールジイルから選択され、

R⁷ が、-CH(R⁸)O-、-CH₂-、-CH₂N(R⁸)-、及び -CH(R⁸)
O-C(=O)- (式中、R⁸ が、H、C₁ - C₆ アルキル、C(=O) - C₁ - C₆
アルキル、及び -C(=O)N(R⁹)₂ から選択され、式中、R⁹ が独立して、H、C
C₁ - C₁₂ アルキル、及び -(CH₂CH₂O)_n - (CH₂)_m - OH からなる群から選
択され、式中、m が、1 ~ 5 の整数であり、n が、2 ~ 50 の整数である) からなる群か
ら選択されるか、または 2 つの R⁹ 基が一緒に 5 員もしくは 6 員ヘテロシクリル環を形成
し、

20

y が、2 ~ 12 の整数であり、

z が、0 または 1 であり、

アルキル、アルキルジイル、アルケニル、アルケニルジイル、アルキニル、アルキニル
ジイル、アリール、アリールジイル、カルボシクリル、カルボシクリルジイル、ヘテロシ
クリル、ヘテロシクリルジイル、ヘテロアリール、及びヘテロアリールジイルが独立して
かつ任意選択で、F、Cl、Br、I、-CN、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH=CH
H₂、-C(CH₃)₂、-C(CH₃)₂CH₃、-CH₂CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH
2CH(CH₃)₂、-CH₂OH、-CH₂OCH₃、-CH₂CH₂OH、-C(CH
3)₂OH、-CH(OH)CH(CH₃)₂、-C(CH₃)₂CH₂OH、-CH₂C
H₂SO₂CH₃、-CH₂OP(O)(OH)₂、-CH₂F、-CHF₂、-CF₃、
-CH₂CF₃、-CH₂CHF₂、-CH(CH₃)CN、-C(CH₃)₂CN、-
CH₂CN、-CH₂NH₂、-CH₂NHSO₂CH₃、-CH₂NHCH₃、-CH₂
N(CH₃)₂、-CO₂H、-COCH₃、-CO₂CH₃、-CO₂C(CH₃)₃、
-COCH(OH)CH₃、-CONH₂、-CONHCH₃、-CON(CH₃)₂、
-C(CH₃)₂CONH₂、-NH₂、-NHCH₃、-N(CH₃)₂、-NHCO
CH₃、-N(CH₃)COCH₃、-NHS(O)₂CH₃、-N(CH₃)C(CH₃)
2CONH₂、-N(CH₃)CH₂CH₂S(O)₂CH₃、-NHC(=NH)H
、-NHC(=NH)CH₃、-NHC(=NH)NH₂、-NHC(=O)NH₂、-
NO₂、=O、-OH、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-OCH₂CH₂OCH₃、-
OCH₂CH₂OH、-OCH₂CH₂N(CH₃)₂、-O(CH₂CH₂O)_n - (C
H₂)_mCO₂H、-O(CH₂CH₂O)_nH、-OCH₂F、-OCHF₂、-OCF
3、-OP(O)(OH)₂、-S(O)₂N(CH₃)₂、-SCH₃、-S(O)₂
CH₃、及び -S(O)₃H から独立して選択される 1 つ以上の基で置換される、前記免
疫複合体、またはその薬学的に許容される塩。

30

40

【請求項 2】

前記抗体が、PD-L1 に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトであ
る、請求項 1 に記載の免疫複合体。

【請求項 3】

50

前記抗体が、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、及びアベルマブ、またはそれらのバイオシミラーもしくはバイオベターからなる群から選択される、請求項 2 に記載の免疫複合体。

【請求項 4】

前記抗体が、HER2 に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトである、請求項 1 に記載の免疫複合体。

【請求項 5】

前記抗体が、トラスツズマブ、ペルツズマブ、マルゲツキシマブ、及びHT-19、またはそれらのバイオシミラーもしくはバイオベターからなる群から選択される、請求項 4 に記載の免疫複合体。

10

【請求項 6】

前記抗体が、CEA に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトである、請求項 1 に記載の免疫複合体。

【請求項 7】

前記抗体が、ラベツズマブ、またはそのバイオシミラーもしくはバイオベターである、請求項 6 に記載の免疫複合体。

【請求項 8】

前記抗体が、TROP2 に結合する抗原結合ドメインを有する抗体コンストラクトである、請求項 1 に記載の免疫複合体。

【請求項 9】

前記抗体が、サシツズマブ、またはそのバイオシミラーもしくはバイオベターである、請求項 8 に記載の免疫複合体。

20

【請求項 10】

X^1 が結合であり、 R^1 がHである、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

【請求項 11】

X^2 が結合であり、 R^2 が $C_1 - C_8$ アルキルである、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

【請求項 12】

X^2 及び X^3 が各々、結合であり、 R^2 及び R^3 が独立して、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-O - (C_1 - C_{12}$ アルキル)、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) - OR^5 、 $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル) - $N(R^5)CO_2R^5$ 、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキル) - $OC(O)N(R^5)_2$ 、 $-O - (C_1 - C_{12}$ アルキル) - $N(R^5)CO_2R^5$ 、及び $-O - (C_1 - C_{12}$ アルキル) - $OC(O)N(R^5)_2$ から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

30

【請求項 13】

R^2 が $C_1 - C_8$ アルキルであり、 R^3 が $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル) - $N(R^5)CO_2R^4$ である、請求項 12 に記載の免疫複合体。

【請求項 14】

R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が、 $-CH_2CH_2CH_2NHCO_2$ (t-Bu)、 $-OCH_2CH_2NHCO_2$ (シクロブチル)、及び $-CH_2CH_2CH_2NHC$
 CO_2 (シクロブチル) から選択される、請求項 12 に記載の免疫複合体。

40

【請求項 15】

R^2 及び R^3 が各々独立して、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CF_3$ 、 $-CH_2CH_2CF_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、及び $-CH_2CH_2CH_2OH$ から選択される、請求項 12 に記載の免疫複合体。

【請求項 16】

R^2 及び R^3 が各々、 $-CH_2CH_2CH_3$ である、請求項 12 に記載の免疫複合体。

【請求項 17】

R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が $-OCH_2CH_3$ である、請求項 12 に記

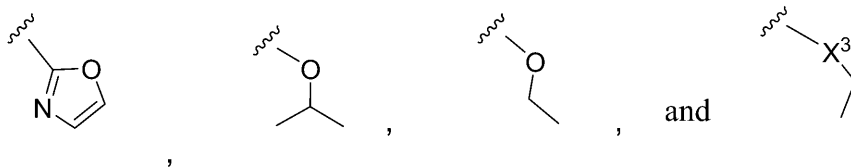
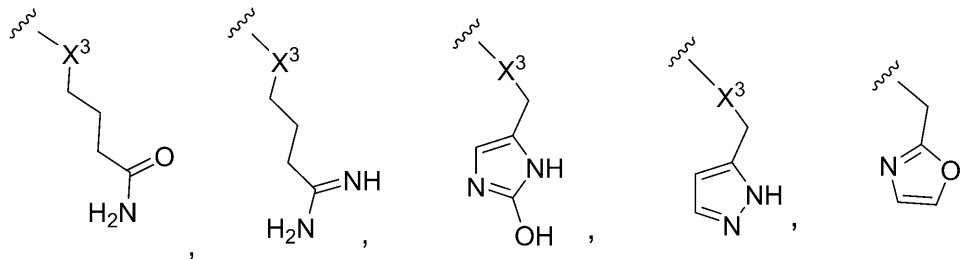
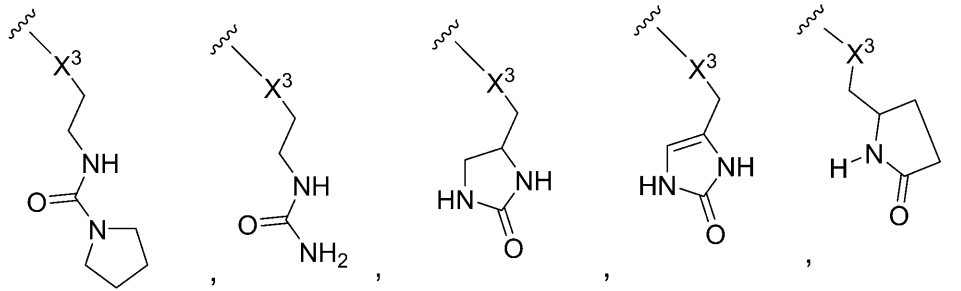
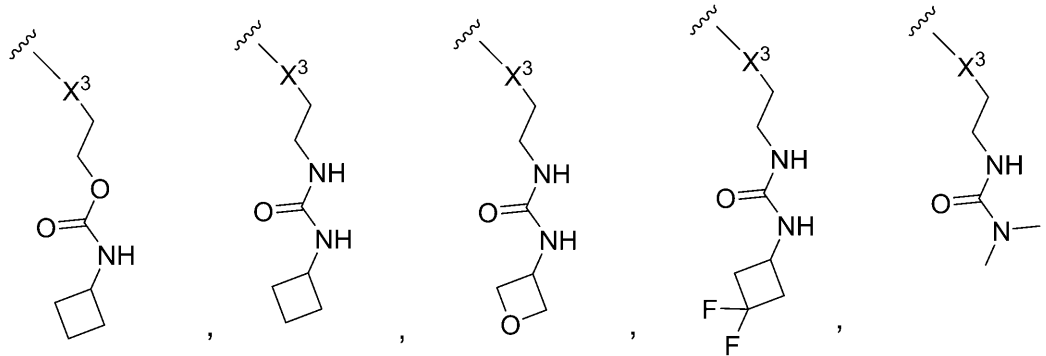
50

載の免疫複合体。

【請求項 18】

$X^3 - R^3$ が、

【化 5】



からなる群から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

【請求項 19】

X^4 が結合であり、 R^4 が H である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体

。

【請求項 20】

R^1 が L に結合している、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

【請求項 21】

R^2 または R^3 が L に結合している、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体

。

【請求項 22】

$X^3 - R^3 - L$ が、

10

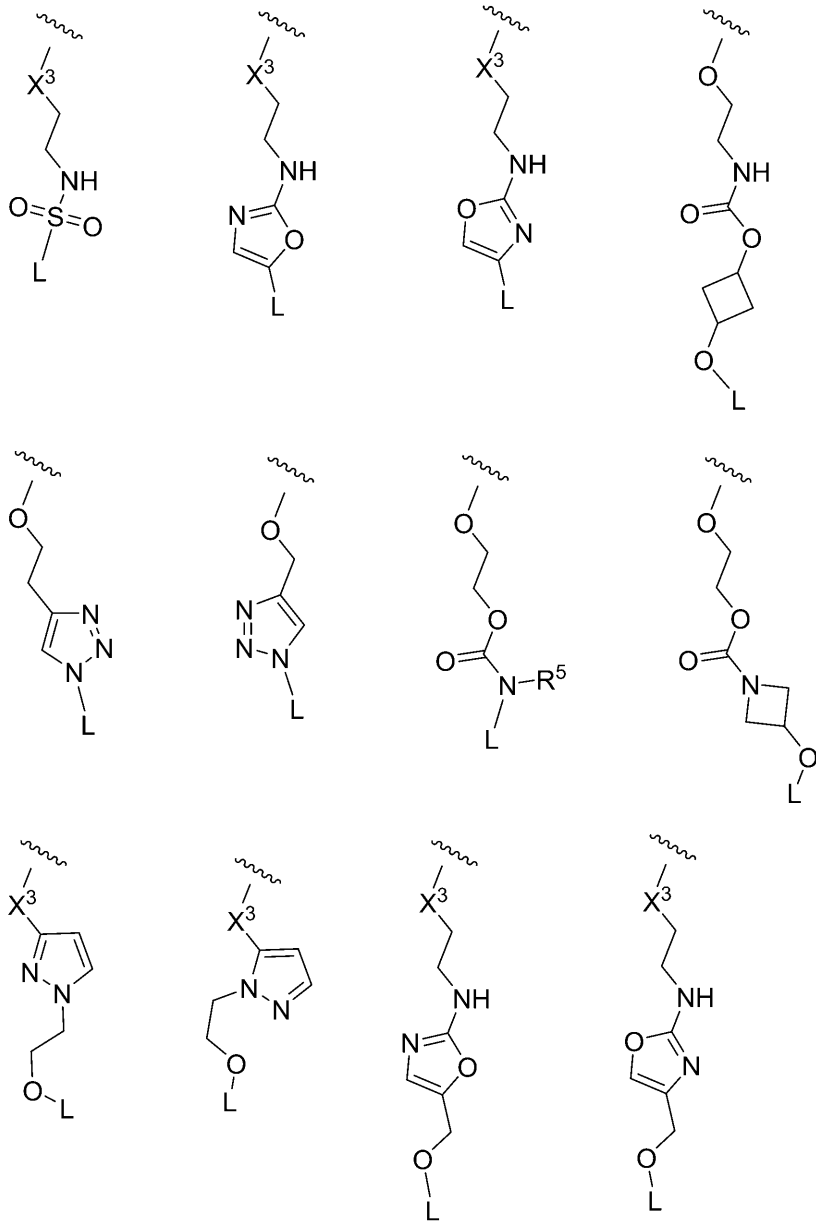
20

30

40

50

【化 6】



10

20

30

からなる群から選択され、

ここで、波線がNへの結合点を示す、請求項21に記載の免疫複合体。

【請求項23】

R⁴がC₁-C₁₂アルキルである、請求項1~9のいずれか1項に記載の免疫複合体

40

【請求項24】

R⁴が-(C₁-C₁₂アルキルジイル)-N(R⁵)-*であり、ここで、アスタリスク*がLの結合部位を示す、請求項1~9のいずれか1項に記載の免疫複合体。

【請求項25】

Lが-C(=O)-PEG-または-C(=O)-PEG-C(=O)-である、請求項1~9のいずれか1項に記載の免疫複合体。

【請求項26】

Lが前記抗体のシステインチオールに結合している、請求項1~9のいずれか1項に記載の免疫複合体。

50

【請求項 27】

前記 PEG について、m が 1 または 2 であり、n が 2 ~ 10 の整数である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

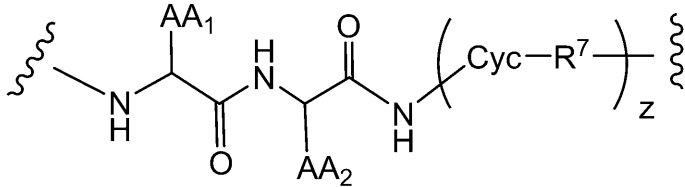
【請求項 28】

n が 10 である、請求項 27 に記載の免疫複合体。

【請求項 29】

L が PEP を含み、PEP がジペプチドであり、かつ式：

【化 7】



10

を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

【請求項 30】

AA₁ 及び AA₂ が独立して、H、-CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH₂(C₆H₅)、-CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂CH₂NHC(NH)NH₂、-CHCH(CH₃)CH₃、-CH₂SO₃H、及び -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ から選択されるか、または AA₁ と AA₂ が 5 員環プロリンアミノ酸を形成する、請求項 29 に記載の免疫複合体。

20

【請求項 31】

AA₁ が -CH(CH₃)₂ であり、AA₂ が -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ である、請求項 29 に記載の免疫複合体。

【請求項 32】

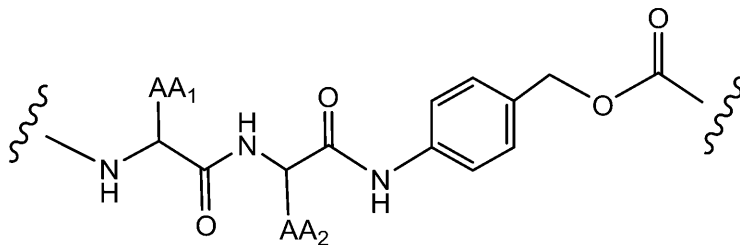
AA₁ 及び AA₂ が独立して、GlcNAc アスパラギン酸、-CH₂SO₃H、及び -CH₂OPO₃H から選択される、請求項 29 に記載の免疫複合体。

30

【請求項 33】

PEP が、式：

【化 8】



40

を有し、

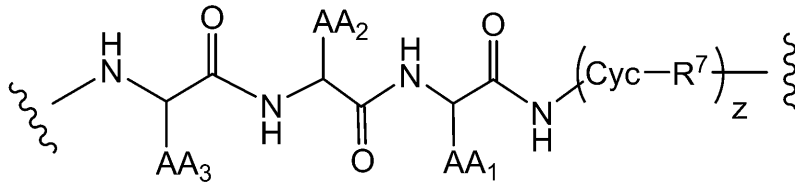
式中、AA₁ 及び AA₂ が独立して、天然に存在するアミノ酸の側鎖から選択される、請求項 29 に記載の免疫複合体。

【請求項 34】

L が PEP を含み、PEP がトリペプチドであり、かつ式：

50

【化 9】



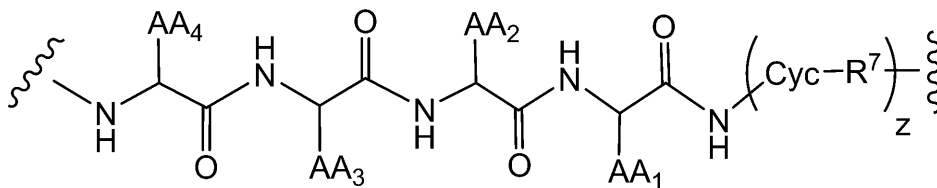
10

を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

【請求項 35】

L が PEP を含み、PEP がテトラペプチドであり、かつ式：

【化 10】



20

を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

【請求項 36】

AA₁ が、Abu、Ala、及び Val からなる群から選択され、

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

AA₃ が、Ala 及び Met(O)₂ からなる群から選択され、

AA₄ が、Oic、Arg(NO₂)、Bpa、及び Nle(O-Bzl) からなる群から選択される、請求項 35 に記載の免疫複合体。

30

【請求項 37】

L が PEP を含み、PEP が、Ala-Pro-Val、Asn-Pro-Val、Ala-Ala-Val、Ala-Ala-Pro-Ala、Ala-Ala-Pro-Val、及び Ala-Ala-Pro-Nva からなる群から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

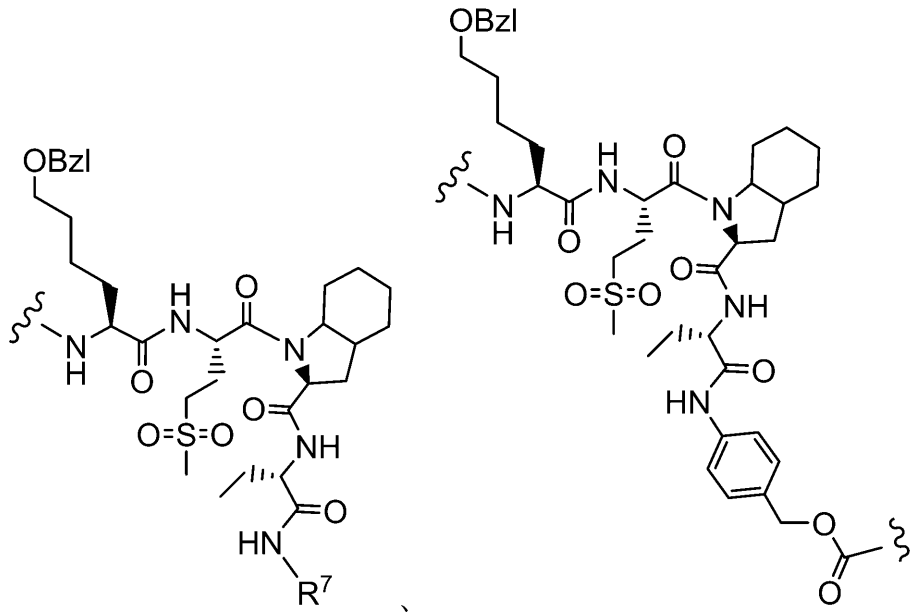
【請求項 38】

L が PEP を含み、PEP が、構造：

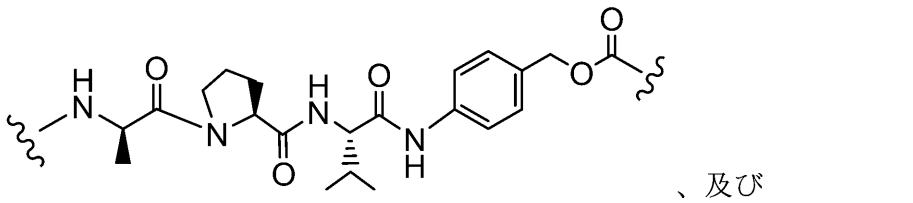
40

50

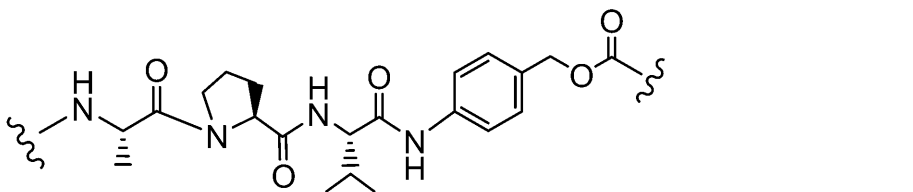
【化 1 1】



10



20



30

から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体。

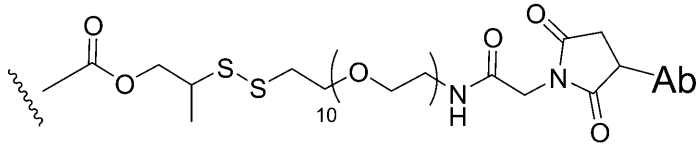
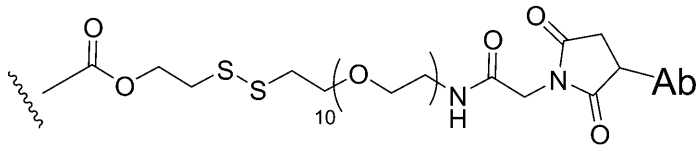
【請求項 39】

L が、構造：

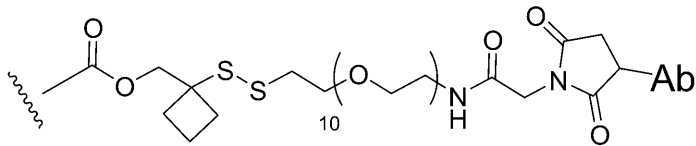
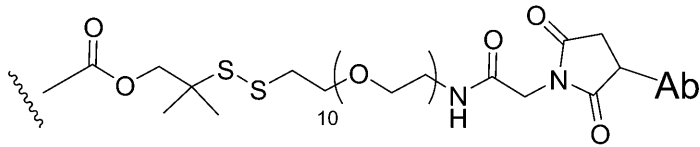
40

50

【化 1 2】



10



20

から選択され、

ここで、波線が R⁵ への結合を示す、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体

【請求項 4 0】

表 2 a から選択される、8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物。

【請求項 4 1】

抗体と、表 2 a から選択される 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物とのコンジュゲーションによって調製される、免疫複合体。

30

【請求項 4 2】

治療有効量の請求項 1 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体と、1 つ以上の薬学的に許容される希釈剤、ビヒクル、担体、または賦形剤と、を含む、薬学的組成物。

【請求項 4 3】

がんを治療するための方法であって、治療有効量の請求項 1 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体を、それを必要とする患者に投与することを含み、前記がんが、子宮頸癌、子宮内膜癌、卵巣癌、前立腺癌、膵臓癌、食道癌、膀胱癌、尿路癌、尿路上皮癌、肺癌、非小細胞肺癌、メルケル細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、及び乳癌から選択される

40

【請求項 4 4】

前記がんが、T L R 7 及び / または T L R 8 アゴニズムによって誘導される炎症誘発性応答に感受性である、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記がんが、トリプルネガティブ乳癌、転移性メルケル細胞癌、及び胃食道接合部腺癌から選択される、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記免疫複合体が、前記患者に、静脈内、腫瘍内、または皮下投与される、請求項 4 3 に記載の方法。

50

【請求項 47】

前記免疫複合体が、前記患者に、体重 1 kg 当たり約 0.01 ~ 20 mg の用量で投与される、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 48】

がんを治療するための請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の免疫複合体の使用であって、前記がんが、子宮頸癌、子宮内膜癌、卵巣癌、前立腺癌、膵臓癌、食道癌、膀胱癌、尿路癌、尿路上皮癌、肺癌、非小細胞肺癌、メルケル細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、及び乳癌から選択される、前記使用。

【請求項 49】

請求項 40 に記載の 8 - スルホニル - 2 - アミノ - チエノアゼピン - リンカー化合物が前記抗体とコンジュゲートされている、請求項 1 に記載の式 I の免疫複合体を調製する方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本非仮出願は、参照により全体が組み込まれる、2022年2月9日に提出された米国仮出願第 63 / 308 , 275 号に対する優先権の利益を主張する。

【0002】

配列表

20

本出願は、XML 形式で提出されており、かつ参照により全体が本明細書に組み込まれる配列表を含む。2023年1月24日に作成された上記のXMLコピーは、17019.023WO1-TW1 という名前であり、13,070 バイトのサイズである。

【0003】

本発明は、概して、1つ以上の 8 - スルホニル - ベンザゼピン分子にコンジュゲートされた抗体を含む免疫複合体に関する。

【背景技術】

【0004】

アクセスできない腫瘍に到達するために及び/またはがん患者及び他の対象の治療選択肢を拡大するために、抗体及び免疫アジュバントを送達するための新たな組成物及び方法が必要とされている。本発明は、かかる組成物及び方法を提供する。

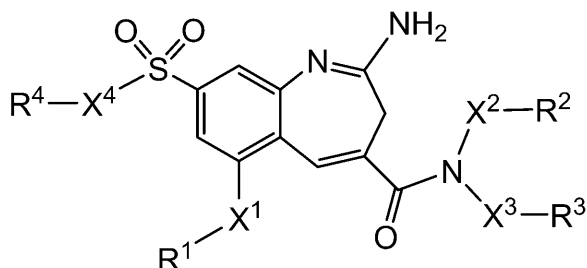
30

【発明の概要】

【0005】

本発明は、概して、リンカーによって以下の式を有する 1つ以上の 8 - スルホニル - ベンザゼピン TLR アゴニスト部分に共有結合した、抗 PD - L1、抗 HER2、抗 CEA、及び抗 TROP2 から選択される抗体を含む免疫複合体を対象とし、

【化 1】



40

式中、R¹、R²、R³、及びR⁴のうちの1つは、Lに結合している。様々な置換基は、本明細書で定義される。

50

【0006】

本発明の別の態様は、1つ以上の8 - スルホニル - ベンザゼピン - リンカー化合物と、抗PD - L1、抗HER2、抗CEA、及び抗TROP2から選択される抗体とのコンジュゲーションによって免疫複合体を調製する方法である。

【0007】

本発明の別の態様は、リンカーによって1つ以上の8 - スルホニル - ベンザゼピン部分に共有結合した、抗PD - L1、抗HER2、抗CEA、及び抗TROP2から選択される抗体を含む治療有効量の免疫複合体と、1つ以上の薬学的に許容される希釈剤、ビヒクル、担体、または賦形剤と、を含む薬学的組成物である。

【0008】

本発明の別の態様は、8 - スルホニル - ベンザゼピン - リンカー化合物である。

【0009】

本発明の別の態様は、リンカーによって1つ以上の8 - スルホニル - ベンザゼピン部分に共有結合した、抗PD - L1、抗HER2、抗CEA、及び抗TROP2から選択される抗体を含む治療有効量の免疫複合体を投与することを含む、がんを治療するための方法である。

【0010】

本発明の別の態様は、疾病、特にがんの治療における、リンカーによって1つ以上の8 - スルホニル - ベンザゼピン部分に共有結合した、抗PD - L1、抗HER2、抗CEA、及び抗TROP2から選択される抗体を含む免疫複合体の使用である。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】様々な濃度の免疫複合体IC - 3、比較CIC - 1、及び裸抗体TROP2を、がん細胞とcDC濃縮一次細胞分離株との共培養物とともにインキュベートした後の分泌型TNF（腫瘍壊死因子アルファ）サイトカインレベルのグラフを示す。

【図2】様々な濃度の免疫複合体IC - 3、比較CIC - 2、及び裸抗体TROP2を、がん細胞とcDC濃縮一次細胞分離株との共培養物とともにインキュベートした後の分泌型TNF α （腫瘍壊死因子アルファ）サイトカインレベルのグラフを示す。

【発明を実施するための形態】

【0012】

これより本発明のある特定の実施形態を詳細に参照するが、それらの例は、添付の構造及び式に例証されている。本発明は、列挙された実施形態と併せて説明されるが、それらは、本発明をそれらの実施形態に限定するようには意図されていないことが理解されるであろう。逆に、本発明は、特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲内に含まれる全ての代替物、修正、及び等価物を網羅するよう意図されている。

【0013】

当業者であれば、本発明の実施に使用することができる、本明細書に記載されているものと同様または同等の多くの方法及び材料を理解するであろう。本発明は、決して記載の方法及び材料に限定されるものではない。

【0014】

定義

「免疫複合体」または「免疫刺激抗体複合体」という用語は、リンカーを介してアジュバント部分に共有結合した抗体コンストラクトを指す。「アジュバント」という用語は、アジュバントに曝露された対象において免疫応答を誘発することができる物質を指す。

【0015】

「アジュバント部分」とは、例えば、本明細書に記載されているように、リンカーを介して抗体コンストラクトに共有結合したアジュバントを指す。アジュバント部分は、抗体コンストラクトに結合している間、または対象への免疫複合体の投与後の抗体コンストラクトからの切断（例えば、酵素的切断）後に免疫応答を誘発することができる。

【0016】

10

20

30

40

50

「アジュバント」とは、アジュバントに曝露された対象において免疫応答を誘発することができる物質を指す。

【0017】

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

【0018】

「Toll様受容体7」及び「TLR7」という用語は、一般公開されているTLR7配列（例えば、ヒトTLR7ポリペプチドのGenBankアクセッション番号AAZ99026またはマウスTLR7ポリペプチドのGenBankアクセッション番号AAK62676）と少なくとも約70%、約80%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、またはそれ以上の配列同一性を共有している核酸またはポリペプチドを指す。

10

【0019】

「Toll様受容体8」及び「TLR8」という用語は、一般公開されているTLR8配列（例えば、ヒトTLR8ポリペプチドのGenBankアクセッション番号AAZ95441またはマウスTLR8ポリペプチドのGenBankアクセッション番号AAK62677）と少なくとも約70%、約80%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、またはそれ以上の配列同一性を共有している核酸またはポリペプチドを指す。

20

【0020】

「TLRアゴニスト」は、TLR（例えば、TLR7及び/またはTLR8）に直接的または間接的に結合して、TLRシグナル伝達を誘導する化合物である。TLRシグナル伝達の検出可能な差異は、アゴニストがTLRを刺激または活性化するのを示している可能性がある。シグナル伝達の差異は、例えば、標的遺伝子の発現、シグナル伝達成分のリン酸化、核因子- κ （NF- κ B）などの下流要素の細胞内局在化、ある特定の成分（IL-1受容体関連キナーゼ（IRAK）など）と他のタンパク質もしくは細胞内構造との関連、またはキナーゼ（マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ（MAPK）など）などの成分の生化学的活性の変化として現れることができる。

30

【0021】

「抗体」とは、免疫グロブリン遺伝子またはその断片由来の抗原結合領域（相補性決定領域（CDR）を含む）を含むポリペプチドを指す。「抗体」という用語は具体的には、所望の生物活性を示す、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を包含する。例示的な免疫グロブリン（抗体）構造単位は、四量体を含む。各四量体は、2つの同一のポリペプチド鎖対で構成され、各対は、ジスルフィド結合によって接続される、1つの「軽鎖」（約25kDa）及び1つの「重鎖」（約50~70kDa）を有する。各鎖は、免疫グロブリンドメインと呼ばれる構造ドメインから構成される。これらのドメインは、サイズ及び機能、例えば、軽鎖及び重鎖上の可変ドメインまたは領域（それぞれ、V_L及びV_H）、ならびに軽鎖及び重鎖上の定常ドメインまたは領域（それぞれ、C_L及びC_H）によって異なるカテゴリーに分類される。各鎖のN-末端は、抗原認識を主に担う、パラトープと呼ばれる、約100~110個以上のアミノ酸の可変領域、すなわち、抗原結合ドメインを画定する。軽鎖は、カッパまたはラムダのいずれかに分類される。重鎖は、ガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、またはイプシロンに分類され、次いで、これは、それぞれ、免疫グロブリンクラス、IgG、IgM、IgA、IgD、及びIgEを定義する。IgG抗体は、4つのペプチド鎖で構成される約150kDaの大きな分子である。IgG抗体は、約50kDaの2つの同一のクラス重鎖と約25kDaの2つの同一の軽鎖を含み、したがって四量体の四次構造を含む。2つの重鎖は、ジスルフィド結合に

40

50

よって互いに連結されており、各々軽鎖に連結されている。結果として得られた四量体は2つの同じの半分部分を持ち、これらが一緒になってY字型の形状を形成する。枝分かれした両端には、同じの抗原結合ドメインが含まれている。ヒトには4つのIgGサブクラス(IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4)があり、血清中の存在量の順に名前がつけられている(つまり、IgG1が最も豊富である)。通常、抗体の抗原結合ドメインは、がん細胞への結合の特異性及び親和性において最も重要である。

【0022】

「二重特異性」抗体(bisAb)は、2つの異なるエピトープをがん細胞に結合する抗体である(Suurs F. V. et al (2019) Pharmacology & Therapeutics 201: 103-119)。二重特異性抗体は、免疫細胞に係合して腫瘍細胞を破壊し、ペイロードを腫瘍に送達することができ、及び/または腫瘍シグナル伝達経路を遮断することができる。特定の抗原を標的にする抗体は、特定の抗原を標的にする少なくとも1つの抗原結合領域を有する二重特異性または多重特異性抗体を含む。いくつかの実施形態では、標的モノクローナル抗体は、腫瘍細胞を標的とする少なくとも1つの抗原結合領域を有する二重特異性抗体である。かかる抗原としては、メソテリン、前立腺特異的膜抗原(PSMA)、HER2、TROP2、CEA、EGFR、5T4、ネクチン4、CD19、CD20、CD22、CD30、CD70、B7H3、B7H4(別名、08E)、タンパク質チロシンキナーゼ7(PTK7)、グリピカン3、RG1、フコシルGM1、CTLA-4、及びCD44(WO2017/196598)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0023】

いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトは、抗原結合抗体「断片」であり、これは、抗体の少なくとも抗原結合領域を、単独で、または抗体コンストラクトと一緒に構成する他の成分とともに含む。例えば、(i)VL、VH、CL、及びCH1ドメインからなる一価断片であるFab断片、(ii)ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFab断片からなる二価断片であるF(ab')₂断片、(iii)抗体の単一アームのVL及びVHドメインからなるFv断片、(iv)軽度の還元条件を使用してF(ab')₂断片のジスルフィド架橋を破壊することから生じるFab'断片、(v)ジスルフィド安定化Fv断片(dsFv)、及び(vi)2つのドメインが、単一のポリペプチド鎖として合成されることを可能にする合成リンカーによって結合される、Fv断片の2つのドメイン(すなわち、VL及びVH)からなる一価分子である単鎖Fv(scFv)を含む、多くの異なる種類の抗体「断片」は、当該技術分野で既知である。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトは、(i)抗原結合ドメイン及び(ii)Fcドメインを含む抗体または融合タンパク質を指す。

【0024】

抗体または抗体断片は、より大きなコンストラクト、例えば、抗体断片の更なる領域への複合体または融合コンストラクトの一部であり得る。例えば、いくつかの実施形態では、抗体断片は、本明細書に記載されているようにFc領域に融合することができる。他の実施形態では、抗体断片(例えば、FabまたはscFv)は、例えば、膜貫通ドメインへの融合(任意選択で介在するリンカーまたは「ストーク」(例えば、ヒンジ領域)により)及び任意選択の細胞間シグナル伝達ドメインへの融合によって、キメラ抗原受容体またはキメラT細胞受容体の一部であり得る。例えば、抗体断片は、t細胞受容体の鎖及び/または鎖に融合されて、PD-L1に結合するT細胞受容体様コンストラクトを提供し得る。更に別の実施形態では、抗体断片は、CD1またはCD3に結合するドメイン及びリンカーを含む二重特異性T細胞エンゲージャー(BiTE)の一部である。

【0025】

いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトは、Fcドメインを含む。ある特定の形態では、抗体コンストラクトは、抗体である。ある特定の形態では、抗体コンストラクトは、融合タンパク質である。抗原結合ドメインは、単鎖可変領域断片(scFv)であり得る。単鎖可変領域断片(scFv)は、合成ペプチドを介して抗体軽鎖のVD

10

20

30

40

50

メインに連結された抗体重鎖の可変(V)ドメインを含む切断型Fab断片であり、通常の組換えDNA技術技法を使用して生成することができる。同様に、ジスルフィド安定化可変領域断片(dsFv)は、組換えDNA技術によって調製できる。抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、抗CEA抗体の抗原結合ドメインの1つ以上の可変領域(例えば、2つの可変領域)を含んでもよく、各可変領域は、CDR1、CDR2、及びCDR3を含む。

【0026】

「システイン変異抗体」とは、抗体の1つ以上のアミノ酸残基がシステイン残基で置換されている抗体である。システイン変異抗体は、抗体操作方法によって親抗体から調製され得る(Junutula, et al., (2008b) Nature Biotech 10 h., 26(8):925-932、Dornan et al. (2009) Blood 114(13):2721-2729、US7521541、US7723485、US2012/0121615、WO2009/052249)。システイン残基は、操作されたシステイン部位での反応性システインチオール基を介した抗体へのTLRアゴニストなどのアジュバントの部位特異的コンジュゲーションを提供するが、免疫グロブリンの折り畳み及び組み立てを妨害しないか、または抗原結合及びエフェクター機能を変化させない。システイン変異抗体は、免疫複合体の均一な化学量論(例えば、単一の操作された変異システイン部位を有する抗体における抗体1つ当たり最大2つのTLRアゴニスト部分)により、TLRアゴニスト-リンカー化合物にコンジュゲートすることができる。TLRアゴニスト-リンカー化合物は、システイン変異抗体の遊離システインチオール基と特異的に反応する反応性求電子基を有する。 20

【0027】

「エピトープ」とは、抗原結合ドメインが結合する抗原の任意の抗原決定基またはエピトープ決定基(すなわち、抗原結合ドメインのパラトープで)を意味する。抗原決定基は通常、アミノ酸または糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面基からなり、通常、特定の三次元構造特性及び特定の電荷特性を有する。

【0028】

「Fc受容体」または「FcR」という用語は、抗体のFc領域に結合する受容体を指す。Fc受容体の3つの主要なクラス:(1)IgGに結合するFcR、(2)IgAに結合するFcR、及び(3)IgEに結合するFcRが存在する。FcRファミリーには、FcRI(CD64)、FcRIIA(CD32A)、FcRIIB(CD32B)、FcRIIIA(CD16A)、及びFcRIIIB(CD16B)などのいくつかのメンバーが含まれる。Fc受容体はIgGに対する親和性が異なり、IgGサブクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)に対する親和性も異なる。 30

【0029】

本明細書で言及される核酸またはアミノ酸配列の「同一性」は、対象の核酸またはアミノ酸配列を参照する核酸またはアミノ酸配列と比較することによって決定され得る。同一性パーセントは、最適に整列された対象の配列と最長の配列の長さ(すなわち、対象の配列または参照配列のいずれかの長さ、いずれか長い方)で割った参照配列との間で同じ(すなわち、同一)であるヌクレオチドまたはアミノ酸残基の数である。配列のアラインメント及び同一性パーセントの計算は、利用可能なソフトウェアプログラムを使用して実行することができる。かかるプログラムの例としては、CLUSTAL-W、T-Coffee、ALIGN(核酸及びアミノ酸配列のアラインメントのための)、BLASTプログラム(例えば、BLAST2.1、BL2SEQ、BLASTp、BLASTnなど)、及びFASTAプログラム(例えば、FASTA3x、FASTM、及びSEARCH)(配列アラインメント及び配列類似性検索のための)が挙げられる。配列アラインメントアルゴリズムは、例えば、Altschulet al., J. Molecular Biol., 215(3):403-410(1990)、Beigert et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106(10):3770-37 40 50

75 (2009)、Durbin et al., eds., Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids, Cambridge University Press, Cambridge, UK (2009)、Soding, Bioinformatics, 21 (7): 951 - 960 (2005)、Altschul et al., Nucleic Acids Res., 25 (17): 3389 - 3402 (1997)、及び Gusfield, Algorithms on Strings, Trees and Sequences, Cambridge University Press, Cambridge UK (1997) にも開示されている。配列の同一性パーセント (%) は、例えば、 $100 \times [(\text{同一位置}) / \min(\text{TGA}, \text{TGB})]$ として計算することもでき、式中、 TGA 及び TGB は、 TGA 及び TGB を最小化するアラインメントにおけるペプチド配列 A 及び B の残基数と内部ギャップ位置の合計である。例えば、Russell et al., J. Mol Biol., 244 : 332 - 350 (1994) を参照されたい。

