

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-513806

(P2022-513806A)

(43)公表日 令和4年2月9日(2022.2.9)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 7/08 (2006.01)	C 0 7 K 7/08	Z N A 4 C 0 7 6
A 6 1 K 31/537(2006.01)	A 6 1 K 31/537	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/07 (2006.01)	A 6 1 K 38/07	4 C 0 8 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 H 0 4 5
A 6 1 K 38/10 (2006.01)	A 6 1 K 38/10	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全56頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-533584(P2021-533584)	(71)出願人 519226757 バイスクルテクス・リミテッド イギリス国, シービー 2 2 ・ 3 エイティ ー, ケンブリッジ, バイブラハム・リサ ーチ・キャンパス, ビルディング 9 0 0
(86)(22)出願日 令和1年12月13日(2019.12.13)	(74)代理人 100097456 弁理士 石川 徹
(85)翻訳文提出日 令和3年8月4日(2021.8.4)	(72)発明者 リューホン シェン イギリス国 シービー 2 2 3 エイティ ー ケンブリッジ バイブラハム リサ ーチ キャンパス ビルディング 9 0 0 バイ スクルテクス リミテッド
(86)国際出願番号 PCT/GB2019/053540	(72)発明者 ユアン リチャーズ イギリス国 シービー 2 2 3 エイティ ー ケンブリッジ バイブラハム リサ ーチ
(87)国際公開番号 WO2020/120984	
(87)国際公開日 令和2年6月18日(2020.6.18)	
(31)優先権主張番号 1820286.1	
(32)優先日 平成30年12月13日(2018.12.13)	
(33)優先権主張国・地域又は機関 英国(GB)	
(31)優先権主張番号 1906534.1	
(32)優先日 令和1年5月9日(2019.5.9)	
(33)優先権主張国・地域又は機関 英国(GB)	
(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA)	

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 MT 1 - MMP に特異的な二環式ペプチドリガンド

(57)【要約】

本発明は、2以上のペプチドループがスキャフォールドへの取付点の間に内在するように、分子スキャフォールドに共有結合しているポリペプチドに関する。特に、本発明は、膜1型メタロプロテアーゼ(MT1-MMP)の高親和性バインダーであるペプチドを記載している。本発明は、イメージング及び標的化癌療法における有用性を有する1以上のエフェクター及び/又は官能基にコンジュゲートされた、該ペプチドを含む、薬物コンジュゲートも記載している。

【選択図】 図 1

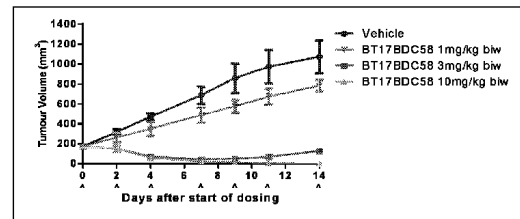


FIGURE 1

【特許請求の範囲】

【請求項1】

少なくとも2つのループ配列によって隔てられた少なくとも3つのシステイン残基を含むポリペプチド及び該ポリペプチドのシステイン残基と共有結合を形成する分子スキャフォールドを含み、その結果、少なくとも2つのポリペプチドループが該分子スキャフォールド上に形成される、MT1-MMPに特異的なペプチドリガンドであって、該分子スキャフォールドが1,1',1''-(1,3,5-トリアジナン-1,3,5-トリイル)トリプロパ-2-エン-1-オン(TATA)であることを特徴とする、前記ペプチドリガンド。

【請求項2】

前記ループ配列が、2、3、5、6、7、又は9つのアミノ酸、例えば、3又は7つのアミノ酸を含む、請求項1記載のペプチドリガンド。

10

【請求項3】

前記ループ配列が、7つのアミノ酸からなる第一のループ及び2つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば：

【化1】

CEESFYPECDHC (配列番号: 1);

特に：

A-(配列番号1)-A(本明細書において、17-108-02と称される)

を含む、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

20

【請求項4】

前記ループ配列が、3つのアミノ酸からなる第一のループ及び6つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば：

【化2】

CPDLCLDLFPNC (配列番号: 2);及び

CPELCVDLYPHC (配列番号: 3);

特に：

A-(配列番号2)-A(本明細書において、17-111-01と称される)

A-(配列番号3)-A(本明細書において、17-111-02と称される)

を含む、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

30

【請求項5】

前記ループ配列が、6つのアミノ酸からなる第一のループ及び3つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば：

【化3】

CHPEWWSCEFHC (配列番号: 4);

特に：

A-(配列番号4)-A(本明細書において、17-116-01と称される)

を含む、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

40

【請求項6】

前記ループ配列が、3つのアミノ酸からなる第一のループ及び7つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば：

50

【化 4】

CSHECALLFPKTC (配列番号: 5);	
CFDECQLLFPKTC (配列番号: 6);	
CLDECKLLFPKTC (配列番号: 7);	
CREECMLLFPKTC (配列番号: 8);	
CETECALLFPRSC (配列番号: 9);	
CADECRLLFPKTC (配列番号: 10);	
CDVECRLLFPRSC (配列番号: 11);	
CIDECRLLFPRSC (配列番号: 12);	10
CVRECALLFPKTC (配列番号: 13);	
CV[HArg]ECALLFPKTC (配列番号: 14);	
CVRECALLFPRTC (配列番号: 15);	
CVRECALLFP[HArg]TC (配列番号: 16);	
CV[HArg]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 17);	
CV[HArg]ECALLFPATC (配列番号: 18);	
CVAECALLFP[HArg]TC (配列番号: 19);	
CVTECQLLFPKTC (配列番号: 20);	20
CRHECELLFPKTC (配列番号: 21);	
CQRECALLFPKTC (配列番号: 22);	
CVRECTLLFPKTC (配列番号: 23);	
CTIECALLFPKTC (配列番号: 24);	
CARECALLFPKTC (配列番号: 25);	
CINECRLLFPKTC (配列番号: 26);	
CYTECSLLFPKTC (配列番号: 27);	
CHEECRLLFPKTC (配列番号: 28);	
CLEECKLLFPKTC (配列番号: 29);	30
CIDECALLFPRTC (配列番号: 30);	
CYEECRLLFPRTC (配列番号: 31);	
CVRECRLLFPKTC (配列番号: 32);	
CHIECALLFPKTC (配列番号: 33);	
CKRECMMLLFPKTC (配列番号: 34);	
CYRECALLFPKTC (配列番号: 35);	
CLTECALLFPKTC (配列番号: 36);	
CEVECRLLFPKTC (配列番号: 37);	40

CEAECRLLFPKTC (配列番号: 38);	
CVQECALLFPKTC (配列番号: 39);	
CIRECSLLFPKTC (配列番号: 40);	
CVTECALLFPKTC (配列番号: 41);	
CVAECKLLFPKTC (配列番号: 42);	
CVGECALLFPKTC (配列番号: 43);	
CVVECALLFPKTC (配列番号: 44);	
CVFECALLFPKTC (配列番号: 45);	10
CA[HArg]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 46);	
CV[HArg]ECALLFA[HArg]TC (配列番号: 47);	
CV[HArg]ECALLFP[HArg]AC (配列番号: 48);	
CV[HArg]ECALL[1NaI]P[HArg]TC (配列番号: 49);	
CV[HArg]ECALL[Cha]P[HArg]TC (配列番号: 50);	
CV[HArg]ECALLF[Pip][HArg]TC (配列番号: 51);	
CV[HArg]ECALLFP[HArg]SC (配列番号: 52);	
CV[HArg]ECALLFP[HArg][HSer]C (配列番号: 53);	
CV[HArg]ECALLF[HyP][HArg]TC (配列番号: 54);	
CV[HArg]EC[Aib]LLFP[HArg]TC (配列番号: 55);	20
CV[HArg]ECAL[Nle]FP[HArg]TC (配列番号: 56);	
CV[HArg]ECA[tBuAla]LFP[HArg]TC (配列番号: 57);	
CV[HArg]ECA[Nle]LFP[HArg]TC (配列番号: 58);	
CV[Aad2]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 59);	
CP[HArg]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 60);	
CV[HArg]ECALL[4FIPhe]P[HArg]TC (配列番号: 61);	
CV[HArg]ECAL[tBuGly]FP[HArg]TC (配列番号: 62);	
CV[HArg]ECAL[Cha]FP[HArg]TC (配列番号: 63);	
CV[HArg]ECALL[2NaI]P[HArg]TC (配列番号: 64);	30
CV[HArg]ECALLFP[HArg][HyV]C (配列番号: 65);	
C[tBuGly][HArg]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 66);	
CV[EECALLFP[HArg]TC (配列番号: 67);	
CV[HArg]ECA[Cpa]LFP[HArg]TC (配列番号: 68);	
CV[HArg]ECA[Cba]LFP[HArg]TC (配列番号: 69);	
CV[HArg]ECA[C5A]LFP[HArg]TC (配列番号: 70);	
CV[HArg]ECA[Cha]LFP[HArg]TC (配列番号: 71);	
CV[HArg]ECA[tBuGly]LFP[HArg]TC (配列番号: 72);	
CV[HArg]ECALLF[Cis-HyP][HArg]TC (配列番号: 73);	40

CV[HArg]ECAL[Cpa]FP[HArg]TC (配列番号: 74);
 CV[HArg]ECAL[C5A]FP[HArg]TC (配列番号: 75);
 CV[HArg]ECA[tBuAla]LF[HyP][HArg]TC (配列番号: 76);
 CV[HArg]ECA[tBuAla][tBuGly]F[HyP][HArg]TC (配列番号: 77); 及び
 C[tBuGly][HArg]ECA[tBuAla]LFP[HArg]TC (配列番号: 78);

は、 β -シクロペンチル-L-アラニンを表し、Cbaは、 β -シクロブチルアラニンを表し、Chaは、3-シクロヘキシル-L-アラニンを表し、Cpaは、 β -シクロプロピル-L-アラニンを表し、4FIPheは、4-フルオロ-L-フェニルアラニンを表し、HArgは、ホモアルギニンを表し、HyPは、ヒドロキシプロリンを表し、HyVは、3-ヒドロキシ-L-バリンを表し、HSerは、ホモセリンを表し、1Nalは、1-ナフトイルアラニンを表し、2Nalは、2-ナフトイルアラニンを表し、Nleは、ノルロイシンを表し、Pipは、ピペコリン酸を表し、tBuAlaは、t-ブチル-アラニンを表し、tBuGlyは、t-ブチル-グリシンを表す);

特に:

- A-(配列番号5)-A(本明細書において、17-120-00と称される);
- A-(配列番号6)-A(本明細書において、17-120-01と称される); 10
- A-(配列番号7)-A(本明細書において、17-120-02と称される);
- A-(配列番号8)-A(本明細書において、17-120-03と称される);
- A-(配列番号9)-A(本明細書において、17-120-04と称される);
- A-(配列番号10)-A(本明細書において、17-120-05と称される);
- A-(配列番号11)-A(本明細書において、17-120-07と称される);
- A-(配列番号12)-A(本明細書において、17-120-08と称される);
- APPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T01と称される);
- QISP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T02と称される);
- ALPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T03及びBCY1124と称される); 20
- Ac-ALPP-(配列番号13)(本明細書において、Ac-(17-120-09-T03)及びBCY1125と称される);
- Sar3-ALPP-(配列番号13)(本明細書において、Sar3-A-(17-120-09-T03)と称される);
- GPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T04と称される);
- SPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T05と称される);
- NPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T06と称される);
- EPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T07と称される);
- HPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T08と称される);
- APNP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T09と称される); 30
- APDP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T10と称される);
- APLP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T11と称される);
- APAP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T12と称される);
- APHP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T13と称される);
- Sar3-ALPP-(配列番号14)(本明細書において、Sar3-A-(17-120-09-T03) HArg2と称される);
- Sar3-ALPP-(配列番号15)(本明細書において、Sar3-A-(17-120-09-T03) Arg9と称される);
- Sar3-ALPP-(配列番号16)(本明細書において、Sar3-A-(17-120-09-T03) HArg9と称される); 40
- (B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)(本明細書において、(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9と称される);
- Ac-(B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)(本明細書において、Ac-(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9と称される);
- ALPP-(配列番号17)(本明細書において、BCY3959と称される);
- [Ac]LPP-(配列番号17)(本明細書において、BCY9933と称される);
- [Ac]APP-(配列番号17)(本明細書において、BCY9934と称される);
- [Ac]LAP-(配列番号17)(本明細書において、BCY9935と称される);
- [Ac]LPA-(配列番号17)(本明細書において、BCY9936と称される);
- [Ac]- (配列番号17)(本明細書において、BCY9968と称される); 50

[Ac]LYP-(配列番号17)(本明細書において、BCY11147と称される);
 [Ac]LPY-(配列番号17)(本明細書において、BCY11148と称される);
 [Ac][dA]PP-(配列番号17)(本明細書において、BCY11165と称される);
 [Ac]L[dA]P-(配列番号17)(本明細書において、BCY11166と称される);
 [Ac]LP[dA]-(配列番号17)(本明細書において、BCY11167と称される);
 ALPP-(配列番号17)-A(本明細書において、BCY10288と称される);
 (B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号18)(本明細書において、(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 Ala9と称される);
 (B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号19)(本明細書において、(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) Ala2 HArg9と称される); 10
 [Ac]LPP-(配列番号19)(本明細書において、BCY9938と称される);
 APMP-(配列番号20)-A(本明細書において、17-120-10-T01と称される);
 APSP-(配列番号21)-A(本明細書において、17-120-11-T01と称される);
 AALP-(配列番号22)-A(本明細書において、17-120-12-T01と称される);
 ALDP-(配列番号23)-A(本明細書において、17-120-13-T01と称される);
 ADRP-(配列番号24)-A(本明細書において、17-120-14-T01と称される);
 ATQP-(配列番号25)-A(本明細書において、17-120-15-T01と称される);
 SPPP-(配列番号25)-A(本明細書において、17-120-15-T02と称される);
 ARHP-(配列番号26)-A(本明細書において、17-120-16-T01と称される);
 ALPP-(配列番号27)-A(本明細書において、17-120-17-T01と称される); 20
 A-(配列番号28)-A(本明細書において、17-120-18と称される);
 A-(配列番号29)-A(本明細書において、17-120-19と称される);
 A-(配列番号30)-A(本明細書において、17-120-20と称される);
 A-(配列番号31)-A(本明細書において、17-120-21と称される);
 APPP-(配列番号31)-A(本明細書において、17-120-21-T01と称される);
 APSP-(配列番号32)-A(本明細書において、17-120-22-T01と称される);
 PLPP-(配列番号32)-A(本明細書において、17-120-22-T02と称される);
 APAP-(配列番号33)-A(本明細書において、17-120-23-T01と称される);
 AVEP-(配列番号34)-A(本明細書において、17-120-24-T01と称される);
 AEPA-(配列番号35)-A(本明細書において、17-120-25-T01と称される); 30
 ASPP-(配列番号36)-A(本明細書において、17-120-26-T01と称される);
 AAPP-(配列番号37)-A(本明細書において、17-120-27-T01と称される);
 APPP-(配列番号38)-A(本明細書において、17-120-28-T01と称される);
 AVPP-(配列番号39)-A(本明細書において、17-120-29-T01と称される);
 SPPP-(配列番号40)-A(本明細書において、17-120-30-T01と称される);
 HLPP-(配列番号41)-A(本明細書において、17-120-31-T01と称される);
 RLPP-(配列番号41)-A(本明細書において、17-120-31-T02と称される);
 APPP-(配列番号41)-A(本明細書において、17-120-31-T03と称される);
 MPPP-(配列番号42)-A(本明細書において、17-120-32-T01と称される);
 SPPP-(配列番号43)-A(本明細書において、17-120-33-T01と称される); 40
 APPP-(配列番号44)-A(本明細書において、17-120-34-T01と称される);
 APPP-(配列番号45)-A(本明細書において、17-120-35-T01と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号46)(本明細書において、BCY9937と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号47)(本明細書において、BCY9943と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号48)(本明細書において、BCY9945と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号49)(本明細書において、BCY9946と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号50)(本明細書において、BCY9949と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号51)(本明細書において、BCY9951と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号52)(本明細書において、BCY9952と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号53)(本明細書において、BCY9953と称される); 50

[Ac]LPP-(配列番号54)(本明細書において、BCY9954と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号55)(本明細書において、BCY9955と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号56)(本明細書において、BCY9957と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号57)(本明細書において、BCY9959と称される);
 [Ac]LYP-(配列番号57)(本明細書において、BCY12401と称される);
 [Ac]EYP-(配列番号57)(本明細書において、BCY12405と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号58)(本明細書において、BCY9960と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号59)(本明細書において、BCY9961と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号60)(本明細書において、BCY9963と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号61)(本明細書において、BCY9964と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号62)(本明細書において、BCY9965と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号63)(本明細書において、BCY9966と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号64)(本明細書において、BCY10223と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号65)(本明細書において、BCY10224と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号66)(本明細書において、BCY11149と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号67)(本明細書において、BCY11150と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号68)(本明細書において、BCY11151と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号69)(本明細書において、BCY11152と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号70)(本明細書において、BCY11153と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号71)(本明細書において、BCY11154と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号72)(本明細書において、BCY11155と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号73)(本明細書において、BCY11163と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号74)(本明細書において、BCY11158と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号75)(本明細書において、BCY11160と称される);
 [Ac]LYP-(配列番号76)(本明細書において、BCY12402と称される);
 [Ac]LYP-(配列番号77)(本明細書において、BCY12403と称される);及び
 [Ac]LYP-(配列番号78)(本明細書において、BCY12404と称される)
 を含む、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

10

20

30

40

50

【請求項7】

前記ペプチドリガンドが、
 (B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)(本明細書において、(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9と称される)
 であるアミノ酸配列を含む、請求項6記載のペプチドリガンド。

【請求項8】

前記ループ配列が、7つのアミノ酸からなる第一のループ及び3つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

【化5】

CSSWDKLMCHPYC(配列番号:79);

特に:

A-(配列番号79)-A(本明細書において、17-121-00と称される)
 を含む、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

【請求項9】

前記ループ配列が、3つのアミノ酸からなる第一のループ及び9つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

【化 6】

CPEECFYLPHPMSC (配列番号: 80);	
CPQECFYLPGHSLYC (配列番号: 81);	
CPGECFYPPGHPLAC (配列番号: 82);	
CPGECFYPTNHPLYC (配列番号: 83);	
CPQECFYPIGHPLAC (配列番号: 84);	
CPEECFYPPGHKLHC (配列番号: 85);	
CPQECFYPPGHRLRC (配列番号: 86);	10
CPQECFYPPGHPYHC (配列番号: 87);	
CPQECFYPPSTHPLYC (配列番号: 88);	
CPGECFYPSNHRLYC (配列番号: 89);	
CPDECFYPPPEHPLAC (配列番号: 90);	
CPGECFYPPGHHLSC (配列番号: 91);	
CPGECFYPPGHHLGC (配列番号: 92);	
CPEECFYPPNHPLYC (配列番号: 93);	20
CPGECFYPPDHPLYC (配列番号: 94);	
CPGECFYPPGHPLYC (配列番号: 95);	
CPGECFYPPNHPFYC (配列番号: 96);	
CPGECFYPPNHPLYC (配列番号: 97);	
CPEECFYPPGHPLAC (配列番号: 98);	
CWMECFYPPGHPLAC (配列番号: 99);	
CFEECFYPPGHPLAC (配列番号: 100);	
CPGECFYPPGHPLRC (配列番号: 101);	30
CPGECFYPPGHPPREC (配列番号: 102);	
CPGECFYPPGHRFHC (配列番号: 103);及び	
CPGECFYPPGHRLYC (配列番号: 104);	

