

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-502147
(P2025-502147A)

(43)公表日 令和7年1月24日(2025.1.24)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30	4 C 0 5 7	
A 6 1 K	31/4745(2006.01)	A 6 1 K	31/4745	4 C 0 7 6	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	4 C 0 8 4	
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	Y	4 C 0 8 5
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	4 C 0 8 6	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全218頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-541604(P2024-541604)	(71)出願人	521269850
(86)(22)出願日	令和5年1月10日(2023.1.10)		リジェネロン ファーマシューティカルズ, インク.
(85)翻訳文提出日	令和6年8月29日(2024.8.29)		アメリカ合衆国 1 0 5 9 1 ニューヨーク州 タリータウン オールド・ソウ・ミル・リバー・ロード 7 7 7
(86)国際出願番号	PCT/US2023/010514	(74)代理人	110003797
(87)国際公開番号	WO2023/137026		弁理士法人清原国際特許事務所
(87)国際公開日	令和5年7月20日(2023.7.20)	(72)発明者	ハン, エイミー
(31)優先権主張番号	63/298,786		アメリカ合衆国 1 0 5 9 1 ニューヨーク州 タリータウン オールド・ソウ・ミル・リバー・ロード 7 7 7 シー／オーリジェネロン ファーマシューティカルズ, インク.
(32)優先日	令和4年1月12日(2022.1.12)	F ターム (参考)	4C057 BB02 CC01 DD01 JJ55
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(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		

最終頁に続く	最終頁に続く
--------	--------

(54)【発明の名称】 タンパク質中のグルタミン残基にコンジュゲートしたカンプトテシンアナログおよびその使用

(57)【要約】

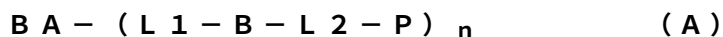
【解決手段】例えば、治療部分、例えば、カンプトテシンアナログおよび／または誘導体の標的的特異的な送達に有用であるタンパク質－薬物コンジュゲートおよびその組成物が本明細書に記載されている。特定の実施形態において、トランスグルタミナーゼおよび1, 3－環化付加技術の組み合わせを利用してタンパク質－薬物コンストラクト（例えば、抗体－薬物コンジュゲート）を生成するための特異的かつ効率的な方法が提供される。カンプトテシンアナログ、抗体－薬物コンジュゲート、ならびにグルタミンイル修飾抗体およびカンプトテシンアナログペイロードを含む組成物が提供される。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (A) :



の構造を有する化合物であって、式中、

B A は抗体またはその抗原結合断片であり、

L 1 は第 1 のリンカーであり、

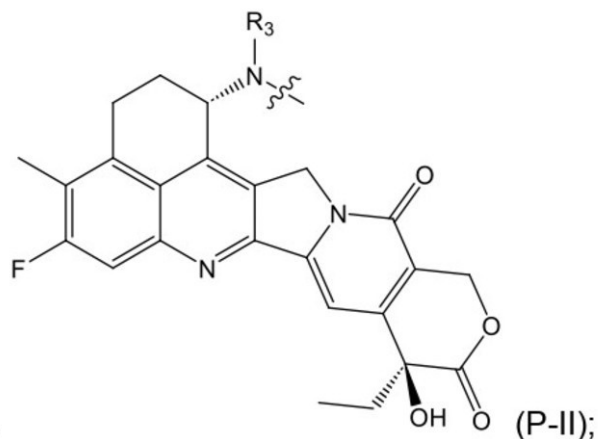
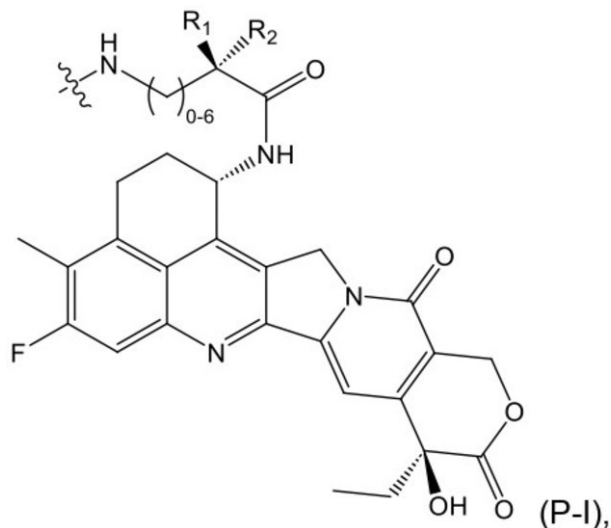
B はトリアゾールを含む部分であり、

L 2 は第 2 のリンカーであり、

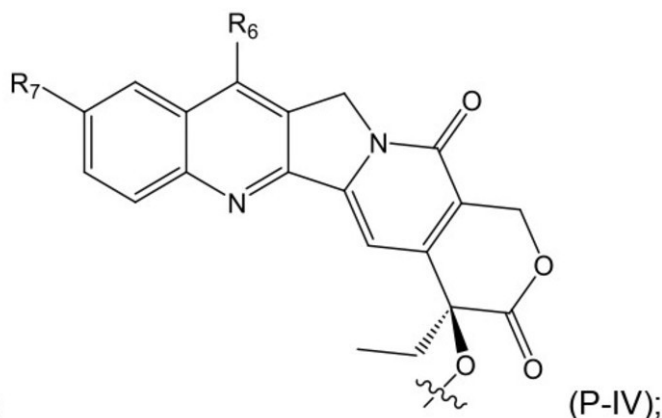
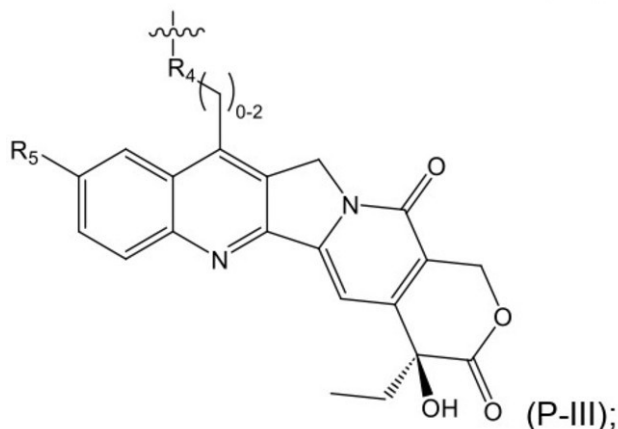
P は P-I ~ P-IV

10

【化 1】



20



30

からなる群から選択され、

R₁ は水素、C₁₋₆アルキル、-(CH₂)_v-OH、-(CH₂)_v-NH₂、-(CH₂)_v-C(O)OH、-(CH₂)_v-フェニル、および-(CH₂)_v-SO₂CH₃であり、v は 0 ~ 12 の整数であり、

R₂ は水素、C₁₋₆アルキル、-(CH₂)_v-OH、-(CH₂)_v-NH₂、-(CH₂)_v-C(O)OH、-(CH₂)_v-フェニル、および-(CH₂)_v-SO₂CH₃であり、v は 0 ~ 12 の整数であり、

R₃ は、水素、-C₁₋₆アルキル、-(CH₂)_v-OH、-(CH₂)_v-NH₂、-(CH₂)_v-C(O)OH、-(CH₂)_v-フェニル、-(CH₂)_v-SO₂CH₃、および-CO-(CH₂)_v-O-COCH₃であり、v は 0 ~ 12 の整数であり、

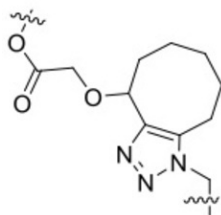
R₄ は、-NH-、-N(-C₁₋₆アルキル)、-N(-C₁₋₆アルキル)(-SO₂CH₃)、-N(-C₁₋₆アルキル)(-(CH₂)_v-OH)、-N(-C₁₋₆アルキル)(CO-CH₂-NH₂)、-N(-C₁₋₆アルキル)(-(CH₂)_v-O

40

50

$-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ ）、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{COOH})$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}_2)$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{フェニル})$ 、または

【化 2】

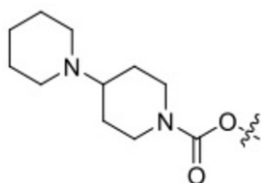


10

であり、 v は 0 ～ 12 の整数であり、

R_5 は H 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、または

【化 3】



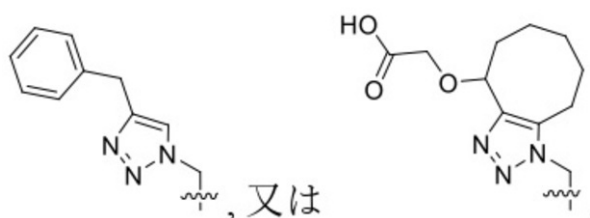
20

であり、

R_6 は、水素、 $-\text{C}_{1-6}\text{アルキル}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{フェニル}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{N}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{フェニル}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NMe}-\text{CH}_2-\text{フェニル}-\text{OMe}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-(\text{CH}_2)_v-\text{N}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-(\text{CH}_2)_v-\text{CCH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{フェニル}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{N}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{COOH}$

30

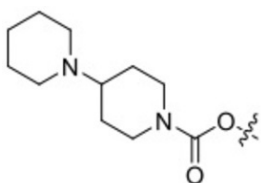
【化 4】



であり、 v は独立して、0 ～ 12 の整数であり、

R_7 は H 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、または

【化 5】



40

であり、

n は 1 ～ 12 の整数である、化合物。

【請求項 2】

50

前記第 1 のリンカー L 1 は、前記 B A のグルタミン残基の側鎖に接続される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

前記 B A は抗体またはその抗原結合断片である、請求項 1 ～ 2 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 4】

前記 B A は、1 つ以上のグルタミン残基を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 5】

前記グルタミン残基は、前記 B A の中に天然に存在するか、または 1 つ以上のアミノ酸の部位特異的な修飾によって前記 B A に導入される、請求項 2 ～ 4 のいずれか 1 つに記載の化合物。

10

【請求項 6】

前記 B A は、抗 H E R 2 抗体、抗 S T E A P 2 抗体、抗 M E T 抗体、抗 E G F R V I I I 抗体、抗 M U C 1 6 抗体、抗 P R L R 抗体、抗 P S M A 抗体、抗 F G F R 2 抗体、抗 F O L R 1 抗体、抗 H E R 2 / H E R 2 二重特異性抗体、抗 M E T / M E T 二重特異性抗体、またはその抗原結合断片である、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 7】

前記 B A は抗 H E R 2 抗体である、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 8】

20

前記 B A は乳癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、肝臓癌、および脳腫瘍からなる群から選択された癌を標的とする、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 9】

前記グルタミン残基は前記 B A の C H 2 ドメインまたは C H 3 ドメインに天然に存在する、請求項 2 ～ 8 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 10】

前記グルタミン残基は、1 つ以上のアミノ酸を修飾することによって前記 B A に導入される、請求項 2 ～ 9 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 11】

前記グルタミン残基は、Q 2 9 5 または N 2 9 7 Q である、請求項 2 ～ 10 のいずれか 1 つに記載の化合物。

30

【請求項 12】

L 1 は、C₁ - 6 アルキル、フェニル、アラルキル - N H -、- C (O) -、- (C H₂)_u - N H - C (O) -、- (C H₂)_u - C (O) - N H -、- (C H₂ - C H₂ - O)_v -、- (C H₂)_u - (O - C H₂ - C H₂)_v - C (O) - N H -、2 ～ 4 個のアミノ酸を含むペプチド単位、またはそれらの組み合わせを含み、これらのそれぞれは、- S -、- S (O₂) -、- C (O) -、- C (O₂) -、および - C O₂ H の 1 つ以上で任意選択で置換されてもよく、下付き文字の u および v は独立して、1 ～ 8 の整数である、請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 13】

40

L 1 は、

【表 1】

10

20

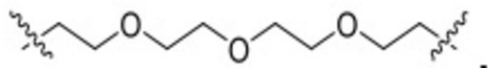
30

からなる群から選択される、請求項 1 ～ 12 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 14】

L 1 は

【化 6】



40

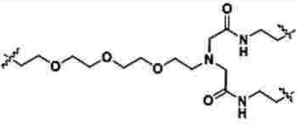
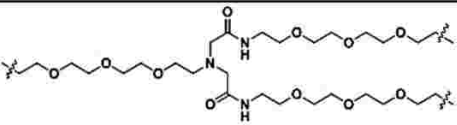
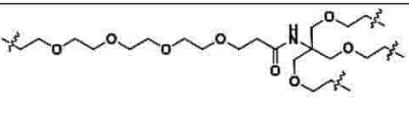
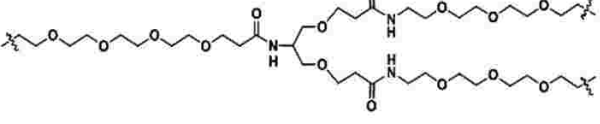
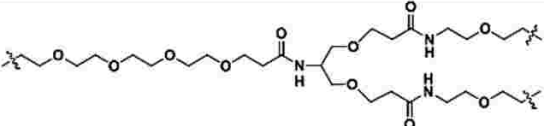
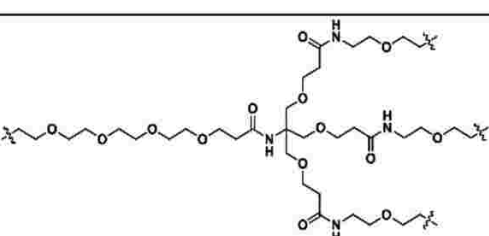
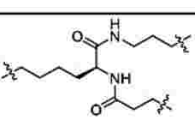
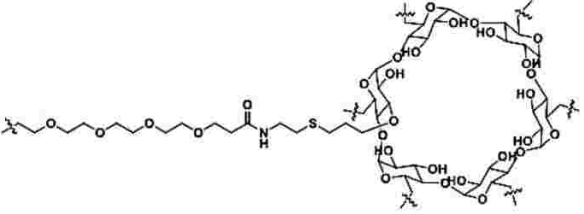
である、請求項 1 ～ 13 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 15】

L 1 は、

50

【表 2 - 1】

10

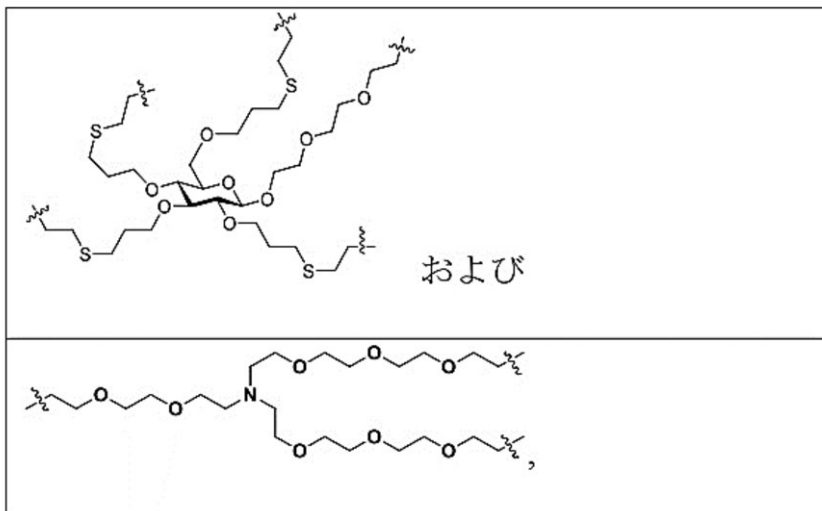
20

30

40

50

【表 2 - 2】



10

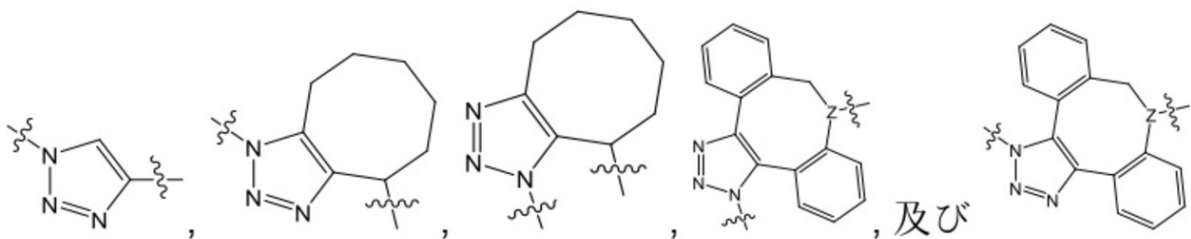
20

またはその薬学的に許容可能な塩からなる群から選択される、請求項 1 ～ 12 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 16】

B は、

【化 7】



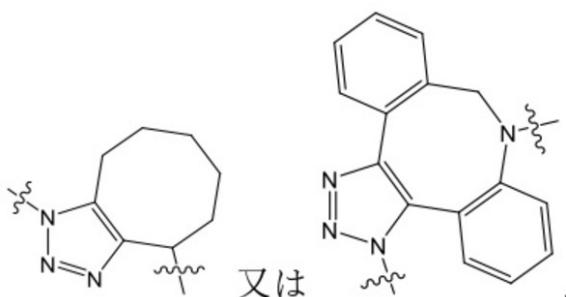
30

からなる群から選択され、Z は C または N である、請求項 1 ～ 15 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 17】

B は、

【化 8】



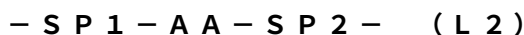
40

50

である、請求項 1～16 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 18】

L 2 は式 (L 2) :



の構造を有し、式中、

SP1 は存在しないか、または第 1 のスペーサー単位であり、

AA は存在しないか、または 2～4 個のアミノ酸を含むペプチド単位であり、

SP2 は存在しないか、または P に共有結合した第 2 のスペーサー単位であり、

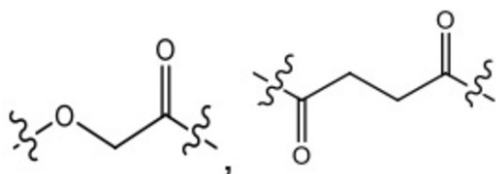
ただし、SP1、AA、および SP2 の少なくとも 1 つが存在しないことはないとする、請求項 1～17 のいずれか 1 つに記載の化合物。

10

【請求項 19】

SP1 は存在しないか、または、

【化 9】



、C₁～6 アルキル、 $-(CH_2-CH_2-O)_v-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-NH-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2)_u-$ 、 $-NH-(CH_2)_u-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2-CH_2-O)_v-$ 、 $-NH-(CH_2-CH_2-O)_v-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2-CH_2-O)_v-(CH_2)_u-$ 、 $-NH-(CH_2-CH_2-O)_v-(CH_2)_u-C(O)-$ 、 $-(CH_2)_u-NH-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2)_u-NH-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2)_u-C(O)-NH-$ 、およびそれらの組み合わせからなる群から選択され、下付き文字の u および v は独立して、1～8 の整数である、請求項 18 に記載の化合物。

20

【請求項 20】

AA は、アラニン、グリシン、バリン、プロリン、グルタミン酸、リジン、フェニルアラニン、およびシトルリン、ならびにそれらの組み合わせから選択された 2～4 個のアミノ酸を含むペプチド単位である、請求項 18 または 19 のいずれか 1 つに記載の化合物。

30

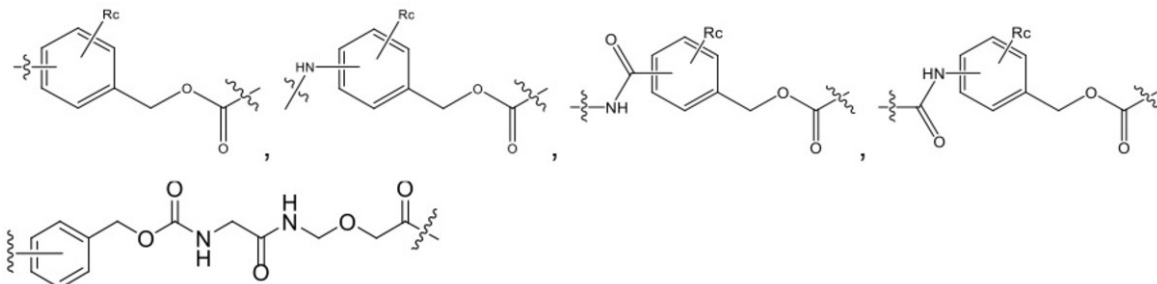
【請求項 21】

AA は、バリン-シトルリン、グルタミン酸-バリン-シトルリン、グリシン-グリシン-フェニルアラニン-グリシン、グリシン-グリシン-グリシン、またはグリシン-グリシン-グリシン-グリシンである、請求項 18～20 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 22】

SP2 は、存在しないか、または

【化 10】

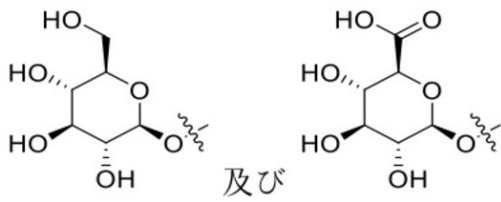


40

およびそれらの組み合わせからなる群から選択され、R_c は独立して、各出現時に、存在しないか、または

50

【化 1 1】



から選択される基である、請求項 18 ～ 21 のいずれか 1 つに記載の化合物。

10

【請求項 23】

L 2 は、

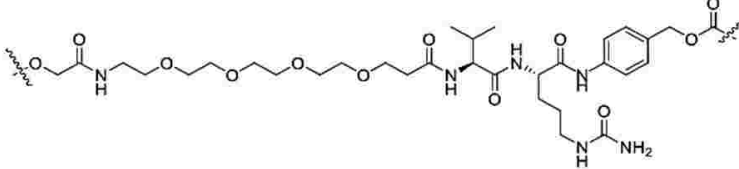
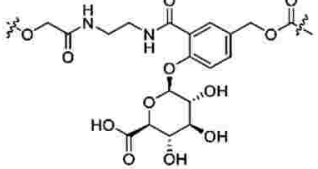
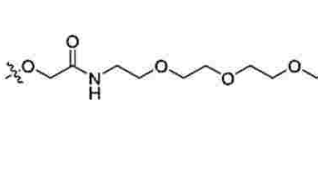
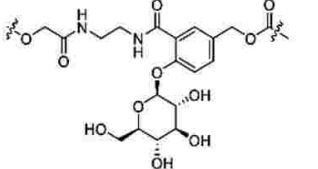
20

30

40

50

【表 3 - 1】

10

20

30

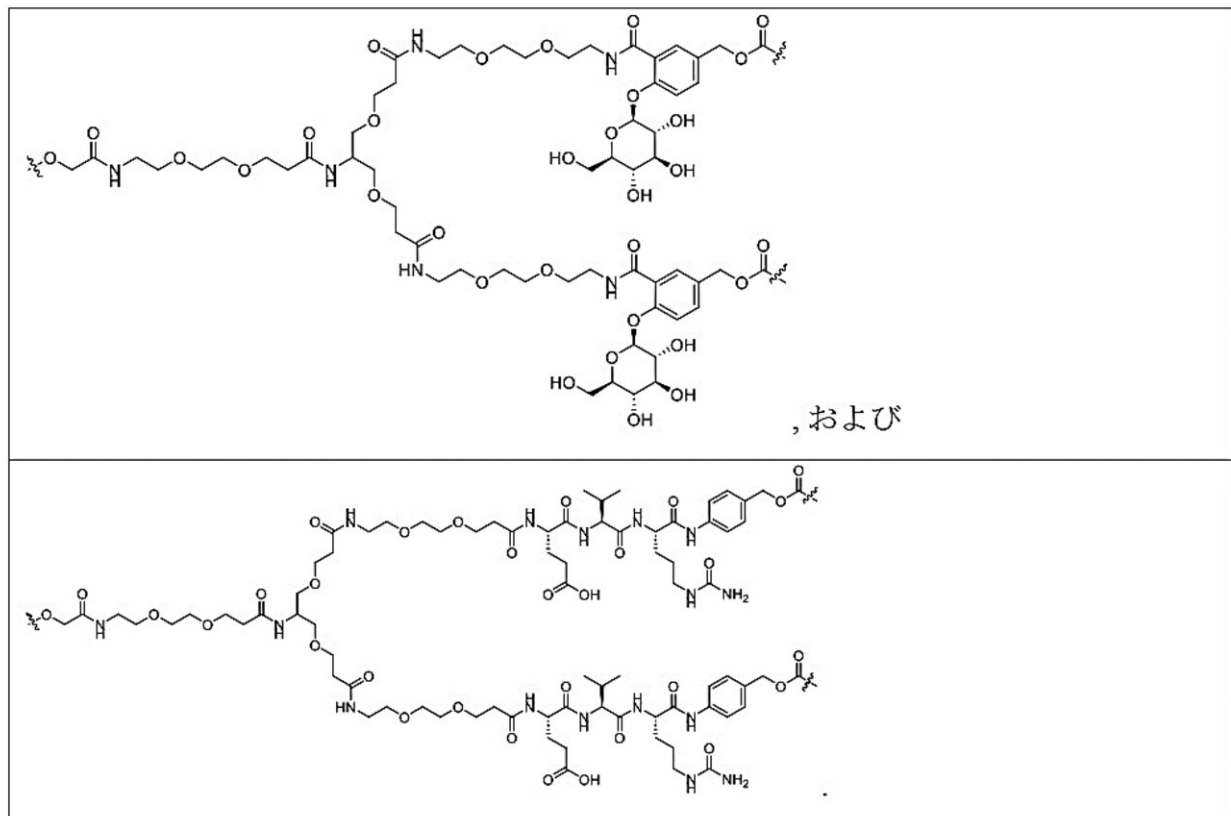
40

50

10

30

【表 3 - 3】



からなる群から選択される、請求項 1～22 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 24】

n は 4 である、請求項 1～23 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 25】

n は 2 である、請求項 1～24 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 26】

n は 8 である、請求項 1～25 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 27】

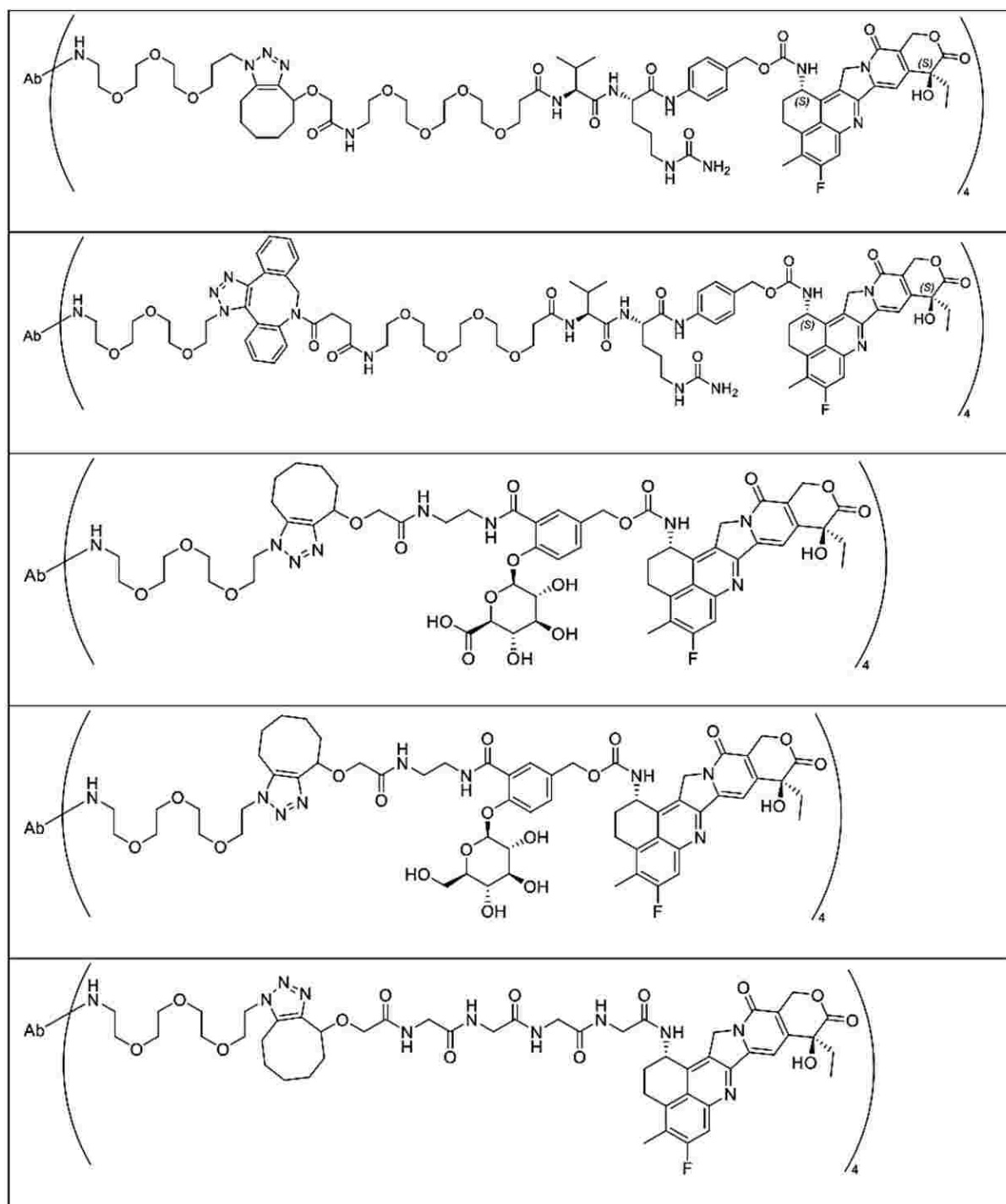
前記化合物、またはその薬学的に許容可能な塩は、

30

40

50

【表 4 - 1】



10

20

30

40

50

Chemical structures of four antibody-drug conjugates (Ab-DCs) labeled 1, 2, 3, and 4. Each structure shows an antibody (Ab) linked to a drug molecule (DC) via a linker. The linker contains a triazole ring and a fluorinated quinoline moiety. The drug molecule is a fluorinated quinoline derivative with a hydroxyl group and a fluorine atom. The linker also includes a poly(ethylene glycol) (PEG) chain and a hydroxyl group. The structures are shown in a repeating unit format with a subscript 4.

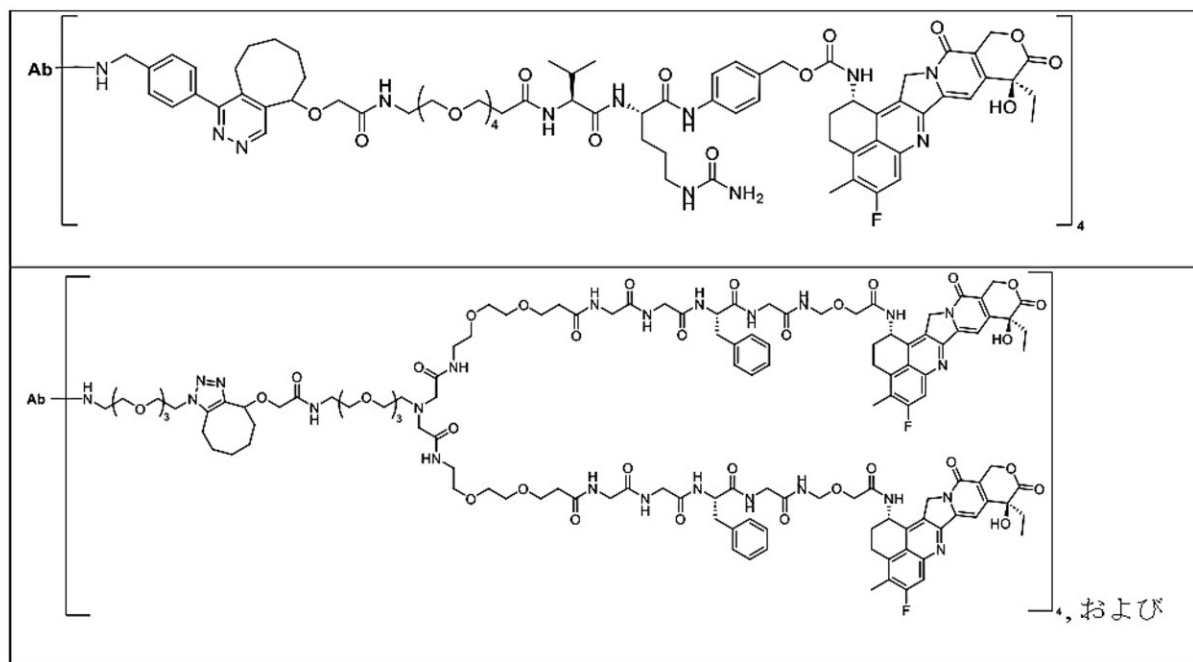
20

30

40

50

【表 4 - 3】



10

20

からなる群から選択される構造を有する、請求項 1 ～ 26 のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 28】

式 (A l k - L 2 - P) :



の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩であって、式中、

A l k はアルキンを含む部分であり、

S P 1 は存在しないか、または第 1 のスペーサー単位であり、

A A は存在しないか、または 2 ～ 4 個のアミノ酸を含むペプチド単位であり、

S P 2 は存在しないか、または第 2 のスペーサー単位であり、

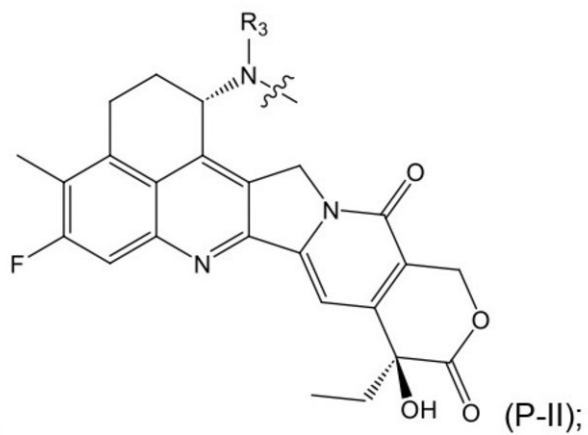
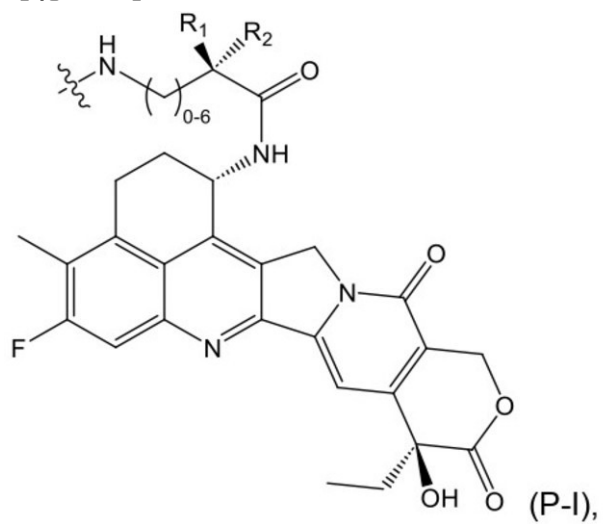
P は P - I ～ P - I V

30

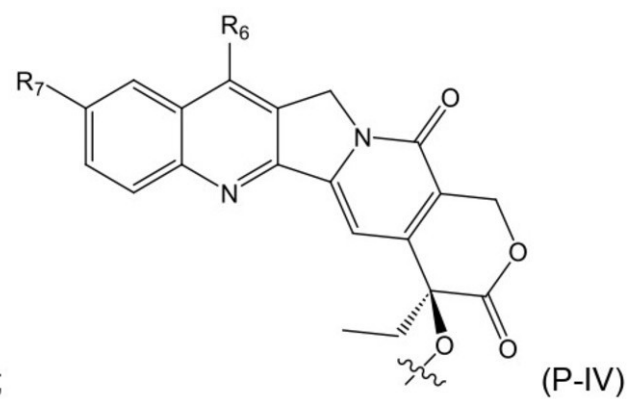
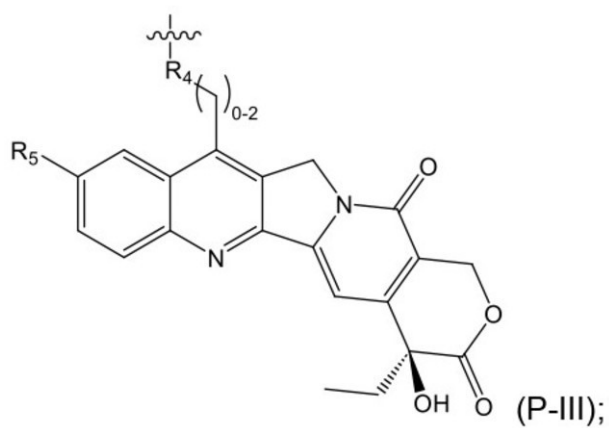
40

50

【化 1 2】



10



20

からなる群から選択される、化合物、またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 29】

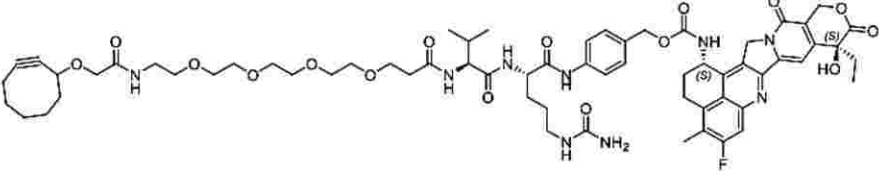
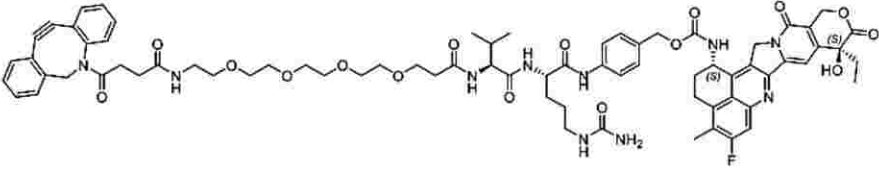
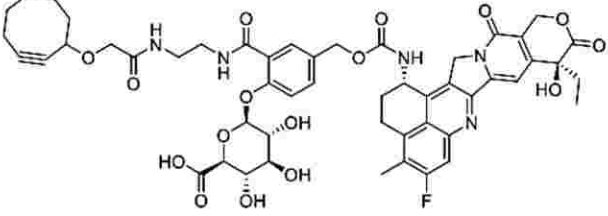
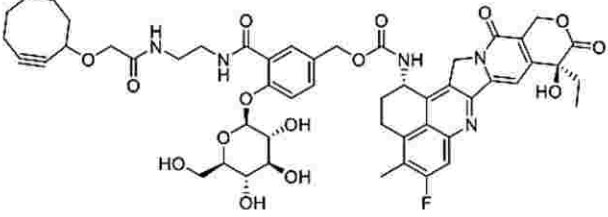
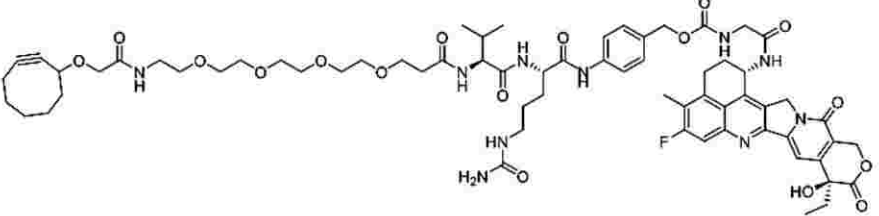
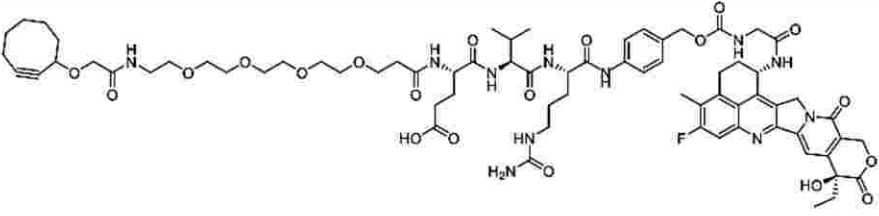
式 (A l k - L 2 - P) の前記化合物は、

30

40

50

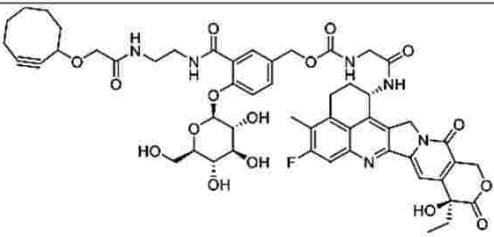
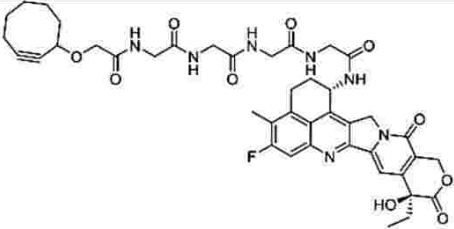
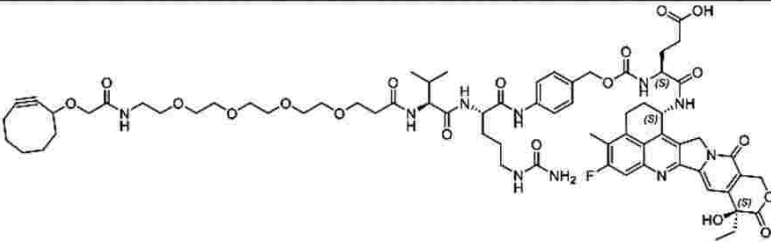
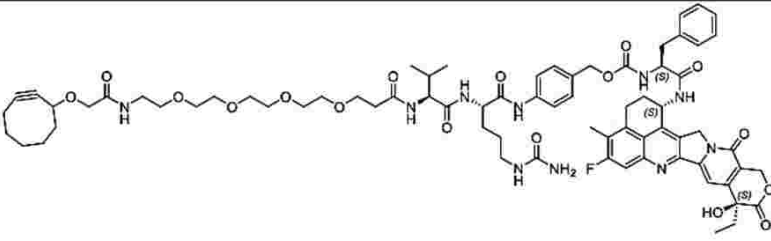
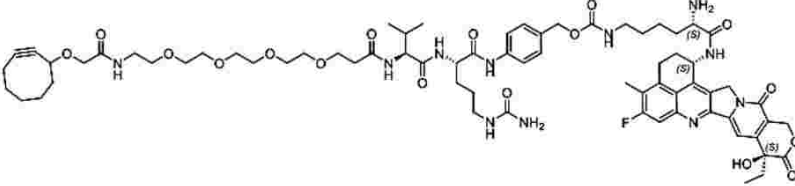
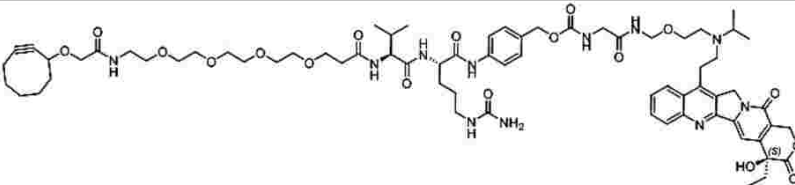
【表 5 - 1】

	
	10
	
	20
	30
	

40

50

【表 5 - 2】

	
	10
	20
	
	30
	

10

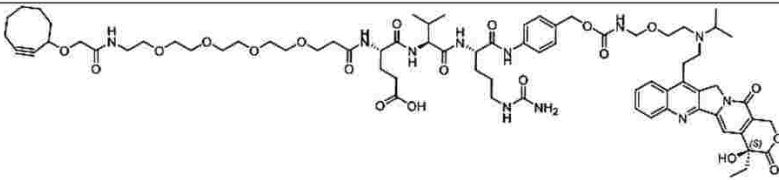
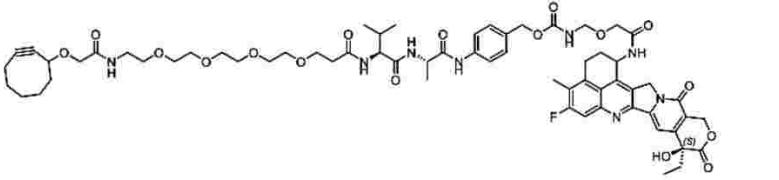
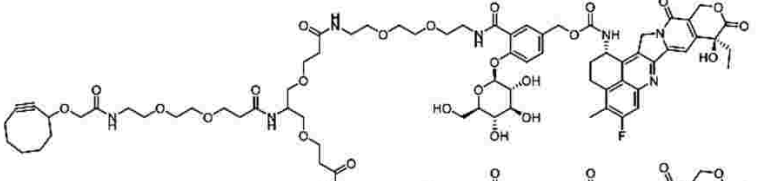
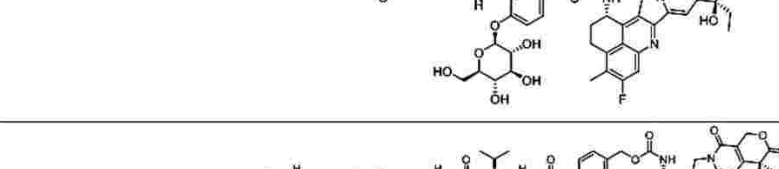
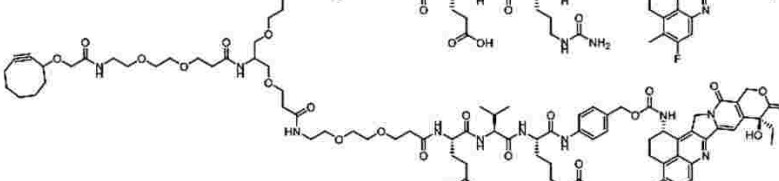
20

30

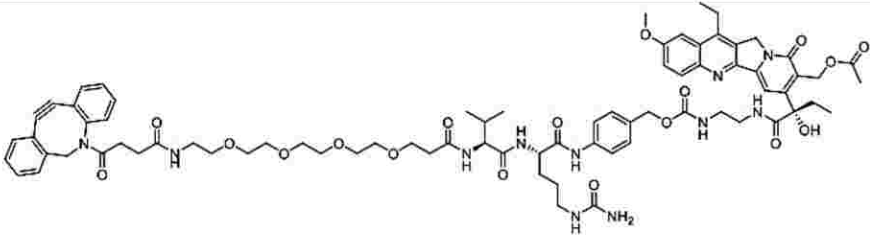
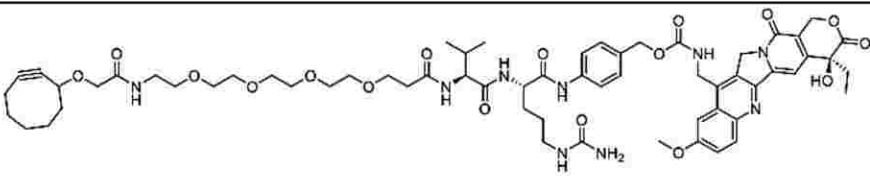
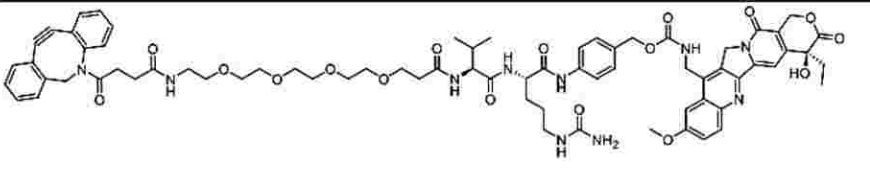
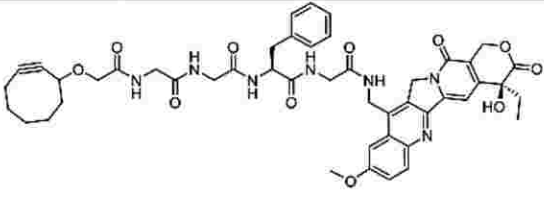
40

50

【表 5 - 3】

	
	10
	20
	30
	40

【表 5 - 4】

	10
	
	
	20

からなる群から選択される、請求項 28 に記載の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩。

30

【請求項 30】

約 0.5 ～ 約 12.0 の薬物 - 抗体比 (DAR) を有する、請求項 1 ～ 29 のいずれか 1 つに記載の化合物の集団を含む、組成物。

【請求項 31】

約 1.0 ～ 約 2.5 の DAR を有する、請求項 30 に記載の組成物。

【請求項 32】

約 2 の DAR を有する、請求項 31 に記載の組成物。

【請求項 33】

約 3.0 ～ 約 4.5 の DAR を有する、請求項 32 に記載の組成物。

40

【請求項 34】

約 4 の DAR を有する、請求項 33 に記載の組成物。

【請求項 35】

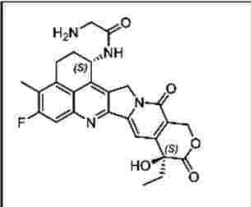
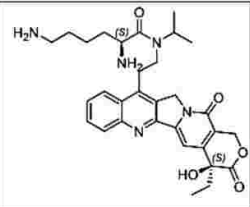
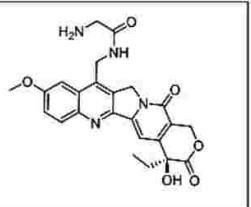
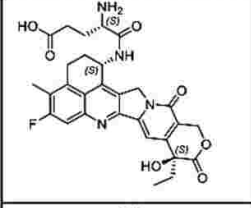
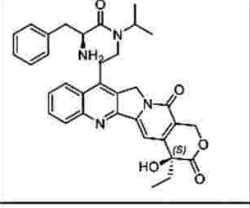
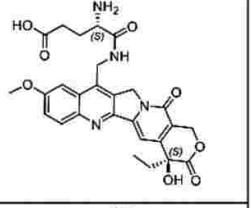
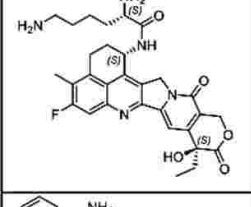
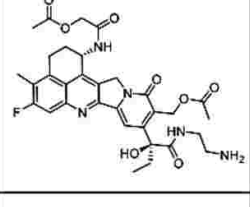
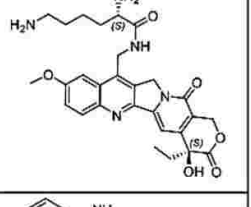
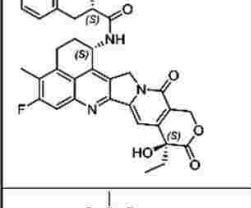
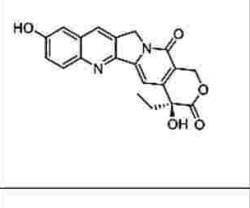
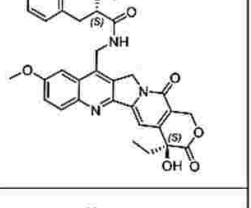
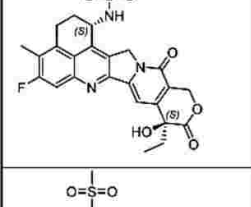
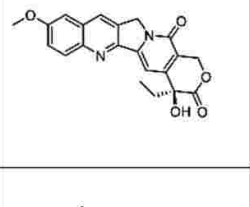
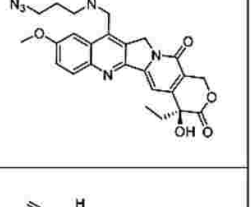
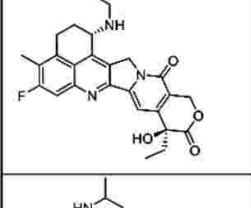
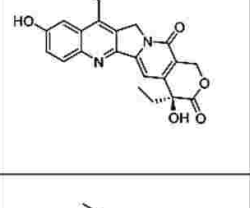
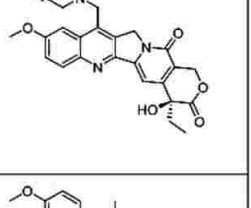
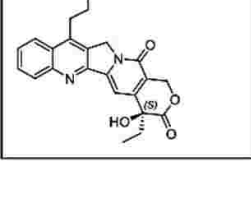
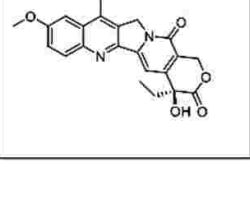
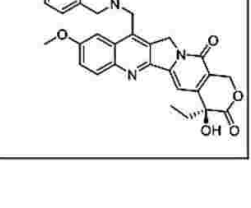
約 6.5 ～ 約 8.5 の DAR を有する、請求項 34 に記載の組成物。

【請求項 36】

約 8 の DAR を有する、請求項 35 に記載の組成物。

【請求項 37】

【表 6 - 1】

10

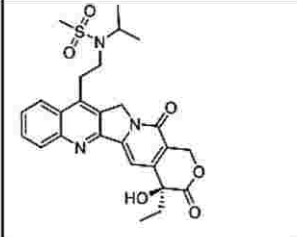
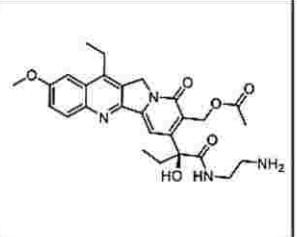
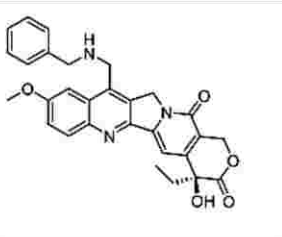
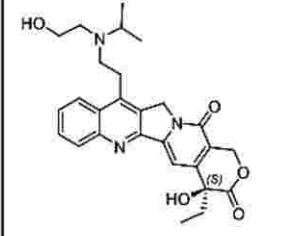
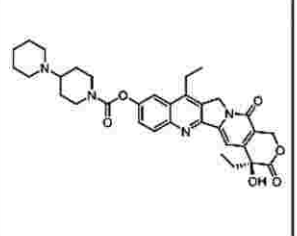
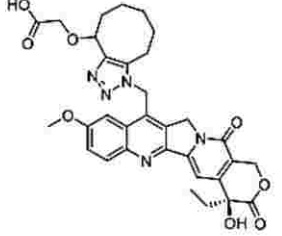
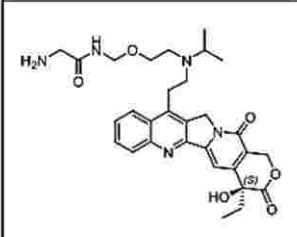
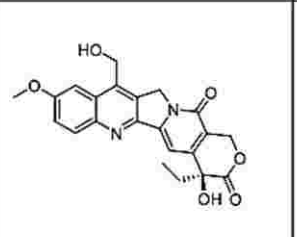
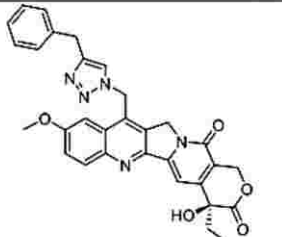
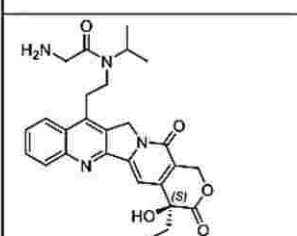
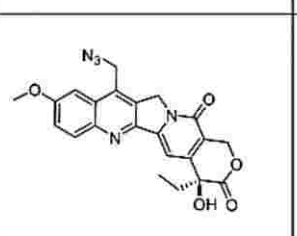
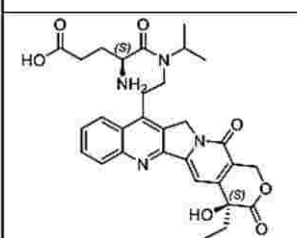
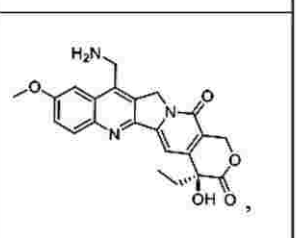
20

30

40

50

【表 6 - 2】

10

20

30

からなる群から選択される構造を有する、化合物、またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 38】

40

請求項 1～29 および 37 のいずれか 1 つに記載の化合物と、希釈剤、担体、および／または賦形剤とを含む、医薬組成物。

【請求項 39】

腫瘍および／または癌を処置する方法であって、前記腫瘍および／または癌を請求項 37 に記載の化合物と接触させる工程を含む、方法。

【請求項 40】

疾病の処置を必要とする対象における疾病を処置する方法であって、治療有効量の請求項 1～29 および 37 のいずれか 1 つに記載の化合物、または請求項 30～36 のいずれか 1 つに記載の組成物を、前記対象に投与する工程を含む、方法。

【請求項 41】

50

前記疾病は癌である、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 42】

前記癌は、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、肝臓癌、または脳腫瘍からなる群から選択される、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

前記疾病は H E R 2 + 乳癌である、請求項 39 または 41 に記載の方法。

【請求項 44】

化合物を細胞に選択的に送達する方法であって、前記化合物は、請求項 1 ～ 29 および 37 のいずれか 1 つに記載のものである、方法。

【請求項 45】

細胞の表面上の抗原を化合物で選択的に標的化する方法であって、前記化合物は、請求項 1 ～ 29 および 37 のいずれか 1 つに記載のものである、方法。

【請求項 46】

前記細胞は哺乳動物細胞である、請求項 44 または 45 に記載の方法。

【請求項 47】

前記細胞はヒト細胞である、請求項 44 ～ 46 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 48】

前記細胞は癌細胞である、請求項 44 ～ 47 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 49】

前記癌細胞は、乳癌細胞、卵巣癌細胞、前立腺癌細胞、肺癌細胞、肝臓癌細胞、または脳腫瘍細胞からなる群から選択される、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

式 (A) :



の構造を有する化合物を生成する方法であって、式中、

B A は抗体またはその抗原結合断片であり、

L 1 は、前記 B A のグルタミン残基の側鎖に共有結合する第 1 のリンカーであり、

B はトリアゾールを含む部分であり、

L 2 は、P に共有結合する第 2 のリンカーであり、

P は、P - I ~ P - I V

10

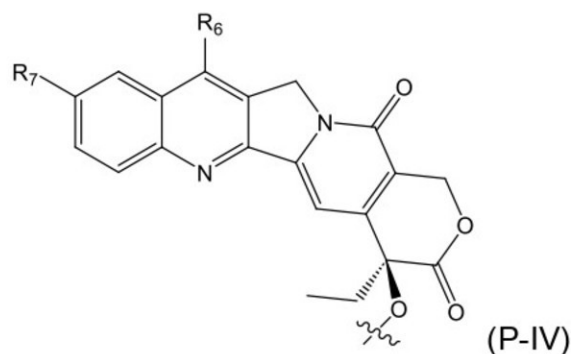
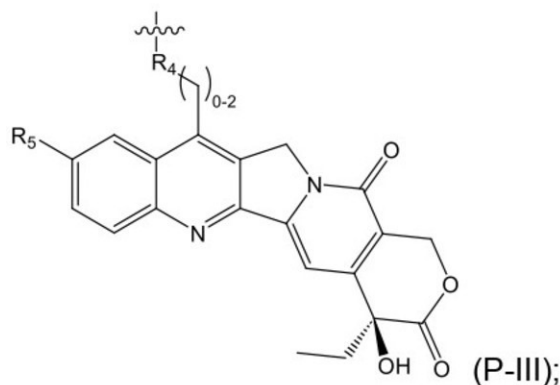
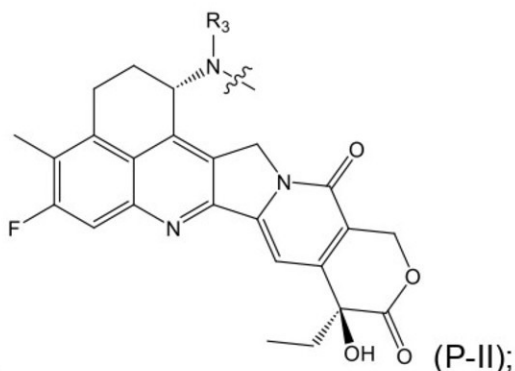
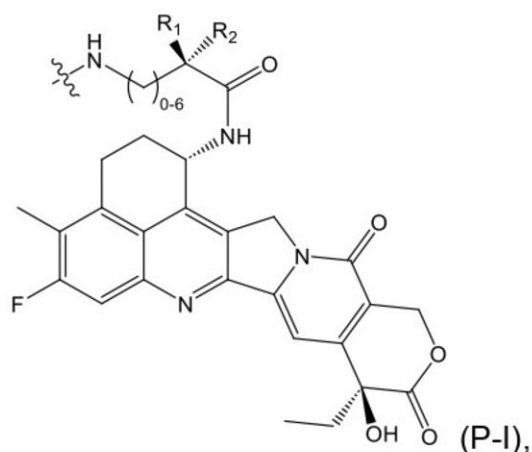
20

30

40

50

【化 1 3】



10

20

からなる群から選択された抗腫瘍剤であり、

R_1 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

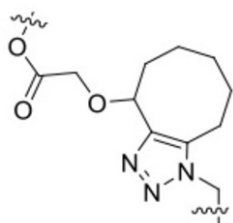
30

R_3 は、水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ 、および $-CO-(CH_2)_v-O-COCH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

R_4 は、 $-NH-$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-SO_2CH_3)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-(CH_2)_v-OH)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-(CH_2)_v-O-CH_2-NH-CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル)、または

40

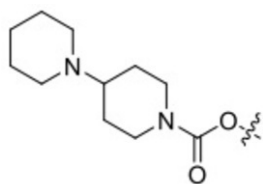
【化 1 4】



であり、 v は 0~12 の整数であり、

50

R_5 は H、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または
【化 15】

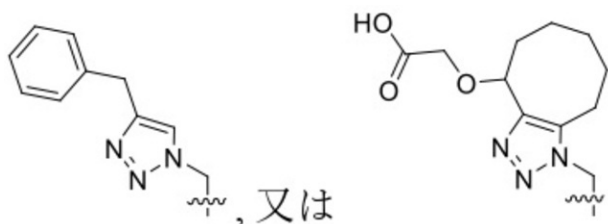


であり、

R_6 は、水素、 $-C_{1-6}$ アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CH_2$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NMe-CH_2$ -フェニル-OMe、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-CCH$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH$ 、

10

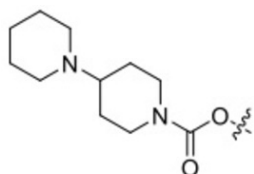
【化 16】



20

であり、 v は独立して、 $0 \sim 12$ の整数であり、

R_7 は H、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または
【化 17】



30

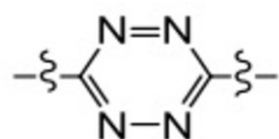
であり、前記方法は、

a) トランスグルタミナーゼの存在下で、少なくとも 1 つのグルタミン残基を含む BA を、化合物 L1-B' と接触させる工程と、

b) 工程 a) の生成物を、1 つ以上の当量の化合物 B''-L2-P と接触させる工程であって、基 B'' が基 B' に共有結合することができ、前記基 B' および B'' の一方は、-N および

40

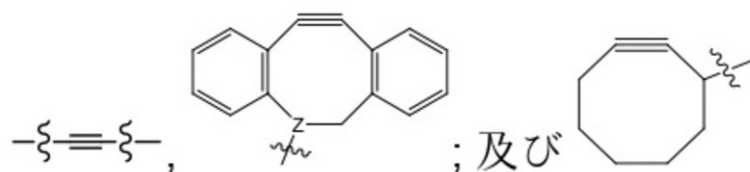
【化 18】



から選択され、前記基 B' および B'' の他方は、

50

【化 1 9】



から選択され、ZはCまたはNである、工程と、

c) 生成された式(A)の化合物を単離する工程と、を含む、方法。

【請求項 5 1】

式(A)の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩は、

10

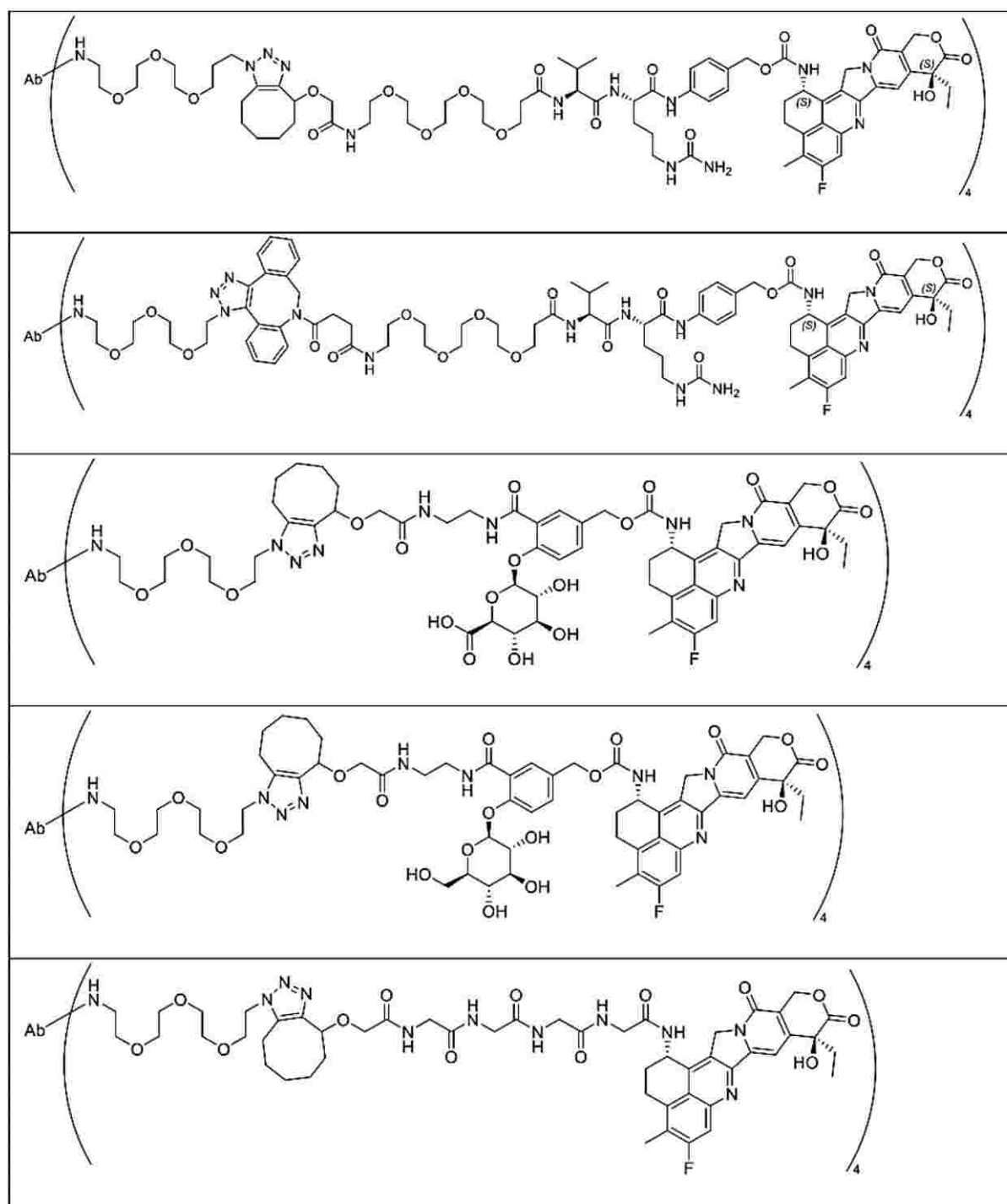
20

30

40

50

【表 7 - 1】



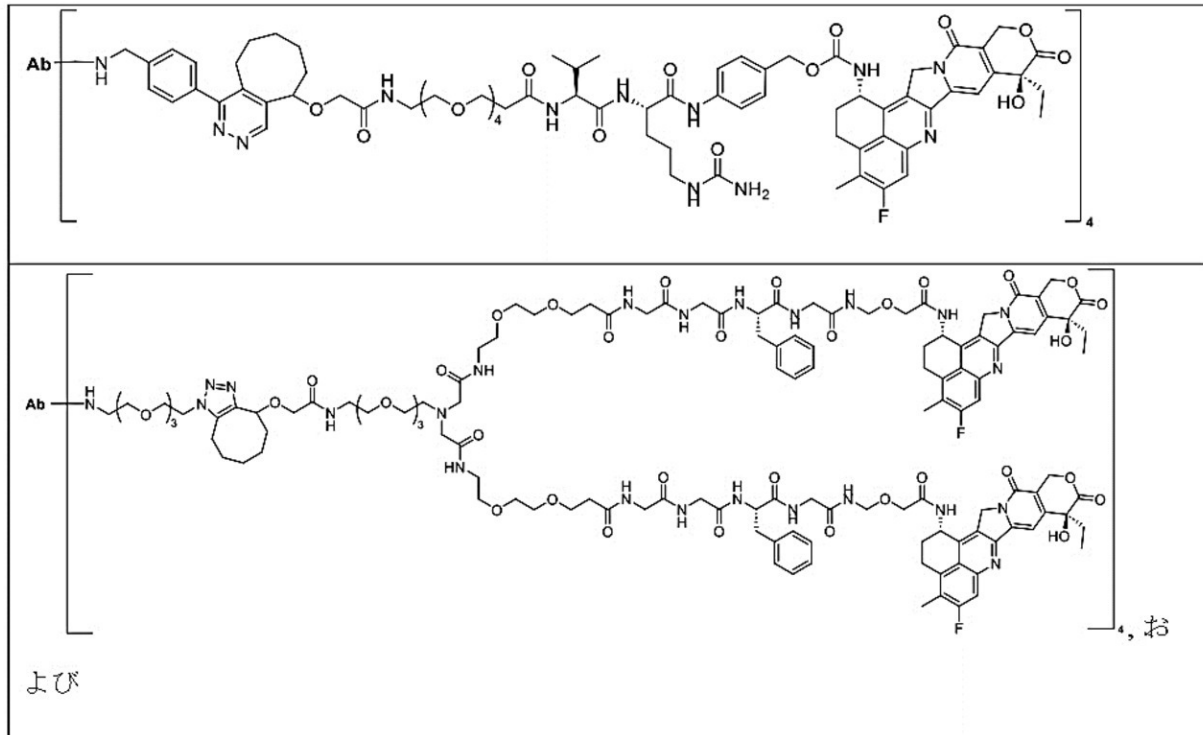
40

50

[illegible]

40

【表 7 - 3】



10

20

からなる群から選択される構造を有する、請求項 50 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

関連出願への相互参照

本出願は、2022年1月12日に出願された米国仮出願第63／298,786号の優先権を主張する。本出願の全内容は全体として参照することによって本明細書に組み入れられる。

【0002】

開示の分野

本開示は、タンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗体-薬物コンジュゲート）、医薬組成物、およびそれを用いて疾患を処置する方法に関する。同様に、トランスグルタミナーゼおよび1,3-環化付加技術の組み合わせを利用してタンパク質-薬物コンジュゲートを生成するための方法も提供される。より具体的には、本開示は、プロエキサテカン（pro-exatecan）およびエキサテカンを含むタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗体-薬物コンジュゲート）に関する。

40

【背景技術】

【0003】

増殖性疾患は、異常な細胞の制御不能な成長および拡散を特徴とする。拡散が制御されない場合、死をもたらす。異常な増殖、例えば、癌は、外部因子（例えば、タバコ、化学物質、放射線、および感染性生物）および内部因子（遺伝性突然変異、免疫系状態、代謝から生じる突然変異）の両方によって引き起こされる。これらの原因因子は一緒にまたは順次作用して、異常な増殖を開始または促進することがある。癌は、手術、放射線、

50

化学療法、ホルモン、および免疫療法によって治療される。しかしながら、より効果的な抗増殖薬が必要とされている。

【0004】

理想的な抗増殖療法となると、腫瘍細胞への高度に細胞傷害性の薬剤の標的化送達を可能にし、正常細胞が影響を受けないようにすることとなる。従来の化学療法処置は、非癌性細胞に対する薬物の効果から生じる毒性副作用が原因で制限されている。タンパク質および細胞の合成を停止させる、腫瘍標的プローブ（抗体または成長因子など）とシュードモナスまたはジフテリア毒素などの毒素とのコンジュゲートの使用を含む、標的化薬物送達に対する様々なアプローチが試みられている。しかしながら、副作用には、コンジュゲートの非ヒト成分による免疫系の反応がある。さらに、薬物コンジュゲートの半減期は、腎臓濾過による循環からの排除、ならびに略式的な分解（schematic degradation）、細網内皮系（RES）による取り込み、および非標的臓器と組織における蓄積が原因で制限されていた。

10

【0005】

別の手法は、ポリマー、リボソーム、およびポリマーミセルなどの受動的な薬物担体を使用して、腫瘍組織の血管内皮の高透過性を利用する。ポリマー性薬物および高分子は、透過性および滞留性亢進機構により固形腫瘍内に蓄積する。しかしながら、そのような標的化送達の利用を妨げるものとしては、血液からの異物粒子の速い除去、ならびに腫瘍細胞に結合するために必要な特異性および選択性を有する、高度に標準化された薬学的に許容可能な薬物送達系を得る技術的な障害が挙げられる。

20

【0006】

抗体コンジュゲートなどのタンパク質コンジュゲートは、対象の組織内の標的にペイロードを送達するために結合剤の選択的な結合を利用する。ペイロードは標的で対策をとることができる治療用部分であり得る。

【0007】

リンカーおよびペイロードを抗体にコンジュゲートするためのいくつかの技術は利用可能である。多くのコンジュゲートは、抗体中のシステインまたはリジン残基への非選択的な共有結合によって調製される。この非選択的な技術は、異なる部位でのコンジュゲーションおよび抗体あたりの異なるコンジュゲーション数を有する生成物の不均質な混合物をもたらす。したがって、当技術分野において、部位選択的な抗体コンジュゲーションを提供する方法および技術が必要とされている。

30

【0008】

単剤療法および併用療法で使用するための癌などの疾患の治療の増強をもたらすために様々な抗原に結合することができるさらに安全かつ有効な抗腫瘍標的化剤が当技術分野で必要とされている。特定の実施形態において、本開示はニーズを満たし、他の利点を提供する。

【0009】

前述の議論は、当技術分野に直面する問題の性質のより良い理解をもたらすためにのみ提示され、いかなる意味でも先行技術に関する承認として解釈されるべきではなく、さらに本明細書における任意の参考文献の引用は、そのような参考文献が本出願に対する「先行技術」を構成することを承認するものとして解釈されるべきでもない。

40

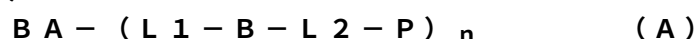
【発明の概要】

【0010】

本開示のさまざまな非限定的な態様および実施形態を以下に記載する。

【0011】

一態様では、本開示は、式（A）：



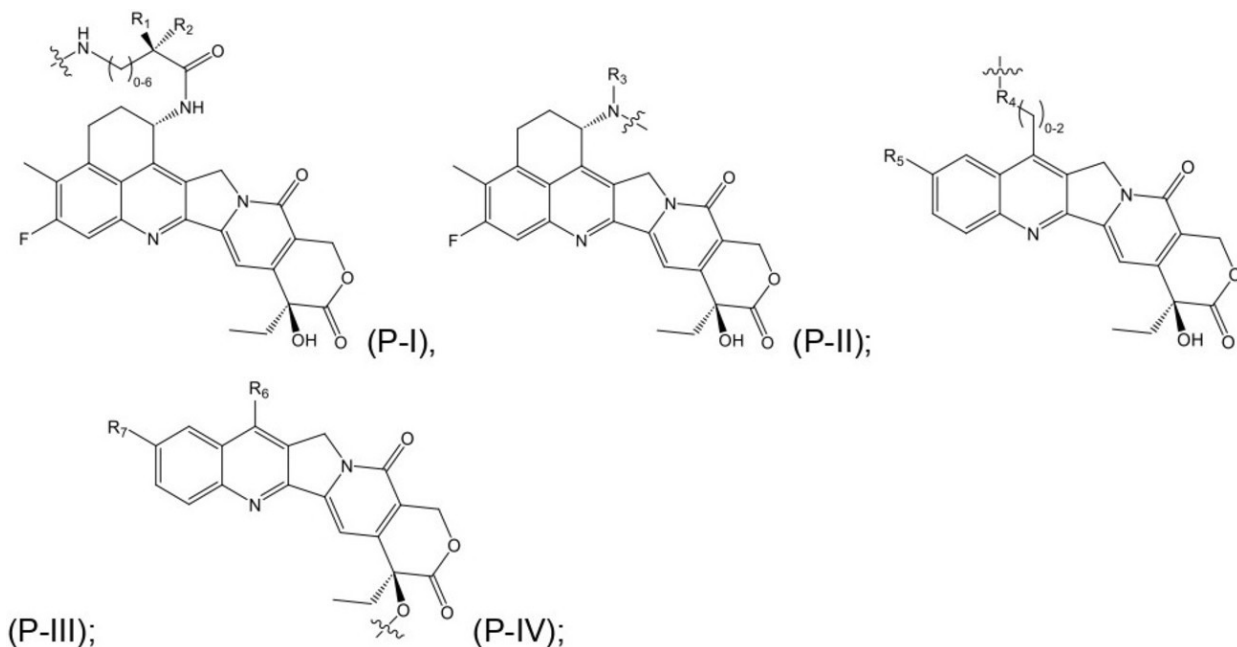
の構造を有する化合物を提供し、式中、

BAは抗体またはその抗原結合断片であり、L1は第1のリンカーであり、Bはトリアゾールを含む部分であり、L2は第2のリンカーであり、PはP-I~P-IV

50

【 0 0 1 2 】

【 化 1 】



10

20

からなる群から選択され、

R_1 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0 ~ 12 の整数であり、

R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0 ~ 12 の整数であり、

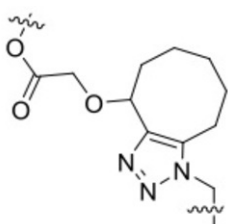
R_3 は、水素、 $-(C_{1-6}$ アルキル)、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ 、および $-CO-(CH_2)_v-O-COCH_3$ であり、 v は 0 ~ 12 の整数であり、

