

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-542021
(P2024-542021A)

(43)公表日 令和6年11月13日(2024.11.13)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54	Z N A	4 C 0 5 7
C 0 7 D	257/04 (2006.01)	C 0 7 D	257/04	E	4 C 0 7 6
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 8 5
A 6 1 K	31/704 (2006.01)	A 6 1 K	31/704		4 C 0 8 6
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	4 C 2 0 6
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求
				(全205頁)	最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-525628(P2024-525628)	(71)出願人	518082116	タンボ・インコーポレイテッド アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 1 0 7 - 1 9 2 6 , サンフランシスコ, サ ード・ストリート 6 6 5 , スイート 2 5 0	
(86)(22)出願日	令和4年10月31日(2022.10.31)	(74)代理人	110000796		
(85)翻訳文提出日	令和6年6月17日(2024.6.17)	(72)発明者	弁理士法人三枝国際特許事務所		
(86)国際出願番号	PCT/US2022/078995	(72)発明者	オネト ホセ マヌエル メヒア		
(87)国際公開番号	WO2023/077129		アメリカ合衆国 9 4 1 0 7 カリフォル ニア サンフランシスコ サード ストリ ート 6 6 5 スイート 2 5 0 シー／オ ー タンボ インコーポレイテッド	ザハリアン マイケル アメリカ合衆国 9 4 1 0 7 カリフォル ニア サンフランシスコ サード ストリ ート 6 6 5 スイート 2 5 0 シー／オ ー タンボ インコーポレイテッド	
(87)国際公開日	令和5年5月4日(2023.5.4)				
(31)優先権主張番号	63/273,785				
(32)優先日	令和3年10月29日(2021.10.29)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/273,792				
(32)優先日	令和3年10月29日(2021.10.29)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/315,482				
		最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 ペイロードの i n v i v o 標的化送達用のテトラジンコンジュゲート

(57)【要約】

本開示は一般に、被験体における標的化位置へのペイロードの生体直交型送達用の標的化部分に関する。この組成物及び方法は癌の治療、腫瘍成長、及び免疫療法における用途を有する。

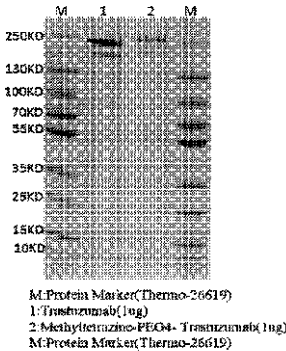


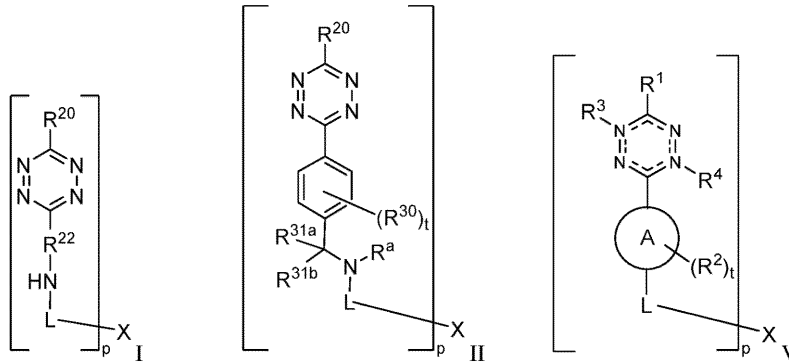
FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I、式 II、又は式 V：

【化 1】



10

(式中、

環 A は、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はヘテロアリールであり、

点線は、 R^3 及び R^4 が両方とも存在しない場合はテトラジンを形成する追加の結合を表し、又は R^3 及び R^4 が両方とも存在する場合はジヒドロテトラジンを形成する追加の結合を表すが、但し、環 A がアリールである場合、 R^3 及び R^4 は両方とも存在し、

20

X は、生体適合性支持体、抗体、又は抗体フラグメント部分であるが、但し、式 I 及び式 II については、X は生体適合性支持体ではなく、

p は、1 ~ 150 であり、

L は、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

R^1 は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロ、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R'$ 、 $SC(=O)R'$ 、 $OC(=S)R'$ 、 $SC(=S)R'$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)NR'R'$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)OR'$ 、 $C(=S)SR'$ 、 $C(=O)NR'R'$ 、 $C(=S)NR'R'$ 、 $NR'C(=O)R'$ 、 $NR'C(=S)R'$ 、 $NR'C(=O)OR'$ 、 $NR'C(=S)R'$ 、 $NR'C(=O)SR'$ 、 $NR'C(=S)SR'$ 、 $OC(=O)NR'R'$ 、 $SC(=O)NR'R'$ 、 $OC(=S)R'R'$ 、 $SC(=S)R'R'$ 、 $NR'C(=O)NR'$ 、及び $NR'C(=S)NR'$ からなる群から選択され、ここで、それぞれのアルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個 ~ 3 個の Z^1 で置換されており、

R^2 は、それぞれの場合、独立して、ハロ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 $-C(=O)-$ アルキル、 $-C(=O)-$ ハロアルキル、 $-C(=O)-$ アルケニル、 $-C(=O)-$ アルキニル、 $-C(=O)-$ アルコキシ、 $-C(=O)-$ ハロアルコキシ、 $-C(=O)-$ ヘテロアルキル、 $-C(=O)-$ アリール、 $-C(=O)-$ ヘテロアリール、 $-C(=O)-$ ヘテロシクリル、又は $-C(=O)-$ シクロアルキルであり、ここで、それぞれのアルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個 ~ 3 個の Z^1 で置換されており、

40

R^3 及び R^4 は両方とも存在しないか、又は R^3 及び R^4 は、それぞれ独立して、水素若しくはトリガー事象後に除去が可能な基であり、

R^{20} は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロゲン、シアノ、ニトロ、アルキル、ア

50

ルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、 CF_3 、 $\text{CF}_2-\text{R}'$ 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{O}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{S}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{O}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{S}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{SR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{SR}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、及び $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ の群から選択され、

10

R^{22} は、それぞれの場合、独立して、1つ以上のエチレンオキシ官能基、アミン官能基、エステル官能基、アミド官能基、カルバメート官能基、カーボネート官能基、又はケトン官能基を任意に含む1個～100個の連結原子のリンカーであり、

R^{30} は、それぞれの場合、独立して、ハロゲン、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、又はシクロアルケニルであり、

R^a 、 R^{31a} 、及び R^{31b} は、それぞれ独立して、水素、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ -アルキル、又は $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ -ハロアルキルであり、

それぞれの Z^1 は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 OR' 、 SR' 、 $\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{O}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{S}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{O}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{S}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{SR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{SR}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、及び $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ がされ、

30

R' 及び R'' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

R''' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、かつ、 t は、それぞれの場合、独立して、0、1、2、3、又は4である）の標的化部分。

【請求項2】

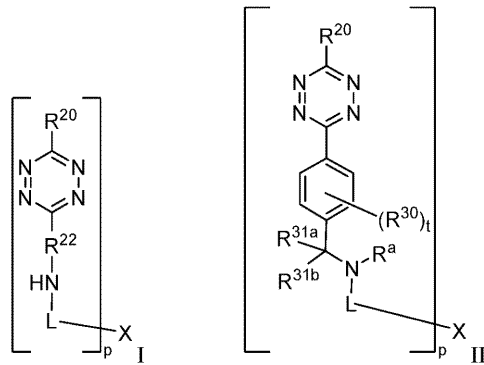
p は、1～16、又は1～8、又は1～7、又は1～6、又は1～5、又は1～4、又は1～3、又は1～2である、請求項1に記載の標的化部分。

【請求項3】

式I又は式II：

40

【化 2】



10

(式中、

Xは、抗体又は抗体フラグメント部分であり、

pは、1～16であり、

Lは、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

R^{20} は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロゲン、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)R''$ 、 $S(=O)NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、及び $NR'C(=S)NR'R''$ の群から選択され、

R^{22} は、それぞれの場合、独立して、1つ以上のエチレンオキシ官能基、アミン官能基、エステル官能基、アミド官能基、カルバメート官能基、カーボネート官能基、又はケトン官能基を任意に含む1個～100個の連結原子のリンカーであり、

30

R^{30} は、それぞれの場合、独立して、ハロゲン、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、又はシクロアルケニルであり、

R^a 、 R^{31a} 、及び R^{31b} は、それぞれ独立して、水素、 $C_1 \sim C_6$ -アルキル、又は $C_1 \sim C_6$ -ハロアルキルであり、

R' 及び R'' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

R''' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、かつ、

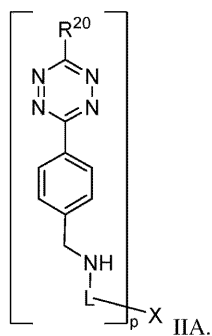
tは、それぞれの場合、独立して、0、1、2、3、又は4である)の標的化部分。

40

【請求項 4】

式 IIA :

【化 3】



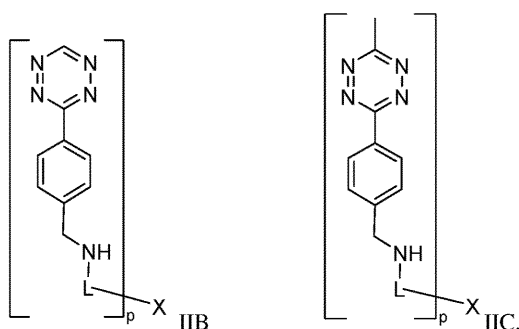
10

によって表される、請求項 3 に記載の標的化部分。

【請求項 5】

式 I I B、又は式 I I C：

【化 4】



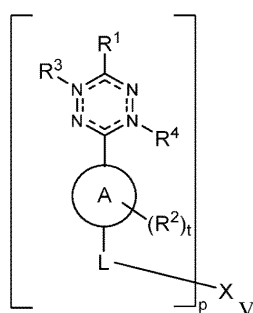
20

によって表される、請求項 3 に記載の標的化部分。

【請求項 6】

式 V：

【化 5】



30

(式中、

環 A は、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はヘテロアリールであり、
点線は、R³ 及び R⁴ が両方とも存在しない場合はテトラジンを形成する追加の結合を表し、又は R³ 及び R⁴ が両方とも存在する場合はジヒドロテトラジンを形成する追加の結合を表すが、但し、環 A がアリールである場合、R³ 及び R⁴ は両方とも存在し、
X は、生体適合性支持体、抗体、又は抗体フラグメント部分であり、

40

p は、1 ～ 150 であり、

L は、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

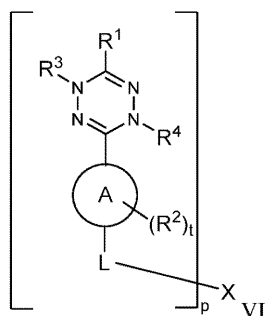
R¹ は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロ、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、OR'、SR'、C(=O)R'、C(=S)R'、OC(=O)50

10

20

R' ' ' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、かつ、
t は、それぞれの場合、独立して、0、1、2、3、又は4である) の標的化部分。

【化 6】

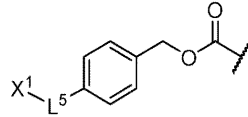


によって表される、請求項 6 に記載の標的化部分。

【請求項 8】

R^3 は、

【化 7】



であり、

10

L^5 は、直接結合又はリンカーであり、かつ、

X^1 は、 $-NO_2$ 、任意に置換された糖部分、又は 1 つ以上の天然アミノ酸若しくは非天然アミノ酸を含む任意に置換されたペプチド単位である、請求項 6 又は 7 に記載の標的化部分。

【請求項 9】

R^3 は、プロテアーゼ又はエステラーゼによる切断に特異的なアミノ酸配列を含む、請求項 6 ～ 8 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 10】

R^3 は、カテプシン、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)、又は PSMA による切断に特異的なアミノ酸配列を含む、請求項 6 ～ 9 のいずれか一項に記載の標的化部分。

20

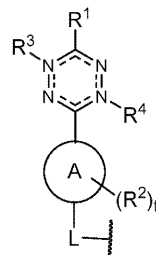
【請求項 11】

R^3 は、光不安定性である、請求項 3 ～ 8 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 12】

前記部分：

【化 8】



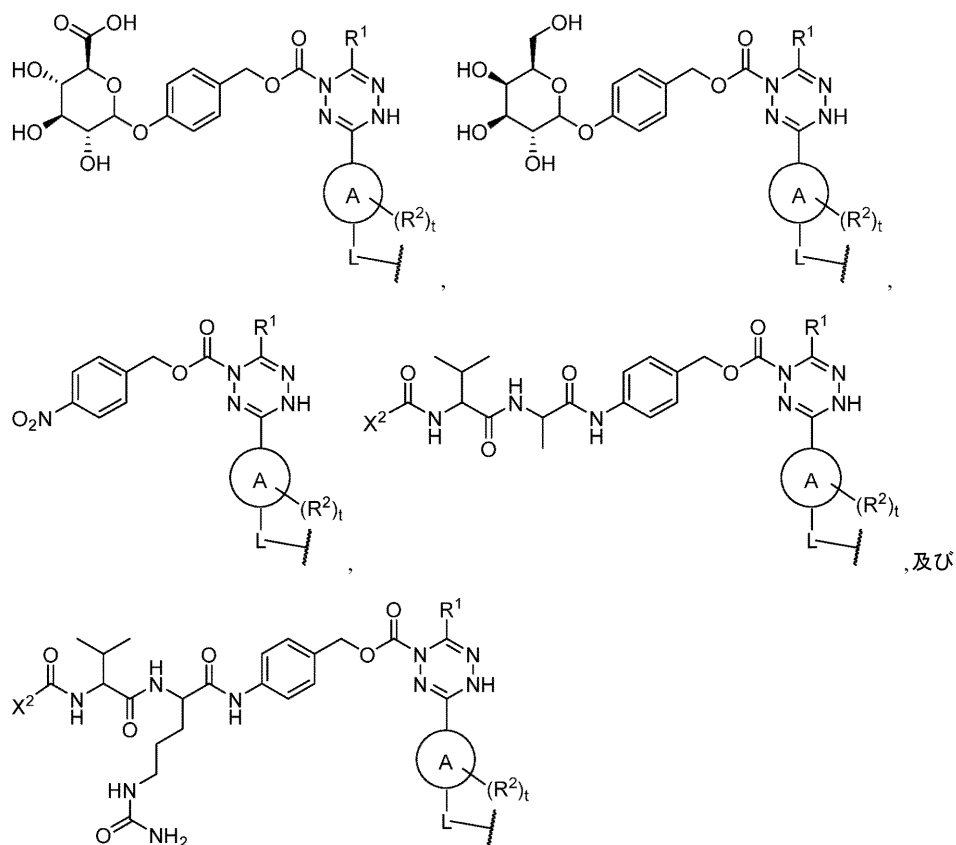
30

の少なくとも 1 つは、

40

50

【化 9】



10

20

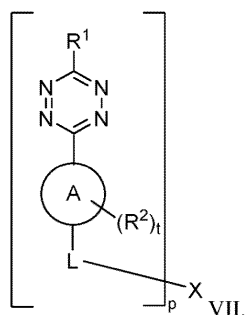
(式中、 X^2 は、PEG、アミノ酸、エステル、アミド、アミン、 $-C(O)OH$ 、 $-SO_2$ 、 $-SO_3$ 、 $-PO_3$ 、 $-PO_4$ 、又は他の可溶性を高める置換基で任意に置換されたアルキル(例えば、メチル)である)から選択される式によって表される、請求項6又は7に記載の標的化部分。

【請求項13】

式VII:

30

【化10】



40

によって表される、請求項6に記載の標的化部分。

【請求項14】

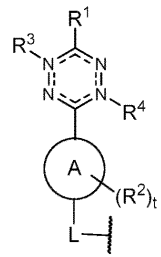
環Aは、ピリミジニル、トリアジニル、オキサゾリル、イソオキサゾール、イミダゾリル、オキサジアゾリル、6,7-ジヒドロ-5H-ピロロ[3,4-d]ピリミジニル、5,6,7,8-テトラヒドロピリド[4,3-d]ピリミジニル、又は5,6,7,8-テトラヒドロピリド[3,4-d]ピリミジニルである、請求項3~13のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項15】

前記部分:

50

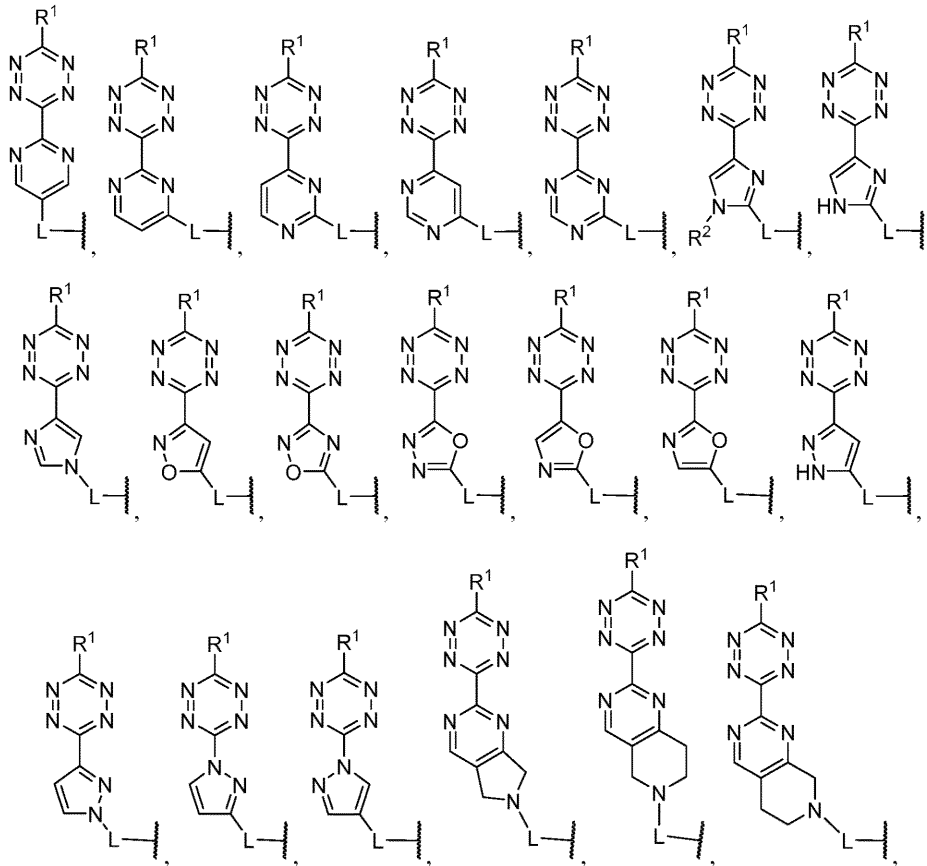
【化 1 1】



の少なくとも 1 つは、

10

【化 1 2】

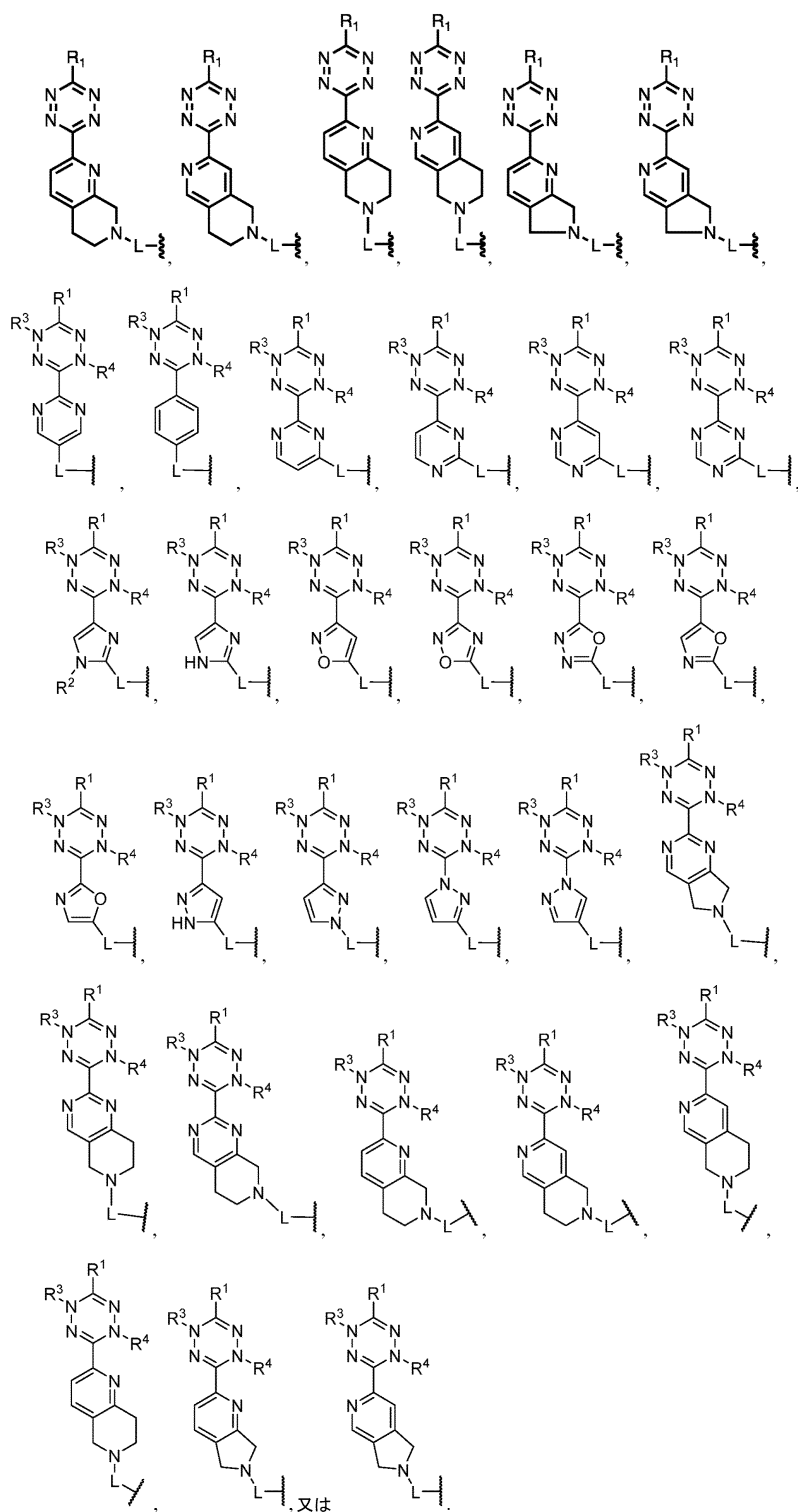


20

30

40

50



10

20

30

40

から選択される式によって表される、請求項 6 に記載の標的化部分。

【請求項 16】

R^1 は、それぞれの場合、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルであり、ここで、それぞれのアルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個～3 個の Z^1 で置換されている、請求項 6～15 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 17】

50

R^1 は、それぞれの場合、独立して、水素、又は 1 個～3 個の Z^1 で任意に置換されたアルキルである、請求項 6～16 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 18】

Z^1 は、それぞれの場合、独立して、ハロ、ヒドロキシ、アルコキシ、及び $OC(=O)OR'$ から選択される、請求項 6～17 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 19】

R^2 は、それぞれの場合、独立して、ハロ、アルキル、又はハロアルキルである、請求項 6～18 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 20】

t は、それぞれの場合、0 である、請求項 6～18 のいずれか一項に記載の標的化部分。

10

【請求項 21】

X は、生体適合性支持体である、請求項 6～15 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 22】

環 A は、ピリジル以外又はフェニル以外である、請求項 21 に記載の標的化部分。

【請求項 23】

X は、粒子、ポリマー、粘性液体材料若しくは非粘性液体材料、ゲル、ヒドロゲル、架橋ポリマーマトリックス、金属、セラミック、プラスチック、骨移植材料、又はタンパク質を含む生体適合性支持体である、請求項 6～22 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 24】

20

X は、多糖ヒドロゲル、アルギネート、セルロース、ヒアルロン酸、キトサン、キトシン、キチン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、適切な糖ベースの生体材料、ポリホスファゼン、ポリ無水物、ポリアセタール、ポリ（オルトエステル）、ポリリン酸エステル、ポリカプロラクトン、ポリウレタン、ポリラクチド、ポリカーボネート、ポリアミド、ポリエーテル、それらのブレンド／複合物／若しくはコポリマー、コラーゲン、ゼラチン、エラスチン、エラスチン様ポリペプチド、アルブミン、フィブリン、ポリ（ γ -グルタミン酸）、ポリ（ L -リジン）、ポリ（ L -グルタミン酸）、又はポリ（アスパラギン酸）を含む生体適合性支持体である、請求項 6～23 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 25】

30

X は、抗体又は抗体フラグメント部分である、請求項 6～20 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 26】

X は、TNC、FN1、CLDN4、MMP9、EPCAM、ITGAV、CEA、CEACAM5、ASPH、EGFR、EPCAM、VEGFR、PDGFR、TROP2、ネクチン4、PSMA、BCMA、HER2、CD25、ANTXR1、又はFAPを標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である、請求項 1～21 又は請求項 25 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 27】

X は、ダクリズマブ、RG6292、バシリキシマブ、HuMax-TAC、ラベツズマブ、15-1-32、PR1A3、cT84.66、ツサミチアマブ、CC4、PAN-622、セツキシマブ、ネシツムマブ、ニモツズマブ、マツズマブ、AMG595、デパツキシズマブ、ダパツキシズマブ、デュリゴツズマブ、フツキシマブ、GC1118、イムガツズマブ、パニツムマブ、アルツムマブ、トムゾツキシマブ、ラブリツキシマブ、オボルツズマブ、シタツズマブ、ツコツズマブ、カツマキソマブ、エドレコロマブ、アデカツムマブ、ラムシズマブ、ラムシルマブ、ブリナシマブ、オララツマブ、ラムシルマブ、サシツズマブ、Pr1E11、エンホルツマブ、J591、MLN591、ベランタマブ、モキセツモマブ、イノツズマブ、エブラツズマブ、ピナツズマブ、ウブリツキシマブ、オフアツムマブ、リツキシマブ、オビヌツズマブ、トシツモマブ、イブリツモマブ、ロソカスツキシマブ、XMAB-5574、MOR208、コルツキシマブ、デニンツズマ

40

50

ブ、タブリツモマブ、MDX-1342、ポラツズマブ、イサツキシマブ、ダラツムマブ、MOR202、TAK-079、I-131-BC8、イオマブ-B、カロツキシマブ、ベマリツズマブ、アブルツマブ、ルパルツマブ、ゾルベツキシマブ、クローディキシマブ、アンデカリキシマブ、ミルベツキシマブ、ファルレツズマブ、MORAb-202、MORAb-003、SP8166、ロバルピツズマブ、インダツキシマブ、ロルボツズマブ、プロミキシマブ、BI 836826、オトレルツズマブ、ナラツキシマブ、ミラツズマブ、アネツマブ、アマツキシマブ、MMOT-0530A、サリルマブ、エロツズマブ、ベリムマブ、KL-6、MY. 1E12、hMUC1-1H7、TAB004、huc242、クリバツズマブ、8HuD56、ガチポツズマブ、AR20.5、カンツズマブ、コドリツズマブ、ECT204、MDX-1414、ペルツズマブ、トラスツズマブ、マルゲツキシマブ、パトリツマブ、セリバンツマブ、ルムレツズマブ、エルゲムツマブ、AV-203、CDX-3379、GSK284933、ブレンツキシマブ、ゲムツズマブ、BI 835858、バダスツキシマブ、リンツズマブ、KHK2823、タクロツズマブ、G4723A、グレムバツムマブ、テリソツズマブ、オナルツズマブ、SAIT301、チソツマブ、リファスツズマブ、インドゥサツマブ、バンドルツズマブ、ソフィツズマブ、ボルセツズマブ、ビバツズマブ、カブラシズマブ、オゾラリズマブ、V565、PF-05230905、ボバリリズマブ、LCAR-B38M、BI 655088、AD-214、ALX-0651、TXB4、CDP791、GY1、L19、NJB2、F19、OMTX005、シプロツズマブ、F16、又はR6Nから選択される抗体である、請求項1～21又は請求項26のいずれか一項に記載の標的化部分。

10

20

【請求項28】

Xは、単鎖可変フラグメント (scFv)、2価 (又は二価) の単鎖可変フラグメント (ジ-scFv、ビー-scFv)、抗原結合フラグメント (Fab)、単一ドメイン抗体 (sdAb)、単一ドメイン抗体 (sdAb)、抗原結合タンパク質、DotBody、アフィボディ、DARPin、DART、TandAb、ダイアボディ、リボボディ、センチリン、ノッチン、アフィリン、アフィマー、アルファボディ、アンチカリン、アトリマー、アビマー、フィノマー、クニツドメイン、オボディ、プロネクチン、レペボディ、及び二環式ペプチド、又はヒューマボディからなる群から選択される抗体フラグメント部分である、請求項1～21又は請求項25～26のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項29】

30

Xは、ダクリズマブ、RG6292、バシリキシマブ、HuMax-TAC、ラベツズマブ、15-1-32、PR1A3、cT84.66、ツサミチアマブ、CC4、PAN-622、セツキシマブ、ネシツムマブ、ニモツズマブ、マツズマブ、AMG595、デバツキシズマブ、ダバツキシズマブ、デュリゴツズマブ、フツキシマブ、GC1118、イムガツズマブ、パニツムマブ、アルツムマブ、トムソツキシマブ、ラブリツキシマブ、オボルツズマブ、シタツズマブ、ツコツズマブ、カツマキソマブ、エドレコロマブ、アデカツムマブ、ラムシズマブ、ラムシルマブ、ブリナシマブ、オララツマブ、ラムシルマブ、サシツズマブ、Pr1E11、エンホルツマブ、J591、MLN591、ベランタマブ、モキセツモマブ、イノツズマブ、エブラツズマブ、ピナツズマブ、ウブリツキシマブ、オフアツムマブ、リツキシマブ、オビヌツズマブ、トシツモマブ、イブリツモマブ、ロンカスツキシマブ、XMAB-5574、MOR208、コルツキシマブ、デニンツズマブ、タブリツモマブ、MDX-1342、ポラツズマブ、イサツキシマブ、ダラツムマブ、MOR202、TAK-079、I-131-BC8、イオマブ-B、カロツキシマブ、ベマリツズマブ、アブルツマブ、ルパルツマブ、ゾルベツキシマブ、クローディキシマブ、アンデカリキシマブ、ミルベツキシマブ、ファルレツズマブ、MORAb-202、MORAb-003、SP8166、ロバルピツズマブ、インダツキシマブ、ロルボツズマブ、プロミキシマブ、BI 836826、オトレルツズマブ、ナラツキシマブ、ミラツズマブ、アネツマブ、アマツキシマブ、MMOT-0530A、サリルマブ、エロツズマブ、ベリムマブ、KL-6、MY. 1E12、hMUC1-1H7、TAB004、huc242、クリバツズマブ、8HuD56、ガチポツズマブ、AR20.5、カンツズ

40

50

マブ、コドリツズマブ、E C T 2 0 4、M D X - 1 4 1 4、ペルツズマブ、トラスツズマブ、マルゲツキシマブ、パトリツマブ、セリバンツマブ、ルムレツズマブ、エルゲムツマブ、A V - 2 0 3、C D X - 3 3 7 9、G S K 2 8 4 9 3 3、ブレンツキシマブ、ゲムツズマブ、B I 8 3 5 8 5 8、バダスツキシマブ、リンツズマブ、K H K 2 8 2 3、タクロツズマブ、G 4 7 2 3 A、グレムバツムマブ、テリソツズマブ、オナルツズマブ、S A I T 3 0 1、チソツマブ、リファスツズマブ、インドゥサツマブ、バンドルツズマブ、ソフィツズマブ、ボルセツズマブ、ビバツズマブ、カブラシズマブ、オゾラリズマブ、V 5 6 5、P F - 0 5 2 3 0 9 0 5、ボバリリズマブ、L C A R - B 3 8 M、B I 6 5 5 0 8 8、A D - 2 1 4、A L X - 0 6 5 1、T X B 4、C D P 7 9 1、G Y 1、L 1 9、N J B 2、F 1 9、O M T X 0 0 5、シブロツズマブ、F 1 6、又はR 6 Nから誘導される抗体フラグメント部分である、請求項1～21又は請求項25～28のいずれか一項に記載の標的化部分。

10

【請求項30】

前記抗体又は抗体フラグメント部分は、カブラシズマブ、オゾラリズマブ、V 5 6 5、P F - 0 5 2 3 0 9 0 5、ボバリリズマブ、L C A R - B 3 8 M、M 6 4 9 5、B I 6 5 5 0 8 8、A D - 2 1 4、A L X - 0 6 5 1、T X B 4、C D P 7 9 1、G Y 1、L 1 9、N J B 2、F 1 9、O M T X 0 0 5、シブロツズマブ、F 1 6、又はR 6 Nである、請求項1～21又は請求項25～28のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項31】

Xは、イメージング造影剤を更に含む、請求項1～30のいずれか一項に記載の標的化部分。

20

【請求項32】

前記イメージング造影剤は、タンパク質である、請求項31に記載の標的化部分。

【請求項33】

リンカーLは、X上のシスチン残基又はリジン残基を介してXに結合されている、請求項1～32のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項34】

Lは、切断可能でないリンカーである、請求項1～33のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項35】

Lは、切断可能なリンカーである、請求項1～34のいずれか一項に記載の標的化部分。

30

【請求項36】

Lは、1つ以上のアミノ酸を含む、請求項1～35のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項37】

Lは、ポリペプチドを含む、請求項1～36のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項38】

Lは、ヒドラゾン、ヒドラジド、ジスルフィド、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)ブチレート(SPDB)、4-(4'-アセチルフェノキシ)ブタン酸(AcBut)、1つ以上の線状又は分岐状の天然アミノ酸若しくは非天然アミノ酸、バリニン-シトルリン(Val-Cit)部分、又はフェニルアラニン-リジン(Ph-Lys)部分のうちの1つ以上を含む、請求項1～37のいずれか一項に記載の標的化部分。

40

【請求項39】

Lは、1個～100個の連結原子、1個～50個の連結原子、又は5個～50個の連結原子、又は10個～50個の連結原子、又は1個～40個の連結原子、又は1個～30個の連結原子、又は1個～20個の連結原子、又は1個～10個の連結原子、又は1個～5個の連結原子、又は5個～30個の連結原子、又は10個～30個の連結原子、又は5個～40個の連結原子、又は5個～50個の連結原子、又は10個～50個の連結原子を含

50

む、請求項 1～38 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 40】

L は、1 個以上の鎖ヘテロ原子と、1 つ以上のアルキレン部分、アルケニレン部分、アルキニレン部分、アリーレン部分、ヘテロアリーレン部分、シクロアルキレン部分、又はヘテロシクロアルキレン部分とを含み、ここで、それぞれのアルキレン部分、アルケニレン部分、アルキニレン部分、アリーレン部分、ヘテロアリーレン部分、シクロアルキレン部分、又はヘテロシクロアルキレン部分は、独立して、オキソ、ハロ、C₁～4 アルキル、C₁～4 アルコキシ、及び C₁～4 ハロアルキルから独立して選択される 1 個～5 個の置換基で任意に置換されていてよい、請求項 1～39 のいずれか一項に記載の標的化部分。

10

【請求項 41】

L は、1 個以上の鎖ヘテロ原子と、1 つ以上のアルキレン部分、アルケニレン部分、アルキニレン部分、アリーレン部分、又はヘテロアリーレン部分とを含み、ここで、それぞれのアルキレン部分、アルケニレン部分、アルキニレン部分、アリーレン部分、又はヘテロアリーレン部分は、独立して、オキソ、ハロ、C₁～4 アルキル、C₁～4 アルコキシ、及び C₁～4 ハロアルキルから独立して選択される 1 個～5 個の置換基で任意に置換されていてよい、請求項 1～40 のいずれか一項に記載の標的化部分。

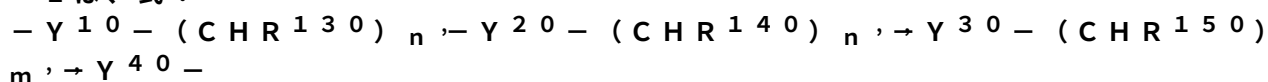
【請求項 42】

L は、1 つ以上の -O- 官能基、-S- 官能基、アミン官能基、エステル官能基、アミド官能基、カルバメート官能基、カーボネート官能基、チオースクシンイミド官能基、又はケトン官能基を任意に含むアルキレンリンカーである、請求項 1～41 のいずれか一項に記載の標的化部分。

20

【請求項 43】

L は、式：



(式中、

Y¹⁰、Y²⁰、Y³⁰、及び Y⁴⁰ のそれぞれは、独立して、結合、-NR¹¹⁰、-O-、-S(O)_{0~2}、-NR¹¹⁰C(O)-、-C(O)NR¹¹⁰、-NR¹¹⁰S(O)₂、-S(O)₂NR¹¹⁰、-CR¹²⁰=N-NR¹¹⁰、-NR¹¹⁰-N=CR¹²⁰、-C(O)-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-(CH₂CH₂O)_{1~5}、-C(O)O-、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、又はヘテロアリーレンであり、ここで、それぞれのアルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、又はヘテロアリーレンは、独立して、オキソ、ハロ、C₁～4 アルキル、C₁～4 アルコキシ、及び C₁～4 ハロアルキルから独立して選択される 1 個～5 個の置換基で任意に置換されており、

30

それぞれの R¹¹⁰ は、独立して、水素、C₁～4 アルキル、C₁～4 ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、

それぞれの R¹²⁰ は、独立して、水素、C₁～4 アルキル、C₁～4 ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、

40

それぞれの R¹³⁰ は、独立して、水素、C₁～4 アルキル、C₁～4 ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はアミノ酸側鎖であり、

それぞれの R¹⁴⁰ は、独立して、水素、C₁～4 アルキル、C₁～4 ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はアミノ酸側鎖であり、

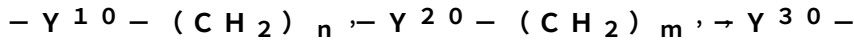
それぞれの R¹⁵⁰ は、独立して、水素、C₁～4 アルキル、C₁～4 ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はアミノ酸側鎖であり、かつ、

n'、n''、及び m'' は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 である、請求項 1～42 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 44】

50

L は、式：



(式中、

Y^{10} 、 Y^{20} 、及び Y^{30} のそれぞれは、独立して、結合、 $-NR^{110}-$ 、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0\sim2}-$ 、 $-NR^{110}C(O)-$ 、 $-C(O)NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}S(O)_{2-}$ 、 $-S(O)_2NR^{110}-$ 、 $-CR^{120}=N-NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}-N=CR^{120}-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、シクロアルキレン、又はヘテロシクロアルキレンであり、ここで、それぞれのアルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、シクロアルキレン、又はヘテロシクロアルキレンは、独立して、オキソ、ハロ、 $C_1\sim4$ アルキル、 $C_1\sim4$ アルコキシ、及び $C_1\sim4$ ハロアルキルから独立して選択される1個～5個の置換基で任意に置換されており、それぞれの R^{110} は、独立して、水素、 $C_1\sim4$ アルキル、 $C_1\sim4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、それぞれの R^{120} は、独立して、水素、 $C_1\sim4$ アルキル、 $C_1\sim4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、かつ、 n' 及び m' は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、又は8である)である、請求項1～42のいずれか一項に記載の標的化部分。

10

【請求項45】

L は、

20

30

40

50

10

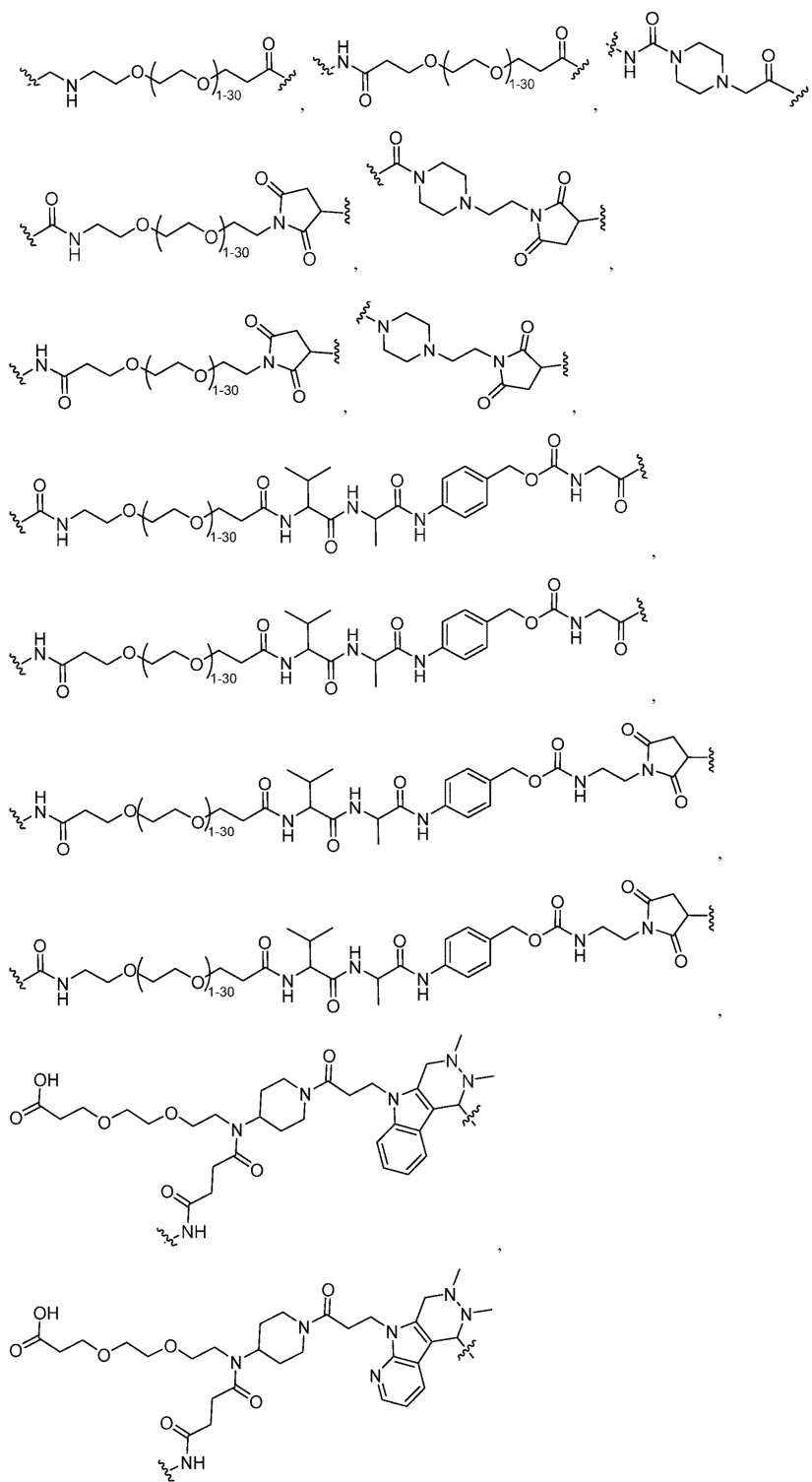


30

40

リンカー L は、

【化 1 4】



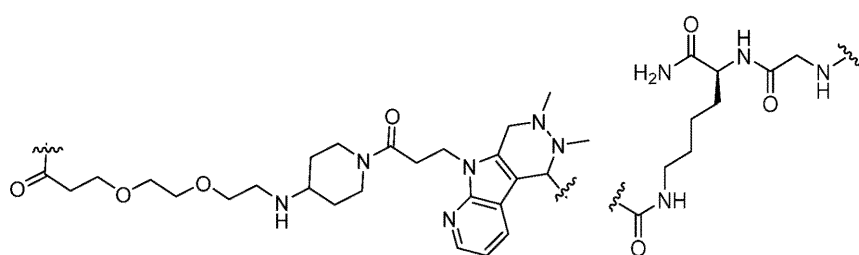
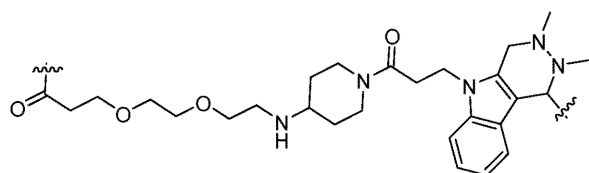
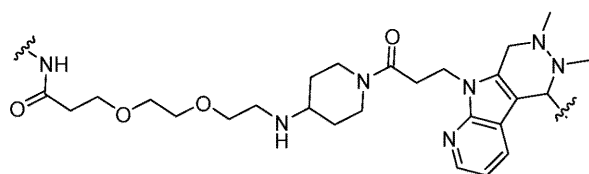
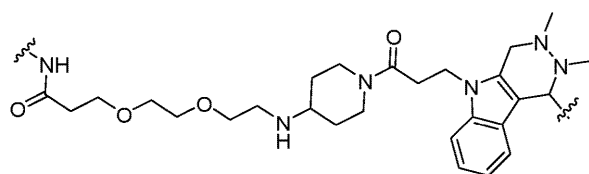
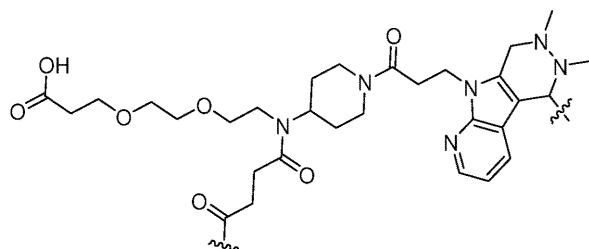
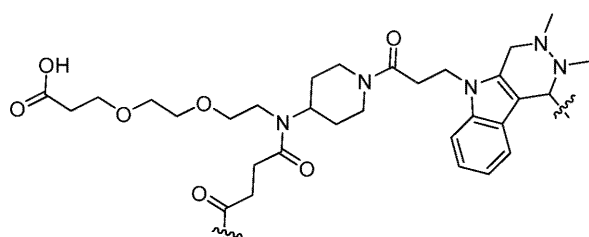
10

20

30

40

50



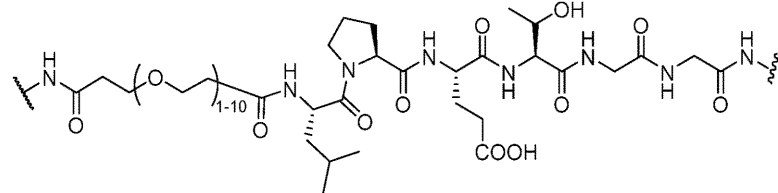
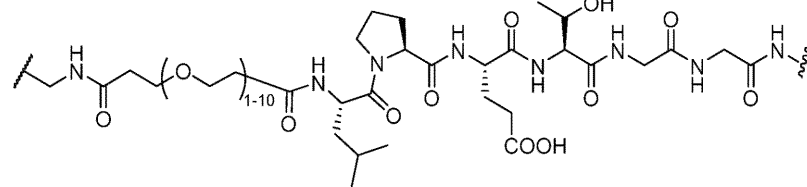
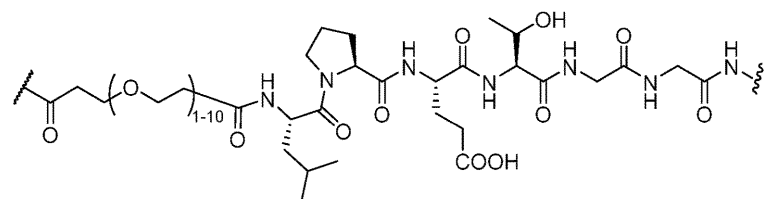
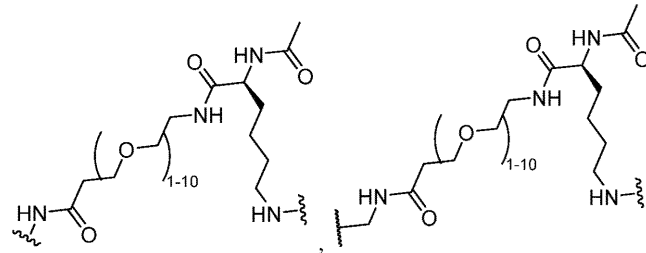
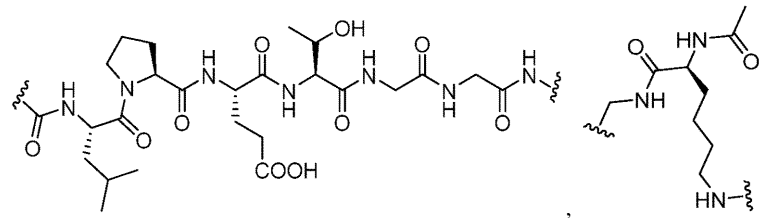
10

20

30

40

50



,又は

である、請求項 1 ～ 3 3 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 4 7】

X は、HER 2、TROP 2、ネクチン-4、クローディン-18.2、MMP 9、メソテリン、FN1、FAP、TNC、又はECM、EPCAM、CEA、又はCEACAM5 を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分であり、かつ、

L は、それぞれの場合、独立して、

10

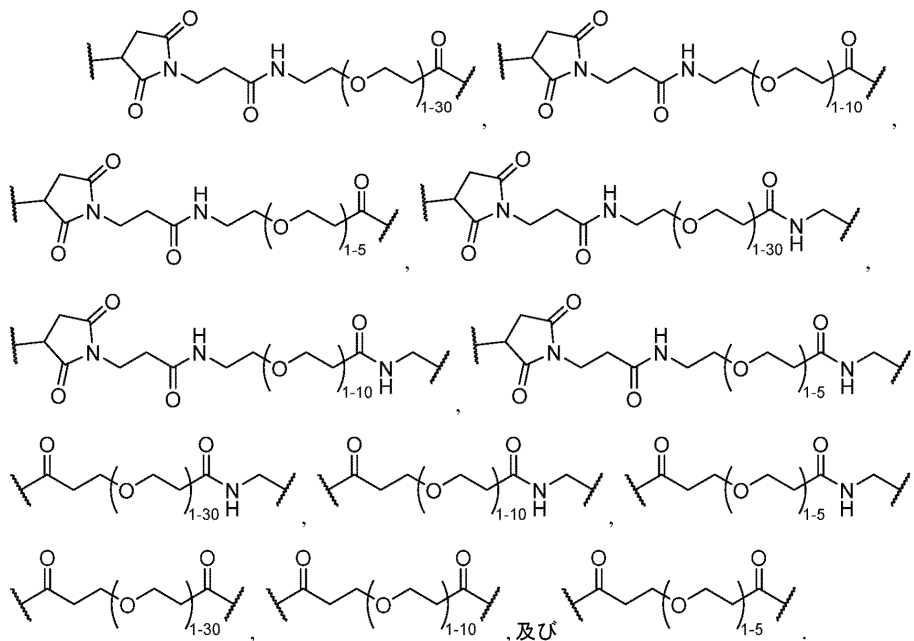
20

30

40

50

【化 1 5】



10

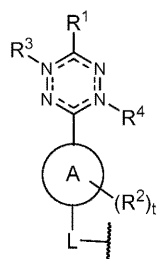
からなる群から選択されるリンカーである、請求項 1 ～ 3 3 のいずれか一項に記載の標的
化部分。

20

【請求項 4 8】

前記部分：

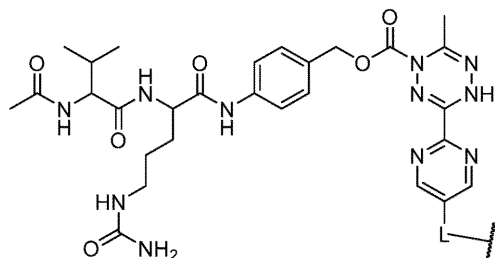
【化 1 6】



30

の少なくとも 1 つは、

【化 1 7】



40

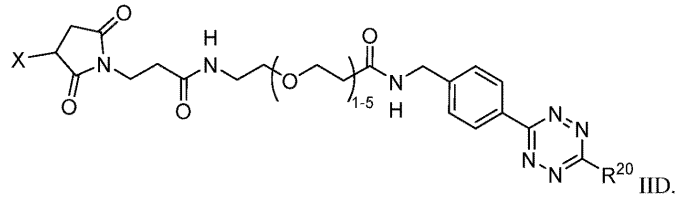
によって表される、請求項 1 又は 6 に記載の標的化部分。

【請求項 4 9】

式 I I D：

50

【化 1 8】



の標的化部分。

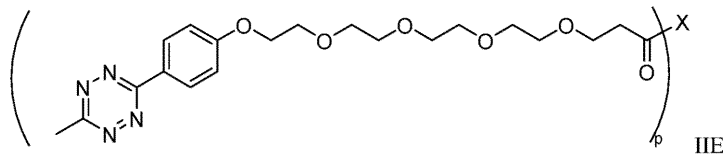
【請求項 5 0】

R²⁰ は、メチルである、請求項 4 9 に記載の標的化部分。

【請求項 5 1】

式 I I E :

【化 1 9】



(式中、p は 1 ~ 2 0 であり、かつ X は抗体又は抗体フラグメント部分である) の標的化部分。

【請求項 5 2】

X は、HER 2 を標的とする抗原結合タンパク質である、請求項 1 ~ 5 1 のいずれか一項に記載の標的化部分。

【請求項 5 3】

請求項 1 ~ 5 2 のいずれか一項に記載の標的化部分又はそれらの薬学的に許容可能な塩と、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。

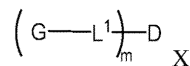
【請求項 5 4】

癌を治療する方法、又は免疫応答を増強若しくは誘発する方法であって、治療又は増強若しくは誘発を必要とする被験体に、治療の有効量の請求項 1 ~ 5 2 のいずれか一項に記載の標的化部分若しくはその薬学的に許容可能な塩又は請求項 5 2 に記載の医薬組成物と、1 つ以上のトランス-シクロオクテン部分に連結されたペイロードを含むコンジュゲート又はその薬学的に許容可能な塩とを投与することを含む、方法。

【請求項 5 5】

前記コンジュゲートは、式 X :

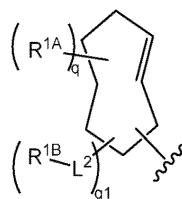
【化 2 0】



(式中、

G は、それぞれの場合、独立して、

【化 2 1】



であり、

L¹ は、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

10

20

30

40

50

mは、1～150の整数であり、

Dは、ペイロードであり、

R^{1A} は、それぞれの場合、独立して、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、及び $C_1 \sim 4$ アルコキシからなる群から選択され、

qは、0、1、又は2であり、

q_1 は、0又は1であり、

R^{1B} は、それぞれの場合、独立して、 G^1 、OH、 $-NR^{1c}-C_1 \sim 4$ アルキレン- G^1 、 $-NR^{1c}-C_1 \sim 4$ アルキレン- $N(R^{1d})_2$ 、 $-NR^{1c}-C_1 \sim 6$ アルキレン- $N(C_1 \sim 4$ アルキル) $_3^+$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})-C_1 \sim 6$ アルキレン- CO_2H 、 $-N(R^{1f})-C_2 \sim 4$ アルキレン- $(N(C_1 \sim 4$ アルキレン- $CO_2H)-C_2 \sim 4$ アルキレン) $_n$ - $N(C_1 \sim 4$ アルキレン- $CO_2H)_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_1 \sim 6$ アルキル、 $-N(R^{1c})-C_1 \sim 6$ アルキレン- $C(O)OC_1 \sim 6$ アルキル、 $-N(R^{1f})-C_2 \sim 4$ アルキレン- $(N(C_1 \sim 4$ アルキレン- $C(O)OC_1 \sim 6$ アルキル)- $C_2 \sim 4$ アルキレン) $_n$ - $N(C_1 \sim 4$ アルキレン- $C(O)OC_1 \sim 6$ アルキル) $_2$ 、 $-N(R^{1c})-C_1 \sim 6$ アルキレン- SO_3H 、 $-N(R^{1c})-(CH_2CH_2O)_{1 \sim 3}-CH_2CH_2N((CH_2CH_2O)_{1 \sim 3}-C_1 \sim 6$ アルキレン- $CO_2H)_2$ 、及び $-N(R^{1c})-CH(CH_2O-(CH_2CH_2O)_{0 \sim 2}-C_1 \sim 6$ アルキレン- $CO_2H)_2$ からなる群から選択され、

R^{1c} 及び R^{1d} は、それぞれの場合、独立して、水素又は $C_1 \sim 4$ アルキルであり、

R^{1e} は、それぞれの場合、独立して、 $-C_1 \sim 4$ アルキレン- CO_2H 、 $-C_1 \sim 4$ アルキレン- $CONH_2$ 、又は $-C_1 \sim 4$ アルキレン-OHであり、

R^{1f} は、それぞれの場合、独立して、水素、 $C_1 \sim 6$ アルキル、又は $C_1 \sim 4$ アルキレン- CO_2H であり、

nは、それぞれの場合、独立して、0、1、2、又は3であり、

L^2 は、それぞれの場合、独立して、 $-C(O)-$ 及び $C_1 \sim 3$ アルキレンからなる群から選択され、かつ、

G^1 は、それぞれの場合、独立して、任意に置換されたヘテロシクリルである)のコンジュゲート又はその薬学的に許容可能な塩である、請求項54に記載の方法。

【請求項56】

前記ペイロードは、免疫調節剤ペイロードである、請求項54又は55に記載の方法。

【請求項57】

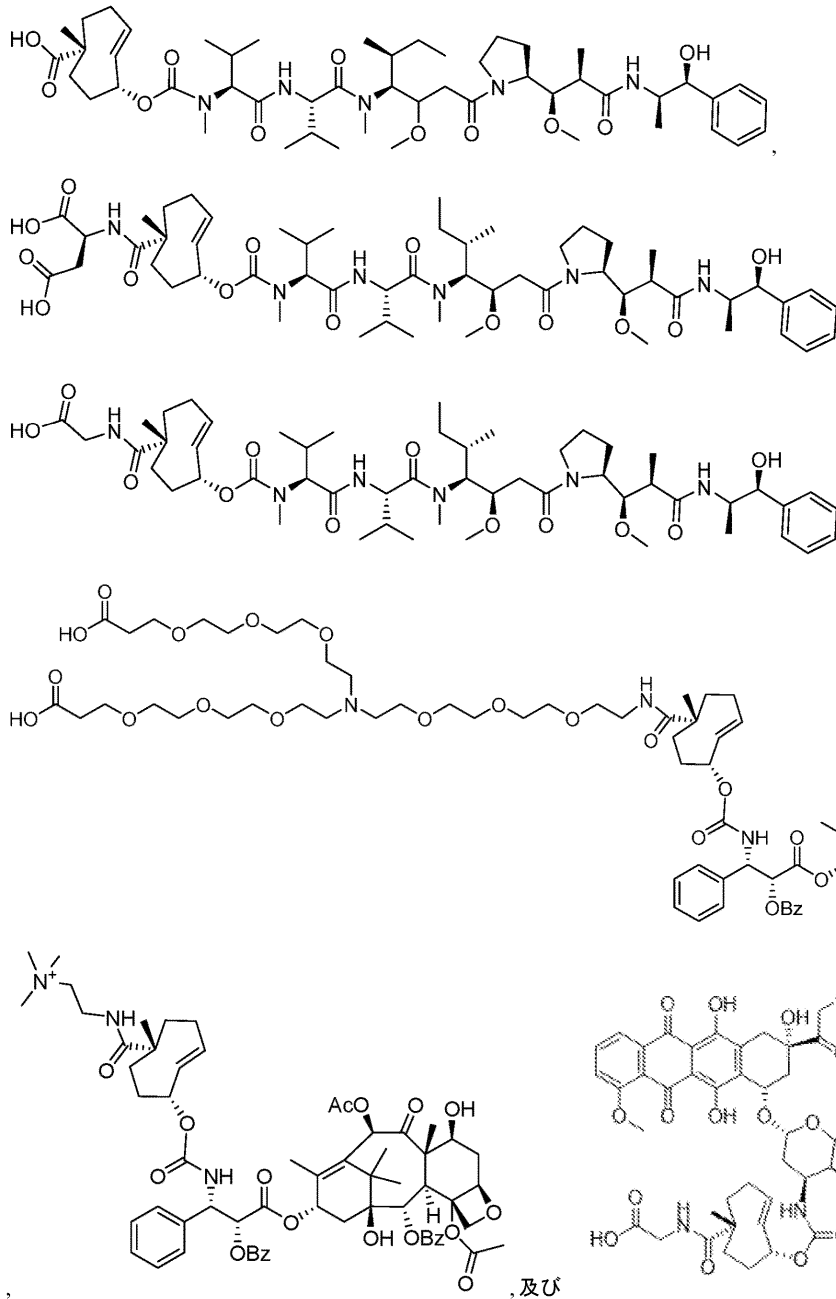
前記ペイロードは、治療用モノクローナル抗体、サイトカイン、ケモカイン、ケモカインアンタゴニスト、及び免疫チェックポイント阻害剤ペイロード、又はそれらの薬学的に許容可能な塩である、請求項54～56のいずれか一項に記載の方法。

【請求項58】

前記ペイロードは、癌を治療する治療剤（例えば、パクリタキセル、ドキシソルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、イリノテカン、SN-38、ドセタキセル、パクリタキセル、ゲムシタビン、ポドフィロトキシン、カルムスチン、エキサベピロン、パツピロン（エボセロンクラス）、プラチナ剤、エキサテカン、アウリスタチン（ドラスタチン10、MMAE、MMAD、MMAF）、マイトマイシンC、ブレオマイシン、カリケアミシン、スタウロスポリン、ヘミアステリン等）、免疫抑制薬（例えば、シクロスポリンA、ラパマイシン等）、抗真菌剤（例えば、アンホテリシン等）、抗生物質（例えば、バンコマイシン、ダプトマイシン、ドキシサイクリン、セフトリアキソン、トリメトプリム、スルフアメトキサゾール、アシクロビル、ナイスタチン、アムホテリシンB、フルシトシン、エムトリシタビン、ゲンタマイシン、コリスチン等）、ルルビネクテジン、ガルジキモド、マトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）阻害剤、レードーパ、オセルタミビル、セファレキシン、5-アミノレブリン酸、システイン、セレコキシブ、ニモジピン、バンコマイシン、ダプトマイシン、及び環状アデノシンモノホスファチジル（c-AMP）から選択される、請求項54～56のいずれか一項に記載の方法。

【請求項59】

前記コンジュゲートは、
【化 2 2】



10

20

30

から選択される、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記方法は、癌を治療する方法である、請求項 5 4 ～ 5 9 のいずれか一項に記載の方法

40

【請求項 6 1】

前記癌は、黒色腫、腎癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮内膜癌、乳癌、神経膠芽腫、肺癌、軟部組織肉腫、線維肉腫、骨肉腫、膵臓癌、胃部癌、頭頸部の扁平上皮癌、肛門／外陰癌、食道癌、膵臓腺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、カボジ肉腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、ウィルムス腫瘍／神経芽腫、膀胱癌、甲状腺腺癌、膵神経内分泌腫瘍、前立腺腺癌、鼻咽頭癌、又は皮膚 T 細胞リンパ腫である、請求項 6 0 に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記癌は、固形腫瘍である、請求項 6 0 又は 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 3】

50

前記癌は、軟部組織肉腫である、請求項 60 又は 61 に記載の方法。

【請求項 64】

前記癌は、骨髓異形成症候群、急性骨髓性白血病、骨髓異形成症候群、慢性骨髓原性白血病、慢性骨髓単球性白血病、原発性骨髓線維症、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、モノクローナルガンマグロブリン血症、形質細胞骨髓腫、濾胞性リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、古典的ホジキンリンパ腫、モノクローナル B 細胞リンパ球増加症、リンパ増殖性障害 NOS、T 細胞リンパ腫、前駆 B リンパ芽球性白血病、マントル細胞リンパ腫、形質細胞腫、バーキットリンパ腫、T 細胞白血病、ヘアリー細胞白血病、前駆 T リンパ芽球性白血病、又は結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫等の造血器悪性腫瘍である、請求項 60 に記載の方法。

10

【請求項 65】

前記方法は、免疫応答を増強又は誘発する方法である、請求項 54～64 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 66】

前記免疫応答は、白血球、リンパ球、単球、及び好酸球のうちの 1 種以上の増加である、請求項 65 に記載の方法。

【請求項 67】

治療的有効量の抗癌剤、免疫調節剤、又はそれらのトランス-シクロオクテンプロドラグからなる群から選択される追加の治療剤を投与することを更に含む、請求項 54～66 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 68】

請求項 1～52 のいずれか一項に記載の標的化部分若しくはその薬学的に許容可能な塩、又は請求項 53 に記載の医薬組成物と、その使用についての使用説明書とを含むキット。

【請求項 69】

1 つ以上のトランス-シクロオクテン部分に連結されたペイロードを含むコンジュゲート、又はその薬学的に許容可能な塩を更に含む、請求項 68 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

30

【関連出願の相互参照】

本願は、2021 年 10 月 29 日付で出願された米国仮出願第 63/273,792 号、2021 年 10 月 29 日付で出願された米国仮出願第 63/273,785 号、2022 年 3 月 1 日付で出願された米国仮出願第 63/315,482 号、及び 2022 年 7 月 21 日付で出願された米国仮出願第 63/391,136 号に対する、米国特許法第 119 条 (e) 項に基づく利益を主張するものであり、それぞれの全体が引用することにより本明細書の一部をなす。

【0002】

【電子形式の配列表についての言及】

電子形式の配列表 (2022-10-31_Sequence_Listing_63XT-342805-WO.xml、サイズ: 18193 バイト、及び作成日: 2022 年 10 月 31 日) の内容は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす。

40

【0003】

本開示は一般に、例えば、癌の治療、腫瘍成長、及び免疫療法における用途を有する、被験体における標的化位置へのペイロードの生体直交型送達用の抗体-テトラジンコンジュゲートを含むテトラジンコンジュゲートに関する。

【背景技術】

【0004】

生体直交型コンジュゲーション又はクリック反応は、生物学的系に見られる選択的かつ直交的 (生物学的系と相互作用しない) な機能性であり、化学、化学生物学、分子診断、

50

及び医療の分野における様々な用途に使用されており、その際、これらを使用して、分子、細胞、粒子、及び表面の選択的操作、並びに *in vitro* 及び *in vivo* での生体分子のタグ付加及び追跡を促進することができる。これらの反応としては、シュタウディングーライゲーション反応、アジドーシクロオクチン環化付加反応、及び逆電子要請型ディールスーアルダー反応が挙げられる。

【発明の概要】

【0005】

本明細書において、1つ以上のテトラジン部分に共有結合された抗体又は抗体フラグメント部分を含む標的化部分が提供される。本明細書に記載される標的化部分は、被験体に投与されたら被験体内の標的部位に局在化するように設計される。標的化部分を局所投与又は全身投与することができる。投与されたら、ペイロード又は治療剤と1種以上の相補的な生体直交型成分（すなわち、トランスシクロオクテン部分）とを含むプロドラッグを投与することができ、これにより、*in vivo* で標的化部分と接触したときに、ペイロード又は治療剤の標的化送達が可能となる。幾つかの実施の形態において、標的化部分は治療用標的化部分である。幾つかの実施の形態において、本明細書に記載される標的化部分は診断剤を含み、こうして、ペイロード又は治療剤の投与を伴って又は伴わずに、本明細書に記載される標的化部分を病態又は疾患の診断において使用することができる。

【0006】

幾つかの実施の形態において、癌を治療する方法であって、治療を必要とする被験体へと、本明細書に記載される支持体組成物を標的位置に投与することと、その被験体に、本明細書に記載されるコンジュゲート若しくはその薬学的に許容可能な塩又は組成物を投与することとを含む、方法が提供される。

【0007】

幾つかの実施の形態において、癌は転移性である。幾つかの実施の形態において、癌は、黒色腫、腎癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮内膜癌、乳癌、神経膠芽腫、肺癌、軟部組織肉腫、線維肉腫、骨肉腫、膵臓癌、胃部癌、頭頸部の扁平上皮癌、肛門／外陰癌、食道癌、膵臓腺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、カボジ肉腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、ウィルムス腫瘍／神経芽腫、膀胱癌、甲状腺腺癌、膵神経内分泌腫瘍、前立腺腺癌、鼻咽頭癌、又は皮膚T細胞リンパ腫である。

【0008】

幾つかの実施の形態において、癌は、黒色腫、腎癌、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、神経膠腫、肺癌、軟部組織癌、軟部組織肉腫、骨肉腫、又は膵臓癌である。幾つかの実施の形態において、癌は固形腫瘍である。幾つかの実施の形態において、癌はリンパ腫又は白血病である。幾つかの実施の形態において、癌は造血器悪性腫瘍である。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】メチルテトラジンートラスツズマブ標的化部分のSDS-Pageを示す図である。

【図2】メチルテトラジンートラスツズマブ標的化部分のLCMSを示す図である。

【図3】メチルテトラジン- Fab 標的化部分のSDS-PAGEを示す図である。

【図4】メチルテトラジン- Fab 標的化部分のLCMSを示す図である。

【図5】マウスHCC1954異種移植モデルにおけるドキソルビシン-TCOプロドラッグ（TCOで修飾されたドキソルビシン薬物）を用いた場合のメチルテトラジン- Fab 標的化部分の効力を示す図である。

【図6】コンジュゲートされたトラスツズマブ-Me-Tet-PEG9 ADCのLC-MS分析を示す図である。

【図7】NCI-N87細胞系統へのトラスツズマブ Fab、Fab-Me-Tet-PEG9 ADC、及びIgG（ネガティブコントロールとして）の結合効果のFACS分析を示す図である。

【図8】NCI-N87モデルにおける腫瘍体積を示す図である。

【図 9】NCI-N87モデルにおける腫瘍成長阻害曲線を示す図である。

【図 10A-10B】実施例 6 において調製された Ab-Tz コンジュゲートについての異種移植の結果及び体重減少 (BWL) の % を示す図である。

【図 11】実施例 6 において調製されたテトラジン-抗原結合タンパク質標的化部分の概略を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0010】

以下の説明は、本技術の例示的な実施形態を示している。しかしながら、そのような説明は本開示の範囲に対する限定を目的としたものではなく、それよりも例示的な実施形態の説明として提供されるものであることを認識されたい。

10

【0011】

1. 定義

明瞭にするために別個の実施形態の文脈において説明される本開示の或る特定の特徴は、単一の実施形態において組み合わせて提供される場合もあることが理解される。対照的に、簡潔にするために単一の実施形態の文脈において説明される本開示の様々な特徴は、個別に又はあらゆる適切なサブコンビネーションにおいて提供される場合もある。本開示に関連する実施形態の全ての組合せは、本開示によって具体的に包含され、あたかもあらゆる組合せが個別に明示的に開示されているかのように、そのような組合せが、例えば、安定な化合物（すなわち、作製し、単離し、特性評価し、生物学的活性について試験することができる化合物）である化合物である主題を包含する範囲で本明細書に開示される。さらに、様々な実施形態及びその要素の全てのサブコンビネーション（例えば、そのような可変部分を説明する実施形態において列挙される化学基の要素）もまた、本開示によって具体的に包含され、あたかもあらゆるサブコンビネーションが個別に明示的に本明細書に開示されているかのように、本明細書に開示される。

20

【0012】

A. 定義

特段の規定がない限り、本明細書において使用される全ての技術用語及び科学用語は、当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。対立する場合は、定義を含めて本書が優先される。好ましい方法及び材料を以下に説明するが、本明細書に記載されるものと類似又は同等の方法及び材料を、本開示の実践又は試験において使用することができる。本明細書において挙げられる全ての出版物、特許出願、特許、及び他の参考文献は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす。本明細書に開示される材料、方法、及び実施例は例示にすぎず、限定を目的とするものではない。

30

【0013】

本明細書において使用される「含む (comprise(s))」、「含む (include(s))」、「有する (having)」、「有する (has)」、「できる (can)」、「含む (contain(s))」という用語、及びそれらの別形は、追加の行為又は構造の可能性を除外しないオープンエンド型の移行句、用語、又は単語であることが意図される。単数形 ("a", "an" and "the") は、文脈上特段の明記がない限り、複数の指示対象を含む。本開示はまた、明示的に記載されているか否かにかかわらず、本明細書に提示される実施形態又は要素を「含む (comprising)」、これら「からなる (consisting of)」、及びこれら「から本質的になる (consisting essentially of)」他の実施形態を企図している。

40

【0014】

量に関連して使用される「約」という修飾語には、指定された値が含まれ、文脈によって規定される意味を有する（例えば、これは、特定の量の測定に関連する誤差の程度を少なくとも含む）。「約」という修飾語はまた、2つの端点の絶対値によって定められる範囲を開示するとみなされるべきである。例えば、「約 2～約 4」という表現は、「2～4」の範囲も開示している。「約」という用語は、示された数のプラス 10% 又はマイナス 10% を指す場合がある。例えば、「約 10%」は 9%～11% の範囲を示す場合があり、「約 1」は 0.9～1.1 を意味する場合がある。「約」の他の意味（丸め等）は文脈

50

から明らかである場合があるため、例えば、「約 1」は 0.5 ~ 1.4 を意味する場合もある。

【0015】

「又は」という接続的用語には、この接続的用語によって関連付けられた 1 つ以上の列挙された要素のあらゆる全ての組合せが含まれる。例えば、「A 又は B を備える装置」という表現は、A を備えるが B が存在しない装置、B を備えるが A が存在しない装置、又は A 及び B の両方が存在する装置を指す場合がある。「A、B、…及び N の少なくとも 1 つ」又は「A、B、…N の少なくとも 1 つ、又はそれらの組合せ」という表現は、最も広い意味において、A、B、…及び N を含む群から選択される 1 つ以上の要素、すなわち、要素 A、B、…又は N の 1 つ以上の、いずれか 1 つの要素単独を含むか、又は列挙されていない追加の要素を組み合わせて含み得る他の要素の 1 つ以上と組み合わせて含むあらゆる組合せを意味すると定義される。

10

【0016】

特定の官能基及び化学用語の定義を以下で更に詳細に説明する。本開示の目的上、化学元素は、Handbook of Chemistry and Physics (第 75 版) の表紙裏の元素周期律表 (C A S 版) に従って特定され、特定の官能基は一般にそこに記載されるように定義される。さらに、有機化学の一般原理、並びに特定の官能性部分及び反応性は、Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, サウサリート, 1999 年、Smith and March March's Advanced Organic Chemistry, 第 5 版, John Wiley & Sons, Inc., ニューヨーク, 2001 年、Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., ニューヨーク, 1989 年、Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 第 3 版, Cambridge University Press, ケンブリッジ, 1987 年 (それぞれの全内容は、引用することにより本明細書の一部をなす) に記載されている。

