(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-500922
(P2024-500922A)
(43)公表日　令和6年1月10日(2024.1.10)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*47/68*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/68	ＺＮＡ	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*47/65*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/65		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｐ	*35/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/02		
Ａ６１Ｐ	*17/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/00		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全134頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-538682(P2023-538682)
(86)(22)出願日　令和3年12月22日(2021.12.22)
(85)翻訳文提出日　令和5年8月2日(2023.8.2)
(86)国際出願番号　PCT/EP2021/087312
(87)国際公開番号　WO2022/136555
(87)国際公開日　令和4年6月30日(2022.6.30)
(31)優先権主張番号　20216838.1
(32)優先日　令和2年12月23日(2020.12.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　513157604
ルートヴィヒ‐マクシミリアン‐ユニバーシタット ミュンヘン
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン ゲシュヴィスター‐ショル‐プラッツ １
(71)出願人　519070828
フォルシュングスフェアバント ベルリン エー．ベー．
ドイツ連邦共和国 １２４８９ ベルリン ルードアー ショッセ １７
(74)代理人　100102978
弁理士　清水 初志
(74)代理人　100205707
弁理士　小寺 秀紀
(74)代理人　100160923
最終頁に続く

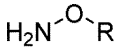
(54)【発明の名称】　改善されたＣＤ３０ターゲティング抗体薬物コンジュゲートおよびその使用法

(57)【要約】
本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ADC）に関し、前記ADCは、（a）ブレンツキシマブの軽鎖のC末端、重鎖のC末端、または重鎖および軽鎖の全てのC末端に、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列と、非天然アミノ酸とを含む、前記ブレンツキシマブ；ならびに（b）少なくとも1つの薬物部分を含み；ここで、薬物部分はリンカーを介して前記非天然アミノ酸のそれぞれに連結している。本発明はさらに、前記ADCを作製する方法、前記ADCを含む薬学的組成物、およびそれらの使用に関する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ａ）ブレンツキシマブの軽鎖のＣ末端、重鎖のＣ末端、または重鎖および軽鎖の全てのＣ末端に、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列と、非天然アミノ酸とを含む、前記ブレンツキシマブ；ならびに
（ｂ）少なくとも１つの薬物部分
を含み、
ここで、薬物部分が、リンカーを介して前記非天然アミノ酸のそれぞれに連結している、
抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）。
【請求項２】
ブレンツキシマブの前記重鎖が、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１を含むもしくはそれからなるアミノ酸配列を有するか、またはＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１に対する少なくとも９５％の配列同一性を有し、かつ/あるいは
ブレンツキシマブの前記軽鎖が、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２を含むもしくはそれからなるアミノ酸配列を有するか、またはＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２に対する少なくとも９５％の配列同一性を有する、
請求項１記載のＡＤＣ。
【請求項３】
ブレンツキシマブが、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１のアミノ酸配列からなる重鎖、およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２のアミノ酸配列からなる軽鎖からなる、請求項２記載のＡＤＣ。
【請求項４】
前記薬物部分が、カンプトテシン、メイタンシノイド、カリケアマイシン、デュオカルマイシン、チューブリシン、アマトキシン、ドラスタチンおよびアウリスタチン、例えばモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン二量体、放射性同位体、治療用タンパク質およびペプチド（またはそれらの断片）、核酸、ＰＲＯＴＡＣ、キナーゼ阻害物質、ＭＥＫ阻害物質、ＫＳＰ阻害物質、ならびにそれらの類縁体またはプロドラッグからなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。
【請求項５】
前記薬物部分がＭＭＡＥである、請求項４記載のＡＤＣ。
【請求項６】
チューブリンチロシンリガーゼの前記認識配列が、少なくともアミノ酸配列$X_1X_2X_3X_4$（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３）を有し、ここで、X_1およびX_2が、任意のアミノ酸であり、X_3がＥ、Ｄ、またはＣであり、かつX_4がＥである、前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。
【請求項７】
X_2がＧ、Ｓ、Ａ、Ｖ、もしくはＦであり、かつ/またはX_1がＥ、Ｄ、Ａ、Ｋ、もしくはＰである、請求項６記載のＡＤＣ。
【請求項８】
前記認識配列がＥＧＥＥ（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４）である、請求項７記載のＡＤＣ。
【請求項９】
前記認識配列が、
VDSVEGEGEEEGEE (SEQ ID No. 5), SVEGEGEEEGEE (SEQ ID No. 6), SADGEDEGEE (SEQ ID No. 7), SVEAEAEEGEE (SEQ ID No. 8), SYEDEDEGEE (SEQ ID No. 9), または SFEEENEGEE (SEQ ID No. 10)

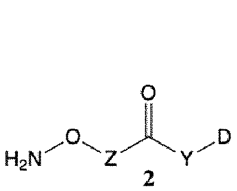
である、請求項７記載のＡＤＣ。
【請求項１０】

前記非天然アミノ酸が、
ベンジル位で置換された、2-置換チロシン、3-置換チロシン、もしくは4-置換チロシンまたは2-置換チロシン誘導体、3-置換チロシン誘導体、もしくは4-置換チロシン誘導体
である、前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。
【請求項１１】
前記3-置換チロシン誘導体または4-置換チロシン誘導体が、3-ニトロチロシン、3-アミノチロシン、3-アジドチロシン、3-ホルミルチロシン、3-アセチルチロシン、または4-アミノフェニルアラニンである、請求項10記載のＡＤＣ。
【請求項１２】
前記3-置換チロシン誘導体または4-置換チロシン誘導体が3-ホルミルチロシンである、請求項11記載のＡＤＣ。
【請求項１３】
前記リンカーが切断可能である、前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。
【請求項１４】
前記リンカーがプロテアーゼによって切断可能である、請求項13記載のＡＤＣ。
【請求項１５】
前記プロテアーゼがカテプシンBなどのカテプシンである、請求項14記載のＡＤＣ。
【請求項１６】
前記リンカーがバリン-シトルリン部分を含む、前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。
【請求項１７】
前記リンカーがヒドロキシルアミン基を含み、かつ前記非天然アミノ酸が、芳香環におけるヒドロキシル基のオルト位にホルミル基を含み、ここで前記リンカーの前記ヒドロキシルアミン基が、コンジュゲーション後に前記非天然アミノ酸の前記ホルミル基とともにオキシムを形成する、前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。
【請求項１８】
ブレンツキシマブが、2、4、6、または8つの薬物部分にコンジュゲートしている、前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。
【請求項１９】
ブレンツキシマブが、2または4つの薬物部分にコンジュゲートしている、請求項18記載のＡＤＣ。
【請求項２０】
ブレンツキシマブが、2つの薬物部分にコンジュゲートしている、請求項19記載のＡＤＣ。
【請求項２１】
前記リンカーが、前記非天然アミノ酸に連結される前に、構造1：

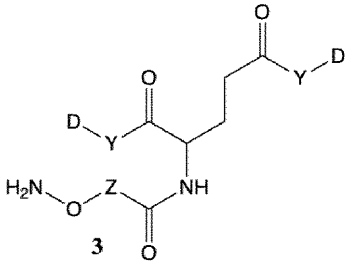


1

に示す構造を有し、
ここで、Rが、1つまたは複数の薬物部分であり、前記薬物部分が、1つまたは複数の切断部位によって構造1のヒドロキシルアミンに任意に連結されている、
前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。
【請求項２２】
構造1のヒドロキシルアミンが前記非天然アミノ酸にコンジュゲートされる、請求項21記載のＡＤＣ。
【請求項２３】
前記リンカーが、前記非天然アミノ酸に連結される前に、構造2または3：



2



3

に示す構造を有し、

ここで、Zが、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択され；

ここで、Dが、1つまたは複数の薬物部分であり；かつ

ここで、Yが、カテプシンBなどのカテプシンの切断部位などの切断部位である、

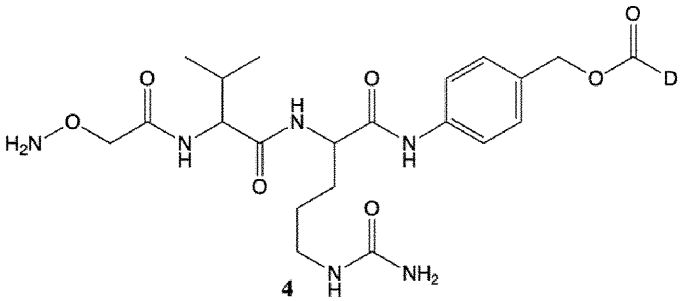
前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。

【請求項２４】

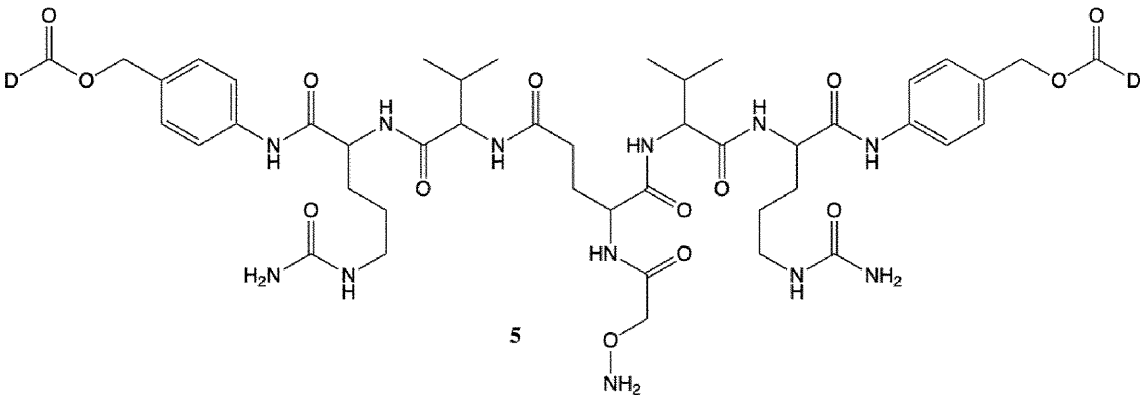
構造2または3のヒドロキシルアミンが前記非天然アミノ酸にコンジュゲートされる、請求項23記載のＡＤＣ。

【請求項２５】

前記リンカーが、前記非天然アミノ酸に連結される前に、構造4または5：



4



5

に示す構造を有し、ここでDが薬物部分である、

前記請求項のいずれか一項記載のＡＤＣ。

【請求項２６】

前記非天然アミノ酸が3-ホルミルチロシンであり、かつ前記リンカーの前記ヒドロキシルアミン基が前記非天然アミノ酸の3-ホルミル基とともにオキシムを形成する、請求項25記載のＡＤＣ。

【請求項２７】

前記薬物部分がＭＭＡＥである、請求項２６記載のＡＤＣ。

【請求項２８】

（ａ）各軽鎖のＣ末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって；

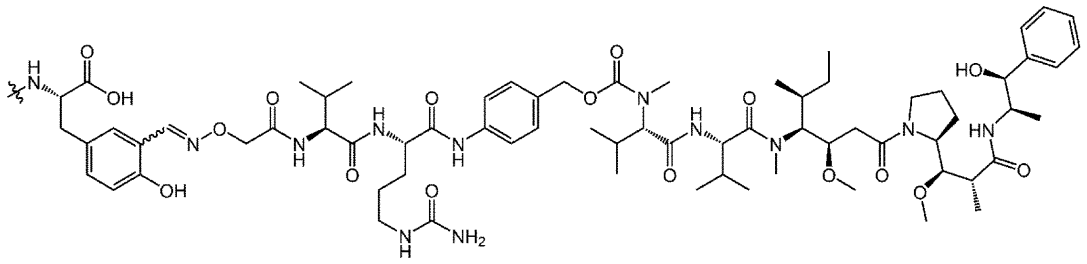
前記認識配列を含む各軽鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１を有し；かつ

ブレンツキシマブの各重鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１を有する、

前記ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（ｂ）各軽鎖の前記認識配列のＣ末端が、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線が、各軽鎖の前記認識配列のＣ末端への結合を示す、

抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）。

【請求項２９】

（ａ）各軽鎖のＣ末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって、

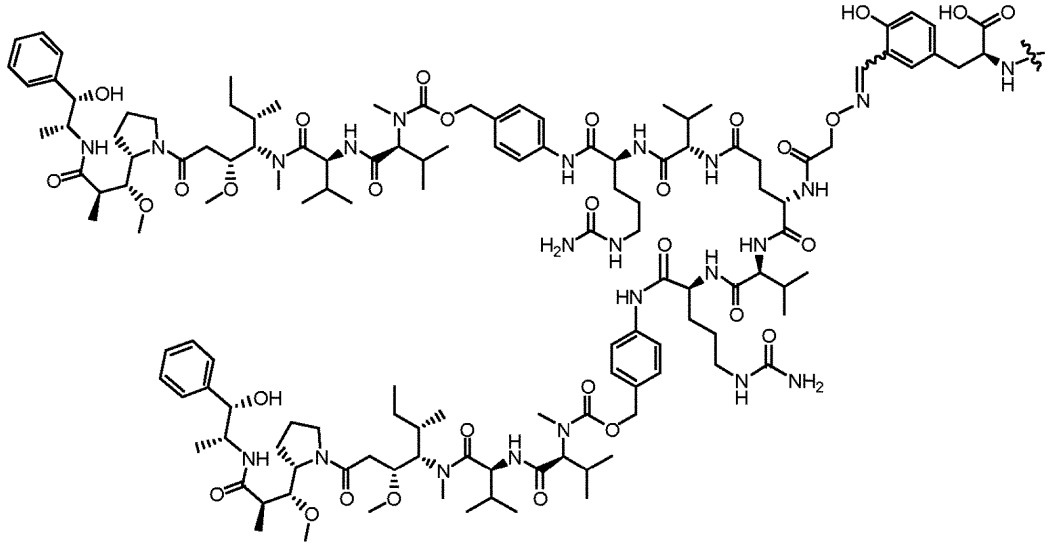
前記認識配列を含む各軽鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１を有し；かつ

ブレンツキシマブの各重鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１を有する、

前記ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（ｂ）各軽鎖の前記認識配列のＣ末端が、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線が、各軽鎖の前記認識配列のＣ末端への結合を示す、

抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）。

【請求項３０】

（ａ）ブレンツキシマブの軽鎖のＣ末端、重鎖のＣ末端、または軽鎖および重鎖の両方のＣ末端に、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列を導入または付加する段階；

（ｂ）段階（ａ）で得たブレンツキシマブを非天然アミノ酸にチューブリンチロシンリガーゼが連結するのに適した条件下で、前記チューブリンチロシンリガーゼおよび前記非天然アミノ酸の存在下において前記ブレンツキシマブを接触させる段階；ならびに
（ｃ）薬物部分を含む任意に切断可能なリンカーを、段階（ｂ）で得た連結されたブレンツキシマブにコンジュゲートする段階
を含む、請求項１～２９のいずれか一項において定義するＡＤＣを作製する方法。
【請求項３１】
請求項３０記載の方法によって得ることが可能なまたは得られるＡＤＣ。
【請求項３２】
請求項１～２９または３１のいずれか一項記載のＡＤＣを含む薬学的組成物。
【請求項３３】
疾患を処置する方法における使用のための、請求項１～２９または３１のいずれか一項記載のＡＤＣ。
【請求項３４】
前記疾患がＣＤ３０の過剰発現と関連している、請求項３３記載の使用のためのＡＤＣ。
【請求項３５】
前記疾患が、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（ＨＬ）、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）、大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、小児リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫および腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）からなる群より選択されるか；または
前記疾患が、末梢Ｔ細胞リンパ腫-非特異型（ＰＴＣＬ-ＮＯＳ）、血管免疫芽球性Ｔ細胞リンパ腫（ＡＩＴＬ）、腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、成人Ｔ細胞白血病/リンパ腫（ＡＴＬＬ）、節外性ナチュラルキラー/Ｔ細胞リンパ腫（ＥＮＫＴＣＬ）、肝脾および腸γ/δ-Ｔ細胞リンパ腫、ＴＦＨ形質を伴う節性末梢性Ｔ細胞リンパ腫、ならびに濾胞性Ｔ細胞リンパ腫からなる群より選択される、
請求項３３または３４記載の使用のためのＡＤＣ。
【請求項３６】
前記疾患がホジキンリンパ腫（ＨＬ）もしくは未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）であるか；または
前記疾患が、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）を含む末梢性Ｔ細胞リンパ腫（ＰＴＣＬ）；もしくは原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（ｐｃＡＬＣＬ）を含む皮膚Ｔ細胞リンパ腫（ＣＴＣＬ）である、
請求項３５記載の使用のためのＡＤＣ。
【請求項３７】
疾患を処置する方法における使用のための、請求項３２記載の薬学的組成物。
【請求項３８】
前記疾患がＣＤ３０の過剰発現に関連する、請求項３７記載の使用のための薬学的組成物。
【請求項３９】
前記疾患が、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（ＨＬ）、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）、大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、小児リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫および腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）からなる群より選択されるか；または
前記疾患が、末梢Ｔ細胞リンパ腫-非特異型（ＰＴＣＬ-ＮＯＳ）、血管免疫芽球性Ｔ細胞リンパ腫（ＡＩＴＬ）、腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、成人Ｔ細胞白血病/リンパ腫（ＡＴＬＬ）、節外性ナチュラルキラー/Ｔ細胞リンパ腫（ＥＮＫＴＣＬ）、肝脾および腸γ/δ-Ｔ細胞リンパ腫、ＴＦＨ形質を伴う節性末梢性Ｔ細胞リンパ腫、ならびに濾胞性Ｔ細胞リンパ腫

からなる群より選択される、
請求項37または38記載の使用のための薬学的組成物。
【請求項４０】
前記疾患がホジキンリンパ腫（HL）もしくは未分化大細胞リンパ腫（ALCL）であるか；または
前記疾患が、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）を含む末梢性T細胞リンパ腫（PTCL）；もしくは原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（pcALCL）を含む皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）である、
請求項39記載の使用のための薬学的組成物。
【請求項４１】
CD30の過剰発現に関連する疾患を処置するための医薬の製造のための、請求項1～29または31のいずれか一項記載のADCの使用。
【請求項４２】
前記疾患が、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、大細胞型B細胞リンパ腫、小児リンパ腫、T細胞リンパ腫および腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（GvHD）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（SLE）からなる群より選択されるか；または
前記疾患が、末梢T細胞リンパ腫-非特異型（PTCL-NOS）、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫（AITL）、腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、成人T細胞白血病/リンパ腫（ATLL）、節外性ナチュラルキラー/T細胞リンパ腫（ENKTCL）、肝脾および腸γ/δ-T細胞リンパ腫、TFH形質を伴う節性末梢性T細胞リンパ腫、ならびに濾胞性T細胞リンパ腫からなる群より選択される、
請求項41記載の使用。
【請求項４３】
前記疾患がホジキンリンパ腫（HL）もしくは未分化大細胞リンパ腫（ALCL）であるか；または
前記疾患が、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）を含む末梢性T細胞リンパ腫（PTCL）；もしくは原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（pcALCL）を含む皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）である、
請求項42記載の使用。
【請求項４４】
CD30の過剰発現に関連する疾患を処置するための医薬の製造のための、請求項32記載の薬学的組成物の使用。
【請求項４５】
前記疾患が、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、大細胞型B細胞リンパ腫、小児リンパ腫、T細胞リンパ腫および腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（GvHD）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（SLE）からなる群より選択されるか；または
前記疾患が、末梢T細胞リンパ腫-非特異型（PTCL-NOS）、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫（AITL）、腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、成人T細胞白血病/リンパ腫（ATLL）、節外性ナチュラルキラー/T細胞リンパ腫（ENKTCL）、肝脾および腸γ/δ-T細胞リンパ腫、TFH形質を伴う節性末梢性T細胞リンパ腫、ならびに濾胞性T細胞リンパ腫からなる群より選択される、
請求項44記載の使用。
【請求項４６】
前記疾患がホジキンリンパ腫（HL）もしくは未分化大細胞リンパ腫（ALCL）である

か；または
前記疾患が、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）を含む末梢性Ｔ細胞リンパ腫（ＰＴＣＬ）；もしくは原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（ｐｃＡＬＣＬ）を含む皮膚Ｔ細胞リンパ腫（ＣＴＣＬ）である、
請求項４５記載の使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２０年１２月２３日提出の欧州特許出願第２０２１６８３８.１号の優先権の恩典を主張し、その内容はあらゆる目的のためにその全体が参照により本明細書に組み入れられる。
【０００２】
発明の技術分野
本発明は、ブレンツキシマブと少なくとも１つの薬物部分とを含む抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）、前記ＡＤＣを作製する方法、前記ＡＤＣを含む薬学的組成物、およびそれらの使用に関する。
【背景技術】
【０００３】
背景
リンパ腫性悪性腫瘍は、すべてのがんであるがん全体の約４～５％を占め、リンパ系由来である。古典的なホジキンリンパ腫ならびに未分化大細胞リンパ腫および末梢Ｔ細胞リンパ腫などのいくつかの非ホジキンリンパ腫において、ＣＤ３０は近年、標的処置のための価値ある腫瘍バイオマーカーとして証明された。２０１１年にブレンツキシマブベドチン（Ｂｒｅｎｔｕｘｉｍａｂ ｖｅｄｏｔｉｎ）のファーストインクラス承認により、最初のＣＤ３０特異的生物学的薬物が市場に参入し、それ以来、良好な全般的応答を示す不可欠な処置選択肢となっている。ブレンツキシマブベドチンは、腫瘍を標的とするキメラＩｇＧ１抗体要素であるブレンツキシマブ、および強力なペイロード部分であるモノメチルアウリスタチンＥと化学的に接続されたカテプシンＢで切断可能なバリン-シトルリンリンカー部分を含むリンカーペイロード要素からなり、細胞内送達および放出後にアポトーシスを効率的に誘導する。
【０００４】
ブレンツキシマブベドチンは抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）であり、近年大きな関心を集めている比較的新しい治療法である。これらの生物製剤は、強力な細胞毒性薬物を腫瘍細胞に直接送達し、そのため、通常の化学療法と比較して治療ウィンドウを広くする可能性がある。これまでに、９つの推計学的にコンジュゲートしたＡＤＣが承認されている。これらの分子は、露出したリジン残基と無作為に反応する活性化カルボン酸（例えば、マイロターグ、ベスポンサ、カドサイラ）とのコンジュゲーションに基づいている。または、マレイミドは、鎖内ジスルフィド還元後にリンカーペイロード部分を遊離システインにコンジュゲートさせるための最も重要なコンジュゲーション試薬となっている（例えば、ブレンツキシマブベドチン（アドセトリス(登録商標)として入手可能）、ポライビー、パドセブ、エンハーツ、トロデルヴィ、ブレンレプ）。
【０００５】
しかし、ブレンツキシマブベドチンは、臨床ルーチンにおいて血小板減少症などの副作用として、過敏性で長期的な毒性を引き起こすことが公知である。
【０００６】
したがって、好ましくは副作用の少ない改善されたブレンツキシマブ含有ＡＤＣが依然として必要とされている。本発明は、この必要性に対処することを目的とする。
【発明の概要】
【０００７】

この必要性は、特許請求の範囲および本明細書に記載の態様において定義する内容によって解決される。

【０００８】

したがって、本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）に関し、前記ＡＤＣは、

（ａ）ブレンツキシマブの軽鎖のＣ末端、重鎖のＣ末端、または重鎖および軽鎖の全てのＣ末端に、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列と、非天然アミノ酸とを含む、ブレンツキシマブ；ならびに

（ｂ）少なくとも１つの薬物部分

を含み、

ここで、薬物部分はリンカーを介して非天然アミノ酸のそれぞれに連結している。

【０００９】

ブレンツキシマブの重鎖は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１を含むアミノ酸配列を有してもよいか、もしくはＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１に対する少なくとも９５％の配列同一性を有してもよく、かつ/またはここでブレンツキシマブの軽鎖は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２を含むアミノ酸配列を有するか、もしくはＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２に対する少なくとも９５％の配列同一性を有し、好ましくは、ブレンツキシマブは、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１のアミノ酸配列からなる重鎖、およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２のアミノ酸配列からなる軽鎖からなる。

【００１０】

薬物部分は、カンプトテシン、メイタンシノイド、カリケアマイシン、デュオカルマイシン、チューブリシン、アマトキシン、ドラスタチンおよびアウリスタチン、例えばモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン二量体、放射性同位体、治療用タンパク質およびペプチド（またはそれらの断片）、核酸、ＰＲＯＴＡＣ、キナーゼ阻害物質、ＭＥＫ阻害物質、ＫＳＰ阻害物質、ならびにそれらの類縁体またはプロドラッグからなる群より選択してもよく、好ましくは薬物部分はＭＭＡＥである。

【００１１】

チューブリンチロシンリガーゼの認識配列は、少なくともアミノ酸配列$X_1X_2X_3X_4$（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３）を有してもよく、ここで、X_1およびX_2は任意のアミノ酸であり、X_3はＥ、Ｄ、もしくはＣであり、かつX_4はＥであり、好ましくはここで、X_2はＧ、Ｓ、Ａ、Ｖ、もしくはＦであり、かつ/またはX_1はＥ、Ｄ、Ａ、Ｋ、もしくはＰである。

【００１２】

認識配列はＥＧＥＥ（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４）であってもよく、好ましくは認識配列は、
VDSVEGEGEEEGEE (SEQ ID No. 5), SVEGEGEEEGEE (SEQ ID No. 6),
SADGEDEGEE (SEQ ID No. 7), SVEAEAEEGEE (SEQ ID No. 8), SYEDEDEGEE (SEQ ID No. 9), または SFEEENEGEE (SEQ ID No. 10)

である。

【００１３】

非天然アミノ酸は、ベンジル位で置換された、２-置換チロシン、３-置換チロシン、もしくは４-置換チロシンまたは２-置換チロシン誘導体、３-置換チロシン誘導体、もしくは４-置換チロシン誘導体であってもよい。３-置換チロシン誘導体または４-置換チロシン誘導体は、３-ニトロチロシン、３-アミノチロシン、３-アジドチロシン、３-ホルミルチロシン、３-アセチルチロシン、または４-アミノフェニルアラニンであってもよく、好ましくは非天然アミノ酸は３-ホルミルチロシンである。

【００１４】

リンカーは、好ましくはプロテアーゼによって、より好ましくはカテプシンＢなどのカテプシンによって切断可能であってもよい。リンカーは、バリン-シトルリン部分を含んでもよい。リンカーはヒドロキシルアミン基を含んでもよく、かつ非天然アミノ酸は、３-ホルミルチオルシンなどの芳香環におけるヒドロキシル基のオルト位にホルミル基を含

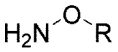
み、ここでリンカーのヒドロキシルアミン基は、コンジュゲーション後に非天然アミノ酸のホルミル基とともにオキシムを形成する。

【００１５】

ブレンツキシマブは、2、4、6、または8つ、好ましくは2または4つの薬物部分、より好ましくは2つの薬物部分にコンジュゲートしていてもよい。

【００１６】

リンカーは、非天然アミノ酸に連結される前に、構造1：



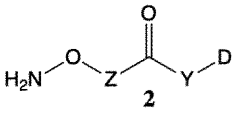
1

に示す構造を有してもよく、

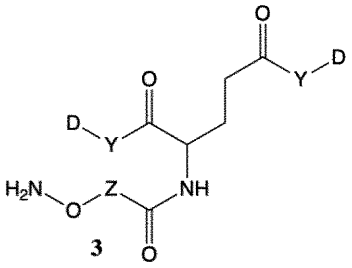
ここで、Rは1つまたは複数の薬物部分であり、前記薬物部分は、1つまたは複数の切断部位によって構造1のヒドロキシルアミンに任意に連結され、好ましくはここで構造1のヒドロキシルアミンは非天然アミノ酸にコンジュゲートされる。

【００１７】

リンカーは、非天然アミノ酸に連結される前に、構造2または3：



2



3

に示す構造を有してもよく、

ここで、Zは、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択され；

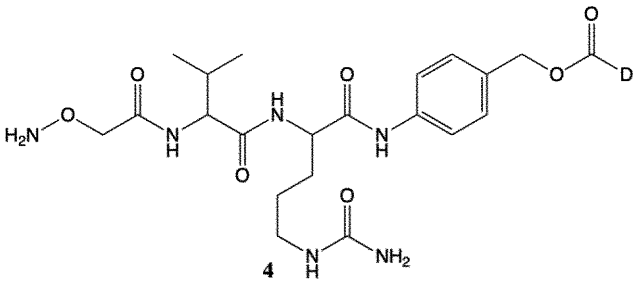
ここで、Dは1つまたは複数の薬物部分であり；かつ

ここで、Yは、カテプシンBなどのカテプシンの切断部位などの切断部位であり；

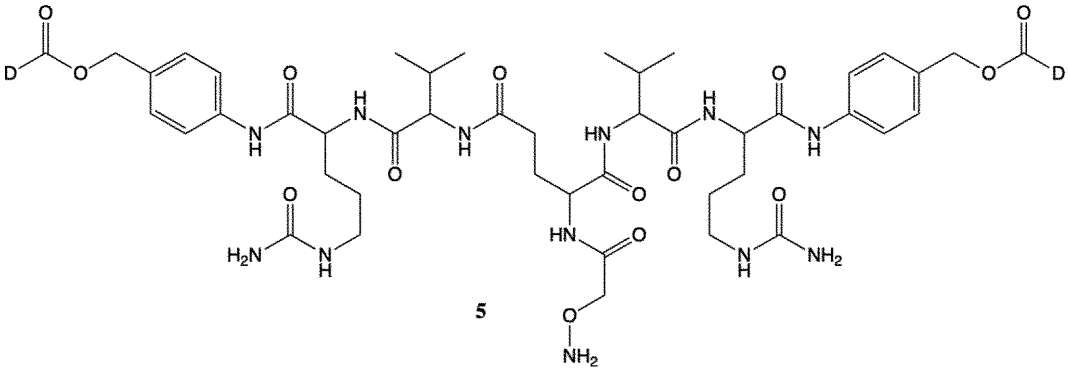
好ましくはここで、構造2または3のヒドロキシルアミンは非天然アミノ酸にコンジュゲートされる。

【００１８】

リンカーは、非天然アミノ酸に連結される前に、構造4または5：



4



5

に示す構造を有してもよく、ここでDは薬物部分、好ましくはＭＭＡＥである。

【００１９】

非天然アミノ酸は3-ホルミルチロシンであってもよく、かつリンカーのヒドロキシルアミン基は非天然アミノ酸の3-ホルミル基とともにオキシムを形成してもよい。

【００２０】

本発明はさらに、本明細書において定義するＡＤＣを作製する方法に関し、前記方法は、

（ａ）ブレンツキシマブの軽鎖のＣ末端、重鎖のＣ末端、または軽鎖および重鎖の両方のＣ末端に、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列を導入または付加する段階；

（ｂ）段階（ａ）で得たブレンツキシマブを非天然アミノ酸にチューブリンチロシンリガーゼが連結するのに適した条件下で、チューブリンチロシンリガーゼおよび前記非天然アミノ酸の存在下において前記ブレンツキシマブを接触させる段階；ならびに

（ｃ）薬物部分を含む任意に切断可能なリンカーを、段階（ｂ）で得た連結されたブレンツキシマブにコンジュゲートする段階

を含む。

【００２１】

本発明はさらに、本明細書において定義するＡＤＣを作製する方法によって得られるＡＤＣに関する。本発明はさらに、本明細書において定義するＡＤＣを作製する方法によって得たＡＤＣに関する。

【００２２】

本発明はさらに、本発明のＡＤＣを含む薬学的組成物に関する。

【００２３】

本発明はさらに、疾患を処置する方法における使用のための本発明のＡＤＣまたは本発明の薬学的組成物に関する。好ましくは、疾患はＣＤ３０の過剰発現と関連している。より好ましくは、疾患は、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（ＨＬ）、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）、大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、小児リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫および腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、好ましくはホジキンリンパ腫（ＨＬ）または未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）からなる群より選択される。

【図面の簡単な説明】

【００２４】
本発明は、非限定例および以下の添付の図面と共に考察すれば、詳細な説明に関してより良く理解されよう。
【図１】プロテインAクロマトグラフィー（PAC）後の分析用サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）のクロマトグラムを示し、図1Aは非修飾ブレンツキシマブのSECを示し、図1B～Dはブレンツキシマブの Tubタグ変種のSECを示す。モノクローナル抗体（mAb）は、発現および精製後にモノマー率が高い。
【図２】ブレンツキシマブ（黒）およびBren．LC-Tub（灰色、点線）、Bren．HC-Tub（灰色）、Bren．LCHC-Tub（黒、点線）として示すブレンツキシマブ（ブレンツキシマブは「Bren」と略記する）のTubタグ類縁体の分析を示す。図2Aは、親水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）のクロマトグラムであり、220nmで記録した標準化吸収スペクトルを示す。保持時間は疎水性の尺度である。図2Bは、融点（T_m）の決定のための示差走査蛍光測定法（DSF）を示す。
【図３】分析用SECおよびHICによるブレンツキシマブTubタグADCの分析を示す。ブレンツキシマブ変種（ブレンツキシマブは「Bren」と略記し、図3AおよびDはBren．HC-vc-PAB-MMAE DAR2（本明細書において「Bren．HC-2」とも表示する）を示し、図3BおよびEはBren．LC-vc-PAB-MMAE DAR2（本明細書において「Bren．LC-2」とも表示する）を示し、かつ図3CおよびFはBren．LCHC-vc-PAB-MMAE DAR4（本明細書において「Bren．LCHC-2」とも表示する）を示す）のそれぞれを発現させ、PACで精製し、DAR2の生成のためにペイロード2およびDAR4 ADCの生成のためにペイロード2またはペイロード3にコンジュゲートした。HICおよび緩衝液交換による最終ポリシング後、TubタグADCを凝集物含有量およびDAR均質性に関して分析した。すべてのTubタグADCは非常に低い含有量のHMWS（＜1％）を含み、優れたDAR均質性を示した。
【図４】粗製物スペクトルの逆重畳後の、ミドルアップタンパク質MSによるブレンツキシマブTubタグADCの分析を示す。図4Aは、Bren．HC-Tubの結果を示し、図4BはBren．LCHC-Tubの結果を示し、図4CはBren-LC-Tubの結果を示し、図4DはBren．HC-vc-PAB-MMAE（本明細書において「Bren．HC-2」とも表示する）の結果を示し、図4EはBren-LCHC-vc-PAB-MMAE（本明細書において「Bren．LCHC-2」とも表示する）の結果を示し、かつ図4FはBren．LC-2(vc-PAB-MMAE)（本明細書において「Bren．LC-3」とも表示する）の結果を示す。1369m/zの質量シフトは、3-ホルミル-L-チロシン1の組み込みおよびペイロード2とのオキシム連結に起因する。ペイロード3とのオキシム連結後、2604m/zの質量の差が観察された。これらの結果は計算値と一致している。
【図５】図5Aにおいて、プロテアーゼカテプシンB（各vc部分に対して1：1000）による消化反応中の、ペイロード2および3を含むバリン-シトルリン（vc）のRP-HPLC分析を示す。分析前に、E-64により反応を停止した。150分の反応時間後のクロマトグラムを220nmで記録した。図5Bのプロットは、経時的な遊離MMAEの増加（黒）およびペイロード2の減少（灰色、丸）を示す。図5Cは、ペイロード3の切断を示す。カテプシンBとの反応中、1つのMMAE部分を含む中間体が形成される（灰色、三角）。
【図６】ブレンツキシマブベドチンおよびブレンツキシマブTubタグADCの高温での貯蔵の結果を示す。図6Aは、試験の過程でのHMWSの増加を示す（Bren.LC-2(vc-PAB-MMAE)（本明細書において「Bren．LC-3」とも表示する）；Bren．LC-vc-PAB-MMAE（本明細書において「Bren．LC-2」とも表示する）；Bren．HC-vc-PAB-MMAE（本明細書において「Bren．HC-2」とも表示する）。凝集物含有量の最も高い増加は、ブレンツキシマブベドチンで見ることができる。これと比べて、TubタグADCのHMWS含有量はほぼ一定のままである。図6Bおよび6Cは、SECクロマトグラムを示し、ブレンツキシマブベドチン（平均薬物抗体比（DAR_{av}）4）およびペイロード3とコンジュゲートしたBren．LC（Bren．LC-3、DAR 4）について220nmで記録した標準化吸収スペクトルを示す。

【図７】マウス血漿中のブレンツキシマブTubタグADCの安定性を例示する図を示す。図7Aおよび7Bは、マウス血漿中、37℃でのブレンツキシマブベドチン貯蔵の結果を示し、図7Cおよび7Dは、マウス血漿中、37℃でのBren．LC-3 DAR 4貯蔵の結果を示す。
【図８】CD30過剰発現細胞株Karpas299およびCD30陰性細胞株HL60におけるブレンツキシマブTubタグADCのインビトロでの有効性を示す。
【図９】腫瘍体積（cm^3）に関して表した、Bren．LC-2のインビボでの有効性を示す。Bren．LC-2のインビボでの有効性の評価のために、100～150mm^3の間の腫瘍体積を有するマウスを無作為化し、腫瘍移植後第7日および第10日に2回の1.5mg/kgの注射により処置を行った。
【図１０－１】図10は、腫瘍体積（cm^3）および処置した動物の生存パーセンテージに関して表した、Bren．LC-2のインビボでの有効性を示す。Bren．LC-2のインビボでの有効性の評価のために、100～150mm^3の間の腫瘍体積を有するマウスを無作為化し、1回の1.0mg/kgの注射により処置を行った。
【図１０－２】図10-1の説明を参照のこと。
【図１１】腫瘍体積（cm^3）および処置した動物の生存パーセンテージ（カプランマイヤープロット）に関して表した、Bren．LC-3のインビボでの有効性を示す。Bren．LC-3のインビボでの有効性の評価のために、100～150mm^3の間の腫瘍体積を有するマウスを無作為化し、腫瘍移植後第8日および第11日に2回の0.5mg/kgの注射により処置を行った。
【図１２】ブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren LC-2）のPK分析を示す。図12Aでは、ブレンツキシマブベドチンに比べたインタクトなADCの量を示す。図12Bでは、質量分析により分析した、血液タンパク質に移行したMMAEの量を示す。
【図１３】ブレンツキシマブベドチンに比べてブレンツキシマブTubタグADCを第1、8、15および22日に10mg/kgで静脈内（ボーラス）投与した後の、雌雄のラットにおけるインタクトなADCおよび全抗体の平均血清濃度を示す。
【図１４】雌雄のラットにおけるブレンツキシマブベドチン（黒棒）に比べてブレンツキシマブTubタグADC（Bren LC-2）（灰色の棒）の例示的な毒性の特徴を示す。図14に示すパラメーターは、カウント/マイクロリットル単位での網状赤血球（K/μl単位でのRET）、100万/マイクロリットル単位での赤血球（M/μl単位でのRBC）、100万/マイクロリットル単位でのヘモグロビン（M/μL単位でのHb）、体積%単位でのヘマトクリット（%単位でのHTC）、カウント/マイクロリットル単位での好酸球（K/μl単位でのEOS）、秒単位での活性化部分トロンボプラスチン時間（APPT）（秒）、ミリモル/リットル単位でのグルコースレベル（mmol/L）、グラム単位での胸腺重量（g）およびグラム単位での精巣重量（g）である。
【図１５】精製後のHA-VC-PAB-MMAEのクロマトグラムを示す。
【図１６】精製後のBoc-Glu-$(VC\text{-}PAB\text{-}MMAE)_2$のクロマトグラムを示す。
【図１７】精製後のBoc-HA-Glu-$(VC\text{-}PAB\text{-}MMAE)_2$のクロマトグラムを示す。
【図１８】精製後のHA-Glu-$(VC\text{-}PAB\text{-}MMAE)_2$のクロマトグラムを示す。
【図１９】12および15mg/kgで投与したカニクイザルにおけるブレンツキシマブTubタグMMAEの毒物動態学的分析を示す。mAbおよびインタクトなADCの全量をELISAで評価した。インタクトなADCおよび全mAbの曲線の高度な重なりは、両方の用量レベルでのブレンツキシマブTubタグMMAEの高い安定性を示す。
【図２０】カニクイザルにおけるブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）の反復投与試験の全体にわたって収集した、体重および選択した異なる血液値を示す。図20の左上の図は経時的な体重を示す。図20の右上の図は経時的なリンパ球濃度を示す。図20の左下の図は経時的な好中球濃度を示す。図20の右下の図は経時的な白血球濃度を示す。データは、それぞれの場合に、6、12、および15mg/kgのブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）を反復投与した2匹の雌の3群の平均および誤差を、ブレンツキシマブベドチン（アドセトリス）による同様の試験の文献値と比較して示す。体重はキログラム単位、リンパ球は10億/リットル単位、好中球は10億/リットル単位、および

白血球は10億/リットル単位で示す。
【図２１】以下のリンクhttps：//www.pmda.go.jp/files/000229787.pdfで入手可能な2013 Report of the Evaluation and Licensing Division, Pharmaceutical and Food Safety Bureau Ministry of Health, Labour and Welfare on the Deliberation Results for Brentuximab Vedotinに記載の、ブレンツキシマブの重鎖および軽鎖のアミノ酸配列を示す。
【発明を実施するための形態】
【００２５】
発明の詳細な説明
本発明を以下に詳細に説明し、また添付の実施例および図面によってもさらに例示する。
【００２６】
リンパ腫性悪性腫瘍は、がんであるがん全体の約4～5％を占め、リンパ系由来である。古典的なホジキンリンパ腫ならびに未分化大細胞リンパ腫および末梢T細胞リンパ腫などのいくつかの非ホジキンリンパ腫において、CD30は近年、標的処置のための価値ある腫瘍バイオマーカーとして証明された。2011年にブレンツキシマブベドチン（アドセトリス(登録商標)）のファーストインクラス承認により、最初のCD30特異的生物学的薬物が市場に参入し、それ以来、良好な全般的応答を示す不可欠な処置選択肢となっている。ブレンツキシマブベドチンは、腫瘍を標的とするキメラIgG1抗体要素であるブレンツキシマブ、および強力なペイロード部分であるモノメチルアウリスタチンEと化学的に接続されたカテプシンBで切断可能なバリン-シトルリンリンカー部分を含むリンカーペイロード要素からなり、細胞内送達および放出後にアポトーシスを効率的に誘導する。
【００２７】
しかし、ブレンツキシマブベドチンは、臨床ルーチンにおいて血小板減少症などの副作用として、過敏性で長期的な毒性を引き起こすことが公知である。
【００２８】
本発明者らは、チューブリンチロシンリガーゼの使用が、驚くことに、軽鎖および/または重鎖のC末端にTTL認識配列を付加することによって修飾したブレンツキシマブへの薬物部分の高度に特異的かつ化学量論的に規定されたコンジュゲーションを可能にすることを示すことができた。TTLを用いて、3-ホルミルチロシンなどの非天然アミノ酸をTTL認識配列にコンジュゲートすることができる。薬物部分、例えばMMAEを、リンカー、例えば、非天然アミノ酸上の活性基と反応し得る活性基を含むリンカーによって非天然アミノ酸に特異的にコンジュゲートすることができる。例えば、リンカーは、非天然アミノ酸のホルミル基と反応してオキシムを形成する、ヒドロキシルアミンを含んでもよい（実施例1参照）。要約すると、本発明者らは、ブレンツキシマブベドチンの機能性要素であるブレンツキシマブおよびMMAEを本明細書に記載のコンジュゲーション戦略により組み合わせることによって、ブレンツキシマブベドチンを驚くほど改善し得ることを示した。本発明のADCは、驚くことに、より高いインビトロ安定性（実施例2参照）、より高いインビボ有効性（実施例4参照）、より高いインビボ安定性（実施例5参照）を示し、改善された毒性プロファイル（実施例6を参照）を有する。それにより、ブレンツキシマブベドチンの副作用を驚くほど軽減することができた。
【００２９】
したがって、本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ADC）に関し、前記ADCは、
（a）ブレンツキシマブの軽鎖のC末端、重鎖のC末端、または重鎖および軽鎖の全てのC末端に、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列と、非天然アミノ酸とを含む、ブレンツキシマブ；ならびに
（b）少なくとも1つの薬物部分
を含み、
ここで、薬物部分はリンカーを介して非天然アミノ酸のそれぞれに連結している。
【００３０】

本明細書において一般に用いられる「抗体薬物コンジュゲート」（ＡＤＣ）なる用語は、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片などの抗体と、化学療法剤、毒素、免疫療法剤、撮像プローブなどの別の作用物質との連結を指す。連結は、共有結合、または静電力によるものなどの非共有相互作用、好ましくは共有結合であり得る。当技術分野において公知であり、本明細書に記載する様々なリンカーを、抗体薬物コンジュゲートを形成するために使用することができる。本発明のＡＤＣは、式$Ab-(L-(D)_x)_y$を有することによって説明してもよい。「Ａｂ」はブレンツキシマブまたはその抗原結合断片などの抗体を表し、「Ｌ」はリンカーを表し、かつ「Ｄ」は薬物部分を表す。「ｘ」は１～１０の整数であってもよい。「ｙ」は１～１０の整数であってもよい。したがって、ｘは１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０であってもよい。したがって、ｙは１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０であってもよい。純粋な実例として、ｘまたはｙは、１～８、１～６、１～４、または１～２の整数であってもよい。

【００３１】

「Ａｂ」：抗体

ブレンツキシマブ

本明細書において概説するとおり、本発明のＡＤＣは、式$Ab-(L-(D)_x)_y$を有することによって説明することができる。本発明のＡＤＣの「Ａｂ部分」はブレンツキシマブである。ｃＡＣ１０またはＳＧＮ-３０としても公知のブレンツキシマブは、当業者には周知の抗体である（例えば、Ｗａｈｌ ｅｔ ａｌ．（２００２），Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ，６２:３７３６-３７４２を参照されたい）。ブレンツキシマブは、標的細胞の細胞表面上のＣＤ３０に特異的に結合するモノクローナル抗体である。ＣＤ３０への結合はブレンツキシマブの内在化を開始し、次いでリソソーム区画に移動する。細胞内で、ＡＤＣの薬物部分は、例えば、リンカーの切断または分解を介してモノクローナル抗体から放出され得る。ブレンツキシマブは、本発明のＡＤＣに含まれる。

【００３２】

ＣＤ３０は、ＴＮＦＲＳＦ８としても公知で、腫瘍壊死因子受容体ファミリーおよび腫瘍マーカーの細胞膜タンパク質である。この受容体は活性化ＴおよびＢ細胞によって発現されるが、休止ＴおよびＢ細胞では発現されない。ＴＲＡＦ２およびＴＲＡＦ５はこの受容体と相互作用し、ＮＦ-κＢの活性化につながるシグナル伝達を媒介することができる。これはアポトーシスの正の調節因子であり、自己反応性ＣＤ８エフェクターＴ細胞の増殖能力を制限し、自己免疫から体を保護することも示されている。異なるアイソフォームをコードするこの遺伝子の２つの代替的にスプライシングされた転写変異体が報告されている。ＣＤ３０は未分化大細胞リンパ腫と関連している。胚性がん腫では発現されるが、精上皮腫では発現されず、したがってこれらの胚細胞腫瘍を区別するのに有用なマーカーである。ＣＤ３０およびＣＤ１５は、ホジキンリンパ腫に典型的なリード・ステルンベルグ細胞でも発現される。

【００３３】

承認薬としてのおよび本明細書において用いられるブレンツキシマブのそれぞれの重鎖は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ: １のアミノ酸配列を有する（これは図２１にも示している）。本明細書において、その重鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ: １に対する少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有する抗体を使用することもできる。例えば、図２１に示すとおり、４４７位の最後の残基Ｋは、必要に応じて除去することができる。そのような重鎖は、ブレンツキシマブの重鎖の変種と考えることができる。同様に、例えば、ブレンツキシマブの重鎖の最初の２または３つのＮ末端残基を削除することができる。そのような重鎖は、ブレンツキシマブと比べて３または４つの変異を有し、したがって、ブレンツキシマブ重鎖に対する約９９.２％（４つのアミノ酸の相違）から９９.８％（１つのアミノ酸の相違）の配列同一性を有する。

【００３４】

承認薬としてのおよび本明細書において用いられるブレンツキシマブのそれぞれの軽鎖は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ: ２のアミノ酸配列を有する（これは図２１にも示している）。本明細書において、その軽鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ: ２に対する少なくとも９５％、少なくとも９６％、少な

くとも97％、少なくとも98％、または少なくとも99％の配列同一性を有する抗体を使用することもできる。例えば、218位の最後の残基Cは、必要に応じて除去することができる。そのような軽鎖は、ブレンツキシマブの軽鎖の変種と考えることができる。同様に、例えば、ブレンツキシマブの軽鎖の最初の2または3つのN末端残基を削除することができる。そのような軽鎖は、ブレンツキシマブと比べて3または4つの変異を有し、したがって、ブレンツキシマブ軽鎖に対する98.2％（4つのアミノ酸の相違）から99.5％（1つのアミノ酸の相違）の配列同一性を有する。

【００３５】

1つの特定の態様において、ブレンツキシマブは、SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含む重鎖、およびSEQ ID NO: 2のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。1つのさらなる特定の態様において、ブレンツキシマブは、SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列からなる重鎖、およびSEQ ID NO: 2のアミノ酸配列からなる軽鎖からなる。

【００３６】

一般に、本明細書において用いられる場合、「パーセント（％）同一」または「同一性パーセント（％）」なる用語は、複数の核酸またはポリペプチド配列の状況において、複数の配列または部分配列が同じである程度を指す。2つの配列は、比較している領域にわたってアミノ酸またはヌクレオチドの同じ配列を有する場合、「同一」である。2つの配列は、以下の配列比較アルゴリズムの1つを用いて、またはマニュアルアライメントおよび目視検査により測定して、比較ウィンドウ、または指定の領域にわたって最大の対応について比較し、整列させた場合に、指定のパーセンテージの同じアミノ酸残基またはヌクレオチドを有する（すなわち、指定の領域、または指定されていない場合は配列全体にわたって、60％の同一性、任意に65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、または99％の同一性を有する）場合、「実質的に同一」である。任意に、同一性は、長さが少なくとも約30ヌクレオチド（または10アミノ酸）である領域にわたって、またはより好ましくは長さが100～500もしくは1000またはそれ以上のヌクレオチド（または20、50、200、もしくはそれ以上のアミノ酸）である領域にわたって存在する。

【００３７】

配列相同性または配列同一性のパーセンテージは、例えば、プログラムBLASTP、バージョンblastp 2.2.5（2002年11月16日）を用いて、本明細書において決定することができる（Altschul et al., Nucleic Acids Res, 1997参照）。本態様において、相同性のパーセンテージは、好ましくは対比較における基準として野生型タンパク質骨格を用いて、プロペプチド配列を含むポリペプチド配列全体のアライメント（マトリックス：BLOSUM 62；ギャップコスト：11.1；カットオフ値10^{-3}に設定）に基づいている。これは、BLASTPプログラム出力をアラインメントのためにプログラムによって選択されたアミノ酸の総数で除した結果として示す「ポジティブ」（相同アミノ酸）の数のパーセンテージとして計算される。

【００３８】

TTL認識配列、およびブレンツキシマブへの非天然アミノ酸の連結

本発明のADCにおいて、ブレンツキシマブは、例えば、軽鎖、重鎖、または軽鎖および重鎖の両方のC末端で、1つまたは複数のTTL認識配列に縮合することができる。このTTL認識配列は、TTLがブレンツキシマブの軽鎖および/または重鎖のC末端のTTL認識配列に非天然アミノ酸をコンジュゲートさせることを可能にする。その結果、本発明のADCに含まれるブレンツキシマブは、その軽鎖のC末端、重鎖のC末端、または重鎖および軽鎖の全てのC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列（「TTL認識配列」）を含む。本発明のADCにおいて、非天然アミノ酸をこのTTL認識配列に連結する。この非天然アミノ酸に、リンカーを介して薬物部分を連結する。本明細書において用いられる「Tubタグ」は、TTLに対する認識配列またはTTL認識配列、好ましくはSEQ ID NO: 4またはSEQ ID NO: 5に関する。

【００３９】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「チューブリンチロシンリガーゼ」なる

用語は、本明細書において「TTL」と略されることもあり、ポリペプチドを官能基付加する、すなわち本明細書において定義する非天然アミノ酸をポリペプチドに共有結合させることができるポリペプチドを含む。その作用のために、前記ポリペプチドはTTLの認識配列を含むことが好ましい。前記用語は、真核生物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはハイイロオオカミ（Canis Lupus）由来のTTLを含む。好ましいTTLをSEQ ID NO: 13に示す。同様に前記用語に含まれるのは、そのアミノ酸配列全体にわたって、SEQ ID NO: 13に示すTTLのアミノ酸配列に対する70%、80%、90%、もしくは95%またはそれ以上の同一性を有するTTLである。好ましくは、前述の同一性を共有するアミノ酸配列を有するそのようなポリペプチドは、TTL活性を有する。TTL活性は、当技術分野において公知のとおりに、または本明細書に記載のとおりに試験することができる。配列同一性のパーセンテージは、例えば、前述のとおりに本明細書において決定することができる。好ましくはSEQ ID NO: 13に示すアミノ酸配列を、対比較における基準として用いる。

【００４０】

本明細書および説明全体を通して用いられる、本明細書において用いられるその全ての文法形態における「官能基付加」なる用語は、ブレンツキシマブなどのポリペプチドに「非天然アミノ酸を共有結合する」ことを意味する。特定の理論に縛られたくはないが、TTLが、本明細書において定義する非天然アミノ酸をTTL認識配列の最終のC末端アミノ酸に付加することが想定される。

【００４１】

チューブリンチロシンリガーゼ（TTL）を用いてタンパク質を修飾するための方法は、国際公開公報第2016/066749号および国際公開公報第2017/186855号に記載されており、これらは参照により本明細書に組み入れられる。TTLが本明細書に記載のADCの抗体などの、関心対象のタンパク質に非天然アミノ酸を結合させるために、TTLは認識配列を必要とする。本明細書に記載のADCを、ブレンツキシマブの軽鎖のC末端、重鎖のC末端、または軽鎖および重鎖の両方のC末端に、少なくともアミノ酸配列$X_4X_3X_2X_1$を含む、チューブリンチロシンリガーゼ（TTL）の認識配列を含むように改変してもよい。「認識配列」または「認識モチーフ」なる用語は、本明細書において交換可能に使用され、TTLによって認識されるひと続きのアミノ酸を指す。そのような認識配列は当技術分野において公知であり；例えば、Ruediger et al. (1994), Eur. J. Biochem. 220, 309-320またはProta e al. (2013), J. Cell. Biol. 200, No. 3, 259-270を参照されたい。さらに、当業者であれば、例えば、Ruediger et al.に記載の検定「TTLによるペプチドのチロシン化」を適用することによって、関心対象のアミノ酸配列がTTL認識配列であるか否かを容易に試験することができる。TTLによって「認識される」は、認識モチーフへのTTLの結合を含む。認識モチーフは、有利には、本明細書においてX_4、X_3、X_2、およびX_1と示す少なくとも4つのアミノ酸を含む。一般に、「X」は、本明細書において特に記載がないかぎり、任意のアミノ酸を示し得る。アミノ酸には、限定されないが、20種類の「標準」アミノ酸：イソロイシン（Ile、I）、ロイシン（Leu、L）、リジン（Lys、K）、メチオニン（Met、M）、フェニルアラニン（Phe、F）、スレオニン（Thr、T）、トリプトファン（Trp、W）、バリン（Val、V）、アラニン（Ala、A）、アスパラギン（Asn、N）、アスパラギン酸（Asp、D）、システイン（Cys、C）、グルタミン酸（Glu、E）、グルタミン（Gln、Q）、グリシン（Gly、G）、プロリン（Pro、P）、セリン（Ser、S）、チロシン（Tyr、Y）、アルギニン（Arg、R）およびヒスチジン（His、H）が含まれる。本発明はまた、限定されないが、D-配置アミノ酸、β-アミノ酸、側鎖を有するアミノ酸ならびに当業者には公知の全ての非天然アミノ酸を含む。