特に:

A-(配列番号80)-A(本明細書において、17-127-01と称される);	
A-(配列番号81)-A(本明細書において、17-129-00と称される);	
SQT-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T01と称される);	
SMT-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T02と称される);	40
SLV-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T03と称される);	
ISSYG-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T04と称される);	
ENITT-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T05と称される);	
A-(配列番号83)-A(本明細書において、17-129-02と称される);	
A-(配列番号84)-A(本明細書において、17-129-03と称される);	
A-(配列番号85)-A(本明細書において、17-129-04と称される);	
A-(配列番号86)-A(本明細書において、17-129-05と称される);	
A-(配列番号87)-A(本明細書において、17-129-06と称される);	
A-(配列番号88)-A(本明細書において、17-129-07と称される);	
A-(配列番号89)-A(本明細書において、17-129-08と称される);	50

A-(配列番号90)-A(本明細書において、17-129-09と称される);
 A-(配列番号91)-A(本明細書において、17-129-10と称される);
 A-(配列番号92)-A(本明細書において、17-129-11と称される);
 L-(配列番号93)-HA(本明細書において、17-129-12-T01と称される);
 T-(配列番号94)-NA(本明細書において、17-129-13-T01と称される);
 Q-(配列番号95)-NA(本明細書において、17-129-14-T01と称される);
 A-(配列番号95)-NVI(本明細書において、17-129-14-T02と称される);
 N-(配列番号96)-NA(本明細書において、17-129-15-T01と称される);
 D-(配列番号97)-RA(本明細書において、17-129-16-T01と称される);
 SRM-(配列番号98)-A(本明細書において、17-129-17-T01と称される); 10
 SRS-(配列番号98)-A(本明細書において、17-129-17-T02と称される);
 RYMTR-(配列番号98)-A(本明細書において、17-129-17-T03と称される);
 REE-(配列番号99)-A(本明細書において、17-129-18-T01と称される);
 DNМ-(配列番号99)-A(本明細書において、17-129-18-T02と称される);
 QES-(配列番号99)-A(本明細書において、17-129-18-T03と称される);
 ADY-(配列番号99)-A(本明細書において、17-129-18-T04と称される);
 MAN-(配列番号100)-A(本明細書において、17-129-19-T01と称される);
 SQN-(配列番号100)-A(本明細書において、17-129-19-T02と称される);
 A-(配列番号101)-TVL(本明細書において、17-129-20-T01と称される);
 A-(配列番号102)-SWL(本明細書において、17-129-21-T01と称される); 20
 A-(配列番号103)-LTE(本明細書において、17-129-22-T01と称される);
 A-(配列番号104)-YSE(本明細書において、17-129-23-T01と称される);及び
 Ac-(配列番号104)-YSE(本明細書において、Ac(17-129-23-T01)と称される)
 を含む、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

【請求項10】

前記ループ配列が、6つのアミノ酸からなる第一のループ及び6つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば：

30

40

50

【化 7】

CEEEFYPCGHPLYVC (配列番号: 105);	
CEEQFYPCTHALYTC (配列番号: 106);	
CVEEFYPCDHPLYSC (配列番号: 107);	
CEEEFYPCGHPMHPC (配列番号: 108);	
CDEQFYPCHHRLYSC (配列番号: 109);	
CEEEFYPCGHPFHPC (配列番号: 110);	
CLEQFYPCHEPLFSC (配列番号: 111);	10
CVEQFYPCGHRHYIC (配列番号: 112);	
CEEQFYPCSHPLYTC (配列番号: 113);	
CEEQFYPCNHPLNVC (配列番号: 114);	
CEEEFYPCSHPLNPC (配列番号: 115);	
CEEQFYPCGHKLSPC (配列番号: 116);	
CPEQFYPCDHRLYIC (配列番号: 117);	
CQEQFYPCNHPLSPC (配列番号: 118);	
CDEQFYPCNHRLNTC (配列番号: 119);	20
CEEAFYPCHHPLYRC (配列番号: 120);	
CDEDFYPCGHYLNQC (配列番号: 121);	
CEEQFYPCTHPLYVC (配列番号: 122);	
CPEQFYPCTHRLYQC (配列番号: 123);	
CEEQFYPCSHPLYRC (配列番号: 124);	
CAEQFYPCDHPLYRC (配列番号: 125);	
CAEEFYPCDHPLYRC (配列番号: 126);	
CEEAFYPCNHPLYTC (配列番号: 127);	30
CAEAFYPCDHPLYVC (配列番号: 128);	
CEEAFYPCSHPLFIC (配列番号: 129);	
CEEAFYPCSHPLHPC (配列番号: 130);	
CEEAFYPCSHPLFVC (配列番号: 131);	
CEEQFYPCSHPLYSC (配列番号: 132);	
CEEAFYPCHEPLYMC (配列番号: 133); 及び	
CEEQFYPCNHPLYMC (配列番号: 134);	40

特に:

- A-(配列番号105)-A(本明細書において、17-126-01と称される);
- A-(配列番号106)-A(本明細書において、17-126-02と称される);
- A-(配列番号107)-A(本明細書において、17-126-03と称される);
- A-(配列番号108)-A(本明細書において、17-126-06と称される);
- A-(配列番号109)-A(本明細書において、17-126-07と称される);
- A-(配列番号110)-A(本明細書において、17-126-08と称される);
- A-(配列番号111)-A(本明細書において、17-126-09と称される);
- A-(配列番号112)-A(本明細書において、17-126-10と称される);

A-(配列番号113)-A(本明細書において、17-126-18と称される);
 A-(配列番号114)-A(本明細書において、17-126-19と称される);
 A-(配列番号115)-A(本明細書において、17-126-20と称される);
 A-(配列番号116)-A(本明細書において、17-126-21と称される);
 A-(配列番号117)-A(本明細書において、17-126-22と称される);
 A-(配列番号118)-A(本明細書において、17-126-23と称される);
 A-(配列番号119)-A(本明細書において、17-126-24と称される);
 A-(配列番号120)-A(本明細書において、17-126-25と称される);
 Ac-A-(配列番号120)-A(本明細書において、Ac-(17-126-25)と称される);
 A-(配列番号121)-A(本明細書において、17-126-26と称される); 10
 A-(配列番号122)-A(本明細書において、17-126-27と称される);
 A-(配列番号123)-A(本明細書において、17-126-28と称される);
 HSP-(配列番号124)-A(本明細書において、17-126-30-T01と称される);
 GPH-(配列番号125)-A(本明細書において、17-126-31-T01と称される);
 IHS-(配列番号126)-A(本明細書において、17-126-32-T01と称される);
 WSP-(配列番号127)-A(本明細書において、17-126-33-T01と称される);
 SHS-(配列番号127)-A(本明細書において、17-126-33-T02と称される);
 DLH-(配列番号128)-A(本明細書において、17-126-35-T01と称される);
 ANE-(配列番号129)-A(本明細書において、17-126-36-T01と称される);
 AVW-(配列番号130)-A(本明細書において、17-126-37-T01と称される); 20
 KVQ-(配列番号131)-A(本明細書において、17-126-38-T01と称される);
 A-(配列番号132)-PDVA(本明細書において、17-126-39-T01と称される);
 A-(配列番号133)-HQAA(本明細書において、17-126-40-T01と称される);及び
 A-(配列番号134)-RENA(本明細書において、17-126-41-T01と称される)
 を含む、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

【請求項11】

前記ループ配列が、6つのアミノ酸からなる第一のループ及び5つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

【化8】

CLEQFYPCGDPRLC (配列番号: 135);及び 30
 CEEQFYPCGHLLC (配列番号: 136);

特に:

A-(配列番号135)-A(本明細書において、17-126-11と称される);及び
 A-(配列番号136)-A(本明細書において、17-126-12と称される)
 を含む、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

【請求項12】

前記ループ配列が、5つのアミノ酸からなる第一のループ及び5つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

【化9】

CLEPDECFYPMEC (配列番号: 137);
 CKEPQECFYPLKC (配列番号: 138);及び
 CDSPEECFYPLEC (配列番号: 139);

特に:

A-(配列番号137)-A(本明細書において、17-122-02と称される);
 A-(配列番号138)-A(本明細書において、17-122-03と称される);及び
 A-(配列番号139)-A(本明細書において、17-122-04と称される) 50

を含む、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

【請求項13】

表2又は表3に掲載されているペプチドリガンドのいずれかから選択される、請求項1又は請求項2記載のペプチドリガンド。

【請求項14】

医薬として許容し得る塩が、遊離酸又はナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム塩から選択される、請求項1～13のいずれか一項記載のペプチドリガンド。

【請求項15】

前記MT1-MMPがヒトMT1-MMPである、請求項1～14のいずれか一項記載のペプチドリガンド。

10

【請求項16】

1以上のエフェクター及び/又は官能基にコンジュゲートされた、請求項1～15のいずれか一項記載のペプチドリガンドを含む薬物コンジュゲート。

【請求項17】

1以上の細胞毒性剤にコンジュゲートされた、請求項16記載の薬物コンジュゲート。

【請求項18】

前記細胞毒性剤がMMAE又はDM1から選択される、請求項17記載の薬物コンジュゲート。

【請求項19】

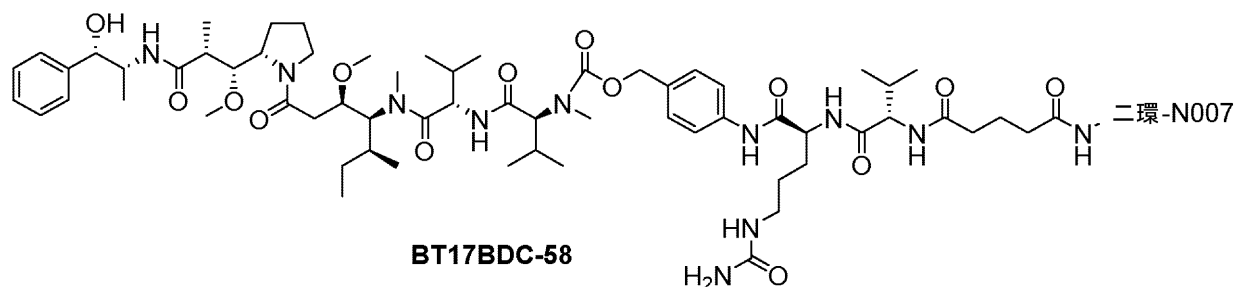
前記細胞毒性剤がMMAEであり、かつ前記コンジュゲートが：-PABC-Cit-Val-グルタリル-又は-PABC-シクロブチル-Ala-Cit-Ala-、例えば、-PABC-Cit-Val-グルタリル-(ここで、PABCは、p-アミノベンジルカルバメートを表す)から選択されるリンカーをさらに含む、請求項18記載の薬物コンジュゲート。

20

【請求項20】

BT17BDC58:

【化10】



30

(ここで、二環-N007は、(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9としても知られる(B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)を表す)である、請求項19記載の薬物コンジュゲート。

【請求項21】

請求項1～15のいずれか一項記載のペプチドリガンド又は請求項16～20のいずれか一項記載の薬物コンジュゲートを1以上の医薬として許容し得る賦形剤との組合せで含む、医薬組成物。

40

【請求項22】

1以上の治療剤をさらに含む、請求項21記載の医薬組成物。

【請求項23】

MT1-MMPによって媒介される疾患又は障害の予防、抑制、又は治療において使用するための、請求項16～20のいずれか一項記載の薬物コンジュゲート。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

50

(発明の分野)

本発明は、2以上のペプチドリングがスキャフォールドへの取付点の間に内在するように、分子スキャフォールドに共有結合しているポリペプチドに関する。特に、本発明は、膜1型メタロプロテアーゼ(MT1-MMP)の高親和性バインダーであるペプチドを記載している。本発明は、イメージング及び標的化癌療法における有用性を有する1以上のエフェクター及び/又は官能基にコンジュゲートされた、該ペプチドを含む、薬物コンジュゲートも記載している。

【背景技術】**【0002】****(発明の背景)**

環状ペプチドは、高い親和性及び標的特異性でタンパク質標的に結合することができ、それゆえ、治療薬の開発のための魅力的な分子クラスである。実際、いくつかの環状ペプチドは、例えば、抗菌ペプチドのバンコマイシン、免疫抑制薬のシクロスポリン、又は抗癌薬のオクトレオチドのように、診療所で使用されるのに既に成功している(Driggersらの文献(2008), Nat Rev Drug Discov 7(7), 608-24)。優れた結合特性は、ペプチドと標的との間で形成される比較的大きな相互作用表面だけでなく、環状構造の立体構造可撓性の低下にも起因する。通常、大環状分子は、環状ペプチドCXCR4アンタゴニストCVX15(400²; Wuらの文献(2007), Science 330, 1066-71)、インテグリンVb3に結合するArg-Gly-Aspモチーフを有する環状ペプチド(355²)(Xiongらの文献(2002), Science 296(5565), 151-5)、又はウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子に結合する環状ペプチド阻害剤ウパイン-1(603²; Zhaoらの文献(2007), J Struct Biol 160(1), 1-10)のように、数百平方オングストロームの表面に結合する。

【0003】

その環状立体配置のために、ペプチド大環状分子は、直鎖状ペプチドよりも可撓性が低く、標的に結合したときのエントロピー損失がより小さくなり、結果的に、より高い結合親和性が生じる。可撓性の低下はまた、標的特異的立体構造の固定をもたらし、直鎖状ペプチドと比較して結合特異性を増加させる。この効果は、その環が開いたときに、他のMMPに対するその選択性を失うマトリックスメタロプロテイナーゼ8(MMP-8)の強力かつ選択的な阻害剤によって例証されている(Cherneyらの文献(1998), J Med Chem 41(11), 1749-51)。大環状化によって達成される有利な結合特性は、例えば、バンコマイシン、ナイシン、及びアクチノマイシンのような、複数のペプチド環を有する多環性ペプチドにおいてさらにより顕著である。

【0004】

様々な研究チームが、以前に、システイン残基を有するポリペプチドを合成分子構造に繋いでいる(Kemp及びMcNamaraの文献(1985), J. Org. Chem; Timmermanらの文献(2005), ChemBioChem)。Meloan及び共同研究者らは、トリス(プロモメチル)ベンゼン及び関連分子をタンパク質表面の構造的模倣用の合成スキャフォールド上での複数のペプチドリングの迅速かつ定量的な環化に使用した(Timmermanらの文献(2005), ChemBioChem)。候補薬物化合物(ここで、該化合物は、システイン含有ポリペプチドを、例えば、トリス(プロモメチル)ベンゼンのような分子スキャフォールドに連結させることにより作製される)の作製方法は、WO 2004/077062号及びWO 2006/078161号に開示されている。分子スキャフォールドのさらに好適な例としては、Heinisらの文献(2014) Angewandte Chemie, International Edition 53(6) 1602-1606に記載されている非芳香族スキャフォールドが挙げられる。

【0005】

対象となる標的に対する二環式ペプチドの大型ライブラリーを作製及びスクリーニングするためのファージディスプレイに基づくコンビナトリアルアプローチが開発されている(Heinisらの文献(2009), Nat Chem Biol 5(7), 502-7及びWO 2009/098450号)。簡潔に述べると、3つのシステイン残基及び2つのランダムな6アミノ酸領域を含有する直鎖状ペプチド(Cys-(Xaa)₆-Cys-(Xaa)₆-Cys)のコンビナトリアルライブラリーをフ

10

20

30

40

50

ァージ上に提示させ、システイン側鎖を低分子スキャフォールドに共有結合させることにより環化させた。

【発明の概要】

【0006】

(発明の概要)

本発明の第一の態様によれば、少なくとも2つのループ配列によって隔てられた少なくとも3つのシステイン残基を含むポリペプチド及び該ポリペプチドのシステイン残基と共有結合を形成する分子スキャフォールドを含み、その結果、少なくとも2つのポリペプチドループが該分子スキャフォールド上に形成される、MT1-MMPに特異的なペプチドリガンドであって、該分子スキャフォールドが1,1',1''-(1,3,5-トリアジナン-1,3,5-トリイ

10

【0007】

本発明のさらなる態様によれば、1以上のエフェクター及び/又は官能基にコンジュゲートされた本明細書で定義されるペプチドリガンドを含む薬物コンジュゲートが提供される。

【0008】

本発明のさらなる態様によれば、本明細書で定義されるペプチドリガンド又は薬物コンジュゲートを1以上の医薬として許容し得る賦形剤との組合せで含む医薬組成物が提供される。

20

【0009】

本発明のさらなる態様によれば、MT1-MMPによって媒介される疾患又は障害の予防、抑制、又は治療において使用するための本明細書で定義されるペプチドリガンド又は薬物コンジュゲートが提供される。

【図面の簡単な説明】

【0010】

(図面の簡単な説明)

【図1】図1: HT1080異種移植片を担持する雌のBALB/cヌードマウスにBT17BDC58を投与した後の体重変化及び腫瘍体積のトレース。データ点は、群平均体重を表す。エラーバーは、平均の標準誤差(SEM)を表す。

30

【発明を実施するための形態】

【0011】

(発明の詳細な説明)

一実施態様において、該ループ配列は、2、3、5、6、7、又は9つのアミノ酸を含む。さらなる実施態様において、該ループ配列は、3又は7つのアミノ酸を含む。

【0012】

さらなる実施態様において、該ループ配列は、7つのアミノ酸からなる第一のループ及び2つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

【化1】

40

CEESFYPECDC (配列番号: 1);

特に:

A-(配列番号1)-A(本明細書において、17-108-02と称される)を含む。

【0013】

さらなる実施態様において、該ループ配列は、3つのアミノ酸からなる第一のループ及び6つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

50

【化2】

CPDLCLDLFPNC (配列番号: 2); 及び
CPELCVDLYPHC (配列番号: 3);

特に:

A-(配列番号2)-A(本明細書において、17-111-01と称される)

A-(配列番号3)-A(本明細書において、17-111-02と称される)

を含む。

【0014】

さらなる実施態様において、該ループ配列は、6つのアミノ酸からなる第一のループ及び3つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

【化3】

CHPEWWSCEFHC (配列番号: 4);

特に:

A-(配列番号4)-A(本明細書において、17-116-01と称される)

を含む。

【0015】

さらなる実施態様において、該ループ配列は、3つのアミノ酸からなる第一のループ及び7つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