30

R_4 は、 $-NH-$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル)、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $-(SO_2CH_3)$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $(CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $-(CH_2)_v-O-CH_2-NH-CO-CH_2-NH_2$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $(CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH)$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $(CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $(CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル)、または

【 0 0 1 3 】

【 化 2 】



40

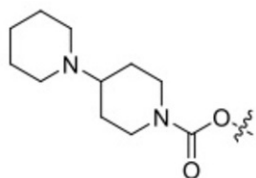
であり、 v は 0 ~ 12 の整数であり、

R_5 は H、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【 0 0 1 4 】

50

【化 3】



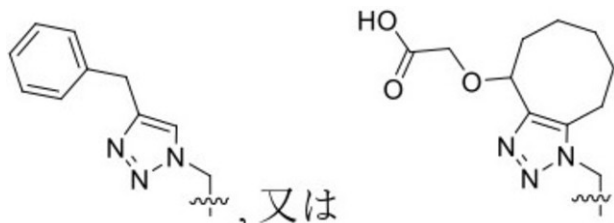
であり、

R_6 は、水素、 $-C_{1-6}$ アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CH_2$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NMe-CH_2$ -フェニル-OMe、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-CCH$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH$

10

【0015】

【化 4】



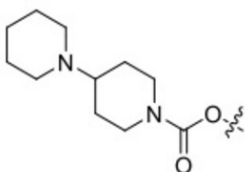
20

であり、 v は独立して、 $0 \sim 12$ の整数であり、

R_7 は、 H 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【0016】

【化 5】



30

であり、 n は $1 \sim 12$ の整数である。

【0017】

1つの実施形態において、第1のリンカー L_1 は、 BA のグルタミン残基の側鎖に接続される。

【0018】

40

1つの実施形態において、 BA は抗体またはその抗原結合断片である。

【0019】

1つの実施形態において、 BA は抗体またはその抗原結合断片である。

【0020】

1つの実施形態において、 BA は1つ以上のグルタミン残基を含む。

【0021】

1つの実施形態において、グルタミン残基は、前記 BA の中に天然に存在するか、または1つ以上のアミノ酸の部位特異的な修飾によって BA に導入される。

【0022】

1つの実施形態において、 BA は、抗 $HER2$ 抗体、抗 $STEAP2$ 抗体、抗 MET 抗

50

体、抗EGFRVIIII抗体、抗MUC16抗体、抗PRLR抗体、抗PSMA抗体、抗FGFR2抗体、抗FOLR1抗体、抗HER2／HER2二重特異性抗体、抗MET／MET二重特異性抗体、またはその抗原結合断片である。

【0023】

1つの実施形態において、BAは抗HER2抗体である。

【0024】

1つの実施形態において、BAは乳癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、肝臓癌、および脳腫瘍からなる群から選択された癌を標的とする。

【0025】

1つの実施形態において、しばしばQとして表示されるグルタミン残基は天然に、BAのCH2ドメインまたはCH3ドメインに存在する。1つの実施形態において、グルタミン残基は、1つ以上のアミノ酸を部位特異的に修飾することによってBAに導入される。1つの実施形態において、グルタミン残基は、Q295またはN297Qである。

【0026】

1つの実施形態において、L1は、C₁₋₆アルキル、フェニル、アラルキル-NH-、-C(O)-、-(CH₂)_u-NH-C(O)-、-(CH₂)_u-C(O)-NH-、-(CH₂-CH₂-O)_v-、-(CH₂)_u-(O-CH₂-CH₂)_v-C(O)-NH-、2～4個のアミノ酸を含むペプチド単位、またはそれらの組み合わせを含み、これらのそれぞれは、-S-、-S(O₂)-、-C(O)-、-C(O₂)-、および-CO₂Hの1つ以上で任意選択で置換されてもよく、下付き文字のuおよびvは独立して、1～8の整数である。

【0027】

いくつかの実施形態において、L1は、

【0028】

10

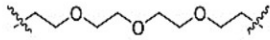
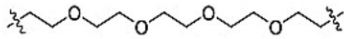
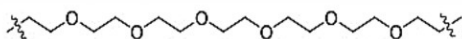
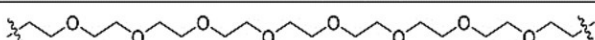
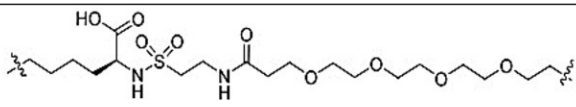
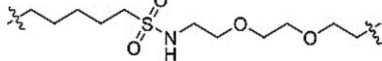
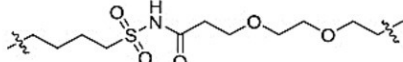
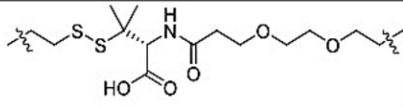
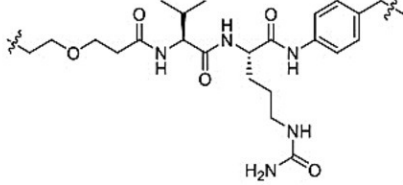
20

30

40

50

【表 1】








 , および


10

20

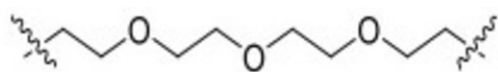
からなる群から選択される。

【0029】

1つの実施形態において、L1は

【0030】

【化6】



である。

【0031】

1つの実施形態において、L1は、

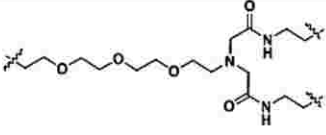
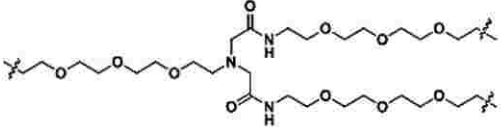
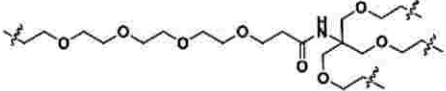
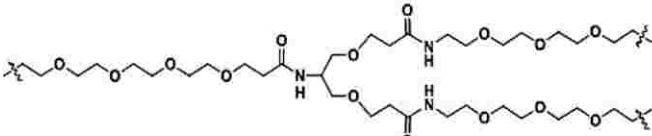
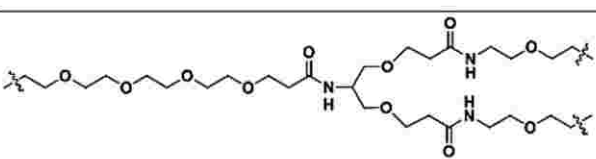
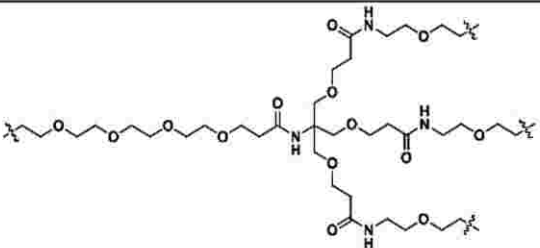
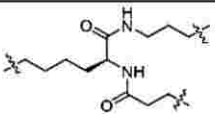
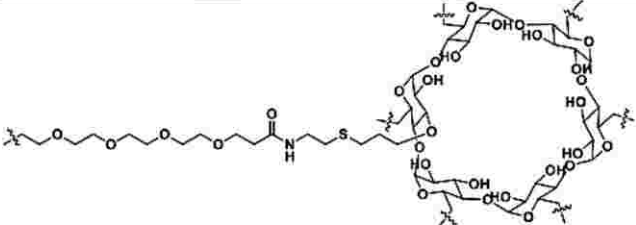
【0032】

30

40

50

【表 2 - 1】

10

20

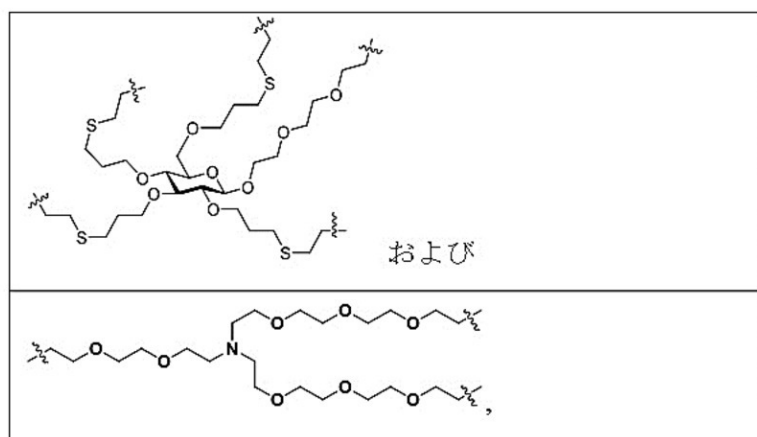
30

40

【 0 0 3 3 】

50

【表 2 - 2】



10

20

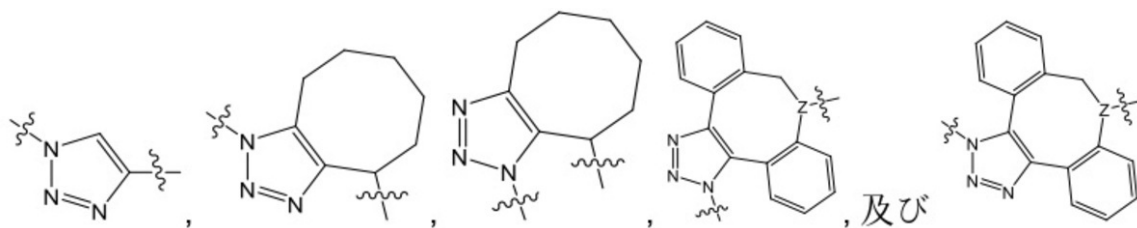
またはその薬学的に許容可能な塩からなる群から選択される。

【0034】

1つの実施形態において、Bは、

【0035】

【化7】



30

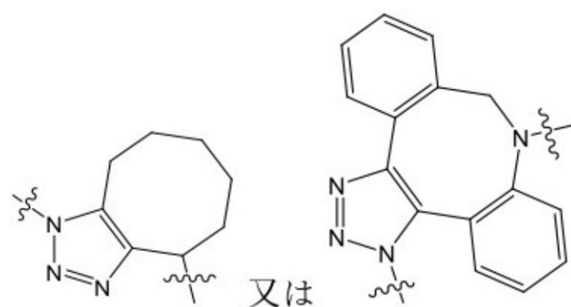
からなる群から選択され、ZはCまたはNである。

【0036】

1つの実施形態において、Bは

【0037】

【化8】

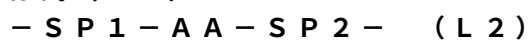


40

である。

【0038】

1つの実施形態において、L2は式(L2)：



50

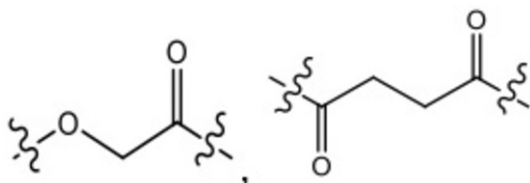
の構造を有し、式中、SP1は存在しないか、または第1のスペーサー単位であり、AAは存在しないか、または2～4個のアミノ酸を含むペプチド単位であり、SP2は存在しないか、またはPに共有結合した第2のスペーサー単位であり、ただし、SP1、AA、およびSP2の少なくとも1つが存在しないことはないとする。

【0039】

1つの実施形態において、SP1は存在しないか、または、

【0040】

【化9】



10

、C₁～6アルキル、 $-(CH_2-CH_2-O)_v-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-NH-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2)_u-$ 、 $-NH-(CH_2)_u-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2-CH_2-O)_v-$ 、 $-NH-(CH_2-CH_2-O)_v-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2-CH_2-O)_v-(CH_2)_u-$ 、 $-NH-(CH_2-CH_2-O)_v-(CH_2)_u-C(O)-$ 、 $-(CH_2)_u-NH-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2)_u-NH-C(O)-$ 、 $-NH-(CH_2)_u-C(O)-NH-$ 、およびそれらの組み合わせからなる群から選択され、下付き文字のuおよびvは独立して、1～8の整数である。

20

【0041】

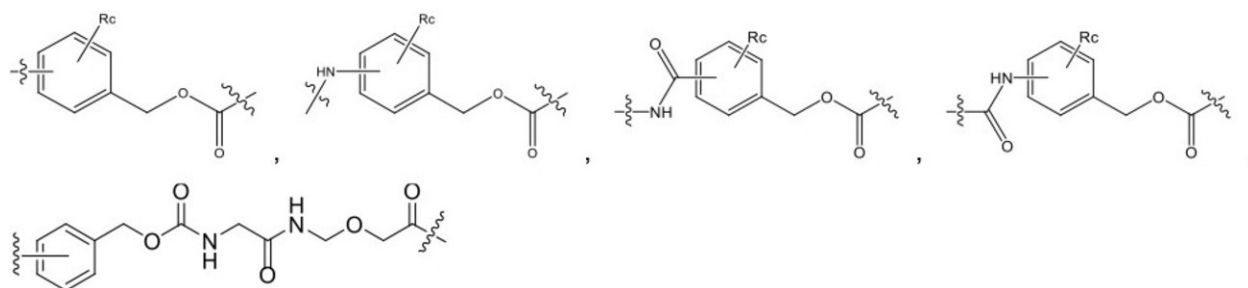
1つの実施形態において、AAは、アラニン、グリシン、バリン、プロリン、グルタミン酸、リジン、フェニルアラニン、およびシトルリン、ならびにそれらの組み合わせから選択された2～4個のアミノ酸を含むペプチド単位である。1つの実施形態において、AAは、バリン-シトルリン、グルタミン酸-バリン-シトルリン、グリシン-グリシン-グリシン、またはグリシン-グリシン-グリシン-グリシンである。

【0042】

いくつかの実施形態において、SP2は、存在しないか、または

【0043】

【化10】



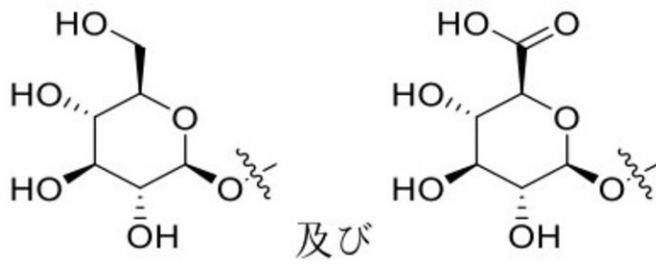
40

およびそれらの組み合わせからなる群から選択され、R_cは独立して、各出現時に、存在しないか、または

【0044】

50

【化 1 1】



から選択される基である。

10

【 0 0 4 5】

1つの実施形態において、L 2は、

【 0 0 4 6】

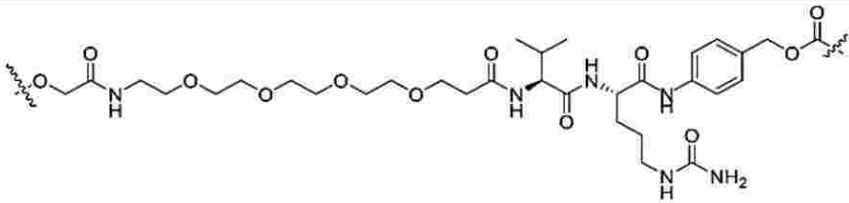
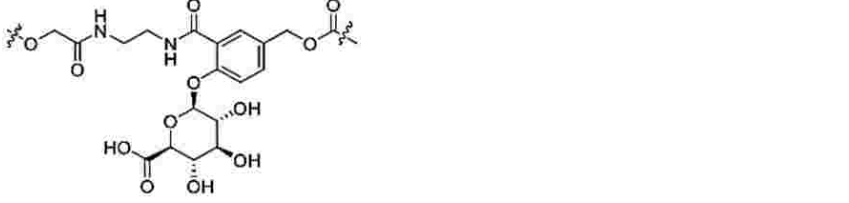
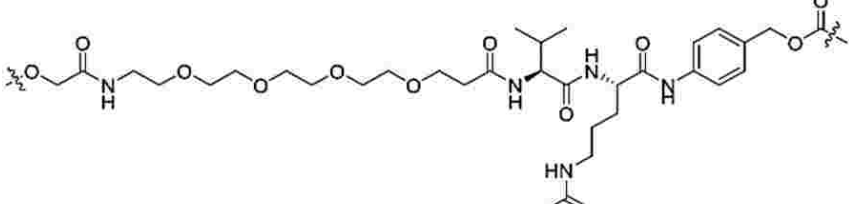
20

30

40

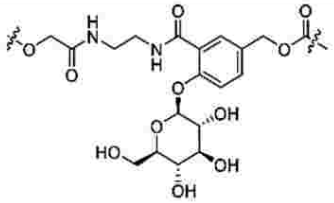
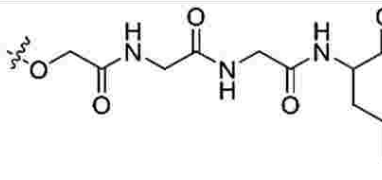
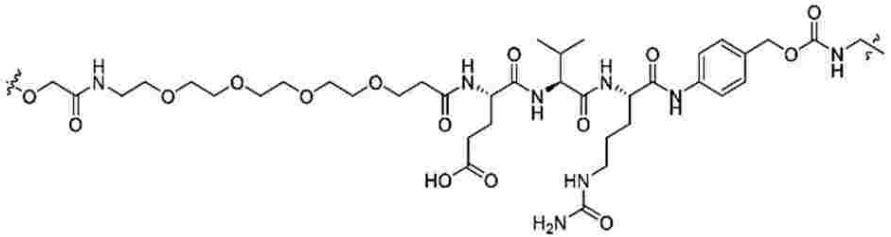
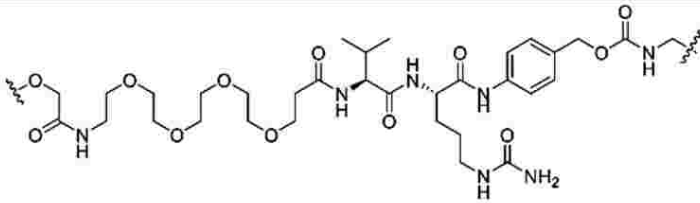
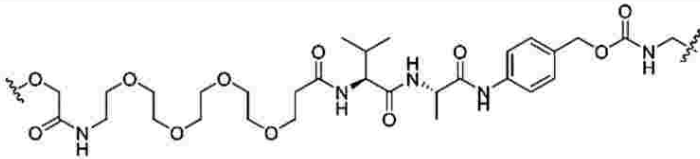
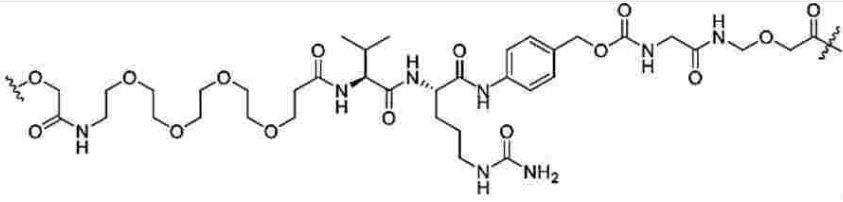
50

【表 3 - 1】

	
	10
	20
	30
	40

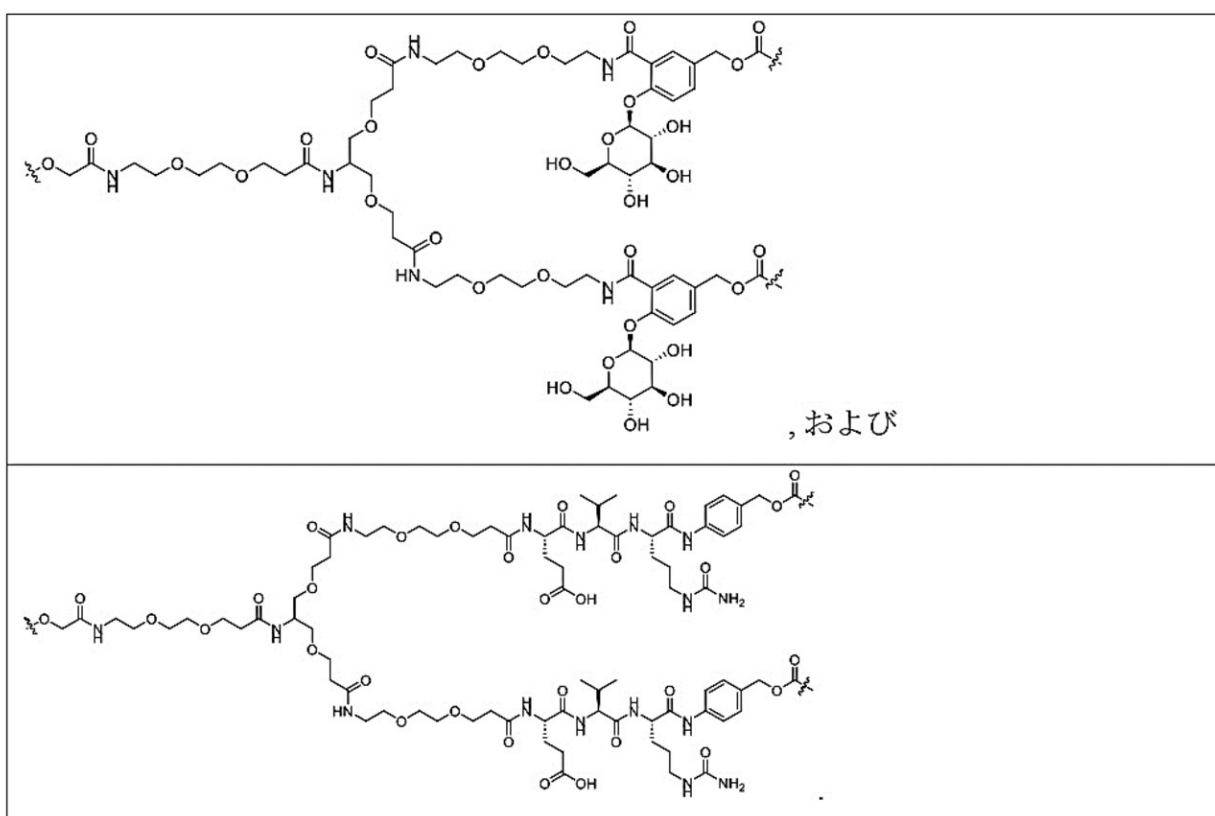
【 0 0 4 7 】

【表 3 - 2】

	
	10
	20
	
	30
	40

【 0 0 4 8 】

【表 3 - 3】



からなる群から選択される。

【0049】

1つの実施形態において、nは4である。1つの実施形態において、nは2である。1つの実施形態において、nは8である。

【0050】

1つの実施形態において、化合物、またはその薬学的に許容可能な塩は、

【0051】

10

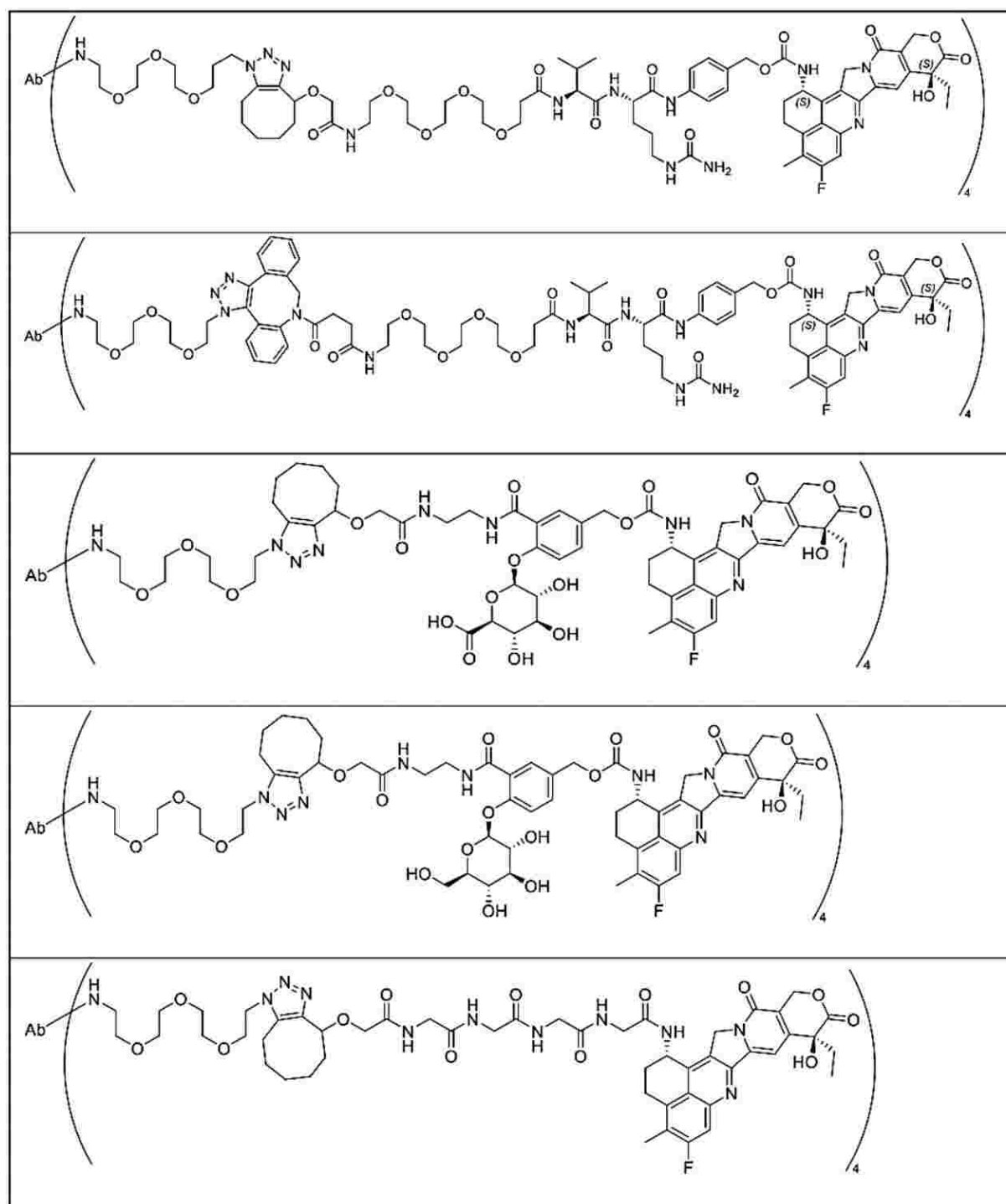
20

30

40

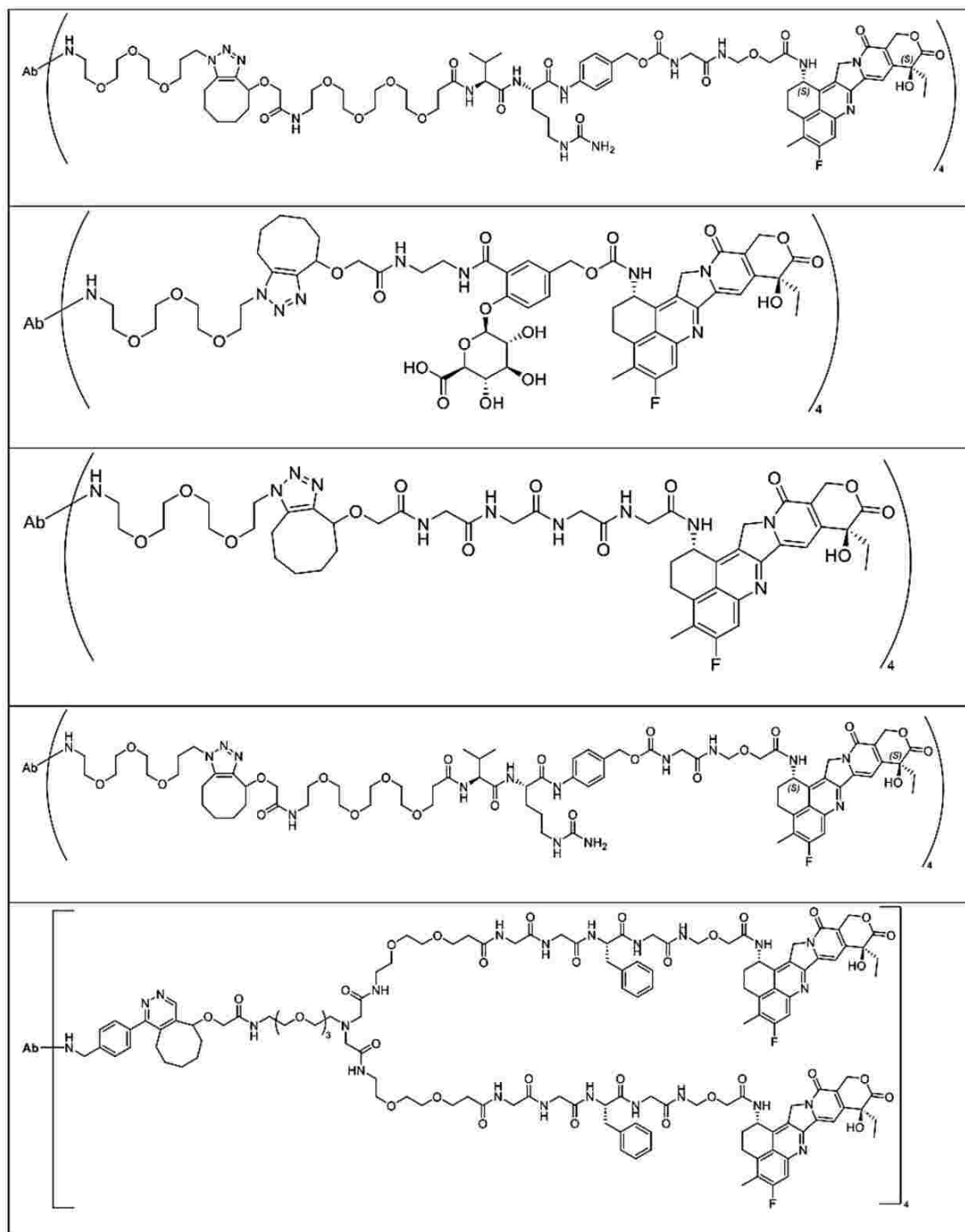
50

【表 4 - 1】



【 0 0 5 2 】

【表 4 - 2】

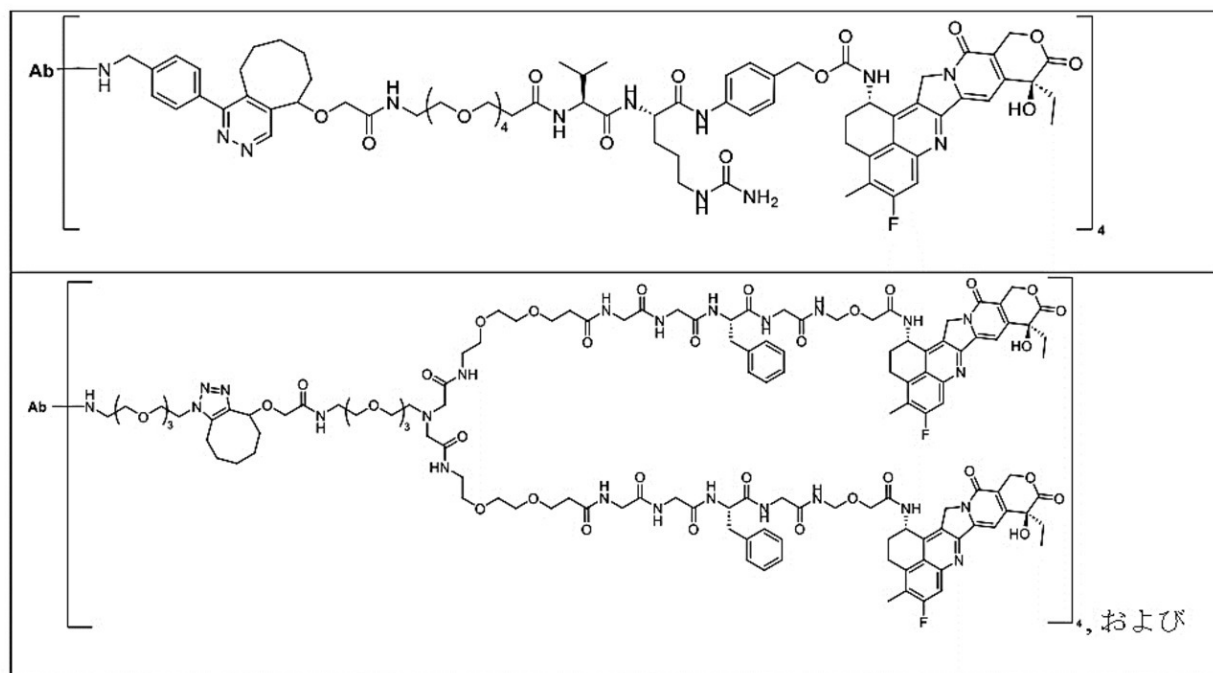


40

【 0 0 5 3 】

50

【表 4 - 3】



からなる群から選択される構造を有する。

【0054】

他の態様では、本開示は、式（A l k - L 2 - P）：



の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩を提示し、式中、A l kはアルキンを含む部分であり、S P 1は存在しないか、または第1のスペーサー単位であり、A Aは存在しないか、または2～4個のアミノ酸を含むペプチド単位であり、S P 2は存在しないか、または第2のスペーサー単位であり、PはP - I ~ P - I V

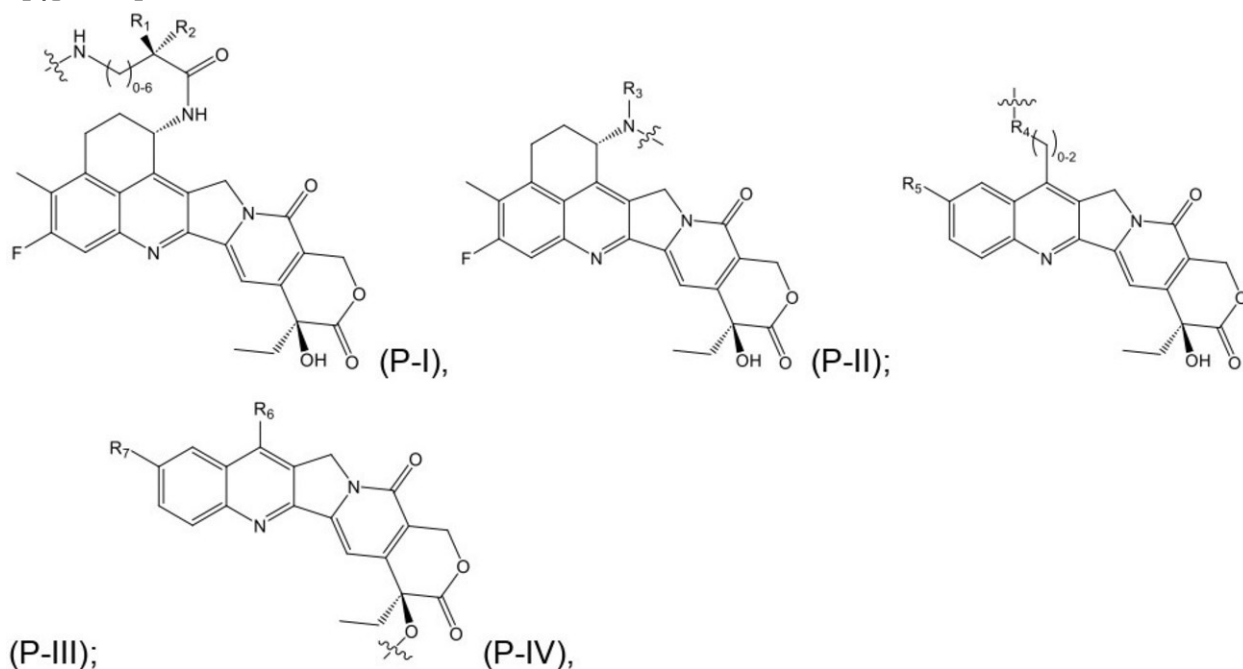
【0055】

30

40

50

【化 1 2】



10

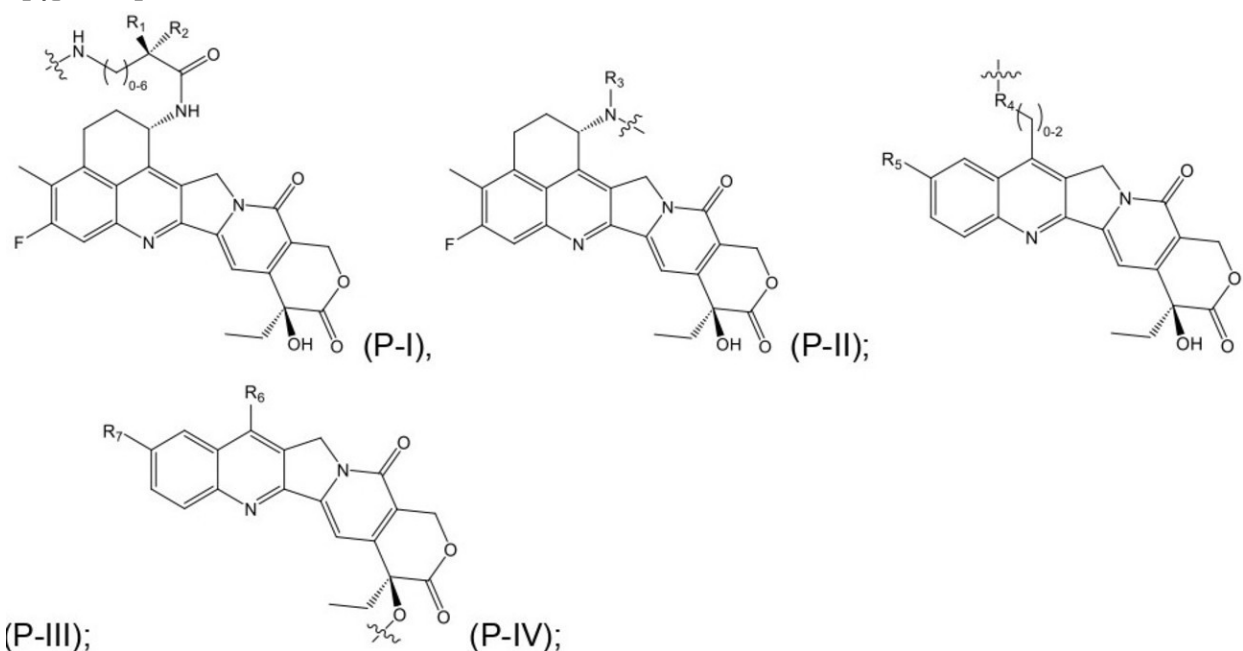
からなる群から選択され、

20

P は P - I ~ P - I V

【 0 0 5 6】

【化 1 3】



30

からなる群から選択され、

40

R_1 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0 ~ 12 の整数であり、

R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0 ~ 12 の整数であり、

R_3 は、水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-SO_2CH$

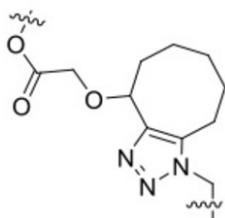
50

3、および $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_v-\text{O}-\text{COCH}_3$ であり、 v は 0～12 の整数であり、
 R_4 は、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-\text{SO}_2\text{CH}_3)$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-(\text{CH}_2)_v-\text{OH})$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(\text{CO}-\text{CH}_2-\text{NH}_2)$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-(\text{CH}_2)_v-\text{O}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{NH}_2)$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{COOH})$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}_2)$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{フェニル})$ 、または

【0057】

【化14】

10



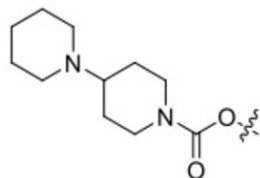
であり、 v は 0～12 の整数であり、

R_5 は H 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、または

【0058】

20

【化15】



であり、

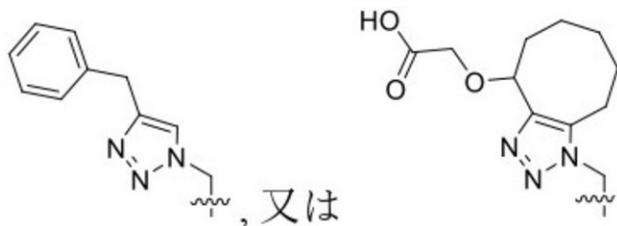
R_6 は、水素、 $-\text{C}_{1-6}\text{アルキル}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{フェニル}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{N}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{フェニル}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NMe}-\text{CH}_2-\text{フェニル}-\text{OMe}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-(\text{CH}_2)_v-\text{N}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-(\text{CH}_2)_v-\text{CCH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{フェニル}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{N}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_v-\text{COOH}$ 、

30

【0059】

【化16】

40



, 又は

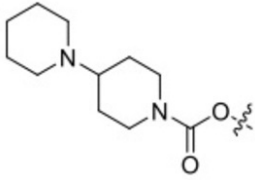
であり、 v は独立して、0～12 の整数であり、

R_7 は H 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、または

【0060】

50

【化 1 7】



である。

【 0 0 6 1】

1つの実施形態において、式（A l k - L 2 - P）の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩は、

【 0 0 6 2】

10

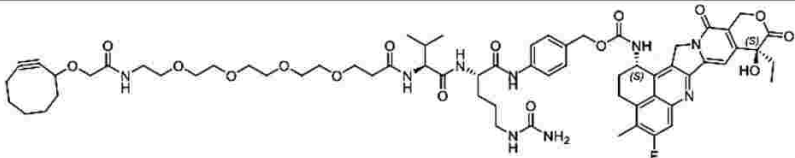
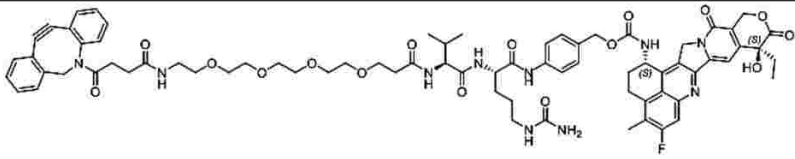
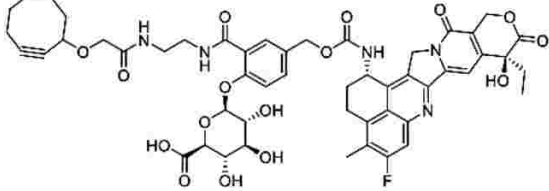
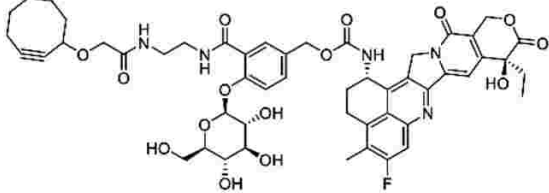
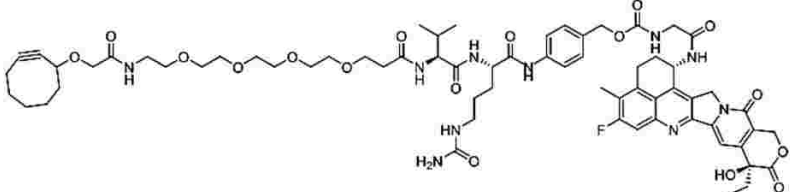
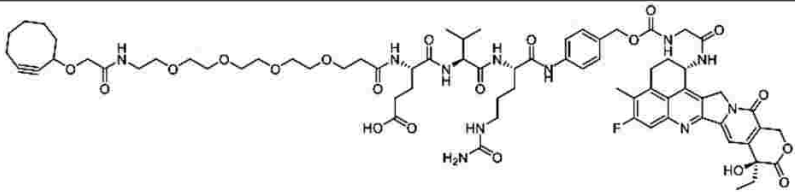
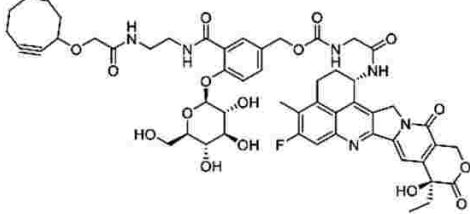
20

30

40

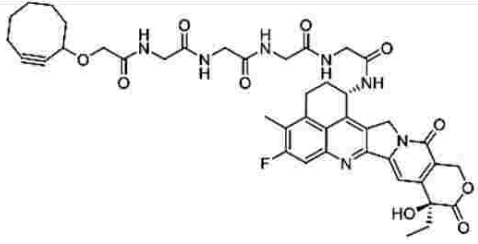
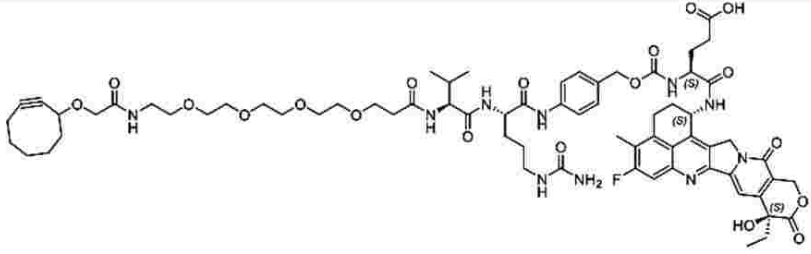
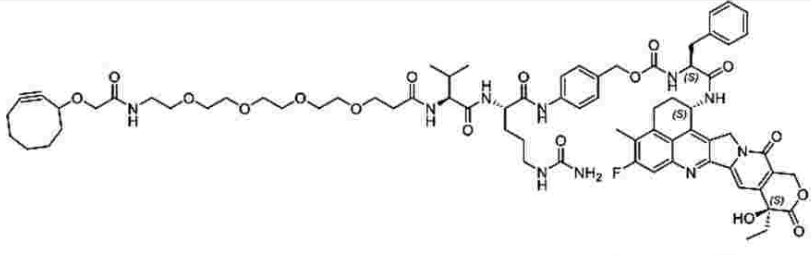
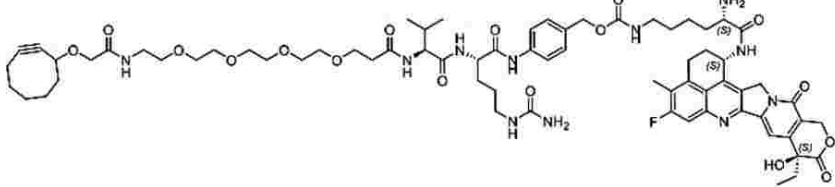
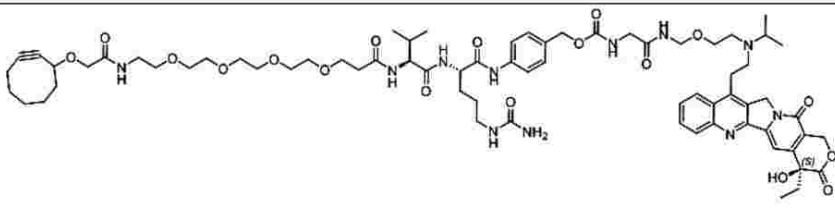
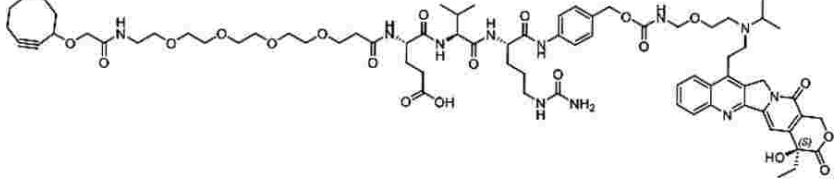
50

【表 5 - 1】

	
	10
	
	20
	
	30
	40

【 0 0 6 3 】

【表 5 - 2】

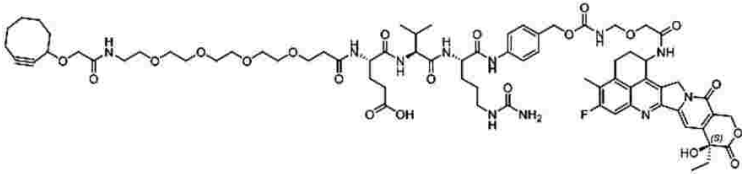
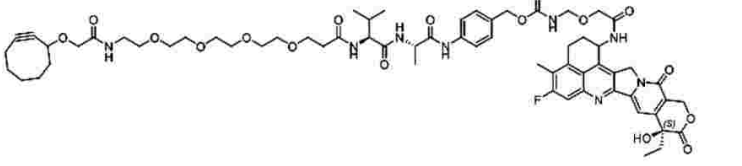
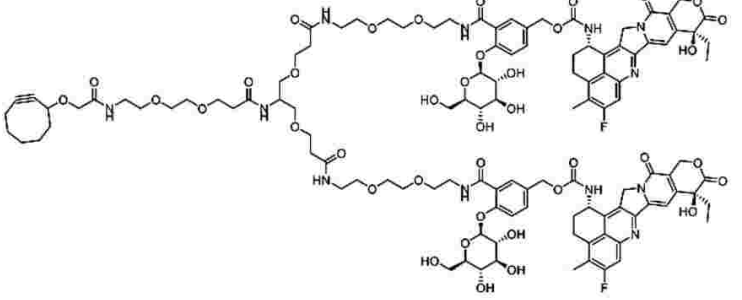
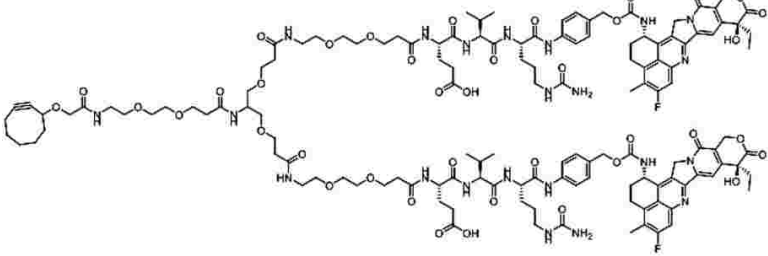
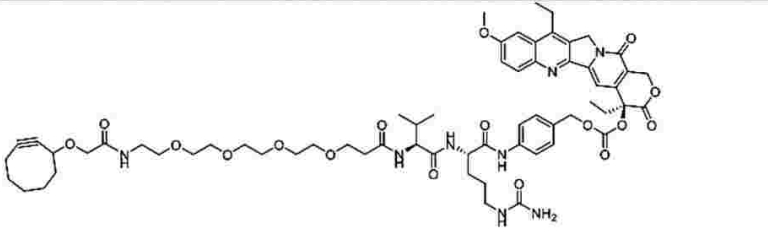
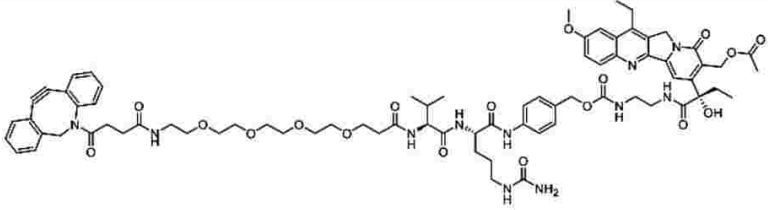
	
	10
	20
	
	30
	

40

【 0 0 6 4 】

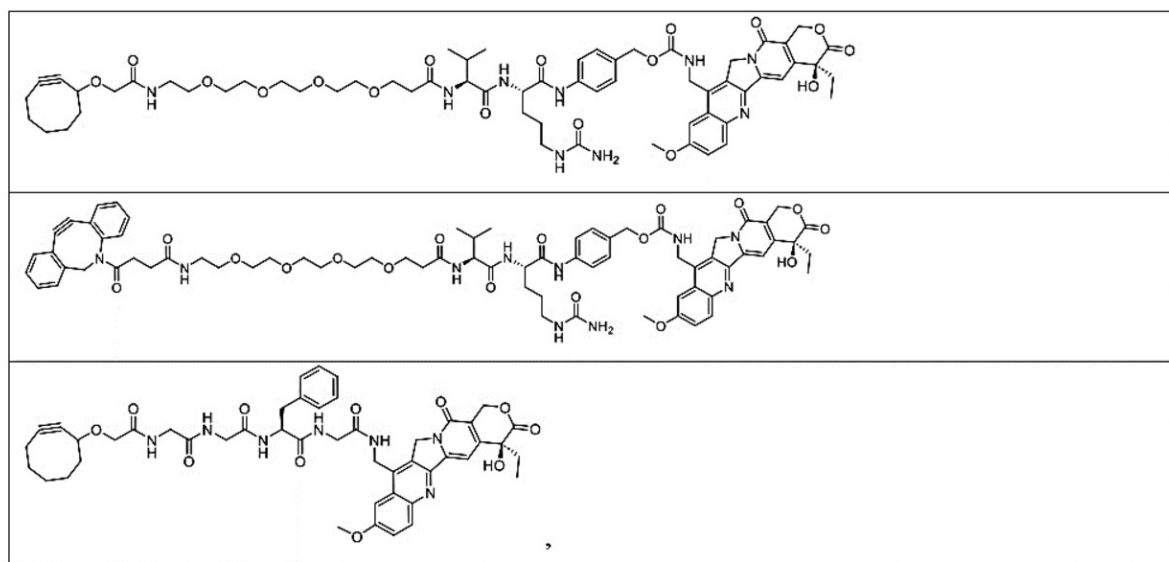
50

【表 5 - 3】

	
	10
	20
	
	30
	40

【 0 0 6 5 】

【表 5 - 4】



20

からなる群から選択される。

【0066】

さらに別の態様では、本開示は、約0.5～約12.0の薬物抗体比（DAR）を有する、上記実施形態のいずれかに記載の化合物の集団を含む組成物を提供する。

【0067】

1つの実施形態において、化合物の集団は、約1.0～約2.5のDARを有する。1つの実施形態において、化合物の集団は、約2のDARを有する。1つの実施形態において、化合物の集団は、約3.0～約4.5のDARを有する。1つの実施形態において、化合物の集団は、約4のDARを有する。1つの実施形態において、化合物の集団は、約6.5～約8.5のDARを有する。1つの実施形態において、化合物の集団は、約8のDARを有する。

30

【0068】

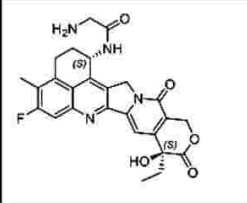
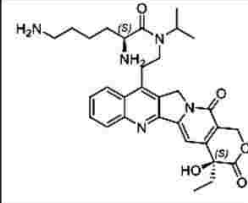
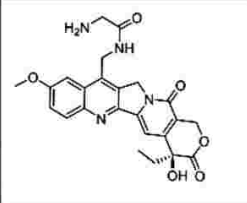
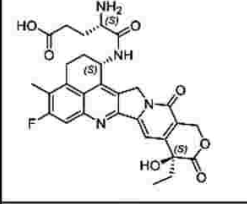
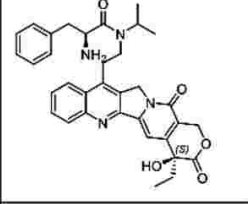
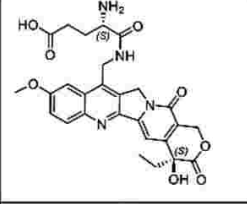
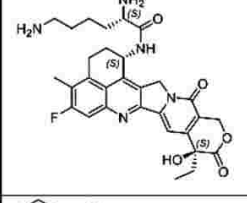
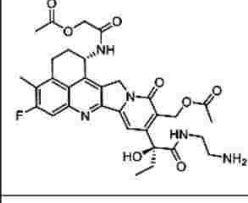
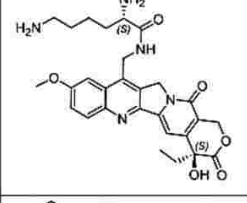
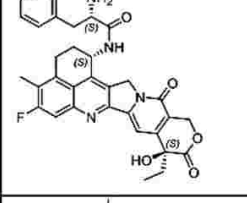
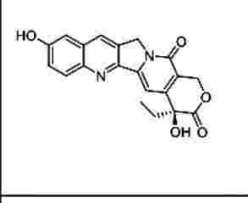
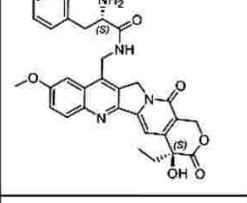
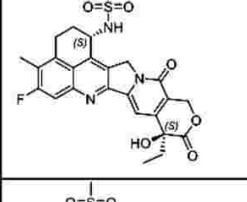
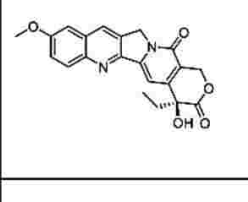
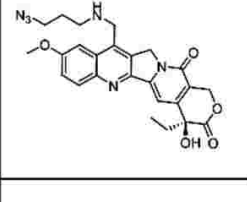
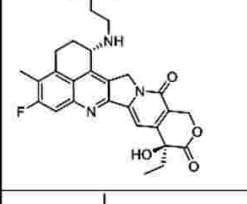
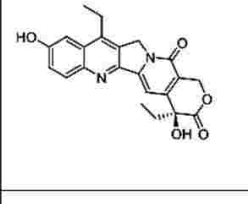
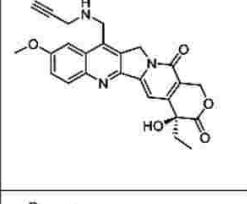
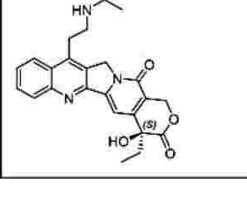
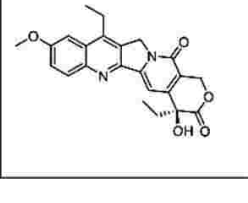
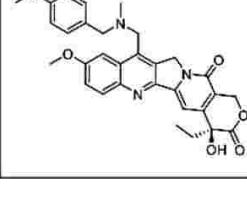
さらに別の態様では、本開示は、

【0069】

40

50

【表 6 - 1】

10

20

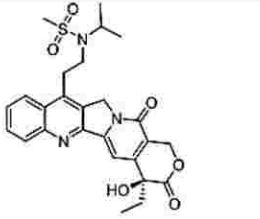
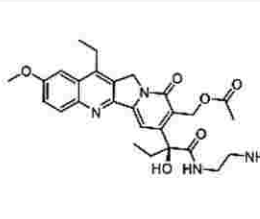
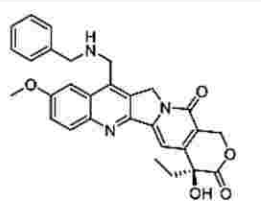
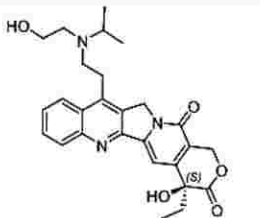
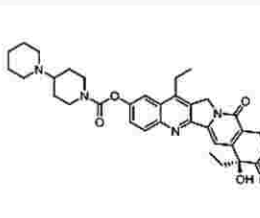
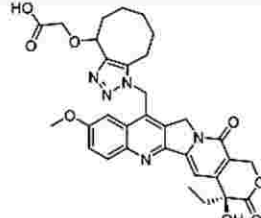
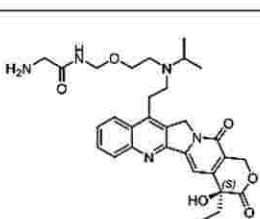
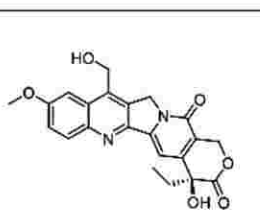
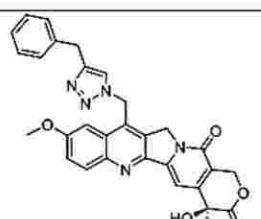
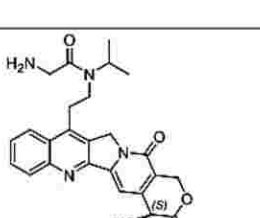
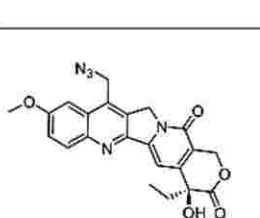
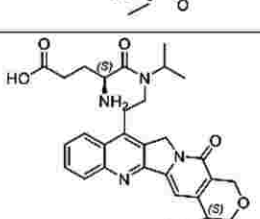
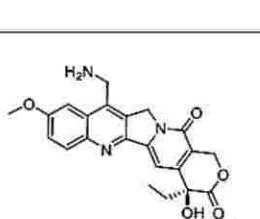
30

40

【 0 0 7 0 】

50

【表 6 - 2】

10

20

30

からなる群から選択される構造を有する化合物、またはその薬学的に許容可能な塩を提供する。

40

【0071】

別の態様では、本開示は、上記実施形態のいずれかに記載の化合物と、希釈剤、担体、および／または賦形剤とを含む医薬組成物を提供する。

【0072】

別の態様では、本開示は、腫瘍および／または癌を処置する方法であって、腫瘍および／または癌を上記実施形態のいずれかに記載の化合物と接触させる工程を含む方法を提供する。

【0073】

別の態様では、本開示は、処置を必要とする対象における疾病を処置する方法であって、治療有効量の上記実施形態のいずれか1つに記載の化合物、または上記実施形態のい

50

れか1つに記載の医薬組成物を対象に投与する工程を含む方法を提供する。

【0074】

1つの実施形態において、疾病は癌である。1つの実施形態において、癌は、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、肝臓癌、または脳腫瘍からなる群から選択される。1つの実施形態において、疾病はHER2+乳癌である。

【0075】

別の態様では、本開示は、化合物を細胞に選択的に送達する方法を提供し、化合物は、上記実施形態のいずれかに記載のものである。

【0076】

別の態様では、本開示は、細胞の表面上の抗原を化合物で選択的に標的化する方法を提供し、化合物は、上記実施形態のいずれかに記載のものである。

10

【0077】

1つの実施形態において、細胞は哺乳動物細胞である。1つの実施形態において、細胞はヒト細胞である。1つの実施形態において、細胞は癌細胞である。

【0078】

1つの実施形態において、癌細胞は、乳癌細胞、卵巣癌細胞、前立腺癌細胞、肺癌細胞、肝臓癌細胞、または脳腫瘍細胞からなる群から選択される。

【0079】

別の態様では、本開示は、式(A)：

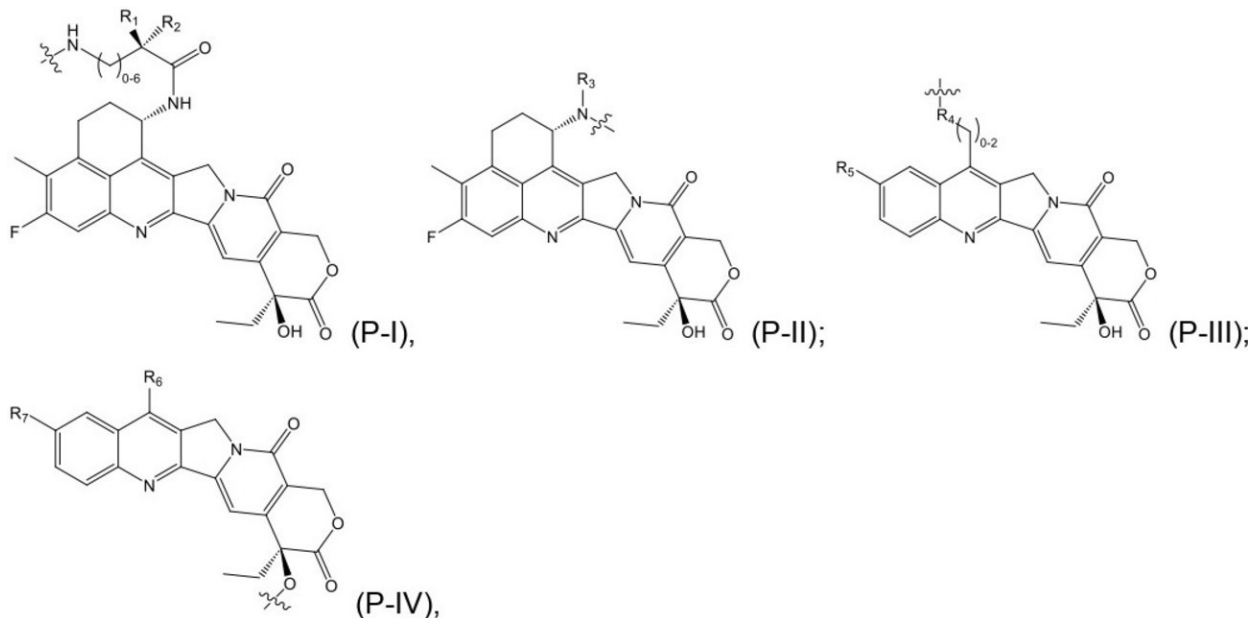


20

の構造を有する化合物を生成する方法を提供し、式中、BAは抗体またはその抗原結合断片であり、L1は、BAのグルタミン残基の側鎖に共有結合する第1のリンカーであり、Bはトリアゾールを含む部分であり、L2は、Pに共有結合する第2のリンカーであり、Pは、P-I~P-IV

【0080】

【化18】



30

40

からなる群から選択された抗腫瘍剤であり、

R₁は水素、C₁₋₆アルキル、-(CH₂)_v-OH、-(CH₂)_v-NH₂、-(CH₂)_v-C(O)OH、-(CH₂)_v-フェニル、および-(CH₂)_v-SO₂CH₃であり、vは0~12の整数であり、

R₂は水素、C₁₋₆アルキル、-(CH₂)_v-OH、-(CH₂)_v-NH₂、-(CH₂)_v-C(O)OH、-(CH₂)_v-フェニル、および-(CH₂)_v-SO₂CH₃であり、vは0~12の整数であり、

50

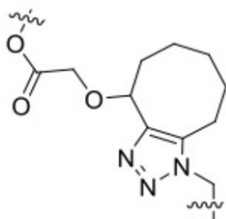
R_3 は、水素、 $-C_{1-6}$ アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ 、および $-CO-(CH_2)_v-O-COCH_3$ であり、 v は0~12の整数であり、

R_4 は、 $-NH-$ 、 $-N(-C_{1-6}$ アルキル)、 $-N(-C_{1-6}$ アルキル) $(-SO_2CH_3)$ 、 $-N(-C_{1-6}$ アルキル) $(-(CH_2)_v-OH)$ 、 $-N(-C_{1-6}$ アルキル) $(CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(-C_{1-6}$ アルキル) $(-(CH_2)_v-O-CH_2-NH-CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(-C_{1-6}$ アルキル) $(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH)$ 、 $-N(-C_{1-6}$ アルキル) $(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2)$ 、 $-N(-C_{1-6}$ アルキル) $(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル)、または

10

【0081】

【化19】



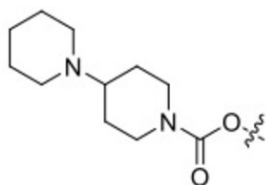
であり、 v は0~12の整数であり、

20

R_5 はH、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【0082】

【化20】



であり、

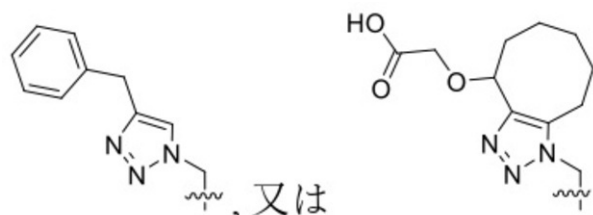
30

R_6 は、水素、 $-C_{1-6}$ アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CH_2$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NMe-CH_2$ -フェニル-OMe、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-CCH$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH$ 、

【0083】

【化21】

40



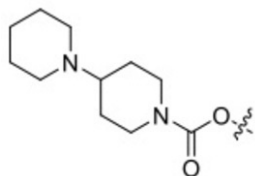
であり、 v は独立して、0~12の整数であり、

R_7 はH、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【0084】

50

【化 2 2】



であり、上記方法は、

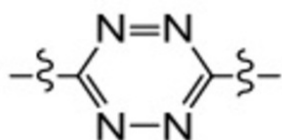
a) トランスグルタミナーゼの存在下で、少なくとも 1 つのグルタミン残基を含む B A を、化合物 L 1 - B' と接触させる工程と、

b) 工程 a) の生成物を、1 当量以上の化合物 B'' - L 2 - P と接触させる工程であって、基 B'' が基 B' に共有結合することができ、基 B' および B'' の一方はおよ

10

【0085】

【化 2 3】

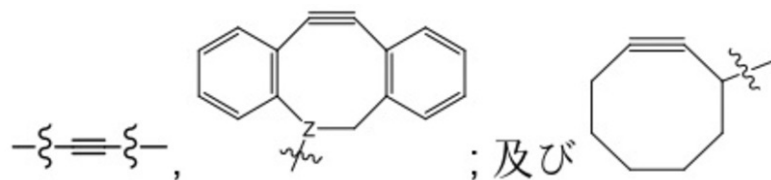


から選択され、基 B' および B'' の他方は、

20

【0086】

【化 2 4】



から選択され、Z は C または N である、工程と、

c) 生成された式 (A) の化合物を単離する工程と、を含む。

30

【0087】

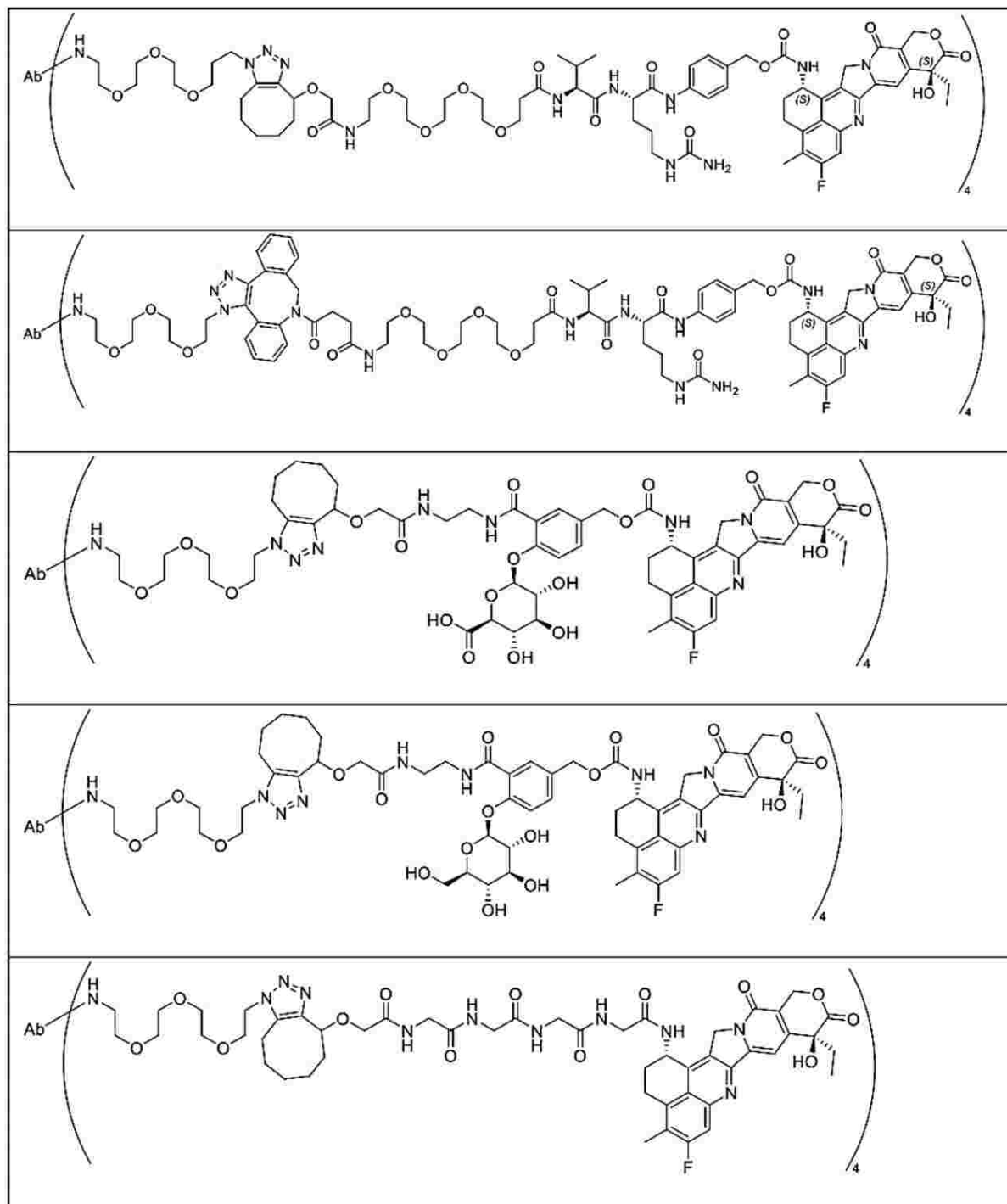
1 つの実施形態において、式 (A) の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩は、

【0088】

40

50

【表 7 - 1】



10

20

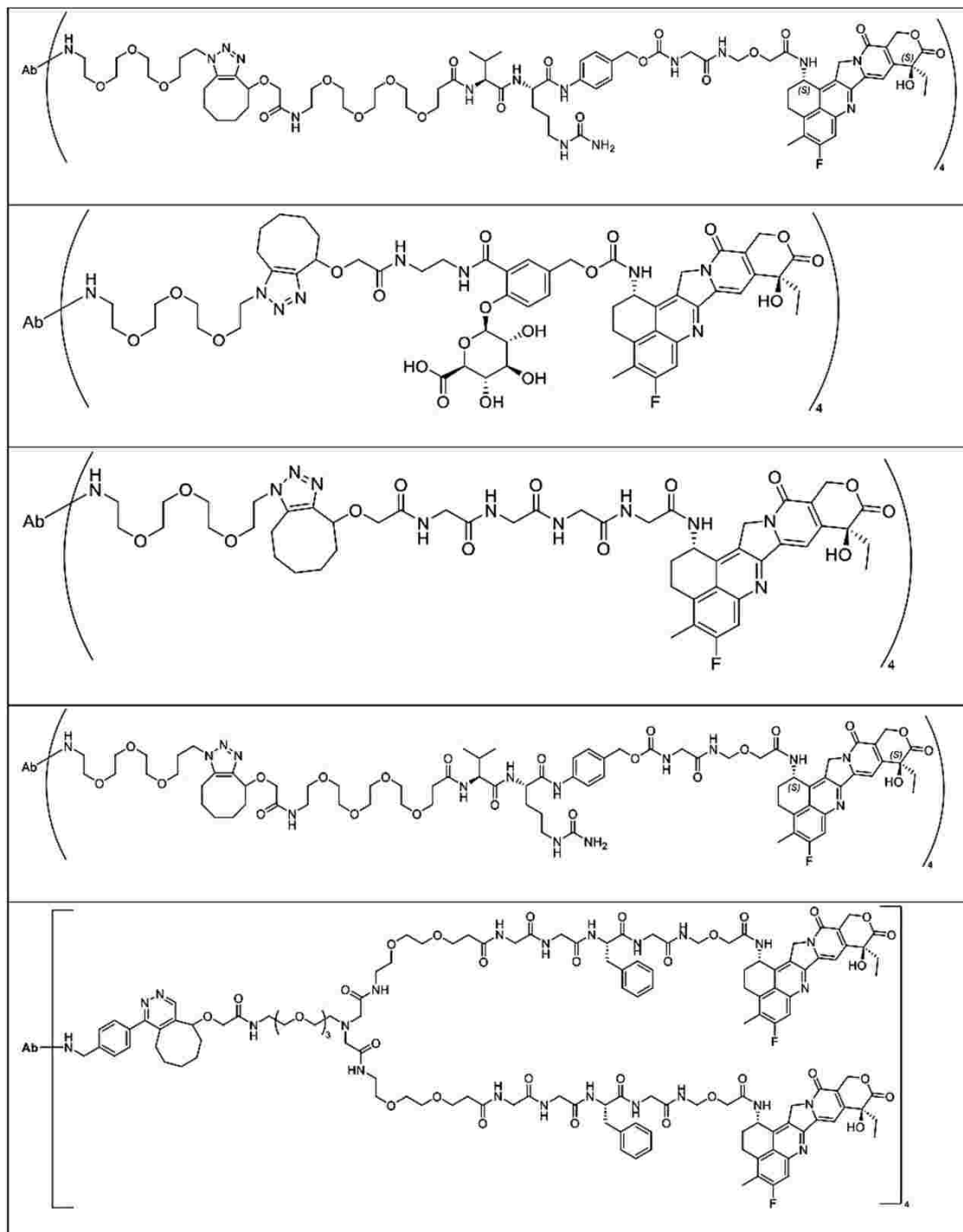
30

40

【 0 0 8 9 】

50

【表 7-2】



10

20

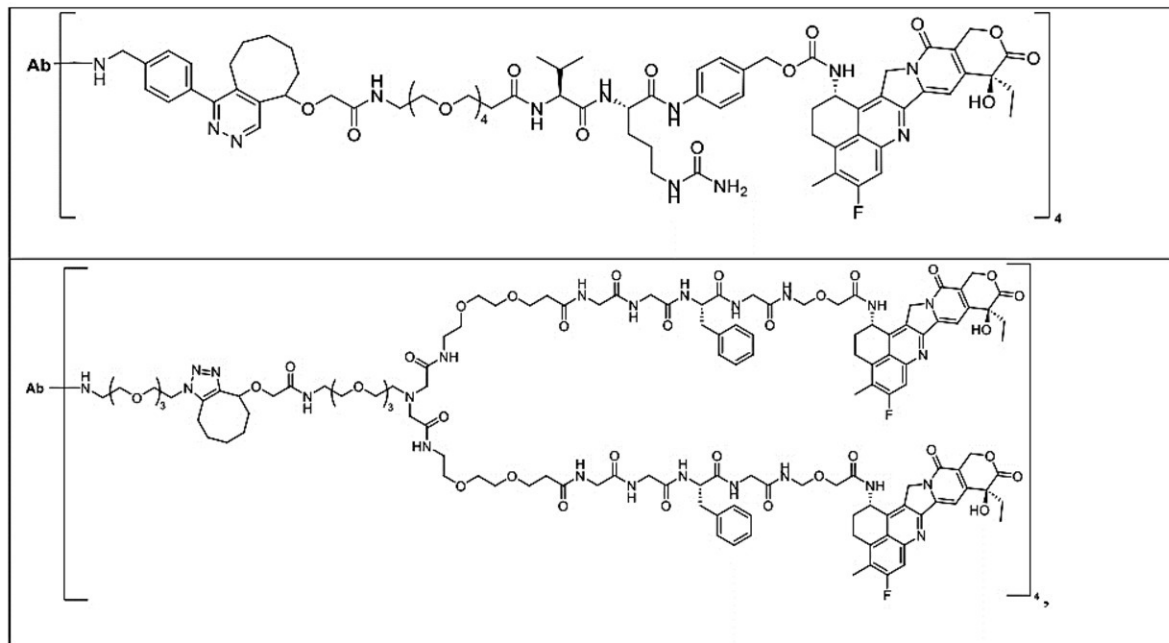
30

40

【 0 0 9 0 】

50

【表 7 - 3】



10

20

からなる群から選択される構造を有する。

【0091】

本開示のこれらの態様および他の態様は、添付の請求項を含む本開示の以下の詳細な記載を精読することで当業者に明白となるであろう。

【図面の簡単な説明】

30

【0092】

特許または出願のファイルは、色つきで作成された少なくとも1つの図面を含む。カラーの図面を伴うこの特許または特許出願公開のコピーは、必要な料金の請求および支払い後に当該事務局によって提供される。