【００４２】

チューブリンチロシンリガーゼの認識配列は、少なくともアミノ酸配列$X_1X_2X_3X_4$（SEQ ID NO: 3）を有し得、ここで、X_1およびX_2は任意のアミノ酸であり、X_3はE、D、もしくはCであり、X_4はEであり、好ましくはここで、X_2はG、S、A、V、またはFで

あり、かつ/またはX_1はE、D、A、K、もしくはPである。認識配列はEGEE（SEQ ID NO: 4）であってもよく、好ましくは認識配列は、
VDSVEGEGEEEGEE (SEQ ID No. 5), SVEGEGEEEGEE (SEQ ID No. 6), SADGEDEGEE (SEQ ID No. 7), SVEAEAEEGEE (SEQ ID No. 8), SYEDEDEGEE (SEQ ID No. 9), または SFEEENEGEE (SEQ ID No. 10)

である。1つの態様において、認識配列は
VDSVEGEGEEEGEE (SEQ ID No. 5)

である。

【００４３】

本発明のADCに含まれるブレンツキシマブ中に存在するTTL認識配列の数が、薬物抗体比（DAR）を決定する。薬物抗体比（DAR）は、特定のコンジュゲート分子に対して規定の化学量論値（例えば、式$Ab-(L-(D)_x)_y$においてyにxを掛けたもの）を有するが、その値は、典型的にはコンジュゲーション段階に関連するある程度の不均質性のために、多くの分子を含む試料を記載するために使用する場合、平均値であり得ることが理解される。したがって、本明細書に前述および後述する抗体薬物コンジュゲートの任意の1つの状況において、抗体薬物コンジュゲートの試料に対する平均負荷量は、薬物抗体比、または「DAR」と呼ぶ。しかしながら好ましくは、本発明は、実質的に全てまたは全てのADCが必要なDARを有するか、または言い換えると化学量論的に規定される、ADCを提供する。

【００４４】

本発明のADCは、モノクローナルIgG抗体であるブレンツキシマブに基づいている。IgG抗体は、2つの「軽鎖」および2つの「重鎖」を含むか、またはそれらからなる。TTL認識配列は、軽鎖のC末端、重鎖のC末端、または軽鎖および重鎖の両方のC末端にのみ縮合し得るため、ブレンツキシマブのTTL認識配列の最大数は4に制限される。重鎖または軽鎖のいずれかがC末端にTTL認識配列を含む場合、本発明のADCに含まれるブレンツキシマブには2つのTTL認識配列がある。重鎖および軽鎖がC末端にTTL認識配列を含む場合、本発明のADCに含まれるブレンツキシマブには4つのTTL認識配列がある。

【００４５】

本発明のADCにおいて、TTL認識配列は、抗体ブレンツキシマブの鎖のC末端に直接縮合してもよい。この状況において、（SEQ ID NO: 12）のブレンツキシマブ重鎖を参照されたく、ここでTTL認識配列は重鎖のC末端に直接縮合している（すなわち、その間にいかなるアミノ酸残基も存在しない）。または、（ペプチド）リンカーをTTL認識配列と抗体の鎖との間に配置してもよい。したがって、ブレンツキシマブ軽鎖、重鎖、または軽鎖および重鎖の両方が、TTL認識配列とそれぞれのC末端との間に配置されたアミノ酸リンカー配列を含んでもよい。実例として、TTL認識配列がGGGGS（G4S）リンカーを介してブレンツキシマブ軽鎖のC末端に縮合している、SEQ ID NO: 11の軽鎖を参照されたい。アミノ酸リンカーは、TTL認識配列の機能が維持される限り、いかなる適切な長さを有してもよい。例えば、アミノ酸リンカーは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または15アミノ酸残基を含んでもよい。TTL認識配列とブレンツキシマブのC末端との間にGGGGS（G4S）リンカーが配置された、SEQ ID NO: 11の軽鎖を再度参照されたい。また、一本鎖Fv断片などの組換え抗体分子の異なる鎖を互いに縮合させるためのリンカーとして一般に用いられる、$(G4S)_2$または$(G4S)_3$などの他の標準リンカーを使用することも可能である。したがって、これらの例において、リンカーは、10アミノ酸残基（$(G4S)_2$）または15アミノ酸残基（$(G4S)_3$）の長さを有し得る。しかし、リンカーは、決して15アミノ酸残基までの長さに制限されないが、前述の開示に従って、アミノ酸リンカー配列は15アミノ酸よりも多くを含み得る。

【００４６】

また前述の開示に従って、本発明のADCは、どの抗体鎖もTTL認識配列とそれぞれの抗体鎖との間にペプチドリンカーを含まないように構築してもよい。そのようなADCにおいては、TTL認識配列はブレンツキシマブの軽鎖および重鎖の両方に直接縮合してもよい。しかし、本発明のADCは、抗体鎖の1つがTTL認識配列とそれぞれの抗体鎖との間にペプチドリンカーを含むように構築してもよい。そのようなADCにおいては、TTL認識配列はリンカー（例えば、SEQ ID NO: 11の軽鎖のようにGGGGSリンカー）を介して軽鎖のそれぞれに縮合してもよいが、TTL認識配列はブレンツキシマブの2つの重鎖のそれぞれに直接縮合してもよい。最後に、本発明のADCは、抗体軽鎖および抗体重鎖の両方がTTL認識配列とそれぞれの抗体鎖との間にペプチドリンカーを含むように構築してもよい。そのようなADCにおいては、TTL認識配列はリンカー（例えば、GGGGSリンカー、または$(G4S)_2$リンカー）を介してブレンツキシマブの2つの軽鎖のそれぞれおよび2つの重鎖のそれぞれに縮合してもよい。

【００４７】

1つの態様において、ブレンツキシマブは、軽鎖のC末端、すなわち合計2つのTTL認識配列を含む。TTL認識配列は、アミノ酸リンカー配列（例えばGGGGS）を介して軽鎖のC末端に縮合してもよい。TTL認識配列は軽鎖のC末端に直接結合してもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 1に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 11に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 1に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 14に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 1に示す配列を有するポリペプチドからなってもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 11に示す配列を有するポリペプチドからなってもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 1に示す配列を有するポリペプチドからなってもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 14に示す配列を有するポリペプチドからなってもよい。

【００４８】

1つの態様において、ブレンツキシマブは、軽鎖および重鎖のC末端、すなわち合計4つのTTL認識配列を含む。TTL認識配列は、アミノ酸リンカー配列（例えばGGGGS）を介して軽鎖のC末端に縮合してもよく、TTL認識配列は重鎖のC末端に直接結合してもよい。TTL認識配列は、アミノ酸リンカー（例えばGGGGS）を介して軽鎖のC末端に結合してもよく、TTL認識配列は、アミノ酸リンカー（例えばGGGGS）を介して重鎖のC末端に結合してもよい。TTL認識配列は軽鎖のC末端に直接結合してもよく、TTL認識配列は重鎖のC末端に直接結合してもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 12に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 11に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 12に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 14に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 12に示す配列を有するポリペプチドからなってもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 11に示す配列を有するポリペプチドからなってもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 12に示す配列を有するポリペプチドからなってもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 14に示す配列を有するポリペプチドからなってもよい。

【００４９】

1つの態様において、ブレンツキシマブは、重鎖のC末端、すなわち合計2つのTTL認識配列を含む。TTL認識配列は重鎖のC末端に直接結合してもよい。TTL認識配列は、アミノ酸リンカー配列（例えばGGGGS）を介して重鎖のC末端に結合してもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 12に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 2に示す配列を有するポリペプチドを含んでもよい。ブレンツキシマブ重鎖はSEQ ID NO: 12に示す配列を有するポリペプチドからなってもよく、ブレンツキシマブ軽鎖はSEQ ID NO: 2に示す配列を有するポリペプチドからなってもよい。

【００５０】
しかしながら、TTL認識配列の数は、非天然アミノ酸にコンジュゲートした薬物部分の数と必ずしも等しくない、すなわちDARと必ずしも等しくない。また、本発明に含まれるのは、複数の薬物部分を非天然アミノ酸に（リンカーを介して）連結することである。例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個、好ましくは2個の薬物部分を、リンカーを介して1つの非天然アミノ酸に連結してもよい。この場合、リンカーは足場としてはたらいてもよく、これに2、3、4、5、6、7、8、9、または10個、好ましくは2個の薬物部分を連結してもよい。次いで、リンカーを非天然アミノ酸に連結する。2個の薬物部分の足場としてはたらく例示的なリンカーは、構造3または5である。したがって、抗体を、2、4、6、または8個、好ましくは2または4個の薬物部分、より好ましくは2個の薬物部分にコンジュゲートしてもよい。

【００５１】
非天然アミノ酸
非天然アミノ酸は、本発明のADCの「Ab」部分におけるリンカーのアンカー点である。これに関して、本明細書に記載の「ADC式」Ab-(L-(D)$_x$)$_y$を再度参照する。したがって、本発明のADCに含まれるブレンツキシマブなどのC末端にTTL認識配列を有するポリペプチドのC末端にTTLによって連結し得る非天然アミノ酸は、リンカーLの官能基と反応して共有結合を形成し得る官能基を含む。

【００５２】
一般に、非天然アミノ酸はチロシン誘導体と見なすことができる。好ましくは、チロシン誘導体は、リンカーを介した薬物部分のコンジュゲーションを可能にする活性基を含む。

【００５３】
チロシン誘導体は、非天然（unnatural）（非天然（non-natural））官能基を（さらに）含有してもよく、これは好ましくは化学選択的または生体直交型修飾に使用される。官能基は、クリックケミストリーに適切であってもよい。「クリックケミストリー」なる用語は、2001年にKolb、FinnおよびSharplessによって導入された化学哲学を指し、反応性基を含む小さい単位を組み合わせることにより、共有結合を迅速かつ確実に生成し得る強力な連結反応の群を含む。クリックケミストリー反応は、典型的にはモジュール式で、範囲が広く、化学収率が高く、無害の副生成物を生成し、立体特異的であり、かつ/または容易に入手可能な出発物質および試薬を使用して、単純で生理学的な反応条件下で実施することができる。加えて、クリックケミストリー反応は、好ましくは有毒な溶媒を使用しないか、または無害もしくは容易に除去される溶媒（好ましくは水）を使用し、かつ/または非クロマトグラフィー法（結晶化または蒸留）による単純な生成物単離を提供する。明確な発熱反応により、反応物は「バネ式」となる。

【００５４】
クリックケミストリー反応は、例えば、特に1,3-双極性ファミリーからの付加環化反応である、ヘテロ-ディールス-アルダー反応；例えばエポキシド、アジリジン、環状スルフェート、環状スルファミデート、アジリジニウムイオンおよびエピスルホニウムイオンなどの、歪んだ複素環式求電子体の求核開環反応；非アルドール型のカルボニル化学（例えば、オキシムエーテル、ヒドラゾンおよび芳香族複素環の形成）；ならびに炭素-炭素多重結合への付加；例えば、エポキシ化、ジヒドロキシル化、アジリジン化や、ニトロシルおよびスルフェニルハライド付加などの酸化反応だけでなく、特定のマイケル付加反応も含む。クリックケミストリー反応の一般原理は、Kolb, Finn and Sharpless (2001)によって記載されている。本発明のADCに含まれるブレンツキシマブに共有結合したチロシン誘導体または非天然アミノ酸にリンカーを介して所望の薬物部分を連結するのに適したクリックケミストリー反応を選択することは、当業者の知識の範囲内である。

【００５５】
本明細書において用いられる「クリックケミストリーハンドル」なる用語は、クリックケミストリー反応に参加することができる反応物、または反応性基を指す。そのような反

応物または反応性基は、好ましくは化学選択的または生体直交型修飾のための非天然（unnatural）（非天然（non-natural））官能基であるが；代わりに化学選択的または生体直交型修飾のための天然官能基であってもよい。例えば、歪みアルキン、例えば、シクロオクチンは、歪み促進付加環化、例えば歪み促進アジド-アルキン付加環化（SPAAC）に参加し得るため、クリックケミストリーハンドルである。一般に、クリックケミストリー反応は、互いに反応し得るクリックケミストリーハンドルを含む、少なくとも2つの分子を必要とする。互いに反応性であるそのようなクリックケミストリーハンドルの対は、本明細書では「パートナークリックケミストリーハンドル」と呼ぶこともある。例えば、アジドは、シクロオクチンまたは任意の他のアルキンに対するパートナークリックケミストリーハンドルである。本発明の状況において、クリックケミストリーハンドルは、好ましくは、末端アルキン、アジド、歪みアルキン、ジエン、ジエノフィル、アルコキシアミン、カルボニル、β-アリールエチルアミン、ホスフィン、ヒドラジド、ヒドラジン、チオール、テトラジン、アルケン、シクロオクテン、ノルボルネン、テトラジン、ニトロン、シアノベンゾチアゾール、およびシクロオクチンからなる群より選択することができる。他の適切なクリックケミストリーハンドルは、当業者であれば容易に入手可能である。

【００５６】

クリックケミストリーによるコンジュゲーションの状況において、コンジュゲーションはクリックケミストリーハンドルの反応によって形成される共有結合を介するものである。ある特定の態様において、結合（association）は共有結合性であり、実体は互いに「コンジュゲートしている」と言われる。

【００５７】

本発明は前述のものに限定されないことに留意すべきであり、例示的なクリックケミストリーハンドル、および追加のクリックケミストリーハンドル、反応性クリックケミストリーハンドルの対、ならびにそのようなクリックケミストリーハンドルの対のための反応条件は、当業者には明らかであろう。

【００５８】

本発明のADCに含まれるブレンツキシマブに含まれる非天然アミノ酸にリンカーをコンジュゲートさせるのに適した他の方法は、シュタウディンガー反応（例えば、シュタウディンガーライゲーション、シュタウディンガー-ホスファイト反応、シュタウディンガー-ホスホナイト反応）、歪み促進付加環化、テトラジンライゲーション、逆電子要請型ディールス-アルダー反応、アルデヒドまたはケトンと1,2-アミノチオールとのチアゾリジン形成反応、アルデヒドのオキサゾリジン形成反応、オキシム形成、ヒドラゾン形成、またはケトンと1,2-アミノアルコール、アルデヒドまたはケトンと1,2-ジオールとのアセタール形成反応、ピクテ-スペングラー反応、トラップ-クネーフェナーゲルライゲーション、タンデム-クネーフェナーゲル縮合、アルケンまたはアルキンへのチオール付加、交差メタセシス、金属触媒、特にPd、Cu、NiおよびFe触媒による電子吸引基で置換されたチロシン誘導体とのクロスカップリング、好ましくはオキシム形成を含む。

【００５９】

薬物部分は、例えば、クリックケミストリーまたは本明細書に記載の任意の他の適切な方法によって、リンカーを介してブレンツキシマブに共有結合した非天然アミノ酸に連結し得ることが想定される。したがって、薬物部分は、非ペプチド結合によってリンカーを介して非天然アミノ酸にコンジュゲートしてもよいが、代わりにペプチド結合によってリンカーを介して非天然アミノ酸にコンジュゲートしてもよい。

【００６０】

非天然アミノ酸は、ベンジル位で置換された、2-置換チロシン、3-置換チロシン、もしくは4-置換チロシンまたは2-置換チロシン誘導体、3-置換チロシン誘導体、もしくは4-置換チロシン誘導体であり得る。3-置換チロシン誘導体または4-置換チロシン誘導体は、3-ニトロチロシン、3-アミノチロシン、3-アジドチロシン、3-ホルミルチロシン、3-アセチルチロシン、または4-アミノフェニルアラニンであってもよい。3-置換チロシ

ンは3-ニトロチロシンであってもよい。3-置換チロシンは3-アミノチロシンであってもよい。3-置換チロシンは3-アジドチロシンであってもよい。3-置換チロシンは3-ホルミルチロシンであってもよい。3-置換チロシンは3-アセチルチロシンであってもよい。置換チロシンは置換フェニルアラニンであってもよい。4-置換チロシンは4-アミノフェニルアラニンであってもよい。特に好ましい非天然アミノ酸は3-ホルミルチロシンである。

【００６１】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「置換されていてもよい」または「置換された」なる用語は、1つまたは複数（例えば、1個～基に結合した水素原子の最大数、例えば、1～5、1～4、もしくは1～3個の間、または1もしくは2個などの、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または最大10個）の水素原子が、アルキル（好ましくは、$C_{1～6}$アルキル）、アルケニル（好ましくは、$C_{2～6}$アルケニル）、アルキニル（好ましくは、$C_{2～6}$アルキニル）、アリール（好ましくは、3～14員アリール）、ヘテロアリール（好ましくは、3～14員ヘテロアリール）、シクロアルキル（好ましくは、3～14員シクロアルキル）、ヘテロシクリル（好ましくは、3～14員ヘテロシクリル）、ハロゲン、CN、アジド、NO_2、OR^{71}、$N(R^{72})(R^{73})$、$ON(R^{72})(R^{73})$、$N^+(O^-)(R^{72})(R^{73})$、$S(O)_{02}R^{71}$、$S(O)_{02}OR^{71}$、$OS(O)_{02}R^{71}$、$OS(O)_{02}OR^{71}$、$S(O)_{02}N(R^{72})(R^{73})$、$OS(O)_{02}N(R^{72})(R^{73})$、$N(R^{71})S(O)_{02}R^{71}$、$NR^{71}S(O)_{02}OR^{71}$、$NR^{71}S(O)_{02}N(R^{72})(R^{73})$、$C(=W^1)R^{71}$、$C(=W^1)W^1R^{71}$、$W^1C(=W^1)R^{71}$、および$-W^1C(=W^1)W^1R^{71}$などの、水素とは異なる基で置き換えられてもよく；ここでR^{71}、R^{72}、およびR^{73}は、H、$C_{1～6}$アルキル、$C_{2～6}$アルケニル、C_{26}アルキニル、3～7員シクロアルキル、5または6員アリール、5または6員ヘテロアリール、および3～7員ヘテロシクリルからなる群より独立に選択され、ここでアルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロシクリル基のそれぞれは、$C_{1～3}$アルキル、ハロゲン、CF_3、CN、アジド、NO_2、OH、$O(C_{1～3}$アルキル$)$、$S(C_{1～3}$アルキル$)$、NH_2、$NH(C_{1～3}$アルキル$)$、$N(C_{1～3}$アルキル$)_2$、$NHS(O)_2(C_{1～3}$アルキル$)$、$S(O)_2NH_{2-z}(C_{1～3}$アルキル$)_z$、$C(=O)OH$、$C(=O)O(C_{1～3}$アルキル$)$、$C(=O)NH_{2z}(C_{1～3}$アルキル$)_z$、$NHC(=O)(C_{1～3}$アルキル$)$、$NHC(=NH)NH_{z2}(C_{1～3}$アルキル$)_z$、および$N(C_{1～3}$アルキル$)C(=NH)NH_{2-z}(C_{1～3}$アルキル$)_z$からなる群より選択される1、2または3つの置換基で置換されていてもよく、ここでzは0、1、または2であり、かつ$C_{1～3}$アルキルはメチル、エチル、プロピルまたはイソプロピルであり；W^1はO、S、およびNR^{84}から独立に選択され、ここでR^{84}は-Hまたは$C_{1～3}$アルキルである。

【００６２】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「アルキル」なる用語は、飽和直鎖または分枝炭化水素のモノラジカルを指す。好ましくは、アルキル基は、1～12個（例えば1～10個）の炭素原子、すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12個の炭素原子（例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子）、より好ましくは1～8個の炭素原子、例えば1～6または1～4個の炭素原子を含む。いくつかの態様において、本発明において使用するアルキル基は、1～20個の炭素原子を含む（$C_{1～20}$アルキル）。別の態様において、使用するアルキル基は、1～15個の炭素原子を含む（$C_{1～15}$アルキル）。別の態様において、使用するアルキル基は、1～10個の炭素原子を含む（$C_{1～10}$アルキル）。別の態様において、使用するアルキル基は、1～8個の炭素原子を含む（$C_{1～8}$アルキル）。別の態様において、使用するアルキル基は、1～6個の炭素原子を含む（$C_{1～6}$アルキル）。別の態様において、使用するアルキル基は、1～5個の炭素原子を含む（$C_{1～5}$アルキル）。別の態様において、使用するアルキル基は、1～4個の炭素原子を含む（$C_{1～4}$アルキル）。別の態様において、使用するアルキル基は、1～3個の炭素原子を含む（$C_{1～3}$アルキル）。別の態様において、使用するアルキル基は、1～2個の炭素原子を含む（$C_{1～2}$アルキル）。アルキルラジカルの例には、限定されないが、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、1,2-ジメチルプロピル、イソアミル、n-ヘキシル、イソヘキシル、sec-ヘキシル、n-ヘプチル、イソヘプ

チル、n-オクチル、2-エチルヘキシル、n-ノニル、n-デシル、n-ウンデシル、n-ドデシルなどが含まれ、これらは1つまたは複数の置換基を有してもよい。アルキル基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。いくつかの態様において、アルキル鎖は直鎖である。いくつかの態様において、アルキル鎖は分枝している。いくつかの態様において、アルキル鎖は置換されている。いくつかの態様において、アルキル鎖は無置換である。いくつかの態様において、アルキル鎖は直鎖であり、かつ置換または無置換である。いくつかの態様において、アルキル鎖は分枝しており、かつ置換または無置換である。

【００６３】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「アルキレン」なる用語は、飽和直鎖または分枝炭化水素のジラジカルを指す。好ましくは、アルキレン基は、1～10個の炭素原子、すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子、より好ましくは1～8個の炭素原子、例えば1～6または1～4個の炭素原子を含む。例示的アルキレン基には、メチレン、エチレン（すなわち、1,1-エチレン、1,2-エチレン）、プロピレン（すなわち、1,1-プロピレン、1,2-プロピレン（$-CH(CH_3)CH_2-$）、2,2-プロピレン（$-C(CH_3)_2-$）、および1,3-プロピレン）、ブチレン異性体（例えば、1,1-ブチレン、1,2-ブチレン、2,2-ブチレン、1,3-ブチレン、2,3-ブチレン（シスもしくはトランスまたはその混合物）、1,4-ブチレン、1,1-イソブチレン、1,2-イソブチレン、および1,3-イソブチレン）、ペンチレン異性体（例えば、1,1-ペンチレン、1,2-ペンチレン、1,3-ペンチレン、1,4-ペンチレン、1,5-ペンチレン、1,1-イソペンチレン、1,1-sec-ペンチル、1,1-ネオペンチル）、ヘキシレン異性体（例えば、1,1-ヘキシレン、1,2-ヘキシレン、1,3-ヘキシレン、1,4-ヘキシレン、1,5-ヘキシレン、1,6-ヘキシレン、および1,1-イソヘキシレン）などが含まれる。アルキレン基は、環状または非環状、分枝または非分枝、置換または無置換であり得る。アルキレン基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。

【００６４】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「ハロゲン」または「ハロ」なる用語は、フルオロ、クロロ、ブロモ、またはヨードを意味する。

【００６５】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「アジド」なる用語はN_3を意味する。

【００６６】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「アルケニル」なる用語は、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を有する、不飽和直鎖または分枝炭化水素のモノラジカルを指す。一般に、アルケニル基中の炭素-炭素二重結合の最大数は、アルケニル基中の炭素原子の数を2で割り、アルケニル基中の炭素原子の数が奇数の場合、割り算の結果を次の整数に切り下げることによって算出される整数に等しくなり得る。例えば、9個の炭素原子を有するアルケニル基の場合、炭素-炭素二重結合の最大数は4である。好ましくは、アルケニル基は、1～4つ、すなわち、1、2、3、または4つの炭素-炭素二重結合を有する。好ましくは、アルケニル基は、2～10個の炭素原子、すなわち、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子、より好ましくは2～8個の炭素原子、例えば2～6個の炭素原子または2～4個の炭素原子を含む。したがって、好ましい態様において、アルケニル基は、2～10個の炭素原子および1、2、3、4、または5つの炭素-炭素二重結合を含み、より好ましくは2～8個の炭素原子および1、2、3、もしくは4つの炭素-炭素二重結合、例えば2～6個の炭素原子および1、2、もしくは3つの炭素-炭素二重結合、または2～4個の炭素原子および1もしくは2つの炭素-炭素二重結合を含む。ある特定の態様において、本発明において使用するアルケニル基は、2～20個の炭素原子を含む（$C_{2～20}$アルケニル）。いくつかの態様において、本発明において使用するアルケニル基は、2～15個の炭素原子を含む（$C_{2～15}$アルケニル）。別の態様において、使用するアルケニル基は、2～10個の炭素原子を含む（$C_{2～10}$アルケニル）。さらに他の態様において、アルケニル基は、2～8個の炭素原子を含む（$C_{2～8}$アルケニル）。さらに他の態様におい

て、アルケニル基は、2～6個の炭素を含む（$C_{2～6}$アルケニル）。さらに他の態様において、アルケニル基は、2～5個の炭素を含む（$C_{2～5}$アルケニル）。さらに他の態様において、アルケニル基は、2～4個の炭素を含む（$C_{2～4}$アルケニル）。さらに他の態様において、アルケニル基は、2～3個の炭素を含む（$C_{2～3}$アルケニル）。さらに他の態様において、アルケニル基は、2個の炭素を含む（C_2アルケニル）。炭素-炭素二重結合はシス（Z）またはトランス（E）配置であってもよい。例示的アルケニル基には、ビニル、1-プロペニル、2-プロペニル（すなわち、アリル）、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-ペンテニル、4-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニル、1-ヘプテニル、2-ヘプテニル、3-ヘプテニル、4-ヘプテニル、5-ヘプテニル、6-ヘプテニル、1-オクテニル、2-オクテニル、3-オクテニル、4-オクテニル、5-オクテニル、6-オクテニル、7-オクテニル、1-ノネニル、2-ノネニル、3-ノネニル、4-ノネニル、5-ノネニル、6-ノネニル、7-ノネニル、8-ノネニル、1-デセニル、2-デセニル、3-デセニル、4-デセニル、5-デセニル、6-デセニル、7-デセニル、8-デセニル、9-デセニルなどが含まれる。アルケニル基が窒素原子に連結している場合、二重結合は窒素原子に対してアルファではあり得ない。いくつかの態様において、アルケニル鎖は直鎖である。いくつかの態様において、アルケニル鎖は分枝している。いくつかの態様において、アルケニル鎖は置換されている。いくつかの態様において、アルケニル鎖は無置換である。いくつかの態様において、アルケニル鎖は直鎖であり、かつ置換または無置換である。いくつかの態様において、アルケニル鎖は分枝しており、かつ置換または無置換である。アルケニル基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。

【００６７】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「アルケニレン」なる用語は、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を有する、不飽和直鎖または分枝炭化水素のジラジカルを指す。一般に、アルケニレン基中の炭素-炭素二重結合の最大数は、アルケニレン基中の炭素原子の数を2で割り、アルケニレン基中の炭素原子の数が奇数の場合、割り算の結果を次の整数に切り下げることによって算出される整数に等しくなり得る。例えば、9個の炭素原子を有するアルケニレン基の場合、炭素-炭素二重結合の最大数は4である。好ましくは、アルケニレン基は、1～4つ、すなわち、1、2、3、または4つの炭素-炭素二重結合を有する。好ましくは、アルケニレン基は、2～10個の炭素原子、すなわち、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子、より好ましくは2～8個の炭素原子、例えば2～6個の炭素原子または2～4個の炭素原子を含む。したがって、好ましい態様において、アルケニレン基は、2～10個の炭素原子および1、2、3、4、または5つの炭素-炭素二重結合を含み、より好ましくは2～8個の炭素原子および1、2、3、もしくは4つの炭素-炭素二重結合、例えば2～6個の炭素原子および1、2、もしくは3つの炭素-炭素二重結合、または2～4個の炭素原子および1もしくは2つの炭素-炭素二重結合を含む。炭素-炭素二重結合はシス（Z）またはトランス（E）配置であってもよい。例示的アルケニレン基には、エテン-1,2-ジイル、ビニリデン、1-プロペン-1,2-ジイル、1-プロペン-1,3-ジイル、1-プロペン-2,3-ジイル、アリリデン、1-ブテン-1,2-ジイル、1-ブテン-1,3-ジイル、1-ブテン-1,4-ジイル、1-ブテン-2,3-ジイル、1-ブテン-2,4-ジイル、1-ブテン-3,4-ジイル、2-ブテン-1,2-ジイル、2-ブテン-1,3-ジイル、2-ブテン-1,4-ジイル、2-ブテン-2,3-ジイル、2-ブテン-2,4-ジイル、2-ブテン-3,4-ジイルなどが含まれる。アルケニレン基が窒素原子に連結している場合、二重結合は窒素原子に対してアルファではあり得ない。アルケニレン基は、環状または非環状、分枝または非分枝、置換または無置換であり得る。アルケニレン基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。

【００６８】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「アルキニル」なる用語は、少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を有する、不飽和直鎖または分枝炭化水素のモノラジカルを指す。一般に、アルキニル基中の炭素-炭素三重結合の最大数は、アルキニル基中の炭素原

子の数を2で割り、アルキニル基中の炭素原子の数が奇数の場合、割り算の結果を次の整数に切り下げることによって算出される整数に等しくなり得る。例えば、9個の炭素原子を有するアルキニル基の場合、炭素-炭素三重結合の最大数は4である。好ましくは、アルキニル基は、1～4つ、すなわち、1、2、3、または4つ、より好ましくは1または2つの炭素-炭素三重結合を有する。好ましくは、アルキニル基は、2～10個の炭素原子、すなわち、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子、より好ましくは2～8個の炭素原子、例えば2～6個の炭素原子または2～4個の炭素原子を含む。したがって、好ましい態様において、アルキニル基は、2～10個の炭素原子および1、2、3、4、または5つ（好ましくは1、2、または3つ）の炭素-炭素三重結合を含み、より好ましくは2～8個の炭素原子および1、2、3、もしくは4つ（好ましくは1または2つ）の炭素-炭素三重結合、例えば2～6個の炭素原子および1、2、もしくは3つの炭素-炭素三重結合、または2～4個の炭素原子および1もしくは2つの炭素-炭素三重結合を含む。ある特定の態様において、本発明において使用するアルキニル基は、2～20個の炭素原子を含む（$C_{2～20}$アルキニル）。いくつかの態様において、本発明において使用するアルキニル基は、2～15個の炭素原子を含む（C_{215}アルキニル）。別の態様において、使用するアルキニル基は、2～10個の炭素原子を含む（$C_{2～10}$アルキニル）。さらに他の態様において、アルキニル基は、2～8個の炭素原子を含む（$C_{2～8}$アルキニル）。さらに他の態様において、アルキニル基は、2～6個の炭素を含む（$C_{2～6}$アルキニル）。さらに他の態様において、アルキニル基は、2～5個の炭素を含む（$C_{2～5}$アルキニル）。さらに他の態様において、アルキニル基は、2～4個の炭素を含む（$C_{2～4}$アルキニル）。さらに他の態様において、アルキニル基は、2～3個の炭素を含む（$C_{2～3}$アルキニル）。さらに他の態様において、アルキニル基は、2個の炭素を含む（C_2アルキニル）。例示的アルキニル基には、エチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、3-ブチニル、1-ペンチニル、2-ペンチニル、3-ペンチニル、4-ペンチニル、1-ヘキシニル、2-ヘキシニル、3-ヘキシニル、4-ヘキシニル、5-ヘキシニル、1-ヘプチニル、2-ヘプチニル、3-ヘプチニル、4-ヘプチニル、5-ヘプチニル、6-ヘプチニル、1-オクチニル、2-オクチニル、3-オクチニル、4-オクチニル、5-オクチニル、6-オクチニル、7-オクチニル、1-ノニリル、2-ノニニル、3-ノニニル、4-ノニニル、5-ノニニル、6-ノニニル、7-ノニニル、8-ノニニル、1-デシニル、2-デシニル、3-デシニル、4-デシニル、5-デシニル、6-デシニル、7-デシニル、8-デシニル、9-デシニルなどが含まれ、これらは1つまたは複数の置換基を有してもよい。アルキニル基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。アルキニル基が窒素原子に連結している場合、三重結合は窒素原子に対してアルファではあり得ない。いくつかの態様において、アルキニル鎖は直鎖である。いくつかの態様において、アルキニル鎖は分枝している。いくつかの態様において、アルキニル鎖は置換されている。いくつかの態様において、アルキニル鎖は無置換である。いくつかの態様において、アルキニル鎖は直鎖であり、かつ置換または無置換である。いくつかの態様において、アルキニル鎖は分枝しており、かつ置換または無置換である。

【００６９】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「アルキニレン」なる用語は、少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を有する、不飽和直鎖または分枝炭化水素のジラジカルを指す。一般に、アルキニレン基中の炭素-炭素三重結合の最大数は、アルキニレン基中の炭素原子の数を2で割り、アルキニレン基中の炭素原子の数が奇数の場合、割り算の結果を次の整数に切り下げることによって算出される整数に等しくなり得る。例えば、9個の炭素原子を有するアルキニレン基の場合、炭素-炭素三重結合の最大数は4である。好ましくは、アルキニレン基は、1～4つ、すなわち、1、2、3、または4つ、より好ましくは1または2つの炭素-炭素三重結合を有する。好ましくは、アルキニレン基は、2～10個の炭素原子、すなわち、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子、より好ましくは2～8個の炭素原子、例えば2～6個の炭素原子または2～4個の炭素原子を含む。したがって、好ましい態様において、アルキニレン基は、2～10個の炭素原子および1、2

、3、4、または5つ（好ましくは1、2、または3つ）の炭素-炭素三重結合を含み、より好ましくは2～8個の炭素原子および1、2、3、もしくは4つ（好ましくは1または2つ）の炭素-炭素三重結合、例えば2～6個の炭素原子および1、2、もしくは3つの炭素-炭素三重結合、または2～4個の炭素原子および1もしくは2つの炭素-炭素三重結合を含む。例示的アルキニレン基には、エチン-1,2-ジイル、1-プロピン-1,3-ジイル、1-プロピン-3,3-ジイル、1-ブチン-1,3-ジイル、1-ブチン-1,4-ジイル、1-ブチン-3,4-ジイル、2-ブチン-1,4-ジイルなどが含まれる。アルキニレン基が窒素原子に連結している場合、三重結合は窒素原子に対してアルファではあり得ない。アルキニレン基は、環状または非環状、分枝または非分枝、置換または無置換であり得る。アルキニレン基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。

【００７０】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「シクロアルキル」または「脂環式」または「炭素環式」または「炭素環」なる用語は、好ましくは3～14個の炭素原子、例えば3～10個の炭素原子、すなわち、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子、より好ましくは3～8個の炭素原子、さらにより好ましくは3～7個の炭素原子を有する、「アルキル」および「アルケニル」の環状非芳香族版を意味する。ある特定の態様において、本発明において使用するシクロアルキル基は、3～14個の炭素原子を含む（$C_{3\sim14}$シクロアルキル）。ある特定の態様において、本発明において使用するシクロアルキル基は、3～12個の炭素原子を含む（$C_{3\sim12}$シクロアルキル）。別の態様において、本発明において使用するシクロアルキル基は、3～10個の炭素原子を含む（$C_{3\sim10}$シクロアルキル）。別の態様において、本発明において使用するシクロアルキル基は、3～8個の炭素原子を含む（$C_{3\sim8}$シクロアルキル）。別の態様において、本発明において使用するシクロアルキル基は、3～7個の炭素原子を含む（$C_{3\sim7}$シクロアルキル）。別の態様において、本発明において使用するシクロアルキル基は、3～6個の炭素原子を含む（$C_{3\sim6}$シクロアルキル）。別の態様において、本発明において使用するシクロアルキル基は、3～5個の炭素原子を含む（$C_{3\sim5}$シクロアルキル）。別の態様において、本発明において使用するシクロアルキル基は、3～4個の炭素原子を含む（$C_{3\sim4}$シクロアルキル）。別の態様において、本発明において使用するシクロアルキル基は、3個の炭素原子を含む（C_3シクロアルキル）。例示的シクロアルキル基には、シクロプロピル、シクロプロペニル、シクロブチル、シクロブテニル、シクロペンチル、シクロペンテニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、シクロヘプチル、シクロヘプテニル、シクロオクチル、シクロオクテニル、シクロノニル、シクロノネニル、シルコデシル、シルコデセニル、およびアダマンチルが含まれる。「シクロアルキル」なる用語は、その二環式および三環式版も含むことになる。二環式環が形成される場合、それぞれの環は2つの隣接する炭素原子で互いに連結していることが好ましいが、代わりに2つの環は同じ炭素原子を介して連結され、すなわち、スピロ環系を形成するか、または「架橋」環系を形成する。シクロアルキルの好ましい例には、C_3～C_8-シクロアルキル、特にシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、スピロ[3,3]ヘプチル、スピロ[3,4]オクチル、スピロ[4,3]オクチル、ビシクロ[4.1.0]ヘプチル、ビシクロ[3.2.0]ヘプチル、ビシクロ[2.2.1]ヘプチル、ビシクロ[2.2.2]オクチル、ビシクロ[5.1.0]オクチル、およびビシクロ[4.2.0]オクチルが含まれる。シクロアルキル基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。

【００７１】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「シクロプロピレン」なる用語は、1個の水素原子が除去されてジラジカルをもたらす、前述の定義のシクロプロピル基を意味する。シクロプロピレンは2つの原子または部分を同じ炭素原子を介して（1,1-シクロプロピレン、すなわち、ジェミナルなジラジカル）または2つの炭素原子を介して（1,2-シクロプロピレン）連結してもよい。

【００７２】
本明細書および説明全体を通して用いられる、本明細書において用いられる「アリール」または「芳香環」なる用語は、その全ての環原子は炭素であり、かつ置換または無置換であり得る、3～20個の環原子を有する芳香族単環式または多環式環系を指す。本発明のある特定の態様において、「アリール」は、1、2、または3つの芳香環を有する、単環式、二環式、または三環式C_4～C_{20}芳香環系を指し、芳香環には、限定されないが、フェニル、ビフェニル、ナフチルなどが含まれ、1つまたは複数の置換基を有してもよい。好ましくは、アリール基は3～14個（例えば、5～10個、例えば5、6、または10個）の炭素原子、より好ましくは6～10個の炭素原子を含み、これらは1つの環（例えば、フェニル）または複数の縮合環（例えば、ナフチル）に配置され得る。例示的アリール基には、シクロプロペニリウム、シクロペンタジエニル、フェニル、インデニル、ナフチル、アズレニル、フルオレニル、アントリル、およびフェナントリルが含まれる。好ましくは、「アリール」は、6個の炭素原子を含む単環式環または10個の炭素原子を含む芳香族二環式環系を指す。好ましい例はフェニルおよびナフチルである。ある特定の態様において、本発明において使用するアリール基は、3～20個の炭素原子を含む（$C_{3～20}$アリール）。ある特定の態様において、本発明において使用するアリール基は、3～18個の炭素原子を含む（$C_{3～18}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、3～16個の炭素原子を含む（$C_{3～16}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、6～16個の炭素原子を含む（$C_{6～16}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、7～16個の炭素原子を含む（$C_{7～16}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、6～14個の炭素原子を含む（$C_{6～14}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、7～14個の炭素原子を含む（$C_{7～14}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、6～12個の炭素原子を含む（$C_{6～12}$アリール）。）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、7～12個の炭素原子を含む（$C_{7～12}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、6～11個の炭素原子を含む（$C_{6～11}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、7～11個の炭素原子を含む（$C_{7～11}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、6～10個の炭素原子を含む（$C_{6～10}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、7～10個の炭素原子を含む（$C_{7～10}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、6～8個の炭素原子を含む（$C_{6～8}$アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、6個の炭素原子を含む（C_6アリール）。別の態様において、本発明において使用するアリール基は、10個の炭素原子を含む（C_{10}アリール）。いくつかの態様において、Zは置換単環式6員アリールまたは無置換単環式6員アリールではない。いくつかの態様において、Zは置換フェニルまたは無置換フェニルではない。いくつかの態様において、Zは、$-NO_2$、$-N_3$、ハロゲン、$-NH_2$、ヒドロキシル、$-OR^{11}$および$-C(=O)R^{11}$からなる群より選択される1、2、3、4または5つの置換基で置換されたフェニルではなく、ここでR^{11}は水素、置換アルキルまたは置換アルキニルである。アリール置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。

【００７３】
本明細書および説明全体を通して用いられる、本明細書において用いられる「アリーレン」なる用語は、2個の水素原子の除去により、本明細書において定義するアリール基から誘導されるアリールビラジカルを指す。アリーレン基は置換または無置換であり得る。アリーレン基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。加えて、アリーレン基は、リンカー基として、本明細書において定義するアルキレン、アルケニレン、アルキニレン、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニレン、またはヘテロアルキニレン基に組み込んでもよい。

【００７４】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「ヘテロアリール」または「ヘテロ芳香環」なる用語は、アリール基中の1つまたは複数の炭素原子がO、S、またはNのヘテロ原子で置き換えられている、前述の定義のアリール基を意味する。好ましくは、ヘテロアリール基は3～14個の炭素原子を含む。好ましくは、ヘテロアリールは、1、2、または3個の炭素原子がO、N、またはSの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、5または6員芳香族単環式環を指す。または、1、2、3、4、または5個の炭素原子がO、N、またはSの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、芳香族二環式または三環式環系を意味する。好ましくは、ヘテロアリール基の各環において、O原子の最大数は1であり、S原子の最大数は1であり、かつOおよびS原子の最大総数は2である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1、2、または3個の炭素原子がO、N、またはSの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、5員芳香族単環式環である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1、2、または3個の炭素原子がOの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、5員芳香族単環式環である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1、2、または3個の炭素原子がOおよびNの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、5員芳香族単環式環である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1、2、または3個の炭素原子がOおよびSの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、5員芳香族単環式環である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1、2、または3個の炭素原子がNおよびSの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、5員芳香族単環式環である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1、2、または3個の炭素原子がO、SまたはNの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、6員芳香族単環式環である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1、2、または3個の炭素原子がNで置き換えられている、6員芳香族単環式環である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がO、NまたはSの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、芳香族二環式系である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1個の炭素原子がOで置き換えられている、芳香族二環式系である。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、1個の炭素原子がNで置き換えられている、芳香族二環式系である。いくつかの態様において、ヘテロアリール基は、置換または無置換インドリルである。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、2個の炭素原子がNで置き換えられている、芳香族二環式系である。いくつかの態様において、ヘテロアリール基は、置換または無置換7-アザインドリルである。いくつかの態様において、ヘテロアリール基は、置換または無置換6-アザインドリルである。いくつかの態様において、ヘテロアリール基は、置換または無置換5-アザインドリルである。いくつかの態様において、ヘテロアリール基は、置換または無置換4-アザインドリルである。いくつかの態様において、ヘテロアリール基は、置換または無置換イミダゾリルである。ある特定の態様において、本発明において使用するヘテロアリール基は、3個の炭素原子がNで置き換えられている、芳香族二環式系、好ましくは置換または無置換ジアザインドリル基である。例示的ヘテロアリール基には、フラニル、チエニル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、オキサジアゾリル（1,2,5-および1,2,3-）、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル（1,2,3-および1,2,4-）、テトラゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、チアジアゾリル（1,2,3-および1,2,5-）、ピリジル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル（1,2,3-、1,2,4-、および1,3,5-）、ベンゾフラニル（1-および2-）、インドリル、アザインドリル（4-、5- 6-および7-）、ジアザインドリル、イソインドリル、ベンゾチエニル（1-および2-）、1H-インダゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、インドキサジニル、ベンズイソオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンズイソチアゾリル、ベンゾトリアゾリル、キノリニル、イソキノリニル、ベンゾジアジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、ベンゾトリアジニル（1,2,3-および1,2,4-ベンゾトリアジニル）、ピ

リダジニル、フェノキサジニル、チアゾロピリジニル、ピロロチアゾリル、フェノチアジニル、イソベンゾフラニル、クロメニル、キサンテニル、フェノキサチイニル、ピロリジニル、インドリジニル、インダゾリル、プリニル、キノリジニル、フタラジニル、ナフチリジニル（1,5-、1,6-、1,7-、1,8-、および2,6-）、シンノリニル、プテリジニル、カルバゾリル、フェナントリジニル、アクリジニル、ペリミジニル、フェナントロリニル（1,7-、1,8-、1,10-、3,8-、および4,7-）、フェナジニル、オキサゾロピリジニル、イソオキサゾロピリジニル、ピロロオキサゾリル、ピロロピロリルなどが含まれ、これらは1つまたは複数の置換基を有してもよい。ヘテロアリール置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。例示的な5または6員ヘテロアリール基には、フラニル、チエニル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、オキサジアゾリル（1,2,5-および1,2,3-）、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル（1,2,3-および1,2,4-）、チアゾリル、イソチアゾリル、チアジアゾリル（1,2,3-および1,2,5-）、ピリジル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル（1,2,3-、1,2,4-、および1,3,5-）、およびピリダジニルが含まれる。例示的な二環式ヘテロアリール基には、7-アザインドリル、6-アザインドリル、5-アザインドリル、4-アザインドリル、ジアザインドリルおよびインドリルが含まれる。

【００７５】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「ジアザインドリル」または「ジアザインドール」なる用語は、環化フェニル環の2個の炭素原子がNで置き換えられている、インドール核構造を有する化合物を指す。好ましくは、インドール核の炭素原子4、5、6および/または7はNで置き換えられている。好ましくは、インドール核の炭素原子4および5はNで置き換えられている。好ましくは、インドール核の炭素原子4および6はNで置き換えられている。好ましくは、インドール核の炭素原子4および7はNで置き換えられている。好ましくは、インドール核の炭素原子5および6はNで置き換えられている。好ましくは、インドール核の炭素原子6および7はNで置き換えられている。好ましくは、インドール核の炭素原子5および7はNで置き換えられている。いくつかの態様において、ジアザインドリルは置換されている。いくつかの態様において、ジアザインドリルは無置換である。

【００７６】

本明細書および説明全体を通して用いられる、本明細書において用いられる「ヘテロアリーレン」なる用語は、2個の水素原子の除去により、本明細書において定義するヘテロアリール基から誘導されるビラジカルを指す。ヘテロアリーレン基は置換または無置換であり得る。加えて、ヘテロアリーレン基は、リンカー基として、本明細書において定義するアルキレン、アルケニレン、アルキニレン、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニレン、またはヘテロアルキニレン基に組み込んでもよい。ヘテロアリーレン基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。

【００７７】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「アリールアルキル」および「ヘテロアリールアルキル」なる用語は、アリール基およびヘテロアリール基がそれぞれ、アルキル基に連結しているラジカル（例えば、ベンジル、フェネチル、ピリジルメチルなど）であって、炭素原子（例えば、メチレン基）が、例えば、酸素原子で置き換えられているアルキル基を含む、ラジカル（例えば、フェノキシメチル、2-ピリジルオキシメチル、3-(1-ナフチルオキシ)プロピルなど）を含む。好ましくは、アリールアルキルは置換または無置換(C_6～C_{14})アリール(C_1～C_6)アルキルである。好ましくは、アリールアルキルは置換または無置換(C_6～C_{10})アリール(C_1～C_6)アルキルである。好ましくは、ヘテロアリールアルキルは置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロアリール(C_1～C_6)アルキルである。好ましくは、ヘテロアリールアルキルは置換または無置換(C_3～C_{10})ヘテロアリール(C_1～C_6)アルキルである。いくつかの態様において、アルキル鎖は直鎖である。いくつかの態様において、アルキル鎖は分枝している。いくつかの態様において、アルキル鎖は置換されている。いくつかの態様において、アルキル鎖は無置換である。いくつかの態様にお

いて、アルキル鎖は直鎖であり、かつ置換または無置換である。いくつかの態様において、アルキル鎖は分枝しており、かつ置換または無置換である。

【００７８】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「ヘテロシクリル」または「複素環式環」または「複素環なる用語は、環状ヘテロ脂肪族基を指す。複素環式基は、非芳香族、部分不飽和または完全飽和、3～10員環系を指し、これには3～8原子のサイズの単環、ならびに非芳香環に縮合した芳香族5または6員アリールまたはヘテロアリール基を含んでもよい二環式および三環式環系が含まれる。複素環式基は置換または無置換であり得る。これらの複素環式基には、酸素、硫黄、および窒素から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有するものが含まれ、ここで窒素および硫黄ヘテロ原子は任意に酸化されていてもよく、窒素ヘテロ原子は任意に四級化されていてもよい。ある特定の態様において、複素環式なる用語は、少なくとも1つの環原子がO、S、およびNから選択されるヘテロ原子であり（ここで窒素および硫黄ヘテロ原子は任意に酸化されていてもよい）、残りの環原子は炭素である、非芳香族5、6、もしくは7員環または多環式基を指し、ラジカルは任意の環原子を介して分子の残りに連結している。ヘテロシシル基には、限定されないが、酸素、硫黄、および窒素から独立に選択される1～3個の間のヘテロ原子を有する、縮合5、6、または7員環を含む、二環式または三環式基が含まれ、ここで（i）各5員環は0～2つの二重結合を有し、各6員環は0～2つの二重結合を有し、かつ各7員環は0～3つの二重結合を有し、（ii）窒素および硫黄ヘテロ原子は任意に酸化されていてもよく、（iii）窒素ヘテロ原子は任意に四級化されていてもよく、かつ（iv）前述の任意の複素環式環はアリールまたはヘテロアリール環に縮合していてもよい。好ましくは、ヘテロシクリル基の各環において、O原子の最大数は1であり、S原子の最大数は1であり、かつOおよびS原子の最大総数は2である。「ヘテロシクリル」なる用語は、前述のヘテロアリール基の部分または完全水素化形態（例えばジヒドロ、テトラヒドロまたはペルヒドロ形態）も包含する。例示的ヘテロシクリル基には、モルホリノ、イソクロマニル、クロマニル、ピロリジニル、イミダゾリジニル、ピラゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、インドリニル、イソインドリニル、ジおよびテトラヒドロフラニル、ジおよびテトラヒドロチエニル、ジおよびテトラヒドロオキサゾリル、ジおよびテトラヒドロイソオキサゾリル、ジおよびテトラヒドロオキサジアゾリル（1,2,5-および1,2,3-）、ジヒドロピロリル、ジヒドロイミダゾリル、ジヒドロピラゾリル、ジおよびテトラヒドロトリアゾリル（1,2,3-および1,2,4-）、ジおよびテトラヒドロチアゾリル、ジおよびテトラヒドロチアゾリル、ジおよびテトラヒドロチアジアゾリル（1,2,3-および1,2,5-）、ジおよびテトラヒドロピリジル、ジおよびテトラヒドロピリミジニル、ジおよびテトラヒドロピラジニル、ジおよびテトラヒドロトリアジニル（1,2,3-、1,2,4-、および1,3,5-）、ジおよびテトラヒドロベンゾフラニル（1-および2-）、ジおよびテトラヒドロインドリル、ジおよびテトラヒドロイソインドリル、ジおよびテトラヒドロベンゾチエニル（1-および2）、ジおよびテトラヒドロ-1H-インダゾリル、ジおよびテトラヒドロベンズイミダゾリル、ジおよびテトラヒドロベンゾオキサゾリル、ジおよびテトラヒドロインドオキサジニル、ジおよびテトラヒドロベンズイソオキサゾリル、ジおよびテトラヒドロベンゾチアゾリル、ジおよびテトラヒドロベンズイソチアゾリル、ジおよびテトラヒドロベンゾトリアゾリル、ジおよびテトラヒドロキノリニル、ジおよびテトラヒドロイソキノリニル、ジおよびテトラヒドロベンゾジアジニル、ジおよびテトラヒドロキノキサリニル、ジおよびテトラヒドロキナゾリニル、ジおよびテトラヒドロベンゾトリアジニル（1,2,3-および1,2,4-）、ジおよびテトラヒドロピリダジニル、ジおよびテトラヒドロフェノキサジニル、ジおよびテトラヒドロチアゾロピリジニル（例えば4,5,6-7-テトラヒドロ[1,3]チアゾロ[5,4-c]ピリジニルまたは4,5,6-7-テトラヒドロ[1,3]チアゾロ[4,5-c]ピリジニル、例えば、4,5,6-7-テトラヒドロ[1,3]チアゾロ[5,4-c]ピリジン-2-イルまたは4,5,6-7-テトラヒドロ[1,3]チアゾロ[4,5-c]ピリジン-2-イル）、ジおよびテトラヒドロピロロチアゾリル（例えば5,6-ジヒドロ-4H-ピロロ[3,4-d][1,3]チアゾリル）、ジおよびテトラヒドロフェノチアジニル、ジおよびテトラヒドロイソベンゾフラニル、ジおよびテトラヒドロク

ロメニル、ジおよびテトラヒドロキサンテニル、ジおよびテトラヒドロフェノキサチイニル、ジおよびテトラヒドロピロリジニル、ジおよびテトラヒドロインドリジニル、ジおよびテトラヒドロインダゾリル、ジおよびテトラヒドロプリニル、ジおよびテトラヒドロキノリジニル、ジおよびテトラヒドロフタラジニル、ジおよびテトラヒドロナフチリジニル（1,5-、1,6-、1,7-、1,8-、および2,6-）、ジおよびテトラヒドロシンノリニル、ジおよびテトラヒドロプテリジニル、ジおよびテトラヒドロカルバゾリル、ジおよびテトラヒドロフェナントリジニル、ジおよびテトラヒドロアクリジニル、ジおよびテトラヒドロペリミジニル、ジおよびテトラヒドロフェナントロリニル（1,7-、1,8-、1,10-、3,8-、および4,7-）、ジおよびテトラヒドロフェナジニル、ジおよびテトラヒドロオキサゾロピリジニル、ジおよびテトラヒドロイソオキサゾロピリジニル、ジおよびテトラヒドロピロロオキサゾリル、ならびにジおよびテトラヒドロピロロピロリルが含まれる。例示的5または6員ヘテロシクリル基には、モルホリノ、ピロリジニル、イミダゾリジニル、ピラゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、ジおよびテトラヒドロフラニル、ジおよびテトラヒドロチエニル、ジおよびテトラヒドロオキサゾリル、ジおよびテトラヒドロイソオキサゾリル、ジおよびテトラヒドロオキサジアゾリル（1,2,5-および1,2,3-）、ジヒドロピロリル、ジヒドロイミダゾリル、ジヒドロピラゾリル、ジおよびテトラヒドロトリアゾリル（1,2,3-および1,2,4-）、ジおよびテトラヒドロチアゾリル、ジおよびテトラヒドロイソチアゾリル、ジおよびテトラヒドロチアジアゾリル（1,2,3-および1,2,5-）、ジおよびテトラヒドロピリジル、ジおよびテトラヒドロピリミジニル、ジおよびテトラヒドロピラジニル、ジおよびテトラヒドロトリアジニル（1,2,3-、1,2,4-、および1,3,5-）、ジおよびテトラヒドロピリダジニルなどが含まれ、これらは1つまたは複数の置換基を有してもよい。好ましくは、2H-1-ベンゾピラニル（2H-クロメニル）、ベンゾジヒドロピラニル（クロマニル）、4H-1-ベンゾピラニル（4H-クロメニル）、1H-2-ベンゾピラニル（1H-イソクロマニル）、イソクロマニル、3H-2-ベンゾピラニル（3H-イソクロメニル）、1-ベンゾピラン-4-オン-イル（クロモニル）、4-クロマノニル、1-ベンゾピラン-2-オン-イル（クマリニル）、ジヒドロクマリニル、3-イソクロマノニル、2-クマラノン-イル。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換2H-1-ベンゾピラニル（2H-クロメニル）である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換ベンゾジヒドロピラニル（クロマニル）である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換4H-1-ベンゾピラニル（4H-クロメニル）である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換1H-2-ベンゾピラニル（1H-イソクロメニル）である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換イソクロマニルである。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換3H-2-ベンゾピラニル（3H-イソクロメニル）である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換1-ベンゾピラン-4-オン-イル（クロモニル）である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換4-クロマノニルである。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換1-ベンゾピラン-2-オン-イル（クマリニル）である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換ジヒドロクマリニルである。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換3-イソクロマノニルである。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は置換または無置換2-クマラノン-イルである。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がO、N、またはSの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がOで置き換えられている、置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がNで置き換えられている、置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がSで置き換えられている、置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子