10

20

30

40

50

【化 4】

CSHECALLFPKTC (配列番号: 5);	
CFDECQLLFPKTC (配列番号: 6);	
CLDECKLLFPKTC (配列番号: 7);	
CREECMLLFPKTC (配列番号: 8);	
CETECALLFPRSC (配列番号: 9);	
CADECROLLFPKTC (配列番号: 10);	
CDVECRLLFPRSC (配列番号: 11);	
CIDECROLLFPRSC (配列番号: 12);	
CVRECALLFPKTC (配列番号: 13);	10
CV[HArg]ECALLFPKTC (配列番号: 14);	
CVRECALLFPRTC (配列番号: 15);	
CVRECALLFP[HArg]TC (配列番号: 16);	
CV[HArg]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 17);	
CV[HArg]ECALLFPATC (配列番号: 18);	
CVAECALLFP[HArg]TC (配列番号: 19);	
CVTECQLLFPKTC (配列番号: 20);	
CRHECELLFPKTC (配列番号: 21);	
CQRECALLFPKTC (配列番号: 22);	20
CVRECTLLFPKTC (配列番号: 23);	
CTIECALLFPKTC (配列番号: 24);	
CARECALLFPKTC (配列番号: 25);	
CINECRLLFPKTC (配列番号: 26);	
CYTECSLLFPKTC (配列番号: 27);	
CHEECRLLFPKTC (配列番号: 28);	
CLEECKLLFPKTC (配列番号: 29);	
CIDECALLFPRTC (配列番号: 30);	
CYEECRLLFPRTC (配列番号: 31);	
CVRECRLLFPKTC (配列番号: 32);	30
CHIECALLFPKTC (配列番号: 33);	
CKRECMLLFPKTC (配列番号: 34);	
CYRECALLFPKTC (配列番号: 35);	
CLTECALLFPKTC (配列番号: 36);	
CEVECRLLFPKTC (配列番号: 37);	
CEAECRLLFPKTC (配列番号: 38);	
CVQECALLFPKTC (配列番号: 39);	
CIRECSLLFPKTC (配列番号: 40);	
CVTECALLFPKTC (配列番号: 41);	40

CVAECKLLFPKTC (配列番号: 42);	
CVGECALLFPKTC (配列番号: 43);	
CVVECALLFPKTC (配列番号: 44);	
CVFECALLFPKTC (配列番号: 45);	
CA[HArg]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 46);	
CV[HArg]ECALLFA[HArg]TC (配列番号: 47);	
CV[HArg]ECALLFP[HArg]AC (配列番号: 48);	
CV[HArg]ECALL[1Na]P[HArg]TC (配列番号: 49);	10
CV[HArg]ECALL[Cha]P[HArg]TC (配列番号: 50);	
CV[HArg]ECALLF[Pip][HArg]TC (配列番号: 51);	
CV[HArg]ECALLFP[HArg]SC (配列番号: 52);	
CV[HArg]ECALLFP[HArg][HSer]C (配列番号: 53);	
CV[HArg]ECALLF[HyP][HArg]TC (配列番号: 54);	
CV[HArg]EC[Aib]LLFP[HArg]TC (配列番号: 55);	
CV[HArg]ECAL[Nle]FP[HArg]TC (配列番号: 56);	
CV[HArg]ECA[tBuAla]LFP[HArg]TC (配列番号: 57);	
CV[HArg]ECA[Nle]LFP[HArg]TC (配列番号: 58);	
CV[Aad2]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 59);	20
CP[HArg]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 60);	
CV[HArg]ECALL[4FIPhe]P[HArg]TC (配列番号: 61);	
CV[HArg]ECAL[tBuGly]FP[HArg]TC (配列番号: 62);	
CV[HArg]ECAL[Cha]FP[HArg]TC (配列番号: 63);	
CV[HArg]ECALL[2Na]P[HArg]TC (配列番号: 64);	
CV[HArg]ECALLFP[HArg][HyV]C (配列番号: 65);	
C[tBuGly][HArg]ECALLFP[HArg]TC (配列番号: 66);	
CVVECALLFP[HArg]TC (配列番号: 67);	
CV[HArg]ECA[Cpa]LFP[HArg]TC (配列番号: 68);	30
CV[HArg]ECA[Cba]LFP[HArg]TC (配列番号: 69);	
CV[HArg]ECA[C5A]LFP[HArg]TC (配列番号: 70);	
CV[HArg]ECA[Cha]LFP[HArg]TC (配列番号: 71);	
CV[HArg]ECA[tBuGly]LFP[HArg]TC (配列番号: 72);	
CV[HArg]ECALLF[<i>cis</i> -HyP][HArg]TC (配列番号: 73);	
CV[HArg]ECAL[Cpa]FP[HArg]TC (配列番号: 74);	
CV[HArg]ECAL[C5A]FP[HArg]TC (配列番号: 75);	
CV[HArg]ECA[tBuAla]LF[HyP][HArg]TC (配列番号: 76);	
CV[HArg]ECA[tBuAla][tBuGly]F[HyP][HArg]TC (配列番号: 77); 及び	
C[tBuGly][HArg]ECA[tBuAla]LFP[HArg]TC (配列番号: 78);	40

(ここで、Aadは、 β -L-アミノアジピン酸を表し、Aibは、アミノイソ酪酸を表し、C5aは、 β -シクロペンチル-L-アラニンを表し、Cbaは、 β -シクロブチルアラニンを表し、Chaは、3-シクロヘキシル-L-アラニンを表し、Cpaは、 β -シクロプロピル-L-アラニンを表し、4FIPheは、4-フルオロ-L-フェニルアラニンを表し、HArgは、ホモアルギニンを表し、HyPは、ヒドロキシプロリンを表し、HyVは、3-ヒドロキシ-L-バリンを表し、HSerは、ホモセリンを表し、1Naは、1-ナフチルアラニンを表し、2Naは、2-ナフチルアラニンを表し、Nleは、ノルロイシンを表し、Pipは、ピペコリン酸を表し、tBuAlaは、t-ブチル-アラニンを表し、tBuGlyは、t-ブチル-グリシンを表す);

特に:

A-(配列番号5)-A(本明細書において、17-120-00と称される);
 A-(配列番号6)-A(本明細書において、17-120-01と称される);
 A-(配列番号7)-A(本明細書において、17-120-02と称される);
 A-(配列番号8)-A(本明細書において、17-120-03と称される);
 A-(配列番号9)-A(本明細書において、17-120-04と称される);
 A-(配列番号10)-A(本明細書において、17-120-05と称される);
 A-(配列番号11)-A(本明細書において、17-120-07と称される);
 A-(配列番号12)-A(本明細書において、17-120-08と称される);
 APPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T01と称される);
 QISP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T02と称される); 10
 ALPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T03及びBCY1124と称される);
 Ac-ALPP-(配列番号13)(本明細書において、Ac-(17-120-09-T03)及びBCY1125と称される);
 Sar3-ALPP-(配列番号13)(本明細書において、Sar3-A-(17-120-09-T03)と称される);
 GPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T04と称される);
 SPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T05と称される);
 NPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T06と称される);
 EPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T07と称される); 20
 HPPP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T08と称される);
 APNP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T09と称される);
 APDP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T10と称される);
 APLP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T11と称される);
 APAP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T12と称される);
 APHP-(配列番号13)-A(本明細書において、17-120-09-T13と称される);
 Sar3-ALPP-(配列番号14)(本明細書において、Sar3-A-(17-120-09-T03) HArg2と称される);
 Sar3-ALPP-(配列番号15)(本明細書において、Sar3-A-(17-120-09-T03) Arg9と称される); 30
 Sar3-ALPP-(配列番号16)(本明細書において、Sar3-A-(17-120-09-T03) HArg9と称される);
 (B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)(本明細書において、(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9と称される);
 Ac-(B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)(本明細書において、Ac-(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9と称される);
 ALPP-(配列番号17)(本明細書において、BCY3959と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号17)(本明細書において、BCY9933と称される);
 [Ac]APP-(配列番号17)(本明細書において、BCY9934と称される);
 [Ac]LAP-(配列番号17)(本明細書において、と称されるBCY9935); 40
 [Ac]LPA-(配列番号17)(本明細書において、と称されるBCY9936);
 [Ac]- (配列番号17)(本明細書において、と称されるBCY9968);
 [Ac]LYP-(配列番号17)(本明細書において、と称されるBCY11147);
 [Ac]LPY-(配列番号17)(本明細書において、と称されるBCY11148);
 [Ac][dA]PP-(配列番号17)(本明細書において、と称されるBCY11165);
 [Ac]L[dA]P-(配列番号17)(本明細書において、BCY11166と称される);
 [Ac]LP[dA]- (配列番号17)(本明細書において、BCY11167と称される);
 ALPP-(配列番号17)-A(本明細書において、BCY10288と称される);
 (B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号18)(本明細書において、(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 Ala9と称される); 50

(B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号19)(本明細書において、(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) Ala2 HArg9と称される);

[Ac]LPP-(配列番号19)(本明細書において、BCY9938と称される);

APMP-(配列番号20)-A(本明細書において、17-120-10-T01と称される);

APSP-(配列番号21)-A(本明細書において、17-120-11-T01と称される);

AALP-(配列番号22)-A(本明細書において、17-120-12-T01と称される);

ALDP-(配列番号23)-A(本明細書において、17-120-13-T01と称される);

ADRP-(配列番号24)-A(本明細書において、17-120-14-T01と称される);

ATQP-(配列番号25)-A(本明細書において、17-120-15-T01と称される);

SPPP-(配列番号25)-A(本明細書において、17-120-15-T02と称される); 10

ARHP-(配列番号26)-A(本明細書において、17-120-16-T01と称される);

ALPP-(配列番号27)-A(本明細書において、17-120-17-T01と称される);

A-(配列番号28)-A(本明細書において、17-120-18と称される);

A-(配列番号29)-A(本明細書において、17-120-19と称される);

A-(配列番号30)-A(本明細書において、17-120-20と称される);

A-(配列番号31)-A(本明細書において、17-120-21と称される);

APPP-(配列番号31)-A(本明細書において、17-120-21-T01と称される);

APSP-(配列番号32)-A(本明細書において、17-120-22-T01と称される);

PLPP-(配列番号32)-A(本明細書において、17-120-22-T02と称される);

APAP-(配列番号33)-A(本明細書において、17-120-23-T01と称される); 20

AVEP-(配列番号34)-A(本明細書において、17-120-24-T01と称される);

AEPA-(配列番号35)-A(本明細書において、17-120-25-T01と称される);

ASPP-(配列番号36)-A(本明細書において、17-120-26-T01と称される);

AAPP-(配列番号37)-A(本明細書において、17-120-27-T01と称される);

APPP-(配列番号38)-A(本明細書において、17-120-28-T01と称される);

AVPP-(配列番号39)-A(本明細書において、17-120-29-T01と称される);

SPPP-(配列番号40)-A(本明細書において、17-120-30-T01と称される);

HLPP-(配列番号41)-A(本明細書において、17-120-31-T01と称される);

RLPP-(配列番号41)-A(本明細書において、17-120-31-T02と称される);

APPP-(配列番号41)-A(本明細書において、17-120-31-T03と称される); 30

MPPP-(配列番号42)-A(本明細書において、17-120-32-T01と称される);

SPPP-(配列番号43)-A(本明細書において、17-120-33-T01と称される);

APPP-(配列番号44)-A(本明細書において、17-120-34-T01と称される);

APPP-(配列番号45)-A(本明細書において、17-120-35-T01と称される);

[Ac]LPP-(配列番号46)(本明細書において、BCY9937と称される);

[Ac]LPP-(配列番号47)(本明細書において、BCY9943と称される);

[Ac]LPP-(配列番号48)(本明細書において、BCY9945と称される);

[Ac]LPP-(配列番号49)(本明細書において、BCY9946と称される);

[Ac]LPP-(配列番号50)(本明細書において、BCY9949と称される);

[Ac]LPP-(配列番号51)(本明細書において、BCY9951と称される); 40

[Ac]LPP-(配列番号52)(本明細書において、BCY9952と称される);

[Ac]LPP-(配列番号53)(本明細書において、BCY9953と称される);

[Ac]LPP-(配列番号54)(本明細書において、BCY9954と称される);

[Ac]LPP-(配列番号55)(本明細書において、BCY9955と称される);

[Ac]LPP-(配列番号56)(本明細書において、BCY9957と称される);

[Ac]LPP-(配列番号57)(本明細書において、BCY9959と称される);

[Ac]LYP-(配列番号57)(本明細書において、BCY12401と称される);

[Ac]EYP-(配列番号57)(本明細書において、BCY12405と称される);

[Ac]LPP-(配列番号58)(本明細書において、BCY9960と称される);

[Ac]LPP-(配列番号59)(本明細書において、BCY9961と称される); 50

[Ac]LPP-(配列番号60)(本明細書において、BCY9963と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号61)(本明細書において、BCY9964と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号62)(本明細書において、BCY9965と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号63)(本明細書において、BCY9966と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号64)(本明細書において、BCY10223と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号65)(本明細書において、BCY10224と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号66)(本明細書において、BCY11149と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号67)(本明細書において、BCY11150と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号68)(本明細書において、BCY11151と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号69)(本明細書において、BCY11152と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号70)(本明細書において、BCY11153と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号71)(本明細書において、BCY11154と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号72)(本明細書において、BCY11155と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号73)(本明細書において、BCY11163と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号74)(本明細書において、BCY11158と称される);
 [Ac]LPP-(配列番号75)(本明細書において、BCY11160と称される);
 [Ac]LYP-(配列番号76)(本明細書において、BCY12402と称される);
 [Ac]LYP-(配列番号77)(本明細書において、BCY12403と称される);及び
 [Ac]LYP-(配列番号78)(本明細書において、BCY12404と称される)
 を含む。

10

20

【0016】

さらなる実施態様において、ペプチドリガンドは、
 (B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)(本明細書において、(B-Ala)-Sar10-A-(17-12
 0-09-T03) HArg2 HArg9と称される)
 であるアミノ酸配列を含む。

【0017】

このペプチドリガンド(BT17BDC58)を含有する二環式ペプチド薬物コンジュゲートが
 用量依存的な抗腫瘍活性を生じさせたというデータは、本明細書中、図1並びに表4及び
 5に提示されている。

【0018】

さらなる実施態様において、該ループ配列は、7つのアミノ酸からなる第一のループ及び
 3つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つの
 システイン残基、例えば:

30

【化5】

CSSWDKLMCHPYC (配列番号:79);

特に:

A-(配列番号79)-A(本明細書において、17-121-00と称される)
 を含む。

【0019】

さらなる実施態様において、該ループ配列は、3つのアミノ酸からなる第一のループ及び
 9つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つの
 システイン残基、例えば:

40

50

【化 6】

CPEECFYLPHPMSC (配列番号: 80);
 CPQECFYLPGHSLYC (配列番号: 81);
 CPGECFYPPGHPLAC (配列番号: 82);
 CPGECFYPTNHPLYC (配列番号: 83);
 CPQECFYPIGHPLAC (配列番号: 84);
 CPEECFYPPGHKLHC (配列番号: 85);
 CPQECFYPPGHRLRC (配列番号: 86); 10
 CPQECFYPPGHPYHC (配列番号: 87);
 CPQECFYPPSTHPLYC (配列番号: 88);
 CPGECFYPSNHRLYC (配列番号: 89);
 CPDECFYPPPEHPLAC (配列番号: 90);
 CPGECFYPPGHHLSC (配列番号: 91);
 CPGECFYPPGHHLGC (配列番号: 92);
 CPEECFYPPNHPLYC (配列番号: 93); 20
 CPGECFYPPDHPLYC (配列番号: 94);
 CPGECFYPPGHPLYC (配列番号: 95);
 CPGECFYPPNHPLYC (配列番号: 96);
 CPGECFYPPNHPLYC (配列番号: 97);
 CPEECFYPPGHPLAC (配列番号: 98);
 CWMECFYPPGHPLAC (配列番号: 99);
 CFEECFYPPGHPLAC (配列番号: 100);
 CPGECFYPPGHPLRC (配列番号: 101); 30
 CPGECFYPPGHPPREC (配列番号: 102);
 CPGECFYPPGHRFHC (配列番号: 103); 及び
 CPGECFYPPGHRLYC (配列番号: 104);

特に:

A-(配列番号80)-A(本明細書において、17-127-01と称される);
 A-(配列番号81)-A(本明細書において、17-129-00と称される);
 SQT-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T01と称される);
 SMT-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T02と称される); 40
 SLV-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T03と称される);
 ISSYG-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T04と称される);
 ENITT-(配列番号82)-A(本明細書において、17-129-01-T05と称される);
 A-(配列番号83)-A(本明細書において、17-129-02と称される);
 A-(配列番号84)-A(本明細書において、17-129-03と称される);
 A-(配列番号85)-A(本明細書において、17-129-04と称される);
 A-(配列番号86)-A(本明細書において、17-129-05と称される);
 A-(配列番号87)-A(本明細書において、17-129-06と称される);
 A-(配列番号88)-A(本明細書において、17-129-07と称される);
 A-(配列番号89)-A(本明細書において、17-129-08と称される); 50

A-(配列番号90)-A(本明細書において、17-129-09と称される);
 A-(配列番号91)-A(本明細書において、17-129-10と称される);
 A-(配列番号92)-A(本明細書において、17-129-11と称される);
 L-(配列番号93)-HA(本明細書において、17-129-12-T01と称される);
 T-(配列番号94)-NA(本明細書において、17-129-13-T01と称される);
 Q-(配列番号95)-NA(本明細書において、17-129-14-T01と称される);
 A-(配列番号95)-NVI(本明細書において、17-129-14-T02と称される);
 N-(配列番号96)-NA(本明細書において、17-129-15-T01と称される);
 D-(配列番号97)-RA(本明細書において、17-129-16-T01と称される);
 SRM-(配列番号98)-A(本明細書において、17-129-17-T01と称される); 10
 SRS-(配列番号98)-A(本明細書において、17-129-17-T02と称される);
 RYMTR-(配列番号98)-A(本明細書において、17-129-17-T03と称される);
 REE-(配列番号99)-A(本明細書において、17-129-18-T01と称される);
 DNМ-(配列番号99)-A(本明細書において、17-129-18-T02と称される);
 QES-(配列番号99)-A(本明細書において、17-129-18-T03と称される);
 ADY-(配列番号99)-A(本明細書において、17-129-18-T04と称される);
 MAN-(配列番号100)-A(本明細書において、17-129-19-T01と称される);
 SQN-(配列番号100)-A(本明細書において、17-129-19-T02と称される);
 A-(配列番号101)-TVL(本明細書において、17-129-20-T01と称される);
 A-(配列番号102)-SWL(本明細書において、17-129-21-T01と称される); 20
 A-(配列番号103)-LTE(本明細書において、17-129-22-T01と称される);
 A-(配列番号104)-YSE(本明細書において、17-129-23-T01と称される);及び
 Ac-(配列番号104)-YSE(本明細書において、と称されるAc(17-129-23-T01))
 を含む。

【0020】

さらなる実施態様において、該ループ配列は、6つのアミノ酸からなる第一のループ及び
 6つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つの
 システイン残基、例えば：

