

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-553579

(P2022-553579A)

(43)公表日 令和4年12月23日(2022.12.23)

(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		4 B 0 6 4
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 7 6
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19		4 C 0 8 6
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全114頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-525084(P2022-525084)	(71)出願人	518369833	最終頁に続く	
(86)(22)出願日	令和2年10月30日(2020.10.30)		アール・ピー・シェラー テクノロジーズ エルエルシー		
(85)翻訳文提出日	令和4年4月27日(2022.4.27)		アメリカ合衆国、89706・ネバダ、カーソン・シティ、イースト・ジョン・ストリート・502		
(86)国際出願番号	PCT/US2020/058191	(74)代理人	100114188		
(87)国際公開番号	WO2021/087248		弁理士 小野 誠		
(87)国際公開日	令和3年5月6日(2021.5.6)	(74)代理人	100119253	最終頁に続く	
(31)優先権主張番号	62/928,939		弁理士 金山 賢教		
(32)優先日	令和1年10月31日(2019.10.31)	(74)代理人	100124855		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 坪倉 道明		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,最終頁に続く	(74)代理人	100129713		
			弁理士 重森 一輝		
		(74)代理人	100137213		

(54)【発明の名称】 抗CD37抗体-マイタンシンコンジュゲートおよびその使用方法

(57)【要約】

本開示は、抗CD37抗体-マイタンシンコンジュゲート構造を提供する。本開示はまた、そのようなコンジュゲートを産生する方法、およびそのコンジュゲートを使用する方法を包含する。

【選択図】図1

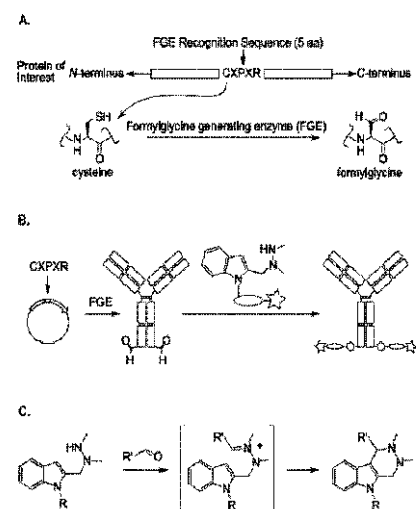


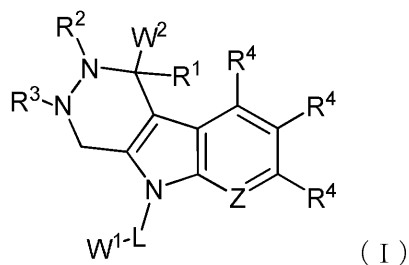
FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) の側鎖を有する少なくとも 1 つの修飾アミノ酸残基を含む、コンジュゲートであって、

【化 1】



10

式中、

Z が、C R⁴ または N であり、

R¹ が、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択され、

20

R² および R³ が、それぞれ独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択されるか、または R² および R³ が、任意選択により環状に連結されて、5 員もしくは 6 員のヘテロシクリルを形成し、

各 R⁴ が、独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択され、

30

L が、 $-(T^1 - V^1)_a - (T^2 - V^2)_b - (T^3 - V^3)_c - (T^4 - V^4)_d -$ を含むリンカーであり、式中、a、b、c および d が、それぞれ独立して 0 または 1 であり、a、b、c および d の合計が、1 ~ 4 であり、

T¹、T²、T³ および T⁴ が、それぞれ独立して、(C₁ ~ C₁₂) アルキル、置換 (C₁ ~ C₁₂) アルキル、(EDA)_w、(PEG)_n、(AA)_p、 $-(CR^{13}OH)_h -$ 、ピペリジン-4-アミノ (4AP)、アセタール基、ヒドラジン、ジスルフィド、およびエステルから選択され、式中、EDA が、エチレンジアミン部分であり、PEG が、ポリエチレングリコールまたは修飾ポリエチレングリコールであり、AA が、アミノ酸残基であり、式中、w が、1 ~ 20 の整数であり、n が、1 ~ 30 の整数であり、p が、1 ~ 20 の整数であり、h が、1 ~ 12 の整数であり、

40

V¹、V²、V³ および V⁴ が、それぞれ独立して、共有結合、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 、および $-P(O)OH-$ からなる群から選択され、式中、q が、1 ~ 6 の整数であり、

50

各 R^{13} が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールから選択され、

各 R^{15} が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択され、

W^1 が、マイタンシノイドであり、

W^2 が、抗 CD37 抗体である、コンジュゲート。

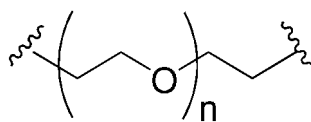
【請求項 2】

T^1 が、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルおよび置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルから選択され、
 T^2 、 T^3 および T^4 が、それぞれ独立して、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_h-$ 、4-アミノ-ピペリジン (4AP)、アセタール基、ヒドラジン、およびエステルから選択され、

V^1 、 V^2 、 V^3 および V^4 が、それぞれ独立して、共有結合、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 、および $-P(O)OH-$ からなる群から選択され、

$(PEG)_n$ が、

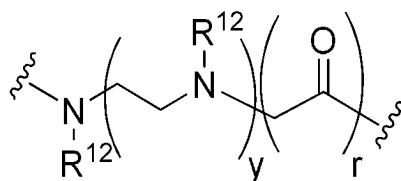
【化 2】



であり、式中、 n が、1～30の整数であり、

EDA が、以下の構造

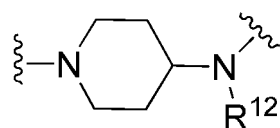
【化 3】



を有するエチレンジアミン部分であり、式中、 y が、1～6の整数であり、 r が、0または1であり、

4-アミノ-ピペリジン (4AP) が、

【化 4】



であり、

各 R^{12} および R^{15} が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アリール、および置換アリールから選択され、任意の2つの隣接する R^{12} 基が、環状に連結してピペラジニル環を形成してもよく、

R¹³が、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールから選択される、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項3】

T¹、T²、T³、およびT⁴、ならびにV¹、V²、V³、およびV⁴が、以下の表から選択される、請求項1に記載のコンジュゲート。

【表1】

T ¹	V ¹	T ²	V ²	T ³	V ³	T ⁴	V ⁴
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-NR ¹⁵ -	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-NR ¹⁵ -	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(EDA) _w	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-SO ₂ -	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	置換(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-SO ₂ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹⁵ -	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-P(O)OH-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	-	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	-	-CO-	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	4AP	-CO-	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	4AP	-CO-	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	-	-

10

20

30

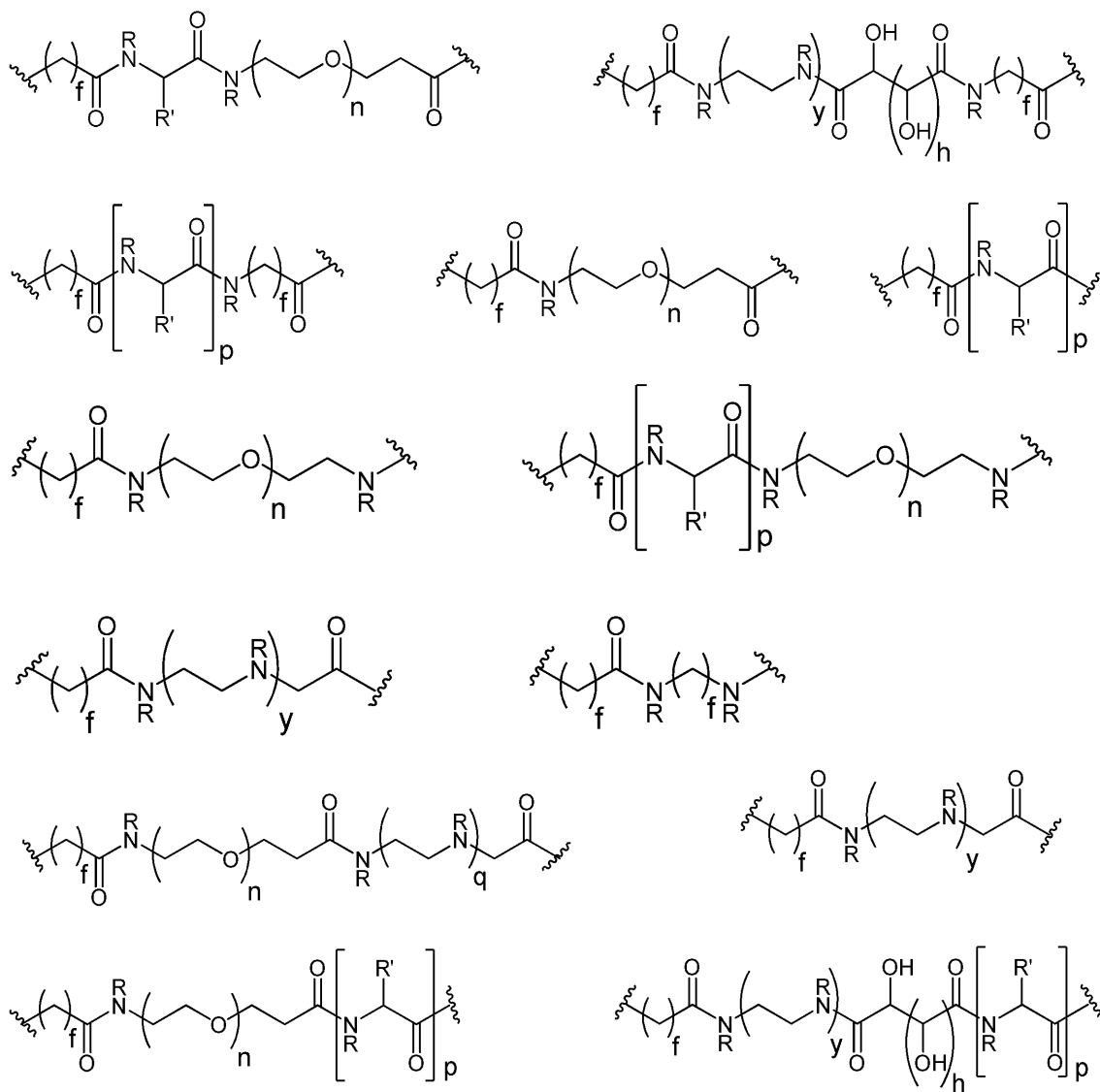
【請求項4】

前記リンカーLが、以下の構造のうちの1つから選択され、

40

50

【化 5】



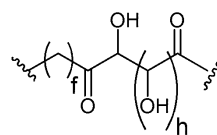
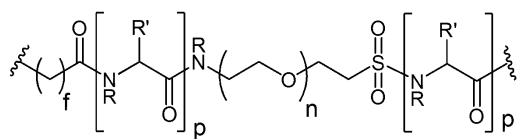
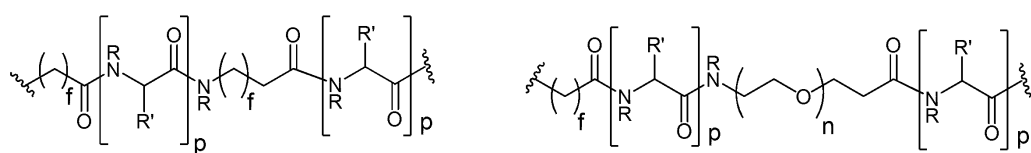
10

20

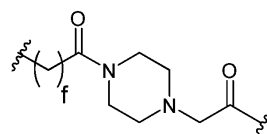
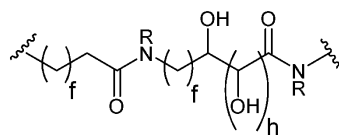
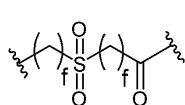
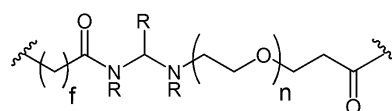
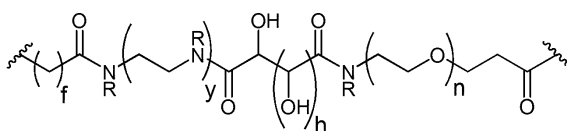
30

40

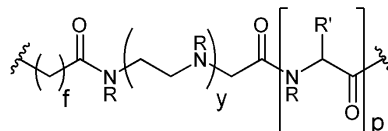
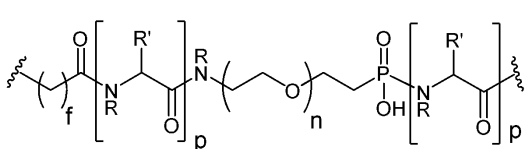
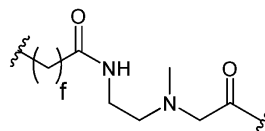
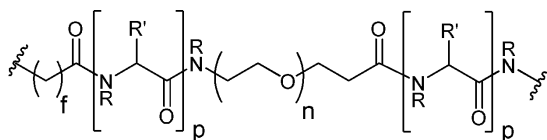
50



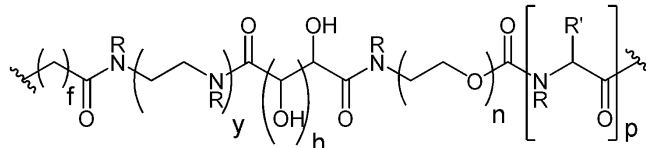
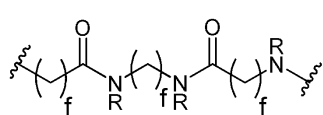
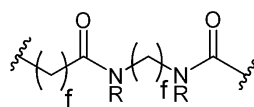
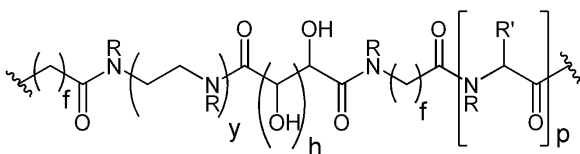
10



20

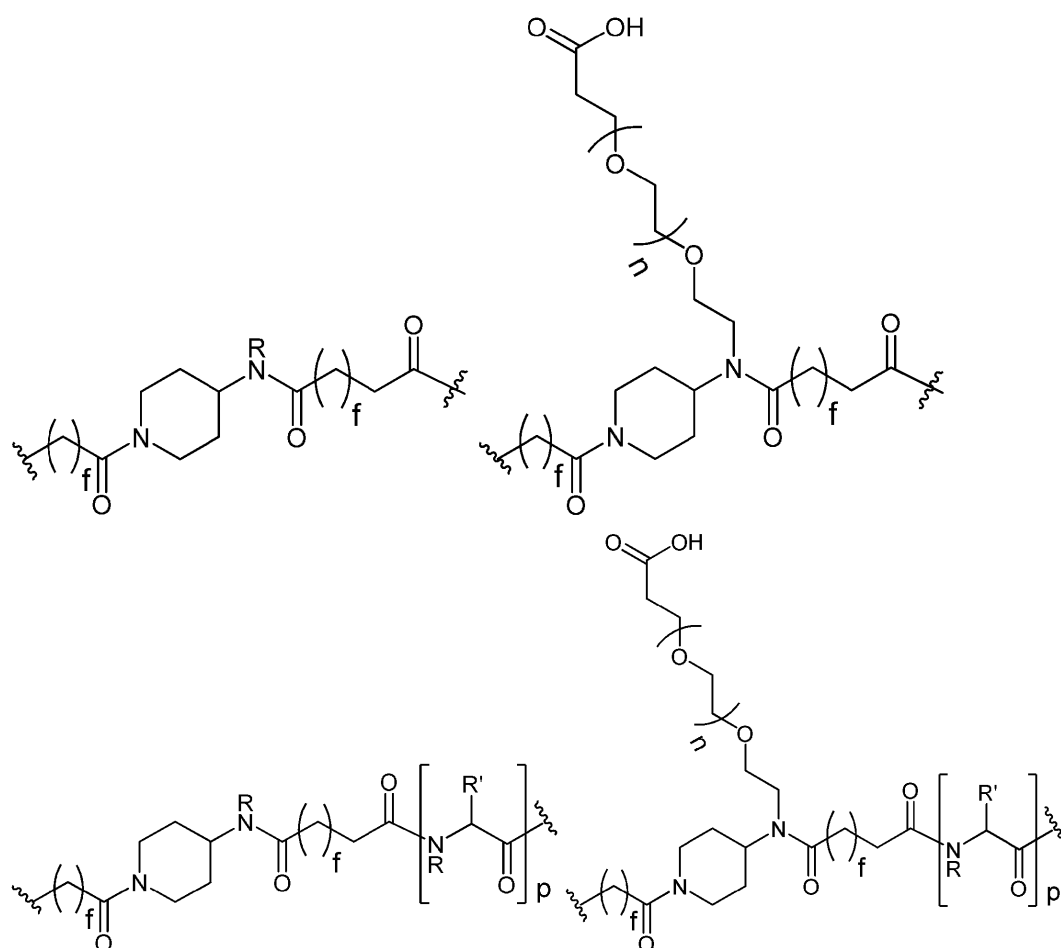


30



40

50



式中、

各 f が、独立して、0 または 1 ～ 12 の整数であり、

各 y が、独立して、0 または 1 ～ 20 の整数であり、

各 n が、独立して、0 または 1 ～ 30 の整数であり、

各 p が、独立して、0 または 1 ～ 20 の整数であり、

各 h が、独立して、0 または 1 ～ 12 の整数であり、

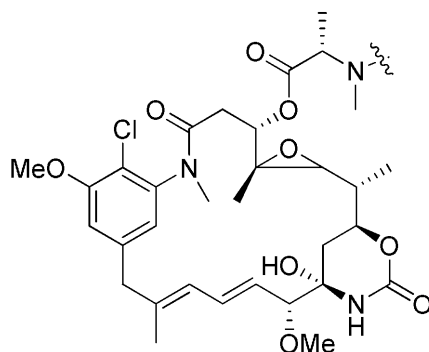
各 R が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルであり、

各 R' が、独立して、H、アミノ酸の側鎖基、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルである、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 5】

前記マイタンシノイドが、以下の式を有するものであり、

【化 6】



10

式中、
【化 7】



が、前記マイタンシノイドと L との間の接続点を示す、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

20

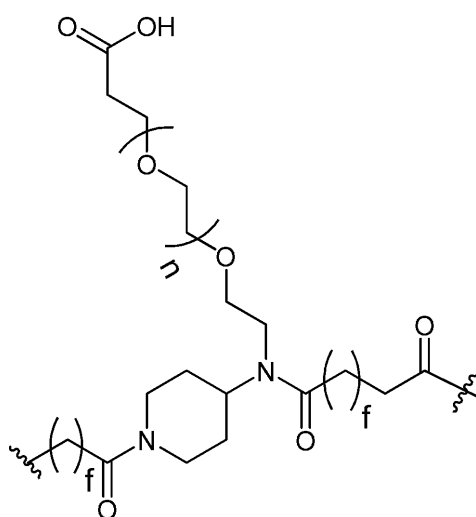
【請求項 6】

T^1 が、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 が、 $-CO-$ であり、 T^2 が、4AP であり、 V^2 が、 $-CO-$ であり、 T^3 が、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^3 が、 $-CO-$ であり、 T^4 が存在せず、 V^4 が存在しない、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 7】

前記リンカー L が、以下の構造を含み、

【化 8】



30

40

式中、

各 f が、独立して、1 ～ 12 の整数であり、

n が、1 ～ 30 の整数である、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 8】

前記抗 CD37 抗体が、IgG1 抗体である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

50

【請求項 9】

前記抗 C D 3 7 抗体が、I g G 1 カップ抗体である、請求項 8 に記載のコンジュゲート。

【請求項 10】

前記抗 C D 3 7 抗体が、式 (I I) の配列を含み、

$$X^1 (F G l y') X^2 Z^2 O X^3 Z^3 O \quad (I I)$$

式中、

F G l y' が、前記式 (I) の修飾アミノ酸残基であり、

Z^{2 0} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z^{3 0} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X¹ が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、前記配列が前記コンジュゲートの N 末端にある場合、X¹ が存在し、

X² および X³ が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸である、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 11】

前記配列が、L (F G l y') T P S R である、請求項 10 に記載のコンジュゲート。

【請求項 12】

Z^{3 0} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、

X¹ が、L、M、S、および V から選択され、

X² および X³ が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される、請求項 11 に記載のコンジュゲート。

【請求項 13】

前記修飾アミノ酸残基が、前記抗 C D 3 7 抗体の重鎖定常領域の C 末端に配置されている、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 14】

前記重鎖定常領域が、式 (I I) の配列を含み、

$$X^1 (F G l y') X^2 Z^2 O X^3 Z^3 O \quad (I I)$$

式中、

F G l y' が、前記式 (I) の修飾アミノ酸残基であり、

Z^{2 0} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z^{3 0} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X¹ が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、前記配列が前記コンジュゲートの N 末端にある場合、X¹ が存在し、

X² および X³ が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、

前記配列が、アミノ酸配列 S L S L S P G に対して C 末端である、請求項 13 に記載のコンジュゲート。

【請求項 15】

前記重鎖定常領域が、配列 S P G S L (F G l y') T P S R G S を含む、請求項 14 に記載のコンジュゲート。

【請求項 16】

Z^{3 0} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、

X¹ が、L、M、S、および V から選択され、

X² および X³ が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される、請求項 14 に記載のコンジュゲート。

【請求項 17】

前記修飾アミノ酸残基が、前記抗 C D 3 7 抗体の軽鎖定常領域中に配置されている、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 18】

10

20

30

40

50

前記軽鎖定常領域が、式 (I I) の配列を含み、

$$X^1 (F G L y') X^2 Z^2 O X^3 Z^3 O \quad (I I)$$

式中、

$F G L y'$ が、前記式 (I) の修飾アミノ酸残基であり、

$Z^2 O$ が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

$Z^3 O$ が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、前記配列が前記コンジュゲートの N 末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、

前記配列が、配列 K V D N A L に対して C 末端であり、かつ／または配列 Q S G N S Q に対して N 末端である、請求項 17 に記載のコンジュゲート。

10

【請求項 19】

前記軽鎖定常領域が、配列 K V D N A L (F G L y') T P S R Q S G N S Q を含む、請求項 18 に記載のコンジュゲート。

【請求項 20】

$Z^3 O$ が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、

X^1 が、L、M、S、および V から選択され、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される、請求項 18 に記載のコンジュゲート。

20

【請求項 21】

前記修飾アミノ酸残基が、前記抗 C D 37 抗体の重鎖 C H 1 領域中に配置されている、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 22】

前記重鎖 C H 1 領域が、式 (I I) の配列を含み、

$$X^1 (F G L y') X^2 Z^2 O X^3 Z^3 O \quad (I I)$$

式中、

$F G L y'$ が、前記式 (I) の修飾アミノ酸残基であり、

$Z^2 O$ が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

$Z^3 O$ が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、前記配列が前記コンジュゲートの N 末端にある場合、 X^1 が存在し、

30

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、

前記配列が、アミノ酸配列 S W N S G A に対して C 末端であり、かつ／またはアミノ酸配列 G V H T F P に対して N 末端である、請求項 21 に記載のコンジュゲート。

【請求項 23】

前記重鎖 C H 1 領域が、配列 S W N S G A L (F G L y') T P S R G V H T F P を含む、請求項 22 に記載のコンジュゲート。

【請求項 24】

$Z^3 O$ が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、

X^1 が、L、M、S、および V から選択され、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される、請求項 22 に記載のコンジュゲート。

40

【請求項 25】

前記修飾アミノ酸残基が、前記抗 C D 37 抗体の重鎖 C H 2 領域中に配置されている、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 26】

前記修飾アミノ酸残基が、前記抗 C D 37 抗体の重鎖 C H 3 領域中に配置されている、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

50

【請求項 27】

前記抗CD37抗体が、CD37への結合に関して、

アミノ酸配列GYNMN（配列番号3）を含むV_H CDR1、

アミノ酸配列NIDPYYG GTTYNRKF KG（配列番号4）を含むV_H CDR2、および

アミノ酸配列SVGPFDS（配列番号5）を含むV_H CDR3を含む可変重鎖（V_H）ポリペプチドと、

アミノ酸配列RASENVYSYLA（配列番号8）を含むV_L CDR1、

アミノ酸配列FAKT LAE（配列番号9）を含むV_L CDR2、および

アミノ酸配列QHHS DN PWT（配列番号10）を含むV_L CDR3を含む可変軽鎖（V_L）ポリペプチドと、を含む抗CD37抗体と競合する、請求項1～26のいずれか一項に記載のコンジュゲート。 10

【請求項 28】

前記抗CD37抗体が、

アミノ酸配列GYNMN（配列番号3）を含むV_H CDR1、

アミノ酸配列NIDPYYG GTTYNRKF KG（配列番号4）を含むV_H CDR2、および

アミノ酸配列SVGPFDS（配列番号5）を含むV_H CDR3を含む可変重鎖（V_H）ポリペプチドと、

アミノ酸配列RASENVYSYLA（配列番号8）を含むV_L CDR1、 20

アミノ酸配列FAKT LAE（配列番号9）を含むV_L CDR2、および

アミノ酸配列QHHS DN PWT（配列番号10）を含むV_L CDR3を含む可変軽鎖（V_L）ポリペプチドと、を含む、請求項27に記載のコンジュゲート。

【請求項 29】

前記抗CD37抗体が、

配列番号2に記載されているアミノ酸配列と70%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖（V_H）ポリペプチドと、

配列番号7に記載されているアミノ酸配列と70%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖（V_L）ポリペプチドと、を含む、請求項27または28に記載のコンジュゲート。 30

【請求項 30】

請求項1～29のいずれか一項に記載のコンジュゲートと、

薬学的に許容される賦形剤と、を含む、薬学的組成物。

【請求項 31】

有効量の請求項1～29のいずれか一項に記載のコンジュゲートを対象に投与することを含む、方法。

【請求項 32】

対象のがんを治療する方法であって、前記方法が、

前記対象に、治療有効量の請求項1～29のいずれか一項に記載のコンジュゲートを含む薬学的組成物を投与することを含み、前記投与が、前記対象のがんを治療するのに有効である、方法。 40

【請求項 33】

前記がんが、血液悪性腫瘍である、請求項32に記載の方法。

【請求項 34】

前記血液悪性腫瘍が、悪性B細胞であることを特徴とする、請求項33に記載の方法。

【請求項 35】

前記血液悪性腫瘍が、白血病である、請求項34に記載の方法。

【請求項 36】

前記白血病が、慢性リンパ性白血病（CLL）である、請求項35に記載の方法。

【請求項 37】

前記血液悪性腫瘍が、リンパ腫である、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 38】

前記リンパ腫が、非ホジキンリンパ腫（NHL）である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

対象において標的部位に薬物を送達する方法であって、前記方法が、

前記対象に、請求項 1～29 のいずれか一項に記載のコンジュゲートを含む薬学的組成物を投与することを含み、前記投与が、前記対象において前記標的部位に前記コンジュゲートから治療有効量の前記薬物を放出するのに有効である、方法。

【請求項 40】

ホルミルグリシン（FGly）残基を含む、抗 CD37 抗体。

10

【請求項 41】

以下の配列を含み、

$$X^1 (FGly) X^2 Z^{20} X^3 Z^{30}$$

式中、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z^{30} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、前記配列が前記抗体の N 末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸である、請求項 40 に記載の抗 CD37 抗体。

20

【請求項 42】

前記配列が、L（FGly）TPSRである、請求項 41 に記載の抗 CD37 抗体。

【請求項 43】

Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、

X^1 が、L、M、S、および V から選択され、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される、請求項 41 に記載の抗 CD37 抗体。

【請求項 44】

前記配列が、前記抗 CD37 抗体の重鎖定常領域の C 末端にある、請求項 41～43 のいずれか一項に記載の抗 CD37 抗体。

30

【請求項 45】

前記重鎖定常領域が、以下の配列を含み、

$$X^1 (FGly) X^2 Z^{20} X^3 Z^{30}$$

式中、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z^{30} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、前記配列が前記コンジュゲートの N 末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、

40

前記配列が、アミノ酸配列 SLSPG に対して C 末端である、請求項 44 に記載の抗 CD37 抗体。

【請求項 46】

前記重鎖定常領域が、配列 SPGL（FGly）TPSRGS を含む、請求項 44 に記載の抗 CD37 抗体。

【請求項 47】

Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、

X^1 が、L、M、S、および V から選択され、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される、請求項 44 に記載の抗 CD37 抗体。

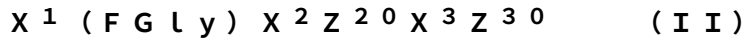
50

【請求項 48】

前記 F G l y 残基が、前記抗 C D 3 7 抗体の軽鎖定常領域中に配置されている、請求項 41～43 のいずれか一項に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 49】

前記軽鎖定常領域が、以下の配列を含み、



式中、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z^{30} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、前記配列が前記コンジュゲートの N 末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、

前記配列が、配列 K V D N A L に対して C 末端であり、かつ／または配列 Q S G N S Q に対して N 末端である、請求項 48 に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 50】

前記軽鎖定常領域が、配列 K V D N A L (F G l y) T P S R Q S G N S Q を含む、請求項 49 に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 51】

Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、

X^1 が、L、M、S、および V から選択され、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される、請求項 49 に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 52】

前記 F G l y 残基が、前記抗 C D 3 7 抗体の重鎖 C H 1 領域中に配置されている、請求項 41～43 のいずれか一項に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 53】

前記重鎖 C H 1 領域が、以下の配列を含み、



式中、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z^{30} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、前記配列が前記コンジュゲートの N 末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、

前記配列が、アミノ酸配列 S W N S G A に対して C 末端であり、かつ／またはアミノ酸配列 G V H T F P に対して N 末端である、請求項 52 に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 54】

前記重鎖 C H 1 領域が、配列 S W N S G A L (F G l y) T P S R G V H T F P を含む、請求項 53 に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 55】

Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、

X^1 が、L、M、S、および V から選択され、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される、請求項 53 に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 56】

前記 F G l y 残基が、前記抗 C D 3 7 抗体の重鎖 C H 2 領域中に配置されている、請求項 41～43 のいずれか一項に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 57】

前記 F G L y 残基が、前記抗 C D 3 7 抗体の重鎖 C H 3 領域中に配置されている、請求項 4 1 ～ 4 3 のいずれか一項に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 5 8】

前記抗 C D 3 7 抗体が、C D 3 7 への結合に関して、

アミノ酸配列 G Y N M N (配列番号 3) を含む V_H C D R 1、

アミノ酸配列 N I D P Y Y G G T T Y N R K F K G (配列番号 4) を含む V_H C D R 2、および

アミノ酸配列 S V G P F D S (配列番号 5) を含む V_H C D R 3 を含む可変重鎖 (V_H) ポリペプチドと、

アミノ酸配列 R A S E N V Y S Y L A (配列番号 8) を含む V_L C D R 1、

アミノ酸配列 F A K T L A E (配列番号 9) を含む V_L C D R 2、および

アミノ酸配列 Q H H S D N P W T (配列番号 10) を含む V_L C D R 3 を含む可変軽鎖 (V_L) ポリペプチドと、を含む抗 C D 3 7 抗体と競合する、請求項 4 0 ～ 5 7 のいずれか一項に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 5 9】

前記抗 C D 3 7 抗体が、

アミノ酸配列 G Y N M N (配列番号 3) を含む V_H C D R 1、

アミノ酸配列 N I D P Y Y G G T T Y N R K F K G (配列番号 4) を含む V_H C D R 2、および

アミノ酸配列 S V G P F D S (配列番号 5) を含む V_H C D R 3 を含む可変重鎖 (V_H) ポリペプチドと、

アミノ酸配列 R A S E N V Y S Y L A (配列番号 8) を含む V_L C D R 1、

アミノ酸配列 F A K T L A E (配列番号 9) を含む V_L C D R 2、および

アミノ酸配列 Q H H S D N P W T (配列番号 10) を含む V_L C D R 3 を含む可変軽鎖 (V_L) ポリペプチドと、を含む、請求項 5 8 に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 6 0】

前記抗体が、

配列番号 2 に記載されているアミノ酸配列と 7 0 % 以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖 (V_H) ポリペプチドと、

配列番号 7 に記載されているアミノ酸配列と 7 0 % 以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖 (V_L) ポリペプチドと、を含む、請求項 5 8 または 5 9 に記載の抗 C D 3 7 抗体。

【請求項 6 1】

請求項 4 0 ～ 6 0 のいずれか一項に記載の抗 C D 3 7 抗体を含む、細胞。

【請求項 6 2】

請求項 4 0 ～ 6 0 のいずれか一項に記載の抗 C D 3 7 抗体をコードする核酸。

【請求項 6 3】

請求項 6 2 に記載の核酸を含む、発現ベクター。

【請求項 6 4】

請求項 6 2 に記載の核酸または 6 3 に記載の発現ベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 6 5】

請求項 4 0 ～ 6 0 のいずれか一項に記載の抗体を作製する方法であって、細胞が前記抗体を発現するのに好適な条件下で、請求項 6 3 に記載の発現ベクターを含む細胞を培養することを含み、前記抗体が産生される、方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年10月31日に出願された米国仮出願第62／928，939号の優先権の利益を主張し、その開示は参照によって本明細書に組み込まれる。

【 0 0 0 2 】

タンパク質－小分子療法コンジュゲートの分野は、大幅に進歩し、今後数年間でより多くの薬物を提供することを期待して、多くの臨床的に有益な薬物を提供している。タンパク質－コンジュゲート療法薬は、例えば、特異性、機能の多様性、および比較的低いオフターゲット活性に起因して、いくつかの利点を提供することができ、生じる副作用は、より少ない。タンパク質の化学修飾は、これらの利点をより強力に、安定的に、または多様にすることによって、これらの利点を拡張し得る。

【 0 0 0 3 】

いくつかの標準的な化学的転換は、タンパク質に対して翻訳後修飾を作成し、操作するために一般的に使用される。特定のアミノ酸の側鎖を選択的に修飾することができる方法が、いくつか存在する。例えば、カルボン酸側鎖（アスパルテートおよびグルタメート）は、水溶性カルボジイミド試薬による初期活性化およびアミンによるその後の反応によって標的化され得る。同様に、リジンは、活性化したエステルまたはイソチオシアネートの使用を通じて標的化することができ、システインチオールは、マレイミドおよびα-ハロ-カルボニルを用いて標的化することができる。

【 0 0 0 4 】

化学的に変化したタンパク質療法薬または試薬の作製の1つの重大な障害は、生物学的に活性な均質な形態でのタンパク質の産生である。ポリペプチドに対する薬物または検出可能な標識のコンジュゲート化は、制御することが困難な場合があり、接続した薬物分子の数および化学的なコンジュゲート化の位置が異なるコンジュゲートの不均一な混合物を生じる。いくつかの例において、合成有機化学のツールを使用して、コンジュゲート化の部位および／またはポリペプチドに対してコンジュゲート化された薬物もしくは検出可能な標識を制御して、ポリペプチドに対する化学結合の正確かつ選択的な形成を指示することが望ましい場合がある。

【 0 0 0 5 】

CD37は、テトラスパニンファミリーとしても知られる、膜貫通4スーパーファミリーのメンバーである。CD37は、インテグリンおよび他の膜貫通4スーパーファミリータンパク質と複合体を形成することが知られている、細胞表面糖タンパク質である。CD37は、正常な成熟B細胞上で選択的に発現し、ほとんどのB細胞悪性腫瘍によって発現する。CD37抗原は、B細胞中で豊富に発現するが、形質細胞および正常な幹細胞には存在しない。したがって、CD37は、再発性B細胞由来悪性腫瘍、例えば、B細胞慢性リンパ性白血病（CLL）、有毛細胞白血病（HCL）、およびB細胞非ホジキンリンパ腫（NHL）を含む、B細胞悪性腫瘍を有する患者における好適な治療標的である。

【発明の概要】

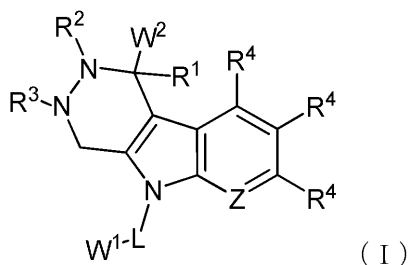
【 0 0 0 6 】

本開示は、抗CD37抗体－マイタンシンコンジュゲート構造を提供する。本開示はまた、そのようなコンジュゲートを産生する方法、およびそのコンジュゲートを使用する方法を包含する。

【 0 0 0 7 】

本開示の態様は、式（I）の側鎖を有する少なくとも1つの修飾アミノ酸残基を有する、コンジュゲートであって、

【化1】



10

20

30

40

50

式中、

Zが、 CR^4 またはNであり、

R^1 が、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択され、

R^2 および R^3 が、それぞれ独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択されるか、または R^2 および R^3 が、任意選択により環状に連結されて、5員もしくは6員のヘテロシクリルを形成し、

各 R^4 が、独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択され、

Lが、 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$ を含むリンカーであり、式中、a、b、cおよびdが、それぞれ独立して0または1であり、a、b、cおよびdの合計が、1~4であり、

T^1 、 T^2 、 T^3 および T^4 が、それぞれ独立して、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_h-$ 、ピペリジン-4-アミノ(4AP)、アセタール基、ヒドラジン、ジスルフィド、およびエステルから選択され、式中、EDAが、エチレンジアミン部分であり、PEGが、ポリエチレングリコールまたは修飾ポリエチレングリコールであり、AAが、アミノ酸残基であり、式中、wが、1~20の整数であり、nが、1~30の整数であり、pが、1~20の整数であり、hが、1~12の整数であり、

V^1 、 V^2 、 V^3 および V^4 が、それぞれ独立して、共有結合、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 、および $-P(O)OH-$ からなる群から選択され、式中、qが、1~6の整数であり、

各 R^{13} が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールから選択され、

各 R^{15} が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択され、

W^1 が、マイタンシノイドであり、

W^2 が、抗CD37抗体である、コンジュゲートを含む。

[0008]

いくつかの例において、コンジュゲートは、以下のものを含み、ここで、

T^1 が、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルおよび置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルから選択され、 T^2 、 T^3 および T^4 が、それぞれ独立して、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_h-$ 、4-アミノ-ピペリジン(4AP)、アセタール基、ヒドラジン、およびエステルから選

10

20

30

40

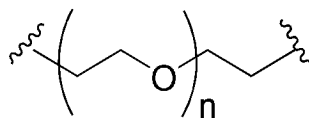
50

択され、

V^1 、 V^2 、 V^3 および V^4 が、それぞれ独立して、共有結合、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 、および $-P(O)OH-$ からなる群から選択され、

(PEG) $_n$ が、

【化 2】

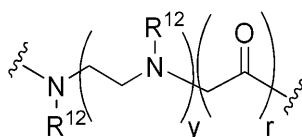


10

であり、式中、 n が、1～30の整数であり、

EDA が、以下の構造

【化 3】

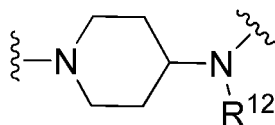


20

を有するエチレンジアミン部分であり、式中、 y が、1～6の整数であり、 r が、0または1であり、

4-アミノ-ピペリジン (4AP) が、

【化 4】



30

であり、

各 R^{12} および R^{15} が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アリール、および置換アリールから選択され、任意の2つの隣接する R^{12} 基が、環状に連結してピペラジニル環を形成してもよく、

R^{13} が、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールから選択される。

【0009】

40

いくつかの例において、コンジュゲートは、以下のものを含み、ここで、 T^1 、 T^2 、 T^3 、および T^4 、ならびに V^1 、 V^2 、 V^3 、および V^4 が、以下の表から選択される。

【表 1】

T ¹	V ¹	T ²	V ²	T ³	V ³	T ⁴	V ⁴
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-NR ¹⁵ -	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-NR ¹⁵ -	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(EDA) _w	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-SO ₂ -	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	置換(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-SO ₂ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹⁵ -	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-P(O)OH-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	-	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	-	-CO-	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	4AP	-CO-	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	4AP	-CO-	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	-	-

