

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-506590

(P2024-506590A)

(43)公表日 令和6年2月14日(2024.2.14)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 47/66 (2017.01)	A 6 1 K 47/66	4 C 0 7 6
C 0 7 K 5/10 (2006.01)	C 0 7 K 5/10	Z N A 4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	4 H 0 4 5
A 6 1 K 47/65 (2017.01)	A 6 1 K 47/65	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全223頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-547415(P2023-547415)	(71)出願人	510172996
(86)(22)出願日	令和4年2月16日(2022.2.16)		グリコス・フィンランド・オーワイ
(85)翻訳文提出日	令和5年9月26日(2023.9.26)		Glykos Finland Oy
(86)国際出願番号	PCT/FI2022/050098		フィンランド国、エフアイ - 0 0 7 9 0
(87)国際公開番号	WO2022/175595		ヘルシンキ、ピーキンカーリ 6
(87)国際公開日	令和4年8月25日(2022.8.25)		Viikinkaari 6, FI - 0
(31)優先権主張番号	20217033		0 7 9 0 Helsinki, Finland
(32)優先日	令和3年2月16日(2021.2.16)	(74)代理人	100114775
(33)優先権主張国・地域又は機関	フィンランド(FI)		弁理士 高岡 亮一
(31)優先権主張番号	20217058	(74)代理人	100121511
(32)優先日	令和3年4月1日(2021.4.1)		弁理士 小田 直
(33)優先権主張国・地域又は機関	フィンランド(FI)	(74)代理人	100202751
			弁理士 岩堀 明代
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA)	(74)代理人	100208580
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 リンカー - ペイロードおよびそのコンジュゲート

(57)【要約】

リンカー - ペイロードおよびそれらのコンジュゲートが開示される。

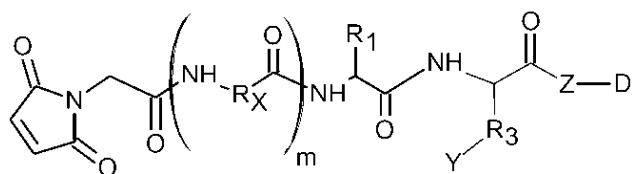
【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式 I、式 I G、式 I G X または式 I I I

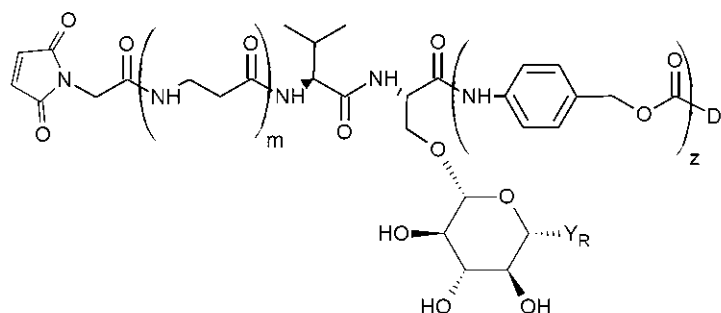
## 【化 1】



式 I

10

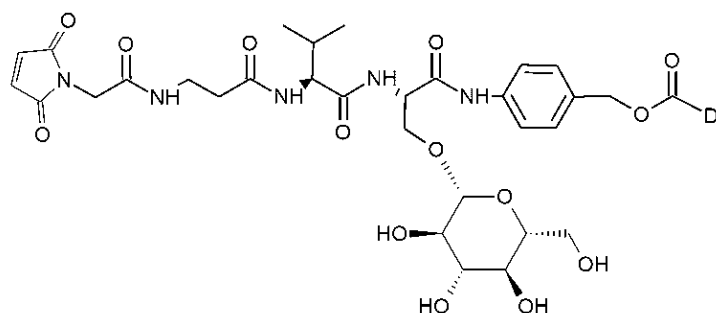
## 【化 2】



式 IG

20

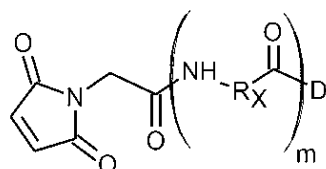
## 【化 3】



式 IGX

30

## 【化 4】



式 III

40

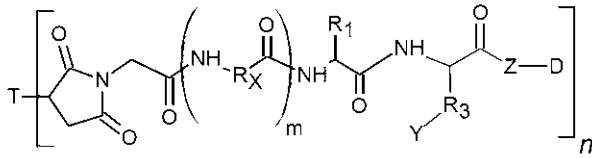
(式中、 $R_1$ は、アミノ酸側鎖である； $R_X$ は、直鎖 $C_1 \sim C_6$ アルキレン基、分岐 $C_1 \sim C_6$ アルキレン基、 $-CH_2CH_2-$ 、または $-CH(R_2)-$ であり、ここで $R_2$ は、アミノ酸側鎖である； $Y$ は、存在しないか親水性基である； $R_3$ は、アミノ酸側鎖である； $Z$ は、存在しないか自壊性基のいずれかである； $D$ は、ペイロード分子である；および $m$ は0または1のいずれかである)のリンカー-ペイロードコンジュゲート。

50

## 【請求項 2】

式 I I、式 I I s、式 I I G、式 I I G s、式 I I G X、式 I I G X s、式 I V または式 I V s

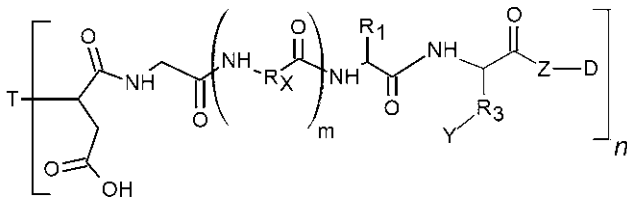
## 【化 5】



式 II

10

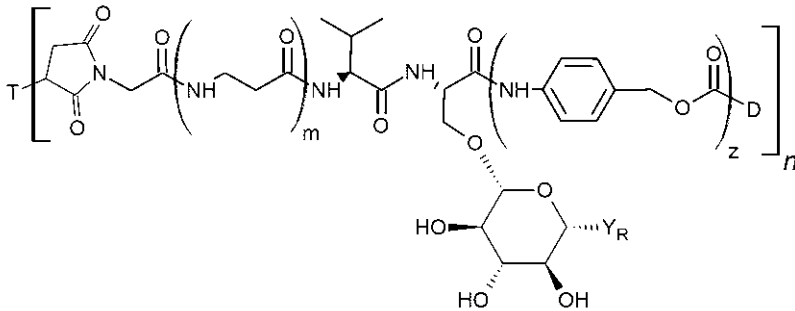
## 【化 6】



式 II s

20

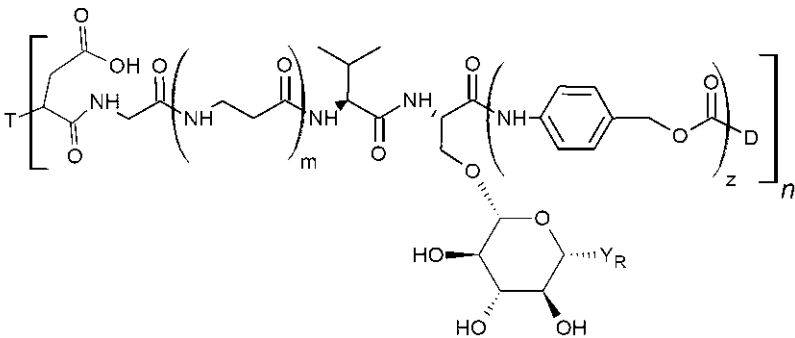
## 【化 7】



式 II G

30

## 【化 8】

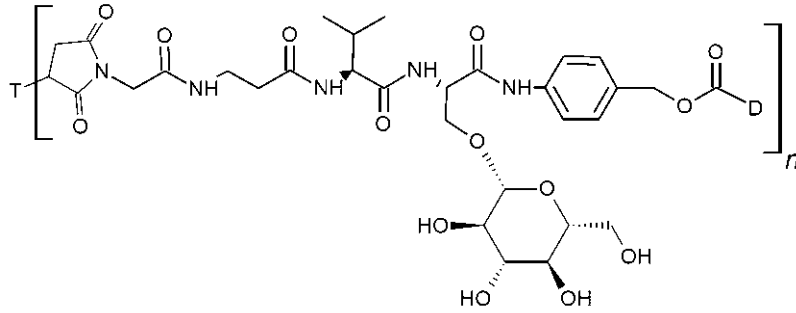


式 II G s

40

50

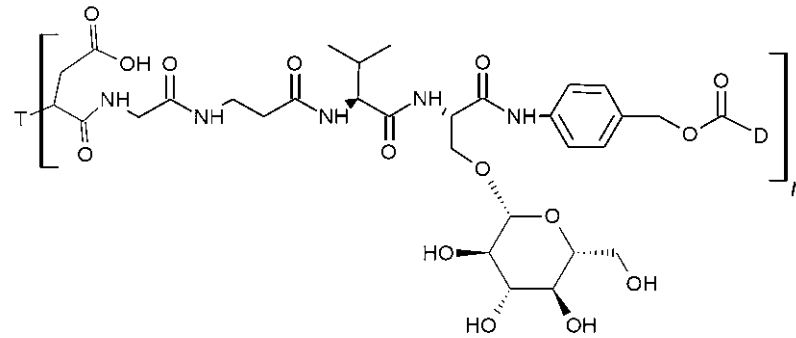
## 【化 9】



式 IIGX

10

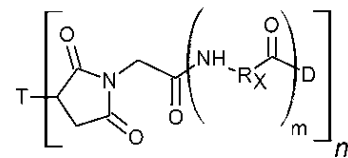
## 【化 10】



式 IIGXs

20

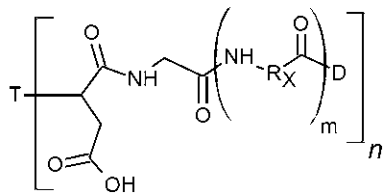
## 【化 11】



式 IV

30

## 【化 12】



式 IVs

40

(式中、Tは、標的ユニットである；R<sub>1</sub>は、アミノ酸側鎖である；R<sub>X</sub>は、直鎖C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基、分岐C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、または-CH(R<sub>2</sub>)-であり、ここでR<sub>2</sub>は、アミノ酸側鎖である；Yは、存在しないか親水性基である；R<sub>3</sub>は、アミノ酸側鎖である；Zは、存在しないか自壊性基のいずれかである；Dは、ペイロード分子である；mは、0または1のいずれかである；およびnは、1、またはnは、1~約20、もしくは1~約15、もしくは1~約10、もしくは2~10、もしくは2~6、もしくは2~5、もしくは2~4の範囲内である；またはnは、1、2、3、4

50

、 5、 6、 7、 8、 9、 10、 11、 12、 13、 14、 15、 16、 17、 18、 19、  
または 20 である) の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

【請求項 3】

i) 少なくとも 1 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 i i) 少なくとも 2 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 i i i) 少なくとも 3 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 i v) 少なくとも 4 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 v) 少なくとも 5 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 v i) 少なくとも 6 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 v i i) 少なくとも 7 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 v i i i) 少なくとも 8 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 i x) 少なくとも 9 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 x) 少なくとも 10 個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 x i) 100% の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド、  
 x i i) 少なくとも  $1/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 1 である)、  
 x i i i) 少なくとも  $2/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 2 である)、  
 x i v) 少なくとも  $3/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 3 である)、  
 x v) 少なくとも  $4/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 4 である)、  
 x v i) 少なくとも  $5/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 5 である)、  
 x v i i) 少なくとも  $6/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 6 である)、  
 x v i i i) 少なくとも  $7/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 7 である)、  
 x i x) 少なくとも  $8/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 8 である)、  
 x x) 少なくとも  $9/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 9 である)、または  
 x x i) 少なくとも  $10/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミド (ここで、 $n$  は少なくとも 10 である)  
 を含む、請求項 2 に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

【請求項 4】

Y が、糖類、リン酸エステル、硫酸エステル、ホスホジエステルおよびホスホネートからなる群より選択される、請求項 1 に記載のリンカー - ペイロードコンジュゲートまたは請求項 2 もしくは 3 に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

## 【請求項 5】

前記糖類が、  
 - D - ガラクトース、N - アセチル -  
 - D - ガラクトサミン、N - アセチル -  
 - D - グルコサミン、  
 - D - グルクロン酸、  
 - L - イズロン酸、  
 - D - ガラクトース、  
 - D - グルコース、  
 - D - グルコース、  
 - D - マンノース、  
 - D - マンノース、  
 - L - フコース、  
 - D - キシロース、ノイラミン酸またはそれらの任意の類縁体もしくは修飾、またはそれらの硫酸、リン酸、カルボキシル、アミノ、もしくは O - アセチル修飾を含むか、それらからなる、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載のリンカー - ペイロードコンジュゲートまたは請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

10

## 【請求項 6】

D が、  
 ドラスチン；アウリスタチン；エポチロン；ダウノルピシン；ドキシソルピシン；チオテパまたはシクロホスファミド (CYTOXAN (商標)) などのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファンまたはピボスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾドーパ (benzodopa)、カルボコン、メツレドーパ (meturedopa)、またはウレドーパ (uredopa) などのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレン - ホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド (triethylenethiophosphoramidate) またはトリメチロールオメラミン (trimethylolomelamine) などのエチレンイミンおよび/またはメチルアメルアミン (methylamelamine)；プラタシンまたはプラタシノンなどのアセトゲニン；合成類縁体トポテカンなどのカンプトテシン；ブリオスタチン；カリスタチン；CC - 1065 および/またはそのアドゼレシン、カルゼレシンまたはビゼレシン合成類縁体；クリプトフィシン 1 またはクリプトフィシン 8) などのクリプトフィシン；デュオカルマイシン (合成類縁体、KW - 2189 および CBI - TMI を含む)；エリユテロピン；パンクラチスタチン；サルコジクチン類；スポンギスタチン；クロラムブシル、クロマファジン (chlomaphazine)、コロホスファミド (cholophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロルエタミン酸化物塩酸塩、メルファラン、ノベンビキン (novembichin)、フェネステリン、プレドニマスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード類；カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソウレア類 (nitrosoureas)；抗生物質、例えばエンジイン抗生物質 (例えば、カリケアミシン類、特にカリケアミシン 1；ジネミシン A を含むジネミシン；エスペラミシン；ならびにネオカルジノスタチン発色団および関連する色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団 (antibiotic chromomorphores))、アクラシノマイシン類 (aclacinomysins)、アクチノマイシン、アウトラマイシン (authramycin)、アザセリン、プレオマイシン類、カクチノマイシン (cactinomycin)、カラピシン (carabycin)、カミノマイシン (caminomycin)、カルジノフィリン (carzinophilin)；クロモマイシン類、ダクチノマイシン、デトルピシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、モルフォリノ - ドキシソルピシン、シアノモルフォリノ - ドキシソルピシン、2 - ピロリノ - ドキシソルピシン (2-pyrrolino-doxorubicin) およびデオキシドキシソルピシンを含む他のドキシソルピシン誘導体、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルチェロマイシン (marcellomycin)、マイトマイシン類 (nitomycins)、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン類、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン (potfiromycin)、ピューロマイシン、クエラマイシン (quelamycin)、ロドルピシン (rodorubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾトシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン；メトトレキサートおよび 5 - フルオロウラシル (5 - FU) などの代謝拮抗物質；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン (pteropterin)、トリメトトレキサートなどの葉酸類縁体；フルダラビン、6 - メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類縁体；アンシタピン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン、5 - フルオロウラ

20

30

40

50

シルなどのピリミジン類縁体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン類；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗アドレナリン作動薬；フォルリン酸などの葉酸補充剤；アセグラトン；アルドホスファミド (aldophosphamide) グリコシド；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル (bestrabucil)；ピサントレン；エダトラキセート (edatraxate)；デフォファミン (defofamine)；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォミチン (elfomithine)；酢酸エリプチニウム；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン；メイタンシンおよび N - グルコシルメイタンシノイド類、アンサマイトシン類、DM - 1、DM - 4 などのメイタンシノイド類；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ポドフィリン酸；2 - エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK (登録商標)；ラゾキサシ；リゾキサシ；シゾフラン (sizofuran)；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2, 2', 2'' - トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン類 (特に T - 2 トキサシ、ベラキュリン A (verracurin A)、ロリジン A および アンギジン)；ウレタン；ピンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピポプロマン；ガシトシン (gacytosine)；アラビノシド (「Ara - C」)；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド類、例えばパクリタキセル (TAXOL (登録商標)、プリストル - マイヤーズ・スクイブ・オンコロジー、プリントン、N. J.) およびドセタキセル (TAXOTERE (登録商標)、ローヌ - ブーランク・ローラー、アントニー、フランス)；クロラムブシル；ゲムシタピン；6 - チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン、カルボプラチンおよびピンブラスチンなどの白金配位錯体；エトボシド (VP - 16)；イホスファミド；マイトマイシン C；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ピノレルピン；ナベルピン；ノバントロン；テニボシド；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロン酸；CPT - 11；トポイソメラーゼ阻害剤 RFS 2000；ジフルオロメチルオミチン (difluoromethylomithine) (DMFO)；レチノイン酸；カベシタピン；タモキシフェン、ラロキシフェン、アロマターゼ阻害 4 (5) - イミダゾール類、4 - ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン (keoxifene)、LY 117018、オナプリストン、およびトレミフェン (フェアストン)；ならびにフルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、およびゴセレリンなどの抗アンドロゲン類；ツブリシン類；- アマニチンなどのアマニチン類；ならびに薬学的に許容される塩、酸；ドラスタチン 10 またはその任意の誘導体；ドラスタチン 15 またはその任意の誘導体；アウリスタチン F またはその任意の誘導体；モノメチルおよびデスメチルドラスタチン 10、15、C、D および H、モノメチルおよびデスメチルイソドラスタチン H、ならびにそれらの類縁体および誘導体；モノメチルおよびデスメチルアウリスタチン E、F、EB、EFP、PY、PYE、PE、PHE、TP、2 - AQ および 6 - AQ；メイタンシノイド類；N - グルコシルメイタンシノイド；メイタンシン、アンサマイトシン、DM 1 (メルタンシンとしても既知である) または DM 4 (DM - 4 としても既知である)；ダウノルピシン類、ドキシソルピシン類、デトルピシン、モルフォリノ - ドキシソルピシン、シアノモルフォリノ - ドキシソルピシン、2 - ピロリノ - ドキシソルピシン (2-pyrrolino-doxorubicin)、デオキシドキシソルピシン、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、ロドルピシン (rodorubicin)、ゾルピシン、およびピラルピシンを含む他のドキシソルピシン誘導体；デュオカルマイシン A、デュオカルマイシン B 1、デュオカルマイシン B 2、デュオカルマイシン C 1、デュオカルマイシン C 2、デュオカルマイシン D、デュオカルマイシン SA、デュオカルマイシン MA、および CC - 1065；アドゼレシン、ビゼレシン、カルゼルシン、KW - 2189 および CBI - TMI などのデュオカルマイシン類の合成類縁体；式 DS のデュオカルマイシン - 糖類コンジュゲート；ツブリシン；- アマニチン；クリプトフィシン；モノメチルアウリスタチン E；式 AS のアウリスタチン糖類コンジュゲート；MMAU；モノメチルアウリスタチン F、W または M；ピロロベンゾジアゼピン (PBD)、アベイマイシン、チカマイシン、DC - 81、マゼトラマイ

10

20

30

40

50

シン、ネオトラマイシン A および B、ポロトラマイシン、プロトラカルシン、シビロマイシン、トマイシン (tomamycin)、および P B D 二量体；または上記のいずれかの類縁体からなる群より選択される細胞毒性薬物である、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載のリンカー - ペイロードコンジュゲートまたは請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

【請求項 7】

( i )  $R_3$  が - アミノ酸の、セリン、スレオニンおよびチロシンの側鎖からなる群より選択される、( i i ) Z が、パラ - アミノベンジルオキシカルボニル ( P A B C ) ; オルト - アミノベンジルオキシカルボニル ; アミノ酸 ; およびペプチドからなる群より選択される ; または Z が存在しない ; ( i i i )  $R_1$  が、バリンの側鎖、フェニルアラニンの側鎖、チロシンの側鎖、ロイシンの側鎖、イソロイシンの側鎖、アルギニンの側鎖、アラニンの側鎖、リジンの側鎖およびグリシンの側鎖からなる群より選択される ; ならびに / または ( i v )  $R_X$  が、直鎖  $C_1 \sim C_6$  アルキレン基 ; 分岐  $C_1 \sim C_6$  アルキレン基 ;  $C_1 \sim C_6$  アルキレン基 (  $R_2$  ) ( 式中、 $R_2$  は、アミノ酸側鎖である ) ; および  $-CH_2CH_2-$  からなる群より選択される、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載のリンカー - ペイロードコンジュゲートまたは請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

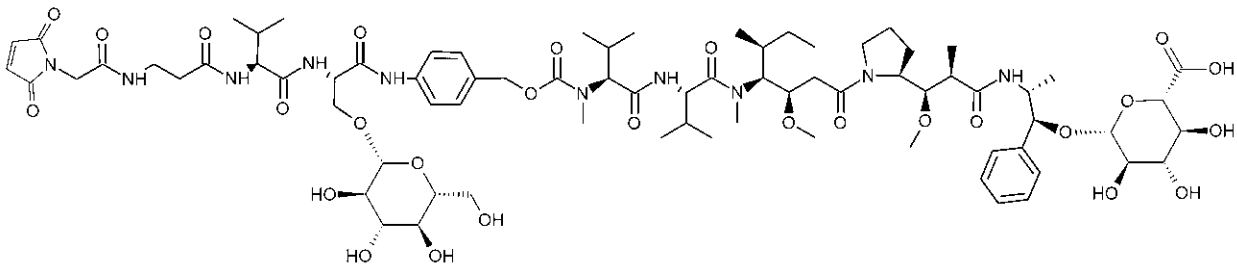
10

【請求項 8】

前記コンジュゲートが、

【化 1 3】

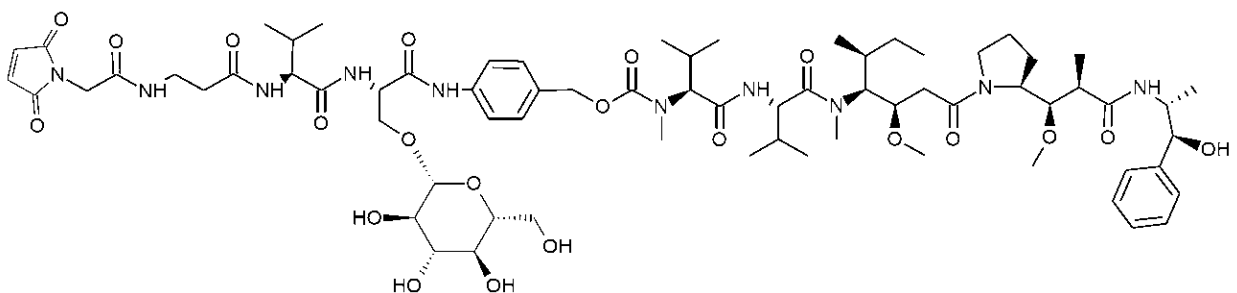
20



式 CMa

30

【化 1 4】



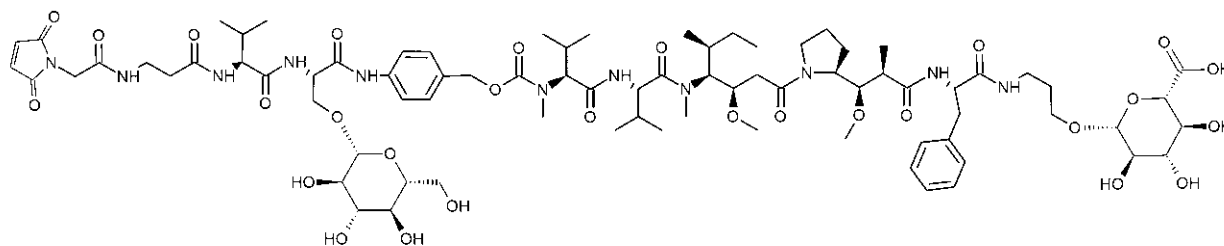
式 CMb

40

50



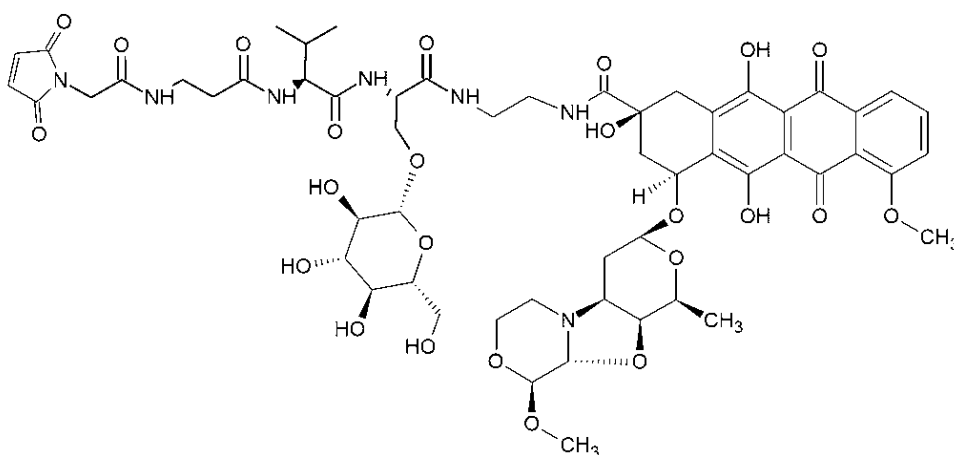
## 【化 1 5】



式 CMc

10

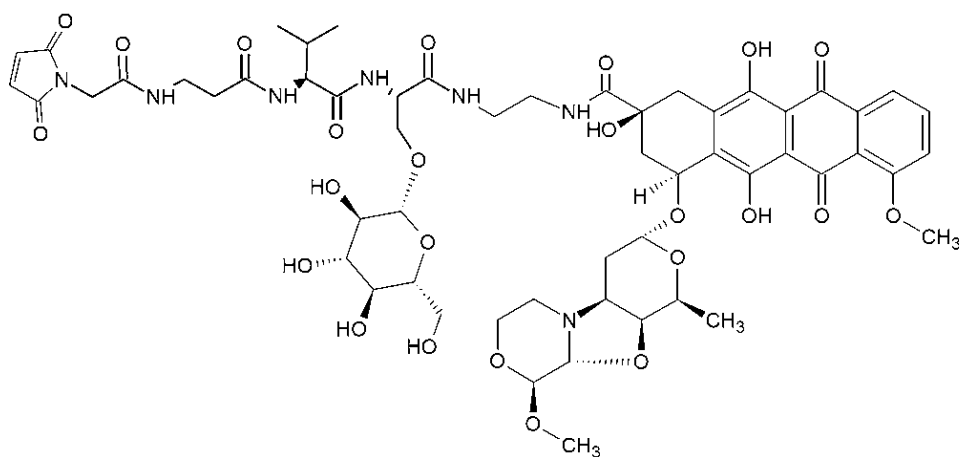
## 【化 1 6】



式 CMd

20

## 【化 1 7】



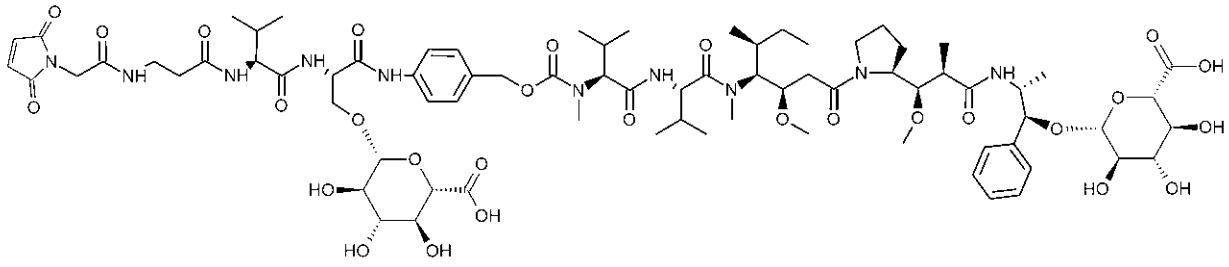
式 CMd'

30

40

50

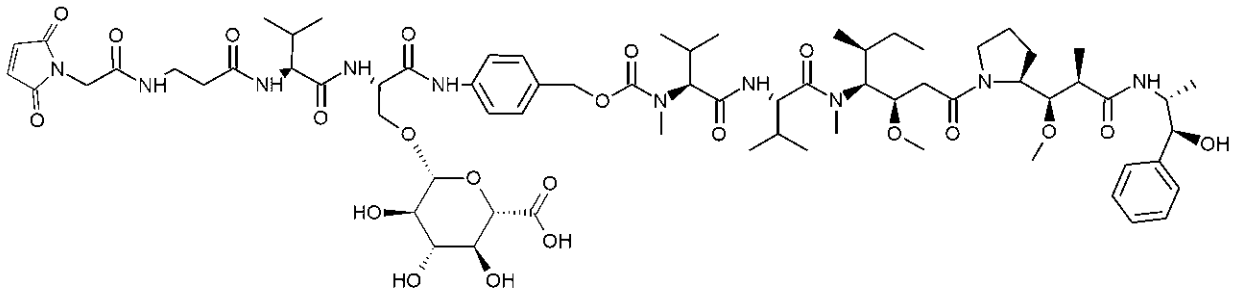
## 【化 1 8】



式 CMc

10

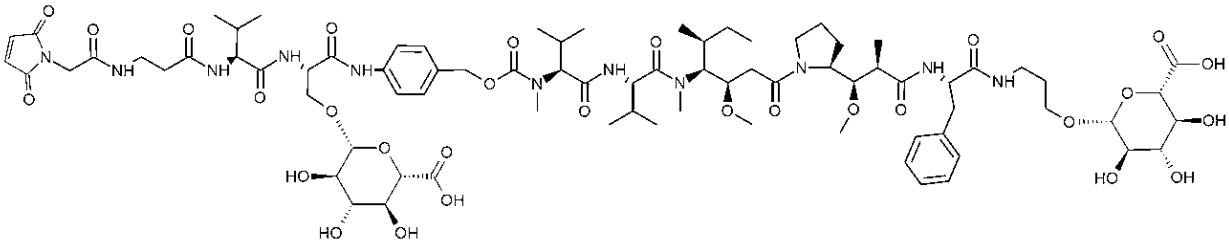
## 【化 1 9】



式 CMf

20

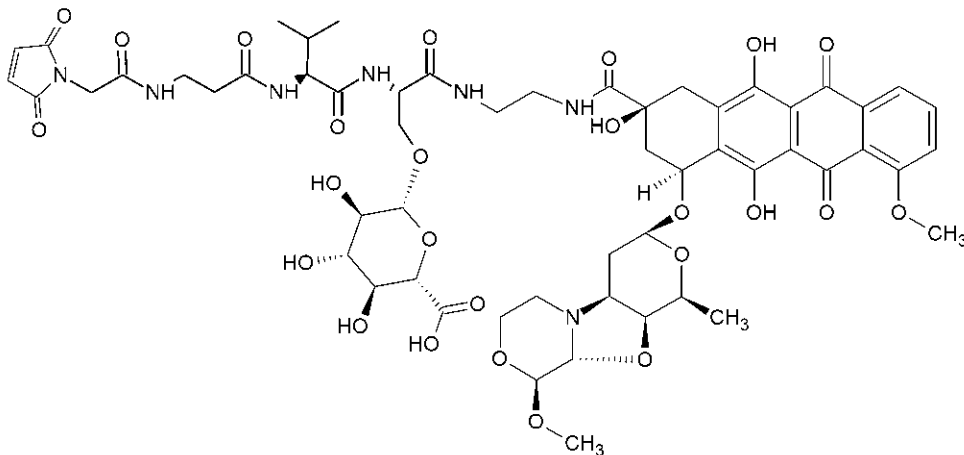
## 【化 2 0】



式 CMg

30

## 【化 2 1】

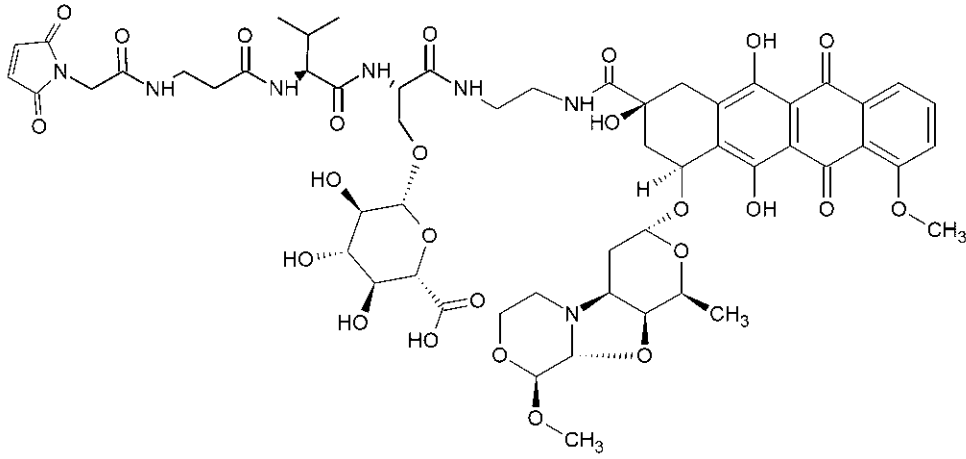


式 CMh

40

50

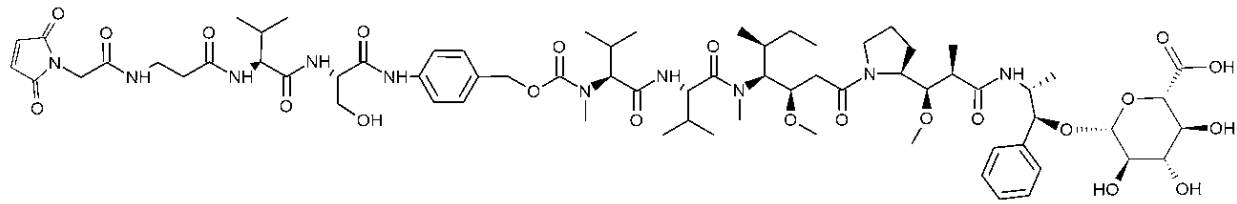
## 【化 2 2】



10

式 CMh'

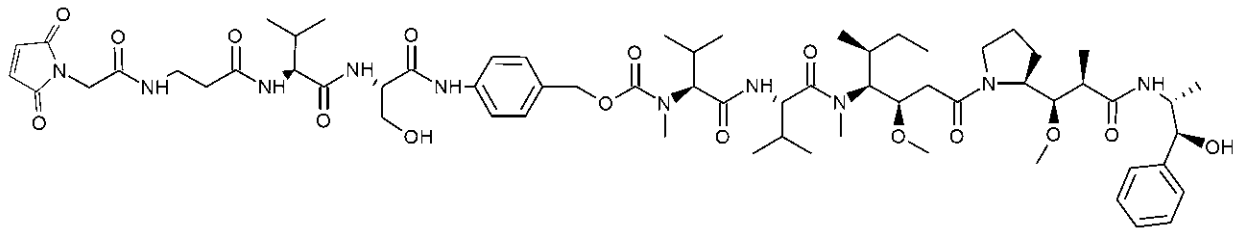
## 【化 2 3】



20

式 CMi

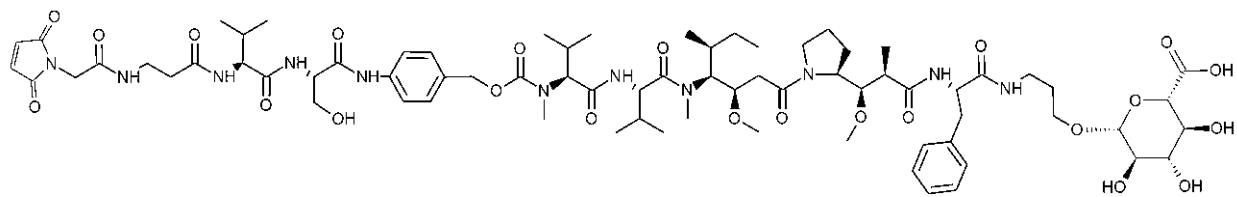
## 【化 2 4】



30

式 CMj

## 【化 2 5】

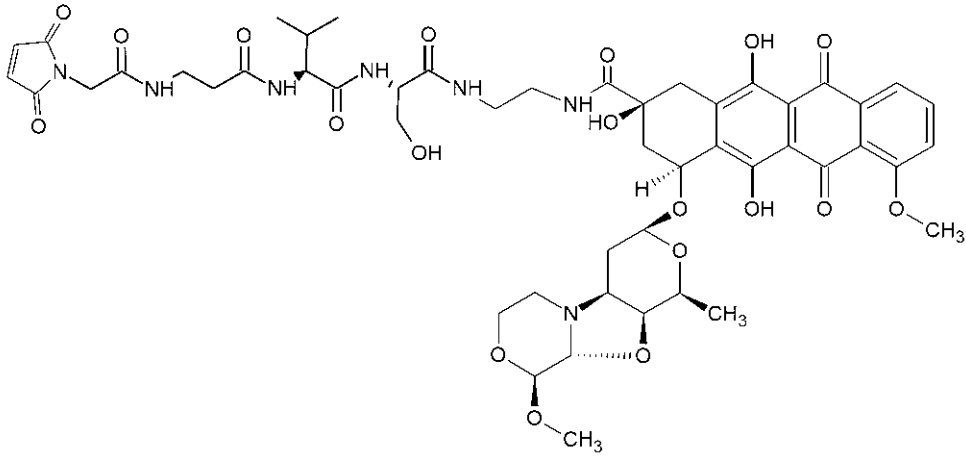


40

式 CMk

50

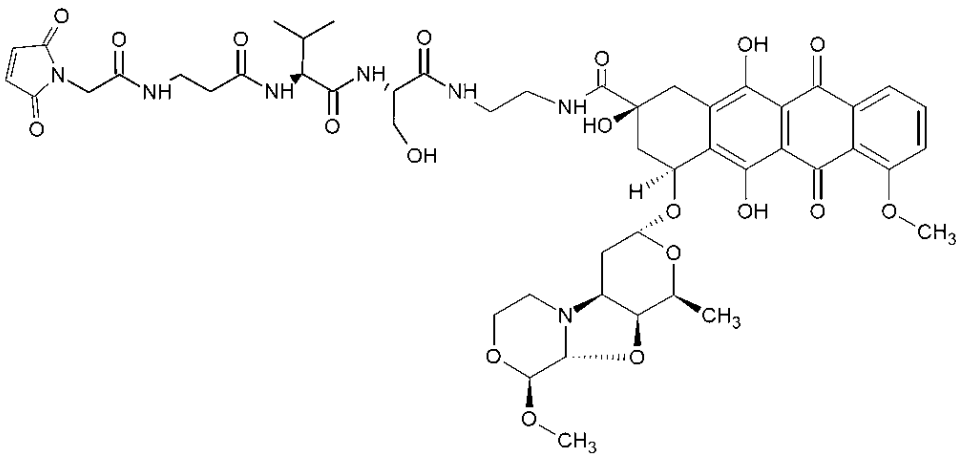
## 【化 2 6】



10

式 CMI

## 【化 2 7】

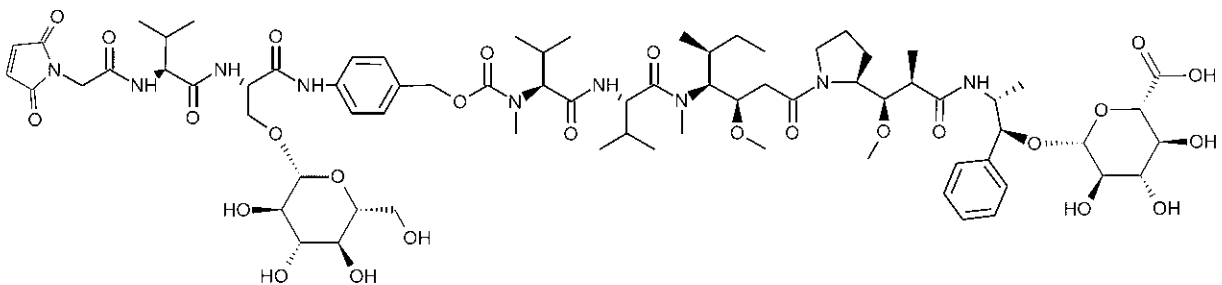


20

30

式 CMI'

## 【化 2 8】

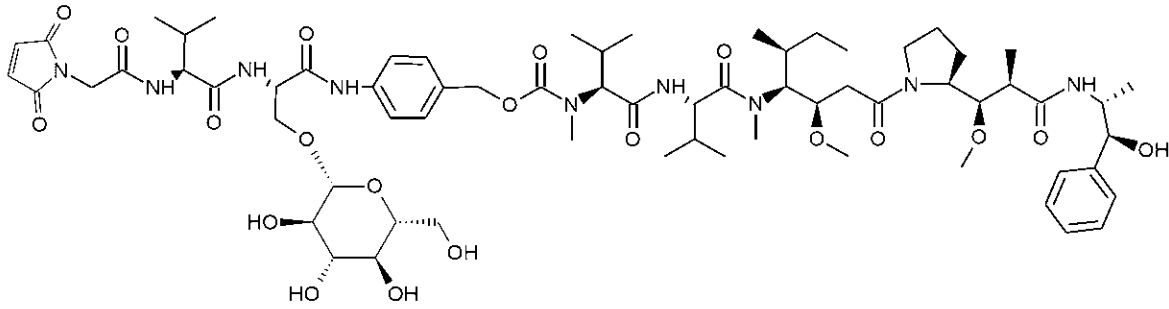


40

式 CMm

50

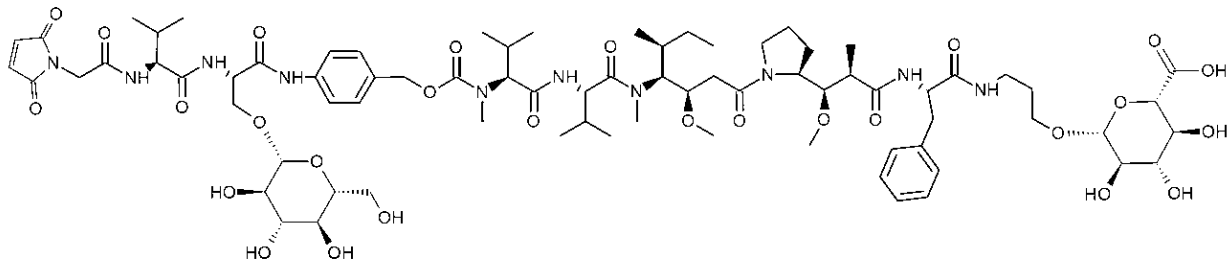
## 【化 2 9】



式 CMn

10

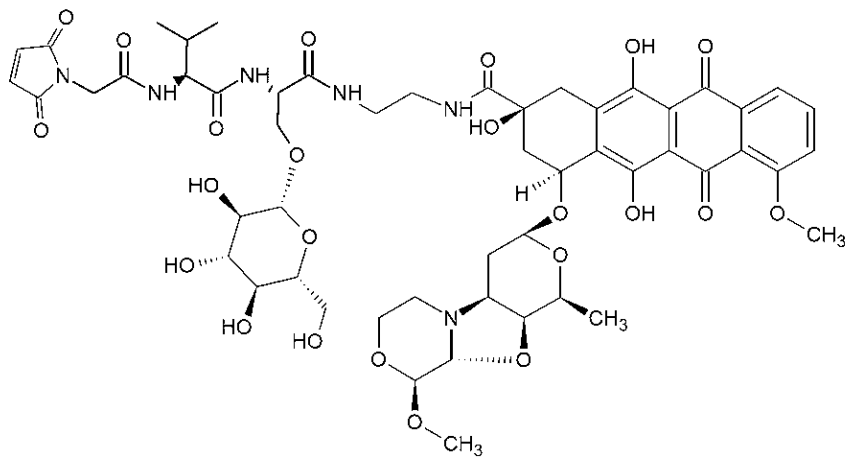
## 【化 3 0】



式 CMo

20

## 【化 3 1】



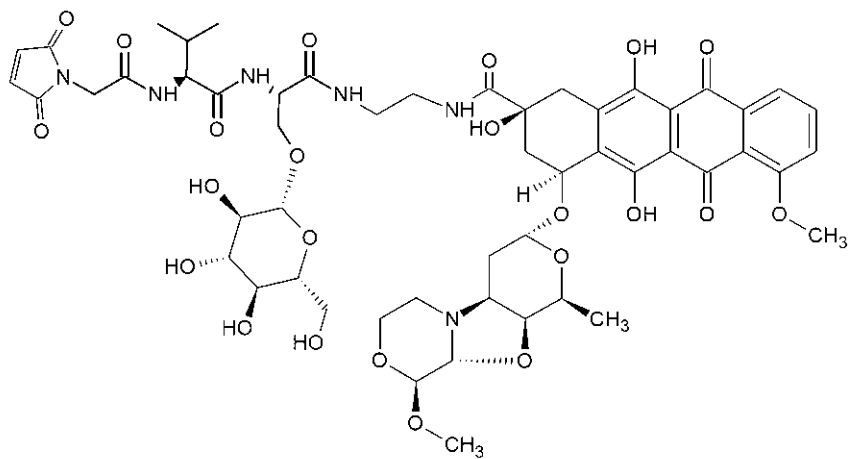
式 CMp

30

40

50

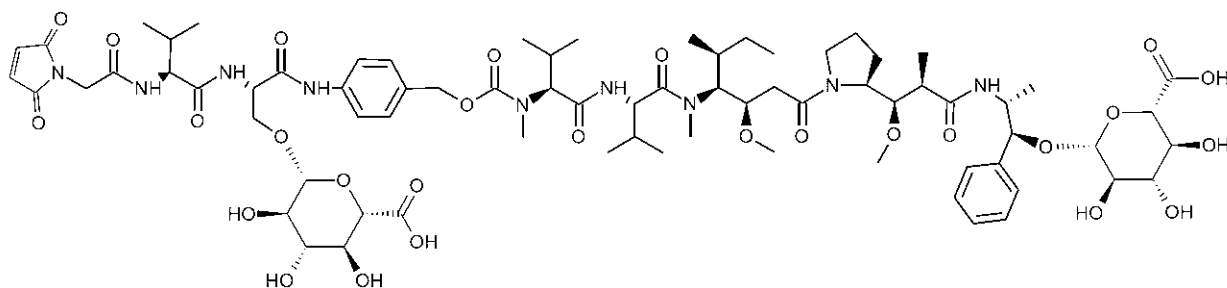
## 【化 3 2】



式 CMp'

10

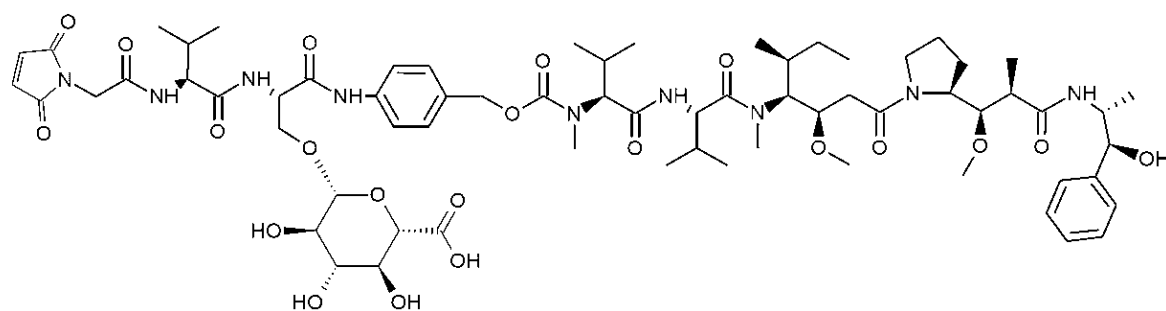
## 【化 3 3】



式 CMq

20

## 【化 3 4】



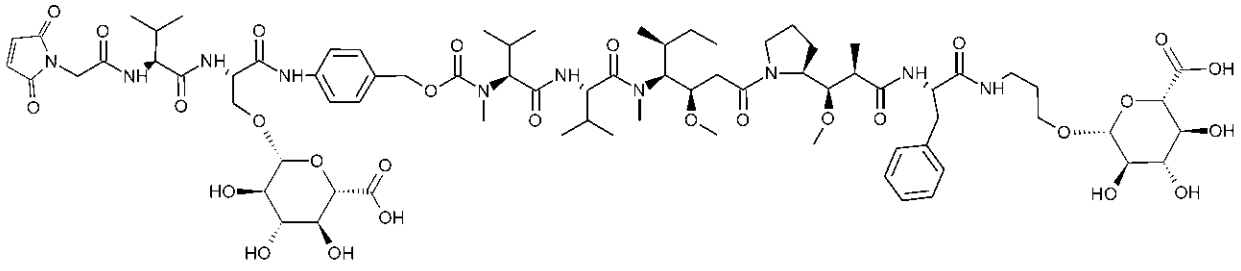
式 CMr

30

40

50

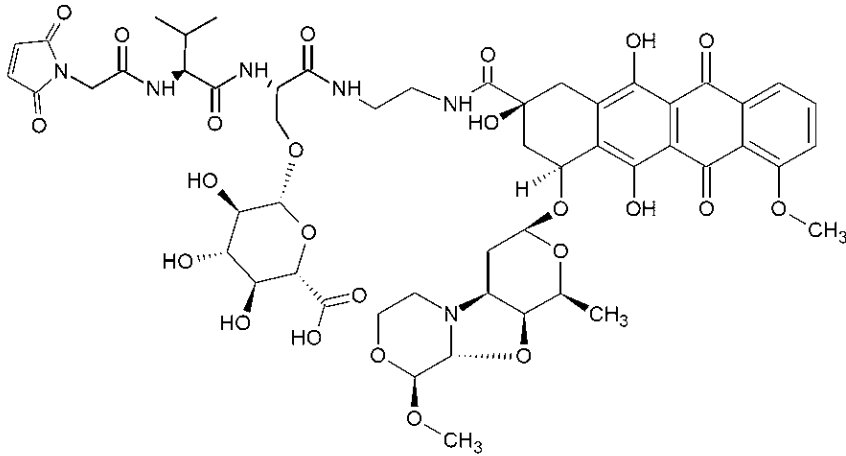
## 【化 3 5】



式 CMs

10

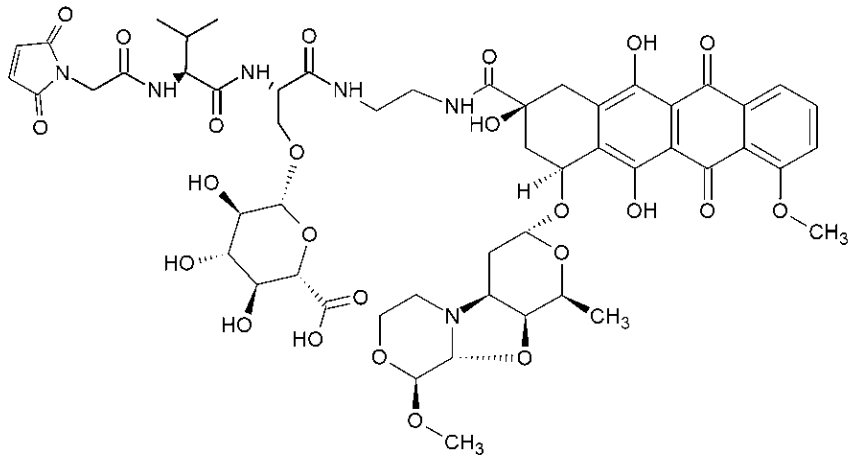
## 【化 3 6】



式 CMt

20

## 【化 3 7】



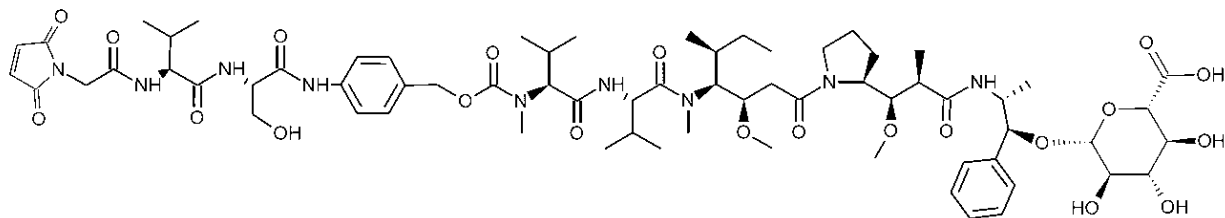
式 CMt'

30

40

50

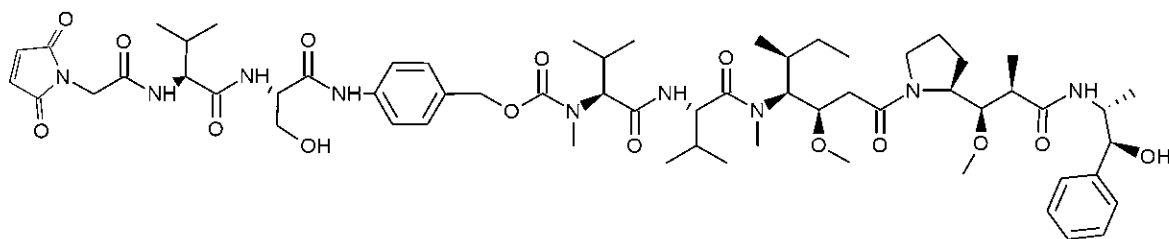
## 【化 3 8】



式 CMu

10

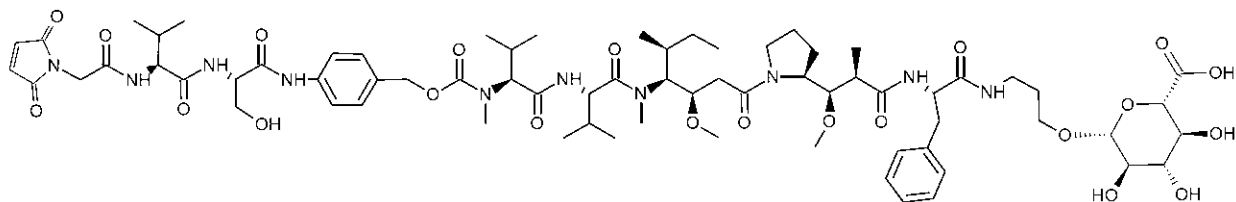
## 【化 3 9】



式 CMv

20

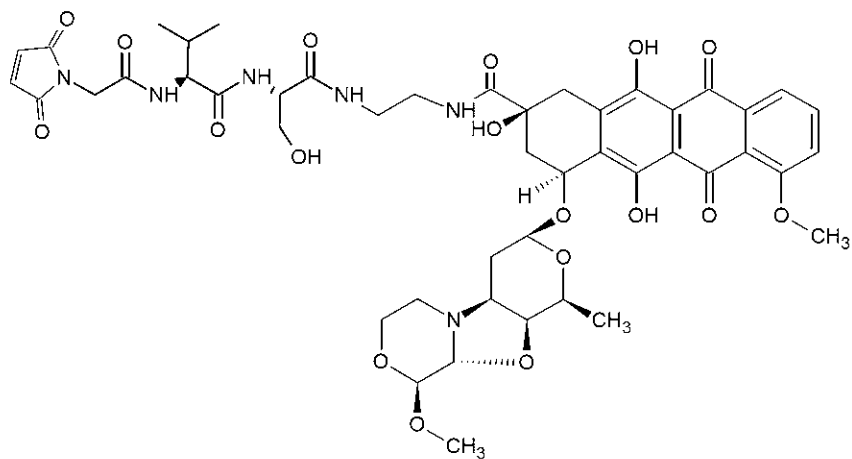
## 【化 4 0】



式 CMw

30

## 【化 4 1】



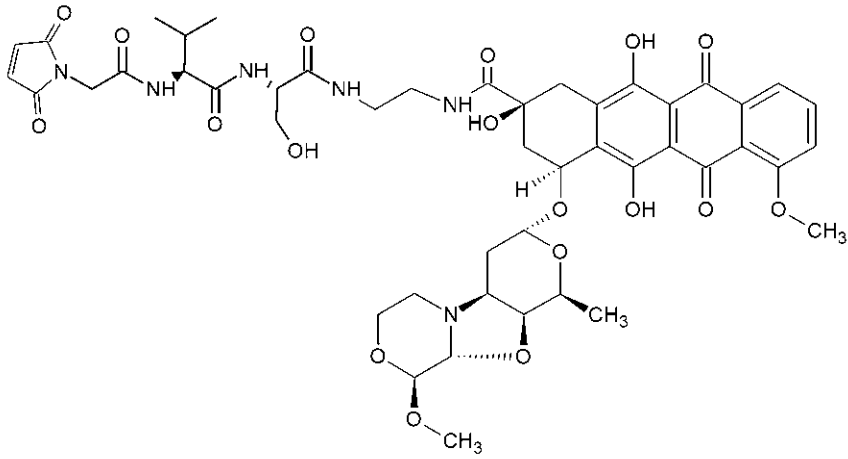
式 CMx

40

50



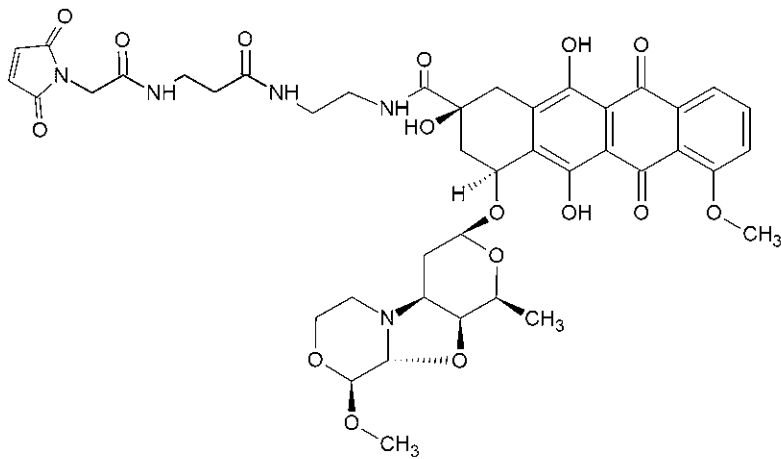
## 【化 4 2】



10

式 CMx'

## 【化 4 3】

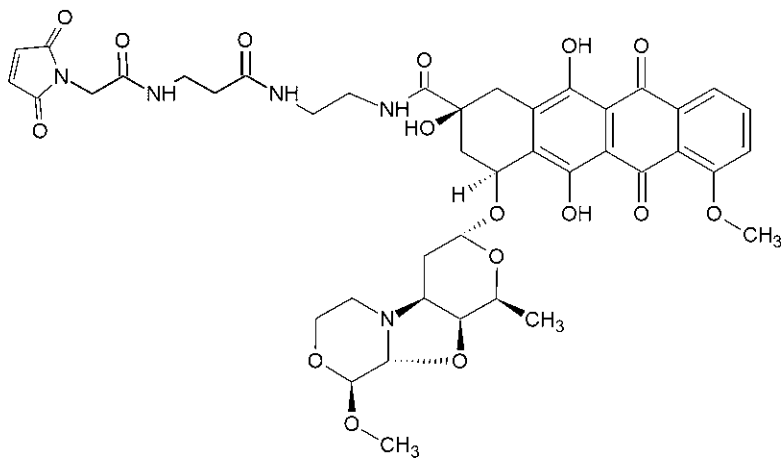


20

30

式 CMY

## 【化 4 4】

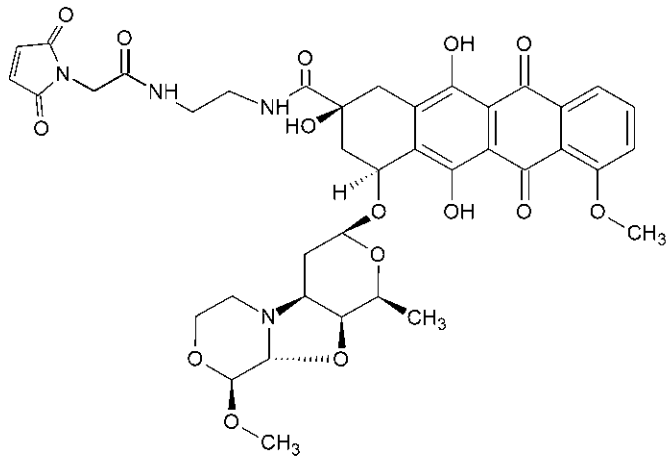


40

式 CMY'

50

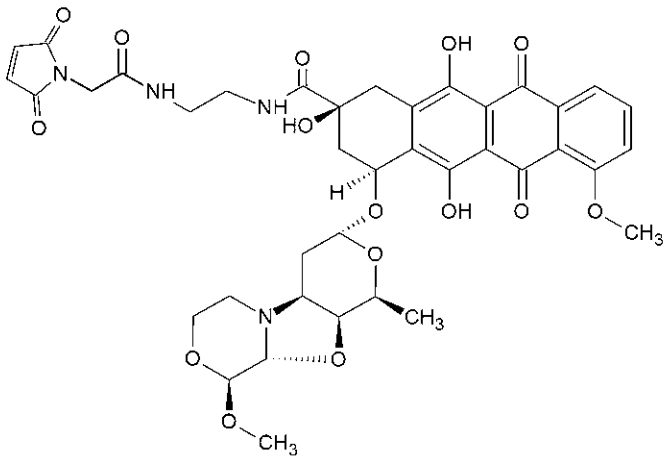
## 【化 4 5】



式 CMz

10

## 【化 4 6】



式 CMz'

20

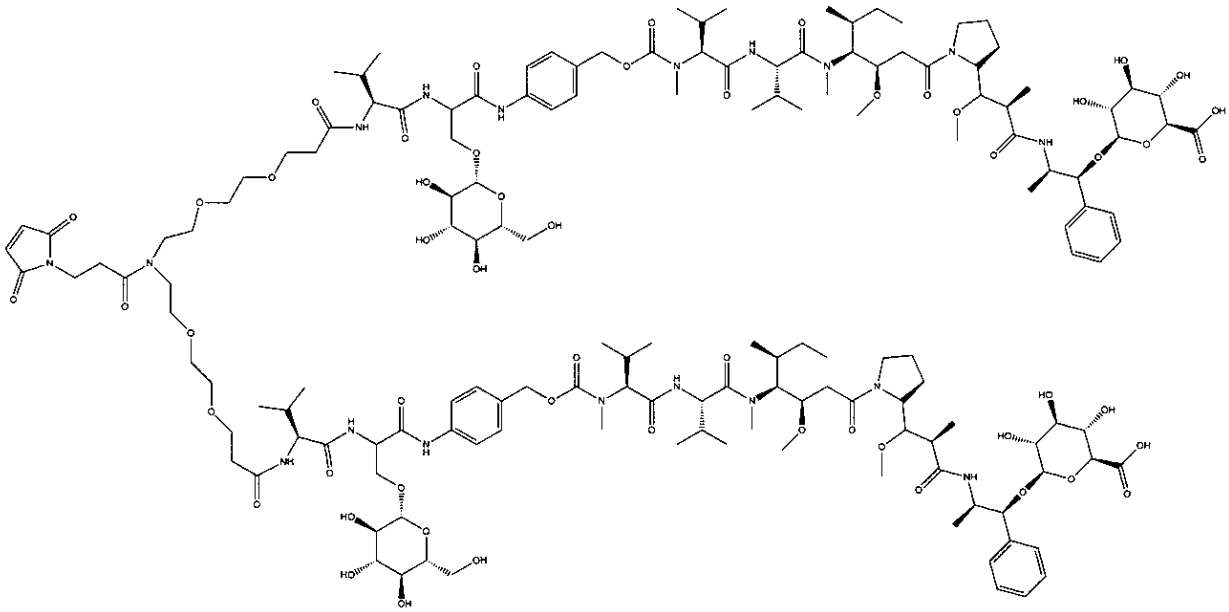
30

、および/または

40

50

## 【化 4 7】



式 CMzz

10

である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載のリンカー - ペイロードコンジュゲート。

20

## 【請求項 9】

前記標的ユニットが、抗体である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

## 【請求項 10】

前記抗体が、ベバシズマブ、トシツモマブ、エタネルセプト、トラスツズマブ、アダリムマブ、アレムツズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、エファリズマブ、フランボツマブ、リツキシマブ、インフリキシマブ、アブキシマブ、バシリキシマブ、パリビズマブ、オマリズマブ、ダクリズマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、エブラツズマブ、2 G 1 2、リンツズマブ、ニモツズマブおよびイブリツモマブチウキセタンからなる群より選択されるか、または前記抗体が、抗 E G F R 抗体、上皮成長因子受容体 2 ( H E R 2 / n e u ) 抗体、抗 C D 2 2 抗体、抗 C D 3 0 抗体、抗 C D 3 3 抗体、抗ルイス y 抗体、抗 T Y R P - 1、抗 C D 2 0 抗体および抗血液学的標的抗体からなる群より選択される、請求項 9 に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

30

## 【請求項 11】

前記抗体が、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 5、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 5 2、C D 5 6、C D 7 0、C D 7 4、C D 7 9、C D 9 8、C D 1 1 7、C D 1 0 5、C D 1 2 3、C D 1 3 8、C D 1 5 7、B C M A および C D 3 1 9 ( S L A M F 7 ) からなる群より選択される抗血液学的標的分子を結合することができる、請求項 9 または 10 に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

## 【請求項 12】

前記標的分子が、C D 1 9、C D 2 2、C D 3 3、C D 5 2 および C D 1 2 3 からなる群より選択される、請求項 11 に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

40

## 【請求項 13】

前記抗体が、ロンカスツキシマブ、プリナツモマブ、タファシタマブ、コルツキシマブ、デニンツズマブ、オベキセリマブ、イネビリズマブ、M O R 0 0 2 0 8、M D X - 1 3 4 2、M E D I - 5 5 1、S A R 3 4 1 9、リツキシマブ、オフアツムマブ、ベルツズマブ、オクレリズマブ、オビヌツズマブ、オカラツズマブ、ウブリツキシマブ、ノフェツモマブ、イブリツモマブ、エブラツズマブ、イノツズマブオゾガマイシン、ベクツモマブ、モキセツモマブ、ピナツズマブ、D C D T 2 9 8 0 S、バシリキシマブ、ダクリズマブ、

50

カミダンルマブ、イノリモマブ、ADCT-301、IMTOX-25、ブレンツキシマブ、イラツムマブ、AVE9633、リンツズマブ、ゲムツズマブ、バダスツキシマブ、オトレルツマブ (otlertuzumab)、リロトマブ、ナラツキシマブ、BI836826、AGS67E、IMGN529、ダラツムマブ、イサツキシマブ、メザジタマブ、フェルザルタマブ、MOR202、MOR03087、アレムツズマブ、ロルボツズマブメルタンシン、ボルセツズマブマホドチン、SGN-70A、ポラツズマブ、インダツキシマブ、MDX-1203、ミラツズマブ-ドキシソルピシン、IGN523、LOP-628、CSL360、タラコツズマブ、XmAb14045、KHK2823、BT062、ベランタマブマホドチン、テクリスタマブおよびエロツズマブからなる群より選択される血液学的標的抗体である、請求項9から12のいずれか一項に記載の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート。

10

【請求項14】

前記抗体が、エブラツズマブ、リンツズマブ、コルツキシマブ、デニンツズマブ、ロンカスツキシマブ、アレムツズマブおよびタラコツズマブからなる群より選択される、請求項13に記載の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート。

【請求項15】

前記抗体が、システイン改変抗体である、請求項9から14のいずれか一項に記載の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート。

【請求項16】

前記抗体が、A40、P41、A84、V89、S112、S113、A114、S115、T116、G118、V152、S153、N155、A168、Q171、C220、225、226、229、247、V278、N297、339、S371、375、376、S396、およびE400 (Kabataによる) からなる群より選択される重鎖の1個または複数個のアミノ酸欠失または置換を有する、請求項15に記載の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート。

20

【請求項17】

前記抗体が、V110、S114、S121、S127、143、147、A153、159、163、165、S168、V205、および214 (Kabataによる) からなる群より選択される軽鎖の1個または複数個のアミノ酸欠失または置換を有する、請求項15に記載の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート。

30

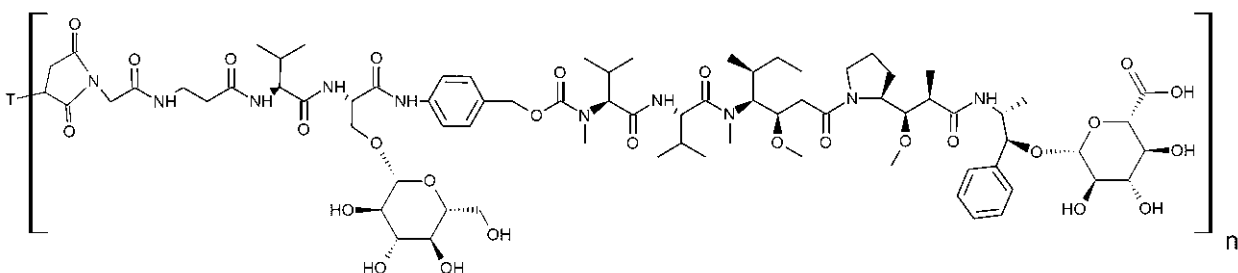
【請求項18】

IgG重鎖上の297位でのアスパラギン(N297)が欠失または置換されているか、IgG重鎖上の220位でのシステイン(C220)、C226またはC229が欠失または置換されているか、IgG軽鎖(カッパまたはラムダ)の214位でのシステイン(C214)が欠失または置換されている、請求項16または17に記載の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート。

【請求項19】

前記コンジュゲートが、

【化48】

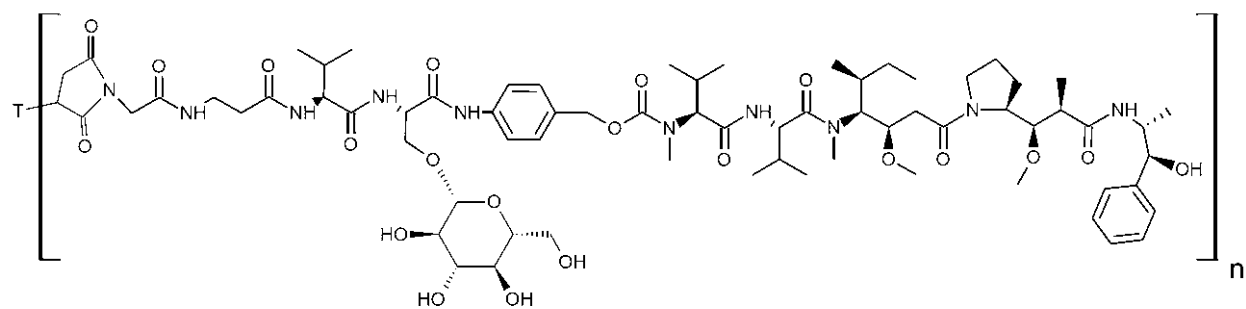


40

式 TMA

50

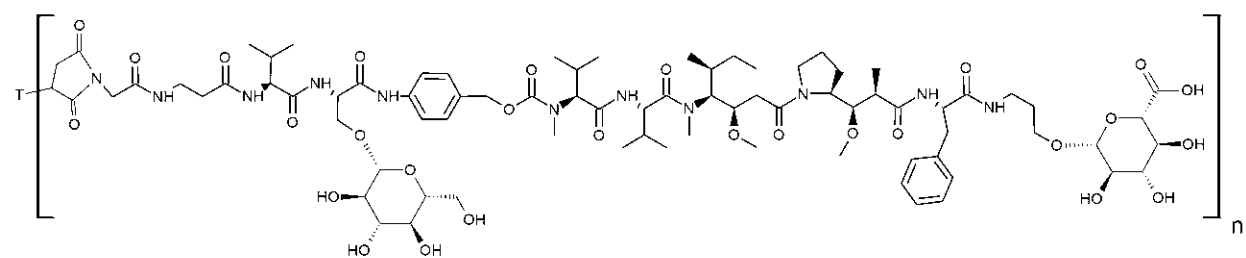
## 【化 4 9】



式 TMb

10

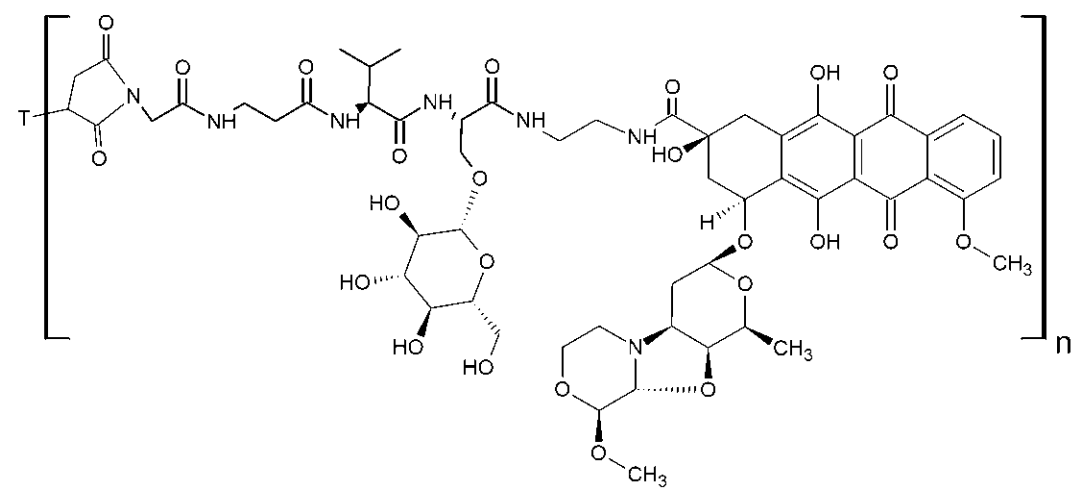
## 【化 5 0】



式 TMc

20

## 【化 5 1】



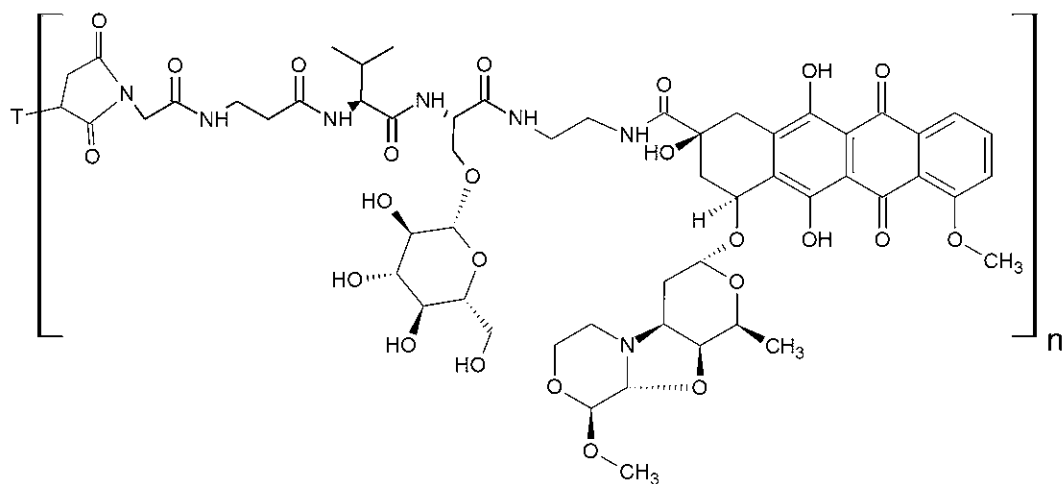
式 TMd

30

40

50

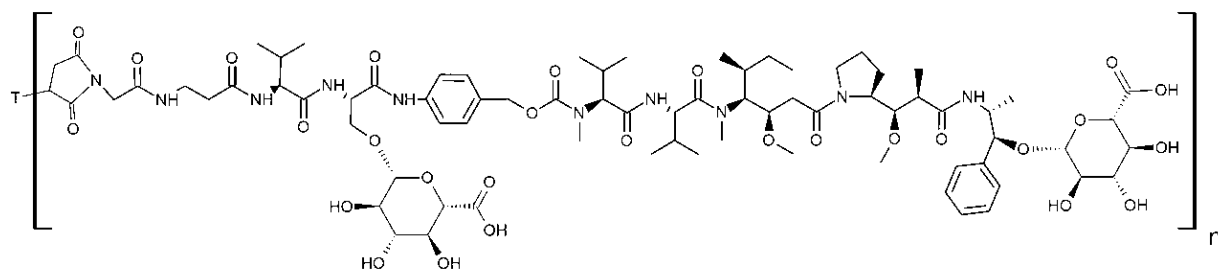
## 【化 5 2】



10

式 TMD'

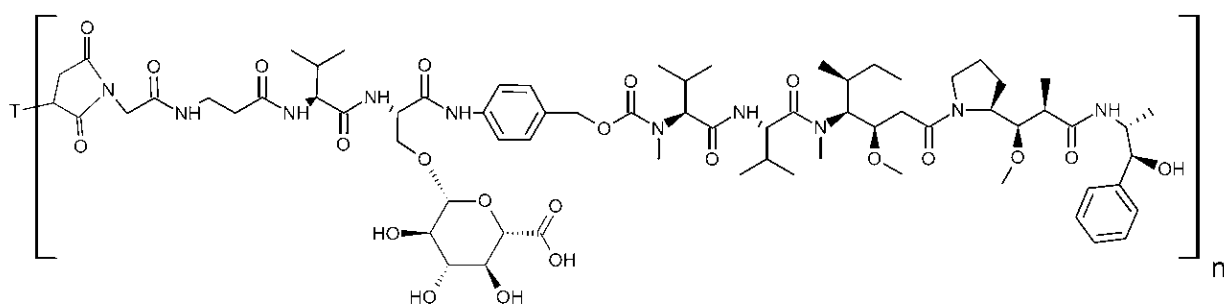
## 【化 5 3】



20

式 TMe

## 【化 5 4】



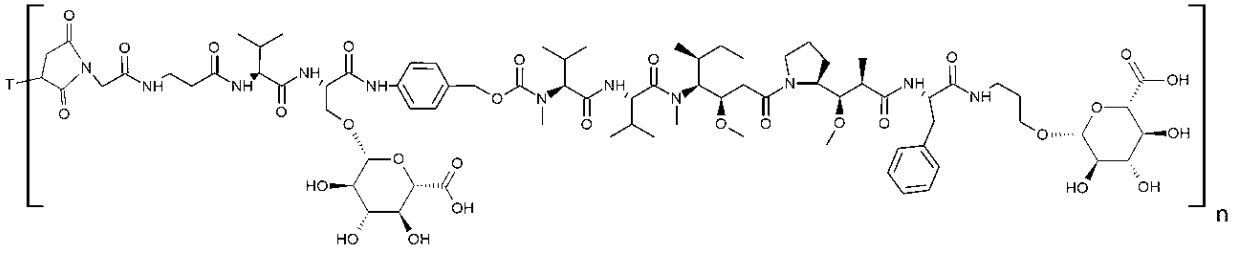
30

式 TMf

40

50

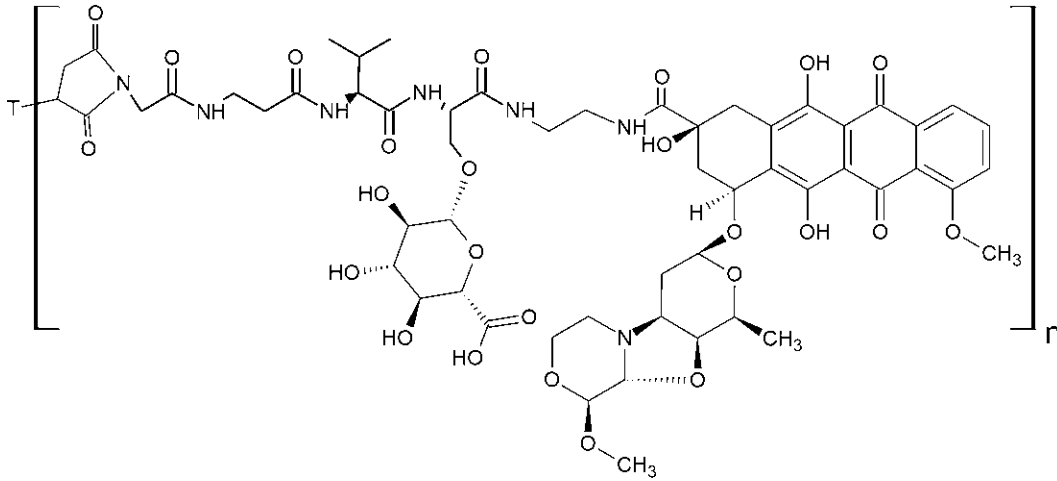
【化 5 5】



式 TMg

10

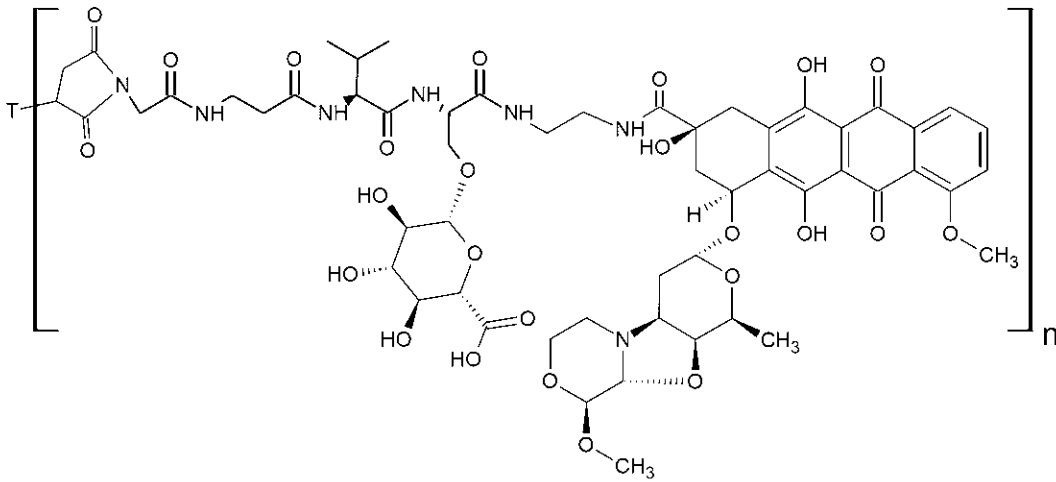
【化 5 6】



式 TMh

20

【化 5 7】



式 TMh'

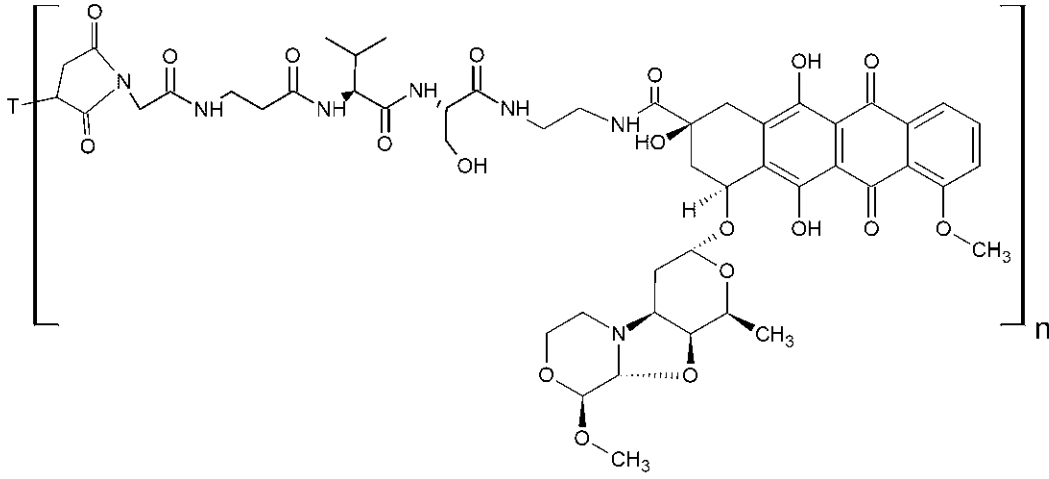
30

40





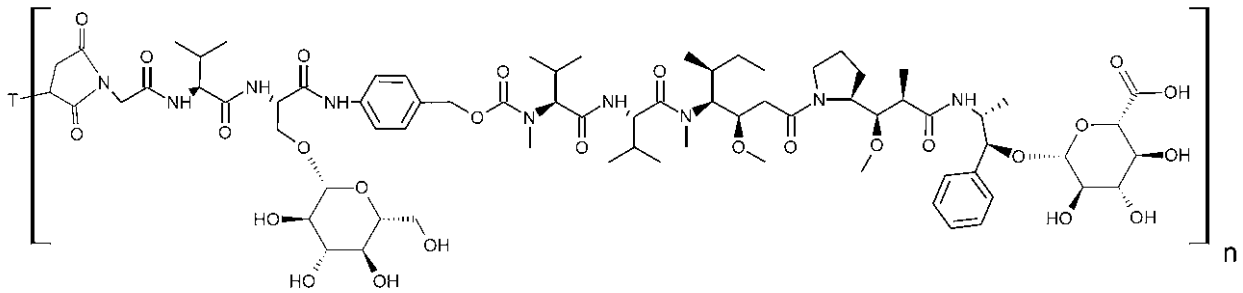
【化 6 2】



10

式 TMI'