20

【0017】

本明細書において使用される「アルキル」という用語は、1 個 ~ 30 個の炭素原子を含む直鎖状又は分岐状の飽和炭化水素鎖を意味する。「低級アルキル」又は「C₁ ~ C₆-アルキル」という用語は、1 個 ~ 6 個の炭素原子を含む直鎖又は分岐鎖の炭化水素を意味する。「C₁ ~ C₃-アルキル」という用語は、1 個 ~ 3 個の炭素原子を含む直鎖又は分岐鎖の炭化水素を意味する。アルキルの代表的な例としては、限定されるものではないが、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、イソブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、n-ヘキシル、3-メチルヘキシル、2, 2-ジメチルペンチル、2, 3-ジメチルペンチル、n-ヘプチル、n-オクチル、n-ノニル、及び n-デシルが挙げられる。

30

【0018】

本明細書において使用される「アルコキシ」という用語は、本明細書において定義されるアルキル基が、酸素原子を介して親分子部分に付加されたものを指す。アルコキシの代表的な例としては、限定されるものではないが、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、2-プロポキシ、ブトキシ、及び tert-ブトキシが挙げられる。

【0019】

本明細書において使用される「アルケニル」という用語は、少なくとも 1 つの炭素-炭素二重結合を有する 2 個 ~ 30 個の炭素原子を含む炭化水素鎖を意味する。アルケニル基は置換されていても、又は非置換であってもよい。例えば、アルケニル基は、フェニル等のアリール基で置換されてよい。

40

【0020】

本明細書において使用される「アルキニル」という用語は、2 個 ~ 30 個の炭素原子、例えば 2 個 ~ 20 個又は 2 個 ~ 10 個の炭素原子を有し、かつ少なくとも 1 箇所の三重結合不飽和を有する直鎖状又は分岐状の一価ヒドロカルビル基を指す。「アルキン」という用語には、単環又は多環を有し、かつ少なくとも 1 つの三重結合を有する 5 個 ~ 20 個の炭素原子、例えば 5 個 ~ 10 個の炭素原子の非芳香族シクロアルキル基も含まれる。この

50

ようなアルキニル基の例としては、限定されるものではないが、アセチレニル ($-C \equiv CH$)、及びプロパルギル ($-CH_2C \equiv CH$)、並びにシクロアルキニル部分、例えば、限定されるものではないが、置換又は非置換のシクロオクチン部分が挙げられる。

【0021】

本明細書において使用される「アルコキシアルキル」という用語は、本明細書において定義されるアルコキシ基が、本明細書において定義されるアルキル基を介して親分子部分に付加されたものを指す。

【0022】

本明細書において使用される「アルキレン」という用語は、1個～30個の炭素原子、例えば、2個～10個の炭素原子の直鎖又は分岐鎖の炭化水素から誘導される二価の基を指す。アルキレンの代表的な例としては、限定されるものではないが、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、及び $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ が挙げられる。

【0023】

「アミノ酸」という用語は、天然アミノ酸及び非天然アミノ酸の両方、保護された天然アミノ酸及び非天然アミノ酸、並びに天然に存在するアミノ酸と同様にして機能するアミノ酸類縁体及びアミノ酸ミメティックを指す。天然にコードされるアミノ酸としては、20種類の一般的なアミノ酸（アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン、及びバリン）、並びにピロリジン及びセレノシステインが挙げられる。非天然アミノ酸は、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造、すなわち、ほんの一例として、水素、カルボキシル基、アミノ基、及びR基に取り付けられた α 炭素を有するアミノ酸類縁体を指す。このような類縁体は、天然アミノ酸と同じ基本化学構造を保持しながら、修飾されたR基を有し得るか（例えば、一例としてノルロイシン）、又は修飾されたペプチド骨格を保持し得る。非天然アミノ酸又はアミノ酸類縁体の非限定的な例としては、シトルリン、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウム、ホモフェニルアラニン、オルニチン、ホルミルグリシン、フェニルグリシン、パラ-アジドフェニルグリシン、パラ-アジドフェニルアラニン、パラ-アセトフェニルアラニン、4-(3-メチル-(1, 2, 4, 5-テトラジン))-フェニルグリイン (phenylglyine)、及び4-(3-メチル-(1, 2, 4, 5-テトラジン))-フェニルアラニンが挙げられる。

【0024】

本明細書において使用される「アリール」という用語は、単環（例えば、単環式）又は縮合系を含む多環（例えば、二環式又は三環式）を有する芳香族炭素環式基を指す。アリールの代表的な例としては、限定されるものではないが、フェニル、ナフチル、及びアントラセニルが挙げられる。単環式アリール、二環式アリール、及び三環式アリールは、環内に含まれるいずれかの炭素原子を介して親分子部分に接続されており、非置換であるか、又は置換され得る。芳香族二環式環系又は芳香族三環式環系は、非芳香族環を含まない。したがって、二環式環系又は三環式環系が非芳香族環を含む場合、分子の残部に取り付けられる点にかかわらず、非芳香族環にヘテロ原子が存在するかどうかに応じて、その環系はシクロアルキル又はヘテロシクリルである。

【0025】

幾つかの実施形態において、本明細書において使用される「アリール」という用語は、フェニル基、又は二環式アリール縮合環系若しくは三環式アリール縮合環系を指す。二環式縮合環系は、フェニル基が親分子部分に付加され、かつフェニル基に縮合されたものによって例示される。三環式縮合環系は、フェニル基が親分子部分に付加され、かつ2つの他のフェニル基に縮合されたものによって例示される。二環式アリールの代表的な例とし

10

20

30

40

50

ては、限定されるものではないが、ナフチルが挙げられる。三環式アリールの代表的な例としては、限定されるものではないが、アントラセニルが挙げられる。単環式アリール、二環式アリール、及び三環式アリールは、環内に含まれるいずれかの炭素原子を介して親分子部分に接続されており、非置換であるか、又は置換され得る。

【0026】

本明細書において使用される「アジド」という用語は、官能基 $-N_3$ を指す。

【0027】

本明細書において使用される「シクロアルキル」という用語は、3個～10個、又は3個～8個、又は3個～6個、又は5個～10個の炭素原子を含み、かつヘテロ原子を1個も含まない非芳香族炭素環式環系を指す。シクロアルキル環系は、環が芳香族でない限り1つ以上の二重結合を含んでよい。シクロアルキルという用語にはシクロアルケニル環系が含まれる。シクロアルキルの代表的な例としては、限定されるものではないが、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、シクロノニル、及びシクロデシルが挙げられる。例示的な単環式シクロアルケニル環としては、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、又はシクロヘプテニルが挙げられる。「シクロアルキル」としては、分子の残部に取り付けられる点にかかわらず、シクロアルキル基が本明細書において定義されるアリール又はヘテロアリールに縮合している炭素環式環系も挙げられる。

10

【0028】

幾つかの実施形態において、本明細書において使用される「シクロアルキル」という用語は、3個～10個の炭素原子を含み、ヘテロ原子を1個も含まず、かつ二重結合を1つも含まない炭素環式環系を指す。シクロアルキルの代表的な例としては、限定されるものではないが、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、シクロノニル、及びシクロデシルが挙げられる。「シクロアルキル」としては、シクロアルキル基が親分子部分に付加され、かつ本明細書において定義されるアリール基、本明細書において定義されるヘテロアリール基、又は本明細書において定義される複素環に縮合している炭素環式環系も挙げられる。

20

【0029】

本明細書において使用される「シクロアルケニル」という用語は、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を含み、かつ好ましくは1つの環当たり5個～10個の炭素原子を有する非芳香族の単環式又は多環式環系を意味する。例示的な単環式シクロアルケニル環としては、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、又はシクロヘプテニルが挙げられる。

30

【0030】

本明細書において使用される「シクロオクテン」という用語は、二重結合を有する単環を有する、8個の炭素原子の置換又は非置換の非芳香族環状アルキル基を指す。このようなシクロオクテン基の例としては、限定されるものではないが、置換又は非置換のトランス-シクロオクテン (TCO) が挙げられる。

【0031】

本明細書において使用される「フルオロアルキル」という用語は、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、又は8個の水素原子がフッ素により置き換えられている、本明細書において定義されるアルキル基を意味する。フルオロアルキルの代表的な例としては、限定されるものではないが、2-フルオロエチル、2, 2, 2-トリフルオロエチル、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、ペンタフルオロエチル、及び3, 3, 3-トリフルオロプロピル等のトリフルオロプロピルが挙げられる。

40

【0032】

本明細書において使用される「アルコキシフルオロアルキル」という用語は、本明細書において定義されるアルコキシ基が、本明細書において定義されるフルオロアルキル基を介して親分子部分に付加されたものを指す。

【0033】

本明細書において使用される「フルオロアルコキシ」という用語は、本明細書において

50

定義される少なくとも1つのフルオロアルキル基が酸素原子を介して親分子部分に付加されたものを意味する。フルオロアルキルオキシの代表的な例としては、限定されるものではないが、ジフルオロメトキシ、トリフルオロメトキシ、及び2, 2, 2-トリフルオロエトキシが挙げられる。

【0034】

本明細書において使用される「ハロゲン」又は「ハロ」という用語は、C l、B r、I、又はFを意味する。

【0035】

本明細書において使用される「ハロアルキル」という用語は、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、又は8個の水素原子がハロゲンにより置き換えられている、本明細書において定義されるアルキル基を意味する。

10

【0036】

本明細書において使用される「ハロアルコキシ」という用語は、本明細書において定義される少なくとも1つのハロアルキル基が酸素原子を介して親分子部分に付加されたものを意味する。

【0037】

本明細書において使用される「ヘテロアルキル」という用語は、1個以上の炭素原子がS、S i、O、P、及びNから選択されるヘテロ原子により置き換えられている、本明細書において定義されるアルキル基を意味する。ヘテロ原子は酸化されていてよい。ヘテロアルキルの代表的な例としては、限定されるものではないが、アルキルエーテル、第二級アルキルアミン及び第三級アルキルアミン、並びに硫化アルキルが挙げられる。

20

【0038】

本明細書において使用される「ヘテロアリール」という用語は、窒素、酸素、及び硫黄から独立して選択される1個以上の環ヘテロ原子を有する、単環、多環、又は多重縮合環を有する芳香族基を指す。幾つかの実施形態において、本明細書において使用される「ヘテロアリール」という用語は、芳香族単環式環、又は芳香族二環式環系、又は芳香族三環式環系を指す。芳香族単環式環は、N、O、及びSからなる群から独立して選択される少なくとも1個のヘテロ原子（例えば、O、S、及びNから独立して選択される1個、2個、3個、又は4個のヘテロ原子）を含む5員環又は6員環である。5員芳香族単環式環は2つの二重結合を有し、6員芳香族単環式環は3つの二重結合を有する。単環式ヘテロアリールの代表的な例としては、限定されるものではないが、ピリジニル（ピリジン-2-イル、ピリジン-3-イル、ピリジン-4-イルを含む）、ピリミジニル、ピラジニル、チエニル、フリル、チアゾリル、チアジアゾリル、イソオキサゾリル、ピラゾリル、及び2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリジニルが挙げられる。二環式ヘテロアリールの代表的な例としては、限定されるものではないが、クロメニル、ベンゾチエニル、ベンゾジオキサソリル、ベンゾトリアゾリル、キノリニル、チエノピロリル、チエノチエニル、イミダゾチアゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾフラニル、インドリル、キノリニル、イミダゾピリジン、ベンゾオキサジアゾリル、及びベンゾピラゾリルが挙げられる。三環式ヘテロアリールの代表的な例としては、限定されるものではないが、ジベンゾフラニル及びジベンゾチエニルが挙げられる。単環式ヘテロアリール、二環式ヘテロアリール、及び三環式ヘテロアリールは、環内に含まれるいずれかの炭素原子又はいずれかの窒素原子を介して親分子部分に接続されており、非置換であるか、又は置換され得る。幾つかの実施形態において、芳香族二環式環系又は芳香族三環式環系は、非芳香族環を含まない。したがって、二環式環系又は三環式環系が非芳香族環を含む場合、分子の残部に取り付けられる点にかかわらず、非芳香族環にヘテロ原子が存在するかどうかに応じて、その環系はシクロアルキル又はヘテロシクリルである。

30

40

【0039】

幾つかの実施形態において、5員芳香族単環式環は2つの二重結合を有し、6員芳香族単環式環は3つの二重結合を有する。幾つかの実施形態において、例示的な二環式ヘテロアリール基は、単環式ヘテロアリール環が親分子部分に付加され、かつ本明細書において

50

定義される単環式シクロアルキル基、本明細書において定義される単環式アリール基、本明細書において定義される単環式ヘテロアリール基、又は本明細書において定義される単環式複素環に縮合されたものによって例示される。幾つかの実施形態において、三環式ヘテロアリール基は、単環式ヘテロアリール環が親分子部分に付加され、かつ本明細書において定義される単環式シクロアルキル基、本明細書において定義される単環式アリール基、本明細書において定義される単環式ヘテロアリール基、又は本明細書において定義される単環式複素環のうちの2つに縮合されたものによって例示される。

【0040】

本明細書において使用される「ヘテロシクリル」、「複素環」、又は「複素環式」という用語は、3個～10個、又は3個～8個、又は3個～6個、又は5個～10個の炭素原子と、少なくとも1個（例えば、1個～5個、1個～4個、1個～3個、1個～2個、又は1個）のヘテロ原子と、任意に1つ以上のオキソ及び／又は二重結合を含む非芳香族環系を指す。「ヘテロシクリル」、「複素環」、又は「複素環式」という用語には、少なくとも1個のヘテロ原子を含む少なくとも1つの非芳香族環系が存在するという条件で、単環式環系、二環式環系、三環式環系、縮合環系、スピロ環式環系、又は架橋環系が含まれる。幾つかの実施形態において、単環式複素環は、O、N、及びSからなる群から独立して選択される少なくとも1個のヘテロ原子を含む3員環、4員環、5員環、6員環、7員環、又は8員環である。幾つかの実施形態において、3員環又は4員環は、二重結合を1つも含まないか、又は1つの二重結合を含み、かつO、N、及びSからなる群から選択される1個のヘテロ原子を含む。幾つかの実施形態において、5員環は、二重結合を1つも含まないか、又は1つの二重結合を含み、かつO、N、及びSからなる群から選択される1個、2個、又は3個のヘテロ原子を含む。幾つかの実施形態において、6員環は、二重結合を1つも含まないか、又は1つ若しくは2つの二重結合を含み、かつO、N、及びSからなる群から選択される1個、2個、又は3個のヘテロ原子を含む。幾つかの実施形態において、7員環及び8員環は、二重結合を1つも含まないか、又は1つ、2つ、若しくは3つの二重結合を含み、かつO、N、及びSからなる群から選択される1個、2個、又は3個のヘテロ原子を含む。単環式複素環の代表的な例としては、限定されるものではないが、アゼチジニル、アゼパニル、アジリジニル、ジアゼパニル、1,3-ジオキサニル、1,3-ジオキサラニル、1,3-ジチオラニル、1,3-ジチアニル、1,3-ジメチルピリミジン-2,4(1H,3H)-ジオン、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、イソチアゾリニル、イソチアゾリジニル、イソオキサゾリニル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、オキサジアゾリニル、オキサジアゾリジニル、オキサゾリニル、オキサゾリジニル、オキセタニル、ピペラジニル、ピペリジニル、ピラニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、ピロリニル、ピロリジニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロピリジニル、テトラヒドロチエニル、チアジアゾリニル、チアジアゾリジニル、1,2-チアジナニル、1,3-チアジナニル、チアゾリニル、チアゾリジニル、チオモルホリニル、1,1-ジオキシドチオモルホリニル（チオモルホリンスルホン）、チオピラニル、及びトリチアニルが挙げられる。二環式複素環は、単環式複素環がフェニル基に縮合したもの、又は単環式複素環が単環式シクロアルキルに縮合したもの、又は単環式複素環が単環式シクロアルケニルに縮合したもの、又は単環式複素環が単環式複素環に縮合したもの、又はスピロ複素環基、又は環の2つの非隣接原子が1個、2個、3個、若しくは4個の炭素原子のアルキレン架橋若しくは2個、3個、若しくは4個の炭素原子のアルケニレン架橋によって連結されている架橋単環式複素環系である。二環式複素環の代表的な例としては、限定されるものではないが、ベンゾピラニル、ベンゾチオピラニル、クロマニル、2,3-ジヒドロベンゾフラニル、2,3-ジヒドロベンゾチエニル、2,3-ジヒドロイソキノリン、2-アザスピロ[3.3]ヘプタン-2-イル、アザビシクロ[2.2.1]ヘプチル（2-アザビシクロ[2.2.1]ヘプタ-2-イルを含む）、2,3-ジヒドロ-1H-インドリル、イソインドリニル、オクタヒドロシクロペンタ[c]ピロリル、オクタヒドロピロロピリジニル、及びテトラヒドロイソキノリニルが挙げられる。三環式複素環は、二環式複素環がフェニル基に縮合したもの、又は二環式

10

20

30

40

50

複素環が単環式シクロアルキルに縮合したもの、又は二環式複素環が単環式シクロアルケニルに縮合したもの、又は二環式複素環が単環式複素環に縮合したもの、又は二環式環の2つの非隣接原子が1個、2個、3個、若しくは4個の炭素原子のアルキレン架橋若しくは2個、3個、若しくは4個の炭素原子のアルケニレン架橋によって連結されている二環式複素環である。三環式複素環の例としては、限定されるものではないが、オクタヒドロ-2, 5-エポキシペンタレン、ヘキサヒドロ-2H-2, 5-メタノシクロペンタ [b] フラン、ヘキサヒドロ-1H-1, 4-メタノシクロペンタ [c] フラン、アザーアダマントラン (1-アザトリシクロ [3. 3. 1. 1^{3, 7}] デカン)、及びオキサアダマントラン (2-オキサトリシクロ [3. 3. 1. 1^{3, 7}] デカン) が挙げられる。単環式複素環、二環式複素環、及び三環式複素環は、環内に含まれるいずれかの炭素原子又はい

10

【0041】

本明細書において使用される「ヒドロキシル」という用語は、-OH基を意味する。

【0042】

本明細書において使用される「ヒドロキシアルキル」という用語は、本明細書において定義されるアルキル基が1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、又は8個の水素原子がヒドロキシル基により置き換えられているものを意味する。

【0043】

場合によっては、ヒドロカルビル置換基 (例えば、アルキル又はシクロアルキル) 中の炭素原子数は、接頭辞「C_x~C_y-」又は「C_x~_y」によって示され、ここで、xは置換基中の炭素原子の最小数であり、yは置換基中の炭素原子の最大数である。したがって、例えば、「C₁~C₃-アルキル」及び「C₁~₃アルキル」は、1個~3個の炭素原子を含むアルキル置換基を指す。2つの「C_x~C_y-」及び「C_x~_y」という表記法は区別なく使用され、同じ意味を有する。

20

【0044】

「置換」という用語は、或る基が1つ以上の非水素置換基で更に置換されていてよいことを指す。置換基としては、限定されるものではないが、ハロゲン、=O、=S、シアノ、ニトロ、フルオロアルキル、アルコキシフルオロアルキル、フルオロアルコキシ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アリール、ヘテロアリール、複素環、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、アリールアルキル、ヒドロキシ、ヒドロキシアルキル、アルコキシ、アルコキシアルキル、アルキレン、アリールオキシ、フェノキシ、ベンジルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アシルアミノ、アミノアルキル、アリールアミノ、スルホニルアミノ、スルフィニルアミノ、スルホニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アミノスルホニル、スルフィニル、-COOH、ケトン、アミド、カルバメート、及びアシルが挙げられる。

30

【0045】

「テトラジン」という用語は、3つの二重結合を有する単環を有する、2個の炭素原子及び4個の窒素原子の置換又は非置換の芳香族環式基を指す。テトラジン基の例としては、1, 2, 3, 4-テトラジン及び1, 2, 4, 5-テトラジンが挙げられる。本明細書において使用される場合、1, 2, 4, 5-テトラジンは「Tz」基と呼ばれる。

40

【0046】

「選択的に送達する」という用語は、他の非標的器官又は組織 (又はそれらの部分) に大幅に結合することなく、治療又は診断を必要とする器官又は組織 (又はそれらの部分) に作用物質 (例えば、ペイロード) を送達することを指す。幾つかの実施形態において、本明細書に記載される標的化部分又は治療用標的化部分は、それ自体は治療効果を有しないが、むしろ治療薬の選択的送達又は標的化送達を可能にするように設計される。しかしながら、標的化部分が治療効果を有することも可能であるため、そのようなコンストラクトは本開示によって除外されない。

50

【0047】

「ペイロード」という用語は、被験体における標的部位に送達される作用物質を指す。ペイロードとしては、治療剤が挙げられる。

【0048】

「治療剤」という用語は、被験体における病態若しくは疾患、又はそれらの1つ以上の症状を治療及び／又は寛解することができる作用物質を指す。本開示の治療剤としては、治療剤のプロドラッグ形態も挙げられる。

【0049】

「診断剤」という用語は、病態又は疾患の診断を助ける作用物質を指す。代表的な診断剤としては、常磁性剤、光プローブ、放射性核種等のようなイメージング剤が挙げられる。常磁性剤は、外部印加場の下で磁性を示すイメージング剤である。常磁性剤の例としては、限定されるものではないが、鉄ナノ粒子及び鉄マイクロ粒子を含む鉄粒子が挙げられる。光プローブは、1つ目の波長の放射での励起、及び2つ目の異なる波長の放射での検出により検出することができる蛍光性化合物である。本開示の光プローブとしては、限定されるものではないが、Cy5.5、Alexa 680、Cy5、DiD (1, 1'-ジオクタデシル-3, 3, 3', 3'-テトラメチルインドジカルボシアニン過塩素酸塩)、及びDiR (1, 1'-ジオクタデシル-3, 3, 3', 3'-テトラメチルインドトリカルボシアニンヨウ化物)が挙げられる。他の光プローブとしては、量子ドットが挙げられる。放射性核種は、検出可能な放射性崩壊を受ける元素である。本開示の実施形態において有用な放射性核種としては、限定されるものではないが、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{18}F 、 ^{19}F 、 ^{60}Co 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{82}Rb 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Sr 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、 ^{137}Cs 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{211}At 、 Rn 、 Ra 、 Th 、 U 、 Pu 、及び ^{241}Am が挙げられる。

【0050】

「標的化作用物質」という用語は、標的（例えば、標的とする器官又は組織）に特異的に結合し、それによって標的化作用物質と特定の標的との間に安定した会合を形成する化学的作用物質又は生物学的作用物質を指す。「安定に会合する」又は「安定した会合」とは、標準的な生理学的条件下で、或る部分が別の部分又は構造に結合するか、又はそれと会合することを意味する。結合としては、限定されるものではないが、イオン結合、疎水性相互作用、水素結合、ファンデルワールス力（例えば、ロンドン分散力）、双極子-双極子相互作用等のような共有結合又は非共有結合的相互作用を挙げることができる。標的化作用物質は、限定されるものではないが、受容体／リガンドの組の一方の要素、受容体のリガンド結合部分、抗体／抗原の組の一方の要素、抗体の抗原結合フラグメント、ハプテン、レクチン／炭水化物の組の一方の要素、酵素／基質の組の一方の要素、ビオチン／アビジン、ビオチン／ストレプトアビジン、ジゴキシン／アンチジゴキシン、DNAアプタマー又はRNAアプタマーの結合組の一方の要素、ペプチドアプタマーの結合組の一方の要素等のような特異的な結合組の一方の要素であり得る。標的化作用物質としては、特定の臨床的に関連する標的受容体又は細胞表面標的に特異的に結合する（又は実質的に特異的に結合する）リガンドが挙げられる。リガンドは、標的受容体又は細胞表面標的に対して特異的な親和性を有する抗体、ペプチド、核酸、ファージ、細菌、ウイルス、又は他の分子であり得る。受容体及び細胞表面標的の例としては、限定されるものではないが、PD-1、CTLA-4、HER2/neu、HER1/EGFR、VEGFR、4-1BB、GITR、阻害性免疫チェックポイント受容体免疫グロブリン様転写物4 (ILT4) に対するヒトモノクローナル抗体であるLT4、白血球免疫グロブリン様受容体スーパーファミリーBメンバー2 (LILRB2)、リンパ球免疫グロブリン様受容体2 (LIR2)、単球／マクロファージ免疫グロブリン様受容体10 (MIR-10)、CD85d、又は他の細胞受容体若しくは細胞表面標的が挙げられる。本明細書に開示される様々な実施形態には追加の例が含まれる。

【0051】

「標的とする器官又は組織」という用語は、ペイロードの送達の標的とされる器官又は組織を指す。代表的な標的化される器官及び組織としては、化学的標的化作用物質又は生物学的標的化作用物質によって標的化され得る器官及び組織だけでなく、化学的標的化作用物質又は生物学的標的化作用物質によって標的化され得ない器官及び組織も挙げられる。

【0052】

「移植する」という用語は、被験体の身体への外科的移植を指す。

【0053】

「接触する」又は「接触」という用語は、少なくとも2つの異なる種を接触させることで、これらが、例えば、非共有結合性相互作用若しくは共有結合性相互作用又は結合反応において互いに相互作用し得るプロセスを指す。しかしながら、得られる複合体又は反応生成物は、添加された試薬間の相互作用若しくは反応から直接的に生成され得るか、又は添加された試薬若しくは部分の1つ以上に由来する、接触中の混合物において生成され得る中間体から生成され得ることを理解されたい。

【0054】

「結合作用物質」という用語は、生物学的環境において別の結合作用物質の相補的官能基と共有結合を形成することができる官能基を有する作用物質を指す。生物学的環境における結合作用物質間の結合は、生体共役反応と呼ばれる場合もある。結合作用物質としては、生体直交型結合作用物質が挙げられ、これらは、生体直交型官能基を有する結合作用物質である。生体直交型結合作用物質の生体直交型官能基は、別の生体直交型結合対応物の相補的生体直交型官能基と選択的に反応する。生体直交型結合対応物間の選択的な反応は、他の結合作用物質、生物学的化合物、又は他の非相補的生体直交型結合作用物質若しくは非相補的生体直交型官能基との副反応を最小限に抑えることができる。生体直交型結合作用物質の生体直交型部分又は官能基としては、限定されるものではないが、クリック化学反応を介してトリアゾールを形成するアジド及びアルキン、トランス-シクロオクテン（TCO）及びテトラジン（Tz）（例えば、1, 2, 4, 5-テトラジン）等が挙げられる。本開示において有用な結合作用物質は、対応する結合作用物質との高い反応性を有し得るため、反応が迅速である。

【0055】

「官能化された」という用語は、或る部分がその部分に取り付けられた官能基を有すること、例えば、或る部分がそこに取り付けられた結合作用物質官能基（例えば、生体直交型官能基）を有することを指す。

【0056】

「投与する」という用語は、被験体へのあらゆる適切な投与経路、例えば、限定されるものではないが、被験体への、経口投与、坐剤としての投与、局所的接触、非経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、病変内投与、鼻腔内投与若しくは皮下投与、髄腔内投与、又は徐放性デバイス、例えば、ミニ浸透圧ポンプの移植を指す。

【0057】

本明細書において使用される「非経口」という用語は、静脈内、筋肉内、腹腔内、胸骨内、皮下、及び関節内の注射及び注入を含む投与方式を指す。

【0058】

「脱離基」という用語は、安定な化学種として置き換えられ、それとともに結合電子を受け取ることができる電子吸引能力を備える原子（又は原子の基）を指す。適切な脱離基の例として、ハロゲン化物（例えば、Br、Cl、I）、スルホン酸エステル（例えば、トリフレート、メシレート、トシレート、及びプロシレート）、及びニトロフェノールが挙げられる。

【0059】

「薬学的有効量」及び「治療的有效量」という用語は、指定される障害若しくは疾患又は1つ以上のその症状を治療する、及び／又は疾患若しくは障害又はそれらの症状（複数の場合もある）の発症又は再発を予防若しくはそれらのリスクを低減するのに十分な化

10

20

30

40

50

物の量を指す。腫瘍形成性の増殖性障害に関して、薬学的有効量又は治療的有效量は、とりわけ、腫瘍を収縮させるか、又は腫瘍の成長速度を低下させるのに十分な量を含む。

【0060】

本明細書において使用される場合、「被験体」、「患者」、又は「生物」という用語には、ヒト及び哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ブタ、ネコ、イヌ、及びウマ）が含まれる。本開示の作用物質（複数の場合もある）が投与され得る典型的な被験体としては、哺乳動物、特に霊長類、殊にヒトを挙げることができる。獣医学用途の場合、適切な被験体としては、例えば、畜牛、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ブタ等のような家畜、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、七面鳥等のような家禽、並びにイヌ及びネコ等の飼育慣らされた動物、特にペットを挙げることができる。診断用途又は研究用途の場合、適切な被験体としては、哺乳動物、例えば、齧歯類（例えば、マウス、ラット、ハムスター）、ウサギ、霊長類、及び近交系ブタ等のようなブタを挙げることができる。

10

【0061】

本明細書において使用される「治療する」又は「治療」という用語は、哺乳動物（特にヒト）等の患者における疾患若しくは病状又はそれらの症状（複数の場合もある）を治療すること、又はそれらの治療を意味し、これには、（a）疾患若しくは病状若しくはそれらの症状（複数の場合もある）を寛解する、例えば、患者における疾患若しくは病状若しくはそれらの症状（複数の場合もある）を排除するか、若しくは退縮させること、（b）例えば、患者における疾患若しくは病状若しくはそれらの症状（複数の場合もある）の発生を遅らせるか、若しくはそれらを停止することにより、疾患若しくは病状若しくはそれらの症状（複数の場合もある）を抑制すること、又は（c）患者における疾患若しくは病状の症状若しくはそれらの症状（複数の場合もある）を軽減することが含まれる。

20

【0062】

「生理学的条件」という用語は、生存細胞と適合性の条件、例えば、生存細胞と適合性の温度、pH、塩分濃度等の主に水性の条件を包含すると解釈される。

【0063】

本明細書に記載される化合物の場合、それらの基及び置換基は、この原子及び置換基の許容される原子価に従って、この選択及び置換により、安定した化合物、例えば、転位、環化、脱離等によるような転換を自発的には受けない化合物がもたらされるように選択され得る。

30

【0064】

値の範囲が示される場合、その範囲の上限と下限との間のそれぞれの介在値、及びその指定された範囲内のあらゆる他の指定された値又は介在値は、文脈上特段の明確な指示がない限り、下限の単位の10分の1までが本開示内に包含されると理解されたい。これらのより小さな範囲の上限及び下限は、独立してより小さな範囲に含まれる場合もあり、また、指定された範囲内のあらゆる具体的に除外された限界を条件として、本開示に包含される。指定された範囲が限界の一方又は両方を含む場合、それらの含まれる限界の一方又は両方を除外する範囲も本開示に含まれる。

【0065】

本明細書における数値範囲の記載について、同程度の正確さを有するその間のそれぞれの介在値が明示的に考慮される。例えば、6～9の範囲の場合、6及び9に加えて7及び8の数も考慮され、6.0～7.0の範囲の場合、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、及び7.0の数値が明示的に考慮される。

40

【0066】

化合物は、不斉中心又はキラル中心が存在する立体異性体として存在する場合がある。立体異性体は、キラル炭素原子の周りの置換基の立体配置に応じて「R」又は「S」である。本明細書において使用される「R」及び「S」という用語は、Pure Appl. Chem., 1976, 45: 13-30におけるセクションE、基本的立体化学についてのIUPAC 1974の推奨（IUPAC 1974 Recommendations for Section E, Fundamental St

50

ereochemistry) において定義される立体配置である。本開示では様々な立体異性体及びそれらの混合物が企図されており、これらは本開示の範囲内で具体的に含まれる。立体異性体としては、エナンチオマー及びジアステレオマー、並びにエナンチオマー又はジアステレオマーの混合物が挙げられる。化合物の個々の立体異性体は、不斉中心若しくはキラル中心を含む市販の出発材料から合成によって、又はラセミ混合物の調製に続いて当業者によく知られる分割方法によって調製され得る。これらの分割方法は、(1) Furniss, Hannaford, Smith, and Tatchell, "Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry," 5th edition (1989), Longman Scientific & Technical, Essex CM20 2JE, Englandに記載されるような、エナンチオマーの混合物とキラル助剤との付加、得られたジアステレオマー混合物の再結晶化若しくはクロマトグラフィーによる分離、及び任意に助剤からの光学的に純粋な生成物の遊離、又は(2) キラルクロマトグラフィーカラム上での光学的エナンチオマーの混合物の直接的な分離、又は(3) 分別再結晶化方法によって例示される。

10

【0067】

化合物は互変異性形態だけでなく幾何異性体を有する場合もあり、これらも本発明の態様を構成することを理解されたい。

【0068】

本開示はまた、同位体標識化合物も含み、これらは、1個以上の原子が、自然界で通常見られる原子質量又は質量数とは異なる原子質量又は質量数を有する原子によって置き換えられていること以外は、本明細書に列挙される化合物と同一である。本開示の化合物に含むのに適した同位体の例は、水素、炭素、窒素、酸素、リン、硫黄、フッ素、及び塩素、例えば、限定されるものではないが、それぞれ、 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、及び ^{36}Cl である。重水素(即ち、 ^2H)等のより重い同位体による置換によって、より大きな代謝安定性、例えば、*in vivo*での半減期の延長又は投薬量要件の低減によりもたらされる或る特定の治療上の利点をもたらされ得るため、一部の状況では好ましい場合がある。化合物は、受容体の分布を決定する医用イメージング研究及び陽電子放出断層撮影(PET)研究のために、陽電子放出同位体を含んでもよい。含まれ得る適切な陽電子放出同位体は、 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、及び ^{18}F である。本明細書において開示される同位体標識化合物は一般に、非同位体標識試薬の代わりに適切な同位体標識試薬を使用して、当業者に既知の従来の技術によって、又は添付の実施例に記載されるのと類似の方法によって調製され得る。

20

30

【0069】

B. 標的化部分

本明細書において、1つ以上のテトラジン部分に共有結合された、生体適合性支持体、抗体、若しくは抗体フラグメント部分、又は或る特定の実施形態においては、抗体若しくは抗体フラグメント部分を含む標的化部分が提供される。本明細書に記載される標的化部分は、被験体に投与されたら被験体内の標的部位に局在化するように設計される。標的化部分を局所投与又は全身投与することができる。幾つかの実施形態において、標的化部分は治療用標的化部分である。投与されたら、相補的な生体直交型成分(すなわち、トランス-シクロオクテン部分)を含むプロドラッグを投与することができ、これにより、*in vivo*で標的化部分と接触したときに、ペイロード又は治療剤の標的化薬物送達が可能となる。幾つかの実施形態において、本明細書に記載される標的化部分は診断剤を含み、こうして、ペイロード又は治療剤の投与を伴って又は伴わずに、本明細書に記載される標的化部分を病態又は疾患の診断において使用することができる。

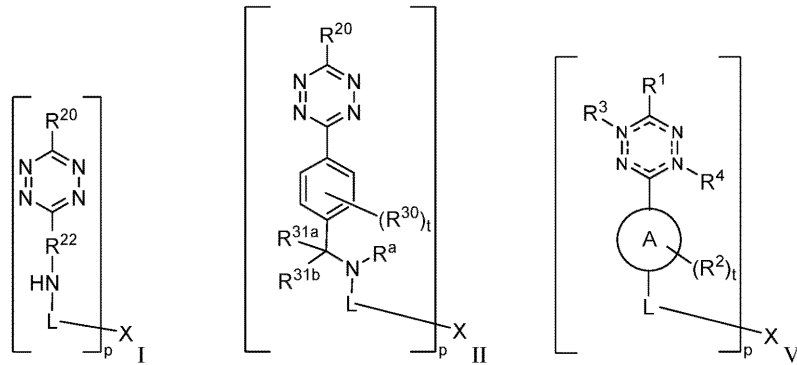
40

【0070】

式I、式II、又は式V:

50

【化 1】



10

(式中、

環 A は、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はヘテロアリールであり、
点線は、R³ 及び R⁴ が両方とも存在しない場合はテトラジンを形成する追加の結合を表し、又は R³ 及び R⁴ が両方とも存在する場合はジヒドロテトラジンを形成する追加の結合を表すが、但し、環 A がアリールである場合、R³ 及び R⁴ は両方とも存在し、

X は、生体適合性支持体、抗体、又は抗体フラグメント部分であるが、但し、式 I 及び式 II については、X は生体適合性支持体ではなく、

p は、1 ~ 150 であり、

L は、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

R¹ は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロ、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、OR'、SR'、C(=O)R'、C(=S)R'、OC(=O)R'、SC(=O)R'、OC(=S)R'、SC(=S)R'、S(=O)R'、S(=O)₂R'、S(=O)NR'R'、C(=O)O-R'、C(=O)S-R'、C(=S)OR'、C(=S)SR'、C(=O)NR'R'、C(=S)NR'R'、NR'R'、NR'C(=O)R'、NR'C(=S)R'、NR'C(=O)OR'、NR'C(=S)R'、NR'C(=O)SR'、NR'C(=S)SR'、OC(=O)NR'R'、SC(=O)NR'R'、OC(=S)R'R'、SC(=S)R'R'、NR'C(=O)NR'、及び NR'C(=S)NR' からなる群から選択され、ここで、それぞれのアルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個 ~ 3 個の Z¹ で置換されており、

R² は、それぞれの場合、独立して、ハロ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、-C(=O)-アルキル、-C(=O)-ハロアルキル、-C(=O)-アルケニル、-C(=O)-アルキニル、-C(=O)-アルコキシ、-C(=O)-ハロアルコキシ、-C(=O)-ヘテロアルキル、-C(=O)-アリール、-C(=O)-ヘテロアリール、-C(=O)-ヘテロシクリル、又は -C(=O)-シクロアルキルであり、ここで、それぞれのアルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個 ~ 3 個の Z¹ で置換されており、

R³ 及び R⁴ は両方とも存在しないか、又は R³ 及び R⁴ は、それぞれ独立して、水素若しくはトリガー事象後に除去が可能な基であり、

R²⁰ は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロゲン、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、CF₃、CF₂-R'、NO₂、OR'、SR'、C(=O)R'、C(=S)R'、OC(=O)R'、SC(=O)R'、OC(=S)R'、SC(=S)R'、S(=O)R'、S(=O)₂R'、S(=O)NR'R'、C(=O)O-R'、C(=O)S-R'、C(=S)OR'、C(=S)SR'、C(=O)NR'R'、C(=S)NR'R'、NR'R'、NR'C(=O)R'、NR'C(=S)R'、NR'C(=O)OR'、NR'C(=S)R'、NR'C(=O)SR'、NR'C(=S)SR'、OC(=O)NR'R'、SC(=O)NR'R'、OC(=S)R'R'、SC(=S)R'R'、NR'C(=O)NR'、及び NR'C(=S)NR' からなる群から選択され、ここで、それぞれのアルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個 ~ 3 個の Z¹ で置換されており、

40

、 $SC(=S)R'''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)R''$ 、 $S(=O)NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、及び $NR'C(=S)NR''R''$ の群から選択され、

R^{22} は、それぞれの場合、独立して、1つ以上のエチレンオキシ官能基、アミン官能基、エステル官能基、アミド官能基、カルバメート官能基、カーボネート官能基、又はケトン官能基を任意に含む1個～100個の連結原子のリンカーであり、

10

R^{30} は、それぞれの場合、独立して、ハロゲン、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、又はシクロアルケニルであり、

R^a 、 R^{31a} 、及び R^{31b} は、それぞれ独立して、水素、 $C_1 \sim C_6$ -アルキル、又は $C_1 \sim C_6$ -ハロアルキルであり、

それぞれの Z^1 は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)R''$ 、 $S(=O)NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $C(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、及び $NR'C(=S)NR''R''$ から選

され、 R' 及び R'' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

R''' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、かつ、 t は、それぞれの場合、独立して、0、1、2、3、又は4である)の標的化部分が本明細書において提供される。

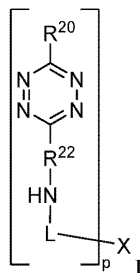
30

【0071】

式I、式II、式IIA、式IIB、式IIC、及び式IIIの化合物：

一実施形態において、式I：

【化2】



40

(式中、

X は、抗体又は抗体フラグメント部分であり、

p は、1～16であり、

L は、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

R^{20} は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロゲン、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、

50

シクロアルキル、シクロアルケニル、 CF_3 、 $\text{CF}_2-\text{R}'$ 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{O}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{S}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{O}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{S}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{SR}'$ 、 $\text{NR}'=\text{S})\text{SR}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、及び $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ の群から選択され、

R^{22} は、それぞれの場合、独立して、1つ以上のエチレンオキシ官能基、アミン官能基、エステル官能基、アミド官能基、カルバメート官能基、カーボネート官能基、又はケトン官能基を任意に含む1個～100個の連結原子のリンカーであり、かつ、

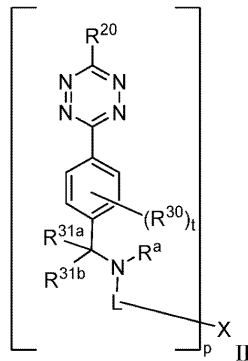
R' 及び R'' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

R''' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択される)の標的化部分が提供される。

【0072】

一実施形態において、式II:

【化3】



20

30

(式中、

Xは、抗体又は抗体フラグメント部分であり、

pは、1～16であり、

Lは、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

R^{20} は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロゲン、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、 CF_3 、 $\text{CF}_2-\text{R}'$ 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{O}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{S}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{O}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{S}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{SR}'$ 、 $\text{NR}'=\text{S})\text{SR}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、及び $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ の群から選択され、

R^{30} は、それぞれの場合、独立して、ハロゲン、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、又はシクロアルケニルであり、

R^a 、 R^{31a} 、及び R^{31b} は、それぞれ独立して、水素、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ -アルキル、又は

50

$C_1 \sim C_6$ - ハロアルキルであり、

R' 及び R'' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

R''' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、かつ、

t は、それぞれの場合、独立して、0、1、2、3、又は4である）の標的化部分が提供される。

【0073】

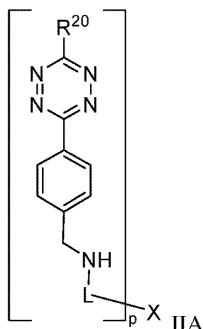
一実施形態において、 R^{22} は、それぞれの場合、独立して、1個～100個の連結原子のリンカーであり、エチレンオキシ基、アミン、エステル、アミド、カルバメート、カーボネート、及びケトン官能基を含み得る。

10

【0074】

一実施形態において、式IIA：

【化4】



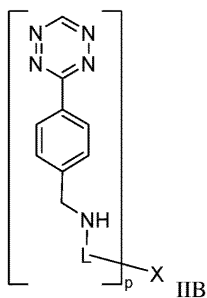
20

（式中、 L 、 p 、 X 、及び R^{20} は、それぞれ独立して、本明細書に定義される通りである）の標的化部分が提供される。

【0075】

一実施形態において、式IIB：

【化5】



30

（式中、 L 、 p 、及び X は、それぞれ独立して、本明細書に定義される通りである）の標的化部分が提供される。

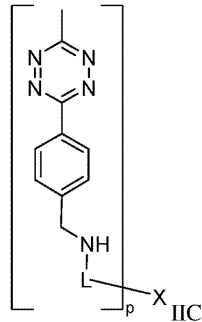
【0076】

40

一実施形態において、式IIC：

50

【化 6】



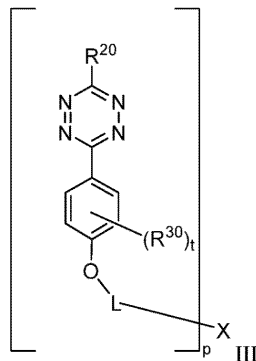
10

(式中、L、p、及びXは、それぞれ独立して、本明細書に定義される通りである)の標的化部分が提供される。

【0077】

一実施形態において、式III:

【化 7】



20

(式中、

Xは、抗体又は抗体フラグメント部分であり、

pは、1～16であり、

30

Lは、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

R^{20} は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロゲン、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)R''$ 、 $S(=O)NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、及び $NR'C(=S)NR'R''$ の群から選択され、

R^{30} は、それぞれの場合、独立して、ハロゲン、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、又はシクロアルケニルであり、

R' 及び R'' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

R''' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、かつ、

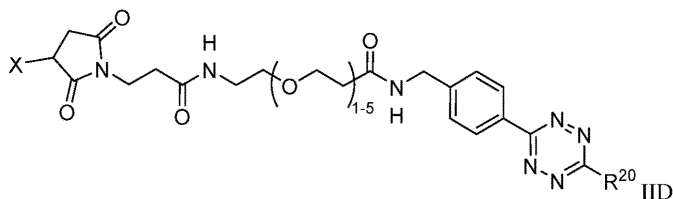
tは、独立して、0、1、2、3、又は4である)の標的化部分が提供される。

50

【0078】

幾つかの実施形態において、式 IID :

【化8】



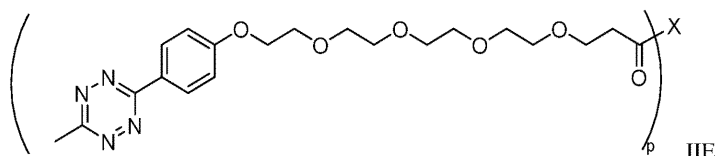
10

(式中、X 及び R^{20} は、それぞれ独立して、本明細書に定義される通りである) によって表される標的化部分が提供される。幾つかの実施形態において、 R^{20} はメチルである。幾つかの実施形態において、X は抗原結合タンパク質である。幾つかの実施形態において、X は、HER2 を標的とする抗原結合タンパク質である。

【0079】

また、式 IIE :

【化9】



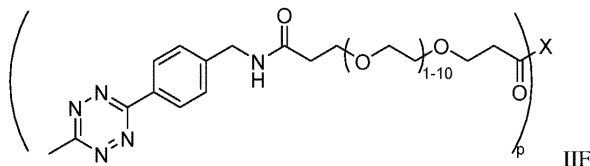
20

(式中、p 及び X は、それぞれ独立して、本明細書に定義される通りである) の治療用部分が提供される。

【0080】

また、式 IIF :

【化10】



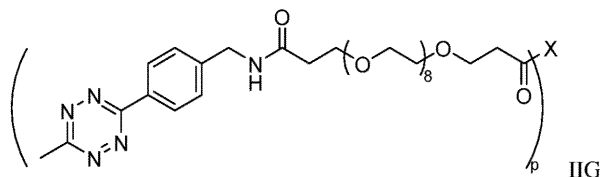
30

(式中、p 及び X は、それぞれ独立して、本明細書に定義される通りである) の標的化部分が提供される。

【0081】

また、式 IIG :

【化11】



40

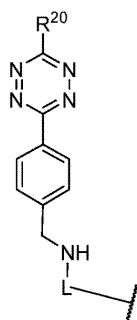
(式中、p 及び X は、それぞれ独立して、本明細書に定義される通りである) の標的化部分が提供される。

【0082】

式 IIA の幾つかの実施形態において、

50

【化 1 2】



の少なくとも1つは、

10

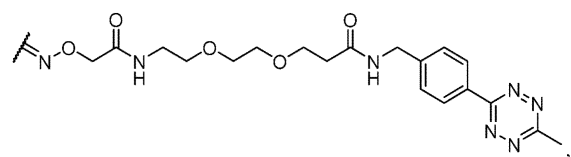
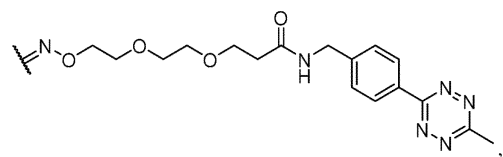
20

30

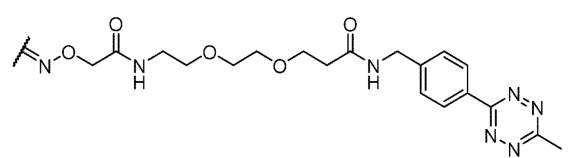
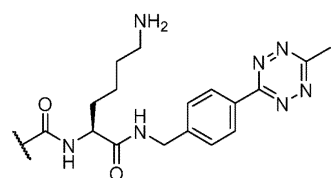
40

50

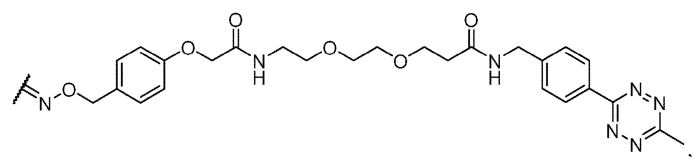
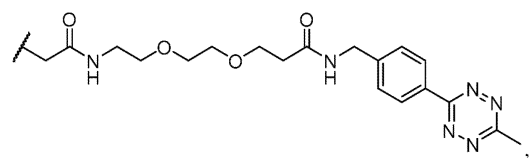
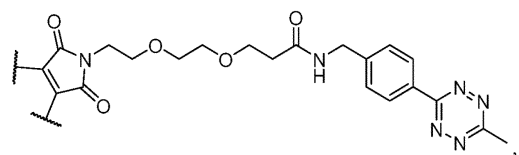
【化 1 3】



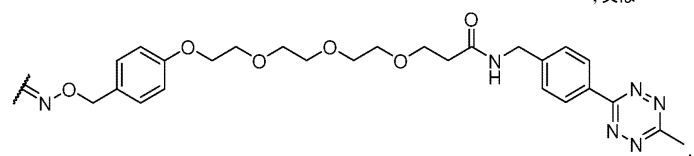
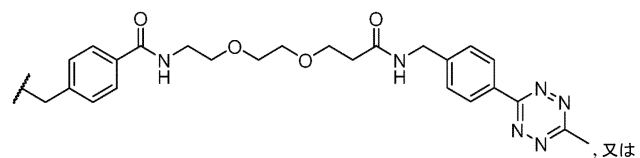
10



20



30



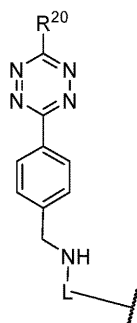
40

である。

【0083】

式 I I A の幾つかの実施形態において、

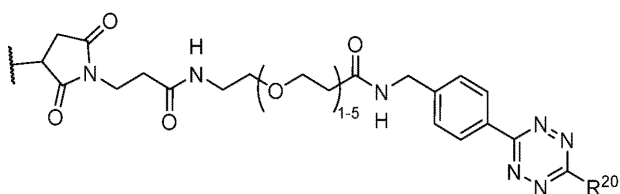
【化 1 4】



10

の少なくとも 1 つは、

【化 1 5】



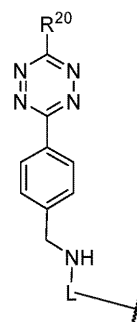
20

(式中、 R^{20} は、本明細書に定義される通りである) である。

【0084】

式 I I A の幾つかの実施形態において、

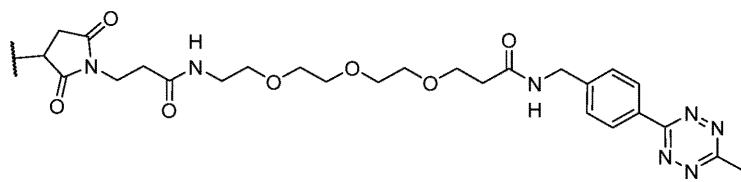
【化 1 6】



30

の少なくとも 1 つは、

【化 1 7】



40

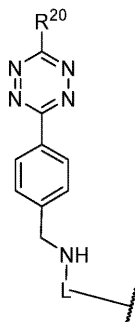
である。

【0085】

式 I I A の幾つかの実施形態において、

50

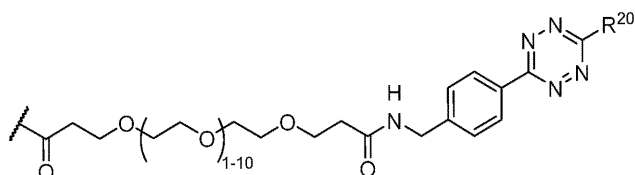
【化 1 8】



10

の少なくとも 1 つは、

【化 1 9】

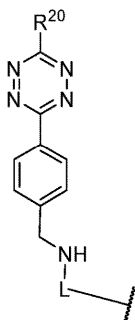
(式中、 R^{20} は、本明細書に定義される通りである) である。

20

【0086】

式 I I A の幾つかの実施形態において、

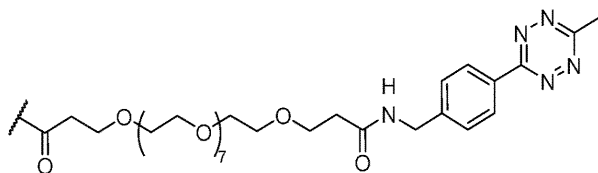
【化 2 0】



30

の少なくとも 1 つは、

【化 2 1】



40

である。

【0087】

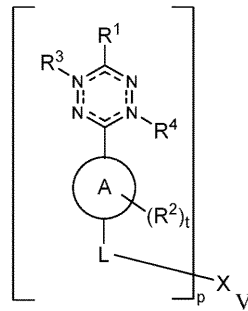
幾つかの実施形態において、 p は 1 ~ 12 である。幾つかの実施形態において、 X は抗体である。幾つかの実施形態において、 p は 1 ~ 6 又は 5 ~ 6 . 2 である。幾つかの実施形態において、 p は、1 ~ 16、又は 1 ~ 8、又は 1 ~ 7、又は 1 ~ 6、又は 1 ~ 5、又は 1 ~ 4、又は 1 ~ 3、又は 1 ~ 2 である。幾つかの実施形態において、 X は抗体フラグメント部分 (例えば、Fab) である。

【0088】

式 V、式 V I、及び式 V I I の化合物：

50

一実施形態において、式 V：
【化 2 2】



10

(式中、

環 A は、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はヘテロアリールであり、
点線は、 R^3 及び R^4 が両方とも存在しない場合はテトラジンを形成する追加の結合を表し、又は R^3 及び R^4 が両方とも存在する場合はジヒドロテトラジンを形成する追加の結合を表すが、但し、環 A がアリールである場合、 R^3 及び R^4 は両方とも存在し、
X は、生体適合性支持体、抗体、又は抗体フラグメント部分であり、

p は、1 ~ 150 であり、

L は、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

R^1 は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロ、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R'$ 、 $SC(=O)R'$ 、 $OC(=S)R'$ 、 $SC(=S)R'$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)NR'R'$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)OR'$ 、 $C(=S)SR'$ 、 $C(=O)NR'R'$ 、 $C(=S)NR'R'$ 、 $NR'R'$ 、 $NR'C(=O)R'$ 、 $NR'C(=S)R'$ 、 $NR'C(=O)OR'$ 、 $NR'C(=S)R'$ 、 $NR'C(=O)SR'$ 、 $NR'C(=S)SR'$ 、 $OC(=O)NR'R'$ 、 $SC(=O)NR'R'$ 、 $OC(=S)R'R'$ 、 $SC(=S)R'R'$ 、 $NR'C(=O)NR'$ 、及び $NR'C(=S)NR'$ からなる群から選択され、ここで、それぞれのアルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個 ~ 3 個の Z^1 で置換されており、

20

30

R^2 は、それぞれの場合、独立して、ハロ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 $-C(=O)-$ アルキル、 $-C(=O)-$ ハロアルキル、 $-C(=O)-$ アルケニル、 $-C(=O)-$ アルキニル、 $-C(=O)-$ アルコキシ、 $-C(=O)-$ ハロアルコキシ、 $-C(=O)-$ ヘテロアルキル、 $-C(=O)-$ アリール、 $-C(=O)-$ ヘテロアリール、 $-C(=O)-$ ヘテロシクリル、又は $-C(=O)-$ シクロアルキルであり、ここで、それぞれのアルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個 ~ 3 個の Z^1 で置換されており、

40

R^3 及び R^4 は両方とも存在しないか、又は R^3 及び R^4 は、それぞれ独立して、水素若しくはトリガー事象後に除去が可能な基であり、

それぞれの Z^1 は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R'$ 、 $SC(=O)R'$ 、 $OC(=S)R'$ 、 $SC(=S)R'$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)NR'R'$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)$

50

$\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{SR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{SR}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、及び $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ が

され、
 R' 及び R' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

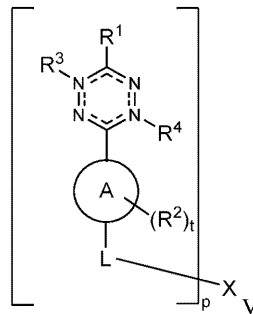
R'' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、かつ、
 t は、それぞれの場合、独立して、0、1、2、3、又は4である）の標的化部分が本明細書において提供される。

10

【0089】

式 V :

【化23】



20

（式中、

環 A は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はヘテロアリールであり、

点線は、 R^3 及び R^4 が両方とも存在しない場合はテトラジンを形成する追加の結合を表し、又は R^3 及び R^4 が両方とも存在する場合はジヒドロテトラジンを形成する追加の結合を表し、

X は、生体適合性支持体、抗体、又は抗体フラグメント部分であり、

p は、1～150であり、

L は、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

30

R^1 は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロ、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 OR' 、 SR' 、 $\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{S}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{O}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{S}-\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{OR}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{SR}'$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{OR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{SR}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{SR}'$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}'$ 、 $\text{OC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{SC}(=\text{S})\text{R}'\text{R}'$ 、 $\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{NR}'$ 、及び $\text{NR}'\text{C}(=\text{S})\text{NR}'\text{R}'$ からなる群から選択され、ここで、それぞれのアルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に1個～3個の Z^1 で置換されており、

R^2 は、それぞれの場合、独立して、ハロ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{アルキル}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{ハロアルキル}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{アルケニル}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{アルキニル}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{アルコキシ}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{ハロアルコキシ}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{ヘテロアルキル}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{アリール}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{ヘテロアリール}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{ヘテロシクリル}$ 、又は $-\text{C}(=\text{O})-\text{シクロアルキル}$ であり、ここで、それぞれのアルキル、

50

ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個～ 3 個の Z^1 で置換されており、

R^3 及び R^4 は両方とも存在しないか、又は、

R^3 は、トリガー事象後に除去が可能な基であり、

R^4 は、水素又は R^3 であり、

それぞれの Z^1 は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、

ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、

アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)R''$ 、 $S(=O)NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $C(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、及び $NR'C(=S)NR'R''$ が

され、

R' 及び R'' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

R''' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、かつ、

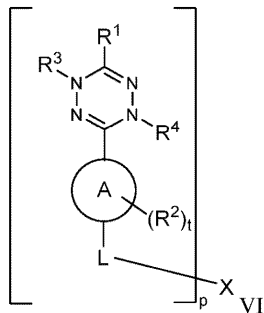
t は、それぞれの場合、独立して、0、1、2、3、又は 4 である) の標的化部分が本明

細書において提供される。

【0090】

幾つかの実施形態において、式 VI :

【化 24】



(式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、環 A、L、p、t、及び X のそれぞれは、独立して、本明細書に定義される通りである) の標的化部分が提供される。

【0091】

幾つかの実施形態において、 R^4 は水素である。

【0092】

本明細書に記載される標的化部分において、 R^3 は、トリガー事象の後に除去され得る基である。幾つかの実施形態において、トリガー事象は *in vivo* で起こる。トリガー事象が起こって R^3 が除去されると、ジヒドロテトラジン部分が酸化されて、式 VII :

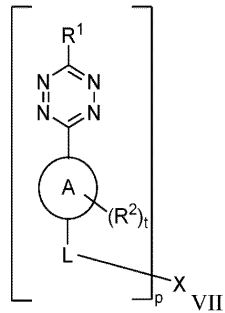
20

30

40

50

【化 2 5】



10

(式中、 R^1 、 R^2 、環 A、L、p、t、及び X のそれぞれは、独立して、本明細書に定義される通りである) のようなテトラジンがもたらされる。

【0093】

トリガー事象は、被験体への標的化部分の投与後に開始され、内部手段(例えば、官能基の酵素的切断と、任意にそれに続く分解を介して)又は外部手段(例えば、光分解可能なリンカー)等のあらゆる手段によって開始され得る。幾つかの実施形態において、 R^3 は、本明細書に記載される抗体又は抗体フラグメント等の標的化部分を含む。

【0094】

幾つかの実施形態において、 R^3 は、プロテアーゼ又はエステラーゼによる切断に特異的なアミノ酸配列を含む。

20

【0095】

幾つかの実施形態において、 R^3 は、表 1 A に示されるプロテアーゼによる切断に特異的なアミノ酸配列を含む。

【0096】

30

40

50

表 1 A

プロテアーゼのクラス	プロテアーゼ
メタロプロテイナーゼ	メブリン
	ネプリライシン (CD 10)
	P S M A
	B M P - 1
	ディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ (A D A M)
	A D A M 8
	A D A M 9
	A D A M 1 0
	A D A M 1 2
	A D A M 1 5
	A D A M 1 7 (T A C E)
	A D A M 1 9
	A D A M 2 8 (M D C - L)
	トロンボスポンジンモチーフを有する A D A M (A D A M T S)
	A D A M T S 1
	A D A M T S 4
	A D A M T S 5
	マトリックスメタロプロテイナーゼ (M M P)
	M M P - 1 (コラゲナーゼ 1)
	M M P - 2 (ゼラチナーゼ A)
	M M P - 3 (ストロメライシン 1)
	M M P - 7 (マトリライシン 1)
	M M P - 8 (コラゲナーゼ 2)
	M M P - 9 (ゼラチナーゼ B)
	M M P - 1 0 (ストロメライシン 2)
	M M P - 1 1 (ストロメライシン 3)
	M M P - 1 2 (マクロファージエラスターゼ)
	M M P - 1 3 (コラゲナーゼ 3)
	M M P - 1 4 (M T 1 - M M P)
	M M P - 1 5 (M T 2 - M M P)

10

20

30

40

50

	MMP-19
	MMP-23 (CA-MMP)
	MMP-24 (MT5-MMP)
	MMP-26 (マトリライシン2)
	MMP-27 (CMMP)
システインプロテアーゼ	レグマイン
	システインカテプシン
	カテプシンB
	カテプシンC
	カテプシンK
	カテプシンL
	カテプシンS
	カテプシンX
アスパラギン酸プロテアーゼ	カテプシンD
	カテプシンE
	セクレターゼ
セリンプロテアーゼ	ウロキナーゼ (uPA)
	組織型プラスミノゲン活性化因子 (tPA)
	プラスミン
	トロンビン
	前立腺特異抗原 (PSA、KLK3)
	ヒト好中球エラスターゼ (HNE)
	エラスターゼ
	トリプターゼ
	II型膜貫通セリンプロテアーゼ (TTSPI)
	DESC1
	ヘプシン (HPN)
	マトリブターゼ
	マトリブターゼ-2
	TMPRSS2
	TMPRSS3
	TMPRSS4 (CAP2)

10

20

30

40

50

	線維芽細胞活性化タンパク質（F A P）
	カリクレイン関連ペプチダーゼ（K L Kファミリー）
	K L K 4
	K L K 5
	K L K 6
	K L K 7
	K L K 8
	K L K 1 0
	K L K 1 1
	K L K 1 3
	K L K 1 4

10

【0097】

幾つかの実施形態において、R³は、カテプシン、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）、又はPSMAによる切断に特異的なアミノ酸配列を含む。例えば、幾つかの実施形態において、R³は、カテプシンによる切断用のVal-Ala、Val-Cit、Ala-Ala、Phe-Lys、Lys-Lys、Phe-Arg、又はGly-Glyを含む。幾つかの実施形態において、R³は、Ac-γE-PLG-S（OBn）YL又はAc-PLG-HofOrnLを含み、ここで、Hofは、ホモフェニルアラニンであり、かつOrnは、MMPによる切断用のオルニチンである。幾つかの実施形態において、R³は、表1Bに示されるアミノ酸配列を含む。

20

【0098】

30

40

50

表 1 B

P C M 名 称	配列に対して作用するプ ロテアーゼ	例示的な切断配列	切断配列 *
BSRS1	MMP-2、MMP-7 、MMP-9、MMP- 14、マトリプターゼ、 uPA、レグマイン	LSGR↓SDN↓HSPLG ↓LAGS	
BSRS2	MMP-2、MMP-7 、MMP-9、MMP- 14、マトリプターゼ、 uPA、レグマイン	SPLG↓LAGSLSGR↓S DN↓H	
BSRS3	MMP-2、MMP-7 、MMP-9、MMP- 14、マトリプターゼ、 uPA、レグマイン	SPLG↓LSGR↓SDN↓ H	
BSRS4	MMP-2、MMP-7 、MMP-9、MMP- 14、マトリプターゼ、 uPA、レグマイン	LAGR↓SDN↓HSPLG ↓LAGS	
BSRS5	MMP-2、MMP-7 、MMP-9、MMP- 14、マトリプターゼ、 uPA、レグマイン	LAGR↓SDN↓HVPLS ↓LSMG	
BSRS6	MMP-2、MMP-7 、MMP-9、MMP- 14、マトリプターゼ、 uPA、レグマイン	LAGR↓SDN↓HEPLE ↓LVAG	
RS1	MMP-2、MMP-7 、MMP-9、MMP- 14	SPLG↓LAGS	
RS2	MMP-2、MMP-7 、MMP-9、MMP- 14、マトリプターゼ、 uPA、レグマイン	GPLG↓LAR↓G	
RS3	マトリプターゼ、uPA 、レグマイン	LSGR↓SDN↓H	
RS4	MMP-2、MMP-1 4	GTAH↓LMGG	
RS5	MMP-14	RIGS↓LRTA	
RS6	MMP-14	RIGA↓LRTA	
RS7	MMP-14	RIGW↓LRTA	
RS8	MMP-14	RIGN↓LRTA	
RS9	MMP-14	RIGF↓LRTA	
RS10	MMP-14	RIFF↓LRTA	

10

20

30

40

50

RS11	MMP - 1 4	RILF ↓ LRTA	
RS12	MMP - 1 4	RIYF ↓ LRTA	
RS13	MMP - 1 4	RIQF ↓ LRTA	
RS14	MMP - 1 4	EPAA ↓ LMAG	
RS15	MMP - 1 4	EPAN ↓ LMAG	
RS16	MMP - 1 4	EPAS ↓ LMAG	
RS17	MMP - 1 4	EPFH ↓ LMAG	
RS18	MMP - 1 4	EPWH ↓ LMAG	
RS19	MMP - 1 4	EPRH ↓ LMAG	
RS20	MMP - 7	VPLS ↓ LFMG	
RS21	MMP - 7	VPLS ↓ LHMG	
RS22	MMP - 7	VPLS ↓ LQAG	
RS23	MMP - 2、MMP - 7 、MMP - 9、MMP - 1 4	VPLS ↓ LTMG	
RS24	MMP - 2、MMP - 7 、MMP - 9、MMP - 1 4、マトリプターゼ	VPLS ↓ LKMG	
RS25	MMP - 2、MMP - 7 、MMP - 9、MMP - 1 4	VPLS ↓ LSMG	
RS26	MMP - 7	VPLS ↓ LNAG	
RS27	MMP - 7	VPLS ↓ LLMG	
RS28	MMP - 7	EPLE ↓ LPAG	
RS29	MMP - 2、MMP - 7 、MMP - 9、MMP - 1 4	EPLE ↓ LAAG	
RS30	MMP - 2、MMP - 7 、MMP - 9	EPLE ↓ LVAG	
RS31	MMP - 7	EPLE ↓ LSAG	
RS32	MMP - 7	EPLE ↓ LDAG	
RS33	MMP - 7	EPLE ↓ LQAG	
RS34	MMP - 2、MMP - 7 、MMP - 9、MMP - 1 4、マトリプターゼ	EPLE ↓ LLAG	
RS35	MMP - 7	EPLE ↓ LKAG	
RS36	MMP - 2、MMP - 7 、MMP - 9、MMP - 1 4	EPLE ↓ LIAG	
RS37	エラスターゼ - 2	LGPV ↓ SGVP	-/-/-/VIAT/-/-/-/-

10

20

30

40

50

RS38	グランザイムーB	VAGD ↓ SLEE	V/-/-/D/-/-/-/-
RS39	MM P - 1 2	GPAG ↓ LGGA	G/PA/-/G/L/-/G/-
RS40	MM P - 1 3	GPAG ↓ LRGA	G/P/-/G/L/-/GA/-
RS41	MM P - 1 7	APLG ↓ LRLR	-/PS/-/-/LQ/-/LT/-
RS42	MM P - 2 0	PALP ↓ LVAQ	
RS43	T E V	ENLYFQ ↓ G	ENLYFQ/G/S
RS44	エンテロキナーゼ	DDDK ↓ IVGG	DDDK/IVGG
RS45	プロテアーゼ 3 C (P r e S c i s s i o n (商 標))	LEVLFQ ↓ GP	LEVLFQ/GP
RS46	ソルターゼA	LPKT ↓ GSES	L/P/KEAD/T/G/-/EKS/S
RS47	トリプシン	K ↓ X**又はR ↓ X	K/X又はR/X
RS48	トリプシン	R ↓ X**	SASRSA
RS49	u P A	SGR ↓ SA	S/G/R/SRKA/AGSVR
RS50	t P A	YGR ↓ SA	RYFLI/GA/R/RVAS/AG
RS51	P S A	SSYY ↓ SG	S/S/FY/Y/S/G
RS52	D E S C 1	RRAR ↓ VVGG	R/RAL/ALY/R/AV/V/G/G
RS53	ヘブシン	RQLR ↓ VVGG	R/RQ/YL/R/V/V/G/G
RS54	マトリプターゼー2	RRAR ↓ VVGG	R/R/A/R/AV/V/G/G
RS55	MT - S P 1 / マトリプターゼ	RQAR ↓ VVGG	R/QR/A/R/AVY/V/G/G
RS56	P S M A	N ↓ γ N	N γ N
RS57	カテブシンC	GF ↓ FY	GP/FWR/**/-
RS58	カテブシンD	F ↓ IK	FL/IV/KE
RS59	カテブシンE	F ↓ IK	FL/IV/KE
RS60	カテブシンF	WLR ↓	WYRN1e/L/RKQ
RS61	カテブシンK	KPR ↓	KMGH/ILPN1e/RKQ
RS62	カテブシンL	KFR ↓	RKLnL/FYW/RKQ
RS63	カテブシンS	RVK ↓	RPI/VLMnL/RKQ
RS64	カテブシンV / L 2	PWR ↓	PN1eR/WYF/RKQ
RS65	MM P	PLG ↓ Hof0rnL	
RS66	MM P	EPCitF ↓ HofYL	
RS67	MM P - 2	PQG ↓ IAGQ	
RS68	MM P - 2	PQG ↓ IMe1G	
RS69	MM P - 9	AALG ↓ NvaP	
RS70	MM P - 9	GPQG ↓ IAGQR	
RS71	MM P - 9	SGKIPRT ↓ ATA	P/R/PSTRA/Hy/ST

10

20

30

40

50

RS72	MM P - 9	SGPLF ↓ YSVTA	
RS73	MM P - 9	PLR ↓ LSW	
RS74	MM P - 9	GKGPRQ ↓ ITA	
RS75	MM P - 9	SGRR ↓ LIHHT	S/G/R/R/L/IL
RS76	MM P - 9	SGQPHY ↓ LTTA	
RS77	MM P - 9	SG ↓ LKALM	
RS78	MM P - 9	SGFGSRY ↓ LTA	
RS79	MM P - 9	SGLRPAK ↓ STA	
RS80	MM P - 9	LGP ↓ STST	
RS81	MM P - 9	PQG ↓ VR	
RS82	MM P - 9	PSG ↓ LP	P/S/G/L/HyP
RS83	MM P - 9	PAG ↓ VQ	
RS84	MM P - 9	PSG ↓ RD	
RS85	MM P - 9	PPG ↓ IV	P/PG/G/Hy/HyR
RS86	MM P - 9	PEN ↓ FF	
RS87	MM P - 9	PLK ↓ LM	
RS88	MM P - 9	PGA ↓ YH	
RS89	MM P - 9	AIH ↓ IQ	
RS90	MM P - 9	HFF ↓ KN	
RS91	MM P - 9	GLS ↓ LS	
RS92	MM P - 9	ASD ↓ YK	
RS93	MM P - 2、MM P - 9	GPLG ↓ MLSQ	P/Hy/G/Hy/HyWR
RS94	MM P - 2、MM P - 9	CG ↓ LDD	
RS95	MM P - 2、MM P - 9 、MT 1 - MM P	GPQG ↓ IWGQ	
RS96	MM P - 7	RPLA ↓ LWRS	
RS97	MM P - 7	GPLG ↓ LARK	
RS98	H k 2	GKAFR ↓ RL	
RS99	MM P - 9、u P A	RPSA ↓ SRSA	
RS100	MM P - 2	PLGLDpaAR	
RS101	MM P - 9		P/LMVQChaHofNva/G/LI Y SFC/ST
RS102	MM P - 9	PChaG ↓ SmcHA	P/LCha/G/LSmc/HW/A
RS103	MM P - 1 3、MM P - 8	PChaGNvaHAdF	
RS104	A D A M 1 0	PTASA ↓ LKG	P/T/A/AS/A/LFYQ/KRTI/ GAS

10

20

30

40

50

RS105	A D A M 1 7	PRPAA ↓ VKGT	P/HR/P/AS/A/VIL/KRTVI/ GST/TP
RS106	カテプシン B	V ↓ Cit	
RS107	カテプシン B	F ↓ K	
RS108	エラスターゼ	AA ↓ PV	
RS109	カテプシン D	GPIC ↓ FRLG	
RS110	プラスミン	A ↓ FK	
RS111	レグマイン	AAN ↓ L	
RS112	レグマイン	PTN ↓	PTAWS/TPASI/N
RS113	メプリン		ED/GTAV/-
RS114	メプリン A	F ↓ SPFR	SFAMTY/ /SFAMTY/P/PVIG A/-
RS115	メプリン B	E ↓ EEAY	DE/DE/YEFDG/PVIGA/-
RS116	ネプライシン	β -AIA ↓ L	β -A/LI/A/L
RS117	A D A M T S 4	E ↓ VQRKTGT	E/AFVLMY/(-)/RK/- - (-)/ST
RS118	A D A M T S 4	DVQE ↓ FRGVTAVIR	
RS119	A D A M T S 4	HNE ↓ FRQRETYMVF	
RS120	A D A M T S 4	KEEE ↓ GLGS	
RS121	A D A M T S 4	GELE ↓ GRGT	
RS122	A D A M T S 4	NITEGE ↓ ARGS	
RS123	A D A M T S 4	TAQE ↓ AGEG	
RS124	A D A M T S 4	VSQE ↓ LGQR	
RS125	A D A M T S 4	PTAQE ↓ AGE	

↓は切断部位を示す。
特別なアミノ酸の略記：
C i t：シトリリン (Citrilline)、C h a： β -シクロヘキシルアラニン、H o f：ホモフェニルアラニン、N v a：アミノスベリン酸、D p a：D-フェニルアラニン、N l e：ノルロイシン、S m c：S-メチルシステイン
*スラッシュの前、スラッシュ間、又はスラッシュの後の複数のアミノ酸の列記は、その位置で置換することができる代替的なアミノ酸を示し、「-」は、任意のアミノ酸を真ん中の列に示される対応するアミノ酸に代えることができることを示している。
** xはプロリン以外のあらゆるL-アミノ酸である。
H yは疎水性L-アミノ酸である。
 γ は、結合がガンマカルボキシ連結であることを示している。