10

20

【0010】

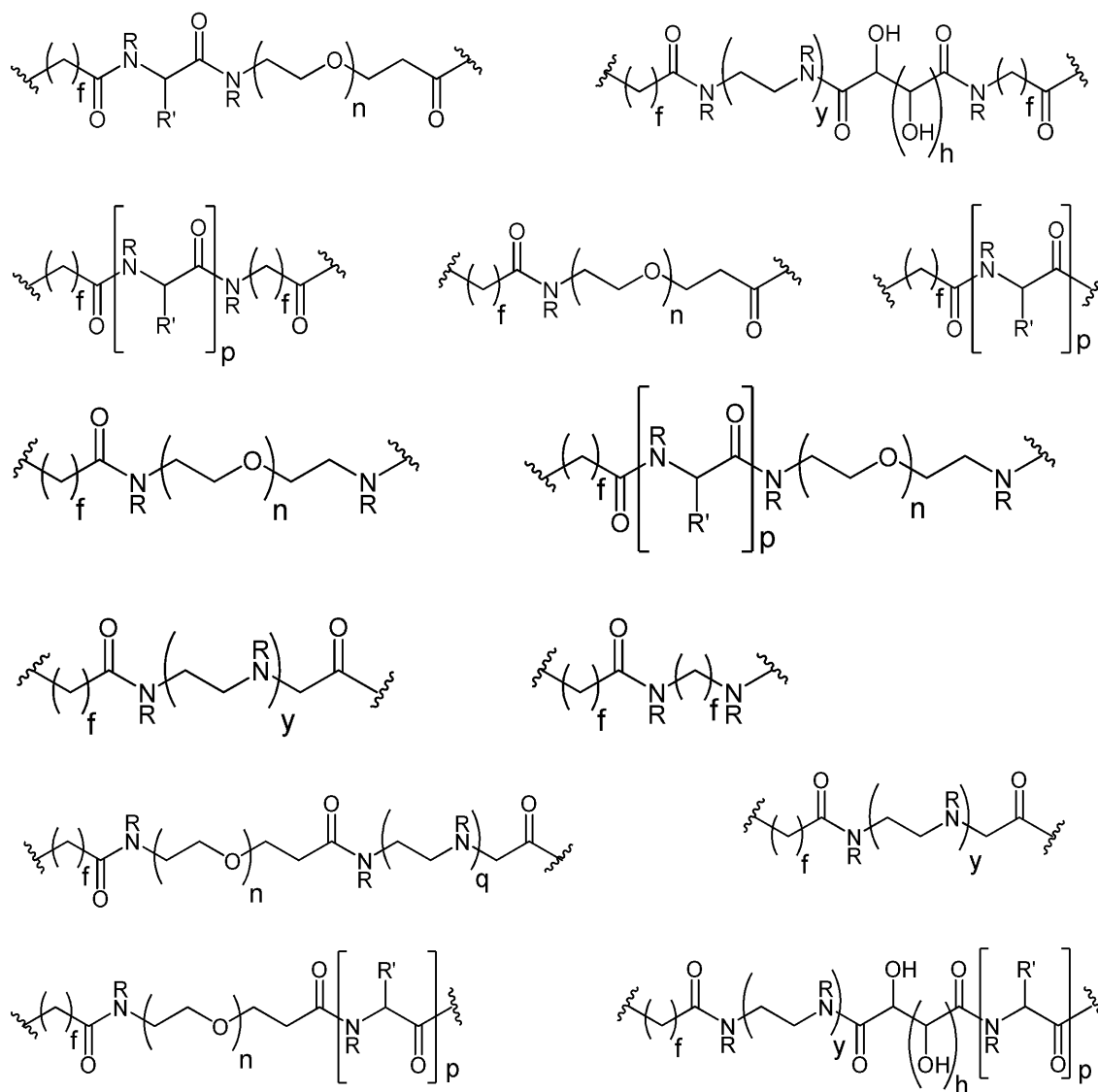
いくつかの例において、コンジュゲートは、以下のものを含み、ここで、リンカーLが、以下の構造のうちの1つから選択され、

30

40

50

【化 5】



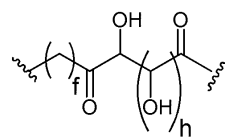
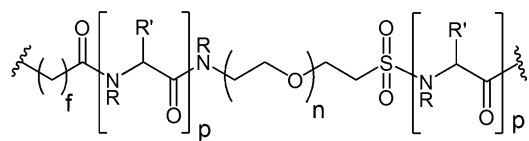
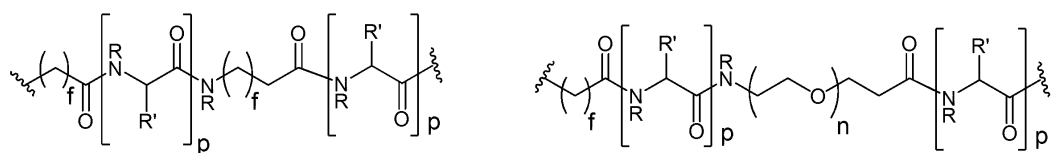
10

20

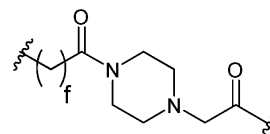
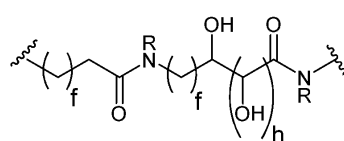
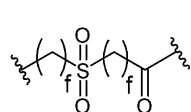
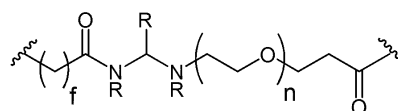
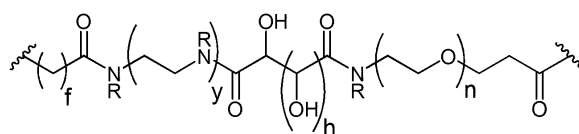
30

40

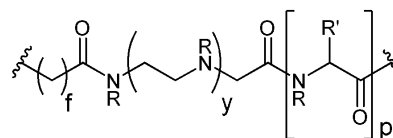
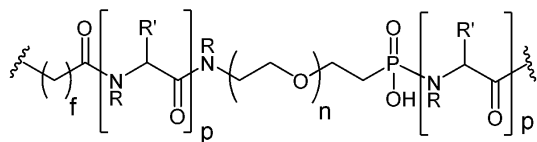
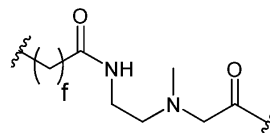
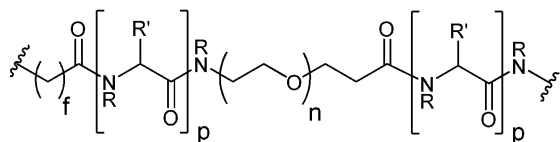
50



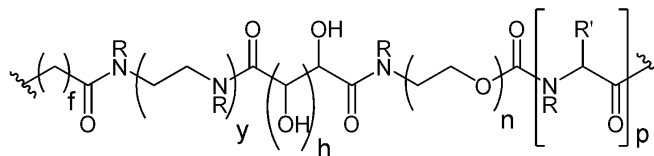
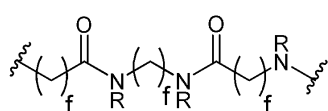
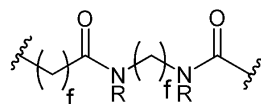
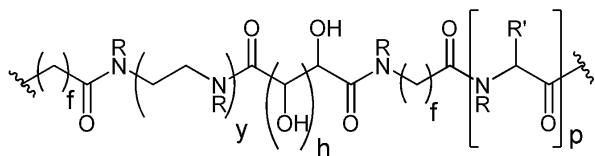
10



20

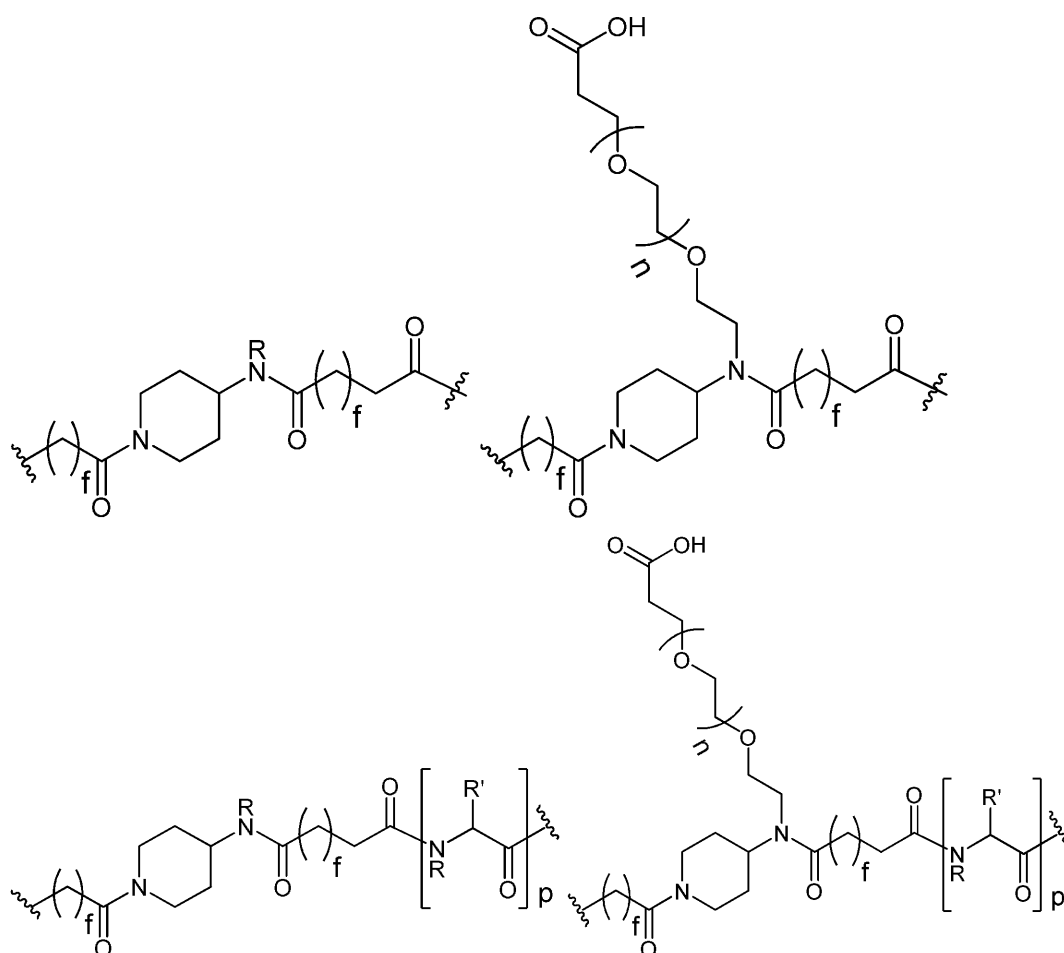


30



40

50



10

20

式中、

各 f が、独立して、0 または 1 ～ 12 の整数であり、

各 y が、独立して、0 または 1 ～ 20 の整数であり、

各 n が、独立して、0 または 1 ～ 30 の整数であり、

各 p が、独立して、0 または 1 ～ 20 の整数であり、

各 h が、独立して、0 または 1 ～ 12 の整数であり、

各 R が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルであり、

30

40

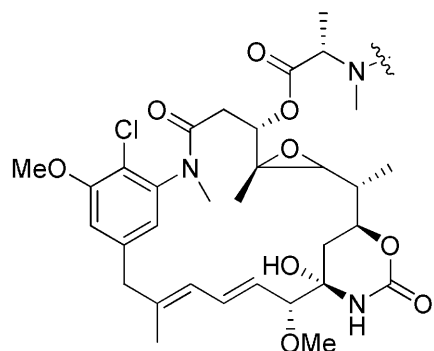
各 R' が、独立して、H、アミノ酸の側鎖基、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルである。

【0011】

いくつかの例において、マイタンシノイドが、以下の式を有するものであり、

50

【化 6】



式中、

【化 7】



が、マイタンシノイドとLとの間の接続点を示す。

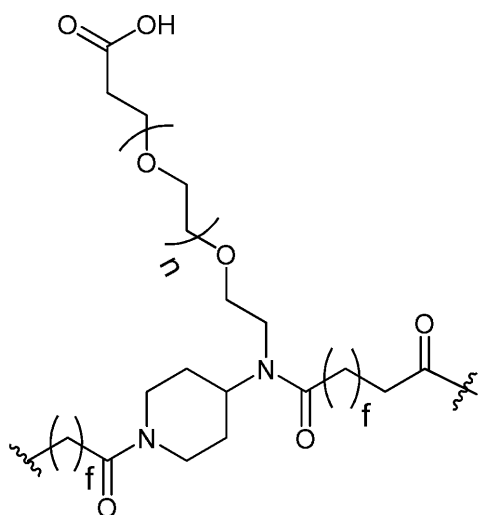
【 0 0 1 2 】

いくつかの例において、コンジュゲートは、以下のものを含み、ここで、 T^1 が、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 が、 $-CO-$ であり、 T^2 が、 $4AP$ であり、 V^2 が、 $-CO-$ であり、 T^3 が、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^3 が、 $-CO-$ であり、 T^4 が存在せず、 V^4 が存在しない。

【 0 0 1 3 】

いくつかの例において、リンカー L は、以下の構造を含み、

【化 8】



式中、

各 f が、独立して、 $1 \sim 12$ の整数であり、 n が、 $1 \sim 30$ の整数である。

【 0 0 1 4 】

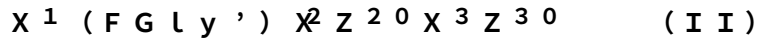
いくつかの例において、抗CD37抗体は、IgG1抗体である。

【 0 0 1 5 】

いくつかの例において、抗CD37抗体は、IgG1カッパ抗体である。

【 0 0 1 6 】

いくつかの例において、抗CD37抗体は、式(II)の配列を含み、



式中、

FGly'が、式(I)の修飾アミノ酸残基であり、

Z²が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z³が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X¹が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、配列がコンジュゲートのN末端にある場合、X¹が存在し、X²およびX³が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸である。

【0017】

いくつかの例において、配列は、L(FGly')TPSRである。

【0018】

いくつかの例において、コンジュゲートは、以下のものを含み、ここで、

Z³が、R、K、H、A、G、L、V、I、およびPから選択され、

X¹が、L、M、S、およびVから選択され、

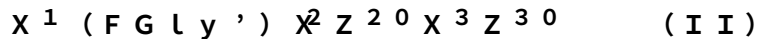
X²およびX³が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、およびCから選択される。

【0019】

いくつかの例において、修飾アミノ酸残基は、抗CD37抗体の重鎖定常領域のC末端に配置されている。

【0020】

いくつかの例において、重鎖定常領域は、式(II)の配列を含み、



式中、

FGly'が、式(I)の修飾アミノ酸残基であり、

Z²が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z³が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X¹が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、配列がコンジュゲートのN末端にある場合、X¹が存在し、

X²およびX³が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、

配列が、アミノ酸配列SLSLSPGに対してC末端である。

【0021】

いくつかの例において、重鎖定常領域は、配列SPGSL(FGly')TPSRGSを含む。

【0022】

いくつかの例において、コンジュゲートは、以下のものを含み、ここで、

Z³が、R、K、H、A、G、L、V、I、およびPから選択され、

X¹が、L、M、S、およびVから選択され、

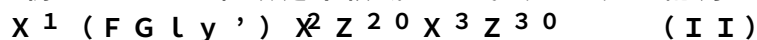
X²およびX³が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、およびCから選択される。

【0023】

いくつかの例において、修飾アミノ酸残基は、抗CD37抗体の軽鎖定常領域中に配置されている。

【0024】

いくつかの例において、軽鎖定常領域は、式(II)の配列を含み、



式中、

FGly'が、式(I)の修飾アミノ酸残基であり、

Z²が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z³が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X¹が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、配列がコンジュゲートのN末端にある場合、X¹が存在し、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、
配列が、配列 K V D N A L に対して C 末端であり、かつ／または配列 Q S G N S Q に対して N 末端である。

【0025】

いくつかの例において、軽鎖定常領域は、配列 K V D N A L (F G l y ') T P S R Q S G N S Q を含む。

【0026】

いくつかの例において、コンジュゲートは、以下のものを含み、ここで、
 Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、
 X^1 が、L、M、S、および V から選択され、
 X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される。

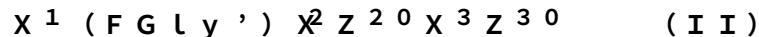
10

【0027】

いくつかの例において、修飾アミノ酸残基が、抗 C D 3 7 抗体の重鎖 C H 1 領域中に配置されている。

【0028】

いくつかの例において、重鎖 C H 1 領域は、式 (I I) の配列を含み、



式中、

F G l y ' が、式 (I) の修飾アミノ酸残基であり、
 Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、
 Z^{30} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、
 X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、配列がコンジュゲートの N 末端にある場合、 X^1 が存在し、
 X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、
配列が、アミノ酸配列 S W N S G A に対して C 末端であり、かつ／またはアミノ酸配列 G V H T F P に対して N 末端である。

20

【0029】

いくつかの例において、重鎖 C H 1 領域は、配列 S W N S G A L (F G l y ') T P S R G V H T F P を含む。

【0030】

いくつかの例において、コンジュゲートは、以下のものを含み、ここで、
 Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、
 X^1 が、L、M、S、および V から選択され、
 X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される。

30

【0031】

いくつかの例において、修飾アミノ酸残基が、抗 C D 3 7 抗体の重鎖 C H 2 領域中に配置されている。

【0032】

いくつかの例において、修飾アミノ酸残基が、抗 C D 3 7 抗体の重鎖 C H 3 領域中に配置されている。

40

【0033】

いくつかの例において、抗 C D 3 7 抗体は、C D 3 7 への結合に関して、

アミノ酸配列 G Y N M N (配列番号 3) を含む V_H C D R 1、

アミノ酸配列 N I D P Y Y G G T T Y N R K F K G (配列番号 4) を含む V_H C D R 2、および

アミノ酸配列 S V G P F D S (配列番号 5) を含む V_H C D R 3 を含む可変重鎖 (V_H) ポリペプチドと、

アミノ酸配列 R A S E N V Y S Y L A (配列番号 8) を含む V_L C D R 1、

アミノ酸配列 F A K T L A E (配列番号 9) を含む V_L C D R 2、および

アミノ酸配列 Q H H S D N P W T (配列番号 10) を含む V_L C D R 3 を含む可変

50

軽鎖（ V_L ）ポリペプチドと、を含む抗CD37抗体と競合する。

【0034】

いくつかの例において、抗CD37抗体は、

アミノ酸配列GYNMN（配列番号3）を含む V_H CDR1、

アミノ酸配列NIDPYYG GTTYNRKF KG（配列番号4）を含む V_H CDR2、および

アミノ酸配列SVGPFDS（配列番号5）を含む V_H CDR3を含む可変重鎖（ V_H ）ポリペプチドと、

アミノ酸配列RASENVYSYLA（配列番号8）を含む V_L CDR1、

アミノ酸配列FAKT LAE（配列番号9）を含む V_L CDR2、および

アミノ酸配列QHHS DNPWT（配列番号10）を含む V_L CDR3を含む可変軽鎖（ V_L ）ポリペプチドと、を含む。

【0035】

いくつかの例において、抗CD37抗体は、

配列番号2に記載されているアミノ酸配列と70%以上、75%以上、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上、99%以上、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖（ V_H ）ポリペプチドと、

配列番号7に記載されているアミノ酸配列と70%以上、75%以上、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上、99%以上、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖（ V_L ）ポリペプチドと、を含む。

【0036】

本開示の態様は、本開示によるコンジュゲートと、薬学的に許容される賦形剤と、を含む、薬学的組成物を含む。

【0037】

本開示の態様は、有効量の本開示によるコンジュゲートを対象に投与することを含む、方法を含む。

【0038】

本開示の態様は、対象のがんを治療する方法を含む。本方法は、対象に、治療有効量の本開示によるコンジュゲートを含む薬学的組成物を投与することを含み、投与が、対象のがんを治療するのに有効である。

【0039】

いくつかの例において、がんは、血液悪性腫瘍である。

【0040】

いくつかの例において、血液悪性腫瘍は、悪性B細胞であることを特徴とする。いくつかの例において、悪性B細胞であることを特徴とする血液悪性腫瘍は、白血病である。いくつかの例において、白血病は、慢性リンパ性白血病（CLL）である。

【0041】

いくつかの例において、血液悪性腫瘍は、リンパ腫である。いくつかの例において、リンパ腫は、非ホジキンリンパ腫（NHL）である。

【0042】

本開示の態様は、対象において標的部位に薬物を送達する方法を含む。本方法は、対象に、本開示によるコンジュゲートを含む薬学的組成物を投与することを含み、投与が、対象において標的部位にコンジュゲートから治療有効量の薬物を放出するのに有効である。

【0043】

本開示の態様は、ホルミルグリシン（FGly）残基を含む、抗CD37抗体を含む。

【0044】

いくつかの例において、抗CD37抗体は、以下の配列を含み、

$$X^1 (FGly) X^2 Z^{20} X^3 Z^{30}$$

式中、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z^{30} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、
 X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってよく、但し、配列が抗体のN末端にある場合、 X^1 が存在し、
 X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸である。

【0045】

いくつかの例において、配列は、L (F G l y) T P S R である。

【0046】

いくつかの例において、抗CD37抗体は、以下のものを含み、ここで、
 Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、およびPから選択され、
 X^1 が、L、M、S、およびVから選択され、
 X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、およびCから選択される。

10

【0047】

いくつかの例において、配列は、抗CD37抗体の重鎖定常領域のC末端にある。

【0048】

いくつかの例において、重鎖定常領域は、以下の配列を含み、

X^1 (F G l y) X^2 Z^{20} X^3 Z^{30}

式中、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、
 Z^{30} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、
 X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってよく、但し、配列がコンジュゲートのN末端にある場合、 X^1 が存在し、
 X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、
 配列が、アミノ酸配列 S L S L S P G に対してC末端である。

20

【0049】

いくつかの例において、重鎖定常領域は、配列 S P G S L (F G l y) T P S R G S を含む。

【0050】

いくつかの例において、抗CD37抗体は、以下のものを含み、ここで、
 Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、およびPから選択され、
 X^1 が、L、M、S、およびVから選択され、
 X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、およびCから選択される。

30

【0051】

いくつかの例において、F G l y 残基は、抗CD37抗体の軽鎖定常領域中に配置されている。

【0052】

いくつかの例において、軽鎖定常領域は、以下の配列を含み、

X^1 (F G l y) X^2 Z^{20} X^3 Z^{30} (I I)

式中、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、
 Z^{30} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、
 X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってよく、但し、配列がコンジュゲートのN末端にある場合、 X^1 が存在し、
 X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、
 配列が、配列 K V D N A L に対してC末端であり、かつ／または配列 Q S G N S Q に対してN末端である。

40

【0053】

いくつかの例において、軽鎖定常領域は、配列 K V D N A L (F G l y) T P S R Q S G N S Q を含む。

【0054】

いくつかの例において、抗CD37抗体は、以下のものを含み、ここで、

50

Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、
 X^1 が、L、M、S、および V から選択され、
 X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される。
 【0055】

いくつかの例において、FGly 残基は、抗 CD37 抗体の重鎖 CH1 領域中に配置されている。

【0056】

いくつかの例において、重鎖 CH1 領域は、以下の配列を含み、

X^1 (FGly) $X^2 Z^{20} X^3 Z^{30}$

式中、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり、

Z^{30} が、塩基性アミノ酸または脂肪族アミノ酸であり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸であってもよく、但し、配列がコンジュゲートの N 末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、

配列が、アミノ酸配列 SWNSGA に対して C 末端であり、かつ／またはアミノ酸配列 GVHTFP に対して N 末端である。

【0057】

いくつかの例において、重鎖 CH1 領域は、配列 SWNSGAL (FGly) TPSRGVHTFP を含む。

【0058】

いくつかの例において、抗 CD37 抗体は、以下のものを含み、ここで、

Z^{30} が、R、K、H、A、G、L、V、I、および P から選択され、

X^1 が、L、M、S、および V から選択され、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、S、T、A、V、G、および C から選択される。

【0059】

いくつかの例において、FGly 残基は、抗 CD37 抗体の重鎖 CH2 領域中に配置されている。

【0060】

いくつかの例において、FGly 残基は、抗 CD37 抗体の重鎖 CH3 領域中に配置されている。

【0061】

いくつかの例において、抗 CD37 抗体は、CD37 への結合に関して、

アミノ酸配列 GYNMN (配列番号 3) を含む V_H CDR1、

アミノ酸配列 NIDPYYGGTTYNRKFKG (配列番号 4) を含む V_H CDR2、および

アミノ酸配列 SVGPFDS (配列番号 5) を含む V_H CDR3 を含む可変重鎖 (V_H) ポリペプチドと、

アミノ酸配列 RASENVYSYLA (配列番号 8) を含む V_L CDR1、

アミノ酸配列 FAKTLAE (配列番号 9) を含む V_L CDR2、および

アミノ酸配列 QHHS DNPWT (配列番号 10) を含む V_L CDR3 を含む可変軽鎖 (V_L) ポリペプチドと、を含む抗 CD37 抗体と競合する。

【0062】

いくつかの例において、抗 CD37 抗体は、

アミノ酸配列 GYNMN (配列番号 3) を含む V_H CDR1、

アミノ酸配列 NIDPYYGGTTYNRKFKG (配列番号 4) を含む V_H CDR2、および

アミノ酸配列 SVGPFDS (配列番号 5) を含む V_H CDR3 を含む可変重鎖 (V_H) ポリペプチドと、

アミノ酸配列 RASENVYSYLA (配列番号 8) を含む V_L CDR1、

10

20

30

40

50

アミノ酸配列 F A K T L A E（配列番号 9）を含む V_L C D R 2、および
アミノ酸配列 Q H H S D N P W T（配列番号 10）を含む V_L C D R 3 を含む可変
軽鎖（V_L）ポリペプチドと、を含む。

【0063】

いくつかの例において、抗 C D 3 7 抗体は、

配列番号 2 に記載されているアミノ酸配列と 70 % 以上、75 % 以上、80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上、95 % 以上、99 % 以上、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖（V_H）ポリペプチドと、

配列番号 7 に記載されているアミノ酸配列と 70 % 以上、75 % 以上、80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上、95 % 以上、99 % 以上、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖（V_L）ポリペプチドと、を含む。

10

【0064】

本開示の態様は、本開示による抗 C D 3 7 抗体を含む、細胞を含む。

【0065】

本開示の態様は、本開示による抗 C D 3 7 抗体をコードする核酸を含む。本開示の態様はまた、核酸を含む、発現ベクターを含む。本開示の態様はまた、核酸または発現ベクターを含む、宿主細胞を含む。

【0066】

本開示の態様は、本開示の抗 C D 3 7 抗体を作製する方法を含む。かかる方法は、細胞が抗体を発現するのに好適な条件下で、本開示の発現ベクターを含む細胞を培養することを含み、抗体が産生される。

20

【図面の簡単な説明】

【0067】

【図 1】図 1 のパネル A は、標準的な分子生物学的技術を使用して、抗体骨格に沿った所望の位置に挿入されたホルミルグリシン生成酵素（F G E）認識配列を示す。発現時に、真核細胞に対して内因性である F G E は、コンセンサス配列内の C y s からホルミルグリシン残基（F G l y）への変換を触媒する。図 1 のパネル B は、ヒドラジノーイソピクテースペングラー（H I P S）リンカーおよびペイロードと反応し、部位特異的にコンジュゲート化した A D C を生成する、アルデヒド部分（抗体当たり 2 個）を保有する抗体を示す。図 1 のパネル C は、中間体ヒドラゾニウムイオン、続いて求核性インドールによる分子内アルキル化を介して進行し、安定した C - C 結合を生成する、H I P S 化学を示す。

30

【図 2】本開示の実施形態による、H I P S - 4 A P リンカーに接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端（C T）でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 C D 3 7 抗体の疎水性相互作用カラム（H I C）トレースを示す。

【図 3】本開示の実施形態による、H I P S - 4 A P リンカーに接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端（C T）でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 C D 3 7 抗体の分析サイズ排除クロマトグラフィー（S E C）分析のグラフを示す。

【図 4】本開示の実施形態による、D a u d i 細胞中の H I P S - 4 A P リンカー（A D C）に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 C D 3 7 抗体のインビトロ細胞傷害性データを示す示す。

40

【図 5】本開示の実施形態による、R L 細胞中の H I P S - 4 A P リンカー（A D C）に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 C D 3 7 抗体のインビトロ細胞傷害性データを示す示す。

【図 6】本開示の実施形態による、R a m o s - R A 細胞中の H I P S - 4 A P リンカー（A D C）に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 C D 3 7 抗体のインビトロ細胞傷害性データを示す示す。

【図 7】本開示の実施形態による、W S U - D L C L 2 細胞中の H I P S - 4 A P リンカー（A D C）に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 C D 3 7 抗体のインビトロ細胞傷害性データを示す示す。

50

【図 8】本開示の実施形態による、Granta 519 細胞中の HIPS-4AP リンカー (ADC) に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 CD37 抗体のインビトロ細胞傷害性データを示す。

【図 9】本開示の実施形態による、BJAB 細胞中の HIPS-4AP リンカー (ADC) に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 CD37 抗体のインビトロ細胞傷害性データを示す。

【図 10】本開示の実施形態による、DoHH-2 細胞中の HIPS-4AP リンカー (ADC) に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 CD37 抗体のインビトロ細胞傷害性データを示す。

【図 11】本開示の実施形態による、SU-DHL-4 細胞中の HIPS-4AP リンカー (ADC) に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 CD37 抗体のインビトロ細胞傷害性データを示す。

【図 12】本開示の実施形態による、Raji 細胞中の HIPS-4AP リンカー (ADC) に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 CD37 抗体のインビトロ細胞傷害性データを示す。

【図 13】本開示の実施形態による、DoHH-2 異種移植モデル中の HIPS-4AP リンカー (ADC) に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 CD37 抗体のインビボ有効性を示すデータを示す。

【図 14】本開示の実施形態による、Granta 519 異種移植モデル中の HIPS-4AP リンカー (ADC) に接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖 C 末端でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗 CD37 抗体のインビボ有効性を示すデータを示す。

【図 15 A】アルデヒドタグ化 Ig ポリペプチドの生成のための可能性のある修飾部位を示すサイトマップを示す。上側配列は、IgG1 軽鎖ポリペプチド (配列番号 48) の保存領域のアミノ酸配列であり、Ig 軽鎖中の可能性のある修飾部位を示し、下側配列は、Ig 重鎖ポリペプチド (配列番号 43、GenBank アクセッション番号 AAG00909) の保存領域のアミノ酸配列であり、Ig 重鎖中の可能性のある修飾部位を示す。重鎖および軽鎖の番号付けは、全長重鎖および軽鎖に基づく。

【図 15 B】IgG1 (配列番号 43)、IgG2 (配列番号 44)、IgG3 (配列番号 45)、IgG4 (配列番号 46)、および IgA (配列番号 47) の免疫グロブリン重鎖定常領域のアラインメントを示し、アルデヒドタグが免疫グロブリン重鎖中に提供され得る修飾部位を示している。重鎖および軽鎖の番号付けは、全長重鎖および軽鎖に基づく。

【図 15 C】免疫グロブリン軽鎖定常領域 (上から下まで配列番号 48~52) のアラインメントを示し、アルデヒドタグが免疫グロブリン軽鎖中に提供され得る修飾部位を示している。

【0068】

定義

以下の用語は、別段の指示がない限り、以下の意味を有する。任意の定義されていない用語は、その分野で認識された意味を有する。

【0069】

「アルキル」は、1~10 個の炭素原子、例えば 1~6 個の炭素原子、または 1~5 個、または 1~4 個、または 1~3 個の炭素原子を有する一価の飽和脂肪族ヒドロカルビル基を指す。この用語は、例として、メチル (CH_3-)、エチル (CH_3CH_2-)、n-プロピル ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、イソプロピル ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$)、n-ブチル ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、イソブチル ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-$)、sec-ブチル ($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-$)、t-ブチル ($(\text{CH}_3)_3\text{C}-$)、n-ペンチル ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、およびネオペンチル ($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2-$) などの直鎖および分枝鎖のヒドロカルビル基を含む。

【0070】

「置換アルキル」という用語は、本明細書に定義されるアルキル基であって、アルキル鎖（ C_1 炭素原子を除く）中の1個以上の炭素原子が、任意選択により $-O-$ 、 $-N-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)_n-$ （式中、 n は0～2である）、 $-NR-$ （式中、 R は、水素またはアルキルである）などのヘテロ原子と置き換わっており、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、 $-SO-$ アルキル、 $-SO-$ アリール、 $-SO-$ ヘテロアリール、 $-SO_2-$ アルキル、 $-SO_2-$ アリール、 $-SO_2-$ ヘテロアリール、および $-NR^aR^b$ からなる群から選択される1～5個の置換基を有し、 R' および R'' が、同じであってもよく、または異なってもよく、水素、任意選択により置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリールおよびヘテロ環式環から選択される、アルキル基を指す。

10

【0071】

「アルキレン」は、二価の脂肪族ヒドロカルビル基、好ましくは、直鎖または分枝鎖のいずれかである1～6個、より好ましくは1～3個の炭素原子を有し、任意選択により $-O-$ 、 $-NR^{10}-$ 、 $-NR^{10}C(O)-$ 、 $-C(O)NR^{10}-$ などから選択される1つ以上の基で中断されている、二価の脂肪族ヒドロカルビル基を指す。この用語としては、例として、メチレン（ $-CH_2-$ ）、エチレン（ $-CH_2CH_2-$ ）、 n -プロピレン（ $-CH_2CH_2CH_2-$ ）、イソプロピレン（ $-CH_2CH(CH_3)-$ ）、（ $-C(CH_3)_2CH_2CH_2-$ ）、（ $-C(CH_3)_2CH_2C(O)-$ ）、（ $-C(CH_3)_2CH_2C(O)NH-$ ）、（ $-CH(CH_3)CH_2-$ ）などが挙げられる。

20

【0072】

「置換アルキレン」は、以下の「置換」の定義において炭素について記載されているように、置換基で置き換えられた1～3個の水素を有するアルキレン基を指す。

【0073】

「アルカン」という用語は、本明細書で定義されるアルキル基およびアルキレン基を指す。

30

【0074】

「アルキルアミノアルキル」、「アルキルアミノアルケニル」、および「アルキルアミノアルキニル」という用語は、 $R'NHR''$ -基（式中、 R' が、本明細書で定義されるアルキル基であり、 R'' が、本明細書で定義されるアルキレン、アルケニレンまたはアルキニレン基である）を指す。

【0075】

「アルカリール」または「アラルキル」という用語は、 $-$ アルキレン $-$ アリールおよび $-$ 置換アルキレン $-$ アリール基であって、アルキレン、置換アルキレンおよびアリールが本明細書で定義される基を指す。

40

【0076】

「アルコキシ」は、 $-O-$ アルキル基であって、アルキルが本明細書で定義されるとおりである基を指す。アルコキシとしては、例として、メトキシ、エトキシ、 n -プロポキシ、イソプロポキシ、 n -ブトキシ、 t -ブトキシ、 sec -ブトキシ、 n -ペントキシなどが挙げられる。「アルコキシ」という用語はまた、アルケニル $-O-$ 、シクロアルキル $-O-$ 、シクロアルケニル $-O-$ 、およびアルキニル $-O-$ 基であって、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、およびアルキニルが本明細書で定義されるとおりである基を指す。

【0077】

「置換アルコキシ」という用語は、置換アルキル $-O-$ 、置換アルケニル $-O-$ 、置換

50

シクロアルキル- O -、置換シクロアルケニル- O -、および置換アルキニル- O -の基であって、置換アルキル、置換アルケニル、置換シクロアルキル、置換シクロアルケニル、および置換アルキニルが、本明細書で定義されるとおりである基を指す。

【0078】

「アルコキシアミノ」という用語は、 $-NH-$ アルコキシ基であって、アルコキシが、本明細書で定義される、基を指す。

【0079】

「ハロアルコキシ」という用語は、アルキル基上の1個以上の水素原子がハロ基で置換されているアルキル- O -基を指し、例として、トリフルオロメトキシなどの基を含む。

【0080】

「ハロアルキル」という用語は、アルキル基上の1個以上の水素原子がハロ基で置換されている、上述の置換アルキル基を指す。そのような基の例としては、限定されないが、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロエチルなどのフルオロアルキル基が挙げられる。

【0081】

「アルキルアルコキシ」という用語は、 $-$ アルキレン- O -アルキル、アルキレン- O -置換アルキル、置換アルキレン- O -アルキル、および置換アルキレン- O -置換アルキルの基であって、アルキル、置換アルキル、アルキレン、および置換アルキレンが、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。

【0082】

「アルキルチオアルコキシ」という用語は、 $-$ アルキレン- S -アルキル、アルキレン- S -置換アルキル、置換アルキレン- S -アルキル、および置換アルキレン- S -置換アルキルの基であって、アルキル、置換アルキル、アルキレン、および置換アルキレンが、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。

【0083】

「アルケニル」は、2～6個の炭素原子、好ましくは2～4個の炭素原子を有し、少なくとも1個、好ましくは1～2個の二重結合不飽和部位を有する直鎖または分枝鎖ヒドロカルビル基を指す。この用語は、例として、ビビニル、アリル、およびブター-3-エン-1-イルを含む。この用語には、シスおよびトランス異性体、またはこれらの異性体の混合物が含まれる。

【0084】

「置換アルケニル」という用語は、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシルアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、 $-SO-$ アルキル、 $-SO-$ 置換アルキル、 $-SO-$ アリール、 $-SO-$ ヘテロアリール、 $-SO_2-$ アルキル、 $-SO_2-$ 置換アルキル、 $-SO_2-$ アリールおよび $-SO_2-$ ヘテロアリールから選択される、1～5個の置換基、または1～3個の置換基を有する、本明細書に定義されるアルケニル基を指す。

【0085】

「アルキニル」は、2～6個の炭素原子、好ましくは2～3個の炭素原子を有し、少なくとも1個、好ましくは1～2個の三重結合不飽和部位を有する直鎖または分枝鎖一価ヒドロカルビル基を指す。そのようなアルキニル基の例としては、アセチレニル($-C\equiv CH$)、およびプロパルギル($-CH_2C\equiv CH$)が挙げられる。

【0086】

「置換アルキニル」という用語は、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置

10

20

30

40

50

換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシルアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、 $-SO-$ アルキル、 $-SO-$ 置換アルキル、 $-SO-$ アリール、 $-SO-$ ヘテロアリール、 $-SO_2-$ アルキル、 $-SO_2-$ 置換アルキル、 $-SO_2-$ アリールおよび $-SO_2-$ ヘテロアリールから選択される、1～5個の置換基、または1～3個の置換基を有する、本明細書に定義されるアルキニル基を指す。

10

【0087】

「アルキニルオキシ」は、 $-O-$ アルキニル基であって、アルキニルが本明細書で定義されるとおりである基を指す。アルキニルオキシは、例として、エチニルオキシ、プロピニルオキシなどを含む。

【0088】

「アシル」は、 $H-C(O)-$ 、アルキル $-C(O)-$ 、置換アルキル $-C(O)-$ 、アルケニル $-C(O)-$ 、置換アルケニル $-C(O)-$ 、アルキニル $-C(O)-$ 、置換アルキニル $-C(O)-$ 、シクロアルキル $-C(O)-$ 、置換シクロアルキル $-C(O)-$ 、シクロアルケニル $-C(O)-$ 、置換シクロアルケニル $-C(O)-$ 、アリール $-C(O)-$ 、置換アリール $-C(O)-$ 、ヘテロアリール $-C(O)-$ 、置換ヘテロアリール $-C(O)-$ 、ヘテロシクリル $-C(O)-$ 、および置換ヘテロシクリル $-C(O)-$ の基であって、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環が、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。例えば、アシルは、「アセチル」基 $CH_3C(O)-$ を含む。

20

【0089】

「アシルアミノ」は、 $-NR^{20}C(O)$ アルキル、 $-NR^{20}C(O)$ 置換アルキル、 $NR^{20}C(O)$ シクロアルキル、 $-NR^{20}C(O)$ 置換シクロアルキル、 $-NR^{20}C(O)$ シクロアルケニル、 $-NR^{20}C(O)$ 置換シクロアルケニル、 $-NR^{20}C(O)$ アルケニル、 $-NR^{20}C(O)$ 置換アルケニル、 $-NR^{20}C(O)$ アルキニル、 $-NR^{20}C(O)$ 置換アルキニル、 $-NR^{20}C(O)$ アリール、 $-NR^{20}C(O)$ 置換アリール、 $-NR^{20}C(O)$ ヘテロアリール、 $-NR^{20}C(O)$ 置換ヘテロアリール、 $-NR^{20}C(O)$ ヘテロ環式環、および $-NR^{20}C(O)$ 置換ヘテロ環式環の基であって、 R^{20} が、水素またはアルキルであり、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環が、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。

30

40

【0090】

「アミノカルボニル」または「アミノアシル」という用語は、 $-C(O)NR^{21}R^{22}$ 基であって、 R^{21} および R^{22} が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環からなる群から選択され、 R^{21} および R^{22} が、任意選択により、それらに結合した窒素と共に結合し、ヘテロ環式環または置換ヘテロ環式環基を形成し、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール

50

、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環が、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。

【0091】

「アミノカルボニルアミノ」は、 $-NR^{21}C(O)NR^{22}R^{23}$ 基であって、 R^{21} 、 R^{22} 、および R^{23} が、独立して、水素、アルキル、アリール、またはシクロアルキルから選択されるか、または2つのR基が結合して、ヘテロシクリル基を形成する、基を指す。

【0092】

「アルコキシカルボニルアミノ」という用語は、 $-NRC(O)OR$ 基であって、各Rが、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルであり、アルキル、置換アルキル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルが、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。

10

【0093】

「アシルオキシ」という用語は、アルキル-C(O)O-、置換アルキル-C(O)O-、シクロアルキル-C(O)O-、置換シクロアルキル-C(O)O-、アリール-C(O)O-、ヘテロアリール-C(O)O-、およびヘテロシクリル-C(O)O-の基であって、アルキル、置換アルキル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルが、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。