【図1】本開示の1つの実施形態に記載のADCの2段階の部位特異的生成の概略図である。

【図2】遊離エキサテカン、対照ADCトラスツズマブデルテカン（DS8201a）、および本開示に記載の2つのADCのSK-BR-3細胞におけるEC₅₀値および最大死滅%のプロットである。

【図3】遊離エキサテカンおよび本開示に記載の5つのADCのSK-BR-3細胞におけるEC₅₀値および最大死滅%のプロットである。

40

【発明を実施するための形態】

【0093】

本開示の詳細な実施形態を本明細書に開示する。しかしながら、開示された実施形態は、様々な形態で具体化され得る本開示の例示的なものでしかなく、理解されたい。加えて、本開示の様々な実施形態に関連して挙げられる実施例の各々は、例示的であることを意図しており、限定的であることを意図していない。したがって、本明細書に開示される特定の構造および機能の詳細は、本開示を制限するものとして解釈されるのではなく、本開示を様々な使用するために当業者に教示するための単なる典型的な根拠として解釈されるものである。

50

【0094】

定義

他に定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術的および科学的な用語は、本開示の属する技術分野における当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。

【0095】

本明細書および添付の請求項で使用されるように、単数形の「a」、「an」および「the」は、文脈上明確に指示されない限り、複数の言及も含む。したがって、例えば、「方法」に対する言及は、本明細書に記載される、および／または、本開示を読んだ当業者に明らかになるであろうタイプの1つ以上の方法および／または工程を含む。

10

【0096】

状態、障害、または疾病の「処置する」または「処置」という用語は、（1）状態、障害、または疾病に罹患しているかまたは罹患しやすい可能性があるが、状態、障害、または疾病の臨床症状または亜臨床症状をまだ経験していないかまたは示していない対象において、状態、障害、または疾病の少なくとも1つの臨床症状または亜臨床症状の出現を予防し、遅らせ、またはその発生率および／または可能性を低減させること、あるいは、（2）状態、障害、または疾病を阻害すること、すなわち、疾患もしくはその再発、またはその少なくとも1つの臨床症状もしくは亜臨床症状の発生を阻止し、低減させ、または遅らせること、あるいは、（3）疾患を軽減すること、すなわち、状態、障害、または疾病の退行、またはその臨床症状もしくは亜臨床症状の少なくとも1つを引き起こすことを含む。処置される対象にとっての利益は、統計的に有意であるか、または患者もしくは医師に少なくとも知覚可能であるかのいずれかである。いくつかの実施形態において、処置は、疾患が間接的に影響を受けるような様式で細胞を切除する方法を含む。特定の実施形態において、処置は、治療前に造血コンディショニングレジメンとして免疫細胞を枯渇させることを含む。

20

【0097】

本明細書で使用される「対象」または「患者」または「個体」または「動物」は、ヒト、獣医学的動物（例えば、ネコ、イヌ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタなど）および疾患の実験動物モデル（例えば、マウス、ラット）を指す。好ましい実施形態において、対象はヒトである。

30

【0098】

本明細書で使用される場合、用量または量に適用される「有効な」という用語は、それを必要とする対象への投与時に所望の活性をもたらすのに十分な化合物または医薬組成物の量を指す。有効成分の組み合わせが投与される場合、組み合わせの有効量は、個々に投与された場合に有効であろう各成分の量を含むこともあれば、含まないこともあることに留意されたい。必要とされる正確な量は、対象の種、年齢、および全身状態、処置される疾病の重症度、使用される特定の薬物または複数の薬物、投与様式などに応じて、対象ごとに変化する。

【0099】

本開示の組成物に関連して使用される「薬学的に許容可能な塩」という語句は、患者への投与に適切な任意の塩を指す。適切な塩としては、限定されないが、参照により本明細書に組み込まれるBerge et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66:1に開示されているものが挙げられる。塩の例としては、限定されないが、カルシウム塩、マグネシウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、pトルエンスルホン酸、サリチル酸などの塩を含む、酸由来、塩基由来、有機、無機、アミン、およびアルカリまたはアルカリ土類金属の塩が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの例では、本明細書に記載されるペイロード（例えば、本明細書に記載されるリフ

40

50

ァマイシンアナログ)は3級アミンを含み、3級アミン中の窒素原子は、ペイロードがリンカーまたはリンカースペーサーに結合する際に介する原子である。そのような例では、ペイロードの3級アミンへの結合は、リンカー-ペイロード分子において4級アミンを生じさせる。4級アミン上の正電荷は、対イオン(例えば、クロロ、ブromo、ヨード、または本明細書に記載されるものなどの任意の他の適切に荷電した部分)によって平衡化することができる。

【0100】

範囲は、本明細書において、「約」もしくは「およそ」の1つの特定の値から、および／または「約」もしくは「およそ」の他の特定の値までとして表すことができる。そのような範囲が表現される場合、別の実施形態は、1つの特定の値からおおよそ／または他の特定の値までを含む。

10

【0101】

「含む (comprising)」または「含有する (containing)」または「含む (including)」とは、少なくとも命名された化合物、要素、粒子、または方法工程が組成物または物品または方法に存在することを意味するが、たとえ他のそのような化合物、材料、粒子、または方法工程が命名されたものと同じ機能を有するとしても、他の化合物、材料、粒子、または方法工程の存在を排除しない。

【0102】

本開示の化合物は、本明細書に概して記載されるものを含み、本明細書に開示される網、亜網、および種によってさらに例示される。本明細書で使用される場合、別段の指示がない限り、以下の定義が適用されるものとする。本開示の目的のために、化学元素は、Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Edに従って同定される。さらに、有機化学の一般的な原則は、“Organic Chemistry”, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito:1999, and “March’s Advanced Organic Chemistry”, 5th Ed., Ed.: Smith, M. B. and March, J., John Wiley & Sons, New York:2001に記載されており、上記文献の内容はすべて参照により本明細書に組み込まれる。

20

30

【0103】

本明細書中で使用される場合、「アルキル」という用語は、当該分野においてその通常の意味を与えられ、直鎖アルキル基、分岐鎖アルキル基、シクロアルキル(脂環式)基、アルキル置換シクロアルキル基、およびシクロアルキル置換アルキル基を含む飽和脂肪族基を含み得る。特定の実施形態において、直鎖または分岐鎖アルキルは、その骨格に約1~20個の炭素原子(例えば、直鎖についてはC₁-C₂₀、分岐鎖についてはC₂-C₂₀)、代替的に約1~10個の炭素原子、または約1~6個の炭素原子を有する。いくつかの実施形態において、シクロアルキル環は、その環構造中に約3~10個の炭素原子を有し(そのような環は単環式または二環式である)、代替的に、環構造中に約5、6、または7個の炭素を有する。いくつかの実施形態において、アルキル基は低級アルキル基であってもよく、低級アルキル基は1~4個の炭素原子を含む(例えば、直鎖低級アルキルのC₁-C₄)。

40

【0104】

本明細書で使用される場合、「アルケニル」という用語は、1つ以上の二重結合を有する、本明細書で定義されるアルキル基を指す。

【0105】

本明細書で使用される場合、「アルキニル」という用語は、1つ以上の三重結合を有する、本明細書で定義されるアルキル基を指す。

【0106】

「ヘテロ原子」という用語は、酸素、硫黄、窒素、リン、ケイ素(窒素、硫黄、リン、

50

またはケイ素の任意の酸化型、任意の塩基性窒素の4級化型、複素環の置換可能な窒素を含む)の1つ以上を意味する。

【0107】

「ハロゲン」という用語は、F、Cl、Br、またはIを意味し、「ハロゲン化物」という用語は、ハロゲンラジカル、または置換基、すなわち、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、もしくは $-I$ を指す。

【0108】

本開示の「付加物」という用語、例えば、「基B'の付加物」は、付加反応、例えば、基B'の付加反応の生成物を含む任意の部分を含し、これは、上記部分を生成するために行われる合成工程とは無関係である。

10

【0109】

「共有結合」という用語は、共有結合、つまり、2つの原子間の1つ以上の電子対の共有を含む化学結合の形成を意味する。共有結合は、限定されないが、 σ 結合、 π 結合、金属間結合、アゴスティック相互作用、ベント結合、および3中心2電子結合を含む異なる相互作用を含み得る。第1の基が第2の基に「共有結合することができる」と言われる場合、これは、第1の基が、直接的もしくは間接的に、例えば、触媒の使用を通して、または特定の反応条件下で、第2の基と共有結合を形成することができることを意味する。互いに共有結合することができる基の非限定的な例としては、例えば、アミンおよびカルボン酸(アミド結合を形成する)、ジエンおよびジエノフィル(ディールスアルダー反応を介して)、ならびにアジドおよびアルキン(1,3-環化付加反応によるトリアゾールの形成)を挙げることができる。

20

【0110】

本明細書に記載されるように、本開示の化合物は、「任意選択で置換された」部分を含有し得る。一般に、「置換された」という用語は、「任意選択で」という用語が先行するか否かにかかわらず、指定された部分の1つ以上の水素が適切な置換基で置換されていることを意味する。別段の指示がない限り、「任意選択で置換された」基は、その基の各置換可能な位置に適切な置換基を有することができ、任意の所与の構造における1つを超える位置が、指定された基から選択される1つを超える置換基で置換され得る場合、その置換基は、すべての位置で同じであっても異なってもよい。本開示によって想定される置換基の組み合わせは、好ましくは、安定なまたは化学的に実現可能な化合物の形成をもたらすものである。「安定な」という用語は、本明細書で使用される場合、その生成、検出、ならびに、特定の実施形態において、本明細書で開示される目的の1つ以上のためのその回収、精製、および使用を可能にする条件に供された場合に、実質的に変化しない化合物を指す。

30

【0111】

特に明記しない限り、本明細書に描かれた構造は、構造のすべての異性体(例えば、エナンチオマー、ジアステレオマー、および幾何学的(または立体構造))の形態、例えば、各不斉中心のRおよびS配置、(Z)および(E)の二重結合異性体、ならびに(Z)および(E)の立体構造異性体を含むことも意味している。したがって、本発明の化合物の単一の立体化学異性体、ならびに、エナンチオマー、ジアステレオマー、および幾何学的(または立体構造)の混合物は、本開示の範囲内である。

40

【0112】

特に明記しない限り、本開示の化合物のすべての互変異性体は、本開示の範囲内である。

【0113】

さらに、他に明記されない限り、本明細書に描かれる構造は、1つ以上の同位体濃縮した原子の存在のみが異なる化合物を含むことも意味している。例えば、重水素もしくはトリチウムによる水素の置換、または、 ^{11}C もしくは ^{13}C もしくは ^{14}C の豊富な炭素による炭素の置換を除いて、本構造を有する化合物は、本開示の範囲内である。

【0114】

50

さらに、1つ以上の方法工程についての言及は、明示的に特定される工程間に追加の方法工程または介在する方法工程の存在を排除しないことも理解されたい。同様に、デバイスまたはシステムにおける1つ以上の構成要素についての言及は、明示的に特定される構成要素間に追加の構成要素または介在する構成要素の存在を排除しないことも理解されたい。

【0115】

特に明記しない限り、本開示の化合物およびその塩のすべての結晶形態も本開示の範囲内である。本開示の化合物は、限定されないが、無水、水和、非溶媒和、または溶媒和である形態を含む様々な非晶質および結晶の形態で単離され得る。水和物の例としては、半水和物、一水和物、二水和物などが挙げられる。いくつかの実施形態において、本開示の化合物は無水であり、非溶媒和である。「無水」とは、化合物の結晶形態が結晶格子構造中に結合水を本質的に含有しないこと、すなわち、化合物が結晶水和物を形成しないことを意味する。

10

【0116】

本明細書で使用される場合、「結晶形態」とは、結晶性物質の特定の格子構成を指すことを意味する。同じ物質の異なる結晶形態は、典型的には、結晶形態のそれぞれに特徴的な異なる物理的特性に起因する異なる結晶格子（例えば、単位格子）を有する。いくつかの例では、異なる格子構成は、異なる水または溶媒含有量を有する。異なる結晶格子は、X線粉末回折（PXRD）などの固体状態特徴付け方法によって同定することができる。示差走査熱量測定（DSC）、熱重量分析（TGA）、動的蒸気収着（DVS）、固体NMRなどの他の特徴付け方法はさらに、結晶形態の同定、ならびに安定性および溶媒／水含有量の決定に役立つ。

20

【0117】

物質の結晶形態は、溶媒和（例えば、水和）形態および非溶媒和（例えば、無水）形態の両方を含む。水和形態は、結晶格子中に水を含む結晶形態である。水和形態は化学量論的水和物であってもよく、この場合、水は、半水和物、一水和物、二水和物などの特定の水／分子比で格子中に存在する。水和形態はさらに、非化学量論的であってもよく、この場合、水含有量は可変であり、湿度などの外部条件によって決まる。

【0118】

いくつかの実施形態において、本開示の化合物は実質的に単離されている。「実質的に単離された」とは、特定の化合物が不純物から少なくとも部分的に単離されていることを意味する。例えば、いくつかの実施形態において、本開示の化合物は、約50%未満、約40%未満、約30%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、約5%未満、約2.5%未満、約1%未満、または約0.5%未満の不純物を含む。不純物は概して、例えば、他の結晶形態および他の物質を含む、実質的に単離された化合物ではない任意のものを含む。

30

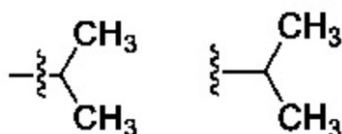
【0119】

特定の基、部分、置換基、および原子は波線で描かれている。波線は、1つの結合または複数の結合と交差するか、またはキャップすることができる。波線は、基、部分、置換基、または原子が結合する際に介する原子を示す。例えば、

40

【0120】

【化25】

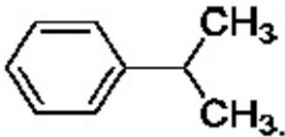


のように表されるプロピル基で置換されるフェニル基は、以下の構造

【0121】

50

【化 2 6】



を有する。

【0122】

「HER2」または「ヒト上皮成長因子受容体2」という表現は、ヒト上皮成長因子受容体ファミリーのメンバーを指す。このタンパク質は、NEU、NGL、HER2、TKR1、CD340、HER-2、MLN19、HER-2/neuとしても知られている。HER2は、NCBIアクセッション番号NP_004439.2に記載のアミノ酸配列を指すことができる。この癌遺伝子の増幅または過剰発現は、特定の悪性度の乳癌の発症および進行において重要な役割を果たすことが示されている。近年、このタンパク質は、乳癌患者の約30%に対する治療の重要なバイオマーカーおよび標的となっている。本明細書におけるタンパク質、ポリペプチド、およびタンパク質断片への言及はすべて、非ヒト種に由来すると明示的に指定されていない限り、それぞれのタンパク質、ポリペプチド、またはタンパク質断片のヒト型を指すことが意図される。したがって、「HER2」という表現は、非ヒト種、例えば、「マウスHER2」、「サルHER2」などに由来すると指定されていない限り、ヒトHER2を意味する。

10

20

【0123】

「HER2に結合する抗体」または「抗HER2抗体」という語句は、HER2を特異的に認識する抗体およびその抗原結合断片を含む。

【0124】

「抗HER2/HER2」抗体、例えば、「抗HER2/HER2二重特異性抗体」という語句は、2つの異なるHER2エピトープを特異的に認識する抗体およびその抗原結合断片を含む。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体およびその抗原結合断片は、ヒトHER2の第1のエピトープに特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン(D1)と、ヒトHER2の第2のエピトープに特異的に結合する第2の抗原結合ドメイン(D2)とを含む。

30

【0125】

本明細書で使用される場合、「STEAP2」という表現は、前立腺の6回膜貫通上皮抗原2(six-transmembrane epithelial antigen of prostate 2)を指す。STEAP2は、前立腺上皮細胞において高度に発現され、前立腺癌の細胞表面マーカーである、内在性6回膜貫通型タンパク質であり、例えば、STEAP2は、LNCaP前立腺細胞株において有意なレベルで発現されることがわかった(Porkka, et al. Lab Invest 2002, 82:1573-1582)。STEAP2(UniProtKB/Swiss-Prot:Q8NFT2.3)は、ヒトにおける染色体領域7q21に位置するSTEAP2遺伝子によってコードされる490アミノ酸のタンパク質である。

40

【0126】

本明細書で使用される場合、「STEAP2に結合する抗体」または「抗STEAP2抗体」は、STEAP2を特異的に認識する抗体およびその抗原結合断片を含む。

【0127】

「METに結合する抗体」または「抗MET抗体」は、METを特異的に認識する抗体およびその抗原結合断片を含む。本明細書で使用される場合、「MET」、「c-MET」などの表現は、ヒト膜貫通受容体チロシンキナーゼを指す。

【0128】

「抗MET/MET」抗体、例えば、「抗MET/MET二重特異性抗体」という語句は、2つの異なるMETエピトープを特異的に認識する抗体およびその抗原結合断片を含む。

50

む。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体およびその抗原結合断片は、ヒト M E T の第 1 のエピトープに特異的に結合する第 1 の抗原結合ドメイン (D 1) と、ヒト M E T の第 2 のエピトープに特異的に結合する第 2 の抗原結合ドメイン (D 2) とを含む。

【0129】

本開示で使用されるアミノ酸の略語はすべて、37 C. F. R. § 1.822 (B) (J) に記載されているように米国特許商標庁によって認められているものである。

【0130】

「タンパク質」という用語は、アミド結合を介して共有結合した約 20 個を超えるアミノ酸を有する任意のアミノ酸ポリマーを意味する。本明細書で使用される場合、「タンパク質」は、バイオ治療用タンパク質、研究または治療において使用される組換えタンパク質、トラップタンパク質および他の Fc 融合タンパク質、キメラタンパク質、抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、二重特異性抗体、抗体断片、ナノボディ、組換え抗体キメラ、s c F v 融合タンパク質、サイトカイン、ケモカイン、ペプチドホルモンなどを含む。タンパク質は、組換え細胞ベースの産生系、例えば、昆虫バキュロウイルス系、酵母系 (例えば、ピキア種)、哺乳動物系 (例えば、CHO 細胞および CHO-K1 細胞のような CHO 誘導体) を用いて産生することができる。

【0131】

本明細書におけるタンパク質、ポリペプチド、およびタンパク質断片への言及はすべて、非ヒト種に由来すると明示的に指定されていない限り、それぞれのタンパク質、ポリペプチド、またはタンパク質断片のヒト型を指すことが意図される。したがって、「STEAP2」という表現は、非ヒト種、例えば、「マウス STEAP2」、「サル STEAP2」などに由来すると指定されていない限り、ヒト STEAP2 を意味する。

【0132】

抗体のアミノ酸配列については、Kabat et al., (“Kabat” numbering scheme); Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948 (“Chothia” numbering scheme); MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol. 262:732-745 (“Contact” numbering scheme); Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27:55-77 (“IMGT” numbering scheme); and Honegge and Pluckthun, J. Mol. Biol., 2001, 309:657-70 (“Aho” numbering scheme) に記載されるものを含む既知の番号付けスキームを用いて、番号を付けることができる。特に指定されない限り、本明細書で使用される番号付けスキームは、Kabat 番号付けスキームである。しかしながら、番号付けスキームの選択は、差が存在しない配列の違いを暗に示すことを意図しておらず、当業者は、1つ以上の抗体のアミノ酸配列を調べることによって配列位置を容易に確認することができる。特に明記しない限り、「EU 番号付けスキーム」は、抗体重鎖定常領域 (例えば、Kabat et al. (上記) に報告されているとおりである) 中の残基に言及する際に一般に使用される。

【0133】

「グルタミニル修飾抗体」という用語は、グルタミン側鎖から本開示の 1 級アミン化合物への少なくとも 1 つの共有結合を有する抗体を指す。特定の実施形態において、1 級アミン化合物は、グルタミン側鎖上のアミド結合を介して連結される。特定の実施形態において、グルタミンは内因性グルタミンである。他の実施形態において、グルタミンは、ポリペプチド操作によって反応性にされた内因性グルタミンである (例えば、ポリペプチド上のアミノ酸の欠失、挿入、置換、または突然変異を介する)。さらなる実施形態において、グルタミンは、アシルドナーグルタミン含有タグ (例えば、グルタミン含有ペプチドタグ、Q タグ、または T G a s e 認識タグ) で操作されたポリペプチドである。

【0134】

「T G a s e 認識タグ」という用語は、アクセプターグルタミン残基を含むアミノ酸の

配列であって、ポリペプチド配列に組み込まれる（例えば、付加される）場合、適切な条件下で、T G a s eによって認識され、アミノ酸の配列内のアミノ酸側鎖と反応パートナーとの間の反応を介してT G a s eによる架橋をもたらすアミノ酸の配列を指す。認識タグは、T G a s e認識タグを含むポリペプチド中に天然には存在しないペプチド配列であり得る。いくつかの実施形態において、T G a s e認識タグは、少なくとも1つのG l nを含む。いくつかの実施形態において、T G a s e認識タグは、アミノ酸配列X X Q X（配列番号1935）を含み、Xは任意のアミノ酸（例えば、従来のアミノ酸L e u、A l a、G l y、S e r、V a l、P h e、T y r、H i s、A r g、A s n、G l u、A s p、C y s、G l n、I l e、M e t、P r o、T h r、L y s、もしくはT r p、または非従来のアミノ酸）である。いくつかの実施形態において、アシルドナーグルタミン含有タグは、L L Q G G（配列番号1936）、L L Q G（配列番号1937）、L S L S Q G（配列番号1938）、g G G L L Q G G（配列番号1939）、g L L Q G（配列番号1940）、L L Q、g S P L A Q S H G G（配列番号1941）、g L L Q G G G（配列番号1942）、g L L Q G G（配列番号1943）、g L L Q（配列番号1944）、L L Q L L Q G A（配列番号1945）、L L Q G A（配列番号1946）、L L Q Y Q G A（配列番号1947）、L L Q G S G（配列番号1948）、L L Q Y Q G（配列番号1949）、L L Q L L Q G（配列番号1950）、S L L Q G（配列番号1951）、L L Q L Q（配列番号1952）、L L Q L L Q（配列番号1953）、およびL L Q G R（配列番号1954）からなる群から選択されたアミノ酸配列を含む。例えば、内容がすべて本明細書に組み込まれているW O 2 0 1 2 0 5 9 8 8 2を参照のこと。

10

20

【0135】

「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、特定の抗原に特異的に結合するか、または特定の抗原と相互作用する少なくとも1つの相補性決定領域（C D R）を含む任意の抗原結合分子または分子複合体を意味する。「抗体」という用語は、4つのポリペプチド鎖、2つの重（H）鎖および2つの軽（L）鎖がジスルフィド結合によって相互連結された免疫グロブリン分子、ならびにその多量体（例えば、I g M）を含む。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではH C V RまたはV Hと略す）および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3つのドメインC H 1、C H 2、およびC H 3を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではL C V RまたはV Lと略す）および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン（C L 1）を含む。V HおよびV L領域は、フレームワーク領域（F R）と呼ばれるより保存された領域が散在する、相補性決定領域（C D R）と呼ばれる超可変領域にさらに細分することができる。各V HおよびV Lは、以下の順序：F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4でアミノ末端からカルボキシ末端に配列された3つのC D Rおよび4つのF Rで構成される。異なる実施形態において、抗体（またはその抗原結合部分）のF Rは、ヒト生殖系列配列と同一であり得るか、または天然もしくは人工的に修飾され得る。アミノ酸コンセンサス配列は、2つ以上のC D Rの並列分析に基づいて定義することができる。

30

【0136】

「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、完全な抗体分子の抗原結合断片も含む。抗体の「抗原結合部分」、抗体の「抗原結合断片」などの用語は、本明細書で使用される場合、抗原に特異的に結合して複合体を形成する任意の天然に存在する、酵素的に得られる、合成の、または遺伝子操作されたポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。抗体の抗原結合断片は、例えば、タンパク質消化、または抗体可変ドメインおよび任意選択で定常ドメインをコードするD N Aの操作および発現を伴う組換え遺伝子操作技術などの任意の適切な標準的技術を使用して、完全抗体分子から誘導することができる。そのようなD N Aは公知であり、および／または、例えば、商業的供給源、D N Aライブラリー（例えば、ファージ抗体ライブラリーを含む）から容易に入手可能であるか、または合成することができる。D N Aは、化学的に、または、分子生物学的技術を用いて、例えば、1つ以上の可変ドメインおよび／もしくは定常ドメインを適切な配置に配置させるため、またはコドンを導入するため、システイン残基を生成するため、アミノ酸を修飾、付加、ま

40

50

たは欠失させるためなどに、配列決定および操作することができる。

【0137】

抗原結合断片の非限定的な例としては、(i) Fab断片、(ii) F(ab')₂断片、(iii) Fd断片、(iv) Fv断片、(v) 単鎖Fv(scFv)分子、(vi) dAb断片、(vii) 抗体の超可変領域を模倣するアミノ酸残基（例えば、CDR3ペプチドなどの単離された相補性決定領域(CDR)）または拘束FR3-CDR3-FR4ペプチドからなる最小認識単位を含む。他の操作された分子、例えば、ドメイン特異的抗体、単ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ（例えば、一価ナノボディ、二価ナノボディなど）、小型モジュラー免疫医薬品(SMIP)、およびサメ可変IgNARドメインも、本明細書で使用される「抗原結合断片」という表現内に包含される。

10

【0138】

抗体の抗原結合断片は典型的には少なくとも1つの可変ドメインを含む。可変ドメインは、任意のサイズまたはアミノ酸組成であってもよく、概して、1つ以上のフレームワーク配列に隣接するか、または1つ以上のフレームワーク配列を有するフレーム内にある少なくとも1つのCDRを含む。VLドメインと会合したVHドメインを有する抗原結合断片において、VHおよびVLドメインは、任意の適切な配置で互いに対して位置を定めることができる。例えば、可変領域は二量体であり得、VH-VH、VH-VL、またはVL-VL二量体を含むことができる。

【0139】

代替的に、抗体の抗原結合断片は、単量体VHまたはVLドメインを含むことができる。

20

【0140】

特定の実施形態において、抗体の抗原結合断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有結合した少なくとも1つの可変ドメインを含むことができる。本明細書の抗体の抗原結合断片内で見つけることができる可変ドメインおよび定常ドメインの非限定的な例示的構成としては、(i) VH-CH1、(ii) VH-CH2、(iii) VH-CH3、(iv) VH-CH1-CH2、(v) VH-CH1-CH2-CH3、(vi) VH-CH2-CH3、(vii) VH-CL、(viii) VL-CH1、(ix) VL-CH2、(x) VL-CH3、(xi) VL-CH1-CH2、(xii) VL-CH1-CH2-CH3、(xiii) VL-CH2-CH3、および(xiv) VL-CLが挙げられる。本明細書に列挙される例示的な構成のいずれかを含む可変ドメインおよび定常ドメインの任意の構成において、可変ドメインおよび定常ドメインは、互いに直接連結され得るか、または完全もしくは部分的なヒンジもしくはリンカー領域によって連結され得る。ヒンジ領域は、単一のポリペプチド分子中の隣接する可変ドメインおよび／または定常ドメイン間の柔軟または半柔軟性連結をもたらす少なくとも2つの（例えば、5、10、15、20、40、60、またはそれ以上の）アミノ酸からなり得る。

30

【0141】

さらに、本明細書の抗体の抗原結合断片は、本明細書に列挙される可変ドメインおよび定常ドメイン構成のいずれかのホモ二量体またはヘテロ二量体（または他の二量体）を、互いにおよび／または1つ以上の単量体VHもしくはVLドメイン（例えば、ジスルフィド結合による）と非共有結合で含むことができる。

40

【0142】

完全な抗体分子と同様に、抗原結合断片は、単特異的または多特異的（例えば、二重特異的）であり得る。抗体の多特異性抗原結合断片は、典型的には、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含み、各可変ドメインは、別個の抗原または同じ抗原上の異なるエпитープに特異的に結合することができる。本明細書に開示される例示的な二重特異性抗体フォーマットを含む任意の多特異性抗体フォーマットは、当技術分野で利用可能な日常的な技術を使用して、本明細書の抗体の抗原結合断片の文脈での使用に適合させることができる。

50

【0143】

本明細書の抗体は、補体依存性細胞傷害（CDC）または抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）を介して機能することができる。「補体依存性細胞傷害」（CDC）とは、補体の存在下での本明細書の抗体による抗原発現細胞の溶解を指す。「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害」（ADCC）は、Fc受容体（FcR）（例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞、好中球、およびマクロファージ）を発現する非特異的細胞傷害性細胞が標的細胞上の結合抗体を認識し、それによって標的細胞の溶解をもたらす細胞媒介性反応を指す。CDCおよびADCCは、当技術分野において周知であり、利用可能なアッセイを使用して測定することができる。（例えば、米国特許第5,500,362号および第5,821,337号、およびClynes et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656を参照されたい）。抗体の定常領域は、補体を固定し、細胞依存性細胞傷害を媒介する抗体の能力において重要である。したがって、抗体のアイソタイプは、抗体が細胞傷害性を媒介することが望ましいかどうかに基づいて選択することができる。

10

【0144】

特定の実施形態において、本明細書の抗体、例えば、抗HER2抗体、または抗HER2/HER2二重特異性抗体、または抗MET抗体、または抗MET/MET二重特異性抗体、または抗STEAP2抗体は、ヒト抗体である。本明細書で使用される場合、「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を含むことを意図している。本明細書のヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列（例えば、in vitroでのランダムもしくは部位特異的突然変異誘発によって、またはin vivoでの体細胞突然変異によって導入される突然変異）によってコードされないアミノ酸残基を、例えば、CDR、特にCDR3中に含むことができる。しかしながら、本明細書で使用される場合、「ヒト抗体」という用語は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列上に移植された抗体を含むことを意図していない。

20

【0145】

抗体は、いくつかの実施形態において、組換えヒト抗体であり得る。本明細書で使用される場合、「組換えヒト抗体」という用語は、宿主細胞にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを使用して発現される抗体（以下でさらに記載される）、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離される抗体（以下でさらに記載される）、ヒト免疫グロブリン遺伝子（例えば、Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295を参照）についてトランスジェニックである動物（例えば、マウス）から単離された抗体、またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを含む任意の他の手段によって調製、発現、生成、もしくは単離された抗体などの、組換え手段によって調製、発現、生成、または単離されるすべてのヒト抗体を含むことを意図している。このような組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する。しかしながら、特定の実施形態において、このような組換えヒト抗体は、in vitro突然変異誘発（または、ヒトIg配列についてトランスジェニックな動物が使用される場合、in vivo体細胞突然変異誘発）に供され、したがって、組換え抗体のVHおよびVL領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列VHおよびVL配列に由来し、これらに関連するが、in vivoでヒト抗体生殖系列レパートリー内に天然には存在し得ない配列である。

30

40

【0146】

ヒト抗体は、ヒンジ異種性に関連する2つの形態で存在することができる。一形態では、免疫グロブリン分子は、二量体が鎖間重鎖ジスルフィド結合によって共に保持されている、約150~160 kDaの安定な4鎖構築物を含む。第2の形態では、二量体は、鎖間ジスルフィド結合を介して連結されておらず、約75~80 kDaの分子が、共有結合した軽鎖および重鎖（半抗体）で構成されるように形成される。これらの形態は、アフィニティー精製後でさえ、分離することが極めて困難であった。様々なインタクトなIgG

50

アイソタイプにおける第2の形態の出現頻度は、限定されないが、抗体のヒンジ領域アイソタイプに関連する構造的相違に起因する。ヒトIgG4ヒンジのヒンジ領域における単一アミノ酸置換は、第2の形態の出現を(Angall et al. (1993) Molecular Immunology 30:105)、ヒトIgG1ヒンジを使用して典型的に観察されるレベルまで有意に減少させることができる。本明細書は、所望の抗体形態の収率を改善するために、例えば、産生において望ましくあり得るヒンジ、CH2、またはCH3の領域に1つ以上の変異を有する抗体を包含する。

【0147】

本明細書の抗体は、単離または精製された抗体であり得る。本明細書で使用される「単離された抗体」または「精製された抗体」は、その天然環境の少なくとも1つの成分から同定および分離され、ならびに／または回収された抗体を意味する。例えば、生物の少なくとも1つの成分から、または抗体が天然に存在するか、もしくは天然に産生される組織もしくは細胞から分離もしくは除去された抗体は、本明細書の目的のための「単離された抗体」である。例えば、反応または反応配列の少なくとも1つの成分から精製された抗体は、「精製された抗体」であるか、または抗体の精製に由来するものである。単離された抗体は、組換え細胞内のin situでの抗体も含む。単離された抗体は、少なくとも1つの精製または単離工程に供された抗体である。特定の実施形態によれば、単離された抗体または精製抗体は、他の細胞物質および／または化学物質を実質的に含まないことができる。

【0148】

本明細書で開示される抗体は、抗体が由来する対応する生殖系列配列と比較して、重鎖および軽鎖の可変ドメインのフレームワークおよび／またはCDR領域に1つ以上のアミノ酸の置換、挿入、および／または欠失を含むことができる。このような突然変異は、本明細書に開示されるアミノ酸配列を、例えば、公共の抗体配列データベースから入手可能な生殖系列配列と比較することによって、容易に確認することができる。本明細書は、本明細書に開示されるアミノ酸配列のいずれかに由来する抗体およびその抗原結合断片を含み、1つ以上のフレームワークおよび／またはCDR領域内の1つ以上のアミノ酸が、抗体が由来する生殖系列配列の対応する残基、または別のヒト生殖系列配列の対応する残基、または、対応する生殖系列残基（このような配列変化は、本明細書では集合的に「生殖系列突然変異」と呼ばれる）の保存的アミノ酸置換に変異している。当業者は、本明細書に開示される重鎖および軽鎖の可変領域配列から出発して、1つ以上の個々の生殖系列突然変異またはそれらの組み合わせを含む多くの抗体および抗原結合断片を容易に産生することができる。特定の実施形態において、VHおよび／またはVLのドメイン内のフレームワークおよび／またはCDR残基のすべてが、抗体が由来する元の生殖系列配列中に見られる残基に再度変異する。他の実施形態において、特定の残基のみが、例えば、FR1の最初の8個のアミノ酸内もしくはFR4の最後の8個のアミノ酸内で見られる変異残基のみ、またはCDR1、CDR2、もしくはCDR3内で見られる変異残基のみが、元の生殖系列配列に再度変異する。他の実施形態において、フレームワークおよび／またはCDR残基の1つ以上は、異なる生殖系列配列（すなわち、抗体が元々由来した生殖系列配列とは異なる生殖系列配列）の対応する残基に変異する。

【0149】

さらに、本明細書の抗体は、フレームワークおよび／またはCDR領域内に2つ以上の生殖系列突然変異の任意の組み合わせを含むことができ、例えば、特定の個々の残基は特定の生殖系列配列の対応する残基に突然変異するが、元の生殖系列配列とは異なる特定の他の残基は維持されるか、または異なる生殖系列配列の対応する残基に突然変異する。ひとたび得られると、1つ以上の生殖系列突然変異を含む抗体および抗原結合断片は、1つ以上の所望の特性、例えば、結合特異性の改善、結合親和性の増大、アンタゴニストまたはアゴニスト生物学的特性の改善または増強（場合によって）、免疫原性の低減、抗体-薬物コンジュゲートの薬物対抗体比(DAR)の改善などについて、容易に試験することができる。この一般的な様式で得られた抗体および抗原結合断片は、本明細書に包含され

る。

【0150】

「非グリコシル化 (aglycosylated) 抗体」という用語は、トランスグルタミン化 (transglutamination) 反応を妨害する可能性があるグリコシル化配列を含まない抗体、例えば、1つ以上の重鎖上のN297に糖基を有していない抗体を指す。特定の実施形態において、抗体重鎖はN297変異を有する。言い換えれば、抗体は、Kabatraによって開示されるEU番号付けシステムに従って、297位にアスパラギン残基をもはや有していないように変異する。特定の実施態様において、抗体重鎖は、N297QまたはN297D突然変異を有する。このような抗体は、グリコシル化配列を除去もしくは無効にする部位特異的突然変異誘発によって、または任意の干渉グリコシル化部位もしくは任意の他の干渉構造から離れた部位にグルタミン残基を挿入する部位特異的突然変異誘発によって調製することができる。そのような抗体は、天然源または人工源から単離することもできる。アグリコシル化抗体はさらに、T299もしくはS298Pもしくは他の変異、またはグリコシル化の欠如をもたらす変異の組み合わせを含む抗体も含む。

10

【0151】

「脱グリコシル化 (deglycosylated) 抗体」という用語は、糖基を除去してトランスグルタミナーゼ媒介コンジュゲーションを促進する抗体を指す。糖としては、限定されないが、N結合型糖鎖糖が挙げられる。いくつかの実施形態において、脱グリコシル化は、残基N297で行われる。いくつかの実施形態において、糖基の除去は、限定されないが、PNGaseを介して酵素的に達成される。

20

【0152】

「エピトープ」という用語は、パラトープとして知られる抗体分子の可変領域における特異的抗原結合部位と相互作用する抗原決定基を指す。単一の抗原は、1つを超えるエピトープを有することができる。したがって、異なる抗体は、抗原上の異なる領域に結合することができる、異なる生物学的効果を有することができる。エピトープは、立体構造または線状のいずれかであり得る。立体構造のエピトープは、直鎖状ポリペプチド鎖の異なるセグメントの空間的に並置されたアミノ酸によって生じる。線状のエピトープは、ポリペプチド鎖内の隣接するアミノ酸残基によって生じるものである。特定の状況において、エピトープは、抗原上の糖、ホスホリル基、またはスルホニル基の部分を含むことができる。

30

【0153】

「コンジュゲートタンパク質」または「コンジュゲート抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、1つ以上の化学的部分に共有結合したタンパク質または抗体を指す。化学部分は、本開示のアミン化合物を含むことができる。本開示と共に使用するのに適したリンカー (L) およびペイロード (D) は、本明細書に詳細に記載されている。特定の実施形態において、治療部分を含むコンジュゲート抗体は、抗体-ペイロードコンジュゲートまたは抗体-リンカー-ペイロードコンジュゲートとも呼ばれる抗体-薬物コンジュゲート (ADC) である。

【0154】

「薬物対抗体比」または (DAR) という用語は、本開示の結合剤にコンジュゲートした治療部分、例えば、薬物の平均数である。

40

【0155】

「リンカー抗体比」または (LAR) という用語は、いくつかの実施形態において、小文字のlとしても示され、本開示の結合剤にコンジュゲートされた反応性1級アミン化合物の平均数である。そのような結合剤、例えば、抗体は、例えば、適切なアジドまたはアルキンを含む1級アミン化合物とコンジュゲートすることができる。得られた結合剤は、アジドまたはアルキンで官能化され、その後、1,3-環化付加反応を介して、対応するアジドまたはアルキンを含む治療部分と反応することができる。

【0156】

50

「薬学的に許容可能な量」という語句は、必要としている対象における少なくとも1つの健康問題の効果または症状を治療する、軽減する、緩和する、または調節するのに有効または十分な量を指す。例えば、抗体または抗体-薬物コンジュゲートの薬学的に許容可能な量は、本明細書で提供される抗体または抗体-薬物コンジュゲートを使用して、生物学的標的を調節するのに有効な量である。適切な薬学的に許容可能な量としては、限定されないが、約0.001%~最大約10%、およびその間の任意の量、例えば、本明細書で提供される抗体または抗体-薬物コンジュゲートの約0.01%、約0.02%、約0.03%、約0.04%、約0.05%、約0.06%、約0.07%、約0.08%、約0.09%、約0.1%、約0.2%、約0.3%、約0.4%、約0.5%、約0.6%、約0.7%、約0.8%、約0.9%、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、または約10%が挙げられる。 10

【0157】

「反応pH」という語句は、すべての反応成分または反応物が添加された後の反応のpHを指す。

【0158】

核酸またはその断片に言及する際の「実質的同一性」または「実質的に同一」という用語は、適切なヌクレオチド挿入または欠失を用いて別の核酸（またはその相補鎖）と最適にアラインメントされる場合、以下で議論されるようなFASTA、BLAST、またはギャップなどの配列同一性の任意の周知のアルゴリズムによって測定されるように、ヌクレオチド塩基の少なくとも約95%、より好ましくは少なくとも約96%、97%、98%、または99%でヌクレオチド配列同一性があることを示す。参照核酸分子に対して実質的な同一性を有する核酸分子は、特定の例では、参照核酸分子によってコードされるポリペプチドと同じまたは実質的に類似するアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードすることができる。 20

【0159】

ポリペプチドに適用される場合、「実質的な類似性」または「実質的に類似する」という用語は、2つのペプチド配列が、デフォルトのギャップ重みを使用するプログラムgAPまたはBESTFITなどによって最適にアラインメントされる場合、少なくとも95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも98%または99%の配列同一性を共有することを意味する。好ましくは、同一ではない残基位置は、保存的アミノ酸置換によって異なる。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似の化学的性質（例えば、電荷または疎水性）を有する側鎖（R基）を有する別のアミノ酸残基によって置換されるものである。一般に、保存的アミノ酸置換は、タンパク質の機能的特性を実質的に変化させない。2つ以上のアミノ酸配列が保存的置換によって互いに異なる場合、パーセント配列同一性または類似性の程度は、置換の保存的性質を補正するために上方調整することができる。この調整を行うための手段は当業者に周知である。例えば、Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24:307-331を参照されたい。同様の化学特性を有する側鎖を有するアミノ酸の群の例としては、(1)脂肪族側鎖：グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシン、(2)脂肪族-ヒドロキシル側鎖：セリンおよびトレオニン、(3)アミド含有側鎖：アスパラギンおよびグルタミン、(4)芳香族側鎖：フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファン、(5)塩基性側鎖：リジン、アルギニン、およびヒスチジン、(6)酸性側鎖：アスパラギン酸およびグルタミン酸、ならびに(7)硫黄含有側鎖はシステインおよびメチオニンが挙げられる。いくつかの実施形態において、保存的アミノ酸置換の群は、バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルアラニン-チロシン、リジン-アルギニン、アラニン-バリン、グルタミン酸-アスパラギン酸、およびアスパラギン-グルタミンである。 30 40

【0160】

代替的に、保存的置換は、Gonnet et al. (1992) Science 256:1443-1445に開示されるPAM250対数尤度行列において正の値を有する任意の変化である。「中程度に保存的な」置換は、PAM250対数尤度行列におい 50

て負ではない値を有する任意の変化である。

【0161】

配列同一性とも呼ばれるポリペプチドの配列類似性は、典型的には、配列解析ソフトウェアを用いて測定される。タンパク質分析ソフトウェアは、保存的アミノ酸置換を含む、様々な置換、欠失、および他の修飾に割り当てられた類似性の尺度を使用して、類似配列にマッチする。例えば、g C Gソフトウェアは、異なる種の生物に由来する相同ポリペプチドなどの密接に関連するポリペプチド間、または野生型タンパク質とその突然変異タンパク質との間の配列相同性または配列同一性を決定するために、デフォルトパラメータと共に使用することができる g a p および B e s t f i t などのプログラムを含む。例えば、g C G バージョン 6 . 1 を参照されたい。ポリペプチド配列はさらに、g C G バージョン 6 . 1 のプログラムである F A S T A を使用して、デフォルトまたは推奨パラメータを使用して比較することができる。F A S T A (例えば、F A S T A 2 および F A S T A 3) は、クエリー配列と検索配列との間の最良の重複領域のアラインメントおよび配列同一性パーセントを提供する (P e a r s o n (2000)、上記)。記述の配列を異なる生物由来の多数の配列を含むデータベースと比較する場合の別の特定のアルゴリズムは、デフォルトパラメータを使用するコンピュータプログラム B L A S T、特に B L A S T P または T B L A S T N である。例えば、A l t s c h u l e t a l . (1990) J . M o l . B i o l . 215 : 403-410 and A l t s c h u l e t a l . (1997) N u c l e i c A c i d s R e s . 25 : 3389-402 を参照のこと。

10

20

【0162】

タンパク質-薬物コンジュゲート化合物

前述の目的および他の目的によれば、本開示は、タンパク質-薬物コンジュゲート化合物、例えば、抗体-薬物コンジュゲート化合物、ならびにその前駆体および中間体、医薬組成物、ならびにそのような治療を必要とする対象における特定の疾患を治療するための方法を提供する。本開示によれば、本明細書で提供されるタンパク質-薬物コンジュゲート化合物は、本明細書に記載されるように、治療部分、例えば、エキサテカンまたはプロエキサテカン部分に結合した 1 級アミン化合物とコンジュゲートしたグルタミンイル修飾結合剤を含む。

【0163】

一態様では、本開示は、第 1 のリンカー、トリアゾールを含む単位、および第 2 のリンカーを介して、1 つ以上の化合物 (例えば、エキサテカンまたはプロエキサテカン) にコンジュゲートした 1 つ以上のグルタミン残基を有する、本開示による結合剤 (例えば、抗体またはその断片) を含む化合物を提供する。例示的な非限定的な例としては、本明細書に記載される式 (A) が挙げられる。結合剤が抗体 (例えば、モノクローナル抗体) である本開示によるタンパク質-薬物コンジュゲートの特定の実施形態において、「抗体薬物コンジュゲート」または A D C という用語が任意選択で使用される。

30

【0164】

一態様では、本開示は、式 (A) :



40

の構造を有する化合物を提供し、式中、

B A は抗体またはその抗原結合断片であり、

L 1 は第 1 のリンカーであり、

B はトリアゾールを含む部分であり、

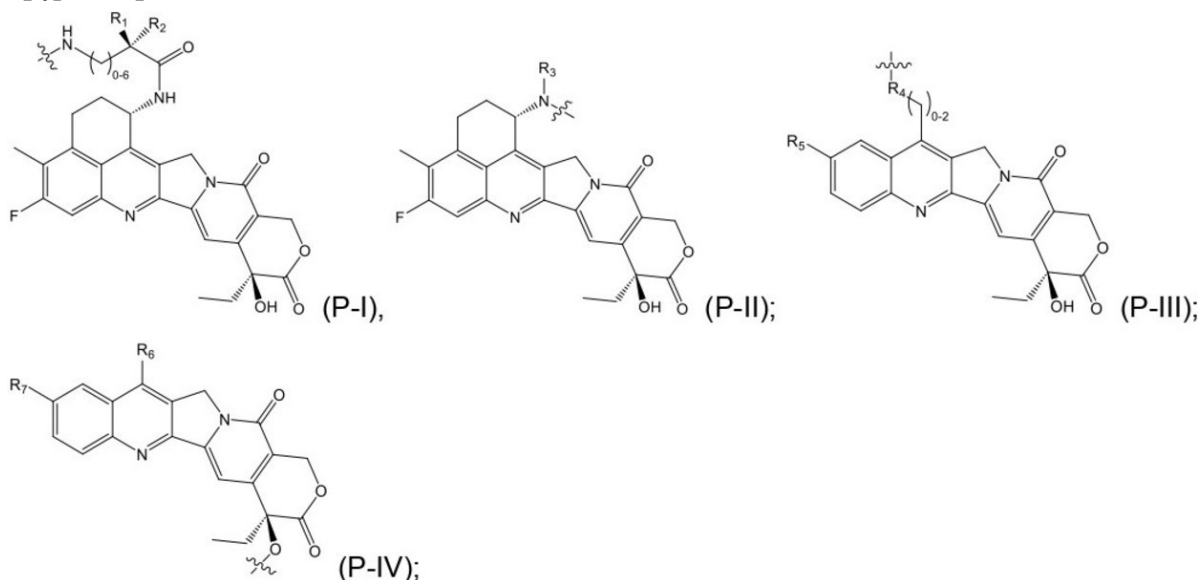
L 2 は第 2 のリンカーであり、

P は P - I ~ P - I V

【0165】

50

【化 2 7】



10

からなる群から選択され、

R_1 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

20

R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

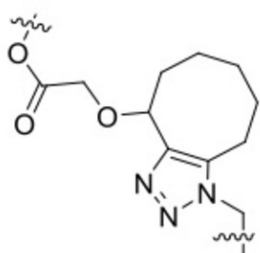
R_3 は、水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ 、および $-CO-(CH_2)_v-O-COCH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

R_4 は、 $-NH-$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-SO_2CH_3)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-(CH_2)_v-OH)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-(CH_2)_v-O-CH_2-NH-CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル)、または

30

【0166】

【化 2 8】



40

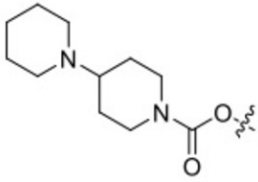
であり、 v は 0~12 の整数であり、

R_5 は H、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【0167】

50

【化 2 9】



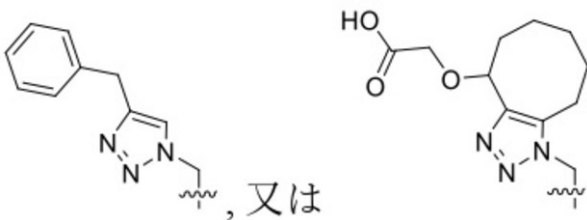
であり、

R_6 は、水素、 $-C_{1-6}$ アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CH_2$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NMe-CH_2$ -フェニル-OMe、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-CCH$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH$

10

【0 1 6 8】

【化 3 0】

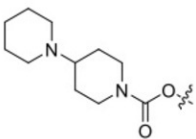


20

であり、 v は独立して、 $0 \sim 12$ の整数であり、 R_7 は、 H 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【0 1 6 9】

【化 3 1】



30

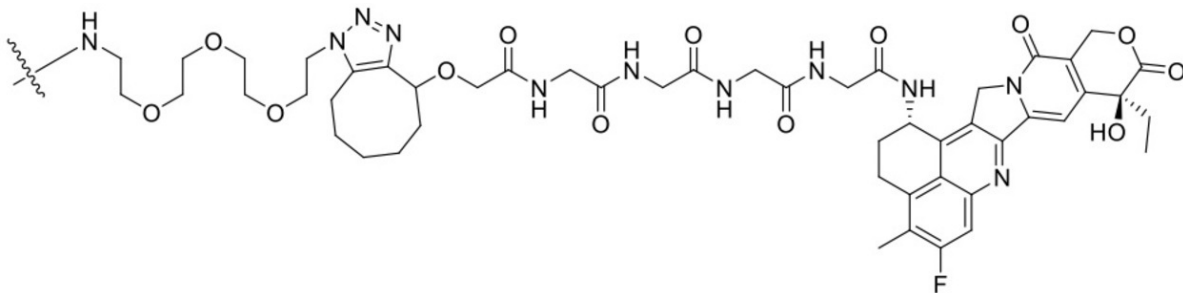
であり、 n は $1 \sim 12$ の整数である。

【0 1 7 0】

1つの実施形態において、式 (A) の化合物の $-L1-B-L2-P$ は、以下の構造

【0 1 7 1】

【化 3 2】



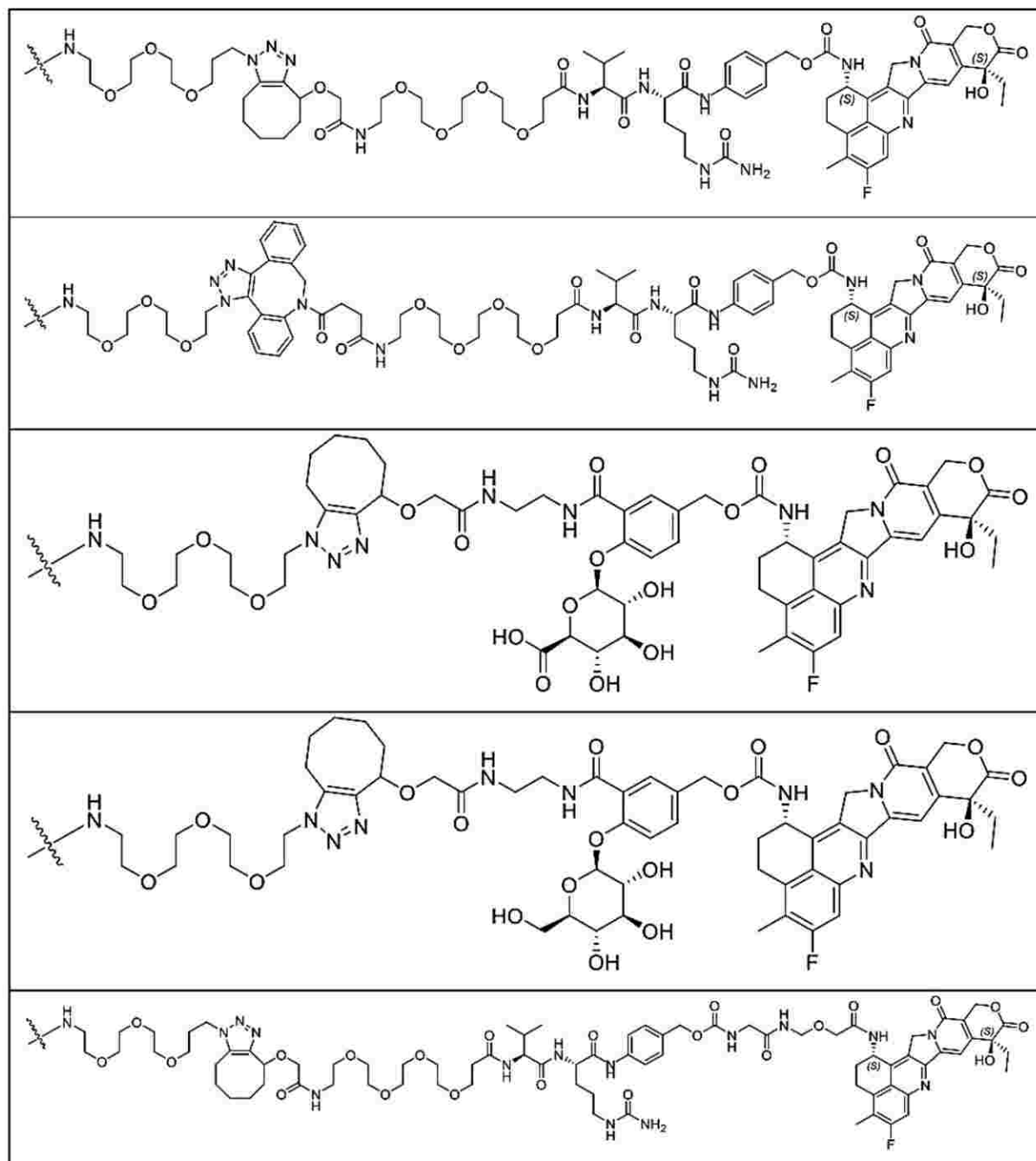
40

を有する。

【0 1 7 2】

50

1つの実施形態において、式（A）の化合物の－L1－B－L2－Pは、以下の構造
 【0173】
 【表8－1】

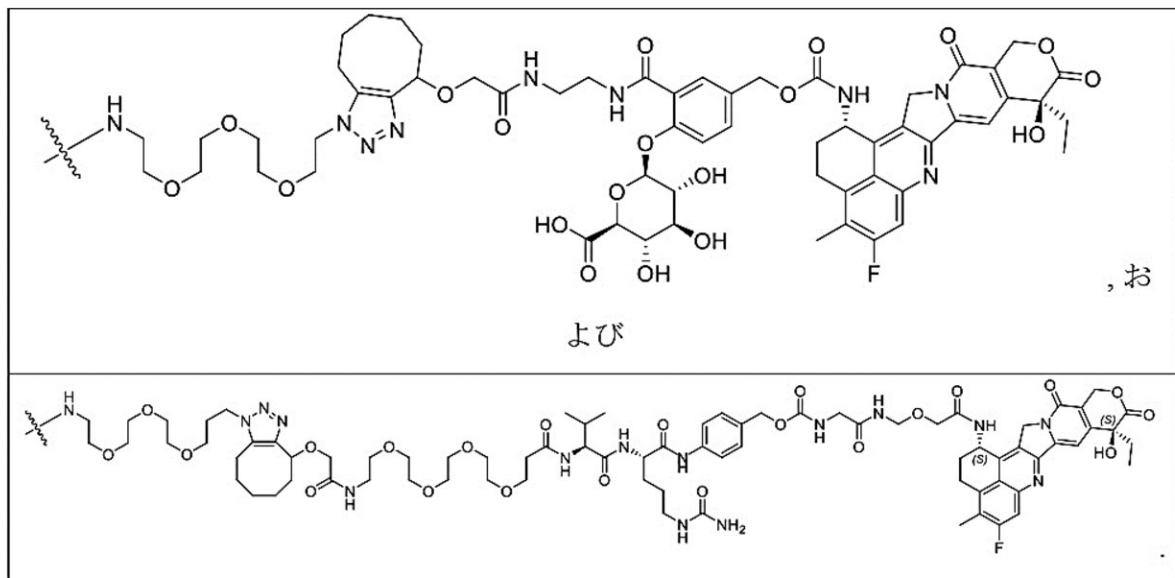


40

【0174】

50

【表 8 - 2】



10

20

を有する。

【 0 1 7 5 】

1つの実施形態において、本開示の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩は、

【 0 1 7 6 】

30

40

50

10



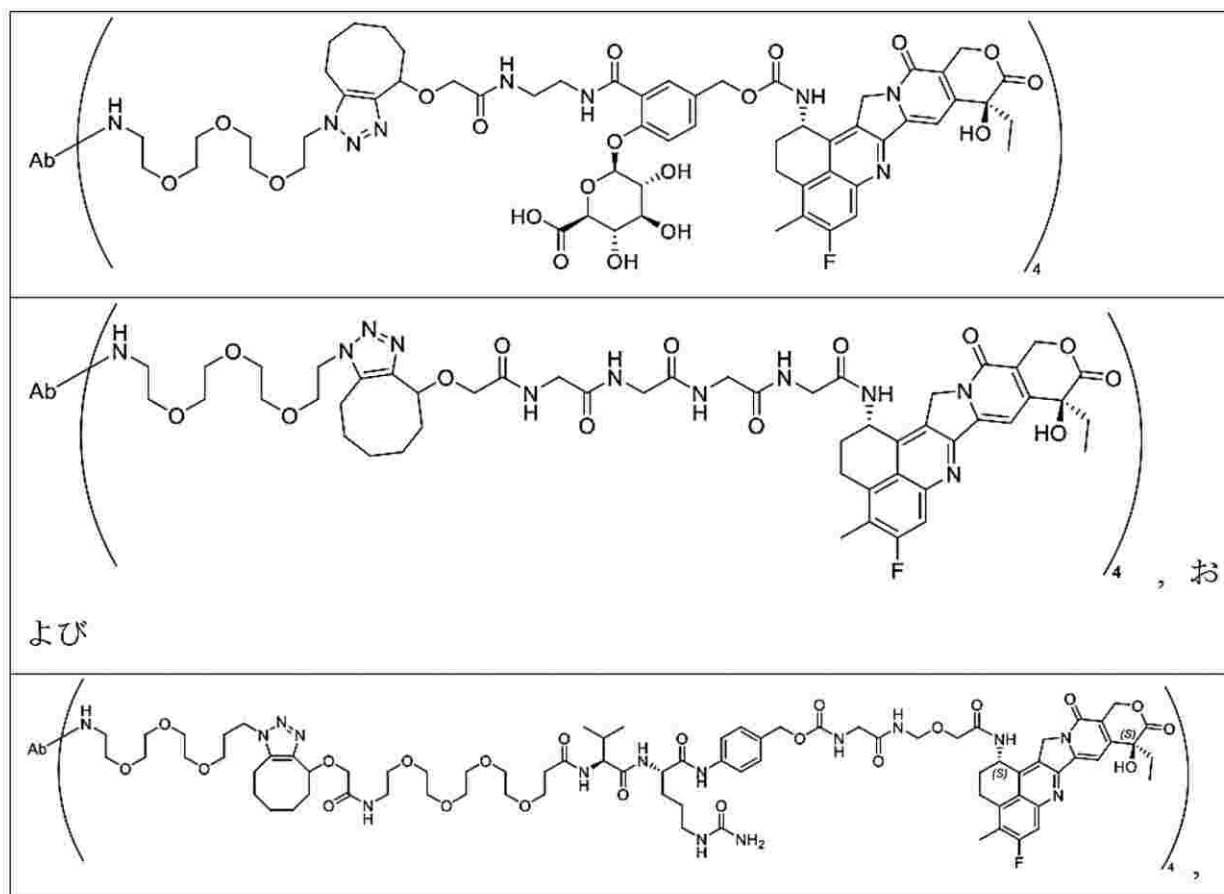
30

40

【 0 1 7 7 】

50

【表 9 - 2】



10

20

30

40

50

からなる群から選択される構造を有する。

【0178】

リンカー L 1

特定の実施形態において、リンカー L 1 は、結合剤 B A のグルタミン残基のアミンに共有結合される。

【0179】

特定の実施形態において、リンカー L 1 は、アルキル（例えば、 C_{1-12} アルキル、または C_{1-12} アルキル、または C_{1-6} アルキル）、フェニル、アラルキル-NH-、 $-C(O)-$ 、 $-(CH_2)_u-NH-C(O)-$ 、 $-(CH_2)_u-C(O)-NH-$ 、 $-(CH_2-CH_2-O)_v-$ 、 $-(CH_2)_u-(O-CH_2-CH_2)_v-C(O)-NH-$ 、2～4個のアミノ酸を含むペプチド単位、またはそれらの組み合わせを含み、これらのそれぞれは、 $-S-$ 、 $-S(O_2)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O_2)-$ 、または $-CO_2H$ の1つ以上で任意選択で置換されてもよく、下付き文字の u および v は独立して、1～8の整数である。

【0180】

特定の実施形態において、遊離（コンジュゲートされていない）リンカー L 1 は、トランスグルタミン化反応を介するグルタミン残基への結合のための1級アミンを含む。

【0181】

1つの実施形態において、リンカーL1は、1つ以上のポリエチレングリコール（PEG）単位を含む。1つの実施形態において、L1は、2、または3、または4、または5、または6、または7、または8、または9、または10のPEG単位を含む。

【0182】

1つの実施形態において、リンカーL1はジスルフィド（-S-S-）結合を含む。

【0183】

1つの実施形態において、リンカーL1は-S（O₂）-部分を含む。

【0184】

1つの実施形態において、リンカーL1上の1つ以上の炭素は、-CO₂Hで置換される。

10

【0185】

1つの実施形態において、リンカーL1は、2～4個のアミノ酸を含むペプチド単位、または2個のアミノ酸を含むペプチド単位、または3個のアミノ酸を含むペプチド単位、または4個のアミノ酸を含むペプチド単位を含む。

【0186】

1つの実施形態において、リンカーL1は、アラニン、グリシン、バリン、フェニルアラニン、プロリン、グルタミン酸、およびシトルリン、ならびにそれらの組み合わせから選択される2つのアミノ酸を含むペプチド単位を含む。1つの特定の実施形態において、リンカーL1はバリン-シトルリン単位を含む。

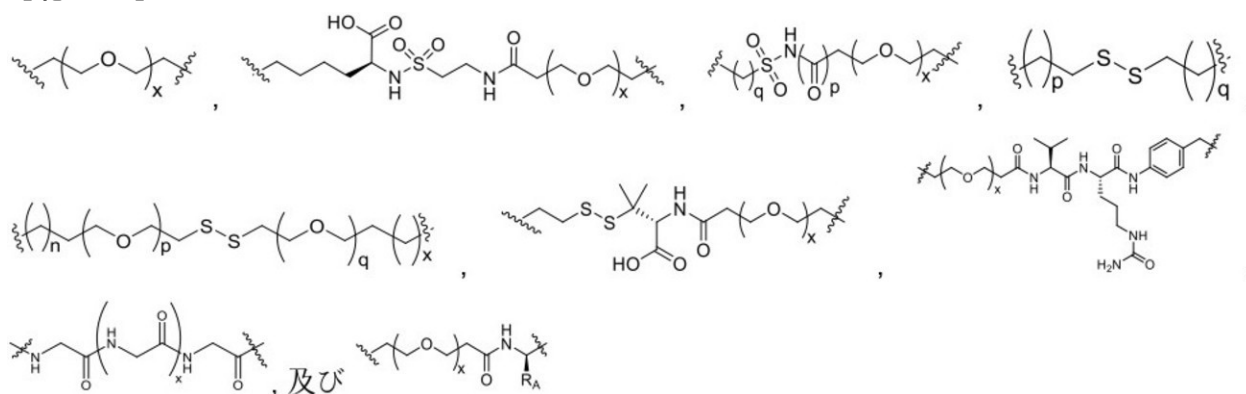
20

【0187】

いくつかの実施形態において、リンカーL1は、

【0188】

【化33】



30

からなる群から選択され、式中、R_Aは、アルキン、アジド、テトラジン、トランス-シクロオクテン、マレイミド、アミン、ケトン、アルデヒド、カルボン酸、エステル、チオール、スルホン酸、トシル化物、ハロゲン化物、シラン、シアノ基、炭水化物基、ピオチン基、脂質残基を含む基であり、下付き文字x、n、p、およびqは独立して、0～12の整数、およびこれらの組み合わせである。

40

【0189】

いくつかの実施形態において、リンカーL1は、

【0190】

50

【表 10】

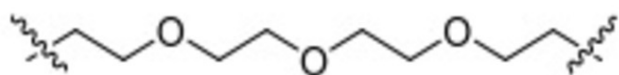
からなる群から選択される。

【 0 1 9 1 】

1つの実施形態において、L1は

【 0 1 9 2 】

【化 3 4】



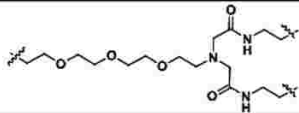
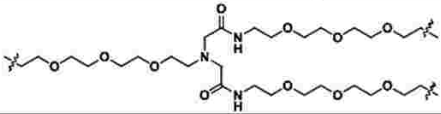
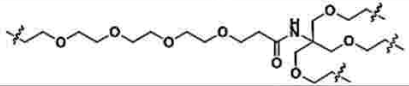
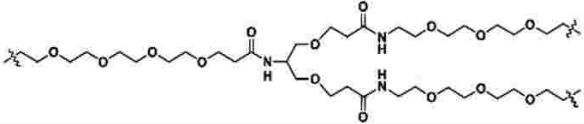
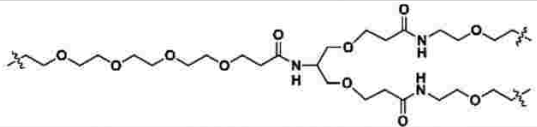
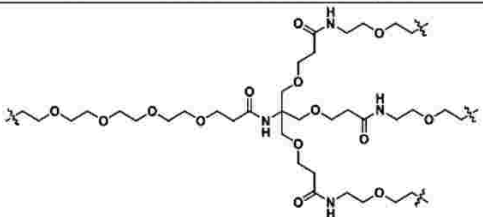
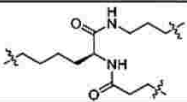
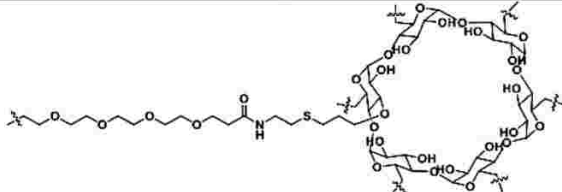
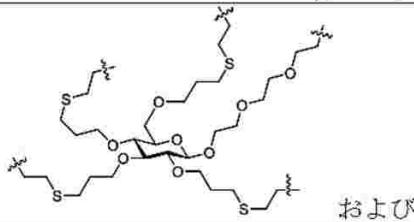
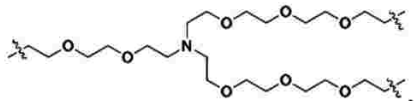
である。

【 0 1 9 3 】

別の実施形態において、L 1 は、

【 0 1 9 4 】

【表 1 1】

	
	
	
	
	
	
	
	
	および
	

10

20

30

40

またはその薬学的に許容可能な塩からなる群から選択される。

【0195】

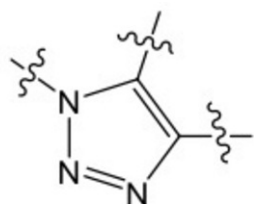
トリアゾールを含む部分 B

一態様では、B はトリアゾール (

【0196】

50

【化 3 5】



) を含む化合物である。

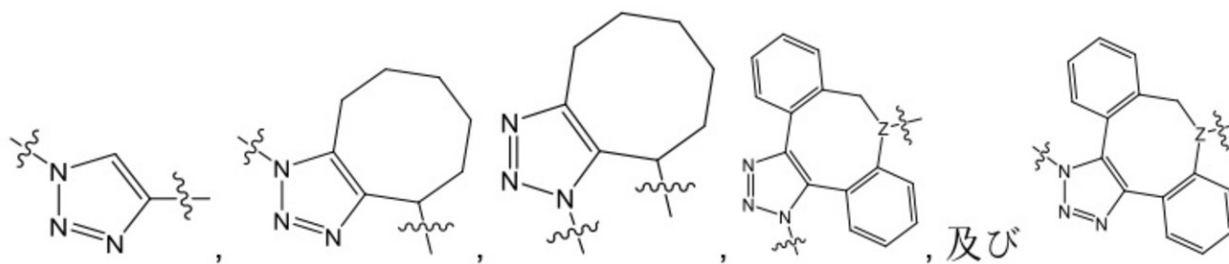
【0197】

10

いくつかの実施形態において、Bは、

【0198】

【化 3 6】



20

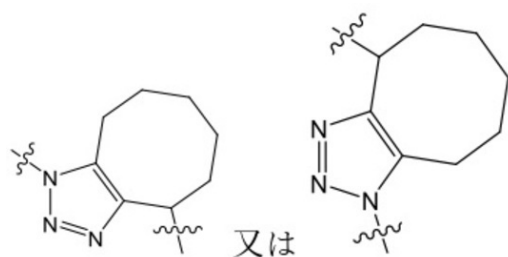
からなる群から選択され、ZはCまたはNである。

【0199】

1つの実施形態において、Bは

【0200】

【化 3 7】

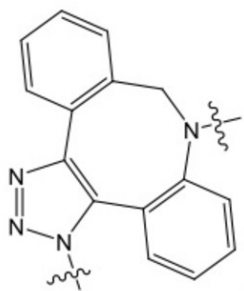


30

である。別の実施形態において、Bは

【0201】

【化 3 8】



40

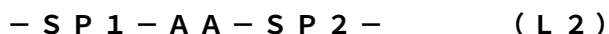
である。

【0202】

リンカー L 2

本開示の特定の実施形態において、リンカー L 2 は、式 (L 2) :

50



の構造を有し、式中、

SP1は存在しないか、または第1のスペーサー単位であり、

AAは存在しないか、または2～4個のアミノ酸を含むペプチド単位であり、

SP2は存在しないか、またはPに共有結合した第2のスペーサー単位であり、ただし、SP1、AA、およびSP2の少なくとも1つが存在しないことはないとする。

【0203】

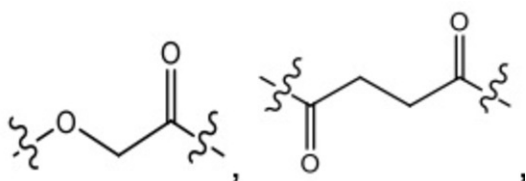
1つの実施形態において、SP1は存在しない。

【0204】

1つの実施形態において、SP1は、

【0205】

【化39】



、C₁₋₆アルキル、-(CH₂-CH₂-O)_v-、-NH-、-C(O)-、-NH-C(O)-、-NH-(CH₂)_u-、-NH-(CH₂)_u-C(O)-、-NH-(CH₂-CH₂-O)_v-、-NH-(CH₂-CH₂-O)_v-C(O)-、-NH-(CH₂-CH₂-O)_v-(CH₂)_u-、-NH-(CH₂-CH₂-O)_v-(CH₂)_u-C(O)-、-(CH₂)_u-NH-C(O)-、-NH-(CH₂)_u-NH-C(O)-、-NH-(CH₂)_u-C(O)-NH-、およびそれらの組み合わせからなる群から選択され、下付き文字のuおよびvは独立して、1～8の整数である。

【0206】

1つの実施形態において、AAは存在しない。

【0207】

1つの実施形態において、AAは、アラニン、グリシン、バリン、プロリン、グルタミン酸、リジン、フェニルアラニン、およびシトルリン、ならびにそれらの組み合わせから選択された2～4個のアミノ酸を含むペプチド単位である。

【0208】

1つの実施形態において、AAは、バリン-シトルリン、グルタミン酸-バリン-シトルリン、グリシン-グリシン-グリシン、またはグリシン-グリシン-グリシン-グリシンである。

【0209】

1つの実施形態において、AAはバリン-シトルリンである。

【0210】

1つの実施形態において、AAはグルタミン酸-バリン-シトルリンである。

【0211】

1つの実施形態において、AAはグリシン-グリシン-グリシンである。

【0212】

1つの実施形態において、AAはグリシン-グリシン-グリシン-グリシンである。

【0213】

1つの実施形態において、SP2は存在しない。

【0214】

いくつかの実施形態において、SP2は、

【0215】

10

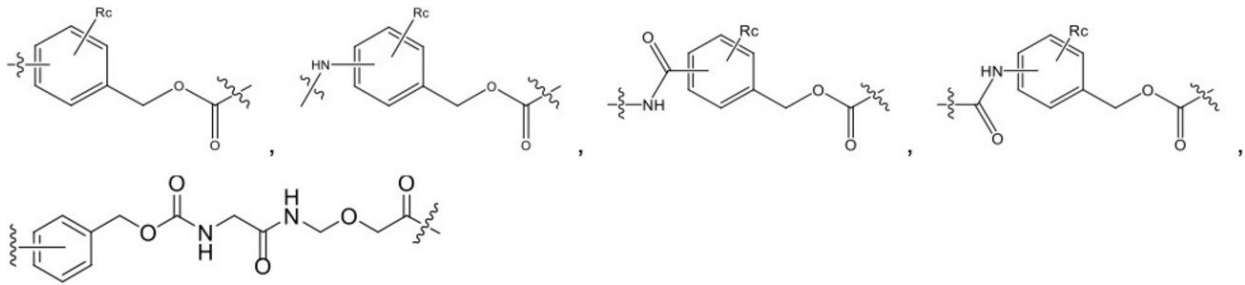
20

30

40

50

【化 4 0】

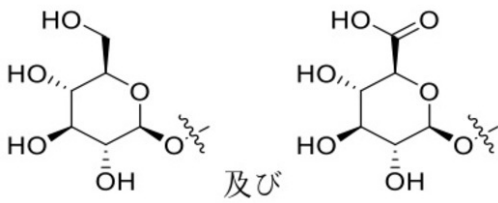


およびそれらの組み合わせからなる群から選択され、 R_c は独立して、各出現時に、存在しないか、または

10

【0 2 1 6】

【化 4 1】



20

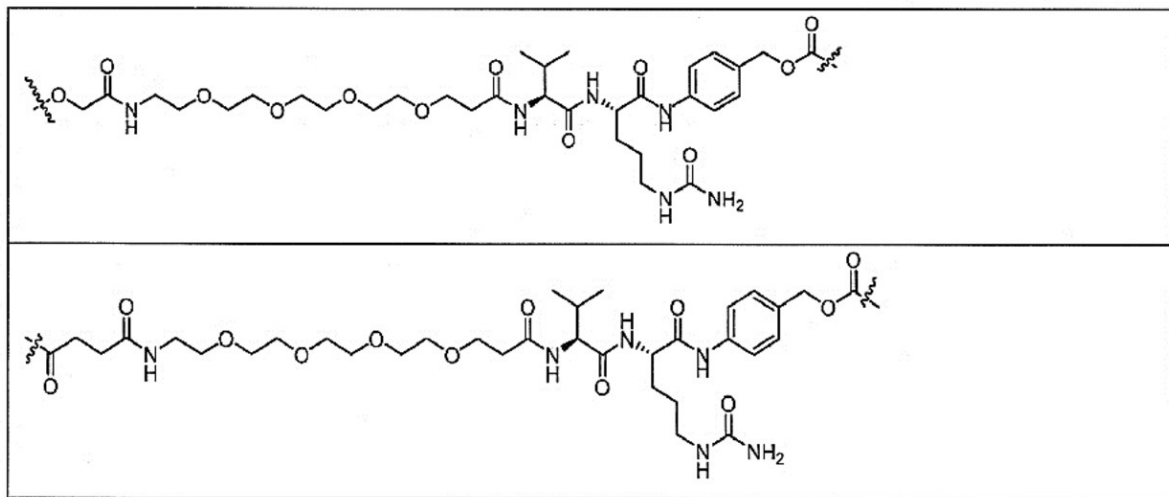
から選択される基である。

【0 2 1 7】

特定の実施形態において、 L_2 は、

【0 2 1 8】

【表 1 2 - 1】



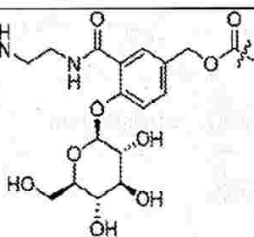
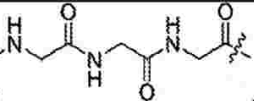
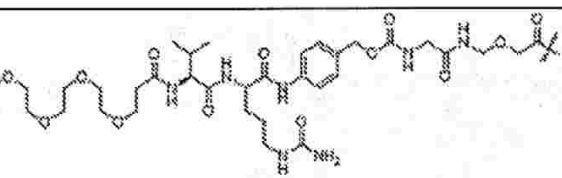
30