【0099】

追加の切断可能な基は、Choi, et al., Theranostics. 2012; 2(2): 156-178に記載されており、その中の表2は引用することにより本明細書の一部をなす。

【0100】

幾つかの実施形態において、R³は光不安定性である。幾つかの実施形態において、光不安定性基は、光不安定性基の吸光プロファイルに一致する波長の光に曝露されると不安定となるか、又は分解する。

【0101】

幾つかの実施形態において、R³は、

10

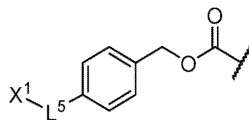
20

30

40

50

【化 2 6】



であり、

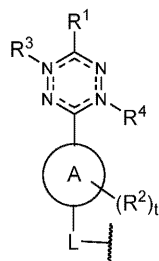
L⁵ は、直接結合又はリンカーであり、かつ、

X¹ は、-NO₂、任意に置換された糖部分、又は1つ以上の天然アミノ酸若しくは非天然アミノ酸を含む任意に置換されたペプチド単位である。

【0102】

幾つかの実施形態において、部分：

【化 2 7】



の少なくとも1つは、

10

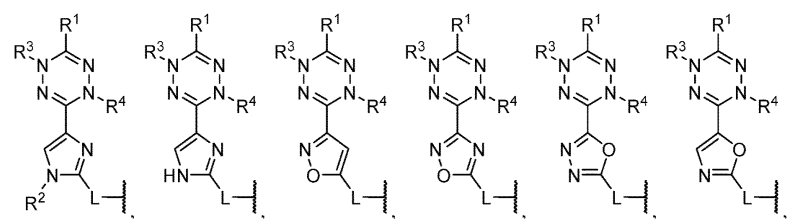
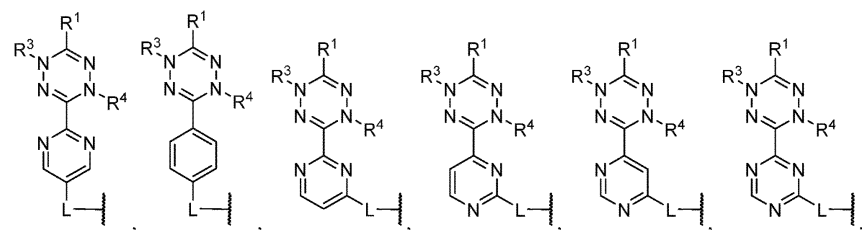
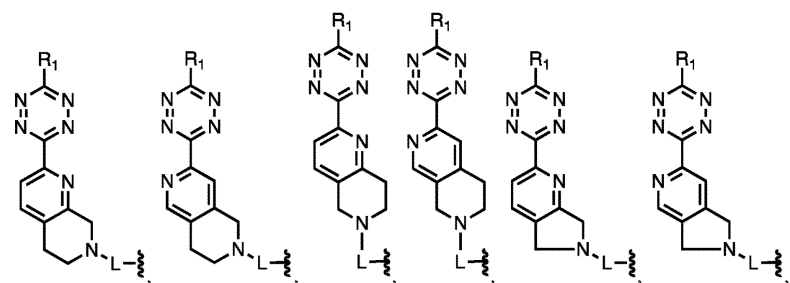
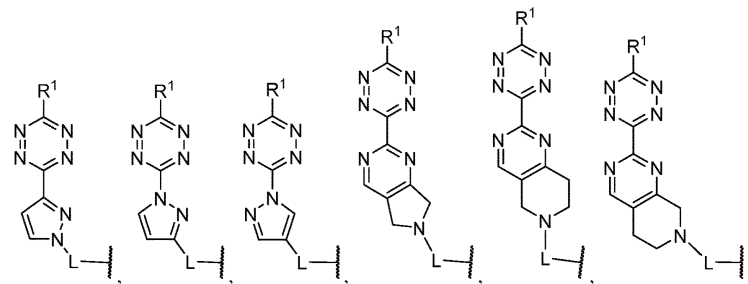
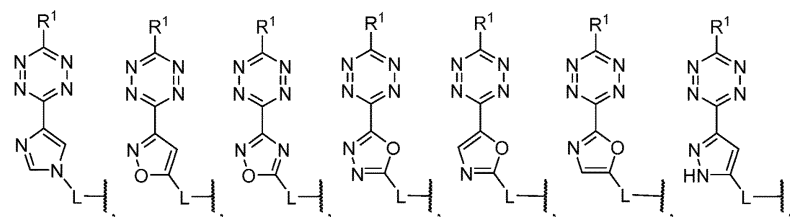
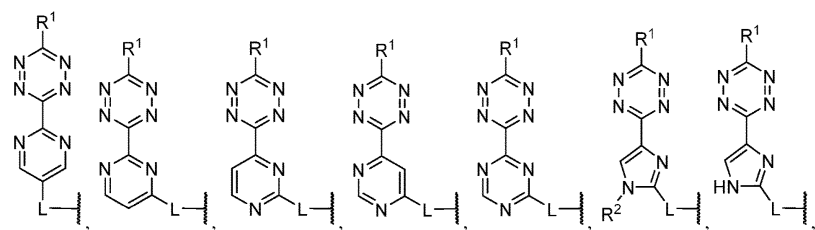
20

30

40

50

【化 2 8】



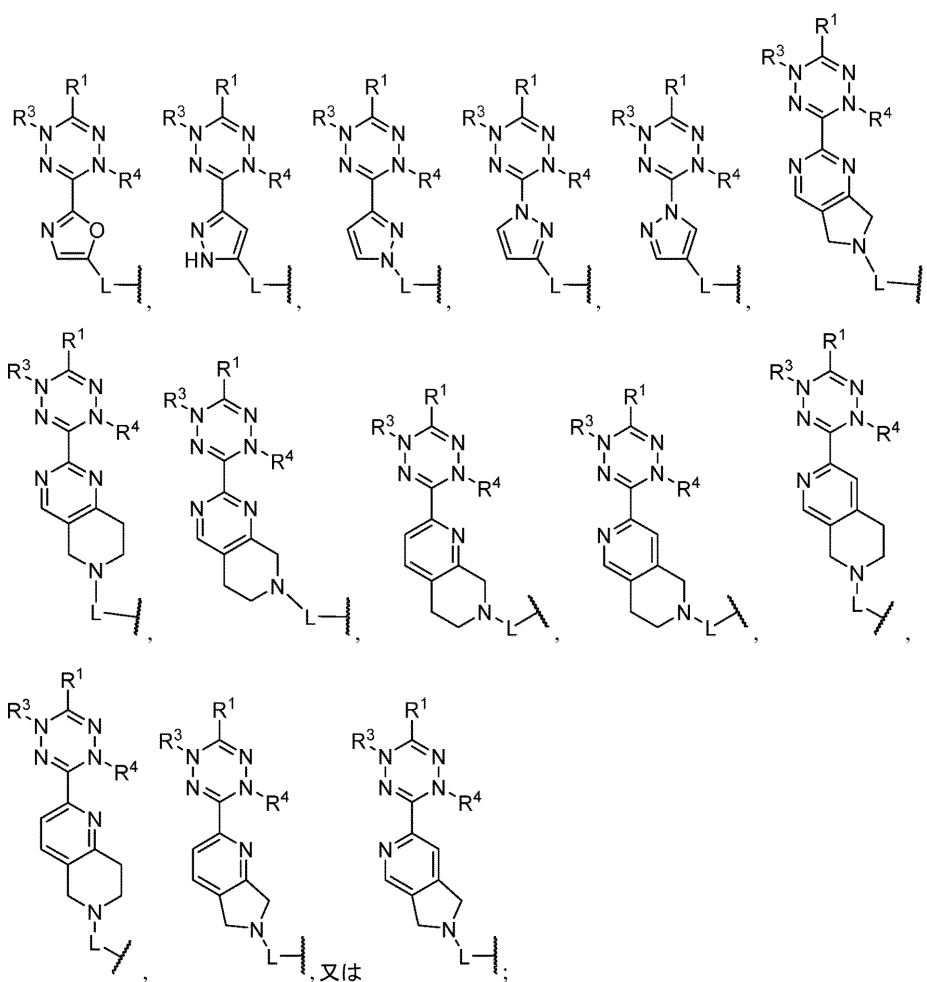
10

20

30

40

50



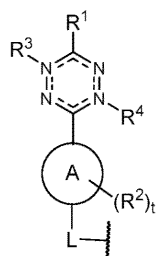
(式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、及び R^4 のそれぞれは、独立して、本明細書に定義される通りであり、任意に、環A部分は1つ以上の R^2 部分で置換されていてよい)から選択される式によって表される。

30

【0103】

幾つかの実施形態において、部分：

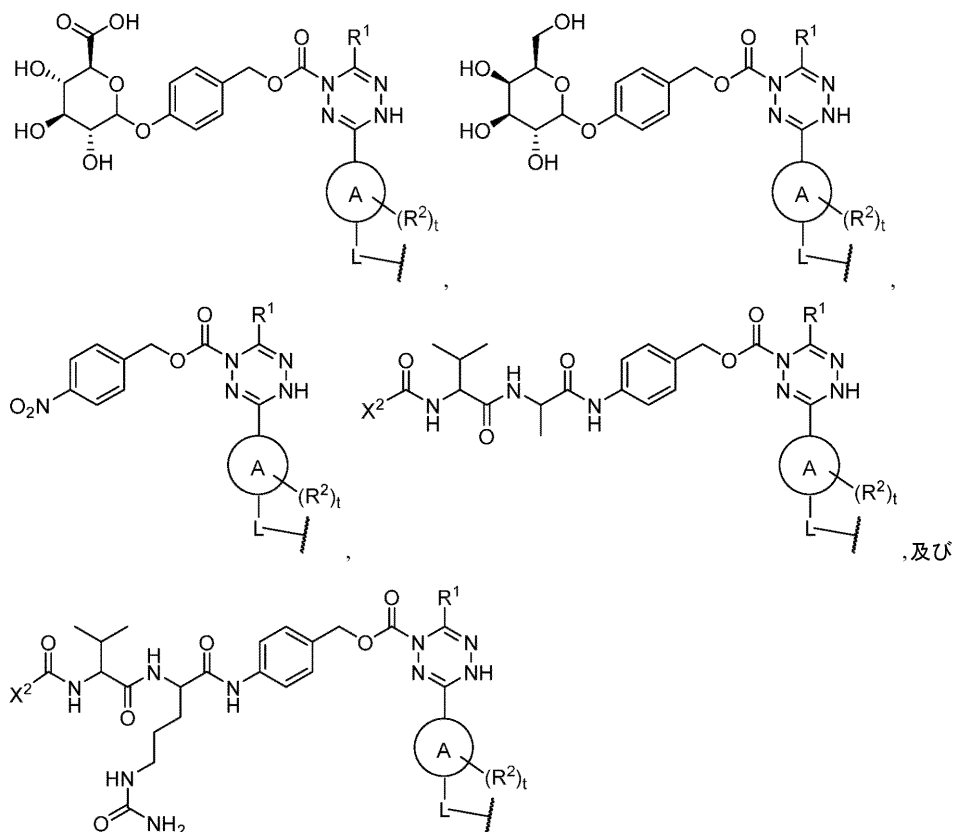
【化29】



の少なくとも1つは、

40

【化 3 0】



10

20

(式中、 X^2 は、PEG、アミノ酸、エステル、アミド、アミン、 $-C(O)OH$ 、 $-SO_2$ 、 $-SO_3$ 、 $-PO_3$ 、 $-PO_4$ 、又は他の可溶性を高める置換基で任意に置換されたアルキル(例えば、メチル)であり、かつ L 、環 A 、 R^1 、 R^2 、 t 、 p 、及び X のそれぞれは、独立して、本明細書に定義される通りである)から選択される式によって表される。

30

【0104】

幾つかの実施形態において、環 A はシクロアルキルである。幾つかの実施形態において、環 A はヘテロシクリルである。幾つかの実施形態において、環 A はヘテロアリールである。幾つかの実施形態において、環 A はアリールである。

【0105】

幾つかの実施形態において、環 A は、ピリミジニル、トリアジニル、オキサゾリル、イソオキサゾール、イミダゾリル、オキサジアゾリル、6,7-ジヒドロ-5H-ピロロ[3,4-d]ピリミジニル、5,6,7,8-テトラヒドロピリド[4,3-d]ピリミジニル、又は5,6,7,8-テトラヒドロピリド[3,4-d]ピリミジニルである。

【0106】

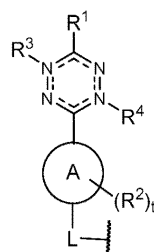
幾つかの実施形態において、環 A はフェニルである。

40

【0107】

幾つかの実施形態において、部分：

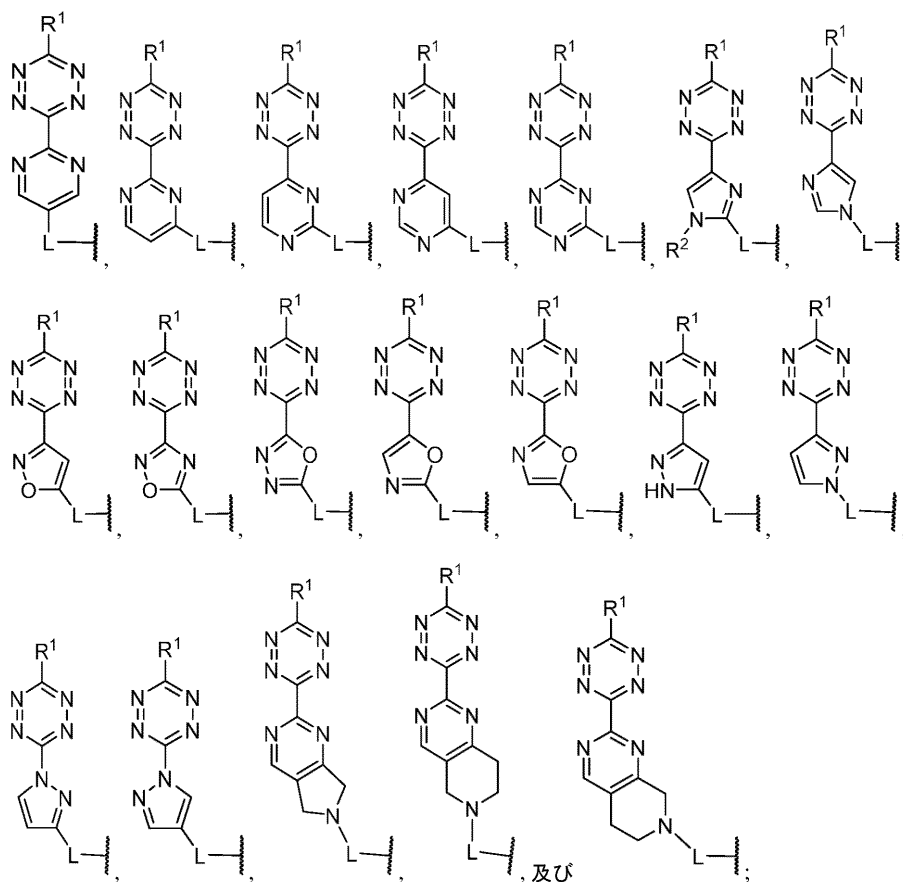
【化 3 1】



50

の少なくとも 1 つは、

【化 3 2】



(式中、 R^1 及び R^2 のそれぞれは、独立して、本明細書に定義される通りである) から選択される式によって表される。

【0108】

幾つかの実施形態において、 R^1 は、それぞれの場合、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルであり、ここで、それぞれのアルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に 1 個～3 個の Z^1 で置換されている。

【0109】

幾つかの実施形態において、 R^1 は、それぞれの場合、独立して、水素、又は 1 個～3 個の Z^1 で任意に置換されたアルキルである。

【0110】

幾つかの実施形態において、 Z^1 は、それぞれの場合、独立して、ハロ、ヒドロキシ、アルコキシ、及び $OC(=O)OR'$ から選択される。

【0111】

幾つかの実施形態において、 R^2 は、それぞれの場合、独立して、ハロ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルである。幾つかの実施形態において、 R^2 は、それぞれの場合、独立して、ハロ、アルキル、又はハロアルキルである。幾つかの実施形態において、 R^2 は、それぞれの場合、独立して、ハロ又はアルキルである。

【0112】

幾つかの実施形態において、 t は、それぞれの場合、0 である。

【0113】

10

20

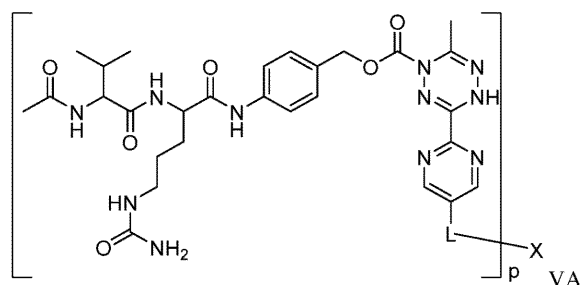
30

40

50

また、式 V A :

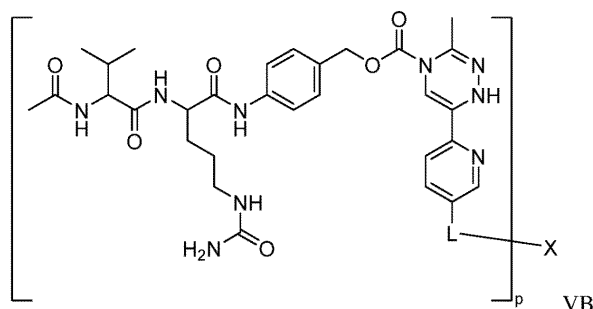
【化 3 3】



10

(式中、p 及び X は、それぞれ独立して、本明細書に定義される通りである) の標的化部分が提供される。また、式 V B :

【化 3 4】



20

(式中、p 及び X は、それぞれ独立して、本明細書に定義される通りである) の標的化部分が提供される。

【0 1 1 4】

幾つかの実施形態において、X は生体適合性支持体である。

【0 1 1 5】

幾つかの実施形態において、環 A はピリジル以外である。幾つかの実施形態において、環 A はアリール以外である。幾つかの実施形態において、環 A はフェニル以外である。

30

【0 1 1 6】

幾つかの実施形態において、X は、粒子、ポリマー、粘性液体材料若しくは非粘性液体材料、ゲル、ヒドロゲル、架橋ポリマーマトリックス、金属、セラミック、プラスチック、骨移植材料、又はタンパク質を含む生体適合性支持体である。

【0 1 1 7】

幾つかの実施形態において、X は、多糖ヒドロゲル、アルギネート、セルロース、ヒアルロン酸、キトサン、キトシン、キチン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、適切な糖ベースの生体材料、ポリホスファゼン、ポリ無水物、ポリアセタール、ポリ(オルトエステル)、ポリリン酸エステル、ポリカプロラクトン、ポリウレタン、ポリラクチド、ポリカーボネート、ポリアミド、ポリエーテル、それらのブレンド／複合物／若しくはコポリマー、コラーゲン、ゼラチン、エラスチン、エラスチン様ポリペプチド、アルブミン、フィブリン、ポリ(γ-グルタミン酸)、ポリ(L-リジン)、ポリ(L-グルタミン酸)、又はポリ(アスパラギン酸)を含む生体適合性支持体である。幾つかの実施形態において、X は、約 5 kD ~ 25 kD、又は 26 kD ~ 75 kD、又は 76 kD ~ 200 kD、又は 201 kD 超の分子量を有するヒアルロン酸を含む生体適合性支持体である。

40

【0 1 1 8】

幾つかの実施形態において、X は、抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0 1 1 9】

抗体及び抗体フラグメント部分

50

或る特定の実施形態において、標的化作用物質、すなわちXは、CD25 (NCBI遺伝子ID3559)、CEA (NCBI遺伝子ID634)、CEACAM5 (NCBI遺伝子ID1048)、ASPH (NCBI遺伝子ID444)、EGFR (NCBI遺伝子ID1956)、EPCAM (NCBI遺伝子ID4072)、VEGFR (NCBI遺伝子ID3791)、PDGFR (NCBI遺伝子ID5159)、TROP2 (NCBI遺伝子ID4070)、ネクチン4 (NCBI遺伝子ID81607)、PSMA (NCBI遺伝子ID2346)、BCMA (NCBI遺伝子ID608)、CD22 (NCBI遺伝子ID933)、CD20 (NCBI遺伝子ID920)、CD19 (NCBI遺伝子ID930)、CD79b (NCBI遺伝子ID974)、CD38 (NCBI遺伝子ID952)、CD45 (NCBI遺伝子ID5788)、エンドグリン (NCBI遺伝子ID2022)、FGFR2 (NCBI遺伝子ID14183)、C4.4A (NCBI遺伝子ID27076)、クローディン-18.2 (NCBI遺伝子ID51208)、MMP9 (NCBI遺伝子ID4318)、葉酸受容体 (NCBI遺伝子ID2348)、DLL3 (NCBI遺伝子ID10683)、CD138 (NCBI遺伝子ID6382)、CD56 (NCBI遺伝子ID4684)、CD37 (NCBI遺伝子ID951)、CD74 (NCBI遺伝子ID972)、メソテリン (NCBI遺伝子ID10232)、IL-6R (NCBI遺伝子ID3570)、SLAMF7 (NCBI遺伝子ID57823)、BAFF (NCBI遺伝子ID10673)、MUC1 (NCBI遺伝子ID4582)、GPC3 (NCBI遺伝子ID2719)、HER2 (NCBI遺伝子ID2064)、HER3 (NCBI遺伝子ID2065)、CD30 (NCBI遺伝子ID943)、CD33 (NCBI遺伝子ID945)、CD123 (NCBI遺伝子ID3563)、GPNMB (NCBI遺伝子ID10457)、cMET (NCBI遺伝子ID4233)、CD142 (NCBI遺伝子ID2152)、NaPi2B (NCBI遺伝子ID10568)、GCC (NCBI遺伝子ID2984)、STEAP1 (NCBI遺伝子ID26872)、MUC16 (NCBI遺伝子ID94025)、CD70 (NCBI遺伝子ID970)、CD44 (NCBI遺伝子ID960)、(NCBI遺伝子ID)、抗体フラグメント (NCBI遺伝子ID)、vWF (NCBI遺伝子ID7450)、TNF (NCBI遺伝子ID7124)、IL-6R (NCBI遺伝子ID3570)、BCMA (NCBI遺伝子ID608)、ADAMTS5 (NCBI遺伝子ID11096)、CX3CR1 (NCBI遺伝子ID1524)、CXCR4 (NCBI遺伝子ID7852)、TfR1 (NCBI遺伝子ID7037)、VEGFR (NCBI遺伝子ID3791)、又はPSMA (NCBI遺伝子ID2346)の1つ以上を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

10

20

30

40

50

【0120】

幾つかの実施形態において、Xは、CEA、CEACAM5、ASPH、EGFR、EPCAM、VEGFR、PDGFR、TROP2、ネクチン4、PSMA、BCMA、HER2、CD25、CLDN4 (NCBI遺伝子ID1364)、TNC (NCBI遺伝子ID3371)、FN1 (NCBI遺伝子ID2335)、ITGAV (NCBI遺伝子ID3685)、TACSTD2 (NCBI遺伝子ID4070)、CD174 (NCBI遺伝子ID2525)、GPNMB (NCBI遺伝子ID10457)、GPC1 (NCBI遺伝子ID2817)、ITGB6 (NCBI遺伝子ID3694)、SEZ6 (NCBI遺伝子ID124925)、SLITRK6 (NCBI遺伝子ID84189)、NaPi-2b (NCBI遺伝子ID20531)、ZIP6 (NCBI遺伝子ID25800)、ROR1 (NCBI遺伝子ID4919)、又はROR2 (NCBI遺伝子ID4920)を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0121】

或る特定の実施形態において、Xは、CD25 (NCBI遺伝子ID3559)、CEA (NCBI遺伝子ID634)、CEACAM5 (NCBI遺伝子ID1048)、ASPH (NCBI遺伝子ID444)、EGFR (NCBI遺伝子ID1956)、EPCAM (NCBI遺伝子ID4072)、VEGFR (NCBI遺伝子ID3791)、

PDGFR (NCBI 遺伝子 ID 5159)、TROP2 (NCBI 遺伝子 ID 4070)、ネクチン4 (NCBI 遺伝子 ID 81607)、PSMA (NCBI 遺伝子 ID 2346)、BCMA (NCBI 遺伝子 ID 608)、CD22 (NCBI 遺伝子 ID 933)、CD20 (NCBI 遺伝子 ID 920)、CD19 (NCBI 遺伝子 ID 930)、CD79b (NCBI 遺伝子 ID 974)、CD38 (NCBI 遺伝子 ID 952)、CD45 (NCBI 遺伝子 ID 5788)、エンドグリン (NCBI 遺伝子 ID 2022)、FGFR2 (NCBI 遺伝子 ID 14183)、C4.4A (NCBI 遺伝子 ID 27076)、クローディン-18.2 (NCBI 遺伝子 ID 51208)、MMP9 (NCBI 遺伝子 ID 4318)、葉酸受容体 (NCBI 遺伝子 ID 2348)、DLL3 (NCBI 遺伝子 ID 10683)、CD138 (NCBI 遺伝子 ID 6382)、CD56 (NCBI 遺伝子 ID 4684)、CD37 (NCBI 遺伝子 ID 951)、CD74 (NCBI 遺伝子 ID 972)、メソテリン (NCBI 遺伝子 ID 10232)、IL-6R (NCBI 遺伝子 ID 3570)、SLAMF7 (NCBI 遺伝子 ID 57823)、BAFF (NCBI 遺伝子 ID 10673)、MUC1 (NCBI 遺伝子 ID 4582)、GPC3 (NCBI 遺伝子 ID 2719)、HER2 (NCBI 遺伝子 ID 2064)、HER3 (NCBI 遺伝子 ID 2065)、CD30 (NCBI 遺伝子 ID 943)、CD33 (NCBI 遺伝子 ID 945)、CD123 (NCBI 遺伝子 ID 3563)、GPNMB (NCBI 遺伝子 ID 10457)、cMET (NCBI 遺伝子 ID 4233)、CD142 (NCBI 遺伝子 ID 2152)、NaPi2B (NCBI 遺伝子 ID 10568)、GCC (NCBI 遺伝子 ID 2984)、STEAP1 (NCBI 遺伝子 ID 26872)、MUC16 (NCBI 遺伝子 ID 94025)、CD70 (NCBI 遺伝子 ID 970)、CD44 (NCBI 遺伝子 ID 960)、(NCBI 遺伝子 ID)、抗体フラグメント (NCBI 遺伝子 ID)、vWF (NCBI 遺伝子 ID 7450)、TNF (NCBI 遺伝子 ID 7124)、IL-6R (NCBI 遺伝子 ID 3570)、BCMA (NCBI 遺伝子 ID 608)、ADAMTS5 (NCBI 遺伝子 ID 11096)、CX3CR1 (NCBI 遺伝子 ID 1524)、CXCR4 (NCBI 遺伝子 ID 7852)、TfR1 (NCBI 遺伝子 ID 7037)、VEGFR (NCBI 遺伝子 ID 3791)、PSMA (NCBI 遺伝子 ID 2346)、ANTXR1 (NCBI 遺伝子 ID 84168)、又はFAP (NCBI 遺伝子 ID 2191) の1つ以上を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

10

20

30

【0122】

幾つかの実施形態において、Xは、CEA、CEACAM5、ASPH、EGFR、EPCAM、VEGFR、PDGFR、TROP2、ネクチン4、PSMA、BCMA、HER2、CD25、ANTXR1、又はFAPを標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0123】

幾つかの実施形態において、Xは、HER2、TROP2、ネクチン-4、クローディン-18.2、MMP9、メソテリン、FN1、FAP、TNC、又はECM、EPCAM、CEA、又はCEACAM5を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0124】

幾つかの実施形態において、Xは、CEA、CEACAM5、ASPH、EGFR、EPCAM、VEGFR、PDGFR、TROP2、ネクチン4、PSMA、BCMA、HER2、又はCD25を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

40

【0125】

或る特定の実施形態において、Xは、ダクリズマブ、RG6292、バシリキシマブ、若しくはHuMax-TAC等のCD25を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0126】

或る特定の実施形態において、Xは、ラベツズマブ、15-1-32、PR1A3、若しくはcT84.66等のCEAを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又は

50

それらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0127】

或る特定の実施形態において、Xは、ツサミチアマブ（Tusamitiamab）若しくはC C 4等のC E A C A M 5を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0128】

或る特定の実施形態において、Xは、P A N - 6 2 2等のA S P Hを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0129】

或る特定の実施形態において、Xは、セツキシマブ、ネシツムマブ、ニモツズマブ、マツズマブ、A M G 5 9 5、デパツキシズマブ、ダパツキシズマブ（dapatuxizumab）、デュリゴツズマブ、フツキシマブ、G C 1 1 1 8、イムガツズマブ、パニツムマブ、アルツムマブ、トムソツキシマブ、若しくはラブリツキシマブ等のE G F Rを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

10

【0130】

或る特定の実施形態において、Xは、オボルツズマブ、シタツズマブ、ツコツズマブ、カツマキソマブ、エドレコロマブ、若しくはアデカツムマブ等のE P C A Mを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0131】

或る特定の実施形態において、Xは、ラムシズマブ、ラムシルマブ、若しくはブリナシマブ等のV E G F Rを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

20

【0132】

或る特定の実施形態において、Xは、オララツマブ若しくはラムシルマブ等のP D G F Rを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0133】

或る特定の実施形態において、Xは、サシツズマブ若しくはP r 1 E 1 1等のT R O P 2を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

30

【0134】

或る特定の実施形態において、Xは、エンホルツマブ等のネクチン4を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0135】

或る特定の実施形態において、Xは、J 5 9 1若しくはM L N 5 9 1等のP S M Aを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0136】

或る特定の実施形態において、Xは、ベランタマブ等のB C M Aを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

40

【0137】

或る特定の実施形態において、Xは、モキセツモマブ、イノツズマブ、エブラツズマブ、若しくはピナツズマブ等のC D 2 2を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0138】

或る特定の実施形態において、Xは、ウブリツキシマブ、オフアツムマブ、リツキシマブ、オビヌツズマブ、トシツモマブ、若しくはイブリツモマブ等のC D 2 0を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

50

【0139】

或る特定の実施形態において、Xは、ロンカスツキシマブ、XMAB-5574、MOR208、コルツキシマブ、デニンツズマブ、タブリツモマブ、若しくはMDX-1342等のCD19を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0140】

或る特定の実施形態において、Xは、ポラツズマブ等のCD79bを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0141】

或る特定の実施形態において、Xは、イサツキシマブ、ダラツムマブ、MOR202、若しくはTAK-079等のCD38を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

10

【0142】

或る特定の実施形態において、Xは、I-131-BC8若しくはイオマブ-B等のCD45を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0143】

或る特定の実施形態において、Xは、カロツキシマブ等のエンドグリンを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0144】

或る特定の実施形態において、Xは、ベマリツズマブ若しくはアプルツマブ等のFGFR2を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

20

【0145】

或る特定の実施形態において、Xは、ルパルツマブ等のC4.4Aを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0146】

或る特定の実施形態において、Xは、ゾルベツキシマブ若しくはクローディキシマブ等のクローディン-18.2を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

30

【0147】

或る特定の実施形態において、Xは、アンデカリキシマブ等のMMP9を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0148】

或る特定の実施形態において、Xは、ミルベツキシマブ、ファルレツズマブ、MORAb-202、MORAb-003、若しくはSP8166等の葉酸受容体を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0149】

或る特定の実施形態において、Xは、ロバルピツズマブ等のDLL3を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

40

【0150】

或る特定の実施形態において、Xは、インダツキシマブ等のCD138を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0151】

或る特定の実施形態において、Xは、ロルボツズマブ、プロミキシマブ等のCD56を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0152】

或る特定の実施形態において、Xは、BI 836826、オトレルツズマブ、若しくはナラツキシマブ等のCD37を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそ

50

れらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0153】

或る特定の実施形態において、Xは、ミラツズマブ等のCD74を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0154】

或る特定の実施形態において、Xは、アネツマブ、アマツキシマブ、若しくはMMOT-0530A等のメソテリンを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0155】

或る特定の実施形態において、Xは、トシリズマブ若しくはサリルマブ等のIL-6Rを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

10

【0156】

或る特定の実施形態において、Xは、エロツズマブ等のSLAMF7を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0157】

或る特定の実施形態において、Xは、ベリムマブ等のBAFFを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0158】

或る特定の実施形態において、Xは、KL-6、MY.1E12、hMUC1-1H7、TAB004、huC242、クリバツズマブ、8HuDS6、ガチポツズマブ、AR20.5、若しくはカンツズマブ等のMUC1を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

20

【0159】

或る特定の実施形態において、Xは、コドリツズマブ、ECT204、若しくはMDX-1414等のGPC3を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0160】

或る特定の実施形態において、Xは、ペルツズマブ、トラスツズマブ、若しくはマルゲツキシマブ等のHER2を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

30

【0161】

或る特定の実施形態において、Xは、パトリツズマブ、セリバンツマブ、ルムレツズマブ、エルゲムツマブ、AV-203、CDX-3379、若しくはGSK284933等のHER3を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0162】

或る特定の実施形態において、Xは、ブレンツキシマブ等のCD30を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0163】

或る特定の実施形態において、Xは、ゲムツズマブ、BI 835858、バダスツキシマブ、若しくはリンツズマブ等のCD33を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

40

【0164】

或る特定の実施形態において、Xは、KHK2823、タクロツズマブ、若しくはG4723A等のCD123を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0165】

或る特定の実施形態において、Xは、グレムバツムマブ等のGPNMBを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

50

【0166】

或る特定の実施形態において、Xは、テリソツズマブ、オナルツズマブ、若しくはSAIT301等のcMETを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0167】

或る特定の実施形態において、Xは、チソツズマブ等のCD142を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0168】

或る特定の実施形態において、Xは、リファスツズマブ等のNaPi2Bを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

10

【0169】

或る特定の実施形態において、Xは、インドゥサツマブ等のGCCを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0170】

或る特定の実施形態において、Xは、バンドルツズマブ等のSTEAP1を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0171】

或る特定の実施形態において、Xは、ソフィツズマブ等のMUC16を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

20

【0172】

或る特定の実施形態において、Xは、ボルセツズマブ等のCD70を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0173】

或る特定の実施形態において、Xは、ビバツズマブ等のCD44を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0174】

或る特定の実施形態において、Xは、カブラシズマブ等のvWFを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

30

【0175】

或る特定の実施形態において、Xは、オゾラリズマブ、V565、若しくはPF-05230905等のTNFを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0176】

或る特定の実施形態において、Xは、ボバリリズマブ等のIL-6Rを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0177】

或る特定の実施形態において、Xは、LCAR-B38M等のBCMAを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

40

【0178】

或る特定の実施形態において、Xは、M6495等のADAMTS5を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0179】

或る特定の実施形態において、Xは、BI 655088等のCX3CR1を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0180】

或る特定の実施形態において、Xは、AD-214若しくはALX-0651等のCXCR4を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラ

50

グメント部分である。

【0181】

或る特定の実施形態において、Xは、TXB4等のTfR1を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0182】

或る特定の実施形態において、Xは、CDP791等のVEGFRを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0183】

或る特定の実施形態において、Xは、GY1等のPSMAを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

10

【0184】

或る特定の実施形態において、Xは、L19若しくはNJB2等のFN1を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0185】

或る特定の実施形態において、Xは、F19、OMTX005、若しくはシプロツズマブ等のFAPを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0186】

或る特定の実施形態において、Xは、F16若しくはR6N等のTNCを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント部分、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

20

【0187】

幾つかの実施形態において、Xは抗体である。

【0188】

幾つかの実施形態において、抗体は、ダクリズマブ、RG6292、バシリキシマブ、HuMax-TAC、ラベツズマブ、15-1-32、PR1A3、cT84.66、ツサミチアマブ、CC4、PAN-622、セツキシマブ、ネシツムマブ、ニモツズマブ、マツズマブ、AMG595、デパツキシズマブ、ダパツキシズマブ、デュリゴツズマブ、フツキシマブ、GC1118、イムガツズマブ、パニツムマブ、アルツムマブ、トムゾツキシマブ、ラブリツキシマブ、オボルツズマブ、シタツズマブ、ツコツズマブ、カツマキソマブ、エドレコロマブ、アデカツムマブ、ラムシズマブ、ラムシルマブ、ブリナシマブ、オララツマブ、ラムシルマブ、サシツズマブ、Pr1E11、エンホルツマブ、J591、MLN591、ベランタマブ、モキセツモマブ、イノツズマブ、エブラツズマブ、ピナツズマブ、ウブリツキシマブ、オフアツムマブ、リツキシマブ、オビヌツズマブ、トシツモマブ、イブリツモマブ、ロンカスツキシマブ、XMAB-5574、MOR208、コルツキシマブ、デニンツズマブ、タブリツモマブ、MDX-1342、ポラツズマブ、イサツキシマブ、ダラツムマブ、MOR202、TAK-079、I-131-BC8、イオマブ-B、カロツキシマブ、ベマリツズマブ、アプルツマブ、ルパルツマブ、ゾルベツキシマブ、クローディキシマブ、アンデカリキシマブ、ミルベツキシマブ、ファルレツズマブ、MORAb-202、MORAb-003、SP8166、ロバルピツズマブ、インダツキシマブ、ロルボツズマブ、プロミキシマブ、BI836826、オトレルツズマブ、ナラツキシマブ、ミラツズマブ、アネツマブ、アマツキシマブ、MMOT-0530A、サリルマブ、エロツズマブ、ベリムマブ、KL-6、MY.1E12、hMUC1-1H7、TAB004、huC242、クリバツズマブ、8HuDS6、ガチポツズマブ、AR20.5、カンツズマブ、コドリツズマブ、ECT204、MDX-1414、ペルツズマブ、トラスツズマブ、マルゲツキシマブ、パトリツマブ、セリバンツマブ、ルムレツズマブ、エルゲムツマブ、AV-203、CDX-3379、GSK284933、ブレンツキシマブ、ゲムツズマブ、BI835858、バダスツキシマブ、リンツズマブ、KHK2823、タクロツズマブ、G4723A、グレムバツムマブ、テリソツズマブ、オナルツズマブ、SAIT301、チソツマブ、リファスツズマブ、インドウサ

30

40

50

ツマブ、バンドルツズマブ、ソフィツズマブ、ボルセツズマブ、ビバツズマブ、カブラシズマブ、オゾラリズマブ、V 5 6 5、P F - 0 5 2 3 0 9 0 5、ボバリリズマブ、L C A R - B 3 8 M、B I 6 5 5 0 8 8、A D - 2 1 4、A L X - 0 6 5 1、T X B 4、C D P 7 9 1、G Y 1、L 1 9、N J B 2、F 1 9、O M T X 0 0 5、シブロツズマブ、F 1 6、又はR 6 Nである。

【0189】

幾つかの実施形態において、Xは、アテゾリズマブ、アベルマブ、ベバシズマブ、セミブリマブ、セツキシマブ、ダラツムマブ、ジヌツキシマブ、デュルバルマブ、エロツズマブ、イピリムマブ、イサツキシマブ、モガムリズマブ、ネシツムマブ、ニボルマブ、オビヌツズマブ、オフアツムマブ、オララツマブ、パニツムマブ、ペムプロリズマブ、ペルツズマブ、ラムシルマブ、リツキシマブ、及びトラスツズマブから選択される抗体である。

10

【0190】

幾つかの実施形態において、Xは、抗体フラグメント部分である。

【0191】

幾つかの実施形態において、X又は抗体フラグメント部分は、単鎖可変フラグメント (s c F v)、2価 (又は二価) の単鎖可変フラグメント (ジ-s c F v、ビー-s c F v)、抗原結合フラグメント (F a b)、単ドメイン抗体 (s d A b)、単ドメイン抗体 (s d A b)、抗原結合タンパク質、D o t B o d y、アフィボディ、D A R P i n、D A R T、T a n d A b、ダイアボディ、リボボディ、センチリン、ノッチン、アフィリン、アフィマー、アルファボディ、アンチカリン、アトリマー、アビマー、フィノマー、クニツツドメイン、オボディ、プロネクチン、レペボディ、及び二環式ペプチド、又はヒューマボディからなる群から選択される。

20

【0192】

幾つかの実施形態において、Xは、単鎖可変フラグメント (s c F v)、2価 (又は二価) の単鎖可変フラグメント (ジ-s c F v、ビー-s c F v)、抗原結合フラグメント (F a b)、単ドメイン抗体 (s d A b)、及び単ドメイン抗体 (s d A b) からなる群から選択される抗体フラグメント部分である。

【0193】

幾つかの実施形態において、抗体フラグメント部分は、抗原結合タンパク質のD o t B o d y、アフィボディ、D A R P i n、D A R T、T a n d A b、ダイアボディ、リボボディ、センチリン、ノッチン、アフィリン、アフィマー、アルファボディ、アンチカリン、アトリマー、アビマー、フィノマー、クニツツドメイン、オボディ (o b o d y)、プロネクチン、レペボディ、二環式ペプチド、又はヒューマボディである。

30

【0194】

幾つかの実施形態において、X又は抗体フラグメント部分は、抗原結合フラグメント (F a b) である。F a bは抗原に結合する抗体上の領域であり、重鎖及び軽鎖のそれぞれの1つの定常ドメイン及び1つの可変ドメインから構成される。幾つかの実施形態において、F a bは、4つのドメイン：V H、C H 1、V L、及びC L 1を含む。幾つかの実施形態において、F a bは、400個～500個のアミノ酸、又は440個～480個のアミノ酸を含む。幾つかの実施形態において、F a bは、約50 k D a、又は40 k D a～55 k D a、又は45 k D a～50 k D a、又は45 k D a～55 k D aの分子量を有する。

40

【0195】

幾つかの実施形態において、トラスツズマブ、エンホルツマブ、ブレンツキシマブ、サシツズマブ、F N - 1 (遺伝子 I D 2 3 3 5) に結合するL 1 9、T N C (遺伝子 I D 3 3 7 1) に結合するF 1 6、又はN J B 2 (E C M標的化配列) のF a b。

【0196】

幾つかの実施形態において、抗体フラグメント部分は、循環寿命を延長することができる1つ以上のP E G単位を含む。

【0197】

50

幾つかの実施形態において、抗体フラグメント部分は、抗原結合タンパク質である。抗原結合タンパク質は、抗体ミメティックとなるように設計されている、所与の標的に対して高い親和性及び特異性を示すタンパク質である。幾つかの実施形態において、抗原結合タンパク質は、単鎖抗原結合タンパク質であり、これらは、抗体の可変軽鎖アミノ酸配列（V L）のカルボキシル末端と可変重鎖配列（V H）のアミノ末端とを連結する設計されたペプチドによってV H配列につなが留められたV L配列から構成される新規の組換えポリペプチドである。

【0198】

幾つかの実施形態において、抗原結合タンパク質は約5 k D a～10 k D a、又は約7 k D aである。幾つかの実施形態において、抗原結合タンパク質は、約50個～80個、又は60個～70個、又は66個のアミノ酸長である。幾つかの実施形態において、抗原結合タンパク質は、N末端又はC末端にのみシステインを含む。幾つかの実施形態において、抗原結合タンパク質は、N末端にのみシステインを含む。幾つかの実施形態において、抗原結合タンパク質は、C末端にのみシステインを含む。

10

【0199】

幾つかの実施形態において、抗体フラグメント部分は、T N C、F N 1、C L D N 4、M M P 9、E p C A M、I T G A V、C E A、C E A C A M 5、A S P H、E G F R、E P C A M、V E G F R、P D G F R、T R O P 2、ネクチン4、P S M A、B C M A、H E R 2、又はC D 2 5を標的とする抗原結合タンパク質である。幾つかの実施形態において、抗体フラグメント部分は、H E R 2を標的とする抗原結合タンパク質である。抗原結合タンパク質を、標準的な方法に従って調製及び試験することができ、又は商業的供給元（例えば、Affilogic）から購入することができる。

20

【0200】

幾つかの実施形態において、抗体フラグメント部分は、ダクリズマブ、R G 6 2 9 2、バシリキシマブ、H u M a x - T A C、ラベツズマブ、1 5 - 1 - 3 2、P R 1 A 3、c T 8 4、6 6、ツサミチアマブ、C C 4、P A N - 6 2 2、セツキシマブ、ネシツムマブ、ニモツズマブ、マツズマブ、A M G 5 9 5、デパツキシズマブ、ダパツキシズマブ、デュリゴツズマブ、フツキシマブ、g c 1 1 1 8、イムガツズマブ、パニツムマブ、アルツムマブ、トムゾツキシマブ、ラブリツキシマブ、オポルツズマブ、シタツズマブ、ツコツズマブ、カツマキシマブ、エドレコロマブ、アデカツムマブ、ラムシズマブ、ラムシルマブ、ブリナシマブ、オララツマブ、ラムシルマブ、サシツズマブ、P r 1 E 1 1、エンホルツマブ、J 5 9 1、M L N 5 9 1、ベランタマブ、モキセツモマブ、イノツズマブ、エブラツズマブ、ピナツズマブ、ウブリツキシマブ、オフアツムマブ、リツキシマブ、オビヌツズマブ、トシツモマブ、イブリツモマブ、ロンカスツキシマブ、X M A B - 5 5 7 4、M O R 2 0 8、コルツキシマブ、デニンツズマブ、タブリツモマブ、M D X - 1 3 4 2、ボラツズマブ、イサツキシマブ、ダラツムマブ、M O R 2 0 2、T A K - 0 7 9、I - 1 3 1 - B C 8、イオマブーB、カロツキシマブ、ベマリツズマブ、アブルツマブ、ルパルツマブ、ゾルベツキシマブ、クローディキシマブ、アンデカリキシマブ、ミルベツキシマブ、ファルレツズマブ、M O R A b - 2 0 2、M O R A b - 0 0 3、S P 8 1 6 6、ロバルピツズマブ、インダツキシマブ、ロルボツズマブ、プロミキシマブ、B I 8 3 6 8 2 6、オトレルツズマブ、ナラツキシマブ、ミラツズマブ、アネツマブ、アマツキシマブ、M M O T - 0 5 3 0 A、サリルマブ、エロツズマブ、ベリムマブ、K L - 6、M Y . 1 E 1 2、h M U C 1 - 1 H 7、T A B 0 0 4、h u C 2 4 2、クリバツズマブ、8 H u D S 6、ガチボツズマブ、A R 2 0 . 5、カンツズマブ、コドリツズマブ、E C T 2 0 4、M D X - 1 4 1 4、ペルツズマブ、トラスツズマブ、マルゲツキシマブ、パトリツマブ、セリバンツマブ、ルムレツズマブ、エルゲムツマブ、A V - 2 0 3、C D X - 3 3 7 9、G S K 2 8 4 9 3 3、ブレンツキシマブ、ゲムツズマブ、B I 8 3 5 8 5 8、バダスツキシマブ、リンツズマブ、K H K 2 8 2 3、タクロツズマブ、G 4 7 2 3 A、グレムバツムマブ、テリソツズマブ、オナルツズマブ、s a i t 3 0 1、チソツマブ、リファスツズマブ、インドゥサツマブ、バンドルツズマブ、ソフィツズマブ、ボルセツズマブ、ビバツ

30

40

50

ズマブ、カブラシズマブ、オゾラリズマブ、V 5 6 5、P F - 0 5 2 3 0 9 0 5、ボバリリズマブ、L C A R - B 3 8 M、B I 6 5 5 0 8 8、A D - 2 1 4、A L X - 0 6 5 1、T X B 4、C D P 7 9 1、G Y 1、L 1 9、N J B 2、F 1 9、O M T X 0 0 5、シプロツズマブ、F 1 6、又はR 6 Nから誘導される。

【0201】

幾つかの実施形態において、Xは、アテゾリズマブ、アベルマブ、ベバシズマブ、セミプリマブ、セツキシマブ、ダラツムマブ、ジヌツキシマブ、デュルバルマブ、エロツズマブ、イピリムマブ、イサツキシマブ、モガムリズマブ、ネシツムマブ、ニボルマブ、オビヌツズマブ、オフアツムマブ、オララツムマブ、パニツムマブ、ペムプロリズマブ、ペルツズマブ、ラムシルマブ、リツキシマブ、又はトラスツズマブから誘導される抗体フラグメント部分である。

10

【0202】

或る特定の実施形態において、Xは、カブラシズマブ等のv W Fを標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0203】

或る特定の実施形態において、Xは、オゾラリズマブ、V 5 6 5、又はP F - 0 5 2 3 0 9 0 5等のT N Fを標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0204】

或る特定の実施形態において、Xは、ボバリリズマブ等のI L - 6 Rを標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

20

【0205】

或る特定の実施形態において、Xは、L C A R - B 3 8 M等のB C M Aを標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0206】

或る特定の実施形態において、Xは、M 6 4 9 5等のA D A M T S 5を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0207】

或る特定の実施形態において、Xは、B I 6 5 5 0 8 8等のC X 3 C R 1を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0208】

或る特定の実施形態において、Xは、A D - 2 1 4又はA L X - 0 6 5 1等のC X C R 4を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

30

【0209】

或る特定の実施形態において、Xは、T X B 4等のT f R 1を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0210】

或る特定の実施形態において、Xは、C D P 7 9 1等のV E G F Rを標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0211】

或る特定の実施形態において、Xは、G Y 1等のP S M Aを標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

40

【0212】

幾つかの実施形態において、抗体フラグメント部分は、カブラシズマブ、オゾラリズマブ、V 5 6 5、P F - 0 5 2 3 0 9 0 5、ボバリリズマブ、L C A R - B 3 8 M、M 6 4 9 5、B I 6 5 5 0 8 8、A D - 2 1 4、A L X - 0 6 5 1、T X B 4、C D P 7 9 1、又はG Y 1である。

【0213】

幾つかの実施形態において、Xは、イメージング造影剤を更に含む。幾つかの実施形態において、イメージング造影剤は、タンパク質である。

【0214】

50

リンカー部分

幾つかの実施形態において、Lは、X上のシスチン (cystine) 残基又はリジン残基を介してXに結合されている。

【0215】

幾つかの実施形態において、Lは、切断可能でないリンカーである。

【0216】

幾つかの実施形態において、Lは、切断可能なリンカーである。

【0217】

幾つかの実施形態において、Lは、1つ以上のアミノ酸を含む。

【0218】

幾つかの実施形態において、Lは、ポリペプチドを含む。

【0219】

幾つかの実施形態において、Lは、ヒドラゾン、ヒドラジド、ジスルフィド、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)ブチレート (SPDB)、4-(4'-アセチルフエノキシ)ブタン酸 (AcBut)、1つ以上の線状又は分岐状の天然アミノ酸若しくは非天然アミノ酸、バリン-シトルリン (Val-Cit) 部分、又はフェニルアラニン-リジン (Phe-Lys) 部分のうちの1つ以上を含む。

【0220】

幾つかの実施形態において、Lは、1個~100個の連結原子、1個~50個の連結原子、又は5個~50個の連結原子、又は10個~50個の連結原子、又は1個~40個の連結原子、又は1個~30個の連結原子、又は1個~20個の連結原子、又は1個~10個の連結原子、又は1個~5個の連結原子、又は5個~30個の連結原子、又は10個~30個の連結原子、又は5個~40個の連結原子、又は5個~50個の連結原子、又は10個~50個の連結原子を含む。

【0221】

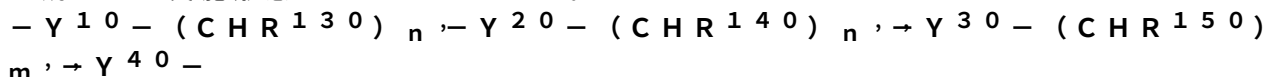
幾つかの実施形態において、Lは、1個以上の鎖ヘテロ原子と、1つ以上のアルキレン部分、アルケニレン部分、アルキニレン部分、アリーレン部分、ヘテロアリーレン部分、シクロアルキレン部分、又はヘテロシクロアルキレン部分とを含み、ここで、それぞれのアルキレン部分、アルケニレン部分、アルキニレン部分、アリーレン部分、ヘテロアリーレン部分、シクロアルキレン部分、又はヘテロシクロアルキレン部分は、独立して、オキソ、ハロ、 $C_{1\sim4}$ アルキル、 $C_{1\sim4}$ アルコキシ、及び $C_{1\sim4}$ ハロアルキルから独立して選択される1個~5個の置換基で任意に置換されていてよい。

【0222】

幾つかの実施形態において、Lは、1つ以上の-O-官能基、-S-官能基、アミン官能基、エステル官能基、アミド官能基、カルバメート官能基、カーボネート官能基、チオ-スクシンイミド官能基、又はケトン官能基を任意に含むアルキレンリンカーである。

【0223】

幾つかの実施形態において、Lは、式：



(式中、

Y^{10} 、 Y^{20} 、 Y^{30} 、及び Y^{40} のそれぞれは、独立して、結合、 $-NR^{110}-$ 、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0\sim2}-$ 、 $-NR^{110}C(O)-$ 、 $-C(O)NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR^{110}-$ 、 $-CR^{120}=N-NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}-N=CR^{120}-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_{1\sim5}-$ 、 $-C(O)O-$ 、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、又はヘテロアリーレンであり、ここで、それぞれのアルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、又はヘテロアリーレンは、独立して、オキソ、ハロ、 $C_{1\sim4}$ アルキル、 $C_{1\sim4}$ アルコキシ、及び $C_{1\sim4}$ ハロアルキルから独立して選択される

10

20

30

40

50

1 個～5 個の置換基で任意に置換されており、

それぞれの R^{110} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、

それぞれの R^{120} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、

それぞれの R^{130} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はアミノ酸側鎖であり、

それぞれの R^{140} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はアミノ酸側鎖であり、

それぞれの R^{150} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はアミノ酸側鎖であり、かつ、

n' 、 n'' 、及び m'' は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 である) である。

【0224】

幾つかの実施形態において、L は、式：



(式中、

Y^{10} 、 Y^{20} 、及び Y^{30} のそれぞれは、独立して、結合、 $-NR^{110}-$ 、 $-O-$ 、 $-S(O)_0 \sim 2-$ 、 $-NR^{110}C(O)-$ 、 $-C(O)NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR^{110}-$ 、 $-CR^{120}=N-NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}-N=CR^{120}-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、シクロアルキレン、又はヘテロシクロアルキレンであり、ここで、それぞれのアルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、シクロアルキレン、又はヘテロシクロアルキレンは、独立して、オキソ、ハロ、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ アルコキシ、及び $C_1 \sim 4$ ハロアルキルから独立して選択される 1 個～5 個の置換基で任意に置換されており、

それぞれの R^{110} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、

それぞれの R^{120} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、かつ、

n' 及び m'' は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 である) である。

【0225】

或る特定の実施形態において、それぞれの R^{110} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、かつそれぞれの R^{120} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルである。或る特定の実施形態において、リンカーは結合ではない。

【0226】

リンカー L は、1 つ以上のポリエチレングリコール (例えば、 $300 \text{ g/mol} \sim 10000 \text{ g/mol}$ の平均分子量を有する PEG)、エチレン-1, 2-ジイルビス (メチルカルバメート)、アリーレン (すなわち、フェニレン)、エチレンオキシ、アミン、エステル、アミド、カルバメート、ケトン (すなわち、ホルミル)、又はカーボネートを含み得る。

【0227】

幾つかの実施形態において、リンカーは、

10

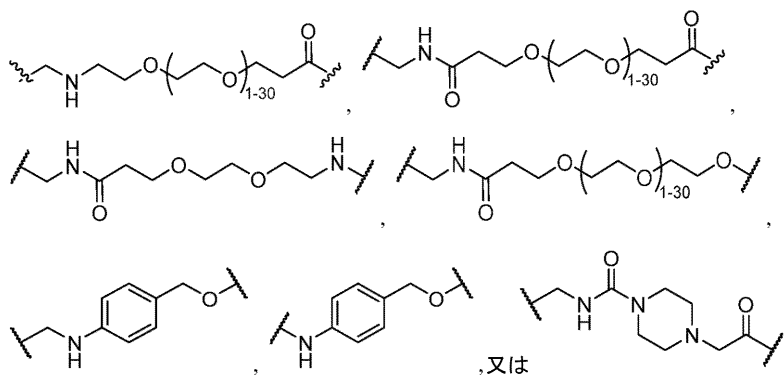
20

30

40

50

【化 3 5】



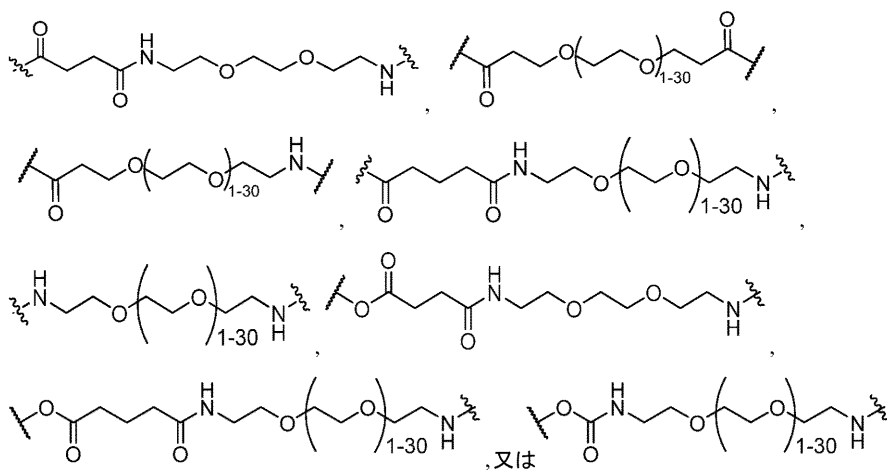
10

の 1 つ以上を含む。

【 0 2 2 8】

幾つかの実施形態において、リンカーは、

【化 3 6】



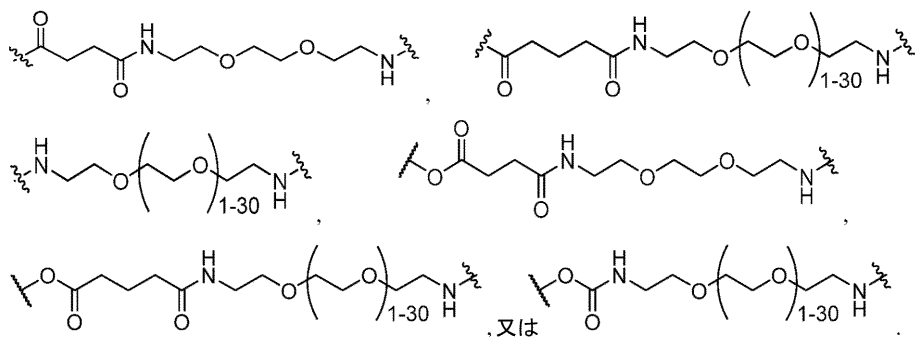
20

の 1 つ以上を含む。

【 0 2 2 9】

幾つかの実施形態において、リンカーは、

【化 3 7】



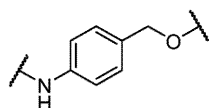
40

の 1 つ以上を含む。

【 0 2 3 0】

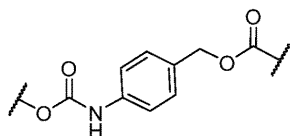
幾つかの実施形態において、リンカーは、1 つ以上の、

【化 3 8】



50

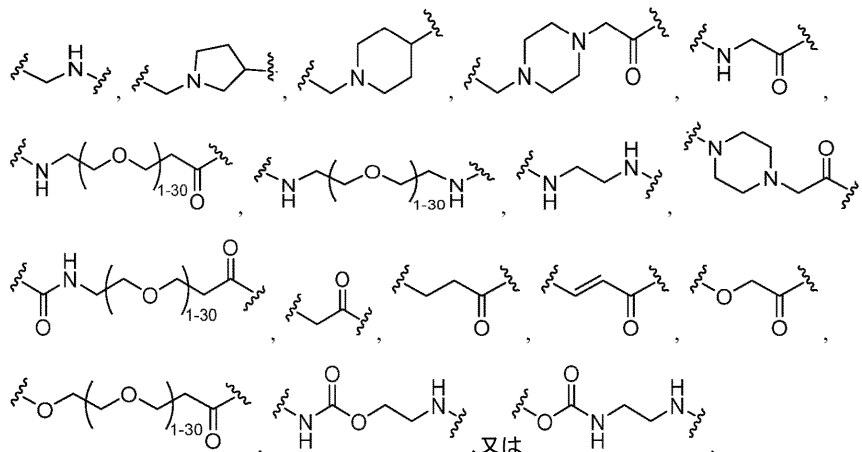
を含む。幾つかの実施形態において、リンカーは、1つ以上の、
【化39】



を含む。

【0231】

幾つかの実施形態において、リンカーは、1つ以上の、
【化40】



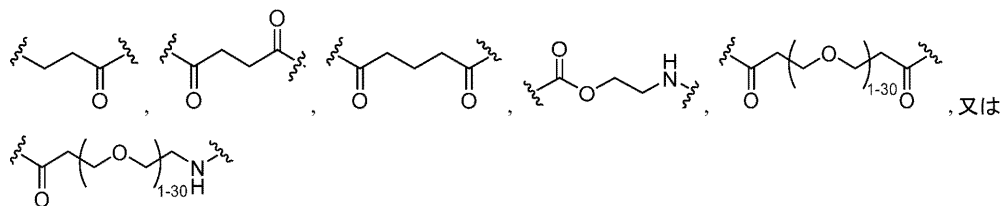
10

20

であるか、又はそれらを含む。

【0232】

幾つかの実施形態において、リンカーは、1つ以上の、
【化41】



30

であるか、又はそれらを含む。

【0233】

幾つかの実施形態において、リンカーは、ペプチドリンカーと呼ばれる場合がある1つ以上の天然アミノ酸又は非天然アミノ酸を含む。リンカーは、カルボン酸アシル単位と、タンパク質配列又はペプチド配列を構成する1つ以上のアミノ酸とから構成されるペプチドリンカーであってよい。リンカーはまた、薬物とタンパク質ペプチド配列とを隔てる自己犠牲スペーサーを含んでもよい。

40

【0234】

幾つかの実施形態において、リンカーは、「A-Y-Z-X²-W」（式中、「A」は、カルボン酸アシル単位であり、「Y」及び「Z」はそれぞれ、1つ以上の天然アミノ酸又は非天然アミノ酸であり、一緒になってペプチド配列を形成し、かつ「X²」及び「W」は、ペプチドとペイロード、D、又は生体直交型部分とを隔てる1個～50個の連結原子、又は5個～10個の連結原子、又は1個～10個の連結原子を有する任意の追加のリンカーである）によって表されるペプチド含有リンカーであってよい。或る特定の実施形態において、ペプチドリンカー中のアミノ酸の1つ以上はN-メチル化されている。

50

【0235】

幾つかの実施形態において、Yは、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、トリプトファン、及びプロリンからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸であり得る。幾つかの実施形態において、Yは、フェニルアラニン、アラニン、及びバリンからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸であり得る。

【0236】

幾つかの実施形態において、Zは、アラニン、リジン、アセチル又はホルミルで保護されたリジン、アルギニン、トシル基又はニトロ基で保護されたアルギニン、ヒスチジン、オルニチン、アセチル又はホルミルで保護されたオルニチン、及びシトルリンからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸であり得る。幾つかの実施形態において、Zは、アラニン、リジン、及びシトルリンからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸であり得る。

10

【0237】

例示的なY-Zの組合せとしては、バリン-シトルリン、バリン-アラニン、及びアラニン-アラニンが挙げられる。

【0238】

幾つかの実施形態において、Aは、 $-OC(O)-$ である。

【0239】

幾つかの実施形態において、 X^2 は、 $-OC(O)-$ である。

20

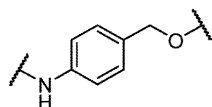
【0240】

幾つかの実施形態において、Wは、 $-OC(O)-$ である。幾つかの実施形態において、 X^2 は存在せず、かつWは $-OC(O)-$ である。

【0241】

幾つかの実施形態において、部分 $-X^2-W$ は、

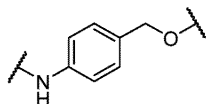
【化42】



30

を含む。幾つかの実施形態において、部分 $-X^2$ は、

【化43】

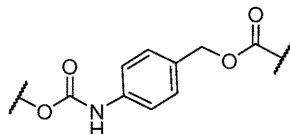


である。

【0242】

幾つかの実施形態において、 $-X-W$ は、

【化44】



40

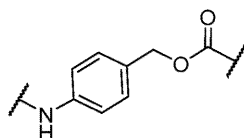
である。

【0243】

幾つかの実施形態において、 $-X-W$ は、

50

【化 4 5】



である。

【0244】

幾つかの実施形態において、ペプチドリンカーは、具体的には、例えば1つ以上の腫瘍関連プロテアーゼによって選択的に切断されて（例えば、酵素的に切断されて）薬物を放出するように仕立てられる。

10

【0245】

幾つかの実施形態において、ペプチドリンカーは、2個～4個のアミノ酸残基の鎖長を有する（すなわち、ジペプチド、トリペプチド、又はテトラペプチド）。しかしながら、最大5個、最大6個、最大7個、又は最大8個のアミノ酸残基のペプチドリンカーも適切に使用され得ることが理解されるであろう。

【0246】

幾つかの実施形態において、ペプチドリンカーは、Phe-Lys、Val-Lys、Val-Ala、Ala-Ala、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Ala-Lys、Val-Cit、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Ala、Gly-Phe-Leu-Gly [配列番号1]、Ala-Leu-Ala-Leu [配列番号2]、Phe-N⁹-トシル-Arg、又はPhe-N⁹-ニトロ-Argである。或る特定の実施形態において、ペプチドリンカーは、Phe-Lys、Val-Lys、Val-Ala、Ala-Ala、Val-Val、Val-Cit、又はD-Phe-L-Phe-Lysである。或る特定の実施形態において、ペプチドリンカーは、Val-Cit、Val-Ala、又はAla-Alaである。

20

【0247】

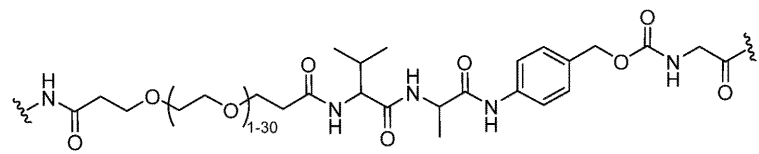
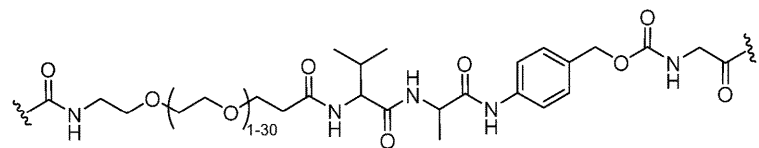
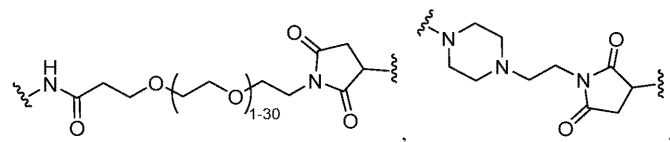
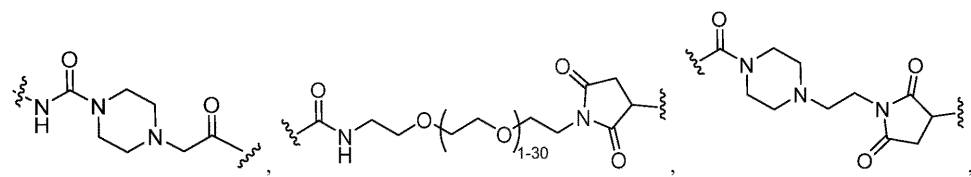
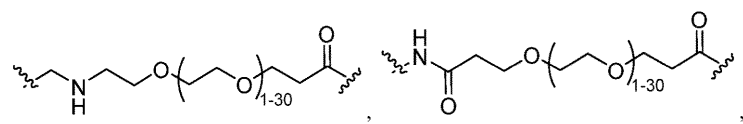
幾つかの実施形態において、リンカーLは、

30

40

50

【化 4 6】



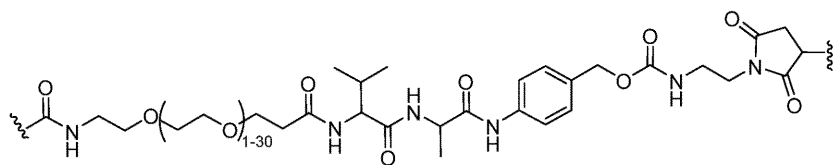
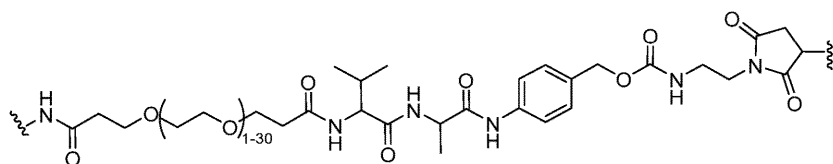
10

20

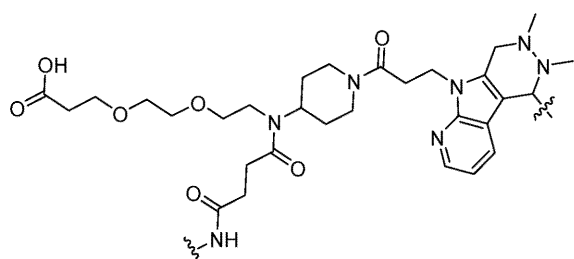
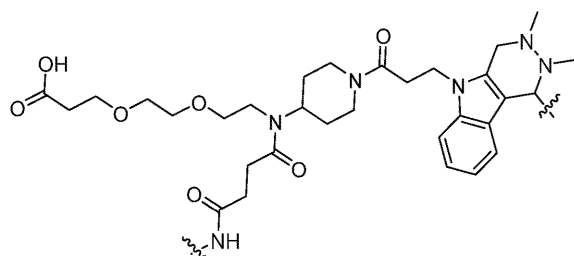
30

40

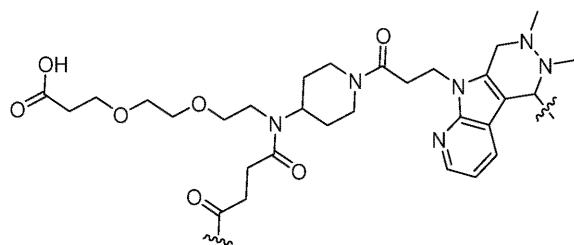
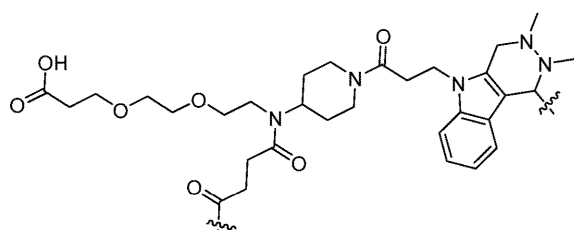
50



10



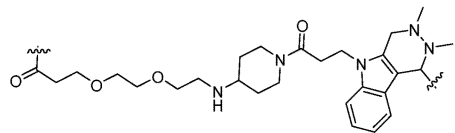
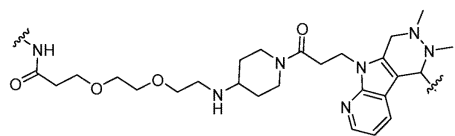
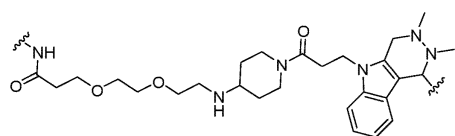
20



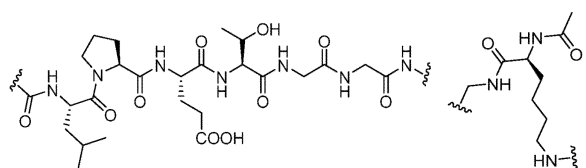
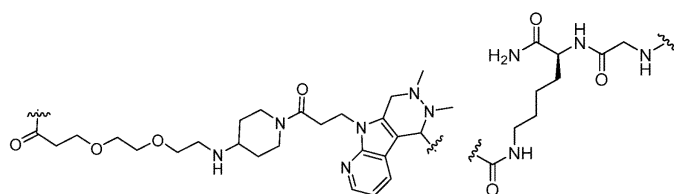
30

40

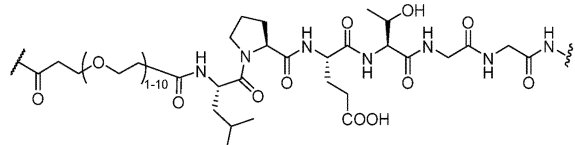
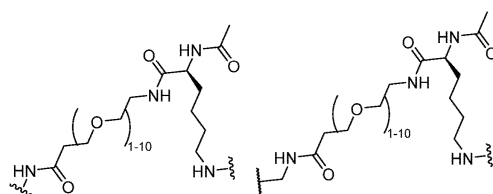
50



