

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-510700  
(P2025-510700A)

(43)公表日 令和7年4月15日(2025.4.15)

(51)国際特許分類		F I	テーマコード(参考)	
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	Z N A 4 C 0 7 6
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L 4 C 0 8 5
A 6 1 K	47/65 (2017.01)	A 6 1 K	39/395	N 4 C 0 8 6
A 6 1 K	31/4745(2006.01)	A 6 1 K	47/65	4 H 0 4 5
A 6 1 K	49/00 (2006.01)	A 6 1 K	31/4745	
		審査請求 未請求	予備審査請求 未請求	(全88頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-556005(P2024-556005)	(71)出願人	512278490 シニアフィックス ビー・ブイ・ オランダ, 5 3 4 9 エービー オス, クロステルシュトラート 9
(86)(22)出願日	令和5年3月23日(2023.3.23)	(74)代理人	110000659 弁理士法人広江アソシエイツ特許事務所
(85)翻訳文提出日	令和6年9月19日(2024.9.19)	(72)発明者	ウェイデーヴェン, マリア アントニア オランダ, 5 3 4 9 エービー オス, クロステルシュトラート 9
(86)国際出願番号	PCT/EP2023/057561	(72)発明者	ヴァン ゲール, レモン オランダ, 5 3 4 9 エービー オス, クロステルシュトラート 9
(87)国際公開番号	WO2023/180485	(72)発明者	ヴァン ベルケル, サンダー セバスチャン オランダ, 5 3 4 9 エービー オス, クロステルシュトラート 9
(87)国際公開日	令和5年9月28日(2023.9.28)		
(31)優先権主張番号	22163943.8		
(32)優先日	令和4年3月23日(2022.3.23)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ, ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW), EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP( AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES, FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV 最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 Trop - 2 を発現する腫瘍を標的化するための抗体コンジュゲート

(57)【要約】

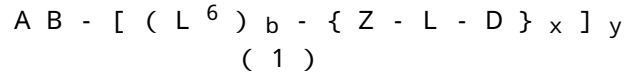
本発明は、Trop - 2 発現細胞、特に腫瘍細胞の標的化に特に好適な抗体コンジュゲートに関する。本発明による抗体コンジュゲートは、構造(1)を有する。ここで、ABは、Trop - 2 発現腫瘍を標的とすることができる抗体であり、Lは、ZをDに連結するリンカーであり、Zは、接続基であり、L<sup>6</sup>は、-GlcNAc(Fuc)<sub>w</sub>-(G)<sub>j</sub>-S-(L<sup>7</sup>)<sub>w'</sub>であり、式中、Gは、単糖であり、jは、0~10の範囲の整数であり、Sは、糖又は糖誘導体であり、GlcNAcは、N-アセチルグルコサミンであり、Fucは、フコースであり、wは、0又は1であり、w'は、0、1、又は2であり、L<sup>6</sup>は、-N(H)C(O)CH<sub>2</sub>-、-N(H)C(O)CF<sub>2</sub>-、又は-CH<sub>2</sub>-であり、Dは、エキサテカンであり、bは、0又は1であり、xは、1又は2であり、yは、1、2、3、又は4である。本発明は更に、構造(1)の抗体コンジュゲートを調製するための方法、及び構造(1)の抗体コンジュゲートの応用に関する。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

一般構造 (1) に従う抗体コンジュゲートであって、



式中、

- AB は、Trop-2 発現腫瘍を標的化することができる抗体であり、
  - L は、Z を D に連結するリンカーであり、
  - Z は、接続基であり、
  - $L^6$  は、 $-GlcNAc(Fuc)_w - (G)_j - S - (L^7)_w -$  であり、式中、10
- G は、単糖であり、j は、0 ~ 10 の範囲の整数であり、S は、糖又は糖誘導体であり、GlcNAc は、N-アセチルグルコサミンであり、Fuc は、フコースであり、w は、0 又は 1 であり、w' は、0、1、又は 2 であり、 $L^7$  は、 $-N(H)C(O)CH_2 -$ 、 $-N(H)C(O)CF_2 -$ 、又は  $-CH_2 -$  であり、
- D は、エキサテカンであり、
  - b は、0 又は 1 であり、
  - x は、1 又は 2 であり、
  - y は、1、2、3、又は 4 である、抗体コンジュゲート。

## 【請求項 2】

前記抗体が、1 つ以上の変異を含む Fc 領域を有する、請求項 1 に記載の抗体コンジュゲート。20

## 【請求項 3】

前記抗体が、配列番号 1 及び 5 からなる群から選択される配列と少なくとも 70% の配列同一性を有する VL ドメインと、配列番号 2 及び 6 からなる群から選択される配列と少なくとも 70% の配列同一性を有する VH ドメインとを含み、好ましくは、前記抗体が、少なくとも 90% の配列同一性を有する相補性決定領域 (CDR) を有する、請求項 1 又は 2 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【請求項 4】

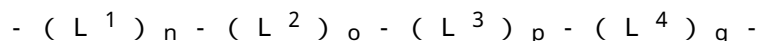
前記抗体が、hRS7 であり、かつ / 又は配列番号 3 に従う軽鎖配列と、配列番号 4 に従う重鎖配列とを含み、配列同一性が、少なくとも 90%、好ましくは少なくとも 95%、より好ましくは少なくとも 99%、最も好ましくは 100% である、請求項 1 又は 2 に記載の抗体コンジュゲート。30

## 【請求項 5】

前記抗体が、hTINA であり、かつ / 又は配列番号 7 に従う軽鎖配列と、配列番号 8 に従う重鎖配列とを含み、配列同一性が、少なくとも 90%、好ましくは少なくとも 95%、より好ましくは少なくとも 99%、最も好ましくは 100% である、請求項 1 又は 2 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【請求項 6】

リンカー L が、構造



を有し、

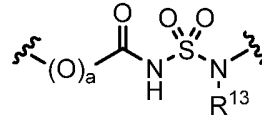
式中、

- $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、及び  $L^4$  は、それぞれ個々に、一緒になって Z を D に連結するリンカーであり、
- n、o、p、及び q は、それぞれ個々に、0 又は 1 であり、但し、 $n + o + p + q = 1、2、3、$  又は 4 であり、好ましくは、 $n = o = p = 1$  であり、
- (a) リンカー  $L^1$  は、
  - $(W)_k - (A)_d - (B)_e - (A)_f - (B)_g - (C(O))_g -$ 、又は
  - $(W)_k - (A)_d - (B)_e - (A)_f - (C(O))_g - N^* [ - (A)_d - (B)_e - (A)_f - (C(O))_g - ]_2$ 、50

で表され、式中、

- d 及び d' は、個々に、0 又は 1 であり、
- e 及び e' は、個々に、1 ~ 10 の範囲内の整数であり、
- f 及び f' は、個々に、0、又は 1 であり、
- g 及び g' は、個々に、0 ~ 10 の範囲内の整数であり、
- k = 0 又は 1 であり、但し k = 1 の場合、d = 0 であり、
- A は、構造 (23) に従うスルファミド基であり、

【化 1】



(23)

10

式中、a = 0 又は 1 であり、R<sup>13</sup> は、水素、C<sub>1</sub> ~ C<sub>24</sub> アルキル基、C<sub>3</sub> ~ C<sub>24</sub> シクロアルキル基、C<sub>2</sub> ~ C<sub>24</sub> (ヘテロ) アリール基、C<sub>3</sub> ~ C<sub>24</sub> アルキル (ヘテロ) アリール基、及び C<sub>3</sub> ~ C<sub>24</sub> (ヘテロ) アリールアルキル基からなる群から選択され、前記 C<sub>1</sub> ~ C<sub>24</sub> アルキル基、前記 C<sub>3</sub> ~ C<sub>24</sub> シクロアルキル基、前記 C<sub>2</sub> ~ C<sub>24</sub> (ヘテロ) アリール基、前記 C<sub>3</sub> ~ C<sub>24</sub> アルキル (ヘテロ) アリール基、及び前記 C<sub>3</sub> ~ C<sub>24</sub> (ヘテロ) アリールアルキルは、任意選択で置換され、O、S、及び NR<sup>14</sup> から選択される 1 個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、R<sup>14</sup> は、独立して、水素及び C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル基からなる群から選択されるか、又は、R<sup>13</sup> は、スペーサー部分を介して N に接続された D であり、好ましくは、前記スペーサー部分は、- (B)<sub>g</sub> - (C(O))<sub>g</sub> - (L<sup>2</sup>)<sub>o</sub> - (L<sup>3</sup>)<sub>p</sub> - (L<sup>4</sup>)<sub>q</sub> - であり、

20

- W は、- OC(O)-、- C(O)O-、- C(O)NH-、- NHC(O)-、- OC(O)NH-、- NHC(O)O-、- C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)-、- C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)NH-、又は - (4-Ph)CH<sub>2</sub>NHC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)NH- であり、式中、m は、0 ~ 10 の範囲内の整数であり、

- B は、- CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O- 若しくは - O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- 部分であるか、又は (B)<sub>e</sub> は、- (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>e1</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- 部分であり、式中、e<sub>1</sub> は、1 ~ 10 の範囲内の整数であり、

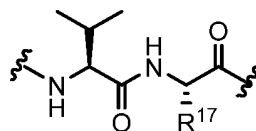
30

- N\* は、- (A)<sub>d</sub>- (B)<sub>e</sub>- (A)<sub>f</sub>- (C(O))<sub>g</sub>- の 2 つの例が接続された分岐窒素原子であり、両方の (C(O))<sub>g</sub> 部分が - (L<sup>2</sup>)<sub>o</sub>- (L<sup>3</sup>)<sub>p</sub>- (L<sup>4</sup>)<sub>q</sub>- D に接続され、式中、L<sup>2</sup>、L<sup>3</sup>、L<sup>4</sup>、o、p、q、及び D はそれぞれ個々に選択され、

かつ/あるいは

(b) リンカー L<sup>2</sup> は、好ましくは 1 ~ 5 個のアミノ酸を含むペプチドスペーサー、より好ましくはジペプチド、トリペプチド、又はテトラペプチドスペーサーであり、最も好ましくは、L<sup>2</sup> は、一般構造 (L3) :

【化 2】



(L3)

40

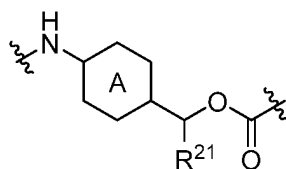
で表され、式中、R<sup>17</sup> = CH<sub>3</sub>、又は C<sub>1</sub>H<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(O)NH<sub>2</sub> であり、

かつ/あるいは

(c) リンカー L<sup>3</sup> は、自己犠牲型スペーサーであり、好ましくは、構造 (L4) に従うパラアミノベンジルオキシカルボニル (PABC) 誘導体であり、

50

## 【化 3】



(L 4)

式中、 $R^{21}$ は、H、 $R^{26}$ 、又は $C(O)R^{26}$ であり、 $R^{26}$ は $C_1 \sim C_{24}$  (ヘテロ)アルキル基、 $C_3 \sim C_{10}$  (ヘテロ)シクロアルキル基、 $C_2 \sim C_{10}$  (ヘテロ)アリール基、 $C_3 \sim C_{10}$ アルキル(ヘテロ)アリール基、及び $C_3 \sim C_{10}$  (ヘテロ)アリールアルキル基であり、これらは任意選択で置換され、O、S、及び $NR^{28}$ から選択される1個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、 $R^{28}$ は、独立して、水素及び $C_1 \sim C_4$ アルキル基からなる群から選択され、

10

好ましくは、 $R^{21}$ は、H又は $C(O)R^{26}$ であり、 $R^{26}$ は、4-メチル-ピペラジン又はモルホリンであり、最も好ましくは、 $R^{21}$ は、Hであり、

かつ/あるいは

(d) リンカー $L^4$ は、構造 $-NR^{22}-(C_z-アルキレン)-C(O)-$ に従うアミノアルカン酸スペーサーであり、式中、 $x$ は、1~20の範囲内の整数であり、 $R^{22}$ は、H若しくは $C_1 \sim C_4$ アルキルであるか、又は

20

リンカー $L^4$ は、構造 $-NR^{22}-(CH_2-CH_2-O)_{e6}-(CH_2)_{e7}-C(O)-$ に従うエチレングリコールスペーサーであり、式中、 $e6$ は、1~10の範囲内の整数であり、 $e7$ は、1~3の範囲内の整数であり、 $R^{22}$ は、H若しくは $C_1 \sim C_4$ アルキルであるか、又は

リンカー $L^4$ は、構造 $-NR^{22}-(C_z-アルキレン)-NR^{22}-(C(O))_h-$ に従うジアミンスペーサーであり、式中、 $h$ は、0又は1であり、 $x$ は、1~10の範囲内の整数であり、 $R^{22}$ は、H若しくは $C_1 \sim C_4$ アルキルである、請求項1~5のいずれか一項に記載の抗体コンジュゲート。

## 【請求項 7】

$b = 1$ であり、コンジュゲーションが、前記抗体のグリカンを経たものであり、好ましくは、 $j = 0$ である、請求項1~6のいずれか一項に記載の抗体コンジュゲート。

30

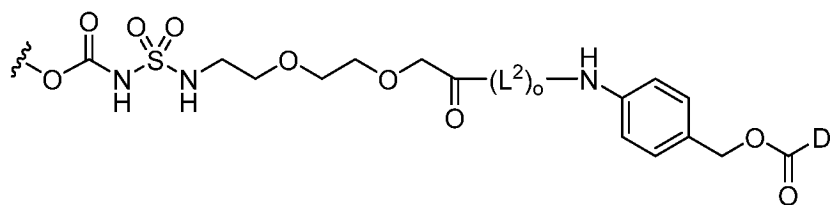
## 【請求項 8】

Z-L-Dが、(X)~(XII)からなる群から選択される構造を有し、

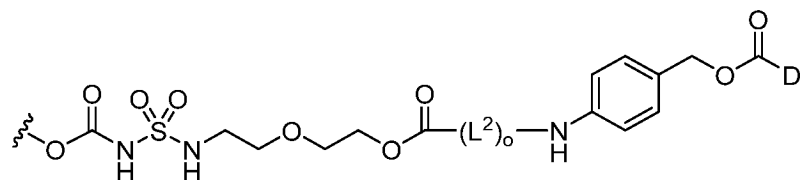
40

50

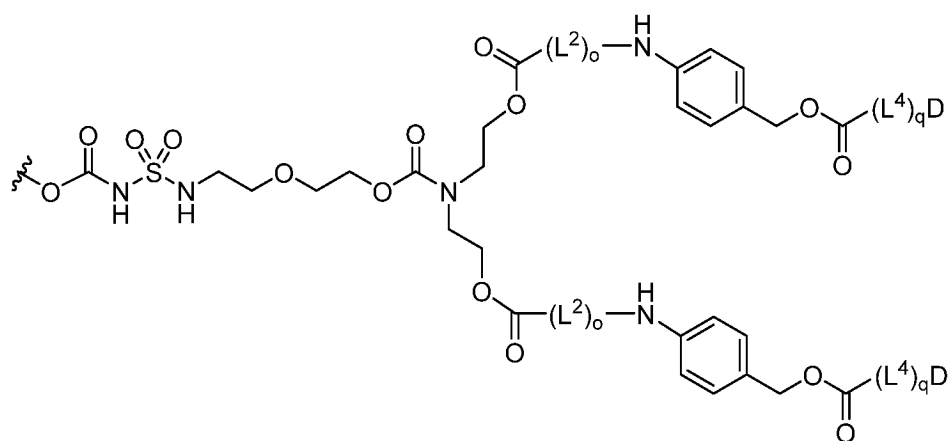
## 【化 4】



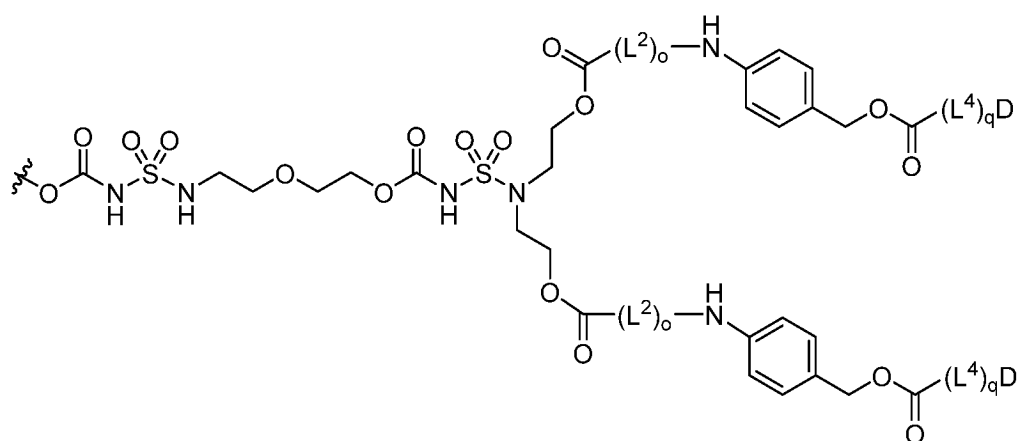
(X)



(X I)



(X I I)



(X I I I)

式中、波線は、Zへの接続を示し、 $L^2$ 、 $L^4$ 、 $o$ 及び $q$ は、請求項6で定義される通りであり、

好ましくは、Z-L-Dは、(X a)、(X I b)、(X I I g)、(X I I I e)、及び(X I I h)からなる群から選択される構造を有し、

10

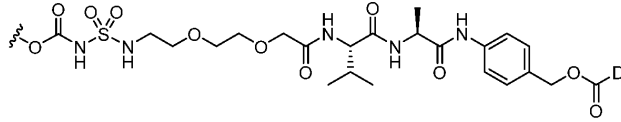
20

30

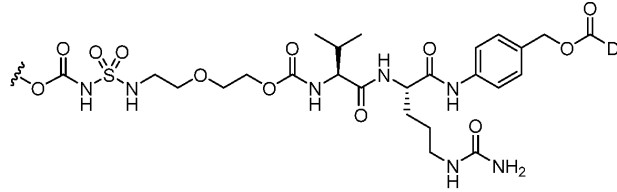
40

50

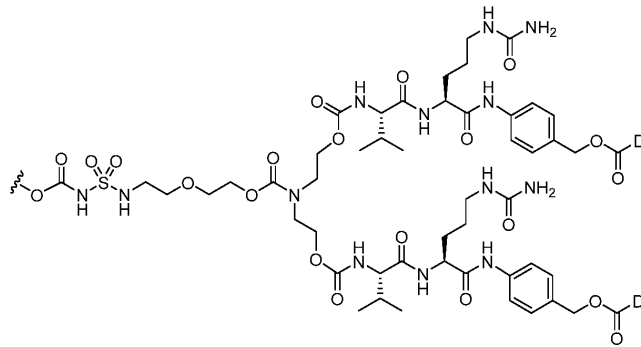
## 【化 5】



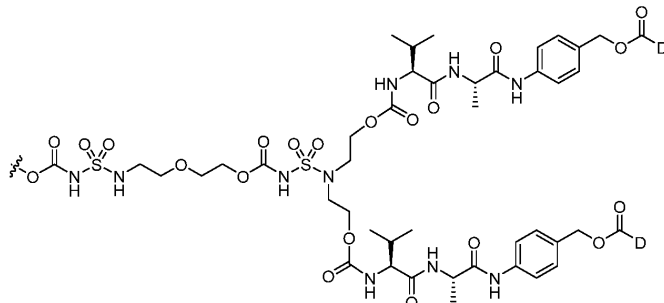
(X a)



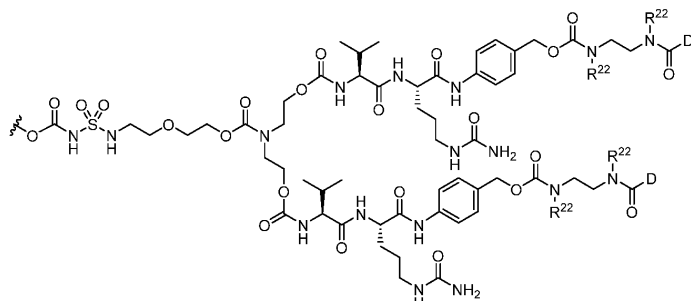
(X I b)



(X I I g)



(X I I I e)



(X I I I h)

式中、波線は、Zへの接続を示し、 $R^{22}$ は、請求項6で定義される通りである、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗体コンジュゲート。

## 【請求項9】

構造(X I I)又は(X I I I)に従い、 $o = 1$ であり、前記抗体は、請求項5で定義されるhRS7又は請求項6で定義されるhTINAであり、好ましくは、 $q = 0$ である、請求項8に記載の抗体コンジュゲート。

## 【請求項10】

構造(X I I)又は(X I I I)に従い、 $q = 0$ であり、 $o = 1$ であり、 $L^2$ は、1つ～5つのアミノ酸を含むペプチドスペーサーであり、前記抗体は、請求項5で定義される

10

20

30

40

50

h R S 7 であり、ペイロードが、エキサテカンである、請求項 1 0 に記載の抗体コンジュゲート。

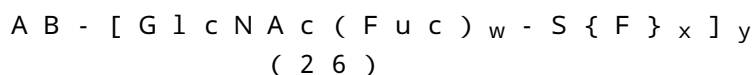
【請求項 1 1】

請求項 8 で定義される構造 ( X I I I e ) に従い、前記抗体が、請求項 5 で定義される h R S 7 である、請求項 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の抗体コンジュゲートを調製するためのプロセスであって、

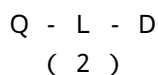
( i ) y コア N - アセチルグルコサミン ( G l c N A c ) 部分 ( y = 1 , 2 , 3 , 又は 4 である ) を含む抗体を、触媒の存在下で式 S ( F )<sub>x</sub> - P ( 式中、S ( F )<sub>x</sub> は、反応性基 Q と反応することができる x 個の反応性基 F を含む糖誘導体であり、x は、1 又は 2 であり、P は、ヌクレオシド又は二リン酸であり、前記触媒は、前記 S ( F )<sub>x</sub> 部分を前記コア - G l c N A c 部分に移すことができる ) の化合物と接触させ、式 ( 2 6 ) 、



式中、

- A B は、T r o p - 2 発現腫瘍を標的化することができる抗体であり、
- F u c は、フコースであり、
- w は、0 又は 1 である ) に従う修飾抗体を得ることと、

( i i ) 前記修飾抗体を、構造 ( 2 ) 、



式中、

- Q は、反応性部分であり、
- L は、Z を D に連結するリンカーであり、
- D は、エキサテカンである ) に従う化合物と反応させて、

構造 ( 1 ) に従う前記抗体コンジュゲートを得ることと、を含む、プロセス。

【請求項 1 3】

ステップ ( i i ) の前記反応が、求核反応又は付加環化、好ましくは 1 , 3 - 二極付加環化であり、好ましくは、Q がアルキン部分を含むか又は前記アルキン部分であり、F がアジド部分を含むか又は前記アジド部分である、請求項 1 2 に記載のプロセス。

【請求項 1 4】

Q が、( ヘテロ ) シクロアルキン部分又は ( ヘテロ ) シクロアルケン部分を含むクリックプローブであり、好ましくは、前記クリックプローブ Q が、( Q 2 1 ) ~ ( Q 3 8 ) 及び ( Q 4 4 ) ~ ( Q 5 6 ) からなる群から選択され、

10

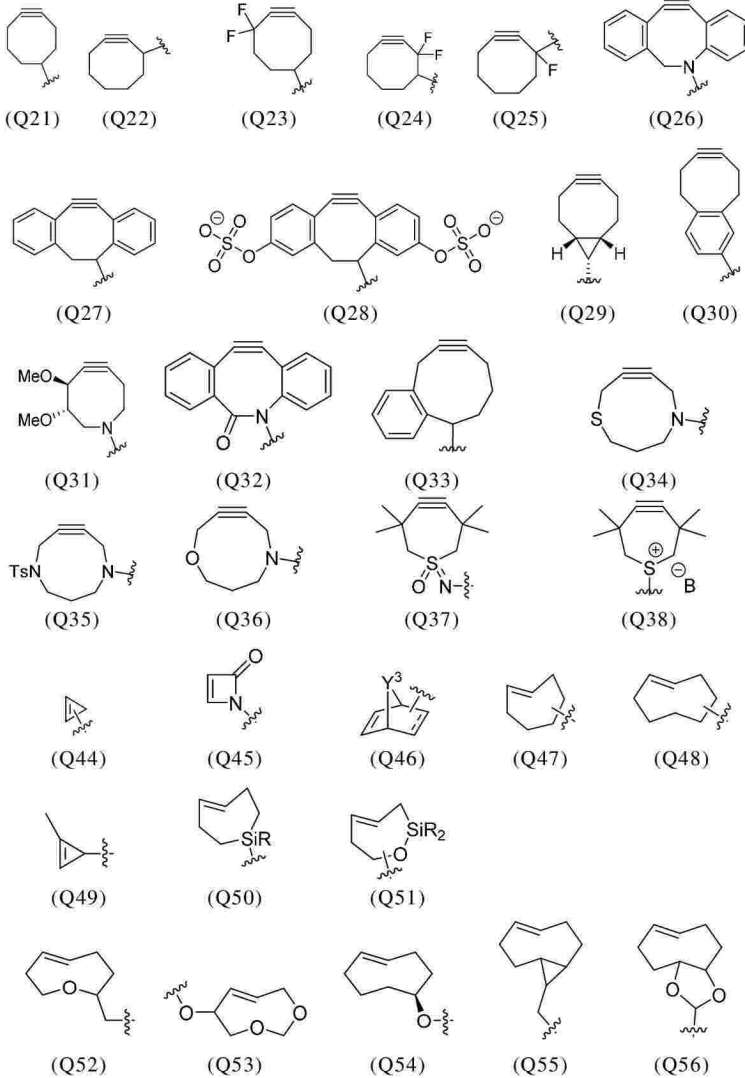
20

30

40

50

## 【化 6】



10

20

30

式中、

- B は、アニオンであり、

- ( Q 5 0 ) 及び ( Q 5 1 ) の Si 上の R 基 ( 複数可 ) は、アルキル又はアリアルであり、

F は、アジド、テトラジン、トリアジン、ニトロン、ニトリルオキシド、ニトリルイミン、ジアゾ化合物、オルトキノン、ジオキソチオフェン、及びシドノンからなる群から選択されるクリックプローブであり、好ましくは、F は、アジド部分である、請求項 1 2 又は 1 3 に記載のプロセス。

## 【請求項 1 5】

Trop - 2 発現細胞を標的化し、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の抗体コンジュゲートを、Trop - 2 発現性であり得る細胞と接触させる方法であって、好ましくは、前記細胞が、Trop - 2 発現腫瘍細胞である、方法。

40

## 【請求項 1 6】

前記 Trop - 2 発現細胞を標的化することが、Trop - 2 発現細胞、特に Trop - 2 発現腫瘍細胞の治療、画像化、診断、増殖の防止、阻止、及び低減のうちの 1 つ以上を含む、請求項 1 5 に記載の方法。

## 【請求項 1 7】

前記対象が、口腔がん、膵臓がん、胃がん、卵巣がん、結腸直腸がん、乳がん、又は肺がんに罹患している、請求項 1 5 又は 1 6 に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

50

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、バイオコンジュゲーションの分野のものである。より詳細には、本発明は、がん、特にTrop-2発現腫瘍を有する患者の標的治療のための抗体-薬物コンジュゲートに関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

腫瘍の標的治療のための有望なアプローチは、多数の(2~8個の)高毒性ペイロードをモノクローナル抗体にコンジュゲートし、それによって抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を生成することを伴う。ADCは、例えば、Chariet al., Angew. Chem. Int. Ed. 2014, 53, 3796、及びBecket al., Nat. Rev. Drug Discov. 2017, 16, 315-37により説明されているように、当技術分野において周知である。機構的には、抗体は、健康な組織と比べて過剰発現している腫瘍関連受容体に高い特異性で結合するように設計されている。ADCは、受容体に結合した後に腫瘍細胞内に内在化し、次いで、リソソーム内での抗体及び/又はリンカーの分解時に毒性ペイロードを放出すると考えられる。

## 【0003】

現在のADCは、主にマレイミドを有するシステイン側鎖又は活性化エステルを有するリジン側鎖へのコンジュゲーションに基づく、様々なコンジュゲーション技術(図1に要約される)によって一般的に調製される。ジスルフィド結合に自然に関与する天然のシステインに基づいてADCを生成するために、側鎖中のチオールは、TCEP又はDTTなどの好適な還元剤に抗体を曝露し、続いてマレイミド官能化リンカー薬物による処置によって遊離され得る。得られるADCは、典型的には、8つの遊離チオールの合計のみが包括的にアルキル化されない場合、位置異性体の混合物からなる。代替的に、部位特異的ADCを生成するために、抗体は、配列内の定義された位置で1つ以上のアミノ酸をシステインに変異させることによって生成することができ、その側鎖は、還元-酸化配列によってアルキル化のために選択的に遊離することができる。部位特異的コンジュゲーションのために一般的に使用されるシステインは、LC-41C(軽鎖41C)、HC-41C(重鎖41C)、LC-80C、HC-118C、HC-265C、HC-140C、LC-149C、LC-124C、LC-180C、HC-190C、HC-160C、LC-183C、HC-290C、LC-205C、HC-220C、HC-239C、HC-442Cである。追加のシステイン、例えばHC-i239Cを配列に挿入することもできる。アルキル化剤としてのマレイミドの他に、システイン側鎖とハロアセトアミド又はビニルベンゼン誘導体との反応もまた報告されている。天然アミノ酸側鎖への反応に加えて、特定の非天然(非標準)アミノ酸もまた、抗体のアミノ酸配列内に操作することができ、それによって、それぞれオキシム、アジド、アルキン又はテトラジンとの反応のために、ケトン、アセチレン、アジド、環状アルキン又は環状アルケンなどの化学的コンジュゲーションのための独自のハンドルを提供する。しかしながら、後者のアプローチの欠点は、時間及び費用がかかることに加えて、不安定性の問題を引き起こす可能性がある、抗体の天然配列を再設計しなければならないことである。

## 【0004】

酸化ライゲーション配列によるグリカンを経たコンジュゲーションは、当該技術分野で既知であり、例えば、Hamann et al. (Bioconjugate Chem. 2002, 13, 47-58)により説明されている。グリカンを経た化学酵素コンジュゲーションは、当該技術分野で既知であり、Boons et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2014, 53, 7179によりシアリルトランスフェラーゼの使用について、またZhu et al., mAbs 2014, 6, 1及びCook et al., Bioconjugate Chem. 2016, 27, 1789により変異ガラクトシルトランスフェラーゼの使用について説明されている。

## 【0005】

10

20

30

40

50

グリカンの最初のトリミングを含むグリカンを介した化学酵素コンジュゲーションは、当該技術分野で既知であり、van Geel et al, Bioconjugate Chem. 2015, 26, 2233によって説明されており、また図2に概略的に示されている。つまり、モノクローナル抗体をエンドグリコシダーゼで処理して、グリカンをコアGlcNAc (Asn-297に直接結合している) にトリミングし、続いてグリコシルトランスフェラーゼの作用下でアジド修飾糖を移動させる。UDP-アジド糖の様々な構造が図3に示されている。1つの特に好適な組み合わせは、WO2007/095506、EP2911699B1及びvan Geel et alに開示される変異ガラクトシルトランスフェラーゼGalT (Y289L)の作用下でのGalNAz 2b (2-アジドアセチル-N-ガラクトサミン)の移動を伴う。代替の強力な組み合わせは、PCT/EP2016/059194に開示されているように、天然のGalNAcトランスフェラーゼを有する6-アジドGalNAc 2dを伴う。別の有用な組み合わせは、WO2021/248048に開示されているように、-1,3-マンノシル-糖タンパク質-2-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ(MGAT1)を有するGlcNAzを伴う。

10

**【0006】**

金属を含まないクリック化学に適用するための様々なシクロオクチンが、当該技術分野で既知である(図4)。特に、DIBO(I)、DBCO/DIBAC(J)、s-DIBO(K)、BCN(L)及びTMTHSI(T)などの様々なシクロオクチンが、アジドへのコンジュゲーションのために通常適用される。

20

**【0007】**

ADCのペイロードは、典型的には、低ナノモル又はピコモル範囲のIC<sub>50</sub>値を有する高細胞傷害性分子、特に低~中分子量化合物(例えば、約200~約2500Da)である。ADCに対する好適な細胞毒素クラスの例としては、アントラサイクリン、カンプトテシン、タキサン、チューブリシン、エンジン、阻害ペプチド、アマニチン、デュオカルマイシン、メイタンシノイド、オーリスタチン、エリブリン、ヘミアステリン、BCL-XL阻害剤、KSP阻害剤、TLRアゴニスト、インドリノベンゾジアゼピン二量体又はピロロベンゾジアゼピン二量体(PBD)、及びそれらの類似体又はプロドラッグが挙げられる。モノクローナル抗体へのコンジュゲーションのための好適な結合点を有する、細胞傷害性分子、及び/又はその合成誘導体若しくはプロドラッグの代表的なセットを図5に示す。

30

**【0008】**

ADCに適用するのに好適なアントラサイクリンの特定の例としては、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、ネモルピシン、及びPNU-159,682が挙げられるが、これらに限定されない。

**【0009】**

ADCへの適用に好適なカンプトテシンの特定の例としては、SN-38、エキサテカン、エキサテカン-S、トポテカン、シラテカン、コシテカン、ルルトテカン、ギマテカン、ペロテカン、ルビテカン、AMDCT、G-AMDCT、及びその構造が図6に示されている他の合成カンプトテシンが挙げられるが、これらに限定されない。様々な新規のカンプトテシンが、EP0296597、WO2019/236954、WO2020/200880、WO2020/219287、CN113816969、CN113710277及びUS20180200273に開示されている。

40

**【0010】**

ADCへの適用に好適なエンジンの特定の例としては、カリケアマイシン、エスペラマイシン、シジジミシン、及びナメナマイシン、並びにGalm et al., Chem. Rev. 2005, 105, 739-758により要約されているような他のエンジンが挙げられるが、これらに限定されない。

**【0011】**

ADCへの適用に好適なオーリスタチンの特定の例としては、MMAD、MMAE、M

50

M A F 及び P F - 0 6 3 8 0 1 0 1、並びに M a d e r n a e t a l . , M o l . P h a r m a c e u t i c s 2 0 1 5 , 1 2 , 1 7 9 8 - 1 8 1 2 により要約されているような他のオーリスタチンが挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 1 2 】

乳がんの増殖、分化、浸潤及び/又は転移において役割を有するタンパク質は、腫瘍の生物学的進行に影響を与えることができ、したがって、重要な予後情報を提供することができる。1つのそのような候補は、T A C S T D 遺伝子ファミリー、具体的には T A C S T D 2 に属する 4 5 k D a の単量体膜貫通糖タンパク質である T r o p - 2 ( G A 7 3 3 - 1、E G P - 1 ) であり、これは、多様な分化段階でヒト上皮細胞において発現される。T r o p - 2 の過剰発現は、腫瘍成長を刺激するために必要かつ十分であることが示されており、全体的な予後不良に関連している。T r o p - 2 の発現は、口腔、膵臓、胃、卵巣、結腸直腸、乳房、肺腫瘍を含むいくつかのヒトがんの予後不良と関連している。例えば、治癒意図を有する手術を受けた患者の転移、腫瘍グレード、及び不良な無増悪生存と正の相関を有する、研究された膵臓がん患者の 5 5 % において T r o p - 2 過剰発現が観察された。同様に、胃がんでは、患者の 5 6 % が腫瘍上に T r o p - 2 過剰発現を示し得、これもまた、T r o p - 2 陽性腫瘍細胞のリンパ節関与を有する患者において、無病生存期間の短縮及び予後不良と関連していた。

10

【 0 0 1 3 】

これらの特徴、及び T r o p - 2 が非常に多くの難治性がんに関連しているという事実を考慮すると、T r o p - 2 は治療介入のための魅力的な標的である。それにもかかわらず、T r o p - 2 は、いくつかの正常組織においても発現することを考慮する必要があるが、通常、腫瘍組織におけるものと比較してはるかに低い強度で発現し、多くの場合、血管アクセスが制限された組織の領域において発現する。

20

【 0 0 1 4 】

T r o p - 2 に対するいくつかのモノクローナル抗体が確立されている。7 7 2 2 0 等のいくつかの抗 T r o p - 2 モノクローナル抗体は、試薬として市販されている。これらの確立された抗 T r o p - 2 モノクローナル抗体のいくつかは、がん治療に向けて調査中である。現在市販されている抗 T r o p - 2 モノクローナル抗体の大部分、例えば T 1 6 は、親免疫グロブリン軽鎖の発現を保持する融合パートナーとして N S - 1 又は S P 2 - 1 などの骨髓腫細胞株を使用して生成されている。これにより、これらの抗体は、実際には、T r o p - 2 認識に直接関与する軽鎖の一方、両方、又はどちらも関与しない抗体の不均一な混合物となった。

30

【 0 0 1 5 】

W O 1 9 9 7 / 1 4 7 9 6 は、細胞表面上の T r o p - 2 に結合し、細胞内に内在化することが知られているモノクローナル抗体 B R 1 1 0 を記載している。特許出願 W O 2 0 0 3 / 0 7 4 5 6 6、U S 2 0 0 4 / 0 0 1 8 2 5、U S 2 0 0 7 / 2 1 2 3 5 0 及び U S 2 0 0 8 / 1 3 1 3 6 3、並びに特許 U S 1 0 , 1 7 9 , 1 7 1 B 2 及び E P 3 4 8 3 1 8 3 B 1 は、R S 7 抗体、並びに腫瘍の治療及び診断におけるそれらの使用を教示している。これらの出願は更に、ヒト化、ヒト及びキメラ R S 7 抗原結合タンパク質 ( h R S 7、サシツズマブ)、並びに診断及び治療におけるそのような結合タンパク質の使用に関する。抗 T r o p - 2 モノクローナル抗体 A R 4 7 A 6 . 4 . 2 は、W O 2 0 0 7 / 0 9 5 7 4 8 に開示されており、A R 5 2 A 3 0 1 . 5 は、W O 2 0 0 7 / 0 9 5 7 4 9 に開示されており、これらの両方は、効果を示す標的細胞として T r o p - 2 発現がん細胞を特異的に傷つける抗体である。特許出願 W O 2 0 0 8 / 1 4 4 8 9 1 は、腫瘍の治療のための抗 T r o p - 2 モノクローナル抗体としての A R 4 7 A 6 . 4 . 2 のヒト化バージョンを教示している。特許出願 W O 2 0 1 1 / 1 5 5 5 7 9 ( 札幌 ) は、ヒト T r o p - 2 の細胞外領域と高い親和性で結合し、高い A D C C 活性及び高い抗腫瘍活性を示す、ヒト化モノクローナル抗体 A R 4 7 A 6 . 4 . 2 又はその抗体断片を教示している。特許出願 W O 2 0 1 3 / 0 7 7 4 5 8 及び U S 9 4 2 7 4 6 4 B 2 ( L i v T e c h / C h i o m e ) は、抗腫瘍活性を有する抗ヒト T r o p - 2 抗体、特に H u k 5 - 7 0 - 2 を含むヒ

40

50

ト化抗体、特にインビボでの抗腫瘍活性を有する抗ヒトTrop-2抗体を教示している。特許出願WO2013/068946及びUS8,871,908B2(Rinat/Pfizer)は、トロホブラスト細胞表面抗原-2(Trop-2)に特異的に結合する抗体7E6及びヒト化h7E6を教示している。この発明は更に、結腸、食道、胃、頭頸部、肺、卵巣、又は膵臓がんなどのTrop-2発現(例えば、がん)に関連する状態の治療のためにこれらの抗体コンジュゲートを使用するための治療方法に関する。特許US8,715,662(OncorX)は、TROP-2に特異的に結合する抗体2G10を教示している。