40

【0 2 1 9】

50

【表 12-2】

	
	及び
	

からなる群から選択される。

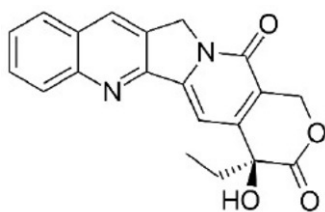
【 0 2 2 0 】

パイロード

特定の実施形態において、本開示のペイロードは、カンプトテシンアナログおよび／または誘導体である。

【 0 2 2 1 】

【化 4 2】



カンプトテシン

【0 2 2 2】

10

上に示されたカンプトテシン (CPT) は、トポイソメラーゼ毒物である。これは、1966年に、M. E. Wall および M. C. Wani により、抗癌剤の天然物の系統的スクリーニングにおいて発見された。これは、伝統的な中国医薬において癌治療薬として使用される中国に固有の樹木である、カンレンボク (*Camptotheca acuminata*) (*Camptotheca*, *Happy tree*) の樹皮および茎から単離される。カンプトテシンは、予備臨床試験において顕著な抗癌活性を示した。しかしながら、それは溶解度が低いため、合成化学者および医薬品化学者は、カンプトテシンおよび様々な誘導体の多くの合成を開発することで、化学物質の利益を増大させ、良好な結果を得た。4つのカンプトテシンアナログ：トポテカン、イリノテカン、ペロテカン、およびデルクステカン (Dxd) が承認されており、今日、癌化学療法において使用されている。

20

【0 2 2 3】

トラスツズマブデルクステカン (T-Dxd、別名 DS8201a) は、ヒト上皮増殖因子受容体 2 (HER2) 指向性の抗体トラスツズマブおよびトポイソメラーゼ I 阻害剤コンジュゲートデルクステカン (Dxd、エキサテカンの誘導体) を含む抗体-薬物コンジュゲートである。これは、2019年2月に米国での使用が承認された。

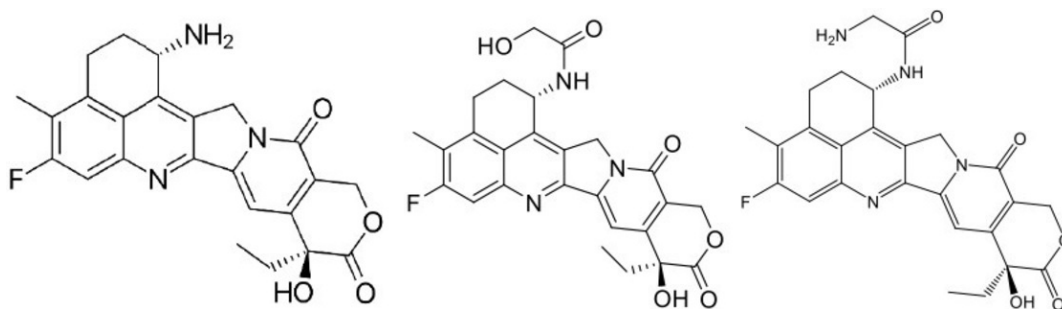
【0 2 2 4】

下に示されたエキサテカンは、カンプトテシンアナログである。

【0 2 2 5】

【化 4 3】

30



左:エキサテカン、中央:デルクステカン (Dxd)、右:プロエキサテカン

40

【0 2 2 6】

1つの実施形態において、本開示のペイロードはエキサテカンである。

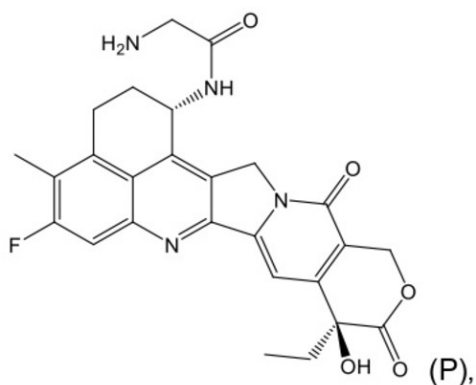
【0 2 2 7】

特定の実施形態において、本開示のペイロードは、構造 P 2 (プロエキサテカン) (*pro-Exatecan*) を有する化合物、またはその薬学的に許容可能な塩は、

【0 2 2 8】

50

【化 4 4】



10

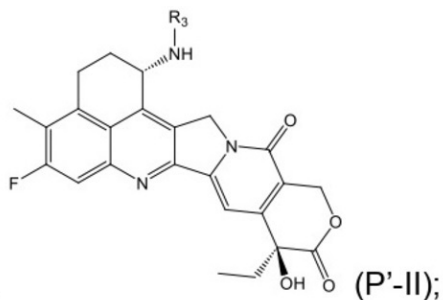
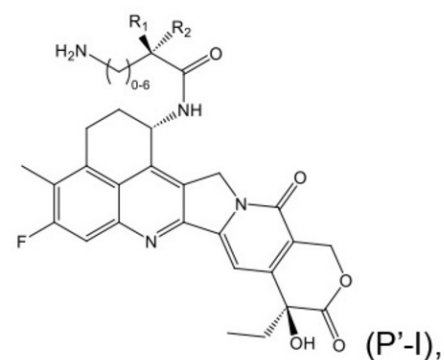
である。

【0229】

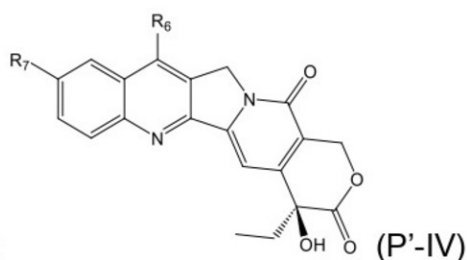
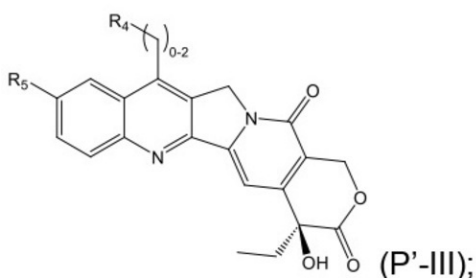
特定の実施形態において、本開示は、 $\text{P}'\text{-I} \sim \text{P}'\text{-IV}$

【0230】

【化 4 5】



20



30

からなる群から選択される構造を有するペイロード、またはその薬学的に許容可能な塩を提供し、式中、

R_1 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v$ -フェニル、および $-(\text{CH}_2)_v-\text{SO}_2\text{CH}_3$ であり、 v は 0 ~ 12 の整数であり、

40

R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v$ -フェニル、および $-(\text{CH}_2)_v-\text{SO}_2\text{CH}_3$ であり、 v は 0 ~ 12 の整数であり、

R_3 は、水素、 $-\text{C}_{1-6}$ アルキル、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_v$ -フェニル、 $-(\text{CH}_2)_v-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、および $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_v-\text{O}-\text{COCH}_3$ であり、 v は 0 ~ 12 の整数であり、

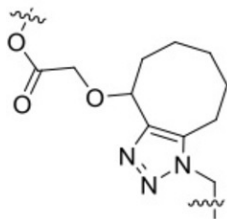
R_4 は、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-\text{SO}_2\text{CH}_3)$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-(\text{CH}_2)_v-\text{OH})$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(\text{CO}-\text{CH}_2-\text{NH}_2)$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-(\text{CH}_2)_v-\text{O}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{NH}_2)$ 、 $-\text{N}(-\text{C}_{1-6}\text{アルキル})(-\text{CO}-\text{CH}$

50

(NH₂) - (CH₂)_v - COOH)、-N(-C₁₋₆アルキル)(-CO-CH(NH₂)-(CH₂)_v-NH₂)、-N(-C₁₋₆アルキル)(-CO-CH(NH₂)-(CH₂)_v-フェニル)、または

【0231】

【化46】



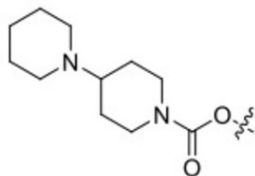
10

であり、vは0～12の整数であり、

R₅はH、-OH、-OCH₃、または

【0232】

【化47】



20

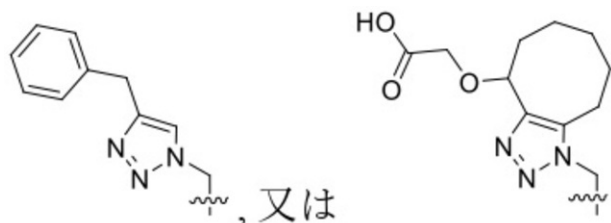
であり、

R₆は、水素、-C₁₋₆アルキル、-(CH₂)_v-OH、-(CH₂)_v-NH₂、-(CH₂)_v-フェニル、-(CH₂)_v-N₃、-(CH₂)_v-NH-CH₂-フェニル、-(CH₂)_v-NMe-CH₂-フェニル-OMe、-(CH₂)_v-NH-(CH₂)_v-N₃、-(CH₂)_v-NH-(CH₂)_v-CCH、-(CH₂)_v-NH-CO-CH(NH₂)-(CH₂)_v-フェニル、-(CH₂)_v-NH-CO-CH(NH₂)-(CH₂)_v-N₃、-(CH₂)_v-NH-CO-CH(NH₂)-(CH₂)_v-NH₂、-(CH₂)_v-NH-CO-CH(NH₂)-(CH₂)_v-COOH

30

【0233】

【化48】



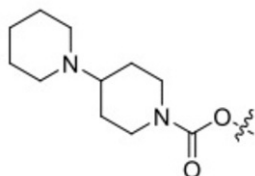
40

であり、vは独立して、0～12の整数であり、

R₇はH、-OH、-OCH₃、または

【0234】

【化49】



50

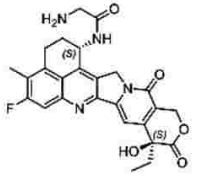
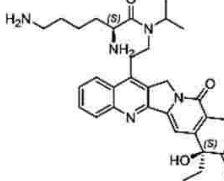
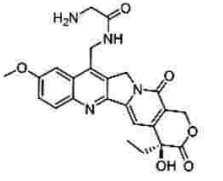
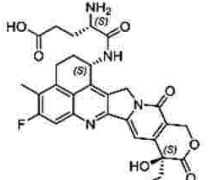
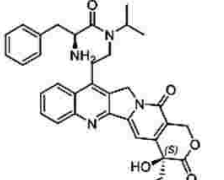
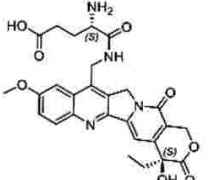
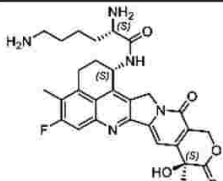
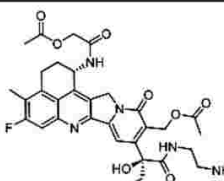
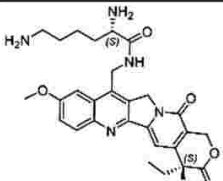
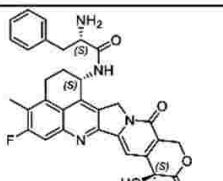
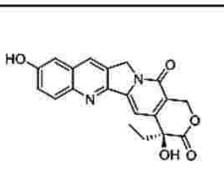
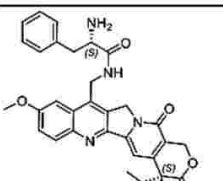
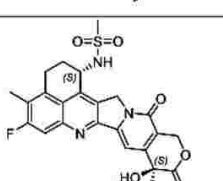
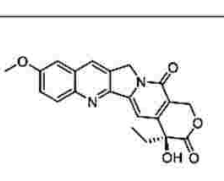
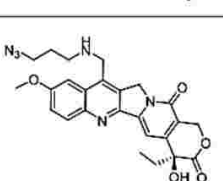
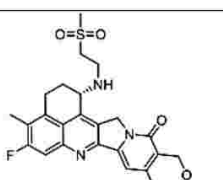
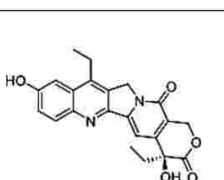
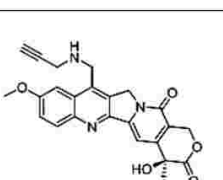
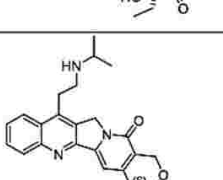
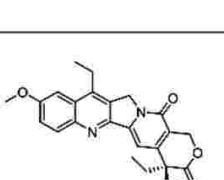
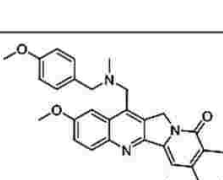
である。

【 0 2 3 5 】

特定の実施形態において、本開示のペイロードは、

【 0 2 3 6 】

【表 1 3 - 1】

10

20

30

40

【 0 2 3 7 】

50

【表 13-2】

10

20

30

からなる群から選択される構造を有する化合物、またはその薬学的に許容可能な塩である。

【0238】

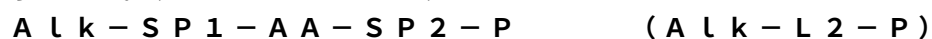
本開示はさらに、治療有効量の上記の化合物またはその薬学的に許容可能な塩と、1つ以上の薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤とを含む医薬組成物に関する。

40

【0239】

リンカー-ペイロード (L2-P)

他の態様では、本開示は、式 (Alk-L2-P) :



の化合物を提供し、式中、

Alkはアルキンを含む部分であり、

SP1は存在しないか、または第1のスペーサー単位であり、

AAは存在しないか、または2~4個のアミノ酸を含むペプチド単位であり、

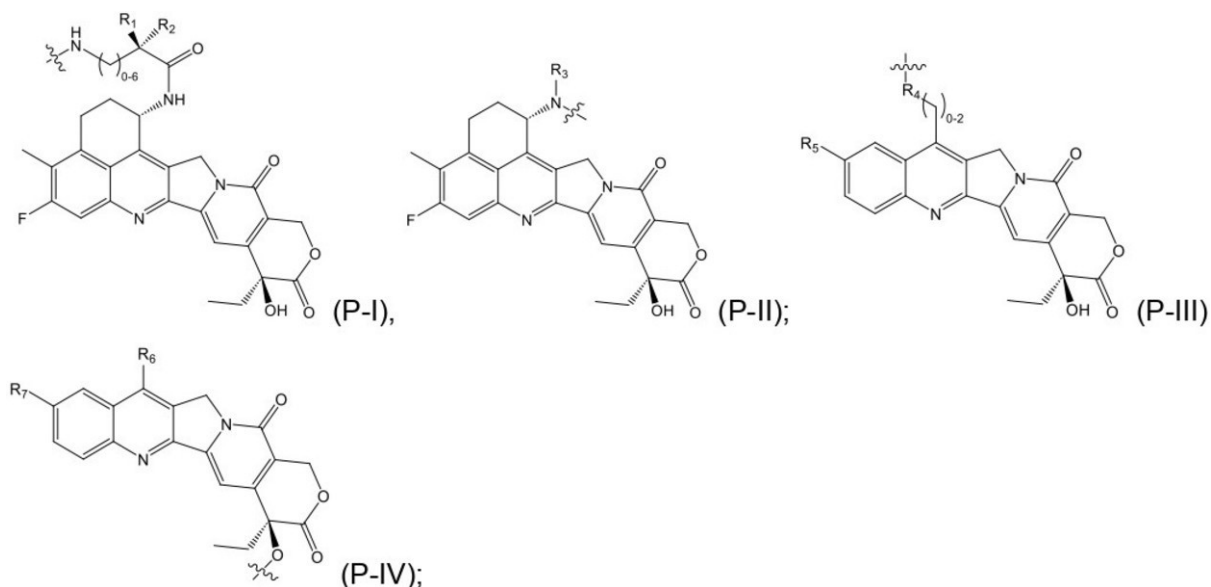
SP2は存在しないか、または第2のスペーサー単位であり、

PはP-I~P-IV

50

【0240】

【化50】



10

からなる群から選択され、

R_1 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

20

R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

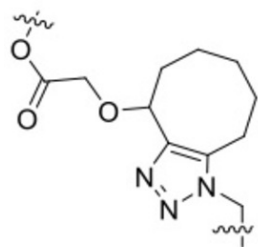
R_3 は、水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ 、および $-CO-(CH_2)_v-O-COCH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

R_4 は、 $-NH-$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-SO_2CH_3)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-(CH_2)_v-OH)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-(CH_2)_v-O-CH_2-NH-CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ アルキル})(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル)、または

30

【0241】

【化51】



40

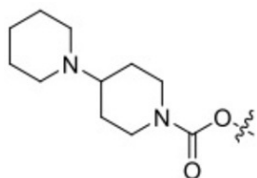
であり、 v は 0~12 の整数であり、

R_5 は H、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【0242】

50

【化 5 2】



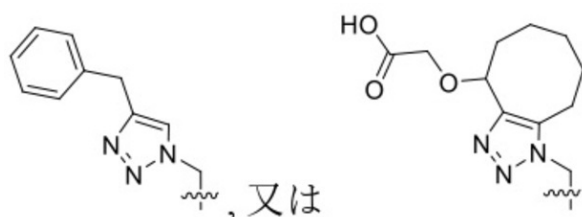
であり、

R_6 は、水素、 $-C_{1-6}$ アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CH_2$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NMe-CH_2$ -フェニル-OMe、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-CCH$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH$

10

【0 2 4 3】

【化 5 3】

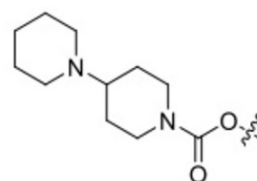


20

であり、 v は独立して、 $0 \sim 12$ の整数であり、 R_7 は H 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【0 2 4 4】

【化 5 4】



30

である。

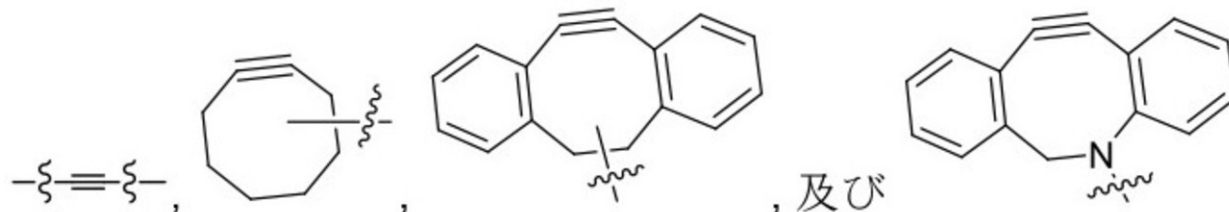
【0 2 4 5】

特定の実施形態において、 Alk は、

【0 2 4 6】

【化 5 5】

40



からなる群から選択される。

【0 2 4 7】

いくつかの実施形態において、 $SP1$ は存在しない。

50

【 0 2 4 8 】

いくつかの実施形態において、A A は存在しない。

【 0 2 4 9 】

いくつかの実施形態において、S P 2 は存在しない。

【 0 2 5 0 】

いくつかの実施形態において、S P 1 は存在し、上に記載されるような部分である。

【 0 2 5 1 】

いくつかの実施形態において、A A は存在し、上に記載されるような部分である。

【 0 2 5 2 】

いくつかの実施形態において、S P 2 は存在し、上に記載されるような部分である。

10

【 0 2 5 3 】

特定の実施形態において、式 (A l k - L 2 - P) の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩は、

【 0 2 5 4 】

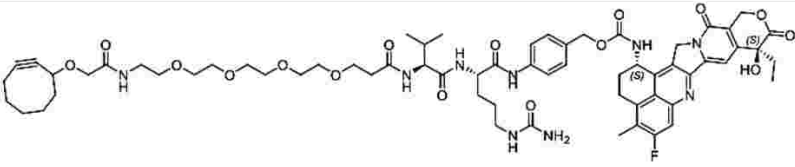
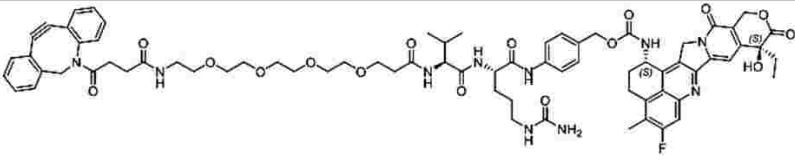
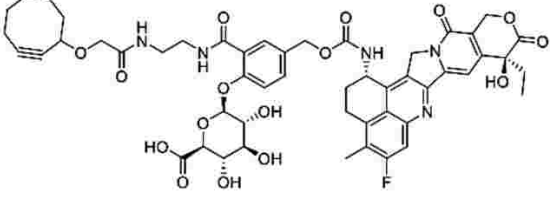
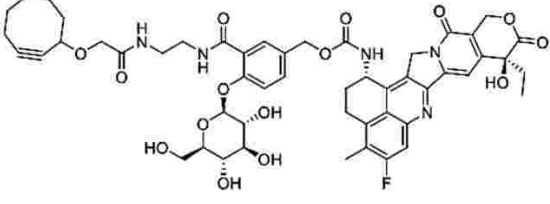
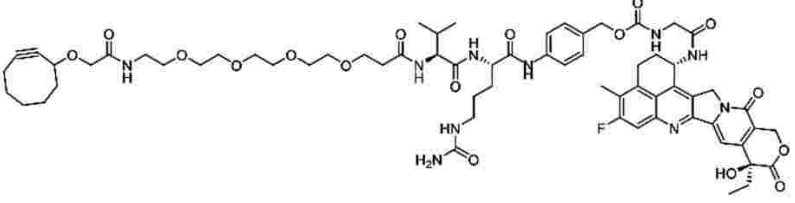
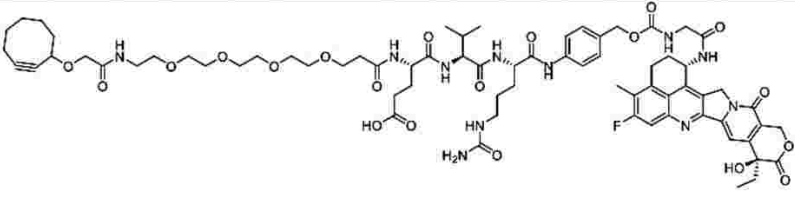
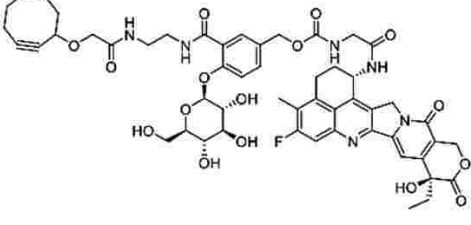
20

30

40

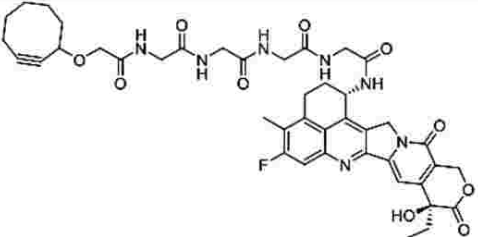
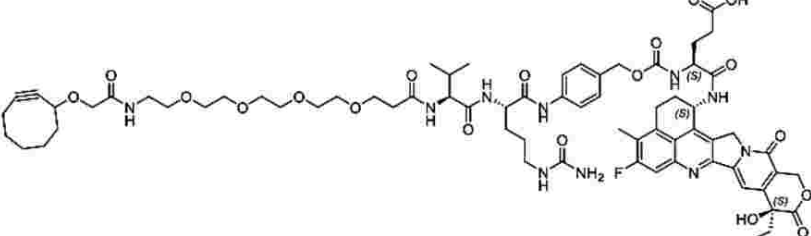
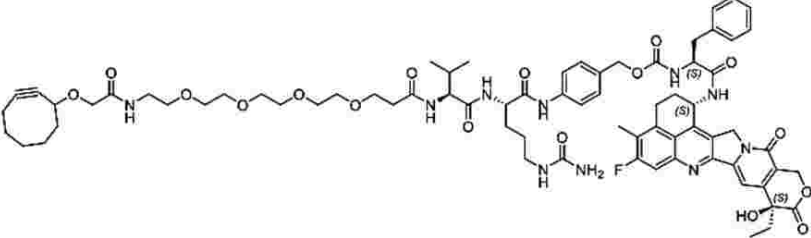
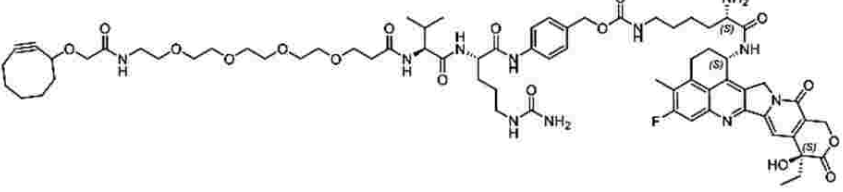
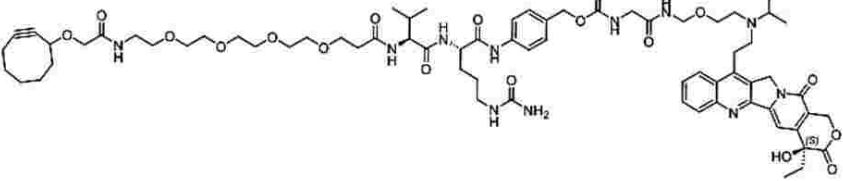
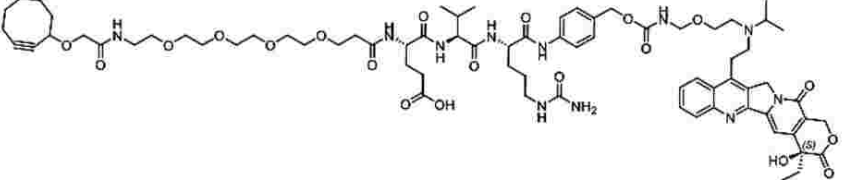
50

【表 1 4 - 1】

	
	10
	
	20
	
	30
	40

【 0 2 5 5 】

【表 1 4 - 2】

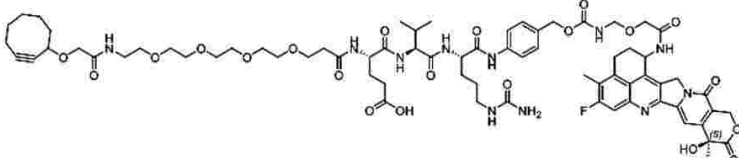
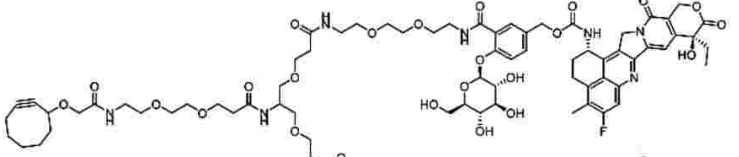
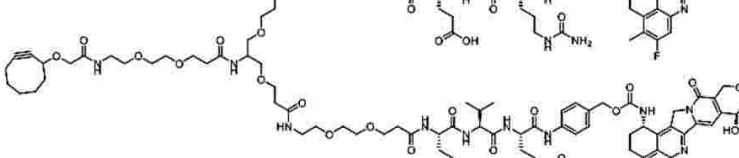
	
	10
	20
	
	30
	

40

【 0 2 5 6 】

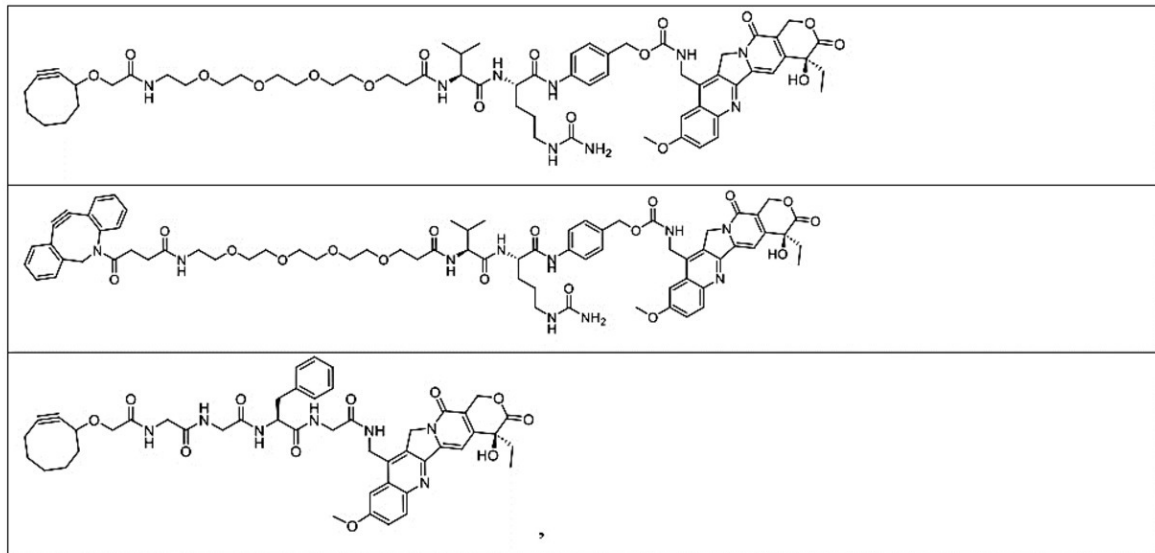
50

【表 1 4 - 3】

	
	10
	20
	30
	40

【 0 2 5 7 】

【表 1 4 - 4】



10

20

からなる群から選択される。

【0258】

結合剤

1つの実施形態において、本明細書に記載されるタンパク質-薬物コンジュゲートの実施形態の有効性は、結合剤がその結合パートナーに結合する選択性に依存する。本開示の1つの実施形態において、結合剤は、所与の結合パートナーにある程度の特異性で結合することができる任意の分子である。1つの実施形態において、結合剤は、相互作用が治療用途をもたらし得る哺乳動物内にある。代替的な実施形態において、結合剤は、相互作用が診断用途をもたらし得る *in vitro* である。いくつかの態様では、結合剤は、細胞または細胞集団に結合することができる。

30

【0259】

本開示の適切な結合剤は、結合パートナーに結合するタンパク質を含み、結合剤は、1つ以上のグルタミン残基を含む。適切な結合剤としては、限定されないが、抗体、リンホカイン、ホルモン、成長因子、ウイルス受容体、インターロイキン、または任意の他の細胞結合分子もしくは物質、またはペプチド結合分子もしくは物質が挙げられる。

【0260】

1つの実施形態において、結合剤は抗体である。特定の実施形態において、抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片 (Fab、Fab'、および F(ab)2、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディなど) から選択される。本明細書における抗体は、それぞれ全体として参照により組み込まれる米国特許第6,596,541号および米国出願公開第2012/0096572号に記載される方法を使用してヒト化することができる。本開示のタンパク質-薬物コンジュゲート化合物の特定の実施形態において、BAは、ヒト化モノクローナル抗体である。例えば、BAは、HER2、MET、またはSTEAP2に結合するモノクローナル抗体であり得る。本開示のタンパク質-薬物コンジュゲート化合物の特定の実施形態において、BAは、二重特異性抗体、例えば、抗HER2/HER2二重特異性抗体、または抗MET/MET二重特異性抗体である。

40

【0261】

本開示において、抗体は、当業者に適していると考えられる任意の抗体であり得る。いくつかの実施形態において、抗体は、少なくとも1つのポリペプチド鎖配列中に少なくと

50

も1つのグルタミン残基を含む。特定の実施形態において、抗体は、1つ以上の g l n 2 9 5 残基を含む。特定の実施形態において、抗体は、それぞれが1つの g l n 2 9 5 残基を有する2つの重鎖ポリペプチドを含む。さらなる実施形態において、抗体は、重鎖295以外の部位に1つ以上のグルタミン残基を含む。このような抗体は、天然源から単離され得るか、または1つ以上のグルタミン残基を含むように操作され得る。グルタミン残基を操作して抗体ポリペプチド鎖にするための技術は、当業者の技術の範囲内である。特定の実施形態において、抗体は非グリコシル化されている。

【0262】

抗体は、当業者に公知の任意の形態であり得る。特定の実施形態において、抗体は軽鎖を含む。特定の実施形態において、軽鎖はカップ軽鎖である。特定の実施形態において、軽鎖はラムダ軽鎖である。

10

【0263】

特定の実施形態において、抗体は重鎖を含む。いくつかの態様では、重鎖は I g A である。いくつかの態様では、重鎖は I g D である。いくつかの態様では、重鎖は I g E である。いくつかの態様では、重鎖は I g G である。いくつかの態様では、重鎖は I g M である。いくつかの態様では、重鎖は I g G 1 である。いくつかの態様では、重鎖は I g G 2 である。いくつかの態様では、重鎖は I g G 3 である。いくつかの態様では、重鎖は I g G 4 である。いくつかの態様では、重鎖は I g A 1 である。いくつかの態様では、重鎖は I g A 2 である。

【0264】

いくつかの実施形態において、抗体は抗体断片である。いくつかの実施形態において、抗体断片は F v 断片である。いくつかの態様では、抗体断片は F a b 断片である。いくつかの態様では、抗体断片は F (a b ') 2 断片である。いくつかの態様では、抗体断片は F a b ' 断片である。いくつかの態様では、抗体断片は s c F v (s F v) 断片である。いくつかの態様では、抗体断片は s c F v - F c 断片である。

20

【0265】

いくつかの実施形態において、抗体はモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、抗体はポリクローナル抗体である。

【0266】

いくつかの実施形態において、抗体はキメラ抗体である。いくつかの実施形態において、抗体はヒト化抗体である。いくつかの実施形態において、抗体はヒト抗体である。

30

【0267】

抗体は、当業者に適切と考えられる任意の抗原に対する結合特異性を有することができる。特定の実施形態において、抗原は、膜貫通分子（例えば、受容体）または成長因子である。例示的な抗原としては、限定されないが、分子、例えば、レニン、ヒト成長ホルモンとウシ成長ホルモンを含む成長ホルモン、成長ホルモン放出因子、副甲状腺ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、リボタンパク質、アルファ1-抗トリプシン、インスリンA鎖、インスリンB鎖、プロインスリン、濾胞刺激ホルモン、カルシトニン、黄体形成ホルモン、グルカゴン、凝固因子、例えば、因子 v m c、因子 I X、組織因子 (T F)、およびフォン・ヴィレブランド因子、プロテインCなどの抗凝固因子、心房性ナトリウム利尿因子、肺界面活性剤、ウロキナーゼまたはヒト尿もしくは組織プラスミノゲン活性化因子 (t - P A) などのプラスミノゲン活性化因子、ボンベシン、トロニン、造血性成長因子、腫瘍壊死因子 α および β 、エンケファリナーゼ、R A N T E S (r e g u l a t e d o n a c t i v a t i o n n o r m a l l y T - c e l l e x p r e s s e d a n d s e c r e t e d) (活性化について制御され、正常T細胞で発現および分泌される)、ヒトマクロファージ炎症タンパク質 (M L P - I - α)、ヒト血清アルブミンなどの血清アルブミン、ミュー管抑制因子、リラキシンA鎖、リラキシンB鎖、プロリラキシン、マウスゴナドトロピン関連ペプチド、 β ラクターゼなどの微生物タンパク質、D N a s e、19E、細胞毒性Tリンパ球関連抗原 (C T L A)、例えば、C T L A - 4、インヒビン、アクチビン、血管内皮増殖因子 (V E G F)、ホルモンまたは成長因子の

40

50

ための受容体、プロテインAまたはD、リウマチ因子、神経栄養因子、例えば、骨由来の神経栄養因子(BDNF)、ニューロトロフィン-3、-4、-5、もしくは-6(NT-3、NT-4、NT-5、もしくはNT-6)、神経成長因子、例えば、NGF-β、血小板由来増殖因子(PDGF)、線維芽細胞成長因子、例えば、aFGFおよびbFGF、線維芽細胞成長因子受容体2(FGFR2)、上皮成長因子(EGF)、形質転換増殖因子(TGF)、例えば、TGFαおよびTGFβ(TGF-β1、TGF-β2、TGF-β3、TGF-β4、またはTGF-β5を含む)、インスリン様増殖因子-1および-2(IGF-1およびIGF-2)、des(I-3)-IGF-1(脳IGF-2)、インスリン様増殖因子結合タンパク質、EpCAM、gD3、FLT3、PSMA、PSCA、MUC1、MUC16、STEAP、STEAP2、CEA、TENB2、EphA受容体、EphB受容体、葉酸受容体、FOLRI、メソテリン、cripto、alphavbeta6、インテグリン、VEGF、VEGFR、EGFR、トランスフェリン受容体、LRTA1、LRTA2、LRTA3、LRTA4、LRTA5、CDタンパク質、例えば、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD14、CD19、CD20、CD21、CD22、CD25、CD26、CD28、CD30、CD33、CD36、CD37、CD38、CD40、CD44、CD52、CD55、CD56、CD59、CD70、CD79、CD80、CD81、CD103、CD105、CD134、CD137、CD138、CD152、または、参照によって全体として組み込まれる米国出願公開第2008/0171040号もしくは米国出願公開第2008/0305044号に開示された、1つ以上の腫瘍関連抗原もしくは細胞表面受容体に結合する抗体、エリスロポエチン、骨誘導因子、免疫毒素、骨形態形成タンパク質(BMP)、インターフェロン、例えば、インターフェロンα、インターフェロンβ、およびインターフェロンγ、コロニー刺激因子(CSF)、例えば、M-CSF、gM-CSF、およびg-CSF、インターロイキン(IL)、例えば、IL-1~IL-10、スーパーオキシドジスムターゼ、T細胞受容体、表面膜タンパク質、崩壊促進因子、ウイルス抗原、例えば、HIVエンベロープの一部、運搬体タンパク質、ホーミング受容体、アドレシン、調節タンパク質、インテグリン、例えば、CD11a、CD11b、CD11c、CD18、ICAM、VLA-4、およびVCAM、腫瘍関連抗原、例えば、AFP、ALK、B7H4、BAGEタンパク質、β-カテニン、brca1、BRCA1、BORIS、CA9(炭酸脱水酵素IX)、カスパーゼ-8、CD20、CD40、CD123、CDK4、CEA、CLEC12A、c-キット、cMET、CTLA4、サイクリン-B1、CYP1B1、EGFR、EGFRV111、エンドグリン、Epcam、EphA2、ErbB2/HER2、ErbB3/HER3、ErbB4/HER4、ETV6-AML、Fra-1、FOLR1、gAGEタンパク質(例えば、gAGE-1、-2)、gD2、gD3、globOH、グリピカン-3、gM3、gp100、HER2、HLA/Braf、HLA/EBNA1、HLA/k-ras、HLA/MAGE-A3、hTERT、IGF1R、LGR5、LMP2、MAGEタンパク質(例えば、MAGE-1、-2、-3、-4、-6、および-12)、MART-1、メソテリン、mL-IAP、Muc1、Muc16(CA-125)、MET、MUM1、NA17、NGEP、NY-BR1、NY-BR62、NY-BR85、NY-ESO1、OX40、p15、p53、PAP、PAX3、PAX5、PCTA-1、PDGFR-α、PDGFR-β、PDGFR-A、PDGFR-B、PDGFR-C、PDGFR-D、PLAC1、PRLR、PRAME、PSCA、PSGR、PSMA(FOLH1)、RAGEタンパク質、Ras、RGS5、Rho、SART-1、SART-3、STEAP1、STEAP2、STn、サバイビン、TAG-72、TGF-β、TMPRSS2、Tn、TNFRSF17、TRP-1、TRP-2、チロシナーゼ、およびウロプラキニン-3、ならびに本明細書に記載されたポリペプチドのうちのいずれかの断片が挙げられる。

【0268】

例示的な抗原としては、限定されないが、BCMA、SLAMF7、B7H4、gPN

10

20

30

40

50

MB、UPK3A、およびLGR5も挙げられる。例示的な抗原としては、限定されないが、MUC16、PSMA、STEAP2、およびHER2も挙げられる。

【0269】

いくつかの実施形態において、抗原としては、限定されないが、血液学的標的、例えば、CD22、CD30、CD33、CD79a、およびCD79bも挙げられる。

【0270】

本明細書のいくつかの実施形態は、治療的または診断的な使用に特異的な標的である。1つの実施形態において、結合剤は、腫瘍抗原として定義される抗原と相互作用し、上記抗原に結合するように調製され、これは、あるタイプの腫瘍に特異的な抗原、または特定のタイプの腫瘍上で共有、過剰発現、もしくは修飾される抗原を含む。例としては、肺癌を有するα-アクチニン-4、黒色腫を有するARTC1、慢性骨髄性白血病を有するBCR-ABL融合タンパク質、黒色腫を有するBRAF、CLPP、またはCdc27、扁平上皮癌を有するCASP-8、および腎細胞癌を有するhsp70-2、ならびに、例えば、以下の共有腫瘍特異的抗原：BAGE-1、gAGE、gnTV、KK-LC-1、MAGE-A2、NA88-A、TRP2-INT2が挙げられる。いくつかの実施形態において、抗原は、PRLRまたはHER2である。いくつかの実施形態において、抗体は、STEAP2、MUC16、EGFR、EGFRVIII、FGFR2、またはPRLRに結合する。

【0271】

いくつかの実施形態において、抗原はHER2を含む。いくつかの実施形態において、抗原はSTEAP2を含む。いくつかの実施形態において、抗原はMETを含む。いくつかの実施形態において、抗原はEGFRVIIIを含む。いくつかの実施形態において、抗原はMUC16を含む。いくつかの実施形態において、抗原はPRLRを含む。いくつかの実施形態において、抗原はPSMAを含む。いくつかの実施形態において、抗原は、FGFR2を含む。

【0272】

いくつかの実施形態において、BAは、抗HER2抗体、抗STEAP2抗体、抗MET抗体、抗EGFRVIII抗体、抗MUC16抗体、抗PRLR抗体、抗PSMA抗体、もしくは抗FGFR2抗体、抗HER2/HER2二重特異性抗体、抗MET/MET二重特異性抗体、もしくは抗FOLR1抗体、またはその抗原結合断片である。

【0273】

いくつかの実施形態において、BAは、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、肝臓癌、または脳腫瘍からなる群から選択される癌を標的とする。

【0274】

タンパク質-薬物コンジュゲートに適切な抗HER2抗体

いくつかの実施形態において、抗体は抗HER2抗体である。いくつかの実施形態において、抗体はトラスツズマブ、ペルツズマブ(2C4)、またはマルゲツキシマブ(MGAH22)である。いくつかの実施形態において、抗体はトラスツズマブである。特定の実施形態によると、タンパク質-薬物コンジュゲート、例えば、本開示のADCは、抗HER2抗体を含む。いくつかの実施形態において、抗HER2抗体は、WO2019/212965A1に記載されるものを含んでもよい。

【0275】

いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトHER2の第1のエピトープに特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン(D1)と、ヒトHER2の第2のエピトープに特異的に結合する第2の抗原結合ドメイン(D2)とを含む抗HER2/HER2二重特異性抗体である。

【0276】

特定の実施形態において、抗HER2/HER2二重特異性抗体のD1ドメインおよびD2ドメインは、互いに非競合的である。HER2への結合に関してD1とD2との間の非競合性は、D1およびD2が由来するそれぞれの単特異的抗原結合タンパク質が、ヒト

10

20

30

40

50

HER2への結合に関して互いに競合しないことを意味する。例示的な抗原結合タンパク質競合アッセイは、当技術分野において公知である。

【0277】

特定の実施形態において、D1およびD2は、HER2上の異なる（例えば、重複しないか、または部分的に重複する）エピトープに結合する。

【0278】

1つの非限定的な実施形態において、本開示は、

第1の抗原結合ドメイン（D1）、

第2の抗原結合ドメイン（D2）

を含む、二重特異性抗原結合分子を含むタンパク質-薬物コンジュゲートを提供し、

D1は、ヒトHER2の第1のエピトープに特異的に結合し、

D2は、ヒトHER2の第2のエピトープに特異的に結合する。

【0279】

抗HER2/HER2二重特異性抗体は、2つの別々の単特異性抗HER2抗体の抗原結合ドメインを用いて構築することができる。例えば、モノクローナル単特異性抗HER2抗体の集合体は、当技術分野で公知の標準的な方法を用いて生成することができる。このように生成された個々の抗体は、HER2タンパク質に対する交差競合について互いに対して対で試験することができる。2つの異なる抗HER2抗体が同時にHER2に結合することができる場合（すなわち、互いに競合しない）、第1の抗HER2抗体由来の抗原結合ドメインおよび第2の非競合的抗HER2抗体由来の抗原結合ドメインを操作して、本開示にかかる単一の抗HER2/HER2二重特異性抗体にすることができる。

【0280】

本開示によれば、二重特異性抗原結合分子は、単一の多機能性ポリペプチドであり得るか、または互いに共有結合もしくは非共有結合している2つ以上のポリペプチドの多量体複合体であり得る。本開示によって明らかになるように、HER2分子の2つの別々の同一でないエピトープに同時に結合する能力を有する任意の抗原結合構築物は、二重特異性抗原結合分子としてみなされる。本明細書に記載される二重特異性抗原結合分子またはそのバリエーションは、当業者に知られている標準的な分子生物学的技術（例えば、組換えDNAおよびタンパク質発現技術）を用いて構築することができる。

【0281】

別の態様では、本開示は、HER2に特異的に結合する組換えヒト抗体またはその断片と、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物を提供する。非限定的な1つの実施形態において、抗体は、HER2タンパク質上の2つの別個のエピトープに結合することができ、すなわち、抗体は、HER2/HER2二重特異性抗体である。関連する態様において、本開示は、抗HER2/HER2抗体と第2の治療剤との組み合わせである組成物を特徴とする。1つの実施形態において、第2の治療剤は、抗HER2/HER2抗体と有利に組み合わせられる任意の薬剤である。本開示の抗HER2/HER2二重特異性抗体を含むさらなる併用療法および共製剤は、本明細書の他の箇所に開示されている。

【0282】

別の態様では、本開示は、本開示の抗HER2/HER2二重特異性抗体を用いてHER2を発現する腫瘍細胞を標的化/死滅させるための治療方法を提供し、治療方法は、本開示の抗HER2/HER2抗体を含む医薬組成物の治療有効量を、それを必要とする対象に投与する工程を含む。場合によっては、抗HER2/HER2抗体（またはその抗原結合断片）は、乳癌を処置するために使用され得るか、または、限定されないが、ADCC（例えば、Shield et al., (2002) JBC 277:26733を参照）を増加させるための修飾Fcドメイン、放射免疫療法、抗体-薬物コンジュゲート、または腫瘍アブレーションの効率を増加させるための他の方法を含む方法によって、より細胞毒性であるように修飾され得る。

【0283】

本開示はさらに、HER2発現細胞に関連するまたはそれによって引き起こされる疾患

10

20

30

40

50

または障害（例えば、癌）の処置のための薬剤の製造における本開示の抗HER2抗体の使用を含む。一態様では、本開示は、医学において使用するための、本明細書に開示される抗HER2抗体もしくは抗原結合断片、またはHER2/HER2二重特異性抗体を含む化合物に関する。一態様では、本開示は、医薬において使用するための、本明細書に開示される抗体-薬物コンジュゲート（ADC）を含む化合物に関する。

【0284】

さらに別の態様では、本開示は、例えば、画像化試薬などの診断用途のための二重特異性抗HER2/HER2抗体を提供する。

【0285】

抗体コンジュゲーション

抗体または抗原結合断片の残基にコンジュゲートするための技術およびリンカーは、当技術分野において公知である。この態様の文脈において使用することができる例示的なアミノ酸結合は、例えば、リジン（例えば、US 5, 208, 020、US 2010/0129314、Hollander et al., Bioconjugate Chem., 2008, 19:358-361、WO 2005/089808、US 5, 714, 586、US 2013/0101546、およびUS 2012/0585592を参照）、システイン（例えば、US 2007/0258987、WO 2013/055993、WO 2013/055990、WO 2013/053873、WO 2013/053872、WO 2011/130598、US 2013/0101546、およびUS 7, 750, 116を参照）、セレノシステイン（例えば、WO 2008/122039、およびHofer et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2008, 105:12451-12456を参照）、ホルミルグリシン（例えば、Carrico et al., Nat. Chem. Biol., 2007, 3:321-322; Agarwal et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2013, 110:46-51, and Rabuka et al., Nat. Protocols, 2012, 10:1052-1067を参照）、非天然アミノ酸（例えば、WO 2013/068874およびWO 2012/166559を参照）、ならびに酸性アミノ酸（例えば、WO 2012/05982を参照）である。リジンコンジュゲーションは、NHS（N-ヒドロキシスクシンイミド）を介して進行することもできる。リンカーはさらに、チオール間に炭素架橋を形成することによって、切断された鎖間ジスルフィド結合のシステイン残基を含むシステイン残基にコンジュゲートされ得る（例えば、US 9, 951, 141およびUS 9, 950, 076を参照）。リンカーはさらに、炭水化物（例えば、US 2008/0305497、WO 2014/065661、およびRyan et al., Food & Agriculture Immunol., 2001, 13:127-130を参照）およびジスルフィドリンカー（例えば、WO 2013/085925、WO 2010/010324、WO 2011/018611、およびShaunak et al., Nat. Chem. Biol., 2006, 2:312-313を参照）への結合を介して、抗原結合タンパク質にコンジュゲートされ得る。部位特異的コンジュゲーション技術も、抗体または抗原結合タンパク質の特定の残基へのコンジュゲーションを指定するために用いることができる（例えば、Schumacher et al. J Clin Immunol (2016) 36 (Suppl 1): 100を参照）。以下により詳細に考察される特定の実施形態において、部位特異的コンジュゲーション技術は、トランスグルタミナーゼを介したグルタミンコンジュゲーションを含む（例えば、Schibli, Angew Chemie Inter Ed. 2010, 49, 9995を参照）。

【0286】

リジンおよび/またはシステインを介して、例えば、マレイミドまたはアミドコンジュゲーションを介して連結された本開示にかかるペイロードは、本開示の範囲内に含まれる。

【0287】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、本開示のタンパク質-薬物コンジュゲートは、2工程プロセスに従って生成され、工程1は、例えば、NHS-エステルリンカーとのリジンベースのリンカーコンジュゲーションであり、工程2は、ペイロードコンジュゲーション反応（例えば、1, 3-環化付加反応）である。

【0288】

いくつかの実施形態において、本開示のタンパク質-薬物コンジュゲートは、2工程プロセスに従って生成され、工程1は、例えば、マレイミドリンカーとのシステインベースのリンカーコンジュゲーションであり、工程2は、ペイロードコンジュゲーション反応（例えば、1, 3-環化付加反応）である。

【0289】

いくつかの実施形態において、本開示のタンパク質-薬物コンジュゲートは、2工程プロセスに従って生成され、工程1は、トランスグルタミナーゼ媒介性部位特異的コンジュゲーションであり、工程2は、ペイロードコンジュゲーション反応（例えば、1, 3-環化付加反応）である。

【0290】

図1は、2工程コンジュゲーション法（工程1：脱グリコシル化抗体またはN297Q突然変異抗体をアミン-PEG₃-アジドリンカー（AL-N₃）と、MTG媒介性コンジュゲーションを介してAb-Q295/7部位に対して部位特異的にコンジュゲートすることで、アジド官能化抗体（Ab(AL)₄）を生成すること、および、工程2：Ab(AL)₄とのアルキンの[3+2]環化付加を介して、リンカーペイロード（L₂P#）を抗体に結合させること）を用いて生成された、本開示にかかる部位特異的ADCの構造を描いている。リンカー-ペイロードを有するすべてのADCは、抗体のQ295/297部位にコンジュゲートした。

【0291】

工程1：トランスグルタミナーゼ媒介性部位特異的コンジュゲーション

いくつかの実施形態において、タンパク質（例えば、抗体）は、グルタミニル修飾タンパク質を提供するために既知の方法に従って修飾されてもよい。抗体と1級アミン化合物をコンジュゲートするための技術は、当技術分野において公知である。本明細書では、部位特異的コンジュゲーション技術を用いて、トランスグルタミナーゼを介するグルタミンコンジュゲーションを用いてグルタミンへのコンジュゲーションを指定する（例えば、Schibli, Angew Chemie Inter Ed. 2010, 49, 9995を参照）。

【0292】

本開示の1級アミン含有化合物（例えば、リンカーL1）は、トランスグルタミナーゼベースの化学酵素コンジュゲーション（例えば、Dennler et al., Protein Conjugate Chem. 2014, 25, 569-578、およびWO2017/147542を参照）を介して結合剤（例えば、タンパク質、例えば、抗体）の1つ以上のグルタミン残基にコンジュゲートされ得る。例えば、トランスグルタミナーゼの存在下で、抗体の1つ以上のグルタミン残基は、1級アミンリンカー化合物にカップリングされ得る。簡潔に述べると、いくつかの実施形態において、グルタミン残基（例えば、gln295、すなわち、Q295残基）を有する結合剤は、酵素トランスグルタミナーゼの存在下で、上記の1級アミン含有リンカーL1で処理される。特定の実施形態において、結合剤は非グリコシル化されている。特定の実施形態において、結合剤は脱グリコシル化されている。

【0293】

特定の実施形態において、結合剤（例えば、タンパク質、例えば、抗体）は、少なくとも1つのポリペプチド鎖配列中に少なくとも1つのグルタミン残基を含む。特定の実施形態において、結合剤は、それぞれが1つのgln295残基を有する2つの重鎖ポリペプチドを含む。さらなる実施形態において、結合剤は、重鎖295以外の部位に1つ以上のグルタミン残基を含む。

10

20

30

40

50

【0294】

いくつかの実施形態において、抗体などの結合剤は、抗体の機能または結合の障害をもたらすことなく、ある部位にグルタミン残基を挿入するために部位特異的な突然変異誘発によって調製することができる。例えば、本明細書に記載される $Asn297Gln$ ($N297Q$) 変異を有する抗体が本明細書に含まれる。特定の実施形態において、結合剤は、それぞれが1つの $gln295$ 残基および1つの $gln297$ 残基を有する2つの重鎖ポリペプチドを含む。

【0295】

いくつかの実施形態において、 $gln295$ 残基および／または $N297Q$ 突然変異を有する抗体はその可変領域に1つ以上のさらなる天然に存在するグルタミン残基を含有し、これはトランスグルタミナーゼにアクセス可能であり得、したがってリンカーまたはリンカーペイロードへのコンジュゲーションが可能である。例示的な天然に存在するグルタミン残基は、例えば、軽鎖の $Q55$ で見つけることができる。そのような例では、トランスグルタミナーゼを介してコンジュゲートされた結合剤、例えば、抗体は、予想よりも高い LAR 値（例えば、4よりも高い LAR ）を有することができる。任意のそのような抗体は、天然または人工の供給源から単離することができる。

【0296】

本開示の特定の実施形態において、リンカー抗体比、すなわち、 LAR は、抗体あたり1、2、3、4、5、6、7、または8個のリンカー $L1$ 分子である。いくつかの実施形態において、 LAR は1～8である。いくつかの実施形態において、 LAR は1～6である。特定の実施形態において、 LAR は2～4である。場合によっては、 LAR は2～3である。特定の場合において、 LAR は0.5～3.5である。いくつかの実施形態において、 LAR は、約1、または約1.5、または約2、または約2.5、または約3、または約3.5である。いくつかの実施形態において、 LAR は2である。いくつかの実施形態において、 LAR は4である。

【0297】

工程2：ペイロードコンジュゲーション反応

特定の実施形態において、本開示にかかるリンカー $L1$ は、トランスグルタミン化後にさらなる反応が可能で少なくとも1つの反応基 B' を含む。これらの実施形態において、グルタミル修飾タンパク質（例えば、抗体）は、反応性ペイロード化合物または反応性リンカーペイロード化合物（例えば、本明細書に開示される $L2-P$ ）とさらに反応して、タンパク質ペイロードコンジュゲートを形成することができる。より具体的には、反応性リンカーペイロード化合物 $L2-P$ は、リンカー $L1$ の反応基 B' と反応することができる反応基 B'' を含み得る。特定の実施形態において、本開示にかかる反応基 B' は、1, 3-環化付加反応を受けることができる部分を含む。特定の実施形態において、反応基 B' はアジドである。特定の実施形態において、反応基 B'' はアルキン（例えば、末端アルキンまたは内部歪みアルキン）を含む。本開示の特定の実施形態において、反応基 B' は、結合剤およびトランスグルタミン化反応条件と適合性である。

【0298】

本開示の特定の実施形態において、リンカー $L1$ 分子は、1つの反応基 B' を含む。本開示の特定の実施形態において、リンカー $L1$ 分子は、1つを超える反応基 B' を含む。

【0299】

特定の実施形態において、反応性リンカーペイロード $L2-P$ は、1つのペイロード分子 ($n=1$) を含む。特定の他の実施形態において、反応性リンカーペイロード $L2-P$ は、2つ以上のペイロード分子 ($n \geq 2$) を含む。特定の実施形態において、反応性リンカーペイロード $L2-P$ は、1～12個のペイロード分子、または1～10個のペイロード分子、または1～8個のペイロード分子、または1～6個のペイロード分子、または1～4個のペイロード分子、または1～2個のペイロード分子を含む。

【0300】

特定の実施形態において、反応性リンカーペイロード $L2-P$ は、1つのペイロード

分子を含む。このような $L2-P$ を $BA-L1-B'$ (例えば、式中、 B' はアジド、 $BA-L1-N_3$ である) と反応させると、 DAR は $BA-L1-B'$ の LAR とほぼ等しくなる。例えば、1つのペイロード分子を含む $L2-P$ を、4の LAR を有する $BA-L1-B'$ と (例えば、 $Q295$ および $N297Q$ トランスグルタミン化を介して) 反応させる場合、得られるタンパク質-薬物コンジュゲートは、4の DAR を有する。

【0301】

特定の実施形態において、反応性リンカー-ペイロード $L2-P$ は、2個のペイロード分子を含む。このような $L2-P$ を $BA-L1-B'$ と反応させると、 DAR は $BA-L1-B'$ の LAR の約2倍となる。例えば、2個のペイロード分子を含む $L2-P$ を、4の LAR を有する $BA-L1-B'$ と (例えば、 $Q295$ および $N297Q$ トランスグルタミン化を介して) 反応させる場合、得られるタンパク質-薬物コンジュゲートは、8の DAR を有する。

10

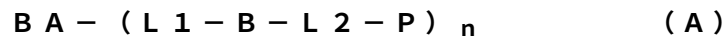
【0302】

本開示の特定の実施形態において、薬物抗体比、すなわち、 DAR (例えば、小文字 n と略される) は、抗体あたり、約1~約30、もしくは約1~約24、もしくは約1~約20、もしくは約1~約16、もしくは約1~約12、もしくは約1~約10、もしくは約1~約8、または約1、2、3、4、5、6、7、もしくは8個のペイロード分子である。いくつかの実施形態において、 DAR は1~30である。いくつかの実施形態において、 DAR は1~24である。いくつかの実施形態において、 DAR は1~16である。いくつかの実施形態において、 DAR は1~8である。いくつかの実施形態において、 DAR は1~6である。特定の実施形態において、 DAR は2~4である。場合によっては、 DAR は2~3である。特定の場合において、 DAR は0.5~3.5である。いくつかの実施形態において、 DAR は4である。

20

【0303】

一態様では、本開示は、式 (A) :



の構造を有する化合物を生成する方法を提供し、式中、

BA は抗体またはその抗原結合断片であり、

$L1$ は、 BA のグルタミン残基の側鎖に共有結合する第1のリンカーであり、

B はトリアゾールを含む部分であり、

$L2$ は、 P に共有結合する第2のリンカーであり、

P は、 $P-I \sim P-IV$

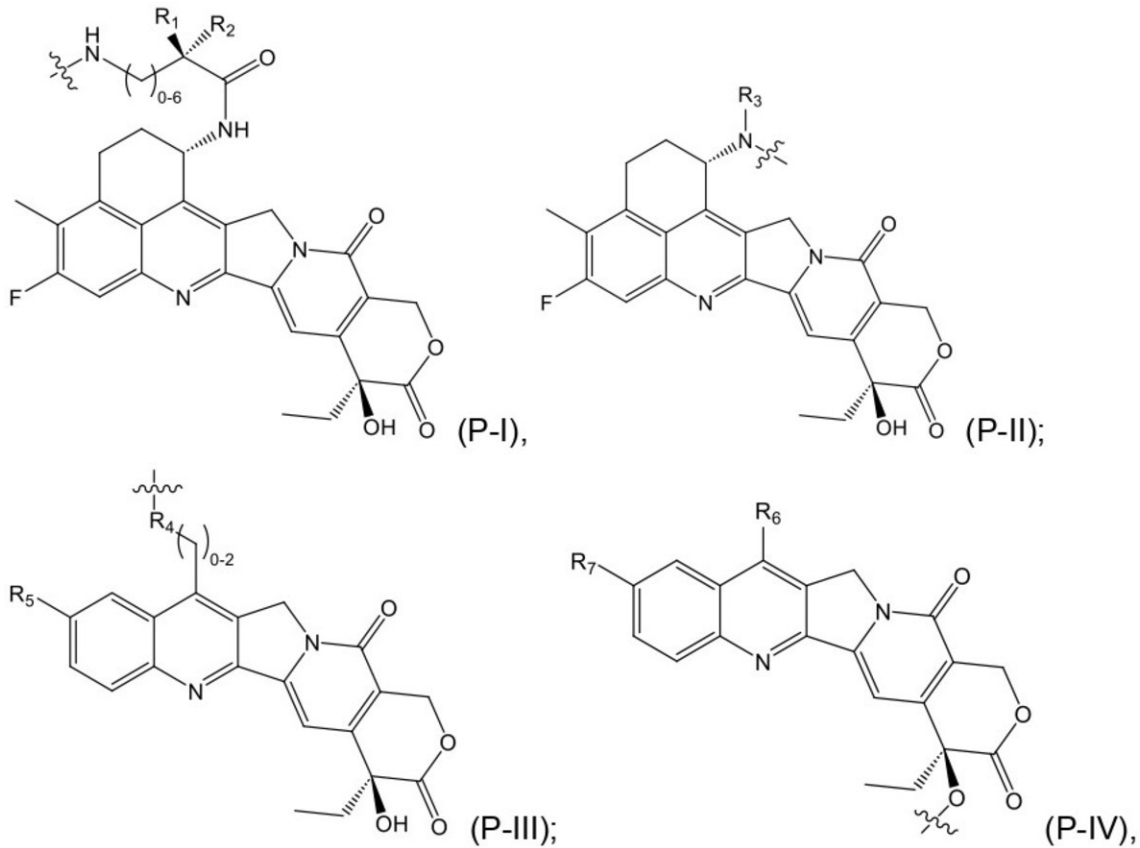
30

【0304】

40

50

【化 5 6】



からなる群から選択された抗腫瘍剤であり、

R_1 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

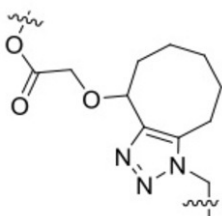
R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、および $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

R_3 は、水素、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-SO_2CH_3$ 、および $-CO-(CH_2)_v-O-COCH_3$ であり、 v は 0~12 の整数であり、

R_4 は、 $-NH-$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-SO_2CH_3)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-(CH_2)_v-OH)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-(CH_2)_v-O-CH_2-NH-CO-CH_2-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2)$ 、 $-N(C_{1-6}アルキル)(-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル)、または

【0305】

【化 5 7】



10

20

30

40

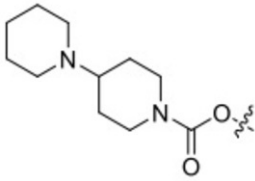
50

であり、 v は 0 ～ 12 の整数であり、

R_5 は H、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【0306】

【化58】



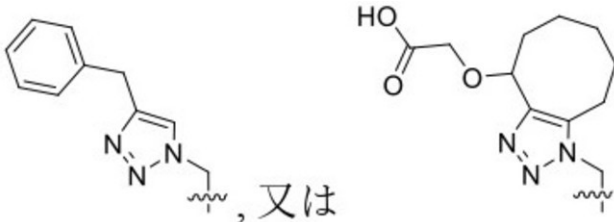
10

であり、

R_6 は、水素、 $-C_{1-6}$ アルキル、 $-(CH_2)_v-OH$ 、 $-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CH_2$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NMe-CH_2$ -フェニル-OMe、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-(CH_2)_v-CCH$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v$ -フェニル、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-N_3$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-NH_2$ 、 $-(CH_2)_v-NH-CO-CH(NH_2)-(CH_2)_v-COOH$ 、

【0307】

【化59】



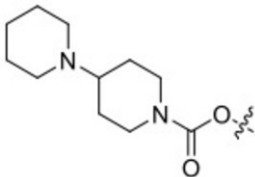
20

であり、 v は独立して、0 ～ 12 の整数であり、

R_7 は H、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、または

【0308】

【化60】



30

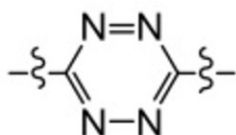
であり、上記方法は、

a) トランスグルタミナーゼの存在下で、少なくとも1つのグルタミン残基を含むBAを、化合物L1-B'と接触させる工程と、 40

b) 工程a)の生成物を、1当量以上の化合物B''-L2-Pと接触させる工程であって、基B''が基B'に共有結合することができ、基B'およびB''の一方はおよ

【0309】

【化61】

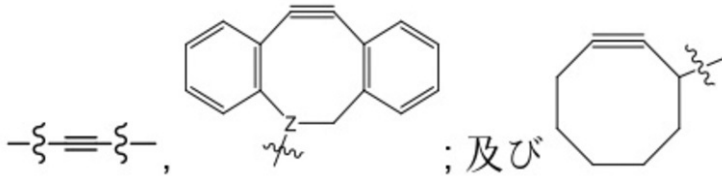


50

から選択され、基 B' および B'' の他方は、

【0310】

【化62】



から選択され、ZはCまたはNである、工程と、

10

c) 生成された式 (A) の化合物を単離する工程と、を含む。

【0311】

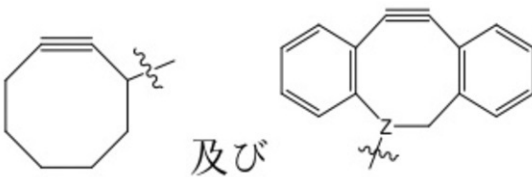
1つの実施形態において、基 B' はアジド (−N₃) である。

【0312】

1つの実施形態において、基 B'' はアルキンを含む。1つの実施形態において、基 B'' は

、
【0313】

【化63】



20

から選択され、ZはCまたはNである。

【0314】

1つの実施形態において、グルタミン残基 Gln は、BA の CH₂ または CH₃ のドメイン中に天然に存在する。別の実施形態において、グルタミン残基 Gln は、1つ以上のアミノ酸を修飾することによって BA に導入される。1つの実施形態において、Gln は Q295 または N297Q である。

30

【0315】

1つの実施形態において、トランスグルタミナーゼは微生物トランスグルタミナーゼ (MTG) である。1つの実施形態において、トランスグルタミナーゼは細菌トランスグルタミナーゼ (BTG) である。

【0316】

治療用製剤および投与

本開示は、本開示のタンパク質-薬物コンジュゲートを含む医薬組成物を提供する。

【0317】

一態様では、本開示は、約 0.5 ~ 約 30.0 の薬物抗体比 (DAR) を有する本開示にかかるタンパク質-薬物コンジュゲートの集団を含む組成物を提供する。

40

【0318】

1つの実施形態において、組成物は約 1.0 ~ 約 2.5 の DAR を有する。

【0319】

1つの実施形態において、組成物は約 2 の DAR を有する。

【0320】

1つの実施形態において、組成物は約 3.0 ~ 約 4.5 の DAR を有する。

【0321】

1つの実施形態において、組成物は約 4 の DAR を有する。

【0322】

1つの実施形態において、組成物は約 6.5 ~ 約 8.5 の DAR を有する。

50

【0323】

1つの実施形態において、組成物は約8のDARを有する。

【0324】

1つの実施形態において、組成物は約10～約14のDARを有する。

【0325】

1つの実施形態において、組成物は約12のDARを有する。

【0326】

1つの実施形態において、組成物は約14～約18のDARを有する。

【0327】

1つの実施形態において、組成物は約16のDARを有する。

10

【0328】

1つの実施形態において、組成物は約20～約24.5のDARを有する。

【0329】

1つの実施形態において、組成物は約24のDARを有する。

【0330】

本開示の組成物は、適切な担体、賦形剤、および改善された移動、送達、耐性などをもたらす他の薬剤と共に製剤化される。多くの適切な製剤は、すべての薬剤師に公知の処方集：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PAで見つけることができる。これらの製剤としては、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、ワックス、油、脂質、脂質（カチオン性またはアニオン性）含有小胞（例えば、LIPOFECTIN（商標）、Life Technologies（カリフォルニア州カールスバッド））、DNAコンジュゲート、無水吸収ペースト、水中油型および油中水型エマルジョン、エマルジョンカルボワックス（様々な分子量のポリエチレングリコール）、半固体ゲル、およびカルボワックスを含有する半固体混合物が挙げられる。Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311も参照のこと。

20

【0331】

患者に投与されるタンパク質-薬物コンジュゲートの用量は、患者の年齢および大きさ、標的疾患、状態、投与経路などに応じて変動し得る。適切な用量は典型的には、体重または体表面積に従って計算される。本開示のタンパク質-薬物コンジュゲートを成人患者における治療目的で使用する場合、本開示のタンパク質-薬物コンジュゲートを通常、体重1kgあたり約0.01～約20mg、より好ましくは体重1kgあたり約0.02～約7mg、約0.03～約5mg、または約0.05～約3mgの単回用量で静脈内投与することが有利であり得る。状態の重症度に応じて、処置の頻度および期間を調整することができる。タンパク質-薬物コンジュゲートを投与するための有効な投与量およびスケジュールは、経験的に決定され得る。例えば、患者の進行は、定期的な評価によってモニタリングすることができ、それに応じて用量を調整することができる。さらに、投与量の種間スケールリングは、当技術分野で周知の方法を用いて行うことができる（例えば、Mordelet et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351）。

30

40

【0332】

様々な送達系が公知であり、本開示の医薬組成物を投与するために使用することができる、例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセル、変異体ウイルスを発現することができる組換え細胞への封入、受容体媒介エンドサイトーシス（例えば、Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432を参照されたい）が挙げられる。導入方法としては、限定されないが、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、および経口の経路が挙げられる。組成物は、任意の好都合な経路によって、例えば、注入またはボーラス注射によって、上皮内層または皮膚粘膜内層（例えば

50

、口腔粘膜、直腸および腸粘膜など）を介した吸収によって投与することができ、他の生物学的に活性な薬剤と共に投与することができる。投与は全身または局所であり得る。

【0333】

本開示の医薬組成物は、標準的な針およびシリンジを用いて皮下または静脈内に送達することができる。さらに、皮下送達に関して、ペン型送達デバイスは、本開示の医薬組成物の送達において容易に適用される。そのようなペン型送達デバイスは、再使用可能または使い捨てであり得る。再使用可能なペン型送達デバイスは一般に、医薬組成物を含む交換可能なカートリッジを利用する。カートリッジ内の医薬組成物のすべてが投与され、カートリッジが空になると、空のカートリッジを容易に廃棄し、医薬組成物を含む新しいカートリッジと交換することができる。その後、ペン型送達デバイスを再使用することができる。使い捨てのペン型送達デバイスには、交換可能なカートリッジがない。むしろ、使い捨てのペン型送達デバイスは、デバイス内のリザーバ内に保持される医薬組成物であらかじめ充填される。リザーバから医薬組成物が空になると、デバイス全体を廃棄する。

10

【0334】

多くの再使用可能なペンおよび自動注射器送達デバイスは、本開示の医薬組成物の皮下送達において適用される。例としては、限定されないが、ほんの数例を挙げると、AUT OPEN（商標）（Owen Mumford, Inc., 英国・ウッドストック）、D I S E T R O N I C（商標）ペン（Disetronic Medical Systems, スイス・ベルクドルフ）、HUMALOG MIX 75/25（商標）ペン、HUMALOG（商標）ペン、HUMALIN 70/30（商標）ペン（Eli Lilly and Co., インディアナ州インディアナポリス）、NOVOPEN（商標）I、II、およびIII（Novo Nordisk, デンマーク・コペンハーゲン）、NOVOPEN JUNIOR（商標）（Novo Nordisk, デンマーク・コペンハーゲン）、BD（商標）ペン（Becton Dickinson, ニュージャージー州フランクリン・レイクス）、OPTIPEN（商標）、OPTIPEN PRO（商標）、OPTIPEN STARLET（商標）、およびOPTICLIK（商標）（Sanofi-Aventis, ドイツ・フランクフルト）が挙げられる。本開示の医薬組成物の皮下送達において適用される使い捨てのペン型送達デバイスの例としては、限定されないが、ほんの数例を挙げると、SOLOSTAR（商標）ペン（Sanofi-Aventis）、FLEXPEN（商標）（Novo Nordisk）、およびKWIK PEN（商標）（Eli Lilly）、SURECLICK（商標）Autoinjector（Amgen, カリフォルニア州サウザンドオークス）、PENLET（商標）（Haselmeier, ドイツ・シュトゥットガルト）、EPIPEN（Dey, L. P.）、およびHUMIRA（商標）ペン（Abbott Labs, イリノイ州アボット・パーク）が挙げられる。

20

30

【0335】

特定の状況において、医薬組成物は、制御放出系で送達することができる。1つの実施形態において、ポンプを使用することができる（上記Langerを参照。Sefton, 1987, CRC Crit. Biomed. Eng. 14:201）。別の実施形態において、ポリマー材料を使用することができる。Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Floridaを参照されたい。さらに別の実施形態において、制御放出系は、組成物の標的に近接して配置することができ、したがって、全身用量のわずかしが必要としない（例えば、Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, 上記, vol. 2, pp. 115-138を参照されたい）。他の制御放出系は、Langer, 1990, Science 249:1527-1533による総説において論じられている。

40

【0336】

注射可能な調製物は、静脈内、皮下、皮内、および筋肉内の注射、点滴などのための剤

50

形を含み得る。これらの注射用調製物は、公知の方法により調製することができる。例えば、注射用調製物は、例えば、上記の抗体またはその塩を、注射に従来使用されている滅菌水性媒体または油性媒体に溶解、懸濁、または乳化することによって調製することができる。注射用の水性媒体としては、例えば、生理食塩水、グルコースおよび他の補助剤を含有する等張液などがあり、これらは、アルコール（例えば、エタノール）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤〔例えば、ポリソルベート 80、HCO-50（水素化ヒマシ油のポリオキシエチレン（50 モル）付加物）〕などの適切な可溶化剤と組み合わせて使用することができる。油性媒体としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、これらは、安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどの可溶化剤と組み合わせて使用することができる。このようにして調製された注射剤は、好ましくは適切なアンプルに充填される。

10

【0337】

有利には、上記の経口または非経口用途のための医薬組成物は、有効成分の用量に適合するのに適した単位用量の剤形に調製される。単位用量のこのような剤形としては、例えば、錠剤、丸剤、カプセル、注射剤（アンプル）、坐剤などが挙げられる。前記抗体の含有量は通常、単位用量で剤形当たり約 5 ～ 約 500 mg である。特に注射の形態では、前記抗体は、他の剤形について約 5 ～ 約 100 mg および約 10 ～ 約 250 mg で含有されることが好ましい。

【0338】

タンパク質-薬物コンジュゲート、リンカー-ペイロード、およびペイロードの治療的使用

20

別の態様では、本明細書に開示されるタンパク質-薬物コンジュゲート、例えば、ADC は、とりわけ、そのような処置を必要とする疾患、障害、または疾病の処置、予防、および／または改善に有用である。