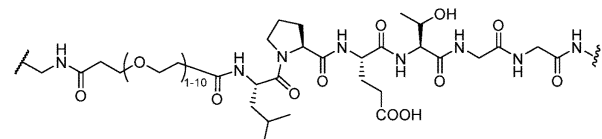
10



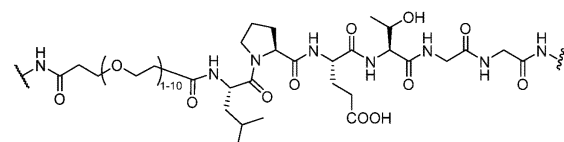
20



30



.又は



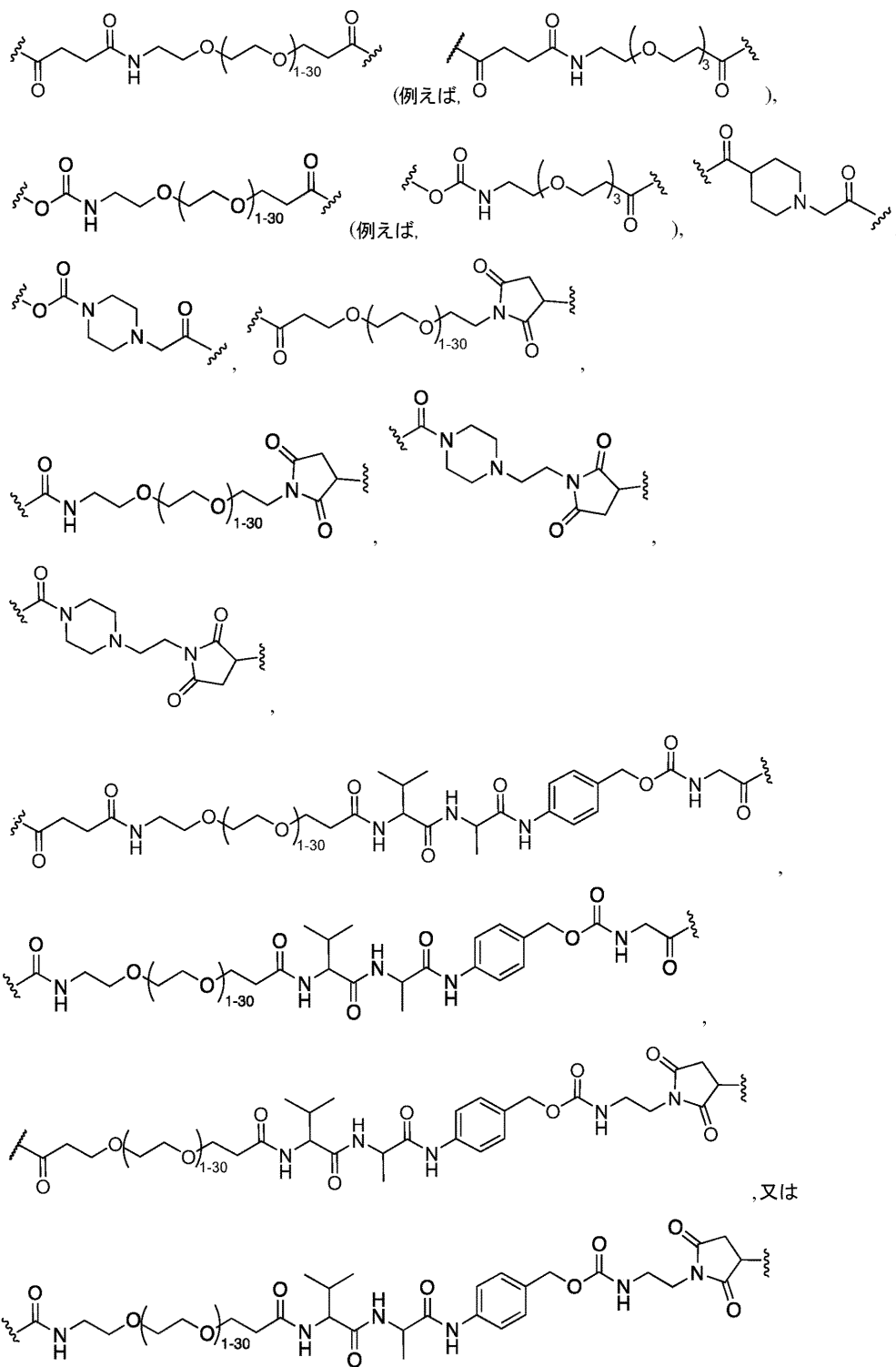
40

の1つ以上であるか、又はそれらを含む。

【0248】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、

【化 4 7】



10

20

30

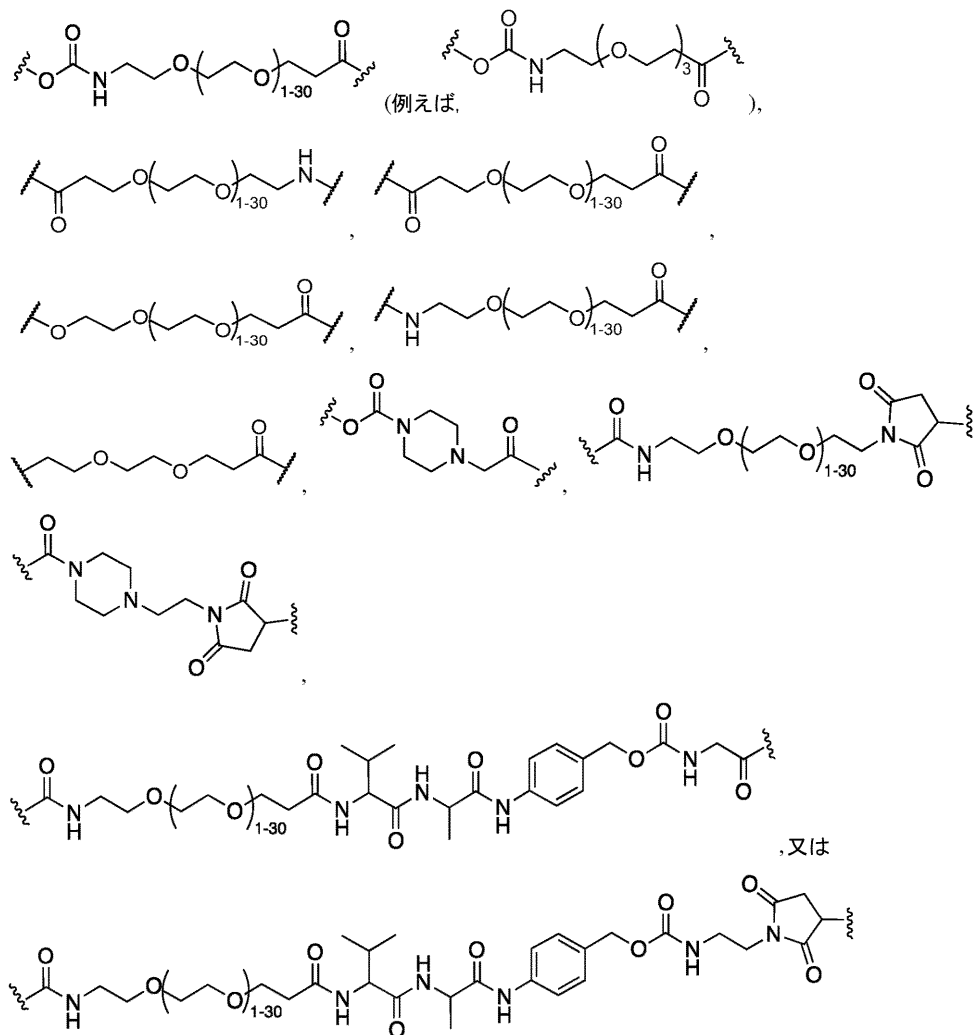
40

の 1 つ以上を含む。

【 0 2 4 9 】

幾つかの実施形態において、リンカー L は、

【化 4 8】



10

20

30

の 1 つ以上を含む。

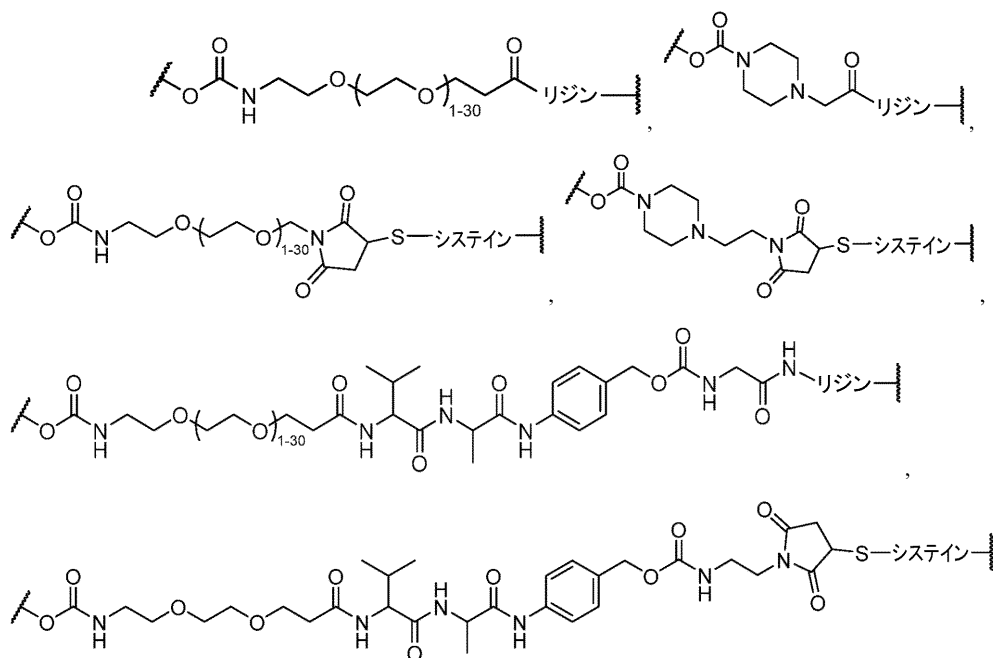
【 0 2 5 0】

上述のリンカーは、リジン又はシステイン等の X 上に存在するアミノ酸側鎖に結合されてよい（例えば、

40

50

【化 4 9】



10

20

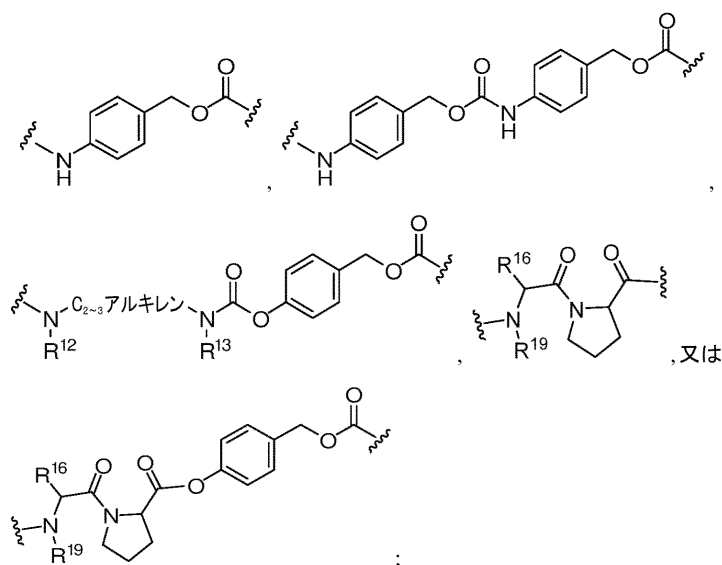
)。

【0 2 5 1】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、 $-C(O)L^4-$ 又は $-C(O)C_{1\sim6}$ アルキレン $C(O)L^4-$ であり、

L^4 は、結合、 $-N(R^{12})-C_{2\sim3}$ アルキレン $-N(R^{13})C(O)-$ 、 $-CH(NHC(O)R^{14})C_{1\sim4}$ アルキレン $-S-S-C_{1\sim4}$ アルキレン $-OC(O)-$ 、 $-NHNHC(O)CH(NHC(O)R^{15})CH_2C(O)-$ 、 $-C_{1\sim6}$ アルキレン $-CH(G^x)OC(O)-$ 、

【化 5 0】



30

40

であり、

R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、及び R^{19} は、それぞれ独立して、水素又は $C_{1\sim4}$ アルキルであり、

R^{16} は、水素、 $C_{1\sim4}$ アルキル、 $-C_{1\sim4}$ アルキレン $-OH$ 、 $-C_{1\sim4}$ アルキレン $-OC_{1\sim4}$ アルキル、 $-C_{1\sim4}$ アルキレン $-CO_2H$ 、又は $-C_{1\sim4}$ アルキレン $-C$

50

ONH₂であり、かつ、

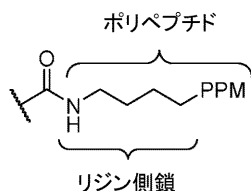
G^xは、ハロゲン、C₁~4アルキル、C₁~4ハロアルキル、C₁~4アルコキシ、シアノ、及びニトロからなる群から独立して選択される1個~5個の置換基で任意に置換されたフェニルである。

【0252】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、テトラジン部分とリンカー又はXとをコンジュゲートするカルボニル部分を含む。例えば、リンカーは、リジン残基及びリジン側鎖を有するポリペプチド部分（PPM）を含んでよく、PPMはまた、カルボニル部分にコンジュゲートされた追加のリジン又は他のアミノ酸側鎖を有してもよい。幾つかの実施形態において、リンカーLは、

10

【化51】



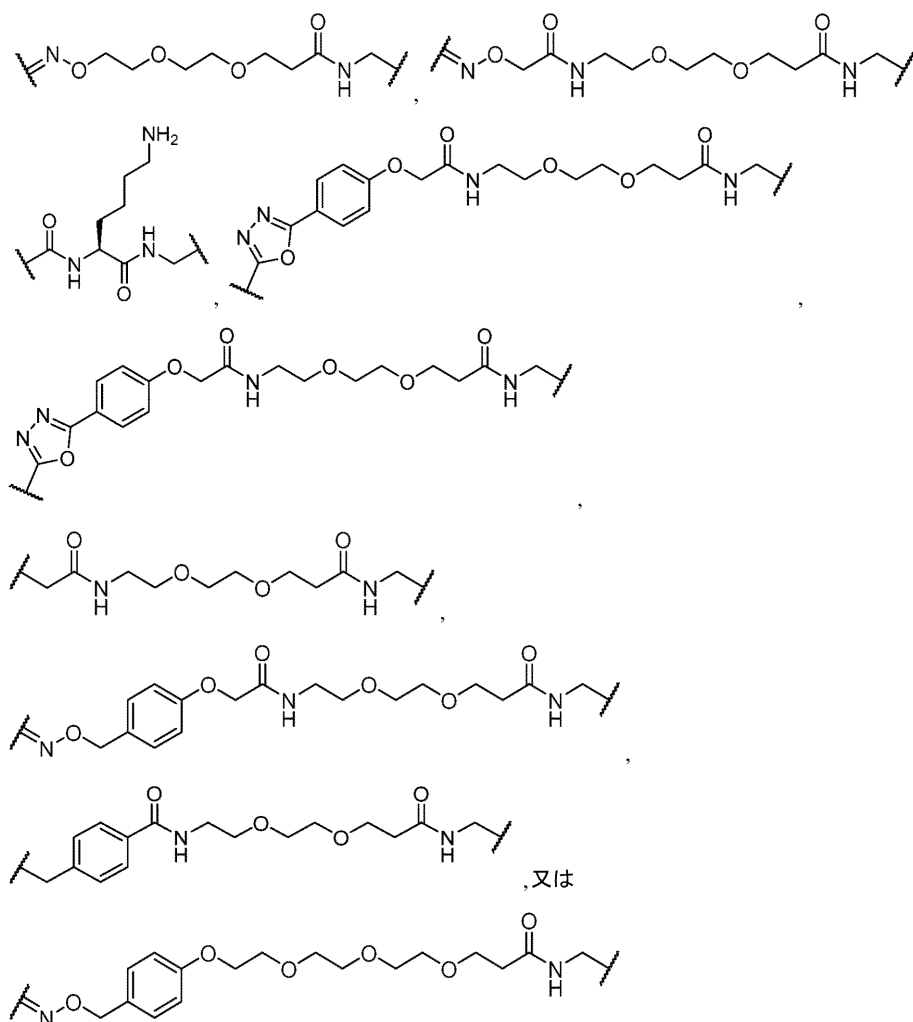
を含み得る。

【0253】

20

幾つかの実施形態において、リンカーLは、

【化52】



30

40

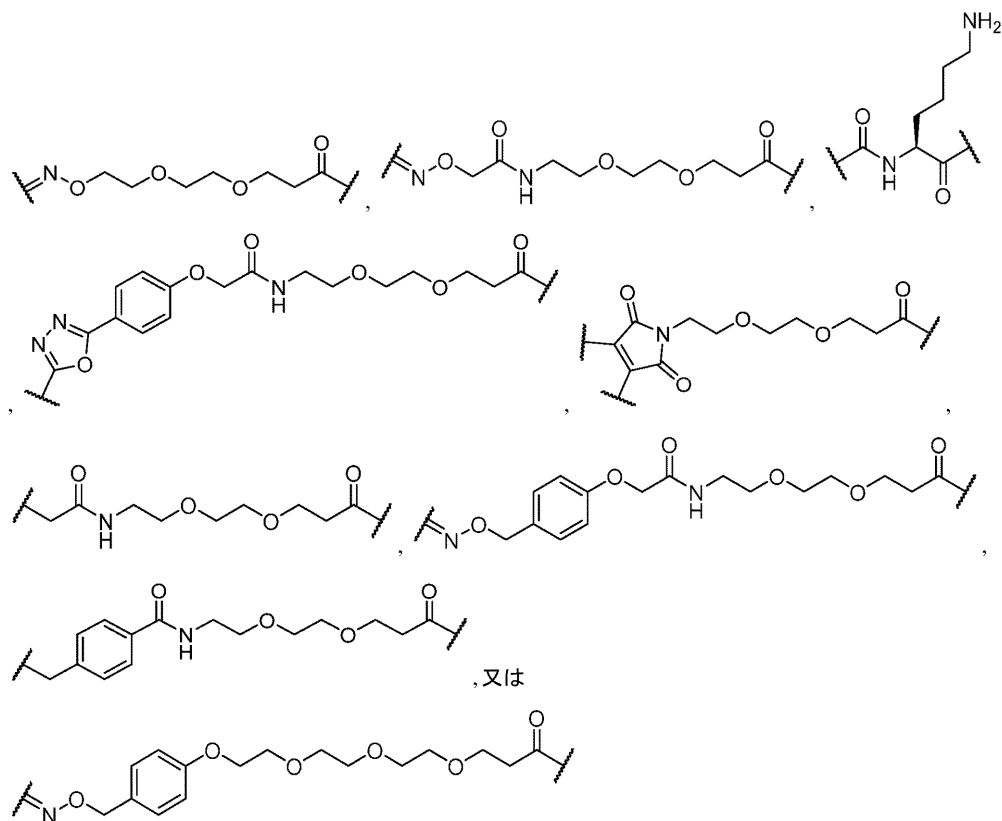
50

の1つ以上であるか、又はそれらを含む。

【0254】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、

【化53】



10

20

の1つ以上であるか、又はそれらを含む。

【0255】

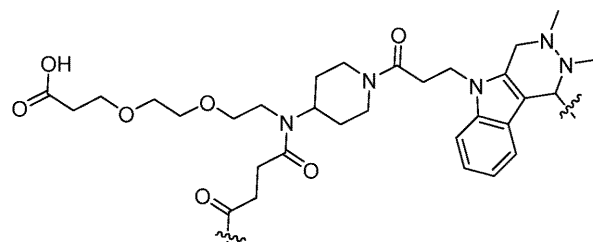
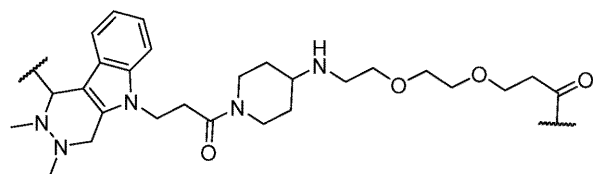
幾つかの実施形態において、リンカーLは、

30

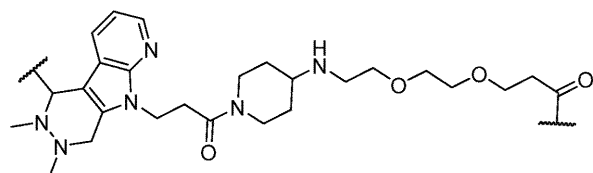
40

50

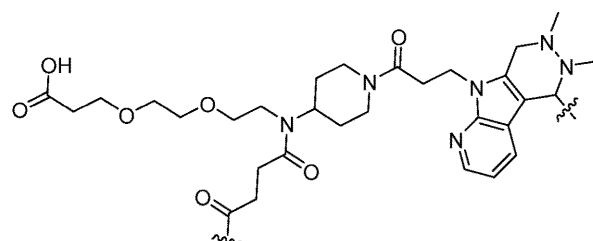
【化 5 4】



10



,又は



20

の1つ以上であるか、又はそれらを含む。

【0256】

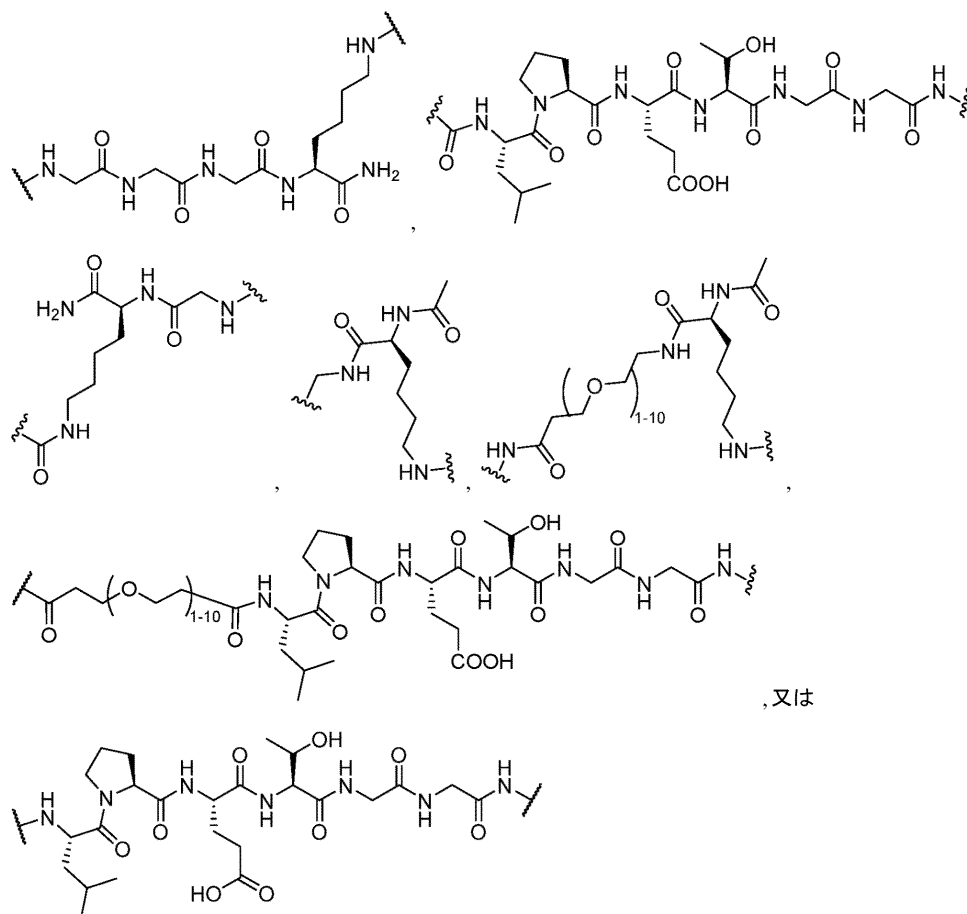
幾つかの実施形態において、リンカーLは、

30

40

50

【化 5 5】



10

,又は

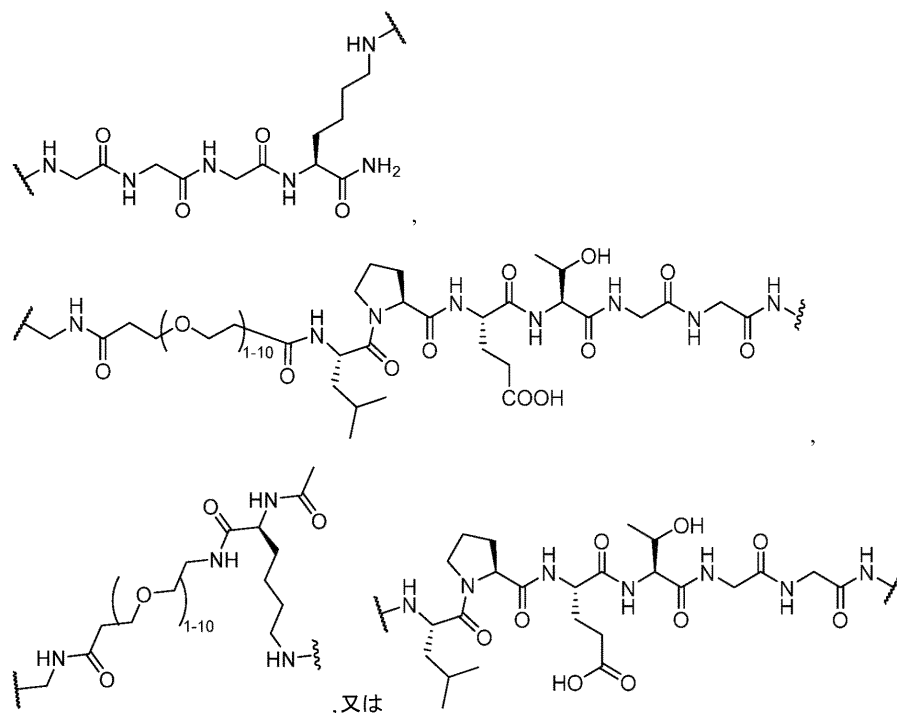
20

である。

【0 2 5 7】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、

【化 5 6】



40

,又は

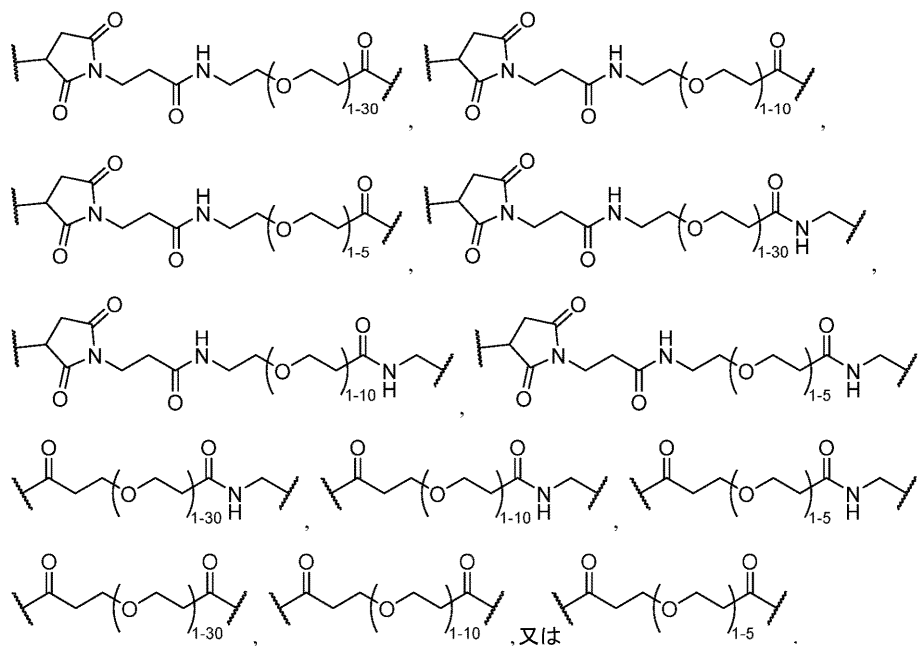
50

である。

【0258】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、

【化57】



10

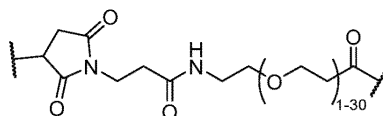
20

の1つ以上であるか、又はそれらを含む。

【0259】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、

【化58】



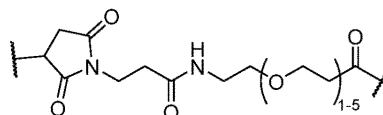
30

の1つ以上であるか、又はそれを含む。

【0260】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、

【化59】



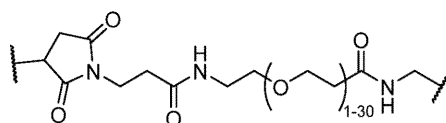
40

の1つ以上であるか、又はそれを含む。

【0261】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、

【化60】



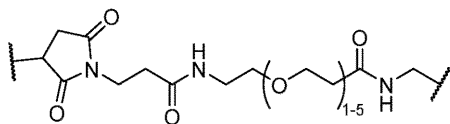
の1つ以上であるか、又はそれを含む。

【0262】

幾つかの実施形態において、リンカーLは、

50

【化 6 1】



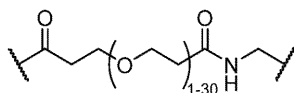
の 1 つ以上であるか、又はそれを含む。

【 0 2 6 3】

幾つかの実施形態において、リンカー L は、

【化 6 2】

10



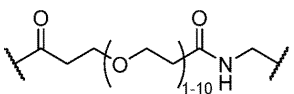
の 1 つ以上であるか、又はそれを含む。

【 0 2 6 4】

幾つかの実施形態において、リンカー L は、

【化 6 3】

20



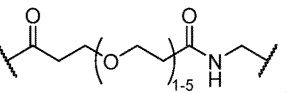
の 1 つ以上であるか、又はそれを含む。

【 0 2 6 5】

幾つかの実施形態において、リンカー L は、

【化 6 4】

30



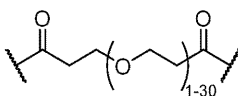
の 1 つ以上であるか、又はそれを含む。

【 0 2 6 6】

幾つかの実施形態において、リンカー L は、

【化 6 5】

40

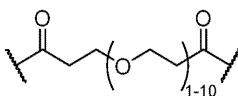


の 1 つ以上であるか、又はそれを含む。

【 0 2 6 7】

幾つかの実施形態において、リンカー L は、

【化 6 6】



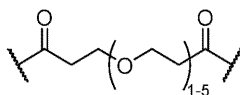
の 1 つ以上であるか、又はそれを含む。

【 0 2 6 8】

幾つかの実施形態において、リンカー L は、

50

【化 6 7】

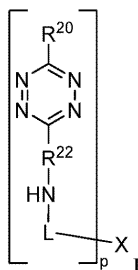


の1つ以上であるか、又はそれを含む。

【 0 2 6 9 】

一実施形態において、式 I :

【化 6 8】



10

(式中、

20

p は、1 ~ 16 であり、

R²⁰は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロゲン、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、CF₃、CF₂-R'、NO₂、OR'、SR'、C(=O)R'、C(=S)R'、OC(=O)R'、SC(=O)R'、OC(=S)R'、SC(=S)R'、S(=O)R'、S(=O)₂R'、S(=O)NR'R'、C(=O)O-R'、C(=O)S-R'、C(=S)O-R'、C(=S)S-R'、C(=O)NR'R'、C(=S)NR'R'、NR'R'、NR'C(=O)R'、NR'C(=O)OR'、NR'C(=S)OR'、NR'C(=O)SR'、NR'(=S)SR'、OC(=O)NR'R'、SC(=O)NR'R'、OC(=S)R'R'、SC(=S)R'R'、NR'C(=O)NR'R'、及びNR'C(=S)NR'R'から選択され、

R²²は、それぞれの場合、独立して、1つ以上のエチレンオキシ官能基、アミン官能基、エステル官能基、アミド官能基、カルバメート官能基、カーボネート官能基、又はケトン官能基を任意に含む1個～100個の連結原子のリンカーであり、

R' 及び R'' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

R', R', R' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、

Xは、HER2、TROP2、ネクチン-4、クローディン-18.2、MMP9、メソテリン、FN1、FAP、TNC、又はECM、EPCAM、CEA、又はCEACAM5を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分であり、かつ、

40

しは、それぞれの場合、独立して、

10

20

一実施形態において、式ⅠⅠ：

$$\left[\begin{array}{c} \text{R}^{20} \\ | \\ \text{N} \quad \text{N} \quad \text{N} \quad \text{N} \\ | \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ | \\ \text{C}(\text{R}^{31\text{a}})(\text{R}^{31\text{b}})\text{N}(\text{R}^{\text{a}})\text{L} \\ | \\ \text{X} \end{array} \right]_p$$

30

40

50

ル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、又はシクロアルケニルであり、

R^a 、 R^{31a} 、及び R^{31b} は、それぞれ独立して、水素、 $C_1 \sim C_6$ -アルキル、又は $C_1 \sim C_6$ -ハロアルキルであり、

R' 及び R'' は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

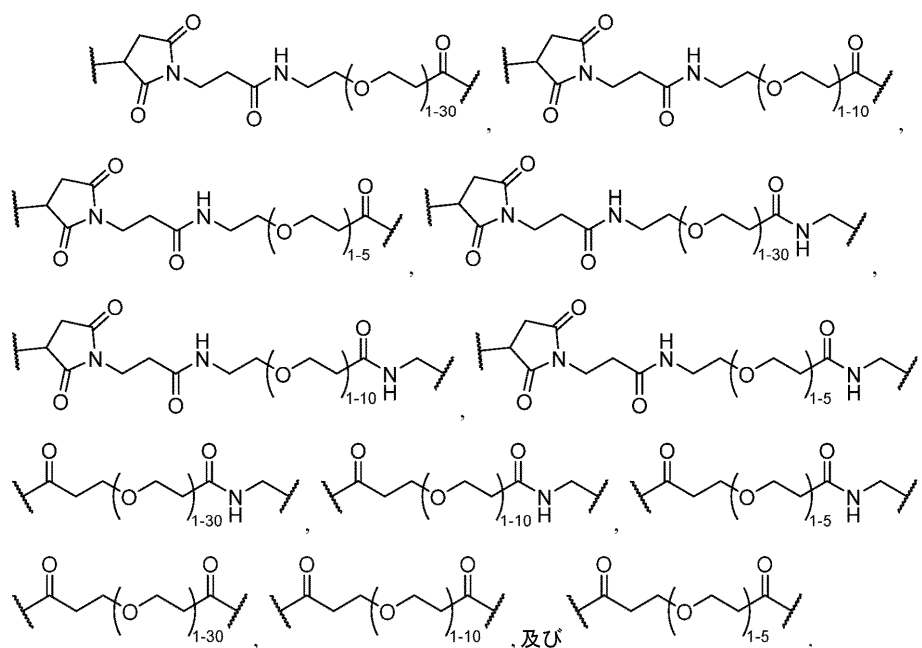
R''' は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、

t は、独立して、0、1、2、3、又は4であり、

X は、HER2、TROP2、ネクチン-4、クローディン-18.2、MMP9、メソテリン、FN1、FAP、TNC、又はECM、EPCAM、CEA、又はCEACAM5を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分であり、かつ、

L は、それぞれの場合、独立して、

【化71】

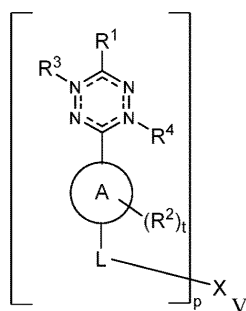


からなる群から選択されるリンカーである) の標的化部分が提供される。

【0271】

一実施形態において、式V：

【化72】



(式中、

環Aは、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、又はヘテロアリールであり、点線は、 R^3 及び R^4 が両方とも存在しない場合はテトラジンを形成する追加の結合を表し、又は R^3 及び R^4 が両方とも存在する場合はジヒドロテトラジンを形成する追加の結合を表すが、但し、環Aがアリールである場合、 R^3 及び R^4 は両方とも存在し、

Xは、生体適合性支持体、抗体、又は抗体フラグメント部分であり、

pは、1～15であり、

Lは、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

R¹は、それぞれの場合、独立して、水素、ハロ、シアノ、ニトロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、OR'、SR'、C(=O)R'、C(=S)R'、OC(=O)R'、SC(=O)R'、OC(=S)R'、SC(=S)R'、S(=O)R'、S(=O)₂R'、S(=O)NR'R'、C(=O)O-R'、C(=O)S-R'、C(=S)OR'、C(=S)SR'、C(=O)NR'R'、C(=S)NR'R'、NR'R'、NR'C(=O)R'、NR'C(=S)R'、NR'C(=O)OR'、NR'C(=S)R'、NR'C(=O)SR'、NR'C(=S)SR'、OC(=O)NR'R'、SC(=O)NR'R'、OC(=S)R'R'、SC(=S)R'R'、NR'C(=O)NR'、及びNR'C(=S)NR'R'からなる群から選択され、ここで、それぞれのアルキル、アルケニル、アルキニル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に1個～3個のZ¹で置換されており、

R²は、それぞれの場合、独立して、ハロ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、-C(=O)-アルキル、-C(=O)-ハロアルキル、-C(=O)-アルケニル、-C(=O)-アルキニル、-C(=O)-アルコキシ、-C(=O)-ハロアルコキシ、-C(=O)-ヘテロアルキル、-C(=O)-アリール、-C(=O)-ヘテロアリール、-C(=O)-ヘテロシクリル、又は-C(=O)-シクロアルキルであり、ここで、それぞれのアルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、又はシクロアルキルは、任意に1個～3個のZ¹で置換されており、

20

R³及びR⁴は両方とも存在しないか、又はR³及びR⁴は、それぞれ独立して、水素若しくはトリガー事象後に除去が可能な基であり、

それぞれのZ¹は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、ハロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、OR'、SR'、C(=O)R'、C(=S)R'、OC(=O)R'、SC(=O)R'、OC(=S)R'、SC(=S)R'、S(=O)R'、S(=O)₂R'、S(=O)NR'R'、C(=O)O-R'、C(=O)S-R'、C(=S)O-R'、C(=S)S-R'、C(=O)NR'R'、C(=S)NR'R'、NR'R'、NR'C(=O)R'、NR'C(=S)R'、NR'C(=O)OR'、NR'C(=S)OR'、NR'C(=O)SR'、NR'C(=S)SR'、OC(=O)NR'R'、SC(=O)NR'R'、OC(=S)R'R'、C(=S)R'R'、NR'C(=O)NR'R'、及びNR'C(=S)NR'R'からなる群から選択され、

30

R'及びR''は、それぞれの場合、独立して、水素、アリール、及びアルキルから選択され、

40

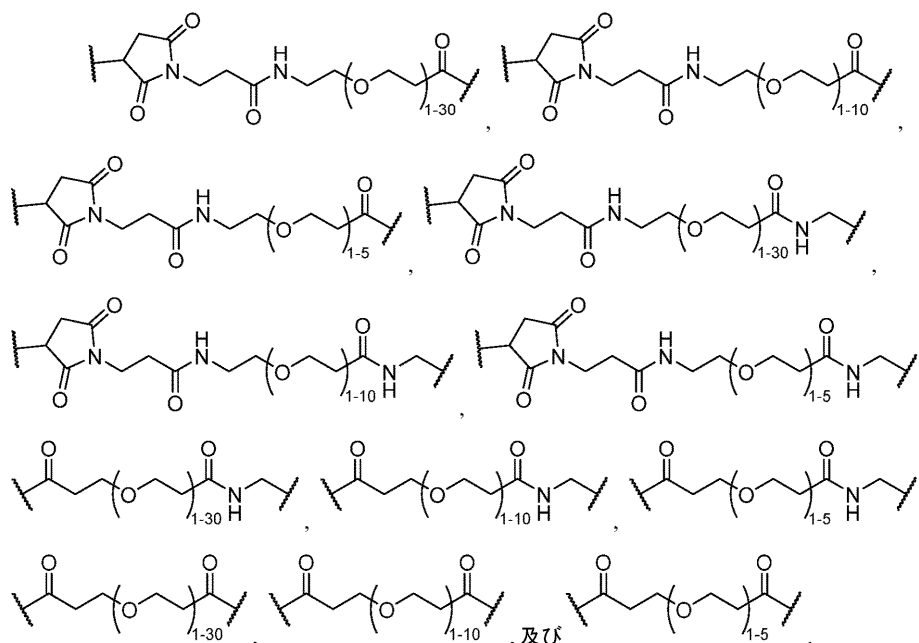
R'''は、それぞれの場合、独立して、アリール及びアルキルから選択され、

tは、それぞれの場合、独立して、0、1、2、3、又は4であり、

Xは、HER2、TROP2、ネクチン-4、クローディン-18.2、MMP9、メソテリン、FN1、FAP、TNC、又はECM、EPCAM、CEA、又はCEACAM5を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分であり、かつ、

Lは、それぞれの場合、独立して、

【化 7 3】



10

からなる群から選択されるリンカーである) の標的化部分が提供される。

20

【0272】

幾つかの実施形態において、環 A は、ピリミジニル、トリアジニル、オキサゾリル、イソオキサゾール、イミダゾリル、オキサジアゾリル、6, 7-ジヒドロ-5H-ピロロ [3, 4-d] ピリミジニル、5, 6, 7, 8-テトラヒドロピリド [4, 3-d] ピリミジニル、又は 5, 6, 7, 8-テトラヒドロピリド [3, 4-d] ピリミジニルであり、ここで、それぞれは任意に置換されていてよい。

【0273】

幾つかの実施形態において、X は、HER2、TROP2、ネクチン-4、FN1、FAP、TNC、又は ECM を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0274】

幾つかの実施形態において、X は、ゾルベツキシマブ、クローディキシマブ、アンデカリキシマブ、アネツマブ、アマツキシマブ、MMOT-0530A、L19、NJB2、F19、OMTX005、シプロツズマブ、F16、若しくは R6N、トラスツズマブ、エンホルツマブ、若しくはサシツズマブ、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

30

【0275】

幾つかの実施形態において、X は、L19、NJB2、F19、OMTX005、シプロツズマブ、F16、若しくは R6N、トラスツズマブ、エンホルツマブ、若しくはサシツズマブ、又はそれらに由来する抗体フラグメント部分である。

【0276】

幾つかの実施形態において、p は 1~100 である。幾つかの実施形態において、p は 1~75 である。幾つかの実施形態において、p は 1~50 である。幾つかの実施形態において、p は 1~30 である。幾つかの実施形態において、p は 1~20 である。幾つかの実施形態において、p は 1~10 である。幾つかの実施形態において、p は 5~10 である。幾つかの実施形態において、p は 1~15 である。幾つかの実施形態において、p は 8~12 である。

40

【0277】

幾つかの実施形態において、p は 1~12 である。幾つかの実施形態において、X は抗体である。幾つかの実施形態において、p は 1~6 又は 5~6 である。幾つかの実施形態において、X は抗体フラグメント部分 (例えば、Fab) である。

50

【0278】

幾つかの実施形態において、pは、1～10、又は1～9、又は1～8、又は1～7、又は1～6、又は1～5、又は1～4、又は1～3、又は1～2、又は2～10、又は2～9、又は2～8、又は2～7、又は2～6、又は2～5、又は2～4、又は2～3、又は3～10、又は3～9、又は3～8、又は3～7、又は3～6、又は3～5、又は3～4、又は4～10、又は4～9、又は4～8、又は4～7、又は4～6、又は4～5、又は5～10、又は5～9、又は5～8、又は5～7、又は5～6、6～10、又は6～9、又は6～8、又は6～7、7～10、又は7～9、又は7～8、8～10、又は8～9、又は9～10である。幾つかの実施形態において、Xは、抗体又は抗体フラグメント部分である。

10

【0279】

幾つかの実施形態において、pは、1～16、又は1～8、又は1～7、又は1～6、又は1～5、又は1～4、又は1～3、又は1～2である。幾つかの実施形態において、Xは抗体フラグメント部分（例えば、Fab）である。

【0280】

或る特定の実施形態において、pは、1～10、又は1～9、又は1～8、又は1～7、又は1～6、又は1～5、又は1～4、又は1～3、又は1～2、又は2～10、又は2～9、又は2～8、又は2～7、又は2～6、又は2～5、又は2～4、又は2～3、又は3～10、又は3～9、又は3～8、又は3～7、又は3～6、又は3～5、又は3～4、又は4～10、又は4～9、又は4～8、又は4～7、又は4～6、又は4～5、又は5～10、又は5～9、又は5～8、又は5～7、又は5～6、6～10、又は6～9、又は6～8、又は6～7、7～10、又は7～9、又は7～8、8～10、又は8～9、又は9～10であり、かつXは、15kDa～75kDa、又は25kDa～75kDa、又は45kDa～55kDa、又は25kDa未満、又は35kDa未満、又は45kDa未満、又は約50kDa、又は55kDa未満、又は65kDa未満、又は75kDa未満、又は75kDa超の抗体又は抗体フラグメント部分である。

20

【0281】

或る特定の実施形態において、pは、Lと共有結合を形成するX上で利用可能な結合部位のサイズ及び／又は数に依存する。或る特定の実施形態において、Xが75kDaを超える抗体又は抗体フラグメント部分である場合、pは2～6である。或る特定の実施形態において、Xが25kDaから75kDaの間の抗体又は抗体フラグメント部分である場合、pは1～4である。或る特定の実施形態において、Xが45kDaから55kDaの間の抗体又は抗体フラグメント部分である場合、pは1～4である。或る特定の実施形態において、Xが25kDa未満の抗体又は抗体フラグメント部分である場合、pは、1～3、若しくは2～3、若しくは1～2、又は約1、約2、若しくは約3である。

30

【0282】

C．支持体組成物

支持体組成物は支持体を含む。或る特定の実施形態において、支持体組成物は治療用支持体組成物である。支持体は、生体適合性、すなわち被験体の身体と適合性の支持体組成物であってよい。場合によっては、支持体は被験体に対して無毒であり、被験体における組織又は生物学的化合物と実質的に反応しない。例えば、支持体は、とりわけヒドロゲルであり得る。支持体は、被験体の体内に移植することができ、結合作用物質（例えば、テトラジン含有基）を支持することができるだけでなく、結合作用物質がコンジュゲートした後にペイロードを支持することもできる。代表的な支持体としては、限定されるものではないが、ポリマー、粘性又は非粘性の液体材料、ゲル、ヒドロゲル、多糖ヒドロゲル、架橋ポリマーマトリックス、金属、セラミック、プラスチック、骨移植片材料、アルギネート、セルロース、キトサン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン等が挙げられる。支持体としては、ナノ粒子、マイクロ粒子等のような粒子も挙げられる。

40

【0283】

ヒドロゲルは、多糖ヒドロゲル、アルギネート、セルロース、ヒアルロン酸、キトサン

50

、キトシン、キチン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン等であり得る。他の適切な糖ベースの生体材料としては、Polymer Advanced Technology, 2014, 25, 448-460に記載されるものが挙げられる。支持体として使用され得るポリマーとしては、限定されるものではないが、ポリホスファゼン、ポリ無水物、ポリアセタール、ポリ（オルトエステル）、ポリリン酸エステル、ポリカプロラクトン、ポリウレタン、ポリラクチド、ポリカーボネート、ポリアミド、及びポリエーテル、並びにそれらのブレンド／複合物／コポリマーを挙げることができる。代表的なポリエーテルとしては、限定されるものではないが、ポリ（エチレングリコール）（PEG）、ポリプロピレングリコール（PPG）、トリブロックポリロニック（ $[PEG]_n - [PPG]_m - [PEG]_n$ ）、PEGジアクリレート（PEGDA）、及びPEGジメタクリレート（PEGDMA）が挙げられる。支持体としては、コラーゲン、ゼラチン、エラスチン、及びエラスチン様ポリペプチド、アルブミン、フィブリン、ポリ（ γ -グルタミン酸）、ポリ（L-リジン）、ポリ（L-グルタミン酸）、ポリ（アスパラギン酸）等のようなタンパク質及び他のポリ（アミノ酸）を挙げることができる。

10

【0284】

幾つかの実施形態において、支持体はヒドロゲルである。幾つかの実施形態において、支持体はアルギネートである。幾つかの実施形態において、支持体はキチンである。幾つかの実施形態において、支持体はヒアルロン酸（例えば、実質的に架橋を有しない非ヒドロゲルヒアルロン酸）である。幾つかの実施形態において、支持体はキトシンである。

20

【0285】

或る特定の実施形態において、支持体は粒子である。本開示の粒子は、2 cm以下、例えば1.5 cm以下、又は1 cm以下、又は0.5 cm以下の直径を有し得る。例えば、粒子はナノ粒子又はマイクロ粒子であり得る。ナノ粒子としては、ナノメートルスケール（例えば、1000 nm以下）の平均寸法を有する粒子が挙げられる。マイクロ粒子は、マイクロメートルスケール（例えば、1000 μ m以下）の平均寸法を有する粒子である。「平均」とは算術平均を意味する。幾つかの実施形態において、ナノ粒子は、1 nm～1 μ m、例えば、10 nm～1 μ m、又は25 nm～1 μ m、又は50 nm～1 μ m、又は75 nm～1 μ m、又は100 nm～1 μ m、又は150 nm～1 μ m、又は200 nm～1 μ m、又は250 nm～1 μ m、又は300 nm～1 μ m、又は350 nm～1 μ m、又は400 nm～1 μ m、又は450 nm～1 μ m、又は500 nm～1 μ mの範囲の直径を有する。他の実施形態において、マイクロ粒子は、1 μ m～1 mm、例えば、10 μ m～1 mm、又は25 μ m～1 mm、又は50 μ m～1 mm、又は75 μ m～1 mm、又は100 μ m～1 mm、又は150 μ m～1 mm、又は200 μ m～1 mm、又は250 μ m～1 mm、又は300 μ m～1 mm、又は350 μ m～1 mm、又は400 μ m～1 mm、又は450 μ m～1 mm、又は500 μ m～1 mmの範囲の直径を有する。更なる実施形態において、10 nm～100 nm程度の直径の小さな粒子が集合して、1 μ m～10 μ m程度のクラスター又は集合体等のより大きな複合体を形成していてもよい。本開示の粒子は、実質的に球形であってよく、こうして、この粒子は実質的に円形の断面を有する。限定されるものではないが、楕円体、立方体、円柱形、円錐形、針状、又は他の不規則な形状等の他の粒子形状を使用してもよい。

30

40

【0286】

「粒子」は、あらゆる作られた材料、分子、クリプトファン、ウイルス、ファージ等の形態をとることができる。粒子は、限定されるものではないが、金属、セラミック、プラスチック、ガラス、複合物、ポリマー、ヒドロゲル等のような材料から構成されていてよい。例えば、粒子は、アルギネート又は酸化鉄等の不活性材料から構成されていてよい。幾つかの例では、粒子は磁性であってよく、常磁性材料、超常磁性材料、若しくは強磁性材料、又は磁界に応答する他の材料から形成され得る。さらに、粒子は、あらゆる形状、例えば、球、ロッド、非対称形状等であってよい。粒子、又は複合体中の幾つかの粒子の群は、臨床的に関連する基質に結合する又はそれと相互作用する特異的な親和性を有する受容体で官能化されていてよい。受容体は粒子自体に固有のものであり得る。例えば、粒

50

子自体は、或る特定の基質に対して固有の親和性を有するウイルス又はファージであってよい。追加的に又は代替的に、特定の臨床的に関連する基質に特異的に結合するか又はそうでなければこれを認識する受容体を共有結合により又は他の方法で取り付けるか又は会合させることによって、粒子を官能化することができる。官能化された受容体は、標的基質に対して規定された親和性を有する抗体、ペプチド、核酸、ファージ、細菌、ウイルス、又はあらゆる他の分子であり得る。「粒子」及び／又は「担体」に使用され得る材料の例としては、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、PLGAポリマー、アルギネート及びアルギネート誘導体、ゼラチン、コラーゲン、フィブリン、ヒアルロン酸、ラミニンリッチゲル、アガロース、天然多糖類及び合成多糖類、ポリアミノ酸、ポリペプチド、ポリエステル、ポリ無水物、ポリホスファジン、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（アルキレンオキシド）、ポリ（ア릴アミン）（PAM）、ポリ（アクリレート）、変性スチレンポリマー、ブルロニックポリオール、ポリオキサマー、ポリ（ウロン酸）、ポリ（ビニルピロリドン）、及び上記のいずれかのコポリマー又はグラフトコポリマーが挙げられる。これらの例は、それらの濃度、異なる作用物質とのそれらの架橋、それらの投与方法、それらの調整された分解プロファイル、及び当業者に既知の他の特質を限定するものではない。

10

【0287】

粒子、又は複合体中の幾つかの粒子の群は、標的（例えば、標的受容体又は細胞表面標的、例えば臨床的に関連する受容体又は細胞表面標的（例えば、抗原））に特異的に結合する（又は実質的に特異的に結合する）標的化作用物質（例えば、リガンド又は抗体）で官能化されていてよい。標的化作用物質は粒子自体に直接的に取り付けられていてよい。標的化作用物質は、標的受容体又は細胞表面標的に対して特異的な親和性を有する抗体、ペプチド、核酸、ファージ、細菌、ウイルス、又はあらゆる他の分子であり得る。場合によっては、受容体又は細胞表面標的は、PD-1、CTLA-4、HER2/neu、HER1/EGFR、VEGFR、4-1BB、GITR、又は他の細胞受容体若しくは細胞表面標的である。粒子の検出（例えば、in vivoでの検出）を補助し得る、発蛍光団又は自家蛍光マーカー若しくは発光マーカー等の他の化合物又は分子が粒子に取り付けられていてもよい。リガンド及び／又は検出可能な標識は、粒子に直接的に取り付けられていても、又は本明細書に記載される生体直交型官能基を介して粒子に取り付けられていてもよい。

20

【0288】

或る特定の実施形態において、支持体は、骨移植代替材料等の骨移植材料である。骨移植代替材料は、骨と構造的に類似した材料である。場合によっては、骨移植代替材料は生体吸収性であり、こうして、骨移植代替材料は、時間の経過とともに体内で溶解し得るか、又は吸収され得る。骨移植代替材料は、骨移植代替材料内への血管及び新しい骨形成が促進されるように、骨伝導性であり得る。場合によっては、骨移植代替材料は、周囲組織からの間葉系幹細胞の積極的な動員を通じて新しい骨の形成が促進されるように、骨誘導性である。例えば、骨形成タンパク質等の成長因子が骨移植代替材料に含まれていてよい。骨移植代替材料としては、限定されるものではないが、ヒドロキシアパタイト、リン酸三カルシウム、脱灰骨基質、ウシコラーゲン、硫酸カルシウム、リン酸カルシウム、海綿骨チップ等、及びそれらの組合せが挙げられる。

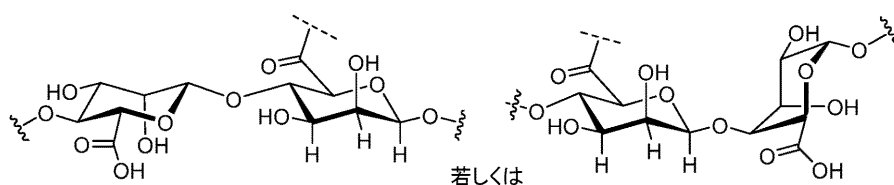
30

40

【0289】

或る特定の実施形態において、支持体組成物は、式：

【化74】



（式中、破線は、Lへの結合を表す）の単位を有する置換アルギネート、又はその塩を含

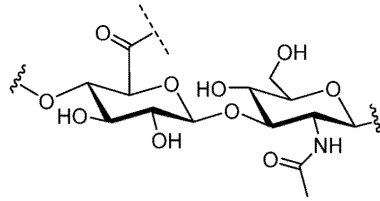
50

む。

【0290】

幾つかの実施形態において、支持体組成物は、式：

【化75】



10

（式中、破線は、Lへの結合を表す）の単位を有する置換ヒアルロン酸、又はその塩を含む。

【0291】

ヒアルロン酸誘導体としては、複数のグルクロン酸単位と、ヒアルロン酸のグルクロン酸単位に連結された又は直接的に結合されたテトラジン含有基とを有するヒアルロン酸が挙げられる。ヒアルロン酸は、複数のN-アセチルグルコサミン単位を有していてもよい。或る特定の実施形態において、ヒアルロン酸のN-アセチルグルコサミン単位は、テトラジン含有基に連結又はコンジュゲートされていない。

【0292】

テトラジン含有基は、グルクロン酸単位のカルボン酸を介して連結され得るか、又は直接的に結合され得る。テトラジン含有基はヒアルロン酸へと、テトラジン含有基に連結又はコンジュゲートされているカルボン酸の%により測定されて約0.1%～約80%で、例えば、テトラジン含有基のLに連結又はコンジュゲートされているカルボン酸の%により測定されて約1%～約75%、約5%～約75%、約10%～約50%、又は約40%～約75%で組み込まれ得る。

20

【0293】

追加の支持体組成物は、国際公開第2017/044983号、国際公開第2015/139025号、及び国際公開第2014/205126号（それぞれの全内容は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）に例示されている。

30

【0294】

D. トランス-シクロオクテン官能化プロドラッグ

抗癌剤のプロドラッグを含むトランス-シクロオクテン官能化プロドラッグは、国際公開第2018/187740号、国際公開第2014/205126号、国際公開第2015/139025号、及び国際公開第2017/044983号（これらは引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されるように、当該技術分野において知られている。トランス-シクロオクテン官能化プロドラッグを使用する更なる実施形態を以下に続ける。

【0295】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン官能化プロドラッグは、1つ以上のトランス-シクロオクテン部分に連結されたペイロードから構成されるコンジュゲートである。

40

【0296】

幾つかの実施形態において、コンジュゲート（又はトランス-シクロオクテン官能化プロドラッグ）は、例えば、サイトカイン、ケモカイン、ケモカインアンタゴニスト、治療用モノクローナル抗体、及び免疫チェックポイントペイロードからなる群から選択される免疫調節剤ペイロード、又はそれらの薬学的に許容可能な塩等の免疫調節剤ペイロードを含む。

【0297】

幾つかの実施形態において、免疫調節剤ペイロードは、サイトカインペイロードの阻害

50

剤、又はその薬学的に許容可能な塩である。

【0298】

幾つかの実施形態において、サイトカインペイロードの阻害剤は、TNF- α 、インフリキシマブ、セルトリズマブ、TGFB- β 、ガルニセルチブ、フレソリムマブ、M7824、CSF-1、ベキシダルチニブ、又はカビラリズマブの阻害剤である。

【0299】

幾つかの実施形態において、コンジュゲートは、モノクローナル抗体、又はその薬学的に許容可能な塩を含む。

【0300】

幾つかの実施形態において、コンジュゲートは、治療用タンパク質ペイロード、又はその薬学的に許容可能な塩を含む。

【0301】

幾つかの実施形態において、治療用タンパク質ペイロードは、抗体ベースの薬物、Fc融合タンパク質、抗凝固剤、血液因子、骨形成タンパク質、人工タンパク質足場、酵素、成長因子、ホルモン、インターフェロン、インターロイキン、又は血栓溶解薬である。

【0302】

幾つかの実施形態において、治療用タンパク質ペイロードは、サイトカイン、ケモカイン、成長因子、ホルモン、抗体、又は抗原である。

【0303】

幾つかの実施形態において、治療用タンパク質ペイロードは、エリスロポエチン（EPO、例えば、天然EPO又は合成EPO（例えば、米国特許出願公開第2003/0191291号を参照）、例えば、限定されるものではないが、PROCRIIT（商標）、EPREX（商標）、又はEPOGEN（商標）（エポエチン- α ）、ARANESP（商標）（ダルベポエチン- α ）、NEORECORMON（商標）、EPOGIN（商標）（エポエチン- β ）等）、成長ホルモン（例えば、ソマトトロピン、例えば、GENOTROPIN（商標）、NUTROPIN（商標）、NORDITROPIN（商標）、SAIZEN（商標）、SEROSTIM（商標）、HUMATROPE（商標）等）、治療用モノクローナル抗体（例えば、アテゾリズマブ、アベルマブ、ベバシズマブ、セミプリマブ、セツキシマブ、ダラツムマブ、ジヌツキシマブ、デュルバルマブ、エロツズマブ、イピリムマブ、イサツキシマブ、モガムリズマブ、ネシツムマブ、ニボルマブ、オビヌツズマブ、オフアツムマブ、オララツマブ、パニツムマブ、ペムブロリズマブ、ペルツズマブ、ラムシルマブ、リツキシマブ、トラスツズマブ等）、ヒト成長ホルモン（hGH）、ウシ成長ホルモン（bGH）、卵胞刺激ホルモン（FSH）、インターフェロン（例えば、IFN- γ 、IFN- α 、IFN- β 、IFN- ω 、IFN- τ 、コンセンサスインターフェロン等）、インスリン（例えば、ノボリン、ヒューマリン、ヒューマログ、ランタス、ウルトラレンテ等）、インスリン様成長因子（例えば、IGF-I、IGF-II）、血液因子（例えば、第X因子、組織プラスミノゲン活性化因子（TPA）等、例えば、限定されるものではないが、例えば、ACTIVASE（商標）（アルテプラゼ）組織プラスミノゲン活性化因子、NOVOSEVEN（商標）（組換えヒト第VIIa因子）、第VIIa因子、第VIII因子（例えば、KOGENATE（商標））、第IX因子、 β グロビン、ヘモグロビン等）、コロニー刺激因子（例えば、顆粒球-CSF（G-CSF、例えば、NEUPOGEN（商標）（フィルグラスチム））、マクロファージ-CSF（M-CSF）、顆粒球-マクロファージ-CSF（GM-CSF）、Neulasta（ペグフィルグラスチム）、顆粒球-単球コロニー刺激因子、巨核球コロニー刺激因子等）、トランスフォーミング成長因子（例えば、TGFB- β 、TGFB- α ）、インターロイキン（例えば、IL-1、IL-2（例えば、Proleukin（商標））、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IE-12等）、成長因子（例えば、上皮成長因子（EGF）、血小板由来成長因子（PDGF、例えば、REGRANEX（商標）（ベクラベルミン））、線維芽細胞成長因子（FGF、例えば、aFGF、bFGF、例えば、FIBLAST（商標）（トラフェルミン））

10

20

30

40

50

、グリア細胞株由来成長因子（GDNF）、神経成長因子（NGF）、幹細胞因子（例えば、STEMGEN（商標）（アンセスチム））、ケラチノサイト成長因子、肝細胞成長因子等）、可溶性受容体（例えば、TNF- α 結合可溶性受容体、例えば、ENBRELE（商標）（エタネルセプト）、可溶性VEGF受容体、可溶性インターロイキン受容体、可溶性 γ/δ T細胞受容体等）、酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ、CERAZYME（商標）（イミグルカラーゼ、 β -グルコセレブロシダーゼ、CEREDASE（商標）（アルグルセラゼ）、酵素活性化因子（例えば、組織プラスミノゲン活性化因子）、ケモカイン（例えば、IP-10、Mig、Gro α /IL-8、制御及び正常T細胞の発現及び分泌（regulated and normal T cell expressed and secreted）（RANTES）、MIP-1 α 、MIP-1 ρ 、MCP-1、PF-4等）、血管形成剤（例えば、血管内皮成長因子（VEGF）、抗血管形成剤（例えば、可溶性VEGF受容体）、タンパク質ワクチン、神経活性ペプチド、例えば、ブラジキニン、コレシストキニン、ガスチン、セクレチン、オキシトシン、ゴナドトロピン放出ホルモン、 β -エンドルフィン、エンケファリン、サブスタンスP、ソマトスタチン、ガラニン、成長ホルモン放出ホルモン、ボンベシン、ワーファリン、ダイノルフィン、ニューロテンシン、モチリン、チロトロピン、神経ペプチドY、黄体形成ホルモン、カルシトニン、インスリン、グルカゴン、バソプレシン、アンジオテンシンII、チロトロピン放出ホルモン、血管作動性腸管ペプチド、睡眠ペプチド等、他のタンパク質、例えば、血栓溶解剤、心房性ナトリウム利尿ペプチド、骨形成タンパク質、トロンボポエチン、リラキシン、グリア線維性酸性タンパク質、卵胞刺激ホルモン、ヒト α -1抗トリプシン、白血病抑制因子、トランスフォーミング成長因子、組織因子、インスリン様成長因子、黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン、マクロファージ活性化因子、腫瘍壊死因子、好中球走化性因子、神経成長因子、メタロプロテイナーゼの組織阻害剤、血管作動性腸管ペプチド、アンジオゲニン、アンジオトロピン、フィブリン、ヒルジン、白血病抑制因子、又はIL-1受容体アンタゴニスト（例えば、Kineret（商標）（アナキンラ））等のペイロードである。

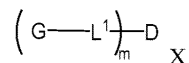
10

20

【0304】

幾つかの実施形態において、コンジュゲートは、式X：

【化76】



30

（式中、

mは、1～150の整数であり、

Gは、それぞれの場合、独立して、任意に置換されたトランス-シクロオクテン部分であり、

Dは、ペイロードであり、

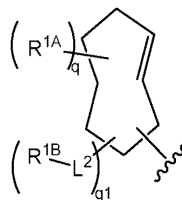
L¹は、それぞれの場合、独立して、リンカーである）のコンジュゲート、又はその薬学的に許容可能な塩である。

【0305】

本明細書に記載されるコンジュゲートの幾つかの実施形態において、それぞれのトランス-シクロオクテン部分は、独立して、

40

【化77】



（式中、

50

R^{1A} は、それぞれの場合、独立して、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、及び $C_1 \sim 4$ アルコキシからなる群から選択され、

q は、0、1、又は2であり、

q_1 は、0又は1であり、

R^{1B} は、それぞれの場合、独立して、 G^1 、 $-OH$ 、 $-NR^{1c}-C_1 \sim 4$ アルキレン- G^1 、 $-NR^{1c}-C_1 \sim 4$ アルキレン- $N(R^{1d})_2$ 、 $-NR^{1c}-C_1 \sim 6$ アルキレン- $N(C_1 \sim 4$ アルキル) $_3^+$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})-C_1 \sim 6$ アルキレン- CO_2H 、 $-N(R^{1f})-C_2 \sim 4$ アルキレン- $(N(C_1 \sim 4$ アルキレン- $CO_2H)-C_2 \sim 4$ アルキレン) $_n$ - $N(C_1 \sim 4$ アルキレン- $CO_2H)_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_1 \sim 6$ アルキル、 $-N(R^{1c})-C_1 \sim 6$ アルキレン- $C(O)OC_1 \sim 6$ アルキル、 $-N(R^{1f})-C_2 \sim 4$ アルキレン- $(N(C_1 \sim 4$ アルキレン- $C(O)OC_1 \sim 6$ アルキル)- $C_2 \sim 4$ アルキレン) $_n$ - $N(C_1 \sim 4$ アルキレン- $C(O)OC_1 \sim 6$ アルキル) $_2$ 、 $-N(R^{1c})-C_1 \sim 6$ アルキレン- SO_3H 、 $-N(R^{1c})-(CH_2CH_2O)_{1 \sim 3}-CH_2CH_2N((CH_2CH_2O)_{1 \sim 3}-C_1 \sim 6$ アルキレン- $CO_2H)_2$ 、及び $-N(R^{1c})-CH(CH_2O-(CH_2CH_2O)_{0 \sim 2}-C_1 \sim 6$ アルキレン- $CO_2H)_2$ からなる群から選択され、

10

R^{1c} 及び R^{1d} は、それぞれの場合、独立して、水素又は $C_1 \sim 4$ アルキルであり、

R^{1e} は、それぞれの場合、独立して、 $-C_1 \sim 4$ アルキレン- CO_2H 、 $-C_1 \sim 4$ アルキレン- $CONH_2$ 、又は $-C_1 \sim 4$ アルキレン- OH であり、

R^{1f} は、それぞれの場合、独立して、水素、 $C_1 \sim 6$ アルキル、又は $C_1 \sim 4$ アルキレン- CO_2H であり、

20

n は、それぞれの場合、独立して、0、1、2、又は3であり、

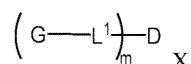
L^2 は、それぞれの場合、独立して、 $-C(O)-$ 及び $C_1 \sim 3$ アルキレンからなる群から選択され、かつ、

G^1 は、それぞれの場合、独立して、任意に置換されたヘテロシクリルである) である。

【0306】

幾つかの実施形態において、コンジュゲートは、式 X：

【化78】

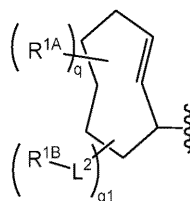


30

(式中、

G は、トランス-シクロオクテン部分であり、かつ G は、それぞれの場合、独立して、

【化79】



40

であり、

L^1 は、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、

m は、1～150の整数であり、

D は、ペイロードであり、

R^{1A} は、それぞれの場合、独立して、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、及び $C_1 \sim 4$ アルコキシからなる群から選択され、

q は、0、1、又は2であり、

q_1 は、0又は1であり、

R^{1B} は、それぞれの場合、独立して、 G^1 、 OH 、 $-NR^{1c}-C_1 \sim 4$ アルキレン- G

50

1 、 $-NR^{1c}-C_1\sim 4$ アルキレン $-N(R^{1d})$ 2 、 $-NR^{1c}-C_1\sim 6$ アルキレン $-N(C_1\sim 4$ アルキル) $_3^+$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})-C_1\sim 6$ アルキレン $-CO_2H$ 、 $-N(R^{1f})-C_2\sim 4$ アルキレン $-(N(C_1\sim 4$ アルキレン $-CO_2H)-C_2\sim 4$ アルキレン) $_n$ $-N(C_1\sim 4$ アルキレン $-CO_2H)$ 2 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_1\sim 6$ アルキル、 $-N(R^{1c})-C_1\sim 6$ アルキレン $-C(O)OC_1\sim 6$ アルキル、 $-N(R^{1f})-C_2\sim 4$ アルキレン $-(N(C_1\sim 4$ アルキレン $-C(O)OC_1\sim 6$ アルキル) $-C_2\sim 4$ アルキレン) $_n$ $-N(C_1\sim 4$ アルキレン $-C(O)OC_1\sim 6$ アルキル) 2 、 $-N(R^{1c})-C_1\sim 6$ アルキレン $-SO_3H$ 、 $-N(R^{1c})-(CH_2CH_2O)_{1\sim 3}-CH_2CH_2N((CH_2CH_2O)_{1\sim 3}-C_1\sim 6$ アルキレン $-CO_2H)$ 2 、及び $-N(R^{1c})-CH(CH_2O-(CH_2CH_2O)_{0\sim 2}-C_1\sim 6$ アルキレン $-CO_2H)$ 2 からなる群から選択され、
 R^{1c} 及び R^{1d} は、それぞれの場合、独立して、水素又は $C_1\sim 4$ アルキルであり、
 R^{1e} は、それぞれの場合、独立して、 $-C_1\sim 4$ アルキレン $-CO_2H$ 、 $-C_1\sim 4$ アルキレン $-CONH_2$ 、又は $-C_1\sim 4$ アルキレン $-OH$ であり、
 R^{1f} は、それぞれの場合、独立して、水素、 $C_1\sim 6$ アルキル、又は $C_1\sim 4$ アルキレン $-CO_2H$ であり、
 n は、それぞれの場合、独立して、 0 、 1 、 2 、又は 3 であり、
 L^2 は、それぞれの場合、独立して、 $-C(O)-$ 及び $C_1\sim 3$ アルキレンからなる群から選択され、かつ、
 G^1 は、それぞれの場合、独立して、任意に置換されたヘテロシクリルである) のコンジュゲート、又はその薬学的に許容可能な塩である。

10

20

【0307】

幾つかの実施形態において、 q_1 は 1 である。

【0308】

幾つかの実施形態において、ペイロードは免疫調節剤ペイロードである。

【0309】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、治療用モノクローナル抗体、サイトカイン、ケモカイン、ケモカインアンタゴニスト、及び免疫チェックポイント阻害剤ペイロード、又はそれらの薬学的に許容可能な塩である。

【0310】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、癌を治療する治療剤（例えば、ドキソルビシン、ダウノルビシン、 $PNU-159682$ 、エトポシド、イリノテカン、 $SN-38$ 、ドセタキセル、パクリタキセル、バツカチンIII、ゲムシタビン、ポドフィロトキシン、カルムスチン、イキサベピロン、パツピロン（エポセロン（epothelone）クラス）、プラチナ剤、エキサテカン、アウリスタチン（ドラスタチン10、 $MMAE$ 、 $MMA D$ 、 $MMA F$ ）、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアザペン（pyrrolobenzodiazapene）二量体、マイトマイシンC、ブレオマイシン、カリケアミシン、スタウロスポリン、ヘミアステリン）、免疫抑制薬（例えば、シクロスポリンA、ラパマイシン等）、抗真菌剤（例えば、アンホテリシン等）、抗生物質（例えば、バンコマイシン、ダプトマイシン、ドキシサイクリン、セフトリアキソン、トリメトプリム、スルファメトキサゾール、アシクロビル、ナイスチン、アムホテリシンB、フルシトシン、エムトリシタビン、ゲンタマイシン、コリスチン等）、マトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）阻害剤、 L -ドーパ、オセルタミビル、セファレキシン、5-アミノレブリン酸、システイン、セレコキシブ、ニモジピン、バンコマイシン、ダプトマイシン、及び環状アデノシンモノホスファチジル（ $c-AMP$ ）から選択される。

30

40

【0311】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、癌を治療する治療剤（例えば、パクリタキセル、ドキソルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、イリノテカン、 $SN-38$ 、ドセタキセル、パクリタキセル、ゲムシタビン、ポドフィロトキシン、カルムスチン、イキサベピロン、パツピロン（エポセロンクラス）、プラチナ剤、エキサテカン、アウリスタチ

50

ン（ドラスタチン10、MMAE、MMAD、MMAF）、マイトマイシンC、ブレオマイシン、カリケアミシン、スタウロスポリン、ヘミアステリン等）、免疫抑制薬（例えば、シクロスポリンA、ラパマイシン等）、抗真菌剤（例えば、アンホテリシン等）、抗生物質（例えば、バンコマイシン、ダプトマイシン、ドキシサイクリン、セフトリアキソン、トリメトプリム、スルファメトキサゾール、アシクロビル、ナイスタチン、アムホテリシンB、フルシトシン、エムトリシタピン、ゲンタマイシン、コリスチン等）、ルルビネクテジン、ガルジキモド、マトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）阻害剤、レードーパ、オセルタミビル、セファレキシン、5-アミノレブリン酸、システイン、セレコキシブ、ニモジピン、バンコマイシン、ダプトマイシン、及び環状アデノシンモノホスファチジル（c-AMP）から選択される。

10

【0312】

ペイロードへの言及は、元の未変更のペイロードの水素原子又は非水素原子を含む1個以上の原子が1つ以上のリンカーへの共有結合によって置き換えられることを意味する。ペイロードは既知の核ペイロードに由来し、リンカーを介して少なくとも1つの任意に置換されたトランス-シクロオクテンに共有結合するように変更されている。ペイロードは、本明細書に記載される化合物に到達するように変更した後でも、元の未変更のペイロードにおいて観察された生物学的活性と同等の生物学的活性を維持する。或る特定の実施形態において、ペイロードは、元の未変更のペイロードにおいて観察された結合活性又は阻害の少なくとも約98%、約95%、約90%、約85%、約80%、約75%、約70%、約65%、約60%、約55%、又は約50%である結合活性又は阻害を示す。

20

【0313】

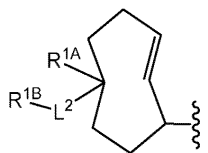
或る特定の実施形態において、元の未変更のペイロードのヘテロ原子（例えば、N、O、又はS）に結合された水素原子がリンカーへの共有結合によって置き換えられている。或る特定の実施形態において、ペイロード上のハロゲン原子が置き換えられて、化合物の残部に取り付けられる。或る特定の実施形態において、ペイロード上の水素原子が置き換えられて、化合物の残部に取り付けられる。或る特定の実施形態において、水素原子はヘテロ原子上にある。或る特定の実施形態において、水素原子は窒素上にある。或る特定の実施形態において、水素原子は酸素上にある。或る特定の実施形態において、水素原子は炭素上にある。