【0094】

「アミノスルホニル」は、 $-SO_2NR^{21}R^{22}$ 基であって、 R^{21} および R^{22} が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、置換ヘテロ環式環からなる群から選択され、 R^{21} および R^{22} が、任意選択により、それらに結合した窒素と共に結合し、ヘテロ環式環または置換ヘテロ環式環基を形成し、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環が、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。

20

30

【0095】

「スルホニルアミノ」は、 $-NR^{21}SO_2R^{22}$ 基であって、 R^{21} および R^{22} が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環からなる群から選択され、 R^{21} および R^{22} が、任意選択により、それらに結合した原子と共に結合し、ヘテロ環式環または置換ヘテロ環式環基を形成し、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環が、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。

40

【0096】

「アリール」または「Ar」は、単環を有する6～18個の炭素原子の一価の芳香族炭素環基（フェニル基中に存在するものなど）、または複数の縮合環を有する環系（そのような芳香族環系の例としては、ナフチル、アントリル、およびインダニルが挙げられる）であって、縮合環が、芳香族であってもよく、または芳香族でなくてもよいが、但し、接続点が、芳香族環の原子を介するものである、環系を指す。この用語は、例として、フェニルおよびナフチルを含む。アリール置換基の定義によって別段の制約を受けない限り、かかるアリール基は、任意選択により、アシルオキシ、ヒドロキシ、チオール、アシル、アルキル、アルコキシ、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、

50

置換アルキル、置換アルコキシ、置換アルケニル、置換アルキニル、置換シクロアルキル、置換シクロアルケニル、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アシルアミノ、アルカリール、アリール、アリールオキシ、アジド、カルボキシル、カルボキシルアルキル、シアノ、ハロゲン、ニトロ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、アミノアシルオキシ、オキシアシルアミノ、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、 $-SO-$ アルキル、 $-SO-$ 置換アルキル、 $-SO-$ アリール、 $-SO-$ ヘテロアリール、 $-SO_2-$ アルキル、 $-SO_2-$ 置換アルキル、 $-SO_2-$ アリール、 $-SO_2-$ ヘテロアリール、およびトリハロメチルから選択される、1～5個の置換基、または1～3個の置換基で置換され得る。

10

【0097】

「アリールオキシ」は、 $-O-$ アリール基であって、アリールが本明細書に定義されたとおりである基を指し、例として、フェノキシ、ナフトキシなどを含み、これも本明細書で定義される任意選択により置換されたアリール基を含む。

【0098】

「アミノ」は、 $-NH_2$ 基を指す。

【0099】

「置換アミノ」という用語は、 $-NRR$ 基であって、各Rが、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、アルケニル、置換アルケニル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルからなる群から選択され、但し、少なくとも1つのRが水素ではない基を指す。

20

【0100】

「アジド」という用語は、 $-N_3$ 基を指す。

【0101】

「カルボキシル」、「カルボキシ」または「カルボキシレート」は、 $-CO_2H$ またはその塩を指す。

【0102】

「カルボキシルエステル」もしくは「カルボキシエステル」、または「カルボキシルアルキル」もしくは「カルボキシルアルキル」という用語は、 $-C(O)O-$ アルキル、 $-C(O)O-$ 置換アルキル、 $-C(O)O-$ アルケニル、 $-C(O)O-$ 置換アルケニル、 $-C(O)O-$ アルキニル、 $-C(O)O-$ 置換アルキニル、 $-C(O)O-$ アリール、 $-C(O)O-$ 置換アリール、 $-C(O)O-$ シクロアルキル、 $-C(O)O-$ 置換シクロアルキル、 $-C(O)O-$ シクロアルケニル、 $-C(O)O-$ 置換シクロアルケニル、 $-C(O)O-$ ヘテロアリール、 $-C(O)O-$ 置換ヘテロアリール、 $-C(O)O-$ ヘテロ環式環、および $-C(O)O-$ 置換ヘテロ環式環の基であって、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環が、本明細書で定義されたとおりである、基を指す。

30

40

【0103】

「(カルボキシルエステル)オキシ」または「カルボネート」は、 $-O-C(O)O-$ アルキル、 $-O-C(O)O-$ 置換アルキル、 $-O-C(O)O-$ アルケニル、 $-O-C(O)O-$ 置換アルケニル、 $-O-C(O)O-$ アルキニル、 $-O-C(O)O-$ 置換アルキニル、 $-O-C(O)O-$ アリール、 $-O-C(O)O-$ 置換アリール、 $-O-C(O)O-$ シクロアルキル、 $-O-C(O)O-$ 置換シクロアルキル、 $-O-C(O)O-$ シクロアルケニル、 $-O-C(O)O-$ 置換シクロアルケニル、 $-O-C(O)O-$ ヘテロアリール、 $-O-C(O)O-$ 置換ヘテロアリール、 $-O-C(O)O-$ ヘテロ環式環、および $-O-C(O)O-$ 置換ヘテロ環式環の基であって、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シク

50

ロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環が、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。

【0104】

「シアノ」または「ニトリル」は、 $-CN$ 基を指す。

【0105】

「シクロアルキル」は、縮合環系、架橋環系、およびスピロ環系を含む、単一または複数の環式環を有する3～10個の炭素原子の環状アルキル基を指す。好適なシクロアルキル基の例としては、例えば、アダマンチル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロオクチルなどが挙げられる。かかるシクロアルキル基は、例として、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロオクチルなどの単環構造、またはアダマンタニルなどの複数環構造を含む。

10

【0106】

「置換シクロアルキル」という用語は、アルキル、置換アルキル、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシルアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、 $-SO-$ アルキル、 $-SO-$ 置換アルキル、 $-SO-$ アリール、 $-SO-$ ヘテロアリール、 $-SO_2-$ アルキル、 $-SO_2-$ 置換アルキル、 $-SO_2-$ アリールおよび $-SO_2-$ ヘテロアリールから選択される、1～5個の置換基、または1～3個の置換基を有する、シクロアルキル基を指す。

20

【0107】

「シクロアルケニル」は、単一または複数の環を有し、少なくとも1つの二重結合を有し、好ましくは1～2個の二重結合を有する、3～10個の炭素原子の非芳香族環状アルキル基を指す。

【0108】

「置換シクロアルケニル」という用語は、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、ケト、チオケト、カルボキシル、カルボキシルアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、 $-SO-$ アルキル、 $-SO-$ 置換アルキル、 $-SO-$ アリール、 $-SO-$ ヘテロアリール、 $-SO_2-$ アルキル、 $-SO_2-$ 置換アルキル、 $-SO_2-$ アリールおよび $-SO_2-$ ヘテロアリールから選択される、1～5個の置換基、または1～3個の置換基を有する、シクロアルケニル基を指す。

30

40

【0109】

「シクロアルキニル」は、単一または複数の環を有し、少なくとも1つの三重結合を有する、5～10個の炭素原子の非芳香族シクロアルキル基を指す。

【0110】

「シクロアルコキシ」は、 $-O-$ シクロアルキルを指す。

【0111】

「シクロアルケニルオキシ」は、 $-O-$ シクロアルケニルを指す。

【0112】

「ハロ」または「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、ブロモ、およびヨードを指す。

50

【0113】

「ヒドロキシ」または「ヒドロキシル」は、 $-OH$ 基を指す。

【0114】

「ヘテロアリアル」は、1～15個の炭素原子、例えば、1～10個の炭素原子と、環内の酸素、窒素、および硫黄からなる群から選択される1～10個のヘテロ原子との芳香族基を指す。かかるヘテロアリアル基は、環系中に単環（ピリジニル、イミダゾリル、またはフリルなど）または複数の縮合環（例えば、インドリジニル、キノリニル、ベンゾフラン、ベンズイミダゾリル、またはベンゾチエニルなどの基の中にあるような）を有することができ、環系内の少なくとも1つの環は芳香族である。価数要件を満たすために、かかるヘテロアリアル環中の任意のヘテロ原子は、 H または置換基、例えば、本明細書に記載されるアルキル基または他の置換基に結合されていてもよく、または結合されていなくてもよい。特定の実施形態において、ヘテロアリアル基の窒素および／または硫黄環原子は、任意選択により酸化され、 N -オキシド（ $N \rightarrow O$ ）、スルフィニル、またはスルホニル部分を提供する。この用語は、例として、ピリジニル、ピロリル、インドリル、チオフェニル、およびフラニルを含む。ヘテロアリアル置換基の定義によって別段の制約を受けない限り、かかるヘテロアリアル基は、任意選択により、アシルオキシ、ヒドロキシ、チオール、アシル、アルキル、アルコキシ、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、置換アルキル、置換アルコキシ、置換アルケニル、置換アルキニル、置換シクロアルキル、置換シクロアルケニル、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アシルアミノ、アルカリール、アリール、アリールオキシ、アジド、カルボキシル、カルボキシアルアルキル、シアノ、ハロゲン、ニトロ、ヘテロアリアル、ヘテロアリアルオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、アミノアシルオキシ、オキシアシルアミノ、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、チオアリールオキシ、チオヘテロアリアルオキシ、 $-SO$ -アルキル、 $-SO$ -置換アルキル、 $-SO$ -アリール、 $-SO$ -ヘテロアリアル、 $-SO_2$ -アルキル、 $-SO_2$ -置換アルキル、 $-SO_2$ -アリール、 $-SO_2$ -ヘテロアリアル、およびトリハロメチルから選択される、1～5個の置換基、または1～3個の置換基で置換され得る。

10

20

【0115】

「ヘテロアラルキル」という用語は、アルキレンおよびヘテロアリアルが本明細書で定義される、 $-$ アルキレン $-$ ヘテロアリアル基を指す。この用語は、例として、ピリジルメチル、ピリジルエチル、インドリルメチルなどを含む。

30

【0116】

「ヘテロアリアルオキシ」は、 $-O$ -ヘテロアリアルを指す。

【0117】

「ヘテロ環」、「ヘテロ環式環」、「ヘテロシクロアルキル」、および「ヘテロシクリル」は、単環または複数の縮合環を有し、縮合環系、架橋環系およびスピロ環系を含み、1～10個のヘテロ原子を含む、3～20個の環原子を有する、飽和または不飽和基を指す。これらの環原子は、窒素、硫黄、または酸素から選択され、縮合環系において、環のうちの1つ以上が、シクロアルキル、アリール、またはヘテロアリアルであってもよく、但し、接続点が、非芳香族環を介するものである。特定の実施形態において、ヘテロ環式環基の窒素および／または硫黄原子は、任意選択により酸化され、 N -オキシド、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ 部分を提供する。価数要件を満たすために、かかるヘテロ環式環中の任意のヘテロ原子は、1個以上の H または1個以上の置換基、例えば、本明細書に記載されるアルキル基または他の置換基に結合されていてもよく、または結合されていなくてもよい。

40

【0118】

ヘテロ環およびヘテロアリアルの例としては、限定されないが、アゼチジン、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、インドリジン、イソインドール、インドール、ジヒドロインドール、インダゾール、プリン、キノリジン、イソキノリン、キノリン、フタラジン、ナフチルピリジン、キノキサリン、キナ

50

ゾリン、シンノリン、ブテリジン、カルバゾール、カルボリン、フェナントリジン、アクリジン、フェナントロリン、イソチアゾール、フェナジン、イソオキサゾール、フェノキサジン、フェノチアジン、イミダゾリジン、イミダゾリン、ピペリジン、ピペラジン、インドリン、フタルイミド、1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン、4, 5, 6, 7-テトラヒドロベンゾ [b] チオフェン、チアゾール、チアゾリジン、チオフェン、ベンゾ [b] チオフェン、モルホリニル、チオモルホリニル（チアモルホリニルとも称される）、1, 1-ジオキソチオモルホリニル、ピペリジニル、ピロリジン、テトラヒドロフランなどが挙げられる。

【0119】

ヘテロ環式環置換基の定義によって別段の制約を受けない限り、かかるヘテロ環式環基は、任意選択により、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシルアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、 $-SO-$ アルキル、 $-SO-$ 置換アルキル、 $-SO-$ アリール、 $-SO-$ ヘテロアリール、 $-SO_2-$ アルキル、 $-SO_2-$ 置換アルキル、 $-SO_2-$ アリール、 $-SO_2-$ ヘテロアリール、および縮合ヘテロ環から選択される、1～5個、または1～3個の置換基で置換され得る。

10

20

【0120】

「ヘテロシクリルオキシ」は、 $-O-$ ヘテロシクリル基を指す。

【0121】

「ヘテロシクリルチオ」という用語は、ヘテロ環式環 $-S-$ 基を指す。

【0122】

「ヘテロシクレン」という用語は、本明細書で定義されるように、ヘテロ環から形成されるジラジカル基を指す。

【0123】

「ヒドロキシアミノ」という用語は、 $-NHOH$ 基を指す。

30

【0124】

「ニトロ」は、 $-NO_2$ 基を指す。

【0125】

「オキソ」は、原子($=O$)を指す。

【0126】

「スルホニル」は、 SO_2- アルキル、 SO_2- 置換アルキル、 SO_2- アルケニル、 SO_2- 置換アルケニル、 SO_2- シクロアルキル、 SO_2- 置換シクロアルキル、 SO_2- シクロアルケニル、 SO_2- 置換シクロアルケニル、 SO_2- アリール、 SO_2- 置換アリール、 SO_2- ヘテロアリール、 SO_2- 置換ヘテロアリール、 SO_2- ヘテロ環式環、および SO_2- 置換ヘテロ環式環の基であって、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環が、本明細書で定義されるとおりである、基を指す。スルホニルとしては、例として、メチル $-SO_2-$ 、フェニル $-SO_2-$ 、および4-メチルフェニル $-SO_2-$ が挙げられる。

40

【0127】

「スルホニルオキシ」は、 $-OSO_2-$ アルキル、 OSO_2- 置換アルキル、 OSO_2- アルケニル、 OSO_2- 置換アルケニル、 OSO_2- シクロアルキル、 OSO_2- 置換シクロアルキル、 OSO_2- シクロアルケニル、 OSO_2- 置換シクロアルケニル、 OSO_2- アリール、 OSO_2- 置換アリール、 OSO_2- ヘテロアリール、 OSO_2- 置換

50

ヘテロアリール、 OSO_2 -ヘテロ環式環、および OSO_2 -置換ヘテロ環式環の基であって、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、ヘテロ環式環、および置換ヘテロ環式環が、本明細書で定義されたとおりである、基を指す。

【0128】

「アミノカルボニルオキシ」という用語は、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}_2$ 基であって、各Rが、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロ環式環であり、アルキル、置換アルキル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロ環式環が、本明細書で定義されたとおりである、基を指す。

10

【0129】

「チオール」は、 $-\text{SH}$ 基を指す。

【0130】

「チオキソ」または「チオケト」という用語は、原子($=\text{S}$)を指す。

【0131】

「アルキルチオ」または「チオアルコキシ」という用語は、 $-\text{S}-$ アルキル基であって、アルキルが本明細書で定義されたとおりである基を指す。特定の実施形態において、硫黄は、 $-\text{S}(\text{O})-$ へと酸化され得る。スルホキシドは、1つ以上の立体異性体として存在し得る。

20

【0132】

「置換チオアルコキシ」という用語は、 $-\text{S}-$ 置換アルキル基を指す。

【0133】

「チオアリールオキシ」という用語は、アリール $-\text{S}-$ 基であって、アリール基が本明細書に定義されたとおりである基を指し、これも本明細書で定義される任意選択により置換されたアリール基を含む。

【0134】

「チオヘテロアリールオキシ」という用語は、ヘテロアリール $-\text{S}-$ 基であって、ヘテロアリール基が本明細書に定義されたとおりである基を指し、これも本明細書で定義される任意選択により置換されたアリール基を含む。

30

【0135】

「チオヘテロシクロオキシ」という用語は、ヘテロシクリル $-\text{S}-$ 基であって、ヘテロシクリル基が本明細書に定義されたとおりである基を指し、これも本明細書で定義される任意選択により置換されたヘテロシクリル基を含む。

【0136】

本明細書の開示に加えて、「置換された」という用語は、特定の基またはラジカルを修飾するために使用される場合、特定の基またはラジカルの1個以上の水素原子が、それぞれ、互いに独立して、以下に定義される同じまたは異なる置換基で置き換えられることを意味することもある。

【0137】

本明細書の個々の用語に関して開示される基に加えて、特定の基またはラジカル中の飽和炭素原子上の1個以上の水素を置換するための置換基（単一の炭素上の任意の2個の水素を、 $=\text{O}$ 、 $=\text{NR}^{70}$ 、 $=\text{N}-\text{OR}^{70}$ 、 $=\text{N}_2$ 、または $=\text{S}$ で置き換えることができる）は、別段の指定がない限り、 $-\text{R}^{60}$ 、ハロゲン、 $=\text{O}$ 、 $-\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{SR}^{70}$ 、 $-\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 、トリハロメチル、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OCN}$ 、 $-\text{SCN}$ 、 $-\text{NO}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $=\text{N}_2$ 、 $-\text{N}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^{70}$ 、 $-\text{SO}_2\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{SO}_2\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{OSO}_2\text{R}^{70}$ 、 $-\text{OSO}_2\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{OSO}_2\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{P}(\text{O})(\text{O}^-)_2(\text{M}^+)_2$ 、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{70})\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{70})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{S})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{NR}^{70})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{S})\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 、 $-\text{C}(\text{NR}^{70})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{OC}(\text{S})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{OC}(\text{S})\text{OR}$

40

50

R^{70} 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 、および $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ であり、 R^{60} が、任意選択により置換されたアルキル、シクロアルキル、ヘテロアルキル、ヘテロシクロアルキルアルキル、シクロアルキルアルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアリールアルキルからなる群から選択され、各 R^{70} が、独立して、水素もしくは R^{60} であり、各 R^{80} が、独立して R^{70} であるか、またはあるいは、2つの R^{80} が、それらが結合する窒素原子と一緒にあって、5員、6員、もしくは7員のヘテロシクロアルキルを形成し、これらは任意選択によりO、N、およびSからなる群から選択される同じもしくは異なる1~4個の追加のヘテロ原子を含み得、そのうち、Nが、 $-H$ もしくは $C_1 \sim C_3$ アルキル置換を有していてもよく、各 M^+ が、正味の単一正電荷を有する対イオンである。各 M^+ は、独立して、例えば、アルカリイオン、例えば、 K^+ 、 Na^+ 、 Li^+ 、アンモニウムイオン、例えば、 $+N(R^{60})_4$ 、またはアルカリ土類イオン、例えば、 $[Ca^{2+}]_{0.5}$ 、 $[Mg^{2+}]_{0.5}$ 、または $[Ba^{2+}]_{0.5}$ （「添え字の0.5は、かかる二価のアルカリ土類イオンの対イオンのうちの1つが、本発明の化合物のイオン化した形態であってもよく、塩化物などの他の典型的な対イオン、または本明細書に開示される2つのイオン化した化合物が、かかる二価アルカリ土類イオンの対イオンとして機能し得るか、本発明の二重イオン化した化合物が、かかる二価アルカリ土類イオンの対イオンとして機能し得ることを意味する）であってもよい。具体例として、 $-NR^{80}R^{80}$ は、 $-NH_2$ 、 $-NH$ -アルキル、 N -ピロリジニル、 N -ピペラジニル、4N-メチル-ピペラジン-1-イルおよびN-モルホリニルを含むことを意味する。

10

20

[0138]

本明細書の開示に加えて、「置換」アルケン、アルキン、アリールおよびヘテロアリール基中の不飽和炭素原子上の水素の置換基は、別段の指定がない限り、 $-R^{60}$ 、ハロ、 $-O-M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-S-M^+$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、トリハロメチル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_3-M^+$ 、 $-SO_3R^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_3-M^+$ 、 $-OSO_3R^{70}$ 、 $-PO_3^{-2}(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-CO_2-M^+$ 、 $-CO_2R^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OCO_2-M^+$ 、 $-OCO_2R^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ および $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ であり、ここで、 R^{60} 、 R^{70} 、 R^{80} 、および M^+ が、既に定義されているとおりであり、但し、置換アルケンまたはアルキンの場合には、置換基は、 $-O-M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、または $-S-M^+$ ではない。

30

[0139]

本明細書の個々の用語に関して開示される基に加えて、「置換」ヘテロアルキルおよびシクロヘテロアルキル基中の窒素原子上の水素の置換基は、別段の指定がない限り、 $-R^{60}$ 、 $-O-M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-S-M^+$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、トリハロメチル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-S(O)_2R^{70}$ 、 $-S(O)_2O-M^+$ 、 $-S(O)_2OR^{70}$ 、 $-OS(O)_2R^{70}$ 、 $-OS(O)_2O-M^+$ 、 $-OS(O)_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$

40

50

0 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ および $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ であり、ここで、 R^{60} 、 R^{70} 、 R^{80} 、および M^+ が、既に定義されているとおりである。

【0140】

本明細書の開示に加えて、特定の実施形態において、置換される基は、1、2、3、もしくは4個の置換基、1、2、もしくは3個の置換基、1もしくは2個の置換基、または1個の置換基を有する。

【0141】

上で定義されている全ての置換基において、それ自体にさらなる置換基を有する置換基（例えば、置換アリール基を置換基として有し、それ自体が置換アリール基で置換されており、さらに置換アリール基によって置換されている置換アリール基など）を定義することによって到達するポリマーは、本明細書に含まれることを意図していないことが理解される。そのような場合において、そのような置換の最大数は3である。例えば、本明細書で具体的に企図される置換アリール基の連続的な置換は、置換アリール-（置換アリール）-置換アリールに限定される。

10

【0142】

別段の指示がない限り、本明細書で明示的に定義されない置換基の命名法は、官能基の末端部分に続いて隣接官能基を接続点に向かって命名することによって到達される。例えば、置換基「アリールアルキルオキシカルボニル」は、（アリール）-（アルキル）-O-C(O)-基を指す。

【0143】

1つ以上の置換基を含有する本明細書に開示される基のいずれかに関して、当然のことながら、かかる基は、立体的に実用的ではなく、かつ／または合成的に実行不可能である任意の置換または置換パターンを含有しないことを理解されたい。加えて、主題の化合物は、これらの化合物の置換から生じる全ての立体化学異性体を含む。

20

【0144】

「薬学的に許容される塩」という用語は、患者、例えば、哺乳動物への投与に対して許容される塩（所与の投薬量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。かかる塩は、薬学的に許容される無機または有機塩基、および薬学的に許容される無機また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、塩は、当該技術分野で周知の様々な有機および無機対イオンに由来し、単なる例として、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または無機酸の塩が挙げられる。

30

【0145】

「その塩」という用語は、酸のプロトンが、金属カチオンまたは有機カチオンなどのカチオンによって置き換えられたとき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、このことは、患者への投与を意図していない中間化合物の塩には必要ではない。例として、本発明の化合物の塩は、無機または有機酸の共役塩基を塩のアニオン性構成要素として、化合物が無機または有機酸によってプロトン化されてカチオンを形成するものを含む。

40

【0146】

「溶媒和物」は、溶媒分子と溶質の分子またはイオンとの組み合わせによって形成される複合体を指す。溶媒は、有機化合物、無機化合物、または両者の混合物であり得る。溶媒のいくつかの例としては、限定されないが、メタノール、N,N-ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフラン、ジメチルスルホキシド、および水が挙げられる。溶媒が水の場合、形成される溶媒和物は、水和物である。

【0147】

「立体異性体 (stereoisomer)」および「立体異性体 (stereoisomers)」は、同じ原子結合性を有するが、空間中の原子配置が異なる化合物を指す

50

。立体異性体としては、シーストランス異性体、EおよびZ異性体、エナンチオマー、およびジアステレオマーが挙げられる。

【0148】

「互変異性体」とは、原子の電子結合および／またはプロトンの位置のみが異なる分子の相互に入れ替わる形態（例えば、エノールーケトおよびイミンーエナミン互変異性体）、あるいは $-N=C(H)-NH-$ 環原子配置を含有するヘテロアリアル基の互変異性体形態（例えば、ピラゾール、イミダゾール、ベンズイミダゾール、トリアゾール、およびテトラゾール）を指す。当業者は、他の互変異性体環原子配置が可能であることを認識するであろう。

【0149】

「またはその塩もしくは溶媒和物もしくは立体異性体」という用語は、主題の化合物の立体異性体の薬学的に許容される塩の溶媒和物などの塩、溶媒和物および立体異性体の全ての変形を含むことが意図されることを理解されよう。

【0150】

「薬学的有効量」および「治療有効量」は、特定の障害または疾患、またはその症状の1つ以上を治療し、かつ／または疾患または障害の発生を予防するのに十分な化合物の量を指す。腫瘍原性増殖性障害に関して、薬学的有効量または治療有効量は、特に、腫瘍を縮小させるか、または腫瘍の成長速度を低下させるのに十分な量を含む。

【0151】

「患者」は、ヒトおよび非ヒト対象、特に、哺乳動物対象を指す。

【0152】

本明細書で使用される「治療すること」または「治療」という用語は、哺乳動物（特にヒト）などの患者の疾患または医学的状态を治療すること、または治療を意味し、（a）対象の予防的治療など、疾患または医学的状态の発生を防止すること、（b）患者の疾患または医学的状态をなくすか、逆行させるなど、疾患または医学的状态を改善すること、（c）例えば、患者の疾患または医学的状态の発症を遅延させるか、または停止させることなどにより、疾患または医学的状态を抑制すること、あるいは（d）患者の疾患または医学的状态の症状を緩和することを含む。

【0153】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語は、本明細書で交換可能に使用され、任意の長さのアミノ酸のポリマー形態を指す。特に別段の指示がない限り、「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」は、遺伝的にコードされているアミノ酸およびコードされていないアミノ酸、化学的または生化学的に修飾されているか、もしくは誘導体化されているアミノ酸、ならびに修飾されたペプチド骨格を有するポリペプチドを含んでいてもよい。用語は、これらに限定されないが、異種アミノ酸配列を有する融合タンパク質、異種および相同リーダー配列を有する融合、少なくとも1つのN末端メチオニン残基を含むタンパク質（例えば、組換え細菌宿主細胞中で産生を容易にする）を含む融合タンパク質、免疫学的にタグ化されたタンパク質などを含む。

【0154】

「天然アミノ酸配列」または「親アミノ酸配列」は、本明細書で交換可能に使用され、修飾アミノ酸残基を含むような修飾の前のポリペプチドのアミノ酸配列を指す。

【0155】

「アミノ酸類似体」、「非天然アミノ酸」などの用語は、交換可能に使用されてもよく、天然に存在するタンパク質（例えば、A l aまたはA、C y sまたはC、A s pまたはD、G l uまたはE、P h eまたはF、G l yまたはG、H i sまたはH、I l eまたはI、L y sまたはK、L e uまたはL、M e tまたはM、A s nまたはN、P r oまたはP、G l nまたはQ、A r gまたはR、S e rまたはS、T h rまたはT、V a lまたはV、T r pまたはW、T y rまたはY）中に一般的に見出される1つ以上のアミノ酸と構造および／または全体的な形状が類似しているアミノ酸様化合物を含む。アミノ酸類似体には、修飾側鎖または骨格を有する天然アミノ酸も含まれる。アミノ酸類似体はまた、天

10

20

30

40

50

然に存在するD形態と同じ立体化学を有するアミノ酸類似体、ならびにアミノ酸類似体のL形態を含む。いくつかの例において、アミノ酸類似体は、1つ以上の天然アミノ酸の骨格構造および／または側鎖構造を共有し、その差は、分子中の1つ以上の修飾基である。かかる修飾としては、限定されないが、ある原子（例えばN）の関連する原子（例えばS）による置換、ある基（例えば、メチル、もしくはヒドロキシルなど）またはある原子（例えば、Cl、もしくはBrなど）の付加、ある基の欠失、共有結合の置換（例えば、単結合を二重結合などへ）、あるいはそれらの組み合わせが挙げられ得る。例えば、アミノ酸類似体は、 α -ヒドロキシ酸、および α -アミノ酸などを含み得る。

【0156】

「アミノ酸側鎖」または「アミノ酸の側鎖」などの用語は、天然アミノ酸、非天然アミノ酸、およびアミノ酸類似体を含む、アミノ酸残基の α 炭素に接続した置換基を指すために使用され得る。アミノ酸側鎖はまた、本明細書に記載の修飾アミノ酸および／またはコンジュゲートの文脈で記載されるアミノ酸側鎖を含み得る。

10

【0157】

「炭水化物」などの用語は、単糖類、二糖類、オリゴ糖類、および多糖類のモノマー単位および／またはポリマーを指すために使用され得る。糖という用語は、単糖類、二糖類などのより小さな炭水化物を指すために使用され得る。「炭水化物誘導体」という用語は、目的の炭水化物の1つ以上の官能基が置換され（任意の好都合な置換基によって置き換えられ）、修飾され（任意の好都合な化学物質を使用して別の基に変換され）るか、または存在しない（例えば、除去されるか、またはHによって置き換えられる）化合物を含む。様々な炭水化物および炭水化物誘導体が入手可能であり、主題の化合物およびコンジュゲートでの使用に適合され得る。

20

【0158】

「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、および多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、ヒト化抗体、一本鎖抗体（例えば、scFv）、キメラ抗体、抗体断片（例えば、Fab断片）などを含む。抗体は、標的抗原に結合することができる。（Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immunobiology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York）。標的抗原は、抗体の1つ以上の可変領域によって形成される相補性決定領域（CDR）によって認識される、エピトープとも呼ばれる1つ以上の結合部位を有し得る。

30

【0159】

「自然抗体」という用語は、抗体の重鎖および軽鎖が作製され、多細胞生物の免疫系によって対になっている抗体を指す。脾臓、リンパ節、骨髄、および血清は、自然抗体を産生する組織の一例である。例えば、抗原で免疫付与された第一の動物から単離された細胞を産生する抗体によって産生される抗体は、自然抗体である。

【0160】

「ヒト化抗体」または「ヒト化免疫グロブリン」という用語は、ヒト抗体から対応して配置されるアミノ酸で置換されている1つ以上のアミノ酸（例えば、フレームワーク領域、定常領域、またはCDRの中）を含有する非ヒト（例えば、マウスまたはウサギ）抗体を指す。概して、ヒト化抗体は、同じ抗体の非ヒト化態様と比較した場合に、ヒト宿主中で低減された免疫応答を生成する。抗体は、例えば、CDRグラフィティング（EP 239, 400、PCT公開第91/09967号、米国特許第5,225,539号、同第5,530,101号、および同第5,585,089号）、ベニヤリングもしくはリサーフェイシング（EP 592,106、EP 519,596、Padlan, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498(1991)、Stundnicka et al., *Protein Engineering* 7(6):805-814(1994)、Roguska et al., *PNAS* 91:969-973(1994)）、ならびにチェーンシャッフリング（米国特許第5,565,33

40

50

2号)を含む、当該技術で公知の様々な技術を使用して、ヒト化され得る。特定の実施形態において、フレームワーク置換は、CDRおよびフレームワーク残基の相互作用のモデリングによって特定され、抗原結合および配列比較に重要なフレームワーク残基を特定し、特定の位置にある異常なフレームワーク残基を特定する(例えば、米国特許第5,585,089号、Riechmann et al., Nature 332:323(1988)を参照されたい)。本発明での使用が企図される抗体をヒト化するための追加の方法は、米国特許第5,750,078号、同第5,502,167号、同第5,705,154号、同第5,770,403号、同第5,698,417号、同第5,693,493号、同第5,558,864号、同第4,935,496号、および同第4,816,567号、ならびにPCT公開第98/45331号および同第98/45332号に記載されている。特定の実施形態において、主題のウサギ抗体は、US2004/0086979およびUS2005/0033031に記載される方法に従ってヒト化され得る。したがって、上述の抗体は、当該技術分野で周知の方法を使用してヒト化され得る。

10

20

30

40

50

【0161】

「キメラ抗体」という用語は、抗体の軽鎖および重鎖遺伝子が、典型的には遺伝子操作することによって、異なる種に属している抗体可変領域および定常領域遺伝子から構築されている、抗体を指す。例えば、マウスモノクローナル抗体からの遺伝子の可変セグメントは、ガンマ1およびガンマ3などのヒト定常セグメントに結合され得る。療法用キメラ抗体の一例は、マウス抗体由来の可変ドメインまたは抗原結合ドメインと、ヒト抗体由来の定常ドメインまたはエフェクタードメインとから構成されているハイブリッドタンパク質であるが、他の哺乳動物種由来のドメインも使用され得る。

【0162】

免疫グロブリンポリペプチドの免疫グロブリン軽鎖または重鎖可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」とも呼ばれる、3つの超可変領域によって中断されているフレームワーク領域(FR)から構成されている。フレームワーク領域およびCDRの程度は、定義されている(“Sequences of Proteins of Immunological Interest,” E. Kabat et al., U. S. Department of Health and Human Services, 1991を参照されたい)。構成要素である軽鎖および重鎖の組み合わされたフレームワーク領域である、抗体のフレームワーク領域は、CDRを位置決定し、アラインメントするのに役立つ。CDRは、主に、抗原のエピトープへの結合に寄与する。

【0163】

本開示全体で、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖中の残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)の番号付けであり、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【0164】

「親Igポリペプチド」は、本明細書に記載されるようなアルデヒドタグ化定常領域を欠くアミノ酸配列を含むポリペプチドである。親ポリペプチドは、天然配列定常領域を含んでいてもよく、または既存のアミノ酸配列修飾(付加、欠失、および/または置換など)を有する定常領域を含んでいてもよい。

【0165】

Igポリペプチドの文脈において、「定常領域」という用語は、当該技術分野で十分に理解され、Ig重鎖またはIg軽鎖のC末端領域を指す。Ig重鎖定常領域は、CH1、CH2、およびCH3ドメイン(ならびに、重鎖が μ または ϵ 重鎖である場合、CH4ドメイン)を含む。天然Ig重鎖において、CH1、CH2、CH3(および、存在する場合、CH4)ドメインは、重鎖可変(VH)領域の直後(これに対するC末端)で開始し、それぞれ、約100アミノ酸長〜約130アミノ酸長である。天然Ig軽鎖において、

定常領域は、軽鎖可変（V_L）領域の直後（これに対するC末端）で開始し、約100アミノ酸長～約120アミノ酸長である。

【0166】

本明細書で使用される場合、「CDR」または「相補性決定領域」という用語は、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見出される非連続な抗原組み合わせ部位を意味することが意図される。CDRは、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977)、Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991)、Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)、およびMacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)によって記載されており、その定義は、互いに比較された場合に、アミノ酸残基の重複またはサブセットを含む。それにもかかわらず、抗体または移植抗体またはそのバリエーションのCDRを指すためのいずれかの定義の適用は、本明細書で定義され、使用される用語の範囲内であることを意図される。上の引用文献の各々によって定義されるCDRを包含するアミノ酸残基を、比較として以下の表1に示す。

10

【表2】

表1：CDR定義

20

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR1	31~35	26~32	30~35
V _H CDR2	50~65	53~55	47~58
V _H CDR3	95~102	96~101	93~101
V _L CDR1	24~34	26~32	30~36
V _L CDR2	50~56	50~52	46~55
V _L CDR3	89~97	91~96	89~96

¹残基番号付けは、Kabat et al.（上記）の命名法に従う。

²残基番号付けは、Chothia et al.（上記）の命名法に従う。

³残基番号付けは、MacCallum et al.（上記）の命名法に従う。

30

【0167】

ポリペプチド、ペプチド、またはタンパク質のアミノ酸配列に関して使用される「遺伝子的にコード可能な」は、アミノ酸配列が、そのアミノ酸配列をコードする核酸の転写および翻訳によって産生することができるアミノ酸残基から構成され、転写および／または翻訳が、細胞中、または無細胞インビトロ転写／翻訳系において生じ得ることを意味する。

【0168】

「制御配列」という用語は、特定の発現系、例えば、哺乳動物細胞、細菌細胞、無細胞合成などにおいて作動可能に連結されたコード配列の発現を容易にするDNA配列を指す。原核生物系に好適な制御配列は、例えば、プロモーター、任意選択によりオペレーター配列、およびリボソーム結合部位を含む。真核細胞系は、プロモーター、ポリアデニレーションシグナル、およびエンハンサーを利用し得る。

40

【0169】

核酸は、それが別の核酸配列との機能的関係に置かれる場合に、「作動可能に連結される」。例えば、プレ配列または分泌リーダーのためのDNAは、ポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現される場合には、ポリペプチドのためのDNAに作動可能に連結され、配列の転写に影響を与える場合には、プロモーターもしくはエンハンサーがコード配列に作動可能に連結されるか、または翻訳の開始を容易にするために配置され

50

る場合には、リボソーム結合部位が、コード配列に作動可能に連結される。概して、「作動可能に連結される」は、連結されるDNA配列が、分泌リーダーの場合には連続的であり、リーディングフレームの場合には連続的であることを意味する。連結は、ライゲーシオンによって、または増幅反応を介して達成される。合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーは、従来の実施に従って配列を連結するために使用され得る。

【0170】

本明細書で使用される「発現カセット」という用語は、（例えば、目的の構築物へのライゲーシオンと適合性のある制限部位の使用によって、または目的の構築物へ、もしくは宿主細胞ゲノムへの相同組換えによって）核酸に挿入することができる、核酸（通常はDNA）のセグメントを指す。概して、核酸セグメントは、目的のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含み、カセットおよび制限部位は、転写および翻訳のための適切なリーディングフレームへのカセットの挿入を容易にするように設計される。発現カセットはまた、宿主細胞（例えば、哺乳動物宿主細胞）中で目的のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現を容易にする要素を含み得る。これらの要素としては、限定されないが、プロモーター、最小プロモーター、エンハンサー、応答要素、ターミネーター配列、ポリアデニル化配列などが挙げられ得る。

10

【0171】

本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、化合物が天然で存在するものとは異なる環境にある目的の化合物を記載することを意味する。「単離された」は、目的の化合物が実質的に濃縮されており、かつ／または目的の化合物が部分的もしくは実質的に精製されている、試料内にある化合物を含むことを意味する。

20

【0172】

本明細書で使用される場合、「実質的に精製された」という用語は、その天然の環境から除去され、天然に関連する他の構成要素を少なくとも60%含まない、少なくとも75%含まない、少なくとも80%含まない、少なくとも85%含まない、少なくとも90%含まない、少なくとも95%含まない、少なくとも98%含まない、または98%を超える分を含まない、化合物を指す。

【0173】

「生理学的条件」という用語は、生細胞と適合性のあるそれらの条件、例えば、生細胞と適合性のある温度、pH、塩分などの主に水性条件を包含することを意味する。

30

【0174】

「反応性パートナー」とは、別の反応性パートナーと特異的に反応し、反応生成物を生成する分子または分子部分を意味する。例示的な反応性パートナーは、スルファターゼモチーフのシステインまたはセリン、およびホルミルグリシン生成酵素（FGE）を含み、これらが反応して、モチーフ中のシステインまたはセリンの代わりに、ホルミルグリシン（Fgly）を含有する変換されたアルデヒドタグの反応生成物を形成する。他の例示的な反応性パートナーは、変換されたアルデヒドタグのfgly残基のアルデヒド（例えば、反応性アルデヒド基）と、アルデヒド反応性基および目的の部分を含む「アルデヒド反応性の反応性パートナー」を含み、これらが反応して、修飾fgly残基を介して修飾ポリペプチドにコンジュゲート化された目的の部分を有する修飾アルデヒドタグ化ポリペプチドの反応生成物を形成する。

40

【0175】

「N末端」は、遊離アミン基を有するポリペプチドの末端アミノ酸残基を指し、非N末端アミノ酸残基中のアミン基が、通常、ポリペプチドの共有結合性骨格の一部を形成する。

【0176】

「C末端」は、遊離カルボキシル基を有するポリペプチドの末端アミノ酸残基を指し、非C末端アミノ酸残基中のカルボキシル基が、通常、ポリペプチドの共有結合性骨格の一部を形成する。

【0177】

50

ポリペプチドまたはポリペプチドのアミノ酸配列に関して使用される場合の「内部部位」は、N末端またはC末端ではないポリペプチドの領域を意味する。

【0178】

本発明がさらに記載される前に、本発明は、記載される特定の実施形態に限定されず、当然のことながら、変化する可能性があることを理解されたい。本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を記載するためのものであるにすぎず、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲のみによって限定されるため、限定的であることは意図されないこともまた理解されたい。

【0179】

ある値の範囲が提供される場合、文脈上別途明確に指示されない限り、その範囲の上限と下限との間であり、下限の単位の10分の1までのそれぞれの間に入る値、およびその記載された範囲内の任意の他の記載された値またはその間に入る値は、本発明に包含されることを理解されたい。これらのより小さい範囲の上限および下限は、独立して、そのより小さな範囲に含まれていてもよく、その記載された範囲内で任意の具体的に除外される境界を仮定して、本発明にも包含される。記載された範囲が、境界の一方または両方を含む場合、それらの含まれる境界の一方または両方を除外した範囲もまた、本発明に含まれる。