【0339】

1つの実施形態において、本発明は、対象において疾病を処置する方法であって、治療有効量の本開示にかかる化合物（例えば、抗体-薬物コンジュゲート、リンカー-ペイロード、および／もしくはペイロード）、または本開示にかかる任意の化合物を含む組成物を対象に投与する工程を含む方法を提供する。

【0340】

30

1つの実施形態において、本明細書に開示されるタンパク質-薬物コンジュゲート、例えば、ADC は、癌を処置するのに有用である。1つの実施形態において、本明細書に開示されるタンパク質-薬物コンジュゲート、例えば、ADC は、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、肝臓癌、または脳腫瘍からなる群から選択される癌を処置するのに有用である。1つの実施形態において、本明細書に開示されるタンパク質-薬物コンジュゲート、例えば、ADC は、HER2+乳癌を処置するのに有用である。1つの実施形態において、本明細書に開示されるタンパク質-薬物コンジュゲート、例えば、ADC は、前立腺癌を処置するのに有用である。

【0341】

一態様では、本開示は、化合物を細胞に選択的に送達する方法を提供する。1つの実施形態において、化合物を細胞に選択的に送達する方法は、化合物を標的抗体に連結する工程を含む。1つの実施形態において、化合物は上記のペイロードである。1つの実施形態において、細胞は哺乳動物細胞である。1つの実施形態において、細胞はヒト細胞である。1つの実施形態において、細胞は癌細胞である。1つの実施形態において、癌細胞は、乳癌細胞、卵巣癌細胞、前立腺癌細胞、肺癌細胞、肝臓癌細胞、または脳腫瘍細胞からなる群から選択される。

40

【0342】

特定の実施形態において、本開示は、

【0343】

50

【表 15 - 1】

10

20

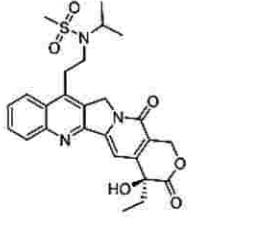
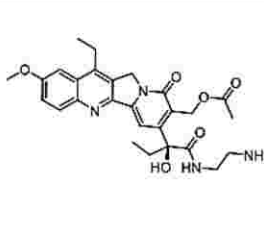
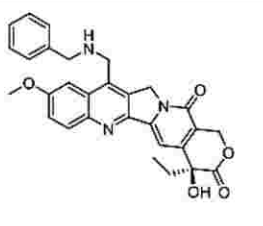
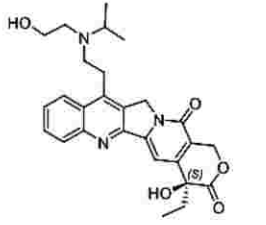
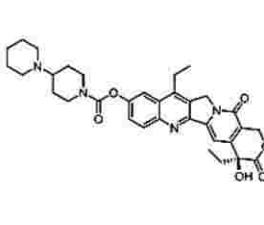
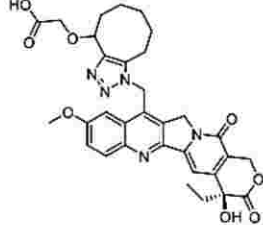
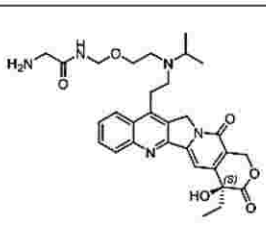
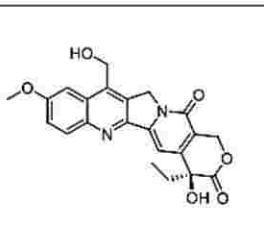
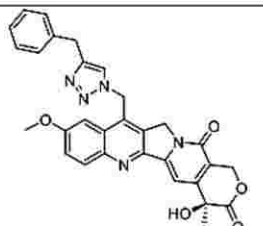
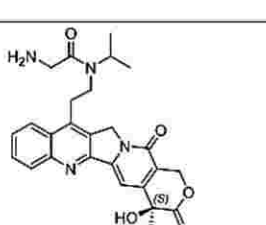
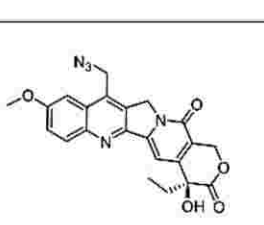
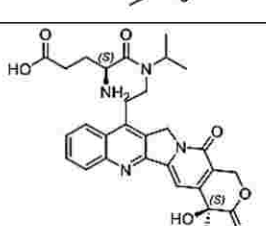
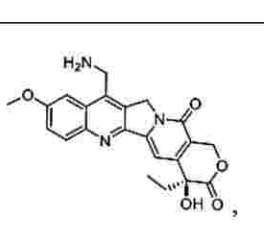
30

40

【 0 3 4 4 】

50

【表 15 - 2】

10

20

30

からなる群から選択される構造を有する化合物、またはその薬学的に許容可能な塩を細胞内に選択的に送達する方法を提供する。

【0345】

本開示は、細胞の表面上の抗原を化合物で選択的に標的化する方法を提供する。1つの実施形態において、細胞の表面上の抗原を化合物で選択的に標的化する方法は、化合物を標的化された抗体に連結する工程を含む。1つの実施形態において、化合物は上記のペイロードである。1つの実施形態において、細胞は哺乳動物細胞である。1つの実施形態において、細胞はヒト細胞である。1つの実施形態において、細胞は癌細胞である。1つの実施形態において、癌細胞は、乳癌細胞、卵巢癌細胞、前立腺癌細胞、肺癌細胞、肝臓癌細胞、または脳腫瘍細胞からなる群から選択される。

40

【0346】

特定の実施形態において、本開示は、細胞の表面上の抗原を、

【0347】

50

【表 16 - 1】

10

20

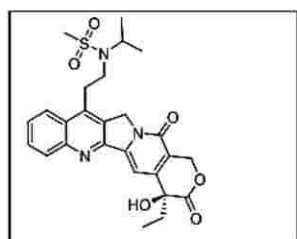
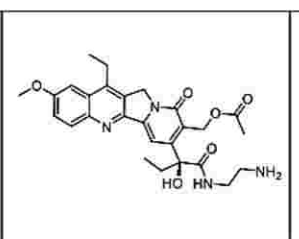
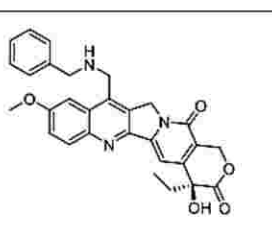
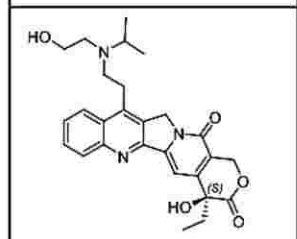
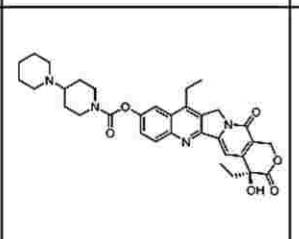
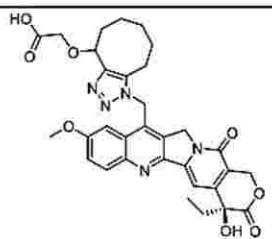
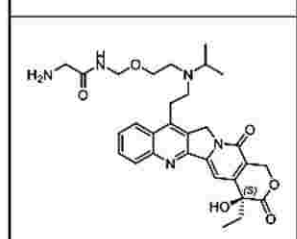
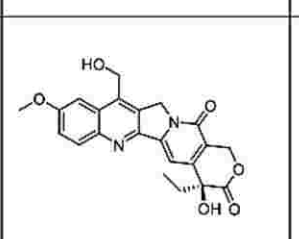
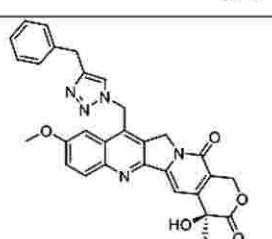
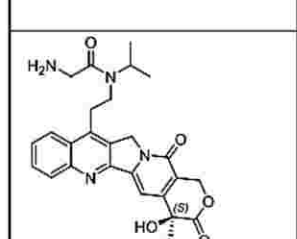
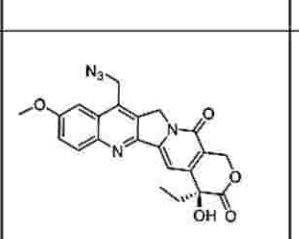
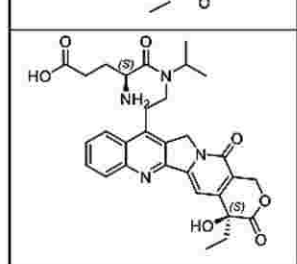
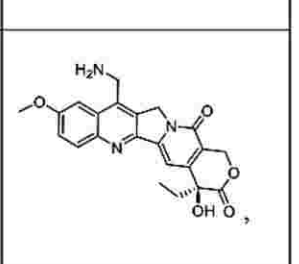
30

40

【 0 3 4 8 】

50

【表 16 - 2】

10

20

30

からなる群から選択される構造を有する化合物、またはその薬学的に許容可能な塩で選択的に標的化する方法を提供する。

40

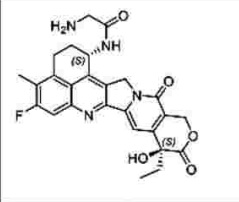
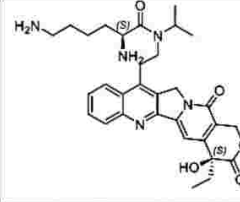
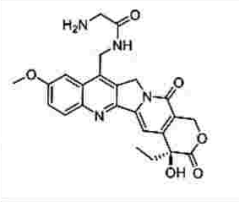
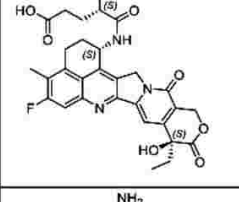
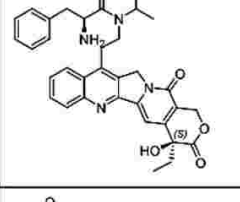
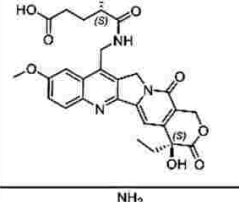
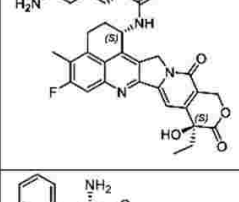
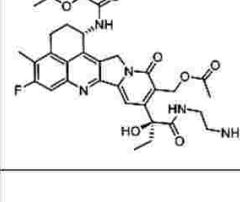
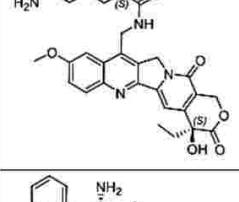
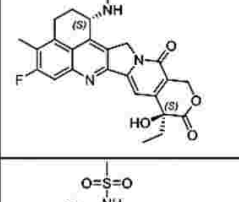
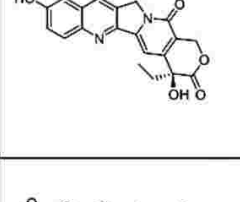
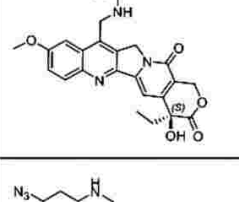
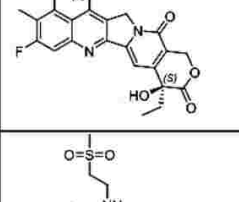
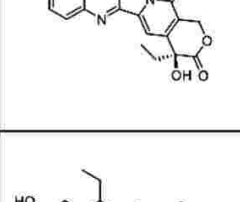
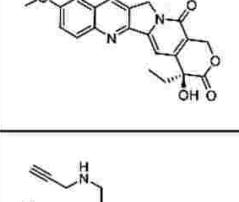
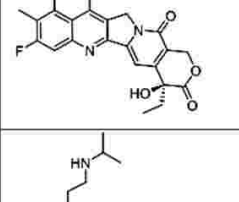
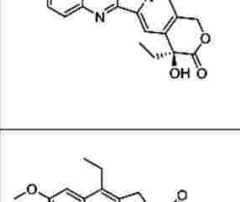
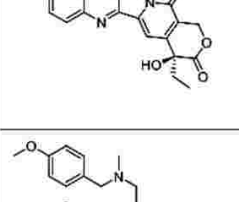
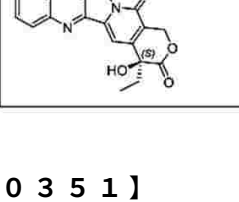
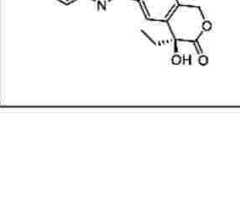
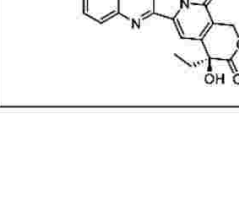
【0349】

特定の実施形態において、本開示は、腫瘍および／または癌を処置する方法であって、腫瘍および／または癌を、

【0350】

50

【表 17-1】

10

20

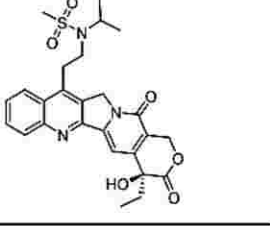
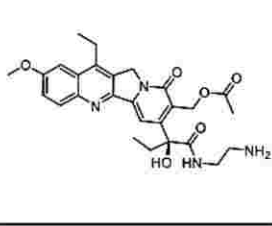
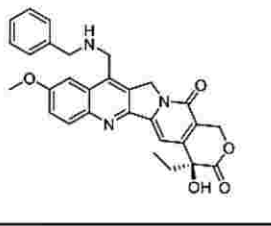
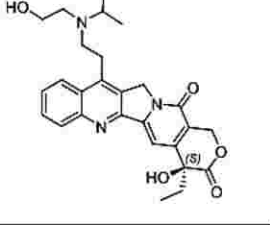
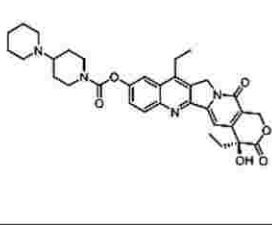
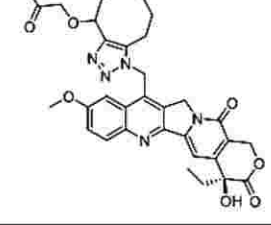
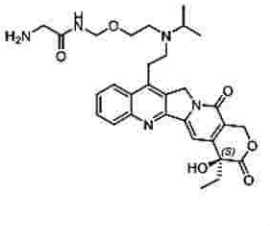
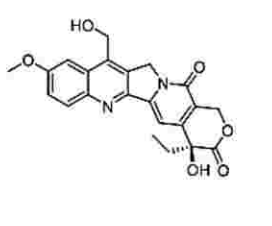
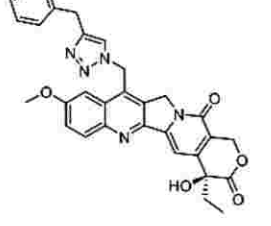
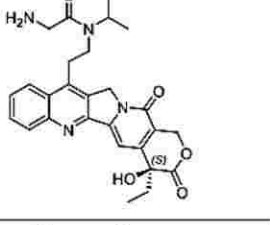
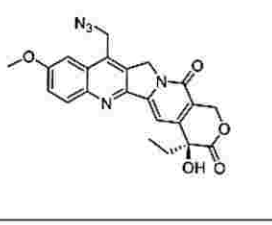
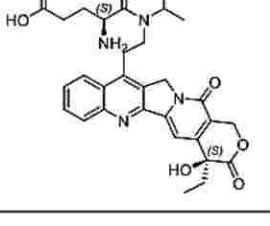
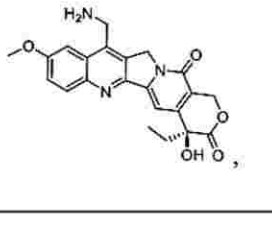
30

40

【0351】

50

【表 17-2】

10

20

30

からなる群から選択される構造を有する化合物、またはその薬学的に許容可能な塩に接触させる工程を含む方法を提供する。

【0352】

40

抗Her2抗体-薬物コンジュゲート

特定の実施形態において、本明細書に開示されるタンパク質-薬物コンジュゲート、例えば、ADCは、とりわけ、HER2の発現もしくは活性と関連するもしくはそれによって媒介されるか、または修飾LDLに対して競合することなくHER2に結合することによって、あるいは、および／またはHER2受容体内部移行を促進すること、および／または細胞表面受容体数を減少させることによって治療可能である任意の疾患もしくは障害の処置、予防、および／または改善に有用である。

【0353】

本開示のタンパク質-薬物コンジュゲート（およびそれを含む治療用組成物）は、とりわけ、免疫応答の刺激、活性化、および／または標的化が有益である任意の疾患または障

50

害を処置するために有用である。特に、本開示の単特異性抗HER2抗体および二重特異性抗HER2／HER2抗体の両方を含む抗HER2タンパク質－薬物コンジュゲートは、HER2発現もしくは活性、またはHER2＋細胞の増殖に関連するまたはそれらによって媒介される任意の疾患または障害の処置、予防、および／または改善のために使用することができる。本開示の治療方法が達成される作用機序は、例えば、CDC、アポトーシス、ADCC、食作用によって、またはこれらの機序の2つ以上の組み合わせによって、エフェクター細胞の存在下でHER2を発現する細胞を死滅させることを含む。本開示のタンパク質－薬物コンジュゲートを用いて阻害または死滅させることができるHER2を発現する細胞としては、例えば、乳房腫瘍細胞が挙げられる。

【0354】

10

1つの実施形態において、本開示のタンパク質－薬物コンジュゲート（ならびにそれを含む治療用組成物および剤形）は、

第1の抗原結合ドメイン（D1）、および

第2の抗原結合ドメイン（D2）

を含む二重特異性抗原結合分子を含み、

D1は、ヒトHER2の第1のエピトープに特異的に結合し、

D2は、ヒトHER2の第2のエピトープに特異的に結合する。

【0355】

上記の1つの実施形態において、D1およびD2は、ヒトHER2への結合に関して互いに競合しない。

20

【0356】

本開示のタンパク質－薬物コンジュゲートは、例えば、前立腺、膀胱、子宮頸部、肺、結腸、腎臓、乳房、膵臓、胃、子宮、および／または卵巣において生じる原発性および／または転移性の腫瘍を処置するために使用することができる。特定の実施形態において、本開示のタンパク質－薬物コンジュゲートは、以下の癌：前立腺癌、膀胱癌、子宮頸癌、肺癌、結腸癌、腎臓癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、子宮癌、および卵巣癌の1つ以上を処置するために使用される。本開示の特定の実施形態によれば、抗HER2抗体または抗HER2／HER2二重特異性抗体は、IHC2＋以上である乳癌細胞に罹患している患者を処置するのに有用である。本開示の他の関連する実施形態によれば、IHC2＋以上である乳癌細胞に罹患している患者に、本明細書に開示される抗HER2抗体または抗HER2／HER2抗体を投与する工程を含む方法が提供される。腫瘍走査などの当技術分野で公知の分析／診断方法を使用して、患者が去勢抵抗性である腫瘍を有するかどうかを確認することができる。

30

【0357】

特定の実施形態において、本開示はさらに、対象における残存癌を処置するための方法を含む。「残存癌」という用語は、抗癌療法による処置後の対象における1つ以上の癌細胞の存在または持続を意味する。

【0358】

本開示のタンパク質－薬物コンジュゲート（およびそれを含む治療用組成物）は、とりわけ、免疫応答の刺激、活性化、および／または標的化が有益である任意の疾患または障害を処置するために有用である。特に、本開示の抗HER2抗体または抗HER2／HER2抗体を含むタンパク質－薬物コンジュゲートは、HER2発現もしくは活性、またはHER2＋細胞の増殖に関連するまたはそれらによって媒介される任意の疾患または障害の処置、予防、および／または改善のために使用することができる。本開示の治療方法が達成される作用機序は、例えば、CDC、アポトーシス、ADCC、食作用によって、またはこれらの機序の2つ以上の組み合わせによって、エフェクター細胞の存在下でHER2を発現する細胞を死滅させることを含む。本開示のタンパク質－薬物コンジュゲートを用いて阻害または死滅させることができるHER2を発現する細胞としては、例えば、乳房腫瘍細胞が挙げられる。

40

【0359】

50

特定の態様によれば、本開示は、HER2発現に関連する疾患または障害（例えば、乳癌）を処置するための方法であって、対象が乳癌（例えば、およびIHC2+乳癌）を有すると決定された後に、本明細書の他の箇所に記載される抗HER2タンパク質-薬物コンジュゲートまたは抗HER2/HER2二重特異性タンパク質-薬物コンジュゲートの1つ以上を対象に投与する工程を含む方法を提供する。例えば、本開示は、乳癌を処置するための方法であって、抗HER2抗体もしくは抗原結合分子または抗HER2/HER2二重特異性抗体もしくは抗原結合分子を含むタンパク質-薬物コンジュゲートを、対象がホルモン療法（例えば、抗アンドロゲン療法）を受けた1日後、2日後、3日後、4日後、5日後、6日後、1週間後、2週間後、3週間後、もしくは4週間後、2ヶ月後、4ヶ月後、6ヶ月後、8ヶ月後、1年後、またはそれ以上後に、患者に投与する工程を含む方法を含む。

10

【0360】

特定の実施形態において、本開示はさらに、HER2発現細胞に関連するまたはそれによって引き起こされる疾患または障害（例えば、癌）の処置のための薬剤の製造における本開示の抗HER2抗体の使用を含む。一態様では、本開示は、医学における使用のための、本明細書に開示される抗HER2抗体もしくは抗原結合断片、または抗HER2/HER2二重特異性抗体もしくは抗原結合断片を含むタンパク質-薬物コンジュゲートに関する。一態様では、本開示は、医薬において使用するための、本明細書に開示される抗体-薬物コンジュゲート（ADC）を含む化合物に関する。

20

【0361】

併用療法および製剤

本開示は、本明細書に記載される例示的なタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、およびペイロードのいずれかを、1つ以上の追加の治療剤と組み合わせて含む医薬組成物を投与する工程を含む方法を提供する。本開示のタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、およびペイロードと組み合わせることができる、または組み合わせて投与することができる例示的な追加の治療剤としては、例えば、HER2アンタゴニスト（例えば、抗HER2抗体[例えば、トラスツズマブ]またはHER2の小分子阻害剤または抗HER2抗体-薬物コンジュゲート、または抗HER2/HER2二重特異性抗体、または抗HER2/HER2二重特異性抗体-薬物コンジュゲート）、EGFRアンタゴニスト（例えば、抗EGFR抗体[例えば、セツキシマブもしくはパニツムマブ]またはEGFRの小分子阻害剤[例えば、ゲフィチニブもしくはエルロチニブ]）、HER2/ErbbB2、ErbbB3、もしくはErbbB4（例えば、抗ErbbB2、抗ErbbB3、もしくは抗ErbbB4抗体、またはErbbB2、ErbbB3、もしくはErbbB4活性の小分子阻害剤）などの別のEGFRファミリーメンバーのアンタゴニスト、EGFRvIIIのアンタゴニスト（例えば、EGFRvIIIに特異的に結合する抗体）、cMETアンタゴニスト（例えば、抗cMET抗体）、IGF1Rアンタゴニスト（例えば、抗IGF1R抗体）、B-raf阻害剤（例えば、ベムラフェニブ、ソラフェニブ、gDC-0879、PLX-4720）、PDGFR- α 阻害剤（例えば、抗PDGFR- α 抗体）、PDGFR- β 阻害剤（例えば、抗PDGFR- β 抗体）、VEGFアンタゴニスト（例えば、VEGF-Trap、例えば、US7,087,411を参照（本明細書では「VEGF阻害融合タンパク質」とも呼ばれる）、抗VEGF抗体（例えば、ベバシズマブ）、VEGF受容体の小分子キナーゼ阻害剤（例えば、スニチニブ、ソラフェニブ、またはパゾパニブ）、DLL4アンタゴニスト（例えば、US2009/0142354に開示される抗DLL4抗体）、Ang2アンタゴニスト（例えば、US2011/0027286に開示される抗Ang2抗体、例えば、H1H685P）、FOLH1（PSMA）アンタゴニスト、PRLRアンタゴニスト（例えば、抗PRLR抗体）、STEAP1もしくはSTEAP2アンタゴニスト（例えば、抗STEAP1抗体もしくは抗STEAP2抗体）、TMPRSS2アンタゴニスト（例えば、抗TMPRSS2抗体）、MSLNアンタゴニスト（例えば、抗MSLN抗体）、CA9アンタゴニスト（例

30

40

50

例えば、抗CA9抗体）、ウロプラキンアンタゴニスト（例えば、抗ウロプラキン抗体）などが挙げられる。

【0362】

本開示のタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、およびペイロードと組み合わせて有益に投与され得る他の薬剤としては、低分子サイトカイン阻害剤およびIL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-13、IL-17、IL-18などのサイトカインまたはそれらのそれぞれの受容体に結合する抗体を含むサイトカイン阻害剤が挙げられる。本開示の医薬組成物（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2タンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、本明細書に開示される抗体-薬物コンジュゲート）を含む医薬組成物）はさらに、「ICE」：イホスファミド（例えば、Ifex（登録商標））、カルボプラチン（例えば、Paraplatin（登録商標））、エトポシド（例えば、Etopophos（登録商標）、Toposar（登録商標）、VePesid（登録商標）、VP-16）、「DHAP」：デキサメタゾン（例えば、Decadron（登録商標））、シタラビン（例えば、Cytosar-U（登録商標））、シトシンアラビノシド、ara-C）、シスプラチン（例えば、Platinol（登録商標）-AQ）、および「ESHAP」：エトポシド（例えば、Etopophos（登録商標）、Toposar（登録商標）、VePesid（登録商標）、VP-16）、メチルブレドニゾロン（例えば、Medrol（登録商標））、高用量シタラビン、シスプラチン（例えば、Platinol（登録商標）-AQ）から選択される1つ以上の治療的組み合わせを含む治療レジメンの一部として投与され得る。

【0363】

本開示はさらに、本明細書で言及されるタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、およびペイロードのいずれかと、HER2、VEGF、Ang2、DLL4、EGFR、ErbB2、ErbB3、ErbB4、EGFRvIII、cMet、IGF1R、Bcrf、PDGFR- α 、PDGFR- β 、FOLH1（PSMA）、PRLR、STEAP1、STEAP2、TMPRSS2、MSLN、CA9、ウロプラキン、または前述のサイトカインのいずれかの1つ以上の阻害剤とを含む治療的組み合わせを含み、阻害剤は、アプタマー、アンチセンス分子、リボザイム、siRNA、ペプチボディ、ナノボディまたは抗体断片（例えば、Fab断片、F(ab')₂断片、Fd断片、Fv断片、scFv、dAb断片、または他の操作された分子、例えば、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、および最小認識単位）である。本開示の抗原結合分子はさらに、抗ウイルス剤、抗生物質、鎮痛剤、コルチコステロイド、および/またはNSAIDと組み合わせて投与および/または共製剤化され得る。本開示の抗原結合分子はさらに、放射線治療および/または従来の化学療法も含む治療レジメンの一部として投与され得る。

【0364】

追加の治療有効成分は、本開示の抗原結合分子の投与の直前、投与と同時に、または直後に投与され得る（本開示の目的のために、このような投与レジメンは、追加の治療有効成分と「組み合わせて」抗原結合分子の投与とみなされる）。

【0365】

本開示は、本開示のタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/またはペイロードが、本明細書の他の箇所に記載されるような1つ以上の追加の治療有効成分と共製剤化されている医薬組成物を含む。

【0366】

投与レジメン

本開示の特定の実施形態によれば、タンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/または

ペイロードの複数回用量を、定義された時間経過にわたって対象に投与することができる。本開示のこの態様にかかる方法は、本開示のタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/またはペイロードの複数回用量を対象に順次投与する工程を含む。本明細書で使用される場合、「順次投与する」とは、タンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/またはペイロードの各用量が、異なる時点で、例えば、あらかじめ決められた間隔（例えば、数時間、数日、数週間、または数ヶ月）によって隔てられた異なる日に対象に投与されることを意味する。本開示は、患者に、タンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/またはペイロードの単一初回用量、その後、タンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/またはペイロードの1つ以上の二次用量、その後、任意選択で、タンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/またはペイロードの1つ以上の三次用量を順次投与する工程を含む方法を含む。

10

20

【0367】

「初回用量」、「二次用量」、および「三次用量」という用語は、本開示のタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/またはペイロードの投与の時間的順序を指す。したがって、「初回用量」は、処置レジメンの開始時に投与される用量（「ベースライン用量」とも呼ばれる）である。「二次用量」は、初回用量の後に投与される用量である。「三次用量」は、二次用量の後に投与される用量である。初回用量、二次用量、および三次用量はすべて、同量のタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2または抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/またはペイロードを含み得るが、一般に投与頻度に関して互いに異なり得る。しかし、特定の実施形態において、初回用量、二次用量、および/または三次用量に含まれるタンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、抗MET/MET二重特異性、または抗STEAP2抗体-薬物コンジュゲート）、リンカー-ペイロード、および/またはペイロードの量は、処置の過程で互いに変動する（例えば、必要に応じて上下に調整される）。特定の実施形態において、2回以上の（例えば、2、3、4、または5回の）用量が、「負荷用量」として処置レジメンの開始時に投与され、その後、より少ない頻度で投与される後続の用量（例えば、「維持用量」）が続く。

30

【0368】

本開示の1つの例示的な実施形態において、二次用量および/または三次用量はそれぞれ、直前の用量の1~26（例えば、1、1と1/2、2、2と1/2、3、3と1/2、4、4と1/2、5、5と1/2、6、6と1/2、7、7と1/2、8、8と1/2、9、9と1/2、10、10と1/2、11、11と1/2、12、12と1/2、13、13と1/2、14、14と1/2、15、15と1/2、16、16と1/2、17、17と1/2、18、18と1/2、19、19と1/2、20、20と1/2、21、21と1/2、22、22と1/2、23、23と1/2、24、24と1/2、25、25と1/2、26、26と1/2、またはそれ以上）週間後に投与される。本明細書で使用する「直前の用量」という語句は、複数回投与の順序における、タンパク質-薬物コンジュゲート（例えば、抗HER2、抗HER2/HER2二重特異性、抗MET、

40

50

抗M E T／M E T二重特異性、または抗S T E A P 2抗体－薬物コンジュゲート）、リンカー－ペイロード、および／またはペイロードの用量を意味し、他に介在する用量が一切なく、その順序で次の用量の投与前に患者に投与される。

【0369】

本開示のこの態様にかかる方法は、任意の数の二次用量および／または三次用量のタンパク質－薬物コンジュゲート（例えば、抗H E R 2、抗H E R 2／H E R 2二重特異性、抗M E T、抗M E T／M E T二重特異性、または抗S T E A P 2抗体－薬物コンジュゲート）、リンカー－ペイロード、および／またはペイロードを患者に投与する工程を含み得る。例えば、特定の実施形態において、単一の二次用量のみが患者に投与される。他の実施形態において、2回以上の（例えば、2、3、4、5、6、7、8回、またはそれ以上）二次用量が患者に投与される。同様に、特定の実施形態において、単一の三次用量のみが患者に投与される。他の実施形態において、2回以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8回、またはそれ以上）の三次用量が患者に投与される。

10

【0370】

複数の二次用量を含む実施形態において、各二次用量は、他の二次用量と同じ頻度で投与され得る。例えば、各二次用量は、直前の用量の1～2週間後に患者に投与され得る。同様に、複数の三次用量を含む実施形態において、各三次用量は、他の三次用量と同じ頻度で投与され得る。例えば、各三次用量は、直前の用量の2～4週間後に患者に投与され得る。代替的に、二次用量および／または三次用量が患者に投与される頻度は、処置レジメンの過程にわたって変動し得る。投与の頻度はさらに、臨床検査後の個々の患者の必要性に応じて、医師による処置の過程の間に調整され得る。

20

【実施例】

【0371】

以下の実施例は、本明細書の特定の態様を例示する。実施例は、限定的に解釈されるべきではなく、実施例は単に、実施形態およびそれらの様々な態様の具体的な理解および実践を提供するものにすぎない。

【0372】

30

40

50

【表 18 - 1】

略語

ADC	抗体-薬物コンジュゲート
非グリコシル化抗体	抗体はいかなるグリカンも有していない
aq.	水溶性
Boc	N-tert-ブトキシカルボニル
BupH	Thermo Scientific Prod# 28372. 100 mM リン酸ナトリウムおよび 150 mM 塩化ナトリウムを含み、カリウムを有しておらず、特段 の記載がない限り、pH は 7.2 から 7.6-7.8 MQ に調節された。
COT	シクロオクチノール (Cyclooctynol)
Da	ダルトン
DAR	薬物対抗体比
DCM	ジクロロメタン
DIBAC	ジベンズ[b,f]アゾシン, 11,12-ジデヒドロ-5,6-ジヒドロ-
DIBAC-Suc	ジベンズ[b,f]アゾシン-5(6H)-ブタン酸, 11,12-ジデヒドロ
DIBACT	3H-ベンゾ[c]-1,2,3-トリアゾロ[4,5-e][1] ベンザゾシン, 8,9-ジヒド ロ-
DIPEA	ジイソプロピルエチルアミン
DMF	N,N-ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
EC	酵素委員会
ELSD	蒸発光散乱検出器
Equiv.	当量
ESI	エレクトロスプレーイオン化
g	グラム
GUL-アジド	((((S)-5-(4-アジドブタンアミド)-1-カルボキシペンチル)カルバモイ ル)-L-グルタミン酸
HATU	2-(7-アザ-1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウ ロニウムヘキサフルオロホスフェート
HC	免疫グロブリンの重鎖

10

20

30

40

【0373】

50

【表 18 - 2】

HEK	ヒト胚腎臓 (細胞)
HOBt	1-ヒドロキシベンゾトリアゾール
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
hr or hrs	時間
LC	免疫グロブリンの軽鎖
LC	液体クロマトグラフィー
MALDI	マトリックス支援レーザー脱離／イオン化
mg	ミリグラム
min	分
mL	ミリメートル
mmh	myc-myc-ヘキサヒスチジンタグ
μL	マイクロリットル
mM	ミリモル
μM	マイクロモル
MS	質量分析
MSD	質量選択検出器
MW	分子量
NHS	N-ヒドロキシスクシンイミド
nM	ナノモル
NMR	核磁気共鳴
PAB	パラアミノベンジルオキシ(カルボニル)
PBS	10 mM のリン酸ナトリウム緩衝液および 150 mM の塩化ナトリウム
PBSg	10 mM のリン酸, 150 mM の塩化ナトリウム, 5%グリセロール
PEG	ポリエチレングリコール
ppm	百万分率(化学シフト)
PPTS	<i>p</i> -トルエンスルホン酸ピリジニウム
RP	逆相
RT	室温

10

20

30

40

【0374】

50

【表 18-3】

Sat.	飽和
SDS-PAGE	ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動
SEC	サイズ排除クロマトグラフィー
Suc	コハク酸
TCEP	トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩
TEA	トリエチルアミン
TFA	トリフルオロ酢酸
TG	トランスグルタミナーゼ
THF	テトラヒドロフラン
TOF	飛行時間型
UPLC	超高速液体クロマトグラフィー
UV	紫外線
VC	バリン-シトルリン

10

20

【0375】

メシル酸エキサテカン（P1）、ペロテカンHCl塩（P8）、10-ヒドロキシカンブトテシン（P14）、SN38（P16）、およびイリノテカン（P19）は、MCEまたはBide Pharmから市販されていた。化合物7A-1はTCIから市販され、化合物7-2はAccellaから市販されていた。リンカー5-1は、WO2018089373およびWO2020146541に記載されるように合成され、リンカー6-1は、WO2020146541に記載されるように合成された。

【0376】

30

実施例1：プロエキサテカン（ProEXT）の合成（スキーム1）

【0377】

本開示にかかるペイロードおよびそれらの特性を以下の表1に列挙する。

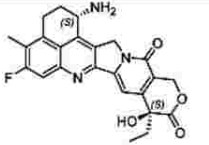
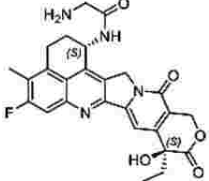
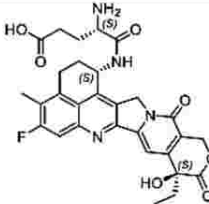
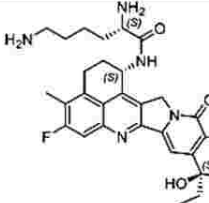
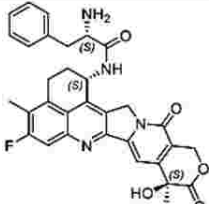
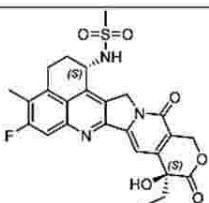
【0378】

40

50

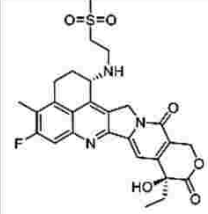
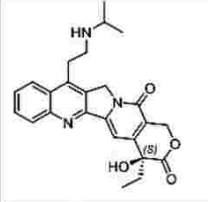
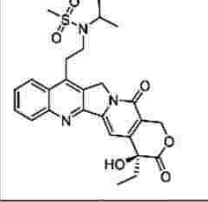
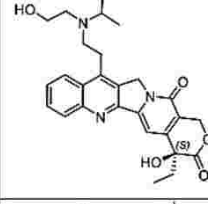
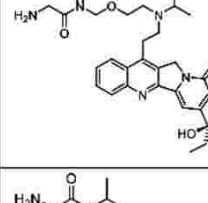
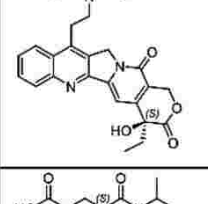
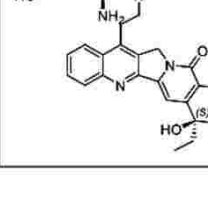
【表 19 - 1】

表 1. ペイロードのリスト

P#	コード	構造	cLogP	MF	MW	純度 (%)	正確な質量 (M+H) ⁺
P1	エキサテカン (メシル酸)		1.45	C ₂₄ H ₂₂ FN ₃ O ₄ ·C H ₄ O ₃ S	435.5+96.1	97	435.16
P2	プロエキサテカン (GlyEXT)		0.44	C ₂₆ H ₂₅ FN ₄ O ₅	492.5	99	492.18
P3	(GluEXT)		-1.61	C ₂₉ H ₂₉ FN ₄ O ₇	564.6	98	565.2
P4	(LysEXT)		0.73	C ₃₀ H ₃₄ FN ₅ O ₅	563.6	99	564.2
P5	(PheEXT)		2.67	C ₃₃ H ₃₁ FN ₄ O ₅	582.6	99	583.3
P6	(MsEXT)		0.86	C ₂₅ H ₂₄ FN ₃ O ₆ S	513.5	99	514.1

【0379】

【表 19 - 2】

P7	(MsEthEXT)		0.66	$C_{27}H_{28}FN_3O_6S$	541.6	99	541.9
P8	(ペロデカ ン,HCl 塩)		1.69	$C_{25}H_{27}N_3O_4 \cdot HC$ 1	433.5+36.5	99	434.2
P9	(MsBLT)		0.95	$C_{26}H_{29}N_3O_6S$	511.6	97	512.3
P10	(HOEthBLT)		1.53	$C_{27}H_{31}N_3O_5$	477.6	99	478.2
P11	(ProBLT)		0.38	$C_{30}H_{37}N_5O_6$	563.7	99	564.3
P31			0.53	$C_{27}H_{30}N_4O_5$	490.6	>90	491.1
P32			-1.52	$C_{30}H_{34}N_4O_7$	562.6	>90	563.2

【0380】

10

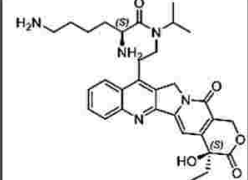
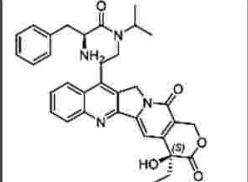
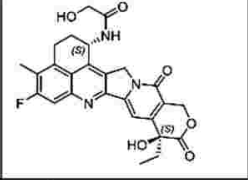
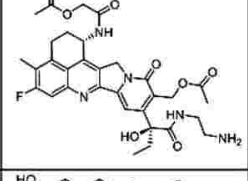
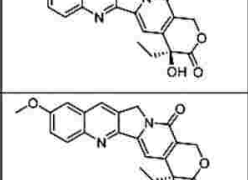
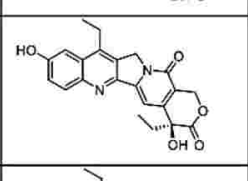
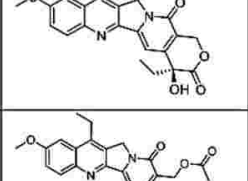
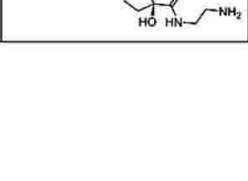
20

30

40

50

【表 19 - 3】

P33			0.80	C ₃₁ H ₃₉ N ₅ O ₅	561.7	>90	562.3
P34			2.75	C ₃₄ H ₃₆ N ₄ O ₅	580.7	>90	581.3
P12	Dxd		0.55	C ₂₆ H ₂₄ FN ₃ O ₆	493.5	>95	494.3
P13			0.61	C ₃₂ H ₃₆ FN ₅ O ₈	637.7	>99	638.3 [M+H]
P14			0.92	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₅	364.4	99	365.1
P15			1.06	C ₂₁ H ₁₈ N ₂ O ₅	378.4	95	379.1
P16	SN38		1.87	C ₂₂ H ₂₀ N ₂ O ₅	392.4	98	393.1
P17			2.02	C ₂₃ H ₂₂ N ₂ O ₅	406.4	94	407.1
P18			0.42	C ₂₇ H ₃₂ N ₄ O ₆	508.6	99	449.2 (M- OAc)

【 0 3 8 1 】

10

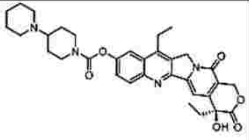
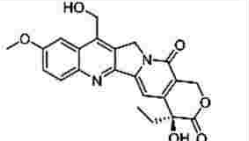
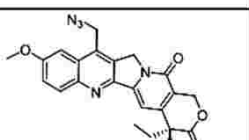
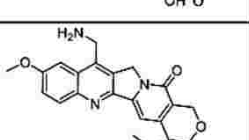
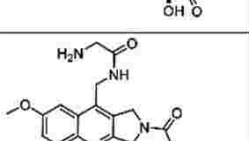
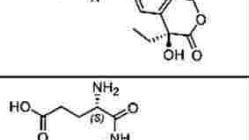
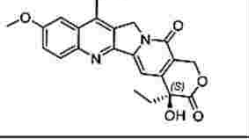
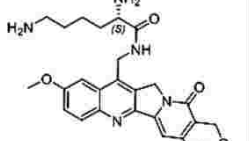
20

30

40

50

【表 19 - 4】

P19	イリノテカン		2.78	$C_{33}H_{38}N_4O_6$	586.7	97	587.2
P20			0.30	$C_{22}H_{20}N_2O_6$	408.4	90	409.1
P21			1.12	$C_{22}H_{19}N_3O_5$	433.4	95	434.1
P22			0.19	$C_{22}H_{21}N_3O_5$	407.4	99	408.3
P41			-0.92	$C_{24}H_{24}N_4O_6$	464.5	96	465.2
P42			-2.97	$C_{27}H_{28}N_4O_8$	536.5	95	537.2
P43			-0.62	$C_{28}H_{33}N_5O_6$	535.6	95	536.3
P44			1.31	$C_{31}H_{30}N_4O_6$	554.6	98	555.2

【0382】

10

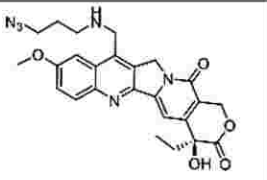
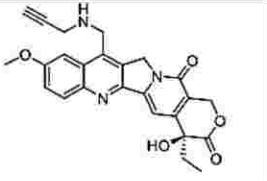
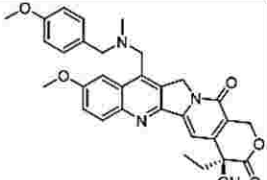
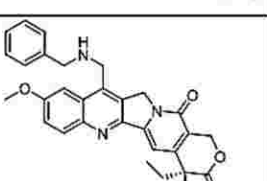
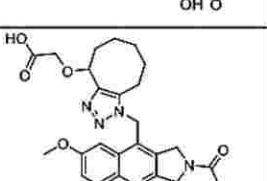
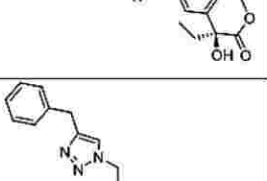
20

30

40

50

【表 19 - 5】

P23		0.81	C ₂₅ H ₂₆ N ₆ O ₅	490.5	99	491.2
P24		0.85	C ₂₅ H ₂₃ N ₃ O ₅	445.5	99	446.3
P25		2.57	C ₃₁ H ₃₁ N ₃ O ₆	541.6	98	542.2
P26		2.35	C ₂₉ H ₂₇ N ₃ O ₅	497.6	99	498.2
P27		1.44	C ₃₂ H ₃₃ N ₅ O ₈	615.6	99	616.3
P28		2.80	C ₃₁ H ₂₇ N ₅ O ₅	549.6	96	550.1

【0383】

10

20

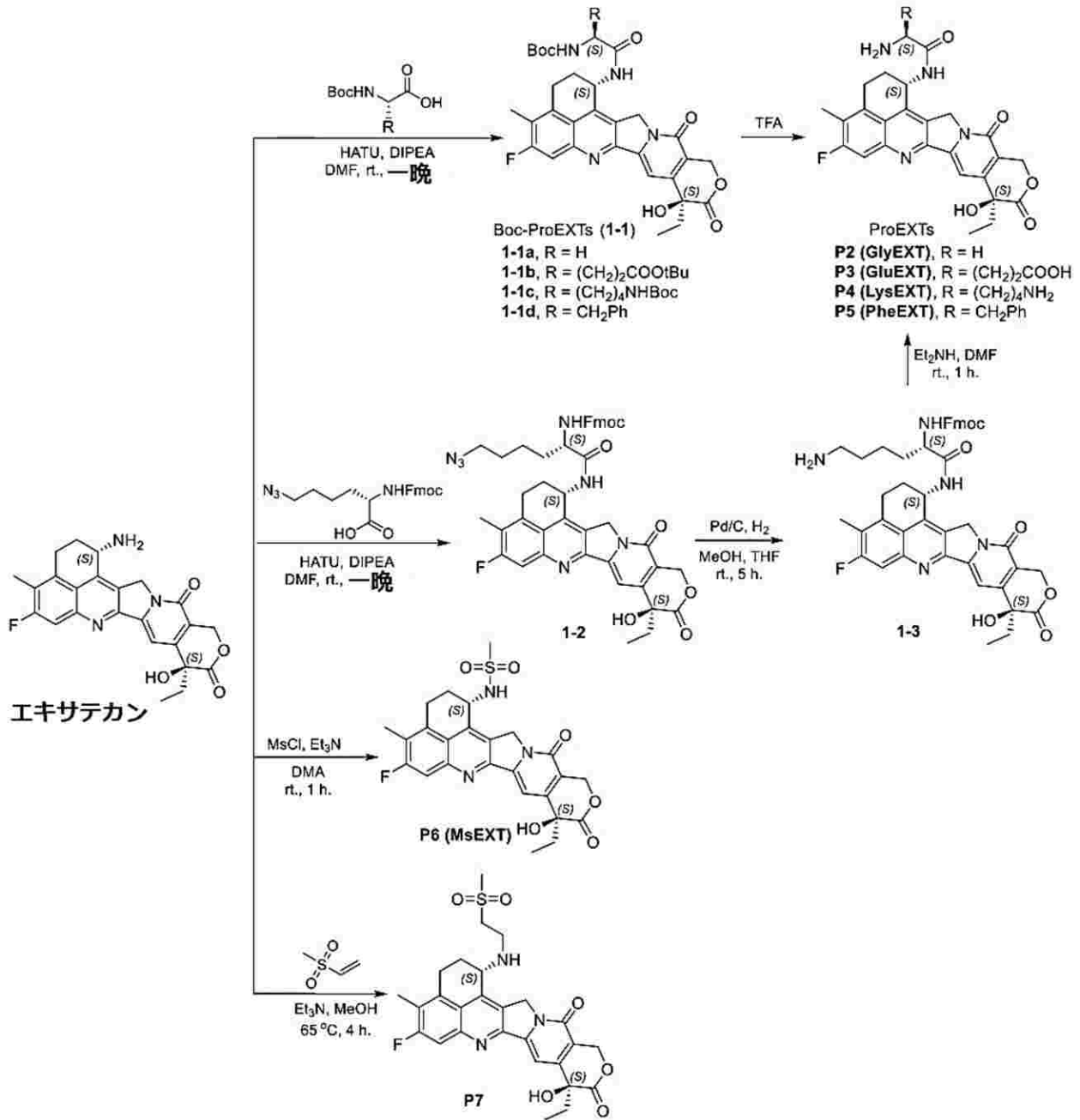
30

40

50

【化 6 4】

スキーム 1. ペイロード（エキサテカン誘導体）の合成



【 0 3 8 4 】

実施例 1 A：保護された ProEXT (1-1) の合成のための基本手順 A

【 0 3 8 5 】

10

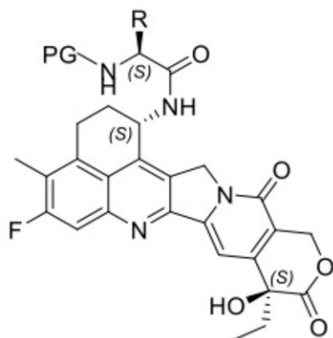
20

30

40

50

【化 6 5】



10

【0386】

DMF (50 mM) 中の保護アミノ酸 (1.0 当量) の溶液に、メシル酸エキサテカン (1.0 当量)、HATU (1.5 当量)、および DIPEA (2.0 当量) を連続的に添加し、反応混合物を室温で一晩攪拌し、これを LCMS によりモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA 水溶液 (0.01%) 中 0~100% アセトニトリル) により直接精製することで、化合物 1-1 を淡黄色固形物として得た。

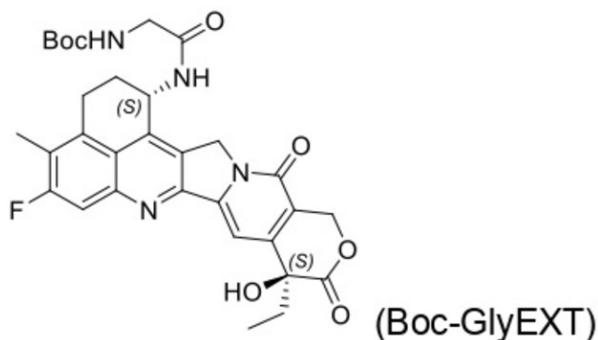
【0387】

実施例 1A-1: tert-ブチル N-({[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴] テトラコサー-1, 6 (11), 12, 14, 16, 18, 20 (24)-ヘプタエン-23-イル] カルバモイル} メチル) カルバメート (Boc-GlyEXT, 1-1a)

20

【0388】

【化 6 6】



30

【0389】

Boc-Gly-OH (18 mg、0.10 mmol) から出発する基本手順 A に従って、Boc-GlyEXT (1-1a) (45 mg、収率 75%) を淡黄色固形物として得た。ESI m/z: 593.3 (M+H)⁺.

40

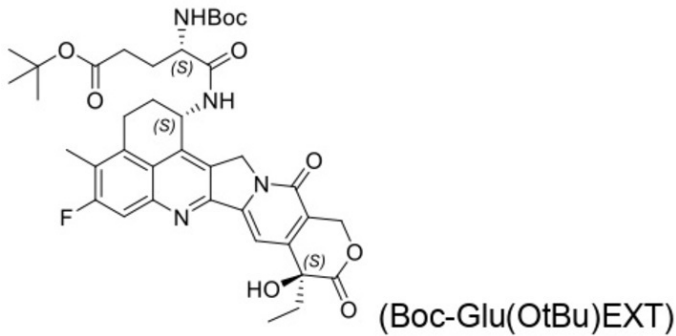
【0390】

実施例 1A-2: tert-ブチル (4S)-4-({[(tert-ブトキシ) カルボニル] アミノ}-4-({[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴] テトラコサー-1, 6 (11), 12, 14, 16, 18, 20 (24)-ヘプタエン-23-イル] カルバモイル} ブタノエート (Boc-Glu(O^tBu)EXT, 1-1b)

【0391】

50

【化 6 7】



10

【0392】

N-Boc-Glu(O^tBu)-OH (CAS: 13726-84-6、50 mg、0.16 mmol) から出発する基本手順 A に従って、Boc-Glu(O^tBu)EXT (1-1b) (91 mg、収率 77%) を黄色の固形物として得た。ESI m/z: 721.3 (M+H)⁺.

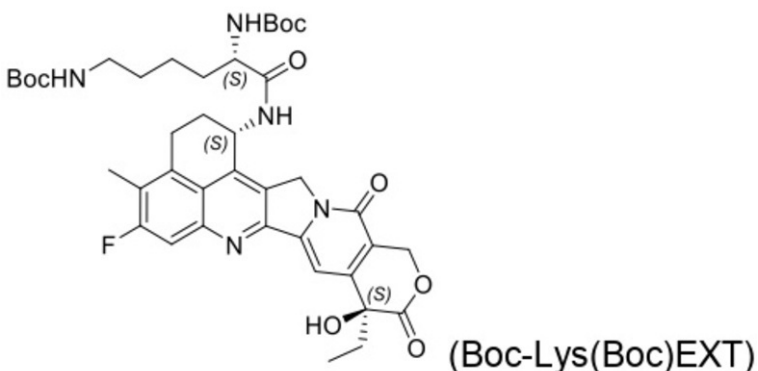
【0393】

実施例 1A-3: tert-ブチル N[(1S)-5-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}-1-{[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサー-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}ペンチル]カルバメート (Boc-Lys(Boc)EXT, 1-1c)

20

【0394】

【化 6 8】



30

【0395】

Boc-Lys(Boc)-OH (CAS: 2483-46-7、0.12 g、0.35 mmol) から出発する基本手順 A に従って、Boc-Lys(Boc)EXT (1-1c) (0.17 g、収率 64%) を灰色の固形物として得た。ESI m/z: 764.2 (M+H)⁺、664.3 (M-Boc+H)⁺.

40

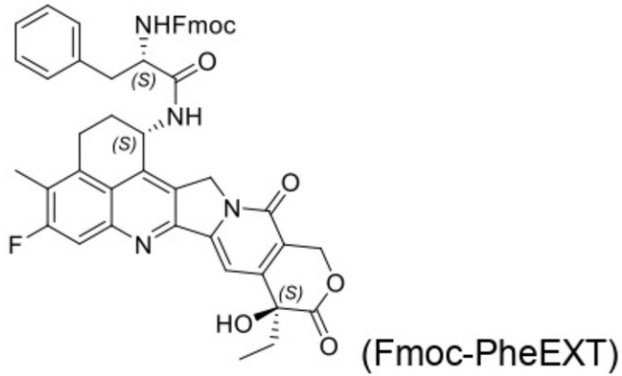
【0396】

実施例 1A-4: (9H-フルオレン-9-イル)メチル N[(1S)-1-{[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサー-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}-2-フェニルエチル]カルバメート (Fmoc-PheEXT, 1-1d)

【0397】

50

【化 6 9】



【 0 3 9 8】

N-Fmoc-Phe-OH (CAS : 35661-40-6、50mg、0.13mmol) から出発する基本手順 A に従って、N-Fmoc-PheEXT (1-1d) (73mg、収率 70%) を黄色の固形物として得た。ESI m/z : 805.2 (M+H)⁺.

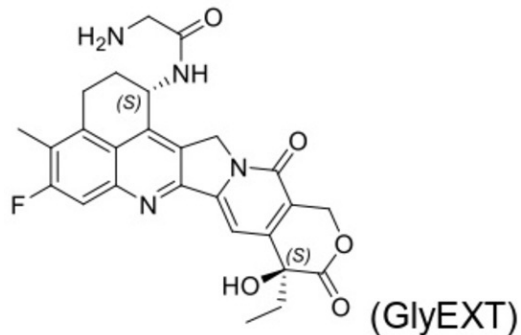
【 0 3 9 9】

実施例 1A-5 : 2-アミノ-N-[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 24]テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]アセトアミド (GlyEXT, P2)

20

【 0 4 0 0】

【化 7 0】



【 0 4 0 1】

DCM (3mL) 中の Boc-GlyEXT (1-1a) (45mg、75μmol) の溶液に TFA (1mL) を添加し、混合物を 2 時間室温で攪拌し、これを LCMS によりモニタリングした。得られた混合物を真空中で濃縮し、残渣を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0.3%) 中 5~95% アセトニトリル) によって精製することで、GlyEXT (P2) (35mg、収率 90%) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 493.2 (M+H)⁺.

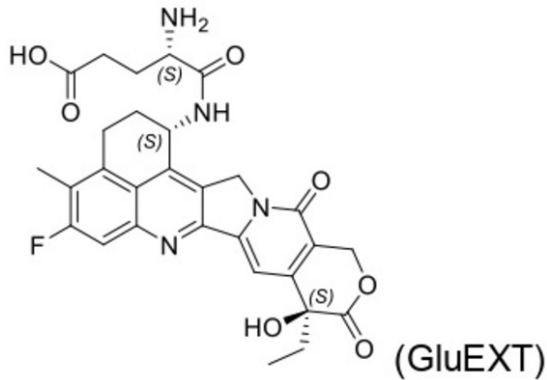
40

【 0 4 0 2】

実施例 1A-6 : (4S)-4-アミノ-4-{[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 24]テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}ブタン酸 (GluEXT, P3)

【 0 4 0 3】

【化 7 1】



10

【0 4 0 4】

1-1 aの代わりに1-1 b (60 mg、83 μmol) から出発することを除いて P 2と同様の手順に従って、P 3 (34 mg、収率60%、TFA塩) を黄色の固形物として得た。ESI m/z : 565.2 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.00 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.34–8.13 (m, 2H), 7.86–7.83 (m, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.62–5.57 (m, 1H), 5.43–5.38 (m, 3H), 5.07–5.02 (m, 1H), 3.78 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 3.22–3.12 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.33–2.15 (m, 4H), 1.98–1.79 (m, 4H), 0.88 (t, $J=7.2$ Hz, 3H) ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -73.5, -110.9 ppm.

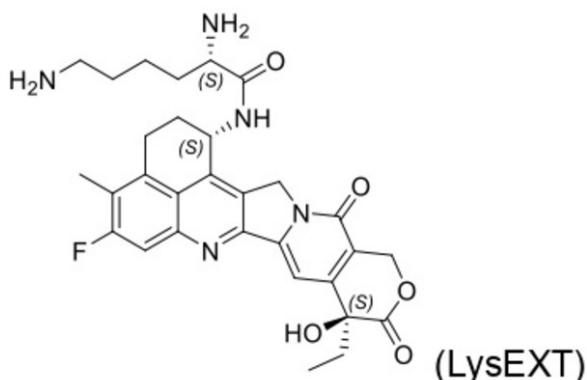
20

【0 4 0 5】

実施例 1 A-7: (2S)-2, 6-ジアミノ-N-[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]ヘキサンアミド (LysEXT, P 4)

【0 4 0 6】

【化 7 2】



40

【0 4 0 7】

1-1 aの代わりに1-1 c (50 mg、65 μmol) から出発することを除いて P 2と同様の手順に従って、P 4 (34 mg、収率66%、TFA塩) を黄色の固形物として得た。ESI m/z : 564.2 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.09–9.06 (m, 1H), 8.27 (s, 3H), 7.85–7.83 (m, 1H), 7.67 (s, 2H), 7.35 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 5.58–5.52 (m, 1H), 5.48–5.43 (m, 2H), 5.38–5.33 (m, 1H), 5.13–5.08 (m, 1H), 3.78 (s, 1H), 3

50

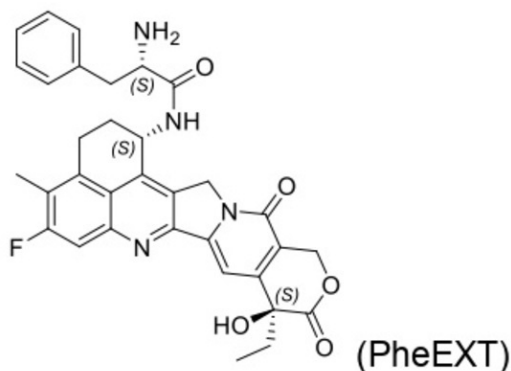
10

20

30

40

50



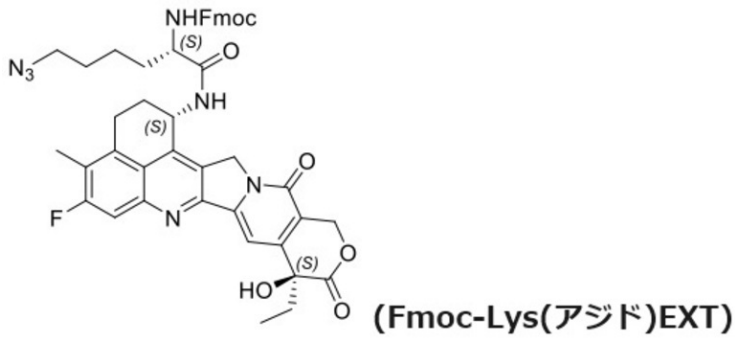
DMF (1 mL) 中の化合物 1-1d (50 mg、62 μ mol) の溶液にジエチルアミン (0.1 mL) を添加し、反応混合物を室温で 30 分間攪拌し、これを LCMS でモニタリングした。得られた混合物を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0.01%) 中 5~95% アセトニトリル) によって 2 回精製することで、P5 (14 mg、収率 39%) を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z : 583.3 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.85 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.31 (s, 3H), 7.86-7.83 (m, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.91 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 6.85 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.56 (s, 1H), 5.59-5.52 (m, 1H), 5.47-5.41 (m, 2H), 5.25-5.20 (m, 1H), 4.62-4.58 (m, 1H), 4.05 (s, 1H), 3.27-3.10 (m, 2H), 3.05-2.95 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.33-2.10 (m, 2H), 1.98-1.85 (m, 2H), 0.93-0.89 (m, 3H) ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -73.5, -111.0 ppm.

実施例 1 B : L y s E X T (P 4) の代替的な合成

実施例 1 B-1: (9H-フルオレン-9-イル)メチルN-[(1S)-5-アジド-1-[[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14. 7. 1. 0², 14. 0⁴, 13. 0⁶, 11. 0²⁰, 2⁴] テトラコサ-1, 6 (11), 12, 14, 16, 18, 20 (24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}ペンチル]カルバメート (Fmoc-Lys (アジド) EXT, 1-2)

【 0 4 1 3 】

【化 7 4】



10

【0 4 1 4】

Fmoc-L-アジドリジン (CAS: 159610-89-6、41mg、0.10 mmol) から出発する基本手順Aに従って、Fmoc-Lys(アジド)EXT (1-2) (40mg、収率92%) を淡黄色の固形物として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.56 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.89-7.86 (m, 2H), 7.80 (d, J=11.0 Hz, 1H), 7.75-7.54 (m, 3H), 7.44-7.35 (m, 2H), 7.35-7.20 (m, 3H), 6.52 (br s, 1H), 5.55-5.51 (m, 1H), 5.39 (d, J=16.2 Hz, 1H), 5.33-5.22 (m, 2H), 5.09 (d, J=19.0 Hz, 1H), 4.32-4.13 (m, 3H), 4.10-3.95 (m, 1H), 3.34-3.24 (m, 2H), 3.16-3.12 (m, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.23-2.09 (m, 2H), 1.89-1.77 (m, 2H), 1.68-1.62 (m, 2H), 1.49-1.42 (m, 2H), 1.40-1.22 (m, 2H), 0.87 (t, J=7.3 Hz, 3H) ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -73.9, -111.2 ppm.

20

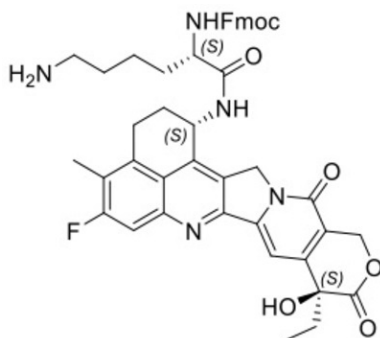
【0 4 1 5】

実施例1B-2: (9H-フルオレン-9-イル) メチル N-[(1S)-5-アミノ-1-{[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0^{2,14}.0^{4,13}.0^{6,11}.0^{20,24}]テトラコサー-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}ペンチル]カルバメート (1-3)

30

【0 4 1 6】

【化 7 5】



40

【0 4 1 7】

メタノール (15 mL) および THF (5 mL) 中の化合物 1-2 (80 mg、86 μmol) の黄色溶液に、窒素保護下でパラジウム炭素 (50 mg、10% Pd) を添加した。混合物を5時間、水素雰囲気下にて室温で攪拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物をセライトで濾過し、濾液を濃縮した。残渣を分取HPLC (T

50

F A 水溶液 (0.01%) 中 5~95% アセトニトリル) によって精製することで、化合物 1-3 (70mg、粗製) を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z 393.5 ($M/2+H$)⁺. ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ -73.5, -111.1ppm.

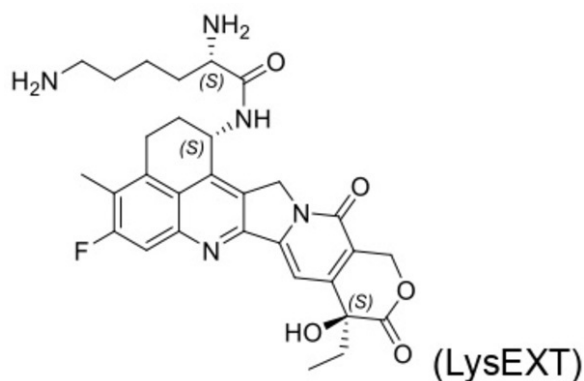
【0418】

実施例 1B-3: (2S)-2,6-ジアミノ-N-[(10S,23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5,9-ジオキソ-8-オキサ-4,15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0²,14.0⁴,13.0⁶,11.0²⁰,24]テトラコサ-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-ヘプタエン-23-イル]ヘキサンアミド (LysEXT、P4)

10

【0419】

【化76】



20

【0420】

DMF (1mL) 中の化合物 1-3 (10mg、粗製、上で得られた) の溶液にジエチルアミン (0.2mL) を添加し、反応混合物を 1 時間室温で攪拌し、これを LCMS でモニタリングした。得られた溶液を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0.01%) 中 5~95% アセトニトリル) によって直接分離させることで、P4 (5mg、1-2 から収率 41%、TFA 塩) を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z : 564.2 ($M+H$)⁺.

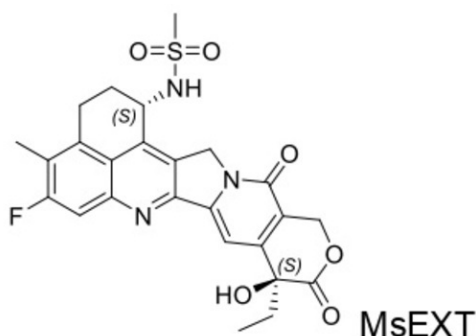
30

【0421】

実施例 1C: N-[(10S,23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5,9-ジオキソ-8-オキサ-4,15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0²,14.0⁴,13.0⁶,11.0²⁰,24]テトラコサ-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-ヘプタエン-23-イル]メタンスルホンアミド (MsEXT、P6) の合成

【0422】

【化77】



40

【0423】

乾燥 DMA (1mL) 中のメシル酸エキサテカン (30mg、56 μ mol) の溶液に

50

、トリエチルアミン（17 mg、0.17 mmol）およびメタンスルホニルクロリド（7.1 mg、62 μ mol）を0℃で連続的に添加し、反応混合物を1時間室温で攪拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー（TFA水溶液（0.1%）中0～70%アセトニトリル）によって直接分離させることで、P6（4.0 mg、収率11%）を黄色の固形物として得た。ESI m/z 514.0 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.81 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J=4.8$ Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.43–5.42 (m, 3H), 5.13–5.18 (m, 1H), 3.18 (br, 4H), 2.39 (s, 3H), 2.30–2.26 (m, 2H), 1.93–1.83 (m, 3H), 1.16 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 0.88 (t, $J=7.2$ Hz, 3H) ppm. ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO-d₆) δ -73.44, -111.30 ppm.

10

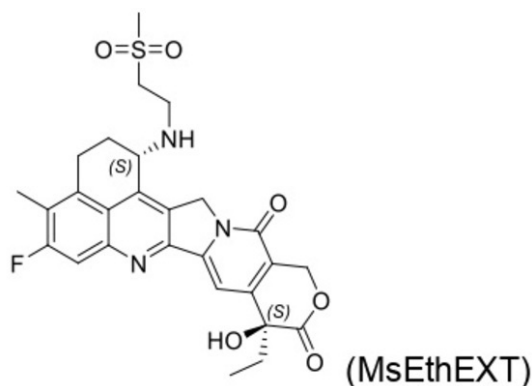
【0424】

実施例1D：(10S, 23S)–10–エチル–18–フルオロ–10–ヒドロキシ–23–[(2–メタンスルホニルエチル)アミノ]–19–メチル–8–オキサ–4, 15–ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサ–1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)–ヘプタエン–5, 9–ジオン (MsEthEXT, P7) の合成

【0425】

【化78】

20



30

【0426】

メタノール（2 mL）中のメシル酸エキサテカン（10 mg、19 μ mol）の溶液に、(メチルスルホニル)エタン（5.0 mg、46 μ mol）およびトリエチルアミン（10 mg、92 μ mol）を添加し、反応混合物を65℃で4時間攪拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー（TFA水溶液（0.1%）中5～95%アセトニトリル）によって直接分離させることで、P7（5.0 mg、収率40%、TFA塩）を白色の固形物として得た。ESI m/z 542.5 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.84 (d, $J=11.2$ Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.60 (s, 1H), 5.54–5.36 (m, 5H), 5.00 (s, 1H), 3.55–3.40 (m, 5H), 3.20–3.10 (m, 5H), 2.65–2.60 (m, 1H), 2.40 (s, 3H), 1.89–1.85 (m, 2H), 0.88–0.84 (m, 3H) ppm.

40

【0427】

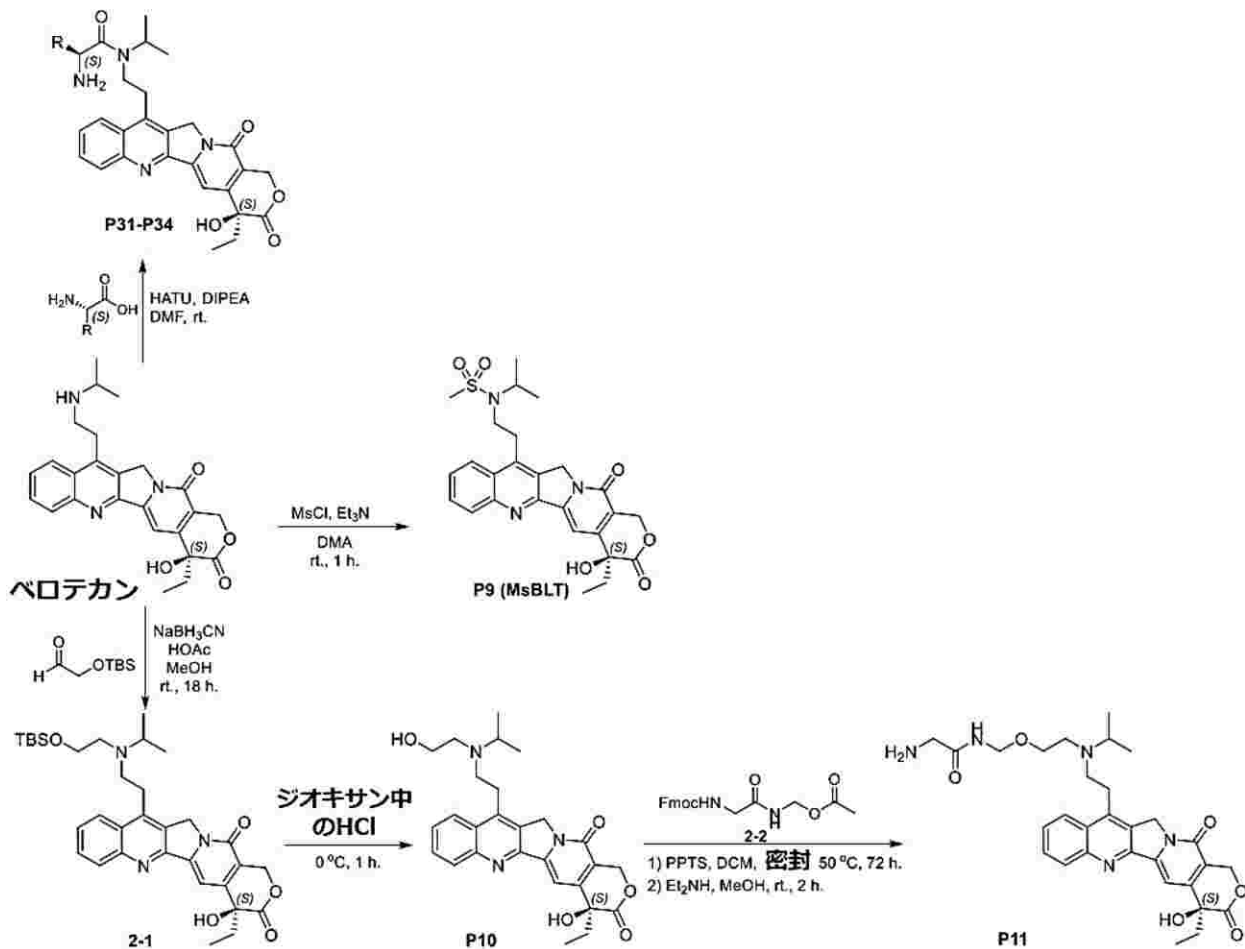
実施例2：ペイロードP9–P11およびP31–P34の合成（スキーム2）

【0428】

50

【化 7 9】

スキーム2. ペイロード（ペロテカン誘導体）の合成



10

20

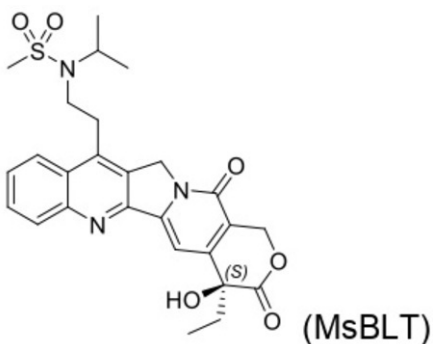
【0 4 2 9】

実施例 2 A : N - { 2 - [(1 9 S) - 1 9 - エチル - 1 9 - ヒドロキシ - 1 4 , 1 8 - ジオキソ - 1 7 - オキサ - 3 , 1 3 - ジアザペンタシクロ [1 1 . 8 . 0 . 0 ² , 1 1 . 0 ⁴ , 9 . 0 ¹⁵ , 2 0] ヘニコサ - 1 (2 1) , 2 , 4 , 6 , 8 , 1 0 , 1 5 (2 0) - ヘプタエン - 1 0 - イル] エチル } - N - (プロパン - 2 - イル) メタンスルホンアミド (MsBLT、P9) の合成

30

【0 4 3 0】

【化 8 0】



40

【0 4 3 1】

乾燥 DMA (1 mL) 中のペロテカン (3 0 mg、6 4 μmol) の溶液に、トリエチルアミン (1 9 mg、0 . 1 9 mmol) およびメタンスルホニルクロリド (8 . 0 mg、7 0 μmol) を 0 °C で連続的に添加し、反応混合物を 1 時間室温で攪拌し、これを L

50

CMSによりモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー（TFA水溶液（0.1%）中0～70%アセトニトリル）によって直接分離させることで、P9（6.0mg、収率18%）を黄色の固形物として得た。ESI m/z 512.3 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.32 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.20 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.89 (t, J=7.6Hz, 1H), 7.79 (t, J=7.6Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.48–5.40 (m, 4H), 4.02–3.95 (m, 1H), 3.55–3.46 (m, 2H), 3.40 (s, 2H), 3.00 (s, 3H), 1.93–1.83 (m, 2H), 1.15 (d, J=4.0Hz, 6H), 0.88 (t, J=7.6Hz, 3H) ppm.