10

【0030】

「抗体コンストラクト」または「結合剤」は、一緒に抗原結合部位を形成する Ig 重鎖及び軽鎖可変領域ポリペプチドを含む。重鎖可変領域及び軽鎖可変領域は各々、フレームワーク領域によって連結された3つの相補性決定領域 (CDR1、CDR2 及び CDR3) を含むポリペプチドである。抗体コンストラクトは、Ig 重鎖及び軽鎖を含む、当該技術分野で既知の様々な種類の結合剤のいずれかであり得る。例えば、結合剤は、抗体、抗原結合抗体「断片」、または T 細胞受容体であり得る。

20

【0031】

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

30

【0032】

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

【0033】

「アミノ酸」とは、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質に組み込むことができる任意のモノマー単位を指す。アミノ酸には、天然に存在する α -アミノ酸とその立体異性体、及び非天然 (天然に存在しない) アミノ酸とその立体異性体が含まれる。所与のアミノ酸の「立体異性体」とは、同じ分子式及び分子内結合を有するが、結合及び原子の異なる三次元配列 (例えば、L-アミノ酸及び対応する D-アミノ酸) を有する異性体を指す。アミノ酸は、グリコシル化 (例えば、N 結合型グリカン、O 結合型グリカン、ホスホグリカン、C 結合型グリカン、またはグリピケーション)、または脱グリコシル化することができる。アミノ酸は、本明細書では、広く知られている3文字の記号、または IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission によって推奨されている1文字の記号のいずれかによって表され得る。

40

【0034】

50

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

10

【0035】

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

20

【0036】

非天然(天然に存在しない)アミノ酸としては、天然に存在するアミノ酸と同様の様式で機能するLまたはD構成のいずれかのアミノ酸類似体、アミノ酸模倣物、合成アミノ酸、N置換グリシン、及びN-メチルアミノ酸が挙げられるが、これらに限定されない。「アミノ酸類似体」とは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造(すなわち、水素と結合している炭素、カルボキシル基、アミノ基)を有するが、側鎖基またはペプチド主鎖が修飾されている非天然アミノ酸、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド及びメチオニンメチルスルホニウムであり得る。「アミノ酸模倣体」とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然アミノ酸と同様に機能する化学化合物を指す。

30

【0037】

「リンカー」とは、化合物または材料中の2つ以上の部分を共有結合する官能基を指す。例えば、連結部分は、免疫複合体中の抗体コンストラクトにアジュバント部分を共有結合させる役割を果たすことができる。

【0038】

「連結部分」とは、化合物または材料中の2つ以上の部分を共有結合する官能基を指す。例えば、連結部分は、免疫複合体中の抗体にアジュバント部分を共有結合させる役割を果たすことができる。連結部分をタンパク質及び他の材料に接続するための有用な結合には、アミド、アミン、エステル、カルバミン酸、尿素、チオエーテル、チオカルバミン酸、チオカーボネート、及びチオ尿素が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0039】

「二価」とは、2つの官能基を連結するための2つの結合点を含む、化学部位を指す。多価連結部分は、更なる官能基を連結するための追加の結合点を有することができる。二価ラジカルは、接尾辞「ジール」で示され得る。例えば、二価連結部分には、二価ポリ(エチレングリコール)、二価シクロアルキル、二価ヘテロシクロアルキル、二価アリール、及び二価ヘテロアリール基などの二価ポリマー部位が含まれる。「二価シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、またはヘテロアリール基」とは、分子または材料中の2つの部分を共有結合的に連結するための2つの結合点を有するシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、またはヘテロアリール基を指す。シクロアルキル、ヘテロ

50

シクロアルキル、アリール、またはヘテロアリール基は、置換であっても非置換であってもよい。シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、またはヘテロアリール基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換することができる。

【0040】

波線 (

【化2】

「」

10

)は、特定の化学部位の結合点を表す。特定の化学部位に2本の波線 (

【化3】

「」

)が存在する場合、化学部位は双方で、つまり左から右または右から左に読み取って使用できることが理解される。いくつかの実施形態では、存在する2つの波線 (

【化4】

20

「」

)を有する特定の部位は、左から右に読まれるように使用されるとみなされる。

【0041】

「アルキル」とは、指示された炭素原子の数を有する、直鎖(線状)または分岐した飽和脂肪族ラジカルを指す。アルキルには、例えば1~12つの任意の数の炭素を含むことができる。アルキル基の例としては、メチル(Me、-CH₃)、エチル(Et、-CH₂CH₃)、1-プロピル(n-Pr、n-プロピル、-CH₂CH₂CH₃)、2-プロピル(i-Pr、i-プロピル、-CH(CH₃)₂)、1-ブチル(n-Bu、n-ブチル、-CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-メチル-1-プロピル(i-Bu、i-ブチル、-CH₂CH(CH₃)₂)、2-ブチル(s-Bu、s-ブチル、-CH(CH₃)CH₂CH₃)、2-メチル-2-プロピル(t-Bu、t-ブチル、-C(CH₃)₃)、1-ペンチル(n-ペンチル、-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-ペンチル(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃)、3-ペンチル(-CH(CH₂CH₃)₂)、2-メチル-2-ブチル(-C(CH₃)₂CH₂CH₃)、3-メチル-2-ブチル(-CH(CH₃)CH(CH₃)₂)、3-メチル-1-ブチル(-CH₂CH₂CH(CH₃)₂)、2-メチル-1-ブチル(-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃)、1-ヘキシル(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-ヘキシル(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃)、3-ヘキシル(-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃))、2-メチル-2-ペンチル(-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃)、3-メチル-2-ペンチル(-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃)、4-メチル-2-ペンチル(-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂)、3-メチル-3-ペンチル(-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂)、2-メチル-3-ペンチル(-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂)、2,3-ジメチル-2-ブチル(-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂)、3,3-ジメチル-2-ブチル(-CH(CH₃)C(CH₃)₃)、1-ヘプチル、1-オクチルなどが挙げられる。アルキル基は、置換であっても非置換であってもよい。「置換アルキル」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキソ(=O)、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の

30

40

50

基で置換することができる。

【0042】

「アルキルジイル」という用語は、二価アルキルラジカルを指す。アルキルジイル基の例としては、メチレン(-CH₂-)、エチレン(-CH₂CH₂-)、プロピレン(-CH₂CH₂CH₂-)などが挙げられるが、これらに限定されない。アルキルジイル基は、「アルキレン」基と呼ばれる場合もある。

【0043】

「アルケニル」とは、指示された炭素原子の数と、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合であるsp²と、を有する、直線状(線状)または分枝状の、不飽和脂肪族ラジカルを指す。アルケニルは、2~約12個以上の炭素原子を含むことができる。アルケニル基は、「シス」及び「トランス」配向、代替的に「E」及び「Z」配向を有するラジカルである。例としては、エチレニルまたはビニル(-CH=CH₂)、アリル(-CH₂CH=CH₂)、ブテニル、ペンテニル、及びそれらの異性体が挙げられるが、これらに限定されない。アルケニル基は、置換であっても非置換であってもよい。「置換アルケニル」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキソ(=O)、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換することができる。

10

【0044】

「アルケニレン」または「アルケニルジイル」という用語は、直鎖または分岐鎖二価炭化水素ラジカルを指す。例としては、エチレニレンまたはビニレン(-CH=CH-)、アリル(-CH₂CH=CH-)などが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0045】

「アルキニル」とは、指示された炭素原子の数及び少なくとも1つの炭素-炭素三重結合、spを有する、直鎖(線状)または分岐した不飽和脂肪族ラジカルを指す。アルキニルは、2~約12個以上の炭素原子を含むことができる。例えば、C₂-C₆アルキニルには、エチニル(-C≡CH)、プロピニル(プロパルギル、 -CH₂C≡CH)、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル、及びそれらの異性体が含まれるが、これらに限定されない。アルキニル基は、置換であっても非置換であってもよい。「置換アルキニル」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキソ(=O)、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換することができる。

【0046】

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

30

【0047】

「カルボサイクル」、「カルボシクリル」、「炭素環」、及び「シクロアルキル」という用語は、3~12個の環原子または指示された原子数を含む、飽和もしくは部分不飽和の単環式、縮合二環式、または架橋多環式環集合体を指す。飽和単環式炭素環には、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、及びシクロオクチルが含まれる。飽和二環式及び多環式炭素環には、例えば、ノルボルナン、[2.2.2]ピシクロオクタン、デカヒドロナフタレン、及びアダマンタンが含まれる。炭素環式基は部分不飽和であり、環に1つ以上の二重結合または三重結合を有する場合もある。部分不飽和である代表的な炭素環式基には、シクロブテン、シクロペンテン、シクロヘキセン、シクロヘキサジエン(1,3-及び1,4-異性体)、シクロヘプテン、シクロヘプタジエン、シクロオクテン、シクロオクタジエン(1,3-、1,4-及び1,5-異性体)、ノルボルネン、及びノルボルナジエンが含まれるが、これらに限定されない。

40

【0048】

「シクロアルキルジイル」という用語は、二価シクロアルキルラジカルを指す。

【0049】

「アリール」とは、親芳香環系の1個の炭素原子から1個の水素原子を除去することによって誘導される、6~20個の炭素原子(C₆-C₂₀)の一価芳香族炭化水素ラジカルを指す。アリール基は、単環式とすることができるか、縮合して二環式もしくは三環式

50

基を形成することができるか、または結合によって連結されてビアリール基を形成することができる。代表的なアリール基には、フェニル、ナフチル、ピフェニルが含まれる。他のアリール基には、メチレン連結基を有するベンジルが含まれる。フェニル、ナフタレン、またはピフェニルなどのいくつかのアリール基は、6～12個の環員を有する。フェニルまたはナフチルなどの他のアリール基は、6～10個の環員を有する。

【0050】

「アリーレン」または「アリールジイル」とは、親芳香環系の2個の炭素原子から2個の水素原子を除去することによって誘導される、6～20個の炭素原子(C₆-C₂₀)の二価芳香族炭化水素ラジカルを意味する。いくつかのアリールジイル基は、例示的構造で「Ar」と表される。アリールジイルは、飽和環、部分不飽和環、または芳香族炭素環と縮合した芳香環を含む、二環式ラジカルを含む。典型的なアリールジイル基としては、ベンゼン(フェニレン)、置換ベンゼン、ナフタレン、アントラセン、ピフェニレン、インデニレン、インダニレン、1,2-ジヒドロナフタレン、1,2,3,4-テトラヒドロナフチルなどに由来するラジカルが挙げられるが、これらに限定されない。アリールジイル基は「アリーレン」とも呼ばれ、任意選択で、本明細書に記載の1つ以上の置換基で置換される。

10

【0051】

「複素環」、「ヘテロシクリル」及び「複素環式環」という用語は、本明細書において同義に使用され、3～約20個の環原子の飽和または部分不飽和(すなわち、1つ以上の二重及び/または三重結合を環の中に有する)炭素環式ラジカルを指し、ここで、少なくとも1つの環原子が、窒素、酸素、リン、及び硫黄から選択されるヘテロ原子であり、残りの環原子がCであり、1つ以上の環原子が、任意選択で、以下に記載の1つ以上の置換基で独立して置換される。複素環は、3～7員環(2～6個の炭素原子ならびにN、O、P、及びSから選択される1～4個のヘテロ原子)の単環または7～10員環(4～9個の炭素原子ならびにN、O、P、及びSから選択される1～6個のヘテロ原子)の二環、例えば、ピシクロ[4,5]、[5,5]、[5,6]、もしくは[6,6]系であってよい。複素環は、Paquette, Leo A., Principles of Modern Heterocyclic Chemistry (W. A. Benjamin, New York, 1968)の特に第1章、第3章、第4章、第6章、第7章、及び第9章、The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs (John Wiley & Sons, New York, 1950～現在)の特に第13巻、第14巻、第16巻、第19巻、及び第28巻、ならびにJ. Am. Chem. Soc. (1960) 82: 5566に記載されている。「ヘテロシクリル」は、複素環ラジカルが、飽和環、部分不飽和環、または芳香族炭素環式環もしくは複素環式環と縮合したラジカルも含む。複素環式環としては、例えば、モルホリン-4-イル、ピペリジン-1-イル、ピペラジニル、ピペラジン-4-イル-2-オン、ピペラジン-4-イル-3-オン、ピロリジン-1-イル、チオモルホリン-4-イル、S-ジオキサチオモルホリン-4-イル、アゾカン-1-イル、アゼチジン-1-イル、オクタヒドロピリド[1,2-a]ピラジン-2-イル、[1,4]ジアゼパン-1-イル、ピロリジニル、テトラヒドロフラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、テトラヒドロピラニル、ジヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、ピペリジノ、モルホリノ、チオモルホリノ、チオキサニル、ピペラジニル、ホモピペラジニル、アゼチジニル、オキセタニル、チエタニル、ホモピペリジニル、オキセパニル、チエパニル、オキサゼピニル、ジアゼピニル、チアゼピニル、2-ピロリニル、3-ピロリニル、インドリニル、2H-ピラニル、4H-ピラニル、ジオキサニル、1,3-ジオキサラニル、ピラゾリニル、ジチアニル、ジチオラニル、ジヒドロピラニル、ジヒドロチエニル、ジヒドロフラニル、ピラゾリニルイミダゾリニル、イミダゾリニル、3-アザピシクロ[3.1.0]ヘキサニル、3-アザピシクロ[4.1.0]ヘプタニル、アザピシクロ[2.2.2]ヘキサニル、3H-インドリルキノリジニル、及びN-ピリジルウレアが挙げられるが、これらに限定されない。スピロヘテロシクリル

20

30

40

50

部位も、本定義の範囲内に含まれる。スピロヘテロシクリル部位の例には、アザスピロ [2 . 5] オクタニル及びアザスピロ [2 . 4] ヘプタニルが挙げられる。2つの環原子がオキソ (= O) 部位で置換された複素環式基の例は、ピリミジノニル及び1, 1 - ジオキソ - チオモルホリニルである。本明細書の複素環式基は、任意選択で、本明細書に記載の1つ以上の置換基で独立して置換される。

【 0 0 5 2 】

「ヘテロシクリルジイル」という用語は、3 ~ 約20個の環原子の二価飽和または部分不飽和（すなわち、1つ以上の二重及び/または三重結合を環の中に有する）炭素環式ラジカルを指し、ここで、少なくとも1つの環原子が、窒素、酸素、リン、及び硫黄から選択されるヘテロ原子であり、残りの環原子がCであり、1つ以上の環原子が、任意選択で、記載の1つ以上の置換基で独立して置換される。5員及び6員のヘテロシクリルジイルとしては、モルホリニルジイル、ペペリジニルジイル、ペペラジニルジイル、ピロリジニルジイル、ジオキサニルジイル、チオモルホリニルジイル、及びS - ジオキソチオモルホリニルジイルが挙げられる。

10

【 0 0 5 3 】

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

20

【 0 0 5 4 】

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

30

【 0 0 5 5 】

複素環またはヘテロアリアル基は、可能な場合、炭素（炭素連結）または窒素（窒素連結）結合であってもよい。例として、限定されないが、炭素結合した複素環またはヘテロアリアルは、ピリジンの2、3、4、5もしくは6位、ピリダジンの3、4、5もしくは6位、ピリミジンの2、4、5もしくは6位、ピラジンの2、3、5もしくは6位、フラン、テトラヒドロフラン、チオフラン、チオフエン、ピロール、もしくはテトラヒドロピロールの2、3、4もしくは5位、オキサゾール、イミダゾール、もしくはチアゾールの2、4もしくは5位、イソキサゾール、ピラゾール、もしくはイソチアゾールの3、4もしくは5位、アジリジンの2もしくは3位、アゼチジンの2、3もしくは4位、キノリンの2、3、4、5、6、7もしくは8位、またはイソキノリンの1、3、4、5、6、7もしくは8位で結合される。

40

【 0 0 5 6 】

50

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

【 0 0 5 7 】

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

【 0 0 5 8 】

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

【 0 0 5 9 】

本明細書で使用される場合、「四級アンモニウム塩」という語句は、アルキル置換基（例えば、メチル、エチル、プロピル、またはブチルなどの C₁ - C₄ アルキル）で四級化された三級アミンを指す。

【 0 0 6 0 】

「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、傷害、病態、状態（例えば、がん）もしくは症状（例えば、認知障害）の治療または寛解における任意の成功の兆候を指し、緩解、寛解、症状の軽減、もしくは症状、傷害、病態もしくは状態を患者にとってより耐えられるものにする、症状の進行速度の減少、症状もしくは状態の頻度、もしくは期間の減少、または状況によっては症状の発症の防止などの任意の客観的または主観的パラメータが含まれる。症状の治療または寛解は、身体検査の結果を含む、任意の客観的または主観的パラメータに基づることができる。

【 0 0 6 1 】

「がん」、「新生物」、及び「腫瘍」という用語は、細胞増殖の制御を著しく失うことを特徴とする異常な増殖表現型を示すような、自律的で制御されない増殖を示す細胞を指すために本明細書で使用される。本発明の文脈において検出、分析、及び/または治療の対象となる細胞には、がん細胞（例えば、がんを有する個体からのがん細胞）、悪性がん細胞、前転移性がん細胞、転移性がん細胞、及び非転移性がん細胞が含まれる。実質的に全ての組織のがんは、知られている。「がん負荷」という語句は、対象におけるがん細胞の量またはがん体積を指す。したがって、がん負荷量を減少させることは、対象中のがん細胞数またはがん細胞体積を減少させることを指す。本明細書で使用される「がん細胞」という用語は、がん細胞（例えば、個体を治療することができる任意のがんから、例えば、がんを有する個体から単離された）である、またはがん細胞に由来する任意の細胞（例えば、がん細胞のクローン）を指す。例えば、がん細胞は、確立されたがん細胞株からのものであってもよく、がんを有する個体から単離された初代細胞であってもよく、がんを有する個体から単離された初代細胞からの子孫細胞であってもよい、などである。いくつかの実施形態では、この用語はまた、がん細胞の細胞内部分、細胞膜部分、または細胞溶解物などのがん細胞の一部を指すことができる。細胞腫、肉腫、膠芽腫、メラノーマ、リンパ腫、及び骨髄腫などの固形腫瘍、ならびに白血病などの循環癌を含む、多くの種類のがんは、当業者に知られている。

【 0 0 6 2 】

本明細書で使用される場合、「がん」という用語は、固形腫瘍がん（例えば、皮膚、肺、前立腺、乳房、胃、膀胱、結腸、卵巣、膵臓、腎臓、肝臓、神経膠芽腫、髄芽腫、平滑筋肉腫、頭頸部扁平上皮癌、黒色腫、及び神経内分泌）、及び液状がん（例えば、血液癌）；癌腫；軟部組織腫瘍；肉腫；奇形腫；黒色腫；白血病；リンパ腫；ならびに脳癌（微小残存病変を含み、原発腫瘍と転移腫瘍の両方を含む）を含むが、これらに限定されない任意の形態のがんを含む。

10

20

30

40

50

【0063】

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

【0064】

「HER2」とは、タンパク質ヒト上皮成長因子受容体2を指す。

【0065】

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

10

【0066】

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

20

【0067】

本明細書で使用される場合、「がん再発」及び「腫瘍再発」という語句、ならびにそれらの文法的変形は、がんの診断後の腫瘍またはがん細胞の更なる増殖を指す。特に、がん組織で更なるがん細胞増殖が起こると再発が起こり得る。同様に「腫瘍の広がり」は、腫瘍の細胞が局所または遠隔組織や臓器に散在するときに発生し、したがって、腫瘍の広がりには腫瘍の転移が含まれる。「腫瘍浸潤」は、腫瘍の増殖が局所的に広がり、正常な臓器機能を圧迫、破壊または阻止することによって関係する組織の機能を損なうときに発生する。

【0068】

本明細書で使用される場合、「転移」という用語は、がん腫瘍のある器官に直接接続していない、器官または身体部分でがん腫瘍が増殖することを指す。転移は、がん腫瘍のある器官に直接接続していない器官または身体部分での検出不可能な量のがん細胞の存在である、微小転移を含むと理解されるであろう。転移は、がん細胞が元の腫瘍部位から離れること、ならびにがん細胞が身体他の部位に移動及び/または浸潤することなどのプロセスのいくつかの段階として定義することもできる。

30

【0069】

「有効量」及び「治療有効量」という語句は、それが投与される治療効果を生み出す免疫複合体などの物質の用量または量を指す。正確な用量は、治療の目的に依存し、既知の技術を使用して当業者によって確認可能である（例えば、Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 1992)、Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999)、Pickar, Dosage Calculations (1999)、Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th Edition (McGraw-Hill, 2006)、及びThe Science and Practice of Pharmacy, 22nd Edition, (Pharmaceutical Press, London, 2012)を参照されたい)。がんの場合、治療有効量の免疫複合体は、がん細胞の数を低下、腫瘍サイズを低下、末梢器官へのがん細胞浸潤を阻害（すなわち、ある程度の減速及び好ましくは停止）、腫瘍転移を阻害（すなわち、ある程度の減速及び好ましくは停止）、腫瘍増

40

50

殖をある程度阻害、及び/またはがんに関連する症状のうちの1つ以上をある程度軽減し得る。免疫複合体が、存在するがん細胞の増殖を阻害し得る、及び/またはそれらを死滅させ得る限り、それは、細胞増殖抑制性及び/または細胞毒性であり得る。がん療法に関して、有効性は、例えば、疾患進行までの時間(TTP)の評価及び/または奏効率(RR)の決定によって測定することができる。

【0070】

「レシピエント」、「個体」、「対象」、「宿主」、及び「患者」という用語は同義に使用され、診断、治療、または療法が所望される任意の哺乳類対象(例えば、ヒト)を指す。治療目的のための「哺乳動物」とは、ヒト、飼育動物及び畜産動物、動物園、競技用、愛玩動物、例えば犬、馬、猫、牛、羊、山羊、豚、ラクダなどを含む哺乳動物に分類される任意の動物を指す。ある特定の実施形態では、哺乳動物は、ヒトである。

10

【0071】

本発明の文脈における「相乗的アジュバント」または「相乗的組み合わせ」という語句は、受容体アゴニスト、サイトカイン、及びアジュバントポリペプチドなどの2つの免疫調節因子の組み合わせを含み、これらは組み合わせて、単独で投与される場合と比較して免疫に対する相乗効果を誘発する。特に、本明細書に開示される免疫複合体は、特許請求されたアジュバント及び抗体コンストラクトの相乗的組み合わせを含む。投与時のこれらの相乗的組み合わせは、例えば、抗体コンストラクトまたはアジュバントが他の部分の非存在下で投与される場合と比較して、免疫に対してより大きな効果を誘発する。更に、抗体コンストラクトまたはアジュバントのいずれかと単独で投与した場合と比較して、減少した量の免疫複合体を投与してもよい(免疫複合体の一部として投与される抗体コンストラクトの総数またはアジュバントの総数によって測定される)。

20

【0072】

本明細書で使用される場合、「投与する」という用語は、非経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、腫瘍内、病巣内、鼻腔内もしくは皮下投与、経口投与、座薬としての投与、局所接触、クモ膜下投与、または徐放出装置、例えば小型浸透ポンプを対象に埋め込むことを指す。

【0073】

数値を修正するために本明細書で使用される「約」及び「およそ」という用語は、その数値の周囲にある近い範囲を示す。したがって、「X」が値である場合、「約X」または「およそX」は、 $0.9X \sim 1.1X$ 、例えば、 $0.95X \sim 1.05X$ 、または $0.99X \sim 1.01X$ の値を示す。「約X」または「およそX」への言及は特に、少なくとも値X、 $0.95X$ 、 $0.96X$ 、 $0.97X$ 、 $0.98X$ 、 $0.99X$ 、 $1.01X$ 、 $1.02X$ 、 $1.03X$ 、 $1.04X$ 、及び $1.05X$ を示す。したがって、「約X」及び「およそX」は、例えば「 $0.98X$ 」の特許請求の範囲の制限を教示し、書面による記述サポートを提供するよう意図されている。

30

【0074】

抗体

例示的な実施形態では、本発明の免疫複合体は、PD-L1を特異的に認識して結合する抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを含む。

40

【0075】

プログラム細胞死リガンド1(PD-L1、分化抗原群274、CD274、B7-ホモログ1、またはB7-H1)は、B7タンパク質スーパーファミリーに属し、かつプログラム細胞死タンパク質1(PD-1、PDCD1、分化抗原群279、またはCD279)のリガンドである。PD-L1はまた、B7.1(CD80)と相互作用することができ、かかる相互作用は、T細胞のプライミングを阻害すると考えられている。PD-L1/PD-1軸は、適応免疫応答の抑制に大きな役割を果たす。より具体的には、PD-L1とその受容体であるPD-1との結合は、T細胞の活性化及び増殖を阻害するシグナルをもたらすと考えられている。PD-L1に結合し、リガンドがPD-1受容体に結合するのを防ぐ薬剤は、この免疫抑制を妨げ、したがって、必要に応じて、例えばがんまた

50

は感染症の治療のために、免疫応答を増強することができる。PD-L1/PD-1経路はまた、自己免疫の予防に寄与し、したがって、PD-L1に対するアゴニスト剤、または免疫阻害ペイロードを送達する薬剤は、自己免疫障害の治療に役立ち得る。

【0076】

アテゾリズマブ(TECENTRIQ(商標))、デュルバルマブ(IMFINZI(商標))、及びアベルマブ(BAVENCIO(商標))を含むPD-L1を標的とするいくつかの抗体が、がんの治療のために開発されている。それにもかかわらず、高い親和性でPD-L1に結合し、かつPD-L1/PD-1シグナル伝達を効果的に防止する薬剤、及び治療ペイロードをPD-L1発現細胞に送達することができる薬剤を含む、新たなPD-L1抗体コンストラクトが依然として必要とされている。加えて、自己免疫疾患及び感染症を治療するための新規のPD-L1結合剤が必要とされている。

10

【0077】

TLRアゴニストペイロードを、PD-L1を発現する細胞に送達する方法であって、当該細胞または当該細胞を含む哺乳動物に、1つ以上のTLRアゴニスト部分に共有結合したリンカーに共有結合した抗PD-L1抗体を含む免疫複合体を投与することを含む、方法が提供される。

【0078】

哺乳動物における免疫応答を増強または低減または阻害するための方法、及びPD-L1阻害に応答する哺乳動物における疾患、障害、または状態を治療するための方法であって、哺乳動物に、そのPD-L1免疫複合体を投与することを含む、方法も提供される。

20

【0079】

本発明は、免疫グロブリン重鎖可変領域ポリペプチド及び免疫グロブリン軽鎖可変領域ポリペプチドを含む、PD-L1抗体を提供する。PD-L1抗体は、PD-L1に特異的に結合する。抗体の結合特異性により、PD-L1を発現する細胞を標的とし、例えば、かかる細胞に治療用ペイロードを送達することが可能になる。いくつかの実施形態では、PD-L1抗体は、ヒトPD-L1に結合する。しかしながら、任意のPD-L1断片、ホモログまたはパラログに結合する抗体も包含される。

【0080】

いくつかの実施形態では、PD-L1抗体は、PD-L1がその受容体であるPD-1に結合することを実質的に阻害または防止することなく、PD-L1に結合する。しかしながら、他の実施形態では、PD-L1抗体は、PD-L1のその受容体であるPD-1への結合を完全にまたは部分的に遮断(阻害または防止)することができ、(例えば、治療目的のために)PD-L1/PD-1シグナル伝達を阻害するために抗体を使用することができる。抗体または抗原結合抗体断片は、PD-L1に対して単一特異的であり得るか、または二重特異的もしくは多重特異的であってよい。例えば、二価または多価抗体または抗体断片において、結合ドメインは、同じ抗原の異なるエピトープを標的とするか、または異なる抗原を標的とする、異なるものであってもよい。多価結合コンストラクトを構築する方法は、当該技術分野で既知である。二重特異性抗体及び多重特異性抗体は、当該技術分野で既知である。更に、ポリペプチド鎖の二量体、三量体、または四量体である、ダイアボディ、トリアボディ、またはテトラボディを提供することができ、これらは各々、同じポリペプチド鎖上のV_HとV_Lとの間の対形成を可能にするには短すぎるペプチドリンカーによってV_Lに接続されたV_Hを含み、それによって、異なるV_H-V_Lポリペプチド鎖上の相補的ドメイン間の対形成を駆動し、2、3、または4個の機能的な抗原結合部位を有する多量体分子を生成する。また、2つの異なる可変領域を有する小さなscFv断片であるビス-scFv断片を生成し、2つの異なるエピトープに結合することが可能な二重特異性ビス-scFv断片を生成することができる。Fab二量体(Fab₂)及びFab三量体(Fab₃)は、Fab断片に基づく多特異的コンストラクトを作成するために、遺伝子工学法を用いて生成することができる。

30

40

【0081】

PD-L1抗体は、ヒト抗体、非ヒト抗体、ヒト化抗体もしくはキメラ抗体、または対

50

応する抗体断片であってもよいし、それらから得ることもできる。「キメラ」抗体は、典型的には、ヒト定常領域及び非ヒト可変領域を含む抗体またはその断片である。「ヒト化」抗体は、典型的にはヒト抗体足場を含むが、少なくとも1つのCDR（例えば、1、2、3、4、5、または6つのCDR全て）における非ヒト由来アミノ酸または配列を含む、モノクローナル抗体である。

【0082】

PD-L1抗体は、参照により本明細書に組み込まれるWO2021/150701に記載されるように内部移行することができるか、またはPD-L1抗体は、参照により本明細書に組み込まれるWO2021/150702に記載されるように非内部移行であることができる。

10

【0083】

例示的な実施形態では、本発明の免疫複合体は、HER2を特異的に認識して結合する抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを含む。

【0084】

いくつかの抗HER2モノクローナル抗体が承認され、臨床開発が行われている(Costa, RLB et al (2020) Breast Cancer 6(10):1-11)。

【0085】

ある特定の実施形態では、本発明の免疫複合体は、抗HER2抗体、例えば、実施例201の方法によって調製されたものを含む。本発明の一実施形態では、本発明の免疫複合体の抗HER2抗体は、参照により本明細書に特に組み込まれるUS5821337の表3に記載されているように、ヒト化抗HER2抗体、例えば、huMAb4D5-1、huMAb4D5-2、huMAb4D5-3、huMAb4D5-4、huMAb4D5-5、huMAb4D5-6、huMAb4D5-7及びhuMAb4D5-8を含む。これらの抗体には、HER2に結合するマウス抗体(4D5)の相補性決定領域を有するヒトフレームワーク領域が含まれる。ヒト化抗体huMAb4D5-8はトラスツズマブとも呼ばれ、HERCEPTIN(商標)(Genentech, Inc.)の商品名で市販されている。

20

【0086】

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

30

40

【0087】

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

【0088】

本発明の別の実施形態では、本発明の免疫複合体の抗HER2抗体は、US 7862817に記載されているように、ヒト化抗HER2抗体、例えば、ヒト化2C4を含む。例示的なヒト化2C4抗体は、ペルツズマブ(CAS登録番号380610-27-5)、PERJETA(商標)(Genentech, Inc.)である。ペルツズマブはHER

50

R二量体化阻害剤（HDI）であり、他のHER受容体（例えば、EGFR/HER1、HER2、HER3及びHER4）と活性なヘテロ二量体またはホモ二量体を形成するHER2の能力を阻害する機能を有する。例えば、Harari and Yarden, *Oncogene* 19:6102-14 (2000)、Yarden and Sliwkowski, *Nat Rev Mol Cell Biol* 2:127-37 (2001)、Sliwkowski *Nat Struct Biol* 10:158-9 (2003)、Cho et al. *Nature* 421:756-60 (2003)、及びMalik et al. *Pro Am Soc Cancer Res* 44:176-7 (2003)を参照されたい。PERJETA（商標）は乳癌の治療薬として承認されている。

10

【0089】

本発明の一実施形態では、抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、ペルツズマブのCDR領域を含む。本発明の一実施形態では、抗HER2抗体は、ペルツズマブのフレームワーク領域を更に含む。本発明の一実施形態では、抗HER2抗体は、ペルツズマブの一方または両方の可変領域を更に含む。

【0090】

マルゲツキシマブ（MGAH22、MARGENZA（商標）、MacroGenics, Inc.）、CAS登録番号1350624-75-7は、FDA承認の抗HER2モノクローナル抗体である。マルゲツキシマブのFc領域は、活性化FcRへの結合を増加させるが、免疫エフェクター細胞に対する抑制性FcRへの結合を減少させるように最適化されている（Nordstrom, J L, et al (2011) *Breast Cancer Res*. 13(6):R123、Rugo, H S, et al (2021) *JAMA Oncol*. ; 7(4):573-584、Markham, A. (2021) *Drugs* 81:599-604）。マルゲツキシマブは、再発または難治性の進行乳癌で、その腫瘍が免疫組織化学により2+レベルでHER2を発現しており、FISHによるHER2遺伝子増幅の証拠がない患者の治療についてFDAによって承認されている。

20

【0091】

HT-19は、トラスツズマブまたはペルツズマブのエピトープとは異なるヒトHER2のエピトープに結合する、別の抗HER2モノクローナル抗体である。HT-19は、トラスツズマブに匹敵するHER2シグナル伝達を阻害し、トラスツズマブ及びペルツズマブと組み合わせてHER2の分解を増強することが示された。XMT-1522は、HT-19抗体を含む抗体薬物複合体である（Bergstrom D. A. et al. , (2015) *Cancer Res*. ; 75:LB-231）。

30

【0092】

例示的な実施形態では、本発明の免疫複合体は、CEAを特異的に認識して結合する抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを含む。がん胎児性抗原関連細胞接着分子5（CEACAM5）は、CD66e（分化抗原群66e）としても知られており、がん胎児性抗原（CEA）遺伝子ファミリーのメンバーである。

【0093】

がん胎児性抗原（CEA、CD66e、CEACAM5）の発現の上昇は、腫瘍の種々の生物学的側面、特に腫瘍細胞の接着、転移、細胞免疫機構の遮断、及び抗アポトーシス機能を有することに関係している。CEAはまた、多くの癌腫の血液マーカーとしても使用されている。ラベツズマブ（CEA-CIDE（商標）、Immunomedics、CAS登録番号219649-07-7）は、MN-14及びhMN14としても知られており、ヒト化IgG1モノクローナル抗体であり、結腸直腸癌の治療のために研究されている（Blumenthal, R. et al (2005) *Cancer Immunology Immunotherapy* 54(4):315-327）。カンプトテシンアナログ（ラベツズマブゴピテカン、IMMU-130）にコンジュゲートされたラベツズマブは、がん胎児性抗原関連細胞接着分子5（CEACAM5）を標的とし、再発

40

50

または難治性転移性結腸直腸癌を有する患者において研究されている (Sharkey, R. et al, (2018), *Molecular Cancer Therapeutics* 17(1):196-203、Cardillo, T. et al (2018) *Molecular Cancer Therapeutics* 17(1):150-160)。本発明の一実施形態では、CEA標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、US 6676924に開示されている、hMN-14/ラベツズマブの可変軽鎖 (VLカッパ) を含み、これは、この目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

【0094】

例示的な実施形態では、本発明の免疫複合体は、TROP2を特異的に認識して結合する抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを含む。腫瘍関連カルシウムシグナルトランスデューサー2 (TROP-2) は、TACSTD2遺伝子によってコードされる膜貫通糖タンパク質である (Linnenbach AJ, et al (1993) *Mol Cell Biol.* 13(3):1507-15、Calabrese G, et al (2001) *Cytogenet Cell Genet.* 92(1-2):164-5)。TROP2は、細胞内カルシウムシグナルトランスデューサーであり、多くのがんにおいて差次的に発現し、自己再生、増殖、浸潤、及び生存のために細胞にシグナル伝達する。TROP2は、幹細胞マーカーとみなされ、多くの正常組織で発現するが、対照的に、多くのがんにおいて過剰発現する (Ohmachi T, et al., (2006) *Clin. Cancer Res.*, 12(10), 3057-3063、Muhlmann G, et al., (2009) *J. Clin. Pathol.*, 62(2), 152-158、Fong D, et al., (2008) *Br. J. Cancer*, 99(8), 1290-1295、Fong D, et al., (2008) *Mod. Pathol.*, 21(2), 186-191; Ning S, et al., (2013) *Neurol. Sci.*, 34(10), 1745-1750)。TROP2の過剰発現は、予後的に重要である。TROP2と相互作用するいくつかのリガンドが提案されている。TROP2は、異なる経路を介して細胞にシグナル伝達し、それは、いくつかの転写因子の複雑なネットワークによって転写的に調節されている。

【0095】

ヒトTROP2 (TACSTD2: 腫瘍関連カルシウムシグナル伝達因子2、GA733-1、EGP-1、M1S1; 以下、hTROP2と呼ぶ) は、323アミノ酸残基からなる単回膜貫通1型細胞膜タンパク質である。ヒト栄養膜細胞及びがん細胞に共通の免疫抵抗性に関する細胞膜タンパク質の存在 (Faulk WP, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 75(4):1947-1951 (1978)) が以前に示唆されている一方で、ヒト絨毛がん細胞株における細胞膜タンパク質に対するモノクローナル抗体によって認識される抗原分子を同定し、ヒト栄養膜細胞において発現される分子のうちの一つとしてTROP2と指定した (Lipinski M, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78(8), 5147-5150 (1981))。この分子はまた、胃癌細胞株での免疫化によって得られたマウスモノクローナル抗体GA733によって認識される腫瘍抗原GA733-1 (Linnenbach AJ, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86(1), 27-31 (1989))、または非小細胞肺癌細胞での免疫化によって得られたマウスモノクローナル抗体RS7-3G11によって認識される上皮糖タンパク質 (EGP-1; Basu A, et al., *Int. J. Cancer*, 62(4), 472-479 (1995)) としても命名された。しかしながら、1995年にTROP2遺伝子がクローニングされ、これらの分子の全てが同一の分子であることが確認された (Fornaro M, et al., *Int. J. Cancer*, 62(5), 610-618 (1995))。hTROP2のDNA配列及びアミノ酸配列は公開データベースに公開されており、例えば、アクセッション番号NM__002353及びNP__002344 (NCBI) で参照することができる。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 6 】

がんとの関連を示唆するかかる情報を受けて、これまでに複数の抗hTROP2抗体が確立されており、その抗腫瘍効果が研究されてきた。これらの抗体の中でも、例えば、ヌードマウス異種移植片モデルにおいてそれ自体で腫瘍活性を示す非結合抗体(WO2008/144891、WO2011/145744、WO2011/155579、WO2013/077458)、及び細胞傷害性薬とともにADCとしての抗腫瘍活性を示す抗体(WO2003/074566、WO2011/068845、WO2013/068946、US7999083)が開示されている。しかしながら、それらの活性の強度または適用範囲は依然として不十分であり、hTROP2を治療標的とする医学的な要求が満たされていない。

10

【 0 0 9 7 】

がん細胞におけるTROP2発現は、薬剤耐性と相関している。いくつかの戦略は、抗体、抗体融合タンパク質、化学阻害剤、ナノ粒子などを含むがん細胞上のTROP2を標的とする。これらの様々な治療的治療を使用したインビトロ研究及び前臨床研究により、マウスにおけるインビトロ及びインビボの両方で腫瘍細胞増殖が有意に抑制された。臨床研究は、予後バイオマーカー及び耐性を逆転させるための治療標的の両方としてのTROP2の潜在的な応用を探索している。

【 0 0 9 8 】

サシズマブゴビテカン(TRODELVY(登録商標)、Immunomedics、IMMU-132)、トポイソメラーゼ阻害剤に連結されたTROP2指向性抗体を含む抗体薬物複合体は、少なくとも2回の先行治療を受けた成人患者における転移性トリプルネガティブ乳癌(mTNBC)の治療に適応される。サシズマブゴビテカン中のTROP2抗体は、イリノテカンの活性代謝物であるSN-38にコンジュゲートされている(US2016/0297890、WO2015/098099)。

20

【 0 0 9 9 】

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

【 0 1 0 0 】

本発明の一実施形態では、TROP2標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号1~7から選択される軽鎖CDR(相補性決定領域)または軽鎖フレームワーク(LFR)配列を含む。

30

【 表 1 】

領域	配列	残基 (Kabat)	長さ	配列番号
LFR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC	1-23	23	1
CDR-L1	KASQDVSTAVA	24-34	11	2
LFR2	WYQQKPGKAPKLLIY	35-49	15	3
CDR-L2	SASYRYT	50-56	7	4
LFR3	GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFAVYYC	57-88	32	5
CDR-L3	QQHYITPLT	89-97	9	6
LFR4	FGQGTKLEIK	98-107	10	7

40

【 0 1 0 1 】

50

本発明の一実施形態では、TROP2 標的化抗体コンストラクトまたは抗原結合ドメインは、配列番号 8 ~ 14 から選択される重鎖 CDR (相補性決定領域) または重鎖フレームワーク (HFR) 配列を含む。