【0180】

明瞭さのために別個の実施形態の文脈で記載された本発明の特定の特徴は、単一の実施形態で組み合わせても提供され得ることが理解される。逆に、簡潔にするために、単一の実施形態の文脈で記載された本発明の様々な特徴は、別個に、または任意の適切なサブコンビネーションでも提供され得る。本発明に関する実施形態の全ての組み合わせは、本発明によって具体的に包含され、まさに、そのような組み合わせが、例えば、安定した化合物（すなわち、作製し、単離し、特性決定し、生物学的活性について試験することができる化合物）である化合物である主題を包含する程度まで、各々および全ての組み合わせが、個々に、かつ明示的に開示されているかのように、本明細書に開示される。加えて、様々な実施形態およびその要素（例えば、かかる変数を記載する実施形態で列挙される化学基の要素）の全てのサブコンビネーションもまた、本発明によって具体的に包含され、まさに各々および全てのサブコンビネーションが、個々に、かつ明示的に開示されているかのように、本明細書に開示される。

【0181】

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者に一般に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと同様または同等の任意の方法および材料はまた、本発明の実施または試験においても使用することができるが、好ましい方法および材料をここで記載する。本明細書で言及される全ての公開物は、公開物が引用されるものとの関連で方法および／または材料を開示し、記載するために、参照によって本明細書に組み込まれる。

【0182】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される単数形「a」、「an」、および「the」は、文脈が別途明確に指示しない限り、複数の参照を含むことに留意すべきである。特許請求の範囲は、いかなる任意の要素も除外するように立案され得ることにさらに留意されたい。したがって、この記述は、特許請求の要素の列挙に関連して「専ら」、「唯一の」などのような排他的な用語の使用または「否定的な」制限の使用のための先行基準としての役割を果たすことを意図している。

【0183】

明瞭さのために別個の実施形態の文脈で記載された本発明の特定の特征は、単一の実施形態で組み合わせても提供され得ることが理解される。逆に、簡潔にするために、単一の実施形態の文脈で記載された本発明の様々な特徴は、別個に、または任意の適切なサブコンビネーションでも提供され得る。

【0184】

本明細書に論じられる公開物は専ら、本出願の出願日前のそれらの開示のためだけに提供される。本明細書内のいずれのものも、本発明が先行の発明という理由によりそのような公開物に先立する権利がないという了解として解釈されるべきではない。さらに、示されている公開日は、実際の公開日とは異なる場合があり、別個に確認する必要がある。

【発明を実施するための形態】

【0185】

本開示は、抗CD37抗体-マイタンシンコンジュゲート構造を提供する。本開示はまた、そのようなコンジュゲートを産生する方法、およびそのコンジュゲートを使用する方法を包含する。各々の実施形態は、以下のセクションにより詳細に記載される。

【0186】

抗体-薬物コンジュゲート

本開示は、コンジュゲート、例えば、抗体-薬物コンジュゲートを提供する。「コンジュゲート」は、第2の部分（例えば、薬物）と安定して会合する第1の部分（例えば、抗体）を意味する。例えば、マイタンシンコンジュゲートは、別の部分（例えば、抗体）と安定して会合するマイタンシン（例えば、マイタンシン活性化剤部分）を含む。「安定して会合する」は、ある部分が、別の部分または構造に、標準条件下で結合されていることを意味する。特定の実施形態において、第1の部分および第2の部分は、1つ以上の共有結合を介して互いに結合されている。

【0187】

特定の実施形態において、コンジュゲートは、第2の部分に対してコンジュゲート化されたポリペプチドを含む、ポリペプチドコンジュゲートである。特定の実施形態において、ポリペプチドにコンジュゲート化される部分は、限定されないが、検出可能な標識、薬物、水溶性ポリマー、または膜もしくは表面へのポリペプチドの固定化のための部分など、様々な目的の部分のいずれかであり得る。特定の実施形態において、コンジュゲートは、ポリペプチドが、マイタンシンまたはマイタンシン活性化剤部分にコンジュゲート化されている、マイタンシンコンジュゲートである。「マイタンシン」、「マイタンシン部分」、「マイタンシン活性化剤部分」、および「マイタンシノイド」は、マイタンシンならびにその類似体および誘導体、ならびに薬学的に活性なマイタンシン部分および／またはその部分を指す。ポリペプチドにコンジュゲート化されたマイタンシンは、限定されないが、本明細書に記載されるようなマイタンシンならびにその類似体および誘導体など、様々なマイタンシノイド部分のうちのいずれかであり得る。

【0188】

目的の部分は、ポリペプチドの任意の所望の部位でポリペプチドにコンジュゲート化され得る。したがって、本開示は、例えば、ポリペプチドのC末端またはその付近の部位でコンジュゲート化された部分を有する修飾ポリペプチドを提供する。他の例としては、ポリペプチドのN末端またはその付近の位置でコンジュゲート化された部分を有する修飾ポリペプチドを含む。例としては、ポリペプチドのC末端とN末端との間の位置（例えば、ポリペプチドの内部部位）にコンジュゲート化された部分を有する修飾ポリペプチドも挙げられる。上の組み合わせは、修飾ポリペプチドが2つ以上の部分にコンジュゲート化されている場合にも可能である。

【0189】

特定の実施形態において、本開示のコンジュゲートは、アミノ酸残基の α 炭素でポリペプチドのアミノ酸残基にコンジュゲート化されたマイタンシンを含む。別の言い方をすれば、マイタンシンコンジュゲートは、ポリペプチド中の1つ以上のアミノ酸残基の側鎖が、マイタンシンに接続するように修飾されている（例えば、本明細書に記載されるリンカーを介してマイタンシンに接続する）ポリペプチドを含む。例えば、マイタンシンコンジュゲートは、ポリペプチド中の1つ以上のアミノ酸残基の α 炭素が、マイタンシンに接続するように修飾されている（例えば、本明細書に記載されるリンカーを介してマイタンシンに接続する）ポリペプチドを含む。

【0190】

10

20

30

40

50

本開示の実施形態は、ポリペプチドが、1つ以上の部分、例えば、2部分、3部分、4部分、5部分、6部分、7部分、8部分、9部分、または10部分、またはそれより多い部分にコンジュゲート化される、コンジュゲートを含む。部分は、ポリペプチド中の1つ以上の部位でポリペプチドにコンジュゲート化され得る。例えば、1つ以上の部分は、ポリペプチドの単一アミノ酸残基にコンジュゲート化され得る。いくつかの場合において、1つの部分は、ポリペプチドのアミノ酸残基にコンジュゲート化される。他の実施形態において、2つの部分は、ポリペプチドの同じアミノ酸残基にコンジュゲート化され得る。他の実施形態において、第1の部分は、ポリペプチドの第1のアミノ酸残基にコンジュゲート化され、第2の部分は、ポリペプチドの第2のアミノ酸残基にコンジュゲート化される。例えば、ポリペプチドが第1のアミノ酸残基で第1の部分にコンジュゲート化され、第2のアミノ酸残基で2つの他の部分にコンジュゲート化される場合に、上の組み合わせもまた可能である。これらに限定されないが、第1のアミノ酸残基で第1および第2の部分にコンジュゲート化され、第2のアミノ酸残基で第3および第4の部分にコンジュゲート化されたポリペプチドなどの他の組み合わせも可能である。

10

20

30

40

50

【0191】

1つ以上の部分にコンジュゲート化されるポリペプチドの1つ以上のアミノ酸残基は、天然に存在するアミノ酸、非天然アミノ酸、またはそれらの組み合わせであり得る。例えば、コンジュゲートは、ポリペプチドの天然に存在するアミノ酸残基にコンジュゲート化された部分を含み得る。他の例において、コンジュゲートは、ポリペプチドの非天然アミノ酸残基にコンジュゲート化された部分を含み得る。1つ以上の部分は、上に記載されるように、単一の天然または非天然アミノ酸残基でポリペプチドにコンジュゲート化され得る。ポリペプチド中の1つ以上の天然または非天然アミノ酸残基は、本明細書に記載されるように、1つまたは複数の部分にコンジュゲート化され得る。例えば、ポリペプチド中の2つ（またはそれ以上）のアミノ酸残基（例えば、天然または非天然アミノ酸残基）は、ポリペプチド中の複数の部位が修飾されるように、それぞれが1つまたは2つの部分にコンジュゲート化され得る。

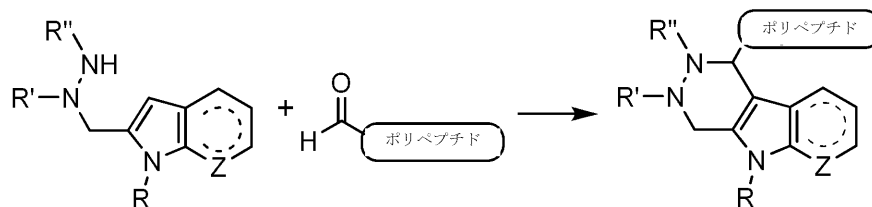
【0192】

本明細書に記載されるように、ポリペプチドは、1つ以上の部分にコンジュゲート化され得る。特定の実施形態において、目的の部分は、薬物または検出可能な標識などの化学エンティティである。例えば、薬物（例えば、マイタンシン）は、ポリペプチドにコンジュゲート化されてもよく、または他の実施形態において、検出可能な標識が、ポリペプチドにコンジュゲート化されてもよい。したがって、例えば、本開示の実施形態は、限定されないが、以下のものを含む。ポリペプチドおよび薬物のコンジュゲート、ポリペプチドおよび検出可能な標識のコンジュゲート、2つ以上の薬物およびポリペプチドのコンジュゲート、2つ以上の検出可能な標識およびポリペプチドのコンジュゲートなど。

【0193】

特定の実施形態において、目的のポリペプチドおよび部分は、カップリング部分を通してコンジュゲート化されている。例えば、ポリペプチドおよび目的の部分は、それぞれ、カップリング部分に結合（例えば、共有結合）してもよく、したがって、目的のポリペプチドおよび部分（例えば、マイタンシンなどの薬物）は、カップリング部分を介して一緒に間接的に結合する。いくつかの場合において、カップリング部分は、ヒドラジニル-インドリルもしくはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニル化合物、またはヒドラジニル-インドリルもしくはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニル化合物の誘導体を含む。例えば、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を介して目的の部分（例えば、マイタンシン）をポリペプチドにカップリングするための一般的なスキームは、以下の一般的な反応スキームに示される。ヒドラジニル-インドリルおよびヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分は、本明細書において、それぞれ、ヒドラジノ-イソ-ピクテ-スベンガラ（HIPS）カップリング部分およびアザ-ヒドラジノ-イソ-ピクテ-スベンガラ（azaHIPS）カップリング部分とも称される。

【化 9】



【0194】

上の反応スキームにおいて、Rは、ポリペプチドにコンジュゲート化される目的の部分（例えば、マイタンシン）である。上の反応スキームに示されるように、2-ホルミルグリシン残基（f G l y）を含むポリペプチドは、カップリング部分（例えば、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分）を含むように修飾された薬物（例えば、マイタンシン）と反応し、カップリング部分に接続したポリペプチドコンジュゲートを産生し、したがって、カップリング部分を介して、マイタンシンをポリペプチドに接続する。

10

【0195】

本明細書に記載されるように、この部分は、限定されないが、化学エンティティ、例えば、検出可能な標識、または薬物（例えば、マイタンシノイド）などの様々な部分のうちのいずれかであり得る。R'およびR''は、それぞれ独立して、任意の所望の置換基、例えば、限定されないが、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルであってもよい。Zは、 CR^{11} 、 NR^{12} 、N、O、またはSであってもよく、式中、 R^{11} および R^{12} は、それぞれ独立して、上の「R'およびR''」について記載される置換基のいずれかから選択される。

20

【0196】

本明細書に記載されるコンジュゲートおよび化合物に示されるように、他のヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分もまた可能である。例えば、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分は、リンカーに接続される（例えば、共有結合される）ように修飾され得る。したがって、本開示の実施形態は、リンカーを介して薬物（例えば、マイタンシン）に接続したヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を含む。ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を薬物（例えば、マイタンシン）にカップリングし得るリンカーの様々な実施形態を本明細書で詳細に記載する。

30

【0197】

特定の実施形態において、ポリペプチドは、目的の部分にコンジュゲート化されてもよく、ポリペプチドは、目的の部分へのコンジュゲート化の前に修飾される。ポリペプチドの修飾は、目的の部分へのコンジュゲート化に好適な1つ以上の反応性基を含有する修飾ポリペプチドを産生し得る。いくつかの場合において、ポリペプチドは、1つ以上のアミノ酸残基で修飾されて、目的の部分（例えば、上述のヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分などのカップリング部分を含む部分）へのコンジュゲート化に好適な1つ以上の反応性基を提供し得る。例えば、ポリペプチドは、反応性アルデヒド基（例えば、反応性アルデヒド）を含むように修飾され得る。反応性アルデヒドは、「アルデヒドタグ」または「aldタグ」に含まれてもよく、これらは、本明細書で使用される場合、ホルミルグリシン生成酵素（FGE）の作用によって、2

40

50

ーホルミルグリシン残基（本明細書では「F G l y」と称される）を含有するように変換されたスルファターゼモチーフ（例えば、L（C / S）T P S R）に由来するアミノ酸配列を指す。F G Eによって生成されるF G l y残基は、「ホルミルグリシン」としても称され得る。言い換えれば、「アルデヒドタグ」という用語は、「変換された」スルファターゼモチーフ（すなわち、システインまたはセリン残基がF G Eの作用によってF G l yに変換されたスルファターゼモチーフ、例えば、L（F G l y）T P S R）を含むアミノ酸配列を指すために本明細書で使用される。変換されたスルファターゼモチーフは、「変換されていない」スルファターゼモチーフ（すなわち、システインまたはセリン残基がF G EによってF G l yに変換されていないが、変換されることは可能であるスルファターゼモチーフ、例えば、配列L（C / S）T P S Rを有する、変換されていないスルファターゼモチーフ）を含むアミノ酸配列に由来し得る。スルファターゼモチーフ上のホルミルグリシン生成酵素（F G E）の作用の文脈において使用される場合の「変換」は、スルファターゼモチーフ中のシステインまたはセリン残基のホルミルグリシン（F G l y）残基への（例えば、C y sからF G l yへ、またはS e rからF G l yへの）生化学的修飾を指す。部位特異的タンパク質修飾におけるアルデヒドタグおよびその使用のさらなる態様は、米国特許第7, 985, 783号および米国特許第8, 729, 232号に記載されており、これらの各々の開示は、参照によって本明細書に組み込まれる。

10

【0198】

いくつかの場合において、F G l y残基を含有する修飾ポリペプチドは、F G l yと、化合物（例えば、上述のヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を含有する化合物）との反応によって、目的の部分にコンジュゲート化され得る。例えば、F G l y含有ポリペプチドは、ポリペプチドへの薬物のコンジュゲート化を提供するために好適な条件下で、反応性パートナー含有薬物と接触され得る。いくつかの例において、反応性パートナー含有薬物は、上述のヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を含み得る。例えば、マイタンシンは、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を含むように修飾され得る。いくつかの場合において、マイタンシンは、本明細書に詳細に記載されるように、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルに接続し、例えば、リンカーによって、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルに共有結合される。

20

30

【0199】

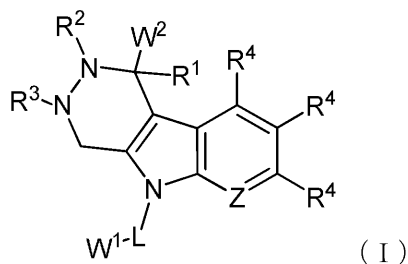
特定の実施形態において、本開示のコンジュゲートは、少なくとも1つの修飾アミノ酸残基を有するポリペプチド（例えば、抗CD37抗体などの抗体）を含む。ポリペプチドの修飾アミノ酸残基は、上述のヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を含有する薬物（例えば、マイタンシン）にカップリングされ得る。特定の実施形態において、ポリペプチド（例えば、抗CD37抗体）の修飾アミノ酸残基は、上述のようにF G l y残基に変換されたシステインまたはセリン残基に由来し得る。特定の実施形態において、F G l y残基は、上述のヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を含有する薬物にコンジュゲート化され、薬物がヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を介してポリペプチドにコンジュゲート化される、本開示のコンジュゲートを提供する場合、F G l y' という用語は、目的の部分（例えば、マイタンシンなどの薬物）にカップリングするポリペプチド（例えば、抗CD37抗体）の修飾アミノ酸残基を指す。

40

【0200】

特定の実施形態において、コンジュゲートは、本明細書に記載の式（I）の少なくとも1つの修飾アミノ酸残基を含む。例えば、コンジュゲートは、式（I）の側鎖を有する少なくとも1つの修飾アミノ酸残基を含んでいてもよく、

【化 10】



10

式中、

Z が、C R⁴ または N であり、

R¹ が、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択され、

R² および R³ が、それぞれ独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択されるか、または R² および R³ が、任意選択により環状に連結されて、5 員もしくは 6 員のヘテロシクリルを形成し、

20

各 R⁴ が、独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択され、

30

L が、 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$ を含むリンカーであり、式中、a、b、c および d が、それぞれ独立して 0 または 1 であり、a、b、c および d の合計が、1~4 であり、

T¹、T²、T³ および T⁴ が、それぞれ独立して、(C₁~C₁₂) アルキル、置換 (C₁~C₁₂) アルキル、(EDA)_w、(PEG)_n、(AA)_p、 $-(CR^{13}OH)_h-$ 、ピペリジン-4-アミノ (4AP)、アセタール基、ヒドラジン、ジスルフィド、およびエステルから選択され、式中、EDA が、エチレンジアミン部分であり、PEG が、ポリエチレングリコールまたは修飾ポリエチレングリコールであり、AA が、アミノ酸残基であり、式中、w が、1~20 の整数であり、n が、1~30 の整数であり、p が、1~20 の整数であり、h が、1~12 の整数であり、

40

V¹、V²、V³ および V⁴ が、それぞれ独立して、共有結合、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 、および $-P(O)OH-$ からなる群から選択され、式中、q が、1~6 の整数であり、

各 R¹³ が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールから選択され、

各 R¹⁵ が、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アリー

50

ル、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択され、

W^1 が、マイタンシノイドであり、

W^2 が、抗CD37抗体である。

【0201】

特定の実施形態において、Zは、 CR^4 またはNである。特定の実施形態において、Zは、 CR^4 である。特定の実施形態において、Zは、Nである。

【0202】

特定の実施形態において、 R^1 は、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される。特定の実施形態において、 R^1 は、水素である。特定の実施形態において、 R^1 は、アルキルもしくは置換アルキル、例えば、 $C_1 \sim 6$ アルキルもしくは $C_1 \sim 6$ 置換アルキル、または $C_1 \sim 4$ アルキルもしくは $C_1 \sim 4$ 置換アルキル、または $C_1 \sim 3$ アルキルもしくは $C_1 \sim 3$ 置換アルキルである。特定の実施形態において、 R^1 は、メチルである。特定の実施形態において、 R^1 は、アルケニルもしくは置換アルケニル、例えば、 $C_2 \sim 6$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 6$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 4$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 4$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 3$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 3$ 置換アルケニルである。特定の実施形態において、 R^1 は、アルキニルもしくは置換アルキニル、例えば、 $C_2 \sim 6$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 6$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 4$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 4$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 3$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 3$ 置換アルケニルである。特定の実施形態において、 R^1 は、アリールもしくは置換アリール、例えば、 $C_5 \sim 8$ アリールもしくは $C_5 \sim 8$ 置換アリール、例えば、 C_5 アリールもしくは C_5 置換アリール、または C_6 アリールもしくは C_6 置換アリールである。特定の実施形態において、 R^1 は、ヘテロアリールもしくは置換ヘテロアリール、例えば、 $C_5 \sim 8$ ヘテロアリールもしくは $C_5 \sim 8$ 置換ヘテロアリール、例えば、 C_5 ヘテロアリールもしくは C_5 置換ヘテロアリール、または C_6 ヘテロアリールもしくは C_6 置換ヘテロアリールである。特定の実施形態において、 R^1 は、シクロアルキルもしくは置換シクロアルキル、例えば、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 8$ 置換シクロアルキル、例えば、 $C_3 \sim 6$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換シクロアルキル、または $C_3 \sim 5$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換シクロアルキルである。特定の実施形態において、 R^1 は、ヘテロシクリルもしくは置換ヘテロシクリル、例えば、 $C_3 \sim 8$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 8$ 置換ヘテロシクリル、例えば、 $C_3 \sim 6$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換ヘテロシクリル、または $C_3 \sim 5$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換ヘテロシクリルである。

【0203】

特定の実施形態において、 R^2 および R^3 は、それぞれ独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択されるか、または R^2 および R^3 が、任意選択により環状に連結されて、5員もしくは6員のヘテロシクリルを形成する。

【0204】

特定の実施形態において、各 R^2 は、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから

選択される。特定の実施形態において、 R^2 は、水素である。特定の実施形態において、 R^2 は、アルキルもしくは置換アルキル、例えば、 $C_1 \sim 6$ アルキルもしくは $C_1 \sim 6$ 置換アルキル、または $C_1 \sim 4$ アルキルもしくは $C_1 \sim 4$ 置換アルキル、または $C_1 \sim 3$ アルキルもしくは $C_1 \sim 3$ 置換アルキルである。特定の実施形態において、 R^2 は、メチルである。特定の実施形態において、 R^2 は、アルケニルもしくは置換アルケニル、例えば、 $C_2 \sim 6$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 6$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 4$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 4$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 3$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 3$ 置換アルケニルである。特定の実施形態において、 R^2 は、アルキニルまたは置換アルキニルである。特定の実施形態において、 R^2 は、アルコキシまたは置換アルコキシである。特定の実施形態において、 R^2 は、アミノまたは置換アミノである。特定の実施形態において、 R^2 は、カルボキシルまたはカルボキシルエステルである。特定の実施形態において、 R^2 は、アシルまたはアシルオキシである。特定の実施形態において、 R^2 は、アシルアミノまたはアミノアシルである。特定の実施形態において、 R^2 は、アルキルアミドまたは置換アルキルアミドである。特定の実施形態において、 R^2 は、スルホニルである。特定の実施形態において、 R^2 は、チオアルコキシまたは置換チオアルコキシである。特定の実施形態において、 R^2 は、アリールもしくは置換アリール、例えば、 $C_5 \sim 8$ アリールもしくは $C_5 \sim 8$ 置換アリール、例えば、 C_5 アリールもしくは C_5 置換アリール、または C_6 アリールもしくは C_6 置換アリールである。特定の実施形態において、 R^2 は、ヘテロアリールもしくは置換ヘテロアリール、例えば、 $C_5 \sim 8$ ヘテロアリールもしくは $C_5 \sim 8$ 置換ヘテロアリール、例えば、 C_5 ヘテロアリールもしくは C_5 置換ヘテロアリール、または C_6 ヘテロアリールもしくは C_6 置換ヘテロアリールである。特定の実施形態において、 R^2 は、シクロアルキルもしくは置換シクロアルキル、例えば、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 8$ 置換シクロアルキル、例えば、 $C_3 \sim 6$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換シクロアルキル、または $C_3 \sim 5$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換シクロアルキルである。特定の実施形態において、 R^2 は、ヘテロシクリルもしくは置換ヘテロシクリル、例えば、 $C_3 \sim 6$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換ヘテロシクリル、または $C_3 \sim 5$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換ヘテロシクリルである。

10

20

【0205】

特定の実施形態において、各 R^3 は、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される。特定の実施形態において、 R^3 は、水素である。特定の実施形態において、 R^3 は、アルキルもしくは置換アルキル、例えば、 $C_1 \sim 6$ アルキルもしくは $C_1 \sim 6$ 置換アルキル、または $C_1 \sim 4$ アルキルもしくは $C_1 \sim 4$ 置換アルキル、または $C_1 \sim 3$ アルキルもしくは $C_1 \sim 3$ 置換アルキルである。特定の実施形態において、 R^3 は、メチルである。特定の実施形態において、 R^3 は、アルケニルもしくは置換アルケニル、例えば、 $C_2 \sim 6$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 6$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 4$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 4$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 3$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 3$ 置換アルケニルである。特定の実施形態において、 R^3 は、アルキニルまたは置換アルキニルである。特定の実施形態において、 R^3 は、アルコキシまたは置換アルコキシである。特定の実施形態において、 R^3 は、アミノまたは置換アミノである。特定の実施形態において、 R^3 は、カルボキシルまたはカルボキシルエステルである。特定の実施形態において、 R^3 は、アシルまたはアシルオキシである。特定の実施形態において、 R^3 は、アシルアミノまたはアミノアシルである。特定の実施形態において、 R^3 は、アルキルアミドまたは置換アルキルアミドである。特定の実施形態において、 R^3 は、スルホニルである。特定の実施形態において、 R^3 は、チオアルコキシまたは置換チオアルコキシである。特定の実施形態において、 R^3 は、アリールもしくは置換アリール、例えば、 $C_5 \sim 8$ アリールもしくは C

30

40

50

5～8置換アリール、例えば、C₅アリールもしくはC₅置換アリール、またはC₆アリールもしくはC₆置換アリールである。特定の実施形態において、R³は、ヘテロアリールもしくは置換ヘテロアリール、例えば、C₅～8ヘテロアリールもしくはC₅～8置換ヘテロアリール、例えば、C₅ヘテロアリールもしくはC₅置換ヘテロアリール、またはC₆ヘテロアリールもしくはC₆置換ヘテロアリールである。特定の実施形態において、R³は、シクロアルキルもしくは置換シクロアルキル、例えば、C₃～8シクロアルキルもしくはC₃～8置換シクロアルキル、例えば、C₃～6シクロアルキルもしくはC₃～6置換シクロアルキル、またはC₃～5シクロアルキルもしくはC₃～5置換シクロアルキルである。特定の実施形態において、R³は、ヘテロシクリルもしくは置換ヘテロシクリル、例えば、C₃～8ヘテロシクリルもしくはC₃～8置換ヘテロシクリル、例えば、C₃～6ヘテロシクリルもしくはC₃～6置換ヘテロシクリル、またはC₃～5ヘテロシクリルもしくはC₃～5置換ヘテロシクリルである。

10

【0206】

特定の実施形態において、R²およびR³は、任意選択により環状に連結されて、5員または6員のヘテロシクリルを形成する。特定の実施形態において、R²およびR³は、環状に連結されて、5員または6員のヘテロシクリルを形成する。特定の実施形態において、R²およびR³は、環状に連結されて5員のヘテロシクリルを形成する。特定の実施形態において、R²およびR³は、環状に連結されて6員のヘテロシクリルを形成する。

【0207】

特定の実施形態において、各R⁴は、独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される。

20

【0208】

各R⁴の様々な可能性は、以下により詳細に記載される。特定の実施形態において、R⁴は、水素である。特定の実施形態において、各R⁴は、水素である。特定の実施形態において、R⁴は、F、Cl、Br、またはIなどのハロゲンである。特定の実施形態において、R⁴は、Fである。特定の実施形態において、R⁴は、Clである。特定の実施形態において、R⁴は、Brである。特定の実施形態において、R⁴は、Iである。特定の実施形態において、R⁴は、アルキルもしくは置換アルキル、例えば、C₁～6アルキルもしくはC₁～6置換アルキル、またはC₁～4アルキルもしくはC₁～4置換アルキル、またはC₁～3アルキルもしくはC₁～3置換アルキルである。特定の実施形態において、R⁴は、メチルである。特定の実施形態において、R⁴は、アルケニルもしくは置換アルケニル、例えば、C₂～6アルケニルもしくはC₂～6置換アルケニル、またはC₂～4アルケニルもしくはC₂～4置換アルケニル、またはC₂～3アルケニルもしくはC₂～3置換アルケニルである。特定の実施形態において、R⁴は、アルキニルまたは置換アルキニルである。特定の実施形態において、R⁴は、アルコキシまたは置換アルコキシである。特定の実施形態において、R⁴は、アミノまたは置換アミノである。特定の実施形態において、R⁴は、カルボキシルまたはカルボキシルエステルである。特定の実施形態において、R⁴は、アシルまたはアシルオキシである。特定の実施形態において、R⁴は、アシルアミノまたはアミノアシルである。特定の実施形態において、R⁴は、アルキルアミドまたは置換アルキルアミドである。特定の実施形態において、R⁴は、スルホニルである。特定の実施形態において、R⁴は、チオアルコキシまたは置換チオアルコキシである。特定の実施形態において、R⁴は、アリールもしくは置換アリール、例えば、C₅～8アリールもしくはC₅～8置換アリール、例えば、C₅アリールもしくはC₅置換アリール、またはC₆アリールもしくはC₆置換アリール（例えば、フェニルまたは置換フェニル）である。特定の実施形態において、R⁴は、ヘテロアリールもしくは置換ヘテロアリ

30

40

50

ール、例えば、 $C_5 \sim 8$ ヘテロアリールもしくは $C_5 \sim 8$ 置換ヘテロアリール、例えば、 C_5 ヘテロアリールもしくは C_5 置換ヘテロアリール、または C_6 ヘテロアリールもしくは C_6 置換ヘテロアリールである。特定の実施形態において、 R^4 は、シクロアルキルもしくは置換シクロアルキル、例えば、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 8$ 置換シクロアルキル、例えば、 $C_3 \sim 6$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換シクロアルキル、または $C_3 \sim 5$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換シクロアルキルである。特定の実施形態において、 R^4 は、ヘテロシクリルもしくは置換ヘテロシクリル、例えば、 $C_3 \sim 8$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 8$ 置換ヘテロシクリル、例えば、 $C_3 \sim 6$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換ヘテロシクリル、または $C_3 \sim 5$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換ヘテロシクリルである。

10

【0209】

特定の実施形態において、 W^1 は、マイタンシノイドである。マイタンシノイドのさらなる記載は、本明細書の開示に見出される。

【0210】

特定の実施形態において、 W^2 は、抗CD37抗体である。主題のコンジュゲートにおける使用を見出す抗CD37抗体のさらなる記載は、本明細書の開示に見出される。

【0211】

特定の実施形態において、式(I)の化合物は、リンカーLを含む。リンカーは、目的の1つ以上の部分および／または1つ以上のポリペプチドにカップリング部分を結合させるために利用され得る。いくつかの実施形態において、リンカーは、カップリング部分をポリペプチドまたは化学エンティティのいずれかに結合する。リンカーは、任意の好都合な位置で（例えば、本明細書に記載されるように）カップリング部分に結合され得る（例えば、共有結合され得る）。例えば、リンカーは、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を薬物（例えば、マイタンシン）に接続し得る。ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分を使用して、リンカー（したがって、薬物、例えば、マイタンシン）を、抗CD37抗体などのポリペプチドにコンジュゲート化し得る。例えば、カップリング部分を使用して、リンカー（したがって、薬物、例えば、マイタンシン）を抗CD37抗体のFGly残基などのポリペプチドの修飾アミノ酸残基にコンジュゲート化し得る。

20

【0212】

特定の実施形態において、Lは、カップリング部分を W^1 に接続し、したがって、カップリング部分は、リンカーLを介して W^1 に間接的に結合される。上述のように、 W^1 は、マイタンシノイドであり、したがって、Lは、カップリング部分をマイタンシノイドに接続し、例えば、カップリング部分は、リンカーLを介してマイタンシノイドに間接的に結合される。

30

【0213】

任意の好都合なリンカーが、主題のコンジュゲートおよび化合物で利用され得る。特定の実施形態において、Lは、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシルアミノ、アルキルアミド、置換アルキルアミド、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される基を含む。特定の実施形態において、Lは、アルキルまたは置換アルキル基を含む。特定の実施形態において、Lは、アルケニルまたは置換アルケニル基を含む。特定の実施形態において、Lは、アルキニルまたは置換アルキニル基を含む。特定の実施形態において、Lは、アルコキシまたは置換アルコキシ基を含む。特定の実施形態において、Lは、アミノまたは置換アミノ基を含む。特定の実施形態において、Lは、カルボキシルまたはカルボキシルエステル基を含む。特定の実施形態において、Lは、アシルアミノ基を含む。特定の実施形態において、Lは、アルキルアミドまたは置換アルキルアミド基を含む。特定の実施形態において、Lは、アリールまたは置換アリール基を含む。特定の実施形態において、Lは

40

50

、ヘテロアリアルまたは置換ヘテロアリアル基を含む。特定の実施形態において、Lは、シクロアルキルまたは置換シクロアルキル基を含む。特定の実施形態において、Lは、ヘテロシクリルまたは置換ヘテロシクリル基を含む。

【0214】

特定の実施形態において、Lは、ポリマーを含む。例えば、ポリマーは、ポリエチレングリコール、メトキシポリエチレングリコール、ポリエチレングリコールホモポリマー、ポリプロピレングリコールホモポリマー、エチレングリコールとプロピレングリコールとのコポリマー（例えば、ホモポリマーおよびコポリマーが非置換であるか、またはアルキル基で一端で置換されている）、ポリビニルアルコール、ポリビニルエチルエーテル、ポリビニルピロリドン、それらの組み合わせなどを含む、ポリアルキレングリコールおよびその誘導体を含んでもよい。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリアルキレングリコールである。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリエチレングリコールである。他のリンカーも、以下により詳細に記載されるコンジュゲートおよび化合物に示されるように、可能である。

10

【0215】

いくつかの実施形態において、Lは、式 $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d$ によって記載されるリンカーであり、式中、 L^1 、 L^2 、 L^3 、および L^4 は、それぞれ独立して、リンカー単位であり、式中、a、b、c および d が、それぞれ独立して 0 または 1 であり、a、b、c および d の合計が、1～4 である。

【0216】

特定の実施形態において、a、b、c、および d の合計は、1 である。特定の実施形態において、a、b、c、および d の合計は、2 である。特定の実施形態において、a、b、c、および d の合計は、3 である。特定の実施形態において、a、b、c、および d の合計は、4 である。特定の実施形態において、a、b、c、および d は、それぞれ 1 である。特定の実施形態において、a、b および c は、それぞれ 1 であり、d は、0 である。特定の実施形態において、a および b は、それぞれ 1 であり、c および d は、それぞれ 0 である。特定の実施形態において、a は、1 であり、b、c および d は、それぞれ 0 である。

20

【0217】

特定の実施形態において、 L^1 は、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分に接続している（例えば、上の式（I）に示されるとおり）。特定の実施形態において、 L^2 は、存在する場合、 W^1 に接続する。特定の実施形態において、 L^3 は、存在する場合、 W^1 に接続する。特定の実施形態において、 L^4 は、存在する場合、 W^1 に接続する。

30

【0218】

任意の好都合なリンカー単位は、主題のリンカーで利用され得る。目的のリンカー単位としては、限定されないが、ポリエチレングリコール、ポリエチレンおよびポリアクリレート、アミノ酸残基、炭水化物系ポリマーまたは炭水化物残基およびそれらの誘導体、ポリヌクレオチド、アルキル基、アリアル基、ヘテロ環式環基、それらの組み合わせ、ならびにそれらの置換態様などのポリマーの単位が挙げられる。いくつかの実施形態において、 L^1 、 L^2 、 L^3 、および L^4 （存在する場合）のそれぞれは、ポリエチレングリコール、修飾ポリエチレングリコール、アミノ酸残基、アルキル基、置換アルキル、アリアル基、置換アリアル基、およびジアミン（例えば、アルキレンジアミンを含む連結基）から独立して選択される 1 つ以上の基を含む。

40

【0219】

いくつかの実施形態において、 L^1 （存在する場合）は、ポリエチレングリコール、修飾ポリエチレングリコール、アミノ酸残基、アルキル基、置換アルキル、アリアル基、置換アリアル基、またはジアミンを含む。いくつかの実施形態において、 L^1 は、ポリエチレングリコールを含む。いくつかの実施形態において、 L^1 は、修飾ポリエチレングリコールを含む。いくつかの実施形態において、 L^1 は、アミノ酸残基を含む。いくつかの実

50

施形態において、 L^1 は、アルキル基または置換アルキルを含む。いくつかの実施形態において、 L^1 は、アリール基または置換アリール基を含む。いくつかの実施形態において、 L^1 は、ジアミン（例えば、アルキレンジアミンを含む連結基）を含む。

【0220】

いくつかの実施形態において、 L^2 （存在する場合）は、ポリエチレングリコール、修飾ポリエチレングリコール、アミノ酸残基、アルキル基、置換アルキル、アリール基、置換アリール基、またはジアミンを含む。いくつかの実施形態において、 L^2 は、ポリエチレングリコールを含む。いくつかの実施形態において、 L^2 は、修飾ポリエチレングリコールを含む。いくつかの実施形態において、 L^2 は、アミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態において、 L^2 は、アルキル基または置換アルキルを含む。いくつかの実施形態において、 L^2 は、アリール基または置換アリール基を含む。いくつかの実施形態において、 L^2 は、ジアミン（例えば、アルキレンジアミンを含む連結基）を含む。

10

【0221】

いくつかの実施形態において、 L^3 （存在する場合）は、ポリエチレングリコール、修飾ポリエチレングリコール、アミノ酸残基、アルキル基、置換アルキル、アリール基、置換アリール基、またはジアミンを含む。いくつかの実施形態において、 L^3 は、ポリエチレングリコールを含む。いくつかの実施形態において、 L^3 は、修飾ポリエチレングリコールを含む。いくつかの実施形態において、 L^3 は、アミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態において、 L^3 は、アルキル基または置換アルキルを含む。いくつかの実施形態において、 L^3 は、アリール基または置換アリール基を含む。いくつかの実施形態において、 L^3 は、ジアミン（例えば、アルキレンジアミンを含む連結基）を含む。

20

【0222】

いくつかの実施形態において、 L^4 （存在する場合）は、ポリエチレングリコール、修飾ポリエチレングリコール、アミノ酸残基、アルキル基、置換アルキル、アリール基、置換アリール基、またはジアミンを含む。いくつかの実施形態において、 L^4 は、ポリエチレングリコールを含む。いくつかの実施形態において、 L^4 は、修飾ポリエチレングリコールを含む。いくつかの実施形態において、 L^4 は、アミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態において、 L^4 は、アルキル基または置換アルキルを含む。いくつかの実施形態において、 L^4 は、アリール基または置換アリール基を含む。いくつかの実施形態において、 L^4 は、ジアミン（例えば、アルキレンジアミンを含む連結基）を含む。

30

【0223】

いくつかの実施形態において、 L は、 $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d-$ を含むリンカーであり、式中、

$-(L^1)_a-$ は、 $-(T^1-V^1)_a-$ であり、

$-(L^2)_b-$ は、 $-(T^2-V^2)_b-$ であり、

$-(L^3)_c-$ は、 $-(T^3-V^3)_c-$ であり、

$-(L^4)_d-$ は、 $-(T^4-V^4)_d-$ であり、

式中、 T^1 、 T^2 、 T^3 、および T^4 は、存在する場合、テザー基であり、

V^1 、 V^2 、 V^3 、および V^4 は、存在する場合、共有結合または連結官能基であり、

a 、 b 、 c および d が、それぞれ独立して0または1であり、 a 、 b 、 c および d の合計が、1～4である。

40

【0224】

上述のように、特定の実施形態において、 L^1 は、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分に接続している（例えば、上の式（I）に示されるとおり）。したがって、特定の実施形態において、 T^1 は、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分に接続している（例えば、上の式（I）に示されるとおり）。特定の実施形態において、 V^1 は、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。特定の実施形態において、 L^2 は、存在する場合、 W^1 に接続する。したがって、特定の実施形態において、 T^2 は、存在する場合、 W^1 に接続するか、または V^2 は、存在する場合、 W^1 に接続する。特定の実施形態において、 L^3 は

50

、存在する場合、 W^1 に接続する。したがって、特定の実施形態において、 T^3 は、存在する場合、 W^1 に接続するか、または V^3 は、存在する場合、 W^1 に接続する。特定の実施形態において、 L^4 は、存在する場合、 W^1 に接続する。したがって、特定の実施形態において、 T^4 は、存在する場合、 W^1 に接続するか、または V^4 は、存在する場合、 W^1 に接続する。

【0225】

テザー基、 T^1 、 T^2 、 T^3 、および T^4 に関して、任意の好都合なテザー基が、主題のリンカーで利用され得る。いくつかの実施形態において、 T^1 、 T^2 、 T^3 、および T^4 は、それぞれ、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_h-$ 、ピペリジン-4-アミノ(4AP)、アセタール基、ジスルフィド、ヒドラジン、およびエステルから独立して選択される1つ以上の基を含み、式中、 w が、1～20の整数であり、 n が、1～30の整数であり、 p が、1～20の整数であり、 h が、1～12の整数である。

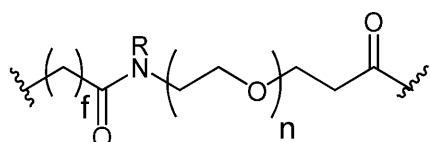
10

【0226】

特定の実施形態において、 a 、 b 、 c および d の合計が2であり、 T^1-V^1 、 T^2-V^2 、 T^3-V^3 、または T^4-V^4 のうちの1つが $(PEG)_n-CO$ である場合、 n が、6ではない。例えば、いくつかの例において、リンカーは、以下の構造を有していてもよく、