30

40

50

【化 7】

CEEEFYPCGHPLYVC (配列番号: 105);	
CEEQFYPCTHALYTC (配列番号: 106);	
CVEEFYPCDHPLYSC (配列番号: 107);	
CEEEFYPCGHMHPHC (配列番号: 108);	
CDEQFYPCHHRLYSC (配列番号: 109);	
CEEEFYPCGHPFHPC (配列番号: 110);	
CLEQFYPCHEPLFSC (配列番号: 111);	10
CVEQFYPCGHRHYIC (配列番号: 112);	
CEEQFYPCSHPLYTC (配列番号: 113);	
CEEQFYPCNHPLNVC (配列番号: 114);	
CEEEFYPCSHPLNPC (配列番号: 115);	
CEEQFYPCGHKLSPC (配列番号: 116);	
CPEQFYPCDHRLYIC (配列番号: 117);	
CQEQFYPCNHPLSPC (配列番号: 118);	
CDEQFYPCNHRLNTC (配列番号: 119);	20
CEEAFFYPCHHPLYRC (配列番号: 120);	
CDEDFYPCGHYLNQC (配列番号: 121);	
CEEQFYPCTHPLYVC (配列番号: 122);	
CPEQFYPCTHRLYQC (配列番号: 123);	
CEEQFYPCSHPLYRC (配列番号: 124);	
CAEQFYPCDHPLYRC (配列番号: 125);	
CAEEFYPCDHPLYRC (配列番号: 126);	
CEEAFFYPCNHPLYTC (配列番号: 127);	30
CAEAFFYPCDHPLYVC (配列番号: 128);	
CEEAFFYPCSHPLFIC (配列番号: 129);	
CEEAFFYPCSHPLHPC (配列番号: 130);	
CEEAFFYPCSHPLFVC (配列番号: 131);	
CEEQFYPCSHPLYSC (配列番号: 132);	
CEEAFFYPCHEPLYMC (配列番号: 133); 及び	
CEEQFYPCNHPLYMC (配列番号: 134);	40

特に:

- A-(配列番号105)-A(本明細書において、17-126-01と称される);
- A-(配列番号106)-A(本明細書において、17-126-02と称される);
- A-(配列番号107)-A(本明細書において、17-126-03と称される);
- A-(配列番号108)-A(本明細書において、17-126-06と称される);
- A-(配列番号109)-A(本明細書において、17-126-07と称される);
- A-(配列番号110)-A(本明細書において、17-126-08と称される);
- A-(配列番号111)-A(本明細書において、17-126-09と称される);
- A-(配列番号112)-A(本明細書において、17-126-10と称される);

A-(配列番号113)-A(本明細書において、17-126-18と称される);
 A-(配列番号114)-A(本明細書において、17-126-19と称される);
 A-(配列番号115)-A(本明細書において、17-126-20と称される);
 A-(配列番号116)-A(本明細書において、17-126-21と称される);
 A-(配列番号117)-A(本明細書において、17-126-22と称される);
 A-(配列番号118)-A(本明細書において、17-126-23と称される);
 A-(配列番号119)-A(本明細書において、17-126-24と称される);
 A-(配列番号120)-A(本明細書において、17-126-25と称される);
 Ac-A-(配列番号120)-A(本明細書において、Ac-(17-126-25)と称される);
 A-(配列番号121)-A(本明細書において、17-126-26と称される); 10
 A-(配列番号122)-A(本明細書において、17-126-27と称される);
 A-(配列番号123)-A(本明細書において、17-126-28と称される);
 HSP-(配列番号124)-A(本明細書において、17-126-30-T01と称される);
 GPH-(配列番号125)-A(本明細書において、17-126-31-T01と称される);
 IHS-(配列番号126)-A(本明細書において、17-126-32-T01と称される);
 WSP-(配列番号127)-A(本明細書において、17-126-33-T01と称される);
 SHS-(配列番号127)-A(本明細書において、17-126-33-T02と称される);
 DLH-(配列番号128)-A(本明細書において、17-126-35-T01と称される);
 ANE-(配列番号129)-A(本明細書において、17-126-36-T01と称される);
 AVW-(配列番号130)-A(本明細書において、17-126-37-T01と称される); 20
 KVQ-(配列番号131)-A(本明細書において、17-126-38-T01と称される);
 A-(配列番号132)-PDVA(本明細書において、17-126-39-T01と称される);
 A-(配列番号133)-HQAA(本明細書において、17-126-40-T01と称される);及び
 A-(配列番号134)-RENA(本明細書において、17-126-41-T01と称される)
 を含む。

【0021】

さらなる実施態様において、該ループ配列は、6つのアミノ酸からなる第一のループ及び5つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

【化8】

CLEQFYPCGDPRLC (配列番号: 135); 及び
 CEEQFYPCGHLLC (配列番号: 136);

30

特に:

A-(配列番号135)-A(本明細書において、17-126-11と称される); 及び
 A-(配列番号136)-A(本明細書において、17-126-12と称される)
 を含む。

【0022】

さらなる実施態様において、該ループ配列は、5つのアミノ酸からなる第一のループ及び5つのアミノ酸からなる第二のループという2つのループ配列によって隔てられた3つのシステイン残基、例えば:

【化9】

CLEPDECFYPMEC (配列番号: 137);
 CKEPQECFYPLKC (配列番号: 138); 及び
 CDSPEECFYPLEC (配列番号: 139);

40

特に:

A-(配列番号137)-A(本明細書において、17-122-02と称される);

50

A-(配列番号138)-A(本明細書において、17-122-03と称される);及び
A-(配列番号139)-A(本明細書において、17-122-04と称される)
を含む。

【0023】

一実施態様において、ペプチドリガンドは、表2又は表3に掲載されているペプチドリガンドのいずれかから選択される。

【0024】

別途定義されない限り、本明細書で使用される技術的及び科学的用語は全て、当該分野、例えば、ペプチド化学、細胞培養、及びファージディスプレイ、核酸化学、並びに生化学の分野の専門家によって一般に理解されているものと同じ意味を有する。標準的な技法が、分子生物学、遺伝学、及び生化学の方法に使用される(引用により本明細書中に組み込まれる、Sambrookらの文献、分子クローニング:実験室マニュアル(Molecular Cloning: A Laboratory Manual)、第3版、2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubelらの文献、分子生物学のショートプロトコル(Short Protocols in Molecular Biology)(1999) 第4版、John Wiley & Sons社を参照)。

10

【0025】

(命名法)

(付番)

本発明のペプチドリガンド内のアミノ酸残基位置に言及する場合、システイン残基(C_i、C_{ii}、及びC_{iii})は不変であるので、これらは付番から省略され、それゆえ、本発明のペプチドリガンド内のアミノ酸残基の付番は、以下のように言及される:

20

C_i-E1-E2-S3-F4-Y5-P6-E7-C_{ii}-D8-H9-C_{iii}(配列番号1)

。

【0026】

この説明のために、全ての二環式ペプチドは、1,1',1''-(1,3,5-トリアジナン-1,3,5-トリイル)トリプロパン-1-オン(TATA)で環化され、三置換構造を生じると考えられる。TATAによる環化は、C_i、C_{ii}、及びC_{iii}上で生じる。TATAは、不飽和カルボニル含有分子スキャフォールドの例である(Angewandte Chemie, International Edition (2014), 53(6), 1602-1606)。

30

【0027】

(分子フォーマット)

二環コア配列へのN-又はC-末端伸長は、ハイフンによって隔てられた、配列の左側又は右側に付加される。例えば、N-末端 Ala-Sar10-Alaテールは:

Ala-Sar10-A-(配列番号X)

と表される。

【0028】

(逆向きのペプチド配列)

Nairらの文献(2003) J Immunol 170(3), 1362-1373における開示を考慮して、本明細書に開示されるペプチド配列は、そのレトロ-インベルソ(retro-inverso)形態でも有用性を見出すことが想定される。例えば、配列が逆転し(すなわち、N-末端がC-末端になり、C-末端がN-末端になる)、その立体化学も同様に逆転する(すなわち、D-アミノ酸がL-アミノ酸になり、L-アミノ酸がD-アミノ酸になる)。

40

【0029】

(ペプチドリガンド)

本明細書において言及されるペプチドリガンドは、分子スキャフォールドに共有結合したペプチドを指す。典型的には、そのようなペプチドは、スキャフォールドとの共有結合を形成することができる2以上の反応基(すなわち、システイン残基)と、ペプチドがスキャフォールドに結合するときループを形成するのでループ配列と呼ばれる、該反応基間に内在する配列とを含む。この場合、ペプチドは、少なくとも3つのシステイン残基(本明

50

細書において、C_i、C_{ii}、及びC_{iii}と呼ばれる)を含み、かつスキファールド上に少なくとも2つのループを形成する。

【0030】

(ペプチドリガンドの利点)

本発明の特定の二環式ペプチドは、それを注射、吸入、経鼻、眼球、経口、又は局所投与のための好適な薬物様分子とみなすことができるいくつかの有利な特性を有する。そのような有利な特性としては、以下のもの挙げられる：

- 種交差反応性。ある種のリガンドは、異なる細菌種由来のPBPにわたる交差反応性を示し、したがって、多数の細菌種によって引き起こされる感染を治療することができる。他のリガンドは、患者の有益な細菌叢に対する付随的損傷なしで感染を治療するのに有利であり得る特定の細菌種のPBPに極めて特異的であり得る；

- プロテアーゼ安定性。二環式ペプチドリガンドは、理想的には、血漿プロテアーゼ、上皮(「膜固定型」)プロテアーゼ、胃腸プロテアーゼ、肺表面プロテアーゼ、細胞内プロテアーゼなどに対する安定性を示すべきである。プロテアーゼ安定性は、二環式リード候補を動物モデルで開発するだけでなく、自信を持ってヒトに投与することもできるように、異なる種の間で維持されるべきである；

- 望ましい溶解度プロファイル。これは、製剤化及び吸収目的で重要である、荷電残基及び親水性残基と疎水性残基の比率並びに分子内/分子間H-結合の関数である；

- 循環中での最適な血漿半減期。臨床的適応及び治療レジメンに応じて、急性疾患管理設定で短期曝露用の二環式ペプチドを開発するか又は循環中での保持が増強された二環式ペプチドを開発する必要があるため、より慢性的な疾患状態の管理に最適である。望ましい血漿半減期を推進する他の要因は、最大治療効率のための持続的曝露の要求と薬剤の持続的曝露による随伴毒性である；及び

- 選択性。本発明の特定のペプチドリガンドは、MT1-MMPに対する選択性を示すが、MMP-1、MMP-2、MMP-15、及びMMP-16などのMMPアイソフォームと交差反応しない。

【0031】

(医薬として許容し得る塩)

塩形態は本発明の範囲内であり、ペプチドリガンドへの言及が該リガンドの塩形態を含むことが理解されるであろう。

【0032】

本発明の塩は、従来の化学的方法、例えば、医薬塩：特性、選択、及び使用(Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use)、P. Heinrich Stahl(編者)、Camilie G. Wermuth(編者)、ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388頁、August 2002に記載されている方法によって、塩基性又は酸性部分を含有する親化合物から合成することができる。通常、そのような塩は、これらの化合物の遊離酸又は塩基形態を、適切な塩基又は酸と、水中もしくは有機溶媒中で、又はこれら2つの混合物中で反応させることにより調製することができる。

【0033】

酸付加塩(モノ塩又はジ塩)は、無機と有機の両方の多種多様な酸で形成することができる。酸付加塩の例としては、酢酸、2,2-ジクロロ酢酸、アジピン酸、アルギン酸、アスコルビン酸(例えば、L-アスコルビン酸)、L-アスパラギン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、4-アセトアミド安息香酸、ブタン酸、(+)-カンファー酸、カンファースルホン酸、(+)-(1S)-カンファー-10-スルホン酸、カプリン酸、カプロン酸、カプリル酸、ケイ皮酸、クエン酸、シクラミン酸、ドデシル硫酸、エタン-1,2-ジスルホン酸、エタンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、ギ酸、フマル酸、粘液酸、ゲンチジン酸、グルコヘプトン酸、D-グルコン酸、グルクロン酸(例えば、D-グルクロン酸など)、グルタミン酸(例えば、L-グルタミン酸など)、 α -オキソグルタル酸、グリコール酸、馬尿酸、ハロゲン化水素酸(例えば、臭化水素酸、塩酸、ヨウ化水素酸)、イセチオン酸、乳酸(例えば、(+)-L-乳酸、(±)-DL-乳酸)、ラクトピオン酸、マレイン酸、リンゴ酸、(-)-L-リン

ゴ酸、マロン酸、(±)-DL-マンデル酸、メタンスルホン酸、ナフタレン-2-スルホン酸、ナフタレン-1,5-ジスルホン酸、1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸、ニコチン酸、硝酸、オレイン酸、オロト酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、リン酸、プロピオン酸、ピルビン酸、L-ピログルタミン酸、サリチル酸、4-アミノサリチル酸、セバシン酸、ステアリン酸、コハク酸、硫酸、タンニン酸、(+)-L-酒石酸、チオシアン酸、p-トルエンスルホン酸、ウンデシレン酸、及び吉草酸、並びにアシル化アミノ酸及び陽イオン交換樹脂からなる群から選択される酸で形成されるモノ塩又はジ塩が挙げられる。

【0034】

塩の1つの特定の群は、酢酸、塩酸、ヨウ化水素酸、リン酸、硝酸、硫酸、クエン酸、乳酸、コハク酸、マレイン酸、リンゴ酸、イセチオン酸、フマル酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、硫酸、メタンスルホン酸(メシル酸)、エタンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、吉草酸、プロパン酸、ブタン酸、マロン酸、グルクロン酸、及びラクチオン酸から形成される塩からなる。1つの特定の塩は、塩酸塩である。別の特定の塩は、酢酸塩である。

10

【0035】

化合物がアニオン性であるか、又はアニオン性であり得る官能基を有する(例えば、-COOHが-COO⁻であり得る)場合、塩を有機又は無機塩基で形成させ、好適なカチオンを生成させることができる。好適な無機カチオンの例としては、Li⁺、Na⁺、及びK⁺などのアルカリ金属イオン、Ca²⁺及びMg²⁺などのアルカリ土類金属カチオン、及びAl³⁺又はZn²⁺などの他のカチオンが挙げられるが、これらに限定されない。適切な有機カチオンの例としては、アンモニウムイオン(すなわち、NH₄⁺)及び置換アンモニウムイオン(例えば、NH₃R⁺、NH₂R₂⁺、NHR₃⁺、NR₄⁺)が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの好適な置換アンモニウムイオンの例としては、メチルアミン、エチルアミン、ジエチルアミン、プロピルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミン、及びトロメタミン、並びにリジン及びアルギニンなどのアミノ酸:に由来するものが挙げられる。一般的な第四級アンモニウムイオンの例は、N(CH₃)₄⁺である。

20

【0036】

本発明のペプチドがアミン機能を含有する場合、これらは、例えば、当業者に周知の方法によるアルキル化剤との反応によって、第四級アンモニウム塩を形成し得る。そのような第四級アンモニウム化合物は、本発明のペプチドの範囲内である。

30

【0037】

(修飾誘導体)

本明細書で定義されるペプチドリガンドの修飾誘導体は、本発明の範囲内であることが理解されるであろう。そのような好適な修飾誘導体の例としては、N-末端及び/又はC-末端修飾; 1以上のアミノ酸残基の1以上の非天然アミノ酸残基による置換(例えば、1以上の極性アミノ酸残基の1以上の等配電子又は等電子アミノ酸による置換; 1以上の非極性アミノ酸残基の他の非天然等配電子又は等電子アミノ酸による置換); スペーサー基の付加; 1以上の酸化感受性アミノ酸残基の1以上の酸化抵抗性アミノ酸残基による置換; 1以上のアミノ酸残基のアラニンによる置換、1以上のL-アミノ酸残基の1以上のD-アミノ酸残基による置換; 二環式ペプチドリガンド内の1以上のアミド結合のN-アルキル化; 1以上のペプチド結合の代用結合による置換; ペプチド骨格長の修飾; 1以上のアミノ酸残基の-炭素上の水素の別の化学基による置換、システイン、リジン、グルタミン酸/アスパラギン酸、及びチロシンなどのアミノ酸を官能基化するような、該アミノ酸の好適なアミン、チオール、カルボン酸、及びフェノール反応性試薬による修飾、並びに官能基化に好適である直交反応性を導入するアミノ酸、例えば、それぞれ、アルキン又はアジドを有する部分による官能基化を可能にするアジド又はアルキン基を有するアミノ酸の導入又は置換:から選択される1以上の修飾が挙げられる。

40

【0038】

50

一実施態様において、修飾誘導体は、N-末端及び/又はC-末端修飾を含む。さらなる実施態様において、ここで、修飾誘導体は、好適なアミノ反応化学を用いるN-末端修飾、及び/又は好適なカルボキシ反応化学を用いるC-末端修飾を含む。さらなる実施態様において、該N-末端又はC-末端修飾は、限定されないが、細胞毒性剤、放射性キレート剤、又は発色団を含む、エフェクター基の付加を含む。

【0039】

さらなる実施態様において、修飾誘導体は、N-末端修飾を含む。さらなる実施態様において、N-末端修飾は、N-末端アセチル基を含む。この実施態様において、N-末端システイン基(本明細書においてC_iと呼ばれる基)は、ペプチド合成の間に無水酢酸又は他の適切な試薬でカップリングされ、N-末端がアセチル化された分子をもたらす。この実施態様は、アミノペプチダーゼの潜在的な認識点を除去するという利点を提供し、二環式ペプチドの分解の可能性を回避する。

10

【0040】

代替の実施態様において、N-末端修飾は、エフェクター基のコンジュゲーション及びその標的に対する二環式ペプチドの効力の保持を促進する分子スペーサー基の付加を含む。

【0041】

さらなる実施態様において、修飾誘導体は、C-末端修飾を含む。さらなる実施態様において、C-末端修飾は、アミド基を含む。この実施態様において、C-末端システイン基(本明細書において、C_{iji}と呼ばれる基)は、ペプチド合成の間にアミドとして合成され、C-末端がアミド化された分子をもたらす。この実施態様は、カルボキシペプチダーゼの潜在的な認識点を除去するという利点を提供し、二環式ペプチドのタンパク質分解の可能性を低下させる。

20

【0042】

一実施態様において、修飾誘導体は、1以上のアミノ酸残基の1以上の非天然アミノ酸残基による置換を含む。この実施態様においては、分解性プロテアーゼによって認識されることも、標的効力に何らかの有害作用を有することもない等配電子/等電子側鎖を有する非天然アミノ酸を選択してもよい。

【0043】

或いは、近くのペプチド結合のタンパク質分解性加水分解が立体構造的に及び立体的に妨害されるように、拘束されたアミノ酸側鎖を有する非天然アミノ酸を使用してもよい。特に、これらは、プロリン類似体、嵩高い側鎖、C_β-二置換誘導体(例えば、アミノイソ酪酸、Aib)、及びアミノ-シクロプロピルカルボン酸の単純な誘導体であるシクロアミノ酸に関する。