がO、N、またはSの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、置換または無置換(C_9～C_{10})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がOで置き換えられている、置換または無置換(C_9～C_{10})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がNで置き換えられている、置換または無置換(C_9～C_{10})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がSで置き換えられている、置換または無置換(C_9～C_{10})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がO、N、またはSの同じまたは異なるヘテロ原子で置き換えられている、置換または無置換(C_{10})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がOで置き換えられている、置換または無置換(C_{10})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がNで置き換えられている、置換または無置換(C_{10})ヘテロシクリル基である。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は、1、2、3、4、または5個の炭素原子がSで置き換えられている、置換または無置換(C_{10})ヘテロシクリル基である。

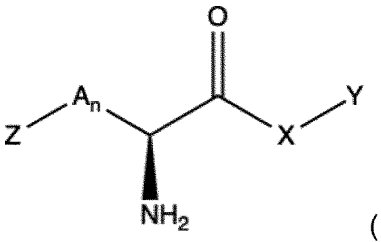
【００７９】

本明細書および説明全体を通して用いられる、本明細書において用いられる「ヘテロアルキル」なる用語は、炭素原子の間に1つまたは複数のヘテロ原子（例えば、酸素、硫黄、窒素、リン、またはケイ素原子）を含む、本明細書において定義するアルキル部分を指す。ヘテロアルキルは置換または無置換であり得る。ある特定の態様において、ヘテロアルキル基は、1～20個の炭素原子および1～6個のヘテロ原子を含む（$C_{1～20}$ヘテロアルキル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキル基は、1～10個の炭素原子および1～4個のヘテロ原子を含む（$C_{1～10}$ヘテロアルキル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキル基は、1～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む（$C_{1～6}$ヘテロアルキル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキル基は、1～5個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む（$C_{1～5}$ヘテロアルキル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキル基は、1～4個の炭素原子および1～2個のヘテロ原子を含む（$C_{1～4}$ヘテロアルキル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキル基は、1～3個の炭素原子および1個のヘテロ原子を含む（$C_{1～3}$ヘテロアルキル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキル基は、1～2個の炭素原子および1個のヘテロ原子を含む（$C_{1～2}$ヘテロアルキル）。本明細書において用いられる「ヘテロアルキレン」なる用語は、2個の水素原子の除去により、本明細書において定義するヘテロアルキル基から誘導されるビラジカルを指す。ヘテロアルキレン基は、環状または非環状、分枝または非分枝、置換または無置換であり得る。ある特定の態様において、ヘテロアルキル基は、1～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む、置換ヘテロアルキル基である（$C_{1～6}$ヘテロアルキル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキル基は、1～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む、無置換ヘテロアルキル基である（$C_{1～6}$ヘテロアルキル）。いくつかの態様において、ヘテロアルキルは、メチレン基においてSで置き換えられているアルキル部分である。いくつかの態様において、ヘテロアルキルは、メチレン基においてOで置き換えられているアルキル部分である。いくつかの態様において、ヘテロアルキルは、メチレン基においてNR^1で置き換えられているアルキル部分であり、ここで水素、置換または無置換(C_1～C_6)アルキル、置換または無置換(C_2～C_6)アルケニル、置換または無置換(C_2～C_6)アルキニル、置換または無置換(C_3～C_8)シクロアルキル、置換または無置換(C_6～C_{14})アリールおよび置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロアリールからなる群より選択される。いくつかの態様において、ヘテロアルキルは$-CH_2SCH_3$である。いくつかの態様において、ヘテロアルキルは$-CH_2OCH_3$である。

【００８０】

本明細書および説明全体を通して用いられる、ヘテロアルキレン基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。

【００８１】
本明細書および説明全体を通して用いられる、本明細書において用いられる「ヘテロアルケニル」なる用語は、炭素原子の間に1つまたは複数のヘテロ原子（例えば、酸素、硫黄、窒素、リン、またはケイ素原子）をさらに含む、本明細書において定義するアルケニル部分を指す。ある特定の態様において、ヘテロアルケニル基は、2～20個の炭素原子および1～6個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim20}$ヘテロアルケニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルケニル基は、2～10個の炭素原子および1～4個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim10}$ヘテロアルケニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルケニル基は、2～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim6}$ヘテロアルケニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルケニル基は、2～5個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim5}$ヘテロアルケニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルケニル基は、2～4個の炭素原子および1～2個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim4}$ヘテロアルケニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルケニル基は、2～3個の炭素原子および1個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim3}$ヘテロアルケニル）。本明細書において用いられる「ヘテロアルケニレン」なる用語は、2個の水素原子の除去により、本明細書において定義するヘテロアルケニル基から誘導されるビラジカルを指す。ヘテロアルケニレン基は、環状または非環状、分枝または非分枝、置換または無置換であり得る。ある特定の態様において、ヘテロアルケニル基は、1～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む、置換ヘテロアルケニル基である（$C_{1\sim6}$ヘテロアルケニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルケニル基は、1～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む、無置換ヘテロアルケニル基である（$C_{1\sim6}$ヘテロアルケニル）。
【００８２】
本明細書および説明全体を通して用いられる、本明細書において用いられる「ヘテロアルキニル」なる用語は、炭素原子の間に1つまたは複数のヘテロ原子（例えば、酸素、硫黄、窒素、リン、またはケイ素原子）をさらに含む、本明細書において定義するアルキニル部分を指す。ある特定の態様において、ヘテロアルキニル基は、2～20個の炭素原子および1～6個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim20}$ヘテロアルキニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキニル基は、2～10個の炭素原子および1～4個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim10}$ヘテロアルキニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキニル基は、2～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim6}$ヘテロアルキニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキニル基は、2～5個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim5}$ヘテロアルキニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキニル基は、2～4個の炭素原子および1～2個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim4}$ヘテロアルキニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキニル基は、2～3個の炭素原子および1個のヘテロ原子を含む（$C_{2\sim3}$ヘテロアルキニル）。本明細書において用いられる「ヘテロアルキニレン」なる用語は、2個の水素原子の除去により、本明細書において定義するヘテロアルキニル基から誘導されるビラジカルを指す。ヘテロアルキニレン基は、環状または非環状、分枝または非分枝、置換または無置換であり得る。ある特定の態様において、ヘテロアルキニル基は、1～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む、置換ヘテロアルキニル基である（$C_{1\sim6}$ヘテロアルキニル）。ある特定の態様において、ヘテロアルキニル基は、1～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む、無置換ヘテロアルキニル基である（$C_{1\sim6}$ヘテロアルキニル）。
【００８３】
本明細書に記載の非天然アミノ酸は、式I：



(I)

を有することにより表されてもよい。

【００８４】

いくつかの態様において、式Ｉの式を有する化合物は、ＸはＯ、ＮＲ^{1}またはＳであり；Ｙは水素または置換もしくは無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキルであり；Ｚは置換または無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキル、置換または無置換(Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$)アルケニル、置換または無置換(Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$)アルキニル、置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{8}$)シクロアルキル、置換または無置換(Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{14}$)アリール、置換または無置換(Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{14}$)アリール(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキル、置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロアリール、置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロアリール(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキル、置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロシクリル、置換または無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)ヘテロアルキル、置換または無置換(Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$)ヘテロアルケニル、および置換または無置換(Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$)ヘテロアルキニルからなる群より選択され；Ｒ^{1}は水素または置換もしくは無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキルであり、ここでＡはメチレン基であり、かつｎは０または１、好ましくはｎは１であることを特徴としてもよい。

【００８５】

いくつかの態様において、式Ｉの式を有する化合物は、ＸはＯ、ＮＲ^{1}またはＳであり；Ｙは水素または置換もしくは無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキルであり；Ｚは置換または無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキル、置換または無置換(Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{14}$)アリール、置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロアリール、置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロシクリルおよび置換または無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)ヘテロアルキルからなる群より選択され；Ｒ^{1}は水素または置換もしくは無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキルであり、ここでＡはメチレン基であり、かつｎは０または１、好ましくはｎは１であることを特徴としてもよい。

【００８６】

いくつかの態様において、式Ｉの式を有する化合物は、ＸはＯであり；Ｙは水素または置換もしくは無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキルであり；Ｚは置換または無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキル、置換または無置換(Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{14}$)アリール、置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロアリール、置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロシクリルおよび置換または無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)ヘテロアルキルからなる群より選択され、ここでＡはメチレン基であり、かつｎは０または１、好ましくはｎは１であることを特徴としてもよい。

【００８７】

いくつかの態様において、式Ｉの式を有する化合物は、ＸはＯ、ＮＲ^{1}またはＳであり；Ｙは水素または置換もしくは無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキルであり；Ｚは置換または置換または無置換(Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{14}$)アリール、無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロアリールおよび置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロシクリルからなる群より選択され；Ｒ^{1}は水素または置換もしくは無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキルであり、ここでＡはメチレン基であり、かつｎは０または１、好ましくはｎは１であることを特徴としてもよい。

【００８８】

いくつかの態様において、式Ｉの式を有する化合物は、ＸはＯであり；Ｙは水素または置換もしくは無置換(Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$)アルキルであり；Ｚは置換または無置換(Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{14}$)アリール、置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロアリールおよび置換または無置換(Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$)ヘテロシクリルからなる群より選択され、ここでＡはメチレン基であり、かつｎは０または１、好ましくはｎは１であることを特徴としてもよい。

【００８９】

いくつかの態様において、式Iの式を有する化合物は、XはO、NR^1またはSであり；Yは水素または置換もしくは無置換(C_1～C_6)アルキルであり；Zは置換または無置換2H-1-ベンゾピラニル（2H-クロメニル）、置換または無置換ベンゾジヒドロピラニル（クロマニル）、置換または無置換4H-1-ベンゾピラニル（4H-クロメニル）、置換または無置換1H-2-ベンゾピラニル（1H-イソクロメニル）、置換または無置換イソクロマニル、置換または無置換3H-2-ベンゾピラニル（3H-イソクロメニル）、置換または無置換1-ベンゾピラン-4-オン-イル（クロモニル）、置換または無置換4-クロマノニル、置換または無置換1-ベンゾピラン-2-オン-イル（クマリニル）、置換または無置換ジヒドロクマリニル、置換または無置換3-イソクロマノニル、置換または無置換2-クマラノン-イル、置換または無置換(C_1～C_6)アルキル、置換または無置換(C_1～C_6)ヘテロアルキル、置換または無置換イミダゾリル、7-アザインドリル、6-アザインドリル、5-アザインドリルおよび4-アザインドリルを含む置換または無置換アザインドリル、置換または無置換ジアザインドリルならびに置換または無置換インドリルからなる群より選択され；R^1は水素または置換もしくは無置換(C_1～C_6)アルキルであり、ここでAはメチレン基であり、かつnは0または1、好ましくはnは1であることを特徴としてもよい。

【００９０】

いくつかの態様において、式Iの式を有する化合物は、XはOであり；Yは水素または置換もしくは無置換(C_1～C_6)アルキルであり；Zは置換または無置換2H-1-ベンゾピラニル（2H-クロメニル）、置換または無置換ベンゾジヒドロピラニル（クロマニル）、置換または無置換4H-1-ベンゾピラニル（4H-クロメニル）、置換または無置換1H-2-ベンゾピラニル（1H-イソクロメニル）、置換または無置換イソクロマニル、置換または無置換3H-2-ベンゾピラニル（3H-イソクロメニル）、置換または無置換1-ベンゾピラン-4-オン-イル（クロモニル）、置換または無置換4-クロマノニル、置換または無置換1-ベンゾピラン-2-オン-イル（クマリニル）、置換または無置換ジヒドロクマリニル、置換または無置換3-イソクロマノニル、置換または無置換2-クマラノン-イル、置換または無置換(C_1～C_6)アルキル、置換または無置換(C_1～C_6)ヘテロアルキル、置換または無置換イミダゾリル、7-アザインドリル、6-アザインドリル、5-アザインドリルおよび4-アザインドリルを含む置換または無置換アザインドリル、置換または無置換ジアザインドリルならびに置換または無置換インドリルからなる群より選択され、ここでAはメチレン基であり、かつnは0または1、好ましくはnは1であることを特徴としてもよい。

【００９１】

いくつかの態様において、式Iの式を有する化合物は、XはO、NR^1またはSであり；Yは水素または置換もしくは無置換(C_1～C_6)アルキルであり；Zは置換または無置換1-ベンゾピラン-2-オン-イル（クマリニル）、置換または無置換ジヒドロクマリニル、置換または無置換イミダゾリル、7-アザインドリル、6-アザインドリル、5-アザインドリルおよび4-アザインドリルを含む置換または無置換アザインドリル、ならびに置換または無置換インドリルからなる群より選択され；R^1は水素または置換もしくは無置換(C_1～C_6)アルキルであり、ここでAはメチレン基であり、かつnは0または1、好ましくはnは1であることを特徴としてもよい。

【００９２】

いくつかの態様において、式Iの式を有する化合物は、XはOであり；Yは水素または置換もしくは無置換(C_1～C_6)アルキルであり；Zは置換または無置換1-ベンゾピラン-2-オン-イル（クマリニル）、置換または無置換ジヒドロクマリニル、置換または無置換イミダゾリル、7-アザインドリル、6-アザインドリル、5-アザインドリルおよび4-アザインドリルを含む置換または無置換アザインドリル、ならびに置換または無置換インドリルからなる群より選択され、ここでAはメチレン基であり、かつnは0または1、好ましくはnは1であることを特徴としてもよい。

【００９３】

式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、XはOである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、XはSである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様

において、XはNR[1]であり、ここでR[1]は水素、置換または無置換(C[1]～C[6])アルキル、置換または無置換(C[2]～C[6])アルケニル、置換または無置換(C[2]～C[6])アルキニル、置換または無置換(C[3]～C[8])シクロアルキル、置換または無置換(C[6]～C[14])アリールおよび置換または無置換(C[3]～C[14])ヘテロアリール、好ましくは水素または置換もしくは無置換(C[1]～C[6])アルキル、より好ましくは水素、より好ましくは置換または無置換(C[1]～C[6])アルキル、さらにより好ましくは無置換(C[1]～C[6])アルキルからなる群より選択される。

【００９４】

式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは水素、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択される。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは水素、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリルおよび置換または無置換ヘテロアルキルからなる群より選択される。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換(C[1]～C[6])アルキル、置換または無置換(C[2]～C[6])アルケニル、置換または無置換(C[2]～C[6])アルキニル、置換または無置換(C[3]～C[8])シクロアルキル、置換または無置換(C[6]～C[14])アリール、置換または無置換(C[6]～C[14])アリール(C[1]～C[6])アルキル、置換または無置換(C[3]～C[14])ヘテロアリール、置換または無置換(C[3]～C[14])ヘテロアリール(C[1]～C[6])アルキル、置換または無置換(C[3]～C[14])ヘテロシクリル、置換または無置換(C[1]～C[6])ヘテロアルキル、置換または無置換(C[2]～C[6])ヘテロアルケニル、および置換または無置換(C[2]～C[6])ヘテロアルキニルからなる群より選択される。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは水素または置換もしくは無置換(C[1]～C[6])アルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは水素である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換アルキル、好ましくは置換または無置換(C[1]～C[6])アルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換アルケニル、好ましくは置換または無置換(C[2]～C[6])アルケニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換アルキニル、好ましくは置換または無置換(C[2]～C[6])アルキニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換シクロアルキル、好ましくは置換または無置換(C[3]～C[8])シクロアルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換アリール、好ましくは置換または無置換(C[6]～C[14])アリールである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換アリールアルキル、好ましくは置換または無置換(C[6]～C[14])アリール(C[1]～C[6])アルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換ヘテロアリール、好ましくは置換または無置換(C[3]～C[14])ヘテロアリールである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換ヘテロアリールアルキル、好ましくは置換または無置換(C[3]～C[14])ヘテロアリール(C[1]～C[6])アルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換ヘテロシクリル、好ましくは置換または無置換(C[3]～C[14])ヘテロシクリルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換ヘテロアルキル、好ましくは置換または無置換(C[1]～C[6])ヘテロアルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換ヘテロアルケニル、好ましくは置換または無置換(C[2]～C[6])ヘテロアルケニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Yは置換または無置換ヘテロアルキニル、好ましくは置換または無置換(C[2]～C[6])ヘテロアルキニルである。

【００９５】

式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは水素、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択され；ただしZは置換または無置換単環式6員アリールではない。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは水素、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリルおよび置換または無置換ヘテロアルキルからなる群より選択され；ただしZは置換または無置換単環式6員アリールではない。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換(C_1～C_6)アルキル、置換または無置換(C_2～C_6)アルケニル、置換または無置換(C_2～C_6)アルキニル、置換または無置換(C_3～C_8)シクロアルキル、置換または無置換(C_6～C_{14})アリール、置換または無置換(C_6～C_{14})アリール(C_1～C_6)アルキル、置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロアリール、置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロアリール(C_1～C_6)アルキル、置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロシクリル、置換または無置換(C_1～C_6)ヘテロアルキル、置換または無置換(C_2～C_6)ヘテロアルケニル、および置換または無置換(C_2～C_6)ヘテロアルキニルからなる群より選択され；ただしZは置換または無置換単環式6員アリールではない。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは水素または置換もしくは無置換(C_1～C_6)アルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは水素である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換アルキル、好ましくは置換または無置換(C_1～C_6)アルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換アルケニル、好ましくは置換または無置換(C_2～C_6)アルケニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換アルキニル、好ましくは置換または無置換(C_2～C_6)アルキニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換シクロアルキル、好ましくは置換または無置換(C_3～C_8)シクロアルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換アリール、好ましくは置換または無置換(C_6～C_{14})アリールであり、ただし好ましくはZは置換または無置換単環式6員アリールではない。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換アリールアルキル、好ましくは置換または無置換(C_6～C_{14})アリール(C_1～C_6)アルキル、ただし好ましくはZは置換または無置換単環式6員アリールではない。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換ヘテロアリール、好ましくは置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロアリールである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換ヘテロアリールアルキル、好ましくは置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロアリール(C_1～C_6)アルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換ヘテロシクリル、好ましくは置換または無置換(C_3～C_{14})ヘテロシクリルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換ヘテロアルキル、好ましくは置換または無置換(C_1～C_6)ヘテロアルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換ヘテロアルケニル、好ましくは置換または無置換(C_2～C_6)ヘテロアルケニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換ヘテロアルキニル、好ましくは置換または無置換(C_2～C_6)ヘテロアルキニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換2H-1-ベンゾピラニル（2H-クロメニル）、置換または無置換ベンゾジヒドロピラニル（クロマニル）、置換または無置換4H-1-ベンゾピラニル（4H-クロメニル）、置換または無置換1H-2-ベンゾピラニル（1H-イソクロメニル）、置換または無置換イソクロマニル、置換または無置換3H-2-ベンゾピラニル（3H-イソクロメニル）、置換または無置換1-ベンゾピラン-4-オン-イ

ル（クロモニル）、置換または無置換4-クロマノニル、置換または無置換1-ベンゾピラン-2-オン-イル（クマリニル）、置換または無置換ジヒドロクマリニル、置換または無置換3-イソクロマノニル、置換または無置換2-クマラノン-イル、置換または無置換(C_1～C_6)アルキル、置換または無置換(C_1～C_6)ヘテロアルキル、置換または無置換イミダゾリル、7-アザインドリル、6-アザインドリル、5-アザインドリルおよび4-アザインドリルを含む置換または無置換アザインドリル、ならびに置換または無置換インドリルからなる群より選択される。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換2H-1-ベンゾピラニル（2H-クロメニル）である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換ベンゾジヒドロピラニル（クロマニル）である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換4H-1-ベンゾピラニル（4H-クロメニル）である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換1H-2-ベンゾピラニル（1H-イソクロメニル）である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換イソクロマニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換3H-2-ベンゾピラニル（3H-イソクロメニル）である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換1-ベンゾピラン-4-オン-イル（クロモニル）である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換4-クロマノニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換1-ベンゾピラン-2-オン-イル（クマリニル）である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換ジヒドロクマリニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換3-イソクロマノニルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換2-クマラノン-イルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換(C_1～C_6)アルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換(C_1～C_6)ヘテロアルキルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換イミダゾリルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは7-アザインドリル、6-アザインドリル、5-アザインドリルおよび4-アザインドリルを含む置換または無置換アザインドリルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換または無置換インドリルである。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換単環式6員アリールまたは無置換単環式6員アリールではない。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは置換フェニルまたは無置換フェニルではない。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Zは-NO_2、-N_3、ハロゲン、-NH_2、ヒドロキシル、-OR^{11}および-C(=O)R^{11}からなる群より選択される1、2、3、4または5つの置換基で置換されたフェニルではなく、ここでR^{11}は水素、置換アルキルまたは置換アルキニルである。

【００９６】

式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Aはメチレン基であり、かつnは1である。式Iの式を有する化合物のいくつかの態様において、Aはメチレン 基であり、かつnは2である。

【００９７】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「脂肪族」なる用語は、飽和および不飽和の両方で、非芳香族、直鎖（すなわち、非分枝）、分枝、非環状、ならびに環状（すなわち、炭素環式）炭化水素を含み、これらは1つまたは複数の官能基で置換されていてもよい。当業者であれば理解されるとおり、「脂肪族」は、本明細書において、限定されないが、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、およびシクロアルキニル部分を含むことが意図される。したがって、本明細書において用いられる「アルキル」なる用語は、直鎖、分枝および環状アルキル基を含む。類似の慣習が「アルケニル」、「アルキニル」などの他の一般用語に適用される。さらに、本明細書において用いられる「アルキル」、「アルケニル」、「アルキニル」などの用語は、置換および無置換両方の基を含む。ある特定の態様において、本明細書において用いられる「脂肪族

」は、1～20個の炭素原子を有する脂肪族基（環状、非環状、置換、無置換、分枝または非分枝）（$C_{1～20}$脂肪族）を示すために使用する。ある特定の態様において、脂肪族基は1～10個の炭素原子を有する（$C_{1～10}$脂肪族）。ある特定の態様において、脂肪族基は1～6個の炭素原子を有する（$C_{1～6}$脂肪族）。ある特定の態様において、脂肪族基は1～5個の炭素原子を有する（$C_{1～5}$脂肪族）。ある特定の態様において、脂肪族基は1～4個の炭素原子を有する（$C_{1～4}$脂肪族）。ある特定の態様において、脂肪族基は1～3個の炭素原子を有する（$C_{1～3}$脂肪族）。ある特定の態様において、脂肪族基は1～2個の炭素原子を有する（$C_{1～2}$脂肪族）。脂肪族基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。いくつかの態様において、脂肪族基は飽和または不飽和、非分枝または分枝アルキル、好ましくは(C_1～C_{20})アルキル、より好ましくは(C_1～C_{10})アルキル、さらにより好ましくは(C_1～C_6)アルキルである。

【００９８】

本明細書および説明全体を通して用いられる、「ヘテロ脂肪族」なる用語は、飽和および不飽和の両方で、非芳香族、直鎖（すなわち、非分枝）、分枝、非環状、環状（すなわち、複素環式）、または多環式炭化水素を含み、これらは1つまたは複数の官能基で置換されていてもよく、かつ炭素原子の間に1つまたは複数のヘテロ原子（例えば、酸素、硫黄、窒素、リン、またはケイ素原子）をさらに含む、本明細書において定義する脂肪族部分を指す。ある特定の態様において、ヘテロ脂肪族部分は、その上の水素原子の1つまたは複数が、1つまたは複数の置換基で独立に置き換えられることによって置換されている。当業者であれば理解されるとおり、「ヘテロ脂肪族」は、本明細書において、限定されないが、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルケニル、およびヘテロシクロアルキニル部分を含むことが意図される。したがって、本明細書において用いられる「ヘテロ脂肪族」なる用語は、「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルケニル」、「ヘテロアルキニル」などの用語を含む。さらに、本明細書において用いられる「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルケニル」、「ヘテロアルキニル」などの用語は、置換および無置換両方の基を含む。ある特定の態様において、本明細書において用いられる「ヘテロ脂肪族」は、1～20個の炭素原子および1～6個のヘテロ原子を有するヘテロ脂肪族基（環状、非環状、置換、無置換、分枝または非分枝）（$C_{1～20}$ヘテロ脂肪族）を示すために使用する。ある特定の態様において、ヘテロ脂肪族基は1～10個の炭素原子および1～4個のヘテロ原子を含む（$C_{1～10}$ヘテロ脂肪族）。ある特定の態様において、ヘテロ脂肪族基は1～6個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む（$C_{1～6}$ヘテロ脂肪族）。ある特定の態様において、ヘテロ脂肪族基は1～5個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を含む（$C_{1～5}$ヘテロ脂肪族）。ある特定の態様において、ヘテロ脂肪族基は1～4個の炭素原子および1～2個のヘテロ原子を含む（$C_{1～4}$ヘテロ脂肪族）。ある特定の態様において、ヘテロ脂肪族基は1～3個の炭素原子および1個のヘテロ原子を含む（$C_{1～3}$ヘテロ脂肪族）。ある特定の態様において、ヘテロ脂肪族基は1～2個の炭素原子および1個のヘテロ原子を含む（$C_{1～2}$ヘテロ脂肪族）。ヘテロ脂肪族基置換基には、限定されないが、安定な部分の形成をもたらす、本明細書に記載の任意の置換基が含まれる。いくつかの態様において、脂肪族基は飽和または不飽和、非分枝または分枝アルキル、好ましくは(C_1～C_{20})ヘテロアルキル、より好ましくは(C_1～C_{10})ヘテロアルキル、さらにより好ましくは(C_1～C_6)ヘテロアルキルである。

【００９９】

「L」：リンカー

本開示は、本明細書に記載のとおりに修飾したブレンツキシマブが薬物部分に連結されている、抗体薬物コンジュゲートを提供する。本開示によれば、ブレンツキシマブは、リンカーによる共有結合を介して、薬物部分に連結してもよい。本明細書において用いられる「リンカー」は、ブレンツキシマブなどの抗体、抗体断片（例えば、抗原結合断片）または機能的等価物を、薬物部分などの別の部分に連結することができる任意の化学部分である。これに関して、本明細書に記載の「ADC式」：Ab-(L-$(D)_x$)$_y$を再度参照する。し

たがって、薬物部分Dはブレンツキシマブにリンカーを通じて連結することができる。Lは、ブレンツキシマブAbを薬物部分Dに連結することができる任意の化学部分である。好ましくは、リンカーLはブレンツキシマブAbを薬物部分Dに、共有結合を通じて連結する。リンカー試薬は、薬物部分Dとブレンツキシマブとを連結して抗体薬物コンジュゲートを形成するために使用し得る、二官能性または多官能性部分である。抗体薬物コンジュゲートは、薬物部分Dおよび抗体Abに結合するための反応性官能基を有するリンカーを用いて調製することができる。「リンカー試薬」、「架橋試薬」、「架橋試薬に由来するリンカー」および「リンカー」なる用語は、本開示の全体を通して交換可能に使用してもよい。

【０１００】

リンカーは、酵素的切断、酸誘導性切断、光誘導性切断およびジスルフィド結合切断などの切断に感受性であり得る（切断性リンカー）。酵素的切断には、限定されないが、好ましくは化合物または抗体が活性を維持する条件下での、プロテアーゼ誘導性切断、ペプチダーゼ誘導性切断、エステラーゼ誘導性切断、グリコシダーゼ誘導性切断、ホスファターゼ誘導性切断、およびスルファターゼ誘導性切断が含まれる。または、リンカーは切断に対して実質的に抵抗性であり得る（例えば、安定リンカーまたは非切断性リンカー）。いくつかの局面において、リンカーは、プロチャージ（procharged）リンカー、親水性リンカー、PEG系リンカー、またはジカルボン酸系リンカーであってもよい。したがって、本明細書に開示する抗体薬物コンジュゲートの任意の1つのいくつかの態様において、リンカー（L）は、切断性リンカー、非切断性リンカー、親水性リンカー、PEG系リンカー、プロチャージリンカーおよびジカルボン酸系リンカーからなる群より選択される。いくつかの態様において、Lは切断性リンカーである。いくつかの態様において、Lは非切断性リンカーである。いくつかの態様において、Lは酵素的切断に感受性のリンカーである。いくつかの態様において、Lは酸不安定リンカー、光不安定リンカー、ペプチダーゼ切断性リンカー、プロテアーゼ切断性リンカー、エステラーゼ切断性リンカー、グリコシダーゼ切断性リンカー、ホスファターゼ切断性リンカー、スルファターゼ切断性リンカー、ジスルフィド結合還元性リンカー、親水性リンカー、プロチャージリンカー、PEG系リンカー、またはジカルボン酸系リンカーである。好ましくはペプチダーゼ切断性リンカーである。他の好ましいリンカーは、プロテアーゼによって切断可能である。

【０１０１】

非切断性リンカーは、薬物を抗体に安定な共有結合様式で連結することができる任意の化学的部分であり、切断性リンカーについての上記のカテゴリーに入らない。したがって、非切断性リンカーは、酸誘導性切断、ペプチダーゼ誘導性切断、プロテアーゼ誘導性切断、エステラーゼ誘導性切断、およびジスルフィド結合切断に対して実質的に抵抗性である。さらに、非切断性とは、リンカー内またはリンカーに隣接する化学結合が、薬物または抗体がその活性を失わない条件下で、酸、光不安定切断剤、ペプチダーゼ、プロテアーゼ、エステラーゼ、またはジスルフィド結合を切断する化学的もしくは生理学的化合物によって誘導される切断に耐える能力を指す。

【０１０２】

酸不安定リンカーは、酸性pHで切断可能なリンカーである。例えば、エンドソームおよびリソソームなどのある特定の細胞内区画は酸性pH（pH4～5）を有し、酸不安定リンカーを切断するのに適した条件を提供する。

【０１０３】

いくつかのリンカーは、ペプチダーゼによって切断することができ、すなわちペプチダーゼ切断性リンカーである。これに関して、ある特定のペプチドは細胞内または細胞外で容易に切断され、例えばTrout et al., 79 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 626-629 (1982)およびUmemoto et al. 43 Int. J. Cancer, 677-684 (1989)を参照されたい。ペプチドは、α-アミノ酸および、化学的には1つのアミノ酸のカルボキシレートと第2のアミノ酸のアミノ基との間のアミド結合である、ペプチド結合からなる。

【０１０４】

いくつかのリンカーは、エステラーゼによって切断することができ、すなわちエステラーゼ切断性リンカーである。これに関して、ある特定のエステルは細胞内または細胞外に存在するエステラーゼによって切断され得る。エステルは、カルボン酸とアルコールとの縮合によって形成される。単純エステルは、脂肪族アルコールなどの単純アルコール、ならびに小さい環状および小さい芳香族アルコールにより生成されたエステルである。

【０１０５】

プロチャージリンカーは、抗体薬物コンジュゲートに組み込まれた後もその電荷を保持する、荷電架橋試薬から誘導される。プロチャージリンカーの例は、US 2009/0274713に記載されている。

【０１０６】

リンカーは、好ましくはプロテアーゼにより、より好ましくはカテプシンBなどのカテプシンにより切断可能であり得る。リンカーは、カテプシンBなどのカテプシンによって切断され得る、バリン-シトルリン部分を含んでもよい。リンカーはヒドロキシルアミン基を含んでもよく、かつ非天然アミノ酸は3-ホルミルチオルシンなどの芳香環のヒドロキシル基のオルト位にホルミル基を含み、ここでリンカーのヒドロキシルアミン基は、コンジュゲーション後に非天然アミノ酸のホルミル基とともにオキシムを形成する。リンカーは切断部位を含んでもよい。「切断部位」とは、プロテアーゼまたはペプチダーゼによって認識され、前記プロテアーゼまたはペプチダーゼによって加水分解される、アミノ酸の配列である。好ましくは、切断部位はバリンシトルリン部分である。

【０１０７】

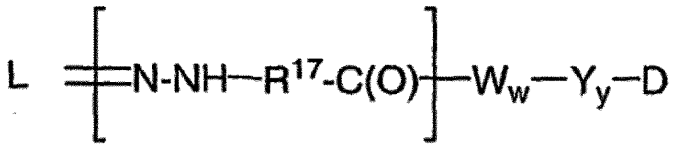
1つの態様において、本発明のADCのリンカーは式：-A_a-X_x-W_w-Y_yを有し、式中：-A-はストレッチャーユニットであり；aは0または1であり；ここで-X-は第2のスペーサーユニットであり；xは独立に0から12の範囲の整数であり；各-W-は独立にアミノ酸ユニットであり；wは独立に0から12の範囲の整数であり；-Y-は第1のスペーサーユニットであり；かつyは独立に0から12の範囲の整数、好ましくは0、1または2である。

【０１０８】

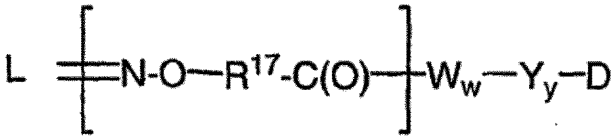
ストレッチャーユニット（-A-）は、存在する場合、リガンドユニット、すなわち本発明のADCに含まれるブレンツキシマブの非天然アミノ酸を、アミノ酸ユニット（-W-）に連結することができる。これに関して、非天然アミノ酸は、ストレッチャーの官能基と結合を形成し得る官能基を有する。天然に、または化学的操作を介してのいずれかで、非天然アミノ酸上に存在し得る有用な官能基には、限定されないが、スルフヒドリル（-SH）、アミノ、アジド、アルキニル、ヒドロキシル、カルボキシ、炭水化物のアノマーヒドロキシル基、ホルミルおよびカルボキシルが含まれる。1つの局面において、非天然アミノ酸官能基は、スルフヒドリルおよびアミノである。好ましくは、非天然アミノ酸の官能基はホルミルである。スルフヒドリル基は、リガンドの分子内ジスルフィド結合の還元によって生成することができる。または、スルフヒドリル基は、2-イミノチオラン（トラウト試薬）または別のスルフヒドリル生成試薬を用いて、非天然アミノ酸のリジン部分のアミノ基の反応によって生成することができる。

【０１０９】

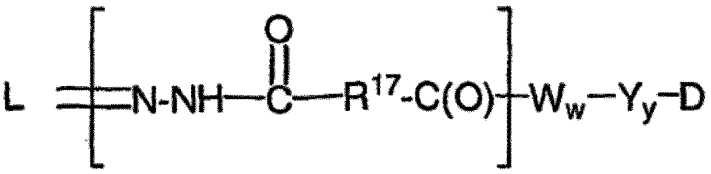
ストレッチャーの反応性基は、非天然アミノ酸上に存在し得る修飾炭水化物の（-CHO）基に反応性の反応性部位を含んでもよい。例えば、炭水化物を過ヨウ素酸ナトリウムなどの試薬を用いて軽度に酸化することもできるか、または非天然ホルミルチロシンアミノ酸をTTLを用いてリガンドに連結し、得られた（-CHO）ユニットを、Kaneko, T. et al. (1991) Bioconjugate Chem 2：133-41に記載のものなどの、ヒドラジド、オキシム、ピラゾロン、チオピラゾロン、一級または二級アミン、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリールヒドラジドなどの官能基を含むストレッチャーと縮合させることもできる。本態様の非天然アミノ酸に結合した後の代表的ストレッチャーユニットは、構造VIa、VIb、およびVIc：



VIa



VIb



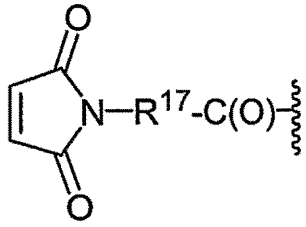
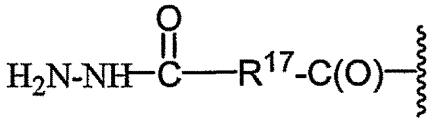
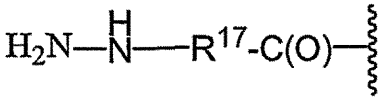
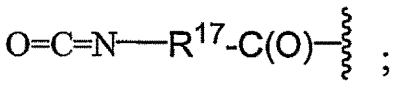
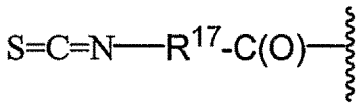
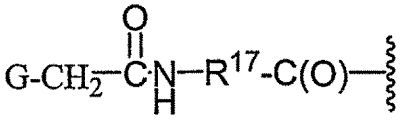
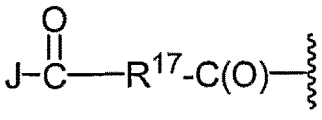
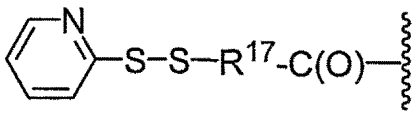
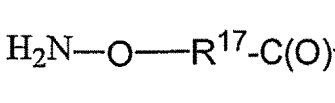
VIc

の角括弧内に示しており、ここで-W-、-Y-、-D、wおよびyは前述の定義のとおりであり、Lは本発明のADCに含まれるブレンツキシマブの非天然アミノ酸であり、

ここで、R^{17}は、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択される。

【０１１０】

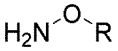
ストレッチャーユニットは、以下：


;

;

;

;

;

;

;

;

;

のうちの1つまたは複数を含んでもよく、ここで、Gは-Cl、-Br、-I、-O-メシルおよび-O-トシルから選択され；ここで、Jは-Cl、-Br、-I、-F、-OH、-O-N-スクシンイミド、-O(4-ニトロフェニル)、-O-ペンタフルオロフェニル、-O-テトラフルオロフェニルおよび-O-C(O)-OR^{18}から選択され；R^{18}は-C_1～C_8アルキルまたは-アリールであり、かつここで、R^{17}は、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択される。波線は、存在する場合はアミノ酸ユニットW、アミノ酸が存在せず、スペーサーユニットが存在する場合はスペーサーユニットW、またはアミノ酸ユニットもスペーサーユニットも存在しない場合は薬物部分への共有結合を示す。

【０１１１】

ストレッチャーユニットは、非天然アミノ酸に連結される前に、1：



1

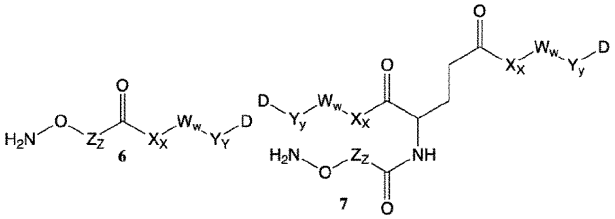
に示す構造を含んでもよいか、または前記構造からなってもよく、

ここで、Rは、第2のスペーサーユニットX、アミノ酸ユニットW、第1のスペーサーユ

ニットW、または薬物部分への共有結合を示し得る。

【０１１２】

本明細書に記載のリンカーにおいて、ストレッチャーユニットは、非天然アミノ酸に連結される前に、6または7：



に示す構造を含んでもよいか、または前記構造からなってもよく、

ここで、Zは、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択され；zは独立に0～12の範囲の整数であり；

ここで、Xは、好ましくは置換もしくは無置換アルキル、置換もしくは無置換アルケニル、置換もしくは無置換アルキニル、置換もしくは無置換シクロアルキル、置換もしくは無置換アリール、置換もしくは無置換アリールアルキル、置換もしくは無置換ヘテロアリール、置換もしくは無置換ヘテロアリールアルキル、置換もしくは無置換ヘテロシクリル、置換もしくは無置換ヘテロアルキル、置換もしくは無置換ヘテロアルケニル、および置換もしくは無置換ヘテロアルキニル、またはPEG$_i$などのポリエチレングリコール系リンカーからなる群より選択される、本明細書において定義する任意の第2のスペーサーユニットであり、ここでiは2～12の範囲の整数であり、好ましくは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11および12からなる群より選択され、好ましくは2であり；xは独立に0～12の範囲の整数であり；

ここで、Yは、本明細書において定義する任意の第1のスペーサーユニットであり；yは独立に0～12の範囲の整数であり；

ここで、Wは、本明細書において定義する任意のアミノ酸ユニットであり；wは独立に0～12の範囲の整数であり；

かつ

ここで、Dは薬物部分であり、

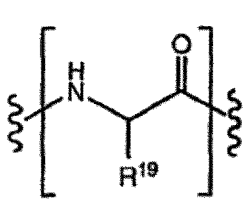
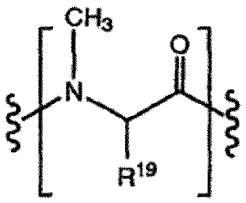
好ましくはここで、構造6または7のヒドロキシルアミンは、本発明のADCに含まれるブレンツキシマブの非天然アミノ酸にコンジュゲートされ、それにより連結後にオキシムを形成する。

【０１１３】

アミノ酸ユニット（-W-）は、存在する場合、ストレッチャーユニットをスペーサーユニットが存在する場合はスペーサーユニットに、ストレッチャーユニットをスペーサーユニットが存在しない場合は薬物部分に、かつリガンドユニットをストレッチャーユニットおよびスペーサーユニットが存在しない場合は薬物部分に連結する。

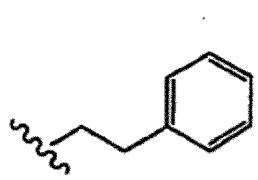
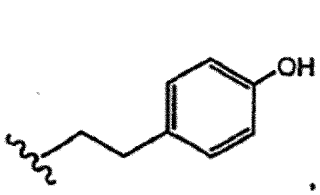
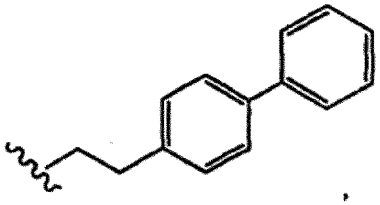
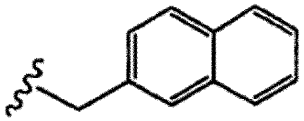
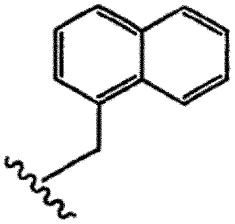
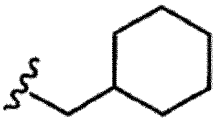
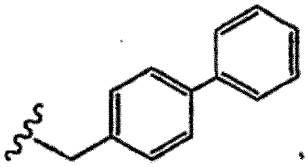
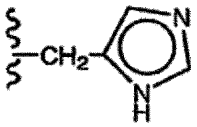
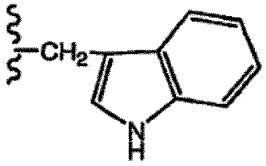
【０１１４】

W_w-は、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、ペンタペプチド、ヘキサペプチド、ヘプタペプチド、オクタペプチド、ノナペプチド、デカペプチド、ウンデカペプチドまたはドデカペプチドユニットである。各-W-ユニットは独立に、以下：



,または

において角括弧内に示す式を有し、かつwは0～12の範囲の整数であり、

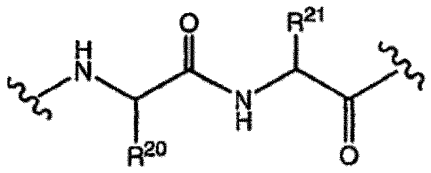
式中、R_{19}は水素、メチル、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、ベンジル、p-ヒドロキシベンジル、$-CH_2OH$、$-CH(OH)CH_3$、$-CH_2CH_2SCH_3$、$-CH_2CONH_2$、$-CH_2COOH$、$-CH_2CH_2CONH_2$、$-CH_2CH_2COOH$、$-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$、$-(CH_2)_3NH_2$、$-(CH_2)_3NHCOCH_3$、$-(CH_2)_3NHCHO$、$-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$、$-(CH_2)_4NH_2$、$-(CH_2)_4NHCOCH_3$、$-(CH_2)_4NHCHO$、$-(CH_2)_3NHCONH_2$、$-(CH_2)_4NHCONH_2$、$-CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$、2-ピリジルメチル-、3-ピリジルメチル-、4-ピリジルメチル-、フェニル、シクロヘキシル、









または


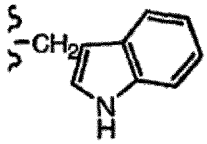
である。

【０１１５】

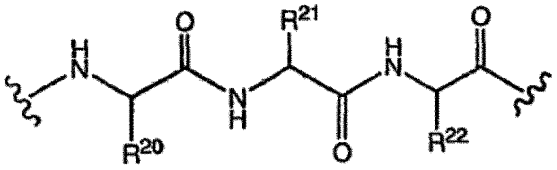
アミノ酸ユニットは、腫瘍関連プロテアーゼを含む、1つまたは複数の酵素により酵素的に切断されて、薬物部分（-D）を遊離し、これは、1つの態様において、放出後にインビボでプロトン化されて薬物（D）を提供する。例示的W_wユニットは、式（VII）～（IX）によって表される：


(VII)

上記式中、R_{20}およびR_{21}は、以下：

R^{20}	R^{21}
ベンジル	$(CH_2)_4NH_2$;
メチル	$(CH_2)_4NH_2$;
イソプロピル	$(CH_2)_4NH_2$;
イソプロピル	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
ベンジル	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
イソブチル	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
sec–ブチル	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
ベンジル	メチル；および
ベンジル	$(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$

のとおりである；

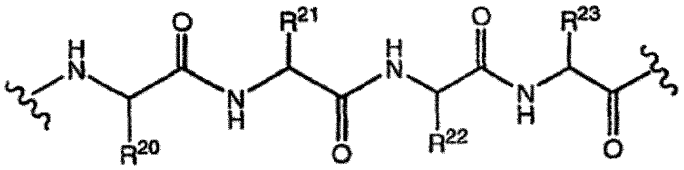


(VIII)

上記式中、R_{20}、R_{21}、およびR_{22}は、以下：

R^{20}	R^{21}	R^{22}
ベンジル	ベンジル	$(CH_2)_4NH_2$;
イソプロピル	ベンジル	$(CH_2)_4NH_2$; および
H	ベンジル	$(CH_2)_4NH_2$

のとおりである；



(IX)

上記式中、R_{20}、R_{21}、R_{22}、およびR_{23}は、以下：

R^{20}	R^{21}	R^{22}	R^{23}
H	ベンジル	イソブチル	H; および
メチル	イソブチル	メチル	イソブチル

のとおりである。

【０１１６】

さらに適切なリンカーは、Salomon et al., Mol. Pharmaceutics 2019, 16, 12, 4817-4825に開示されており、これは参照により本明細書に組み入れられる。

【０１１７】

例示的アミノ酸ユニットには、限定されないが、式（VII）のユニットが含まれ、ここで：R_{20}はベンジルであり、かつR_{21}は-$(CH_2)_4NH_2$であり；R_{20}はイソプロピルであり、かつR_{21}は-$(CH_2)_4NH_2$であり；R_{20}はイソプロピルであり、かつR_{21}は-$(CH_2)_3N$

$HCONH_2$である。別の例示的アミノ酸ユニットは式（VIII）のユニットであり、ここでR_{20}はベンジルであり、R_{21}はベンジルであり、かつR_{22}は-$(CH_2)_4NH_2$である。

【０１１８】

有用な-W_w-ユニットは、特定の酵素、例えば、腫瘍関連プロテアーゼによる酵素的切断に対するそれらの選択性で、設計し、最適化することができる。1つの態様において、-W_w-ユニットは、その切断がカテプシンB、CおよびD、またはプラスミンプロテアーゼ（「腫瘍関連プロテアーゼ」）により触媒されるものである。

【０１１９】

1つの態様において、-W_w-はジペプチド、トリペプチド、テトラペプチドまたはペンタペプチドである。

【０１２０】

R_{19}、R_{20}、R_{21}、R_{22}、またはR_{23}が水素以外である場合、R_{19}、R_{20}、R_{21}、R_{22}、またはR_{23}が連結している炭素原子はキラルである。

【０１２１】

R_{19}、R_{20}、R_{21}、R_{22}、またはR_{23}が連結している各炭素原子は独立に(S)または(R)配置である。

【０１２２】

アミノ酸ユニットの1つの局面において、アミノ酸ユニットはバリン-シトルリンである。別の局面において、アミノ酸ユニットはフェニルアラニン-リジン（すなわちfk）である。アミノ酸ユニットのさらに別の局面において、アミノ酸ユニットはN-メチルバリンシトルリンである。さらに別の局面において、アミノ酸ユニットは5-アミノ吉草酸、ホモフェニルアラニンリジン、テトライソキノリンカルボキシレートリジン、シクロヘキシルアラニンリジン、イソネペコチン酸（isonepecotic acid）リジン、β-アラニンリジン、グリシンセリンバリングルタミン、およびイソネペコチン酸である。

【０１２３】

ある特定の態様において、アミノ酸ユニットは天然アミノ酸を含み得る。他の態様において、アミノ酸ユニットは非天然アミノ酸を含み得る。

【０１２４】

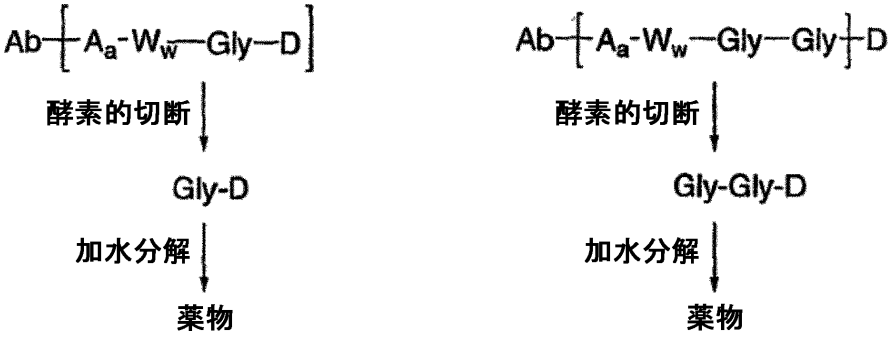
第1のスペーサーユニット（-Y-）は、存在する場合、アミノ酸ユニットが存在する場合はアミノ酸ユニットを薬物部分に連結してもよい。または、第1のスペーサーユニットは、アミノ酸が存在しない場合はストレッチャーユニットを薬物部分に連結してもよい。第1のスペーサーユニットは、アミノ酸ユニットおよびストレッチャーユニットがいずれも存在しない場合は薬物部分をリガンドユニットに連結してもよい。第2のスペーサーユニット（-X-）は、存在する場合、ストレッチャーユニットをアミノ酸ユニットに連結してもよい。または、第2のスペーサーユニットは、アミノ酸ユニットがまったく存在しない場合はストレッチャーユニットを第1のスペーサーユニットに連結してもよい。または、第2のスペーサーユニットは、第1のスペーサーユニットおよびアミノ酸ユニットがまったく存在しない場合はストレッチャーユニットを薬物部分に連結してもよい。両方のスペーサーユニットは同じでも、同じでなくてもよい。「スペーサーユニット」についての開示は一般に、第1および第2のスペーサーユニットの両方にあてはまる。第1および第2のスペーサーユニットは同じであり得る。第1および第2のスペーサーユニットは異なっていてもよく、ここでそれぞれは独立にスペーサーユニットの以下の例から選択される。

【０１２５】

スペーサーユニットは、2つの一般的なタイプである自己犠牲型および非自己犠牲型のものである。非自己犠牲スペーサーユニットは、薬物-リンカー-リガンドコンジュゲートまたは薬物-リンカー化合物からアミノ酸ユニットが、特に酵素的に切断された後に、スペーサーユニットの一部または全てが薬物部分に結合したままになるスペーサーユニットである。非自己犠牲スペーサーユニットの例には、限定されないが、(グリシン-グリシン)スペーサーユニットおよびグリシンスペーサーユニットが含まれる（両方ともスキーム1に示す）（下記）。グリシン-グリシンスペーサーユニットまたはグリシンスペーサー

ユニットを含む例示的化合物が、腫瘍細胞関連プロテアーゼ、がん細胞関連プロテアーゼ、またはリンパ球関連プロテアーゼによる酵素的切断を受けると、グリシン-グリシン-薬物部分またはグリシン-薬物部分はL-A_a-W_w-から切断される。1つの態様において、標的細胞内で独立の加水分解反応が起こって、グリシン-薬物部分結合を切断し、薬物を遊離する。

スキーム1



【０１２６】

別の態様において、スペーサーユニットは、フェニレン部分がQ_mで置換されているp-アミノベンジルアルコール（ＰＡＢ）ユニット（スキーム2および3参照）であり、ここでQは-C_1～C_8アルキル、-O-(C_1～C_8アルキル)、-ハロゲン、-ニトロ、または-シアノであり；かつmは0～4の範囲の整数である。

【０１２７】

1つの態様において、非自己犠牲スペーサーユニットは-Gly-Gly-である。別の態様において、非自己犠牲スペーサーユニットは-Gly-である。

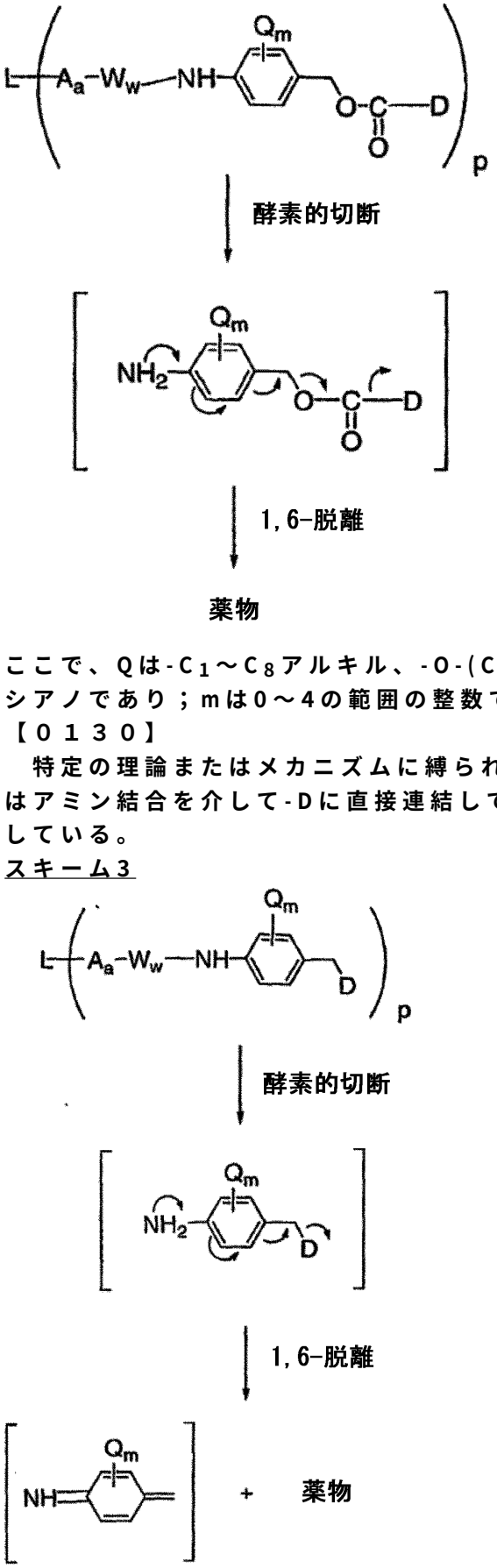
【０１２８】

1つの態様において、第1のスペーサーユニットが存在しない（ｙ＝０）ＡＤＣ、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を提供する。1つの態様において、第2のスペーサーユニットが存在しない（ｘ＝０）ＡＤＣ、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を提供する。

【０１２９】

または、自己犠牲スペーサーユニットを含む例示的化合物は、別の加水分解段階を必要とすることなく、-Dを放出することができる。本態様において、スペーサーユニットは、PAB基のアミノ窒素原子を介して-W_w-に連結し、カーボネート、カルバメート、またはエーテル基を介して-Dに直接連結しているPAB基である。いかなる特定の理論またはメカニズムにも縛られるものではないが、スキーム2は、Toki et al. (2002) J Org. Chem. 67:1866-1872によって提唱される、カルバメートまたはカーボネート基を介して-Dに直接連結しているPAB基の薬物放出メカニズムの可能性を示している。