【化11】

20



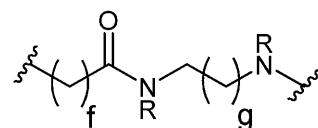
式中、 n が、6ではない。

【0227】

特定の実施形態において、 a 、 b 、 c および d の合計が2であり、 T^1-V^1 、 T^2-V^2 、 T^3-V^3 、または T^4-V^4 のうちの1つが $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル- NR^{15} である場合、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルが、 C_5 -アルキルではない。例えば、いくつかの例において、リンカーは、以下の構造を有していてもよく、

30

【化12】



式中、 g が、4ではない。

【0228】

特定の実施形態において、テザー基（例えば、 T^1 、 T^2 、 T^3 、および／または T^4 ）は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルまたは置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルを含む。特定の実施形態において、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、1～12個の炭素原子、例えば、1～10個の炭素原子、または1～8個の炭素原子、または1～6個の炭素原子、または1～5個の炭素原子、または1～4個の炭素原子、または1～3個の炭素原子を含む、直鎖または分枝鎖のアルキル基である。いくつかの例において、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、アルキルもしくは置換アルキル、例えば、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、または $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、または $C_1 \sim C_6$ アルキル、または $C_1 \sim C_3$ アルキルであってもよい。いくつかの例において、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、 C_2 -アルキルである。例えば、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、アルキレンもしくは置換アルキレン、例えば、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキレン、または $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン、または $C_1 \sim C_6$ アルキレン、または $C_1 \sim C_3$

40

50

アルキレンであってもよい。いくつかの例において、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、 C_2 -アルキレンである。

【0229】

特定の実施形態において、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、1～12個の炭素原子、例えば、1～10個の炭素原子、または1～8個の炭素原子、または1～6個の炭素原子、または1～5個の炭素原子、または1～4個の炭素原子、または1～3個の炭素原子を含む、直鎖または分枝鎖の置換アルキル基である。いくつかの例において、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、置換アルキル、例えば、置換 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、または置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、または置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル、または置換 $C_1 \sim C_3$ アルキルであってもよい。いくつかの例において、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、置換 C_2 -アルキルである。例えば、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、置換アルキレン、例えば、置換 $C_1 \sim C_{12}$ アルキレン、または置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン、または置換 $C_1 \sim C_6$ アルキレン、または置換 $C_1 \sim C_3$ アルキレンであってもよい。いくつかの例において、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルは、置換 C_2 -アルキレンである。

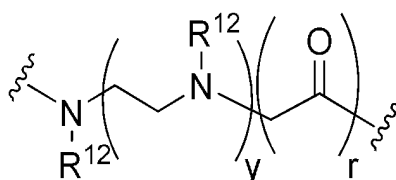
10

【0230】

特定の実施形態において、テザー基（例えば、 T^1 、 T^2 、 T^3 、および／または T^4 ）は、エチレンジアミン（EDA）部分、例えば、EDAを含有するテザーを含む。特定の実施形態において、 $(EDA)_w$ は、1つ以上のEDA部分を含み、例えば、 w が、1～50、例えば、1～40、1～30、1～20、1～12、または1～6、例えば、1、2、3、4、5、または6の整数である）。連結したエチレンジアミン（EDA）部分は、任意選択により任意の好都合な置換基、例えば、アルキル、置換アルキル、アシル、置換アシル、アリール、または置換アリールで、1つ以上の好都合な位置で置換され得る。特定の実施形態において、EDA部分は、構造

20

【化13】



30

によって記載され、

式中、 y が、1～6の整数であり、 r が、0または1であり、各 R^{12} は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される。特定の実施形態において、 y は、1、2、3、4、5、または6である。特定の実施形態において、 y は1であり、 r は0である。特定の実施形態において、 y は1であり、 r は1である。特定の実施形態において、 y は2であり、 r は0である。特定の実施形態において、 y は2であり、 r は1である。特定の実施形態において、各 R^{12} は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールから選択される。特定の実施形態において、EDAの任意の2つの隣接する R^{12} 基は、環状に連結して、例えば、ピペラジニル環を形成してもよい。特定の実施形態において、 y は、1であり、2つの隣接する R^{12} 基は、アルキル基であり、環状に連結してピペラジニル環を形成する。特定の実施形態において、 y は、1であり、隣接する R^{12} 基は、水素、アルキル（例えば、メチル）、および置換アルキル（例えば、低級アルキル-OH、例えば、エチル-OH、またはプロピル-OH）から選択される。

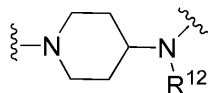
40

50

【0231】

特定の実施形態において、テザー基は、4-アミノ-ピペリジン（4AP）部分（本明細書では、ピペリジン-4-アミノ、P4Aとも称される）を含む。4AP部分は、任意選択により任意の好都合な置換基、例えば、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アシル、置換アシル、アリール、または置換アリールで、1つ以上の好都合な位置で置換され得る。特定の実施形態において、4AP部分は、以下の構造によって記載され、

【化14】



10

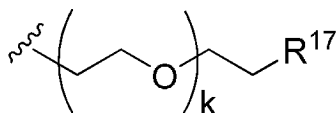
R¹²は、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分（例えば、ポリエチレングリコールまたは修飾ポリエチレングリコール）、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される。特定の実施形態において、R¹²は、ポリエチレングリコール部分である。特定の実施形態において、R¹²は、カルボキシ修飾ポリエチレングリコール部分である。

20

【0232】

特定の実施形態において、R¹²は、式（PEG）_kによって記載されるポリエチレングリコール部分を含み、以下の構造によって表されてもよく、

【化15】



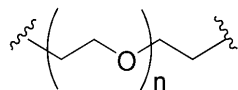
30

式中、kが、1～20、例えば、1～18、または1～16、または1～14、または1～12、または1～10、または1～8、または1～6、または1～4、または1もしくは2、例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20などの整数である。いくつかの例において、kは、2である。特定の実施形態において、R¹⁷は、OH、COOH、またはCOORから選択され、式中、Rが、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される。特定の実施形態において、R¹⁷は、COOHである。

【0233】

特定の実施形態において、テザー基（例えば、T¹、T²、T³、および／またはT⁴）は、（PEG）_nを含み、式中、（PEG）_nが、ポリエチレングリコールまたは修飾ポリエチレングリコール連結単位である。特定の実施形態において、（PEG）_nは、以下の構造によって記載され、

【化16】



40

式中、nが、1～50、例えば、1～40、1～30、1～20、1～12、または1～

50

6、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20などの整数である。いくつかの例において、 n は、2である。いくつかの例において、 n は、3である。いくつかの例において、 n は、6である。いくつかの例において、 n は、12である。

【0234】

特定の実施形態において、テザー基（例えば、 T^1 、 T^2 、 T^3 、および／または T^4 ）は、 $(AA)_p$ を含み、式中、 AA が、アミノ酸残基である。任意の好都合なアミノ酸が利用され得る。目的のアミノ酸としては、限定されないが、L-アミノ酸およびD-アミノ酸、天然に存在するアミノ酸、例えば、20個の主なアルファ-アミノ酸およびベータ-アラニンのうちのいずれか、天然に存在しないアミノ酸（例えば、アミノ酸類似体）、例えば、天然に存在しないアルファ-アミノ酸または天然に存在しないベータ-アミノ酸などが挙げられる。特定の実施形態において、 p は、1～50、例えば、1～40、1～30、1～20、1～12、または1～6、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20などの整数である。特定の実施形態において、 p は、1である。特定の実施形態において、 p は、2である。

10

【0235】

特定の実施形態において、テザー基（例えば、 T^1 、 T^2 、 T^3 、および／または T^4 ）は、式 $-(CR^{13}OH)_h-$ によって記載される部分を含み、式中、 h が、0であるか、または n が、1～50、例えば、1～40、1～30、1～20、1～12、または1～6、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12などの整数である。特定の実施形態において、 h は、1である。特定の実施形態において、 h は、2である。特定の実施形態において、 R^{13} は、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される。特定の実施形態において、 R^{13} は、水素である。特定の実施形態において、 R^{13} は、アルキルもしくは置換アルキル、例えば、 $C_{1\sim6}$ アルキルもしくは $C_{1\sim6}$ 置換アルキル、または $C_{1\sim4}$ アルキルもしくは $C_{1\sim4}$ 置換アルキル、または $C_{1\sim3}$ アルキルもしくは $C_{1\sim3}$ 置換アルキルである。特定の実施形態において、 R^{13} は、アルケニルもしくは置換アルケニル、例えば、 $C_{2\sim6}$ アルケニルもしくは $C_{2\sim6}$ 置換アルケニル、または $C_{2\sim4}$ アルケニルもしくは $C_{2\sim4}$ 置換アルケニル、または $C_{2\sim3}$ アルケニルもしくは $C_{2\sim3}$ 置換アルケニルである。特定の実施形態において、 R^{13} は、アルキニルまたは置換アルキニルである。特定の実施形態において、 R^{13} は、アルコキシまたは置換アルコキシである。特定の実施形態において、 R^{13} は、アミノまたは置換アミノである。特定の実施形態において、 R^{13} は、カルボキシルまたはカルボキシルエステルである。特定の実施形態において、 R^{13} は、アシルまたはアシルオキシである。特定の実施形態において、 R^{13} は、アシルアミノまたはアミノアシルである。特定の実施形態において、 R^{13} は、アルキルアミドまたは置換アルキルアミドである。特定の実施形態において、 R^{13} は、スルホニルである。特定の実施形態において、 R^{13} は、チオアルコキシまたは置換チオアルコキシである。特定の実施形態において、 R^{13} は、アリールもしくは置換アリール、例えば、 $C_{5\sim8}$ アリールもしくは $C_{5\sim8}$ 置換アリール、例えば、 C_5 アリールもしくは C_5 置換アリール、または C_6 アリールもしくは C_6 置換アリールである。特定の実施形態において、 R^{13} は、ヘテロアリールもしくは置換ヘテロアリール、例えば、 $C_{5\sim8}$ ヘテロアリールもしくは $C_{5\sim8}$ 置換ヘテロアリール、例えば、 C_5 ヘテロアリールもしくは C_5 置換ヘテロアリール、または C_6 ヘテロアリールもしくは C_6 置換ヘテロアリールである。特定の実施形態において、 R^{13} は、シクロアルキルもしくは置換シクロアルキル、例えば、 $C_{3\sim8}$ シクロアルキルもしくは

20

30

40

50

は $C_3 \sim 8$ 置換シクロアルキル、例えば、 $C_3 \sim 6$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換シクロアルキル、または $C_3 \sim 5$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換シクロアルキルである。特定の実施形態において、 R^{13} は、ヘテロシクリルもしくは置換ヘテロシクリル、例えば、 $C_3 \sim 8$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 8$ 置換ヘテロシクリル、例えば、 $C_3 \sim 6$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換ヘテロシクリル、または $C_3 \sim 5$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換ヘテロシクリルである。

【0236】

特定の実施形態において、 R^{13} は、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールから選択される。これらの実施形態において、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールは、 R^{13} について上に記載されているとおりである。

10

【0237】

連結官能基、 V^1 、 V^2 、 V^3 、および V^4 に関して、任意の好都合な連結官能基が、主題のリンカーで利用され得る。目的の連結官能基としては、限定されないが、アミノ、カルボニル、アミド、オキシカルボニル、カルボキシ、スルホニル、スルホキシド、スルホニルアミノ、アミノスルホニル、チオ、オキシ、ホスホ、ホスホロアミデート、チオホスホライデートなどが挙げられる。いくつかの実施形態において、 V^1 、 V^2 、 V^3 、および V^4 は、それぞれ独立して、共有結合、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 、および $-P(O)OH-$ から選択され、式中、 q が、1～6の整数である。特定の実施形態において、 q は、1～6（例えば、1、2、3、4、5、または6）の整数である。特定の実施形態において、 q は、1である。特定の実施形態において、 q は、2である。

20

【0238】

いくつかの実施形態において、各 R^{15} は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される。

30

【0239】

各 R^{15} の様々な可能性は、以下により詳細に記載される。特定の実施形態において、 R^{15} は、水素である。特定の実施形態において、各 R^{15} は、水素である。特定の実施形態において、 R^{15} は、アルキルもしくは置換アルキル、例えば、 $C_1 \sim 6$ アルキルもしくは $C_1 \sim 6$ 置換アルキル、または $C_1 \sim 4$ アルキルもしくは $C_1 \sim 4$ 置換アルキル、または $C_1 \sim 3$ アルキルもしくは $C_1 \sim 3$ 置換アルキルである。特定の実施形態において、 R^{15} は、アルケニルもしくは置換アルケニル、例えば、 $C_2 \sim 6$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 6$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 4$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 4$ 置換アルケニル、または $C_2 \sim 3$ アルケニルもしくは $C_2 \sim 3$ 置換アルケニルである。特定の実施形態において、 R^{15} は、アルキニルまたは置換アルキニルである。特定の実施形態において、 R^{15} は、アルコキシまたは置換アルコキシである。特定の実施形態において、 R^{15} は、アミノまたは置換アミノである。特定の実施形態において、 R^{15} は、カルボキシルまたはカルボキシルエステルである。特定の実施形態において、 R^{15} は、アシルまたはアシルオキシである。特定の実施形態において、 R^{15} は、アシルアミノまたはアミノアシルである。特定の実施形態において、 R^{15} は、アルキルアミドまたは置換アルキルアミドである。特定の実施形態において、 R^{15} は、スルホニルである。特定の実施形態において、 R^{15} は、チオアルコキシまたは置換チオアルコキシである。特定の実施形態において、 R^{15} は、アリールもしくは置換アリール、例えば、 $C_5 \sim 8$ アリールもしくは $C_5 \sim 8$ 置換アリール、例えば、 C_5 アリールもしくは C_5 置換アリール、または C_6 アリールもし

40

50

くは C_6 置換アリールである。特定の実施形態において、 R^{15} は、ヘテロアリールもしくは置換ヘテロアリール、例えば、 $C_5 \sim 8$ ヘテロアリールもしくは $C_5 \sim 8$ 置換ヘテロアリール、例えば、 C_5 ヘテロアリールもしくは C_5 置換ヘテロアリール、または C_6 ヘテロアリールもしくは C_6 置換ヘテロアリールである。特定の実施形態において、 R^{15} は、シクロアルキルもしくは置換シクロアルキル、例えば、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 8$ 置換シクロアルキル、例えば、 $C_3 \sim 6$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換シクロアルキル、または $C_3 \sim 5$ シクロアルキルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換シクロアルキルである。特定の実施形態において、 R^{15} は、ヘテロシクリルもしくは置換ヘテロシクリル、例えば、 $C_3 \sim 8$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 8$ 置換ヘテロシクリル、例えば、 $C_3 \sim 6$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 6$ 置換ヘテロシクリル、または $C_3 \sim 5$ ヘテロシクリルもしくは $C_3 \sim 5$ 置換ヘテロシクリルである。

10

【0240】

特定の実施形態において、各 R^{15} は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルから選択される。これらの実施形態において、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリル置換基は、 R^{15} について上に記載されているとおりである。

20

【0241】

特定の実施形態において、テザー基は、アセタール基、ジスルフィド、ヒドラジン、またはエステルを含む。いくつかの実施形態において、テザー基は、アセタール基を含む。いくつかの実施形態において、テザー基は、ジスルフィドを含む。いくつかの実施形態において、テザー基は、ヒドラジンを含む。いくつかの実施形態において、テザー基は、エステルを含む。

【0242】

上述のように、いくつかの実施形態において、 L は、 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$ を含むリンカーであり、式中、 a 、 b 、 c および d が、それぞれ独立して 0 または 1 であり、 a 、 b 、 c および d の合計が、1～4 である。

30

【0243】

いくつかの実施形態において、主題のリンカーにおいて、

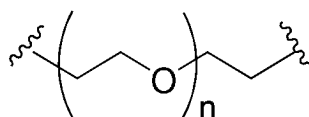
T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルおよび置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルから選択され、 T^2 、 T^3 および T^4 は、それぞれ独立して、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキル、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_h-$ 、4-アミノ-ピペリジン (4AP)、アセタール基、ジスルフィド、ヒドラジン、およびエステルから選択され、

V^1 、 V^2 、 V^3 および V^4 は、それぞれ独立して、共有結合、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 、および $-P(O)OH-$ から選択され、式中、 q が、1～6 の整数であり、

40

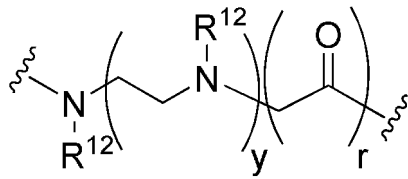
$(PEG)_n$ が、

【化17】

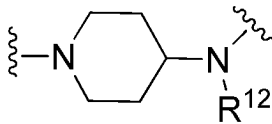


50

であり、式中、 n が、 $1 \sim 30$ の整数であり、
EDAが、以下の構造
【化18】



を有するエチレンジアミン部分であり、式中、 y が、 $1 \sim 6$ の整数であり、 r が、 0 または 1 であり、
4-アミノ-ピペリジン(4AP)が、
【化19】



であり、
AAは、アミノ酸残基であり、式中、 p が、 $1 \sim 20$ の整数であり、
各 R^{15} および R^{12} は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールから選択され、任意の2つの隣接する R^{12} 基が、環状に連結してピペラジニル環を形成してもよく、
 R^{13} が、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、および置換アリールから選択される。

【0244】

特定の実施形態において、 T^1 、 T^2 、 T^3 、および T^4 、ならびに V^1 、 V^2 、 V^3 、および V^4 は、以下の表(例えば、以下の表の1つの列)から選択される。

30

40

50

【表 3】

表 2

T ¹	V ¹	V ²	V ²	T ³	V ³	T ⁴	V ⁴
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-NR ¹⁵ -	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-NR ¹⁵ -	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(EDA) _w	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-SO ₂ -	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	置換(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-SO ₂ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹⁵ -	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-NR ¹⁵ -	(PEG) _n	-P(O)OH-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(EDA) _w	-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	-	-CO-	-	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CONR ¹⁵ -	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -	-	-CO-	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-NR ¹⁵ -
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	4AP	-CO-	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	(AA) _p	-
(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	4AP	-CO-	(C ₁ ~C ₁₂)アルキル	-CO-	-	-

10

20

【0245】

特定の実施形態において、Lは、 $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d-$ を含むリンカーであり、式中、 $-(L^1)_a-$ は、 $-(T^1-V^1)_a-$ であり、 $-(L^2)_b-$ は、 $-(T^2-V^2)_b-$ であり、 $-(L^3)_c-$ は、 $-(T^3-V^3)_c-$ であり、 $-(L^4)_d-$ は、 $-(T^4-V^4)_d-$ である。

30

【0246】

特定の実施形態において、T¹は、(C₁~C₁₂)アルキルであり、V¹は、-CO-であり、T²は、(AA)_pであり、V²は、-NR¹⁵-であり、T³は、(PEG)_nであり、V³は、-CO-であり、T⁴は、存在せず、V⁴は、存在しない。

【0247】

特定の実施形態において、T¹は、(C₁~C₁₂)アルキルであり、V¹は、-CO-であり、T²は、(EDA)_wであり、V²は、-CO-であり、T³は、(CR¹³OH)_hであり、V³は、-CONR¹⁵-であり、T⁴は、(C₁~C₁₂)アルキルであり、V⁴は、-CO-である。

40

【0248】

特定の実施形態において、T¹は、(C₁~C₁₂)アルキルであり、V¹は、-CO-であり、T²は、(AA)_pであり、V²は、-NR¹⁵-であり、T³は、(C₁~C₁₂)アルキルであり、V³は、-CO-であり、T⁴は、存在せず、V⁴は、存在しない。

【0249】

特定の実施形態において、T¹は、(C₁~C₁₂)アルキルであり、V¹は、-CONR¹⁵-であり、T²は、(PEG)_nであり、V²は、-CO-であり、T³は、存在せず、V³は、存在せず、T⁴は、存在せず、V⁴は、存在しない。

【0250】

特定の実施形態において、T¹は、(C₁~C₁₂)アルキルであり、V¹は、-CO-

50

ーであり、 T^2 は、 $(AA)_p$ であり、 V^2 は、存在せず、 T^3 は、存在せず、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0251】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^2 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、存在せず、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0252】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(AA)_p$ であり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^3 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

10

【0253】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(EDA)_w$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、存在せず、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0254】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^2 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、存在せず、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0255】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^2 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、 $(EDA)_w$ であり、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

20

【0256】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(EDA)_w$ であり、 V^2 は、存在せず、 T^3 は、存在せず、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0257】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^2 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、 $(AA)_p$ であり、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

30

【0258】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(EDA)_w$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、 $(CR^{13}OH)_h$ であり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、 $(AA)_p$ であり、 V^4 は、存在しない。

【0259】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(AA)_p$ であり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、 $(AA)_p$ であり、 V^4 は、存在しない。

40

【0260】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(AA)_p$ であり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、 $(AA)_p$ であり、 V^4 は、存在しない。

【0261】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(AA)_p$ であり、 V^2 は、 $-NR^{11}-$ であり、 T^3 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^3 は、 $-SO_2-$ であり、 T^4 は、 $(AA)_p$ であり、 V^4 は、存在しない。

【0262】

50

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(EDA)_w$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、 $(CR^{13}OH)_h$ であり、 V^3 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^4 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^4 は、 $-CO-$ である。

【0263】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(CR^{13}OH)_h$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、存在せず、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0264】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^2 は、置換 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

10

【0265】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-SO_2-$ であり、 T^2 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、存在せず、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0266】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^2 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^2 は、存在せず、 T^3 は、 $(CR^{13}OH)_h$ であり、 V^3 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

20

【0267】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(AA)_p$ であり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、 $(AA)_p$ であり、 V^4 は、 $-NR^{15}-$ である。

【0268】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(AA)_p$ であり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^3 は、 $-P(O)OH-$ であり、 T^4 は、 $(AA)_p$ であり、 V^4 は、存在しない。

30

【0269】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(EDA)_w$ であり、 V^2 は、存在せず、 T^3 は、 $(AA)_p$ であり、 V^3 は、存在せず、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0270】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(EDA)_w$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、 $(CR^{13}OH)_h$ であり、 V^3 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^4 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^4 は、 $-CO(AA)_p-$ である。

40

【0271】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^2 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、存在せず、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0272】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^2 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^2 は、 $-NR^{15}-$ であり、 T^3 は、存在せず、 V^3 は、 $-CO$ であり、 T^4 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであ

50

り、 V^4 は、 $-NR^{15}-$ である。

【0273】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $(EDA)_w$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、 $(CR^{13}OH)_h$ であり、 V^3 は、 $-CONR^{15}-$ であり、 T^4 は、 $(PEG)_n$ であり、 V^4 は、 $-CO(AA)_p-$ である。

【0274】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $4AP$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、 $(AA)_p$ であり、 V^4 は、存在しない。

10

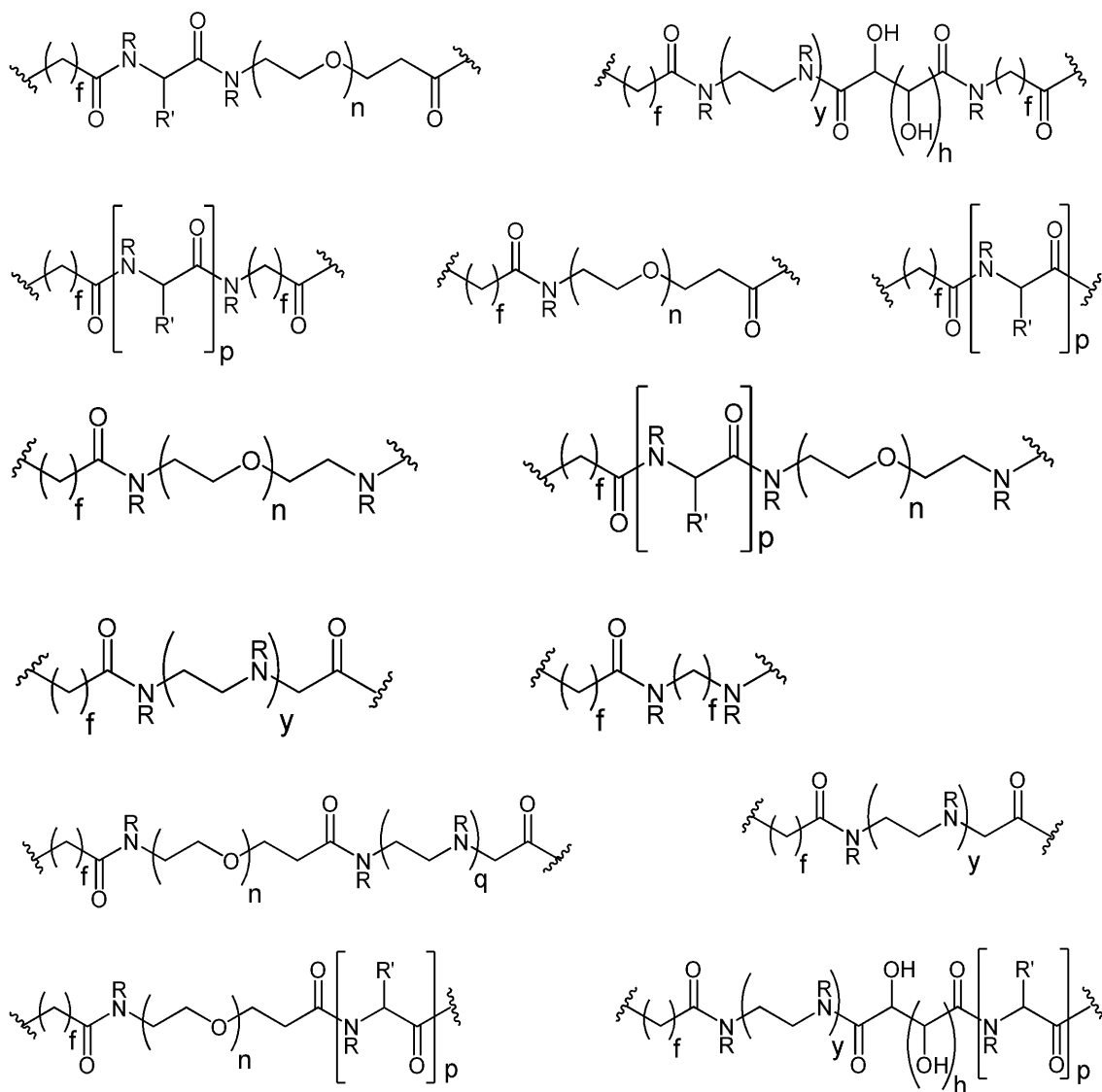
【0275】

特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、 $4AP$ であり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。

【0276】

特定の実施形態において、リンカーは、以下の構造のうちの1つによって記載される。

【化20】

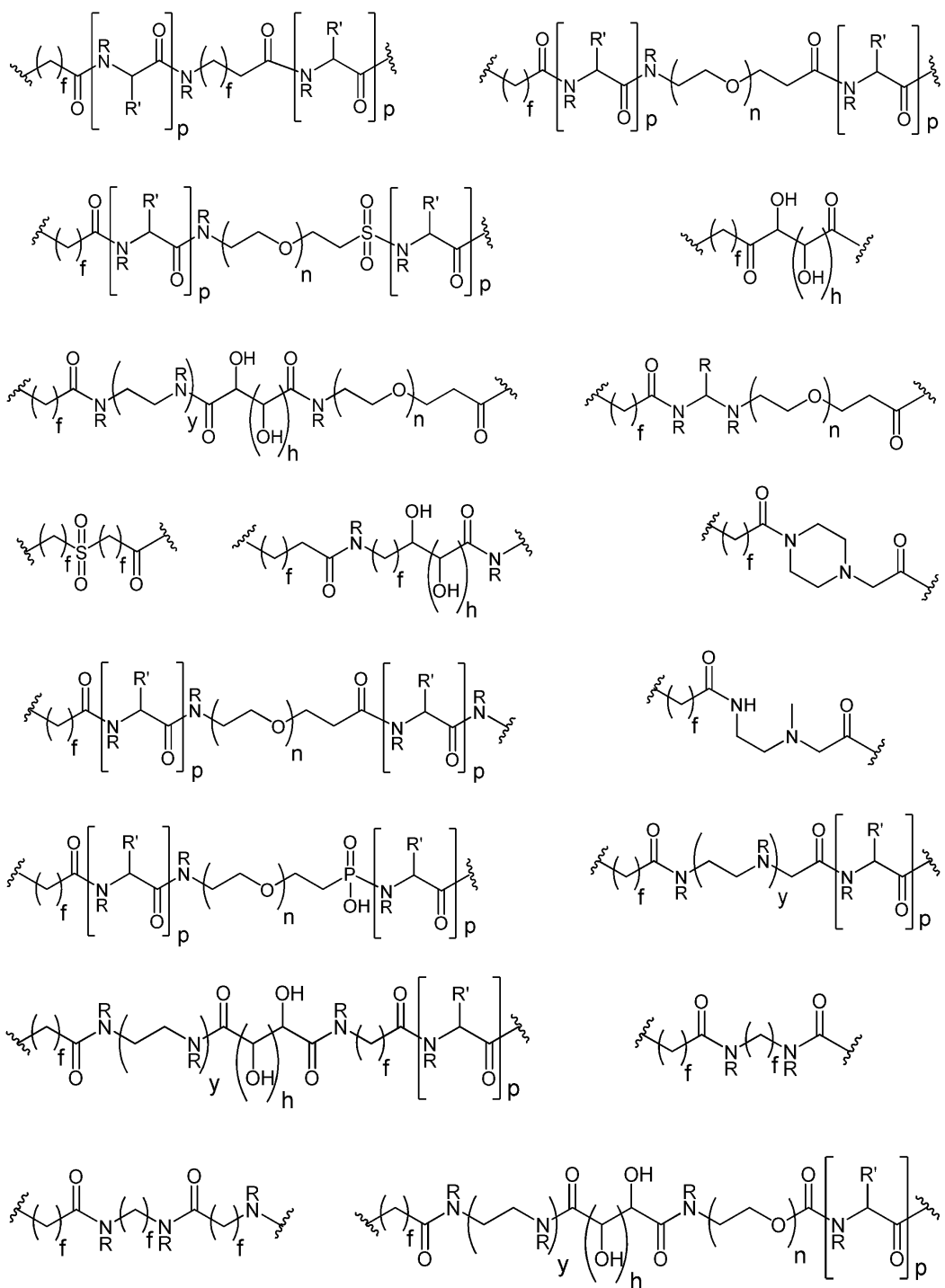


20

30

40

50



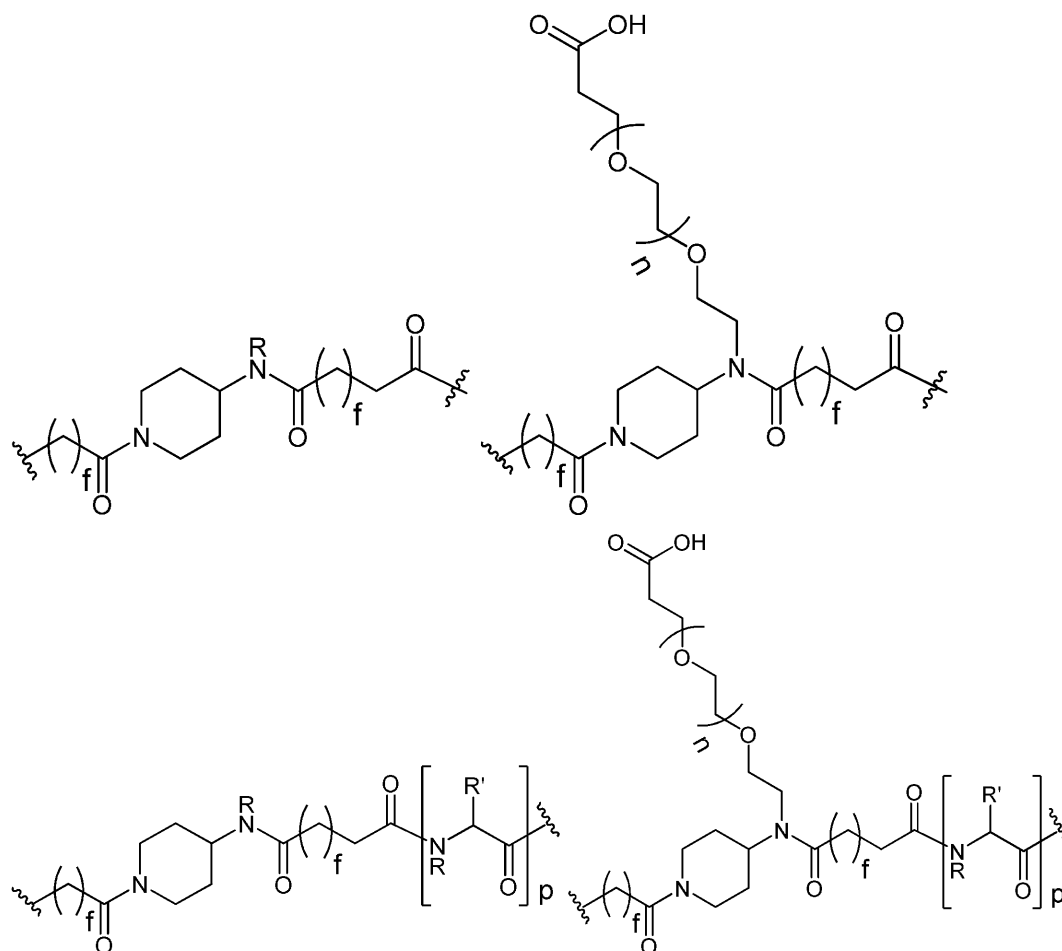
10

20

30

40

50



10

20

30

40

50

【0277】

上に示すリンカー構造の特定の実施形態において、各 f は、独立して、0 または 1～12 の整数であり、各 y は、独立して、0 または 1～20 の整数であり、各 n は、独立して、0 または 1～30 の整数であり、各 p は、独立して、0 または 1～20 の整数であり、各 h は、独立して、0 または 1～12 の整数であり、各 R は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルであり、各 R' は、独立して、H、アミノ酸の側鎖基、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、および置換ヘテロシクリルである。上述のリンカー構造の特定の実施形態において、各 f は、独立して、0、1、2、3、4、5、または 6 であり、各 y は、独立して、0、1、2、3、4、5、または 6 であり、各 n は、独立して、0、1、2、3、4、5、または 6 であり、各 p は、独立して、0、1、2、3、4、5、または 6 であり、各 h は、独立して、0、1、2、3、4、5、または 6 である。上述のリンカー構造の特定の実施形態において、各 R は、独立して、H、メチル、または $-(CH_2)_m-OH$ であり、

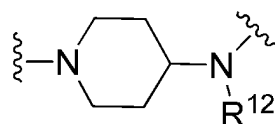
式中、 m は、1、2、3、または4（例えば、2）である。

【0278】

リンカーLの特定の実施形態において、 T^1 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、4APであり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、 $(C_1 \sim C_{12})$ アルキルであり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。特定の実施形態において、 T^1 は、エチレンであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、4APであり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、エチレンであり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在しない。特定の実施形態において、 T^1 は、エチレンであり、 V^1 は、 $-CO-$ であり、 T^2 は、4APであり、 V^2 は、 $-CO-$ であり、 T^3 は、エチレンであり、 V^3 は、 $-CO-$ であり、 T^4 は、存在せず、 V^4 は、存在せず、式中、 T^2 （例えば、4AP）は、以下の構造を有し、

10

【化21】



式中、

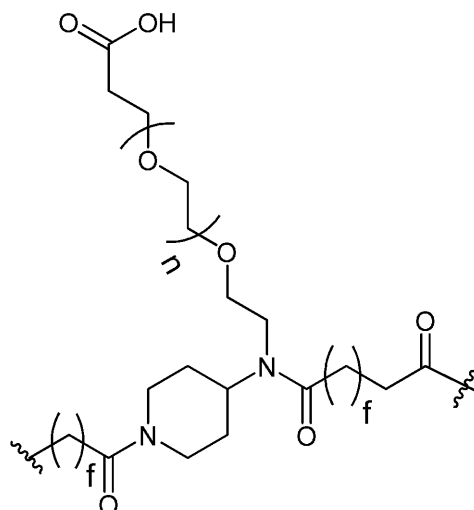
20

R^{12} は、ポリエチレングリコール部分（例えば、ポリエチレングリコールまたは修飾ポリエチレングリコール）である。

【0279】

特定の実施形態において、リンカーLは、以下の構造を含み、

【化22】



30

40

式中、

各 f が、独立して、1～12の整数であり、

n が、1～30の整数である。

【0280】

特定の実施形態において、 f は、1である。特定の実施形態において、 f は、2である。特定の実施形態において、1つの f が2であり、1つの f が1である。

【0281】

特定の実施形態において、 n は、1である。

【0282】

特定の実施形態において、上のリンカー構造の左側は、ヒドラジニル-インドリルまた

50

はヒドラジニル-ピロロ-ピリジニルカップリング部分に接続しており、上のリンカー構造の右側は、マイタンシンに接続する。

【0283】

上の構造に示される化学エンティティ、リンカー、およびカップリング部分のいずれかは、主題の化合物およびコンジュゲートでの使用に適合され得る。

【0284】

ヒドラジニル-インドリルおよびヒドラジニル-ピロロ-ピリジニル化合物およびコンジュゲートを産生するための方法に関連する追加の開示は、2013年3月11日に出願された米国特許出願公開第2014/0141025号および2014年11月26日に出願された米国特許出願公開第2015/0157736号に見出され、これらのそれぞれの開示は参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0285】

抗CD37抗体

上に示されるように、主題のコンジュゲートは、置換基 W^2 として抗CD37抗体を含んでいてもよく、抗CD37抗体は、2-ホルミルグリシン (F G l y) 残基を含むように修飾されている。本明細書で使用される場合、アミノ酸は、それらの標準名、それらの標準的な3文字の略称、および/またはそれらの標準的な1文字の略称、例えば、アラニンまたはA l aまたはA、システインまたはC y sまたはC、アスパラギン酸またはA s pまたはD、グルタミン酸またはG l uまたはE、フェニルアラニンまたはP h eまたはF、グリシンまたはG l yまたはG、ヒスチジンまたはH i sまたはH、イソロイシンまたはI l eまたはI、リジンまたはL y sまたはK、ロイシンまたはL e uまたはL、メチオニンまたはM e tまたはM、アスパラギンまたはA s nまたはN、プロリンまたはP r oまたはP、グルタミンまたはG l nまたはQ、アルギニンまたはA r gまたはR、セリンまたはS e rまたはS、トレオニンまたはT h rまたはT、バリンまたはV a lまたはV、トリプトファンまたはT r pまたはW、およびチロシンまたはT y rまたはYと称され得る。

20

【0286】

いくつかの場合において、好適な抗CD37抗体は、CD37ポリペプチドに特異的に結合し、エピトープが、CD37抗原内にアミノ酸残基を含む。ヒトCD37ポリペプチドのアミノ酸配列 (U n i P r o t K B - P 1 1 0 4 9) を以下の表3に示す。

30

【表4】

表3-ヒトCD37アミノ酸配列 (U n i P r o t K B - P 1 1 0 4 9)

ヒト CD37アミノ酸配列 (配列番号 11)	MSAQESCLSLIKYFLFVFNLFVFLGSLIFCFGIWILIDKTSFVSFVGLA FVPLQIWSKVLAI SGIFTMGIALLGCVGALKELRCLLGLYFGMLLLLF ATQITLGILISTQRAQLERSLRDVEKTIQKYGTNPEETA AEESWDYV QFQLRCCGWHYPQDWFQVLILRGNGSEAH RVPCSCYNLSATNDSTIL DKVILPQLSRLGHLARSRH SADICAVPAESHIYREGCAQGLQKWLHN NLISIVGICLGVGLLELGFMTLSIFLCRNLDHVYNRLARYR
----------------------------	---

【0287】

CD37エピトープは、表3に示されるヒトCD37アミノ酸配列の約200アミノ酸～約281アミノ酸の連続伸長部に対して少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドによって形成され得る。

40

【0288】

「CD37抗原」または「CD37ポリペプチド」は、表3に示されるヒトCD37アミノ酸配列の約200アミノ酸～約281アミノ酸の連続伸長部に対して少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列

50

を含み得る。

【0289】

いくつかの場合において、好適な抗CD37抗体は、CD37への高親和性結合を示す。例えば、いくつかの場合において、好適な抗CD37抗体は、少なくとも約 10^{-7} M、少なくとも約 10^{-8} M、少なくとも約 10^{-9} M、少なくとも約 10^{-10} M、少なくとも約 10^{-11} M、もしくは少なくとも約 10^{-12} M、または 10^{-12} Mより大きな親和性でCD37に結合する。いくつかの場合において、好適な抗CD37抗体は、約 10^{-7} M～約 10^{-8} M、約 10^{-8} M～約 10^{-9} M、約 10^{-9} M～約 10^{-10} M、約 10^{-10} M～約 10^{-11} M、もしくは約 10^{-11} M～約 10^{-12} M、または 10^{-12} Mより大きな親和性で、CD37上に存在するエピトープに結合する。