30

【0044】

一実施態様において、修飾誘導体は、スペーサー基の付加を含む。さらなる実施態様において、修飾誘導体は、N-末端システイン(C_i)及び/又はC-末端システイン(C_{iji})へのスペーサー基の付加を含む。

【0045】

一実施態様において、修飾誘導体は、1以上の酸化感受性アミノ酸残基の1以上の酸化抵抗性アミノ酸残基による置換を含む。

40

【0046】

一実施態様において、修飾誘導体は、1以上の荷電アミノ酸残基の1以上の疎水性アミノ酸残基による置換を含む。代替の実施態様において、修飾誘導体は、1以上の疎水性アミノ酸残基の1以上の荷電アミノ酸残基による置換を含む。荷電アミノ酸残基と疎水性アミノ酸残基の正しいバランスは、二環式ペプチドリガンドの重要な特徴である。例えば、疎水性アミノ酸残基は、血漿タンパク質結合の程度、したがって、血漿中の利用可能な遊離画分の濃度に影響を及ぼし、一方、荷電アミノ酸残基(特に、アルギニン)は、ペプチドと細胞表面のリン脂質膜との相互作用に影響を及ぼす可能性がある。この2つの組合せは、ペプチド薬の半減期、分布容積、及び曝露に影響を及ぼす可能性があり、臨床的なエン

50

ドポイントに応じて調整することができる。さらに、荷電アミノ酸残基と疎水性アミノ酸残基の正しい組合せ及び数は、注射部位(ペプチド薬が皮下投与された場合)での刺激を軽減することができる。

【0047】

一実施態様において、修飾誘導体は、1以上のL-アミノ酸残基の1以上のD-アミノ酸残基による置換を含む。この実施態様は、立体障害により及び β -ターン立体構造を安定化させるD-アミノ酸の傾向により、タンパク質分解の安定性を高めると考えられる(Tugyiらの文献(2005) PNAS, 102(2), 413-418)。

【0048】

一実施態様において、修飾誘導体は、任意のアミノ酸残基の除去及びアラニンによる置換を含む。この実施態様は、潜在的なタンパク質分解攻撃部位を除去するという利点を有する。

10

【0049】

上述の修飾の各々は、ペプチドの効力又は安定性を意図的に向上させる役割を果たすことに留意すべきである。修飾に基づくさらなる効力向上は、以下の機序によって達成することができる:

- より高い親和性が達成されるように、疎水性効果を利用し、より低い解離速度をもたらす疎水性部位を組み込むこと;

- 長距離イオン相互作用を利用し、より速い会合速度をもたらす、より高い親和性をもたらす荷電基を組み込むこと(例えば、Schreiberらの文献、タンパク質の急速静電アシスト会合(Rapid, electrostatically assisted association of proteins)(1996)、Nature Struct. Biol. 3, 427-31を参照);並びに

20

- 例えば、エントロピーの損失が標的結合時に最小になるように、アミノ酸の側鎖を正しく拘束すること、エントロピーの損失が標的結合時に最小になるように、骨格のねじれ角度を拘束すること、及び同一の理由で分子内にさらなる環化を導入することにより、さらなる拘束性をペプチドに組み込むこと

(総説については、Gentilucciらの文献、Curr. Pharmaceutical Design, (2010), 16, 3185-203、及びNestorらの文献、Curr. Medicinal Chem (2009), 16, 4399-418を参照)。

【0050】

(同位体バリエーション)

本発明は、1以上の原子が、同じ原子番号を有するが、天然に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、本発明の医薬として許容し得る全ての(放射性)同位体標識ペプチドリガンド、並びに関連する(放射性)同位体を保持することができる金属キレート基が取り付けられている本発明のペプチドリガンド(「エフェクター」と呼ばれる)、並びに特定の官能基が関連する(放射性)同位体又は同位体標識された官能基で共有結合的に置き換えられている本発明のペプチドリガンドを含む。

30

【0051】

本発明のペプチドリガンドに含めるために好適な同位体の例は、水素の同位体、例えば、 2H (D)及び 3H (T)、炭素の同位体、例えば、 11C 、 13C 及び 14C 、塩素の同位体、例えば、 36Cl 、フッ素の同位体、例えば、 18F 、ヨウ素の同位体、例えば、 123I 、 125I 、及び 131I 、窒素の同位体、例えば、 13N 及び 15N 、酸素の同位体、例えば、 15O 、 17O 、及び 18O 、リンの同位体、例えば、 32P 、硫黄の同位体、例えば、 35S 、銅の同位体、例えば、 64Cu 、ガリウムの同位体、例えば、 67Ga 又は 68Ga 、イットリウムの同位体、例えば、 90Y 、並びにルテチウムの同位体、例えば、 177Lu 、並びにビスマスの同位体、例えば、 213Bi を含む。

40

【0052】

本発明の特定の同位体標識ペプチドリガンド、例えば、放射性同位体を組み込んでいるものは、薬物及び/又は基質の組織分布研究において有用である。本発明のペプチドリガン

50

ドは、標識化合物と他の分子、ペプチド、タンパク質、酵素、又は受容体との間の複合体の形成を検出又は同定するために使用することができるという点で、価値ある診断特性をさらに有することができる。検出又は同定方法は、例えば、放射性同位体、酵素、蛍光物質、発光物質(例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、イクオリン、及びルシフェラーゼ)などの標識剤で標識されている化合物を使用することができる。放射性同位体のトリチウム、すなわち、 $^3\text{H}(\text{T})$ 及び炭素-14、すなわち、 ^{14}C は、その組込みの容易さ及び検出の手段が用意されていることを考慮して、この目的のために特に有用である。

【0053】

重水素、すなわち、 $^2\text{H}(\text{D})$ などのより重い同位体による置換は、より大きい代謝安定性、例えば、増加したインビボ半減期又は低下した必要投薬量の結果として得られる、特定の治療的利点をもたらす場合があり、それゆえ、いくつかの状況では、好ましい場合がある。 10

【0054】

^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O 、及び ^{13}N などの陽電子放出同位体による置換は、標的占有率を調べるための陽電子放出トポグラフィー(PET)試験において有用であり得る。

【0055】

本発明のペプチドリガンドの同位体標識化合物は、通常、当業者に公知の従来 of 技法によるか、又は以前に利用されていた非標識試薬の代わりに適切な同位体標識試薬を使用する添付の実施例に記載されているものと類似のプロセスによって調製することができる。 20

【0056】

(エフェクター及び官能基)

本発明のさらなる態様によれば、1以上のエフェクター及び/又は官能基にコンジュゲートされた本明細書で定義されるペプチドリガンドを含む薬物コンジュゲートが提供される。

【0057】

エフェクター及び/又は官能基は、例えば、ポリペプチドのN及び/もしくはC末端に、ポリペプチド内のアミノ酸に、又は分子スキヤフォールドに取り付けることができる。

【0058】

適切なエフェクター基は、抗体及びその部分又は断片を含む。例えば、エフェクター基は、1以上の定型領域ドメインの他に、抗体軽鎖定型領域(CL)、抗体CH1重鎖ドメイン、抗体CH2重鎖ドメイン、抗体CH3重鎖ドメイン、又はこれらの任意の組合せを含むことができる。エフェクター基は、抗体のヒンジ領域(IgG分子のCH1ドメインとCH2ドメインの間に通常見られるそのような領域)を含み得る。 30

【0059】

本発明のこの態様のさらなる実施態様において、本発明によるエフェクター基は、IgG分子のFc領域である。有利には、本発明によるペプチドリガンド-エフェクター基は、1日以上、2日以上、3日以上、4日以上、5日以上、6日以上、もしくは7日以上のt_{1/2}半減期を有するペプチドリガンドFc融合体を含むか、又はそれからなるものである。最も有利には、本発明によるペプチドリガンドは、1日以上 of t_{1/2}半減期を有するペプチドリガンドFc融合体を含むか、又はそれからなる。 40

【0060】

官能基としては、一般に、結合基、薬物、他の実体の取付けのための反応基、大環状ペプチドの細胞への取込みを補助する官能基などが挙げられる。

【0061】

ペプチドが細胞内に透過する能力は、細胞内標的に対するペプチドが効果的になることを可能にする。細胞内に透過する能力を有するペプチドによりアクセスされ得る標的としては、転写因子、チロシンキナーゼなどの細胞内シグナル伝達分子、及びアポトーシス経路に参与する分子が挙げられる。細胞の透過を可能にする官能基としては、ペプチド又はペプチドもしくは分子スキヤフォールドのいずれかに付加された化学基が挙げられる。例え 50

ば、Chen及びHarrisonの文献、Biochemical Society Transactions(2007)、第35巻、第4部、821頁; Guptaらの文献、Advanced Drug Discovery Reviews(2004)、第57巻、9637に記載されている、例えば、VP22、HIV-Tat、ショウジョウバエのホメオボックスタンパク(アンテナペディア)などに由来するものなどのペプチド。細胞膜を通る移動に効率が良いことが示されている短いペプチドの例としては、ショウジョウバエのアンテナペディアタンパク質由来の16アミノ酸のペネトラチンペプチド(Derosiらの文献(1994) J Biol. Chem. 第269巻、10444頁)、18アミノ酸の「モデル両親媒性ペプチド」(Oehlkeらの文献(1998) Biochim Biophys Acts、第1414巻、127頁)、HIV TATタンパク質のアルギニンリッチ領域が挙げられる。非ペプチド性アプローチとしては、生体分子に容易に取り付けることができる低分子模倣物又はSMOCの使用が挙げられる(Okuyamaらの文献(2007) Nature Methods、第4巻、153頁)。分子にグアニジニウム基を付加する他の化学的戦略も、細胞透過を増強する(Elson-Scwabらの文献(2007) J Biol Chem、第282巻、13585頁)。ステロイドなどの低分子量の分子を分子スキャフォールドに付加して、細胞への取込みを増強することができる。

10

【0062】

ペプチドリガンドに取り付けることができる官能基の1つのクラスとしては、抗体及びその結合断片、例えば、Fab、Fv、又は単一ドメイン断片が挙げられる。特に、ペプチドリガンドの半減期をインビボで増加させることができるタンパク質に結合する抗体を使用することができる。

20

【0063】

一実施態様において、本発明によるペプチドリガンドエフェクター基は：12時間以上、24時間以上、2日以上、3日以上、4日以上、5日以上、6日以上、7日以上、8日以上、9日以上、10日以上、11日以上、12日以上、13日以上、14日以上、15日以上、又は20日以上からなる群から選択されるt_{1/2}半減期を有する。有利には、本発明によるペプチドリガンド-エフェクター基又は組成物は、12時間～60時間の範囲のt_{1/2}半減期を有する。さらなる実施態様において、それは、1日以上の上のt_{1/2}半減期を有する。なおさらなる実施態様において、それは、12～26時間の範囲である。

【0064】

本発明の1つの特定の実施態様において、官能基は、医薬関連の金属放射性同位体を錯化させるのに好適である金属キレート剤から選択される。

30

【0065】

可能なエフェクター基としては、例えば、ペプチドリガンドがADEPTにおいて抗体の代わりになる酵素/プロドラッグ療法において使用するためのカルボキシペプチダーゼG2などの酵素も挙げられる。

【0066】

本発明の1つの特定の実施態様において、官能基は、癌療法のための細胞毒性剤などの薬物から選択される。好適な例としては：シスプラチン及びカルボプラチン、並びにオキサリプラチン、メクロレタミン、シクロホスファミド、クロラムブシル、イホスファミドなどのアルキル化剤；プリン類似体のアザチオプリン及びメルカプトプリン又はピリミジン類似体を含む代謝拮抗剤；ピンクリスチン、ピンブラスチン、ピノレルピン、及びピンデシンなどのピンカルカロイドを含む植物アルカロイド及びテルペノイド；ポドフィロトキシン並びにその誘導体エトポシド及びテニポシド；当初はタキソールとして知られた、パクリタキセルを含む、タキサン；カンプトテシンを含むトポイソメラーゼ阻害剤；イリノテカン及びトポトテカン、並びにアムサクリン、エトポシド、リン酸エトポシド、及びテニポシドを含むII型阻害剤が挙げられる。さらなる薬剤としては、免疫抑制物質ダクチノマイシン(これは、腎移植に使用される)、ドキシソルピシン、エビルピシン、プレオマイシン、カリケアマイシンなどを含む抗腫瘍性抗生物質を挙げることができる。

40

【0067】

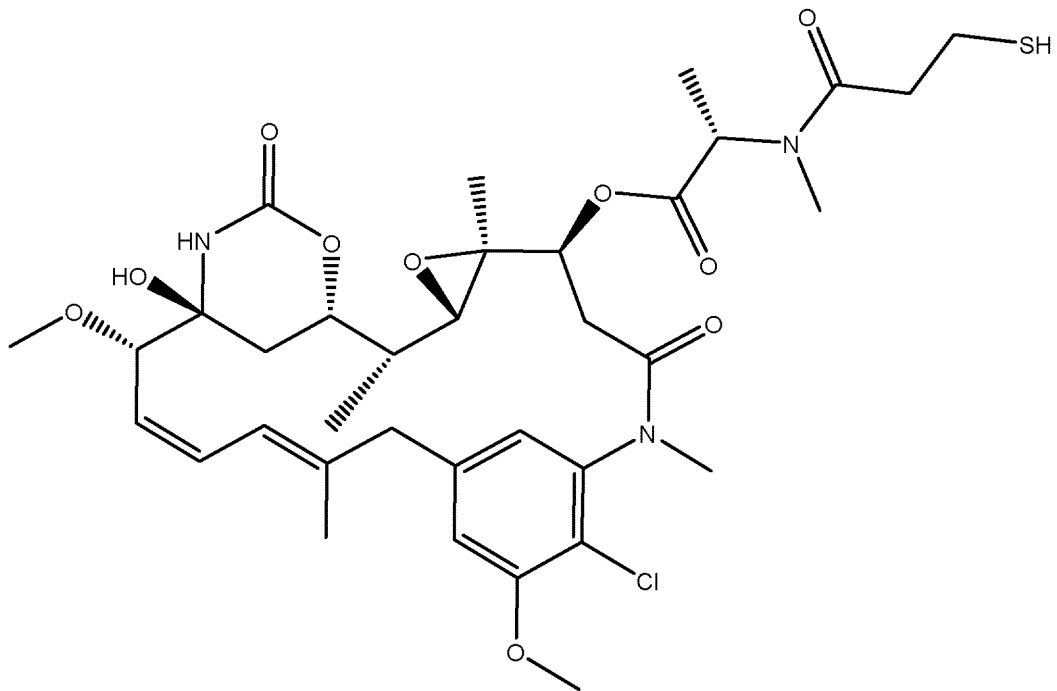
本発明の1つのさらなる特定の実施態様において、細胞毒性剤は、メイタンシノイド(例えば、DM1)又はモノメチルオーリスタチン(例えば、MMAE)から選択される。

50

【 0 0 6 8 】

DM1は、メイタンシンのチオール含有誘導体である細胞毒性剤であり、以下の構造を有する：

【 化 1 0 】



10

20

。

【 0 0 6 9 】

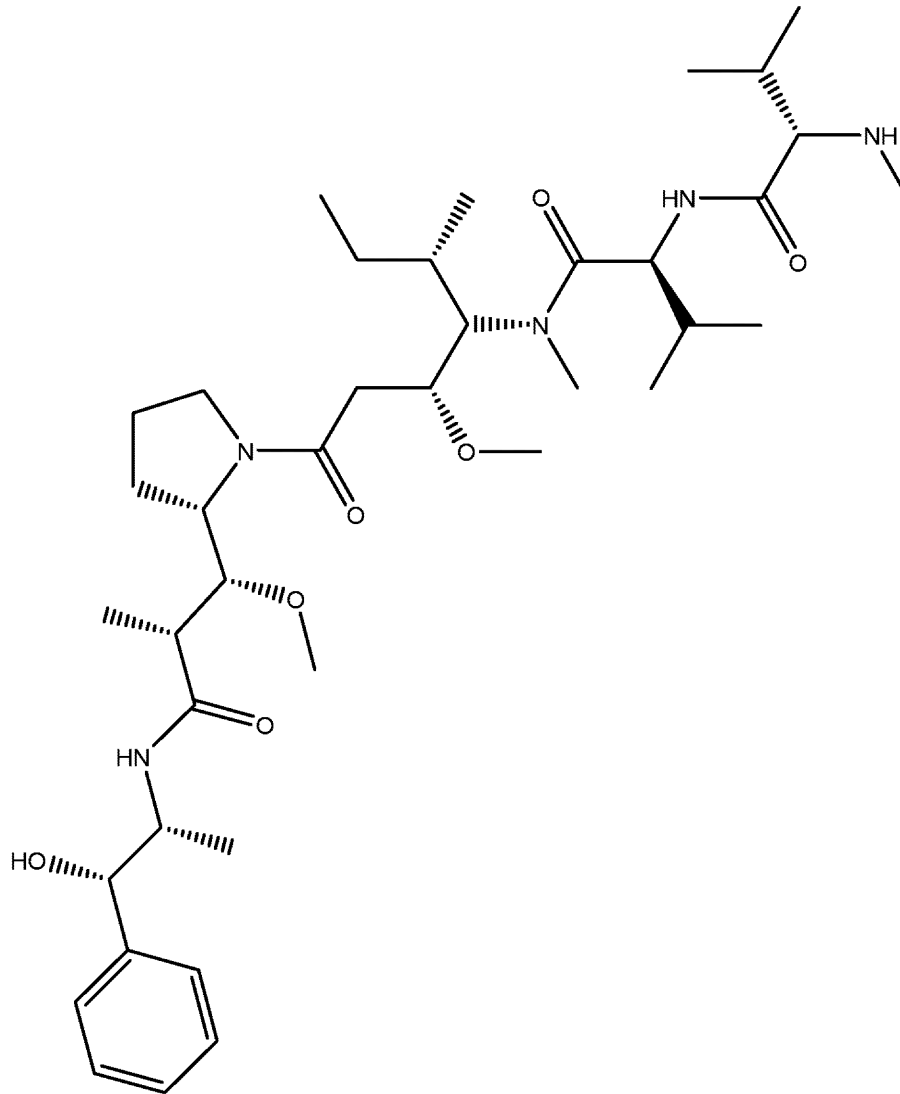
モノメチルオーリスタチンE(MMAE)は、合成抗新生物剤であり、以下の構造を有する：

30

40

50

【化 1 1】



10

20

30

【 0 0 7 0 】

本発明の1つのまたさらなる特定の実施態様において、細胞毒性剤は、モノメチルオーリスチンE(MMAE)から選択される。MMAEを含有する毒素にコンジュゲートされたペプチドリガンドの効果を示すデータは、本明細書中、図1並びに表4及び5に示されている。

【 0 0 7 1 】

一実施態様において、細胞毒性剤は、ジスルフィド結合又はプロテアーゼ感受性結合などの切断可能な結合によって二環式ペプチドに連結される。さらなる実施態様において、ジスルフィド結合に隣接する基は、ジスルフィド結合の障害、並びにこれにより、細胞毒性剤の切断及びそれに付随する放出の速度を制御するように修飾される。