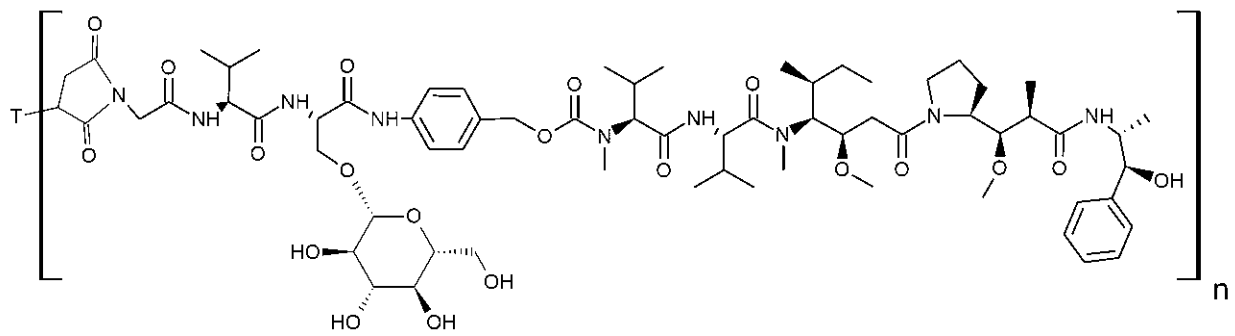
【化 6 3】



20

式 TMm

【化 6 4】

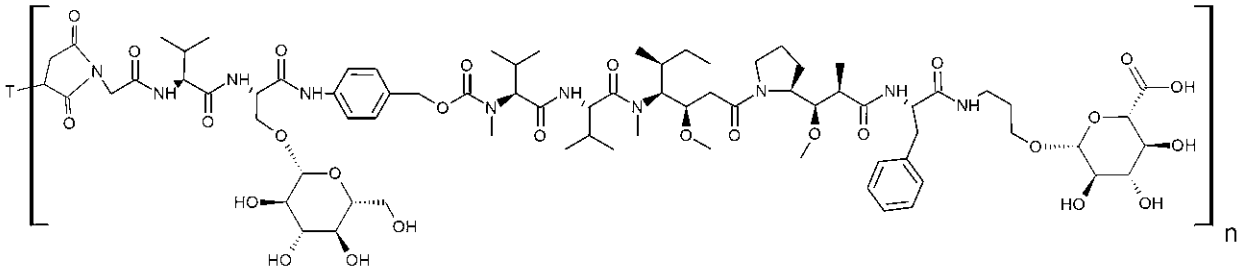


30

式 TMn

40

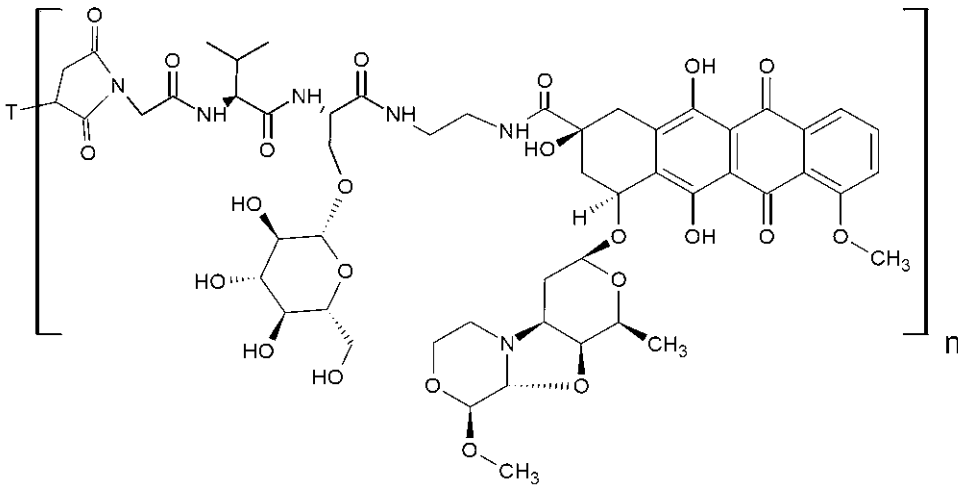
【化 6 5】



式 TMo

10

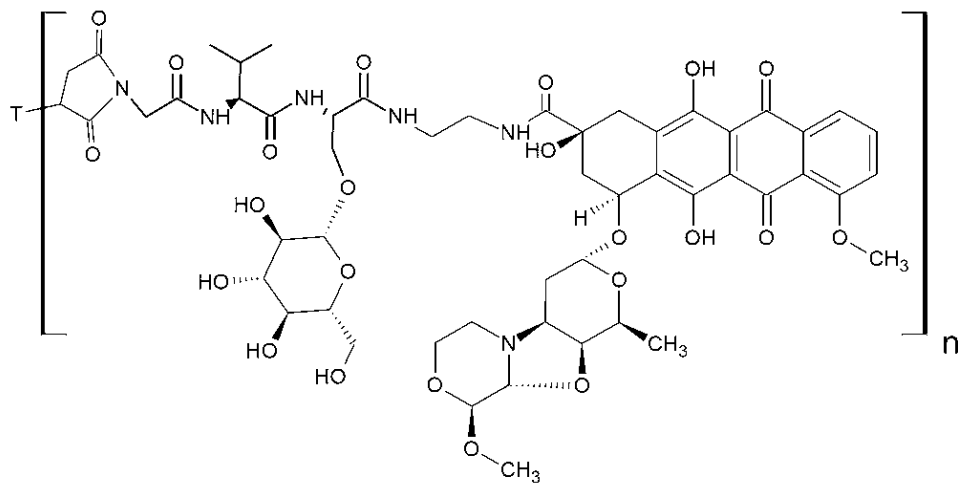
【化 6 6】



式 TMp

20

【化 6 7】



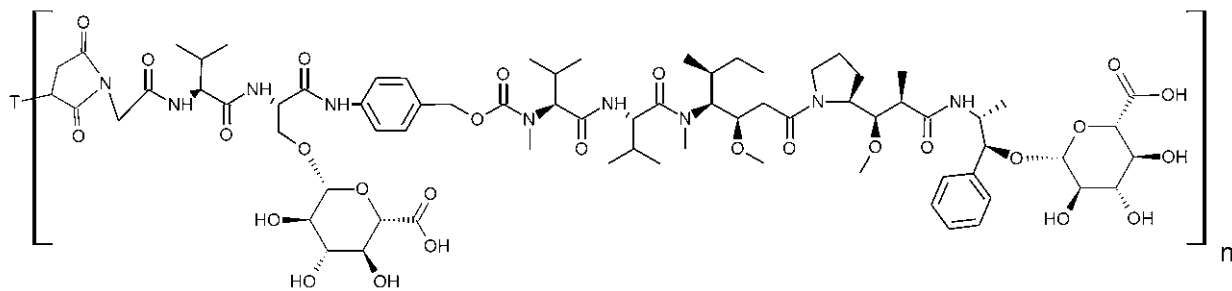
式 TMp'

30

40

50

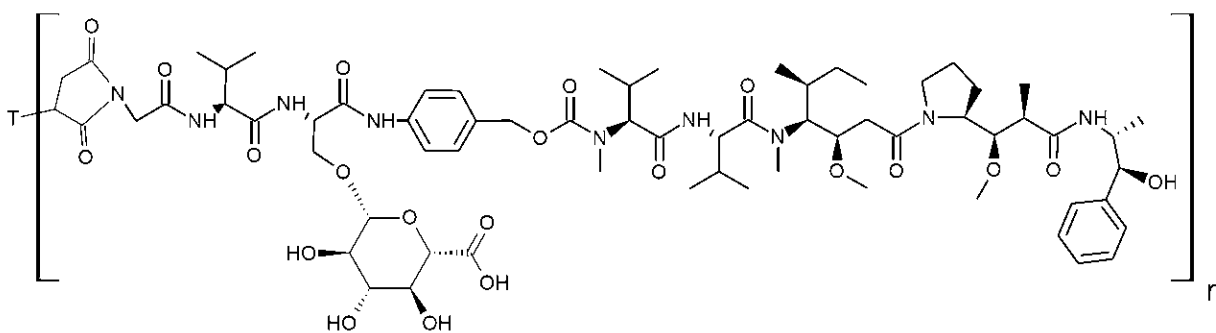
## 【化 6 8】



式 TMq

10

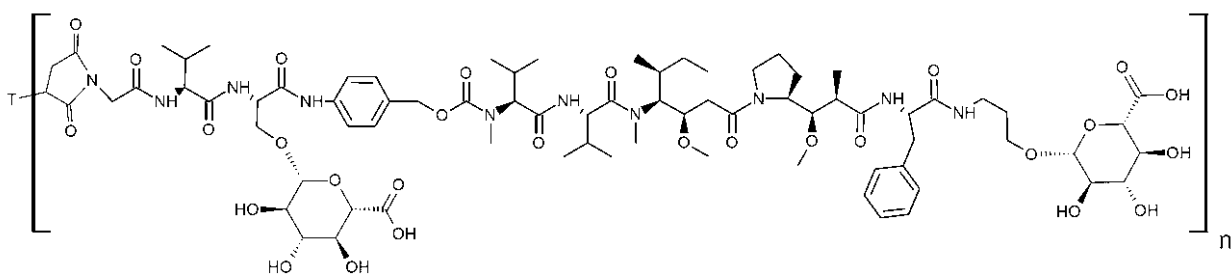
## 【化 6 9】



式 TMr

20

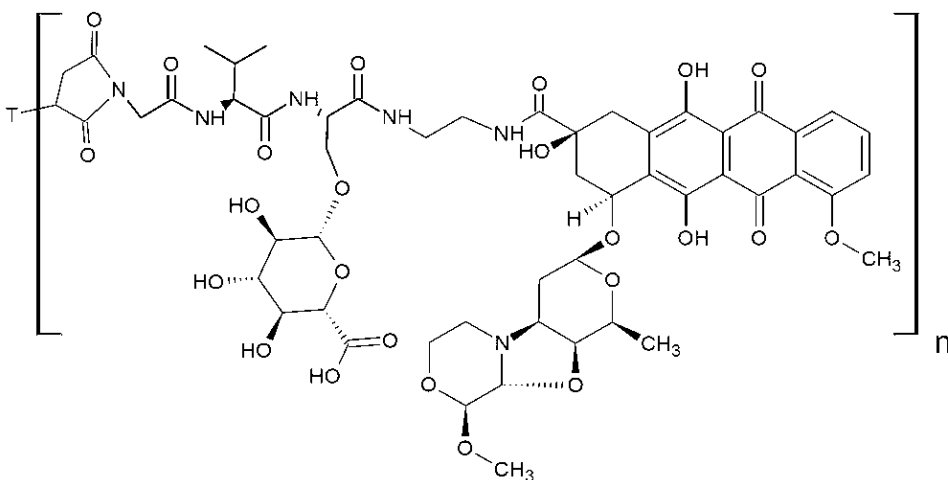
## 【化 7 0】



式 TMs

30

## 【化 7 1】

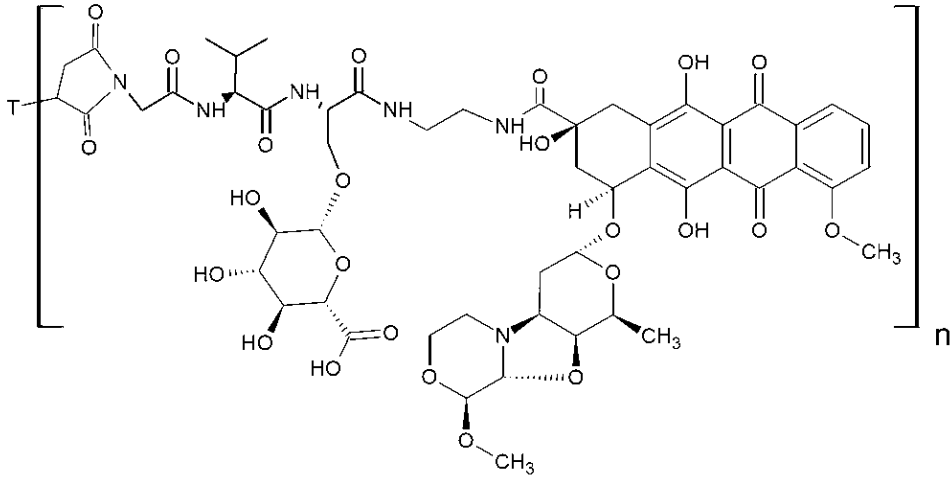


式 TMt

40

50

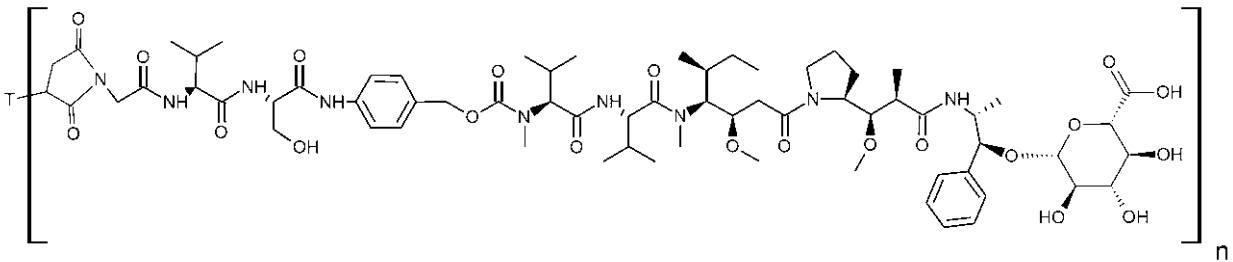
【化 7 2】



10

式 TMt'

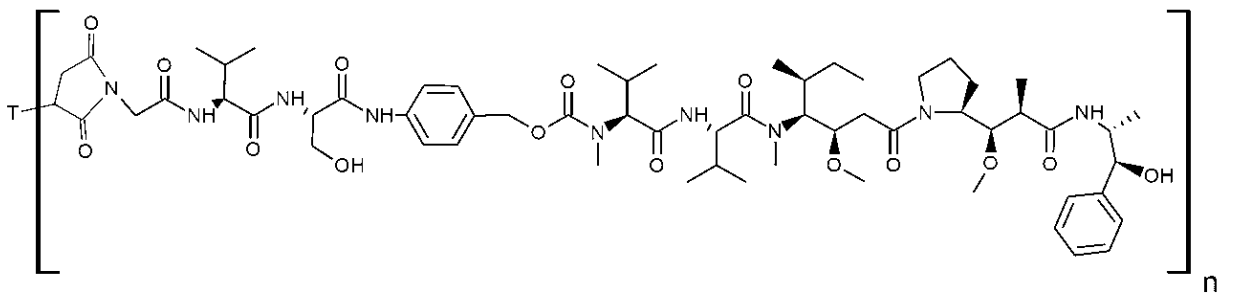
【化 7 3】



20

式 TMu

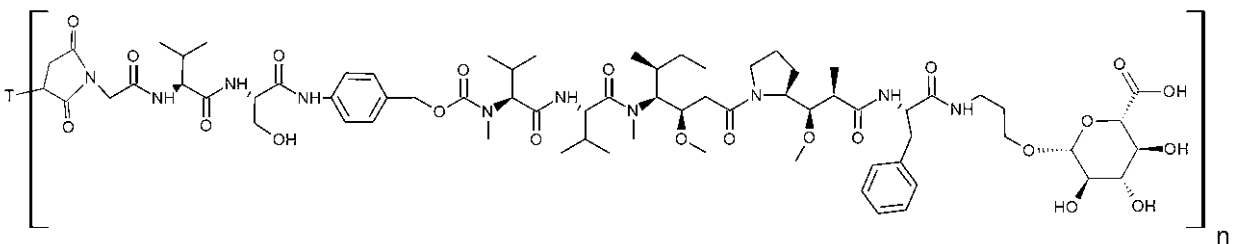
【化 7 4】



30

式 TMv

【化 7 5】

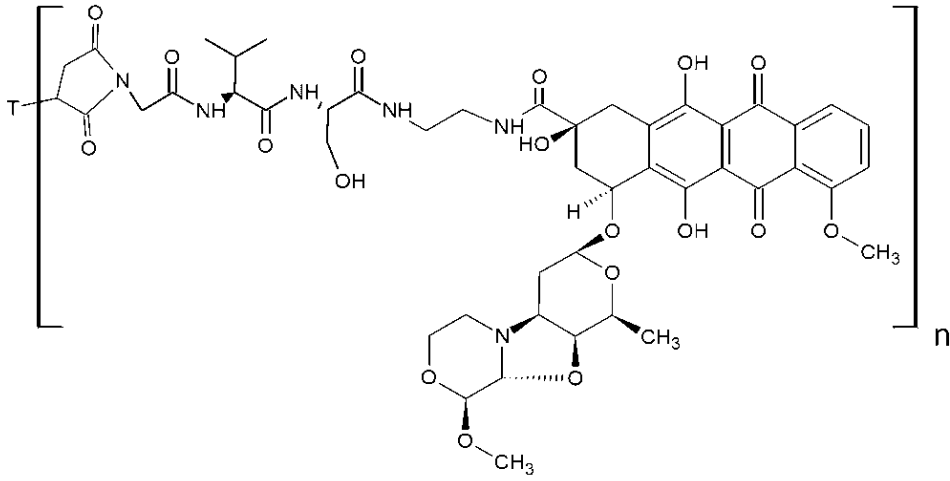


40

式 TMw

50

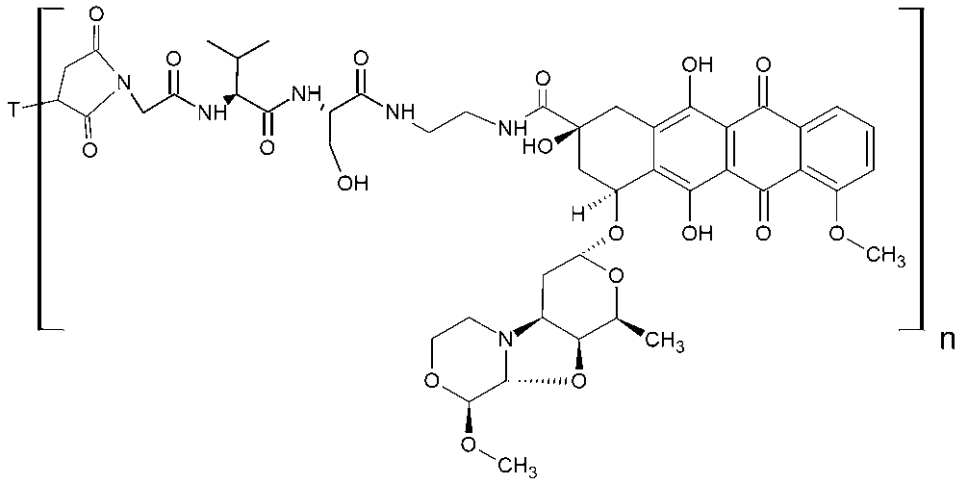
【化 7 6】



10

式 TMx

【化 7 7】



20

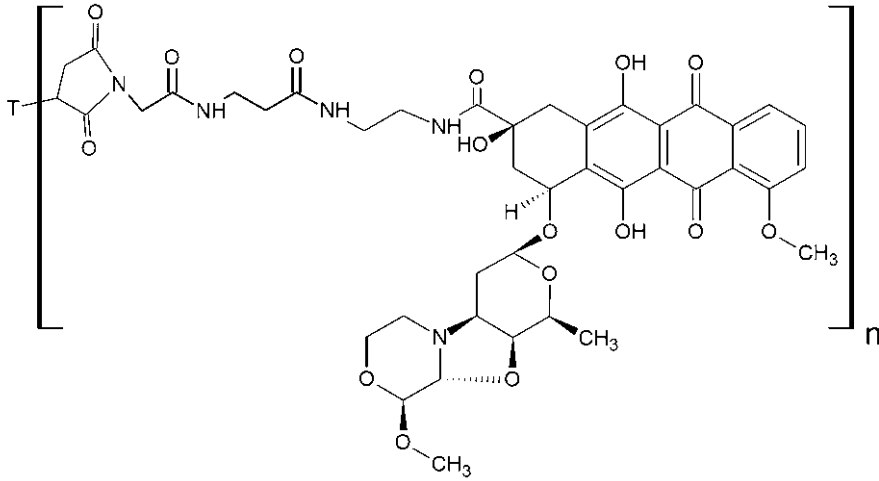
30

式 TMx'

40

50

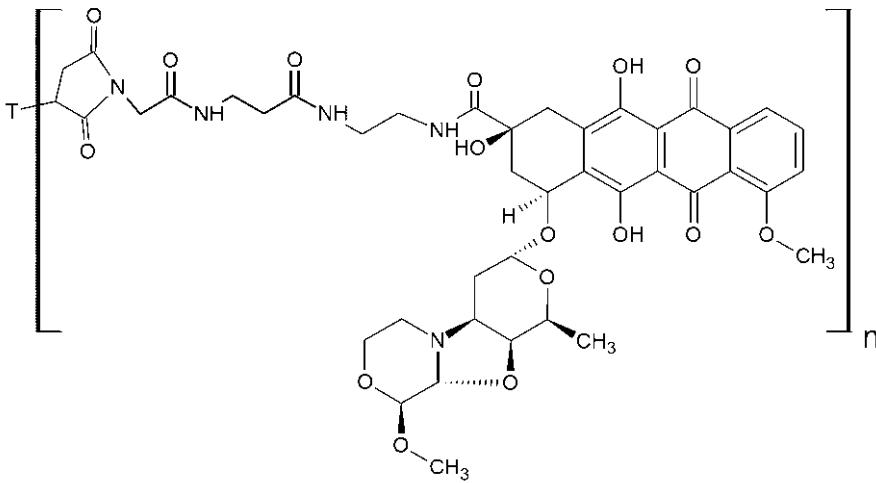
【化 7 8】



式 TMy

10

【化 7 9】



式 TMy'

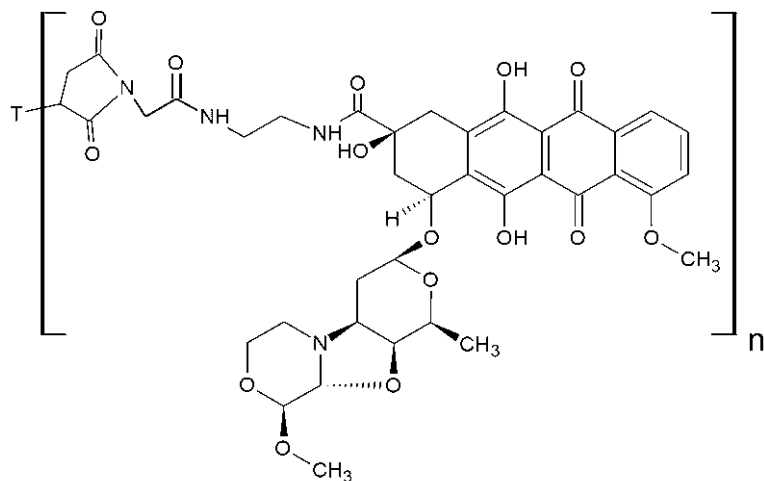
20

30

40

50

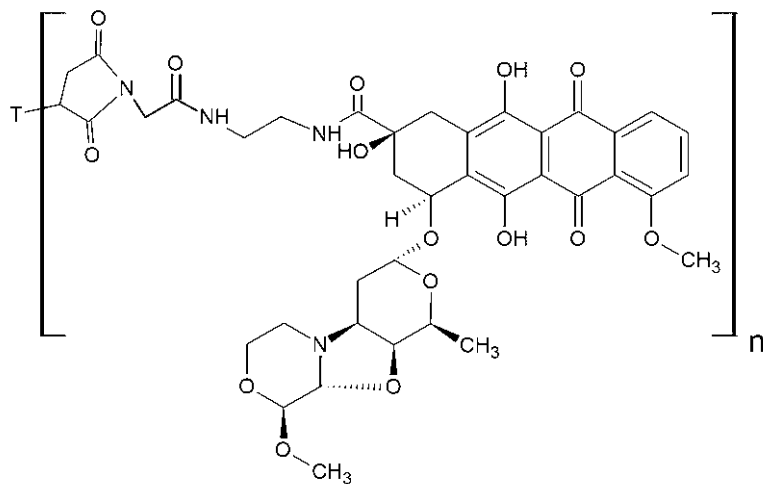
【化 8 0】



10

式 TMz

【化 8 1】

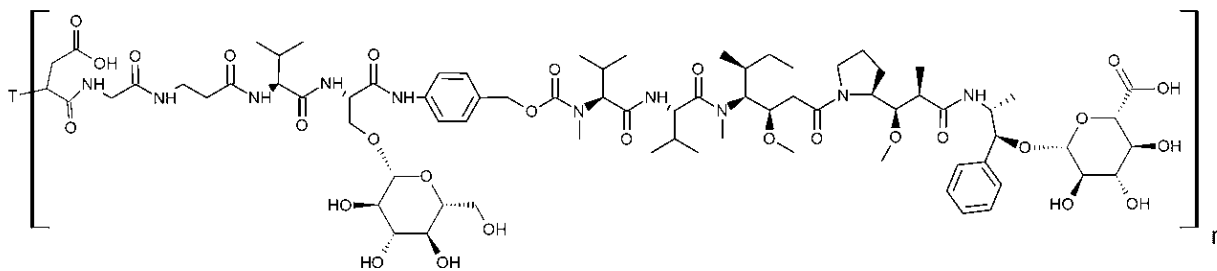


20

30

式 TMz'

【化 8 2】

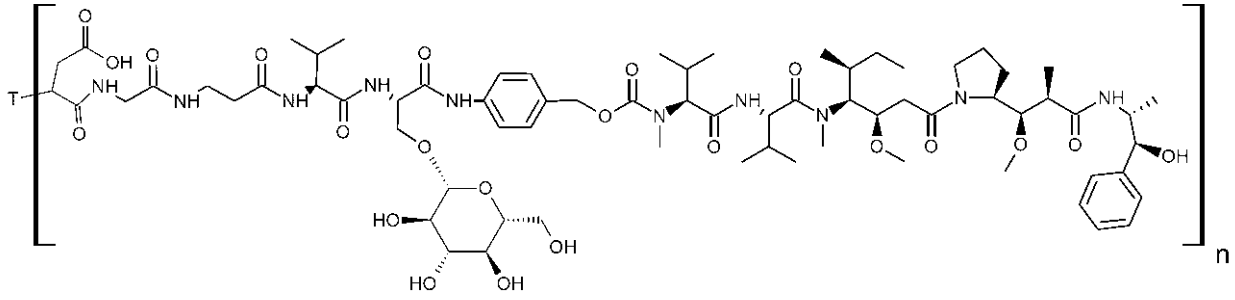


40

式 TMsa

50

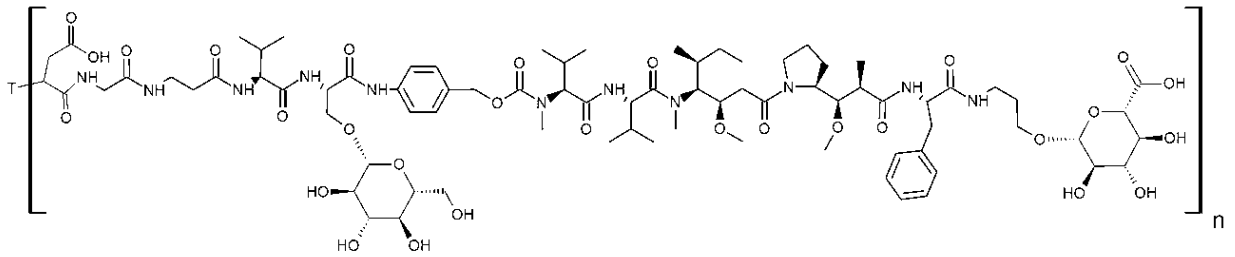
## 【化 8 3】



式 TMsb

10

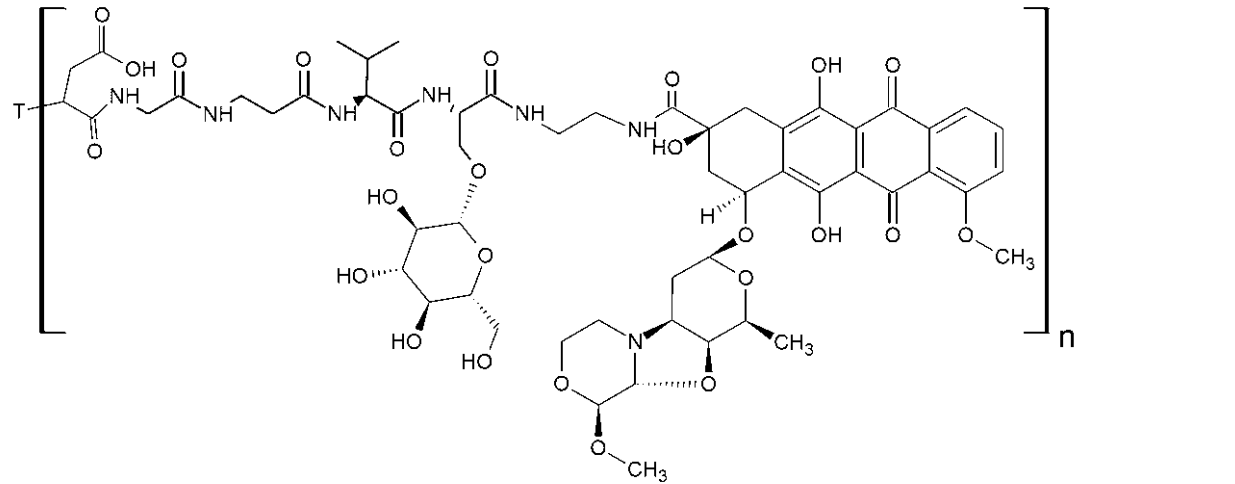
## 【化 8 4】



式 TMsc

20

## 【化 8 5】



式 TMsd

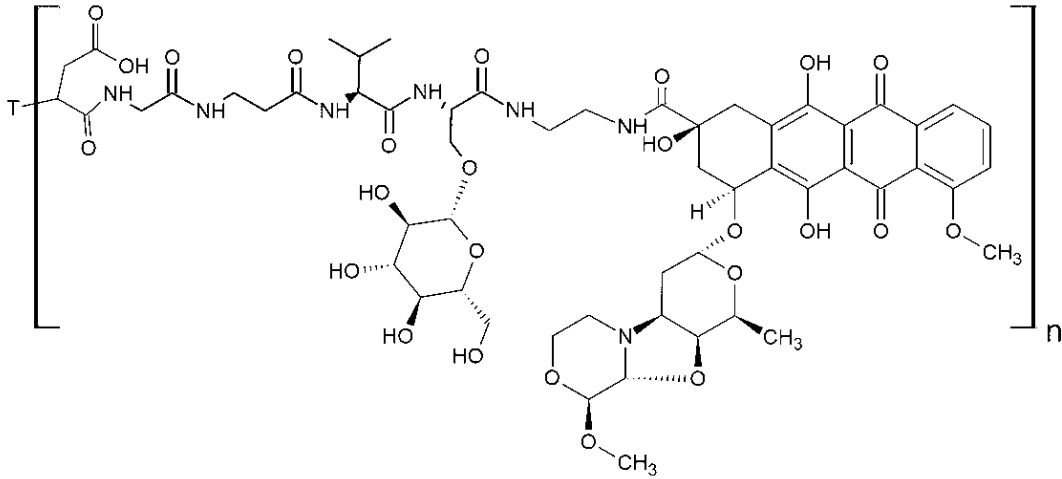
30

40

50



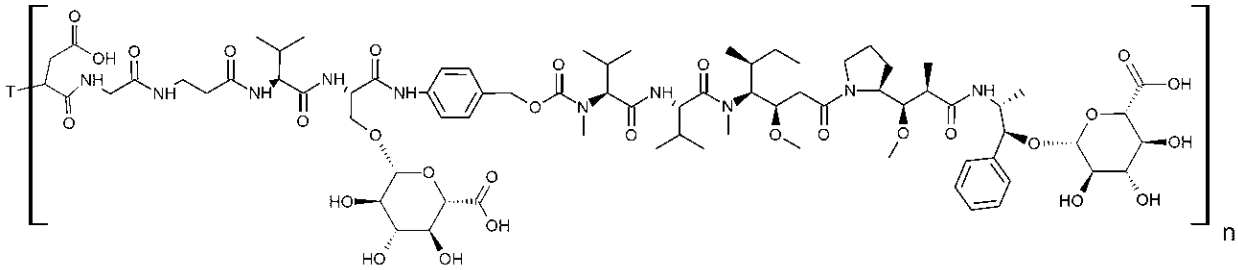
【化 8 6】



10

式 TMsd'

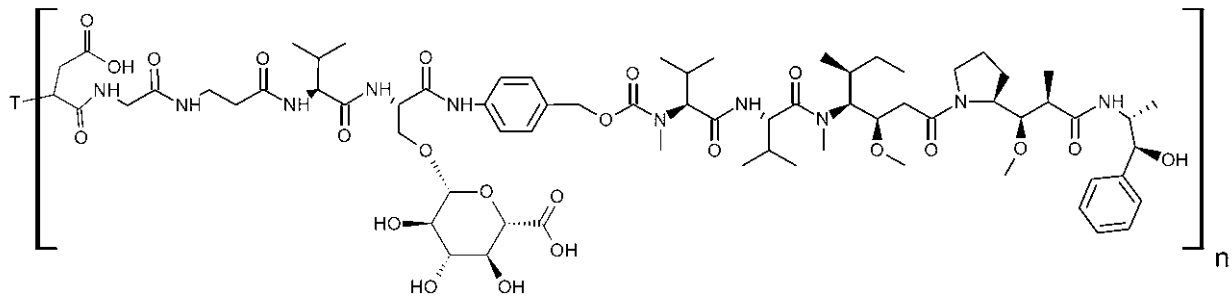
【化 8 7】



20

式 TMse

【化 8 8】



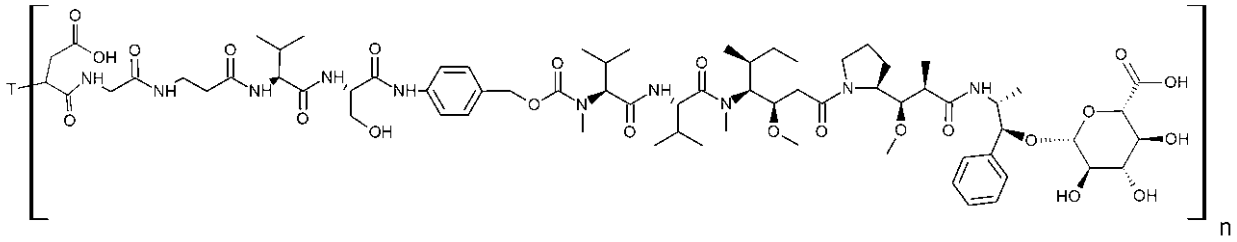
30

式 TMsf

40



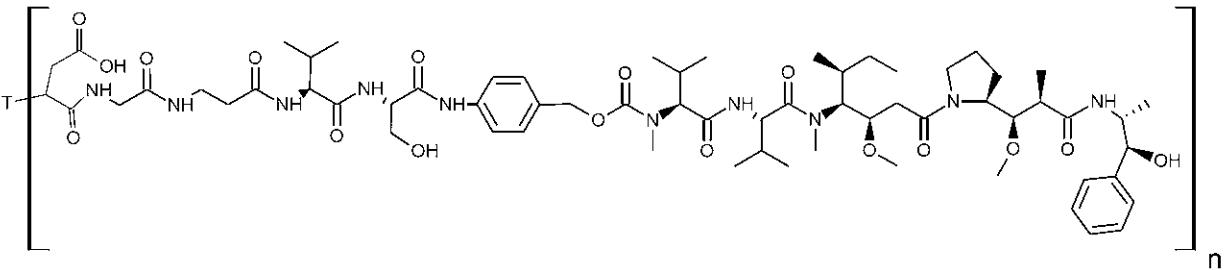
【化 9 2】



式 TMsi

10

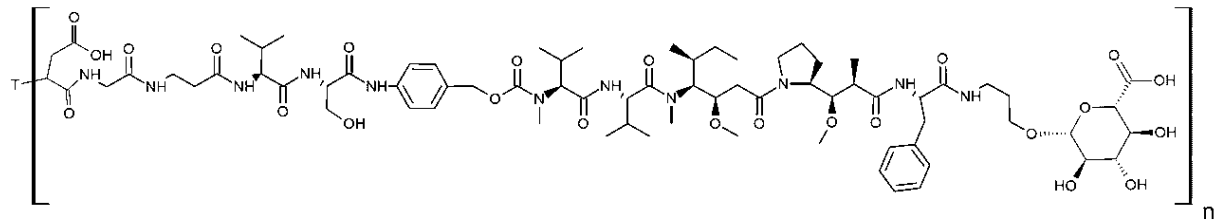
【化 9 3】



式 TMsj

20

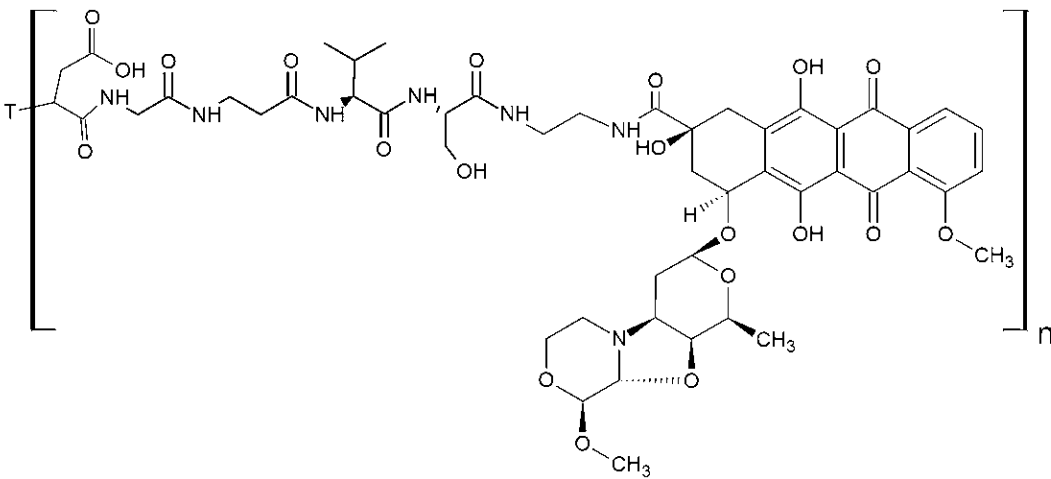
【化 9 4】



式 TMsk

30

【化 9 5】

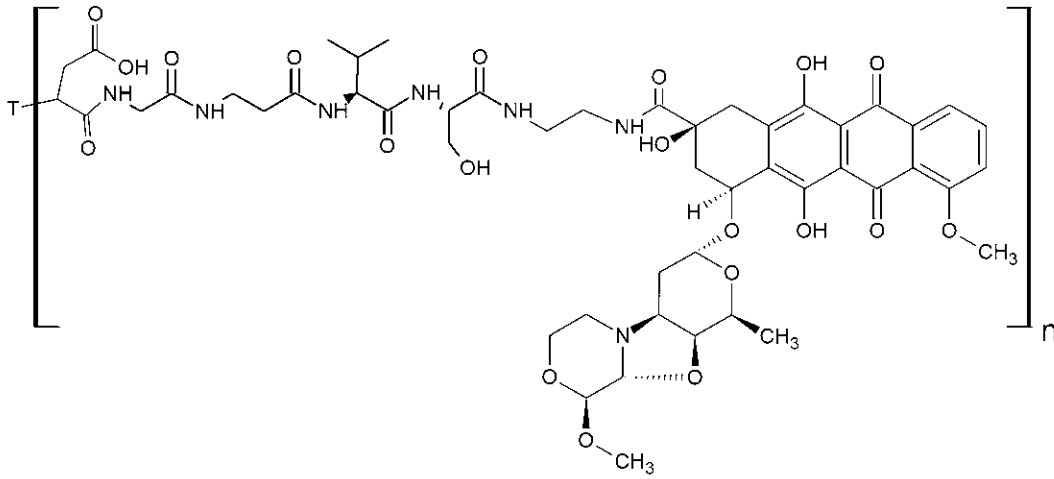


式 TMsl

40

50

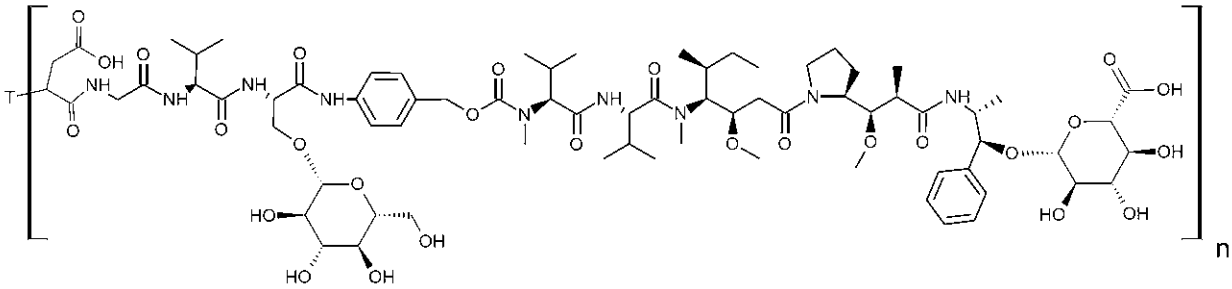
【化 9 6】



10

式 TMsl'

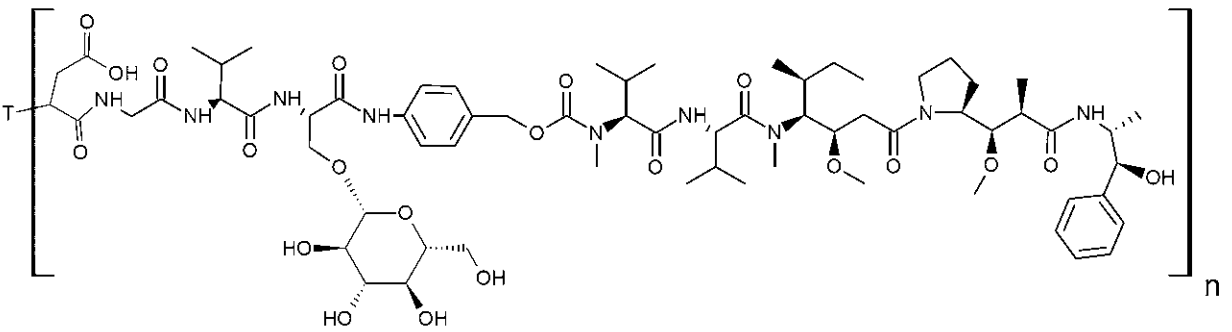
【化 9 7】



20

式 TMsm

【化 9 8】

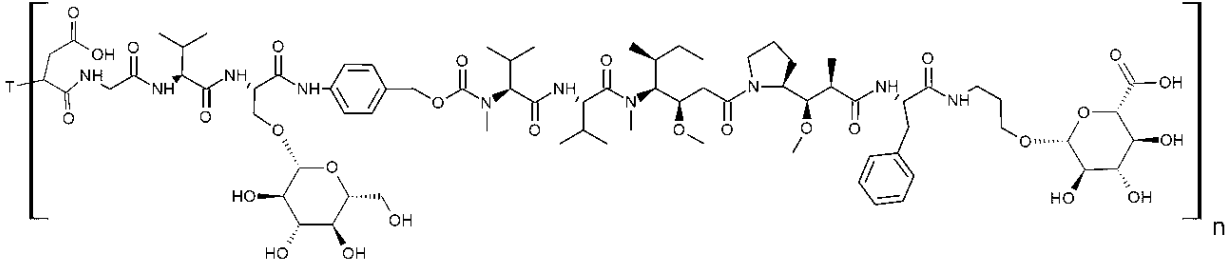


30

式 TMsn

40

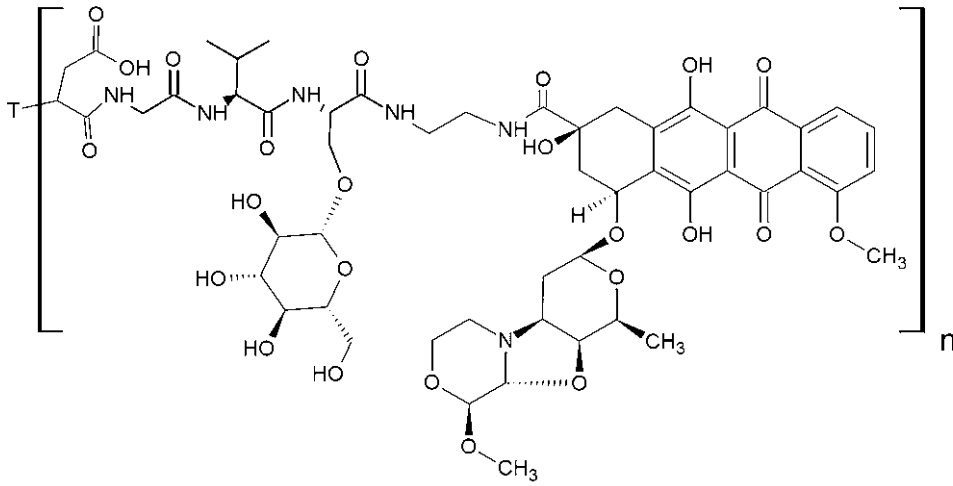
【化 9 9】



式 TMso

10

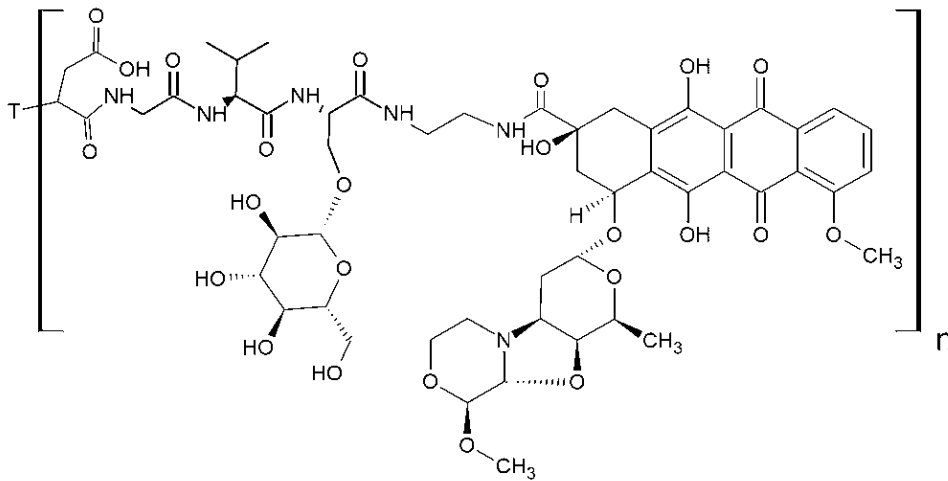
【化 1 0 0】



式 TMsp

20

【化 1 0 1】



式 TMsp'

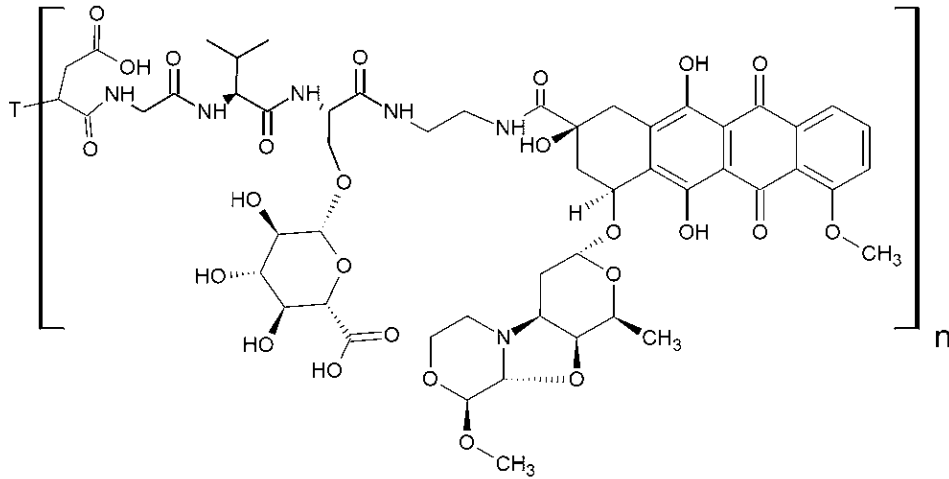
30

40

50



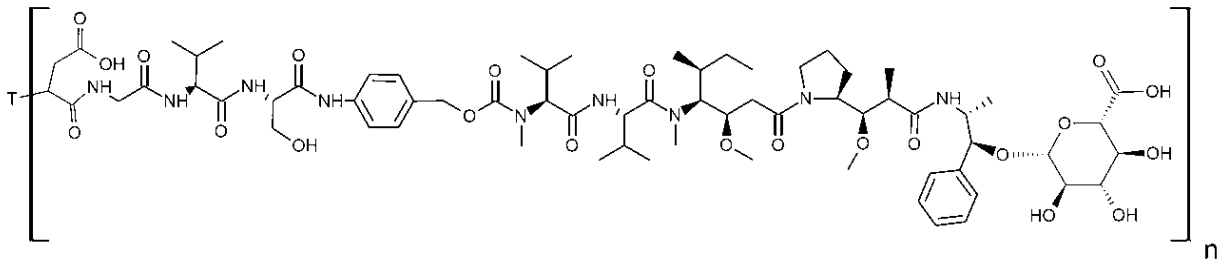
【化 1 0 6】



10

式 TMst'

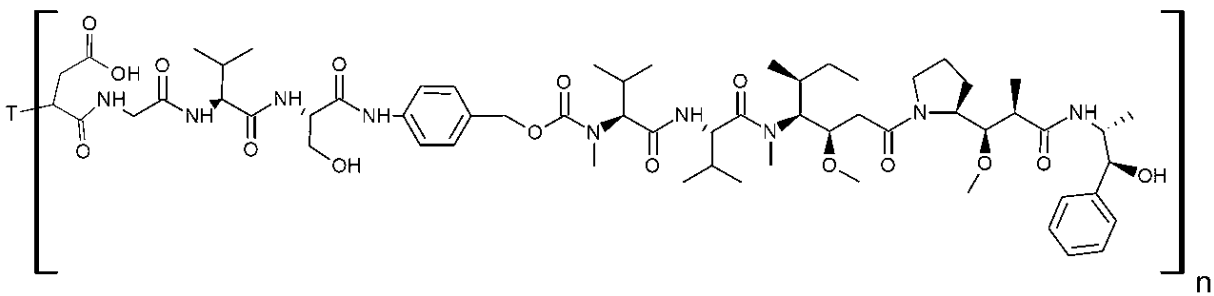
【化 1 0 7】



20

式 TMsu

【化 1 0 8】

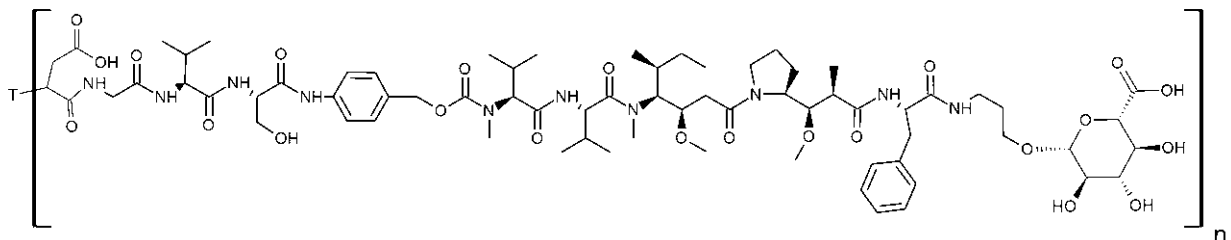


30

式 TMsv

40

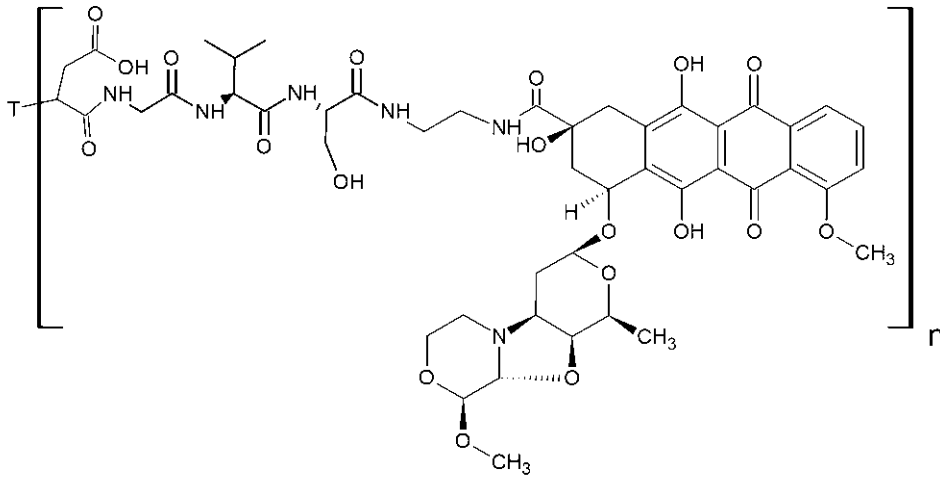
【化 1 0 9】



式 TMsw

50

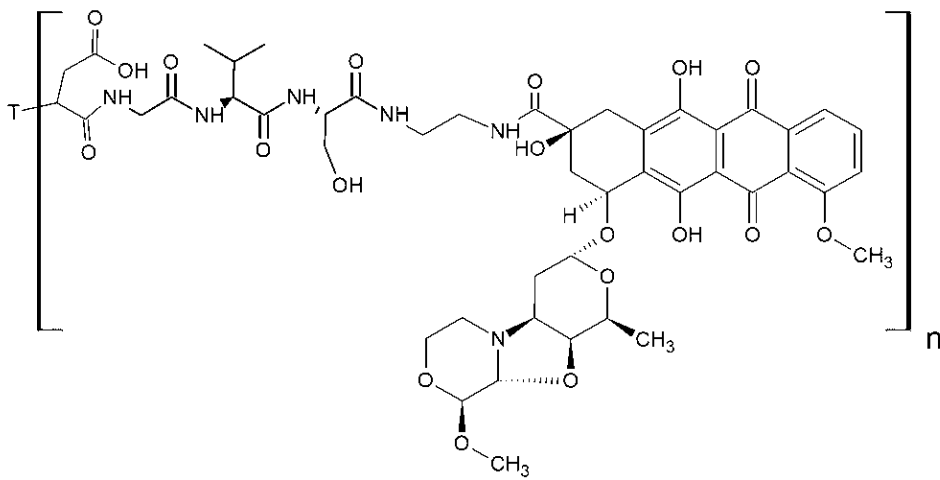
【化 1 1 0】



10

式 TMsx

【化 1 1 1】



20

30

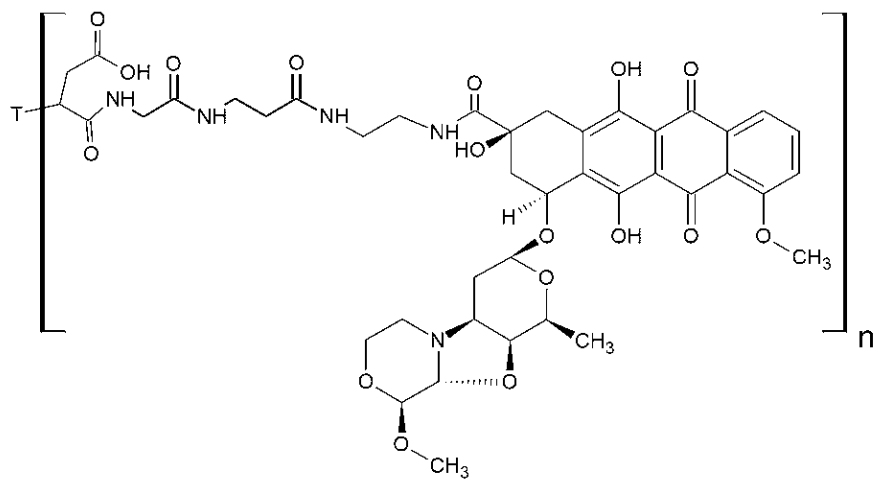
式 TMsx'

40

50



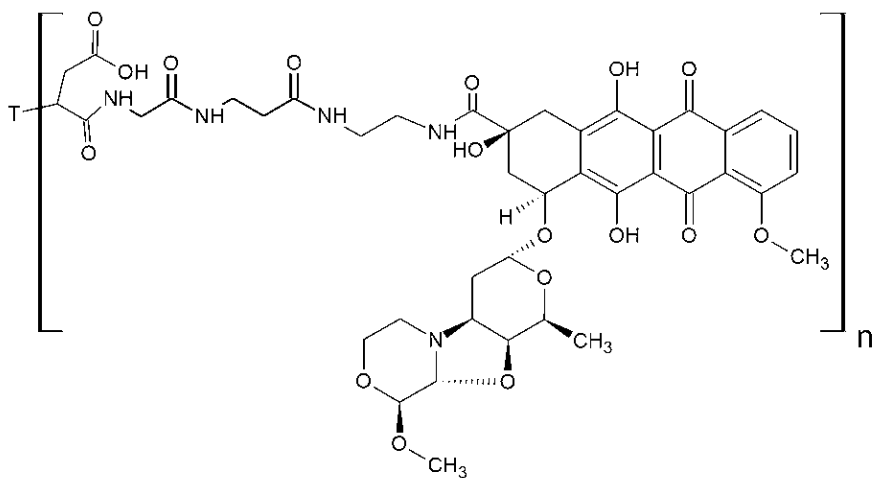
【化 1 1 2】



式 TMsy

10

【化 1 1 3】



式 TMsy'

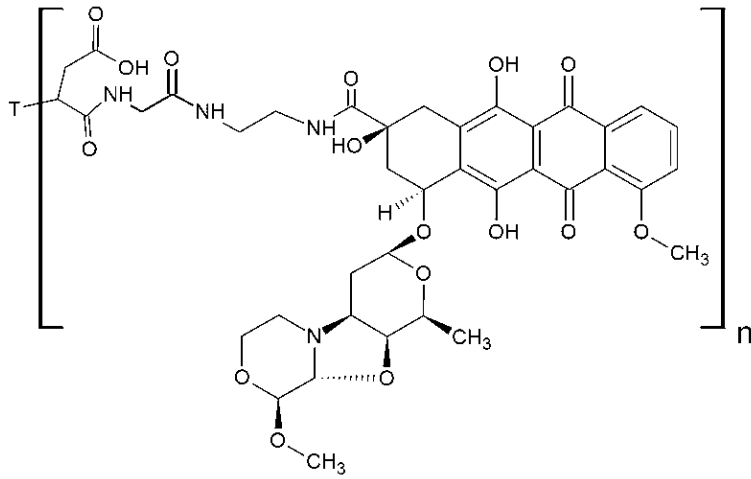
20

30

40

50

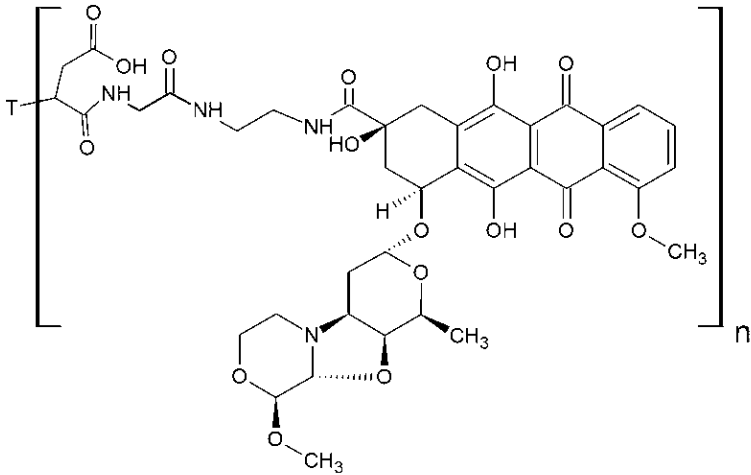
【化 1 1 4】



10

式 TMsz

【化 1 1 5】



20

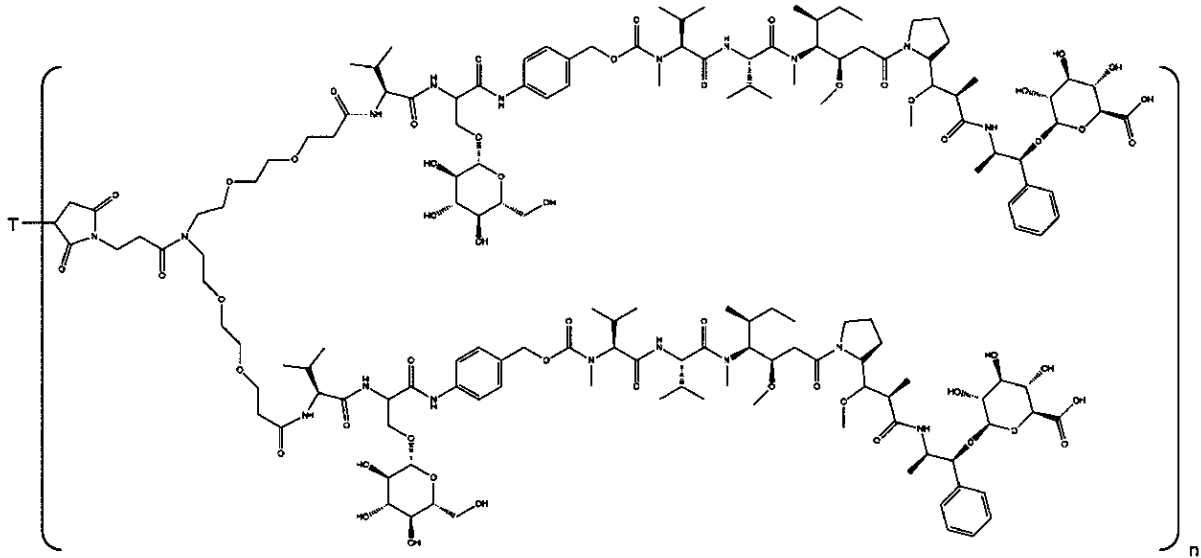
30

式 TMsz'

40

50

【化 1 1 6】



10

式 TMszz

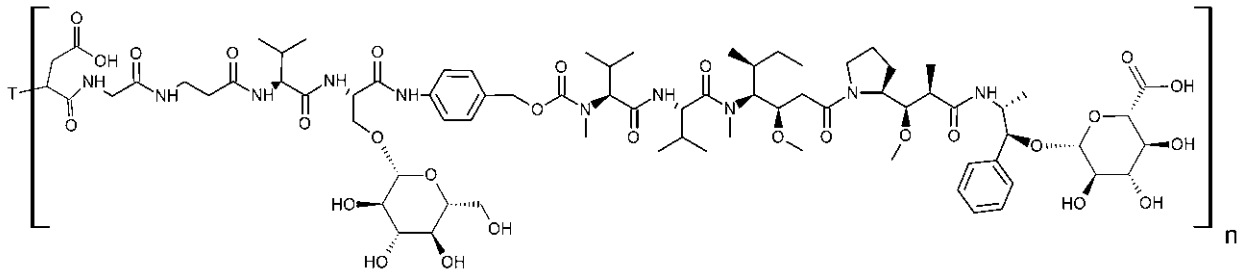
である、請求項 1 から 1 8 のいずれか一項に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロード

20

コンジュゲート。

【請求項 2 0】

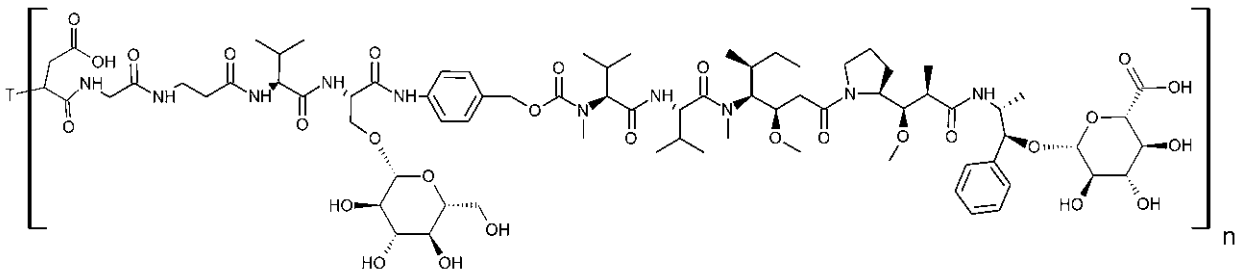
【化 1 1 7】



30

(式中、Tは抗体である)；

【化 1 1 8】

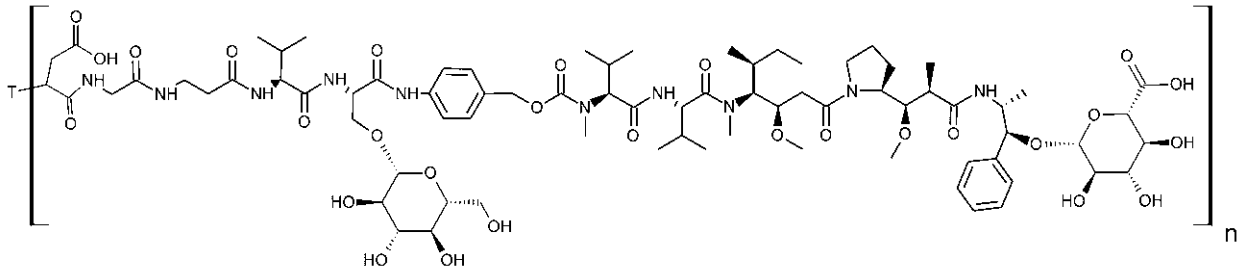


40

(式中、Tは抗体であり、nは8である)；



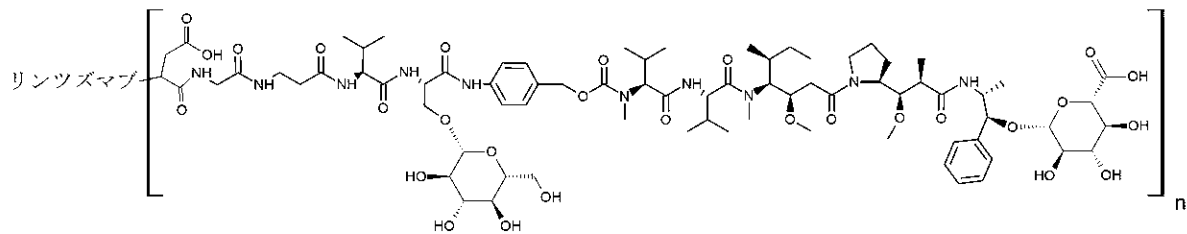
## 【化 1 2 3】



10

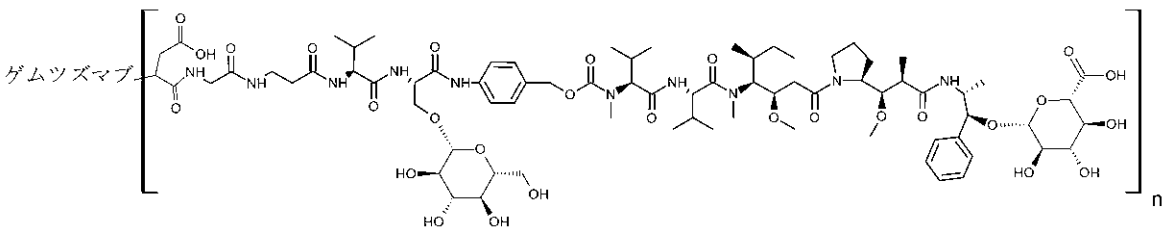
(式中、Tは抗CD33抗体である)；

## 【化 1 2 4】



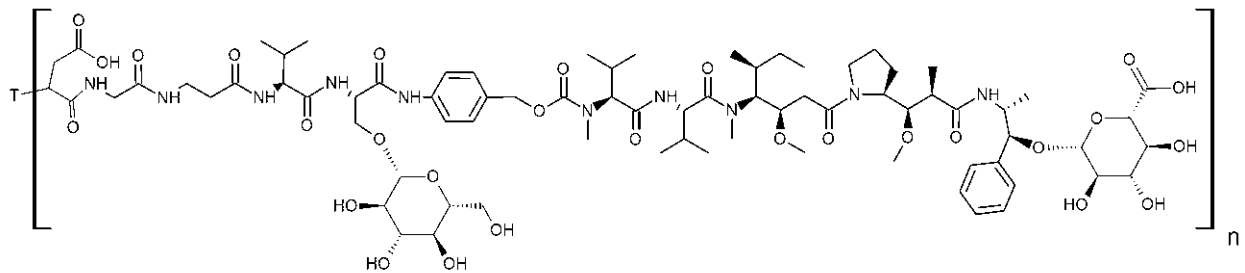
20

## 【化 1 2 5】



30

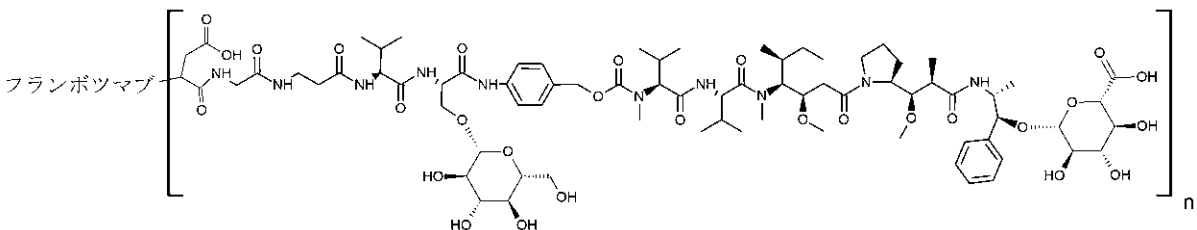
## 【化 1 2 6】



40

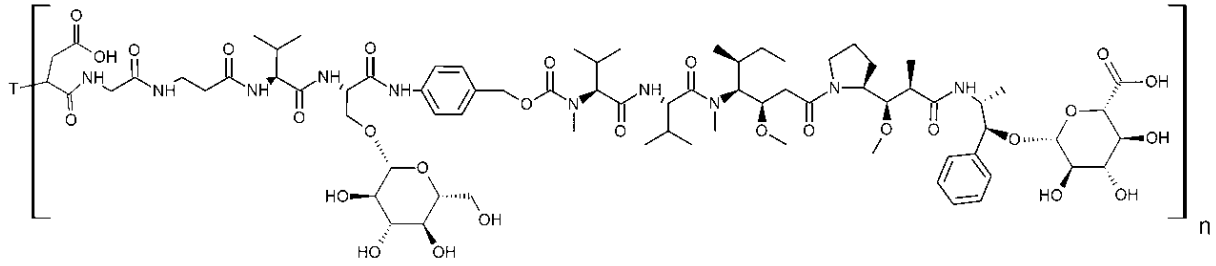
(式中、Tは抗TYRP1抗体である)；

## 【化 1 2 7】



50

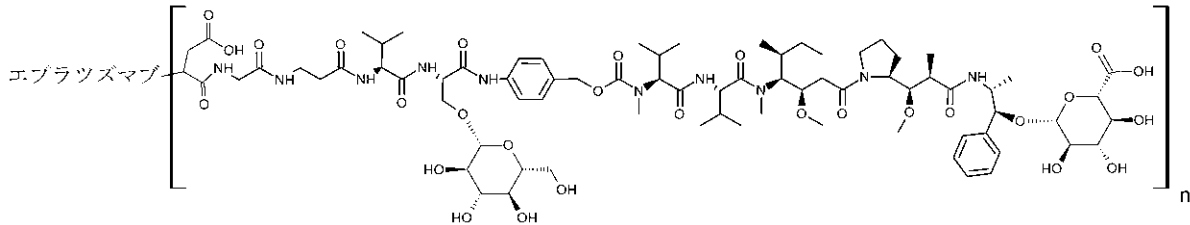
## 【化 1 2 8】



(式中、Tは抗CD22抗体である) ;

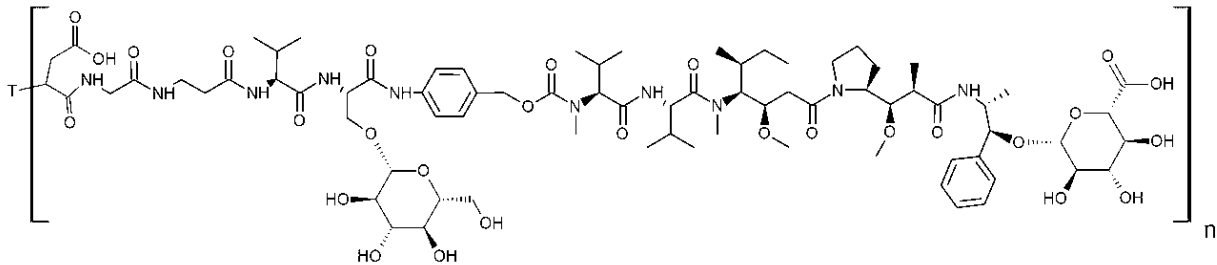
10

## 【化 1 2 9】



## 【化 1 3 0】

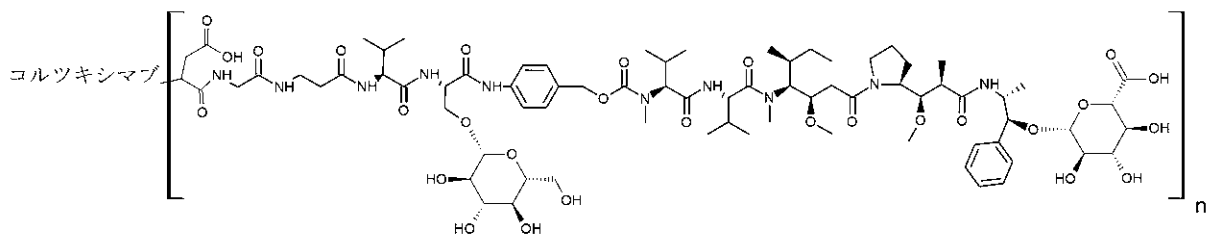
20



(式中、Tは抗CD19抗体である) ;

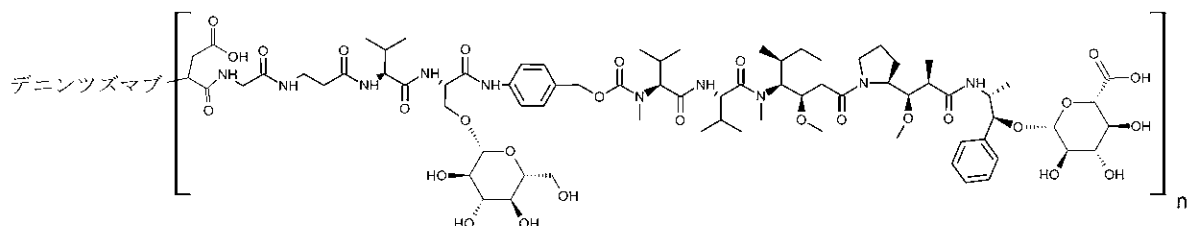
## 【化 1 3 1】

30



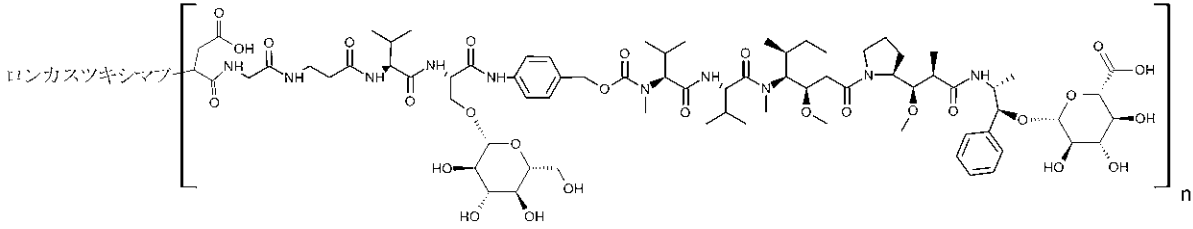
## 【化 1 3 2】

40



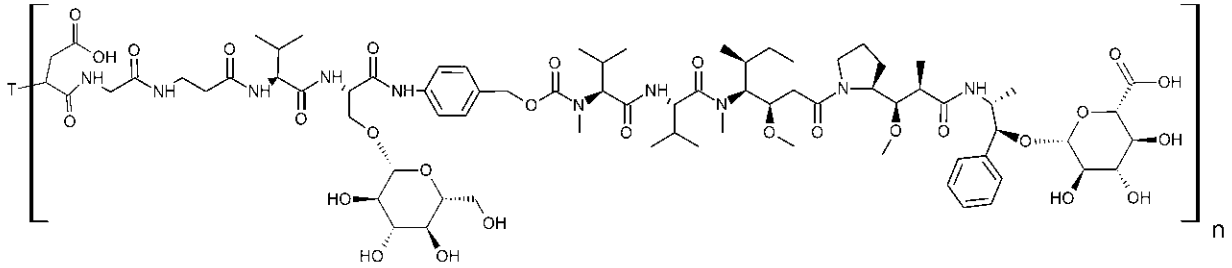
50

【化 1 3 3】



【化 1 3 4】

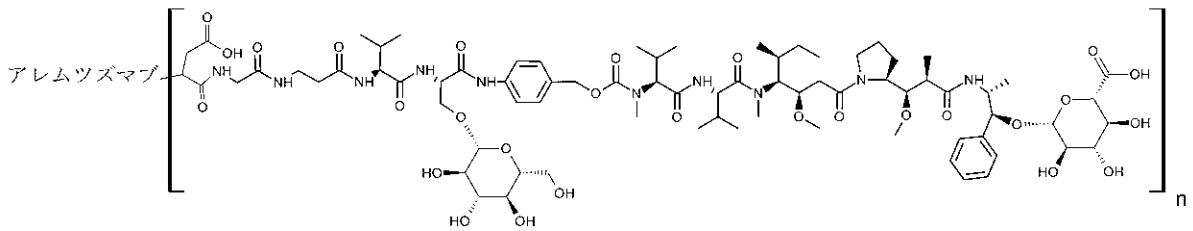
10



( 式中、 T は抗 C D 5 2 抗体である ) ;

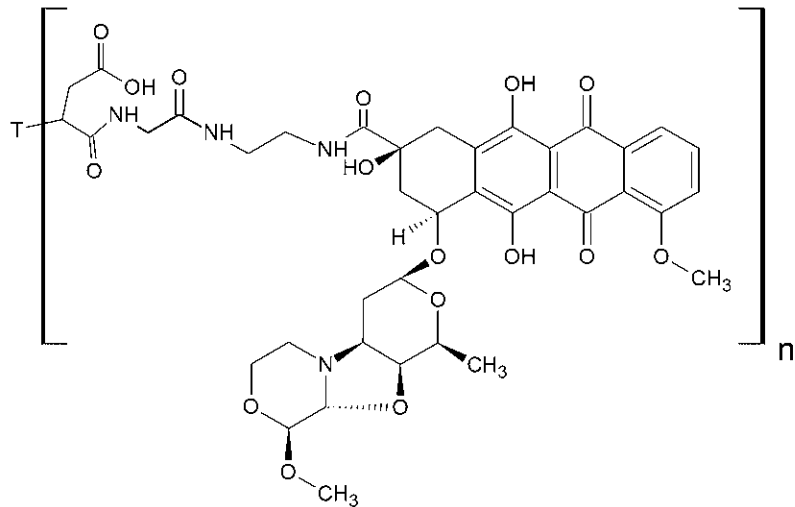
20

【化 1 3 5】



【化 1 3 6】

30

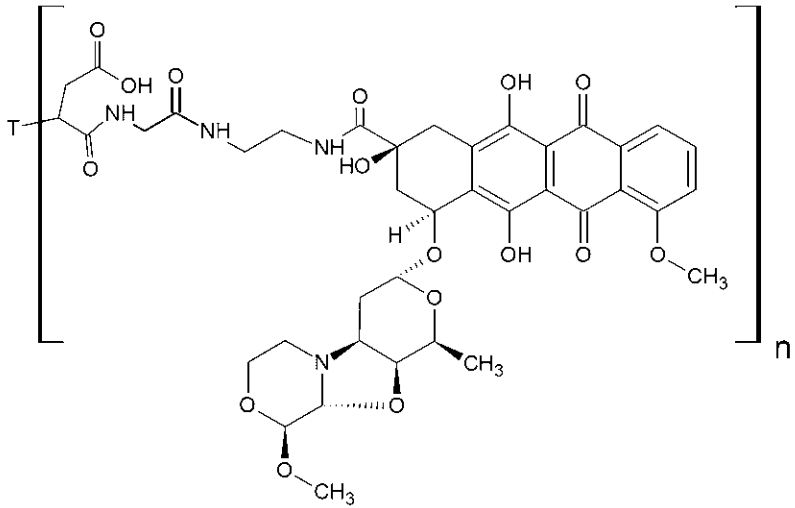


40

( 式中、 T はリンツズマブ H C N 2 9 6 C である ) ;

50

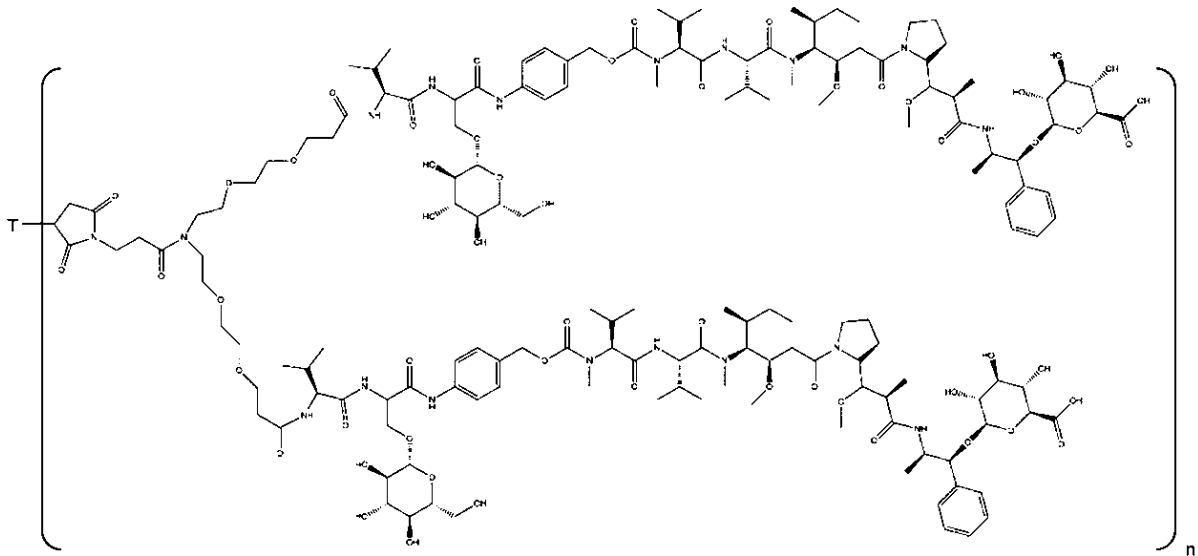
## 【化 1 3 7】



10

(式中、TはリンツズマブHC N296Cである)；

## 【化 1 3 8】

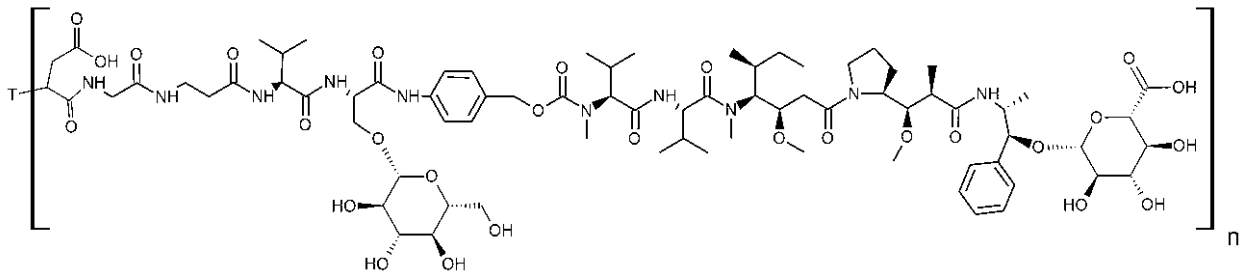


20

30

(式中、Tは、HC置換N296Cを有するシステイン改変リンツズマブである)；

## 【化 1 3 9】

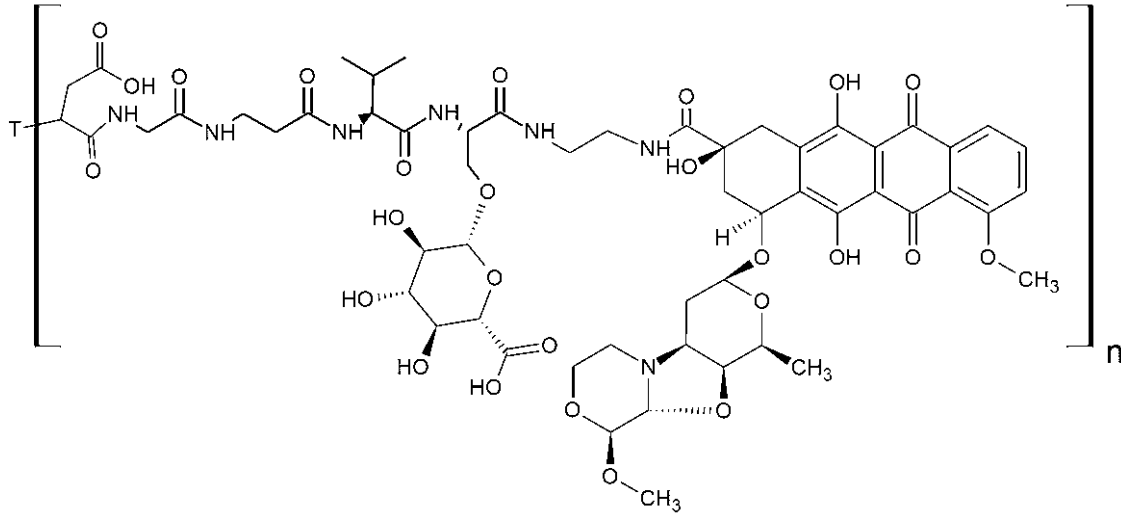


40

(式中、Tは、HC置換N296Cを有するシステイン改変リンツズマブである)；



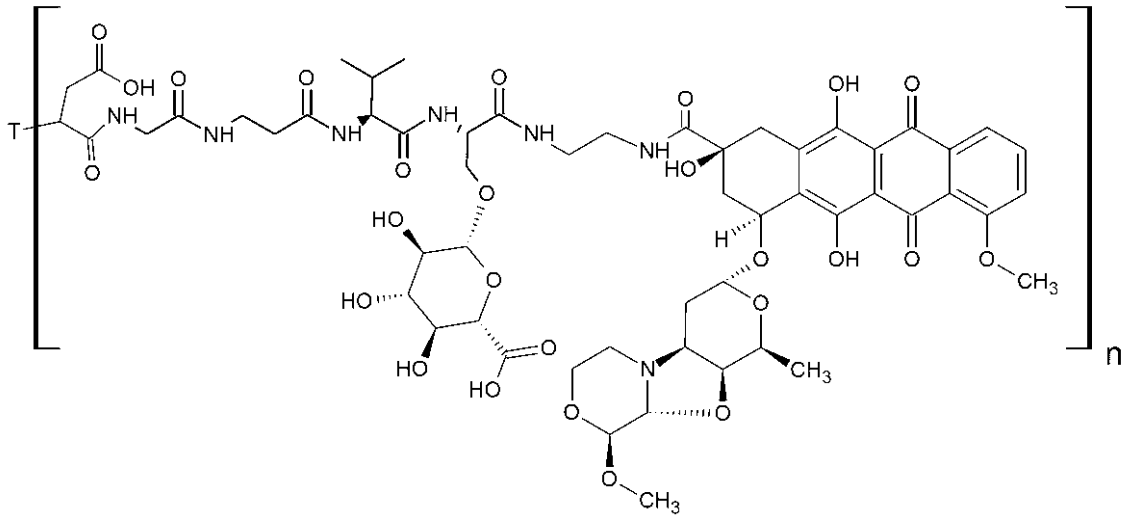
## 【化 1 4 0】



10

(式中、Tは、HC置換N299Cを有するシステイン改変フランボツマブである)；

## 【化 1 4 1】

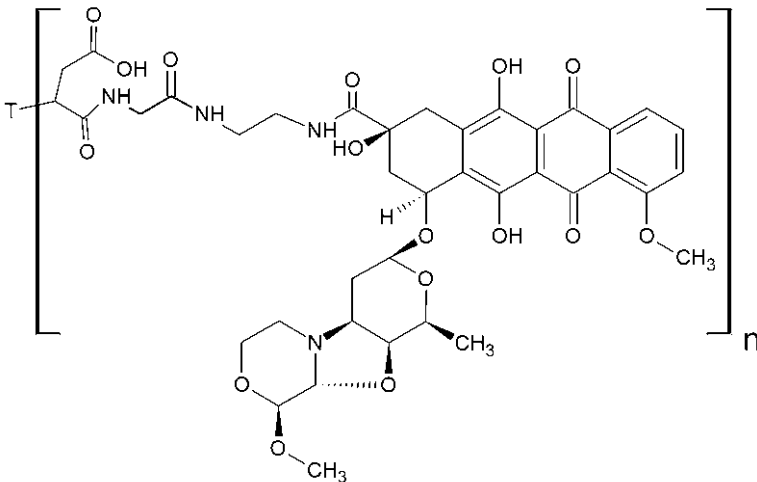


20

30

(式中、Tは、HC置換N299Cを有するシステイン改変フランボツマブである)；

## 【化 1 4 2】

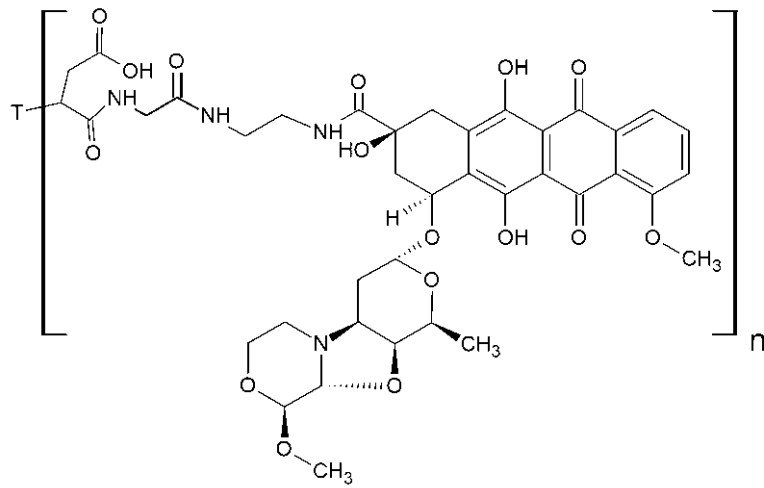


40

50

(式中、Tは抗TYRP1抗体である)；

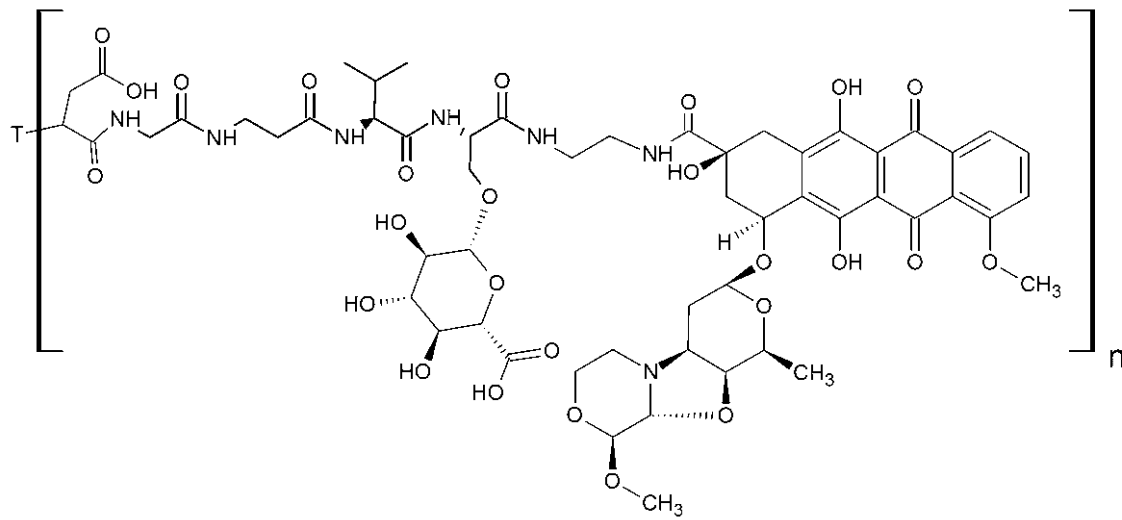
【化143】



10

(式中、Tは抗TYRP1抗体である)；および

【化144】



20

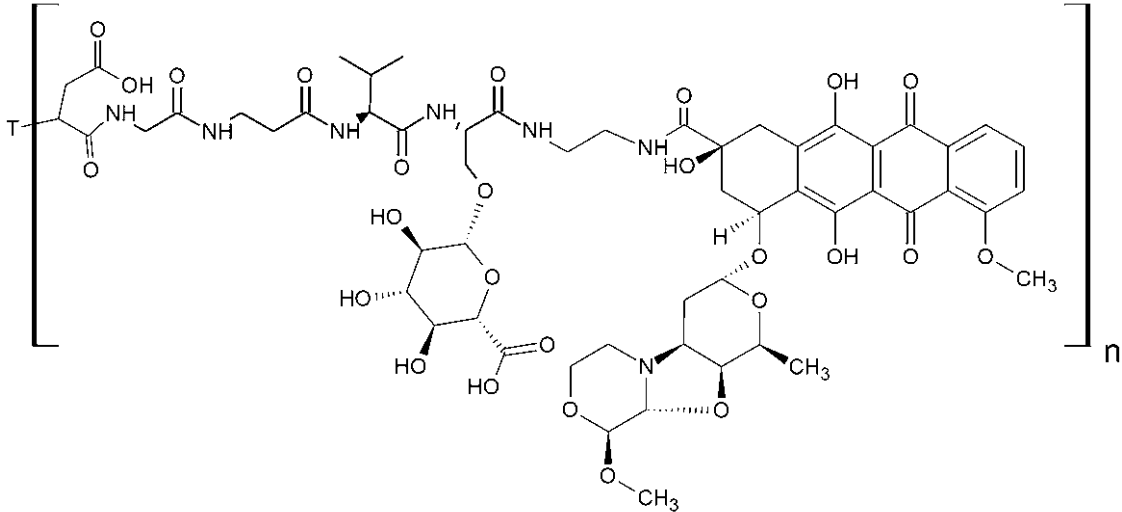
30

(式中、Tは、HC置換N301Cを有するシステイン改変抗体キメラTA99である)