10

【0290】

いくつかの場合において、好適な抗CD37抗体は、CD37内のエピトープへの結合に関して、第2の抗CD37抗体（例えば、K7153AまたはAGS67E）と競合し、かつ／または第2の抗CD37抗体（例えば、K7153AまたはAGS67E）として、CD37内の同じエピトープに結合する。いくつかの場合において、CD37内のエピトープへの結合に関して第2の抗CD37抗体と競合する抗CD37抗体は、第2の抗CD37抗体（例えば、K7153AまたはAGS67E）と同じエピトープにも結合する。いくつかの場合において、CD37内のエピトープへの結合に関して第2の抗CD37抗体と競合する抗CD37抗体は、第2の抗CD37抗体（例えば、K7153AまたはAGS67E）によって結合するエピトープと重複しているエピトープに結合する。いくつかの場合において、抗CD37抗体は、ヒト化される。

20

【0291】

いくつかの実施形態によれば、本開示のコンジュゲートは、CD37に特異的に結合し、CD37への結合に関して、

アミノ酸配列GYNMN（配列番号3）を含む V_H CDR1、

アミノ酸配列NIDPYYG GTTYNRKFKG（配列番号4）を含む V_H CDR2、および

アミノ酸配列SVGPFD S（配列番号5）を含む V_H CDR3を含む可変重鎖（ V_H ）ポリペプチドと、

アミノ酸配列RASENVYSYLA（配列番号8）を含む V_L CDR1、

30

アミノ酸配列FAKT LAE（配列番号9）を含む V_L CDR2、および

アミノ酸配列QHHS DNPWT（配列番号10）を含む V_L CDR3を含む可変軽鎖（ V_L ）ポリペプチドと、を含む抗CD37抗体と競合する、抗CD37抗体を含む。

【0292】

特定の実施形態において、本開示のコンジュゲートは、

アミノ酸配列GYNMN（配列番号3）を含む V_H CDR1、

アミノ酸配列NIDPYYG GTTYNRKFKG（配列番号4）を含む V_H CDR2、および

アミノ酸配列SVGPFD S（配列番号5）を含む V_H CDR3を含む可変重鎖（ V_H ）ポリペプチドと、

40

アミノ酸配列RASENVYSYLA（配列番号8）を含む V_L CDR1、

アミノ酸配列FAKT LAE（配列番号9）を含む V_L CDR2、および

アミノ酸配列QHHS DNPWT（配列番号10）を含む V_L CDR3を含む可変軽鎖（ V_L ）ポリペプチドと、を含む、抗CD37抗体を含む。

【0293】

いくつかの実施形態によれば、本開示のコンジュゲートは、

配列番号2に記載されているアミノ酸配列と70%以上、75%以上、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上、99%以上、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖（ V_H ）ポリペプチドと、

50

配列番号 7 に記載されているアミノ酸配列と 70 % 以上、75 % 以上、80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上、95 % 以上、99 % 以上、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖 (V_L) ポリペプチドと、を含む、抗 CD37 抗体を含む。

【0294】

第 1 の抗体が、CD37 への結合に関して第 2 の抗体「と競合する」かどうかは、当該技術分野で既知の競合結合アッセイを使用して容易に決定され得る。競合抗体は、例えば、抗体競合アッセイを介して特定され得る。例えば、第 1 の抗体の試料は、固体支持体に結合することができる。次に、かかる第 1 の抗体と競合することができることが疑われる第 2 の抗体の試料を次に添加する。この 2 つの抗体のうちの 1 つが標識される。標識された抗体および標識されていない抗体が、CD37 上の別個の異なる部位に結合する場合、標識された抗体は、疑わしい競合抗体が存在するか否かにかかわらず、同じレベルに結合する。しかしながら、相互作用の部位が同一であるか、または重複している場合、標識されていない抗体が競合し、CD37 に結合した標識された抗体の量が低下する。標識されていない抗体が過剰に存在する場合、標識された抗体は、もしあるとしても、結合することはほとんどない。

【0295】

本開示の目的のために、競合抗体は、CD37 への抗体の結合を約 50 % 以上、約 60 % 以上、約 70 % 以上、約 80 % 以上、約 85 % 以上、約 90 % 以上、約 95 % 以上、または約 99 % 以上減少させる抗体である。かかる競合アッセイを実施するための手順の詳細は、当該技術分野で周知であり、例えば、Harlow and Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1988, 567-569, 1988, ISBN 0-87969-314-2 に見出すことができる。かかるアッセイは、精製した抗体を使用することによって定量的に作製され得る。標準曲線は、それ自体に対する 1 つの抗体を滴定することによって確立されてもよく、すなわち、同じ抗体が、標識および競合物の両方に使用される。標識されていない競合抗体がプレートへの標識された抗体の結合を阻害する能力は、滴定され得る。その結果をプロットしてもよく、望ましい結合阻害度を達成するために必要な濃度を比較してもよい。

【0296】

いくつかの実施形態によれば、本開示のコンジュゲートは、表 4 に提供される重鎖ポリペプチドに対して 70 % 以上、75 % 以上、80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上、95 % 以上、99 % 以上、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖ポリペプチドを含む抗 CD37 抗体を含む。特定の実施形態において、かかる抗 CD37 抗体は、表 4 に提供される V_H CDR1、V_H CDR2、および V_H CDR3 を含む。

【0297】

いくつかの実施形態によれば、本開示のコンジュゲートは、表 4 に提供される軽鎖ポリペプチドに対して 70 % 以上、75 % 以上、80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上、95 % 以上、99 % 以上、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖ポリペプチドを含む抗 CD37 抗体を含む。特定の実施形態において、かかる抗 CD37 抗体は、表 4 に提供される V_L CDR1、V_L CDR2、および V_L CDR3 を含む。

【0298】

いくつかの実施形態によれば、本開示のコンジュゲートは、表 4 に提供される重鎖ポリペプチドに対して 70 % 以上、75 % 以上、80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上、95 % 以上、99 % 以上、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖ポリペプチドと、表 4 に提供される軽鎖ポリペプチドに対して 70 % 以上、75 % 以上、80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上、95 % 以上、99 % 以上、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖ポリペプチドと、を含む、抗 CD37 抗体を含む。特定の実施形態において、かかる抗 CD37 抗体は、表 4 に提供される V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2、および V_L CDR3 を含む。

【0299】

本開示の抗CD37の一例の重鎖ポリペプチド、V_Hポリペプチド、V_H CDR、軽鎖ポリペプチド、V_Lポリペプチド、およびV_L CDRのアミノ酸配列は、以下の表4に提供される（太字でのKabattによるCDR、下線が引かれた可変領域を含む）。

【表5】

表4—抗CD37抗体アミノ酸配列の例

重鎖(配列番号1) V _H (配列番号2) V _H CDR1(配列番号3) V _H CDR2(配列番号4) V _H CDR3(配列番号5)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTGYNMNWV ROMPGKGLEWMGNIDPYYGGTTYNRKFKGOVTISAD KSISTAYLOWSSLKASDTAMYYCARSVGPFDSWGOGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSLCTPS RGS
軽鎖(配列番号6) V _L (配列番号7) V _L CDR1(配列番号8) V _L CDR2(配列番号9) V _L CDR3(配列番号10)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASENVVSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYFAKTLAEGIPARFSGSGSGTDFLTISL EPEDFAVYYCOHSDNPWTFGQGTKEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

10

20

【0300】

いくつかの実施形態によれば、本開示のコンジュゲートは、表4（配列番号1）に提供される重鎖ポリペプチドに対して70%以上、75%以上、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上、99%以上、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖ポリペプチドを含む抗CD37抗体を含み、抗体が、L234A置換、L235A置換、または両方（例えば、L234A置換およびL235A置換）を含み、位置234および235は、EU番号付けシステムに従う。Edelman et al. (1969) Proc. Natl. Acad. 63:78-85。EU番号付けシステムによる残基L234およびL235は、表4に太字および斜体で示されている。特定の実施形態において、かかる抗CD37抗体は、CD37への結合に関して、表4に記載されているV_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2、およびV_L CDR3を含む抗体と競合する。特定の実施形態において、かかる抗CD37抗体は、表4に記載されているV_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2、およびV_L CDR3を含む。

30

【0301】

いくつかの実施形態において、抗CD37抗体は、IgG1抗体である。例えば、特定の態様において、抗CD37抗体は、IgG1カップ抗体である。

40

【0302】

特定の態様において、抗CD37抗体は、表4に示される抗体に基づくFGly'含有抗体である。例えば、いくつかの実施形態において、抗体は、表4に示される抗体の誘導体であり、抗体と誘導体との間の差は、誘導体中の1つ以上のFGly'残基（および任意選択により、関連するFGE認識配列アミノ酸）の存在である。表4のアミノ酸配列において、可変領域は、下線が引かれており、CDRは、太字で示されている。この例において、重鎖のC末端の斜体の残基は、標準的なIgG1重鎖のC末端のリジン残基を置き換える。斜体の残基の中の下線が引かれた残基（LCTPSR）は、アルデヒドタグを構

50

成し、Cが、重鎖の発現時にFGEによってFGly残基に変換される。斜体の残基の中の下線が引かれていない残基は、標準的なIgG1重鎖配列とは異なる追加の残基である。

【0303】

いくつかの実施形態において、抗CD37抗体は、抗CD37抗体K7153Aの1個、2個、3個、4個、5個、または6個全ての相補性決定領域(CDR)を含む。特定の態様において、抗CD37抗体は、抗CD37抗体AGS67Eの1個、2個、3個、4個、5個、または6個全ての相補性決定領域(CDR)を含む。

【0304】

特定の態様において、抗CD37抗体は、表4に示される抗体に基づくFGly'含有抗体である。例えば、いくつかの実施形態において、抗体は、表4に示される抗体の誘導体であり、抗体と誘導体との間の差は、誘導体中の1つ以上のFGly'残基(および任意選択により、関連するFGE認識配列アミノ酸)の存在である。一実施形態による、ダクリズマブベースの抗体の一例の核酸およびアミノ酸配列を表4に提供する。表4のアミノ酸配列において、可変領域は、下線が引かれており、CDRは、太字で示されている。この例のダクリズマブベースの抗体において、重鎖のC末端の斜体の残基は、標準的なIgG1重鎖のC末端のリジン残基を置き換える。斜体の残基の中の下線が引かれた残基(LCTPSR)は、アルデヒドタグを構成し、Cが、重鎖の発現時にFGEによってFGly残基に変換される。斜体の残基の中の下線が引かれていない残基は、標準的なIgG1重鎖配列とは異なる追加の残基である。

【0305】

主題のコンジュゲートでの使用に好適な抗CD37抗体は、いくつかの場合において、その表面上でCD37を発現する(例えば、過剰発現する)ヒト腫瘍細胞(例えば、悪性B細胞)の増殖を阻害し、阻害は、インビトロ、インビボ、またはインビトロおよびインビボの両方で生じる。例えば、いくつかの場合において、主題のコンジュゲートでの使用に好適な抗CD37抗体は、その表面上でCD37を発現する(例えば、過剰発現する)ヒト腫瘍細胞の増殖を、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、または80%より多く、例えば、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%阻害する。

【0306】

本開示の態様は、本明細書に記載の抗体のうちのいずれかのコンジュゲート化されていない態様をさらに含む。

【0307】

修飾定常領域配列

上に示されるように、抗CD37抗体のアミノ酸配列は、インビボ(例えば、細胞中のアルデヒドタグ含有タンパク質の翻訳のときに)またはインビトロ(例えば、無細胞系において、アルデヒドタグ含有タンパク質をFGEと接触させることによって)のいずれかで、ホルミルグリシン生成酵素(FGE)の作用によって2-ホルミルグリシン(FGly)残基に変換(酸化)されることができセリンまたはシステイン残基を含有するスルファターゼモチーフを含むように修飾される。かかるスルファターゼモチーフは、本明細書では、FGE修飾部位とも称され得る。

【0308】

スルファターゼモチーフ

アルデヒドタグの最小スルファターゼモチーフは、通常、5個または6個のアミノ酸残基の長さであり、通常、6個以下のアミノ酸残基の長さである。Igポリペプチドにおいて提供されるスルファターゼモチーフは、少なくとも5個または6個のアミノ酸残基であり、例えば、16、15、14、13、12、11、10、9、8または7個未満のアミノ酸残基の長さを有するスルファターゼモチーフを定義するために、5~16、6~16

、5～15、6～15、5～14、6～14、5～13、6～13、5～12、6～12、5～11、6～11、5～10、6～10、5～9、6～9、5～8、または6～8個のアミノ酸残基の長さであり得る。

【0309】

特定の実施形態において、目的のポリペプチドは、1つ以上のアミノ酸残基、例えば、2個以上、もしくは3個以上、もしくは4個以上、もしくは5個以上、もしくは6個以上、もしくは7個以上、もしくは8個以上、もしくは9個以上、もしくは10個以上、もしくは11個以上、もしくは12個以上、もしくは13個以上、もしくは14個以上、もしくは15個以上、もしくは16個以上、もしくは17個以上、もしくは18個以上、もしくは19個以上、もしくは20個以上、またはそれより多くのアミノ酸残基が、ポリペプチド中のスルファターゼモチーフの配列を提供するために、天然アミノ酸配列に対して挿入、欠失、置換（置き換え）されているものを含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、ポリペプチドの天然アミノ酸配列と比較して、アミノ酸配列の20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、または2個未満のアミノ酸残基の修飾（挿入、付加、欠失、および／または置換／置き換え）を含む。ポリペプチド（例えば、抗CD37抗体）に対する天然のアミノ酸配列が、所望のスルファターゼモチーフの1つ以上の残基を含有する場合、残基の修飾の総数は、例えば、所望のスルファターゼモチーフの配列を提供するために、天然アミノ酸残基に隣接するアミノ酸残基の部位特異的修飾（挿入、付加、欠失、置換／置き換え）によって減少させることができる。特定の実施形態において、挿入され、欠失され、置換され（置き換えられ）、または付加される（例えば、N末端またはC末端に対して）アミノ酸残基の数を最小限に抑えるために、標的抗CD37ポリペプチドの天然アミノ酸配列の修飾の程度を最小限に抑える。標的抗CD37ポリペプチドのアミノ酸配列の修飾の程度を最小限に抑えることによって、かかる修飾が抗CD37の機能および／または構造に及ぼし得る影響を最小限に抑え得る。

【0310】

特定の目的のアルデヒドタグは、少なくとも1つの最小スルファターゼモチーフ（「コンセンサススルファターゼモチーフ」とも称される）を含むものであるが、より長いアルデヒドタグが、本開示によって企図および包含され、本開示の組成物および方法において使用され得ることが容易に理解されることに留意されたい。したがって、アルデヒドタグは、5個または6個の残基の最小スルファターゼモチーフを含むことができ、またはより長く、追加のアミノ酸残基によってモチーフのN末端および／またはC末端側に隣接され得る最小スルファターゼモチーフを含むことができる。例えば、5または6個のアミノ酸残基のアルデヒドタグ、ならびに5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個より多く、またはそれより多いアミノ酸残基のより長いアミノ酸配列が企図される。

【0311】

アルデヒドタグは、Ig重鎖のC末端またはその付近に存在することができ、例えば、アルデヒドタグは、天然の野生型Ig重鎖のC末端の1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10アミノ酸内に存在し得る。アルデヒドタグは、Ig重鎖のCH1ドメイン内に存在し得る。アルデヒドタグは、Ig重鎖のCH2ドメイン内に存在し得る。アルデヒドタグは、Ig重鎖のCH3ドメイン内に存在し得る。アルデヒドタグは、Ig軽鎖定常領域、例えば、カップ軽鎖定常領域またはラムダ軽鎖定常領域中に存在し得る。

【0312】

特定の実施形態において、使用されるスルファターゼモチーフは、以下の式によって記載されてもよく、

$$X^1 Z^1 O X^2 Z^2 O X^3 Z^3 O \quad (I')$$

式中、

$Z^1 O$ が、システインまたはセリンであり（（C／S）によって表すこともでき）、

$Z^2 O$ が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり（（P／A）によって表すこ

ともでき)、

Z^{30} が、塩基性アミノ酸(例えば、アルギニン(R)であり、リジン(K)またはヒスチジン(H)、例えば、リジンであってもよく)、または脂肪族アミノ酸(アラニン(A)、グリシン(G)、ロイシン(L)、バリン(V)、イソロイシン(I)、またはプロリン(P)、例えば、A、G、L、V、またはIであり、

X^1 が、存在するか、または存在せず、存在する場合、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸(すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの)、例えば、L、M、V、S、またはT、例えば、L、M、S、またはVであってもよく、但し、スルファターゼモチーフが、標的ポリペプチドのN末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、独立して、任意のアミノ酸であってもよいが、通常は、脂肪族アミノ酸、極性非帯電アミノ酸、または硫黄含有アミノ酸(すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの)、例えば、S、T、A、V、G、またはC、例えば、S、T、A、V、またはGであってもよい。

【0313】

抗CD37重鎖および／または軽鎖のアミノ酸配列は、式 $X^1Z^{10}X^2Z^{20}X^3Z^3$ の少なくとも5個のアミノ酸の配列を提供するように修飾することができ、式中、

Z^{10} が、システインまたはセリンであり、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基であり、

Z^{30} が、脂肪族アミノ酸または塩基性アミノ酸であり、

X^1 が、存在するか、または存在せず、存在する場合、任意のアミノ酸であり、但し、異種スルファターゼモチーフがポリペプチドのN末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、それぞれ独立して、任意のアミノ酸であり、

この配列が、Ig定常領域の溶媒接近可能なループ領域の内部にあるか、またはそれに隣接しており、この配列が、Ig重鎖のC末端にはない。

【0314】

スルファターゼモチーフは、概して、選択されたFGE、例えば、アルデヒドタグ化ポリペプチドが発現される宿主細胞中に存在するFGE、または無細胞インビトロ法においてアルデヒドタグ化ポリペプチドと接触されるFGEによって変換することができるように選択される。

【0315】

例えば、FGEが、真核生物FGE(例えば、ヒトFGEを含む哺乳動物FGE)である場合、スルファターゼモチーフは以下の式を有していてもよく、



式中、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸(すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの)、例えば、L、M、S、またはVであってもよく、但し、スルファターゼモチーフが、標的ポリペプチドのN末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、独立して、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸(すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの)、例えば、S、T、A、V、G、またはC、例えば、S、T、A、V、またはGであってもよく、

Z^{30} が、塩基性アミノ酸(例えば、アルギニン(R)であり、リジン(K)またはヒスチジン(H)、例えば、リジンであってもよく)、または脂肪族アミノ酸(アラニン(A)、グリシン(G)、ロイシン(L)、バリン(V)、イソロイシン(I)、またはプロリン(P)、例えば、A、G、L、V、またはIである。

【0316】

スルファターゼモチーフの具体例としては、LCTPSR(配列番号12)、MCTP

10

20

30

40

50

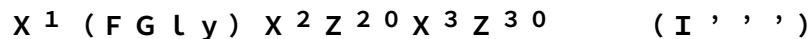
S R (配列番号 13)、V C T P S R (配列番号 14)、L C S P S R (配列番号 15)、L C A P S R (配列番号 16)、L C V P S R (配列番号 17)、L C G P S R (配列番号 18)、I C T P A R (配列番号 19)、L C T P S K (配列番号 20)、M C T P S K (配列番号 21)、V C T P S K (配列番号 22)、L C S P S K (配列番号 23)、L C A P S K (配列番号 24)、L C V P S K (配列番号 25)、L C G P S K (配列番号 26)、L C T P S A (配列番号 27)、I C T P A A (配列番号 28)、M C T P S A (配列番号 29)、V C T P S A (配列番号 30)、L C S P S A (配列番号 31)、L C A P S A (配列番号 32)、L C V P S A (配列番号 33)、および L C G P S A (配列番号 34) が挙げられる。

【0317】

10

F G l y 含有配列

修飾された抗 C D 3 7 重鎖および／または軽鎖に F G E が作用すると、スルファターゼモチーフ中のセリンまたはシステインを F G l y に修飾する。したがって、F G l y 含有スルファターゼモチーフは、以下の式を有していてもよく、



式中、

F G l y が、ホルミルグリシン残基であり、

Z²⁰ が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり ((P/A) によって表すこともでき)、

Z³⁰ が、塩基性アミノ酸 (例えば、アルギニン (R) であり、リジン (K) またはヒスチジン (H)、通常は、リジンであってもよく)、または脂肪族アミノ酸 (アラニン (A)、グリシン (G)、ロイシン (L)、バリン (V)、イソロイシン (I)、またはプロリン (P)、例えば、A、G、L、V、または I であり、

20

X¹ が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸 (すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの)、例えば、L、M、V、S、または T、例えば、L、M、または V であってもよく、但し、スルファターゼモチーフが、標的ポリペプチドの N 末端にある場合、X¹ が存在し、

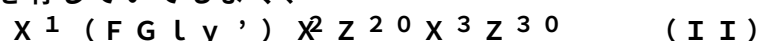
X² および X³ が、独立して、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸 (すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの)、例えば、S、T、A、V、G、または C、例えば、S、T、A、V、または G であってもよい。

30

【0318】

上に記載されるように、F G l y 残基を含有する修飾ポリペプチドは、F G l y と薬物 (例えば、上に記載されるようなヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロローピリジニルカップリング部分を含有する薬物) との反応によって薬物 (例えば、マイタンシノイド) にコンジュゲート化され、F G l y ' 含有スルファターゼモチーフを産生してもよい。本明細書で使用される場合、F G l y ' という用語は、マイタンシノイド (例えば、式 (I) の修飾アミノ酸残基) などの薬物にカップリングするスルファターゼモチーフの修飾アミノ酸残基を指す。したがって、F G l y ' 含有スルファターゼモチーフは、以下の式を有していてもよく、

40



式中、

F G l y ' が、式 (I) の修飾アミノ酸残基であり、

Z²⁰ が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり ((P/A) によって表すこともでき)、

Z³⁰ が、塩基性アミノ酸 (例えば、アルギニン (R) であり、リジン (K) またはヒスチジン (H)、通常は、リジンであってもよく)、または脂肪族アミノ酸 (アラニン (A)、グリシン (G)、ロイシン (L)、バリン (V)、イソロイシン (I)、またはプロリン (P)、例えば、A、G、L、V、または I であり、

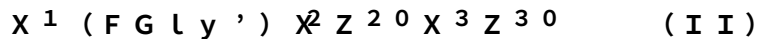
50

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸（すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの）、例えば、L、M、V、S、またはT、例えば、L、M、またはVであってもよく、但し、スルファターゼモチーフが、標的ポリペプチドのN末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、独立して、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸（すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの）、例えば、S、T、A、V、G、またはC、例えば、S、T、A、V、またはGであってもよい。

【0319】

特定の実施形態において、式（I）の修飾アミノ酸残基は、抗CD37抗体の重鎖定常領域のC末端に配置されている。いくつかの例において、重鎖定常領域は、式（II）の配列を含み、



式中、

FGLy' が、式（I）の修飾アミノ酸残基であり、

$Z^2 O$ が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり（（P/A）によって表すこともでき）、

$Z^3 O$ が、塩基性アミノ酸（例えば、アルギニン（R）であり、リジン（K）またはヒスチジン（H）、通常は、リジンであってもよく）、または脂肪族アミノ酸（アラニン（A）、グリシン（G）、ロイシン（L）、バリン（V）、イソロイシン（I）、またはプロリン（P）、例えば、A、G、L、V、またはIであり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸（すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの）、例えば、L、M、V、S、またはT、例えば、L、M、またはVであってもよく、但し、スルファターゼモチーフが、標的ポリペプチドのN末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、独立して、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸（すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの）、例えば、S、T、A、V、G、またはC、例えば、S、T、A、V、またはG

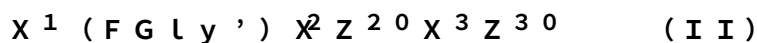
この配列が、アミノ酸配列 QKSLSLSPGK に対してC末端であり、この配列が、天然の野生型重鎖Ig定常領域中に存在しない1、2、3、4、5、または5～10個のアミノ酸を含んでいてもよい。

【0320】

特定の実施形態において、重鎖定常領域は、Ig重鎖のC末端に、例えば、天然SLSLSPGK（配列番号36）配列の代わりに、配列SLSLSPGSL（FGLy'）TPSRGS（配列番号35）を含む。

【0321】

特定の実施形態において、式（I）の修飾アミノ酸残基は、抗CD37抗体の軽鎖定常領域に配置されている。特定の実施形態において、軽鎖定常領域は、式（II）の配列を含み、



式中、

FGLy' が、式（I）の修飾アミノ酸残基であり、

$Z^2 O$ が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり（（P/A）によって表すこともでき）、

$Z^3 O$ が、塩基性アミノ酸（例えば、アルギニン（R）であり、リジン（K）またはヒスチジン（H）、通常は、リジンであってもよく）、または脂肪族アミノ酸（アラニン（A）、グリシン（G）、ロイシン（L）、バリン（V）、イソロイシン（I）、またはプ

10

20

30

40

50

ロリン (P)、例えば、A、G、L、V、またはIであり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸（すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの）、例えば、L、M、V、S、またはT、例えば、L、M、またはVであってもよく、但し、スルファターゼモチーフが、標的ポリペプチドのN末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、独立して、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸（すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの）、例えば、S、T、A、V、G、またはC、例えば、S、T、A、V、またはGであってもよく、

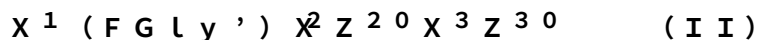
この配列が、アミノ酸配列KVDNAL（配列番号37）に対してC末端であり、かつ／またはアミノ酸配列QSGNSQ（配列番号38）に対してN末端である。

【0322】

特定の実施形態において、軽鎖定常領域は、配列KVDNAL (FGly') TPSRQSGNSQ（配列番号39）を含む。

【0323】

特定の実施形態において、式(I)の修飾アミノ酸残基は、抗CD37抗体の重鎖CH1領域に配置されている。特定の実施形態において、重鎖CH1領域は、式(II)の配列を含み、



式中、

FGly'が、式(I)の修飾アミノ酸残基であり、

Z^{20} が、プロリンまたはアラニン残基のいずれかであり（(P/A)によって表すこともでき）、

Z^{30} が、塩基性アミノ酸（例えば、アルギニン(R)であり、リジン(K)またはヒスチジン(H)、通常は、リジンであってもよく）、または脂肪族アミノ酸（アラニン(A)、グリシン(G)、ロイシン(L)、バリン(V)、イソロイシン(I)、またはプロリン(P)、例えば、A、G、L、V、またはIであり、

X^1 が、存在してもよく、または存在しなくてもよく、存在する場合、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸（すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの）、例えば、L、M、V、S、またはT、例えば、L、M、またはVであってもよく、但し、スルファターゼモチーフが、標的ポリペプチドのN末端にある場合、 X^1 が存在し、

X^2 および X^3 が、独立して、任意のアミノ酸、例えば、脂肪族アミノ酸、硫黄含有アミノ酸、または極性非帯電アミノ酸（すなわち、芳香族アミノ酸または帯電アミノ酸以外のもの）、例えば、S、T、A、V、G、またはC、例えば、S、T、A、V、またはGであってもよく、

この配列が、アミノ酸配列SWNSGA（配列番号40）に対してC末端であり、かつ／またはアミノ酸配列GVHTFP（配列番号41）に対してN末端である。

【0324】

特定の実施形態において、重鎖CH1領域は、配列SWNSGAL (FGly') TPSRGVHTFP（配列番号42）を含む。

【0325】

修飾部位

上に示されるように、抗CD37抗体のアミノ酸配列は、インビボ（例えば、細胞中のアルデヒドタグ含有タンパク質の翻訳のときに）またはインビトロ（例えば、無細胞系において、アルデヒドタグ含有タンパク質をFGEと接触させることによって）のいずれかで、FGEの作用によってFGly残基に変換（酸化）されることができセリンまたはシステイン残基を含有するスルファターゼモチーフを含むように修飾される。本開示のコンジュゲートを生成するために使用される抗CD37ポリペプチドには、少なくともIg

10

20

30

40

50

定常領域、例えば、Ig 重鎖定常領域（例えば、少なくともCH1ドメイン、少なくともCH1およびCH2ドメイン、CH1、CH2、およびCH3ドメイン、またはCH1、CH2、CH3、およびCH4ドメイン）、またはIg 軽鎖定常領域が含まれる。かかるIg ポリペプチドは、本明細書で「標的Ig ポリペプチド」または「標的抗CD37抗体」または「標的抗CD37 Ig ポリペプチド」と称される。

【0326】

スルファターゼモチーフが導入される抗CD37抗体中の部位は、任意の好都合な部位であり得る。上に示されるように、いくつかの例において、挿入され、欠失され、置換され（置き換えられ）、および／または付加される（例えば、N末端またはC末端に対して）アミノ酸残基の数を最小限に抑えるために、標的抗CD37ポリペプチドの天然アミノ酸配列の修飾の程度を最小限に抑える。標的抗CD37ポリペプチドのアミノ酸配列の修飾の程度を最小限に抑えることによって、かかる修飾が抗CD37の機能および／または構造に及ぼし得る影響を最小限に抑え得る。

【0327】

抗CD37抗体重鎖定常領域は、任意の重鎖アイソタイプ、天然に存在しないIg 重鎖定常領域（コンセンサスIg 重鎖定常領域を含む）のIg 定常領域を含み得る。Ig 定常領域は、アルデヒドタグを含むように修飾されてもよく、アルデヒドタグは、Ig 定常領域の溶媒接近可能なループ領域中またはそれに隣接して存在する。Ig 定常領域は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、もしくは16個のアミノ酸、または16個より多いアミノ酸の挿入および／または置換によって修飾され、上述のようなスルファターゼモチーフのアミノ酸配列を提供することができる。

【0328】

いくつかの場合において、アルデヒドタグ化抗CD37抗体は、アルデヒドタグ化Ig 重鎖定常領域（例えば、少なくともCH1ドメイン、少なくともCH1およびCH2ドメイン、CH1、CH2、およびCH3ドメイン、またはCH1、CH2、CH3、およびCH4ドメイン）を含む。アルデヒドタグ化Ig 重鎖定常領域は、Ig A、Ig M、Ig D、Ig E、Ig G1、Ig G2、Ig G3、またはIg G4アイソタイプ重鎖またはその任意のアロタイプバリエーション、例えば、ヒト重鎖定常領域配列またはマウス重鎖定常領域配列、ハイブリッド重鎖定常領域、合成重鎖定常領域、またはFGEによって修飾され、FGly修飾Ig ポリペプチドを生成し得る少なくとも1つのスルファターゼモチーフを含むように修飾されたコンセンサス重鎖定常領域配列などの重鎖定常領域配列を含み得る。Ig 重鎖のアロタイプバリエーションは、当該技術分野で既知である。例えば、Jefferys and Lefranc (2009) MAbs 1:4を参照されたい。

【0329】

いくつかの場合において、アルデヒドタグ化抗CD37抗体は、アルデヒドタグ化Ig 軽鎖定常領域を含む。アルデヒドタグ化Ig 軽鎖定常領域は、カップ軽鎖、ラムダ軽鎖、例えば、ヒトカップまたはラムダ軽鎖定常領域、ハイブリッド軽鎖定常領域、合成軽鎖定常領域、またはFGEによって修飾され、FGly修飾抗CD37抗体ポリペプチドを生成し得る少なくとも1つのスルファターゼモチーフを含むように修飾されたコンセンサス軽鎖定常領域配列などの軽鎖定常領域配列を含み得る。例示的な定常領域は、ヒトガンマ1およびガンマ3領域を含む。スルファターゼモチーフを除き、修飾定常領域は、野生型アミノ酸配列を有していてもよく、または野生型アミノ酸配列に対して少なくとも70%同一（例えば、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%同一）であるアミノ酸配列を有し得る。

【0330】

いくつかの実施形態において、スルファターゼモチーフは、Ig ポリペプチド重鎖のC末端以外の位置、またはそれに加えた位置にある。上に示されるように、単離されたアルデヒドタグ化抗CD37ポリペプチドは、上述のスルファターゼモチーフを含むように修飾された重鎖定常領域を含んでいてもよく、スルファターゼモチーフが、抗CD37ポリペプチド重鎖定常領域の表面接近可能なループ領域中、またはそれに隣接している。

【0331】

いくつかの例において、標的抗CD37免疫グロブリンは、上に記載されるスルファターゼモチーフを含むように修飾され、修飾が、1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換を含む。特定の実施形態において、スルファターゼモチーフは、以下のうちの1つ以上に対応するIgG1重鎖定常領域の領域内にあるか、またはそれに隣接している。1) アミノ酸122～127、2) アミノ酸137～143、3) アミノ酸155～158、4) アミノ酸163～170、5) アミノ酸163～183、6) アミノ酸179～183、7) アミノ酸190～192、8) アミノ酸200～202、9) アミノ酸199～202、10) アミノ酸208～212、11) アミノ酸220～241、12) アミノ酸247～251、13) アミノ酸257～261、14) アミノ酸269～277、15) アミノ酸271～277、16) アミノ酸284～285、17) アミノ酸284～292、18) アミノ酸289～291、19) アミノ酸299～303、20) アミノ酸309～313、21) アミノ酸320～322、22) アミノ酸329～335、23) アミノ酸341～349、24) アミノ酸342～348、25) アミノ酸356～365、26) アミノ酸377～381、27) アミノ酸388～394、28) アミノ酸398～407、29) アミノ酸433～451、および30) アミノ酸446～451、ここで、アミノ酸番号付けは、ヒトIgG1のアミノ酸番号付けに基づく。

10

【0332】

いくつかの例において、標的抗CD37免疫グロブリンは、上に記載されるスルファターゼモチーフを含むように修飾され、修飾が、1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換を含む。特定の実施形態において、スルファターゼモチーフは、以下のうちの1つ以上に対応するIgG1重鎖定常領域の領域内にあるか、またはそれに隣接している。1) アミノ酸1～6、2) アミノ酸16～22、3) アミノ酸34～47、4) アミノ酸42～49、5) アミノ酸42～62、6) アミノ酸34～37、7) アミノ酸69～71、8) アミノ酸79～81、9) アミノ酸78～81、10) アミノ酸87～91、11) アミノ酸100～121、12) アミノ酸127～131、13) アミノ酸137～141、14) アミノ酸149～157、15) アミノ酸151～157、16) アミノ酸164～165、17) アミノ酸164～172、18) アミノ酸169～171、19) アミノ酸179～183、20) アミノ酸189～193、21) アミノ酸200～202、22) アミノ酸209～215、23) アミノ酸221～229、24) アミノ酸22～228、25) アミノ酸236～245、26) アミノ酸217～261、27) アミノ酸268～274、28) アミノ酸278～287、29) アミノ酸313～331、および30) アミノ酸324～331、ここで、アミノ酸番号付けは、図15Bに示されるような配列番号43（ヒトIgG1定常領域）に示されるヒトIgG1のアミノ酸番号付けに基づく。

20

30

【0333】

IgG1重鎖の例示的な表面接近可能なループ領域としては、1) ASTKGP（配列番号53）、2) KSTSGGT（配列番号54）、3) PEPV（配列番号55）、4) NSGALTSG（配列番号56）、5) NSGALTSGVHTFPAVLQSSGL（配列番号57）、6) QSSGL（配列番号58）、7) VTV、8) QTY、9) TQTY（配列番号59）、10) HKPSN（配列番号60）、11) EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG（配列番号61）、12) FPPKP（配列番号62）、13) ISRTP（配列番号63）、14) DVSHEDPEV（配列番号64）、15) SHEDPEV（配列番号65）、16) DG、17) DGVEVHNAK（配列番号66）、18) HNA、19) QYNST（配列番号67）、20) VLTVL（配列番号68）、21) GKE、22) NKALPAP（配列番号69）、23) SKAKGQPRE（配列番号70）、24) KAKGQPR（配列番号71）、25) PPSRKELTKN（配列番号72）、26) YPSDI（配列番号73）、27) NGQPEN（配列番号74）、28) TPPVLDSDGS（配列番号75）、29) HEALTH

40

50

NHYTQKSLSLSPGK（配列番号76）、および30）SLSPGK（配列番号77）が挙げられる。

【0334】

いくつかの例において、標的免疫グロブリンは、上に記載されるスルファターゼモチーフを含むように修飾され、修飾が、1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換を含む。特定の実施形態において、スルファターゼモチーフは、以下のうちの1つ以上に対応するIgG2重鎖定常領域の領域内にあるか、またはそれに隣接している。1）アミノ酸1～6、2）アミノ酸13～24、3）アミノ酸33～37、4）アミノ酸43～54、5）アミノ酸58～63、6）アミノ酸69～71、7）アミノ酸78～80、8）87～89、9）アミノ酸95～96、10）114～118、11）122～126、12）134～136、13）144～152、14）159～167、15）175～176、16）184～188、17）195～197、18）204～210、19）216～224、20）231～233、21）237～241、22）252～256、23）263～269、24）273～282、25）アミノ酸299～302、ここで、アミノ酸番号付けは、図15Bに示されるような配列番号44（ヒトIgG2）に示されるアミノ酸配列の番号付けに基づく。

10

【0335】

IgG2重鎖の例示的な表面接近可能なループ領域としては、1）ASTKGP（配列番号78）、2）PCSRSTSESTAA（配列番号79）、3）FPEPV（配列番号80）、4）SGALTSGVHTFP（配列番号81）、5）QSSGLY（配列番号82）、6）VTV、7）TQT、8）HKP、9）DK、10）VAGPS（配列番号83）、11）FPPKP（配列番号84）、12）RTP、13）DVSHEDPEV（配列番号85）、14）DGVEVHNAK（配列番号86）、15）FN、16）VLTVV（配列番号87）、17）GKE、18）NKGLPAP（配列番号88）、19）SKTKGQPRE（配列番号89）、20）PPS、21）MTKNQ（配列番号90）、22）YPSDI（配列番号91）、23）NGQPENN（配列番号92）、24）TPPMLDSDGS（配列番号93）、25）GNVF（配列番号94）、および26）HEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号95）が挙げられる。

20

【0336】

いくつかの例において、標的免疫グロブリンは、上に記載されるスルファターゼモチーフを含むように修飾され、修飾が、1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換を含む。特定の実施形態において、スルファターゼモチーフは、以下のうちの1つ以上に対応するIgG3重鎖定常領域の領域内にあるか、またはそれに隣接している。1）アミノ酸1～6、2）アミノ酸13～22、3）アミノ酸33～37、4）アミノ酸43～61、5）アミノ酸71、6）アミノ酸78～80、7）87～91、8）アミノ酸97～106、9）111～115、10）147～167、11）173～177、16）185～187、13）195～203、14）210～218、15）226～227、16）238～239、17）246～248、18）255～261、19）267～275、20）282～291、21）アミノ酸303～307、22）アミノ酸313～320、23）アミノ酸324～333、24）アミノ酸350～352、25）アミノ酸359～365、および26）アミノ酸372～377、ここで、アミノ酸番号付けは、図15Bに示されるような配列番号45（ヒトIgG3）に示されるアミノ酸配列の番号付けに基づく。

30

40

【0337】

IgG3重鎖の例示的な表面接近可能なループ領域としては、1）ASTKGP（配列番号96）、2）PCSRSTSGGT（配列番号97）、3）FPEPV（配列番号98）、4）SGALTSGVHTFPAVLQSSG（配列番号99）、5）V、6）TQT、7）HKPSN（配列番号100）、8）RVELKTPPLGD（配列番号101）、9）CPRCPKP（配列番号102）、10）PKSCDTPPPCPRCPAPELLGG（配列番号103）、11）FPPKP（配列番号104）、12）RTP、

50

13) DVSHEDPEV (配列番号105)、14) DGVEVHNAK (配列番号106)、15) YN、16) VL、17) GKE、18) NKALPAP (配列番号107)、19) SKTKGQPRE (配列番号108)、20) PPSREEMTKN (配列番号109)、21) YPSDI (配列番号110)、22) SSGQPENN (配列番号111)、23) TPPMLDSDGS (配列番号112)、24) GNI、25) HEALHNR (配列番号113)、および26) SLSPGK (配列番号114) が挙げられる。

【0338】

いくつかの例において、標的免疫グロブリンは、上に記載されるスルファターゼモチーフを含むように修飾され、修飾が、1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換を含む。特定の実施形態において、スルファターゼモチーフは、以下のうちの1つ以上に対応するIgG4重鎖定常領域の領域内にあるか、またはそれに隣接している。1) アミノ酸1～5、2) アミノ酸12～23、3) アミノ酸32～36、4) アミノ酸42～53、5) アミノ酸57～62、6) アミノ酸68～70、7) アミノ酸77～79、8) アミノ酸86～88、9) アミノ酸94～95、10) アミノ酸101～102、11) アミノ酸108～118、12) アミノ酸122～126、13) アミノ酸134～136、14) アミノ酸144～152、15) アミノ酸159～167、16) アミノ酸175～176、17) アミノ酸185～186、18) アミノ酸196～198、19) アミノ酸205～211、20) アミノ酸217～226、21) アミノ酸232～241、22) アミノ酸253～257、23) アミノ酸264～265、24) 269～270、25) アミノ酸274～283、26) アミノ酸300～303、27) アミノ酸399～417、ここで、アミノ酸番号付けは、図15Bに示されるような配列番号46 (ヒトIgG4) に示されるアミノ酸配列の番号付けに基づく。