#### 【0016】

Trop-2を標的化するADCは、当該技術分野で既知であり、臨床開発の様々な段階にある。IMMU-132は、ヒト化抗体hRS7/サシツズマブに由来し、WO2015/012904に開示されるように、酸切断可能なリンカーCL2Aを介してカンプトテシン類似体SN-38にコンジュゲートされたADCであり、現在、(トリプルネガティブ)乳がん、小細胞肺癌及び膵臓がんを含む一連の臨床適応症の治療のための後期臨床開発中である。DS-1062a(ダトポタマブ-デルクステカン)は、ヒト化抗体hTINA/ダトポタマブに由来し、WO2015/098099、US11,008,398B2及びEP3088419B1に開示されているプロテアーゼ感受性GGFG切断可能リンカーを介してカンプトテシン類似体DXdにコンジュゲートされたADCであり、固形腫瘍の治療に向けた臨床評価中である。第三に、PF-06664178は、微生物トランスグルタミナーゼの作用下でオーリスタチン類似体PF-06380101に部位特異的にコンジュゲートされた、モノクローナル抗体RN926に由来するADCである。PF-06664178は、進行性又は転移性の固形腫瘍を有する患者を対象とした第I相臨床試験で評価されたが、ADCは、高用量レベルで毒性を示し、抗腫瘍活性がわずかであったため、開発を中止した。

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0017】

本発明者らは、Trop-2発現細胞、特に腫瘍を標的化するのに非常に好適な抗体コンジュゲートを開発した。したがって、本発明による抗体コンジュゲートは、Trop-2陽性がん、特に乳がん、結腸直腸がん、膵臓がん、肺がん、膀胱がん、頭頸部がん、卵巣がん、又は食道がんの治療に非常に好適である。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0018】

第1の態様において、本発明は、抗体コンジュゲートに関する。これに関連して、第2の態様において、本発明は、本発明による抗体コンジュゲートを調製するためのプロセスに関する。第3の態様において、本発明は、Trop-2発現細胞を標的化するための方法に関する。これに関連するのは、本発明による抗体コンジュゲートの第1の医学的用途、並びにがんの治療のための第2の医学的用途である。最後の態様において、本発明は、Trop-2発現腫瘍の治療における抗体コンジュゲートの治療指数を増加させるためのコンジュゲーション様式の使用に関する。

#### 【0019】

#### 定義

本説明及び特許請求の範囲で使用される動詞「含む」及びその活用形は、その非限定的な意味で使用され、単語の後に続く項目が含まれるが、具体的に言及されていない項目は除外されないことを意味する。

#### 【0020】

加えて、不定冠詞「a」又は「an」による要素への言及は、文脈が明らかに要素のただ1つのみが存在することを要求しない限り、要素のうち2つ以上が存在する可能性を排除しない。したがって、不定冠詞「a」又は「an」は、通常、「少なくとも1つ」を意味する。

10

20

30

40

50

## 【0021】

リンカーは、本明細書において、化合物の2つ以上の要素を接続する（共有結合させる）部分として定義される。リンカーは、1つ以上のスペーサー部分を含み得る。スペーサー部分は、本明細書において、リンカーの2つ（又はそれ以上）の部分に離間させ（すなわち、その間に距離を提供する）、互いに共有結合させる部分として定義される。リンカーは、以下で定義されるように、例えば、リンカー構築物、リンカーコンジュゲート、リンカーペイロード（例えば、リンカー薬物）又は抗体コンジュゲートの一部であり得る。

## 【0022】

「親水性基」又は「極性リンカー」は、本明細書において、それが結合している分子に改善された極性、したがって改善された水溶性を付与する1つ以上の極性官能基を含む任意の分子構造として定義される。好ましい親水性基は、カルボン酸基、アルコール基、エーテル基、ポリエチレングリコール基、アミノ基、アンモニウム基、スルホン酸基、リン酸基、アシルスルファミド基又はカルバモイルスルファミド基から選択される。より高い溶解度に加えて、親水性基の他の効果は、改善されたクリックコンジュゲーション効率を含み、抗体-薬物コンジュゲートに組み込まれると、より少ない凝集、より高い有効性及びインビボ耐容性をもたらす改善された薬物動態を含む。

10

## 【0023】

「その塩」という用語は、酸性プロトン、典型的には酸のプロトンが、金属カチオン又は有機カチオン等のカチオンに置き換えられた場合に形成される化合物を意味する。該当する場合、塩は、薬学的に許容される塩であるが、これは、患者への投与を意図しない塩には必要ではない。例えば、化合物の塩では、化合物を無機又は有機酸によってプロトン化して、塩のアニオン成分として無機又は有機酸の共役塩基を用いてカチオンを形成してもよい。「薬学的に許容される」塩という用語は、哺乳動物などの患者への投与に許容される塩（所与の投与計画に対して許容される哺乳動物安全性を有する対イオンを有する塩）を意味する。そのような塩は、薬学的に許容される無機塩基又は有機塩基、及び薬学的に許容される無機酸又は有機酸に由来し得る。「薬学的に許容される塩」は、化合物の薬学的に許容される塩を指し、その塩は当該技術分野において既知である多様な有機及び無機の対イオンに由来し、例えば、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウム、テトラアルキルアンモニウムなどを含み、分子が塩基性官能基を含有する場合、塩酸塩、臭化水素酸塩、ギ酸塩、酒石酸塩、ベシル酸塩、メシル酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、シュウ酸塩などの有機酸又は無機酸の塩を含む。

20

30

## 【0024】

「エンジン」又は「エンジン抗生物質」又は「エンジン含有細胞毒素」という用語は、当該技術分野で既知の環状分子の一部としての3-エン-1,5-ジイン構造的特徴の存在を特徴とする任意の細胞毒素を指し、ネオカルジノスタチン(NCS)、C-1027、ケダルシジン(KED)、マズロペプチン(MDP)、N1999A2、スポロリド(SPO)、シアノスポラシド(CYA及びCYN)、並びにフィジオライド、カリケアマイシン(CAL)、エスペラミシン(ESP)、ダイネミシン(DYN)、ナメナマイシン、シジジミシン、及びユニカラマイシン(UCM)を含む。

## 【0025】

「アルキルアミノ糖」という用語は、本明細書で使用される場合、その2位を介してアルコール官能基に接続され、それによってアセタール官能基を形成し、3位、4位又は5位の（少なくとも）1つのN-アルキルアミノ基によって更に置換されるテトラヒドロピラニル部分を意味する。この文脈における「N-アルキルアミノ基」は、1つのメチル、エチル、又は2-プロピル基を有するアミノ基を指す。

40

## 【0026】

「クリックプローブ」という用語は、クリック反応を生じることができる官能性部分、すなわち、2つの適合性クリックプローブが、それらが生成物中で共有結合されるように、互いにクリック反応を生じることがを指す。クリック反応のための適合性プローブは当該技術分野で既知であり、好ましくは（環状）アルキン及びアジドを含む。本発明の文脈に

50

において、本発明による化合物中のクリックプローブQは、クリック反応の発生時に、タンパク質が本発明による化合物にコンジュゲートされたコンジュゲートが形成されるように、(修飾された)タンパク質上のクリックプローブFと反応することができる。ここで、F及びQは、適合性クリックプローブである。

【0027】

「アシルスルファミド部分」は、本明細書において、分子の一端でN-アシル化又はN-カルバモイル化され、分子の他端でN-アルキル化(モノ又はビス)されるスルファミド部分( $\text{H}_2\text{NSO}_2\text{NH}_2$ )として定義される。本発明の文脈において、特に実施例において、この基は「HS」とも称される。

【0028】

「ドメイン」は、一般に配列相同性に基づいて定義され、しばしば特定の構造的又は機能的エンティティに関連するタンパク質の任意の領域であり得る。ドメインという用語は、本明細書において、「Vドメイン」等の個々のIg様ドメイン、又は「C2タイプ1-2ドメイン」等の連続したドメインの群のいずれかを指定するために使用される。

【0029】

「コード配列」、又は発現産物、例えば、RNA、ポリペプチド、タンパク質若しくは酵素を「コードする」配列は、発現するとそのRNA、ポリペプチド、タンパク質、又は酵素の産生をもたらすヌクレオチド配列であり、すなわち、ヌクレオチド配列は、そのポリペプチド、タンパク質、又は酵素のアミノ酸配列をコードする。タンパク質のコード配列は、開始コドン(通常ATG)及び停止コドンを含み得る。

【0030】

「遺伝子」という用語は、1つ以上のタンパク質又は酵素の全部又は一部を含むアミノ酸の特定の配列をコードするか、又はそれに対応するDNA配列を意味し、例えば、遺伝子が発現する条件を決定するプロモーター配列などの調節DNA配列を含んでもよく、又は含まなくてもよい。構造遺伝子ではないいくつかの遺伝子は、DNAからRNAに転写され得るが、アミノ酸配列に翻訳されない。他の遺伝子は、構造遺伝子の調節因子として、又はDNA転写の調節因子として機能し得る。特に、遺伝子という用語は、タンパク質をコードするゲノム配列、すなわち、調節因子、プロモーター、イントロン及びエクソン配列を含む配列を対象とし得る。

【0031】

「糖タンパク質」という用語は、その通常の科学的意味で本明細書で使用され、タンパク質に共有結合した1つ以上の単糖鎖又はオリゴ糖鎖(「グリカン」)を含むタンパク質を指す。グリカンは、タンパク質上のヒドロキシル基(O-連結グリカン)、例えば、セリン、トレオニン、チロシン、ヒドロキシリシン若しくはヒドロキシプロリンのヒドロキシル基、又はタンパク質上のアミド官能基(N-グリコタンパク質)、例えば、アスパラギン若しくはアルギニン、又はタンパク質上の炭素(C-糖タンパク質)、例えば、トリプトファンに結合され得る。糖タンパク質は、2つ以上のグリカンを含んでもよく、1つ以上の単糖及び1つ以上のオリゴ糖グリカンの組み合わせを含んでもよく、N連結グリカン、O連結グリカン、及びC連結グリカンの組み合わせを含んでもよい。全てのタンパク質の50%超が何らかの形態のグリコシル化を有し、したがって糖タンパク質として適格であると推定される。糖タンパク質の例としては、PSMA(前立腺特異的膜抗原)、CAL(カンジダアンタルティカリパーゼ)、gp41、gp120、EPO(エリスロポエチン)、不凍タンパク質及び抗体が挙げられる。

【0032】

「グリカン」という用語は、その通常の科学的意味で本明細書で使用され、タンパク質に連結された単糖又はオリゴ糖鎖を指す。したがって、グリカンという用語は、糖タンパク質の炭水化物部分を指す。糖鎖は、更なる置換なしであり得る(単糖)か、又はそのヒドロキシル基のうち1つ以上で更に置換され得る(オリゴ糖)、1つの糖のC-1炭素を介してタンパク質に結合する。天然に存在するグリカンは、典型的には、1~約10個の糖部分を含む。しかしながら、より長い糖鎖がタンパク質に連結されている場合、当該

10

20

30

40

50

糖鎖は本明細書でもグリカンとみなされる。糖タンパク質のグリカンは、単糖であり得る。典型的には、糖タンパク質の単糖グリカンは、タンパク質に共有結合した単一の N - アセチルグルコサミン ( G l c N A c )、グルコース ( G l c )、マンノース ( M a n ) 又はフコース ( F u c ) からなる。グリカンはまた、オリゴ糖であってもよい。糖タンパク質のオリゴ糖鎖は、直鎖又は分岐鎖であり得る。オリゴ糖では、タンパク質に直接結合する糖はコア糖と呼ばれる。オリゴ糖では、タンパク質に直接結合せず、少なくとも 2 つの他の糖に結合する糖は、内部糖と呼ばれる。オリゴ糖では、タンパク質に直接結合しないが、単一の他の糖、すなわち、その他のヒドロキシル基のうち 1 つ以上において更なる糖置換基を有しない糖は、末端糖と呼ばれる。誤解を避けるために、糖タンパク質のオリゴ糖には複数の末端糖が存在する可能性があるが、コア糖は 1 つだけである。グリカンは、O 連結グリカン、N 連結グリカン又は C 連結グリカンであり得る。O 連結グリカンでは、単糖又はオリゴ糖グリカンは、典型的にはセリン ( S e r ) 又はスレオニン ( T h r ) のヒドロキシル基を介して、タンパク質のアミノ酸中の O 原子に結合する。N 連結グリカンでは、単糖又はオリゴ糖グリカンは、タンパク質のアミノ酸中の N 原子を介して、典型的にはアスパラギン ( A s n ) 又はアルギニン ( A r g ) の側鎖中のアミド窒素を介してタンパク質に結合する。C 連結グリカンでは、単糖又はオリゴ糖グリカンは、タンパク質のアミノ酸中の C 原子、典型的にはトリプトファン ( T r p ) の C 原子に結合する。

10

#### 【 0 0 3 3 】

「抗体」( A B ) という用語は、本明細書において、その通常の科学的意味で使用される。抗体は、特定の抗原を認識し、それに結合することができる、免疫系によって生成されるタンパク質である。抗体は、糖タンパク質の一例である。本明細書における抗体という用語は、その最も広い意味で使用され、具体的には、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二量体、多量体、多重特異性抗体 ( 例えば、二重特異性抗体 )、抗体断片、並びに二本鎖及び一本鎖抗体を含む。「抗体」という用語はまた、本明細書において、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、及びがん抗原に特異的に結合する抗体を含むことを意図する。「抗体」という用語は、全抗体を含むが、抗体の断片、例えば、切断抗体、s c F v - F c 断片、ミニボディ、ダイアボディ、又は s c F v 由来の抗体 F a b 断片、F ( a b ' )<sub>2</sub>、F v 断片、又は F c 断片も含むことを意図する。更に、この用語は、遺伝子操作された抗体及び抗体の誘導体を含む。抗体、抗体の断片、及び遺伝子操作された抗体は、当該技術分野で知られている方法によって得ることができる。

20

30

#### 【 0 0 3 4 】

抗体は、2 つの重鎖がジスルフィド結合によって互いに連結され、各重鎖がジスルフィド結合によって軽鎖に連結される、天然又は従来 of 抗体であり得る。軽鎖にはラムダ ( λ ) 及びカッパ ( κ ) の 2 種類がある。軽鎖は、可変ドメイン ( V L ) 及び定常ドメイン ( C L ) の 2 つのドメイン又は領域を含む。重鎖は、可変ドメイン ( V H ) 及び 3 つの定常ドメイン ( C H 1、C H 2 及び C H 3、集合的に C H と称される ) の 4 つのドメインを含む。軽鎖 ( V L ) 及び重鎖 ( V H ) の両方の可変領域は、抗原への結合認識及び特異性を決定する。軽鎖 ( C L ) 及び重鎖 ( C H ) の定常領域ドメインは、抗体鎖会合、分泌、胎盤貫通移動性、補体結合、及び F c 受容体 ( F c R ) への結合等の重要な生物学的特性を付与する。F v 断片は、免疫グロブリンの F a b 断片の N 末端部分であり、1 つの軽鎖及び 1 つの重鎖の可変部分からなる。免疫グロブリンは、任意の種類 ( 例えば、I g G、I g E、I g M、I g D、及び I g A )、クラス ( 例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1 及び I g A 2 ) 若しくはサブクラス、又はアロタイプ ( 例えば、ヒト G 1 m 1、G 1 m 2、G m 3、非 G 1 m 1 [ すなわち G 1 m 1 以外の任意のアロタイプ ]、G 1 m 1 7、G 2 m 2 3、G 3 m 2 1、G 3 m 2 8、G 3 m 1 . 1、G 3 m 5、G 3 m 1 3、G 3 m 1 4、G 3 m 1 0、G 3 m 1 5、G 3 m 1 6、G 3 m 6、G 3 m 2 4、G 3 m 2 6、G 3 m 2 7、A 2 m 1、A 2 m 2、K m 1、K m 2 及び K m 3 ) の免疫グロブリン分子であり得る。投与のための好ましいアロタイプとしては、G 1 m 1 7, 1、G 1 m 3、G 1 m 3 . 1、G 1 m 3 . 2 又は G 1 m 3 . 1 . 2 などの非 G 1 m 1 アロタイプ ( n G 1 m 1 ) が挙げられる。より好ましくは、アロタイプは、G 1 m 1 7, 1 又は G 1

40

50

m3アロタイプからなる群から選択される。抗体は、Saunders et al. Front. Immunol. 2019, 10, doi:10.3389/fimmu.2019.01296及びWard et al., Mol. Immunol. 2015, 67, 131-141によって要約されるように、Fc-ガンマ受容体への結合を増強又は無効化するようにFcドメイン内で操作され得る。例えば、Leu234Ala及びLeu235Ala(一般にLALA変異と呼ばれる)の組み合わせは、FcRIIa結合を排除する。Fc受容体への結合の排除はまた、アスパラギンを除く任意の他のアミノ酸へのN297アミノ酸の変異、トレオニン又はセリンを除く任意の他のアミノ酸へのT299アミノ酸の変異、又は例えば、PNGase F若しくはエンドグリコシダーゼによる完全にグリコシル化された抗体の酵素的脱グリコシル化若しくはトリミングによって達成することができる。免疫グロブリンは、ヒト、マウス、又はウサギ由来を含む任意の種に由来し得る。各鎖は、異なる配列ドメインを含有する。

10

#### 【0035】

「配列同一性」のパーセンテージは、比較の枠にわたって2つの最適にアラインメントされた配列を比較することによって決定され得、比較の枠のポリヌクレオチド又はポリペプチド配列の部分は、2つの配列の最適なアラインメントのための参照配列(付加又は欠失を含まない)と比較して、付加又は欠失(すなわち、ギャップ)を含み得る。「参照配列と少なくとも85%同一である」配列は、その全長において、参照配列の全長と85%以上、例えば90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を有する配列である。

20

#### 【0036】

「CDR」という用語は、相補性決定領域を指し、抗体の特異性は、抗体結合部位と抗原決定基との間の構造相補性に存在する。抗体結合部位は、主に超可変又は相補性決定領域(CDR)に由来する残基で構成される。時折、非超可変又はフレームワーク領域(FR)由来の残基は、全体のドメイン構造、ひいては結合部位に影響を与える。したがって、相補性決定領域又はCDRは、天然免疫グロブリン結合部位の天然Fv領域の結合親和性及び特異性を一緒に規定するアミノ酸配列を指す。免疫グロブリンの軽鎖及び重鎖は、それぞれCDR1-L、CDR2-L、CDR3-L及びCDR1-H、CDR2-H、CDR3-Hの3つのCDRを有する。したがって、従来の抗体抗原結合部位は、重鎖V領域及び軽鎖V領域のそれぞれからのCDRセットを含む6つのCDRを含む。「CDR」

30

#### 【0037】

「モノクローナル抗体」又は「mAb」という用語は、本明細書で使用される場合、特定の抗原に対して指向される単一のアミノ酸配列の抗体分子を指し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるべきではない。モノクローナル抗体は、B細胞又はハイブリドーマの単一のクローンによって産生され得るが、組換えであってもよく、すなわちタンパク質工学によって産生されてもよい。

#### 【0038】

「キメラ抗体」という用語は、その最も広い意味で、1つの抗体からの1つ以上の領域及び1つ以上の他の抗体からの1つ以上の領域を含有する操作された抗体を指す。一実施形態において、キメラ抗体は、別の抗体のCHドメイン及びCLドメイン、一実施形態ではヒト抗体と会合した、非ヒト動物由来の抗体のVHドメイン及びVLドメインを含む。非ヒト動物として、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ等の任意の動物を使用することができる。キメラ抗体はまた、少なくとも2つの異なる抗原に対する特異性を有する多重特異性抗体を示し得る。

40

#### 【0039】

「ヒト化抗体」という用語は、全体的又は部分的に非ヒト起源であり、ヒトにおける免疫応答を回避又は最小化するために、例えば、VHドメイン及びVLドメインのフレームワーク領域において、ある特定のアミノ酸を置き換えるように修飾された抗体を指す。ヒト化抗体の定常ドメインは、ほとんどの場合、ヒトのCHドメイン及びCLドメインであ

50

る。(従来の)抗体の「断片」は、無傷抗体の一部、特に無傷抗体の抗原結合領域又は可変領域を含む。抗体断片の例としては、抗体断片から形成されたFv、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fab'、dsFv、(dsFv)<sub>2</sub>、scFv、sc(Fv)<sub>2</sub>、ダイアボディ、二重特異性及び多重特異性抗体が挙げられる。従来の抗体の断片はまた、重鎖抗体又はVHH等の単ドメイン抗体であってもよい。

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図1】生体分子中に存在する場合、反応性基Qとの反応時に接続基Z(1a~1h)をもたらす反応性基(F)の代表的な組を示す。官能基Fは、最適な任意の位置で生体分子に人工的に導入(操作)され得る。

【図2】2段階のプロセスにおいて、抗体コンジュゲートがどのようにして任意のモノクローナル抗体から得ることができるかを概略的に示す。第1の段階では、アジド修飾UDP-Gal又はUDP-GalNAcは、(a)エンドグリコシダーゼによる(コアGlcNAcへの)グリカンのトリミング及び(b)グリコシルトランスフェラーゼ(ガラクトシルトランスフェラーゼ又はその変異又はGalNAcトランスフェラーゼ)の作用下でのアジド糖の結合を伴うワンポットプロセスにおいてモノクローナル抗体に結合し、それによって、アジド修飾GalNAcとGlcNAcとの間に-グリコシド1-4連結を生成し得る。第2の段階では、アジド修飾抗体を適切に官能化されたシクロオクチンと反応させ、それによって抗体コンジュゲートを生成する。

【図3】例えば、N-アセチルガラクトサミンの2位の3-メルカプトプロピオニル基(2a)、アジドアセチル基(2b)、若しくはアジドジフルオロアセチル基(2c)、又は6位のアジド基(2d)で修飾され得る、ガラクトサミンのUDP糖の誘導体のいくつかの構造を示す。

【図4】反応性部分Qの好ましい選択肢である、金属不含クリック化学に好適なシクロオクチン(A~T)を示す。

【図5】本発明による様々なTrop-2標的化モノクローナル抗体へのコンジュゲーションのための1組の例示的な毒性ペイロードを示す。リンカーの結合点(ペイロードに存在するアミノ基への)は、矢印で示される。本発明による好ましいコンジュゲートは、図5に示されるように、結合点を含むペイロードを含有する。

【図6】本発明の文脈における好ましいペイロードである様々なカンプトテシンの構造を示す。

【図7】以下のペイロード(3=エキサテカン、4=MMAE、5a=カリケアマイシン<sub>1</sub><sup>I</sup>、5b=グリシン-カリケアマイシン<sub>1</sub><sup>I</sup>、6=6-アミノヘキサノイル-メイトンシノイド)を有する、アジド糖リモデリング抗体へのクリック化学を介してADCを調製するために使用されるVal-Cit-PABC又はVal-Ala-PABC切断可能リンカーを含有するBCN-リンカー薬物の構造を示す。特に好ましいのは、リンカー-薬物構築物3である。

【図8】サシツズマブ-3(DAR4)対DS-1062、ダトポタマブ/hTINA抗体及びデルクステカンリンカー-ペイロード(GFGG切断可能リンカー及びDXdペイロードに基づく)からなる第3相臨床ADC(DAR4)のN87マウス異種移植モデルにおけるインビボデータを示す。10mg/kg(それぞれ)の単回用量を投与すると、18日後(図8(A))又は31日後(図8(C))、サシツズマブ-3において実質的に良好な腫瘍退縮が認められ、次いでダトポタマブ-デルクステカンにおいて認められた。図8(B)及び8(D)は、18日又は31日までの体重プロットを示す。

【図9】Colo-205マウス異種移植片モデルのインビボ有効性データを示す。両方の用量レベルでのhTINA-デルクステカン、低い抗腫瘍有効性を示し、一方、hRS7-3は、有意な抗腫瘍有効性を示す。8mg/kgの用量レベルであっても、25日目から試験終了70日目までの完全な腫瘍退縮を誘導する明確な用量反応が観察された。

【図9B】経時的なマウスの体重を示す。カプラン-マイヤープロットを図9Cに示す。

【図10】実施例12のHIC-HPLCトレースを示す。

10

20

30

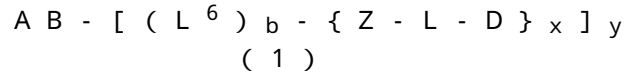
40

50

## 【発明を実施するための形態】

## 【0041】

第1の態様において、本発明は、一般構造(1)の抗体コンジュゲートに関し、



ここで、

- ABは、Trop-2発現腫瘍を標的化することができる抗体であり、
- Lは、ZをDに連結するリンカーであり、
- Zは、接続基であり、
- $L^6$ は、 $-GlNAc(Fuc)_w - (G)_j - S - (L^7)_w -$ であり、式中、Gは、単糖であり、jは、0~10の範囲の整数であり、Sは、糖又は糖誘導体であり、GlNAcは、N-アセチルグルコサミンであり、Fucは、フコースであり、wは、0又は1であり、 $w'$ は、0、1、又は2であり、 $L^7$ は、 $-N(H)C(O)CH_2-$ 、 $-N(H)C(O)CF_2-$ 、又は $-CH_2-$ であり、
- Dは、アントラサイクリン、カンプトテシン、チューブリシン、エンジン、アマニチン、デュオカルマイシン、メイタンシノイド、オーリスタチン、エリブリン、BCL-XL阻害剤、ヘミアステリン、KSP阻害剤、TLRアゴニスト、インドリノベンゾジアゼピン二量体又はピロロベンゾジアゼピン二量体(PBD)、及びそれらの類似体又はプロドラッグからなる群から選択され、
- bは、0又は1であり、
- xは、1又は2であり、
- yは、1、2、3、又は4である。

## 【0042】

構造(1)による抗体コンジュゲートの塩、好ましくは薬学的に許容される塩も本発明において企図される。

## 【0043】

第2の態様において、本発明は、一般構造(2)に従う化合物を抗体(3)と反応させることを含む、本発明に従う抗体コンジュゲートを調製するためのプロセスに関する。一般構造(2)に従う化合物は、反応性部分Qと、コンジュゲーション反応においてQと反応することができる抗体反応性部分Fとを含み、QとFは反応して連結基Zを形成する。この反応では、一般構造(1)に記載のコンジュゲートが形成される。この態様によるプロセスは、以下のバイオコンジュゲーション反応に関する、



## 【0044】

以下では、構造(1)に従う抗体コンジュゲートをまず定義する。構造(1)に従う抗体コンジュゲートの構造的特徴は、構造(2)に従う化合物及び構造(3)に従う抗体にも適用されるが、これは、構造(2)に従う化合物と構造(3)に従う抗体との反応時に連結基Zに変換される反応性部分F及びQを除いて、コンジュゲーション反応において不変であるためである。

## 【0045】

第3の態様において、本発明は、Trop-2発現細胞を標的化するための、構造(1)に従う適用抗体コンジュゲートに関する。これに関連して、本発明は、構造(1)に従う抗体コンジュゲートの第1の医学的用途及び第2の医学的用途に関する。

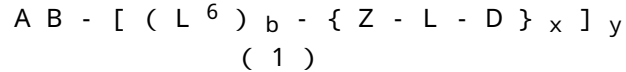
## 【0046】

当業者によって理解されるように、化学的部分の定義、及びそれらの好ましい実施形態は、本発明の全ての態様に適用される。

## 【0047】

一般構造(1)の抗体コンジュゲート

第1の態様において、本発明は、一般構造(1)の抗体コンジュゲートに関し、



ここで、

- ABは、Trop-2発現腫瘍を標的化することができる抗体であり、
- bは、0又は1であり、
- $L^6$ は、 $-GlcNAc(Fuc)_w - (G)_j - S - (L^7)_w -$ であり、式中、Gは、単糖であり、jは、0~10の範囲の整数であり、Sは、糖又は糖誘導体であり、GlcNAcは、N-アセチルグルコサミンであり、Fucは、フコースであり、wは、0又は1であり、w'は、0、1、又は2であり、 $L^7$ は、 $-N(H)C(O)CH_2-$ 、 $-N(H)C(O)CF_2-$ 、又は $-CH_2-$ であり、
- Zは、接続基であり、
- Lは、ZをDに連結するリンカーであり、
- Dは、アントラサイクリン、カンプトテシン、チューブリシン、エンジン、アマニチン、デュオカルマイシン、メイタンシノイド、オーリスタチン、エリブリン、BCL-XL阻害剤、ヘミアステリン、KSP阻害剤、TLRアゴニスト、インドリノベンゾジアゼピン二量体又はピロロベンゾジアゼピン二量体(PBD)、及びそれらの類似体又はプロドラッグからなる群から選択され、
- xは、1又は2であり、
- yは、1、2、3、又は4である。

【0048】

抗体AB

本発明による抗体コンジュゲートは、Trop-2発現細胞、特に腫瘍細胞を標的化することができる抗体を含有する。Trop-2は、がん治療のための既知の標的である。「発現する」という用語は、当該技術分野で一般的に使用され、健康な組織における発現に関する標的の過剰発現を指す。Trop-2発現腫瘍を標的化することができる抗体は、抗Trop-2抗体、Trop-2標的化抗体、又はTrop-2結合抗体とも称される。抗Trop-2抗体は、Trop-2発現細胞に選択的に結合する。

【0049】

抗Trop-2抗体は当該技術分野で既知であり、任意の好適なものを本発明の文脈において使用することができる。好ましい抗体は、Huk5-70-2、hRS7、hTINA、AR47A6.4.2、RN926からなるリストから選択される。最も好ましくは、抗体は、hRS7である。

【0050】

ここで、これらの抗体のFc領域は、0~10個の変異又は0~5個の変異などの1つ以上の変異を有し得る。抗体の半減期を調節するためにFcRn受容体への結合を変化させる変異が特に好ましい。例えば、しばしばYTEと呼ばれる変異Met252Tyr、Ser254Thr、及びThr256GluをIgG1Fcに含めることにより、ヒトFcRnに対する抗体の結合が約1.1倍高くなり、それにより、約3.5倍循環半減期が増加する。したがって、一実施形態において、抗体は、 $2.5 \times 10^{-6}$ M未満、好ましくは $0.05 \sim 0.99 \times 10^{-6}$ Mの範囲内、より好ましくは $0.1 \sim 0.49 \times 10^{-6}$ Mの範囲内、最も好ましくは $0.2 \sim 0.4 \times 10^{-6}$ Mの範囲内の見かけのヒトFcRn結合親和性 $K_{D,app}$ を有する。見かけの結合親和性 $K_{D,app}$ は、MacKness et al. MABS, 2019, 11(7), 1276-1288に従って決定され得る。好ましい実施形態において、抗体ABは、上記又は下記で定義される好ましい抗体のYTE変異である。

【0051】

hRS7はまたサシツズマブとしても知られ、配列番号3に従う軽鎖配列と、配列番号4に従う重鎖配列とを含むように定義され得、配列同一性は、少なくとも90%、好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも99%、最も好ましくは100%であ

る。特に好ましい実施形態において、この実施形態による抗体は、カリケアマイシン、MMAE、PF-06380101、エキサテカン、及びDXdからなる群から選択されるペイロードDと、より好ましくは、カリケアマイシン、MMAE、及びエキサテカンからなる群から選択されるペイロードDと、最も好ましくは、ペイロードDとしてのエキサテカンと組み合わせられる。

【0052】

hTINAはまたダトポタマブとしても知られ、配列番号7に従う軽鎖配列と、配列番号8に従う重鎖配列とを含むように定義され得、配列同一性は、少なくとも90%、好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも99%、最も好ましくは100%である。特に好ましい実施形態において、この実施形態による抗体は、カリケアマイシン、MMAE、PF-06380101、エキサテカン、及びDXdからなる群から選択されるペイロードDと、より好ましくは、カリケアマイシン、MMAE、及びエキサテカンからなる群から選択されるペイロードDと、最も好ましくは、ペイロードDとしてのエキサテカンと組み合わせられる。

10

【0053】

代替的に、抗体は、そのV<sub>L</sub>ドメイン及びV<sub>H</sub>ドメインによって定義され、これらは一緒になって、抗原に結合する可変ドメインを形成する。したがって、好ましい実施形態において、抗体は、配列番号1、5、9、13、19、21及び23からなる群から選択されるV<sub>L</sub>ドメインと、配列番号2、6、10、14、15、20、22及び24からなる群から選択されるV<sub>H</sub>ドメインとを含み、配列同一性は、少なくとも70%、好ましくは少なくとも75%又は少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%又は少なくとも90%又は少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも99%又は100%である。更に好ましい実施形態において、抗体は、配列番号1又は5のV<sub>L</sub>ドメインと、配列番号2又は6のV<sub>H</sub>ドメインとを含み、配列同一性は、少なくとも70%、好ましくは少なくとも75%、又は少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%又は少なくとも90%又は少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも99%又は更には100%である。特に好ましい実施形態において、抗体は、配列番号1のV<sub>L</sub>ドメインと、配列番号2のV<sub>H</sub>ドメインとを含み、配列同一性は、少なくとも70%、好ましくは少なくとも75%、又は少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%又は少なくとも90%又は少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも99%又は更には100%である。

20

30

【0054】

前述の配列同一性は、V<sub>L</sub>ドメイン及びV<sub>H</sub>ドメインの完全な配列を指す。これらのドメインの配列全体は、Trop-2への結合を危険にさらすことなく、配列内のいくつかの変異を可能にするが、Trop-2への結合が著しく危険にさらされないことを確実にするために、相補性決定領域(CDR)は、より高い配列同一性を有することが好ましい。CDRの位置は、以下の表に示される。したがって、抗体は、配列番号1、5、9、13、19、21、及び23からなる群から選択されるV<sub>L</sub>ドメインと、配列番号2、6、10、14、15、20、22、及び24からなる群から選択されるV<sub>H</sub>ドメインとを、好ましくは配列番号1又は5のV<sub>L</sub>ドメインと、配列番号2又は6のV<sub>H</sub>ドメインとを、より好ましくは配列番号1のV<sub>L</sub>ドメインと、配列番号2のV<sub>H</sub>ドメインとを含むことが好ましく、CDRの配列同一性は、少なくとも90%、好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも99%、最も好ましくは100%である。当業者には、上記で特定されたV<sub>L</sub>ドメイン及びV<sub>H</sub>ドメインが、好適な定常ドメインと組み合わせると完全な抗体を形成することができることが理解される。

40

【数1】

好ましいV<sub>L</sub>ドメイン

配列番号	CDR(配列内のアミノ酸数)
1	24-34 50-56 89-97
5	24-34 50-56 89-97
9	24-34 50-56 89-97
13	24-34 50-56 89-97
19	24-34 50-56 89-97
21	24-34 50-56 89-97
23	24-34 50-56 89-97

10

## 【数2】

好ましいV<sub>H</sub>ドメイン

配列番号	CDR(配列内のアミノ酸数)
2	31-35 50-66 99-110
6	31-35 50-66 99-110
10	31-35 50-66 99-110
14	31-35 50-66 99-110
15	31-35 50-66 99-110
20	31-35 50-66 99-110
22	31-35 50-66 99-110
24	31-35 50-66 99-110

20

## 【0055】

特に好ましい実施形態において、抗体は、配列番号1のV<sub>L</sub>ドメインと配列番号2のV<sub>H</sub>ドメインとを、又は配列番号5のV<sub>L</sub>ドメインと配列番号6のV<sub>H</sub>ドメインとを、又は配列番号9のV<sub>L</sub>ドメインと配列番号10のV<sub>H</sub>ドメインとを、又は配列番号13のV<sub>L</sub>ドメインと配列番号14若しくは15のV<sub>H</sub>ドメインとを、又は配列番号19のV<sub>L</sub>ドメインと配列番号20のV<sub>H</sub>ドメインとを、又は配列番号21のV<sub>L</sub>ドメインと配列番号22のV<sub>H</sub>ドメインとを、又は配列番号23のV<sub>L</sub>ドメインと配列番号24のV<sub>H</sub>ドメインとを含む。本明細書において、完全配列について、及びCDRについて上記で定義した配列同一性が適用される。最も好ましくは、抗体は、配列番号1のV<sub>L</sub>ドメインと配列番号2のV<sub>H</sub>ドメインとを含む。

30

## 【0056】

代替的に、抗体は、一緒になって抗体を形成するその軽鎖及び重鎖によって定義される。したがって、好ましい実施形態において、抗体は、配列番号3、7、11、及び16からなる群から選択される軽鎖と、配列番号4、8、12、17、及び18からなる群から選択される重鎖とを含み、配列同一性は、少なくとも70%、好ましくは少なくとも75%又は少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%又は少なくとも90%又は少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも99%又は更には100%である。より好ましい実施形態において、抗体は、配列番号3又は7の軽鎖と、配列番号4又は8からなる群から選択される重鎖とを含み、配列同一性は、少なくとも70%、好ましくは少なくとも75%又は少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%又は少なくとも90%又は少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも99%又は更には100%である。最も好ましい実施形態において、抗体は、配列番号3の軽鎖と、配列番号4からなる群から選択される重鎖とを含み、配列同一性は、少なくとも70%、好ましくは少なくとも75%又は少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%又は少なくとも90%又は少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも99%又は更には100%である。

40

## 【0057】

50

前述の配列同一性は、軽鎖及び重鎖の完全な配列を指す。これらの鎖の配列全体は、Trop-2への結合を危険にさらすことなく、配列内のいくつかの変異を可能にするが、Trop-2への結合が著しく危険にさらされないことを確実にするために、CDRは、より高い配列同一性を有することが好ましい。CDRの位置は、以下の表に示される。したがって、抗体は、配列番号3、7、11、及び16からなる群から選択される軽鎖と、配列番号4、8、12、17、及び18からなる群から選択される重鎖とを含むことが好ましく、CDRの配列同一性は、少なくとも90%、好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも99%、最も好ましくは100%である。

## 【数3】

## 好ましい軽鎖

配列番号	CDR(配列内のアミノ酸数)
3	24-34 50-56 89-97
7	24-34 50-56 89-97
11	24-34 50-56 89-97
16	24-34 50-56 89-97

10

## 【数4】

## 好ましい重鎖

配列番号	CDR(配列内のアミノ酸数)
4	31-35 50-66 99-110
8	31-35 50-66 99-110
12	31-35 50-66 99-110
17	31-35 50-66 99-110
18	31-35 50-66 99-110

20

## 【0058】

特に好ましい実施形態において、抗体は、配列番号3の軽鎖と配列番号4の重鎖とを、又は配列番号7の軽鎖と配列番号8の重鎖とを、又は配列番号11の軽鎖と配列番号12の重鎖とを、又は配列番号16の軽鎖と配列番号17若しくは18の重鎖とを含む。本明細書において、完全配列について、及びCDRについて上記で定義した配列同一性が適用される。最も好ましくは、抗体は、配列番号3の軽鎖と配列番号4の重鎖とを含み、ここで、完全配列について、及びCDRについて上記で定義した配列同一性が適用される。特に好ましいのは、ペイロードDとしてエキサテカンを含むこの抗体である。

30

## 【0059】

リンカーL<sup>6</sup>

反応性基Fが抗体、又は更には抗体構造の一部に直接接続されている場合、ABをF(構造(3)の抗体の場合)又はABをZ(構造(1)のコンジュゲートの場合)に接続するリンカーL<sup>6</sup>は存在せず、b=0である。これは、例えば、システインコンジュグーション及びリジンコンジュグーションの場合である。代替的に、ABをF(構造(3)の抗体の場合)又はABをZ(構造(1)のコンジュゲートの場合)に接続するリンカーL<sup>6</sup>を使用して、反応性基Fを抗体に導入することもでき、この場合、L<sup>6</sup>は存在し、b=1である。L<sup>6</sup>が存在する場合、反応性基Fは、典型的には本抗体のグリカンに導入される。これは、例えば、例えば、トランスグルタミナーゼを使用するか、又は酵素グリカン修飾(例えば、グリコシルトランスフェラーゼ又は-1,3-マンノシル-糖タンパク質-2-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ)による等の、人工的に導入された反応性基Fを介したコンジュグーションの場合である。例えば、改変糖残基S(F)<sub>x</sub>は、グリカンに導入されて、抗体のグリカン上にx個の反応性基Fを導入する1つの単糖残基Sでグリカンを伸長してもよい。最も好ましい実施形態において、コンジュゲ