30

【0314】

幾つかの実施形態において、Gは、それぞれの場合、独立して、

【化80】

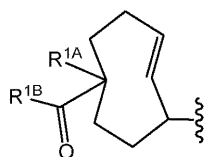


である。

【0315】

幾つかの実施形態において、Gは、それぞれの場合、独立して、

【化81】



である。

【0316】

幾つかの実施形態において、ペイロードはモノクローナル抗体ペイロードである。本明細書においてペイロードとして使用されるモノクローナル抗体は、モノクローナル抗体全

50

体、又はそのフラグメント（例えば、抗原結合フラグメント（Fab））であり得る。幾つかの実施形態において、抗体は免疫細胞エンゲージャーであり、それ自体で免疫応答を誘導又は誘発することとなる。幾つかの実施形態において、モノクローナル抗体又はそのフラグメントは、CD3（NCBI遺伝子ID916）、CD28（NCBI遺伝子ID940）、CD137（4-1BB）（NCBI遺伝子ID3604）、CD16（NCBI遺伝子ID2214）、NKG2D（NCBI遺伝子ID22914）、CD64（NCBI遺伝子ID2209）、GITR/TNFRSF18（NCBI遺伝子ID8487）、CD25（NCBI遺伝子ID3559）、CD40（NCBI遺伝子ID958）、CD4（NCBI遺伝子ID920）、CXCR4（NCBI遺伝子ID7852）、G-CSFR（NCBI遺伝子ID1441）、GM-CSFR（NCBI遺伝子ID1438）、CD122（NCBI遺伝子ID3560）、PD1（NCBI遺伝子ID5133）、CTLA4（NCBI遺伝子ID1493）、LAG3（NCBI遺伝子ID3902）、TIGIT（NCBI遺伝子ID201633）、NCR1（NCBI遺伝子ID9437）、TIM3（NCBI遺伝子ID84868）、VISTA（NCBI遺伝子ID64115）、CD134（NCBI遺伝子ID7293）、CD27（NCBI遺伝子ID939）、CD40L（NCBI遺伝子ID959）、ICOS（NCBI遺伝子ID29851）、BAFFR（NCBI遺伝子ID115650）、LFA-1（NCBI遺伝子ID3689）、又はBTLA（NCBI遺伝子ID15188）の1つ以上を標的とする。

10

20

【0317】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、OKT3、SP34、UCHT1、テブリズマブ、オテリキシマブ、ビシリズマブ、若しくはフォラルマブ等のCD3を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0318】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、セラリズマブ、TGN1412、若しくはFR104等のCD28を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0319】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、ウトミルマブ、ウレルマブ、LVGN6051、若しくはAGEN2373等のCD137（4-1BB）を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

30

【0320】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、AFM13等のCD16を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0321】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、NNC0152-0002若しくはJNJ-64304500等のNKG2Dを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0322】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、H22等のCD64を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

40

【0323】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、MK-4166、TRX518、MS-986156、AMG-228、若しくはINCAGN01876等のGITR/TNFRSF18を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0324】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、ダクリズマブ、RG6292、バシリキシマブ、若しくはHuMax-TAC等のCD25を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

50

【0325】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、イスカリマブ、ABBV-323、ブレセルマブ (ASKP-1240)、BI-655064、FFP-104、BMS986090、ダセツズマブ、若しくはルカツムマブ等のCD40を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0326】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、MAX.16H5、IT1208、ザノリムマブ (HuMax-CD4)、UB-421、若しくはMTRX1011A等のCD4を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

10

【0327】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、F50067等のCXCR4を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0328】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、CSL324等のG-CSFRを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0329】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、マブリリムマブ等のGM-CSFRを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

20

【0330】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、Hu-Mik (β) 1等のCD122を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0331】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、CC-90006、セミプリマブ、カムレリズマブ、若しくはTSR-042等のPD-1を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0332】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、トレメリムマブ若しくはイピリムマブ等のCTLA4を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

30

【0333】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、レマトリマブ (BMS-986016)、GSK2831781、セミプリマブ (REGN3767)、ファベゼリマブ、イエラミリマブ、若しくはマベゼリマブ等のLAG3を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0334】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、BMS-986207、チラゴルマブ、ビボストリマブ、エチギリマブ、ドムバナリマブ、ASP-8374、IBI939、BGB-A1217、COM902、若しくはM6223等のTIGITを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

40

【0335】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、hNKp46.02等のNCR1を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0336】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、コボリマブ、Sym023、LY3321367、BMS-986258、SHR-1702、サバトリマブ、若しくはINCAGN02390等のTIM3を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

50

【0337】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、SG7、K01401-020、CI-8993、若しくはJNJ-61610588等のVISTAを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0338】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、KHK4083若しくはISB830等のCD134を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0339】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、バルリルマブ、MK-5890、若しくはCDX-527等のCD27を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

10

【0340】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、ダピロリズマブ等のCD40Lを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0341】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、MEDI-570、KY1044、JTX-2011、若しくはGSK3359609等のICOSを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0342】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、イアナルマブ等のBAFFRを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

20

【0343】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、エファリズマブ等のLFA-1を標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらの抗体フラグメントである。

【0344】

或る特定の実施形態において、ペイロードは、イカトリマブ等のBTLAを標的とする抗体若しくは抗体フラグメント、又はそれらに由来する抗体フラグメントである。

【0345】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、抗CD3 (α CD3) モノクローナル抗体、又はその誘導体若しくは類縁体である。幾つかの実施形態において、抗CD3 (α CD3) モノクローナル抗体は、SP34、UCHT1、若しくはOKT3、又はそれらの誘導体若しくは類縁体である。

30

【0346】

幾つかの実施形態において、少なくとも1つのペイロードは、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ(PARP)の阻害剤、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン(PBD)、ヘミアステリン、HTI-286、抗CD3 (α CD3) モノクローナル抗体、ルルビネクテジン、MSA-2、ガルジキモド、シプロフロキサシン、パクリタキセル、ゲムシタビン、マイトマイシンC、エトポシド、エキサテカン、及びMMAE、又はそれらの誘導体若しくは類縁体から選択される。

40

【0347】

幾つかの実施形態において、Dは、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ(PARP)の阻害剤、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン(PBD)、ヘミアステリン、HTI-286、及び抗CD3 (α CD3) モノクローナル抗体、又はそれらの誘導体若しくは類縁体から選択されるペイロードである。

【0348】

幾つかの実施形態において、少なくとも1つのペイロードは、ルルビネクテジン、MSA-2、ガルジキモド、シプロフロキサシン、パクリタキセル、ゲムシタビン、マイトマイシンC、エトポシド、エキサテカン、セコデュオカルマイシンSA、及びMMAE、又はそれらの誘導体若しくは類縁体から選択される。

50

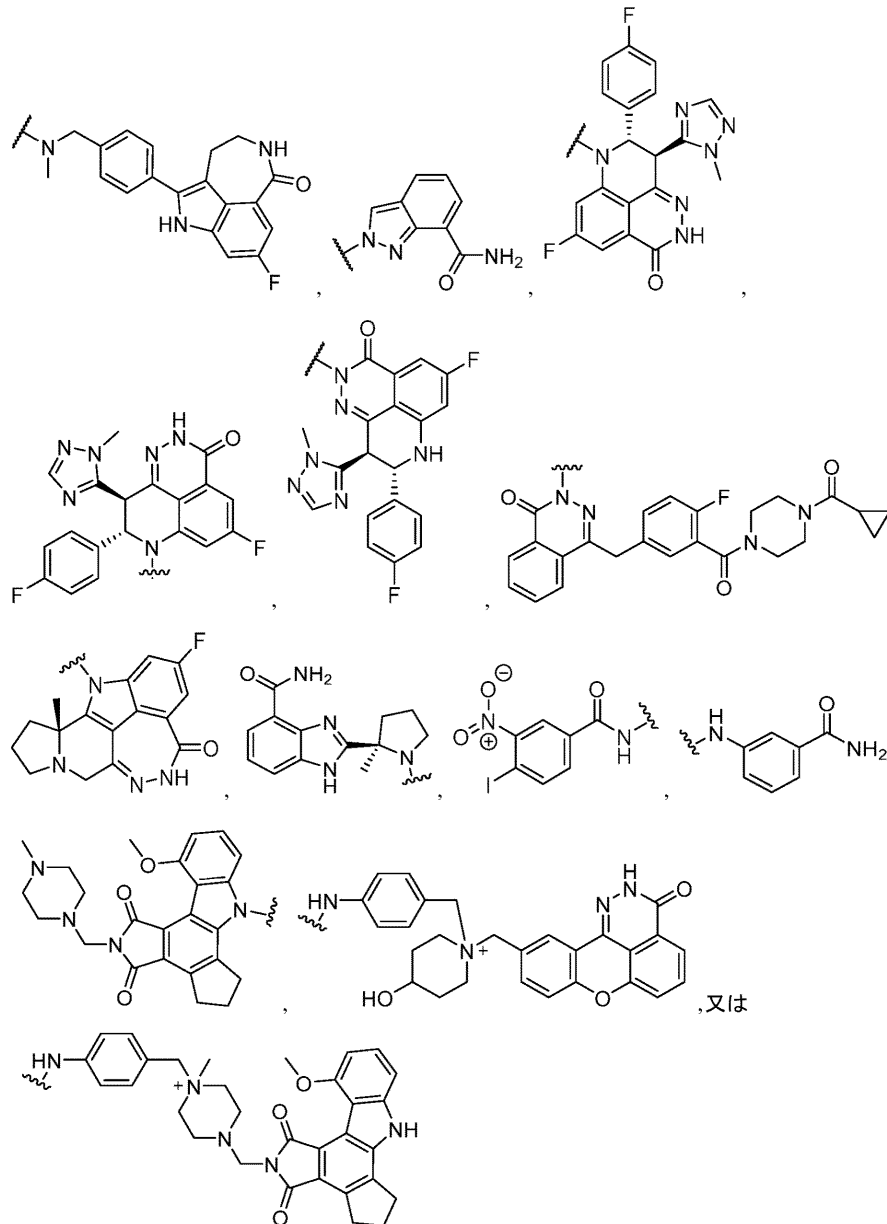
【0349】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ（PARP）の阻害剤、又はその誘導体若しくは類縁体である。幾つかの実施形態において、ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼの阻害剤（PARP阻害剤）は、ニラパリブ、タラゾパリブ、オラパリブ、パミパリブ、ルカパリブ、ベリパリブ、イニパリブ、3-アミノベンズアミド、CEP-9722、E7016、又はそれらの誘導体若しくは類縁体である。

【0350】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【化82】



である。

【0351】

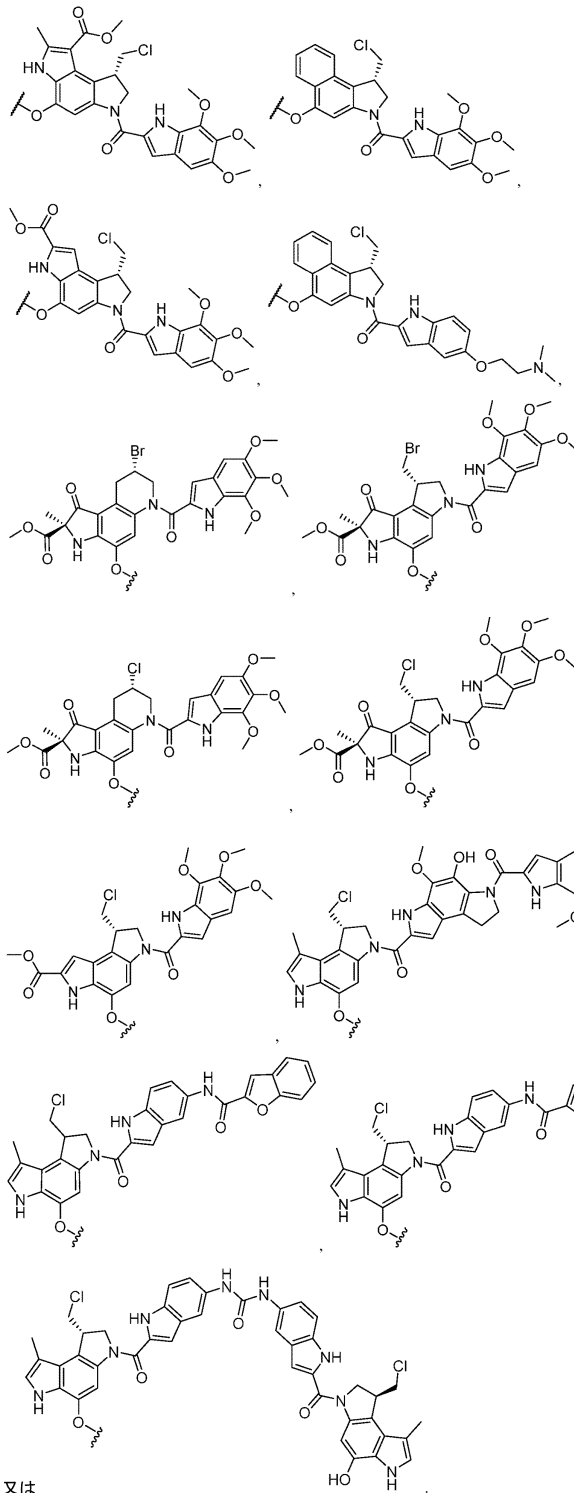
幾つかの実施形態において、ペイロードは、デュオカルマイシン、又はその誘導体若しくは類縁体である。幾つかの実施形態において、デュオカルマイシンは、デュオカルマイシンA、デュオカルマイシンB1、デュオカルマイシンB2、デュオカルマイシンC1、デュオカルマイシンC2、デュオカルマイシンD、デュオカルマイシンSA、CC-1065、アドゼレシン、カルゼレシン、ビゼレシン、又はそれらの誘導体若しくは類縁体で

ある。

【 0 3 5 2 】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【 化 8 3 】



又は

である。

【 0 3 5 3 】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、ピロロベンゾジアゼピン（PBD）、又はその誘導体若しくは類縁体である。幾つかの実施形態において、ピロロベンゾジアゼピン（PBD）は、[1 , 2] ジアゼピノ [3 , 4 - e] インドール、又はその誘導体若しくは類縁体である。

10

20

30

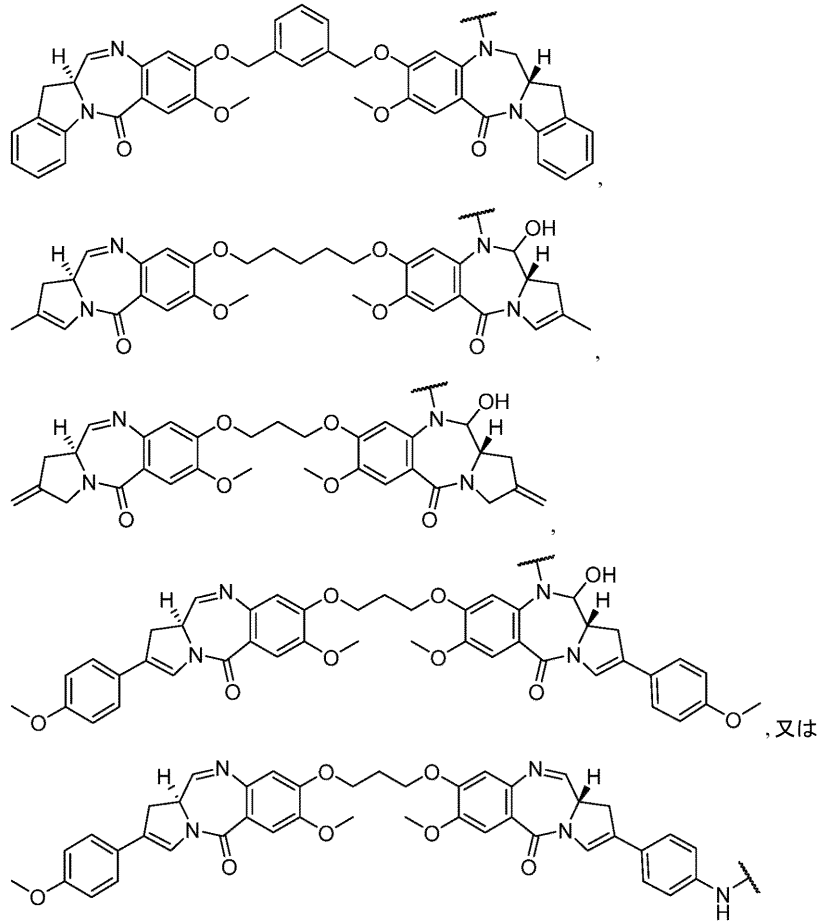
40

50

【 0 3 5 4 】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【化 8 4 】



である。

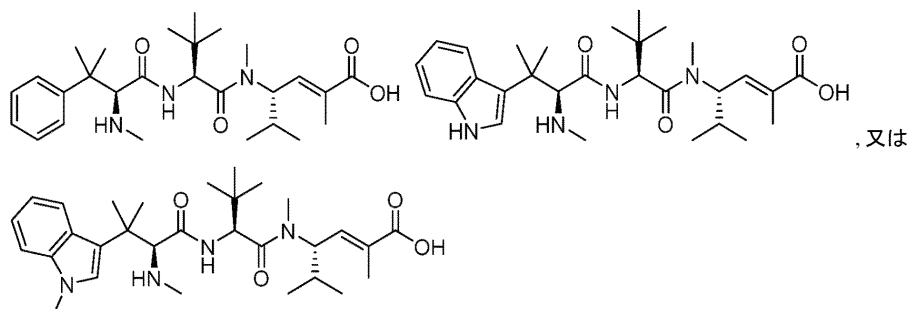
【 0 3 5 5 】

幾つかの実施形態において、ペイロードはチューブリン重合の阻害剤である。幾つかの実施形態において、ペイロードは、ヘミアステリン、HTI-286、又はそれらの誘導体若しくは類縁体である。

【 0 3 5 6 】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【化 8 5 】



から誘導される。

【 0 3 5 7 】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

10

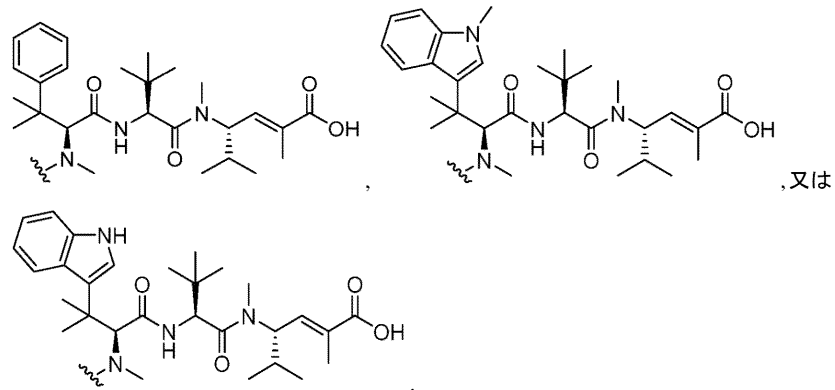
20

30

40

50

【化 8 6】



10

である。

【 0 3 5 8】

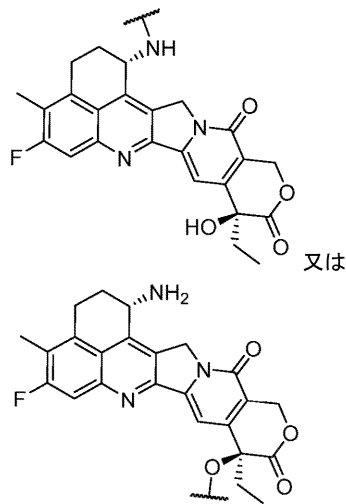
幾つかの実施形態において、ペイロードはトポイソメラーゼ阻害剤を含む。幾つかの実施形態において、ペイロードは、カンプトテシン、又はその誘導体若しくは類縁体を含む。幾つかの実施形態において、ペイロードは、トポテカン、イリノテカン、シラテカン、コシテカン、エキサテカン、ルルトテカン、ギマテカン、ベロテカン、又はルビテカンを含む。

【 0 3 5 9】

20

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【化 8 7】



30

を含む。

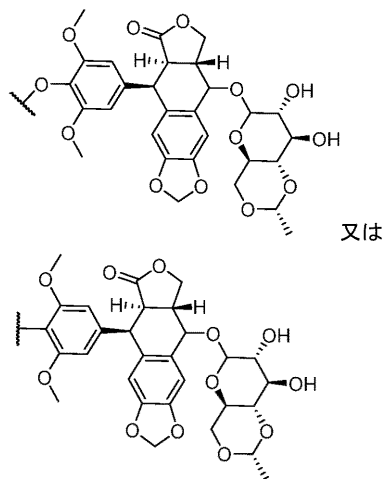
【 0 3 6 0】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

40

50

【化 8 8】



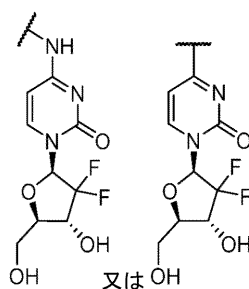
10

を含む。

【0 3 6 1】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【化 8 9】



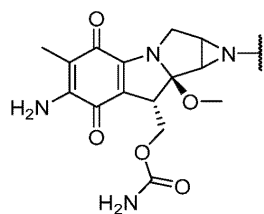
20

を含む。

【0 3 6 2】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【化 9 0】



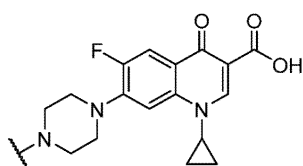
30

を含む。

【0 3 6 3】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【化 9 1】



40

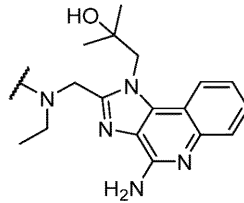
を含む。

50

【0364】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【化92】



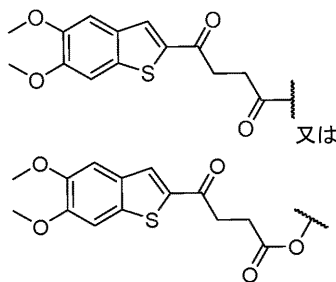
10

を含む。

【0365】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、

【化93】



20

を含む。

【0366】

幾つかの実施形態において、ペイロードはポリペプチドを含む。幾つかの実施形態において、ポリペプチドは、1つ以上のリジン残基、セリン残基、トレオニン残基、又はチロシン残基を含む。幾つかの実施形態において、リンカー¹は、ペイロード上に存在するリジン残基、セリン残基、トレオニン残基、又はチロシン残基に共有結合されている。幾つかの実施形態において、ポリペプチドは1つ以上のリジン残基を含む。幾つかの実施形態において、リンカー¹は、ペイロード上に存在するリジン残基に共有結合されている。

30

【0367】

幾つかの実施形態において、ペイロードはN末端アミノ酸を含み、ここで、リンカー¹はN末端アミノ酸に共有結合されている。

【0368】

幾つかの実施形態において、mは1～20である。

【0369】

幾つかの実施形態において、ペイロードは免疫調節剤ペイロードである。

【0370】

幾つかの実施形態において、免疫調節剤ペイロードは抗体ペイロードである。

【0371】

幾つかの実施形態において、免疫調節剤ペイロードは免疫チェックポイント阻害剤ペイロードである。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペイロードは、ピディリズマブ、シンチリマブ、AMP-224、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、BMS-936559、トレメリムマブ、インドキシモド、エパカドスタット、TIGIT阻害剤（例えば、抗LAG-3抗体等のLAG-3、抗TIM-3抗体等のTIM-3）、B7分子、又はBTLA経路アンタゴニストのペイロードである。

【0372】

幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペイロードは免疫チェックポ

40

50

イント阻害剤抗体ペイロードである。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤抗体ペイロードはPD-1阻害剤ペイロードである。幾つかの実施形態において、PD-1阻害剤ペイロードは、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピディリズマブ、シンチリマブ、又はAMP-224のペイロードである。

【0373】

幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤抗体ペイロードはPD-L1阻害剤ペイロードである。幾つかの実施形態において、PD-L1阻害剤ペイロードは、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、又はBMS-936559のペイロードである。

【0374】

幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤抗体ペイロードはCTLA4阻害剤ペイロードである。幾つかの実施形態において、CTLA4阻害剤ペイロードはイピリムマブ又はトレメリムマブのペイロードである。

【0375】

幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペイロードはインドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害剤ペイロードである。幾つかの実施形態において、IDO阻害剤ペイロードはインドキシモド又はエパカドスタットのペイロードである。

【0376】

幾つかの実施形態において、免疫調節剤ペイロードはサイトカインペイロードである。

【0377】

幾つかの実施形態において、サイトカインペイロードは、インターフェロン、インターロイキン、腫瘍壊死因子、エリスロポエチン、MIP3a、ICAM、マクロファージコロニー刺激因子、エリスロポエチン(EPO)、顆粒球コロニー刺激因子(GCSF)、又は顆粒球マクロファージコロニー刺激因子のペイロードである。

【0378】

幾つかの実施形態において、インターロイキンペイロードはIL-1~IL-40から選択される。幾つかの実施形態において、インターロイキンペイロードは、IL-2、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18、又はIL-21である。

【0379】

幾つかの実施形態において、免疫調節剤ペイロードは、1型サイトカイン(IL-2、IL-12、TNF-B、IFN-g)である。

【0380】

幾つかの実施形態において、サイトカインペイロードは、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、PEG化IFN- α 、及びIFN- α とのアポリポタンパク質A-I融合タンパク質、インターロイキン、IL-2、免疫グロブリンに共有結合されたIL-2(例えば、セルグツズマブアムナロイキン、RO6874281)、PEG分子に共有結合されたIL-2(例えば、NKTR-214)、IL-10、PEG化IL-10(例えば、ペギロデカキン)、IL-7、IL-12、IL-15、組換え非グリコシル化IL-15、IL-15とIL-15R α の結合ドメインとの融合タンパク質(例えば、RLI)、ヒトIL-15と、IL-15R α の結合ドメインと、アポリポタンパク質A-Iとを含む三重融合タンパク質、ALT-803(IgG1のFcドメインに融合されたIL-15)、IL-18、IL-21、腫瘍壊死因子(TNF- α 、TNF- β)、エリスロポエチン(EPO)、MIP3a、ICAM、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)、顆粒球コロニー刺激因子(GCSF)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、GM-CSF、並びにタリモジェンラヘルパレブベクからなる群から選択される。

【0381】

幾つかの実施形態において、免疫調節剤ペイロードはケモカインペイロードである。

【0382】

10

20

30

40

50

幾つかの実施形態において、ケモカインペイロードは、CCL27、CCL28、CCL2、CCL3、CCL5、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL12、又はCXCL14のペイロードである。

【0383】

幾つかの実施形態において、免疫調節剤ペイロードはケモカインアンタゴニストペイロードである。幾つかの実施形態において、ケモカインアンタゴニストペイロードはプレリキサホルペイロードである。

【0384】

幾つかの実施形態において、免疫調節剤は、サイトカイン又はサイトカイン受容体に特異的なモノクローナル抗体である。

【0385】

幾つかの実施形態において、免疫調節剤ペイロードはポリペプチドを含む。

【0386】

幾つかの実施形態において、ポリペプチドは1つ以上のリジン残基を含む。

【0387】

幾つかの実施形態において、ポリペプチドは、1つ以上のリジン残基、セリン残基、トレオニン残基、又はチロシン残基を含む。

【0388】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテンは、1つ以上のリジン残基のうちの1つに連結されている。

【0389】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテンは、1つ以上のリジン残基、セリン残基、トレオニン残基、又はチロシン残基に独立して連結されている。

【0390】

幾つかの実施形態において、ポリペプチドはN末端アミノ酸を含み、ここで、生体直交型部分の存在はN末端アミノ酸に連結されている。

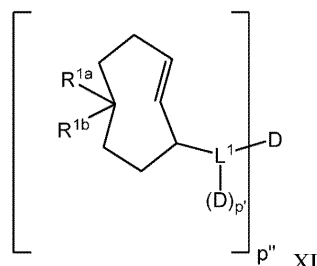
【0391】

幾つかの実施形態において、mは1~20である。幾つかの実施形態において、mは1~10である。幾つかの実施形態において、mは1~5である。幾つかの実施形態において、mは、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、又は1である。幾つかの実施形態において、mは1である。

【0392】

幾つかの実施形態において、式XI：

【化94】



(式中、

R^{1a} は、それぞれの場合、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、及び $C_1 \sim 4$ ハロアルキルからなる群から選択され、

R^{1b} は、それぞれの場合、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、 $C(O)OH$ 、 $C(O)OC_1 \sim 4$ アルキル、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_1 \sim 4$ アルキル、 $C(O)N(R^{1c}) - C$

$1 \sim 6$ アルキレン- CO_2H 、及び $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})-\text{C}_{1 \sim 6}$ アルキレン- $\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1 \sim 4}$ アルキルからなる群から選択され、
 R^{1c} は、それぞれの場合、独立して、水素又は $\text{C}_{1 \sim 4}$ アルキルであり、
 R^{1e} は、それぞれの場合、独立して、 $-\text{C}_{1 \sim 4}$ アルキレン- CO_2H 、 $-\text{C}_{1 \sim 4}$ アルキレン- CONH_2 、又は $-\text{C}_{1 \sim 4}$ アルキレン- OH であり、
 D は、それぞれの場合、独立して、ペイロードであり、
 L^1 は、それぞれの場合、独立して、リンカーであり、
 p' は、それぞれの場合、独立して、0、1、又は2であり、かつ、
 p'' は、それぞれの場合、独立して、1、2、又は3である) のトランス-シクロオクテン官能化プロドラッグ、又はその薬学的に許容可能な塩。

10

【0393】

幾つかの実施形態において、 D は、それぞれの場合、独立して、抗癌剤ペイロード、 toll 様受容体 (TLR) アゴニストペイロード、及びインターフェロン遺伝子刺激因子 (STING) アゴニストペイロードからなる群から選択される。

【0394】

幾つかの実施形態において、 R^{1a} は水素である。

【0395】

幾つかの実施形態において、 R^{1a} は $\text{C}_{1 \sim 4}$ アルキルである。

【0396】

幾つかの実施形態において、 R^{1a} は CH_3 である。

20

【0397】

幾つかの実施形態において、 R^{1b} は、 $\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1 \sim 4}$ アルキル、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})\text{CHR}^{1e}\text{CO}_2\text{H}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})\text{CHR}^{1e}\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1 \sim 4}$ アルキル、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})-\text{C}_{1 \sim 6}$ アルキレン- CO_2H 、及び $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})-\text{C}_{1 \sim 6}$ アルキレン- $\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1 \sim 4}$ アルキルからなる群から選択される。

【0398】

幾つかの実施形態において、 R^{1b} は、 $\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})\text{CHR}^{1e}\text{CO}_2\text{H}$ 、及び $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ からなる群から選択される。

【0399】

幾つかの実施形態において、 R^{1b} は、 $-\text{NR}^{1c}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{1c})-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{1c})-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}((\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H})_2$ 、及び $-\text{N}(\text{R}^{1c})-\text{CH}(\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H})_2$ からなる群から選択される。

30

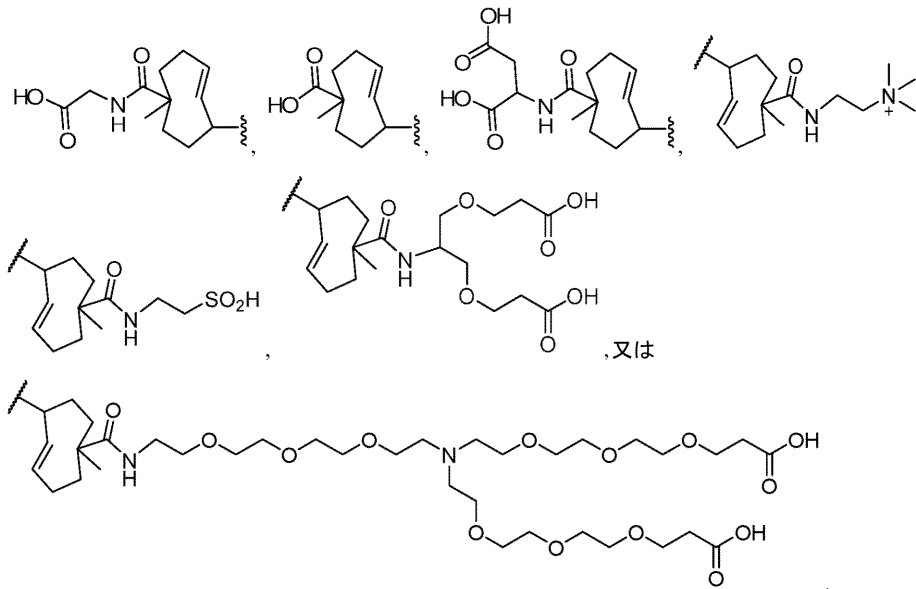
【0400】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分 (G) は、

40

50

【化 9 5】



10

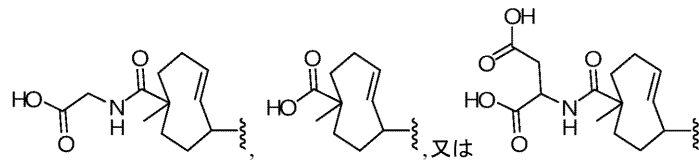
である。

【0 4 0 1】

20

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、

【化 9 6】



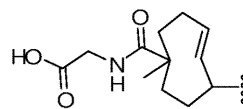
である。

【0 4 0 2】

30

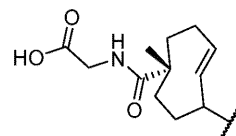
幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、

【化 9 7】



である。幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、

【化 9 8】



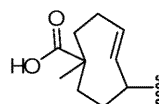
40

である。

【0 4 0 3】

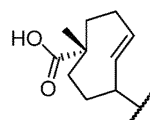
幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、

【化 9 9】



50

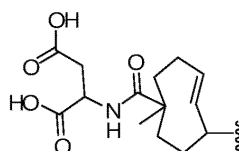
である。幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化100】



である。

【0404】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化101】

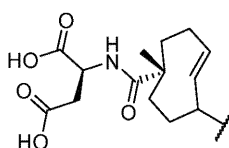


10

である。

【0405】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化102】

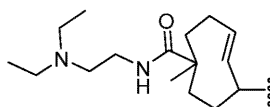


20

である。

【0406】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化103】

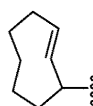


30

である。

【0407】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化104】

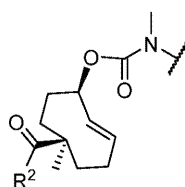


40

である。

【0408】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化105】

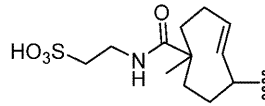


50

であり、 R^2 は、 $-OH$ 、2-アミノエタンスルホン酸、 N に連結された天然アミノ酸若しくは非天然アミノ酸、又は任意に置換されたエチレンジアミンであり、ここで、 R^2 は任意にポリエーテルで更に置換されていてよい。

【0409】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化106】

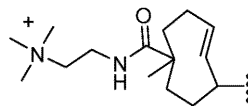


10

を含む。

【0410】

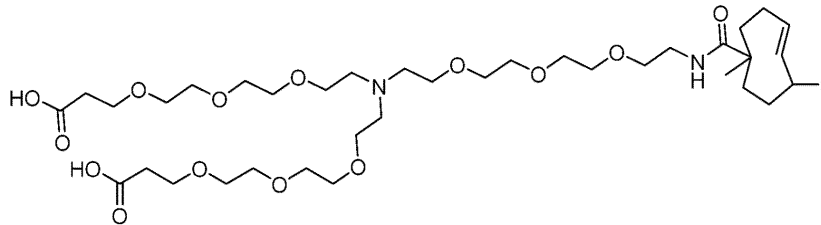
幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化107】



を含む。

【0411】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化108】

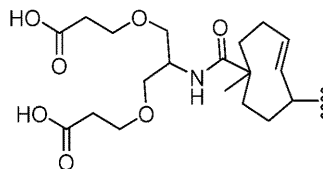


20

を含む。

【0412】

幾つかの実施形態において、トランス-シクロオクテン部分は、
【化109】



30

を含む。

【0413】

幾つかの実施形態において、 R^{1e} は、 $-CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2OH$ 、又は $-CH(CH_3)OH$ である。

【0414】

幾つかの実施形態において、 R^{1e} は $-C_{1\sim4}$ アルキレン- CO_2H である。

【0415】

幾つかの実施形態において、 R^{1e} は $-CH_2CO_2H$ である。

【0416】

幾つかの実施形態において、 R^{1b} は $-C(O)N(R^{1c})-C_{1\sim6}$ アルキレン-

40

50

C O₂ Hである。

【0417】

幾つかの実施形態において、R^{1b}は-C(O)N(R^{1c})CH₂CO₂Hである。

【0418】

幾つかの実施形態において、R^{1c}は水素である。

【0419】

幾つかの実施形態において、R^{1b}は水素である。

【0420】

幾つかの実施形態において、R^{1b}はC(O)OHである。

【0421】

幾つかの実施形態において、リンカーL¹は1個～100個の連結原子を有してよく、エチレンオキシ基、アミン、エステル、アミド、カルバメート、カーボネート、及びケトン官能基を含んでいてよい。例えば、リンカーは、1個～50個の連結原子、又は5個～50個の連結原子、又は10個～50個の連結原子、又は1個～40個の連結原子、又は1個～30個の連結原子、又は1個～20個の連結原子、又は1個～10個の連結原子、又は1個～5個の連結原子、又は5個～30個の連結原子、又は10個～30個の連結原子、又は5個～40個の連結原子、又は5個～50個の連結原子、又は10個～50個の連結原子を有してよい。

10

【0422】

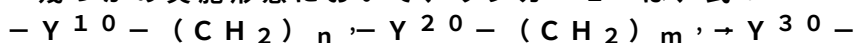
幾つかの実施形態において、リンカーL¹は、1個以上（例えば、1個～10個又は1個～5個）の鎖ヘテロ原子（例えば、O、N、S）と、1個以上（例えば、1個～10個又は1個～5個）のアルキレン部分、アルケニレン部分、アルキニレン部分、アリーレン部分、ヘテロアリーレン部分、シクロアルキレン部分、又はヘテロシクロアルキレン部分とを含んでいてよく、ここで、それぞれのアルキレン部分、アルケニレン部分、アルキニレン部分、アリーレン部分、ヘテロアリーレン部分、シクロアルキレン部分、又はヘテロシクロアルキレン部分は、独立して、オキソ、ハロ、C₁～4アルキル、C₁～4アルコキシ、及びC₁～4ハロアルキルから独立して選択される1個～5個の置換基で任意に置換されていてよい。

20

【0423】

幾つかの実施形態において、リンカーL¹は、式：

30



（式中、

Y¹⁰、Y²⁰、及びY³⁰のそれぞれは、独立して、結合、-NR¹¹⁰-、-O-、-S(O)_{0~2}-、-NR¹¹⁰C(O)-、-C(O)NR¹¹⁰-、-NR¹¹⁰S(O)₂-、-S(O)₂NR¹¹⁰-、-CR¹²⁰=N-NR¹¹⁰-、-NR¹¹⁰-N=CR¹²⁰-、-C(O)-、-OC(O)-、-OC(O)O-、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、シクロアルキレン、又はヘテロシクロアルキレンであり、ここで、それぞれのアルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、シクロアルキレン、又はヘテロシクロアルキレンは、独立して、オキソ、ハロ、C₁～4アルキル、C₁～4アルコキシ、及びC₁～4ハロアルキルから独立して選択される1個～5個の置換基で任意に置換されており、それぞれのR¹¹⁰は、独立して、水素、C₁～4アルキル、C₁～4ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、それぞれのR¹²⁰は、独立して、水素、C₁～4アルキル、C₁～4ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、かつ、n'及びm'は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、又は8である）のリンカーであってよい。

40

【0424】

或る特定の実施形態において、リンカーは結合である。

【0425】

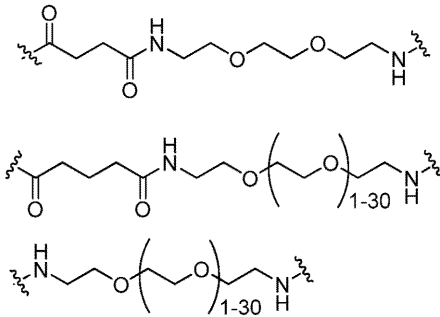
50

或る特定の実施形態において、リンカーは結合ではない。或る特定の実施形態において、それぞれの R^{110} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルであり、かつそれぞれの R^{120} は、独立して、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクリルである。

【0426】

代表的なリンカーとしては、限定されるものではないが、以下に示されるもの：

【化110】



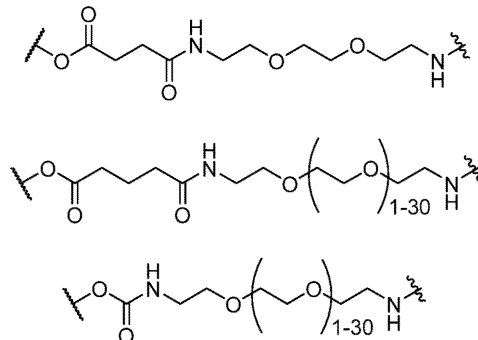
10

が挙げられる。

【0427】

代表的なリンカーとしては、限定されるものではないが、以下に示されるもの：

【化111】



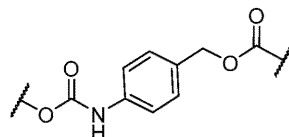
30

が挙げられる。

【0428】

幾つかの実施形態において、リンカー L^1 は、1つ以上のポリエチレングリコール（例えば、 $300\text{ g/mol} \sim 10000\text{ g/mol}$ の平均分子量を有する PEG）、エチレン-1,2-ジイルビス（メチルカルバメート）、アリーレン（すなわち、フェニレン）、エチレンオキシ、アミン、エステル、アミド、カルバメート、ケトン（すなわち、ホルミル）、又はカーボネートを含み得る。幾つかの実施形態において、リンカー L^1 は、

【化112】



40

を含み得る。

【0429】

幾つかの実施形態において、リンカー L^1 は、ペプチドリinkerと呼ばれる場合がある1つ以上の天然アミノ酸又は非天然アミノ酸を含み得る。薬物（D）がアミノ部分を含む場合、リンカーは、カルボン酸アシル単位と、タンパク質配列又はペプチド配列を構成す

50

る1つ以上のアミノ酸とから構成されるペプチドリンカーを使用してアミノ部分に結合されていてよい。幾つかの実施形態において、リンカー L^1 はまた、薬物とタンパク質ペプチド配列とを隔てる自己犠牲スペーサーを含んでもよい。

【0430】

幾つかの実施形態において、リンカー L^1 は、「A-Y-Z-X-W」（式中、「A」は、カルボン酸アシル単位であり、「Y」及び「Z」はそれぞれ、1つ以上の天然アミノ酸又は非天然アミノ酸であり、一緒になってペプチド配列を形成し、かつ「X」及び「W」は、ペプチドと薬物、D、又は生体直交型部分とを隔てる1個～50個の連結原子、又は5個～10個の連結原子、又は1個～10個の連結原子を有する任意の追加のリンカーである）によって表されるペプチドリンカーであってよい。或る特定の実施形態において、ペプチドリンカー中のアミノ酸の1つ以上はN-メチル化されている。

10

【0431】

幾つかの実施形態において、Yは、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、トリプトファン、及びプロリンからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸であり得る。幾つかの実施形態において、Yは、フェニルアラニン、アラニン、及びバリンからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸であり得る。

【0432】

幾つかの実施形態において、Zは、アラニン、リジン、アセチル又はホルミルで保護されたリジン、アルギニン、トシル基又はニトロ基で保護されたアルギニン、ヒスチジン、オルニチン、アセチル又はホルミルで保護されたオルニチン、及びシトルリンからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸であり得る。幾つかの実施形態において、Zは、アラニン、リジン、及びシトルリンからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸であり得る。

20

【0433】

幾つかの実施形態において、例示的なY-Zの組合せとしては、バリン-シトルリン、バリン-アラニン、及びアラニン-アラニンが挙げられる。

【0434】

或る特定の実施形態において、Aは $-OC(O)-$ である。

【0435】

或る特定の実施形態において、Xは $-OC(O)-$ である。

30

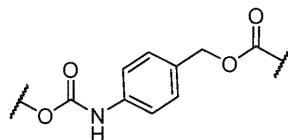
【0436】

或る特定の実施形態において、Wは $-OC(O)-$ である。或る特定の実施形態において、Xは存在せず、かつWは $-OC(O)-$ である。

【0437】

或る特定の実施形態において、 $-X-W$ は、

【化113】



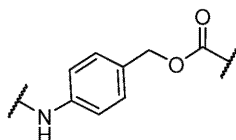
40

である。

【0438】

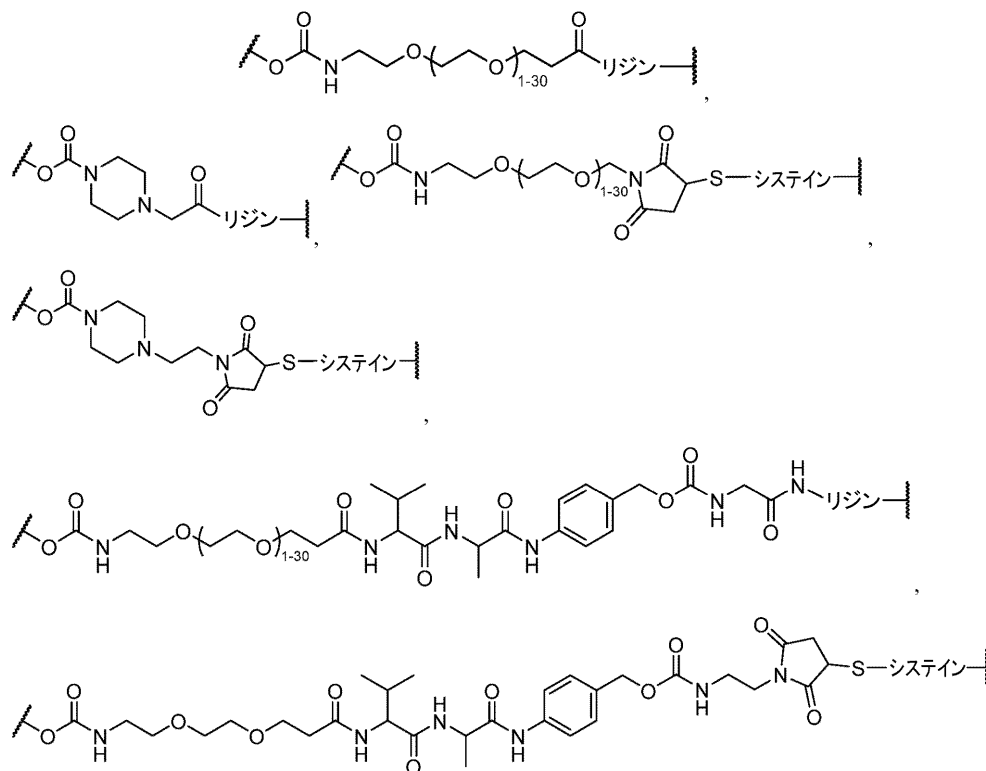
或る特定の実施形態において、 $-X-W$ は、

【化114】



50

【化 1 1 6】



10

20

)。

【0 4 4 4】

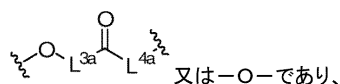
幾つかの実施形態において、ペイロードは、アミド結合を介してリンカーに共有結合されている。例えば、ペイロードは、リンカーのカルボニル基にペイロードを取り付けるアミン含有ペイロードであってよく、又はその他の場合に、ペイロードは、リンカーのアミン基にペイロードを取り付けるカルボキシル含有ペイロードであってよい。場合によっては、ペイロードとリンカーとは一緒になってカルバメート基を形成する。例えば、ペイロードは、リンカーのアシルオキシ基にペイロードを取り付けるアミン含有ペイロードであってよい。場合によっては、ペイロードとリンカーとは一緒になってカーボネート基を形成する。例えば、ペイロードは、リンカーのアシルオキシ基にペイロードを取り付けるヒドロキシ含有ペイロードであってよい。

30

【0 4 4 5】

幾つかの実施形態において、 L^1 は、

【化 1 1 7】



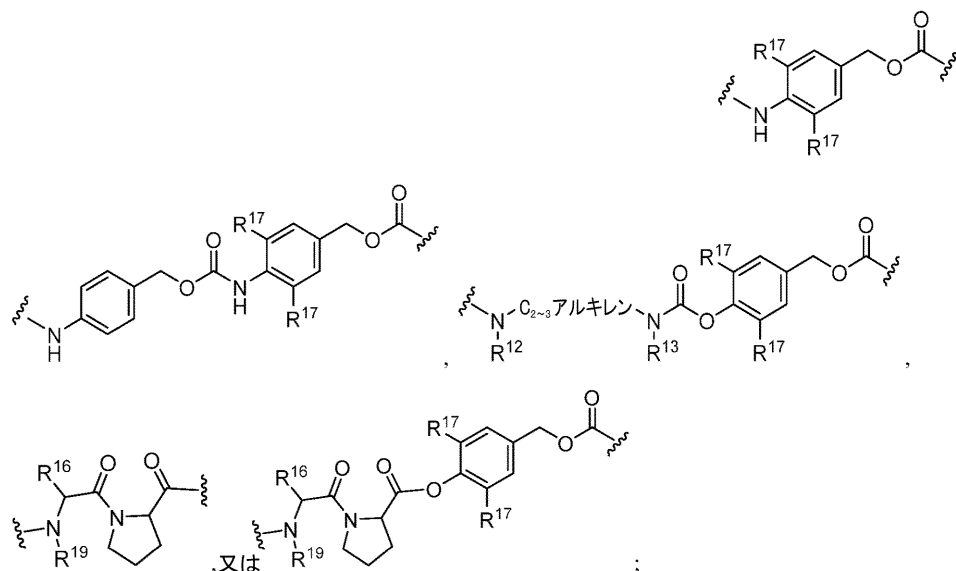
40

L^{3a} は、結合又は $C_1 \sim 6$ アルキレンであり、

L^{4a} は、結合、 $-NHN:$ 、 $-N(R^{10})-C_2 \sim 6$ アルキレン- $N(R^{11})-$ 、 $-N(R^{12})-C_2 \sim 3$ アルキレン- $N(R^{13})C(O)-$ 、 $-N(R^{10})-C_1 \sim 6$ アルキレン- $C(O)NHN:$ 、 $-NHNHC(O)C_1 \sim 6$ アルキレン- $C(O)NHN:$ 、 $-CH(NHC(O)R^{14})C_1 \sim 4$ アルキレン- $S-S-C_1 \sim 4$ アルキレン- $OC(O)-$ 、 $-NHNHC(O)CH(NHC(O)R^{15})CH_2C(O)-$ 、 $-C_1 \sim 6$ アルキレン- $CH(G^x)OC(O)-$ 、

50

【化 1 1 8】



10

であり、

R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、及び R^{19} は、それぞれ独立して、水素又は $C_1 \sim 4$ アルキルであり、

20

R^{16} は、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $-C_1 \sim 4$ アルキレン- OH 、 $-C_1 \sim 4$ アルキレン- $OC_1 \sim 4$ アルキル、 $-C_1 \sim 4$ アルキレン- CO_2H 、又は $-C_1 \sim 4$ アルキレン- $CONH_2$ であり、

R^{17} は、それぞれの場合、独立して、水素又は $-CH_2OC(O)-$ であり、かつ、 G^x は、ハロゲン、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキル、 $C_1 \sim 4$ アルコキシ、シアノ、及びニトロからなる群から独立して選択される 1 個～5 個の置換基で任意に置換されたフェニルである。

【0 4 4 6】

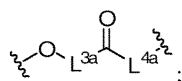
或る特定の実施形態において、リンカー L^1 は $-OC(O)-$ である。

【0 4 4 7】

幾つかの実施形態において、 L^1 は、

30

【化 1 1 9】

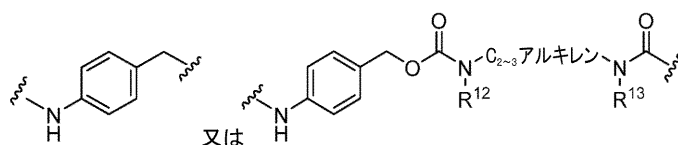


であり、

L^{3a} は、結合であり、

L^{4a} は、

【化 1 2 0】



40

であり、かつ、

R^{12} 及び R^{13} は、それぞれ独立して、水素又は $C_1 \sim 4$ アルキルである。

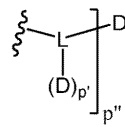
【0 4 4 8】

幾つかの実施形態において、 p'' は 1 である。幾つかの実施形態において、 p' は 1 である。

【0 4 4 9】

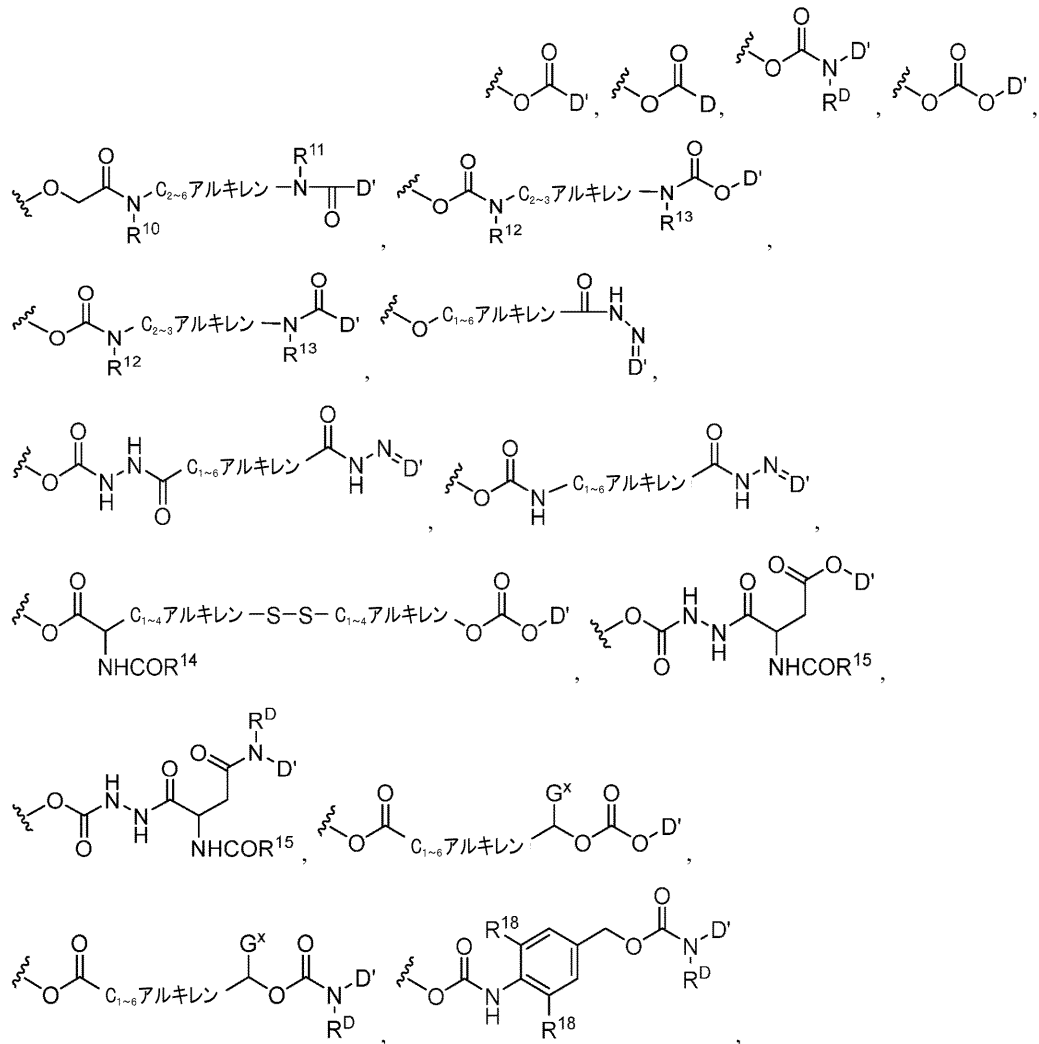
50

幾つかの実施形態において、
【化 1 2 1】



は、

【化 1 2 2】



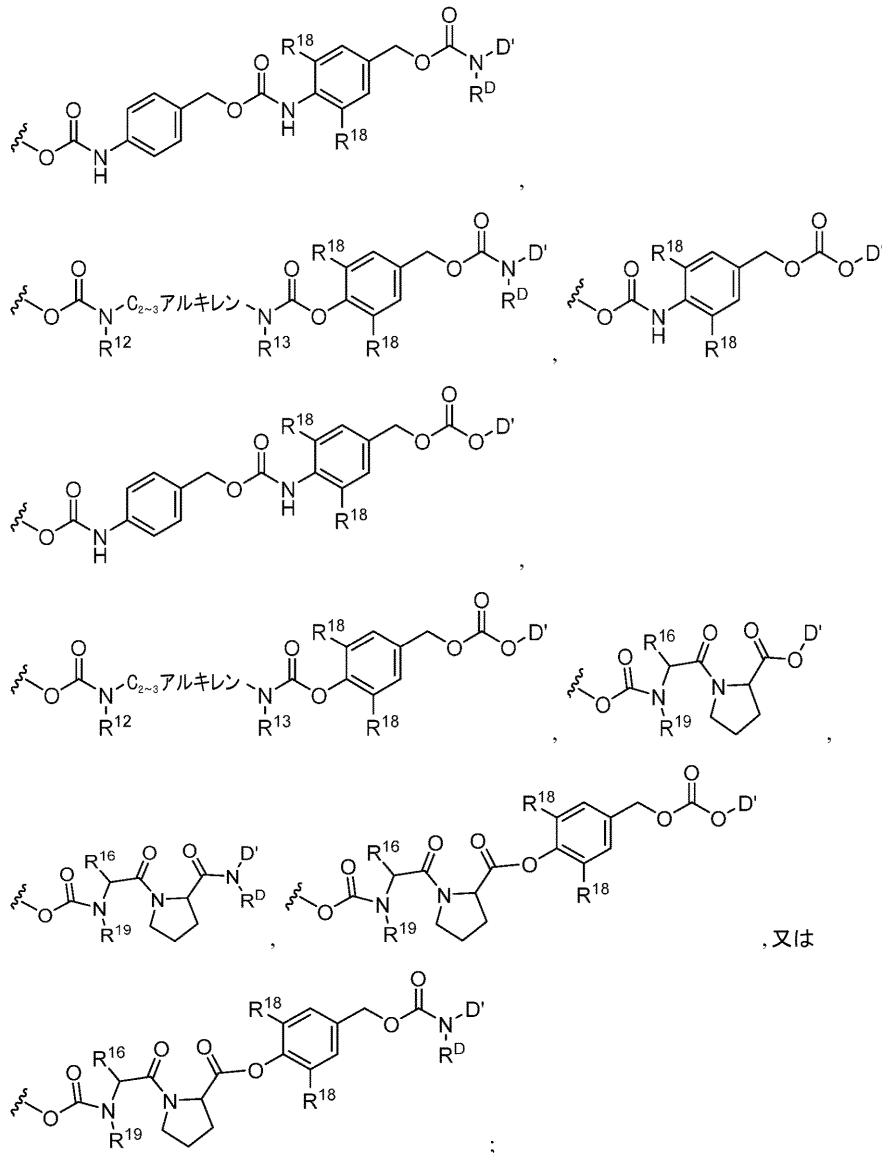
10

20

30

40

50



10

20

30

であり、

R^{18} は、それぞれの場合、独立して、水素又は $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{NHD}'$ であり、

R^D は、ペイロードの窒素原子上の水素又は $\text{C}_1 \sim 4$ アルキルであり、かつ、

D 及び D' は、独立して、ペイロード部分である。

【0450】

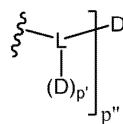
幾つかの実施形態において、 D 又は D' は、環状ジヌクレオチドペイロード部分、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミンペイロード部分、TLRアゴニストペイロード部分、STINGアゴニストペイロード部分、又は抗癌剤ペイロード部分である。

40

【0451】

幾つかの実施形態において、

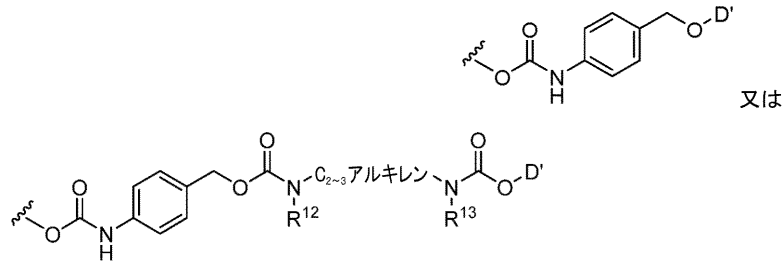
【化123】



は、

50

【化 1 2 4】



であり、

R^{12} 及び R^{13} は、それぞれ独立して、水素又は $C_1 \sim 4$ アルキルであり、かつ、 D 及び D' は、独立して、ペイロード部分（例えば、抗癌剤ペイロード部分）である。

【0 4 5 2】

幾つかの実施形態において、 p' は 0 である。

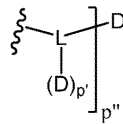
【0 4 5 3】

幾つかの実施形態において、 p'' は 2 又は 3 である。

【0 4 5 4】

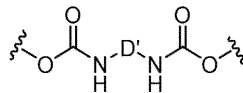
幾つかの実施形態において、 p は 2 であり、かつ

【化 1 2 5】



は、

【化 1 2 6】



である。

【0 4 5 5】

当業者であれば、リンカーに結合されたペイロード（ D 又は D' ）がペイロード分子自体を指すのではなく、リンカーに結合されたペイロード分子の部分を指すことを認識するであろう。プロドラッグからのペイロード（ D 又は D' ）の放出により、ペイロード自体が放出される。

【0 4 5 6】

ペイロード（ D 又は D' ）は、本明細書に記載される抗癌剤のいずれかの抗癌剤ペイロードであり得る。

【0 4 5 7】

幾つかの実施形態において、ペイロードは $TLR7/8$ アゴニストを含み、かつ X は生体適合性支持体である。幾つかの実施形態において、ペイロードはガルジキモドを含み、かつ X は生体適合性支持体である。

【0 4 5 8】

幾つかの実施形態において、ペイロードは $TLR7/8$ アゴニストを含み、かつ X は、 $HER2$ 、 $TROP2$ 、ネクチン 4、又は細胞外マトリックス（ECM）を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。幾つかの実施形態において、ペイロードはガルジキモドを含み、かつ X は、 $HER2$ 、 $TROP2$ 、ネクチン 4、又は細胞外マトリックス（ECM）を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0 4 5 9】

幾つかの実施形態において、ペイロードはカンプトテシン又はその誘導体を含み、かつ X は生体適合性支持体である。幾つかの実施形態において、ペイロードはエキサテカン

10

20

30

40

50

含み、かつ X は生体適合性支持体である。

【0460】

幾つかの実施形態において、ペイロードはカンプトテシン又はその誘導体を含み、かつ X は、HER2、TROP2、ネクチン4、又は細胞外マトリックス（ECM）を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。幾つかの実施形態において、ペイロードはエキサテカンを含み、かつ X は、HER2、TROP2、ネクチン4、又は細胞外マトリックス（ECM）を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0461】

幾つかの実施形態において、ペイロードはMMAEを含み、かつ X は生体適合性支持体である。

【0462】

幾つかの実施形態において、ペイロードはMMAE又はその誘導体を含み、かつ X は、HER2、TROP2、ネクチン4、又は細胞外マトリックス（ECM）を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0463】

幾つかの実施形態において、ペイロードはパクリタキセル又はその誘導体を含み、かつ X は生体適合性支持体である。

【0464】

幾つかの実施形態において、ペイロードはパクリタキセル又はその誘導体を含み、かつ X は、HER2、TROP2、ネクチン4、又は細胞外マトリックス（ECM）を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0465】

幾つかの実施形態において、ペイロードはドセタキセル又はその誘導体を含み、かつ X は生体適合性支持体である。

【0466】

幾つかの実施形態において、ペイロードはドセタキセル又はその誘導体を含み、かつ X は、HER2、TROP2、ネクチン4、又は細胞外マトリックス（ECM）を標的とする抗体又は抗体フラグメント部分である。

【0467】

幾つかの実施形態において、ペイロードは、構造：

10

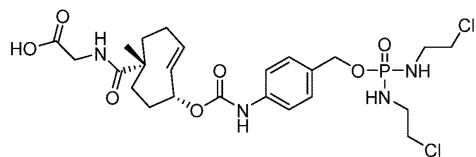
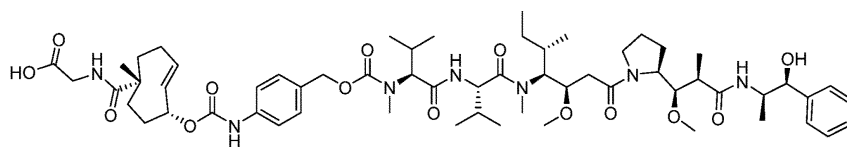
20

30

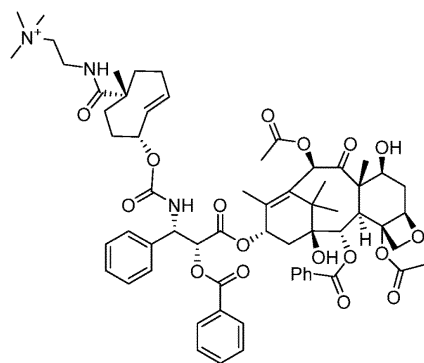
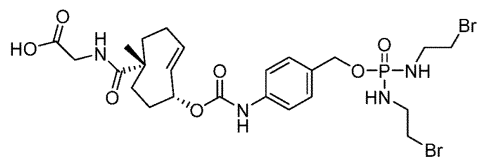
40

50

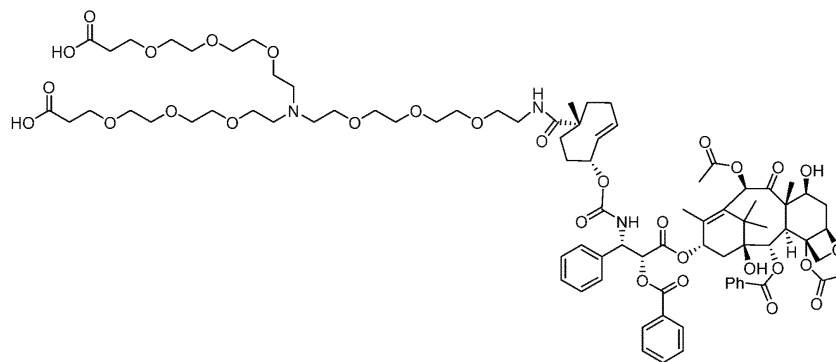
【化 1 2 7】



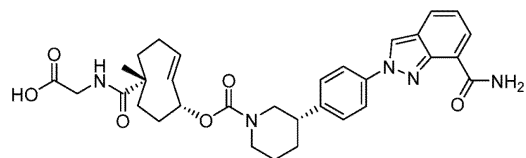
10



20

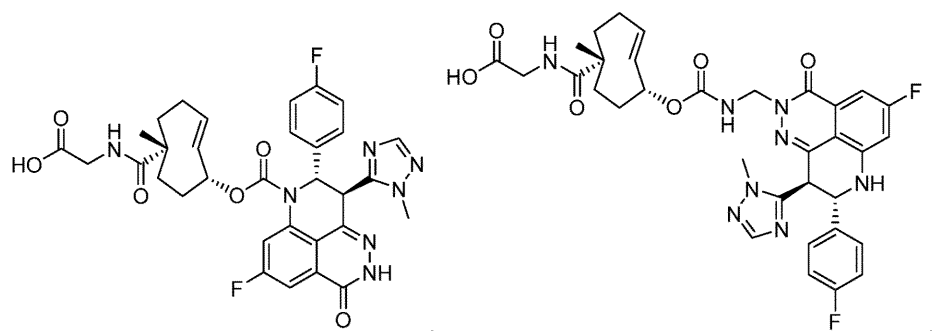


30

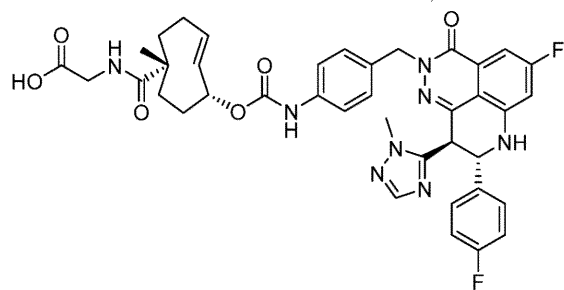


40

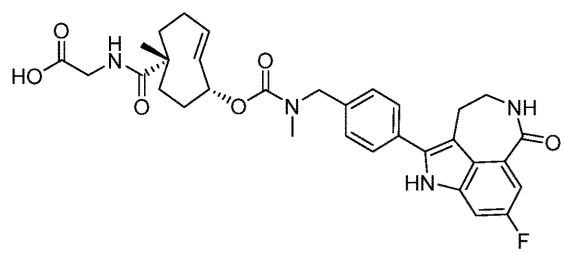
50



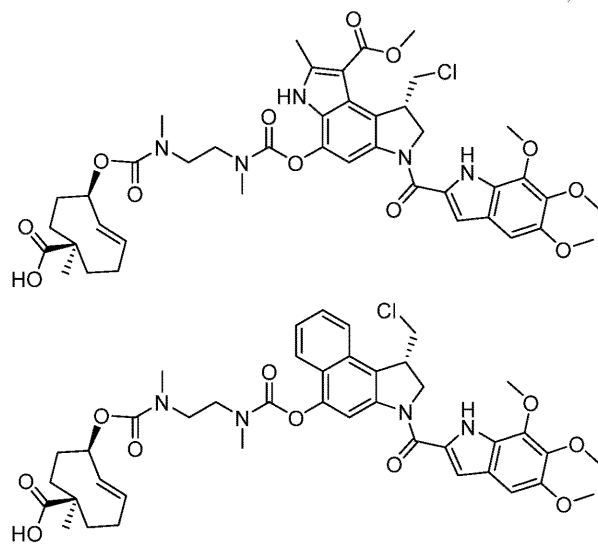
10



20

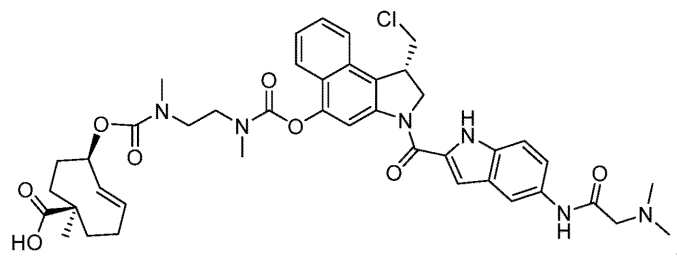


30

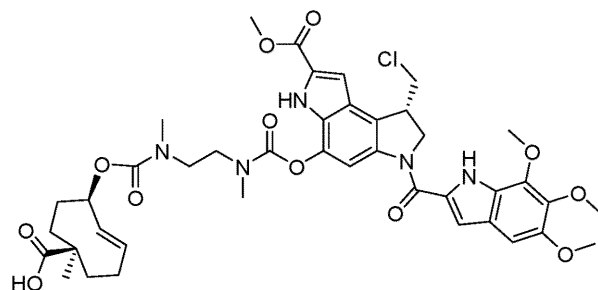


40

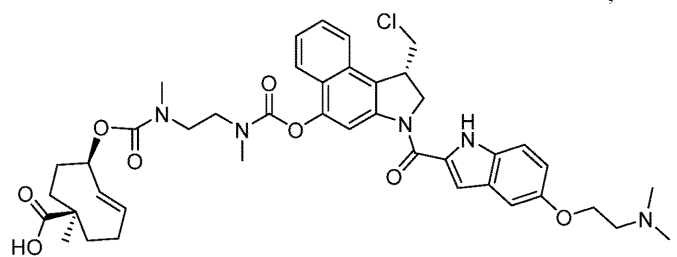
50



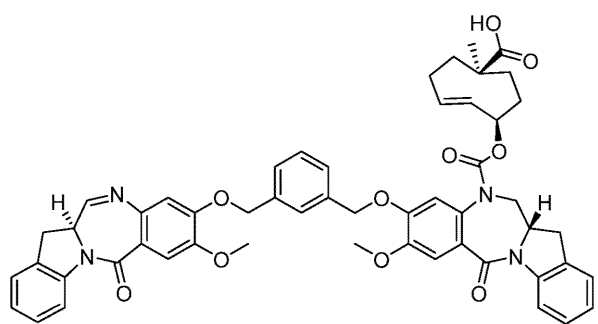
10



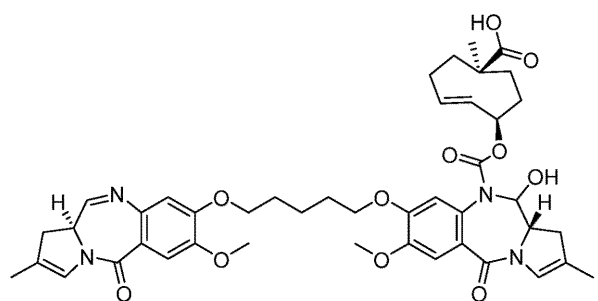
20



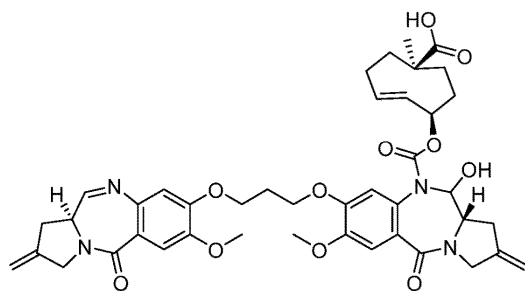
30



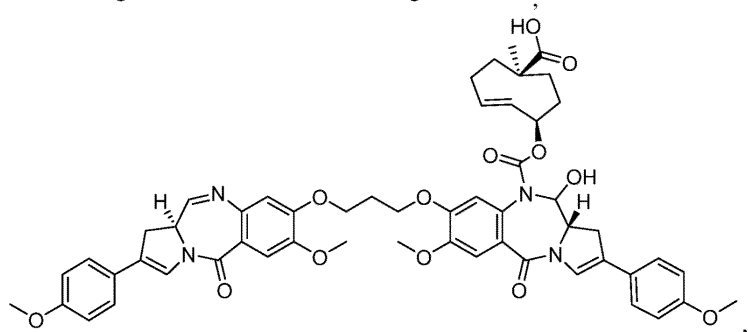
40



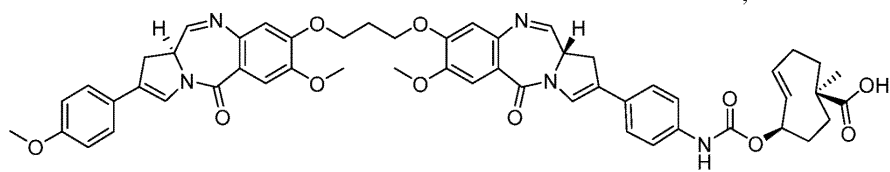
50



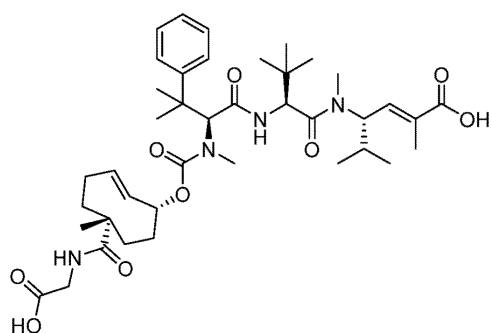
10



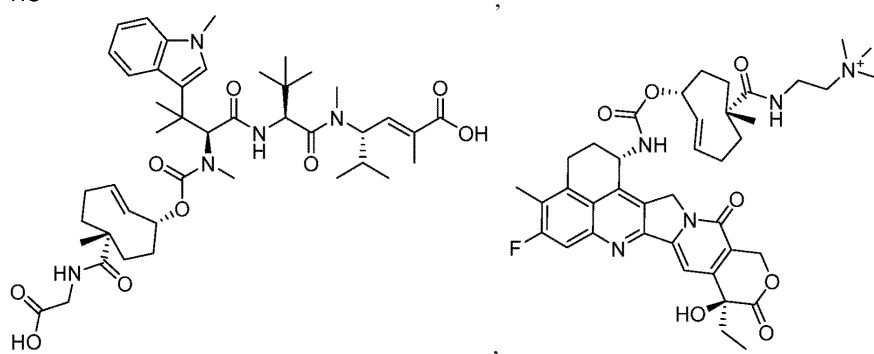
20



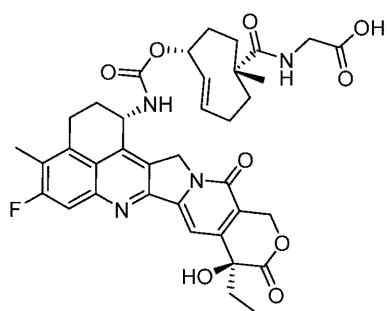
30



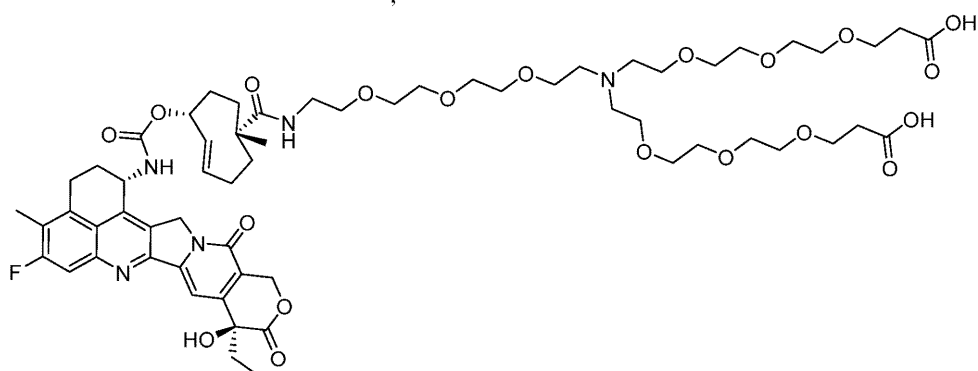
40



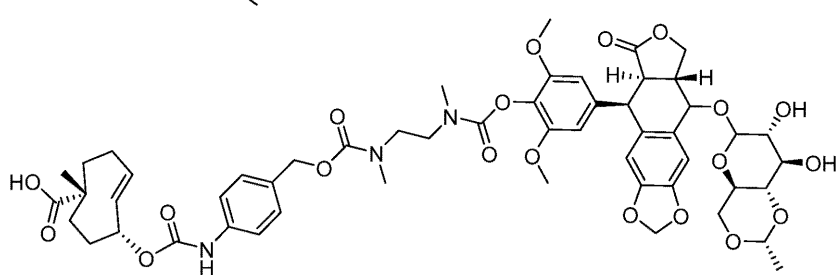
50



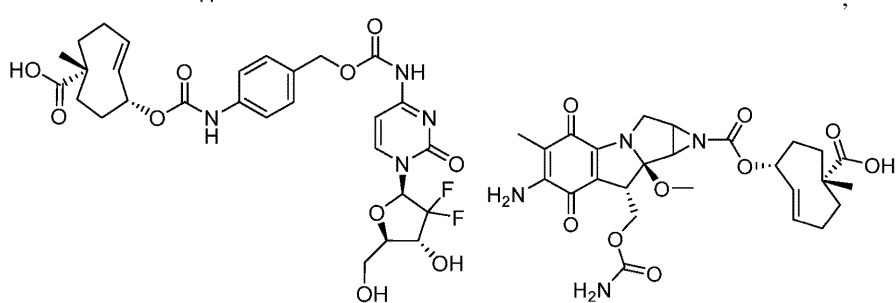
,



10



20



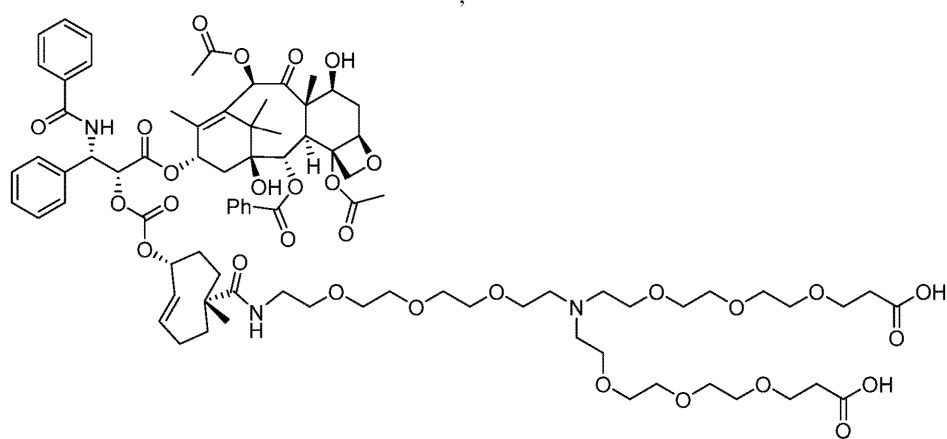
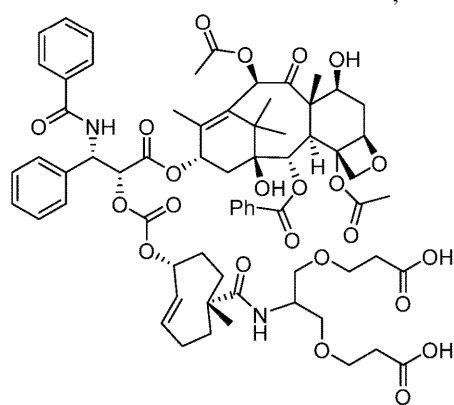
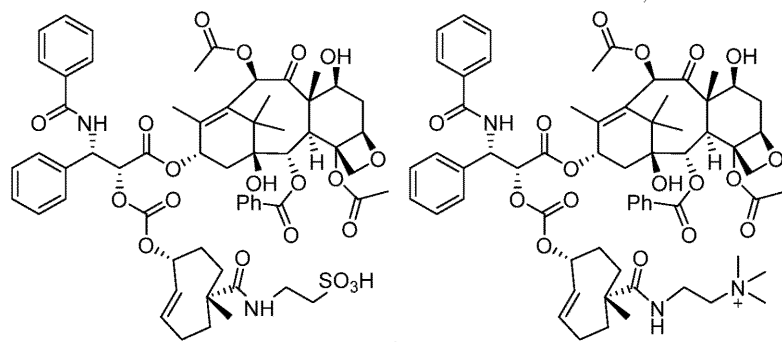
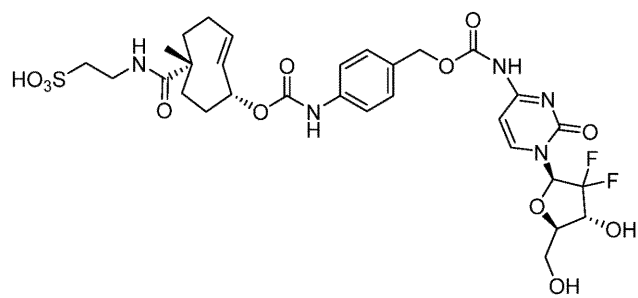
30