【0339】

IgG4重鎖の例示的な表面接近可能なループ領域としては、1) STKGP (配列番号115)、2) PCSRSTSESTAA (配列番号116)、3) FPEPV (配列番号117)、4) SGALTSGVHTFP (配列番号118)、5) QSSGLY (配列番号119)、6) VTV、7) TKT、8) HKP、9) DK、10) YG、11) CPAPEFLGGPS (配列番号120)、12) FPPKP (配列番号121)、13) RTP、14) DVSEQEDPEV (配列番号122)、15) DGVEVHNAK (配列番号123)、16) FN、17) VL、18) GKE、19) NKGLPSS (配列番号124)、20) SKAKGQPREP (配列番号125)、21) PPSQEEMTKN (配列番号126)、22) YPSDI (配列番号127)、23) NG、24) NN、25) TPPVLDSDGS (配列番号128)、26) GNVF (配列番号129)、および27) HEALHNHYTQKSLSLSLGK (配列番号130) が挙げられる。

【0340】

いくつかの例において、標的免疫グロブリンは、上に記載されるスルファターゼモチーフを含むように修飾され、修飾が、1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換を含む。特定の実施形態において、スルファターゼモチーフは、以下のうちの1つ以上に対応するIgA重鎖定常領域の領域内にあるか、またはそれに隣接している。1) アミノ酸1～13、2) アミノ酸17～21、3) アミノ酸28～32、4) アミノ酸44～54、5) アミノ酸60～66、6) アミノ酸73～76、7) アミノ酸80～82、8) アミノ酸90～91、9) アミノ酸123～125、10) アミノ酸130～133、11) アミノ酸138～142、12) アミノ酸151～158、13) アミノ酸165～174、14) アミノ酸181～184、15) アミノ酸192～195、16) アミノ酸199、17) アミノ酸209～210、18) アミノ酸222～245、19) アミノ酸252～256、20) アミノ酸266～276、21) アミノ酸293～294、22) アミノ酸301～304、23) アミノ酸317～320、24) アミノ酸329～353、ここで、アミノ酸番号付けは、図15Bに示されるような配列番号47

(ヒト Ig A) に示されるアミノ酸配列の番号付けに基づく。

【0341】

Ig A 重鎖の例示的な表面接近可能なループ領域としては、1) ASPTSPKVFPLSL (配列番号131)、2) QPDGN (配列番号132)、3) VQGFFPQEP L (配列番号133)、4) SGQGVTARNFP (配列番号134)、5) SGDL YTT (配列番号135)、6) PATQ (配列番号136)、7) GKS、8) YT、9) CHP、10) HRP A (配列番号137)、11) LLGSE (配列番号138)、12) GLRDASGV (配列番号139)、13) SSGKSAVQGP (配列番号140)、14) GCYS (配列番号141)、15) CAEP (配列番号142)、16) PE、17) SGNTFRPEVHLLPPPSEELALNEL (配列番号143)、18) ARGFS (配列番号144)、19) QGSQELPREKY (配列番号145)、20) AV、21) AAED (配列番号146)、22) HEAL (配列番号147)、および23) IDRLAGKPTHVNVSVVMAEVDGTCY (配列番号148) が挙げられる。

【0342】

スルファターゼモチーフは、Ig 重鎖のかかる修飾部位のこれらのアミノ酸配列のうちの1つ以上内、またはそれに隣接して提供され得る。例えば、Ig 重鎖ポリペプチドは、これらのアミノ酸配列のうちの1つ以上で修飾され (例えば、修飾が1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および/または置換を含む場合)、これらの修飾部位に隣接してN末端に、および/または隣接してC末端にスルファターゼモチーフを提供することができる。あるいは、またはこれに加えて、Ig 重鎖ポリペプチドは、これらのアミノ酸配列のうちの1つ以上で修飾され (例えば、修飾が1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および/または置換を含む場合)、Ig 重鎖修飾部位の任意の2つの残基の間にスルファターゼモチーフを提供することができる。いくつかの実施形態において、Ig 重鎖ポリペプチドは、互いに隣接し得るか、または1つ、2つ、3つ、4つ以上 (例えば、約1~約25、約25~約50、または約50~約100、またはそれ以上のアミノ酸によって分離され得る2つのモチーフを含むように修飾され得る。あるいは、またはこれに加えて、天然アミノ酸配列が、スルファターゼモチーフ配列の1つ以上のアミノ酸残基を提供する場合、Ig 重鎖ポリペプチドアミノ酸配列の修飾部位の選択されたアミノ酸残基は、修飾部位にスルファターゼモチーフを提供するように、修飾され得る (例えば、修飾が1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および/または置換を含む場合)。

【0343】

したがって、表面接近可能なループ領域のアミノ酸配列を修飾してスルファターゼモチーフを提供することができ、修飾が、挿入、欠失、および/または置換を含み得る。例えば、修飾がCH1ドメイン中にある場合、表面接近可能なループ領域は、アミノ酸配列NSGALTS G (配列番号149) を有していてもよく、アルデヒドタグ化配列は、例えば、NSGALCTPSRG (配列番号150) であってもよく、例えば、NSGALTS G (配列番号151) 配列の「TS」残基が、スルファターゼモチーフが配列LCTPSR (配列番号153) を有するように、「CTPSR」 (配列番号152) と置き換えられている。別の例として、修飾がCH2ドメイン中にある場合、表面接近可能なループ領域は、アミノ酸配列NKALPAP (配列番号154) を有していてもよく、アルデヒドタグ化配列は、例えば、NLCTPSRAP (配列番号155) であってもよく、例えば、NKALPAP (配列番号156) 配列の「KAL」残基が、スルファターゼモチーフが配列LCTPSR (配列番号158) を有するように、「LCTPSR」 (配列番号157) と置き換えられている。別の例として、修飾がCH2/CH3ドメイン中にある場合、表面接近可能なループ領域は、アミノ酸配列KAKGQPR (配列番号159) を有していてもよく、アルデヒドタグ化配列は、例えば、KAKGLCTPSR (配列番号160) であってもよく、例えば、KAKGQPR (配列番号161) 配列の「GQP」残基が、スルファターゼモチーフが配列LCTPSR (配列番号163) を有するように、「LCTPS」 (配列番号162) と置き換えられている。

【0344】

上に示されるように、単離されたアルデヒドタグ化抗CD37 Igポリペプチドは、上述のスルファターゼモチーフを含むように修飾された軽鎖定常領域を含んでいてもよく、スルファターゼモチーフが、Igポリペプチド軽鎖定常領域の表面接近可能なループ領域中にあるか、またはそれに隣接している。

【0345】

いくつかの例において、標的免疫グロブリンは、上に記載されるスルファターゼモチーフを含むように修飾され、修飾が、1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換を含む。特定の実施形態において、スルファターゼモチーフは、以下のうちの1つ以上に対応するIg軽鎖定常領域の領域内にあるか、またはそれに隣接している。1) アミノ酸130～135、2) アミノ酸141～143、3) アミノ酸150、4) アミノ酸162～166、5) アミノ酸163～166、6) アミノ酸173～180、7) アミノ酸186～194、8) アミノ酸211～212、9) アミノ酸220～225、10) アミノ酸233～236、ここで、アミノ酸番号付けは、図15Cに示されるようなヒトカップ軽鎖のアミノ酸番号付けに基づく。いくつかの例において、標的免疫グロブリンは、上に記載されるスルファターゼモチーフを含むように修飾され、修飾が、1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換を含む。特定の実施形態において、スルファターゼモチーフは、以下のうちの1つ以上に対応するIg軽鎖定常領域の領域内にあるか、またはそれに隣接している。1) アミノ酸1～6、2) アミノ酸12～14、3) アミノ酸21、4) アミノ酸33～37、5) アミノ酸34～37、6) アミノ酸44～51、7) アミノ酸57～65、8) アミノ酸83～83、9) アミノ酸91～96、10) アミノ酸104～107、ここで、アミノ酸番号付けは、図15Cに示されるような配列番号48（ヒトカップ軽鎖）に基づく。

【0346】

Ig軽鎖（例えば、ヒトカップ軽鎖）の例示的な表面接近可能なループ領域としては、1) RTVAAP（配列番号164）、2) PPS、3) Gly（例えば、図15Cに示されるヒトカップ軽鎖配列の位置150にあるGly）、4) YPREA（配列番号165）、5) PREA（配列番号166）、6) DNALQSGN（配列番号167）、7) TEQDSKDST（配列番号168）、8) HK、9) HQGLSS（配列番号169）、および10) RGEC（配列番号170）が挙げられる。

【0347】

Igラムダ軽鎖の例示的な表面接近可能なループ領域としては、QPKAAP（配列番号171）、PPS、NK、DFYPGAV（配列番号172）、DSSPVKAG（配列番号173）、TTP、SN、HKS、EG、およびAPTECS（配列番号174）が挙げられる。

【0348】

いくつかの例において、標的免疫グロブリンは、上に記載されるスルファターゼモチーフを含むように修飾され、修飾が、1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換を含む。特定の実施形態において、スルファターゼモチーフは、以下のうちの1つ以上に対応するラットIg軽鎖定常領域の領域内にあるか、またはそれに隣接している。1) アミノ酸1～6、2) アミノ酸12～14、3) アミノ酸121～22、4) アミノ酸31～37、5) アミノ酸44～51、6) アミノ酸55～57、7) アミノ酸61～62、8) アミノ酸81～83、9) アミノ酸91～92、10) アミノ酸102～105、ここで、アミノ酸番号付けは、図15Cに示されるような配列番号52に示されるラット軽鎖のアミノ酸番号付けに基づく。

【0349】

いくつかの場合において、スルファターゼモチーフは、抗CD37重鎖定常領域のCH1領域に導入される。いくつかの場合において、スルファターゼモチーフは、抗CD37重鎖のC末端またはその付近（例えば、1～10アミノ酸以内）に導入される。いくつかの場合において、スルファターゼモチーフは、軽鎖定常領域に導入される。

【0350】

いくつかの場合において、スルファターゼモチーフは、抗CD37重鎖定常領域のCH1領域に、例えば、IgG1重鎖アミノ酸配列のアミノ酸121～219内に導入される。例えば、いくつかの場合において、スルファターゼモチーフは、以下のアミノ酸配列に導入される。ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE（配列番号175）。例えば、これらの実施形態のいくつかにおいて、アミノ酸配列GALTSGVH（配列番号176）は、GALCTPSRGVH（配列番号177）へと修飾され、ここで、スルファターゼモチーフが、LCTPSR（配列番号178）である。

10

【0351】

いくつかの場合において、スルファターゼモチーフは、抗CD37重鎖のC末端またはその付近に導入され、例えば、抗CD37重鎖のC末端の1アミノ酸、2アミノ酸（aa）、3aa、4aa、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa、または10aa内に導入されるスルファターゼモチーフ。1つの非限定的な例として、抗CD37重鎖のC末端リジン残基を、アミノ酸配列SLCTPSRGS（配列番号179）と置き換えることができる。

【0352】

いくつかの場合において、スルファターゼモチーフは、抗CD37抗体の軽鎖の定常領域に導入される。1つの非限定的な例として、いくつかの場合において、スルファターゼモチーフは、抗CD37抗体の軽鎖の定常領域に導入され、スルファターゼモチーフが、KVDNAL（配列番号180）に対してC末端であり、かつ／またはQSGNSQ（配列番号181）に対してN末端である。例えば、いくつかの場合において、スルファターゼモチーフは、LCTPSR（配列番号82）であり、抗CD37軽鎖は、アミノ酸配列KVDNAL LCTPSRQSGNSQ（配列番号183）を含む。

20

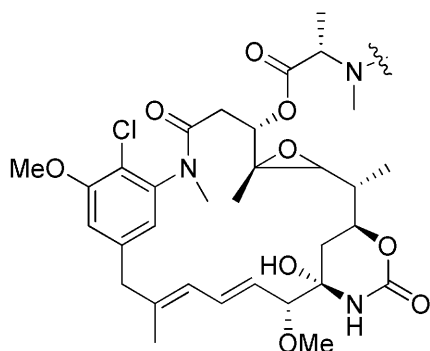
【0353】

ポリペプチドへのコンジュゲート化のための薬物

本開示は、薬物-ポリペプチドコンジュゲートを提供する。薬物の例としては、がん化学療法剤などの小分子薬物が挙げられる。例えば、ポリペプチドが、腫瘍細胞に対する特異性を有する抗体（またはその断片）である場合、抗体は、本明細書に記載されるように、修飾アミノ酸を含むように修飾されてもよく、その後、微小管作用剤などのがん化学療法剤にコンジュゲート化され得る。特定の実施形態において、薬物は、マイタンシノイドなどの抗増殖活性を有する微小管作用剤である。特定の実施形態において、薬物は、以下の構造として、マイタンシノイドであり、

30

【化23】



40

式中、

50

【化 2 4】



が、式 (I) において、マイタンシノイドとリンカー L との間の接続点を示す。「接続点」は、

【化 2 5】



記号が式 (I) 中のマイタンシノイドの N とリンカー L との間の結合を示すことを意味する。例えば、式 (I) において、 W^1 は、マイタンシノイド（例えば、上の構造のマイタンシノイド）であり、式中、

【化 2 6】



が、マイタンシノイドとリンカー L との間の接続点を示す。いくつかの例において、上に示されるマイタンシノイド構造は、デアシルマイタンシンと称されてもよい。

【0 3 5 4】

上述のように、特定の実施形態において、L は、式 $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d$ によって記載されるリンカーであり、式中、 L^1 、 L^2 、 L^3 、および L^4 は、それぞれ独立して、リンカー単位である。特定の実施形態において、 L^1 は、カップリング部分、例えば、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロローピリジニルカップリング部分（例えば、上の式 (I) に示されるとおり）に接続する。特定の実施形態において、 L^2 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。特定の実施形態において、 L^3 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。特定の実施形態において、 L^4 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。

【0 3 5 5】

上述のように、特定の実施形態において、リンカー $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d$ は、式 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d$ によって記載され、式中、a、b、c および d が、それぞれ独立して 0 または 1 であり、a、b、c および d の合計が、1~4 である。特定の実施形態において、上述のように、 L^1 は、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロローピリジニルカップリング部分（例えば、上の式 (I) に示されるとおり）に接続する。したがって、特定の実施形態において、 T^1 は、ヒドラジニル-インドリルまたはヒドラジニル-ピロローピリジニルカップリング部分（例えば、上の式 (I) に示されるとおり）に接続する。特定の実施形態において、 V^1 は、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。特定の実施形態において、上述のように、 L^2 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。したがって、特定の実施形態において、 T^2 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続するか、または V^2 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。特定の実施形態において、上述のように、 L^3 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。したがって、特定の実施形態において、 T^3 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続するか、または V^3 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。特定の実施形態において、上述のように、 L^4 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。したがって、特定の実施形態において、 T^4 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続するか、または V^4 は、存在する場合、 W^1 （マイタンシノイド）に接続する。

【0 3 5 6】

本開示の実施形態は、ポリペプチド（例えば、抗CD37抗体）が、1つ以上の薬物部分（例えば、マイタンシノイド）、例えば、2薬物部分、3薬物部分、4薬物部分、5薬物部分、6薬物部分、7薬物部分、8薬物部分、9薬物部分、または10薬物部分、またはそれより多い薬物部分にコンジュゲート化される、コンジュゲートを含む。薬物部分は、本明細書に記載されるように、ポリペプチド中の1つ以上の部位でポリペプチドにコンジュゲート化され得る。特定の実施形態において、コンジュゲートは、0.1～10、または0.5～10、または1～10、例えば、1～9、または1～8、または1～7、または1～6、または1～5、または1～4、または1～3、または1～2の範囲の平均薬物対抗体比（DAR）（モル比）を有する。特定の実施形態において、コンジュゲートは、1～2、例えば、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または2などの平均DARを有する。特定の実施形態において、コンジュゲートは、1.5～2の平均DARを有する。特定の実施形態において、コンジュゲートは、1.75～1.85の平均DARを有する。特定の実施形態において、コンジュゲートは、1.8の平均DARを有する。平均は、算術平均を意味する。

10

【0357】

製剤

本開示のコンジュゲートは、様々な異なる方法で製剤化され得る。概して、コンジュゲートが、ポリペプチドー薬物コンジュゲートである場合、コンジュゲートは、ポリペプチドにコンジュゲート化される薬物、治療される条件、および使用される投与経路と適合性のある様式で製剤化される。

20

【0358】

いくつかの実施形態において、本開示のコンジュゲートのうちのいずれかと、薬学的に許容される賦形剤とを含む、薬学的組成物が提供される。

【0359】

コンジュゲート（例えば、ポリペプチドー薬物コンジュゲート）は、任意の好適な形態、例えば、薬学的に許容される塩の形態で提供することができ、任意の好適な投与経路、例えば、経口、局所、または非経口投与のために製剤化することができる。コンジュゲートが、注射可能な液体（それらが静脈内または直接的に組織に投与されるそれらの実施形態におけるものなど）として提供される場合、コンジュゲートは、すぐに使用できる剤形として、または再構成可能な貯蔵安定性粉末もしくは薬学的に許容される担体および賦形剤からなる液体として提供され得る。

30

【0360】

コンジュゲートを製剤化する方法は、容易に利用可能なものから適応され得る。例えば、コンジュゲートは、治療有効量のコンジュゲートと薬学的に許容される担体（例えば、生理食塩水）とを含む薬学的組成物で提供され得る。薬学的組成物は、任意選択により、他の添加剤（例えば、緩衝剤、安定剤、防腐剤など）を含み得る。いくつかの実施形態において、製剤は、哺乳動物への投与に適しており、例えば、ヒトへの投与に適したものである。

【0361】

治療方法

40

本開示のポリペプチドー薬物コンジュゲートは、親薬物（すなわち、ポリペプチドへのコンジュゲート化の前の薬物）の投与によって治療を受けることが可能な対象の状態または疾患の治療における用途が見出される。

【0362】

いくつかの実施形態において、有効量の本開示のコンジュゲートのいずれかを対象に投与することを含む、方法が提供される。

【0363】

特定の態様において、対象の標的部位に薬物を送達する方法であって、この方法が、対象に、本開示のコンジュゲートのうちのいずれかを含有する薬学的組成物を投与することを含み、投与が、対象の標的部位で、コンジュゲートから治療有効量の薬物を放出するのに有

50

効である、方法が提供される。

【0364】

「治療」は、宿主を悩ませる状態に関連する症状の少なくとも改善が達成されることを意味し、改善が、パラメータの大きさ、例えば、治療されている状態と関連する症状の少なくとも低減を指すために、広義で使用される。したがって、治療は、病的状態、またはそれと関連する少なくとも症状が、その状態、またはその状態を特徴付ける少なくとも症状を患わないよう宿主が完全に阻害され、例えば、発生を予防、または停止、例えば、終了する状況も含む。したがって、治療は、(i) 予防、すなわち、有害な状態への疾患進行を予防するなど、臨床症状を発症させないようにすることを含め、臨床症状の発症のリスクを減らすこと、(ii) 阻害、すなわち、活動性の疾患を緩和または完全に阻害することなど、臨床症状の発症またはさらなる発症を阻止すること、および／または(iii) 軽減、すなわち、臨床症状を逆行させることを含む。

10

【0365】

治療される対象は、治療の必要がある対象であり、治療される宿主が、親薬物を使用して治療を受けることが可能である宿主であり得る。したがって、様々な対象は、本明細書に開示されるポリペプチド-薬物コンジュゲートを使用して治療を受けることが可能であり得る。概して、かかる対象は、目的のヒトを含む「哺乳動物」である。他の対象は、家庭動物（例えば、イヌおよびネコ）、家畜（例えば、ウシ、ブタ、ヤギ、ウマなど）、げっ歯類（例えば、マウス、モルモット、およびラット、例えば、疾患の動物モデルなど）、ならびに非ヒト霊長類（例えば、チンパンジー、およびサルを含み得る。

20

【0366】

投与されるポリペプチド-薬物コンジュゲートの量は、親薬物の用量および／または投与量レジメンの指導に基づいて最初に決定され得る。概して、ポリペプチド-薬物コンジュゲートは、結合した薬物の標的化送達および／または血清半減期の増強を提供することができ、したがって、投薬量レジメン中の用量の低減または投与の低減のうちの少なくとも1つを提供する。したがって、ポリペプチド-薬物コンジュゲートは、本開示のポリペプチド-薬物コンジュゲートにおいてコンジュゲート化される前の親薬物と比較して、投薬量レジメン中の用量の低減および／または投与の低減を提供することができる。

【0367】

さらに、上に示されるように、ポリペプチド-薬物コンジュゲートは、制御された化学量論量の薬物送達を提供することができるため、ポリペプチド-薬物コンジュゲートの投薬量は、ポリペプチド-薬物コンジュゲートを基準として提供される薬物分子の数に基づいて計算することができる。

30

【0368】

いくつかの実施形態において、複数の用量のポリペプチド-薬物コンジュゲートが投与される。ポリペプチド-薬物コンジュゲートの投与の頻度は、様々な因子、例えば、症状の重症度、対象の状態などのいずれかに依存して変化し得る。例えば、いくつかの実施形態において、ポリペプチド-薬物コンジュゲートは、1ヶ月に1回、1ヶ月に2回、1ヶ月に3回、隔週、週に1回(qwk)、週に2回、週に3回、週に4回、週に5回、週に6回、1日おき、毎日(qd/od)、1日に2回(bds/bid)、または1日に3回(tds/tid)などで投与される。

40

【0369】

がんを治療する方法

本開示は、がんを有する個体に本開示のコンジュゲートを送達することを含む方法を提供する。本方法は、がん腫、肉腫、白血病、およびリンパ腫を含む多種多様ながんを治療するために有用である。がんの文脈において、「治療すること」という用語は、固形腫瘍の成長を低減すること、がん細胞の複製を阻害すること、全体的な腫瘍負荷を低減すること、およびがんに関連する1つ以上の症状を改善することのうちの1つ以上（例えば、それぞれ）を含む。

【0370】

50

主題の方法を使用して治療され得るがん腫としては、限定されないが、食道がん腫、肝細胞がん腫、基底細胞がん腫（皮膚がんの一形態）、扁平上皮細胞がん腫（種々の組織）、移行上皮がん腫（膀胱の悪性新生物）を含む膀胱がん腫、気管支がん腫、結腸がん腫、結腸直腸がん腫、胃がん腫、肺の小細胞がん腫および非小細胞がん腫を含む肺がん腫、副腎皮質がん腫、甲状腺がん腫、膵臓がん腫、乳がん腫、卵巣がん腫、前立腺がん腫、腺がん、汗腺がん腫、脂腺がん腫、乳頭がん腫、乳頭腺がん、嚢胞腺がん、髄様がん腫、腎細胞がん腫、非浸潤性乳管がん腫、または胆管がん腫、絨毛がん腫、セミノーマ、胎児性がん腫、ウィルムス腫瘍、頸部がん腫、子宮がん腫、精巣がん腫、骨原性がん腫、上皮がん腫、および上咽頭がん腫などが挙げられる。

【0371】

主題の方法を使用して治療され得る肉腫としては、限定されないが、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、コルドーマ、骨原性肉腫、骨肉腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング肉腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、および他の軟組織肉腫が挙げられる。

【0372】

主題の方法を使用して治療され得る他の固形腫瘍としては、限定されないが、神経膠腫、星細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫瘍、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽腫、および網膜芽腫が挙げられる。

【0373】

主題の方法を使用して治療され得る白血病としては、限定されないが、a) 慢性骨髄増殖性障害（多能性造血幹細胞の新生物性障害）、b) 急性骨髄性白血病（多能性造血幹細胞または系統可能性が制御された造血幹細胞の新生物性形質転換）、c) 慢性リンパ性白血病（CLL、免疫学的に未成熟であり、機能不全である小さなリンパ球のクローン増殖）、B細胞CLL、T細胞CLL前リンパ球性白血病、および有毛細胞白血病を含む、ならびにd) 急性リンパ芽球性白血病（リンパ芽球の蓄積を特徴とする）が挙げられる。主題の方法を使用して治療され得るリンパ腫としては、限定されないが、B細胞リンパ腫（例えば、バーキットリンパ腫）、ホジキンリンパ腫、非ホジキンB細胞リンパ腫などが挙げられる。

【0374】

特定の態様において、対象のがんを治療する方法であって、かかる方法が、対象に、治療有効量の本開示のコンジュゲートのいずれかを含む薬学的組成物を投与することを含み、投与が、対象のがんを治療するのに有効である、方法が提供される。いくつかの実施形態において、がんは、血液悪性腫瘍である。目的の血液悪性腫瘍としては、限定されないが、悪性B細胞であることを特徴とする血液悪性腫瘍が挙げられる。悪性B細胞であることを特徴とする血液悪性腫瘍の非限定的な例としては、白血病（例えば、慢性リンパ性白血病（CLL））およびリンパ腫（例えば、非ホジキンリンパ腫（NHL））が挙げられる。リンパ腫がNHLである場合、特定の態様において、NHLは、再発性および／または難治性非ホジキンリンパ腫である。

【実施例】

【0375】

以下の実施例は、当業者に、完全な開示および本発明の製造方法ならびに使用方法の説明を提供するように記載され、本願発明者らがそれらの発明とみなす範囲を限定することは意図されず、以下の実験が全てであるか、または実験のみが行われることを表すことを意図していない。使用された数字（例えば量、温度など）に対する精度を確保する努力がなされたが、ある程度の実験誤差および偏差が考慮されるべきである。別段の指示がない限り、部は、重量部であり、分子量は、重量平均分子量であり、温度は、摂氏であり、圧力は、大気圧または大気圧に近い圧力である。「平均」は、算術平均を意味する。標準的な略語が使用されてもよく、例えば、bp, 塩基対、kb, キロベース、pl, ピコリットル、sもしくはsec, 秒、min, 分、hもしくはhr, 時間、aa, アミノ酸、kb, キロベース、bp, 塩基対、nt, ヌクレオチド、i.m., 筋肉内（筋肉内に）、

10

20

30

40

50

i. p. , 腹腔内 (腹腔内に) 、 s. c. , 皮下 (皮下に) などである。

【 0 3 7 6 】

一般的な合成手順

一般的に知られている化学的合成スキームおよび開示されている化合物を合成するのに有用な条件を提供する多くの一般的な参考文献が利用可能である (例えば、Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Fifth Edition, Wiley-Interscience, 2001、または Vogel, A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis, Fourth Edition, New York: Longman, 1978 を参照されたい) 。

10

【 0 3 7 7 】

本明細書に記載される化合物は、HPLC、分取薄層クロマトグラフィー、フラッシュカラムクロマトグラフィーおよびイオン交換クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィーを含む、当該技術分野で既知の任意の精製プロトコルによって精製され得る。順相および逆相、ならびにイオン性樹脂を含む、任意の好適な静止相を使用することができる。特定の実施形態において、開示された化合物は、シリカゲルおよび／またはアルミナクロマトグラフィーを介して精製される。例えば、Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2nd Edition, 編集 L. R. Snyder and J. J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979、および Thin Layer Chromatography, 編集 E. Stahl, Springer-Verlag, New York, 1969 を参照されたい。

20

【 0 3 7 8 】

主題の化合物を調製するためのいずれかのプロセス中に、関連する分子のいずれかの上にある感受性基または反応性基を保護することが必要であり、かつ／または望ましい場合がある。このことは、例えば、J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973、T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999、"The Peptides"; Volume 3 (編集者: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981、"Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4th edition, Vol. 15/l, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974、H. -D. Jakubke and H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982、および／または Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974 などの標準的な研究に記載されるような従来の保護基を使用することによって達成され得る。保護基は、当該技術分野で既知の方法を使用して、好都合なその後の段階で除去され得る。

30

40

【 0 3 7 9 】

主題の化合物は、市販されている出発物質および／または従来の合成方法によって調製された出発物質を使用して、様々な異なる合成経路を介して合成することができる。本明細書に開示される化合物を合成するために使用され得る合成経路の様々な例が、以下のスキームに記載される。

50

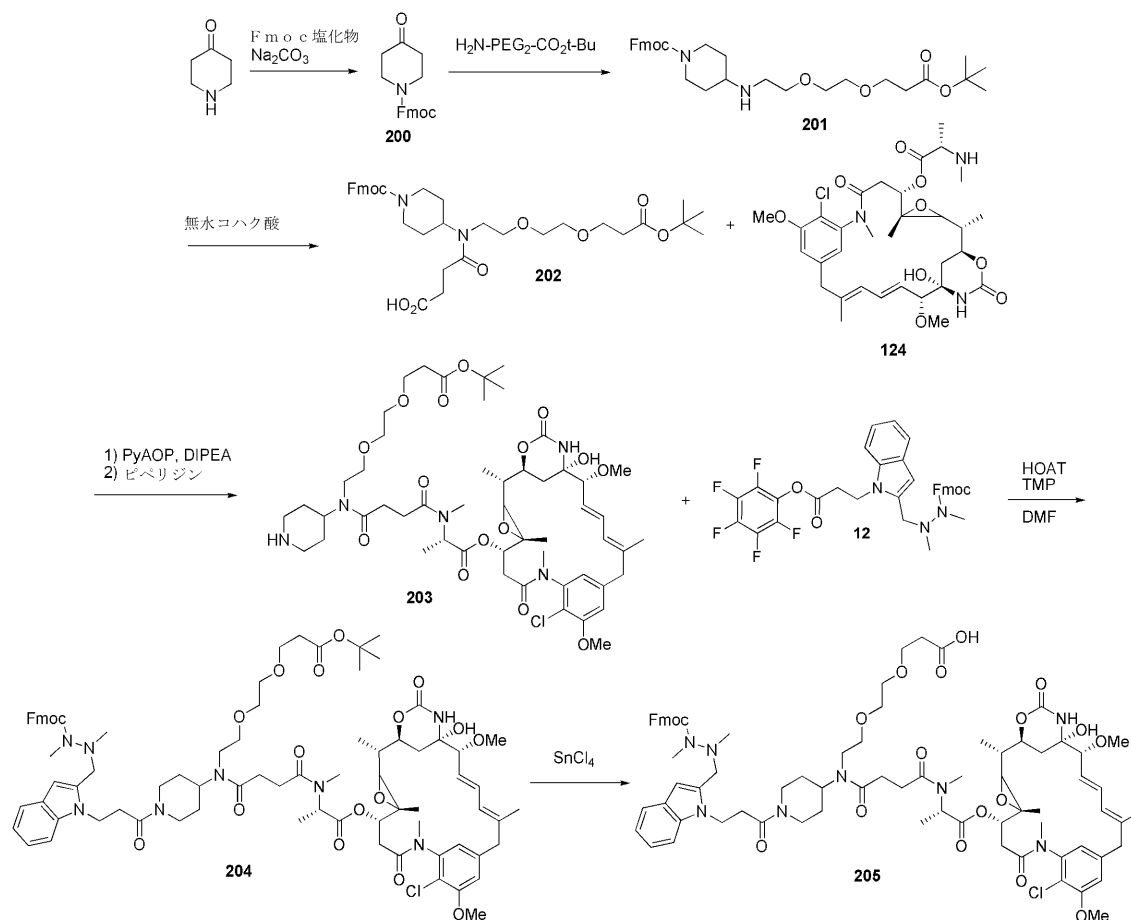
【0380】

実施例 1

4-アミノピペリジン(4AP)基を含有するリンカーを、以下に示されるスキーム1に従って合成した。

【化27】

スキーム 1



10

20

30

【0381】

(9H-フルオレン-9-イル)メチル4-オキソピペリジン-1-カルボキシレート(200)の合成

磁気攪拌棒が入った100mLの丸底フラスコに、ピペリジン-4-オン塩酸塩一水和物(1.53g、10mmol)、Fmoc塩化物(2.58g、10mmol)、炭酸ナトリウム(3.18g、30mmol)、ジオキサン(20mL)、および水(2mL)を加えた。反応混合物を室温で1時間攪拌した。混合物をEtOAc(100mL)で希釈し、水(1×100mL)で抽出した。有機層を Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。得られた材料を真空下で乾燥させ、白色固体として化合物200を得た(3.05g、収率95%)。

40

【0382】

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.78 (d, 2H, $J=7.6$), 7.59 (d, 2H, $J=7.2$), 7.43 (t, 2H, $J=7.2$), 7.37 (t, 2H, $J=7.2$), 4.60 (d, 2H, $J=6.0$), 4.28 (t, 2H, $J=6.0$), 3.72 (br, 2H), 3.63 (br, 2H), 2.39 (br, 2H), 2.28 (br, 2H)。

50

【0383】

MS (ESI) m/z : $[M+H]^+ C_{20}H_{20}NO_3$ についての計算値 322.4、実測値 322.2。

【0384】

(9H-フルオレン-9-イル)メチル4-((2-(2-(3-(tert-ブトキシ)-3-オキソプロポキシ)エトキシ)エチル)アミノ)ピペリジン-1-カルボキシレート(201)の合成

磁気攪拌棒が入った乾燥したシンチレーションバイアルに、ピペリジノン200(642mg、2.0mmol)、 $H_2N-PEG_2-CO_2t-Bu$ (560mg、2.4mmol)、4Åモレキュラーシーブ(活性化粉末、500mg)、および1,2-ジクロロエタン(5mL)を加えた。混合物を1時間、室温で攪拌した。反応混合物にトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(845mg、4.0mmol)を加えた。混合物を5日間、室温で攪拌した。得られた混合物をEtOAcで希釈した。有機層を飽和NaHCO₃(1×50mL)および塩水(1×50mL)で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、油状物として化合物201を得て、これをさらに精製することなく次を実施した。

10

【0385】

13-(1-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)ピペリジン-4-イル)-2,2-ジメチル-4,14-ジオキソ-3,7,10-トリオキサ-13-アザヘプタデカン-17-オン酸(202)の合成

20

磁気攪拌棒が入った乾燥したシンチレーションバイアルに、前のステップからのN-Fmoc-ピペリジン-4-アミノ-PEG₂-CO₂t-Bu(201)、無水コハク酸(270mg、2.7mmol)、およびジクロロメタン(5mL)を加えた。混合物を18時間、室温で攪拌した。反応混合物をEtOAcと飽和NaHCO₃との間で分配した。水層をEtOAcで抽出した(3回)。水層を、pHが約3になるまでHCl(1M)で酸性化した。水層をDCMで抽出した(3回)。合わせた有機層をNa₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。反応混合物を、C18フラッシュクロマトグラフィー(10~100%MeCN/0.1%酢酸を含む水で溶出)によって精製した。生成物含有画分を減圧下で濃縮し、次いでトルエン(3×50mL)と共沸させて残留酢酸を除去し、534mg(42%、2ステップ)の化合物202を白色固体として得た。

30

【0386】

¹H NMR(DMSO-d₆) δ 11.96(br, 1H), 7.89(d, 2H, J=7.2), 7.63(d, 2H, J=7.2), 7.42(t, 2H, J=7.2), 7.34(t, 2H, J=7.2), 4.25-4.55(m, 3H), 3.70-4.35(m, 3H), 3.59(t, 2H, J=6.0), 3.39(m, 5H), 3.35(m, 3H), 3.21(br, 1H), 2.79(br, 2H), 2.57(m, 2H), 2.42(q, 4H, J=6.0), 1.49(br, 3H), 1.37(s, 9H)。

【0387】

MS (ESI) m/z : $[M+H]^+ C_{35}H_{47}N_2O_9$ についての計算値 639.3、実測値 639.2。

40

【0388】

(2S)-1-(((1⁴S, 1⁶S, 3³S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-8⁶-クロロ-1⁴-ヒドロキシ-8⁵, 14-ジメトキシ-3³, 2, 7, 10-テトラメチル-1², 6-ジオキソ-7-アザ-1(6, 4)-オキサジナナ-3(2, 3)-オキシラナ-8(1, 3)-ベンゼンアシクロテトラデカファン-10, 12-ジエン-4-イル)オキシ)-2, 3-ジメチル-1, 4, 7-トリオキソ-8-(ピペリジン-4-イル)-11, 14-ジオキサ-3, 8-ジアザヘプタデカン-17-オン酸(203)の合成

エステル202(227mg、0.356mmol)、ジイソプロピルエチルアミン(

50

174 μL 、1.065 mmol)、N-デアセチルマイタンシン124 (231 mg、0.355 mmol)のDMF 2 mL溶液に、PyAOP (185 mg、0.355 mmol)を加えた。溶液を30分間攪拌した。ピペリジン (0.5 mL)を反応混合物に加え、さらに20分間攪拌した。粗反応混合物を、0~100%のアセトニトリル：水の勾配を使用したC18逆相クロマトグラフィーによって精製し、203.2 mg (55%、2ステップ)の化合物203を得た。

【0389】

17-(tert-ブチル)-1-((1⁴S, 1⁶S, 3³S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-8⁶-クロロ-1⁴-ヒドロキシ-8⁵, 14-ジメトキシ-3³, 2, 7, 10-テトラメチル-1², 6-ジオキソ-7-アザ-1(6, 4)-オキサジナナ-3(2, 3)-オキシラナ-8(1, 3)-ベンゼンアシクロテトラデカファン-10, 12-ジエン-4-イル)(2S)-8-(1-(3-(2-(2-(2-(2-(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-1, 2-ジメチルヒドラジニル)メチル)-1H-インドール-1-イル)プロパノイル)ピペリジン-4-イル)-2, 3-ジメチル-4, 7-ジオキソ-11, 14-ジオキサ-3, 8-ジアザヘプタデカンジオエート(204)の合成

ピペリジン203 (203.2 mg、0.194 mmol)、エステル12 (126.5 mg、0.194 mmol)、2, 4, 6-トリメチルピリジン (77 μL 、0.582 mmol)、HOAT (26.4 mg、0.194 mmol)のDMF 1 mL溶液を30分間攪拌した。粗反応物を、0~100%のアセトニトリル：0.1%のギ酸を含む水の勾配を使用したC18逆相クロマトグラフィーによって精製し、280.5 mg (収率97%)の化合物204を得た。

【0390】

MS (ESI) m/z : [M+H]⁺ C₈₁H₁₀₆ClN₈O₁₈についての計算値1513.7、実測値1514.0。

【0391】

(2S)-8-(1-(3-(2-(2-(2-(2-(2-(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-1, 2-ジメチルヒドラジニル)メチル)-1H-インドール-1-イル)プロパノイル)ピペリジン-4-イル)-1-((1⁴S, 1⁶S, 3³S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-8⁶-クロロ-1⁴-ヒドロキシ-8⁵, 14-ジメトキシ-3³, 2, 7, 10-テトラメチル-1², 6-ジオキソ-7-アザ-1(6, 4)-オキサジナナ-3(2, 3)-オキシラナ-8(1, 3)-ベンゼンアシクロテトラデカファン-10, 12-ジエン-4-イル)オキシ)-2, 3-ジメチル-1, 4, 7-トリオキソ-11, 14-ジオキサ-3, 8-ジアザヘプタデカン-17-オン酸(205)の合成

化合物204 (108 mg、0.0714 mmol)の500 μL の無水DCM溶液に、SnCl₄の1M DCM溶液357 μL を加えた。不均一な混合物を1時間攪拌し、次いで、0~100%のアセトニトリル：0.1%のギ酸を含む水の勾配を使用したC18逆相クロマトグラフィーによって精製し、78.4 mg (収率75%)の化合物205を得た。

【0392】

MS (ESI) m/z : [M-H]⁻ C₇₇H₉₆ClN₈O₁₈についての計算値1455.7、実測値1455.9。

【0393】

実施例2

4-アミノ-ピペリジン(4AP)基を含有するリンカーを、以下に示されるスキーム2に従って合成した。

10

20

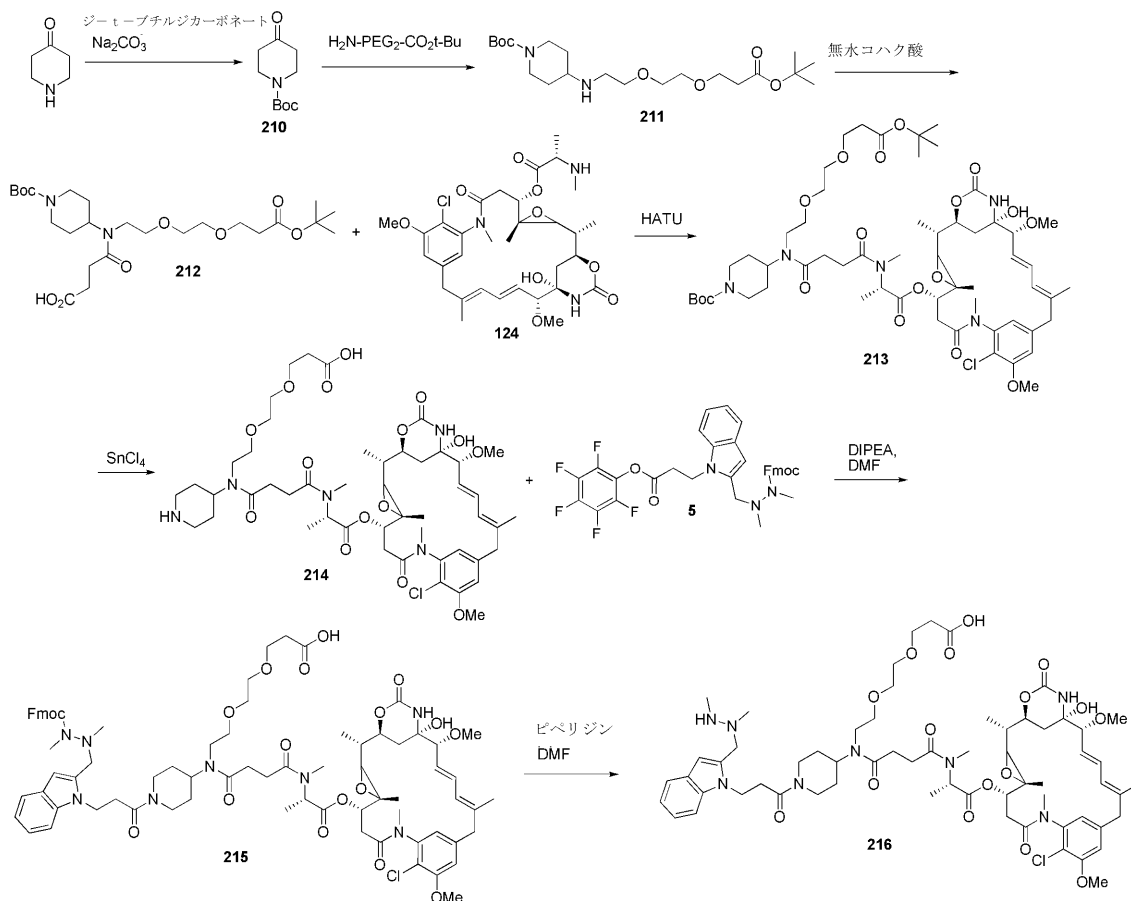
30

40

50

【化 2 8】

スキーム 2



10

20

【0394】

tert-ブチル 4-オキソピペリジン-1-カルボキシレート (210) の合成

磁気攪拌棒が入った100 mLの丸底フラスコに、ピペリジン-4-オン塩酸塩一水和物 (1.53 g、10 mmol)、ジ-tert-ブチルジカーボネート (2.39 g、11 mmol)、炭酸ナトリウム (1.22 g、11.5 mmol)、ジオキサン (10 mL)、および水 (1 mL) を加えた。反応混合物を室温で1時間攪拌した。混合物を水 (100 mL) で希釈し、EtOAc (3×100 mL) で抽出した。合わせた有機層を塩水で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。得られた材料を真空中で乾燥させ、1.74 g (87%) の化合物210を白色固体として得た。

30

【0395】

¹H NMR (CDCl₃) δ 3.73 (t, 4H, J=6.0), 2.46 (t, 4H, J=6.0), 1.51 (s, 9H)。

40

【0396】

MS (ESI) m/z: [M+H]⁺ C₁₀H₁₈NO₃ についての計算値200.3、実測値200.2。

【0397】

tert-ブチル 4-((2-(2-(3-(tert-ブトキシ)-3-オキソプロポキシ)エトキシ)エチル)アミノ)ピペリジン-1-カルボキシレート (211) の合成

磁気攪拌棒が入った乾燥したシンチレーションバイアルに、tert-ブチル 4-オキソピペリジン-1-カルボキシレート (399 mg、2 mmol)、H₂N-PEG₂-COOt-Bu (550 mg、2.4 mmol)、4 Åモレキュラーシーブ (活性化粉末、200 mg)、および1,2-ジクロロエタン (5 mL) を加えた。混合物を1時間、

50

室温で攪拌した。反応混合物にトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム（845 mg、4 mmol）を加えた。混合物を3日間、室温で攪拌した。得られた混合物をEtOAcと飽和NaHCO₃水溶液との間で分配した。有機層を塩水で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、850 mgの化合物211を粘性油状物として得た。

【0398】

MS (ESI) m/z : [M+H]⁺ C₂₁H₄₁N₂O₆ についての計算値 417.