40

50

ションは、抗体の糖鎖を介して生じ、 $b = 1$ である。コンジュゲーションの部位は、好ましくは、抗体の重鎖にある。

【0060】

存在する場合、 $L^6$ は、 $AB$ を $F$ 又は $Z$ に連結するリンカーであり、 $-GlcNAc(Fuc)_w - (G)_j - S - (L^7)_w -$ で表され、式中、 $G$ は、単糖であり、 $j$ は、 $0 \sim 10$ の範囲の整数であり、 $S$ は、糖又は糖誘導体であり、 $GlcNAc$ は、 $N$ -アセチルグルコサミンであり、 $Fuc$ は、フコースであり、 $w$ は、 $0$ 又は $1$ であり、 $w'$ は、 $0$ 、 $1$ 、又は $2$ であり、 $L^7$ は、 $-N(H)C(O)CH_2-$ 、 $-N(H)C(O)CF_2-$ 又は $-CH_2-$ である。典型的には、 $L^6$ は、抗体のグリカンによって少なくとも部分的に形成される。哺乳動物宿主系で産生される全ての組換え抗体は、重鎖の297位又はそれに近い位置にあるアスパラギン残基に保存された $N$ -グリコシル化部位を含み、これは複合体型のグリカンによって修飾される。抗体のこの天然に存在するグリコシル化部位が好ましくは使用されるが、人工的に導入されたものを含む他のグリコシル化部位もリンカー $L^6$ の接続に使用され得る。したがって、好ましい実施形態において、 $L^6$ は、重鎖の250~350の範囲内、好ましくは重鎖の280~310の範囲内、より好ましくは重鎖の295~300の範囲内の位置、最も好ましくは重鎖の297位に位置する抗体のアミノ酸に接続される。

【0061】

$L^6$ の $-GlcNAc(Fuc)_w - (G)_j -$ は、抗体のグリカン、又はその一部である。したがって、グリカンの $-GlcNAc(Fuc)_w - (G)_j -$ は、典型的には、元の抗体に由来し、 $GlcNAc$ は、 $N$ -アセチルグルコサミン部分であり、 $Fuc$ は、フコース部分である。 $Fuc$ は、典型的には、 $-1,6$ -グリコシド結合を介して $GlcNAc$ に結合する。通常、抗体はフコシル化されていても( $w = 1$ )、又はされていなくてもよい( $w = 0$ )。本発明の文脈において、フコシル部分の存在は無関係であり、フコシル化( $w = 1$ )及び非フコシル化( $w = 0$ )抗体コンジュゲートで同様の効果が得られる。 $GlcNAc$ 残基は、コア- $GlcNAc$ 残基とも称され得、抗体のペプチド部分に直接結合する単糖である。

【0062】

$S$ は、コア- $GlcNAc(Fuc)_w$ 部分に直接接続されてもよく、すなわち $j = 0$ であってもよく、これは、 $S$ が結合する前に、グリカンの残りがコア- $GlcNAc(Fuc)_w$ 部分から除去されることを意味する。グリカンのそのようなトリミングは、当該技術分野で周知であり、エンドグリコシダーゼの作用によって達成することができる。代替的に、コア- $GlcNAc(Fuc)_w$ 部分と $S$ との間に1つ以上の単糖残基が存在し、すなわち、 $j$ は、 $1 \sim 10$ 、好ましくは $j = 2 \sim 5$ の範囲内の整数である。好ましい実施形態において、 $(G)_j$ は、 $j$ 個の単糖残基 $G$ を含むオリゴ糖画分であり、式中、 $j$ は、 $2 \sim 5$ の範囲内の整数である。 $(G)_j$ は、典型的には $-1,4$ 結合を介して、 $GlcNAc(Fuc)_w$ の $GlcNAc$ 部分に接続される。好ましい実施形態において、 $j$ は、 $3$ 、 $4$ 又は $5$ である。グリカン中に存在し得る任意の単糖を $G$ として用いてもよいが、各 $G$ は、好ましくは、ガラクトース、グルコース、 $N$ -アセチルガラクトサミン、 $N$ -アセチルグルコサミン、マンノース、及び $N$ -アセチルノイラミン酸からなる群から個々に選択される。 $G$ のより好ましい選択肢は、ガラクトース、 $N$ -アセチルグルコサミン、マンノースである。本発明者らは、 $4$ 未満の $j$ を有する抗体コンジュゲートは、 $Fc$ -ガンマ受容体への結合を示さないか、又はほとんど示さないが、 $4 \sim 10$ の範囲内の $j$ を有する抗体コンジュゲートは、 $Fc$ -ガンマ受容体に結合することを見出した。したがって、 $j$ の特定の値を選択することによって、 $Fc$ -ガンマ受容体への所望の結合程度を得ることができる。したがって、 $j = 0$ 、 $3$ 、 $4$ 、 $5$ 、 $6$ 、 $7$ 、 $8$ 、 $9$ 、又は $10$ である、より好ましくは、 $j = 0$ 、 $3$ 、 $4$ 、又は $5$ である、最も好ましくは、抗体はトリミングされ、 $j = 0$ であることが好ましい。

【0063】

$S$ は、糖又は糖誘導体である。「糖誘導体」という用語は、本明細書において、単糖類

の糖、すなわち、置換基及び/又は官能基を含む単糖類の糖の誘導体を示すために使用される。Sの好適な例としては、グルコース(Glc)、ガラクトース(Gal)、マンノース(Man)、フコース(Fuc)、アミノ糖及び糖酸、例えば、グルコサミン(GlcNH<sub>2</sub>)、ガラクトサミン(GalNH<sub>2</sub>)、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)、N-アセチルノイラミン酸(NeuNAc)とも称されるシアル酸(Sia)、並びにN-アセチルムラミン酸(MurNAc)、グルクロン酸(GlcA)及びイズロン酸(IdoA)が挙げられる。好ましくは、Sは、Glc、Gal、GlcNAc、及びGalNAcから選択される。特に好ましい実施形態において、SはGalNAcである。

【0064】

10

xは、糖(誘導体)Sに結合している(コンジュゲート(1)の)連結基Z又は(抗体(3)の)反応性基Fの数を示す整数である。したがって、本発明による抗体は、x個の反応性部分Fを含む部分Sを含有する。これらの反応性部分Fのそれぞれは、x個の連結基Zが形成され、一般構造(2)に従うx個の化合物が単一の出現のSに結合するように、一般構造(2)に従う化合物の反応性部分Qと反応する。xは、1又は2であり、好ましくはx=1である。

【0065】

連結基Z(コンジュゲート(1)の場合)又は反応性基F(抗体(3)の場合)は、Sに直接結合されてもよく、又はSとZ若しくはFとの間に存在するリンカーL<sup>7</sup>が存在してもよい。L<sup>7</sup>は、SをZと連結するリンカーである。L<sup>7</sup>は、存在してもよい(w'=1若しくは2)、又は存在しなくてもよい(w'=0)。典型的には、各部分Zは、リンカーL<sup>7</sup>を介してSに接続されてもよく、したがって、一実施形態において、w'=0/xである。好ましくは、L<sup>7</sup>は存在せず、各結合部位ZはSに直接結合している。存在する場合、L<sup>7</sup>は、-N(H)C(O)CH<sub>2</sub>-、-N(H)C(O)CF<sub>2</sub>-又は-CH<sub>2</sub>-から選択され得る。好ましい実施形態において、x=1及びw'=0又は1、最も好ましくはx=1及びw'=0である。

20

【0066】

yは、糖(複数可)(誘導体(複数可))Sの数を表す整数であり、それぞれ、x個の反応性基Fを有するか、又はx個の接続基Zに接続され、これらは抗体に接続される。yは、1、2、3、又は4であり、好ましくは、y=2又は4であり、最も好ましくは、y=2である。したがって、抗体は、それぞれがx個の反応性部分Fを含むy個の部分Sを含む。これらの反応性部分Fのそれぞれは、一般構造(2)に従う化合物の反応性部分Qと反応し、その結果、x+y個の接続基Zが形成され、一般構造(2)に従うx+y個の化合物が単一の抗体に結合される。一般構造(2)による各化合物は、例えば、Lにおける窒素原子N\*の分岐により、複数のペイロードを含み得る。一般構造(2)による各化合物は、1回又は2回のDの出現、最も好ましくは2回のDの出現を含むことが好ましい。特に好ましい実施形態において、リンカーL<sup>1</sup>は、Dの第2の出現が接続された分岐窒素原子N\*を含有する。

30

【0067】

単一の抗体に結合したペイロード(D)分子の量は、当該技術分野ではDAR(薬物-抗体比)として知られている。本発明の文脈において、DARは、1~8の範囲内の整数、より好ましくは2又は4、最も好ましくはDAR=4であることが好ましい。代替的に、DARは、好ましくは、(x+y)~[(x+y)x2]の範囲内の整数であり、最も好ましくは、DAR=[(x+y)x2]である。1のx及び2のyの好ましい値では、DARは、好ましくは4である。これらは理論的なDAR値であり、実際には、DARは、不完全なコンジュゲーションのために、この値からわずかに逸脱し得ることが理解されるであろう。典型的には、コンジュゲートは、抗体-薬物コンジュゲートの確率的混合物として得られ、DAR値は個々のコンジュゲート間で変動し、使用されるコンジュゲート技法に応じて、DARは、広い分布(例えば、DAR=0~10)又は狭い分布(例えば、DAR=3~4)を有し得る。そのような混合物の場合、DARはしばしば混合物の平

40

50

均 D A R を指す。これは、バイオコンジュゲーションの分野において周知である。しかしながら、コンジュゲーションがグリカンを介して生じる（すなわち、 $b = 1$  で  $L^6$  が存在する）場合、本発明による抗体コンジュゲートは、ほぼ理論的な D A R を有する。例えば、理論上の D A R が 4 である場合、3.6 を超える D A R 値又は 3.8 を超える D A R 値が容易に得られ、反応混合物中のほとんどの抗体が完全に反応し、D A R が 4 であることを示す。

#### 【0068】

接続基 Z

Z は、本発明に従うコンジュゲートの両方の部分を共有結合で接続する接続基である。本明細書における「接続基」という用語は、コンジュゲートの一方の部分を同じコンジュゲートの別の部分と接続する、Q と F との間の反応から生じる構造要素を指す。当業者には理解されるであろうように、接続基の性質は、当該化合物の部分間の接続が得られる反応の種類に依存する。例として、 $R - C(O) - OH$  のカルボキシル基が  $H_2N - R'$  のアミノ基と反応して  $R - C(O) - N(H) - R'$  を形成する場合、R は接続基 Z を介して  $R'$  に接続され、Z は基  $-C(O) - N(H) -$  で表され得る。接続基 Z は、Q と F との間の反応に由来するため、任意の形態をとることができる。

10

#### 【0069】

2 個以上の反応性部分 F が抗体に存在し得るか、又は導入され得るため、本発明による抗体コンジュゲートは、生体分子ごとに、1 ~ 8 個のペイロード D、好ましくは 1、2、3、又は 4 個のペイロード D、より好ましくは 2 又は 4 個のペイロード D など、2 個以上のペイロード D を含み得る。ペイロードの数は、典型的には、抗体の対称的な性質を考慮すると、偶数である。換言すれば、抗体の一方の側が F で官能化される場合、対称的な対応物もまた官能化されるであろう。代替的に、タンパク質のシステイン残基の天然に存在するチオール基が F として使用される場合、m の値は任意であり得、個々のコンジュゲート間で変動し得る。

20

#### 【0070】

構造 (1) に従う化合物において、接続基 Z は、リンカー L を介して、任意選択で  $L^6$  を介して A B に D を連結する。反応性基 Q を反応性基 F に付着させるための多数の反応が当該技術分野で既知である。その結果、本発明によるコンジュゲートには、多種多様な接続基 Z が存在し得る。一実施形態において、反応性基 Q は、好ましくは図 1 に示されるように、上記の選択肢から選択され、相補的な反応性基 F 及びこのようにして得られた接続基 Z は、当業者に知られている。Q を含むリンカーコンジュゲートが相補的な反応性基 F を含む生体分子にコンジュゲートされる場合にバイオコンジュゲート中に存在する F 及び Q、並びに接続基 Z<sup>3</sup> の好適な組み合わせのいくつかの例を、図 1 に示す。

30

#### 【0071】

例えば、F がチオール基を含むか又はチオール基である場合、相補的な基 Q は、N - マレイミジル基及びアルケニル基を含み、対応する接続基 Z は、図 1 に示す通りである。F がチオール基を含むか又はチオール基である場合、相補的な基 Q は、アレナミド基も含む。

#### 【0072】

例えば、F がアミノ基を含むか又はアミノ基である場合、相補的な基 Q は、ケトン基及び活性化エステル基を含み、対応する接続基 Z は、図 1 に示す通りである。

40

#### 【0073】

例えば、F がケトン基を含むか又はケトン基である場合、相補的な基 Q は、(O - アルキル)ヒドロキシルアミノ基及びヒドラジン基を含み、対応する接続基 Z は、図 1 に示す通りである。

#### 【0074】

例えば、F がアルキニル基を含むか又はアルキニル基である場合、相補的な基 Q は、アジド基を含み、対応する接続基 Z は、図 1 に示す通りである。

#### 【0075】

50

例えば、Fがアジド基を含むか又はアジド基である場合、相補的な基Qは、アルキニル基を含み、対応する接続基Zは、図1に示す通りである。

【0076】

例えば、Fがシクロプロペニル基、トランスシクロオクテン基又はシクロオクチン基を含むか又はそれらである場合、相補的な基Qは、テトラジニル基を含み、対応する接続基Zは、図1に示す通りである。これらの特定の場において、Zは中間構造に過ぎず、N<sub>2</sub>を排出し、それによってジヒドロピリダジン（アルケンとの反応から）又はピリダジン（アルキンとの反応から）を生成する。

【0077】

F及びQの更なる好適な組み合わせ、及び得られる接続基Z<sub>3</sub>の性質は、当業者に既知であり、例えば、参照により組み込まれるG. T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Elsevier, 3rd Ed. 2013 (ISBN: 978-0-12-382239-0)、特に第3章、229~258ページに記載されている。バイオコンジュゲーションプロセスに好適な相補的反応性基のリストは、G. T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Elsevier, 3rd Ed. 2013 (ISBN: 978-0-12-382239-0)の第3章の230~232ページ、表3.1に開示されており、この表の内容は参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

10

【0078】

好ましい実施形態において、連結基Zは、付加環化又は求核反応によって得られ、好ましくは、付加環化は、[4+2]付加環化若しくは1,3-二極付加環化であるか、又は求核反応は、マイケル付加若しくは求核置換である。そのような付加環化反応又は求核反応は、Sに接続された反応性基F、及びLを介してDに接続された反応性基Qを介して生じる。付加環化反応又は求核反応を介したコンジュゲーション反応は当業者に既知であり、当業者は、適切な反応パートナーF及びQを選択することができ、結果として生じる接続基Zの性質を理解するであろう。

20

【0079】

第1の好ましい実施形態において、Zは、付加環化によって形成される。好ましい付加環化は、(4+2)-付加環化（例えば、ディールス-アルダー反応）又は(3+2)-付加環化（例えば、1,3-双極性付加環化）である。好ましくは、コンジュゲーションは、ディールス-アルダー反応又は1,3-双極性付加環化である。好ましいディールス-アルダー反応は、逆電子要求型ディールス-アルダー付加環化である。別の好ましい実施形態において、1,3-双極性付加環化、より好ましくはアルキン-アジド付加環化が使用され、最も好ましくは、Qはアルキン基であるか、又はアルキン基を含み、Fはアジド基である。Diels-Alder反応及び1,3-dipolar cycloadditionsなどのcycloadditionsは当該技術分野で既知であり、当業者はそれらを行う方法を知っている。

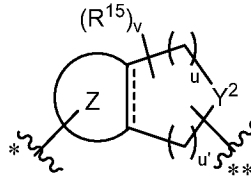
30

【0080】

好ましくは、Zは、トリアゾール、シクロヘキセン、シクロヘキサジエン、[2.2.2]-ビシクロオクタジエン、[2.2.2]-ビシクロオクテン、イソオキサゾリン、イソオキサゾリジン、ピラゾリン、ピペラジン、チオエーテル、アミド又はイミド基からなる群から選択される部分を含む。トリアゾール部分は、Zに存在することが特に好ましい。一実施形態において、Zは、(ヘテロ)シクロアルケン部分を含む、すなわち、(ヘテロ)シクロアルキン部分を含むQから形成される。代替の実施形態において、Zは、(ヘテロ)シクロアルカン部分を含む、すなわち、(ヘテロ)シクロアルケン部分を含むQから形成される。好ましい実施形態において、Zは、構造(Z1)を有する。

40

## 【化 1】



(Z 1)

## 【0081】

10

ここで、

## 【化 2】

---

として示される結合は、単結合又は二重結合である。更に、

- 環 Z は、付加環化によって得られ、好ましくは、環 Z は、以下で定義される (Z a) ~ (Z j) から選択され、\* \* で標識された炭素原子は、環 Z が縮合される (Z 1) の

## 【化 3】

---

20

として示される結合の 2 個の炭素原子に対応し、

-  $R^{15}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-S(O)_2$ 、 $R^{16}$ 、 $-S(O)_3(-)$ 、 $C_1 \sim C_{24}$  アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$  (ヘテロ) アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$  アルキル (ヘテロ) アリール基、及び  $C_7 \sim C_{24}$  (ヘテロ) アリールアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、(ヘテロ) アリール基、アルキル (ヘテロ) アリール基、及び (ヘテロ) アリールアルキル基は、任意選択で置換され、2 つの置換基  $R^{15}$  が一緒に連結されて、任意選択で置換された環状シクロアルキル又は任意選択で置換された環状 (ヘテロ) 置換基を形成し、 $R^{16}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$  アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$  (ヘテロ) アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$  アルキル (ヘテロ) アリール基、及び  $C_7 \sim C_{24}$  (ヘテロ) アリールアルキル基からなる群から選択され、

30

-  $Y^2$  は、 $C(R^{31})_2$ 、 $O$ 、 $S$ 、 $S(+)^{R^{31}}$ 、 $S(O)^{R^{31}}$ 、 $S(O)=NR^{31}$ 、又は  $NR^{31}$  であり、式中、 $S(+)$  は、 $B(-)$  によって相殺されたカチオン性硫黄原子であり、式中、 $B(-)$  は、アニオンであり、各  $R^{31}$  は、個々に、 $R^{15}$  又は  $L$  を介して接続された D との接続であり、

-  $u$  は、0、1、2、3、4、又は 5 であり、

-  $u'$  は、0、1、2、3、4、又は 5 であり、 $u + u' = 0、1、2、3、4、5、6、7、$  又は 8 であり、

-  $v = 8 \sim 16$  の範囲内の整数であり、

40

- 環 A は、付加環化によって形成され、好ましくは、(Z a) - (Z j) から選択される。

## 【0082】

## 【化 4】

---

として示される結合が二重結合である場合、 $u + u' = 4、5、6、7、$  又は 8 であることが好ましい。好ましくは、\* で標識された波状結合は S に接続され、\* \* で標識された波状結合は L に接続される。

## 【0083】

50

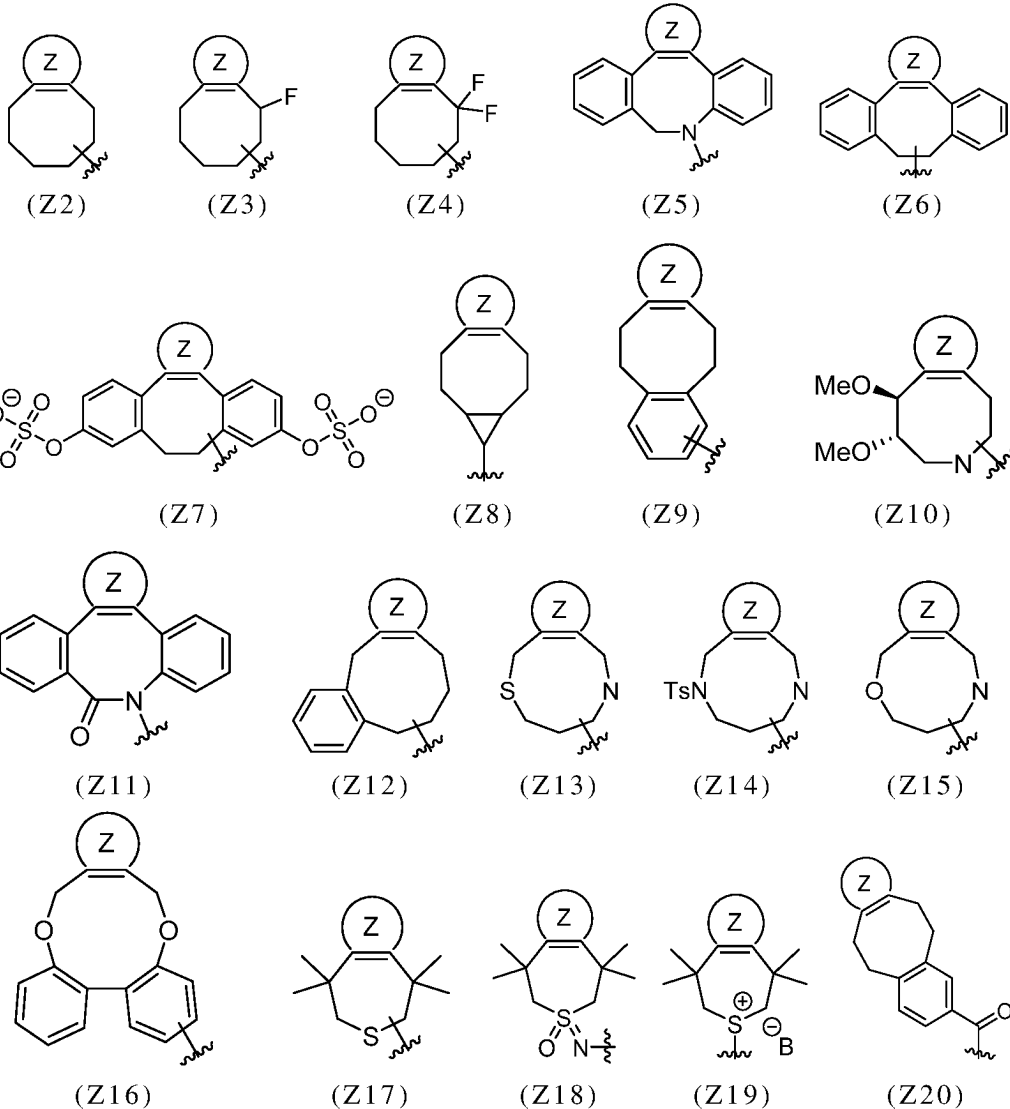
Z が (ヘテロ) シクロアルケン部分を含むこと、すなわち、

【化 5】

====

として示される結合が二重結合であることが特に好ましい。好ましい実施形態において、Z は、以下に示す構造 (Z 2) ~ (Z 20) から選択される：

【化 6】



10

20

30

【0084】

ここで、L への接続は、波状結合で示される。B (・) は、アニオン、好ましくは薬学的に許容されるアニオンである。環 Z は、付加環化反応によって形成され、好ましくは、  
 トリアゾール、シクロヘキセン、シクロヘキサジエン、[2.2.2]-ビシクロオクタジエン、[2.2.2]-ビシクロオクテン、イソオキサゾリン、イソオキサゾリジン、ピラゾリン、又はピペラジンである。最も好ましくは、環 Z はトリアゾール環である。環 Z は、以下に示される (Z a) ~ (Z m) から選択される構造を有し得、ここで、\* \* で標識される炭素原子は、環 Z が縮合される (Z 2) ~ (Z 20) の (ヘテロ) シクロアルケン環の 2 個の炭素原子に対応する。好ましい環 Z は、(Z a) ~ (Z j)、より好ましくは (Z a)、(Z d) 及び (Z h) から選択され、最も好ましくは、環 Z は構造 (Z a) を有する。接続基 Z は、本実施形態の文脈において (ヘテロ) シクロアルケンとの反応によって形成されるため、

40

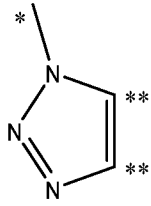
50

## 【化 7】

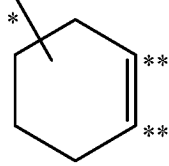
---

として上記に示される結合は二重結合である。

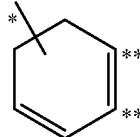
## 【化 8】



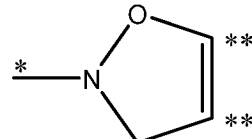
(Za)



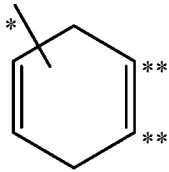
(Zb)



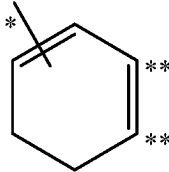
(Zc)



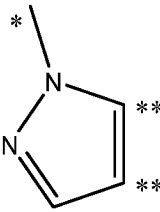
(Zd)



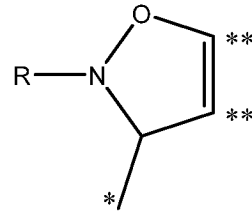
(Ze)



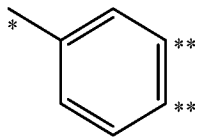
(Zf)



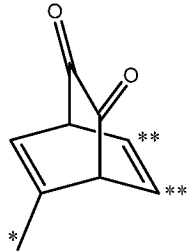
(Zg)



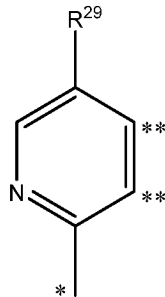
(Zh)



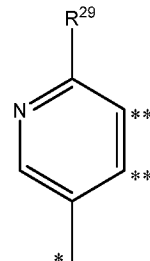
(Zi)



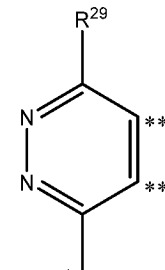
(Zj)



(Zk)



(Zl)



(Zm)

10

20

30

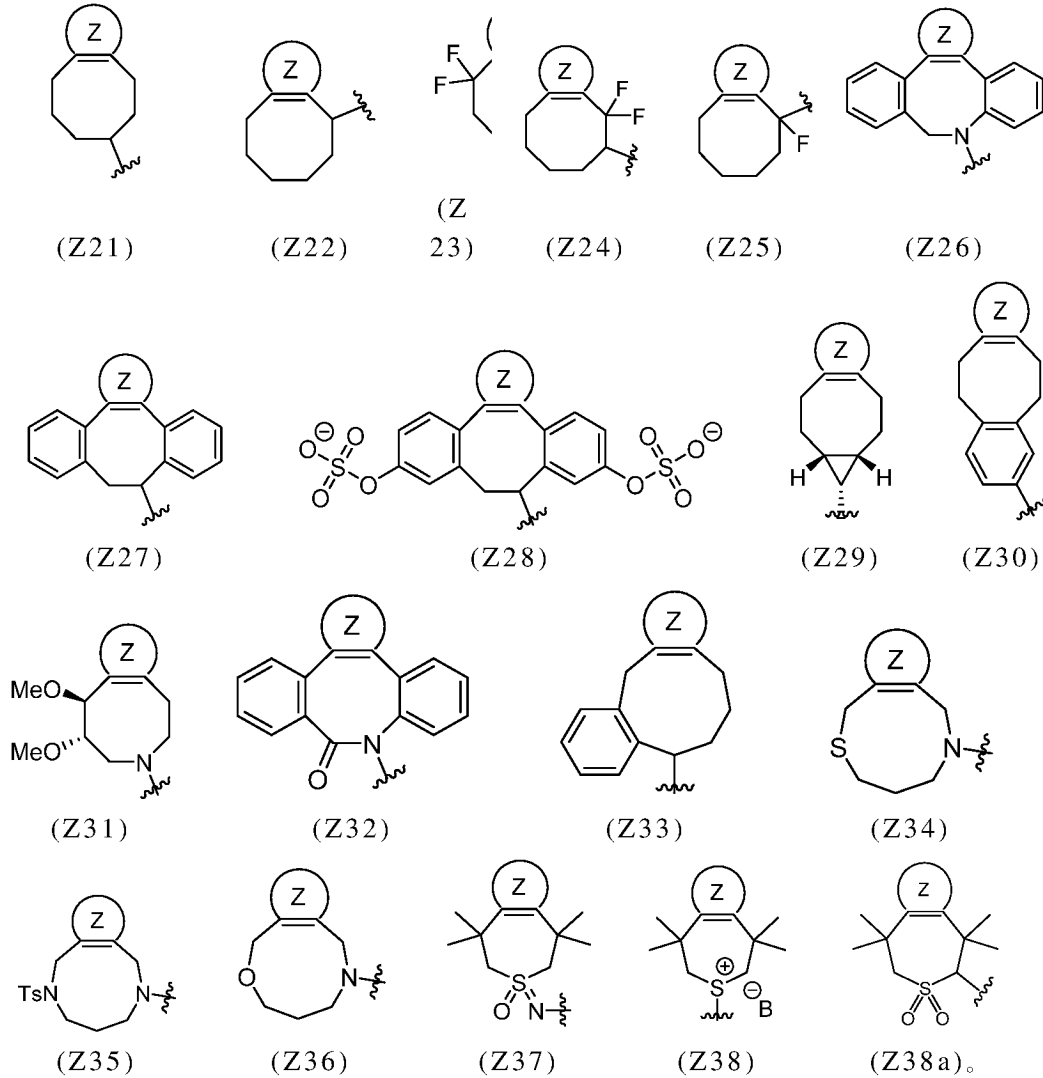
## 【0085】

更なる好ましい実施形態において、Zは、以下に示す構造(Z21)~(Z38)及び(Z8a)から選択される。

40

50

## 【化 9】



10

20

30

40

50

## 【0086】

ここで、Lへの接続は、波状結合で示される。構造(Z38)において、B(-)は、アニオンであり、好ましくは、薬学的に許容されるアニオンである。環Zは、上記で定義される構造(Za)~(Zm)、好ましくは構造(Za)~(Zj)から選択される。

## 【0087】

好ましい実施形態において、Zは、好ましくは構造(Z8)、(Z26)、(Z27)、(Z28)、又は(Z37)、又は(Z38a)に従う、より好ましくは構造(Z8)、(Z26)、(Z27)、(Z28)、又は(Z37)に従う(ヘテロ)シクロオクテン部分又は(ヘテロ)シクロヘブテン部分を含み、これらは任意選択で置換される。Zのこれらの好ましい選択肢のそれぞれは、以下で更に定義される。

## 【0088】

したがって、好ましい実施形態において、Zは、構造(Z37)に従うヘテロシクロヘブテン部分を含み、これは任意選択で置換される。好ましくは、構造(Z37)に従うヘテロシクロヘブチン部分は、置換されていない。

## 【0089】

好ましい実施形態において、Zは、構造(Z8)に従う(ヘテロ)シクロオクテン部分、より好ましくは(Z29)に従う(ヘテロ)シクロオクテン部分を含み、これは任意選択で置換される。好ましくは、構造(Z8)又は(Z29)に従うシクロオクテン部分は、置換されていない。本実施形態の文脈において、Zは、好ましくは、以下に示される構造(Z39)に従う(ヘテロ)シクロオクテン部分を含み、式中、Vは、(CH<sub>2</sub>)<sub>1</sub>で

あり、1は、0～10の範囲内、好ましくは0～6の範囲内の整数である。より好ましくは、1は、0、1、2、3、又は4であり、より好ましくは、1は、0、1、又は2であり、最も好ましくは、1は、0又は1である。基(Z39)の文脈において、1は、最も好ましくは、1である。最も好ましくは、Zは、以下で更に定義される構造(Z42)に従う。

【0090】

代替の好ましい実施形態において、Zは、構造(Z26)、(Z27)、又は(Z28)に従う(ヘテロ)シクロオクテン部分を含み、これらは任意選択で置換される。本実施形態の文脈において、Zは、好ましくは、以下に示される構造(Z40)又は(Z41)に従う(ヘテロ)シクロオクテン部分を含み、式中、 $Y^1$ は、O又は $NR^{11}$ であり、式中、 $R^{11}$ は、独立して、水素、直鎖又は分岐状の $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基、又は $C_4 \sim C_{12}$ (ヘテロ)アリール基からなる群から選択される。(Z40)中の芳香族環は、任意選択で、1つ以上の位置でO-スルホニル化され、一方、(Z41)の環は、1つ以上の位置でハロゲン化され得る。好ましくは、構造(Z40)又は(Z41)に従う(ヘテロ)シクロオクテン部分は、更に置換されていない。最も好ましくは、Zは、以下で更に定義される構造(Z43)に従う。

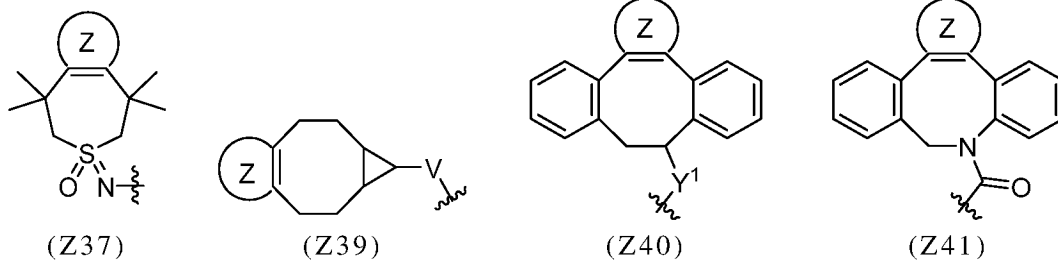
10

【0091】

代替の好ましい実施形態において、Zは、ヘテロシクロヘプテニル基を含み、構造(Z37)に従う。

【化10】

20

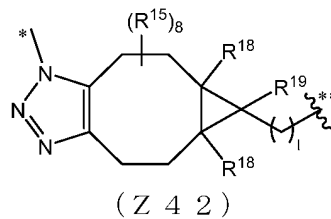


【0092】

特に好ましい実施形態において、Zは、シクロオクテニル基を含み、構造(Z42)に従う。

30

【化11】



ここで、

40

- \* で標識された結合はSに接続され、\*\* で標識された波状結合はLに接続され、
- $R^{15}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-S(O)_2$ 、 $R^{16}$ 、 $-S(O)_3(-)$ 、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_5 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリール基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリールアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、(ヘテロ)アリール基、アルキル(ヘテロ)アリール基、及び(ヘテロ)アリールアルキル基は、任意選択で置換され、2つの置換基 $R^{15}$ が一緒に連結されて、任意選択で置換された環状シクロアルキル又は任意選択で置換された環状(ヘテロ)置換基を形成し、 $R^{16}$ は、独立して、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリール基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリールアルキル基からなる群から選択

50

され、

- $R^{18}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$  アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$  (ヘテロ) アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$  アルキル(ヘテロ)アリール基、及び  $C_7 \sim C_{24}$  (ヘテロ) アリールアルキル基からなる群から選択され、
- $R^{19}$  は、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$  アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$  (ヘテロ) アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$  アルキル(ヘテロ)アリール基、及び  $C_7 \sim C_{24}$  (ヘテロ) アリールアルキル基からなる群から選択され、アルキル基は、O、N、及びSからなる群から選択される複数のヘテロ原子のうちの1つによって任意選択で中断され、アルキル基、(ヘテロ)アリール基、アルキル(ヘテロ)アリール基、及び(ヘテロ)アリールアルキル基は、独立して、任意選択で置換されているか、又は  $R^{19}$  は、スパーサー部分を介して接続されたZ(若しくはQ)若しくはDの第2の出現であり、
- l は、0 ~ 10 の範囲内の整数である。

10

【0093】

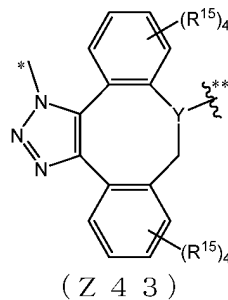
構造(Z42)に従う基の好ましい実施形態において、 $R^{15}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $C_1 \sim C_6$  アルキル基、 $C_5 \sim C_6$  (ヘテロ)アリール基からなる群から選択され、式中、 $R^{16}$  は、水素又は  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、より好ましくは、 $R^{15}$  は、独立して、水素及び  $C_1 \sim C_6$  アルキルからなる群から選択され、最も好ましくは、全ての  $R^{15}$  がHである。構造(Z42)に従う基の好ましい実施形態において、 $R^{18}$  は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_6$  アルキル基からなる群から選択され、最も好ましくは、両方の  $R^{18}$  がHである。構造(Z42)に従う基の好ましい実施形態において、 $R^{19}$  は、Hである。構造(Z42)に従う基の好ましい実施形態において、Iは0又は1であり、より好ましくは、Iは1である。

20

【0094】

特に好ましい実施形態において、Zは、(ヘテロ)シクロオクチニル基を含み、構造(Z43)に従う。

【化12】



30

ここで、

- \* で標識された結合はSに接続され、\*\* で標識された波状結合はLに接続され、
- $R^{15}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-S(O)_2$ 、 $R^{16}$ 、 $-S(O)_3(-)$ 、 $C_1 \sim C_{24}$  アルキル基、 $C_5 \sim C_{24}$  (ヘテロ)アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$  アルキル(ヘテロ)アリール基、及び  $C_7 \sim C_{24}$  (ヘテロ)アリールアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、(ヘテロ)アリール基、アルキル(ヘテロ)アリール基、及び(ヘテロ)アリールアルキル基は、任意選択で置換され、2つの置換基  $R^{15}$  が一緒に連結されて、任意選択で置換された環状シクロアルキル又は任意選択で置換された環状(ヘテロ)置換基を形成し、 $R^{16}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$  アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$  (ヘテロ)アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$  アルキル(ヘテロ)アリール基、及び  $C_7 \sim C_{24}$  (ヘテロ)アリールアルキル基からなる群から選択され、
- Yは、N又は  $CR^{15}$  である。

40

【0095】

構造(Z43)に従う基の好ましい実施形態において、 $R^{15}$  は、独立して、水素、ハ

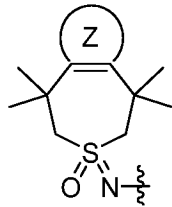
50

ロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $-S(O)_3(-)$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル基、 $C_5 \sim C_6$ (ヘテロ)アリアル基からなる群から選択され、式中、 $R^{16}$ は、水素又は $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、より好ましくは、 $R^{15}$ は、独立して、水素及び $-S(O)_3(-)$ からなる群から選択される。構造(Z43)に従う基の好ましい実施形態において、Yは、N又はCHであり、より好ましくは、 $Y = N$ である。

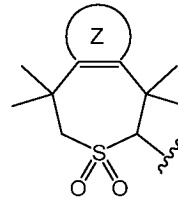
## 【0096】

特に好ましい実施形態において、Zは、ヘテロシクロヘプチニル基を含み、構造(Z37)又は(Z38a)に従い、好ましくは構造(Z37)に従い、環Zはトリアゾール環である。

## 【化13】



(Z37)



(Z38a)

10

## 【0097】

代替の好ましい実施形態において、Zは、(ヘテロ)シクロアルカン部分を含み、すなわち、

20

## 【化14】



として示される結合は単結合である。(ヘテロ)シクロアルカニル基は、ヘテロシクロアルカニル基又はシクロアルカニル基、好ましくはシクロアルカニル基とも称され得、(ヘテロ)シクロアルカニル基は、任意選択で置換される。好ましくは、(ヘテロ)シクロアルカニル基は、(ヘテロ)シクロプロパニル基、(ヘテロ)シクロブタニル基、ノルボルナン基、ノルボルネン基、(ヘテロ)シクロヘプタニル基、(ヘテロ)シクロオクタニル基、(ヘテロ)シクロノニル基、又は(ヘテロ)シクロデカニル基であり、これらは全て任意選択で置換されてもよい。特に好ましいのは、(ヘテロ)シクロプロパニル基、(ヘテロ)シクロヘプタニル基、又は(ヘテロ)シクロオクタニル基であり、(ヘテロ)シクロプロパニル基、トランス-(ヘテロ)シクロヘプタニル基、又は(ヘテロ)シクロオクタニル基は、任意選択で置換される。好ましくは、Zは、構造(Z44)に従うシクロプロパニル部分、構造(Z45)に従うヘテレオシクロブタン部分、構造(Z46)に従うノルボルナン若しくはノルボルネン基、構造(Z47)に従う(ヘテロ)シクロヘプタニル部分又は構造(Z48)に従う(ヘテロ)シクロオクタニル部分を含む。ここで、 $Y^3$ は、 $C(R^{23})_2$ 、 $NR^{23}$ 、又はOから選択され、各 $R^{23}$ は、個々に水素、 $C_1 \sim C_6$ アルキルであるか、又は任意選択でスペーサーを介してLに接続され、