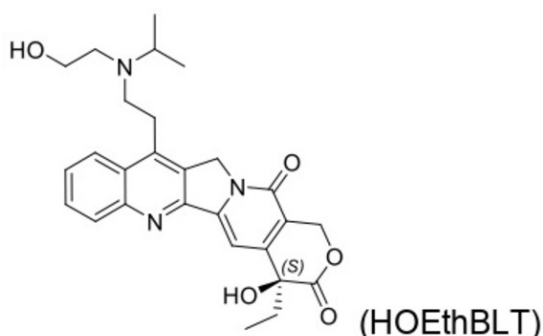
10

【0432】

実施例2B：(19S)–19–エチル–19–ヒドロキシ–10–{2–[(2–ヒドロキシエチル)（プロパン–2–イル）アミノ]エチル}–17–オキサ–3,13–ジアザペンタシクロ[11.8.0.0²,11.0⁴,9.0¹⁵,20]ヘニコサ–1(21),2,4,6,8,10,15(20)–ヘプタエン–14,18–ジオン（HOEt hBLT、P10）の合成

【0433】

【化81】



20

【0434】

メタノール中のペロテカン（60mg、0.12mmol）の溶液に、室温でO–TBS–ヒドロキシアセトアルデヒド（24mg、0.14mmol）および酢酸（0.01mL、触媒（cat.））を添加し、混合物を30分間室温で撹拌した後、シアノ水素化ホウ素ナトリウム（16mg、0.24mmol）を添加した。反応混合物を18時間室温で撹拌し、これをLCMSによってモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー（TFA水溶液（0.01%）中5～35%アセトニトリル）によって直接分離させることで、化合物2–1（43mg、収率51%、ESI m/z 592.4 ($M+H$)⁺）を黄色の固形物として得た。

30

【0435】

上記で得られた化合物2–1（30g、42 μ mol）を0℃のジオキサン中の塩酸塩の溶液（4N、2mL）に溶解させ、混合物を1時間0℃で撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で0℃でpH6～7に中和し、真空中で濃縮することで、ジオキサンを除去した。残った混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー（TFA水溶液（0.1%）中0～20%アセトニトリル）によって分離させることで、P10（20mg、収率67%）を黄色の固形物として得た。ESI m/z 478.3 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.64 (s, 1H), 8.42 (d, J=8.7Hz, 1H), 8.23 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.91 (t, J=8.3Hz, 1H), 7.81 (t, J=8.0Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 5.54–5.39 (m, 4H), 3.90–3.79 (m, 4H), 3.77–3.71 (m, 2H), 2.48–2.41 (m, 2H), 1.93–1.84 (m, 2H)

40

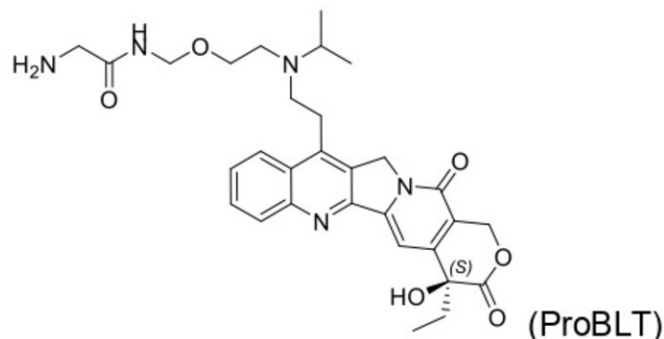
50

), 1.34–1.24 (m, 8H), 0.88 (t, J = 7.3 Hz, 3H) ppm.
【0436】

実施例2C: 2-アミノ-N-{[2-({2-[(19S)-19-エチル-19-ヒドロキシ-14, 18-ジオキソ-17-オキサ-3, 13-ジアザペンタシクロ [11.8.0.0², 11.0⁴, 9.0¹⁵, 20] ヘニコサ-1 (21), 2, 4, 6, 8, 10, 15 (20)-ヘプタエン-10-イル] エチル} (プロパン-2-イル) アミノ) エトキシ] メチル} アセトアミド (ProBLT、P11) の合成

【0437】

【化82】



10

【0438】

DCM (20 mL) 中の P10 (83 mg、0.14 mmol) の溶液に、化合物 2-2 (CAS: 1599440-06-8、57 mg、0.14 mmol) およびピリジニウム p-トルエンスルホネート (PPTS) (7.0 mg、28 μmol) を密閉管中 50 °C で添加し、反応混合物を 72 時間 50 °C で撹拌した。冷却後、揮発物質を真空中で除去し、残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA 水溶液 (0.01%) 中 0~100% アセトニトリル) によって分離させることで、淡黄色の固形物 (50 mg、ESI m/z 393.6 (M/2+H)⁺) を得て、これをメタノール (2 mL) に溶解させた。溶液にジエチルアミン (0.2 mL) を添加し、LCMS によって Fmoc が完全に除去されるまで、反応混合物を 3 時間室温で撹拌した。得られた混合物を真空中で濃縮し、残渣を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0.01%) 中 5~95% アセトニトリル) によって精製することで、P11 (26 mg、P10 から収率 27%) を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z 564.3 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.99 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.95–8.81 (m, 1H), 8.37 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.23 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.12 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.90 (dd, J = 18.3, 8.1 Hz, 2H), 7.82 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 9.3 Hz, 3H), 7.51 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.25 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.57 (s, 1H), 5.99 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 5.55–5.35 (m, 6H), 4.91 (s, 2H), 4.71 (s, 2H), 4.44–4.33 (m, 1H), 4.30–4.19 (m, 2H), 3.90–3.72 (m, 6H), 3.65–3.56 (m, 5H), 3.53–3.30 (m, 16H), 3.26–3.22 (m, 2H), 3.03–2.93 (m, 2H), 2.36 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 2.29–2.01 (m, 4H), 2.00–1.80 (m, 6H), 1.80–1.53 (m, 7H), 1.46–1.34 (m, 3H), 1.32–1.24 (m, 6H), 0.90–0.82 (m, 9H) ppm.

20

30

40

【0439】

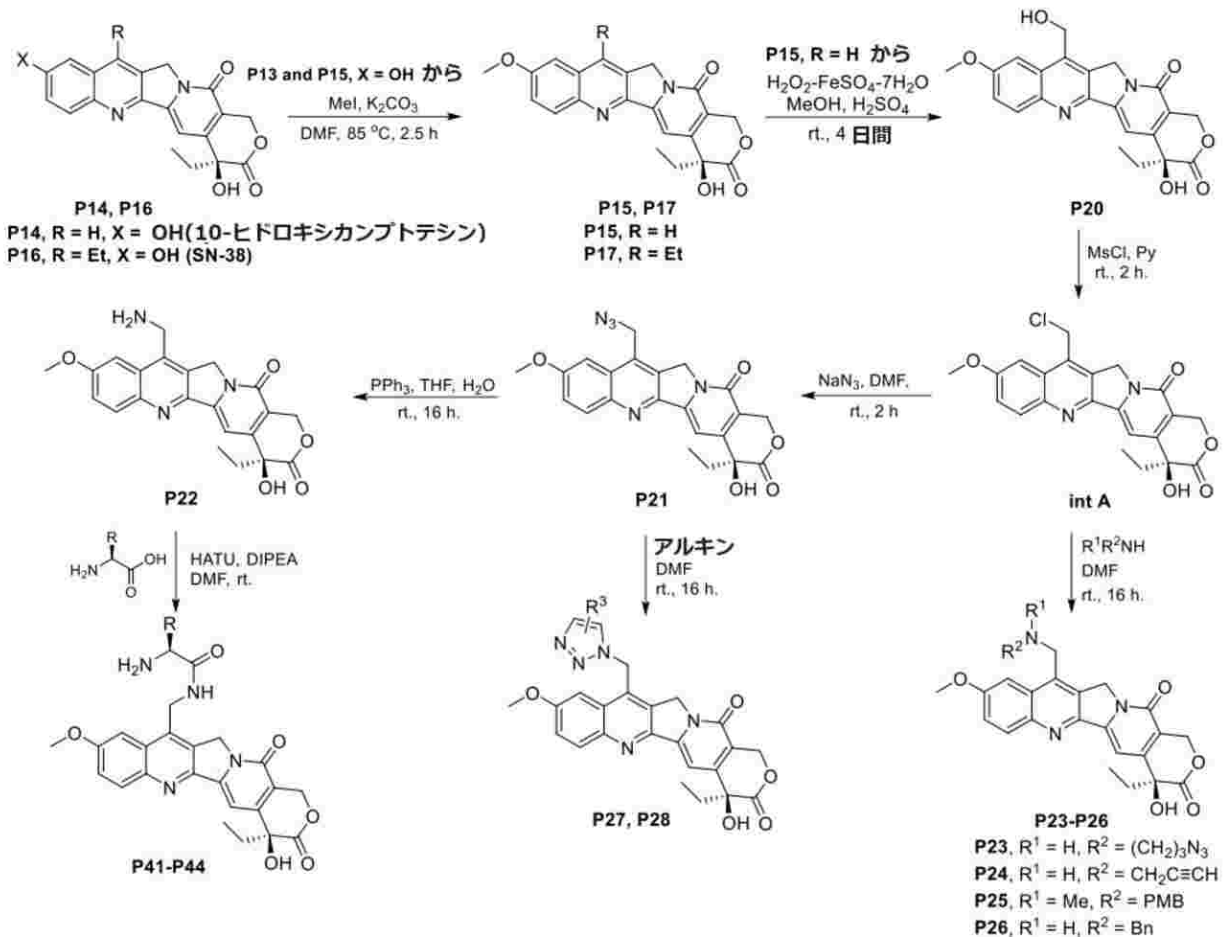
実施例3: ペイロード P14–P17、P20–P28、および P41–P44 の合成 (スキーム3)

【0440】

50

【化 8 3】

スキーム3. 10-ヒドロキシカンプトテシンアナログの合成

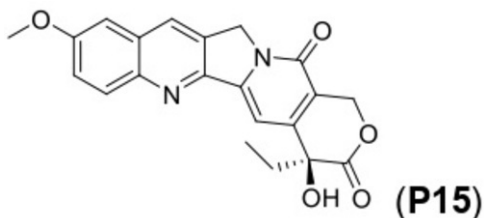


【0 4 4 1】

実施例 3 A : (19S) - 19 - エチル - 19 - ヒドロキシ - 7 - メトキシ - 17 - オキサ - 3, 13 - ジアザペンタシクロ [11. 8. 0. 0², 11. 0⁴, 9. 0¹⁵, 2⁰] ヘニコサー - 1 (21), 2, 4, 6, 8, 10, 15 (20) - ヘプタエン - 14, 18 - ジオン (P15) の合成

【0 4 4 2】

【化 8 4】



【0 4 4 3】

10-ヒドロキシカンプトテシン P14 (0.73 g、2.0 mmol) および炭酸カリウム (0.55 g、4.0 mmol) の混合物を DMF (5 mL) に懸濁し、茶色の反応混合物が透明になるまで 85 °C に加熱した。その後、溶液を室温に冷却し、ヨウ化メチル (0.73 g、2.0 mmol) を溶液に一度に添加した。反応が完了するまで、溶液を窒素バルーン下にて 85 °C でさらに 2.5 時間攪拌し、これを LCMS によりモニタリングした。淡黄色の固形物が沈殿した。室温に冷却した後、反応混合物を水 (100 mL) で希釈し、濾過して淡黄色の沈殿物を回収し、これを真空中で乾燥させることで、化合

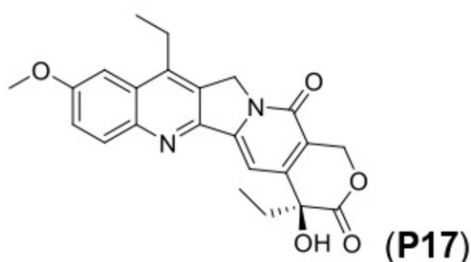
物 P 1 5 (0 . 5 0 g、収率 6 7 %) を淡黄色の固形物として得た。E S I m/z : 3 7 9 . 1 ($M+H$) $^{+}$. ^1H N M R (4 0 0 M H z , D M S O $_d6$) δ 8 . 5 2 (s , 1 H) , 8 . 0 4 (d , $J=10$ H z , 1 H) , 7 . 4 9 – 7 . 4 6 (m , 2 H) , 7 . 2 6 (s , 1 H) , 6 . 5 4 (s , 1 H) , 5 . 4 1 (s , 2 H) , 5 . 2 3 (s , 2 H) , 3 . 9 3 (s , 3 H) , 1 . 9 0 – 1 . 8 2 (m , 2 H) , 0 . 8 8 (t , $J=7.6$ H z , 3 H) p p m . P 1 5 の同一性を確認する参考文献 C N 1 5 8 7 2 6 5 は、全体として参照により組み込まれる。

【 0 4 4 4 】

実施例 3 B : (1 9 S) – 1 0 , 1 9 – ジエチル – 1 9 – ヒドロキシ – 7 – メトキシ – 1 7 – オキサ – 3 , 1 3 – ジアザペンタシクロ [1 1 . 8 . 0 . 0 ^{2} , 1 1 . 0 ^{4} , 9 . 0 ^{15} , 2 ^{0}] ヘニコサー – 1 (2 1) , 2 , 4 , 6 , 8 , 1 0 , 1 5 (2 0) – ヘプタエン – 1 4 , 1 8 – ジオン (P 1 7) の合成

【 0 4 4 5 】

【 化 8 5 】



【 0 4 4 6 】

1 0 – ヒドロキシカンプトテシンの代わりに、7 – エチル – 1 0 – ヒドロキシカンプトテシン (S N – 3 8、実施例 2) を使用することを除いて化合物 P 1 5 と同様の手順に従って、化合物 P 1 7 (0 . 5 2 g、収率 8 4 %、遊離塩基) を淡黄色の固形物として得て、これはラクトン開環生成物を含んでいた。2 0 m g の遊離塩基を分取 H P L C (T F A 水溶液 (0 . 3 %) 中 5 ~ 9 5 % アセトニトリル) によって精製することで、実施例 5 (1 5 m g、T F A 塩) を淡黄色の固形物として得た。E S I m/z : 4 0 7 . 1 ($M+H$) $^{+}$. ^1H N M R (4 0 0 M H z , D M S O $_d6$) δ 8 . 0 8 (d , $J=8.8$ H z , 1 H) , 7 . 5 3 – 7 . 4 9 (m , 2 H) , 7 . 2 7 (s , 1 H) , 6 . 5 2 (s , 1 H) , 5 . 4 3 (s , 2 H) , 5 . 3 0 (s , 2 H) , 3 . 9 9 (s , 3 H) , 3 . 2 0 (q , $J=7.2$ H z 2 H) , 1 . 9 3 – 1 . 8 1 (m , 2 H) , 1 . 3 3 (t , $J=7.6$ H z , 3 H) , 0 . 8 8 (t , $J=7.2$ H z , 3 H) p p m . (T F A のプロトンは観察されなかった) . ^{19}F N M R (3 7 6 M H z , D M S O $_d6$) δ – 7 3 p p m . P 1 7 の同一性を確認する参考文献 W O 2 0 0 5 0 4 4 8 2 1 は、全体として参照により組み込まれる。

【 0 4 4 7 】

実施例 3 C : (1 9 S) – 1 9 – エチル – 1 9 – ヒドロキシ – 1 0 – (ヒドロキシメチル) – 7 – メトキシ – 1 7 – オキサ – 3 , 1 3 – ジアザペンタシクロ [1 1 . 8 . 0 . 0 ^{2} , 1 1 . 0 ^{4} , 9 . 0 ^{15} , 2 ^{0}] ヘニコサー – 1 (2 1) , 2 , 4 , 6 , 8 , 1 0 , 1 5 (2 0) – ヘプタエン – 1 4 , 1 8 – ジオン (P 2 0) の合成

【 0 4 4 8 】

メタノール (1 0 m L) および水 (1 0 m L) の共溶媒中の化合物 P 1 5 (0 . 3 0 g、0 . 7 9 m m o l) の冷却した (0 $^{\circ}C$ の氷水浴) 懸濁液に、9 6 % 硫酸 (5 . 3 m L、9 5 m m o l) を滴下し、リョクバン (g r e e n v i t r i o l) (0 . 2 7 g、0 . 9 5 m m o l) を添加した。懸濁液は透明になり、– 1 0 $^{\circ}C$ に冷却された。得られた溶液に、3 0 % 過酸化水素 (1 m L、9 . 5 m m o l) を滴下した。反応混合物を 4 日間室温で攪拌し、これを L C M S によりモニタリングした。混合物を水で希釈し、淡黄色の固形物が沈殿した。濾過によって回収して乾燥させた後、化合物 P 2 0 (0 . 2 9 g、収率

90%)を淡黄色の固形物として得て、これはそれ以上精製することなく十分に純粋であった。ESI m/z : 409.1 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.07 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.50 (dd, $J=9.2$, 2.0 Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.38 (s, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.23 (br s, 2H), 3.96 (s, 3H), 1.89–1.83 (m, 2H), 0.89 (t, $J=7.2$ Hz, 3H) ppm.

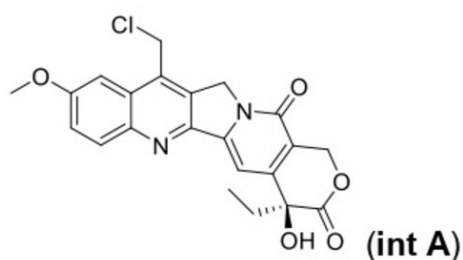
【0449】

実施例3D: (19S)-10-(クロロメチル)-19-エチル-19-ヒドロキシ-7-メトキシ-17-オキサ-3,13-ジアザペンタシクロ[11.8.0.0²,11.0⁴,9.0¹⁵,2⁰]ヘニコサ-1(21),2,4,6,8,10,15(20)-ヘプタエン-14,18-ジオン(int A)の合成

10

【0450】

【化86】



20

【0451】

乾燥ピリジン(3 mL)中の化合物P20(0.12 g、0.29 mmol)の攪拌懸濁液に、メタンスルホニルクロリド(67 mg、0.59 mmol)を室温で添加した。その後、P20が完全に消費されるまで懸濁液を2時間室温で攪拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(TFA水溶液(0.01%)中0~50%アセトニトリル)によって直接精製することで、塩化物(52 mg、粗製)を黄色の固形物として得て、これを次の工程に使用した。ESI m/z : 427.1 ($M+H$)⁺.

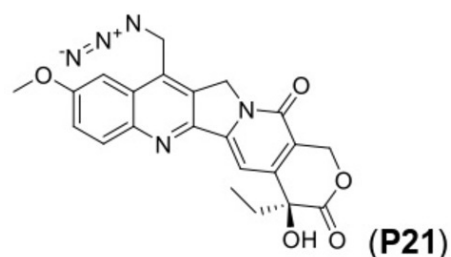
30

【0452】

実施例3E: (19S)-10-(アジドメチル)-19-エチル-19-ヒドロキシ-7-メトキシ-17-オキサ-3,13-ジアザペンタシクロ[11.8.0.0²,11.0⁴,9.0¹⁵,2⁰]ヘニコサ-1(21),2,4,6,8,10,15(20)-ヘプタエン-14,18-ジオン(P21)の合成

【0453】

【化87】



40

【0454】

DMF(1.3 mL)中のint A(52 mg、粗製、上記で得た)の攪拌黄色溶液に、アジ化ナトリウム(30 mg、0.47 mmol)を室温で添加した。反応混合物を室温で2時間、反応が透明になるまで攪拌した。LCMSは、塩化物がその後消費されたことを示した。反応混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(TFA水溶液(0.0

50

1%) 中0~100%メタノール) によって直接精製することで、化合物P21 (25 mg、P20から収率26%) を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z : 434.1 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.13 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J=9.2, 2.8$ Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.40 (s, 2H), 5.27 (s, 2H), 4.00 (s, 3H), 1.91–1.83 (m, 2H), 0.88 (t, $J=7.6$ Hz, 3H) ppm.

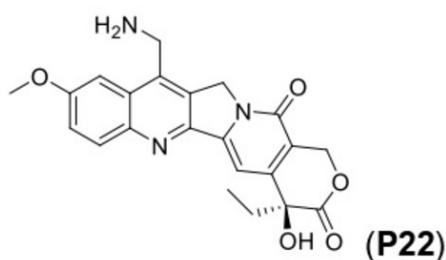
【0455】

実施例3F: (19S)-10-(アミノメチル)-19-エチル-19-ヒドロキシ-7-メトキシ-17-オキサ-3, 13-ジアザペンタシクロ[11.8.0.0², 11.0⁴, 9.0¹⁵, 20]ヘニコサ-1(21), 2, 4, 6, 8, 10, 15(20)-ヘプタエン-14, 18-ジオン(P22)の合成

10

【0456】

【化88】



20

【0457】

THF (4 mL) および水 (1 mL) の共溶媒中の化合物P21 (20 mg、46 μ mol) の溶液に、トリフェニルホスフィン (36 mg、0.14 mmol) を添加した。透明な溶液を、LCMSに従って還元が完了するまで窒素バルーン下にて室温で一晩攪拌した。反応溶液を真空中で濃縮し、残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA水溶液 (0.01%) 中0~100%メタノール) によって精製することで、化合物P22 (7 mg、収率37%、TFA塩) を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z : 408.2 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.44 (s, 3H), 8.16 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.61 (dd, $J=9.2, 2.4$ Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.56 (s, 1H), 5.53 (s, 2H), 5.45 (s, 2H), 4.73 (s, 2H), 4.05 (s, 3H), 1.92–1.84 (m, 2H), 0.88 (t, $J=7.6$ Hz, 3H) ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -73.62 ppm.

30

【0458】

実施例3G: ペイロードP23-26の合成のための基本手順B

【0459】

乾燥DMF (10 mM) 中のint A (1当量) の溶液に、対応するアミン (2.0当量) を添加し、反応混合物を2時間室温で攪拌し、これをLCMSによってモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA水溶液 (0.01%) 中0~100%アセトニトリル) によって直接分離することで、ペイロードP23-P26を白色の固形物として得た。

40

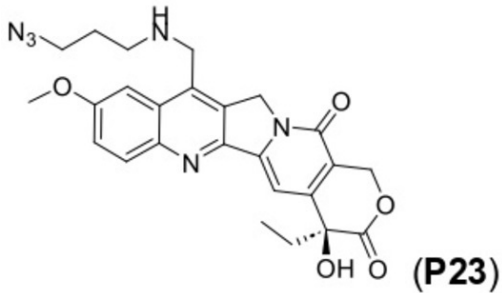
【0460】

実施例3G-1: (S)-11-(((3-アジドプロピル)アミノ)メチル)-4-エチル-4-ヒドロキシ-9-メトキシ-1, 12-ジヒドロ-14H-ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-3, 14(4H)-ジオン(P23)の合成

【0461】

50

【化 8 9】



10

【0 4 6 2】

基本手順 B に従って、ペイロード P 2 3 (4.0 mg、収率 17%) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 491.2 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.07 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.52–7.48 (m, 2H), 5.50 (d, $J=16.4$ Hz, 1H), 5.38 (s, 2H), 5.30 (d, $J=16.4$ Hz, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.43 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.96–2.91 (m, 2H), 1.94–1.84 (m, 5H), 1.21–1.18 (m, 4H), 0.91 (t, $J=7.2$ Hz, 3H) ppm.

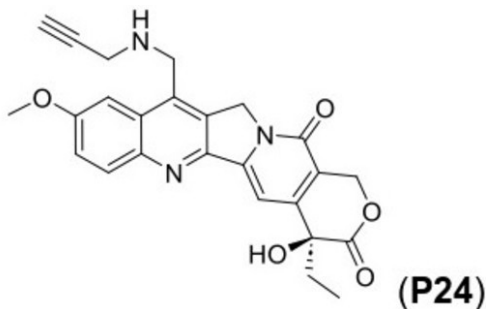
20

【0 4 6 3】

実施例 3 G-2: (S)-4-エチル-4-ヒドロキシ-9-メトキシ-11-((プロプ-2-イン-1-イルアミノ)メチル)-1,12-ジヒドロ-14H-ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-3,14(4H)-ジオン (P 24) の合成

【0 4 6 4】

【化 9 0】



30

【0 4 6 5】

基本手順 B に従って、ペイロード P 2 4 (1.3 mg、収率 6%) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 446.3 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.13–8.08 (m, 1H), 7.67 (d, $J=2.8$ Hz, 1H), 7.54–7.51 (m, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 5.42–5.40 (m, 4H), 4.36 (br s, 1H), 3.97 (s, 3H), 2.00–1.97 (m, 1H), 1.90–1.83 (m, 2H), 1.29–1.18 (m, 4H), 0.88 (t, $J=7.2$ Hz, 3H) ppm.

40

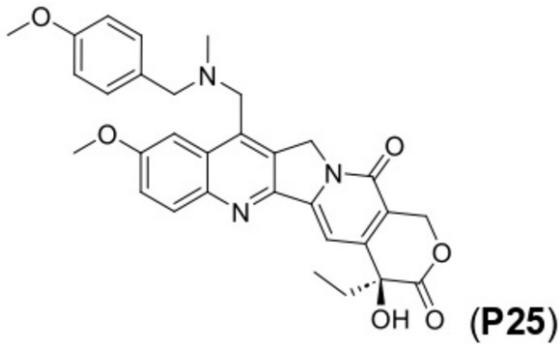
【0 4 6 6】

実施例 3 G-3: (S)-4-エチル-4-ヒドロキシ-9-メトキシ-11-((4-メトキシベンジル)(メチル)アミノ)メチル)-1,12-ジヒドロ-14H-ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-3,14(4H)-ジオン (P 25) の合成

【0 4 6 7】

50

【化 9 1】



10

【0 4 6 8】

基本手順 B に従って、ペイロード P 2 5 (8.0 mg、収率 31%) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 542.2 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.96 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.41–7.33 (m, 3H), 7.10 (br s, 1H), 6.92–6.89 (m, 2H), 5.48 (d, $J=16.0$ Hz, 1H), 5.28 (d, $J=16.0$ Hz, 1H), 5.22 (br, 4H), 4.01–3.97 (m, 1H), 3.77–3.71 (m, 6H), 2.59–2.43 (m, 3H), 1.89–1.83 (m, 2H), 1.21–1.18 (m, 1H), 0.90 (t, $J=7.2$ Hz, 3H) ppm.

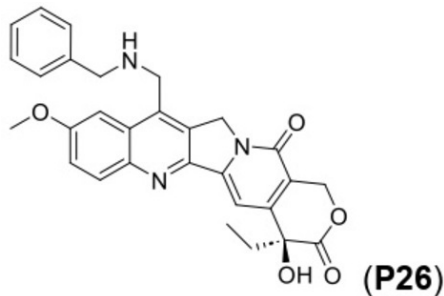
20

【0 4 6 9】

実施例 3 G-4: (S)-11-((ベンジルアミノ)メチル)-4-エチル-4-ヒドロキシ-9-メトキシ-1,12-ジヒドロ-14H-ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-3,14(4H)-ジオン (P 2 6) の合成

【0 4 7 0】

【化 9 2】



30

【0 4 7 1】

基本手順 B に従って、ペイロード P 2 6 (2.0 mg、収率 8.5%) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 498.2 ($M+H$)⁺.

【0 4 7 2】

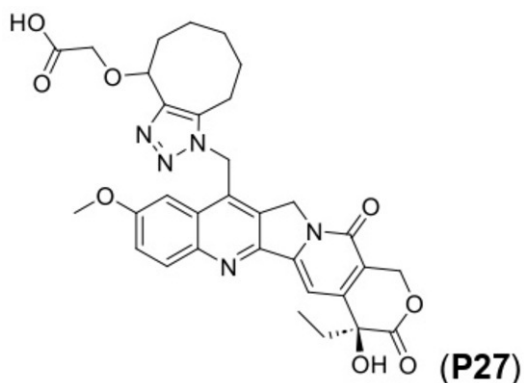
実施例 3 G-5: 2-((1-((S)-4-エチル-4-ヒドロキシ-9-メトキシ-3,14-ジオキサ-3,4,12,14-テトラヒドロ-1H-ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-11-イル)メチル)-4,5,6,7,8,9-ヘキサヒドロ-1H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ)酢酸 (P 2 7) の合成

40

【0 4 7 3】

50

【化 9 3】



10

【0 4 7 4】

メタノール (3.0 mL) 中の P 2 1 (15 mg, 35 μ mol) の溶液に、COT (13 mg, 0.071 μ mol) を添加し、反応混合物を 20 時間室温で攪拌した。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA 水溶液 (0.01%) 中 0~100% アセトニトリル) によって精製することで、P 2 7 (5.5 mg、収率 26%) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 616.3 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.43 (br s, 3H), 8.13 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.56–7.51 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.58 (br s, 1H), 6.26 (s, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.16–4.98 (m, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.73–3.62 (m, 4H), 2.94–2.71 (m, 3H), 1.89–1.80 (m, 4H), 1.45–1.23 (m, 6H), 1.00 (br s, 1H), 0.87 (t, J = 7.2 Hz, 3H) ppm.

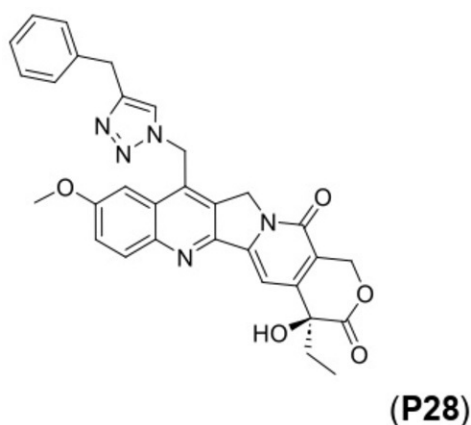
20

【0 4 7 5】

実施例 3 G-6: (S)-11-((4-ベンジル-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)メチル)-4-エチル-4-ヒドロキシ-9-メトキシ-1,12-ジヒドロ-14H-ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-3,14(4H)-ジオン (P 2 8) の合成

【0 4 7 6】

【化 9 4】



40

【0 4 7 7】

THF (3 mL) 中の P 2 1 (10 mg、23 μ mol) の溶液に、ベンジルエチン (2.7 mg、23 μ mol)、アスコルビン酸ナトリウム (9.1 mg、46 μ mol)、および水溶性の硫酸銅 (II) (1 mL の水中 2 mg) を添加し、反応混合物を 20 時間、暗所にて室温で攪拌した。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA 水溶液 (0.01%) 中 0~100% アセトニトリル) によって直接分離させることで、P 2 8 (4.3 mg、収率 34%) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 5

50

50.1 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.51 (br s, 1H), 8.07 (d, J=9.2 Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.48–7.42 (m, 2H), 7.23–7.14 (m, 5H), 6.22 (s, 2H), 5.57 (d, J=16.0 Hz, 1H), 5.37 (d, J=16.0 Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 1.97–1.94 (m, 2H), 1.30–1.26 (m, 2H), 0.99 (t, J=7.2 Hz, 3H) ppm.

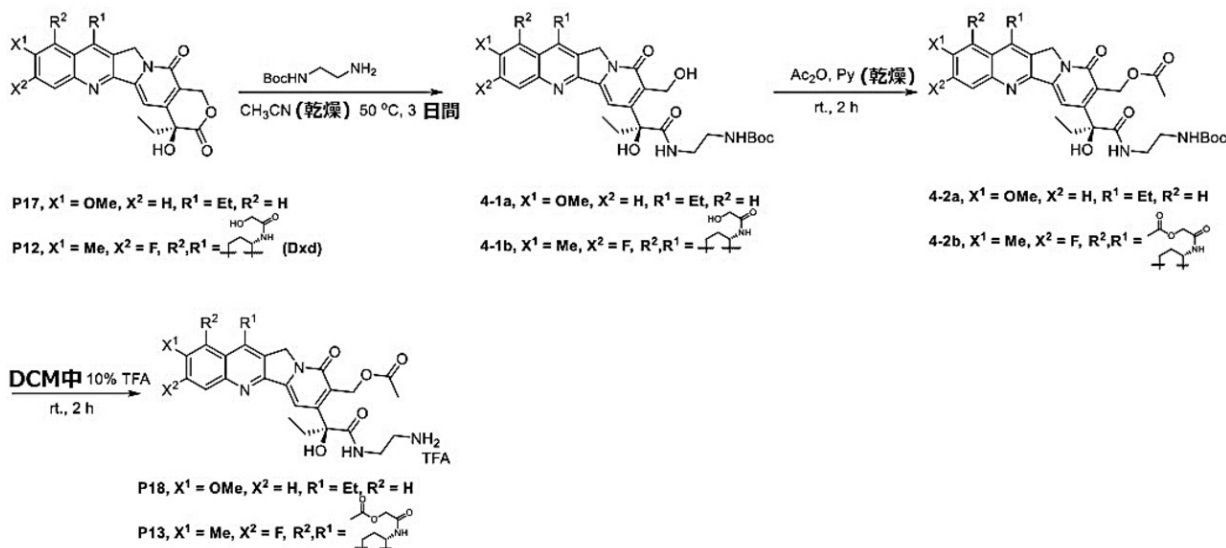
【0478】

実施例4：ペイロードP13およびP18の合成（スキーム4）

【0479】

【化95】

スキーム4. ラクトン開環アナログの合成

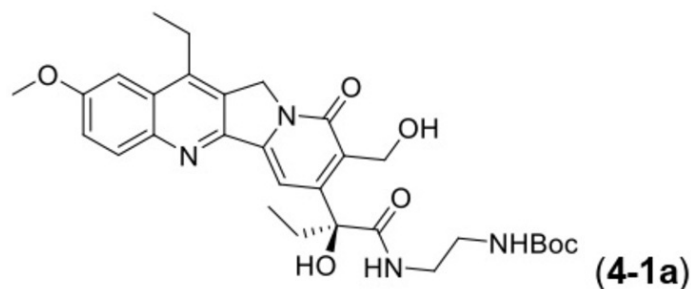


【0480】

実施例4A：tert-ブチルN- {2- [(2S)-2- [12-エチル-8- (ヒドロキシメチル)-2-メトキシ-9-オキソ-9H, 11H-インドリジノ [1, 2-b]キノリン-7-イル]-2-ヒドロキシブタンアミド] エチル} カルバメート (4-1a) の合成

【0481】

【化96】



【0482】

乾燥アセトニトリル (10 mL) 中の化合物P17 (0.12 g、0.30 mmol) および1-Boc-エチレンジアミン (0.20 g、1.2 mmol) の懸濁液を、懸濁液が黄色および透明になるまで、3日間50 °Cで攪拌した。溶液を逆相フラッシュクロマトグラフィー (水中0~80%アセトニトリル) により直接精製することで、化合物4-1a (0.12 g、収率71%) を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z: 549

(s, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.43–3.39 (m, 1H), 3.28–3.17 (m, 3H), 2.85 (br s, 2H), 2.22–2.11 (m, 2H), 1.99 (s, 3H), 1.33 (t, J=7.2 Hz, 3H), 0.88 (t, J=7.2 Hz, 3H) ppm.

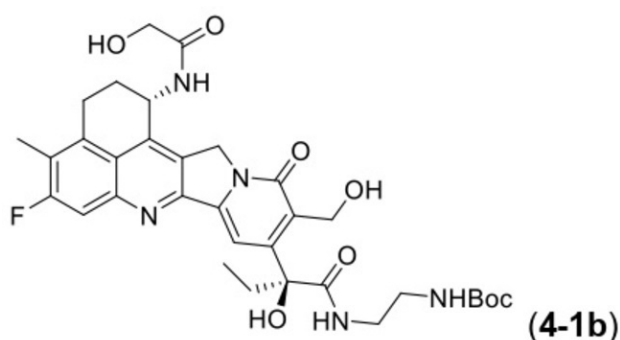
【0489】

実施例4D: tert-ブチルN-{2-[(2S)-2-[(19S)-14-フルオロ-19-(2-ヒドロキシアセトアミド)-6-(ヒドロキシメチル)-15-メチル-5-オキソ-4,11-ジアザペンタシクロ[10.7.1.0²,10.0⁴,9.0¹⁶,20]イコサー-1,6,8,10,12,14,16(20)-ヘプタエン-7-イル]-2-ヒドロキシブタンアミド]エチル}カルバメート(4-1b)の合成

10

【0490】

【化99】



20

【0491】

化合物P17の代わりに化合物DXd(P12)を使用することを除いて化合物4-1aと同様の手順に従って、化合物4-1b(0.16g、収率84%)を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z: 636.3 (M-OH)⁺. ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8.45 (d, J=9.2 Hz, 1H), 8.14 (t, J=5.6 Hz, 1H), 7.81 (d, J=11.2 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 6.80 (t, J=5.6 Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 5.64–5.58 (m, 1H), 5.20 (d, J=18.8 Hz, 1H), 5.12 (d, J=18.8 Hz, 1H), 4.82 (d, J=12.0 Hz, 1H), 4.66 (d, J=11.6 Hz, 1H), 3.97 (s, 2H), 3.20–3.10 (m, 4H), 3.03–2.98 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.21–2.12 (m, 4H), 1.43–1.38 (m, 9H), 0.87 (t, J=7.2 Hz, 3H) ppm. 4-1bの同一性を確認する参考文献Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1994, 2518–2525は、全体として参照により組み込まれる。

30

【0492】

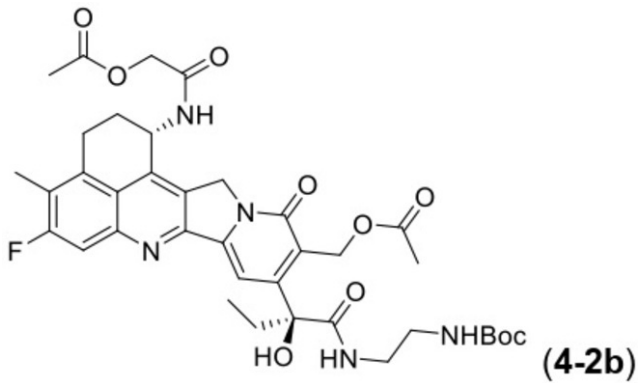
実施例4E: {[(19S)-6-[(アセチルオキシ)メチル]-7-[(1S)-1-[(2-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}エチル)カルバモイル]-1-ヒドロキシプロピル]-14-フルオロ-15-メチル-5-オキソ-4,11-ジアザペンタシクロ[10.7.1.0²,10.0⁴,9.0¹⁶,20]イコサー-1,6,8,10,12,14,16(20)-ヘプタエン-19-イル]カルバモイル}メチルアセテート(4-2b)の合成

40

【0493】

50

【化100】



10

【0494】

化合物4-1aの代わりに化合物4-1bを使用することを除いて化合物4-2aと同様の手順に従って、化合物4-2b（50mg、収率73%、TFA塩）を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z : 678.3 ($M-OAc$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.68 (d, J=8.8 Hz, 1H), 8.05–8.03 (m, 1H), 7.83 (d, J=10.8 Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 6.78 (d, J=4.4 Hz, 1H), 6.21 (br s, 1H), 5.59–5.58 (m, 1H), 5.37 (d, J=11.2 Hz, 1H), 5.30 (d, J=10.8 Hz, 1H), 5.25–5.13 (m, 2H), 4.52 (d, J=2.0 Hz, 2H), 3.20–3.17 (m, 3H), 3.06–2.99 (m, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.22–2.10 (m, 4H), 2.09 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.38–1.35 (m, 9H), 0.87 (t, J=7.2 Hz, 3H) ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -74 (TFA), -111 (Ar-F) ppm.

20

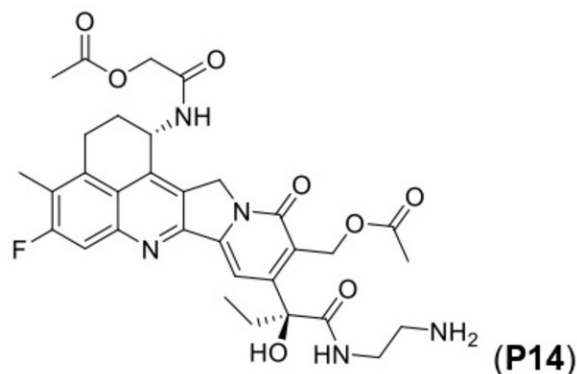
【0495】

実施例4F：{[(19S)-6-[(アセチルオキシ)メチル]-7-[(1S)-1-[(2-アミノエチル)カルバモイル]-1-ヒドロキシプロピル]-14-フルオロ-15-メチル-5-オキソ-4,11-ジアザペンタシクロ[10.7.1.0²,10.0⁴,9.0¹⁶,20]イコサー-1,6,8,10,12,14,16(20)-ヘプタエン-19-イル]カルバモイル}メチルアセテートの合成

30

【0496】

【化101】



40

【0497】

化合物4-2aの代わりに化合物4-2bを使用することを除いて化合物P18と同様の手順に従って、化合物P13（26mg、収率60%、TFA塩）を白色の固形物として得た。ESI m/z : 638.3 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.69 (d, J=8.4 Hz, 1H), 8.32 (t, J=6.0 Hz

50

z, 1 H), 7.83 (d, J = 10.8 Hz, 1 H), 7.72 (br s, 3 H), 7.48 (s, 1 H), 6.34 (s, 1 H), 5.61–5.58 (m, 1 H), 5.37–5.14 (m, 4 H), 4.55 (d, J = 14.8 Hz, 1 H), 4.50 (d, J = 14.8 Hz, 1 H), 3.41–3.35 (m, 1 H), 3.26–3.23 (m, 1 H), 3.22–3.18 (m, 2 H), 2.84–2.83 (br s, 2 H), 2.42 (s, 3 H), 2.21–2.12 (m, 4 H), 2.08 (s, 3 H), 1.99 (s, 3 H), 0.88 (t, J = 7.2 Hz, 3 H) ppm.

【0498】

以下の表2は、本開示の例示的なリンカーペイロード (LP) のリストを提供する。以下の表3は、例示されたLPの化学的特性を提供する。以下の表4は、例示的なペイロードおよびリンカーペイロードのHCT-15データを示す。

10

【0499】

20

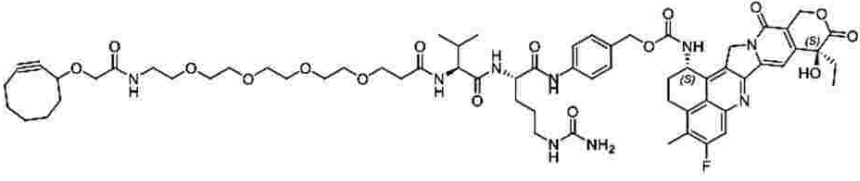
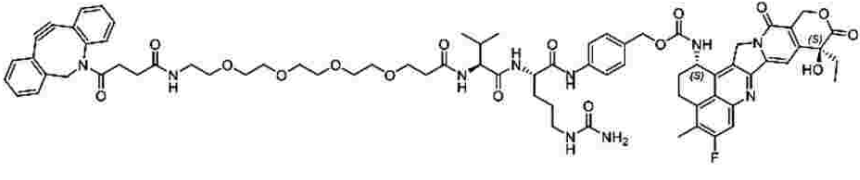
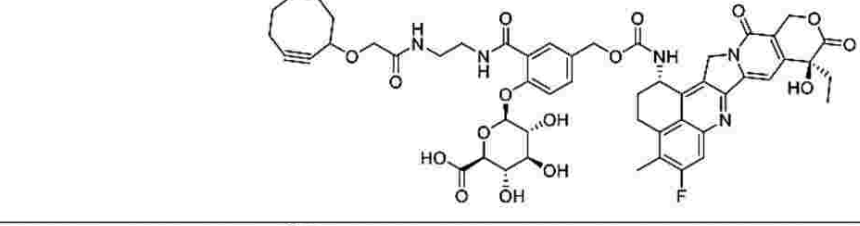
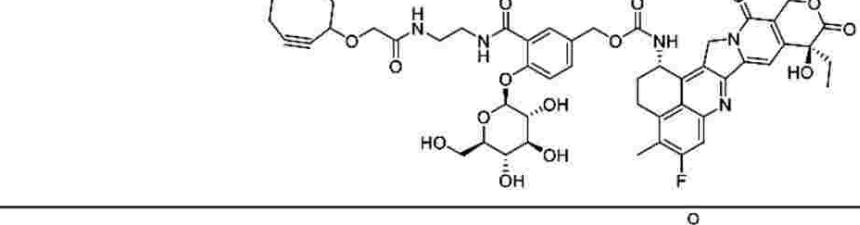
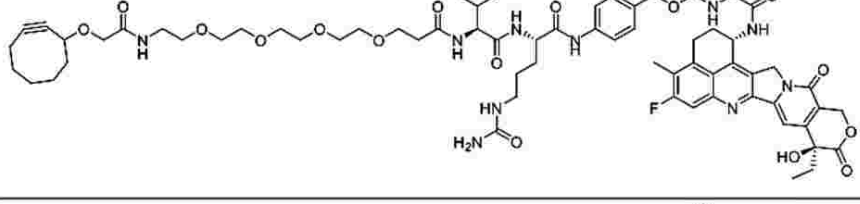
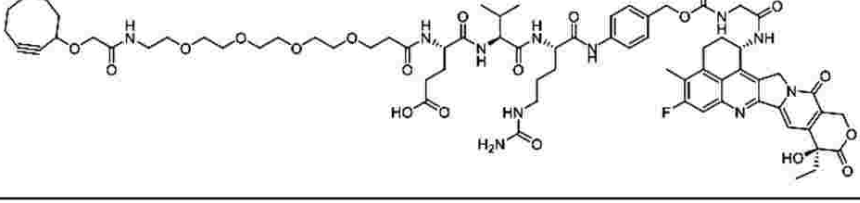
30

40

50

【表 20-1】

表 2. リンカー-エキサデカン vs リンカー-ProEXT のリスト

#	リンカー名称	構造
LP1	COT-PEG4-vcPAB-エキサデカン	
LP2	DIBAC-PEG4-vcPAB-エキサデカン	
LP3	COT-EDA-(GLCA)PAB-エキサデカン	
LP4	COT-EDA-(GLC)PAB-エキサデカン	
LP5	COT-PEG4-vcPAB-ProEXT	
LP6	COT-PEG4-EvcPAB-ProEXT	

【0500】

10

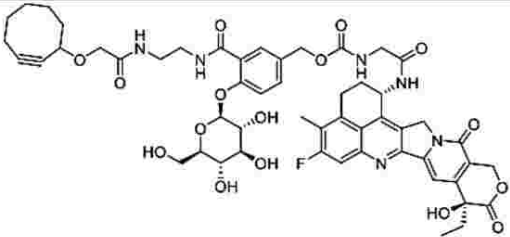
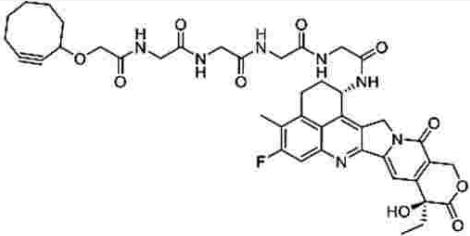
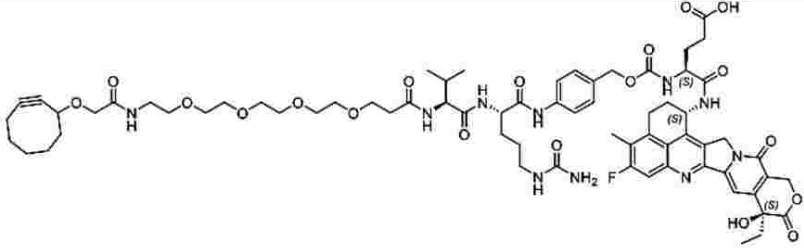
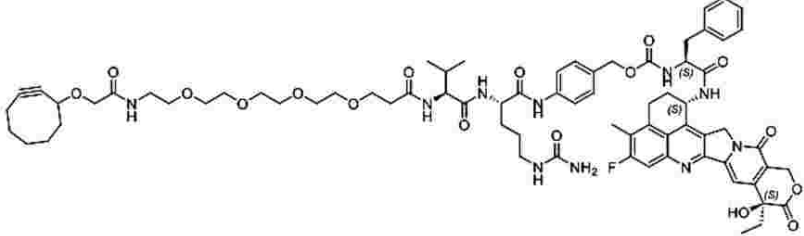
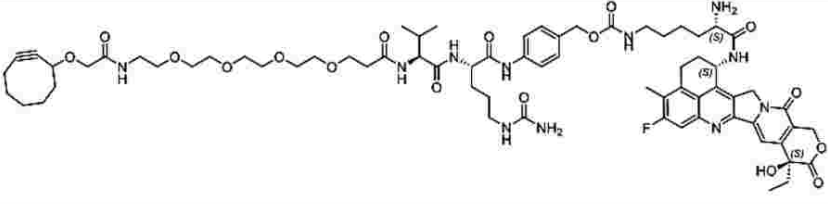
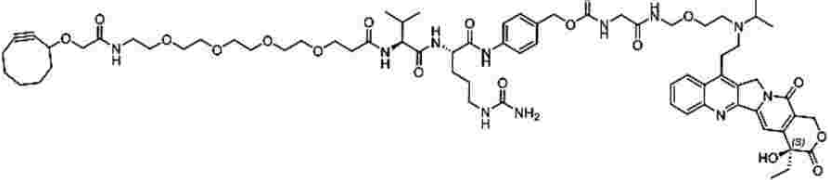
20

30

40

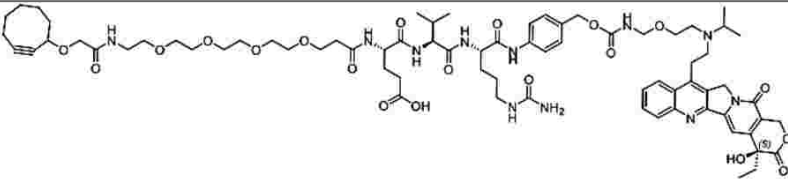
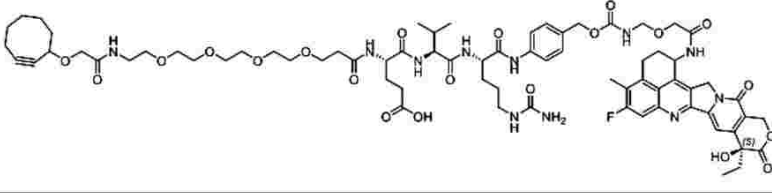
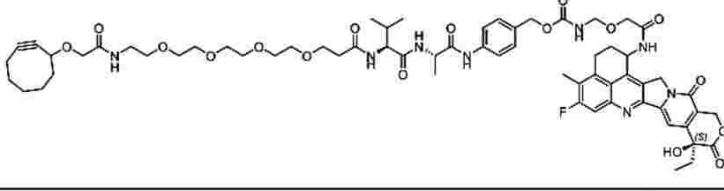
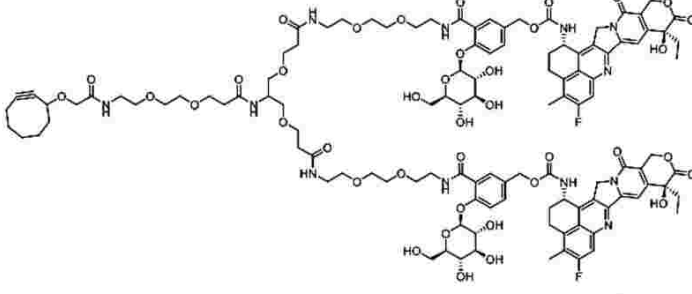
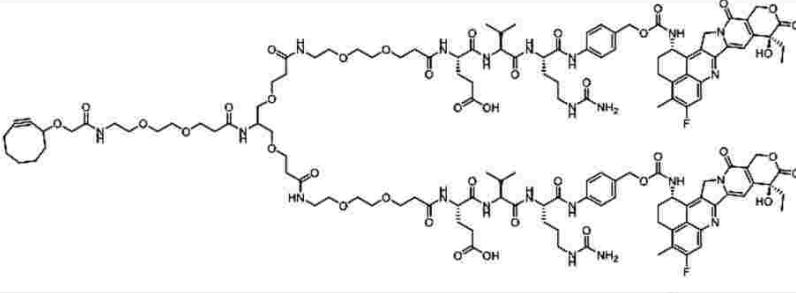
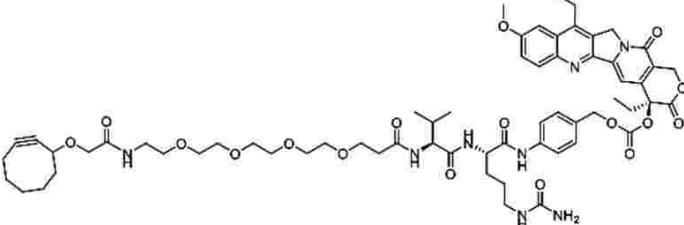
50

【表 20 - 2】

LP7	COT-EDA-(GLC)PAB-ProEXT	
LP8	COT-GGGG-ProEXT	
LP9	COT-PEG4-vcPAB-GluEXT	
LP10	COT-PEG4-vcPAB-PheEXT	
LP11	COT-PEG4-vcPAB- ^ε LysEXT	
LP12	COT-PEG4-vcPAB-ProBLT	

【0501】

【表 20-3】

LP13	COT-PEG4- EvcPAB- NHCH2- HOEt _h BLT	
LP14	COT-PEG4- EvcPAB- NHCH2- DXd	
LP15	COT-PEG4- VAPAB- NHCH2- DXd	
LP16	COT-BL- [PEG2- (GLC)PAB- EXT]2	
LP17	COT-BL- [PEG2- EvcPAB- EXT]2	
LP18	COT-PEG4- vcPAB-P16	

10

20

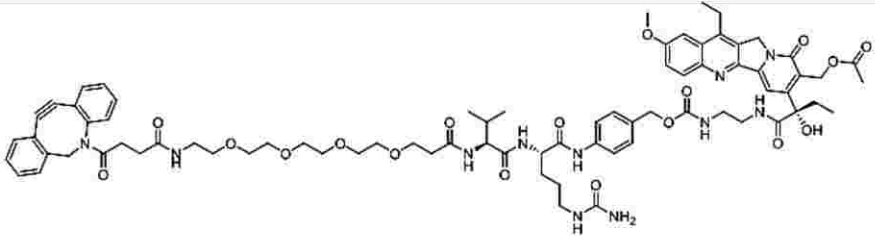
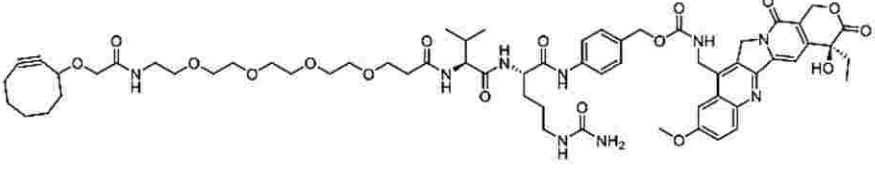
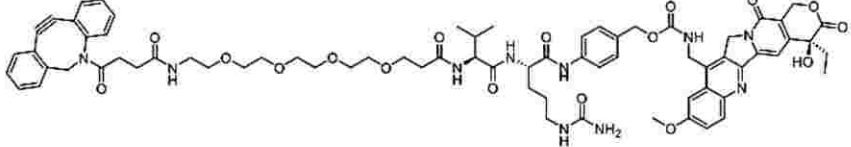
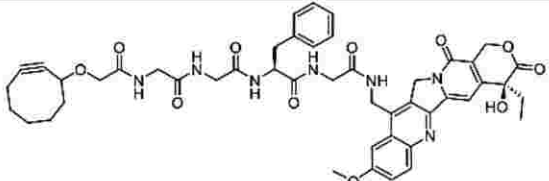
30

40

【0502】

50

【表 20 - 4】

LP19	COT-PEG4- vcPAB-P17	
LP20	COT-PEG4- vcPAB-P21	
LP21	DIBAC- PEG4- vcPAB-P21	
LP22	COT-GGFG- P21	

【0503】

10

20

30

40

50

【表 2 1 - 1】

表 3. リンカー-ペイロードの化学的特性

	リンカー-名称	cLogP	MF	MW	質量 ESI m/z
LP1	COT-PEG4-vcPAB-エキ サデカン	2.87	C ₆₄ H ₈₂ FN ₉ O ₁₆	1252.41	626.8 (M/2+H)
LP2	DIBAC-PEG4-vcPAB-エキ サデカン	3.61	C ₇₃ H ₈₃ FN ₁₀ O ₁₆ (ラク トン)	1375.52	697.3 (M/2+H)
			C ₇₃ H ₈₅ FN ₁₀ O ₁₇ (酸)	1393.53	688.3 (M/2+H)
LP3	COT-EDA-(GLCA)PAB-エ キサデカン	1.41	C ₅₁ H ₅₄ FN ₅ O ₁₆	1012.00	1012.5 (M+H)
LP4	COT-EDA-(GLC)PAB-エ キサデカン	1.49	C ₅₁ H ₅₆ FN ₅ O ₁₅	998.01	998.5 (M+H)
LP5	COT-PEG4-vcPAB- ProEXT	1.76	C ₆₆ H ₈₅ FN ₁₀ O ₁₇	1309.46	655.5 (M/2+H)
LP6	COT-PEG4-EvcPAB- ProEXT	0.76	C ₇₁ H ₉₂ FN ₁₁ O ₂₀	1438.57	720.0 (M/2+H)
LP7	COT-EDA-(GLC)PAB- ProEXT	0.38	C ₅₃ H ₅₉ FN ₆ O ₁₆	1055.08	
LP8	COT-GGGG-ProEXT	-0.80	C ₄₂ H ₄₆ FN ₇ O ₁₀	827.85	828.5 (M+H)
LP9	COT-PEG4-vcPAB- GluEXT	1.85	C ₆₉ H ₈₉ FN ₁₀ O ₁₉	1381.52	691.3
LP10	COT-PEG4-vcPAB- PheEXT	3.99	C ₇₃ H ₉₁ FN ₁₀ O ₁₇	1399.58	700.6
LP11	COT-PEG4-vcPAB- ^a LysEXT	2.20	C ₇₀ H ₉₄ FN ₁₁ O ₁₇	1380.58	691.2
LP12	COT-PEG4-vcPAB- ProBLT	1.71	C ₇₀ H ₉₇ N ₁₁ O ₁₈	1380.61	690.8
LP13	COT-PEG4-EvcPAB- NHCH2-HOethBLT	-0.81	C ₇₃ H ₁₀₁ N ₁₁ O ₂₀	1452.67	727.3
LP14	COT-PEG4-EvcPAB- NHCH2-DXd	0.83	C ₇₂ H ₉₄ FN ₁₁ O ₂₁	1468.60	734.3
LP15	COT-PEG4-VAPAB- NHCH2-DXd	2.92	C ₆₄ H ₈₁ FN ₈ O ₁₇	1253.39	627.5

【 0 5 0 4 】

10

20

30

40

50

【表 2 1 - 2】

LP16	COT-BL-[PEG2-(GLC)PAB-EXT]2	-1.39	$C_{116}H_{142}F_2N_{12}O_{39}$	2366.45	789.2 (M/3+H)
LP17	COT-BL-[PEG2-EvcPAB-EXT]2	1.74	$C_{136}H_{176}F_2N_{22}O_{39}$	2781.02	927.7 (M/3+H)
LP18	COT-PEG4-vcPAB-P17	3.97	$C_{63}H_{82}N_8O_{17}$	1223.39	612.3
LP19	COT-PEG4-vcPAB-P18	2.48	$C_{76}H_{93}N_{11}O_{18}$	1448.64	612.3 ((M-OAc)/2+H)
LP20	COT-PEG4-vcPAB-P22	1.51	$C_{62}H_{81}N_9O_{17}$	1224.38	613.0
LP21	DIBAC-PEG4-vcPAB-P22	2.25	$C_{71}H_{82}N_{10}O_{17}$	1347.49	682.7 (酸)
					674.3 (ラク トン)
LP22	COT-GGFG-P22	0.07	$C_{47}H_{51}N_7O_1$	889.95	890.3 (M+H)

10

20

【 0 5 0 5 】

30

40

50

【表 2 2 - 1】

表 4. ペイロードおよびリンカー-ペイロードの HCT-15 データ

ペイロード				リンカー-ペイロード		
#	名称	HCT-15 EC ₅₀ (nM)	HCT-15 + ペ ラパミル EC ₅₀ (nM)	#	リンカー-名称	HCT-15 EC ₅₀ (nM)
P1	EXT	1.22	1.13	LP1	COT-PEG4-vcPAB-EXT	288.92
				LP2	DIBAC-PEG4-vcPAB-EXT	144.93
				LP3	COT-EDA-(GLCA)PAB- EXT	456.83
				LP4	COT-EDA-(GLC)PAB-EXT	362.97
				LP16	COT-BL-[PEG2-(GLC)PAB- EXT]2	140.24
				LP17	COT-BL-[PEG2-EvcPAB- EXT]2	(amt なし)
P2	GlyEXT	61.91	14.34	LP5	COT-PEG4-vcPAB-GlyEXT	>1000
				LP6	COT-PEG4-EvcPAB- GlyEXT	(amt なし)
				LP7	COT-EDA-(GLC)PAB- GlyEXT	(amt なし)
				LP8	COT-GGGG-EXT	836.54
P3	GluEXT	610.21	596.04	LP9	COT-PEG4-vcPAB-GluEXT	722.36
P5	PheEXT	48.25	4.20	LP10	COT-PEG4-vcPAB-PheEXT	851.96
P4	LysEXT	447.03	580.96	LP11	COT-PEG4-vcPAB- ⁵ LysEXT	208.38
P6	MsEXT	7.45	3.16			
P7	MsEthEXT	5.58	1.69			
P8	BLT	20.04	3.09			
P9	MsBLT	8.89	3.03			
P10	HOEthBLT	8.60	4.38	LP13	COT-PEG4-EvcPAB- NHCH2-HOEtBLT	
P11	ProBLT			LP12	COT-PEG4-vcPAB-ProBLT	
P12	DXd	7.99	4.18	LP14	COT-PEG4-EvcPAB- NHCH2-DXd	

【 0 5 0 6 】

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 2】

				LP15	COT-PEG4-VAPAB-NHCH2-DXd	96.93
P13		133.91				
P14		11.58	6.79			
P15		6.99	4.47			
P16	SN38	6.11	4.77			
P17		1.59	1.44	LP18	COT-PEG4-vcPAB-P16	
P18		32.45	32.79	LP19	COT-PEG4-vcPAB-P17	
P19	イリノテカ ン	NA	NA			
P20		3.69	2.40			
P21						
P22		31.94	40.45	LP20	COT-PEG4-vcPAB-P21	
				LP21	DIBAC-PEG4-vcPAB-P21	
				LP22	COT-GGFG-P21	
P23		36.74				
P24		13.54				
P25		46.79				
P26		51.87				
P27		78.81				
P28		34.19				

【0507】

実施例 5 : vcPAB リンカー-ペイロードの合成 (スキーム 5 A および 5 B)

【0508】

10

20

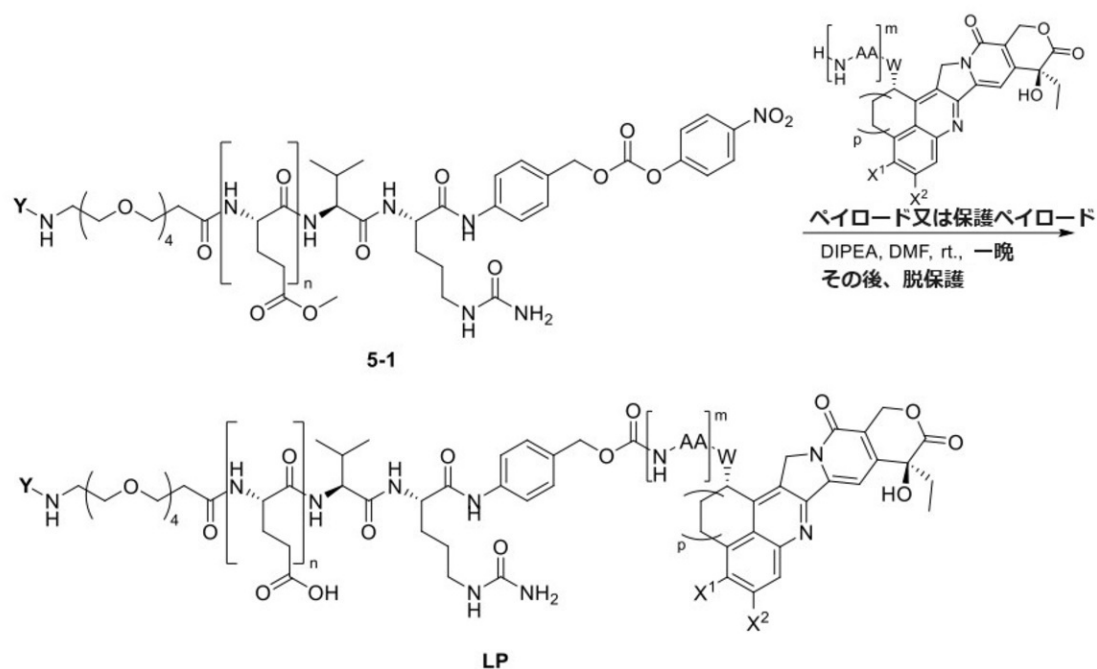
30

40

50

【化 1 0 2】

スキーム5A. ペイロードのB環からのvcPAB-カルバメートリンカーの合成



10

20

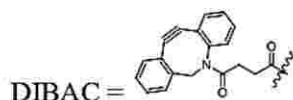
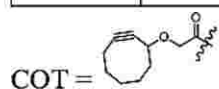
【 0 5 0 9 】

【表 2 3】

P#	LP#	Y	n	W	m	AA	p	X1	X2
P1 (EXT)	LP1	COT	0	NH	0	/	1	Me	F
P1	LP2	DIBAC	0	NH	0	/	1	Me	F
P2	LP5	COT	0	NH	1	-CH ₂ CO-	1	Me	F
P2	LP6	COT	1	NH	1	-CH ₂ CO-	1	Me	F
P3	LP9	COT	0	NH	1	-CH(CH ₂ CH ₂ COOH)- CO	1	Me	F
P5	LP10	COT	0	NH	1	-CH(Bn)CO-	1	Me	F
P4	LP11	COT	0	NH	1	-(CH ₂) ₄ CH(NH ₂)CO-	1	Me	F
P11	LP12	COT	0	CH ₂ N(^t Pr)(CH ₂) ₂ OCH ₂ NH	1	-CH ₂ CO-	1	H	H
P21	LP20	COT	0	NH	0	/	0	OMe	H
P21	LP21	DIBAC	0	NH	0	/	0	OMe	H

30

40



【 0 5 1 0 】

實施例 5 A：基本手順 C

【0511】

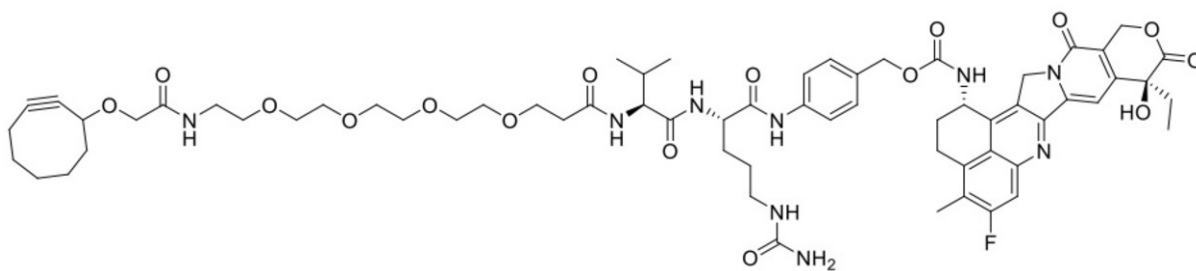
乾燥DMF（2mM）中の、アミン基を含有するペイロードまたは保護ペイロード（1.0当量）の溶液に、化合物5-1（1当量）およびDIPFA（3当量）を添加し、反応混合物を16時間室温で攪拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた溶液を分取HPLC（TFA水溶液（0.01%）中0～70%アセトニトリル）によって直接精製することで、対応するリンカー-ペイロード（収率23～81%、TFA塩）を固形物として得た。

【0512】

実施例5A-1：{4-[（2S）-5-（カルバモイルアミノ）-2-[(2S)-2-{1-[2-（シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ）アセトアミド]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メチルN-[(10S,23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5,9-ジオキソ-8-オキサ-4,15-ジオキサヘキサシクロ[14.7.1.0^{2,14}.0^{4,13}.0^{6,11}.0^{20,24}]テトラコサ-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバメート（LP1）の合成

【0513】

【化103】



【0514】

5-1aを用いてエキサテカンから出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロードLP1（36mg、収率81%、TFA塩）を、分取HPLC（重炭酸アンモニウム水溶液（10mM）中0～100%アセトニトリル）による精製後に白色固形物として得て、TFA水溶液（0.1M）でpH4.0になるまで処理し、真空中で濃縮し、凍結乾燥させた。ESI m/z : 626.8 ($M/2+H$)⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 10.00 (s, 1H), 8.13 (d, J=6.8Hz, 1H), 8.07 (d, J=9.2Hz, 1H), 7.88 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.78 (d, J=10.8Hz, 1H), 7.61 (d, J=8.4Hz, 3H), 7.36 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.32 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.45 (s, 3H), 5.29 (s, 3H), 5.08 (s, 2H), 4.41-4.35 (m, 1H), 4.29-4.21 (m, 2H), 3.87 (d, J=14.4Hz, 1H), 3.75 (d, J=14.4Hz, 1H), 3.62-3.57 (m, 2H), 3.50-3.48 (m, 14H), 3.27-3.23 (m, 3H), 3.15-2.90 (m, 4H), 2.38-2.33 (m, 4H), 2.24-2.07 (m, 5H), 1.96-1.67 (m, 9H), 1.59-1.53 (m, 3H), 1.46-1.33 (m, 3H), 0.89-0.82 (m, 9H) ppm. (TFAのプロトンは観察されなかった). ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ -74 (TFA), -111 (Ar-F) ppm.

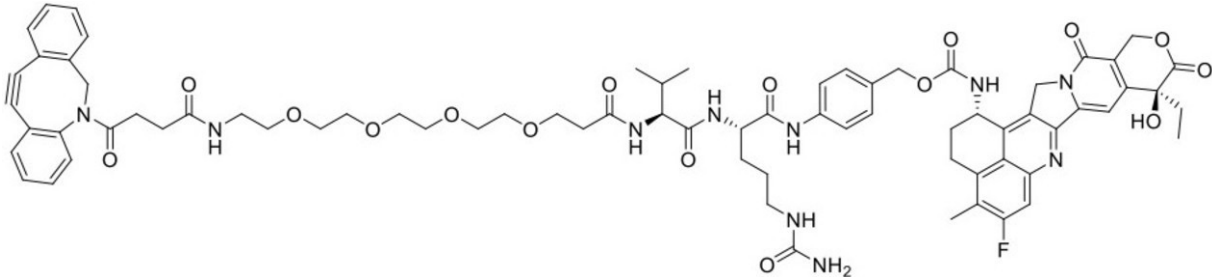
【0515】

実施例5A-2：{4-[（2S）-2-[(2S)-2-[(1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル]-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-

(カルバモイルアミノ) ペンタンアミド] フェニル} メチル N- [(10S, 23S) - 10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14. 7. 1. 0², 14. 0⁴, 13. 0⁶, 11. 0²⁰, 2⁴] テトラコサ-1, 6 (11), 12, 14, 16, 18, 20 (24) -ヘプタエン-23-イル] カルバメート (LP2) の合成

【0516】

【化104】



10

【0517】

5-1bを用いてエキサテカンから出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロードLP2 (ラクトン開環生成物を有する。10mg、収率26%) を、逆相フラッシュクロマトグラフィー (炭酸水素アンモニウム水溶液 (10mM) 中0~100%メタノール) による精製後に白色の固形物として得た。

20

【0518】

ラクトン: HPLC純度: 67%、保持時間: 8.16分、ESI m/z: 459.4 (M/3+H)⁺、688.3 (M/2+H)⁺、

【0519】

開環生成物: HPLC純度: 33%、保持時間: 6.98分、ESI m/z: 465.2 (M/3+H)⁺、697.3 (M/2+H)⁺。

【0520】

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.99 (s, 1H), 8.18-8.11 (m, 1H), 8.06 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.94-7.86 (m, 1H), 7.79-7.75 (m, 2H), 7.68 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.67-7.56 (m, 3H), 7.51-7.42 (m, 3H), 7.38-7.28 (m, 6H), 6.53 (s, 0.6H), 6.05-6.00 (m, 0.4H), 5.99-5.96 (m, 0.6H), 5.45-5.41 (m, 3H), 5.29-5.28 (m, 2H), 5.26-5.21 (m, 1H), 5.08 (s, 2H), 5.02 (d, J=14.0Hz, 1H), 4.75-4.70 (m, 0.4H), 4.41-4.36 (m, 1H), 4.25-4.21 (m, 1H), 3.61-3.57 (m, 3H), 3.47-3.42 (m, 13H), 3.24-3.22 (m, 2H), 3.21-3.19 (m, 1H), 3.14-3.05 (m, 3H), 3.03-3.00 (m, 1H), 2.97-2.91 (m, 1H), 2.61-2.55 (m, 1H), 2.48-2.44 (m, 1H), 2.41-2.35 (m, 4H), 2.27-2.09 (m, 4H), 2.03-1.95 (m, 2H), 1.90-1.83 (m, 1H), 1.80-1.72 (m, 2H), 1.65-1.54 (m, 1H), 1.47-1.23 (m, 2H), 1.04 (t, J=6.8Hz, 0.4H), 0.90-0.81 (m, 9H) ppm. ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ -111 ppm.

30

40

【0521】

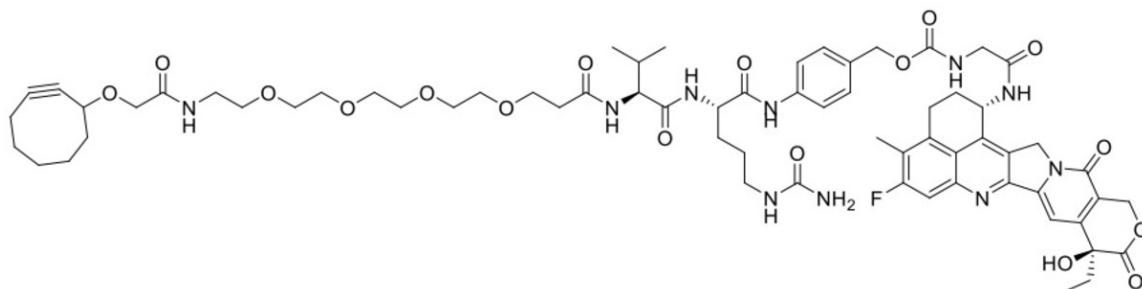
実施例5A-3: {4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-3, 6, 9, 12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メチルN-({[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15

50

ージアザヘキサシクロ [14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴] テトラコサー 1, 6 (11), 12, 14, 16, 18, 20 (24) -ヘプタエン-23-イル] カルバモイル} メチル) カルバメート (LP5) の合成

【0522】

【化105】



10

【0523】

5-1aを用いてP2から出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロードLP5 (22mg、収率32%)を、分取HPLC (TFA水溶液 (0.1%) 中5~95% アセトニトリル) による精製後に白色の固形物として得た。ESI m/z: 655.5 (M/2+H)⁺, 1309.6 (M+H)⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.99 (s, 1H), 8.50 (d, J=8.5Hz, 1H), 8.13 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.88 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.81 (d, J=10.9Hz, 1H), 7.59-7.57 (m, 3H), 7.34-7.25 (m, 3H), 6.53 (s, 1H), 5.99-5.95 (m, 1H), 5.60-5.54 (m, 1H), 5.42 (s, 4H), 5.31-5.17 (m, 2H), 4.94 (s, 2H), 4.41-4.34 (m, 1H), 4.27-4.21 (m, 2H), 3.88-3.73 (m, 2H), 3.68-3.58 (m, 4H), 3.56-3.44 (m, 14H), 3.43-3.40 (m, 2H), 3.25-3.23 (m, 2H), 3.19-3.15 (m, 1H), 3.03-2.92 (m, 2H), 2.40-2.38 (m, 4H), 2.23-2.04 (m, 5H), 1.96-1.67 (m, 9H), 1.62-1.52 (m, 3H), 1.45-1.34 (m, 3H), 0.87-0.81 (m, 9H) ppm. ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ -111 ppm.