スキーム2



ここで、Qは-C_1～C_8アルキル、-O-(C_1～C_8アルキル)、-ハロゲン、-ニトロ、または-シアノであり；mは0～4の範囲の整数であり；かつpは1～約20の範囲である。

【０１３０】

特定の理論またはメカニズムに縛られるものではないが、スキーム3は、エーテルまたはアミン結合を介して-Dに直接連結しているPAB基の薬物放出メカニズムの可能性を示している。

スキーム3

ここで、Qは-C_1～C_8アルキル、-O-(C_1～C_8アルキル)、-ハロゲン、-ニトロ、または-

シアノであり；mは0～4の範囲の整数であり；かつpは1～約20の範囲である。

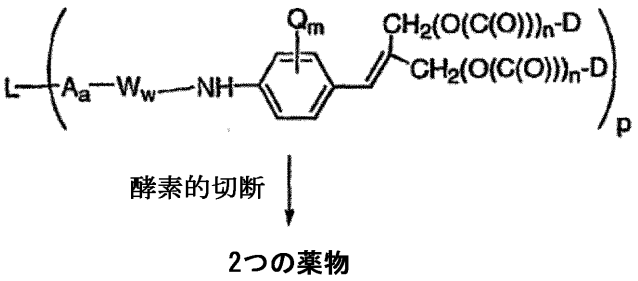
【０１３１】

自己犠牲スペーサーの他の例には、限定されないが、PAB基と電子的に類似の芳香族化合物、例えば2-アミノイミダゾル-5-メタノール誘導体（Hay et al. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237）およびオルトまたはパラ-アミノベンジルアセタールが含まれる。アミド結合の加水分解後に環化するスペーサー、例えば置換および無置換4-アミノ酪酸アミド（Rodrigues et al., Chemistry Biology, 1995, 2, 223）、適切に置換されたビシクロ[2.2.1]およびビシクロ[2.2.2]環系（Storm, et al., J. Amer. Chem. Soc., 1972, 94, 5815）、ならびに2-アミノフェニルプロピオン酸アミド（Amsberry, et al., J. Org. Chem., 1990, 55, 5867）を使用することができる。グリシンのa-位で置換されているアミン含有薬物（Kingsbury, et al., J. Med. Chem., 1984, 27, 1447）の脱離も、例示的化合物において有用な自己犠牲スペーサーの例である。

【０１３２】

1つの態様において、スペーサーユニットは、スキーム4に示す分枝ビス(ヒドロキシメチル)スチレン（BHMS）ユニットであり、これは複数の薬物を組み込み、放出するために使用することができる。

スキーム４



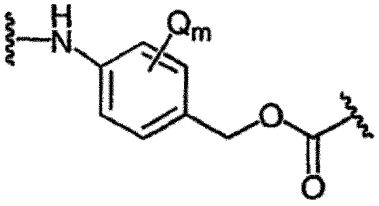
ここで、Qは-C_1～C_8アルキル、-O-(C_1～C_8アルキル)、-ハロゲン、-ニトロ、または-シアノであり；mは0～4の範囲の整数であり；nは0または1であり；かつpは1～約20の範囲である。

【０１３３】

1つの態様において、-D部分は同じである。さらに別の態様において、-D部分は異なる。

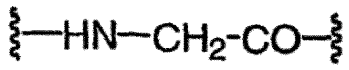
【０１３４】

1つの局面において、スペーサーユニットは、式（X）～（XII）によって表される：



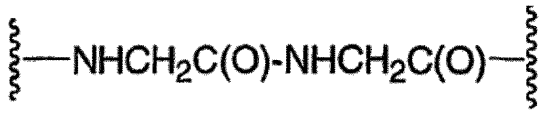
X

上記式中、Qは-C_1～C_8アルキル、-O-(C_1～C_8アルキル)、-ハロゲン、-ニトロ、または-シアノであり；mは0～4の範囲の整数である；



XI

および



XII

。

【０１３５】

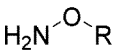
第１のスペーサーユニット（-X-）は、置換もしくは無置換アルキル、置換もしくは無置換アルケニル、置換もしくは無置換アルキニル、置換もしくは無置換シクロアルキル、置換もしくは無置換アリール、置換もしくは無置換アリールアルキル、置換もしくは無置換ヘテロアリール、置換もしくは無置換ヘテロアリールアルキル、置換もしくは無置換ヘテロシクリル、置換もしくは無置換ヘテロアルキル、置換もしくは無置換ヘテロアルケニル、および置換もしくは無置換ヘテロアルキニル、またはPEG$_i$などのポリエチレングリコール系リンカーからなる群より選択されてもよく、ここでiは２～１２の範囲の整数であり、好ましくは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１および１２からなる群より選択され、好ましくは２であり；xは独立に０～１２の範囲の整数である。

【０１３６】

第２のスペーサーユニット（-Y-）は、置換もしくは無置換アルキル、置換もしくは無置換アルケニル、置換もしくは無置換アルキニル、置換もしくは無置換シクロアルキル、置換もしくは無置換アリール、置換もしくは無置換アリールアルキル、置換もしくは無置換ヘテロアリール、置換もしくは無置換ヘテロアリールアルキル、置換もしくは無置換ヘテロシクリル、置換もしくは無置換ヘテロアルキル、置換もしくは無置換ヘテロアルケニル、および置換もしくは無置換ヘテロアルキニル、またはPEG$_i$などのポリエチレングリコール系リンカーからなる群より選択されてもよく、ここでiは２～１２の範囲の整数であり、好ましくは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１および１２からなる群より選択され、好ましくは２であり；xは独立に０～１２の範囲の整数である。

【０１３７】

リンカーは、非天然アミノ酸に連結される前に、１：



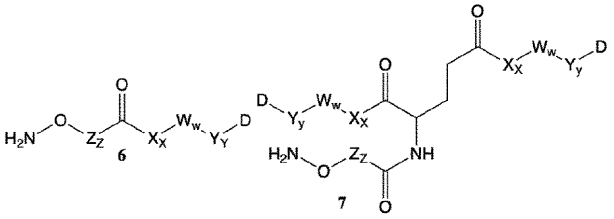
1

に示す構造を有してもよいかまたは含んでもよく、

ここで、Rは１つまたは複数の薬物部分であり、前記薬物部分は、任意に１つまたは複数の切断部位によって１のヒドロキシルアミンに連結されており、好ましくはここでヒドロキシルアミン１は非天然アミノ酸にコンジュゲートされている。

【０１３８】

リンカーは、非天然アミノ酸に連結される前に、６または７：



6 7

に示す構造を含んでもよいか、または前記構造からなってもよく、

ここで、Zは、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択され；zは独立に0～12の範囲の整数であり；

ここで、Xは、好ましくは置換もしくは無置換アルキル、置換もしくは無置換アルケニル、置換もしくは無置換アルキニル、置換もしくは無置換シクロアルキル、置換もしくは無置換アリール、置換もしくは無置換アリールアルキル、置換もしくは無置換ヘテロアリール、置換もしくは無置換ヘテロアリールアルキル、置換もしくは無置換ヘテロシクリル、置換もしくは無置換ヘテロアルキル、置換もしくは無置換ヘテロアルケニル、および置換もしくは無置換ヘテロアルキニル、またはPEG$_i$などのポリエチレングリコール系リンカーからなる群より選択される、本明細書において定義する任意の第2のスペーサーユニットであり、ここでiは2～12の範囲の整数であり、好ましくは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11および12からなる群より選択され、好ましくは2であり；xは独立に0～12の範囲の整数であり；

ここで、Yは、本明細書において定義する任意の（第1の）スペーサーユニットであり；yは独立に0～12の範囲の整数であり；

ここで、Wは、本明細書において定義する任意のアミノ酸ユニットであり；wは独立に0～12の範囲の整数であり；

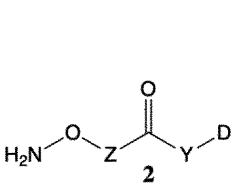
かつ

ここで、Dは薬物部分であり、

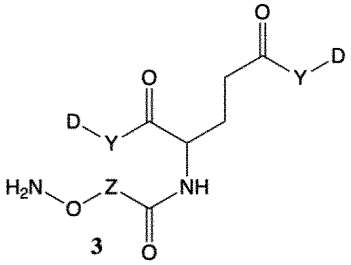
好ましくはここで、構造6または7のヒドロキシルアミンは、本発明のADCに含まれるブレンツキシマブの非天然アミノ酸にコンジュゲートされ、それにより連結後にオキシムを形成する。

【０１３９】

リンカーは、非天然アミノ酸に連結される前に、2または3：



2



3

に示す構造を有してもよいかまたは含んでもよく、

ここで、Zは、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択され；

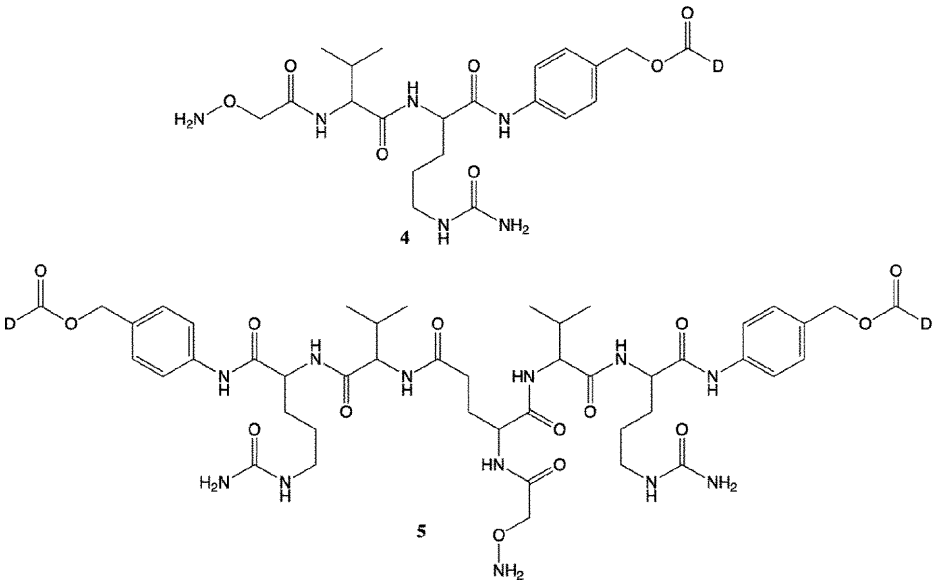
ここで、Dは1つまたは複数の薬物部分であり；かつ

ここで、Yは、カテプシンBなどのカテプシンの切断部位などの切断部位であり；

好ましくはここで構造2または3のヒドロキシルアミンは非天然アミノ酸にコンジュゲートされる。

【０１４０】

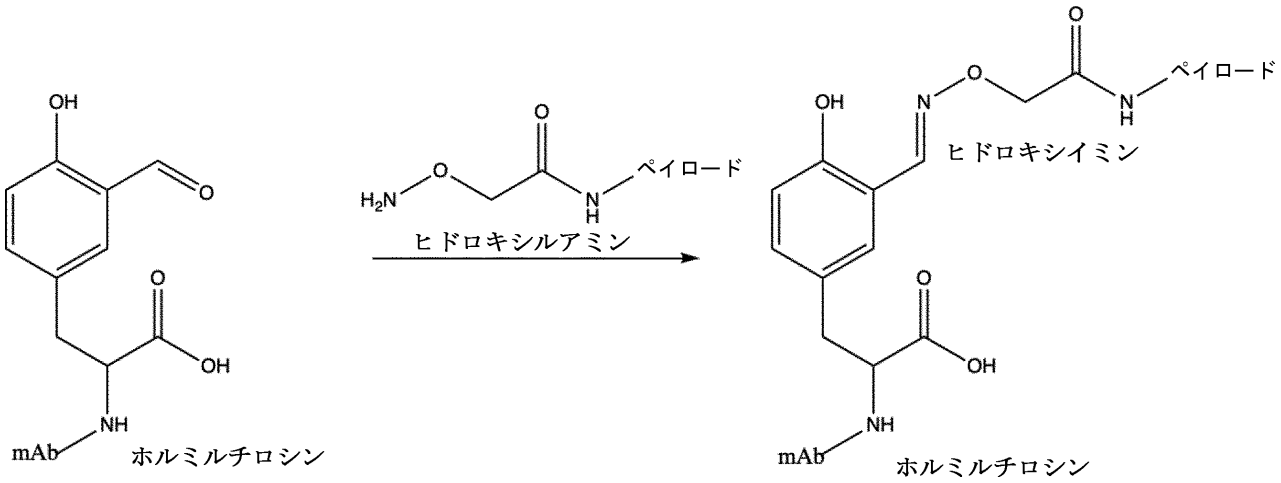
リンカーは、非天然アミノ酸に連結される前に、構造4または5：



に示す構造を有してもよく、ここで、Dは本明細書に記載の薬物部分、好ましくはＭＭＡＥである。

【０１４１】

本明細書において用いられる「非天然アミノ酸に連結される前に」は、その相手である非天然アミノ酸と共有結合を形成する前の、リンカーなどの化学的実体を表す。しかし、互いに共有結合していると示していない、本明細書におけるリンカーまたは薬物部分に対しても、同じことが当てはまる。当業者であれば、2つの化学的実体の反応の結果として形成される構造を容易に理解することができる。本明細書において定義する構造1～5の場合、相手はホルミル基を含む非天然アミノ酸である。非天然アミノ酸は3-ホルミルチロシンであってもよく、かつ構造1～5の任意の1つを有するリンカーのヒドロキシルアミン基は、非天然アミノ酸の3-ホルミル基とともにオキシム/ヒドロキシイミンを形成してもよい。反応メカニズムを以下に示す：



。この状況において、mAbはブレンツキシマブに対応し、ペイロードとは本明細書において定義する薬物部分を指し、これは本明細書において定義するリンカーを介して、非天然アミノ酸、ここでは3-ホルミルチロシンに連結する。

【０１４２】

薬物部分Dとブレンツキシマブ Abとの間に非切断性リンカーを形成する適切な架橋試薬は、当技術分野において周知であり、硫黄原子を含む非切断性リンカー（ＳＭＣＣなど）または硫黄原子を含まないリンカーを形成することができる。薬物部分Dとブレンツキシ

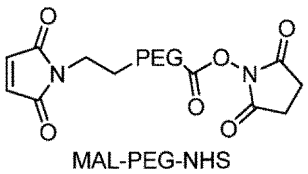
マブAbとの間に非切断性リンカーを形成する架橋試薬は、マレイミド系またはハロアセチル系部分を含む。本開示によれば、そのような非切断性リンカーは、マレイミド系またはハロアセチル系部分から誘導されるとされる。

【０１４３】

マレイミド系部分を含む架橋試薬には、限定されないが、N-スクシンイミジル-4-(マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、スルホスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート（スルホ-ＳＭＣＣ）、ＳＭＣＣの「長鎖」類縁体（ＬＣ-ＳＭＣＣ）であるN-スクシンイミジル-4-（マレイミドメチル)シクロヘキサ-1-カルボキシ-(6-アミドカプロエート)、κ-マレイミドウンデカン酸N-スクシンイミジルエステル（ＫＭＵＡ）、γ-マレイミド酪酸N-スクシンイミジルエステル（ＧＭＢＳ）、ε-マレイミドカプロン酸N-スクシンイミジルエステル（ＥＭＣＳ）、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル（ＭＢＳ）、N-(α-マレイミドアセトキシ)-スクシンイミドエステル（ＡＭＳＡ）、スクシンイミジル-6-(β-マレイミドプロピオンアミド)ヘキサノエート（ＳＭＰＨ）、N-スクシンイミジル-4-(p-マレイミドフェニル)-ブチレート（ＳＭＰＢ）、N-(-p-マレオミドフェニル)イソシアネート（ＰＭＩＰ）およびポリエチレングリコールスペーサーを含むマレイミド系架橋試薬、例えば、本明細書においてＭＡＬ-ＰＥＧ-ＮＨＳとも表記するマレイミド-ＰＥＧ-ＮＨＳが含まれる。これらの架橋試薬は、マレイミド系部分から誘導される非切断性リンカーを形成する。マレイミド系架橋試薬の代表的構造を以下に示す：







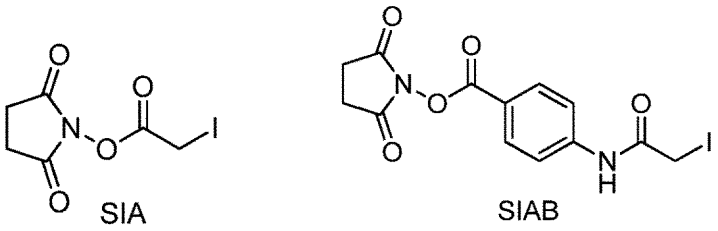
。

【０１４４】

いくつかの態様において、リンカーＬは、N-スクシンイミジル-4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート（ＳＭＣＣ）、スルホスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサンネ-1-カルボキシレート（スルホ-ＳＭＣＣ）またはＭＡＬ-ＰＥＧ-ＮＨＳから誘導される。

【０１４５】

ハロアセチル系部分を含む架橋試薬には、N-スクシンイミジルヨードアセテート（ＳＩＡ）、N-スクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート（ＳＩＡＢ ）、N-スクシンイミジルブロモアセテート（ＳＢＡ）およびN-スクシンイミジル3-(ブロモアセトアミド)プロピオネート（ＳＢＡＰ）が含まれる。これらの架橋試薬は、ハロアセチル系部分から誘導される非切断性リンカーを形成する。ハロアセチル系架橋試薬の代表的構造を以下に示す：



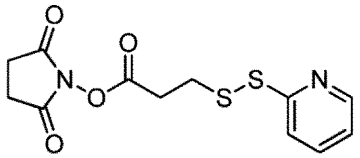
。

【０１４６】

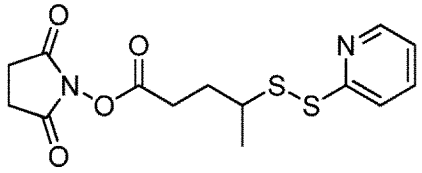
いくつかの態様において、リンカーLは、N-スクシンイミジルヨードアセテート（SIA）またはN-スクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート（SIAB）から誘導される。

【０１４７】

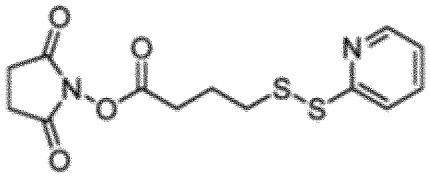
薬物部分Dとブレンツキシマブ Abとの間に切断性リンカーを形成する、適切な架橋試薬は、当技術分野において周知である。ジスルフィド含有リンカーは、生理的条件下で起こり得るジスルフィド交換によって切断可能なリンカーである。本開示によれば、そのような切断性リンカーは、ジスルフィド系部分から誘導されるとされる。適切なジスルフィド架橋試薬には、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート（SPDP）、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート（SPP）、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート（SPDB）およびN-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)2-スルホ-ブタノエート（スルホ-SPDB）が含まれ、その構造を以下に示す。これらのジスルフィド架橋試薬は、ジスルフィド系部分から誘導される切断性リンカーを形成する。



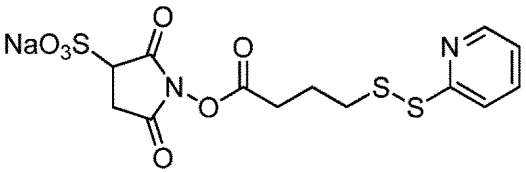
N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート（SPDP）、



N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート（SPP）、



N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート（SPDB）



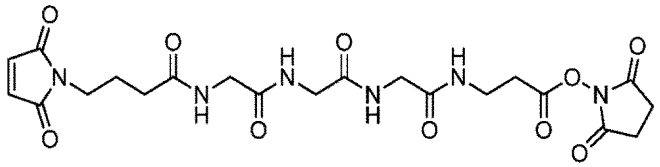
N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)2-スルホ-ブタノエート（スルホ-SPDB）

【０１４８】

いくつかの態様において、リンカーＬは、Ｎ-スクシンイミジル-４-(２-ピリジルジチオ)ブタノエート（ＳＰＤＢ）から誘導される。

【０１４９】

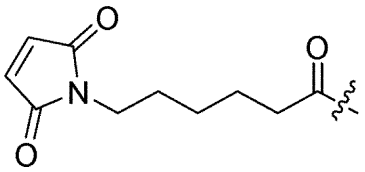
薬物部分Ｄとブレンツキシマブ Ａｂとの間に荷電リンカーを形成する、適切な架橋試薬は、予備荷電架橋試薬として公知である。１つの態様において、リンカーＬはＣＸ１-１である予備荷電架橋試薬から誘導される。ＣＸ１-１の構造を以下に示す：



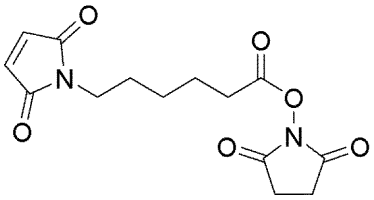
2,5-ジオキソピロリジン-1-イル17-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロル-1-イル)-5,8,11,14-テトラオキソ-4,7,10,13-テトラアザヘプタデカン-1-オエート（CX1-1）

。

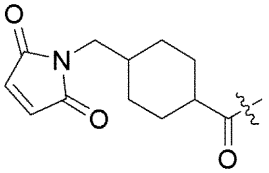
【０１５０】
本明細書において開示するブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて使用するのに適し得るさらなるリンカーは、マレイミドカプロイル（ＭＣ）、自己切断ペプチドを有するマレイミドカプロイル（ＭＣ）、自己切断ペプチドを有するマレイミドジアミノプロピオニル（ｍＤＰＲ）、および4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボニル（ＭＣＣ）である。
【０１５１】
いくつかの態様において、リンカーはマレイミドカプロイル（ＭＣ）である。マレイミドカプロイルは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ＭＣリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。
【０１５２】
マレイミドカプロイルリンカーは、例えば、以下の構造：



を有するＮＨＳエステルである、架橋試薬から誘導されてもよい。
【０１５３】
いくつかの態様において、リンカーは4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボニル（ＭＣＣ）である。ＭＣＣは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくはブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）への共有結合を示す。非限定例として、ＭＣＣリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）はマレイミド部分に共有結合していてもよい。
【０１５４】
いくつかの態様において、リンカーは自己切断ペプチドを有するマレイミドカプロイル（ＭＣ）である。自己切断ペプチドを有するマレイミドカプロイルリンカーの非限定例を

以下に記載する。

【０１５５】

いくつかの態様において、リンカーは自己切断ペプチドを有するマレイミドジアミノプロピオニル（ｍＤＰＲ）である。自己切断ペプチドを有するマレイミドジアミノプロピオニル（ｍＤＰＲ）リンカーの非限定例を以下に記載する。

【０１５６】

いくつかの態様において、本明細書に記載のブレンツキシマブ薬物コンジュゲートAb-$(L-(D)_x)_y$の任意の1つのリンカー（Ｌ）は、下記からなる群より選択される架橋試薬から誘導される：Ｎ-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート（ＳＰＤＰ）、Ｎ-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート（ＳＰＰ）、Ｎ-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート（ＳＰＤＢ）、Ｎ-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)2-スルホ-ブタノエート（スルホ-ＳＰＤＢ）、Ｎ-スクシンイミジルヨードアセテート（ＳＩＡ）、Ｎ-スクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート（ＳＩＡＢ）、マレイミド-ＰＥＧ-ＮＨＳ、マレイミドカプロイル（ＭＣ）、自己切断ペプチドを有するマレイミドカプロイル（ＭＣ）、自己切断ペプチドを有するマレイミドジアミノプロピオニル（ｍＤＰＲ）、4-(Ｎ-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボニル（ＭＣＣ）、Ｎ-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、Ｎ-スルホスクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート（スルホ-ＳＭＣＣ）および2,5-ジオキソピロリジン-1-イル17-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1Ｈ-ピロル-1-イル)-5,8,11,14-テトラオキソ-4,7,10,13-テトラアザヘプタ-デカン-1-オエート（ＣＸ1-1）。好ましい態様において、リンカーは、下記からなる群より選択される架橋試薬から誘導される：Ｎ-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート（ＳＰＤＢ）、マレイミドカプロイル（ＭＣ）、自己切断ペプチドを有するマレイミドカプロイル（ＭＣ）、自己切断ペプチドを有するマレイミドジアミノプロピオニル（ｍＤＰＲ）、4-(Ｎ-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボニル（ＭＣＣ）、Ｎ-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート（ＳＭＣＣ）。したがって、いくつかの態様において、リンカーは、Ｎ-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート（ＳＰＤＢ）から誘導される。

【０１５７】

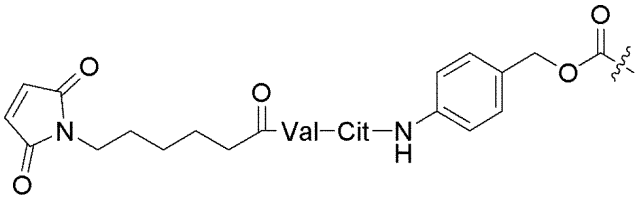
いくつかの態様において リンカーは、マレイミドカプロイル（ＭＣ）から誘導される。いくつかの態様において、リンカーは、自己切断ペプチドを有するマレイミドカプロイル（ＭＣ）から誘導される。いくつかの態様において、リンカーは、自己切断ペプチドを有するマレイミドジアミノプロピオニル（ｍＤＰＲ）から誘導される。いくつかの態様において、リンカーは、4-(Ｎ-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボニル（ＭＣＣ）から誘導される。いくつかの態様において、リンカーは、Ｎ-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート（ＳＭＣＣ）から誘導される。

【０１５８】

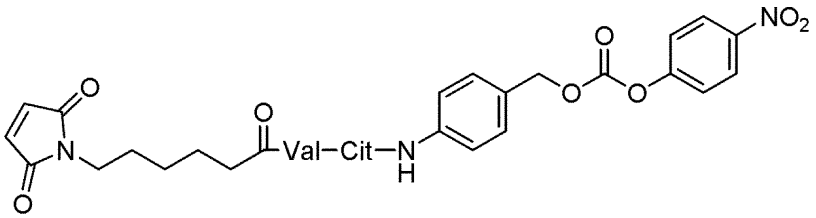
本明細書において前述したとおり、リンカーは自己切断ペプチドを有するマレイミドカプロイル（ＭＣ）であってもよい。いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するリンカーは、マレイミドカプロイル-バリン-シトルリン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（ＭＣ-ＶＣ-ＰＡＢ）、マレイミドカプロイル-バリン-アラニン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（ＭＣ-ＶＡ-ＰＡＢ）、マレイミドカプロイル-リジン-フェニルアラニン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（ＭＣ-ＫＦ-ＰＡＢ）、マレイミドカプロイル-バリン-リジン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（ＭＣ-ＶＫ-ＰＡＢ）からなる群より選択される。自己切断ペプチドを有するマレイミドカプロイル（ＭＣ）リンカーは、例えば、米国特許出願公開第US 2006/0074008号、G.M. Dubowchik et al., Bioconjuate Chem. 2002, 13, 855-869、またはS.O. Doronina et al., Nature Biotechnology, vol. 21, 778-784 (2003)に開示されており、これらの文書の全開示は参照により本明細書に組み入れられる。

【０１５９】

いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するリンカーはマレイミドカプロイル-バリン-シトルリン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（MC-VC-PAB）である。MC-VC-PABリンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくは薬物部分（D）への共有結合を示す。非限定例として、MC-VC-PABリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ab）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（D）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。パラ-アミノベンジルオキシカルボニル基を含む自己切断ペプチドを有するこのリンカーおよび以下のマレイミドカプロイルリンカーは、例えば、パラ－ニトロフェノキシ基が波線で示す位置に連結している架橋試薬から誘導され得る（例えば、G.M. Dubowchik et al., Bioconjuate Chem. 2002, 13, 855-869、またはS.O. Doronina et al., Nature Biotechnology, vol. 21, 778-784 (2003)参照）。MC-VC-PABリンカーの場合、架橋試薬はしたがって、構造：



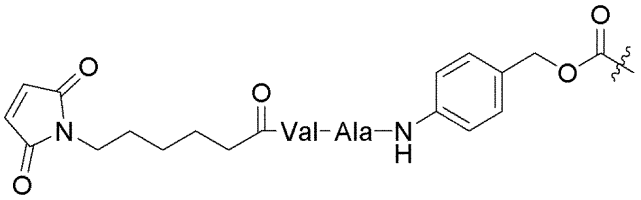
を有し得る。例えば、そのような架橋試薬を薬物部分と反応させる場合、パラ－ニトロフェノキシ基は薬物部分で置き換えてもよい。

【０１６０】

いかなる理論にも縛られたくはないが、以下に記載するパラ-アミノベンジルオキシカルボニル基を含む自己切断ペプチドを有するMC-VC-PABリンカーおよびマレイミドカプロイルリンカーにおいて、プロテアーゼによる切断は、ペプチド部分とパラ-アミノベンジルオキシカルボニル部分との間で起こり得る（例えば、G.M. Dubowchik et al., Bioconjuate Chem. 2002, 13, 855-869、またはS.O. Doronina et al., Nature Biotechnology, vol. 21, 778-784 (2003)参照）。パラ-アミノベンジルオキシカルボニル部分は、次いで、自己犠牲基としてはたらき得る。これに関して、「自己犠牲基」なる用語は、2つの間隔があいた化学部分を共有結合して、通常は安定な三部からなる分子とし得る、二官能性化学部分を指す。これは、第一の部分との結合が切断されると、第二の化学部分から自然に分離する。

【０１６１】

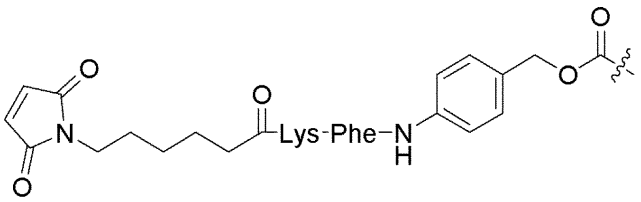
いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するリンカーはマレイミドカプロイル-バリン-アラニン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（MC-VA-PAB）である。MC-VA-PABリンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ＭＣ-ＶＡ-ＰＡＢリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１６２】

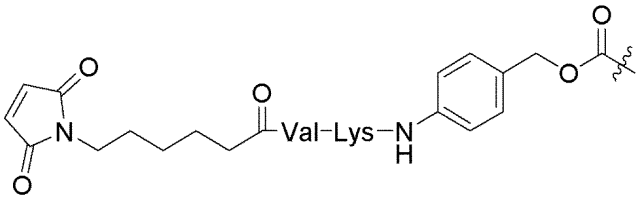
いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するリンカーはマレイミドカプロイル-リジン-フェニルアラニン-ｐ-アミノベンジルオキシカルボニル（ＭＣ-ＫＦ-ＰＡＢ）である。ＭＣ-ＫＦ-ＰＡＢリンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ＭＣ-ＫＦ-ＰＡＢリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１６３】

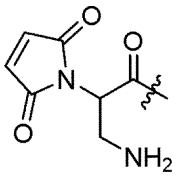
いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するリンカーはマレイミドカプロイル-バリン-リジン-ｐ-アミノベンジルオキシカルボニル（ＭＣ-ＶＫ-ＰＡＢ）である。ＭＣ-ＶＫ-ＰＡＢリンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ＭＣ-ＶＫ-ＰＡＢリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１６４】

本明細書において前述したとおり、リンカーは自己切断ペプチドを有するマレイミドジアミノプロピオニル（ｍＤＰＲ）であってもよい。そのようなリンカーは、以下の構造：



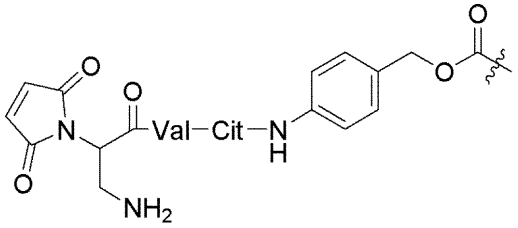
を有するマレイミドジアミノプロピオニル部分（ｍＤＰＲ）を含む。

【０１６５】

いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するマレイミドジアミノプロピオニル（ｍＤＰＲ）リンカーは、マレイミドジアミノプロピオニル-バリン-シトルリン-ｐ-アミノベンジルオキシカルボニル（ｍＤＰＲ-ＶＣ-ＰＡＢ）、マレイミドジアミノプロピオニル-バリン-アラニン-ｐ-アミノベンジルオキシカルボニル（ｍＤＰＲ-ＶＡ-ＰＡＢ）、マレイミドジアミノプロピオニル-リジン-フェニルアラニン-ｐ-アミノベンジルオキシカルボニル（ｍＤＰＲ-ＫＦ-ＰＡＢ）、マレイミドジアミノプロピオニル-バリン-リジン-ｐ-アミノベンジルオキシカルボニル（ｍＤＰＲ-ＶＫ-ＰＡＢ）からなる群より選択される。自己切断ペプチドを有するマレイミドジアミノプロピオニル（ｍＤＰＲ）リンカーは、例えば、米国特許出願公開第ＵＳ ２０１３/０３０９２５６号に開示されており、その全開示は参照により本明細書に組み入れられる。

【０１６６】

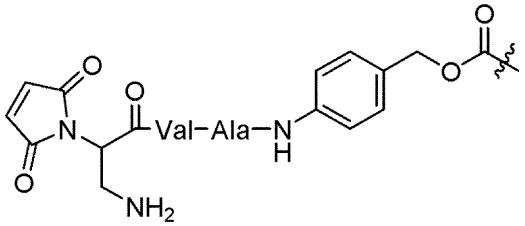
いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するリンカーはマレイミドジアミノプロピオニル-バリン-シトルリン-ｐ-アミノベンジルオキシカルボニル（ｍＤＰＲ-ＶＣ-ＰＡＢ）である。ｍＤＰＲ-ＶＣ-ＰＡＢリンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ｍＤＰＲ-ＶＣ-ＰＡＢリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。いかなる理論にも縛られたくはないが、パラ-アミノベンジルオキシカルボニル基を含む、自己切断ペプチドを有するｍＤＰＲ-ＶＣ-ＰＡＢリンカーおよび以下のマレイミドジアミノプロピオニルリンカーにおいて、プロテアーゼによる切断はペプチド部分とパラ-アミノベンジルオキシカルボニル部分との間で起こり得る。パラ-アミノベンジルオキシカルボニル部分は、次いで、自己犠牲基としてはたらき得る。

【０１６７】

いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するリンカーはマレイミドジアミノプロピオニル-バリン-アラニン-ｐ-アミノベンジルオキシカルボニル（ｍＤＰＲ-ＶＡ-ＰＡＢ）である。ｍＤＰＲ-ＶＡ-ＰＡＢリンカーは、以下の構造：

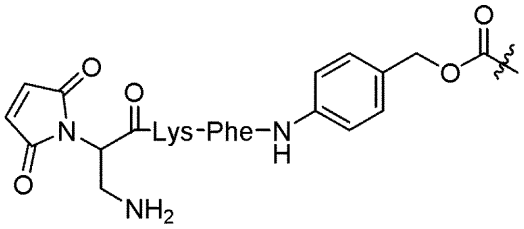


を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ｍＤＰＲ-ＶＡ-ＰＡＢリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部

分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１６８】

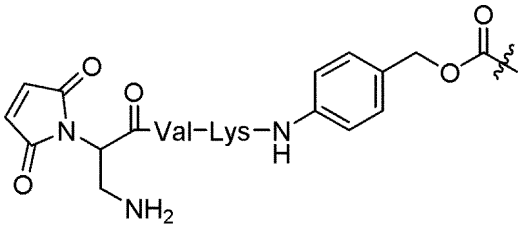
いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するリンカーはマレイミドジアミノプロピオニル-リジン-フェニルアラニン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（ｍＤＰＲ-ＫＦ-ＰＡＢ）である。ｍＤＰＲ-ＫＦ-ＰＡＢリンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ｍＤＰＲ-ＫＦ-ＰＡＢリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１６９】

いくつかの態様において、自己切断ペプチドを有するリンカーはマレイミドジアミノプロピオニル-バリン-リジン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（ｍＤＰＲ-ＶＫ-ＰＡＢ）である。ｍＤＰＲ-ＶＫ-ＰＡＢリンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ｍＤＰＲ-ＶＫ-ＰＡＢリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１７０】

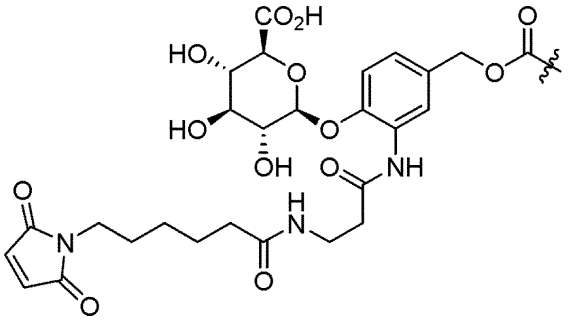
いくつかの態様において、本明細書において開示するブレンツキシマブ薬物コンジュゲートのリンカーは、グルクロン酸修飾を含む。グルクロン酸修飾を有するリンカーについては、例えば、S.C. Jeffrey et al., Bioconjugate Chem. 2006, 17, 831-840、R.P. Lyon et al., Nature Biotechnology, vol. 33, 733-736 (2015)、米国特許出願公開第US 2013/0309256号、および国際公開公報第2015/057699号を参照されたく、これらの文書の全開示は参照により本明細書に組み入れられる。

【０１７１】

いくつかの態様において、グルクロン酸修飾を含む前記リンカーはマレイミドカプロイル-グルクロニド（ＭＣ-Ｇ）またはマレイミドジアミノプロピオニル-グルクロニド（ｍＤＰＲ-Ｇ）であってもよい。

【０１７２】

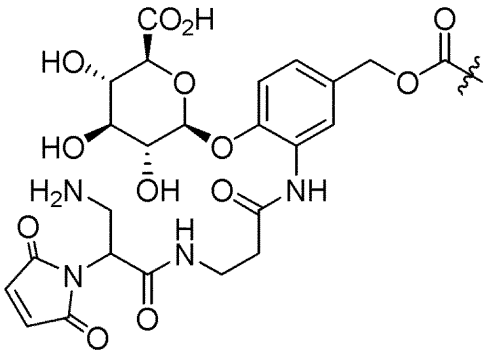
前記マレイミドカプロイル-グルクロニド（ＭＣ-Ｇ）リンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ＭＣ-Ｇリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１７３】

前記マレイミドジアミノプロピオニル-グルクロニド（ｍＤＰＲ-Ｇ）リンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ｍＤＰＲ-Ｇリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

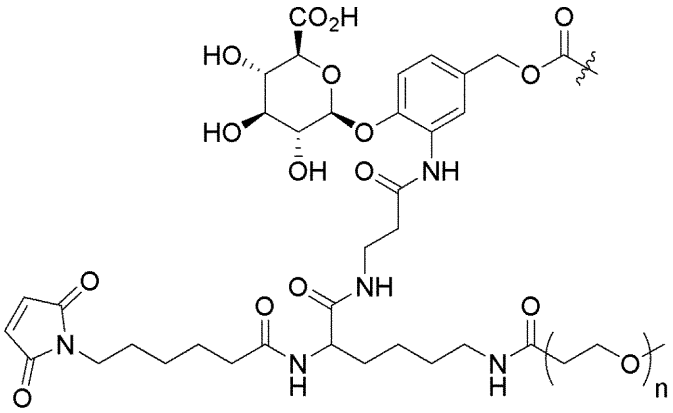
【０１７４】

いくつかの態様において、グルクロン酸修飾を含む前記リンカーは、ポリエチレングリコール修飾をさらに含む。グルクロン酸修飾およびポリエチレングリコール修飾を有するリンカーについては、例えば、Ｒ.Ｐ. Ｌｙｏｎ ｅｔ ａｌ., Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ, ｖｏｌ. ３３, ７３３-７３６ (２０１５)および国際公開公報第２０１５/０５７６９９号を参照されたく、これらの文書の全開示は参照により本明細書に組み入れられる。

【０１７５】

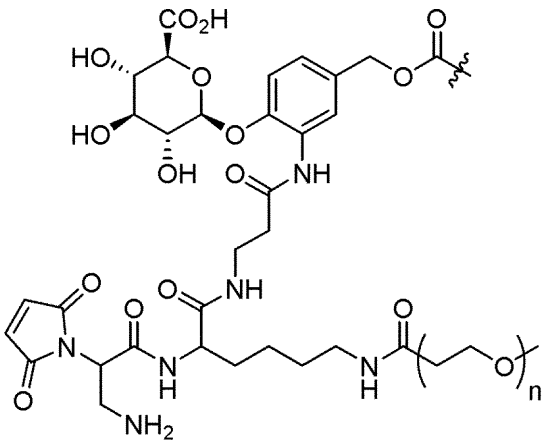
いくつかの態様において、グルクロン酸修飾を含み、ポリエチレングリコール修飾をさらに含む前記リンカーは、マレイミドカプロイル-グルクロニド-ポリエチレングリコール（ＭＣ-Ｇ-ＰＥＧ）、マレイミドジアミノプロピオニル-グルクロニド-ポリエチレングリコール（ｍＤＰＲ-Ｇ-ＰＥＧ）、またはマレイミドプロピオニル-グルクロニド-ポリエチレングリコール（ＭＰ-Ｇ-ＰＥＧ）であってもよい。

【０１７６】
前記マレイミドカプロイル-グルクロニド-ポリエチレングリコール（ＭＣ-Ｇ-ＰＥＧ）リンカーは、以下の構造：



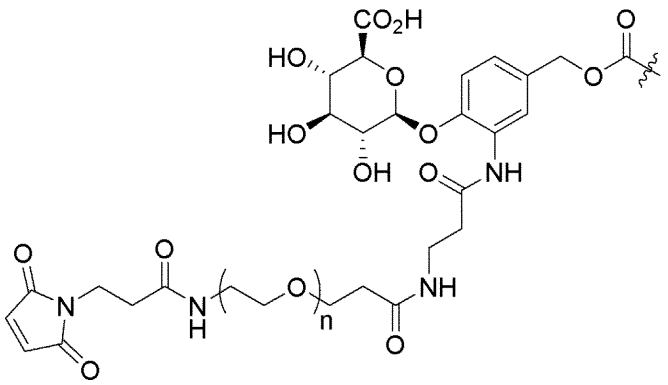
を有し、ここで、ｎは６～７２、８～７２、１２～７２、１０～７２、１２～３６もしくは３８、６～２４または８～２４の範囲の整数であり；かつここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ＭＣ-Ｇ-ＰＥＧリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１７７】
前記マレイミドジアミノプロピオニル-グルクロニド-ポリエチレングリコール（ｍＤＰＲ-Ｇ-ＰＥＧ）リンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、ｎは６～７２、８～７２、１０～７２、１２～７２、１２～３６もしくは３８、６～２４または８～２４の範囲の整数であり；かつここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ａｂ）または薬物部分（Ｄ）、好ましくは薬物部分（Ｄ）への共有結合を示す。非限定例として、ｍＤＰＲ-Ｇ-ＰＥＧリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ａｂ）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（Ｄ）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１７８】
前記マレイミドプロピオニル-グルクロニド-ポリエチレングリコール（ＭＰ-Ｇ-ＰＥＧ）リンカーは、以下の構造：



を有し、ここで、nは6～72、8～72、10～72、12～72、12～36もしくは38、6～24または8～24の範囲の整数であり；かつここで、波線は、リンカーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくは薬物部分（D）への共有結合を示す。非限定例として、MP-G-PEGリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ab）はマレイミド部分に共有結合していてもよく、薬物部分（D）は、上記構造式の波線で示すとおり、リンカーのカルボニル炭素原子に共有結合していてもよい。

【０１７９】

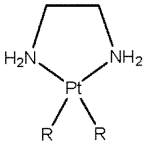
いかなる理論にも縛られたくはないが、前記MC-G、mDPR-G、MC-G-PEG、mDPR-G-PEGまたはMP-G-PEGリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートからの薬物の放出は、グルクロニダーゼによるグルクロン酸部分の切断によって開始され得る（例えば、S.C. Jeffrey et al., Bioconjugate Chem. 2006, 17, 831-840参照）。

【０１８０】

いくつかの態様において、リンカーは白金錯体リンカーである。白金錯体クラスのリンカーについては、例えば、N.J. Sijbrandi et al, Cancer Res. 2016, 77(2), 257-267、D. Walboer et al., ChemMedChem 2015, 10, 797-803または米国特許出願公開第US 2014/377174号を参照されたく、これらの文書の全開示は参照により本明細書に組み入れられる。

【０１８１】

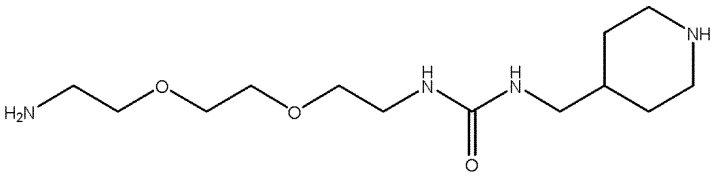
いくつかの態様において、前記白金錯体リンカーは、以下の構造：



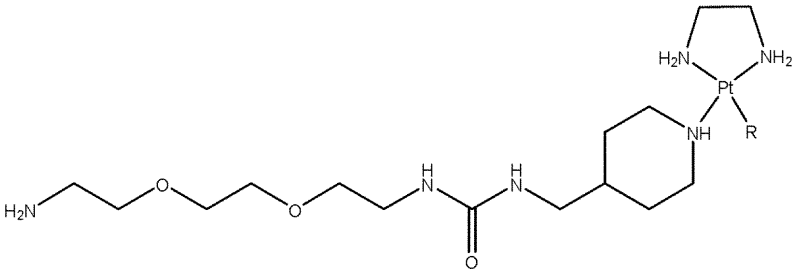
を有するエチレンジアミン白金（II）リンカーであり、ここで、Rは独立にハロゲン原子、例えば、Cl、Br、FまたはI、好ましくはClを表す。非限定例として、白金錯体リンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、1つのブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ab）および1つの薬物部分（D）は白金錯体に結合していてもよい。

【０１８２】

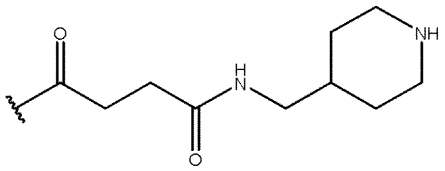
いくつかの態様において、前記白金錯体リンカー、特にエチレンジアミン白金（II）リンカー、およびブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくは薬物部分（D）は、スペーサーで分離されていてもよい。適切なスペーサーは、長さ、組成、または切断性において異なる特性を有し得る。いくつかの態様において、前記スペーサーは、以下の式：



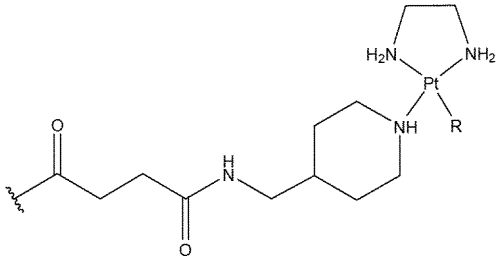
を有する1-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エチル)-3-(ピペリジン-4-イルメチル)尿素であり、式中、スペーサーのNH_2基は、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくは薬物部分（D）に結合し、ピペリジン基の窒素原子は前記白金錯体リンカーに結合する。以下の構造：



は、そのようなスペーサーの使用の好ましい態様を示し、ここで、NH_2基は、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくは薬物部分（D）に結合し、Rは、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくはブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）への結合を表す。好ましくは、NH_2基は薬物部分（D）に共有結合し、前記白金錯体リンカーはRで示すブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）に結合する。いくつかの態様において、スペーサーは、以下の構造：



を有する4-オキソ-4-((ピペリジン-4-イルメチル)アミノ)ブタノイルであり、ここで、波線は、スペーサーのカルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくは薬物部分（D）への共有結合を示し、かつここで、ピペリジン基の窒素原子は前記白金錯体リンカーに結合する。以下の構造：



は、そのようなスペーサーの使用の好ましい態様を示し、ここで、波線は、カルボニル炭素原子の、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくは薬物部分（D）への共有結合を示し、Rは、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブ

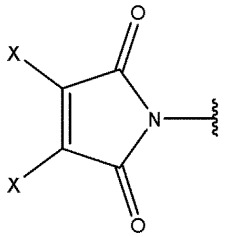
もしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくはブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）への結合を表す。好ましくは、カルボニル炭素は、波線で示すとおり、薬物部分（D）に共有結合し、白金錯体リンカーは、Rで示すブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）に結合する。

【０１８３】

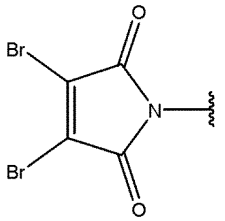
いくつかの態様において、リンカーはジスルフィド架橋置き換えリンカーである。本開示の全体を通して用いられる「ジスルフィド架橋置き換えリンカー」なる用語は、ブレンツキシマブ（Ab）の2つのシステインから生じるジスルフィド架橋を置き換えることができるリンカーを示す。したがって、そのようなジスルフィド架橋置き換えリンカーが薬物部分（D）に結合する場合、薬物部分（D）はブレンツキシマブ（Ab）の2つのシステインの間の空間に導入される。ジスルフィド架橋置き換えリンカーについては、例えば、M.E.B. Smith et al., J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 1960-1965、および国際公開公報第2013/173393号を参照されたく、これらの文書の全開示は参照により本明細書に組み入れられる。

【０１８４】

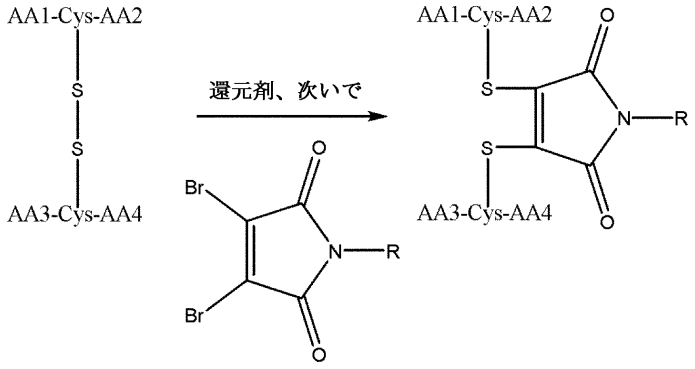
いくつかの態様において、前記ジスルフィド架橋置き換えリンカーは、以下の構造：



を有するマレイミドリンカーであってもよく、ここで、Xはハロゲン原子、例えば、Cl、Br、FまたはI、好ましくはClまたはBr、より好ましくはBrを表し、かつここで、波線は窒素原子の薬物部分（D）への共有結合を示す。そのようなリンカーについては、M.E.B. Smith et al., J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 1960-1965を参照されたい。好ましい態様は、以下の構造：



を有するジブロモマレイミドであり、ここで、波線は薬物部分（D）のマレイミド部分への共有結合を示す。一方または両方の臭素原子はチオール基と反応してもよく、これは、例えば、以下の反応スキーム：

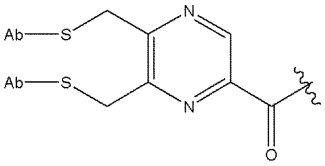
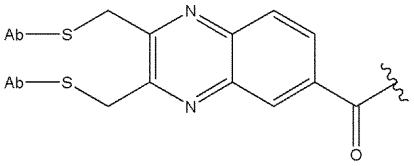
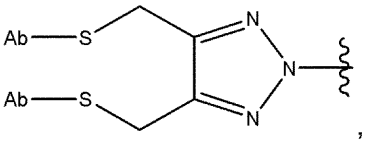
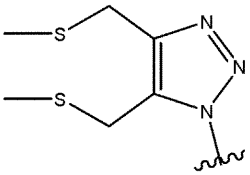
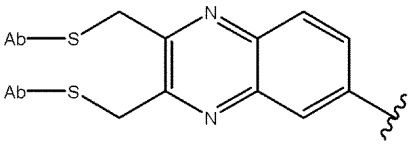
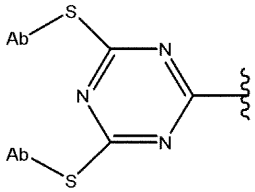
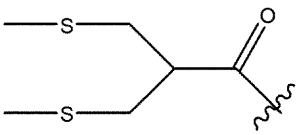


に示すとおり、ブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）のジスルフィド架橋から還

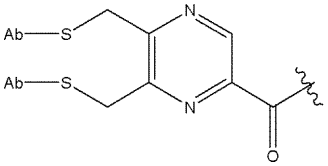
元によって得られ、ここで、AA1、AA2、AA3およびAA4はブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）のペプチド鎖を含む。AA1、AA2、AA3およびAA4は、単一のペプチド鎖の一部であってもよく、または単一のペプチド鎖の一部でなくてもよい。好ましい態様において、薬物部分は、Rで示すとおり、マレイミド部分に共有結合する。ジブロモマレイミドと反応させる前に、ブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）のジスルフィド架橋を還元剤で還元して、遊離のチオール基を得る。適切な還元剤は、例えば、ジチオスレイトール（DTT）、亜ジチオン酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムまたはトリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン（TCEP）であり、トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン（TCEP）が好ましい。還元段階の後、ジブロモマレイミドがブレンツキシマブ（Ab）に付加され、前記ジブロモマレイミドが遊離チオール基と反応して、前記ペプチド鎖のシステインの2つのチオール基の間に架橋を形成する。

【０１８５】

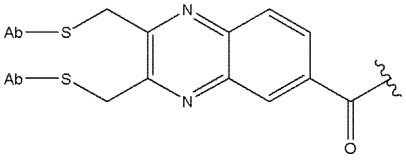
いくつかの態様において、ジスルフィド架橋置き換えリンカーは、


,

,

,

,

,

および


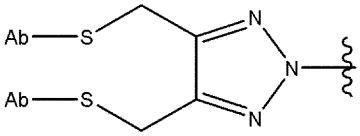
からなる群より選択される断片を含み、ここで、Abはブレンツキシマブまたは抗原結合断片のペプチド鎖への結合を示し、波線はブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの薬物部分（D）への結合を示す。そのようなリンカーについては、国際公開公報第2013/173393号を参照されたい。したがって、いくつかの態様において、ジスルフィド架橋置き換えリンカーは、断片



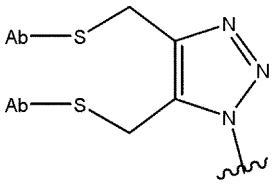
を含む。いくつかの態様において、ジスルフィド架橋置き換えリンカーは、断片



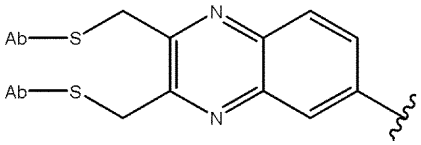
を含む。いくつかの態様において、ジスルフィド架橋置き換えリンカーは、断片



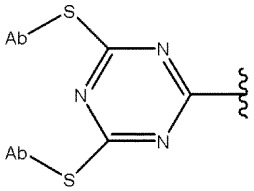
を含む。いくつかの態様において、ジスルフィド架橋置き換えリンカーは、断片



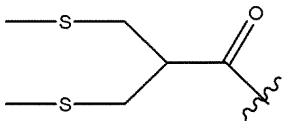
を含む。いくつかの態様において、ジスルフィド架橋置き換えリンカーは、断片



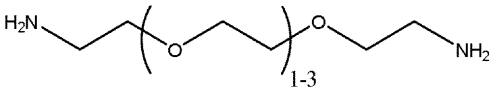
を含む。いくつかの態様において、ジスルフィド架橋置き換えリンカーは、断片



を含む。いくつかの態様において、ジスルフィド架橋置き換えリンカーは、断片



を含む。波線で示す薬物部分（D）の結合に関して、これらの態様において、薬物は任意のスペーサーを通じて断片に結合してもよい。そのようなスペーサーは、例えば、エチレングリコールオリゴマー、例えば、