30

## 【化15】

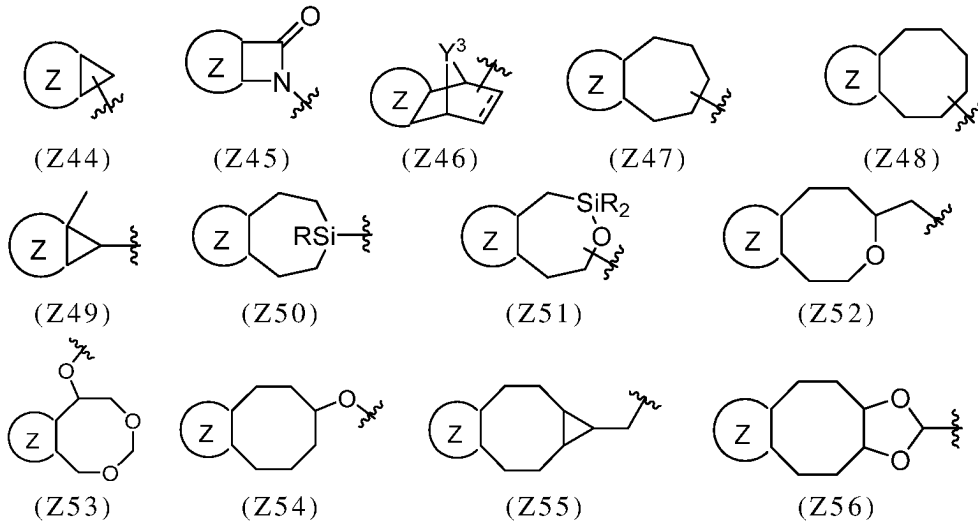


で標識された結合は、単結合又は二重結合である。更なる好ましい実施形態において、シクロプロパニル基は、構造(Z49)に従う。別の好ましい実施形態において、(ヘテロ)シクロヘプタン基は、構造(Z50)又は(Z51)に従う。別の好ましい実施形態において、(ヘテロ)シクロオクタン基は、構造(Z52)、(Z53)、(Z54)、(Z55)又は(Z56)に従う。

40

50

## 【化16】



10

## 【0098】

ここで、(Z50)及び(Z51)中のSi上のR基(複数可)は、典型的にはアルキル又はアリール、好ましくはC<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキルである。環Zは、典型的には、構造(Zn)~(Zu)から選択され、ここで、\*\*で標識される炭素原子は、環Zが縮合される(Z44)~(Z56)の(ヘテロ)シクロアルカン環の2つの炭素原子に対応し、\*で標識される炭素は、抗体のペプチド鎖に直接接続される。好ましい環Zは、(Zo)~(Zr)から選択される。接続基Zは、本実施形態の文脈において(ヘテロ)シクロアルケンとの反応によって形成されるため、

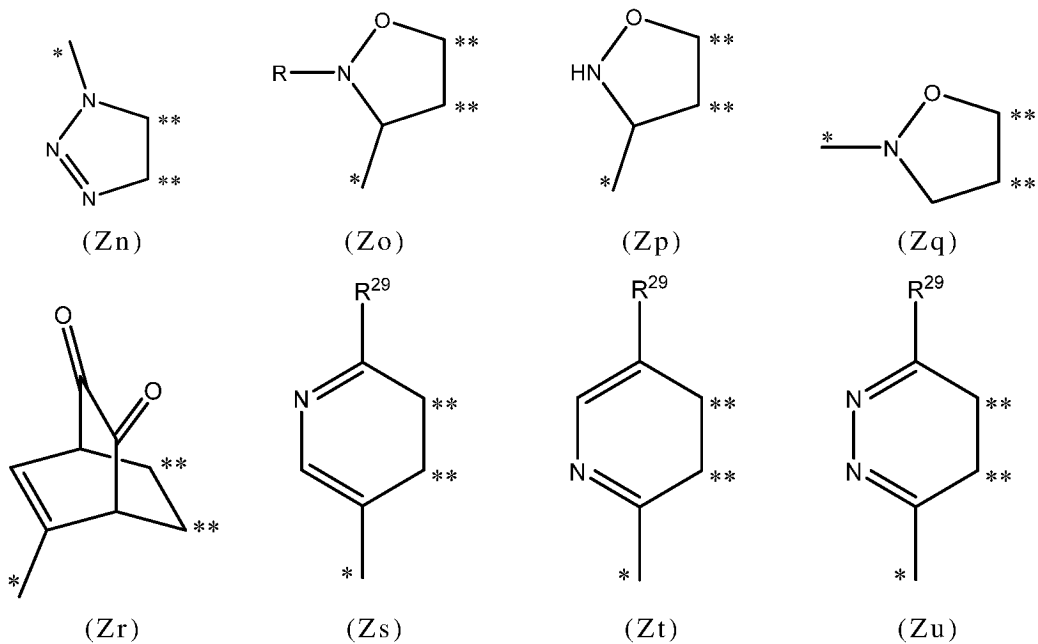
20

## 【化17】

==

として上記に示される結合は単結合である。

## 【化18】



30

40

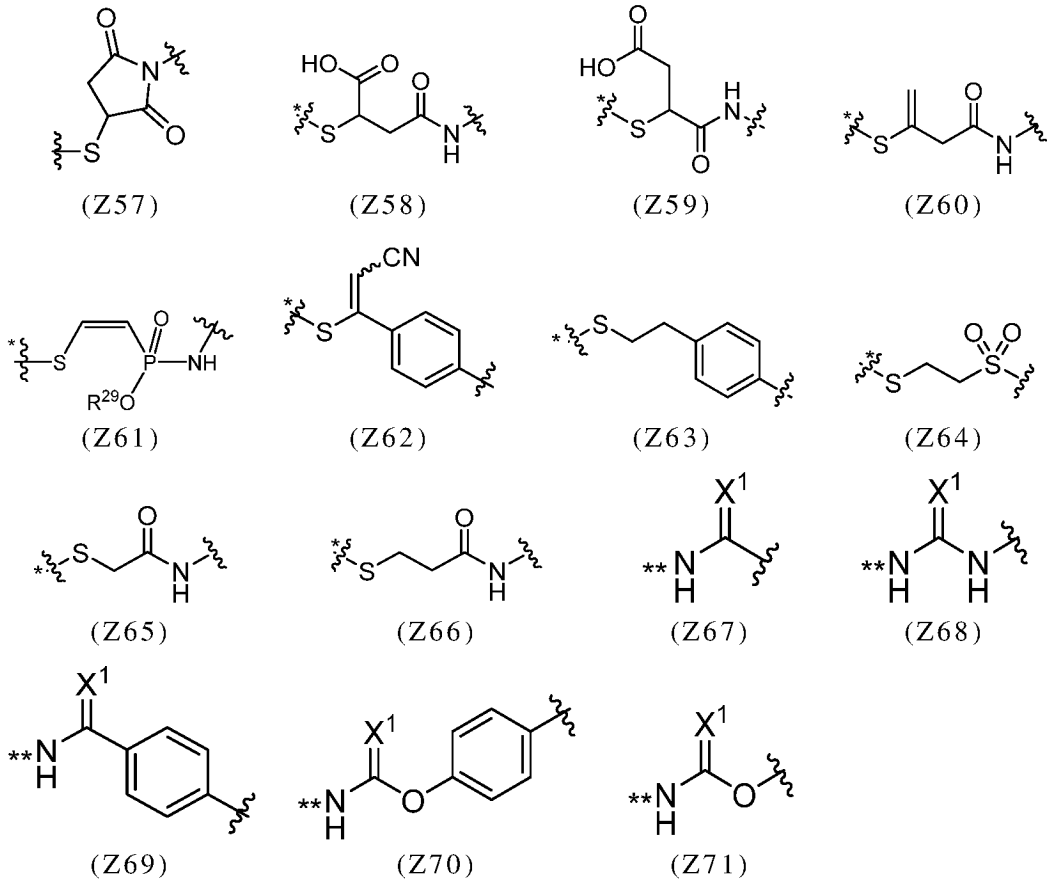
## 【0099】

第2の好ましい実施形態において、Zは、求核反応、好ましくは求核置換又はマイケル付加、好ましくはマイケル付加によって形成される。好ましいマイケル反応は、チオール

50

- マレイミドライゲーションであり、最も好ましくは、Qはマレイミドであり、Fはチオール基である。好ましくは、チオールは、システイン残基の側鎖に存在する。好ましい実施形態において、接続基Zは、スクシンイミジル環又はその開環コハク酸アミド誘導体を含む。接続基Zの好ましい選択肢は、以下に示される(Z57)~(Z71)から選択される部分を含む。

## 【化19】



10

20

30

## 【0100】

ここで、\*で標識された波状結合(複数可)は、任意選択でリンカーを介して抗体Abに接続され、標識なしの波状結合は、任意選択でリンカーを介してペイロードに接続される。加えて、R<sup>29</sup>は、C<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アルキル、好ましくはC<sub>1</sub>~<sub>4</sub>アルキルであり、最も好ましくはエチルであり、X<sup>1</sup>は、O又はSであり、好ましくはX<sup>1</sup>=Oである。(Z67)~(Z71)における\*\*で標識された窒素原子は、本抗体のリジン残基の側鎖の窒素原子に対応する。(Z69)及び(Z70)のフェニル基の炭素原子は、任意選択で置換され、好ましくは任意選択でフッ素化される。

## 【0101】

好ましい実施形態において、接続基Zは、(Z1)~(Z71)から選択される部分を含む。

40

## 【0102】

リンカーL

リンカーLは、(構造(1))に従うコンジュゲートにおいて)ペイロードDを接続基Zと接続するか、又は(構造(2))に従う化合物において)ペイロードDを反応性基Qと接続する。リンカーは当該技術分野で既知であり、切断可能であっても切断不可能であってもよい。リンカーLは、好ましくは、ペプチドスペーサー及びパラアミノベンジルオキシカルボニル(PABC)部分又はその誘導体を含む、自己犠牲型基又は切断可能なリンカーを含む。

## 【0103】

50

好ましい実施形態において、 $(L^4)_q$  がペイロード D に接続され、 $(L^1)_n$  が Z 又は Q に接続される、構造  $-(L^1)_n - (L^2)_o - (L^3)_p - (L^4)_q -$  としてのリンカー L。ここで、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、及び  $L^4$  は、リンカー又は連結ユニットであり、 $n$ 、 $o$ 、 $p$ 、及び  $q$  のそれぞれは、個々に 0 又は 1 であり、 $n + o + p + q$  は、少なくとも 1 である。好ましい実施形態において、少なくともリンカー  $L^1$  及び  $L^2$  が存在し（すなわち、 $n = 1$ 、 $o = 1$ 、 $p = 0$  又は 1、 $q = 0$  又は 1）、より好ましくは、リンカー  $L^1$ 、 $L^2$ 、及び  $L^3$  が存在し、 $L^4$  が存在するか又は存在しない（すなわち、 $n = 1$ 、 $o = 1$ 、 $p = 1$ 、 $q = 0$  又は 1）。一実施形態において、リンカー  $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、及び  $L^4$  が存在する（すなわち、 $n = 1$ 、 $o = 1$ 、 $p = 1$ 、 $q = 1$ ）。一実施形態において、リンカー  $L^1$ 、 $L^2$ 、及び  $L^3$  が存在し、 $L^4$  は存在しない（すなわち、 $n = 1$ 、 $o = 1$ 、 $p = 1$ 、 $q = 0$ ）。

10

【0104】

リンカー、特にリンカー  $L^1$  は、単一の接続基に複数のペイロードを結合するための 1 つ以上の分岐点を含んでもよい。好ましい実施形態において、本発明によるコンジュゲートのリンカーは、分岐部分を含む。本発明の文脈における「分岐部分」は、3 つの部分に接続するリンカーに埋め込まれる部分を指す。換言すれば、分岐部分は、他の部分への少なくとも 3 つの結合、典型的には、Z 又は Q に結合する 1 つの結合、ペイロード D への 1 つの結合、及び第 2 のペイロード D への 1 つの結合を含む。分岐部分は、存在する場合、好ましくは、リンカー  $L^1$  に、より好ましくは  $S_p^2$  の一部に、又は  $NR^{13}$  の窒素原子として埋め込まれる。他の部分への少なくとも 3 つの結合を含む任意の部分は、本発明の文脈において分岐部分として好適である。好ましい実施形態において、分岐部分は、炭素原子、窒素原子、リン原子、(ヘテロ)芳香環、(ヘテロ)環、又は多環式部分から選択される。最も好ましくは、分岐部分は、窒素原子である。

20

【0105】

リンカー  $L^1$

リンカー  $L^1$  は、存在しない ( $n = 0$ ) か、又は存在する ( $n = 1$ )。好ましくは、リンカー  $L^1$  は存在し、 $n = 1$  である。 $L^1$  は、例えば、直鎖状又は分岐状の  $C_1 \sim C_{20}$  アルキレン基、 $C_2 \sim C_{20}$  アルケニレン基、 $C_2 \sim C_{20}$  アルキニレン基、 $C_3 \sim C_{20}$  シクロアルキレン基、 $C_5 \sim C_{20}$  シクロアルケニレン基、 $C_8 \sim C_{20}$  シクロアルキニレン基、 $C_7 \sim C_{20}$  アルキルアリーレン基、 $C_7 \sim C_{20}$  アリアルアルキレン基、 $C_8 \sim C_{20}$  アリアルアルケニレン基、 $C_9 \sim C_{20}$  アリアルアルキニレン基からなる群から選択され得る。任意選択で、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、シクロアルキレン基、シクロアルケニレン基、シクロアルキニレン基、アルキルアリーレン基、アリアルアルキレン基、アリアルアルケニレン基、及びアリアルアルキニレン基が置換されてもよく、任意選択で、当該基は、1 個以上のヘテロ原子、好ましくは 1 ~ 10 個のヘテロ原子によって中断されてもよく、当該ヘテロ原子は、好ましくは、O、 $S(O)_y$ 、及び  $NR^{21}$  からなる群から選択され、式中、 $y'$  は、0、1、又は 2 であり、好ましくは、 $y' = 2$  であり、 $R^{21}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$  アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$  (ヘテロ)アリアル基、 $C_7 \sim C_{24}$  アルキル(ヘテロ)アリアル基、及び  $C_7 \sim C_{24}$  (ヘテロ)アリアルアルキル基からなる群から選択される。

30

40

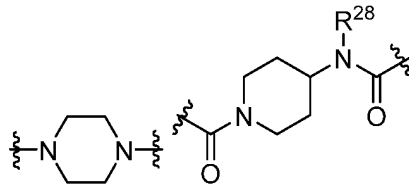
【0106】

好ましい実施形態において、リンカー  $L^1$  は、極性基を含む。そのような極性基は、(ポリ)エチレングリコールジアミン(例えば、1, 8-ジアミノ-3, 6-ジオキサオクタタン又はより長いエチレングリコール鎖を含む等価物)、(ポリ)エチレングリコール又は(ポリ)エチレンオキシド鎖、(ポリ)プロピレングリコール又は(ポリ)プロピレンオキシド鎖、及び 1,  $z'$ -ジアミノアルカン(式中、 $z'$  は、アルカン中の炭素原子の数であり、好ましくは  $z' = 1 \sim 10$ )、 $-(O)_a - C(O) - NH - S(O)_2 - NR^{13} -$  (以下で更に定義されるように、構造 (23) を参照されたい)、 $-C(S(O)_3(-)) -$ 、 $-C(C(O)_2(-)) -$ 、 $-S(O)_2 -$ 、 $-P(O)_2(-) -$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_t -$ 、 $-NR^{30}(CH_2CH_2NR^{30})_t -$ 、及び以下の 2 つの構

50

造から選択され得る。

【化20】



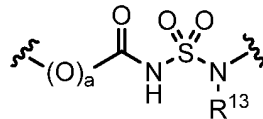
【0107】

極性基はまた、好ましくは、Arg、Glu、Asp、Ser、及びThrから選択されるアミノ酸を含んでもよい。ここで、a及びR<sup>13</sup>は、構造(23)に関して以下で更に定義される。tは、0~15、好ましくは1~10、より好ましくは2~5、最も好ましくはt=2又は4の範囲内の整数の範囲内の整数である。各R<sup>30</sup>は、個々に、H、C<sub>1</sub>~12アルキル、C<sub>1</sub>~12アリール、C<sub>1</sub>~12アルカリール、又はC<sub>1</sub>~12アラールキルである。リンカーL<sup>1</sup>は、少なくとも2つの極性基等の2つ以上のそのような極性基を含み得る。極性基はまた、他の場所で定義される分岐部分を分岐するリンカーL<sup>1</sup>の分岐に存在してもよい。好ましくは、窒素又は炭素原子が分岐部分として使用される。分岐内に-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>t</sub>-極性基が存在することが特に好ましい。

【0108】

好ましい実施形態において、リンカーL<sup>1</sup>は、スルファミド基、好ましくは構造(23)に従うスルファミド基であるか、又はそれを含む。

【化21】



(23)

【0109】

波線は、化合物の残り、典型的にはQ及びL<sup>2</sup>、L<sup>3</sup>、L<sup>4</sup>又はD、好ましくはQ及びL<sup>2</sup>への接続を表す。好ましくは、(O)<sub>a</sub>C(O)部分は、Qに接続され、NR<sup>13</sup>部分は、L<sup>2</sup>、L<sup>3</sup>、L<sup>4</sup>又はD、好ましくはL<sup>2</sup>に接続される。

【0110】

構造(23)において、a=0又は1、好ましくはa=1であり、R<sup>13</sup>は、水素、C<sub>1</sub>~C<sub>24</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>シクロアルキル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>(ヘテロ)アリール基、C<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>アルキル(ヘテロ)アリール基、及びC<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>(ヘテロ)アリールアルキル基からなる群から選択され、C<sub>1</sub>~C<sub>24</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>シクロアルキル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>(ヘテロ)アリール基、C<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>アルキル(ヘテロ)アリール基、及びC<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>(ヘテロ)アリールアルキル基は、任意選択で置換され、O、S、及びNR<sup>14</sup>から選択される1個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、R<sup>14</sup>は、独立して、水素及びC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル基からなる群から選択されるか、又は、R<sup>13</sup>は、スペーサー部分を介して、好ましくは以下で定義されるようにsp<sup>2</sup>を介してNに接続され、一実施形態において、Dは、-(B)<sub>e</sub>-(A)<sub>f</sub>-(B)<sub>g</sub>-C(O)-を介してNに接続される。

【0111】

好ましい実施形態において、R<sup>13</sup>は、水素又はC<sub>1</sub>~C<sub>20</sub>アルキル基であり、より好ましくは、R<sup>13</sup>は、水素又はC<sub>1</sub>~C<sub>16</sub>アルキル基であり、更により好ましくは、R<sup>13</sup>は、水素又はC<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル基であり、アルキル基は、任意選択で置換され、O、S、及びNR<sup>14</sup>から選択される1個以上のヘテロ原子、好ましくはOにより任意選択で中断され、R<sup>14</sup>は、独立して、水素及びC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル基からなる群から選

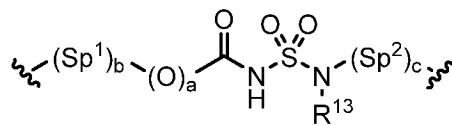
択される。好ましい実施形態において、 $R^{13}$ は、水素である。別の好ましい実施形態において、 $R^{13}$ は、 $C_1 \sim C_{20}$ アルキル基、より好ましくは $C_1 \sim C_{16}$ アルキル基、更により好ましくは $C_1 \sim C_{10}$ アルキル基であり、アルキル基は、任意選択で1個以上のO原子によって中断され、アルキル基は、任意選択で-OH基、好ましくは末端-OH基で置換される。この実施形態において、 $R^{13}$ は、末端-OH基を含む(ポリ)エチレングリコール鎖であることが更に好ましい。別の好ましい実施形態において、 $R^{13}$ は、水素、メチル、エチル、*n*-プロピル、*i*-プロピル、*n*-ブチル、*s*-ブチル、及び*t*-ブチルからなる群から、より好ましくは、水素、メチル、エチル、*n*-プロピル、及び*i*-プロピルからなる群から、更により好ましくは、水素、メチル、及びエチルからなる群から選択される。更により好ましくは、 $R^{13}$ は水素又はメチルであり、最も好ましくは、 $R^{13}$ は水素である。

10

## 【0112】

好ましい実施形態において、 $L^1$ は、構造(24)に従う。

## 【化22】



(24)

20

## 【0113】

ここで、 $a$ 及び $R^{13}$ は上記で定義した通りであり、 $Sp^1$ 及び $Sp^2$ は独立してスペーサー部分であり、 $b$ 及び $c$ は独立して0又は1である。好ましくは、 $b = 0$ 又は1及び $c = 1$ 、より好ましくは $b = 0$ 及び $c = 1$ である。一実施形態において、スペーサー $Sp^1$ 及び $Sp^2$ は、独立して、直鎖又は分岐状 $C_1 \sim C_{200}$ アルキレン基、 $C_2 \sim C_{200}$ アルケニレン基、 $C_2 \sim C_{200}$ アルキニレン基、 $C_3 \sim C_{200}$ シクロアルキレン基、 $C_5 \sim C_{200}$ シクロアルケニレン基、 $C_8 \sim C_{200}$ シクロアルキニレン基、 $C_7 \sim C_{200}$ アルキルアリーレン基、 $C_7 \sim C_{200}$ アリールアルキレン基、 $C_8 \sim C_{200}$ アリールアルケニレン基、及び $C_9 \sim C_{200}$ アリールアルキニレン基からなる群から選択され、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、シクロアルキレン基、シクロアルケニレン基、シクロアルキニレン基、アルキルアリーレン基、アリールアルキレン基、アリールアルケニレン基、及びアリールアルキニレン基は、任意選択で置換され、O、S、及び $NR^{16}$ の群から選択される1個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、式中、 $R^{16}$ は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_2 \sim C_{24}$ アルケニル基、 $C_2 \sim C_{24}$ アルキニル基、及び $C_3 \sim C_{24}$ シクロアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、及びシクロアルキル基は、任意選択で置換されている。アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、シクロアルキレン基、シクロアルケニレン基、シクロアルキニレン基、アルキルアリーレン基、アリールアルキレン基、アリールアルケニレン基、及びアリールアルキニレン基が、上記で定義される1個以上のヘテロ原子により中断される場合、当該基は、1個以上のO原子、及び/又は1個以上のS-S基により中断されることが好ましい。

30

40

## 【0114】

より好ましくは、スペーサー部分 $Sp^1$ 及び $Sp^2$ は、存在する場合、独立して、直鎖又は分岐状 $C_1 \sim C_{100}$ アルキレン基、 $C_2 \sim C_{100}$ アルケニレン基、 $C_2 \sim C_{100}$ アルキニレン基、 $C_3 \sim C_{100}$ シクロアルキレン基、 $C_5 \sim C_{100}$ シクロアルケニレン基、 $C_8 \sim C_{100}$ シクロアルキニレン基、 $C_7 \sim C_{100}$ アルキルアリーレン基、 $C_7 \sim C_{100}$ アリールアルキレン基、 $C_8 \sim C_{100}$ アリールアルケニレン基、及び $C_9 \sim C_{100}$ アリールアルキニレン基からなる群から選択され、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、シクロアルキレン基、シクロアルケニレン基、シクロアルキニレン基、アルキルアリーレン基、アリールアルキレン基、アリールアルケニレン基、及びアリール

50

アルキニレン基は、任意選択で置換され、O、S、及びNR<sup>16</sup>の群から選択される1個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、式中、R<sup>16</sup>は、独立して、水素、C<sub>1</sub>~C<sub>24</sub>アルキル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>アルケニル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>アルキニル基、及びC<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>シクロアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、及びシクロアルキル基は、任意選択で置換されている。

【0115】

更により好ましくは、スパーサー部分Sp<sup>1</sup>及びSp<sup>2</sup>は、存在する場合、独立して、直鎖又は分岐状C<sub>1</sub>~C<sub>50</sub>アルキレン基、C<sub>2</sub>~C<sub>50</sub>アルケニレン基、C<sub>2</sub>~C<sub>50</sub>アルキニレン基、C<sub>3</sub>~C<sub>50</sub>シクロアルキレン基、C<sub>5</sub>~C<sub>50</sub>シクロアルケニレン基、C<sub>8</sub>~C<sub>50</sub>シクロアルキニレン基、C<sub>7</sub>~C<sub>50</sub>アルキルアリーレン基、C<sub>7</sub>~C<sub>50</sub>アリールアルキレン基、C<sub>8</sub>~C<sub>50</sub>アリールアルケニレン基、及びC<sub>9</sub>~C<sub>50</sub>アリールアルキニレン基からなる群から選択され、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、シクロアルキレン基、シクロアルケニレン基、シクロアルキニレン基、アルキルアリーレン基、アリールアルキレン基、アリールアルケニレン基、及びアリールアルキニレン基は、任意選択で置換され、O、S、及びNR<sup>16</sup>の群から選択される1個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、式中、R<sup>16</sup>は、独立して、水素、C<sub>1</sub>~C<sub>24</sub>アルキル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>アルケニル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>アルキニル基、及びC<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>シクロアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、及びシクロアルキル基は、任意選択で置換されている。

10

【0116】

更により好ましくは、スパーサー部分Sp<sup>1</sup>及びSp<sup>2</sup>は、存在する場合、独立して、直鎖又は分岐状C<sub>1</sub>~C<sub>20</sub>アルキレン基、C<sub>2</sub>~C<sub>20</sub>アルケニレン基、C<sub>2</sub>~C<sub>20</sub>アルキニレン基、C<sub>3</sub>~C<sub>20</sub>シクロアルキレン基、C<sub>5</sub>~C<sub>20</sub>シクロアルケニレン基、C<sub>8</sub>~C<sub>20</sub>シクロアルキニレン基、C<sub>7</sub>~C<sub>20</sub>アルキルアリーレン基、C<sub>7</sub>~C<sub>20</sub>アリールアルキレン基、C<sub>8</sub>~C<sub>20</sub>アリールアルケニレン基、及びC<sub>9</sub>~C<sub>20</sub>アリールアルキニレン基からなる群から選択され、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、シクロアルキレン基、シクロアルケニレン基、シクロアルキニレン基、アルキルアリーレン基、アリールアルキレン基、アリールアルケニレン基、及びアリールアルキニレン基は、任意選択で置換され、O、S、及びNR<sup>16</sup>の群から選択される1個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、式中、R<sup>16</sup>は、独立して、水素、C<sub>1</sub>~C<sub>24</sub>アルキル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>アルケニル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>アルキニル基、及びC<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>シクロアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、及びシクロアルキル基は、任意選択で置換されている。

20

30

【0117】

これらの好ましい実施形態において、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、シクロアルキレン基、シクロアルケニレン基、アルキルアリーレン基、アリールアルキレン基、アリールアルケニレン基、及びアリールアルキニレン基は、非置換であり、O、S及びNR<sup>16</sup>、好ましくはOの群から選択される1個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、R<sup>16</sup>は、独立して、水素及びC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル基、好ましくは水素又はメチルからなる群から選択されることが更に好ましい。

40

【0118】

最も好ましくは、スパーサー部分Sp<sup>1</sup>及びSp<sup>2</sup>は、存在する場合、独立して、直鎖又は分岐状C<sub>1</sub>~C<sub>20</sub>アルキレン基からなる群から選択され、アルキレン基は、任意選択で置換され、O、S、及びNR<sup>16</sup>の群から選択される1個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、式中、R<sup>16</sup>は、独立して、水素、C<sub>1</sub>~C<sub>24</sub>アルキル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>アルケニル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>アルキニル基、及びC<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>シクロアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、及びシクロアルキル基は、任意選択で置換されている。この実施形態において、アルキレン基は、非置換であり、O、S、及びNR<sup>16</sup>、好ましくはO及び/又はS-Sの群から選択される1個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、R<sup>16</sup>は、独立して、水素及びC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキ

50

ル基、好ましくは水素又はメチルからなる群から選択されることが更に好ましい。

【0119】

したがって、好ましいスペーサー部分  $S p^1$  及び  $S p^2$  は、 $-(CH_2)_r-$ 、 $-(CH_2CH_2)_r-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_r-$ 、 $-(OCH_2CH_2)_r-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_rCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_r-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_r-$ 、 $-(OCH_2CH_2CH_2)_r-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_rCH_2CH_2-$ 、及び  $-CH_2CH_2CH_2(OCH_2CH_2CH_2)_r-$  を含み、式中、 $r$  は、1～50の範囲内、好ましくは1～40の範囲内、より好ましくは1～30の範囲内、更により好ましくは1～20の範囲内、更により好ましくは1～15の範囲内の整数である。より好ましくは、 $n$  は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10、より好ましくは、1、2、3、4、5、6、7、又は8、更により好ましくは、1、2、3、4、5、又は6、更により好ましくは、1、2、3、又は4である。

10

【0120】

代替的に、好ましいリンカー  $L^1$  は、 $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-$  で表され得、式中、  
 $-d=0$  又は 1、好ましくは  $d=1$  であり、  
 $-e=0\sim 10$ 、好ましくは  $e=0, 1, 2, 3, 4, 5$ 、又は 6 の範囲内の整数、好ましくは 1～10 の範囲内の整数、最も好ましくは  $e=1, 2, 3$ 、又は 4 であり、  
 $-f=0$  又は 1、好ましくは  $f=0$  であり、  
 $-d+e+f$  は少なくとも 1 であり、好ましくは 1～5 の範囲内であり、好ましくは  $d+f$  は少なくとも 1 であり、好ましくは  $d+f=1$  である。  
 $-g=0$  又は 1、好ましくは  $g=1$  であり、  
 $-k=0$  又は 1、好ましくは  $k=1$  であり、  
 $-A$  は、構造 (23) に従うスルファミド基であり、  
 $-B$  は、 $-CH_2-CH_2-O-$  若しくは  $-O-CH_2-CH_2-$  部分であるか、又は  $(B)_e$  は、 $-(CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-CH_2-$  若しくは  $-(CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-$  部分であり、式中、 $e1$  は、 $e$  と同じように定義され、  
 $-W$  は、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、 $-NHC(O)O-$ 、 $-C(O)(CH_2)_mC(O)-$ 、 $-C(O)(CH_2)_mC(O)NH-$ 、又は  $-(4-Ph)CH_2NHC(O)(CH_2)_mC(O)NH-$  であり、好ましくは、 $W$  は、 $-OC(O)NH-$ 、 $-C(O)(CH_2)_mC(O)NH-$ 、又は  $-C(O)NH-$  であり、 $m$  は、0～10の範囲内の整数であり、好ましくは、 $m=0, 1, 2, 3, 4, 5$  又は 6、最も好ましくは、 $m=2$  又は 3 であり、  
 $-$ 好ましくは、 $L^1$  は、 $(W)_k$  を介して  $Q$  に、及び  $(C(O))_g$  を介して、好ましくは  $C(O)$  を介して  $L^2, L^3, L^4$ 、又は  $D$  に、好ましくは  $L^2$  に接続される。

20

30

【0121】

本実施形態の文脈において、構造 (23) 中の波線は、 $(W)_k$ 、 $(B)_e$ 、及び  $(C(O))_g$  などの隣接する基への接続を表す。 $A$  は構造 (23) に従うことが好ましく、式中、 $a=1$  であり、 $R^{13}=H$  又は  $C_{1\sim 20}$  アルキル基、より好ましくは  $R^{13}=H$  又はメチル、最も好ましくは  $R^{13}=H$  である。

40

【0122】

好ましいリンカー  $L^1$  は、構造  $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-$  を有し、式中、  
 $(a) k=0, d=1, g=1, f=0, B=-CH_2-CH_2-O-$ 、 $e=1, 2, 3$ 、又は 4、好ましくは  $e=2$  である。  
 $(b) k=1, W=-C(O)(CH_2)_mC(O)NH-$ 、 $m=2, d=0, (B)_e=-CH_2-CH_2-O)_{e1}-CH_2-CH_2-$ 、 $f=0, g=1, e1=1, 2, 3$ 、又は 4、好ましくは  $e=1$  である。  
 $(c) k=1, W=-OC(O)NH-$ 、 $d=0, B=-CH_2-CH_2-O-$ 、 $g=1, f=0, e=1, 2, 3$ 、又は 4、好ましくは  $e=2$  である。

50

(d)  $k = 1$ 、 $W = -C(O)(CH_2)_mC(O)NH-$ 、 $m = 2$ 、 $d = 0$ 、 $(B)_e = -(CH_2-CH_2-O)_{e_1}-CH_2-CH_2-$ 、 $f = 0$ 、 $g = 1$ 、 $e_1 = 1$ 、 $2$ 、 $3$ 、又は $4$ 、好ましくは $e_1 = 4$ である。

(e)  $k = 1$ 、 $W = -OC(O)NH-$ 、 $d = 0$ 、 $(B)_e = -(CH_2-CH_2-O)_{e_1}-CH_2-CH_2-$ 、 $g = 1$ 、 $f = 0$ 、 $e_1 = 1$ 、 $2$ 、 $3$ 、又は $4$ 、好ましくは $e_1 = 4$ である。

(f)  $k = 1$ 、 $W = -(4-Ph)CH_2NHC(O)(CH_2)_mC(O)NH-$ 、 $m = 3$ 、 $d = 0$ 、 $(B)_e = -(CH_2-CH_2-O)_{e_1}-CH_2-CH_2-$ 、 $g = 1$ 、 $f = 0$ 、 $e_1 = 1$ 、 $2$ 、 $3$ 、又は $4$ 、好ましくは $e_1 = 4$ である。

(g)  $k = 0$ 、 $d = 0$ 、 $g = 1$ 、 $f = 0$ 、 $B = -CH_2-CH_2-O-$ 、 $e = 1$ 、 $2$ 、 $3$ 、又は $4$ 、好ましくは $e = 2$ である。 10

(h)  $k = 1$ 、 $W = -C(O)NH-$ 、 $d = 0$ 、 $g = 1$ 、 $f = 0$ 、 $B = -CH_2-CH_2-O-$ 、 $e = 1$ 、 $2$ 、 $3$ 、又は $4$ 、好ましくは $e = 2$ である。

【0123】

好ましい実施形態において、リンカー $L^1$ は、分岐窒素原子を含み、これは、 $Q$ 又は $Z$ と $(L^2)_o$ との間の骨格に位置し、置換基として更なる部分 $D$ を含み、 $D$ は、好ましくは、リンカーを介して分岐窒素原子に連結される。分岐窒素原子の例は、構造(23)中の窒素原子 $NR^{13}$ であり、式中、 $R^{13}$ は、スペーサー部分を介して $D$ の第2の出現に接続される。代替的に、分岐窒素原子は、構造 $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-$ に従う $L^1$ 内に位置し得る。一実施形態において、 $L^1$ は、 $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-N^*[-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g]_2$ で表され、式中、 $A$ 、 $B$ 、 $W$ 、 $d$ 、 $e$ 、 $f$ 、 $g$ 、及び $k$ は、上記で定義された通りであり、各出現ごとに個々に選択され、 $N^*$ は、 $-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g$ の2つの例が接続された分岐窒素原子である。ここで、両方の $(C(O))_g$ 部分は、 $-(L^2)_o-(L^3)_p-(L^4)_q-D$ に連結され、式中、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $o$ 、 $p$ 、 $q$ 、及び $D$ は、上記で定義された通りであり、それぞれ個々に選択される。好ましい実施形態において、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $o$ 、 $p$ 、 $q$ 、及び $D$ のそれぞれは、 $(C(O))_g$ に接続される両方の部分について同じである。

【0124】

分岐窒素原子を含む好ましいリンカー $L^1$ は、構造 $-(W)_k-(A)_d-(B)_e-(A)_f-(C(O))_g-N^*[-(A')_d'-(B')_e'-(A')_f'-(C(O))_g]_2$ を有し、 30

(i)  $k = d = g = e' = 1$ 、 $f = d' = g' = 0$ 、 $W = -C(O)-$ 、 $B = B' = -2CH-CH_2-O-$ であり、 $A$ は構造(23)に従い、 $a = 0$ かつ $R^{13} = H$ であり、 $e = 1$ 、 $2$ 、 $3$ 、又は $4$ 、好ましくは $e = 2$ である。

(j)  $k = d = g = e' = g' = 1$ 、 $f = d' = 0$ 、 $W = -C(O)-$ 、 $B = B' = -2CH-CH_2-O-$ であり、 $A$ は構造(23)に従い、 $a = 0$ かつ $R^{13} = H$ であり、 $e = 1$ 、 $2$ 、 $3$ 、又は $4$ 、好ましくは $e = 2$ である。

【0125】

リンカー $L^2$

リンカー $L^2$ は、存在しない( $o = 0$ )か、又は存在する( $o = 1$ )。好ましくは、リンカー $L^2$ は存在し、 $o = 1$ である。リンカー $L^2$ は、ペプチドスペーサーである。ペプチドスペーサーは、好ましくは、 $(NH-CR^{17}-CO)_n$ により定義され、式中、 $R^{17}$ は、当該技術分野で既知のアミノ酸側鎖を表す。本明細書において、アミノ酸は、天然又は合成アミノ酸であり得る。好ましくは、アミノ酸(複数可)は、全てそれらの $L$ 配置にある。 $n$ は、 $1 \sim 5$ の範囲内、好ましくは $2 \sim 5$ の範囲内の整数である。したがって、ペプチドスペーサーは、好ましくは $1 \sim 5$ 個のアミノ酸を含む。好ましくは、ペプチドは、ジペプチド( $n = 2$ )、トリペプチド( $n = 3$ )又はテトラペプチド( $n = 4$ )であり、最も好ましくは、ペプチドスペーサーは、ジペプチドである。任意のペプチドスペーサーが使用され得るが、好ましくは、ペプチドスペーサーは、 $Val-Cit$ 、 $Val-$  40

Ala、Val - Lys、Val - Arg、AcLys - Val - Cit、AcLys - Val - Ala、Glu - Val - Ala、Asp - Val - Ala、iGlu - Val - Ala、Glu - Val - Cit、Asp - Val - Cit、iGlu - Val - Cit、Phe - Cit、Phe - Ala、Phe - Lys、Phe - Arg、Ala - Lys、Leu - Cit、Ile - Cit、Trp - Cit、Ala - Ala - Asn、Ala - Asn、Gly - Gly - Phe - Gly及びLys、より好ましくはVal - Cit、Val - Ala、Glu - Val - Ala、Val - Lys、Phe - Cit、Phe - Ala、Phe - Lys、Ala - Ala - Asn、より好ましくはVal - Cit、Val - Ala、Ala - Ala - Asn、最も好ましくはVal - Cit又はVal - Alaから選択される。本明細書において、AcLysはアセチルリジンであり、iGluはイソグルタメートである。一実施形態において、 $L^2 = \text{Val} - \text{Cit}$ である。一実施形態において、 $L^2 = \text{Val} - \text{Ala}$ である。