20

30

【0524】

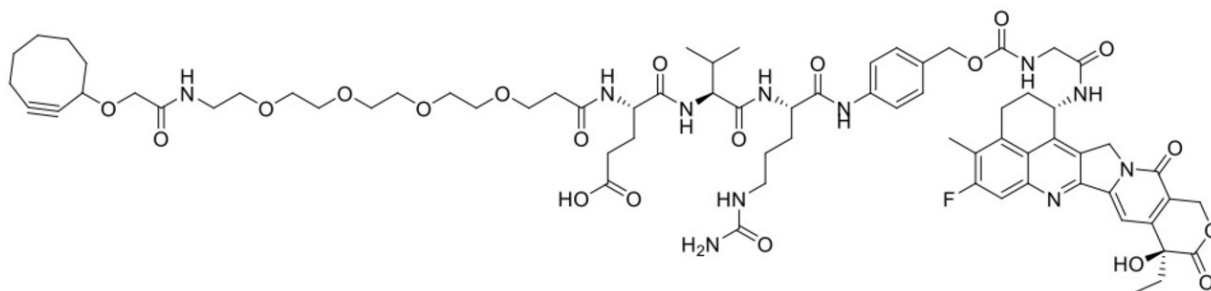
実施例5A-4: (4S)-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-{[4-({[({[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴] テトラコサー 1, 6 (11), 12, 14, 16, 18, 20 (24) -ヘプタエン-23-イル] カルバモイル} メチル) カルバモイル] オキシ} メチル) フェニル] カルバモイル} ブチル] カルバモイル} -2-メチルプロピル] カルバモイル} -4-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ) アセトアミド]-3, 6, 9, 12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド} ブタン酸 (LP6) の合成

40

【0525】

50

【化 1 0 6】



10

【0 5 2 6】

2-1cを用いてP2から出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロードメチレート-LP6(15mg、収率45%、ESI m/z : 727.0 ($M/2+H$)⁺)を、逆相フラッシュクロマトグラフィー(TFA水溶液(0.01%)中5~70%アセトニトリル)による精製後に白色の固形物として得た。得られたTHF(2mL)中のメチレート-LP6(10mg, 6.9 μ mol)の溶液に、水酸化リチウム水溶液(0.5mg, 20mM, 1mL)を添加し、反応混合物を1時間室温で攪拌し、これをLCMSによってモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC(TFA水溶液(0.05%)中10~95%アセトニトリル)によって直接精製することで、LP6(3.0mg、収率30%)を白色の固形物として得た。ESI m/z : 720.0 ($M/2+H$)⁺. ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 10.03(s, 1H), 8.51(d, J=8.8Hz, 1H), 8.18(d, J=7.6Hz, 1H), 8.08(d, J=8.0Hz, 1H), 7.81(d, J=11.2Hz, 1H), 7.74(d, J=7.6Hz, 1H), 7.63-7.56(m, 3H), 7.44(t, J=6.0Hz, 1H), 7.31(s, 1H), 7.27(d, J=8.8Hz, 2H), 6.54(s, 1H), 6.01-5.96(m, 1H), 5.60-5.55(m, 1H), 5.43(m, 4H), 5.32-5.16(m, 2H), 4.93(s, 2H), 4.39-4.31(m, 2H), 4.29-4.25(m, 1H), 4.22-4.17(m, 1H), 3.90-3.84(m, 1H), 3.78-3.73(m, 1H), 3.67-3.62(m, 1H), 3.60-3.55(m, 2H), 3.51-3.46(m, 13H), 3.44-3.40(m, 3H), 3.27-3.23(m, 3H), 3.06-3.00(m, 2H), 2.97-2.90(m, 2H), 2.43-2.39(m, 4H), 2.36-2.30(m, 2H), 2.26-2.20(m, 3H), 2.18-2.15(m, 1H), 2.08(s, 1H), 1.95-1.84(m, 5H), 1.76-1.69(m, 3H), 1.60-1.55(m, 2H), 1.43-1.35(m, 3H), 0.87-0.80(m, 11H) ppm. (COOHのプロトンは明らかにされなかった。)

20

30

【0 5 2 7】

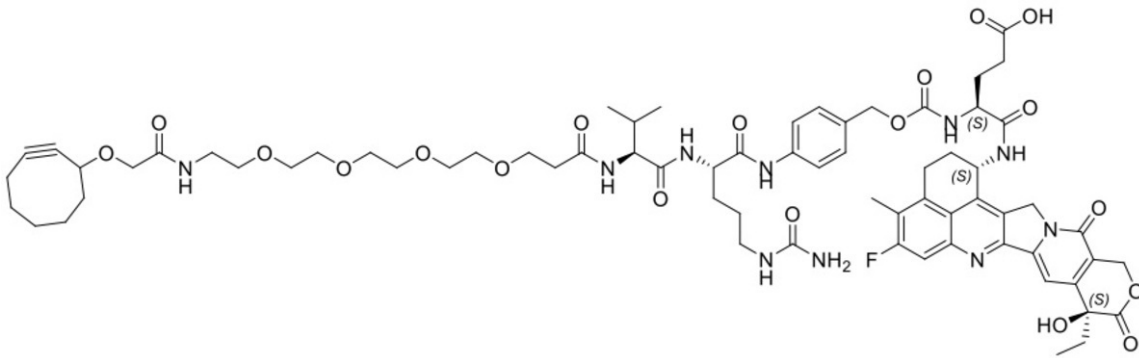
実施例5A-5: (4S)-4-{[(4-{[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-4-{[(10S,23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5,9-ジオキソ-8-オキサ-4,15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0^{2,14}.0^{4,13}.0^{6,11}.0^{20,24}]テトラコサ-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}ブタン酸(LP9)の合成

40

【0 5 2 8】

50

【化 1 0 7】



10

【0 5 2 9】

5-1aを用いてP3から出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロードLP9 (22mg、収率38%)を、分取HPLC (TFA水溶液 (0.01%) 中5~95% アセトニトリル) による精製後に淡黄色の固形物として得た。ESI m/z : 691.3 ($M/2+H$)⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 10.00 (s, 1H), 8.55 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J=7.1$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=10.9$ Hz, 1H), 7.69-7.53 (m, 3H), 7.44 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.23 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 5.99 (s, 1H), 5.52 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.33 (d, $J=18.7$ Hz, 1H), 5.08 (d, $J=18.7$ Hz, 1H), 4.97-4.87 (m, 2H), 4.43-4.35 (m, 1H), 4.30-4.19 (m, 4H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.87 (d, $J=14.7$ Hz, 1H), 3.75 (d, $J=14.8$ Hz, 1H), 3.61-3.57 (m, 2H), 3.54-3.48 (m, 14H), 3.26-3.21 (m, 2H), 3.17 (s, 2H), 3.05-2.94 (m, 2H), 2.46 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 2.41-2.36 (m, 4H), 2.29-2.02 (m, 7H), 2.01-1.81 (m, 11H), 1.64-1.52 (m, 3H), 1.51-1.30 (m, 3H), 0.97-0.68 (m, 9H) ppm.

20

【0 5 3 0】

実施例5A-6: {4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メチルN-[(1S)-1-{[(10S,23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5,9-ジオキソ-8-オキサ-4,15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0²,14.0⁴,13.0⁶,11.0²⁰,2⁴]テトラコサー1,6(11),12,14,16,18,20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}-2-フェニルエチル)カルバメート(LP10)の合成

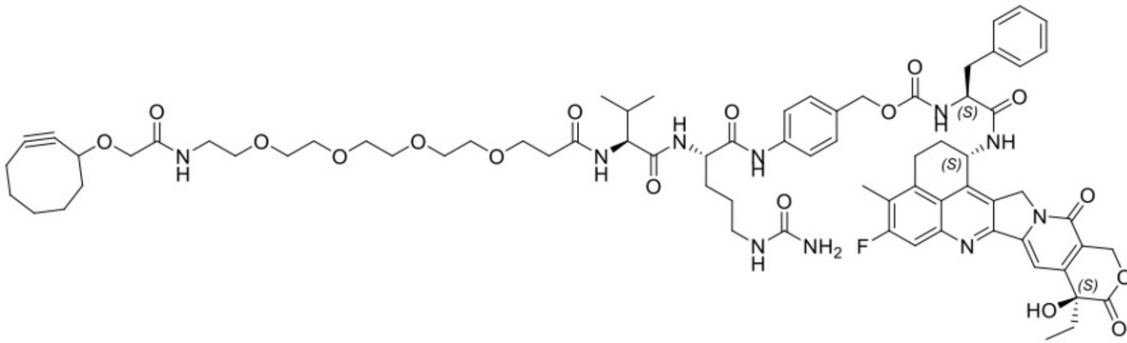
30

【0 5 3 1】

40

50

【化 1 0 8】



10

【0 5 3 2】

5-1aを用いてP5から出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロードLP10(55mg、収率51%)を、分取HPLC(TFA水溶液(0.01%)中5~95%アセトニトリル)による精製後に黄色の固形物として得た。ESI m/z : 700.3 ($M/2+H$)⁺. ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 9.99(s, 1H), 8.65(d, J=8.5Hz, 1H), 8.13(d, J=7.5Hz, 1H), 7.88(d, J=8.6Hz, 1H), 7.82(d, J=11.0Hz, 1H), 7.68-7.49(m, 4H), 7.31(s, 1H), 7.26-7.13(m, 4H), 7.06(t, J=7.4Hz, 2H), 7.00-6.94(m, 1H), 6.00(s, 1H), 5.58-5.51(m, 1H), 5.43(s, 2H), 5.23(d, J=19.0Hz, 1H), 4.89(t, J=9.2Hz, 2H), 4.42-4.21(m, 4H), 3.85(d, J=14.8Hz, 1H), 3.75(d, J=14.8Hz, 1H), 3.67-3.58(m, 14H), 3.43-3.40(m, 2H), 3.27-3.17(m, 4H), 3.09-2.89(m, 4H), 2.85-2.78(m, 1H), 2.46(d, J=7.0Hz, 1H), 2.43-2.36(m, 4H), 2.26-2.03(m, 6H), 1.99-1.81(m, 6H), 1.80-1.66(m, 4H), 1.66-1.30(m, 7H), 0.93-0.78(m, 9H) ppm.

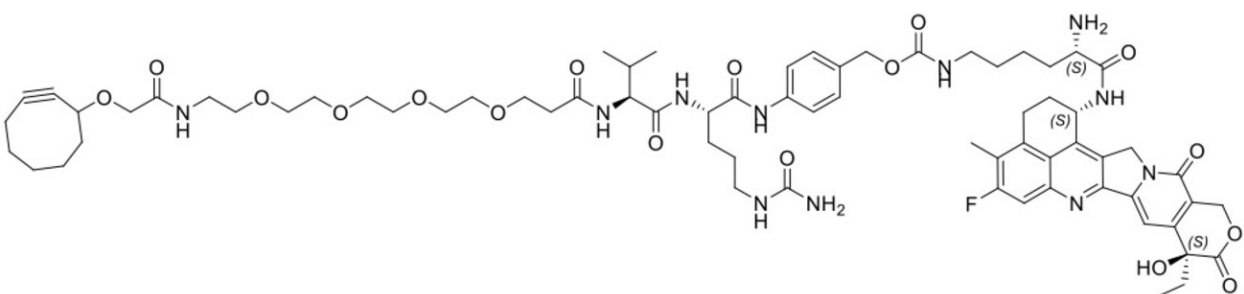
20

【0 5 3 3】

実施例5A-7: {4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メチルN-[(5S)-5-アミノ-5-{[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5,9-ジオキソ-8-オキサ-4,15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 1⁴.0⁴, 1³.0⁶, 1¹.0²⁰, 2⁴]テトラコサ-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}ペンチル]カルバメート(LP11)の合成

【0 5 3 4】

【化 1 0 9】



50

【0535】

5-1aを用いて1-3から出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロード Fmoc-LP11 (38mg (>95%純度) および60mg (>75%純度)、ESI m/z: 802.2 (M+H)⁺ を、分取HPLC (TFA水溶液 (0.01%) 中5~95%アセトニトリル) による精製後に淡黄色の固形物として得た。乾燥DMF (1mL) 中のFmoc-LP11 (38mg、>95%純度、21μmol) の溶液にジエチルアミン (0.1mL) を添加し、Fmocが完全に除去されるまで反応混合物を2時間室温で攪拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC (ギ酸水溶液 (0.1%) 中5~95%アセトニトリル) によって直接分離させることで、LP11 (14mg、1-3から収率11%) を白色の固形物として得た。ESI m/z: 691.2 (M/2+H)⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 10.00 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.14 (d, J=7.3Hz, 1H), 7.89 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.81 (d, J=10.9Hz, 1H), 7.64-7.54 (m, 3H), 7.31 (s, 1H), 7.25 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.17 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.01 (s, 1H), 5.53 (s, 1H), 5.42 (m, 4H), 5.28-5.16 (m, 2H), 4.89 (s, 2H), 4.37 (m, 1H), 4.24 (m, 2H), 3.81 (m, 3H), 3.59 (m, 4H), 3.53-3.47 (m, 12H), 3.45-3.40 (m, 2H), 3.24 (m, 2H), 3.17 (m, 2H), 3.02-2.89 (m, 3H), 2.43-2.32 (m, 5H), 2.26-2.15 (m, 3H), 2.13-2.02 (m, 3H), 1.99-1.90 (m, 2H), 1.88-1.79 (m, 3H), 1.79-1.66 (m, 3H), 1.64-1.52 (m, 4H), 1.48-1.33 (m, 7H), 0.91-0.78 (m, 9H) ppm. ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ -111.2 ppm.

10

20

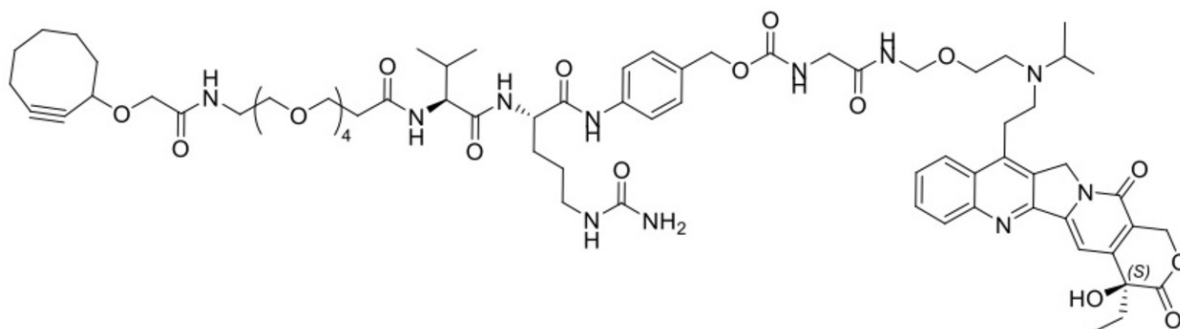
【0536】

実施例5A-8: {4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ) アセトアミド]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}-3-メチルブタンアミド] ペンタンアミド] フェニル} メチルN-[({ [2-({2-[(19S)-19-エチル-19-ヒドロキシ-14,18-ジオキソ-17-オキサ-3,13-ジアザペンタシクロ [11.8.0.0²,11.0⁴,9.0¹⁵,2⁰] ヘニコサ-1(21),2,4,6,8,10,15(20)-ヘプタエン-10-イル] エチル} (プロパン-2-イル) アミノ) エトキシ] メチル} カルバモイル) メチル] カルバメート (LP12)

30

【0537】

【化110】



40

【0538】

5-1aを用いてP11から出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロード LP12 (10mg、収率40%) を、分取HPLC (TFA水溶液 (0.01%) 中5~95%アセトニトリル) による精製後に白色の固形物として得た。ESI m/z: 690.8 (M/2+H)⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.99 (

50

s, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.95–8.81 (m, 1H), 8.37 (d, J=8.4 Hz, 1H), 8.23 (d, J=8.2 Hz, 1H), 8.12 (d, J=7.4 Hz, 1H), 8.00–7.85 (m, 2H), 7.82 (t, J=7.5 Hz, 1H), 7.70–7.48 (m, 4H), 7.37 (s, 1H), 7.25 (d, J=8.1 Hz, 2H), 6.57 (br s, 1H), 5.99 (br t, J=5.3 Hz, 1H), 5.55–5.35 (m, 6H), 4.91 (br s, 2H), 4.71 (br s, 2H), 4.44–4.33 (m, 1H), 4.30–4.19 (m, 2H), 3.90–3.72 (m, 6H), 3.65–3.56 (m, 5H), 3.53–3.45 (m, 16H), 3.26–3.22 (m, 2H), 3.03–2.93 (m, 2H), 2.40–2.32 (m, 1H), 2.29–2.01 (m, 4H), 2.00–1.80 (m, 6H), 1.80–1.53 (m, 7H), 1.46–1.34 (m, 3H), 1.32–1.24 (m, 6H), 0.90–0.82 (m, 9H) ppm.

10

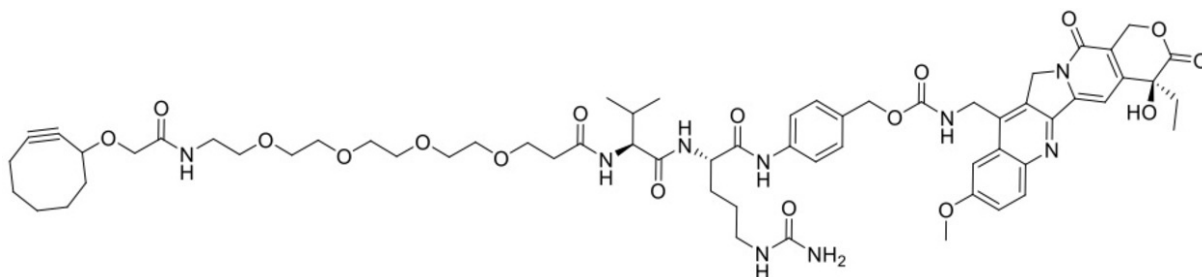
【0539】

実施例5A-9: {4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メチルN-{ [(19S)-19-エチル-19-ヒドロキシ-7-メトキシ-14,18-ジオキソ-17-オキサ-3,13-ジアザペンタシクロ[11.8.0.0²,11.0⁴,9.0¹⁵,2⁰]ヘニコサ-1(21),2,4,6,8,10,15(20)-ヘプタエン-10-イル]メチル}カルバメート(LP20)

20

【0540】

【化111】



30

【0541】

5-1aを用いてP21から出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロードLP20(16mg、収率57%、TFA塩)を、分取HPLC(TFA水溶液(0.01%)中5~95%アセトニトリル)による精製後に淡黄色の固形物として得た。ESI m/z: 613.0 (M/2+H)⁺. ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 9.97 (s, 1H), 8.17 (t, J=6.4 Hz, 1H), 8.10 (d, J=9.2 Hz, 2H), 7.87 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.61–7.56 (m, 3H), 7.53 (dd, J=8.8, 2.4 Hz, 1H), 7.29 (s, 2H), 7.27 (br s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.97 (t, J=6.4 Hz, 1H), 5.48 (s, 2H), 5.44 (s, 2H), 5.41 (s, 2H), 4.97 (s, 2H), 4.79 (d, J=6.0 Hz, 2H), 4.41–4.34 (m, 1H), 4.28–4.20 (m, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.87 (d, J=14.8 Hz, 1H), 3.75 (d, J=14.8 Hz, 1H), 3.62–3.58 (m, 2H), 3.50–3.48 (m, 12H), 3.46–3.42 (m, 2H), 3.26–3.20 (m, 2H), 3.03–2.91 (m, 2H), 2.47–2.33 (m, 1H), 2.21–2.03 (m, 4H), 1.98–1.68 (m, 8H), 1.61–1.46 (m, 3H), 1.42–1.31 (m, 3H), 0.91–0.82 (m, 9H) ppm. (TFAのプロトンは観察されなかった). ¹⁹F NMR(376MHz, DMSO-d₆) δ -74 ppm.

40

50

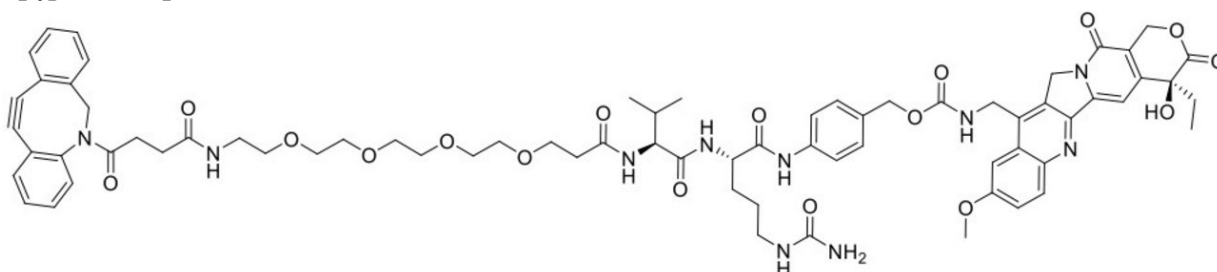
【0542】

実施例5A-10：{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0⁴,9]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチルN-{[(19S)-19-エチル-19-ヒドロキシ-7-メトキシ-14,18-ジオキソ-17-オキサ-3,13-ジアザペンタシクロ[11.8.0.0⁰²,11.0⁴,9.0¹⁵,20]ヘニコサ-1(21),2,4,6,8,10,15(20)-ヘプタエン-10-イル]メチル}カルバメート(LP21)の合成

10

【0543】

【化112】



20

【0544】

5-1bを用いてP21から出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロードLP21(10mg、収率38%)を、逆相フラッシュクロマトグラフィー(炭酸水素アンモニウム水溶液(10mM)中0~100%メタノール)による精製後に淡黄色の固形物として得た。

【0545】

ラクトン：HPLC純度：77%、保持時間：7.67分、ESI m/z：449.9 (M/3+H)⁺、674.3 (M/2+H)⁺、

【0546】

開環生成物：HPLC純度：23%、保持時間：6.57分、ESI m/z：455.9 (M/3+H)⁺、683.4 (M/2+H)⁺。

30

【0547】

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.98 (s, 1H), 8.18 (t, J=6.0Hz, 1H), 8.13-8.09 (m, 2H), 7.87 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.77 (d, J=5.6Hz, 1H), 7.69-7.65 (m, 2H), 7.63-7.60 (m, 1H), 7.57 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.54-7.44 (m, 4H), 7.39-7.34 (m, 2H), 7.32-7.27 (m, 4H), 6.51 (s, 1H), 5.99-5.96 (m, 1H), 5.48 (br s, 2H), 5.44 (s, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.02 (d, J=13.6Hz, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.79 (d, J=6.0Hz, 2H), 4.40-4.35 (m, 1H), 4.25-4.21 (m, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.62-3.57 (m, 3H), 3.48-3.42 (m, 12H), 3.30-3.28 (m, 2H), 3.09-3.07 (m, 2H), 3.03-2.99 (m, 1H), 2.97-2.91 (m, 1H), 2.60-2.55 (m, 1H), 2.46-2.44 (m, 1H), 2.41-2.37 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 1H), 2.03-1.93 (m, 2H), 1.89-1.83 (m, 2H), 1.80-1.65 (m, 2H), 1.61-1.53 (m, 1H), 1.48-1.31 (m, 2H), 0.90-0.81 (m, 9H) ppm.

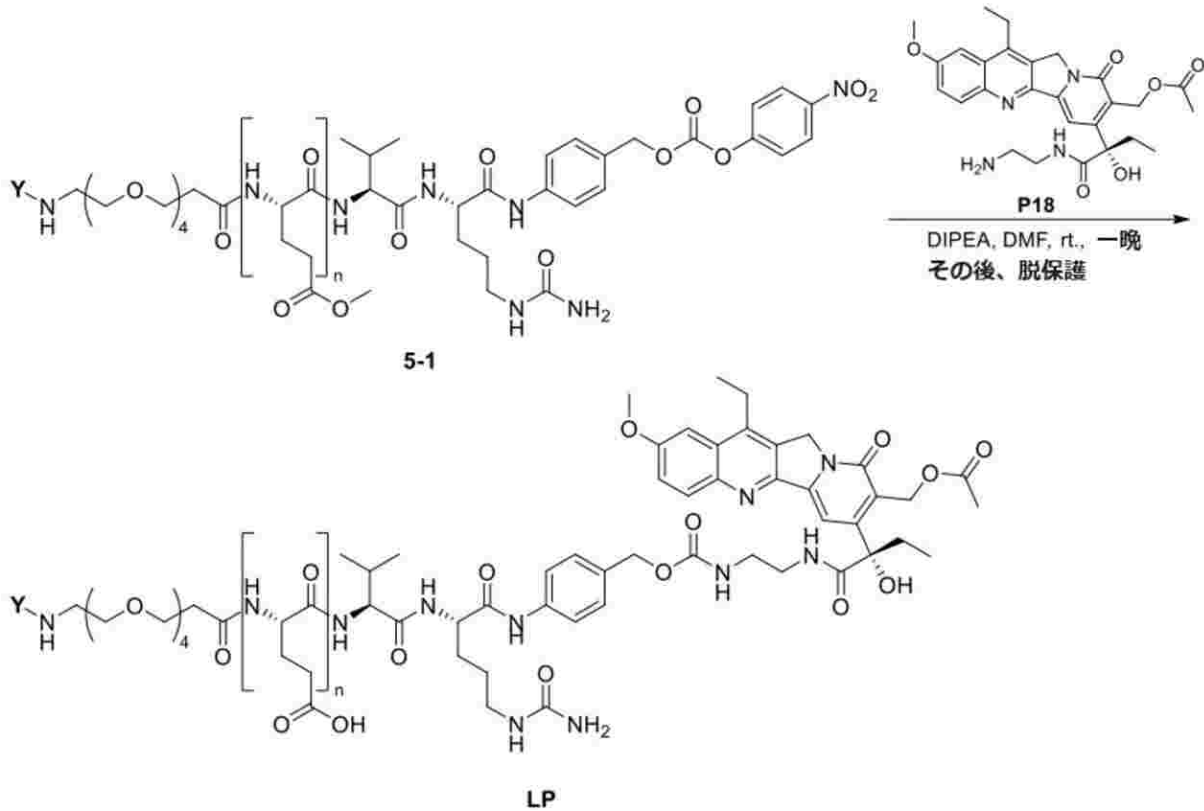
40

【0548】

50

【化 1 1 3】

スキーム5B.ペイロードのE環からのvcPAB-カルバメートリンカーの合成



【 0 5 4 9】

【表 2 4】

P#	LP#	Y	n
P18	LP19	DIBAC	0

【 0 5 5 0】

実施例 5 B : { 7 - [(1 S) - 1 - [(2 - { [({ 4 - [(2 S) - 2 - [(2 S) - 2 - [1 - (4 - { 2 - アザトリシクロ [1 0 . 4 . 0 . 0 ⁴ , ⁹] ヘキサデカ - 1 (1 2) , 4 (9) , 5 , 7 , 1 3 , 1 5 - ヘキサエン - 1 0 - イン - 2 - イル } - 4 - オキソブタンアミド) - 3 , 6 , 9 , 1 2 - テトラオキサペンタデカン - 1 5 - アミド] - 3 - メチルブタンアミド] - 5 - (カルバモイルアミノ) ペンタンアミド] フェニル } メトキシ) カルボニル] アミノ } エチル) カルバモイル] - 1 - ヒドロキシプロピル] - 1 2 - エチル - 2 - メトキシ - 9 - オキソ - 9 H , 1 1 H - インドリジノ [1 , 2 - b] キノリン - 8 - イル } メチルアセテート (L P 1 9) の合成

【 0 5 5 1】

10

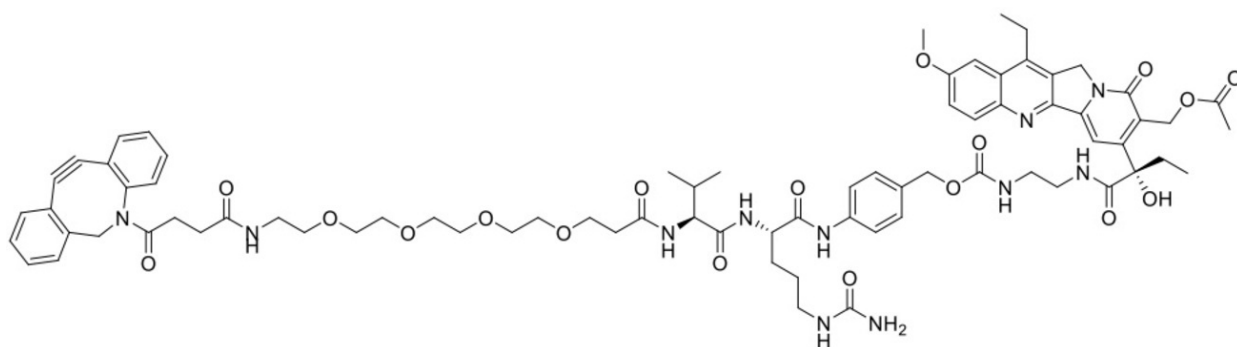
20

30

40

50

【化 1 1 4】



10

【0 5 5 2】

5-1bを用いてP18から出発する基本手順Cに従って、リンカー-ペイロードLP19 (19mg、収率82%)を、逆相フラッシュクロマトグラフィー (水中0~80%アセトニトリル) による精製後に白色の固形物として得た。ESI m/z : 695.0 ($(M-OAc)/2+H$)⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.98 (s, 1H), 8.12–8.09 (m, 2H), 8.06–8.03 (m, 1H), 7.87 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.77 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.69 (dd, $J=8.4$ and 2.0 Hz, 1H), 7.62 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.53–7.44 (m, 5H), 7.41–7.39 (m, 1H), 7.38–7.28 (m, 3H), 7.24 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.20–7.18 (m, 1H), 6.18 (s, 1H), 5.98 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.37 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 5.30 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 5.29 (s, 2H), 5.03 (d, $J=14.0$ Hz, 1H), 4.90 (s, 2H), 4.41–4.35 (m, 1H), 4.23 (q, $J=6.8$ Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.62–3.57 (m, 3H), 3.48–3.42 (m, 12H), 3.30–3.28 (m, 1H), 3.22–3.17 (m, 3H), 3.10–3.07 (m, 5H), 3.04–2.93 (m, 2H), 2.68–2.55 (m, 1H), 2.46–2.33 (m, 2H), 2.26–2.11 (m, 4H), 2.10–1.96 (m, 5H), 1.78–1.63 (m, 2H), 1.60–1.53 (m, 1H), 1.47–1.35 (m, 2H), 1.32 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 0.88–0.81 (m, 9H) ppm.

20

30

【0 5 5 3】

実施例6：糖-PABリンカー-ペイロードLP3、LP4、およびLP7の合成 (スキーム6)

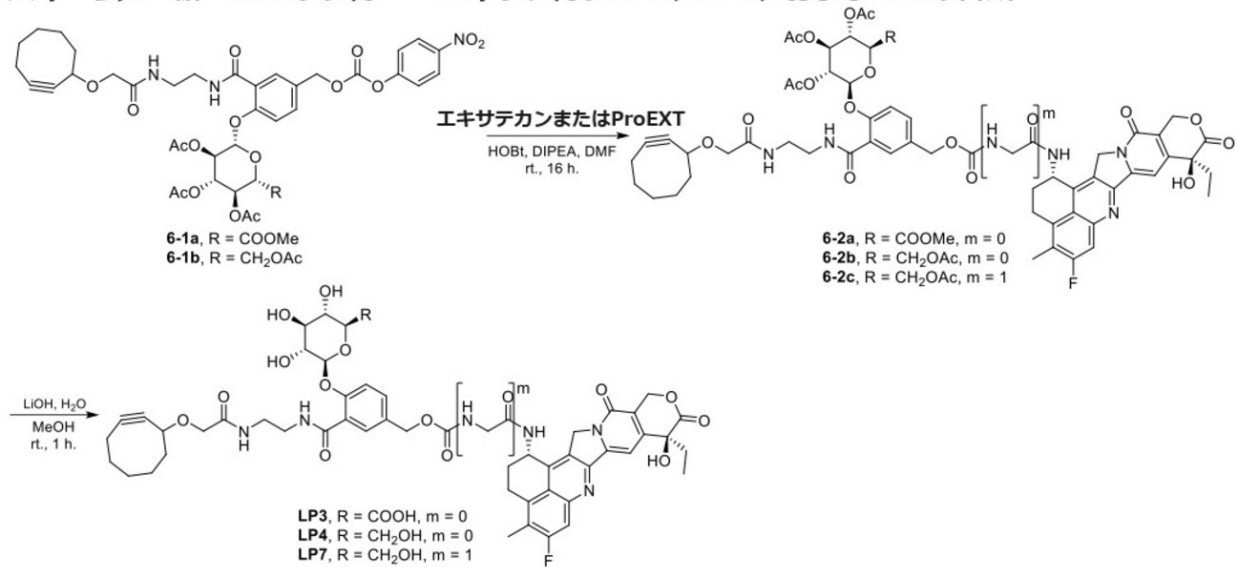
【0 5 5 4】

40

50

【化 1 1 5】

スキーム6. 糖-PABリンカー-エキサテカンLP3、LP4、およびLP7の合成



10

【0 5 5 5】

実施例 6 A : L P 3

20

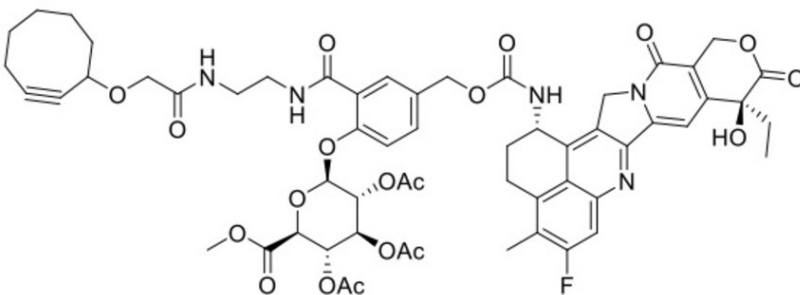
【0 5 5 6】

実施例 6 A - 1 : メチル (2 S , 3 S , 4 S , 5 R , 6 S) - 3 , 4 , 5 - トリス (アセチルオキシ) - 6 - [2 - ({ 2 - [2 - (シクロオクタ - 2 - イン - 1 - イルオキシ) アセトアミド] エチル } カルバモイル) - 4 - [({ [(1 0 S , 2 3 S) - 1 0 - エチル - 1 8 - フルオロ - 1 0 - ヒドロキシ - 1 9 - メチル - 5 , 9 - ジオキソ - 8 - オキサ - 4 , 1 5 - ジアザヘキサシクロ [1 4 . 7 . 1 . 0 ² , 1 4 . 0 ⁴ , 1 3 . 0 ⁶ , 1 1 . 0 ²⁰ , 2 ⁴] テトラコサ - 1 , 6 (1 1) , 1 2 , 1 4 , 1 6 , 1 8 , 2 0 (2 4) - ヘプタエン - 2 3 - イル] カルバモイル } オキシ) メチル] フェノキシ] オキサ - 2 - カルボキシレート (6 - 2 a) の合成

【0 5 5 7】

30

【化 1 1 6】



40

【0 5 5 8】

DMF (1 . 0 m L) 中の化合物 6 - 1 a (2 6 m g 、 3 0 μ m o l) の溶液に、メシル酸エキサテカン (1 6 m g 、 3 0 μ m o l) 、 H O B t (4 . 0 m g 、 3 0 μ m o l) 、 および D I P E A (7 . 7 m g 、 6 0 μ m o l) を添加した。反応混合物を 1 6 時間室温で攪拌し、これを L C M S によってモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (T F A 水溶液 (0 . 0 1 %) 中 0 ~ 1 0 0 % アセトニトリル) によって直接精製することで、化合物 6 - 2 a (1 8 m g 、 収率 5 2 %) を黄色の固形物として得た。 E S I m / z : 1 1 5 2 . 5 (M + H) ⁺ .

【0 5 5 9】

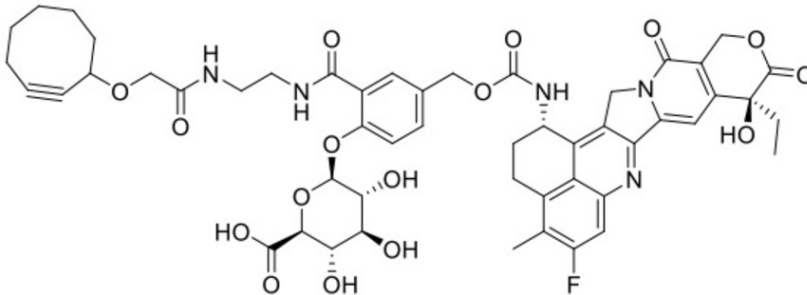
実施例 6 A - 2 : (2 S , 3 S , 4 S , 5 R , 6 S) - 6 - [2 - ({ 2 - [2 - (シ

50

クロオクタ-2-イン-1-イルオキシ) アセトアミド] エチル} カルバモイル) -4-[({ [(10S, 23S) -10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴] テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル] カルバモイル} オキシ) メチル] フェノキシ] -3, 4, 5-トリヒドロキソキサン-2-カルボン酸 (LP3) の合成

【0560】

【化117】



10

【0561】

メタノール (2 mL) 中の化合物 6-2a (22 mg、19 μmol) の混合物に、リチウムヒドロキシド-水和物 (7.2 mg、0.17 mmol) および水 (2 mL) を添加した。反応混合物を1時間25℃で攪拌し、これをLCMSによってモニタリングした。得られた混合物を塩酸水溶液 (1N) でpH3~4に酸性化し、その後、分取HPLC (TFA水溶液 (0.1%) 中5~95%アセトニトリル) により精製することで、LP3 (6.0 mg、収率28%、TFA塩) を白色の固形物として得た。ESI m/z: 1012.5 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.56 (s, 1H), 8.09 (d, J=9.2 Hz, 1H), 7.98-7.92 (m, 1H), 7.79-7.76 (m, 2H), 7.54-7.52 (m, 1H), 7.34 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.52 (br s, 1H), 5.66 (br s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.28 (s, 3H), 5.15-5.06 (m, 3H), 4.89 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.88-3.71 (m, 2H), 3.25-3.05 (m, 9H), 2.38-2.33 (m, 4H), 2.23-2.01 (m, 6H), 1.98-1.79 (m, 4H), 1.74-1.65 (m, 2H), 1.65-1.46 (m, 2H), 1.28 (m, 1H), 0.88 (t, J=7.2 Hz, 3H) ppm. (酸のプロトンは明らかにされなかった。)

20

30

【0562】

実施例6B: LP4

【0563】

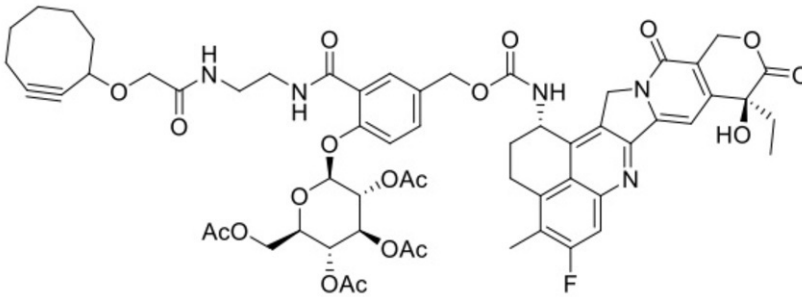
実施例6B-1: [(2R, 3R, 4S, 5R, 6S) -3, 4, 5-トリス (アセチルオキシ) -6-[2-({2-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ) アセトアミド] エチル} カルバモイル) -4-[({ [(10S, 23S) -10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴] テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル] カルバモイル} オキシ) メチル] フェノキシ] オキサン-2-イル] メチルアセテート (6-2b) の合成

40

【0564】

50

【化 1 1 8】



【0 5 6 5】

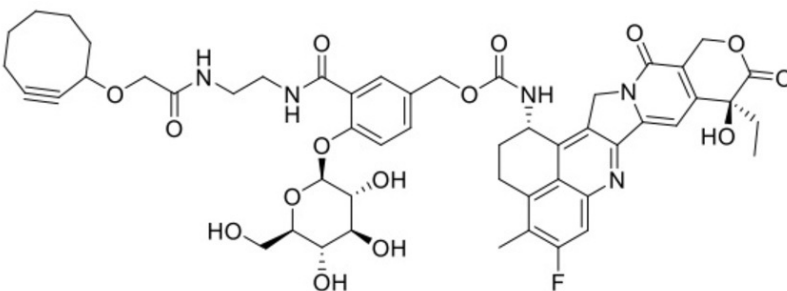
DMF (3.0 mL) 中の化合物 6-1b (55 mg、63 μmol) の溶液に、メシル酸エキサテカン (34 mg、63 μmol)、HOBt (8.5 mg、63 μmol)、および DIPEA (16 mg、0.13 mmol) を添加し、反応混合物を 16 時間室温で攪拌し、これを LCMS によってモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA 水溶液 (0.1%) 中 0~100% アセトニトリル) によって直接精製することで、化合物 6-2b (34 mg、収率 46%) を黄色の固形物として得た。ESI m/z : 1166.5 ($M+H$)⁺.

【0 5 6 6】

実施例 6B-2: [3-({2-[2-(シクロオクター-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]エチル}カルバモイル)-4-{[(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)オキサン-2-イル]オキシ}フェニル]メチル N-[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサー1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバメート (LP4) の合成

【0 5 6 7】

【化 1 1 9】



【0 5 6 8】

メタノール (2 mL) 中の化合物 6-2b (15 mg、13 μmol) の混合物に、リチウムヒドロキシド-水和物 (4.9 mg、0.12 mmol) および水 (2 mL) を添加した。反応混合物を 1 時間 15°C で攪拌し、これを LCMS によってモニタリングした。得られた混合物を塩酸水溶液 (1 N) で pH 3~4 に酸性化し、その後、分取 HPLC (ギ酸水溶液 (0.1%) 中 5~95% アセトニトリル) により精製することで、LP4 (4.0 mg、収率 31%) を黄色の固形物として得た。ESI m/z : 998.2 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.49-8.43 (m, 4H), 8.10 (d, J=8.8 Hz, 1H), 7.83-7.72 (m, 3H), 7.54 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.37 (d, J=8.8 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.78 (br s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.33-5.28 (m, 4H), 5.16-5.08 (m, 3H), 4.

9.1 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.68 (br s, 1H), 4.28–4.23 (m, 1H), 3.88–3.72 (m, 4H), 3.20–2.94 (m, 3H), 2.38–2.33 (m, 4H), 2.17–1.97 (m, 8H), 1.96–1.68 (m, 6H), 1.56–1.38 (m, 3H), 0.88 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H) ppm.

【0569】

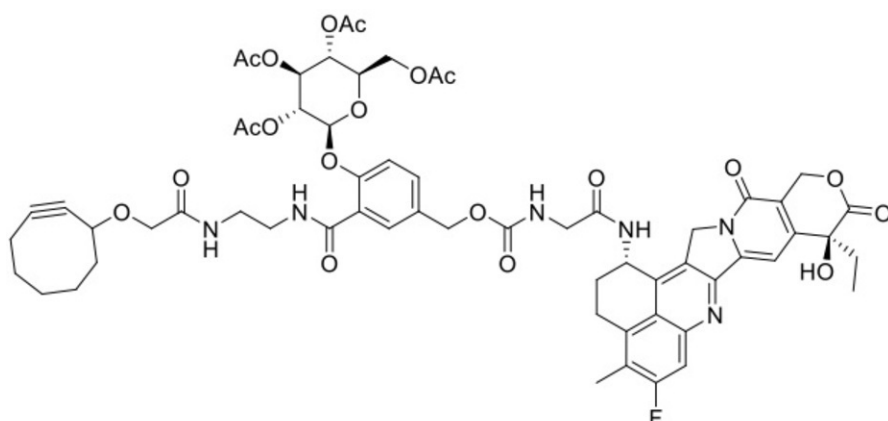
実施例3C：LP7

【0570】

実施例3C-1：[(2R, 3R, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-トリス(アセチルオキシ)-6-[2-({2-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]エチル}カルバモイル)-4-({ [(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル}カルバモイル}メチル)カルバモイル]オキシ}メチル)フェノキシ]オキサン-2-イル]メチルアセテート(4-2c)の合成

【0571】

【化120】



【0572】

DMF (1.0 mL) 中の化合物 6-1b (31 mg、36 μ mol) の溶液に、P2 (17 mg、36 μ mol)、HOBt (5.0 mg、36 μ mol)、および DIPEA (9.2 mg、71 mmol) を添加し、反応混合物を2時間室温で攪拌し、これを LCMS によってモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA 水溶液 (0.01%) 中 0~100% アセトニトリル) によって精製することで、化合物 6-2c (43 mg、収率 88%) を黄色の固形物として得た。ESI m/z : 1223.5 ($M+H$)⁺, 1245.5 ($M+Na$)⁺.

【0573】

実施例3C-2：[3-({2-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]エチル}カルバモイル)-4-{ [(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)オキサン-2-イル]オキシ}フェニル}メチルN-({ [(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}メチル)カルバメート(LP7)の合成

【0574】

10

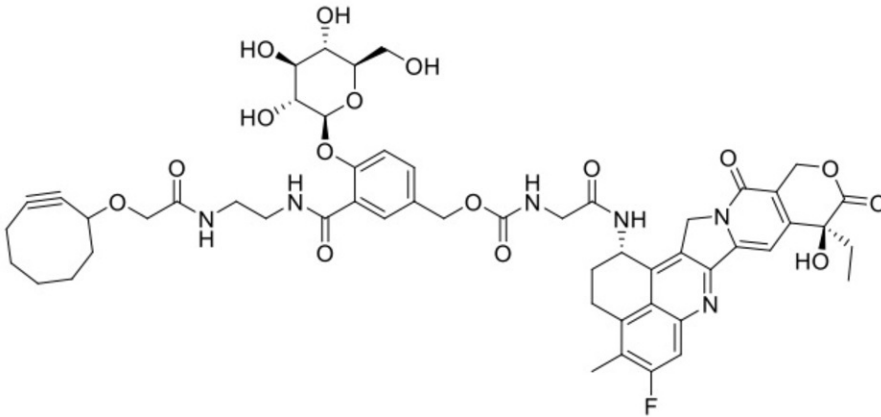
20

30

40

50

【化 1 2 1】



10

【0 5 7 5】

メタノール（2 mL）中の化合物 6-2c（43 mg、35 μmol ）の混合物に、水酸化リチウム水溶液（0.16 mM、2 mL）を添加し、反応混合物を 2 時間 15 $^{\circ}\text{C}$ で攪拌し、これを LCMS によりモニタリングした。得られた混合物を塩酸水溶液（1 N）で pH 3 ~ 4 に酸性化し、その後、分取 HPLC（TFA 水溶液（0.1%）中 5 ~ 95% アセトニトリル）により精製することで、LP7（9.8 mg、収率 57%）を白色の固形物として得た。ESI m/z : 1055.5 ($M+H$)⁺.

20

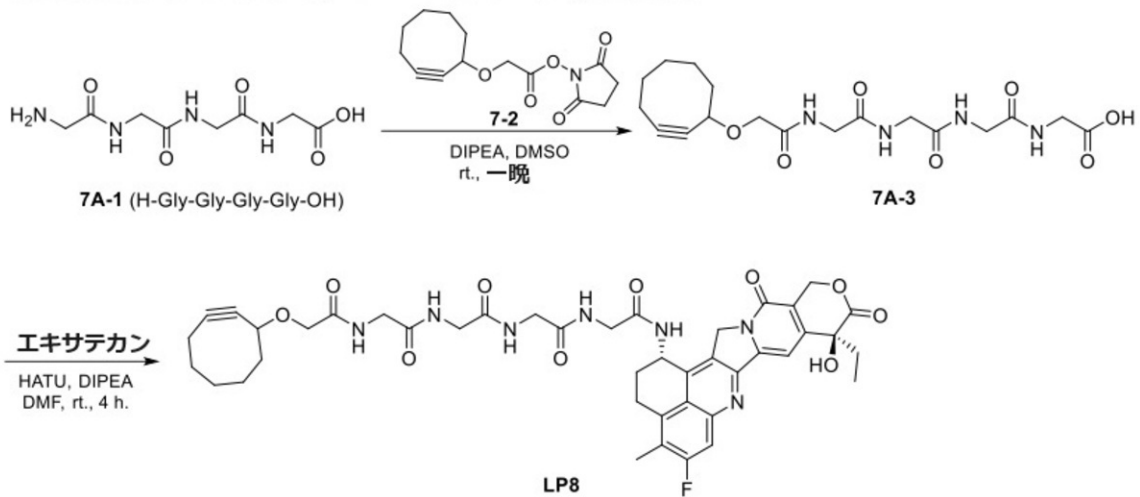
【0 5 7 6】

実施例 7：ペプチドリinker-ペイロード LP8 の合成（スキーム 7A および 7B）

【0 5 7 7】

【化 1 2 2】

スキーム 7A. ペプチドリinker-ペイロードの合成 A



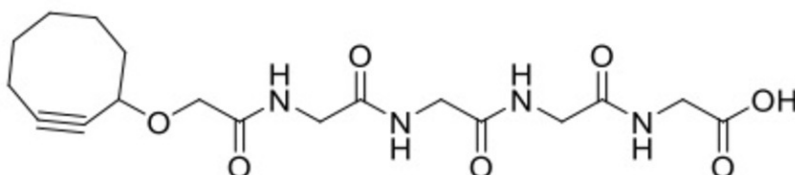
30

【0 5 7 8】

実施例 7A：2-[2-(2-{2-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]アセトアミド}アセトアミド)アセトアミド]酢酸（7A-3）の合成

【0 5 7 9】

【化 1 2 3】



50

【0580】

DMSO (2 mL) 中の化合物 7-2 (0.10 g、0.37 mmol) の溶液に、ペプチド 7A-1 (H-Gly-Gly-Gly-Gly-OH、90 mg、0.37 mmol) および DIPEA (94 mg、0.73 mmol) を添加し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA 水溶液 (0.01%) 中 5~95% アセトニトリル) によって直接精製することで、化合物 7A-3 (23 mg、収率 15%) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 411.2 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.23–8.07 (m, 3H), 7.83 (t, $J=5.7$ Hz, 1H), 4.33 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 3.93 (d, $J=14.9$ Hz, 1H), 3.77 (m, 9H), 2.25–2.04 (m, 3H), 1.98–1.84 (m, 2H), 1.82–1.71 (m, 2H), 1.59 (s, 2H), 1.40 (m, 1H) ppm. (TFA のプロトンは観察されなかった)。

10

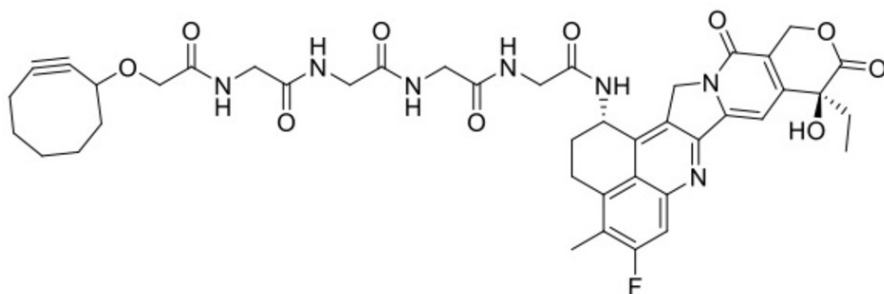
【0581】

実施例 7B: 2-(2-{2-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]アセトアミド}アセトアミド)-N-({[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}メチル)アセトアミド (LP8) の合成

20

【0582】

【化124】



30

【0583】

乾燥 DMF (3 mL) 中の化合物 7A-3 (12 mg、29 μ mol) の溶液に、HATU (17 mg、44 μ mol) および DIPEA (12 mg、88 μ mol) を添加し、混合物を室温で 10 分間攪拌した後、エキサテカン (13 mg、29 μ mol) を添加した。エキサテカンが LCMS によって完全に消費されるまで、反応混合物を 4 時間室温で攪拌した。得られた混合物を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0.01%) 中 0~100% アセトニトリル) によって直接精製することで、リンカー-ペイロード LP8 (11 mg、収率 39%、TFA 塩) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 828.5 ($M+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.40 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 8.18–8.09 (m, 3H), 7.84–7.77 (m, 2H), 7.32 (s, 1H), 5.62–5.52 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.23 (d, $J=3.7$ Hz, 2H), 4.31 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 3.92 (d, $J=14.7$ Hz, 1H), 3.82–3.63 (m, 9H), 3.18–3.16 (m, 2H), 2.41 (s, 3H), 2.23–2.09 (m, 5H), 1.93–1.75 (m, 6H), 1.60–1.53 (m, 2H), 1.24 (s, 2H), 0.87 (t, $J=7.3$ Hz, 3H) ppm.

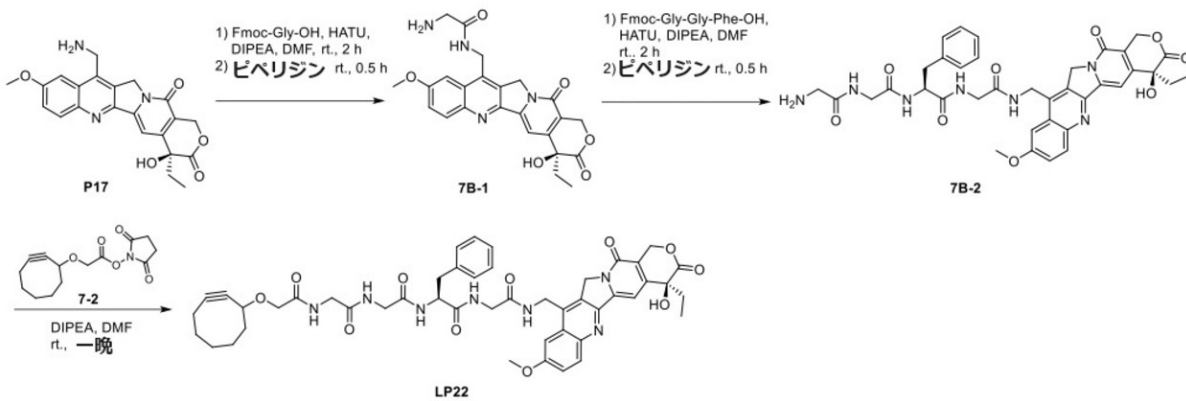
40

【0584】

50

【化 1 2 5】

スキーム 7 B. ペプチドリンカー-ペイロードの合成 B



10

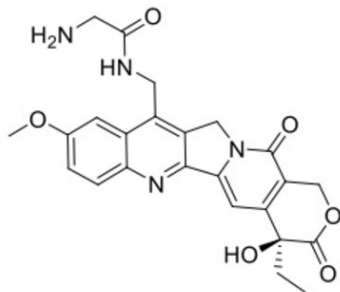
【0 5 8 5】

実施例 7 C: 2-アミノ-N- { [(19S) - 19-エチル-19-ヒドロキシ-7-メトキシ-14, 18-ジオキソ-17-オキサ-3, 13-ジアザペンタシクロ [11.8.0.0², 11.0⁴, 9.0¹⁵, 20] ヘニコサ-1 (21), 2, 4, 6, 8, 10, 15 (20)-ヘプタエン-10-イル] メチル} アセトアミド (7B-1) の合成

20

【0 5 8 6】

【化 1 2 6】



30

【0 5 8 7】

DMF (5.0 mL) 中の Fmoc-Gly-OH (37 mg、0.13 mmol) の溶液に、DIPEA (0.04 mL、0.25 mmol)、HATU (56 mg、0.15 mmol) を添加し、反応混合物を 15 分間室温で攪拌した後、ペイロード P17 (50 mg、0.12 mmol) を添加した。その後、P17 が完全に消費されるまで混合物を一晩室温で攪拌し、これを LCMS によりモニタリングした。その後、混合物にピペリジン (0.3 mL) を添加し、LCMS によって Fmoc が完全に除去されるまで、得られた混合物を室温で 30 分間攪拌した。混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA 水溶液 (0.01%) 中 0~100% アセトニトリル) によって直接精製することで、7B-1 (35 mg、収率 61%、TFA 塩) を黄色の固形物として得た。ESI m/z: 465.2 (M+H)⁺。

40

【0 5 8 8】

実施例 7 D: (2S) - 2 - [2 - (2-アミノアセトアミド) アセトアミド] - N - [({ [(19S) - 19-エチル-19-ヒドロキシ-7-メトキシ-14, 18-ジオキソ-17-オキサ-3, 13-ジアザペンタシクロ [11.8.0.0², 11.0⁴, 9.0¹⁵, 20] ヘニコサ-1 (21), 2, 4, 6, 8, 10, 15 (20)-ヘプタエン-10-イル] メチル} カルバモイル) メチル] - 3-フェニルプロパンアミド (7B-2) の合成

【0 5 8 9】

50

CC1(C)OC(=O)C2=C(C1)C(=O)N(C2)Cc3cnc4cc(OC)ccc4c3CNC(=O)CCNC(=O)N[C@@H](Cc5ccccc5)C(=O)CCNC(=O)CCN

20

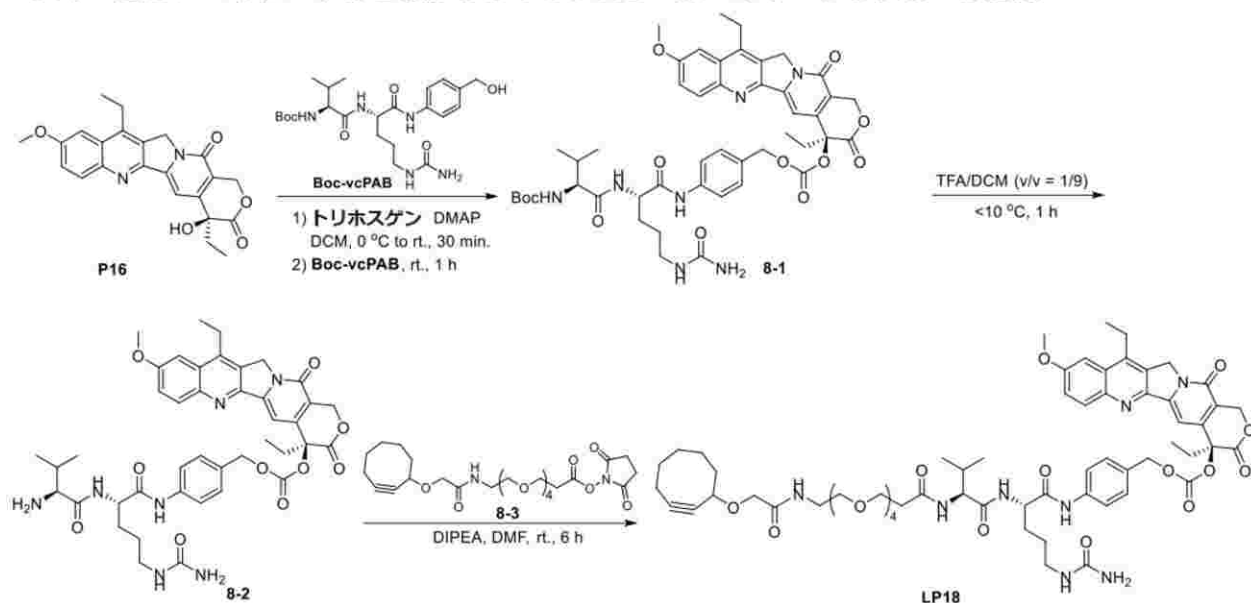
COC1=CC=C2C(=C1)N=C3C(=C2)C(=C4C(=O)N(C(=O)O[C@H]4C)C)C(=O)NCC(=O)N[C@@H](C(=O)NCC(=O)NCC(=O)OCC5=CC=CC=C5)C(=O)NCC(=O)OCC6=CC=CC=C6

40

【 0 5 9 5 】

【化 1 2 9】

スキーム8. ペイロードのE環からのvcPAB-カーボネートリンカーの合成



10

【0596】

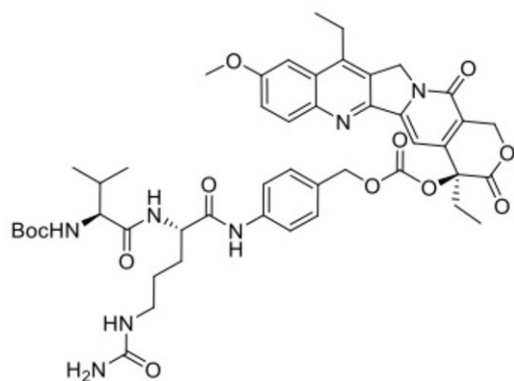
20

実施例 8 A : { 4 - [(2 S) - 2 - [(2 S) - 2 - { [(t e r t - ブトキシ) カルボニル] アミノ } - 3 - メチルブタンアミド] - 5 - (カルバモイルアミノ) ペンタンアミド] フェニル } メチル (1 9 S) - 1 0 , 1 9 - ジエチル - 7 - メトキシ - 1 4 , 1 8 - ジオキソ - 1 7 - オキサ - 3 , 1 3 - ジアザペンタシクロ [1 1 . 8 . 0 . 0 ² , 1 ¹ . 0 ⁴ , 9 . 0 ¹⁵ , 2 ⁰] ヘニコサ - 1 (2 1) , 2 , 4 , 6 , 8 , 1 0 , 1 5 (2 0) - ヘプタエン - 1 9 - イルカーボネート (8 - 1) の合成

【0597】

【化 1 3 0】

30



【0598】

40

乾燥 DCM (1 8 m L) 中の化合物 P 1 6 (0 . 1 2 g 、 0 . 3 0 m m o l) および DMAP (0 . 1 1 g 、 0 . 9 0 m m o l) の懸濁液を氷水中で冷却した。懸濁液に、乾燥 DCM (2 m L) 中のトリホスゲン (4 5 m g 、 0 . 1 5 m m o l) の溶液を 1 0 分間かけて滴下した。添加すると、黄色の懸濁液は透明になった。反応溶液を 2 0 分間室温で攪拌した後、クロロホルメート中間体が形成され、これを TLC によりモニタリングした (反応溶液のアリコート乾燥メタノールでクエンチし、その後、MeOH / DCM、v / v = 1 / 1 5 での TLC e l e n t i n g により出発 P 1 6 と移動度を比較した。クロロホルメート中間体の炭酸メチルは、R_f 0 . 7 5 であり、P 1 6 は R_f 0 . 5 である) 。その後、反応混合物に Boc - vcPAB (0 . 1 4 g 、 0 . 3 0 m m o l) を添加し、混合物を 2 0 分間室温で攪拌し、これを LCMS によりモニタリングした。得られた溶

50

液を 30℃未満に真空中で濃縮し、残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー（TFA 水溶液（0.01%）中 0～65%アセトニトリル）によって精製することで、化合物 8-1（0.15 g、収率 56%）を白色の固形物として得た。ESI m/z : 812（ $M-Boc+H$ ）⁺, 406.7（断片, $M_{P16}+H$ ）⁺.

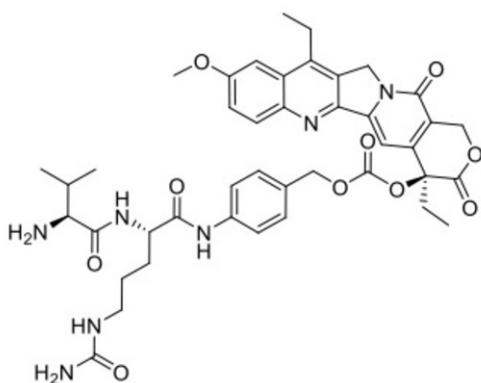
【0599】

実施例 8B: {4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル(19S)-10, 19-ジエチル-7-メトキシ-14, 18-ジオキソ-17-オキサ-3, 13-ジアザペンタシクロ[11.8.0.0², 11.0⁴, 9.0¹⁵, 20]ヘニコサー1(21), 2, 4, 6, 8, 10, 15(20)-ヘプタエン-19-イルカーボネート(8-2)の合成

10

【0600】

【化131】



20

【0601】

DCM（9 mL）中の 8-1（90 mg、98 μmol ）の冷却した（<10℃）混合物に TFA（1 mL）を添加し、得られた透明な黄色溶液を、LCMS によって Boc が除去されるまで 10℃未満で 1 時間攪拌した。その後、反応溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で pH 6.0 にクエンチした後、揮発物質を真空中で除去した。残った水溶性の混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー（TFA 水溶液（0.01%）中 0～70%アセトニトリル）によって精製することで、化合物 8-2（58 mg、収率 73%）を黄色の固形物として得た。ESI m/z : 812.3（ $M+H$ ）⁺.

30

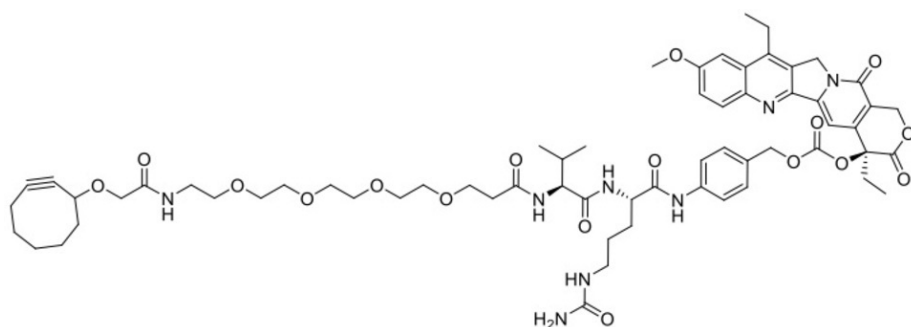
【0602】

実施例 8C: {4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-3, 6, 9, 12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メチル(19S)-10, 19-ジエチル-7-メトキシ-14, 18-ジオキソ-17-オキサ-3, 13-ジアザペンタシクロ[11.8.0.0², 11.0⁴, 9.0¹⁵, 20]ヘニコサー1(21), 2, 4, 6, 8, 10, 15(20)-ヘプタエン-19-イルカーボネート(LP18)の合成

40

【0603】

【化 1 3 2】



10

【0604】

乾燥DMF（2 mL）中の化合物8-2（20 mg、25 μ mol）の黄色溶液に、DIPEA（9.5 mL、74 μ mol）および8-3（13 mg、25 μ mol）を添加し、出発物質8-2がほぼ消費されるまで反応溶液を6時間室温で攪拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー（TFA水溶液（0.01%）中0~70%アセトニトリル）によって直接精製することで、リンカー-パイロードLP18（18 mg、収率60%）を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z: 612.5 (M/2+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.03 (s, 1H), 8.14 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.11 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 8.4 Hz, 3H), 7.56–7.51 (m, 2H), 7.30 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.97 (s, 1H), 6.00 (br s, 1H), 5.52 (s, 2H), 5.34 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 5.09 (q, J = 12 Hz, 2H), 4.40–4.35 (m, 1H), 4.29–4.22 (m, 2H), 4.00 (s, 3H), 3.87 (d, J = 14.8 Hz, 1H), 3.75 (d, J = 14.8 Hz, 1H), 3.62–3.57 (m, 2H), 3.50–3.48 (m, 16H), 3.27–3.19 (m, 4H), 3.04–2.91 (m, 2H), 2.46–2.33 (m, 2H), 2.25–2.06 (m, 5H), 2.03–1.66 (m, 6H), 1.61–1.56 (m, 3H), 1.45–1.36 (m, 3H), 1.32 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.92–0.81 (m, 9H) ppm. (TFAのプロトンは観察されなかった). ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -73 ppm.

20

30

【0605】

実施例9：リンカー-パイロードLP13、LP14、およびLP15の合成（スキーム9）

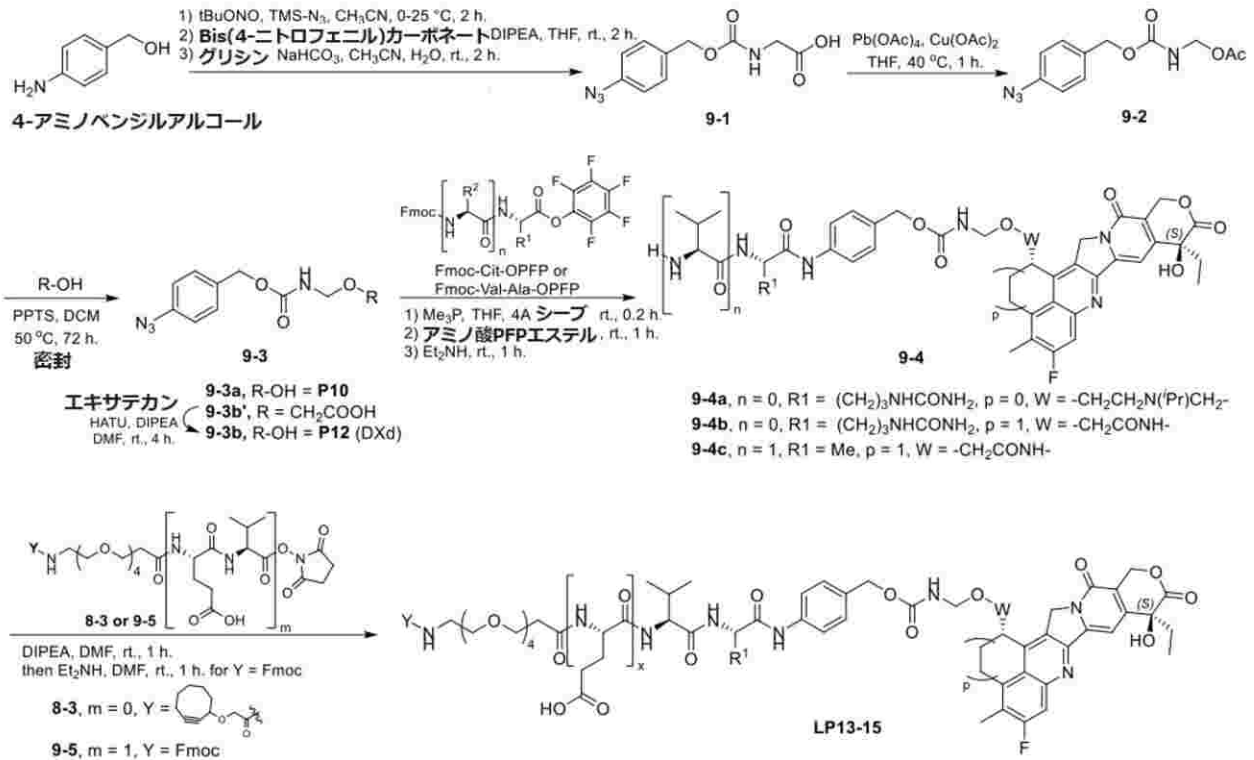
【0606】

40

50

【化 1 3 3】

スキーム9.リンカー-ペロテカンLP13、ならびにリンカー-DXd LP14およびLP15の合成



10

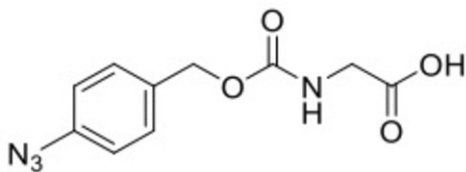
20

【0 6 0 7】

実施例 9 A - 1 : 2 - ({ [(4 - アジドフェニル) メトキシ] カルボニル } アミノ) 酢酸 (9 - 1) の合成

【0 6 0 8】

【化 1 3 4】



30

【0 6 0 9】

アセトニトリル (6 0 0 m L) 中の 4 - アミノベンジルアルコール (1 0 g 、 8 1 m m o l) およびアジド (トリメチル) シラン (1 1 g 、 9 7 m m o l 、 1 3 m L) の溶液に、亜硝酸 t e r t - ブチル (1 3 g 、 0 . 1 2 m o l 、 1 5 m L) を 0°C で滴下した。混合物を室温で 2 時間攪拌した後、 THF (3 0 0 m L) 中のビス (4 - ニトロフェニル) カーボネート (3 2 g 、 0 . 1 1 m o l) および DIPEA (2 1 g 、 0 . 1 6 m o l 、 2 8 m L) の溶液を添加し、混合物を 1 2 時間室温で攪拌し、これを TLC (石油エーテル中 2 5 % 酢酸エチル) によってモニタリングした。揮発物質を真空中で除去し、残渣をアセトニトリル (5 0 0 m L) に溶解した。溶液にグリシン (1 5 g 、 0 . 2 0 m o l) および重炭酸ナトリウム水溶液 (0 . 8 M 、 2 5 0 m L 、 0 . 2 m o l) を滴下し、混合物を 1 6 時間室温で攪拌し、これを TLC (石油エーテル中 2 5 % 酢酸エチル) によりモニタリングした。得られた混合物を酢酸エチル (1 5 0 m L $\times$ 6) で洗浄した。水溶液を濃縮 HCl で pH 2 ~ 3 に酸性化し、その後、酢酸エチル (1 5 0 m L $\times$ 3) で抽出した。合わせた有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、真空中で濃縮することで、9 - 1 (1 3 g , 収率 6 1 %) を褐色の固形物として得て、これをそれ以上精製することなく次の工程で使用した。 ^1H NMR (4 0 0 M H z , MeOD-d_4) δ 7 . 4 6 - 7 .

40

50

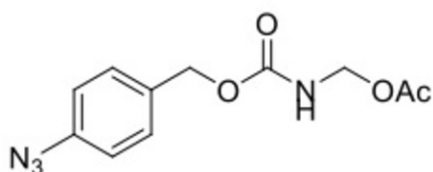
3.4 (m, 2H), 7.12–6.97 (m, 2H), 5.08 (s, 2H), 3.83 (s, 2H) ppm.

【0610】

実施例9A-2: ({ [(4-アジドフェニル) メトキシ] カルボニル } アミノ) メチルアセテート (9-2)

【0611】

【化135】



10

【0612】

THF (150 mL) 中の化合物 9-1 (13 g、51 mmol) の溶液に、酢酸鉛 (45 g、0.10 mol) および二酢酸銅 (0.93 g、5.1 mmol) を添加し、反応混合物を1時間40℃で攪拌し、これをTLC (石油エーテル中25%酢酸エチル) でモニタリングした。反応物を水 (200 mL) でクエンチし、酢酸エチル (200 mL × 2) で抽出した。合わせた有機溶液をブライン (150 mL × 2) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (石油エーテル中0~25%酢酸エチル) により精製することで、化合物 9-2 (7.8 g、収率55%) を黄色の油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 (br d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.03 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.93 (br s, 1H), 5.21 (br d, J = 7.5 Hz, 2H), 5.11 (s, 2H), 2.07 (s, 3H) ppm.

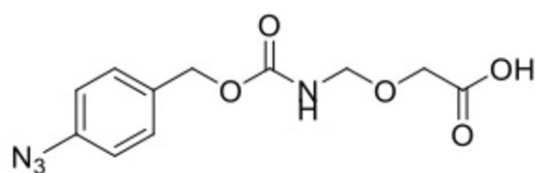
20

【0613】

実施例9A-3: 2- [({ [(4-アジドフェニル) メトキシ] カルボニル } アミノ) メトキシ] 酢酸 (9-3b') の合成

【0614】

【化136】



30

【0615】

DCM (3 mL) 中の 9-2 (0.20 g、0.76 mmol) の溶液に、PPTS (38 mg、0.15 mmol) およびヒドロキシ酢酸 (0.17 g、2.3 mmol) を添加し、反応混合物を密閉管中16時間50℃で攪拌し、これをLCMSによってモニタリングした。得られた混合物を冷却し、揮発物質を真空中で除去した。残渣を分取HPLC (TFA水溶液 (0.01%) 中0~100%アセトニトリル) によって精製することで、化合物 9-3b' (0.10 g、収率47%) を黄色の固形物として得た。ESI m/z: 303 (M + Na)⁺.

40

【0616】

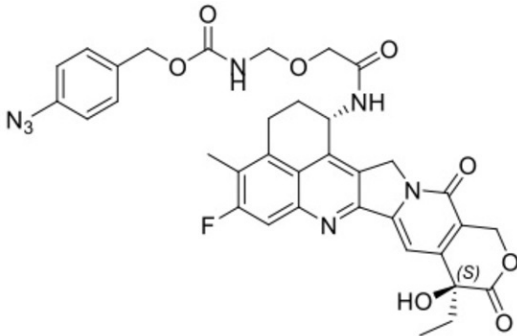
実施例9A-4: (4-アジドフェニル) メチル N- [({ [(10S, 23S) -10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14.7.1.0², 1⁴.0⁴, 1³.0⁶, 1¹.0²⁰, 2⁴] テトラコサー-1, 6 (11), 12, 14, 16, 18, 20 (24) -ヘプタエン-23-イル] カルバモイル } メトキシ) メチル] カルバメート (9

50

－ 3 b) の合成

【 0 6 1 7 】

【 化 1 3 7 】



10

【 0 6 1 8 】

乾燥 DMF (1 . 5 m L) 中の化合物 9 - 3 b ' (5 0 m g 、 0 . 1 3 m m o l) および DIPEA (4 9 m g 、 0 . 3 8 m m o l) の黄色溶液に、HATU (5 9 m g 、 0 . 1 5 m m o l) を添加し、混合物を室温で 3 0 分間撹拌した後、エキサテカン (6 0 m g 、 0 . 1 1 m m o l) を添加した。反応混合物を 2 時間室温で撹拌し、これを LCMS によってモニタリングした。得られた混合物を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0 . 0 1 %) 中 5 ~ 9 5 % アセトニトリル) によって直接分離させることで、化合物 9 - 3 b (5 8 m g 、 収率 6 5 %) を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z : 698 (M + H) ⁺ .

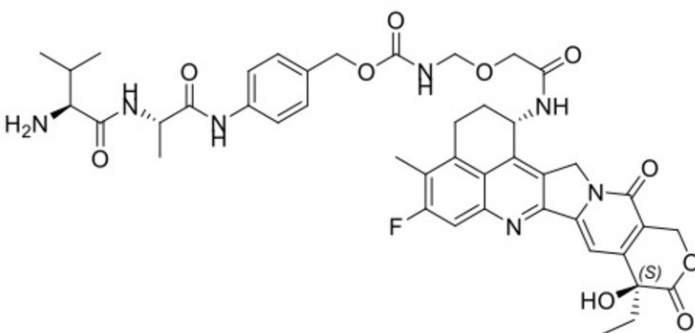
20

【 0 6 1 9 】

実施例 9 A - 5 : { 4 - [(2 S) - 2 - [(2 S) - 2 - アミノ - 3 - メチルブタンアミド] プロパンアミド] フェニル } メチル N - [({ [(1 0 S , 2 3 S) - 1 0 - エチル - 1 8 - フルオロ - 1 0 - ヒドロキシ - 1 9 - メチル - 5 , 9 - ジオキソ - 8 - オキサ - 4 , 1 5 - ジアザヘキサシクロ [1 4 . 7 . 1 . 0 ² , 1 4 . 0 ⁴ , 1 3 . 0 ⁶ , 1 1 . 0 ²⁰ , 2 ⁴] テトラコサ - 1 , 6 (1 1) , 1 2 , 1 4 , 1 6 , 1 8 , 2 0 (2 4) - ヘプタエン - 2 3 - イル] カルバモイル } メトキシ) メチル] カルバメート (9 - 4 c) の合成

【 0 6 2 0 】

【 化 1 3 8 】



30

40

【 0 6 2 1 】

撹拌子および THF (3 m L) を充填した 2 5 m L バイアルに、9 - 3 b (4 2 m g 、 5 2 μ m o l) 、 4 A モレキュラーシーブ (0 . 5 0 g) 、その後、トリメチルホスフィン (0 . 1 6 m L 、 0 . 1 6 m m o l) を添加した。反応混合物を 5 分間撹拌した後、Fmoc - Val - Ala - OPFP (3 3 m g 、 5 7 μ m o l) を添加した。反応混合物を 3 0 分間、窒素雰囲気下にて室温で撹拌し、これを LCMS によってモニタリングした。得られた混合物を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0 . 0 1 %) 中 5 ~ 9 5 % アセトニトリル) によって直接分離させることで、Fmoc - 9 - 4 c (5 3 m g 、 TFA 塩) を淡黄色の固形物として得て、これを乾燥 DMF (1 m L) に溶解させた。溶液にジエチルア

50

ミン (0.1 mL) を添加した。LCMS によって Fmoc が完全に除去されるまで、反応混合物を 1 時間室温で撹拌した。得られた溶液を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0.01%) 中 5~95% アセトニトリル) によって直接分離させることで、化合物 9-4c (28 mg、収率 57%、TFA 塩) を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z: 422 (M/2+H)⁺.