から誘導され得る。

【０１８６】

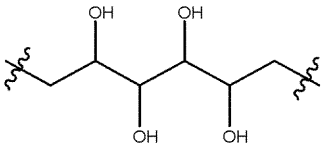
いくつかの態様において、リンカーはグリコリンカーである。本開示の全体を通して用いられる「グリコリンカー」なる用語は一般に、単糖またはオリゴ糖断片を含むリンカーを示す。グリコリンカーは、例えば、F.S. Ekholm et al., ChemMedChem 2016, 11, 2501-2505、米国特許出願第US 2016/0820797号、米国特許出願第2016/025764号、国際公開公報第2016/053107号、米国特許出願第US 2016/0106860号および国際公開公報第2016/001485号に記載されており、これらの文書の全開示は参照により本明細書に組み入れられる。

【０１８７】

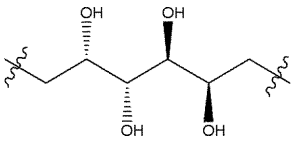
したがって、本明細書において用いられるグリコリンカーは、断片-G-を含んでもよく、ここでGは単糖、または2～20、好ましくは2～12、より好ましくは2～10、さらにより好ましくは2～8、および最も好ましくは2～6個の糖部分を含む、直鎖もしくは分枝オリゴ糖である。断片-G-に存在し得る糖部分は当業者には公知で、例えばグルコース（Glc）、ガラクトース（Gal）、マンノース（Man）、フコース（Fuc）、N-アセチルグルコサミン（GlcNAc）、N-アセチルガラクトサミン（GalNAc）、N-アセチルノイラミン酸（NeuNAc）またはシアル酸、キシロース（Xyl）が含まれる。

【０１８８】

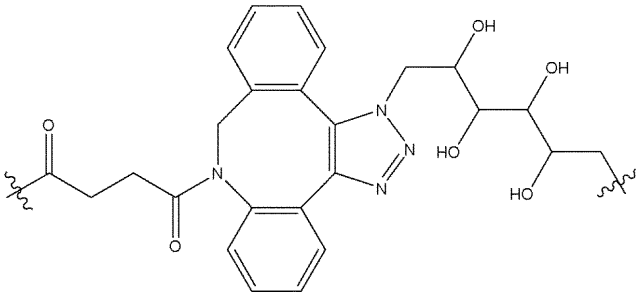
いくつかの態様において グリコリンカーは、断片



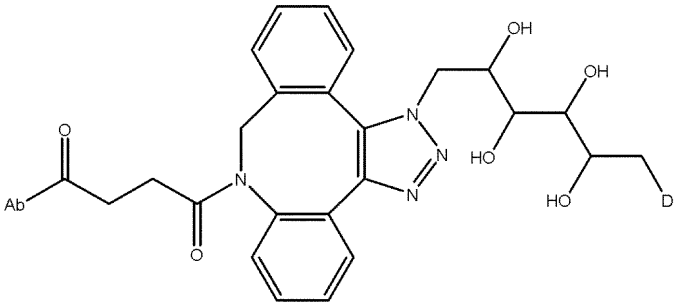
を含んでもよく、ここで、波線はブレンツキシマブ薬物コンジュゲートのブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）および薬物部分（D）への結合を示す。例えば、いくつかの態様において、断片



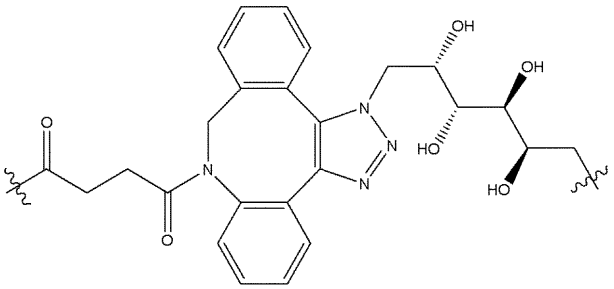
を含む、ガラクトースからのグリコリンカーを用いてもよい。いくつかの態様において、断片は、任意のスペーサーを通じて、ブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）および/または薬物部分（D）に結合してもよい。例えば、単糖断片およびスペーサーを含むグリコリンカーは、以下の構造：



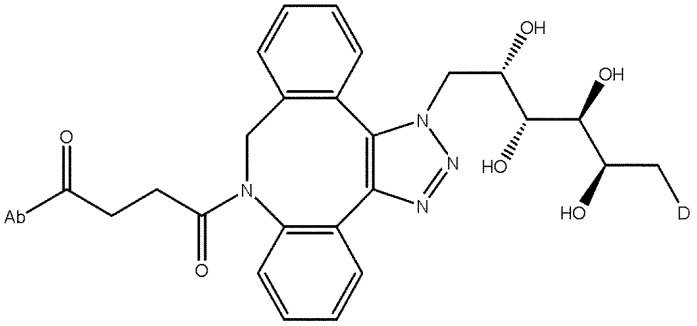
を有し得、ここで、波線はブレンツキシマブ薬物コンジュゲートのブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）および薬物部分（D）への結合を示す。例えば、ブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）はグリコリンカーにカルボニル炭素原子で結合してもよく、薬物部分（D）は、単糖断片に結合してもよく、したがって以下の構造：



をもたらし、ここで、Abはブレンツキシマブまたは抗原結合断片であり、Dは薬物部分である。いくつかの態様において、単糖断片がガラクトースである場合、グリコリンカーは、以下の構造：



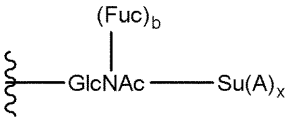
を有し得、ここで、波線はブレンツキシマブ薬物コンジュゲートのブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）および薬物部分（D）への結合を示す。例えば、ブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）はグリコリンカーにカルボニル炭素原子で結合してもよく、薬物部分（D）は、単糖断片に結合してもよく、したがって以下の構造：



をもたらし、ここで、Abはブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）であり、Dは薬物部分である。これらの態様のグリコリンカーは、例えば、F.S. Ekholm et al., ChemMedChem 2016, 11, 2501-2505に記載されている。

【０１８９】

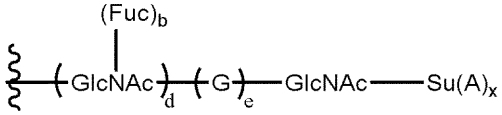
いくつかの態様において、グリコリンカーは、構造



を有し、ここで、波線はブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）への結合を示し、ここで$Su(A)_x$はxの官能基Aを含む糖誘導体Suであり、ここでAはチオール基またはその前駆体、ハロゲン、スルホニルオキシ基、ハロゲン化アセトアミド基、メルカプトアセトアミド基およびスルホン化ヒドロキシアセトアミド基からなる群より独立に選択され、ここでxは1、2、3または4であり、かつここでbは0または1である。糖誘導体$Su(A)_x$は糖または糖誘導体Su、例えばアミノ糖またはそれ以外の誘導体化糖から誘導される。糖および糖誘導体の例には、ガラクトース（Gal）、マンノース（Man）、グルコース（Glc）、N-アセチルノイラミン酸またはシアル酸（Sial）およびフコース（Fuc）が含まれる。糖誘導体$Su(A)_x$は、好ましくは、ガラクトース（Gal）、マンノース（Man）、N-アセチルグルコサミン（GlcNAc）、フコース（Fuc）およびN-アセチルノイラミン酸（シアル酸SiaまたはNeuNAc）から誘導され、好ましくはGlcNAc、Glc、Gal、およびGalNAcからなる群から誘導される。より好ましくは、$Su(A)_x$はGalまたはGalNacから誘導され、最も好ましくは、$Su(A)_x$はGalNacから誘導される。ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの薬物部分（D）は、官能基Aとの反応によってグリコリンカーに結合してもよい。薬物部分は、例えば、マレイミド部分を含むスペーサーなどの、任意のスペーサーを介して、グリコリンカーに結合してもよい。これらの態様のグリコリンカーは、例えば、米国特許出願第US 2016/0280797号に記載されている。

【０１９０】

いくつかの態様において、グリコリンカーは、構造



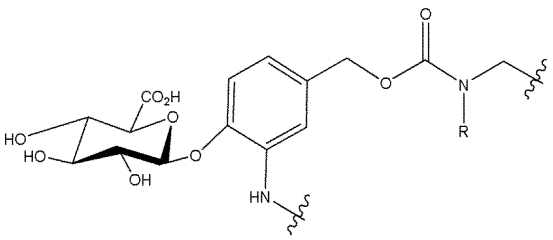
を有し、ここで、波線はブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）への結合を示し、ここで$Su(A)_x$はxの官能基Aを含む糖誘導体Suであり、ここでAはチオール基またはその前駆体、ハロゲン、スルホニルオキシ基、ハロゲン化アセトアミド基、メルカプトアセトアミド基およびスルホン化ヒドロキシアセトアミド基からなる群より独立に選択され、ここでxは1、2、3または4であり、ここでbは0または1であり、ここでdは0または1であり、ここでeは0または1であり、かつここでGは単糖、または2～20の糖部分を含む、直鎖もしくは分枝オリゴ糖である。糖誘導体$Su(A)_x$は糖または糖誘導体Su、例えばアミノ糖またはそれ以外の誘導体化糖から誘導される。糖および糖誘導体の例には、ガラクトース（Gal）、マンノース（Man）、グルコース（Glc）、N-アセチルノイラミン酸またはシアル酸（Sial）およびフコース（Fuc）が含まれる。糖誘導体$Su(A)_x$は、好ましくは、ガラクトース（Gal）、マンノース（Man）、N-アセチルグルコサミン（GlcNAc）、フコース（Fuc）およびN-アセチルノイラミン酸（シアル酸SiaまたはNeuNAc）から誘導され、好ましくはGlcNAc、Glc、Gal、およびGalNAcからなる群から誘導される。より好ましくは、$Su(A)_x$はGalまたはGalNacから誘導され、最も好ましくは、$Su(A)_x$はGalNacから誘導される。Gは単糖、または2～20、好ましくは2～12、より好ましくは2～10、さらにより好ましくは2～8、最も好ましくは2～6個の糖部分を含む、直鎖または分枝オリゴ糖を表す。断片Gに存在し得る糖部分は当業者には公知であり、例えばグルコース（Glc）、ガラクトース（Gal）、マンノース（Man）、フコース（Fuc）、N-アセチルグルコサミン（GlcNAc）、N-アセチルガラクトースアミン（GalNAc）、N-アセチルノイラミン酸（NeuNAc）またはシアル酸、キシロース（Xyl）が含まれる。ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの薬物部分（D）は、官能基Aとの反応によってグリコリンカーに結合してもよい。薬物部分（D）は、例えば、マレイミド部分を含むスペーサーなどの、任意のスペーサーを介して、グリコリンカーに結合してもよい。これらの態様のグリコリンカーは、例えば、米国特許出願第US 2016/0280797号に記載されている。

【０１９１】

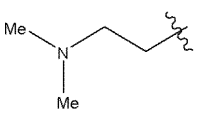
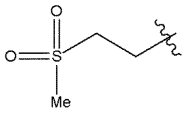
いくつかの態様において、リンカーはメチレンアルコキシカルバメートリンカーである。メチレンアルコキシカルバメートリンカーについては、例えば、R.V. Kolakowski et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 7948-7951または国際公開公報第2015/095755号を参照されたく、これらの文書の全開示は参照により本明細書に組み入れられる。

【０１９２】

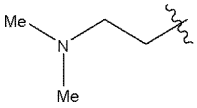
いくつかの態様において、前記メチレンアルコキシカルバメートリンカーは、以下の構造：



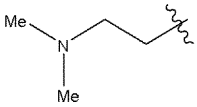
を有し、ここで、波線はブレンツキシマブ薬物コンジュゲートのブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）および薬物部分（D）への結合を示し、かつR基はC1～C4アルキル、

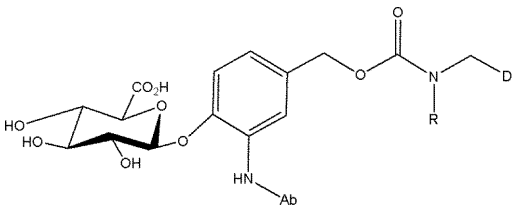
からなる群より選択される。好ましくは、RはC1～C4アルキル、例えばエチル、または



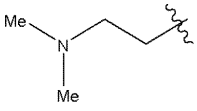
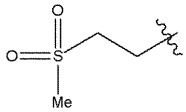
である。より好ましくは、Rは



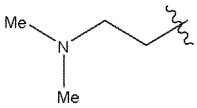
である。いくつかの態様において、ブレンツキシマブまたは抗原結合断片（Ab）および薬物部分（D）は、以下の構造：



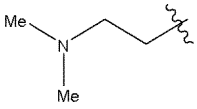
に示すとおり、メチレンアルコキシカルバメートリンカーに結合されており、ここで、Abはブレンツキシマブまたは抗原結合断片であり、かつDは薬物部分である。これらの態様において、R基はC1～C4アルキル、


および


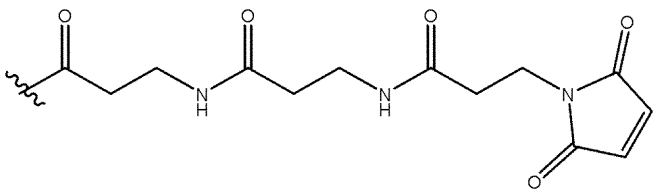
からなる群より選択される。好ましくは、RはC1～C4アルキル、例えばエチル、または



である。より好ましくは、Rは

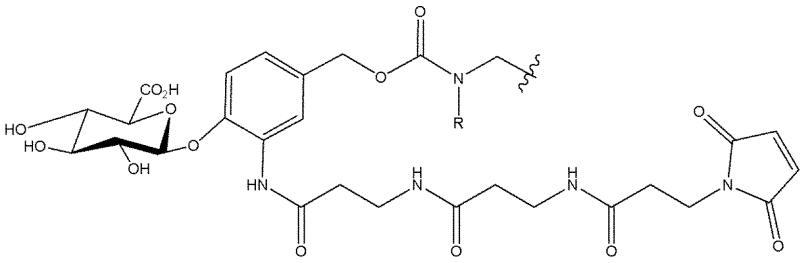


である。いくつかの態様において、ブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）および/または薬物部分（D）は、任意のスペーサーを通じてメチレンアルコキシカルバメートリンカーに結合する。そのようなスペーサーは、例えば、以下の構造：

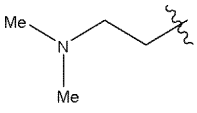


を有し得、ここで、波線はメチレンアルコキシカルバメートリンカーへの結合を示す。こ

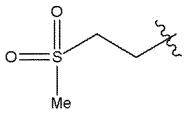
れは、以下の構造：



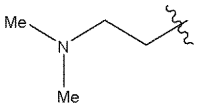
をもたらし、ここで、波線は、リンカーの、ブレンツキシマブ薬物コンジュゲートの別の部分、特にブレンツキシマブもしくは抗原結合断片（Ab）または薬物部分（D）、好ましくは薬物部分（D）への共有結合を示す。非限定例として、そのようなメチレンアルコキシカルバメートリンカーを含むブレンツキシマブ薬物コンジュゲートにおいて、ブレンツキシマブまたはその抗原結合断片（Ab）はマレイミド部分に結合していてもよく、薬物部分（D）は、波線で示す位置に結合していてもよい。これらの態様において、R基はC1～C4アルキル、



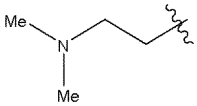
および



からなる群より選択される。好ましくは、RはC1～C4アルキル、例えばエチル、または



である。より好ましくは、Rは



である。

【０１９３】

いくつかの態様において、リンカー（L）は、-(スクシンイミド-3-イル-N)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-NH-$CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-、-(スクシンイミド-3-イル-N)-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-GGFG-NH-$CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-、-(スクシンイミド-3-イル-N)-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-GGFG-NH-CH_2-O-CH_2-C(=O)-、-(スクシンイミド-3-イル-N)-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-GGFG-NH-CH_2CH_2-O-CH_2-C(=O)-、-(スクシンイミド-3-イル-N)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-NH-$CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-、および-(スクシンイミド-3-イル-N)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-NH-$CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-から選択され、好ましくは-(スクシンイミド-3-イル-N)-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-GGFG-NH-CH_2-O-CH_2-C(=O)-である。

【０１９４】

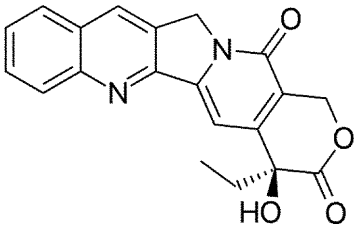
「D」：薬物部分

本開示は、薬物部分を含む抗体薬物コンジュゲートを提供する。本明細書において用いられる「薬物部分」または「ペイロード」なる用語は、いずれも交換可能に使用することができ、抗体または抗原結合断片にコンジュゲートしている化学的または生化学的部分を指す。これに関して、本明細書に記載の「ADC式」Ab-(L-$(D)_x)_y$を再度参照する。ブレンツキシマブは、本明細書に記載のまたは当技術分野において公知の任意の方法を用いて、いくつかの同一または異なる薬物部分にコンジュゲートさせることができる。いくつか

の好ましい態様において、薬物部分は抗がん剤である。したがって、薬物は、カンプトテシン、トポイソメラーゼ阻害物質、メイタンシノイド、カリケアマイシン（calicheamycin）、デュオカルマイシン、チューブリシン、アマトキシン、ドラスタチンおよびアウリスタチン、例えばモノメチルアウリスタチンE（ＭＭＡＥ）、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノ-ベンゾジアゼピン二量体、放射性同位体、治療用タンパク質およびペプチド（またはそれらの断片）、核酸、ＰＲＯＴＡＣ、キナーゼ阻害物質、ＭＥＫ阻害物質、ＫＳＰ阻害物質、ならびにそれらの類縁体またはプロドラッグからなる群より選択され得る。好ましい態様において、薬物部分はＭＭＡＥである。

【０１９５】

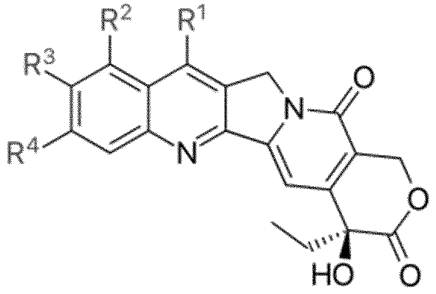
本明細書において用いられる「カンプトテシン」（ＣＰＴ）は、トポイソメラーゼ毒に関する。これは、１９６６年にＭ．Ｅ．ＷａｌｌおよびＭ．Ｃ．Ｗａｎｉにより、抗がん剤のための天然物の系統的スクリーニングにおいて発見された。ＣＰＴは中国原産で、漢方のがん処置薬として使用される樹木、カンレンボク・アクミナタ（Camptotheca acuminata）(カンレンボク属(Camptotheca)、ハッピー・ツリー(Happy tree))の樹皮および幹から単離された。カンプトテシンなる用語は、ＣＰＴ類縁体も含み得る。トポテカン、イリノテカン、ベロテカン、およびトラスツズマブ・デルクステカンの４つのＣＰＴ類縁体が承認され、今日のがん化学療法に使用されている。カンプトテシンは、以下の構造：

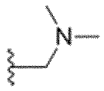
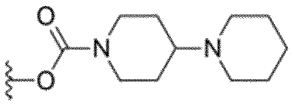
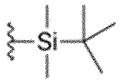
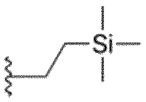
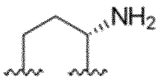
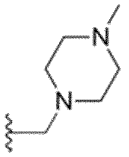
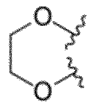
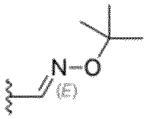
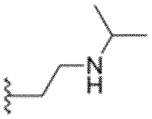


を有する。

【０１９６】

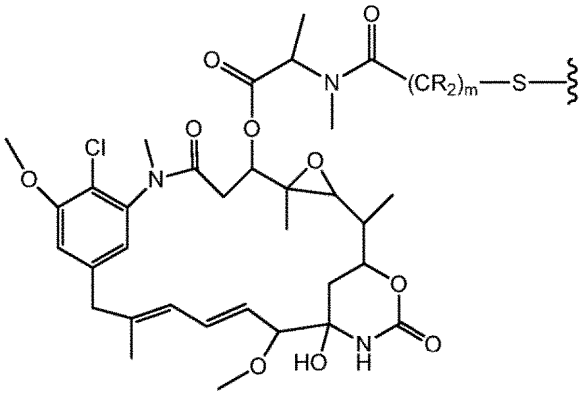
以下のＣＰＴ類縁体もＣＰＴなる用語によって想定される。



類縁体	R^1	R^2	R^3	R^4
トポテカン	—H		—OH	—H
イリノテカン (CPT-11)		—H		—H
シラテカン (DB-67, AR-67)		—H	—OH	—H
コシテカン (BNP-1350)		—H	—H	—H
エキサテカン			—CH_3	—F
ラルトテカン		—H		
ジャイマテカン (ST1481)		—H	—H	—H
ベロテカン (CKD-602)		—H	—H	—H
ルビテカン	—H		—H	—H

【０１９７】

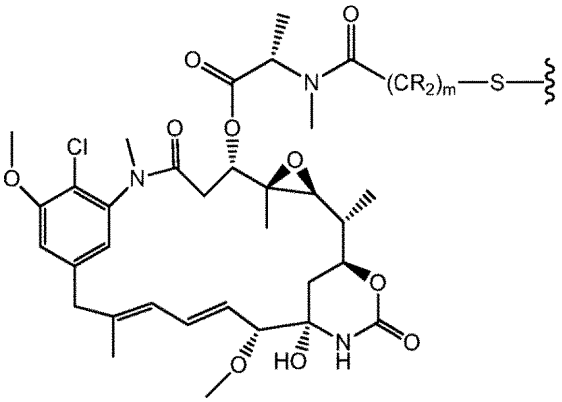
いくつかの態様において、薬物部分は、以下の構造：



を有するものを含む、メイタンシノイド薬物部分であり、ここで、波線はメイタンシノイドの硫黄原子の、抗体薬物コンジュゲートのリンカーへの共有結合を示す。Rは、各出現時に独立にHまたはC1～C6アルキルである。アミド基を硫黄原子に連結しているアルキレン鎖は、メタニル、エタニル、またはプロパニルであってもよく、すなわちmは1、2、または3である。（米国特許第633,410号、米国特許第5,208,020号、Chari et al. (1992) Cancer Res. 52; 127-131、Lui et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. 93 :8618-8623）。

【０１９８】

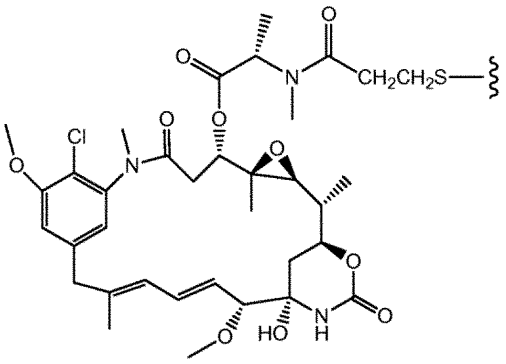
メイタンシノイド薬物部分の全ての立体異性体、すなわちメイタンシノイドのキラル炭素のRおよびS配置の任意の組み合わせは、本明細書において開示する抗体薬物コンジュゲートのために企図される。いくつかの態様において、メイタンシノイド薬物部分は、以下の立体化学：



を有する。

【０１９９】

いくつかの態様において、メイタンシノイド薬物部分は$N^{2'}$-デアセチル-$N^{2'}$-(3-メルカプト-1-オキソプロピル)-メイタンシン（DM1としても公知）である。DM1は、以下の構造：

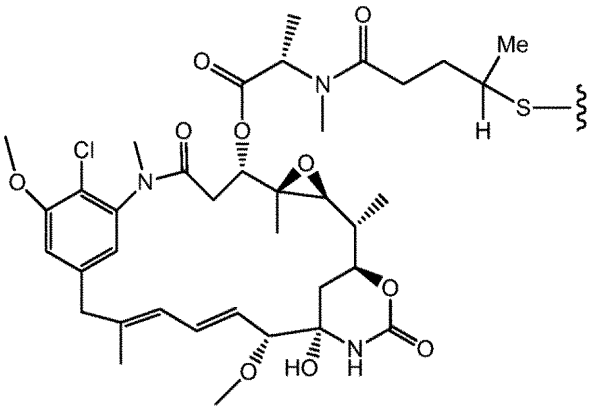


DM1

によって表される。

【０２００】

いくつかの態様において、メイタンシノイド薬物部分は$N^{2'}$-デアセチル-$N^{2'}$-(4-メルカプト-1-オキソペンチル)-メイタンシン（ＤＭ３としても公知）である。ＤＭ３は、以下の構造：

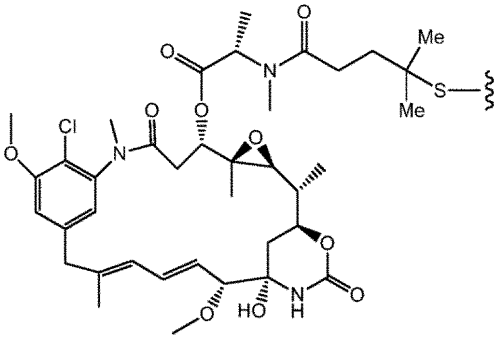


DM3

によって表される。

【０２０１】

いくつかの態様において、メイタンシノイド薬物部分は$N^{2'}$-デアセチル-$N^{2'}$-(4-メチル-4-メルカプト-1-オキソペンチル)-メイタンシン（ＤＭ４としても公知）である。ＤＭ４は、以下の構造：



DM4

によって表される。

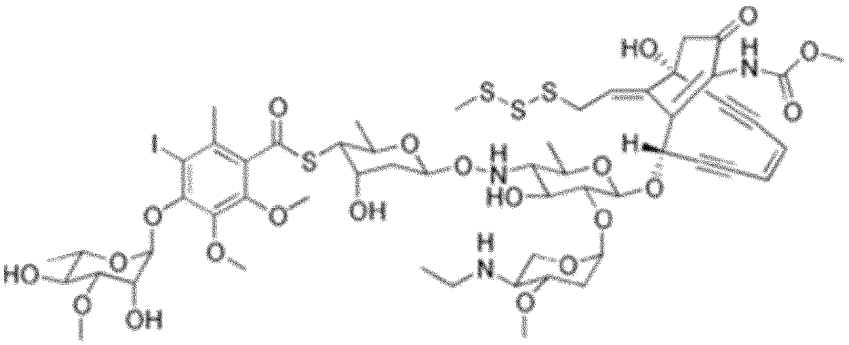
【０２０２】

好ましくは、メイタンシノイド薬物部分を含む、本明細書において開示する抗体薬物コンジュゲートは、$N^{2'}$-デアセチル-$N^{2'}$-(3-メルカプト-1-オキソプロピル)-メイタンシン

（ＤＭ１）またはN$^{2'}$-デアセチル-N$^{2'}$-(４-メルカプト-４-メチル-１-オキソペンチル)-メイタンシン（ＤＭ４）である。

【０２０３】

薬物部分はカリケアマイシンであってもよい。本明細書において用いられる「カリケアマイシン」は、バクテリアミクロモノスポラ・エチノスポラ（Micromonospora echinospora）由来のエンジイン抗腫瘍抗生物質のクラスに関し、カリケアマイシンγ１が最も有名である。これは元々は１９８０年代半ばにテキサス州カーヴィルの白亜質土壌、すなわち「カリシェピット（caliche pit）」から単離された。全ての細胞に対して非常に毒性である。したがって、薬物部分は、以下の構造：



によって例示されるカリケアマイシンγ１であってもよい。

【０２０４】

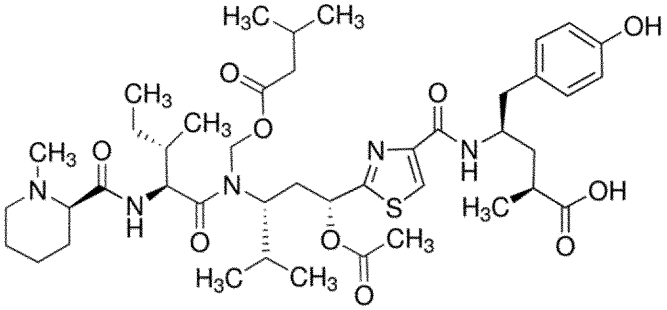
薬物部分はデュオカルマイシンであってもよい。本明細書において用いられる「デュオカルマイシン」は、小分子、合成、ＤＮＡ副溝結合アルキル化剤を表す。デュオカルマイシンは、固形腫瘍を標的とするのに適切であり得る。デュオカルマイシンはＤＮＡの副溝に結合し、Ｎ３位の核酸塩基アデニンをアルキル化する。ＤＮＡの不可逆的なアルキル化は核酸構造を破壊し、これは最終的には腫瘍細胞死を引き起こす。デュオカルマイシンの例には、限定されないが、ＣＣ-１０６５、ダウノルビシン、マイトマイシンＣ、ブレオマイシン、シクロシチジン、ビンクリスチン、ビンブラスチン、メトトレキセート、およびタキソールならびにそれらの誘導体が含まれる。

【０２０５】

薬物部分は、シスプラチンまたはその誘導体などの、白金系抗腫瘍剤であってもよい。

【０２０６】

薬物部分はチューブリシンであってもよい。チューブリシンは、抗微小管剤、抗有糸分裂剤、アポトーシス誘導剤、抗がん剤、抗血管新生剤、および抗増殖剤としての機能を有する。チューブリシンは細胞毒性ペプチドであり、９つのメンバー（Ａ～Ｉ）を含む。好ましくは、チューブリシンはチューブリシンＡである。チューブリシンＡは抗がん剤として適用される可能性を有する。これはＧ２/Ｍ期の細胞を停止する。チューブリシンＡは、以下の構造：

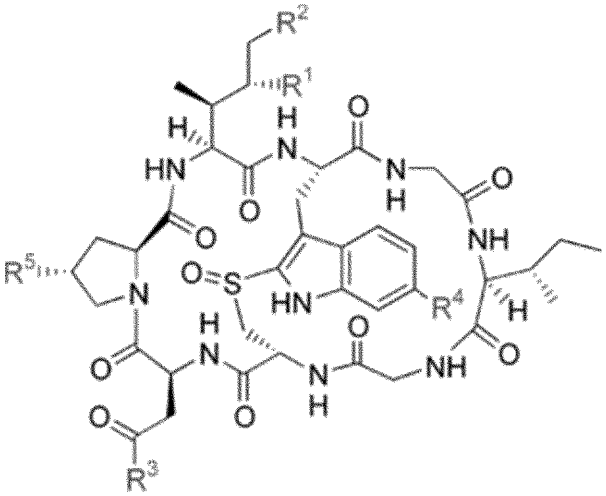


を有する。

【０２０７】

薬物部分はアマトキシンであってもよい。アマトキシンは、毒キノコのいくつかの属、

特にテングタケ（Amanita）属のタマゴテングタケ（Amanita phalloides）およびいくつかの他のメンバー、ならびにいくつかのコガサタケ（Conocybe）、ケコガサダケ（Galerina）、およびハラタケ（Lepiota）キノコ種で見出された少なくとも8つの関連する毒性化合物の下位群の総称である。アマトキシンは低用量でも致死的である。化合物は、保存された大環状二環式モチーフ（プロリンおよびトリプトファン由来残基に固有の環を数えると、全体では5環式構造）に配列された8つのアミノ酸残基の、類似の構造を有する。全てのアマトキシンは、35-アミノ酸プロタンパク質として合成されるオリゴペプチドで、これらから最終の8つのアミノ酸がプロリルオリゴペプチダーゼによって切断される。アマトキシンの概略のアミノ酸配列はIle-Trp-Gly-Ile-Gly-Cys-Asn-Proで、TrpとCysとの間にスルホキシド（S=O）部分を介した架橋および分子の変種にヒドロキシル化を有する。現在、10種類の公知のアマトキシンがあり、これらは薬物部分であり得る。

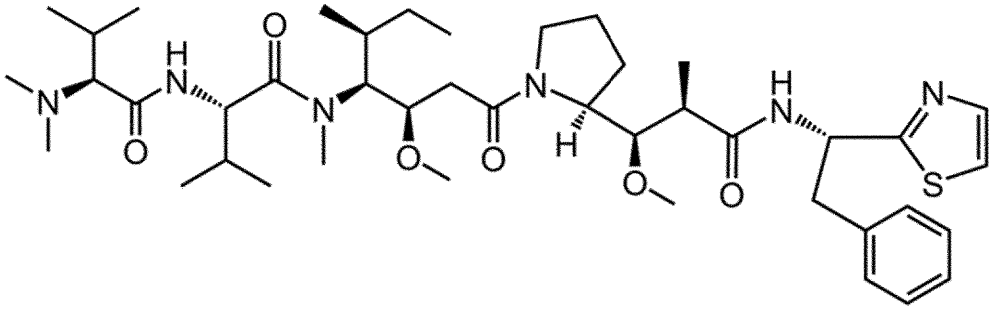


名称	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5
α-アマニチン	OH	OH	NH_2	OH	OH
β-アマニチン	OH	OH	OH	OH	OH
γ-アマニチン	OH	H	NH_2	OH	OH
ε-アマニチン	OH	H	OH	OH	OH
アマヌリン	H	H	NH_2	OH	OH
アマヌリン酸	H	H	OH	OH	OH
アマニンアミド	OH	OH	NH_2	H	OH
アマニン	OH	OH	OH	H	OH
プロアマヌリン	H	H	NH_2	OH	H

【０２０８】

薬物部分は、ドラスタチン10またはドラスタチン15などのドラスタチンであってもよい。いずれもインド洋のアメフラシ、タツナミガイ（Dollabella auricularia）から単離された海洋天然物である。この強力な抗腫瘍剤はパラオの海洋シアノバクテリア・シンプロカ種（Symploca sp.） VP642からも単離されている。小さい直鎖ペプチド分子である、ドラスタチン10および15は、乳がん、肝臓がん、固形腫瘍およびいくつかの白血病に対して効力を示す抗がん薬と考えられている。前臨床研究では、実験的な抗新生物およびチューブリン会合系において効力が示された。ドラスタチンは有糸分裂阻害物質である。チューブリンの形成を妨害することにより微小管会合を阻害し、それによって有

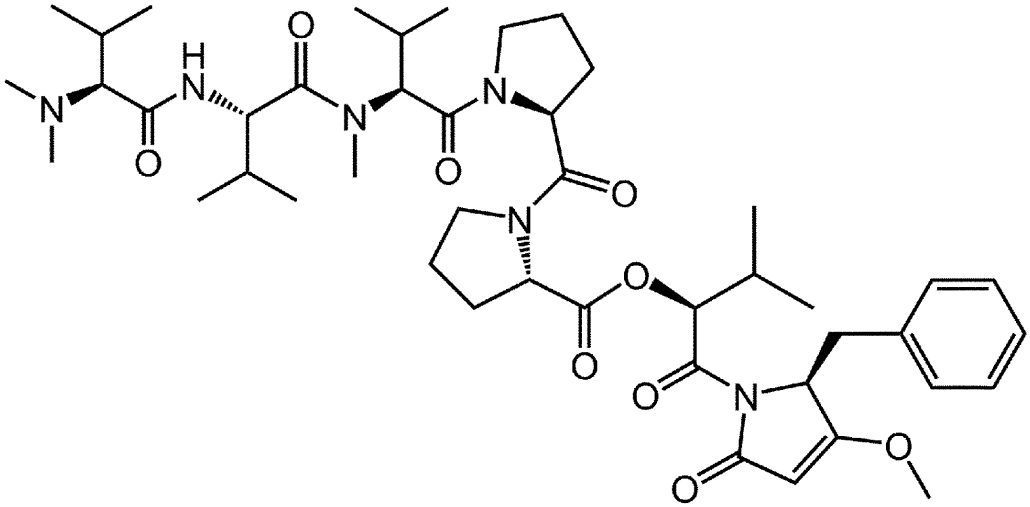
糸分裂による細胞分裂を妨害し、いくつかの悪性細胞型においてアポトーシスおよびBcl-2リン酸化を誘導する。ドロスタチン（Dolostatin）10（N,N-ジメチル-L-バリル-N-[(3R,4S,5S)-3-メトキシ-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソ-3-{[(1S)-2-フェニル-1-(1,3-チアゾル-2-イル)エチル]アミノ}プロピル]-1-ピロリジニル}-5-メチル-1-オキソ-4-ヘプタニル]-N-メチル-L-バリンアミド）は、以下の構造：



を有する。

【０２０９】

ドラスタチン15（(2S)-1-[(2S)-2-ベンジル-3-メトキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロル-1-イル]-3-メチル-1-オキソ-2-ブタニルN,N-ジメチル-L-バリル-L-バリル-N-メチル-L-バリル-L-プロリル-L-プロル）は、以下の構造：



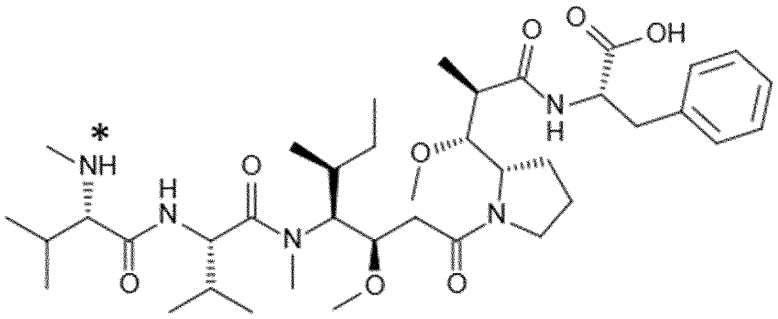
を有する。

【０２１０】

本明細書において開示する抗体薬物コンジュゲートのいくつかの態様において、薬物部分はアウリスタチンである。好ましくは、アウリスタチンはモノメチルアウリスタチンF（MMAF）またはモノメチルアウリスタチンE（MMAE）である。

【０２１１】

本明細書において開示する抗体薬物コンジュゲートのいくつかの態様において、薬物部分はモノメチルアウリスタチンF（MMAFとしても公知）である。MMAFは、以下の構造式：

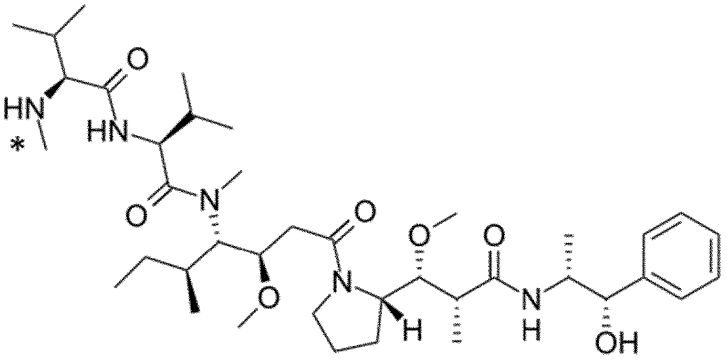


MMAF

で表される。モノメチルアウリスタチンF（ＭＭＡＦ）はリンカーに、アステリスク（*）でマークした窒素原子を介して結合してもよい。

【０２１２】

いくつかの態様において、アウリスタチン薬物部分はモノメチルアウリスタチンE（ＭＭＡＥとしても公知）である。ＭＭＡＥは、以下の構造式：



MMAE

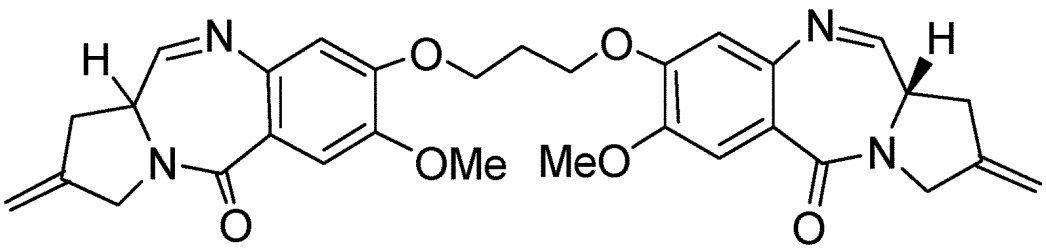
で表される。モノメチルアウリスタチンE（ＭＭＡＥ）はリンカーに、アステリスク（*）でマークした窒素原子を介して結合してもよい。

【０２１３】

これらの分子は、ビンクリスチンのチューブリンへの結合（ビンカ/ペプチド領域として公知の位置で）を非競合的に阻害するが、RZX/MAY領域に結合することが明らかにされている。

【０２１４】

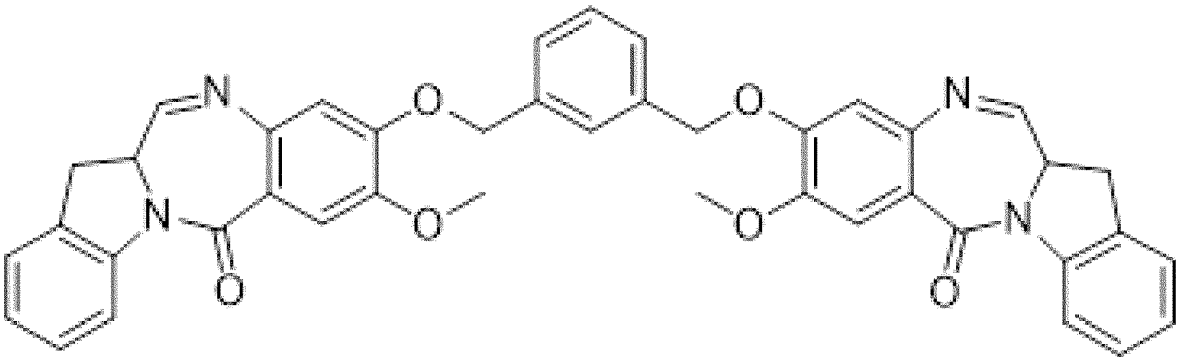
薬物部分は、以下の構造：



を有する化合物などの、ピロロベンゾジアゼピン二量体であってもよい。

【０２１５】

薬物部分は、以下の構造：



を有する化合物などのインドリノベンゾジアゼピン二量体であってもよい。

【０２１６】

薬物部分は放射性同位体であってもよい。本明細書に記載の典型的な放射性同位体は、小線源、通常はヨウ素-１２５、ヨウ素-１３１、イリジウム-１９２またはパラジウム-１０３などのγまたはβ放射体であり得る。

【０２１７】

薬物部分は治療用タンパク質もしくはペプチドまたはその断片であってもよい。典型的な例は、インターロイキン、リシン、ジフテリア毒素、緑膿菌外毒素PE38などのサイトカインである。

【０２１８】

薬物部分はキナーゼ阻害物質、好ましくは腫瘍形成促進機能に関連するキナーゼの阻害物質である。例示的なキナーゼ阻害物質には、イマチニブ、ニロチニブ、ダサチニブ、ボスチニブ、ポナチニブ、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、オシメルチニブ、ラパチニブ、ネラチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、レンバチニブ、カボザチニブ、バンデタニブ、レゴラフェニブ、ベムラフェニブ、ダブラフェニブ、トラメチニブ、コビメチニブ、クリゾチニブ、セルチニブ、アレクチニブ、ブリガチニブ、ロラチニブ、イブルチニブ、アカリブルチニブ、ミドスタウリン、ルキソリチニブ、イデラリシブ、コパンリシブ、パルボシクリブ、リボシクリブ、またはアベマシクリブが含まれる。

【０２１９】

薬物部分はMEK阻害物質であってもよい。本明細書において用いられるMEK阻害物質は、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ、キナーゼ酵素MEK1および/またはMEK2を阻害する化学物質または薬物を表す。MEK阻害物質は、いくつかのがんにおいて過活性であることが多いMAPK/ERK経路に影響を及ぼすために使用することができる。したがって、MEK阻害物質はいくつかのがん、特にBRAF変異メラノーマ、およびKRAS/BRAF変異結腸直腸がんの処置に有望である。典型的なMEK阻害物質には、トラメチニブ（GSK1120212）、コビメチニブもしくはXL518、ビニメチニブ（MEK162）、セルメチニブ、PD-325901、CI-1040、PD035901、またはTAK-733が含まれる。

【０２２０】

薬物部分はKSP（キネシンスピンドルタンパク質）阻害物質であってもよい。KSP阻害物質の例には、イスピネシブ（SB-715992）、SB743921、AZ 3146、GSK923295、BAY 1217389、MPI-0479605、およびARQ 621が含まれる。

【０２２１】

薬物部分は核酸であってもよい。核酸は、薬物部分として使用する場合、DNA/RNA分子、例えば、免疫調節機能（好ましくは自然免疫に対して）を有するDNA/RNA分子に関連し得る。免疫調節とは、免疫反応を増大または低減させること、好ましくは低減させることを指す。DNA/RNA分子はまた、好ましくは標的タンパク質発現（例示的な標的は筋強直性ジストロフィータンパク質キナーゼ（DMPK）であり得る）を（特異的に）調節/操作（例えば減少）するように設計されたsiRNAであってもよい。

【０２２２】
薬物部分はPROTACであってもよい。タンパク質分解誘導キメラ分子（PROTAC） は、2つの活性ドメインおよび特定の不要なタンパク質を除去し得るリンカーを含む、ヘテロ二官能性低分子である。PROTACは通常の酵素阻害物質として作用するのではなく、好ましくは選択的な細胞内タンパク質分解を誘導することによって作用する。PROTACは一般には、2つの共有結合したタンパク質結合分子を含み、一方はE3ユビキチンリガーゼと結合することができ、もう一方は分解を目的として標的タンパク質に結合する。E3リガーゼの標的タンパク質への動員は、ユビキチン化と、その後のプロテアソームによる標的タンパク質の分解を引き起こす。例示的なPROTACSは、Sakamoto et a. (2001), PNAS 98(15):8554-9に記載されており、参照により本明細書に組み入れられる。
【０２２３】
ADCを作製する方法
本発明のADCを作製する方法は当技術分野において公知である。特に、ポリペプチドのC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を導入または付加し、ポリペプチド（ここではブレンツキシマブ）を天然アミノ酸と、チューブリンチロシンリガーゼの存在下で接触させ、薬物部分を含むリンカーを前記連結ブレンツキシマブにコンジュゲートさせることは、すでに国際公開公報第2016/066749号、国際公開公報第2017/186855号、Schumacher et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2015, 54, 13787-13791に記載されており、これらはすべて参照により本明細書に組み入れられる。実施例の材料および方法のセクションはまた、本発明のADCを作製するかまたは得る方法に関する指標を含む。
【０２２４】
したがって、本発明はさらに、本明細書において定義するADCを作製する方法に関し、前記方法は、
（a）ブレンツキシマブの軽鎖のC末端、重鎖のC末端、または軽鎖および重鎖の両方のC末端に、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列を導入または付加する段階；
（b）段階（a）で得たブレンツキシマブを非天然アミノ酸にチューブリンチロシンリガーゼが連結するのに適した条件下で、チューブリンチロシンリガーゼおよび前記非天然アミノ酸の存在下において前記ブレンツキシマブを接触させる段階；ならびに
（c）薬物部分を含む任意に切断可能なリンカーを、段階（b）で得た連結されたブレンツキシマブにコンジュゲート合する段階
を含む。
【０２２５】
ブレンツキシマブのC末端へのTTLの認識配列の導入または付加は、本明細書に記載のとおりに行う。例えば、そのような認識配列を、遺伝子操作または合成、化学的タンパク質合成または合成生物学を介した合成によって導入または付加してもよい。
【０２２６】
本発明はさらに、本明細書において定義するADCを作製する方法によって得られるADCに関する。本発明はさらに、本明細書において定義するADCを作製する方法によって得たADCに関する。
【０２２７】
薬学的組成物
本発明はさらに、本発明のADCを含む薬学的組成物に関する。本発明による薬学的組成物は、1つまたは複数の薬学的に許容される担体をさらに含んでもよい。特定の態様において、「薬学的に許容される」なる用語は、動物、特にヒトにおける使用について規制当局または他の一般に認められた薬局方によって承認されたことを意味する。薬学的に許容される担体は当技術分野において周知であり、例えば、ヒトまたは非ヒト対象への投与に適した、水、5％のデキストロース、もしくは生理的緩衝食塩水などの水溶液、またはグリコール、グリセロール、オリーブ油などの油、もしくは注射用有機エステルなどの他の溶媒もしくはビヒクルが含まれる。特定の例示的な薬学的に許容される担体には、（生

分解性）リポソーム；生分解性ポリマーであるD,L-乳酸グリコール酸共重合体（PLGA）のミクロスフェア、アルブミンミクロスフェア；合成ポリマー（可溶性）；ナノファイバー、タンパク質-DNA複合体；タンパク質コンジュゲート；赤血球；またはビロソームが含まれる。様々な単体を基剤とする剤形は、固体脂質ナノ粒子（SLN）、ポリマーナノ粒子、セラミックナノ粒子、ヒドロゲルナノ粒子、共重合ペプチドナノ粒子、ナノ結晶およびナノ懸濁液、ナノ結晶、ナノチューブおよびナノワイヤー、官能基付加されたナノキャリア、ナノスフェア、ナノカプセル、リポソーム、脂質エマルジョン、脂質マイクロチューブル/マイクロシリンダー、脂質マイクロバブル、リポスフェア、リポポリプレックス、逆脂質ミセル、デンドリマー、エトソーム、マルチコンポジット超薄型カプセル、アクアソーム、ファーマコソーム、コロイドソーム、ニオソーム、ディスコーム、プロニオソーム、ミクロスフェア、マイクロエマルジョン、およびポリマーミセルを含む。他の適切な薬学的に許容される担体および賦形剤は、特に、Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publishing Co., New Jersey (1991)に記載されている。また、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st edition; Lippincott Williams & Wilkins, 2005も参照されたい。

【０２２８】

いくつかの態様において、薬学的に許容される担体または組成物は無菌である。薬学的組成物は、活性剤に加えて、例えば、増量剤、充填剤、可溶化剤、安定化剤、浸透剤、吸収増強剤などとして作用する、生理学的に許容される化合物を含むことができる。生理学的に許容される化合物には、例えば、炭水化物、例えばグルコース、スクロース、ラクトース；デキストラン；ポリオール、例えばマンニトール；抗酸化剤、例えばアスコルビン酸もしくはグルタチオン；保存剤；キレート化剤；緩衝剤；または他の安定化剤もしくは賦形剤が含まれる。

【０２２９】

薬学的に許容される担体および/または生理学的に許容される化合物の選択は、例えば、活性剤の性質、例えば、溶解性、適合性（通常の使用状況下で薬学的組成物の薬学的有効性を実質的に低下させる様式で相互作用することなく、物質が組成物中に共に存在し得ることを意味する）および/または組成物の投与経路に依存し得る。

【０２３０】

本発明の薬学的組成物は、本明細書に記載のADCの治療的有効量を含み、様々な形態、例えば、固体、液体、気体または凍結乾燥形態で構成することができ、特に、軟膏、クリーム、経皮パッチ、ゲル、散剤、錠剤、液剤、エアロゾル、顆粒、丸薬、懸濁剤、乳剤、カプセル、シロップ、液剤、エリキシル剤、エキス剤、チンキ剤、もしくは流エキスの形態、または局所もしくは経口投与に特に適した形態であり得る。本発明のポリペプチドの投与には様々な経路が適用可能で、限定されないが、経口、局所、経皮、皮下、静脈内、腹腔内、筋肉内、または眼内が含まれる。しかし、必要に応じて、当業者は任意の他の経路を容易に選択し得る。

【０２３１】

<u>処置法における使用</u>

実施例4および5に示すとおり、本発明のADCは処置、特にがんの処置のために使用することができる。したがって、本発明はさらに、疾患を処置する方法であって、任意にその必要がある対象または患者に本発明のADCまたは本発明の薬学的組成物の有効量を投与する段階を含む、方法における使用のための、本発明のADCまたは本発明の薬学的組成物に関する。好ましくは、疾患はCD30の過剰発現に関連する。疾患は、CD30の過剰発現に関連するがんであってもよい。より好ましくは、疾患は、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、大細胞型B細胞リンパ腫、小児リンパ腫、T細胞リンパ腫および腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（GvHD）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（SLE）、好ましくはホジキンリンパ腫（HL）または未

分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）からなる群より選択される。疾患は、末梢Ｔ細胞リンパ腫-非特異型（ＰＴＣＬ-ＮＯＳ）、血管免疫芽球性Ｔ細胞リンパ腫（ＡＩＴＬ）、腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、成人Ｔ細胞白血病/リンパ腫（ＡＴＬＬ）、節外性ナチュラルキラー/Ｔ細胞リンパ腫（ＥＮＫＴＣＬ）、肝脾および腸γ/δ-Ｔ細胞リンパ腫、ＴＦＨ形質を伴う節性末梢性Ｔ細胞リンパ腫、ならびに濾胞性Ｔ細胞リンパ腫からなる群より選択されてもよい。疾患は、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）を含む、末梢性Ｔ細胞リンパ腫（ＰＴＣＬ）であってもよい。疾患は、原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（ｐｃＡＬＣＬ）を含む、皮膚Ｔ細胞リンパ腫（ＣＴＣＬ）であってもよい。疾患はホジキンリンパ腫（ＨＬ）であってもよい。

【０２３２】

本発明はまた、疾患を処置するための医薬の製造のための、本発明のＡＤＣの使用にも関する。本発明はまた、疾患を処置するための医薬の製造のための、本発明の薬学的組成物の使用にも関する。好ましくは、疾患はＣＤ３０の過剰発現に関連する。疾患は、ＣＤ３０の過剰発現に関連するがんであってもよい。より好ましくは、疾患は、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（ＨＬ）、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）、大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、小児リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫および腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、好ましくはホジキンリンパ腫（ＨＬ）または未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）からなる群より選択される。疾患は、末梢Ｔ細胞リンパ腫-非特異型（ＰＴＣＬ-ＮＯＳ）、血管免疫芽球性Ｔ細胞リンパ腫（ＡＩＴＬ）、腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、成人Ｔ細胞白血病/リンパ腫（ＡＴＬＬ）、節外性ナチュラルキラー/Ｔ細胞リンパ腫（ＥＮＫＴＣＬ）、肝脾および腸γ/δ-Ｔ細胞リンパ腫、ＴＦＨ形質を伴う節性末梢性Ｔ細胞リンパ腫、ならびに濾胞性Ｔ細胞リンパ腫からなる群より選択されてもよい。疾患は、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）を含む、末梢性Ｔ細胞リンパ腫（ＰＴＣＬ）であってもよい。疾患は、原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（ｐｃＡＬＣＬ）を含む、皮膚Ｔ細胞リンパ腫（ＣＴＣＬ）であってもよい。疾患はホジキンリンパ腫（ＨＬ）であってもよい。

【０２３３】

本発明はまた、疾患を処置する方法であって、その必要がある対象または患者に本発明のＡＤＣの有効量を投与する段階を含む、方法にも関する。本発明はまた、疾患を処置する方法であって、その必要がある対象または患者に本発明の薬学的組成物の有効量を投与する段階を含む、方法にも関する。好ましくは、疾患はＣＤ３０の過剰発現に関連する。疾患は、ＣＤ３０の過剰発現に関連するがんであってもよい。より好ましくは、疾患は、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（ＨＬ）、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）、大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、小児リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫および腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、好ましくはホジキンリンパ腫（ＨＬ）または未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）からなる群より選択される。疾患は、限定されないが、末梢Ｔ細胞リンパ腫-非特異型（ＰＴＣＬ-ＮＯＳ）、血管免疫芽球性Ｔ細胞リンパ腫（ＡＩＴＬ）、腸症関連Ｔ細胞リンパ腫（ＥＡＴＬ）、成人Ｔ細胞白血病/リンパ腫（ＡＴＬＬ）、節外性ナチュラルキラー/Ｔ細胞リンパ腫（ＥＮＫＴＣＬ）、肝脾および腸γ/δ-Ｔ細胞リンパ腫、ＴＦＨ形質を伴う節性末梢性Ｔ細胞リンパ腫、または濾胞性Ｔ細胞リンパ腫であってもよい。疾患は、未分化大細胞リンパ腫（ＡＬＣＬ）を含む末梢性Ｔ細胞リンパ腫（ＰＴＣＬ）、または原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（ｐｃＡＬＣＬ）を含む皮膚Ｔ細胞リンパ腫（ＣＴＣＬ）であってもよい。疾患はホジキンリンパ腫（ＨＬ）であってもよい。