3、実測値 417.2。

【0399】

13-(1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル)-2,2-ジメチル-4,14-ジオキソ-3,7,10-トリオキサ-13-アザヘプタデカン-17-オン酸(212)の合成

磁気攪拌棒が入った乾燥したシンチレーションバイアルに、tert-ブチル4-(2-(2-(3-(tert-ブトキシ)-3-オキソプロポキシ)エトキシ)エチル)アミノ)ピペリジン-1-カルボキシレート211(220 mg、0.5 mmol)、無水コハク酸(55 mg、0.55 mmol)、4-(ジメチルアミノ)ピリジン(5 mg、0.04 mmol)、およびジクロロメタン(3 mL)を加えた。混合物を24時間、室温で攪拌した。反応混合物をフラッシュクロマトグラフィー(50~100% EtOAc/ヘキサンで溶出)によって部分的に精製して、117 mgの化合物212を透明油状物として得て、これをさらに特性決定することなく次を実施した。

【0400】

MS (ESI) m/z : [M+H]⁺ C₂₅H₄₅N₂O₉ についての計算値 517.

6、実測値 517.5。

【0401】

17-(tert-ブチル)1-((1⁴S, 1⁶S, 3³S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-8⁶-クロロ-1⁴-ヒドロキシ-8⁵, 14-ジメトキシ-3³, 2, 7, 10-テトラメチル-1², 6-ジオキソ-7-アザ-1(6, 4)-オキサジナナー3(2, 3)-オキシラナー8(1, 3)-ベンゼンアシクロテトラデカファン-10, 12-ジエン-4-イル)(2S)-8-(1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル)-2, 3-ジメチル-4, 7-ジオキソ-11, 14-ジオキサ-3, 8-ジアザヘプタデカンジオエート(213)の合成

磁気攪拌棒が入った乾燥したシンチレーションバイアルに、13-(1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル)-2, 2-ジメチル-4, 14-ジオキソ-3, 7, 10-トリオキサ-13-アザヘプタデカン-17-オン酸212(55 mg、0.1 mmol)、N-デアシルマイタンシン124(65 mg、0.1 mmol)、HATU(43 mg、0.11 mmol)、DMF(1 mL)、およびジクロロメタン(0.5 mL)を加えた。混合物を8時間、室温で攪拌した。反応混合物をC18フラッシュクロマトグラフィー(5~100% MeCN/水で溶出)によって直接的に精製し、18 mg(16%)の化合物213を白色フィルム物として得た。

【0402】

MS (ESI) m/z : [M+H]⁺ C₅₇H₈₇ClN₅O₁₇ についての計算値 1148.6、実測値 1148.7。

【0403】

(2S)-1-((1⁴S, 1⁶S, 3³S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-8⁶-クロロ-1⁴-ヒドロキシ-8⁵, 14-ジメトキシ-3³, 2, 7, 10-テトラメチル-1², 6-ジオキソ-7-アザ-1(6, 4)-オキサジナナー3(2, 3)-オキシラナー8(1, 3)-ベンゼンアシクロテトラデカファン-10, 12-ジエン-4-イル)オキシ)-2, 3-ジメチル-1, 4, 7-トリオキサ-8-(ピペリジン-4-イル)-11, 14-ジオキサ-3, 8-ジアザヘプタデカン-17-オン酸(214)の合成

磁気攪拌棒が入った乾燥したシンチレーションバイアルに、マイタンシノイド 213 (31 mg、0.027 mmol) およびジクロロメタン (1 mL) を加えた。溶液を 0℃ まで冷却し、四塩化スズ (IV) (1.0 M のジクロロメタン溶液、0.3 mL、0.3 mmol) を加えた。反応混合物を 1 時間、0℃ で攪拌した。反応混合物を C18 フラッシュクロマトグラフィー (5~100% MeCN/水で溶出) によって直接的に精製し、16 mg (60%) の化合物 214 を白色固体として得た (16 mg、収率 60%)。

【0404】

MS (ESI) m/z : $[M+H]^+ C_{48}H_{71}ClN_5O_{15}$ についての計算値 992.5、実測値 992.6。

【0405】

(2S)-8-(1-(3-(2-(2-(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-1,2-ジメチルヒドラジニル)メチル)-1H-インドール-1-イル)プロパノイル)ピペリジン-4-イル)-1-((1⁴S, 1⁶S, 3³S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-8⁶-クロロ-1⁴-ヒドロキシ-8⁵, 14-ジメトキシ-3³, 2, 7, 10-テトラメチル-1², 6-ジオキソ-7-アザ-1(6, 4)-オキサジナナ-3(2, 3)-オキシラナ-8(1, 3)-ベンゼンアシクロテトラデカファン-10, 12-ジエン-4-イル)オキシ)-2, 3-ジメチル-1, 4, 7-トリオキソ-11, 14-ジオキサ-3, 8-ジアザヘプタデカン-17-オン酸 (215) の合成

磁気攪拌棒が入った乾燥したシンチレーションバイアルに、マイタンシノイド 214 (16 mg、0.016 mmol)、(9H-フルオレン-9-イル)メチル 1,2-ジメチル-2-((1-(3-オキソ-3-(ペルフルオロフェノキシ)プロピル)-1H-インドール-2-イル)メチル)ヒドラジン-1-カルボキシレート (5) (13 mg、0.02 mmol)、DIPEA (8 μ L、0.05 mmol)、および DMF (1 mL) を加えた。溶液を 18 時間、室温で攪拌した。反応混合物を C18 フラッシュクロマトグラフィー (5~100% MeCN/水で溶出) によって直接的に精製し、18 mg (77%) の化合物 215 を白色固体として得た。

【0406】

MS (ESI) m/z : $[M+H]^+ C_{77}H_{98}ClN_8O_{18}$ についての計算値 1457.7、実測値 1457.9。

【0407】

(2S)-1-((1⁴S, 1⁶S, 3³S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-8⁶-クロロ-1⁴-ヒドロキシ-8⁵, 14-ジメトキシ-3³, 2, 7, 10-テトラメチル-1², 6-ジオキソ-7-アザ-1(6, 4)-オキサジナナ-3(2, 3)-オキシラナ-8(1, 3)-ベンゼンアシクロテトラデカファン-10, 12-ジエン-4-イル)オキシ)-8-(1-(3-(2-(1,2-ジメチルヒドラジニル)メチル)-1H-インドール-1-イル)プロパノイル)ピペリジン-4-イル)-2, 3-ジメチル-1, 4, 7-トリオキソ-11, 14-ジオキサ-3, 8-ジアザヘプタデカン-17-オン酸 (216) の合成

磁気攪拌棒が入った乾燥したシンチレーションバイアルに、マイタンシノイド 215 (18 mg、0.012 mmol)、ピペリジン (20 μ L、0.02 mmol)、および DMF (1 mL) を加えた。溶液を 20 分間、室温で攪拌した。反応混合物を C18 フラッシュクロマトグラフィー (1~60% MeCN/水で溶出) によって直接的に精製し、15 mg (98%) の化合物 216 (本明細書では、HIPS-4AP-マイタンシンまたは HIPS-4-アミノ-ピペリジン-マイタンシンとも称される) を白色固体として得た。

【0408】

MS (ESI) m/z : $[M+H]^+ C_{62}H_{88}ClN_8O_{16}$ についての計算値 1235.6、実測値 1236.0。

【0409】

10

20

30

40

50

実施例 3 実験手順 一般的

部位特異的にコンジュゲート化された抗体-薬物コンジュゲート (ADC) を作製するための実験を行った。この実施例で使用される抗体は、以下の重鎖および軽鎖を含む。表 4 に記載されているアミノ酸配列 (配列番号 1) を有するが、EU 番号付けシステムによるアミノ酸置換 L234A および L235A を含む重鎖、ならびに表 4 に記載されているアミノ酸配列 (配列番号 6) を有する軽鎖。部位特異的 ADC 産生には、非天然アミノ酸であるホルミルグリシン (FGly) をタンパク質配列に組み込むことが含まれていた。FGly (図 1) を組み込むために、X がセリン、トレオニン、アラニン、またはグリシンである短いコンセンサス配列 CXPXR を、標準的な分子生物学的クローニング技術を使用して、抗体重鎖または軽鎖の保存領域中の所望の位置に挿入した。この「タグ化」された構築物は、ホルミルグリシン生成酵素 (FGE) を共発現する細胞において、組換え的に産生され、このタグ内のシステインを FGly 残基に共翻訳的に変換し、アルデヒド官能基 (本明細書ではアルデヒドタグとも称される) を生成した。アルデヒド官能基は、生体直交型コンジュゲート化のための化学ハンドルとして機能した。ヒドラジノーイソピクテースペングラー (HIPS) ライゲーションを使用して、ペイロード (例えば、細胞毒素 (例えば、マイタンシン) などの薬物) を FGly に接続し、細胞毒素ペイロードと抗体との間に安定した共有 C-C 結合を形成した。この C-C 結合は、循環および FcRn リサイクル中に ADC が直面する生理学的に関連する状態 (例えば、プロテアーゼ、低 pH、および還元試薬) に対して安定であると予想された。アルデヒドタグを有する抗体は、様々な位置で産生され得る。重鎖 C 末端 (CT) にアルデヒドタグを挿入することの効果を試験するために実験を行った。HIPS リンカーを介してマイタンシンペイロードへのコンジュゲート化によって作製して得られた ADC に対して、生物物理学的特性決定および機能特性決定を行った。

10

20

30

40

50

【0410】

タグ化抗体のクローニング、発現、および精製

標準的な分子生物学的技術を使用して、アルデヒドタグ配列を、抗 CD37 抗体の重鎖 C 末端 (CT) に挿入した。小規模な産生のために、CHO-S 細胞をヒト FGE 発現構築物でトランスフェクトし、FGE 過剰発現細胞のプールを抗体の一過性産生に使用した。より大規模な産生のために、GPEX 技術 (Catalent, Inc., Somerset, NJ) を使用して、ヒト FGE (GPEX) を過剰発現するクローン細胞株を生成した。次いで、FGE クローンを使用して、抗体発現細胞のバルク安定プールを生成した。Protein A クロマトグラフィー (MabSelect, GE Healthcare Life Sciences, Pittsburgh, PA) を使用して、抗体を馴化培地から精製した。精製した抗体を急速凍結し、さらなる使用まで -80°C で保存した。

【0411】

バイオコンジュゲート化、精製、および HPLC 分析

C 末端アルデヒドタグ化 α CD37 抗体 (15 mg/mL) を、20 mM のクエン酸ナトリウム、0.85% DMA を含有する 50 mM の NaCl pH 5.5 中で 37°C で 72 時間、HIPS-4AP リンカー (8 モル当量薬物: 抗体) に接続したマイタンシンペイロードにコンジュゲート化した。遊離薬物を、20 mM のクエン酸ナトリウム、50 mM の NaCl pH 5.5 に、タンジェンシャルフローフィルトレーション (24 ダイアボリューム) によって除去した。

【0412】

最終生成物の薬物対抗体比 (DAR) を決定するために、ADC を、分析 HIC (Tosoh #14947) によって、移動相 A: 1.5 M の硫酸アンモニウム、25 mM のリン酸ナトリウム pH 7.0、および移動相 B: 25% のイソプロパノール、18.75 mM のリン酸ナトリウム pH 7.0 によって試験した。凝集を測定するために、300 mM

のNaCl、25mMのリン酸ナトリウムpH6.8の移動相を用い、分析サイズ排除クロマトグラフィー（SEC、Tosoh#08541）を使用して試料を分析した。

【0413】

結果

重鎖C末端（CT）にアルデヒドタグを含有するように修飾されたαCD37抗体を、HIPS-4APリンカーに接続したマイタンシンペイロードにコンジュゲート化した。完了時に、残りの遊離薬物を、タンジェンシャルフローフィルトレーションによる緩衝液交換中に除去した。これらの反応は高収率であり、ほぼ定量的なコンジュゲート化効率および95%を超える総収率を有していた。得られたADCは、1.79~1.89の薬物対抗体比（DAR）を有しており、主にモノマーであった。図2および3は、HICによって決定されるDARおよびSECによって決定されるモノマー完全性に関する代表的なADCを示す。

10

【0414】

図2は、HIPS-4APリンカーに接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖C末端（CT）でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗CD37抗体の疎水性相互作用カラム（HIC）トレースを示す。図2は、DARが、HICによって決定される場合、1.84であったことを示す。

【0415】

図3は、HIPS-4APリンカーに接続したマイタンシンペイロードに対して重鎖C末端（CT）でコンジュゲート化されたアルデヒドタグ化抗CD37抗体の分析サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）分析のグラフを示す。図3に示されるように、分析SECは、最終生成物について98.2%のモノマーを示した。

20

【0416】

インビトロ細胞傷害性

CD37陽性B細胞リンパ腫細胞株であるDaudi、RL、Ramos-RA、WSU-DLCL2、Granta 519、BJAB、DoHH-2、SU-DHL-4、およびRajiを、ATCCまたはDSMZ細胞バンクから入手した。供給業者の推奨に従って、細胞を成長培地中で維持した。プレーティングの24時間前に、細胞を継代させ、対数相成長を確実にした。プレーティング当日に、100μLの正常成長培地中で、5000個の細胞／ウェルを96ウェルプレートに播種した。細胞を、様々な濃度で20μLの希釈分析物で処理し、プレートを5%CO₂の雰囲気下、37℃でインキュベートした。5日後、100μL／ウェルのCell Titer-Glo試薬（Promega）を添加し、Molecular Devices SpectraMax M5プレートリーダーを使用して発光を測定した。データ分析にはGraphPad Prismソフトウェアを使用した。

30

【0417】

結果

抗CD37 HIPS-4AP-マイタンシンコンジュゲートは、試験した9個の細胞株のうち8個に対して強力な（ナノモル未満の）インビトロ細胞傷害性を示し、遊離マイタンシンに匹敵する活性を有していた。

40

【0418】

図4~12は、それぞれ、Daudi、RL、Ramos-RA、WSU-DLCL2、Granta 519、BJAB、DoHH-2、SU-DHL-4、およびRaji細胞株についての結果を示す。

【0419】

異種移植片試験

DoHH-2異種移植片

方法：雌CB17／SCIDマウス（8匹／群）に、DoHH-2細胞を皮下接種した。治療は、腫瘍が平均166mm³に達したときに開始し、その時点で、動物に、ビヒクル単独、または1、3、または10mg／kgの単回用量の抗CD37 HIPS-4A

50

P-マイタンシンコンジュゲートを静脈内投与した。2つの他の治療群に、抗CD37 HIPS-4AP-マイタンシンコンジュゲートまたはコンジュゲート化されたアイソタイプ対照ADCのいずれかを合計で4回用量（ $qwk \times 4$ ）、週に 10 mg/kg 投与した。動物を、体重および腫瘍サイズについて週に2回モニタリングした。腫瘍が 2000 mm^3 に達したとき、動物を安楽死させた。

【0420】

結果：ビヒクル対照群における動物のエンドポイントまでの時間の中央値は、33日であった。したがって、腫瘍成長阻害（TGI%）を、その日に計算した。TGI%は、以下の式によって定義された。

$$TGI(\%) = (TV_{\text{対照群}} - TV_{\text{治療群}}) / TV_{\text{対照}} \times 100$$

10

【0421】

抗CD37 HIPS-4AP-マイタンシンコンジュゲートを受けた動物は、それぞれ、1、3、および 10 mg/kg の単回投与で61%、68%、および95%のTGIを示した。後者の投薬群では、8種類の腫瘍のうち6種類が、完全な逆行を示し、4種類の完全な逆行は、試験の終了まで持続した（36日目）。データを図13に示す。

【0422】

Granta 519異種移植片

方法：雌NOD/SCIDマウス（6匹/群）に、Granta 519細胞を皮下接種した。治療は、腫瘍が平均 175 mm^3 に達したときに開始し、その時点で、動物に、ビヒクル単独、または 10 mg/kg の単回用量の抗CD37（マイタンシンペイロードを含まない）、または3もしくは 10 mg/kg の抗CD37 HIPS-4AP-マイタンシンコンジュゲートを静脈内投与した。動物を、体重および腫瘍サイズについて週に2回モニタリングした。腫瘍が 2000 mm^3 に達したとき、動物を安楽死させた。

20

【0423】

結果：ビヒクル対照群における動物のエンドポイントまでの時間の中央値は、24日であった。したがって、腫瘍成長阻害（TGI%）を、その日に計算した。TGI%は、以下の式によって定義された。

$$TGI(\%) = (TV_{\text{対照群}} - TV_{\text{治療群}}) / TV_{\text{対照}} \times 100。$$

【0424】

抗CD37 HIPS-4AP-マイタンシンコンジュゲートを受けた動物は、それぞれ、3および 10 mg/kg の単回投与で69%および100%のTGIを示した。後者の投薬群では、8種類の腫瘍のうち8種類が、完全な逆行を示し、全ての完全な逆行は、試験の終了まで持続した（31日目）。データを図14に示す。

30

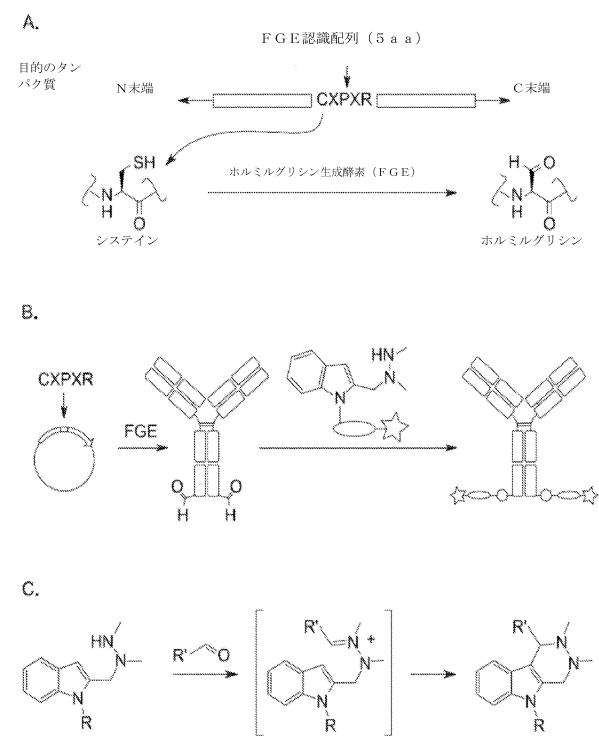
【0425】

本発明が、その特定の実施形態を参照しつつ記載されているが、様々な変更が行われてもよく、等価物が本開示の真の主旨および範囲から逸脱することなく代用され得ることが当業者によって理解されるべきである。加えて、多くの改変は、特定の状況、材料、物質の組成物、プロセス、1つまたは複数のプロセスステップを、本発明の対象の主旨および範囲に適合するように行われ得る。全てのそのような改変は、本明細書に添付される特許請求の範囲の範囲内であることが意図される。

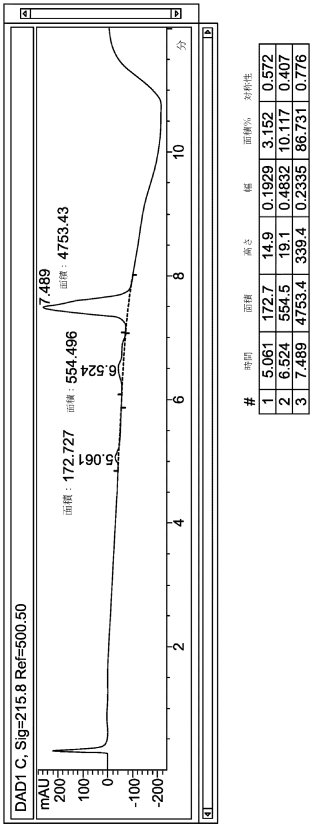
40

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

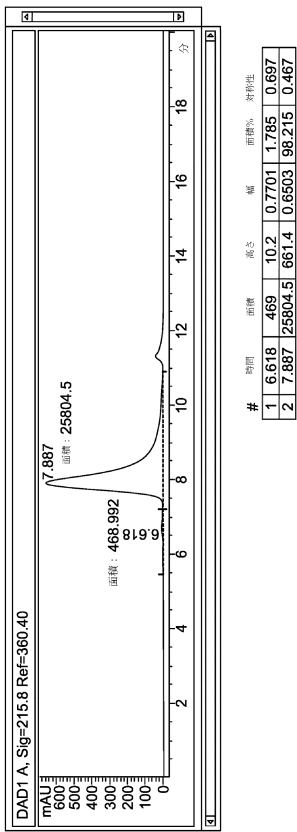
20

30

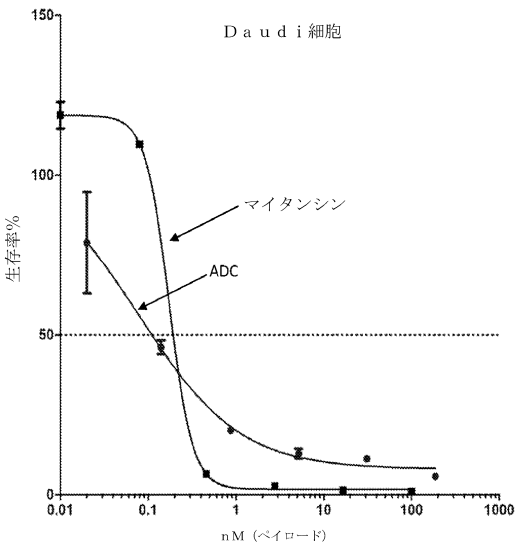
40

50

【図 3】



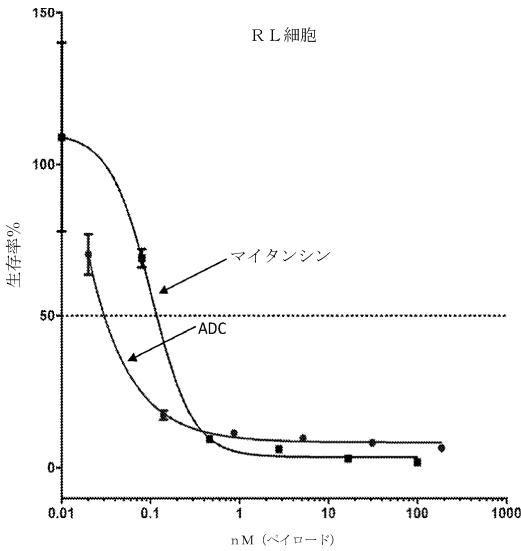
【図 4】



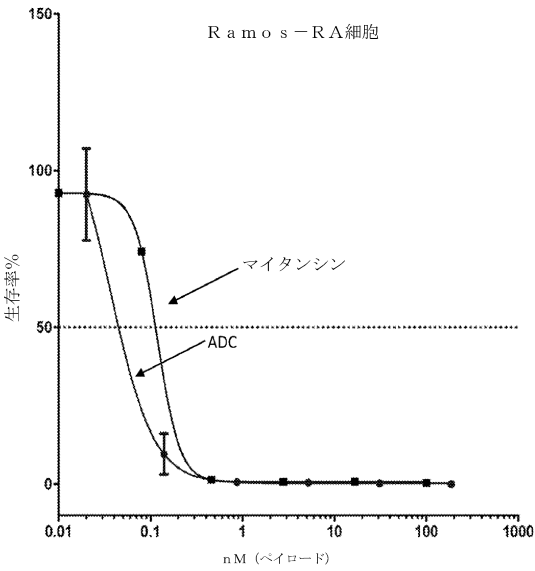
10

20

【図 5】



【図 6】

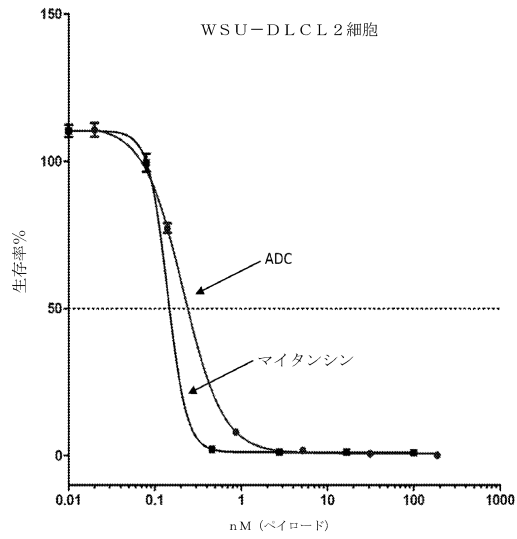


30

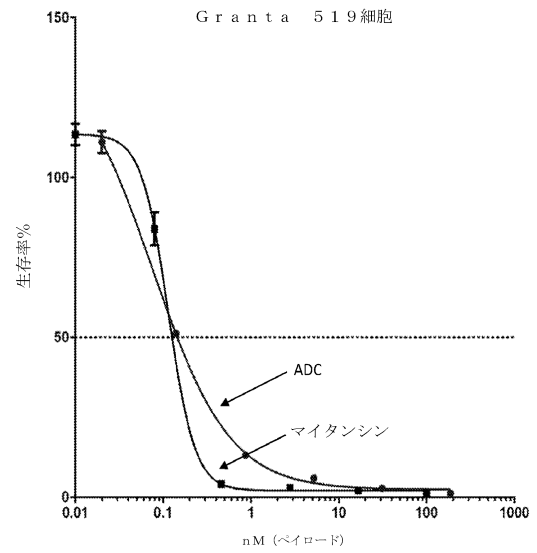
40

50

【図 7】

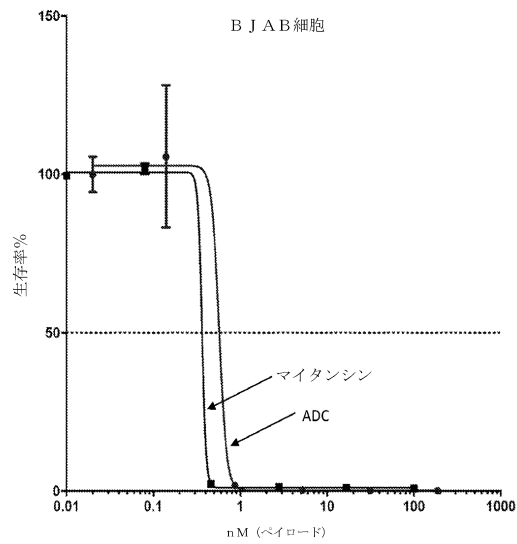


【図 8】

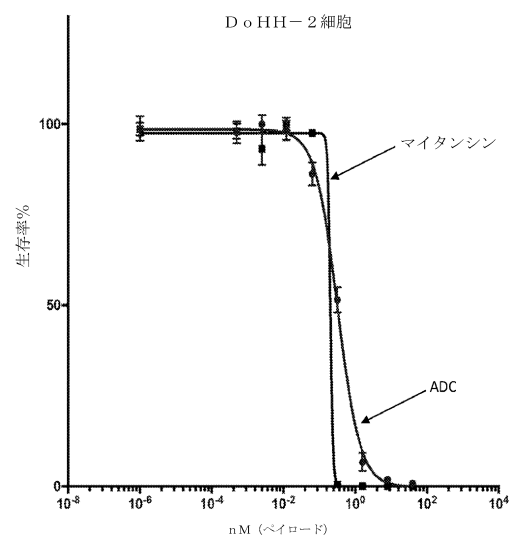


10

【図 9】



【図 10】



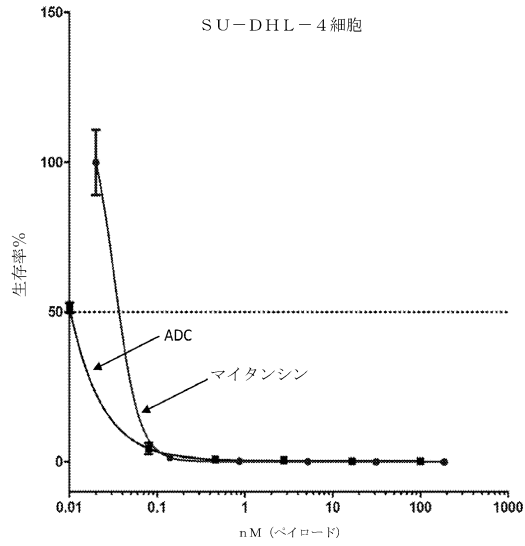
20

30

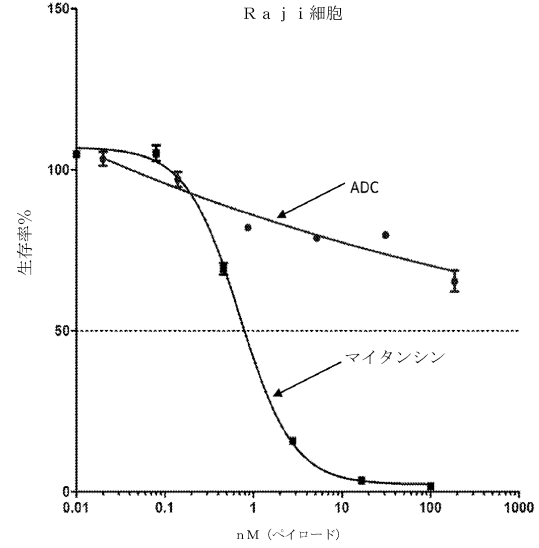
40

50

【図 1 1】

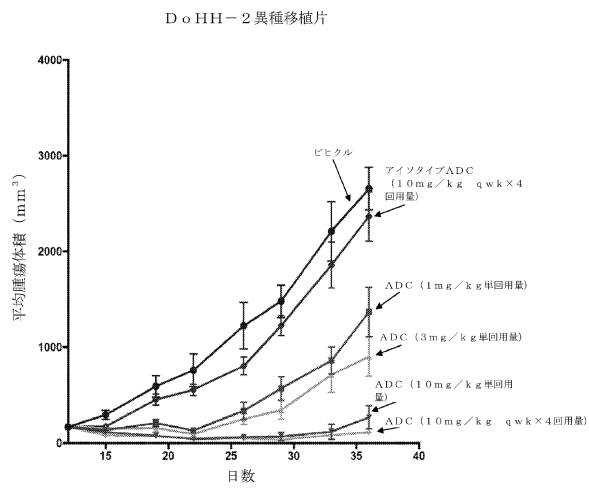


【図 1 2】

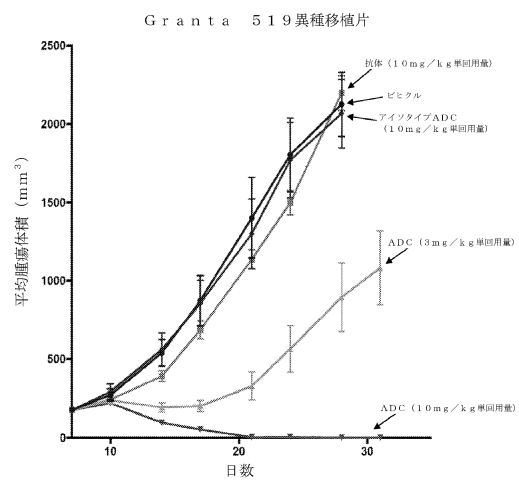


10

【図 1 3】



【図 1 4】



20

30

40

50

【図 15 C】

配列1=Homo sapiens カッパ種組正常領域、GenBank CAA75031.1
配列2=Homo sapiens カッパ種組正常領域、GenBank BAC0168.1
配列3=Homo sapiens タムダ種組正常領域、GenBank CAA75033
配列4=Mus musculus 種組正常領域、GenBank AAB09710.1
配列5=Rattus norvegicus 種組正常領域、GenBank AAD10133

配列1
配列2
配列4
配列5
配列3

RTVAPSVFIIPPSDEQLKSGTASVWCLLNFTPREAKVQWKVDNALSGNSQESVTEOD 189
RTVAPSVFIIPPSDEQLKSGTASVWCLLNFTPREAKVQWKVDNALSGNSQESVTEOD
RADAAFTYSIIPPSDEQLTSGGATVWCFNNFYERDINVKWKIDGSEORNGVINSWTDOO
RADAAFTYSIIPPSDEQLTSGGATVWCFNNFYERDINVKWKIDGSEORNGVINSWTDOO
OPKAEVTLIPPSSEELQANWATVCLISDFTEAYTVAKKADSSFYKAGVETTFPSKQ
:.***:* :***:*:.***:*:.***:*:.***:*:.***:*:.***:*:.***:*
SKDSTYSLSTLTLSKADYERHKVYACEVTHOGLSPVTKSFNRGEC 236
SKDSTYSLSTLTLSKADYERHKVYACEVTHOGLSPVTKSFNRGEC
SKDSTYSLSTLTLTKEVERHNLYTCEATHKTSTSPVTKSFNRGEC
SKDSTYSLSTLTLTKEVERHNLYTCEAVHKTSSSPVTKSFNRGEC |
S-NNKYAASSYISLTPEQWKSHTS YSQVTHGEG--STVKTVAFTGCS
* :.***:* :***:*:.***:*:.***:*:.***:*:.***:*:.***:*

配列1
配列2
配列4
配列5
配列3

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 20/58191
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - A61K 47/50, A61K 47/64, C07D 405/12, C07D 498/18 (2021.01) CPC - A61K 47/6817, A61K 31/5865, A61K 47/6809, A61P 35/00, C07K 16/2809		
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) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2017/083306 A1 (R.P. SCHERER TECHNOLOGIES, LLC) 18 May 2017 (18.05.2017) abstract, para [0005], [0006], [0007], [0008], [0009], [0035], Fig. 1	1-4
Y	WO 2018/106895 A1 (MOLECULAR TEMPLATES, INC.) 14 June 2018 (14.06.2018) abstract, para [277], [289], [293]	1-4
☐ 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 "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 27 March 2021		Date of mailing of the international search report APR 09 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Lee Young Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 20/58191

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 5-39, 58-65
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

- see extra sheet for Box No. III Observations where unity of invention is lacking -

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

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 20/58191

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:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

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

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

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

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

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/US 20/58191

Continuation of:

Box No. III. Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I: Claims 1-4, drawn to a conjugate comprising anti-CD37 antibody and a maytansinoid.

Group II: Claims 40-57, drawn to an anti-CD37 antibody comprising a formylglycine (FGly) residue.

The inventions listed as Groups I and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

Group I includes the special technical feature of an antibody-drug conjugate comprising a maytansinoid, not required by Group II.

Group II includes the special technical feature of an antibody comprising a FGly residue, not required by Group I.

Common Technical Features

The inventions of Groups I and II share the technical feature of a modified anti-CD37 antibody.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art in view of WO 2018/106895 A1 to Molecular Templates, Inc. (hereinafter "Molecular Template").

Molecular Template teaches (instant claim 40) an anti-CD37 antibody comprising a formylglycine (FGly) residue (abstract, The present invention provides Shiga toxin A Subunit derived polypeptides, scaffolds, and cell-targeting molecules comprising amino acid substitutions which equip the molecules with site-specific positions (and often unique amino acid residues in the molecule) for linking other molecules while retaining Shiga toxin function(s), such as, e.g., efficient intracellular routing and/or potent cytotoxicity.; para [277]. Many immunoglobulin-type binding regions that recognize epitopes associated with cancer cells exist in the prior art, such as binding regions that target.....CD37.; [289]. Any amino acid residue having a bio-orthogonal reactive moiety (e.g. a side chain or functional group) may be suitable as conjugation site in the molecules of the present invention.; [293]. For example, cysteine residues in certain motifs like CxPxR can be modified by formylglycine generating enzymes into formylglycine, and then the resulting aldehyde functional group may be conjugated to another molecule using hydrazine-Pictet-Spengler chemistry.).

As said technical features were known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Groups I and II therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

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)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 1 2 P 21/08 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 35/02 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 31/5355 (2006.01)
 C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 P 21/08
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 35/02
 A 6 1 K 39/395 L
 A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 K 39/395 C
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 31/5355
 C 0 7 K 16/28

4 H 0 4 5

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,N
 E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
 CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
 E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
 G,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

弁理士 安藤 健司

(74)代理人 100143823

弁理士 市川 英彦

(74)代理人 100183519

弁理士 櫻田 芳恵

(74)代理人 100196483

弁理士 川寄 洋祐

(74)代理人 100160749

弁理士 飯野 陽一

(74)代理人 100160255

弁理士 市川 祐輔

(74)代理人 100182132

弁理士 河野 隆

(74)代理人 100172683

弁理士 綾 聡平

(74)代理人 100146318

弁理士 岩瀬 吉和

(74)代理人 100127812

弁理士 城山 康文

(72)発明者 ラブカ, デイビッド

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 7 0 8、ケンジントン、スタンフォード・アベニュー・2
0 2

(72)発明者 ドレイク, ペネロペ・エム

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 5 4 6、カストロ・バレー、スワロー・コート・3 6 6 3

(72)発明者 バーフィールド, ロビン・エム

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 6 0 8、エメリービル、ホールトン・ストリート・5 9 5
9、スイート・4 0 0

(72)発明者 キム, ユン・チョル

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 5 9 8、ウォールナット・クリーク、カボ・ロード・5 8
7

F ターム (参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 CE12 DA01

4B065 AA01X AA57X AA72X AA88X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA25
CA44

F ターム (参考) 4C076 AA95 BB11 CC27 CC41 EE41 EE59
 4C085 AA13 AA14 AA27 BB36 CC22 CC23 EE01 GG01 GG02 GG08
 4C086 AA01 AA02 CB22 GA16 MA01 MA04 NA13 ZB26 ZB27
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA57 BA72 CA40 DA76 EA20 FA74 GA26