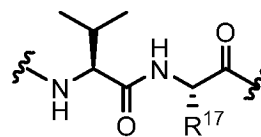
## 【0126】

$R^{17}$ は、好ましくは、アラニン、システイン、アスパラギン酸、グルタミン酸、フェニルアラニン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、リジン、アセチルリシン、ロイシン、メチオニン、アスパラギン、ピロリシン、プロリン、グルタミン、アルギニン、セリン、トレオニン、セレノシステイン、バリン、トリプトファン、チロシン、及びシトルリンの側鎖から選択される、アミノ酸側鎖を表す。好ましいアミノ酸側鎖は、Val、Cit、Ala、Lys、Arg、AcLys、Phe、Leu、Ile、Trp、Glu、Asp、及びAsnのものであり、より好ましくは、Val、Cit、Ala、Glu、及びLysの側鎖からのものである。代替的に、 $R^{17}$ は、好ましくは、 $\text{CH}_3(\text{Ala})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2(\text{Leu})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2(\text{Cit})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2(\text{Lys})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3(\text{AcLys})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2(\text{Arg})$ 、 $\text{CH}_2\text{Ph}(\text{Phe})$ 、 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2(\text{Val})$ 、 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3(\text{Ile})$ 、 $\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2(\text{Asn})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}(\text{Glu})$ 、 $\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}(\text{Asp})$ 、及び $\text{CH}_2(1\text{H-インドール-3-イル})(\text{Trp})$ から選択される。 $R^{17}$ の特に好ましい実施形態は、 $\text{CH}_3(\text{Ala})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2(\text{Cit})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2(\text{Lys})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}(\text{Glu})$ 、及び $\text{CH}(\text{CH}_3)_2(\text{Val})$ である。最も好ましくは、 $R^{17}$ は、 $\text{CH}_3(\text{Ala})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2(\text{Cit})$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2(\text{Lys})$ 、又は $\text{CH}(\text{CH}_3)_2(\text{Val})$ である。

## 【0127】

特に好ましい実施形態において、ペプチドスペーサーは、一般構造(L3)により表され得る。

## 【化23】



(L3)

## 【0128】

式中、 $R^{17}$ は、上記で定義された通りであり、好ましくは、 $R^{17}$ は、 $\text{CH}_3(\text{Val})$ 又は $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2(\text{Cit})$ である。波線は、 $(L^1)_n$ 及び $(L^3)_p$ への接続を示し、好ましくは、構造(L3)に従う $L^2$ は、NHを介して $(L^1)_n$ に、及びC(O)を介して $(L^3)_p$ に接続される。

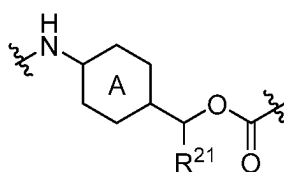
## 【0129】

リンカー $L^3$

リンカー $L^3$ は、存在しない( $p = 0$ )か、又は存在する( $p = 1$ )。好ましくは、リ

ンカー L<sup>3</sup> は存在し、p = 1 である。リンカー L<sup>3</sup> は、自己犠牲型スペーサーとも称される自己切断可能なスペーサーである。好ましくは、L<sup>3</sup> は、パラアミノベンジルオキシカルボニル (P A B C) 誘導体、より好ましくは構造 (L 4) に従う P A B C 誘導体である。

【化 2 4】



(L 4)

10

【0 1 3 0】

ここで、波線は、Q 又は Z、L<sup>1</sup> 又は L<sup>2</sup>、及び L<sup>4</sup> 又は D への接続を示す。典型的には、P A B C 誘導体は、NH を介して Q、Z、L<sup>1</sup>、又は L<sup>2</sup>、好ましくは L<sup>2</sup> に、及び O を介して L<sup>4</sup> 又は D に接続される。

【0 1 3 1】

A は、5 員又は 6 員の芳香族又はヘテロ芳香族環、好ましくは 6 員の芳香族又はヘテロ芳香族環である。好適な 5 員環は、オキサゾール、チアゾール及びフランである。好適な 6 員環は、フェニル及びピリジルである。好ましい実施形態において、A は、1, 4 - フェニル、2, 5 - ピリジル又は 3, 6 - ピリジルである。最も好ましくは、A は 1, 4 - フェニルである。

20

【0 1 3 2】

R<sup>2 1</sup> は、H、R<sup>2 6</sup>、C(O)OH、及び C(O)R<sup>2 6</sup> から選択され、R<sup>2 6</sup> は C<sub>1</sub> ~ C<sub>2 4</sub> (ヘテロ) アルキル基、C<sub>3</sub> ~ C<sub>1 0</sub> (ヘテロ) シクロアルキル基、C<sub>2</sub> ~ C<sub>1 0</sub> (ヘテロ) アリール基、C<sub>3</sub> ~ C<sub>1 0</sub> アルキル (ヘテロ) アリール基、及び C<sub>3</sub> ~ C<sub>1 0</sub> (ヘテロ) アリールアルキル基であり、これらは任意選択で置換され、O、S、及び N R<sup>2 8</sup> から選択される 1 個以上のヘテロ原子により任意選択で中断され、R<sup>2 8</sup> は、独立して、水素及び C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル基からなる群から選択される。好ましくは、R<sup>2 6</sup> は、C<sub>3</sub> ~ C<sub>1 0</sub> (ヘテロ) シクロアルキル又はポリアルキレングリコールである。ポリアルキレングリコールは、好ましくはポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール、より好ましくは -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>s</sub>H 又は -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>s</sub>H である。ポリアルキレングリコールは、最も好ましくはポリエチレングリコール、好ましくは -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>s</sub>H であり、式中、s は、1 ~ 10、好ましくは 1 ~ 5 の範囲内の整数であり、最も好ましくは、s = 1、2、3、又は 4 である。より好ましくは、R<sup>2 1</sup> は、H 又は C(O)R<sup>2 6</sup> であり、式中、R<sup>2 6</sup> = 4 - メチル - ピペラジン又はモルホリンである。最も好ましくは、R<sup>2 1</sup> は H である。

30

【0 1 3 3】

リンカー L<sup>4</sup>

リンカー L<sup>4</sup> は、存在しない (q = 0) か、又は存在する (q = 1)。好ましくは、リンカー L<sup>4</sup> は存在し、q = 1 である。リンカー L<sup>4</sup> は、

40

- 構造 - NR<sup>2 2</sup> - (C<sub>z</sub> - アルキレン) - C(O) - に従うアミノアルカン酸スペーサー (式中、z は、1 ~ 20 の範囲内の整数であり、R<sup>2 2</sup> は、H 又は C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキルである)、

- 構造 - NR<sup>2 2</sup> - (CH<sub>2</sub> - CH<sub>2</sub> - O)<sub>e 6</sub> - (CH<sub>2</sub>)<sub>e 7</sub> - C(O) - に従うエチレングリコールスペーサー (式中、e<sub>6</sub> は、1 ~ 10 の範囲内の整数であり、e<sub>7</sub> は、1 ~ 3 の範囲内の整数であり、R<sup>2 2</sup> は、H 又は C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキルである)、及び

- 構造 - NR<sup>2 2</sup> - (C<sub>z</sub> - アルキレン) - NR<sup>2 2</sup> - (C(O))<sub>h</sub> - に従うジアミンスペーサー (式中、h は、0 又は 1 であり、z は、1 ~ 20 の範囲内の整数であり、R<sup>2 2</sup> は、H 又は C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキルである) から選択される。

50

## 【0134】

リンカー $L^4$ は、アミノアルカン酸スペーサー、すなわち、 $-NR^{22}-(C_z-アルキレン)-C(O)-$ であってよく、式中、 $z$ は、 $1\sim 20$ 、好ましくは $1\sim 10$ 、最も好ましくは $1\sim 6$ の範囲内の整数である。本明細書において、アミノアルカン酸スペーサーは、典型的には、窒素原子を介して $L^3$ に、及びカルボニル部分を介して $D$ に接続される。好ましいリンカー $L^4$ は、6-アミノヘキサン酸(Ahx、 $z=5$ )、 $\alpha$ -アラニン( $z=2$ )及びグリシン(Gly、 $z=1$ )から選択され、更により好ましくは、6-アミノヘキサン酸又はグリシンである。一実施形態において、 $L^4=6$ -アミノヘキサン酸である。一実施形態において、 $L^4=$ グリシンである。本明細書において、 $R^{22}$ は、H又は $C_1\sim C_4$ アルキルであり、好ましくは、 $R^{22}$ は、H又はメチルであり、最も好ましくは、 $R^{22}$ はHである。

10

## 【0135】

代替的に、リンカー $L^4$ は、構造 $-NR^{22}-(CH_2-CH_2-O)_{e6}-(CH_2)_{e7}-C(O)-$ に従うエチレングリコールスペーサーであってよく、式中、 $e6$ は、 $1\sim 10$ の範囲内の整数であり、好ましくは、 $e6$ は、 $2\sim 6$ の範囲内であり、 $e7$ は、 $1\sim 3$ の範囲内の整数であり、好ましくは、 $e7$ は2である。本明細書において、 $R^{22}$ は、H又は $C_1\sim C_4$ アルキルであり、好ましくは、 $R^{22}$ は、H又はメチルであり、最も好ましくは、 $R^{22}$ はHである。

## 【0136】

代替的に、リンカー $L^4$ は、構造 $-NR^{22}-(C_z-アルキレン)-NR^{22}-C(O)_h-$ に従うジアミンスペーサーであってよく、式中、 $h$ は、0又は1であり、 $z$ は、 $1\sim 20$ の範囲内の整数、好ましくは $2\sim 6$ の範囲内の整数、更により好ましくは $z=2$ 又は5、最も好ましくは $z=2$ である。 $R^{22}$ は、H又は $C_1\sim C_4$ アルキルである。本明細書において、 $R^{22}$ は、H又は $C_1\sim C_4$ アルキルであり、好ましくは、 $R^{22}$ は、H又はメチルであり、最も好ましくは、 $R^{22}$ はメチルである。本明細書において、 $h$ は、好ましくは1であり、その場合、リンカー $L^4$ は、ペイロード $D$ 上に存在するフェノールヒドロキシル基を介したコンジュゲーションに特に適している。

20

## 【0137】

ペイロード $D$

$D$ は、抗体に接続されているか、又は接続される標的分子 $D$ を表し、これは、当該技術分野においてペイロードとも称される。 $D$ は、エキサテカンである。

30

## 【0138】

一般構造(2)による化合物は、2つ以上の部分 $D$ を含み得る。2つ以上の細胞毒素 $D$ が存在する場合、細胞毒素 $D$ は、同じであっても異なってもよく、典型的には、それらは同じである。好ましい実施形態において、一般構造(2)に従う化合物は、1回又は2回の $D$ の出現、最も好ましくは2回の $D$ の出現を含む。典型的には、 $D$ の第2の出現は、リンカー $L$ 内に存在し、これは、 $D$ の第2の出現に接続される分岐部分、典型的には分岐窒素原子を含み得る。好ましくは、 $D$ の両方の出現は、同じリンカーを介して分岐部分に接続される。同様に、構造(1)による抗体コンジュゲートは、接続基 $Z$ 当たり2つ以上の部分 $D$ を含み得る。

40

## 【0139】

好ましい抗体コンジュゲート

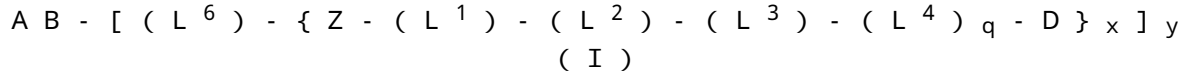
第1の態様による好ましい抗体コンジュゲートは、化合物(I)~(III)からなる群から選択され、より好ましくは(II)又は(III)、最も好ましくは(II)である。より好ましい抗体コンジュゲートは、(X)~(XIII)から選択される。1つの特に好ましい実施形態において、抗体コンジュゲートは、(Xa)、(XIb)、(XIg)、(XIh)、及び(XIIIe)から選択される。更により好ましい実施形態において、抗体コンジュゲートは、(XI)及び(XIII)から選択され、より好ましくは(XIb)又は(XIIIe)であり、より好ましくは、抗体コンジュゲートは、(XIII)に従い、最も好ましくは(XIIIe)に従う。これらの抗体コンジュゲート

50

の構造は、以下で定義される。

【0140】

抗体コンジュゲート (I) は、以下の構造を有する。



ここで、

- AB、 $L^6$ 、Z、D、x 及び y は、上記で定義された通りであり、
- $L^1$  は、上記で定義された  $-(A)_d - (B)_e - (A)_f - (C(O))_g$  - によって表されるリンカーであり、
- $L^2$  は、Val - Cit 又は Val - Ala であり、
- $L^3$  は、構造 (L4) に従う PABC 誘導体であり、
- $L^4$  は、 $-N - (C_z - \text{アルキレン}) - C(O) -$  又は  $-NR^{22} - (C_z - \text{アルキレン}) - NR^{22} -$  であり、式中、z 及び  $R^{22}$  は、上記で定義された通りであり、
- q = 0 又は 1 である。

10

【0141】

抗体コンジュゲート (I) の文脈において、 $L^1$  については、 $d = 1$  (構造 (23) に従う A、 $a = 1$  かつ  $R^{13} = H$  であることが好ましい)、 $e = 2$ 、 $f = 0$  かつ  $g = 1$  であることが好ましい。抗体コンジュゲート (I) の文脈において、 $L^2 = \text{Val} - \text{Cit}$  であることが好ましい。抗体コンジュゲート (I) の文脈において、 $L^3$  については、 $R^{21} = H$  であることが好ましい。抗体コンジュゲート (I) の文脈において、 $q = 1$  の場合、 $z = 1$  又は 5 であることが好ましい。

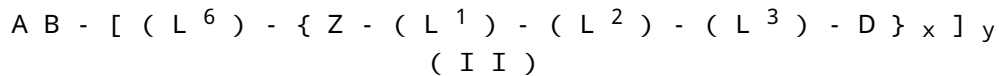
20

【0142】

特に好ましい実施形態において、構造 (I) に従う抗体コンジュゲートは、カリケアマイシン、MMAE、PF - 06380101、エキサテカン、及び DXd からなる群から選択されるペイロード D、より好ましくは、カリケアマイシン、MMAE、及びエキサテカンからなる群から選択されるペイロード D、最も好ましくは、ペイロード D としてのエキサテカンを含む。

【0143】

抗体コンジュゲート (II) は、以下の構造を有する。



30

ここで、

- AB、 $L^6$ 、Z、D、x 及び y は、上記で定義された通りであり、
- $L^1$  は、上記で定義された  $-(A) - (B)_e - (C(O)) -$  によって表されるリンカーであり、
- $L^2$  は、Val - Cit 又は Val - Ala であり、
- $L^3$  は、構造 (L4) に従う PABC 誘導体であり、式中、 $R^{21} = H$  である。

【0144】

抗体コンジュゲート (II) の文脈において、構造 (23) に従う  $L^1$ 、 $e = 2$ 、A については、 $a = 1$  及び  $R^{13} = H$  であることが好ましい。抗体コンジュゲート (II) の文脈において、 $L^2 = \text{Val} - \text{Cit}$  であることが好ましい。

40

【0145】

特に好ましい実施形態において、構造 (II) に従う抗体コンジュゲートは、カリケアマイシン、MMAE、PF - 06380101、エキサテカン、及び DXd からなる群から選択されるペイロード D、より好ましくは、カリケアマイシン、MMAE、及びエキサテカンからなる群から選択されるペイロード D、最も好ましくは、ペイロード D としてのエキサテカンを含む。

【0146】

抗体コンジュゲート (III) は、以下の構造を有する。



50

## ( I I I )

ここで、

- A B、L<sup>6</sup>、Z、D、x及びyは、上記で定義された通りであり、
- L<sup>1</sup>は、上記で定義された - ( A ) - ( B )<sub>e</sub> - ( C ( O ) ) - によって表されるリンカーであり、
- L<sup>2</sup>は、V a l - C i t又はV a l - A l aであり、
- L<sup>3</sup>は、構造 ( L 4 ) に従うP A B C誘導体であり、式中、R<sup>2 1</sup> = Hであり、
- L<sup>4</sup>は、- N R<sup>2 2</sup> - ( C<sub>z</sub> - アルキレン ) - N R<sup>2 2</sup> - であり、式中、R<sup>2 2</sup>は、上記で定義された通りであり、zは、1 ~ 6の範囲内の整数である。

## 【 0 1 4 7 】

抗体コンジュゲート ( I I I ) の文脈において、L<sup>1</sup>については、e = 2、a = 1及びR<sup>1 3</sup> = Hであることが好ましい。抗体コンジュゲート ( I I I ) の文脈において、L<sup>2</sup> = V a l - C i tであることが好ましい。抗体コンジュゲート ( I I I ) の文脈において、z = 2であることが好ましい。

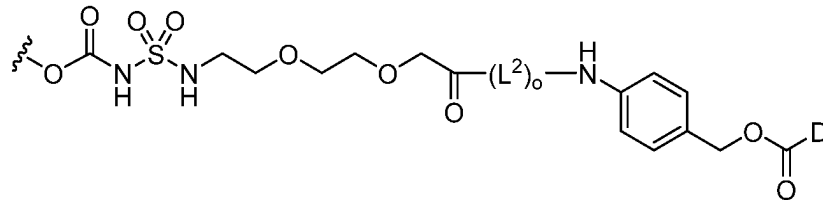
## 【 0 1 4 8 】

特に好ましい実施形態において、構造 ( I I I ) に従う抗体コンジュゲートは、カリケアマイシン、M M A E、P F - 0 6 3 8 0 1 0 1、エキサテカン、及びD X dからなる群から選択されるペイロードD、より好ましくは、カリケアマイシン、M M A E、及びエキサテカンからなる群から選択されるペイロードD、最も好ましくは、ペイロードDとしてのエキサテカンを含む。

## 【 0 1 4 9 】

抗体コンジュゲート ( X ) は、以下の構造に従うリンカー - ペイロード部分を有する。

## 【 化 2 5 】



( X )

ここで、

- 波線は、Zへの接続を示し、
- L<sup>2</sup>、o及びDは、上記で定義された通りである。

## 【 0 1 5 0 】

L<sup>2</sup>は、非存在の存在であってもよく、好ましくは、L<sup>2</sup>は存在し、o = 1である。好ましい抗体コンジュゲート ( X a ) については、L<sup>2</sup>は構造 ( L 3 ) に従い、R<sup>1 7</sup>はC H<sub>3</sub>である。好ましい抗体コンジュゲート ( X b ) については、L<sup>2</sup>は構造 ( L 3 ) に従い、R<sup>1 7</sup>はC H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> N H C ( O ) N H<sub>2</sub>である。抗体コンジュゲート ( X ) は、好ましくは、構造 ( X a ) を有する。

## 【 0 1 5 1 】

特に好ましい実施形態において、構造 ( X ) に従う抗体コンジュゲートは、カリケアマイシン、M M A E、P F - 0 6 3 8 0 1 0 1、エキサテカン、及びD X dからなる群から選択されるペイロードD、より好ましくは、カリケアマイシン、M M A E、及びエキサテカンからなる群から選択されるペイロードD、最も好ましくは、ペイロードDとしてのエキサテカンを含む。

## 【 0 1 5 2 】

抗体コンジュゲート ( X I ) は、以下の構造に従うリンカー - ペイロード部分を有する。

。

10

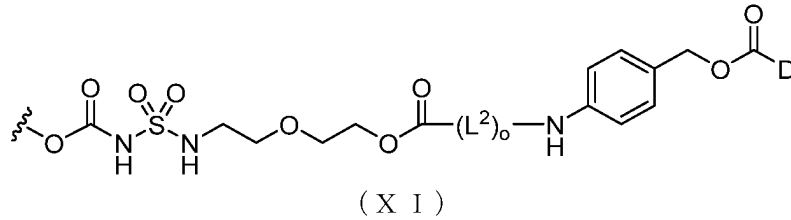
20

30

40

50

## 【化 2 6】



ここで、

- 波線は、Zへの接続を示し、
- $L^2$ 、 $o$ 及びDは、上記で定義された通りである。

10

## 【0153】

$L^2$ は、非存在の存在であってもよく、好ましくは、 $L^2$ は存在し、 $o = 1$ である。好ましい抗体コンジュゲート(XIa)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_3$ である。好ましい抗体コンジュゲート(XIb)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ である。抗体コンジュゲート(XI)は、好ましくは、構造(XIb)を有する。

## 【0154】

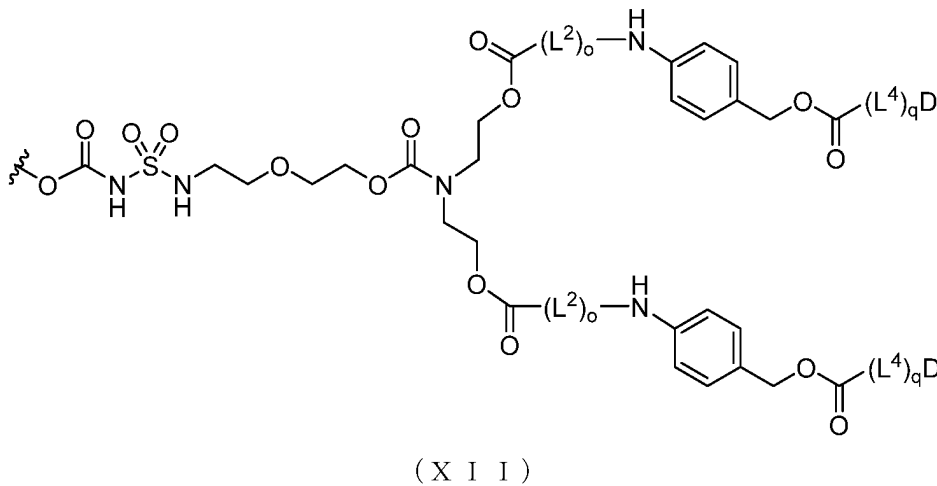
特に好ましい実施形態において、構造(XI)に従う抗体コンジュゲートは、カリケアマイシン、MMAE、PF-06380101、エキサテカン、及びDXdからなる群から選択されるペイロードD、より好ましくは、カリケアマイシン、MMAE、及びエキサテカンからなる群から選択されるペイロードD、最も好ましくは、ペイロードDとしてのカリケアマイシンを含む。

20

## 【0155】

抗体コンジュゲート(XII)は、以下の構造に従うリンカー-ペイロード部分を有する。

## 【化 2 7】



30

ここで、

- 波線は、Zへの接続を示し、
- $L^2$ 、 $L^4$ 、 $o$ 、 $q$ 、及びDは、上記で定義された通りである。

## 【0156】

$L^2$ は、非存在の存在であってもよく、好ましくは、 $L^2$ は存在し、 $o = 1$ である。好ましい抗体コンジュゲート(XIIa)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_3$ である。好ましい抗体コンジュゲート(XIIb)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ である。好ましくは、 $R^{17} = CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ である。

40

50

## 【0157】

$L^4$ は、非存在の存在であってもよい。好ましい抗体コンジュゲート(X I I c)については、 $q = 0$ であり、 $L^4$ は存在しない。好ましい抗体コンジュゲート(X I I d)については、 $q = 1$ であり、 $L^4$ は、構造 -  $NR^{22} - (C_z - \text{アルキレン}) - NR^{22} -$ に従うジアミンスペーサーであり、式中、 $z$ は、 $1 \sim 20$ の範囲内の整数であり、 $R^{22}$ は、H又は $C_1 \sim C_4$ アルキルである。

## 【0158】

好ましい抗体コンジュゲート(X I I e)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_3$ であり、 $q = 0$ であり、 $L^4$ は存在しない。好ましい抗体コンジュゲート(X I I f)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_3$ であり、 $q = 1$ であり、 $L^4$ は構造 -  $NR^{22} - (C_z - \text{アルキレン}) - NR^{22} -$ に従うジアミンスペーサーであり、式中、 $z$ は、 $1 \sim 10$ の範囲内の整数であり、好ましくは $z = 2$ であり、 $R^{22}$ は、H又は $C_1 \sim C_4$ アルキルである。

10

## 【0159】

好ましい抗体コンジュゲート(X I I g)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ であり、 $q = 0$ であり、 $L^4$ は存在しない。好ましい抗体コンジュゲート(X I I h)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ であり、 $q = 1$ であり、 $L^4$ は構造 -  $NR^{22} - (C_z - \text{アルキレン}) - NR^{22} -$ に従うジアミンスペーサーであり、式中、 $z$ は、 $1 \sim 20$ の範囲内の整数であり、 $R^{22}$ は、H又は $C_1 \sim C_4$ アルキルである。

20

## 【0160】

抗体コンジュゲート(X I I)の文脈において、 $z$ は、 $1 \sim 10$ の範囲内の整数であり、より好ましくは $z = 2 \sim 6$ 、最も好ましくは $z = 2$ であることが好ましい。抗体コンジュゲート(X I I)の文脈において、 $R^{22}$ は、H又は $CH_3$ であることが更に好ましい。

## 【0161】

抗体コンジュゲート(X I I)の文脈において、構造(X I I g)及び(X I I h)が最も好ましい。

## 【0162】

特に好ましい実施形態において、構造(X I I)に従う抗体コンジュゲートは、カリケアマイシン、MMAE、PF-06380101、エキサテカン、及びDXdからなる群から選択されるペイロードD、より好ましくは、カリケアマイシン、MMAE、及びエキサテカンからなる群から選択されるペイロードD、最も好ましくは、ペイロードDとしてのエキサテカンを含む。

30

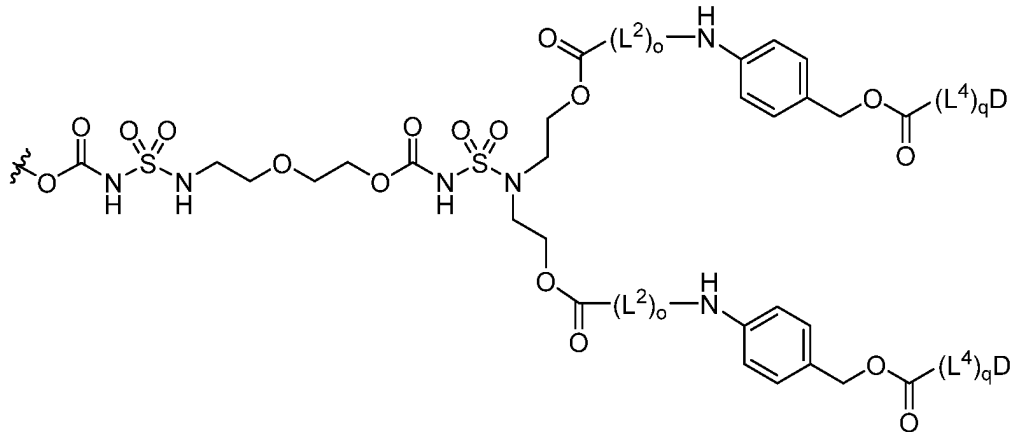
## 【0163】

抗体コンジュゲート(X I I I)は、以下の構造に従うリンカー - ペイロード部分を有する。

40

50

## 【化 2 8】



(XIII)

10

ここで、

- 波線は、Zへの接続を示し、
- $L^2$ 、 $L^4$ 、 $o$ 、 $q$ 、及びDは、上記で定義された通りである。

## 【0164】

$L^2$ は、非存在の存在であってもよく、好ましくは、 $L^2$ は存在し、 $o = 1$ である。好ましい抗体コンジュゲート(XIIIa)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_3$ である。好ましい抗体コンジュゲート(XIIIb)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ である。好ましくは、 $R^{17} = CH_3$ である。

20

## 【0165】

$L^4$ は、非存在の存在であってもよい。好ましい抗体コンジュゲート(XIIIc)については、 $q = 0$ であり、 $L^4$ は存在しない。好ましい抗体コンジュゲート(XIII d)については、 $q = 1$ であり、 $L^4$ は、構造- $NR^{22}-(C_z-アルキレン)-NR^{22}$ -に従うジアミンスペーサーであり、式中、 $z$ は、1~20の範囲内の整数であり、 $R^{22}$ は、H又は $C_1 \sim C_4$ アルキルである。

30

## 【0166】

好ましい抗体コンジュゲート(XIII e)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_3$ であり、 $q = 0$ であり、 $L^4$ は存在しない。好ましい抗体コンジュゲート(XIII f)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_3$ であり、 $q = 1$ であり、 $L^4$ は構造- $NR^{22}-(C_z-アルキレン)-NR^{22}$ -に従うジアミンスペーサーであり、式中、 $z$ は、1~10の範囲内の整数であり、好ましくは $z = 2$ であり、 $R^{22}$ は、H又は $C_1 \sim C_4$ アルキルである。

## 【0167】

好ましい抗体コンジュゲート(XIII g)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ であり、 $q = 0$ であり、 $L^4$ は存在しない。好ましい抗体コンジュゲート(XIII h)については、 $L^2$ は構造(L3)に従い、 $R^{17}$ は $CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ であり、 $q = 1$ であり、 $L^4$ は構造- $NR^{22}-(C_z-アルキレン)-NR^{22}$ -に従うジアミンスペーサーであり、式中、 $z$ は、1~20の範囲内の整数であり、 $R^{22}$ は、H又は $C_1 \sim C_4$ アルキルである。

40

## 【0168】

抗体コンジュゲート(XIII)の文脈において、 $z$ は、1~10の範囲内の整数であり、より好ましくは $z = 2 \sim 6$ 、最も好ましくは $z = 2$ であることが好ましい。抗体コンジュゲート(XIII)の文脈において、 $R^{22}$ は、H又は $CH_3$ であることが更に好ましい。

## 【0169】

50

抗体コンジュゲート (X I I I) の文脈において、構造 (X I I I e) が最も好ましい。

【0170】

特に好ましい実施形態において、構造 (X I I I) に従う抗体コンジュゲートは、カリケアマイシン、MMAE、PF-06380101、エキサテカン、及びDXdからなる群から選択されるペイロードD、より好ましくは、カリケアマイシン、MMAE、及びエキサテカンからなる群から選択されるペイロードD、最も好ましくは、ペイロードDとしてのエキサテカンを含む。

【0171】

1つの特に好ましい実施形態において、本発明による抗体コンジュゲートは、上記で定義された構造 (X I I I e) に従い、抗体は、上記で定義されたhRS7であり、ペイロードはエキサテカンである。

10

【0172】

これらの好ましい抗体コンジュゲートは、グリカン (すなわち  $b = 1$ )、より好ましくはトリミングされたグリカン (すなわち  $j = 0$ ) を介してコンジュゲートされることが更に好ましい。本明細書において、 $S = Ga1NAc$  及び  $w' = 0$  であることが更に好ましい。本明細書において、接続基Zは、アジド-アルキン付加環化、好ましくは接続基  $Z = (Z39)$  によって形成されることが更に好ましく、環  $Z = (Za)$  及び  $V = CH_2$  である。本明細書において、 $x = 1$  であることが更に好ましい。本明細書において、 $y = 2$ 、より好ましくは  $x = 1$  及び  $y = 2$  であることが更に好ましい。

20

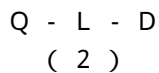
【0173】

最も好ましい実施形態において、本発明による抗体コンジュゲートは、上記で定義された構造 (X I I I e) に従い、抗体は、上記で定義されたhRS7であり、ペイロードはエキサテカンであり、式中、 $b = 1$ 、 $e = 0$ 、 $S = Ga1NAc$ 、 $w' = 0$ 、接続基  $Z = (Z39)$  であり、環  $Z = (Za)$  及び  $V = CH_2$  であり、 $x = 1$  及び  $y = 2$  である。

【0174】

一般構造 (2) に従う化合物

化合物は、一般構造 (2) を有し、



30

ここで、

- Qは、反応性部分であり、
- Lは、ZをDに連結するリンカーであり、
- Dは、アントラサイクリン、カンプトテシン、チューブリシン、エンジン、アマニチン、デュオカルマイシン、メイタンシノイド、オーリスタチン、エリブリン、BCL-XL阻害剤、ヘミアステリン、KSP阻害剤、TLRアゴニスト、インドリノベンゾジアゼピン二量体又はピロロベンゾジアゼピン二量体 (PBD)、及びそれらの類似体又はプロドラッグからなる群から選択され、

【0175】

一般構造 (2) の化合物はまた、最終コンジュゲートのリンカーL及びペイロードDを含有するための「リンカー-薬物構築物」とも称され得る。一般式 (2) の化合物は、標準的な有機合成技術を使用して、かつ実施例に例示されるように、当業者によって調製され得る。リンカーL及びペイロードDは、構造 (1) に従うコンジュゲートの文脈において上で定義されている。

40

【0176】

反応性部分Q

一般構造 (2) に従う化合物は、反応性部分Qを含む。本発明の文脈において、「反応性部分」という用語は、反応性基を含む化学的部分を指し得るが、反応性基自体も指し得る。例えば、シクロオクチニル基は、反応性基、すなわちC-C三重結合を含む反応性基である。同様に、N-マレイミジル基は、反応性基としてC-C二重結合を含む反応性基

50

である。しかしながら、反応性基、例えば、アジド反応性基、チオール反応性基又はアルキニル反応性基は、本明細書において反応性部分とも称され得る。

【0177】

Qは、 $S(F)_x$ への接続のための化学的ハンドルとして機能する。換言すれば、QはFに対して反応性であり、Fに相補的である。本明細書において、反応性基は、当該反応性基が選択的に、任意選択で他の官能基の存在下で当該反応性基と反応するとき、反応性基に対して「相補的」であると示される。相補的な反応性基及び官能基は、当業者に既知であり、以下により詳細に記載される。したがって、一般構造(2)に従う化合物は、QとFとの間の化学反応が生じ、それによってペイロードDと抗体との間の共有結合による接続を含む抗体コンジュゲートを形成するコンジュゲート反応に好都合に使用される。

10

【0178】

Q及びFの正確な性質は、用いられるコンジュゲーション反応の種類に依存する。当業者は、Q及びFの適切な組み合わせを選択することができるであろう。好ましくは、Q、したがって、またFは、付加環化又は求核反応において反応性である。したがって、Qは、好ましくは、クリックプローブ、チオール、チオール反応性部分、アミン、又はアミン反応性部分を含み、より好ましくは、Qは、クリックプローブ、チオール反応性部分、又はアミン反応性部分であり、最も好ましくは、Qは、クリックプローブである。クリックプローブは、付加環化(クリック反応)で反応性であり、好ましくは、アジド、テトラジン、トリアジン、ニトロン、ニトリルオキシド、ニトリルイミン、ジアゾ化合物、オルトキノ、ジオキソチオフエン、シドノン、アルケン部分、及びアルキン部分から選択される。好ましくは、クリックプローブは、アルケン部分又はアルキン部分を含むか、又はそれらであり、より好ましくは、アルケンは(ヘテロ)シクロアルケンであり、及び/又はアルキンは末端アルキン若しくは(ヘテロ)シクロアルキンである。典型的なチオール反応性部分は、マレイミド部分、ハロアセトアミド部分、アレナミド部分、ホスホンアミダイト部分、シアノエチニル部分、ビニルスルホン、ビニルピリジン部分、又はメチルスルホニルフェニルオキサジアゾール部分から選択される。最も好ましくは、チオール反応性部分は、マレイミド部分を含むか、又はマレイミド部分である。典型的なアミン反応性部分は、N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル及び他の活性化エステル、p-ニトロフェニルカーボネート及び他の活性化カーボネート、イソシアネート、イソチオシアネート、ハロアセトアミド及びベンジルハライドから選択される。好ましい実施形態において、Qは、アルケン部分、アルキン部分、チオール反応性部分又はアミン反応性部分、より好ましくはアルケン部分又はアルキン部分、更により好ましくはアルキン部分から選択される。本明細書において、アルケンは、好ましくは(ヘテロ)シクロアルケンであり、アルキンは、好ましくは末端アルキン又は(ヘテロ)シクロアルキンである。最も好ましくは、Qは環状(ヘテロ)アルキン部分である。これらの部分のそれぞれは、以下で更に定義される。

20

30

【0179】

したがって、特に好ましい実施形態において、Qは、環状(ヘテロ)アルキン部分を含む。アルキニル基はまた、(ヘテロ)シクロアルキニル基、すなわち、ヘテロシクロアルキニル基又はシクロアルキニル基とも称され得、(ヘテロ)シクロアルキニル基は、任意選択で置換される。好ましくは、(ヘテロ)シクロアルキニル基は、(ヘテロ)シクロヘプチニル基、(ヘテロ)シクロオクチニル基、(ヘテロ)シクロノニル基又は(ヘテロ)シクロデシニル基である。本明細書において、(ヘテロ)シクロアルキンは、任意選択で置換されてもよい。好ましくは、(ヘテロ)シクロアルキニル基は、任意選択で置換された(ヘテロ)シクロヘプチニル基又は任意選択で置換された(ヘテロ)シクロオクチニル基である。最も好ましくは、(ヘテロ)シクロアルキニル基は(ヘテロ)シクロオクチニル基であり、(ヘテロ)シクロオクチニル基は任意選択で置換される。

40

【0180】

特に好ましい実施形態において、Qは、(ヘテロ)シクロアルキニル又は(ヘテロ)シクロアルケニル基を含み、構造(Q1)に従う。

50

## 【化 2 9】



ここで、

## 【化 3 0】

≡≡≡

として示される結合は、二重結合又は三重結合であり、

-  $R^{15}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-S(O)_2$ 、 $R^{16}$ 、 $-S(O)_3(-)$ 、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアル基、 $C_7 \sim C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリアル基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアルアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、(ヘテロ)アリアル基、アルキル(ヘテロ)アリアル基、及び(ヘテロ)アリアルアルキル基は、任意選択で置換され、2つの置換基  $R^{15}$  が一緒に連結されて、任意選択で置換された環状シクロアルキル又は任意選択で置換された環状(ヘテロ)置換基を形成し、 $R^{16}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアル基、 $C_7 \sim C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリアル基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアルアルキル基からなる群から選択され、

-  $Y^2$  は、 $C(R^{31})_2$ 、 $O$ 、 $S$ 、 $S(+R^{31})$ 、 $S(O)R^{31}$ 、 $S(O)=NR^{31}$ 、又は $NR^{31}$ であり、式中、 $S(+)$ は、 $B(-)$ によって相殺されたカチオン性硫黄原子であり、式中、 $B(-)$ は、アニオンであり、各  $R^{31}$  は、個々に、 $R^{15}$  又は  $L$  を介して接続された  $D$  との接続であり、

-  $u$  は、0、1、2、3、4、又は5であり、

-  $u'$  は、0、1、2、3、4、又は5であり、 $u + u' = 0、1、2、3、4、5、6、7、$  又は8であり、

-  $v = 0 \sim 16$  の範囲内の整数である。

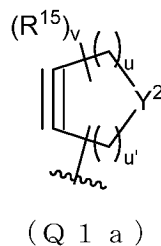
## 【0 1 8 1】

典型的には、 $v = (u + u') \times 2$  (波状結合によって示される  $L$  への接続が  $Y^2$  を介している場合) 又は  $[(u + u') \times 2] - 1$  (波状結合によって示される  $L$  への接続が炭素原子のうちの1つを介している場合) である。