40

50

## 【化 1 4 5】



10

(式中、Tは、HC置換N301Cを有するシステイン改変抗体キメラTA99である)からなる群より選択され；そして

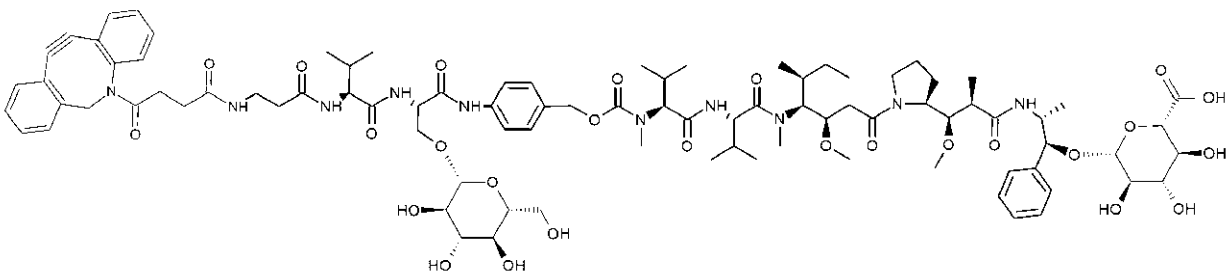
上記式のいずれかにおいて、n 1であるか、nが、1～約20、もしくは1～約15、もしくは1～約10、もしくは2～10、もしくは2～6、もしくは2～5、もしくは2～4の範囲内である；またはnが、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、もしくは20である；またはnが8である、  
標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート。

20

## 【請求項 2 1】

リンカー-ペイロードコンジュゲートまたは標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートであって、前記リンカー-ペイロードコンジュゲートが、式CBa～式CBj

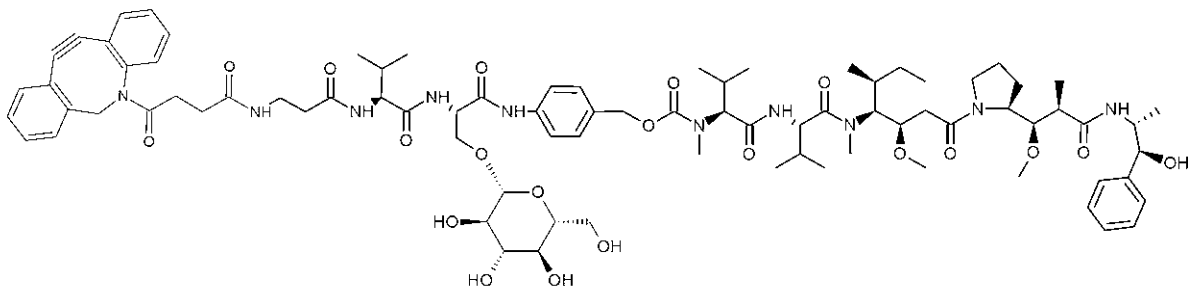
## 【化 1 4 6】



30

式CBa

## 【化 1 4 7】

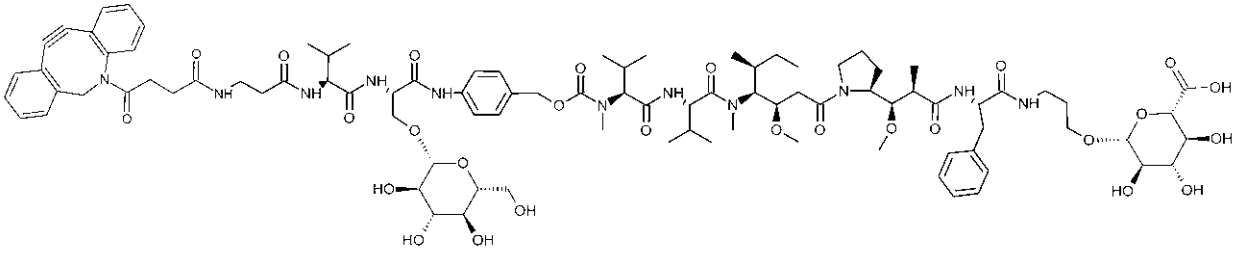


40

式CBb

50

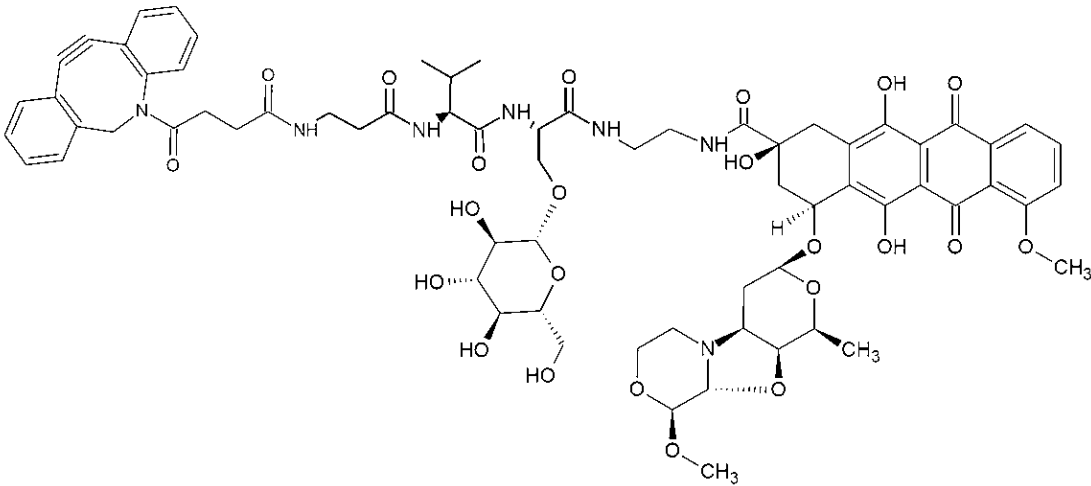
【化 1 4 8】



式 CBe

10

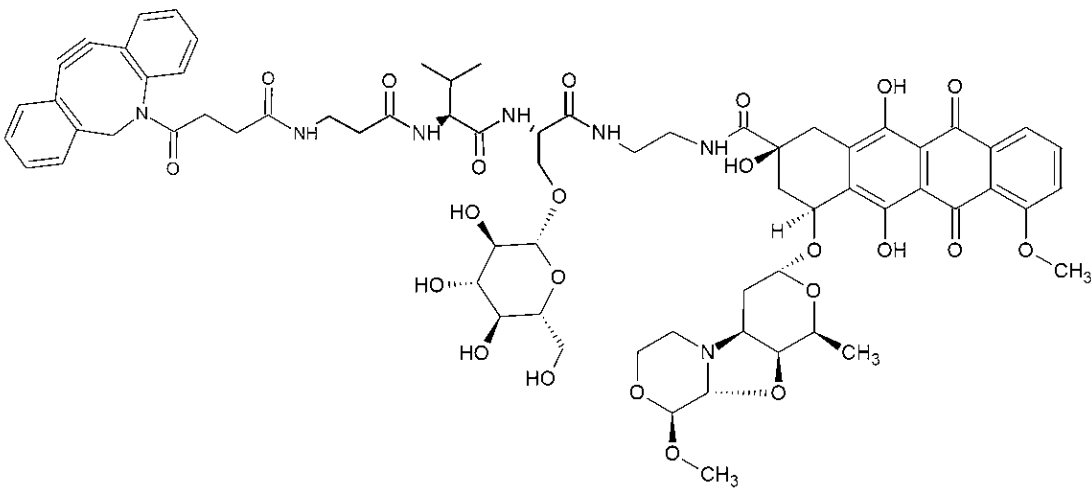
【化 1 4 9】



式 CBd

20

【化 1 5 0】



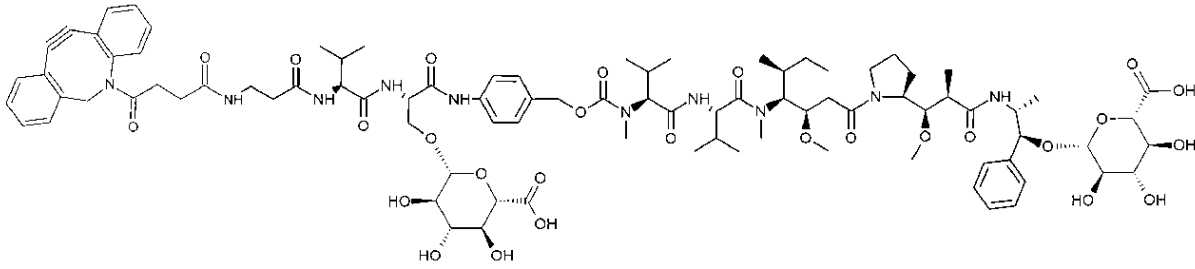
式 CBd'

30

40

50

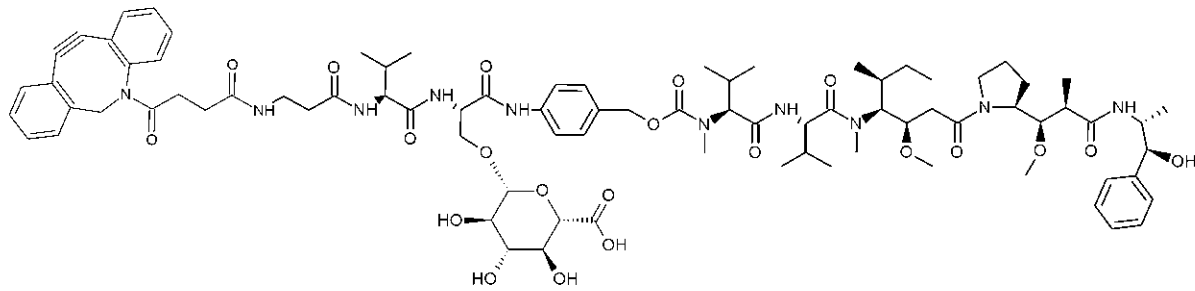
## 【化 1 5 1】



式 CBe

10

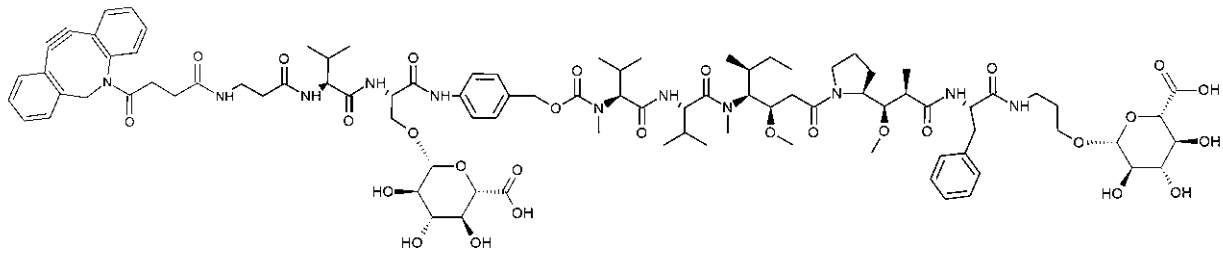
## 【化 1 5 2】



式 CBf

20

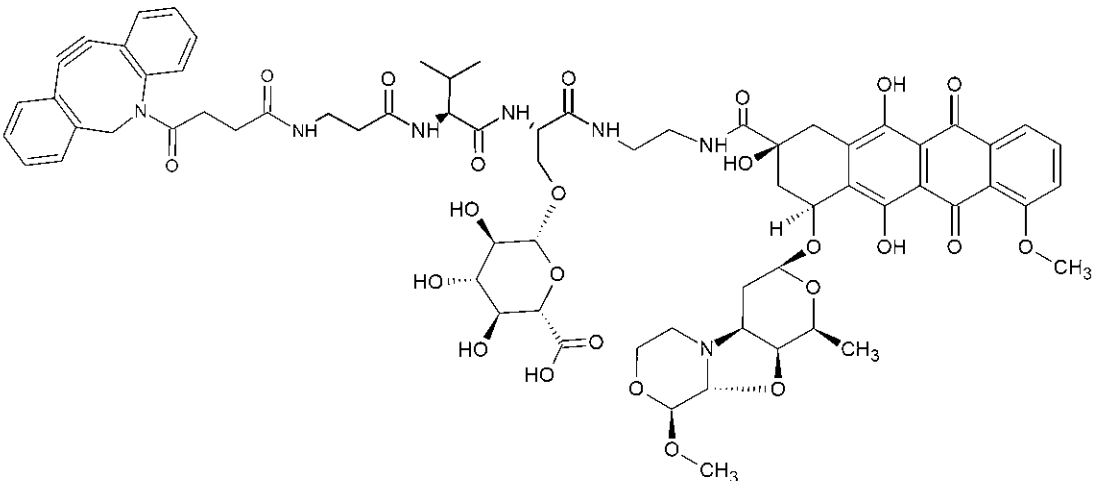
## 【化 1 5 3】



式 CBg

30

## 【化 1 5 4】

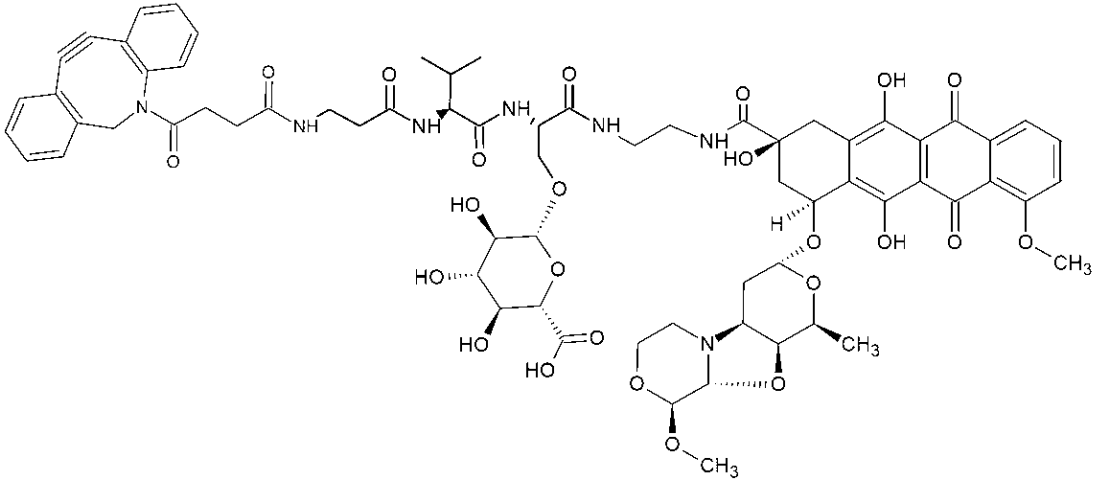


式 CBh

40

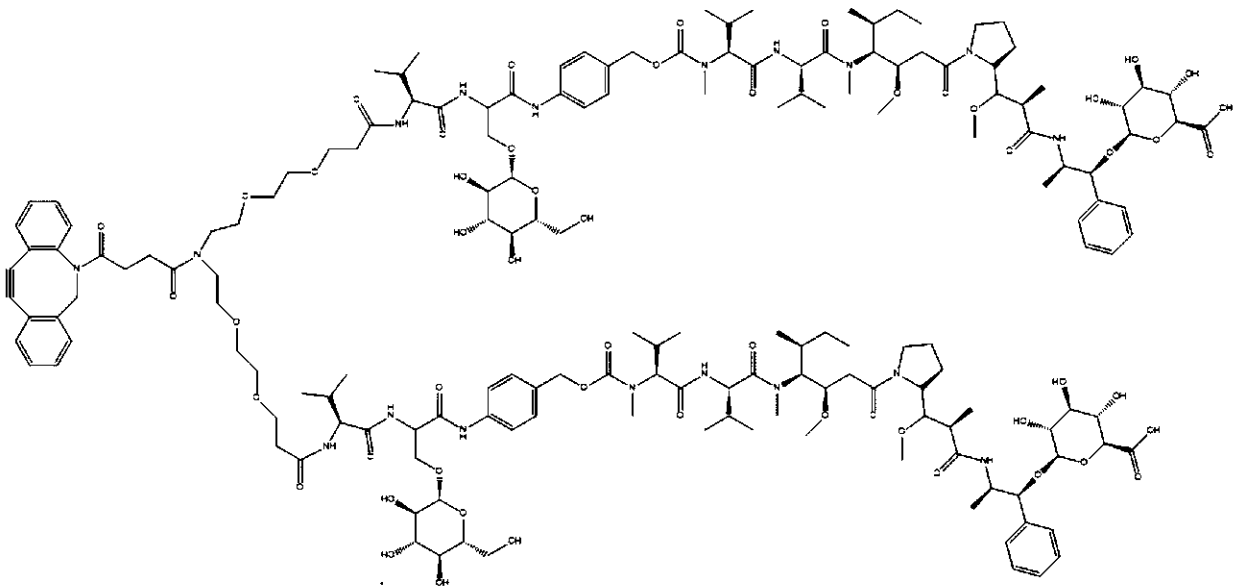
50

【化 1 5 5】



式 CBh'

【化 1 5 6】



式 CBi

10

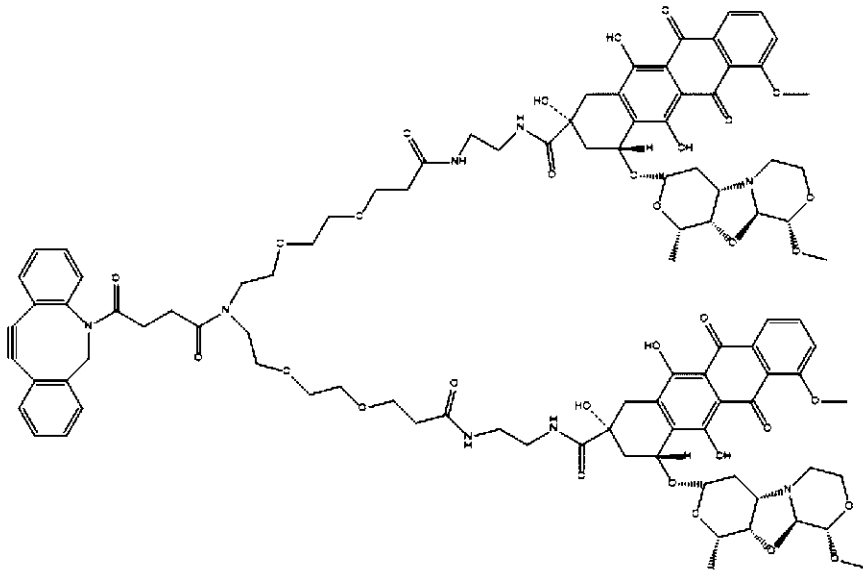
20

30

40

50

【化 1 5 7】



10

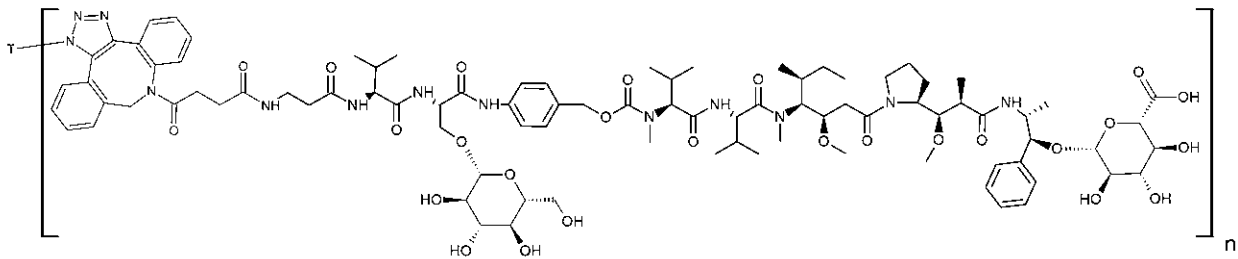
式 CBj

のいずれか1つであるか、前記標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートが、

20

式 T B a ~ 式 T B j

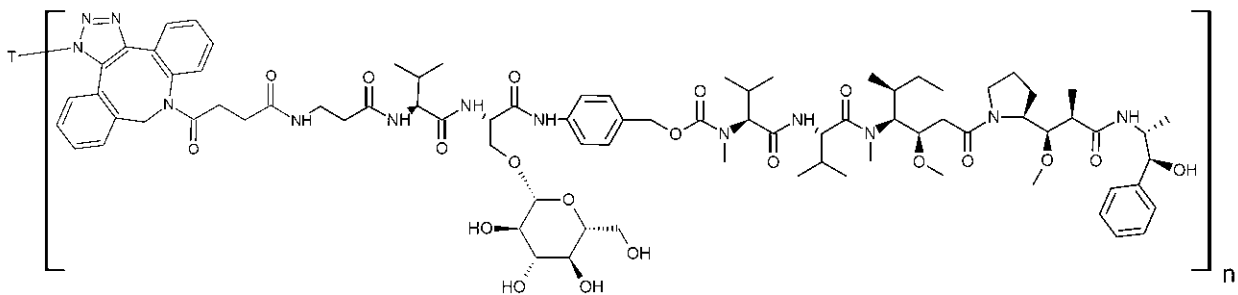
【化 1 5 8】



30

式 TBa

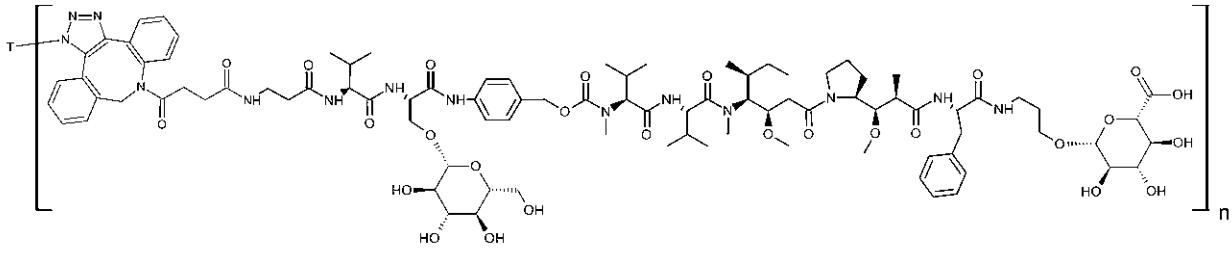
【化 1 5 9】



40

式 TBb

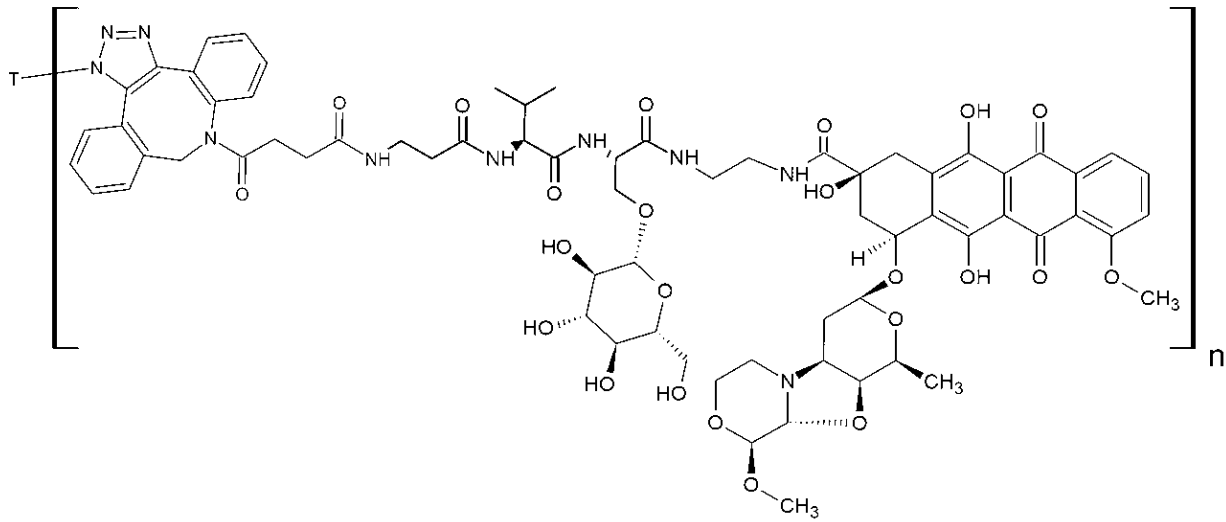
【化 1 6 0】



式 TBe

10

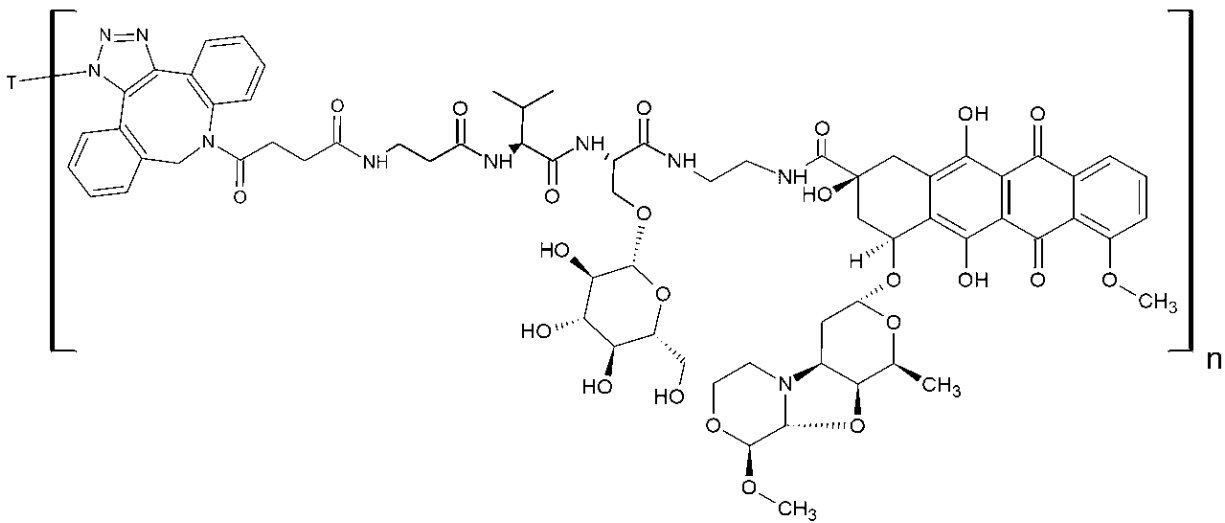
【化 1 6 1】



式 TBd

20

【化 1 6 2】



式 TBd'

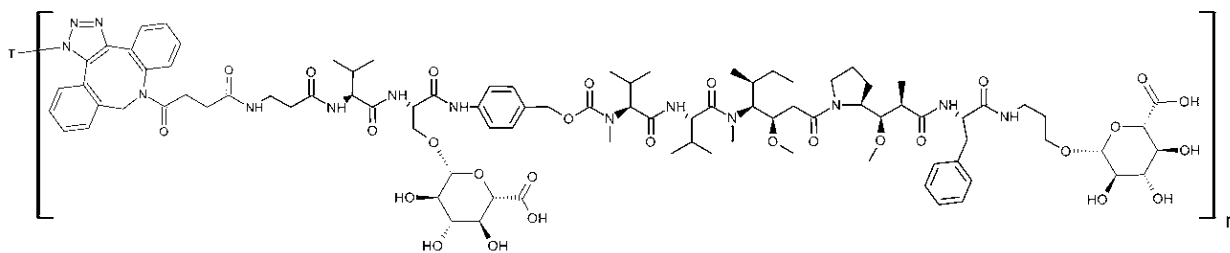
30

40

50



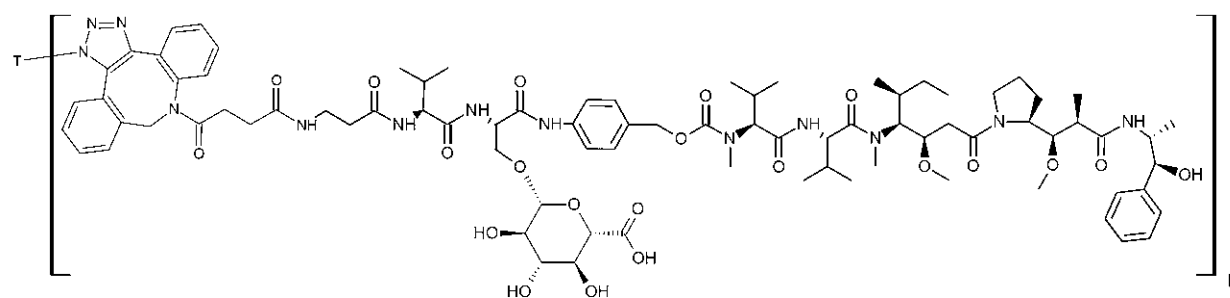
## 【化 1 6 3】



式 TBe

10

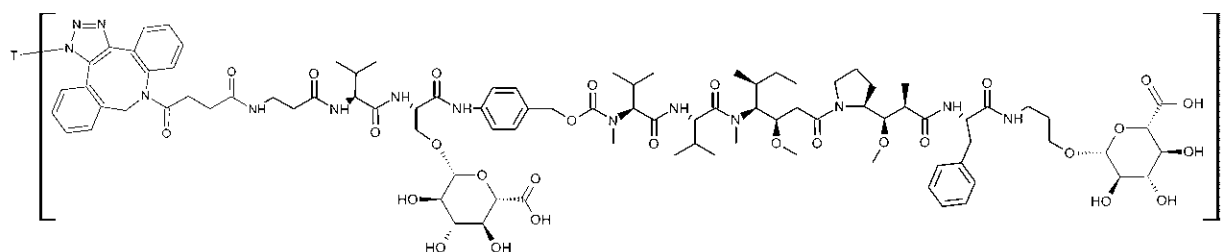
## 【化 1 6 4】



式 TBf

20

## 【化 1 6 5】



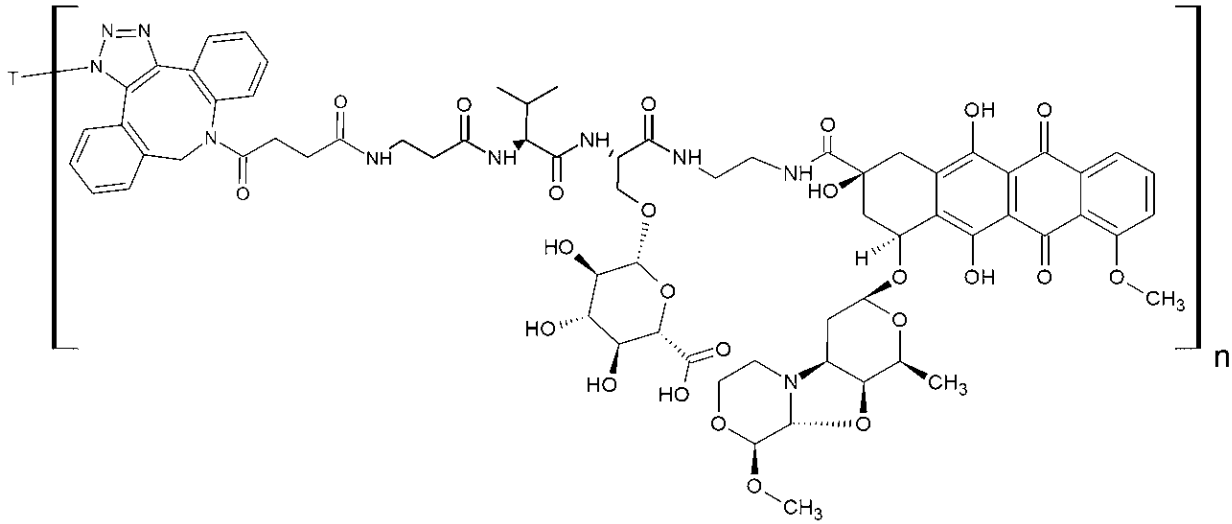
式 TBg

30

40

50

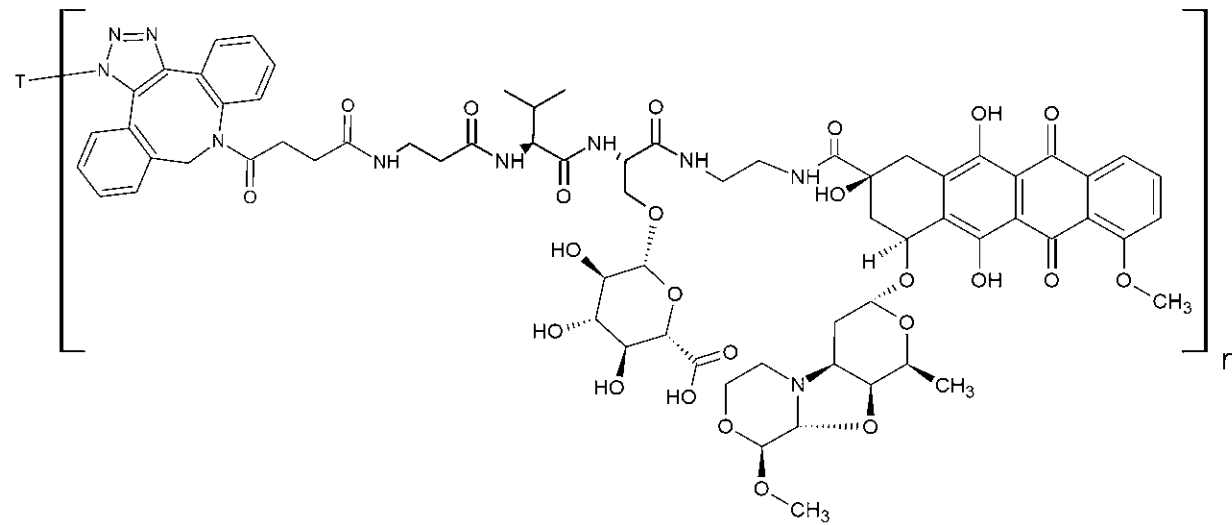
【化 1 6 6】



10

式 TBh

【化 1 6 7】



20

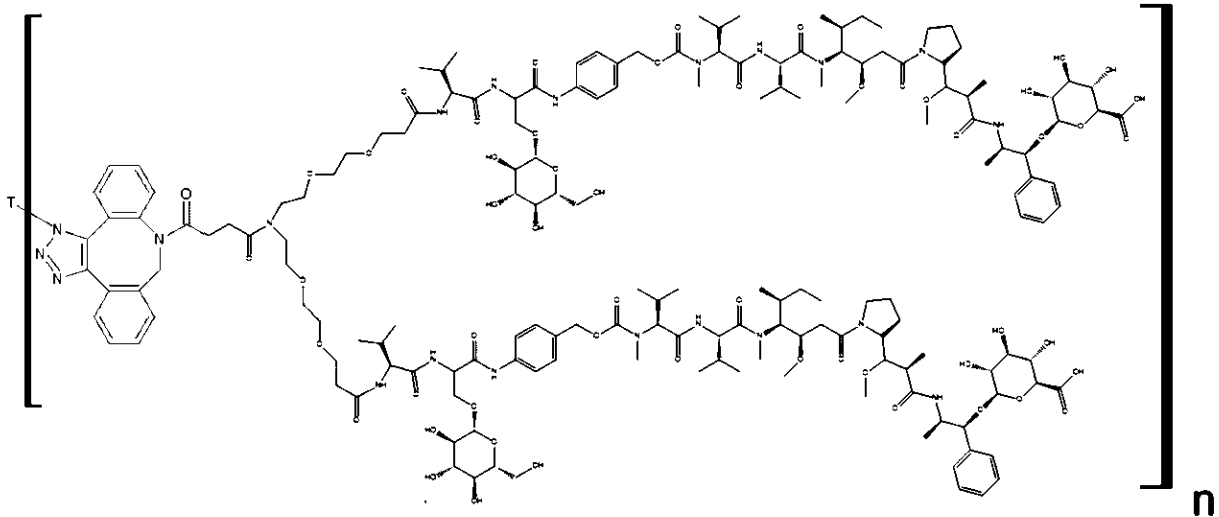
30

式 TBh'

40

50

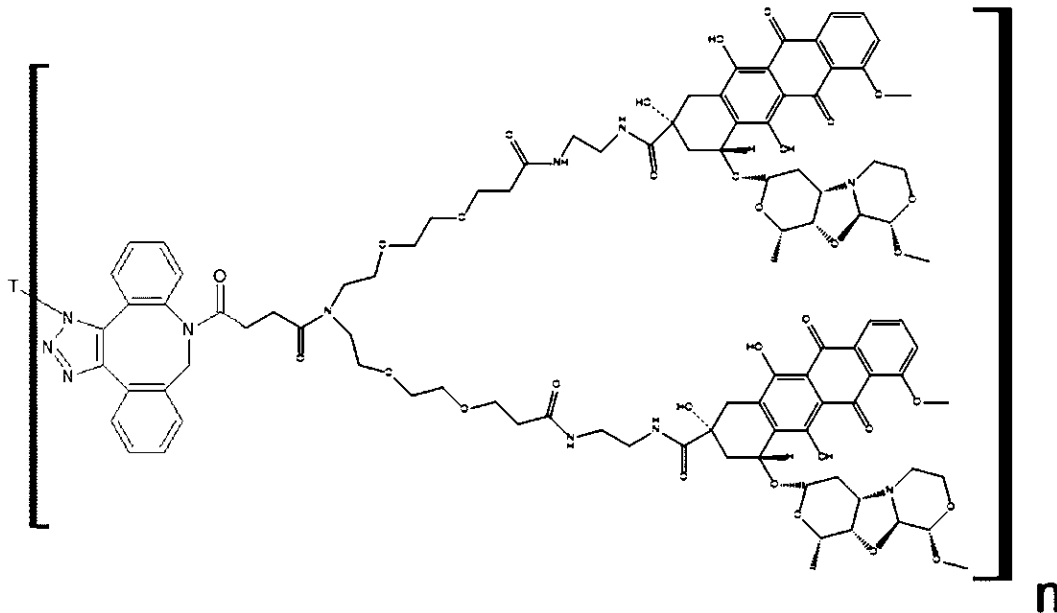
## 【化 1 6 8】



10

式 TBi

## 【化 1 6 9】



20

30

式 TBj

のいずれか 1 つであり、

前記式 T b a ~ 式 T B j のいずれか 1 つにおいて、 $n = 1$  であるか、 $n$  が、1 ~ 約 20、もしくは 1 ~ 約 15、もしくは 1 ~ 約 10、もしくは 2 ~ 10、もしくは 2 ~ 6、もしくは 2 ~ 5、もしくは 2 ~ 4 の範囲内である；または  $n$  が、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、もしくは 20 である；または  $n$  が 8 である、

リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート。

## 【請求項 2 2】

請求項 1 から 2 1 のいずれか一項に記載のリンカー - ペイロードコンジュゲートを標的ユニット、例えば抗体に、および場合によってはリンカーを介してコンジュゲートするこ

40

50

とを含む、請求項 1 から 2 1 のいずれか一項に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートを調製するための方法。

【請求項 2 3】

請求項 1 から 2 1 のいずれか一項に記載のリンカー - ペイロードコンジュゲート、請求項 1 から 2 1 のいずれか一項に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート、または請求項 2 2 の方法により得ることが可能な標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートを含む、医薬組成物。

【請求項 2 4】

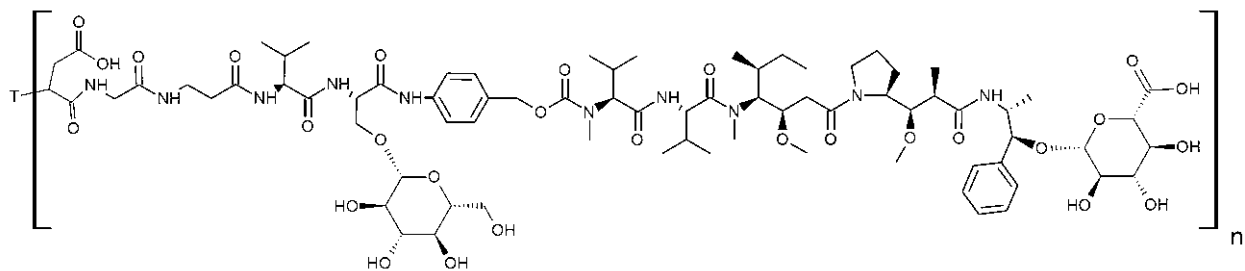
薬物対抗体比が 1、または 1 ~ 約 2 0、もしくは 1 ~ 約 1 5、もしくは 1 ~ 約 1 0、もしくは 2 ~ 1 0、もしくは 2 ~ 6、もしくは 2 ~ 5、もしくは 2 ~ 4 の範囲内；または約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 1 0、約 1 1、約 1 2、約 1 3、約 1 4、約 1 5、約 1 6、約 1 7、約 1 8、約 1 9、もしくは約 2 0；または約 1 ~ 約 8、もしくは約 6 ~ 約 8 である、請求項 2 3 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 2 5】

前記標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートが、以下の式

【化 1 7 0】



20

(式中、nは、1 ~ 約 2 0、もしくは 1 ~ 約 1 5、もしくは 1 ~ 約 1 0、もしくは 2 ~ 1 0、もしくは 2 ~ 6、もしくは 2 ~ 5、もしくは 2 ~ 4 の範囲内である；または n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、もしくは 2 0 である；または n は 8 である)

により表される標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートである、請求項 2 3 または 2 4 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 2 6】

薬物対抗体比が約 7 . 5 ~ 8 . 4、または約 7 . 8 ~ 8 . 1 の範囲内である、請求項 2 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 7】

医薬品としての使用のためまたは癌の処置における使用のための、請求項 2 から 2 1 のいずれか一項に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは請求項 2 3 から 2 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 8】

癌の前記処置が、アカラブルチニブ、三酸化ニヒ素、アシミニブ塩酸塩、アキシカブタゲンシロルユーセル、アザシチジン、ベリノスタット、ベンダムスチン塩酸塩、プレオマイシン硫酸塩、ボルテゾミブ、ボスチニブ、プレクスカブタジェンアウトルーセル、ブスルファン、カルムスチン、クロラムブシル、クラドリピン、クロファラビン、コパンリシブ塩酸塩、クリゾチニブ、シクロホスファミド、シタラピン、ダカルバジン、ダサチニブ、ダウノルピシン塩酸塩、デニロイキンジフチトクス、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、デュベリシブ、エナシデニブメシル酸塩、リン酸フルダラビン、ギルテリチニブフマル酸塩、グラスデギブマレイン酸塩、ヒドロキシ尿素、イブルチニブ、イダルピシン塩酸塩、イデラリシブ、イマチニブメシル酸塩、イボシデニブ、レナリドミド、リソカブタゲンマラルユーセル、ロムスチン、メルカプトプリン、メトトレキサートナトリウム、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、ネララビン、ニロチニブ、ニボルマブ、オマ

40

50

セタキシメペスクシナート、プレリキサフォル、ポナチニブ塩酸塩、プララトレキサート、プレドニゾン、プロカルバジン塩酸塩、組換えインターフェロナルファ - 2 b、リツキシマブ、ロミデプシン、セリネクス、タファシタマブ - c x i x、タグラクソフスブ - e r z s、タゼメトスタット臭化水素酸塩、チオグアニン、チサゲンレクルユーセル、ウムブラリシプトシル酸塩、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックス、ピンラスチン硫酸塩、ポリノスタット、ザヌブルチニブ、ギルテリチニブ、キザルチニブ、クレノラニブおよびソラフェニブからなる群より選択される抗癌剤を投与することをさらに含む、請求項 27 に記載の使用のための標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは医薬組成物。

【請求項 29】

前記標的ユニットが、CD 19、CD 22、CD 33、CD 52 および CD 123 からなる群より選択される標的分子を結合することができる抗体であり、前記標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは医薬組成物が、FLT 3 阻害剤、IDH 1 阻害剤、IDH 2 阻害剤、BCL 2 阻害剤、KRAS 阻害剤、NRAS 阻害剤または MEK 1 / 2 阻害剤と組み合わせて投与される、請求項 27 または 28 に記載の使用のための標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは医薬組成物。

【請求項 30】

前記 FLT 3 阻害剤が、ミドスタウリン、ギルテリチニブフマル酸塩、キザルチニブ、クレノラニブ、スニチニブ、ポナチニブおよびソラフェニブからなる群より選択され、前記 MEK 1 / 2 阻害剤が、トラメチニブ、コビメチニブ、セルメチニブもしくはビニメチニブであり、前記 IDH 1 / IDH 2 阻害剤が、エナシデニブもしくはイボシデニブであり、前記 BCL 2 阻害剤が、ベネトクラクス、ナビトクラックスもしくはオバトクラックスであり、ならびに / または前記 KRAS 阻害剤が、ソトラシブもしくはアダグラシブである、請求項 29 に記載の使用のための標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは医薬組成物。

【請求項 31】

三酸化ニヒ素、アザシチジン、ダウノルピシン塩酸塩、シクロホスファミド、シタラビン、グラスデギブマレイン酸塩、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、ミドスタウリン、ギルテリチニブフマル酸塩、キザルチニブ、クレノラニブ、スニチニブ、ポナチニブ、ソラフェニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、ソトラシブ、アダグラシブ、エトポシド塩酸塩、ゲムツズマブオゾガマイシン、イダルピシン塩酸塩、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、プレドニゾン、チオグアニン、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックスまたはピンクリスチン硫酸塩と組み合わせて投与される、請求項 27 から 30 のいずれか一項に記載の使用のための標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは医薬組成物。

【請求項 32】

前記癌が、白血病、リンパ腫、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、結腸直腸癌、胃癌、扁平上皮癌、小細胞肺癌、頭頸部癌、多剤耐性癌、グリオーマ、メラノーマおよび精巣癌からなる群より選択される、請求項 27 から 31 のいずれか一項に記載の使用のための標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは医薬組成物。

【請求項 33】

ヒトまたは動物における腫瘍細胞を処置および / またはその増殖を調節および / または予防する方法であって、請求項 1 から 32 のいずれか一項に記載のリンカー - ペイロードコンジュゲート、請求項 1 から 32 のいずれか一項に記載の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート、または請求項 23 ~ 26 のいずれか一項に記載の医薬組成物が、有効量でヒトまたは動物に投与される、方法。

【請求項 34】

さらに、アカラブルチニブ、三酸化ニヒ素、アシミニブ塩酸塩、アキシカブタゲンシロルユーセル、アザシチジン、ベリノスタット、ベンダムスチン塩酸塩、プレオマイシン硫酸塩、ボルテゾミブ、ボスチニブ、プレクスカブタジェンアウトルーセル、ブスルファン

10

20

30

40

50

、カルムスチン、クロラムブシル、クラドリピン、クロファラビン、コパンリシブ塩酸塩、クリゾチニブ、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダサチニブ、ダウノルピシン塩酸塩、デニロイキンジフチトクス、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、デュベリシブ、エナシデニブメシル酸塩、リン酸フルダラビン、ギルテリチニブフマル酸塩、グラスデギブマレイン酸塩、ヒドロキシ尿素、イブルチニブ、イダルピシン塩酸塩、イデラリシブ、イマチニブメシル酸塩、イボシデニブ、レナリドミド、リソカブタゲンマラルユーセル、ロムスチン、メルカプトプリン、メトトレキサートナトリウム、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、ネララビン、ニロチニブ、ニボルマブ、オマセタキシンメペスクシナート、プレリキサフォル、ポナチニブ塩酸塩、プララトレキサート、プレドニゾン、プロカルバジン塩酸塩、組換えインターフェロンアルファ - 2 b、リツキシマブ、ロミデプシン、セリネクソル、タファシタマブ - c x i x、タグラクソフスブ - e r z s、タゼメトスタット臭化水素酸塩、チオグアニン、チサゲンレクルユーセル、ウムブラリシプトシル酸塩、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックス、ピンブラスチン硫酸塩、ポリノスタット、ザヌブルチニブ、ギルテリチニブ、キザルチニブ、クレノラニブおよびソラフェニブからなる群より選択される抗癌剤を投与することをさらに含む、請求項 3 3 に記載のヒトまたは動物における腫瘍細胞を処置および / またはその増殖を調節および / または予防する方法。

10

【請求項 3 5】

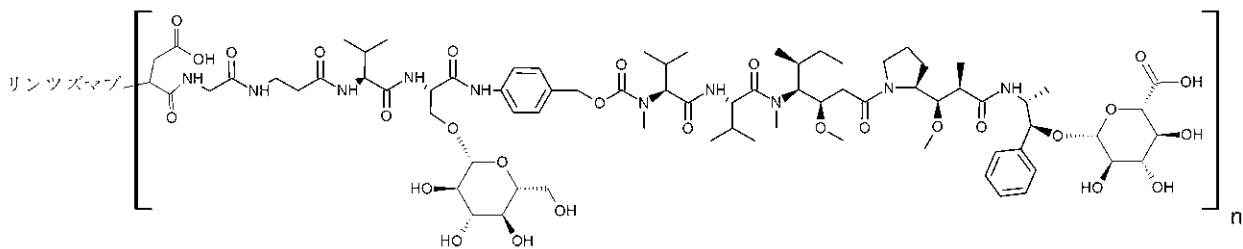
前記標的ユニットが、C D 1 9、C D 2 2、C D 3 3、C D 5 2 および C D 1 2 3 からなる群より選択される標的分子を結合することができる抗体であり、前記標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートが、F L T 3 阻害剤、I D H 1 阻害剤、I D H 2 阻害剤、B C L 2 阻害剤、K R A S 阻害剤、N R A S 阻害剤または M E K 1 / 2 阻害剤と組み合わせて投与される、請求項 3 3 または 3 4 に記載のヒトまたは動物における腫瘍細胞を処置および / またはその増殖を調節および / または予防する方法。

20

【請求項 3 6】

式 L N A u M

【化 1 7 1】



30

式 LNAuM

(式中、n は 8 である) の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートが、F L T 3 阻害剤、I D H 1 阻害剤、I D H 2 阻害剤、B C L 2 阻害剤、K R A S 阻害剤、N R A S 阻害剤または M E K 1 / 2 阻害剤と組み合わせて投与される、請求項 3 3 から 3 5 のいずれか一項に記載のヒトまたは動物における腫瘍細胞を処置および / またはその増殖を調節および / または予防する方法。

40

【請求項 3 7】

前記 F L T 3 阻害剤が、ミドスタウリン、ギルテリチニブフマル酸塩、キザルチニブ、クレノラニブ、スニチニブ、ポナチニブおよびソラフェニブからなる群より選択され、前記 M E K 1 / 2 阻害剤が、トラメチニブ、コビメチニブ、セルメチニブもしくはビニメチニブであり、前記 I D H 1 / I D H 2 阻害剤が、エナシデニブもしくはイボシデニブであり、前記 B C L 2 阻害剤が、ベネトクラクス、ナビトクラックスもしくはオバトクラックスであり、ならびに / または前記 K R A S 阻害剤が、ソトラシブもしくはアダグラシブである、請求項 3 5 から 3 6 のいずれか一項に記載のヒトまたは動物における腫瘍細胞を処

50

置および/またはその増殖を調節および/または予防する方法。

【請求項 38】

式 L N A u M の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートが、三酸化ニヒ素、アザシチジン、ダウノルピシン塩酸塩、シクロホスファミド、シタラビン、グラスデギブマレイン酸塩、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、ミドスタウリン、ギルテリチニブフマル酸塩、キザルチニブ、クレノラニブ、スニチニブ、ポナチニブ、ソラフェニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、ソトラシブ、アダグラシブ、エトポシド塩酸塩、ゲムツズマブオゾガマイシン、イダルピシン塩酸塩、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、プレドニゾン、チオグアニン、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックスまたはピンクリスチン硫酸塩と組み合わせて投与される、請求項 36 または 37 に記載の

10

【請求項 39】

前記癌が、白血病、リンパ腫、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、結腸直腸癌、胃癌、扁平上皮癌、小細胞肺癌、頭頸部癌、多剤耐性癌、グリオーマ、メラノーマおよび精巣癌からなる群より選択される；および/または前記腫瘍細胞が、白血病細胞、リンパ腫細胞、乳癌細胞、前立腺癌細胞、卵巣癌細胞、結腸直腸癌細胞、胃癌細胞、扁平上皮癌細胞、小細胞肺癌細胞、頭頸部癌細胞、多剤耐性癌細胞、および精巣癌細胞からなる群より選択される、請求項 33 から 38 のいずれか一項に記載の方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、リンカー、リンカー - ペイロードコンジュゲート、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲート、それらを調製するための方法、医薬組成物、ならびに腫瘍細胞を処置および/またはその増殖を調節および/または予防する方法に関する。

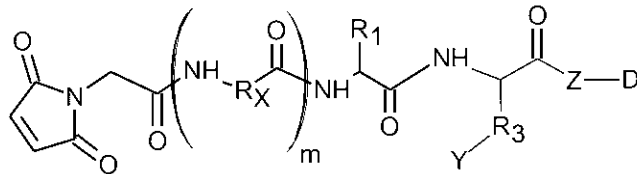
【発明の概要】

【0002】

式 I、式 I G、式 I G X または式 I I I

【0003】

【化 1】

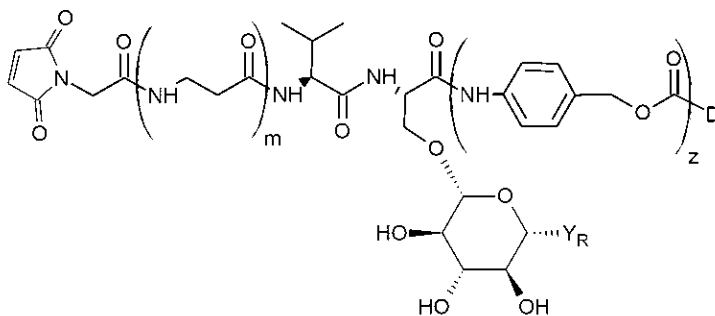


式 I

30

【0004】

【化 2】



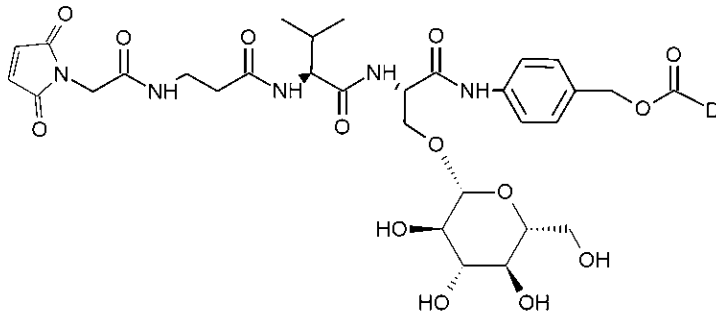
式 IG

40

50

【 0 0 0 5 】

【 化 3 】

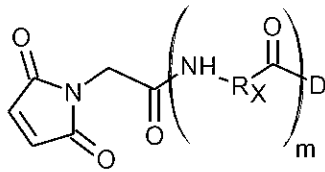


式 IGX

10

【 0 0 0 6 】

【 化 4 】



式 III

20

【 0 0 0 7 】

(式中、 $R_1$ は、アミノ酸側鎖である； $R_X$ は、直鎖 $C_1 \sim C_6$ アルキレン基、分岐 $C_1 \sim C_6$ アルキレン基、 $-CH_2CH_2-$ 、または $-CH(R_2)-$ であり、ここで $R_2$ は、アミノ酸側鎖である； $Y$ は、存在しないか親水性基である； $R_3$ は、アミノ酸側鎖である； $Z$ は、存在しないか自壊性基のいずれかである； $D$ は、ペイロード分子である；および $m$ は0または1のいずれかである)のリンカー-ペイロードコンジュゲートが開示される。

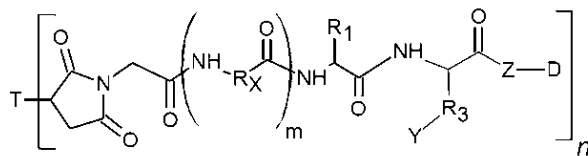
【 0 0 0 8 】

30

式 I I、式 I I s、式 I I G、式 I I G s、式 I I G X、式 I I G X s、式 I V または式 I V s

【 0 0 0 9 】

【 化 5 】



式 II

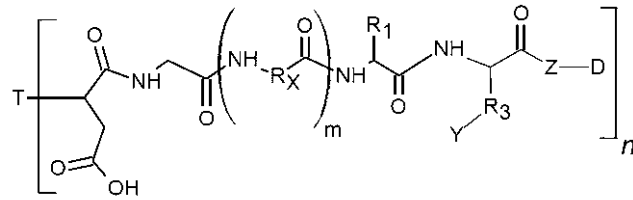
40

【 0 0 1 0 】

50



【化6】

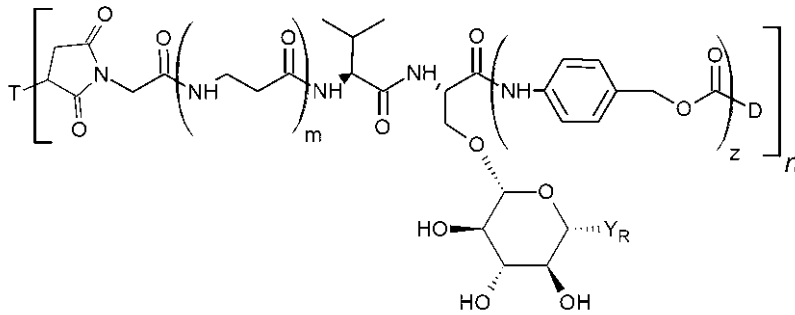


式 IIs

10

【0011】

【化7】

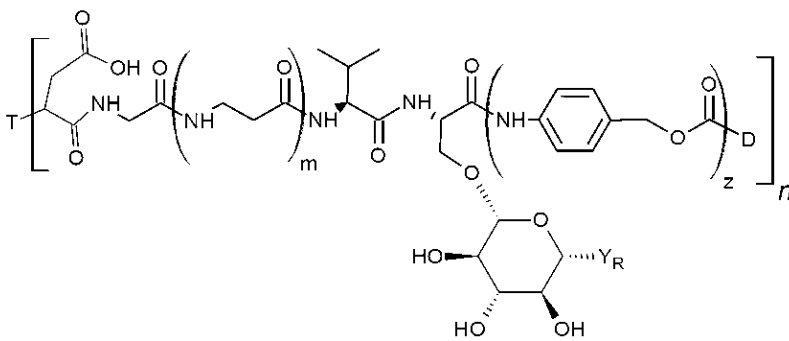


式 IIG

20

【0012】

【化8】



式 IIGs

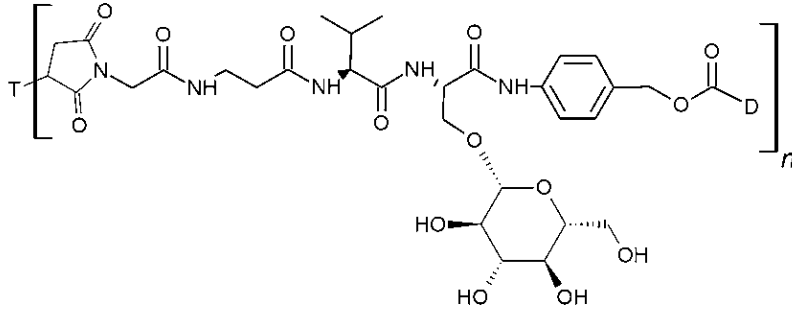
30

【0013】

40

50

【化 9】

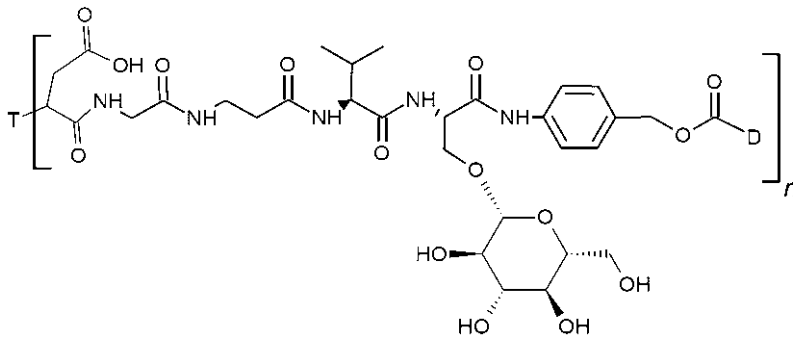


式 IIGX

10

【 0 0 1 4】

【化 1 0】

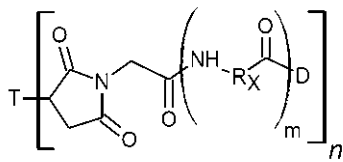


式 IIGXs

20

【 0 0 1 5】

【化 1 1】

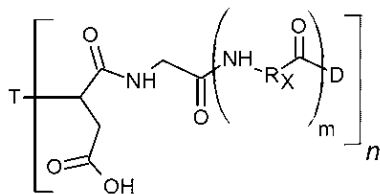


式 IV

30

【 0 0 1 6】

【化 1 2】



式 IVs

40

【 0 0 1 7】

(式中、Tは、標的ユニットである；R<sub>1</sub>は、アミノ酸側鎖である；R<sub>X</sub>は、直鎖C<sub>1</sub>～

50

C<sub>6</sub>アルキレン基、分岐C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、または-CH(R<sub>2</sub>)-であり、ここでR<sub>2</sub>は、アミノ酸側鎖である；Yは、存在しないか親水性基である；R<sub>3</sub>は、アミノ酸側鎖である；Zは、存在しないか自壊性基のいずれかである；Dは、ペイロード分子である；mは、0または1のいずれかである；およびn = 1、またはnは、1~約20、もしくは1~約15、もしくは1~約10、もしくは2~10、もしくは2~6、もしくは2~5、もしくは2~4の範囲内である；またはnは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20である)の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートが開示される。

【図面の簡単な説明】

10

【0018】

【図1】図1は、マレイミドアセチル- -Ala-Val-Ser(Glc)-PAB-MMAUのマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型(MALDI-TOF)質量分光分析を示す。[M+Na]<sup>+</sup>イオンについてはm/z 1621.752で、[M-H+2Na]<sup>+</sup>イオンについてはm/z 1643.770で観察されたシグナルは、リンカー-薬物コンジュゲートの成功した調製を示す。

【図2】図2は、腫瘍異種移植マウスにおけるマレイミド安定化MMAU-ADCのインビボ有効性を示す。トラスツズマブまたはマレイミドアセチル- -Ala-Val-Ser(Glc)-PAB-MMAUペイロード(MMAU-ADC、DAR=8、マレイミド安定化)を有するトラスツズマブADCのいずれかの7日間隔での4回の静脈内10 mg/kg投与(QW×4)を、HCC-1954腫瘍が平均体積100 mm<sup>3</sup>(0日目)まで増殖した後に6匹のマウス/群(n=6)に与えた。MMAU-ADCは、61日間の処置中およびフォローアップ期間に再増殖なしで、すべてのマウスで腫瘍を効果的に縮小させたが、腫瘍は、トラスツズマブ処置マウスで>500 mm<sup>3</sup>の平均体積まで安定して増殖した。黒三角は、i.v.投与の時間を示す。エラーバーは、標準偏差(SD)を示す。

20

【図3】図3は、同種腫瘍移植マウスにおけるマレイミド安定化PNU-ADCのインビボ有効性を示す。マウスモノクローナルTA99 IgG2a抗体、DBCO-Val-Ser(GlcA)-EDA-PNUペイロードを有する複合糖質化TA99 ADC(TA99-PNU ADC、DAR=2)またはマレイミドアセチル-EDA-PNUペイロードを有するTA99 ADC(TA99-M-PNU ADC、DAR=4)のいずれかの単回の静脈内5 mg/kg投与を、B16-F10マウスメラノーマ腫瘍が確立された(2日目)後に6匹のマウス/群(n=6)に行った。ADCは両方とも、すべてのマウスにおいて効果的に腫瘍を縮小させ、マウスは、実験の終了時まで生存したが、腫瘍は、両方の抗体処置済みマウスおよび非処置マウスの両方で非常に速く増殖し、実験の終了(29日目)前にマウスのほとんどを安楽死処分した。黒三角は、i.v.投与の時間を示す。エラーバーは、平均値の標準誤差(SEM)を示す。平均腫瘍体積の追跡は、群における最初のマウスが腫瘍増殖のために死んだ際に終了する。

30

【図4】図4は、IGR-1細胞におけるフランボツマブPNU ADCのFLCPeMcv、FLCPeMg、FLCPeMa、FLCPeMa1aおよびFLPeD(図4A)ならびに抗TYRP1 MMAU ADCのFLAuM、CHAuMおよびTAAuM(図4B)の細胞毒性を示す。

40

【図5】図5は、(図5A)HL-60細胞、(図5B)MOLM-13および(図5C)K-562細胞におけるリンツズマブMMAU(LNAuM)およびゲムツズマブMMAU(GMAuM)ADCの細胞毒性を示す。

【図6】図6は、HL-60白血病細胞異種移植マウスに対する抗CD33 ADCのインビボ有効性を示す。皮下腫瘍が100 mm<sup>3</sup>の平均サイズに到達した後、非コンジュゲート抗体ゲムツズマブ(GM)またはリンツズマブ(LN)、またはMMAU ADCのGMAuMもしくはLNAuM(両方ともAuMリンカー-ペイロードを有する、DAR=8)の単回の静脈内10 mg/kg投与を、5匹のマウス/群(n=5、接種後12日

50

目)に行った。対照群は、処置を何も受けなかった( $n = 8$ )。両ADC処置群において、すべてのマウスで腫瘍が消失し、効果的な抗癌活性を示した。LN抗体処置は、腫瘍増殖を阻害し、群のマウスは、研究の終了まで生存していた。腫瘍は、対照群およびGM処置群の両方で速く増殖し、処置後30日間で実験の終了前、腫瘍増殖のためにマウスの死をもたらした。黒三角は、i.v.投与の時間を示す。エラーバーは、平均値の標準誤差(SEM)を示す。平均腫瘍体積の追跡は、群における最初のマウスが腫瘍増殖のために死んだ際に終了する。

【図7】図7は、図6に示されたものと同じ実験の処置群での平均マウス体重を示す。いずれの群でも研究中に体重増加における変化はなかった。黒三角は、i.v.投与の時間を示す。平均体重の追跡は、群における最初のマウスが腫瘍増殖のために死んだ際に終了する。

10

【図8】図8は、マレイミドカプロイルリンカーを有するTRAUMc(図8A)とマレイミドアセチル-アラニルリンカーを有するTRAUM(図8B)との間について加水分解によるマレイミドコンジュゲートの安定化を示す。両ADCをPBS中、37°Cで24時間インキュベートし、安定化反応を、ADCのMALDI-TOF MSにより0時間、5時間および24時間の時点で追跡した。TRAUM ADCのマレイミドは、効果的に安定化したが、TRAUMcは、24時間のインキュベーション中に安定化しなかった。

【図9】図9は、酸化グルタチオン(図9A)およびヒト血清アルブミン(図9B)とのインキュベーションにおけるマレイミドコンジュゲートADCのTRAUMcおよびTRAUMの差別的な脱コンジュゲーション速度を示す。ADCは、生理学的pH、37°Cで並行してインキュベートされ、グルタチオン-リンカー-ペイロードの内部標準に対する比が脱コンジュゲーション速度に直接関係するMALDI-TOF MS(A)、および薬物対抗体比(DAR)の低下がより高い脱コンジュゲーション速度を示唆するRP-HPLC(B)により、脱コンジュゲーション反応を種々の時点で追跡した。

20

【図10】図10は、生理学的pH、37°Cでのヒト血清アルブミンとのインキュベーション中、マレイミドコンジュゲートADCのTRAUMc(図10A)およびTRAUM(図10B)のRP-HPLCによるDAR分析を示す。リンカーペイロードの脱コンジュゲーションは、TRAUMcでは高く、実験の終了時にDARが低くなったが、TRAUMは、DARの低下はわずかであった。低下したADCの個々の成分：それぞれ、L0、リンカー-ペイロードなしの軽鎖；L1、1個のリンカー-ペイロードを有する軽鎖；H0、リンカー-ペイロードなしの重鎖；H1、H2、H3およびH4、1~4個のリンカー-ペイロードを有する重鎖を示す。x軸は、溶離体積を示し、y軸は、280nmでの吸光度を示す。

30

【発明を実施するための形態】

【0019】

ペイロード分子にコンジュゲートしているリンカーが開示される。一実施形態において、リンカーは、安定化基を含む。

【0020】

リンカーにおける安定化基の存在は、より高いインビボ安定性、そのため、i)標的に対する改善された有効性ならびにii)非標的細胞および組織に対する改善された安全性の両方などの、いくらかの利益を提供する可能性がある。

40

【0021】

一実施形態において、リンカーは、非開裂可能基を含む。

【0022】

一実施形態において、リンカーは、開裂可能基を含む。

【0023】

一実施形態において、リンカーは、開裂可能基および安定化基を含む。

【0024】

リンカーにおける開裂可能基の存在は、i)標的に対する改善された有効性ならびにii)

50

i) 非標的細胞および組織に対する改善された安全性などの、いくらかの利益を提供する可能性がある。

【0025】

一実施形態において、リンカーは、開裂可能親水性基および安定化基を含む。

【0026】

リンカーにおける開裂可能親水性基の存在は、i) 最終生成物のより高い水溶性、ii) 水溶液中の凝集体に対するより高い耐性、iii) 細胞バイндаの分子あたりより多数のペイロード分子を結合する能力、iv) より高いインビボ安定性、および/またはそのため、v) 標的に対する改善された有効性ならびにvi) 非標的細胞および組織に対する改善された安全性の両方などの、いくらかの利益を提供する可能性がある。

10

【0027】

一実施形態において、リンカーにおける開裂可能親水性基および安定化基の存在は、コンジュゲートがその標的に到達する前にリンカーの早すぎる開裂を防止する可能性があり、上記の利益にさらに寄与する。

【0028】

一実施形態において、リンカーにおける親水性基および安定化基の存在は、コンジュゲートの薬物動態を改善し、そのインビボ曝露を改善し、上記の利益にさらに寄与する可能性がある。

【0029】

これに関連して、用語「リンカー」は、Dを含まない式IおよびIIIにより表される分子の一部分または部分を指すか、DおよびTを含まない式II、II<sub>s</sub>、IVおよびIV<sub>s</sub>により表される分子の一部分または部分を指すと理解されるべきである。

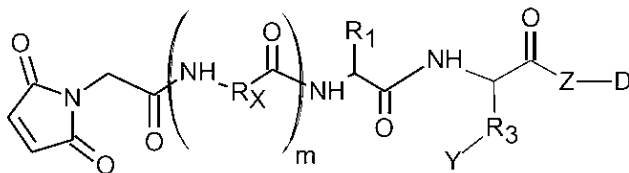
20

【0030】

本開示は、式I

【0031】

【化13】



30

式I

【0032】

(式中、R<sub>1</sub>は、アミノ酸側鎖である；R<sub>x</sub>は、直鎖C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基、分岐C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、またはCH(R<sub>2</sub>)であり、ここでR<sub>2</sub>は、アミノ酸側鎖である；Yは、存在しないか親水性基である；R<sub>3</sub>は、アミノ酸側鎖である；Zは、存在しないか自壊性基のいずれかである；Dは、ペイロード分子である；およびmは0または1のいずれかである)のリンカー-ペイロードコンジュゲートを提供する。

40

【0033】

一実施形態において、mは1であり、R<sub>x</sub>は-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である。

【0034】

一実施形態において、mは0である。

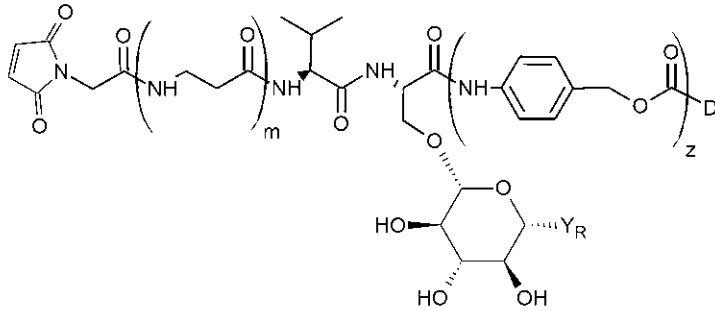
【0035】

本開示は、式IG

【0036】

50

## 【化 1 4】



式 IG

10

## 【0037】

(式中、 $Y_R$ は、 $CH_2OH$ または $COOH$ のいずれかである； $D$ は、ペイロード分子である； $m$ は、0または1のいずれかである； $z$ は、0または1のいずれかである；2つの-アミノ酸は両方とも、L配置である；および糖類は、 $\beta$ -D-グルコピラノース配置である)のリンカー-ペイロードコンジュゲートをさらに提供する。

## 【0038】

一実施形態において、 $m$ は1であり、 $z$ は1であり、 $Y_R$ は $CH_2OH$ である。

## 【0039】

一実施形態において、 $m$ は1であり、 $z$ は1であり、 $Y_R$ は $COOH$ である。

20

## 【0040】

一実施形態において、 $m$ は1であり、 $z$ は0であり、 $Y_R$ は $CH_2OH$ である。

## 【0041】

一実施形態において、 $m$ は1であり、 $z$ は0であり、 $Y_R$ は $COOH$ である。

## 【0042】

一実施形態において、 $m$ は0であり、 $z$ は1であり、 $Y_R$ は $CH_2OH$ である。

## 【0043】

一実施形態において、 $m$ は0であり、 $z$ は1であり、 $Y_R$ は $COOH$ である。

## 【0044】

一実施形態において、 $m$ は0であり、 $z$ は0であり、 $Y_R$ は $CH_2OH$ である。

30

## 【0045】

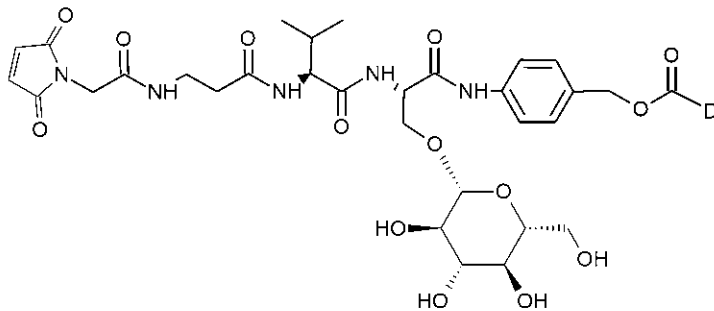
一実施形態において、 $m$ は0であり、 $z$ は0であり、 $Y_R$ は $COOH$ である。

## 【0046】

一実施形態において、リンカー-ペイロードコンジュゲートは、式 IG X

## 【0047】

## 【化 1 5】



式 IGX

40

## 【0048】

(式中、 $D$ は、ペイロード分子である)のものである。

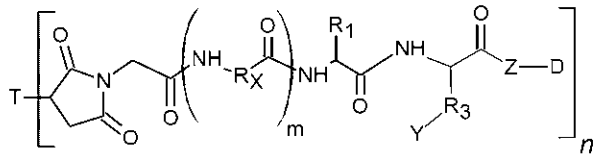
50

【 0 0 4 9 】

本開示は、式 I I または式 I I s

【 0 0 5 0 】

【 化 1 6 】

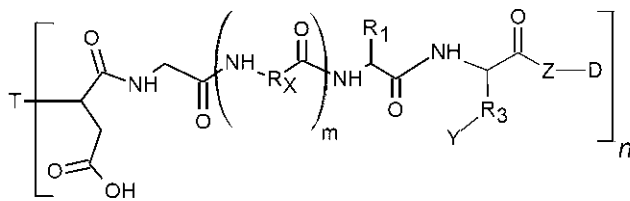


式 II

10

【 0 0 5 1 】

【 化 1 7 】



式 II s

20

【 0 0 5 2 】

(式中、Tは、標的ユニットである；R<sub>1</sub>は、アミノ酸側鎖である；R<sub>X</sub>は、直鎖C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基、分岐C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、またはCH(R<sub>2</sub>)であり、ここでR<sub>2</sub>は、アミノ酸側鎖である；Yは、存在しないか親水性基である；R<sub>3</sub>は、アミノ酸側鎖である；Zは、存在しないか自壊性基のいずれかである；Dは、ペイロード分子である；mは0または1のいずれかである；およびn = 1)の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートをさらに提供する。

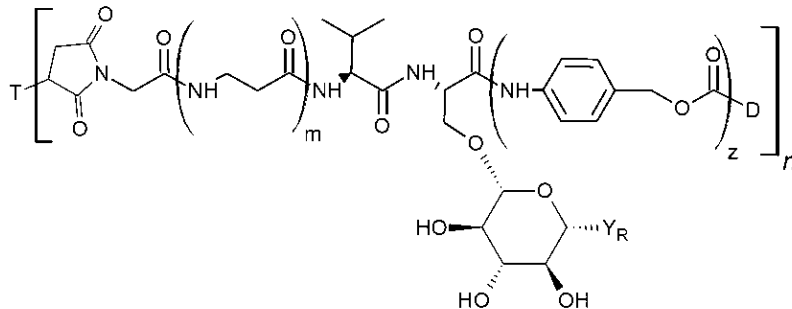
30

【 0 0 5 3 】

本開示は、式 I I G または式 I I G s

【 0 0 5 4 】

【 化 1 8 】



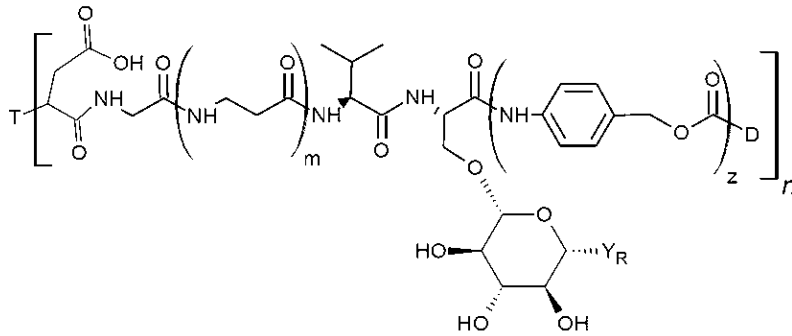
式 IIG

40

【 0 0 5 5 】

50

## 【化 1 9】



10

## 式 IIGs

## 【 0 0 5 6】

(式中、Tは、標的ユニットである； $Y_R$ は、 $CH_2OH$ または $COOH$ のいずれかである；Dは、ペイロード分子である；mは、0または1のいずれかである；zは、0または1のいずれかである； $n \geq 1$ ；2つの - アミノ酸は両方とも、L配置である；および糖類は、 $\beta$ -D-グルコピラノース配置である)の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートをさらに提供する。

## 【 0 0 5 7】

一実施形態において、mは1であり、zは1であり、 $Y_R$ は $COOH$ である。

20

## 【 0 0 5 8】

一実施形態において、mは1であり、zは0であり、 $Y_R$ は $CH_2OH$ である。

## 【 0 0 5 9】

一実施形態において、mは1であり、zは0であり、 $Y_R$ は $COOH$ である。

## 【 0 0 6 0】

一実施形態において、mは0であり、zは1であり、 $Y_R$ は $CH_2OH$ である。

## 【 0 0 6 1】

一実施形態において、mは0であり、zは1であり、 $Y_R$ は $COOH$ である。

## 【 0 0 6 2】

一実施形態において、mは0であり、zは0であり、 $Y_R$ は $CH_2OH$ である。

30

## 【 0 0 6 3】

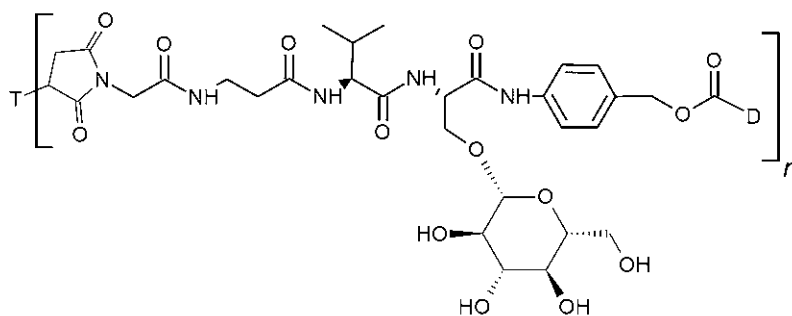
一実施形態において、mは0であり、zは0であり、 $Y_R$ は $COOH$ である。

## 【 0 0 6 4】

一実施形態において、標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、式 I I G X または式 I I G X s

## 【 0 0 6 5】

## 【化 2 0】



40

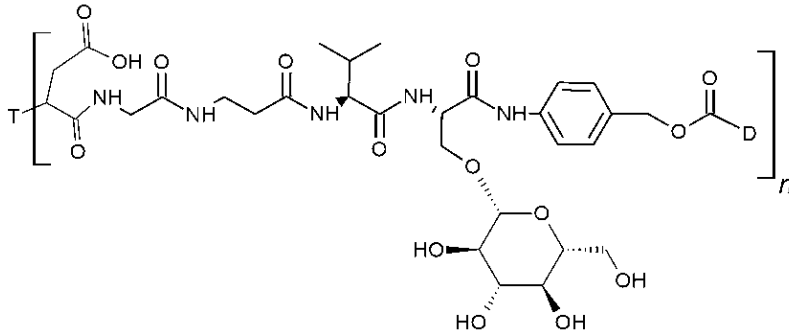
## 式 IIGX

## 【 0 0 6 6】

50



## 【化 2 1】



10

## 式 IIGXs

## 【0067】

(式中、Tは、標的ユニットである；Dは、ペイロード分子である；およびn = 1)のものである。

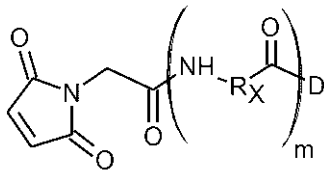
## 【0068】

本開示は、式 I I I

## 【0069】

## 【化 2 2】

20



## 式 III

## 【0070】

(式中、R<sub>X</sub>は、直鎖C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基、分岐C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、またはCH(R<sub>2</sub>)であり、ここでR<sub>2</sub>は、アミノ酸側鎖である；Dは、ペイロード分子である；およびmは0または1のいずれかである)のリンカー-ペイロードコンジュゲートをさらに提供する。

30

## 【0071】

一実施形態において、mは1であり、R<sub>X</sub>は-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である。

## 【0072】

一実施形態において、mは0である。

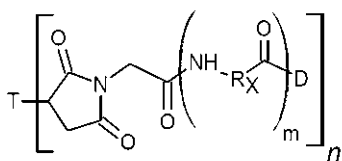
## 【0073】

本開示は、式 I V または式 I V s

## 【0074】

## 【化 2 3】

40

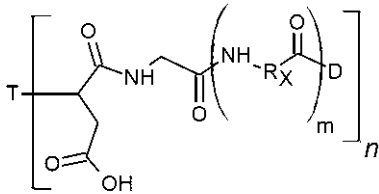


## 式 IV

## 【0075】

50

## 【化 2 4】



式 IVs

10

## 【0076】

(式中、Tは、標的ユニットである；R<sub>X</sub>は、直鎖C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキレン基、分岐C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキレン基、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、またはCH(R<sub>2</sub>)であり、ここでR<sub>2</sub>は、アミノ酸側鎖である；Dは、ペイロード分子である；mは0または1のいずれかである；およびn-1)の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートをさらに提供する。

## 【0077】

一実施形態において、リンカーにおけるアミドを介して分子の残りに結合したマレイミドアセチル基の存在は、式II、式IIG、式IIGXまたは式IVによるマレイミドの、それぞれ対応する式II、式IIG、式IIGXまたは式IVによる加水分解型マレイミドへのより効果的な安定化をもたらす。一実施形態において、式IIs、式IIGs、式IIGXsまたは式IVsによる加水分解型マレイミドは、遊離チオールの存在下(いわゆる逆マイケル反応)、標的ユニットに結合しているチオエーテルの分解に対して耐性がある。これは、式IIs、式IIGs、式IIGXsまたは式IVsによる標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートが特に血流中および組織中でより安定している可能性があり、それによってコンジュゲートのインビボ有効性を高めるので、付加された有益性を有する。

20

## 【0078】

一実施形態において、マレイミドの加水分解型マレイミドへの安定化は自然に生じる、換言すると、式IIs、式IIGs、式IIGXsまたは式IVsによる標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートの構造が、加水分解反応を促進するようである。

30

## 【0079】

一実施形態において、マレイミドの加水分解型マレイミドへの安定化は、pHの上昇によりさらに促進される。一実施形態において、pHは、7を超える、約7.4、7～8の間、約8.8を超える、8～9の間、約8.5、約9、または9を超えるまで上昇する。一実施形態において、pHは、マレイミドの安定化後に戻される。

## 【0080】

一実施形態において、マレイミドの加水分解型マレイミドへの安定化は、温度の上昇によりさらに促進される。一実施形態において、温度は、+4℃を超える、約+10℃まで、+10℃を超える、+10～20℃の間、約+20℃、約+22℃、+20～30℃の間、約+30℃、+30～40℃の間、約+37℃、約+40℃、または+40℃を超えるまたは+50℃を超えるまで上昇する。一実施形態において、温度は、マレイミドの安定化後に戻される。