【０２３４】

「有効量」なる語句は、単独でまたは別の治療剤と組み合わせて使用する場合、対象を疾患の発症から保護するか、あるいは疾患症状の重症度の減少、疾患症状のない期間の頻度および期間の増加、または疾患の苦痛による欠陥もしくは障害の予防によって証明され

る疾患退縮を促進する、治療剤（例えば、本発明のADC）の量を指す。疾患退縮を促進する治療剤の能力は、臨床試験中のヒト対象で、ヒトにおける有効性を予測する動物モデル系で、またはインビトロ検定における前記剤の活性の検定によるなどの、当業者には公知の様々な方法を用いて評価することができる。正確な量は処置の目的に依存することになり、当業者であれば公知の技術（例えば、Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding参照）を用いて確認できるであろう。

【０２３５】

さらに、本発明は、患者のがんを処置する方法における使用のための、本明細書において開示する抗体薬物コンジュゲートに関する。「患者」なる用語は、本発明によれば、ヒト、非ヒト霊長類または別の動物、特に、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、または、マウスおよびラットなどのげっ歯類などの哺乳動物を意味する。特に好ましい態様において、患者はヒトである。特に記載がないかぎり、「患者」または「対照」なる用語は本明細書において交換可能に使用される。「処置」なる用語は、すべてのその文法的形態において、治療的または予防的処置を含む。「治療的または予防的処置」は、臨床および/または病理学的症状の完全な予防を目的とした予防的処置、または臨床および/または病理学的症状の改善もしくは寛解を目的とした治療的処置を含む。したがって、「処置」なる用語には、疾患の改善または予防も含まれる。

【０２３６】

本発明のADCは、治療的に有効な任意の用量で投与してもよい。上限は通常は、副作用に関して投与しても安全な用量である。典型的には、本発明のADCは0.5～20mg/kgの（有効）用量で投与してもよい。本発明のADCは1～10mg/kgの（有効）用量で投与してもよい。本発明のADCは1～9mg/kgの（有効）用量で投与してもよい。本発明のADCは1.2～9mg/kgの（有効）用量で投与してもよい。本発明のADCは1.8～8mg/kgの（有効）用量で投与してもよい。本発明のADCは2～6mg/kgの（有効）用量で投与してもよい。実例として、本発明のADCは、20mg/kg、18mg/kg、16mg/kg、14mg/kg、12mg/kg、10mg/kg、9mg/kg、8mg/kg、7mg/kg、6mg/kg、5mg/kg、4mg/kg、3mg/kg、2mg/kg、または1mg/kgの（有効）用量で投与してもよい。有利または必要と考えられる場合は、他の用量も可能である。

【０２３７】

本発明のADCは、他の剤、特に抗がん薬、またはそのような剤の効果を増強する化合物と共投与してもよい。共投与は逐次投与および同時投与を含む。適切な抗がん薬には、例えば、本明細書に記載の1つまたは複数の薬物部分が含まれる。本発明のADCは、シクロホスファミド、ドキソルビシンおよびプレドニゾン（CHPスキーム）と共投与してもよい。本発明のADCは、特に免疫調節薬、チェックポイント阻害物質、化学療法薬（例えばシクロホスファミド、塩酸ドキソルビシン（ヒドロキシダウノルビシン）、硫酸ビンクリスチン（オンコビン）、およびプレドニゾン（CHOPスキーム）エトポシド、ビンクリスチン、クロルメチン）、タンパク質阻害物質のような抗がん薬と共投与してもよい。

【０２３８】

「腫瘍」とは、誤制御された細胞増殖によって形成された細胞群または組織、特にがんを意味する。腫瘍は、構造的構成および正常組織との機能的協調を部分的または完全に欠くことがあり、通常は組織の明確な塊を形成し、これは良性または悪性であり得る。特に、「腫瘍」なる用語は悪性腫瘍を指す。１つの態様によれば、「腫瘍」または「腫瘍細胞」なる用語は、非固形がんおよび白血病細胞などの非固形がんの細胞も指す。別の態様によれば、それぞれの非固形がんまたはその細胞は、「腫瘍」および「腫瘍細胞」なる用語には包含されない。

【０２３９】

「転移」とは、がん細胞が元の部位から体の別の部分に伝播することを意味する。転移の形成は非常に複雑なプロセスであり、通常はがん細胞が原発腫瘍から脱離し、体循環に入り、体内の他の正常組織内で定着して増殖することを含む。腫瘍細胞が転移すると、新

しい腫瘍は二次腫瘍または転移腫瘍と呼ばれ、その細胞は通常は元の腫瘍の細胞と似ている。つまり、例えば、乳がんが肺に転移すると、二次腫瘍は異常な肺細胞ではなく、異常な乳房細胞からなる。したがって肺の腫瘍は、肺がんではなく、転移乳がんと呼ばれる。

【０２４０】

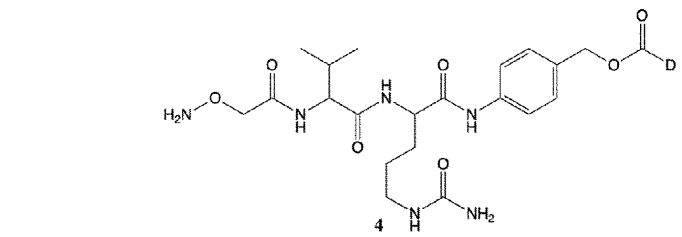
本発明の例示的ＡＤＣ

以下の表において、例示的ＡＤＣの概要を開示する。これらの例示的ＡＤＣにおいて、非天然アミノ酸は3-ホルミルチロシンであり、薬物部分（Ｄ）は本明細書において定義する薬物部分、好ましくはＭＭＡＥである。

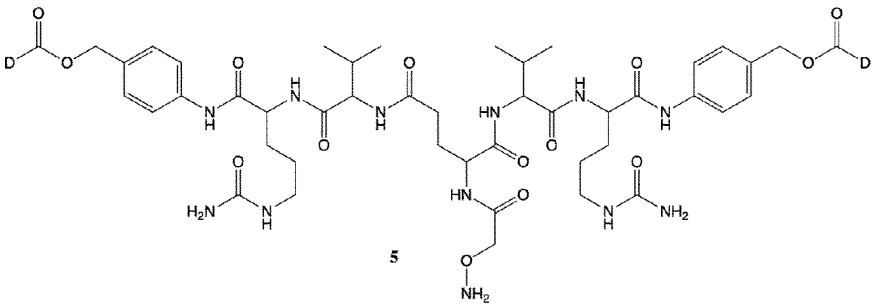
ブレンツキシマブ軽鎖	ブレンツキシマブ重鎖	リンカー
SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 12 (TTL認識配列を含む)	構造４
SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 12	構造５
SEQ ID NO: 11 (TTL認識配列を含む)	SEQ ID NO: 1	構造４
SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 1	構造５
SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO:12	構造４
SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12	構造５
SEQ ID NO: 14 (TTL認識配列を含む)	SEQ ID NO: 1	構造４
SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 1	構造５
SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 12	構造４
SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 12	構造５

【０２４１】

構造4および5は、以下に繰り返される：



4



5

。

【０２４２】

いくつかの態様において、本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）に関し、前記ＡＤＣは、

（ａ）各軽鎖のＣ末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって、

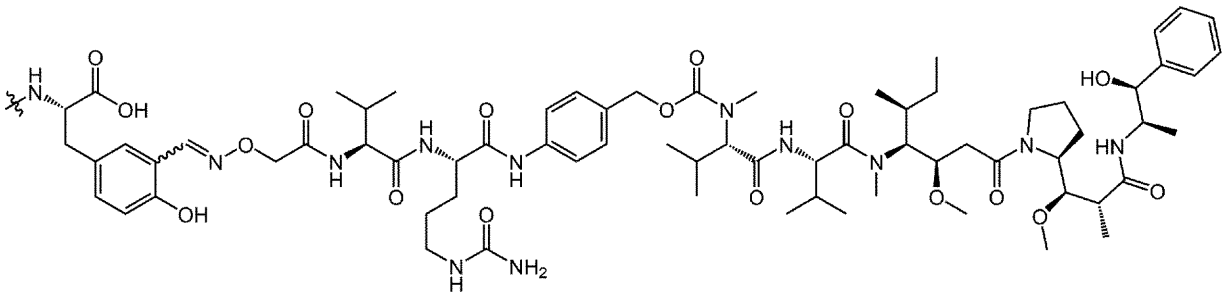
認識配列を含む各軽鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１を有し；かつ

ブレンツキシマブの各重鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１を有する、

ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（ｂ）各軽鎖の認識配列のＣ末端は、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線は各軽鎖の認識配列のＣ末端への結合を示す。

【０２４３】

いくつかの態様において、本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）に関し、前記ＡＤＣは、

（ａ）各重鎖のＣ末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって、

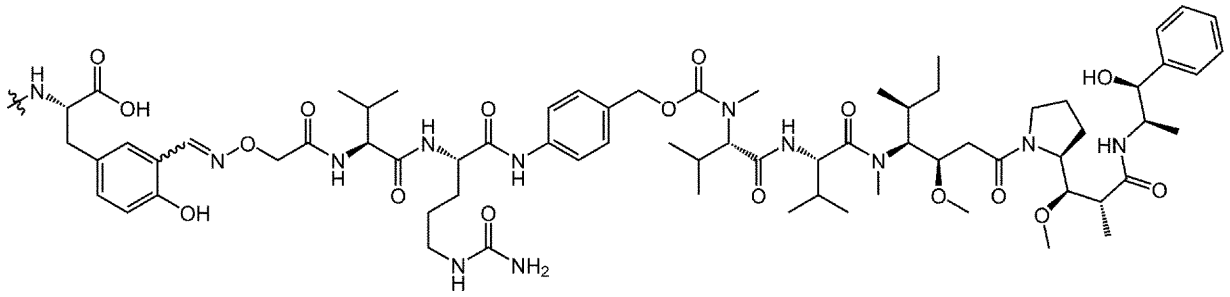
認識配列を含む各重鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１２を有し；かつ

ブレンツキシマブの各軽鎖がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２を有する、

ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（ｂ）各重鎖の認識配列のＣ末端は、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線は各重鎖の認識配列のC末端への結合を示す。

【０２４４】

いくつかの態様において、本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）に関し、前記ＡＤＣは、

（ａ）各重鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって；

認識配列を含む各重鎖がSEQ ID NO: 12を有し；かつ

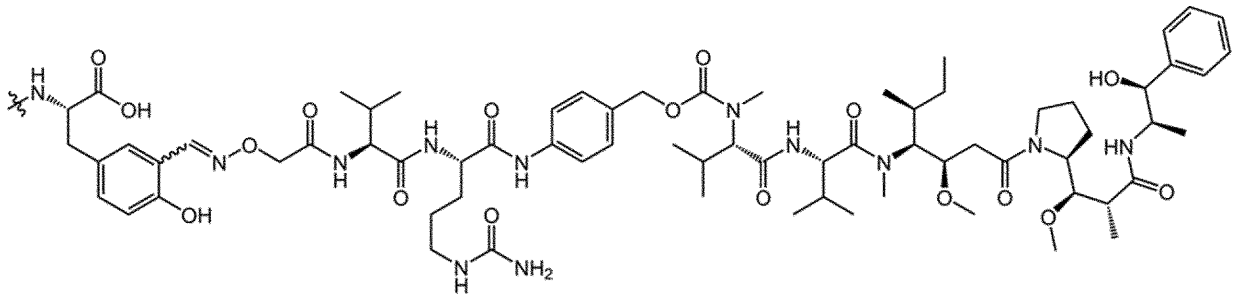
ブレンツキシマブが、各軽鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含み；

認識配列を含む各軽鎖がSEQ ID NO: 11を有する、

ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（ｂ）各重鎖の認識配列のC末端および各軽鎖の認識配列のC末端は、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線は各重鎖の認識配列のC末端および各軽鎖の認識配列のC末端への結合を示す。

【０２４５】

いくつかの態様において、本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）に関し、前記ＡＤＣは、

（ａ）各軽鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって、

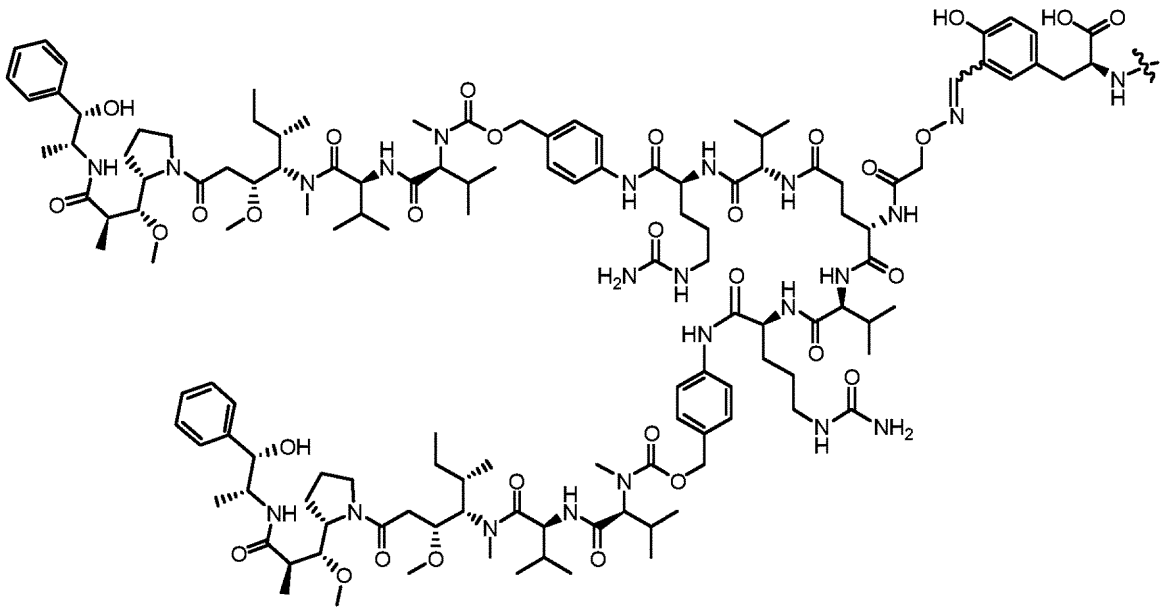
認識配列を含む各軽鎖がSEQ ID NO: 11を有し；かつ

ブレンツキシマブの各重鎖がSEQ ID NO: 1を有する、

ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（ｂ）各軽鎖の認識配列のC末端は、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線は各軽鎖の認識配列のC末端への結合を示す。いくつかの態様において、本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ADC）に関し、前記ADCは、

（a）各軽鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって、

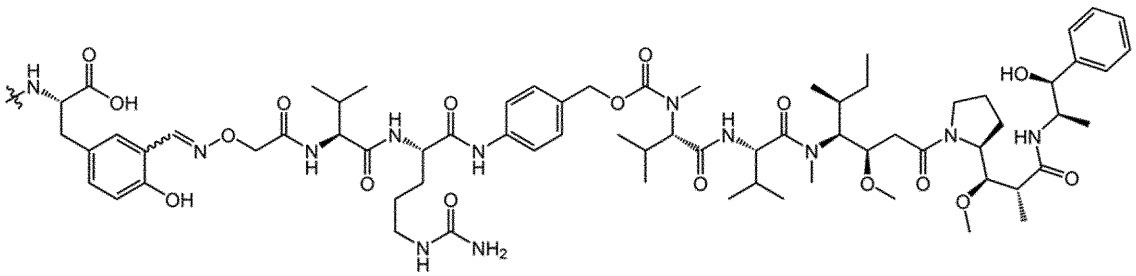
認識配列を含む各軽鎖がSEQ ID NO: 14を有し；かつ

ブレンツキシマブの各重鎖がSEQ ID NO: 1を有する、

ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（b）各軽鎖の認識配列のC末端は、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線は各軽鎖の認識配列のC末端への結合を示す。

【０２４６】

いくつかの態様において、本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ADC）に関し、前記ADCは、

（a）各重鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって；

認識配列を含む各重鎖がSEQ ID NO: 12を有し；かつ

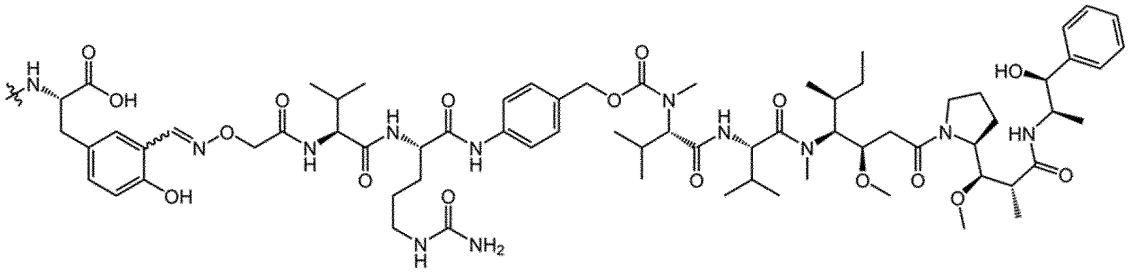
ブレンツキシマブが、各軽鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含み；

認識配列を含む各軽鎖がSEQ ID NO: 14を有する、

ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（b）各重鎖の認識配列のC末端および各軽鎖の認識配列のC末端は、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線は各重鎖の認識配列のC末端および各軽鎖の認識配列のC末端への結合を示す。

【０２４７】

いくつかの態様において、本発明は、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）に関し、前記ＡＤＣは、

（ａ）各軽鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって、

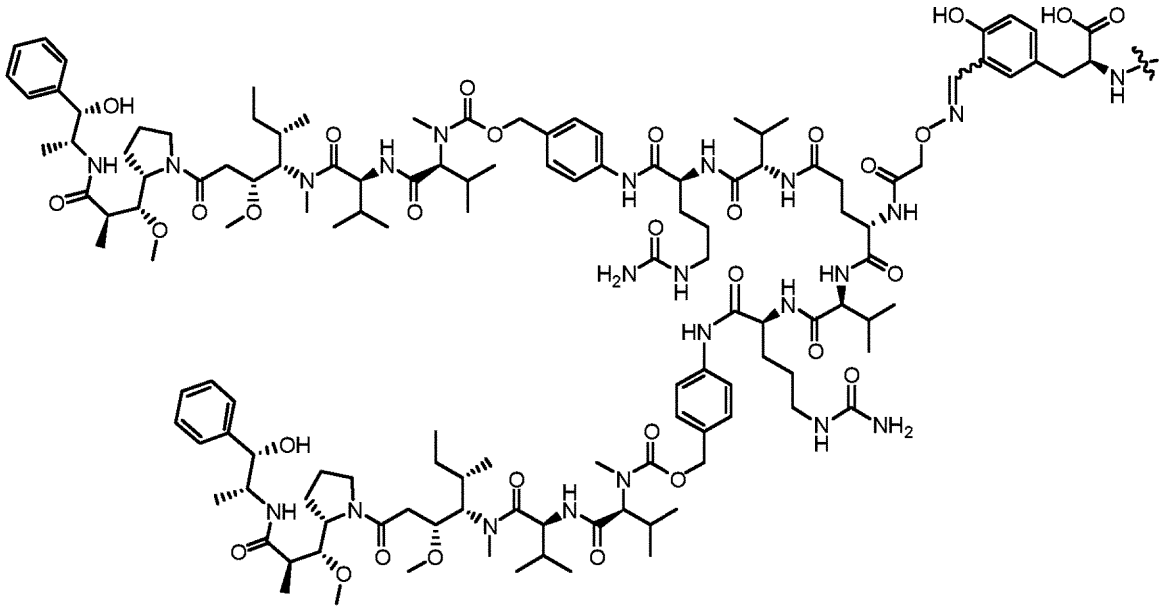
認識配列を含む各軽鎖がSEQ ID NO: 14を有し；かつ

ブレンツキシマブの各重鎖がSEQ ID NO: 1を有する、

ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（ｂ）各軽鎖の認識配列のC末端は、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線は各軽鎖の認識配列のC末端への結合を示す。

【０２４８】

<u>配列</u>

本開示は、特に、以下の配列を参照する。

ブレンツキシマブ/cAC10重鎖（SEQ ID NO: 1）：

Gln-Ile-Gln-Leu-Gln-Gln-Ser-Gly-Pro-Glu-Val-Val-Lys-Pro-Gly-Ala-Ser-Val-Lys-Ile-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gly-Tyr-Thr-Phe-Thr-Asp-Tyr-Tyr-Ile-Thr-Trp-Val-Lys-Gln-Lys-Pro-Gly-Gln-Gly-Leu-Glu-Trp-Ile-Gly-Trp-Ile-Tyr-Pro-Gly-Ser-Gly-Asn-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly-Lys-Ala-Thr-Leu-Thr-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Ser-Thr-Ala-Phe-Met-Gln-Leu-Ser-Ser-Leu-Thr-Ser-Glu-Asp-Thr-Ala-Val-Tyr-Phe-Cys-Ala-Asn-Tyr-Gly-Asn-Tyr-Trp-Phe-Ala-Tyr-Trp-Gly-Gln-Gly-Thr-Gln-Val-Thr-Val-Ser-Ala-Ala-Ser-Thr-Lys-Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Pro-Leu-Ala-Pro-Ser-Ser-Lys-Ser-Thr-Ser-Gly-Gly-Thr-Ala-Ala-Leu-Gly-Cys-Leu-Val-Lys-Asp-Tyr-Phe-Pro-Glu-Pro-Val-Thr-Val-Ser-Trp-Asn-Ser-Gly-Ala-Leu-Thr-Ser-Gly-Val-His-Thr-Phe-Pro-Ala-Val-Leu-Gln-Ser-Ser-Gly-Leu-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Val-Val-Thr-Val-Pro-Ser-Ser-Ser-Leu-Gly-Thr-Gln-Thr-Tyr-Ile-Cys-Asn-Val-Asn-His-Lys-Pro-Ser-Asn-Thr-Lys-Val-Asp-Lys-Lys-Val-Glu-Pro-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys-Thr-His-Thr-Cys-Pro-Pro-Cys-Pro-Ala-Pro-Glu-Leu-Leu-Gly-Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Leu-Phe-Pro-Pro-Lys-Pro-Lys-Asp-Thr-Leu-Met-Ile-Ser-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Thr-Cys-Val-Val-Val-Asp-Val-Ser-His-Glu-Asp-Pro-Glu-Val-Lys-Phe-Asn-Trp-Tyr-Val-Asp-Gly-Val-Glu-Val-His-Asn-Ala-Lys-Thr-Lys-Pro-Arg-Glu-Glu-Gln-Tyr-Asn-Ser-Thr-Tyr-Arg-Val-Val-Ser-Val-Leu-Thr-Val-Leu-His-Gln-Asp-Trp-Leu-Asn-Gly-Lys-Glu-Tyr-Lys-Cys-Lys-Val-Ser-Asn-Lys-Ala-Leu-Pro-Ala-Pro-Ile-Glu-Lys-Thr-Ile-Ser-Lys-Ala-Lys-Gly-Gln-Pro-Arg-Glu-Pro-Gln-Val-Tyr-Thr-Leu-Pro-Pro-Ser-Arg-Asp-Glu-Leu-Thr-Lys-Asn-Gln-Val-Ser-Leu-Thr-Cys-Leu-Val-Lys-Gly-Phe-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ile-Ala-Val-Glu-Trp-Glu-Ser-Asn-Gly-Gln-Pro-Glu-Asn-Asn-Tyr-Lys-Thr-Thr-Pro-Pro-Val-Leu-Asp-Ser-Asp-Gly-Ser-Phe-Phe-Leu-Tyr-Ser-Lys-Leu-Thr-Val-Asp-Lys-Ser-Arg-Trp-Gln-Gln-Gly-Asn-Val-Phe-Ser-Cys-Ser-Val-Met-His-Glu-Ala-Leu-His-Asn-His-Tyr-Thr-Gln-Lys-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser-Pro-Gly-Lys

ブレンツキシマブ/cAC10軽鎖（SEQ ID NO: 2）：

Asp-Ile-Val-Leu-Thr-Gln-Ser-Pro-Ala-Ser-Leu-Ala-Val-Ser-Leu-Gly-Gln-Arg-Ala-Thr-Ile-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gln-Ser-Val-Asp-Phe-Asp-Gly-Asp-Ser-Tyr-Met-Asn-Trp-Tyr-Gln-Gln-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Pro-Lys-Val-Leu-Ile-Tyr-Ala-Ala-Ser-Asn-Leu-Glu-Ser-Gly-Ile-Pro-Ala-Arg-Phe-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Thr-Asp-Phe-Thr-Leu-Asn-Ile-His-Pro-Val-Glu-Glu-Glu-Asp-Ala-Ala-Thr-Tyr-Tyr-Cys-Gln-Gln-Ser-Asn-Glu-Asp-Pro-Trp-Thr-Phe-Gly-Gly-Gly-Thr-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Thr-Val-Ala-Ala-Pro-Ser-Val-Phe-Ile-Phe-Pro-Pro-Ser-Asp-Glu-Gln-Leu-Lys-Ser-Gly-Thr-Ala-Ser-Val-Val-Cys-Leu-Leu-Asn-Asn-Phe-Tyr-Pro-Arg-Glu-Ala-Lys-Val-Gln-Trp-Lys-Val-Asp-Asn-Ala-Leu-Gln-Ser-Gly-Asn-Ser-Gln-Glu-Ser-Val-Thr-Glu-Gln-Asp-Ser-Lys-Asp-Ser-Thr-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Thr-Leu-Thr-Leu-Ser-Lys-Ala-Asp-Tyr-Glu-Lys-His-Lys-Val-Tyr-Ala-Cys-Glu-Val-Thr-His-Gln-Gly-Leu-Ser-Ser-Pro-Val-Thr-Lys-Ser-Phe-Asn-Arg-Gly-Glu-Cys

TTL認識配列（SEQ ID NO: 3）：

Xaa_1-Xaa_2-Xaa_3-Glu、

ここで、

Xaa_1は任意のアミノ酸であり；実例として、Xaa_1はGlu、Asp、Ala、Lys、またはProであってもよく；

Xaa_2は任意のアミノ酸であり；実例として、Xaa_2はGly、Ser、Ala、Val、またはPheであってもよく；かつ

Xaa$_3$はGlu、AspまたはCysである。

TTL認識配列（SEQ ID NO: 4）：
Glu-Gly-Glu-Glu

TTL認識配列（SEQ ID NO: 5）：
Val-Asp-Ser-Val-Glu-Gly-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

TTL認識配列（SEQ ID NO: 6）：
Ser-Val-Glu-Gly-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

TTL認識配列（SEQ ID NO: 7）：
Ser-Ala-Asp-Gly-Glu-Asp-Glu-Gly-Glu-Glu

TTL認識配列（SEQ ID NO: 8）：
Ser-Val-Glu-Ala-Glu-Ala-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

TTL認識配列（SEQ ID NO: 9）：
Ser-Tyr-Glu-Asp-Glu-Asp-Glu-Gly-Glu-Glu

TTL認識配列（SEQ ID NO: 10）：
Ser-Phe-Glu-Glu-Glu-Asn-Glu-Gly-Glu-Glu

Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-リンカー、およびC末端にTTL認識配列を含む、ブレンツキシマブ軽鎖（SEQ ID NO: 11）：
Asp-Ile-Val-Leu-Thr-Gln-Ser-Pro-Ala-Ser-Leu-Ala-Val-Ser-Leu-Gly-Gln-Arg-Ala-Thr-Ile-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gln-Ser-Val-Asp-Phe-Asp-Gly-Asp-Ser-Tyr-Met-Asn-Trp-Tyr-Gln-Gln-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Pro-Lys-Val-Leu-Ile-Tyr-Ala-Ala-Ser-Asn-Leu-Glu-Ser-Gly-Ile-Pro-Ala-Arg-Phe-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Thr-Asp-Phe-Thr-Leu-Asn-Ile-His-Pro-Val-Glu-Glu-Glu-Asp-Ala-Ala-Thr-Tyr-Tyr-Cys-Gln-Gln-Ser-Asn-Glu-Asp-Pro-Trp-Thr-Phe-Gly-Gly-Gly-Thr-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Thr-Val-Ala-Ala-Pro-Ser-Val-Phe-Ile-Phe-Pro-Pro-Ser-Asp-Glu-Gln-Leu-Lys-Ser-Gly-Thr-Ala-Ser-Val-Val-Cys-Leu-Leu-Asn-Asn-Phe-Tyr-Pro-Arg-Glu-Ala-Lys-Val-Gln-Trp-Lys-Val-Asp-Asn-Ala-Leu-Gln-Ser-Gly-Asn-Ser-Gln-Glu-Ser-Val-Thr-Glu-Gln-Asp-Ser-Lys-Asp-Ser-Thr-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Thr-Leu-Thr-Leu-Ser-Lys-Ala-Asp-Tyr-Glu-Lys-His-Lys-Val-Tyr-Ala-Cys-Glu-Val-Thr-His-Gln-Gly-Leu-Ser-Ser-Pro-Val-Thr-Lys-Ser-Phe-Asn-Arg-Gly-Glu-Cys-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-Val-Asp-Ser-Val-Glu-Gly-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

C末端のTTL認識配列に連合した、ブレンツキシマブ重鎖（SEQ ID NO: 12）：

Gln-Ile-Gln-Leu-Gln-Gln-Ser-Gly-Pro-Glu-Val-Val-Lys-Pro-Gly-Ala-Ser-Val-Lys-Ile-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gly-Tyr-Thr-Phe-Thr-Asp-Tyr-Tyr-Ile-Thr-Trp-Val-Lys-Gln-Lys-Pro-Gly-Gln-Gly-Leu-Glu-Trp-Ile-Gly-Trp-Ile-Tyr-Pro-Gly-Ser-Gly-Asn-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly-Lys-Ala-Thr-Leu-Thr-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Ser-Thr-Ala-Phe-Met-Gln-Leu-Ser-Ser-Leu-Thr-Ser-Glu-Asp-Thr-Ala-Val-Tyr-Phe-Cys-Ala-Asn-Tyr-Gly-Asn-Tyr-Trp-Phe-Ala-Tyr-Trp-Gly-Gln-Gly-Thr-Gln-Val-Thr-Val-Ser-Ala-Ala-Ser-Thr-Lys-Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Pro-Leu-Ala-Pro-Ser-Ser-Lys-Ser-Thr-Ser-Gly-Gly-Thr-Ala-Ala-Leu-Gly-Cys-Leu-Val-Lys-Asp-Tyr-Phe-Pro-Glu-Pro-Val-Thr-Val-Ser-Trp-Asn-Ser-Gly-Ala-Leu-Thr-Ser-Gly-Val-His-Thr-Phe-Pro-Ala-Val-Leu-Gln-Ser-Ser-Gly-Leu-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Val-Val-Thr-Val-Pro-Ser-Ser-Ser-Leu-Gly-Thr-Gln-Thr-Tyr-Ile-Cys-Asn-Val-Asn-His-Lys-Pro-Ser-Asn-Thr-Lys-Val-Asp-Lys-Lys-Val-Glu-Pro-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys-Thr-His-Thr-Cys-Pro-Pro-Cys-Pro-Ala-Pro-Glu-Leu-Leu-Gly-Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Leu-Phe-Pro-Pro-Lys-Pro-Lys-Asp-Thr-Leu-Met-Ile-Ser-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Thr-Cys-Val-Val-Val-Asp-Val-Ser-His-Glu-Asp-Pro-Glu-Val-Lys-Phe-Asn-Trp-Tyr-Val-Asp-Gly-Val-Glu-Val-His-Asn-Ala-Lys-Thr-Lys-Pro-Arg-Glu-Glu-Gln-Tyr-Asn-Ser-Thr-Tyr-Arg-Val-Val-Ser-Val-Leu-Thr-Val-Leu-His-Gln-Asp-Trp-Leu-Asn-Gly-Lys-Glu-Tyr-Lys-Cys-Lys-Val-Ser-Asn-Lys-Ala-Leu-Pro-Ala-Pro-Ile-Glu-Lys-Thr-Ile-Ser-Lys-Ala-Lys-Gly-Gln-Pro-Arg-Glu-Pro-Gln-Val-Tyr-Thr-Leu-Pro-Pro-Ser-Arg-Asp-Glu-Leu-Thr-Lys-Asn-Gln-Val-Ser-Leu-Thr-Cys-Leu-Val-Lys-Gly-Phe-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ile-Ala-Val-Glu-Trp-Glu-Ser-Asn-Gly-Gln-Pro-Glu-Asn-Asn-Tyr-Lys-Thr-Thr-Pro-Pro-Val-Leu-Asp-Ser-Asp-Gly-Ser-Phe-Phe-Leu-Tyr-Ser-Lys-Leu-Thr-Val-Asp-Lys-Ser-Arg-Trp-Gln-Gln-Gly-Asn-Val-Phe-Ser-Cys-Ser-Val-Met-His-Glu-Ala-Leu-His-Asn-His-Tyr-Thr-Gln-Lys-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser-Pro-Gly-Lys-Val-Asp-Ser-Val-Glu-Gly-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

ハイイロオオカミ（canis lupus）由来TTL（SEQ ID NO: 13）：

Met-Tyr-Thr-Phe-Val-Val-Arg-Asp-Glu-Asn-Ser-Ser-Val-Tyr-Ala-Glu-Val-Ser-Arg-Leu-Leu-Leu-Ala-Thr-Gly-His-Trp-Lys-Arg-Leu-Arg-Arg-Asp-Asn-Pro-Arg-Phe-Asn-Leu-Met-Leu-Gly-Glu-Arg-Asn-Arg-Leu-Pro-Phe-Gly-Arg-Leu-Gly-His-Glu-Pro-Gly-Leu-Met-Gln-Leu-Val-Asn-Tyr-Tyr-Arg-Gly-Ala-Asp-Lys-Leu-Cys-Arg-Lys-Ala-Ser-Leu-Val-Lys-Leu-Ile-Lys-Thr-Ser-Pro-Asp-Leu-Ala-Glu-Ser-Cys-Thr-Trp-Phe-Pro-Glu-Ser-Tyr-Val-Ile-Tyr-Pro-Thr-Asn-Leu-Lys-Thr-Pro-Val-Ala-Pro-Ala-Gln-Asn-Gly-Ile-His-Pro-Pro-Ile-His-Asn-Ser-Arg-Thr-Asp-Glu-Arg-Glu-Phe-Phe-Leu-Ala-Ser-Tyr-Asn-Arg-Lys-Lys-Glu-Asp-Gly-Glu-Gly-Asn-Val-Trp-Ile-Ala-Lys-Ser-Ser-Ala-Gly-Ala-Lys-Gly-Glu-Gly-Ile-Leu-Ile-Ser-Ser-Glu-Ala-Thr-Glu-Leu-Leu-Asp-Phe-Ile-Asp-Asn-Gln-Gly-Gln-Val-His-Val-Ile-Gln-Lys-Tyr-Leu-Glu-His-Pro-Leu-Leu-Leu-Glu-Pro-Gly-His-Arg-Lys-Phe-Asp-Ile-Arg-Ser-Trp-Val-Leu-Val-Asp-His-Gln-Tyr-Asn-Ile-Tyr-Leu-Tyr-Lys-Glu-Gly-Val-Leu-Arg-Thr-Ala-Ser-Glu-Pro-Tyr-His-Val-Asp-Asn-Phe-Gln-Asp-Lys-Thr-Cys-His-Leu-Thr-Asn-His-Cys-Ile-Gln-Lys-Glu-Tyr-Ser-Lys-Asn-Tyr-Gly-Lys-Tyr-Glu-Glu-Gly-Asn-Glu-Met-Phe-Phe-Glu-Glu-Phe-Asn-Gln-Tyr-Leu-Ile-Ser-Ala-Leu-Asn-Ile-Thr-Leu-Glu-Ser-Ser-Ile-Leu-Leu-Gln-Ile-Lys-His-Ile-Ile-Arg-Ser-Cys-Leu-Met-Ser-Val-Glu-Pro-Ala-Ile-Ser-Thr-Arg-Tyr-Leu-Pro-Tyr-Gln-Ser-Phe-Gln-Leu-Phe-Gly-Phe-Asp-Phe-Met-Val-Asp-Glu-Thr-Leu-Lys-Val-Trp-Leu-Ile-Glu-Val-Asn-Gly-Ala-Pro-Ala-Cys-Ala-Gln-Arg-Leu-Tyr-Ala-Glu-Leu-Cys-Gln-Gly-Ile-Val-Asp-Ile-Ala-Ile-Ser-Ser-Val-Phe-Pro-Pro-Pro-Asp-Val-Glu-Pro-Gln-His-Ile-Gln-Pro-Ala-Ala-Phe-Ile-Lys-Leu

C末端にTTL認識配列を含む、ブレンツキシマブ軽鎖（SEQ ID NO: 14）：
Asp-Ile-Val-Leu-Thr-Gln-Ser-Pro-Ala-Ser-Leu-Ala-Val-Ser-Leu-Gly-Gln-Arg-Ala-Thr-Ile-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gln-Ser-Val-Asp-Phe-Asp-Gly-Asp-Ser-Tyr-Met-Asn-Trp-Tyr-Gln-Gln-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Pro-Lys-Val-Leu-Ile-Tyr-Ala-Ala-Ser-Asn-Leu-Glu-Ser-Gly-Ile-Pro-Ala-Arg-Phe-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Thr-Asp-Phe-Thr-Leu-Asn-Ile-His-Pro-Val-Glu-Glu-Glu-Asp-Ala-Ala-Thr-Tyr-Tyr-Cys-Gln-Gln-Ser-Asn-Glu-Asp-Pro-Trp-Thr-Phe-Gly-Gly-Gly-Thr-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Thr-Val-Ala-Ala-Pro-Ser-Val-Phe-Ile-Phe-Pro-Pro-Ser-Asp-Glu-Gln-Leu-Lys-Ser-Gly-Thr-Ala-Ser-Val-Val-Cys-Leu-Leu-Asn-Asn-Phe-Tyr-Pro-Arg-Glu-Ala-Lys-Val-Gln-Trp-Lys-Val-Asp-Asn-Ala-Leu-Gln-Ser-Gly-Asn-Ser-Gln-Glu-Ser-Val-Thr-Glu-Gln-Asp-Ser-Lys-Asp-Ser-Thr-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Thr-Leu-Thr-Leu-Ser-Lys-Ala-Asp-Tyr-Glu-Lys-His-Lys-Val-Tyr-Ala-Cys-Glu-Val-Thr-His-Gln-Gly-Leu-Ser-Ser-Pro-Val-Thr-Lys-Ser-Phe-Asn-Arg-Gly-Glu-Cys-Val-Asp-Ser-Val-Glu-Gly-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

【０２４９】
本発明の項目
本発明はさらに、以下の項目に関する。
1．（ａ）ブレンツキシマブの軽鎖のC末端、重鎖のC末端、または重鎖および軽鎖の全てのC末端に、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列と、非天然アミノ酸とを含む、ブレンツキシマブ；ならびに
（ｂ）少なくとも1つの薬物部分
を含み、
ここで、薬物部分が、リンカーを介して非天然アミノ酸のそれぞれに連結している、

抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）。

２．ブレンツキシマブの重鎖が、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１を含むアミノ酸配列を有するか、もしくはＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１に対する少なくとも９５％の配列同一性を有し、かつ/またはブレンツキシマブの軽鎖が、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２を含むアミノ酸配列を有するか、もしくはＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２に対する少なくとも９５％の配列同一性を有し、好ましくは、ブレンツキシマブは、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１のアミノ酸配列からなる重鎖、およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２のアミノ酸配列からなる軽鎖からなる、項目１のＡＤＣ。

３．薬物部分が、カンプトテシン、メイタンシノイド、カリケアマイシン、デュオカルマイシン、チューブリシン、アマトキシン、ドラスタチンおよびアウリスタチン、例えばモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン二量体、放射性同位体、治療用タンパク質およびペプチド（またはそれらの断片）、核酸、ＰＲＯＴＡＣ、キナーゼ阻害物質、ＭＥＫ阻害物質、ＫＳＰ阻害物質、ならびにそれらの類縁体またはプロドラッグからなる群より選択され、好ましくは薬物部分がＭＭＡＥである、前記項目のいずれかのＡＤＣ。

４．チューブリンチロシンリガーゼの認識配列が、少なくともアミノ酸配列$X_1X_2X_3X_4$（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３）を有し、ここでX_1およびX_2が、任意のアミノ酸であり、X_3がＥ、Ｄ、もしくはＣであり、かつX_4がＥであり、好ましくはここで、X_2がＧ、Ｓ、Ａ、Ｖ、もしくはＦであり、かつ/またはX_1がＥ、Ｄ、Ａ、Ｋ、もしくはＰである、前記項目のいずれかのＡＤＣ。

５．認識配列がＥＧＥＥ（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４）であり、好ましくは認識配列が、
VDSVEGEGEEEGEE
(SEQ ID No. 5), SVEGEGEEEGEE (SEQ ID No. 6), SADGEDEGEE (SEQ ID No. 7), SVEAEAEEGEE (SEQ ID No. 8), SYEDEDEGEE (SEQ ID No. 9), または SFEEENEGEE (SEQ ID No. 10)

である、前記項目のいずれかのＡＤＣ。

６．非天然アミノ酸が、
ベンジル位で置換された、２-置換チロシン、３-置換チロシン、もしくは４-置換チロシンまたは２-置換チロシン、３-置換チロシン、もしくは４-置換チロシン誘導体
である、前記項目のいずれかのＡＤＣ。

７．３-置換チロシン誘導体または４-置換チロシン誘導体が、３-ニトロチロシン、３-アミノチロシン、３-アジドチロシン、３-ホルミルチロシン、３-アセチルチロシン、または４-アミノフェニルアラニンであり、好ましくは非天然アミノ酸が３-ホルミルチロシンである、項目６のＡＤＣ。

８．リンカーが、好ましくはプロテアーゼによって、より好ましくはカテプシンＢなどのカテプシンによって切断可能である、前記項目のいずれかのＡＤＣ。

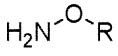
８ａ．リンカーが非切断性リンカーである、項目１～７のいずれかのＡＤＣ。

９．リンカーがバリン-シトルリン部分を含む、前記項目のいずれかのＡＤＣ。

１０．リンカーがヒドロキシルアミン基を含み、かつ非天然アミノ酸が、３-ホルミルチオルシンなどの芳香環におけるヒドロキシル基のオルト位にホルミル基を含み、ここでリンカーのヒドロキシルアミン基が、コンジュゲーション後に非天然アミノ酸のホルミル基とともにオキシムを形成する、前記項目のいずれかのＡＤＣ。

１１．ブレンツキシマブが、２、４、６、または８つ、好ましくは２または４つの薬物部分、より好ましくは２つの薬物部分にコンジュゲートしている、前記項目のいずれかのＡＤＣ。

１２．リンカーが、非天然アミノ酸に連結される前に、構造１：



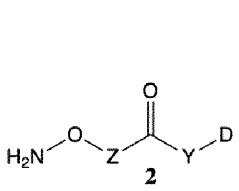
1

に示す構造を有し、

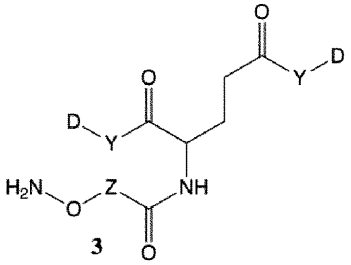
ここで、Rが、1つまたは複数の薬物部分であり、前記薬物部分が、1つまたは複数の切断部位によって構造1のヒドロキシルアミンに任意に連結され、好ましくはここで、構造1のヒドロキシルアミンが非天然アミノ酸にコンジュゲートされる、

前記項目のいずれかのADC。

13. リンカーが、非天然アミノ酸に連結される前に、構造2または3：



2



3

に示す構造を有し、

ここで、Zが、置換または無置換アルキル、置換または無置換アルケニル、置換または無置換アルキニル、置換または無置換シクロアルキル、置換または無置換アリール、置換または無置換アリールアルキル、置換または無置換ヘテロアリール、置換または無置換ヘテロアリールアルキル、置換または無置換ヘテロシクリル、置換または無置換ヘテロアルキル、置換または無置換ヘテロアルケニル、および置換または無置換ヘテロアルキニルからなる群より選択され；

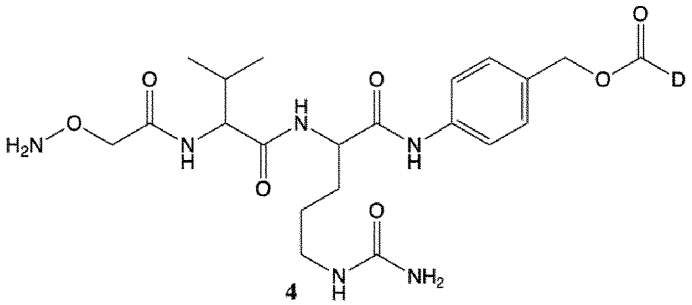
ここで、Dが、1つまたは複数の薬物部分であり；かつ

ここで、Yが、カテプシンBなどのカテプシンの切断部位などの切断部位であり；

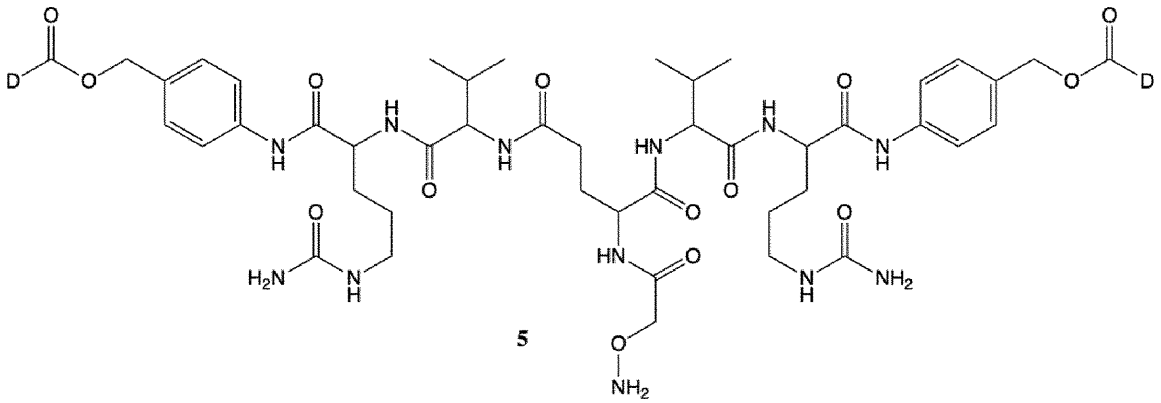
好ましくはここで、構造2または3のヒドロキシルアミンが非天然アミノ酸にコンジュゲートされる、

前記項目のいずれかのADC。

14. リンカーが、非天然アミノ酸に連結される前に、構造4または5：



4



5

に示す構造を有し、ここでDが薬物部分、好ましくはMMAEである、

前記項目のいずれかのADC。

15. DがMMAEであり、非天然アミノ酸が3-ホルミルチロシンであり、かつリンカー

のヒドロキシルアミン基が、非天然アミノ酸の3-ホルミル基とともにオキシムを形成する、項目14のADC。

16．（a）、各軽鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって；

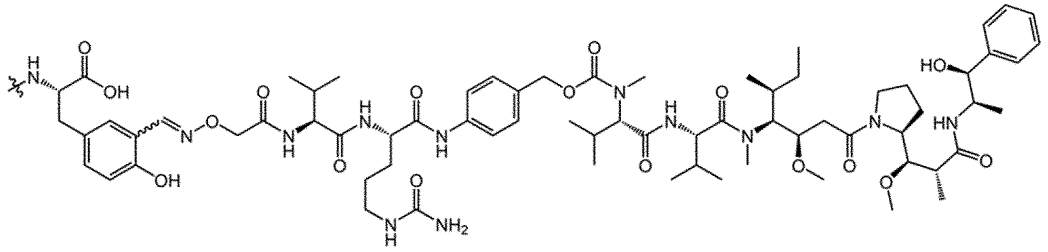
認識配列を含む各軽鎖がSEQ ID NO: 11を有し；かつ

ブレンツキシマブの各重鎖がSEQ ID NO: 1を有する、

ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（b）各軽鎖の認識配列のC末端が、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線が各軽鎖の認識配列のC末端への結合を示す、

抗体薬物コンジュゲート（ADC）。

17．（a）ブレンツキシマブ各重鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって；

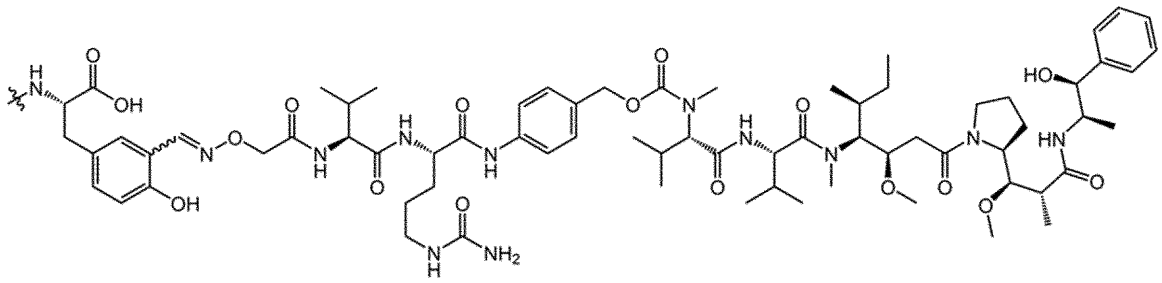
認識配列を含む各重鎖がSEQ ID NO: 12を有し；かつ

ブレンツキシマブの各軽鎖がSEQ ID NO: 2を有する、

ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（b）各重鎖の認識配列のC末端が、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、

ここで、波線が各重鎖の認識配列のC末端への結合を示す、

抗体薬物コンジュゲート（ADC）。

18．（a）各重鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって、；

認識配列を含む各重鎖がSEQ ID NO: 12を有し；かつ

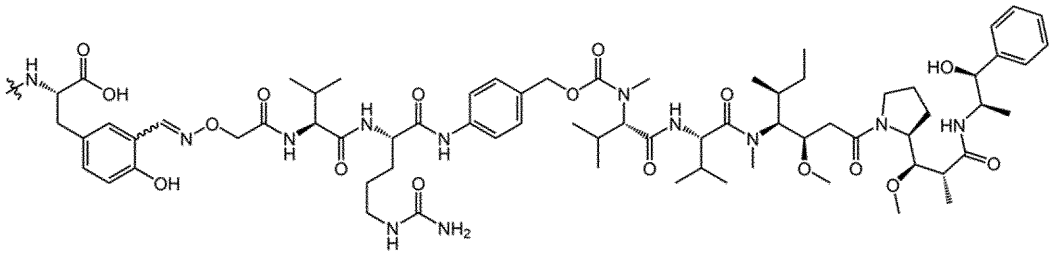
ブレンツキシマブが、各軽鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含み；

認識配列を含む各軽鎖がSEQ ID NO: 11を有する、

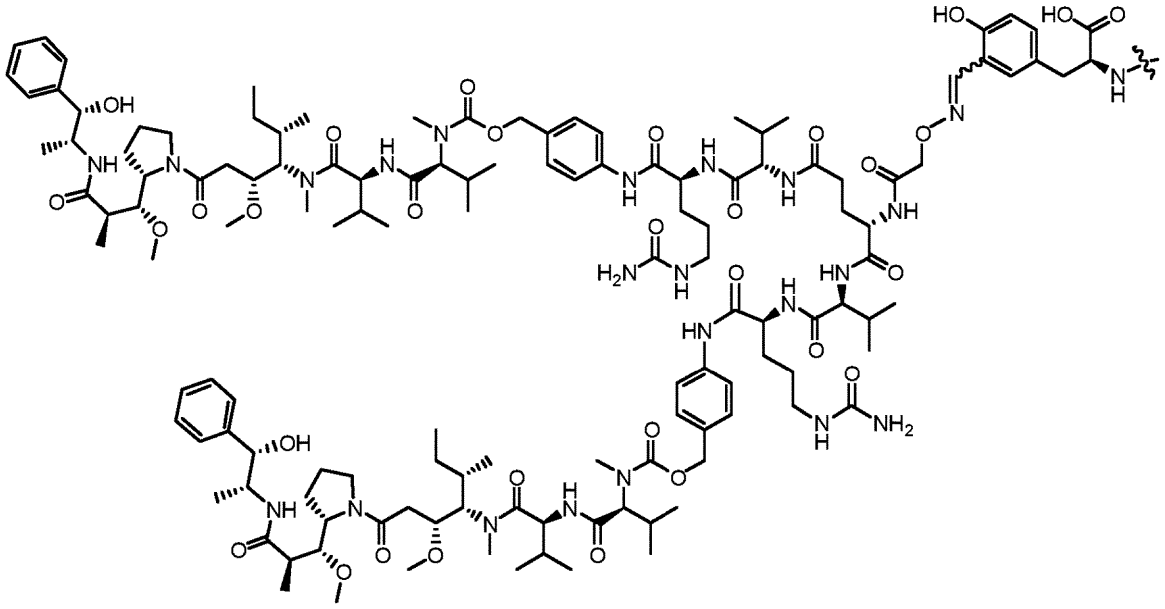
ブレンツキシマブ

を含み；かつ

（b）各重鎖の認識配列のC末端および各軽鎖の認識配列のC末端が、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、
ここで、波線が、各重鎖の認識配列のC末端および各軽鎖の認識配列のC末端への結合を示す、
抗体薬物コンジュゲート（ADC）。
19．（a）各軽鎖のC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブであって、
認識配列を含む各軽鎖がSEQ ID NO: 11を有し；かつ
ブレンツキシマブの各重鎖がSEQ ID NO: 1を有する、
ブレンツキシマブ
を含み；かつ
（b）各軽鎖の認識配列のC末端が、アミド結合を介して、以下の構造：



を有する基に結合しており、
ここで、波線が、各軽鎖の認識配列のC末端への結合を示す、
抗体薬物コンジュゲート（ADC）。
20．（a）ブレンツキシマブの軽鎖のC末端、重鎖のC末端、または軽鎖および重鎖の両方のC末端に、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列を導入または付加する段階；
（b）段階（a）で得たブレンツキシマブを非天然アミノ酸にチューブリンチロシンリガーゼが連結するのに適した条件下で、チューブリンチロシンリガーゼおよび前記非天然アミノ酸の存在下において前記ブレンツキシマブを接触させる段階；ならびに
（c）薬物部分を含む任意に切断可能なリンカーを、段階（b）で得た連結されたブレンツキシマブにコンジュゲートする段階
を含む、項目1～19のいずれか一項において定義するADCを作製する方法。
21．項目20の方法によって得ることが可能なまたは得られるADC。
22．項目1～19または21のいずれかのADCを含む、薬学的組成物。
23．疾患を処置する方法における使用のための、項目1～19もしくは21のいずれか

のADCまたは項目22の薬学的組成物。

24．疾患がCD30の過剰発現と関連している、項目23の使用のためのADCまたは薬学的組成物。

25．疾患が、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、大細胞型B細胞リンパ腫、小児リンパ腫、T細胞リンパ腫および腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（GvHD）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（SLE）、好ましくはホジキンリンパ腫（HL）または未分化大細胞リンパ腫（ALCL）からなる群より選択される、項目23または24の使用のためのADCまたは薬学的組成物。

25a．疾患が、末梢T細胞リンパ腫-非特異型（PTCL-NOS）、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫（AITL）、腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、成人T細胞白血病/リンパ腫（ATLL）、節外性ナチュラルキラー/T細胞リンパ腫（ENKTCL）、肝脾および腸γ/δ-T細胞リンパ腫、TFH形質を伴う節性末梢性T細胞リンパ腫、ならびに濾胞性T細胞リンパ腫からなる群より選択される、項目23または24の使用のためのADCまたは薬学的組成物。