【表 2】

領域	配列	残基 (Kabat)	長さ	配列番号
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	1-30	30	8
CDR-H1	TAGMQ	31-35	5	9
HFR2	WVRQAPGQGLEWMG	36-49	14	10
CDR-H2	WINTHSGVPKYAEDFKG	50-66	17	11
HFR3	RVTISADTSTSTAYLQLSSLKSEDTAVYYCAR	67-98	32	12
CDR-H3	SGFGSSYWFYFDV	99-110	12	13
HFR4	WGQGLVTVSS	111-121	11	14

10

20

【0102】

いくつかの実施形態では、免疫複合体における抗体は修飾 Fc 領域を含有し、その際、修飾は 1 つ以上の Fc 受容体への Fc 領域の結合を調節する。

【0103】

いくつかの実施形態では、Fc 領域は、TGF β 1 に結合することができる、トランスフォーミング成長因子 1 (TGF β 1) 受容体またはその断片を含めることによって修飾される。例えば、受容体は、TGF β 受容体 I I (TGF β R I I) であり得る。いくつかの実施形態では、TGF β 受容体は、ヒト TGF β 受容体である。いくつかの実施形態では、IgG は、本明細書に組み込まれる US 9 6 7 6 8 6 3 に記載されているように、TGF β R I I 細胞外ドメイン (ECD) への C 末端融合を有する。「Fc リンカー」を使用して IgG を TGF β R I I 細胞外ドメインに結合してもよい。Fc リンカーは、標的への結合特異性を維持しながら、分子の適切な三次元折り畳みを可能にする、短くて可撓性のペプチドであってもよい。いくつかの実施形態では、TGF β 受容体の N 末端は、抗体コンストラクトの Fc に融合されている (Fc リンカーの有無にかかわらず)。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクト重鎖の C 末端は、(Fc リンカーの有無にかかわらず) TGF β 受容体に融合される。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクト重鎖の C 末端リシン残基をアラニンに変異させる。

30

【0104】

いくつかの実施形態では、免疫複合体における抗体はグリコシル化されている。

【0105】

いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体は、操作されたシステインがコンジュゲーションのために利用可能であるが、免疫グロブリン折り畳み及び組み立て、または抗原結合及びエフェクター機能を攪乱しない部位でのシステイン置換を介した、アジュバント、標識、または薬物部分の部位特異的コンジュゲーションを提供するシステイン操作抗体である (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26 (8): 925 - 932、Dornan et al. (2009) Blood 114 (13): 2721 - 2729、US 7 5 2 1 5 4 1、US 7 7 2 3 4 8 5、US 2 0 1 2 / 0 1 2 1 6 1 5、WO 2 0 0 9 / 0 5 2 2 4 9)。システイン操作抗体は、8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピンアジュバント部分に、均一な化学量論を有する 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物としてコンジュゲートすること

40

50

ができる（例えば、単一の操作システイン部位を有する抗体では、抗体当たり最大２つの 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン部分）。

【 0 1 0 6 】

8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピンアジュバント化合物

本発明の免疫複合体は、8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピンアジュバント部分を含む。本明細書に記載のアジュバント部分は、免疫応答を誘発する化合物（すなわち、免疫賦活剤）である。概ね、本明細書に記載のアジュバント部分は、TLRアゴニストである。TLRは、脊椎動物の自然免疫応答の開始に関与するI型膜貫通タンパク質である。TLRは、細菌、ウイルス及び真菌からの様々な病原体関連分子パターンを認識し、侵入する病原体に対する防御の第一線として機能する。TLRは、細胞発現とそれらが開始するシグナル伝達経路の違いにより、重複しているが異なる生物学的応答を誘発する。（例えば、天然刺激または合成TLRアゴニストによって）係合されると、TLRは、アダプタータンパク質骨髄分化一次応答遺伝子88（MyD88）を介した核因子- κ B（NF- κ B）の活性化及びIL-1受容体関連キナーゼ（IRAK）の動員につながるシグナル伝達カスケードを開始する。その後、IRAKのリン酸化は、NF- κ B阻害剤I- κ Bのリン酸化をもたらすTNF-受容体関連因子6（TRAF6）の動員をもたらす。その結果、NF- κ Bは、細胞核に入り、サイトカインなどのNF- κ B結合部位を含有するプロモーターを持つ遺伝子の転写を開始する。TLRシグナル伝達の追加の調節モードには、TIRドメイン含有アダプター誘導型インターフェロン- γ （TRIF）依存的なTNF受容体関連因子6（TRAF6）の誘導、ならびにTRIF及びTRAF3を介したMyD88非依存経路の活性化が含まれ、インターフェロン応答因子3（IRF3）のリン酸化をもたらす。同様に、MyD88依存性経路は、IRF5及びIRF7を含むいくつかのIRFファミリーメンバーも活性化するが、TRIF依存性経路は、NF- κ B経路も活性化する。

【 0 1 0 7 】

通常、本明細書に記載のアジュバント部分は、TLR7及び/またはTLR8アゴニストである。TLR7及びTLR8は、どちらも単球及び樹状細胞で発現する。ヒトでは、TLR7は形質細胞様樹状細胞（pDC）及びB細胞でも発現する。TLR8は、主に、骨髄起源の細胞、すなわち、単球、顆粒球、及び骨髄樹状細胞において発現される。TLR7及びTLR8は、ウイルスの侵入に応答する手段として、細胞内の「外来」一本鎖RNAの存在を検出することができる。TLR8アゴニストによるTLR8発現細胞の治療は、高レベルのIL-12、IFN- γ 、IL-1、TNF- α 、IL-6及び他の炎症性サイトカインの産生をもたらすことができる。同様に、TLR7アゴニストによるpDCなどのTLR7発現細胞の刺激は、高レベルのIFN- α 及び他の炎症性サイトカインの産生をもたらすことができる。TLR7/TLR8関与とその結果としてのサイトカイン産生は、樹状細胞及び他の抗原提示細胞を活性化し、腫瘍破壊につながる多様な自然免疫応答メカニズム及び後天的な免疫応答メカニズムを促進する。

【 0 1 0 8 】

本発明の例示的な8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン化合物（8SO2Bz）を合成し、精製し、質量分析によって特徴付け、予想された質量を有することが示された。追加の実験手順は、実施例に見られる。ヒトTLR7またはヒトTLR8を発現するHEK293 NF κ Bレポーター細胞に対する活性を、実施例202に従って測定した。ある特定の8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン化合物は、がん及び他の障害を治療するための有用な治療活性を予測し得るTLR8アゴニスト選択性の驚くべき予想外の特性を実証する。

10

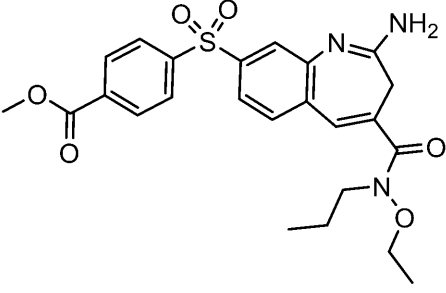
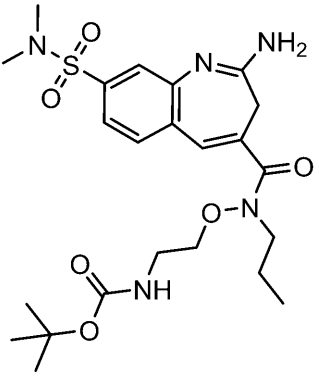
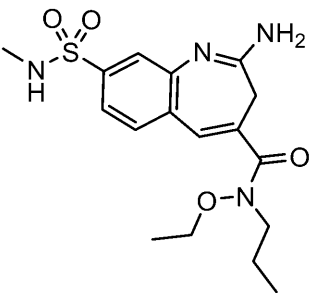
20

30

40

【表 3 - 1】

表 1 : 8-スルホニル-2-アミノベンザゼピン化合物 (8SO2Bz)

8SO2Bz 番号	構造	MW	HEK293 hTLR7 EC50(nM)	HEK293 hTLR8 EC50(nM)
8SO2Bz-1		485.6	>9000	1056
8SO2Bz-2		509.6	395	<2.3
8SO2Bz-3		380.5	>5000	202

10

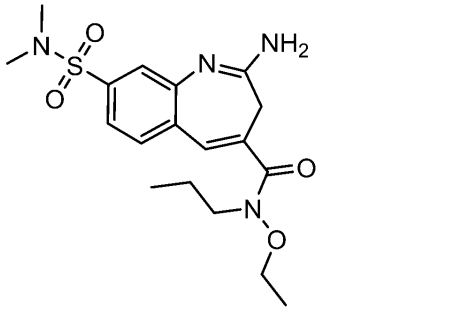
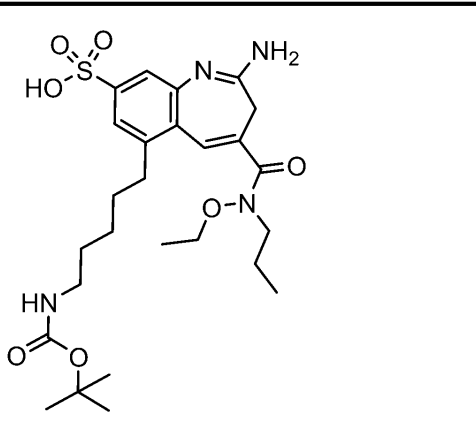
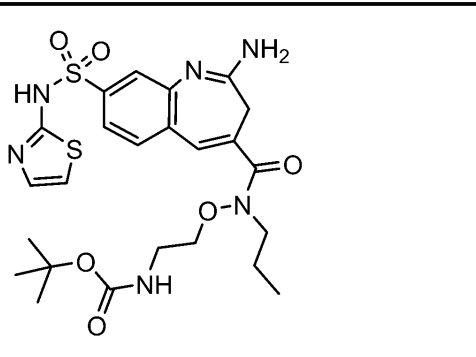
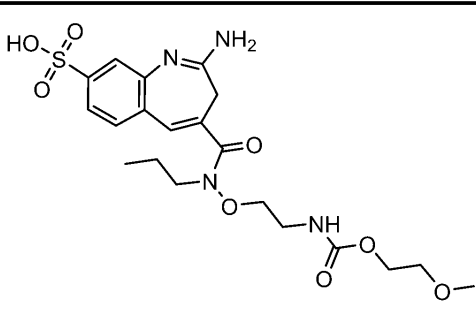
20

30

40

50

【表 3 - 2】

8SO2Bz-4		394.5		
8SO2Bz-5		552.7		
8SO2Bz-6		564.7		
8SO2Bz-7		484.5		

10

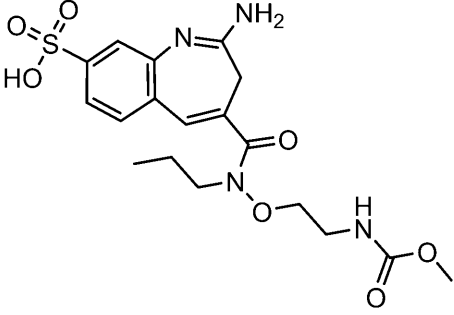
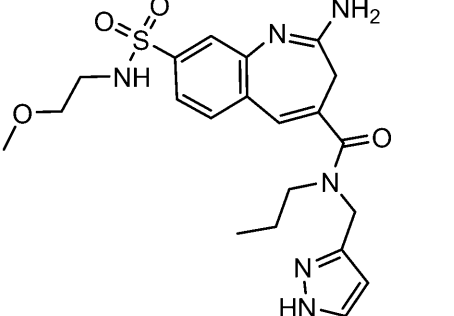
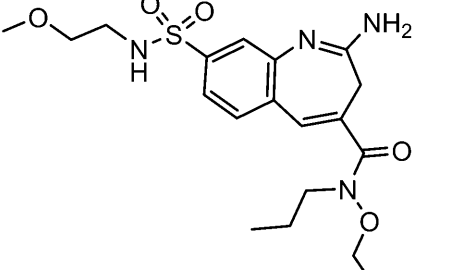
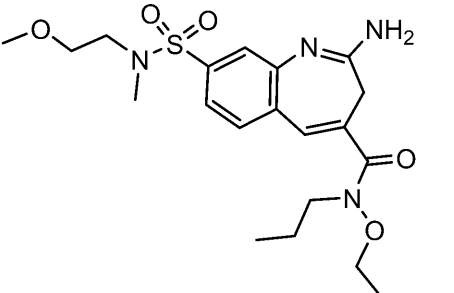
20

30

40

50

【表 3 - 3】

8SO2Bz-8		440.5		
8SO2Bz-9		460.6		
8SO2Bz-10		424.5		
8SO2Bz-11		438.5		

10

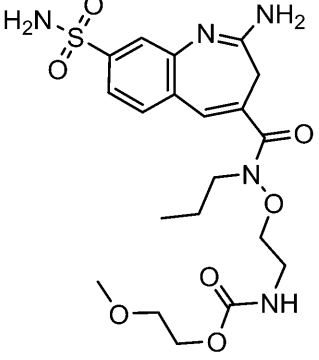
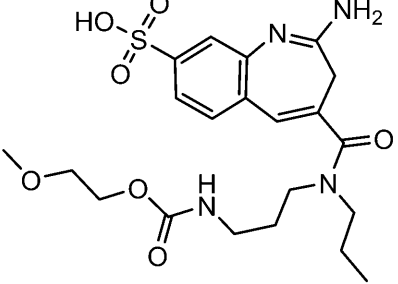
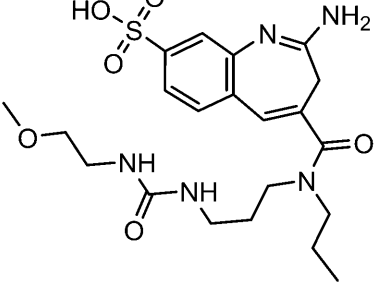
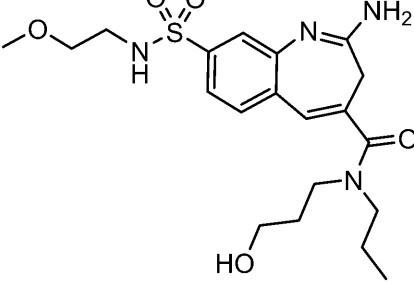
20

30

40

50

【表 3 - 4】

8SO2Bz-12		483.5		
8SO2Bz-13		482.6		
8SO2Bz-14		481.6		
8SO2Bz-15		438.5		

10

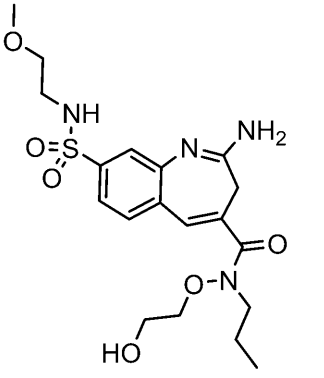
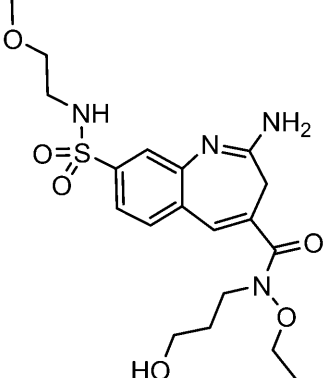
20

30

40

50

【表 3 - 5】

8SO2Bz- 16		440.5		
8SO2Bz- 17		440.5		

10

20

【0109】

8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物

本発明の免疫複合体は、抗体と、8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物である8SO2Bz-Lとのコンジュゲーションによって調製される。8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物は、リンカーユニットに共有結合した8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン(8SO2Bz)部分を含む。リンカーユニットは、免疫複合体の安定性、透過性、溶解性、及び他の薬物動態、安全性、及び有効性の特性に影響を与える官能基ならびにサブユニットを含む。リンカーユニットは、ポリエチレンオキシ(PEG)基を含む。リンカーユニットは、抗体の反応性官能基と反応する、すなわち、コンジュゲートする反応性官能基を含む。例えば、抗体のリシン側鎖アミノなどの求核基は、8SO2Bz-L化合物の反応性求電子官能基と反応して、免疫複合体を形成する。また、例えば、抗体のシステインチオールは、8SO2Bz-Lリンカー化合物のマレイミドまたはプロモアセトアミド基と反応して、免疫複合体を形成する。

30

【0110】

8SO2Bz-Lリンカー化合物に好適な反応性求電子官能基(式II中のQ)としては、N - ヒドロキシスクシンイミジル(NHS)エステル及びN - ヒドロキシスルホスクシンイミジル(スルホ-NHS)エステル(アミン反応性)、カルボジイミド(アミン及びカルボキシル反応性)、ヒドロキシメチルホスフィン(アミン反応性)、マレイミド(チオール反応性)、N - ヨードアセトアミドなどのハロゲン化アセトアミド(チオール反応性)、アリールアジド(一級アミン反応性)、フッ素化アリールアジド(炭素水素(C-H)挿入による反応性)、ペンタフルオロフェニル(PFP)エステル(アミン反応性)、テラフルオロフェニル(TFP)エステル(アミン反応性)、イミドエステル(アミン反応性)、イソシアネート(ヒドロキシル反応性)、ビニルスルホン(チオール、アミン、及びヒフォロキシル反応性)、ピリジルジスルフィド(チオール反応性)、及びベンゾフェノン誘導体(C-H結合挿入を介する反応性)が挙げられるが、これらに限定され

40

50

ない。更なる試薬には、Hermanson, Bioconjugate Techniques, 2nd Edition, Academic Press, 2008に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0111】

本発明は、免疫複合体の設計、調製及び使用に対する、制限ならびに課題に対する解決策を提供する。いくつかのリンカーは、血流中で不安定であり得、それによって、標的細胞内での内在化の前に、許容できない量のアジュバント/薬物を放出する (Khot, A. et al (2015) Bioanalysis 7 (13) : 1633 - 1648)。他のリンカーは、血流中では安定性を提供し得るが、細胞内放出の有効性に悪影響が及ぼされ得る。所望の細胞内放出を提供するリンカーは通常、血流中での安定性に乏しい。換言すると、血流安定性及び細胞内放出は通常、反比例関係にある。加えて、標準的な結合プロセスで、抗体上に負荷されたアジュバント/薬物部分の量 (すなわち、薬物負荷)、結合反応で形成される凝集体の量、及び得ることができる最終精製結合の収率は、相関する。例えば、凝集体の形成は一般に、抗体に結合されるアジュバント/薬物部分及びその誘導体の当量数に正相関する。高い薬物負荷のもとでは、形成された凝集体は治療用途については除去されなければならない。結果として、薬物負荷が介在する凝集体形成は、免疫複合体の収率を低下させ、プロセスの規模拡大を困難にし得る。

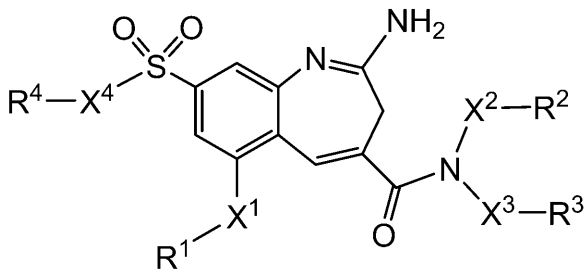
10

【0112】

例示的な実施形態は、式 I I の 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物を含み、

20

【化 5】



30

式中、

R¹、R²、R³、及びR⁴が独立して、H、C₁-C₁₂アルキル、C₂-C₆アルケニル、C₂-C₆アルキニル、C₃-C₁₂カルボシクリル、C₆-C₂₀アリール、C₂-C₉ヘテロシクリル、及びC₁-C₂₀ヘテロアリールからなる群から選択され、ここで、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル、及びヘテロアリールが独立してかつ任意選択で、

- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - OR⁵、
- (C₃-C₁₂カルボシクリル)、
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - *
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - NR⁵ - C(=NR⁵)NR⁵ - *
- (C₆-C₂₀アリール)、
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - *
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - N(R⁵) - *
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) -

40

50

*、

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

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

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

- (C₂ - C₂₀ヘテロシクリル)、

- (C₂ - C₂₀ヘテロシクリル) - *

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

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

- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})NR⁵ - *

- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - NR⁵ - (C₆ - C₂₀アリアルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

- (C₂ - C₉ヘテロシクリル) - (C₆ - C₂₀アリアルジイル) - *

- (C₁ - C₂₀ヘテロアリアル)、

- (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - *

- (C₁ - C₂₀ヘテロアリアル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

*、

- (C₁ - C₂₀ヘテロアリアル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、

- (C₁ - C₂₀ヘテロアリアル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *

- (C₁ - C₂₀ヘテロアリアル) - N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

- C(=O) - *

- C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

- C(=O) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *

- C(=O)N(R⁵)₂、

- C(=O)N(R⁵) - *

- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)R

5、

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

- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)CO₂R⁵、

- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、

- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、

- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₈アルキルジイル) - NR⁵(C₂ - C₅ヘテロアリアル)、

- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - N(R⁵) - *

- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - *

- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、

- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリアルジイル) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *

- N(R⁵)₂、

- N(R⁵) - *

- N(R⁵)C(=O)R⁵、

- N(R⁵)C(=O) - *

- N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、

10

20

30

40

50

- N (R ⁵) C (= O) N (R ⁵) - *、
 - N (R ⁵) C O ₂ R ⁵、
 - N R ⁵ C (= N R ^{5 a}) N (R ⁵) ₂、
 - N R ⁵ C (= N R ^{5 a}) N (R ⁵) - *、
 - N R ⁵ C (= N R ^{5 a}) R ⁵、
 - N (R ⁵) C (= O) - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル) - N (R ⁵) - *、
 - N (R ⁵) - (C ₂ - C ₅ ヘテロアリアル)、
 - N (R ⁵) - S (= O) ₂ - (C ₁ - C _{1 2} アルキル)、
 - O - (C ₁ - C _{1 2} アルキル)、
 - O - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル) - N (R ⁵) ₂、
 - O - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル) - N (R ⁵) - *、
 - O - C (= O) N (R ⁵) ₂、
 - O - C (= O) N (R ⁵) - *、
 - O - (R ⁵) - *、
 - O R ⁵、
 - S (= O) ₂ - (C ₂ - C _{2 0} ヘテロシクリルジイル) - *、
 - S (= O) ₂ - (C ₂ - C _{2 0} ヘテロシクリルジイル) - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル) - N (R ⁵) ₂、
 - S (= O) ₂ - (C ₂ - C _{2 0} ヘテロシクリルジイル) - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル) - N R ⁵ - *、及び
 - S (= O) ₂ - (C ₂ - C _{2 0} ヘテロシクリルジイル) - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル) - O H から選択される 1 つ以上の基で置換されるか、
 - または R ² と R ³ が一緒に 5 員もしくは 6 員ヘテロシクリル環を形成し、
 - X ¹、X ²、X ³、及び X ⁴ が独立して、結合、C (= O)、C (= O) N (R ⁵)、
 - O、N (R ⁵)、S、S (O) ₂、及び S (O) ₂ N (R ⁵) からなる群から選択され、
 - R ⁵ が独立して、H、C ₆ - C _{2 0} アリアル、C ₃ - C _{1 2} カルボシクリル、C ₆ - C _{2 0} アリアルジイル、C ₁ - C _{1 2} アルキル、及び C ₁ - C _{1 2} アルキルジイルからなる群から選択されるか、または 2 つの R ⁵ 基と一緒に 5 員もしくは 6 員ヘテロシクリル環を形成し、
 - R ^{5 a} が、C ₆ - C _{2 0} アリアル及び C ₁ - C _{2 0} ヘテロアリアルからなる群から選択され、
- ここで、アスタリスク * が L の結合部位を示し、R ¹、R ²、R ³、及び R ⁴ のうちの 1 つが L に結合しており、
- L が、
- Q - C (= O) - P E G - 、
 - Q - C (= O) - P E G - C (= O) N (R ⁶) - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル)
 - C (= O) - G l u c - 、
 - Q - C (= O) - P E G - O - 、
 - Q - C (= O) - P E G - O - C (= O) - 、
 - Q - C (= O) - P E G - C (= O) - 、
 - Q - C (= O) - P E G - C (= O) - P E P - 、
 - Q - C (= O) - P E G - N (R ⁶) - 、
 - Q - C (= O) - P E G - N (R ⁶) - C (= O) - 、
 - Q - C (= O) - P E G - N (R ⁶) - P E G - C (= O) - P E P - 、
 - Q - C (= O) - P E G - N ⁺ (R ⁶) ₂ - P E G - C (= O) - P E P - 、
 - Q - C (= O) - P E G - C (= O) - P E P - N (R ⁶) - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル) - 、
 - Q - C (= O) - P E G - C (= O) - P E P - N (R ⁶) - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル) N (R ⁶) C (= O) - (C ₂ - C ₅ モノヘテロシクリルジイル) - 、
 - Q - C (= O) - P E G - S S - (C ₁ - C _{1 2} アルキルジイル) - O C (= O) -

10

20

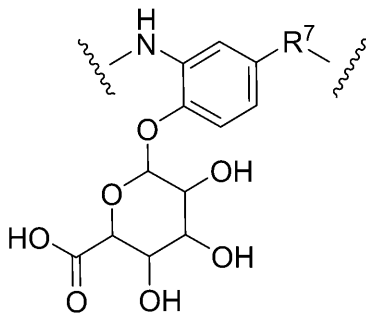
30

40

50

$Q - C(=O) - PEG - SS - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - C(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - C(=O)N(R^6) - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - C(=O) - Gluc -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - O -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - O - C(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - C(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - N(R^5) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - N(PEG - CO_2H) - PEG - N(R^5) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - C(=O)N(PEG - CO_2H) - PEG - N(R^5) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - N(R^5) - C(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - N(PEG - CO_2H) - PEG - C(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - C(=O)N(PEG - CO_2H) - PEG - C(=O) -$ 、
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - C(=O) - PEP -$ 、及び
 $Q - (CH_2)_m - C(=O)N(R^6) - PEG - SS - (C_1 - C_{12} \text{アルキルジイル}) - OC(=O) -$ からなる群から選択される当該リンカーであり、
 R^6 が独立して、Hまたは $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 PEG が、式： $-(CH_2CH_2O)_n - (CH_2)_m -$ を有し、 m が、1～5の整数であり、 n が、2～50の整数であり、
 $Gluc$ が、式：

【化6】

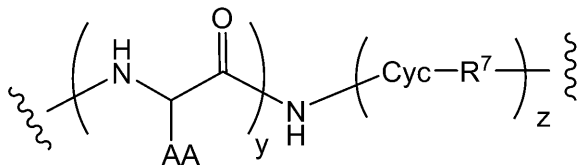


30

を有し、
 PEP が、式：

40

【化7】



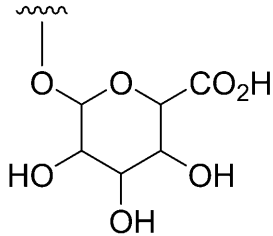
50

を有し、

式中、A Aが独立して、天然もしくは非天然アミノ酸側鎖から選択されるか、またはA Aのうちの一つ以上と隣接する窒素原子とが5員環プロリンアミノ酸を形成し、波線が結合点を示し、

C y cが、任意選択でF、Cl、NO₂、-OH、-OCH₃、及び構造：

【化8】



10

を有するグルクロン酸から選択される1つ以上の基で置換される、C₆-C₂₀アリールジイル及びC₁-C₂₀ヘテロアリールジイルから選択され、

R⁷が、-CH(R⁸)O-、-CH₂-、-CH₂N(R⁸)-、及び-CH(R⁸)O-C(=O)- (式中、R⁸が、H、C₁-C₆アルキル、C(=O)-C₁-C₆アルキル、及び-C(=O)N(R⁹)₂から選択され、式中、R⁹が独立して、H、C₁-C₁₂アルキル、及び-(CH₂CH₂O)_n-(CH₂)_m-OHからなる群から選択され、式中、mが、1~5の整数であり、nが、2~50の整数である)からなる群から選択されるか、または2つのR⁹基と一緒に5員もしくは6員ヘテロシクリル環を形成し、

20

yが、2~12の整数であり、

zが、0または1であり、

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

30

アルキル、アルキルジイル、アルケニル、アルケニルジイル、アルキニル、アルキニルジイル、アリール、アリールジイル、カルボシクリル、カルボシクリルジイル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルジイル、ヘテロアリール、及びヘテロアリールジイルが独立してかつ任意選択で、F、Cl、Br、I、-CN、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH=CH₂、-C(CH₃)₂CH₃、-C(CH₃)₂CH₂CH₃、-CH₂CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH₂CH(CH₃)₂、-CH₂OH、-CH₂OCH₃、-CH₂CH₂OH、-C(CH₃)₂OH、-CH(OH)CH(CH₃)₂、-C(CH₃)₂CH₂OH、-CH₂CH₂SO₂CH₃、-CH₂OP(O)(OH)₂、-CH₂F、-CHF₂、-CF₃、-CH₂CF₃、-CH₂CHF₂、-CH(CH₃)CN、-C(CH₃)₂CN、-CH₂CN、-CH₂NH₂、-CH₂NHSO₂CH₃、-CH₂NHCH₃、-CH₂N(CH₃)₂、-CO₂H、-COCH₃、-CO₂CH₃、-CO₂C(CH₃)₃、-COCH(OH)CH₃、-CONH₂、-CONHCH₃、-CON(CH₃)₂、-C(CH₃)₂CONH₂、-NH₂、-NHCH₃、-N(CH₃)₂、-NHCOCH₃、-N(CH₃)COCH₃、-NHS(O)₂CH₃、-N(CH₃)C(CH₃)₂CONH₂、-N(CH₃)CH₂CH₂S(O)₂CH₃、-NHC(=NH)H、-NHC(=NH)CH₃、-NHC(=NH)NH₂、-NHC(=O)NH₂、-NO₂、=O、-OH、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-OCH₂CH₂OCH₃、-OCH₂CH₂OH、-OCH₂CH₂N(CH₃)₂、-O(CH₂CH₂O)_n-(CH₂)_mCO₂H、-O(CH₂CH₂O)_nH、-OCH₂F、-OCHF₂、-OCF₃、-OP(O)(OH)₂、-S(O)₂N(CH₃)₂、-SCH₃、-S(O)₂

40

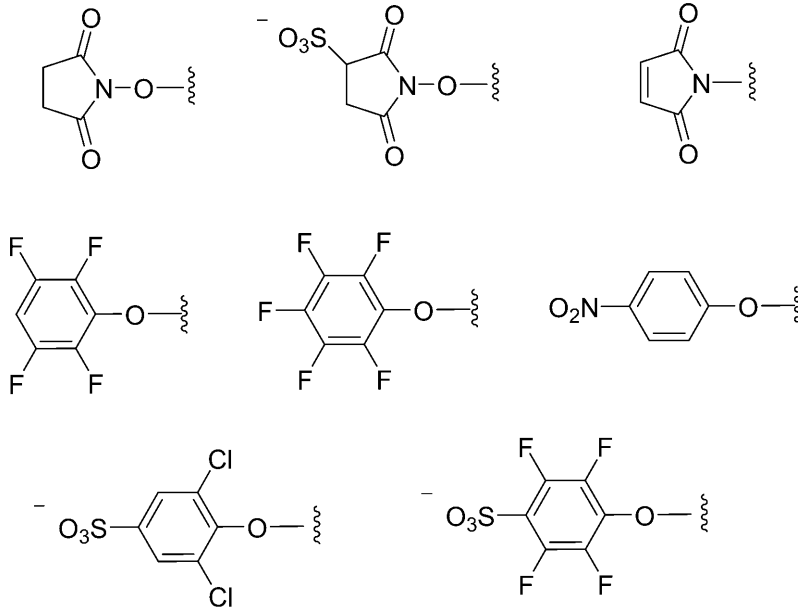
50

CH₃、及び -S(O)₃H から独立して選択される 1 つ以上の基で置換される。

【0113】

式 I I の 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、Q が、

【化 9】



10

20

から選択されることを含む。

【0114】

式 I I の 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、Q が 1 つ以上の F で置換されたフェノキシであることを含む。

【0115】

式 I I の 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物の例示的な実施形態は、Q が 2, 3, 5, 6 - テトラフルオロフェノキシであることを含む。

30

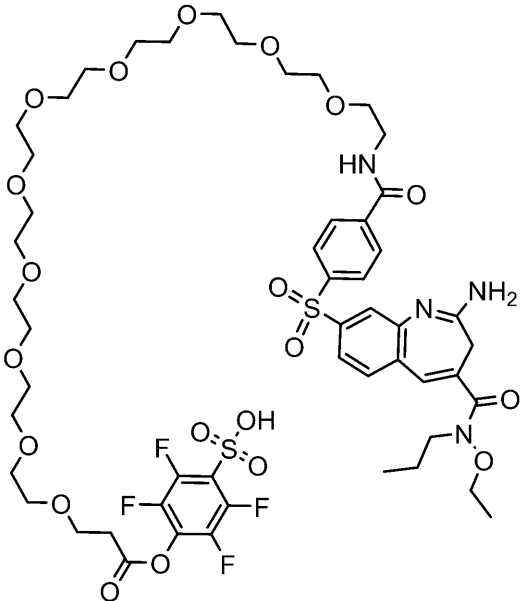
【0116】

8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー (8 S O 2 B z L) 化合物の例示的な実施形態は、表 2 a から選択される。各化合物を合成し、精製し、質量分析によって特徴付け、指示された質量を有することが示された。追加の実験手順は、実施例に見られる。表 2 a の 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー化合物は、がん及び他の障害を治療するための有用な治療活性を予測し得る T L R 8 アゴニスト選択性の驚くべき予想外の特性を実証する。表 2 a の式 I I の化合物である 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン - リンカー中間体を、実施例 2 0 1 の方法によって抗体とコンジュゲートして使用して、表 3 a の免疫複合体を形成する。

40

【表 4 - 1】

表 2 a : 8-スルホニル-ベンザゼピン-リンカー (8SO2BzL) 化合物

8SO2BzL 番号	構造	MW
8SO2BzL-1		1211.3

10

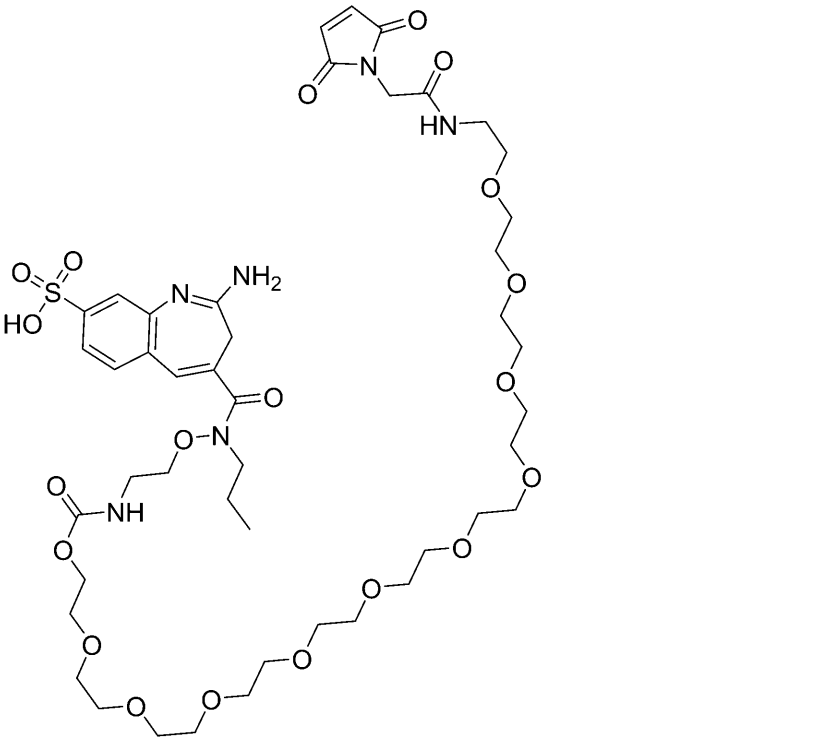
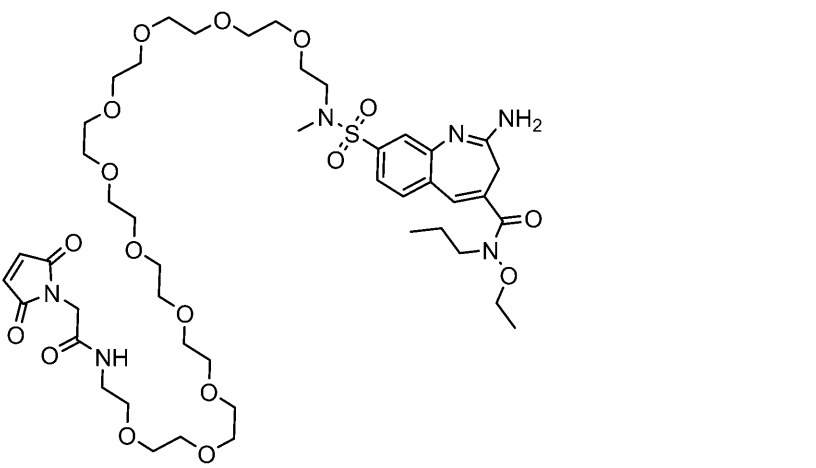
20

30

40

50

【表 4 - 2】

8SO2BzL-2	 <p>The chemical structure of 8SO2BzL-2 features a central benzimidazole ring system. At the 2-position, there is a primary amine group (-NH₂). At the 8-position, there is a sulfonamide group (-SO₂NH₂). A long, flexible polyether chain is attached to the benzimidazole ring via an amide linkage (-NH-CO-). This chain consists of several ethyleneoxy units (-CH₂-CH₂-O-) and terminates in a succinimide ring.</p>	1047.1
8SO2BzL-3	 <p>The chemical structure of 8SO2BzL-3 features a central benzimidazole ring system. At the 2-position, there is a primary amine group (-NH₂). At the 8-position, there is a sulfonamide group (-SO₂NH₂). A long, flexible polyether chain is attached to the benzimidazole ring via a sulfonamide linkage (-SO₂NH-). This chain consists of several ethyleneoxy units (-CH₂-CH₂-O-) and terminates in a succinimide ring.</p>	1001.2

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

8SO2BzL-4		987.1
8SO2BzL-5		1046.2

10

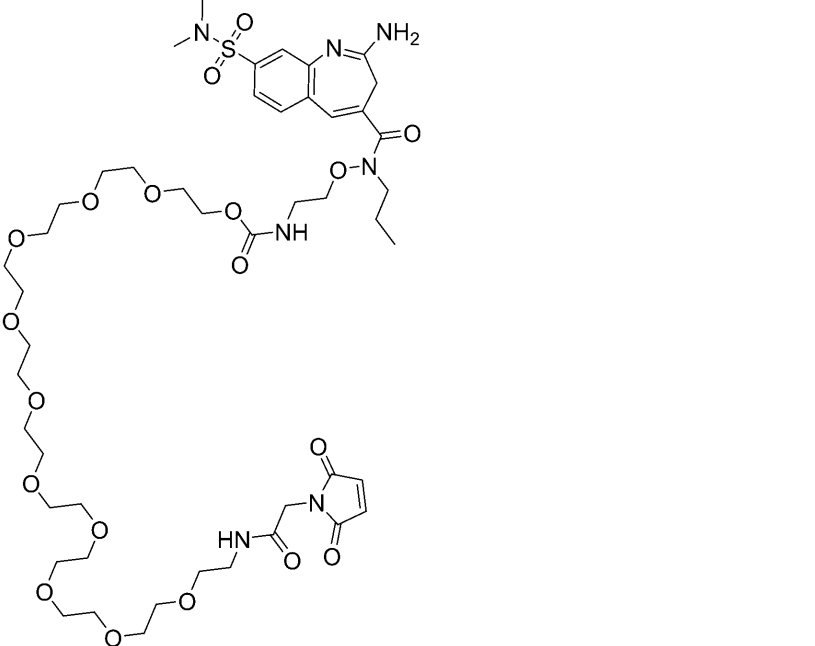
20

30

40

50

【表 4 - 4】

8SO2BzL-6	 <p>The chemical structure of 8SO2BzL-6 is a complex molecule. It features a central benzimidazole ring system. At the 2-position of the benzimidazole, there is a primary amine group (-NH₂). At the 4-position, there is a carbonyl group (-C(=O)-) which is part of a side chain containing a secondary amine (-NH-) and a tertiary amine (-N-) with an ethyl group. At the 8-position, there is a sulfonamide group (-SO₂-N(CH₃)-). A long, flexible polyether chain, consisting of six repeating -CH₂-CH₂-O- units, is attached to the side chain at the secondary amine position. At the other end of this polyether chain, there is a side chain containing a secondary amine (-NH-) and a tertiary amine (-N-) which is part of a five-membered cyclic urea-like structure (a 2-imidazolidinone ring).</p>	1074.2
-----------	---	--------