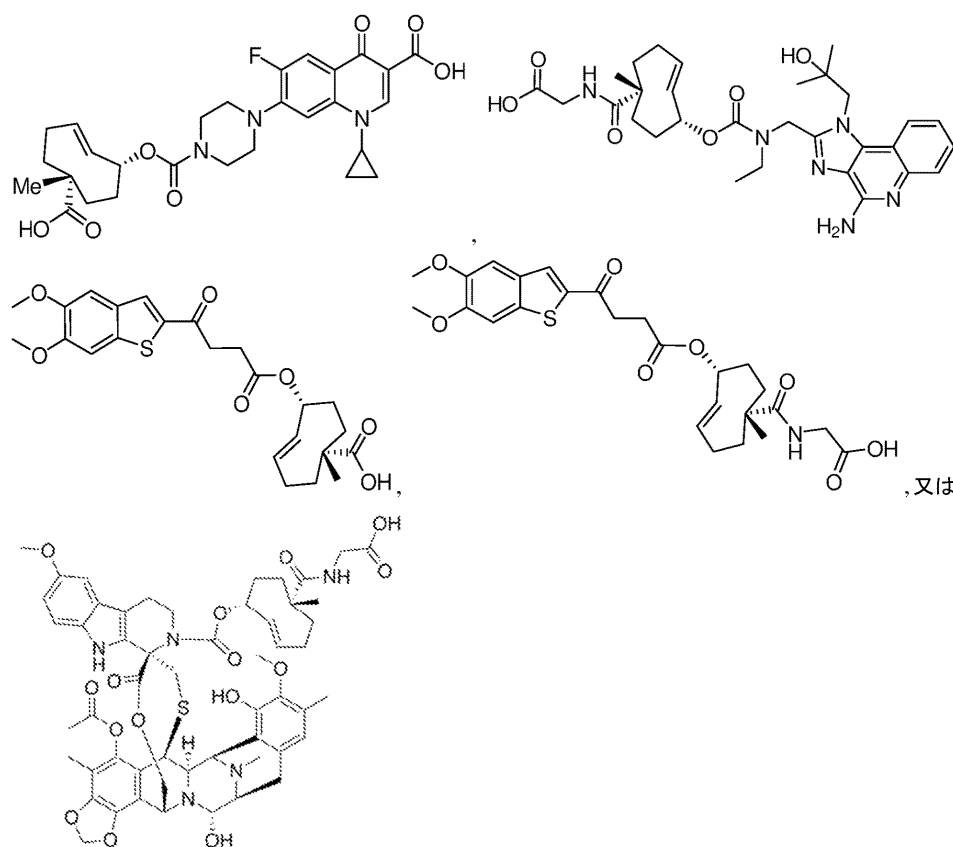
,

,

40

50





10

20

を有する。

【 0 4 6 8 】

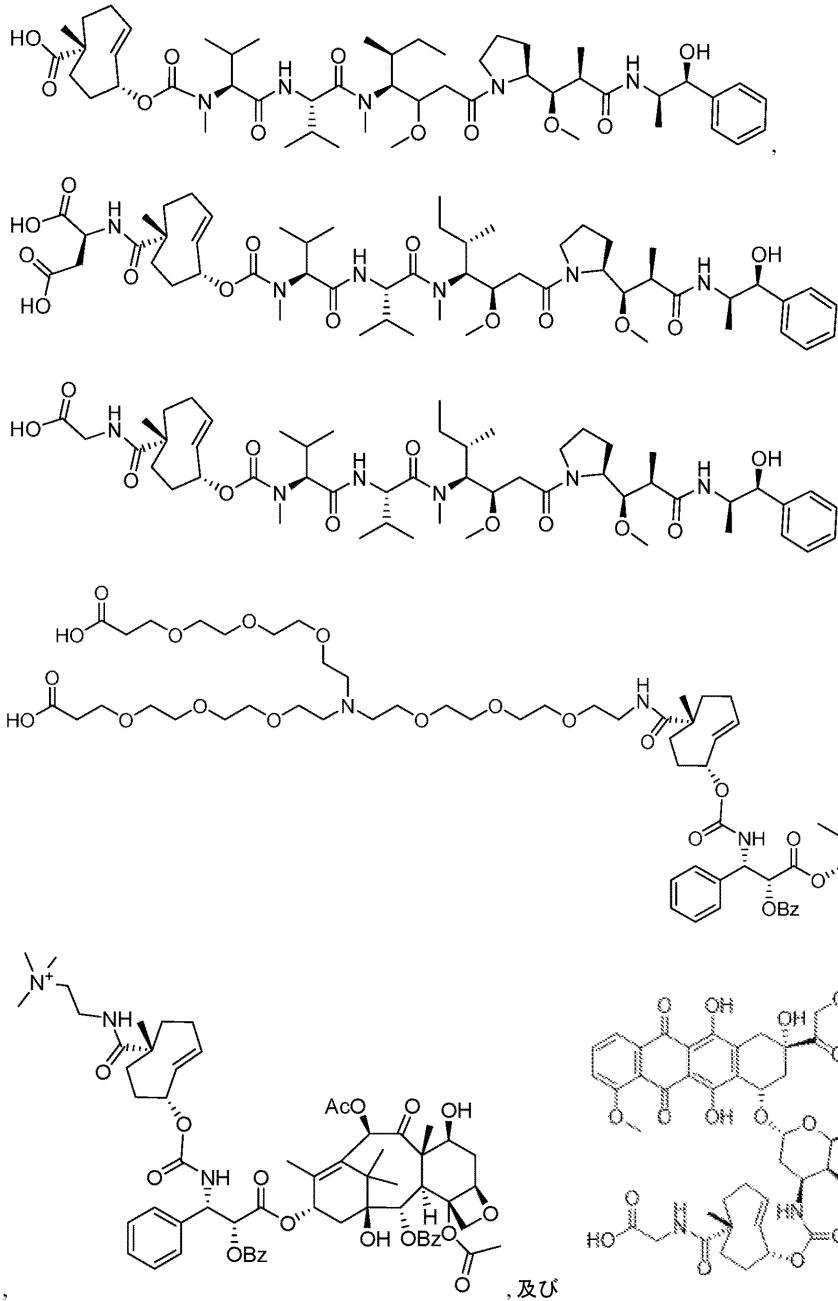
或る特定の実施形態において、トランス-シクロオクテン官能化プロドラッグは、

30

40

50

【化 1 2 8】



10

20

30

から選択される。

【0 4 6 9】

E. 治療方法

本開示の態様は、ペイロードを被験体における標的位置に送達する方法を含む。或る特定の実施形態において、上記方法は、ペイロードを被験体における標的位置に選択的に送達することを含む。ペイロードの選択的な送達は、ペイロードの投与を必要としない被験体における他の位置（例えば、他の器官若しくは組織、又はそれらの部分）を標的とせず、ペイロードを標的位置（例えば、器官若しくは組織、又はそれらの部分）に送達することを含む。ペイロードの選択的な送達は、本明細書に記載される標的化部分及び官能化されたペイロードの使用を通じて達成され得る。

40

【0 4 7 0】

場合によっては、本開示の標的化部分を、被験体における所望の標的位置に局在化することができる。例えば、本開示の方法は、本明細書に記載される標的化部分を被験体に投与することを含み得る。標的化部分を、被験体における所望の標的位置で被験体に投与す

50

ることができる。場合によっては、標的化部分を、被験体における所望の標的位置で被験体に局所的に注射することができる。幾つかの実施形態において、標的化部分は全身投与される。これらの実施形態において、標的化部分を、標的化作用物質のその標的への特異的結合（例えば、抗体－抗原相互作用等）を通じて被験体における所望の標的位置に局在化することができ、又は標的化作用物質のその標的への特異的結合（例えば、抗体－抗原相互作用等）を通じて所望の標的の表面（例えば、細胞表面）上に局在化することができる。

【0471】

本明細書に記載されるように、生体直交型結合対応物間（例えば、標的化部分のテトラジンとプロドラッグのその相補的なトランス－シクロオクテンとの間）の選択的結合が起こり得る。上記のような被験体における所望の位置への標的化部分の投与の局在化のため、プロドラッグのトランス－シクロオクテンとその相補的結合作用物質との間の選択的結合により、ペイロードが所望の標的位置に局在化することになる。

【0472】

本明細書において、癌を治療する方法であって、治療を必要とする被験体に、治療的有効量の本明細書に記載される標的化部分又はその薬学的に許容可能な塩と、トランス－シクロオクテンプロドラッグとを投与することを含む、方法が提供される。

【0473】

幾つかの実施形態において、癌は転移性である。幾つかの実施形態において、癌は、黒色腫、腎癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮内膜癌、乳癌、神経膠芽腫、肺癌、軟部組織肉腫、線維肉腫、骨肉腫、膵臓癌、胃部癌、頭頸部の扁平上皮癌、肛門／外陰癌、食道癌、膵臓腺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、カボジ肉腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、ウィルムス腫瘍／神経芽腫、膀胱癌、甲状腺腺癌、膵神経内分泌腫瘍、前立腺腺癌、鼻咽頭癌、又は皮膚T細胞リンパ腫である。

【0474】

幾つかの実施形態において、癌は、黒色腫、腎癌、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、神経膠腫、肺癌、軟部組織癌、軟部組織肉腫、骨肉腫、又は膵臓癌である。

【0475】

幾つかの実施形態において、癌は固形腫瘍である。

【0476】

幾つかの実施形態において、癌は軟部組織肉腫である。

【0477】

幾つかの実施形態において、軟組織肉腫は、線維肉腫、横紋筋肉腫、又はユーイング肉腫である。

【0478】

幾つかの実施形態において、上記方法はまた、免疫応答を増強又は誘発することを含む。幾つかの実施形態において、免疫応答は、白血球、リンパ球、単球、及び好酸球のうちの1種以上の増加である。

【0479】

幾つかの実施形態において、上記方法は更に、治療的有効量の抗癌剤、免疫調節剤、又はそれらのトランス－シクロオクテンプロドラッグからなる群から選択される追加の治療剤を投与することを含む。抗癌剤、免疫調節剤、及びそれらのトランス－シクロオクテンプロドラッグは当該技術分野において知られている。

【0480】

このアプローチについての適応症としては、造血器癌及び固形癌の両方の癌が挙げられる。或る特定の実施形態において、このアプローチを使用して、軟部組織肉腫、すなわち横紋筋肉腫、線維肉腫、ユーイング肉腫、及び全ての様々なサブタイプの軟部組織肉腫だけでなく骨肉腫を治療及び／又は診断することもできる。上記組成物は、色素性絨毛結節性滑膜炎（pigmented vilonodular synovitis）の治療用及び／又は診断用であり得る。

10

20

30

40

50

【0481】

或る特定の実施形態において、このアプローチを使用して、造血器悪性腫瘍、例えば、骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndromes）、急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndromes）、慢性骨髄原性白血病、慢性骨髄単球性白血病、原発性骨髄線維症、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、モノクローナルガンマグロブリン血症、形質細胞骨髄腫、濾胞性リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、古典的ホジキンリンパ腫、モノクローナルB細胞リンパ球増加症、リンパ増殖性障害NOS、T細胞リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性白血病、マントル細胞リンパ腫、形質細胞腫、バーキットリンパ腫、T細胞白血病、ヘアリー細胞白血病、前駆Tリンパ芽球性白血病、結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫等を治療及び／又は診断することができる。

10

【0482】

本開示の組成物は、ペイロード（例えば、親薬物（すなわち、組成物にコンジュゲートする前の薬物））の投与による治療又は診断に適した被験体における病態又は疾患の治療及び／又は診断において使用される。「治療」とは、被験体が罹っている病態に関連する症状の寛解が少なくとも達成されることを意味し、ここで、寛解とは、治療される病態に関連するパラメーター、例えば症状の大きさの低減を少なくとも指す広い意味において使用される。したがって、治療には、病理学的病態、又は少なくともそれに関連する症状が完全に阻止され、例えば、発症が防止され、又は停止され、例えば、終息し、こうして、被験体がもはやその病態、又は少なくともその病態を特徴付ける症状に悩まされなくなる状況も含まれる。治療には、臨床症状の阻止、すなわちその進展又は更なる進展を停止させること、例えば活動性疾患を緩和又は完全に阻止することが含まれ得る。治療には、臨床症状の緩衝、すなわちその退縮を引き起こすことが含まれ得る。例えば、癌の文脈においては、「治療する」という用語には、固形腫瘍の成長の低下、癌細胞の複製の阻害、総腫瘍量の軽減、生存期間の延長、及び癌に関連する1つ以上の症状の寛解のいずれか又は全てが含まれる。

20

【0483】

治療対象の被験体は、療法を必要とする被験体であり得て、ここで、治療対象の被験体は、親薬物を使用する治療に適した被験体である。したがって、様々な被験体が、本明細書に開示される組成物を使用する治療に適している可能性がある。一般に、そのような被験体は「哺乳動物」であり、ここで、ヒトが注目される。他の被験体としては、家庭のペット（例えば、イヌ及びネコ）、家畜（例えば、ウシ、ブタ、ヤギ、ウマ等）、齧歯類（例えば、マウス、モルモット、及びラット、例えば、疾患の動物モデル等）だけでなく、非ヒト霊長類（例えば、チンパンジー及びサル等）を挙げることでもある。

30

【0484】

或る特定の実施形態において、追加の治療剤及び方法を使用して、限定されるものではないが、とりわけ、黒色腫（例えば、切除不能な転移性黒色腫）、腎癌（例えば、腎細胞癌）、前立腺癌（例えば、転移性去勢抵抗性前立腺癌）、卵巣癌（例えば、転移性上皮性卵巣癌等の上皮性卵巣癌）、子宮内膜癌、乳癌（例えば、トリプルネガティブ乳癌）、神経膠芽腫（例えば、多形神経膠芽腫）、及び肺癌（例えば、非小細胞肺癌）を含む固形腫瘍、軟部組織肉腫、線維肉腫、骨肉腫、脾臓癌、胃部癌、頭頸部の扁平上皮癌、肛門／外陰癌、食道癌、膵臓腺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、カポジ肉腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、ウィルムス腫瘍／神経芽腫、膀胱癌、甲状腺腺癌、脾神経内分泌腫瘍、前立腺腺癌、鼻咽頭癌、皮膚T細胞リンパ腫を治療、予防、及び／又は診断することができる。開示されたアプローチは、アジュバント／ネオアジュバント系として十分に適している。例えば、本明細書に開示される粒子を生検中に配置することができ、研究からの結果が戻ってきたら、医師は体内の所望の部位に適切なカクテルを送達することができる。これにより、特に外科的に切除可能な腫瘍の状況下に、腫瘍のサイズが最小限に抑えられることとなる。次いで、手術の終わりに、外科医は、追加の標的化部分を被験体に投与して、外科的空洞を標的とし、更なる治療用量で患者を治療（例えば、開示されたアプローチによる化学療法）して、切除縁において何らかの癌細胞が見落とされ得るリスクを最小限

40

50

に抑えることができる。

【0485】

或る特定の実施形態において、本明細書に開示される標的化部分を投与することができる。これにより、特に外科的に切除可能な腫瘍の状況下に、腫瘍のサイズが最小限に抑えられることとなる。次いで、手術の終わりに、外科医は、追加の標的化部分を被験体に投与して、外科的空洞を標的とし、更なる治療用量で患者を治療（例えば、開示されたアプローチによる化学療法）して、切除縁において何らかの癌細胞が見落とされ得るリスクを最小限に抑えることができる。

【0486】

或る特定の実施形態において、開示された方法は、生検時に本明細書に開示される粒子を配置する能力を提供する。結果が返されたら、医師は生検部位へと免疫調節剤を送達して届けることができる。

【0487】

或る特定の実施形態において、開示された方法は、医師がTLRアゴニスト、STINGアゴニスト、ケモカイン（癌性細胞及び／又は免疫細胞を誘引する作用物質）、及びアジュバント等の免疫調節剤を送達して、化学療法剤と免疫療法剤との組合せと同様により少ない副作用で免疫系を増強する能力を提供する。この組合せアプローチは患者にとって有益となる。化学療法剤は固形腫瘍又は特定の部位を治療するのに対し、免疫療法の応答の強化は遠隔転移部位で役立つこととなる。例えば、或る特定の実施形態において、開示された組成物及び方法を、アントラサイクリン、タキサン、ゲムシタビン、及びイピリウムマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、アベルマブ（MSB0010718Cとしても知られる；Pfizer）等の1種以上の免疫調節剤の効力を増強する他の作用物質とともに使用又は利用することができる。

【0488】

癌

開示された方法を使用して、転移性癌を含む癌を治療又は予防することができる。癌は、増殖シグナル伝達の維持、成長抑制の回避、細胞死に対する耐性、複製による不死性の達成、血管新生の誘導、並びに浸潤及び転移の活性化を含み得る関連疾患の群である。開示された方法は、被験体における癌に対する免疫応答を増強又は誘発し得る。免疫応答は、白血球、リンパ球、単球、及び好酸球のうちの1種以上の増加を引き起こし得る。

【0489】

開示された方法によって治療され得る癌としては、限定されるものではないが、星細胞腫、副腎皮質癌、虫垂癌、基底細胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脳癌、脳幹癌、脳幹神経膠腫、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、皮膚T細胞リンパ腫、びまん性内在性橋膠腫、乳管癌、子宮内膜癌、上衣腫、ユーイング肉腫、食道癌、眼癌、線維肉腫、胆嚢癌、胃部癌、消化管癌、胚細胞腫瘍、神経膠腫、肝細胞癌、組織球症、ホジキンリンパ腫、下咽頭癌、眼内黒色腫、カポジ肉腫、腎臓癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌、リンパ腫、マクログロブリン血症、黒色腫、中皮腫、口腔癌、多発性骨髄腫、鼻咽頭癌、神経芽腫、非ホジキンリンパ腫、骨肉腫、卵巣癌、脾臓癌、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌、下垂体癌、前立腺癌、直腸癌、腎細胞癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、肉腫、皮膚癌、小細胞肺癌、小腸癌、軟部組織癌、軟部組織肉腫、固形腫瘍、扁平上皮癌、胃癌、T細胞リンパ腫、精巣癌、喉癌、胸腺腫、甲状腺癌、絨毛性腫瘍、尿道癌、子宮癌、子宮肉腫、膣癌、外陰癌、ウィルムス腫瘍、非小細胞肺癌（NSCLC）、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、又は口腔舌扁平上皮癌（OTSCC）が挙げられる。

【0490】

幾つかの実施形態において、開示された方法によって治療され得る癌は、黒色腫、腎癌、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、神経膠腫、肺癌、軟部組織癌、軟部組織肉腫、骨肉腫、又は脾臓癌である。幾つかの実施形態において、癌は固形腫瘍である。幾つかの実施形態において、癌は軟部組織癌である。幾つかの実施形態において、癌は線維肉腫である。幾つか

10

20

30

40

50

の実施形態において、癌はびまん性内在性橋髄腫である。幾つかの実施形態において、癌は転移性癌である。

【0491】

幾つかの実施形態において、開示された方法によって治療され得る癌は、造血器悪性腫瘍、例えば、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群、慢性骨髄原性白血病、慢性骨髄単球性白血病、原発性骨髄線維症、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、モノクローナルガンマグロブリン血症、形質細胞骨髄腫、濾胞性リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、古典的ホジキンリンパ腫、モノクローナルB細胞リンパ球増加症、リンパ増殖性障害NOS、T細胞リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性白血病、マントル細胞リンパ腫、形質細胞腫、パーキットリンパ腫、T細胞白血病、ヘアリー細胞白血病、前駆Tリンパ芽球性白血病、結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫等である。

10

【0492】

特定の理論に縛られるものではないが、本開示の化合物及び方法を使用した或る特定の抗癌剤の局所放出は、免疫原性細胞死（ICD）を引き起こし得るか、又はその一因となり得る。例えば、或る特定の抗癌剤（例えば、アントラサイクリン、シクロホスファミド、オキサリプラチン）はICDを誘導することが報告されている。Kroemer et al. Annu. Rev. Immunol. 2013 (31), 51-72。癌細胞の免疫原性アポトーシスは、樹状細胞（DC）の活性化及びその結果としての特異的T細胞応答の活性化を通じて、効果的な抗腫瘍免疫応答を誘導することができる。ICDは、損傷関連分子パターン（DAMP）の分泌を特徴とする。ICD中に細胞表面に露出される3つの重要なDAMP。DAMP分子の1つであるカルレティキュリン（CRT）は、通常は小胞体（ER）の内腔にあり、免疫原性アポトーシスの誘導後に死にゆく細胞の表面に移動し、そこでこれはプロフェッショナル食細胞に対する「イートミー」シグナルとして機能する。表面に露出した他の重要なDAMPは熱ショックタンパク質（HSP）、すなわちHSP70及びHSP90であり、これらもストレス条件下で原形質膜に移動する。細胞表面では、これらはCD91及びCD40のような多くの抗原提示細胞（APC）表面受容体との相互作用に基づいて免疫刺激効果を有し、またMHCクラスI分子上での腫瘍細胞由来の抗原の交差提示を促進した後、これはCD8⁺T細胞応答を引き起こす。ICDに特徴的な他の重要なDAMPは、分泌型アンホテリン（HMGB1）及びATPである。HMGB1は後期アポトーシスマーカーであると考えられ、細胞外空間へのHMGB1の放出は、樹状細胞への腫瘍抗原の最適な放出及び提示に必要であると考えられる。HMGB1は、APC上で発現されるToll様受容体（TLR）2及びTLR4等の幾つかのパターン認識受容体（PRR）に結合する。免疫原性細胞死の際に放出されるごく最近発見されたDAMPはATPであり、これは分泌されると単球に対する「ファインドミー」シグナルとして機能し、アポトーシス部位への単球の誘引を誘導する。Kroemer et. al. Curr. Op. Immunol. 2008 (20), 504-511。

20

30

【0493】

したがって、本開示の化合物及び方法を使用したICD誘導因子の局所放出を1種以上の免疫調節剤と有利に組み合わせることができる。

【0494】

或る特定の実施形態において、標的化部分を使用して、限定されるものではないが、とりわけ、黒色腫（例えば、切除不能な転移性黒色腫）、腎癌（例えば、腎細胞癌）、前立腺癌（例えば、転移性去勢抵抗性前立腺癌）、卵巣癌（例えば、転移性上皮性卵巣癌等の上皮性卵巣癌）、乳癌（例えば、トリプルネガティブ乳癌）、神経膠芽腫（例えば、多形神経膠芽腫）、及び肺癌（例えば、非小細胞肺癌）を含む固形腫瘍、軟部組織肉腫、線維肉腫、骨肉腫、膵臓癌を治療し、予防し、及び／又は診断することができる。

40

【0495】

開示されたアプローチは、アジュバント／ネオアジュバント系として十分に適している。例えば、本明細書に開示される標的化部分を生検中に配置することができ、研究からの結果が戻ってきたら、医師は適切なカクテルを投与して体内の所望の部位に治療を届ける

50

ことができる（本明細書に開示される化合物及び任意の追加の治療剤（複数の場合もある））。生検の結果は、腫瘍部位に届けられる治療の量及び種類を示し得る。例えば、化学療法剤と同様により少ない副作用で免疫系を強化するケモカイン（癌性細胞及び／又は免疫細胞を誘引する作用物質）及びアジュバントを送達し、免疫療法剤と組み合わせることができる。

【0496】

開示された方法は、1つ以上の位置に集中する標的化部分の単回又は多回の全身用量を含み得る。開示された方法を使用して、全身投与又は局所投与を通じて官能化されたペイロードをこれらの位置に送達することができる。幾つかの実施形態において、標的化部分は全身送達される。幾つかの実施形態において、標的化部分及びペイロード（すなわち、TCO標識されたペイロード）は両方とも全身送達される。幾つかの実施形態において、標的化部分は局所送達される。

10

【0497】

開示された化合物及び組成物を、外科的切除の前に投与することができる。開示された方法は、外科的切除の前に腫瘍のサイズを最小限に抑えることができる。これにより、特に外科的に切除可能な腫瘍の状況下に、腫瘍のサイズが最小限に抑えられることとなる。開示されたコンジュゲート、化合物、及び組成物を、外科的切除中に投与することができる。開示されたコンジュゲート、化合物、及び組成物を、外科的切除後に投与することができる。外科的切除の終了時に、標的化部分を切除縁の周囲に配置することができ、その後、被験体を更なる治療用量で治療して、切除縁において何らかの癌細胞が見落とされ得るリスクを最小限に抑えることができる。

20

【0498】

開示された方法は、1つの位置に集中する官能化されたペイロードの多回の全身用量を含み得る。開示された方法を使用して、第2のペイロードを送達することができる。腫瘍が第1のペイロードに対して耐性である場合、開示された方法を使用して、第2の官能化されたペイロードを投与することができる。第2のペイロードは、ゲムシタビン又はドセタキセルのTCO標識されたペイロードであり得る。ゲムシタビン、パクリタキセル、又はドセタキセルのTCO標識されたペイロードを、ドキソルビシンと組み合わせて投与することができる。第2の官能化されたペイロードは、第1のプロドラッグに使用される標的化部分によって活性化され得る。

30

【0499】

本明細書に開示される官能化されたペイロードはアジュバントとして機能し得る。この組合せアプローチは患者にとって有益となる。化学療法剤は固形腫瘍又は特定の位置を治療することとなり、免疫応答を増強又は誘発し得る一方で、官能化されたペイロード及び／又は別個の作用物質の免疫療法の応答の増強は遠隔転移部位で役立つ可能性がある。例えば、或る特定の実施形態において、開示された組成物及び方法を、アントラサイクリン、オーリスタチン、ピンカアルカロイド、タキサン、ゲムシタビン、カンプトテシン類縁体、及びイピリムマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、アベルマブ（MSB0010718Cとしても知られる；Pfizer）の効力を増強する他の作用物質とともに使用又は利用することができる。

40

【0500】

開示された方法を使用して、びまん性内在性橋髄腫を治療することができる。びまん性内在性橋髄腫（DIPG）は、悪性度が高い場合があり、治療が難しい場合がある小児脳幹腫瘍である。DIPGに対する既知の治療的治療法はなく、生存の可能性は過去40年間にわたり依然として散々なものである。DIPG患者は、ほんの11ヶ月の全生存期間中央値しか有さず、2年生存率は10%を下回る。DIPGは小児の脳幹腫瘍の75%～80%を占め、米国では毎年推定200人～300人の小児が罹患している。この深刻な疾患の希少性及びこれまでの実験モデル系の欠如により研究が妨げられ、過去40年間にわたって生存の可能性は横ばい状態である。DIPGの診断は臨床症状から始まり、MRIによって確認され得る。この疾患は、行動変化及び学業困難、複視、目の動きの異常又

50

は制限、笑顔の非対称、平衡感覚の喪失、並びに衰弱を含む数ヶ月の全身症状から始まる場合がある。一方、重度の神経学的悪化がより早期に起こり、診断前の1ヶ月未満にわたり症状が現れる場合もある。臨床検査では、多発性脳神経障害、反射亢進及びクローヌス等の索路徴候、並びに運動失調の三つ組が明らかにされる場合がある。脳幹の橋部分の拡張は、閉塞性水頭症及び頭蓋内圧の上昇を引き起こす可能性がある。

【0501】

呼吸及び心拍等の生命維持機能に重要な核は橋内に位置しており、治療しないとDIGによって呼吸及び心拍が害される可能性がある。

【0502】

開示された方法は、1つの位置に集中する官能化されたペイロードの多回の全身用量を含み得る。開示された方法を使用して、第2のペイロードを送達することができる。腫瘍が第1のペイロードに対して耐性である場合、開示された方法を使用して、第2の官能化されたペイロードを投与することができる。第2のペイロードは、ゲムシタビン又はドセタキセルのTCO標識されたペイロードであり得る。ゲムシタビン又はドセタキセルのTCO標識されたペイロードを、ドキシソルピシンと組み合わせて投与することができる。第2の官能化されたペイロードは、第1のプロドラッグに使用される標的化部分によって活性化され得る。

【0503】

投与方式

治療方法には、開示されたコンジュゲート、化合物、又は組成物の任意の数の投与方式が含まれ得る。投与方式としては、錠剤、丸薬、糖衣錠、ハードゲルカプセル及びソフトゲルカプセル、顆粒剤、ペレット剤、皮膚パッチ剤、スキนครリーム剤、スキンジエル剤、水性液剤、脂質液剤、油性液剤、若しくは他の液剤、水中油型エマルジョン剤等のエマルジョン剤、リポソーム剤、水性懸濁液剤若しくは油性懸濁液剤、シロップ剤、エリキシル剤、固体エマルジョン剤、固溶体剤、又は分散性粉末剤を挙げることができる。医薬組成物において、本明細書に開示されるコンジュゲート、化合物、又は組成物は、マイクロ粒子、例えばナノ粒状組成物中に分散されていてもよい。

【0504】

非経口投与の場合、本明細書に開示されるコンジュゲート、化合物、又は組成物は、可溶化剤、表面活性剤、分散剤、又は乳化剤を含む又は含まない水、緩衝液、油等の生理学的に許容可能な希釈剤中に溶解又は懸濁されていてもよい。適切な油としては、例えば、オリーブ油、落花生油、綿実油、大豆油、ヒマシ油、及びゴマ油を挙げることができる。非経口投与の場合、本明細書に開示されるコンジュゲート、化合物、又は組成物を、水性、脂質、油性、若しくは他の種類の溶液若しくは懸濁液の形態で投与することができ、又はリポソーム又はナノ懸濁液の形態でも投与することができる。

【0505】

本明細書において使用される「非経口」という用語は、静脈内、筋肉内、腹腔内、胸骨内、皮下、及び関節内の注射及び注入を含む投与方式を指す。

【0506】

被験体に投与される組成物の量は、親薬物の用量及び／又は投薬計画の指針に基づいて最初に決定され得る。概して、上記組成物は、結合された薬物の標的化送達及び／又は血清半減期の延長をもたらすことができるため、投薬計画における用量の低減又は投与の削減の少なくとも1つがもたらされる。したがって、上記組成物は、本開示の組成物におけるコンジュゲート前の親薬物と比較して、投薬計画における用量の低減及び／又は投与の削減をもたらすことができる。

【0507】

医薬製剤は単位剤形で提供されてもよい。このような形態において、医薬製剤は、適切な量の本開示の組成物を含む単位用量に細分され得る。単位剤形は包装された調剤であることができ、その包装には、個別量の調剤、例えば、パウチ、バイアル、又はアンプル内に小分けにされた錠剤、カプセル剤、及び粉剤が収容されている。

【0508】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載される標的化部分若しくはその薬学的に許容可能な塩、又はそれらを含む医薬組成物と、その使用についての使用説明書とを含むキットが提供される。

【0509】

幾つかの実施形態において、キットは更にプロドラッグを含む。

【0510】

本開示の組成物は、あらゆる適切な量で存在することができ、限定されるものではないが、被験体の体重及び年齢、疾患の状態等を含む様々な要因に依存し得る。本開示の組成物に適切な投薬量範囲としては、0.1mg～10000mg、又は1mg～1000mg、又は10mg～750mg、又は25mg～500mg、又は50mg～250mgが挙げられる。例えば、本開示の組成物に適した投薬量としては、1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg、500mg、550mg、600mg、650mg、700mg、750mg、800mg、850mg、900mg、950mg、又は1000mgが挙げられる。

10

【0511】

幾つかの実施形態において、組成物の多回用量が投与される。組成物の投与回数は、様々な要因、例えば、症状の重症度、被験体の状態等のいずれかに応じて変わり得る。例えば、幾つかの実施形態において、組成物は、月に1回、月に2回、月に3回、隔週（qow）、週に1回（qw）、週に2回（biw）、週に3回（tiw）、週に4回、週に5回、週に6回、隔日（qod）、毎日（qd）、1日に2回（qid）、又は1日に3回（tid）で投与される。

20

【0512】

本開示の組成物を、あらゆる適切な回数、間隔、及び期間で投与することができる。例えば、本開示の組成物を、1時間に1回、又は1時間に2、3回以上、1日に1回、又は1日に2、3回以上、又は2日、3日、4日、5日、6日、若しくは7日に1回投与して、被験体に所望の投薬量レベルを提供することができる。本開示の組成物が1日に1回より多く投与される場合、代表的な間隔としては、5分、10分、15分、20分、30分、45分、及び60分だけでなく、1時間、2時間、4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、16時間、20時間、及び24時間も挙げられる。本開示の組成物を、1時間、1時間～6時間、1時間～12時間、1時間～24時間、6時間～12時間、12時間～24時間、1日間、1日間～7日間、1週間、1週間～4週間、1ヶ月間、1ヶ月間～12ヶ月間、1年間以上にわたって、又は更には無期限に1回、2回、又は3回以上投与することができる。

30

【0513】

本開示の組成物を、別の活性作用物質と共投与することができる。共投与としては、本開示の組成物及び活性作用物質を互いに0.5時間、1時間、2時間、4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、16時間、20時間、又は24時間以内に投与することが挙げられる。また、共投与としては、本開示の組成物及び活性作用物質を同時に若しくはほぼ同時に（例えば、互いに約1分、5分、10分、15分、20分、又は約30分以内に）、又はあらゆる順序で逐次的に投与することも挙げられる。さらに、本開示の組成物及び活性作用物質をそれぞれ1日に1回、又は1日当たり2、3回以上投与して、1日当たりの所望の投薬量レベルを提供することができる。

40

【0514】

共投与は同時移植又は同時注射によって達成され得る。

【0515】

幾つかの実施形態において、共投与を、同時製剤化、例えば、本開示の組成物及び活性作用物質の両方を含む単一の医薬製剤を調製することによって達成することができる。他

50

の実施形態において、本開示の組成物及び活性作用物質を別々に製剤化し、被験体に共投与することができる。

【0516】

本開示の組成物及び活性作用物質は、1：100～100：1（重量／重量）、又は1：50～50：1、又は1：25～25：1、又は1：10～10：1、又は1：5～5：1（重量／重量）等のあらゆる適切な重量比で製剤中に存在し得る。本開示の組成物及び他の活性作用物質は、1：100（重量／重量）、1：75、1：50、1：25、1：10、1：5、1：4、1：3、1：2、1：1、2：1、3：1、4：1、5：1、10：1、25：1、50：1、75：1、又は100：1（重量／重量）等のあらゆる適切な重量比で存在し得る。本開示の組成物及び活性作用物質の他の投薬量及び投薬量比は本明細書に記載される製剤及び方法において適している。

10

【0517】

併用療法

一態様において、癌を治療する方法、又は免疫応答を増強若しくは誘発する方法であって、治療又は増強若しくは誘発を必要とする被験体に、治療的有効量の本開示の標的化部分若しくはその薬学的に許容可能な塩又は組成物と、本明細書に記載されるもの等のプロドラッグと、任意に、治療的有効量の抗癌剤、免疫調節剤、又はそれらのトランス-シクロオクテンプロドラッグからなる群から選択される追加の治療剤とを投与することを含む、方法が提供される。

【0518】

本開示はまた、癌の治療若しくは予防において使用される、又は免疫応答を増強若しくは誘発するのに使用される、本明細書に記載される標的化部分若しくはその薬学的に許容可能な塩又は組成物と、本明細書に記載されるプロドラッグと、任意に、抗癌剤、免疫調節剤、又はそれらのトランス-シクロオクテンプロドラッグからなる群から選択される追加の治療剤とを含む組合せ医薬（pharmaceutical combination）を提供する。

20

【0519】

本開示はまた、癌の治療若しくは予防のための、又は免疫応答を増強若しくは誘発するのに使用するための、本明細書に記載される標的化部分若しくはその薬学的に許容可能な塩又は組成物と、本明細書に記載されるもの等のプロドラッグと、任意に治療的有効量の抗癌剤、免疫調節剤、又はそれらのトランス-シクロオクテンプロドラッグからなる群から選択される追加の治療剤とを含む組合せ医薬の使用を提供する。

30

【0520】

本明細書に記載される方法及び使用において、組合せ医薬の成分を、同時に、別々に、又は逐次的にあらゆる順序で投与／使用してよく、これらの成分を別々に又は固定の組合せとして投与してよい。例えば、本開示による疾患の進行の遅延又は治療は、同時に又は逐次的にあらゆる順序で、一緒になると治療的に有効な量又は有効量で、例えば、本明細書に記載される量に対応する1日の投薬量で、遊離形態又は薬学的に許容可能な塩形態での第1の有効成分を投与し、遊離形態又は薬学的に許容可能な塩形態の第2の有効成分を投与することを含み得る。組合せ医薬の個々の有効成分を、治療過程中的異なる時点で別々に投与することも、又は分割された若しくは単一の剤形で同時に投与することもできる。したがって、本開示は、同時治療又は交互治療のそのような全ての計画を包含するものとして理解されるべきであり、「投与する」という用語は相応して解釈されるべきである。したがって、本明細書において使用される組合せ医薬は、1つの単位剤形における固定された組合せ、又は組合せ投与が独立して同時であるか若しくは異なる時間であり得る組合せ投与の場合の別個の剤形のいずれかを定義している。更なる例として、標的化部分（又は治療用標的化部分）及びプロドラッグを、同時に（例えば、同時注射又は同時移植によって）、別々に、又は逐次的に投与／使用し、続いて抗癌剤、免疫調節剤、又はそれらのトランス-シクロオクテンプロドラッグからなる群から選択される追加の治療剤を投与することができる。

40

【0521】

50

癌を治療する方法及び癌の治療における使用には、標的化部分を腫瘍に投与／局所化することが含まれる。本明細書に開示される方法及び使用において、プロドラッグ若しくはその薬学的に許容可能な塩又は組成物、標的化部分、及び任意に追加の治療剤の投与は、腫瘍の成長を阻害し得る。

【0522】

追加の治療剤（複数の場合もある）は、開示されたコンジュゲート及び組成物と同時に又は逐次的に投与され得る。逐次的な投与には、開示されたコンジュゲート及び組成物の前又は後の投与が含まれる。追加の治療剤は、開示されたコンジュゲート及び組成物の前に投与され得る。追加の治療剤は、開示されたコンジュゲート及び組成物の後に投与され得る。追加の治療剤は、開示されたコンジュゲート及び組成物と同時に投与され得る。幾つかの実施形態において、追加の治療剤は、開示されたコンジュゲートと同じ組成物中で投与され得る。他の実施形態において、追加の治療剤の投与と開示されたコンジュゲート又は組成物の投与との間に時間間隔があってよい。幾つかの実施形態において、追加の治療剤とともに開示されたコンジュゲート又は組成物を投与することにより、他の治療剤のより低い用量及び／又はより頻度の低い間隔での投与が可能となり得る。1種以上の他の有効成分と組み合わせて使用される場合、本開示のコンジュゲート又は組成物及び他の有効成分を、それぞれ単独で使用する場合よりも低い用量で使用する事ができる。したがって、本開示の医薬組成物としては、本開示のコンジュゲートに加えて、1つ種以上の他の有効成分を含むものが挙げられる。

【0523】

抗癌剤

例示的な抗癌剤としては、限定されるものではないが、酢酸アビラテロン、アビトレキサート（メトトレキサート）、アブラキサン（パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、ABVD、ABVE、ABVE-PC、AC、AC-T、アドセトリス（ブレンツキシマブベドチン）、ADE、アドートラスツズマブエムタンシン、アドリアマイシン（塩酸ドキソルビシン）、アドルシル（フルオロウラシル）、ニマレイン酸アフアチニブ、アフィニートール（エベロリムス）、アルダラ（イミキモド）、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アリムタ（ペメトレキセド二ナトリウム）、アロキシ（塩酸パロノセトロン）、アンボクロリン（クロラムブシル）、アミノレブリン酸、アナストロゾール、アプレピタント、アレディア（パミドロン酸二ナトリウム）、アリミデックス（アナストロゾール）、アロマシン（エキセメスタン）、アラノン（ネララビン）、三酸化ヒ素、アーゼラ（オフアツマブ）、エルウィニア・クリサンテミ（*Erwinia chrysanthemi*）のアスパラギナーゼ、アバスチン（ベバシズマブ）、アキシチニブ、アザシチジン、BEACOPP、塩酸ベンダムスチン、BEP、ベバシズマブ、ベキサロテン、ベキサール（トシツモマブ及びE¹³¹ヨウ素トシツモマブ）、ビカルタミド、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ボシュリフ（ボスチニブ）、ボスチニブ、ブレンツキシマブベドチン、ブスルファン、ブスルフェクス（ブスルファン）、カバジタキセル、S-リンゴ酸カボザンチニブ、CAF、キャンパス（アレムツズマブ）、カンプトサル（塩酸イリノテカン）、カペシタビン、CAPOX、カルボプラチン、カルボプラチン-タキソール、カルフィルゾミブ、カソデックス（ビカルタミド）、CeeNU（ロムスチン）、セルビジン（塩酸ダウノルビシン）、サーバリックス（組換えHPV二価ワクチン）、セツキシマブ、クロラムブシル、クロラムブシル-プレドニゾン、CHOP、シスプラチン、クラフェン（シクロホスファミド）、クロファラビン、クロファレックス（クロファラビン）、クロラル（クロファラビン）、CMF、コメトリク（S-リンゴ酸カボザンチニブ）、COPP、COPP-ABV、コスメゲン（ダクチノマイシン）、クリゾチニブ、CVP、シクロホスファミド、サイフォス（Cyfos）（イホスファミド）、シタラビン、リポソーム状シタラビン、サイトサール-U（シタラビン）、サイトキサン（シクロホスファミド）、ダブラフェニブ、ダカルバジン、ダコゲン（デシタビン）、ダクチノマイシン、ダサチニブ、塩酸ダウノルビシン、デシタビン、デガレリクス、デニロイキンディフティトックス、デノスマブ、DepoCyt（リポソーム状シタラビン）、DepoFoam（リポソーム状シ

タラビン)、塩酸デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキシル(塩酸ドキソルビシンリボ
 ソーム)、塩酸ドキソルビシン、塩酸ドキソルビシンリボソーム、Dox-SL(塩酸ド
 キソルビシンリボソーム)、DTIC-Dome(ダカルバジン)、エフデックス(フル
 オロウラシル)、エリテック(ラスブリカーゼ)、エレンス(塩酸エピルビシン)、エロ
 キサチン(オキサリプラチン)、エルトロンボパグオラミン、イメンド(アプレピタント
)、エンザルタミド、塩酸エピルビシン、EPOCH、アービタックス(セツキシマブ)
 、メシル酸エリブリン、エリベッジ(ビスモデギブ)、塩酸エルロチニブ、エルウィナー
 ゼ(エルウィニア・クリサンテミのアスパラギナーゼ)、エトボホス(リン酸エトボシド
)、エトボシド、リン酸エトボシド、エバセト(塩酸ドキソルビシンリボソーム)、エベ
 ロリムス、エビスタ(塩酸ラロキシフェン)、エキセメスタン、フェアストン(トレミフ
 ェン)、フェソロデックス(フルベストラント)、FEC、フェマーラ(レトロゾール)
 、フィルグラスチム、フルダラ(リン酸フルダラビン)、リン酸フルダラビン、フルオロ
 ブレックス(フルオロウラシル)、フルオロウラシル、フォレックス(メトトレキサート
)、フォレックスPFS(メトトレキサート)、フォルフィリ、フォルフィリーベバシズ
 マブ、フォルフィリーセツキシマブ、フォルフィリノックス、フォルフォクス(ロイコボ
 リン、フルオロウラシル、オキサリプラチン)、フォロチン(プララトレキサート)、F
 U-LV、フルベストラント、ガーダシル(組換えHPV四価ワクチン)、ガザイバ(オ
 ビヌツズマブ)、ゲフィチニブ、塩酸ゲムシタビン、ゲムシタビン-シスプラチン、ゲム
 シタビン-オキサリプラチン、ゲムツズマブオゾガマイシン、ジェムザール(塩酸ゲムシ
 タビン)、ジロトリフ(ニマレイン酸アフチニブ)、グリベック(メシル酸イマチニブ
)、グルカルピダーゼ、酢酸ゴセレリン、ハラベン(メシル酸エリブリン)、ハーセプチ
 ン(トラスツズマブ)、組換えHPV二価ワクチン、組換えHPV四価ワクチン、ハイカ
 ムチン(塩酸トポテカン)、ハイパーCVAD、イブリツモマブチウキセタン、イブルチ
 ニブ、ICE、アイクルシグ(塩酸ボナチニブ)、Ifex(イホスファミド)、イホス
 ファミド、イホスファミダム(ifosfamidum)(イホスファミド)、メシル酸イマチニ
 ブ、イムブルピカ(イブルチニブ)、イミキモド、インライタ(アキシチニブ)、イント
 ロンA(組換えインターフェロンアルファ-2b)、ヨウ素¹³¹トシツモマブ及びトシ
 ツモマブ、イピリムマブ、イレッサ(ゲフィチニブ)、塩酸イリノテカン、イストダック
 ス(ロミデプシン)、イキサベピロン、イクセンブラ(イキサベピロン)、ジャカフィ(
 リン酸ルキソリチニブ)、ジェブタナ(カバジタキセル)、カドサイラ(アドートラスツ
 ズマブエムタンシン)、ケオキシフェン(塩酸ラロキシフェン)、ケピバンス(パリフェ
 ルミン)、カイプロリス(カルフィルゾミブ)、ニトシル酸ラパチニブ、レナリドミド、
 レトロゾール、ロイコボリンカルシウム、ロイケラン(クロラムブシル)、酢酸ロイプロ
 リド、レبران(アミノレブリン酸)、リンホリジン(Linfolizin)(クロラムブシル
)、Lipodox(塩酸ドキソルビシンリボソーム)、リボソーム状シタラビン、ロム
 スチン、ルプロン(酢酸ロイプロリド)、ルプロンデポー(酢酸ロイプロリド)、ルプロ
 ンデポー-Ped(酢酸ロイプロリド)、ルプロンデポー(3ヶ月)(酢酸ロイプロリド
)、ルプロンデポー(4ヶ月)(酢酸ロイプロリド)、マルキボ(硫酸ビンクリスチンリ
 ボソーム)、マツラン(Matulane)(塩酸プロカルバジン)、塩酸メクロレタミン、メ
 ゲース(酢酸メゲストロール)、酢酸メゲストロール、メキニスト(トラメチニブ)、メ
 ルカプトブリン、メスナ、メスネックス(メスナ)、メタゾラストン(テモゾロミド)、
 メトトレキサート、メトトレキサートLPF(メトトレキサート)、メキサート(メトト
 レキサート)、メキサート-AQ(メトトレキサート)、マイトマイシンC、ミトザイト
 レックス(マイトマイシンC)、MOPP、モゾビル(プレリキサホル)、マスタージェ
 ン(Mustargen)(塩酸メクロレタミン)、ムタマイシン(マイトマイシンC)、ミレ
 ラン(ブスルファン)、マイロサール(アザシチジン)、マイロターグ(ゲムツズマブオ
 ゾガマイシン)、ナノ粒子パクリタキセル(パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子
 製剤)、ナベルピン(酒石酸ビノレルピン)、ネララビン、ネオサール(シクロホスファ
 ミド)、ニューボジェン(フィルグラスチム)、ネクサバール(トシル酸ソラフェニブ)
 、ニロチニブ、ノルバデックス(クエン酸タモキシフェン)、Nplate(ロミプロス

10

20

30

40

50

チム)、オビヌツズマブ、オフアツムマブ、メペコハク酸オマセタキシ、オンキヤスパ
 ー(ペグアスパルガーゼ)、オンタック(デニロイキンディフティトックス)、O E P A
 、O P P A、オキサリプラチン、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン安定化ナ
 ノ粒子製剤、パリフェルミン、塩酸パロノセトロン、パミドロン酸二ナトリウム、パニツ
 ムマブ、パラプラット(Paraplat)(カルボプラチン)、パラプラチン(カルボプラチ
 ン)、塩酸パゾパニブ、ペグアスパルガーゼ、ペグインターフェロンアルファ-2 b、P
 E G-イントロン(ペグインターフェロンアルファ-2 b)、ペメトレキセド二ナトリウ
 ム、パージェタ(ペルツズマブ)、ペルツズマブ、プラチノール(シスプラチン)、プラ
 チノール-A Q(シスプラチン)、プレリキサホル、ポマリドミド、ポマリスト(ポマリ
 ドミド)、塩酸ボナチニブ、プララトレキサート、プレドニゾン、塩酸プロカルバジン、
 プロロイキン(アルデスロイキン)、プロリア(デノスマブ)、プロマクタ(エルトロン
 ボパグオラミン)、プロベンジ(シプロイセル-T)、プリネトール(メルカプトプリン
)、二塩化ラジウム²²³、塩酸ラロキシフェン、ラスブリカーゼ、R-C H O P、R-
 C V P、組換えHPV二価ワクチン、組換えHPV四価ワクチン、組換えインターフェロ
 ンアルファ-2 b、レゴラフェニブ、レブラミド(レナリドミド)、リウマトレックス(メ
 トトレキサート)、リツキサン(リツキシマブ)、リツキシマブ、ロミデプシン、ロミ
 プロスチム、ルビドマイシン(塩酸ダウノルビシン)、リン酸ルキソリチニブ、スクレロ
 ザール胸膜内用エアロゾル(タルク)、シプロイセル-T、トシル酸ソラフェニブ、スプ
 リセル(ダサチニブ)、スタンフォードV、滅菌タルク末(タルク)、ステリタルク(タ
 ルク)、スチバーガ(レゴラフェニブ)、リンゴ酸スニチニブ、スーテント(リンゴ酸ス
 ニチニブ)、シラトロン(ペグインターフェロンアルファ-2 b)、シノビル(サリドマ
 イド)、シンリボ(メペコハク酸オマセタキシ)、タフィンラー(ダブラフェニブ)、
 タルク、クエン酸タモキシフェン、タラビンP F S(シタラビン)、タルセバ(塩酸エル
 ロチニブ)、タルグレチン(ベキサロテン)、タシグナ(ニロチニブ)、タキソール(パ
 クリタキセル)、タキソテル(ドセタキセル)、テモダール(テモゾロミド)、テモゾ
 ロミド、テムシロリムス、サリドマイド、サロミド(サリドマイド)、トポサル(エト
 ポシド)、塩酸トポテカン、トレミフェン、トーリセル(テムシロリムス)、トシツモマ
 ブ及びE¹³¹ヨウ素トシツモマブ、トテクト(塩酸デクスラゾキサン)、トラメチニブ
 、トラスツズマブ、トレアンダ(塩酸ベンダムスチン)、トリセノックス(三酸化ヒ素)
 、タイケルブ(ニトシル酸ラパチニブ)、バンデタニブ、V A M P、ベクティビックス(パ
 ニツムマブ)、V e l P、ベルバン(硫酸ビンブラスチン)、ベルケイド(ボルテゾミ
 ブ)、ベルサル(硫酸ビンブラスチン)、ベムラフェニブ、V e P e s i d(エトポシ
 ド)、ピアデュール(Viadur)(酢酸ロイプロリド)、ビダーザ(アザシチジン)、硫
 酸ビンブラスチン、ピンカサルP F S(硫酸ピンクリスチン)、硫酸ピンクリスチン、
 硫酸ピンクリスチンリボソーム、酒石酸ビノレルビン、ビスモデギブ、ボラクサーゼ(V
 oraxaze)(グルカルピダーゼ)、ボリノスタット、ヴォトリエント(塩酸パゾパニブ
)、ウェルコボリン(ロイコボリンカルシウム)、ザーコリ(クリゾチニブ)、ゼローダ
 (カペシタビン)、ゼロックス、X g e v a(デノスマブ)、ゾーフィゴ(二塩化ラジウ
 ム²²³)、X t a n d i(エンザルタミド)、ヤーボイ(イピリムマブ)、ザルトラッ
 プ(Z i v-アフリベルセプト)、ゼルボラフ(ベムラフェニブ)、ゼヴァリン(イブリ
 ツモマブチウキセタン)、ザインカード(Zinecard)(塩酸デクスラゾキサン)、Z i
 v-アフリベルセプト、ゾラデックス(酢酸ゴセレリン)、ゾレドロン酸、ゾリンザ(ボ
 リノスタット)、ゾメタ(ゾレドロン酸)、並びにザイティガ(酢酸アビラテロン)が挙
 げられる。

10

20

30

40

50

【0524】

抗癌剤は、P B D二量体、カリケアマイシン、スペロマイシン、チューブリシンB、リ
 ゾキシ、ドラスタチン、ジデムニンB、カンプトテシン、C B I、テムシロリムス、ア
 クチノマイシンD、エポチロンB、タキソール、クリプトフィシン、S N 3 8、ベルケイ
 ド、ブルセアンチン、D A V L B H、D M 1、フィラントシド、アリムタ、T 2 毒素、M
 M C、バンタラニブ、ビノレルビン、ブレフェルジン、スニチニブ、ダウノマイシン、セ

マキサニブ、タルセバ、イレッサ、イリノテカン、LY-541503、ゲルダノマイシン、ゲムシタビン、メトトレキサート、グリベック、トポテカン、ブレオマイシン、ドキソルビシン、シスプラチン、ナイトロジェンマスタード、エトポシド、又は5-FUであり得る。

【0525】

或る特定の実施形態において、抗癌剤はアントラサイクリンである。或る特定の実施形態において、抗癌剤はタキサンである。或る特定の実施形態において、抗癌剤はゲムシタビンである。或る特定の実施形態において、抗癌剤はドキソルビシンである。或る特定の実施形態において、抗癌剤はドセタキセルである。或る特定の実施形態において、抗癌剤はSN38である。或る特定の実施形態において、抗癌剤はモノメチルアウリスタチンEである。

10

【0526】

化合物の合成

標的化部分を、本明細書に開示される方法及びその定型的な改良を使用して調製することができ、これらは本明細書の開示及び当該技術分野においてよく知られる方法を考慮すれば明らかであろう。本明細書の教示に加えて、従来よく知られる合成方法を使用することができる。本明細書に記載される典型的な標的化部分の合成は、以下の実施例に記載されるように達成され得る。入手可能であれば、試薬及び出発材料を、例えばSigma Aldrich又は他の化学品供給業者から商業的に購入することができる。

【0527】

典型的な又は好ましいプロセス条件（すなわち、反応温度、時間、反応物のモル比、溶媒、圧力等）が示される場合、特段の指定がない限り、他のプロセス条件を使用することができることも理解されるであろう。最適な反応条件は、使用される特定の反応物又は溶媒により異なり得るが、当業者であれば、そのような条件を定型的な最適化手順によって決定することができる。

20

【0528】

さらに、或る特定の官能基が不所望な反応を受けることを防ぐのに、慣例的な保護基が必要となる場合がある。様々な官能基に適した保護基、並びに特定の官能基を保護及び脱保護するのに適切な条件は、当該技術分野においてよく知られている。例えば、Wuts, P. G. M., Greene, T. W., & Greene, T. W. (2006). *Greene's protective groups in organic synthesis*. Hoboken, N.J., Wiley-Interscience、及びそこで引用される参考文献に、数多くの保護基が記載されている。

30

【0529】

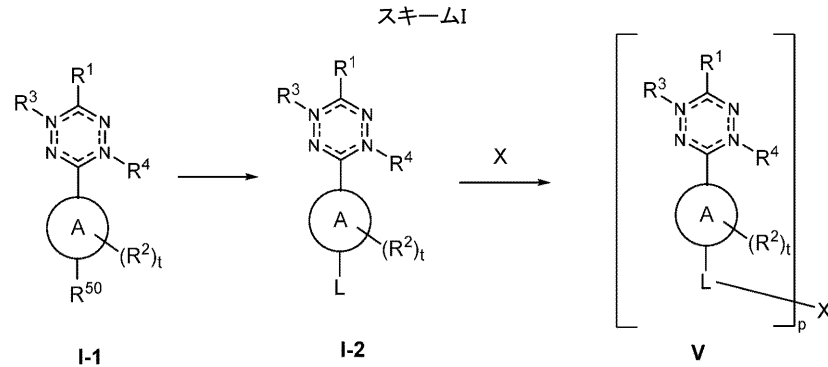
スキームIに示されるように、式Vの化合物（式中、点線、R¹、R²、R³、R⁴、環A、t、L、p、及びXのそれぞれは、独立して本明細書において定義されており、かつR⁵⁰は、離脱基、例えばハロ等のLへの結合用の合成ハンドル、又はXに連結することができるLの部分若しくはLの更なる部分、例えば、ヒドロキシ、アミノ、メチルアミノ等である）を、式I-2の化合物と適切に官能化された生体適合性支持体、抗体、又は抗体フラグメント部分Xとをカップリングさせることによって調製することができる。適切な方法は文献（例えば、国際公開第2020/077140号、国際公開第2018/187740号、国際公開第2017/044983号、国際公開第2015/139025号、及び国際公開第2014/205126号を参照）から引用され得る。式I-2の化合物を、適切なカップリング反応条件下で化合物I-1とLの前駆体とを反応させることによって調製することができる。幾つかの実施形態において、Xは、抗体又は抗体フラグメントである。適切なカップリング方法としては、限定されるものではないが、抗体若しくは抗体フラグメント上の第一級アミンとともにアミド結合を形成することができるスクシンイミド官能基の使用が挙げられ、又はLは、抗体若しくは抗体フラグメント上のシステイン残基と共有結合を形成することができるピロール-2, 5-ジオン等の基で官能化され得る。

40

【0530】

50

【化 1 2 9】



10

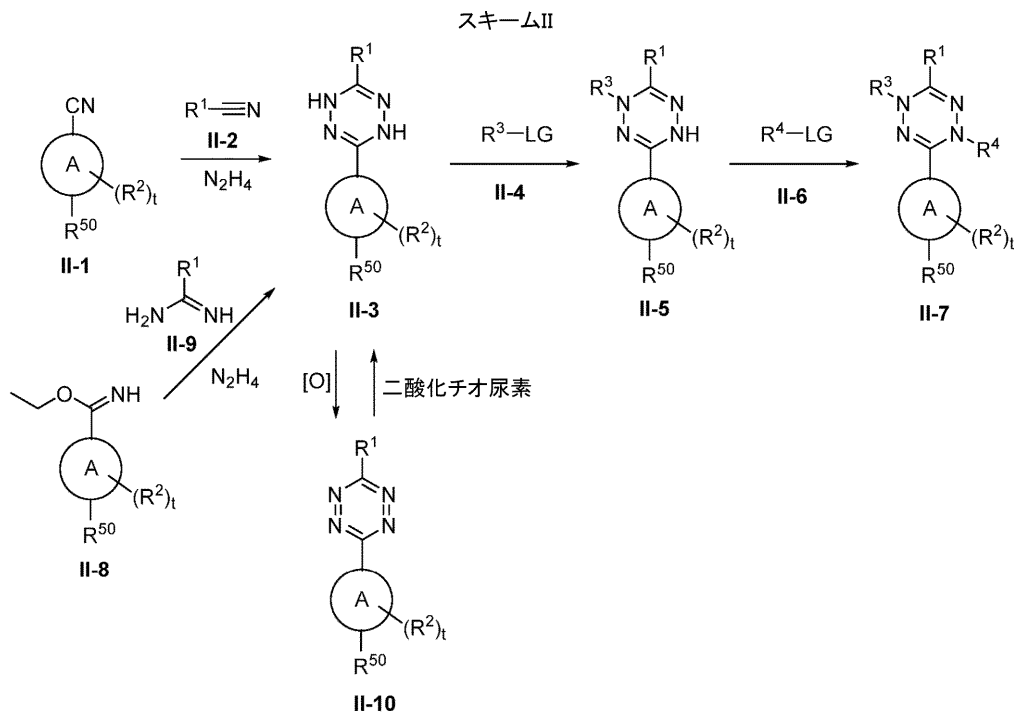
【0 5 3 1】

式 I-1 の化合物を、スキーム II に従って調製することができ、式中、点線、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、環 A、 t 、及び L のそれぞれは、独立して本明細書において定義されており、かつ R^{50} は、離脱基、例えばハロ若しくはチオエーテル等の L への結合用の合成ハンドル、又は X に連結することができる L の部分若しくは L の更なる部分、例えば、ヒドロキシ、アミノ、メチルアミノ等であり、かつそれぞれの LG は、独立して、離脱基、例えばハロである。

【0 5 3 2】

20

【化 1 3 0】



30

【0 5 3 3】

スキーム II に示されるように、 N_2H_4 の存在下で化合物 II-1 と化合物 II-2 とをカップリングさせることにより、化合物 II-3 が得られる。標準的なカップリング条件下で化合物 II-3 を化合物 II-4 及び／又は化合物 II-6 で更に改変することにより、化合物 II-5 及び／又は化合物 II-7 が得られる。代替的に、 N_2H_4 の存在下で化合物 II-8 と化合物 II-9 とをカップリングさせることによって、化合物 II-3 を得ることができる。化合物 II-3 と適切な酸化剤（例えば、 $NaNO_2$ ）とを接触させることによって、化合物 II-10 を得ることができる。代替的に、化合物 II-10 と二酸化チオ尿素とを接触させることによって、化合物 II-3 を得ることができ

50

る。

【0534】

各反応が完了したら、中間体又は最終化合物のそれぞれを回収することができ、任意に、中和、抽出、沈殿、クロマトグラフィー、濾過等のような慣例的な技術によって精製することができる。

【0535】

スキームI若しくはスキームIIに示される化合物又は中間体のいずれも、従来の方法を使用して調製することができ、又は商業的供給元から購入することができることを理解されたい。さらに、スキームI又はスキームIIに概説されるプロセスによって得られる中間体のいずれか又はあらゆる生成物を任意の工程で誘導体化して、様々な式Vの化合物を得ることができる。

10

【0536】

調製され得る例示的なペイロードを、文献（例えば、国際公開第2022/032191号、国際公開第2021/007160号、国際公開第2020/077140号、国際公開第2018/187740号、国際公開第2017/044983号、国際公開第2015/139025号、及び国際公開第2014/205126号（これらの方法は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）を参照）から引用された方法に従って調製することができる。MMAEペイロードについての例示的な手順をA、B、及びCの実施例に示す。これらの手順を適合させて、本明細書に開示されるペイロード等の他のペイロードを調製することができる。

20

【実施例】

【0537】

以下の実施例は、本開示の特定の実施形態を示すのに含まれる。以下の実施例において開示される技術は、本開示の実施において良好に機能する技術を表しているため、その実施のための特定の態様を構成するとみなされ得ることが、当業者によれば理解されるべきである。しかしながら、当業者であれば、本開示に照らして、開示された特定の実施形態に多くの変更を加えても、本開示の趣旨及び範囲から逸脱することなく同様又は類似の結果を得ることができることを理解すべきである。

【0538】

LCMS分析方法：試験品をRapiGestにおいて製造業者のプロトコルに従って、PNGaseF (IgG) 及びDTT又はDTT単独 (Fab) に供した。試料を水で100 µg/mLに希釈し、16.1 kのRCFで4℃にて10分間遠心分離した。次いで、試料をLCMS (LC-Q-TOF) により分析し、電荷ラダーから質量スペクトルを再構築した。

30

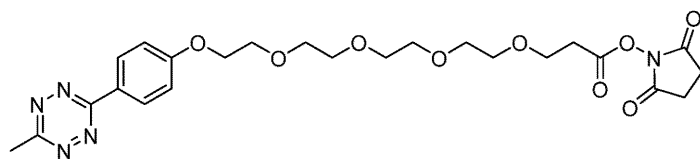
【0539】

実施例1：テトラジーン-トラスツズマブ標的化部分の合成

0.01 MのPBS中のトラスツズマブ (22.1 mg/mL、1.1 mL) を、20 当量のメチルテトラジーン-PEG4-NHS (Clickchemtoolsの番号1069-10) と混合した。

【0540】

【化131】



メチルテトラジーン-PEG4-NHS

【0541】

反応物を入念に混合し、室温で1時間エージングし、その時点で、1容量の0.1 MのTris緩衝液を加えることによって反応をクエンチした。得られた溶液を0.01 Mの

50

PBSに緩衝液交換して、過剰な試薬及び緩衝塩を除去した。得られた標的化部分の溶液（6.3 mg/mL、1.6 mL）をSDS-Page（図1）及びLCMS（図2）により分析し、標的化部分の形成を確認し、こうして後続の研究に使用した。分析に基づくと、最大12個のメチルテトラジン-PEG4単位が抗体に共有結合されていると考えられる。

【0542】

実施例2：テトラジン-Fab標的化部分

市販のキット（Pierce（商標）Fab調製キット 番号44985）を製造業者のプロトコルに従って使用してトラスツズマブからFabを調製し、プロテインG樹脂（BioVisionの番号6511-25）によって精製した。0.01 MのPBS中の精製されたFabを、20当量のメチルテトラジン-PEG4-NHS（Clickchemtoolsの番号1069-10）と混合した。反応物を入念に混合し、室温で1時間エージングし、その時点で、1容量の0.1 MのTris緩衝液を加えることによって反応をクエンチした。得られた溶液を0.01 MのPBSに緩衝液交換して、過剰な試薬及び緩衝塩を除去した。得られた標的化部分の溶液（1.0 mg/mL、10.3 mL）をSDS-Page（図3）及びLCMS（図4）により分析し、標的化部分の形成を確認し、こうして後続の研究に使用した。分析に基づくと、最大約6個のメチルテトラジン-PEG4単位がFabに共有結合されていると考えられる。

【0543】

実施例3：テトラジン-Fab標的化部分

以下の方法を使用して、エンホルツマブからFabを調製する。0.1 mgのパピンを、0.5 mg/mLの濃度で1 mMのDTT及び2 mMのEDTAにより37℃にて30分間インキュベートすることによって前処理した。抗体をPBS緩衝液（pH 7.4）（10 mg、0.5 mg/mL）中で調製した。前処理したパピンを抗体とを（1：100）のモル比で混合し、37℃で2時間インキュベートした。消化混合物を抗CH1アフィニティーカラムにロードし、25 mMのTris、150 mMのNaCl（pH 8.0）で洗浄し、50 mMのクエン酸ナトリウム、150 mMのNaCl（pH 3.0）で溶出した。生成物Fabを含む濾液をPBS中で透析した。PBS中の精製したFabを0.2 mg/mLに濃縮した。FabとMe-Tet-PEG9-NHS（DMSO中で10 mMにて調製した）とを3：1のモル比で混合し、37℃で2時間インキュベートした。得られたコンジュゲートをLCMSにより分析したところ、DARは2.66と計算された。