## 【0 1 8 2】

構造(Q 1)の好ましい実施形態において、反応性基  $Q$  は、(ヘテロ)シクロアルキニル基を含み、構造(Q 1 a)に従う。

## 【化 3 1】



ここで、

-  $R^{15}$  及び  $Y^2$  は、上に定義された通りであり、

-  $u$  は、0、1、2、3、4、又は5であり、

-  $u'$  は、0、1、2、3、4、又は5であり、 $u + u' = 4、5、6、7、$  又は8であり

10

20

30

40

50

-  $v = 8 \sim 16$  の範囲内の整数である。

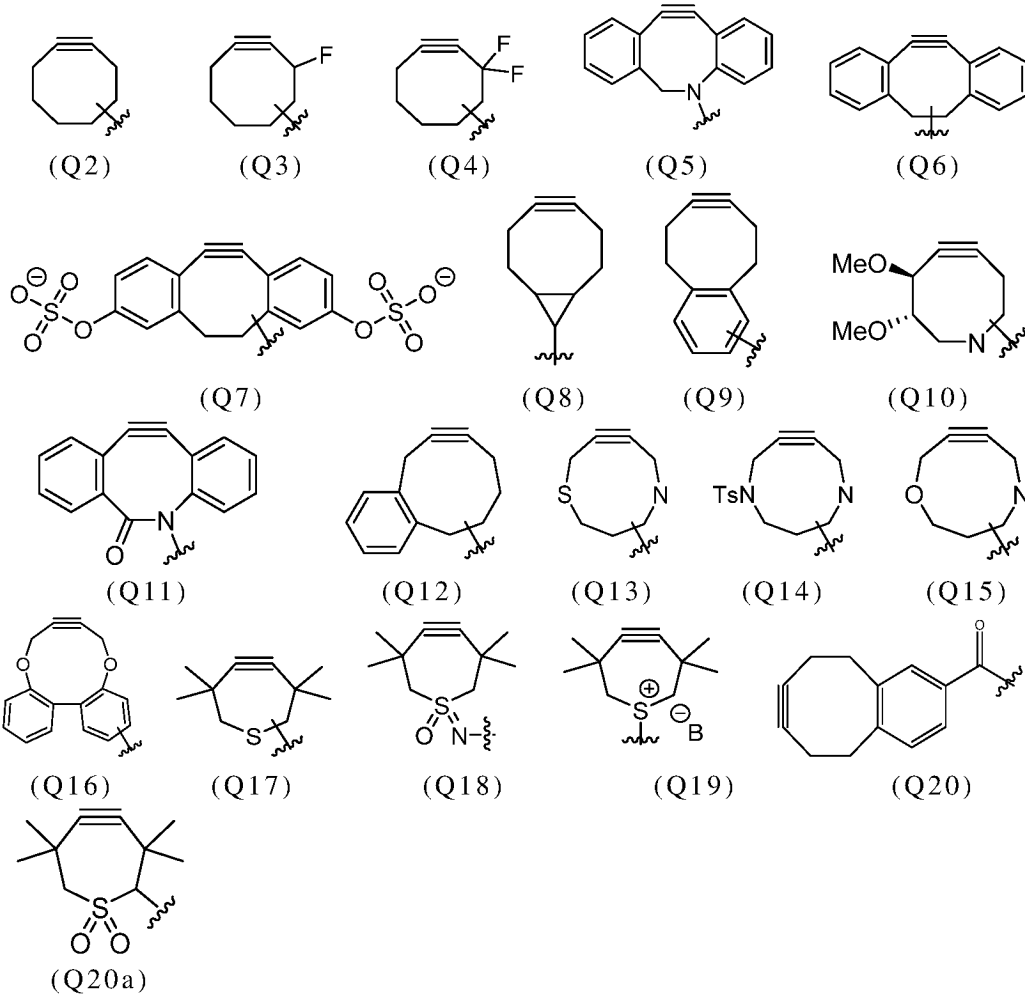
【0183】

好ましい実施形態において、 $u + u' = 4, 5$ 、又は6であり、より好ましくは $u + u' = 5$ である。好ましい実施形態において、 $v = 8, 9$ 又は10であり、より好ましくは $v = 9$ 又は10であり、最も好ましくは $v = 10$ である。

【0184】

好ましい実施形態において、Qは、以下に示される(Q2) - (Q20)及び(Q20a)からなる群から選択される(ヘテロ)シクロアルキニル基である。

【化32】



10

20

30

【0185】

ここで、波状結合で示されるLへの接続は、Qの任意の利用可能な炭素原子又は窒素原子への接続であってもよい。(Q10)、(Q13)、(Q14)及び(Q15)の窒素原子は、Lへの接続を有してもよく、又は水素原子を含有してもよく、又は任意選択で官能化されてもよい。B(-)は、アニオンであり、好ましくは、(-)OTf、Cl(-)、Br(-)、又はI(-)から選択され、最も好ましくは、B(-)は(-)OTfである。コンジュゲーション反応において、B(-)はいずれにしても反応混合物中に存在するアニオンと交換するため、B(-)は薬学的に許容されるアニオンである必要はない。Qに(Q19)が使用される場合、負に荷電した対イオンは、好ましくは、本発明によるコンジュゲートの単離時に薬学的に許容可能であり、その結果、コンジュゲートは薬剤として容易に使用可能である。

40

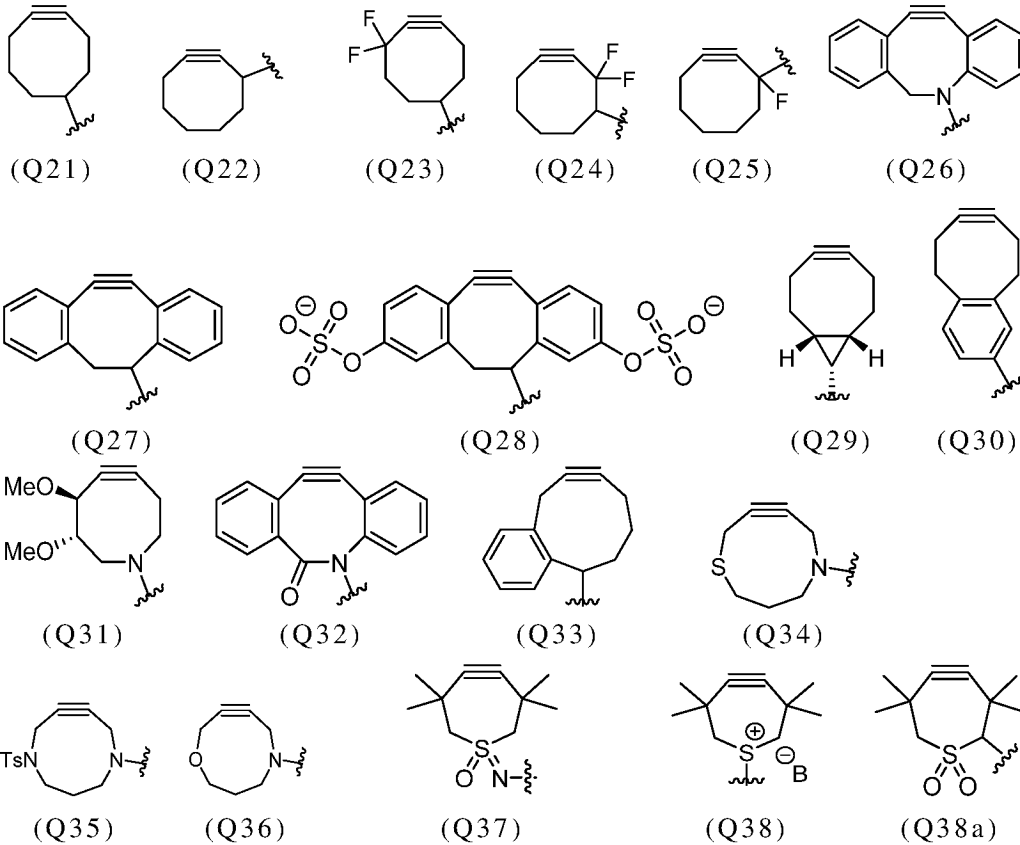
【0186】

更なる好ましい実施形態において、Qは、以下に示される(Q21) ~ (Q38)及び

50

(Q38a) からなる群から選択される(ヘテロ)シクロアルキニル基である。

【化33】



10

20

【0187】

構造(Q38)において、B(-)は、アニオンであり、好ましくは、(-)OTf、Cl(-)、Br(-)、又はI(-)から選択され、最も好ましくは、B(-)は(-)OTfである。

【0188】

好ましい実施形態において、Qは、好ましくは構造(Q8)、(Q26)、(Q27)、(Q28)、(Q37)、又は(Q38a)に従う、より好ましくは構造(Q8)、(Q26)、(Q27)、(Q28)、又は(Q37)に従う(ヘテロ)シクロオクチン部分又は(ヘテロ)シクロヘプチン部分を含み、これらは任意選択で置換される。Qのこれらの好ましい選択肢のそれぞれは、以下で更に定義される。

【0189】

したがって、好ましい実施形態において、Qは、TMTHSIとも称される、構造(Q37)に従うヘテロシクロヘプチン部分を含み、これは任意選択で置換される。好ましくは、構造(Q37)に従うヘテロシクロヘプチン部分は、置換されていない。

【0190】

代替の好ましい実施形態において、Qは、ビシクロ[6.1.0]ノン4-イン-9-イル]基(BCN基)とも称される、構造(Q8)に従うシクロオクチン部分、より好ましくは(Q29)に従うシクロオクチン部分を含み、これは任意選択で置換される。好ましくは、構造(Q8)又は(Q29)に従うシクロオクチン部分は、置換されていない。本実施形態の文脈において、Qは、好ましくは、以下に示される構造(Q39)に従う(ヘテロ)シクロオクチン部分であり、式中、Vは、(CH<sub>2</sub>)<sub>1</sub>であり、lは、0~10の範囲内、好ましくは、0~6の範囲内の整数である。より好ましくは、lは、0、1、2、3、又は4であり、より好ましくは、lは、0、1、又は2であり、最も好ましくは、lは、0又は1である。基(Q39)の文脈において、lは、最も好ましくは、1である。最も好ましくは、Qは、以下で更に定義される構造(Q42)に従う。

30

40

50

## 【0191】

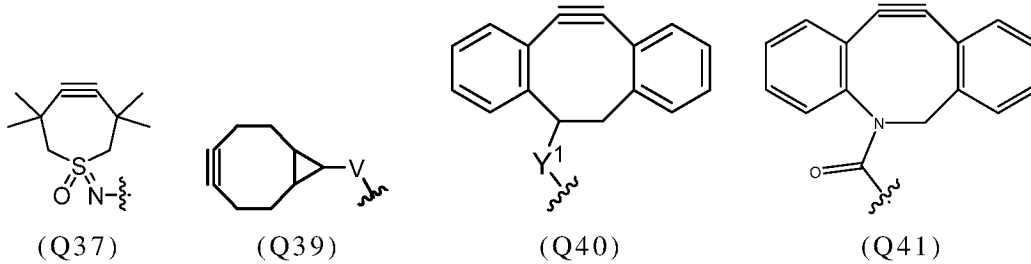
代替の好ましい実施形態において、Qは、DIBO、DIBAC、DBCO、又はADIBO基とも称される、構造(Q26)、(Q27)、又は(Q28)に従う(ヘテロ)シクロオクチン部分を含み、これらは任意選択で置換される。本実施形態の文脈において、Qは、好ましくは、以下に示される構造(Q40)又は(Q41)に従う(ヘテロ)シクロオクチン部分であり、式中、 $Y^1$ は、O又は $NR^{11}$ であり、式中、 $R^{11}$ は、独立して、水素、直鎖又は分岐鎖 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基、又は $C_4 \sim C_{12}$ (ヘテロ)アリアル基からなる群から選択される。(Q40)中の芳香族環は、任意選択で、1つ以上の位置でO-スルホニル化され、一方、(Q41)の環は、1つ以上の位置でハロゲン化され得る。好ましくは、構造(Q40)又は(Q41)に従う(ヘテロ)シクロオクチン部分は、更に置換されていない。最も好ましくは、Qは、以下で更に定義される構造(Q43)に従う。

10

## 【0192】

代替の好ましい実施形態において、Qは、ヘテロシクロヘプチニル基を含み、構造(Q37)に従う。

## 【化34】

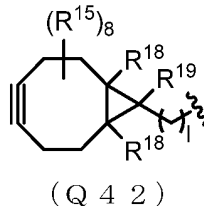


20

## 【0193】

特に好ましい実施形態において、Qは、シクロオクチニル基を含み、構造(Q42)に従う。

## 【化35】



30

ここで、

-  $R^{15}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-S(O)_2$ 、 $R^{16}$ 、 $-S(O)_3(-)$ 、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_5 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアル基、 $C_7 \sim C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリアル基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアルアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、(ヘテロ)アリアル基、アルキル(ヘテロ)アリアル基、及び(ヘテロ)アリアルアルキル基は、任意選択で置換され、2つの置換基 $R^{15}$ が一緒に連結されて、任意選択で置換された環状シクロアルキル又は任意選択で置換された環状(ヘテロ)置換基を形成し、 $R^{16}$ は、独立して、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアル基、 $C_7 \sim C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリアル基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアルアルキル基からなる群から選択され、

40

-  $R^{18}$  は、独立して、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアル基、 $C_7 \sim C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリアル基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアルアルキル基からなる群から選択され、

-  $R^{19}$  は、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリアル

50

基、 $C_7 - C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリール基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリールアルキル基からなる群から選択され、アルキル基は、O、N及びSからなる群から選択される複数のヘテロ原子のうち1個によって任意選択で中断され、アルキル基、(ヘテロ)アリール基、アルキル(ヘテロ)アリール基、及び(ヘテロ)アリールアルキル基は、独立して、任意選択で置換されているか、又は $R^{19}$ は、スペーサー部分を介して接続されたQ若しくはDの第2の出現であり、

- 1は、0~10の範囲内の整数である。

【0194】

構造(Q42)に従う反応性基の好ましい実施形態において、 $R^{15}$ は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル基、 $C_5 \sim C_6$ (ヘテロ)アリール基からなる群から選択され、式中、 $R^{16}$ は、水素又は $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、より好ましくは、 $R^{15}$ は、独立して、水素及び $C_1 \sim C_6$ アルキルからなる群から選択され、最も好ましくは、全ての $R^{15}$ がHである。構造(Q42)に従う反応性基の好ましい実施形態において、 $R^{18}$ は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_6$ アルキル基からなる群から選択され、最も好ましくは、両方の $R^{18}$ がHである。構造(Q42)に従う反応性基の好ましい実施形態において、 $R^{19}$ は、Hである。構造(Q42)に従う反応性基の好ましい実施形態において、Iは0又は1であり、より好ましくは、1は1である。

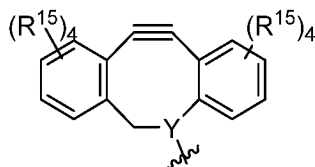
10

【0195】

特に好ましい実施形態において、Qは、(ヘテロ)シクロオクチニル基を含み、構造(Q43)に従う。

20

【化36】



(Q43)

ここで、

-  $R^{15}$ は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-S(O)_2$ 、 $R^{16}$ 、 $-S(O)_3(-)$ 、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_5 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリール基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリールアルキル基からなる群から選択され、アルキル基、(ヘテロ)アリール基、アルキル(ヘテロ)アリール基、及び(ヘテロ)アリールアルキル基は、任意選択で置換され、2つの置換基 $R^{15}$ が一緒に連結されて、任意選択で置換された環状シクロアルキル又は任意選択で置換された環状(ヘテロ)置換基を形成し、 $R^{16}$ は、独立して、水素、ハロゲン、 $C_1 \sim C_{24}$ アルキル基、 $C_6 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリール基、 $C_7 \sim C_{24}$ アルキル(ヘテロ)アリール基、及び $C_7 \sim C_{24}$ (ヘテロ)アリールアルキル基からなる群から選択され、

30

- Yは、N又は $CR^{15}$ である。

40

【0196】

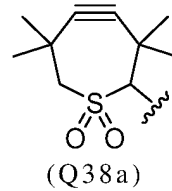
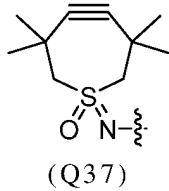
構造(Q43)に従う反応性基の好ましい実施形態において、 $R^{15}$ は、独立して、水素、ハロゲン、 $-OR^{16}$ 、 $-S(O)_3(-)$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル基、 $C_5 \sim C_6$ (ヘテロ)アリール基からなる群から選択され、式中、 $R^{16}$ は、水素又は $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、より好ましくは、 $R^{15}$ は、独立して、水素及び $-S(O)_3(-)$ からなる群から選択される。構造(Q43)に従う反応性基の好ましい実施形態において、Yは、N又はCHであり、より好ましくは、 $Y = N$ である。

【0197】

特に好ましい実施形態において、Qは、ヘテロシクロヘプチニル基を含み、構造(Q37)又は(Q38a)、好ましくは構造(Q37)に従う。

50

## 【化 3 7】



## 【 0 1 9 8】

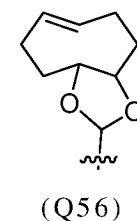
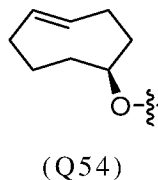
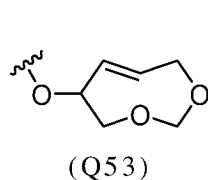
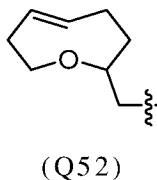
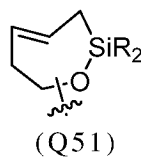
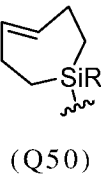
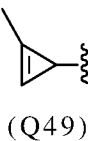
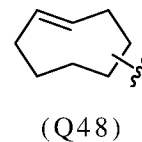
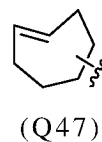
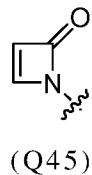
代替の好ましい実施形態において、Qは、環状アルケン部分を含む。アルケニル基Qはまた、(ヘテロ)シクロアルケニル基、すなわち、ヘテロシクロアルケニル基又はシクロアルケニル基、好ましくはシクロアルケニル基とも称され得、(ヘテロ)シクロアルケニル基は、任意選択で置換される。好ましくは、(ヘテロ)シクロアルケニル基は、(ヘテロ)シクロプロペニル基、(ヘテロ)シクロブテニル基、ノルボルネン基、ノルボルナジエン基、トランス-(ヘテロ)シクロヘプテニル基、トランス-(ヘテロ)シクロオクテニル基、トランス-(ヘテロ)シクロノネニル基、又はトランス-(ヘテロ)シクロデセニル基であり、これらは全て任意選択で置換されてもよい。特に好ましいのは、(ヘテロ)シクロプロペニル基、トランス-(ヘテロ)シクロヘプテニル基、又はトランス-(ヘテロ)シクロオクテニル基であり、(ヘテロ)シクロプロペニル基、トランス-(ヘテロ)シクロヘプテニル基、又はトランス-(ヘテロ)シクロオクテニル基は、任意選択で置換される。好ましくは、Qは、構造(Q44)に従うシクロプロペニル部分、構造(Q45)に従うヘテロシクロブテン部分、構造(Q46)に従うノルボルネン若しくはノルボルナジエン基、構造(Q47)に従うトランス-(ヘテロ)シクロヘプテニル部分、又は構造(Q48)に従うトランス-(ヘテロ)シクロオクテニル部分を含む。ここで、Y<sup>3</sup>は、C(R<sup>2 3</sup>)<sub>2</sub>、NR<sup>2 3</sup>、又はOから選択され、各R<sup>2 3</sup>は、個々に水素、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキルであるか、又は任意選択でスペーサーを介してLに接続され、

## 【化 3 8】

==

で標識された結合は、単結合又は二重結合である。更なる好ましい実施形態において、シクロプロペニル基は、構造(Q49)に従う。別の好ましい実施形態において、トランス-(ヘテロ)シクロヘプテン基は、構造(Q50)又は(Q51)に従う。別の好ましい実施形態において、トランス-(ヘテロ)シクロオクテン基は、構造(Q52)、(Q53)、(Q54)、(Q55)又は(Q56)に従う。

## 【化 3 9】



10

20

30

40

50

## 【0199】

ここで、(Q50)及び(Q51)中のSi上のR基(複数可)は、典型的にはアルキル又はアリール、好ましくはC<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキルである。

## 【0200】

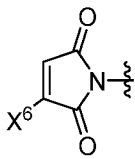
代替の好ましい実施形態において、Qはチオール反応性プローブである。この実施形態において、Qは、システインコンジュゲーションに適合する反応性基である。そのようなプローブは当該技術分野において既知であり、マレイミド部分、ハロアセトアミド部分、アレナミド部分、ホスホンアミダイト部分、シアノエチニル部分、ビニルスルホン、ビニルピリジン部分、又はメチルスルホニルフェニルオキサジアゾール部分からなる群から選択され得る。最も好ましくは、Qは、マレイミド部分を含むか、又はマレイミド部分である。試薬は、モノアルキル化型であり得るか、又は2つのシステイン側鎖との反応のための架橋剤であり得る。

10

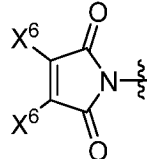
## 【0201】

更なる好ましい実施形態において、プローブQは、以下に示される(Q57)~(Q71)からなる群から選択される。

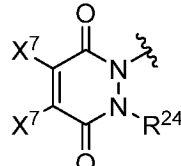
## 【化40】



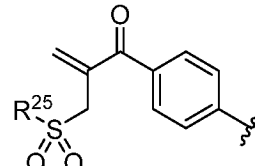
(Q57)



(Q58)

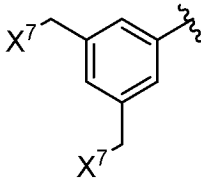


(Q59)

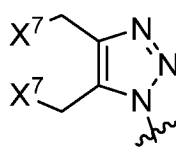


(Q60)

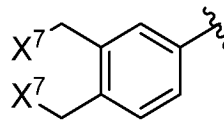
20



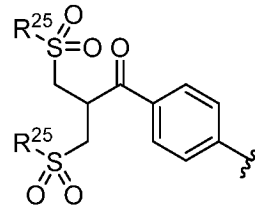
(Q61)



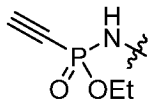
(Q62)



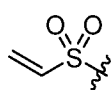
(Q63)



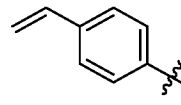
(Q64)



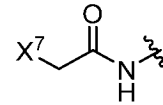
(Q65)



(Q66)

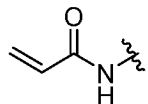


(Q67)

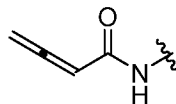


(Q68)

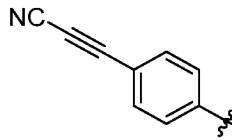
30



(Q69)



(Q70)



(Q71)

ここで、

- X<sup>6</sup>は、H、ハロゲン、PhS、MeS、好ましくは、Cl、Br、I等のハロゲンであり、

- X<sup>7</sup>は、ハロゲン、PhS、MeS、好ましくは、Cl、Br、I等のハロゲンであり、

- R<sup>24</sup>は、H又はC<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アルキル、好ましくはH又はC<sub>1</sub>~<sub>6</sub>アルキルであり、

- R<sup>25</sup>は、H、C<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アルキル、C<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アリール、C<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アルカリール、又はC<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アラルキルであり、好ましくはH又はパラメチルフェニルであり、

- ここで、(Q61)及び(Q63)の芳香族環は、任意選択で、フェニル又はピリジン環等のヘテロ芳香族環であってもよい。

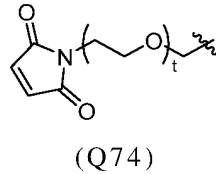
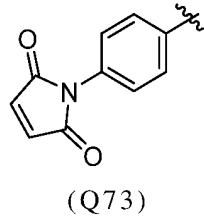
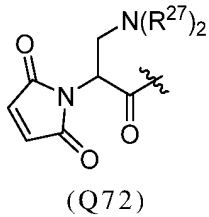
40

## 【0202】

50

チオール反応性プローブ (Q57) の好ましい実施形態において、プローブ Q は、以下に示される (Q72) ~ (Q74) からなる群から選択される。

【化41】



10

ここで、

- R<sup>27</sup> は、C<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アルキル、C<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アリール、C<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アルカリール、又はC<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アラルキルであり、
- t は、0~15、好ましくは1~10の範囲内の整数である。

【0203】

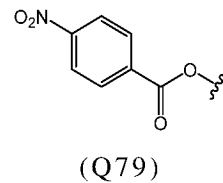
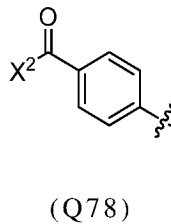
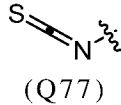
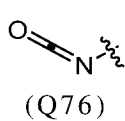
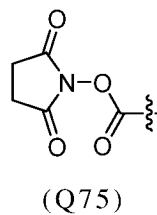
代替の好ましい実施形態において、Qはアミン反応性プローブである。この実施形態において、Qは、リジンコンジュゲーションに適合する反応性基である。そのようなプローブは当該技術分野において既知であり、N-ヒドロキシスクシンイミジル基、イソシアネート基、イソチオシアネート基、及びベンゾイルハライド基からなる群から選択され得る。最も好ましくは、Qは、N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル又はp-ニトロフェニルカーボネート部分を含むか、又はそれらである。

20

【0204】

更なる好ましい実施形態において、プローブ Q は、以下に示される (Q75) ~ (Q79) からなる群から選択される。

【化42】



30

ここで、X<sup>2</sup> は、ハロゲン、好ましくは F である。

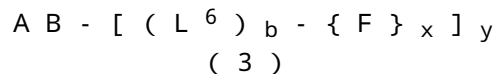
【0205】

好ましい実施形態において、Qは、(Q1) ~ (Q79) からなる群から選択される。

【0206】

一般構造 (3) に従う抗体

抗体は、一般構造 (3) を有し、



40

ここで、

- AB は、Trop-2 発現腫瘍を標的化することができる抗体であり、
- b は、0 又は 1 であり、
- L<sup>6</sup> は、-GlcNAc(Fuc)<sub>w</sub>-(G)<sub>j</sub>-S-(L<sup>7</sup>)<sub>w'</sub>- であり、式中、G は、単糖であり、j は、0~10の範囲の整数であり、S は、糖又は糖誘導体であり、GlcNAc は、N-アセチルグルコサミンであり、Fuc は、フコースであり、w は、0 又は 1 であり、w' は、0、1、又は 2 であり、L<sup>7</sup> は、-N(H)C(O)CH<sub>2</sub>-、-N(H)C(O)CF<sub>2</sub>-、又は -CH<sub>2</sub>- であり、
- F は、反応性部分であり、
- x は、1 又は 2 であり、

50

- y は、1、2、3、又は4である。

【0207】

一般構造(3)の抗体はまた、反応性基Fを含む抗体であるため、「(修飾)抗体」とも称され得、反応性基Fは、天然に存在するか、又は抗体は、反応性基Fを組み込むように修飾される。一般式(2)による(修飾)抗体は、標準的な有機及び/又は酵素合成技術を使用して、かつ実施例に例示されるように、当業者によって調製され得る。抗体AB、リンカーL<sup>6</sup>、b、x及びyは、構造(1)に従うコンジュゲートの文脈において上で定義されている。

【0208】

反応性部分F

Fは、以下で定義されるコンジュゲーション反応においてQに対して反応性であり、好ましくは、コンジュゲーション反応は、付加環化反応又は求核反応である。当業者が理解するように、Fの選択肢はQの選択肢と同じであるが、但しF及びQは互いに反応性である。したがって、Fは、好ましくは、クリックプロープ、チオール、チオール反応性部分、アミン、又はアミン反応性部分を含み、より好ましくは、Fは、クリックプロープ、チオール又はアミンであり、最も好ましくは、Fは、クリックプロープである。クリックプロープは、付加環化(クリック反応)で反応性であり、好ましくは、アジド、テトラジン、トリアジン、ニトロン、ニトリルオキシド、ニトリルイミン、ジアゾ化合物、オルトキノ、ジオキソチオフエン、シドノン、アルケン部分、及びアルキン部分から選択される。好ましくは、クリックプロープは、アジド、テトラジン、トリアジン、ニトロン、ニトリルオキシド、ニトリルイミン、ジアゾ化合物、オルトキノ、ジオキソチオフエン、又はシドノン、最も好ましくはアジドを含むか、又はそれらである。典型的なチオール反応性部分は、マレイミド部分、ハロアセトアミド部分、アレナミド部分、ホスホンアミダイト部分、シアノエチニル部分、オルトキノ部分、ビニルスルホン、ビニルピリジン部分、又はメチルスルホニルフェニルオキサゾール部分から選択される。最も好ましくは、チオール反応性部分は、マレイミド部分を含むか、又はマレイミド部分である。典型的なアミン反応性部分は、N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、イソシアネート、イソチオシアネート、及びベンジルハライドから選択される。好ましい実施形態において、Fは、クリックプロープ又はチオールであり、より好ましくは、Fは、アジド又はチオールであり、最も好ましくは、Fは、アジドである。

【0209】

2つ以上の反応性基Fが抗体中に存在してもよい。抗体中の反応性基Fは、天然に存在し得るか、又は特定の技術、例えば(バイオ)化学若しくは遺伝子技術によって抗体中に配置され得る。抗体中に配置される反応性基は、化学合成、例えば、アジド又は末端アルキンによって調製される。修飾抗体を調製する方法は、当該技術分野において、例えば、参照により本明細書に組み込まれるWO2014/065661、WO2016/170186、及びWO2016/053107から既知である。同文献から、修飾抗体とリンカー-薬物構築物との間のコンジュゲーション反応が当業者に既知である。

【0210】

好ましくは、Fは、(ヘテロ)シクロアルケン及び/又は(ヘテロ)シクロアルキンに対して反応性のクリックプロープであり、典型的には、アジド、テトラジン、トリアジン、ニトロン、酸化ニトリル、ニトリルイミン、ジアゾ化合物、オルトキノ、ジオキソチオフエン、及びシドノンからなる群から選択される。反応性基の好ましい構造は、以下に示される構造(F1)~(F10)である。

10

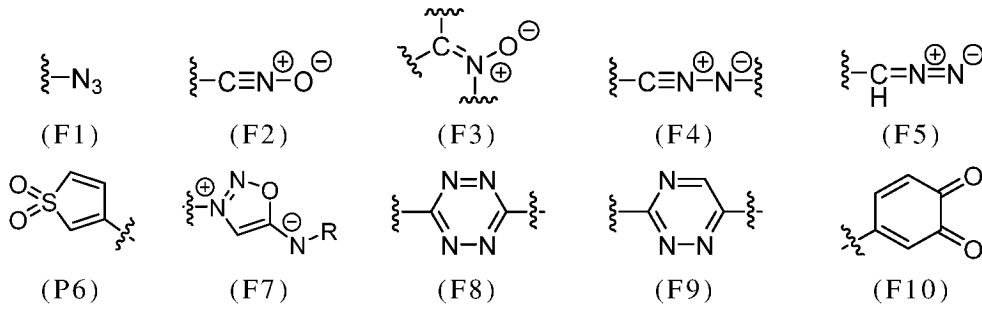
20

30

40

50

【化 4 3】



10

【0 2 1 1】

ここで、波状結合は、ペイロードへの接続を表す。(F3)、(F4)、(F8)、及び(F9)について、ペイロードは、波状結合のうちのいずれか1つに接続され得る。次いで、他の波状結合は、水素、C<sub>1</sub>~C<sub>24</sub>アルキル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>アシル基、C<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>シクロアルキル基、C<sub>2</sub>~C<sub>24</sub>(ヘテロ)アリール基、C<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>アルキル(ヘテロ)アリール基、C<sub>3</sub>~C<sub>24</sub>(ヘテロ)アリールアルキル基、及びC<sub>1</sub>~C<sub>24</sub>スルホニル基から選択されるR基に接続され得、それぞれ(水素を除く)は任意選択で置換されてもよく、任意選択でO、S、及びNR<sup>3 2</sup>から選択される1個以上のヘテロ原子によって中断されてもよく、R<sup>3 2</sup>は、独立して、水素及びC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル基からなる群から選択される。当業者には、どのR基が基Fの各々に適用され得るかが理解される。例えば、(F3)の窒素原子に連結されたR基は、アルキル及びアリールから選択され得、(F3)の炭素原子に連結されたR基は、水素、アルキル、アリール、アシル、及びスルホニルから選択され得る。好ましくは、反応性部分Fは、アジド又はテトラジンから選択される。最も好ましくは、反応性部分Fは、アジドである。

20

【0 2 1 2】

第2の好ましい実施形態において、Fは、チオール又はその前駆体である。チオール又はその前駆体Fは、リンカー-薬物構築物を(修飾)抗体に接続するためにコンジュゲーション反応において使用される。Fは、チオールライゲーションにおいてチオール反応性プロープQに対して反応性である。チオールは、好ましくは、抗体AB内に天然に存在するシステインアミノ酸の側鎖のチオールであり、その場合、リンカーL<sup>6</sup>は存在しない(b=0)が、任意選択でリンカーL<sup>6</sup>を介して合成的に導入されてもよい。バイオコンジュゲーションの文脈におけるチオール前駆体は、当該技術分野で既知であり、抗体中に存在する天然に存在するジスルフィド架橋であってもよいジスルフィド、又は当該技術分野で既知であるように還元される合成的に導入されたジスルフィドであってもよいジスルフィドを含む。好ましくは、Fはシステイン側鎖のチオール基である。

30

【0 2 1 3】

第3の好ましい実施形態において、Fは、アミン又はその前駆体、好ましくはアミンである。アミン又はその前駆体Fは、リンカー-薬物構築物を(修飾)抗体に接続するためにコンジュゲーション反応において使用される。Fは、求核置換においてアミン反応性プロープQに対して反応性である。アミンは、典型的には、一級アミン、好ましくは、抗体AB内に天然に存在するリジンアミノ酸の側鎖のアミンであり、その場合、リンカーL<sup>6</sup>は存在しない(b=0)が、任意選択でリンカーL<sup>6</sup>を介して合成的に導入されてもよい。好ましくは、Fは、リジン側鎖の一級アミン基である。

40

【0 2 1 4】

一般構造(1)に従う抗体コンジュゲートを合成するためのプロセス

更なる態様において、本発明は、本発明による抗体コンジュゲートの調製プロセスに関し、このプロセスは、本発明による化合物のQを抗体の反応性基Fと反応させるステップを含む。一般構造(2)に従う化合物、及びその好ましい実施形態は、上記により詳細に記載されている。本プロセスは、QがFと反応して、抗体AB(3)をペイロードDに共有結合させるような条件下で行われる。本発明による方法では、QはFと反応し、抗体と

50

本発明による化合物との間に共有結合を形成する。相補的反応性基 Q 及び反応基 F は、当業者に既知であり、以下により詳細に記載される。

【0215】

当該技術分野で既知の任意のコンジュゲーション技術を用いて、本発明による多機能性抗体構築物を調製することができる。好適なコンジュゲーション技術としては、チオールライゲーション、リジンライゲーション、付加環化（例えば、銅触媒クリック反応、ひずみ促進型アジド-アルキン付加環化、ひずみ促進型キノン-アルキン付加環化）が挙げられる。本発明の文脈において使用される好ましいコンジュゲーション技術には、求核反応及び付加環化が含まれ、好ましくは、付加環化は [4 + 2] 付加環化又は [3 + 2] 付加環化であり、求核反応はマイケル付加又は求核置換である。好適なコンジュゲーション技術は、例えば、G. T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Elsevier, 3rd Ed. 2013 (ISBN: 978-0-12-382239-0)、WO2014/065661、van Geel et al., Bioconj. Chem. 2015, 26, 2233-2242、PCT/EP2021/050594、PCT/EP2021/050598 及び NL2026947 において開示されている。

10

【0216】

したがって、本発明によるコンジュゲーションプロセスの好ましい実施形態において、コンジュゲーションは、求核置換又はマイケル反応などの求核反応を介して達成される。好ましい求核反応は、活性化エステルによる一次アミノ基のアシル化である。好ましいマイケル反応は、マレイミド-チオール反応であり、これはバイオコンジュゲーションにおいて広く用いられている。

20

【0217】

したがって、本発明によるコンジュゲーションプロセスの好ましい実施形態において、コンジュゲーションは、付加環化を介して達成される。好ましい付加環化は、(4 + 2) - 付加環化（例えば、ディールス-アルダー反応）又は (3 + 2) - 付加環化（例えば、1, 3 - 双極性付加環化）である。好ましくは、コンジュゲーション反応は、ディールス-アルダー反応又は 1, 3 - 双極性付加環化である。好ましいディールス-アルダー反応は、逆電子要求型ディールス-アルダー付加環化である。別の好ましい実施形態において、1, 3 - 双極性付加環化、より好ましくはアルキン-アジド付加環化が使用され、最も好ましくは、Q はアルキン基であるか、又はアルキン基を含み、F はアジド基である。Diels-Alder 反応及び 1, 3 - dipolar cycloadditions などの cycloadditions は当該技術分野で既知であり、当業者はそれらを行う方法を知っている。

30

【0218】

本態様によるプロセスは、好ましくは、クリック反応、より好ましくは 1, 3 - 二極付加環化、最も好ましくはアルキン/アジド付加環化に関する。最も好ましくは、Q はアルキン基であるか、又はそれを含み、F はアジド基である。1, 3 - 双極付加環化物等のクリック反応は当該技術分野で既知であり、当業者はそれを行う方法を知っている。

【0219】

したがって、本態様に従う本発明による抗体コンジュゲートを調製するためのプロセスは、構造 (3) の修飾された抗体を構造 (2) に従う化合物と反応させて、構造 (1) の抗体コンジュゲートを得ることを含む。

40

【0220】

好ましい実施形態において、本発明による抗体コンジュゲートを調製するためのプロセスは、

(i) y コア N - アセチルグルコサミン (GlcNAc) 部分を含む抗体 (y = 1, 2, 3, 又は 4 である) を、触媒の存在下で式  $S(F)_x - P$  (式中、 $S(F)_x$  は、反応性基 Q と反応することができる x 個の反応性基 F を含む糖誘導体であり、x は、1 又は 2 であり、P は、ヌクレオシド-又は二リン酸であり、触媒は、 $S(F)_x$  部分をコア - Gl

50

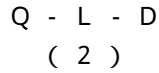
c N A c 部分に移すことができる)の化合物と接触させ、式(26)、  

$$A B - [ G l c N A c ( F u c ) _ w - S \{ F \} _ x ] _ y$$
 (26)

式中、

- A B は、T r o p - 2 発現腫瘍を標的化することができる抗体であり、
- F u c は、フコースであり、
- w は、0 又は 1 である)に従う修飾抗体を得ることと、

( i i ) 修飾抗体を、構造(2)、



10

式中、

- Q は、反応性部分であり、
- L は、Z を D に連結するリンカーであり、
- D は、アントラサイクリン、カンプトテシン、チューブリシン、エンジン、アマニチン、デュオカルマイシン、メイタンシノイド、オーリスタチン、エリブリン、B C L - X L 阻害剤、ヘミアステリン、K S P 阻害剤、T L R アゴニスト、インドリノベンゾジアゼピン二量体又はピロロベンゾジアゼピン二量体(P B D)、及びそれらの類似体又はプロドラッグからなる群から選択される)に従う化合物と反応させ、構造(1)に従う抗体コンジュゲートを得ることと、を含む。

【0221】

20

ステップ(i)

ステップ(i)では、1個、2個、3個、又は4個のコアN - アセチルグルコサミン部分を含む抗体を、触媒の存在下で式S(F)<sub>x</sub> - Pの化合物と接触させるが、式中、S(F)<sub>x</sub>は、反応性基Qと反応することができるx個の反応性基Fを含む糖誘導体であり、xは、1又は2であり、Pは、ヌクレオシドーリン酸又はニリン酸であり、触媒は、S(F)<sub>x</sub>部分をコア - G l c N A c 部分に移すことができる。本明細書において、抗体は、典型的には、以下に更に記載されるように、コア - G l c N A c 残基にトリミングされた抗体である。ステップ(i)は、式(26)に従う修飾抗体を提供する。

【0222】

出発物質、すなわちコア - G l c N A c 置換基を含む抗体は、当該技術分野で既知であり、当業者によって既知の方法によって調製され得る。一実施形態において、本発明によるプロセスは、コアN - アセチルグルコサミン置換基を含む抗体を得るために、コアN - アセチルグルコサミンを有する抗体グリカンを、エンドグリコシダーゼの存在下で脱グリコシル化することを更に含み、当該コアN - アセチルグルコサミン及び当該コアN - アセチルグルコサミン置換基は、任意選択でフコシル化される。グリカンの性質に応じて、好適なエンドグリコシダーゼが選択され得る。エンドグリコシダーゼは、好ましくは、E n d o S、E n d o A、E n d o E、E f E n d o 1 8 A、E n d o F、E n d o M、E n d o D、E n d o H、E n d o T、及びE n d o S H、並びに/又はそれらの組み合わせからなる群から選択され、その選択は、グリカンの性質に依存する。E n d o S H については、参照により本明細書に組み込まれるP C T / E P 2 0 1 7 / 0 5 2 7 9 2 に記載されており、実施例1 ~ 3、及び配列番号1を参照されたい。