10

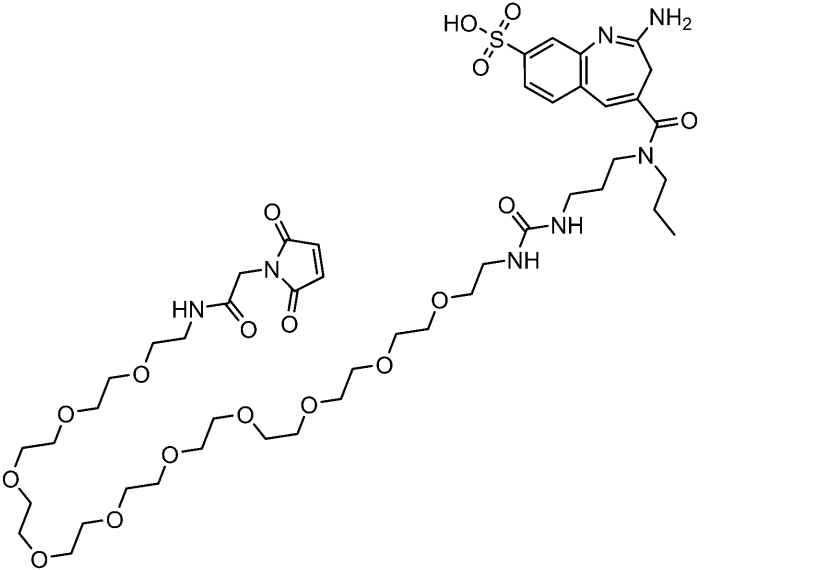
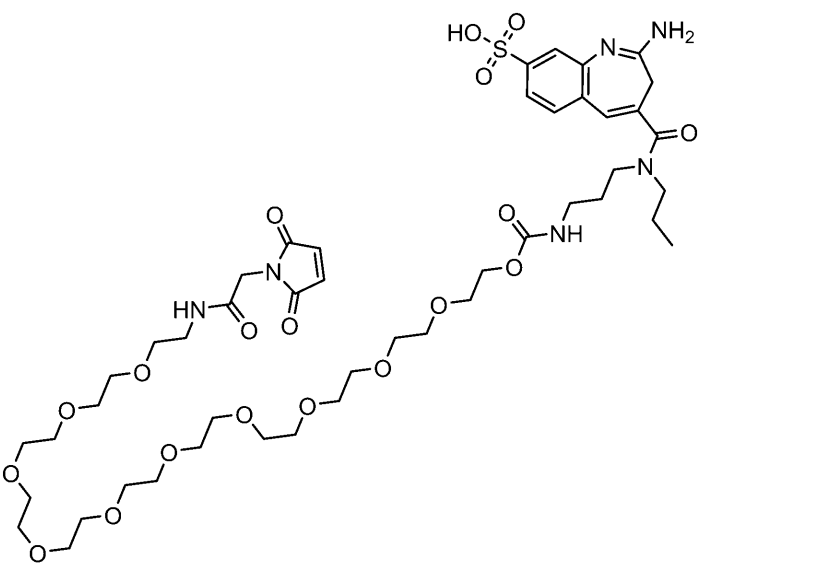
20

30

40

50

【表 4 - 5】

8SO2BzL-7	 <p>The chemical structure of 8SO2BzL-7 features a central polyether chain consisting of two parallel chains of ethylene glycol units (CH₂-CH₂-O) connected by ether linkages. This chain is functionalized with a 2,4,6-trimethyl-1,3,5-triazine-5-carboxamide group (a cyclic urea derivative) and a 4-amino-2-sulfamoylphenyl group (a benzene ring with an amino group and a sulfonamide group).</p>	1044.2
8SO2BzL-8	 <p>The chemical structure of 8SO2BzL-8 is identical to 8SO2BzL-7, but the polyether chain is shorter, containing only one ethylene glycol unit per side.</p>	1045.2

10

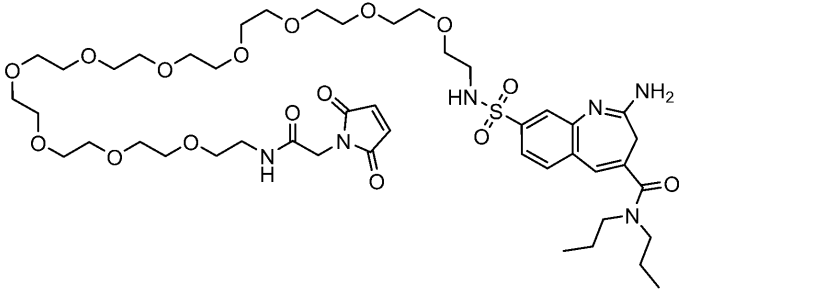
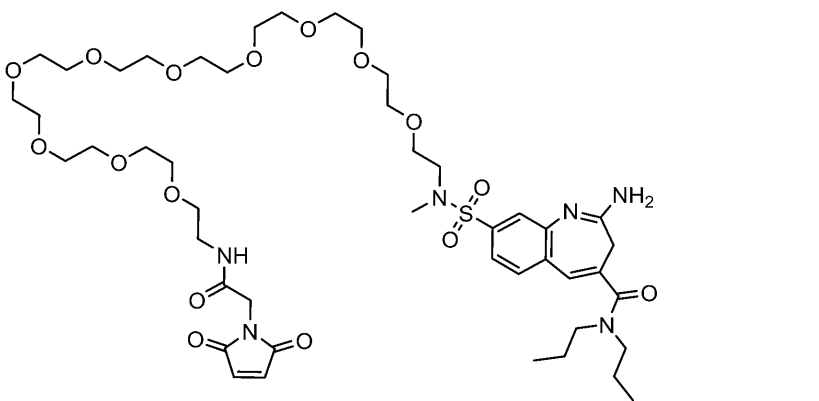
20

30

40

50

【表 4 - 6】

8SO2BzL-9	 <p>The chemical structure of 8SO2BzL-9 features a central benzimidazole ring system. At the 2-position, there is a diethylamino group (-N(CH2CH3)2) attached to a carbonyl group (-C(=O)-). At the 4-position, there is an amino group (-NH2). At the 8-position, there is a sulfonamide group (-NH-SO2-). A long, flexible polyether chain, consisting of a repeating unit of -[CH2CH2O]n-, is attached to the sulfonamide nitrogen. The chain is branched, with one end connected to the sulfonamide nitrogen and the other end connected to a secondary amide group (-NH-C(=O)-) which is further linked to a 5-membered imidazole ring.</p>	985.2
8SO2BzL-10	 <p>The chemical structure of 8SO2BzL-10 is similar to 8SO2BzL-9, but with a methyl group (-CH3) attached to the nitrogen of the sulfonamide group (-N(CH3)-SO2-). The polyether chain is also present, but it is branched differently, with one end connected to the sulfonamide nitrogen and the other end connected to a secondary amide group (-NH-C(=O)-) which is further linked to a 5-membered imidazole ring.</p>	999.2

10

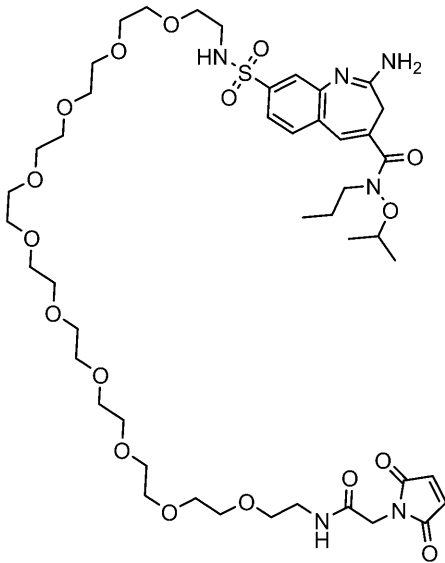
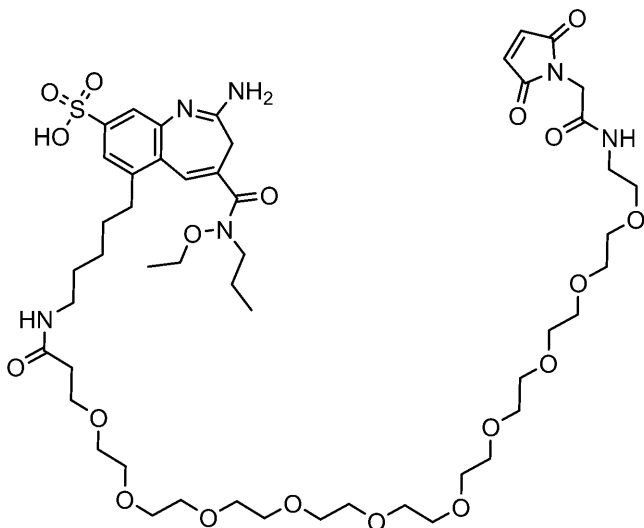
20

30

40

50

【表 4 - 7】

8SO2BzL-11	 <p>The structure of 8SO2BzL-11 features a central benzimidazole ring system. At the 2-position, there is a primary amine group (-NH₂). At the 4-position, there is a carbonyl group (-C(=O)-) attached to a nitrogen atom, which is further substituted with an ethyl group and an isopropyl group. At the 8-position, there is a sulfonamide group (-NH-SO₂-) connected to a long, flexible poly(ethylene glycol) (PEG) chain consisting of approximately 10 repeating -CH₂-CH₂-O- units. The PEG chain is terminated at the other end by a secondary amine group (-NH-) which is linked to a 2-imidazolidinone ring system.</p>	1001.2
8SO2BzL-12	 <p>The structure of 8SO2BzL-12 features a central benzimidazole ring system. At the 2-position, there is a primary amine group (-NH₂). At the 4-position, there is a carbonyl group (-C(=O)-) attached to a nitrogen atom, which is further substituted with an ethyl group and a propyl group. At the 8-position, there is a sulfonamide group (-NH-SO₂-) with a hydroxyl group (-OH) attached to the sulfur atom. A long, flexible poly(ethylene glycol) (PEG) chain, consisting of approximately 10 repeating -CH₂-CH₂-O- units, is attached to the 8-position via a secondary amine group (-NH-). The PEG chain is terminated at the other end by a secondary amine group (-NH-) which is linked to a 2-imidazolidinone ring system.</p>	1101.3

10

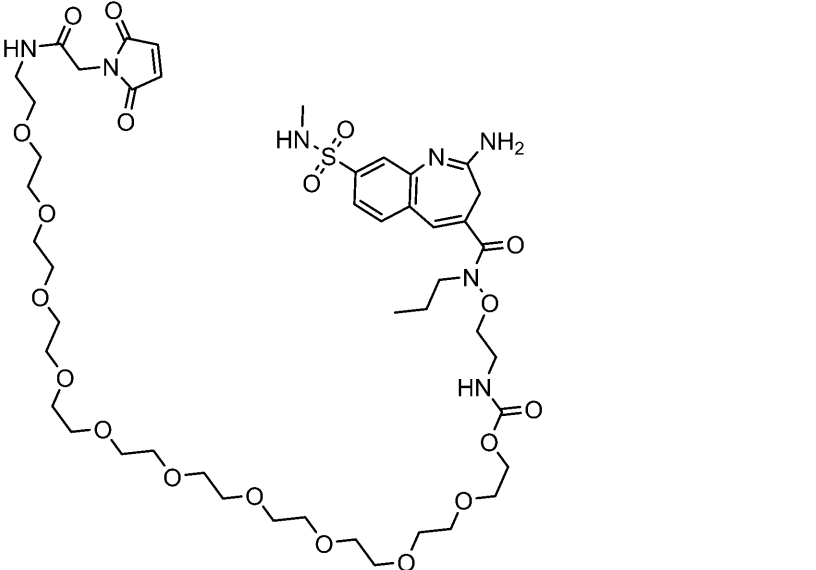
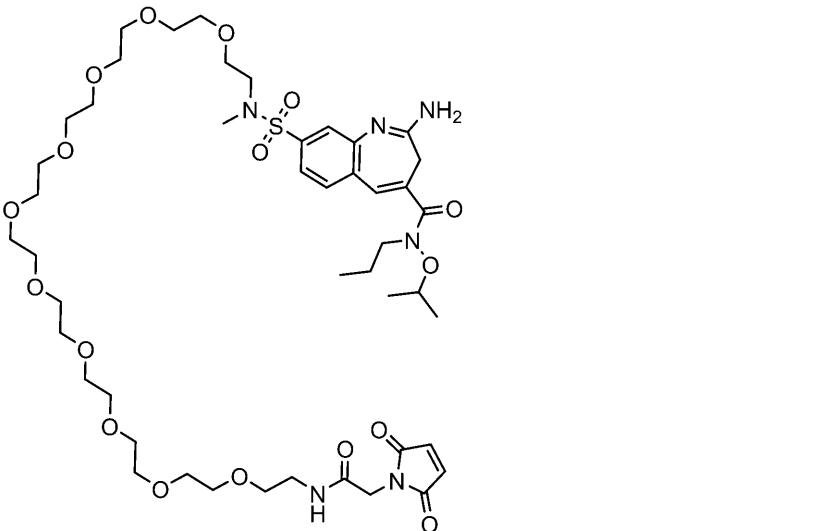
20

30

40

50

【表 4 - 8】

8SO2BzL-13	 <p>The structure of 8SO2BzL-13 features a central benzimidazole core. The 2-position of the benzimidazole ring is substituted with a sulfonamide group (-NH-SO₂-). The 4-position is substituted with a primary amide group (-NH₂). The 5-position is substituted with a carbonyl group (-C(=O)-). The 8-position is substituted with a long, flexible polyether chain consisting of eight repeating -CH₂-CH₂-O- units. This chain is terminated at both ends by a succinimide ring system, which is further substituted with a propyl group and an ethyl group.</p>	1060.2
8SO2BzL-14	 <p>The structure of 8SO2BzL-14 features a central benzimidazole core. The 2-position of the benzimidazole ring is substituted with a sulfonamide group (-NH-SO₂-). The 4-position is substituted with a primary amide group (-NH₂). The 5-position is substituted with a carbonyl group (-C(=O)-). The 8-position is substituted with a long, flexible polyether chain consisting of eight repeating -CH₂-CH₂-O- units. This chain is terminated at one end by a succinimide ring system, which is further substituted with a propyl group and an ethyl group. The other end of the chain is terminated by a secondary amide group (-NH-).</p>	1015.2

10

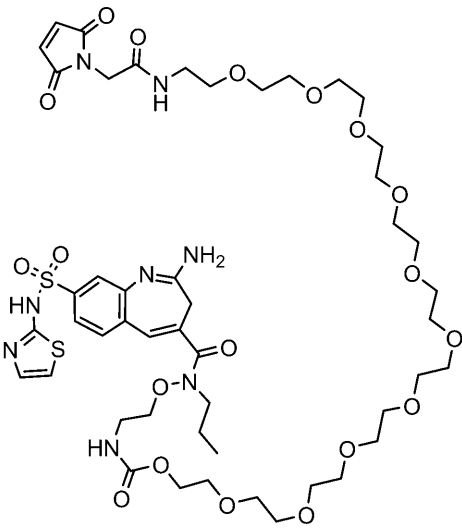
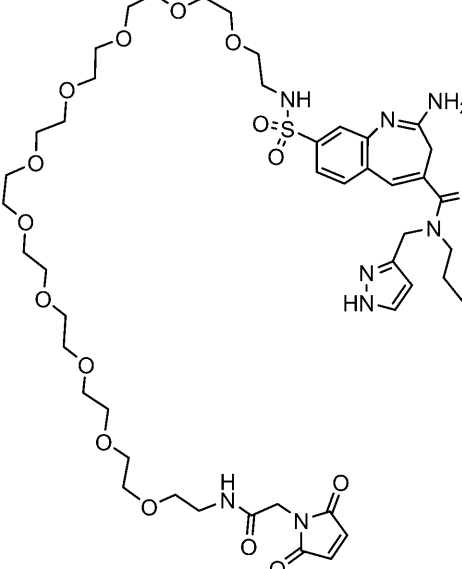
20

30

40

50

【表 4 - 9】

8SO2BzL-15	 <p>The structure of 8SO2BzL-15 features a central 8-membered ring with four oxygen atoms. Attached to this ring are three distinct moieties: a 2-imidazole-5-ylacetamide group, a 2-amino-5-(4-(2-ethyl-1H-imidazol-5-yl)phenyl)pyridin-4(1H)-one group, and a 2-(2-ethyl-1H-imidazol-5-yl)acetamide group.</p>	1129.3
8SO2BzL-16	 <p>The structure of 8SO2BzL-16 features a central 8-membered ring with four oxygen atoms. Attached to this ring are three distinct moieties: a 2-(2-ethyl-1H-imidazol-5-yl)acetamide group, a 2-amino-5-(4-(2-ethyl-1H-imidazol-5-yl)phenyl)pyridin-4(1H)-one group, and a 2-imidazole-5-ylacetamide group.</p>	1023.2

10

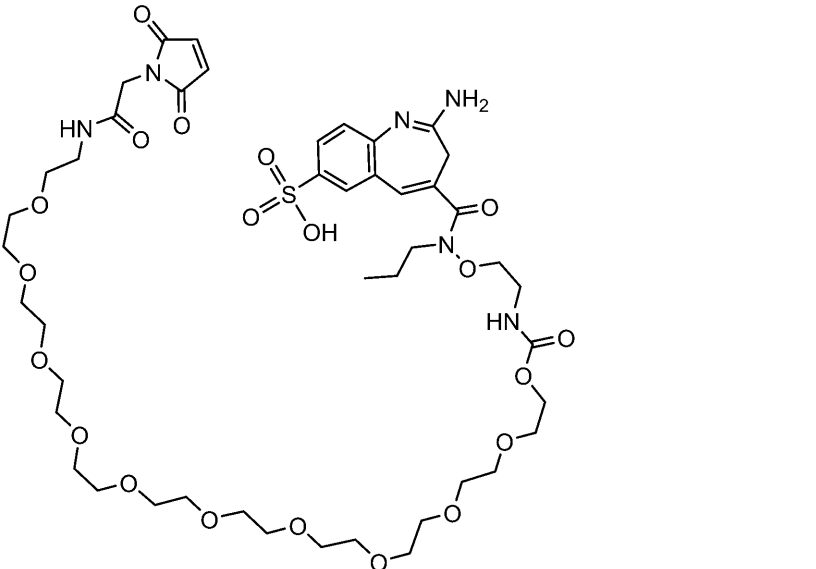
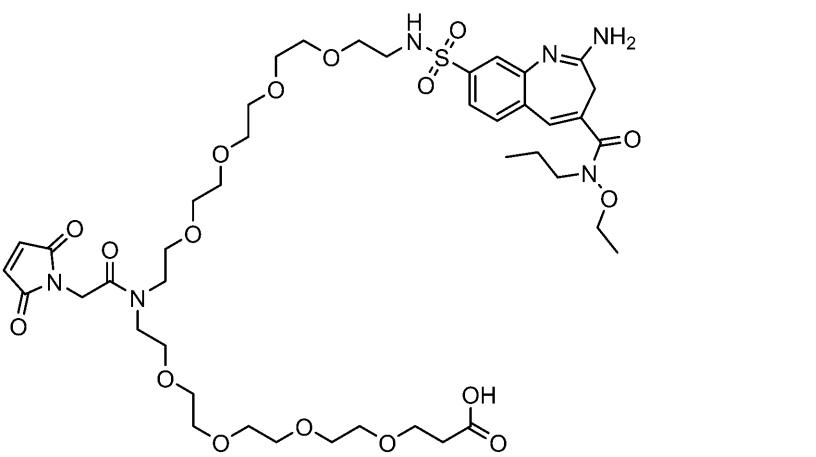
20

30

40

50

【表 4 - 10】

8SO2BzL-17	 <p>The structure of 8SO2BzL-17 features a central 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring system. It is substituted with an amino group (NH₂) at the 2-position, a sulfonic acid group (SO₃H) at the 6-position, and a carbonyl group at the 4-position. This carbonyl group is linked to a nitrogen atom that is part of a side chain containing a propyl group and an ethoxy group. The side chain is further connected to a long, flexible polyether chain consisting of eight repeating units of ethylene glycol (-CH₂-CH₂-O-). This polyether chain is terminated at both ends by amide linkages that connect to a 2-pyrrolidone ring.</p>	1047.1
8SO2BzL-18	 <p>The structure of 8SO2BzL-18 is similar to 8SO2BzL-17, featuring the same central 1,2,3,4-tetrahydroquinoline core with an amino group, a sulfonic acid group, and a carbonyl group. However, the side chain is modified: it includes a propyl group, an ethoxy group, and a sulfonamide group (-NH-SO₃H). The polyether chain, consisting of eight ethylene glycol units, is attached to the nitrogen of the sulfonamide group. At the other end of the polyether chain, it is connected via an amide linkage to a nitrogen atom that is also bonded to a propyl group and a 2-pyrrolidone ring. The polyether chain terminates in a carboxylic acid group (-COOH).</p>	971.1

10

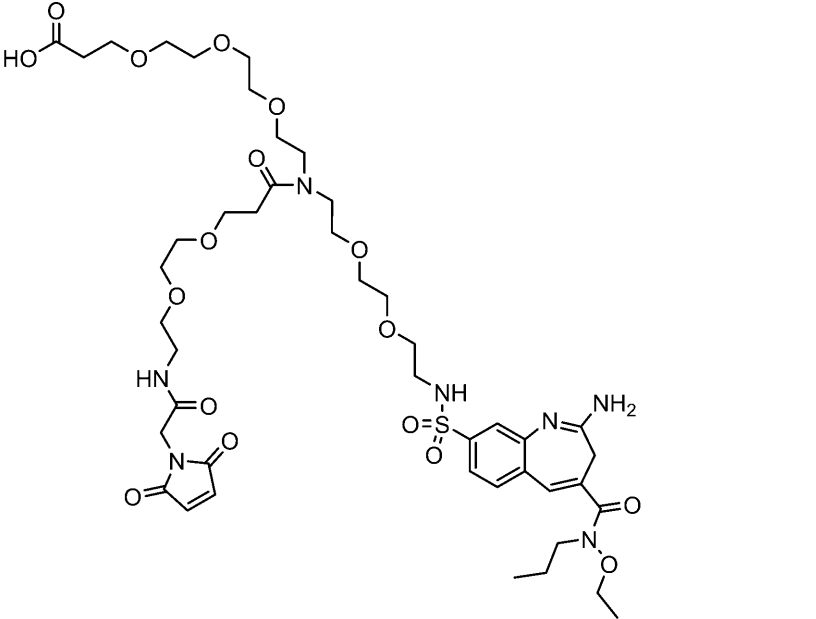
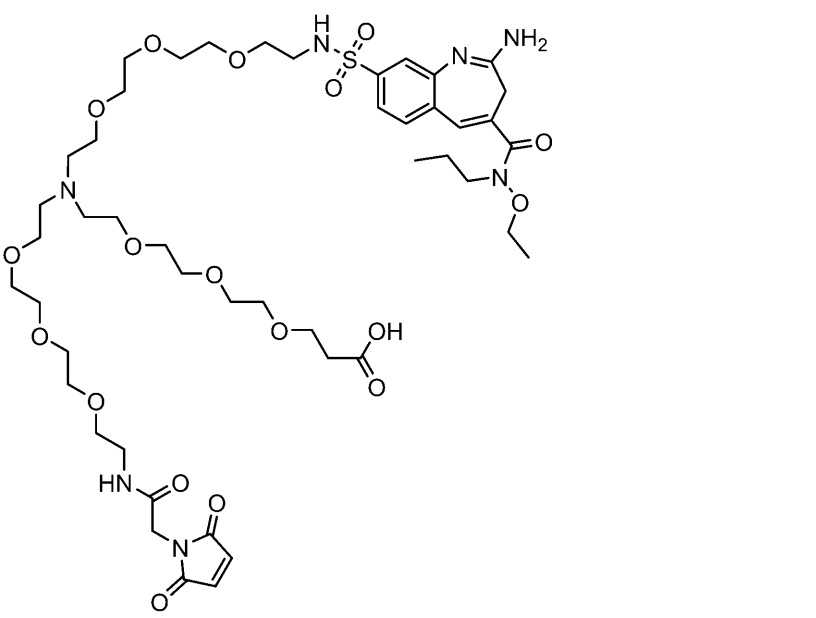
20

30

40

50

【表 4 - 1 1】

8SO2BzL-19	 <p>The structure of 8SO2BzL-19 is a complex molecule. It features a central nitrogen atom bonded to two long polyoxyethylene chains. One chain terminates in a carboxylic acid group (-COOH), and the other terminates in a sulfonamide group (-NH-SO₂-). The sulfonamide group is further connected to a benzimidazole ring system. This benzimidazole ring has an amino group (-NH₂) at the 2-position and a carbonyl group (-C(=O)-) at the 4-position. The carbonyl group is linked to a diethylamino group (-N(Et)₂).</p>	998.1
8SO2BzL-20	 <p>The structure of 8SO2BzL-20 is a complex molecule. It features a central nitrogen atom bonded to two long polyoxyethylene chains. One chain terminates in a carboxylic acid group (-COOH), and the other terminates in a sulfonamide group (-NH-SO₂-). The sulfonamide group is further connected to a benzimidazole ring system. This benzimidazole ring has an amino group (-NH₂) at the 2-position and a carbonyl group (-C(=O)-) at the 4-position. The carbonyl group is linked to a diethylamino group (-N(Et)₂).</p>	1058.2

10

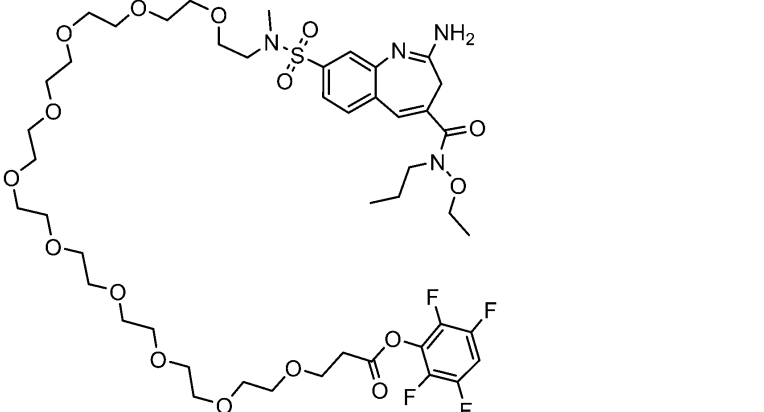
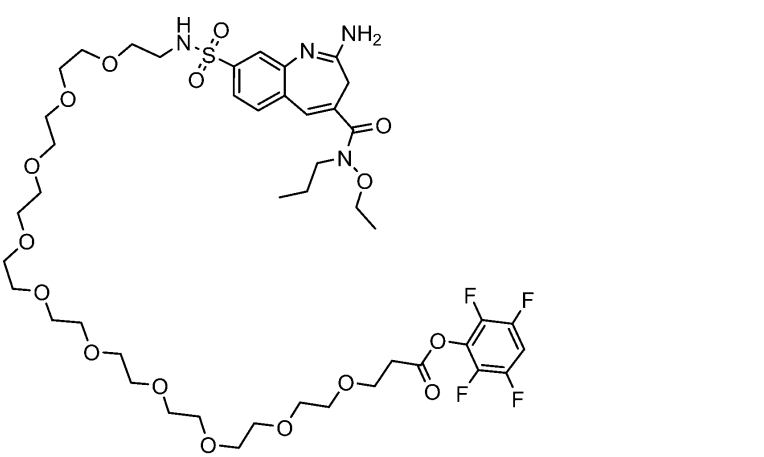
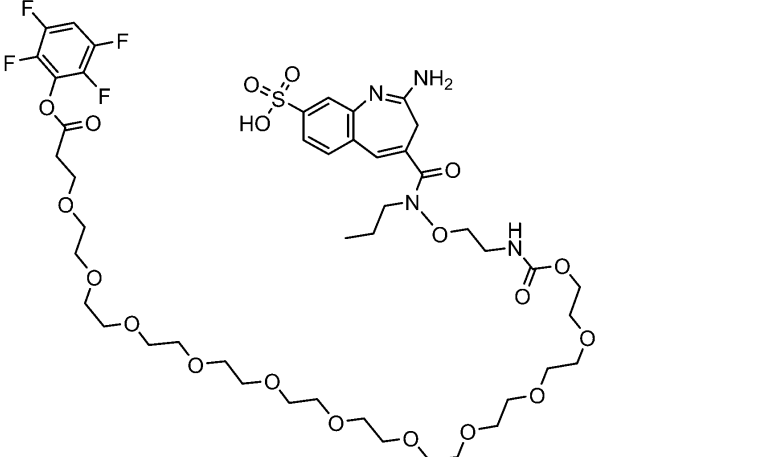
20

30

40

50

【表 4 - 1 2】

8SO2BzL-21		1041.1
8SO2BzL-22		1027.1
8SO2BzL-23		1087.1

10

20

30

40

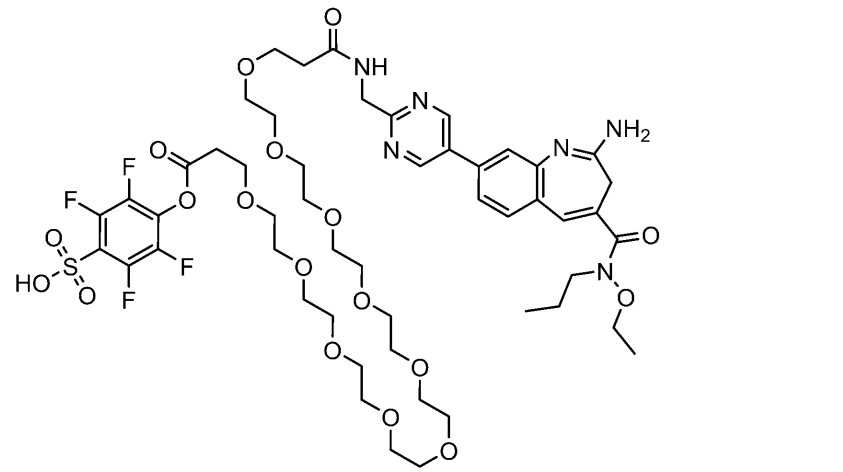
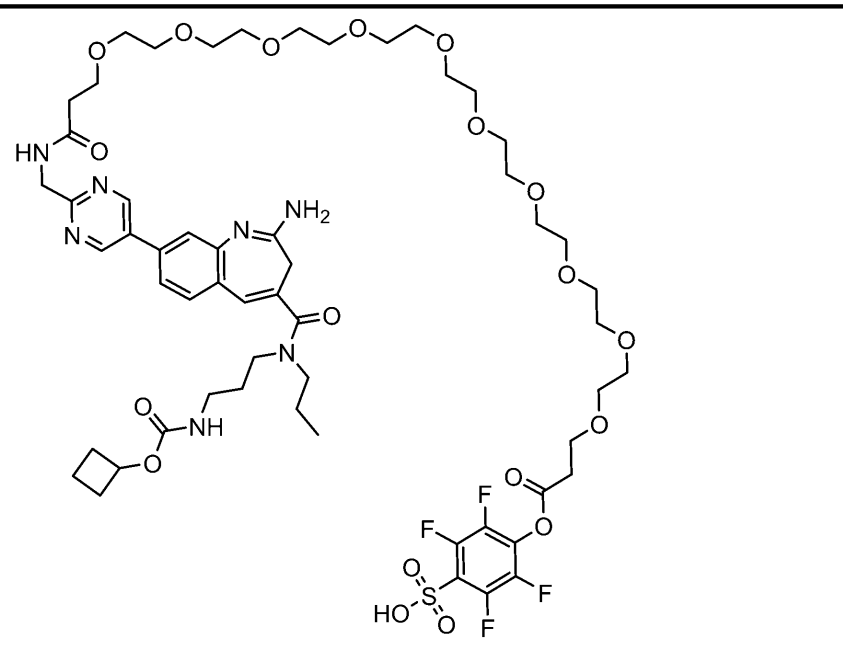
【 0 1 1 7】

表 2 b の比較化合物は、実施例 2 0 1 に従って、抗体のリシン残基と反応して、抗体と TLR - アゴニスト - リンカー部分との間のアミド結合を有する免疫複合体を形成する、活性化エステル、テトラフルオロフェニル、またはスルホテトラフルオロフェニル基を有する。

50

【表 5】

表 2 b : TLRアゴニスト-リンカー比較化合物

化合物	構造	MW
C-1		1163.2
C-2		1274.3

10

20

30

【0118】

8 - スルホニル - ベンザゼピン免疫複合体

免疫刺激抗体複合体、すなわち、免疫複合体は、TLR7/8アゴニストを腫瘍内に向かわせて、腫瘍浸潤性骨髄系細胞を活性化し、広範な先天性及び適応性の抗腫瘍免疫応答を開始する (Ackerman, et al., (2021) Nature Cancer 2: 18 - 33)。

40

【0119】

免疫複合体の例示的な実施形態は、リンカーによって1つ以上の8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン部分に共有結合した抗体を含み、かつ式 I :

A b - [L - D]_p I

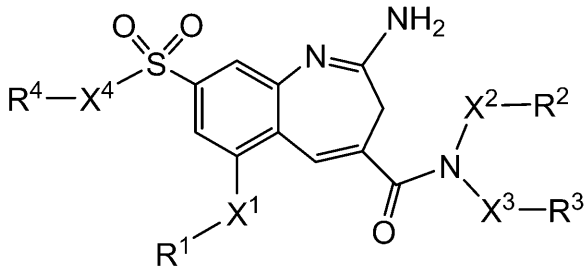
を有するか、またはその薬学的に許容される塩であり、
式中、

A b が、当該抗体であり、

50

p が、1 ~ 8 の整数であり、
L が、当該リンカーであり、
D が、式：

【化10】



10

を有する当該8-スルホニル-2-アミノベンザゼピン部分であり、

R¹、R²、R³、及びR⁴が独立して、H、C₁-C₁₂アルキル、C₂-C₆アルケニル、C₂-C₆アルキニル、C₃-C₁₂カルボシクリル、C₆-C₂₀アリール、C₂-C₉ヘテロシクリル、及びC₁-C₂₀ヘテロアリールからなる群から選択され、ここで、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル、及びヘテロアリールが独立してかつ任意選択で、

20

- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₁-C₁₂アルキルジイル) - OR⁵、
- (C₃-C₁₂カルボシクリル)、
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - *
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₃-C₁₂カルボシクリル) - NR⁵ - C(=NR⁵)NR⁵ - *
- (C₆-C₂₀アリール)、
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - *
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - N(R⁵) - *
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

30

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

- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₆-C₂₀アリールジイル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *

40

- (C₂-C₂₀ヘテロシクリル)、
- (C₂-C₂₀ヘテロシクリル) - *
- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *
- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₂-C₉ヘテロシクリル) - C(=O) - (C₁-C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *

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

50

- (C₁ - C₂₀ヘテロアリール) - *
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリール) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリール) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリール) - NR⁵ - C(=NR^{5a})N(R⁵) - *
- (C₁ - C₂₀ヘテロアリール) - N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- C(=O) - *
- C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- C(=O) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *
- C(=O)N(R⁵)₂、
- C(=O)N(R⁵) - *
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)R⁵、
- C(=O)N(R⁵) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)CO₂R⁵、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₈アルキルジイル) - NR⁵(C₂ - C₅ヘテロアリール)、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - N(R⁵) - *
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - *
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₂₀ヘテロアリールジイル) - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - C(=O)NR⁵ - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - NR⁵ - *
- N(R⁵)₂、
- N(R⁵) - *
- N(R⁵)C(=O)R⁵、
- N(R⁵)C(=O) - *
- N(R⁵)C(=O)N(R⁵)₂、
- N(R⁵)C(=O)N(R⁵) - *
- N(R⁵)CO₂R⁵、
- NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵)₂、
- NR⁵C(=NR^{5a})N(R⁵) - *
- NR⁵C(=NR^{5a})R⁵、
- N(R⁵)C(=O) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- N(R⁵) - (C₂ - C₅ヘテロアリール)、
- N(R⁵) - S(=O)₂ - (C₁ - C₁₂アルキル)、
- O - (C₁ - C₁₂アルキル)、
- O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵)₂、
- O - (C₁ - C₁₂アルキルジイル) - N(R⁵) - *
- O - C(=O)N(R⁵)₂、
- O - C(=O)N(R⁵) - *
- O - (R⁵) - *
- OR⁵、
- S(=O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - *
- S(=O)₂ - (C₂ - C₂₀ヘテロシクリルジイル) - (C₁ - C₁₂アルキルジイル)

10

20

30

40

50

イル) - N (R ⁵) ₂、
 - S (= O) ₂ - (C ₂ - C ₂₀ ヘテロシクリルジイル) - (C ₁ - C ₁₂ アルキルジ
 イル) - N R ⁵ - *、及び
 - S (= O) ₂ - (C ₂ - C ₂₀ ヘテロシクリルジイル) - (C ₁ - C ₁₂ アルキルジ
 イル) - OH から選択される 1 つ以上の基で置換されるか、
 または R ² と R ³ が一緒に 5 員もしくは 6 員ヘテロシクリル環を形成し、
 X ¹、X ²、X ³、及び X ⁴ が独立して、結合、C (= O)、C (= O) N (R ⁵)、
 O、N (R ⁵)、S、S (O) ₂、及び S (O) ₂ N (R ⁵) からなる群から選択され、
 R ⁵ が独立して、H、C ₆ - C ₂₀ アリール、C ₃ - C ₁₂ カルボシクリル、C ₆ - C <sub>2
 0</sub> アリールジイル、C ₁ - C ₁₂ アルキル、及び C ₁ - C ₁₂ アルキルジイルからなる群 10
 から選択されるか、または 2 つの R ⁵ 基と一緒に 5 員もしくは 6 員ヘテロシクリル環を形
 成し、
 R ^{5 a} が、C ₆ - C ₂₀ アリール及び C ₁ - C ₂₀ ヘテロアリールからなる群から選択さ
 れ、
 ここで、アスタリスク * が L の結合部位を示し、R ¹、R ²、R ³、及び R ⁴ のうちの
 1 つが L に結合しており、
 L が、
 - C (= O) - P E G -、
 - C (= O) - P E G - C (= O) N (R ⁶) - (C ₁ - C ₁₂ アルキルジイル) -
 C (= O) - G l u c -、 20
 - C (= O) - P E G - O -、
 - C (= O) - P E G - O - C (= O) -、
 - C (= O) - P E G - C (= O) -、
 - C (= O) - P E G - C (= O) - P E P -、
 - C (= O) - P E G - N (R ⁶) -、
 - C (= O) - P E G - N (R ⁶) - C (= O) -、
 - C (= O) - P E G - N (R ⁶) - P E G - C (= O) - P E P -、
 - C (= O) - P E G - N ⁺ (R ⁶) ₂ - P E G - C (= O) - P E P -、
 - C (= O) - P E G - C (= O) - P E P - N (R ⁶) - (C ₁ - C ₁₂ アルキル
 ジイル) -、 30
 - C (= O) - P E G - C (= O) - P E P - N (R ⁶) - (C ₁ - C ₁₂ アルキル
 ジイル) N (R ⁶) C (= O) - (C ₂ - C ₅ モノヘテロシクリルジイル) -、
 - C (= O) - P E G - S S - (C ₁ - C ₁₂ アルキルジイル) - O C (= O) -、
 - C (= O) - P E G - S S - (C ₁ - C ₁₂ アルキルジイル) - C (= O) -、
 - スクシンイミジル - (C H ₂) _m - C (= O) N (R ⁶) - P E G -、
 - スクシンイミジル - (C H ₂) _m - C (= O) N (R ⁶) - P E G - C (= O) N
 (R ⁶) - (C ₁ - C ₁₂ アルキルジイル) - C (= O) - G l u c -、
 - スクシンイミジル - (C H ₂) _m - C (= O) N (R ⁶) - P E G - O -、
 - スクシンイミジル - (C H ₂) _m - C (= O) N (R ⁶) - P E G - O - C (= O
) -、 40
 - スクシンイミジル - (C H ₂) _m - C (= O) N (R ⁶) - P E G - C (= O) -
 、
 - スクシンイミジル - (C H ₂) _m - C (= O) N (R ⁶) - P E G - N (R ⁵) -
 、
 - スクシンイミジル - (C H ₂) _m - C (= O) N (R ⁶) - P E G - N (P E G -
 C O ₂ H) - P E G - N (R ⁵) -、
 - スクシンイミジル - (C H ₂) _m - C (= O) N (R ⁶) - P E G - C (= O) N
 (P E G - C O ₂ H) - P E G - N (R ⁵) -、
 - スクシンイミジル - (C H ₂) _m - C (= O) N (R ⁶) - P E G - N (R ⁵) -
 C (= O) -、 50

- スクシンイミジル - $(\text{CH}_2)_m - \text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^6) - \text{PEG} - \text{N}(\text{PEG} - \text{CO}_2\text{H}) - \text{PEG} - \text{C}(=\text{O}) -$ 、

- スクシンイミジル - $(\text{CH}_2)_m - \text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^6) - \text{PEG} - \text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{PEG} - \text{CO}_2\text{H}) - \text{PEG} - \text{C}(=\text{O}) -$ 、

- スクシンイミジル - $(\text{CH}_2)_m - \text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^6) - \text{PEG} - \text{C}(=\text{O}) - \text{PEP} -$ 、及び