25b．疾患が、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）を含む末梢性T細胞リンパ腫（PTCL）；または原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（pcALCL）を含む皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）である、項目23または24の使用のためのADCまたは薬学的組成物。

26．CD30の過剰発現に関連する疾患を処置するための医薬の製造のための、項目1～19または21のいずれかのADCの使用。

27．疾患が、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、大細胞型B細胞リンパ腫、小児リンパ腫、T細胞リンパ腫および腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（GvHD）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（SLE）からなる群より選択される、項目26の使用。

28．疾患がホジキンリンパ腫（HL）または未分化大細胞リンパ腫（ALCL）である、項目27の使用。

28a．疾患が、末梢T細胞リンパ腫-非特異型（PTCL-NOS）、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫（AITL）、腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、成人T細胞白血病/リンパ腫（ATLL）、節外性ナチュラルキラー/T細胞リンパ腫（ENKTCL）、肝脾および腸γ/δ-T細胞リンパ腫、TFH形質を伴う節性末梢性T細胞リンパ腫、ならびに濾胞性T細胞リンパ腫からなる群より選択される、項目26の使用。

28b．疾患が、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）を含む末梢性T細胞リンパ腫（PTCL）；または原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（pcALCL）を含む皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）である、項目26の使用。

29．CD30の過剰発現に関連する疾患を処置するための医薬の製造のための、項目22の薬学的組成物の使用。

30．疾患が、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、大細胞型B細胞リンパ腫、小児リンパ腫、T細胞リンパ腫および腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（GvHD）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（SLE）からなる群より選択される、項目29の使用。

31．疾患がホジキンリンパ腫（HL）または未分化大細胞リンパ腫（ALCL）である、項目30の使用。

31a．疾患が、末梢T細胞リンパ腫-非特異型（PTCL-NOS）、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫（AITL）、腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、成人T細胞白血病/リンパ腫（ATLL）、節外性ナチュラルキラー/T細胞リンパ腫（ENKTCL）、肝脾および腸γ/δ-T

細胞リンパ腫、TFH形質を伴う節性末梢性T細胞リンパ腫、ならびに濾胞性T細胞リンパ腫からなる群より選択される、項目29の使用。

31b. 疾患が、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）を含む末梢性T細胞リンパ腫（PTCL）；または原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（pcALCL）を含む皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）である、項目29の使用。

32. CD30の過剰発現に関連する疾患を処置する方法であって、その必要がある対象または患者に項目1～19のいずれかのADCの有効量を投与する段階を含む、方法。

33. 疾患がCD30の過剰発現に関連するがんである、項目32の方法。

34. 疾患が、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、大細胞型B細胞リンパ腫、小児リンパ腫、T細胞リンパ腫および腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（GvHD）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（SLE）、好ましくはホジキンリンパ腫（HL）または未分化大細胞リンパ腫（ALCL）からなる群より選択される、項目32または33の方法。

35. 疾患がホジキンリンパ腫（HL）または未分化大細胞リンパ腫（ALCL）である、項目34の方法。

35a. 疾患が、末梢T細胞リンパ腫-非特異型（PTCL-NOS）、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫（AITL）、腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、成人T細胞白血病/リンパ腫（ATLL）、節外性ナチュラルキラー/T細胞リンパ腫（ENKTCL）、肝脾および腸γ/δ-T細胞リンパ腫、TFH形質を伴う節性末梢性T細胞リンパ腫、ならびに濾胞性T細胞リンパ腫からなる群より選択される、項目32または33の方法。

35b. 疾患が、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）を含む末梢性T細胞リンパ腫（PTCL）；または原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（pcALCL）を含む皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）である、項目32または33の方法。

36. 14mg/kg、12mg/kg、10mg/kg、9mg/kg、8mg/kg、7mg/kg、6mg/kg、5mg/kg、4mg/kg、3mg/kg、2mg/kgまたは1mg/kgの用量で；または2～6mg/kgの用量で、ADCを投与する、項目32～35bのいずれかの方法。

37. CD30の過剰発現に関連する疾患を処置する方法であって、その必要がある対象または患者に項目22の薬学的組成物の有効量を投与する段階を含む、方法。

38. 疾患がCD30の過剰発現に関連するがんである、項目37の方法。

39. 疾患が、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、大細胞型B細胞リンパ腫、小児リンパ腫、T細胞リンパ腫および腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、白血病、例えば、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、および肥満細胞白血病、胚細胞がん、移植片対宿主病（GvHD）、ならびに狼瘡、特に全身性エリテマトーデス（SLE）、好ましくはホジキンリンパ腫（HL）または未分化大細胞リンパ腫（ALCL）からなる群より選択される、項目37または38の方法。

40. 疾患がホジキンリンパ腫（HL）または未分化大細胞リンパ腫（ALCL）である、項目39の方法。

40a. 疾患が、末梢T細胞リンパ腫-非特異型（PTCL-NOS）、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫（AITL）、腸症関連T細胞リンパ腫（EATL）、成人T細胞白血病/リンパ腫（ATLL）、節外性ナチュラルキラー/T細胞リンパ腫（ENKTCL）、肝脾および腸γ/δ-T細胞リンパ腫、TFH形質を伴う節性末梢性T細胞リンパ腫、ならびに濾胞性T細胞リンパ腫からなる群より選択される、項目37または38の方法。

40b. 疾患が、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）を含む末梢性T細胞リンパ腫（PTCL）；または原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫（pcALCL）を含む皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）である、項目37または38の方法。

41. 14mg/kg、12mg/kg、10mg/kg、9mg/kg、8mg/kg、7mg/kg、6mg/kg、5mg/kg、4mg/kg、3mg/kg、2mg/kgまたは1mg/kgの用量で；または2～6mg

/kgの用量で、ADCを投与する、項目37～40bのいずれかの方法。

【０２５０】

本明細書において用いられる、単数形「1つの（a）」、「1つの（an）」、および「その（the）」は、文脈が明らかにそうでないと示さないかぎり、複数形の言及を含むことに留意される。したがって、例えば、「試薬」への言及は、そのような異なる試薬の1つまたは複数を含み、「方法」への言及は、本明細書に記載の方法のために変更または置換えられ得る、当業者には公知の等価の段階および方法への言及を含む。

【０２５１】

特に記載がないかぎり、一連の要素の前にある「少なくとも」なる用語は、その一連の要素のすべてを指すと理解されるべきである。当業者であれば、本明細書に記載の本発明の特定の態様に対する多くの等価物を認識すると、または日常的な実験だけを用いて確認することができると考えられる。そのような等価物は、本発明に包含されることが意図される。

【０２５２】

本明細書においてどこでも用いられる「および/または」なる用語は、「および」、「または」、および「前記用語によって接続される要素のすべてまたは任意の他の組み合わせ」の意味を含む。

【０２５３】

「未満」または「より多い」なる用語は具体的な数を含まない。

【０２５４】

例えば、20未満は示された数より少ないことを意味する。同様に、より多い、またはより大きいとは、示された数より多い、または大きいことを意味し、例えば、80％より多いとは、示された80％の数値より多い、または大きいことを意味する。

【０２５５】

本明細書および添付の特許請求の範囲の全体にわたって、文脈がそうではないことを要求しない限り、「含む（comprise）」なる語および「含む（comprises）」、「含む（comprising）」などの変形は、述べられた整数もしくは段階、または整数もしくは段階の群の包含を意味するが、任意の他の整数もしくは段階、または整数もしくは段階の群の除外を意味しないと理解される。本明細書において用いる場合、「含む（comprising）」なる用語は、「含む（containing）」または「含む（including）」なる用語と置き換えることができ、または時には本明細書において用いる場合、「有する」なる用語と置き換えることもできる。本明細書において用いる場合、「からなる」は、特定されていない任意の要素、段階、または成分を除外する。

【０２５６】

「含む」なる用語は、「含むが、これに限定されない」を意味する。「含む」および「含むが、これに限定されない」は交換可能に使用される。

【０２５７】

本明細書において用いられる「約」、「およそ」または「本質的に」なる用語は、所与の値または範囲の20％以内、好ましくは15％以内、好ましくは10％以内、より好ましくは5％以内を意味する。また、具体的な数値、すなわち「約20」は20という数値も含む。

【０２５８】

本発明は、本明細書に記載の特定の方法論、プロトコル、材料、試薬、および物質などに限定されず、したがって変動し得ることが理解されるべきである。本明細書において用いられる用語は、特定の態様を説明するためにすぎず、特許請求の範囲によってのみ定義される、本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

【０２５９】

本明細書の本文の全体にわたって引用するすべての出版物（すべての特許、特許出願、科学出版物、説明書などを含む）は、上述または下述のいずれであっても、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。本明細書のなにものも、本発明が先行発明によって

そのような開示に先行する資格を有しないことの自認であると解釈されるべきではない。参照により組み入れられる材料が本明細書と矛盾する、または一致しない場合、本明細書が任意のそのような材料に取って代わる。

【０２６０】

本明細書において引用するすべての文書および特許文書の内容は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【実施例】

【０２６１】

本発明およびその利点のさらに十分な理解は、例示のためにのみ提供する以下の実施例から明らかになるであろう。実施例は、本発明の範囲をいかなる形でも限定することを意図するものではない。

【０２６２】

材料および方法

化学物質、材料、試薬および溶媒

化学物質および溶媒は、Merck（Merck group, Germany）、TCI（Tokyo chemical industry CO., LTD., Japan）およびAcros Organics（Thermo Fisher scientific, USA）、Sigma-Aldrich（Merck group, Germany）、Carl Roth（Carl Roth GmbH, Germany）、Cytiva（Cytiva UK Limited, England）から購入し、それ以上精製せずに使用した。無水溶媒はAcros Organics（Thermo Fisher scientific, USA）から購入した。

【０２６３】

TTLの発現および精製

以前に記載されたとおり（Schumacher et al. (2015), Angewandte Chemie (iNTERNATIONAL ED. IN eNGLISH), 54:13787-13791、国際公開公報第2016/066749号、国際公開公報第2017/186855号）、チューブリン-チロシンリガーゼ（TTL）を、N末端His-およびSUMO3溶解性タグと共に大腸菌（E. coli）BL21(DE3)で発現させた。培養はカナマイシン（30μg/mL）補足LB培地中、37℃、180rpmで、0.6～0.8のOD_{600}に達するまで行った。培養物を18℃まで冷却した後、細胞を0.5mM IPTGで誘導し、タンパク質発現を18℃で18時間行った。

【０２６４】

遠心分離で培養物を回収した後、リゾチーム（100μg/ml）、DNアーゼ（25μg/ml）およびPMSF（1mM）を補足したTTL結合緩衝液（20mMトリス/HCl pH8.2、250mM NaCl、20mMイミダゾール、3mMβ-メルカプトエタノール）中で、超音波による分解を行い、次いで20.000gで30分間デブリを遠心分離し、上清をろ過した。

【０２６５】

5mlのHis-Trap HP（Cytiva）を用い、4カラムボリューム（CV）で溶出緩衝液（20mMトリス/HCl pH8.2、250mM NaCl、500mMイミダゾール、3mMβ-メルカプトエタノール）までの直線勾配を適用して、His-SUMO3-TTLを精製した。精製タンパク質を続いてPD-10 Sephadex G-25Mカラム（Cytiva）で、TTL貯蔵緩衝液（20mM MOPS/KCl pH7.4、100mM KCl、10mM $MgCl_2$、50mM L-アルギニン、3mMβ-メルカプトエタノール）への緩衝液交換により脱塩した。タンパク質の一定量を急速凍結し、-80℃で貯蔵した。

【０２６６】

ブレンツキシマブTubタグの発現および精製

ブレンツキシマブTubタグの組換え発現を、懸濁適合CHO細胞で行った。シードを既知組成の、動物成分を含まない培地で培養し、上清を遠心分離とそれに続くろ過により回収した。精製はプロテインAアフィニティークロマトグラフィー（MabSelect SuRe, Cytiva）を用いて実施した。HCCFのpHを7.5に調整し、カラムを結合緩衝液（20mM NaH_2PO_4、50mM NaCl、1mM EDTA pH7.5）で平衡化した。流速は培養物の力価に応じて調節し、カラム上での最適な滞留時間を達成した。溶出は、溶出緩衝液（100m

Mクエン酸三ナトリウム、pH3.0）まで段階的に実施した。溶出液を中和し、貯蔵緩衝液（PBS、100mM L-アルギニン）に緩衝液交換した後、抗体を8～15mg/mL、2～8℃（短期貯蔵）で貯蔵、または急速凍結し、-80℃（長期貯蔵）で貯蔵した。

【０２６７】

TTLを適用するブレンツキシマブTubタグコンジュゲーション反応

TTL触媒による連結を、以前の出版物（Schumacher et al. (2015), Angewandte Chemie (International ed. in English), 54:13787-13791、国際公開公報第2016/066749号、国際公開公報第2017/186855号）に従って行った。簡単に言うと、3-ホルミル-L-チロシンをブレンツキシマブTubタグmAbsに、20mM MOPS/KCl、100mM KCl、10mM $MgCl_2$、5mM ATP、5mM 3-ホルミル-L-チロシン、pH7.0からなる様々な量で連結した。pH値を調整した後、ブレンツキシマブTubタグおよびTTLを加え、反応を18℃で12時間実施して、抗体をチロシン化した。

【０２６８】

チロシン化ブレンツキシマブTubタグの精製

粗製チロシン化反応物を希釈して、導電率を下げた（＜10mS/cm）。続いて、混合物を5mLのHiTrap Capto Q ImpResカラム（Cytiva）にロードした。5CVのAEX結合緩衝液（14.4mM Na_2HPO_4、5.6mM NaH_2PO_4、pH4.5）および5CVの10%AEX溶出緩衝液（14.4mM Na_2HPO_4、5.6mM NaH_2PO_4、1M NaCl pH4.5）でカラムを洗浄した後、チロシン化ブレンツキシマブTubタグの溶出を、10CVで50%溶出緩衝液までの直線勾配により達成した。プールした生成物含有分画のタンパク質濃度をUV280法（NanoPhotometer NP80、IMPLEN）で測定した。

【０２６９】

TTL反応後のオキシム連結

アニオン交換クロマトグラフィーによる精製後のチロシン化ブレンツキシマブTubタグのタンパク質濃度を調節し、DMSOを共溶媒として加えた（最終2体積%）。オキシム連結を、わずかに過剰の2（HA-vc-PAB-MMAE）または3（HA-$(VC\text{-}PAB\text{-}MMAE)_2$）により、18℃で反応完了まで行った。ペイロード2および3の構造を図23に示す。

【０２７０】

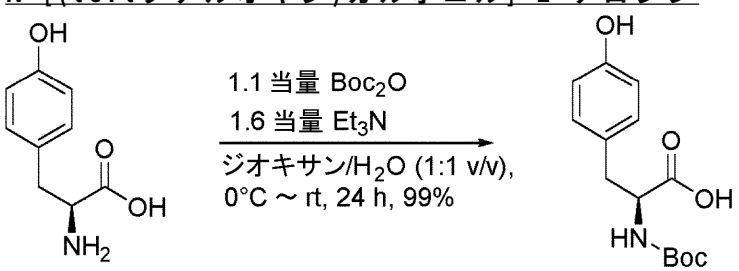
ブレンツキシマブTubタグADCの精製

粗製オキシム連結物をCEX結合緩衝液（体積比1：1、14.4mM Na_2HPO_4、5.6mM NaH_2PO_4、pH4.5）で希釈し、5mLのHiTrap Capto S ImpActカラム（Cytiva）にロードした。カラムを10CVのCEX洗浄緩衝液（14.4mM Na_2HPO_4、5.6mM NaH_2PO_4、0.1%トリトン-x-114、pH4.5）および5CVのCEX結合緩衝液で洗浄した後、TUB-010の溶出を20CVで100%CEX溶出緩衝液（14.4mM Na_2HPO_4、5.6mM NaH_2PO_4、1M NaCl pH4.5）までの直線勾配により達成した。プールした分画のpHを7.2に調整した。製剤緩衝液への緩衝液交換をTFF（Vivaflow 50R）で行った。

【０２７１】

3-ホルミル-L-チロシンの合成

N-[(tertブチルオキシ)カルボニル]-L-チロシン

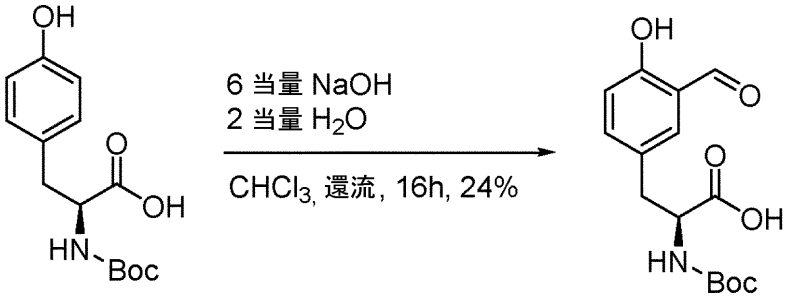


300mlのH_2Oおよび300mlの1,4-ジオキサン中の20gのL-チロシン（0.110mol、1当量）の溶液に、24.5mlのトリエチルアミン（0.176mol、1.6当量）をゆっくり加えた。反応混合物を0℃まで冷却し、26.4gの二炭酸ジ-tert-ブチル（0.121mol、1.1

当量）を分割して加えた。その後、反応混合物を終夜、室温までゆっくり加温した。有機溶媒を減圧下で除去し、溶液を2N HClでpH1まで酸性化した。水相を200mlのEtOAcで3回抽出し、有機分画を合わせ、$MgSO_4$で乾燥し、すべての揮発性物質を減圧下で除去した。所望の化合物を白色固体で得た（30.6g、0.109mmol、99%）。分析データは以前に報告された結果（Schumacher et al. (2015), Angewandte Chemie (International ed. in English), 54:13787-13791）と一致した。

【0272】

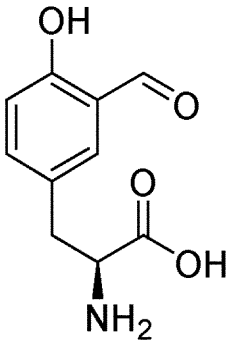
N-[(tertブチルオキシ)カルボニル]-L-ホルミルチロシン



300mlのクロロホルム中の20gのN-[(tertブチルオキシ)カルボニル]-L-チロシン（0.071mol、1当量）の懸濁液に、2.56mlのH_2O（0.142mol、2当量）および17.1mgの粉末水酸化ナトリウム（0.427mol、6当量）を分割して加えた。反応混合物を激しく撹拌しながら終夜加熱還流した。その後、混合物を室温まで冷却し、300mlのH_2Oで希釈した。有機層を分離して廃棄した。水層を2N HClでpH1まで酸性化し、200mlのEtOAcで3回抽出した。有機分画を合わせ、$MgSO_4$で乾燥し、すべての揮発性物質を減圧下で除去した。粗生成物をシリカのカラムクロマトグラフィー（CH_2Cl_2中5%MeOH＋0.5%ギ酸）で精製し、帯黄色固体で得た。（5.26g、0.017mol、24%）。分析データは以前に報告された結果（Schumacher et al. (2015), Angewandte Chemie (International ed. in English), 54:13787-13791）と一致した。

【0273】

L-ホルミルチロシンTFA塩

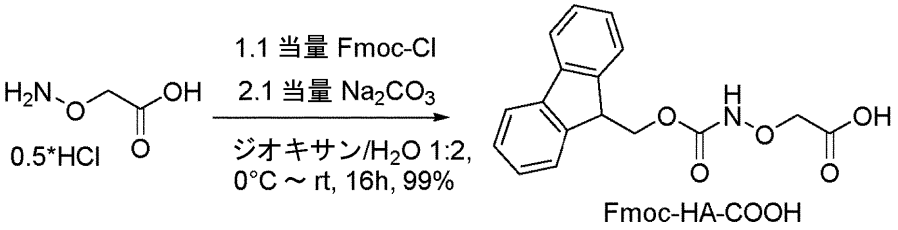


500mgのN-[(tertブチルオキシ)カルボニル]-L-ホルミルチロシン（1.616mmol、1当量）を1mlのCH_2Cl_2に懸濁し、0℃まで冷却した。0.1mlのH_2Oを加えた後、1mlのトリフルオロ酢酸を滴加した。反応混合物を0℃で3時間撹拌し、すべての揮発性物質を窒素気流下で除去し、粗生成物をVP 250/32 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spumカラム（Macherey-Nagel GmbH）の分取HPLC（Gilson Inc）により、以下の勾配で精製した：（A＝H_2O＋0.1%TFA、B＝MeCN（アセトニトリル）＋0.1%TFA、流速30ml/分、5%B 0～5分、5～30%B 5～50分、99%B 50～60分。所望の生成物を凍結乾燥後にTFA塩として帯黄色粉末で得た。（397mg、1.228mmol、76%）。分析データは以前に報告された結果（Schumacher et al. (2015), Angewandte Chemie (International ed. in English), 54:13787-13791）と一致した。

【0274】

ヒドロキシルアミン-ＭＭＡＥ（ＨＡ-ＶＣ-ＰＡＢ-ＭＭＡＥ）の合成

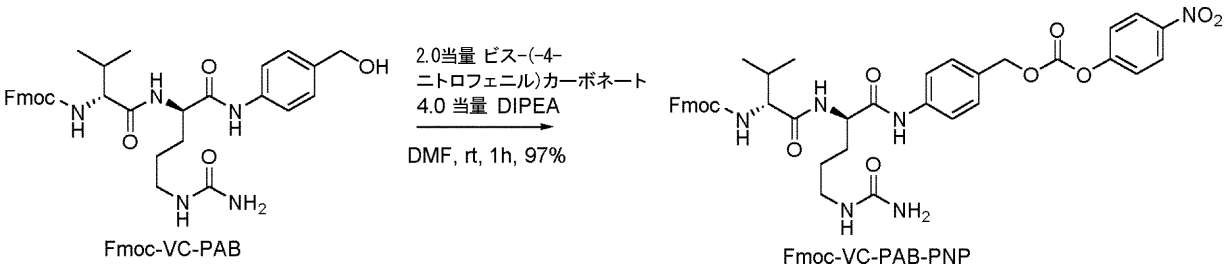
(Ｆｍｏｃ-アミノオキシ)酢酸（ＦＭＯＣ-ＨＡ-ＣＯＯＨ）



５０ｍｌ丸底フラスコに１００ｍｇ（０.９１５ｍｍｏｌ、１.０当量）のＯ-(カルボキシメチル)ヒドロキシルアミンヘミ塩酸塩（Ｓｉｇｍａ-Ａｌｄｒｉｃｈ）を加え、４ｍｌの水に溶解し、２４０ｍｇ（２.２６４ｍｍｏｌ、２.１当量）の炭酸ナトリウムを分割して加えた。溶液を０℃まで冷却し、２ｍｌの１,４-ジオキサン中の２６０ｍｇ（１.００５ｍｍｏｌ、１.１当量）の塩化フルオレニルメチルオキシカルボニル（ＴＣＩ-ｃｈｅｍｉｃａｌｓ）の溶液を滴加した。溶液を終夜、室温まで加温した。ジオキサンを減圧下で除去し、５０ｍｌの水を加え、溶液を２ｍｏｌ/ｌのＨＣｌで酸性化した。水層を酢酸エチルで３回抽出し、合わせた有機分画を$MgSO_4$で乾燥した。すべての揮発性物質を減圧下で除去し、所望の生成物を白色固体で得た。（２８３ｍｇ、９９.０％）。分析データは以前に報告された結果（Ｃｌａｖｅ ｅｔ ａｌ. (２００８), Ｏｒｇａｎｉｃ & Ｂｉｏｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ, ６:３０６５-３０７８）と一致した。

【０２７５】

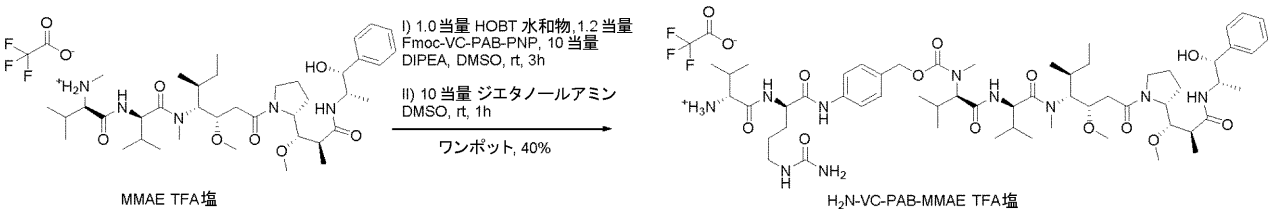
Ｆｍｏｃ-ＶＣ-ＰＡＢ-ＰＮＰ



１０ｍｌネジ蓋バイアルに２００ｍｇのＦｍｏｃ-ＶＣ-ＰＡＢ（０.３３３ｍｍｏｌ、１.０当量）、２０２ｍｇのビス(4-ニトロフェニル)カーボネート（０.３３３ｍｍｏｌ、１.０当量）および１ｍｌのＤＭＦを加えた。２３２μｌのＤＩＰＥＡ（１.３３２ｍｍｏｌ、４.０当量）を加え、反応混合物を室温で１時間撹拌した。反応混合物を氷冷ジエチルエーテルに加え、ろ液を遠心分離により回収した。ろ液を１ｍｌのＤＭＦに再度溶解し、氷冷ジエチルエーテルで二回目の沈殿を行った。沈殿を遠心分離により回収し、減圧下で乾燥し、所望の生成物を帯黄色粉末で得た。（２４７ｍｇ、９７.０％）。分析データは以前に報告された結果（国際公開公報第２００４０１０９５７号）と一致した。

【０２７６】

H_2N-ＶＣ-ＰＡＢ-ＭＭＡＥ

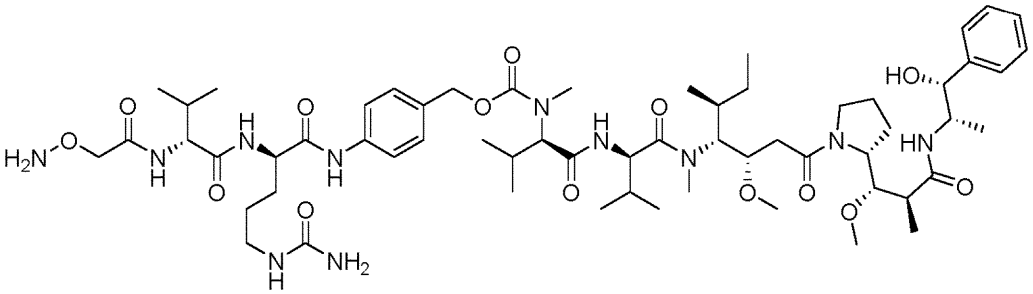


１０ｍｌネジ蓋バイアルにＤＭＳＯ中ＭＭＡＥ ＴＦＡ塩の１ｍｏｌ/ｌ溶液６０μｌ（５０ｍｇ、０.０６ｍｍｏｌ、１.０当量）、ＤＭＳＯ中のＦｍｏｃ-ＶＣ-ＰＡＢ-ＰＮＰの０.４ｍｏｌ/Ｌ溶液１８０μｌ（０.０７２ｍｍｏｌ、１.２当量）およびＤＭＳＯ中のヒドロキシベンゾトリアゾール水和物の１ｍｏｌ/ｌ溶液６０μｌ（０.０６ｍｍｏｌ、１.０当量）を加えた。１０５μｌのＤＩＰＥＡ（０.６ｍｍｏｌ、１０.０当

量）を加え、黄色溶液を室温で3時間撹拌した。UPLC/MSでモニターして、MMAE出発原料が完全に消費された後、DMSO中50重量%のジエタノールアミン溶液120μlを加え、黄色溶液をさらに1時間撹拌した。1.5mlのアセトニトリルおよび3mlの水を加え、溶液をVP 250/32 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spumカラム（Macherey-Nagel GmbH）の分取HPLC（Gilson Inc）により、以下の勾配で精製した：（A＝H_2O＋0.1%TFA、B＝MeCN（アセトニトリル）＋0.1%TFA、流速30ml/分、30%B 0～5分、30～60%B 5～25分、99%B 25～35分。所望の生成物を凍結乾燥後にTFA塩として白色粉末で得た。（29.5mg、39.7%）。分析データは以前に報告された結果（Tang et al. (2016), Organic & Biomolecular Chemistry, 14(40): 9501-9518）と一致した。

【0277】

HA-VC-PAB-MMAE

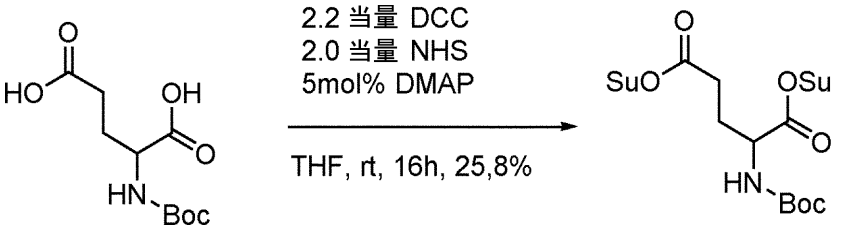


10mlネジ蓋バイアルに23.3mgのH_2N-VC-PAB-MMAE（0.0188mmol、1.0当量）、DMSO中のFmoc-HA-COOHの0.6mol/L溶液38μl（0.0226mmol、1.2当量）およびDMSO中のPybopの0.6mol/L溶液38μl（0.0226mmol、1.2当量）を加えた。33μlのDIPEA（0.1880mmol、10.0当量）を加え、溶液を室温で2時間撹拌した。DMSO中50重量%のジエタノールアミン溶液150μlを加え、溶液をさらに1時間撹拌した。1.5mlのアセトニトリルおよび3mlの水を加え、溶液をVP 250/32 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spumカラム（Macherey-Nagel GmbH）の分取HPLC（Gilson Inc）により、以下の勾配で精製した：（A＝H_2O＋0.1%TFA、B＝MeCN（アセトニトリル）＋0.1%TFA、流速30ml/分、30%B 0～5分、30～99%B 5～60分、99%B 60～70分。所望の生成物を凍結乾燥後にTFA塩として白色粉末で得た。（20.1mg、81.6%）。HR-MS for $C_{60}H_{98}N_{11}O_{14}^+$ $[M+H]^+$ 計算値：1196.7290、実測値1196.7278。精製した物質のHPLCクロマトグラムについては図15参照。

【0278】

分枝MMAEヒドロキシルアミン（HA-(VC-PAB-MMAE)$_2$）の合成

BOC-Glu(OSu)$_2$

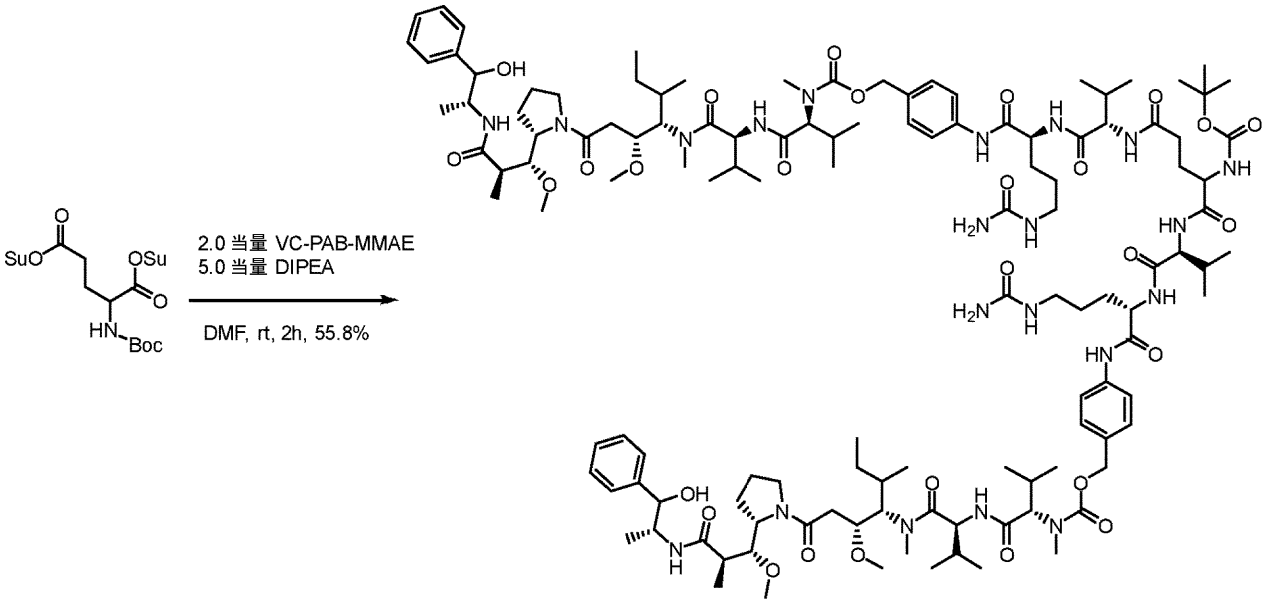


50mL丸底フラスコに、20mLの無水THFに溶解した1.00gのBoc-Glu-OH（4.04mmol、1.00当量）、0.93gのN-ヒドロキシスクシンイミド（8.08mmol、2.00当量）および25mgのDMAP（0.20mmol、0.05当量）を加えた。懸濁液を0℃まで冷却し、10mLの無水THFに溶解した1.84gのジシクロヘキシルカルボジイミド（8.88mmol、2.2当量）を滴加した。白色懸濁液を終夜、室温まで加温した。混合物をろ過し、ろ液を蒸発させ、残渣をシリカゲルのフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製した。所望の生成物を無色油状物で得た。（460mg、1.04mmol、25.8%）。分析データは以前に

報告された結果（Koshi et al., J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 1, 245-251）と一致した。

【０２７９】

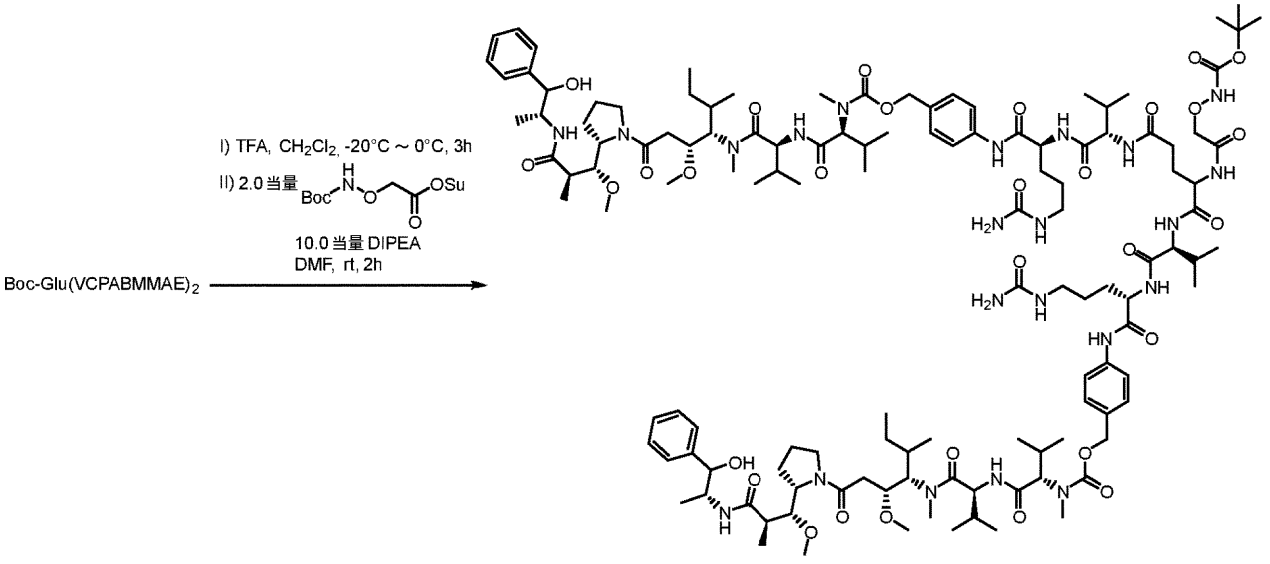
Boc-Glu-(VC-PAB-MMAE)$_2$



10mlネジ蓋バイアルに15.83mgのH$_2$N-VC-PAB-MMAE TFA塩（0.012mmol、2.00当量）、2.84mgのBoc-Glu(OSu)$_2$（0.06mmol、1.00当量）および150μLのDMFを加えた。4.5μlのDIPEA（0.0256mmol、4.0当量）を加え、溶液を室温で2時間撹拌した。1.5mlのアセトニトリルおよび3mlの水を加え、溶液をGilson PLC 2020システム（Gilson Inc, WI, Middleton, USA）およびVP 250/21 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spumカラム（Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg, Germany）を用いての分取HPLCにより、以下の勾配で精製した：（A＝H$_2$O＋0.1%TFA、B＝MeCN（アセトニトリル）＋0.1%TFA、流速10ml/分、30%B 0～5分、30～99%B 5～60分、99%B 60～70分。所望の生成物を凍結乾燥後に白色粉末で得た。（8.84mg、0.0036mmol、55.8%）。HR-MS for $C_{126}H_{203}N_{21}O_{28}^{2+}$ $[M+2H]^{2+}$ 計算値：1229,7565、実測値1229,7567。精製した物質のHPLCクロマトグラムについては図16参照。

【０２８０】

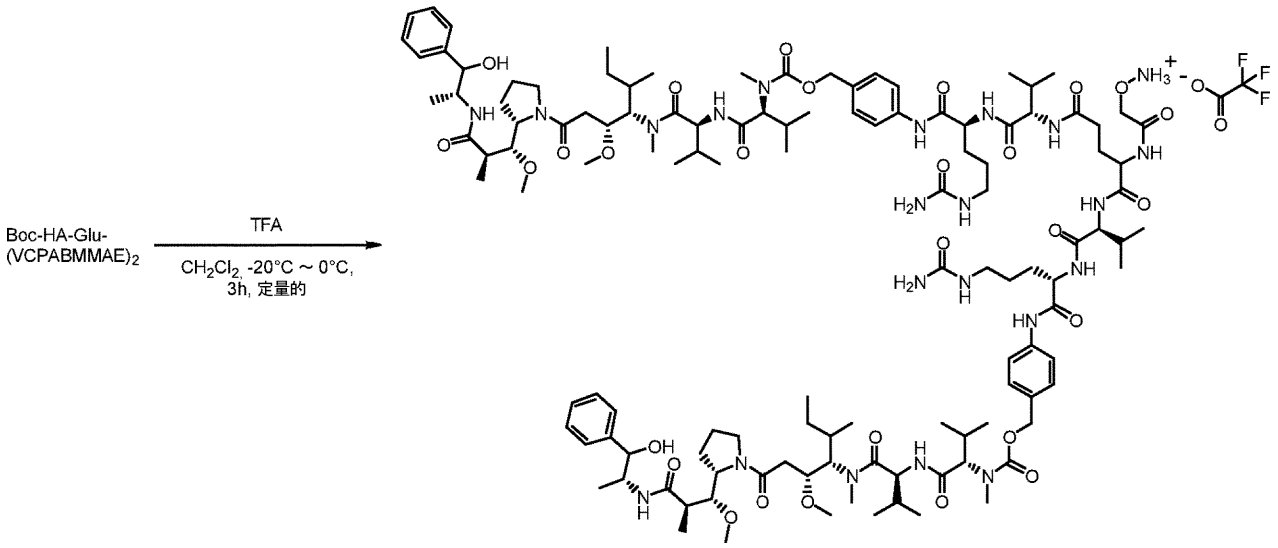
Boc-HA-Glu-(VC-PAB-MMAE)$_2$



10mlネジ蓋バイアルに、100μLのCH_2Cl_2に溶解した3.99mgのBoc-Glu-(VC-PAB-MMAE)$_2$（1.63μmol、1.00当量）を加え、-20℃まで冷却した。100μLのトリフルオロ酢酸を滴加した。-20°で3時間後、溶液を0℃まで加温し、すべての揮発性物質をN_2気流下で除去した。100μLのDMFに溶解した0.94mgのBoc-HA-OSu（3.26μmol、2.00当量）を加え、続いて2.8μlのDIPEA（0.163μmol、10.0当量）を加え、溶液を室温で2時間撹拌した。1.5mlのアセトニトリルおよび3mlの水を加え、溶液をGilson PLC 2020システム（Gilson Inc, WI, Middleton, USA）およびVP 250/10 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spumカラム（Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg, Germany）を用いての分取HPLCにより、以下の勾配で精製した：（A＝H_2O＋0.1%TFA、B＝MeCN（アセトニトリル）＋0.1%TFA、流速5ml/分、30%B 0～5分、30～99%B 5～60分、99%B 60～70分。所望の生成物を凍結乾燥後に白色粉末で得た。（2.11mg、0.748μmol、46%）。HR-MS for $C_{128}H_{206}N_{22}O_{30}^{2+}$ $[M+2H]^{2+}$ 計算値：1266,2647 実測値1266,2644。精製した物質のHPLCクロマトグラムについては図17参照。

【0281】

HA-(VC-PAB-MMAE)$_2$



10mlネジ蓋バイアルに、100μLのCH_2Cl_2に溶解した2.11mgのBoc-Glu-(VC-PAB-MMAE)$_2$（0.75μmol）を加え、-20℃まで冷却した。100μLのトリフルオロ酢酸を滴加した。-20°で3時間後、溶液を0℃まで加温し、すべての揮発性物質をN_2気流下で除去した。所望の生成物を50%MeCN/H_2Oから凍結乾燥後に白色粉末で得た。（1.90mg、0.748μmol、定量的）。HR-MS for $C_{123}H_{198}N_{22}O_{28}^{2+}$ $[M+2H]^{2+}$ 計算値：1216,2384 実測値1216,2326。精製した物質のHPLCクロマトグラムについては図18参照。

【0282】

フラッシュおよび薄層クロマトグラフィー

フラッシュカラムクロマトグラフィーは、NORMASIL 60(登録商標)シリカゲル40～63μm（VWR international, USA）を用いて実施した。蛍光指示薬F254sでコーティングされたガラスTLCプレート、シリカゲル60WはMerck（Merck Group, Germany）から購入した。スポットは254nmランプによる蛍光消失またはマンガン染色（10g K_2CO_3、1.5g $KMnO_4$、200ml H_2O中0.1g NaOH）の後、加熱することにより可視化した。

【0283】

<u>分取HPLC</u>

分取HPLCは、Gilson PLC 2020システム（Gilson Inc, WI, Middleton, USA）

で、VP 250/32 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spumカラム（Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg, Germany）を用いて実施した。以下の勾配を用いた：方法C：（A＝H_2O＋0.1％TFA（トリフルオロ酢酸）、B＝MeCN（アセトニトリル）＋0.1％TFA、流速30ml/分、5％B 0～5分、5～90％B 5～60分、90％B 60～65分。方法D：（A＝H_2O＋0.1％TFA、B＝MeCN＋＋0.1％TFA）、流速30ml/分、5％B 0～5分、5～25％B 5～10分、25％～45％B 10～50分、45～90％ 50～60分、90％B 60～65分。方法E：0.1％TFA、流速18ml/分、5％B 0～5分、5～90％B 5～60分、90％B 60～65分、VP 250/21 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spumカラム（Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg, Germany）使用。

【０２８４】

HR-MS

高分解能ESI-MSスペクトルは、Acquity UPLCプロテインBEH C18カラム（1.7μm、2.1mm×50mm）を用い、クオータナリーソルベントマネージャー、Watersサンプルマネージャー-FTN、Waters PDA検出器およびWatersカラムマネージャーを備えたWaters H-class装置で記録した。試料を流速0.3mL/分で溶出した。以下の勾配を用いた：A：H_2O中0.01％FA；B：MeCN中0.01％FA。5％B：0～1分；5～95％B：1～7分；95％B：7～8.5分。質量分析はWaters XEVO G2-XS QTof分析器で行った。

【０２８５】

UPLC-UV/MS

UPLC-UV/MSトレースは、Acquity UPLC BEH C18 1.7μm、2.1×50mm RPカラムを用い、クオータナリーソルベントマネージャー、Watersオートサンプラー、Waters TUV検出器およびWaters Acquity QDa検出器を備えたWaters H-class装置で、流速0.6mL/分で記録した（Waters Corp., USA）。純度分析のために以下の勾配を用いた：A：H_2O中0.1％TFA；B：MeCN中0.1％TFA。5％B 0～1.5分、5～95％B 1.5～11分、95％B 11～13分、5％B 13～15分。

【０２８６】

インタクトタンパク質MS

インタクトタンパク質は、Acquity UPLCプロテインBEH C4カラム（300Å、1.7μm、2.1mm×50mm）を用い、クオータナリーソルベントマネージャー、Watersサンプルマネージャー-FTN、Waters PDA検出器およびWatersカラムマネージャーを備えたWaters H-class装置で分析した。タンパク質を流速0.3mL/分で溶出した。以下の勾配を用いた：A：H_2O中0.01％FA；B：MeCN中0.01％FA。5～95％B 0～6分。質量分析は、Waters XEVO G2-XS QTof分析器で行った。タンパク質は、40kVのコーン電圧をかけて陽イオンモードでイオン化した。生データをMaxEnt 1で解析した。

【０２８７】

レサズリン検定

HL60およびKarpas細胞株を、10％FCSおよび0.5％ペニシリン-ストレプトマイシン補足RPMI-1640中で培養した。細胞を96穴細胞培養マイクロプレートに、$5*10^3$細胞/ウェルの密度で播種した。ADCまたは抗体を細胞培養培地中、3μg/mLの最終濃度で開始して1：4連続希釈を行い、マイクロプレートのそれぞれのウェルに二つ組で移した。プレートを37℃、5％CO_2で96時間インキュベートした。続いて、レサズリンを最終濃度50μMまで加えた後、37℃、5％CO_2で3～4時間インキュベートした。レサズリンのレゾルフィンへの代謝変換を、Tecan Infinite M1000マイクロプレートリーダーでレゾルフィンの蛍光シグナル（λ_{EX}＝560nmおよびλ_{EM}＝590nm）により定量した。平均および標準偏差を二つ組から計算し、未処理対照に対して標準化し、抗体濃度に対してプロットした。データ解析は、MatLab R2016ソフトウェアで行った。

【０２８８】

ADCのA-SECによる特徴決定および安定性評価

ADCをPBS（Dulbeccos Phospahte Bufferd Saline, Sigma-Aldrich Merck KGaA）中1mg/mLのタンパク質濃度に調節し、滅菌ろ過（Ultrafree-MC Centrifug

al filter units, Merck Millipore）した。試料を4～8℃、37℃および40℃で最大14日間貯蔵した。高温で貯蔵した試料については、凝縮物が生じないようにした。A-SECによる分析前に、試料を4℃、4000×gで4分間遠心分離した。

【０２８９】

インビボ異種移植モデル

インビボ有効性実験を、動物愛護法に従い、地方自治体により承認されて実施した。簡単に言うと、第0日にKarpas 299細胞をCB17-Scidマウスに皮下注射した。腫瘍がある特定の平均腫瘍体積に達した時点で、処置を開始した。マウスを処置群および対照群に無作為化した後、ADCを静脈内注射で投与した。腫瘍体積、体重および全身健康状態を全試験にわたって記録した。

【０２９０】

薬物動態解析

実験を、動物愛護法に従い、地方自治体により承認されて実施した。第1日に試験項目をスプラーグドーリーラットに単回静脈内（ボーラス）注射で投与した。生体分析のために、最大504時間までの様々な時点で頸静脈から目標体積1mLで採血した。試料を室温で少なくとも1時間維持して、凝固させた。試料を4℃、1500gで10分間遠心分離した。得られた血清を-20℃で貯蔵した。PKパラメーターをPhoenix（WinNonlin）薬物動態ソフトウェア1.4（Certara, 6.4）により、静脈内（ボーラス）投与経路に一致する非コンパートメントアプローチを用い、遊離ペイロードについてはインビボ形成プロファイルアプローチ（血管外）を用いて計算した。

【０２９１】

反復投与毒性試験

実験を、動物愛護法に従い、地方自治体により承認されて実施した。雌雄のスプラーグドーリーラット（10匹/性別/群）に対照（ビヒクル）、ブレンツキシマブTubタグADC（10mg/kg）またはブレンツキシマブベドチン（10mg/kg）を週1回（第1、8、15および22日）投与し、主投与期の剖検は第26日（5匹/性別/群）、回復期剖検は第51日（5匹/性別/群）に行った。臨床観察、体重、および摂食量を試験期間中毎日確認した。各投与前、各投与後15分、および剖検時に各動物から薬物動態試料を採取した。すべての動物を剖検し、臓器を秤量し、固定液中に保持した。臨床病理学（血液学、臨床化学および凝固エンドポイント）試料も剖検時に採取した。

【０２９２】

<u>実施例1：CD30+適応症の処置のためのブレンツキシマブTubタグADC</u>

Tubタグ技術は、極性が高く、酵素チューブリンチロシンリガーゼ（TTL）の認識配列として機能する、すなわち本開示の意味の範囲内のチューブリンチロシンリガーゼの認識配列である、天然のα-チューブリン由来ペプチドを利用する。

【０２９３】

TTLは短い親水性ペプチドタグ（Tubタグ）を認識し、チロシン誘導体およびアミノ酸様構築ブロックとのペプチド結合形成を触媒する。ここで本発明者らは、Tubタグ技術を用いて、ペイロードを抗体ブレンツキシマブ（cAC10）にコンジュゲートし、安定性、有効性、および毒性に関して承認されたブレンツキシマブ系ADCであるブレンツキシマブベドチンを驚くほどに打ち負かすADCへの、CD30結合を容易にし得ることを示す。

【０２９４】

図22は、チューブリ（Tubuli）の商標登録されたTub-タグ(登録商標)（「TTL認識配列」）技術による、ブレンツキシマブなどのモノクローナル抗体へのリンカーを介した薬物部分（ペイロード）の部位特異的縮合を示す。TTL：チューブリンチロシンリガーゼ。

【０２９５】

本発明者らは、チューブリンチロシンリガーゼの認識配列をモノクローナル抗体cAC10（ブレンツキシマブ、図23に例示的に示す軽鎖にTubタグが縮合）の軽鎖（軽鎖SEQ

ID NO: 11、重鎖：SEQ ID NO: 1）、重鎖（軽鎖SEQ ID NO: 2、重鎖：SEQ ID NO: 12）または軽鎖および重鎖（軽鎖SEQ ID NO: 11、重鎖：SEQ ID NO: 12）に縮合する（核酸レベルで）ことによって調査を開始し、任意にGly4Serアミノ酸リンカーの配列をチューブリンチロシンリガーゼの認識配列とそれぞれの抗体鎖への間に配置した。

【０２９６】

図23は、ADC製造のための化学酵素的コンジュゲーションを示す。（青）Tubタグ認識配列、（黒）チロシン誘導体、（黄）生体直交型ハンドルを有するペイロード。Tubタグは軽鎖および/または重鎖に配置することができ、使用するTubタグの数に応じて、2～8の範囲の薬物抗体比（DAR）を有する均質なADCを可能にする。ペイロード2および3も示している。

【０２９７】

これらのブレンツキシマブ変種は、確立された細胞培養法を用いて組換え発現させ、続いてプロテインAクロマトグラフィーでうまく精製した。サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）での分析により、Tubタグ抗体の非常に高い純度が示され、ほんの少量の高分子量種（HMWS）が観察された（HMWS＝1.5～7%）。結果を図1に示す。これらの結果から、発現および精製後の抗体はモノマー率が高いことがわかる。図1Bに見られるとおり、Tubタグ認識配列をブレンツキシマブの重鎖に連結させると、高分子量種は11%からわずか1.5%、すなわち10分の1に減少する。

【０２９８】

図1Aは、プロテインAクロマトグラフィー（PAC）後の、本明細書においてただの「ブレンツキシマブ」とも表示する、非修飾ブレンツキシマブの分析用サイズ排除クロマトグラムを示す。「HMWC」は「高分子量要素」を表す。

【０２９９】

図1Bは、プロテインAクロマトグラフィー（PAC）後の、本明細書において「Bren. HC-Tub」とも表示する、重鎖（軽鎖：SEQ ID NO: 2、重鎖：SEQ ID NO: 12）に縮合したTTL認識配列（Tubタグ）を含むブレンツキシマブの分析用サイズ排除クロマトグラムを示す。

【０３００】

図1Cは、プロテインAクロマトグラフィー（PAC）後の、本明細書において「Bren. LC-Tub」とも表示する、軽鎖（軽鎖：SEQ ID NO: 11、重鎖：SEQ ID NO: 1）に縮合したTTL認識配列（Tubタグ）を含むブレンツキシマブの分析用サイズ排除クロマトグラムを示す。

【０３０１】

図1Dは、プロテインAクロマトグラフィー（PAC）後の、本明細書において「Bren. LCHC-Tub」とも表示する、軽鎖および重鎖（軽鎖：SEQ ID NO: 11、重鎖：SEQ ID NO: 12）に縮合したTTL認識配列（Tubタグ）を含むブレンツキシマブの分析用サイズ排除クロマトグラムを示す。

【０３０２】

ブレンツキシマブの軽鎖のC末端、重鎖のC末端、または重鎖および軽鎖のすべてのC末端にチューブリンチロシンリガーゼの認識配列を含むブレンツキシマブ（「Tubタグ変種」または「ブレンツキシマブtubタグ」）の製造性を示した後、本発明者らは、疎水性の一般的な尺度である親水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）により保持時間を決定した。この試験により、すべてのTubタグ変種の親水性および表面極性が、非修飾cAC10（ブレンツキシマブ）と比較して高いことが明らかになった（図2A）。

【０３０３】

図2Aは、ブレンツキシマブ（黒）、Bren. LC-Tub（灰色、点線）、Bren. HC-Tub（灰色）、およびBren. LCHC-Tub（黒、点線）の分析用疎水性相互作用クロマトグラムを示す。クロマトグラムは220nmで記録した標準化吸収スペクトルを示す。保持時間は疎水性の尺度である。疎水性相互作用クロマトグラムの保持時間が長いほど、疎水性が

大きいことを示す。保持時間が短いほど、親水性が大きいことを示す。

【０３０４】

抗体骨格の変更は構造および安定性の混乱を引き起こし得るため、ブレンツキシマブおよびTubタグ変種の融点（Tm）を示差走査蛍光測定法（DSF）で測定した。これらの実験により、Tubタグ変種は非修飾mAb（Tm＝71.0℃）と同じ融点（Tm＝70.9～71.8℃）を有し、したがって熱ストレスに対して同じ安定性を有することが実証された（図2B）。

【０３０５】

図2Bは、ブレンツキシマブ、Bren．LC-Tub、Bren．HC-TubおよびBren．LCHC-Tubの融点（Tm）の決定のための示差走査蛍光測定曲線を示す。

【０３０６】

本発明者らは、Tubタグ抗体の酵素修飾のために異なるチロシン誘導体を試験したが、3-ホルミル-L-チロシンがADC製造に最適であることが判明した。簡単に言うと、本発明者らは異なるブレンツキシマブTubタグ変種をTTLと共にインキュベートし、3-ホルミル-L-チロシンをTubタグの末端グルタミン酸残基に共有結合させた。特に、3-ホルミル-L-チロシンのアミノ基をTubタグのC末端に結合させた。その後、過剰の3-L-ホルミル-チロシンおよび残存TTLをプロテインAクロマトグラフィーまたはアニオン交換クロマトグラフィー（AEX）で除去した。続いて、リンカーペイロード（「リンカー薬物部分」）を生体直交型反応により共有結合させた。得られたADCの精製をカチオン交換クロマトグラフィー（CEX）で行い、過剰のリンカーペイロードを除去してADCの純度を高めた。プロセスの最終段階では、接線流ろ過（TFF）および滅菌ろ過による製剤を行った。薬物抗体比（DAR）が2のADCの作製のために、線形ペイロード2を適用した（図23に示す、MMAEとコンジュゲートした、説明および特許請求の範囲で定義する「構造4」）。DARが4のADCの作製のために、分枝ペイロード3を適用した（図23に示す、MMAEとコンジュゲートした、説明および特許請求の範囲で定義する「構造5」）。特に、ペイロード2およびペイロード3のH_2N-O-部分は、TTL認識配列に結合した3-ホルミル-L-チロシンのホルミル基と反応して、-C=N-O-構造を有するオキシムを得た。この手順により、純粋で均質なADCが得られ、例えば、SEC、HIC（図3）およびミドルアップMS（図4）により品質が管理されて、優れた純度および均質性が見られた。