30

40

【0223】

構造的特徴S及びxは、本発明に従う抗体コンジュゲートについて上記で定義され、本態様に等しく適用される。ヌクレオシドーリン酸又はヌクレオシドニリン酸Pが糖誘導体S(F)<sub>x</sub>に連結される式S(F)<sub>x</sub> - Pの化合物は、当該技術分野で既知である。例えば、W a n g e t a l . , C h e m . E u r . J . 2 0 1 0 , 1 6 , 1 3 3 4 3 - 1 3 3 4 5、P i l l e r e t a l . , A C S C h e m . B i o l . 2 0 1 2 , 7 , 7 5 3、P i l l e r e t a l . , B i o o r g . M e d . C h e m . L e t t . 2 0 0 5 , 1 5 , 5 4 5 9 - 5 4 6 2 及びW O 2 0 0 9 / 1 0 2 8 2 0 は、いずれも参照により本明細書に組み込まれるが、いくつかの化合物S(F)<sub>x</sub> - P及びそれらの合成を開

50

示している。好ましい実施形態において、 $S(F)_x - P$ 中のヌクレオシド-リン酸又はニリン酸Pは、ウリジンニリン酸(UDP)、グアノシンニリン酸(GDP)、チミジンニリン酸(TDP)、シチジンニリン酸(CDP)、及びシチジナーリン酸(CMP)からなる群から選択され、より好ましくは、Pは、ウリジンニリン酸(UDP)、グアノシンニリン酸(GDP)、及びシチジンニリン酸(CDP)からなる群から選択され、最も好ましくは、 $P = UDP$ である。好ましくは、 $S(F)_x - P$ は、GalNAz-UDP、 $F_2 - GalNAz - UDP$ (N-(アジドジフルオロ)アセチルガラクトサミン)、6-AzGal-UDP、6-AzGalNAc-UDP(6-アジド-6-デオキシ-N-アセチルガラクトサミン-UDP)、4-AzGalNAz-UDP、6-AzGalNAz-UDP、GlcNAz-UDP、6-AzGlc-UDP、6-AzGlcNAz-UDP、及び2-(ブタ-3-イオン酸アミド)-2-デオキシ-ガラクトース-UDPからなる群から選択される。最も好ましくは、 $S(F)_x - P$ は、GalNAz-UDP又は6-AzGalNAc-UDPである。

#### 【0224】

$S(F)_x$ 部分をコア-GlcNAc部分に移すことができる好適な触媒は、当該技術分野で既知である。好適な触媒は、その特定のプロセスにおける特定の糖誘導体ヌクレオチド $S(F)_x - P$ が基質である触媒である。より具体的には、触媒は、(1,4)-グリコシド結合の形成を触媒する。好ましくは、触媒は、ガラクトシルトランスフェラーゼ及びN-アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼの群から、より好ましくは、(1,4)-N-アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼ(GalNAcT)及び(1,4)-ガラクトシルトランスフェラーゼ(GalT)の群から、最も好ましくは、変異触媒ドメインを有する(1,4)-N-アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼの群から選択される。好適な触媒及びその変異は、WO2014/065661、WO2016/022027、及びWO2016/170186に開示され、これらは全て参照により本明細書に組み込まれる。一実施形態において、触媒は、野生型ガラクトシルトランスフェラーゼ又はN-アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼ、好ましくはN-アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼである。代替の実施形態において、触媒は、変異ガラクトシルトランスフェラーゼ又はN-アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼ、好ましくは変異N-アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼである。WO2016/022027及びWO2016/170186に記載されている変異酵素が特に好ましい。これらのガラクトシルトランスフェラーゼ(変異)酵素触媒は、内部糖及び糖誘導体をアクセプターとして認識することができる。したがって、糖誘導体 $S(F)_x$ は、当該GlcNAcがフコシル化されているか否かにかかわらず、ステップ(i)のコアGlcNAc置換基に連結される。

#### 【0225】

ステップ(i)は、好ましくは、例えば、ホスフェート、緩衝生理食塩水(例えば、リン酸緩衝生理食塩水、トリス緩衝生理食塩水)、シトレート、HEPES、トリス、及びグリシン等の好適な緩衝溶液中で行われる。好適な緩衝液は、当該技術分野で既知である。好ましくは、緩衝溶液は、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)又はトリス緩衝液である。ステップ(i)は、好ましくは、約4~約50の範囲内、より好ましくは約10~約45の範囲内、更により好ましくは約20~約40の範囲内、最も好ましくは約30~約37の範囲内の温度で行われる。ステップ(i)は、好ましくは、約5~約9の範囲内のpH、好ましくは約5.5~約8.5の範囲内のpH、より好ましくは約6~約8の範囲内のpHで行われる。最も好ましくは、ステップ(i)は、約7~約8の範囲内のpHで行われる。

#### 【0226】

##### ステップ(ii)

ステップ(ii)では、修飾抗体を、反応性基F及びペイロードDと反応することができる反応性基Qを含む一般構造(2)に従う化合物と反応させて、QとFとの間の反応から生じる接続基Zを含む構造(1)に従う抗体コンジュゲートを得る。そのような反応は

、反応性基 Q が生体分子の反応性基 F と反応して、抗体を一般構造 ( 2 ) に従う化合物に共有結合させるような条件下で生じる。ステップ ( i i ) はまた、コンジュゲーション反応とも称され得る。

#### 【 0 2 2 7 】

好ましい実施形態において、ステップ ( i i ) では、アジド修飾抗体上のアジドは、付加環化反応を介して、一般構造 ( 2 ) に従う化合物のアルキニル基、好ましくは末端アルキニル基、又は ( ヘテロ ) シクロアルキニル基と反応する。アジドを含む分子と末端アルキニル基又は ( ヘテロ ) シクロアルキニル基を含む分子とのこの付加環化反応は、当該技術分野で「クリック化学」として知られている反応の 1 つである。末端アルキニル基を含むリンカーコンジュゲートの場合、当該付加環化反応は、好適な触媒、好ましくは Cu ( I ) 触媒の存在下で行われる必要がある。しかしながら、好ましい実施形態において、リンカーコンジュゲートは、(ヘテロ)シクロアルキニル基、より好ましくはひずみ(ヘテロ)シクロアルキニル基を含む。(ヘテロ)シクロアルキニルがひずみ(ヘテロ)シクロアルキニル基である場合、触媒の存在は必要なく、当該反応はひずみ促進型アジド-アルキン付加環化 ( S P A A C ) と呼ばれる反応によって自発的に生じ得る。これは、「金属不含クリック化学」として当該技術分野で知られる反応の 1 つである。

10

#### 【 0 2 2 8 】

#### アプリケーション

本発明は、上記で定義された本発明による抗体コンジュゲートの投与を含む、治療を必要とする対象の治療方法に関する。治療を必要とする対象は、典型的にはがん患者である。抗体薬物コンジュゲートなどの抗体コンジュゲートの使用は、がん治療の分野で周知であり、本発明に従う抗体コンジュゲートは、この点で特に好適である。記載される方法は、典型的には、がんの治療に好適である。この態様による方法では、抗体コンジュゲートは、典型的には、治療有効量で投与される。本発明の本態様はまた、治療を必要とする対象の治療において、好ましくはがんの治療に使用するための本発明による抗体コンジュゲートとして表現することができる。換言すれば、この態様は、治療を必要とする対象の治療に使用するための、好ましくはがんの治療に使用するための、薬剤又は薬学的組成物の調製のための本発明による抗体コンジュゲートの使用に関する。本文脈において、がんの治療は、腫瘍の治療、画像化、診断、増殖の防止、阻止及び低減を包含することが想定される。

20

30

#### 【 0 2 2 9 】

本発明のこの態様はまた、Trop-2 発現細胞、特に Trop-2 発現腫瘍細胞を標的化するための方法としても表現され得、本発明による抗体コンジュゲートを、CEA 発現であり得る細胞と接触させることを含む。したがって、この態様による方法は、細胞が Trop-2 発現であるかどうかを決定するのに好適である。これらの Trop-2 発現細胞は、対象に存在してもよく、その場合、方法は、それを必要とする対象に、本発明による抗体コンジュゲートを投与することを含む。好ましい実施形態において、Trop-2 発現であり得る細胞は、Trop-2 発現細胞である。Trop-2 発現細胞の標的化は、好ましくは、Trop-2 発現細胞、特に Trop-2 発現腫瘍細胞の治療、画像化、診断、増殖の防止、阻止、及び低減のうちの一つ以上を含む。この実施形態による方法は、医学的であっても非医学的であってもよい。本態様による非医学的方法は、Trop-2 発現細胞を標的化するインビトロ又はエクスピボを対象とし得、ここで、Trop-2 発現であり得る細胞は、例えば患者から採取した試料中に存在する。そのような非医学的方法は、典型的には、がん、特に Trop-2 陽性がんの診断に使用される。

40

#### 【 0 2 3 0 】

本発明の文脈において、対象は、口腔がん、膵臓がん、胃がん、卵巣がん、結腸直腸がん、乳がん、及び肺がんから選択される障害に罹患していてもよい。したがって、それを必要とする対象の治療は、好ましくは、口腔がん、膵臓がん、胃がん、卵巣がん、結腸直腸がん、乳がん、及び肺がんの治療を指す。

#### 【 0 2 3 1 】

50

本発明者らは、驚くべきことに、本発明による抗体コンジュゲートが、従来の T r o p - 2 標的化抗体コンジュゲートと比較して本発明による抗体コンジュゲートの治療指数が増加するように、安全性及び / 又は有効性の点で従来の T r o p - 2 標的化抗体コンジュゲートよりも優れていることを見出した。

【 0 2 3 2 】

コンジュゲーション様式

本発明の関連において、「コンジュゲーション様式」とは、ペイロード D を抗体 A B にコンジュゲートするために使用されるプロセス、並びにコンジュゲートのプロセスの直接の結果である、得られる抗体コンジュゲート、特にペイロードを抗体に接続するリンカーの構造的特徴を指す。したがって、一実施形態において、コンジュゲーション様式は、ペイロードを抗体にコンジュゲーションするためのプロセスを指す。代替の実施形態において、コンジュゲーション様式は、ペイロードを抗体にコンジュゲーションするためのプロセスの直接的な結果である、リンカーの構造的特徴及び / 又はリンカーの抗体への結合点を指す。

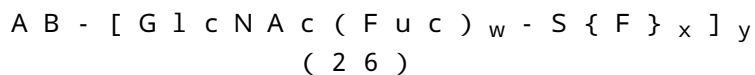
10

【 0 2 3 3 】

更なる態様において、本発明は、T r o p - 2 発現腫瘍の治療における抗体コンジュゲートの治療指数を増加させるためのコンジュゲーション様式の使用に関し、コンジュゲーション様式は、リンカー L を介して抗体 A B をペイロード D と接続するために使用される。コンジュゲーション様式コンジュゲーション様式は、

( i ) y コア N - アセチルグルコサミン ( G l c N A c ) 部分を含む抗体 ( y = 1、2、3、又は 4 である ) を、触媒の存在下で式 S ( F )<sub>x</sub> - P ( 式中、S ( F )<sub>x</sub> は、反応性基 Q と反応することができる x 個の反応性基 F を含む糖誘導体であり、x は、1 又は 2 であり、P は、ヌクレオシド又は二リン酸であり、触媒は、S ( F )<sub>x</sub> 部分をコア - G l c N A c 部分に移すことができる ) の化合物と接触させ、式 ( 2 6 )、

20

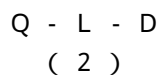


式中、

- A B は、T r o p - 2 発現腫瘍を標的化することができる抗体であり、
- F u c は、フコースであり、
- w は、0 又は 1 である ) に従う修飾抗体を得ることと、

30

( i i ) 修飾抗体を、構造 ( 2 )、



式中、

- Q は、反応性部分であり、
- L は、Z を D に連結するリンカーであり、
- D は、アントラサイクリン、カンプトテシン、チューブリシン、エンジイン、アマニチン、デュオカルマイシン、メイタンシノイド、オーリスタチン、エリブリン、B C L - X L 阻害剤、ヘミアステリン、K S P 阻害剤、T L R アゴニスト、インドリノベンゾジアゼピン二量体又はピロロベンゾジアゼピン二量体 ( P B D )、及びそれらの類似体又はプロドラッグからなる群から選択される ) に従う化合物と反応させ、

40

構造 ( 1 ) に従う抗体コンジュゲートを得ることと、を含む。

【 0 2 3 4 】

好ましくは、抗体コンジュゲートの治療指数を増加させることは、

- ( a ) 抗体コンジュゲートの治療有効性を増加させること、及び / 又は
- ( b ) 抗体コンジュゲートの忍容性を増加させることから選択される。

【 0 2 3 5 】

本発明による抗体コンジュゲートの治療有効性の増加は、従来の T r o p - 2 標的化 A D C と比較した場合、腫瘍サイズの減少及び / 又は退縮期間の延長の形態をとり得る。本発明による抗体コンジュゲートの忍容性の増加は、従来の技術で作製した T r o p - 2 標

50

的化ADCの投与と比較して、毒性の徴候の減少の形態をとり得る。音の減少は、がん治療の症状又は副作用の減少とも称され得、体重減少の低減、可動性の減少の低減、食物摂取量の減少の低減、並びに/又は血液化学、血液学、及び/若しくは組織病理学の改善等の1つ以上の毒性パラメータ等の1つ以上の臨床徴候を伴い得る。

【実施例】

【0236】

モノクローナル抗体の一過性発現及び精製のための一般的な手順：様々なIgG(hRS7及びhTINA)を、300mLスケールでEvitria(スイス、チューリッヒ)によってCHO K1細胞において一過性に発現させた。上清を、HiTrap Mab Select sureカラムを使用して精製した。上清をカラムに投入し、その後、少なくとも10カラム体積の25mM Tris pH7.5、150mM NaCl(TBS)で洗浄した。保持されたタンパク質を、0.1MのAcOH(pH2.7)で溶出した。溶出した生成物を2.5MのTris-HCl pH8.8で直ちに中和し、20mMのヒスチジン、150mM NaCl、pH7.5に対して透析した。次に、IgGを、Vivaspin Turbo 15限外濾過ユニット(Sartorius)を使用して濃縮した(>20mg/mL)。IgGの配列を以下に示す。

10

【0237】

hRS7(I)軽鎖(配列番号3)：

DIQLTQSPSSLSASVGD RVSITCKASQDVSIAVAWYQQKPG  
 GKAPKLLIYSASYRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSSLQP  
 EDFAVYYCQQHYITPLTFGAGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
 ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG  
 LSSPVTKSFNRGEC

20

【0238】

hRS7(I)重鎖(配列番号4)：

QVQLQQSGSE LKKPGASVKVSCKASGYTF TNYGMNWVKQA  
 PGQGLKWMGWINTYTG EPTYTDDFKGRFAFSLDTSVSTAY  
 LQISS LKADDTAVYFCARGGFSSYWFYFDVWGQGS LVTVS  
 SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV  
 SWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPS S LGTQ  
 TYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLG  
 GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN  
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG  
 KEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRE  
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWE SNGQPENNYKTTPP  
 VLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHY  
 TQKSLSLSPGK

30

【0239】

hTINA(II)軽鎖(配列番号5)：

DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQDVS TAVAWYQQKPG  
 GKAPKLLIYSASYRYTGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSSLQP  
 EDFAVYYCQQHYITPLTFGQGT KLEIKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
 ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG  
 LSSPVTKSFNRGEC

40

【0240】

hTINA(II)重鎖(配列番号6)：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTAGMQWVRQA  
 PGQGLEWMGWINT HSGVPKYAEDFKGRVTISADTSTSTAY

50

L Q L S S L K S E D T A V Y Y C A R S G F G S S Y W Y F D V W G Q G T L V T V S  
 S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V  
 S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q  
 T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G  
 G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N  
 W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G  
 K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E  
 E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P  
 V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y  
 T Q K S L S L S P G K

10

## 【0241】

分析RP-UPLC (DTT処理試料)の一般的な手順: RP-UPLC分析の前に、IgG (10  $\mu$ L、PBS pH 7.4中1 mg/mL)を12.5 mMのDTT、100 mMのTrisHCl pH 8.0 (40  $\mu$ L)に添加し、37 で15分間インキュベートした。反応物を、49%のアセトニトリル、49%の水、2%のギ酸 (50  $\mu$ L)を添加することによってクエンチした。RP-UPLC解析をWaters Acquity UPLC-SQDで行った。試料 (5  $\mu$ L)を、70 のカラム温度でBiore solve RP mAb 2.1  $\times$  150 mm 2.7  $\mu$ m (Waters)に0.4 mL/分で注入した。0.1% TFA及び水中の30~54%アセトニトリルから9分間で線形勾配を適用した。溶出されたピークの吸光度を215 nmで測定し、続いて自動積分 (Mass Lynx、Waters)して反応変換を決定した。

20

## 【0242】

(修飾)モノクローナル抗体の質量スペクトル分析のための一般的な手順: 質量分析の前に、Fc/2断片の分析を可能にするIdeSでIgGを処理した。軽鎖及び重鎖の両方の分析のために、20  $\mu$ gの(修飾)IgGの溶液を、合計体積4  $\mu$ Lの100 mM DTTとともに37 で5分間インキュベートした。存在する場合、アジド官能基は、これらの条件下でアミンに還元される。Fc/2断片の分析のために、20  $\mu$ gの(修飾)IgGの溶液を、10  $\mu$ Lの総体積で、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) pH 6.6中のIdeS/Fabricator (商標) (1.25 U/ $\mu$ L)とともに37 で1時間インキュベートした。試料を80  $\mu$ Lに希釈した後、JEOL AccuTOF上でエレクトロスプレーイオン化飛行時間 (ESI-TOF)を分析した。Magtranソフトウェアを使用して、逆重畳スペクトルを得た。

30

## 【0243】

IgGのmAb-(6-N<sub>3</sub>-GalNAc)<sub>2</sub>への酵素リモデリングのための一般的な手順: IgG (15 mg/mL)を、1% w/w EndoSH (参照により本明細書に組み込まれるPCT/EP 2017/052792に記載される通り、実施例1~3、及び配列番号1を参照されたい)、3% w/w His-TnGalNAcT (参照により本明細書に組み込まれるPCT/EP 2016/059194に記載される通り、実施例3及び4、並びに配列番号49を参照されたい)、6 mMのMnCl<sub>2</sub>及びTBS中の0.01% AP (Roche)及びUDP 6-N<sub>3</sub>-GalNAc (図3の化合物2d、IgGと比較して25当量)とともに、30 で16時間インキュベートした。次に、官能化IgGを、HiTrap Mab Select sure 5 mLカラムを使用して精製した。反応混合物を投入した後、カラムをTBS+0.2%トリトン及びTBSで洗浄した。IgGを0.1 MのAcOH (pH 2.7)で溶出し、2.5 MのTris-HCl pH 8.8で中和した。20 mMのヒスチジン、150 mMのNaCl pH 7.5への3回の透析後、IgGを、Vivaspin Turbo 15 限外濾過ユニット (Sartorius)を使用して15~20 mg/mLに濃縮した。

40

## 【0244】

アジド官能化抗体の調製:

実施例1: hRS7-(6-N<sub>3</sub>-GalNAc)<sub>2</sub>(I-N<sub>3</sub>)の調製

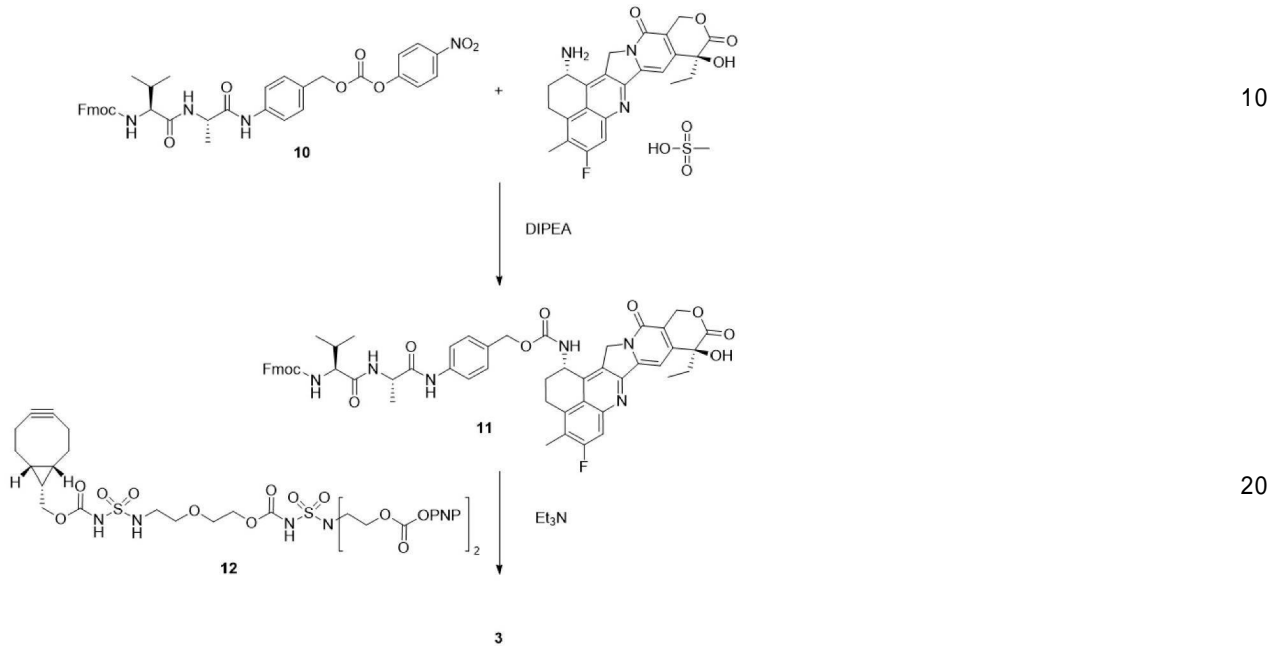
50

酵素リモデリングのための一般的な手順に従って、hRS7をhRS7-(6-N<sub>3</sub>-GalNAc)<sub>2</sub>に変換した。IdeS処理後の試料の質量スペクトル分析は、予期される生成物に対応する1つの主要なFc/2生成物(観察された質量24360Da、総Fc/2の約80%)を示した。

【0245】

実施例2~4:リンカーコンジュゲート3及び9の合成

【化44】



実施例2:化合物11の調製

化合物10(163mg、240μmol)を、乾燥DMF(0.9mL)中のエキサテカンメシレート(125mg、235μmol)及びDIPEA(61mg、82μL、0.47mmol)の混合物に添加した。20時間後、反応混合物を9mLのDCMに希釈し、勾配カラムクロマトグラフィー(0-40%MeOH/DCM)によって精製して、11(155mg、159μmol、68%)を得た。LCMS(ESI+)C<sub>55</sub>H<sub>54</sub>FN<sub>6</sub>O<sub>10</sub><sup>+</sup>(M+H)<sup>+</sup>の計算値977.39、実測値977.72。11に加えて、エキサテカンの遊離塩基(82.4mg、189μmol、20%)が回収された。LCMS(ESI+)C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>(M+H)<sup>+</sup>の計算値436.46、実測値436.54。

30

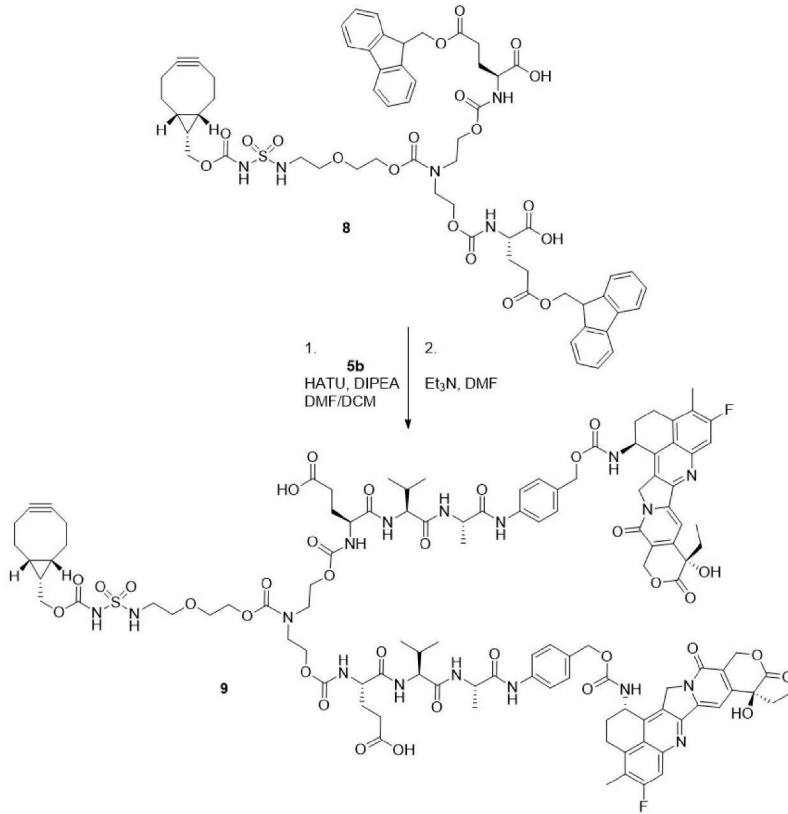
【0246】

実施例3:化合物3の調製

BCN-HS-(va-PABC-Ex)<sub>2</sub>(3)の合成は、本明細書に組み込まれるPCT/EP2021/075401(実施例4)にも記載されている。DMF(1.6mL)中の化合物11(155mg、159μmol)の溶液に、Et<sub>3</sub>N(73mg、101μL、0.72mmol)、及びDMF(1.4mL)中の化合物12(65mg、72μmol)の溶液を添加した。反応混合物を18時間攪拌し、DCM(20mL)で希釈し、勾配カラムクロマトグラフィー(0-40%MeOH/DCM)によって精製して、3を淡黄色の固体(94mg、44μmol、28%)として得た。LCMS(ESI+)C<sub>102</sub>H<sub>118</sub>F<sub>2</sub>N<sub>16</sub>O<sub>29</sub>S<sub>2</sub><sup>2+</sup>(M/2+H)<sup>+</sup>の計算値1066.88、実測値1067.12。

40

## 【化 4 5】



10

20

## 【 0 2 4 7 】

## 実施例 4：化合物 9 の調製

無水 DMF (180  $\mu$ L) に溶解した BCN-HS-PEG<sub>2</sub>-b-(Glu(OH)<sub>2</sub>)<sub>2</sub> (8、12.1 mg、10  $\mu$ mol、1.0 当量) の溶液を、無水 DCM (180  $\mu$ L)、DIPEA (11  $\mu$ L、63  $\mu$ mol、6.2 当量) 及び HATU (8.9 mg、23  $\mu$ mol、2.3 当量) 中の NH<sub>2</sub>-Val-Ala-PABC-エキサテカン (5b、Fmoc-脱保護 5、19 mg、25  $\mu$ mol、2.5 当量) の溶液に添加した。室温で 2 時間攪拌した後、反応混合物を DCM (800  $\mu$ L) で更に希釈し、シリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー (DCM 中 0% - 20% MeOH) によって精製して、透明油状物として生成物を得た (DMF の存在により収率を決定することが困難)。LCMS (ESI<sup>+</sup>) C<sub>140</sub>H<sub>150</sub>F<sub>2</sub>N<sub>17</sub>O<sub>33</sub>S<sup>+</sup> (M/2 + H<sup>+</sup>) の計算値 1334.01、実測値 1334.79。

30

## 【 0 2 4 8 】

この化合物を DMF (300  $\mu$ L) に溶解し、トリエチルアミン (21  $\mu$ L、150  $\mu$ mol、1.5 当量) を添加した。室温で 17 時間後、反応混合物を DCM (700  $\mu$ L) で希釈し、シリカゲルを介したフラッシュカラムクロマトグラフィー (DCM 中 0% - 45% MeOH) によって精製して、化合物 9 を黄色固体として 44% の収率で得た (10.2 mg、4.4  $\mu$ L)。LCMS (ESI<sup>+</sup>) C<sub>112</sub>H<sub>130</sub>F<sub>2</sub>N<sub>17</sub>O<sub>33</sub>S<sup>+</sup> (M/2 + H<sup>+</sup>) の計算値 1156.2、実測値 1156.74。

40

## 【 0 2 4 9 】

実施例 5 ~ 7：(修飾)モノクローナル抗体へのリンカーペイロードのコンジュゲーション

実施例 5：コンジュゲート hRS7-3 を得るための、hRS7 (6-N<sub>3</sub>-GalNAc)<sub>2</sub> と BCN-HS-PEG<sub>2</sub>-HS-(va-PABC-Ex)<sub>23</sub> とのコンジュゲーション

hRS7 (6-N<sub>3</sub>-GalNAc)<sub>2</sub> の溶液 (764.5  $\mu$ L、15.0 mg、TBSPH 7.5 中 19.62 mg/mL) に、デオキシコール酸ナトリウム (150  $\mu$ L

50

、110 mM)及びBCN-HS-PEG2-HS-(va-PAB-Ex)<sub>23</sub>(50 μL、DMF中の10 mM溶液)及びプロピレングリコール(400 μL)を添加した。反応物を室温で一晩インキュベートした。過剰な遊離ペイロードを除去するために、15 mgの活性炭(Carbon RHC、Filtrox AG)を添加し、2時間回転させた。木炭を遠心分離によって除去し、続いてPESシリンジフィルタ(細孔0.20 μm、Corning)で濾過した。続いて、溶液を、HiTrap 26-10脱塩カラム(Cytiva)を使用して緩衝液交換し、0.1 MのNaOHですすぎ、PBSで平衡化した。遊離ペイロードレベルが依然として高すぎたため、更に10 mgの活性炭を添加し、一晩インキュベートした。木炭を遠心分離によって除去し、続いてPESシリンジフィルタ(細孔0.20 μm、Corning)で濾過した。続いて、溶液を、HiTrap 26-10脱塩カラム(Cytiva)を使用して緩衝液交換し、0.1 MのNaOHですすぎ、20 mMのヒスチジン、6%のスクロース緩衝液pH 6.0、及び0.04%のTween-20で平衡化してから、濾過滅菌した。IdeS処理後の試料の質量スペクトル分析は、コンジュゲートhRS7-3に対応する1つの主要なFc/2生成物(観察された質量26497 Da、総Fc/2の約90%)を示した。IdeS処理後の試料のRP-UPLC分析は、3.90の平均DARを示した。

10

#### 【0250】

実施例6：hTINAの還元及びデルクステカンとのコンジュゲーション

hTINAの溶液(1780 μL、10 mg、PBS pH 7.4中5.63 mg/mL)に、PBS(27 μL)、EDTA(40 μL、500 mM)、及びTCEP(153 μL、1 mM、2.3当量)を添加した。混合物を室温で90分間インキュベートした。続いて、デルクステカン(200 μL、1.8 mM、Achemblock)を加え、室温で90分間インキュベートすることによって、コンジュゲーションを行った。続いて、溶液を、HiTrap 26-10脱塩カラム(Cytiva)を使用して緩衝液交換し、0.1 MのNaOHですすぎ、PBS pH 7.4で平衡化した。続いて、溶液を、HiTrap 26-10脱塩カラム(Cytiva)を使用して緩衝液交換し、0.1 MのNaOHですすぎ、20 mMのヒスチジン、pH 6.0の6%のスクロース、及び0.04%のTween-20で平衡化してから、濾過滅菌した。還元されたコンジュゲートのRP-UPLC分析は、3.97の平均DARを示した。

20

#### 【0251】

実施例7：コンジュゲートhRS7-9を得るための、hRS7(6-N<sub>3</sub>-GalNAc)<sub>2</sub>とBCN-HS-PEG2-(eva-PAB-Ex)<sub>29</sub>とのコンジュゲーション

hRS7(6-N<sub>3</sub>-GalNAc)<sub>2</sub>の溶液(22.8 mL、448 mg、TBS pH 7.5中19.64 mg/mL)に、デオキシコール酸ナトリウム(4.48 mL、110 mM)及びBCN-HS-PEG2-(eva-PAB-Ex)<sub>29</sub>(895 μL、DMF中の10 mM溶液)及びプロピレングリコール(8.1 mL)を添加した。反応物を室温で一晩インキュベートした。次に、コンジュゲートを、HiTrap 26-10脱塩カラム(Cytiva)を使用して精製し、0.2 MのNaOHですすぎ、AKTA Pure(Cytiva)上でPBS pH 7.4で平衡化した。過剰な遊離ペイロードを除去するために、100 mgの活性炭(Carbon RHC、Filtrox AG)を添加し、2時間回転させた。木炭を遠心分離によって除去し、続いてPESシリンジフィルタ(細孔0.20 μm、Corning)で濾過した。続いて、溶液を20 mMのヒスチジン、6%のスクロース緩衝液(pH 6.0)に透析した。材料を濃縮し、0.04% Tween-20をフィルタ滅菌前に添加した。IdeS処理後の試料の質量スペクトル分析は、コンジュゲートhRS7-9に対応する1つの主要なFc/2生成物(観察された質量26676 Da、総Fc/2の約90%)を示した。ファブリケータ(IdeS)で処理した試料のRP-UPLC分析は、3.86の平均DARを示した。

40

#### 【0252】

実施例8～9：インピボ試験

50

実施例 8：インビボ有効性試験 (Charles River, Morrisville, NC, USA で実施)

NCI-N87、ヒト胃がんモデル細胞株をインビトロで維持し、指数増殖期の細胞を採取し、腫瘍接種のためにカウントした。

【0253】

開始日で 8 ~ 12 週齢の CB.17 SCID マウス (メス) に、腫瘍発生のために Matrigel (1:1) と混合した 0.1 mL の PBS 中の  $1 \times 10^7$  個の腫瘍細胞を脇腹領域に皮下注射した。腫瘍が  $150 \sim 200 \text{ mm}^3$  の平均サイズに達したら、8 匹のマウスの 3 の群に無作為化を行い、処置を開始した。

【0254】

被験試料の投与は静脈内注射を介して行われ、投与量は  $10 \text{ mL/kg}$  であった。処置は無作為化と同じ日に開始した。投薬は、層流キャビネット内で行った。

【0255】

腫瘍細胞の接種後、動物の罹患率及び死亡率を毎日チェックした。日常的なモニタリングの時点で、動物を、移動性、食物及び水の消費の視覚的推定、体重増加/減少、眼/毛のマット化、並びに任意の他の異常な影響などの正常挙動に対する腫瘍増殖及び処置の有害作用についてチェックする。腫瘍体積は、キャリパーを使用して二次元で 3 ~ 4 日ごとに測定し、体積データは、式  $V = (L \times W \times W) / 2$  を使用して  $\text{mm}^3$  で表され、式中、V は腫瘍体積であり、L は腫瘍長さ (最長の腫瘍寸法) であり、W は腫瘍幅 (L に垂直な最長の腫瘍寸法) である。投薬、並びに腫瘍及び体重測定は、層流キャビネット内で行う。実験の評価項目は、 $800 \text{ mm}^3$  の腫瘍体積、20% 超又は 45 日にわたる体重減少のいずれか早い方である。

【表 1】

表 1. インビボ試験に含まれる試験項目及び用量レベルの概要

試験項目	用量レベル (mg/kg)	群 (N=8)	投与	投薬 スケジュール
ビヒクル	-	1	IV	単回用量
hRS7-3	10	2	IV	単回用量
hTINA-デルクステカン	10	3	IV	単回用量
Trodelvy(登録商標)	17.5	4	IV	biw x 4

【0256】

上記の試験項目を用いた有効性試験のためのデータを、図 8 A 及び 8 B に示す。図 8 A は、経時的な NCI-N87 腫瘍モデルに関するインビボ有効性データを示す。hRS7-3 は、腫瘍の退縮をもたらす。腫瘍の退縮は、Trodelvy とほぼ同等であるが、これはより頻繁に投与され、より高い用量レベルで投与される。HTINA-デルクステカンの投与は、腫瘍増殖遅延をもたらす。図 8 B は、経時的なマウスの体重を示す。

【0257】

実施例 9：インビボ有効性研究

Colo-205、結腸がん異種移植片モデル細胞株を、標準の 5% CO<sub>2</sub> 仕様で 37 の加湿細胞培養インキュベーター内で 10% FBS を補充した RPMI-1640 培地を使用してインビトロで維持した。指数増殖期の細胞を採取し、腫瘍接種のためにカウントした。

【0258】

7 ~ 9 週齢の BALB/c ノードマウス (メス) に、腫瘍発生のために Matrigel (1:1) と混合した 0.1 mL の PBS 中の  $5 \times 10^6$  個の腫瘍細胞を右前脇腹領域に皮下注射した。腫瘍が  $100 \sim 200 \text{ mm}^3$  の平均サイズに達したら、8 匹のマウスの 5 の群に無作為化を行い、処置を開始した。無作為化は、「一致した分布」法 (Study Director (商標) ソフトウェア、バージョン 3.1.399.19) に基づ

10

20

30

40

50

いて行われる。無作為化の日付は、0日目と表示される。

【0259】

電子キャリパー測定を週に2回行った。臨床徴候、食物及び水の消費、行動の変化を毎日観察し、動物の体重を週に2回測定した。実験の評価項目は、3,000mm<sup>3</sup>の腫瘍体積、20%超又は77日にわたる体重減少のいずれか早い方である。

【0260】

無作為化：平均腫瘍サイズが約143mm<sup>3</sup>に達したら、無作為化を行った。合計40匹のマウスをNCI-H446モデル研究に登録し、群当たり8匹のマウスで、無作為に5つの群に割り当てた。無作為化は、「一致した分布」法(Study Director(商標)ソフトウェア、バージョン3.1.399.19)に基づいて行われる。無作為化の日付は、0日目と表示される。腫瘍モデルの悪液質の性質のために、全ての動物は、無作為化の日から補足ゲルを受けた。

10

【0261】

被験試料の投与：被験試料の投与は尾静脈を通じた静脈内注射を介して行われ、投与量は10mL/kgであった。処置は無作為化と同じ日に開始した。投薬は、層流キャビネット内で行った。

【0262】

観察及びデータ収集：腫瘍細胞の接種後、動物の罹患率及び死亡率を毎日チェックする。日常的なモニタリングの時点で、動物を、移動性、食物及び水の消費の視覚的推定、体重増加/減少、眼/毛のマット化、並びに任意の他の異常な影響などの正常挙動に対する腫瘍増殖及び処置の有害作用についてチェックする。腫瘍体積は、キャリパーを使用して二次元で3~4日ごとに測定し、体積データは、式 $V = (L \times W \times W) / 2$ を使用してmm<sup>3</sup>で表され、式中、Vは腫瘍体積であり、Lは腫瘍長さ(最長の腫瘍寸法)であり、Wは腫瘍幅(Lに垂直な最長の腫瘍寸法)である。投薬、並びに腫瘍及び体重測定は、層流キャビネット内で行う。

20

【表2】

表2. インビゴ試験に含まれる試験項目及び用量レベルの概要

試験項目	用量レベル (mg/kg)	群 (N=8)	投与	投薬 スケジュール
ビヒクル	-	1	IV	単回用量
hRS7-3	4	2	IV	単回用量
	8	3	IV	単回用量
hTINA-デルクステカン	4	4	IV	単回用量
	8	5	IV	単回用量

30

【0263】

有効性試験における経時的な腫瘍体積及びマウス体重、並びに上記の試験項目を用いた対応する Kaplan-Meier プロットを図9A、9B及び9Cに示す。

【0264】

実施例10~12：インビトロ試験

実施例10. ヒト血漿安定性試験

ヒト血漿中のADCの安定性を試験した。アッセイの前に、血漿を、Captiva(登録商標)プロテインAアガロース(1mLアガロース/mL血清)を使用して、全てのIgGから枯渇させた。枯渇したヒト血清にADCを添加して、0.1mg/mLの最終濃度にし、続いて37でインキュベートした。各時点で、0.5mLを急速凍結し、更なる分析まで-80で保存した。インキュベーション後にADCを単離するために、20µLのCaptiva(登録商標)プロテインAアガロース樹脂を試料に添加し、室温で1時間インキュベートした。樹脂をPBSで3回洗浄し、続いて0.1Mのグリシン-HCl(pH2.7)(0.4mL)を添加して、ADCを溶出した。溶出後、試料を1