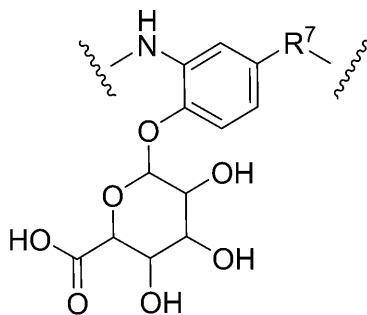
- スクシンイミジル - $(\text{CH}_2)_m - \text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^6) - \text{PEG} - \text{SS} - (\text{C}_1 - \text{C}_{12}\text{アルキルジイル}) - \text{OC}(=\text{O}) -$ からなる群から選択される当該リンカーであり、

R^6 が独立して、 H または $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルであり、

PEG が、式： $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n - (\text{CH}_2)_m -$ を有し、 m が、 $1 \sim 5$ の整数であり、 n が、 $2 \sim 50$ の整数であり、

Gluc が、式：

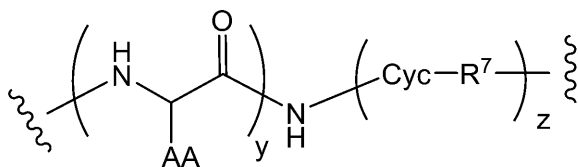
【化 1 1】



を有し、

PEP が、式：

【化 1 2】



を有し、

式中、 AA が独立して、天然もしくは非天然アミノ酸側鎖から選択されるか、または A のうちの 1 つ以上と隣接する窒素原子とが 5 員環プロリンアミノ酸を形成し、波線が結合点を示し、

Cyc が、任意選択で F 、 Cl 、 NO_2 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、及び構造：

10

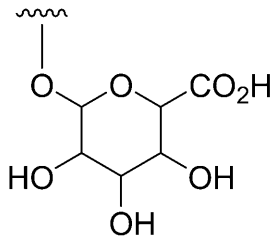
20

30

40

50

【化 1 3】



10

を有するグルクロン酸から選択される1つ以上の基で置換される、 $C_6 - C_{20}$ アリールジイル及び $C_1 - C_{20}$ ヘテロアリールジイルから選択され、

R^7 が、 $-CH(R^8)O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2N(R^8)-$ 、及び $-CH(R^8)O-C(=O)-$ (式中、 R^8 が、 H 、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C(=O) - C_1 - C_6$ アルキル、及び $-C(=O)N(R^9)_2$ から選択され、式中、 R^9 が独立して、 H 、 $C_1 - C_{12}$ アルキル、及び $-(CH_2CH_2O)_n - (CH_2)_m - OH$ からなる群から選択され、式中、 m が、 $1 \sim 5$ の整数であり、 n が、 $2 \sim 50$ の整数である)からなる群から選択されるか、または2つの R^9 基と一緒に5員もしくは6員ヘテロシクリル環を形成し、

20

y が、 $2 \sim 12$ の整数であり、

z が、 0 または 1 であり、

アルキル、アルキルジイル、アルケニル、アルケニルジイル、アルキニル、アルキニルジイル、アリール、アリールジイル、カルボシクリル、カルボシクリルジイル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルジイル、ヘテロアリール、及びヘテロアリールジイルが独立してかつ任意選択で、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 $-CN$ 、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C(CH_3)H$ 、 $-C(CH_3)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-C(CH_3)_2OH$ 、 $-CH(OH)CH(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2SO_2CH_3$ 、 $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-CH_2CF_3$ 、 $-CH_2CHF_2$ 、 $-CH(CH_3)CN$ 、 $-C(CH_3)_2CN$ 、 $-CH_2CN$ 、 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2NHSO_2CH_3$ 、 $-CH_2NHCH_3$ 、 $-CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-COCH_3$ 、 $-CO_2CH_3$ 、 $-CO_2C(CH_3)_3$ 、 $-COCH(OH)CH_3$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHCH_3$ 、 $-CON(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_2CONH_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-NHCOCH_3$ 、 $-N(CH_3)COCH_3$ 、 $-NHS(O)_2CH_3$ 、 $-N(CH_3)C(CH_3)_2CONH_2$ 、 $-N(CH_3)CH_2CH_2S(O)_2CH_3$ 、 $-NHC(=NH)H$ 、 $-NHC(=NH)CH_3$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $=O$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、 $-OCH_2CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n - (CH_2)_mCO_2H$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_nH$ 、 $-OCH_2F$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OP(O)(OH)_2$ 、 $-S(O)_2N(CH_3)_2$ 、 $-SCH_3$ 、 $-S(O)_2CH_3$ 、及び $-S(O)_3H$ から独立して選択される1つ以上の基で置換される。

30

40

【0120】

式Iの免疫複合体の例示的な実施形態は、 X^1 が結合であり、 R^1 がHであることを含む。

【0121】

式Iの免疫複合体の例示的な実施形態は、 X^2 が結合であり、 R^2 が $C_1 - C_8$ アルキルであることを含む。

【0122】

50

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 X^2 及び X^3 が各々、結合であり、 R^2 及び R^3 が独立して、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-O - (C_1 - C_{12}$ アルキル)、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキルジイル) $-OR^5$ 、 $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル) $-N(R^5)CO_2R^5$ 、 $-(C_1 - C_{12}$ アルキル) $-OC(O)N(R^5)_2$ 、 $-O - (C_1 - C_{12}$ アルキル) $-N(R^5)CO_2R^5$ 、及び $-O - (C_1 - C_{12}$ アルキル) $-OC(O)N(R^5)_2$ から選択されることを含む。

【0123】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 R^2 が $C_1 - C_8$ アルキルであり、 R^3 が $-(C_1 - C_8$ アルキルジイル) $-N(R^5)CO_2R^4$ であることを含む。

【0124】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が $-CH_2CH_2CH_2NHCO_2(t-Bu)$ 、 $-OCH_2CH_2NHCO_2$ (シクロブチル)、及び $-CH_2CH_2CH_2NHCO_2$ (シクロブチル) から選択されることを含む。

【0125】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 R^2 及び R^3 が各々独立して、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CF_3$ 、 $-CH_2CH_2CF_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、及び $-CH_2CH_2CH_2OH$ から選択されることを含む。

【0126】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 R^2 及び R^3 が各々、 $-CH_2CH_2CH_3$ であることを含む。

【0127】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 R^2 が $-CH_2CH_2CH_3$ であり、 R^3 が $-OCH_2CH_3$ であることを含む。

【0128】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 $X^3 - R^3$ が、

10

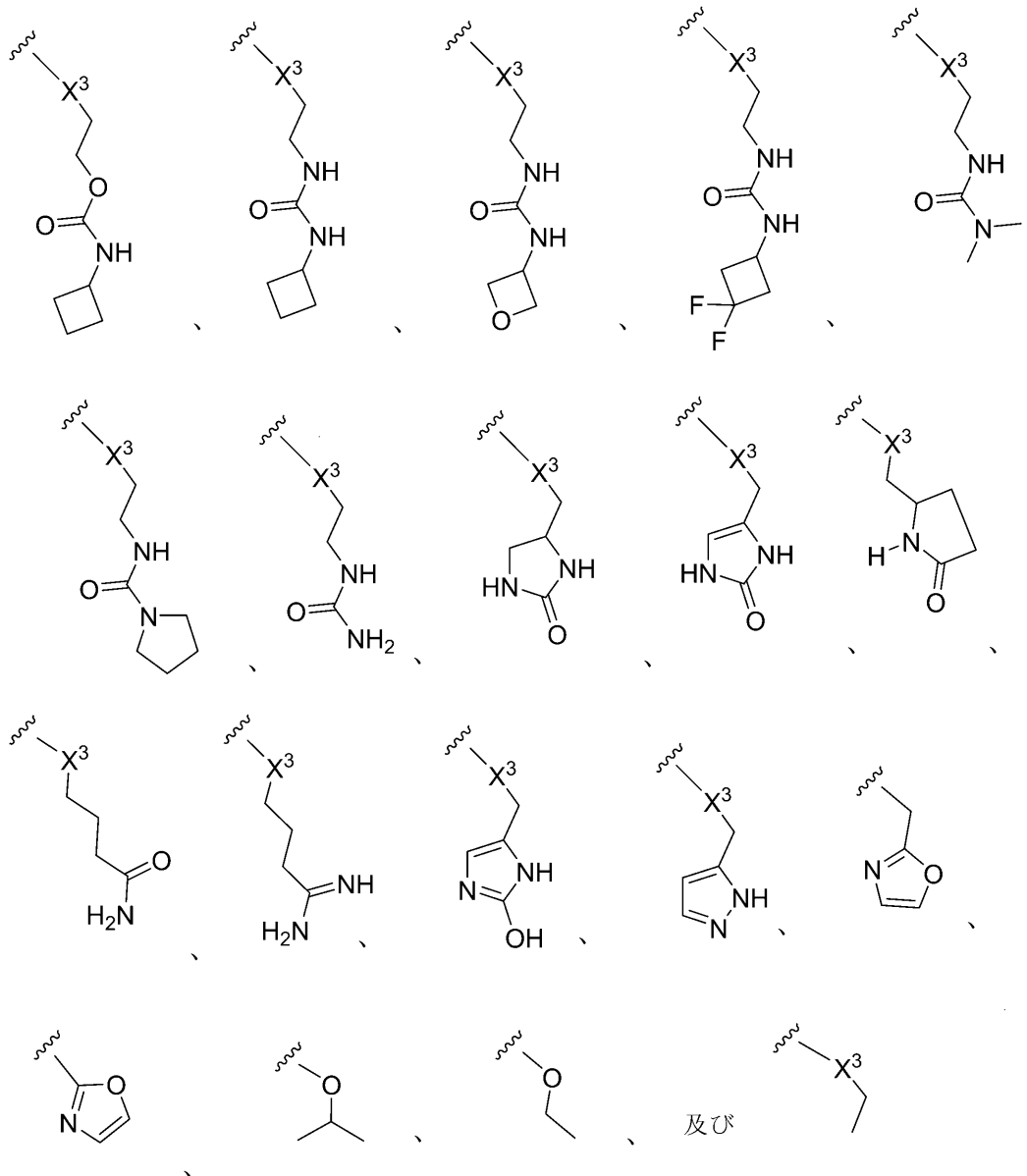
20

30

40

50

【化 1 4】



10

20

30

からなる群から選択されることを含む。

【0129】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 X^4 が結合であり、 R^4 が H であることを含む。

40

【0130】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 R^1 が L に結合していることを含む。

【0131】

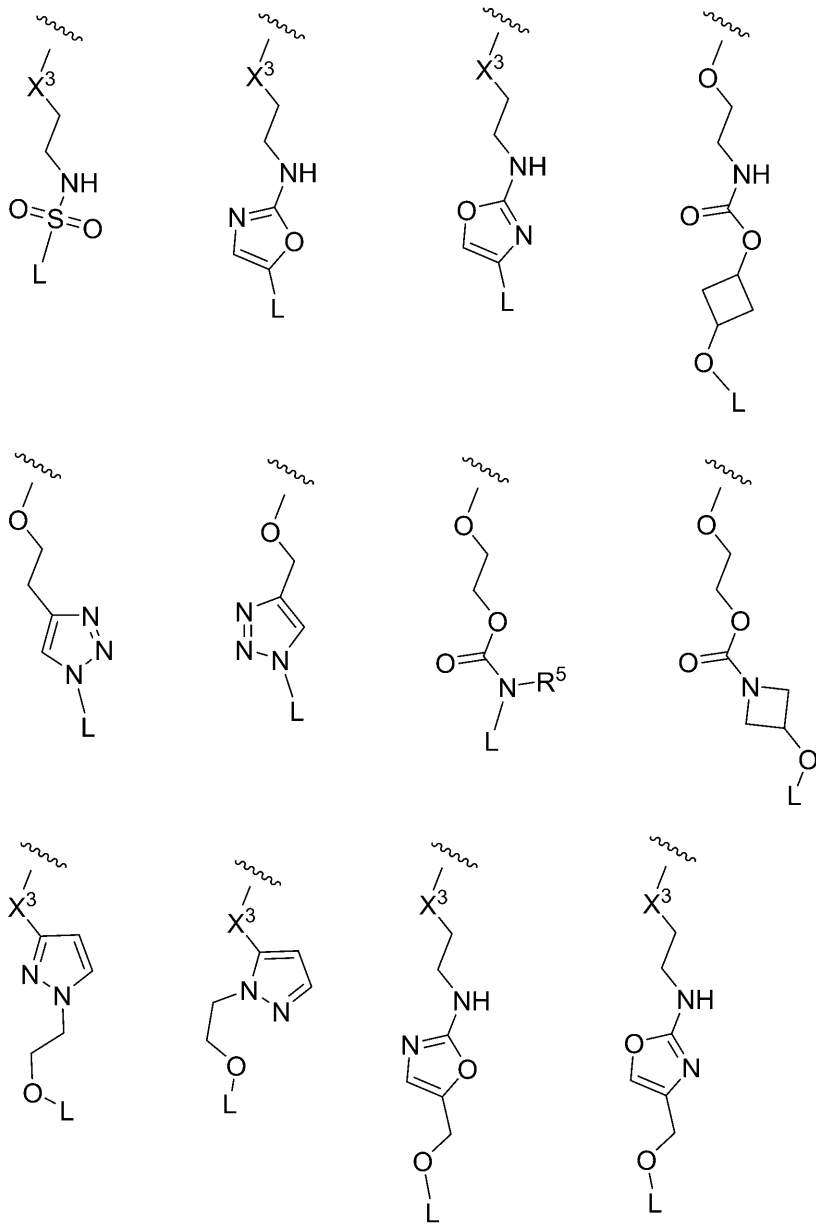
式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 R^2 または R^3 が L に結合していることを含む。

【0132】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、 $X^3 - R^3 - L$ が、

50

【化 1 5】



10

20

30

からなる群から選択され、
 ここで、波線がNへの結合点を示す。

【0133】

式Iの免疫複合体の例示的な実施形態は、R⁴がC₁-C₁₂アルキルであることを含む。

40

【0134】

式Iの免疫複合体の例示的な実施形態は、R⁴が-(C₁-C₁₂アルキルジイル)-N(R⁵)-*であることを含み、ここで、アスタリスク*がLの結合部位を示す。

【0135】

式Iの免疫複合体の例示的な実施形態は、Lが-C(=O)-PEG-または-C(=O)-PEG-C(=O)-であることを含む。

【0136】

式Iの免疫複合体の例示的な実施形態は、Lが抗体のシステインチオールに結合していることを含む。

50

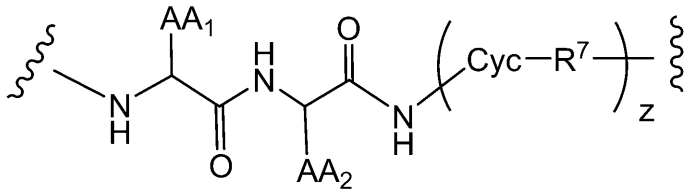
【0137】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、PEG について、m が 1 もしくは 2 であり、n が 2 ~ 10 の整数であるか、または n が 10 であることを含む。

【0138】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、L が PEP を含み、PEP がジペプチドであり、かつ式：

【化16】



10

を有することを含む。

【0139】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、AA₁ 及び AA₂ が独立して、H、-CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH₂(C₆H₅)、-CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂CH₂NHC(NH)NH₂、-CHCH(CH₃)CH₃、-CH₂SO₃H、及び -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ から選択されるか、または AA₁ と AA₂ が 5 員環プロリンアミノ酸を形成することを含む。

20

【0140】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、AA₁ が -CH(CH₃)₂ であり、AA₂ が -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂ であることを含む。

【0141】

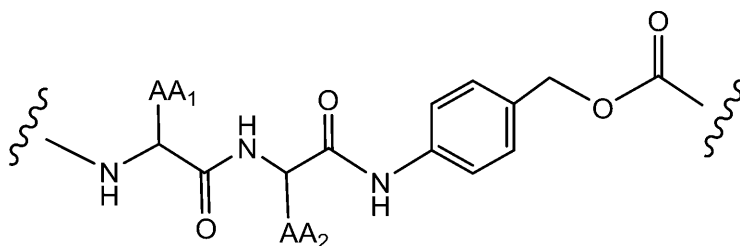
式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、AA₁ 及び AA₂ が独立して、GlcNAc アスパラギン酸、-CH₂SO₃H、及び -CH₂OPO₃H から選択されることを含む。

30

【0142】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、PEP が式：

【化17】



40

を有することを含み、

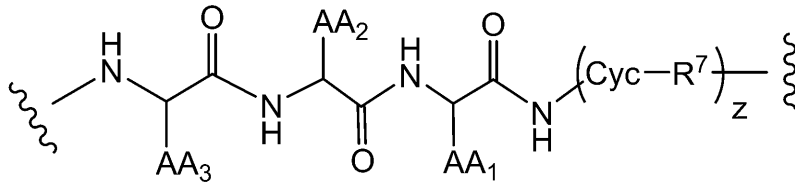
式中、AA₁ 及び AA₂ が独立して、天然に存在するアミノ酸の側鎖から選択される。

【0143】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、L が PEP を含み、PEP がトリペプチドであり、かつ式：

50

【化 1 8】

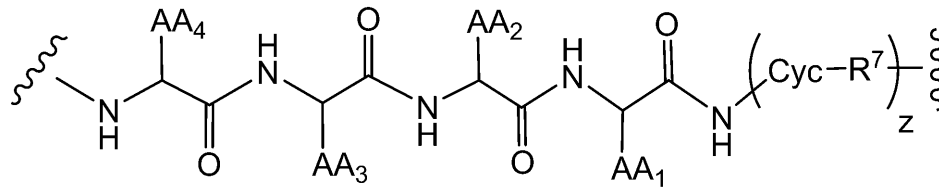


を有することを含む。

【0144】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、L が P E P を含み、P E P がテトラペプチドであり、かつ式：

【化 1 9】



を有することを含む。

【0145】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、

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

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

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

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

【0146】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、L が P E P を含み、P E P が、A l a - P r o - V a l、A s n - P r o - V a l、A l a - A l a - V a l、A l a - A l a - P r o - A l a、A l a - A l a - P r o - V a l、及び A l a - A l a - P r o - N v a からなる群から選択されることを含む。

【0147】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、L が P E P を含み、P E P が、構造：

10

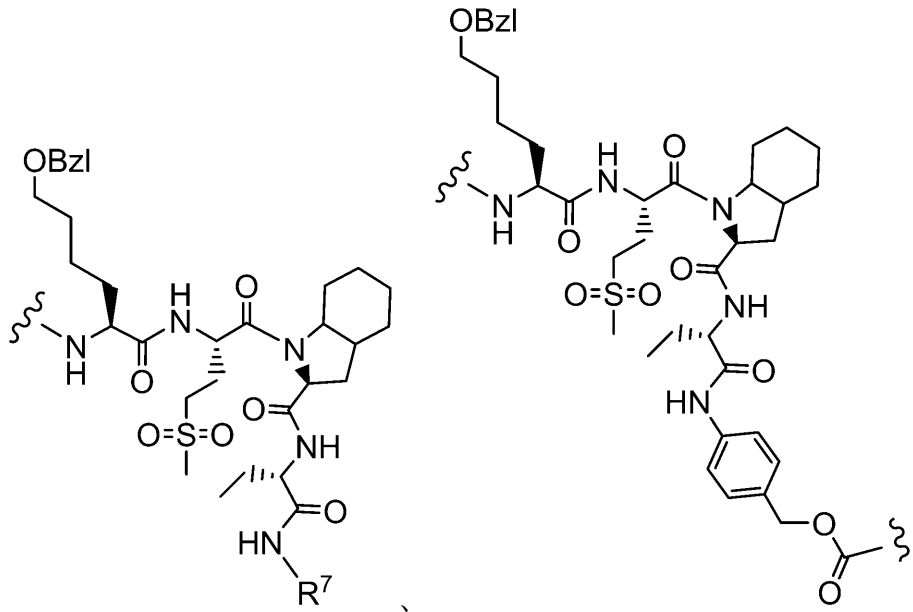
20

30

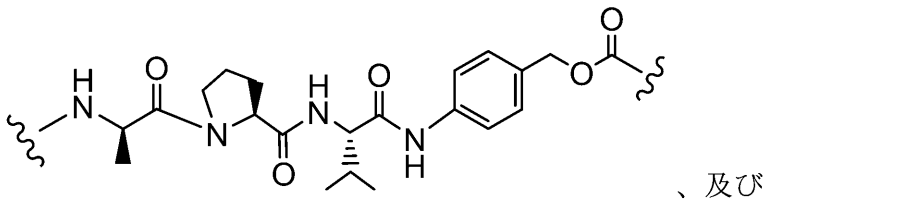
40

50

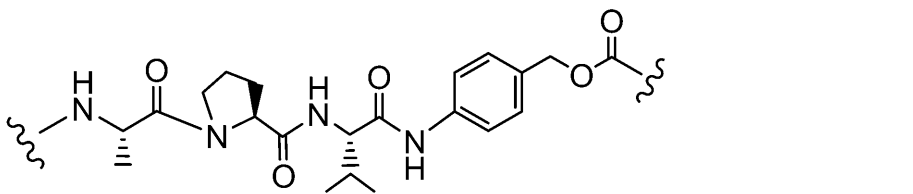
【化 2 0】



10



20



30

から選択されることを含む。

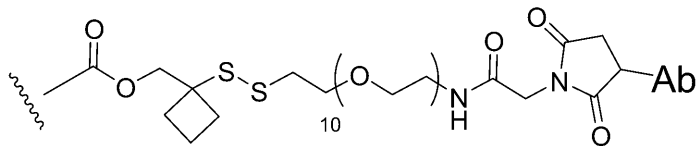
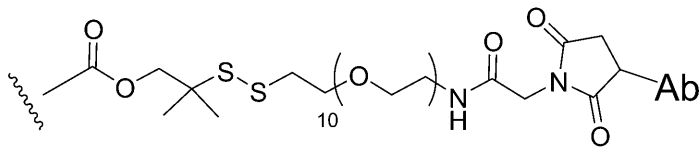
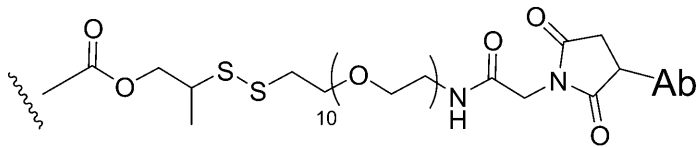
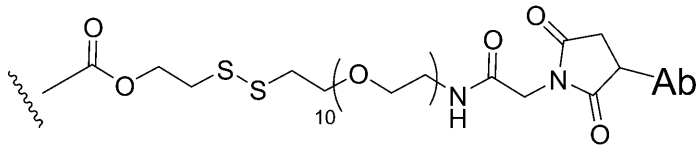
【 0 1 4 8】

式 I の免疫複合体の例示的な実施形態は、L が、構造：

40

50

【化 2 1】



10

20

から選択され、
ここで、波線が R⁵ への結合を示す。

【0149】

本発明は、式 I の実施形態の全ての合理的な組み合わせ、及び特徴の並べ替えを含む。

【0150】

ある特定の実施形態では、本発明の免疫複合体化合物は、免疫賦活活性を有するものを含む。本発明の免疫複合体は、有効用量の 8 - スルホニル - 2 - アミノベンザゼピン (8 S O 2 B z) 薬物を腫瘍組織に選択的に送達し、それにより、非コンジュゲート 8 S O 2 B z と比較して、治療指数 (「治療濃度域」) を増加させながら、より高い選択性 (すなわち、より低い有効用量) が達成され得る。

30

【0151】

表 3 a 及び表 3 b の各々の免疫複合体を、実施例 2 0 1 の方法に従って調製し、HPLC により精製し、質量分析により特徴付けた。

40

50

【表 6 - 1】

表 3 a : 8-スルホニル-2-アミノベンザゼピン免疫複合体 (IC)

免疫複合体番号	8SO2BzL 表 2a	抗体 抗原	DAR	cDC 活性化(IL12p70 分泌)- EC ₅₀ (nM)
IC-1	8SO2BzL-1	トラスツズマ ブ HER2	2.5	
IC-2	8SO2BzL-2	TROP2	3.9	0.8
IC-3	8SO2BzL-3	TROP2	3.9	0.4
IC-4	8SO2BzL-4	TROP2	3.8	
IC-5	8SO2BzL-5	TROP2	3.7	0.4
IC-6	8SO2BzL-6	TROP2	2.6	0.6
IC-7	8SO2BzL-7	TROP2	3.9	27.3
IC-8	8SO2BzL-8	TROP2	3.6	4.2
IC-9	8SO2BzL-9	TROP2	4.0	2.4
IC-10	8SO2BzL-10	TROP2	4.3	1.5
IC-11	8SO2BzL-8	TROP2	3.8	マウス
IC-12	8SO2BzL-8	TROP2	3.8	マウス
IC-13	8SO2BzL-8	リツキシマブ CD20	3.2	
IC-14	8SO2BzL-8	TROP2	3.3	マウス
IC-15	8SO2BzL-7	アベルマブ PD-L1	4.0	
IC-16	8SO2BzL-8	アベルマブ PD-L1	3.8	
IC-17	8SO2BzL-5	110-G1f PD-L1	3.1、4.0	0.3
IC-18	8SO2BzL-4	110-G1f PD-L1	3.2、3.4、 3.5、3.9	0.4
IC-19	8SO2BzL-3	110-G1f PD-L1	3.1	0.4
IC-20	8SO2BzL-2	110-G1f PD-L1	3.5	0.2
IC-21	8SO2BzL-7	抗 M PD-L1	3.3	

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

IC-22	8SO2BzL-7	ラット IgG2b アイソタイプ対 照	3.3	
IC-23	8SO2BzL-11	トラスツズマブ HER2	3.3	
IC-24	8SO2BzL-12	トラスツズマブ HER2	3.8	
IC-25	8SO2BzL-14	トラスツズマブ HER2	3.4	
IC-26	8SO2BzL-15	トラスツズマブ HER2	3.5	1.5
IC-27	8SO2BzL-16	トラスツズマブ HER2	3.5、 3.6	1.6
IC-28	8SO2BzL-18	110-G1f PD-L1	3.5	0.4
IC-29	8SO2BzL-19	110-G1f PD-L1	3.6	0.6
IC-30	8SO2BzL-20	110-G1f PD-L1	3.5	1.3
IC-31	8SO2BzL-17	トラスツズマブ HER2	3.2	
IC-32	8SO2BzL-2	トラスツズマブ HER2	3.3	1.7
IC-33	8SO2BzL-3	トラスツズマブ HER2	3.5	0.5
IC-34	8SO2BzL-4	トラスツズマブ HER2	3.7	0.9

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

IC-35	8SO2BzL-5	トラスツズマブ HER2	3.5	0.9
IC-36	8SO2BzL-10	トラスツズマブ HER2	3.7	
IC-37	8SO2BzL-23	トラスツズマブ HER2	2.1	1.3
IC-38	8SO2BzL-22	トラスツズマブ HER2	1.9	1.8
IC-39	8SO2BzL-21	トラスツズマブ HER2	2.8	1.6
IC-40	8SO2BzL-9	トラスツズマブ HER2	4.0	
IC-41	8SO2BzL-7	トラスツズマブ HER2	4.0	
IC-42	8SO2BzL-8	トラスツズマブ HER2	3.4 、 4.0	
IC-43	8SO2BzL-6	トラスツズマブ HER2	3.8	
IC-44	8SO2BzL-7	h1gG1 アイソタイプ対照	3.8	

10

20

30

【表 7】

表 3 b : 比較免疫複合体 (C I C)

比較免疫複合体番号	比較化合物 表 2b	抗体	DAR	cDC 活性化 (IL12p70 分泌)- EC ₅₀ (nM)
CIC-1	C-1	TROP2	2.4	0.8
CIC-2	C-2	TROP2	2.5	0.7

40

【 0 1 5 2】

図 1 は、様々な濃度の免疫複合体 IC - 3、比較 CIC - 1、及び裸抗体 TROP2 を、がん細胞と cDC 濃縮一次細胞分離株との共培養物とともにインキュベートした後の分泌型 TNF (腫瘍壊死因子アルファ) サイトカインレベルのグラフを示す。図 2 は、様々な濃度の免疫複合体 IC - 3、比較 CIC - 2、及び裸抗体 TROP2 を、がん細胞と cDC 濃縮一次細胞分離株との共培養物とともにインキュベートした後の分泌型 TNF

50

(腫瘍壊死因子アルファ) サイトカインレベルのグラフを示す。

【0153】

上清中の分泌サイトカインレベルを、Legend Plex サイトカインビーズアレイキットを使用して判定した。TROP2 標的化免疫複合体 IC-2、CIC-1、及び CIC-2 は、がんに対する免疫応答の開始に関連するサイトカイン TNF (アルファ) の分泌を誘導し、TROP2 発現腫瘍細胞に曝露したときに骨髄細胞の活性化を実証する。8-スルホニル-2-アミノベンザゼピン免疫複合体 IC-3 は、比較免疫複合体 CIC-1 及び CIC-2 よりも高いレベルの TNF を刺激した。注目すべきことに、8-スルホニル-2-アミノベンザゼピンペイロードは、活性の増加を提供する一方で、分子量及び疎水性を低下させる、より効率的なペイロードを表す。裸抗体 TROP2 は骨髄活性化を誘導せず、TLR7/8 活性化ペイロードへの依存性を実証する。

10

【0154】

薬物負荷は、表3aの例示的な免疫複合体中で測定される(DAR)、式Iの免疫複合体中の抗体当たりの8-スルホニル-2-アミノベンザゼピン(8SO2Bz)部分の数である、pで表される。薬物(8SO2Bz)負荷は、抗体当たり1~約8個の薬物部分(D)の範囲であり得る。式Iの免疫複合体は、1~約8の範囲の薬物部分に結合された抗体の混合物または集団を含む。いくつかの実施形態では、抗体に結合され得る薬物部分の数は、リシン及びシステインなどの反応性または利用可能なアミノ酸側鎖残基の数によって制限される。いくつかの実施形態では、遊離システイン残基は、本明細書に記載の方法によって抗体アミノ酸配列に導入される。かかる態様では、pは、1、2、3、4、5、6、7、または8であってもよく、1~8または2~5などのその範囲であってもよい。任意のかかる態様では、p及びnは、等しい(すなわち、 $p = n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8$ 、またはそれらの間のある範囲)。式Iの例示的な免疫複合体としては、1、2、3、または4個の操作されたシステインアミノ酸を有する抗体が挙げられるが、これらに限定されない(Lyon, R. et al. (2012) Methods in Enzym. 502: 123-138)。いくつかの実施形態では、1つ以上の遊離のシステイン残基が、遺伝子操作を使用することなく、鎖内及び鎖間のジスルフィド結合(ネイティブジスルフィド基)を形成する抗体にすでに存在しており、その場合、既存の遊離の還元システイン残基を使用して、抗体を薬物に結合させてもよい。いくつかの実施形態では、抗体は1つ以上の遊離システイン残基を生成するために、抗体の結合前に還元条件に曝露される。

20

30

【0155】

いくつかの免疫複合体について、pは、抗体上の結合部位の数によって制限され得る。例えば、本明細書に記載のある特定の例示的な実施形態におけるように、結合がシステインチオールである場合、抗体は、1つのみもしくは限定された数のシステインチオール基を有してもよく、または1つのみもしくは限定された数の反応性が十分なチオール基を有してもよく、それに、薬物が結合されてもよい。他の実施形態では、抗体中の1つ以上のリシンアミノ基は、式IIの8SO2Bz-リンカー化合物とのコンジュゲーションに利用可能であり、かつ反応性であり得る。ある特定の実施形態では、より高い薬物負荷、例えば、 $p > 5$ は、ある特定の抗体-薬物複合体の凝集、不溶性、毒性、または細胞透過性の喪失を引き起こし得る。ある特定の実施形態では、免疫複合体の平均薬物負荷は、1~約8、約2~約6、または約3~約5の範囲である。ある特定の実施形態では、抗体は、リシンまたはシステインなどの反応性求核基を明らかにするために変性条件に供される。

40

【0156】

免疫複合体の負荷(薬物/抗体比)は、異なる方法で、例えば、(i)抗体に対する8SO2Bz-リンカー中間体化合物のモル過剰を制限することと、(ii)コンジュゲーション反応時間または温度を制限することと、(iii)最適化された抗体反応性のための部分的または制限的還元変性条件と、によって制御され得る。

【0157】

抗体の1を超える求核性基が薬物と反応する場合、結果として生じる生成物は、抗体に

50

結合した1つ以上の薬物部分が分布する免疫複合体化合物の混合物であることを理解すべきである。抗体当たりの平均数薬物は、抗体に特異的及び薬物に特異的である、二重ELISA抗体アッセイによって混合物から計算され得る。個々の免疫複合体分子は、質量分析によって混合物中で同定され、HPLC、例えば、疎水性相互作用クロマトグラフィーによって分離され得る（例えば、McDonagh et al. (2006) Prot. Engr. Design & Selection 19(7): 299-307、Hamblett et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10: 7063-7070、Hamblett, K. J., et al. "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004、Alley, S. C., et al. "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates," Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004を参照されたい)。ある特定の実施形態では、単一の負荷値を有する均一の免疫複合体が、電気泳動またはクロマトグラフィーによって複合混合物から単離されてもよい。

10

20

【0158】

インビトロでの免疫複合体活性の評価は、実施例203の方法に従って行われ得る。

【0159】**免疫複合体の組成物**

本発明は、本明細書に記載の複数の免疫複合体と、任意選択で、そのための担体、例えば、薬学的または薬理的に許容される担体とを含む、組成物、例えば、薬学的または薬理的に許容される組成物または製剤を提供する。本免疫複合体は、組成物中で同じまたは異なる場合があり、すなわち、組成物は、抗体コンストラクト上の同じ位置に連結された同じ数のアジュバントを有する免疫複合体、及び/または抗体コンストラクト上の異なる位置に連結された同じ数の8-スルホニル-2-アミノベンザゼピン(8SO2Bz)アジュバントを有する免疫複合体、抗体コンストラクト上の同じ位置に連結された異なる数の8SO2Bzアジュバントを有するか、または抗体コンストラクト上の異なる位置に連結された異なる数の8SO2Bzアジュバントを有する免疫複合体を含むことができる。

30

【0160】

例示的な実施形態では、本免疫複合体化合物を含む組成物は、免疫複合体化合物の混合物を含み、免疫複合体化合物の混合物中の抗体当たりの平均薬物(8SO2Bz)負荷(DAR)は、約2~約5である。

40

【0161】

本発明の免疫複合体の組成物は、約0.4~約10のアジュバントの抗体コンストラクトに対する平均比(DAR)を有することができる。当業者であれば、抗体コンストラクトにコンジュゲートされる8-スルホニル-2-アミノベンザゼピンアジュバントの数が、本発明の複数の免疫複合体を含む組成物中で、免疫複合体によって異なり得、それ故に、アジュバント対抗体コンストラクト(例えば、抗体)比が、薬物対抗体比(DAR)と称され得る平均として測定され得ることを認識するであろう。アジュバントの抗体コンストラクト(例えば、抗体)に対する比率は、質量分析、ELISAアッセイ、及びHPLCなどの従来手段を含む、多くが当該技術分野で既知である、任意の好適な手段によって評価することができる。pの観点から組成物中の免疫複合体の定量的分布もまた、決定

50

することができる。いくつかの事例では、 p がある特定の値である均一の免疫複合体の、他の薬物負荷を有する免疫複合体からの分離、精製、及び特性評価は、逆相HPLCまたは電気泳動などの手段によって達成され得る。

【0162】

いくつかの実施形態では、組成物は、1つ以上の薬学的にまたは薬理的に許容される賦形剤を更に含む。例えば、本発明の免疫複合体は、IV投与または体腔もしくは臓器の内腔への投与などの非経口投与用に調製することができる。あるいは、免疫複合体を腫瘍内に注射することができる。注射用の組成物は一般に、薬学的に許容される担体に溶解された免疫複合体の溶液を含むであろう。用いられ得る許容されるビヒクル及び溶媒の中には、水、及び塩化ナトリウムなどの1つ以上の塩の等張液、例えば、リンゲル溶液がある。加えて、滅菌された固定油を、溶媒または懸濁媒質として従来どおり使用することができる。この目的のために、合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含む、任意の無刺激性固定油を使用できる。加えて、オレイン酸などの脂肪酸が、注射剤の調製において同様に使用され得る。これらの組成物は、望ましくは滅菌されており、一般に望ましくない物質を含まない。これらの組成物は、従来の周知の滅菌技法によって滅菌され得る。組成物は、生理学的条件に近似させるために必要とされる、 pH 調整剤及び緩衝剤、等張化剤などの薬学的に許容される補助物質、例えば酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウムなどを含有してもよい。

10

【0163】

組成物は、任意の好適な濃度の免疫複合体を含むことができる。組成物中の免疫複合体の濃度は大きく変動する可能性があり、選択された特定の投与様式及び患者のニーズに従って、主に流体量、粘度、体重などに基づいて選択される。ある特定の実施形態では、注射用の溶液製剤中の免疫複合体の濃度は、約0.1% (w/w) ~ 約10% (w/w) の範囲である。

20

【0164】

免疫複合体によるがんの治療法

本発明は、がんを治療するための方法を提供する。本方法は、治療有効量の本明細書に記載の免疫複合体（例えば、本明細書に記載の組成物）を、それを必要とする対象、例えば、がんを有し、かつがんの治療を必要とする対象に投与することを含む。本方法は、治療有効量の表3aから選択される免疫複合体（IC）を投与することを含む。

30

【0165】

本発明の免疫複合体は、例えば、腫瘍抗原の過剰発現によって特徴付けられる様々な過剰増殖性疾患または障害を治療するために使用され得ることが企図される。例示的な過剰増殖性障害としては、良性または悪性の固形腫瘍、ならびに血液疾患（白血病及びリンパ系腫瘍など）が挙げられる。

【0166】

別の態様では、薬物として使用するための免疫複合体が提供される。ある特定の実施形態では、本発明は、有効量の免疫複合体を個体に投与することを含む、個体を治療する方法で使用するための免疫複合体を提供する。かかる一実施形態では、本方法は、例えば、本明細書に記載されている、有効量の少なくとも1つの追加の治療剤を個体に投与することを更に含む。

40

【0167】

更なる態様では、本発明は、薬物の製造または調製での、免疫複合体の使用を提供する。一実施形態では、薬物は、がんの治療のためのものであり、本方法は、がんを有する個体に有効量の薬物を投与することを含む。かかる一実施形態では、本方法は、例えば、本明細書に記載されている、有効量の少なくとも1つの追加の治療剤を個体に投与することを更に含む。

【0168】

癌腫とは、上皮組織から生じる悪性腫瘍である。上皮細胞は、体の外側表面を覆い、内部空洞を覆い、かつ腺組織の内層を形成する。癌腫の例としては、腺癌（腺（分泌）細胞

50

、例えば、乳、膵臓、肺、前立腺、胃、胃食道接合部、及び結腸で始まる癌)；副腎皮質癌；肝細胞癌；腎細胞癌；卵巣癌；上皮内癌；腺管癌；乳癌；基底細胞癌；扁平上皮癌；移行細胞癌；結腸癌；鼻咽頭癌；多房嚢腫性腎細胞癌；燕麦細胞癌；大細胞肺癌；小細胞肺癌；非小細胞肺癌などが挙げられるが、これらに限定されない。癌腫は、前立腺、膵臓、結腸、脳（通常、続発性転移として）、肺、乳房、皮膚に見られることがある。いくつかの実施形態では、非小細胞肺癌を治療するための方法は、腫瘍関連抗原に結合することができる抗体コンストラクトを含有する免疫複合体を投与することを含む。

【0169】

軟部組織腫瘍は、結合組織に由来するまれな腫瘍の非常に多様な群である。軟部組織腫瘍の例には、肺胞軟部肉腫、血管腫様線維性組織球腫、軟骨筋酸化線維腫、骨格性軟骨肉腫、骨格外粘液状軟骨肉腫、明細胞肉腫、線維形成性小円形細胞腫瘍、隆起皮膚線維肉腫、子宮内膜間質腫瘍、ユーイング肉腫、線維腫症（デスマイド）、乳児線維肉腫、消化管間質腫瘍、骨巨細胞腫瘍、腱滑膜巨細胞腫、炎症性筋線維芽細胞性腫瘍、子宮平滑筋腫、平滑筋肉腫、脂肪芽腫、典型的な脂肪腫、紡錘細胞または多形性脂肪腫、非定型脂肪腫、軟骨脂肪腫、高分化型脂肪肉腫、粘液様/円形細胞脂肪肉腫、多形性脂肪肉腫、粘液様悪性線維性組織球腫、高悪性度の悪性線維性組織球腫、粘液線維肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍、中皮腫、神経芽細胞腫、骨軟骨腫、骨肉腫、原始神経外胚葉腫瘍、肺胞横紋筋肉腫、胎児性横紋筋肉腫、良性または悪性の神経鞘腫、滑膜肉腫、E v a n s 腫瘍、結節性筋膜炎、デスマイド型線維腫症、孤立性線維性腫瘍、隆起皮膚線維肉腫（D F S P）、血管肉腫、類上皮血管内皮腫、腱滑膜巨細胞腫（T G C T）、色素性絨毛結節性滑膜炎（P V N S）、線維性異形成、粘液線維肉腫、線維肉腫、滑膜肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍、神経線維腫、軟部組織の多形性腺腫、ならびに線維芽細胞、筋線維芽細胞、組織球、血管細胞/内皮細胞、及び神経鞘細胞に由来する新生物が含まれるが、これらに限定されない。