40

【 0 0 7 2 】

発表された研究により、ジスルフィド結合のどちらかの側に立体障害を導入することにより、還元に対するジスルフィド結合の感受性を修飾する可能性が確立された(Kelloggらの文献(2011) Bioconjugate Chemistry, 22, 717)。より大きい程度の立体障害は、細胞内グルタチオン、そしてまた細胞外(全身)還元剤による還元の速度を低下させ、結果的に、細胞の内側と外側の両方において、毒素が放出される容易さを低下させる。したがって、細胞内環境における効率的な放出(これは、治療効果を最大化する)の最適化と対比した循環中のジスルフィド安定性(これは、毒素の望ましくない副作用を最小化する)に

50

おける最適条件の選択は、ジスルフィド結合のどちらかの側における障害の程度の注意深い選択によって達成することができる。

【0073】

ジスルフィド結合のどちらかの側における障害は、標的化実体(ここでは、二環式ペプチド)又は分子コンストラクトの毒素側のどちらかに1以上のメチル基を導入することにより調節される。

【0074】

一実施態様において、細胞毒性剤及びリンカーは、WO 2016/067035号に記載されているものの任意の組合せから選択される(該細胞毒性剤及びそのリンカーは、引用により本明細書中に組み込まれる)。

【0075】

一実施態様において、該細胞毒性剤と該二環式ペプチドの間のリンカーは、1以上のアミノ酸残基を含む。好適なリンカーとしての好適なアミノ酸残基の例としては、Ala、Cit、Lys、Trp、及びValが挙げられる。

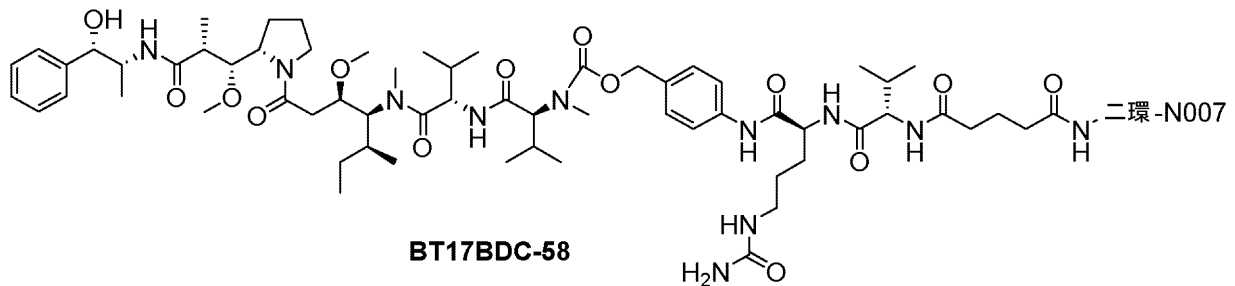
【0076】

一実施態様において、細胞毒性剤はMMAEから選択され、該薬物コンジュゲートは：-PABC-Cit-Val-グルタリル-又は-PABC-シクロブチル-Ala-Cit-Ala-(ここで、PABCは、p-アミノベンジルカルバメートを表す)から選択されるリンカーをさらに含む。シクロブチル含有リンカーの完全な詳細は、Weiらの文献(2018) J. Med. Chem. 61, 989-1000に見出すことができる。さらなる実施態様において、細胞毒性剤はMMAEから選択され、リンカーは、-PABC-Cit-Val-グルタリル-である。

【0077】

一実施態様において、細胞毒性剤はMMAEであり、二環式ペプチドは、(B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)から選択され、リンカーは、-PABC-Cit-Val-グルタリル-から選択される。このBDCは、本明細書において、以下のように模式的に表されるBT17BDC58として知られる：

【化12】



(ここで、二環-N007は、(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9として知られる(B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)を表す)。

【0078】

用量依存的な抗腫瘍活性を示すデータは、本明細書中、図1並びに表4及び5に示されている。

【0079】

(合成)

本発明のペプチドは、標準的な技法によって合成的に製造した後、インビトロで分子スキキャフォールドと反応させることができる。これを実施する場合、標準的な化学を使用することができる。これにより、さらなる下流での実験又は検証のための可溶性材料の迅速な大規模調製が可能になる。そのような方法は、Timmermanらの文献(上記)に開示されているもののような従来の化学を用いて達成され得る。

【0080】

したがって、本発明はまた、本明細書に記載されているように選択されるポリペプチドの

10

20

30

40

50

製造に関するものであり、ここで、該製造は、以下に説明されるような任意のさらなる工程を含む。一実施態様において、これらの工程は、化学合成によって作られた最終生成物のポリペプチドに対して実施される。

【0081】

ペプチドを伸長させて、例えば、別のループを組み込み、それゆえ、複数の特異性を導入することもできる。

【0082】

ペプチドを伸長させるために、それは、単純に、標準的な固相又は液相化学を用いて、直交保護されたリジン(及び類似体)を用いて、そのN-末端もしくはC-末端で又はループ内で化学的に伸長されてもよい。標準的な(バイオ)コンジュゲーション技法を用いて、活性化された又は活性化可能なN-又はC-末端を導入してもよい。或いは、付加は、例えば、(Dawsonらの文献、1994、ネイティブケミカルライゲーションによるタンパク質の合成(Synthesis of Proteins by Native Chemical Ligation). Science 266:776-779)に記載されている断片縮合もしくはネイティブケミカルライゲーションによるか、又は例えば(Changらの文献、Proc Natl Acad Sci U S A. 1994 Dec 20; 91(26):12544-8もしくはHikariらの文献、Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters、第18巻、第22号、2008年11月15日、6000~6003頁)に記載されているサブチリガーゼを用いて、酵素により行われてもよい。

10

【0083】

或いは、ペプチドは、ジスルフィド結合を介するさらなるコンジュゲーションによって伸長又は修飾されてもよい。これは、第一及び第二のペプチドが細胞の還元環境内で互いに解離することを可能にするという追加の利点を有する。この場合、分子スキャフォールド(例えば、TATA)は、3つのシステイン基と反応するように第一のペプチドの化学合成の間に付加されることができ;その後、さらなるシステイン又はチオールが第一のペプチドのN又はC-末端に付加されることができ、その結果、このシステイン又はチオールが第二のペプチドの遊離のシステイン又はチオールとのみ反応して、ジスルフィド結合した二環式ペプチド-ペプチドコンジュゲートを形成した。

20

【0084】

同様の技法は、四重特異性分子を潜在的に生じさせる、2つの二環式二重特異性大環状分子の合成/カップリングに等しく適用される。

30

【0085】

さらに、他の官能基又はエフェクター基の付加は、適切な化学を用いて、N-もしくはC-末端で、又は側鎖を介してカップリングさせて、同じ方法で達成されてもよい。一実施態様において、カップリングは、いずれかの実体の活性を遮断しないような方法で実行される。

【0086】

(医薬組成物)

本発明のさらなる態様によれば、本明細書で定義されるペプチドリガンドを1以上の医薬として許容し得る賦形剤との組合せで含む医薬組成物が提供される。

【0087】

通常、本ペプチドリガンドは、薬理的に適切な賦形剤又は担体と一緒に精製された形態で利用される。典型的には、これらの賦形剤又は担体は、生理食塩水及び/又は緩衝化媒体を含む、水性もしくはアルコール/水性溶液、エマルジョン、又は懸濁液を含む。非経口ビヒクルとしては、塩化ナトリウム溶液、リンガーデキストロース、デキストロース、及び塩化ナトリウム、並びに乳酸加リンガーが挙げられる。生理的に許容し得る好適なアジュバントは、ポリペプチド複合体を懸濁状態に保つために必要な場合、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、及びアルギネートなどの増粘剤から選択されてもよい。

40

【0088】

静脈内ビヒクルとしては、流体及び栄養補充液及び電解質補充液、例えば、リンガーデキ

50

ストロースに基づくものが挙げられる。また、防腐剤並びに他の添加物、例えば、抗微生物薬、抗酸化剤、キレート剤、及び不活性ガスが存在してもよい(Mackの文献(1982)、レミントンの医薬品化学(Remington's Pharmaceutical Sciences)、第16版)。

【0089】

本発明の化合物は、単独で又は別の薬剤(単数もしくは複数)と組み合わせて使用することができる。組み合わせて使用するための他の薬剤は、例えば、別の抗生物質、又はグラム陰性細菌への透過性を改善する薬剤、耐性決定因子の阻害剤、もしくは病原性メカニズムの阻害剤などの抗生物質「アジュバント」であってもよい。

【0090】

本発明の化合物と組み合わせて使用するための好適な抗生物質としては、以下のものが挙げられるが、これらに限定されない:

ペニシリン、セファロスポリン、カルバペネム、又はモノバクタムなどのラクタム。好適なペニシリンとしては、オキサシリン、メチシリン、アンピシリン、クロキサシリン、カルベニシリン、ピペラシリン、トリカルシリン、フルクロキサシリン、及びナフチリンが挙げられ;好適なセファロスポリンとしては、セファゾリン、セファレキシム、セファロチン、セフトアジジム、セフェピム、セフトピプロール、セフトアロリン、セフトロザン、及びセフィデロコルが挙げられ;好適なカルバペネムとしては、メロペネム、ドリペネム、イミペネム、エルタペネム、ピアペネム、及びテビペネムが挙げられ;好適なモノバクタムとしては、アズトレオナムが挙げられる;

クリンダマイシン及びリンコマイシンなどのリンコサミド;

アジスロマイシン、クラリスロマイシン、エリスロマイシン、テリスロマイシン、及びソリスロマイシンなどのマクロライド;

チゲサイクリン、オマダサイクリン、エラバサイクリン、ドキシサイクリン、及びミノサイクリンなどのテトラサイクリン;

シプロフロキサシン、レボフロキサシン、モキシフロキサシン、及びデラフロキサシンなどのキノロン;

リファンピシン、リファブチン、リファラジル、リファベンチン、及びリファキシミンなどのリファマイシン;

ゲンタマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、アミカシン、及びプラゾマイシンなどのアミノグリコシド;

バンコマイシン、テイコプラニン、テラバンシン、ダルババンシン、及びオリタバンシンなどのグリコペプチド;

レファムリンなどのプレウロムチリン

リネゾリド又はテディゾリドなどのオキサゾリジノン

ポリミキシンB又はコリスチンなどのポリミキシン;

トリメトプリム、イクラプリム、スルファメトキサゾール;

メトロニダゾール;

フィダクソミシン;

ムピロシン;

フシジン酸;

ダブトマイシン;

ムレパビジン;

フォスフォマイシン;並びに

ニトロフラントイン。

【0091】

好適な抗生物質「アジュバント」としては、以下のものが挙げられるが、これらに限定されない:

外膜透過剤又は排出ポンプ阻害剤などの細菌への取込みを改善することが知られている薬剤;外膜透過剤としては、ポリミキシンBノナペプチドもしくは他のポリミキシン類似体、又はエデト酸ナトリウムを挙げることができる;

-ラクタマーゼ阻害剤などの耐性機構の阻害剤；好適な -ラクタマーゼ阻害剤としては、クラブラン酸、タゾバクタム、スルバクタム、アピバクタム、レレバクタム、及びナクバクタムが挙げられる；並びに抗体を含む、毒素及び分泌系などの病原性メカニズムの阻害剤。

【0092】

本発明の化合物は、核酸ベースの療法、抗体、バクテリオファージ、又はファージリシンなどの生物学的療法と組み合わせて使用することもできる。

【0093】

本発明による医薬組成物の投与の経路は、当業者に一般的に公知の任意のものであってもよい。療法のために、本発明のペプチドリガンドは、標準的な技法に従って任意の患者に投与することができる。投与の経路としては、経口(例えば、摂取による)；頬側；舌下；経皮(例えば、パッチ、絆創膏などによるものを含む)；経粘膜(例えば、パッチ、絆創膏などによるものを含む)；鼻腔内(例えば、鼻腔スプレーによるもの)；眼(例えば、点滴によるもの)；肺(例えば、口又は鼻からの、例えば、エアロゾルを介するものを用いる、例えば、吸入又は吹送療法によるもの)；直腸(例えば、坐剤又は浣腸剤によるもの)；膣(例えば、ペッサリーによるもの)；非経口、例えば、皮下、皮内、筋肉内、静脈内、動脈内、心臓内、髄腔内、脊髄内、関節包内、被膜下、眼窩内、腹腔内、気管内、表皮下、関節内、くも膜下、及び胸骨内を含む、注射によるもの；例えば、皮下又は筋肉内へのデポ又はリザーバーの移植によるものが挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、本発明による医薬組成物は、非経口投与される。投薬量及び投与の頻度は、患者の年齢、性別、及び状態、他の薬物の同時的な投与、禁忌、並びに臨床医によって考慮される他のパラメーターによって決まる。

【0094】

本発明のペプチドリガンドは、保存前に凍結乾燥し、使用前に好適な担体中で再構成することができる。この技法は、効果的であることが示されており、当技術分野で公知の凍結乾燥及び再構成技法を利用することができる。凍結乾燥及び再構成は様々な程度の活性損失をもたらし得ること、及び補償するために、レベルを上方に調整する必要があることが当業者によって理解されるであろう。

【0095】

本発明のペプチドリガンド又はそのカクテルを含有する組成物は、治療的処置のために投与することができる。特定の治療用途において、選択される細胞の集団の少なくとも部分的な阻害、抑制、調節、死滅化、又は何らかの他の測定可能なパラメーターを達成するために十分な量は、「治療有効用量」として定義される。この投薬量を達成するために必要とされる量は、疾患の重症度及び患者自身の免疫系の全般的な状態によって決まるが、概ね、体重1キログラム当たり10 µg ~ 250 mgの選択されるペプチドリガンドの範囲であり、100 µg ~ 25 mg/kg/の用量がより一般的に使用される。

【0096】

本発明によるペプチドリガンドを含有する組成物を治療的な設定で利用して、微生物感染を治療するか、或いは感染のリスクに曝されている、例えば、外科手術、化学療法、人工呼吸、又は他の条件もしくは計画的介入を受けている対象に対する予防を提供することができる。さらに、本明細書に記載されるペプチドリガンドを体外で又はインビトロで選択的に用いて、細胞の異成分集合体から標的細胞集団を選択的に死滅させるか、枯渇させるか、又は他の形で効果的に除去することができる。哺乳動物由来の血液を選択されたペプチドリガンドと体外で組み合わせることができ、それにより、標準的な技法に従って哺乳動物に戻すために、望ましくない細胞を死滅させるか、又は別の形で血液から除去する。

【0097】

(治療的使用)

本発明の二環式ペプチドは、膜1型メタロプロテアーゼ(MMP14としても知られるMT1-MMP)の高親和性バインダーとしての特定の有用性を有する。MT1-MMPは、直接的には、その構成要素のいくつかを分解することにより、及び間接的には、プロ-MMP2を活

10

20

30

40

50

性化することにより、細胞外マトリックスの再構築において重要な役割を果たす、膜貫通型メタロプロテアーゼである。MT1-MMPは、腫瘍血管新生に極めて重要であり(Souniらの文献(2002) FASEB J. 16(6), 555-564)、種々の固形腫瘍で過剰発現しており、それゆえ、本発明のMT1-MMP結合性二環ペプチドを含む薬物コンジュゲートは、癌、特に、非小細胞肺癌などの固形腫瘍の標的化治療において特別な有用性を有する。一実施態様において、本発明の二環式ペプチドは、ヒトMT1-MMPに特異的である。さらなる実施態様において、本発明の二環式ペプチドは、マウスMT1-MMPに特異的である。またさらなる実施態様において、本発明の二環式ペプチドは、ヒト及びマウスMT1-MMPに特異的である。またさらなる実施態様において、本発明の二環式ペプチドは、ヒト、マウス、及びイヌMT1-MMPに特異的である。

10

【0098】

本発明のポリペプチドリガンドは、インビボ治療及び予防用途、インビトロ及びインビボ診断用途、インビトロアッセイ及び試薬用途などに利用することができる。選択されたレベルの特異性を有するリガンドは、交差反応性が望ましい非ヒト動物での試験を伴う用途において、又はホモログもしくはパラログとの交差反応性が注意深く制御される必要がある診断用途において有用である。ワクチン用途などのいくつかの用途において、所定の範囲の抗原に対する免疫反応を誘発する能力を利用して、ワクチンを特定の疾患及び病原体に合わせて調整することができる。

【0099】

少なくとも90~95%の均質性を有する実質的に純粋なペプチドリガンドが哺乳動物への投与に好ましく、98~99%又はそれを上回る均質性が、医薬用途に、特に、哺乳動物がヒトである場合に、最も好ましい。ひとたび、所望に応じて部分的に又は均質になるまで精製されれば、選択されたポリペプチドは、診断的にもしくは治療的に(体外を含む)、又はアッセイ手順、免疫蛍光染色などの開発及び実施において使用することができる(Lefkovite及びPernisの文献(1979及び1981)、Immunological Methods、第I巻及び第II巻、Academic Press, NY)。

20

【0100】

本発明のペプチドリガンドのコンジュゲートは、典型的には、癌、特に、非小細胞肺癌などの固形腫瘍の予防、抑制、又は治療において使用される。

【0101】

したがって、本発明のさらなる態様によれば、癌、特に、非小細胞肺癌などの固形腫瘍の予防、抑制、又は治療に使用するための、本明細書で定義されるペプチドリガンドの薬物コンジュゲートが提供される。

30

【0102】

本発明のさらなる態様によれば、癌、特に、非小細胞肺癌などの固形腫瘍を予防、抑制、又は治療する方法であって、それを必要としている患者に、本明細書で定義されるペプチドリガンドの薬物コンジュゲートを投与することを含む、方法が提供される。

【0103】

治療(又は抑制)され得る癌(及びその良性対応物)の例としては、上皮起源の腫瘍(腺癌、扁平上皮癌、移行細胞癌、及び他の癌腫を含む、様々なタイプの腺腫及び癌腫)、例えば、膀胱及び尿路、乳房、消化管(食道、胃(stomach)(胃(gastric))、小腸、結腸、直腸、並びに肛門を含む)、肝臓(肝細胞癌)、胆嚢及び胆管系、外分泌膵臓、腎臓、肺(例えば、腺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、気管支肺胞上皮癌、及び中皮腫)、頭頸部(例えば、舌、口腔、喉頭、咽頭、上咽頭、扁桃、唾液腺、鼻腔、及び副鼻腔の癌)、卵巣、卵管、腹膜、膣、外陰部、陰茎、子宮頸部、子宮筋層、子宮内膜、甲状腺(例えば、甲状腺濾胞癌)、副腎、前立腺、皮膚、及び付属器の癌(黒色腫、基底細胞癌、扁平上皮細胞癌、角化棘細胞腫、異形成母斑);血液悪性腫瘍(すなわち、白血病、リンパ腫)並びに前悪性血液障害及びリンパ系譜の血液悪性腫瘍及び関連疾患を含む境界領域悪性腫瘍(例えば、急性リンパ性白血病[ALL]、慢性リンパ性白血病[CLL]、B細胞リンパ腫、例えば、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫[DLBCL]、濾胞性リンパ腫、バーキットリンパ腫、マントル細胞