【0544】

実施例4：テトラジン-Fab標的化部分

以下の方法を使用して、ブレンツキシマブからFabを調製する。0.1 mgのパピンを、0.5 mg/mLの濃度で1 mMのDTT及び2 mMのEDTAにより37℃にて30分間インキュベートすることによって前処理した。抗体をPBS緩衝液（pH 7.4）（10 mg、0.5 mg/mL）中で調製した。前処理したパピンを抗体とを（1：100）のモル比で混合し、37℃で2時間インキュベートした。消化混合物を抗CH1アフィニティーカラムにロードし、25 mMのTris、150 mMのNaCl（pH 8.0）で洗浄し、50 mMのクエン酸ナトリウム、150 mMのNaCl（pH 3.0）で溶出した。生成物Fabを含む濾液をPBS中で透析した。PBS中の精製したFabを0.2 mg/mLに濃縮した。FabとMe-Tet-PEG9-NHS（DMSO中で10 mMにて調製した）とを3：1のモル比で混合し、37℃で2時間インキュベートした。得られたコンジュゲートをLCMSにより分析したところ、DARは4.57と計算された。

【0545】

実施例5：テトラジン-Fab標的化部分

市販のキット（Pierce（商標）Fab調製キット 番号44985）を製造業者のプロトコルに従って使用してサシツズマブからFabを調製し、プロテインG樹脂（B

ioVisionの番号6511-25)によって精製する。精製したFabの10mMのMe-Tet-PEG9-NHSをDMSO中で調製する。2つの成分を3:1の薬物対タンパク質のモル比で25℃にて2時間反応させた後、これをPBS(pH7.4)に対して透析してタンパク質成分から過剰なMe-Tet-PEG9-NHS化合物を除去する。得られた標的化部分の溶液をSDS-PAGE及びLCMSにより分析して、標的化部分の形成を確認する。LCMSによって確認されるように、各Fabに平均しておよそ2つのメチルテトラジンが共有結合されると考えられる。

【0546】

実施例6:テトラジン-抗原結合タンパク質標的化部分

抗原結合タンパク質は、抗原に結合することができる操作されたタンパク質である。これらのタンパク質はおよそ66アミノ酸の長さであり、7kDaの分子量を有する。このタンパク質はE.コリ(E.coli)中で発現させることができ、システイン反応性基とコンジュゲートされ得る配列のN末端又はC末端にシステイン残基を含めることができ、商業的供給元から購入することができる(例えば、Affilogic製のNanofitins(商標))。

【0547】

C末端システインを有するHER2を標的とする抗原結合タンパク質をE.コリ中で発現させ、均一になるまで精製する。タンパク質を周囲温度又は氷上にてTCEP等の還元剤で処理し、続いて新しい緩衝液に緩衝液交換する。次いで、タンパク質をマレイミド-PEG-テトラジンで処理する(n=3)。反応が完了した後、タンパク質を新しい緩衝液へと交換して過剰な試薬を除去し、コンジュゲートを得る(Ab-Tz、図11)。コンジュゲートをSDS-PAGE、分析的HPLC、質量分析によって分析して、期待される特性を確認する。コンジュゲートをトランス-シクロオクテン官能化蛍光体で処理して、テトラジンの反応性を確認することもできる。

【0548】

C末端システインを有する非結合性コントロールタンパク質をE.コリ中で発現させ、均一になるまで精製する。このタンパク質を周囲温度又は氷上にてTCEP等の還元剤で処理し、続いて新しい緩衝液に緩衝液交換する。次いで、タンパク質をマレイミド-PEG-テトラジンで処理する(n=3)。反応が完了した後、タンパク質を新しい緩衝液へと交換して過剰な試薬を除去し、コンジュゲートを得る(Ab-Tz)。コンジュゲートをSDS-PAGE、分析的HPLC、質量分析によって分析して、期待される特性を確認する。コンジュゲートをトランス-シクロオクテン官能化蛍光体で処理して、テトラジンの反応性を確認することもできる。

【0549】

実施例7:HCC1954異種移植モデル

動物実験をAALACの指針に従ってIACUCプロトコルによって実施した。雌Balb/cヌードマウスの右脇腹に0.2mLのPBS中の対数期に成長させたHCC1954を移植した(5×10⁶個の細胞+マトリゲル)。腫瘍体積が約200mm³に達したときに動物を無作為化した。動物に生理食塩水(1日目~4日目)、実施例2からのメチルテトラジン-Fab標的化部分(0日目、5mg/kg)+生理食塩水(1日目~4日目)、又は実施例2からのメチルテトラジン-Fab標的化部分(0日目、5mg/kg)+ドキシソルピシン-TCOプロドラッグ(1日目、2日目、3日目、及び4日目、120mg/kg)を静脈内で投薬した。

【0550】

ドキシソルピシン-TCOプロドラッグは以下に示される構造を有し、これを国際公開第2020/077140号に記載される方法に従って調製した。

【0551】

10

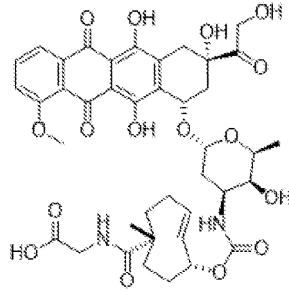
20

30

40

50

【化 1 3 2】



(Doxプロドラッグ)

10

【0 5 5 2】

腫瘍体積を、ノギスを使用して2つの寸法において週に2回測定し、この体積を式： $V = 0.5 a \times b^2$ （式中、 a 及び b は、それぞれ腫瘍の長径及び短径である）を使用して mm^3 で表した。図5は33日間にわたる腫瘍成長を示している。プロドラッグの投与により腫瘍成長が減少することは、そこに記載されている系の効力を示している。

【0 5 5 3】

本明細書に開示される方法において使用するのに適したプロドラッグを、国際公開第2020/077140号、国際公開第2018/187740号、国際公開第2017/044983号、国際公開第2015/139025号、及び国際公開第2014/205126号に記載されるように調製し、投与することができる。

20

【0 5 5 4】

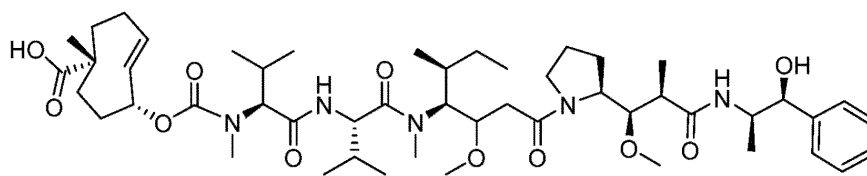
実施例8：化合物Aの一般的な調製手順

【化 1 3 3】



2

30



化合物A

【0 5 5 5】

DMF (4.00 mL) 中の MMAE (1.40 g、1.95 mmol) 及び DIEA (690 mg、5.34 mmol) の溶液に、DMF (4.00 mL) 中の化合物 2 (800 mg、1.79 mmol) を 0 °C で加え、混合物を 25 °C で 16 時間攪拌した。次いで、DMF (0.50 mL) 中の HOBt (480 mg、3.56 mmol) を上記反応混合物に 0 °C で加え、反応混合物を 25 °C で 1.0 時間攪拌した後、反応混合物を 0 °C に冷却し、TBAF (THF 中 1 M、4.45 mL) を加えた。混合物を 25 °C で 2.0 時間攪拌した後、別のバッチの TBAF (THF 中 1 M、4.45 mL) を 0 °C で加え、反応混合物を 25 °C で 12.0 時間攪拌し続けた。LC-MS により、1つの主ピークが所望の質量であることが示された。得られた反応混合物を分取 HPLC (カラム：Welch の XB-C18 7 μm 110 Å 250 mm $\times$ 50 mm; 移動相：[水 (0.1% の

40

50

TFA) - ACN] ; B% : 40分で50% → 70% 注入回数 : 2、保持時間 : 37分、流量 : 60 mL / 分) により精製して、化合物A (450 mg、99.0%の純度 ; 64.6 mg、99.2%、31.2%の収率) を得た。

【0556】

LCMS (m/z): 928.6 [M+H]⁺

【0557】

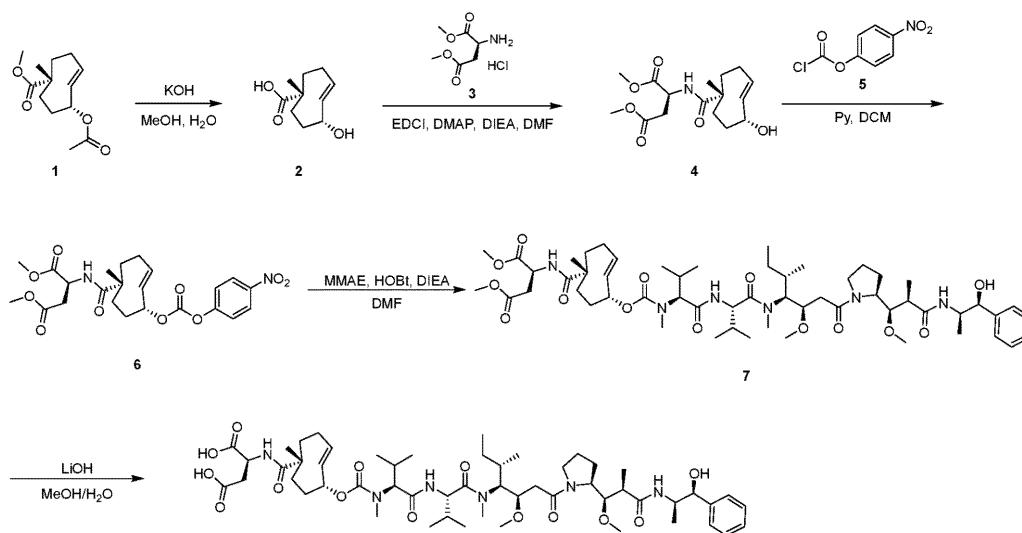
¹H NMR: (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.46 - 8.28 (m, 1H), 8.03 - 7.84 (m, 1H), 7.64 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.35 - 7.23 (m, 4H), 7.21 - 7.13 (m, 1H), 6.05 - 5.57 (m, 2H), 5.10 (s, 1H), 4.81 - 4.39 (m, 3H), 4.35 - 4.19 (m, 1H), 4.05 - 3.92 (m, 2H), 3.40 - 3.09 (m, 11H), 3.08 - 2.83 (m, 5H), 2.48 - 2.37 (m, 2H), 2.31 - 2.09 (m, 5H), 2.07 - 1.89 (m, 3H), 1.88 - 1.64 (m, 6H), 1.63 - 1.33 (m, 4H), 1.32 - 1.16 (m, 1H), 1.08 - 0.97 (m, 9H), 0.90 - 0.68 (m, 18H)。

10

【0558】

実施例9：化合物Bの一般的な調製手順

【化134】



20

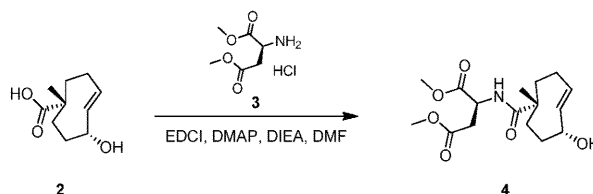
化合物B

30

【0559】

化合物4の一般的な調製手順

【化135】



40

【0560】

DCM (10 mL) 中の化合物2 (1.00 g、5.43 mmol) の溶液に、DIEA (2.10 g、16.3 mmol)、EDCI (2.08 g、10.9 mmol)、及び DMAP (1.33 g、10.9 mmol)、及び化合物3 (1.61 g、8.14 mmol) を加えた。混合物を25℃で16時間攪拌した。TLCにより、化合物2が完全に消費され、1つの新しいスポットが形成されたことが示された。反応混合物をDCM (20 mL) とH₂O (10 mL) との間で分けた。有機相を分離し、飽和クエン酸水溶液 (3 mL) 及びブライン (20 mL) で洗浄した後、Na₂SO₄を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィー (石油エー

50

テル／酢酸エチル＝３／１→１／１）により精製して、化合物４（７００ｍｇ、３９．４％の収率）を得た。

【０５６１】

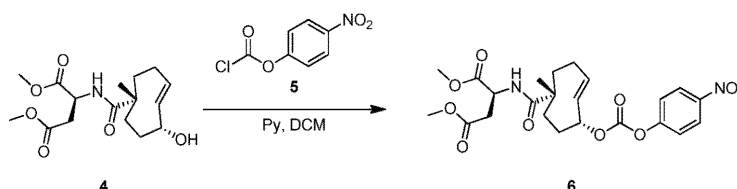
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 1.12 (s, 3 H), 1.60 (dd, J = 15.45, 6.19 Hz, 1 H), 1.79 - 1.87 (m, 2 H), 1.92 (br d, J = 5.88 Hz, 1 H), 1.95 (s, 1 H), 1.98 - 2.00 (m, 1 H), 2.02 (br d, J = 4.13 Hz, 1 H), 2.26 (dd, J = 11.63, 3.88 Hz, 1 H), 2.30 - 2.36 (m, 1 H), 2.77 - 2.89 (m, 1 H), 2.88 - 2.88 (m, 1 H), 3.00 (dd, J = 16.95, 4.57 Hz, 1 H), 3.70 (s, 4 H), 3.75 (s, 3 H), 4.80 (dt, J = 8.00, 4.50 Hz, 1 H), 5.66 (dd, J = 16.63, 2.38 Hz, 1 H), 6.02 - 6.12 (m, 1 H), 6.54 (br d, J = 7.88 Hz, 2 H)。

10

【０５６２】

化合物６の一般的な調製手順

【化１３６】



【０５６３】

DCM (5 mL) 中の化合物４（７００ｍｇ、２．１４ｍｍｏｌ）の溶液に、DCM (5 mL) 中の Py (846 mg、10.7 mmol) 及び化合物５（１．７２ｇ、８．５５ｍｍｏｌ）を加えた。混合物を２５℃で１時間攪拌した。TLCにより、化合物４が完全に消費され、１つの新しいスポットが形成されたことが示された。反応混合物をDCM (20 mL) と H₂O (10 mL) との間で分けた。有機相を分離し、飽和クエン酸水溶液 (3 mL) 及びブライン (20 mL) で洗浄し、Na₂SO₄を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル＝３／１→１／１）により精製して、化合物６（４９０ｍｇ、４６．５％の収率）を得た。

20

【０５６４】

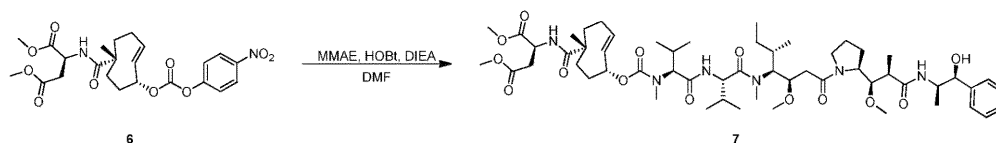
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 1.17 (s, 3 H), 1.55 - 1.61 (m, 1 H), 1.58 (br s, 1 H), 1.76 (dd, J = 14.76, 6.25 Hz, 1 H), 1.87 - 2.03 (m, 3 H), 2.06 - 2.15 (m, 1 H), 2.19 - 2.41 (m, 3 H), 2.82 (dd, J = 17.13, 4.50 Hz, 1 H), 3.03 (dd, J = 17.07, 4.44 Hz, 1 H), 3.72 (s, 3 H), 3.77 (s, 3 H), 4.78 - 4.86 (m, 1 H), 5.67 (dd, J = 16.70, 2.44 Hz, 1 H), 6.03 - 6.14 (m, 1 H), 6.58 (br d, J = 7.88 Hz, 1 H), 7.40 - 7.45 (m, 2 H), 8.27 - 8.33 (m, 2 H)。

30

【０５６５】

化合物７の一般的な調製手順

【化１３７】



40

【０５６６】

DMF (4 mL) 中の化合物６（４９０ｍｇ、９９５μｍｏｌ）及びMMAE (714 mg、995 μmol) の溶液に、DIEA (64.3 mg、497 μmol) 及びHOBT (202 mg、1.49 mmol) を加えた。混合物を２５℃で１６時間攪拌した。LC-MSにより、化合物６が完全に消費され、所望の質量を有する１つの主ピークが検出されることが示された。残留物を分取HPLC (0.1%のTFAの条件) により精製

50

して、化合物 7 (500 mg、46.9%の収率)を得た。

【0567】

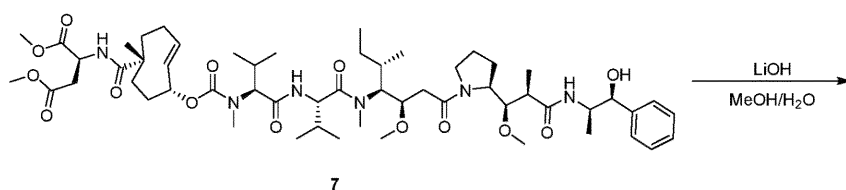
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 0.84 (br d, J = 6.75 Hz, 4 H), 0.89 (br d, J = 4.50 Hz, 5 H), 0.92 (br d, J = 6.63 Hz, 4 H), 0.98 (br d, J = 6.25 Hz, 3 H), 1.04 (br d, J = 6.88 Hz, 3 H), 1.16 (s, 3 H), 1.25 - 1.27 (m, 3 H), 1.59 - 1.74 (m, 3 H), 1.88 (br d, J = 9.38 Hz, 4 H), 2.07 (br d, J = 8.38 Hz, 5 H), 2.27 (br s, 4 H), 2.36 - 2.43 (m, 2 H), 2.45 - 2.53 (m, 1 H), 2.89 (br s, 6 H), 2.95 - 3.01 (m, 4 H), 3.04 (br s, 2 H), 3.29 - 3.34 (m, 3 H), 3.36 - 3.47 (m, 5 H), 3.67 - 3.73 (m, 4 H), 3.76 (s, 3 H), 3.82 - 3.89 (m, 1 H), 4.05 - 4.19 (m, 3 H), 4.28 (br s, 1 H), 4.63 - 4.86 (m, 3 H), 4.96 (d, J = 2.50 Hz, 1 H), 5.24 (br s, 1 H), 5.63 (br d, J = 18.14 Hz, 1 H), 5.82 (br s, 1 H), 6.53 - 6.74 (m, 3 H), 7.30 - 7.41 (m, 5 H)。

10

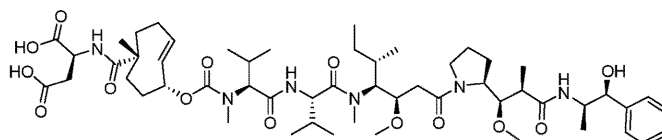
【0568】

化合物 B の一般的な調製手順

【化138】



20



化合物B

【0569】

MeOH (5 mL) 中の化合物 7 (500 mg、467 μmol) の溶液に、H₂O (2 mL) 中の LiOH · H₂O (196 mg、4.67 mmol) を加えた。混合物を 25 °C で 16 時間攪拌した。LC-MS により、化合物 7 が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。残留物を飽和クエン酸水溶液で約 2 の pH に調整した後、分取 HPLC (0.1% の TFA の条件) により精製して、化合物 B (265 mg、53.4%の収率)を得た。

30

【0570】

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 0.80 - 1.04 (m, 25 H), 1.09 (s, 3 H), 1.24 (d, J = 6.88 Hz, 3 H), 1.69 - 1.82 (m, 2 H), 1.88 - 1.94 (m, 3 H), 2.02 - 2.11 (m, 4 H), 2.16 (br d, J = 18.64 Hz, 1 H), 2.11 - 2.24 (m, 2 H), 2.32 (br d, J = 5.25 Hz, 2 H), 2.40 - 2.45 (m, 1 H), 2.52 (br d, J = 5.50 Hz, 2 H), 2.81 (br dd, J = 14.01, 4.88 Hz, 1 H), 2.94 - 3.04 (m, 2 H), 3.08 (s, 2 H), 3.14 - 3.27 (m, 6 H), 3.33 (s, 1 H), 3.39 (s, 3 H), 3.48 - 3.57 (m, 2 H), 3.94 (br d, J = 1.25 Hz, 1 H), 4.05 - 4.18 (m, 4 H), 4.30 (br dd, J = 6.19, 4.82 Hz, 2 H), 4.54 - 4.67 (m, 4 H), 4.91 (br d, J = 2.00 Hz, 2 H), 5.30 (br s, 1 H), 5.64 - 5.73 (m, 1 H), 5.79 - 5.89 (m, 1 H), 6.61 (br d, J = 7.38 Hz, 1 H), 7.30 - 7.42 (m, 5 H), 7.55 - 7.64 (m, 1 H)。

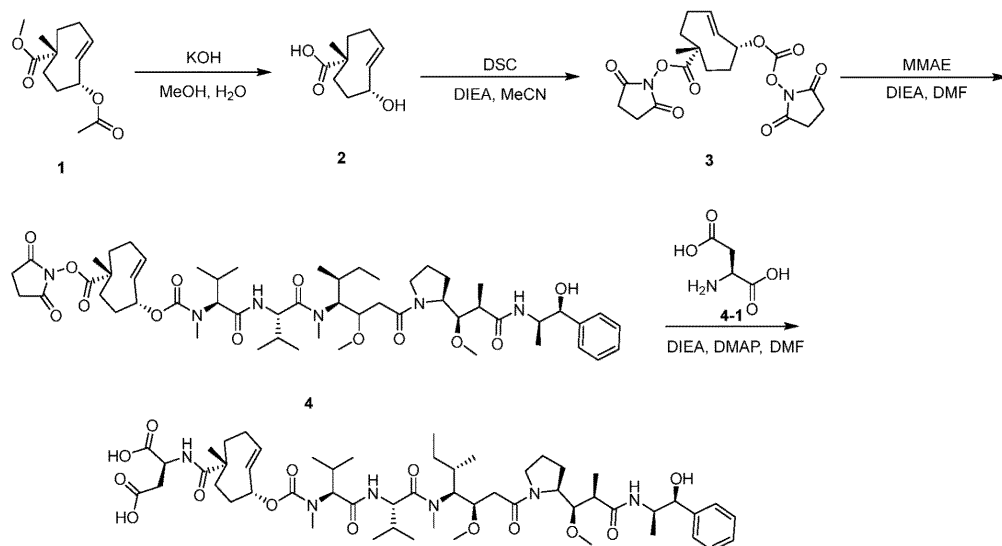
40

【0571】

実施例 10 : 化合物 B の代替経路及び化合物 C の合成

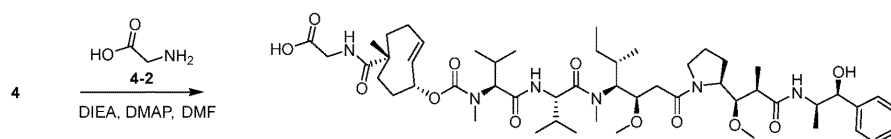
50

【化 1 3 9】



10

化合物B



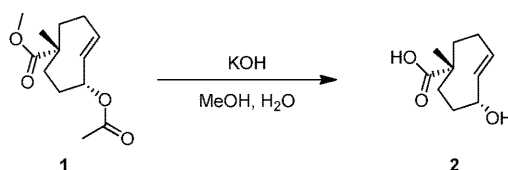
20

化合物C

【 0 5 7 2 】

化合物 2 の一般的な調製手順

【化 1 4 0】



30

【 0 5 7 3 】

MeOH (80 mL) 中の化合物 1 (20.0 g、83.2 mmol) の溶液に、H₂O (80 mL) 中の KOH (8.19 g、124 mmol) を加えた。混合物を 25℃で 24 時間攪拌した。反応を TLC (化合物 1、PE/EtOAc = 5/1、R_f = 0.5) によってモニタリングした。反応混合物を MTBE (3×400 mL) で抽出した。合わせた有機層を水 (100 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ を用いて乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、不所望のエステルを得た。氷水浴 (7℃未満の T) 中で冷却しながら、水層を 1 M の HCl で pH = 4 まで酸性化した。水層を MTBE (3×400 mL) で抽出した。合わせた MTBE 層を Na₂SO₄ を用いて乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、化合物 2 (5.50 g、35.9% の収率) を得た。粗生成物を更なる精製を行わずに後続工程に使用した。

40

【 0 5 7 4 】

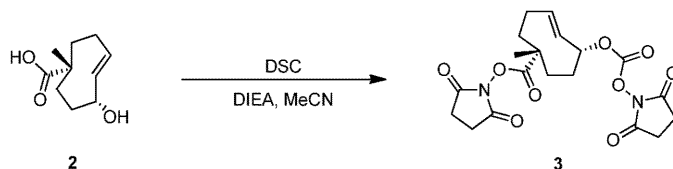
¹H NMR: (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 11.9 (br s, 1 H), 5.81 - 5.94 (m, 1 H), 5.58 (dd, J = 16.45, 2.31 Hz, 1 H), 4.65 (br s, 1 H), 4.24 (br s, 1 H), 2.04 - 2.24 (m, 2 H), 1.87 - 2.03 (m, 1 H), 1.61 - 1.86 (m, 4 H), 1.36 - 1.46 (m, 1 H), 0.97 (s, 3 H)。

50

【0575】

化合物3の一般的な調製手順

【化141】



【0576】

MeCN (160 mL) 中の化合物 2 (8.00 g、43.4 mmol) の溶液に、DIEA (39.3 g、304 mmol) 及び DSC (47.8 g、186.4 mmol) を加えた。混合物を 40℃ で 14 時間攪拌した。反応の完了を TLC (化合物 2、DCM / MeOH = 10 / 1、 $R_f = 0.5$) によって確認した。反応混合物を水 (400 mL) 中に注いだ後、温度が 20℃ から 27℃ に上昇した。15 分後、混合物を氷水浴中で 17℃ に冷却し、15 分間攪拌した。固体を濾過し、水 (3 × 20 mL) で洗浄し、真空下で 35℃ にて 4 時間乾燥させて、粗製化合物 3 (9.60 g) を得た。アセトニトリル (20 mL) を粗製物に加え、混合物を機械的な攪拌を使用して 40℃ で 1 時間加熱した。加熱を止め、混合物を氷水浴中で 15 分間 8℃ に冷却した。固体を濾過し、アセトニトリル (2 × 10 mL) で洗浄し、真空下で 35℃ にて 3 時間乾燥させて、化合物 3 (6.65 g、36.3% の収率) を得た。

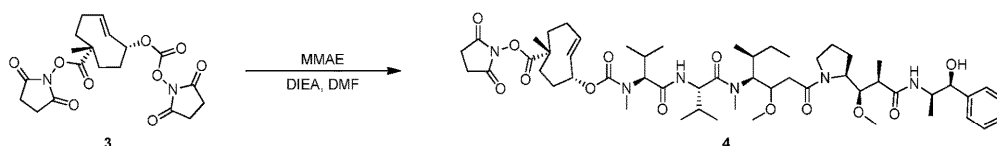
【0577】

$^1\text{H NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ 6.03 - 6.14 (m, 1 H), 5.60 - 5.67 (m, 1 H), 5.29 (br s, 1 H), 2.80 - 2.88 (m, 8 H), 2.25 - 2.47 (m, 4 H), 1.94 - 2.18 (m, 4 H), 1.29 (s, 3 H)。

【0578】

化合物4の一般的な調製手順

【化142】



【0579】

DMF (20 mL) 中の化合物 3 (100 mg、0.24 mmol) の溶液に、MMAE (136 mg、0.19 mmol) 及び DIEA (61.2 mg、0.47 mmol) を加えた。混合物を 25℃ で 16 時間攪拌した。LC-MS により、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。残留物を分取 HPLC (水 (0.1% の FA) - ACN) により精製して、化合物 4 (41.0 mg、16.9% の収率) を得た。

【0580】

LCMS (m/z): 1025.6 ($M+H$)⁺。

【0581】

化合物Bの一般的な調製手順

10

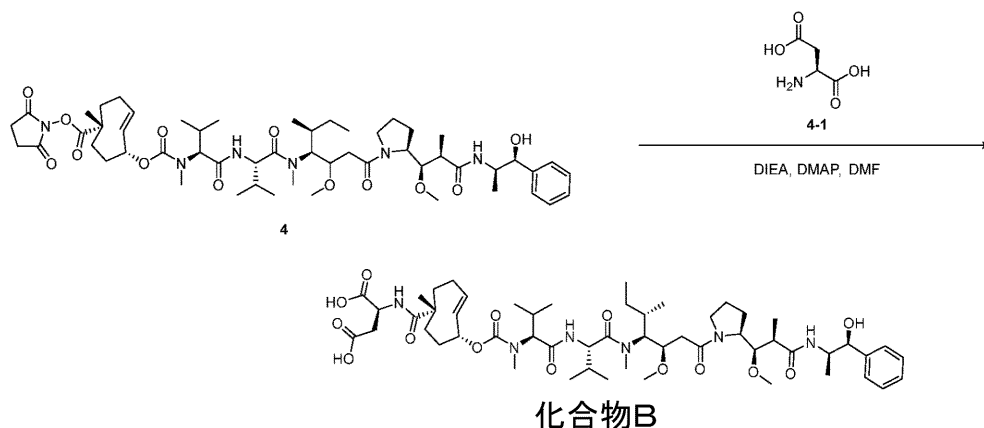
20

30

40

50

【化 1 4 3】



10

【0 5 8 2】

DMF (10 mL) 中の化合物 4 (500 mg、0.49 mmol) 及び化合物 4-1 (519 mg、3.90 mmol) の溶液に、DIEA (378 mg、2.93 mmol) 及び DMAP (119 mg、0.97 mmol) を加えた。混合物を 25℃ で 12 時間撹拌した。LC-MS により、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。残留物を分取 HPLC (水 (0.1% の TFA) - ACN) により精製して、化合物 B (161 mg、31.6% の収率) を得た。

20

【0 5 8 3】

$^1\text{H NMR}$: (400 MHz, MeOD): δ 7.73 - 8.00 (m, 1 H), 7.20 - 7.39 (m, 4 H), 5.78 - 5.96 (m, 1 H), 5.73 (br s, 1 H), 5.20 - 5.28 (m, 1 H), 5.13 - 5.20 (m, 1 H), 4.49 - 4.74 (m, 3 H), 4.17 - 4.28 (m, 2 H), 4.04 - 4.10 (m, 1 H), 3.85 - 3.90 (m, 1 H), 3.50 - 3.80 (m, 2 H), 3.31 - 3.50 (m, 9 H), 3.28 - 3.30 (m, 3 H), 2.77 - 3.12 (m, 6 H), 2.44 - 2.58 (m, 2 H), 1.78 - 2.36 (m, 13 H), 1.56 - 1.72 (m, 2 H), 1.22 - 1.48 (m, 3 H), 1.08 - 1.23 (m, 9 H), 0.80 - 1.07 (m, 18 H)。

【0 5 8 4】

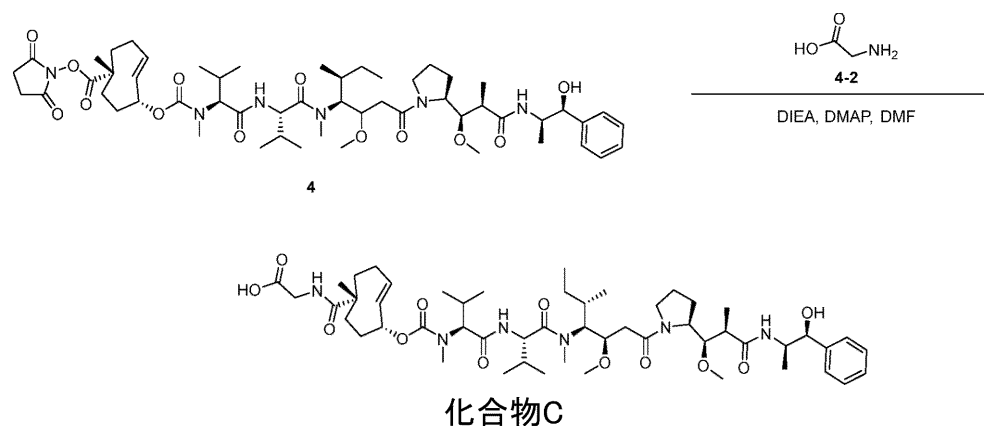
LCMS (m/z): 1043.62 ($M+H$)⁺; 1065.61 ($M+Na$)⁺。

30

【0 5 8 5】

化合物 C の一般的な調製手順

【化 1 4 4】



40

【0 5 8 6】

DMF (3.2 mL) 中の化合物 4 (320 mg、0.31 mmol) 及び化合物 4-2 (187 mg、2.50 mmol) の溶液に、DIEA (242 mg、1.87 mmol) 及び DMAP (76.3 mg、0.62 mmol) を加えた。混合物を 25℃ で 12 時間撹拌した。LC-MS により、化合物 4 が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つ

50

の主ピークが検出されることが示された。残留物を分取 H P L C (水 (0.1% の T F A) - A C N) により精製して、化合物 C (92.0 mg、29.9% の収率) を得た。

【0587】

^1H NMR (400 MHz, MeOD): δ 7.86 - 8.00 (m, 1 H), 7.15 - 7.45 (m, 5 H), 5.67 - 5.98 (m, 2 H), 5.17 (br s, 1 H), 4.50 - 4.74 (m, 2 H), 4.03 - 4.29 (m, 3 H), 3.81 - 3.89 (m, 2 H), 3.51 - 3.77 (m, 2 H), 3.46 - 3.50 (m, 1 H), 3.33 - 3.45 (m, 5 H), 3.30 (br s, 4 H), 3.20 (dt, J = 11.57, 7.47 Hz, 1 H), 3.02 - 3.15 (m, 3 H), 2.90 - 3.01 (m, 1 H), 2.41 - 2.57 (m, 2 H), 1.65 - 2.39 (m, 15 H), 1.52 - 1.64 (m, 1 H), 1.26 - 1.51 (m, 2 H), 1.08 - 1.23 (m, 9 H), 0.82 - 1.07 (m, 18 H)。

10

【0588】

LCMS (m/z): 985.6 ($M+H$)⁺。

【0589】

実施例 11 : 化合物 D の合成

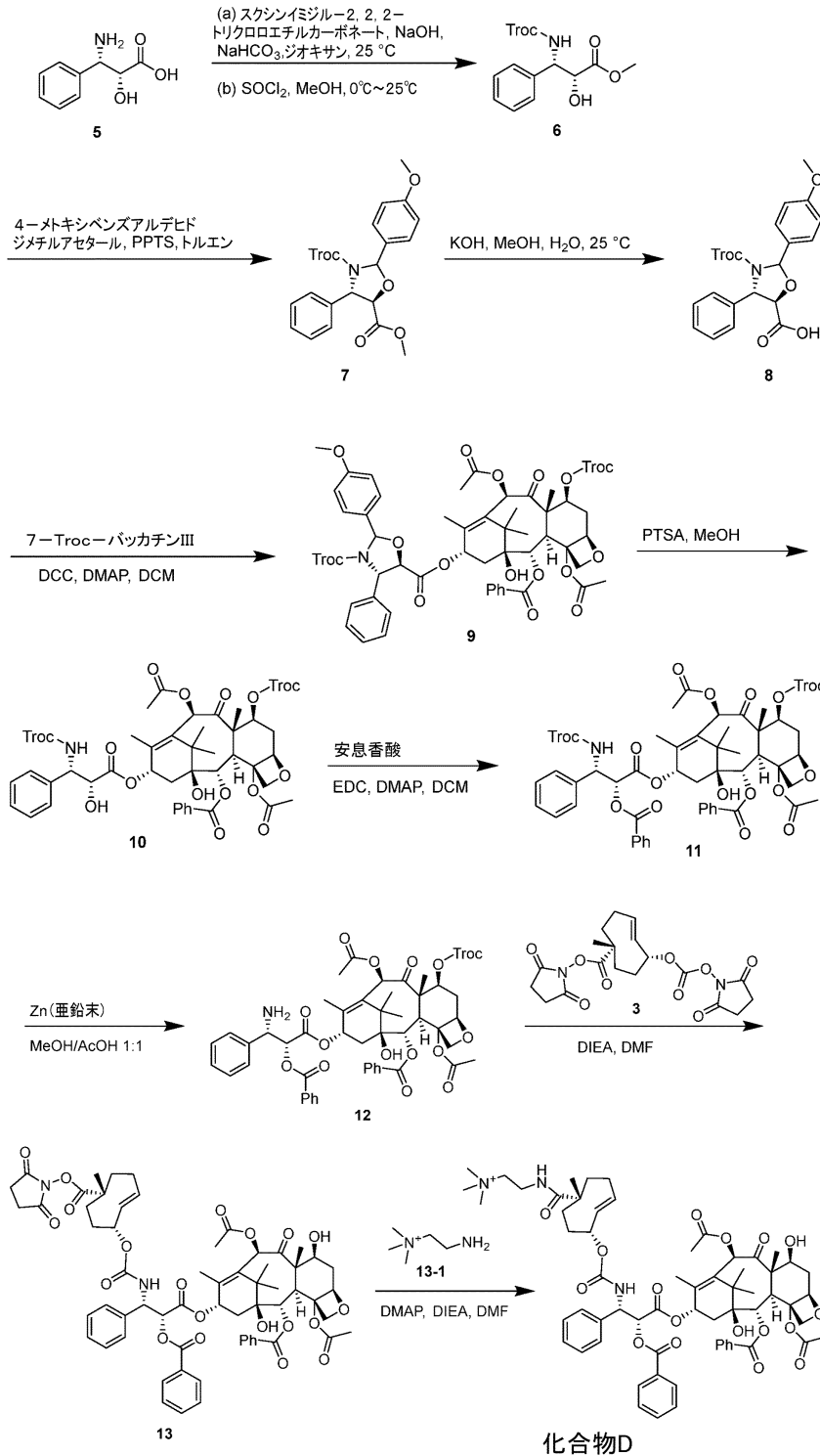
20

30

40

50

【化 1 4 5】



10

20

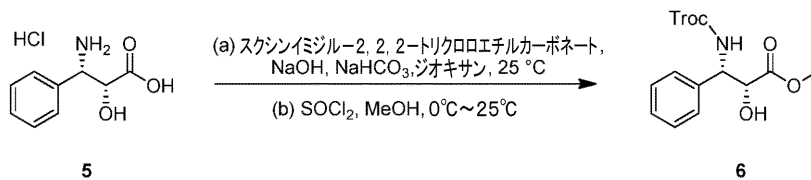
30

40

【0590】

化合物 6 の一般的な調製手順

【化 1 4 6】



50

【0591】

NaOH (1 M、1.38 L) 及び NaHCO₃ (1 M、1.38 L) 中の化合物 5 (150 g、689 mmol、HCl) の溶液に、ジオキサン (1 L) 中の (2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル) 2, 2, 2-トリクロロエチルカーボネート (210 g、723 mmol) を加えた。混合物を 25℃ で 2 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、ジオキサンを除去した。残留物を MTBE (5 L) で抽出した後、水相を飽和 KH₂SO₄ 水溶液で約 4 の pH に調整し、EtOAc (5 L) で抽出した。合わせた有機層を、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残留物を得た。MeOH (2 L) 中の上記粗製物の溶液に SOCl₂ (90.2 g、758 mmol) を加え、混合物を 25℃ で 2 時間攪拌した。LC-MS により、反応が完了し、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。反応混合物を飽和 NaHCO₃ 水溶液で約 9~10 の pH に調整した後、EtOAc (5 L) で抽出した。合わせた有機層を、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、粗製物を得た。粗製物を PE (10 容量) によって沈殿させて、化合物 6 (190 g、74.4% の収率) を得た。

10

【0592】

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ 3.25 (br s, 1 H) 3.85 (s, 3 H) 4.64 - 4.83 (m, 2 H) 5.30 (dd, J = 9.51, 1.13 Hz, 1 H) 5.92 (br d, J = 9.38 Hz, 1 H) 7.30 - 7.45 (m, 5 H)。

【0593】

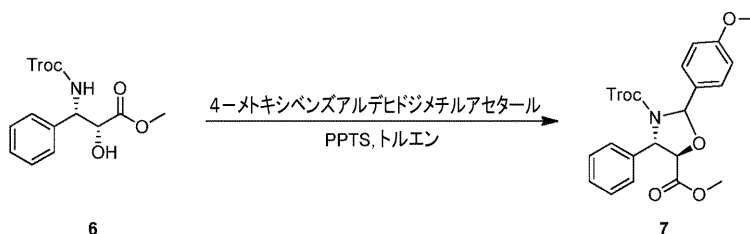
LCMS (m/z): 391.9/393.9 (M+H)⁺。

20

【0594】

化合物 7 の一般的な調製手順

【化147】



30

【0595】

トルエン (1.9 L) 中の化合物 6 (185 g、499 mmol) の溶液に、4-メチルベンゼンスルホン酸ピリジン (3.90 g、15.4 mmol) 及び 4-メトキシベンズアルデヒドジメチルアセタール (121 g、666 mmol) を加えた。混合物を 110℃ で 4 時間攪拌した。LC-MS により、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。次いで、反応混合物を 25℃ まで冷ました。反応混合物を減圧下で濃縮して、トルエンを除去した。残留物を H₂O (500 mL) で希釈した後、EtOAc (500 mL) で抽出した。合わせた有機層を、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、化合物 7 (285 g、粗製) を得て、これをそのまま次に持ち越した。

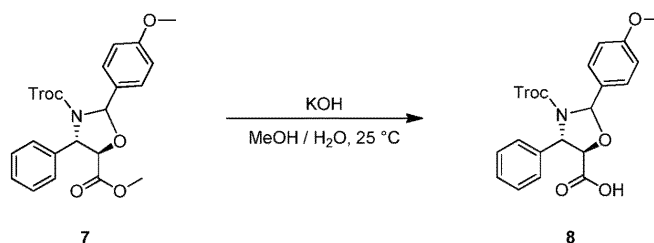
40

【0596】

化合物 8 の一般的な調製手順

50

【化 1 4 8】



【0 5 9 7】

MeOH (2000 mL) 中の化合物 7 (285 g、粗製) の溶液に、H₂O (1000 mL) 中の KOH (42.5 g、758 mmol) を加えた。混合物を 25 °C で 1 時間攪拌した。LC-MS により、化合物 7 が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。反応混合物を減圧下で濃縮して、MeOH を除去した。残留物を MTBE (5 L) で抽出した。水相層を飽和 KHSO₄ (1 L) 水溶液で希釈し、EtOAc (5 L) で抽出し、合わせた有機層を、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、粗製物を得た。粗製物を PE (10 容量) によって沈殿させて、化合物 8 (95.0 g、34.3 % の収率) を得た。

【0 5 9 8】

¹H NMR (400 MHz, MeOD): δ 3.82 (s, 3 H) 4.41 - 4.47 (m, 1 H) 4.50 - 4.56 (m, 1 H) 4.60 (d, J = 4.88 Hz, 1 H) 5.47 (d, J = 4.75 Hz, 1 H) 6.46 (s, 1 H) 6.86 - 6.94 (m, 2 H) 7.34 - 7.46 (m, 7 H)。

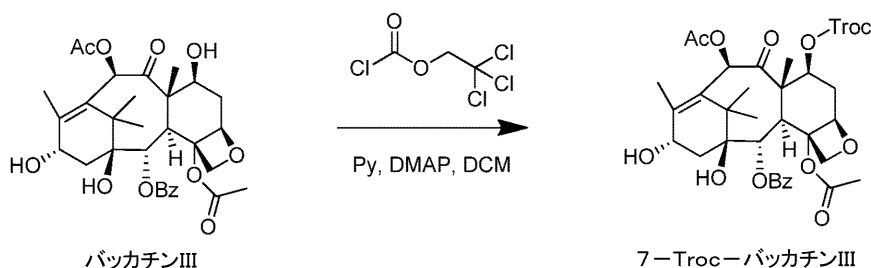
【0 5 9 9】

LCMS (m/z): 495.9 (M+Na)⁺。

【0 6 0 0】

7-Troc-バッカチン III の一般的な調製手順

【化 1 4 9】



【0 6 0 1】

DCM (300 mL) 中のバッカチン III (30.0 g、51.1 mmol) の溶液に、DMAP (625 mg、5.11 mmol)、及びピリジン (14.2 g、179 mmol)、及び 2,2,2-トリクロロエチルカルボノクロリデート (15.2 g、71.6 mmol) を加えた。混合物を 25 °C で 0.5 時間攪拌した。LC-MS により、バッカチン III が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。残留物を水 (300 mL) で希釈し、DCM (300 mL) で抽出し、水 (200 mL) 及びブライン (200 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、7-Troc-バッカチン III (45.0 g、34.3 % の収率) を得た。

【0 6 0 2】

LCMS (m/z): 761.5/763.5 (M+Na)⁺。

【0 6 0 3】

化合物 9 の一般的な調製手順

10

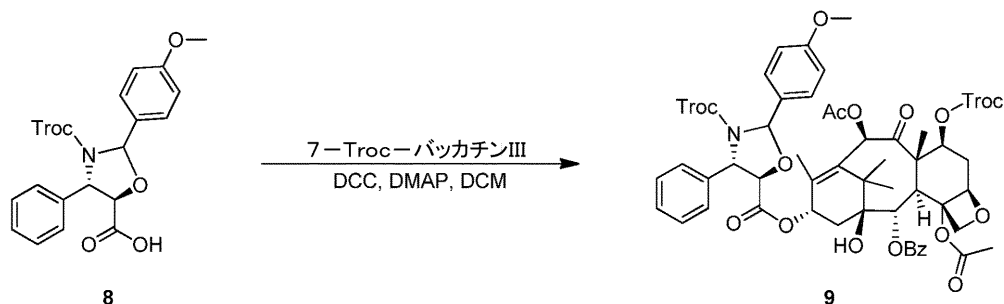
20

30

40

50

【化 1 5 0】



10

【0 6 0 4】

DCM (1000 mL) 中の 7-Troc-バッカチンIII (26.0 g、34.1 mmol) 及び化合物 8 (32.4 g、68.2 mmol) の溶液に、DMAP (4.20 g、34.1 mmol) 及び DCC (21.1 g、102 mmol) を加えた。混合物を 0℃ で 1 時間攪拌した。LC-MS により、化合物 8 が完全に消費され、所望の質を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。反応混合物を濾過した。粗製物を飽和 NH₄Cl 水溶液 (100 mL) 及び水 (1000 mL) により洗浄し、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、化合物 9 (35.0 g、粗製) を得た。

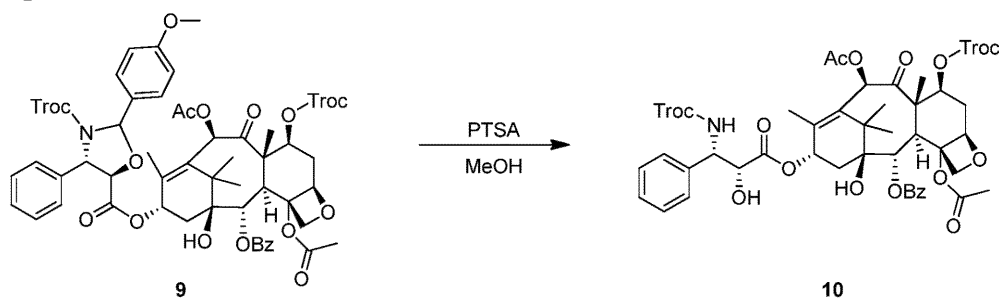
【0 6 0 5】

LCMS (m/z): 1240.0/1242.0 (M+Na)⁺。

【0 6 0 6】

化合物 10 の一般的な調製手順

【化 1 5 1】



30

【0 6 0 7】

MeOH (350 mL) 中の化合物 9 (80.0 g、65.6 mmol) の溶液に、4-メチルベンゼンスルホン酸水和物 (24.9 g、131 mmol) を加えた。混合物を 25℃ で 16 時間攪拌した。LC-MS により、約 50% の化合物 9 が残留し、所望の質を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。反応混合物を濾過し、濃縮し、残留物を分取 HPLC (水 (0.1% の TFA) - ACN) によって精製した。溶出物を減圧下で濃縮して溶媒を除去した後、EtOAc (500 mL) で抽出した。合わせた有機層を、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、化合物 10 (13.0 g、17.9% の収率) を得た。

【0 6 0 8】

LCMS (m/z): 1120.2 (M+Na)⁺。

【0 6 0 9】

化合物 11 の一般的な調製手順

40

50

【化 1 5 2】



【0 6 1 0】

化合物 10 (13.0 g、11.8 mmol) 及び DMAP (722 mg、5.90 mmol) 及び EDCI (2.70 g、14.2 mmol) 及び 安息香酸 (1.70 g、14.2 mmol) を DCM (260 mL) 中に溶解した。混合物を 25℃ で 1 時間攪拌した。LC-MS により、化合物 10 が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。反応混合物を飽和クエン酸水溶液 (100 mL)、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (100 mL)、及び水 (200 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、化合物 11 (11.0 g、77.3% の収率) を得た。

10

【0 6 1 1】

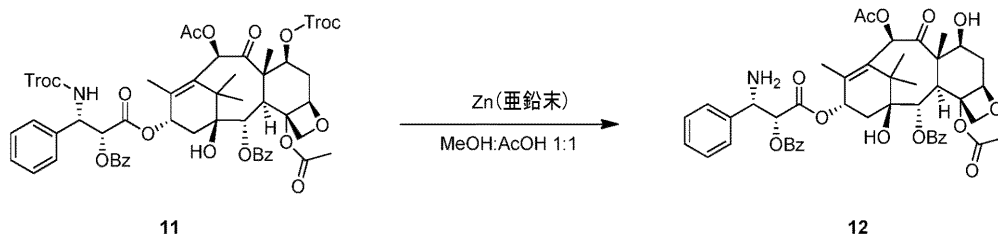
LCMS (m/z): 1204.1 ($M+H$)⁺。

【0 6 1 2】

化合物 12 の一般的な調製手順

20

【化 1 5 3】



30

【0 6 1 3】

MeOH (200 mL) 及び AcOH (200 mL) 中の化合物 11 (20.0 g、16.6 mmol) の溶液に、亜鉛末 (21.6 g、331 mmol) を加えた。混合物を 25℃ で 1 時間攪拌した。LC-MS により、化合物 11 が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。反応混合物を濾過し、H₂O (500 mL) で希釈した後、EtOAc (100 mL × 3) で抽出した。合わせた有機層を飽和 NaHCO₃ 水溶液 (200 mL) 及びブライン (100 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、粗生成物を得た。残留物を分取 HPLC (水 (0.1% の TFA) - ACN) により精製して、化合物 12 (5.0 g、21% の収率) を得た。

40

【0 6 1 4】

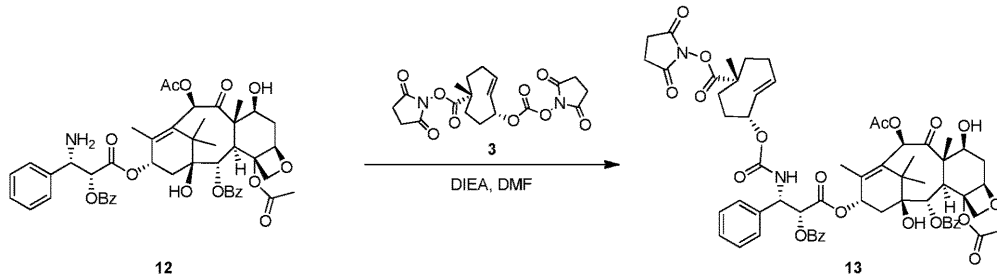
LCMS (m/z): 854.3 ($M+H$)⁺。

【0 6 1 5】

化合物 13 の一般的な調製手順

50

【化 1 5 4】



【0 6 1 6】

10

化合物 12 (5.00 g、5.90 mmol)、DIEA (1.50 g、11.7 mmol)、及び化合物 3 (3.90 g、8.80 mmol) を DMF (50 mL) 中に溶解した。混合物を 25℃ で 16 時間撹拌した。LC-MS により、約 50% の化合物 12 が残留し、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。残留物を分取 HPLC (水 (0.1% の TFA) - ACN) により精製して、化合物 13 (505 mg、7.4% の収率) を得た。

【0 6 1 7】

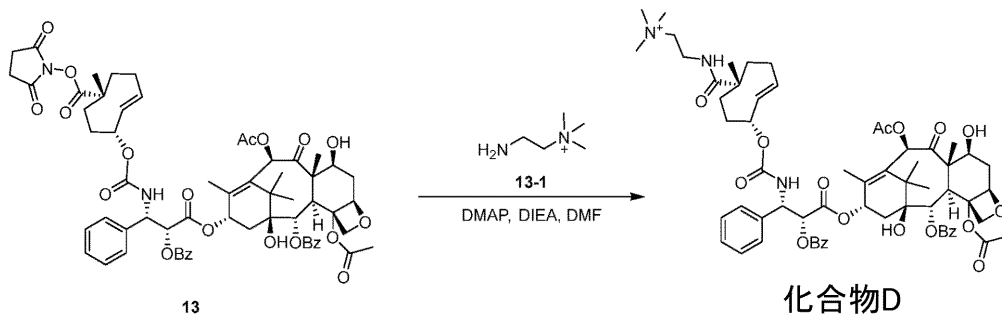
LCMS (m/z): 1161.4 ($M+H$)⁺。

【0 6 1 8】

化合物 D の一般的な調製手順

20

【化 1 5 5】



【0 6 1 9】

30

DMF (1.50 mL) 中の化合物 13 (150 mg、0.13 mmol) の溶液に、DMAP (94.7 mg、0.78 mmol)、化合物 13-1 (66.7 mg、0.65 mmol)、及び DIEA (100 mg、0.78 mmol) を加えた。混合物を 25℃ で 16 時間撹拌した。LC-MS により、化合物 13 が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。残留物を分取 HPLC (水 (0.1% の TFA) - ACN) により精製して、化合物 D (75.0 mg、50.5% の収率) を得た。

【0 6 2 0】

LCMS (m/z): 1148.5 (M)⁺。

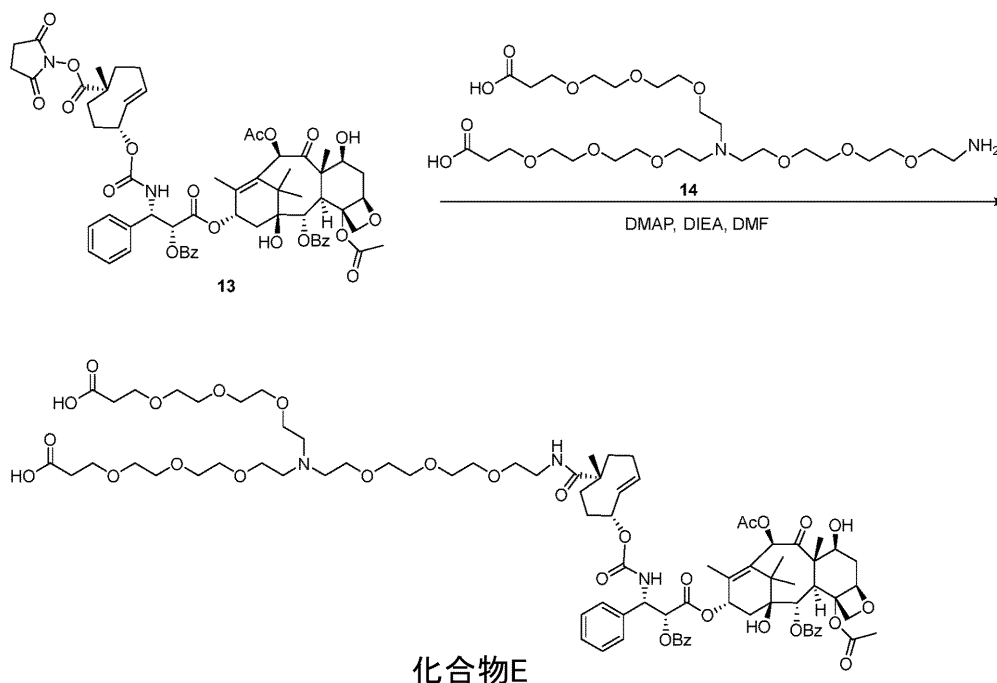
40

【0 6 2 1】

実施例 12：化合物 E の一般的な調製手順

50

【化 1 5 6】



10

20

【0 6 2 2】

化合物 13 (350 mg、0.30 μmol) 及び DMAP (221 mg、1.81 mmol) 及び化合物 14 (249 mg、0.39 mmol、HCl) を DMF (0.3 mL) 中に溶解した。混合物を 25℃で 16 時間攪拌した。LC-MS により、化合物 13 が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つの主ピークが検出されることが示された。残留物を分取 HPLC (水 (0.1% の TFA) - ACN) により精製して、化合物 E (205 mg、41.3% の収率) を得た。

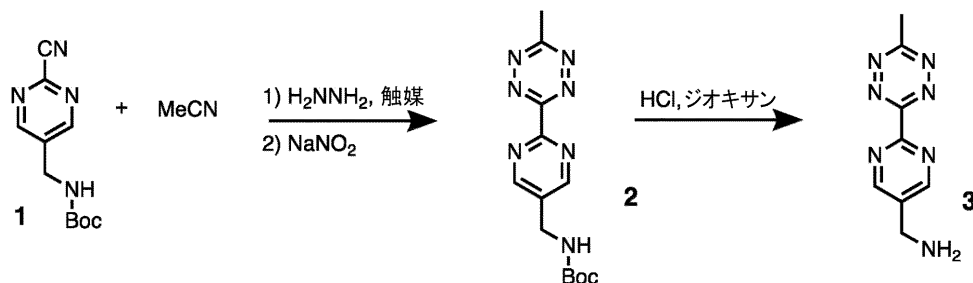
【0 6 2 3】

LCMS (m/z): 1646.5 ($M+H$)⁺。

【0 6 2 4】

実施例 13: 3-(5-アミノメチル-ピリミジン)-6-メチル-1,2,4,5-テトラジン

【化 1 5 7】



40

【0 6 2 5】

N-Boc-3-(5-アミノメチル-ピリミジン)-6-メチル-1,2,4,5-テトラジン (2)。乾燥アセトニトリル中の N-Boc-2-シアノ-5-アミノメチル-ピリミジン (1) の溶液に、ヒドラジン及びニッケル (II) トリフレートを加える。次いで、反応混合物を一晩加熱したところ、TLC によれば出発物質は消費される。反応混合物に (水中に溶解された) 亜硝酸ナトリウムを加え、続いて 1 M の塩酸を加える。次いで、HPLC によって反応が完了したと判断されるまで、反応混合物を周囲温度で攪拌する。次いで、反応混合物を酢酸エチルと水との間で分ける。有機層を水 (3×) に続き

50

てブライン（１×）で洗浄した後、硫酸ナトリウムを介して乾燥させる。溶液を濾過し、濾液を減圧下で濃縮して生成物を得て、これを更なる精製を行わずに次に持ち越すことができる。

【０６２６】

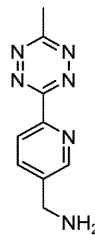
３－（５－アミノメチル－ピリミジン）－６－メチル－１，２，４，５－テトラジン（３）。ジオキサン中の２の溶液に塩酸（ジオキサン中４Ｍ）を加える。次いで、出発物質が消費されるまで、反応混合物を周囲温度で攪拌する。生成物を濾過により単離し、沈殿物をジエチルエーテルで洗浄して、生成物を任意にＨＣｌ塩として得る。

【０６２７】

本明細書に記載される化合物及び方法において６－（６－メチル－１，２，４，５－テトラジン－３－イル）－３－ピリジンメタンアミンを利用することもでき、この化合物は、当該技術分野に従って調製することができ、又は商業的供給元（例えば、米国ニュージャージー州のEnamine US Inc.）から購入することができる。

【０６２８】

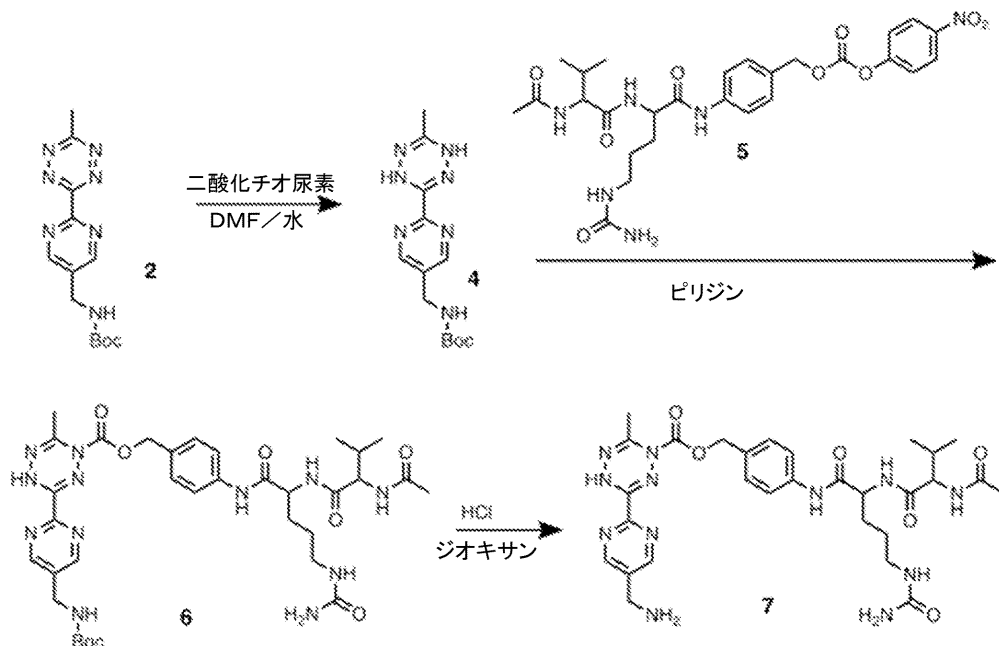
【化１５８】



【０６２９】

実施例１４：Val-Cit-PABC-ジヒドロテトラジン

【化１５９】



【０６３０】

N-Boc-3-(5-アミノメチル－ピリミジン）－６－メチル－１，２，４，５－ジヒドロテトラジン（４）。密閉したフラスコ中で、DMF／H₂O（容量／容量＝１０／１）中のテトラジン２の溶液に二酸化チオ尿素を周囲温度で加える。次いで、溶液の色が桃色から無色に変化するまで、反応混合物を攪拌しながら加熱する。反応混合物を減圧下で濃縮し、得られた残留物を真空下で乾燥させてジヒドロテトラジン４を得て、これを

更なる精製を行わずに直接使用することができる。

【0631】

ジヒドロテトラジン4の溶液にトルエン中のニトロフェニルカーボネート5の溶液を加える。次いで、反応混合物を周囲温度で攪拌する。完了したら、反応混合物を減圧下で濃縮し、得られた残留物をフラッシュクロマトグラフィーにより精製して化合物6を得る。

【0632】

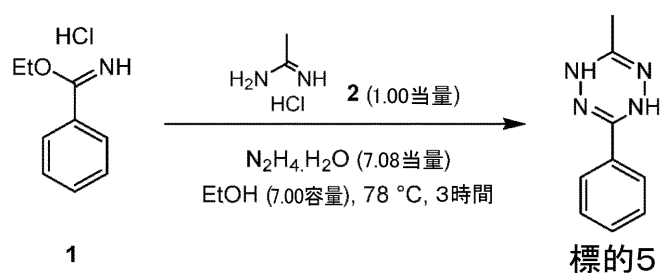
1-(N-アシル-(Val-Cit)-PABC)-3-(5-アミノメチル-ピリミジン)-6-メチル-1,2,4,5-ジヒドロテトラジン(7)。ジオキサン中の6の溶液に塩酸(ジオキサン中4M)を加える。次いで、出発物質が消費されるまで、反応混合物を周囲温度で攪拌する。生成物を濾過により単離し、沈殿物をジエチルエーテルで洗浄して、生成物を任意にHCl塩として得る。

10

【0633】

実施例15：ジヒドロテトラジン(標的5)

【化160】



20

【0634】

EtOH (35.0 mL) 中の N₂H₄·H₂O (9.74 g、190 mmol、9.44 mL、98%の純度、7.08 当量) の溶液に、化合物 1 (5.00 g、26.9 mmol、1.00 当量、HCl) 及び化合物 2 (2.55 g、26.9 mmol、1.00 当量、HCl) を 20 °C で加えた。混合物を 78 °C で 3 時間攪拌した。反応混合物の LCMS 分析により、化合物 1 が完全に消費されたことが示された。反応混合物に 20 °C で H₂O (100 mL) を加えた後、得られた溶液を減圧下で 40 °C にて濃縮して、EtOH を除去した。反応混合物を酢酸エチル 150 mL (50.0 mL × 3) で抽出し、合わせた有機層をブライン 20.0 mL (20.0 mL × 1) で洗浄し、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、n-ヘプタン/酢酸エチル = 100/1 → 1/1) により精製した後、分取 HPLC (HCl 条件) により更に精製して、標的 5 (100 mg、2.87 mmol) を白色の固体として得た。

30

¹H NMR (400 MHz, METHANOL-d₄) δ ppm 7.94 - 8.13 (m, 2H), 7.53 - 7.75 (m, 3H), 2.64 (s, 3H)。

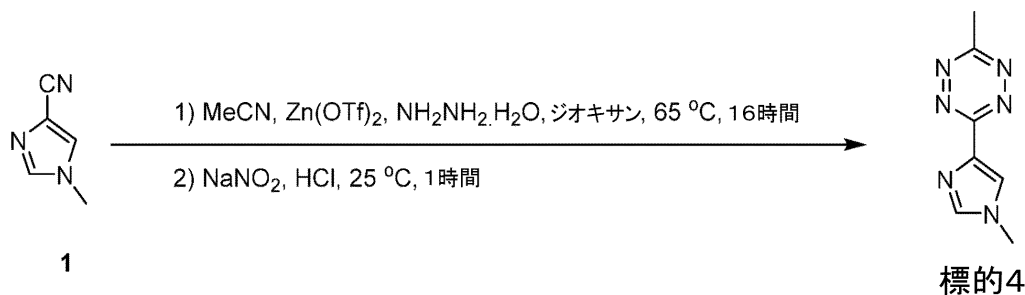
LCMS: M+H⁺ = 175.1

【0635】

実施例16：3-メチル-6-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル)-1,2,4,5-テトラジン(標的4)

40

【化161】



50

【0636】

3-メチル-6-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル)-1,2,4,5-テトラジン(標的4): ジオキサン(1 mL)中の1-メチルイミダゾール-4-カルボニトリル(200 mg、1.87 mmol)、MeCN(268 mg、6.54 mmol)、及びトリフルオロメタンスルホン酸亜鉛(68 mg、0.19 mmol)の溶液に25℃でNH₂NH₂O・H₂O(2.34 g、46.68 mmol)を加え、混合物をN₂下で65℃にて16時間攪拌した。次いで、混合物を25℃に冷却し、H₂O(3 mL)中のNaNO₂(387 mg、5.60 mmol)の溶液を25℃で滴加した。混合物を25℃で3時間攪拌した。混合物を室温まで冷却し、1 Mの塩酸水溶液でpH=3に調整した。水相をDCM(3×5 mL)で抽出した。合わせた有機物を、無水硫酸ナトリウムを介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。残留物を分取TLC(SiO₂、DCM:MeOH=10:1)により精製して、3-メチル-6-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル)-1,2,4,5-テトラジン(標的4)(20.1 mg、6.1%)を得た。

10

【0637】

LCMS (ESI+): m/z = 177.2 [M+H]⁺

【0638】

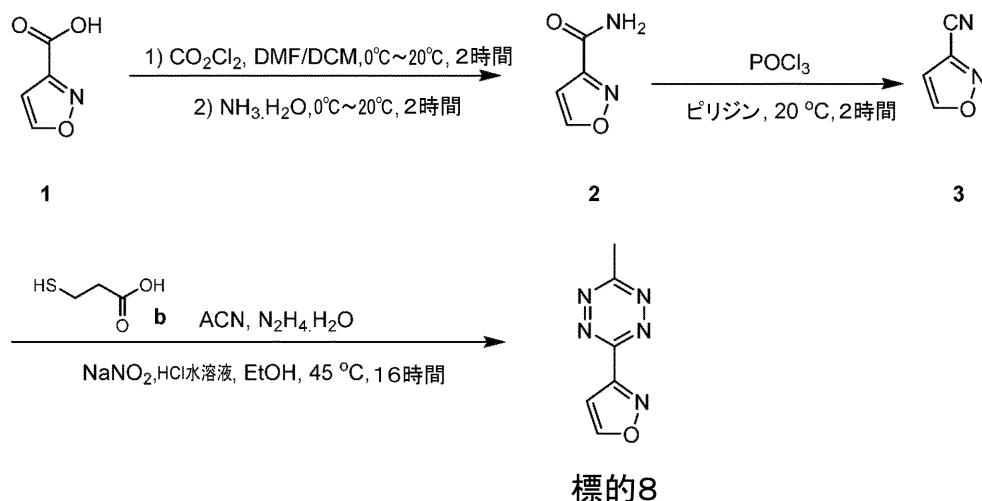
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) (ET60578-12-P1M): δ = 8.00 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.06 (s, 3H)。

20

【0639】

実施例17: 3-(6-メチル-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)イソオキサゾール(標的8)

【化162】



30

【0640】

イソオキサゾール-3-カルボキサミド(2): DMF(646 mg、8.84 mmol)及びDCM(100 mL)中のイソオキサゾール-3-カルボン酸(10 g、88.44 mmol)の溶液に、二塩化オキサリル(13.47 g、106.13 mmol)をN₂下で0℃にて加えた。混合物を20℃で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮した。残留物をTHF(50 mL)に溶解し、0℃でNH₃・H₂Oを用いてpH=9に調整した。混合物を20℃で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、イソオキサゾール-3-カルボキサミド(2)(3.3 g、33.3%)を得た。

40

【0641】

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9.05 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 6.85 (d, J = 1.6 Hz, 1H)

【0642】

イソオキサゾール-3-カルボニトリル(3): ピリジン(18 mL)中のイソオキサ

50

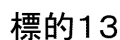
【 0 6 4 3 】

【 0 6 4 4 】

【 0 6 4 5 】

【 0 6 4 6 】

【化 1 6 3】



【 0 6 4 7 】

50

で希釈した。混合物を氷中で2時間冷却し、濾過した。収集した固体をMTBEで洗浄し、減圧下で乾燥させて、1,3-ジアミノ-2-メチル-イソチオ尿素ヨウ化水素酸塩（化合物2）（132 g、56.48%の収率、HI）を得た。

【0648】

^1H NMR (400MHz, DMSO): δ = 10.96 - 9.08 (m, 1H), 5.80 - 4.81 (m, 2H), 2.37 (s, 3H)

【0649】

3-メチル-6-(メチルチオ)-1,2,4,5-テトラジン(4): DMF (750 mL) 中の1,3-ジアミノ-2-メチル-イソチオ尿素(30 g、249.63 mmol)の溶液に、1,1,1-トリエトキシエタン(44.55 g、274.60 mmol)を25℃で加え、混合物を N_2 下で25℃にて5分間攪拌した。次いで、混合物にTEA(25.26 g、249.63 mmol)を25℃で加え、混合物を50℃で3時間攪拌した。TLCにより、反応が完了したことが示された。混合物を水(1000 mL)中に注ぎ、EtAc(3×500 mL)で抽出した。合わせた有機層をブライン(500 mL)で洗浄し、 Na_2SO_4 を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル/酢酸エチル=10/1→5/1)により精製して、3-メチル-6-メチルスルファニル-1,2,4,5-テトラジン(化合物4)(5.8 g、16.3%)を得た。

10

【0650】

^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ = 2.99 (s, 3H), 2.74 (s, 3H)。

20

【0651】

3-メチル-6-(1H-ピラゾール-1-イル)-1,2,4,5-テトラジン(標的13): THF (2 mL) 中の1H-ピラゾール(144 mg、2.11 mmol)の混合物に、NaH(84 mg、2.11 mmol、60%の純度)を0℃で加え、混合物を N_2 下で0℃にて15分間攪拌した。次いで、混合物にTHF (1 mL) 中の3-メチル-6-メチルスルファニル-1,2,4,5-テトラジン(200 mg、1.41 mmol)を0℃で加え、混合物を N_2 下で25℃にて2時間攪拌した。TLCにより、反応が完了したことが示された。混合物を飽和 NH_4Cl (5 mL) 中に注ぎ、EtAc (3×3 mL)で抽出した。合わせた有機層をブライン(3 mL)で洗浄し、 Na_2SO_4 を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。残留物を分取TLC(SiO_2 、PE:EtOAc=3:1)により精製して、3-メチル-6-ピラゾール-1-イル-1,2,4,5-テトラジン(標的13)(20 mg、8.8%)を得た。LCMS (ESI+): m/z = 163.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

30

【0652】

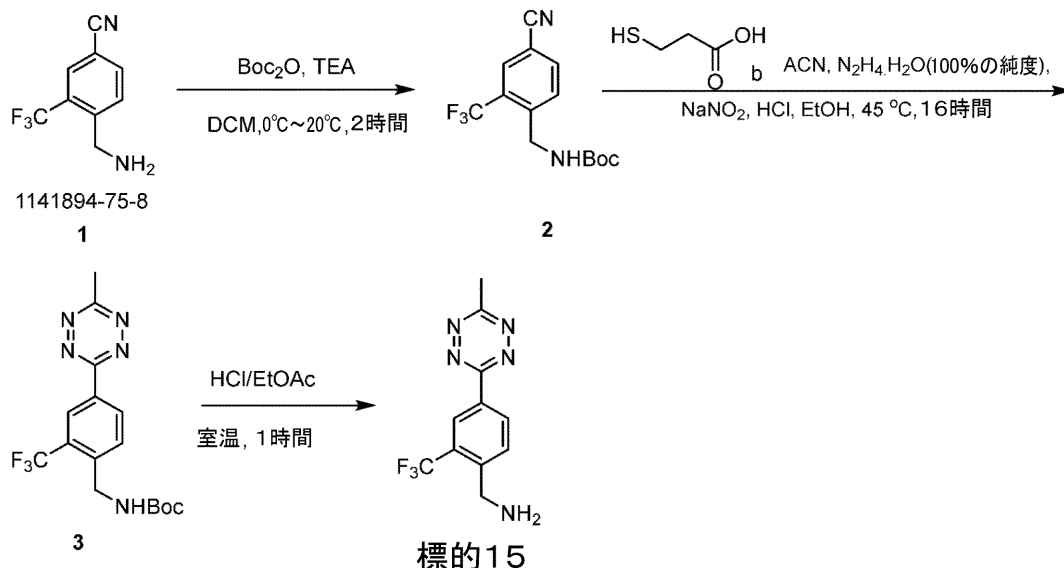
^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ = 8.74 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.02 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 6.68 (dd, J = 1.6, 2.8 Hz, 1H), 3.14 (s, 3H)。

【0653】

実施例19: (4-(6-メチル-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル)フェニル)メタンアミン(標的15)