【0170】

肉腫は、間葉起源の細胞で、例えば骨で、または軟骨、脂肪、筋肉、血管、線維組織、もしくは他の結合組織もしくは支持組織を含む体の軟部組織で生じる、まれなタイプのがんである。異なる種類の肉腫は、がんが形成する場所に基づく。例えば、骨肉腫は骨に生じ、脂肪肉腫は脂肪に生じ、横紋筋肉腫は筋肉に生じる。肉腫の例としては、胸肺領域の原始神経外胚葉性腫瘍（P N E T）（アスキ腫瘍）、肉腫ポトリオイデス、軟骨肉腫、悪性血管内皮腫、悪性シュワン腫、骨肉腫、及び軟部肉腫（例えば、歯槽軟部肉腫、血管肉腫、嚢肉腫フィヨルド性線維性肉腫プロトベランス（D F S P）、デスマイド腫瘍、脱形成性小丸細胞腫瘍、上皮肉腫、骨外性軟骨肉腫、骨外性骨肉腫、線維性肉腫、消化性胃腸間質腫瘍（G I S T）、血管癌、血管肉腫（より一般的には「血管肉腫」と称される）、カボジ肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、リンパ管肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍（M P N S T）、神経線維肉腫、滑膜肉腫、及び未分化多形成肉腫）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0171】

奇形腫は、例えば、毛髪、筋肉、及び骨を含むいくつかの異なる種類の組織（例えば、3つの胚葉：内胚葉、中胚葉、及び外胚葉のうちのいずれか及び/または全てに由来する組織を含むことができる）を含有してもよい生殖細胞腫瘍の一種である。奇形腫は、女性においては卵巣に、男性においては精巣に、及び小児においては尾骨に、最もよく発生する。

【0172】

黒色腫は、メラノサイト（色素メラニンを作る細胞）で発生するがんの形態である。黒色腫は、ほくろ（皮膚黒色腫）で始まる場合があるが、眼または腸などの他の色素組織で始まる場合もある。

【0173】

メルケル細胞癌はまれな種類の皮膚癌であり、通常、顔面、頭部または頸部に肉色または青みがかった赤色の結節として現れる。メルケル細胞癌は、皮膚神経内分泌癌とも呼ばれる。いくつかの実施形態では、メルケル細胞癌を治療するための方法は、例えば、C E

10

20

30

40

50

A（例えば、ラベツズマブ、そのバイオシミラー、またはそのバイオベター）に結合することができる抗体コンストラクトを含有する免疫複合体を投与することを含む。いくつかの実施形態では、メルケル細胞癌は投与が行われるときに転移している。

【0174】

白血病は、骨髄などの血液形成組織から発生し、多数の異常血球の生成及び血流への侵入を引き起こすがん細胞である。例えば、白血病は、通常であれば血流中で成熟する骨髄由来の細胞で発生する可能性がある。白血病は、病気の発生と進行の速さ（例、急性と慢性）、及び影響を受ける白血球の種類（例、骨髄性とリンパ性）にちなんで名付けられる。骨髄性白血病は、骨髄性白血病または骨髄芽球性白血病とも呼ばれる。リンパ性白血病は、リンパ芽球性白血病またはリンパ球性白血病とも呼ばれる。リンパ性白血病細胞はリンパ節に集まり、腫れることがある。白血病の例としては、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性骨髄性白血病（CML）、及び慢性リンパ球性白血病（CLL）を含むが、これらに限定されない。

10

【0175】

リンパ腫は、免疫系の細胞に発症するがんである。例えば、リンパ腫は、通常であればリンパ系で成熟する骨髄由来細胞に発生する可能性がある。リンパ腫には2つの基本的なカテゴリーがある。リンパ腫の1つのカテゴリーはホジキンリンパ腫（HL）であり、リードステルンベルク細胞と呼ばれる種類の細胞の存在によって特徴付けられる。現在、HLには6つの認識されている種類がある。ホジキンリンパ腫の例としては、結節性硬化型古典的ホジキンリンパ腫（CHL）、混合細胞型CHL、リンパ球減少型CHL、リンパ球豊富型CHL、及び結節性リンパ球優位型HLが挙げられる。

20

【0176】

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

30

【0177】

脳腫瘍には、脳組織のあらゆるがんが含まれる。脳腫瘍の例には、神経膠腫（例えば、神経膠芽腫、星状細胞腫、乏突起膠腫、上衣腫など）、髄膜腫、下垂体腺腫、及び前庭神経鞘腫、原始神経外胚葉性腫瘍（髄芽細胞腫）が含まれるが、これらに限定されない。

【0178】

本発明の免疫複合体は、治療において、単独で、または他の薬剤と組み合わせてのいずれかで使用することができる。例えば、本発明の免疫複合体は、化学療法剤などの少なくとも1つの追加の治療剤とともに同時投与され得る。かかる併用療法は、組み合わせた投与（2つ以上の治療剤が同じまたは別個の製剤中に含まれる）、及び別個の投与を包含し、別個の投与の場合、免疫複合体の投与は、追加の治療剤及び/またはアジュバントの投与の前、それと同時、及び/またはその後生じ得る。免疫複合体はまた、放射線療法と組み合わせて使用することもできる。

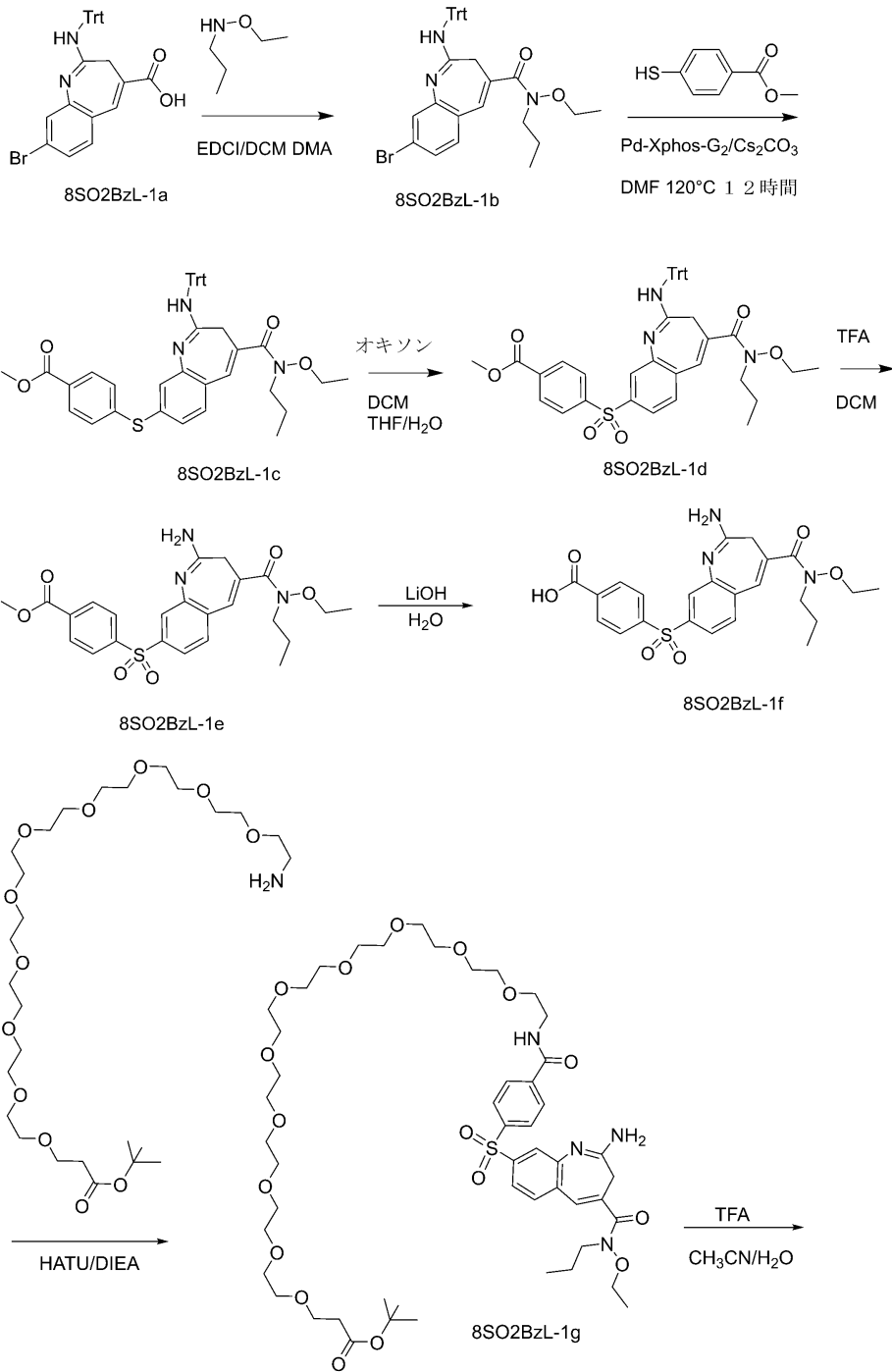
40

【0179】

本発明の免疫複合体（及び任意の追加の治療剤）は、経口、非経口、肺内、及び鼻腔内、ならびに局所治療のために所望される場合、病変内投与を含む任意の好適な手段によって投与され得る。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が

50

【化 2 2 - 1】



10

20

30

40

50

2, 4, 6 - トリイソプロピルフェニル) フェニル] ホスファン、Pd - X p h o s - G 2、CAS 登録番号 1310584 - 14 - 5 (226 mg、288 μ mol、0.5 当量) を N_2 下で、25 で一度に添加し、その後、120 で12時間攪拌した。混合物を水(20 mL)で希釈し、EtOAc (10 mL \times 3)で抽出した。有機層をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィ(カラム高: 250 mm、直径: 100 mm、100 - 200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル = 1/0、3/1)により精製して、8SO2BzL - 1c (0.25 g、359.26 μ mol、62.47% 収率)を得た。LC/MS [M+H] 696.3 (計算値); LC/MS [M+H] 696.2 (観測値)。

【0187】

10

メチル4 - [[4 - [エトキシ(プロピル)カルバモイル] - 2 - (トリチルアミノ) - 3H - 1 - ベンザゼピン - 8 - イル]スルホニル]ベンゾエート、8SO2BzL - 1d の調製

8SO2BzL - 1c (0.25 g、359 μ mol、1.0 当量)のDCM (2 mL)、THF (2 mL)、及び H_2O (2 mL)混合物に、ペルオキシ-硫酸カリウム、 $KHSO_5$ 、オキソン(663 mg、1.08 mmol、3.0 当量)を25 で一度に添加し、その後、25 で12時間攪拌した。混合物を水で希釈し、EtOAc (20 mL \times 3)で抽出した。有機層をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィ(カラム高: 250 mm、直径: 100 mm、100 - 200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル = 1/0、1/1)により精製して、黄色の油として8SO2BzL - 1d (0.2 g、274.78 μ mol、76.48% 収率)を得た。LC/MS [M+H] 728.27 (計算値); LC/MS [M+H] 728.2 (観測値)。

20

【0188】

メチル4 - [[2 - アミノ - 4 - [エトキシ(プロピル)カルバモイル] - 3H - 1 - ベンザゼピン - 8 - イル]スルホニル]ベンゾエート、8SO2BzL - 1e の調製

8SO2BzL - 1d (0.1 g、137 μ mol、1.0 当量)のDCM (4 mL)混合物に、TFA (313 mg、2.75 mmol、203 μ L、20.0 当量)を25 で一度に添加し、その後、50 で12時間攪拌した。混合物を真空中で濃縮して残渣を得て、残渣を分取HPLC(カラム: Phenomenex Luna 80 \times 30 mm \times 3 μ m; 移動相: [水(0.1% TFA) - アセトニトリル、ACN]; B%: 15% - 35%、8分)により精製して、白色の固体として8SO2BzL - 1e (0.046 g、94.74 μ mol、68.96% 収率)を得た。 1H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.21 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 8.10 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 8.04 (s, 1H), 7.95 - 7.87 (m, 1H), 7.57 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 6.97 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.93 - 3.82 (m, 2H), 3.70 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.23 (s, 2H), 1.82 - 1.66 (m, 2H), 1.21 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。LC/MS [M+H] 485.16 (計算値); LC/MS [M+H] 486.1 (観測値)。

30

40

【0189】

4 - [[2 - アミノ - 4 - [エトキシ(プロピル)カルバモイル] - 3H - 1 - ベンザゼピン - 8 - イル]スルホニル]安息香酸、8SO2BzL - 1f の調製

8SO2BzL - e (0.24 g、494 μ mol、1.0 当量)のMeOH (2 mL)、 H_2O (2 mL)、及びTHF (2 mL)混合物に、LiOH \cdot H_2O (62.2 mg、1.48 mmol、3.0 当量)を25 で一度に添加し、その後、25 で2時間攪拌した。混合物をHCl (1 M)でクエンチしてpHを6~7に調整し、水相をEtOAc (10 mL \times 3)で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、濃縮して、黄色の油として8SO2BzL - 1f (0.23 g、粗物

50

2 - アミノ - 4 - [2 - (tert - ブトキシカルボニルアミノ) エトキシ - プロピル - カルバモイル] - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 8 - スルホン酸、8 S O 2 B z L - 2 b の調製

tert - ブチル N - [2 - [(2 - アミノ - 8 - ベンジルスルファニル - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 4 - カルボニル) - プロピル - アミノ] オキシエチル] カルバメート、8 S O 2 B z L - 2 a (0 . 1 5 g 、 2 8 6 u m o l 、 1 . 0 当量) の H ₂ O (0 . 1 5 m L) 及び A c O H (0 . 5 m L) 混合物に、N - クロロスクシンイミド、N C S (1 5 3 m g 、 1 . 1 4 m m o l 、 4 . 0 当量) を 2 5 で一度に添加し、その後、2 5 で 1 時間撹拌した。混合物を N a H C O ₃ 水溶液で希釈して pH を 7 ~ 8 に調整した。その後、混合物を E t O A c (1 0 m L × 3) で抽出した。有機層をブラインで洗浄し、N a ₂ S O ₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。残渣を、分取 H P L C (カラム : P h e n o m e n e x L u n a 8 0 × 3 0 m m × 3 u m ; 移動相 : [水 (T F A) - A C N] ; B % : 5 % - 3 5 % 、 8 分) により精製して、黄色の固体として 8 S O 2 B z L - 2 b (1 1 . 5 m g 、 2 3 . 8 3 u m o l 、 8 . 3 4 % 収率) を得た。¹ H N M R (D M S O , 4 0 0 M H z) 1 1 . 8 7 (s , 1 H) , 9 . 7 8 (s , 1 H) , 8 . 8 1 (s , 1 H) , 7 . 6 6 (s , 1 H) , 7 . 5 5 (s , 2 H) , 7 . 3 4 - 7 . 2 7 (m , 1 H) , 3 . 9 2 - 3 . 7 8 (m , 2 H) , 3 . 6 3 (t , J = 7 . 2 H z , 2 H) , 3 . 3 1 (s , 2 H) , 3 . 1 6 - 3 . 0 1 (m , 2 H) , 1 . 7 0 - 1 . 6 0 (m , 2 H) , 1 . 3 6 (s , 9 H) , 0 . 8 9 (t , J = 7 . 2 H z , 3 H) . L C / M S [M + H] 4 8 3 . 2 (計算値) ; L C / M S [M + H] 4 8 3 . 1 (観測値) .

10

20

【 0 1 9 4 】

2 - アミノ - 4 - [2 - アミノエトキシ (プロピル) カルバモイル] - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 8 - スルホン酸、8 S O 2 B z L - 2 c の調製

8 S O 2 B z L - 2 b (1 5 0 m g 、 3 1 0 . 8 5 u m o l 、 1 当量) の E t O A c (1 0 . 0 m L) 溶液に、H C l / E t O A c (4 M 、 2 0 . 0 m L 、 2 5 7 当量) を添加し、その後、2 5 で 1 時間撹拌した。混合物を濃縮して、白色の固体として 8 S O 2 B z L - 2 c (2 0 0 m g 、 粗物) を得た。L C / M S [M + H] 3 8 3 . 1 (計算値) ; L C / M S [M + H] 3 8 3 . 2 (観測値) .

【 0 1 9 5 】

8 S O 2 B z L - 2 の調製

8 S O 2 B z L - 2 c (7 0 . 0 m g 、 1 6 7 . 1 1 u m o l 、 1 当量、H C l) の D M F (1 . 0 0 m L) 溶液に、D I E A (9 0 . 0 m g 、 6 6 8 u m o l 、 1 2 0 u L 、 4 当量) 及び 2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [[2 - (2 , 5 - ジオキソピロール - 1 - イル) アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エチル (4 - ニトロフェニル) カーボネート (7 0 . 0 m g 、 8 3 . 5 u m o l 、 0 . 5 当量) を添加し、その後、0 で 1 時間撹拌した。混合物を濾過し、分取 H P L C (カラム : P h e n o m e n e x L u n a 8 0 × 3 0 m m × 3 u m ; 移動相 : [水 (T F A) - A C N] ; B % : 1 % - 3 0 % 、 8 分) により精製して、薄黄色の油として 8 S O 2 B z L - 2 (1 5 m g 、 1 2 . 9 2 u m o l 、 7 . 7 3 % 収率、T F A) を得た。¹ H N M R (M e O D , 4 0 0 M H z) 7 . 8 9 - 7 . 7 7 (m , 2 H) , 7 . 6 6 (d , J = 8 . 0 H z , 1 H) , 7 . 4 2 (s , 1 H) , 6 . 8 9 (s , 2 H) , 4 . 1 7 (s , 2 H) , 3 . 9 7 (b r t , J = 4 . 8 H z , 2 H) , 3 . 8 6 - 3 . 7 9 (m , 2 H) , 3 . 7 5 (t , J = 7 . 2 H z , 2 H) , 3 . 6 6 - 3 . 5 8 (m , 3 8 H) , 3 . 5 6 - 3 . 4 9 (m , 4 H) , 3 . 4 2 - 3 . 3 5 (m , 4 H) , 1 . 8 1 - 1 . 7 3 (m , 2 H) , 1 . 0 0 (t , J = 7 . 6 H z , 3 H) . L C / M S [M + H] 1 0 4 7 . 4 (計算値) ; L C / M S [M + H] 1 0 4 7 . 7 (観測値) .

30

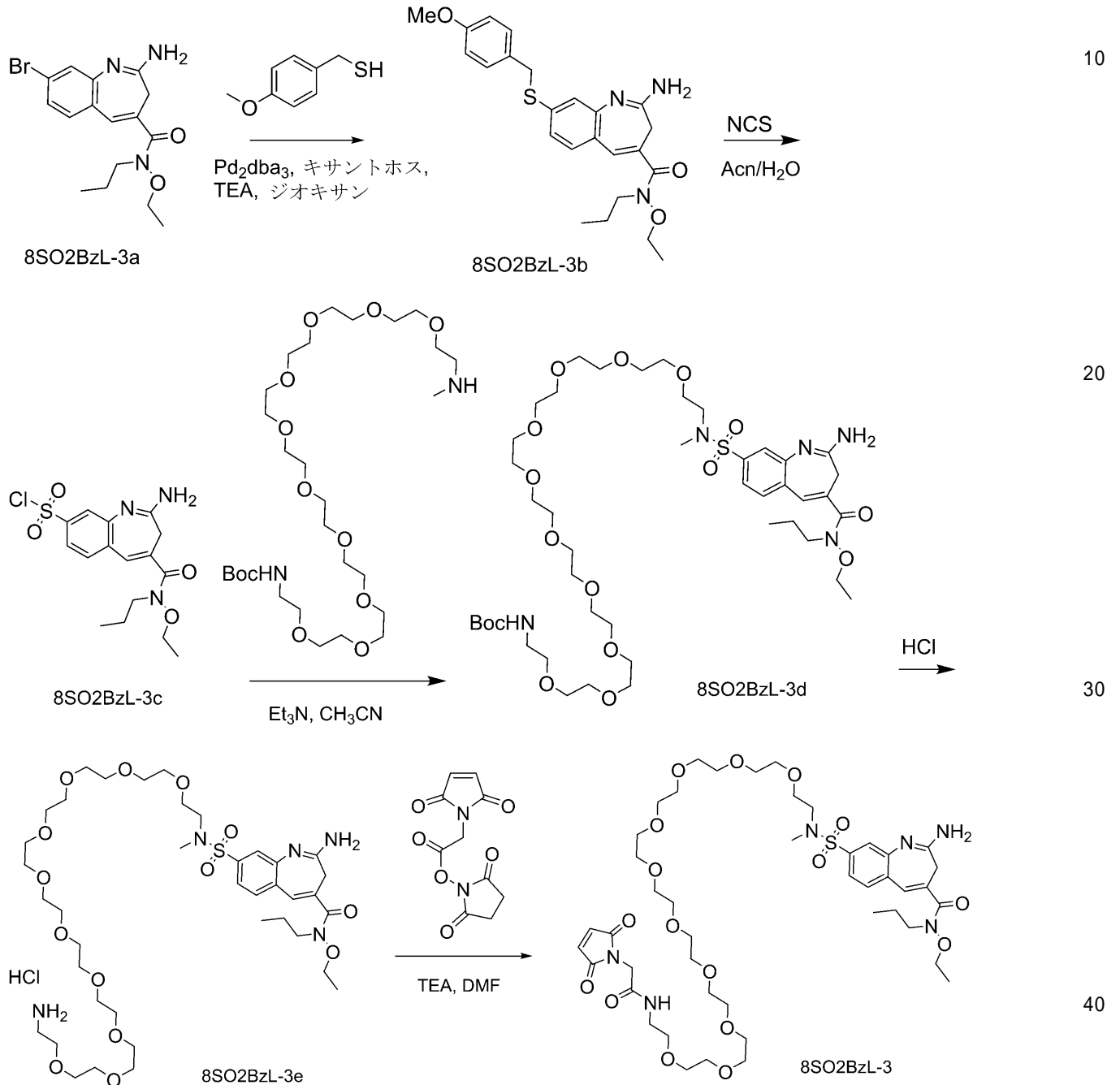
40

【 0 1 9 6 】

実施例 L - 3 2 - アミノ - 8 - (N - (1 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ

50

- 1 H - ピロール - 1 - イル) - 2 - オキソ - 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 , 2 4 ,
2 7 , 3 0 , 3 3 - デカオキサ - 3 - アザペントリアコンタン - 3 5 - イル) - N - メ
チルスルファモイル) - N - エトキシ - N - プロピル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4
- カルボキサミド、 8 S O 2 B z L - 3 の合成
【化 2 4】



2 - アミノ - N - エトキシ - 8 - ((4 - メトキシベンジル) チオ) - N - プロピル -
3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド、 8 S O 2 B z L - 3 b の調製

2 - アミノ - 8 - ブロモ - N - エトキシ - N - プロピル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン
- 4 - カルボキサミド、 8 S O 2 B z L - 3 a (0 . 9 6 g 、 1 . 9 9 m m o l) 及び 4
- メトキシ - トルエンチオール (0 . 3 7 g 、 2 . 3 9 m m o l) のジオキサン (1
0 m L) 混合物に、 4 , 5 - ビス (ジフェニルホスフィノ) - 9 , 9 - ジメチルキサンテン、
キサントホス、 C A S 登録番号 1 6 1 2 6 5 - 0 3 - 8 (0 . 0 6 g 、 0 . 1 0 m m

ol)、Pd₂(dba)₃(0.05g、0.05mmol)、その後、トリエチルアミン(0.56mL、3.99mmol)を添加した。混合物を1時間加熱還流し、その後、冷却した。溶媒を蒸発により除去し、粗生成物を、12カラム体積にわたって1-10%MeOH/DCMの勾配を使用したシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、8SO₂BzL-3b(0.72g、82%)を得た。

【0197】

2-アミノ-4-(エトキシ(プロピル)カルバモイル)-3H-ベンゾ[b]アゼピン-8-スルホニルクロリド、8SO₂BzL-3cの調製

8SO₂BzL-3b(0.72g、1.64mmol)のアセトニトリル/水(9:1)(10mL)溶液に、N-クロロスクシンイミド(0.66g、4.91mmol)を10で少量ずつに分けて添加した。添加が完了した後、更に20分間攪拌して8SO₂BzL-3c粗生成物溶液を得て、次のステップでそのまま使用した。

10

【0198】

tert-ブチル(2-(2-アミノ-4-(エトキシ(プロピル)カルバモイル)-3H-ベンゾ[b]アゼピン-8-イル)スルホニル)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-デカオキサ-2-アザテトラトリアコンタン-34-イル)カルバメート、8SO₂BzL-3dの調製

8SO₂BzL-3cのアリコート(1.00mL、0.16mmol)を、tert-ブチル(5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-デカオキサ-2-アザテトラトリアコンタン-34-イル)カルバメート(0.12g、0.19mmol)及びトリエチルアミン(0.09mL、0.64mmol)のアセトニトリル(3mL)攪拌混合物に滴加した。15分後、反応物を濃縮し、10分にわたる10-90%ACN/水(+0.1%TFA)の勾配を使用した逆相クロマトグラフィーにより精製して、8SO₂BzL-3d(0.08g、51%)を得た。

20

【0199】

2-アミノ-8-(N-(32-アミノ-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-デカオキサドトリアコンチル)-N-メチルスルファモイル)-N-エトキシ-N-プロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド塩化水素、8SO₂BzL-3eの調製

8SO₂BzL-3d(0.08g、0.08mmol)のACN(3mL)溶液に、HCl水溶液(6M、3mL)を添加し、混合物を室温で45分間攪拌した。溶媒を除去し、単離したシロップをACN(3mL)と共沸させて、濁った白色の膜として8SO₂BzL-3e HCl塩(0.06g、85%)を得た。

30

【0200】

8SO₂BzL-3の調製

8SO₂BzL-3e HCl(0.06g、0.07mmol)のDMF(3mL)溶液に、トリエチルアミン(0.04mL、0.28mmol)を添加した。2,5-ジオキソピロリジン-1-イル2-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)アセテート(0.02g、0.08mmol)を少量ずつに分けて添加した。添加が完了した後、酢酸(9uL)を添加し、溶媒を真空により除去した。逆相HPLCにより精製した後、溶媒を蒸発させた後に透明な油として8SO₂BzL-3(0.03g、48%)を得た。LC/MS [M+H]⁺1001.48(計算値); LC/MS [M+H]⁺1074.88(観測値)。

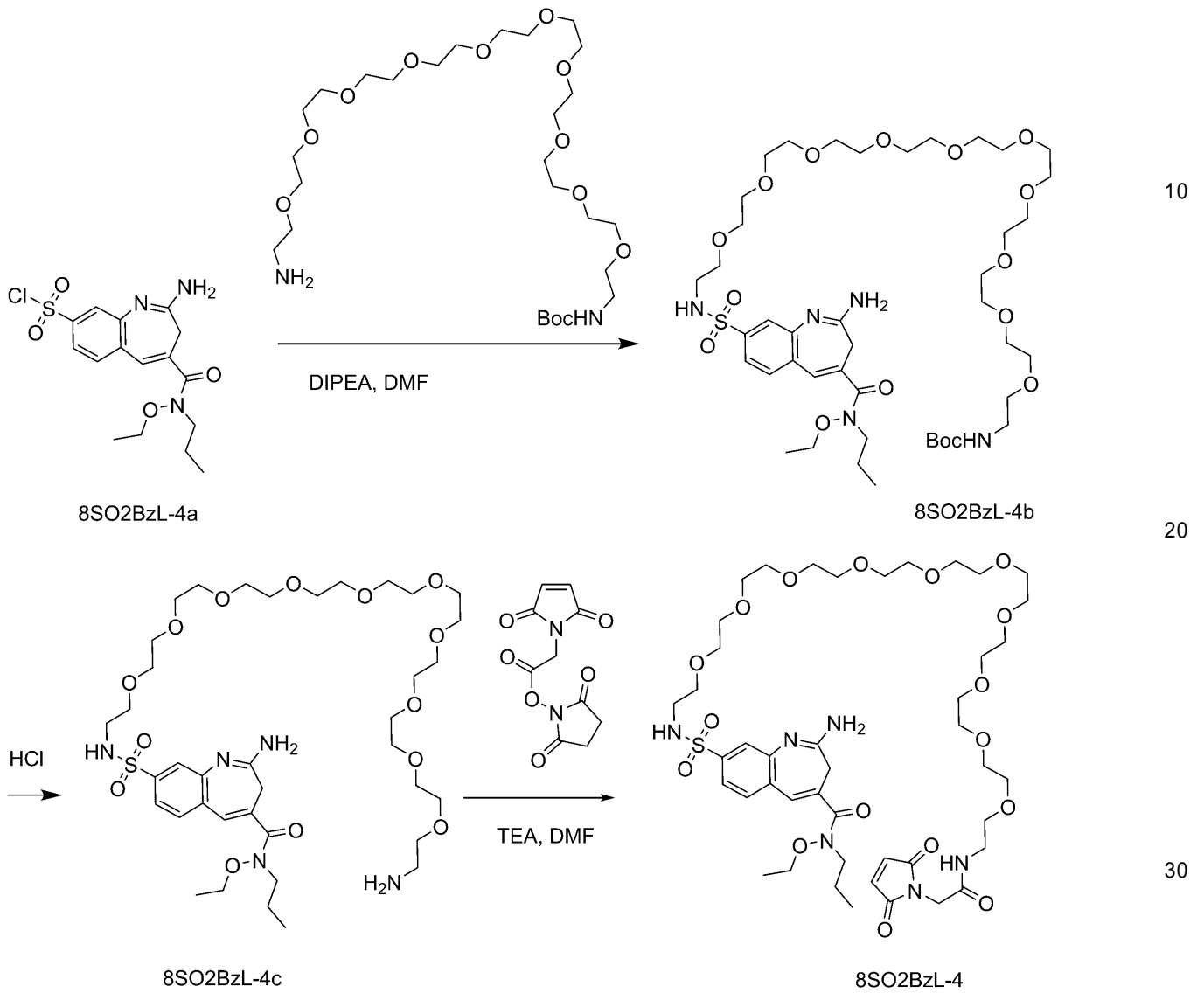
40

【0201】

実施例L-4 2-アミノ-8-(N-(1-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-オキソ-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-デカオキサ-3-アザペンタトリアコンタン-35-イル)スルファモイル)-N-エトキシ-N-プロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド、8SO₂BzL-4の合成

50

【化 2 5】



tert - ブチル (3 2 - ((2 - アミノ - 4 - (エトキシ (プロピル) カルバモイル) - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン) - 8 - スルホンアミド) - 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 , 2 4 , 2 7 , 3 0 - デカオキサドトリアコンチル) カルバメート、 8 S O 2 B z L - 4 b の調製

tert - ブチル (3 2 - アミノ - 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 , 2 4 , 2 7 , 3 0 - デカオキサドトリアコンチル) カルバメート、 Boc - アミノ - P E G 1 0 - アミン (0 . 1 0 g 、 0 . 1 6 m m o l) 及び D I P E A (0 . 1 4 m L 、 0 . 8 0 m m o l) の D M F (4 m L) 溶液に、 2 - アミノ - 4 - (エトキシ (プロピル) カルバモイル) - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 8 - スルホニルクロリド、 8 S O 2 B z L - 4 a (0 . 1 6 M 、 1 . 0 0 m L 、 0 . 1 6 m m o l) の D M F 溶液を添加した。 2 0 分後、 反応物を濃縮し、 その後、 1 0 分にわたる 1 0 - 9 0 % A C N / 水 の 勾配を使用した逆相 H P L C により精製して、 溶媒を除去した後に 8 S O 2 B z L - 4 b (0 . 0 7 g 、 4 7 %) を得た。

【 0 2 0 2 】

2 - アミノ - 8 - (N - (3 2 - アミノ - 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 , 2 4 , 2 7 , 3 0 - デカオキサドトリアコンチル) スルファモイル) - N - エトキシ - N - プ

ロピル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド、S O 2 B z L - 4 c の調製
 8 S O 2 B z L - 4 b (0 . 0 7 g、0 . 0 7 m m o l) のアセトニトリル (3 m L)
 溶液に、H C l 水溶液 (6 M、3 m L) を添加し、混合物を室温で 4 5 分間攪拌した。溶
 媒を除去し、単離したシロップを A C N (3 m L) と共沸させて、濁った白色の膜として
 8 S O 2 B z L - 4 c H C l 塩 (0 . 0 6 g、8 2 %) を得た。

【 0 2 0 3 】

8 S O 2 B z L - 4 の調製

8 S O 2 B z L - 4 c H C l (0 . 0 6 g、0 . 0 6 m m o l) の D M F (3 m L)
 溶液に、トリエチルアミン (0 . 0 3 m L、0 . 2 5 m m o l) を添加した。2 , 5 - ジ
 オキソピロリジン - 1 - イル 2 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロー
 ル - 1 - イル) アセテート (0 . 0 2 g、0 . 0 7 m m o l) を少量ずつに分けて添加し
 た。添加が完了した後、酢酸 (9 μ L) を添加し、溶媒を真空により除去した。逆相 H P
 L C により精製した後、溶媒を除去した後に 8 S O 2 B z L - 4 (0 . 0 4 g、6 9 %)
 を得た。L C / M S [M + H] 9 8 7 . 4 5 (計算値) ; L C / M S [M + H]
 9 8 7 . 8 6 (観測値) .

10

【 0 2 0 4 】

実施例 L - 5 1 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イ
 ル) - 2 - オキソ - 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 , 2 4 , 2 7 , 3 0 , 3 3 - デカオ
 キサ - 3 - アザペントリアコンタン - 3 5 - イル (2 - ((2 - アミノ - N - プロピル
 - 8 - スルファモイル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド) オキシ) エ
 チル) カルバメート、8 S O 2 B z L - 5 の合成

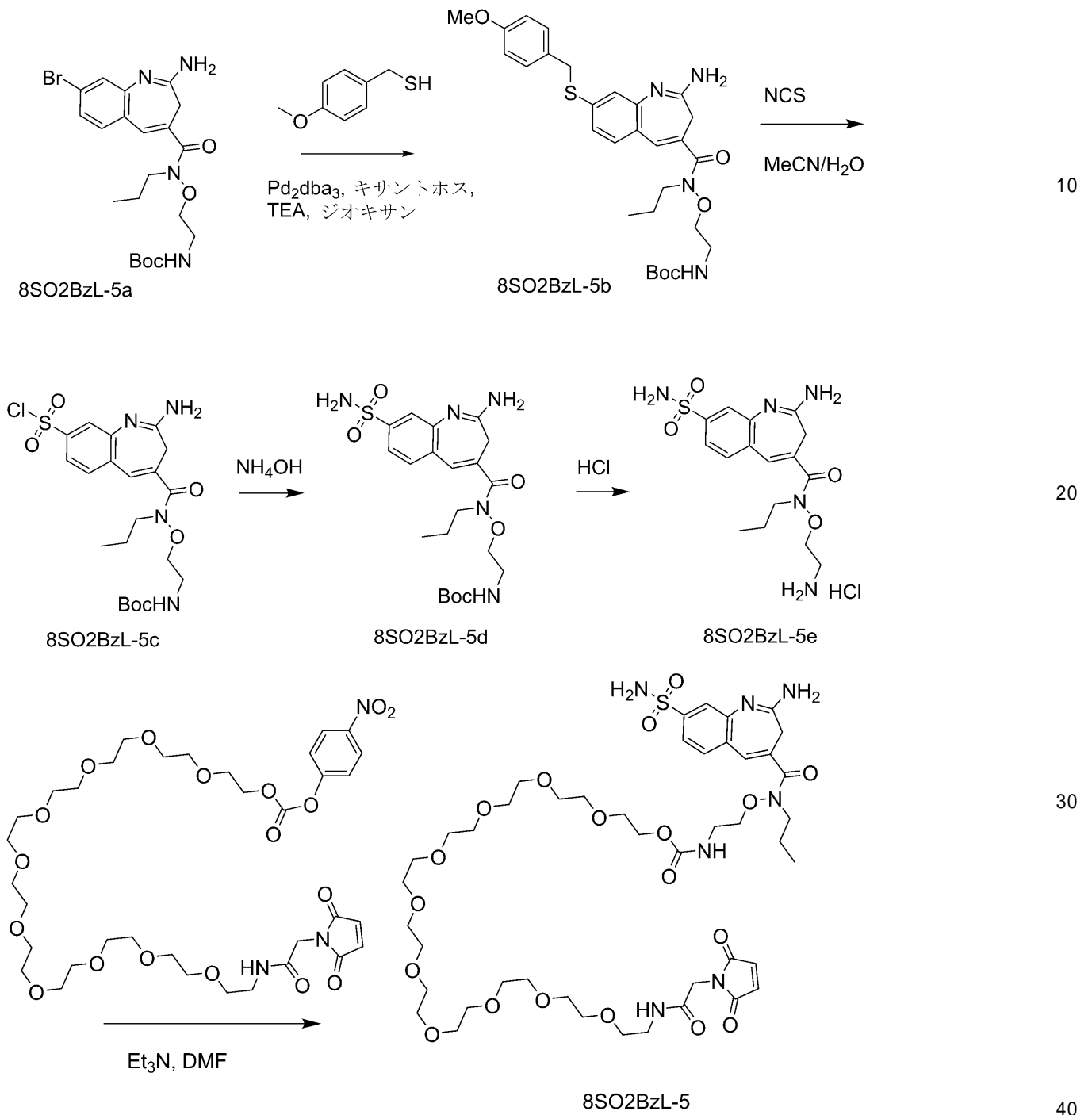
20

30

40

50

【化 2 6】



tert-ブチル(2-((2-アミノ-8-(4-メトキシベンジル)チオ)-N-プロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド)オキシ)エチル)カルバメート、8SO2BzL-bの調製

tert-ブチル(2-((2-アミノ-8-プロモ-N-プロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド)オキシ)エチル)カルバメート、8SO2BzL-5a(0.96g、1.99mmol)、及び4-メトキシ-トルエンチオール(0.37g、2.39mmol)のジオキサン(10mL)混合物に、キサントホス(0.06g、0.10mmol)、Pd₂(dba)₃(0.05g、0.05mmol)、その後、トリエチルアミン(0.56mL、3.99mmol)を添加した。混合物を1

10

20

30

40

50

時間加熱還流し、その後、冷却した。溶媒を蒸発により除去し、粗生成物を、12カラム体積にわたって1-10% MeOH / DCMの勾配を使用したシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、黄色の固体として8SO2BzL-5b(0.78g、71%)を得た。

【0205】

tert-ブチル(2-(2-アミノ-8-(クロロスルホニル)-N-プロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド)オキシ)エチル)カルバメート、8SO2BzL-5cの調製

8SO2BzL-5b(0.78g、1.41mmol)のアセトニトリル/水(9:1、10mL)溶液に、N-クロロスクシンイミド(0.56g、4.22mmol)を0で三等分に分けて添加した。添加が完了した後、生成物8SO2BzL-5cを更に精製することなくそのまま使用した。

10

【0206】

tert-ブチル(2-(2-アミノ-N-プロピル-8-スルファモイル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド)オキシ)エチル)カルバメート、8SO2BzL-5dの調製

8SO2BzL-5c(2.00mL、0.28mmol)のアセトニトリル/水(9:1)溶液に、水酸化アンモニウム溶液(0.20mL、1.66mmol)を0で添加した。10分後、溶媒を除去し、粗生成物を、10-90%アセトニトリル/水の勾配を使用した逆相HPLCにより精製して、溶媒を蒸発させた後に黄色の膜として8SO2BzL-5d(0.06g、41%)を得た。

20

【0207】

8SO2BzL-5eの調製

8SO2BzL-5e(0.06g、0.11mmol)のアセトニトリル(2mL)及び6N HCl(2.00mL、12.00mmol)溶液を室温で45分間撹拌した。溶媒を真空により除去して、HCl塩として8SO2BzL-5e(0.05g、101%)を得た。

【0208】

8SO2BzL-5の調製

8SO2BzL-5e(0.04g、0.10mmol)のDMF(4mL)溶液に、トリエチルアミン(0.06mL、0.40mmol)を室温で添加した。この混合物に、1-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-オキソ-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-デカオキサ-3-アザペントリアコンタン-35-イル(4-ニトロフェニル)カーボネート、PNPC-PEG10-Mal(0.08g、0.10mmol)のDMF(2mL)溶液を添加した。20分後、酢酸(6uL)を添加し、反応物を真空下で濃縮し、10分にわたる10-90%ACN/水(+0.1%TFA)の勾配を使用した逆相HPLCにより精製して、純粋な画分を濃縮した後に8SO2BzL-5(0.04g、37%)を得た。LC/MS[M+H]1046.45(計算値);LC/MS[M+H]1046.88(観測値)。