40

50

リンパ腫、T細胞リンパ腫及び白血病、ナチュラルキラー[NK]細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、有毛細胞白血病、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症、形質細胞腫、多発性骨髄腫、及び移植後リンパ増殖性障害)、並びに骨髄系譜の血液悪性腫瘍及び関連疾患(例えば、急性骨髄性白血病[AML]、慢性骨髄性白血病[CML]、慢性骨髄単球性白血病[CMML]、好酸球増多症候群、骨髄増殖性障害、例えば、真性多血症、本態性血小板血症、及び原発性骨髄線維症、骨髄増殖性症候群、骨髄異形成症候群、並びに前骨髄細胞性白血病);間葉起源の腫瘍、例えば、軟部組織、骨、もしくは軟骨の肉腫、例えば、骨肉腫、線維肉腫、軟骨肉腫、横紋筋肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、血管肉腫、カポジ肉腫、ユーイング肉腫、滑膜肉腫、類上皮性肉腫、消化管間質性腫瘍、良性及び悪性の組織球腫、並びに隆起性皮膚線維肉腫;中枢もしくは末梢神経系の腫瘍(例えば、星細胞腫、神経膠腫、及び膠芽細胞腫、髄膜腫、上衣腫、松果体腫瘍、及びシュワン細胞腫);内分泌腫瘍(例えば、下垂体腫瘍、副腎腫瘍、膵島細胞腫瘍、副甲状腺腫瘍、カルチノイド腫瘍、及び甲状腺の髄様癌);眼球及び付属器腫瘍(例えば、網膜芽腫);生殖細胞及び栄養膜腫瘍(例えば、奇形腫、精上皮腫、未分化胚細胞腫、胞状奇胎、及び絨毛癌);並びに小児性及び胎児性腫瘍(例えば、髄芽腫、神経芽腫、ウィルムス腫瘍、および未分化神経外胚葉性腫瘍);又は患者を悪性腫瘍に罹りやすい状態にしておく先天性もしくはその他の症候群(例えば、色素性乾皮症)が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0104】

「予防」という用語への本明細書における言及は、疾患の誘導前の防御的な組成物の投与を含む。「抑制」は、誘導性事象の後であるが、疾患の臨床的出現の前の組成物の投与を指す。「治療」は、疾患症状が顕在化した後の防御的な組成物の投与を含む。

20

【0105】

疾患からの防御又は疾患の治療における薬物コンジュゲートの有効性をスクリーニングするために使用することができる動物モデル系が利用可能である。動物モデル系の使用は、ヒト及び動物の標的と交差反応することができるポリペプチドリガンドの開発を可能にする本発明によって促進される。

【0106】

本発明を、以下の実施例を参照して、以下でさらに説明する。

【実施例】

【0107】

(実施例)

(材料及び方法)

(ペプチド合成)

ペプチド合成は、Peptide Instrumentsにより製造されたSymphonyペプチド合成装置及びMultiSynTech製のSyro II合成装置を用いるFmoc化学に基づいた。標準的なFmoc-アミノ酸(Sigma, Merck)を適切な側鎖保護基とともに利用し;適用可能な場合、標準的なカップリング条件を各々の場合に使用し、その後、標準的な方法論を用いて、脱保護を行った。

【0108】

或いは、HPLCを用いてペプチドを精製し、単離後、これを1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン(TATA, Sigma)で修飾した。このために、直鎖状ペプチドを50:50のMeCN:H₂Oで約35mLまで希釈し、アセトニトリル中の約500µLの100mM TATAを添加し、H₂O中の5mLの1M NH₄HCO₃で反応を開始させた。反応をRTで約30分から60分間進行させておき、(MALDIにより判断して)反応が終了したら、凍結乾燥させた。終了したら、H₂O中の1mlの1M L-システイン塩酸塩一水和物(Sigma)を反応液にRTで約60分間添加して、余分なTATAをクエンチした。凍結乾燥後、修飾されたペプチドを上記のように精製し、一方、Luna C8をGemini C18カラム(Phenomenex)と交換し、酸を0.1%トリフルオロ酢酸に変更した。正しいTATA修飾材料を含有する純粋な画分をプールし、凍結乾燥させ、保存のために-20 で保持した。

40

【0109】

50

別途特記しない限り、アミノ酸は全て、L-立体配置で使用した。

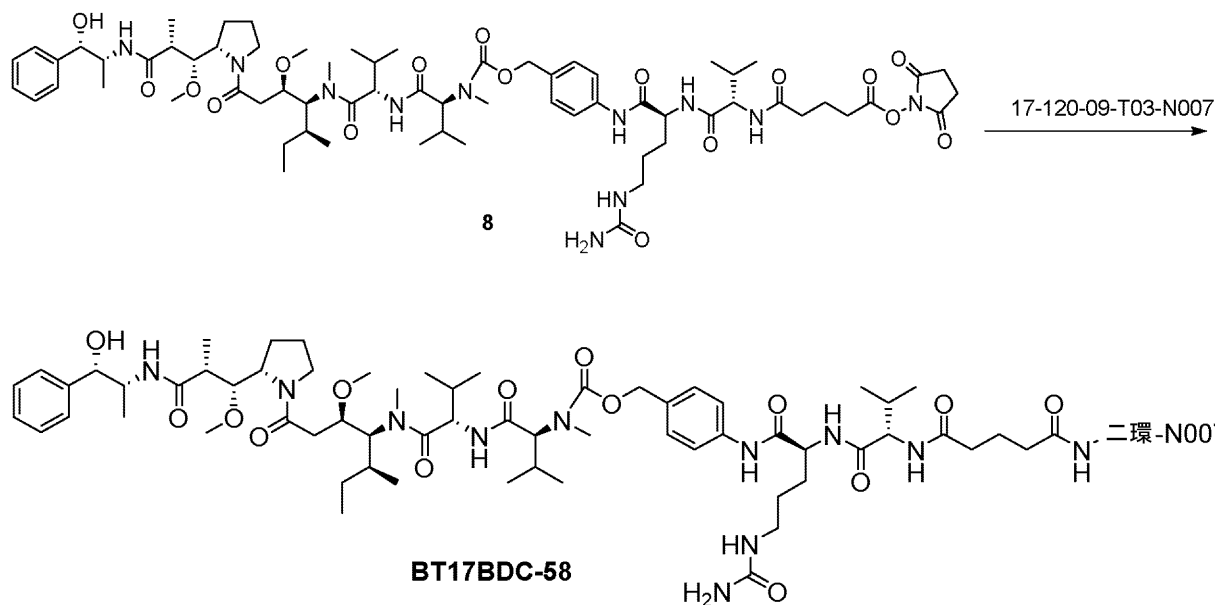
【0110】

場合によっては、ペプチドを活性化ジスルフィドに変換した後、以下の方法を用いて、毒素の遊離チオール基とカップリングさせる；4-メチル(スクシンイミジル 4-(2-ピリジリチオ)ペンタノエート)(100mM)の無水DMSO(1.25mol当量)溶液をペプチド(20mM)の無水DMSO(1mol当量)溶液に添加した。反応液をよく混合し、DIPEA(20mol当量)を添加した。反応を終了するまでLC/MSによりモニタリングした。

【0111】

(二環式薬物コンジュゲートBT17BDC58の調製)

【化13】



DMA(5mL)中の(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9)としても知られる二環-NH₂((B-Ala)-Sar10-ALPP-(配列番号17)(66mg、22.4 μmol、1.00当量)を含有する50mLの丸底フラスコを窒素バルーンを用いてパージした。その後、DIEA(2.91mg、112.4 μmol、19.6 μL、5当量)を25 °Cで撹拌しながら添加した。その後、化合物8(これは、化合物8についてWO 2018/127699号に記載されている方法に従って調製した)(30.00mg、22.48 μmol、1.00当量)を添加し、反応液を、正の窒素雰囲気下、25 °Cで16時間撹拌した。LC-MSにより、化合物8が完全に消費され、所望のMSを有する1つの主ピークが検出されることが示された。得られた反応混合物を分取HPLC(TFA条件)により精製した。化合物BT17BDC58(20.2mg、4.85 μmol、21.56%収率)が白色の固形物として得られた。

【0112】

(生物学的データ)

(MT1-MMP蛍光偏光競合結合アッセイ)

MT1-MMPヘモペキシンドメイン(PEX)に対するその高い親和性のために、17-69-07及び17-69-12の蛍光化誘導体(17-69-07-N040、17-69-07-N041、及び17-69-12-N004と表される)を競合実験に使用することができる(検出用にFPを使用する)。

【0113】

ここでは、予め形成されたPEXと蛍光PEX結合トレーサーとの複合体を遊離の非蛍光化二環式ペプチドで滴定する。17-69ベースのペプチドは全て、同じ部位で結合すると考えられるので、滴定剤は、蛍光トレーサーをPEXから移動させることになる。複合体の解離を定量的に測定し、標的タンパク質に対する競合因子(滴定剤)のK_dを決定することができる。この競合方法の利点は、非蛍光化二環式ペプチドの親和性を正確かつ迅速に決定することができることである。

10

20

30

40

50

【0114】

トレーサーの濃度は、通常、 K_d 以下(ここでは、1nM)であり、結合タンパク質(ここでは、MT1-MMPのヘモペキシン)は、トレーサーの>90%が結合するように、15倍過剰である。続いて、非蛍光競合因子の二環式ペプチド(通常、ただの二環コア配列)が蛍光トレーサーを標的タンパク質から移動させるように、これを滴定する。トレーサーの移動を測定し、蛍光偏光の低下と関連付ける。蛍光偏光の低下は、非蛍光滴定剤と結合した標的タンパク質の割合に比例しており、したがって、標的タンパク質に対する滴定剤の親和性の尺度である。

【0115】

ある実験において、コラーゲン結合トレーサー(すなわち、17-88-N006及び17-88-26-N002)をヘモペキシン結合トレーサーと類似の方法で使用した。

10

【0116】

生データは、蛍光トレーサーと滴定剤と結合タンパク質の間の平衡を記述する3次方程式の解析的解法に適合する。適合は、標的タンパク質に対する蛍光トレーサーの親和性の値を必要とし、これは、直接結合FP実験(前節を参照)によって個別に決定することができる。曲線フィッティングは、Sigmaplot 12.0を用いて行い、Zhi-Xin Wangの文献(F EBS Letters 360(1995) 111-114)に記載されている方程式の改変版を使用した。

表1: 蛍光偏光競合アッセイで使用されたトレーサーの特徴データ

【表1】

名前	配列	スキヤフォールド	K_d (nM) (直接結合)	結合部位
17-69-07-N040	ACYNEFGCEDFYDICA[Sar] ₆ [KFI] ((配列番号: 140)-[Sar] ₆ [KFI])	TBMB	0.52	ヘモペキシン
17-69-12-N004	[FI]G[Sar] ₅ ACMNQFGCEDFYDICA ([FI]G[Sar] ₅ -(配列番号: 141))	TBMB	1.0	ヘモペキシン
17-69-07-N041	[FI]G[Sar] ₅ ACYNEFACEDFYDICA ([FI]G[Sar] ₅ -(配列番号: 142))	TBMB	3.4	ヘモペキシン
17-88-N006	ACPYSWETCLFGDYRCA[Sar] ₆ [KFI] ((配列番号: 143)-[Sar] ₆ [KFI])	TBMB	14	コラーゲン
17-88-226-N002	ACPYDWATCLFGDYRCA[Sar] ₆ [KFI] ((配列番号: 144)-[Sar] ₆ [KFI])	TBMB	50	コラーゲン

20

30

【0117】

本発明の特定のペプチドリガンドを上述の結合アッセイで試験した。結果は、表2に示されている:

40

表2: 本発明の選択されたペプチドリガンドの競合結合データ

50

【表 2】

二環名	トレーサー	Kd (nM ± 95% CI)
17-108-02	17-88-N006	4488.4 ± 545.85
17-111-01	17-69-07-N041	1800 n=1
17-111-02	17-69-07-N041	2300 n=1
17-116-01	17-69-07-N040	352 n=1
17-120-00	17-88-N006	923 ± 287.43
17-120-01	17-88-N006	310.33 ± 30.89
17-120-02	17-88-N006	190.2 ± 37.57
17-120-03	17-88-N006	603.56 ± 35
17-120-04	17-88-N006	224.5 n=1
17-120-05	17-69-07-N040	> 279.5 ± 69.3
17-120-07	17-88-N006	273 ± 119.56
17-120-08	17-88-N006	258 ± 101.92
17-120-09-T01	17-88-N006	53.83 ± 13.33
17-120-09-T02	17-88-N006	55.2 n=1
17-120-09-T03 (BCY1124)	17-88-N006	35.6 n=1
17-120-09-T03 (BCY1124)	17-88-226-N002	32 ± 20.24
Ac-(17-120-09-T03) (BCY1125)	17-88-226-N002	18.65 ± 6.96
Sar3-A-(17-120-09-T03)	17-88-226-N002	16.33 ± 5.73
Sar3-A-(17-120-09-T03) HArg2	17-88-226-N002	26.63 ± 9.31

10

20

30

40

50

Sar3-A-(17-120-09-T03) Arg9	17-88-226-N002	8.28 ± 3.53	
Sar3-A-(17-120-09-T03) HArg9	17-88-226-N002	30.9 ± 10	
(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9	17-88-226-N002	39.5 ± 16.43	
(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 Ala9	17-88-226-N002	189.55 ± 32.24	
(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) Ala2 HArg9	17-88-226-N002	89.55 ± 10.09	
Ac-(B-Ala)-Sar10-A-(17-120-09-T03) HArg2 HArg9	17-88-226-N002	43.9 ± 15.48	
17-120-09-T04	17-88-N006	34.15 ± 10.2	
17-120-09-T05	17-88-N006	32.3 ± 6.81	10
17-120-09-T06	17-88-N006	49.8 n=1	
17-120-09-T07	17-88-N006	48.1 n=1	
17-120-09-T08	17-88-N006	37.5 n=1	
17-120-09-T09	17-88-N006	77.2 n=1	
17-120-09-T10	17-88-N006	38.5 n=1	
17-120-09-T11	17-88-N006	44.2 n=1	
17-120-09-T12	17-88-N006	62.2 n=1	
17-120-09-T13	17-88-N006	69.3 n=1	
17-120-10-T01	17-88-N006	132.3 ± 103.29	20
17-120-11-T01	17-88-N006	612 ± 760.47	
17-120-12-T01	17-88-N006	183 n=1	
17-120-13-T01	17-88-N006	189 ± 123.48	
17-120-14-T01	17-88-N006	148 n=1	
17-120-15-T01	17-88-N006	178 n=1	
17-120-15-T02	17-88-N006	76.67 ± 72.87	
17-120-16-T01	17-88-N006	74.4 ± 17.64	
17-120-17-T01	17-88-N006	157 n=1	
17-120-18	17-88-N006	252 ± 92.12	30
17-120-19	17-88-N006	303 ± 258.72	
17-120-20	17-88-N006	248.5 ± 14.7	
17-120-21	17-88-N006	>82.75 ± 4.61	
17-120-21-T01	17-88-N006	113 n=1	
17-120-22-T01	17-88-N006	62.35 ± 30.48	
17-120-22-T02	17-88-N006	46.1 ± 26.5	
17-120-23-T01	17-88-N006	127 ± 7.84	
17-120-24-T01	17-88-N006	126 ± 35.28	
17-120-25-T01	17-88-N006	194.5 ± 161.7	40

17-120-26-T01	17-88-N006	598 n=1	
17-120-27-T01	17-88-N006	394 n=1	
17-120-28-T01	17-88-N006	191.5 ± 4.9	
17-120-29-T01	17-88-N006	162 ± 68.6	
17-120-30-T01	17-88-N006	78.7 n=1	
17-120-31-T01	17-88-N006	50.2 n=1	
17-120-31-T02	17-88-N006	68.3 n=1	
17-120-31-T03	17-88-N006	41.47 ± 5.32	10
17-120-32-T01	17-88-N006	63.8 ± 26.49	
17-120-33-T01	17-88-N006	77.6 n=1	
17-120-34-T01	17-88-N006	59.87 ± 8.58	
17-120-35-T01	17-88-N006	23.33 ± 9.48	
17-121-00	17-69-07-N040	678 n=1	
17-122-02	17-69-07-N040	> 929 n=3	
17-122-03	17-69-07-N040	>378 n=3	
17-122-04	17-69-07-N040	>2100	
17-126-01	17-69-07-N041	>316 ± 9.8	20
17-126-02	17-69-07-N041	>282 ± 172.48	
17-126-03	17-69-07-N041	>430 ± 11.76	
17-126-06	17-69-07-N040	675 ± 192.08	
17-126-07	17-69-07-N040	197.5 ± 85.26	
17-126-08	17-69-07-N040	711 n=1	
17-126-09	17-69-07-N040	165 n=1	
17-126-10	17-69-07-N040	737 n=1	
17-126-11	17-69-07-N040	971 n=1	
17-126-12	17-69-07-N040	2900 n=1	30
17-126-18	17-69-07-N040	147 n=1	
17-126-19	17-69-07-N040	199 n=1	
17-126-20	17-69-07-N040	246 n=1	
17-126-21	17-69-07-N040	131 n=1	
17-126-22	17-69-07-N040	295 n=1	
17-126-23	17-69-07-N040	409 n=1	
17-126-24	17-69-07-N040	200 n=1	
17-126-25	17-69-07-N040	>138.76	
Ac-(17-126-25)	17-69-12-N004	60.5 n=1	40

10

20

30

40

50

17-126-26	17-69-07-N040	1200 n=1	
17-126-27	17-69-07-N040	143 n=1	
17-126-28	17-69-07-N040	250 n=1	
17-126-30-T01	17-69-07-N040	239 n=1	
17-126-31-T01	17-69-07-N040	295 n=1	
17-126-32-T01	17-69-07-N040	390 n=1	
17-126-33-T01	17-69-07-N040	244 n=1	
17-126-33-T02	17-69-07-N040	296 n=1	10
17-126-35-T01	17-69-07-N040	263 n=1	
17-126-36-T01	17-69-07-N040	149 n=1	
17-126-37-T01	17-69-07-N040	155 n=1	
17-126-38-T01	17-69-07-N040	162 n=1	
17-126-39-T01	17-69-07-N040	187 n=1	
17-126-40-T01	17-69-07-N040	310 n=1	
17-126-41-T01	17-69-07-N040	202 n=1	
17-127-01	17-69-07-N040	2200 n=1	
17-129-00	17-69-07-N040	446.0	20
17-129-01-T01	17-69-07-N040	499 n=1	
17-129-01-T02	17-69-07-N040	525 n=1	
17-129-01-T03	17-69-07-N040	598 n=1	
17-129-01-T04	17-69-07-N040	705 n=1	
17-129-01-T05	17-69-07-N040	324 n=1	
17-129-02	17-69-07-N040	877 ± 650.71	
17-129-03	17-69-07-N040	536.5 ± 126.42	
17-129-04	17-69-07-N040	595 ± 372.39	
17-129-05	17-69-07-N040	136.17 ± 22.27	30
17-129-06	17-69-07-N040	566 n=1	
17-129-07	17-69-07-N040	582 n=1	
17-129-08	17-69-07-N040	516 n=1	
17-129-09	17-69-07-N040	1092 n=1	
17-129-10	17-69-07-N040	781 n=1	
17-129-11	17-69-07-N040	912 n=1	
17-129-12-T01	17-69-07-N040	187 ± 86.24	
17-129-13-T01	17-69-07-N040	248 n=1	
17-129-14-T01	17-69-07-N040	245.5 ± 46.06	40