【0622】

Fmoc-9-4c の NMR: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.03 (s, 1H), 8.48-8.29 (m, 1H), 8.26-8.11 (m, 1H), 7.89 (d, J=7.5 Hz, 2H), 7.79-7.72 (m, 3H), 7.70-7.52 (m, 2H), 7.44-7.41 (m, 3H), 7.34-7.25 (m, 3H), 7.20-7.17 (m, 2H), 6.54 (d, J=9.0 Hz, 1H), 5.59 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.21 (s, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.54 (d, J=6.5 Hz, 2H), 4.41-4.32 (m, 1H), 4.35-4.17 (m, 3H), 4.00 (s, 1H), 3.98-3.83 (m, 1H), 3.15 (s, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.18-2.11 (m, 3H), 2.09-1.95 (m, 2H), 1.93-1.71 (m, 2H), 1.30-1.14 (m, 6H), 0.89-0.77 (m, 9H) ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -73.45, -111.33 ppm.

10

【0623】

9-4c の NMR: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.20 (br, 1H), 8.84-8.67 (m, 1H), 8.46 (br s, 1H), 8.21 (br s, 2H), 8.06 (s, 2H), 7.80 (d, J=10.5 Hz, 1H), 7.65-7.50 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.23 (t, J=8.2 Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.22 (s, 1H), 4.88 (d, J=5.8 Hz, 2H), 4.60-4.45 (m, 3H), 4.00 (s, 1H), 3.61 (br s, 1H), 3.17 (br s, 1H), 2.93-2.90 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.33-2.06 (m, 2H), 1.93-1.76 (m, 2H), 1.34 (t, J=7.4 Hz, 3H), 1.16 (t, J=7.3 Hz, 3H), 0.97-0.93 (m, 6H), 0.85 (t, J=7.4 Hz, 3H) ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -73.44, -111.33 ppm.

20

30

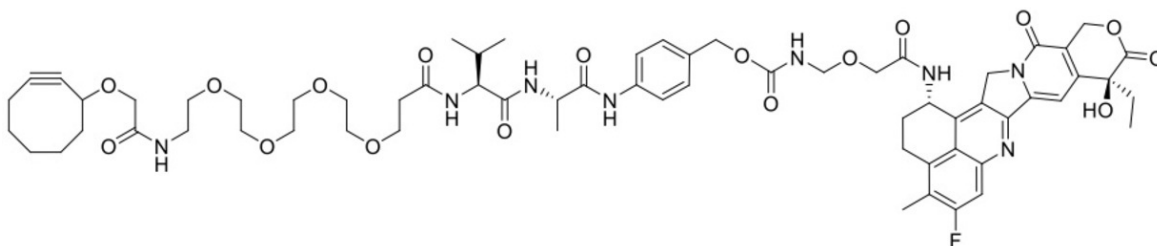
【0624】

実施例 9A-6: {4-[(2S)-2-[(2S)-2-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}-3-メチルブタンアミド]プロパンアミド]フェニル}メチルN-[(10S,23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5,9-ジオキソ-8-オキサ-4,15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0^{2,14}.0^{4,13}.0^{6,11}.0^{20,24}]テトラコサー-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}メトキシ}メチル]カルバメート(LP15)の合成

40

【0625】

【化139】



50

【0626】

乾燥DMF（1.5 mL）中の化合物8-3（14 mg、27 μ mol）の黄色溶液に、DIPEA（14 mg、0.11 mmol）および化合物9-4c（23 mg、24 μ mol）を添加し、反応混合物を1時間室温で攪拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC（ギ酸水溶液（0.1%）中5~95%アセトリル）によって直接分離させることで、リンカー-ペイロードLP15（9.0 mg、収率26%）を白色の固形物として得た。ESI m/z ：1253（M+H）⁺。¹H NMR（400 MHz，DMSO-d₆） δ 9.96（s，1H），8.45（m，1H），8.21（m，1H），7.89（d，J=8.6 Hz，1H），7.79（d，J=10.9 Hz，1H），7.66-7.52（m，3H），7.30（s，1H），7.25-7.19（m，2H），6.53（s，1H），5.59（s，1H），5.42（s，2H），5.22（s，2H），4.86（s，2H），4.54（d，J=6.7 Hz，2H），4.45-4.30（m，1H），4.29-4.08（m，2H），4.00（s，2H），3.87（d，J=14.8 Hz，1H），3.75（d，J=14.7 Hz，1H），3.58（d，J=6.2 Hz，2H），3.51-3.45（m，12H），3.44-3.40（m，2H），3.29-3.21（m，2H），3.16（br s，2H），2.45-2.36（m，5H），2.24-2.02（m，5H），2.02-1.70（m，7H），1.61-1.52（m，2H），1.44-1.22（m，5H），0.92-0.77（m，9H）ppm。¹⁹F NMR（376 MHz，DMSO-d₆） δ -111.33 ppm。

10

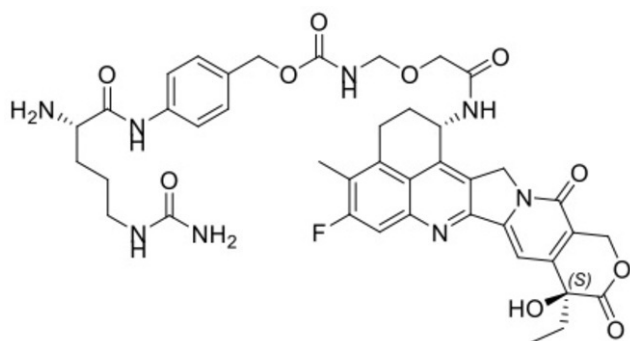
20

【0627】

実施例9B-1：{4-[(2S)-2-アミノ-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチルN-[({[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 24]テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}メトキシ)メチル]カルバメート(9-4b)の合成

【0628】

【化140】



30

【0629】

Fmoc-Val-Ala-OPFPの代わりにFmoc-Cit-OPFPを使用することを除けば9-4cと同様の手順に従って、化合物9-4b（41 mg、収率50%）を淡黄色の固形物として得た。ESI m/z ：829（M+H）⁺。

40

【0630】

実施例9B-2：(4S)-4-{ [(2S)-1-[(2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル)オキシ]-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル]カルバモイル}-4-[1-({ [(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ]カルボニル}アミノ)-3, 6, 9, 12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]ブタン酸(9-5)の合成

【0631】

50

C[C@H](C)C(=O)OSuNC(=O)[C@@H](CC(=O)O)NC(=O)COCCOCCOCCOCCOCCOCCNc1ccc2ccccc12

10

10

20

20

30

40

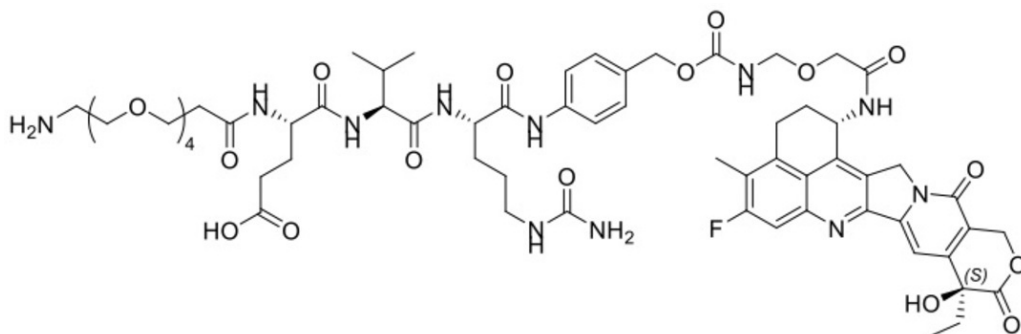
50

実施例 9B-3: (4S)-4-(1-アミノ-3, 6, 9, 12-テトラオキサペン
タデカン-15-アミド)-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイル
アミノ)-1-(4-{[(1S)-1-{[(1S)-10-エチル-18-フル
オロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキサ-8-オキサ-4, 15-ジ
アザヘキサシクロ[14.7.1.0².1⁴.0⁴.1³.0⁶.1¹.0²⁰.2⁴]

テトラコサー１，６（１１），１２，１４，１６，１８，２０（２４）－ヘプタエン－２
３－イル］カルバモイル}メトキシ)メチル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニル
}カルバモイル)ブチル]カルバモイル}－２－メチルプロピル]カルバモイル}ブタン
酸（９－６ｂ）の合成

【０６３６】

【化１４２】



10

【０６３７】

中間体８－３の代わりに化合物９－５を使用し、９－４ｃの代わりに９－４ｂを使用す
ることを除けばＬＰ１５と同様の手順に従って、Ｆｍｏｃ－９－６ｂ（２６ｍｇ）を淡黄
色の固形物として得て、これをＤＭＦ（２ｍＬ）に溶解させた。溶液にジエチルアミン（
０．２ｍＬ）を添加し、ＬＣＭＳによってＦｍｏｃが完全に除去されるまで、反応混合物
を１時間室温で攪拌した。混合物を分取ＨＰＬＣ（ＴＦＡ水溶液（０．０１％）中５～９
５％アセトニトリル）によって直接分離させることで、９－６ｂ（１３ｍｇ、収率２０％
）を白色の固形物として得た。ＥＳＩ m/z ：６５３（ $M+H$ ）⁺。

20

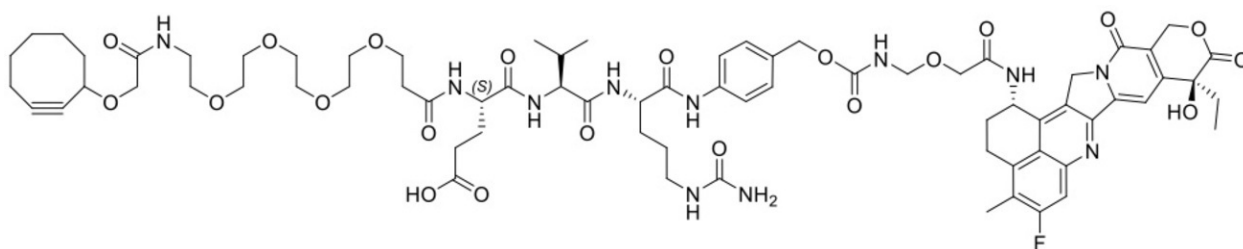
【０６３８】

実施例９Ｂ－４：（４Ｓ）－４－{[(１Ｓ）－１－{[(１Ｓ）－４－（カルバモイ
ルアミノ）－１－（{４－[（{[(１０Ｓ，２３Ｓ）－１０－エチル－１８－フ
ルオロ－１０－ヒドロキシ－１９－メチル－５，９－ジオキサ－８－オキサ－４，１５－
ジアザヘキサシクロ[１４．７．１．０^２，１４．０^４，１３．０^６，１１．０^２_０，２^４
]テトラコサー１，６（１１），１２，１４，１６，１８，２０（２４）－ヘプタエン－
２３－イル]カルバモイル}メトキシ)メチル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニ
ル}カルバモイル)ブチル]カルバモイル}－２－メチルプロピル]カルバモイル}－４
－{１－[２－（シクロオクタ－２－イン－１－イルオキシ）アセトアミド]－３，６，
９，１２－テトラオキサペンタデカン－１５－アミド}ブタン酸（ＬＰ１４）の合成

30

【０６３９】

【化１４３】



40

【０６４０】

乾燥ＤＭＦ（１ｍＬ）中の化合物７－３（３．３ｍｇ、１２μｍｏｌ）の黄色溶液に、
ＤＩＰＥＡ（２．６ｍｇ、２０μｍｏｌ）および化合物９－６ｂ（１３ｍｇ、１０μｍｏ
ｌ）を添加し、反応混合物を１時間室温で攪拌し、これをＬＣＭＳによりモニタリングし
た。得られた混合物を分取ＨＰＬＣ（ギ酸水溶液（０．１％）中５～９５％アセトニトリ
ル）によって直接分離させることで、リンカー－ペイロードＬＰ１４（４．５ｍｇ、収率

50

31%)を白色の固形物として得た。ESI m/z : 735 ($M/2 + H$)⁺.

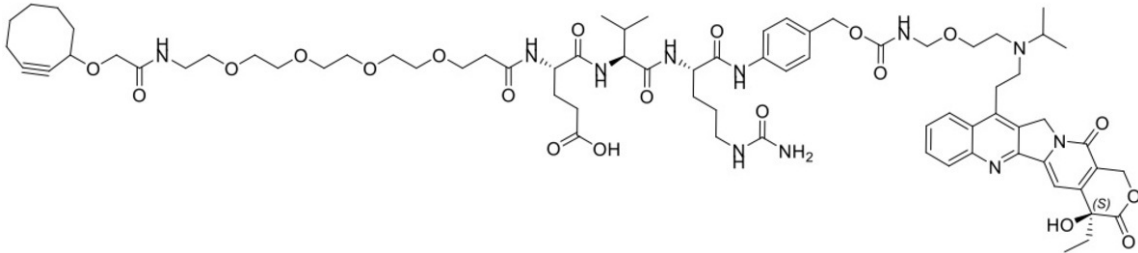
【0641】

実施例9C-1: (4S)-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[(1S)-2-(2-{[(19S)-19-エチル-19-ヒドロキシ-14,18-ジオキソ-17-オキサ-3,13-ジアザペンタシクロ[11.8.0.0²,11.0⁴,9.0¹⁵,2⁰]ヘニコサ-1(21),2,4,6,8,10,15(20)-ヘプタエン-10-イル]エチル}(プロパン-2-イル)アミノ)エトキシ]メチル}カルバモイル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-4-{1-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}ブタン酸(LP13)の合成

10

【0642】

【化144】



20

【0643】

ヒドロキシ酢酸の代わりにP10を使用することを除けばLP14と同様の手順に従って、リンカー-ペイロードLP13(P10から8mg、4工程で収率1%)をオフホワイトの固形物として得た。ESI m/z : 727.3 ($M/2 + H$)⁺.

【0644】

実施例10: 分岐糖-PABリンカー-ペイロードの合成(スキーム10)

【0645】

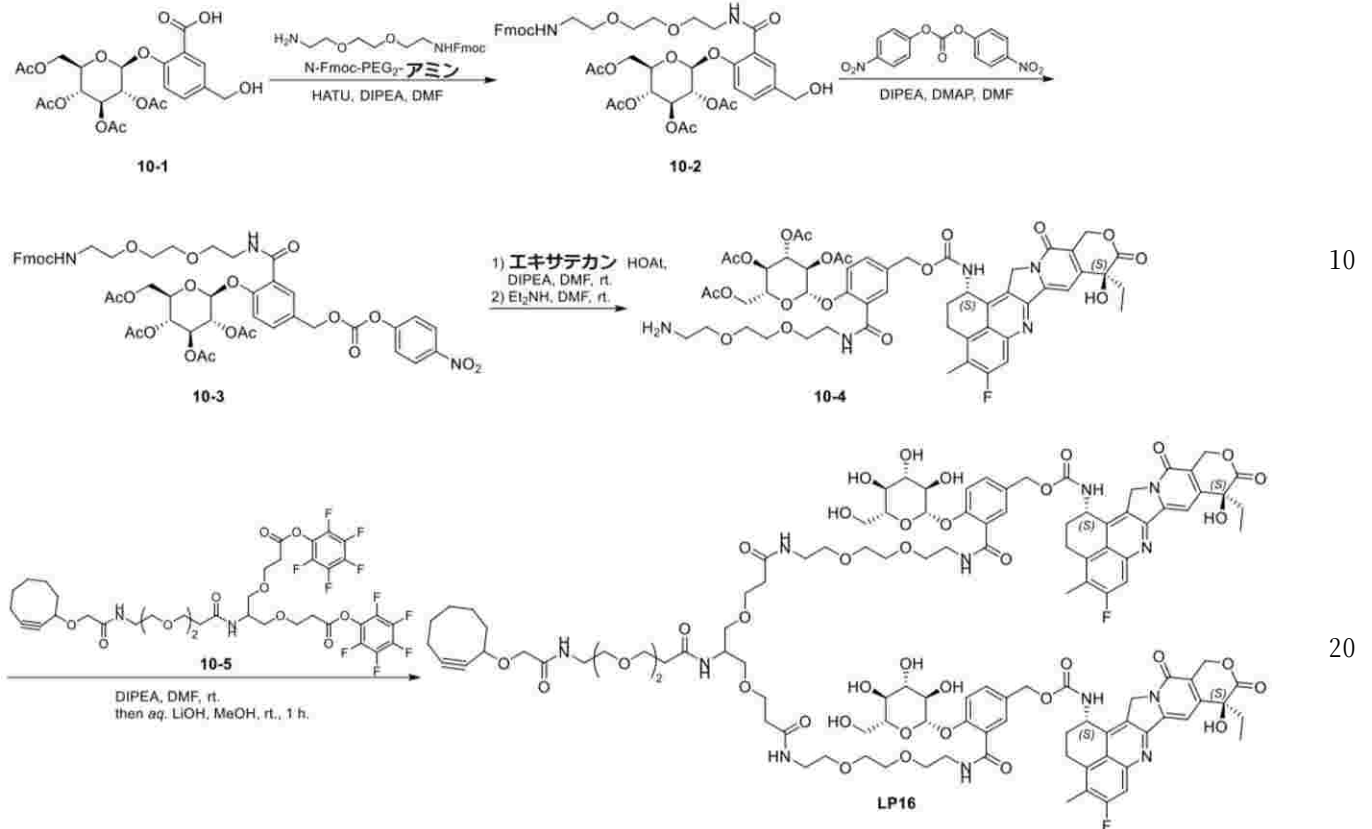
30

40

50

【化 1 4 5】

スキーム10. 分岐糖-PABリンカー-ペイロードLP16の合成

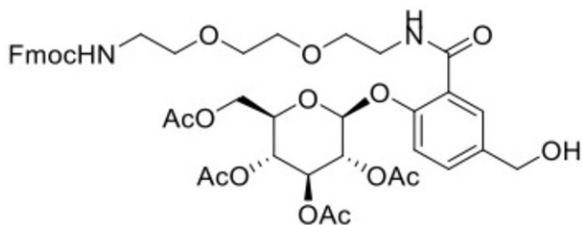


【0 6 4 6】

実施例10A: [(2R, 3R, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-トリス(アセチルオキシ)-6-{2-[(2-{2-[(2-({[(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ]カルボニル}アミノ)エトキシ]エトキシ}エチル)カルバモイル]-4-(ヒドロキシメチル)フェノキシ}オキサソ-2-イル]メチルアセテート(10-2)の合成

【0 6 4 7】

【化 1 4 6】



【0 6 4 8】

DMF (5 mL) 中の化合物 10-1 (0.10 g、0.2 mmol) の溶液に、N-Fmoc-PEG₂-アミン (74 mg、0.2 mmol) および DIPEA (52 mg、0.4 mmol) を添加し、反応混合物を 10 分間室温で攪拌した後、HATU を反応物に添加した。混合物を 4 時間室温で攪拌し、これを LCMS によってモニタリングした。得られた混合物を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0.01%) 中 5~95% アセトニトリル) によって精製することで、化合物 10-2 (0.14 g、収率 81%) を白色の固形物として得た。ESI m/z: 851.3 (M+H)⁺.

【0 6 4 9】

実施例10B: [(2R, 3R, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-トリス(アセチルオキシ)-6-{2-[(2-{2-[(2-({[(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ]カルボニル}アミノ)エトキシ]エトキシ}エチル)カルバモイル]-4-(ヒドロキシメチル)フェノキシ}オキサソ-2-イル]メチルアセテート(10-2)の合成

10

20

30

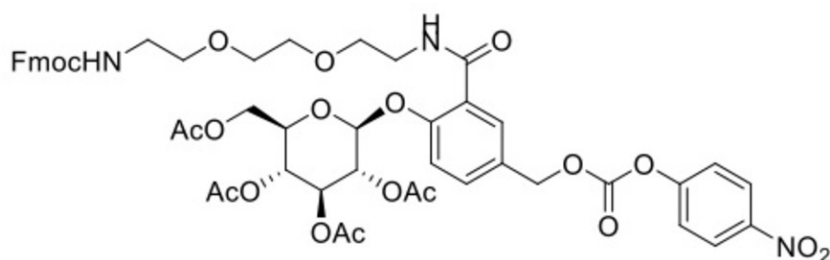
40

50

キシ] カルボニル} アミノ) エトキシ] エトキシ} エチル) カルバモイル] - 4 - ({ [(4 - ニトロフェノキシ) カルボニル] オキシ} メチル) フェノキシ} オキサシ - 2 - イル] メチルアセテート (1 0 - 3) の合成

【 0 6 5 0 】

【 化 1 4 7 】



10

【 0 6 5 1 】

DMF (5 m L) 中の 1 0 - 2 (0 . 1 4 g 、 0 . 1 6 m m o l) およびビス (4 - ニトロフェニル) カarbonate (0 . 2 5 g 、 0 . 8 2 m m o l) の溶液に、D I P E A (0 . 1 1 g 、 0 . 8 2 m m o l) およびD M A P (2 0 m g 、 0 . 1 6 m m o l) を添加し、反応混合物を4時間室温で攪拌し、これをL C M Sによってモニタリングした。得られた混合物を分取H P L C (T F A水溶液 (0 . 0 1 %) 中5 ~ 9 5 %アセトニトリル) によって精製することで、化合物 1 0 - 3 (0 . 1 3 g 、 収率 7 5 %) を白色の固形物として得た。E S I m / z : 1 0 1 7 . 2 (M + H) ⁺ .

20

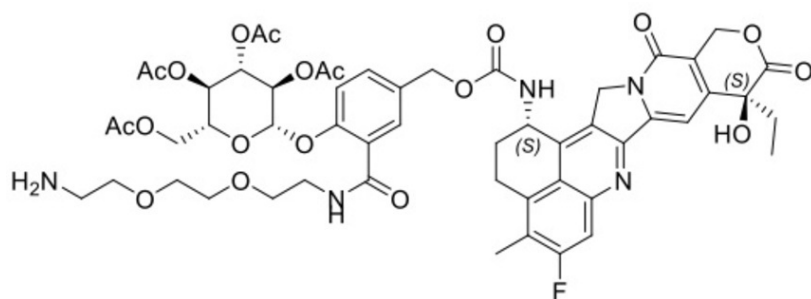
【 0 6 5 2 】

実施例 1 0 C : [(2 R , 3 R , 4 S , 5 R , 6 S) - 3 , 4 , 5 - トリス (アセチルオキシ) - 6 - [2 - ({ 2 - [2 - (2 - アミノエトキシ) エトキシ] エチル } カルバモイル) - 4 - [({ [(1 0 S , 2 3 S) - 1 0 - エチル - 1 8 - フルオロ - 1 0 - ヒドロキシ - 1 9 - メチル - 5 , 9 - ジオキソ - 8 - オキサ - 4 , 1 5 - ジアザヘキサシクロ [1 4 . 7 . 1 . 0 ² , 1 4 . 0 ⁴ , 1 3 . 0 ⁶ , 1 1 . 0 ²⁰ , 2 4] テトラコサ - 1 , 6 (1 1) , 1 2 , 1 4 , 1 6 , 1 8 , 2 0 (2 4) - ヘプタエン - 2 3 - イル] カルバモイル } オキシ) メチル] フェノキシ] オキサシ - 2 - イル] メチルアセテート (1 0 - 4) の合成

30

【 0 6 5 3 】

【 化 1 4 8 】



40

【 0 6 5 4 】

DMF (5 m L) 中の 1 0 - 3 (0 . 1 0 g 、 9 8 μ m o l) の溶液に、エキサテカン (4 3 m g 、 9 8 μ m o l) 、H O A t (7 m g 、 4 9 μ m o l) 、およびD I P E A (2 6 m g 、 0 . 2 0 m m o l) を添加し、反応混合物を4時間室温で攪拌し、これをL C M Sによってモニタリングした。得られた混合物を分取H P L C (T F A水溶液 (0 . 0 1 %) 中5 ~ 9 5 %アセトニトリル) によって精製することで、化合物 F m o c - 1 0 - 4 (0 . 1 1 g 、 収率 8 6 % 、 E S I m / z : 1 3 1 8 . 3 (M + H) ⁺) を白色の固形物として得て、これをDMF (5 m L) に溶解した。溶液にD I P E A (1 3 m g 、 0 . 1 7 m m o l) を添加し、反応混合物を1時間室温で攪拌した。得られた混合物を逆相

50

フラッシュクロマトグラフィー（85 mg、収率78%）によって白色の固形物として分離させた。ESI m/z : 1091.3 (M+H)⁺.

【0655】

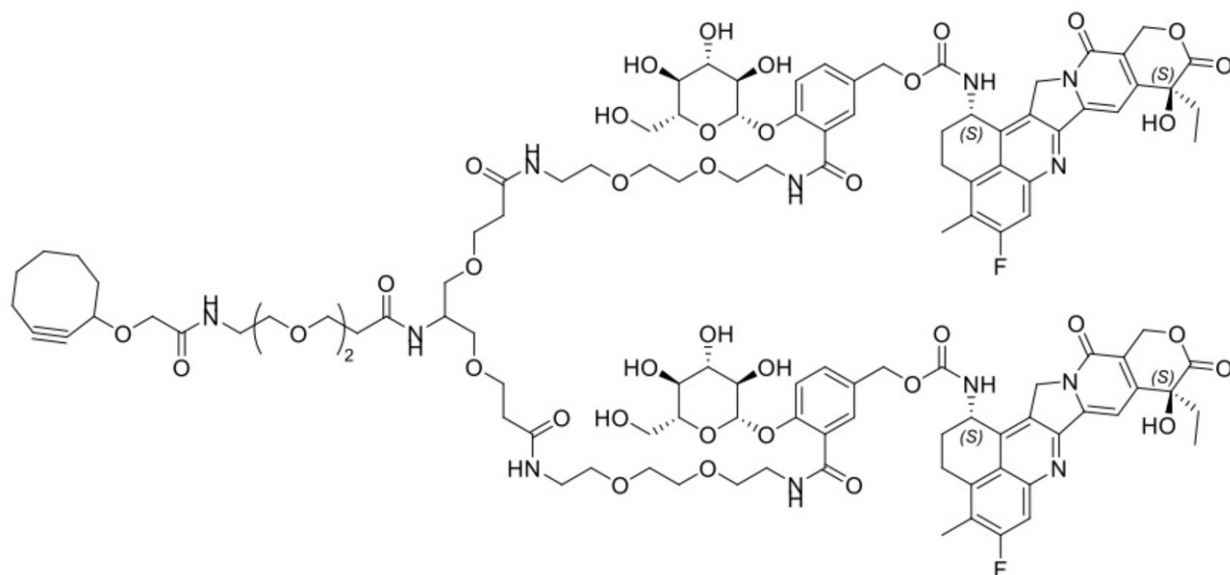
実施例10D: {3-[(2-{2-[2-(3-{2-[3-(2-{2-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]エトキシ}エトキシ)プロパンアミド]-3-{2-[(2-{2-[2-({5-[({ [(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴] テトラコサ-1, 6 (11), 12, 14, 16, 18, 20 (24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}オキシ)メチル]-2-{ [(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)オキサン-2-イル]オキシ}フェニル}ホルムアミド)エトキシ]エトキシ}エチル)カルバモイル]エトキシ}プロポキシ}プロパンアミド)エトキシ]エトキシ}エチル)カルバモイル]-4-{ [(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)オキサン-2-イル]オキシ}フェニル}メチルN-[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ [14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴] テトラコサ-1, 6 (11), 12, 14, 16, 18, 20 (24)-ヘプタエン-23-イル]カルバメート (LP16) の合成

10

20

【0656】

【化149】



30

【0657】

DMF (5 mL) 中の10-4 (85 mg、78 μ mol) および10-5 (35 mg、39 μ mol) の攪拌混合物にDIPEA (20 mg、0.16 mmol) を添加し、混合物を1時間室温で攪拌し、これをLCMSによってモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA水溶液 (0.01%) 中0~100%アセトニトリル) によって精製することで、白色の固形物を得て、これをメタノール (5 mL) に溶解した。溶液に、水酸化リチウム水溶液 (36 mM、5 mL) を添加した。反応混合物を2時間室温で攪拌し、これをLCMSによってモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー (TFA水溶液 (0.01%) 中5~100%アセトニトリル) によって直接分離させることで、LP16 (30 mg、収率33%) を白色の固形物として得た。ESI m/z : 789.2 (M/3+H)⁺.

40

【0658】

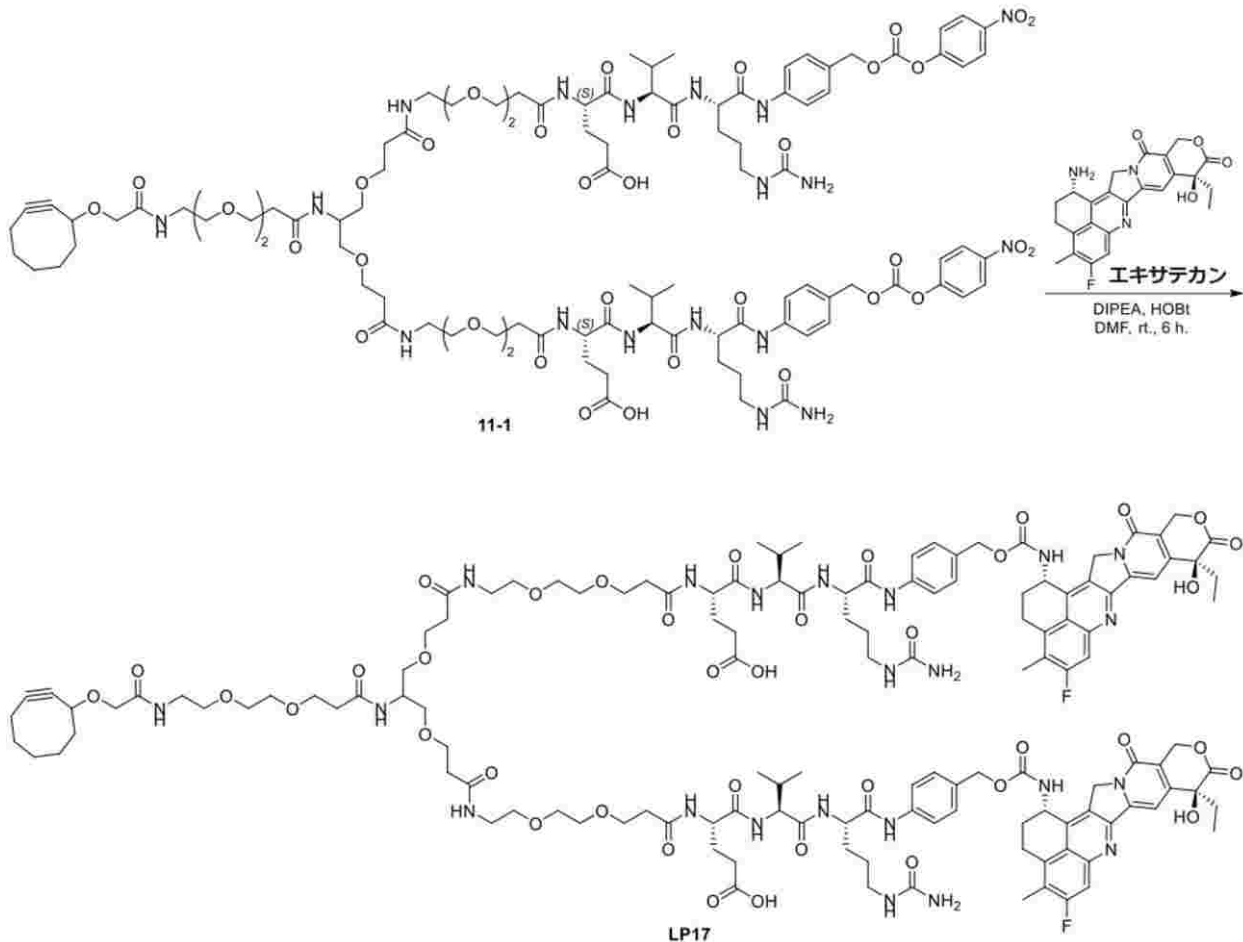
50

実施例 11. 分岐 vcPABリンカー-ペイロードの合成 (スキーム 11)

【0659】

【化150】

スキーム 11. 分岐 vcPABリンカー-ペイロード LP17 の合成



10

20

30

40

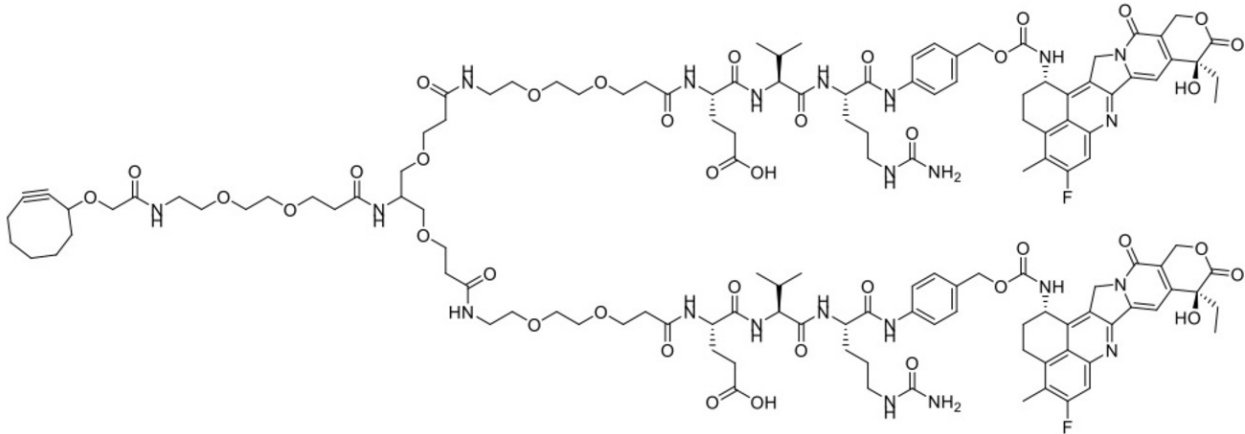
50

【0660】

実施例 11A: (4S)-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-(4-{[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニル]カルバモイル)ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-4-(3-{2-[2-(3-{3-[2-(2-[2-(2-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-(4-{[(10S, 23S)-10-エチル-18-フルオロ-10-ヒドロキシ-19-メチル-5, 9-ジオキソ-8-オキサ-4, 15-ジアザヘキサシクロ[14.7.1.0², 14.0⁴, 13.0⁶, 11.0²⁰, 2⁴]テトラコサ-1, 6(11), 12, 14, 16, 18, 20(24)-ヘプタエン-23-イル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニル]カルバモイル)ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-3-カルボキシプロピル]カルバモイル}エトキシ)エトキシ]エチル]カルバモイル)エトキシ]-2-[3-(2-{2-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]エトキシ}エトキシ)プロパンアミド]プロボキシ}プロパンアミド)エトキシ]エトキシ}プロパンアミド)ブタン酸 (LP17) の合成

【0661】

【化 1 5 1】



10

【0 6 6 2】

DMF (1.5 mL) 中の 11-1 (50 mg、23 μmol) の黄色溶液に、エキサ
 テカン (12 mg、23 μmol)、HOBt (3.1 mg、23 μmol)、および D
 IPEA (8.9 mg、69 μmol) を添加し、反応混合物を 6 時間室温で攪拌した。
 得られた混合物を分取 HPLC (TFA 水溶液 (0.01%) 中 0~100% アセトニ
 トリル) によって精製することで、LP17 (14 mg、収率 22%) を白色の固形物とし
 て得た。ESI m/z : 928 ($M/3+H$)⁺. ¹H NMR (400 MHz, D
 MSO-d₆) δ 10.06 (s, 2H), 8.28 (br s, 2H), 8.14 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 8.06 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.95 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 7.84–7.74 (m, 5H), 7.64–7.57 (m, 5H), 7.35 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.30 (s, 2H), 6.52 (s, 2H), 6.22–6.09 (m, 2H), 5.56–5.47 (m, 4H), 5.44 (s, 4H), 5.33–5.21 (m, 6H), 5.07 (s, 4H), 4.42–4.23 (m, 6H), 4.22–4.15 (m, 2H), 3.96–3.90 (m, 1H), 3.88–3.84 (m, 1H), 3.80–3.75 (m, 1H), 3.62–3.53 (m, 11H), 3.47 (br s, 14H), 3.41–3.38 (m, 6H), 3.26–3.15 (m, 10H), 3.13–3.07 (m, 2H), 3.03–2.91 (m, 4H), 2.40 (br s, 6H), 2.35–2.29 (m, 9H), 2.23–2.10 (m, 10H), 2.03–1.95 (m, 2H), 1.93–1.80 (m, 8H), 1.76–1.55 (m, 11H), 1.48–1.33 (m, 6H), 1.07–0.99 (m, 1H), 0.90–0.80 (m, 18H) ppm.

20

30

【0 6 6 3】

実施例 12. 部位特異的なコンジュゲートを生成するための一般的な手順

【0 6 6 4】

本実施例は概して、抗体またはその抗原結合断片へのペイロードの、本開示の実施形態
 による部位特異的なコンジュゲーションのための方法を実証する。この方法は、図 1 に示
 す 2 工程プロセスを含む。第 1 の工程は、抗体へのアミンリンカーアジド、例えば、アジ
 ド-PEG₃-アミン (AL、アミノ-PEG₄-アジド) の微生物トランスグルタミナ
 ーゼ (MTG) 媒介結合であり、余分なアミン試薬 (AL) を使用して抗体鎖の潜在的な
 架橋を回避した。第 2 の工程は、株促進アジド-アルキン環状付加 (SPAAC) を介し
 て、アルキン結合ペイロードリンカーペイロード (LP) を N₃ をタグ付けしたコンジュ
 ゲート (Ab-AL₄) に結合させた。抗体に添加される LP 分子の数は、コンジュゲ
 ーション部位の数、および AL 内のアジド官能基の数に依存する ($n=1$)。酵素的に脱グ
 リコシル化されたか、または N297D Fc 突然変異を有し、AL リンカーで官能化さ
 れたアジドを有する WT Fc ドメインを有する抗体について、予想される DAR = $2 \times n \times m$
 であり、ここで、 n は AL 上のアジド官能基の数であり、 m は LP ペイロードの数

40

50

である。N297Q Fc 突然変異を有し、ALリンカーでアジド官能化された抗体については、予想されるDAR=4である。すべての親抗体(Ab)、2個、4個、または8個のアジド基を含有するアジド官能化抗体(Ab-(N₃)_n)、具体的な例として生成した最終ADCおよび対応するリンカーペイロード(LP)、ならびにADCのそれらのES-MS結果およびDAR値を表4と5に要約する。

【0665】

【表25】

表4. 部位特異的なADCのリスト

抗体の記述	コンジュゲーション部位	修飾		ESI-MSによるDAR
		AL, BL, LP #	MW (g/mol)	
抗HER2 (degly)		何ものなし	NA	NA
抗HER2	Q295, Q297	[AL] ₄	218.3	4
抗HER2	Q295, Q297	[AL-LP1] ₄	1469.7	4
抗HER2	Q295, Q297	[AL-LP2] ₄	1593.8	4
抗HER2	Q295, Q297	[AL-LP3] ₄	1230.3	4
抗HER2	Q295, Q297	[AL-LP4] ₄	1216.3	4
抗HER2	Q295, Q297	[AL-LP8] ₄	1046.2	4
抗HER2	Q295, Q297	[AL-LP9] ₄	1614.8	4
アイソタイプ対照		何ものなし	NA	NA
アイソタイプ対照	Q295, Q297	[AL] ₄	218.3	4
アイソタイプ対照	Q295, Q297	[AL-LP3] ₄	1230.3	4
アイソタイプ対照	Q295, Q297	[AL-LP8] ₄	1046.2	4
アイソタイプ対照	Q295, Q297	[AL-LP9] ₄	1614.8	4

【0666】

10

20

30

40

50

【表 26-1】

表 5. 部位特異的な ADC の構造 及び DAR 値

抗体	ADC	ADC 構造	DAR
抗 HER2	Ab[AL- LP1] ₄		3.58
抗 HER2	Ab[AL- LP2] ₄		4
抗 HER2	Ab[AL- LP3] ₄		4
抗 HER2	Ab[AL- LP4] ₄		4
抗 HER2	Ab[AL- LP8] ₄		4
抗 HER2	Ab[AL- LP9] ₄		4
アイソ タイプ 対照	Ab[AL- LP3] ₄		4

【0667】

10

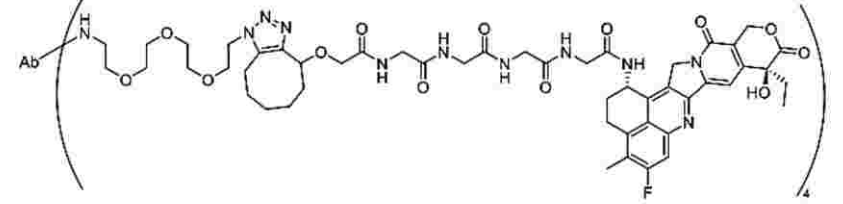
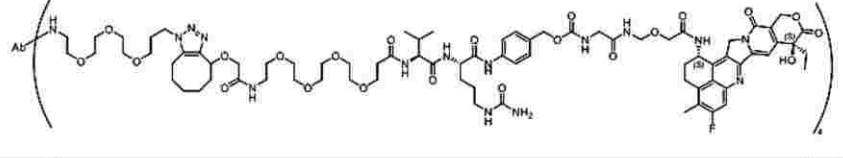
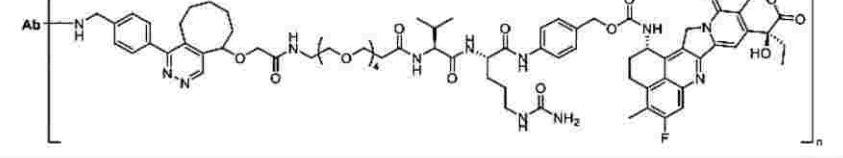
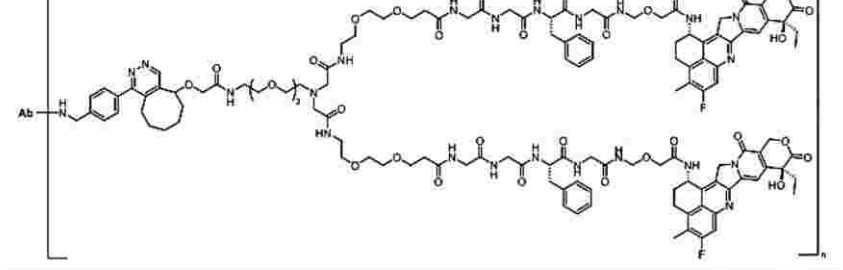
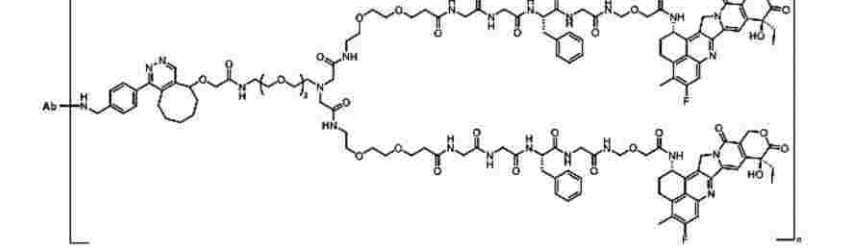
20

30

40

50

【表 2 6 - 2】

アイソ タイプ 対照	Ab[AL- LP8] ₄		4
アイソ タイプ 対照	Ab[AL- LP9] ₄		4
抗 HER2	Ab[AL2- LP1] ₄		
抗 HER2	Ab[AL2- LP17] _n		
アイソ タイプ 対照	Ab[AL2- LP17] _n		

【0 6 6 8】

N 2 9 7 Q または N 2 9 7 D 突然変異を含有する非グリコシル化ヒト抗体 I g G (I g G 1、I g G 4 など) を A D C コンジュゲーションに使用した。2つのアプローチ (I および I I) を 2 工程プロセスによって行い (図 1)、M S - D A R 値を有するコンジュゲーション結果を A D C リストにまとめた (表 7)。

【0 6 6 9】

10

20

30

40

50

【表 27-1】

表 7. ADC のリスト

ADC#	DAR (n)	構造
aHer2 Ab		
アイソタ イプ対照 Ab		
aHer2-(ハ ンドル)n	4	$\text{aHer2} \left[\text{N} \left(\text{CH}_2 \right)_3 \text{O} \left(\text{CH}_2 \right)_3 \text{N}_3 \right]_n$
アイソタ イプ対照 -(ハント ル)n	4	
aHer2- ADC	6.2	
aHer2- ADC	3.3	
aHer2- ADC	7.6	
アイソタ イプ対照 -ADC	7.0	

【0670】

10

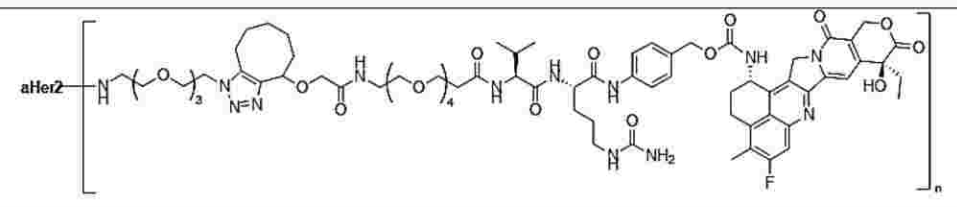
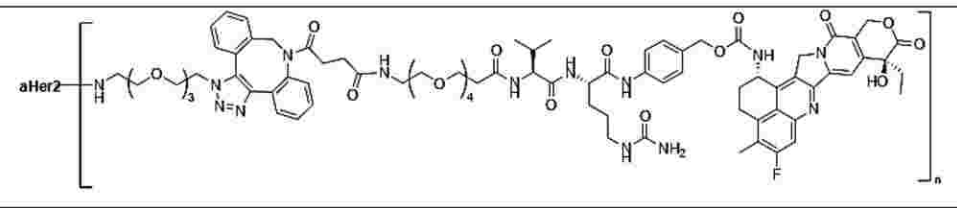
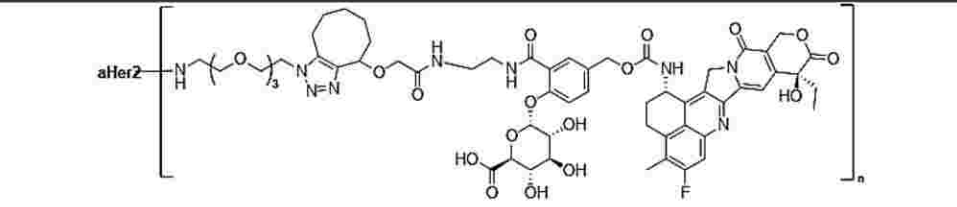
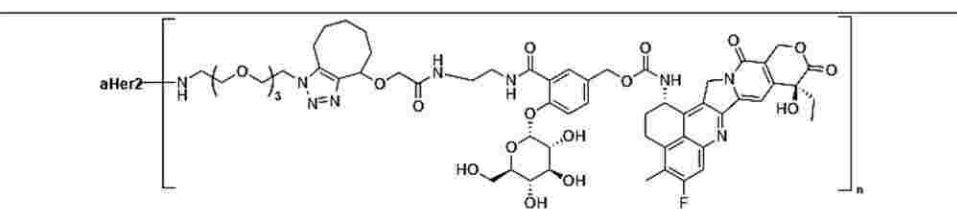
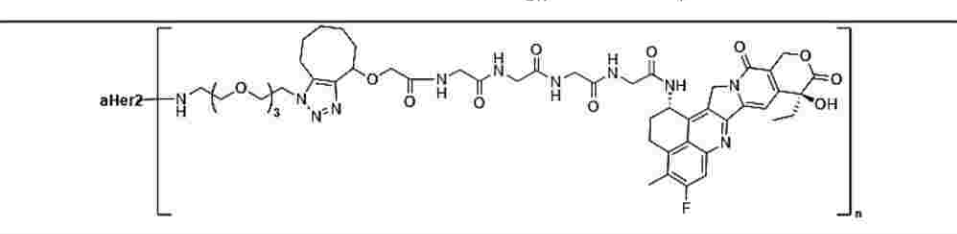
20

30

40

50

【表 27-2】

aHer2-ADC	3.59	
aHer2-ADC	3.58	
aHer2-ADC	4.00	
aHer2-ADC	4.00	
aHer2-ADC	4.00	

【0671】

工程1：ハンドル（Handle）官能化アミンと抗体との部位特異的なコンジュゲーションにより、抗体当たり2個、4個、または8個のハンドルを含有する薬物コンジュゲートが生成された。

【0672】

BupH緩衝液（pH7.4）中のN297Q突然変異またはN297D突然変異を含有する非グリコシル化ヒト抗体IgGを、 ≥ 100 モル当量の非分岐ハンドルーアミン（AL）または分岐ハンドルーアミン（BL）と混合した。得られた溶液をトランスグルタミナーゼ（25U/mL、1U mTG/mg抗体、Zedira、ドイツ・ダルムシュタット、または10U/mL、5.5U MTG/mg抗体、Modernist Panty-ACTIVA TIは、日本の味の素のマルトデキストリンを含有する）と混合し、0.5~20mg/mLの抗体の最終濃度を得た。反応混合物を、ESI-MSによってモニタリングしつつ穏やかに振盪しながら25~37℃で24時間インキュベートした。完了すると、余分なアミンおよびmTGをサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）またはプロテインAカラムクロマトグラフィーによって除去した。コンジュゲートをUV-Vis、SEC、およびESI-MSによって特徴付けた。

【0673】

工程2：部位特異的なADCを生成するための、ハンドル官能化抗体と表2のリンカー-ペイロードとの間のクリック反応。

【0674】

PBS (pH 7.4) 中のハンドル官能化抗体 ($Ab-(AL)_n$ または $Ab-(BL)_n$ 、 $1\sim 20\text{ mg/mL}$) を、DMSO または DMA (10 mg/mL) などの有機溶媒に溶解させた $\geq 2\sim 10$ モル当量のリンカー-ペイロード (LP) と共にインキュベートして、穏やかに振盪しながら $25\sim 37^\circ\text{C}$ で $1\sim 48$ 時間、 $5\sim 15\%$ 有機溶媒 (v/v) を含有する反応混合物を得た。反応をESI-MSによってモニタリングした。完了すると、余分な量のLPおよび有機溶媒を、BupH (pH 7.4) を用いた脱塩カラムによって除去し、タンパク質凝集物 (存在する場合) をサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) によって除去した。精製されたコンジュゲート、 $Ab-(AL-LP)_n$ ADC または $Ab-(BL-LP)_4$ ADC を濃縮し、滅菌濾過し、UV-Vis、SEC、およびESI-MSによって特徴付けた。コンジュゲートモノマー純度は、SECにより $> 95\%$ であった。

10

【0675】

本発明者らの社内のトラスツズマブを使用してT-DXdをコンジュゲートした。T-DXdおよびアイソタイプ $Ab-DXd$ ADCの両方を、Daiichiのマレイミド-テトラペプチドGGFG-リンカーDXdとコンジュゲートさせ、マレイミドリンカー-ペイロードとの抗体鎖間システインコンジュゲーションを、従来の手順を使用して達成した。

20

【0676】

すべてのADCを、 $16/600\text{ Superdex}$ (登録商標) 200 カラムを用い、pH 7.4で 1.5 mL/分 の流速でDPBSで溶出するCytiva製のAKTA機器を用いて、SECにより精製した。ADCのDAR値をESI-MSによって測定した。 $Ab-[AL]_4$ からの $4\times LP$ の質量増加が観察され、 4 DAR ADCと相関した。 $Ab-[BL]_4$ からの $7\sim 8\times LP$ のさらなる質量増加が観察され、 $7\sim 8\text{ DAR}$ ADCを示した。

【0677】

実施例13. 詳細なコンジュゲーション手順

30

Approach Iからの代表的な 4 DAR ADCを以下に例示する (図1)。N297Q突然変異を含有する非グリコシル化抗Her2ヒトIgG抗体を、 > 200 モル当量のアジド-dPEG3-アミン (Handle、MW 708.41 g/mol) と混合した。得られた溶液を微生物トランスグルタミナーゼ (10 U/mL 、 $5, 5\text{ U mTG/mg}$ 抗体、Modernist Pantry-ACTIVA TIは、日本の味の素のマルトデキストリンを含有する) と混合し、 5 mg/mL の抗体の最終濃度を得た。反応混合物を、ESI-MSによってモニタリングしつつ穏やかに振盪しながら 24 時間 37°C でインキュベートした。完了すると、余分なアミンおよびmTGをサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) によって除去した。コンジュゲートをUV-Vis、SEC、およびESI-MSによって特徴付けた。抗体に結合したアジドリンカーは、mAbと比較して 808 Da の質量増加をもたらし、4つのハンドルが、4つのアジドハンドルを有する抗体 ($Ab-(\text{ハンドル})_4$) にコンジュゲートされたことを示した。PBS (pH 7.4) 中の部位特異的な抗体アジドコンジュゲート (2.1 mg/mL) を、 2 mM のDMSO中の7モル当量のリンカー-ペイロード (Linker-Payload) と混合して、 5% 有機溶媒 (v/v) を含有する反応混合物を得て、穏やかに振盪しながら溶液を 32°C に 36 時間設定した。反応をESI-MSによってモニタリングした。完了すると、余分な量のリンカー-ペイロードおよびタンパク質集合体をサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) によって除去した。精製されたコンジュゲートを濃縮し、滅菌濾過し、UV-Vis、SEC、およびESI-MSによって特徴付けた。コンジュゲートモノマー純度は、SECにより 99.8% であった。薬物結合抗体は、 $\text{DAR } 4$ コンジュゲ

40

50

ートに対応する質量増加をもたらす。コンジュゲートモノマー純度は、SECにより> 99%であった。

【0678】

【表28】

表 8. ADC の in vitro 活性

ペイロード	リンカー-ペイロード	ADC		
		ADC#	DAR	SKBR3 EC ₅₀ (nM)
エキサデカン	/	/	/	0.516
ProDXd	COT-PEG ₃ -BR2-(PEG ₂ -GGFG-NHCH ₂ -DXd) ₂		6.2	0.22
ProDXd	COT-PEG ₃ -BR2-(PEG ₂ -GGFG-NHCH ₂ -DXd) ₂	aHER2-ADC	7.6	0.237
		アイソタイプ対照-ADC	7.0	>100
エキサデカン	COT-PEG4-vcPAB-エキサデカン	aHER2-ADC	3.58	2.365
エキサデカン	DIBAC-PEG4-vcPAB-エキサデカン	aHER2-ADC	4.00	1.920
エキサデカン	COT-EDA-(GLCA)PAB-エキサデカン	aHER2-ADC	4.00	1.465
エキサデカン	COT-EDA-(GLC)PAB-エキサデカン	aHER2-ADC	4.00	4.117
エキサデカン	COT-GGGG-エキサデカン	aHER2-ADC	4.00	0.170

【0679】

実施例 6：SKBR3 細胞株中の In vitro 細胞死滅活性

【0680】

ヒト細胞株を死滅させる本開示の抗 Her2 薬物コンジュゲート (ADC) (表 5 参照) の能力を試験するために、in vitro 細胞毒性アッセイを実施した。ADC、アイソタイプ対照 ADC、および参照遊離ペイロードの in vitro 細胞毒性を、Cell Titer-Glo 2.0 アッセイキット (Promega、カタログ番号 G9243) を使用して評価し、存在する ATP の量を使用して、培養物中の生存細胞の数を決定した。

【0681】

アッセイのために、SK-BR-3 細胞を、完全増殖培地中のポリ-D-リジンで被覆された白色 96 ウェル BioCoat プレート (Corning #356693) 中に 1000 細胞/ウェルで播種し、5% CO₂ 下にて 37℃で一晩増殖させた。抗 Her2 ADC またはアイソタイプ対照 ADC の 3 倍段階希釈物を希釈培地 (OptiMem+0

・ 1 % B S A) 中 で 調 製 し、 1 0 0 n M ~ 0 . 0 1 5 n M の 範 囲 の 最 終 濃 度 (濃 度 は D A R (薬 物 抗 体 比) に つ い て 補 正 さ れ、 有 効 ペ イ ロ ード 濃 度 に 基 づ い て 投 与 し た) で 細 胞 に 添 加 し た。 遊 離 ペ イ ロ ード の 3 倍 段 階 希 釈 物 を 1 0 0 % D M S O 中 で 調 製 し、 新 鮮 な 希 釈 培 地 に 移 し、 そ の 後、 0 . 2 % の 最 終 定 常 D M S O 濃 度 お よ び 1 0 0 n M ~ 0 . 0 1 5 n M の 範 囲 の 最 終 ペ イ ロ ード 濃 度 で 細 胞 に 添 加 し た。 各 希 釈 系 列 の 最 後 の ウ ェ ル (未 処 理 ウ ェ ル) は、 培 地 (A D C) ま た は 培 地 + 0 . 2 % D M S O (ペ イ ロ ード) の み を 含 有 す る ブ ラ ン ク 対 照 と し て 機 能 し、 3 倍 段 階 希 釈 の 継 続 と し て プ ロ ッ ト さ れ た。 6 日 後、 1 0 0 μ L の C e l l T i t e r G l o 2 . 0 を 各 ウ ェ ル に 添 加 し、 プ レ ー ト を オ ー ビ タ ル シ ー カ ー 上 で 2 分 間 混 合 し、 プ レ ー ト を 1 0 分 間 室 温 で イ ン キ ュ ベ ー ト し た。 相 対 光 単 位 (R L U) を E n v i s i o n l ミ ノ メ ー タ ー (P e r k i n E l m e r) で 測 定 し、 細 胞 生 存 率 を 未 処 理 (1 0 0 % 生 存) 細 胞 の パ ー セ ン テ ー ジ と し て 表 し た。 I C ₅₀ 値 は、 1 0 点 用 量 反 応 曲 線 (G r a p h P a d P r i s m) に わ た る 4 パ ラ メ ー タ ロ ジ ス テ ィ ッ ク 方 程 式 を 使 用 し て 決 定 し た。 最 大 死 滅 % も、 以 下 : 1 0 0 - 最 小 パ ー セ ン ト 生 存 率 の よ う に、 各 被 験 物 質 に つ い て 決 定 し た。 1 つ の 実 験 を 行 い、 結 果 を 図 2 お よ び 3 に 示 し、 各 被 験 物 質 の E C ₅₀ 値 お よ び 最 大 死 滅 % を 報 告 す る。

10

【 0 6 8 2 】

【 表 2 9 】

表 9. SKBR3 における ADC の in vitro 細胞死滅の結果

ペイロード	リンカー-ペイロード		ADC		
CP#	LP#	記述	記述	DAR	SKBR3 EC ₅₀ (nM)
エキサテカン		/	/	/	0.516
エキサテカン	LP1	COT-PEG4-vcPAB-エキサテカン	抗 HER2-AL-LP1	3.58	2.365
エキサテカン	LP2	DIBAC-PEG4-vcPAB-エキサテカン	抗 HER2-AL-LP2	4	1.920
エキサテカン	LP3	COT-EDA-(GLCA)PAB-エキサテカン	抗 HER2-AL-LP3	4	1.465
			対照 AL-LP3	4	
エキサテカン	LP4	COT-EDA-(GLC)PAB-エキサテカン	抗 HER2-AL-LP4	4	4.117
エキサテカン	LP8	COT-GGGG-ProEXT	抗 HER2-AL-LP8	4	0.170
			対照 AL-LP8	4	
ProDXD	LP9	COT-PEG4-vcPAB-ProDXD	抗 HER2-AL-LP9	4	0.382
			対照 AL-LP10	4	285.967
DXD	LP10	Mc-GGFG-NHCH2-Dxd	DS8201a	8	0.372

20

30

40

上記の表 9 に示されるように、グルタミンを介してコンジュゲートされた抗 H e r 2

50

A D Cは、高H e r 2発現S K - B R - 3細胞を死滅させ、I C ₅₀値は0 . 1 7 n M ~ 4 . 1 n Mの範囲であり、最大死滅%値は> 6 0 % ~ 9 5 %の範囲であった。S K - B R - 3細胞を死滅させたトラスツズマブデルクステカン（システインコンジュゲーションを介するT - D X D）を、アッセイにおいて陽性対照として使用し、E C ₅₀値は3 7 2 p M、最大死滅%値は9 0 . 9 %であった。コンジュゲートされていない抗H e r 2抗体は、すべての試験した系統において細胞毒性は弱かった（結果は図にも示されていない）。A D Cから放出された遊離エキサテカンペイロードは細胞を死滅させ、E C ₅₀値は5 1 6 p M、最大死滅%はほぼ9 5 %の範囲であった。

【0683】

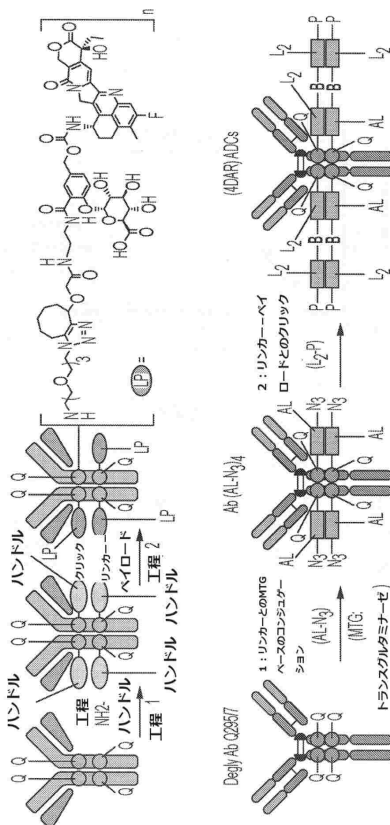
本開示の範囲と精神から逸脱することなく上記の主題において様々な変更が可能であるため、上の記載に含まれるか、特許請求の範囲に規定される主題はすべて、本開示の説明的かつ例示的なものとして解釈されるべきであることが意図されている。上記の教示に照らして、本開示の多くの修正および変形が可能である。したがって、本説明は、添付の特許請求の範囲内に入るすべてのそのような代替形態、修正形態、および変形形態を包含することが意図されている。

【0684】

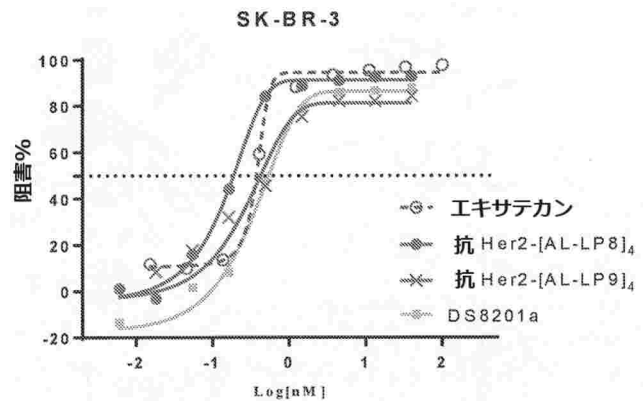
本明細書に引用されるすべての特許、出願、刊行物、試験方法、文献、および他の資料は、本明細書に物理的に存在するかのように、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【図面】

【図1】



【図2】



10

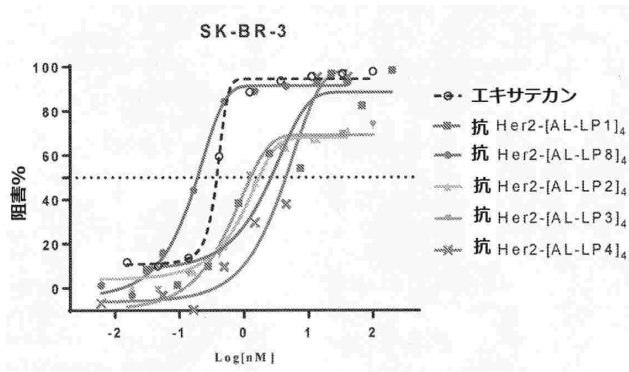
20

30

40

50

【図 3】



10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/010514

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K47/68 A61P35/00 C07D491/22
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 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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YUSUKE OGITANI ET AL: "Bystander killing effect of DS-8201a, a novel anti-human epidermal growth factor receptor 2 antibody-drug conjugate, in tumors with human epidermal growth factor receptor 2 heterogeneity", CANCER SCIENCE, vol. 107, no. 7, 22 June 2016 (2016-06-22), pages 1039-1046, XP055690751, ISSN: 1347-9032, DOI: 10.1111/cas.12966 abstract page 1041 figures; tables ----- -/--	1-51

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

☒ See patent family annex.

*** Special categories of cited documents :**

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 April 2023

Date of mailing of the international search report

03/07/2023

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2023/010514

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 2019/217591 A1 (REGENERON PHARMA [US]; KYRATSOUS CHRISTOS [US] ET AL.) 14 November 2019 (2019-11-14) examples 28, 34B claims -----	1-51
X	WO 2021/174113 A1 (REGENERON PHARMA [US]) 2 September 2021 (2021-09-02) example 7 -----	1-51
X	WO 2018/089373 A2 (REGENERON PHARMA [US]) 17 May 2018 (2018-05-17) cited in the application figure 29; example 55 -----	1-51
X	WO 2019/219891 A1 (DAIICHI SANKYO CO LTD [JP]) 21 November 2019 (2019-11-21) example 1 claims -----	1-51
X	WO 2015/155998 A1 (DAIICHI SANKYO CO LTD [JP]) 15 October 2015 (2015-10-15) cited in the application example 12 claims -----	1-51
X	WO 2020/245229 A1 (SYNAFFIX BV [NL]) 10 December 2020 (2020-12-10) examples -----	1-51
X	US 2020/345863 A1 (VIRICEL WARREN [FR]) 5 November 2020 (2020-11-05) examples claims -----	1-51
X	S. V. GOVINDAN ET AL: "Milatuzumab-SN-38 Conjugates for the Treatment of CD74+ Cancers", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 12, no. 6, June 2013 (2013-06), pages 968-978, XP055280453, ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-1170 abstract figures -----	1-51
X	HU QI-YING ET AL: "Towards the next generation of biomedicines by site-selective conjugation", CHEMICAL SOCIETY REVIEWS, vol. 45, no. 6, 21 March 2016 (2016-03-21), pages 1691-1719, XP002772944, DOI: 10.1039/C4CS00388H page 1703 page 1705 -----	1-51
	----- -/--	

1

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

page 2 of 3

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2023/010514

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MASUBUCHI NORIKO: "Pharmacokinetics of DE-310, a novel macromolecular carrier system for the camptothecin analog DX-8951f, in tumor-bearing mice", PHARMAZIE, vol. 59, no. 5, May 2004 (2004-05), pages 374-377, XP093039983, ISSN: 0031-7144 abstract page 375, paragraph 2.2 figure 4; table 3 page 377 -----	37-49
X,P	WO 2022/015656 A1 (REGENERON PHARMA [US]) 20 January 2022 (2022-01-20) examples claims -----	1-51
X,P	WO 2022/048883 A1 (MERCK PATENT GMBH [DE]) 10 March 2022 (2022-03-10) examples 2-3 -----	1-51
X,P	WO 2022/207699 A1 (MABLINK BIOSCIENCE [FR]; CENTRE NAT RECH SCIENT [FR] ET AL.) 6 October 2022 (2022-10-06) examples claims -----	1-51
X,P	WO 2022/253035 A1 (SICHUAN KELUN BIOTECH BIOPHARMACEUTICAL CO LTD [CN] ET AL.) 8 December 2022 (2022-12-08) examples claims -----	1-51
X,P	WO 2022/236136 A1 (ALK ONCOLOGY INC [US]) 10 November 2022 (2022-11-10) examples claims -----	1-51

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/010514

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.25 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/010514

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-36, 50, 51 (completely); 37-49 (partially)

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2023 /010514

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-36, 50, 51(completely); 37-49(partially)

Conjugate of a camptothecin analogue and an antibody as defined in these claims, or compound 1 of present claim 37, its use in the treatment of cancer, and method of preparing the conjugate.

1.1. claims: 1-36, 50, 51(completely); 38, 40, 44-49(partially)

Conjugate of a camptothecin analogue and an antibody as defined in these claims, its use in the treatment of cancer, and method of preparing the conjugate.

1.2. claims: 37-49(partially)

Compound 1 of present claim 37, pharmaceutical composition containing it, and its use in the treatment of cancer

2-34. claims: 37-49(partially)

Compound 2-34 of present claim 37, pharmaceutical composition containing it, and its use in the treatment of cancer, and method of preparing the conjugate.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/010514

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2019217591 A1	14-11-2019	AU 2019265703 A1	19-11-2020
		BR 112020022400 A2	02-02-2021
		CA 3098453 A1	14-11-2019
		CL 2020002873 A1	26-03-2021
		CN 112533951 A	19-03-2021
		CO 2020015084 A2	26-02-2021
		EP 3790899 A1	17-03-2021
		JP 2021523147 A	02-09-2021
		KR 20210008008 A	20-01-2021
		PH 12020551865 A1	19-07-2021
		SG 11202010909R A	30-12-2020
		US 2019367631 A1	05-12-2019
		US 2023079407 A1	16-03-2023
		WO 2019217591 A1	14-11-2019
WO 2021174113 A1	02-09-2021	AU 2021228225 A1	01-09-2022
		CA 3166619 A1	02-09-2021
		CN 115175737 A	11-10-2022
		EP 4110472 A1	04-01-2023
		IL 295312 A	01-10-2022
		JP 2023515941 A	17-04-2023
		KR 20220148200 A	04-11-2022
		US 2022112306 A1	14-04-2022
		WO 2021174113 A1	02-09-2021
WO 2018089373 A2	17-05-2018	AU 2017359043 A1	23-05-2019
		BR 112019009019 A2	09-07-2019
		CA 3042428 A1	17-05-2018
		CL 2019001259 A1	19-07-2019
		CN 110291097 A	27-09-2019
		CN 115651056 A	31-01-2023
		CO 2019005966 A2	10-07-2019
		EP 3538539 A2	18-09-2019
		IL 266353 A	30-06-2019
		JP 2019536765 A	19-12-2019
		KR 20190074310 A	27-06-2019
		PH 12019501021 A1	24-06-2019
		SG 10202104259R A	29-06-2021
		US 2018155389 A1	07-06-2018
		US 2021040144 A1	11-02-2021
		US 2021332080 A1	28-10-2021
		WO 2018089373 A2	17-05-2018
WO 2019219891 A1	21-11-2019	AU 2019270457 A1	03-12-2020
		AU 2019270459 A1	03-12-2020
		BR 112020023346 A2	09-02-2021
		BR 112020023373 A2	09-02-2021
		CA 3100608 A1	21-11-2019
		CA 3100745 A1	21-11-2019
		CN 112351999 A	09-02-2021
		CN 112449641 A	05-03-2021
		CO 2020013664 A2	21-12-2020
		CO 2020014435 A2	21-12-2020
		EP 3794041 A1	24-03-2021
		EP 3794042 A1	24-03-2021
		JP 7257422 B2	13-04-2023
		JP 2021524740 A	16-09-2021
		JP 2021524852 A	16-09-2021

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/010514

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		JP 2023027259 A	01-03-2023
		KR 20210010565 A	27-01-2021
		KR 20210013107 A	03-02-2021
		PH 12020551969 A1	20-09-2021
		PH 12020551970 A1	13-09-2021
		SG 11202010493X A	27-11-2020
		SG 11202010496W A	30-12-2020
		TW 202003579 A	16-01-2020
		TW 202003583 A	16-01-2020
		US 2021187118 A1	24-06-2021
		US 2021221910 A1	22-07-2021
		US 2023139769 A1	04-05-2023
		WO 2019219889 A1	21-11-2019
		WO 2019219891 A1	21-11-2019
		ZA 202006684 B	29-09-2021
WO 2015155998 A1	15-10-2015	AU 2015245122 A1	18-08-2016
		AU 2020200227 A1	06-02-2020
		AU 2021286320 A1	20-01-2022
		BR 112016017893 A2	17-10-2017
		CA 2939802 A1	15-10-2015
		CN 106163559 A	23-11-2016
		CN 111228511 A	05-06-2020
		DK 3129063 T3	06-04-2021
		EP 3129063 A1	15-02-2017
		EP 3789042 A1	10-03-2021
		ES 2859648 T3	04-10-2021
		HR P20210593 T1	14-05-2021
		HU E054411 T2	28-09-2021
		IL 293177 A	01-07-2022
		IL 300540 A	01-04-2023
		JP 6105171 B2	29-03-2017
		JP 6148422 B1	14-06-2017
		JP 6513128 B2	15-05-2019
		JP 6707696 B2	10-06-2020
		JP 6918182 B2	11-08-2021
		JP 7138750 B2	16-09-2022
		JP 2017197515 A	02-11-2017
		JP 2017222638 A	21-12-2017
		JP 2017503784 A	02-02-2017
		JP 2019135248 A	15-08-2019
		JP 2020143114 A	10-09-2020
		JP 2021169515 A	28-10-2021
		JP 2022180416 A	06-12-2022
		KR 20160144396 A	16-12-2016
		KR 20190004837 A	14-01-2019
		KR 20200077620 A	30-06-2020
		KR 20200136052 A	04-12-2020
		KR 20210041126 A	14-04-2021
		KR 20210115056 A	24-09-2021
		KR 20220012402 A	03-02-2022
		KR 20220068270 A	25-05-2022
		KR 20220132025 A	29-09-2022
		KR 20230021173 A	13-02-2023
		LT 3129063 T	25-06-2021
		PH 12016501711 A1	19-12-2016
		PL 3129063 T3	12-07-2021
		PT 3129063 T	01-04-2021

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/010514

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		RU 2019143766 A	20-02-2020
		SG 10201907807X A	27-09-2019
		SG 11201608309P A	29-11-2016
		SI 3129063 T1	31-08-2021
		TW 201542230 A	16-11-2015
		TW 202108176 A	01-03-2021
		TW 202218685 A	16-05-2022
		US 2017021031 A1	26-01-2017
		US 2019151328 A1	23-05-2019
		WO 2015155998 A1	15-10-2015
WO 2020245229 A1	10-12-2020	EP 3976112 A1	06-04-2022
		US 2022096652 A1	31-03-2022
		WO 2020245229 A1	10-12-2020
US 2020345863 A1	05-11-2020	CN 111542344 A	14-08-2020
		EP 3700577 A1	02-09-2020
		JP 2021500412 A	07-01-2021
		US 2020345863 A1	05-11-2020
		WO 2019081455 A1	02-05-2019
WO 2022015656 A1	20-01-2022	AU 2021308190 A1	02-02-2023
		BR 112023000489 A2	28-03-2023
		CA 3183184 A1	20-01-2022
		CO 2023001402 A2	16-02-2023
		EP 4178625 A1	17-05-2023
		IL 299153 A	01-02-2023
		KR 20230038738 A	21-03-2023
		US 2022072141 A1	10-03-2022
		WO 2022015656 A1	20-01-2022
WO 2022048883 A1	10-03-2022	AU 2021335257 A1	09-03-2023
		BR 112023001733 A2	28-03-2023
		CA 3190586 A1	10-03-2022
		CN 116113439 A	12-05-2023
		CO 2023004252 A2	27-04-2023
		EP 4208481 A1	12-07-2023
		IL 301004 A	01-04-2023
		KR 20230062600 A	09-05-2023
		TW 202212362 A	01-04-2022
		WO 2022048883 A1	10-03-2022
WO 2022207699 A1	06-10-2022	NONE	
WO 2022253035 A1	08-12-2022	NONE	
WO 2022236136 A1	10-11-2022	TW 202309042 A	01-03-2023
		WO 2022236136 A1	10-11-2022

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 47/60 (2017.01)
A 6 1 K 47/54 (2017.01)
C 0 7 D 491/22 (2006.01)
A 6 1 K 38/02 (2006.01)
C 0 7 H 15/26 (2006.01)
C 0 7 K 16/42 (2006.01)

A 6 1 K 47/60
A 6 1 K 47/54
C 0 7 D 491/22
A 6 1 K 38/02
C 0 7 H 15/26
C 0 7 K 16/42

4 H 0 4 5
C S P

,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,C
 O,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,I
 R,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

F ターム (参考)

4C076 AA95 CC27 DD52 DD55 DD60 DD66 EE23 EE39 FF70
4C084 AA02 BA32 BA34 BA37 NA13 ZB26
4C085 AA26 BB11 DD81 EE01
4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 NA13 ZB26
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 BA72 DA76 EA20 FA10 FA74