30

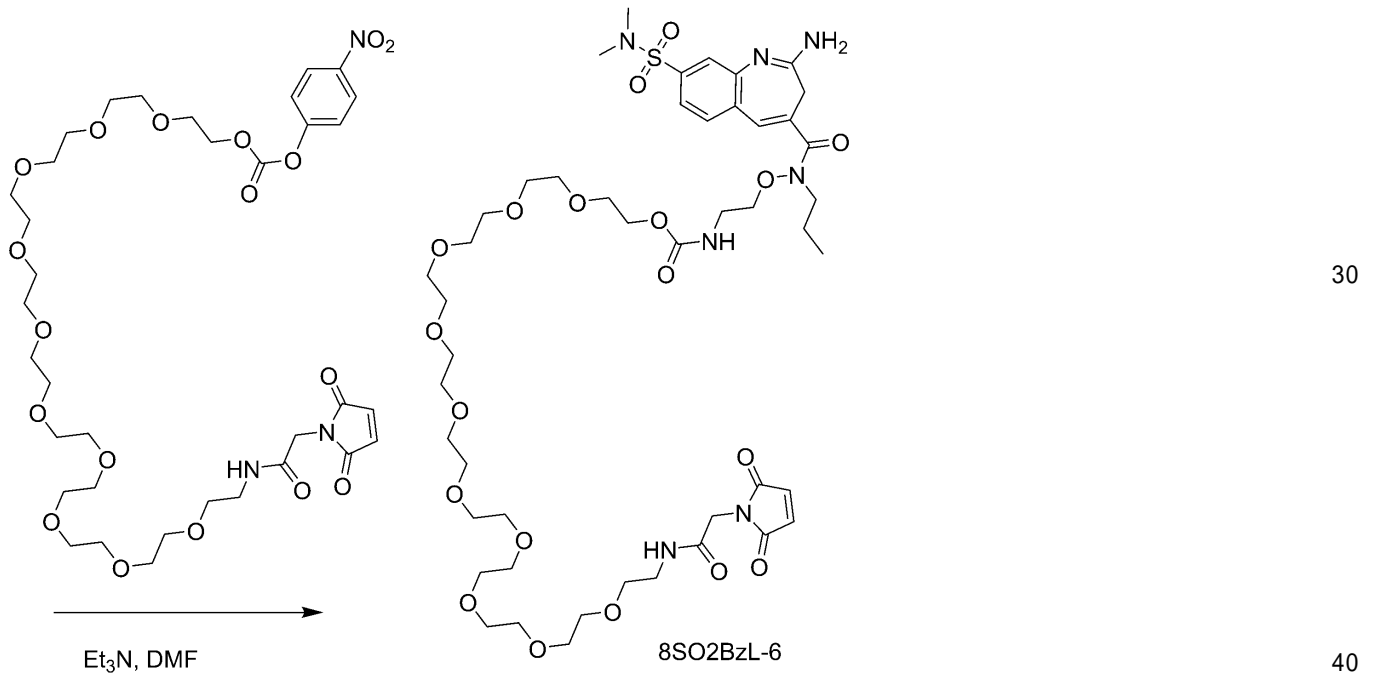
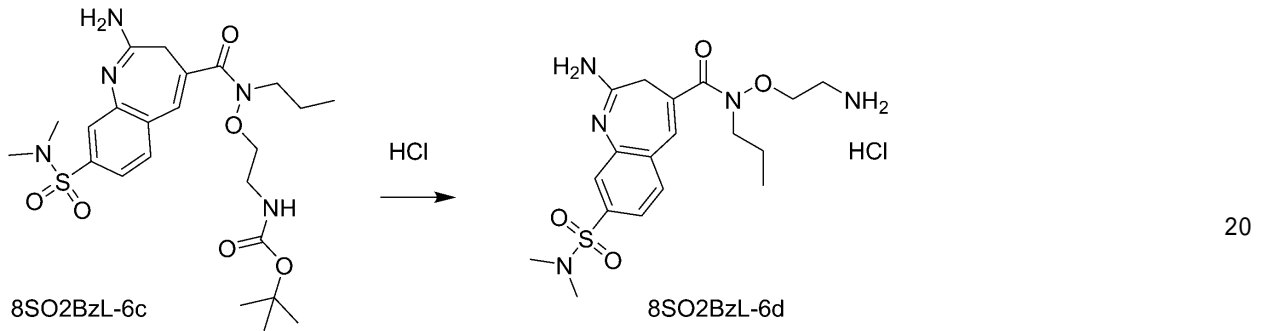
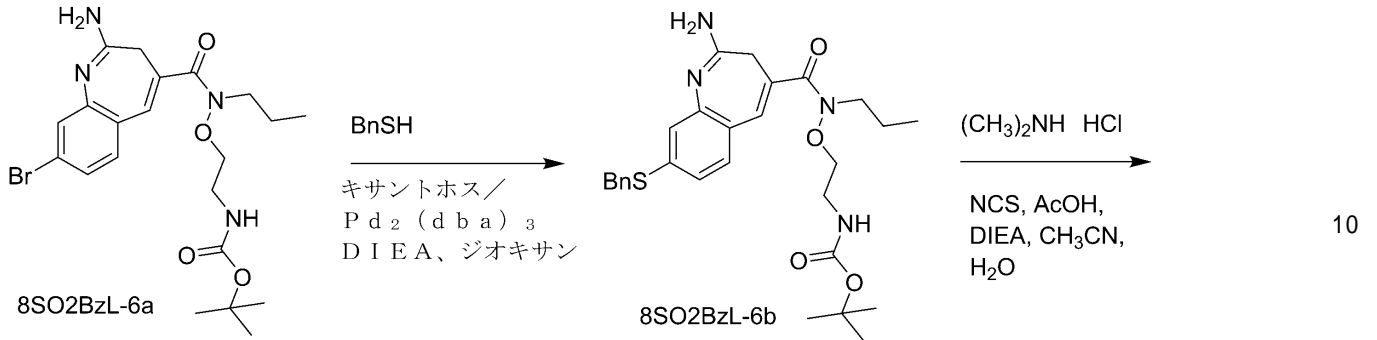
40

【0209】

実施例L-6 1-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-オキソ-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-デカオキサ-3-アザペントリアコンタン-35-イル(2-(2-アミノ-8-(N,N-ジメチルスルファモイル)-N-プロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド)オキシ)エチル)カルバメート、8SO2BzL-6の合成

50

【化 2 7】



tert-ブチルN-[2-[(2-アミノ-8-ベンジルスルファニル-3H-1-ベンザゼピン-4-カルボニル)-プロピル-アミノ]オキシエチル]カルバメート、8SO2BzL-6bの調製

tert-ブチルN-[2-[(2-アミノ-8-プロモ-3H-1-ベンザゼピン-4-カルボニル)-プロピル-アミノ]オキシエチル]カルバメート、8SO2BzL-6a (0.5g、1.04mmol、1.0当量)、及びベンジルチオール、ベンジルメルカプタン、フェニルメタンチオール、BnSH、CAS登録番号100-53-8(155mg、1.25mmol、146.05uL、1.2当量)のジオキサン(15mL)混合物に、4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサンテン、キ

サントホス、CAS登録番号161265-03-8(120mg、208 μ mol、0.2当量)トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム、Pd₂(dba)₃、CAS登録番号51364-51-3(190mg、208 μ mol、0.2当量)、及びジイソプロピルエチルアミン、DIEA(268mg、2.08mmol、362 μ L、2.0当量)をN₂下で、25℃で一度に添加し、その後、110℃で2時間撹拌した。混合物を水(20mL)で希釈し、EtOAc(10mL×3)で抽出した。有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。混合物を分取HPLC(カラム:Phenomenex Luna 80×30mm×3 μ m;移動相:[水(TFA)-ACN];B%:25%-55%、8分)により更に精製して、黄色の固体として8SO2BzL-6b(0.5g、952.97 μ mol、91.75%収率)を得た。¹H NMR(MeOD, 400 MHz) 7.49(d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.43-7.38(m, 3H), 7.36-7.22(m, 5H), 4.30(s, 2H), 3.91(t, J = 5.2 Hz, 2H), 3.73(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.32(s, 2H), 3.24(t, J = 5.2 Hz, 2H), 1.81-1.70(m, 2H), 1.34(s, 9H), 0.98(t, J = 7.2 Hz, 3H). LC/MS [M+H]⁺ 525.2(計算値); LC/MS [M+H]⁺ 525.2(観測値).

10

【0210】

tert-ブチルN-[2-[[2-アミノ-8-(ジメチルスルファモイル)-3H-1-ベンザゼピン-4-カルボニル]-プロピル-アミノ]オキシエチル]カルバメート、8SO2BzL-6cの調製

20

8SO2BzL-6b(50.0mg、95.30 μ mol、1当量)のCH₃CN(1.00mL)及びH₂O(0.10mL)溶液に、AcOH(60.0mg、953 μ mol、50.0 μ L、10当量)、N-クロロスクシンイミド、NCS(50.0mg、381 μ mol、4当量)を25℃で添加し、その後、この温度で10分間撹拌し、その後、N-メチルメタンアミン;塩酸塩、ジメチルアミンHCl(80.0mg、953 μ mol、10当量)及びDIEA(250mg、1.91mmol、330 μ L、20当量)を添加した。混合物を0℃で更に1時間撹拌した。混合物を濾過し、分取HPLC(カラム:Phenomenex Luna 80×30mm×3 μ m;移動相:[水(TFA)-ACN];B%:10%-40%、8分)により精製して、白色の固体として8SO2BzL-6c(12mg、23.55 μ mol、24.71%収率)を得た。¹H NMR(MeOD, 400 MHz) 7.92-7.72(m, 3H), 7.50(s, 1H), 3.94(t, J = 5.2 Hz, 2H), 3.75(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.44(s, 2H), 3.26(br t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.77(s, 6H), 1.77(sxt, J = 7.2 Hz, 2H), 1.37(s, 9H), 0.99(t, J = 7.2 Hz, 3H). LC/MS [M+H]⁺ 510.2(計算値); LC/MS [M+H]⁺ 510.3(観測値).

30

【0211】

2-アミノ-N-(2-アミノエトキシ)-8-(N,N-ジメチルスルファモイル)-N-プロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド塩化水素、8SO2BzL-6dの調製

40

8SO2BzL-6c(0.04g、0.08mmol)のアセトニトリル(2mL)及び6N HCl(1.41mL、8.46mmol)溶液を室温で45分間撹拌した。溶媒を真空により除去して、8SO2BzL-6d(0.04g、100%)を得た。

【0212】

8SO2BzL-6の調製

8SO2BzL-6d(0.04g、0.10mmol)のDMF(4mL)溶液に、トリエチルアミン(0.04mL、0.28mmol)を室温で添加した。この混合物に、1-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-オキソソ-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-デカオキサ-3-アザ

50

ペントトリアコンタン - 35 - イル (4 - ニトロフェニル) カーボネート (0.06 g、0.07 mmol) の DMF (2 mL) 溶液を添加した。20 分後、酢酸 (6 μ L) を添加し、反応物を真空下で濃縮し、10 分にわたる 10 - 90% ACB / 水 (+ 0.1% TFA) の勾配を使用した逆相 HPLC により精製して、純粋な画分を濃縮した後に 8 SO2 BzL - 6 (0.04 g、51%) を得た。LC / MS [M + H] 1074.48 (計算値) ; LC / MS [M + H] 1074.90 (観測値) .

【0213】

実施例 L - 9 2 - アミノ - 8 - (N - (1 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) - 2 - オキソ - 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 - デカオキサ - 3 - アザペントトリアコンタン - 35 - イル) スルファモイル) - N, N - ジプロピル - 3H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド、8 SO2 BzL - 9 の合成

10

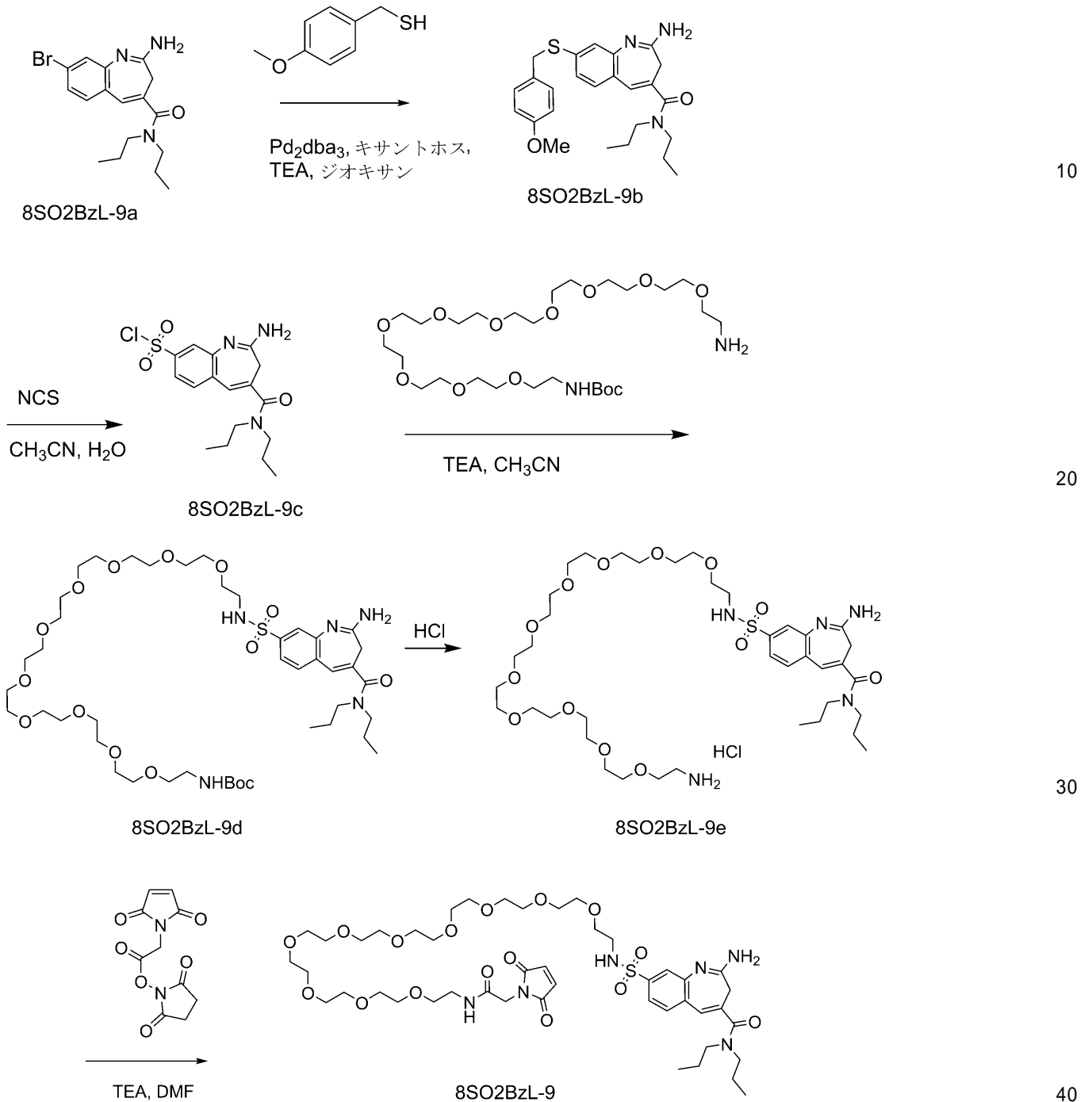
20

30

40

50

【化 2 8】



2 - アミノ - 8 - ((4 - メトキシベンジル) チオ) - N , N - ジプロピル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド、8SO2BzL-9bの調製

2 - アミノ - 8 - ブロモ - N , N - ジプロピル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド、8SO2BzL-9a (0.96 g、1.99 mmol) 及び 4 - メトキシ - トルエンチオール (0.37 g、2.39 mmol) のジオキサン (10 mL) 混合物に、キサントホス (0.06 g、0.10 mmol)、Pd₂(dba)₃ (0.05 g、0.05 mmol)、その後、トリエチルアミン (0.56 mL、3.99 mmol) を添加した。混合物を 1 時間加熱還流し、その後、冷却した。溶媒を蒸発により除去し、粗生成物を、12 カラム体積にわたって 1 - 10 % MeOH / DCM の勾配を使用

10

20

30

40

50

したシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、8SO2BzL-9b(0.69g、79%)を得た。

【0214】

2-アミノ-4-(ジプロピルカルバモイル)-3H-ベンゾ[b]アゼピン-8-スルホンクロリド、8SO2BzL-9cの調製

8SO2BzL-9b(0.68g、1.55mmol)のアセトニトリル/水(9:1)(10mL)溶液に、N-クロロスクシンイミド、NCs(0.62g、4.66mmol)を10で3回に分けて添加した。添加が完了した後、更に20分間攪拌して、8SO2BzL-9cを得た。

【0215】

tert-ブチル(32-(2-アミノ-4-(ジプロピルカルバモイル)-3H-ベンゾ[b]アゼピン)-8-スルホンアミド)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-デカオキサドトリアコンチル)カルバメート、8SO2BzL-9dの調製

この前に得た8SO2BzL-9cのアリコート(1.00mL、0.15mmol)を、tert-ブチル(32-アミノ-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-デカオキサドトリアコンチル)カルバメート(0.11g、0.18mmol)及びトリエチルアミン(0.08mL、0.60mmol)のアセトニトリル(3mL)攪拌混合物に滴加した。15分後、反応物を濃縮し、10分にわたる10-90%ACN/水(+0.1%TFA)の勾配を使用した逆相クロマトグラフィーにより精製して、8SO2BzL-9d(0.07g、51%)を得た。

【0216】

2-アミノ-8-(N-(32-アミノ-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-デカオキサドトリアコンチル)スルファモイル)-N,N-ジプロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド、8SO2BzL-9eの調製

8SO2BzL-9d(0.07g、0.08mmol)のアセトニトリル(3mL)溶液に、HCl水溶液(6M、3mL)を添加し、混合物を室温で45分間攪拌した。溶媒を除去し、単離したシロップをアセトニトリル(3mL)と共沸させて、濁った白色の膜として、HCl塩として8SO2BzL-9e(0.06g、86%)を得た。

【0217】

8SO2BzL-9の調製

8SO2BzL-9e HCl(0.06g、0.06mmol)のDMF(3mL)溶液に、トリエチルアミン(0.03mL、0.25mmol)を添加した。2,5-ジオキソピロリジン-1-イル2-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)アセテート(0.02g、0.07mmol)を少量ずつに分けて添加した。添加が完了した後、酢酸(9uL)を添加し、溶媒を真空により除去した。逆相HPLCにより精製した後、蒸発させた後に8SO2BzL-9(0.03g、43%)を得た。LC/MS [M+H]⁺ 985.47(計算値); LC/MS [M+H]⁺ = 985.88(観測値)。

【0218】

実施例L-10 2-アミノ-8-(N-(1-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-オキソ-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-デカオキサ-3-アザペントトリアコンタン-35-イル)-N-メチルスルファモイル)-N,N-ジプロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド、8SO2BzL-10の合成

10

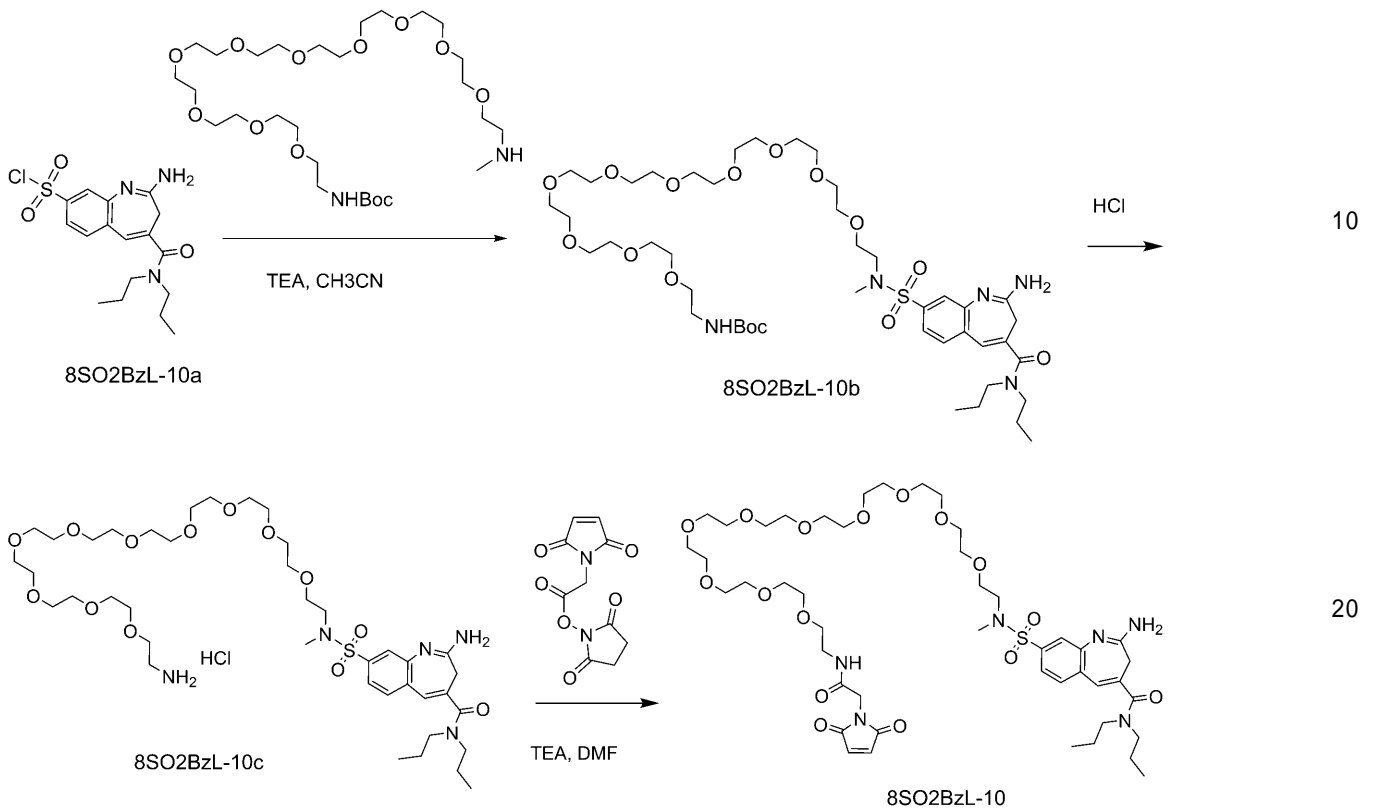
20

30

40

50

【化 2 9】



tert - ブチル (2 - ((2 - アミノ - 4 - (ジプロピルカルバモイル) - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 8 - イル) スルホニル) - 5 , 8 , 11 , 14 , 17 , 20 , 23 , 26 , 29 , 32 - デカオキサ - 2 - アザテトラトリアコンタン - 34 - イル) カルバメート、8 S O 2 B z L - 10 b の調製

2 - アミノ - 4 - (ジプロピルカルバモイル) - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 8 - スルホニルクロリド、8 S O 2 B z L - 10 a (1 . 00 mL、0 . 15 mmol) のアセトニトリル溶液を、tert - ブチル (5 , 8 , 11 , 14 , 17 , 20 , 23 , 26 , 29 , 32 - デカオキサ - 2 - アザテトラトリアコンタン - 34 - イル) カルバメート (0 . 11 g、0 . 18 mmol) 及びトリエチルアミン (0 . 08 mL、0 . 60 mmol) のアセトニトリル (3 mL) 攪拌混合物に滴加した。15 分後、反応物を濃縮し、10 分にわたる 10 - 90 % ACN / 水 (+ 0 . 1 % TFA) の勾配を使用した逆相クロマトグラフィーにより精製して、8 S O 2 B z L - 10 b (0 . 05 g、37 %) を得た。

【 0 2 1 9 】

2 - アミノ - 8 - (N - (32 - アミノ - 3 , 6 , 9 , 12 , 15 , 18 , 21 , 24 , 27 , 30 - デカオキサドトリアコンチル) - N - メチルスルファモイル) - N , N - ジプロピル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド、8 S O 2 B z L - 10 c の調製

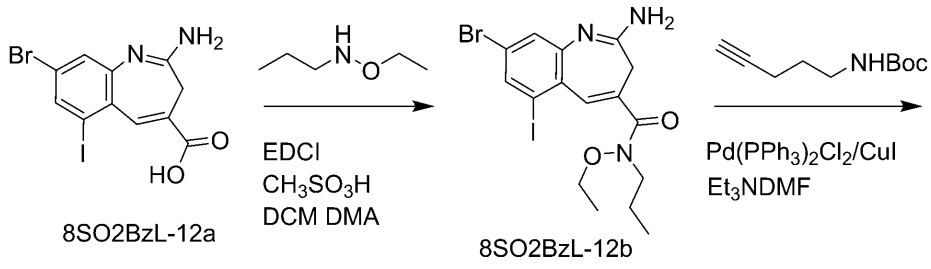
8 S O 2 B z L - 10 b (0 . 05 g、0 . 05 mmol) のアセトニトリル (3 mL) 溶液に、HCl 水溶液 (6 M、3 mL) を添加し、混合物を室温で 45 分間攪拌した。溶媒を除去し、単離したシロップを ACN (3 mL) と共沸させて、濁った白色の膜として、HCl 塩として 8 S O 2 B z L - 10 c (0 . 04 g、91 %) を得た。

【 0 2 2 0 】

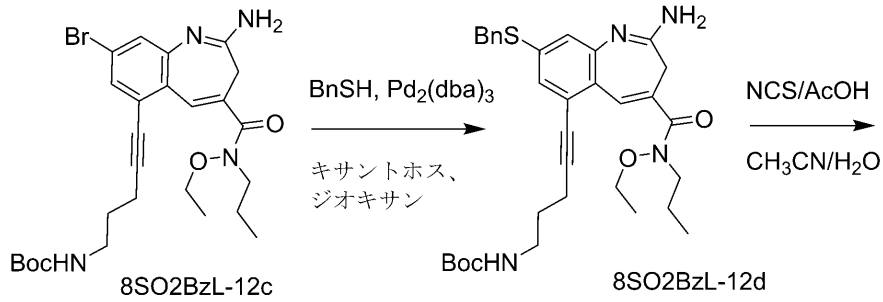
8 S O 2 B z L - 10 の調製

8 S O 2 B z L - 10 c HCl (0 . 04 g、0 . 05 mmol) の DMF (3 mL

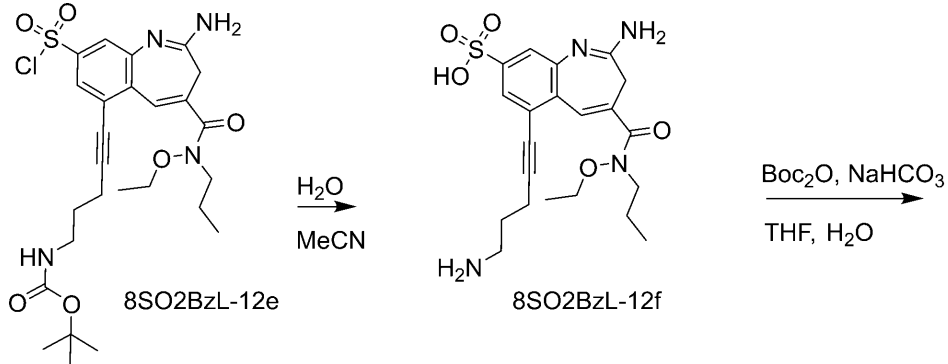
【化 3 0 - 1】



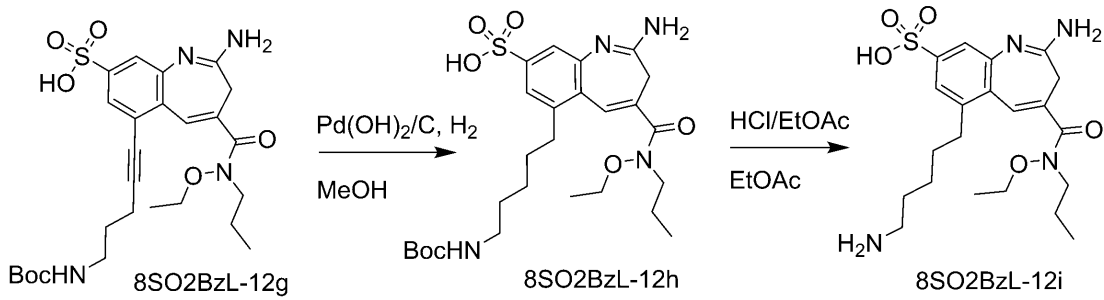
10



20



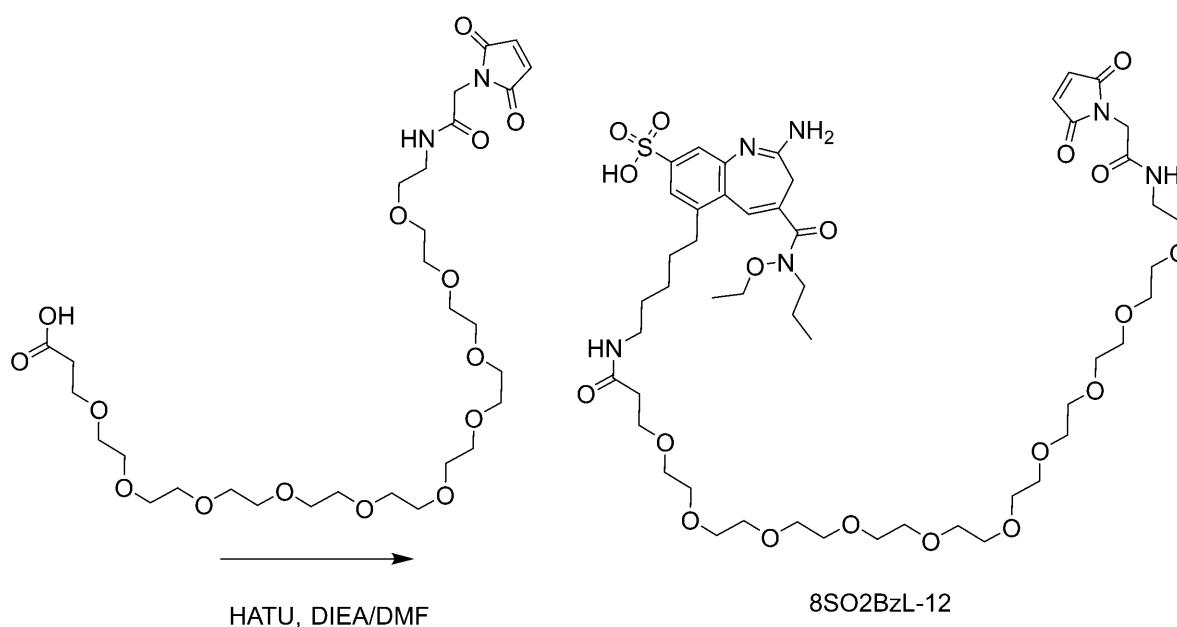
30



40

50

【化 3 0 - 2】



10

20

2 - アミノ - 8 - プロモ - N - エトキシ - 6 - ヨード - N - プロピル - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 4 - カルボキサミド、8SO2BzL-12bの調製

2 - アミノ - 8 - プロモ - 6 - ヨード - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 4 - カルボン酸、8SO2BzL-12a (2.0g、4.91mmol、1.0当量)のDCM(20mL)及びDMA(10mL)溶液に、メタンスルホン酸、CH₃SO₃H(472mg、4.91mmol、350μL、1.0当量)、N-エトキシプロパン-1-アミン(823mg、5.90mmol、1.2当量、HCl)、及びEDCI(3.77g、19.7mmol、4当量)を添加した。混合物を25℃で2時間攪拌した。反応混合物のpHを飽和Na₂CO₃で約9に調整した。水相を酢酸エチル(50mL×3)で抽出した。合わせた有機相をブライン(20mL×2)で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗生成物をEtOAcで、25℃で10分間粉砕して、黄色の固体として8SO2BzL-12b(1.24g、2.52mmol、51.3%収率)を得た。LC/MS[M+H]⁺491.97(計算値); LC/MS[M+H]⁺491.9(観測値)。

30

【0222】

tert-ブチルN-[5-[2-アミノ-8-プロモ-4-[エトキシ(プロピル)カルバモイル]-3H-1-ベンザゼピン-6-イル]ペンタ-4-イニル]カルバメート、8SO2BzL-12cの調製

8SO2BzL-12b(800mg、1.63mmol、1.0当量)、tert-ブチルN-ペンタ-4-イニルカルバメート(328mg、1.79mmol、1.1当量)、Pd(PPh₃)₂Cl₂(114mg、163μmol、0.1当量)、ヨウ化銅、CuI(61.9mg、325μmol、0.2当量)のDMF(16mL)及びEt₃N(6mL)混合物を脱気し、N₂で3回パージし、その後、N₂雰囲気下で、80℃で2時間攪拌した。混合物を氷水(w/w=1/1)(20mL)中に注ぎ、10分間攪拌した。水相を酢酸エチル(30mL×3)で抽出した。合わせた有機相をブライン(20mL×2)で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー(カラム高:250mm、直径:100mm、100-200メッシュシリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル=1/0、2/1)により精製して、黄色の油として8SO2BzL-12c(690mg、1.26mmol、77.5%収率)を得た。¹H NMR(MeOD, 400MHz) 7.53(s, 1H)

40

50

, 7.27 (s, 2H), 3.93 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.19 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.90 - 2.83 (m, 2H), 2.51 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.82 - 1.70 (m, 4H), 1.43 (s, 9H), 1.17 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 3H). LC/MS [M+H] 547.2 (計算値); LC/MS [M+H] 547.2 (観測値).

【0223】

tert - ブチル N - [5 - [2 - アミノ - 8 - ベンジルスルファニル - 4 - [エトキシ (プロピル) カルバモイル] - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 6 - イル] ペンタ - 4 - イニル] カルバメート、8SO2BzL - 12d の調製

8SO2BzL - 12c (350 mg、639 μ mol、1.0 当量)、フェニルメタンチオール、BnSH (0.25 g、2.01 mmol、236 μ L、3.15 当量)、DIEA (165 mg、1.28 mmol、223 μ L、2.0 当量)、キサントホス (74.0 mg、128 μ mol、0.2 当量)、及び Pd₂(dba)₃ (117 mg、128 μ mol、0.2 当量) のジオキサン (10 mL) 混合物を脱気し、N₂ で 3 回バージし、その後、N₂ 雰囲気下で、110 で 1 時間 攪拌 した。残渣を氷水 (w / w = 1 / 1) (10 mL) 中に注ぎ、5 分間 攪拌 した。水相を酢酸エチル (10 mL \times 3) で抽出した。合わせた有機相をブライン (10 mL \times 1) で洗浄し、無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (カラム高 : 250 mm、直径 : 100 mm、100 - 200 メッシュシリカゲル、石油エーテル / 酢酸エチル = 1 / 0、0 / 1) により精製して、黄色の固体として 8SO2BzL - 12d (300 mg、508 μ mol、79.4 % 収率) を得た。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.56 (s, 1H), 7.37 - 7.34 (m, 2H), 7.30 - 7.19 (m, 3H), 7.09 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 3.93 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.73 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.30 (s, 2H), 3.19 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.49 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.81 - 1.72 (m, 4H), 1.43 (s, 9H), 1.16 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 3H). LC/MS [M+H] 591.3 (計算値); LC/MS [M+H] 591.3 (観測値).

【0224】

tert - ブチル N - [5 - [2 - アミノ - 8 - クロロスルホニル - 4 - [エトキシ (プロピル) カルバモイル] - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 6 - イル] ペンタ - 4 - イニル] カルバメート、8SO2BzL - 12e の調製

8SO2BzL - 12d (300 mg、508 μ mol、1.0 当量) の MeCN (6 mL) 及び H₂O (0.6 mL) 溶液に、AcOH (305 mg、5.08 mmol、290 μ L、10 当量) 及び NCS (271 mg、2.03 mmol、4.0 当量) を添加し、その後、25 で 1 時間 攪拌 した。反応混合物を氷水 (w / w = 1 / 1) (10 mL) 中に注ぎ、5 分間 攪拌 した。水相を酢酸エチル (10 mL \times 3) で抽出し、合わせた有機相を無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、黄色の油として粗生成物 8SO2BzL - 12e (250 mg、441 μ mol、86.8 % 収率) を得て、これを更に精製することなく次のステップで使用した。LC/MS [M+H] 567.2 (計算値); LC/MS [M+H] 567.3 (観測値).

【0225】

2 - アミノ - 6 - (5 - アミノペンタ - 1 - イニル) - 4 - [エトキシ (プロピル) カルバモイル] - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 8 - スルホン酸、8SO2BzL - 12f の調製

8SO2BzL - 12e (250 mg、441 μ mol、1.0 当量) の MeCN (2.5 mL) 及び H₂O (13 mL) 溶液を 100 で 1 時間 攪拌 した。混合物を真空中で濃縮した。黄色の固体として粗生成物 8SO2BzL - 12f (200 mg、412 μ mol、93.6 % 収率) を得た。LC/MS [M+H] 567.2 (計算値); LC/MS [M+H] 567.2 (観測値).

o 1、93.5%収率、HCl)を更に精製することなく次のステップで使用した。LC/MS [M+H] 449.18 (計算値); LC/MS [M+H] 449.1 (観測値)。

【0226】

2-アミノ-6-[5-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)ペンタ-1-イニル]-4-[エトキシ(プロピル)カルバモイル]-3H-1-ベンザゼピン-8-スルホン酸、8SO2BzL-12gの調製

8SO2BzL-12f (200mg、446 μ mol、1.0当量)のTHF (5mL)及びH₂O (5mL)溶液に、NaHCO₃ (112mg、1.34mmol、52 μ L、3.0当量)及びBoc₂O (146mg、669 μ mol、154 μ L、1.5当量)を添加し、その後、25 で1時間攪拌した。混合物を減圧下で、30 で濃縮した。残渣を分取HPLC (カラム: Phenomenex Luna 80 \times 30mm \times 3 μ m; 移動相: [水(TFA)-ACN]; B%: 10%-40%、8分)により精製して、黄色の固体として8SO2BzL-12g (100mg、182 μ mol、40.9%収率)を得た。¹H NMR (MeOD, 400MHz) 7.84 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H), 3.98 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 3.76 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.38 (s, 2H), 3.18 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.54 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.81-1.76 (m, 4H), 1.43 (s, 9H), 1.20 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.00 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。LC/MS [M+H] 549.2 (計算値); LC/MS [M+H] 549.3 (観測値)。

10

20

【0227】

2-アミノ-6-[5-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)ペンチル]-4-[エトキシ(プロピル)カルバモイル]-3H-1-ベンザゼピン-8-スルホン酸、8SO2BzL-12hの調製

8SO2BzL-12g (100mg、182 μ mol、1.0当量)、Pd(OH)₂/C (64.0mg、91.1 μ mol、20% purity、0.5当量)のMeOH (10mL)混合物を脱気し、H₂ (367 μ g、182 μ mol、1当量)で3回バージし、その後、H₂ (30psi)雰囲気下で、25 で1時間攪拌した。混合物を濾過した。残渣を分取HPLC (カラム: Phenomenex Luna 80 \times 30mm \times 3 μ m; 移動相: [水(TFA)-ACN]; B%: 5%-55%、8分)により精製して、白色の固体として8SO2BzL-12h (72mg、130 μ mol、71.5%収率)を得た。¹H NMR (MeOD, 400MHz) 7.70 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 3.98 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.76 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.36 (s, 2H), 3.02 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.84 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 1.83-1.74 (m, 2H), 1.71-1.59 (m, 2H), 1.52-1.34 (m, 13H), 1.20 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.01 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。LC/MS [M+H] 553.26 (計算値); LC/MS [M+H] 553.2 (観測値)。

30

40

【0228】

2-アミノ-6-(5-アミノペンチル)-4-[エトキシ(プロピル)カルバモイル]-3H-1-ベンザゼピン-8-スルホン酸、8SO2BzL-12iの調製

8SO2BzL-12h (60mg、108 μ mol、1当量)のEtOAc (2mL)溶液に、HCl/EtOAc (4M、1mL、37当量)を添加し、その後、20 で1時間攪拌した。混合物を真空中で濃縮して、白色の固体として8SO2BzL-12i (50mg、102 μ mol、94.2%収率、HCl)を得た。LC/MS [M+H] 453.2 (計算値); LC/MS [M+H] 453.2 (観測値)。

【0229】

50

8SO2BzL-12の調製

3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,5-ジオキソピロール-1-イル)アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]プロパン酸(68.2mg、102umol、1.0当量)のDMF(1mL)溶液に、DIEA(66.1mg、511umol、89uL、5.0当量)、8SO2BzL-12i(50mg、102umol、1当量、HCl)、及びHATU(38.9mg、102umol、1.0当量)を添加した。これを25で0.5時間攪拌した。混合物を濾過し、分取HPLC(カラム:Phenomenex Luna 80x30mmx3um;移動相:[水(TFA)-ACN];B%:5%-35%、8分)により精製して、黄色の油として8SO2BzL-12(14mg、12.7umol、12.43%収率)を得た。¹H NMR(MeOD, 400MHz) 7.72(s, 1H), 7.68(s, 1H), 7.48(s, 1H), 6.91(s, 2H), 4.19(s, 2H), 4.01(q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.80-3.55(m, 4H), 3.43-3.35(m, 4H), 3.19(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.88(t, J = 8.0 Hz, 2H), 2.42(t, J = 6.4 Hz, 2H), 1.80(q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.74-1.64(m, 2H), 1.60-1.51(m, 2H), 1.45-1.43(m, 2H), 1.23(t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.02(t, J = 7.2 Hz, 3H). LC/MS [M+H] 1101.5(計算値); LC/MS [M+H] 1101.9(観測値).