10

20

30

40

50

17-129-14-T02	17-69-07-N040	318 ± 27.44	
17-129-15-T01	17-69-07-N040	278 n=1	
17-129-16-T01	17-69-07-N040	263 n=1	
17-129-17-T01	17-69-07-N040	418 n=1	
17-129-17-T02	17-69-07-N040	369 n=1	
17-129-17-T03	17-69-07-N040	312 n=1	
17-129-18-T01	17-69-07-N040	138.33 ± 43.96	10
17-129-18-T02	17-69-07-N040	334 n=1	
17-129-18-T03	17-69-07-N040	202 ± 92.96	
17-129-18-T04	17-69-07-N040	171.5 ± 53.9	
17-129-19-T01	17-69-07-N040	754 n=1	
17-129-19-T02	17-69-07-N040	458 n=1	
17-129-20-T01	17-69-07-N040	213 n=1	
17-129-21-T01	17-69-07-N040	110.8 ± 33.71	20
17-129-22-T01	17-69-07-N040	53.7	
17-129-23-T01	17-69-07-N040	54.8	
Ac-(17-129-23-T01)	17-69-12-N004	8.9 n=1	

【 0 1 1 8 】

(SPR結合データ)

ヒトMT1 MMP14タンパク質のヘモペキシンドメイン(Merck Milliporeから入手)に対する単量体ペプチド結合の K_D (nM)値を決定するために、Biacore実験を行った。

30

【 0 1 1 9 】

EZ-Link(商標)スルホ-NHS-LC-LC-ビオチン試薬(Thermo Fisher)を製造元の提案したプロトコルの通りに用いて、タンパク質をPBS中でランダムにビオチン化した。タンパク質を徹底的に脱塩し、カップリングされていないビオチンをスピнкаラムを用いてPBS中に除去した。

【 0 1 2 0 】

ペプチド結合の解析のために、CM5チップ(GE Healthcare)を利用するBiacore 3000装置を使用した。HBS-N(10mM HEPES、0.15M NaCl、pH 7.4)を泳動バッファーとする25 °Cでの標準的なアミンカップリング化学を用いて、ストレプトアビジンをチップ上に固定化した。簡潔に述べると、カルボキシメチルデキストラン表面を10 µl/分の流量での1:1の比の0.4M 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC)/0.1M N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)の7分間の注入で活性化させた。ストレプトアビジンの捕捉のために、タンパク質を0.2mg/mlまで10mM酢酸ナトリウム(pH 4.5)に希釈し、120 µlのストレプトアビジンを活性化チップ表面上に注入することにより捕捉した。残りの活性化基を1Mエタノールアミン(pH 8.5)の7分間の注入でブロックし、ビオチン化MT1 MMP14を1,200 ~ 1,800RUのレベルまで捕捉した。バッファーをPBS/0.05% Tween 20に交換し、ペプチドの希釈系列をこのバッファー中に0.5%の最終DMSO濃度で調製した。最大ペプチド濃度は、6回のさらなる2倍希釈により、100nMとした。SPR解析を、個々のペプチドに応じて、60秒の会合と400秒 ~ 1,200秒の解離にして、25 °Cで、50 µl/分の流量で実行した。データをDMSO排除体積

40

50

効果について補正した。全てのデータを、標準的な処理手順を用いて、ブランク注入及び基準面について二重参照し、データ処理及び動力学的フィッティングを、Scrubberソフトウェア、バージョン2.0c(BioLogic Software)を用いて実施した。データを単純な1:1結合モデルを用いてフィッティングし、適宜、質量移動効果を考慮に入れた。

【 0 1 2 1 】

本発明の特定のペプチドリガンドを上述のSPR及び競合結合アッセイで試験した。結果は、表3に示されている：

表3:本発明の選択されたペプチドリガンドのSPR及び競合結合データ

【表3】

二環名	KD (SPR) / nM	プレート1	プレート2
		Ki (FP-comp) / nM	Ki (FP-comp) / nM
BCY1124	14.8	78	107
BCY1125	15.1	~	~
BCY3959	27.7	~	~
BCY9933	30.7	~	~
BCY9934	36.9	~	~
BCY9935	39.2	~	~
BCY9936	38	~	~
BCY9937	77.8	~	~
BCY9938	80.9	~	~
BCY9943	299	~	~
BCY9945	1360	~	~
BCY9946	372	~	~
BCY9949	190	~	~
BCY9951	364	~	~
BCY9952	870	~	~

10

20

30

40

50

BCY9953	296	~	~	
BCY9954	28.3	~	~	
BCY9955	73.5	~	~	
BCY9957	304.2	~	~	
BCY9959	5.87	~	~	
BCY9960	72.7	~	~	
BCY9961	13000	~	~	
BCY9963	7100	~	~	10
BCY9964	35	~	~	
BCY9965	77.6	~	~	
BCY9966	240	~	~	
BCY9968	163	~	~	
BCY10223	400	~	~	
BCY10224	97.8	~	~	
BCY9965	~	76	~	
BCY11147	~	53	~	
BCY11148	~	45	~	20
BCY11149	~	80	~	
BCY11150	~	396	~	
BCY11151	~	35	~	
BCY11152	~	68	~	
BCY11153	~	43	~	
BCY11154	~	129	~	
BCY11155	~	459	~	
BCY11163	~	54	~	
BCY11158	~	124	~	30
BCY11160	~	~	289	
BCY11165	~	~	72	
BCY11166	~	~	92	
BCY11167	~	~	135	
BCY10288	52.5	~	~	
BCY12401	10.834			
BCY12402	8.9004			
BCY12403	56.125			
BCY12404	27.44			
BCY12405	14.7			40

【 0 1 2 2 】

(BALB/cヌードマウスのHT1080異種移植片の処置におけるBT17BDC58のインビボ有効性試験)

(1. 試験目的)

この試験の目的は、BALB/cヌードマウスのHT1080異種移植モデルの処置におけるBT17BDC58のインビボ抗腫瘍有効性を評価することであった。

【 0 1 2 3 】

(2. 実験デザイン)

【表 4】

群	処置	投薬量 (mg/kg)	n	投与容量 (ml/g)	投与経路	スケジュール
1	ビヒクル	-	3	10	i.v.	biw*2 週間
2	BT17BDC58	1	3	10	i.v.	biw*2 週間
3	BT17BDC58	3	3	10	i.v.	biw*2 週間
4	BT17BDC58	10	3	10	i.v.	biw*2 週間

10

注: n:動物数;投与容量:体重10 μl/gを基に、投与容量を調整する

【0124】

(3.材料)

(3.1 動物及び飼育条件)

(3.1.1.動物)

種:マウス(Mus Musculus)

系統: Balb/cヌード

齢: 6 ~ 8週

性別:雌

体重: 18 ~ 22g

動物の数: 21匹のマウス + スペア

動物の供給元: Shanghai LC Laboratory Animal Co., LTD.

【0125】

(3.1.2.飼育条件)

マウスは、一定の温度及び湿度の個々の換気ケージ内で、各々のケージに動物を3匹にして、飼育した。

・温度: 20 ~ 26

・湿度40 ~ 70%

ケージ:ポリカーボネート製。サイズは、300mm × 180mm × 150mmである。動物に寝床を与える材料はトウモロコシの穂軸であり、これは、週に2回交換する。

食餌:全試験期間中、動物は照射滅菌されたドライグラニュールフードを自由に摂取することができた。

水:動物は、滅菌飲料水を自由に摂取することができた。

ケージ識別:各々のケージの識別表示には、以下の情報が含まれた:動物の数、性別、系統、受入日、処置、試験数、群番号、及び処置の開始日。

動物識別:動物は、耳コーディングによりマーキングした。

【0126】

(3.2 試験品及び陽性対照品)

製品識別: BT17BDC58

製造元: Bicycle Therapeutics

ロット数: 1

物理的記述:凍結乾燥粉末

分子量: 7.6 mg

純度: 98.36%

包装及び保存条件: -80 で保存

【0127】

(4.実験の方法及び手順)

(4.1 細胞培養)

HT1080腫瘍細胞を、大気中5%CO₂の雰囲気下、37 で、10%熱非働化胎仔ウシ血清

50

が補充された培地中で、単層培養物としてインビトロで維持した。腫瘍細胞を、トリプシン-EDTA処理により、週に2回、定期的に継代培養した。指数増殖期の細胞増殖物を回収し、腫瘍接種用に計数した。

【0128】

(4.2 腫瘍接種)

腫瘍を発生させるために、各々のマウスの右脇腹に、0.2mlのPBS中のHT1080腫瘍細胞(5×10^6 個)を皮下接種した。平均腫瘍体積が 174 mm^3 に達したとき、21匹の動物を無作為に割り付けた。試験品投与及び各々の群の動物数を実験デザインの表に示した。

【0129】

(4.3 試験品製剤調製)

【表5】

処置	用量 (mg/ml)	製剤
ビヒクル	--	25 mM ヒスチジン pH 7.0, 10% スクロース (DMSO なし)
BT17BDC58	1	7.6mgのBT17BDC58を 7.475mlの製剤化バッファーに溶解させる
BT17BDC58	0.3	240 μ lの1mg/ml BT17BDC58を 560 μ lの製剤化バッファーに希釈する
BT17BDC58	0.1	80 μ lの1mg/ml BT17BDC58を 720 μ lの製剤化バッファーに希釈する

【0130】

(4.4 観察)

試験における動物の取扱い、管理、及び処置に関する手順は全て、実験動物管理評価認証協会(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care)(AAALAC)のガイダンスに従って、WuXi AppTecの施設内動物管理使用委員会(Institutional Animal Care and Use Committee)(IACUC)によって承認されたガイドラインに準拠して行われた。定期モニタリングのときに、動物を、移動性、食物及び水の消費(目視のみによる)、体重の増加/減少、目/髪の毛のマット化などの通常の行動に対する腫瘍増殖及び処置の任意の効果、並びにプロトコルに記載されている任意の他の異常効果について毎日チェックした。死亡及び観察された臨床症状を各々のサブセット内の動物の数に基づいて記録した。

【0131】

(4.5 腫瘍測定及びエンドポイント)

主要エンドポイントは、腫瘍増殖を遅延させることができるかどうか、又はマウスを治癒させることができるかどうかを確かめることであった。腫瘍体積は、キャリパーを用いて、2次元で週に3回測定し、体積は、式: $V = 0.5a \times b^2$ (式中、a及びbは、それぞれ、腫瘍の長径と短径である)を用いて mm^3 で表した。次に、この腫瘍サイズをT/C値の算出に用いた。T/C値(%単位)は、抗腫瘍効果の指標であり; T及びCは、それぞれ、所与の日の処置群及び対照群の平均体積である。

【0132】

TGIは、式: $TGI(\%) = [1 - (Ti - T0) / (Vi - V0)] \times 100$ を用いて、各々の群について算出し; Tiは、所与の日の処置群の平均腫瘍体積、T0は、処置開始日の処置群の平均腫瘍体積、Viは、Tiと同じ日のビヒクル対照群の平均腫瘍体積、V0は、処置開始日のビヒクル群の平均腫瘍体積である。

【0133】

(4.6 試料回収)

10

20

30

40

50

試験の最後に、投与から5分、15分、30分、60分、及び120分後に、血漿を回収した。

【0134】

(4.7 統計解析)

平均及び平均の標準誤差(SEM)を含む簡易統計は、各々の時点における各々の群の腫瘍体積について提供されている。

【0135】

群間の腫瘍体積の差の統計解析を最終投与後の最良の処置時点で得られたデータに対して行った。

【0136】

一元配置ANOVAを実施して、群間の腫瘍体積を比較し、有意なF-統計量(処理分散と誤差分散の比)が得られたとき、Games-Howell検定を用いて、群間の比較を実行した。データは全て、Prismを用いて解析した。P<0.05を統計的に有意であるとみなした。

【0137】

(5.結果)

(5.1 体重変化及び腫瘍増殖曲線)

体重及び腫瘍増殖は、図1に示されている。

【0138】

(5.2 腫瘍体積トレース)

HT1080異種移植片を担持する雌Balb/cヌードマウスにおける経時的な平均腫瘍体積は、表4に示されている。

表4:経時的な腫瘍体積トレース

【表6】

群	処置	処置開始後の日数						
		0	2	4	7	9	11	14
1	ビヒクル、biw	174±1	318±3	473±3	688±8	859±14	975±16	1075±16
		8	0	1	7	8	7	4
2	BT17BDC58, 1 mpk, biw	174±2	265±4	351±6	488±7	577±62	676±79	785±58
		2	6	9	5			
3	BT17BDC58, 3 mpk, biw	174±2	151±1	73±19	42±11	50±4	67±9	128±16
		5	6					
4	BT17BDC58, 10 mpk, biw	173±2	153±2	58±20	27±1	18±4	10±1	2±2
		5	9					

【0139】

(5.3 腫瘍増殖阻害解析)

HT1080異種移植モデルにおけるBT17BDC58腫瘍増殖阻害率を、処置の開始から14日後の腫瘍体積測定値に基づいて算出した。

表5:腫瘍増殖阻害解析

10

20

30

40

50

【表 7】

群	処置	腫瘍体積 (mm ³) ^a	T/C ^b (%)	TGI (%)	P 値
1	ビヒクル、biw	1075±164	--	--	--
2	BT17BDC58, 1 mpk, biw	785±58	73	32	p>0.05
3	BT17BDC58, 3 mpk, biw	128±16	12	105	p<0.001
4	BT17BDC58, 10 mpk, biw	2±2	0.2	119	p<0.001

10

a. 平均 ± SEM

b. 腫瘍増殖阻害は、処置群の群平均腫瘍体積を対照群の群平均腫瘍体積で除すること(T/C)により算出される。

【0140】

(6. 結果のまとめ及び考察)

20

本試験では、HT1080異種移植モデルにおけるBT17BDC58の治療効力を評価した。様々な時点における全ての処置群の測定された体重及び腫瘍体積は、図1並びに表4及び5に示されている。

【0141】

ビヒクル処置マウスの平均腫瘍サイズは、14日目に1075mm³に達した。

【0142】

1mg/kg(TV = 785mm³、TGI = 32.2%、p > 0.05)、3mg/kg(TV = 128mm³、TGI = 105.1%、p < 0.001)、及び10mg/kg(TV = 2mm³、TGI=84.3%、p < 0.001)のBT17BDC58は、用量依存的な抗腫瘍活性を生じさせた。これらの中で、10mg/kgのBT17BDC58は、14日目に、2/3の腫瘍で完全寛解をもたらし、1/3の腫瘍を7mm³まで退縮させた。

30

【図面】

【図 1】

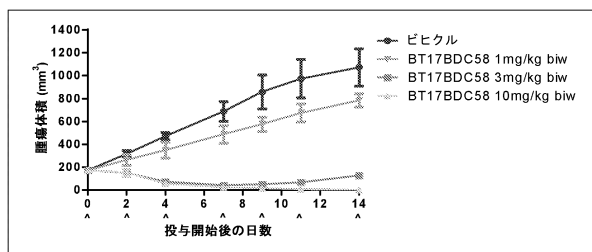


図 1

40

50

【 手続補正書 】

【 提出日 】 令和3年9月27日(2021.9.27)

【 手続補正1 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 配列表

【 補正方法 】 追加

【 補正の内容 】

【 配列表 】

2022513806000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2019/053540

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61P35/00 A61K38/00 C07K7/08 C12N9/64 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) A61P A61K C07K C12N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2016/067035 A1 (BICYCLE THERAPEUTICS LTD [GB]) 6 May 2016 (2016-05-06) cited in the application Abstract; p. 2, paragraph 2; claims -----	1-23
X	WO 2018/127699 A1 (BICYCLERD LTD [GB]) 12 July 2018 (2018-07-12) cited in the application	1-23
Y	Abstract; paragraph 44; pp. 34-36 "Toxin Moieties"; Compounds pp.24, 58, 58, 152, 153; claims -----	1-23
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *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 2 March 2020		Date of mailing of the international search report 11/03/2020
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer López García, F

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2019/053540

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016067035 A1	06-05-2016	AU 2015340300 A1	11-05-2017
		BR 112017008575 A2	26-12-2017
		CA 2965754 A1	06-05-2016
		CN 107148425 A	08-09-2017
		EP 3215518 A1	13-09-2017
		JP 2018502825 A	01-02-2018
		KR 20170073611 A	28-06-2017
		RU 2017118326 A	29-11-2018
		RU 2019138346 A	13-12-2019
		SG 112017028450 A	30-05-2017
		US 2018280525 A1	04-10-2018
		WO 2016067035 A1	06-05-2016
WO 2018127699 A1	12-07-2018	EP 3565638 A1	13-11-2019
		US 2018200378 A1	19-07-2018
		WO 2018127699 A1	12-07-2018

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	
A 6 1 K 47/64 (2017.01)	A 6 1 K 47/64	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 47/55 (2017.01)	A 6 1 K 47/55	

,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,D
K,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),O
A(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,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,
MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

キャンパス ビルディング 9 0 0 バイスクールテクス リミテッド

- (72)発明者 ラシッド ラニ
イギリス国 シービー 2 2 3 エイティアー ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ キャンパス ビル
ディング 9 0 0 バイスクールテクス リミテッド
- (72)発明者 ジェマ マッド
イギリス国 シービー 2 2 3 エイティアー ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ キャンパス ビル
ディング 9 0 0 バイスクールテクス リミテッド
- (72)発明者 キャサリン ステイス
イギリス国 シービー 2 2 3 エイティアー ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ キャンパス ビル
ディング 9 0 0 バイスクールテクス リミテッド
- (72)発明者 ダニエル トイフェル
イギリス国 シービー 2 2 3 エイティアー ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ キャンパス ビル
ディング 9 0 0 バイスクールテクス リミテッド
- (72)発明者 エドワード ウォーカー
イギリス国 シービー 2 2 3 エイティアー ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ キャンパス ビル
ディング 9 0 0 バイスクールテクス リミテッド

F ターム (参考) 4C076 EE41 EE59 FF34
4C084 AA02 AA07 AA19 BA01 BA10 BA16 BA18 BA19 BA23 BA26
BA32 BA41 DA33 DC50 NA05 NA10 NA14 ZC411 ZC412
4C086 AA01 CB25 MA01 MA04 NA10 ZC41
4H045 AA10 AA30 BA16 BA17 BA31 BA72 EA20 FA10