40

## 【0081】

一実施形態において、マレイミドの加水分解型マレイミドへの安定化は、温度の上昇およびpHの上昇によりさらに促進される。一実施形態において、マレイミドの安定化は、+20～40℃の間までの温度の上昇および7～9の間までのpHの上昇により促進される。一実施形態において、マレイミドの安定化は、+20～40℃の間までの温度の上昇および8を超えるpHの上昇により促進される。一実施形態において、マレイミドの安定化は、+30～40℃の間までの温度の上昇および約8までのpHの上昇により促進される。一実施形態において、温度およびpHは両方とも、マレイミドの安定化後に戻される

50

。

## 【0082】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも1個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0083】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも2個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0084】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも3個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0085】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも4個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0086】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも5個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0087】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも6個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0088】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも7個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0089】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも8個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0090】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも9個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0091】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも10個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0092】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、100%の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

## 【0093】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $1/n$  の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも1である。

## 【0094】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも1個の式 I I s、式 I I G s、式 I I G X s または式 I V s による加水分解型マレイミドを含む。

10

20

30

40

50

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $2/n$  の式  $II_s$ 、式  $II G_s$ 、式  $II G X_s$  または式  $IV_s$  による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも 2 である。

【0095】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $3/n$  の式  $II_s$ 、式  $II G_s$ 、式  $II G X_s$  または式  $IV_s$  による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも 3 である。

【0096】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $4/n$  の式  $II_s$ 、式  $II G_s$ 、式  $II G X_s$  または式  $IV_s$  による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも 4 である。

10

【0097】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $5/n$  の式  $II_s$ 、式  $II G_s$ 、式  $II G X_s$  または式  $IV_s$  による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも 5 である。

【0098】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $6/n$  の式  $II_s$ 、式  $II G_s$ 、式  $II G X_s$  または式  $IV_s$  による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも 6 である。

【0099】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $7/n$  の式  $II_s$ 、式  $II G_s$ 、式  $II G X_s$  または式  $IV_s$  による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも 7 である。

20

【0100】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $8/n$  の式  $II_s$ 、式  $II G_s$ 、式  $II G X_s$  または式  $IV_s$  による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも 8 である。

【0101】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $9/n$  の式  $II_s$ 、式  $II G_s$ 、式  $II G X_s$  または式  $IV_s$  による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも 9 である。

30

【0102】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、少なくとも  $10/n$  の式  $II_s$ 、式  $II G_s$ 、式  $II G X_s$  または式  $IV_s$  による加水分解型マレイミドを含み、ここで、 $n$  は少なくとも 10 である。

【0103】

一実施形態において、 $n$  は、1 ~ 約 20、もしくは 1 ~ 約 15、もしくは 1 ~ 約 10、もしくは 2 ~ 10、もしくは 2 ~ 6、もしくは 2 ~ 5、もしくは 2 ~ 4 の範囲内である；または  $n$  は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、もしくは 20 である。

40

【0104】

一実施形態において、 $n$  は、3 ~ 約 20、または 3 ~ 約 15、または 3 ~ 約 10、または 3 ~ 約 9、または 3 ~ 約 8、または 3 ~ 約 7、または 3 ~ 約 6、または 3 ~ 5、または 3 ~ 4 の範囲内である。

【0105】

一実施形態において、 $n$  は、4 ~ 約 20、または 4 ~ 約 15、または 4 ~ 約 10、または 4 ~ 約 9、または 4 ~ 約 8、または 4 ~ 約 7、または 4 ~ 約 6、または 4 ~ 5 の範囲内である。

【0106】

一実施形態において、 $n$  は 5 である。

50

## 【0107】

一実施形態において、 $n$ は6である。

## 【0108】

一実施形態において、 $n$ は7である。

## 【0109】

一実施形態において、 $n$ は8である。

## 【0110】

一実施形態において、 $n$ は9である。

## 【0111】

一実施形態において、 $n$ は10である。

10

## 【0112】

一実施形態において、用語「薬物対抗体比」または「DAR」は、抗体にコンジュゲートしたペイロード分子の数を意味する。一実施形態において、用語「薬物対抗体比」は、「DAR」と省略される場合がある。一実施形態において、用語「薬物対抗体比」および「DAR」は、交換可能に使用される場合がある。一実施形態において、DARは、標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートにおける標的ユニットあたりのペイロードの数を説明するために使用される場合がある。

## 【0113】

本開示の式において、変数 $n$ は、DARを示すために一般に使用される。一実施形態において、変数 $n$ は、整数である。一実施形態において、変数 $n$ は、本開示の式において使用される場合、整数である。

20

## 【0114】

一実施形態において、DARは、異なるDAR値を有する標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートを含む組成物において抗体にコンジュゲートしたペイロード分子の平均数を意味する。これに関連して、DARは、組成物中の標的ユニットの総量に対する組成物中のペイロードの総量の比と等しい。これに関連して、DARはまた、異なるDAR値を有する標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートの加重平均と等しい。当業者は、種々の異なる分析方法を用いてDARを決定することができる。例えば、質量分析(MALDI-TOF MS)、RP-HPLC(PLRP-Sクロマトグラム)、およびUV分光光度測定(A280/A480法)を使用して、本開示の実施例におけるDAR値を決定した。

30

## 【0115】

当業者は、式IIで表されるような標的ユニットに結合したリンカー-ペイロードコンジュゲート部分が、式Iにより表されるものと本質的に同じであることを認識するであろう。標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートにおいて、標的ユニットのT、およびペイロードのDは、リンカーの2つの端でこのように反応している。本開示によるリンカーを使用して、1個または複数個のペイロード分子は、標的ユニットに導入することができる。本開示による親水性リンカーを使用して、より多くの数のペイロード分子を導入することができる。したがって、本開示による親水性リンカーを使用して、より高いDARを達成することができる。

40

## 【0116】

一実施形態において、Yは、糖類、リン酸エステル、硫酸エステル、ホスホジエステルおよびホスホネートからなる群より選択される。

## 【0117】

一実施形態において、Yは糖類である。

## 【0118】

用語「糖類」は、単一の単糖部分または単糖またはそれらの誘導体、ならびに二糖、オリゴ糖、および多糖を形成するように共有結合した2個またはそれ以上の単糖部分もしくは単糖の組み合わせを指すと理解されるべきである。

## 【0119】

50

用語「単糖」は、トリオース、テトロース、ペントース、ヘキソース、ヘプトース、オクトースまたはノノースを含むことが理解されるべきである。化学構造における1個または数個のヒドロキシル基は、水素、アミノ、アミン、アシルアミド、アセチルアミド、ハロゲン、メルカプト、アシル、アセチル、リン酸エステルまたは硫酸エステルなどの他の基で置換することができる；そして糖類はまた、カルボキシル、カルボニル、ヘミアセタール、アセタールおよびチオ基などの他の官能基を含むことができる。単糖は、グリセルアルデヒド、エリスロース、トレオース、リボース、アラビノース、キシロース、リキソース、アロース、アルトロース、グルコース、マンノース、グロース、イドース、ガラクトース、タロースおよびマンノヘプツロースなどの単純アルドース；ジヒドロキシアセトン、エリトルロース、リブロース、キシルロース、プシコース、フラクトース、ソルボース、タガトースおよびセドヘプツロースなどの単純ケトース；フコース、2-デオキシグルコース、2-デオキシリボースおよびラムノースなどのデオキシ糖；ケトデオキシノヌロソク酸、N-アセチルノイラミン酸および9-O-アセチル-N-アセチルノイラミン酸などのシアル酸；グルクロン酸、ガラクトツロン酸およびイズロン酸などのウロン酸；2-アミノ-2-デオキシガラクトースおよび2-アミノ-2-デオキシグルコースなどのアミノ糖；2-アセトアミド-2-デオキシガラクトース、2-アセトアミド-2-デオキシグルコースおよびN-グリコリルノイラミン酸などのアシルアミノ糖；6-ホスホマンノース、6-スルホ-N-アセチルグルコサミンおよび3-スルホガラクトースなどのリン酸化糖および硫酸化糖；ならびにそれらの誘導体および修飾を含むがこれらに限定されない基から選択することができる。単糖はまた、イノシトールもしくはアルジトールまたはそれらの誘導体などの非還元炭水化物であり得る。

#### 【0120】

糖類および単糖は、D-またはL-配置；開鎖ピラノースまたはフラノースの形；またはアノマー；およびそれらの組み合わせであり得る。

#### 【0121】

用語「オリゴ糖」は、重合度が2～約20の範囲内である、グリコシド結合により一緒に結合した2個または数個の単糖で構成される糖類を指すと理解されるべきである。用語「オリゴ糖」は、分岐、直鎖または環状のいずれかであり得るヘテロポリマーおよびホモポリマーを指すと理解されるべきである。一実施形態において、オリゴ糖は、還元末端で糖類が実際に還元糖であるかどうかに関わりなく、還元末端および非還元末端を有している。

#### 【0122】

用語「二糖」は、グリコシド結合により一緒に結合した2個の単糖で構成されるオリゴ糖を指すと理解されるべきである。二糖の例には、ラクトース、N-アセチルラクトサミン、ガラクトピオース、マルトース、イソマルトースおよびセロピオースが含まれるがこれらに限定されない。

#### 【0123】

用語「三糖」は、グリコシド結合により一緒に結合した3個の単糖で構成される糖類を指すと理解されるべきである。三糖の例には、マルトトリオース、シアリルラクトース、グロボトリオース、ラクト-N-トリオースおよびガングリオトリオースが含まれるがこれらに限定されない。

#### 【0124】

一実施形態において、糖類は、単糖、二糖、三糖またはオリゴ糖である。

#### 【0125】

一実施形態において、糖類は、  
 - D - ガラクトース、N - アセチル -  
 - D - ガラクトサミン、N - アセチル -  
 - D - ガラクトサミン、N - アセチル -  
 - D - グルコサミン、  
 - D - グルクロン酸、  
 - L - イズロン酸、  
 - D - ガラクトース、  
 - D - グルコース、  
 - D - グルコース、  
 - D - マンノース、  
 - D - マンノース、  
 - L - フコース、  
 - D - キシロース、ノイラミン酸またはそれらの任意の類縁体または修飾を含む。

## 【0126】

一実施形態において、糖類は、 $\alpha$ -D-ガラクトース、N-アセチル- $\beta$ -D-ガラクトサミン、N-アセチル- $\beta$ -D-ガラクトサミン、N-アセチル- $\beta$ -D-グルコサミン、 $\beta$ -D-グルクロン酸、 $\alpha$ -L-イズロン酸、 $\alpha$ -D-ガラクトース、 $\beta$ -D-グルコース、 $\beta$ -D-グルコース、 $\beta$ -D-マンノース、 $\beta$ -D-マンノース、 $\alpha$ -L-フコース、 $\beta$ -D-キシロース、ノイラミン酸またはそれらの任意の類縁体または修飾からなる。

## 【0127】

一実施形態において、糖類は、 $\beta$ -D-グルコース、N-アセチル- $\beta$ -D-グルコサミン、 $\beta$ -D-グルクロン酸または $\alpha$ -L-フコースからなる。

10

## 【0128】

一実施形態において、糖類は、 $\beta$ -D-グルコースを含む。

## 【0129】

一実施形態において、糖類は、 $\beta$ -D-グルコースからなる。

## 【0130】

一実施形態において、糖類は、 $\beta$ -D-グルクロン酸を含む。

## 【0131】

一実施形態において、糖類は、 $\beta$ -D-グルクロン酸からなる。

## 【0132】

一実施形態において、修飾は、単糖の硫酸、リン酸、カルボキシル、アミノ、またはO-アセチル修飾である。

20

## 【0133】

用語「類縁体」または「類似である」は、類縁体または類縁単糖が、類似である単糖と同じ酵素により開裂可能であると理解されるべきである。

## 【0134】

用語「修飾」または「単糖の修飾」は、修飾が、単糖の官能基または原子の置換から得られる単糖の共有結合性の修飾であると理解されるべきである。

## 【0135】

一実施形態において、修飾は、硫酸、リン酸、カルボキシル、アミノ、およびO-アセチル修飾の群より選択される。

30

## 【0136】

一実施形態において、Yは、酵素により開裂可能である。

## 【0137】

一実施形態において、Yは、酵素、例えば細胞内酵素、リソソーム酵素または細胞質酵素により開裂可能である。

## 【0138】

一実施形態において、開裂可能親水性基Yは、糖類であり、酵素により開裂可能である。

## 【0139】

一実施形態において、糖類は、 $\beta$ -D-グルコース、N-アセチル- $\beta$ -D-グルコサミン、 $\beta$ -D-グルクロン酸または $\alpha$ -L-フコースである。

40

## 【0140】

一実施形態において、糖類は、 $\beta$ -D-グルコースである。

## 【0141】

一実施形態において、糖類は、 $\beta$ -D-グルクロン酸である。

## 【0142】

一実施形態において、酵素は、細胞内酵素、リソソーム酵素または細胞質酵素である。

## 【0143】

一実施形態において、細胞内酵素は、グルコシダーゼ、ヘキソサミニダーゼ、N-アセチルグルコサミニダーゼ、グルクロニダーゼまたはフコシダーゼである。

50

## 【 0 1 4 4 】

一実施形態において、リソソーム酵素は、グルコシダーゼ、ヘキソサミニダーゼ、N - アセチルグルコサミニダーゼ、グルクロニダーゼまたはフコシダーゼである。

## 【 0 1 4 5 】

一実施形態において、リソソーム酵素は、 $\alpha$  - グルコシダーゼである。

## 【 0 1 4 6 】

一実施形態において、リソソーム酵素は、グルクロニダーゼである。

## 【 0 1 4 7 】

一実施形態において、細胞質酵素は、グルコシダーゼ、ヘキソサミニダーゼ、N - アセチルグルコサミニダーゼ、グルクロニダーゼまたはフコシダーゼである。

10

## 【 0 1 4 8 】

一実施形態において、 $\alpha$  - D - グルコースまたは  $\beta$  - D - グルクロン酸などの糖類は、リソソーム酵素または細胞内酵素により開裂可能である。この実施形態は、リソソーム酵素または細胞内酵素が細胞内の糖類を除去する可能性があるという有益性を有する。当業者は、生化学の文献に基づいてリソソーム酵素または細胞内酵素により開裂可能である糖類を選択することができる；異なる特異性を有するそのような種々の酵素は既知である。

## 【 0 1 4 9 】

一実施形態において、リソソーム酵素または細胞内酵素は、細胞内の全糖類を除去することができる。

## 【 0 1 5 0 】

一実施形態において、糖類の1個または複数個のグリコシド結合は、中性pHおよび/または血清内で本質的に安定である。

20

## 【 0 1 5 1 】

一実施形態において、糖類の全グリコシド結合は、中性pHおよび/または血清内で本質的に安定である。

## 【 0 1 5 2 】

一実施形態において、糖類の1個または複数個のグリコシド結合は、細胞外の腫瘍微小環境中で開裂可能である。この実施形態は、糖類が、正常な組織よりも腫瘍内でより効率的に除去される可能性があり、分子が、正常な細胞よりも癌細胞により、より効率的に取り込まれる可能性があるという、付加された有益性を有する。

30

## 【 0 1 5 3 】

一実施形態において、糖類は、糖類がグリコシダーゼ酵素により開裂される前にペプチダーゼによる開裂からリンカーを保護する。

## 【 0 1 5 4 】

一実施形態において、糖類は、糖類が  $\alpha$  - グルコシダーゼにより開裂される前にペプチダーゼによる開裂からリンカーを保護する  $\beta$  - D - グルコースである。

## 【 0 1 5 5 】

一実施形態において、糖類は、糖類がグルクロニダーゼにより開裂される前にペプチダーゼによる開裂からリンカーを保護する  $\beta$  - D - グルクロン酸である。

## 【 0 1 5 6 】

一実施形態において、糖類は、糖類がグリコシダーゼ酵素により開裂される前にカテプシンによる開裂からリンカーを保護する。

40

## 【 0 1 5 7 】

一実施形態において、糖類は、糖類が  $\alpha$  - グルコシダーゼにより開裂される前にカテプシンによる開裂からリンカーを保護する  $\beta$  - D - グルコースである。

## 【 0 1 5 8 】

一実施形態において、糖類は、糖類がグルクロニダーゼにより開裂される前にカテプシンによる開裂からリンカーを保護する  $\beta$  - D - グルクロン酸である。

## 【 0 1 5 9 】

一実施形態において、リソソーム酵素または細胞内酵素は、 $\beta$  - ガラクトシダーゼ、

50



- ヘキシサミニダーゼ、 - N - アセチルガラクトサミニダーゼ、 - N - アセチルグルコサミニダーゼ、 - グルクロニダーゼ、 - L - イズロニダーゼ、 - ガラクトシダーゼ、 - グルコシダーゼ、 - グルコシダーゼ、 - マンノシダーゼ、 - マンノシダーゼ、 - フコシダーゼ、 - キシロシダーゼおよびノイラミニダーゼからなる群より選択される。

## 【0160】

一実施形態において、ヒトグリコヒドロラーゼは、 - ガラクトシダーゼ、 - ヘキシサミニダーゼ、 - N - アセチルガラクトサミニダーゼ、 - N - アセチルグルコサミニダーゼ、 - グルクロニダーゼ、 - L - イズロニダーゼ、 - ガラクトシダーゼ、 - グルコシダーゼ、 - グルコシダーゼ、 - マンノシダーゼ、 - マンノシダーゼ、 - フコシダーゼ、 - キシロシダーゼおよびノイラミニダーゼからなる群より選択される。

10

## 【0161】

一実施形態において、Yはリン酸エステルである。

## 【0162】

一実施形態において、Yは硫酸エステルである。

## 【0163】

一実施形態において、Yはホスホジエステルである。

## 【0164】

一実施形態において、ホスホジエステルは、ピロリン酸、 $O - P(=O)(OH) - O - P(=O)(OH)_2$ である。

20

## 【0165】

一実施形態において、ホスホジエステルは、 $O - P(=O)(OH) - O - P(=O)(OH)OR$ および $O - P(=O)(OH) - O - P(=O)(OH)R$ (式中、Rは、 $P(=O)(OH)R$ 、 $CH_3$ 、アルキル基およびアリール基の群から選択される)の群から選択される置換ピロリン酸である。一実施形態において、アルキル基は、 $CH_2CH_2NH_2$ である。一実施形態において、アリール基はベンジルである。

## 【0166】

一実施形態において、Yはホスホネートである。

## 【0167】

一実施形態において、ホスホネートは、ビスホスホネート、 $O - P(=O)(OH) - CH_2 - P(=O)(OH)_2$ である。

30

## 【0168】

一実施形態において、ホスホネートは、 $O - P(=O)(OH) - CH_2 - P(=O)(OH)OR$ および $O - P(=O)(OH) - CH_2 - P(=O)(OH)R$ (式中、Rは、 $P(=O)(OH)R$ 、 $CH_3$ 、アルキル基およびアリール基の群から選択される)の群から選択される置換ビスホスホネートである。一実施形態において、アルキル基は、 $CH_2CH_2NH_2$ である。一実施形態において、アリール基はベンジルである。

## 【0169】

ホスホジエステルおよびビスホスホネート基は、YatesおよびFiedler, ACS Chem. Biol. 2016, 11, 1066-1073に記載されるように調製することができ、本開示にしたがってリンカー部分を生成するために標準ペプチド合成化学における保護ホスホジエステル修飾または保護ビスホスホネート修飾セリンビルディングブロックなどの保護修飾アミノ酸として取り込むことができる。

40

## 【0170】

一実施形態において、Yがコンジュゲートから最初に開裂されるまで、開裂可能親水性基Yは、エンドペプチダーゼがコンジュゲートからペイロードDを遊離させるのを阻害する。

## 【0171】

一実施形態において、 $R_3$ は、アミノ酸の側鎖である。

## 【0172】

50

一実施形態において、R<sub>3</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、セリン、スレオニンまたはチロシンの側鎖である。

【0173】

一実施形態において、R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である。

【0174】

本明細書で使用されるように、「アミノ酸側鎖」は、 $\alpha$ -アミノ酸および非 $\alpha$ -アミノ酸を含む、 $\alpha$ -アミノ酸の炭素に結合した一価水素または非水素置換基を指す。代表的なアミノ酸側鎖には、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、トリプトファン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、ヒスチジン、およびシトルリンの炭素置換基が含まれるがこれらに限定されない。

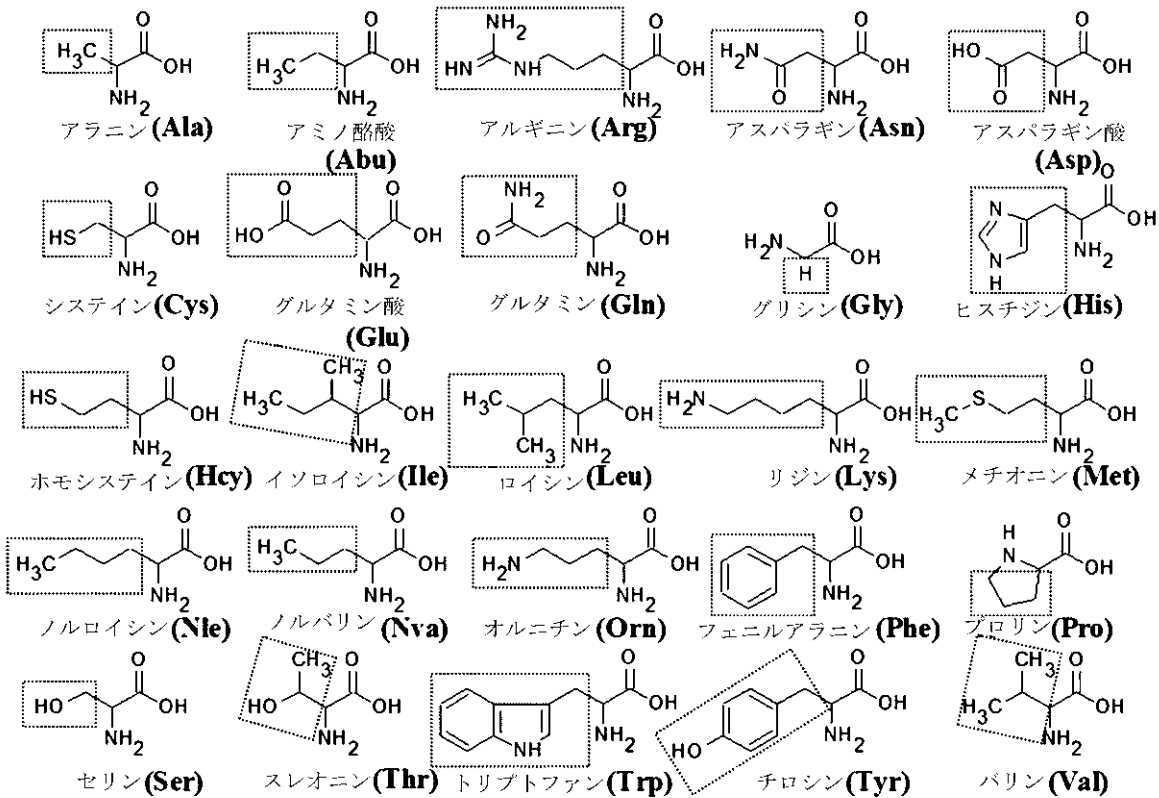
10

【0175】

一実施形態において、アミノ酸側鎖は、以下に示されるアミノ酸構造の炭素置換基から選択され、アミノ酸側鎖は、以下の破線の四角により強調されている。

【0176】

【化25】



20

30

【0177】

アミノ酸は、L-またはD-配置；遊離アミノ酸またはアミノ酸残基の形；およびそれらの任意の組み合わせであり得る。

【0178】

用語「アルキル」は、示された炭素原子数を有する直鎖または分岐鎖の飽和または不飽和の炭化水素を指す（例えば、「C<sub>1</sub>~C<sub>8</sub>アルキル」は、1~8個の炭素原子を有するアルキル基を指す）と理解されるべきである。炭素原子数が示されていない場合、アルキル基は、1~8個の炭素原子を有する。代表的な「C<sub>1</sub>~C<sub>8</sub>アルキル」基には、メチル(Me、CH<sub>3</sub>)、エチル(Et、CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、1-プロピル(n-Pr、n-プロピル、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、2-プロピル(i-Pr、イソプロピル、CH(CH<sub>3</sub>)

40

50

2)、1-ブチル(n-Bu、n-ブチル、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、2-メチル-1-プロピル(i-Bu、イソブチル、 $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、2-ブチル(s-Bu、s-ブチル、 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、2-メチル-2-プロピル(t-Bu、tert-ブチル、 $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ )、1-ペンチル(n-ペンチル、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、2-ペンチル( $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、3-ペンチル( $\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ )、2-メチル-2-ブチル( $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、3-メチル-2-ブチル( $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、3-メチル-1-ブチル( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、2-メチル-1-ブチル( $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、1-ヘキシル( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、2-ヘキシル( $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、3-ヘキシル( $\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)$ )、2-メチル-2-ペンチル( $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、3-メチル-2-ペンチル( $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、4-メチル-2-ペンチル( $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、3-メチル-3-ペンチル( $\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ )、2-メチル-3-ペンチル( $\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、2,3-ジメチル-2-ブチル( $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、および3,3-ジメチル-2-ブチル( $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$ )が含まれる(がこれらに限定されない)。アルキル基は、非置換であり得るか、OH、O( $\text{C}_1\sim\text{C}_8$ アルキル)、アリール、COR'、OCOR'、CONH、CONHR'、CONR'2、NHCOR'、SH、SO<sub>2</sub>R'、SOR'、OSO<sub>2</sub>OH、OPO(OH)<sub>2</sub>、ハロゲン、N<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、NHR'、NR'2、NHCO( $\text{C}_1\sim\text{C}_8$ アルキル)またはCN(式中、各R'は、独立して、H、 $\text{C}_1\sim\text{C}_8$ アルキルまたはアリールのいずれかである)を含むがこれらに限定されない1個または複数個の基で置換され得る。用語「アルキル」はまた、アルキレン、1~18個の炭素原子で、2つの水素原子が親アルカンの同じまたは2つの異なる炭素原子から除去されることにより誘導された2つの一価ラジカル中心を有する飽和の分岐鎖または直鎖または環状の炭化水素基を指すと理解されるべきである。典型的なそのようなアルキレンには、メチレン( $\text{CH}_2$ )<sub>1,2</sub>-エチル( $\text{CH}_2\text{CH}_2$ )、1,3-プロピル( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ )、1,4-ブチル( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ )などが含まれる(がこれらに限定されない)。用語「アルキル」はまた、以下で説明するようにアリールアルキルおよびヘテロアリールアルキル基を指すと理解されるべきである。

10

20

30

## 【0179】

用語「アリールアルキル」は、炭素原子、典型的には末端またはsp<sup>3</sup>炭素原子に結合した水素原子の1個が、アリール基で置き換えられている非環式アルキル基を指すと理解されるべきである。典型的なアリールアルキル基には、ベンジル、2-フェニルエタン-1-イル、2-フェニルエテン-1-イル、ナフチルメチル、2-ナフチルエタン-1-イル、2-ナフチルエテン-1-イル、ナフトベンジル、2-ナフトフェニルエタン-1-イルなどが含まれる(がこれらに限定されない)。アリールアルキル基は、6~20個の炭素原子を含む、例えば、アリールアルキル基のアルカニル、アルケニルまたはアルキニル基を含むアルキル部分は、1~6個の炭素原子であり、アリール部分は、5~14個の炭素原子である。

40

## 【0180】

用語「ヘテロアリールアルキル」は、炭素原子、典型的には末端またはsp<sup>3</sup>炭素原子に結合した水素原子の1個が、ヘテロアリール基で置き換えられている非環式アルキル基を指すと理解されるべきである。典型的なヘテロアリールアルキル基には、2-ベンズイミダゾリルメチル、2-フリルエチルなどが含まれる(がこれらに限定されない)。ヘテロアリールアルキル基は、6~20個の炭素原子を含む、例えば、ヘテロアリールアルキル基のアルカニル、アルケニルまたはアルキニル基を含むアルキル部分は、1~6個の炭素原子であり、ヘテロアリール部分は、5~14個の環原子であり、典型的にはN、O、P、およびSから選択される1~3個のヘテロ原子と残りが炭素原子である。ヘテロアリールアルキル基のヘテロアリール部分は、3~7個の環メンバー(2~6個の炭素原子)

50

を有する単環式または7～10個の環メンバー(4～9個の炭素原子)およびN、O、P、およびSから選択される1～3個のヘテロ原子を有する二環式、例えば:ピシクロ[4, 5]、[5, 5]、[5, 6]、または[6, 6]系であり得る。

## 【0181】

用語「アルキニル」は、不飽和、すなわち炭素-炭素、sp<sup>3</sup>三重結合の少なくとも1つの部位を有するノルマル、セカンダリ、ターシャリまたは環状の炭素原子を含むC<sub>2</sub>～C<sub>18</sub>炭化水素を指すと理解されるべきである。例には、アセチレン(C≡CH)およびプロパルギル(CH<sub>2</sub>C≡CH)が含まれるがこれらに限定されない。用語「アルキニル」はまた、アルキニレン、2～18個の炭素原子で、2つの水素原子が親アルキンの炭素原子から除去されることにより誘導された2つの一価ラジカル中心を有する不飽和の分岐鎖または直鎖または環状の炭化水素基を指すと理解されるべきである。典型的なアルキニレン基には、アセチレン(C≡C)、プロパルギル(CH<sub>2</sub>C≡C)、および4-ペンチニル(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C≡C)が含まれる(がこれらに限定されない)。

10

## 【0182】

用語「アルケニル」は、不飽和、すなわち炭素-炭素、sp<sup>2</sup>二重結合の少なくとも1つの部位を有するノルマル、セカンダリ、ターシャリまたは環状の炭素原子を含むC<sub>2</sub>～C<sub>18</sub>炭化水素を指すと理解されるべきである。例には、エチレンまたはビニル(CH=CH<sub>2</sub>)、アリル(CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)、シクロペンテニル(C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>)、および5-ヘキセニル(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)が含まれるがこれらに限定されない。用語「アルケニル」はまた、アルケニレン、2～18個の炭素原子で、2つの水素原子が親アルケンの同じまたは2つの異なる炭素原子から除去されることにより誘導された2つの一価ラジカル中心を有する不飽和の分岐鎖または直鎖または環状の炭化水素基を指すと理解されるべきである。典型的なアルケニレン基には、1,2-エチレン(CH=CH)が含まれるがこれに限定されない。

20

## 【0183】

本明細書の文脈において、用語「置換された」は、「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「シクロアルキル」、「ヘテロシクロアルキル」、「アリール」、「ヘテロアリール」、「アルキルアリール」などに対する形容詞として使用される場合、前記「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「シクロアルキル」、「ヘテロシクロアルキル」、「アリール」、「アルキルアリール」または「ヘテロアリール」基が、1個または複数個の置換基を含むことを示唆し、それには、OH、=O、=S、=NR<sub>h</sub>、=N-OR<sub>h</sub>、SH、NH<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、NO、N<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub>、CN、OCN、SCN、NCO、NCS、C(O)NH<sub>2</sub>、C(O)H、C(O)OH、ハロゲン、R<sub>h</sub>、SR<sub>h</sub>、S(O)R<sub>h</sub>、S(O)OR<sub>h</sub>、S(O)<sub>2</sub>R<sub>h</sub>、S(O)<sub>2</sub>OR<sub>h</sub>、OS(O)R<sub>h</sub>、OS(O)OR<sub>h</sub>、OS(O)<sub>2</sub>R<sub>h</sub>、OS(O)<sub>2</sub>OR<sub>h</sub>、OP(O)(OR<sub>h</sub>)(OR<sub>i</sub>)、P(O)(OR<sub>h</sub>)(OR<sub>i</sub>)、OR<sub>h</sub>、NHR<sub>i</sub>、N(R<sub>h</sub>)R<sub>i</sub>、+N(R<sub>h</sub>)(R<sub>i</sub>)R<sub>j</sub>、Si(R<sub>h</sub>)(R<sub>i</sub>)(R<sub>j</sub>)、C(O)R<sub>h</sub>、C(O)OR<sub>h</sub>、C(O)N(R<sub>i</sub>)R<sub>h</sub>、OC(O)R<sub>h</sub>、OC(O)OR<sub>h</sub>、OC(O)N(R<sub>h</sub>)R<sub>i</sub>、N(R<sub>i</sub>)C(O)R<sub>h</sub>、N(R<sub>i</sub>)C(O)OR<sub>h</sub>、N(R<sub>i</sub>)C(O)N(R<sub>j</sub>)R<sub>h</sub>、およびこれらの置換基のチオ誘導体、またはこれらの置換基のいずれかのプロトン化もしくは脱プロトン化の形態(式中、R<sub>h</sub>、R<sub>i</sub>、およびR<sub>j</sub>は、独立してHおよび場合によっては置換されたC<sub>1</sub>～C<sub>15</sub>アルキル、C<sub>1</sub>～C<sub>15</sub>ヘテロアルキル、C<sub>3</sub>～C<sub>15</sub>シクロアルキル、C<sub>3</sub>～C<sub>15</sub>ヘテロシクロアルキル、C<sub>4</sub>～C<sub>15</sub>アリール、またはC<sub>4</sub>～C<sub>15</sub>ヘテロアリールまたはそれらの組み合わせが選択され、R<sub>h</sub>、R<sub>i</sub>、およびR<sub>j</sub>の2つまたはそれ以上は、場合によっては結合して、1個または複数個の炭素環またはヘテロ環を形成する)が含まれ得るがこれらに限定されない。

30

40

## 【0184】

本明細書で使用されるような用語「アルキル」は、直鎖または分岐の飽和または不飽和の炭化水素置換基を指す場合がある。アルキル基の例には、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、オクチル、デシル、イソプロピル、sec-ブチル、イソ

50

ブチル、tert-ブチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ビニル、アリル、1-ブテニル、2-ブテニル、イソブチレニル、1-ペンテニル、および2-ペンテニルが含まれるがこれらに限定されない。

【0185】

本明細書で使用されるような用語「ヘテロアルキル」は、少なくとも1個の炭素がヘテロ原子により置き換えられている、直鎖または分岐の飽和または不飽和の炭化水素置換基を指す場合がある。例には、メチルオキシメチル、エチルオキシメチル、メチルオキシエチル、エチルオキシエチル、メチルアミノメチル、ジメチルアミノメチル、メチルアミノエチル、ジメチルアミノエチル、メチルチオメチル、エチルチオメチル、エチルチオエチル、およびメチルチオエチルが含まれるがこれらに限定されない。

10

【0186】

本明細書で使用されるような用語「シクロアルキル」は、1つの環または互いに融合した2つもしくはそれ以上の環からなる可能性がある、飽和または不飽和の非芳香族炭素環式置換基を指す場合がある。例には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンテニル、シクロペンタジエニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、1,3-シクロヘキサジエニル、デカリニル、および1,4-シクロヘキサジエニルが含まれるがこれらに限定されない。

【0187】

本明細書で使用されるような用語「ヘテロシクロアルキル」は、環の1つにおける少なくとも1個の炭素がヘテロ原子により置き換えられている、1つの環または互いに融合した2つもしくはそれ以上の環からなる可能性がある、飽和または不飽和の非芳香族環状炭化水素置換基を指す場合がある。例には、テトラヒドロフラン、ピロリジニル、ピペリジニル、1,4-ジオキサニル、デカヒドロキノリニル、ピペラジニル、オキサゾリジニル、およびモルホリニルが含まれるがこれらに限定されない。

20

【0188】

本明細書で使用されるような用語「ヘテロシクロアルキル」は、環の1つにおける少なくとも1個の炭素がヘテロ原子により置き換えられている、1つの環または互いに融合した2つもしくはそれ以上の環からなる可能性がある、飽和または不飽和の非芳香族環状炭化水素置換基を指す場合がある。例には、テトラヒドロフラン、ピロリジニル、ピペリジニル、1,4-ジオキサニル、デカヒドロキノリニル、ピペラジニル、オキサゾリジニル、およびモルホリニルが含まれるがこれらに限定されない。

30

【0189】

本明細書で使用されるような用語「アルキルアリール」は、アルキルに結合したアリールを指す場合があり、用語アルキルおよびアリールは、上で定義されているものである。例には、ベンジルおよびエチルベンゼン基が含まれるがこれらに限定されない。

【0190】

例えば「アルキル」に対する「アルキレン」において、「-イル」に対する伸長部分「-イレ」は、例えば前記「アルキレン」が1つまたは2つの他の部分に2つの共有単結合または1つの二重結合を介して結合した二価部分であり、それに対して例えば前記「アルキル」では1つの共有単結合を介して1つの部分に結合した一価の基であることを示唆する。そのため、用語「アルキレン」は、直鎖または分岐の飽和または不飽和の炭化水素部分を指す場合がある；本明細書で使用されるような用語「ヘテロアルキレン」は、少なくとも1個の炭素がヘテロ原子により置き換えられている、直鎖または分岐の飽和または不飽和の炭化水素部分を指す場合がある；本明細書で使用されるような用語「アリーレン」は、1つの環または互いに融合した2つもしくはそれ以上の環からなる可能性がある、炭素環式芳香族部分を指す場合がある；本明細書で使用されるような用語「ヘテロアリーレン」は、環の1つにおける少なくとも1個の炭素がヘテロ原子により置き換えられている、1つの環または互いに融合した2つもしくはそれ以上の環からなる可能性がある、炭素環式芳香族部分を指す場合がある；本明細書で使用されるような用語「シクロアルキレン」は、1つの環または互いに融合した2つもしくはそれ以上の環からなる可能性がある

40

50

、飽和または不飽和の非芳香族炭素環部分を指す場合がある；本明細書で使用されるような用語「ヘテロシクロアルキレン」は、環の1つにおける少なくとも1個の炭素がヘテロ原子により置き換えられている、1つの環または互いに融合した2つもしくはそれ以上の環からなる可能性がある、飽和または不飽和の非芳香族環状炭化水素部分を指す場合がある。代表的な二価の部分には、1個の水素原子が除去されている上記の一価の基について与えられているそれらの例が含まれる。

## 【0191】

「ポリアルキレン」、「ポリヘテロアルキレン」、「ポリアリーレン」、「ポリヘテロアリーレン」、「ポリシクロアルキレン」、「ポリヘテロシクロアルキレン」などの接頭語「ポリ」は、そのような「-イレン」部分、例えばアルキレン部分の2つまたはそれ以上が一緒に結合して、隣接部分のための1個または複数個の結合部位を含む分岐または非分岐の多価部分を形成することを指す。

10

## 【0192】

一実施形態において、アルキル基は、非置換または置換C<sub>1</sub>~C<sub>8</sub>アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールアルキル、ヘテロアリールアルキル、アルキニルまたはアルケニルである。

## 【0193】

一実施形態において、R<sub>2</sub>は、アリール基である。

## 【0194】

本明細書で使用されるような用語「アリール」は、1つの環または互いに融合した2つもしくはそれ以上の環からなる可能性がある、炭素環式芳香族置換基を指す場合がある。アリール基の例には、フェニル、ナフチル、およびアントラセニルが含まれるがこれらに限定されない。

20

## 【0195】

本明細書で使用されるような用語「ヘテロアリール」は、環の1つにおける少なくとも1個の炭素がヘテロ原子により置き換えられている、1つの環または互いに融合した2つもしくはそれ以上の環からなる可能性がある、炭素環式芳香族置換基を指す場合がある。ヘテロアリール基の例には、ピリジニル、フラニル、ピロリル、チアゾリル、ピラゾリル、イミダゾリル、チオフェニル、インドリル、ベンゾフラニル、ベンズイミダゾリル、インダゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンズイソキサゾリル、およびキノリニルが含まれるがこれらに限定されない。

30

## 【0196】

本開示の、ある特定のリンカーは、キラル中心または二重結合を保持する；任意の組成での2つまたはそれ以上の異性体のエナンチオマー、ジアステレオマー、および幾何混合物ならびに個々の異性体は、本開示の範囲内に包含される。

## 【0197】

一実施形態において、アリール基は、アリールまたはヘテロアリールである。

## 【0198】

一実施形態において、mは0である。

## 【0199】

一実施形態において、Yは、-D-グルコースである；R<sub>3</sub>は、-アミノ酸の、セリン、スレオニンまたはチロシンの側鎖である；およびR<sub>1</sub>は、-アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される。一実施形態において、Yは、-D-グルコースである；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；およびR<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である。

40

## 【0200】

一実施形態において、Yは、-D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、-アミノ酸の、セリン、スレオニンまたはチロシンの側鎖である；およびR<sub>1</sub>は、-アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される。

50

## 【0201】

一実施形態において、Yは、 $\alpha$ -D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；およびR<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である。

## 【0202】

一実施形態において、mは1である。

## 【0203】

一実施形態において、R<sub>1</sub>は、アミノ酸側鎖である。

## 【0204】

一実施形態において、R<sub>1</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される。 10

## 【0205】

一実施形態において、R<sub>1</sub>は、バリン、フェニルアラニンおよびアラニンの側鎖の群から選択される。

## 【0206】

一実施形態において、R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である。

## 【0207】

一実施形態において、R<sub>X</sub>は、直鎖C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基である。

## 【0208】

一実施形態において、R<sub>X</sub>は、分岐C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基である。 20

## 【0209】

一実施形態において、R<sub>X</sub>は、CH(R<sub>2</sub>)であり、R<sub>2</sub>は、アミノ酸側鎖である。

## 【0210】

一実施形態において、R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である。

## 【0211】

一実施形態において、Yは糖類である；R<sub>3</sub>は、アミノ酸の側鎖である；m=1；およびR<sub>1</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される。

## 【0212】

一実施形態において、Yは糖類である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m=1；R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である；およびR<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である。 30

## 【0213】

一実施形態において、Yは、 $\alpha$ -D-グルコースである；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m=1；R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である；およびR<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である。

## 【0214】

一実施形態において、Yは、 $\alpha$ -D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m=1；R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である；およびR<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である。一実施形態において、Zは存在しない。

## 【0215】

一実施形態において、Zは、自壊性基を含む。 40

## 【0216】

一実施形態において、Zは、本開示のリンカーおよびペイロード分子を結合する自壊性基を含む。用語「自壊性」は、化学部分を一緒に（例えば、MMAUを本開示のリンカーに）共有結合することができ、リンカーの残りの部分とのその結合が切断される場合、例えばMMAUまたは細胞毒性薬物から自然に分離する官能性化学部分を指す。

## 【0217】

一実施形態において、自壊性基は、パラ-アミノベンジルオキシカルボニル(PABC)、オルト-アミノベンジルオキシカルボニル、 $\alpha$ -アミノ酸およびオリゴペプチドである。一実施形態において、オリゴペプチドは、 $\alpha$ -アミノ酸のジペプチド、トリペプチドまたはテトラペプチドである。前記基は、リンカーが酵素により開裂された後、コンジュ 50

ゲートから、それ自体、自然に開裂することができる。

【0218】

一実施形態において、自壊性基は、パラ - アミノベンジルオキシカルボニル ( P A B C ) 基である。

【0219】

一実施形態において、Yは糖類である；R<sub>3</sub>は、アミノ酸の側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、 - アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される；およびZは、P A B Cである。

【0220】

一実施形態において、Yは糖類である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；およびZは、P A B Cである。

【0221】

一実施形態において、Yは、 - D - グルコースである；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；およびZは、P A B Cである。

【0222】

一実施形態において、Yは、 - D - グルコースである；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>X</sub>は、 - C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> - である；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；およびZは、P A B Cである。一実施形態において、Yは、 - D - グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>X</sub>は、 - C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> - である；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；およびZは、P A B Cである。

【0223】

一実施形態において、Yは、 - D - グルコースである；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>X</sub>は、 - C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> - である；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；およびZは存在しない。一実施形態において、Yは、 - D - グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>X</sub>は、 - C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> - である；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；およびZは存在しない。

【0224】

一実施形態において、Dは、細胞毒性薬物、免疫調節剤、標識薬剤、キレート剤および放射性薬剤からなる群より選択される。

【0225】

一実施形態において、免疫調節剤は、コルチゾール、コルチゾン、プレドニゾン、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、デキサメタゾン、ベタメタゾン、トリアムシノロン、フルドロコルチゾンおよびデオキシコルチコステロン、またはそれらの類縁体などのコルチコステロイド類；およびサリドマイド、レナリドミド ( C C - 5 0 1 3 )、C C - 4 0 4 7、またはそれらの類縁体の群から選択される。

【0226】

一実施形態において、標識薬剤は、蛍光標識、磁気標識および同位体標識の群から選択される。

【0227】

一実施形態において、キレート剤は、NOTA、DOTA、TRAPおよび類似のキレート剤の群から選択される。

【0228】

一実施形態において、放射性薬剤は、酸素、窒素、鉄、炭素、またはガリウムの陽電子放射体、<sup>43</sup>K、<sup>52</sup>Fe、<sup>57</sup>Co、<sup>67</sup>Cu、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>123</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>132</sup>I、または<sup>99</sup>Tcの群から選択される。

【0229】

一実施形態において、Dは、チューブリン結合剤、チューブリン破壊剤、アウリスタチン、DNA結合剤ならびにDNA - アルキル化剤および/または架橋剤からなる群より選択される細胞毒性薬物である。

10

20

30

40

50



## 【0230】

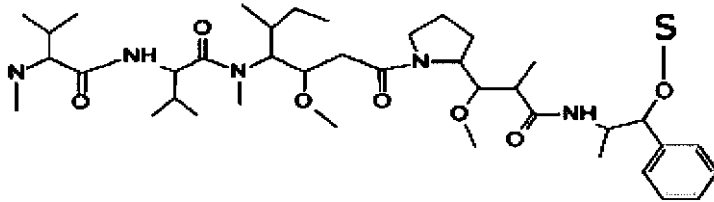
一実施形態において、Dはアウリスタチンである。

## 【0231】

一実施形態において、アウリスタチンは、式ASのモノメチルアウリスタチンE (MMAE) 糖類コンジュゲートである。

## 【0232】

## 【化26】



10

式AS

## 【0233】

式中、Sは糖類である。

## 【0234】

一実施形態において、糖類は、  
 - D - ガラクトース、N - アセチル - D - ガラクトサミン、  
 N - アセチル - D - ガラクトサミン、N - アセチル - D - グルコサミン、  
 - D - グルクロン酸、- L - イズロン酸、- D - ガラクトース、  
 - D - グルコース、- D - グルコース、- D - マンノース、  
 - D - マンノース、- L - フコース、  
 - D - キシロース、ノイラミン酸およびそれらの任意の類縁体または修飾からなる群より選択される単糖を含むか、その単糖である。

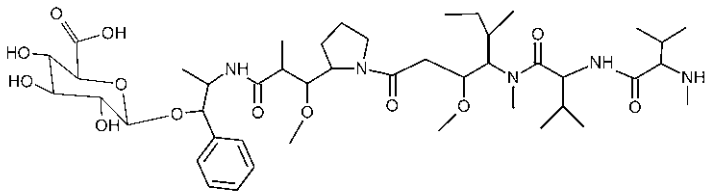
20

## 【0235】

一実施形態において、Dは、モノメチルアウリスタチンE - D - グルクロニド (MMAU) である。

## 【0236】

## 【化27】



30

MMAU

## 【0237】

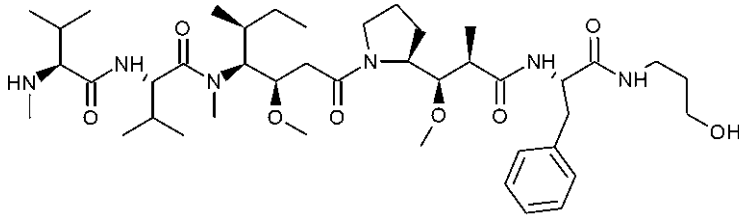
一実施形態において、Dは、モノメチルアウリスタチンF 3 - ヒドロキシプロパンアミド (MMAFP) である。

40

## 【0238】

50

## 【化 2 8】



MMAFP

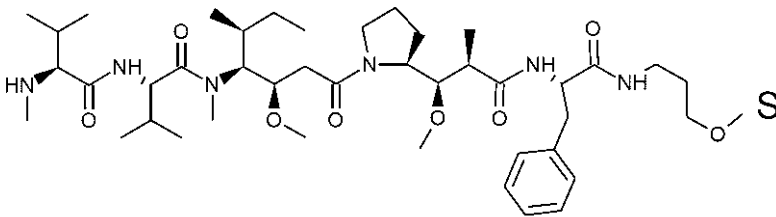
10

## 【 0 2 3 9】

一実施形態において、Dは、式FSのモノメチルアウリスタチンF 3 - ヒドロキシプロパンアミド - グリコシドである。

## 【 0 2 4 0】

## 【化 2 9】



式FS

20

## 【 0 2 4 1】

式中、Sは糖類である。

## 【 0 2 4 2】

一実施形態において、糖類は、 - D - ガラクトース、N - アセチル - - D - ガラクトサミン、N - アセチル - - D - ガラクトサミン、N - アセチル - - D - グルコサミン、 - D - グルクロン酸、 - L - イズロン酸、 - D - ガラクトース、 - D - グルコース、 - D - グルコース、 - D - マンノース、 - D - マンノース、 - L - フコース、 - D - キシロース、ノイラミン酸およびそれらの任意の類縁体または修飾からなる群より選択される単糖を含むか、その単糖である。

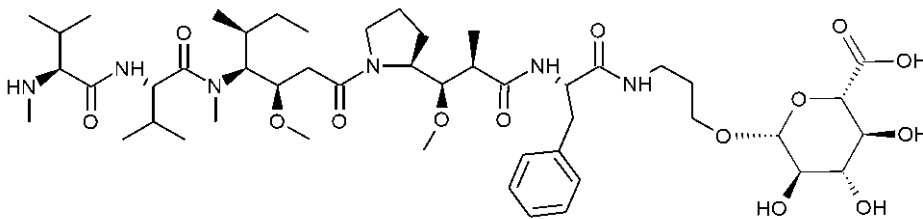
30

## 【 0 2 4 3】

一実施形態において、Dは、モノメチルアウリスタチンF 3 - ヒドロキシプロパンアミド - D - グルクロニド (MMAFU) である。

## 【 0 2 4 4】

## 【化 3 0】



MMAFU

40

## 【 0 2 4 5】

50

一実施形態において、ペイロード分子Dは、アミン部分を含み、これを介してペイロード分子が結合し、それによって第二級または第三級アミンを形成する。

【0246】

本明細書の文脈において、用語「細胞毒性薬物」は、任意の細胞毒性薬物または細胞毒性薬物誘導体を指す場合がある。それはまた、1つまたは複数の実施形態によるコンジュゲートの細胞毒性薬物部分を指す場合がある；前記細胞毒性薬物部分は、本明細書に記載されたように、例えば、本開示のリンカーの付加により、修飾される場合がある。用語「細胞毒性薬物」はまた、細胞毒性剤を指す場合がある。

【0247】

細胞毒性薬物は、結果として細胞の死となるか、細胞死を誘導するか、いくらかの手段で細胞生存率を低下させる任意の化合物であり得る。細胞毒性薬物は、ドラスタチン類；アウリスタチン類；エポチロン類；ダウノルピシン類およびドキシソルピシン類；チオテパおよびシクロホスファミド（CYTOXAN（商標））などのアルキル化剤類；ブスルファン、インプロスルファンおよびピポスルファンなどのスルホン酸アルキル類；ベンゾドーパ（benzodopa）、カルボコン、メツレドーパ（meturedopa）、およびウレドーパ（uredopa）などのアジリジン類；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレン-ホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド（triethylenethiophosphoramidate）およびトリメチロールオメラミン（trimethylolomelamine）を含むエチレンイミン類およびメチルアメルアミン類（methylamelamines）；アセトゲニン類（特にプラタシンおよびプラタシノン）；カンプトテシン（合成類縁体のトポテカンを含む）；プリオスタチン；カリストアチン；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシン合成類縁体を含む）；クリプトフィシン類（特にクリプトフィシン1およびクリプトフィシン8）；デュオカルマイシン（合成類縁体、KW-2189およびCBI-TMIを含む）；エリユテロピン；パンクラチスタチン；サルコジクチン類；スポンギスタチン；クロラムブシル、クロマファジン（chlomaphazine）、コロホスファミド（cholophosphamide）、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロルエタミン酸化物塩酸塩、メルファラン、ノベンピキン（novembichin）、フェネステリン、プレドニマスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード類；カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソウレア類（nitrosoureas）；抗生物質、例えばエンジン抗生物質（例えば、カリケアミシン類、特にカリケアミシン1；ジネミシンAを含むジネミシン；エスペラミシン；ならびにネオカルジノスタチン発色団および関連する色素タンパク質エンジン抗生物質発色団（antibiotic chromomorphores））、アクラシノマイシン類（aclacinomysins）、アクチノマイシン、アウトラマイシン（authramycin）、アザセリン、プレオマイシン類、カクチノマイシン（cactinomycin）、カラピシン（carabycin）、カミノマイシン（caminomycin）、カルジノフィリン（carzinophilin）；クロモマイシン類、ダクチノマイシン、デトルピシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、モルフォリノ-ドキシソルピシン、シアノモルフォリノ-ドキシソルピシン、2-ピロリノ-ドキシソルピシン（2-pyrroliino-doxorubicin）およびデオキシドキシソルピシンを含む他のドキシソルピシン誘導体、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルチェロマイシン（marcellomycin）、マイトマイシン類（nitomycins）、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン類、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン（potfiromycin）、ピューロマイシン、クエラマイシン（quelamycin）、ロドルピシン（rodorubicin）、ストレプトニグリン、ストレプトゾトシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン；メトトレキサートおよび5-フルオロウラシル（5-FU）などの代謝拮抗物質；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン（pteropterin）、トリメトトレキサートなどの葉酸類縁体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類縁体；アンシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン、5-フルオロウ

10

20

30

40

50

ラシルなどのピリミジン類縁体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン類；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗アドレナリン作動薬；フォリン酸などの葉酸補充剤；アセグラトン；アルドホスファミド（aldophosphamide）グリコシド；アミノレプリン酸；アムサクリン；ベストラブシル（bestrabucil）；ピサントレン；エダトラキセート（edatraxate）；デフォファミン（defofamine）；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォミチン（elfomithine）；酢酸エリプチニウム；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン；メイタンシンおよびN - グルコシルメイタンシノイド類、アンサマイトシン類、DM - 1、DM - 4などのメイタンシノイド類；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ポドフィリン酸；2 - エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録商標）；ラゾキサシ；リゾキシシ；シゾフラン（sizofuran）；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2，2'，2'' - トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン類（特にT - 2トキシシ、ベラキュリンA（verracurin A）、ロリジンAおよびアングジン）；ウレタン；ピンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピポプロマン；ガシトシン（gacytosine）；アラビノシド（「Ara - C」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド類、例えばパクリタキセル（TAXOL（登録商標）、プリストル - マイヤーズ・スクイブ・オンコロジ - プリンストン、N . J .）およびドセタキセル（TAXOTERE（登録商標）、ローヌ - ブーランク・ローラー、アントニー、フランス）；クロラムブシル；ゲムシタピン；6 - チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン、カルボプラチンおよびピンブラスチンなどの白金配位錯体；エトボシド（VP - 16）；イホスファミド；マイトマイシンC；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ピノレルピン；ナベルピン；ノバントロン；テニボシド；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロン酸；CPT - 11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000；ジフルオロメチルオミチン（difluoromethylomithine）（DMFO）；レチノイン酸；カベシタピン；例えばタモキシフェン、ラロキシフェン、アロマターゼ阻害4（5） - イミダゾール類、4 - ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン（keoxifene）、LY 117018、オナプリストン、およびトレミフェン（フェアストン）を含む抗エストロゲン剤などの、腫瘍に対するホルモン作用を調節または阻害するように作用する抗ホルモン剤；ならびにフルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、およびゴセレリンなどの抗アンドロゲン類；ツブリシン類； - アマニチンなどのアマニチン類；ならびに薬学的に許容される塩、酸；およびその内容がその全体で本明細書に組み込まれている国際特許公開第WO / 2016 / 001485号で開示されたような上記のいずれかの糖類誘導体を含むがこれらに限定されない、多くの小分子薬物のいずれかであり得る。

【0248】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ドラスタチン、アウリスタチン、ドキソルピシン、DM1、エピルピシン、デュオカルマイシンまたはそれらの任意の類縁体もしくは誘導体である。

【0249】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ドラスタチン、アウリスタチン、ドキソルピシン、またはそれらの任意の類縁体もしくは誘導体である。

【0250】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ドラスタチン10またはその任意の誘導体である。

【0251】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ドラスタチン15またはその任意の誘導体である。

【0252】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、アウリスタチンFまたはその任意の誘導体であ

10

20

30

40

50

る。

【0253】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ドラスタチン10、ドラスタチン15、またはアウリスタチンFである。

【0254】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ドラスタチン10である。

【0255】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ドラスタチン15である。

【0256】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、アウリスタチンFである。

10

【0257】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、アウリスタチンU (MMAU) である。

【0258】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、アウリスタチンFP (MMAFP) である。

【0259】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、アウリスタチンFU (MMAFU) である。適切なドラスタチン類の例には、モノメチルおよびデスメチルドラスタチン10、15、C、DおよびH、モノメチルおよびデスメチルイソドラスタチンH、ならびにそれらの類縁体および誘導体を含む。ドラスタチン10および15は、 $\beta$ -アミノ酸発生ドラスタチン類の中で最も強力な細胞毒性剤である。モノメチルおよびデスメチルドラスタチン10および15は、標準ペプチド合成化学にしたがって化学合成により調製することができる。

20

【0260】

使用することができる適切なアウリスタチン類の例には、モノメチルおよびデスメチルアウリスタチンE、F、FP、FU、EB、EFP、PY、PYE、PE、PHE、TP、2-AQおよび6-AQが含まれる（がこれらに限定されない）。

【0261】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ダウノルビシンまたはドキソルビシンである。

【0262】

一実施形態において、ルビシンまたはドキソルビシン誘導体は、ネモルビシン (3'-デアミノ-3'-[2" (S)-メトキシ-4"-モルホリニル]ドキソルビシン; MMD 30 X) またはその修飾もしくは誘導体である。

【0263】

一実施形態において、ルビシンまたはドキソルビシン誘導体は、3'-デアミノ-3", 4'-アンヒドロ-[2" (S)-メトキシ-3" (R)-オキシ-4"-モルホリニル]ドキソルビシン (PNU-159682) またはその修飾もしくは誘導体である。

【0264】

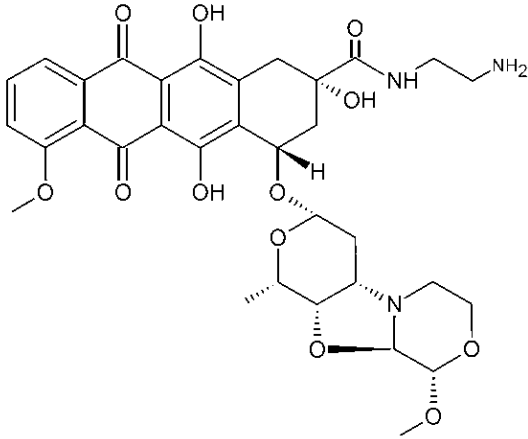
一実施形態において、ルビシンまたはドキソルビシン誘導体は、PNU-EDA、PNU-EDA' またはその修飾もしくは誘導体である。

【0265】

40

50

【化 3 1】

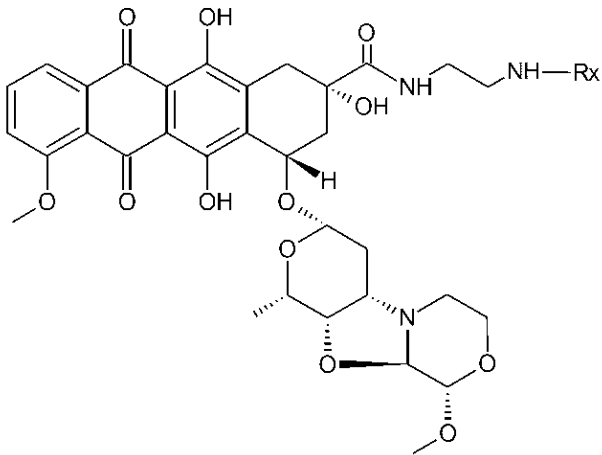


式 PNU-EDA

10

【 0 2 6 6】

【化 3 2】



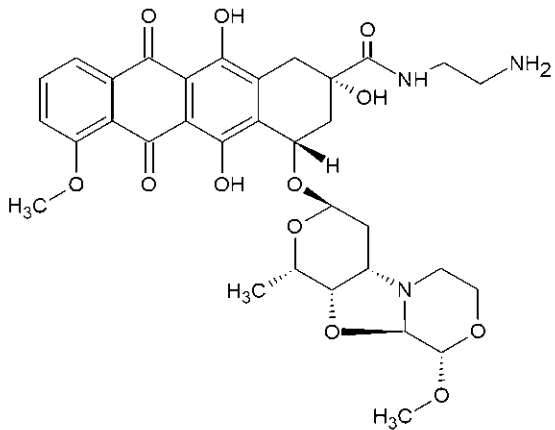
式 PNU-EDA ADC

20

30

【 0 2 6 7】

【化 3 3】



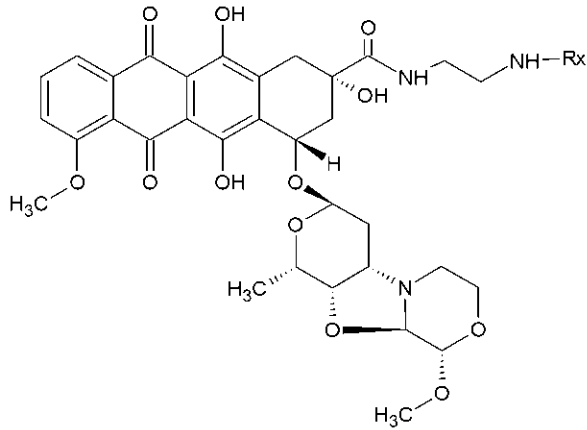
式 PNU-EDA'

40

【 0 2 6 8】

50

## 【化 3 4】



式 PNU-EDA' ADC

10

## 【 0 2 6 9】

式中、Rx は、L - 抗体であり、L は、本明細書に記載のリンカーであり、「リンカー」は、D を含まない式 I および式 I I I により表される分子の一部または部分を指すか、D および T を含まない式 I I、式 I I s、式 I V および式 I V s により表される分子の一部または部分を指すと理解されるべきである。

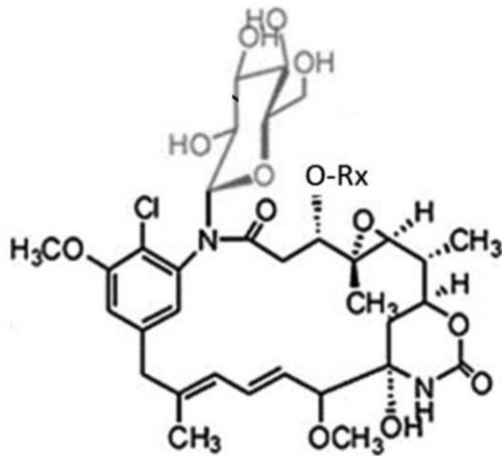
20

## 【 0 2 7 0】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、メイタンシノイドである。メイタンシノイドは、N - グルコシルメイタンシノイドであり得る。

## 【 0 2 7 1】

## 【化 3 5】



式 N-グルコシルメイタンシノイド

30

40

## 【 0 2 7 2】

式中、Rx は、L - 抗体であり、L は、本明細書に記載のリンカーであり、「リンカー」は、D を含まない式 I および式 I I I により表される分子の一部または部分を指すか、D および T を含まない式 I I、式 I I s、式 I V および式 I V s により表される分子の一部または部分を指すと理解されるべきである。

## 【 0 2 7 3】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、メイタンシン、アンサマイトシン、DM 1 または DM 4 (DM - 4 としても既知である) である。

## 【 0 2 7 4】

50

一実施形態において、細胞毒性薬物は、DM1である。DM1はまた、DM-1およびメルタンシンとしても既知である。

【0275】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ルビシンである。適切なルビシンは、例えばダウノルビシン類、ドキソルビシン類、デトルビシン、モルフォリノ-ドキソルビシン、シアノモルフォリノ-ドキソルビシン、2-ピロリノ-ドキソルビシン(2-pyrrolino-doxorubicin)、デオキシドキソルビシン、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、ロドルビシン(rodorubicin)、ゾルビシン、およびピラルビシンを含む他のドキソルビシン誘導体であり得る。

【0276】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、エピルビシンである。

【0277】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、デュオカルマイシンである。適切なデュオカルマイシン類は、例えばデュオカルマイシンA、デュオカルマイシンB1、デュオカルマイシンB2、デュオカルマイシンC1、デュオカルマイシンC2、デュオカルマイシンD、デュオカルマイシンSA、デュオカルマイシンMA、およびCC-1065であり得る。用語「デュオカルマイシン」は、アドゼレシン、ビゼレシン、カルゼルシン、KW-2189およびCBI-TMIなどのデュオカルマイシン類の合成類縁体も指すと理解されるべきである。

【0278】

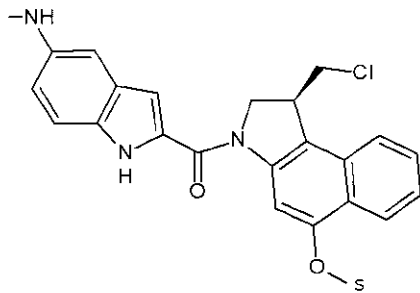
一実施形態において、細胞毒性薬物は、DNAをアルキル化することができるデュオカルマイシン断片を含む。一実施形態において、細胞毒性薬物は、DNAをアルキル化することができる2つまたはそれ以上のデュオカルマイシン断片を含む。一実施形態において、細胞毒性薬物は、DNAをアルキル化することができる2つのデュオカルマイシン断片を含む。

【0279】

一実施形態において、デュオカルマイシンは、式DSのデュオカルマイシン-糖類コンジュゲートである。

【0280】

【化36】



式DS

【0281】

式中、Sは、糖類である。

【0282】

一実施形態において、糖類は、-D-ガラクトース、N-アセチル-D-ガラクトサミン、N-アセチル-D-ガラクトサミン、N-アセチル-D-グルコサミン、-D-グルクロン酸、-L-イズロン酸、-D-ガラクトース、-D-グルコース、-D-グルコース、-D-マンノース、-D-マンノース、-L-フコース、-D-キシロース、ノイラミン酸およびそれらの任意の類縁体または修飾からなる群より選択される単糖を含むか、その単糖である。



## 【 0 2 8 3 】

適切なドラスタチン類の例には、モノメチルおよびデスメチルドラスタチン 1 0、1 5、C、D および H、モノメチルおよびデスメチルイソドラスタチン H、ならびにそれらの類縁体および誘導体が含まれる。

## 【 0 2 8 4 】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ツブリシンである。

## 【 0 2 8 5 】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、 - アマニチンなどのアマニチンである。

## 【 0 2 8 6 】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、クリプトフィシンである。

10

## 【 0 2 8 7 】

一実施形態において、アウリスタチンは、モノメチルアウリスタチン E である。

## 【 0 2 8 8 】

一実施形態において、アウリスタチンは、M M A U である。

## 【 0 2 8 9 】

一実施形態において、アウリスタチンは、モノメチルアウリスタチン F、W または M である。

## 【 0 2 9 0 】

一実施形態において、細胞毒性薬物は、ピロロベンゾジアゼピン ( P B D )、P B D 二量体またはそれらの類縁体である。

20

## 【 0 2 9 1 】

一実施形態において、ピロロベンゾジアゼピン ( P B D )、P B D 二量体またはそれらの類縁体は、天然に存在するものおよび合成の類縁体、アペイマイシン、チカマイシン、D C - 8 1 ; マゼトラマイシン、ネオトラマイシン A および B、ポロトラマイシン、プロトラカルシン ; シバノマイシン ( D C - 1 0 2 )、シビロマイシンおよびトママイシン ( tomamycin ) の群から選択される。

## 【 0 2 9 2 】

一実施形態において、ピロロベンゾジアゼピン ( P B D )、P B D 二量体またはそれらの類縁体は、Miller et al. 2016, Mol Cancer Ther ; 15 ( 8 ) ; 1 - 9 に記載の非架橋類縁体である。

30

## 【 0 2 9 3 】

D は、ドラスタチン ; アウリスタチン ; エポチロン ; ダウノルピシン ; ドキソルピシン ; チオテパまたはシクロホスファミド ( C Y T O X A N ( 商 標 ) ) などのアルキル化剤 ; ブスルファン、インプロスルファンまたはピボスルファンなどのスルホン酸アルキル ; ベンゾドーパ ( benzodopa )、カルボコン、メツレドーパ ( meturedopa )、またはウレドーパ ( uredopa ) などのアジリジン ; アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレン - ホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド ( triethylenethiophosphoramidate ) またはトリメチロールオメラミン ( trimethylolomelamine ) などのエチレンイミンおよび / またはメチルアメルアミン ( methylamelamine ) ; プラタシンまたはプラタシノンなどのアセトゲニン ; 合成類縁体トポテカンなどのカンプトテシン ; プリオスタチン ; カリスタチン ; C C - 1 0 6 5 および / またはそのアドゼレシン、カルゼレシンまたはビゼレシン合成類縁体 ; クリプトフィシン 1 またはクリプトフィシン 8 ) などのクリプトフィシン ; デュオカルマイシン ( 合成類縁体、K W - 2 1 8 9 および C B I - T M I を含む ) ; エリュテロピン ; パンクラチスタチン ; サルコジクチン類 ; スポンギスタチン ; クロラムブシル、クロマファジン ( chlomaphazine )、コロホスファミド ( cholophosphamide )、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロルエタミン酸化物塩酸塩、メルファラン、ノベンピキン ( novembichin )、フェネステリン、プレドニマスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード類 ; カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソウレア類 ( nitrosureas ) ; 抗生物質、例えば

40

50

エンジン抗生物質（例えば、カリケアミシン類、特にカリケアミシン 1；ジネミシン Aを含むジネミシン；エスペラミシン；ならびにネオカルジノスタチン発色団および関連する色素タンパク質エンジン抗生物質発色団（antibiotic chromomophores））、アクラシノマイシン類（aclacinomysins）、アクチノマイシン、アウトラマイシン（authramycin）、アザセリン、プレオマイシン類、カクチノマイシン（cactinomycin）、カラビシン（carabycin）、カミノマイシン（caminomycin）、カルジノフィリン（carzinophilin）；クロモマイシン類、ダクチノマイシン、デトルピシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、モルフォリノ - ドキソルピシン、シアノモルフォリノ - ドキソルピシン、2 - ピロリノ - ドキソルピシン（2-pyrrolino-doxorubicin）およびデオキシドキソルピシンを含む他のドキソルピシン誘導体、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルチェロマイシン（marcellomycin）、マイトマイシン類（nitomycins）、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン類、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン（potfiromycin）、ピューロマイシン、クエラマイシン（quelamycin）、ロドルピシン（rodorubicin）、ストレプトニグリン、ストレプトゾトシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン；メトトレキサートおよび5 - フルオロウラシル（5 - FU）などの代謝拮抗物質；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン（pteropterin）、トリメトトレキサートなどの葉酸類縁体；フルダラビン、6 - メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類縁体；アンシタピン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン、5 - フルオロウラシルなどのピリミジン類縁体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン類；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗アドレナリン作動薬；フォリン酸などの葉酸補充剤；アセグラトン；アルドホスファミド（aldophosphamide）グリコシド；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル（bestrabucil）；ピサントレン；エダトラキセート（edatraxate）；デフォファミン（defofamine）；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォミチン（elfomithine）；酢酸エリブチニウム；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン；メイタンシンおよびN - グルコシルメイタンシノイド類、アンサマイトシン類、DM - 1、DM - 4などのメイタンシノイド類；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ポドフィリン酸；2 - エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録商標）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフラン（sizofuran）；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2, 2', 2'' - トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン類（特にT - 2トキシン、ベラキュリンA（verracurin A）、ロリジンAおよびアンギジン）；ウレタン；ピンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン（gacytosine）；アラビノシド（「Ara - C」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド類、例えばパクリタキセル（TAXOL（登録商標）、プリストル - マイヤーズ・スクイブ・オンコロジー、プリンストン、N. J.）およびドセタキセル（TAXOTERE（登録商標）、ローヌ - プーランク・ローラー、アントニー、フランス）；クロラムブシル；ゲムシタピン；6 - チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン、カルボプラチンおよびピンブラスチンなどの白金配位錯体；エトポシド（VP - 16）；イホスファミド；マイトマイシンC；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ピノレルピン；ナベルピン；ノバントロン；テニボシド；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロン酸；CPT - 11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000；ジフルオロメチルオミチン（difluoromethylomithine）（DMFO）；レチノイン酸；カベシタピン；タモキシフェン、ラロキシフェン、アロマターゼ阻害4（5） - イミダゾール類、4 - ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン（keoxifene）、LY 117018、オナプリストン、およびトレミフェン（フェアストン）；ならびにフルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、およびゴセレリンなどの抗アンドロゲン類；ツ

ブリシン類； - アマニチンなどのアマニチン類；ならびに薬学的に許容される塩、酸；  
 ドラスタチン 10 またはその任意の誘導体；ドラスタチン 15 またはその任意の誘導体；  
 アウリスタチン F またはその任意の誘導体；モノメチルおよびデスメチルドラスタチン 1  
 0、15、C、D および H、モノメチルおよびデスメチルイソドラスタチン H、ならびに  
 それらの類縁体および誘導体；モノメチルおよびデスメチルアウリスタチン E、F、E B  
 、E F P、P Y、P Y E、P E、P H E、T P、2 - A Q および 6 - A Q；メイタンシノ  
 イド類；N - グルコシルメイタンシノイド；メイタンシン、アンサマイトシン、D M 1（  
 メルタンシンとしても既知である）または D M 4（D M - 4 としても既知である）；ダウ  
 ノルピシン類、ドキシソルピシン類、デトルピシン、モルフォリノ - ドキシソルピシン、シア  
 ノモルフォリノ - ドキシソルピシン、2 - ピロリノ - ドキシソルピシン（2-pyrrolino-dox  
 orubicin）、デオキシドキシソルピシン、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、  
 ロドルピシン（rodorubicin）、ゾルピシン、およびピラルピシンを含む他のドキシソル  
 ピシン誘導体；デュオカルマイシン A、デュオカルマイシン B 1、デュオカルマイシン B  
 2、デュオカルマイシン C 1、デュオカルマイシン C 2、デュオカルマイシン D、デュオ  
 カルマイシン S A、デュオカルマイシン M A、および C C - 1065；アドゼレシン、ピ  
 ゼレシン、カルゼルシン、K W - 2189 および C B I - T M I などのデュオカルマイシ  
 ン類の合成類縁体；式 D S のデュオカルマイシン - 糖類コンジュゲート；ツブリシン；  
 - アマニチン；クリプトフィシン；モノメチルアウリスタチン E；式 A S のアウリスタ  
 チン糖類コンジュゲート；M M A U；モノメチルアウリスタチン F、W または M；ピロロベ  
 ンゾジアゼピン（P B D）、アペイマイシン、チカマイシン、D C - 81、マゼトラマイ  
 シン、ネオトラマイシン A および B、ポロトラマイシン、プロトラカルシン、シピロマイ  
 シン、トママイシン（tomamycin）、および P B D 二量体；または上記のいずれかの類  
 縁体からなる群より選択される細胞毒性薬物であり得る。

10

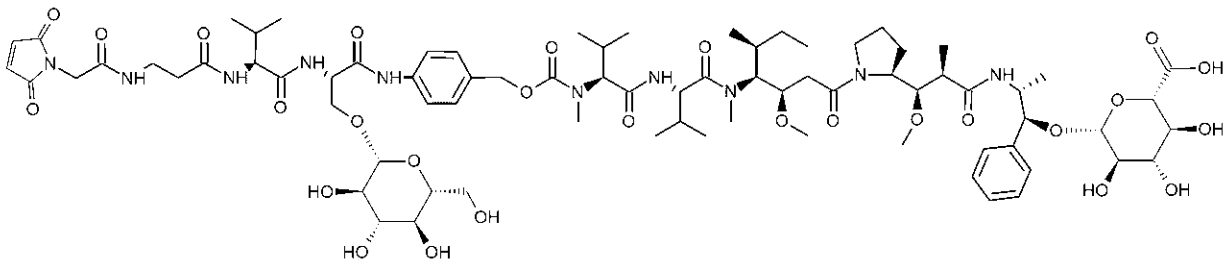
20

## 【0294】

一実施形態において、リンカー - ペイロードコンジュゲートは、以下の式 C M a ~ 式 C  
 M z z のいずれか 1 つにしたがう。

## 【0295】

## 【化37】

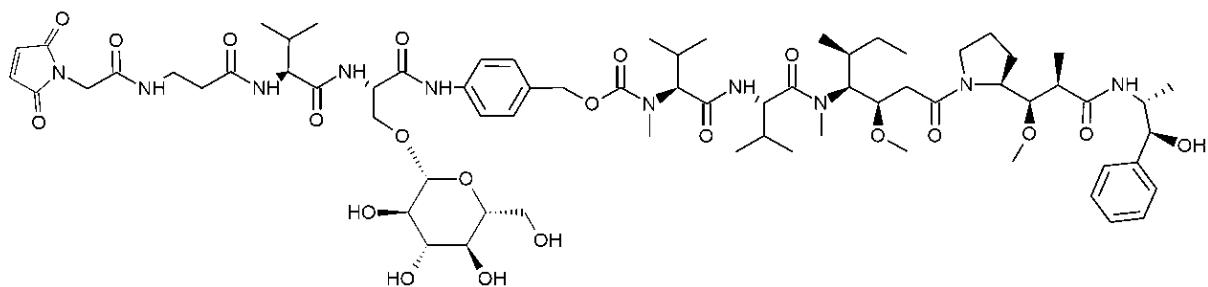


式 CMa

30

## 【0296】

## 【化38】



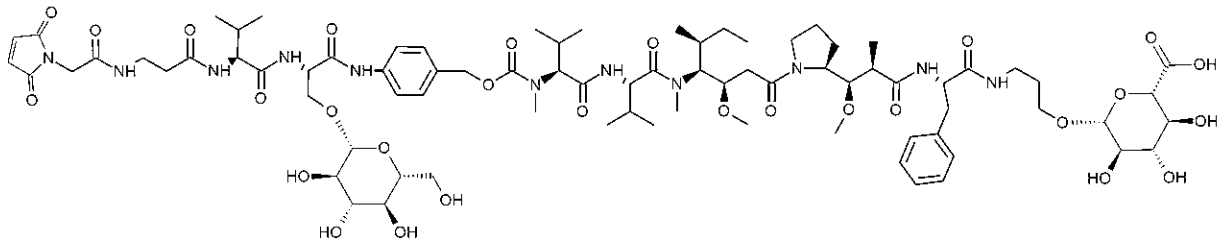
式 CMb

40

50

【 0 2 9 7 】

【 化 3 9 】

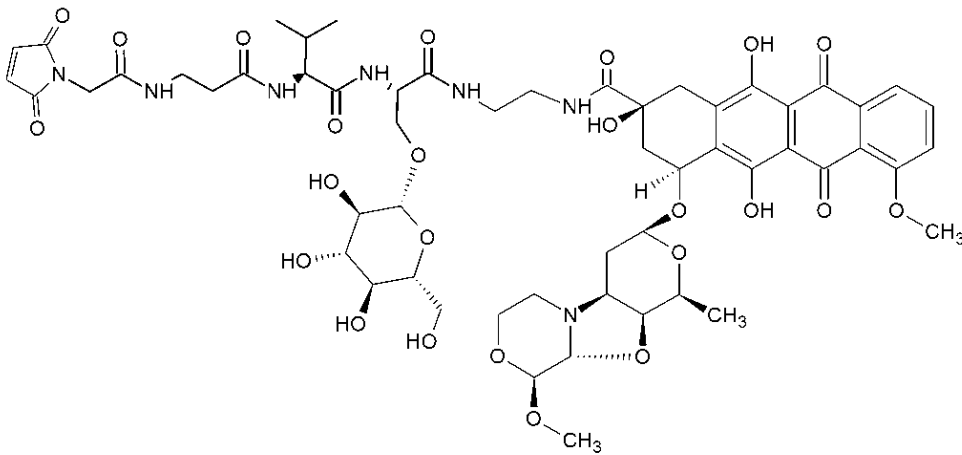


式 CMc

10

【 0 2 9 8 】

【 化 4 0 】

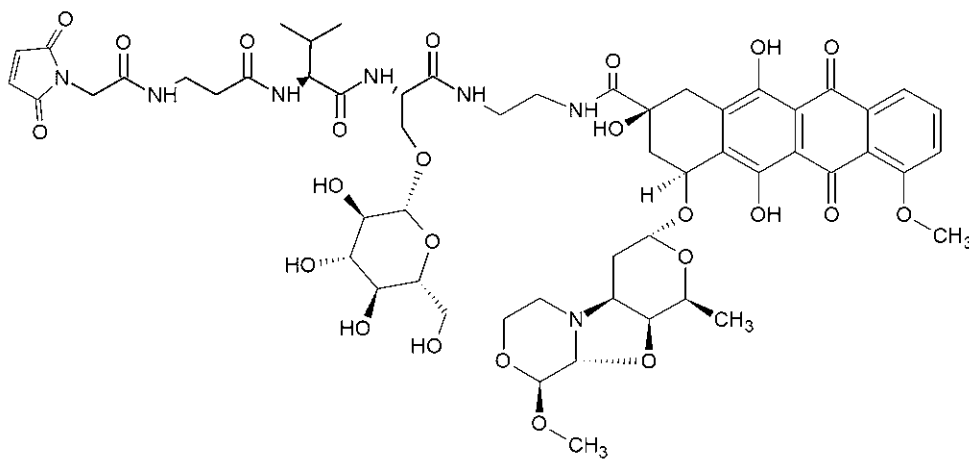


式 CMd

20

【 0 2 9 9 】

【 化 4 1 】



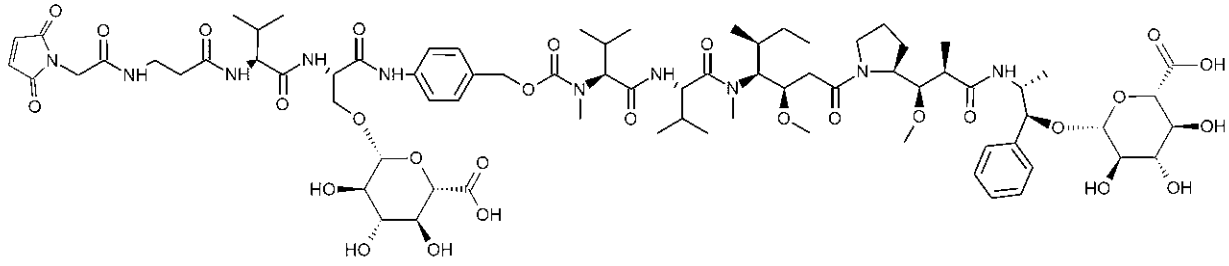
式 CMd'

40

【 0 3 0 0 】

50

【化 4 2】

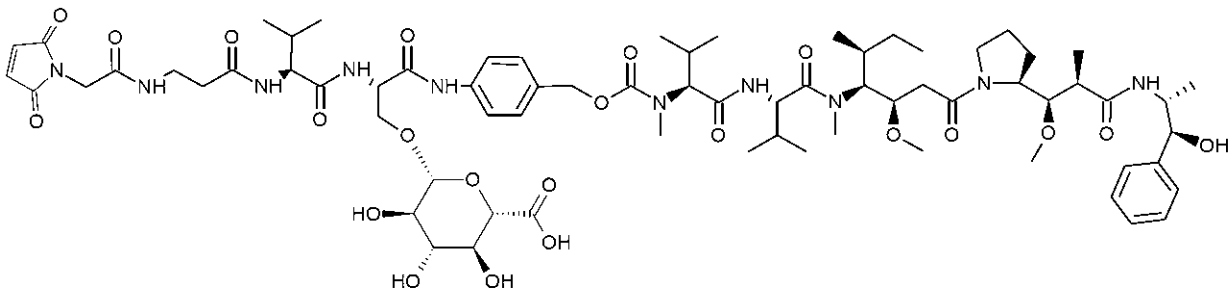


式 CMe

10

【 0 3 0 1】

【化 4 3】

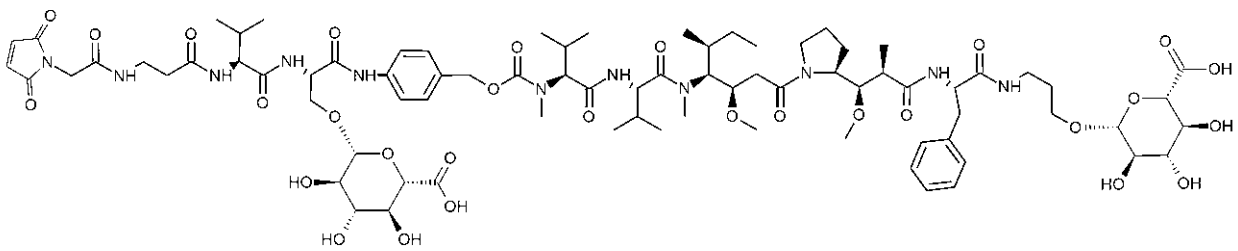


式 CMf

20

【 0 3 0 2】

【化 4 4】



式 CMg

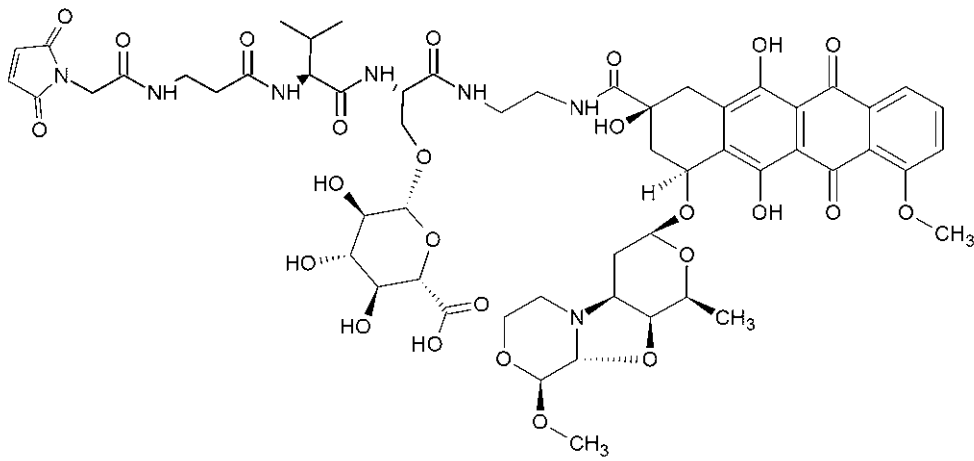
30

【 0 3 0 3】

40

50

【化 4 5】

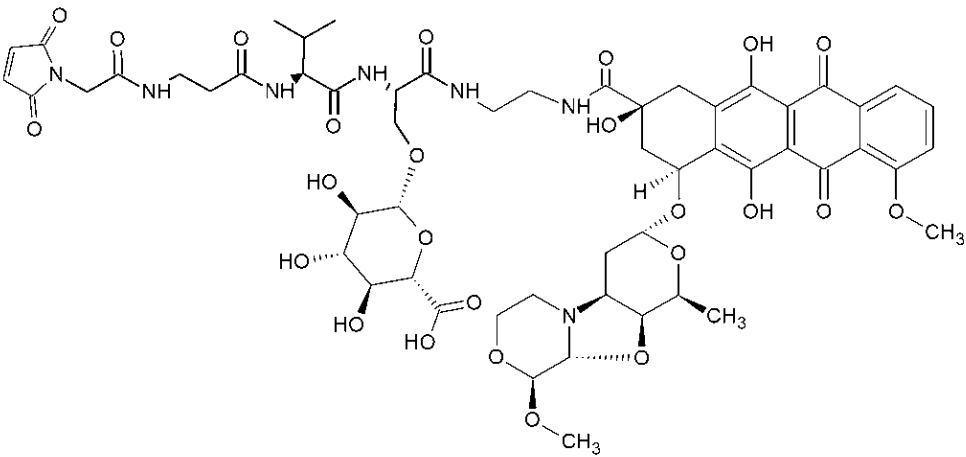


10

式 CMh

【 0 3 0 4】

【化 4 6】



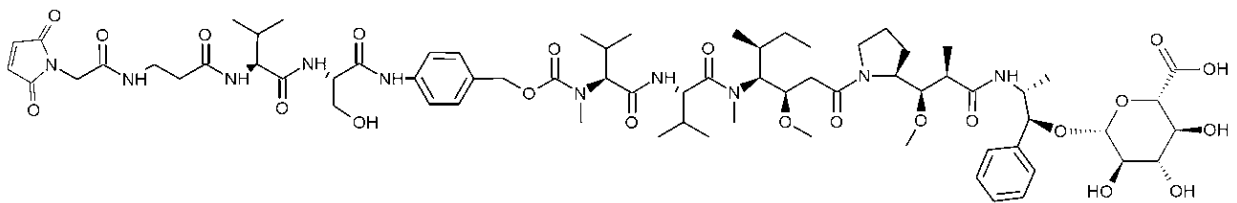
20

30

式 CMh'