40

【化 1 6 4】



10

【0 6 5 4】

tert-ブチル (4-シアノ-2-(トリフルオロメチル)ベンジル)カルバメート (2) : DCM (10 mL) 中の 4-(アミノメチル)-3-(トリフルオロメチル)ベンズニトリル (300 mg、1.50 mmol) の溶液に、Boc₂O (360 mg、1.65 mmol) 及び TEA (227 mg、2.25 mmol) を N₂ 下で 20 °C にて加えた。混合物を 20 °C で 2 時間攪拌した。混合物を冷却し、H₂O (10 mL) 中に注ぎ、水相を DCM (3×10 mL) で抽出した。合わせた有機相をブライン (10 mL) で洗浄し、無水 Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (PE : EtOAc = 1 : 0 → 3 : 1) により精製して、tert-ブチル (4-シアノ-2-(トリフルオロメチル)ベンジル)カルバメート (2) (400 mg、88.9%) を得た。

20

【0 6 5 5】

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.94 (s, 1H), 7.87 - 7.81 (m, 1H), 7.79 - 7.73 (m, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.56 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 1.47 (s, 9H)。

30

【0 6 5 6】

tert-ブチル (4-(6-メチル-1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンジル)カルバメート (3) : EtOH (0.5 mL) 中の tert-ブチル N-[[4-シアノ-2-(トリフルオロメチル)フェニル]メチル]カルバメート (150 mg、0.50 mmol) の溶液に、NH₂NH₂·H₂O (400 mg、7.99 mmol) を 20 °C で 0.5 時間加えた。次いで、混合物に MeCN (82 mg、2.00 mmol) 及び 3-スルファニルプロパン酸 (53 mg、0.50 mmol) を N₂ 下で 20 °C にて加えた。その後、NaNO₂ (500 mg) を加え、反応混合物を 20 °C で 0.5 時間攪拌した。3 M の塩酸を pH = 1 まで加え、反応混合物を 20 °C で 0.5 時間攪拌した。水相を EtOAc (3×10 mL) で抽出した。合わせた有機相をブライン (10 mL) で洗浄し、無水 Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。粗生成物を分取 TLC (SiO₂, PE : EtOAc = 3 : 1) により精製して、tert-ブチル N-((4-(6-メチル-1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル)フェニル)メチル)カルバメート (3) (50 mg、14.1%) を得た。

40

【0 6 5 7】

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.91 (s, 1H), 8.78 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.11 - 4.96 (m, 1H), 4.63 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 3.14 (s, 3H), 1.49 (s, 9H)。

50

【0658】

(4-(6-メチル-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル)フェニル)メタンアミン(標的15): MeOH(2mL)中のtert-ブチルN-((4-(6-メチル-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル)フェニル)メチル)カルバメート(50mg、0.14mmol)の溶液に、HCl/MeOH(2mL、4M)をN₂下で20℃にて加えた。混合物を20℃で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮した。粗生成物を次の条件(PhenomenexのLuna 80mm×30mm×3μm 相:[水(FA)-ACN];B%:8分で1%→25%)で分取HPLC(FA)により精製して、(4-(6-メチル-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル)フェニル)メタンアミン(4.8mg、15.9%)を得た。

10

【0659】

LCMS(ESI+): m/z = 270.0 [M+H]⁺

【0660】

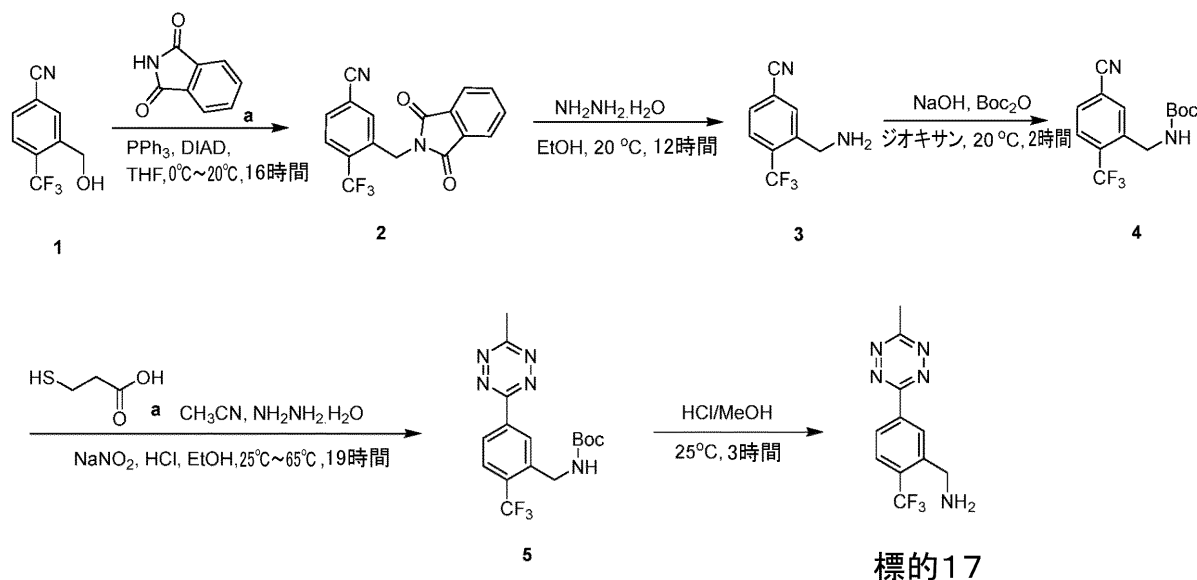
¹H NMR(400MHz, MeOD): δ 8.93(s, 1H), 8.89(d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.49(s, 1H), 7.96(d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.37(s, 2H), 3.09(s, 3H)。

【0661】

実施例20:(4-(6-メチル-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル)フェニル)メタンアミン(標的17)

20

【化165】



30

【0662】

3-((1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)メチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(2): THF(50mL)中の3-(ヒドロキシメチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(4.5g、22.38mmol)の溶液に、イソインドリン-1,3-ジオン(3.3g、22.38mmol)、PPh₃(11.7g、44.76mmol)、及びDIAD(6.79g、33.57mmol)をN₂下で0℃にて加えた。次いで、得られた混合物を20℃で16時間攪拌した。反応混合物を水(15mL)の添加によりクエンチし、EtOAc(3×10mL)で抽出した。合わせた有機相をブライン(15mL)で洗浄し、硫酸ナトリウムを介して乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮して残留物を得て、これをカラムにより精製して3-((1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)メチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(2)(5.1g、69%)を得た。

40

【0663】

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ = 7.91-8.03(m, 2H), 7.84(dd, J = 5.6, 2.8

50

Hz, 3H), 7.70 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 5.13 (s, 2H)。

【0664】

3-(アミノメチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(3): EtOH (20 mL) 中の3-(1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)メチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(1 g、3.03 mmol)の溶液に $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3.79 g、60.56 mmol、80%の純度)を20℃で加えた後、混合物を20℃で12時間攪拌した。6 Mの塩酸を $\text{pH} = 1$ まで加え、反応混合物を20℃で2時間攪拌した。反応の完了後に、混合物を濾過し、濾液を減圧下で濃縮した。残留物を水(50 mL)中に注ぎ、6 MのNaOH水溶液(20 mL)で pH を11に調整した。次いで、混合物をEtOAc(3×50 mL)で抽出し、有機層をブライン(200 mL)で洗浄し、 Na_2SO_4 を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、3-(アミノメチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(3)(600 mg、99.0%)を得た。

10

【0665】

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.09$ (s, 1H), 7.72-7.80 (m, 1H), 7.62-7.71 (m, 1H), 4.12 ppm (s, 2H)。

【0666】

tert-ブチル(5-シアノ-2-(トリフルオロメチル)ベンジル)カルバメート(4): ジオキサン(6 mL)及び H_2O (3 mL)中の3-(アミノメチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(0.3 g、1.50 mmol)及びNaOH(180 mg、4.50 mmol)の溶液に Boc_2O (654 mg、3.00 mmol)を20℃で加えた後、混合物を20℃で2時間攪拌した。反応混合物を H_2O (10 mL)でクエンチし、EtOAc(3×10 mL)で抽出した。合わせた有機層をブライン(10 mL)で洗浄し、無水 Na_2SO_4 を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(PE: EtOAc = 1:0 → 0:1)により精製して、tert-ブチル(5-シアノ-2-(トリフルオロメチル)ベンジル)カルバメート(4)(300 mg、66.6%)を得た。

20

【0667】

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.89$ (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.65-7.71 (m, 1H), 4.88-5.19 (m, 1H), 4.54 (br d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 1.48 ppm (s, 9H)。

30

【0668】

tert-ブチル(5-(6-メチル-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンジル)カルバメート(5): EtOH(3 mL)中のtert-ブチル(5-シアノ-2-(トリフルオロメチル)ベンジル)カルバメート(500 mg、1.67 mmol)、MeCN(273 mg、6.66 mmol)、及び3-スルファニルプロパン酸(177 mg、1.67 mmol)の溶液に $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1.33 g、26.64 mmol)を25℃で加え、混合物を N_2 下で65℃にて16時間攪拌した。次いで、混合物を室温まで冷却し、 H_2O (2.5 mL)中の NaNO_2 (345 mg、5.00 mmol)の溶液を25℃で滴加した。混合物を25℃で3時間攪拌した。混合物を室温まで冷却し、1 Mの塩酸水溶液で $\text{pH} = 3$ に調整した。混合物をDCM(20 mL)で抽出した。有機相を、無水硫酸ナトリウムを介して乾燥させ、減圧下で濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(PE: EtOAc = 20:1 → 1:1)により精製して、tert-ブチル(5-(6-メチル-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンジル)カルバメート(5)(140 mg、22.8%)を得た。

40

【0669】

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.78$ (s, 1H), 8.60 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.08 (s, 1H), 4.67 (s, 1H), 3.15 (s, 3H), 1.49 (s, 9H)。

【0670】

(5-(6-メチル-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロ

50

メチル) フェニル) メタンアミン (標的 15) : MeOH (2 mL) 中の *tert*-ブチル *N*-[[5-(6-メチル-1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル) フェニル] メチル] カルバメート (5) (140 mg、0.38 mmol) の溶液に、HCl/MeOH (2 mL、4 M) を N_2 下で 20 °C にて加えた。混合物を 20 °C で 2 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮した。粗生成物を分取 TLC (SiO₂、DCM : MeOH = 10 : 1) により精製して、[5-(6-メチル-1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル)-2-(トリフルオロメチル) フェニル] メタンアミン (18.0 mg、17.7%) を得た。

【0671】

LCMS (ESI+): $m/z = 270.0 [M+H]^+$

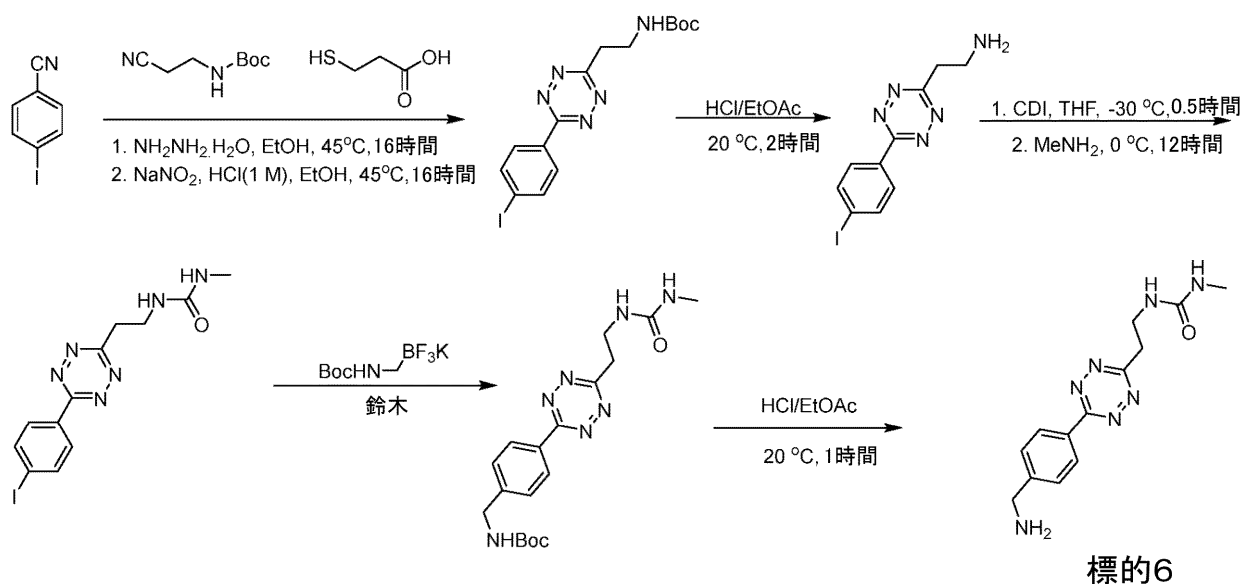
【0672】

¹H NMR (400 MHz, MeOD): δ 8.88 (s, 1H), 8.60 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.11 (s, 2H), 3.08 (s, 3H)

【0673】

実施例 21 : 1-(2-(6-(4-(アミノメチル) フェニル)-1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル) エチル)-3-メチル尿素 (標的 6)

【化 166】



【0674】

tert-ブチル (2-(6-(4-ヨードフェニル)-1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル) エチル) カルバメート : EtOH (140 mL) 中の 4-ヨードベンゾニトリル (15 g、65.50 mmol) の混合物に、*tert*-ブチル *N*-(2-シアノエチル) カルバメート (44.59 g、261.99 mmol)、3-スルファニルプロパン酸 (6.95 g、65.50 mmol)、及び $NH_2NH_2 \cdot H_2O$ (59.02 g、1.18 mol) を N_2 下で 0 °C にて加えた。混合物を 45 °C で 16 時間攪拌した。次いで、混合物を 20 °C に冷却し、 H_2O (40 mL) 中の $NaNO_2$ の溶液を 20 °C で滴加した。混合物を 20 °C で 1 時間攪拌した。氷冷下に、1 M の塩酸水溶液で pH を 3 に調整した後、DCM (3 × 50 mL) で抽出した。有機相を、無水硫酸ナトリウムを介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (PE : EtOAc = 10 : 1 → 1 : 1) により精製して、*tert*-ブチル (2-(6-(4-ヨードフェニル)-1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル) エチル) カルバメート (14 g、50%) を得た。

【0675】

LCMS: $m/z = 372.0 [M-BuOH+H]^+$ 。

【0676】

10

20

30

40

50

2-(6-(4-ヨードフェニル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)エタン-1-アミン: HCl/EtOAc (4 M、100 mL) 中の tert-ブチル (2-(6-(4-ヨードフェニル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)エチル)カルバメート (6.5 g、5.85 mmol) の混合物を 25℃で1時間攪拌した。反応物を減圧下で濃縮して、2-(6-(4-ヨードフェニル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)エタン-1-アミン塩酸塩 (5.8 g、80%) を得た。

【0677】

LCMS: $m/z = 328.2 [M+H]^+$ 。

【0678】

1-(2-(6-(4-ヨードフェニル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)エチル)-3-メチル尿素: DCM (45 mL) 中の CDI (3.35 g、20.63 mmol) の混合物に、TEA (4.18 g、41.27 mmol) 及び 2-(6-(4-ヨードフェニル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)エタン-1-アミン (5.8 g、13.76 mmol) を N₂ 下で -40℃にて加えた。混合物を -40℃で1時間攪拌した。次いで、MeNH₂ (2 M、17 mL) 及び TEA (4.17 g、41.24 mmol) を N₂ 下で 0℃にて加えた。混合物を 25℃で12時間攪拌した。反応物を減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物を DCM でトリチュレーションした。得られた固体を濾過により収集し、DCM (40 mL) で洗浄し、減圧下で乾燥させて、1-[2-[6-(4-ヨードフェニル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル]エチル]-3-メチル尿素 (3 g、57%) を得た。LCMS: $m/z = 385.0 [M+H]^+$ 。

10

20

【0679】

¹H NMR (400 MHz, DMSO): $\delta = 8.24$ (d, $J = 8.4$ Hz, 2 H) 8.06 (d, $J = 8.4$ Hz, 2 H) 6.09 (br t, $J = 5.6$ Hz, 1 H) 5.77 (br d, $J = 4.8$ Hz, 1 H) $3.53 - 3.57$ (m, 2 H) $3.36 - 3.40$ (m, 2 H) 2.45 (d, $J = 4.4$ Hz, 3 H)。

【0680】

tert-ブチル (4-(6-(2-(3-メチルウレイド)エチル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)カルバメート: 2-メチル-2-ブタノール (4 mL) 及び H₂O (1 mL) 中の 1-[2-[6-(4-ヨードフェニル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル]エチル]-3-メチル尿素 (1 g、2.60 mmol) 及び (tert-ブトキシカルボニルアミノ)メチルトリフルオロ-ホウ素; 水素化カリウム (926 mg、3.90 mmol) の混合物に、Cs₂CO₃ (1.70 g、5.21 mmol) 及びジtert-ブチル (シクロペンチル)ホスファン; ジクロロパラジウム; 鉄 (170 mg、0.26 mmol) を N₂ 下で 25℃にて加えた。混合物を 80℃で16時間攪拌した。混合物を H₂O (15 mL) で希釈し、EtOAc (3×10 mL) で抽出した。合わせた有機物を、無水硫酸ナトリウムを介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (PE: EtOAc = 5:1→0:1) により精製して、tert-ブチル (4-(6-(2-(3-メチルウレイド)エチル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)カルバメート (200 mg、20%) を得た。

30

【0681】

LCMS: $m/z = 388.3 [M+H]^+$ 。

【0682】

¹H NMR (400 MHz, DMSO): $\delta = 8.44$ (br d, $J = 8.0$ Hz, 2 H), 7.52 (br d, $J = 7.6$ Hz, 3 H), 6.08 (br t, $J = 5.6$ Hz, 1 H), 5.78 (br s, 1 H), 4.26 (br d, $J = 5.6$ Hz, 2 H), $3.54 - 3.58$ (m, 2 H), 3.38 (br d, $J = 6.4$ Hz, 2 H), 2.45 (d, $J = 4.4$ Hz, 3 H), 1.41 (s, 9 H)。

40

【0683】

1-(2-(6-(4-(アミノメチル)フェニル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)エチル)-3-メチル尿素 (標的 6): tert-ブチル (4-(6-(2-(3-メチルウレイド)エチル)-1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)

50

カルバメート（150 mg、0.39 mmol）の混合物にHCl/EtOAc（4 M、3 mL）をN₂下で25℃にて加えた。混合物を25℃で1時間攪拌した。反応物を減圧下で濃縮した。粗生成物を次の条件（カラム：PhenomenexのC18 100 mm×30 mm×5 μm；移動相：A：水中10 mMのNH₄HCO₃、B：MeCN；A中のB%：10分で20%→50%）で分取HPLCにより精製して、1-（2-（6-（4-（アミノメチル）フェニル）-1,2,4,5-テトラジン-3-イル）エチル）-3-メチル尿素（63 mg、29%）を得た。LCMS: m/z = 288.2 [M+H]⁺。

【0684】

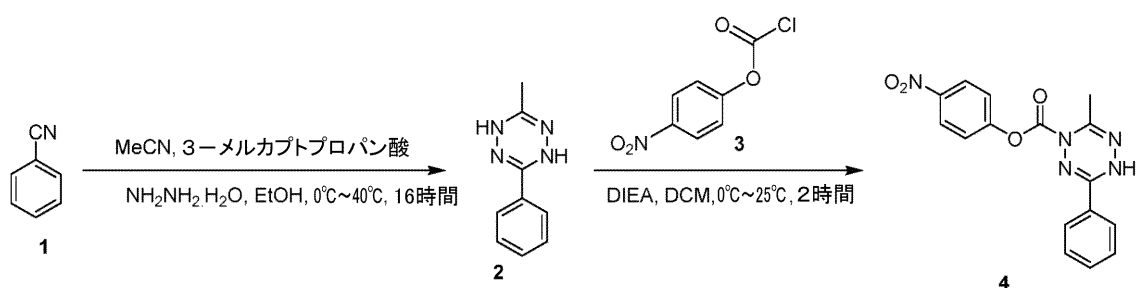
¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 8.52 (d, J = 8.0 Hz, 2 H), 8.45 (br s, 2 H), 7.77 (d, J = 8.2 Hz, 2 H), 6.14 (br t, J = 5.6 Hz, 1 H), 5.76 - 5.83 (m, 1 H), 4.18 (br s, 2 H), 3.56 (q, J = 6.4 Hz, 2 H), 3.38 - 3.41 (m, 2 H), 2.44 (d, J = 4.4 Hz, 3 H)。

10

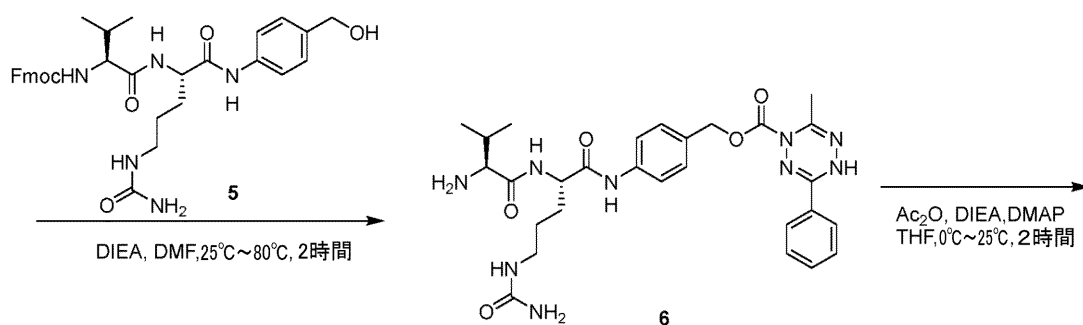
【0685】

実施例22：4-（（S）-2-（（S）-2-アセトアミド-3-メチルブタンアミド）-5-ウレイドペンタンアミド）ベンジル-6-メチル-3-フェニル-1,2,4,5-テトラジン-1（4 H）-カルボキシレート（標的1b）

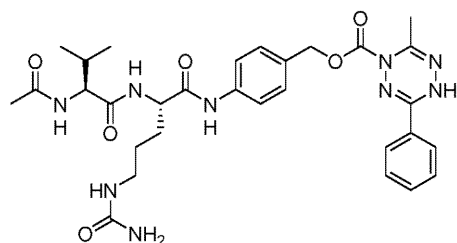
【化167】



20



30



40

標的1b

【0686】

3-メチル-6-フェニル-1,4-ジヒドロ-1,2,4,5-テトラジン（2）：EtOH（100 mL）中のベンゾニトリル（10 g、96.97 mmol）、ACN（31.85 g、775.79 mmol）、3-メルカプトプロパン酸（10.29 g、96.97 mmol）の溶液に、NH₂NH₂・H₂O（79.26 g、1.55 mol）をN₂下で0℃にて滴加した。混合物を40℃で16時間攪拌した。混合物を水（100

50

mL) でクエンチし、HCl (1 M) の添加により pH = 4 に調整し、EtOAc (3 × 100 mL) で抽出した。合わせた有機層をブライン (100 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。混合物を MTBE : EtOAc (10 : 1、100 mL) でスラリー化し、濾過し、固体を要求した。固体を次の条件 (カラム : Phenomenex の Luna C18 (250 mm × 70 mm、15 μm) ; 移動相 : [水 (FA) - ACN] ; B % : 22 分で 8 % → 35 %) 下で p-HPLC (FA) により精製して、3-メチル-6-フェニル-1, 4-ジヒドロ-1, 2, 4, 5-テトラジン (10 g、29 %) を得た。

【0687】

LCMS, m/z = 175.1 [M+H]⁺

【0688】

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ 8.50 (br s, 1H), 8.29 (br s, 1H), 7.74 (dd, J = 1.6, 7.6 Hz, 2H), 7.47-7.35 (m, 3H), 1.78 (s, 3H)。

【0689】

4-ニトロフェニル 6-メチル-3-フェニル-1, 2, 4, 5-テトラジン-1 (4H)-カルボキシレート (4) : DCM (30 mL) 中の 3-メチル-6-フェニル-1, 4-ジヒドロ-1, 2, 4, 5-テトラジン (3 g、17.22 mmol) の溶液に、N₂ 下で 0 °C にて DIEA (6.68 g、51.66 mmol) を加えた後に (4-ニトロフェニル) カルボノクロリデート (3.64 g、18.08 mmol) を加えた。混合物を 25 °C で 2 時間攪拌した。混合物を水 (45 mL) 中に注ぎ、DCM (3 × 15 mL) で抽出した。合わせた有機層をブライン (15 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ を介して乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。粗製物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (PE : EtOAc = 1 : 0 → 0 : 1) により精製して、4-ニトロフェニル 6-メチル-3-フェニル-1, 2, 4, 5-テトラジン-1 (4H)-カルボキシレート (1 g、17 %) を得た。

【0690】

LCMS, m/z = 340.0 [M+H]⁺

【0691】

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.36-8.28 (m, 2H), 7.76 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.56-7.42 (m, 5H), 6.30-6.02 (m, 2H), 2.44 (s, 3H)。

【0692】

4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド) ベンジル-6-メチル-3-フェニル-1, 2, 4, 5-テトラジン-1 (4H)-カルボキシレート (6) : DMF (10 mL) 中の 4-ニトロフェニル 6-メチル-3-フェニル-1, 2, 4, 5-テトラジン-1 (4H)-カルボキシレート (705 mg、1.66 mmol) 及び (9H-フルオレン-9-イル) メチル ((S)-1-((S)-1-((4-(ヒドロキシメチル) フェニル) アミノ)-1-オキソ-5-ウレイドペンタン-2-イル) アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル) カルバメート (1 g、1.66 mmol) の溶液に、DIEA (644 mg、4.99 mmol) を N₂ 下で 25 °C にて加えた。混合物を 80 °C に加熱し、2 時間攪拌した。粗製物を次の条件 (カラム : Phenomenex の C18 250 mm × 50 mm × 10 μm ; 移動相 : [水 (NH₄HCO₃) - ACN] ; B % : 8 分で 14 % → 44 %) 下で p-HPLC (中性) により精製して、4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド) ベンジル-6-メチル-3-フェニル-1, 2, 4, 5-テトラジン-1 (4H)-カルボキシレート (240 mg、25 %) を得た。

【0693】

LCMS, m/z = 580.2 [M+H]⁺

【0694】

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ 9.97 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 8.42 (d, J = 7.6

10

20

30

40

50

Hz, 1H), 7.88-7.79 (m, 2H), 7.60-7.47 (m, 5H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.14 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.98 (br t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.47-5.35 (m, 2H), 5.12-5.04 (m, 1H), 4.43 (d, J = 5.6 Hz, 3H), 4.26 (dd, J = 5.6, 8.8 Hz, 1H), 3.07-2.94 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.14-2.04 (m, 1H), 1.75-1.55 (m, 2H), 1.51-1.30 (m, 2H), 0.92 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.85 (d, J = 6.8 Hz, 3H) [0695]

4-((S)-2-((S)-2-アセトアミド-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル-6-メチル-3-フェニル-1,2,4,5-テトラジン-1(4H)-カルボキシレート(標的1b): THF(0.5 mL)中の4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル-6-メチル-3-フェニル-1,2,4,5-テトラジン-1(4H)-カルボキシレート(100 mg、0.17 mmol)及びDIEA(45 mg、0.35 mmol)の溶液に、N₂下で0℃にてDMAP(4 mg、0.03 mmol)を加えた後にAc₂O(23 mg、0.22 mmol)を加えた。混合物を25℃で2時間攪拌した。混合物を減圧下で濃縮した。粗製物を次の条件(カラム: Watersのxbridge 150 mm×25 mm×10 μm; 移動相: [水(NH₄HCO₃)-ACN]; B%: 8分で24%→54%)下でp-HPLC(中性)により精製して、4-((S)-2-((S)-2-アセトアミド-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル-6-メチル-3-フェニル-1,2,4,5-テトラジン-1(4H)-カルボキシレート(58.9 mg、55%)を得た。

[0696]

LCMS, m/z = 622.2 [M+H]⁺

[0697]

¹H NMR(400 MHz, DMSO): δ 10.09 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 8.44 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.87-7.77 (m, 2H), 7.64-7.47 (m, 5H), 7.30 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.14 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.99 (br t, J = 5.6 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.00 (s, 2H), 4.47-4.36 (m, 1H), 4.27 (dd, J = 5.6, 8.7 Hz, 1H), 3.10-2.88 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.14-2.06 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.77-1.57 (m, 2H), 1.52-1.32 (m, 2H), 0.92 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.85 (d, J = 6.8 Hz, 3H)。

[0698]

実施例23: テトラジンによる薬物放出のLCMS分析

PBS中の各テトラジンの溶液(20 μMの最終濃度)をTCO-MMAE(10 μMの最終濃度)と混合する。溶液を入念に混合し、LCMSによる分析に適した時点でアリコートを取り出す。結果を以下の表に報告する。

[0699]

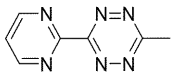
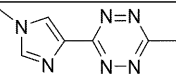
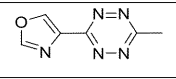
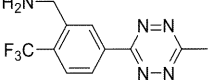
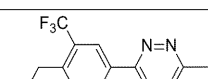
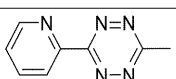
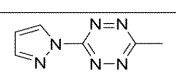
10

20

30

40

50

化合物	消費されたTCO-MM AEの% (1時間)	放出されたMMAE の% (24時間)
	100	29
	74	40
	42	62
	100	46
	100	51
	100	28
	81	35

10

20

【0700】

少なくとも上記のデータに基づくと、標的化部分の二環式のテトラジン又はジヒドロテトラジン部分の構造を調整することによって、薬物放出プロファイルを変更、増強、又は減弱させることができることが考えられる。

【0701】

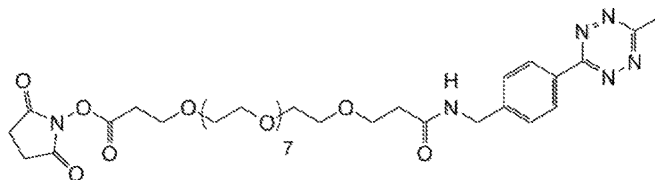
実施例24：トラスツズマブFab-Me-Tet-PEG9コンジュゲートの調製及びFACS分析

トラスツズマブのFabを、プラスミド構築、HEK293細胞発現、及び精製によって合成した。Me-Tet-PEG9-NHS（以下に示す構造、SiChemから購入、カタログ番号SC-8808）をFab上の第一級アミンに反応させて安定なアミド結合を形成することによって、Fab-テトラジンコンジュゲート（ADC）を調製した。ADCをフローサイトメトリー（FACS）によって試験して、非コンジュゲートFabと比較してHER2陽性細胞への結合を比較した。

30

【0702】

【化168】



Me-Tet-PEG9-NHS

40

【0703】

トラスツズマブのFabの合成

ベクターの構築：コーディング配列（以下に列挙）を合成し、発現ベクターにサブクローニングした。構築されたプラスミドをE. コリに形質転換して増殖させた。NucleoBond Xtra Maxi Plus EFキットを使用して大規模なプラスミド生成を行った。精製したプラスミドをアガロースゲルにより検証し、シーケンシングによって確認した。

50

【0704】

トラスツズマブーFabのHC配列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGY
TRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV（配列番号3）。

【0705】

トラスツズマブーFabのLC配列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSG
VPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST
YLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号4）。

【0706】

タンパク質発現：Fabの重鎖及び軽鎖を含むコンストラクトを、PEIを用いてHEK293細胞に同時トランスフェクションさせた。トランスフェクションの6日～7日後に培養培地を採取した。

【0707】

タンパク質の精製：標的Fabを発現する条件培地を遠心分離及び濾過によって採取した後、KappaSelectアフィニティーカラム（Mabselect Prism）にロードした。ローディングバッファーは150mMのNaClを含む25mMのTris（pH8.0）であり、150mMのNaCl、0.2%のTriton X-100／114を含む25mMのTris緩衝液（pH8.0）で洗浄し、150mMのNaClを含む100mMのクエン酸ナトリウム緩衝液（pH2.5）で溶出した。収集した溶液を1Mのアルギニン、400mMのコハク酸緩衝液（pH9.0）で中和した。アフィニティー精製されたタンパク質を、Superdex S-200カラムクロマトグラフィーを用いたゲル濾過によって更に精製した。精製したFabをSDS-PAGE、SEC-HPLC、及びエンドトキシン測定により分析した。

【0708】

コンジュゲートの調製：120mgのFabタンパク質を、開始から約4時間時に緩衝液を1回交換してPBS（pH7.4）に対して一晚透析した。10mMのMe-Tet-PEG9-NHSをDMSO中で調製した。2つの成分を3：1の薬物対タンパク質のモル比で25℃にて2時間反応させた後、これをPBS（pH7.4）に対して透析してタンパク質成分から過剰なMe-Tet-PEG9-NHS化合物を除去した。

【0709】

HER2陽性細胞系統に対するトラスツズマブFab、Fab-Me-Tet-PEG9-NHSコンジュゲートのFACS結合アッセイ：RPMI1640+10%のFBS中で培養した細胞（NCI-N87細胞系統）を遠心分離によって収集し、FACS緩衝液（2%のFBSを含むPBS、pH7.4）で再懸濁し、1mL当たり 2×10^6 個の密度に調整した。100 μ L（ 2×10^5 個）の細胞を96ウェルプレートに播種し、400gで5分間遠心分離し、上清を捨て、20 μ L/mLのストック溶液から1：10の比率で段階希釈したFab溶液で再懸濁した。抗体及び細胞を4℃で1時間インキュベートした後、400gで5分間遠心分離することにより細胞を処理して、上清を除去し、FACS緩衝液（1ウェル当たり200 μ L）で3回洗浄した。細胞を100 μ Lのalexa 488標識された抗ヒトIgG（Life Technologies、カタログ番号11013、2 μ g/mL）中に再懸濁し、暗所で4℃にて1時間インキュベートした後、上清を除去し、毎回400gで5分間遠心分離することにより細胞を100 μ LのPBSで2回洗浄した。

【0710】

結果：Mabselect Prismを用いた6Lの培養培地の第1段階のアフィニ

10

20

30

40

50

ティー精製から290mgのタンパク質が得られた。Superdex S-200カラムクロマトグラフィーを用いて精製した後に、215mgのFabタンパク質が得られた。コンジュゲーション及び透析の手順後に、112mgのコンジュゲートが得られた。LC-MS法で決定された薬物対抗体比(DAR)は2.28であった(図6)。

【0711】

HER2陽性細胞系統に対するトラスツズマブFab、トラスツズマブ-Me-Tet-PEG9 ADCのFACS結合アッセイ：結合プロファイル(図7)により、非コンジュゲートFabと比較して、Me-Tet-PEG9にコンジュゲートされたトラスツズマブFabの結合活性が同等であるか、又は僅かに低下していることが示される。

【0712】

実施例25：CB17 SCIDマウスにおける皮下NCI-N87異種移植モデルの治療における、化合物Aを用いた場合の(実施例24からの)トラスツズマブFab-Tzの効力研究

この研究において、NCI-N87異種移植モデルの治療におけるMMAE、Tz-Fab、Tz-Fab+化合物A、化合物A、SQL70+化合物A、及びT-DM1の抗腫瘍効力を評価した。目的は、雌CB17 SCIDマウスにおける皮下NCI-N87異種移植モデルの治療についての効力研究において、Fab-テトラジンコンジュゲートが対応物のTCO-MMAEプロトドラッグを局在化する能力を評価することであった。

【0713】

略語のリスト：

ATCC	米国培養細胞系統保存機関
RT	室温
QW	週に1回
QD	1日に1回
BW	体重
RCBW	体重の相対変化
TV	腫瘍体積
IV	静脈注射
IT	腫瘍内注射
SEM	平均の標準誤差
N	動物数
mpk	mg/kg
PG	群分け後

【0714】

方法：110匹のCB17 SCID雌マウス(ハツカネズミ(Mus musculus)、齢：6週齢～8週齢、体重：18g～22g、Shanghai LingChang Biotech Co., LTD)の右脇腹にNCI-N87細胞を皮下接種した(3×10⁶個の細胞を0.2mLの1640とBDのマトリゲルとの混合物(1640：マトリゲル=1：1)中に懸濁して腫瘍発達させた)。接種7日後、70匹の動物をそれらの体重及び腫瘍体積に基づく層別無作為群分けを使用して8つの群に分け、ここで、群1、群2、群5、群6、群7、及び群8には10匹の動物が含まれ、群3及び群4には5匹の動物が含まれていた。これら70匹のマウスについて、平均腫瘍サイズが158mm³(106mm³～221mm³)に達してから治療を開始した。群1：ビヒクル、静脈内、QD×3×2週間。群2：MMAE、0.25mpk、静脈内、QW×2週間。群3：Tz-Fab、50mpk、静脈内、QW×2週間。群4：化合物A、20mpk、静脈内、QD×3×2週間。群5：Tz-Fab、50mpk、静脈内、QW×2週間+化合物A、20mpk、静脈内、QD×3×2週間。群6：Tz-Fab、50mpk、静脈内、QW×2週間+化合物A、5mpk、静脈内、QD×3×2週間。群7：SQL70、100μL、髄腔内×1用量+化合物A、1.9mpk、静脈内、QD×5。群8：T-DM1、3mpk、静脈内、

QW×2週間。治療中、腫瘍サイズ及び体重を週に2回測定した。投薬スケジュールをPG-D10の日に終了した。全研究をPG-D37に終了し、群5及び群6については全ての腫瘍試料を収集し、群1及び群2については1群当たり3つの腫瘍を収集した。

【0715】

表2. 機器

名称	供給業者	型
クラスIIタイプA2生物学的安全キャビネット	Thermo	1389
ノギス	株式会社ミットヨ	500-172-20
分析てんびん	METTLER TOLEDO	XP205
電子秤	Changshu Shuangjie Instrument Co., Ltd	JJ300Y

10

【0716】

表3. 試薬

品目	供給業者	カタログ番号	ロット番号
PBS	HyClone	SH30256.01	AC10237763
RPMI-1640	Gibco	11875-093	2379429
FBS	BI	04-002-1A	1841929
PS	Gibco	15140-122	2321139
0.25%のトリプシン-EDTA	Gibco	25200-072	2152925
生理食塩水	Shandong Hualu Pharmaceutical Co., Ltd	--	SD19121806
HPCD	Accela	SY004863	R1804474

20

30

【0717】

実験方法及び手順：細胞の調製及び移植：NCI-N87（胃部癌、ATCC（商標）CRL-5822（商標）、ロット番号7686255）細胞を、10%の熱失活させたウシ胎児血清、100U/mLのペニシリン、及び100μg/mLのストレプトマイシンを補充したRPMI-1640培地中で37℃にて空气中5%のCO₂の雰囲気において単層培養として*in vitro*で維持した。腫瘍細胞を5日ごとにトリプシン-EDTA処理により定型的に継代培養した。培養したNCI-N87細胞を採取し、1mL当たり1.5×10⁷個の細胞の密度で基礎培地中に再懸濁したところ、90%を超える生存率を有した。それぞれのマウスの右脇腹に1640とBDのマトリゲルとの0.2mLの混合物（1640：マトリゲル＝1：1）中の3×10⁶個を皮下接種して、腫瘍発達させた。

40

【0718】

無作為化及び投与：マウスをそれらの平均腫瘍サイズが158mm³（106mm³～221mm³）に達したことに基づいて群1～群8に群分けすることから処置を開始した。各群は10匹又は5匹のマウスからなっていた。実験計画表（表4）に示されるレジメンに従って試験品をマウスに投与した。

【0719】

50

表 4. 群及び処置

群	n	処置	用量 (mg/kg)	投薬容量 (mL/kg)	投薬 経路	スケジュール
1	10	ビヒクル	--	10	IV	Q D 3 × 2 週間
2	10	MMA E	0.25	10	IV	Q W × 2
3	5	T z - F a b	50	10	IV	Q W × 2
4	5	化合物 A	20	10	IV	Q D 3 × 2 週間
5*	10	T z - F a b + 化合物 A	50 + 20	10	IV+IV	Q W × 2、Q D 3 × 2 週間
6*	10	T z - F a b + 化合物 A	50 + 5	10	IV+IV	Q W × 2、Q D 3 × 2 週間
7**	10	S Q L 7 0 + 化 合物 A	100 μ L + 1.9	10	IT + IV	Q D × 5
8	10	T-DM1（カドサ イラ）	3	10	IV	Q W × 2

n：動物数

投薬容量：体重に対する投薬容量を 1 0 m L / k g に調整する。

体重減少が 1 5 % を超える場合は、治療スケジュールを調整する場合がある。

* 1 日 目（T z - F a b 投薬の 4 時間後）、2 日 目、3 日 目、8 日 目（T z - F a b 投薬の 4 時間後）、9 日 目、1 0 日 目

** S Q L 7 0（Srinivasan et al. Adv. Therap. 2021；注射用に製剤化）を以下のスキーム（腫瘍の中心に 2 0 μ L、腫瘍の各極に 2 0 μ L）によって腫瘍内注射した。化合物 A を 5 日間毎日投薬する。初回の化合物 A の用量を S Q L 7 0 注射からおおよそ 1 時間後に与えた。群 7 は 1 サイクルの投薬のみを受けた。

【 0 7 2 0 】

製剤の調製を表 5 に示す。

【 0 7 2 1 】

表 5. 製剤の調製

化合物	一包	調製	濃度 (mg / mL)	貯蔵
ビヒ クル	--	10%のHPCD (Accela) を調製し、1週間以内に使用する 5gのHPCD粉末を50mLの滅菌脱イオン水中に溶解する。 攪拌子を用いて攪拌してHPCDを澄明な溶液として溶解させる。 澄明な溶液を0.22μmの滅菌フィルターで濾過し、濾液を4℃で貯蔵する。	--	4℃
MM AE		0.025mg/mLのMMAEを調製し、新たに調製する 50mLのバイアルに1mgのMMAEを正確に秤量し、40mLの生理食塩水を加え、生理食塩水中に直接溶解して澄明な溶液を得る。 溶液を0.22μmの滅菌フィルターで濾過する。	0.025	4℃
SQ L- 70		注射用に製剤化する	NA	-20℃
Tz- Fab	5.9 mg/mL	5mg/mLのTz-Fabを調製し、新たに調製する 15mLのバイアルに5.9mg/mLのTz-Fabを6.7mL正確にピペットで取り、1.2mLの濾過したPBSをチューブに加え、よく混合する。	5	新たに調製する
化合物A		2mg/mLの化合物Aを調製し、毎週調製する 50mLのバイアルに38mgの化合物Aを正確に分注し、19mLの10%のHPCDを加えて化合物を湿らせる。 溶液を0.22μmの滅菌フィルターで濾過し、濾液を4℃で貯蔵する。	2	4℃ (遮光する)
化合物A		0.5mg/mLの化合物Aを調製し、毎週調製する 15mLのバイアルに2mg/mLの化合物Aを2.5mL正確にピペットで取り、7.5mLの10%のHPCDをチューブに加え、よく混合する。 溶液を0.22μmの滅菌フィルターで濾過し、濾液を4℃で貯蔵する。	0.5	
化合物A		0.19mg/mLの化合物Aを調製し、毎週調製する 50mLのバイアルに2mg/mLの化合物Aを2.5mL正確にピペットで取り、12.65mLの10%のHPCDをチューブに加え、よく混合する。 溶液を0.22μmの滅菌フィルターで濾過し、濾液を4℃で貯蔵する。	0.19	
T- DM 1		0.3mg/mLのT-DM1を調製し、新たに調製する 15mLのバイアルに1.8mgのT-DM1を正確に秤量し、6mLのPBSを加え、生理食塩水中に直接溶解して澄明な溶液を得る。 溶液を0.22μmの滅菌フィルターで濾過する。	0.3	新たに調製する

備考：使用直前に穏やかにピペッティングすることにより製剤が均質となるようにする。

10

20

30

40

50

【0722】

腫瘍の測定及びエンドポイント：主要エンドポイントは、腫瘍の成長を遅らせることができるか又はマウスを治癒することができるかを確認することである。腫瘍サイズを、ノギスを使用して2つの寸法において測定し、この体積を式： $V = 0.5 a \times b^2$ （式中、a及びbは、それぞれ腫瘍の長径及び短径である）を使用して mm^3 で表した。次いで、腫瘍サイズを両方の腫瘍成長阻害（TGI）値の計算に使用した。

【0723】

TGIを各群について次の式を使用して計算した： $TGI(\%) = [1 - (TV_{\text{処置}N\text{日目}} - TV_{\text{処置}0\text{日目}}) / (TV_{\text{ビヒクル}N\text{日目}} - TV_{\text{ビヒクル}0\text{日目}})] \times 100\%$ ；TV

処置 N 日目は所与の日での処置群の平均腫瘍体積であり、TV 処置 0 日目は処置初日での処置群の平均腫瘍体積であり、TV ビヒクル N 日目は所与の日でのビヒクルコントロール群の平均腫瘍体積であり、かつ TV ビヒクル 0 日目は処置初日でのビヒクル群の平均腫瘍体積である。

【0724】

T/C 値（パーセント）は抗腫瘍有効性の指標である。 $T/C(\%) = RTV_{\text{処置}} / RTV_{\text{コントロール}} \times 100\%$ （RTV 処置：処置群の平均 RTV、RTV コントロール：ビヒクル処置群の平均 RTV）。RTV（相対腫瘍体積） $= TV_{N\text{日目}} / TV_{0\text{日目}}$ 。TV N 日目及び TV 0 日目はそれぞれ N 日目及び 0 日目の腫瘍体積である。米国国立癌研究所の基準によれば、 $T/C(\%) \leq 42\%$ は顕著な抗腫瘍活性とみなされ、 $T/C(\%) < 10\%$ は非常に顕著な抗腫瘍活性とみなされる。

【0725】

それぞれのマウスの体重の相対変化（RCBW）を次の式に従って計算した： $RCBW(\%) = (BW_{\text{処置 N 日目}} - BW_{\text{処置 0 日目}}) / BW_{\text{処置 0 日目}} \times 100\%$ 。

【0726】

統計分析：二元配置反復測定 ANOVA とそれに続くテューキーの事後検定によって異なる群間の腫瘍体積を分析した。全てのデータを Graph Pad Prism 6.0 を使用して分析した。 $P < 0.05$ を統計的に有意であるとみなす。

【0727】

結果

体重変化：動物の体重を、毒性の間接的な尺度としてモニタリングした。群分け後、全ての処置は忍容性が良好であった。体重に有意な変化は観察されなかった。これらのマウスには他の明らかな異常は観察されなかった。

【0728】

腫瘍体積及び腫瘍成長曲線：MMAE、Tz-Fab、Tz-Fab+化合物 A、化合物 A、SQL70+化合物 A、及び T-DM1 を投薬した NC1-N87 腫瘍担持雌 CB17 SCID マウスにおける経時的な腫瘍成長曲線（平均腫瘍体積として示される）を図 8 に示す（データ点は群平均を表し、エラーバーは平均の標準誤差（SEM）を表す）。

【0729】

腫瘍成長阻害曲線を図 9 に示した。

【0730】

異なる時点での異なる群における腫瘍サイズの結果を図 3 に示す。ビヒクルコントロールマウスの平均腫瘍サイズは、群分け後 35 日目に 1009 mm^3 （群 1）に達した。35 日目の各処置群の平均腫瘍サイズは次の通りであった： 586 mm^3 （群 2）、 1043 mm^3 （群 3）、 653 mm^3 （群 4）、 8 mm^3 （群 5）、 361 mm^3 （群 6）、 871 mm^3 （群 7）、 873 mm^3 （群 8）。ビヒクルコントロール群（群 1）と比較して、処置群 2、処置群 4、処置群 5、及び処置群 6 は統計的有意差を示した（ $P < 0.05$ 、TGI はそれぞれ 49.68%、41.74%、117.52%、及び 76.30% であった；T/C はそれぞれ 57.50%、62.12%、0.82%、及び 35.44% であった）。

【0731】

35 日目には、群 5 における 10 匹中 5 匹の動物は無腫瘍となった（完全奏効）。他の群には、35 日目に無腫瘍となった動物はいなかった。NC1-N87 腫瘍担持雌 CB17 SCID マウスによれば、全ての治療は忍容性が良好であった。また、その他の重篤な副作用は見られなかった。

【0732】

実施例 26：抗体フラグメント部分

更なる標的化部分を、例えば実施例 6 のように以下に示される配列を使用して調製することができる。

10

20

30

40

50

【0733】

a) FN-1 (遺伝子ID2335) に結合するL19のFabの合成

ベクターの構築：コーディング配列（以下に列挙）を合成し、発現ベクターにサブクローニングする。構築されたプラスミドをE. コリに形質転換して増殖させる。NucleoBond Xtra Maxi Plus EFキットを使用して大規模なプラスミド生成を行う。精製したプラスミドをアガロースゲルにより検証し、シーケンシングによって確認する。

【0734】

L19-Fab HC配列：

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSSGT
TYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPFYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
P AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHT (配
列番号5)。

10

【0735】

L19-Fab LC配列：

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYYASSRATG
IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQTGRIPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKIDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPCTKSFNRGEC (配列番号6)。

20

【0736】

タンパク質発現：Fabの重鎖及び軽鎖を含むコンストラクトを、PEIを用いてHEK293細胞に同時トランスフェクションさせる。トランスフェクションの6日～7日後に培養培地を採取する。

【0737】

タンパク質の精製：標的Fabを発現する条件培地を遠心分離及び濾過によって採取した後、KappaSelectアフィニティーカラム (Mabselect Prism) にロードすることができる。ローディングバッファーは150mMのNaClを含む25mMのTris (pH8.0) であり、洗浄バッファーは150mMのNaCl、0.2%のTriton X-100/114を含む25mMのTris緩衝液 (pH8.0) であり、溶出バッファーは150mMのNaClを含む100mMのクエン酸ナトリウム緩衝液 (pH2.5) である。収集した溶液を1Mのアルギニン、400mMのコハク酸緩衝液 (pH9.0) で中和する。アフィニティー精製されたタンパク質を、Superdex S-200カラムクロマトグラフィーを用いたゲル濾過によって更に精製する。精製したFabをSDS-PAGE、SEC-HPLC、及びエンドトキシン測定により分析する。

30

【0738】

コンジュゲートの調製：120mgのFabタンパク質を、開始から約4時間後に緩衝液を1回交換してPBS (pH7.4) に対して一晩透析する。10mMのMe-Tet-PEG9-NHSをDMSO中で調製する。2つの成分を3:1の薬物対タンパク質のモル比で25℃にて2時間反応させ、反応混合物をPBS (pH7.4) に対して透析してタンパク質成分から過剰なMe-Tet-PEG9-NHS化合物を除去する。

40

【0739】

b) TNC (遺伝子ID3371) に結合するF16のFabの合成

ベクターの構築：コーディング配列（以下に列挙）を合成し、発現ベクターにサブクローニングする。構築されたプラスミドをE. コリに形質転換して増殖させる。NucleoBond Xtra Maxi Plus EFキットを使用して大規模なプラスミド生成を行う。精製したプラスミドをアガロースゲルにより検証し、シーケンシングによって確認する。

【0740】

F16-Fab HC配列：

50

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGS
TYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAHNAFDYWGQGLVT
VSSCSTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHT（配
列番号7）。

【0741】

F16-Fab LC配列：

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYGKNNRPSGI
PDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSSVYTMPPVVFVGGGTKLTVLGQPKAA
PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN
NKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS（配列番号8）。

10

【0742】

タンパク質発現：Fabの重鎖及び軽鎖を含むコンストラクトを、PEIを用いてHE
K293細胞に同時トランスフェクションさせる。トランスフェクションの6日～7日後
に培養培地を採取する。

【0743】

タンパク質の精製：標的Fabを発現する条件培地を遠心分離及び濾過によって採取し
た後、KappaSelectアフィニティーカラム（Mabselect Prism）にロードす
ることができる。ローディングバッファーは150mMのNaClを含む25mMのTr
is（pH8.0）であり、洗浄バッファーは150mMのNaCl、0.2%のTri
ton X-100／114を含む25mMのTris緩衝液（pH8.0）であり、溶
出バッファーは150mMのNaClを含む100mMのクエン酸ナトリウム緩衝液（p
H2.5）である。収集した溶液を1Mのアルギニン、400mMのコハク酸緩衝液（p
H9.0）で中和する。アフィニティー精製されたタンパク質を、Superdex S
-200カラムクロマトグラフィーを用いたゲル濾過によって更に精製する。精製したF
abをSDS-PAGE、SEC-HPLC、及びエンドトキシン測定により分析する。

20

【0744】

コンジュゲートの調製：120mgのFabタンパク質を、開始から約4時間後に緩衝
液を1回交換してPBS（pH7.4）に対して一晚透析する。10mMのMe-Tet
-PEG9-NHSをDMSO中で調製する。2つの成分を3：1の薬物対タンパク質の
モル比で25℃にて2時間反応させ、反応混合物をPBS（pH7.4）に対して透析し
てタンパク質成分から過剰なMe-Tet-PEG9-NHS化合物を除去する。

30

【0745】

c) NJB2のコンストラクト（ECM標的化配列）の合成

ベクターの構築：コーディング配列（以下に列挙）を合成し、発現ベクターにサブクロー
ニングする。構築されたプラスミドをE. コリに形質転換して増殖させる。Nucle
oBond Xtra Maxi Plus EFキットを使用して大規模なプラスミド
生成を行う。精製したプラスミドをアガロースゲルにより検証し、シーケンシングによ
って確認する。

40

【0746】

NJB2コンストラクト配列：

一価1-VHHフィブロネクチン-His6

QVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGN
I
NYADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQ
VTVSSGGLPETGGHHHHHH（配列番号9）。

【0747】

一価2-VHHフィブロネクチン-His6-Cys

QVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGN
I
NYADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQ
VTVSSGGLPETGGHHHHHHHC（配列番号10）。

50

【0748】

二価1-VHH-6GS-VHH-His6

QVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN
YADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQ
VTVSSGGLPETGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVETGGGLVQAGGSLRLS
CAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN YADSVKDRFTISRDNASNTM
YLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQVTVSSGGLPETGGHHHHHHH (配
列番号11)。

【0749】

二価2-VHH-His6-cys-6GS-VHH

QVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN
YADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQ
VTVSSGGLPETGGHHHHHHHCGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVETGGGLV
QAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN YADSVKDRFTI
SRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQVTVSSGGLPETG
G (配列番号12)

【0750】

二価3-VHH-6GS-cys-His6-VHH

QVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN
YADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQ
VTVSSGGLPETGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGCHHHHHHHQVQLVETGGGLV
QAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN YADSVKDRFTI
SRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQVTVSSGGLPETG
G (配列番号13)

【0751】

二価4-VHH-30GS-VHH-His6

QVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN
YADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQ
VTVSSGGLPETGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSG
SGSGSGSGSGSGSQVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQR
ELVAGISSDGNIN YADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGN
TYYSRWGQGTQVTVSSGGLPETGGHHHHHHH (配列番号14)

【0752】

二価5-VHH-His6-cys-30GS-VHH

QVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN
YADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQ
VTVSSGGLPETGGHHHHHHHCGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSG
SGSGSGSGSGSGSQVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN
YADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQVTVSSGGLPETGG (配列番号15)

【0753】

二価6-VHH-30GS-cys-His6-VHH

QVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWYRQAPEKQRELVAGISSDGNIN
YADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVCNIRGSYGNTYYSRWGQGTQ
VTVSSGGLPETGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSG
SGSGSGSGSGSGSCHHHHHHHQVQLVETGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSHNAGGWY
RQAPEKQRELVAGISSDGNIN YADSVKDRFTISRDNASNTMYLQMNLKPEDTAVYVC
NIRGSYGNTYYSRWGQGTQVTVSSGGLPETGG (配列番号16)

【0754】

タンパク質発現：各コンストラクトについて、標的タンパク質の遺伝子を含む発現ベク

10

20

30

40

50

ターを、P E Iを用いてH E K 2 9 3細胞にトランスフェクションさせる。トランスフェクションの6日～7日後に培養培地を採取する。

【0755】

タンパク質の精製：標的タンパク質を発現する条件培地を遠心分離及び濾過によって採取した後、I M A Cカラム（GE）にロードすることができる。ローディングバッファーは150mMのNaCl、10mMのヒスチジンを含む25mMのTris（pH8.0）であり、洗浄バッファーは150mMのNaCl、20mMのヒスチジン、0.2%のTriton X-100／114を含む25mMのTris緩衝液（pH8.0）であり、溶出バッファーは150mMのNaCl、1Mのヒスチジンを含む25mMのTris緩衝液（pH8.0）である。アフィニティー精製されたタンパク質を、Superdex S-200カラムクロマトグラフィーを用いたゲル濾過によって更に精製する。精製したタンパク質をSDS-PAGE、SEC-HPLC、及びエンドトキシン測定により分析する。

10

【0756】

コンジュゲートの調製：120mgのタンパク質を、開始から約4時間後に緩衝液を1回交換してPBS（pH7.4）に対して一晚透析する。10mMのMe-Tet-PEG9-NHSをDMSO中で調製する。2つの成分を3：1の薬物対タンパク質のモル比で25℃にて2時間反応させ、反応混合物をPBS（pH7.4）に対して透析してタンパク質成分から過剰なMe-Tet-PEG9-NHS化合物を除去する。

【0757】

20

代替コンジュゲートの調製：120mgのタンパク質を、開始から約4時間時に緩衝液を1回交換してTris（pH8.0）に対して一晚透析する。10mMのMe-Tet-PEG9-マレイミドをDMSO中で調製する。2つの成分を3：1の薬物対タンパク質のモル比で25℃にて2時間反応させ、反応混合物をPBS（pH7.4）に対して透析してタンパク質成分から過剰なMe-Tet-PEG9-マレイミド化合物を除去する。

【0758】

実施例27：CB17 SCIDマウスにおける皮下NCI-N87異種移植モデルの治療における、化合物Bを用いた場合の（実施例6のように調製された）Ab-Tzの効力研究

30

この研究において、MMAE、HER2 Tz-ナノフィチン、HER2 Tz-ナノフィチン+化合物B、アイソタイプTz-ナノフィチン+化合物B、化合物B、及びトラスツズマブエムタンシンの抗腫瘍効力を、SCIDマウスにおける胃部癌のNCI-N87異種移植モデルにおいて試験した。

【0759】

この研究についての動物福祉は、該当する場合、米国農務省の動物福祉法（連邦規則集第9巻パート1、パート2、及びパート3）に準拠する。

【0760】

材料及び方法：雌CB-17／SCIDマウス（6週齢～9週齢、約20g）のひ腹に、無血清培地及びCultrex ECM中に懸濁した500万個の生細胞を注射して腫瘍を接種した。平均腫瘍サイズが約100mm³に達したときに群を無作為化した。

40

【0761】

以下の通りに処置を行った。

【0762】

50

群	N	処置	投薬経路	投薬回数及び投薬期間	用量レベル (mg/kg)	投薬容量 (mL/kg)
1	8	ビヒクル (10% HP CD)	IV	Q 3 D × 3 用量	N/A	5
2	8	MMA E	IV	Q 3 D × 3 用量	0.25	5
3	4	HER 2 T z - ナノフィチン	IV	Q 3 D × 3 用量	10	5
4	4	化合物 B	IV	Q 3 D × 3 用量	20	5
5	8	HER 2 T z - ナノフィチン	IV	Q 3 D × 3 用量	10	5
		化合物 B (ナノフィチンの 90 分後)	IV	Q 3 D × 3 用量	5	5
6	8	HER 2 T z - ナノフィチン	IV	Q 3 D × 3 用量	10	5
		化合物 B (ナノフィチンの 90 分後)	IV	Q 3 D × 3 用量	20	5
7	8	アイソタイプ T z - ナノフィチン	IV	Q 3 D × 3 用量	10	5
		化合物 B (ナノフィチンの 90 分後)	IV	Q 3 D × 3 用量	20	5
8	8	T - DM 1	IV	Q 3 D × 3 用量	3	5

HER 2 T z - ナノフィチン：実施例 6 により製造。

10

20

【0763】

動物を触知可能な腫瘍又は外観若しくは行動の何らかの変化について毎週モニタリングした。腫瘍が触知可能となったら、ノギスを使用して腫瘍を少なくとも週に 1 回測定した。腫瘍体積は、次の式を使用して計算される： $(\text{最長径} \times \text{最短径}^2) / 2$ 。腫瘍が研究を開始するのに適切なサイズになったら、研究期間中に腫瘍及び体重を少なくとも週に 2 回測定した。1 名が研究期間中の腫瘍測定を担当した。

【0764】

無作為化及び処置の開始後、体重を少なくとも週に 2 回測定した。体重減少のため動物に Hydrogel / Diet Gel 及び／又は休薬期間が与えられる場合があり、体重減少を、処置初日でのマウスの体重 (BW) に基づいて計算した。

30

【0765】

臨床観察を少なくとも週に 2 回腫瘍及び体重の測定時に実施した。腫瘍体積の測定値及び体重の結果をそれぞれ図 10A 及び図 10B に示す。

【0766】

他に定義のない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。

【0767】

本明細書に例示的に記載される実施形態は、本明細書に具体的に開示されない任意の要素 (単数又は複数)、限定 (単数又は複数) のない状態で好適に実施されてもよい。したがって、例えば、「含む ("comprising", "including", "containing")」等の用語は、拡大的に、限定なく読まれるものとする。さらに、本明細書で採用される用語及び表現は、限定ではなく説明する用語として使用されており、かかる用語及び表現の使用において、示され記載される特徴又はそれらの一部の任意の等価物を除外する意図はなく、特許請求の範囲において様々な修正が可能であることが認識される。

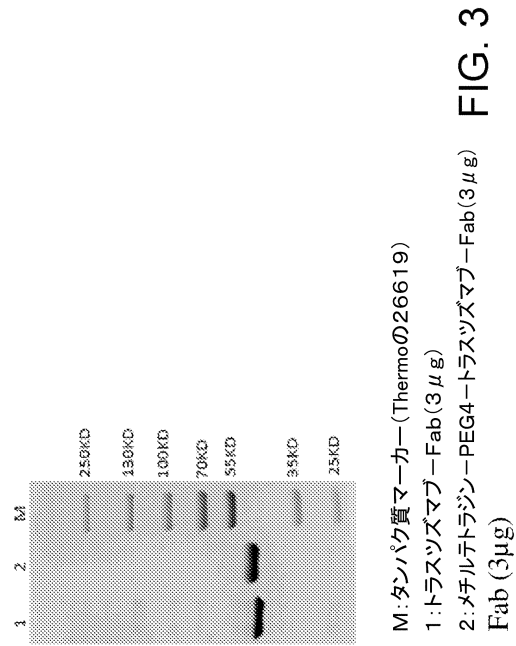
40

【0768】

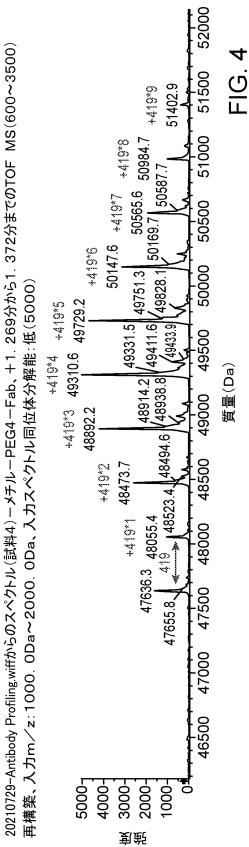
本明細書において言及される全ての出版物、特許出願、特許、及びその他の参照は、それぞれ個別に引用することにより本明細書の一部をなす場合と同様に、その全体が引用することによって明示的に本明細書の一部をなす。矛盾が生じた場合、定義を含め本明細書が優先される。

50

【図 3】



【図 4】



【図 7】

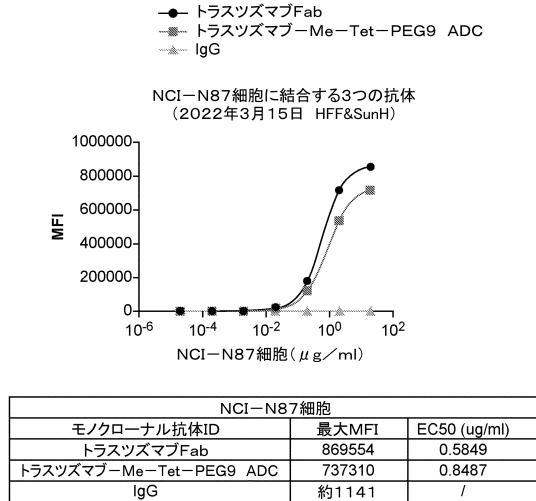


FIG. 7

【図 8】

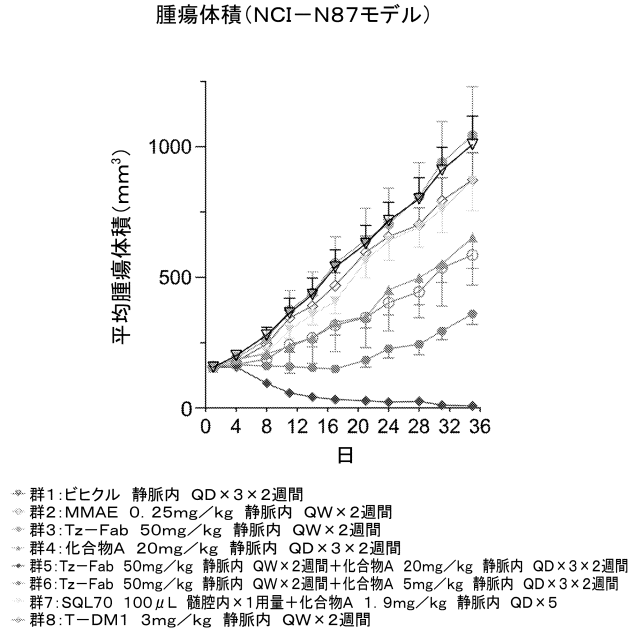


FIG. 8

【図 9】

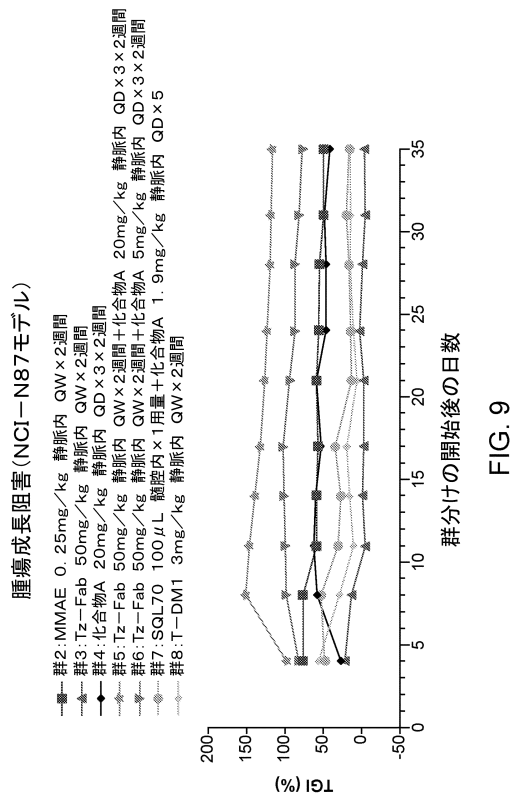


FIG. 9

【図 10 A】

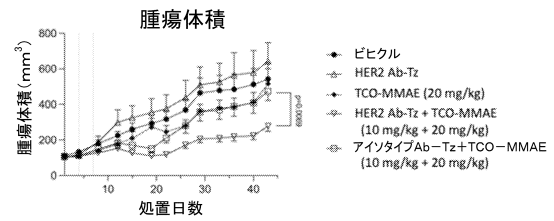


FIG. 10A

10

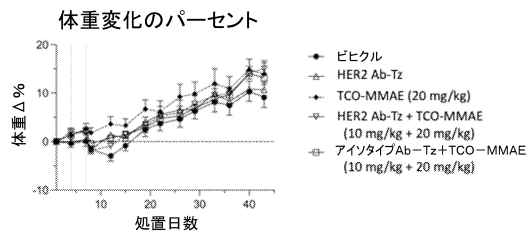
20

30

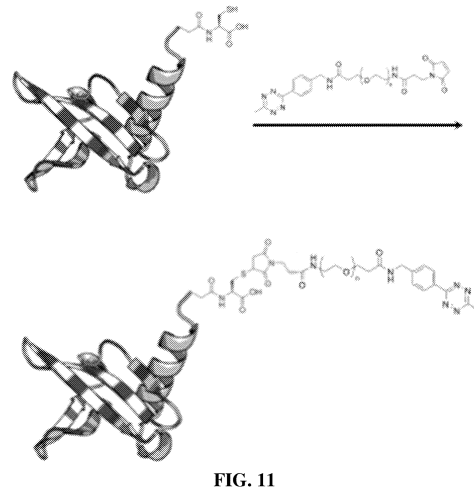
40

50

【図 10 B】



【図 11】



10

【配列表】

2024542021000001.xml

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/078995

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

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

B. FIELDS SEARCHED

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

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

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

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	AGNESE MAGGI ET AL: "Development of a novel antibody-tetrazine conjugate for bioorthogonal pretargeting", ORGANIC & BIOMOLECULAR CHEMISTRY, vol. 14, no. 31, 12 July 2016 (2016-07-12), pages 7544-7551, XP055385205, ISSN: 1477-0520, DOI: 10.1039/C6OB01411A	1-3, 26, 27, 33, 34, 39-44, 49-53, 68, 69
Y	whole document and in particular Figure 4; page 7546, right-handed column; page 7547, left-handed column; table 1; -----	1-69
X	WO 2017/106427 A1 (FOX JOSEPH [US]; JIA XINQIAO [US] ET AL.) 22 June 2017 (2017-06-22)	1, 2, 6, 7, 16, 20, 21, 23, 24, 34, 39-44, 53, 68, 69
Y	pages 28-29 ----- -/-	1-69

☒ 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

31 January 2023

Date of mailing of the international search report

09/02/2023

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Birikaki, LEMONIA

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/078995

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018/187740 A1 (SHASQI INC [US]) 11 October 2018 (2018-10-11) cited in the application	1, 2, 6, 13, 16, 20, 21, 24, 34, 39-44, 53-69
Y	paragraphs [0012], [00193], [00195] claims 1-16, 25-39 -----	1-69
X	JESSIE A. G. L. VAN BUGGENUM ET AL: "A covalent and cleavable antibody-DNA conjugation strategy for sensitive protein detection via immuno-PCR", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 6, no. 22675, 7 March 2016 (2016-03-07), pages 1-12, XP055463311, DOI: 10.1038/srep22675	1-5, 25, 33-35, 38-43, 49-51, 53, 68, 69
Y	whole document and in particular pages 2-5, section "Functionalization of antibodies with tetrazine using NHS-chemistry" and Figure 3 -----	1-69
Y	Liu Luping ET AL: "Light-activated tetrazines enable live-cell spatiotemporal control of bioorthogonal reactions", bioRxiv, 2 December 2020 (2020-12-02), XP055928506, DOI: 10.1101/2020.12.01.405423 Retrieved from the Internet: URL:https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.12.01.405423v1.full.pdf [retrieved on 2022-06-07] figures 2, 5 -----	8, 11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/078995

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/078995

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017106427 A1	22-06-2017	US 2018362504 A1 WO 2017106427 A1	20-12-2018 22-06-2017
WO 2018187740 A1	11-10-2018	AU 2018250312 A1 CN 111093708 A EP 3606559 A1 JP 2020516621 A US 2021128733 A1 US 2022168426 A1 WO 2018187740 A1	31-10-2019 01-05-2020 12-02-2020 11-06-2020 06-05-2021 02-06-2022 11-10-2018

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K 9/08 (2006.01)
 C 0 7 D 403/04 (2006.01)
 C 0 7 D 413/04 (2006.01)
 C 0 7 D 401/04 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 K 31/437 (2006.01)
 A 6 1 K 31/337 (2006.01)
 A 6 1 K 31/407 (2006.01)
 A 6 1 K 31/4745 (2006.01)
 A 6 1 K 31/502 (2006.01)
 A 6 1 K 31/166 (2006.01)
 C 0 7 K 16/28 (2006.01)
 C 0 7 K 2/00 (2006.01)
 C 0 7 K 14/47 (2006.01)
 C 0 7 H 15/252 (2006.01)
 C 0 7 D 471/04 (2006.01)
 C 0 7 D 305/14 (2006.01)
 C 0 7 D 487/14 (2006.01)
 C 0 7 D 491/22 (2006.01)
 C 0 7 D 237/32 (2006.01)

F I

A 6 1 K 9/08
 C 0 7 D 403/04
 C 0 7 D 413/04
 C 0 7 D 401/04
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 K 31/437
 A 6 1 K 31/337
 A 6 1 K 31/407
 A 6 1 K 31/4745
 A 6 1 K 31/502
 A 6 1 K 31/166
 C 0 7 K 16/28
 C 0 7 K 2/00
 C 0 7 K 14/47
 C 0 7 H 15/252
 C 0 7 D 471/04 1 0 7 E
 C 0 7 D 305/14
 C 0 7 D 487/14
 C 0 7 D 491/22
 C 0 7 D 237/32

テーマコード (参考)

4 H 0 4 5

(32)優先日 令和4年3月1日(2022.3.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 63/391,136

(32)優先日 令和4年7月21日(2022.7.21)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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. プルロニック

2. T R I T O N

ニア サンフランシスコ サード ストリート 6 6 5 スイート 2 5 0 シー／オー タンボ インコーポレイテッド

(72)発明者 マクファーランド ジェシー エム.

アメリカ合衆国 9 4 1 0 7 カリフォルニア サンフランシスコ サード ストリート 6 6 5 スイート 2 5 0 シー／オー タンボ インコーポレイテッド

(72)発明者 マハムーディ アミール

アメリカ合衆国 9 4 1 0 7 カリフォルニア サンフランシスコ サード ストリート 6 6 5 スイート 2 5 0 シー／オー タンボ インコーポレイテッド

(72)発明者 コリコール ジョージ

アメリカ合衆国 9 4 1 0 7 カリフォルニア サンフランシスコ サード ストリート 6 6 5 スイート 2 5 0 シー／オー タンボ インコーポレイテッド

(72)発明者 カブレラーパルド ハイメ

アメリカ合衆国 9 4 1 0 7 カリフォルニア サンフランシスコ サード ストリート 6 6 5 スイ
ート 2 5 0 シー／オー タンボ インコーポレイテッド

F ターム (参考) 4C057 BB02 BB05 CC04 DD01 JJ50
4C076 AA11 AA95 BB13 CC27 CC41 DD60N EE59N FF34
4C085 AA14 EE01 EE05 GG02
4C086 AA01 AA02 BA02 BC50 CB03 CB05 CB22 EA10 GA07 GA12
MA01 MA02 MA04 MA17 MA66 NA05 NA13 NA14 ZB26 ZC75
4C206 AA01 EA02 GA07 MA01 MA04 NA13 NA14 ZB26 ZC75
4H045 AA11 AA30 BA09 BA62 BA72 DA76 DA83 EA20