10

20

【0230】

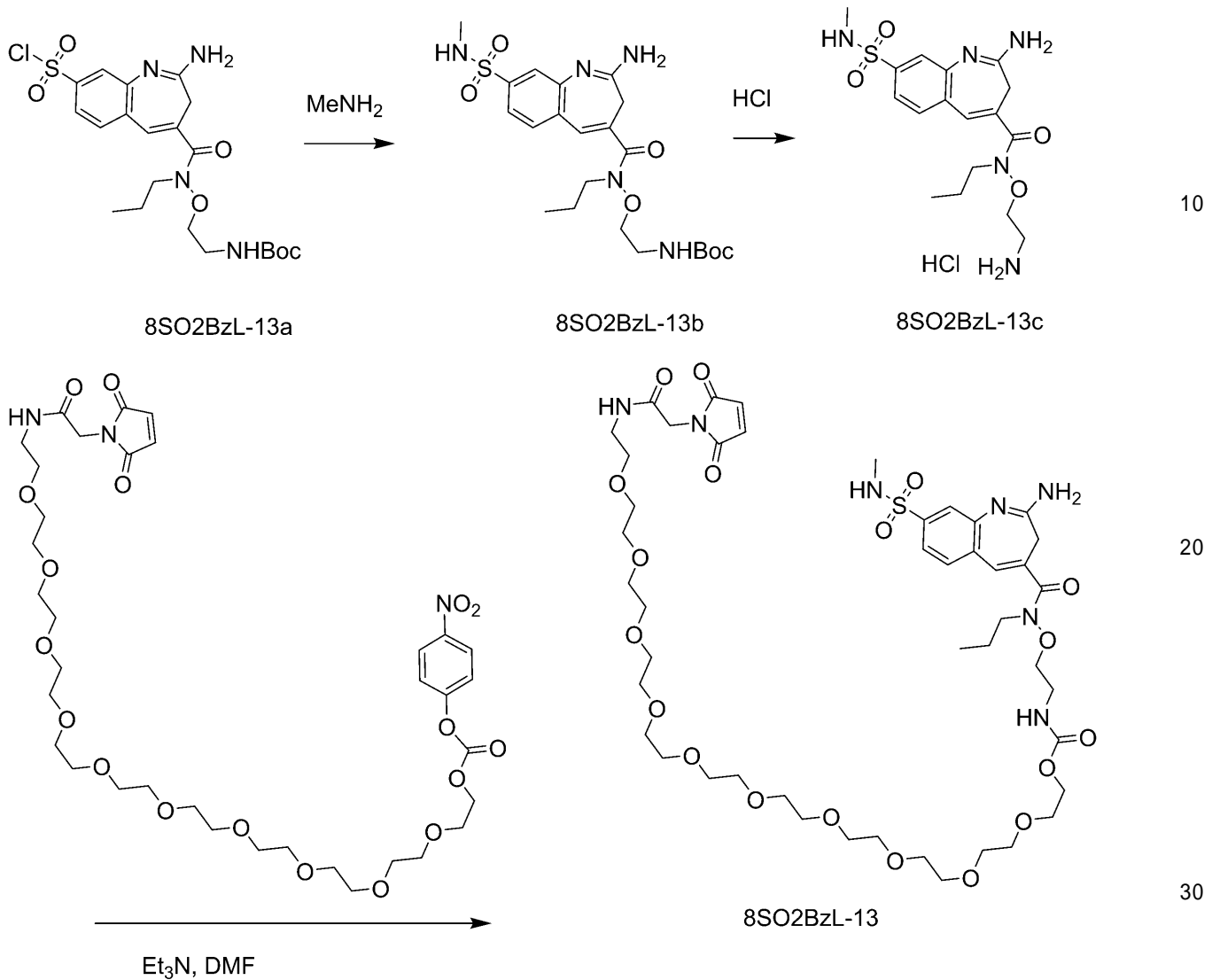
実施例L-13 1-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-オキソ-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-デカオキサ-3-アザペントリアコンタン-35-イル(2-(2-アミノ-8-(N-メチルスルファモイル)-N-プロピル-3H-ベンゾ[b]アゼピン-4-カルボキサミド)オキシ)エチル)カルバメート、8SO2BzL-13の合成

30

40

50

【化 3 1】



tert - プロピル - 2 - ((2 - アミノ - 8 - (N - メチルスルファモイル) - N - プロピル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド) オキシ) エチル) カルバメート、8SO2BzL-13bの調製

tert - プロピル - 2 - ((2 - アミノ - 8 - (クロロスルホニル) - N - プロピル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド) オキシ) エチル) カルバメート、8SO2BzL-13a (0 . 14 M、2 . 00 mL、0 . 28 mmol) のアセトニトリル / 水 (9 : 1) 溶液に、メチルアミン溶液 (2 M THF 溶液、0 . 70 mL、1 . 40 mmol) を 0 で添加した。10分後、溶媒を除去し、粗生成物を、10 - 90% アセトニトリル / 水の勾配を使用した逆相 HPLC により精製して、溶媒を蒸発させた後に黄色の膜として 8SO2BzL-13b (0 . 09 g、68%) を得た。

【0231】

2 - アミノ - N - (2 - アミノエトキシ) - 8 - (N - メチルスルファモイル) - N - プロピル - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボキサミド、8SO2BzL-13cの調製

8SO2BzL-13b (0 . 09 g、0 . 19 mmol) のアセトニトリル (2 mL) 及び 6 N HCl (2 . 00 mL、12 . 00 mmol) 溶液を室温で 45 分間撹拌した。溶媒を真空により除去して、HCl 塩として 8SO2BzL-13c (0 . 08 g、

99%)を得た。

【0232】

8SO2BzL-13の調製

8SO2BzL-13c HCl (0.03g、0.06mmol)のDMF(4mL)溶液に、トリエチルアミン(0.04mL、0.26mmol)を室温で添加した。この混合物に、1-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-オキソ-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-デカオキサ-3-アザペントリアコンタン-35-イル(4-ニトロフェニル)カーボネート、PNPC-PEG10-mal(0.05g、0.06mmol)のDMF(2mL)溶液を添加した。20分後、酢酸(6 μ L)を添加し、反応物を真空下で濃縮し、10分

10

にわたる10-90%ACN/水(+0.1%TFA)の勾配を使用した逆相HPLCにより精製して、純粋な画分を濃縮した後に8SO2BzL-13(0.04g、52%)を得た。LC/MS[M+H]1060.47(計算値);LC/MS[M+H]1060.89(観測値)。

【0233】

実施例L-15 2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,5-ジオキソピロール-1-イル)アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]エチルN-[2-[2-アミノ-8-(チアゾール-2-イルスルファモイル)-3H-1-ベンザゼピン-4-カルボニル]-プロピル-アミノ]オキシエチル]カルバメート、8SO2BzL-15の合成

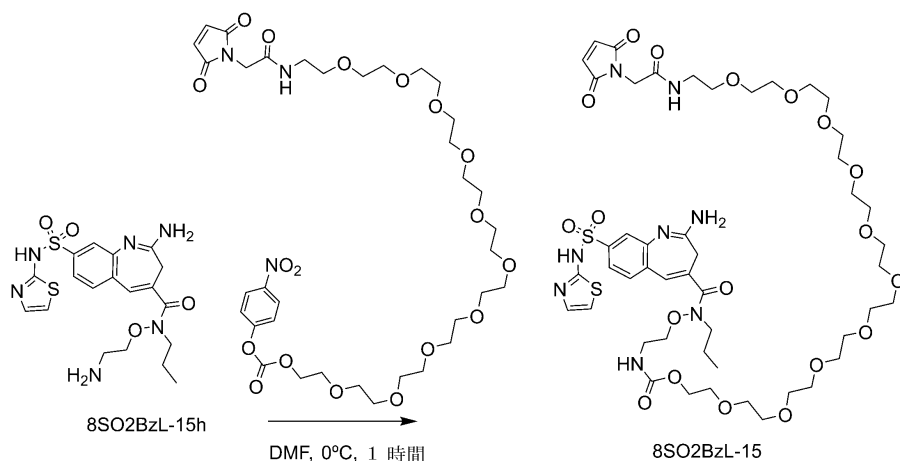
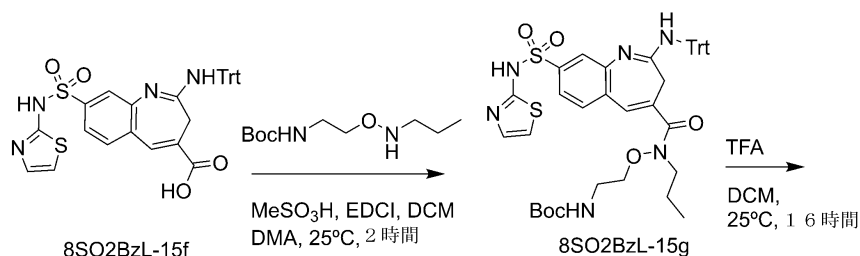
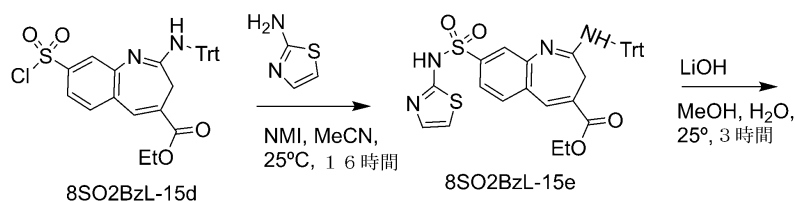
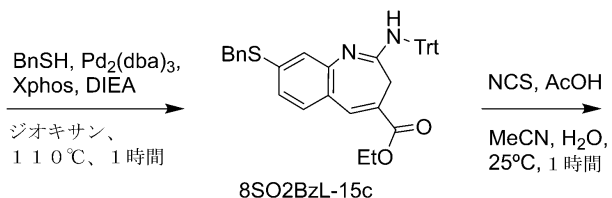
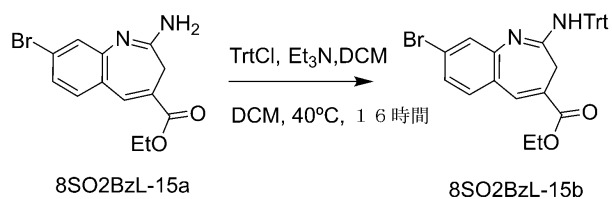
20

30

40

50

【化 3 2】



エチル 8 - プロモ - 2 - (トリチルアミノ) - 3H - 1 - ベンザゼピン - 4 - カルボキシレート、8SO2BzL-15b の調製

エチル 2 - アミノ - 8 - プロモ - 3H - 1 - ベンザゼピン - 4 - カルボキシレート、8SO2BzL-15a (5 g、16.1 mmol、1 当量)、TrtCl (6.76 g、24.2 mmol、1.5 当量)、TEA (4.91 g、48.5 mmol、6.75 mL、3 当量)、及び DMAP (395 mg、3.23 mmol、0.2 当量) の DCM (50 mL) 混合物を脱気し、N₂ で 3 回パージし、その後、N₂ 雰囲気下で、40 で 16 時間攪拌した。H₂O (50 mL) を添加して反応混合物をクエンチし、EtOAc (100 mL) で抽出した。合わせた有機層をブライン (50 mL) で洗浄し、Na₂SO

10

20

30

40

50

4で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残渣を得た。残渣をカラムクロマトグラフィー（SiO₂、石油エーテル：酢酸エチル = 100：1 - 0：1）により精製して、黄色の油として8SO2BzL-15b（7.8g、14.1mmol、87.4%収率）を得た。LC/MS[M+H]551.1（計算値）；LC/MS[M+H]551.1（観測値）。

【0234】

エチル8-ベンジルスルファニル-2-(トリチルアミノ)-3H-1-ベンザゼピン-4-カルボキシレート、8SO2BzL-15cの調製

8SO2BzL-15b（3g、5.44mmol、1当量）、DIEA（1.41g、10.8mmol、1.90mL、2当量）、(1E,4E)-1,5-ジフェニルペンタ-1,4-ジエン-3-オン；パラジウム、Pd₂(dba)₃、CAS登録番号51364-51-3（996mg、1.09mmol、0.2当量）、及び（5-ジフェニルホスファニル-9,9-ジメチル-キサンテン-4-イル）-ジフェニル-ホスファン、Xphos（629mg、1.09mmol、0.2当量）のジオキサン（30mL）混合物を脱気し、N₂で3回パージし、その後、フェニルメタンチオール、BnSH（1.35g、10.8mmol、1.27mL、2当量）を添加し、混合物をN₂雰囲気下で、110で1時間撹拌した。H₂O（50mL）を添加して反応混合物をクエンチし、EtOAc（100mL×2）で抽出した。合わせた有機層をブライン（100mL）で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残渣を得た。残渣をカラムクロマトグラフィー（SiO₂、石油エーテル：酢酸エチル = 100：1 - 0：18）により精製して、黄色の油として8SO2BzL-15c（2.3g、3.87mmol、71.1%収率）を得た。

10

20

【0235】

エチル8-クロロスルホニル-2-(トリチルアミノ)-3H-1-ベンザゼピン-4-カルボキシレート、8SO2BzL-15dの調製

8SO2BzL-15c（3g、5.04mmol、1当量）、NCS（2.69g、20.2mmol、4当量）、AcOH（3.03g、50.4mmol、2.88mL、10当量）のMeCN（30mL）及びH₂O（3mL）混合物を25で1時間撹拌した。H₂O（50mL）を添加して反応混合物をクエンチし、EtOAc（50mL）で抽出した。合わせた有機層をブライン（50mL）で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残渣を得た。残渣をカラムクロマトグラフィー（SiO₂、石油エーテル：酢酸エチル = 99：1 - 0：1）により精製して、黄色の固体として8SO2BzL-15d（2g、3.50mmol、69.4%収率）を得た。LC/MS[M+H]571.1（計算値）；LC/MS[M+H]571.2（観測値）。

30

【0236】

エチル8-(チアゾール-2-イルスルファモイル)-2-(トリチルアミノ)-3H-1-ベンザゼピン-4-カルボキシレート、8SO2BzL-15eの調製

8SO2BzL-15d（1.5g、2.63mmol、1当量）及び1-メチルイミダゾール（258mg、3.15mmol、251uL、1.2当量）のMeCN（30mL）混合物を脱気し、N₂で3回パージし、その後、N₂雰囲気下で、25で2時間撹拌した。その後、4,5-ジヒドロチアゾール-2-アミン（1.07g、10.5mmol、4当量）を添加し、結果として得られた混合物をN₂雰囲気下で、25で更に16時間撹拌した。H₂O（50mL）を添加して反応混合物をクエンチし、EtOAc（50mL）で抽出した。合わせた有機層をブライン（100mL）で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残渣を得た。残渣をカラムクロマトグラフィー（SiO₂、石油エーテル：酢酸エチル = 100：1 - 0：1）により精製して、黄色の固体として8SO2BzL-15e（0.5g、787umol、29.9%収率）を得た。¹H NMR（MeOD, 400 MHz） 7.71（s, 1H）, 7.23（m, 20H）, 6.75（d, J = 4.8 Hz, 1H）, 4.36（q, J = 7.2 Hz, 2H）, 2.98（s, 2H）, 1.38（t, J = 7.2 Hz,

40

50

3 H) . LC / MS [M + H] 635 . 17 (計算値) ; LC / MS [M + H] 635 . 1 (観測値) .

【 0237 】

8 - (N - (チアゾール - 2 - イル) スルファモイル) - 2 - (トリチルアミノ) - 3 H - ベンゾ [b] アゼピン - 4 - カルボン酸、 8 S O 2 B z L - 15 f の調製

8 S O 2 B z L - 15 e (0 . 5 g 、 787 . 69 μ mol 、 1 当量) 、 LiOH . H 2 O (264 mg 、 6 . 30 mmol 、 8 当量) の H 2 O (4 mL) 及び THF (4 mL) 混合物を 25 で 3 時間攪拌した。 2 M HCl を添加して反応溶液をクエンチして pH を約 6 に調整し、その後、濾過して、白色の固体として 8 S O 2 B z L - 15 f (0 . 45 g 、 699 . 66 μ mol 、 88 . 82 % 収率、 HCl) を得た。 LC / MS [M + H] 607 . 1 (計算値) ; LC / MS [M + H] 607 . 2 (観測値) .

【 0238 】

tert - ブチル N - [2 - [プロピル - [8 - (チアゾール - 2 - イル) スルファモイル] - 2 - (トリチルアミノ) - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 4 - カルボニル] アミノ] オキシエチル] カルバメート、 8 S O 2 B z L - 15 g の調製

8 S O 2 B z L - 15 f (0 . 42 g 、 692 μ mol 、 1 当量) 、 tert - ブチル N - [2 - (プロピルアミノオキシ) エチル] カルバメート (181 mg 、 830 μ mol 、 1 . 2 当量) 、 メタンスルホン酸 (133 mg 、 1 . 38 mmol 、 98 . 5 μ L 、 2 当量) 、 EDCI (663 mg 、 3 . 46 mmol 、 5 当量) の DMA (5 mL) 及び DCM (5 mL) 混合物を脱気し、 N₂ で 3 回バージし、その後、 N₂ 雰囲気下で、 25 で 2 時間攪拌した。 pH が約 7 になるまで Na₂ HCO₃ (3 mL) を添加して反応混合物をクエンチし、 EtOAc (5 mL x 3) で抽出した。合わせた有機層をブライン (5 mL) で洗浄し、 Na₂ SO₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残渣を得た。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂ 、 石油エーテル : 酢酸エチル = 99 : 1 - 20 : 80) により精製して、黄色の固体として 8 S O 2 B z L - 15 g (0 . 5 g 、 619 μ mol 、 89 . 5 % 収率) を得た。 LC / MS [M + H] 807 . 3 (計算値) ; LC / MS [M + H] 807 . 3 (観測値) .

【 0239 】

2 - アミノ - N - (2 - アミノエトキシ) - N - プロピル - 8 - (チアゾール - 2 - イル) スルファモイル) - 3 H - 1 - ベンザゼピン - 4 - カルボキサミド、 8 S O 2 B z L - 15 h の調製

8 S O 2 B z L - 15 g (0 . 5 g 、 619 μ mol 、 1 当量) 、 TFA (5 . 65 g 、 49 . 5 mmol 、 3 . 67 mL 、 80 当量) の DCM (10 mL) 混合物を 25 で 16 時間攪拌した。 H₂ O (5 mL) を添加して反応混合物をクエンチし、 MTBE (10 mL) (5 mL x 2) で抽出して過剰な TFA を除去した。合わせた水層を減圧下で濃縮して、白色の固体として 8 S O 2 B z L - 15 h (0 . 25 g 、 432 μ mol 、 69 . 7 % 収率、 TFA) を得た。 LC / MS [M + H] 465 . 1 (計算値) ; LC / MS [M + H] 465 . 1 (観測値) .

【 0240 】

8 S O 2 B z L - 15 の調製

8 S O 2 B z L - 15 h (0 . 2 g 、 288 μ mol 、 1 当量、 2 TFA) 、 2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [[2 - (2 , 5 - ジオキソピロール - 1 - イル) アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エトキシ] エチル (4 - ニトロフェニル) カーボネート (232 mg 、 288 μ mol 、 1 当量) 、 DIEA (111 mg 、 866 μ mol 、 150 μ L 、 3 当量) の DMF (0 . 5 mL) 混合物を脱気し、 N₂ で 3 回バージし、その後、混合物を N₂ 雰囲気下で、 0 で 1 時間攪拌した。 pH が約 6 になるまで反応溶液を TFA でクエンチした。残渣を分取 HPLC (カラム : Phenomenex Luna 80 x 30 mm x 3 μ m ; 移動相 : [水 (TFA) - ACN] ; B % : 15 % - 40 % 、 8 分) により精製して、白色の固体として 8 S O 2 B z L - 15

(15.0 mg、13.2 μmol 、4.6%収率)を得た。 ^1H NMR (MeOD- d_4 , 400 MHz) 7.97 (s, 1H), 7.88 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.18 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.90 (s, 2H), 6.81 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.17 (s, 2H), 3.74 (m, 2H), 3.67 (m, 2H), 3.59 (m, 4H), 3.38 (m, 6H), 1.80 - 1.72 (m, 2H) 1.00 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H). LC/MS [M+H]⁺ 1129.4 (計算値); LC/MS [M+H]⁺ 1129.5 (観測値).

【0241】

実施例201 免疫複合体(IC)の調製

リシンコンジュゲート免疫複合体を調製するために、抗体を、G-25 SEPHAD EX (商標)脱塩カラム (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) または Zeba (商標) スピン脱塩カラム (Thermo Fisher Scientific) を使用して、100 mM ホウ酸、50 mM 塩化ナトリウム、pH 8.3 の 1 mM エチレンジアミン四酢酸を含むコンジュゲーション緩衝液に緩衝液交換する。その後、溶出液を、緩衝液を使用して各々約 1 ~ 10 mg/ml の濃度に調整し、その後、滅菌濾過する。抗体を 20 ~ 30 に予め加温し、5 ~ 20 mM の濃度までジメチルスルホキシド (DMSO) またはジメチルアセトアミド (DMA) に溶解させた式 II の 2 ~ 20 (例えば、7 ~ 10) モル当量のテトラフルオロフェニル (TFP) またはスルホン酸テトラフルオロフェニル (sulfoTFP) エステル、8-スルホニル-2-アミノベンザゼピン-リンカー (8SO2Bz-L) 化合物と急速に混合する。反応を 30 で約 16 時間進行させ、pH 7.2 のリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中で平衡化した連続する 2 つの G-25 脱塩カラムまたは Zeba (商標) スピン脱塩カラム上を通過させることによって、免疫複合体 (IC) を反応物から分離し、表 3 a 及び表 3 b の免疫複合体 (IC) を得る。アジュバント-抗体比 (DAR) を、XEVO (商標) G2-XS TOF 質量分析計 (Waters Corporation) に接続された、ACQUITY (商標) UPLC H-class (Waters Corporation, Milford, MA) の C4 逆相カラムを使用した液体クロマトグラフィー質量分析によって決定する。

【0242】

システインコンジュゲート免疫複合体を調製するために、Zeba (商標) スピン脱塩カラム (Thermo Fisher Scientific) を使用して、抗体を、2 mM の EDTA で、pH 7.2 の PBS を含むコンジュゲーション緩衝液に緩衝液交換する。2 ~ 4 モル過剰のトリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン (TCEP) またはジチオスレイトール (DTT) を 37 で 30 分 ~ 2 時間使用して、鎖間ジスルフィドを還元する。過剰な TCEP または DTT を、コンジュゲーション緩衝液で予め平衡化した Zeba (商標) スピン脱塩カラムを使用して除去した。緩衝液交換抗体の濃度は、コンジュゲーション緩衝液を使用して、約 5 ~ 20 mg/ml に調整し、滅菌濾過した。マレイミド-8SO2Bz-L 化合物は、ジメチルスルホキシド (DMSO) またはジメチルアセトアミド (DMA) のいずれかに、5 ~ 20 mM の濃度に溶解される。コンジュゲーションのために、抗体を、10 ~ 20 モル当量のマレイミド-8SO2Bz-L と混合する。いくつかの事例では、最大 20% (v/v) の追加の DMA または DMSO を添加して、マレイミド-8SO2Bz-L のコンジュゲーション緩衝液中の溶解度を改善した。反応物を 20 で約 30 分 ~ 4 時間進行させる。結果として得られた複合体を、2 つの連続した Zeba (商標) スピン脱塩カラムを使用して、未反応のマレイミド-8SO2Bz-L から精製する。カラムをリン酸緩衝生理食塩水 (PBS)、pH 7.2 で予め平衡化する。アジュバント対抗体比 (DAR) は、XEVO (商標) G2-XS TOF 質量分析計 (Waters Corporation) に接続された ACQUITY (商標) UPLC H クラス (Waters Corporation, Milford, MA) 上の C4 逆相カラムを使用した液体クロマトグラフィー質量分析によって推定される。

【0243】

10

20

30

40

50

コンジュゲーションにおいて、抗体は、抗体の安定性または抗原結合特異性に悪影響を及ぼさない、当該技術分野で既知の水性緩衝液系中に溶解することができる。リン酸緩衝生理食塩水を使用することができる。8SO2Bz-L化合物は、本明細書の他の箇所に記載されるように、少なくとも1つの極性非プロトン性溶媒を含む溶媒系に溶解される。いくつかのかかる態様では、8SO2Bz-Lは、pH8トリス緩衝液（例えば、50mMトリス）中に、約5mM、約10mM、約20mM、約30mM、約40mM、または約50mM、及び約5mM～約50mM、または約10mM～約30mMなどのその範囲の濃度に溶解される。いくつかの態様では、8-スルホニル-2-アミノベンザゼピン-リンカー中間体は、DMSO（ジメチルスルホキシド）、DMA（ジメチルアセトアミド）、アセトニトリル、または別の好適な双極非プロトン性溶媒中に溶解される。

10

【0244】

あるいは、コンジュゲーション反応において、等価過剰の8SO2Bz-L溶液を希釈し、抗体溶液と組み合わせてもよい。8SO2Bz-L溶液は、少なくとも1つの極性非プロトン性溶媒及び少なくとも1つの極性プロトン性溶媒で好適に希釈され得、それらの例としては、水、メタノール、エタノール、n-プロパノール、及び酢酸が挙げられる。8SO2Bz-L中間体の抗体に対するモル当量は、約1.5:1、約3:1、約5:1、約10:1、約15:1、または約20:1、及び、約1.5:1～約20:1、約1.5:1～約15:1、約1.5:1～約10:1、約3:1～約15:1、約3:1～約10:1、約5:1～約15:1、または約5:1～約10:1の範囲であってもよい。反応は、LC-MSなどの当該技術分野で既知の方法によって、完了について好適に監視され得る。結合反応は通常、約1時間～約16時間の範囲内で完了する。反応が完了した後、試薬を反応混合物に添加して、反応を停止させ得る。抗体チオール基が、8SO2Bz-Lリンカー中間体のマレイミドなどのチオール反応性基と反応している場合、未反応の抗体チオール基を、キャッピング試薬と反応させてもよい。好適なキャッピング試薬の例は、エチルマレイミドである。

20

【0245】

結合後に、免疫複合体は、例えば、サイズ排除クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、クロマト分画、限外濾過、遠心限外濾過、接線濾過、及びそれらの組み合わせなどであるが、これらに限定されない当該技術分野で既知の精製方法によって精製され、結合されていない反応物質及び/または結合凝集体から分離されてもよい。例えば、精製の前に、免疫複合体を20mMコハク酸ナトリウム、pH5などで希釈してもよい。希釈溶液をカチオン交換カラムに塗布し、続いて、例えば、少なくとも10カラム体積の20mMコハク酸ナトリウム、pH5で洗浄する。複合体は、PBSなどの緩衝液で好適に溶出されてもよい。

30

【0246】

実施例202 HEKレポーターアッセイ

ヒトTLR7またはヒトTLR8を発現するHEK293レポーター細胞は、InvivoGenから購入し、ベンダープロトコルに従って細胞増殖と実験を行った。簡潔に述べると、細胞を、10%FBS、ゼオシン、及びプラストサイジンで補充したDMEM中、5%CO₂で、80～85%コンフルエンスまで増殖させた。その後、HEK検出培地及び免疫刺激分子を含有する基質を用いて、4×10⁴細胞/ウェルの96ウェル平板に細胞を播種した。プレートリーダーを使用して、620～655nmの波長で活性を測定した。

40

【0247】

実施例203 インビボでの免疫複合体活性の評価

本実施例は、本発明の免疫複合体が、免疫活性化を誘発するのに有効であり、したがって、がんの治療に有用であることを示す。

【0248】

a) ヒト抗原提示細胞の単離：ヒト骨髄抗原提示細胞(APC)は、CD14、CD16、CD40、CD86、CD123、及びHLA-DRに対するモノクローナル抗体を

50

含有するROSETTESEP（商標）ヒト単球濃縮カクテル（Stem Cell Technologies、Vancouver, Canada）を使用した密度勾配遠心分離により、健康な献血者（Stanford Blood Center、Palo Alto, California）から得られるヒト末梢血から負に選択された。その後、CD14、CD16、CD40、CD86、CD123及びHLA-DRに対するモノクローナル抗体を含む、CD16欠失を伴わない、EASYSSEP（商標）ヒト単球エンリッチメントキット（Stem Cell Technologies）を用いてネガティブ選別を行い、純度90%を超える未熟APCを精製した。

【0249】

b) 骨髄APC活性化アッセイ： 2×10^5 APCを、10% FBS、100 U/mL ペニシリン、100 μ g/mL（マイクログラム/ミリリットル）ストレプトマイシン、2 mM L-グルタミン、ピルビン酸ナトリウム、非必須アミノ酸を補充したイスコフ改変ダルベッコ培地、IMDM（Lonza）、ならびに指示された場合、本発明の様々な濃度の非コンジュゲート（裸）抗体及び免疫複合体（IC）（上記の実施例に従って調製されたもの）を含有する96ウェルプレート（Corning、Corning, NY）でインキュベートする。無細胞上清を18時間後にELISAを介して分析し、炎症誘発性応答の読み取りとしてTNF 分泌を測定する。

【0250】

c) PBMC活性化アッセイ：ヒト末梢血単核細胞を、密度勾配遠心分離によって健康な献血者（Stanford Blood Center、Palo Alto, California）から得たヒト末梢血から単離した。PBMCを、10:1のエフェクター対標的細胞比で、CEA発現腫瘍細胞（例えば、MKN-45、HPAF-II）と共培養した96ウェルプレート（Corning、Corning, NY）でインキュベートした。細胞を、様々な濃度の未コンジュゲート（裸）抗体及び本発明の免疫複合体（上記の実施例に従って調製されたもの）で刺激した。無細胞上清を、製造業者のガイドライン（BioLegend（登録商標）、San Diego, CA）に従って、LegendPlex（商標）キットを使用してサイトカインビーズアレイにより分析した。

【0251】

d) ヒト従来樹状細胞の単離：ヒト従来樹状細胞（cDC）を、密度勾配遠心分離によって健康な献血者（Stanford Blood Center、Palo Alto, California）から得たヒト末梢血から負に選択した。簡潔に述べると、最初に、ROSETTESEP（商標）ヒトCD3枯渇カクテル（Stem Cell Technologies、Vancouver, Canada）を使用して、細胞を濃縮して、細胞調製物からT細胞を除去する。その後、EASYSSEP（商標）ヒト骨髄系DC濃縮キット（Stem Cell Technologies）を使用して、cDCを負の選択によって更に濃縮する。

【0252】

e) cDC活性化アッセイ： 8×10^4 個のAPCを、ISAC標的抗原を発現する腫瘍細胞とともに10:1のエフェクター（cDC）対標的（腫瘍細胞）比で共培養した。細胞を、10% FBSを補充したRPMI-1640培地を含有する96ウェルプレート（Corning、Corning, NY）中で、示される場合には、本発明の指示された免疫複合体（上記の実施例に従って調製されたもの）の様々な濃度でインキュベートした。約18時間の一晚のインキュベーション後、無細胞上清を回収し、BioLegend LEGENDPLEXサイトカインビーズアレイを使用してサイトカイン分泌（TNFを含む）について分析した。

【0253】

骨髄細胞型の活性化を、様々な骨髄集団を利用する記載のアッセイに加えて、様々なスクリーニングアッセイを用いて測定することができる。これらは、健康なドナー血から単離された単球、M-CSF分化マクロファージ、GM-CSF分化マクロファージ、GM-CSF+IL-4単球由来樹状細胞、健康なドナー血から単離された従来樹状細胞（

c D C)、及び免疫抑制状態に分極された骨髄細胞 (骨髄由来抑制細胞または M D S C と呼ばれる) を含み得る。M D S C 分極細胞としては、例えば M 2 a (I L 4 / I L 1 3)、M 2 c (I L 1 0 / T G F b)、G M - C S F / I L 6 M D S C、及び腫瘍教育単球 (T E M) などの免疫抑制状態に向けて分化した単球が挙げられる。T E M 分化は、腫瘍条件培地 (例えば、7 8 6 . O、M D A - M B - 2 3 1、H C C 1 9 5 4) を使用して行うことができる。原発性腫瘍関連骨髄細胞はまた、解離した腫瘍細胞懸濁液に存在する初代細胞を含み得る (D i s c o v e r y L i f e S c i e n c e s)。

【 0 2 5 4 】

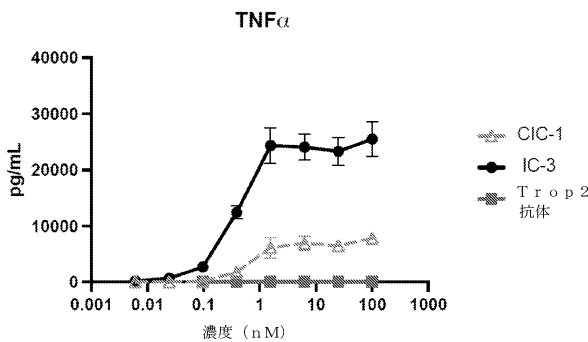
骨髄細胞の記載された集団の活性化の評価は、単培養として、または免疫複合体 (I C) が抗体の C D R 領域を介して結合し得る目的の抗原を発現する細胞との共培養として行うことができる。1 8 ~ 4 8 時間のインキュベーション後、活性化を、フローサイトメトリーを使用した細胞表面共刺激分子のアップレギュレーションによって、または分泌された炎症誘発性サイトカインの測定によって評価してもよい。サイトカイン測定のために、無細胞上清を採取し、フローサイトメトリーを使用してサイトカインビーズアレイ (例えば、B i o l e g e n d の L e g e n d P l e x) によって分析する。

【 0 2 5 5 】

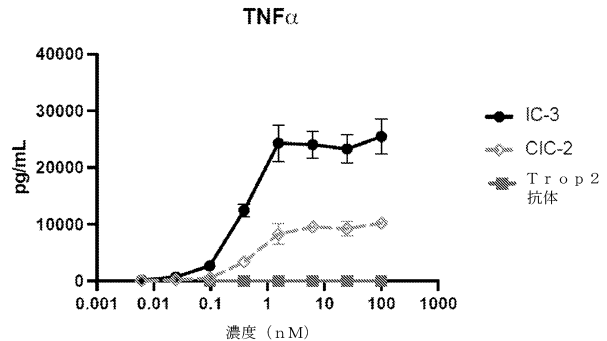
本明細書で引用される刊行物、特許出願、及び特許を含む全ての参考文献は、各参考文献が個別にかつ具体的に参照により組み込まれることが示され、その全体が本明細書に記載されているかのように、参照により本明細書に組み込まれる。

【 図 面 】

【 図 1 】



【 図 2 】



【 配 列 表 】

2025505638000001.xml

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/012576

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	A61K47/68	A61P35/00
	C07D223/16	C07D401/12
	C07D403/12	C07H15/203
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
A61K A61P C07H C07D		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020/252294 A1 (BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 17 December 2020 (2020-12-17) claims -----	1-49
X	WO 2021/226440 A1 (BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 11 November 2021 (2021-11-11) claims -----	1-49
X	WO 2021/168274 A1 (SILVERBACK THERAPEUTICS INC [US]) 26 August 2021 (2021-08-26) examples claims -----	1-39, 42-49
X	WO 2021/067242 A1 (BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 8 April 2021 (2021-04-08) examples claims -----	1-49
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
3 May 2023	16/05/2023	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Dullaart, Anwyn	

1

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/012576

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/046112 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; HOFFMANN LA ROCHE [US]) 23 March 2017 (2017-03-23) examples claims -----	40, 41
X	WO 2017/202703 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; HOFFMANN LA ROCHE [US]) 30 November 2017 (2017-11-30) examples -----	40, 41
X	WO 2016/096778 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; HOFFMANN LA ROCHE [US]) 23 June 2016 (2016-06-23) examples 5-23 -----	40, 41
X	WO 2020/056198 A2 (SILVERBACK THERAPEUTICS INC [US]) 19 March 2020 (2020-03-19) example 1; compounds 1.1-1.11 -----	40, 41

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/012576

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed.
 - b. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1 (a)).
 accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.28 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/012576

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020252294	A1	17-12-2020	AU 2020291014 A1	27-01-2022
			BR 112021025034 A2	26-04-2022
			CA 3142887 A1	17-12-2020
			CN 114585390 A	03-06-2022
			EP 3983082 A1	20-04-2022
			IL 288816 A	01-02-2022
			JP 2022537158 A	24-08-2022
			KR 20220034784 A	18-03-2022
			TW 202112752 A	01-04-2021
			WO 2020390899 A1	17-12-2020
WO 2020252294 A1		17-12-2020		
WO 2021226440	A1	11-11-2021	CA 3176626 A1	11-11-2021
			CN 115996756 A	21-04-2023
			EP 4146282 A1	15-03-2023
			WO 2021226440 A1	11-11-2021
WO 2021168274	A1	26-08-2021	EP 4106819 A1	28-12-2022
			JP 2023514727 A	07-04-2023
			TW 202144010 A	01-12-2021
			US 2021275683 A1	09-09-2021
			US 2022105196 A1	07-04-2022
			WO 2021168274 A1	26-08-2021
WO 2021067242	A1	08-04-2021	AU 2020359446 A1	21-04-2022
			BR 112022006001 A2	12-07-2022
			CA 3152601 A1	08-04-2021
			CN 114746404 A	12-07-2022
			EP 4038053 A1	10-08-2022
			IL 291760 A	01-06-2022
			JP 2022549510 A	25-11-2022
			KR 20220077131 A	08-06-2022
			US 2022347310 A1	03-11-2022
			WO 2021067242 A1	08-04-2021
			WO 2017046112	A1
			EP 3350168 A1	25-07-2018
			JP 6893501 B2	23-06-2021
			JP 2018530539 A	18-10-2018
			US 2018194735 A1	12-07-2018
			WO 2017046112 A1	23-03-2017
WO 2017202703	A1	30-11-2017	CN 109311854 A	05-02-2019
			EP 3464274 A1	10-04-2019
			JP 7022702 B2	18-02-2022
			JP 2019520330 A	18-07-2019
			US 2019077764 A1	14-03-2019
			WO 2017202703 A1	30-11-2017
WO 2016096778	A1	23-06-2016	CN 107148417 A	08-09-2017
			EP 3233835 A1	25-10-2017
			HK 1243701 A1	20-07-2018
			JP 6644792 B2	12-02-2020
			JP 2017538723 A	28-12-2017
			US 2017275253 A1	28-09-2017
			WO 2016096778 A1	23-06-2016
WO 2020056198	A2	19-03-2020	AU 2019337654 A1	08-04-2021

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/012576

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		CA 3112545 A1	19-03-2020
		CN 113166113 A	23-07-2021
		EP 3849971 A2	21-07-2021
		JP 2022500404 A	04-01-2022
		KR 20210081339 A	01-07-2021
		US 2022048895 A1	17-02-2022
		WO 2020056198 A2	19-03-2020
<hr/>			

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 D 417/14 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
C 0 7 D 403/14 (2006.01)	C 0 7 D 223/16	A C S P
A 6 1 K 31/55 (2006.01)	C 0 7 D 403/12	
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	C 0 7 D 417/14	
C 0 7 K 5/10 (2006.01)	C 0 7 D 403/14	
C 0 7 K 5/08 (2006.01)	A 6 1 K 31/55	
	C 0 7 K 16/30	Z N A
	C 0 7 K 5/10	
	C 0 7 K 5/08	

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

ピーク ドライブ 9 0 0

(72)発明者

クディルカ, ロマス

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 6 3 , レッドウッド シティ, チェサピーク ドライブ 9 0 0

(72)発明者

サフィナ, ブライアン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 6 3 , レッドウッド シティ, チェサピーク ドライブ 9 0 0

(72)発明者

サルマ, ガナパティ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 6 3 , レッドウッド シティ, チェサピーク ドライブ 9 0 0

F ターム (参考)

4C076 AA12 AA95 BB11 BB13 BB16 CC27 CC41 EE41 EE59 FF70
 4C085 AA13 AA14 AA22 AA23 AA26 BB31 CC22 CC23 EE01 GG01
 GG02 GG04
 4C086 AA01 AA02 AA03 BC32 BC82 GA07 GA10 MA01 MA04 MA17
 MA66 NA13 NA14 ZB26
 4H045 AA11 AA30 BA10 BA12 BA13 DA76 DA83 EA28