【 0 3 0 5】

【化 4 7】



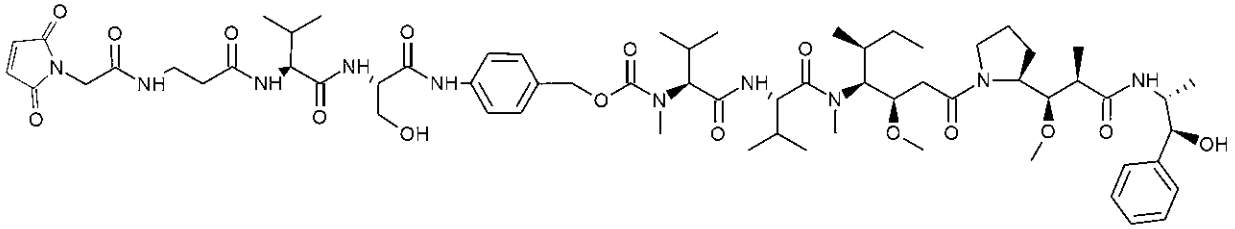
40

式 CMi

【 0 3 0 6】

50

【化 4 8】

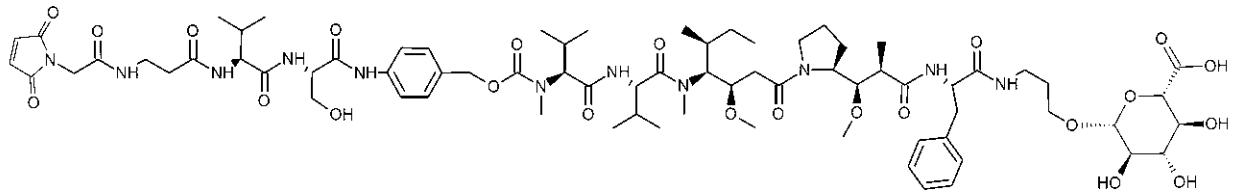


式 CMj

10

【 0 3 0 7】

【化 4 9】

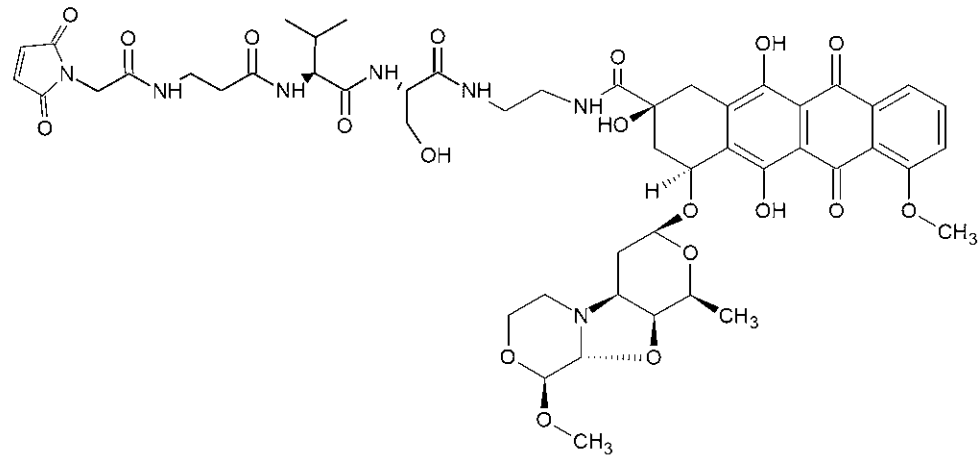


式 CMk

20

【 0 3 0 8】

【化 5 0】



式 CMl

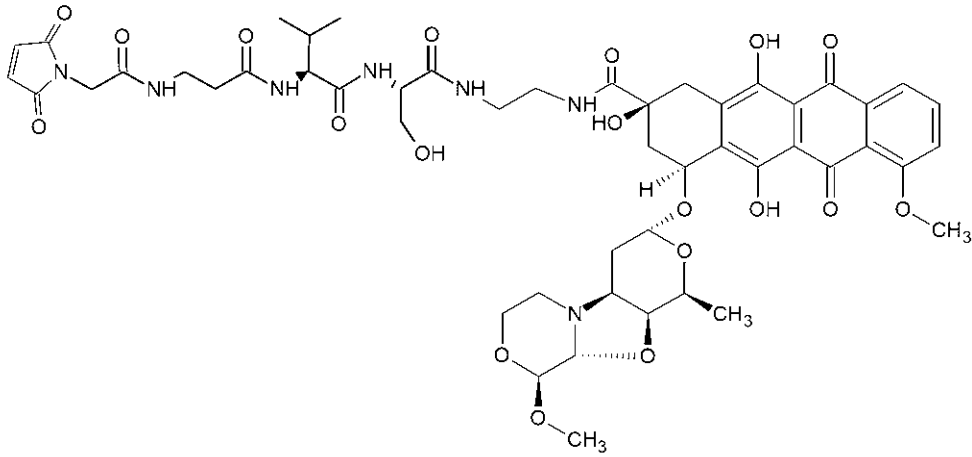
30

【 0 3 0 9】

40

50

【化 5 1】

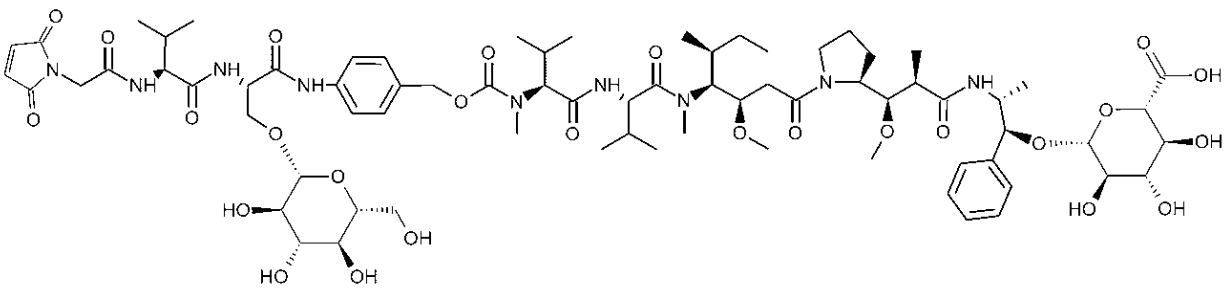


10

式 CM1'

【 0 3 1 0】

【化 5 2】

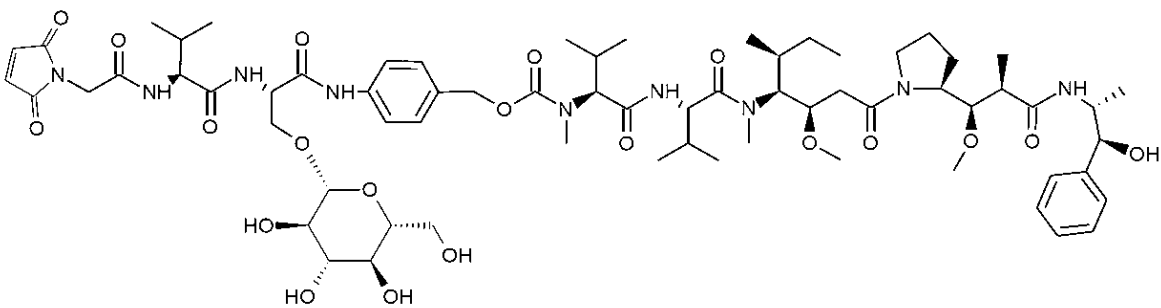


20

式 CMm

【 0 3 1 1】

【化 5 3】



30

式 CMn

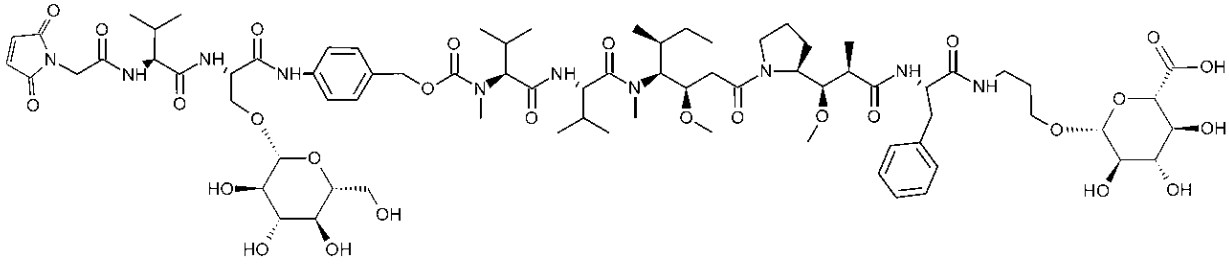
40

【 0 3 1 2】

50



【化 5 4】

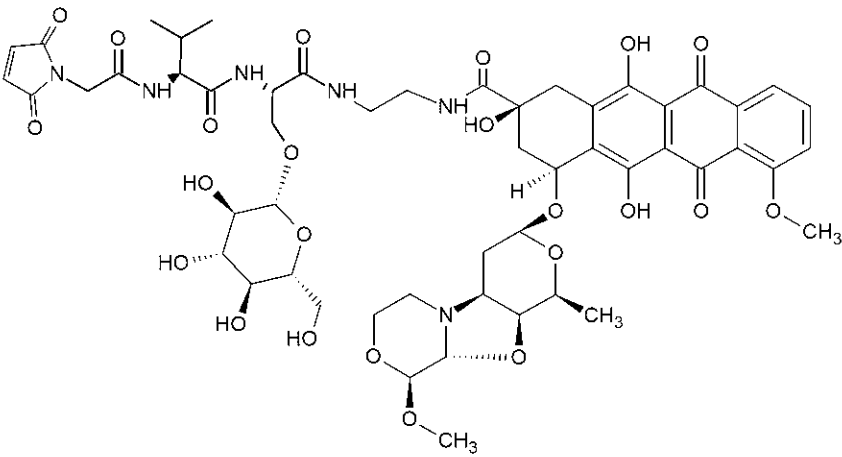


式 CMo

10

【 0 3 1 3 】

【化 5 5】

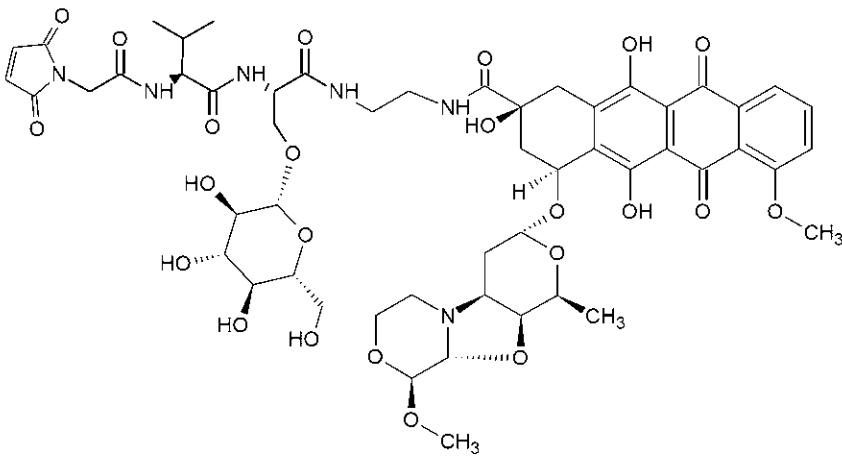


式 CMp

20

【 0 3 1 4 】

【化 5 6】



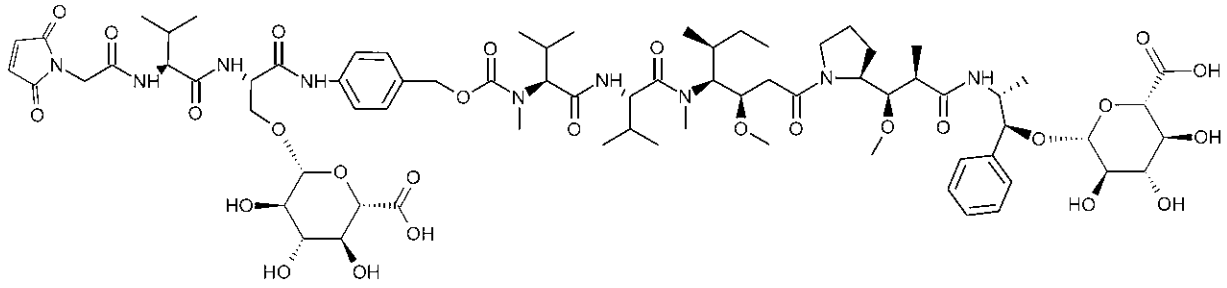
式 CMp'

40

【 0 3 1 5 】

50

【化 5 7】

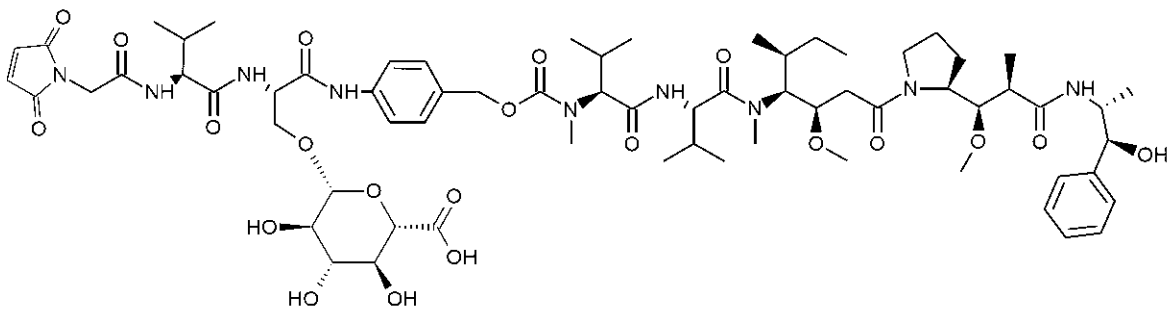


式 CMq

10

【 0 3 1 6】

【化 5 8】

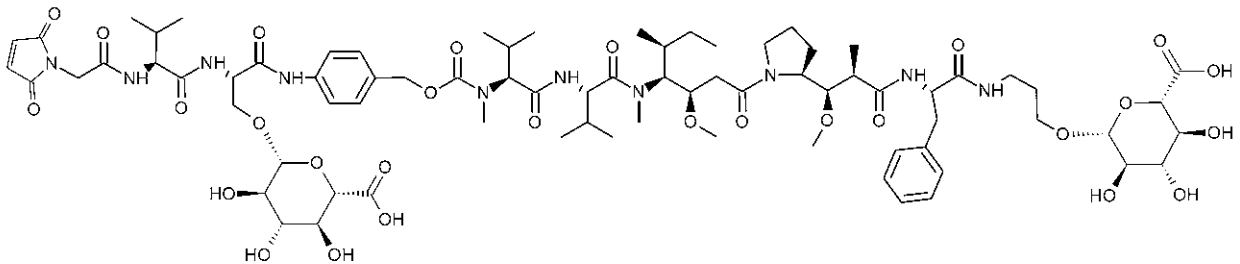


式 CMr

20

【 0 3 1 7】

【化 5 9】



式 CMs

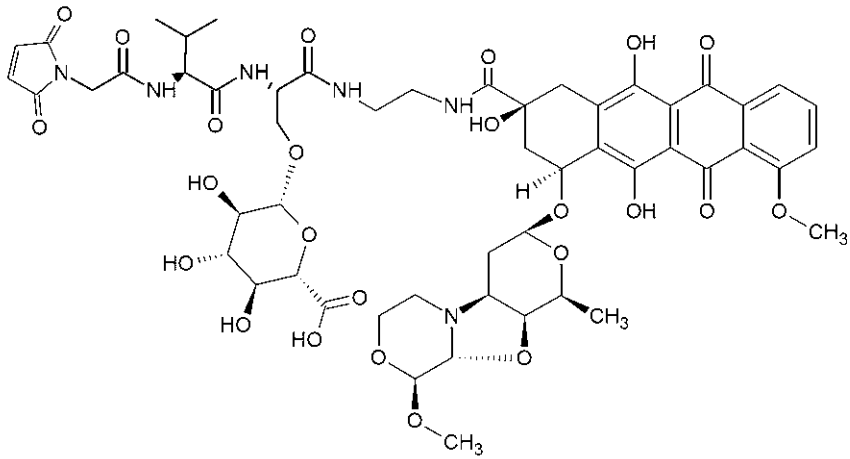
30

【 0 3 1 8】

40

50

【化 6 0】

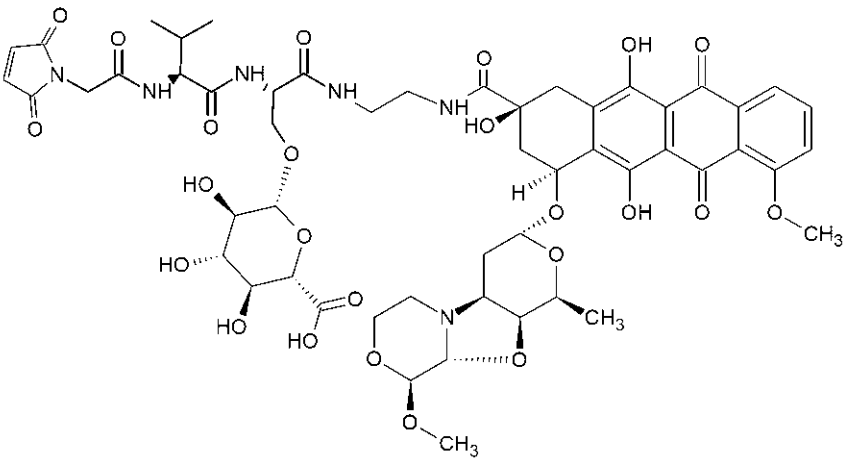


式 CMt

10

【 0 3 1 9】

【化 6 1】



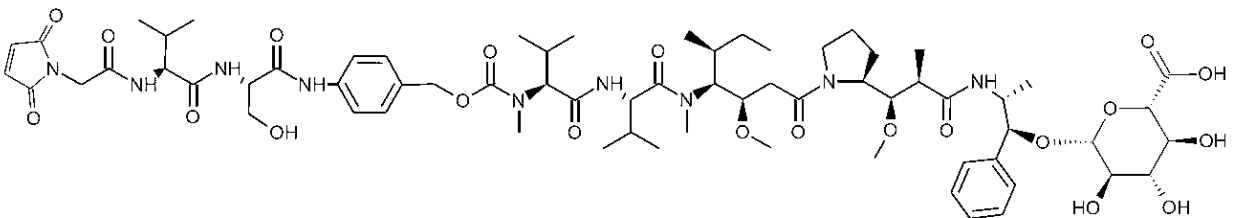
式 CMt'

20

30

【 0 3 2 0】

【化 6 2】



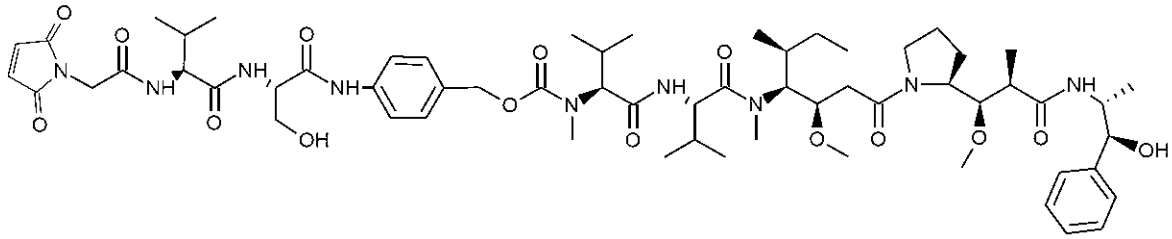
式 CMu

40

【 0 3 2 1】

50

【化 6 3】

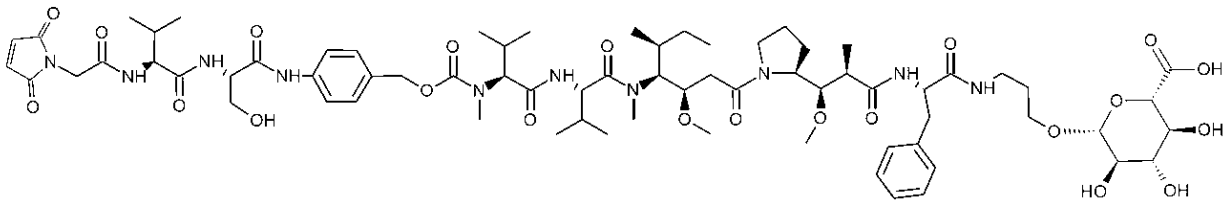


式 CMv

10

【 0 3 2 2】

【化 6 4】

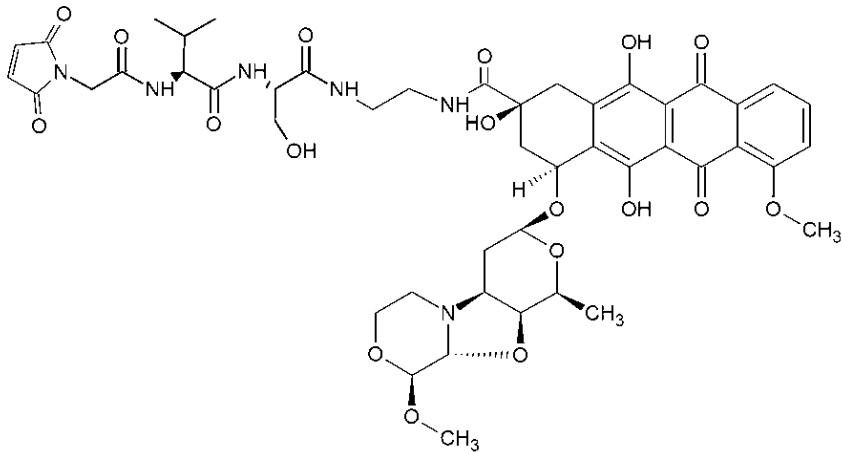


式 CMw

20

【 0 3 2 3】

【化 6 5】



式 CMx

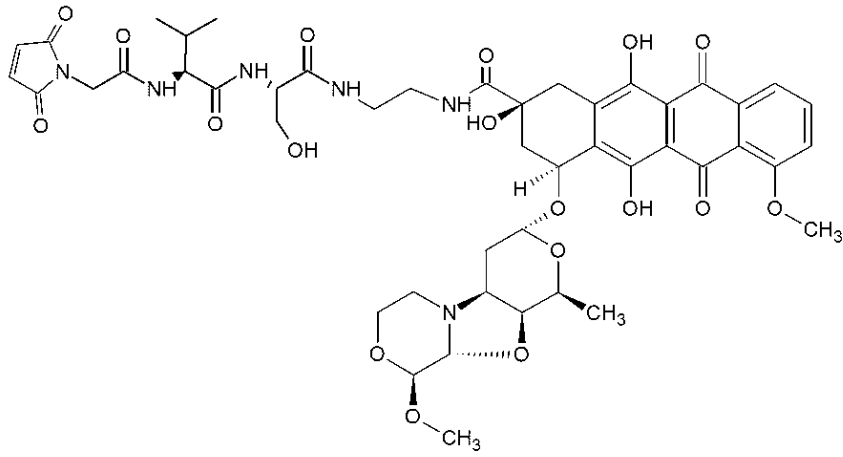
30

【 0 3 2 4】

40

50

【化 6 6】

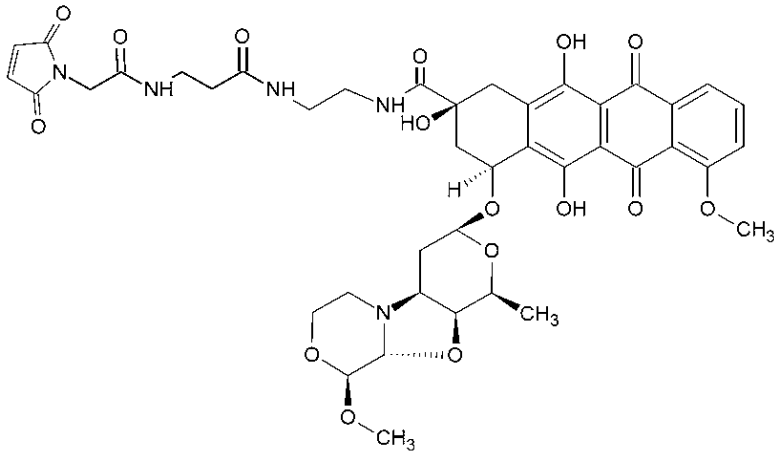


式 CMx'

10

【 0 3 2 5】

【化 6 7】



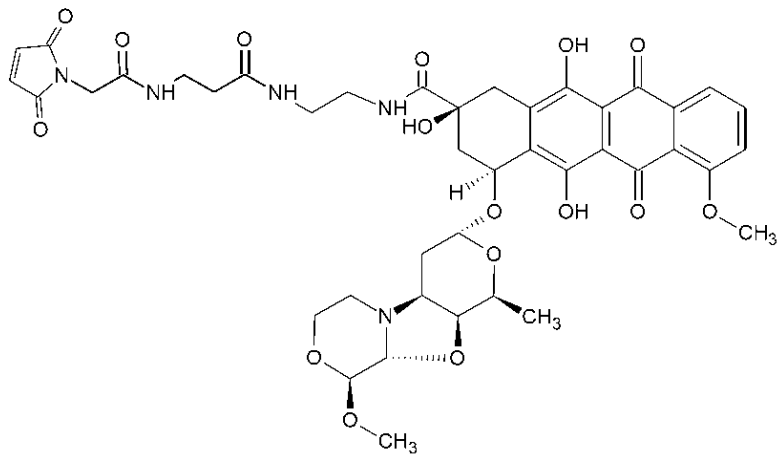
式 CMY

20

30

【 0 3 2 6】

【化 6 8】



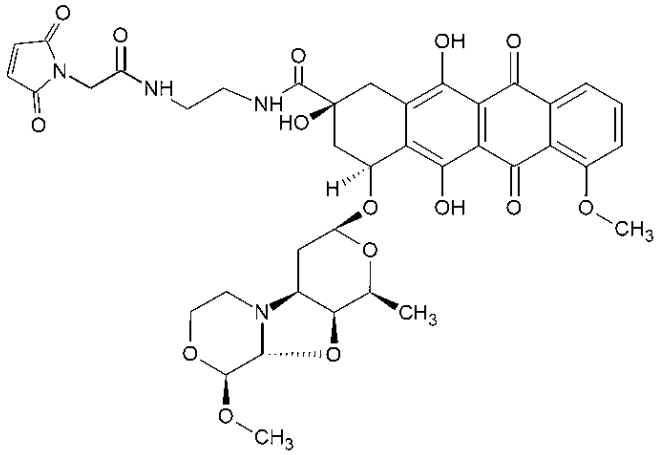
式 CMY'

40

50

【 0 3 2 7 】

【 化 6 9 】

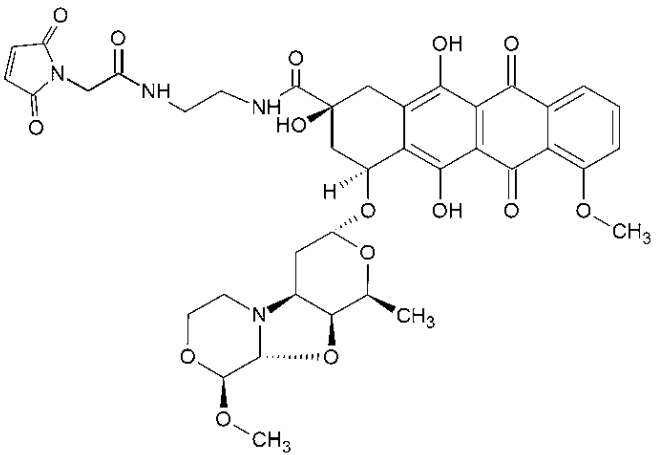


式 CMz

10

【 0 3 2 8 】

【 化 7 0 】



式 CMz'

20

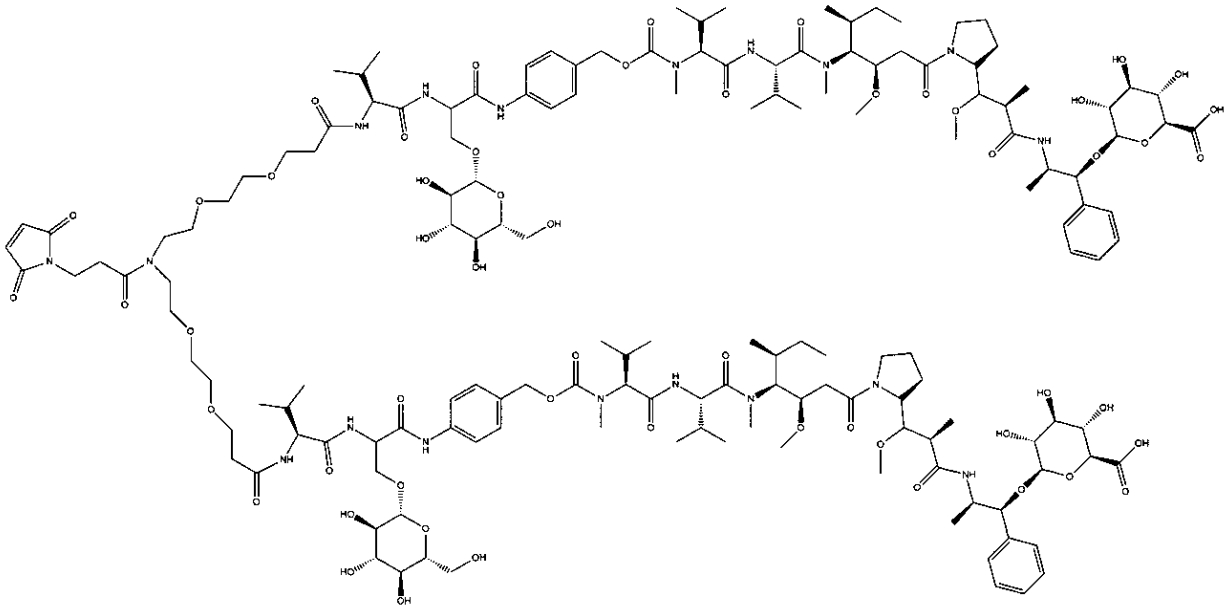
30

【 0 3 2 9 】

40

50

## 【化 7 1】



式 CMzz

10

## 【0330】

20

一実施形態において、標的ユニットTは、標的分子に特異的に結合する分子である。本開示の文脈において、特異的な結合は、標的分子が関連のない分子に対してよりもその標的に対して適度に高い結合親和性を有しているという意味を有する。特異的な結合の例は、その標的エピトープに対する抗体の結合である。

## 【0331】

一実施形態において、標的ユニットTは、標的細胞の表面上の標的分子に特異的に結合する分子である。

## 【0332】

一実施形態において、標的ユニットTは、低分子量リガンド、レクチン、ペプチド、アプタマー、または抗体である。

30

## 【0333】

一実施形態において、標的ユニットTは、抗体である。

## 【0334】

一実施形態において、抗体は、システイン改変抗体である。

## 【0335】

抗体、またはシステイン改変抗体は、原則として、任意の抗体またはその結合断片、例えばIgG、scFv、シングルドメイン抗体、Fv、VHH抗体、ダイアボディ、タンデムダイアボディ、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Db、dAb-Fc、taFv、scDb、dAb<sub>2</sub>、DVD-Ig、Bs(scFv)<sub>4</sub>-IgG、taFv-Fc、scFv-Fc-scFv、Db-Fc、scDb-Fc、scDb-CH<sub>3</sub>、またはdAb-Fc-dAbであり得る。

40

## 【0336】

一実施形態において、抗体、またはシステイン改変抗体は、ヒト抗体またはヒト化抗体である。これに関連して、当技術分野において一般に使用されるような用語「ヒト抗体」は、フレームワークおよび相補性決定領域(CDR)の両方がヒト起源の配列に由来する可変領域を有する抗体を意味するものとして理解されるべきである。これに関連して、当技術分野において一般に使用されるような用語「ヒト化抗体」は、ヒト起源の抗体のCDRからの残基が、所望の特異性、親和性および能力を有する非ヒト種(マウス、ラットまたはウサギなど)のCDRからの残基により置き換えられている抗体を意味するものとして理解されるべきである。

50

## 【0337】

本開示の抗体は、ペイロードへのコンジュゲーションを容易にするためにシステイン改変されている可能性がある。本開示に基づいて、当業者は、本明細書に記載されるようにシステイン改変抗体を容易に組み立てることができる。本明細書で使用されるように、「システイン改変抗体」または「システイン改変」は、重鎖および/または軽鎖にある少なくとも1個のアミノ酸が欠失、変更または置換（好ましくは別のアミノ酸で）され、重鎖および/または軽鎖に少なくとも1つの遊離システインまたは不對システインを与える、抗体、またはその免疫反応性断片を指す場合がある。「改変システイン」は、本明細書で使用されるように、システイン改変抗体（例えば、システイン改変フラボツマブ）に存在しているシステインアミノ酸を指す場合がある。

10

## 【0338】

いくらかの実施形態において、システイン改変抗体は、システイン改変抗体または抗体断片であり、システインアミノ酸は、対応する親抗体または抗体断片（例えば、重鎖定常領域のN297C（Kabataナンバリング））にある非システインアミノ酸をシステインアミノ酸で置換することにより導入される。

## 【0339】

いくらかの実施形態において、システイン改変抗体は、システイン改変抗体または抗体断片であり、システインアミノ酸は、対応する親抗体または抗体断片（例えば、重鎖定常領域のC220S（Kabataナンバリング））にあるシステインアミノ酸を非システインアミノ酸で置換することにより置き換えられる。

20

## 【0340】

「親抗体」は、本明細書で使用されるように、改変プロセス（例えば、改変システインを導入する改変プロセス）の前のシステイン改変抗体の対応する抗体を指す。親抗体が野生型、突然変異されたもの、または合成されたものであり得ることが理解される。

## 【0341】

「システイン改変」は、本明細書で使用されるように、少なくとも1つの改変システインまたは遊離システインを含むような抗体（例えば、抗体または抗体断片）の特徴を指す。

## 【0342】

本開示によれば、用語「改変システイン」または「システイン改変」は、重鎖および/または軽鎖にある少なくとも1個の遊離システインまたは不對システインを提供するために抗体の重鎖または軽鎖にあるアミノ酸を欠失または置換することを意味する。

30

## 【0343】

一実施形態において、「改変システイン」または「システイン改変」は、抗体の重鎖および/または軽鎖にある非システインアミノ酸をシステインにより置換することを意味する。

## 【0344】

一実施形態において、「改変システイン」または「システイン改変」は、抗体の重鎖および/または軽鎖にあるシステインアミノ酸を非システインアミノ酸により置換することを意味する。

40

## 【0345】

ある特定の実施形態において、不對システイン残基は、不對鎖内システイン残基を含むか、不對鎖内システイン残基である。他の実施形態において、遊離システイン残基は、不對鎖間システイン残基を含むか、不對鎖間システイン残基である。さらに他の実施形態において、遊離システインは、抗体のアミノ酸配列（例えば、CH3ドメイン）に組み込まれる可能性がある。任意のイベントにおいて、システイン改変抗体は、種々のアイソタイプ、例えばIgG、IgE、IgAまたはIgDのものであり得る；およびこれらのクラス内で、抗体は、種々のサブクラス、例えば、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものであり得る。IgGコンストラクトについて、抗体の軽鎖は、選択された実施形態において、IgG1重鎖にあるC220残基がないために不對である可能性がある、

50



それぞれ C 2 1 4 を組み込んでいるカップまたはラムダアイソタイプのいずれかを含むことができる。

【 0 3 4 6 】

したがって、本明細書で使用されるように、用語「遊離システイン」または「不對システイン」は、文脈により別段の指示がない限り交換可能に使用される可能性があり、天然に存在するものであっても、分子工学技術を使用して選択された残基の位置に特異的に組み込まれていても、生理的条件下で天然に存在する（または「固有」の）ジスルフィド結合の一部ではない、抗体のシステイン（またはチオール含有）構成要素（例えば、システイン残基）を意味するものとする。ある特定の実施形態において、遊離システインは、天然に存在するシステインを含む可能性があり、その固有の鎖間または鎖内ジスルフィド架橋パートナーが置換、除去またはそうでなければ変更され、生理的条件下で天然に存在するジスルフィド架橋を破壊し、それによってコンジュゲーションに適切な不對システインにする。他の実施形態において、遊離または不對システインは、抗体の重鎖または軽鎖アミノ酸配列内で所定の部位に選択的に配置されるシステイン残基を含む。コンジュゲーションの前に、遊離または不對システインがチオール（還元システイン）として、キャップされたシステイン（酸化）として、または系の酸化状態に応じて同じまたは異なる分子上の別のシステインまたはチオール基を有する非固有の分子内または分子間のジスルフィド結合（酸化）の一部として存在する可能性があることが認証されるであろう。したがって、ある特定の実施形態において、遊離または不對システインは（天然に存在するものであっても、組み込まれていても）、選択的還元および後に続くコンジュゲーションに供され、本開示のリンカー - ペイロードコンジュゲートの組成物または医薬組成物を提供する。

【 0 3 4 7 】

ある特定の実施形態において、システイン改変抗体は、鎖内または鎖間システイン残基の少なくとも 1 個のアミノ酸欠失または置換を含む。本明細書で使用されるように、「鎖間システイン残基」は、抗体の軽鎖と重鎖の間または抗体の 2 つの重鎖の間のいずれかの固有のジスルフィド結合に関与しているシステイン残基を意味し、一方で、「鎖内システイン残基」は、同じ重鎖または軽鎖にある別のシステインと自然に対になっているものである。一実施形態において、欠失または置換された鎖間システイン残基は、軽鎖と重鎖との間のジスルフィド結合の形成に関与している。別の実施形態において、欠失または置換されたシステイン残基は、2 つの重鎖間のジスルフィド結合に関与している。典型的な実施形態において、軽鎖が重鎖の V H および C H 1 ドメインと対になっており、1 つの重鎖の C H 2 および C H 3 ドメインが相補的重鎖の C H 2 および C H 3 ドメインと対になっている抗体の相補的構造のため、軽鎖または重鎖のいずれかにある単一のシステインの突然変異または欠失は、システイン改変抗体における 2 つの不對システイン残基となる。

【 0 3 4 8 】

いくらかの実施形態において、鎖間システイン残基は、欠失している。他の実施形態において、鎖間システインは、別のアミノ酸（例えば、天然に存在するアミノ酸）に置換されている。例えば、アミノ酸置換は、鎖間システインの天然（例えば、セリン、スレオニンまたはグリシン）または親水性（例えば、メチオニン、アラニン、バリン、ロイシンまたはイソロイシン）残基での置き換えという結果になることができる。ある特定の実施形態において、鎖間システインは、セリンで置き換えられる。

【 0 3 4 9 】

いくらかの実施形態において、欠失または置換されたシステイン残基は、軽鎖（カップまたはラムダのいずれか）上にあり、それによって重鎖上に遊離システインが残る。他の実施形態において、欠失または置換されたシステイン残基は、軽鎖定常領域上に遊離システインが残る重鎖上にある。組み立てに際し、完全な抗体の軽鎖または重鎖のいずれかにある単一のシステインの欠失または置換が、結果として 2 つの不對システイン残基を有するシステイン改変抗体となることが認識されるであろう。

【 0 3 5 0 】

（固有のジスルフィド結合を破壊するのとは対照的に）遊離システインを提供するため

10

20

30

40

50

のシステイン残基または複数の残基の導入または付加に関して、抗体または抗体断片上の適合する位置は、当業者により容易に識別され得る。したがって、選択された実施形態において、システインは、所望のDAR、選択されたペイロードおよび抗体標的に応じてCH1ドメイン、CH2ドメインまたはCH3ドメインまたはそれらの任意の組み合わせに導入される可能性がある。他の実施形態において、システインは、カップパまたはラムダCLドメインに、ある特定の実施形態においては、CLドメインのC末端領域に導入される可能性がある。各場合において、システイン挿入の部位に近い他のアミノ酸残基は、結合すると、分子安定性、コンジュゲート効率を容易にするため、またはペイロード用の保護環境を提供するために変更、除去または置換される可能性がある。ある特定の実施形態において、置換された残基は、抗体のアクセス可能な部位に存在する。そのような表面残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基は、それによって抗体上で容易にアクセス可能な部位に配置され、選択的に還元される可能性がある。ある特定の実施形態において、置換された残基は、抗体のアクセス可能な部位に存在する。それらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基は、それによって抗体のアクセス可能な部位に配置され、抗体を選択的にコンジュゲートするのに使用され得る。

10

## 【0351】

一実施形態において、システイン改変抗体は、A40、P41、A84、V89、S112、S113、A114、S115、T116、G118、V152、S153、N155、A168、Q171、C220、225、226、229、247、V278、N297、339、S371、375、376、S396、およびE400 (Kabataによる) からなる群より選択される重鎖の1個または複数個のアミノ酸欠失または置換を有する。

20

## 【0352】

一実施形態において、IgG重鎖上の297位でのアスパラギン(N297)は、欠失または置換されている。

## 【0353】

一実施形態において、重鎖は、N297Cである。

## 【0354】

一実施形態において、IgG重鎖上の220位でのシステイン(C220)は、欠失または置換されている。

30

## 【0355】

一実施形態において、重鎖は、C220Sである。

## 【0356】

一実施形態において、重鎖上の226位または229位でのシステインは、欠失または置換されている。

## 【0357】

一実施形態において、重鎖は、C226Sである。

## 【0358】

一実施形態において、重鎖は、C229Sである。

## 【0359】

一実施形態において、システイン改変抗体は、V110、S114、S121、S127、143、147、A153、159、163、165、S168、V205、および214 (Kabataによる) からなる群より選択される軽鎖の1個または複数個のアミノ酸欠失または置換を有する。

40

## 【0360】

一実施形態において、IgG軽鎖(カップパまたはラムダ)のV205C位またはC214位でのシステインは、欠失または置換されている。

## 【0361】

一実施形態において、軽鎖は、V205Cである。

## 【0362】

50

一実施形態において、軽鎖は、C 2 1 4 Sである。

【0363】

追加の置換位置およびシステイン改変抗体を組み立てる方法は、その全体が本明細書に組み込まれている、国際公開第WO 2 0 0 6 / 0 3 4 4 8 8号、国際公開第WO 2 0 0 6 / 0 6 5 5 3 3号および国際公開第WO 2 0 1 4 / 1 2 4 3 1 6号に記載されている。

【0364】

語句「Kab atナンバリング」は、Kab at, E. A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)での抗体の編集の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインのために使用されるナンバリングシステムを指す。このナンバリングシステムを使用して、実際の直鎖アミノ酸配列は、可変ドメインのフレームワーク領域(FR)または相補性決定領域(CDR)の短縮、またはそれへの挿入に対応する、より少ないまたは追加のアミノ酸を含む可能性がある。残渣のKab atナンバリングは、抗体の配列の「標準」Kab atナンバリング順序との相同領域でのアラインメントにより、所与の抗体について決定される可能性がある。明示的に別段の指示がない限り、本明細書における重鎖または軽鎖のアミノ酸(配列)を指す任意の数は、Kab atナンバリングにしたがう。

【0365】

語句「Euナンバリング」は、Kab at, E. A. et al., Sequence of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., NIH publication no. 91-3242, pp. 662, 680, 689 (1991)でのEuインデックスを指す。「Kab atにおけるようなEuインデックス」は、ヒトIgG1 Eu抗体の残基ナンバリングを指す(Edelman, G. M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 63, 78-85 (1969))。

【0366】

一実施形態において、抗体は、細胞表面抗原を結合することができる。

【0367】

一実施形態において、細胞表面抗原は、腫瘍抗原および/または癌抗原である。

【0368】

一実施形態において、抗体は、ベバシズマブ、トシツモマブ、エタネルセプト、トラストズマブ、アダリムマブ、アレムツズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、エファリズマブ、リツキシマブ、インフリキシマブ、アブシキシマブ、バシリキシマブ、パリビズマブ、オマリズマブ、ダクリズマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、エブラツズマブ、2G12、リンツズマブ、ニモツズマブ、フランボツマブおよびイブリツモマブチウキセタンからなる群より選択される。

【0369】

一実施形態において、抗体は、CD 2、CD 3、CD 4、CD 5、CD 6、CD 11、CD 8、CD 11 a、CD 19、CD 20、CD 22、CD 25、CD 26、CD 30、CD 33、CD 34、CD 37、CD 38、CD 40、CD 44、CD 46、CD 52、CD 56、CD 79、CD 105、CD 138、上皮成長因子受容体1(EGFR)、上皮成長因子受容体2(HER2/neu)、HER3またはHER4受容体、LFA-1、Mac 1、p150.95、VLA-4、ICAM-1、VCAM、EPCAM、アルファ4/ベータ7インテグリン、そのアルファまたはベータサブユニット(例えば、抗CD 11 a、抗CD 18または抗CD 11 b抗体)のいずれかを含むアルファv/ベータ3インテグリン、組織因子(TF)、腫瘍壊死因子アルファ(TNF- )、ヒト血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、糖タンパク質IIb/IIIIa、TGF-ベータ、アルファインターフェロン(アルファ-IFN)、IL-8、IL-2受容体、IgE、呼吸器多

10

20

30

40

50

核体ウイルス (RSV)、HIV-1 外被糖タンパク質 gp120、癌関連高マンノース型 N-グリカン、血液型抗原 Apo2、デスレセプター、flk2/flt3 受容体、肥満 (OB) 受容体、mpl 受容体、CTLA-4、トランスフェリン受容体、ルイス y、GD3、TYRP-1 (メラノーマ抗原 TA99/gp75)、PD-L1、PD-L2、TIM-3、MUC1、CA6 MUC1 抗原、およびプロテイン C からなる群より選択される標的分子を結合することができる。

【0370】

一実施形態において、抗体は、抗EGFR抗体、上皮成長因子受容体2 (HER2/neu) 抗体、抗CD22抗体、抗CD30抗体、抗CD33抗体、抗ルイスy抗体、抗TYRP-1、抗CD20抗体および抗血液学的標的抗体からなる群より選択される。

10

【0371】

一実施形態において、抗体は、CD19、CD20、CD22、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79、CD98、CD117、CD105、CD123、CD138、CD157、BCMAおよびCD319 (SLAMF7) からなる群より選択される抗血液学的標的分子を結合することができる。

【0372】

本明細書の文脈において、用語「抗血液学的」は、血液癌に関与または関連する可能性がある標的分子を指すと理解される可能性がある。

【0373】

一実施形態において、標的分子は、CD19、CD22、CD33、CD52およびCD123からなる群より選択される。

20

【0374】

一実施形態において、抗体は、抗血液学的標的抗体である。

【0375】

一実施形態において、抗血液学的標的抗体は、ロンカスツキシマブ、ブリナツモマブ、タファシタマブ、コルツキシマブ、デニンツズマブ、オベキセリマブ、イネビリズマブ、MOR00208、MDX-1342、MEDI-551、SAR3419、リツキシマブ、オフアツムマブ、ベルツズマブ、オクレリズマブ、オビヌツズマブ、オアラツズマブ (oaratumumab)、ウブリツキシマブ、ノフェツモマブ、イブリツモマブ、エブラツズマブ、イノツズマブオゾガマイシン、ベクツモマブ、モキセツモマブ、ピナツズマブ、DCDT2980S、バシリキシマブ、ダクリズマブ、カミダンルマブ、イノリモマブ、ADCT-301、IMTOX-25、ブレンツキシマブ、イラツムマブ、AVE9633、リンツズマブ、ゲムツズマブ、バダスツキシマブ、オトレルツマブ (otlertuzumab)、リロトマブ、ナラツキシマブ、BI836826、AGS67E、IMGN529、ダラツムマブ、イサツキシマブ、メザジタマブ、フェルザルタマブ、MOR202、MOR03087、アレムツズマブ、ロルボツズマブメルタンシン、ボルセツズマブマホドチン、SGN-70A、ポラツズマブ、インダツキシマブ、MDX-1203、ミラツズマブ-ドキシソルピシン、IGN523、LOP-628、CSL360、タラコツズマブ、XmAb14045、KHK2823、BT062、ベランタマブマホドチン、テクリス

30

40

【0376】

一実施形態において、標的抗体は、エブラツズマブ、リンツズマブ、コルツキシマブ、デニンツズマブ、ロンカスツキシマブ、アレムツズマブおよびタラコツズマブからなる群より選択される。

【0377】

一実施形態において、抗体は、アバゴボマブ (abagovomab)、アクトクスマブ (actoxumab)、アデカツムマブ (adecatumumab)、アフツズマブ (afutuzumab)、アルツモマブ (altumomab)、アマツキシマブ (amatuximab)、アニフロルマブ、アポリズマブ、アチヌマブ (atinumab)、アトリズマブ (atlizumab)、アトロリム

50

マブ (atorolimumab)、バピネウズマブ (bapineuzumab)、バシリキシマブ、バ  
 ビツキシマブ、ベリムマブ、ベンラリズマブ、ベルチリムマブ、ベシレソマブ、ベズロト  
 クスマブ、ピマグルマブ、ピバツズマブ、ブリナツモマブ、ブロソズマブ、ブレンツキシ  
 マブ、ブリアキヌマブ、プロダルマブ、カナキヌマブ、カンツズマブ、カブラシズマブ、  
 カプロマブ (capromab)、カルルマブ (carlumab)、カツマクソマブ、C C 4 9、  
 セデリズマブ (cedelizumab)、シクスツムマブ、クラザキズマブ (clazakizumab)  
 、クレノリキシマブ (clenoliximab)、クリバツズマブ (clivatuzumab)、コナツ  
 ムマブ、コンシズマブ、クレネズマブ (crenezumab)、C R 6 2 6 1、ダセツズマブ  
 、ダロツズマブ、ダラツムマブ、デムシズマブ、デノスマブ、デツモマブ (detumoma  
 b)、ドロジツマブ (drozitumab)、ドゥリゴツマブ (duligotumab)、デュピルマブ 10  
 ブ、ドゥシギツマブ、エクロメキシマブ、エクリズマブ、エドバコマブ、エドレコロマブ  
 、エルデルマブ、エロツズマブ、エルシリモマブ (elsilimomab)、エナバツズマブ、  
 エンリモマブ、エノキズマブ (enokizumab)、エノチクマブ (enoticumab)、エン  
 シツキシマブ、エピツモマブ (epitumomab)、エプラツズマブ、エルツマキシマブ (e  
 rtumaxomab)、エタラシズマブ、エトロリズマブ、エボロクマブ、エキスピビルマ  
 ブ (exbivirumab)、ファノレソマブ (fanolesomab)、ファラリモマブ (faralim  
 omab)、ファルレツズマブ、ファシヌマブ、フェルビズマブ (felvizumab)、フェザ  
 キヌマブ (fezakinumab)、フィクラツズマブ (ficlatuzumab)、フィギツムマブ、  
 フランボツマブ、フォントリズマブ (fontolizumab)、フォラルマブ (foralumab)  
 、ホラビルマブ (foravirumab)、フレソリムマブ、フルラヌマブ (fulranumab)、 20  
 フツキシマブ (futuximab)、ガリキシマブ、ガニツマブ、ガンテネルマブ、ガビリモ  
 マブ (gavilimomab)、ゲボキズマブ、ギレンツキシマブ、グレンバツムマブ、ゴリム  
 マブ、ゴミリキシマブ (gomiliximab)、グセルクマブ、イバリズマブ、イクルクマブ  
 (icrucumab)、イミシロマブ、イムガツズマブ、インクラクマブ、インダツキシマブ  
 、インテツムマブ (intetumumab)、イノリモマブ、イノツズマブ、イピリムマブ、  
 イラツムマブ、イトリズマブ、イキセキズマブ、ケリキシマブ (keliximab)、ラベツ  
 ズマブ、ランプロリズマブ、ラムパリズマブ、レブリキズマブ、レマレソマブ (lema  
 le somab)、レルデリムマブ (lerdelimomab)、レクサツムマブ、リビビルマブ (libi  
 virumab)、リゲリズマブ、リンツズマブ、リリルマブ、ロデルシズマブ (lodelcizu  
 mab)、ロルボツズマブ、ルカツムマブ、ルミリキシマブ、マパツムマブ (mapatumu 30  
 mab)、マルゲツキシマブ、マスリモマブ (maslimomab)、マブリリムマブ、マツズ  
 マブ、メボリズマブ、メテリムマブ (metelimomab)、ミラツズマブ、ミンレツモマ  
 ブ (minretumomab)、ミツモマブ (mitumomab)、モガムリズマブ、モロリムマ  
 ブ (morolimomab)、モタビズマブ、モキセツモマブ、ムロモナブ、ナミルマブ (na  
 milumab) ナルナツマブ (narnatumab)、ナタリズマブ、ネバクマブ (nebacumab)  
 、ネシツムマブ、ネレリモマブ (nerelimomab)、ネスバキュマブ、ニモツズマブ、  
 ニボルマブ、オビヌツズマブ (binutuzumab)、オカラツズマブ、オクレリズマブ、オ  
 ズリモマブ (odulimomab)、オフアツムマブ、オララツマブ、オロキズマブ、オナル  
 ツズマブ、オレゴボマブ、オルチクマブ (orticumab)、オテリキシズマブ、オキセル  
 マブ (oxelumab)、オザネズマブ (ozanezumab)、オゾラリズマブ、パギバキシマブ 40  
 ブ、パノバクマブ (panobacumab)、パルサツズマブ (parsatuzumab)、パソコリ  
 ズマブ (pascolizumab)、パテクリズマブ、パトリツマブ、ペンツモマブ (pemtum  
 omab)、ペラキズマブ (perakizumab)、ペルツズマブ、ピディリズマブ、ピナツズ  
 マブ、ピンツモマブ (pintumomab)、ブラクルマブ、ボラツズマブ、ボネズマブ、ブ  
 リリキシマブ (priliximab)、プリトキサキシマブ (pritoxaximab)、プリツムマブ  
 (pritumumab)、クイリズマブ (quilizumab)、ラコツモマブ (racotumomab)  
 、ラドレツマブ (radretumab)、ラフィビルマブ (rafivirumab)、ラムシルマブ、  
 ラキシバクマブ、レガビルマブ、レスリズマブ、リロツムマブ、ロバルピツズマブ、ロレ  
 デュマブ (roledumab)、ロモソズマブ、ロンタリズマブ、ロベリズマブ、ルブリズマ  
 ブ、サマリズマブ、サリルマブ、サツモマブ (satumomab)、セクキヌマブ、セリバン 50

ツマブ、セトキサキシマブ (setoxaximab)、セビルマブ (sevirumab)、シブロツズマブ (sibrotuzumab)、シファリムマブ、シルツキシマブ、シムツズマブ (simtuzumab)、シプリズマブ、シルクマブ、ソラネズマブ、ソリトマブ (solitomab)、ソネプシズマブ (sonepcizumab)、ソントズマブ (sontuzumab)、スタムルマブ、スビズマブ (suvizumab)、タバルマブ、タカツズマブ、タリズマブ、タネズマブ、タブリツモマブ (taplitumomab)、テフィバズマブ、テナツモマブ (tenatumomab)、テネリキシマブ (teneliximab)、テプリズマブ、テプロツヌマブ、TGN1412、チシリムマブ、チルドラキズマブ、チガツズマブ (tiga-tuzumab)、トシリズマブ、トラリズマブ、トベツマブ、トラロキヌマブ、TRBS07、トレガリズマブ (tregalizumab)、トレメリムマブ、ツコツズマブ、ツビルマブ (tuvirumab)、ウブリツキシマブ、ウレルマブ (urelumab)、ウルトキサズマブ (urtoxazumab)、ウステキヌマブ、バンチクツマブ、バパリキシマブ (vapaliximab)、パテリズマブ (vatelizumab)、ペドリズマブ、ベルツズマブ、ベパリモマブ (vepalimomab)、ベセンクマブ (vesencumab)、ピシリズマブ、ポロシキシマブ、ボルセツズマブ、ボツムマブ、ザルツムマブ、ザノリムマブ (zanolimumab)、ザツキシマブ (zatuximab)、ジラルリムマブ (ziralimumab)、2G12 (抗 HIV-1 外被糖タンパク質 gp120)、TA99、アベルマブ、DS6、h u D S 6、およびゾリモマブ (zolimumab) からなる群より選択される。

10

## 【0378】

一実施形態において、抗体は、抗 EGF R 抗体、上皮成長因子受容体 2 (HER2/neu) 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD20 抗体、抗 TYRP-1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 PD-L2 抗体、抗 TIM-3 抗体、抗 MUC1 抗体、および抗 CA6 抗体からなる群より選択される。

20

## 【0379】

一実施形態において、抗体は、抗 EGF R 抗体である。

## 【0380】

一実施形態において、抗 EGF R 抗体は、セツキシマブ、イムガツズマブ、マツズマブ、ニモツズマブ、ネシツムマブ、パニツムマブ、またはザルツムマブである。

## 【0381】

一実施形態において、抗体は、上皮成長因子受容体 2 (HER2/neu) 抗体である。

30

## 【0382】

一実施形態において、抗 HER2 抗体は、マルゲツキシマブ、ベルツズマブ、トラスツズマブ、エルツマキシマブ (ertumaxomab)、または 520C9XH22 である。

## 【0383】

一実施形態において、抗体は、抗 CD19 抗体である。

## 【0384】

一実施形態において、抗 CD19 抗体は、ロンカスツキシマブ、プリナツモマブ、タフアシタマブ、コルツキシマブ、デニンツズマブ、オベキセリマブまたはイネビリズマブである。

40

## 【0385】

一実施形態において、ロンカスツキシマブは、配列番号 1 に記載の重鎖配列を有する。

## 【0386】

一実施形態において、ロンカスツキシマブは、配列番号 2 に記載の軽鎖配列を有する。

## 【0387】

一実施形態において、コルツキシマブは、配列番号 3 に記載の重鎖配列を有する。

## 【0388】

一実施形態において、コルツキシマブは、配列番号 4 に記載の軽鎖配列を有する。

## 【0389】

一実施形態において、デニンツズマブは、配列番号 5 に記載の重鎖配列を有する。

50

- 【0390】  
一実施形態において、デニンツズマブは、配列番号6に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0391】  
一実施形態において、抗体は、抗CD52抗体である。
- 【0392】  
一実施形態において、抗CD52抗体は、アレムツズマブである。
- 【0393】  
一実施形態において、アレムツズマブは、配列番号7に記載の重鎖配列を有する。
- 【0394】  
一実施形態において、アレムツズマブは、配列番号8に記載の軽鎖配列を有する。 10
- 【0395】  
一実施形態において、抗体は、抗CD37抗体である。
- 【0396】  
一実施形態において、抗CD37抗体は、オトレルツマブ(otlertuzumab)、リロトマブ、ナラツキシマブまたはBI836826である。
- 【0397】  
一実施形態において、抗体は、抗CD38抗体である。
- 【0398】  
一実施形態において、抗CD38抗体は、ダラツムマブ、イサツキシマブ、メザジタマブまたはフェルザルタマブである。 20
- 【0399】  
一実施形態において、ダラツムマブは、配列番号9に記載の重鎖配列を有する。
- 【0400】  
一実施形態において、ダラツムマブは、配列番号10に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0401】  
一実施形態において、イサツキシマブは、配列番号11に記載の重鎖配列を有する。
- 【0402】  
一実施形態において、イサツキシマブは、配列番号12に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0403】  
一実施形態において、メザジタマブは、配列番号13に記載の重鎖配列を有する。 30
- 【0404】  
一実施形態において、メザジタマブは、配列番号14に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0405】  
一実施形態において、フェルザルタマブは、配列番号15に記載の重鎖配列を有する。
- 【0406】  
一実施形態において、フェルザルタマブは、配列番号16に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0407】  
一実施形態において、抗体は、抗CD56抗体である。
- 【0408】  
一実施形態において、抗CD56抗体は、ロルボツズマブである。 40
- 【0409】  
一実施形態において、ロルボツズマブは、配列番号17に記載の重鎖配列を有する。
- 【0410】  
一実施形態において、ロルボツズマブは、配列番号18に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0411】  
一実施形態において、抗体は、抗CD79抗体である。
- 【0412】  
一実施形態において、抗CD79抗体は、ポラツズマブである。
- 【0413】  
一実施形態において、ポラツズマブは、配列番号19に記載の重鎖配列を有する。 50

- 【0414】  
一実施形態において、ポラツズマブは、配列番号20に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0415】  
一実施形態において、抗体は、抗CD138抗体である。
- 【0416】  
一実施形態において、抗CD138抗体は、インダツキシマブである。
- 【0417】  
一実施形態において、インダツキシマブは、配列番号21に記載の重鎖配列を有する。
- 【0418】  
一実施形態において、インダツキシマブは、配列番号22に記載の軽鎖配列を有する。 10
- 【0419】  
一実施形態において、抗体は、抗BCMA抗体である。
- 【0420】  
一実施形態において、抗BCMA抗体は、ベランタマブまたはテクリスタマブである。
- 【0421】  
一実施形態において、ベランタマブは、配列番号23に記載の重鎖配列を有する。
- 【0422】  
一実施形態において、ベランタマブは、配列番号24に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0423】  
一実施形態において、抗体は、抗CD20抗体である。 20
- 【0424】  
一実施形態において、抗CD20抗体は、リツキシマブ、ウブリツキシマブ、オビヌツズマブ、オカラツズマブ、オクレリズマブ、ベルツズマブ、オフアツムマブ、ノフェツモマブまたはイブリツモマブである。
- 【0425】  
一実施形態において、オクレリズマブは、配列番号25に記載の重鎖配列を有する。
- 【0426】  
一実施形態において、オクレリズマブは、配列番号26に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0427】  
一実施形態において、抗体は、抗CD22抗体である。 30
- 【0428】  
一実施形態において、抗CD22抗体は、ヘクツモマブ、モキセツモマブ、エブラツズマブ、イノツズマブ、またはピナツズマブである。
- 【0429】  
一実施形態において、イノツズマブは、配列番号27に記載の重鎖配列を有する。
- 【0430】  
一実施形態において、イノツズマブは、配列番号28に記載の軽鎖配列を有する。
- 【0431】  
一実施形態において、エブラツズマブは、配列番号29に記載の重鎖配列を有する。
- 【0432】  
一実施形態において、エブラツズマブは、配列番号30に記載の軽鎖配列を有する。 40
- 【0433】  
一実施形態において、抗体は、抗CD25抗体である。
- 【0434】  
一実施形態において、抗CD25抗体は、カミダングルマブ、ダクリズマブ、イノリモマブおよびバシリキシマブである。
- 【0435】  
一実施形態において、カミダングルマブは、配列番号31に記載の重鎖配列を有する。
- 【0436】  
一実施形態において、カミダングルマブは、配列番号32に記載の軽鎖配列を有する。 50



- 【 0 4 3 7 】  
 一実施形態において、抗体は、抗 C D 3 0 抗体である。
- 【 0 4 3 8 】  
 一実施形態において、抗 C D 3 0 抗体は、ブレンツキシマブベドチン（またはブレンツキシマブベドチンの抗体部分）またはイラツムマブである。
- 【 0 4 3 9 】  
 一実施形態において、ブレンツキシマブは、配列番号 3 3 に記載の重鎖配列を有する。
- 【 0 4 4 0 】  
 一実施形態において、ブレンツキシマブは、配列番号 3 4 に記載の軽鎖配列を有する。
- 【 0 4 4 1 】 10  
 一実施形態において、抗体は、抗 C D 3 3 抗体である。
- 【 0 4 4 2 】  
 一実施形態において、抗 C D 3 3 抗体は、ゲムツズマブ、S G N - C D 3 3 A またはリンツズマブである。
- 【 0 4 4 3 】  
 一実施形態において、リンツズマブは、配列番号 3 5 に記載の重鎖配列を有する。
- 【 0 4 4 4 】  
 一実施形態において、リンツズマブは、配列番号 3 6 に記載の軽鎖配列を有する。
- 【 0 4 4 5 】  
 一実施形態において、ゲムツズマブは、配列番号 3 7 に記載の重鎖配列を有する。 20
- 【 0 4 4 6 】  
 一実施形態において、ゲムツズマブは、配列番号 3 8 に記載の軽鎖配列を有する。
- 【 0 4 4 7 】  
 一実施形態において、抗 C D 3 3 抗体は、バダスツキシマブである。
- 【 0 4 4 8 】  
 一実施形態において、バダスツキシマブは、配列番号 3 9 に記載の重鎖配列を有する。
- 【 0 4 4 9 】  
 一実施形態において、バダスツキシマブは、配列番号 4 0 に記載の軽鎖配列を有する。
- 【 0 4 5 0 】 30  
 一実施形態において、抗 C D 3 3 抗体は、システイン改変抗体である。
- 【 0 4 5 1 】  
 一実施形態において、システイン改変抗 C D 3 3 抗体は、N 2 9 6 C および C 2 1 9 S からなる群より選択される重鎖を有する。
- 【 0 4 5 2 】  
 一実施形態において、システイン改変抗 C D 3 3 抗体は、リンツズマブである。換言すると、システイン改変抗 C D 3 3 抗体は、システイン改変リンツズマブである。
- 【 0 4 5 3 】 40  
 本明細書の文脈において、用語「システイン改変リンツズマブ」は、システイン改変されていることを除いて、別のアミノ酸配列および/またはリンツズマブの構造を有する抗体を指すと理解される場合がある。このため、システイン改変リンツズマブは、リンツズマブをシステイン改変することにより得ることが可能であるか得られる場合がある。リンツズマブがその用語の使用の一例として使用されているが、同じものは、本明細書に記載の任意の親抗体に適用する場合がある。
- 【 0 4 5 4 】  
 一実施形態において、システイン改変リンツズマブは、配列番号 4 1 に記載の置換 N 2 9 6 C を有する重鎖配列を有する。
- 【 0 4 5 5 】  
 一実施形態において、システイン改変リンツズマブは、配列番号 4 2 に記載の置換 C 2 1 9 S を有する重鎖配列を有する。
- 【 0 4 5 6 】 50

- 一実施形態において、システイン変換抗 C D 3 3 抗体は、ゲムツズマブである。
- 【 0 4 5 7 】
- 一実施形態において、システイン変換ゲムツズマブは、N 2 9 3 C および C 1 3 0 S からなる群より選択される重鎖を有する。
- 【 0 4 5 8 】
- 一実施形態において、システイン変換ゲムツズマブは、配列番号 4 3 に記載の置換 N 2 9 3 C を有する重鎖配列を有する。
- 【 0 4 5 9 】
- 一実施形態において、システイン変換ゲムツズマブは、配列番号 4 4 に記載の置換 C 1 3 0 S を有する重鎖配列を有する。 10
- 【 0 4 6 0 】
- 一実施形態において、抗体は、抗 T Y R P - 1 抗体である。
- 【 0 4 6 1 】
- 一実施形態において、抗 T Y R P - 1 抗体は、T A 9 9、キメラ T A 9 9 またはフランボツマブである。
- 【 0 4 6 2 】
- 一実施形態において、抗 T Y R P - 1 抗体は、フランボツマブである。
- 【 0 4 6 3 】
- 一実施形態において、フランボツマブは、配列番号 4 5 に記載の重鎖配列を有する。
- 【 0 4 6 4 】
- 一実施形態において、フランボツマブは、配列番号 4 6 に記載の軽鎖配列を有する。 20
- 【 0 4 6 5 】
- 一実施形態において、キメラ T A 9 9 は、配列番号 4 7 に記載の重鎖配列を有する。
- 【 0 4 6 6 】
- 一実施形態において、キメラ T A 9 9 は、配列番号 4 8 に記載の軽鎖配列を有する。
- 【 0 4 6 7 】
- 一実施形態において、抗 T Y R P - 1 抗体は、システイン変換抗体である。
- 【 0 4 6 8 】
- 一実施形態において、システイン変換抗 T Y R P - 1 抗体は、T A 9 9、キメラ T A 9 9 またはフランボツマブである。 30
- 【 0 4 6 9 】
- 一実施形態において、システイン変換抗 T Y R P - 1 抗体は、フランボツマブである。
- 【 0 4 7 0 】
- 一実施形態において、システイン変換フランボツマブは、N 2 9 9 C および C 2 2 2 S からなる群より選択される置換を有する重鎖配列を有する。
- 【 0 4 7 1 】
- 一実施形態において、システイン変換フランボツマブは、配列番号 4 9 に記載の置換 N 2 9 9 C を有する重鎖配列を有する。
- 【 0 4 7 2 】
- 一実施形態において、システイン変換フランボツマブは、配列番号 5 0 に記載の置換 C 2 2 2 S を有する重鎖配列を有する。 40
- 【 0 4 7 3 】
- 一実施形態において、システイン変換キメラ T A 9 9 は、配列番号 5 1 に記載の置換 N 3 0 1 C を有する重鎖配列を有する。
- 【 0 4 7 4 】
- 一実施形態において、システイン変換キメラ T A 9 9 は、配列番号 5 2 に記載の置換 C 2 2 4 S を有する重鎖配列を有する。
- 【 0 4 7 5 】
- 一実施形態において、抗体は、抗 P D - L 1 抗体である。
- 【 0 4 7 6 】
- 50

一実施形態において、抗PD-L1抗体は、アベルマブである。

【0477】

一実施形態において、抗体は、抗PD-L2抗体である。

【0478】

一実施形態において、抗体は、抗TIM-3抗体である。

【0479】

一実施形態において、抗体は、抗MUC1抗体である。

【0480】

一実施形態において、抗体は、抗CA6抗体である。

【0481】

一実施形態において、抗CA6抗体は、DS6またはhUDS6である。

【0482】

一実施形態において、Yは、 $\alpha$ -D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、セリン、スレオニンまたはチロシンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される；Zは、存在しない；R<sub>X</sub>は、 $-CH_2CH_2-$ である；ならびにDは、細胞毒性薬物である。

【0483】

一実施形態において、Yは、 $\alpha$ -D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、セリン、スレオニンまたはチロシンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される；Zは、PABCである；R<sub>X</sub>は、 $-CH_2CH_2-$ である；ならびにDは、細胞毒性薬物である。

【0484】

一実施形態において、Yは、 $\alpha$ -D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；R<sub>X</sub>は、 $-CH_2CH_2-$ である；Zは、PABCである；およびDは、細胞毒性薬物である。

【0485】

一実施形態において、Yは、 $\alpha$ -D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、セリン、スレオニンまたはチロシンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される；Zは、PABCである；R<sub>X</sub>は、 $-CH_2CH_2-$ である；ならびにDは、アウリスタチンである。

【0486】

一実施形態において、Yは、 $\alpha$ -D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、セリン、スレオニンまたはチロシンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される；Zは、PABCである；R<sub>X</sub>は、 $-CH_2CH_2-$ である；ならびにDは、ルビシンまたはドキシソルピシン誘導体である。

【0487】

一実施形態において、Yは、 $\alpha$ -D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、セリン、スレオニンまたはチロシンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、 $\alpha$ -アミノ酸の、バリン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、アルギニン、アラニン、リジンおよびグリシンの側鎖の群から選択される；Zは、存在しない；R<sub>X</sub>は、 $-CH_2CH_2-$ である；ならびにDは、ルビシンまたはドキシソルピシン誘導体である。

【0488】

一実施形態において、Yは、糖類である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；Zは、PABCである；R<sub>X</sub>は、 $-CH_2CH_2-$ である；およびDは、ルビシンまたはドキシソルピシン誘導体である。

【0489】

10

20

30

40

50

一実施形態において、Yは、糖類である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；Zは、存在しない；R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である；およびDは、ルビシンまたはドキシソルビシン誘導体である。

【0490】

一実施形態において、Yは、-D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；Zは、PABCである；R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である；およびDは、アウリスタチンである。

【0491】

一実施形態において、Yは、-D-グルコースである；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；Zは、PABCである；R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である；およびDは、ルビシンまたはドキシソルビシン誘導体である。

10

【0492】

一実施形態において、Yは、-D-グルコースである；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；Zは、存在しない；R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である；およびDは、ルビシンまたはドキシソルビシン誘導体である。

【0493】

一実施形態において、Yは、-D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；Zは、PABCである；R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である；およびDは、ルビシンまたはドキシソルビシン誘導体である。

【0494】

一実施形態において、Yは、-D-グルクロン酸である；R<sub>3</sub>は、セリンの側鎖である；m = 1；R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖である；Zは、存在しない；R<sub>X</sub>は、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である；およびDは、ルビシンまたはドキシソルビシン誘導体である。

20

【0495】

一実施形態において、

(i) R<sub>3</sub>は、-アミノ酸の、セリン、スレオニンおよびチロシンの側鎖からなる群より選択される、

(ii) Zは、パラ-アミノベンジルオキシカルボニル(PABC)；オルト-アミノベンジルオキシカルボニル；アミノ酸；およびペプチドからなる群より選択される；またはZは、存在しない；

30

(iii) R<sub>1</sub>は、バリンの側鎖、フェニルアラニンの側鎖、チロシンの側鎖、ロイシンの側鎖、イソロイシンの側鎖、アルギニンの側鎖、アラニンの側鎖、リジンの側鎖およびグリシンの側鎖からなる群より選択される；ならびに/または

(iv) R<sub>X</sub>は、直鎖C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基；分岐C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキレン基；CH(R<sub>2</sub>) (式中、R<sub>2</sub>は、アミノ酸側鎖である)；および-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-からなる群より選択される。

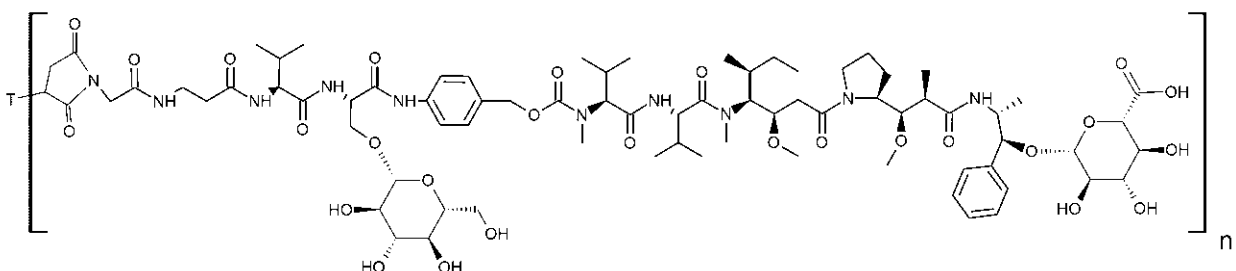
【0496】

一実施形態において、標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、以下の式TMa~式TMzのいずれか1つにしたがう。

【0497】

40

【化72】



式TMa

50



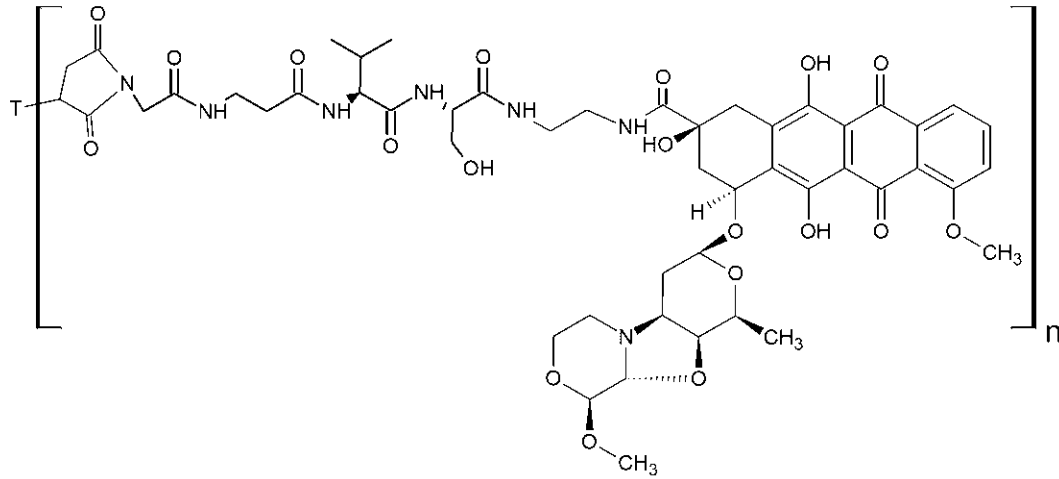








【化 8 5】

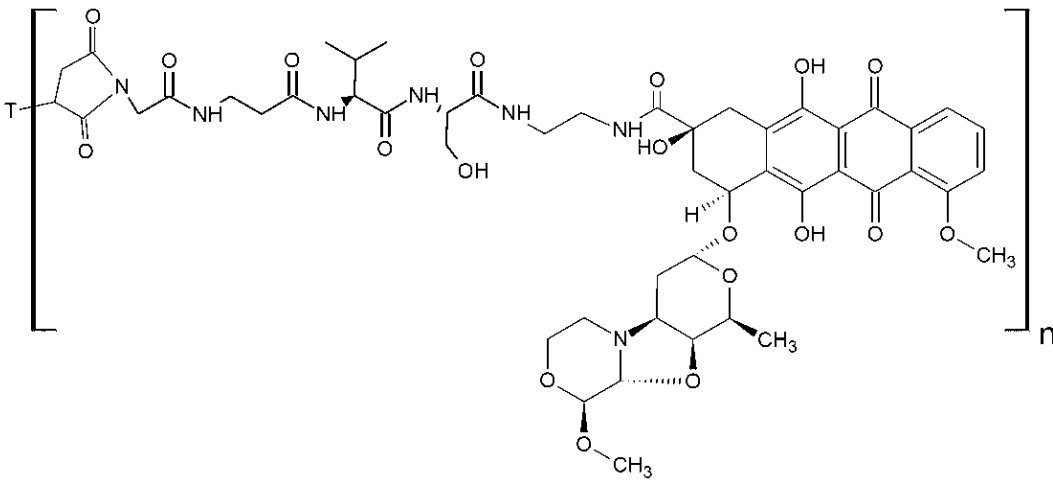


10

式 TMI

【 0 5 1 1】

【化 8 6】



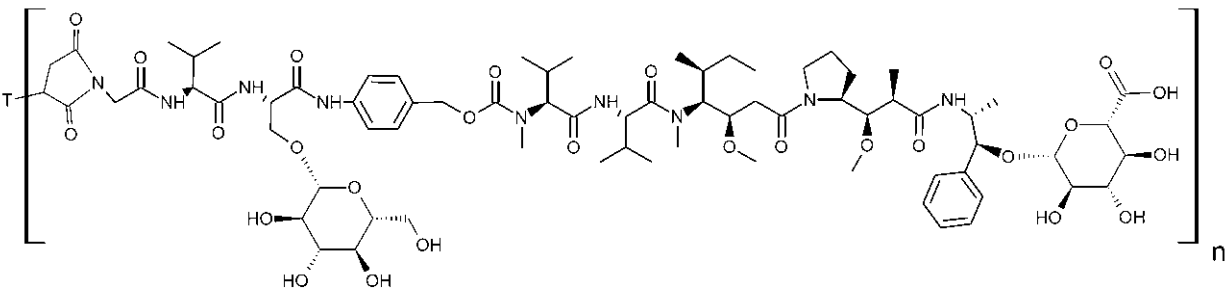
20

30

式 TMI'

【 0 5 1 2】

【化 8 7】



40

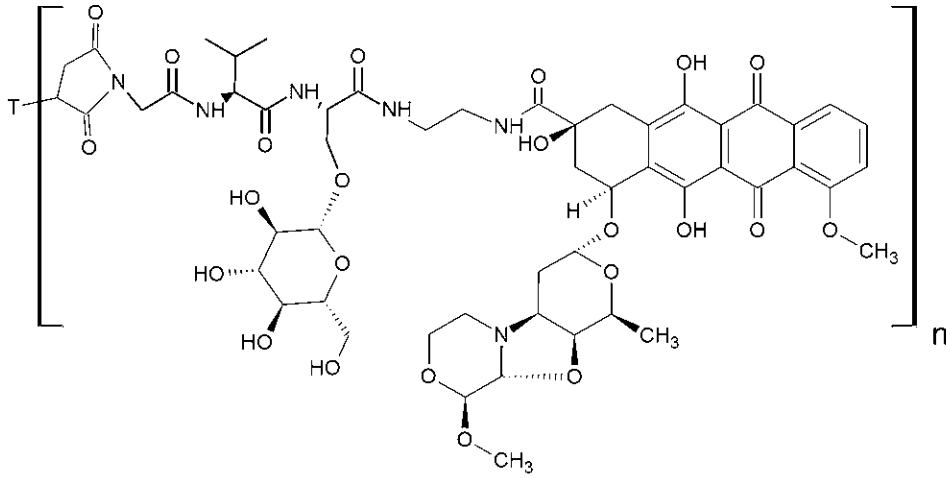
式 TMm

【 0 5 1 3】

50



【化 9 1】

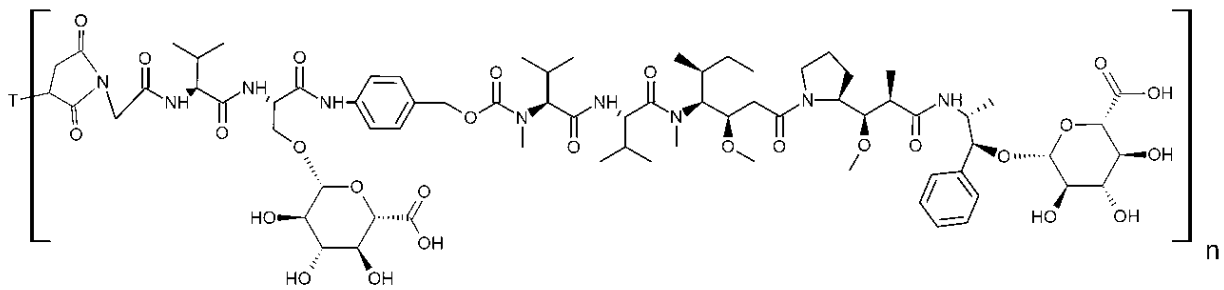


10

式 TMp'

【 0 5 1 7】

【化 9 2】

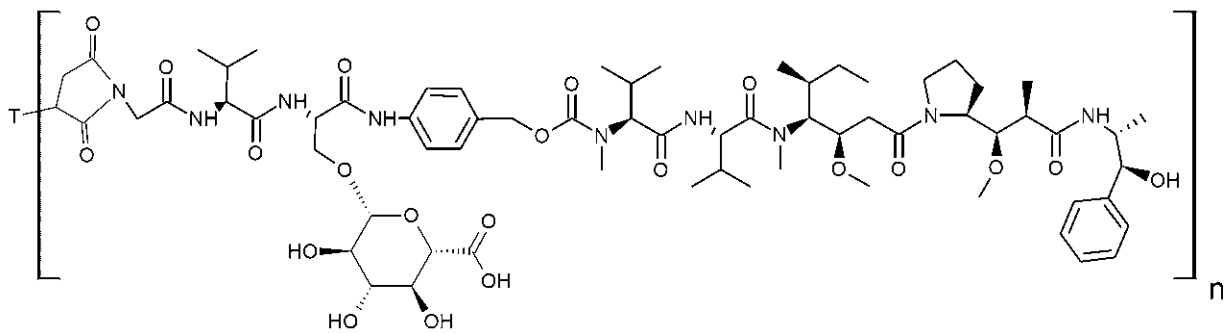


20

式 TMq

【 0 5 1 8】

【化 9 3】



30

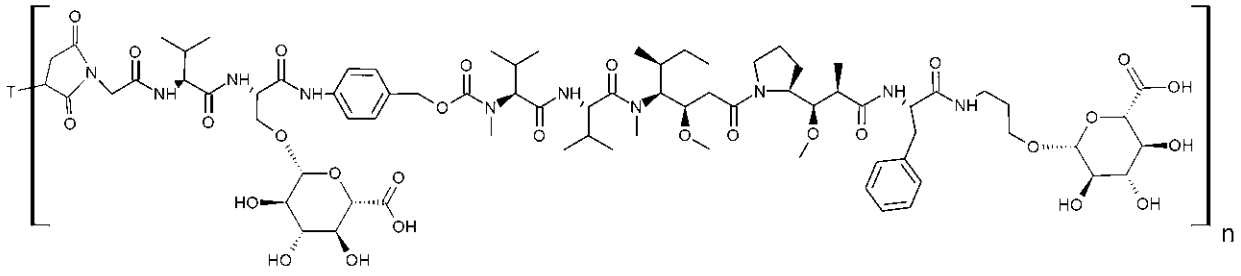
40

式 TMr

【 0 5 1 9】

50

【化94】

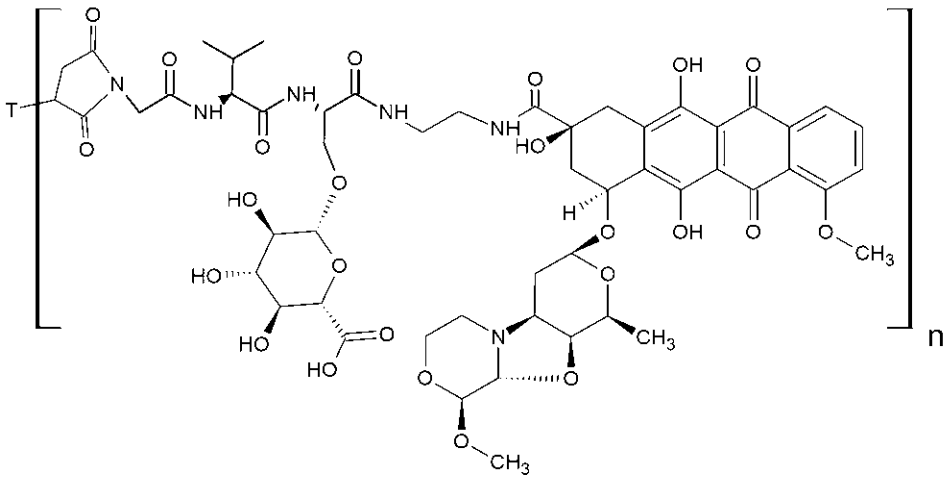


式 TM5

10

【0520】

【化95】

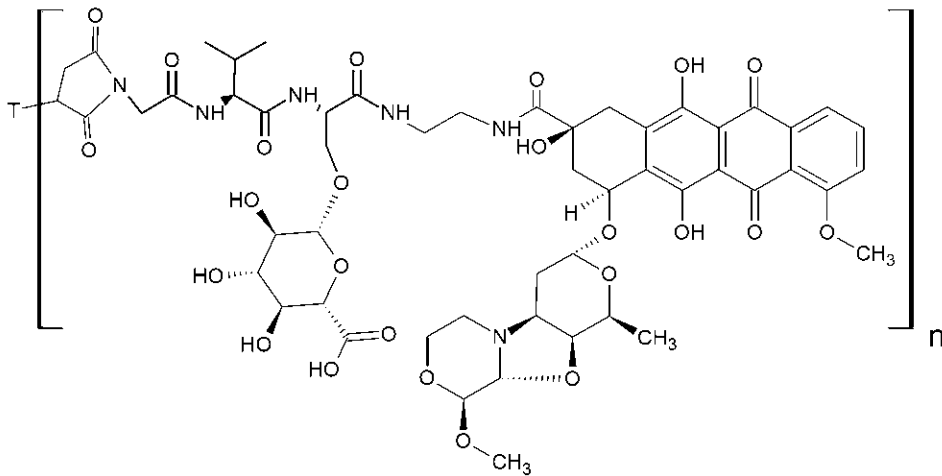


式 TMt

20

【0521】

【化96】



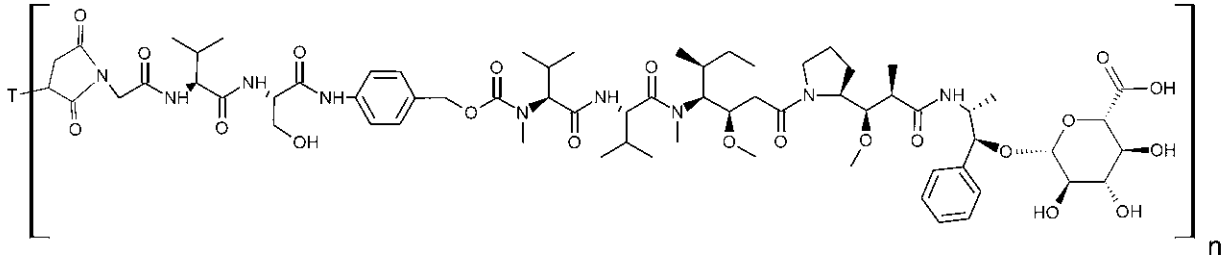
式 TMt'