【０３０７】

以下のADCを、調製し、実施例においてさらに調査した（ペイロード2および3を図23に示す）。

ADC	ブレンツキシマブ軽鎖	ブレンツキシマブ重鎖	非天然アミノ酸	ペイロード	薬物抗体比(DAR)
Bren. HC-2	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 12（TTL認識配列を含む）	3-ホルミル-L-チロシン	ペイロード2	2
Bren. LC-2	SEQ ID NO: 11（TTL認識配列を含む）	SEQ ID NO: 1	3-ホルミル-L-チロシン	ペイロード2	2
Bren. LCHC-2	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO:12	3-ホルミル-L-チロシン	ペイロード2	4
Bren. LC-3	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 1	3-ホルミル-L-チロシン	ペイロード3	4

【０３０８】

図3は、SEC（図3A～C）およびHIC（図3D～F）によるブレンツキシマブTubタグADCの分析を示す。図3AおよびDはBren. HC-vc-PAB-MMAE DAR2（本明細書において「Bren. HC-2」とも表示する）の結果を示し、図3BおよびEはBren. LC-vc-PAB-MMAE DAR2（本明細書において「Bren. LC-2」とも表示する）の結果を示し、かつ図3CおよびFはBren. LCHC-vc-PAB-MMAE DAR4（本明細書において「Bren. LCHC-2」とも表示する）の結果を示す。ブレンツキシマブ変種のそれぞれを発現させ、PACで精製し、DAR2の生成のためにペイロード2およびDAR4 ADCの生成のためにペイロード2またはペイロード3にコンジュゲートした。HICおよび緩衝液交換による最終ポリシング後、TubタグADCを凝集物含有量およびDAR均質性に関して分析した。すべてのTubタグADCは非常に低い含有量のHMWS（＜1％）を含み、優れたDAR均質性を示した。

【０３０９】

図4は、脱グリコシル後の、ミドルアップタンパク質MSによるブレンツキシマブTubタグADCの分析を示す。図4Aは、Bren. HC-Tubの結果を示し；図4BはBren. LCHC-Tubの結果を示し；図4CはBren-LC-Tubの結果を示し、図4DはBren. HC-vc-PAB-MMAE（本明細書において「Bren. HC-2」とも表示する）の結果を示し；図4EはBren. LCHC-vc-PAB-MMAE（本明細書において「Bren. LCHC-2」とも表示する）の結果を示し；かつ図4FはBren. LC-2(vc-PAB-MMAE)（本明細書において「Bren. LC-3」とも表示する）の結果を示す。1369m/zの質量シフトは、3-ホルミル-L-チロシンの組み込みおよびペイロード2とのオキシム連結に起因する。ペイロード3とのオキシム連結

後、2604m/zの質量の差が観察された。これらの結果は計算値と一致している。

【０３１０】

抗体とのコンジュゲーションの前に、ペイロード2および3をプロテアーゼカテプシンBによる切断に対する感受性について分析した（図5）。結果は、ペイロード2および3はカテプシンBにより切断されて、遊離薬物モノメチルアウリスタチンE（ＭＭＡＥ）を放出することを示している。

【０３１１】

図5は、図5Aにおいて、プロテアーゼカテプシンB（各vc部分に対して1：1000）による消化反応中の、ペイロード2を含むバリン-シトルリン（vc）のRP-HPLC分析を示す。分析前に、E-64により反応を停止した。150分の反応時間後のクロマトグラムを220nmで記録した。図5Bのプロットは、カテプシンBとの反応中の経時的な遊離ＭＭＡＥの増加（黒）およびペイロード2の減少（灰色、丸）を示す。図5Cは、ペイロード3の切断を示す。ペイロード3のカテプシンBとの反応中、1つのＭＭＡＥ部分を含む中間体が形成される（灰色、三角）。

【０３１２】

<u>実施例2：ADCのインビトロでの安定性</u>

実施例1に記載のブレンツキシマブADCの安定性を解明するために、発明者らは蛍光色素SYPRO Orangeに基づく熱ストレス試験を行った。DSF実験により、ブレンツキシマブTubタグADCは対応するmAbと同様の融点を有することが明らかになった（ブレンツキシマブTm＝71.0℃、ブレンツキシマブTubタグADC Tm＝70.9～72.9℃）。これは、ブレンツキシマブTubタグADCの抗体様の安定性を示している。比較のために用いたブレンツキシマブベドチンは68.5℃の低い融点を示し、融解曲線はより高い温度範囲をカバーしていた。加えて、ADCの安定性試験を緩衝液およびマウス血漿中で行った。緩衝液中で貯蔵した試料をSECで分離し、ＨＭＷＳ（高分子量種）の形成を分析した。4℃で2週間貯蔵した後、クロマトグラムに有意な相違は認められなかった。しかし、高温での貯蔵中に差が明らかとなった。ブレンツキシマブベドチンを製造者の指針に従って溶解した後、ＨＭＷＳは0.74％と決定された。この値は40℃で14日間貯蔵する間に11.44％に増加し、ＨＭＷＳの15.5倍の増加を示している。これらの値と比較して、ブレンツキシマブTubタグADCは非常に安定であり、ＨＭＷＳ含有量の増加は1.0～5.0倍と低かった（図6A）。ブレンツキシマブLC-3 DAR 4は、ブレンツキシマブベドチン（DARav 4）と同じ薬物量を含有しており、したがってペイロードに由来する高い疎水性を特徴とするが、ＨＭＷＳ含有量の増加は低かった。TubタグADC Bren．LC-3 DAR 4の製造後、ＨＭＷＳは0.47％であった。40℃での貯蔵中、ＨＭＷＳの2.34％までのほんのわずかな増加が観察された。（図6C、比較のためにブレンツキシマブベドチンの結果を図6Bに示す）。

【０３１３】

図6は、ブレンツキシマブベドチンおよびブレンツキシマブTubタグADCの高温での貯蔵の結果を示す。図6Aは、Bren.LC-2(vc-PAB-MMAE)（本明細書において「Bren．LC-3」とも表示する）；Bren．LC-vc-PAB-MMAE（本明細書において「Bren．LC-2」とも表示する）；Bren．HC-vc-PAB-MMAE（本明細書において「Bren．HC-2」とも表示する）；およびブレンツキシマブベドチンについての試験の過程でのＨＭＷＳの増加を示す。凝集物含有量の最も高い増加は、ブレンツキシマブベドチンで見ることができる。これと比べて、TubタグADCのＨＭＷＳ含有量はほぼ一定のままである。図6Bおよび6Cは、SECクロマトグラムを示し、ブレンツキシマブベドチン（平均薬物抗体比（DAR_{av}）4）およびペイロード3とコンジュゲートしたBren．LC（Bren．LC-3、DAR 4）について220nmで記録した標準化吸収スペクトルを示す。

【０３１４】

加えて、ブレンツキシマブTubタグADCの安定性をマウス血漿中で評価し、TubタグADCの優れた安定性が示された。これに対して、ブレンツキシマブベドチンは急速に分解した（図7、表1）。ブレンツキシマブベドチンのようなマレイミド連結ADCの急速な分

解が最近明らかにされ、逆マイケル付加が我々の所見についての1つの説明であり得る。

【０３１５】

（表１）ブレンツキシマブベドチンおよびブレンツキシマブTubタグADCの、マウス血漿中37℃での7日間の貯蔵

ADC	*血漿インキュベーション前のDAR*	*血漿インキュベーション後のDAR_{av} n=2*	*ペイロード損失[%]*
*Bren. HC-**2***	2	1.8	10
*Bren. LC-**2***	2	1.8	10
*Bren. LCHC-**2***	3.8	3.63	5
*Bren. LC-**3***	4	3.59	10
ブレンツキシマブベドチン	4.02	1.53	62

【０３１６】

図7は、マウス血漿中のブレンツキシマブTubタグADCの安定性をブレンツキシマブベドチンと比べて例示する図を示す。図7Aおよび7Bは、マウス血漿中、37℃でのブレンツキシマブベドチン貯蔵の結果を示す。図7Cおよび7Dは、マウス血漿中、37℃でのBren. LC-3 DAR 4貯蔵の結果を示す。

【０３１７】

実施例3：ADCのインビトロでの有効性

次いで、本発明者らは、ブレンツキシマブTubタグADCのインビトロでの有効性を細胞生存検定で評価し、結果をブレンツキシマブベドチンと比較した。CD30過剰発現細胞株Karpas299ならびにCD30陰性細胞株HL60をこのレザズリン検定に用いた（図8）。抗原陽性細胞株Karpas299において決定したブレンツマキシブベドチンのIC50値（IC50＝2.08）は文献データと一致した。全体として、ブレンツキシマブTubタグADCは低いIC50値を示し、良好なインビトロ有効性を示した（表2）。

【０３１８】

（表２）レサズリン検定によって決定された、ブレンツキシマブベドチンおよびブレンツキシマブTubタグADCのIC_{50}値

ADC	*IC_{50} Karpas299 細胞*
*Bren. HC-**2***	5.24 n=1*2
*Bren. LC-**2***	5.63 n=4*2
*Bren. LCHC-**2***	1.70 n=2*2
*Bren. LC-**3***	1.06 n=5*2
ブレンツキシマブベドチン	2.08 n=5*2

【０３１９】

図8は、CD30過剰発現細胞株Karpas299およびCD30陰性細胞株HL60におけるブレンツキシマブTubタグADCのインビトロでの有効性を示す。

【０３２０】

実施例4：ブレンツキシマブTubタグADCのインビボでの有効性

ブレンツキシマブTubタグADCのインビボでの有効性を、免疫不全CB17-SCIDマウスのKarpas299由来腫瘍モデルで評価した。図9および10に見られるとおり、Bren. LC-2はブレンツキシマブベドチンと同様の予想外に高いインビボ有効性を示した。この所見は、ブレンツキシマブLC-2は、4つのMMAE分子にコンジュゲートしているブレンツキシマブベドチンに比べて、DAR 2 MMAE ADCであるため、薬物量が半分であるという事実にもかかわらず得られた。さらに、予想外にも、Bren. LC-3はブレンツキシマブベ

ドチンのインビボ有効性を有意に上回り、生存期間中央値が2.5倍増加した（図11）。

【０３２１】

図9は、腫瘍体積（cm^3）に関して表した、Bren．LC-2のインビボでの有効性を示す。Bren．LC-2のインビボでの有効性の評価のために、１００～１５０mm^3の間の腫瘍体積を有するマウスを無作為化し、腫瘍移植後第7日および第10日に2回の1.5mg/kgの注射により処置を行った。

【０３２２】

図10は、腫瘍体積（cm^3）および処置した動物の生存パーセンテージ（カプランマイヤープロット）に関して表した、Bren．LC-2のインビボでの有効性を示す。Bren．LC-2のインビボでの有効性の評価のために、１００～１５０mm^3の間の腫瘍体積を有するマウスを無作為化し、1回の1.0mg/kgの注射により処置を行った。

【０３２３】

図11は、腫瘍体積（cm^3）および処置した動物の生存パーセンテージに関して表した、Bren．LC-3のインビボでの有効性を示す。Bren．LC-3のインビボでの有効性の評価のために、１００～１５０mm^3の間の腫瘍体積を有するマウスを無作為化し、腫瘍移植後第8日および第11日に2回の0.5mg/kgの注射により処置を行った。

【０３２４】

実施例5：ブレンツキシマブTubタグADCの薬物動態

本発明者らは、ブレンツキシマブTubタグADCが高いインビトロ安定性および優れたインビボ有効性を特徴とするという驚くべき知見に刺激され、インビトロでの安定性が生きている生物にもあてはまるかどうかを解明したいと考え、スプラーグドーリーラットで薬物動態分析を行った。試験項目を第1日に単回静脈内（ボーラス）注射で動物に投与した。ADC含有量を経時的に分析するため、ELISA検定を開発して抗体およびインタクトなADC含有量を検出した（抗体に連結したペイロードを測定することによる）。全抗体検定は抗体クリアランスに関する有用な情報を提供し、インタクトなADC検定と比べての検出差は抗体からのペイロード損失を説明し得る。さらに、本発明者らは、ペイロード損失および血液タンパク質へのペイロード移行の判定を容易にする質量分析検定を開発した。この研究から、ブレンツキシマブTubタグADCは優れたインビボ安定性を有することが示された（図12A）。さらに、ブレンツキシマブベドチンとは対照的に、ブレンツキシマブTubタグADCは、ペイロードを血液タンパク質に移行させて共有結合させることを可能にすることを特徴としない（図12B）。

【０３２５】

図12は、ブレンツキシマブTubタグＭＭＡＥ（Bren LC-2）の薬物動態（PK）分析を示す。図12Aでは、ブレンツキシマブベドチンに比べてインタクトなADCの量を示す。図12Bでは、質量分析により分析した、血液タンパク質に移行したＭＭＡＥの量を示す。

【０３２６】

実施例6：TUB-010の反復投与毒性試験

これまでのところ、ブレンツキシマブTubタグADCはインビボでの有効性および安定性の高さを特徴とすることが示されてきた。したがって、本発明者らは、インビボでの安定性の増大が、ブレンツキシマブTubタグADCの有益な毒性プロファイルをもたらすかどうかを検討した。これは、改善された毒性プロファイルと改善された有効性との組み合わせにより、有意な治療域の拡大と、したがって患者の処置のために大きな利点がもたらされ得るため、有利である。したがって、本発明者らは、ブレンツキシマブTubタグADCの毒性および毒物動態をスプラーグドーリー雌雄ラットで評価し、そのプロファイルをブレンツキシマブベドチンと比較した。雌雄のスプラーグドーリーラットに対照（ビヒクル）、ブレンツキシマブTubタグADC（Bren LC-2）（10mg/kg）またはブレンツキシマブベドチン（10mg/kg）を週1回（第1、8、15および22日）投与し、主投与期の剖検は第26日（5匹/性別/群）、回復期剖検は第51日（5匹/性別/群）に行った。臨床観察、体重、および摂食量を試験期間中毎日確認した。各投与前、各投与後15分、および剖検時に各動物から薬物動態試料を採取した。すべての動物を剖検し、臓器を秤量し、

固定液中に保持した。臨床病理学（血液学、臨床化学および凝固エンドポイント）試料も剖検時に採取した。インタクトなADCおよび全抗体の平均血清濃度を図13に示す。グラフは、Bren LC-2の投与により、反復投与後にインビボでの血清濃度が妥当なレベルになることを明確に示している。Bren LC-2のインタクトなADCと全抗体との間の高度な重なりは、インビボでの構築物の優れた安定性を再度強調し、ブレンツキシマブベドチン群と差別化している。

【０３２７】

図13は、ブレンツキシマブベドチンに比べてブレンツキシマブTubタグADCを第1、8、15および22日に10mg/kgで静脈内（ボーラス）投与した後の、雌雄のラットにおけるインタクトなADCおよび全抗体の平均血清濃度を示す。

【０３２８】

ブレンツキシマブベドチンとは対照的に、ブレンツキシマブTubタグADC（Bren LC-2）では赤血球集団への影響は観察されなかった。これは、臨床診療においてブレンツキシマブベドチンで観察された貧血（および血小板減少症の可能性）を相殺する可能性がある。予想されたMMAEによる精巣の変化はBren LC-2およびブレンツキシマブベドチンの両方で観察されたが、Bren LC-2では発症が遅れ、ブレンツキシマブTubタグADCの安定性が精巣毒性の発現遅延に役割を果たしているようである。Bren．LC-2の例示的毒性プロファイルを図14に示す。

【０３２９】

図14は、雌雄のラットにおけるブレンツキシマブベドチン（右の棒）に比べてブレンツキシマブTubタグADC（Bren LC-2）（左の棒）の例示的な毒性プロファイルを示す。ブレンツキシマブTubタグADC Bren LC-2についての図14に示すパラメーターは、カウント/マイクロリットル単位での網状赤血球（K/μl単位でのRET）、100万/マイクロリットル単位での赤血球（M/μl単位でのRBC）、100万/マイクロリットル単位でのヘモグロビン（M/μL単位でのHb）、体積％単位でのヘマトクリット（％単位でのHTC）、カウント/マイクロリットル単位での好酸球（K/μl単位でのEOS）、秒単位での活性化部分トロンボプラスチン時間（APPT）（秒）、ミリモル/リットル単位でのグルコースレベル（mmol/L）、グラム単位での胸腺重量（g）およびグラム単位での精巣重量（g）である。参照として、ラットに対照（ビヒクル）を投与した（データは示していない）。

【０３３０】

特に、図14は下記を示す。

網状赤血球：ブレンツキシマブベドチンによる処置は網状赤血球数に顕著な影響をおよぼすが、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置では効果は観察されない。したがって、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置は、ブレンツキシマブベドチンによる処置と比較して、臨床における貧血が減少させると予想される（赤血球、ヘモグロビンおよびヘマトクリットのデータと一致する）。

赤血球：ブレンツキシマブベドチンによる処置は赤血球数に顕著な影響をおよぼすが、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置では顕著な効果は観察されない。したがって、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置は、ブレンツキシマブベドチンによる処置と比較して、臨床における貧血を減少させると予想される（網状赤血球、ヘモグロビンおよびヘマトクリットのデータと一致する）。

ヘモグロビン：ブレンツキシマブベドチンによる処置はヘモグロビン値を低下させる（主に雄で）が、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置では顕著な効果は観察されない。したがって、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置は、ブレンツキシマブベドチンによる処置と比較して、臨床における貧血を減少させると予想される（赤血球、網状赤血球およびヘマトクリットのデータと一致する）。

ヘマトクリット：ブレンツキシマブベドチンによる処置はヘマトクリットを低下させる（主に雄で）が、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置では顕著な効果は観察されない。したがって、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置は、ブレンツキシマブベド

チンによる処置と比較して、臨床における貧血を減少させると予想される（赤血球、ヘモグロビンおよび網状赤血球のデータと一致する）。
好酸球：ブレンツキシマブベドチンによる処置は、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置と比較して、好酸球数を低下させる。これが白血球に対する一般的な効果であると仮定すると、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置は、ブレンツキシマブベドチンによる処置と比較して、臨床における好中球減少症を減少させると予想される。
APTT：ブレンツキシマブベドチンによる処置は、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置と比較して、APTT値を低下させる。ブレンツキシマブベドチンは、臨床における血液凝固時間/APTTにいかなる影響もおよぼさないため、提供されたデータから見ても、ブレンツキシマブTubタグADCは血液凝固時間に関していかなる懸念もないと予想される。
グルコース：ブレンツキシマブベドチンによる処置は、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置よりもグルコースレベルを上昇させる。したがって、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置は、ブレンツキシマブベドチンによる処置と比較して、グルコースレベルを低下させる。したがって、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置は、臨床においてブレンツキシマブベドチンによる処置で観察されている高血糖を引き起こす可能性が低いと予想される。
胸腺：ブレンツキシマブベドチンによる処置は、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置と比較して、胸腺重量を減少させる。MMAEを含むADCによる処置で観察される胸腺重量の変化は、典型的な標的非依存性/遊離毒素関連毒性であり、MMAEによる細胞不足に起因する。したがって、ブレンツキシマブTubタグADCは、ブレンツキシマブベドチンと比較して、標的非依存性/遊離MMAE関連毒性が少ないという点で、より好ましい臨床安全性プロファイルを有すると予想される。
精巣：ブレンツキシマブベドチンによる処置は、ブレンツキシマブTubタグADCによる処置と比較して、精巣重量を減少させる。MMAEを含むADCによる処置で観察される精巣重量の変化は、典型的な標的非依存性/遊離毒素関連毒性である。したがって、ブレンツキシマブTubタグADCは、ブレンツキシマブベドチンと比較して、標的非依存性/遊離MMAE関連毒性が少ないという点で、より好ましい臨床安全性プロファイルを有すると予想される。

【０３３１】

全体として、提供したデータは、ラットにおいてブレンツキシマブTubタグADCがブレンツキシマブベドチンと比較して、より良好な安全性プロファイルを有することを示している。したがって、臨床においてブレンツキシマブTubタグADCは、貧血、好中球減少および高血糖を含む、ブレンツキシマブベドチンの特定の用量制限毒性を引き起こす可能性が低い。ブレンツキシマブTubタグADCでは、ブレンツキシマブベドチンに関連する標的非依存性/遊離毒素関連毒性がないことで、ブレンツキシマブベドチンを含む、MMAEを含む多くのADCでみられる末梢神経障害のような特徴的な変化を相殺することもできる。

【０３３２】

実施例7：カニクイザルにおけるブレンツキシマブTubタグMMAEの反復投与毒性試験

次に、ブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）の毒性をカニクイザルで評価した。試験の目的は、カニクイザルにおけるブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）の毒性および毒物動態（TK）を評価することであった。ブレンツキシマブTubタグADCを6、12および15mg/kg（6mg/kgはQ3W×4、12および15mg/kgはQ3W×2）で投与した。臨床状態（体重、摂食量および臨床所見を含む）、臨床病理および免疫表現型検査（T、BおよびNK細胞）を試験の全体にわたって評価し、TKおよび抗薬物抗体測定のために頻繁にサンプリングを行った。すべての動物を完全剖検および詳細な肉眼での観察に供した。ブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）は、6、12および15mg/kgで臨床的に良く耐容され、体重への影響はなかった。アドセトリスは、FDA PharmTox審査に基づき、カニクイザルにおいて6mg/kgで耐容性が不良であり（MTD

は3mg/kg）、初回投与後11～15日の間に死亡および早期安楽死がみられた。これに対し、ブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）のこの試験内で、死亡率も、肉眼または切断（sever）顕微鏡による所見も観察されなかった。12および15mg/kgのブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）で、赤血球（RBC）、ヘモグロビンおよび好中球の減少が認められ、これは3mg/kgのアドセトリスで観察されたもの（過去のデータ）と比較的一致した。さらに、ブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）は、図19に示すとおり、毒物動態分析において高い安定性を特徴とした。

【０３３３】

カニクイザル血清中のADC含有量を経時的に分析するため、ELISA検定を開発して抗体およびインタクトなADC含有量を検出した（抗体に連結したペイロードを測定することによる；ラットの薬物動態試験および反復投与毒性試験でも同じELISA検定の設定を使用しているが、違いは、この検定がカニクイザル血清中で使用するためにさらに検証されていることである）。全抗体検定は抗体クリアランスに関する有用な情報を提供し、インタクトなADC検定と比べての検出差は抗体からのペイロード損失を説明し得る。図19のインタクトなADCと全mAbの曲線の高度な重なりは、ブレンツキシマブTubタグMMAEのペイロードの損失が最小限であり、ADCの安定性が高いことを示している。

【０３３４】

図19は、12および15mg/kgで投与したカニクイザルにおけるブレンツキシマブTubタグMMAE（すなわち、Bren．LC-2）の毒物動態学的分析を示す。mAbおよびインタクトなADCの全量をELISAで評価した。インタクトなADCおよび全mAbの曲線の高度な重なりは、両方の用量レベルでのブレンツキシマブTubタグMMAEの高い安定性を示す。ブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）の反復投与試験中、カニクイザルの体重および異なる血液値、すなわちリンパ球、好中球および白血球の濃度をモニターした。

【０３３５】

図20は、カニクイザルにおけるブレンツキシマブTubタグMMAE（すなわち、Bren．LC-2）の反復投与試験の全体にわたって収集した、体重および選択した異なる血液値について得た値を示す。より詳細には、図20の左上の図は経時的な体重を示す。図20の右上の図は経時的なリンパ球濃度を示す。図20の左下の図は経時的な好中球濃度を示す。図20の右下の図は経時的な白血球濃度を示す。データは、それぞれの場合に、6、12および15mg/kgのブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）を反復投与した2匹の雌の3群の平均および誤差を、出願番号125388Orig1S000のFDAの報告「Clinical Pharmacology And Biopharmaceutics Review（https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/125388orig1s000clinpharmr.pdfで入手可能）に記載のブレンツキシマブベドチン（アドセトリス）の毒性試験結果と比較して示す。体重はキログラム単位、リンパ球は10億/リットル単位、好中球は10億/リットル単位、および白血球は10億/リットル単位で示す。

【０３３６】

臨床におけるブレンツキシマブベドチンの用量制限毒性の一つは好中球減少である。図20、左下の図に示すデータセットは、ブレンツキシマブTubタグMMAE（Bren．LC-2）は、有利なことに、ブレンツキシマブベドチン（3mg/kg）の2倍量（6mg/kg）、4倍量（12mg/kg）および5倍量（15mg/kg）を適用しても、ブレンツキシマブベドチンと直接比較してより多量の好中球減少を引き起こさないことを示している。さらに、体重の増加が観察された（図20、左上の図）。リンパ球濃度および白血球濃度には有意な変化は認められなかった（図20、右上および右下の図）。

【０３３７】

好中球濃度、試験期間の全体にわたるすべての動物の体重増加、ならびに白血球およびリンパ球濃度に有意な変化がないとの所見の組み合わせは、本開示のACDの良好な耐容性を明らかに示し、これはブレンツキシマブベドチンの耐容性を上回る。したがって、データは、臨床における良好な耐容性を明らかに示唆しており、これはブレンツキシマブベ

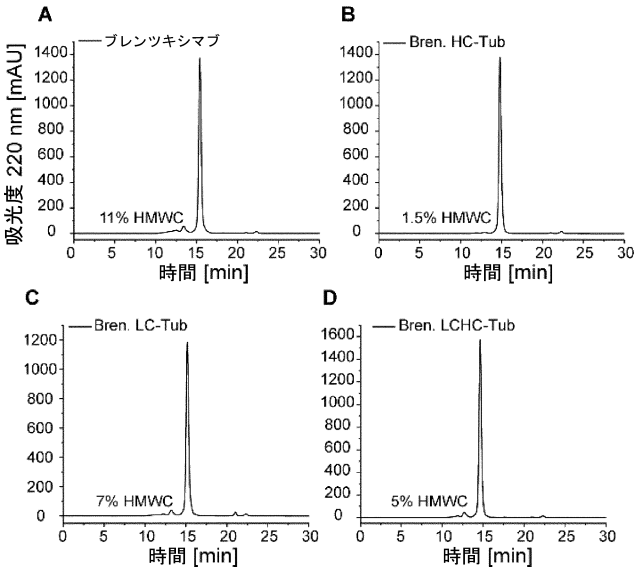
ドチンの耐容性を上回る。

【０３３８】

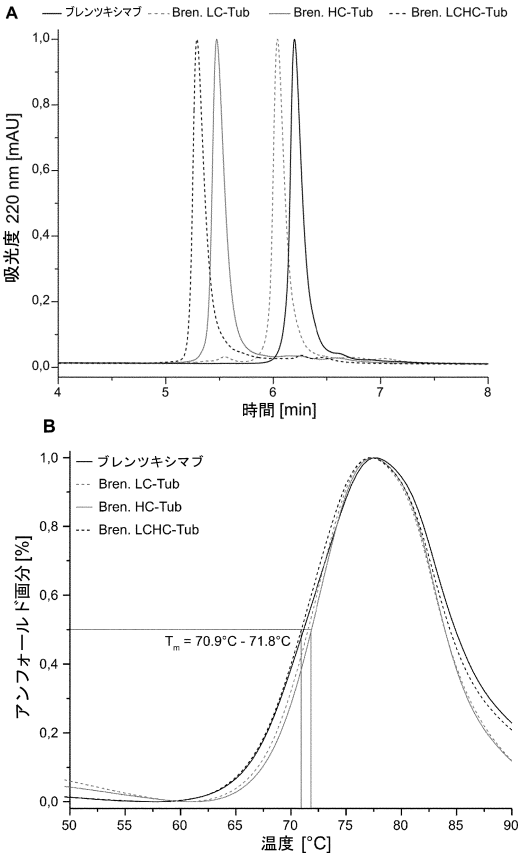
まとめると、提供する結果は、ブレンツキシマブTubタグADCはインビトロおよびインビボでの予想外に高い安定性を特徴とし、これは優れたインビボ有効性および毒性プロファイルを説明するものである。

【図面】

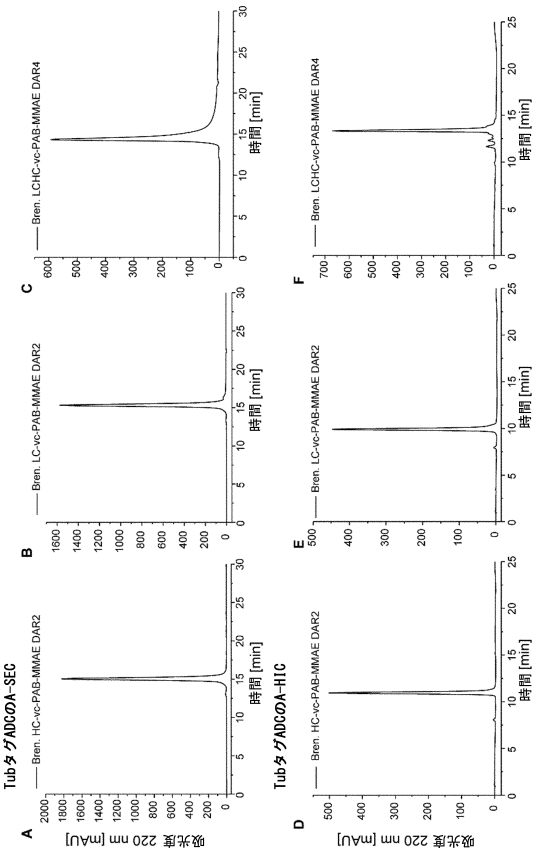
【図１】



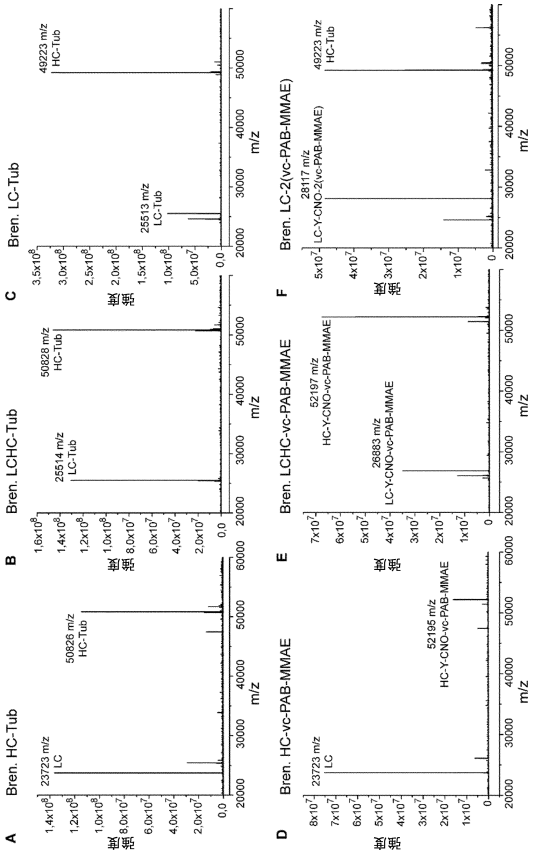
【図２】



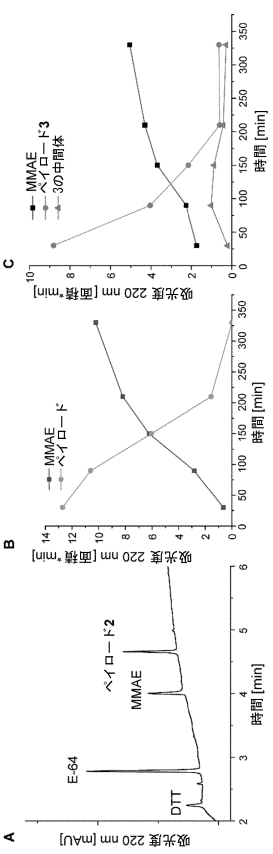
【図３】


TubタグADCのA-SEC
TubタグADCのA-HIC
Bren. HC-vc-PAB-MMAE DAR2
Bren. LC-vc-PAB-MMAE DAR2
Bren. LCHC-vc-PAB-MMAE DAR4
吸光度 220 nm [mAU]
時間 [min]

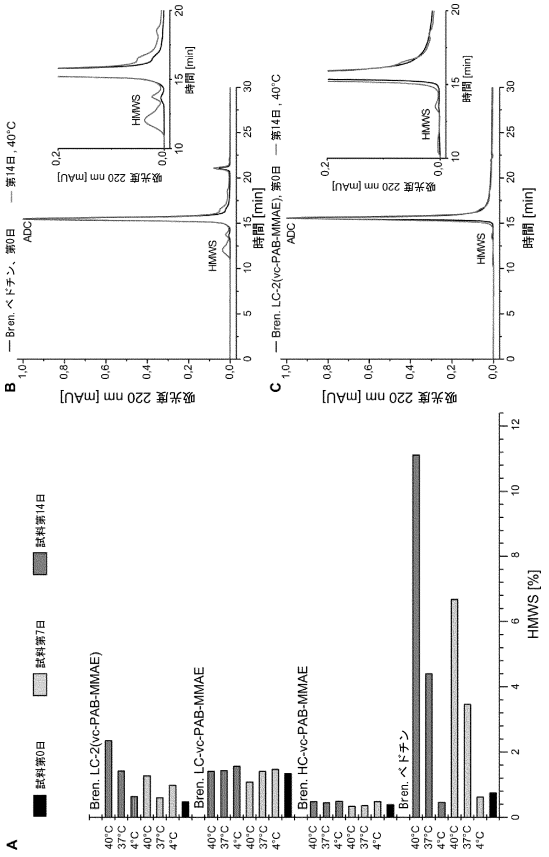
【図４】


Bren. HC-Tub
Bren. LCHC-Tub
Bren. LC-Tub
Bren. HC-vc-PAB-MMAE
Bren. LCHC-vc-PAB-MMAE
Bren. LC-2(vc-PAB-MMAE)
23723 m/z
LC
50826 m/z
HC-Tub
25514 m/z
LC-Tub
50828 m/z
25513 m/z
52195 m/z
HC-Y-CNO-vc-PAB-MMAE
52197 m/z
26883 m/z
LC-Y-CNO-vc-PAB-MMAE
28117 m/z
LC-Y-CNO-2(vc-PAB-MMAE)
49223 m/z
強度
m/z

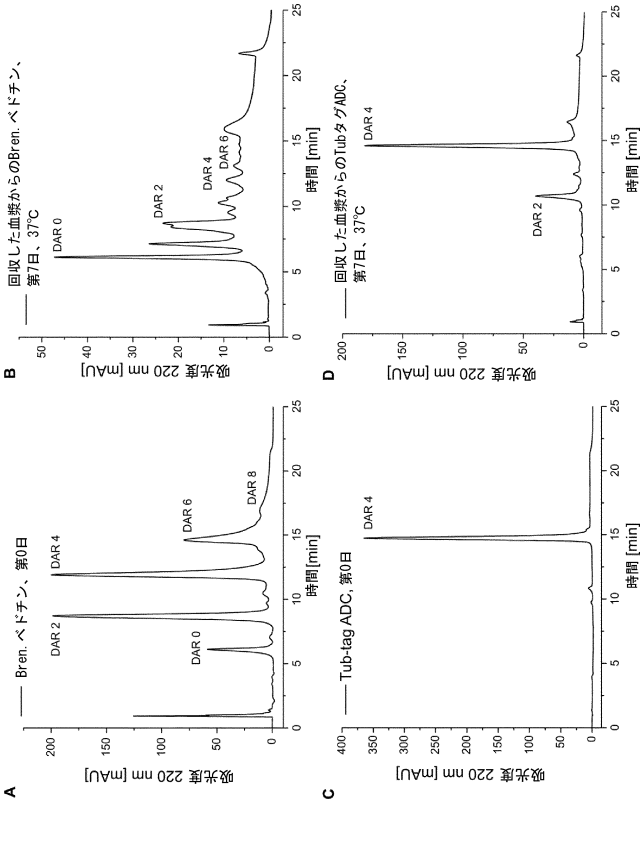
【図５】


吸光度 220 nm [mAU]
DTT
E-64
MMAE
ペイロード2
吸光度 220 nm [面積*min]
ペイロード
MMAE
ペイロード3の中間体
時間 [min]

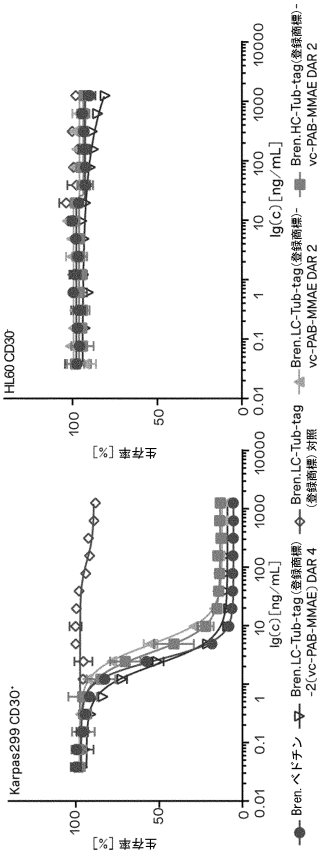
【図６】


Bren. LC-2(vc-PAB-MMAE)
Bren. LC-vc-PAB-MMAE
Bren. HC-vc-PAB-MMAE
Bren. ベドチン
試料第0日
試料第7日
試料第14日
HMWS [%]
Bren. ベドチン、第0日
Bren. LC-2(vc-PAB-MMAE), 第0日
第14日, 40°C
ADC
HMWS
吸光度 220 nm [mAU]
時間 [min]

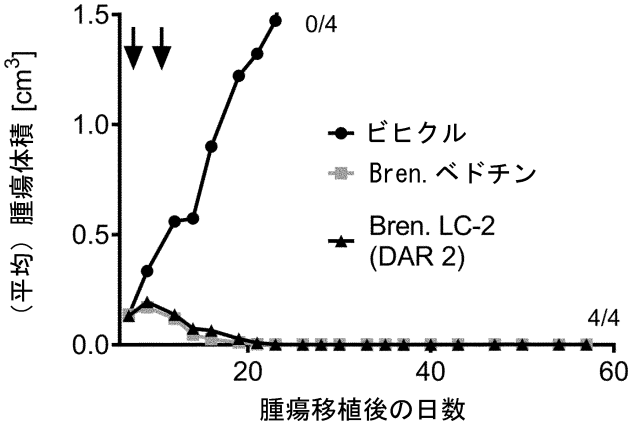
【図７】


A
Bren. ベドチン、第0日
DAR 0
DAR 2
DAR 4
DAR 6
DAR 8
吸光度 220 nm [mAU]
時間 [min]
B
回収した血漿からのBren. ベドチン、第7日、37°C
DAR 0
DAR 2
DAR 4
DAR 6
吸光度 220 nm [mAU]
時間 [min]
C
Tub-tag ADC, 第0日
DAR 4
吸光度 220 nm [mAU]
時間 [min]
D
回収した血漿からのTubタグADC、第7日、37°C
DAR 2
DAR 4
吸光度 220 nm [mAU]
時間 [min]

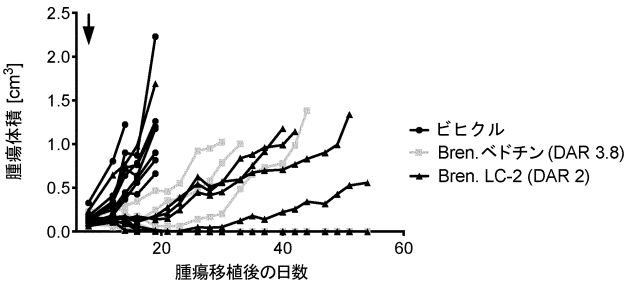
【図８】


HL60 CD30-
Karpas299 CD30-
生存率 [%]
Ig(c) [ng/mL]
Bren. ベドチン
Bren.LC-Tub-tag (塗錠商標) -2(vc-PAB-MMAE) DAR 4
Bren.LC-Tub-tag (塗錠商標) 対照
Bren.LC-Tub-tag (塗錠商標) -vc-PAB-MMAE DAR 2
Bren.HC-Tub-tag (塗錠商標) -vc-PAB-MMAE DAR 2

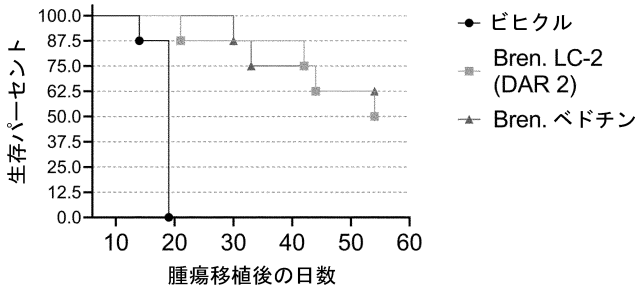
【図９】


（平均）腫瘍体積 [cm3]
腫瘍移植後の日数
0/4
4/4
ビヒクル
Bren. ベドチン
Bren. LC-2
(DAR 2)

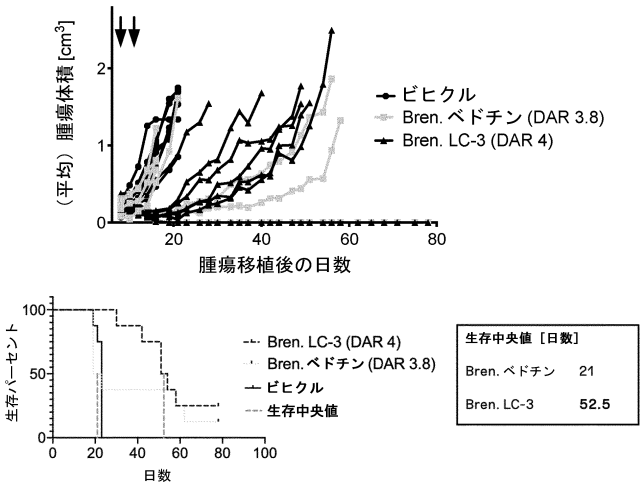
【図１０－１】


腫瘍体積 [cm3]
腫瘍移植後の日数
ビヒクル
Bren. ベドチン (DAR 3.8)
Bren. LC-2 (DAR 2)

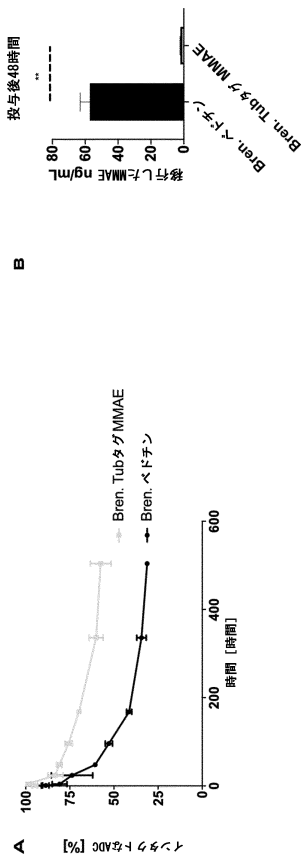
【図１０－２】



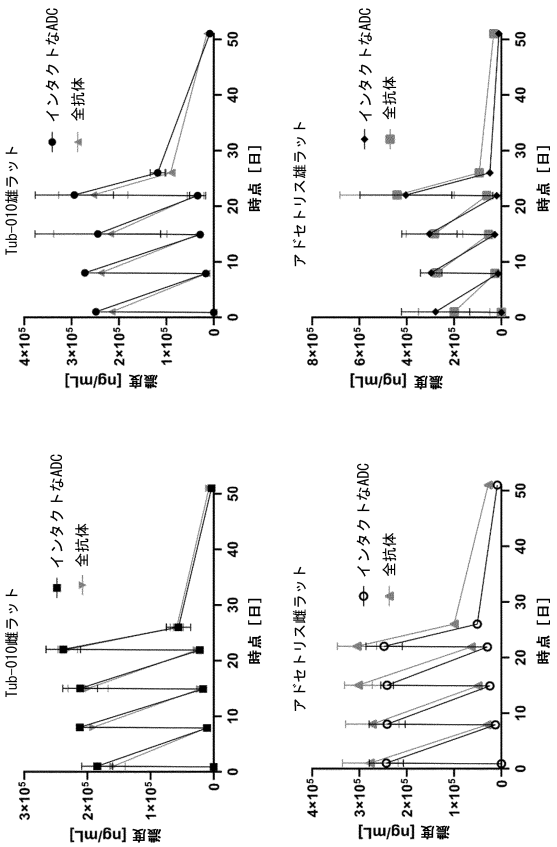
【図１１】



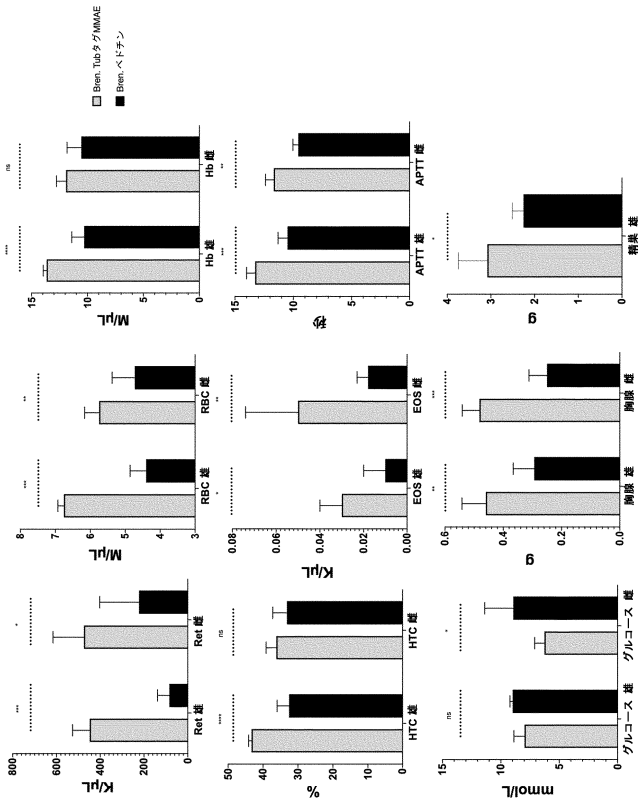
【図１２】



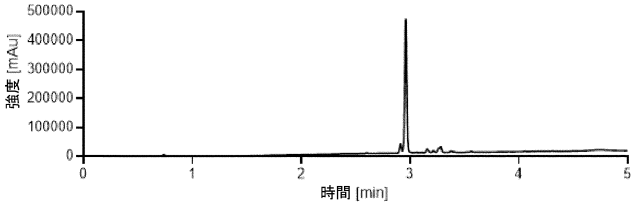
【図１３】



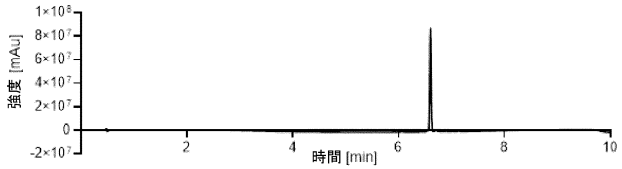
【図１４】



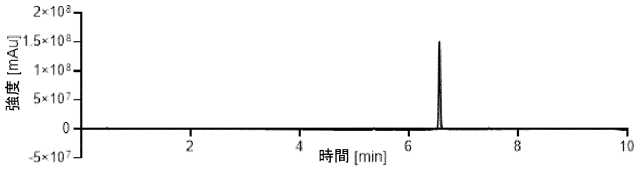
【図１５】



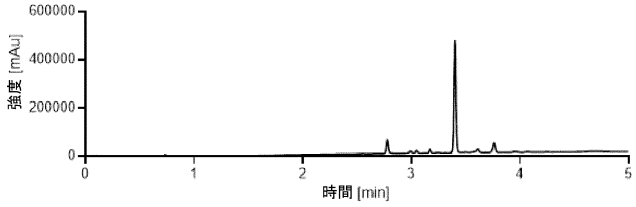
【図１６】



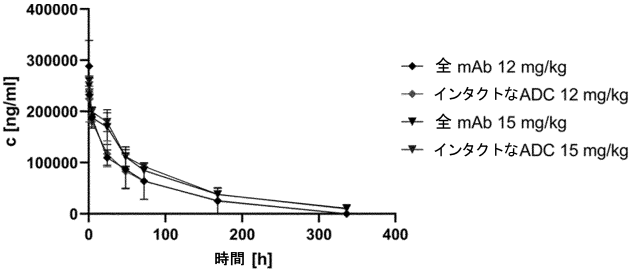
【図１７】



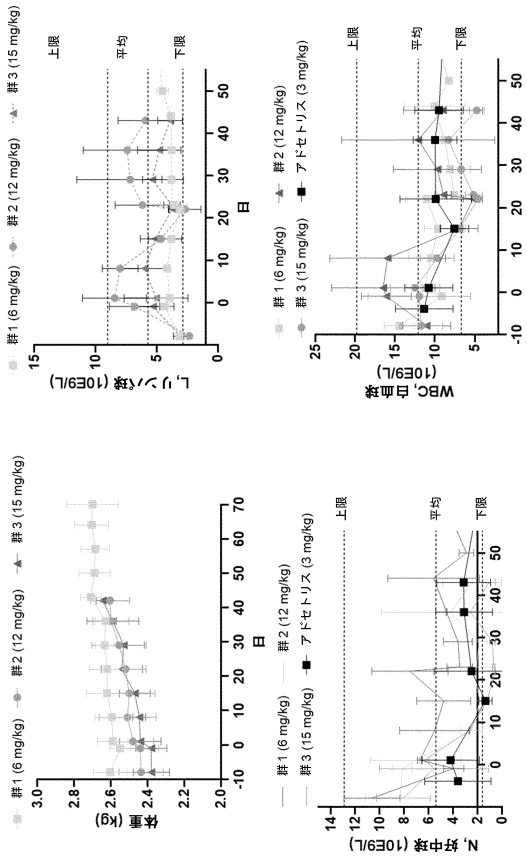
【図１８】



【図１９】



【図２０】



【図２１】

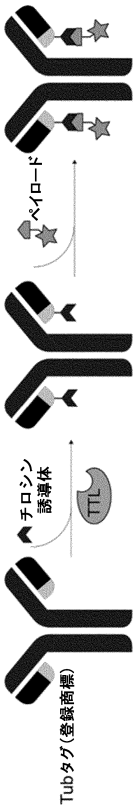
軽鎖

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD FDGDSYMNWY QQKPGQPPKV
LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDAATY YCQQSNEDPW
TFGGGTKLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV
QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV
THQGLSSPVT KSFNRGEC

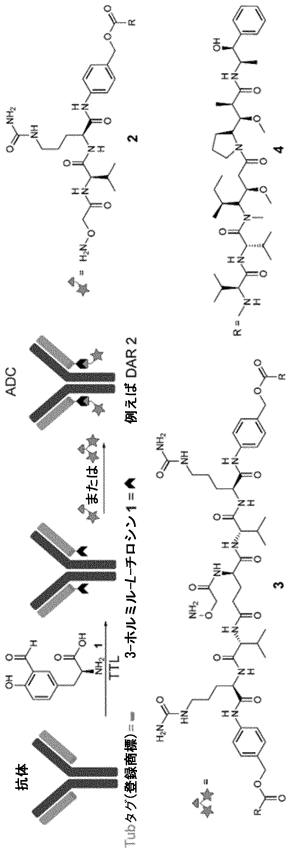
重鎖

QIQLQQSGPE VVKPGASVKI SCKASGYTFT DYYITWVKQK PGQGLEWIGW
IYPGSGNTKY NEKFKGKATL TVDTSSSTAF MQLSSLTSED TAVYFCANYG
NYWFAYWGQG TQVTVSAAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC
NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT
LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS
DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPG(K)

【図２２】



【図２３】



【配列表】

<u>20245009220000001.app</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/087312

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

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07K

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FRANCISCO J A ET AL: "cAC10-vcMMAE, an anti-CD30-monomethyl auristatin E conjugate with potent and selective antitumor activity", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 102, no. 4, 15 August 2003 (2003-08-15), pages 1458-1465, XP002280965, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2003-01-0039 abstract figure 1 ----- -/--	1-46

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [ ] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
11 April 2022	21/04/2022

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/087312

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FALK G ET AL: "Enzyme-Based Labeling Strategies for Antibody-Drug Conjugates and Antibody Mimetics", ANTIBODIES, vol. 7, no. 1, 4 January 2018 (2018-01-04), page 4, XP055566043, DOI: 10.3390/antib7010004 figure 7 page 7, section "2.5. Tubulin Tyrosine Ligase"	1-46
A	SCHUMACHER D ET AL: "Current Status: Site-Specific Antibody Drug Conjugates", JOURNAL OF CLINICAL IMMUNOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, NEW YORK, vol. 36, no. 1, 22 March 2016 (2016-03-22), pages 100-107, XP035916778, ISSN: 0271-9142, DOI: 10.1007/S10875-016-0265-6 [retrieved on 2016-03-22] abstract figure 2F S104, section "Tub-tag Labeling: An Emerging Approach for ADC Conjugation"	1-46
A	SCHUMACHER D ET AL: "Versatile and Efficient Site-Specific Protein Functionalization by Tubulin Tyrosine Ligase", ANGEWANDTE CHEMIE INTERNATIONAL EDITION, VERLAG CHEMIE, DE, vol. 54, no. 46, 9 November 2015 (2015-11-09), pages 13787-13791, XP002753024, ISSN: 1433-7851, DOI: 10.1002/ANIE.201505456 [retrieved on 2015-09-25] abstract figures 1,2 supplementary information -& Schumacher D ET AL: "Supporting Information:Versatile and Efficient Site-Specific Protein Functionalization by Tubulin Tyrosine Ligase", , 25 September 2015 (2015-09-25), XP055808755, Retrieved from the Internet: URL:https://onlinelibrary.wiley.com/action/downloadSupplement?doi=10.1002/anie.201505456&file=anie_201505456_sm_miscellaneous_information.pdf [retrieved on 2021-05-28]	1-46

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2021/087312

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. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      [ ] on paper or in the form of an image file.

   b. [ ] furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      [ ] in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. [ ] In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*37/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/02	
Ｃ０７Ｋ	*16/28*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/28	
Ｃ０７Ｋ	*7/08*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	7/08	
Ｃ０７Ｋ	*7/06*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	7/06	
Ｃ０７Ｋ	*5/103*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	5/103	

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＭＡＴＬＡＢ

弁理士　山口 裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部 俊
(74)代理人　100142929
弁理士　井上 隆一
(74)代理人　100148699
弁理士　佐藤 利光
(74)代理人　100188433
弁理士　梅村 幸輔
(74)代理人　100128048
弁理士　新見 浩一
(74)代理人　100129506
弁理士　小林 智彦
(74)代理人　100114340
弁理士　大関 雅人
(74)代理人　100214396
弁理士　塩田 真紀
(74)代理人　100121072
弁理士　川本 和弥
(74)代理人　100221741
弁理士　酒井 直子
(74)代理人　100114926
弁理士　枝松 義恵
(72)発明者　レオンハルト ハインリヒ
ドイツ連邦共和国 ８０４６９ ミュンヘン クレンツェシュトラーセ ４２
(72)発明者　ヘルマ－スメーツ ヨナス
ドイツ連邦共和国 ８１６６７ ミュンヘン プレイジングシュトラーセ ４０
(72)発明者　シューマッハ ドミニク
ドイツ連邦共和国 ８１２４５ ミュンヘン ゴットフリート－ケラー－シュトラーセ １３
(72)発明者　ゲルラッハ マルクス
ドイツ連邦共和国 ８１４７６ ミュンヘン ノップラーシュトラーセ １５
(72)発明者　ハッケンベルガー クリスティアン
ドイツ連邦共和国 １４０５９ ベルリン クラウゼナープラッツ ２２
(72)発明者　カスパー マーク－アンドレ
ドイツ連邦共和国 ８１２４５ ミュンヘン フィリッピーネ－シック－アレ １３

Fターム（参考） 4C076 AA95 CC27 CC41 EE41 EE59
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA13 BA15 BA16 BA50 CA40 DA76
EA20