40

50

. 0 M の Tris pH 8.0 (0.1 mL) で直ちに中和した。試料を、Amicon Ultra スピンドフィルタ 0.5 mL MWCO 10 kDa (Merck Millipore) を使用して PBS に対して 3 回スピンド濾過し、体積を 40  $\mu$ L に低減し、約 1 mg/mL の最終 ADC 濃度を得た。試料を特定の日に RP-UPLC (DTT 減少) で分析して、DAR を決定し、その結果を以下の表に示す。t = 7 日で、t = 0 日との差をパーセンテージで示す。

【表 3】

表 3. ヒト血漿：

	DAR t=0	DAR t=3	DAR t=7
hRS7-3	3.89	3.88(100%)	3.86(99%)
hRS7-9	3.87	3.75(97%)	3.60(93%)
hTINA-デルクステカン	3.61	2.62(73%)	2.08(58%)

10

## 【0265】

実施例 11. 生理学的及び増強ストレス条件における熱安定性

ADC の安定性を、生理学的条件 (PBS、pH 7.4、37 ) 又は増強ストレス条件 (クエン酸緩衝生理食塩水、CBS、pH 5.0、40 ) のいずれかで高温で試験した。ADC を、HiTrap 26-10 脱塩カラム (Cytiva) を使用して緩衝液交換し、0.1 M の NaOH ですすぎ、AKTA Pure (Cytiva) 上で PBS 又は CBS のいずれかで平衡化した。Vivaspin Turbo 4 10 kDa MWCO 限外濾過ユニット (Sartorius) を使用して、溶液を > 1 mg/mL の濃度に濃縮した。ADC の濃度を測定し、それらを 1 mg/mL に希釈し、最初の測定、t = 0 を上述のように SE-HPLC 分析のために行った。試料を 37 又は 40 のいずれかに配置し、試料をいくつかの時点 (日数) で採取し、凝集レベルを決定した。以下の表 4 ~ 6 を参照されたい。

20

【表 4】

表 4. 生理学的条件、モノマーレベル (パーセンテージ)：

構築物	t=0	t=1	t=3	t=7
hRS7-3	98.99%	99.06%	99.68%	99.58%
hRS7-9	98.86%	98.96%	99.59%	99.59%
hTINA-デルクステカン	99.51%	99.54%	99.64%	99.72%

30

【表 5】

表 5. 生理学的条件、モノマーレベル (パーセンテージ)：

構築物	t=0	t=3	t=7
hRS7-3	3.85	3.82(99%)	3.81(99%)
hRS7-9	3.87	3.87(100%)	3.86(100%)
hTINA-デルクステカン	3.82	3.80(99%)	3.79(99%)

40

【表 6】

表 6. 増強ストレス条件、モノマーレベル (パーセンテージ)：

構築物	t=0	t=1	t=3	t=7
hRS7-3	99.09%	99.26%	99.83%	99.87%
hRS7-9	99.00%	99.14%	99.73%	99.76%
hTINA-デルクステカン	99.60%	99.66%	99.82%	99.81%

## 【0266】

実施例 12 : 相対保持時間決定のための HIC-HPLC 測定

50

試料をPBS中で1mg/mLに希釈した。TSKgel（登録商標）ブチル-NPR HPLCカラム（3.5cm×4.6mm、2.5μm）を使用して、Agilent 1200シリーズでHIC分析を行う。10μLの試料を、100%緩衝液A（50mMのリン酸カリウムpH6.0中2Mの硫酸アンモニウム）から始まる100%緩衝液B（50mMのリン酸カリウムpH6.0+20%イソプロパノール）への勾配を用いて、20分で0.5mL/分の流量で注入する。天然mAb（hRS7又はhTINA）を測定し、その保持時間を1に設定する。他の測定された試料は、天然mAbと比較した相対保持時間である。結果を図10及び以下の表7に示す。

【表7】

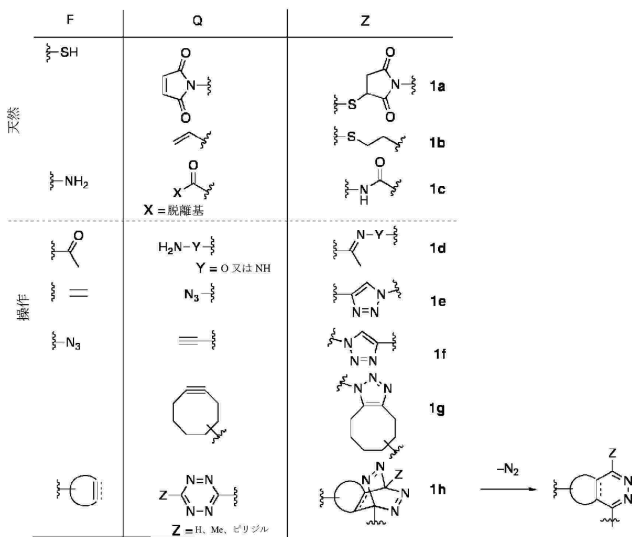
表7. HIC-HPLCで測定したトラスツズマブに対する相対保持時間：

構築物	HIC-HPLCトレース	相対保持時間
hTINA	図10(A)	1.00
hTINA-デルクステカン	図10(B)	1.132
hRS7	図10(C)	1.00
hRS7-3	図10(D)	1.009
hRS7-9	図10(E)	1.005

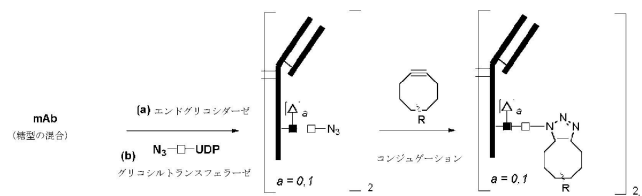
10

【図面】

【図1】



【図2】



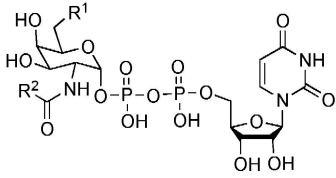
20

30

40

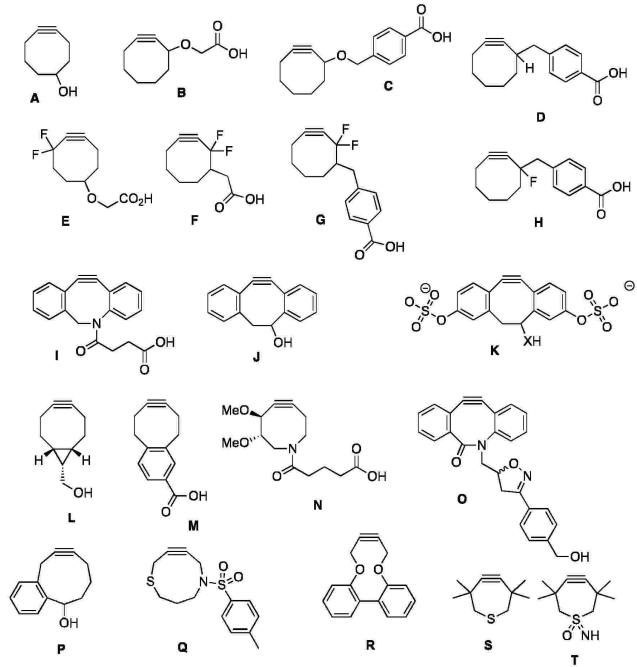
50

【 図 3 】



2a R<sup>1</sup> = OH; R<sup>2</sup> = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SH  
 2b R<sup>1</sup> = OH; R<sup>2</sup> = CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>  
 2c R<sup>1</sup> = OH; R<sup>2</sup> = CF<sub>2</sub>N<sub>3</sub>  
 2d R<sup>1</sup> = N<sub>3</sub>; R<sup>2</sup> = CH<sub>3</sub>

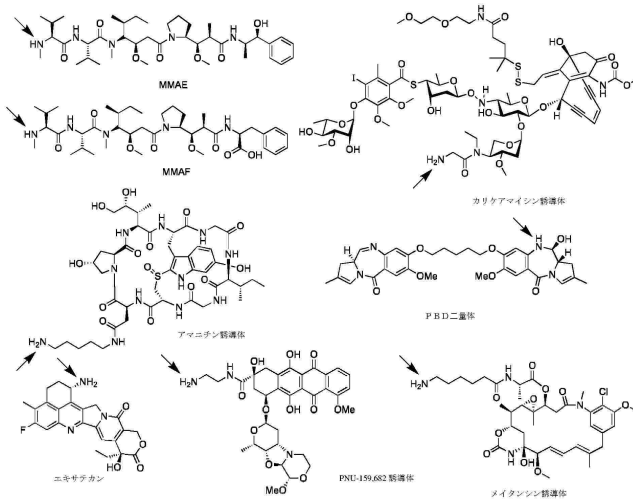
【 図 4 】



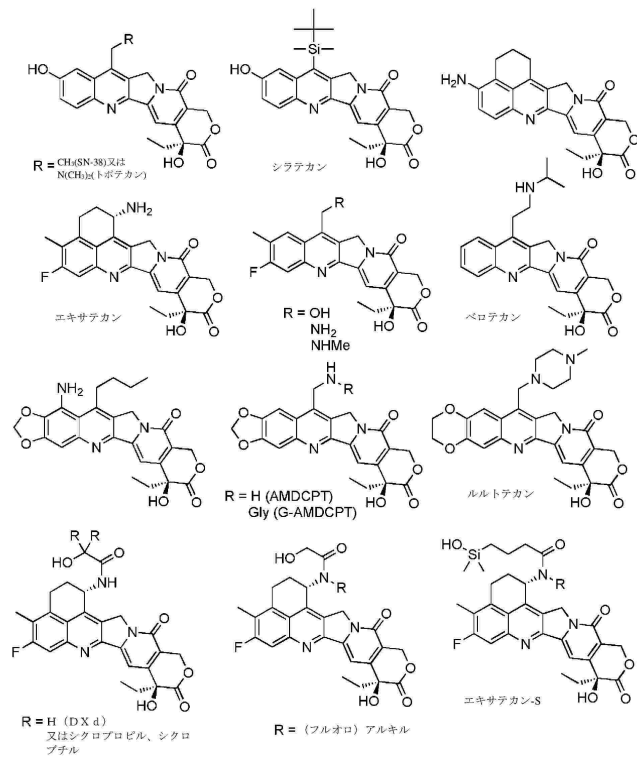
10

20

【 図 5 】



【 図 6 】

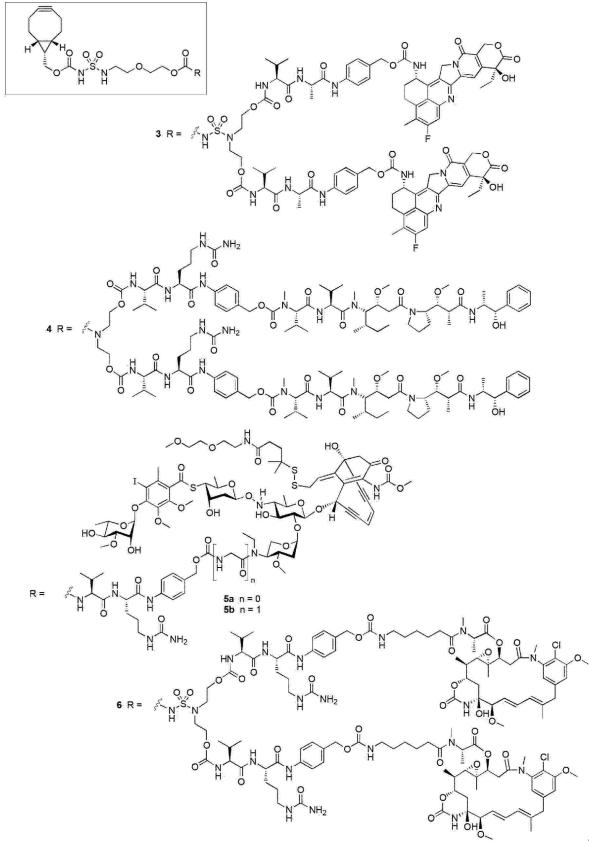


30

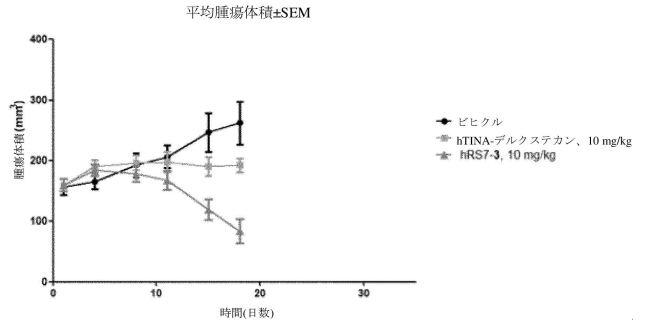
40

50

【 図 7 】



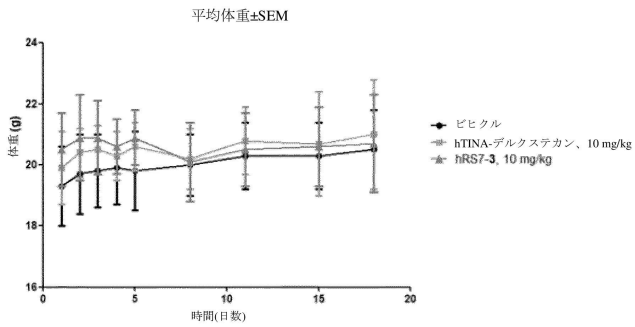
【 図 8 A 】



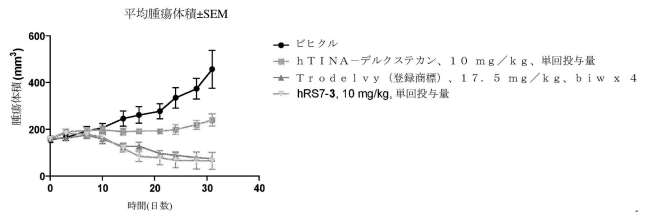
10

20

【 図 8 B 】



【 図 8 C 】

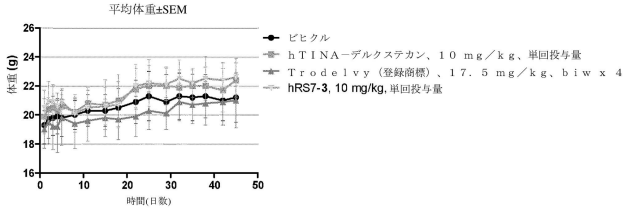


30

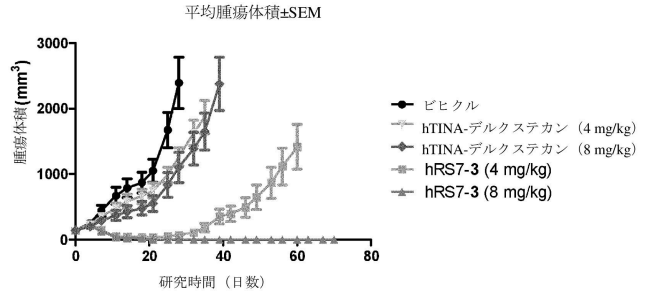
40

50

【 図 8 D 】

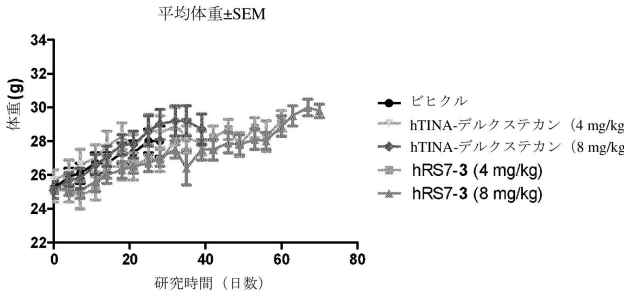


【 図 9 A 】

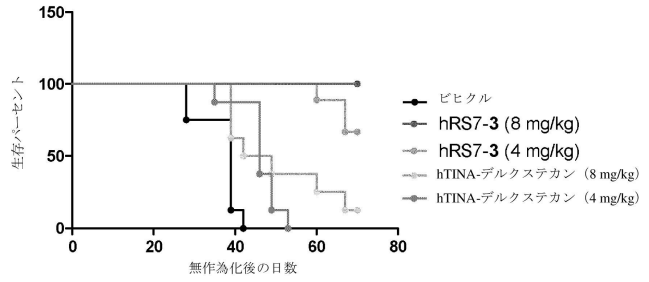


10

【 図 9 B 】

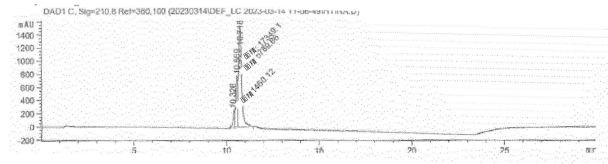


【 図 9 C 】

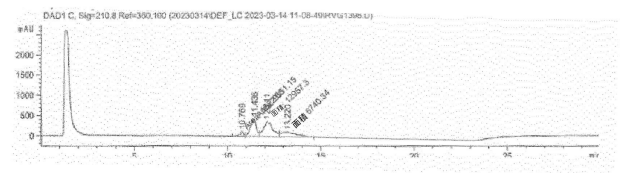


20

【 図 10 A 】



【 図 10 B 】

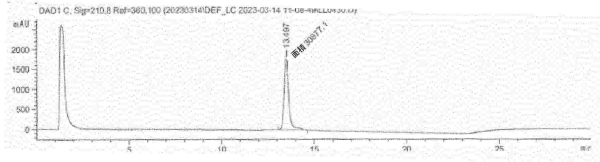


30

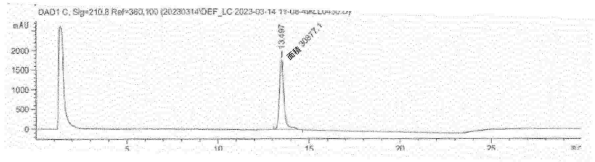
40

50

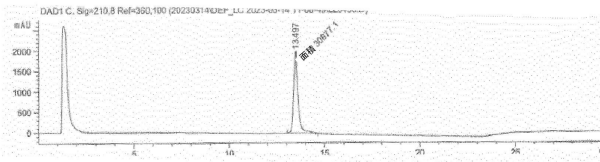
【図 10 C】



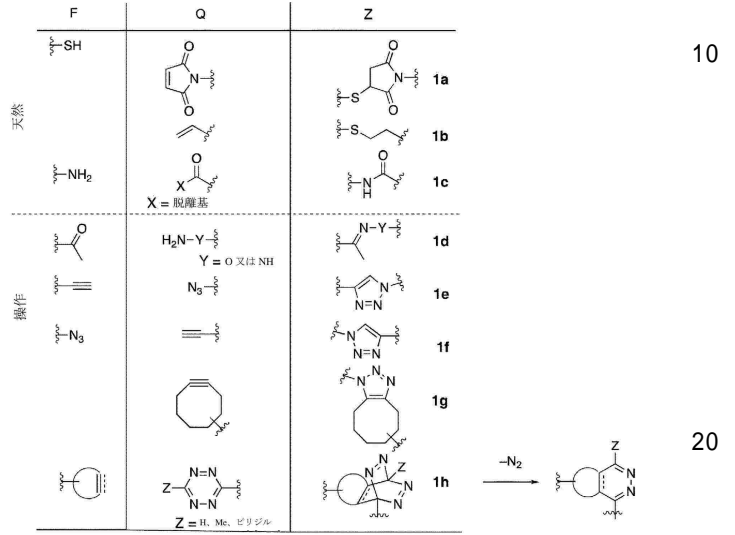
【図 10 D】



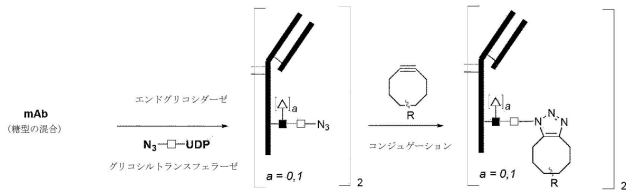
【図 10 E】



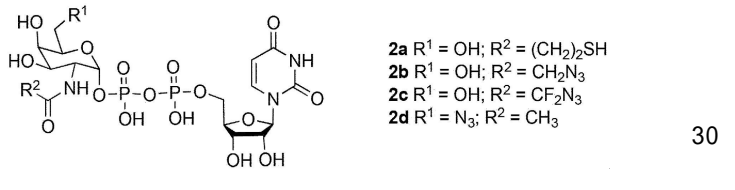
【図 1 - 1】



【図 2 - 1】



【図 3 - 1】



10

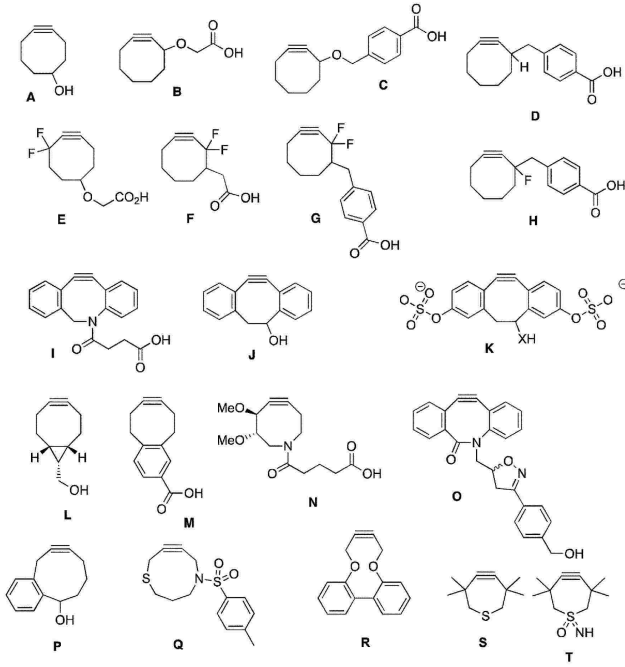
20

30

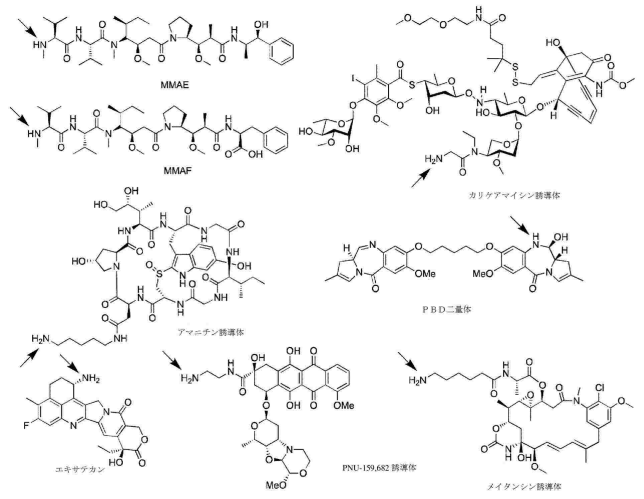
40

50

【 図 4 - 1 】



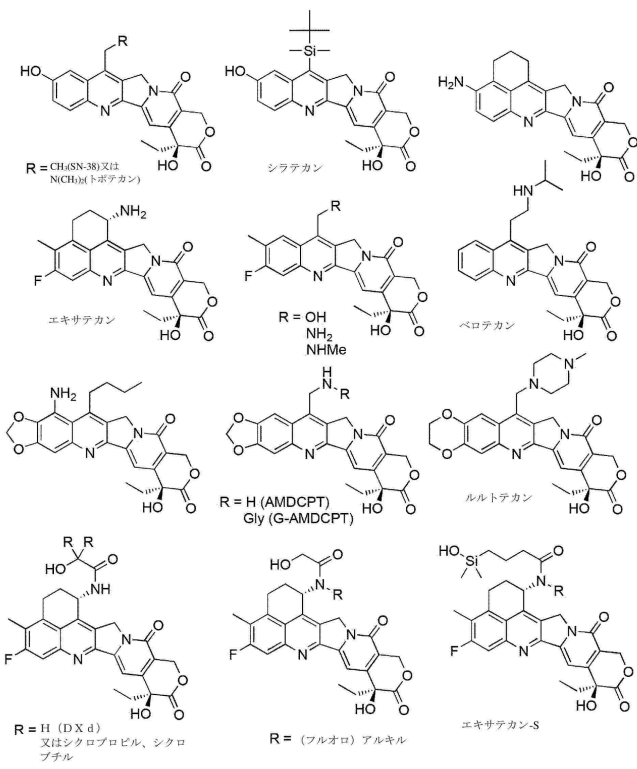
【 図 5 - 1 】



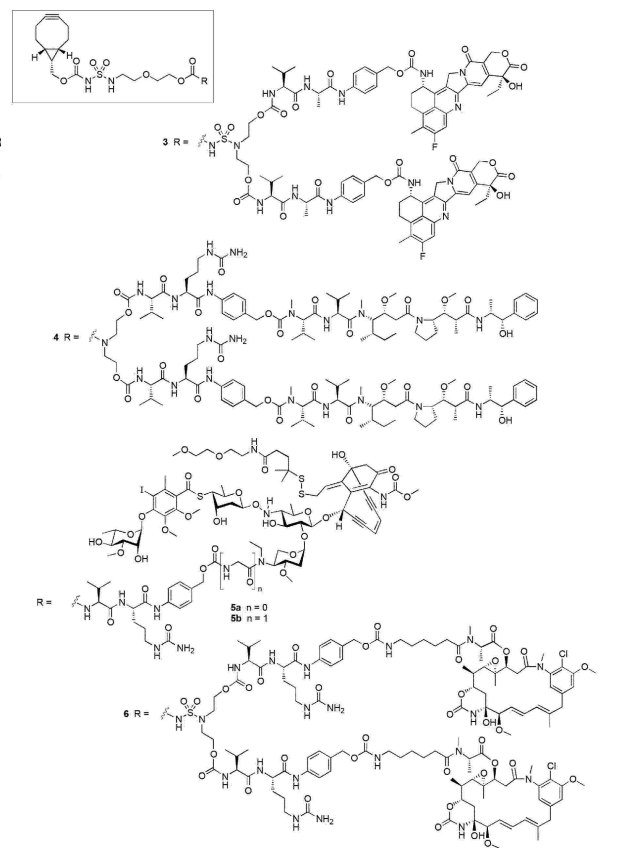
10

20

【 図 6 - 1 】



【 図 7 - 1 】

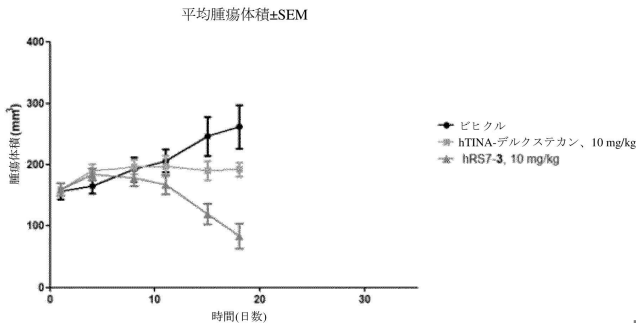


30

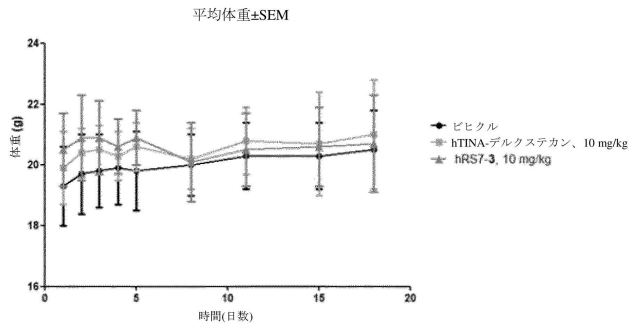
40

50

【 図 8 A - 1 】

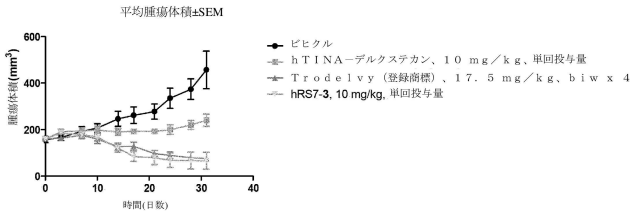


【 図 8 B - 1 】

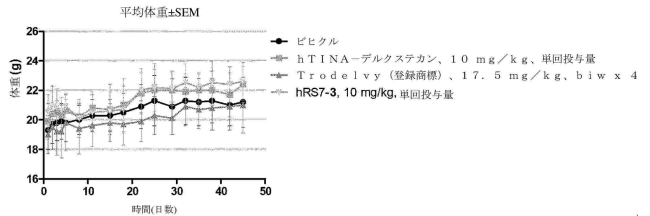


10

【 図 8 C - 1 】

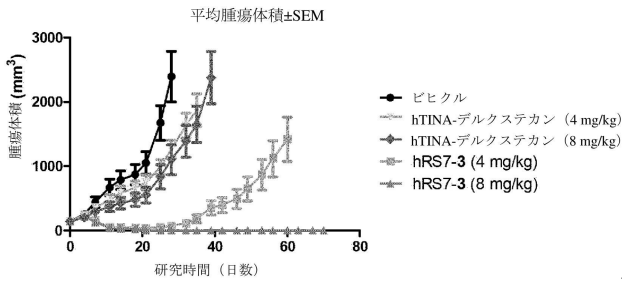


【 図 8 D - 1 】

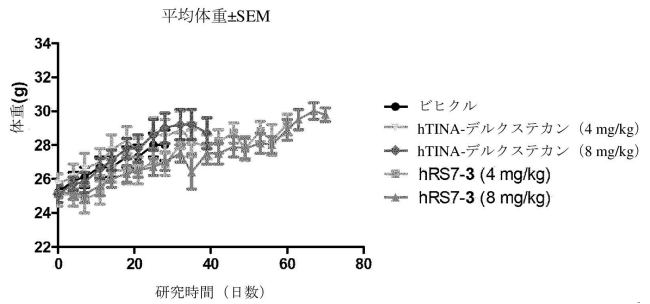


20

【 図 9 A - 1 】



【 図 9 B - 1 】

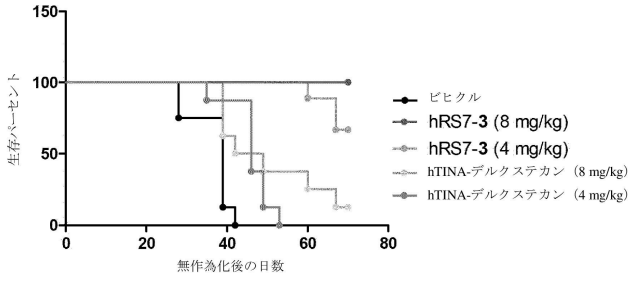


30

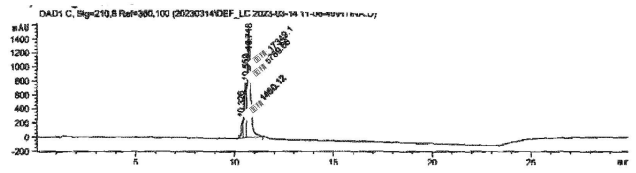
40

50

【 図 9 C - 1 】

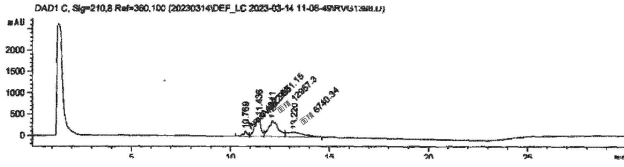


【 図 10 A - 1 】

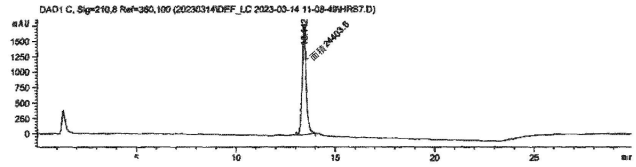


10

【 図 10 B - 1 】

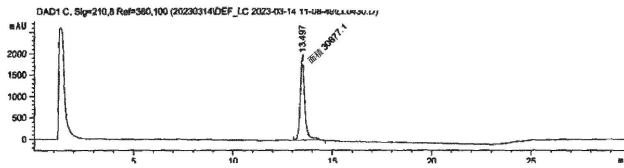


【 図 10 C - 1 】

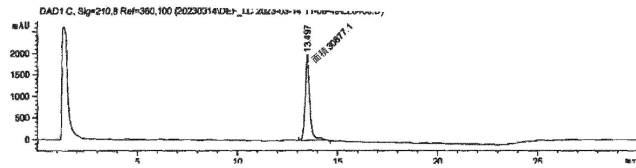


20

【 図 10 D - 1 】



【 図 10 E - 1 】



30

40

50

【 配列表 】

2025510700000001.xml

【 国際調査報告 】

International application No.

PCT/EP2023/057561

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

**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

International application No  
PCT/EP2023/057561

**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 A61P**

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, WPI Data**

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<b>X</b>	<b>EP 3 088 419 B1 (DAIICHI SANKYO CO LTD [JP]; UNIV SAPPORO MEDICAL [JP])</b>	<b>1-6, 15-17</b>
<b>Y</b>	<b>10 October 2018 (2018-10-10) claims 1-27 examples 11, 17, 20-22</b>	<b>7, 8, 12-14</b>
	----- -/--	

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	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search: **23 June 2023**

Date of mailing of the international search report: **04/07/2023**

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:  
**Bliem, Barbara**

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2023/057561

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>OKAJIMA DAISUKE ET AL: "Datopotamab Deruxtecan, a Novel TROP2-directed Antibody-drug Conjugate, Demonstrates Potent Antitumor Activity by Efficient Drug Delivery to Tumor Cells", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 20, no. 12, 19 August 2021 (2021-08-19), pages 2329-2340, XP055921509, US ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-21-0206 abstract figures 1,4</p> <p>-----</p>	1, 3, 5, 6, 15-17
Y	<p>WO 2020/094670 A1 (SYNAFFIX BV [NL]) 14 May 2020 (2020-05-14) claims 1-11</p> <p>-----</p>	7, 8, 12-14

10

20

30

40

1

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

**PCT/EP2023/057561**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
<b>EP 3088419</b>	<b>B1</b>	<b>10-10-2018</b>	<b>AU 2014371934 A1</b>	<b>07-07-2016</b>
			<b>AU 2020202305 A1</b>	<b>23-04-2020</b>
			<b>AU 2023200883 A1</b>	<b>16-03-2023</b>
			<b>BR 112016013704 A2</b>	<b>03-10-2017</b>
			<b>CA 2933666 A1</b>	<b>02-07-2015</b>
			<b>CN 105849126 A</b>	<b>10-08-2016</b>
			<b>CN 111228510 A</b>	<b>05-06-2020</b>
			<b>CY 1121246 T1</b>	<b>29-05-2020</b>
			<b>DK 3088419 T3</b>	<b>28-01-2019</b>
			<b>EP 3088419 A1</b>	<b>02-11-2016</b>
			<b>EP 3424955 A1</b>	<b>09-01-2019</b>
			<b>ES 2703903 T3</b>	<b>13-03-2019</b>
			<b>HR P20190056 T1</b>	<b>22-02-2019</b>
			<b>HU E042512 T2</b>	<b>29-07-2019</b>
			<b>IL 267618 A</b>	<b>29-08-2019</b>
			<b>IL 291446 A</b>	<b>01-05-2022</b>
			<b>JP 6130517 B2</b>	<b>17-05-2017</b>
			<b>JP 6449366 B2</b>	<b>09-01-2019</b>
			<b>JP 6832907 B2</b>	<b>24-02-2021</b>
			<b>JP 7030909 B2</b>	<b>07-03-2022</b>
			<b>JP 7259104 B2</b>	<b>17-04-2023</b>
			<b>JP 2017197523 A</b>	<b>02-11-2017</b>
			<b>JP 2019069951 A</b>	<b>09-05-2019</b>
			<b>JP 2020188801 A</b>	<b>26-11-2020</b>
			<b>JP 2022084608 A</b>	<b>07-06-2022</b>
			<b>JP WO2015098099 A1</b>	<b>23-03-2017</b>
			<b>KR 20160101915 A</b>	<b>26-08-2016</b>
			<b>KR 20190006087 A</b>	<b>16-01-2019</b>
			<b>KR 20200028047 A</b>	<b>13-03-2020</b>
			<b>KR 20210041105 A</b>	<b>14-04-2021</b>
			<b>KR 20210100207 A</b>	<b>13-08-2021</b>
			<b>KR 20220009500 A</b>	<b>24-01-2022</b>
			<b>KR 20220068269 A</b>	<b>25-05-2022</b>
			<b>KR 20220132020 A</b>	<b>29-09-2022</b>
			<b>KR 20230018530 A</b>	<b>07-02-2023</b>
			<b>KR 20230078820 A</b>	<b>02-06-2023</b>
			<b>LT 3088419 T</b>	<b>27-12-2018</b>
			<b>NZ 721213 A</b>	<b>23-12-2022</b>
			<b>PH 12016501233 A1</b>	<b>15-08-2016</b>
			<b>PH 12020551943 A1</b>	<b>07-06-2021</b>
			<b>PL 3088419 T3</b>	<b>29-03-2019</b>
			<b>PT 3088419 T</b>	<b>11-01-2019</b>
			<b>RU 2016130095 A</b>	<b>30-01-2018</b>
			<b>RU 2019134399 A</b>	<b>22-11-2019</b>
			<b>SG 10201902571V A</b>	<b>29-04-2019</b>
<b>SG 11201605215Y A</b>	<b>30-08-2016</b>			
<b>SI 3088419 T1</b>	<b>31-01-2019</b>			
<b>TR 201900176 T4</b>	<b>21-02-2019</b>			
<b>TW 201609151 A</b>	<b>16-03-2016</b>			
<b>TW 201840340 A</b>	<b>16-11-2018</b>			
<b>TW 202108181 A</b>	<b>01-03-2021</b>			
<b>TW 202310879 A</b>	<b>16-03-2023</b>			
<b>US 2016297890 A1</b>	<b>13-10-2016</b>			
<b>US 2018094073 A1</b>	<b>05-04-2018</b>			
<b>US 2019144559 A1</b>	<b>16-05-2019</b>			
<b>US 2021238303 A1</b>	<b>05-08-2021</b>			
<b>WO 2015098099 A1</b>	<b>02-07-2015</b>			

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

**PCT/EP2023/057561**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
<b>WO 2020094670 A1</b>	<b>14-05-2020</b>	<b>CN 113260384 A</b>	<b>13-08-2021</b>
		<b>EP 3876998 A1</b>	<b>15-09-2021</b>
		<b>US 2021393792 A1</b>	<b>23-12-2021</b>
		<b>WO 2020094670 A1</b>	<b>14-05-2020</b>
-----			

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 P 1/02 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/02	
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
C 0 7 K 5/10 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 K 5/08 (2006.01)	C 0 7 K 16/30	
C 0 7 K 5/06 (2006.01)	C 0 7 K 5/10	
	C 0 7 K 5/08	
	C 0 7 K 5/06	

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,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 . T W E E N

- (72)発明者 ヴァン デルフト, フローリス ルイス  
オランダ, 5 3 4 9 エービー オス, クローステルシュトラート 9
- (72)発明者 レリーベルト, リアン  
オランダ, 5 3 4 9 エービー オス, クローステルシュトラート 9

F ターム (参考) 4C076 DD66 EE41 FF34  
4C085 AA14 AA16 AA25 CC23 DD62 EE01 HH11 HH13 KA04 LL05  
LL09 LL12 LL18  
4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 NA10 ZA59 ZA66 ZA67 ZA81  
ZB21 ZB26 ZC41  
4H045 AA11 AA30 BA09 BA62 BA72 DA76 DA83 EA20 EA50 FA74  
GA10 GA26