40

【0522】

50

【化 9 7】

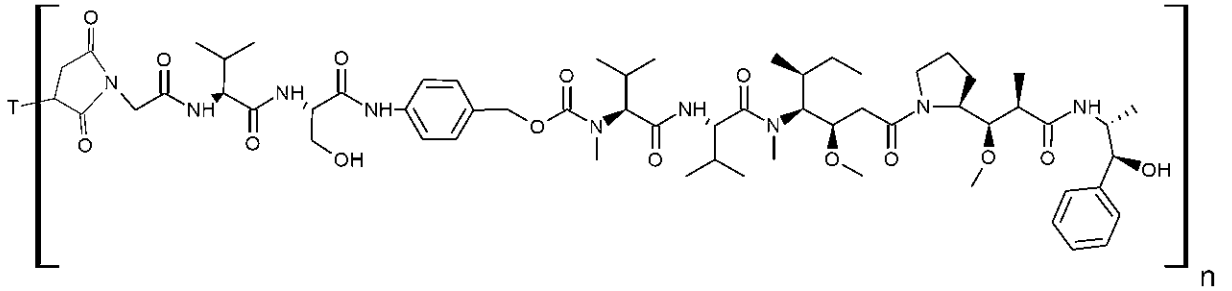


式 TMu

10

【 0 5 2 3】

【化 9 8】

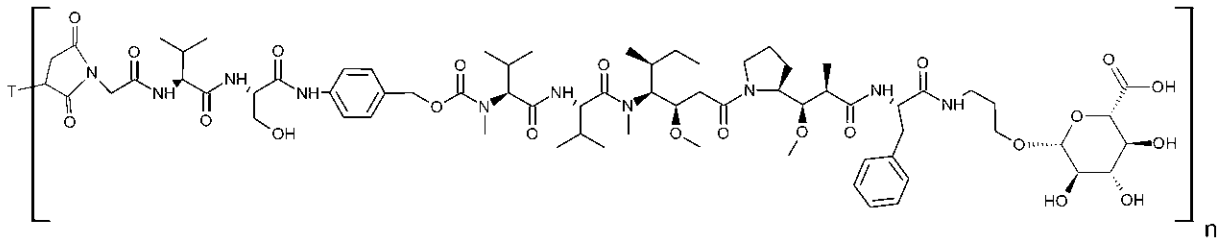


式 TMv

20

【 0 5 2 4】

【化 9 9】



式 TMw

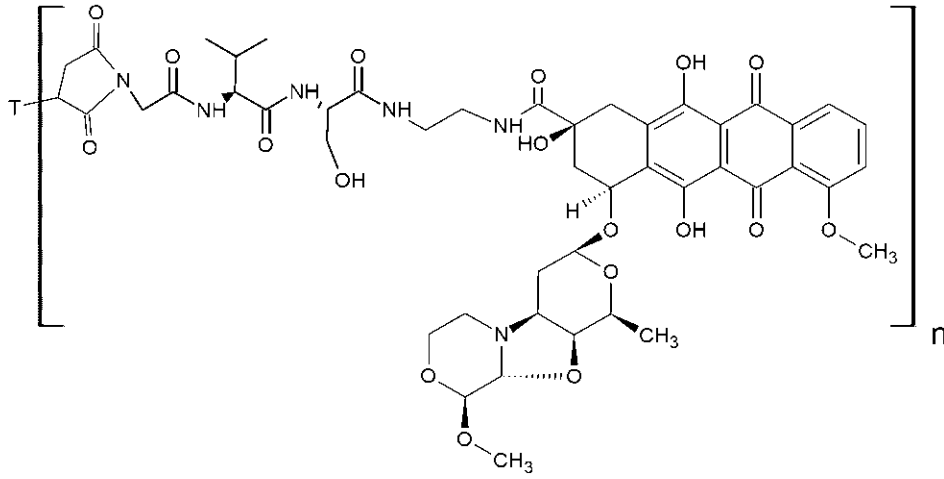
30

【 0 5 2 5】

40

50

【化 1 0 0】

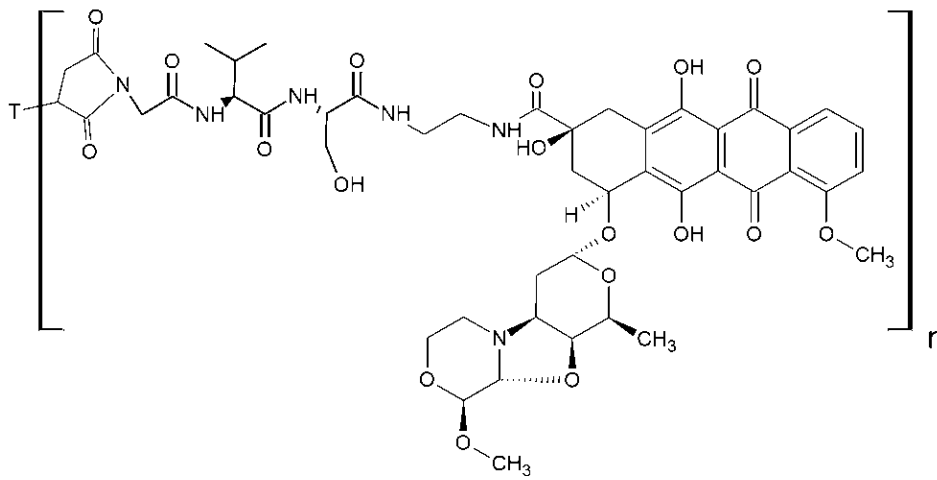


10

式 TMx

【 0 5 2 6】

【化 1 0 1】



20

30

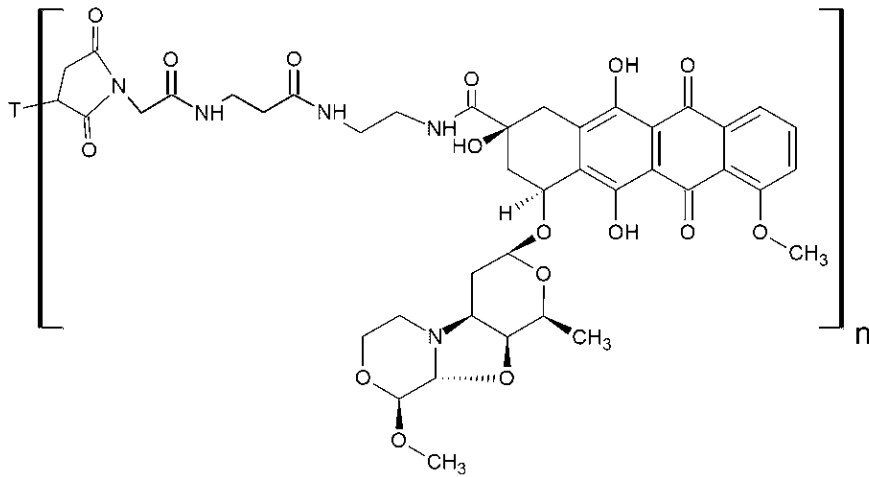
式 TMx'

【 0 5 2 7】

40

50

【化 1 0 2】

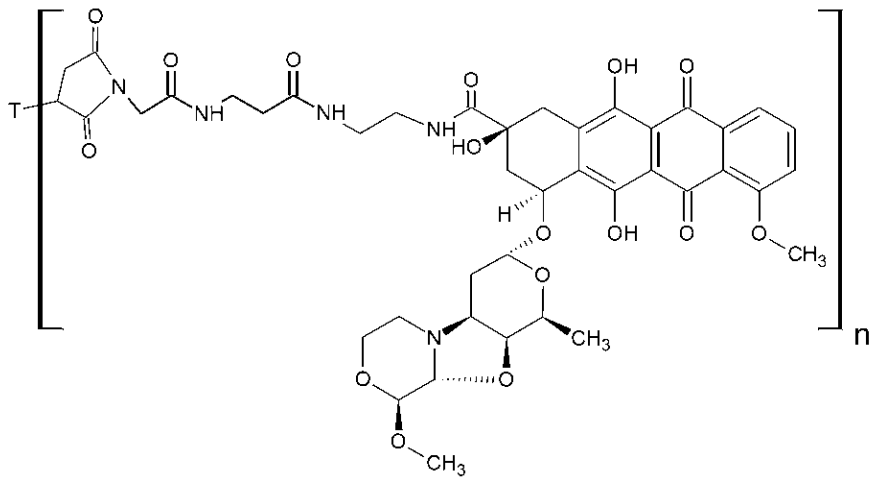


式 TMy

10

【 0 5 2 8】

【化 1 0 3】



式 TMy'

20

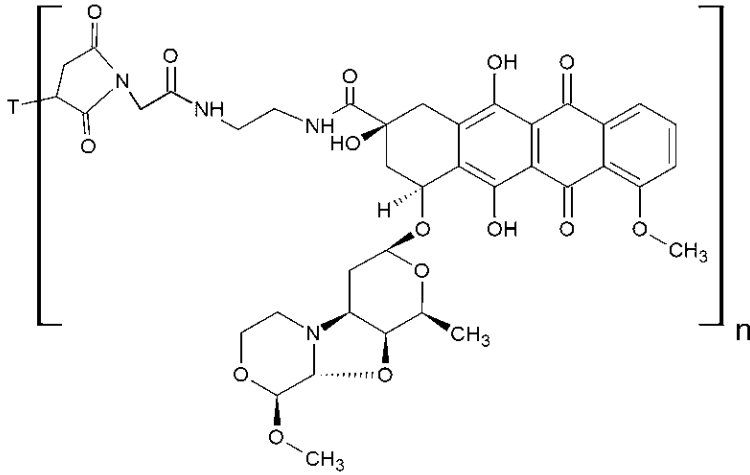
30

【 0 5 2 9】

40

50

【化104】

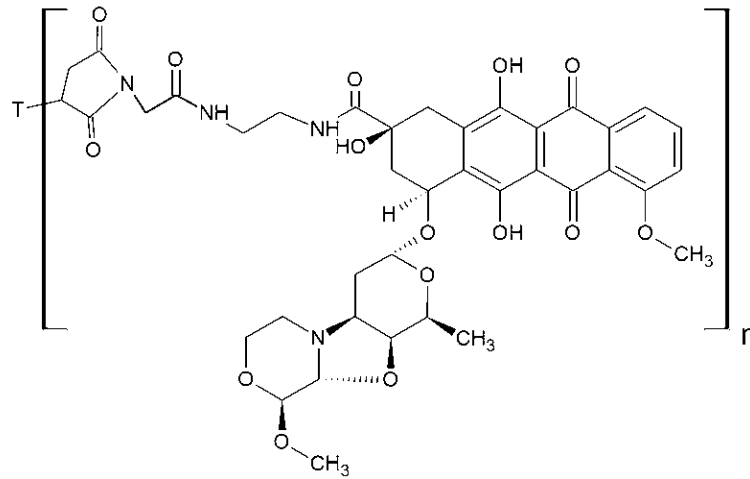


10

式 TMz

【0530】

【化105】



20

30

式 TMz'

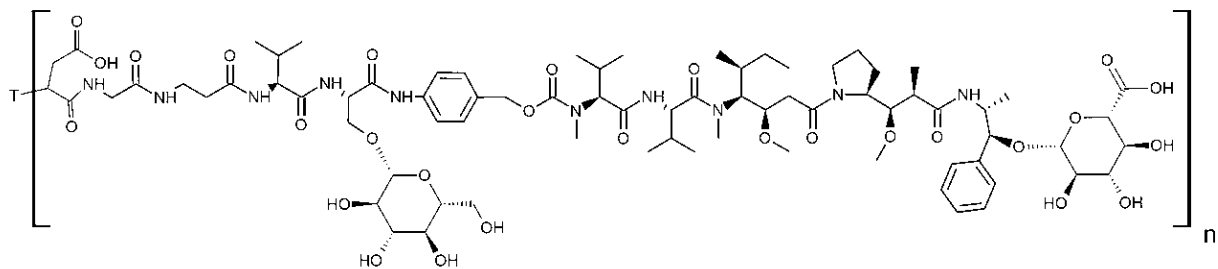
【0531】

一実施形態において、標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、以下の式 TMs a ~ 式 TMs z のいずれか 1 つにしたがう。

【0532】

【化106】

40



式 TMs a

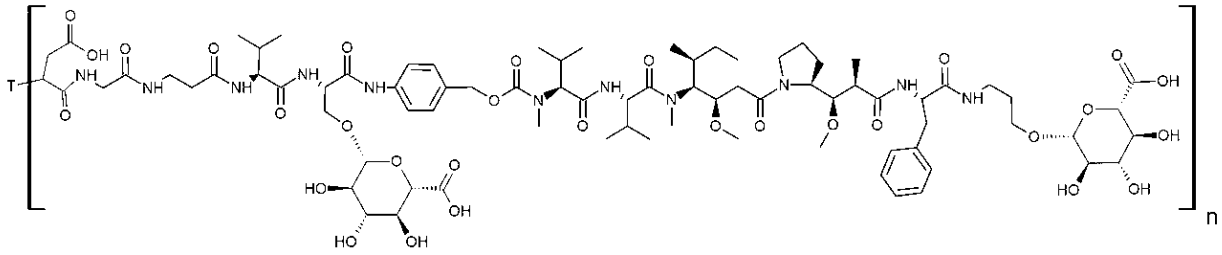
50







【化 1 1 3】

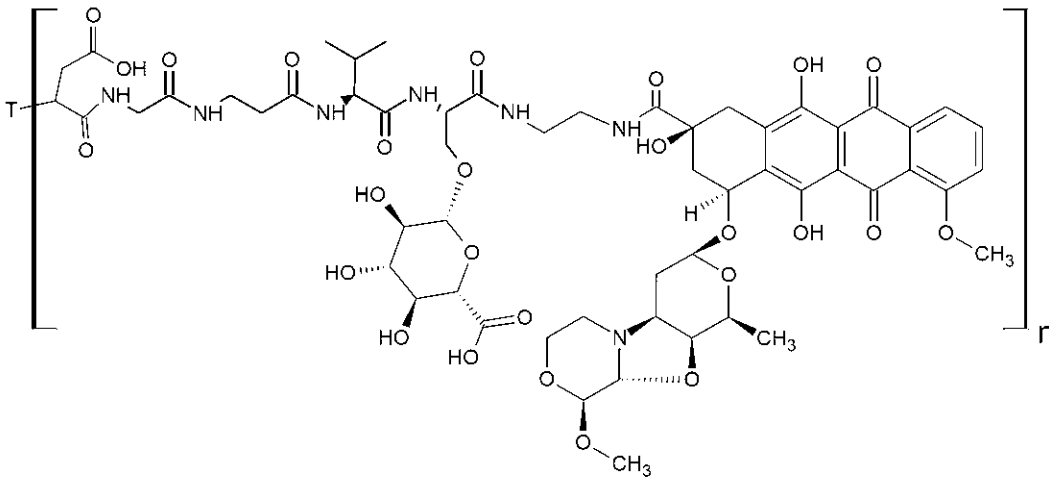


式 TMsg

10

【 0 5 4 0】

【化 1 1 4】

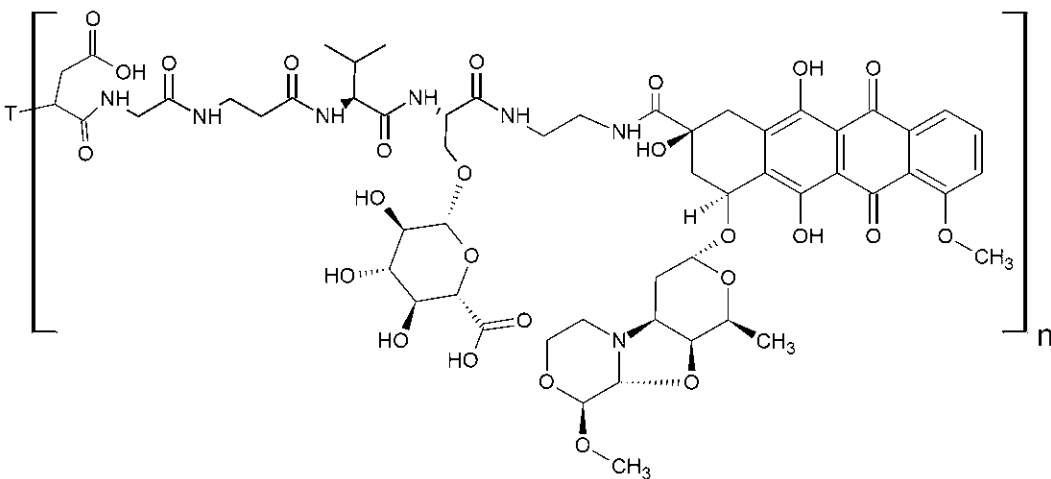


式 TMsh

20

【 0 5 4 1】

【化 1 1 5】



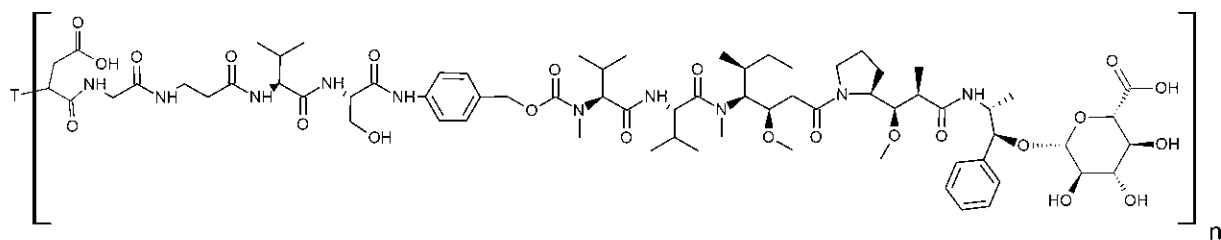
式 TMsh'

40

【 0 5 4 2】

50

【化 1 1 6】

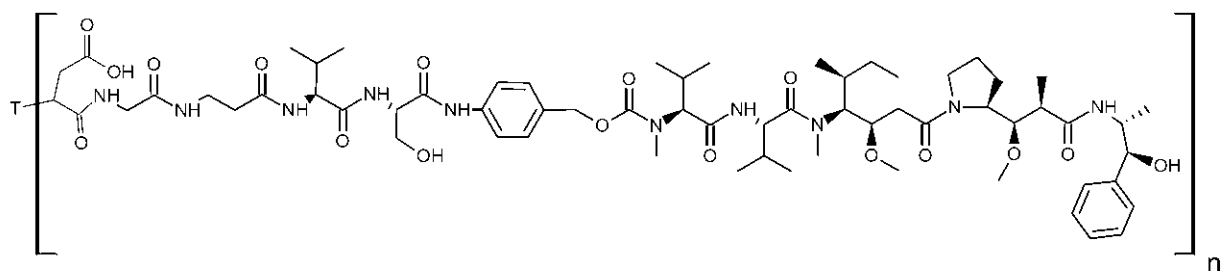


式 TMsi

10

【 0 5 4 3】

【化 1 1 7】

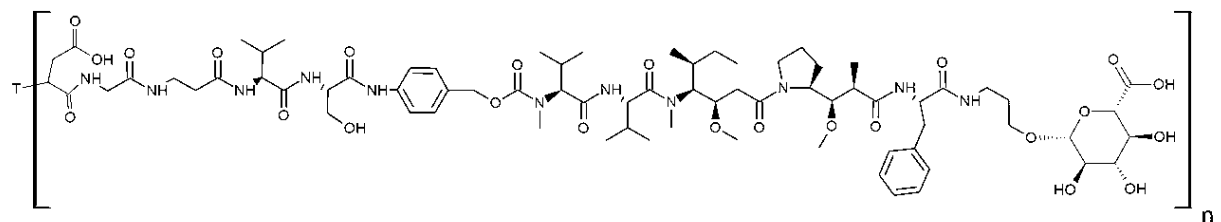


式 TMsj

20

【 0 5 4 4】

【化 1 1 8】



式 TMsk

30

【 0 5 4 5】

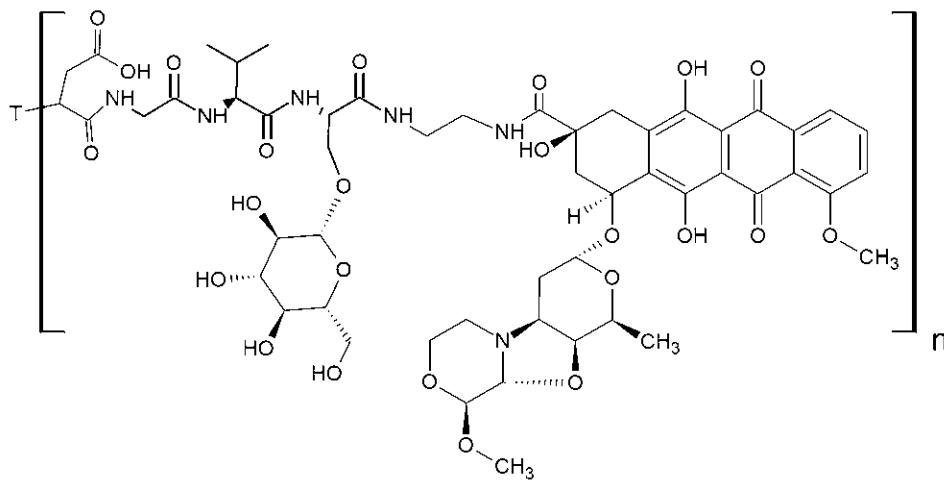
40

50





【化 1 2 5】

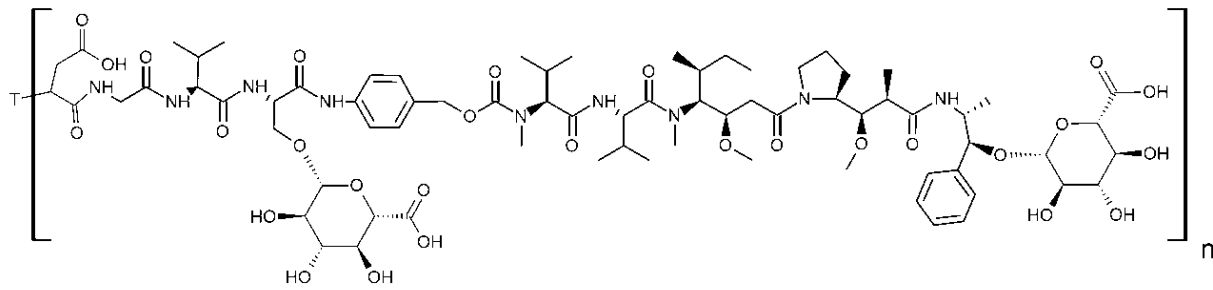


10

式 TMsp'

【 0 5 5 2】

【化 1 2 6】



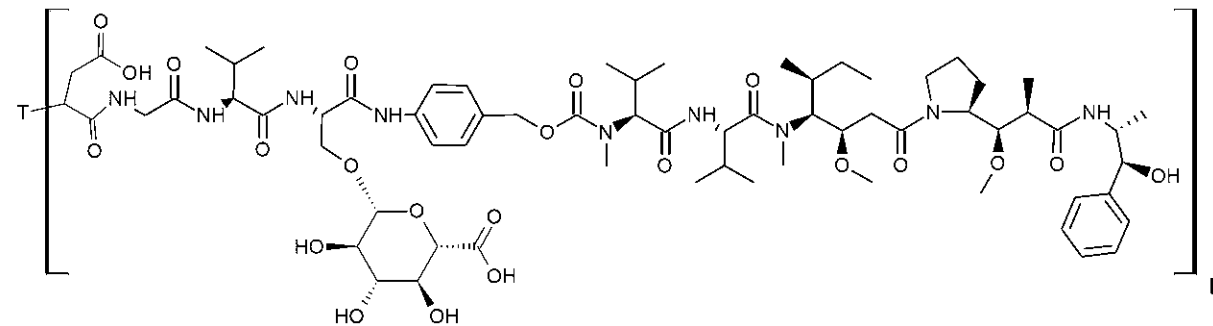
20

式 TMsq

30

【 0 5 5 3】

【化 1 2 7】



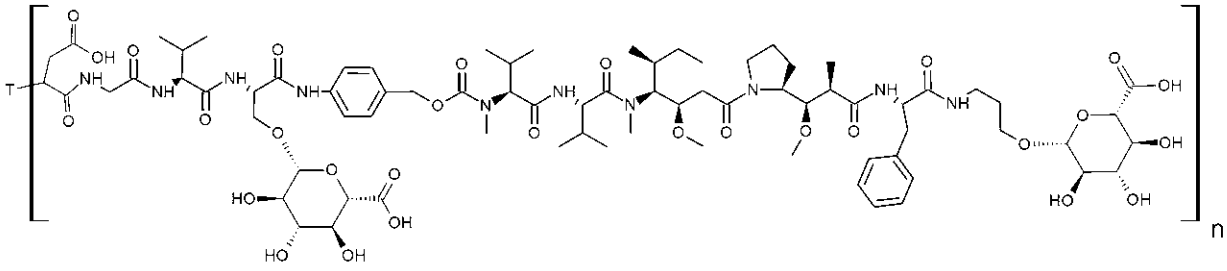
40

式 TMsr

【 0 5 5 4】

50

【化 1 2 8】

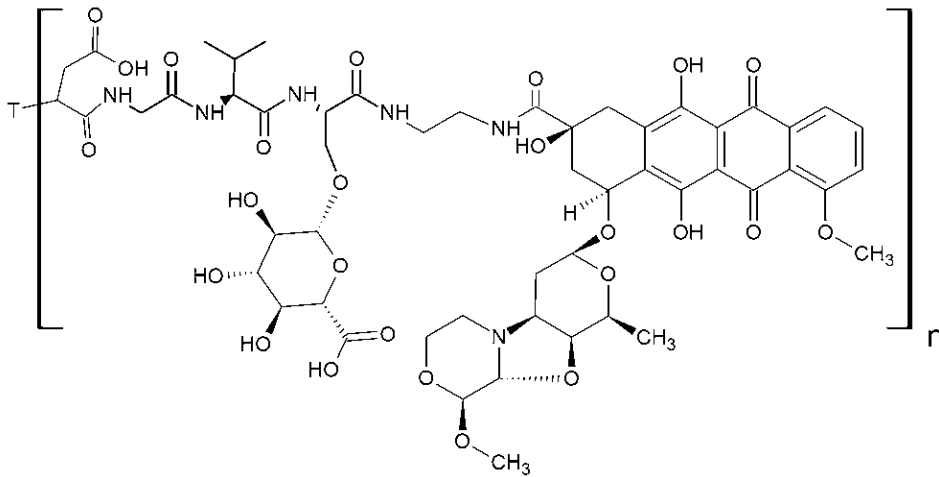


式 TMss

10

【 0 5 5 5】

【化 1 2 9】

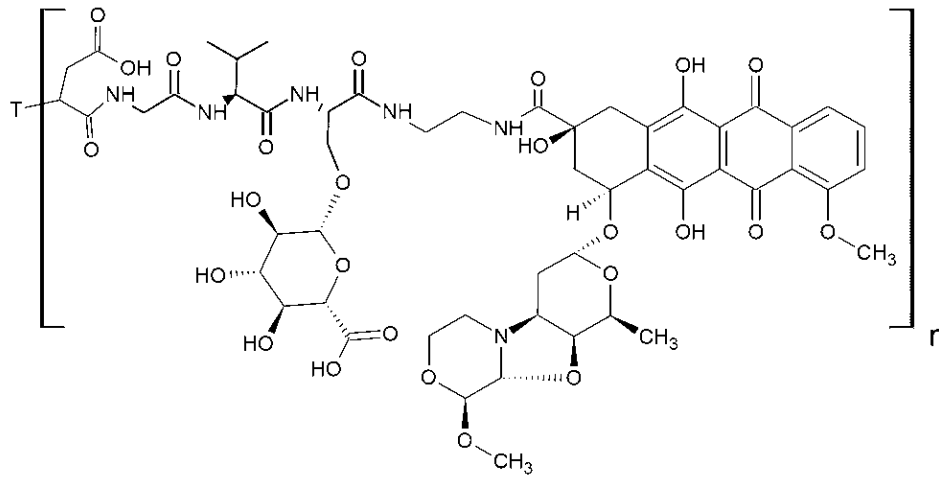


式 TMst

20

【 0 5 5 6】

【化 1 3 0】



式 TMst'

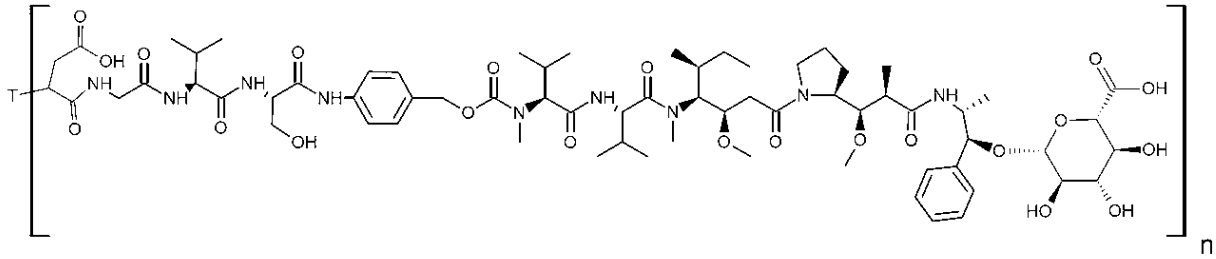
40

【 0 5 5 7】

50



【化 1 3 1】

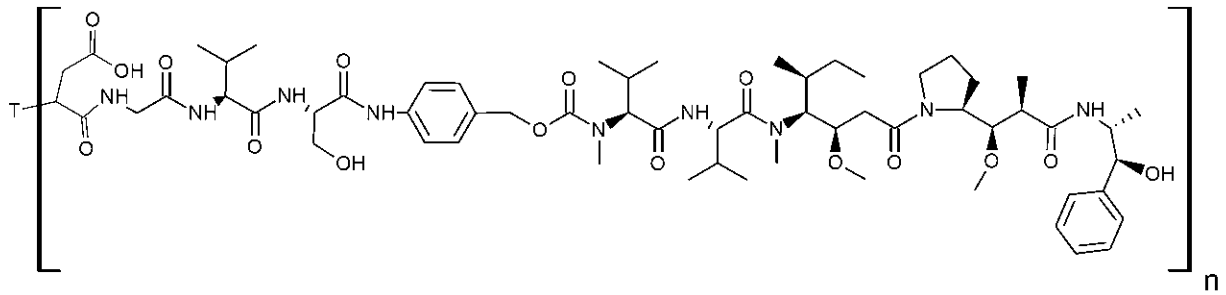


式 TMsu

10

【 0 5 5 8】

【化 1 3 2】

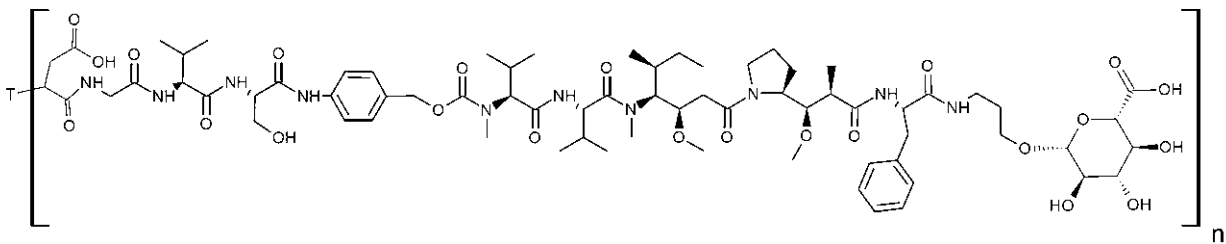


式 TMsv

20

【 0 5 5 9】

【化 1 3 3】



式 TMsw

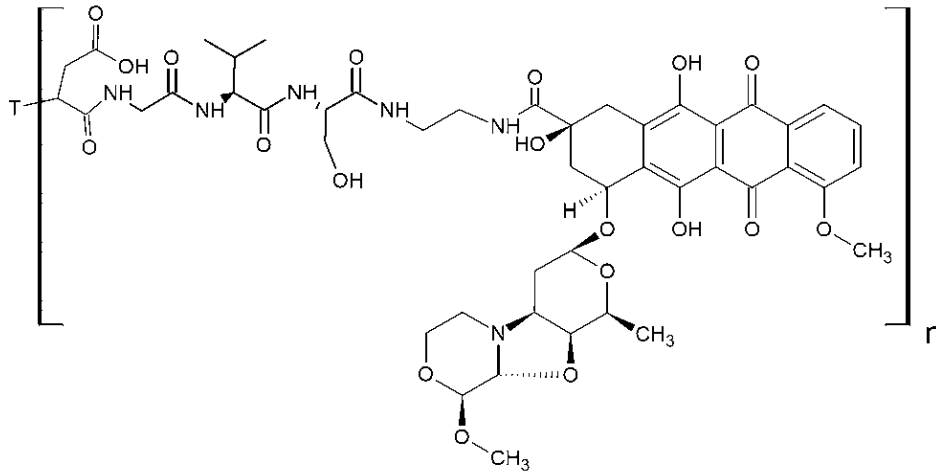
30

【 0 5 6 0】

40

50

【化 1 3 4】

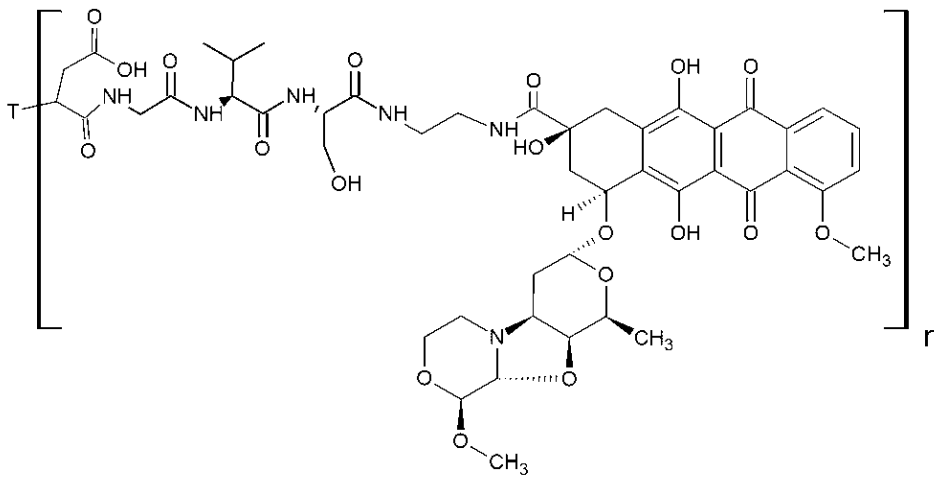


式 TMsx

10

【 0 5 6 1】

【化 1 3 5】



式 TMsx'

20

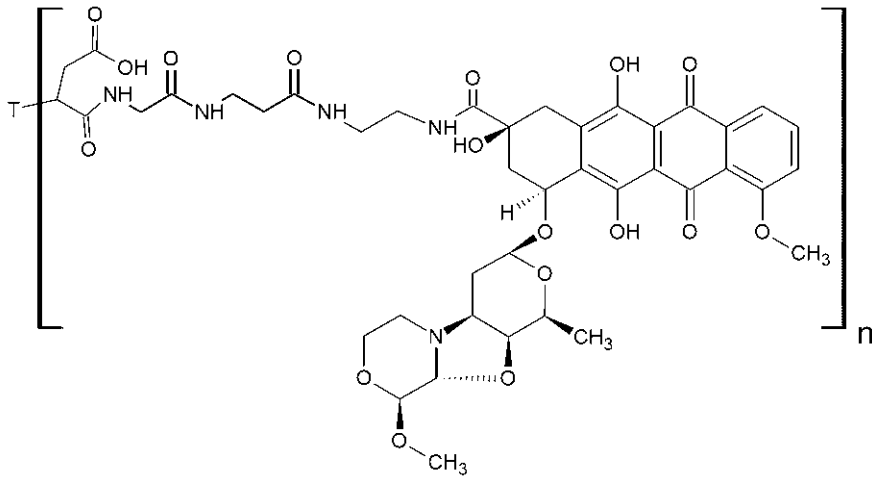
30

【 0 5 6 2】

40

50

【化 1 3 6】

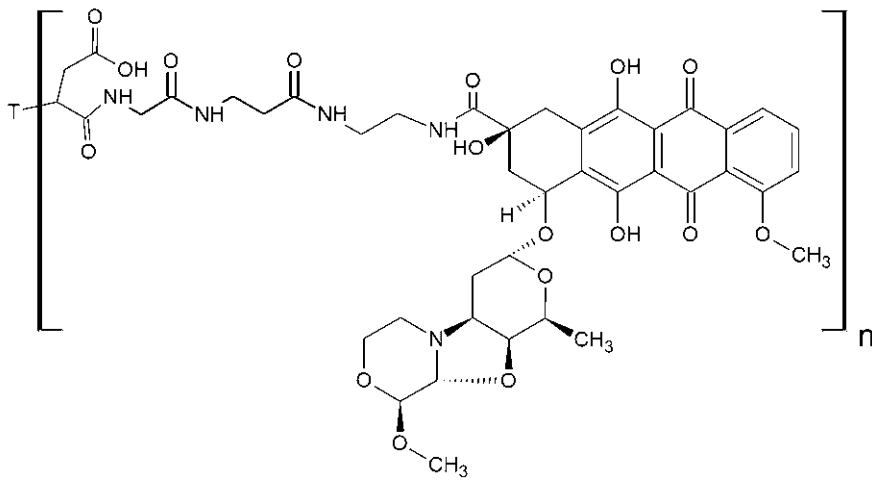


式 TMsy

10

【 0 5 6 3】

【化 1 3 7】



式 TMsy'

20

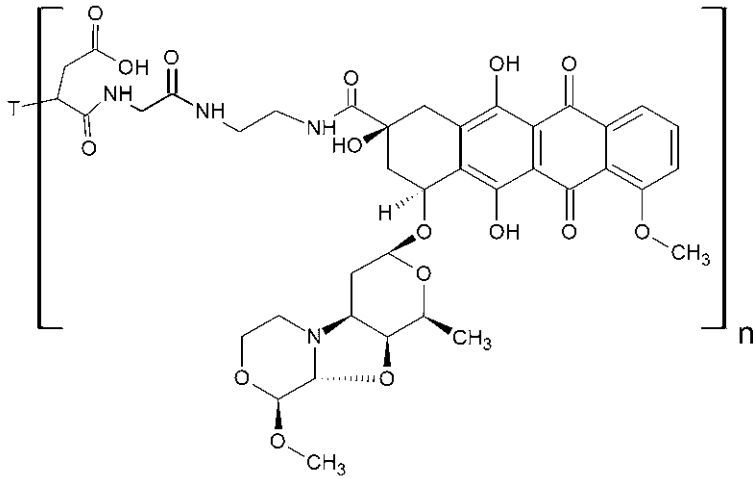
30

【 0 5 6 4】

40

50

【化 1 3 8】

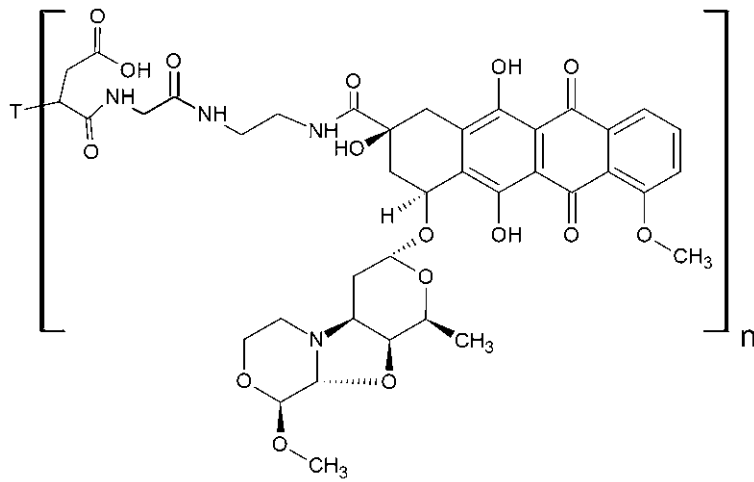


式 TMsz

10

【 0 5 6 5】

【化 1 3 9】



式 TMsz'

20

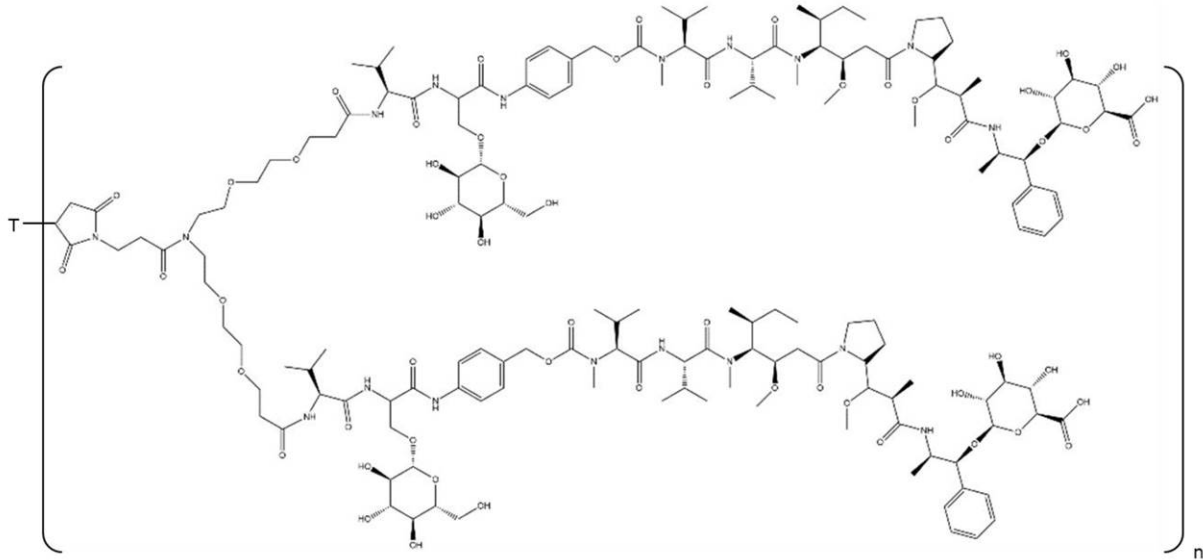
30

【 0 5 6 6】

40

50

【化 1 4 0】



10

式 TMszz

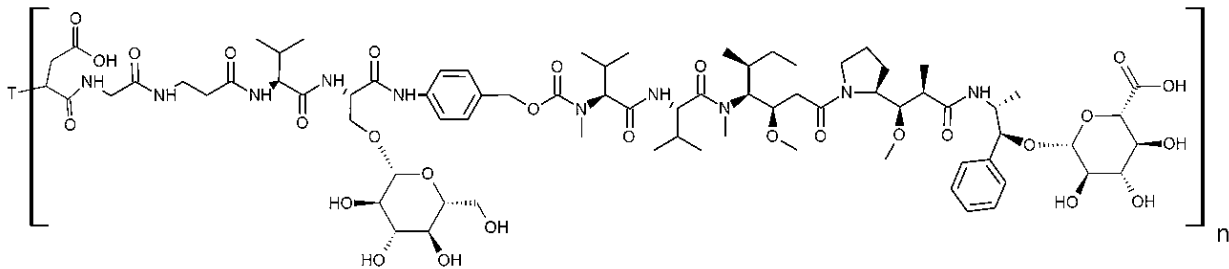
【 0 5 6 7】

20

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、抗体 - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

【 0 5 6 8】

【化 1 4 1】



30

【 0 5 6 9】

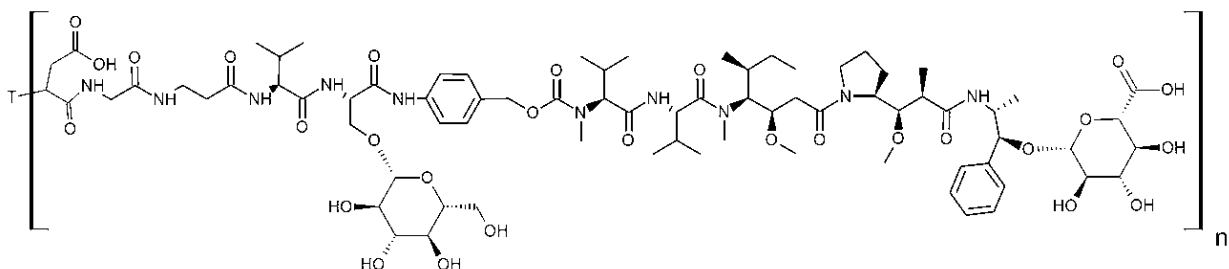
(式中、Tは抗体である)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

【 0 5 7 0】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、抗体 - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

【 0 5 7 1】

【化 1 4 2】



40

50

【0572】

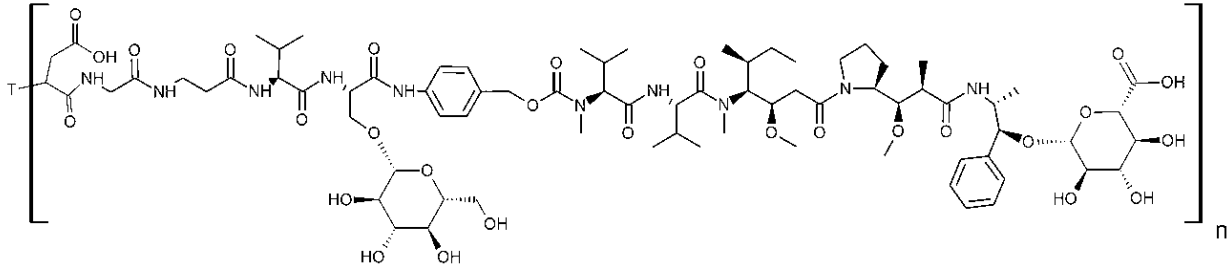
(式中、Tは、抗体であり、nは、8である)である。

【0573】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、抗HER2抗体 - マレイミドアセチル - -Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

【0574】

【化143】



10

【0575】

(式中、Tは、抗HER2抗体である)である。一実施形態において、nは、約8である。

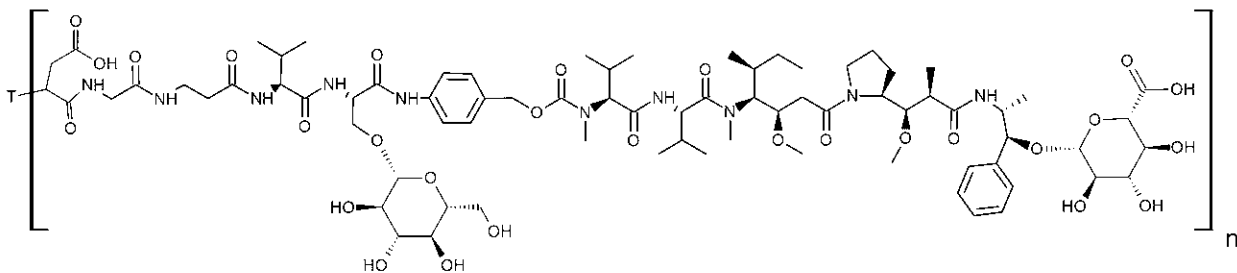
20

【0576】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、トラスツズマブ - マレイミドアセチル - -Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

【0577】

【化144】



30

【0578】

(式中、Tは、トラスツズマブである)である。一実施形態において、nは、約8である。

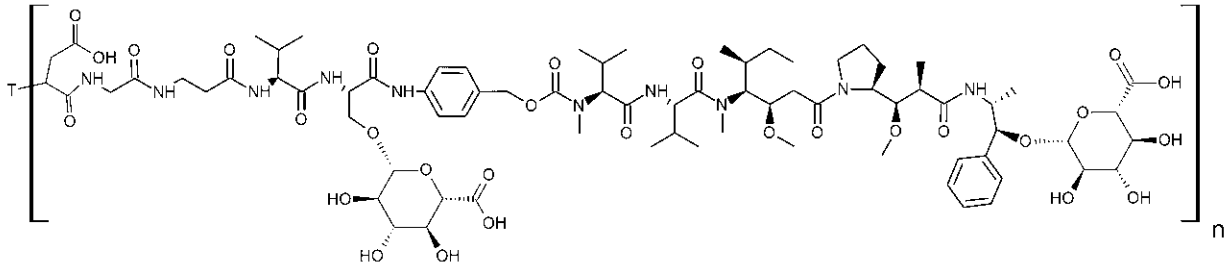
【0579】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、抗HER2抗体 - マレイミドアセチル - -Ala - Val - Ser (GlcA) - PAB - MMAU

40

【0580】

## 【化 1 4 5】



10

## 【0 5 8 1】

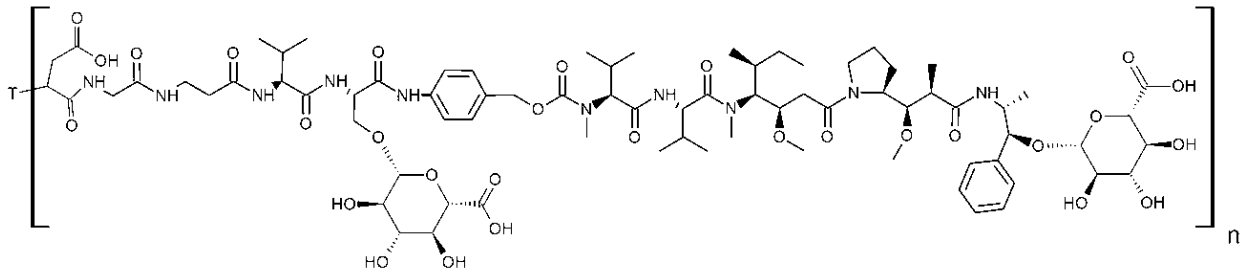
(式中、Tは、抗HER2抗体である)である。一実施形態において、nは、約8である。

## 【0 5 8 2】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、トラスツズマブ - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (GlcA) - PAB - MMAU

## 【0 5 8 3】

## 【化 1 4 6】



20

## 【0 5 8 4】

(式中、Tは、トラスツズマブである)である。一実施形態において、nは、約8である。

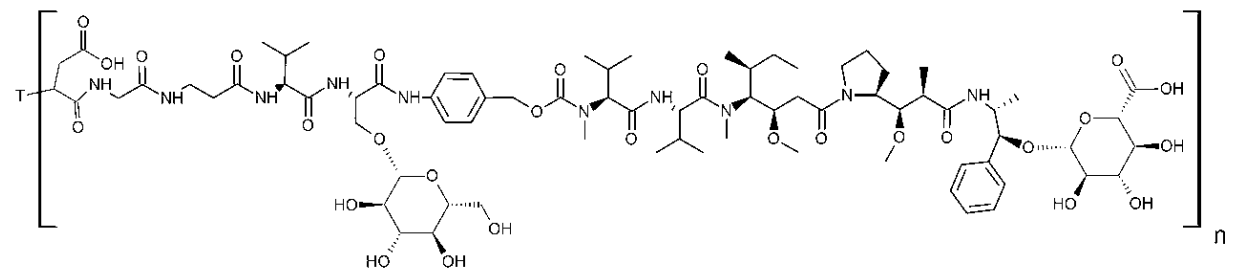
30

## 【0 5 8 5】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、抗CD33抗体 - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

## 【0 5 8 6】

## 【化 1 4 7】



40

## 【0 5 8 7】

(式中、Tは、抗CD33抗体である)である。一実施形態において、nは、6、7または8である。

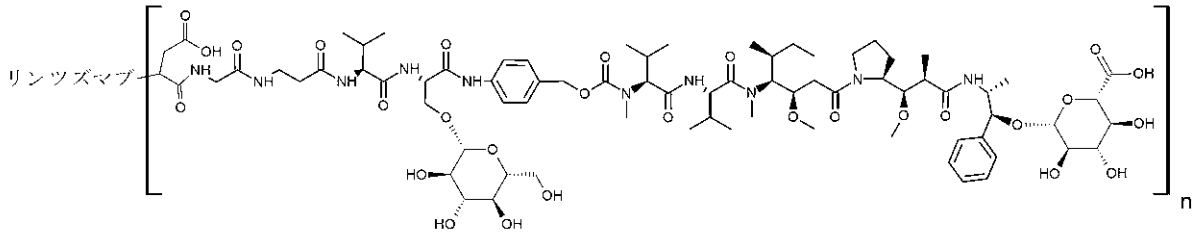
## 【0 5 8 8】

50

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、リンツズマブ - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

【0589】

【化148】



【0590】

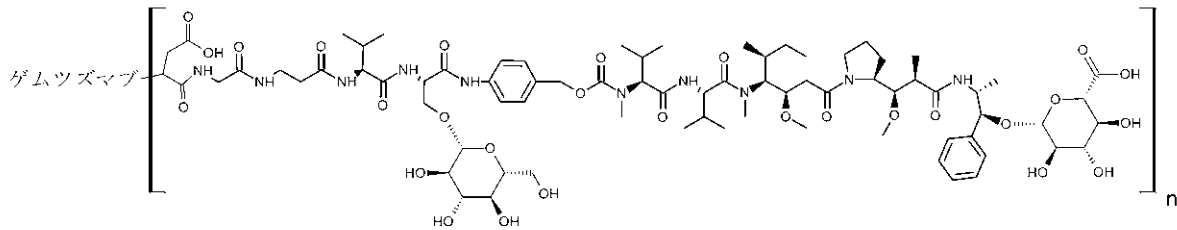
(式中、nは、8である)である。

【0591】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、ゲムツズマブ - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

【0592】

【化149】



【0593】

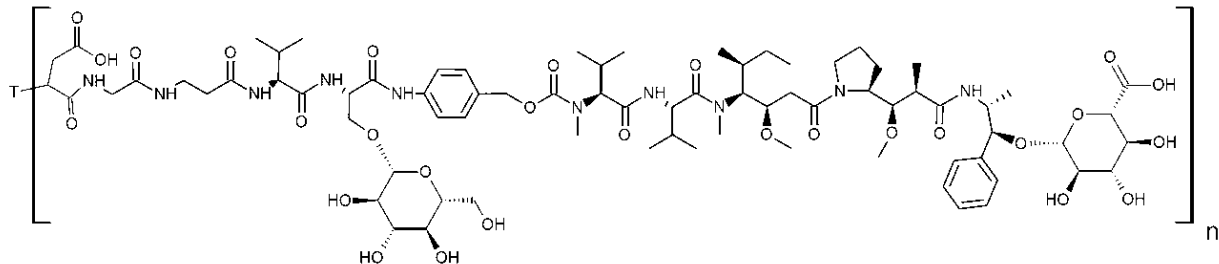
(式中、nは、8である)である。

【0594】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、抗TYRP1抗体 - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

【0595】

【化150】



【0596】

(式中、Tは、抗TYRP1抗体である)である。一実施形態において、nは、6、7または8である。一実施形態において、nは、8である。

【0597】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、フラン

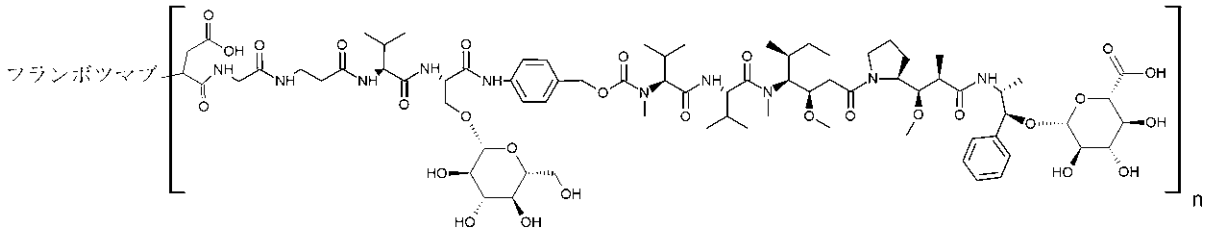
50



ボツマブ - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U

【 0 5 9 8 】

【 化 1 5 1 】



10

【 0 5 9 9 】

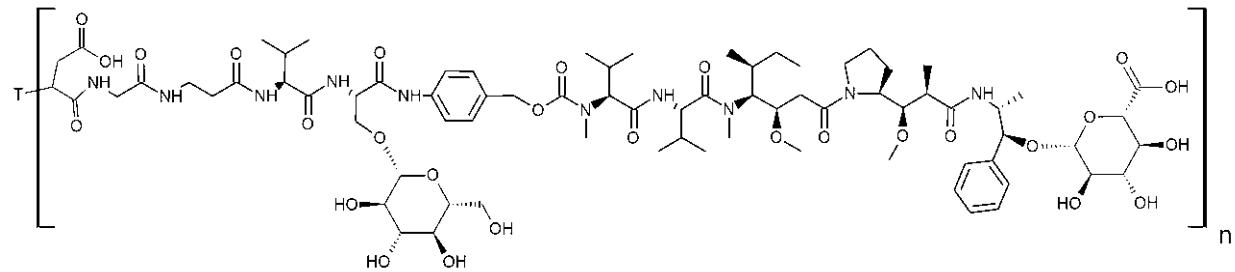
( 式中、nは、6、7または8である ) である。一実施形態において、nは、8である。

【 0 6 0 0 】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、抗 C D 2 2 抗体 - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U

【 0 6 0 1 】

【 化 1 5 2 】



20

【 0 6 0 2 】

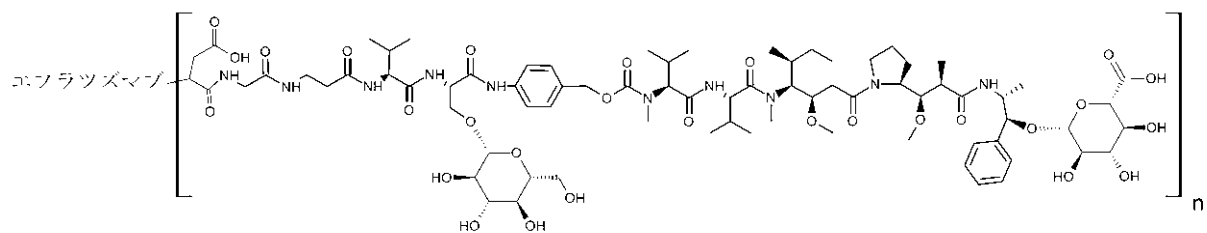
( 式中、Tは、抗 C D 2 2 抗体である ) である。一実施形態において、nは、6、7または8である。一実施形態において、nは、8である。

【 0 6 0 3 】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、エブラ ツズマブ - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U

【 0 6 0 4 】

【 化 1 5 3 】



40

【 0 6 0 5 】

( 式中、nは、6、7または8である ) である。一実施形態において、nは、8である。

【 0 6 0 6 】

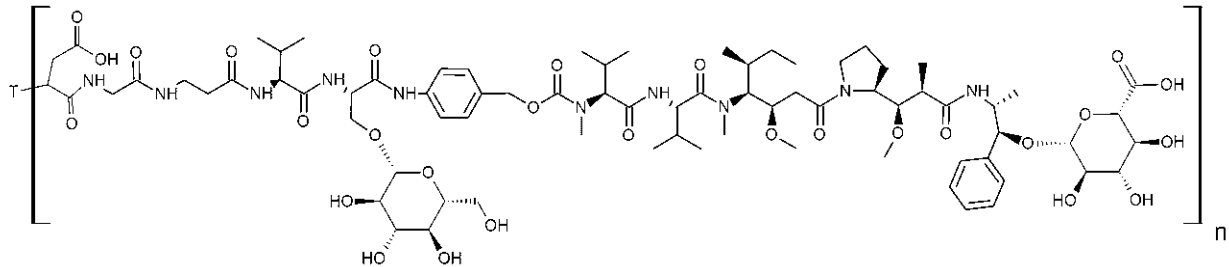
一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、抗 C D

50

19 抗体 - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U

【 0 6 0 7 】

【 化 1 5 4 】



10

【 0 6 0 8 】

( 式中、 T は、抗 C D 1 9 抗体である ) である。一実施形態において、 n は、 6 、 7 または 8 である。一実施形態において、 n は、 8 である。

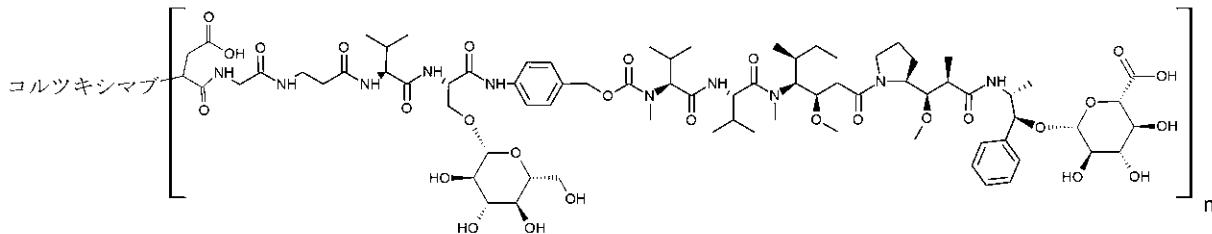
【 0 6 0 9 】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、コルツキシマブ - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U

20

【 0 6 1 0 】

【 化 1 5 5 】



30

【 0 6 1 1 】

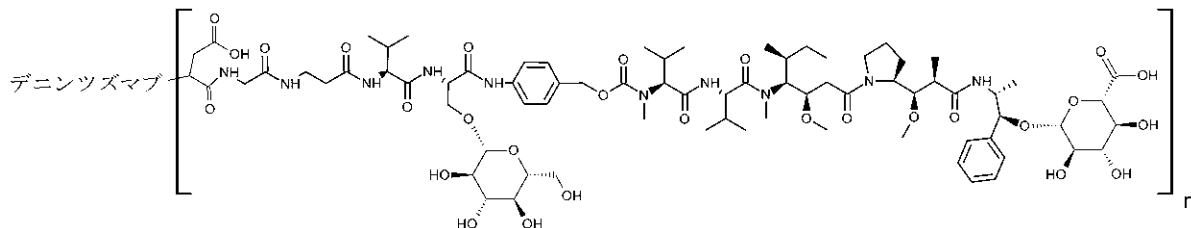
( 式中、 n は、 6 、 7 または 8 である ) である。一実施形態において、 n は、 8 である。

【 0 6 1 2 】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、デニンツズマブ - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U

【 0 6 1 3 】

【 化 1 5 6 】



40

【 0 6 1 4 】

( 式中、 n は、 6 、 7 または 8 である ) である。一実施形態において、 n は、 8 である。

【 0 6 1 5 】

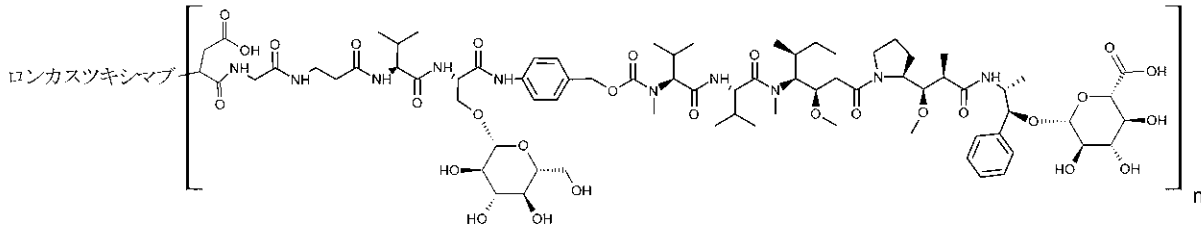
一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、ロンカ

50

スツキシマブ - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U

【 0 6 1 6 】

【 化 1 5 7 】



【 0 6 1 7 】

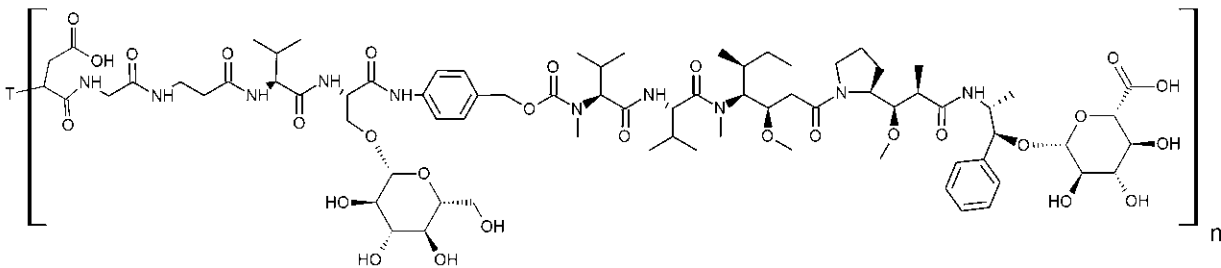
( 式中、n は、6、7 または 8 である ) である。一実施形態において、n は、8 である。

【 0 6 1 8 】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、抗 C D 5 2 抗体 - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U

【 0 6 1 9 】

【 化 1 5 8 】



【 0 6 2 0 】

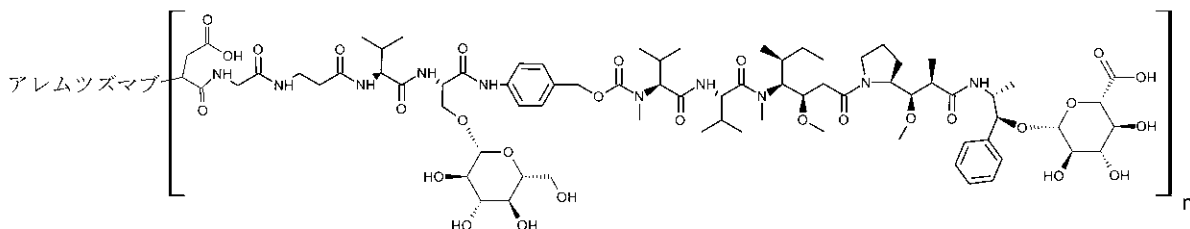
( 式中、T は、抗 C D 5 2 抗体である ) である。一実施形態において、n は、6、7 または 8 である。一実施形態において、n は、8 である。

【 0 6 2 1 】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、アレム ツズマブ - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U

【 0 6 2 2 】

【 化 1 5 9 】



【 0 6 2 3 】

( 式中、n は、6、7 または 8 である ) である。一実施形態において、n は、8 である。

【 0 6 2 4 】

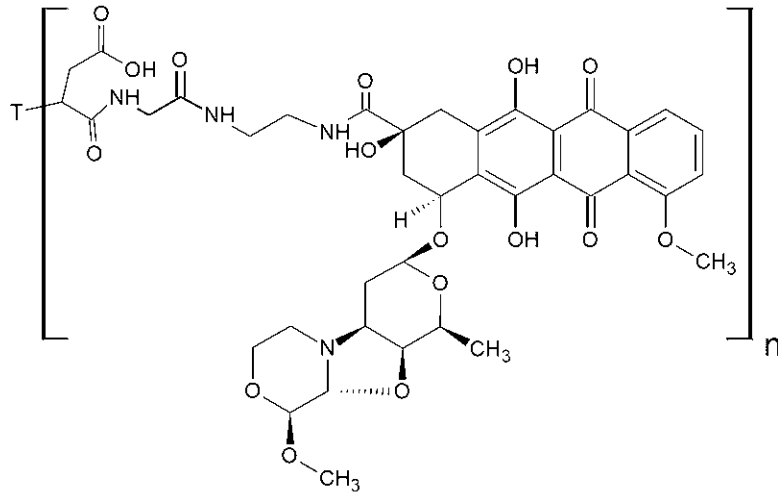
一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、式 T M

50

S Z

【 0 6 2 5 】

【 化 1 6 0 】



10

【 0 6 2 6 】

( 式中、 T は、抗 T Y R P 1 抗体またはシステイン改変抗 T Y R P 1 抗体である ) のものである。一実施形態において、 n は、 2、 3 または 4 である。一実施形態において、 n は、 2 である。

20

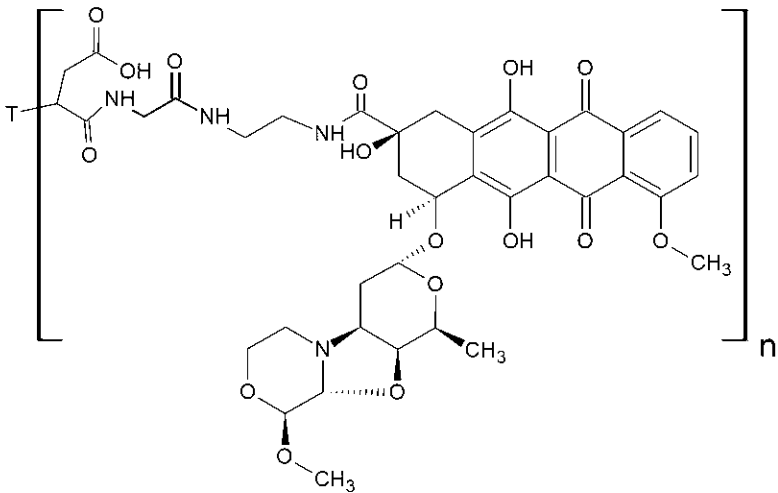
【 0 6 2 7 】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、式 T M

S Z ' ,

【 0 6 2 8 】

【 化 1 6 1 】



30

【 0 6 2 9 】

( 式中、 T は、抗 T Y R P 1 抗体またはシステイン改変抗 T Y R P 1 抗体である ) のものである。一実施形態において、 n は、 2、 3 または 4 である。一実施形態において、 n は、 2 である。

【 0 6 3 0 】

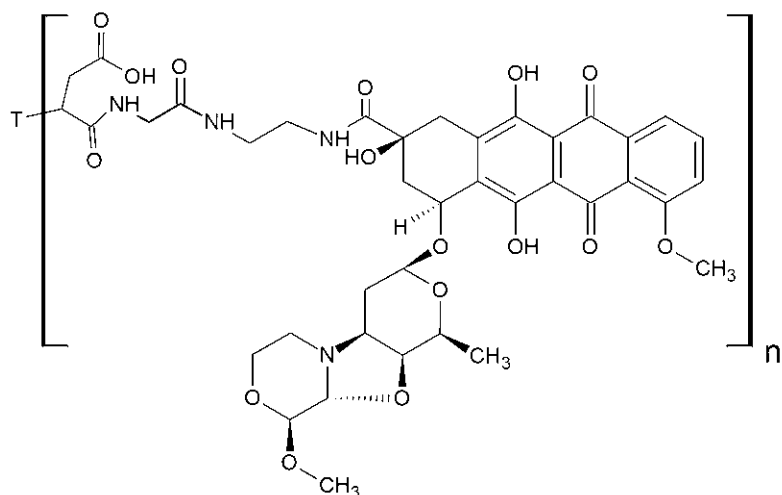
一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、式 T M

S Z

【 0 6 3 1 】

50

## 【化 1 6 2】



10

## 【0 6 3 2】

(式中、Tは、フランボツマブまたはシステイン改変フランボツマブである)のものである。一実施形態において、nは、2、3または4である。一実施形態において、nは、2である。

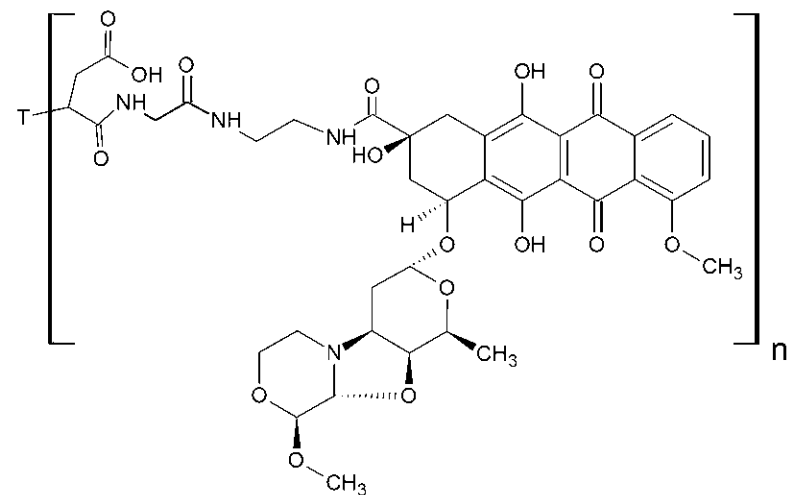
20

## 【0 6 3 3】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、式 T M s z ' である。

## 【0 6 3 4】

## 【化 1 6 3】



30

## 【0 6 3 5】

(式中、Tは、フランボツマブまたはシステイン改変フランボツマブである)のものである。一実施形態において、nは、2、3または4である。一実施形態において、nは、2である。

40

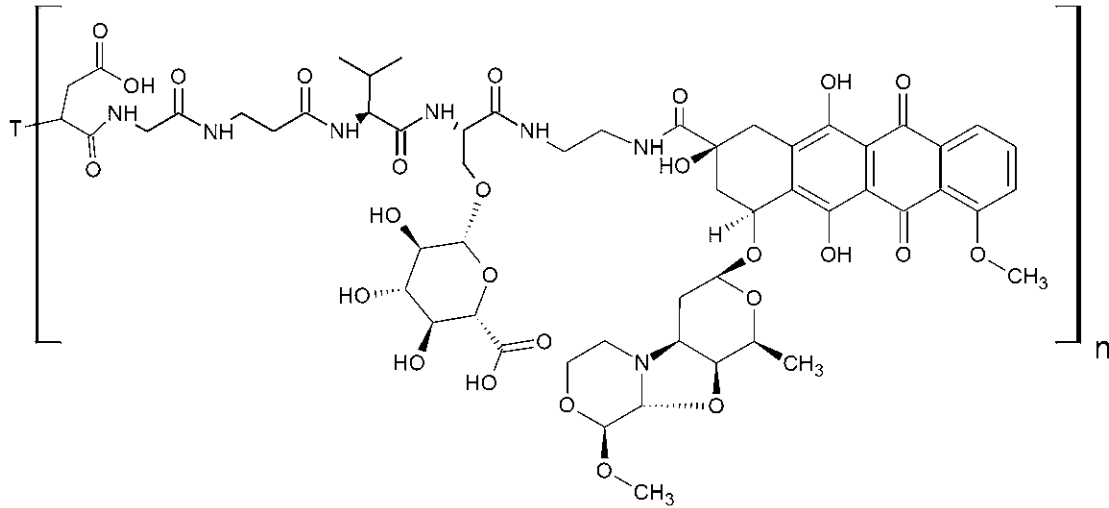
## 【0 6 3 6】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、

## 【0 6 3 7】

50

## 【化 1 6 4】



10

## 【0 6 3 8】

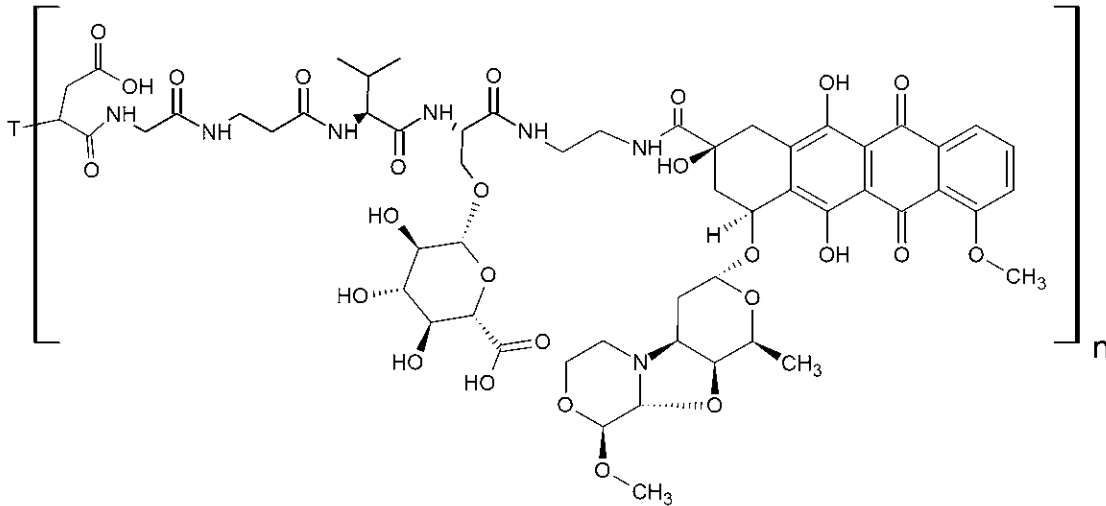
(式中、Tは、HC N 3 0 1 Cを有するシステイン改変抗体キメラTA99である)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

## 【0 6 3 9】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、

## 【0 6 4 0】

## 【化 1 6 5】



30

## 【0 6 4 1】

(式中、Tは、HC N 3 0 1 Cを有するシステイン改変抗体キメラTA99である)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

## 【0 6 4 2】

本明細書の文脈において、成句「HC N 3 0 1 C」は、重鎖配列における置換N 3 0 1 Cを有する抗体として理解される場合がある。

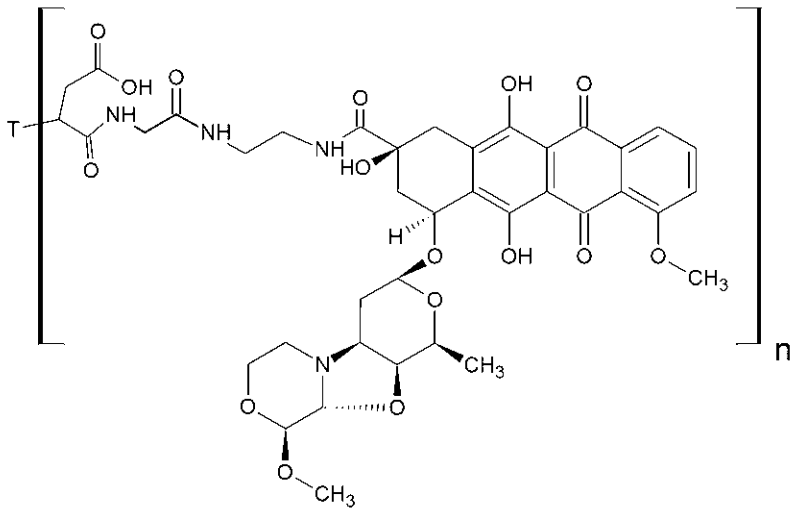
## 【0 6 4 3】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、

## 【0 6 4 4】

50

【化 1 6 6】



10

【 0 6 4 5】

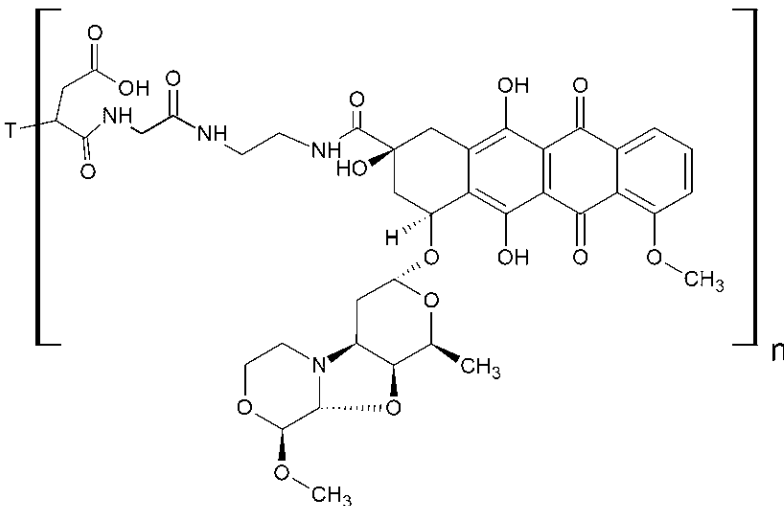
(式中、Tは、リンツズマブHC N296Cである)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

【 0 6 4 6】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、

【 0 6 4 7】

【化 1 6 7】



30

【 0 6 4 8】

(式中、Tは、リンツズマブHC N296Cである)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

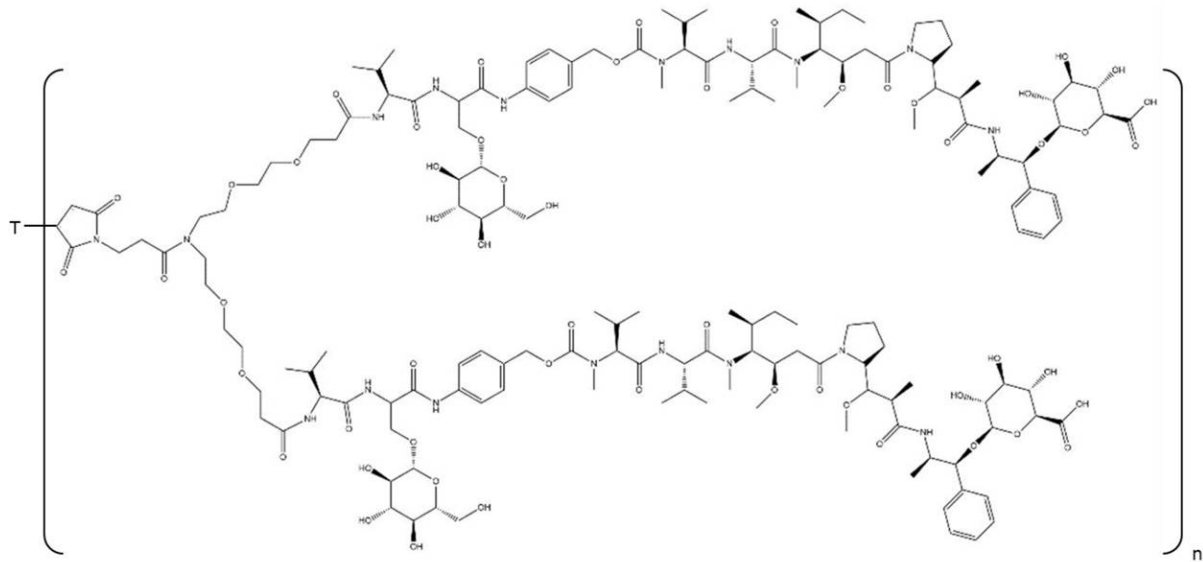
【 0 6 4 9】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、

【 0 6 5 0】

50

## 【化 1 6 8】



10

## 【0 6 5 1】

(式中、Tは、リンツズマブHC N296Cである)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

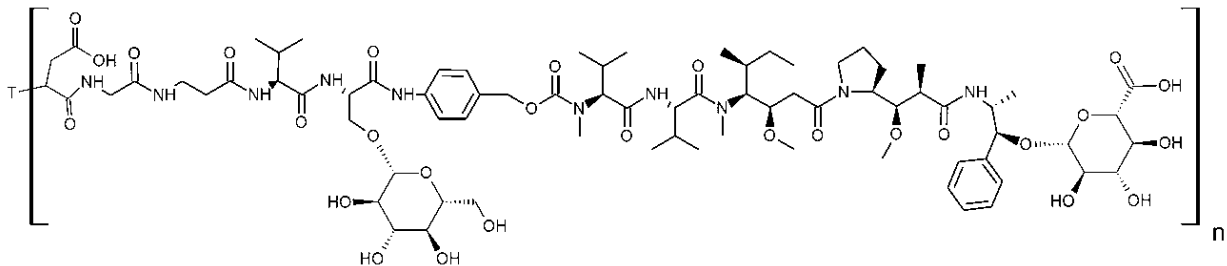
20

## 【0 6 5 2】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、システイン改変抗体 - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

## 【0 6 5 3】

## 【化 1 6 9】



30

## 【0 6 5 4】

(式中、Tは、システイン改変抗体であり、nは、2、3、4、5、6、7または8である)である。

## 【0 6 5 5】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、システイン改変抗体 - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

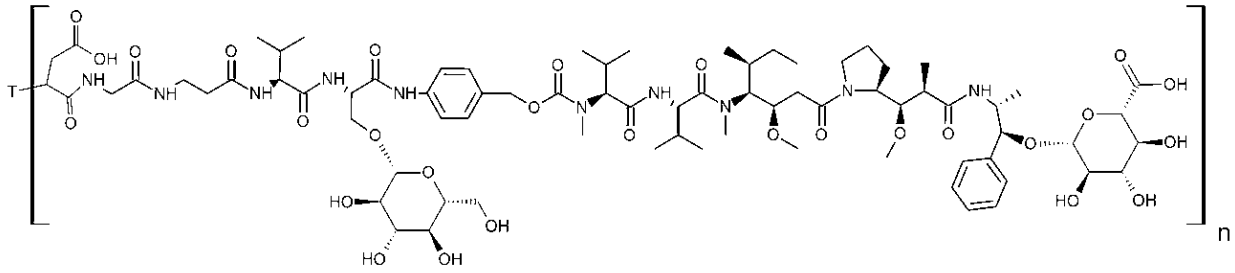
40

## 【0 6 5 6】





## 【化 1 7 2】



10

## 【0 6 6 3】

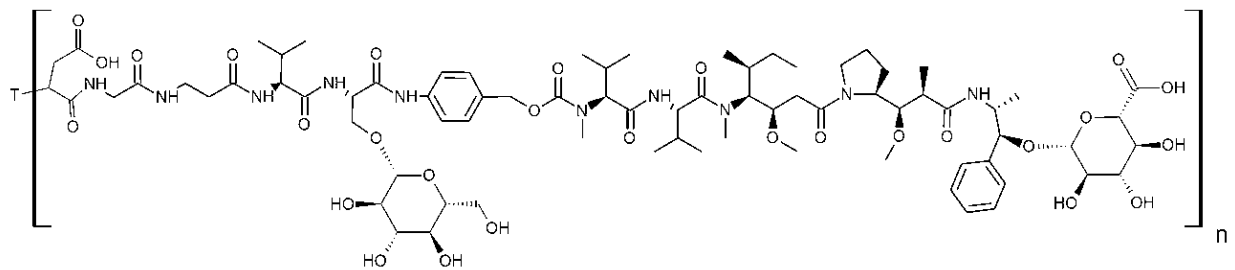
(式中、Tは、システイン改変抗TYRP1または抗CD33抗体である)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

## 【0 6 6 4】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、システイン改変抗体 - マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

## 【0 6 6 5】

## 【化 1 7 3】



20

## 【0 6 6 6】

(式中、Tは、220または297 (Kabataによる)におけるHC置換を有するシステイン改変抗TYRP1または抗CD33抗体である)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

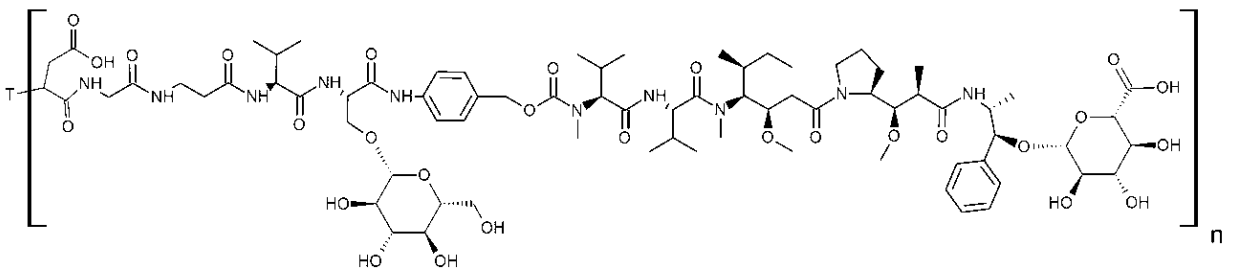
30

## 【0 6 6 7】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、システイン改変抗体 - マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

## 【0 6 6 8】

## 【化 1 7 4】



40

## 【0 6 6 9】

(式中、Tは、システイン改変リンツズマブ、フランボツズマブまたはゲムツズマブである)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

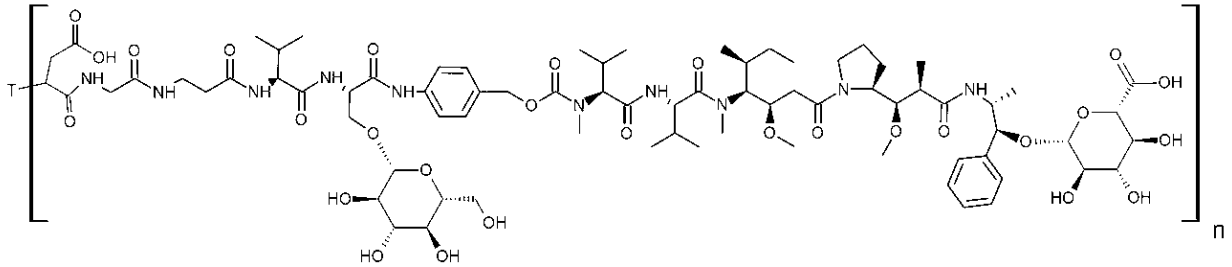
50

## 【0670】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、システイン改変抗体 - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

## 【0671】

## 【化175】



10

## 【0672】

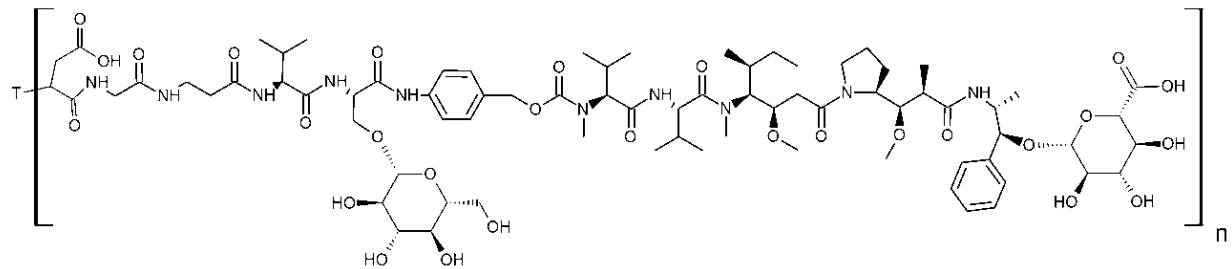
(式中、Tは、220または297(Kabatによる)におけるHC置換を有するシステイン改変リンツズマブ、フランボツマブまたはゲムツズマブである)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

## 【0673】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、システイン改変リンツズマブ - マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU

## 【0674】

## 【化176】



30

## 【0675】

(式中、Tは、HC置換N296Cを有するシステイン改変リンツズマブである)である。nは、本明細書に記載のnの任意の値または値の範囲であり得る。

## 【0676】

一実施形態において、標的ユニットは、抗体であり、生体直交性結合基は、リンカーを抗体のアミノ酸側鎖に共有結合で接続する。

## 【0677】

一実施形態において、生体直交性結合基は、プロパルギル基などの脂肪族アルキンまたはDBC O、DIB O、シクロノニン、シクロオクチンなどのシクロアルキンの群から選択されるアルキンである。

## 【0678】

一実施形態において、リンカーは、- Ala - Val - Ser (Glc) であるか、それを含む。一実施形態において、リンカーは、式IG、式IIGまたは式IIGs (式中、mは、1であり、nは、0である) にしたがう。

## 【0679】

一実施形態において、リンカーは、- Ala - Val - Ser (Glc) - PABで

50

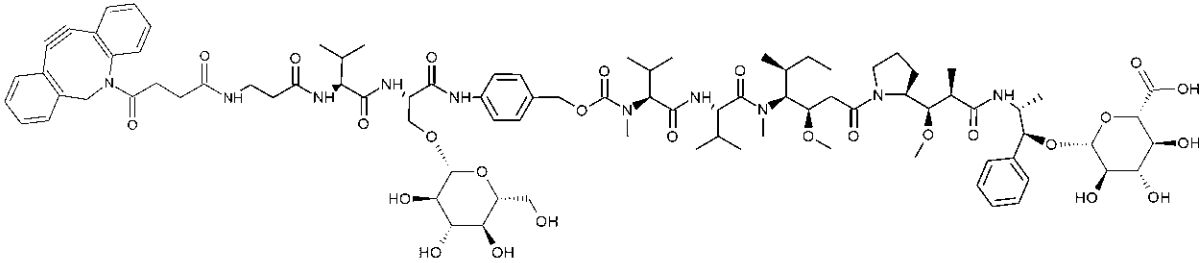
あるか、それを含む。一実施形態において、リンカーは、式 I G X、式 I I G X または式 I I G X s にしたがう。

【0680】

一実施形態において、リンカー - ペイロードコンジュゲートは、以下の式 C B a ~ 式 C B j のいずれか 1 つにしたがう。

【0681】

【化177】

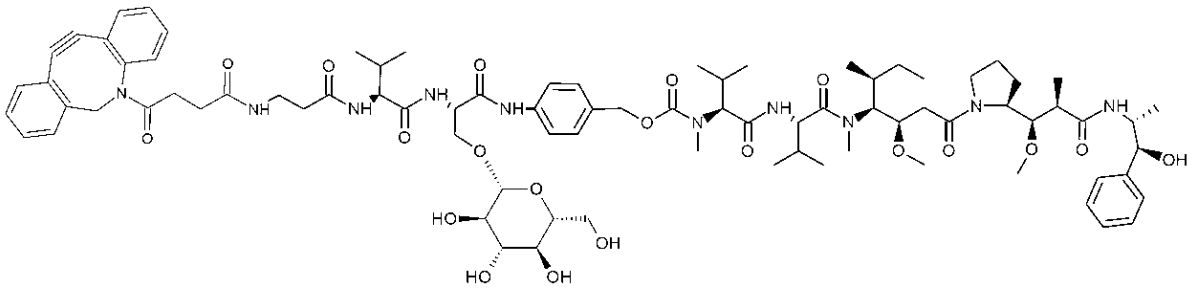


10

式 CBa

【0682】

【化178】

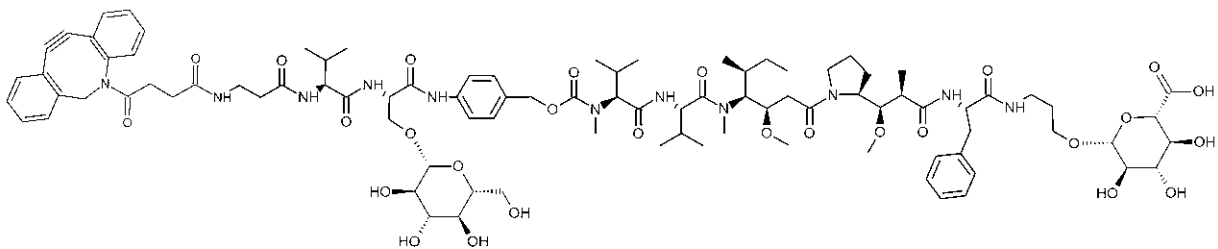


20

式 CBb

【0683】

【化179】



30

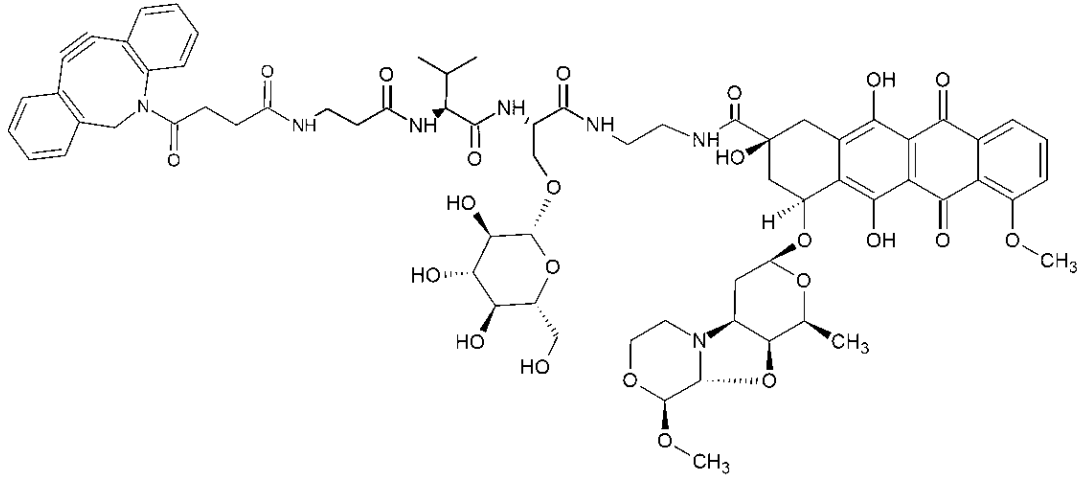
式 CBc

40

【0684】

50

【化 1 8 0】



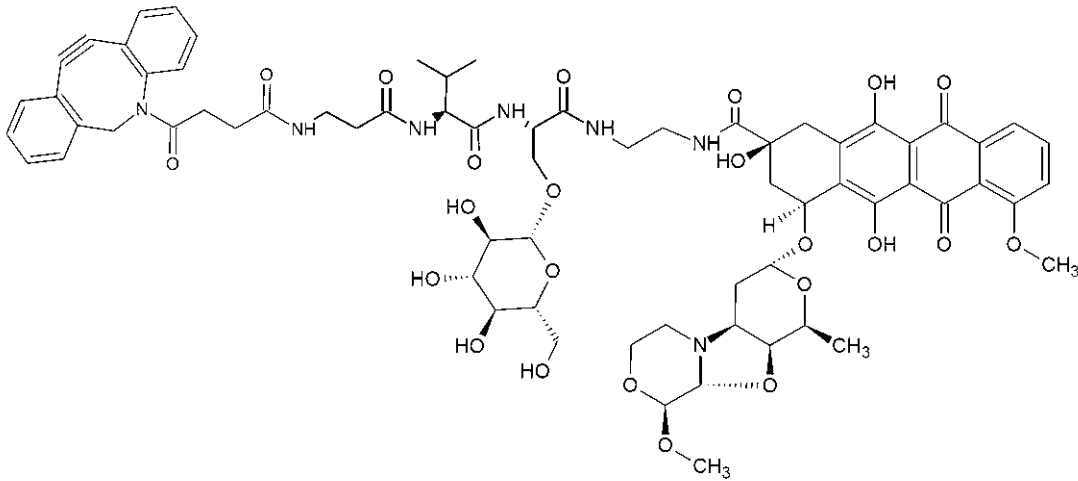
10

式 CBd

【 0 6 8 5】

【化 1 8 1】

20



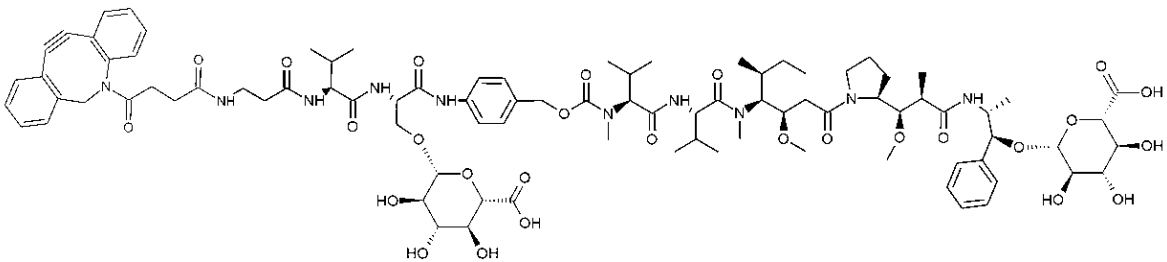
30

式 CBd'

【 0 6 8 6】

【化 1 8 2】

40

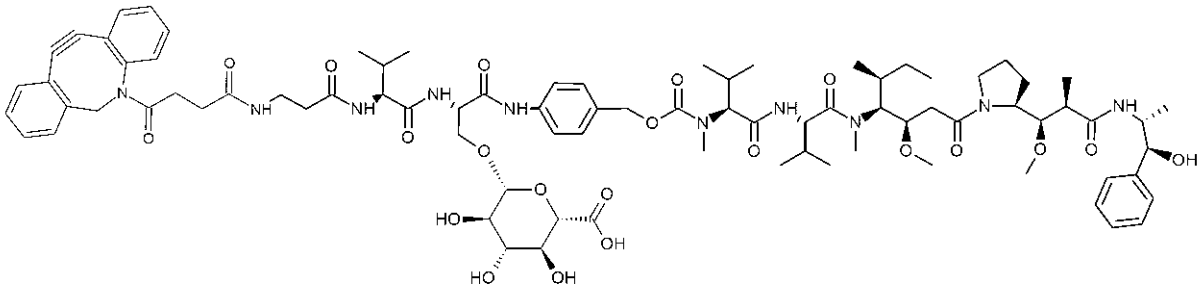


式 CBe

【 0 6 8 7】

50

【化 1 8 3】

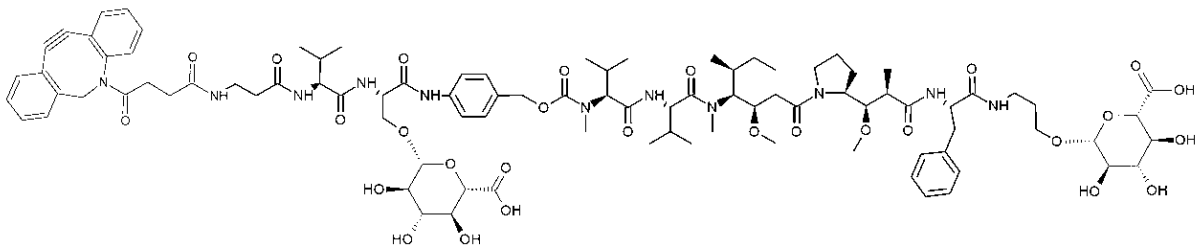


式 Cbf

10

【 0 6 8 8】

【化 1 8 4】

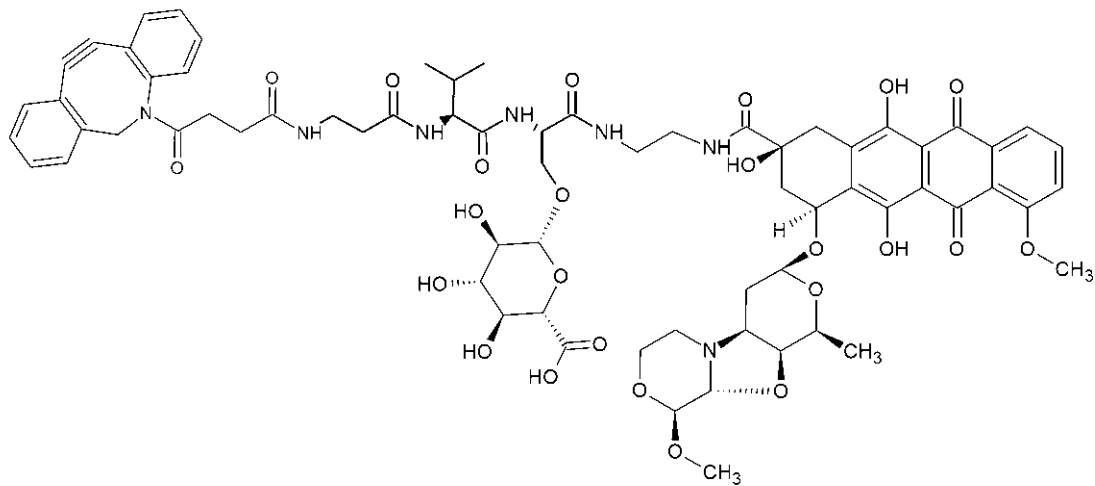


式 CBg

20

【 0 6 8 9】

【化 1 8 5】



式 CBh

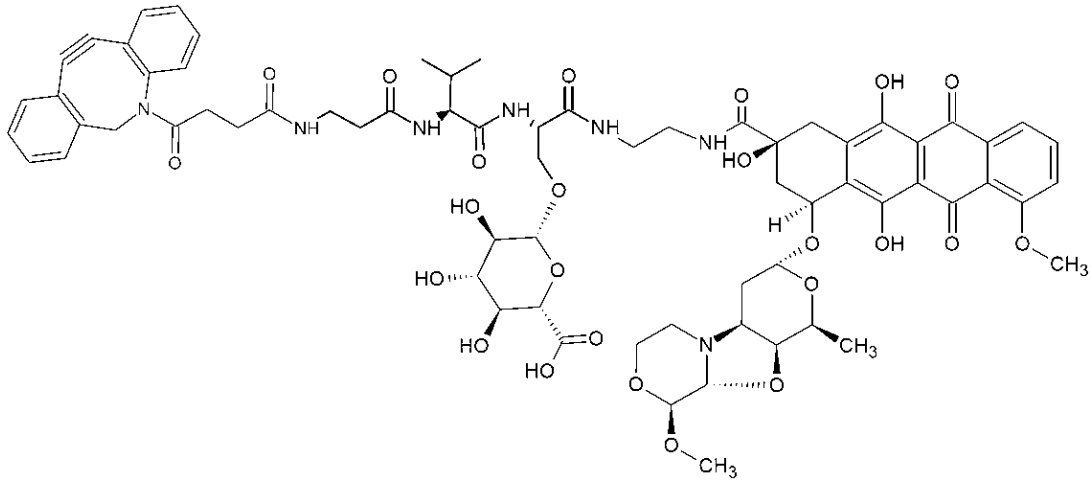
30

40

【 0 6 9 0】

50

【化 1 8 6】

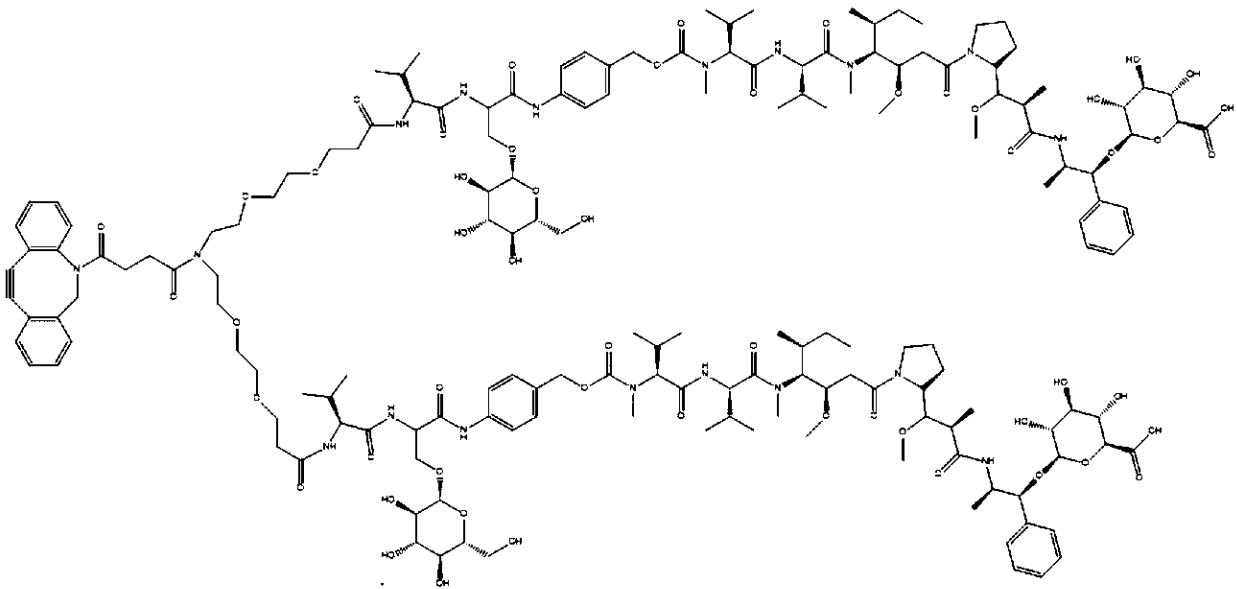


10

式 CBh'

【 0 6 9 1】

【化 1 8 7】



20

30

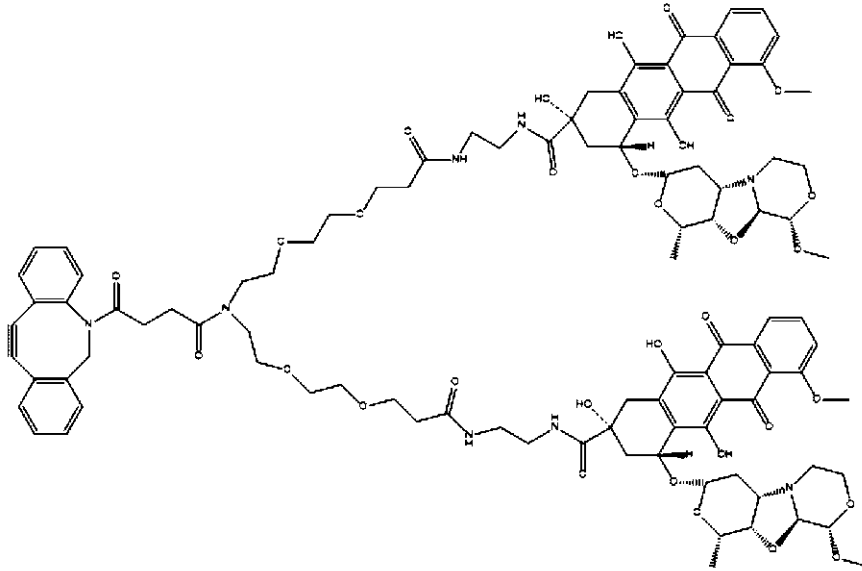
式 CBi

【 0 6 9 2】

40

50

【化188】



10

式CBj

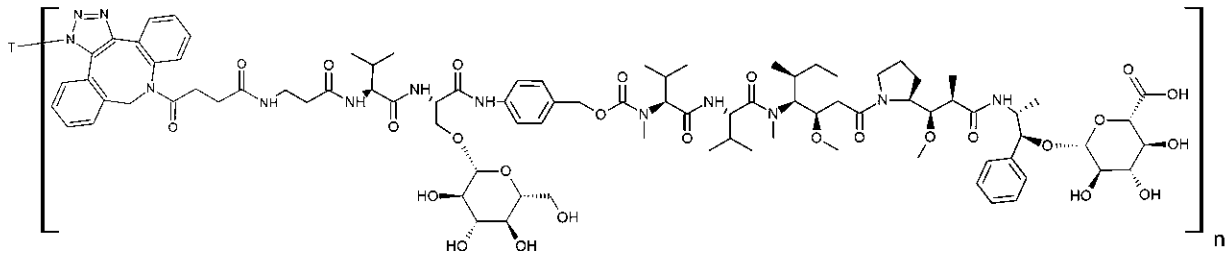
【0693】

20

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、以下の式TBa ~ 式TBjのいずれか1つにしたがう。

【0694】

【化189】

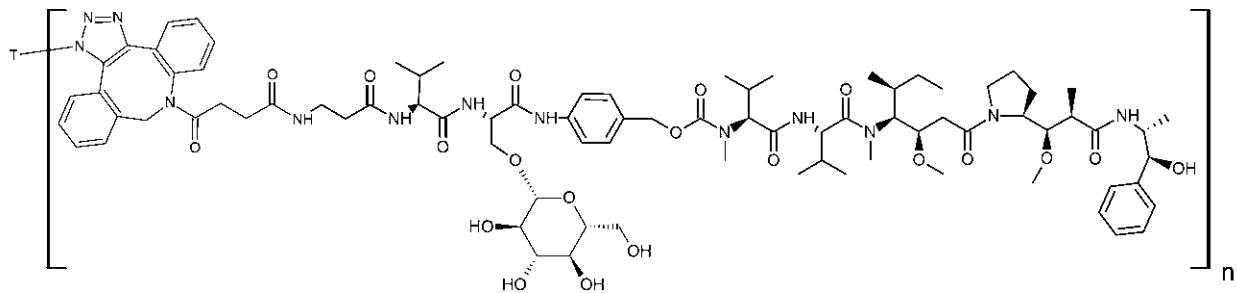


30

式TBa

【0695】

【化190】



40

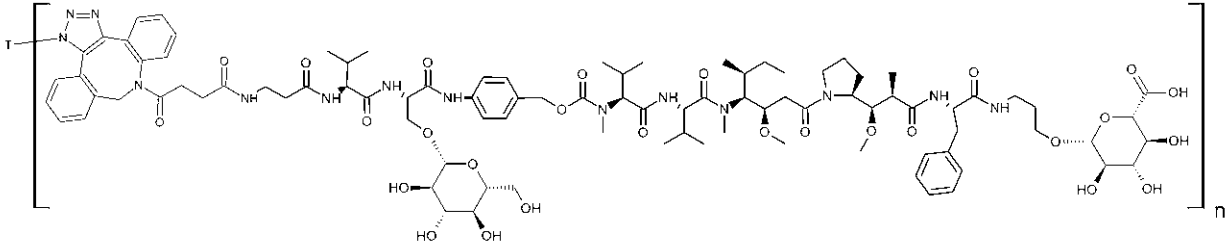
式TBb

【0696】

50



【化 1 9 1】

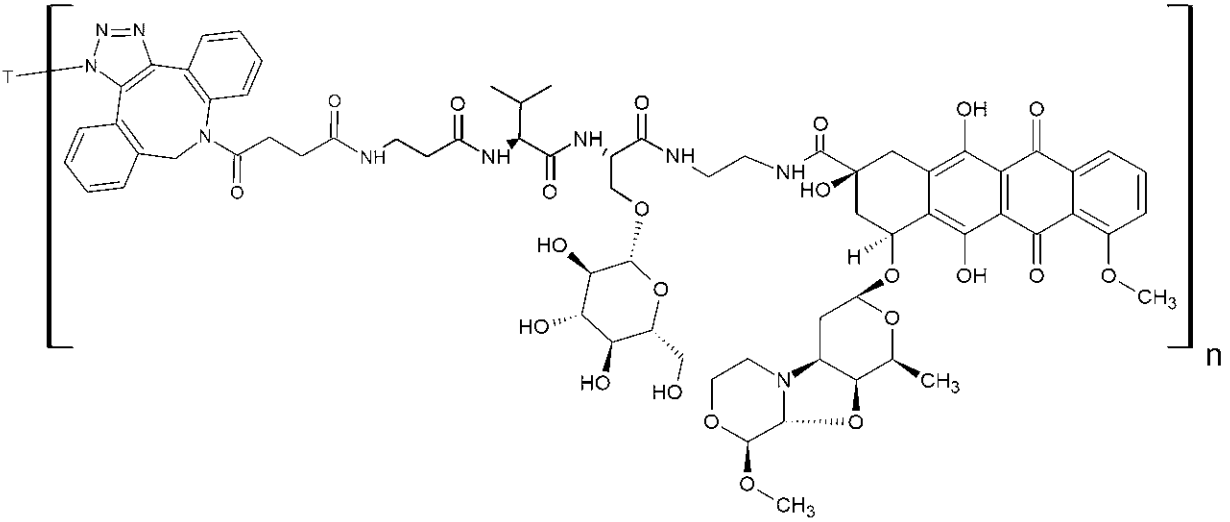


式 TBe

10

【 0 6 9 7】

【化 1 9 2】

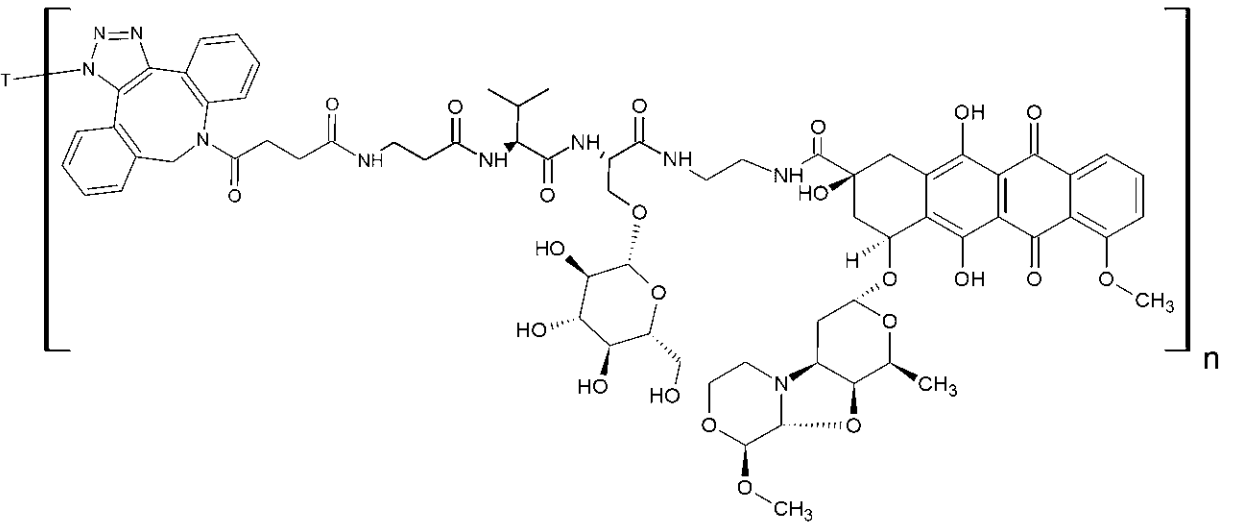


式 TBd

20

【 0 6 9 8】

【化 1 9 3】



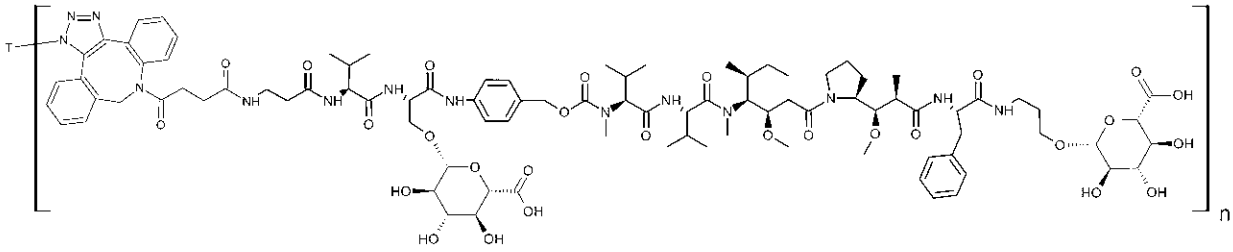
式 TBd'

40

【 0 6 9 9】

50

【化 1 9 4】

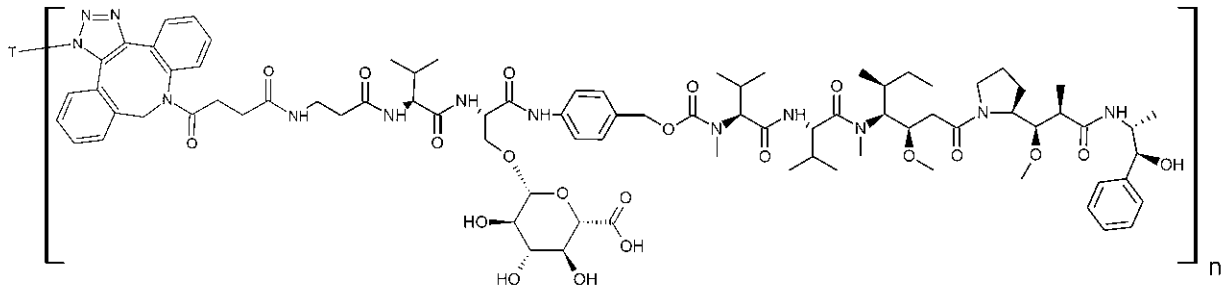


式 TBe

10

【 0 7 0 0】

【化 1 9 5】

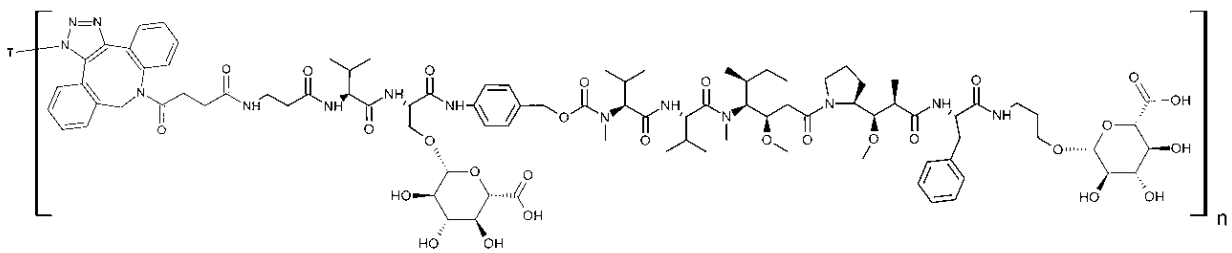


式 TBf

20

【 0 7 0 1】

【化 1 9 6】



式 TBg

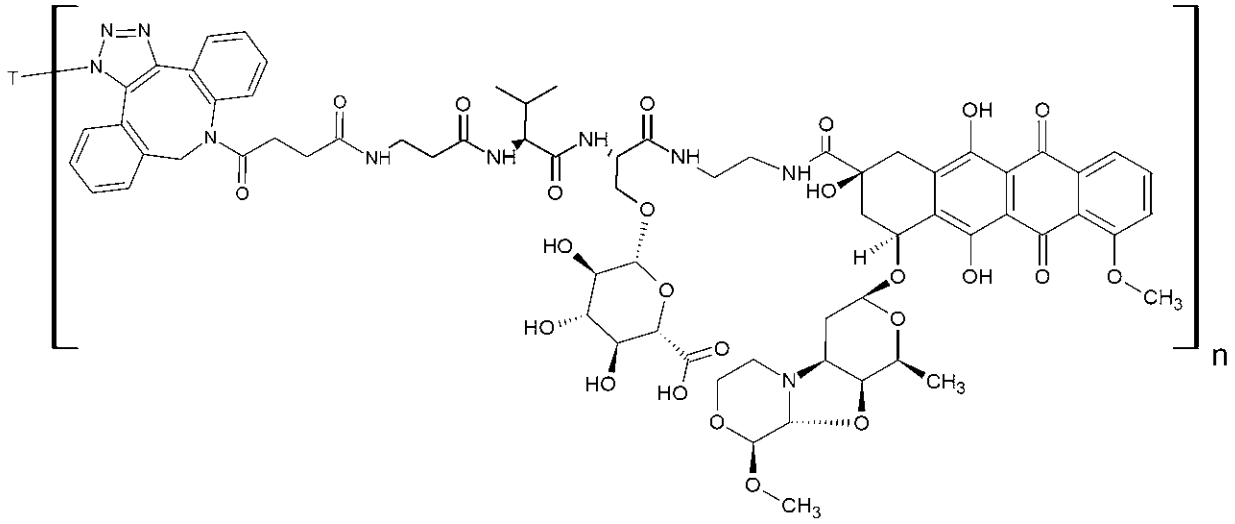
30

【 0 7 0 2】

40

50

【化 1 9 7】

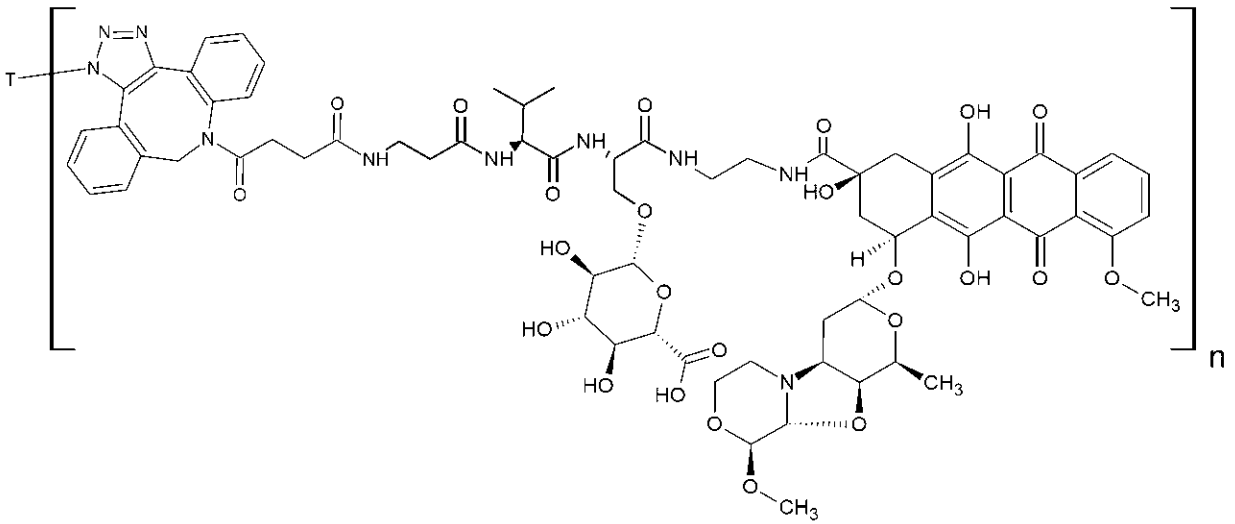


10

式 TBh

【 0 7 0 3 】

【化 1 9 8】



20

30

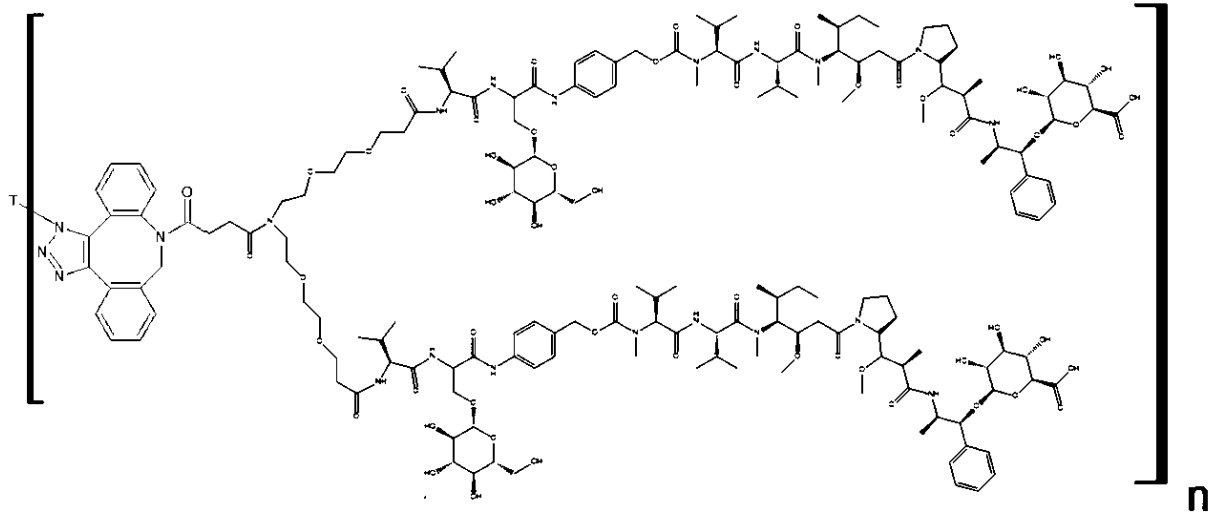
式 TBh'

【 0 7 0 4 】

40

50

【化199】



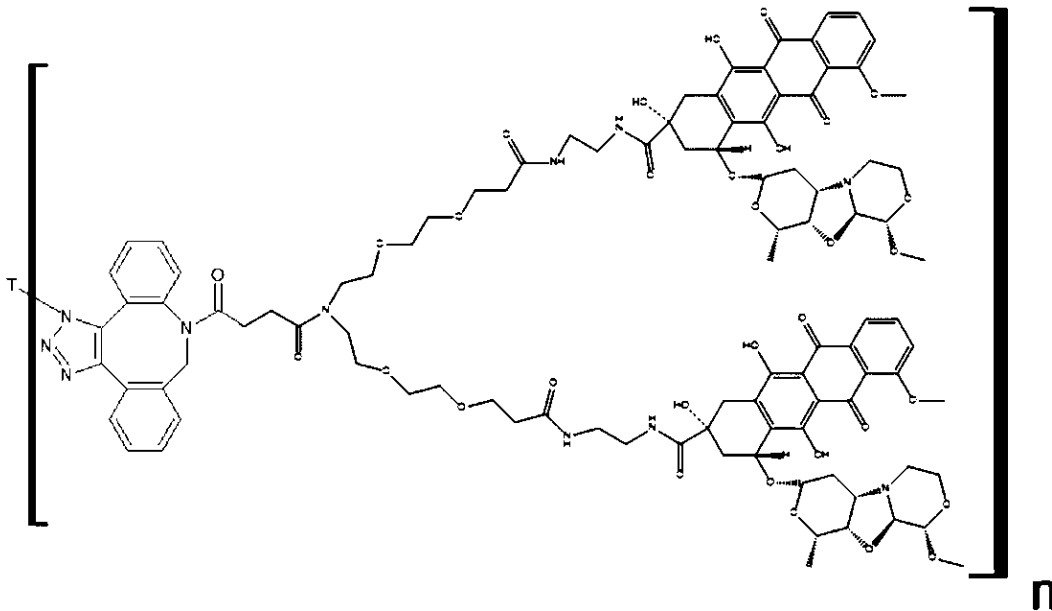
10

式TBi

【0705】

【化200】

20



30

式TBj

40

【0706】

一実施形態において、 $n$ は、1～約20、もしくは1～約15、もしくは1～約10、もしくは2～10、もしくは2～6、もしくは2～5、もしくは2～4の範囲内である；または $n$ は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、もしくは20である。

【0707】

一実施形態において、 $n$ は、3～約20、または3～約15、または3～約10、または3～約9、または3～約8、または3～約7、または3～約6、または3～5、または3～4の範囲内である。

【0708】

50

一実施形態において、 $n$ は、4～約20、または4～約15、または4～約10、または4～約9、または4～約8、または4～約7、または4～約6、または4～5の範囲内である。

## 【0709】

一実施形態において、 $n$ は、5である。

## 【0710】

一実施形態において、 $n$ は、6である。

## 【0711】

一実施形態において、 $n$ は、7である。

## 【0712】

一実施形態において、 $n$ は、8である。

## 【0713】

一実施形態において、 $n$ は、9である。

## 【0714】

一実施形態において、標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートの $n$ 、または薬物体抗体(DAR)比は、MALDI-TOF MSを使用して決定され得る。

## 【0715】

一実施形態において、標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートの $n$ 、または薬物対抗体比は、ESI-MSを使用して決定され得る。

## 【0716】

$n$ 、または薬物対抗体比を決定するための代表的な方法は、Chen J, Yin S, Wu Y, Ouyang J. Development of a native nano electrospray mass spectrometry method for determination of the drug-to-antibody ratio of antibody-drug conjugates. Anal Chem. 2013 Feb 5; 85(3): 1699-1704. doi: 10.1021/ac302959p に記載されている。

## 【0717】

当業者は、医薬組成物などの組成物が、 $n$ が異なっている異なる標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート分子の混合物を含む可能性があることを理解するであろう。例えば、医薬組成物についてのDARが7.8である場合、医薬組成物は、 $n$ が8である標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート分子を主に含み、同様に $n$ が8未満、例えば7および6である標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート分子を少量含み、可能な微量の $n$ が6未満である分子を含む可能性がある。そのため、 $n$ 、またはDARは、整数である必要はない。標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート分子に結合されるペイロード分子の(理論的)最大数が8である場合、DARは、原則として8または約8を超えるべきではないが、組成物は、 $n$ が8より大きい、例えば9であるか9より大きい微量の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート分子を含む可能性がある。DARは、例えば、標的ユニット(抗体など)における可能なコンジュゲーション部位の数、単一のコンジュゲーション部位にコンジュゲートされる可能性があるペイロード分子の数、および/または標的ユニットの可能なコンジュゲーション部位が実際にペイロード分子にコンジュゲートされる程度に依存する可能性がある。標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、架橋剤を使用して調製することができる。例えば、システイン、チオールまたはアミン、例えば、抗体のリジンなどのN-末端またはアミノ酸側鎖は、架橋剤の官能基との結合を形成することができる。

## 【0718】

適切なリンカーは、当業者に既知である標準法により調製することができる。例えば、リンカーの中央のアミノ酸およびペプチド基は、標準ペプチド化学および自動化ペプチド化学により調製することができ、合成ペプチドの市販メーカーに発注することができ、糖類、硫酸、リン酸、ホスホジエステルおよびホスホネート基 $Y$ は、市販の保護ビルディン

10

20

30

40

50

グブロックからの合成の間またはその後で、アミノ酸およびペプチド基に付加することができる。さらに、自壊性基Zは、アミノ酸およびペプチド基にアミド結合を形成する標準化学により、アミノ酸およびペプチド基に付加することができる。

【0719】

標的ユニット - ペイロードコンジュゲートを調製するための一般的方法、すなわちペイロードD、リンカーおよび標的ユニットTの付加は、当業者に既知であり、例えば、米国特許第5635483号明細書；米国特許第5780588号明細書；Pettit et al. (1989) J. Am. Chem. Soc. 111: 5463 - 5465；国際公開第WO/2005/081711号；Pettit et al. (1998) Anti-Cancer Drug Design 13: 243 - 277；Pettit et al. (1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 5: 859 - 863；Doronina et al. (2003) Nat. Biotech. 21: 778 - 784およびDoronina et al. (2006) Biocojugate Chem. 17: 114 - 124、国際公開第WO/2016/001485号、国際公開第WO/2014/096551号、国際公開第WO/2014/177771号および国際公開第WO/2018/234636号に記載されている。

10

【0720】

標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートおよびリンカー - ペイロードコンジュゲートは、当技術分野で既知の種々のアッセイによりそれらの物理的/化学的特性および/または生理活性について特徴づけることができ、選択することができる。

20

【0721】

例えば、コンジュゲートは、その抗原結合活性についてELISA、FACS、Biacoreまたはウェスタンブロットなどの既知の方法によりテストすることができる。

【0722】

トランスジェニック動物および細胞株は、腫瘍関連抗原および細胞表面受容体の癌の予防的または治療的処置として見込みがあるコンジュゲートをスクリーニングするのに特に有用である。有用なコンジュゲートのスクリーニングは、候補コンジュゲートをトランスジェニック動物に一定の範囲の用量にわたって投与すること、および疾患または障害に対するコンジュゲートの効果について評価される種々の時点でアッセイすることを含む可能性がある。代わりに、またはさらに、該当する場合、疾患の誘導物質に対して曝露する前または曝露と同時に薬物を投与することができる。候補コンジュゲートは、連続的および個々に、または並行して、中または高スループットスクリーニング形式で、スクリーニングされる可能性がある。

30

【0723】

1つまたは複数の実施形態によるリンカー - ペイロードを標的ユニットにコンジュゲートすることを含む、1つまたは複数の実施形態による標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートを調製するための方法が開示される。リンカー - ペイロードは、本明細書に記載の1つまたは複数の実施形態によるリンカーなどのリンカーを介して標的ユニットにコンジュゲートされる可能性がある。

【0724】

ペイロード分子を標的ユニット、例えば抗体にコンジュゲートする多くの方法は既知であり、原則として、ペイロードを標的ユニットにコンジュゲートするのに適している方法であれば使用することが可能である。1つまたは複数の実施形態によるリンカー - ペイロードは、抗体などの標的ユニットに直接的または間接的にコンジュゲートされる可能性がある。一実施形態において、1つまたは複数の実施形態による、マレイミドを含むリンカー - ペイロードは、ヒンジ領域システインを還元剤で還元し、還元抗体をリンカー - ペイロードと接触させてチオエーテル結合を形成することにより抗体にコンジュゲートされる。

40

【0725】

これに関連して、抗体は、原則として任意の抗体、特に本明細書に記載の任意の抗体で

50

あり得る。

【0726】

これに関連して、ペイロード分子は、原則として任意のペイロード分子、特に本明細書に記載の任意のペイロード分子であり得る。

【0727】

一実施形態において、抗体は、抗EGFR抗体、上皮成長因子受容体2 (HER2/neu) 抗体、抗CD22抗体、抗CD30抗体、抗CD33抗体、抗CD20抗体、抗TYRP-1抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、抗TIM-3抗体、抗MUC1抗体、および抗CA6抗体からなる群より選択される。

【0728】

1つもしくは複数の実施形態によるリンカー-ペイロードコンジュゲートまたは1つもしくは複数の実施形態による標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートを含む医薬組成物が開示される。標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、本明細書に記載の1つまたは複数の実施形態による方法により得ることが可能であり得る。

【0729】

医薬組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む可能性がある。適切な薬学的に許容される担体の例は、当技術分野で既知であり、例えば、リン酸緩衝生理食塩水溶液、水、油/水エマルジョン、湿潤剤、およびリポソームを含む可能性がある。そのような担体を含む組成物は、当技術分野で周知の方法により製剤化される可能性がある。医薬組成物は、ビヒクル、添加物、保存料、同時に投与される他の医薬組成物などの他の成分をさらに含む可能性がある。

【0730】

一実施形態において、医薬組成物は、有効量の、1つまたは複数の実施形態によるリンカー-ペイロードコンジュゲートを含む。

【0731】

一実施形態において、医薬組成物は、有効量の、1つまたは複数の実施形態による標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートを含む。

【0732】

一実施形態において、医薬組成物は、治療的有效量の、1つまたは複数の実施形態によるリンカー-ペイロードコンジュゲートを含む。

【0733】

一実施形態において、医薬組成物は、治療的有效量の、1つまたは複数の実施形態による標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートを含む。

【0734】

用語「治療的有效量」または「有効量」の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、癌細胞の増殖を調節するおよび/または患者の疾患を治療するための投与計画を指すと理解されるべきである。治療的有效量はまた、the Physicians Desk Reference 2004などの標準的な医療テキストを参照して決定することもできる。患者は、男性または女性である可能性があり、幼児、小児または成人である可能性がある。

【0735】

用語「処置」または「処置する」は、従来の意味で使用され、病気または健康異常と闘い、それらを軽減する、減弱するまたは緩和すること、ならびに例えば癌疾患を有するなど、この病気により損なわれた生活環境を改善することを目的として、患者に付き添い、ケアし、看護することを意味する。

【0736】

一実施形態において、医薬組成物は、例えば、経口、非経口、経皮、腔内、動脈内、髄腔内および/または鼻腔内の投与用、または組織への直接注射用の組成物を含む。医薬組成物の投与は、異なる方法、例えば、静脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、腫瘍内、局所または皮内の投与によりもたらされる可能性がある。

10

20

30

40

50

## 【0737】

医薬組成物は、薬物対抗体比が 1、または 1 ~ 約 20、もしくは 1 ~ 約 15、もしくは 1 ~ 約 10、もしくは 2 ~ 10、もしくは 2 ~ 6、もしくは 2 ~ 5、もしくは 2 ~ 4 の範囲内；または約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、約 13、約 14、約 15、約 16、約 17、約 18、約 19、もしくは約 20；または約 1 ~ 約 8、もしくは約 6 ~ 約 8 であり得る。

## 【0738】

一実施形態において、医薬組成物は、薬物対抗体比が約 1 ~ 約 8、または 2 ~ 9、または 3 ~ 9、または 4 ~ 9、または 5 ~ 8.5、または 6 ~ 8.5、または 7 ~ 8.5、または 7.5 ~ 8.5、または 7 ~ 8、または 7.5 ~ 8 の範囲内、または約 8 である。

10

## 【0739】

一実施形態において、医薬組成物は、平均薬物対抗体比が 6 ~ 9、もしくは 7 ~ 8.5、もしくは 7 ~ 8、もしくは 7.5 ~ 8.5、もしくは 7.5 ~ 8 の間、または約 8 である。

## 【0740】

一実施形態において、医薬組成物は、薬物対抗体比が 0 ~ 約 8、もしくは 1 ~ 7、もしくは 2 ~ 6、もしくは 3 ~ 5、もしくは 3.5 ~ 4.5 の範囲内、または約 4 である。

## 【0741】

一実施形態において、医薬組成物は、平均薬物対抗体比が 3 ~ 5、もしくは 3.5 ~ 4.5 の間、または約 4 である。

20

## 【0742】

一実施形態において、医薬組成物は、薬物対抗体比が 0 ~ 約 4、もしくは 1 ~ 3、もしくは 1.5 ~ 2.5 の範囲内、または約 2 である。

## 【0743】

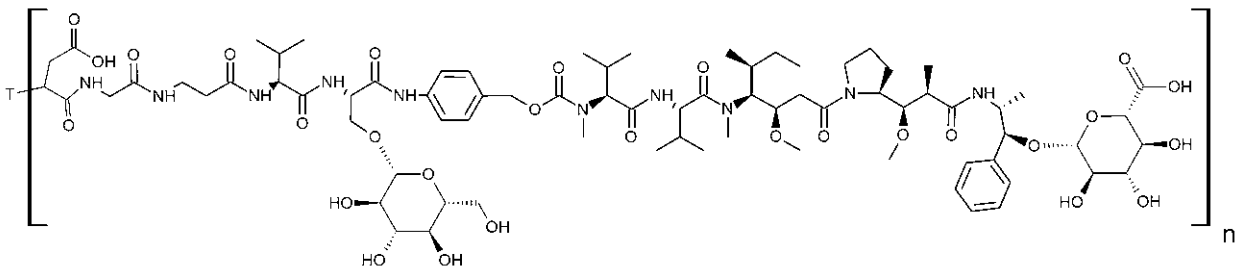
一実施形態において、医薬組成物は、平均薬物対抗体比が 1 ~ 3、もしくは 1.5 ~ 2.5 の間、または約 2 である。

## 【0744】

一実施形態において、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、以下の式

## 【0745】

## 【化201】



30

## 【0746】

により表される標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートである。上記式の状況において、n は、本明細書に記載の任意の値または値の範囲であり得る。そのような医薬組成物において、薬物対抗体比は、約 3 ~ 5、約 3.5 ~ 4.5、約 4、約 7.5 ~ 8.3、または約 7.8 ~ 8.1 の範囲内であり得る。標的ユニットは、本明細書に記載の抗体などの任意の標的ユニットであり得る。

40

## 【0747】

ヒトまたは動物における腫瘍細胞の増殖を処置および/または調節する方法が開示され、1つもしくは複数の実施形態によるリンカー - ペイロードコンジュゲート、1つもしくは複数の実施形態による標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは1つもしくは複数の実施形態による医薬組成物は、ヒトまたは動物に有効量で投与される。

50



## 【0748】

薬品としての使用のための1つもしくは複数の実施形態による標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートまたは1つもしくは複数の実施形態による医薬組成物が開示される。

## 【0749】

薬品としての使用のための1つまたは複数の実施形態によるリンカー-ペイロードコンジュゲートが開示される。

## 【0750】

癌の処置における使用のための1つもしくは複数の実施形態による標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートまたは1つもしくは複数の実施形態による医薬組成物が開示される。

10

## 【0751】

癌の処置における使用のための1つまたは複数の実施形態によるリンカー-ペイロードコンジュゲートが開示される。

## 【0752】

1つもしくは複数の実施形態による標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートまたは1つもしくは複数の実施形態による医薬組成物は、抗癌剤との組み合わせにおいて特に有用であり得る。したがって、本開示は、同時、別個または連続の投与のための抗癌剤との組み合わせにおける式II、式IIs、式IIG、式IIGs、式IIGX、式IIGXs、式IV、式IVs、式TMa~式TMz、または式TMs a~式TMs zの標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲート、またはそれらの医薬組成物の組み合わせを提供する。式II、式IIs、式IIG、式IIGs、式IIGX、式IIGXs、式IV、式IVs、式TMa~式TMz、または式TMs a~式TMs zの標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートおよび抗癌剤は、相加的または相乗的に作用することができる。式II、式IIs、式IIG、式IIGs、式IIGX、式IIGXs、式IV、式IVs、式TMa~式TMz、または式TMs a~式TMs zの標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートおよび抗癌剤の相乗的組み合わせは、これらの薬剤の一方または両方のより低い投与量および/または式II、式IIs、式IIG、式IIGs、式IIGX、式IIGXs、式IV、式IVs、式TMa~式TMz、または式TMs a~式TMs zの標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートおよび抗癌剤の一方または両方のより少ない投与頻度の使用を可能にする場合がある、ならびに/または低頻度で抗癌剤を投与することで癌の処置における薬剤の有効性を低下させることなく患者への薬剤投与に伴うあらゆる毒性を軽減することができる。さらに、相乗効果により、癌の処置におけるこれらの薬剤の有効性の改善、および/または薬剤の使用に伴う有害もしくは不要の副作用の軽減となる場合がある。

20

30

## 【0753】

抗癌剤は、当技術分野で周知の治療プロトコルにしたがって投与することができる。抗癌剤の投与が、処置される疾患およびその疾患に対する抗癌剤の既知の効果に応じて変更することができることは、当業者に明らかであろう。また、熟練した臨床医の知識によれば、治療プロトコル(例えば、投与量および投与の回数)は、患者に対して投与された抗癌剤の観察された効果を考慮して、また薬剤に対する疾患の観察された反応、および観察された副作用を考慮して変更することができる。

40

## 【0754】

一実施形態において、式II、式IIs、式IIG、式IIGs、式IIGX、式IIGXs、式IV、式IVs、式TMa~式TMz、または式TMs a~式TMs zの標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、1つまたは複数の抗癌剤と組み合わせて投与される可能性がある。

## 【0755】

一実施形態において、標的ユニットは、抗体である。

## 【0756】

50

一実施形態において、標的ユニットが抗体である式 I I、式 I I s、式 I I G、式 I I G s、式 I I G X、式 I I G X s、式 I V、式 I V s、式 T M a ~ 式 T M z、または式 T M s a ~ 式 T M s z の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 5、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 5 2、C D 5 6、C D 7 0、C D 7 4、C D 7 9、C D 9 8、C D 1 1 7、C D 1 0 5、C D 1 2 3、C D 1 3 8、C D 1 5 7、B C M A および C D 3 1 9 ( S L A M F 7 ) からなる群より選択される抗血液標的分子を結合することができる。

【 0 7 5 7 】

一実施形態において、標的ユニットが抗体である式 I I、式 I I s、式 I I G、式 I I G s、式 I I G X、式 I I G X s、式 I V、式 I V s、式 T M a ~ 式 T M z、または式 T M s a ~ 式 T M s z の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、C D 1 9、C D 2 2、C D 3 3、C D 5 2 および C D 1 2 3 からなる群より選択される標的分子を結合することができる。

10

【 0 7 5 8 】

一実施形態において、式 I I、式 I I s、式 I I G、式 I I G s、式 I I G X、式 I I G X s、式 I V、式 I V s、式 T M a ~ 式 T M z、または式 T M s a ~ 式 T M s z の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、標的ユニットが抗体であり、抗体は、ロンカスツキシマブ、ブリナツモマブ、タファシタマブ、コルツキシマブ、デニンツズマブ、オベキセリマブ、イネピリズマブ、M O R 0 0 2 0 8、M D X - 1 3 4 2、M E D I - 5 5 1、S A R 3 4 1 9、リツキシマブ、オフアツムマブ、ベルツズマブ、オクレリズマブ、オビヌツズマブ、オカラツズマブ、ウブリツキシマブ、ノフェツモマブ、イブリツモマブ、エブラツズマブ、イノツズマブオゾガマイシン、ベクツモマブ、モキセツモマブ、ピナツズマブ、D C D T 2 9 8 0 S、バシリキシマブ、ダクリズマブ、カミダナルマブ、イノリモマブ、A D C T - 3 0 1、I M T O X - 2 5、ブレンツキシマブ、イラツムマブ、A V E 9 6 3 3、リンツズマブ、ゲムツズマブ、バダスツキシマブ、オトレルツマブ ( o t l e r t u z u m a b )、リロトマブ、ナラツキシマブ、B I 8 3 6 8 2 6、A G S 6 7 E、I M G N 5 2 9、ダラツムマブ、イサツキシマブ、メザジタマブ、フェルザルタマブ、M O R 2 0 2、M O R 0 3 0 8 7、アレムツズマブ、ロルボツズマブメルタンシン、ボルセツズマブマホドチン、S G N - 7 0 A、ポラツズマブ、インダツキシマブ、M D X - 1 2 0 3、ミラツズマブ - ドキソルピシン、I G N 5 2 3、L O P - 6 2 8、C S L 3 6 0、タラコツズマブ、X m A b 1 4 0 4 5、K H K 2 8 2 3、B T 0 6 2、ベランタマブマホドチン、テクリスタマブおよびエロツズマブからなる群より選択される抗血液学的標的抗体である。

20

30

【 0 7 5 9 】

標的ユニットが抗体である式 I I、式 I I s、式 I I G、式 I I G s、式 I I G X、式 I I G X s、式 I V、式 I V s、式 T M a ~ 式 T M z、または式 T M s a ~ 式 T M s z の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートの一実施形態において、抗体は、エブラツズマブ、リンツズマブ、コルツキシマブ、デニンツズマブ、ロンカスツキシマブ、アレムツズマブおよびタラコツズマブからなる群より選択される。

【 0 7 6 0 】

標的ユニットは、C D 1 9、C D 2 2、C D 3 3、C D 5 2 および C D 1 2 3 からなる群より選択される標的分子を結合することができる抗体であり得、標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは医薬組成物は、F L T 3 阻害剤、I D H 1 阻害剤、I D H 2 阻害剤、B C L 2 阻害剤、K R A S 阻害剤、N R A S 阻害剤または M E K 1 / 2 阻害剤と組み合わせて投与される。

40

【 0 7 6 1 】

F L T 3 阻害剤は、ミドスタウリン、ギルテリチニブフマル酸塩、キザルチニブ、クレノラニブ、スニチニブ、ポナチニブおよびソラフェニブからなる群より選択され得る。M E K 1 / 2 阻害剤は、トラメチニブ、コビメチニブ、セルメチニブまたはピニメチニブであり得る。I D H 1 / I D H 2 阻害剤は、エナシデニブまたはイボシデニブであり得る。

50

B C L 2 阻害剤は、ベネトクラクス、ナビトクラックスまたはオバトクラックスであり得る。K R A S 阻害剤は、ソトラシブまたはアダグラシブであり得る。

【 0 7 6 2 】

癌の処置は、アカラブルチニブ、三酸化ニヒ素、アシミニブ塩酸塩、アキシカブタゲンシロルユーセル、アザシチジン、ベリノスタット、ベンダムスチン塩酸塩、プレオマイシン硫酸塩、ボルテゾミブ、ボスチニブ、プレクスカブタジェンアウトルーセル、ブスルファン、カルムスチン、クロラムブシル、クラドリピン、クロファラビン、コパンリシブ塩酸塩、クリゾチニブ、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダサチニブ、ダウノルピシン塩酸塩、デニロイキンジフチトクス、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、デュベリシブ、エナシデニブメシル酸塩、リン酸フルダラビン、ギルテリチニブフマル酸塩、グラスデギブマレイン酸塩、ヒドロキシ尿素、イブルチニブ、イダルピシン塩酸塩、イデラリシブ、イマチニブメシル酸塩、イボシデニブ、レナリドミド、リソカブタゲンマラルユーセル、ロムスチン、メルカプトプリン、メトトレキサートナトリウム、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、ネララビン、ニロチニブ、ニボルマブ、オマセタキシンメベスクシナート、プレリキサフォル、ポナチニブ塩酸塩、プララトレキサート、プレドニゾン、プロカルバジン塩酸塩、組換えインターフェロンアルファ - 2 b、リツキシマブ、ロミデプシン、セリネクソル、タファシタマブ - c x i x、タグラクソフスプ - e r z s、タゼメトスタット臭化水素酸塩、チオグアニン、チサゲンレクルユーセル、ウムブラリシブトシル酸塩、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックス、ピン

10

20

【 0 7 6 3 】

標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートまたは医薬組成物は、三酸化ニヒ素、アザシチジン、ダウノルピシン塩酸塩、シクロホスファミド、シタラビン、グラスデギブマレイン酸塩、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、ミドスタウリン、ギルテリチニブフマル酸塩、キザルチニブ、クレノラニブ、スニチニブ、ポナチニブ、ソラフェニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、ソトラシブ、アダグラシブ、エトポシド塩酸塩、ゲムツズマブオゾガマイシン、イダルピシン塩酸塩、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、プレドニゾン、チオグアニン、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックスまたはピンクリスチン硫酸塩と組み合わせて投与される可能性がある。

30

【 0 7 6 4 】

一実施形態において、癌は、白血病、リンパ腫、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、結腸直腸癌、胃癌、扁平上皮癌、小細胞肺癌、頭頸部癌、多剤耐性癌、グリオーマ、メラノーマおよび精巣癌からなる群より選択される。

【 0 7 6 5 】

一実施形態において、腫瘍細胞は、白血病細胞、リンパ腫細胞、乳癌細胞、前立腺癌細胞、卵巣癌細胞、結腸直腸癌細胞、胃癌細胞、扁平上皮癌細胞、小細胞肺癌細胞、頭頸部癌細胞、多剤耐性癌細胞、および精巣癌細胞からなる群より選択される。

【 0 7 6 6 】

一実施形態において、抗癌剤は、アカラブルチニブ、三酸化ニヒ素、アシミニブ塩酸塩、アキシカブタゲンシロルユーセル、アザシチジン、ベリノスタット、ベンダムスチン塩酸塩、プレオマイシン硫酸塩、ボルテゾミブ、ボスチニブ、プレクスカブタジェンアウトルーセル、ブスルファン、カルムスチン、クロラムブシル、クラドリピン、クロファラビン、コパンリシブ塩酸塩、クリゾチニブ、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダサチニブ、ダウノルピシン塩酸塩、デニロイキンジフチトクス、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、デュベリシブ、エナシデニブメシル酸塩、リン酸フルダラビン、ギルテリチニブフマル酸塩、グラスデギブマレイン酸塩、ヒドロキシ尿素、イブルチニブ、イダルピシン塩酸塩、イデラリシブ、イマチニブメシル酸塩、イボシデニブ、レナリドミド、リソカブタゲンマラルユーセル、ロムスチン、メルカプトプリン、メトトレキサート

40

50

トナトリウム、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、ネララビン、ニロチニブ、ニボルマブ、オマセタキシメベスクシナート、プレリキサフォル、ポナチニブ塩酸塩、プララトレキサート、プレドニゾン、プロカルバジン塩酸塩、組換えインターフェロナルファ-2b、リツキシマブ、ロミデプシン、セリネクソル、タファシタマブ-cxiix、タグラクソフスブ-erzs、タゼメトスタット臭化水素酸塩、チオグアニン、チサゲンレクルユーセル、ウムブラリシプトシル酸塩、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックス、ピンブラスチン硫酸塩、ポリノスタット、ザヌブルチニブ、ギルテリチニブ、キザルチニブ、クレノラニブおよびソラフェニブからなる群より選択される。

【0767】

一実施形態において、標的ユニットが、CD19、CD20、CD22、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79、CD98、CD117、CD105、CD123、CD138、CD157、BCMAおよびCD319(SLAMF7)からなる群より選択される抗血液標的分子を結合することができる抗体である、式II、式IIs、式IIG、式IIGs、式IIGX、式IIGXs、式IV、式IVs、式TMa~式TMz、または式TMs a~式TMs zの標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、アカラブルチニブ、三酸化ニヒ素、アシミニブ塩酸塩、アキシカブタゲンシロルユーセル、アザシチジン、ベリノスタット、ベンダムスチン塩酸塩、プレオマイシン硫酸塩、ボルテゾミブ、ボスチニブ、プレクスカブタジェンアウトルーセル、ブスルファン、カルムスチン、クロラムブシル、クラドリピン、クロファラビン、コパンリシブ塩酸塩、クリゾチニブ、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダサチニブ、ダウノルピシン塩酸塩、デニロイキンジフチトクス、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、デュベリシブ、エナシデニブメシル酸塩、リン酸フルダラビン、ギルテリチニブフマル酸塩、グラスデギブマレイン酸塩、ヒドロキシ尿素、イブルチニブ、イダルピシン塩酸塩、イデラリシブ、イマチニブメシル酸塩、イボシデニブ、レナリドミド、リソカブタゲンマラルユーセル、ロムスチン、メルカプトプリン、メトトレキサートナトリウム、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、ネララビン、ニロチニブ、ニボルマブ、オマセタキシメベスクシナート、プレリキサフォル、ポナチニブ塩酸塩、プララトレキサート、プレドニゾン、プロカルバジン塩酸塩、組換えインターフェロナルファ-2b、リツキシマブ、ロミデプシン、セリネクソル、タファシタマブ-cxiix、タグラクソフスブ-erzs、タゼメトスタット臭化水素酸塩、チオグアニン、チサゲンレクルユーセル、ウムブラリシプトシル酸塩、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックス、ピンブラスチン硫酸塩、ポリノスタット、ザヌブルチニブ、ギルテリチニブ、キザルチニブ、クレノラニブおよびソラフェニブからなる群より選択される抗癌剤と組み合わせて投与される。

【0768】

一実施形態において、標的ユニットがCD19、CD22、CD33、CD52およびCD123からなる群より選択される標的分子を結合することができる抗体である、式II、式IIs、式IIG、式IIGs、式IIGX、式IIGXs、式IV、式IVs、式TMa~式TMz、または式TMs a~式TMs zの標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、アカラブルチニブ、三酸化ニヒ素、アシミニブ塩酸塩、アキシカブタゲンシロルユーセル、アザシチジン、ベリノスタット、ベンダムスチン塩酸塩、プレオマイシン硫酸塩、ボルテゾミブ、ボスチニブ、プレクスカブタジェンアウトルーセル、ブスルファン、カルムスチン、クロラムブシル、クラドリピン、クロファラビン、コパンリシブ塩酸塩、クリゾチニブ、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダサチニブ、ダウノルピシン塩酸塩、デニロイキンジフチトクス、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、デュベリシブ、エナシデニブメシル酸塩、リン酸フルダラビン、ギルテリチニブフマル酸塩、グラスデギブマレイン酸塩、ヒドロキシ尿素、イブルチニブ、イダルピシン塩酸塩、イデラリシブ、イマチニブメシル酸塩、イボシデニブ、レナリドミド、リソカブタゲンマラルユーセル、ロムスチン、メルカプトプリン、メトトレキサートナトリウム、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、ネララビン、ニロチニブ、ニボルマブ、

オマセタキシメペスクシナート、プレリキサフォル、ポナチニブ塩酸塩、プララトレキサート、プレドニゾン、プロカルバジン塩酸塩、組換えインターフェロナルファ - 2 b、リツキシマブ、ロミデプシン、セリネクソル、タファシタマブ - c x i x、タグラクソフスブ - e r z s、タゼメトスタット臭化水素酸塩、チオグアニン、チサゲンレクルユーセル、ウムブラリシプトシル酸塩、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックス、ピンプラスチン硫酸塩、ポリノスタット、ザヌブルチニブ、ギルテリチニブ、キザルチニブ、クレノラニブおよびソラフェニブからなる群より選択される抗癌剤と組み合わせて投与される。

【0769】

一実施形態において、標的ユニットがCD19、CD22、CD33、CD52およびCD123からなる群より選択される標的分子を結合することができる抗体である、式II、式II s、式IIG、式IIG s、式IIG X、式IIG X s、式IV、式IV s、式TM a ~ 式TM z、または式TM s a ~ 式TM s zの標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、FLT3阻害剤、IDH1阻害剤、IDH2阻害剤、KRAS阻害剤、NRAS阻害剤またはMEK1/2阻害剤と組み合わせて投与される。

10

【0770】

一実施形態において、標的ユニットがCD33を結合することができる抗体である、式II、式II s、式IIG、式IIG s、式IIG X、式IIG X s、式IV、式IV s、式TM a ~ 式TM z、または式TM s a ~ 式TM s zの標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、FLT3阻害剤、IDH1阻害剤、IDH2阻害剤、BCL2阻害剤、KRAS阻害剤、NRAS阻害剤またはMEK1/2阻害剤と組み合わせて投与される。

20

【0771】

一実施形態において、標的ユニットがリンツズマブである、式II、式II s、式IIG、式IIG s、式IIG X、式IIG X s、式IV、式IV s、式TM a ~ 式TM z、または式TM s a ~ 式TM s zの標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、FLT3阻害剤、IDH1阻害剤、IDH2阻害剤、BCL2阻害剤、KRAS阻害剤、NRAS阻害剤またはMEK1/2阻害剤と組み合わせて投与される。

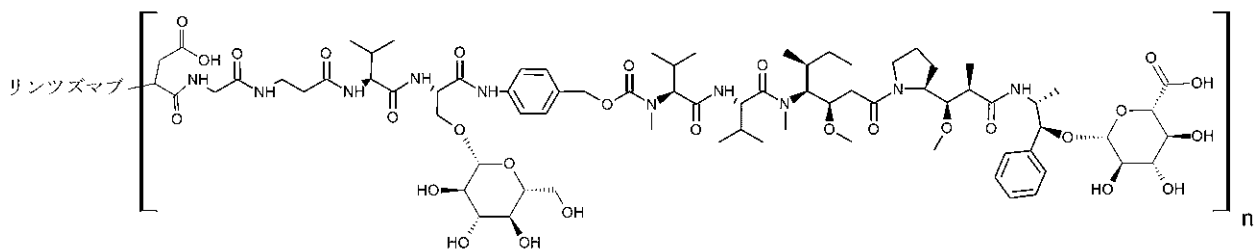
【0772】

一実施形態において、式LNAuM

30

【0773】

【化202】



式LNAuM

40

【0774】

(式中、nは、8である)の標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、FLT3阻害剤、IDH1阻害剤、IDH2阻害剤、BCL2阻害剤、KRAS阻害剤、NRAS阻害剤またはMEK1/2阻害剤と組み合わせて投与される。

【0775】

一実施形態において、FLT3阻害剤は、ミドスタウリン、ギルテリチニブフマル酸塩、キザルチニブ、クレノラニブ、スニチニブ、ポナチニブおよびソラフェニブからなる群より選択される。

【0776】

50

一実施形態において、MEK1/2阻害剤は、トラメチニブ、コピメチニブ、セルメチニブまたはビメチニブである。

【0777】

一実施形態において、IDH1/IDH2阻害剤は、エナシデニブまたはイボシデニブである。

【0778】

一実施形態において、BCL2阻害剤は、ベネトクラクス、ナビトクラックスまたはオバトクラックスである。

【0779】

一実施形態において、KRAS阻害剤は、ソトラシブまたはアダグラシブである。

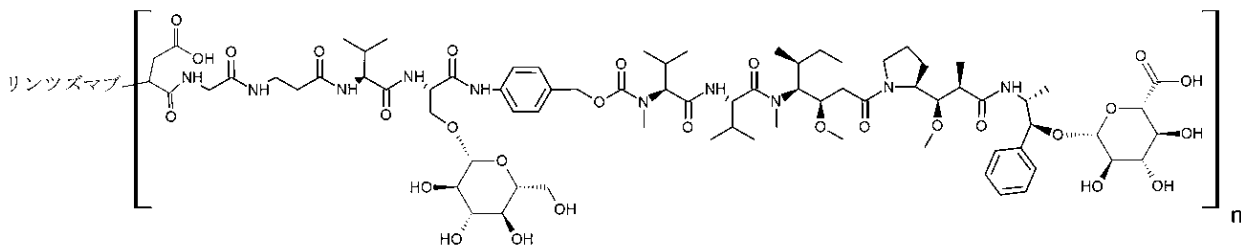
10

【0780】

一実施形態において、式LNAuM

【0781】

【化203】



20

式LNAuM

【0782】

(式中、nは、8である)の標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートは、三酸化ニヒ素、アザシチジン、ダウノルピシン塩酸塩、シクロホスファミド、シタラビン、グラスデギブマレイン酸塩、デキサメタゾン、ドキシソルピシン塩酸塩、ミドスタウリン、ギルテリチニブフマル酸塩、キザルチニブ、クレノラニブ、スニチニブ、ポナチニブ、ソラフェニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、ソトラシブ、アダグラシブ、エトポシド塩酸塩、ゲムツズマブオゾガマイシン、イダルピシン塩酸塩、ミドスタウリン、ミトキサントロン塩酸塩、プレドニゾン、チオグアニン、ベネトクラクス、ナビトクラックス、オバトクラックスまたはピンクリスチン硫酸塩と組み合わせて投与される。

30

【0783】

ヒトにおける癌を処置する方法が開示され、1つもしくは複数の実施形態によるリンカー-ペイロードコンジュゲート、1つもしくは複数の実施形態による標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートまたは1つもしくは複数の実施形態による医薬組成物は、有効量でヒトに投与される。

【0784】

一実施形態において、有効量は、治療的有效量である。

40

【0785】

一実施形態において、1つもしくは複数の実施形態によるリンカー-ペイロードコンジュゲート、1つもしくは複数の実施形態による標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートまたは1つもしくは複数の実施形態による医薬組成物は、治療的有效量でヒトに静脈内投与される。

【0786】

一実施形態において、1つもしくは複数の実施形態によるリンカー-ペイロードコンジュゲート、1つもしくは複数の実施形態による標的ユニット-リンカー-ペイロードコンジュゲートまたは1つもしくは複数の実施形態による医薬組成物は、治療的有效量でヒトに腫瘍内投与される。

50

## 【0787】

一実施形態において、癌は、頭頸部癌、白血病、リンパ腫、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、結腸直腸癌、胃癌、扁平上皮癌、小細胞肺癌、多剤耐性癌および精巣癌からなる群より選択される。

## 【0788】

本明細書の上文に記載の本発明の実施形態は、互いとの任意の組み合わせで使用され得る。いくつかの実施形態は、一緒に組み合わせられて、本発明のさらなる実施形態を形成する可能性がある。本発明が関連する生成物または方法は、本明細書の上文に記載の少なくとも1つの本発明の実施形態を含む可能性がある。

## 【0789】

1つまたは複数の実施形態によるリンカー - ペイロードコンジュゲートおよび1つまたは複数の実施形態による標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、多くの有益な特性を有する可能性がある。

## 【0790】

開裂可能な親水性基の存在は、そうでなければ比較的水溶性が低いリンカーを水溶液および生理学的溶液により溶けやすくする。改善された溶解性はまた、血清中での標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートの保持を改善する。それはまた、標的となる細胞への取り込みが高く、標的ではない細胞および臓器への取り込みが低い可能性がある。

## 【0791】

1つまたは複数の実施形態による標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、リソソーム酵素および細胞内酵素の活性がないか低い場合、毒性が低い。癌細胞が、通常、リソソーム酵素および/または細胞内酵素の高い活性を提示するので、毒性ペイロード部分は、非癌細胞と比較して癌細胞で優先的に放出される。

## 【0792】

コンジュゲートは、抗原性が低い。

## 【0793】

1つまたは複数の実施形態による標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートはまた、良好な薬物動態を示す。それは、血中滞留が適切であり、標的となる細胞への取り込みが高く、標的ではない細胞および臓器への取り込みが低い。

## 【0794】

1つまたは複数の実施形態による標的ユニット - リンカー - ペイロードコンジュゲートは、製造中または生理学的条件、例えば、血液、血清、血漿もしくは組織中で、化学的または生化学的分解に対して十分に安定である。

## 【0795】

## 実施例

以下において、本発明は、より詳細に説明されるであろう。ここで、添付の図面にその例が例証されている実施形態について詳細に参照する。以下の説明は、当業者が本開示に基づいて本発明を利用することができるように詳細にいくらかの実施形態を開示する。多くのステップが本明細書に基づいて当業者には明らかであるので、実施形態のすべてのステップを詳細に考察するわけではない。

## 【0796】

## 実施例1 . MMAUリンカー - ペイロードの合成

MMAUおよびMMAUリンカー - ペイロード合成のためのプロトコルは、国際公開第WO2016001485号、57~60ページおよび実施例1~2に与えられている。Fmoc - Val - Ser (GlcOAc<sub>4</sub>) - PAB - pNP、Val - Ser (Glc) - PAB - MMAUおよびMMAUリンカー - ペイロード合成のためのプロトコルは、国際公開第WO2018234636号、実施例1~2および実施例36に与えられている。マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAUは、スキーム1-1にしたがって調製された。

10

20

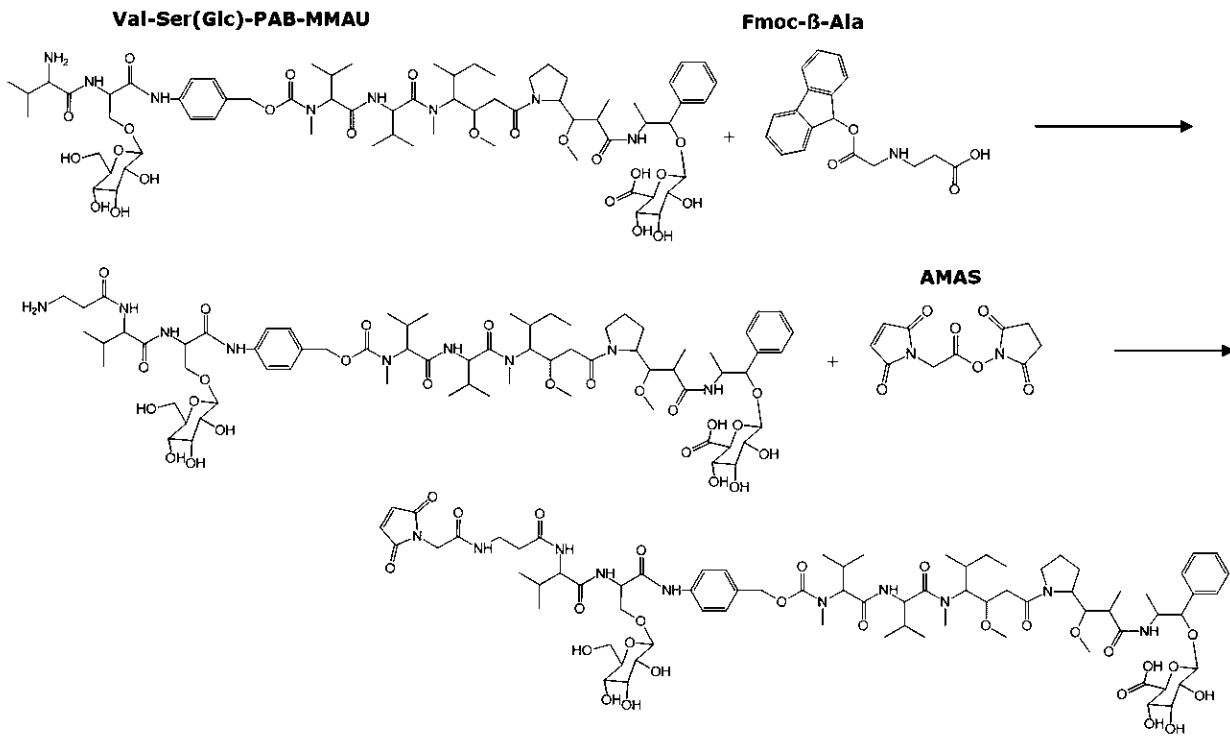
30

40

50

【 0 7 9 7 】

【 化 2 0 4 】



スキーム 1 - 1 . マレイミドアセチル - - Ala - Val - Ser ( Glc ) - PAB - MMAU ( AuM ペイロード - リンカー ) の合成。

【 0 7 9 8 】

ジメチルホルムアミド ( DMF ; 475 μl ) 中の 9 . 8 mg ( 6 . 5 μmol ) の Val - Ser ( Glc ) - PAB - MMAU および Fmoc - - Ala - OH ( 3 . 4 × モル過剰 ) 、 1 . 9 × モル過剰の Fmoc - Val - Ser ( Glc OAc<sub>4</sub> ) - PABC - パラニトロフェニル、 2 . 9 × モル過剰の HBTU および 60 μl のジイソプロピルエチルアミン ( DIPEA ) を 1 時間室温で反応させた。 Fmoc 保護基を DMF / DEA で除去した後、 C18 逆層カラムを用いる HPLC により生成物を精製した。 AMAS ( マレイミドアセチル N - ヒドロキシスクシンイミドエステル、 4 × モル過剰 ) を 200 μl の DMF および 8 μl の DIPEA と一緒に添加し、混合物を 4 時間室温でインキュベートした。調製は成功し、 HPLC 精製生成物を、 Bruker UltraFlex III TOF / TOF 機器を使用するマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型 ( MALDI - TOF ) 質量分析で分析し、 [ M + Na ]<sup>+</sup> イオンについて m / z 1621 . 752、 [ M - H + 2 Na ]<sup>+</sup> について m / z 1643 . 770 で、予測された質量を示し ( 図 1 ) 、標記化合物の調製に成功したことを示した。

30

【 0 7 9 9 】

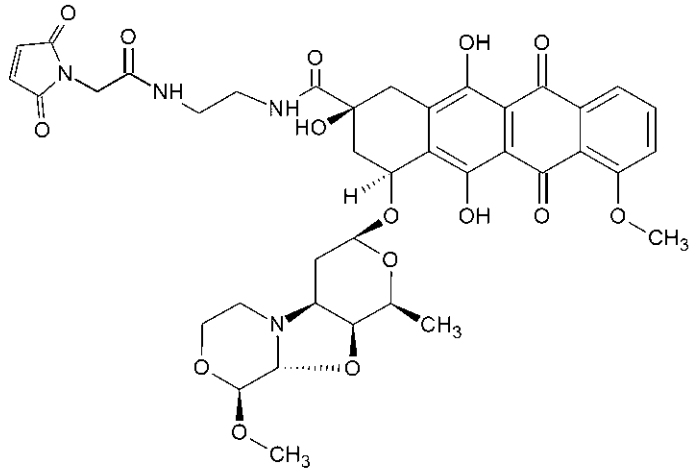
実施例 2 . マレイミドアセチル - リンカー - 薬物コンジュゲートの調製。

【 0 8 0 0 】

40



## 【化205】

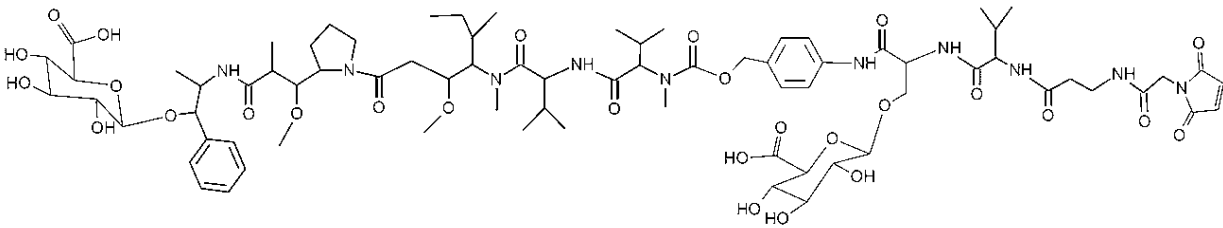


10

スキーム2-1. マレイミドアセチル - EDA - PNU (PeMaペイロード - リンカー)。

## 【0801】

## 【化206】

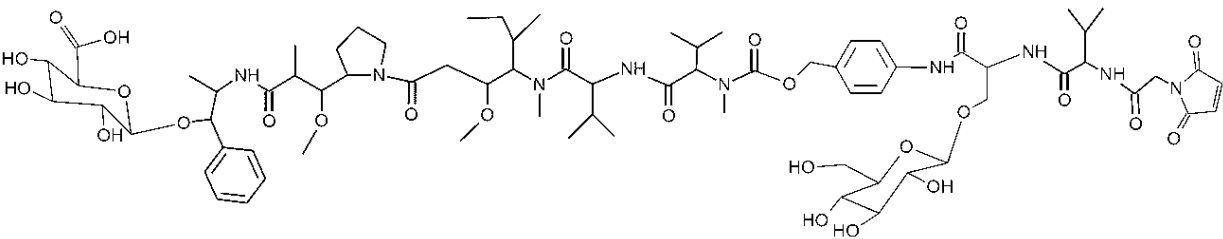


20

スキーム2-2. マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (GlcA) - PABC - MMAU。

## 【0802】

## 【化207】



30

スキーム2-3. マレイミドアセチル - Val - Ser (Glc) - PABC - MMAU

40

## 【0803】

マレイミドアセチル - EDA - PNU (スキーム2-1) を以下のように調製した: 80  $\mu$ l の DMSO 中の 1.5  $\mu$ mol の EDA - PNU を、2  $\mu$ l の DIPEA : DMSO (1 : 2, vol / vol) と一緒に 20  $\mu$ l の DMSO 中の当モル量の AMAS (N - マレイミドアセトオキシスクシンイミドエステル; サーモフィッシャー) と組み合わせ、室温 (RT) で 40 分間反応させた。アセトニトリル (ACN) グラジエントを使用する 20 mM 酢酸アンモニウム水溶液中で Gemini C18 カラムを用いる RP - HPLC により生成物を精製した。生成物の収率は、クロマトグラムにおけるピークの吸光度の積算により 1.04  $\mu$ mol であった。生成物の同定は、MALDI - TOF M

50

Sで検証され、 $[M+H]^+$  イオンについて  $m/z$  807.3、 $[M+Na]^+$  イオンについて  $m/z$  829.3で、予測された質量を示した。

【0804】

Ser(Glc)残基が、最終生成物にSer(GlcA)残基を得るように異なる方法で操作することを除いて、マレイミドアセチル-Ala-Val-Ser(GlcA)-PABC-MMAU(スキーム2-2)を、マレイミドアセチル-Ala-Val-Ser(Glc)-PABC-MMAU(スキーム1-1)と同様に調製する。それは、Ser(GlcA)残基として合成中にすでに組み込むことができ、そのため、Val-Ser(GlcA)-PAB-MMAUが得られ、その後最初にFmoc-Ala-OHおよびその後AMASを上記と同様に添加する。代わりに、Val-Ser(Glc)-PAB-MMAUが最初に得られ、標準的な手順にしたがってTEMPO酸化によりGlcがGlcAに酸化され、その後、最初にFmoc-Ala-OHおよびその後AMASを上記と同様に添加する。生成物は、RP-HPLCにより精製され、MALDI-TOF MSにより $[M+H]^+$  イオンについて  $m/z$  1613で検証された。

10

【0805】

AMASのみを上記と同様に添加することを除いて、マレイミドアセチル-Val-Ser(Glc)-PABC-MMAU(スキーム2-3)を、マレイミドアセチル-Ala-Val-Ser(Glc)-PABC-MMAU(スキーム1-1)と同様に調製する。生成物は、RP-HPLCにより精製され、MALDI-TOF MSにより $[M+H]^+$  イオンについて  $m/z$  1528で検証された。

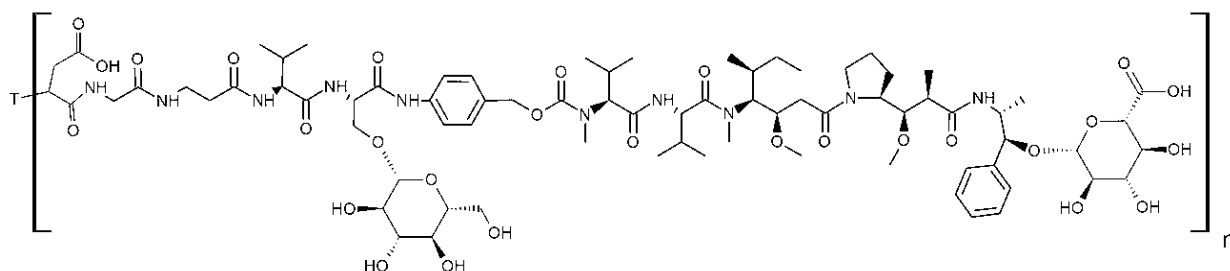
20

【0806】

実施例3. トラスツズマブ-マレイミドアセチル-リンカー-MMAUコンジュゲートの調製。

【0807】

【化208】

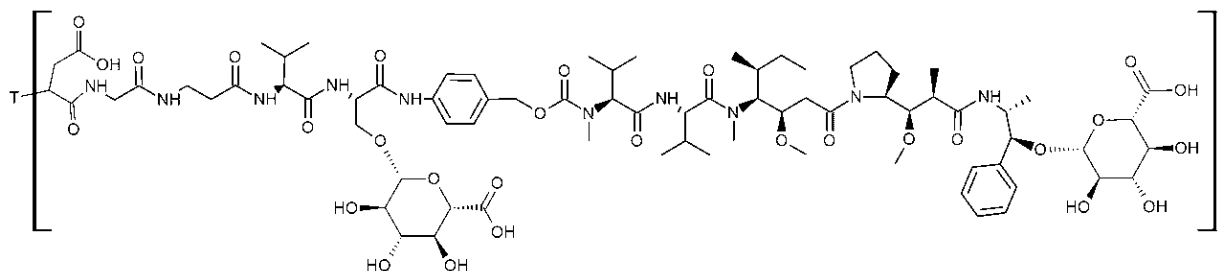


30

スキーム3-1. トラスツズマブ-マレイミドアセチル-Ala-Val-Ser(Glc)-PAB-MMAU; Tはトラスツズマブであり、nは約8である。

【0808】

【化209】



40

スキーム3-2. トラスツズマブ-マレイミドアセチル-Ala-Val-Ser(GlcA)-PAB-MMAU; Tはトラスツズマブであり、nは約8である。

【0809】

260  $\mu$ lの体積のリン酸緩衝生理食塩水(PBS)中のそれぞれ2mgのトラスツズマブ(ハーセプチン; ロシュ)である2つのアリコート(230 nmol)のDTPAお

50

よび600nmolのTCEPの存在下、+37で55分間還元した。反応の後、700 $\mu$ lのPBSと一緒に、それぞれ23 $\mu$ lおよび17 $\mu$ lのDMSOに溶解した、600nmolのマレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAUまたはマレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (GlcA) - PAB - MMAUのいずれかを添加し、+37で3.5時間インキュベートすることにより、還元抗体をマレイミド - ペイロードとコンジュゲートさせた。試薬は、メーカーの指示書にしたがってAmicon 30K遠心フィルタを用いてPBSへの緩衝液交換により除去された。FabRICATOR酵素 (Genovis、スウェーデン) を用いる消化およびPoros R1物質を用いる得られる抗体断片の微小規模精製の後、ADCをMALDI - TOF質量分光分析により分析した。分析から、軽鎖 (LC) およびFd断片が、それぞれ本質的にLC + 1ペイロードおよびFd + 3ペイロード断片に変化したので、調製されたADCが約8の薬物対抗体比 (DAR) を有していたことが示された。元のトラスツズマブ: LCは、m/z 23442.2; トラスツズマブ - マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU: LC + ペイロードは、m/z 25044.8およびFd + 3ペイロード; トラスツズマブ - マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (GlcA) - PAB - MMAU: LC + ペイロードは、m/z 25059.6およびFd + 3ペイロードは、m/z 30246.8; すべて[M + H]<sup>+</sup>イオンである。ADCのより大きいアリコートと同様に調製したが、Amicon緩衝液交換の代わりにインライン脱塩を用いるプロテインA HPLC精製を用いた。

10

## 【0810】

20

代わりに、PBS中の2mgのトラスツズマブを、20xモル過剰のTCEPの存在下、+37で1.5時間還元した。その後、28xモル過剰のMA - Ac - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAUを添加し、反応を+37で1時間進めた。

## 【0811】

## 実施例4. マレイミドの安定化。

システインへのコンジュゲーションの後のマレイミド安定化は、マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU (スキーム3 - 1、ここでTはグルタチオンである) およびマレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (GlcA) - PAB - MMAU (スキーム3 - 2、ここでTはグルタチオンである) の両方のグルタチオンコンジュゲートを用いて研究された。グルタチオンのコンジュゲーションを、水溶液 (PBS) 中、RTで数時間実行し、その後、コンジュゲート形成を、MALDI - TOF MSにより検証した。グルタチオン - マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAUは、1929.5のm/z [M + Na]<sup>+</sup>を有しており、グルタチオン - マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (GlcA) - PAB - MMAUは、1943.4のm/z [M + Na]<sup>+</sup>を有していた。平衡実験において、コンジュゲート溶液のpHを、緩衝液で6.0 (MES緩衝液)、7.2 (MOPS緩衝液) および8.0 (トリス - HCl) に変化させた。+37での一晚のインキュベーション後、トリス - HCl緩衝液でインキュベートしたコンジュゲートのマレイミドは、2つのコンジュゲートについて、それぞれm/z 1947.6およびm/z 1961.4への加水分解 (+18の質量単位) により完全に安定化され、8.0の弱塩基性pHで効率的な安定化を示した。対照的に、pH 6.0 (弱酸性) およびpH 7.2 (中性) の緩衝液中で、安定化マレイミドへの変換は一部のみであった。

30

40

## 【0812】

## 実施例5. 血清中でのコンジュゲート安定性。

上記と同様のグルタチオンコンジュゲートをまた、マレイミドカプロイル - Val - Cit - PAB - MMAUおよびグルタチオンから調製し、精製してMALDI - TOF MSによりm/z 1822.2 [M + Na]<sup>+</sup>で特徴づけられた。3つのグルタチオン - リンカー - MMAUコンジュゲートはすべて、マウス血清中、+37で並行してインキュベートされ、一晚のインキュベーション後および4日間のインキュベーション後、MA

50

L D I - T O F M Sにより分析した。グルタチオン - マレイミドカプロイル - V a l - C i t - P A B - M M A Uでは、一晚のインキュベーションにより、遊離M M A Uの出現が $m/z 916.8 [M + Na]^+$ で示された。4日間のインキュベーション後、僅かなグルタチオン - リンカー - M M A Uのみが、 $m/z 1821.9 [M + Na]^+$ に残っているが、主なピークは、 $m/z 916.5 [M + Na]^+$ での遊離M M A Uであり、マレイミドカプロイル - V a l - C i t - P A Bリンカーが血清中で比較的不安定であったことが示された。グルタチオン - マレイミドアセチル - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A Uでは、一晚のインキュベーションにより、 $m/z 916.8 [M + Na]^+$ での遊離M M A Uで小さいピークの出現が示された。しかし、4日間のインキュベーション後、僅かな遊離M M A Uのみが、 $m/z 916.5 [M + Na]^+$ で出現し、一方で、大多数のグルタチオン - リンカー - M M A Uは、 $m/z 1960.8 [M + Na]^+$ で残った。グルタチオン - マレイミドアセチル - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A Uは、同様な挙動をし、マレイミドアセチル - A l a - V a l - S e r ( G l c A ) - P A Bおよびマレイミドアセチル - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A Bリンカーが、血清中で優れた安定性を有していたことを示した。

10

## 【0813】

実施例6 . A D Cの調製。

M M A U A D Cについて上述のようにヒンジシステムを還元するために、コンジュゲーションによりトラスツズマブ - マレイミドアセチル - E D A - P N U A D Cを調製した。しかし、D A Rは、以下のように部分還元により2~4に制限された：それぞれP B S中の1.5mgのトラスツズマブ(ハーセプチン；ロシュ)5mg/mlである2つのアリコート、1mMのD T P Aおよび6xモル過剰または9xモル過剰のT C E Pのいずれかの存在下、+37で1時間還元した。反応後、20μlのD M S Oに溶解したペイロードを反応混合物に添加し、+37で1時間インキュベートすることにより還元抗体を10xモル過剰のマレイミドアセチル - E D A - P N Uペイロードとコンジュゲートさせた。A D CをプロテインA H P L C精製(M a b S e l e c t S u r e、サーモ)により精製した。上記のように、F a b R I C A T O Rを用いる消化の後、M A L D I - T O F M SによりA D Cを分析した。分析により、軽鎖(L C)が効果的にL C + 1ペイロードに変化したので、A D Cがコンジュゲートに成功したことが示された。元のトラスツズマブ：L Cは、 $m/z 23426.1$ ；トラスツズマブ - マレイミドアセチル - E D A - P N U：L Cは、 $m/z 23434.7$ およびL C + ペイロードは、 $m/z 24241.0$ ；すべて $[M + H]^+$ イオンである。N a n o d r o p O n e分光光度計(サーモフィッシャー；算出に、それぞれドキシソルピシンおよび元の抗体の280/480nmでの吸光係数を使用することによる)における280nmでの吸光度に対する480nmでのP N U - 特異的吸光度(P N Uおよび抗体の両方)の比較により、精製A D CからD A Rを分析した。2つのA D Cは、それぞれD A R 2.5およびD A R 3.3を有すると決定された。

20

30

## 【0814】

上記と同様に、T A 9 9 - マレイミドアセチル - E D A - P N U D A R 4のA D C (T A 9 9 - M - P N U D A R = 4)を抗T Y R P - 1マウスI g G 2 a抗体T A 9 9 (抗m G P 7 5 - m I g G 2 a、インビボジェン、フランス)からマレイミドアセチル - E D A - P N Uペイロードを用いて生成した。上述のようにM A L D I - T O F M SによりD A Rを平均4として算出した。

40

## 【0815】

T A 9 9 - マレイミドアセチル - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U D A R = 1 0 A D Cを、以下のように調製した。150mM N a C l、20mM N a - リン酸、5%サッカロースの1ml中、2mgのT A 9 9抗体を、1mMのD T P Aおよび12xモル過剰のT C E Pの存在下、+37で1時間、抗体まで還元した。反応後、20xモル過剰を、D M S Oに溶解したマレイミドアセチル - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A Uの抗体に添加し、+37で1時間インキ

50

キュベートすることにより、還元抗体をマレイミド - ペイロードとコンジュゲートした。ADCをプロテインA HPLCにより精製した。ADCをMALDI - TOF質量分光分析により分析した。分析により、軽鎖(LC)および重鎖(HC)断片がそれぞれ本質的にLC + 1ペイロードおよびHC + 4ペイロード断片に変化したので、調製されたADCが約10の薬物対抗体比(DAR)を有していたことが示された。元のTA - 99 : LCは、m/z 23594 ; TA - 99 - マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU : LC + ペイロードは、m/z 25189 ; 元のTA - 99 : [HC]<sup>2+</sup>は、m/z 25609 ; TA - 99 - マレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU : [HC + 4ペイロード]<sup>2+</sup>は、m/z 28803である。

10

## 【0816】

実施例7 . ADCの細胞毒性。

平衡実験においてコンジュゲートの希釈系列を細胞とインキュベートし、Satomaa et al. Antibodies 2018, 7(2), 15に記載されるように、本質的にPrestoBlue試薬を用いて生存率を評価することにより、DAR 2.5およびDAR 3.3のトラスツズマブ - マレイミドアセチル - EDA - PNU ADCのHER2 + SK - BR - 3 卵巣癌細胞に対する細胞毒性を評価した。その濃度で、SK - BR - 3細胞のほぼすべてが4日後に両方の実験で死滅したので、ADCは、300 pM未満のIC50で高い特異的な細胞毒性を有しており、ADCの両方が、HER2 + 癌細胞に対して高い活性を有していたことが示された。

20

## 【0817】

実施例8 . 腫瘍異種移植マウスにおけるトラスツズマブおよびMMAU - ADCのインビボ有効性。

トラスツズマブ、および上述のように調製およびマレイミド安定化したマレイミドアセチル - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU、DAR = 8のADC (MMAU - ADC)のインビボ抗腫瘍有効性をトラスツズマブと比較した。HCC - 1954癌細胞を、ATCC (USA)から取得し、メーカーの指示書にしたがって培養し、免疫不全ヌードマウス(Balb/c AnNRj - Foxn1nu - nu)においてトラスツズマブ - 耐性Her2陽性異種移植腫瘍での抗体 - 薬物コンジュゲートの有効性を研究した。適切な倫理委員会の承認にしたがって、TCDM/フィンランドのトゥルク大学の中央動物研究所で研究を実行した。マウスへの接種のための細胞を、活発な指数増殖期で調製した。50%マトリゲル中の500万個の細胞を、各マウスの脇腹にs.c.で接種した。動物の臨床徴候および一般行動を定期的に観察した。毒性の潜在的な徴候は記録されなかった。研究の終了時、主要な臓器で潜在的な肉眼で見える変化についてマウスを調べたが、何も検出されなかった。腫瘍増殖は、触診により追跡された。キャリパー測定の後、腫瘍体積を0.5 × 長さ × 幅<sup>2</sup>にしたがって算出した。平均腫瘍体積が100 cm<sup>3</sup>に到達した場合に初回投与を行った。マウスを研究群、6匹のマウス/群に均一分割し、各群は、サイズが異なる腫瘍が同程度に分布し、平均腫瘍体積は、各群で同程度であった。PBS中、抗体またはADCのいずれかの10 mg/kgの静脈内(i.v.)処置を7日間隔で4回行った(QW × 4、すなわち、4週間にわたり週1回)。コンジュゲートしていない抗体(トラスツズマブ:ハーセプチン、ロシュ)を対照処置として本研究で使用した。図2は、研究の結果を示す。腫瘍は、対照群(トラスツズマブ)において61日間の処置の間およびフォローアップ期間の間に500 mm<sup>3</sup>を超える平均サイズまで着実に増殖したが、MMAU - ADC群においては、ADCは、インビボで腫瘍増殖を効果的に阻害し、腫瘍は、61日間、再増殖なしで6匹のマウスすべて(6/6)で縮小した。

30

40

## 【0818】

実施例9 . 同種移植腫瘍マウスにおけるマレイミド安定化PNU - ADCのインビボ有効性。

上述のように調製およびマレイミド安定化したモノクローナルTA99 IgG2a抗

50

体のADC、DBCO-Val-Ser(GlcA)-EDA-PNUペイロードを有する複合糖質化TA99 ADC (TA99-PNU ADC、DAR=2) およびマレイミドアセチル-EDA-PNUペイロードを有するTA99 ADC (TA99-M-PNU ADC、DAR=4) のインビボ抗腫瘍有効性を非処置マウスと比較した。B16-F10マウスメラノーマ細胞をATCC (USA) から取得し、メーカーの指示書にしたがって培養し、約8~10週齢のメス成体C57BL/6Jマウスにおける高い処置耐性同種移植腫瘍での抗体-薬物コンジュゲートの有効性を研究した。適切な倫理委員会の承認にしたがって、TCDM/フィンランドのトゥルク大学の中央動物研究所で研究を実行した。マウスへの接種のための細胞を、活発な指数増殖期で調製した。50%マトリゲル中の25万個の細胞を、各マウスの脇腹にs.c.で接種した。動物の臨床徴候および一般行動を定期的に観察した。毒性の徴候は、体重を測定することによりモニターされたが、研究群のいずれにおいても体重減少は観察されなかった。腫瘍増殖は、触診により追跡された。キャリパー測定の後、腫瘍体積を $0.5 \times \text{長さ} \times \text{幅}^2$ にしたがって算出した。腫瘍の生着率が高く、増殖が非常に速いため、初回投与を接種の2日後に行った。マウスを無作為に研究群に分割した。PBS中、抗体またはADCのいずれかの5mg/kgの単回の静脈内(i.v.)処置を行った。コンジュゲしていない抗体(TA99/抗gp75、インビボジェン)を対照処置として本研究で使用した。図3は、研究の結果を示す。腫瘍は、対照群(非処置または抗体)において急速に増殖したが、それらのほとんどは、フォローアップ期間の終了(26日目)前に安楽死処分された。ADCは両方ともすべてのマウスにおいて腫瘍を効果的に縮小し、実験の終了まで生存した。

10

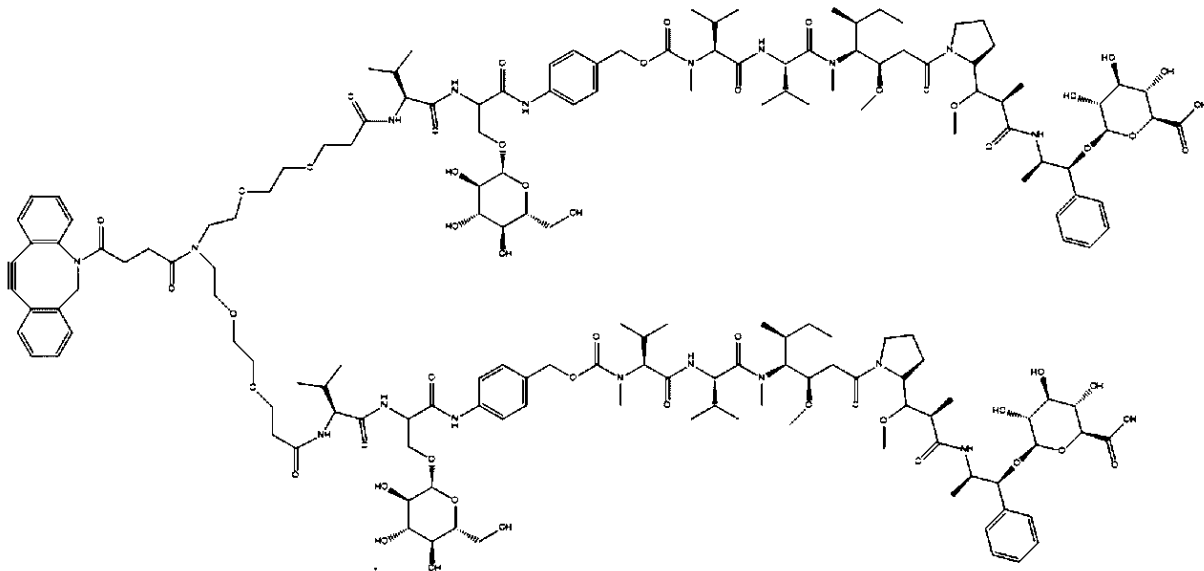
20

【0819】

実施例10. 分岐リンカー-ペイロードおよびADC。

【0820】

【化210】



30

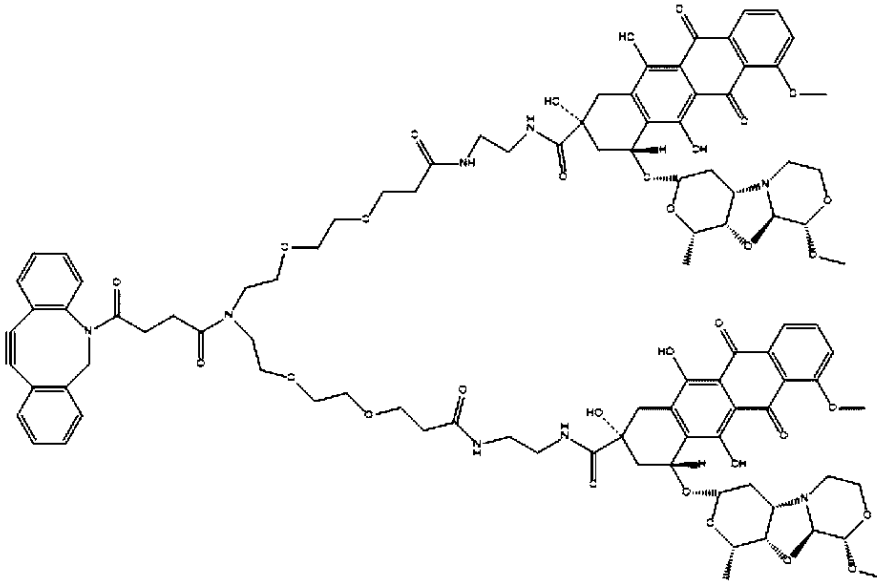
40

スキーム10.1. DBCO-N-ビス[PEG2-Val-Ser(Glc)-PAB-MMAU]。

【0821】

50

## 【化 2 1 1】



10

スキーム 10 . 2 . DBCO - N - ビス ( PEG 2 - EDA - PNU ) 。

## 【 0 8 2 2 】

スキーム 10 . 1 . による分岐 DBCO - リンカー - ペイロードを、 $1.20 \mu\text{mol}$  の Val - Ser ( Glc ) - PAB - MMAU を  $256 \text{ nmol}$  の N - DBCO - N - ビス ( PEG 2 - NHS エステル ) 試薬 ( ブロードファーム ) と、 $1/3 \mu\text{l}$  の DIPEA を含む  $110 \mu\text{l}$  の DMSO 中、RT で 30 分間反応させることにより調製した。反応混合物からの MALDI - TOF MS は、正しい構造が生成されたことを示す、 $[M + Na]^+$  イオンの  $2139.03$  に予測したシグナルを示した。分岐 DBCO - リンカー - ペイロードは、RP - HPLC により生成され、上記のように複合糖質化によりアジド標識抗体にコンジュゲートして、 $DAR = 4$  の ADC を生成する。

20

## 【 0 8 2 3 】

スキーム 10 . 2 . による分岐 DBCO - リンカー - ペイロードを、 $1.20 \mu\text{mol}$  の EDA - PNU を  $256 \text{ nmol}$  の N - DBCO - N - ビス ( PEG 2 - NHS エステル ) 試薬 ( ブロードファーム ) と、 $1/3 \mu\text{l}$  の DIPEA を含む  $103 \mu\text{l}$  の DMSO 中、RT で 30 分間反応させることにより調製した。反応混合物からの MALDI - TOF MS は、正しい構造が生成されたことを示す、 $[M + Na]^+$  イオンの  $1949.82$  に予測したシグナルを示した。分岐 DBCO - リンカー - ペイロードは、RP - HPLC により生成され、上記のように複合糖質化によりアジド標識抗体にコンジュゲートして、 $DAR = 4$  の ADC を生成する。

30

## 【 0 8 2 4 】

実施例 11 . CHO 細胞における抗体の産生のための一般方法。

固有の抗体のクローニング

LC のアミノ末端をリーダーペプチド MVSTPQFLVFLFWIPASRS ( 配列番号 53 ) に追加し、HC のアミノ末端をリーダーペプチド MAVLGLLFCLVTFPSCVLS ( 配列番号 54 ) に追加した。重鎖および軽鎖のコード配列は、CHO 細胞に最適化されたコドンであり、pcDNA3.4 - TOPO 発現ベクター ( GeneAirt ) にサブクローニングした。プラスミドを大腸菌 ( E . coli ) NEB10 コンピテントセル ( ニューイングランドバイオラボ ) に形質転換し、PureLink HiPure プラスミド FP ( フィルタおよびプレシピテータ ) Maxiprep キット ( インビトロジェン ) によりプラスミド maxiprep を抽出した。

40

## 【 0 8 2 5 】

システイン改変抗体コンストラクトであるフランボツマブ HC ( N299C ) 、フランボツマブ HC ( C222S ) 、キメラ TA99HC ( N301C ) 、キメラ TA99HC (

50

N301C)、キメラTA99HC(C244S)、リンツズマブHC(N296C)、リンツズマブHC(C219S)およびゲムツズマブHC(C130S)のクローニングシステム改変抗体発現プラスミドを生成するため、所望の置換を有するDNA鎖をGeneArtから注文し、適切な制限酵素で消化して、メーカーの指示書(ニューイングランドバイオラボ)にしたがってNEBuilder HiFi DNAアセンブリ法によりベクターバックボーンと組み合わせた。大腸菌(E. coli)への形質転換後、突然変異DNA配列をシーケンス処理により確認した。

#### 【0826】

抗体のトランスフェクションおよび発現

ExpichO-S細胞(サーモフィッシャーサイエンティフィック; カタログNo. A29133)の培養およびトランスフェクションを、メーカーの指示書にしたがって実行した。トランスフェクション後、ExpichO-S細胞を6~8日間培養し、回収時、培養培地を50mlチューブに移し、遠心分離して濾過してから精製した。

#### 【0827】

HPLCによる抗体精製

HiTrap MabSelect Sureカラムを用いる上清試料からの抗体精製を、Aktta HPLC精製システムにより行った。HiTrap MabSelect Sureカラム(1mlまたは5ml、GEヘルスケア)を抗体精製に使用した。試料をカラムにロードし、12~14カラム体積のPBSを用いて洗浄した。5カラム体積の0.1Mクエン酸pH3.0を溶離に使用した。溶離後、1~4のHiTrap脱塩カラム(5ml、GEヘルスケア)を使用して、抗体試料の緩衝液をPBSに交換した。分光光度計(Nanodrop one、サーモフィッシャーサイエンティフィック)により濃度を決定した。

#### 【0828】

凝集レベルが10%を超えていた場合、Superdex 200 increaseカラム(10x300mm、GEヘルスケア)を用いて凝集体を精製した。精製前に抗体試料をアミコンウルトラ遠心式フィルタ(30K、シグマアルドリッチ)により濃縮した。10~27mgの抗体を1サイクルで精製した。試料をカラムに注入し、PBSを用いるイソクラティックの実行(0.57ml/分、34分)により、モノマーを精製した。

#### 【0829】

HPLCによるADC精製

Mab Select sureカラムを用いるADC精製をAktta HPLC精製システムで実行した。Mab Select Sureカラム(1ml、GEヘルスケア)をADC精製のために使用した。試料をカラムにロードし、12カラム体積のPBSで洗浄した。5カラム体積の0.1Mクエン酸pH3.0を溶離のために使用し、続いて脱塩カラム(5ml、GEヘルスケア)を用いてPBS緩衝液交換を行った。分光光度計(Nanodrop one、サーモフィッシャーサイエンティフィック)により濃度を決定した。

#### 【0830】

HICプロトコル

TSKgel ButylNPRカラム(4.6mmx3.5cm、東ソーバイオサイエンス)を用いる疎水性相互作用クロマトグラフィ(HIC)分析を、Aktta HPLC精製システムで実行した。80µgのADCまたは抗体をカラムに注入し、グラジェント溶離により分離した: 100%緩衝液A(1.5M硫酸アンモニウム、25mMリン酸K)から100%緩衝液B(25%イソプロパノール、25mMリン酸K)で15分間(1ml/分)に100%Bを2分間継続した。

#### 【0831】

凝集分析

凝集のレベルを、Aktta HPLC精製システムを使用するSuperdex 200カラム(10x300mm、GEヘルスケア)により分析した。80~100µgの抗

10

20

30

40

50



体またはADCをカラムに注入し、0.2Mリン酸K pH7、0.25M KClを用いるイソクラティックの実行(0.75ml/分、34分)により分離した。

【0832】

PLRP-Sカラムを用いるDARの決定

試料体積が100μlを超えた場合：

PLRP-Sクロマトグラムを使用して、薬物対抗体比(DAR)を算出した。0.5~1.5mlのPBS中の25μgの抗体または50μgのADCを30μlの0.5M DTTで30分間、+37で還元した。2%TFAを添加して、0.1%TFA溶液を注入した。PLRP-Sカラム(1000A、8μM、150×2.1mm、アジレント)を用いる分析を、Akt a HPLC精製システムにより行った。試料を5%ACN、0.1%TFAに、0.4ml/分でロードし、ACNグラジエント30~50%ACN、0.25ml/分で40分間により溶離した。+70のカラムオープンを使用した。LCのDARは、ペイロードを有するLCの相対部分により(面積280nm)、またHCのDARは、1個、2個、3個または4個のペイロードを有するHCの相対部分により算出された。

10

【0833】

試料体積が100μl未満だった場合：

PLRP-Sクロマトグラムを使用して、薬物対抗体比(DAR)を算出した。25μgの抗体または50μgのADCを1μlの0.5M DTTで30分間、+37で還元した。PLRP-Sカラム(1000A、8μM、150×2.1mm、アジレント)を用いる分析を、Akt a HPLC精製システムにより行った。試料をカラムにロードし、ACNグラジエント30~50%ACN、0.25ml/分で40分間により溶離した。+70のカラムオープンを使用した。LCのDARは、ペイロードを有するLCの相対部分により(面積280nm)、またHCのDARは、1個、2個、3個または4個のペイロードを有するHCの相対部分により算出された。

20

【0834】

A280/A480法を用いるDARの決定

NanoDrop分光光度計(Nanodrop one、サーモフィッシャーサイエントフィック)により等式を用いてDARを算出した：

【0835】

【数1】

$$DAR = \frac{A480}{\text{ペイロード吸光係数}} \bigg/ \frac{A280 - \text{ペイロード} \frac{A280}{A480} * A480}{\text{抗体吸光係数}}$$

30

【0836】

抗体吸光係数 = 210000M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>

40

ペイロード吸光係数 = ドキソルピシン吸光係数 = 10410M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>

ペイロードA280/A480 = マレイミドアセチル-EDA-PNU(Pema)についての測定されたA280/A480 = 0.8

【0837】

MALDI-TOF MS分析

FabRICATOR(登録商標)(IdeS; Genovis)およびGlycINATOR(登録商標)(EndoS2; Genovis)を用いて抗体で処置することにより上記のようなMALDI分析の前に精製抗体を断片化した。分析のために断片をTCEPで処置した。

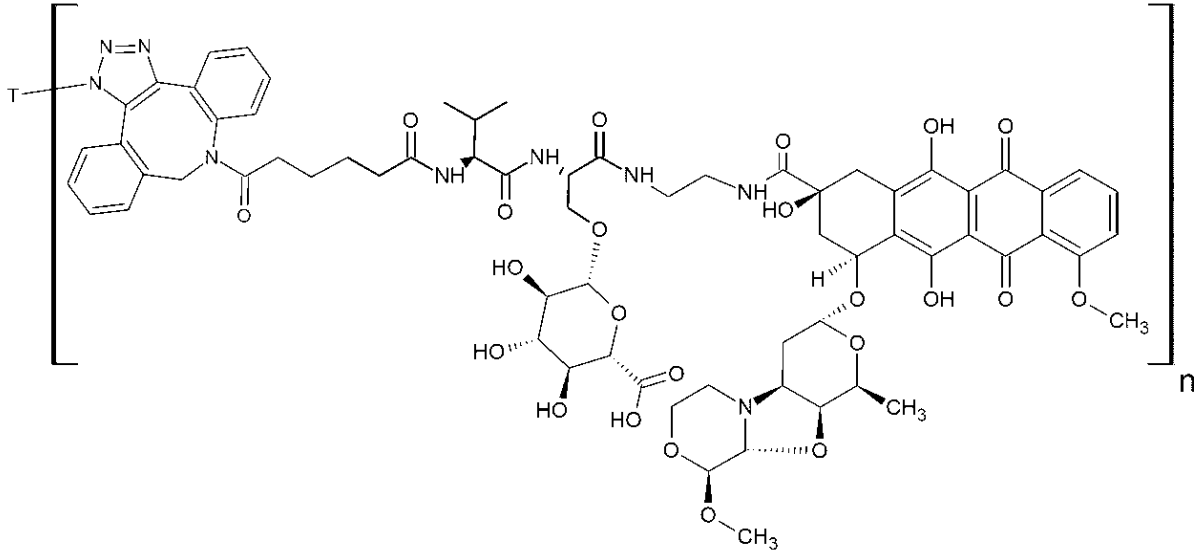
【0838】

50

実施例 12 . 複合糖質化フランボツマブ - D B C O - V a l - S e r ( G l c A ) - E D A - P N U A D C ( F L P e D ) の調製

【 0 8 3 9 】

【 化 2 1 2 】



10

20

スキーム 12 - 1 . F L P e D ; T はフランボツマブ (フランボツマブ重鎖配列番号 4 5 およびフランボツマブ軽鎖配列番号 4 6 ) である。

【 0 8 4 0 】

アミコンウルトラ - 4 30 K フィルタ装置 (ミリポア) を用いる限外濾過により、2 mg のフランボツマブを 50 mM M O P S pH 7 . 2、150 mM N a C l に緩衝液交換した。DAR = 2 のフランボツマブ - G a l N A z を、固定化 G l y c i N A T O R (登録商標) ゲル (G e n o v i s)、UDP - G a l N A z 2 . 1 mg / ml (サーモフィッシャーサイエンティフィック)、ベータ - 1, 4 - ガラクトシルトランスフェラーゼ Y 2 8 9 L 133 μg / ml (サーモフィッシャーサイエンティフィック)、5 mM M n C l 2、総体積 600 μl を用いるワンポット反応で合成した。反応を穏やかに混合しながら 37 で一晩インキュベートした。2 倍のモル過剰の P e D、D B C O ( C 6 ) - V a l S e r ( G l c A ) - E D A - P N U - 159682 (L e v e n a B i o p h a r m a) v s . G a l N A z を、1 ml の P B S 中の 0 . 89 mg の H P L C 精製フランボツマブ - G a l N A z DAR = 2 と混合し、反応を室温で一晩インキュベートした。ADC を、A k t a H P L C 精製システムにより M a b S e l e c t s u r e カラムを用いて精製した。反応のアリコートに F a b r i C A T O R (登録商標) (G e n o v i s) で消化し、M A L D I - T O F M S により分析した (フランボツマブ - G a l N A z : F c は、m / z 24380 ; F L P e D : F c + ペイロードは、m / z 25730 ; DAR = 2 )。

30

40

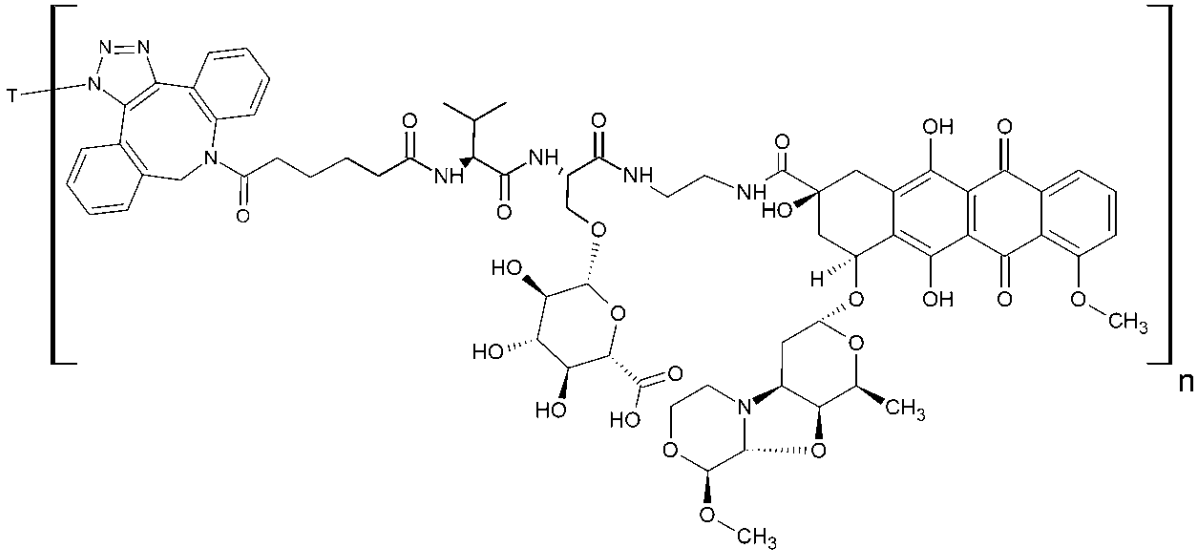
【 0 8 4 1 】

実施例 13 . 複合糖質化キメラ T A 9 9 - D B C O - V a l - S e r ( G l c A ) - E D A - P N U A D C ( C H P e D ) の調製

【 0 8 4 2 】

50

## 【化 2 1 3】



10

スキーム 13 - 1 . C H P e D ; T はキメラ T A 9 9 (キメラ T A 9 9 重鎖配列番号 4 7 およびキメラ T A 9 9 軽鎖配列番号 4 8 ) である。

## 【 0 8 4 3】

20

限外濾過により 2 m g のキメラ T A 9 9 抗体を 5 0 m M M O P S p H 7 . 2 、 1 5 0 m M N a C l に緩衝液交換し、キメラ T A 9 9 - G a l N A z のワンポット合成を実行し、A D C を F L P e D のために上述のように精製し、M A L D I - T O F M S により分析した (キメラ T A 9 9 - G a l N A z : F c は、 $m / z$  2 4 3 7 5 ; C H P e D : F c + ペイロードは、 $m / z$  2 5 7 2 4 ; D A R = 2 ) 。

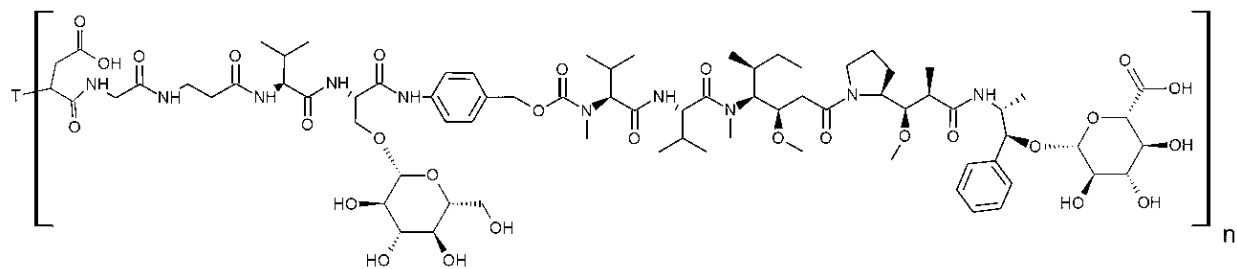
## 【 0 8 4 4】

実施例 1 4 . 抗 m G P 7 5 - マレイミドアセチル - - A l a - V a l - S e r ( G l c ) - P A B - M M A U ( T A A u M ) の調製

## 【 0 8 4 5】

## 【化 2 1 4】

30



スキーム 1 4 - 1 . T A A u M ; T は抗 m G P 7 5 である。n は 9 または 1 0 である。

40

## 【 0 8 4 6】

P B S 中、2 m g の抗 m G P 7 5 ( T A 9 9 抗体 ; インピボジェン ) を 2 0 × モル過剰の T C E P の存在下、+ 3 7 で 1 . 5 時間還元した。2 8 × モル過剰の M A - A c - - A l a - V a l - S e r ( - G l c ) - P A B - M M A U を添加し、反応を + 3 7 で 1 時間進めた。T A A u M を上記のように精製し、アミコンウルトラ遠心式フィルタにより濃縮し、滅菌濾過して使用するまで貯蔵した。

## 【 0 8 4 7】

P L R P - S を用いて T A A u M の D A R を決定した。T A A u M の D A R は、1 0 . 0 であった。

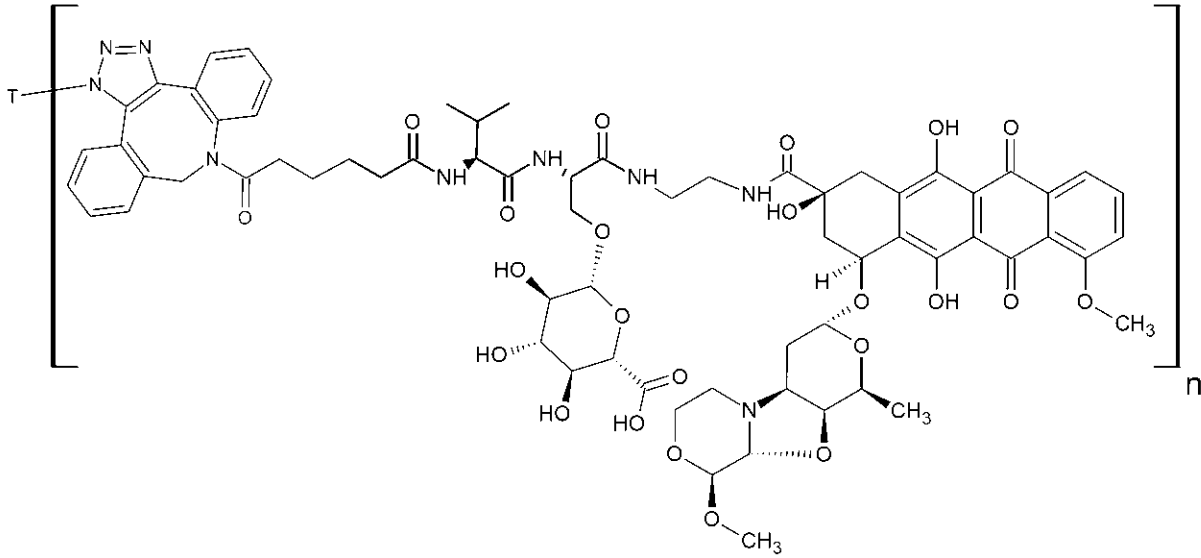
## 【 0 8 4 8】

50

実施例 15 . 複合糖質化トラスツズマブ - D B C O - V a l - S e r ( G l c A ) - E D  
A - P N U A D C ( T R P e D ) の調製

【 0 8 4 9 】

【 化 2 1 5 】



10

20

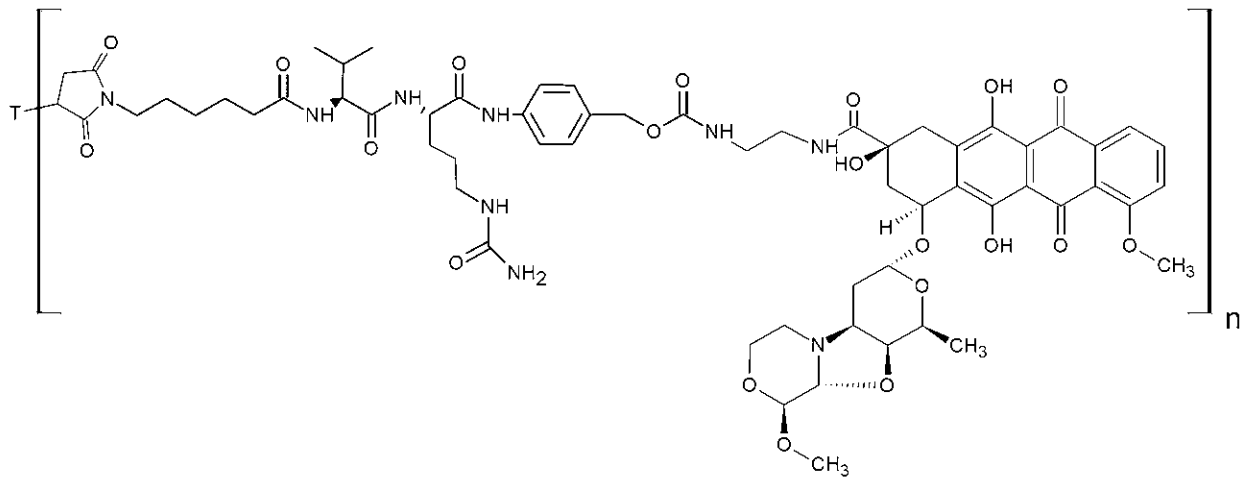
スキーム 15 - 1 . T R P e D ; T はトラスツズマブである。T R P e D を調製し、A D C の構造を、本質的に T A P e D について上述したように、M A L D I - T O F M S により検証した (実施例 14) 。T R P e D の D A R は 2 である。

【 0 8 5 0 】

実施例 16 . シス테인改変フランボツマブ A D C F L C P e M c v の調製

【 0 8 5 1 】

【 化 2 1 6 】



30

40

スキーム 16 - 1 . F L C P e M c v ; T はフランボツマブ H C N 2 9 9 C (フランボツマブ H C N 2 9 9 C 配列番号 4 9 およびフランボツマブ軽鎖配列番号 4 6 ) である。

【 0 8 5 2 】

P e M c v : M A - カプロイル - V a l - C i t - P A B - E D A - P N U の調製 : 0 . 9 μ m o l の M A - カプロイル - V a l - C i t - P A B - P N P および 1 . 8 2 μ m o l の P N U - E D A を 5 3 μ l の D M F 中 で 混 合 し た 。 D M F 中 の 1 . 4 μ m o l の 0 . 5 M H O B t を 添 加 し 、 反 応 を 室 温 で 1 時 間 進 め た 。 M A - カ プ ロ イ ル - V a l - C i t - P A B - E D A - P N U を 精 製 せ ず に A D C 反 応 で 使 用 し た 。

【 0 8 5 3 】

50

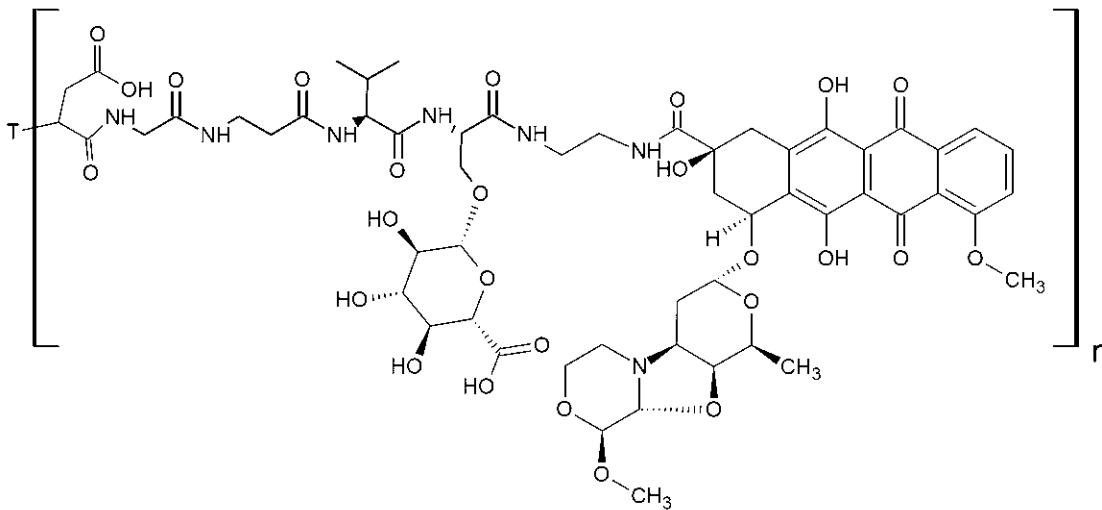
TCEPを使用して、フランボツマブHC N299Cのシステインジスルフィド結合を還元し、続いてFLCPEMgについて説明したようにヒンジ領域のジスルフィド結合を再酸化した。FLCPEMcv合成のため、7mg ( $V = 3 \text{ ml}$ 、 $c = 2.3 \text{ mg/ml}$ 、 $47 \text{ nmol}$ )の再酸化フランボツマブHC N299Cを、DMSO中で約10モル当量のPEMcv:MA-カプロイル-Val-Cit-PAB-EDA-PNU ( $55 \mu\text{L}$ 、推定 $n = 450 \text{ nmol}$ )と混合した。反応混合物は、ペイロード付加により不透明になった。反応時間は37で1.5時間。反応時間の後、試料を5分間@3200 rcfで遠心分離し、沈殿を除去した。透明な上清を精製した。HPLCを使用して、最終の試料を精製し、A280/A480法を使用して、DARを決定した。FLCPEMcv01:A280=3.38、A480=0.22。FLCPEMcvのDARは1.4であった。

【0854】

実施例17. システイン改変フランボツマブADCのFLCPEMgの調製

【0855】

【化217】



20

30

スキーム17-1. FLCPEMg; TはフランボツマブHC N299C (フランボツマブHC N299C配列番号49およびフランボツマブ軽鎖配列番号46)である。

【0856】

フランボツマブHC N299C ( $45.0 \text{ mg}$ 、 $c = 2.8 \text{ mg/ml}$ 、 $V = 16 \text{ ml}$ 、 $n = 300 \text{ nmol}$ )を、PBS中、TCEP ( $30$ モル当量、 $9 \mu\text{mol}$ )と37で1.5時間インキュベートした。記載されるようにHPLCを使用して、過剰のTCEPを還元試料から除去した。精製試料の半分をFLCPEMgの合成に使用した。PBS ( $350 \mu\text{L}$ 、 $c = 12.1 \text{ nmol}/\mu\text{L}$ 、 $n = 4.2 \mu\text{mol}$ )中の30モル当量のL-デヒドロアスコルビン酸 (L-DHAA)を還元フランボツマブHC N299C ( $20.9 \text{ mg}$ 、 $c = 2.09 \text{ mg/ml}$ 、 $V = 10.0 \text{ ml}$ 、 $n = 139 \text{ nmol}$ )に添加し、試料を37で1時間インキュベートした。HPLCを使用して、再酸化試料を過剰のL-DHAAから精製した。FLCPEMg合成のため、9mg ( $V = 4 \text{ ml}$ 、 $c = 2.25 \text{ mg/ml}$ 、 $60 \text{ nmol}$ )の再酸化フランボツマブHC N299Cを、DMSO中、10モル当量のPEMg:MA-Ac-Ala-VS(GlcA)-EDA-PNU (SyntaBio、サンディエゴ) ( $21.8 \mu\text{L}$ 、 $c = 27.5 \text{ nmol}/\mu\text{L}$ 、 $n = 600 \text{ nmol}$ )と混合した。反応時間は37で1.5時間。HPLCを使用して、最終の試料を精製した。A280/A480法を使用して、DARを決定した。FLCPEMgのDARは、2.2であった (A280=4.68、A480=0.47)。

40

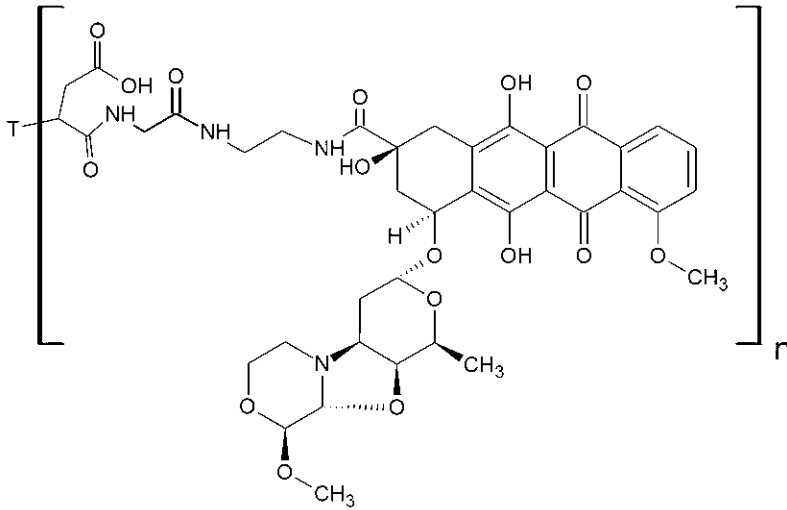
【0857】

50

## 実施例 18 . システイン改変フランボツマブADCのFLCPeMaの調製

【0858】

【化218】



10

スキーム 18 - 1 . FLCPeMa ; TはフランボツマブHC N299C (フランボツマブHC N299C配列番号49およびフランボツマブ軽鎖配列番号46)である。

20

【0859】

TCEPを使用して、フランボツマブHC N299Cのシステインジスルフィド結合を還元し、続いてFLCPeMgについて説明したようにヒンジ領域のジスルフィド結合を再酸化した。FLCPeMa合成のため、7.7mg ( $V = 4\text{ ml}$ 、 $c = 1.93\text{ mg/ml}$ 、 $51\text{ nmol}$ )の再酸化フランボツマブHC N299Cを、DMSO中の約2モル当量のPeMa : MA - Ac - EDA - PNU ( $5\text{ }\mu\text{L}$ 、推定 $n = 100\text{ nmol}$ と混合した。反応時間は37 で1.5時間。HPLCを使用して、最終の試料を精製した。A280 / A480法を使用して、DARを決定した。FLCPeMaのDARは、1.7であった ( $A280 = 3.80$ 、 $A480 = 0.30$ )。

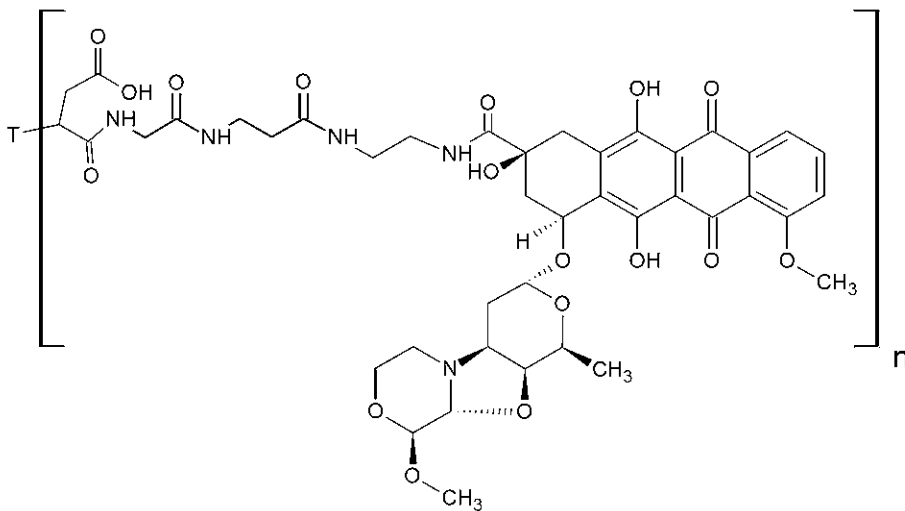
30

【0860】

## 実施例 19 . システイン改変フランボツマブADCのFLCPeMa1aの調製

【0861】

【化219】



40

スキーム 19 - 1 . FLCPeMa1a ; Tはシステイン改変フランボツマブHC N299C (フランボツマブHC N299C配列番号49およびフランボツマブ軽鎖配列番

50

号46)である。nは約2である。

【0862】

PeMala、MA-Ac-Ala-EDA-PNUの調製：400nmolのPNU-EDAおよび600nmolのMA-Ac-Ala-Pfpを170mlのDMSO中で混合し、室温で15分間反応させた。Gemini-NX逆層カラム(4.6×250mm、フェノメネクス)を用いるMA-Ac-Ala-EDA-PNU精製を、AktahPLC精製システムで実行した。緩衝液Aは、20mM酢酸アンモニウムpH5.6であり、緩衝液Bは、ACNであった。カラムを20%緩衝液Bで安定化し、MA-Ac-Ala-EDA-PNUをリニアグラジェント：20%緩衝液Bから80%緩衝液Bまで30分間(1ml/分)で溶離した。精製PeMelaを真空濃縮器により乾燥させた。

10

【0863】

TCEPを使用して、フランボツマブHC N299Cのシステインジスルフィド結合を還元し、続いてFLCPEMgについて説明したようにヒンジ領域のジスルフィド結合を再酸化した。FLCPEMala合成のため、7.7mg(V=4ml、c=1.93mg/ml、51nmol)の酸化フランボツマブHC N299Cを、DMSO中の約2モル当量のPeMala：MA-Ac-Ala-EDA-PNU(5mL、推定n=100nmolと混合した。反応時間は37で1.5時間。HPLCを使用して、最終の試料を精製した。A280/A480法を使用して、DARを決定した。FLCPEMalaのDARは、2.0であった(A280=3.80、A480=0.30)。

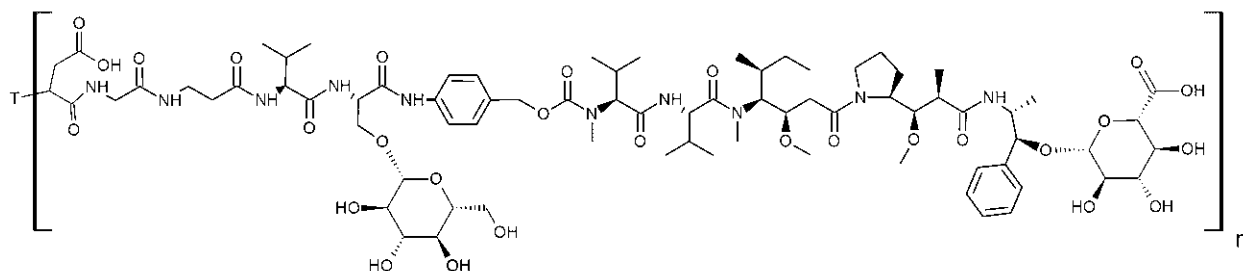
20

【0864】

実施例20. リンツマブ-AuM ADCのLNAuの調製

【0865】

【化220】



30

スキーム20-1. LNAuM；Tはリンツマブ(リンツマブHC配列番号35およびリンツマブ軽鎖配列番号36)である。nは6、7または8である。

【0866】

リンツマブ(2.0~4.9mg；V=1.17~2.9mL)を、PBS中、TCEP(20~30モル当量)と37で1.5時間インキュベートした。DMSO中の28~35モル当量のAuM：MA-Ac-Ala-Val-Ser(Glc)-PAB-MMAU(42mL、c=27nmol/mL)を反応混合物に添加し、混合物を37で1時間インキュベートした。LNAuMを上述のように精製した。

40

【0867】

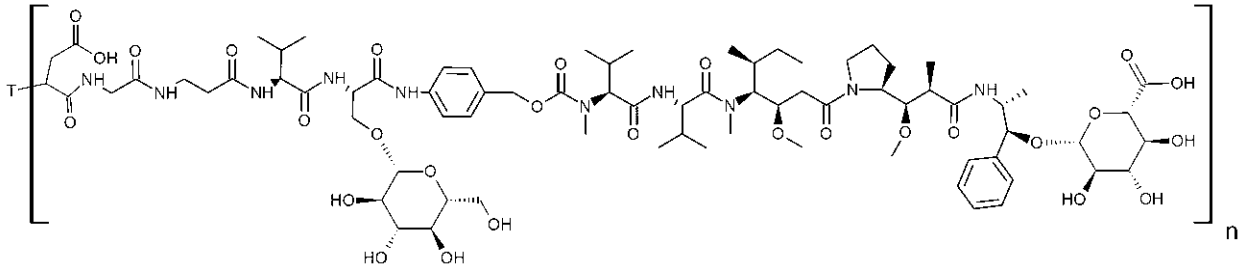
PLRP-S法を用いてDARを決定した。生成されたLNAuMの3つのバッチのDARは、7.8、8.0および8.1であった。

【0868】

実施例21. ゲムツマブ-AuM ADCのGMAuMの調製

【0869】

## 【化 2 2 1】



スキーム 21 - 1 . GMAuM ; T はゲムツズマブ (ゲムツズマブ HC 配列番号 37 およびゲムツズマブ軽鎖配列番号 38) である。n は 7、8 または 9 である。

## 【0870】

23 のために、ゲムツズマブ (3.8 mg) を、PBS 中、TCEP (50 モル当量) と 37 で一晩インキュベートした。PBS を有するアミコンウルトラ 0.5 ml 30 K 濃縮器チューブを使用して、過剰の TCEP を除去した。体積を PBS で 1.6 ml に調節し、DMSO (28 mL) 中の 30 モル当量の AuM : MA - Ac - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU を反応混合物に添加し、混合物を 37 で 2.5 時間インキュベートした。上述のように GMAuM を精製し、濃縮して滅菌濾過した。

## 【0871】

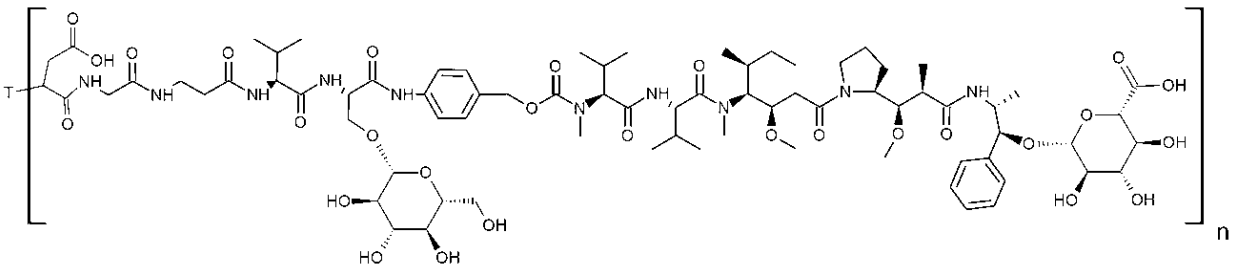
PLRP - S 法を用いて DAR を決定した。GMAuM の DAR は 8.0 であった。

## 【0872】

実施例 22 . システイン改変リンツズマブ - AuM ADC の LNCAuM の調製

## 【0873】

## 【化 2 2 2】



スキーム 22 - 1 . LNCAuM ; T はシステイン改変リンツズマブ HC N296C (リンツズマブ N296C HC 配列番号 41 およびリンツズマブ軽鎖配列番号 36) である。n は 1 または 2 である。

## 【0874】

リンツズマブ HC N296C (4.2 mg ; V = 2.3 ml) を PBS 中、TCEP (25 モル当量) と 37 で 1 時間インキュベートした。PBS を有するアミコンウルトラ 0.5 ml 30 K 濃縮器チューブを使用して、過剰の TCEP を還元試料から除去し、体積を 1.8 ml に調節した。PBS 中の 30 モル当量の L - デヒドロアスコルビン酸 (L - DHAA) (84 mL、c = 10 nmol / mL) を還元リンツズマブ HC N296C に添加し、試料を 37 で 1.5 時間インキュベートした。PBS を有するアミコンウルトラ 0.5 ml 30 K 濃縮器チューブを使用して、再酸化試料を過剰の L - DHAA から精製し、体積を 2 mL に調節し、試料を使用して、LNCAuM および LNCAuMb を合成した。

## 【0875】

LNCAuM 合成のため、2.1 mg (1 mL) の再酸化リンツズマブ HC N296C を、DMSO 中の 10 モル当量の AuM : MA - Ac - Ala - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU (5.6 mL、c = 25 nmol / mL) と混合し、混合物



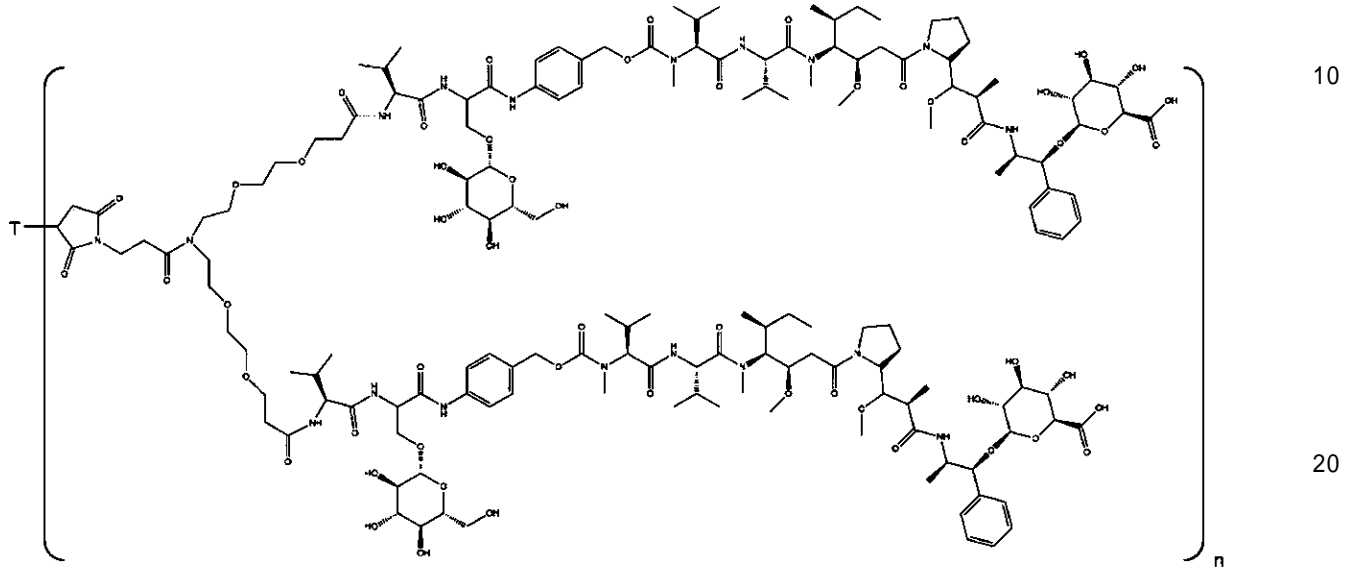
を 37 で 1 時間インキュベートした。上述のように LNC AuM を精製し、濃縮して滅菌濾過した。PLRP-S法を用いてDARを決定した。LNC AuMのDARは、1.7であった。

【0876】

実施例 23 . シス테인改変リンツズマブ MMAU ADC の LNC AuM b の調製

【0877】

【化 223】



スキーム 23 - 1 . LNC AuM b ; T はシス테인改変リンツズマブ HC N296C (リンツズマブ N296C HC 配列番号 41 およびリンツズマブ軽鎖配列番号 36) である。n は 2 または 4 である。

【0878】

AuM b : N - MAL - N - ビス (Peg 2) - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU の調製 : 1.4 mmol の Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU (SyntaBio) および 280 nmol の N - Mal - N - ビス (PEG 2 - NHS エステル) (ブロードファーム、サンディエゴ) を 200 ml の DMSO 中で混合した。2 ml の 1/4 Dipea / DMSO を 3 時間の反応中に室温で添加した。Gemini-NX 逆層カラム (4.6 x 250 mm、フェノメネクス) を用いる N - MAL - N - ビス (Peg 2) - Val - Ser (Glc) - PAB の精製を、Akta HPLC 精製システムを用いて行った。緩衝液 A は、20 mM 酢酸アンモニウム pH 5.6 であり、緩衝液 B は、ACN であった。カラムを 20% の緩衝液 B で安定化させ、AuM b をリニアグラジエント : 20% 緩衝液 B から 80% 緩衝液 B まで 40 分間 (1 ml / 分) で溶離した。精製 AuM b を真空濃縮器により乾燥させた。

【0879】

LNC AuM b 合成のため、2.1 mg (1 mL、14 nmol) の再酸化リンツズマブ (intuzumab) HC N296C を、20 mL の DMSO 中、約 10 ~ 20 モル当量 の分岐ペイロード AuM b : N - MAL - N - ビス (Peg 2) - Val - Ser (Glc) - PAB - MMAU と混合し、混合物を 37 で 1 時間インキュベートした。上述のように LNC AuM b を精製し、濃縮して滅菌濾過した。PLRP-S法を用いてDARを決定した。LNC AuM bのDARは、3.3であった。

【0880】

実施例 24 . シス테인改変リンツズマブ MMAU ADC の LNC PeMa の調製

【0881】

10

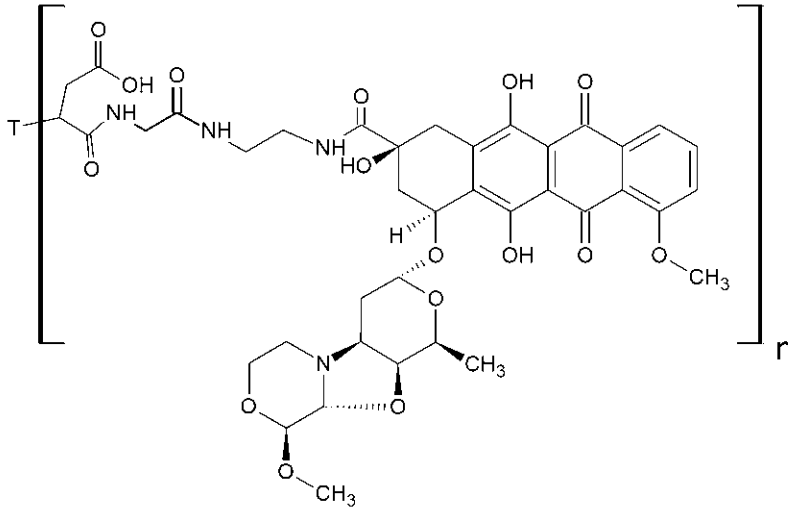
20

30

40

50

## 【化 2 2 4】



10

スキーム 2 4 - 1 . L N C P e M a ; T はシステイン改変リンツズマブ H C N 2 9 6 C (リンツズマブ N 2 9 6 C H C 配列番号 4 1 およびリンツズマブ軽鎖配列番号 3 6 ) である。

## 【 0 8 8 2】

20

リンツズマブ H C N 2 9 6 C ( 4 . 0 m g 、 V = 2 . 8 2 m L ) を、 P B S 中、 T C E P ( 4 0 モル当量 ) と 3 7 で 1 時間インキュベートした。 M a b S e l e c t s u r e カラム / A k t a H P L C 精製システムを使用して、過剰の T C E P を還元試料から除去した。 P B S 中の 3 5 モル当量の L - デヒドロアスコルビン酸 ( L - D H A A ) ( 2 9 m L 、 c = 1 7 n m o l / m L ) を還元リンツズマブ H C N 2 9 6 C ( 2 . 1 m g 、 V = 2 . 0 m L ) に添加し、試料を 3 7 で 1 . 5 時間インキュベートした。 M a b S e l e c t s u r e カラム / A k t a H P L C 精製システムを使用して、再酸化試料を過剰の L - D H A A から精製した。

## 【 0 8 8 3】

30

L N C P e M a 合成のため、 1 . 6 m g ( V = 2 m l ) の再酸化リンツズマブ H C N 2 9 6 C を D M S O 中の 1 0 モル当量の P e M a : M A - A c - E D A - P N U ( 1 0 m L 、 c = 1 0 n m o l / m L ) と混合し、混合物を 3 7 で 1 時間インキュベートした。 M A L D I 分析に基づく、 L N C P e M a の D M S O は、約 2 である。

## 【 0 8 8 4】

実施例 2 5 . システイン改変キメラ T A 9 9 A D C の C H C P e M g の調製

## 【 0 8 8 5】

40

50



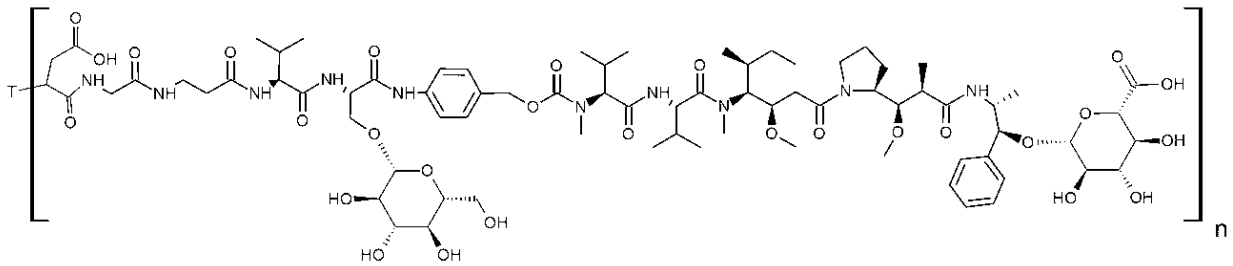
で希釈し、25×モル過剰のTCEPの存在下、+37で1.5時間還元した。FLAuM合成のため、30×モル過剰のAuM:MA-Ac-Ala-Val-Ser(Glc)-PAB-MMAUを添加し、混合物を+37で1.5時間インキュベートした。上述のように最終FLAuMADCを精製し、滅菌濾過した。PLRP-Sを用いてDARを決定した。FLAuMのDARは7.9であった。

【0891】

実施例27.キメラTA99ADCのCHAuMの調製

【0892】

【化227】



10

スキーム26-1. CHAuM; TはキメラTA99 (キメラTA99 HC配列番号47およびキメラTA99軽鎖配列番号48)である。nは約6である。

【0893】

20

TA99MMAUADCをFLAuMのように調製し、上述のように精製した。MALDI分析によれば、CHAuMの調製されたバッチのDARは6であった。

【0894】

実施例28.マレイミド環安定性カプロイルvs-Ala

TRAuMの調製

10mgのトラスツズマブ(ハーセプチン(登録商標)、ロシュ;PBS中でc=2.0mg/ml)を、25×モル過剰のTCEPの存在下、+37で1.5時間還元した。30×モル過剰のMA-Ac-Ala-Val-Ser(Glc)-PAB-MMAUを添加し、反応を+37で1.5時間進めた。最終TRAuMを上述のように精製し、滅菌濾過して4で貯蔵した。PLRP-Sを用いてDARを決定した。TRAuMのDARは7.9であった。

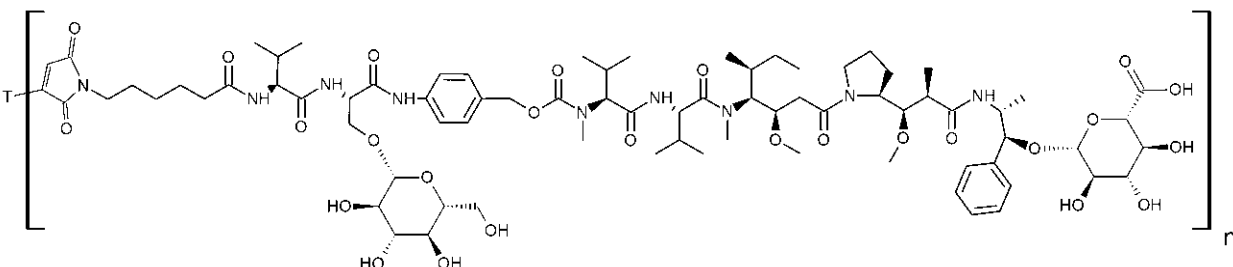
30

【0895】

TRAuMc(トラスツズマブ-カプロイル-MMAU)の調製

【0896】

【化228】



40

スキーム28-1. TRAuMc. Tはトラスツズマブである。

【0897】

DMF300μl中のMMAU-PAB-(Glc)SerVal(3μmol)を、DMF500μl中の5モル過剰のEMCSと反応させた。3μlのDipeaを添加し、反応を室温でインキュベートした。1時間の反応の後、2μlのDipeaを添加し、1.5時間インキュベーションを継続した。MALDI: AuMc M+Na=1606、M+2MA=1628。

50

## 【0898】

Gemini-NX逆層カラム(4.6×250mm、フェノメネクス)を用いるAuM<sub>c</sub>(MA-カプロイル-ValSer(Glc)PAB-MMAU)精製を、Akt<sub>a</sub>HPLC精製システムを用いて行った。緩衝液Aは、MilliQ水中の0.1%TFAであり、緩衝液BはACNであった。カラムを20%緩衝液Bで安定化させ、AuM<sub>c</sub>をリニアグラジェント:20%緩衝液Bから60%緩衝液Bまで40分間(1ml/分)で溶離した。精製AuM<sub>c</sub>を真空濃縮器により乾燥させた。

## 【0899】

2mgのトラスツズマブ(PBS中でc=2.5mg/mlを25×モル過剰のTCEPの存在下、+37で1時間還元した。推定30×モル過剰のMA-カプロイル-ValSer(Glc)-PAB-MMAUを添加し、反応を+37で1時間進めた。

10

## 【0900】

ADCを上述のように精製し、滅菌濾過して4で貯蔵した。精製トラスツズマブ-カプロイル-MMAU ADCを滅菌濾過し、最終ADC試料にはコードTRAuM<sub>c</sub>が割り当てられ、収率は、1.4mgであった。PLRP-Sを用いてDARを決定した。TRAuM<sub>c</sub>のDARは7.9であった。

## 【0901】

加水分解によるマレイミド環の安定化を、TRAuM<sub>c</sub>とTRAuMとの間で比較した。ADCの両方を、PBS中、37で24時間インキュベートした。安定化反応は、ADCのMALDI-TOF MSにより0時間、5時間および24時間の時点で追跡された。図8は、TRAuM<sub>c</sub>(図8A)およびTRAuM(図8B)の両方についての質量スペクトルの軽鎖領域を示す。ADCの軽鎖+ペイロード(LC+PL)成分の[M+H]<sup>+</sup>イオンのm/zが変化せず、各時点で25015~25018の間のm/zで検出されたので、TRAuM<sub>c</sub>のマレイミドは、24時間のインキュベーション中に加水分解により安定化しなかった。対照的に、LC+PLイオンのm/zが、加水分解反応(観察された変化+16.2Da、算出された水の付加+18.0Da)に相当する0時間でのm/z25032.785から24時間での25049.032に変化したので、TRAuMのマレイミドは、24時間のインキュベーション中に加水分解により効果的に安定化した。TRAuMインキュベーションの5時間の時点で、元の非加水分解LC+PLイオンおよび加水分解/安定化生成物の両方が可視化された。したがって、マレイミドアセチル基を含むAuMリンカー-ペイロードを有するADCは、穏やかな条件下、pH7.4および37で数時間中に容易に安定化された。対照的に、マレイミドカプロイル基を含むAuM<sub>c</sub>リンカー-ペイロードを有するADCは、同じ条件下で安定化しなかった。

20

30

## 【0902】

実施例29. グルタチオンおよびアルブミンの存在下でのマレイミドコンジュゲートの安定性。

TRAuMおよびTRAuM ADCを、1mM EDTAを含む50mM HEPES pH7.4中の5mM酸化グルタチオン(シグマ)の存在下、37でインキュベートした。リンカー-ペイロードのADCからグルタチオンへの移動は、MALDI-TOF MSにより0日目、1日目、2日目、3日目、7日目および10日目にモニターした。内部標準としての使用のために、MA-Ac-Ala-Val-Ser(Glc)-PAB-MMAUを過剰のシステアミンと室温で2時間インキュベートすることによりシステアミン-リンカー-ペイロードを製造し、その後、正しい生成物の形成が、MALDI-TOF MSにより検証された。小型化Poros R2カラムを各分析において内部標準、同量の標準分子と一緒に用いて、時点試料(5μL)を精製した。試料を標的プレート上で2つのスポットに溶離した。DHBをマトリックスとして使用した。2つのスポットの内部標準および試料に対応するピークの平均を、以下のm/z値で算出した:システアミン-AuM(内部標準、マレイミドは加水分解されていない)[M+H]<sup>+</sup>1676.9、[M+Na]<sup>+</sup>1698.9、[M+2Na-H]<sup>+</sup>1720.9;グ

40

50

ルタチオン - AuM c [ M + H ] <sup>+</sup> 1 8 9 2 . 1、 [ M + N a ] <sup>+</sup> 1 9 1 4 . 1、 [ M + 2 N a - H ] <sup>+</sup> 1 9 3 6 . 1 ; グルタチオン - AuM (加水分解マレイミド) [ M + H ] <sup>+</sup> 1 9 2 5 . 1、 [ M + N a ] <sup>+</sup> 1 9 4 7 . 1、 [ M + 2 N a - H ] <sup>+</sup> 1 9 6 9 . 1。対応するピーク強度を合計し、リンカー関連シグナルおよび内部標準の比を算出した。図 9 A は、10 日間の実験中に T R A u M のリンカーを含むマレイミドアセチル基と比較して T R A u M c のリンカーを含むマレイミドカプロイル基では脱コンジュゲーション率が 10 倍高いことを示す結果を示す。

#### 【 0 9 0 3 】

T R A u M c および T R A u M A D C の安定性も、37 で P B S 緩衝液 p H 7 . 4 中、ヒト血清アルブミン ( H S A ) の存在下と比較した。H S A へのペイロード移動のためのペイロード喪失を、上述のように R P - H P L C を用いる D A R 分析によりモニターした。A D C ( 1 0 0 μ g / m l ) を 37 で H S A ( 4 0 m g / m l ) とインキュベートし、試料を 0 日目、1 日目、5 日目、および 1 0 日目に採取した。分析の前に試料を - 2 0 で貯蔵し、上述のようにプロテイン A H P L C により精製し、D A R 分析での H S A のあらゆる潜在的な干渉を回避するために H S A を除去した。図 9 B は、結果を示す。T R A u M の D A R は、10 日間の実験中に 7 . 8 から 7 . 2 に僅かに低下したが、T R A u M c の D A R は、7 . 9 から 5 . 4 に低下した。したがって、マレイミドアセチル基を含む A u M リンカー - ペイロードを有する A D C は、H S A の存在下での脱コンジュゲーションに対する非常に高められた安定性を示した。対照的に、マレイミドカプロイル基を含む A u M c リンカー - ペイロードを有する A D C は、同じ条件下で連続的な時間依存的ペイロード喪失およびより低い安定性を示した。図 1 0 は、実験の R P - H P L C クロマトグラムを示す。

#### 【 0 9 0 4 】

実施例 3 0 . A D C のインビトロ有効性。

抗 T Y R P A D C の毒性を、S K - M E L - 2 8 ( A T C C : H T B (登録商標) - 7 2 (商標) )、S K - M E L - 3 0 ( D S M Z : A C C 1 5 1 ) および / または I G R - 1 ( D S M Z : A C C 2 3 6 ) ヒトメラノーマ細胞でテストした。

#### 【 0 9 0 5 】

S K - M E L - 2 8 細胞を 9 6 ウェルプレートに、2 0 0 0 個の細胞 / ウェルで播種し、1 0 % F B S / E M E M 培地中、標準細胞培養条件下で培養した。一晚の培養後、希釈した A D C または非コンジュゲート抗体を細胞に添加し (濃度範囲 0 . 0 2 n M ~ 2 0 0 n M または 0 . 1 n M ~ 3 0 0 n M )、3 ~ 5 日間インキュベートした。細胞対照のため、細胞を A D C がいない培地で処理した。メーカーの指示書にしたがって P r e s t o B l u e 細胞生存率試薬 (ライフテクノロジーズ) で細胞の生存率を評価した。

#### 【 0 9 0 6 】

S K - M E L - 3 0 を 9 6 ウェルプレートに、2 0 0 0 個の細胞 / ウェルまたは 3 0 0 0 個の細胞 / ウェルで播種し、1 0 % F B S / R P M I 1 6 4 0 培地中、標準細胞培養条件下で培養した。一晚の培養後、希釈した A D C または抗体を細胞に添加し、3 ~ 5 日間インキュベートした。細胞対照のため、細胞を A D C がいない培地で処理した。P r e s t o B l u e 細胞生存率試薬で細胞の生存率を評価した。

#### 【 0 9 0 7 】

I G R - 1 細胞を 9 6 ウェルプレートに、2 0 0 0 個の細胞 / ウェルで播種し、1 0 % F B S / D M E M 培地中、標準細胞培養条件下で培養した。一晚の培養後、希釈した A D C または非コンジュゲート抗体 (濃度範囲 0 . 1 n M ~ 3 0 0 n M ) を細胞に添加し、3 ~ 5 日間インキュベートした。P r e s t o B l u e 細胞生存率試薬で細胞の生存率を評価した。

#### 【 0 9 0 8 】

A V G % 値および標準偏差を G r a p h P a d P r i s m 9 . 1 . 2 に移した。用量反応曲線を生成し、ソフトウェアを使用して、試料の I G 5 0 % 値を非線形回帰分析 (阻害剤 v s . 反応、可変傾斜 (4 パラメータ) ) により得た ( I C 5 0 %、ビヒクル処理細

胞（対照 = 100%と比較して生存率における50%の低下を生じるのに必要な化合物の濃度）。

【0909】

A DCを用いる結果を以下の表30-1～表30-14に示す。IGR-1およびSK-MEL-30細胞において、非コンジュゲート抗mGP75およびフランボツマブ抗体は、300 nM（試験された最高濃度）まで影響しなかった。HL-60およびK-562細胞において、非コンジュゲート抗CD33抗体リンツズマブおよびゲムツズマブは、300 nM（試験された最高濃度）まで影響しなかった。KG-1、RamosおよびDauidi細胞において、非コンジュゲートリンツズマブは、300 nM（試験された最高濃度）まで影響しなかった。そのため、ADCの観察された高い細胞毒性は、抗体-薬物

10

【0910】

【表1】

表30-1. FLCPeMev ADCのIC50値の範囲（n=2）。

細胞株/ADC	FLCPeMev DAR 1.4
IGR-1	414 pM～716 pM
SK-MEL-30	2.8 nM～4.0 nM

20

【0911】

【表2】

表30-2. FLCPeMg ADCのIC50値の範囲（n=2）。

細胞株/ADC	FLCPeMg DAR 2.2
IGR-1	417 pM～484 pM
SK-MEL-30	4.3 nM～10 nM

【0912】

【表3】

表30-3. FLCPeMa ADCのIC50値。

細胞株/ADC	FLCPeMa DAR 1.7
IGR-1	1.2 nM (95% CI: 0.94～1.5 nM)
SK-MEL-30	22 nM (95% CI: 19～25 nM)

30

【0913】

【表4】

表30-4. FLCPeMala ADCのIC50値。

細胞株/ADC	FLCPeMala DAR 2.0
IGR-1	649 pM (95% CI: 394～903 pM)

40

【0914】

50

## 【表 5】

表 30-5. FLPeD ADC の IC50 値。

細胞株/ADC	FLPeD DAR 2
SK-MEL-28	100 nM (95% CI: 93~107 nM)
IGR-1	428 pM~601 pM (n=3)
SK-MEL-30	1.3~8.2 nM (n=3)

## 【0915】

## 【表 6】

表 30-6. CHPeD ADC の IC50 値。

細胞株/ADC	CHPeD DAR 2
SK-MEL-28	55 nM
IGR-1	1.4 nM (95% CI: 1.0~1.8 nM)
SK-MEL-30	5.7 nM (95% CI: 5.1~6.5 nM)

10

## 【0916】

## 【表 7】

表 30-7. TAPeD ADC の IC50 値。

細胞株/ADC	TAPeD DAR 2
IGR-1	1.2 nM (95% CI: 0.97~1.4 nM)
SK-MEL-30	8.6 nM (95% CI: 7.9~9.3 nM)

20

## 【0917】

## 【表 8】

表 30-8. TAAuM ADC の IC50 値。

細胞株/ADC	TAAuM DAR 10
IGR-1	1.3 nM (95% CI: 0.89~1.7 nM)
SK-MEL-30	7.9~26 nM (n=2)

30

## 【0918】

## 【表 9】

表 30-9. FLAuM ADC の IC50 値。

細胞株/ADC	FLAuM DAR 6
SK-MEL-28	> 300 nM
IGR-1	4.1 nM (95% CI: 3.4~4.8 nM)
SK-MEL-30	123 nM (95% CI: 96~158 nM)

40

## 【0919】

50



## 【表 10】

表 30-10. CHAuM ADC の IC50 値。

細胞株/ADC	CHAuM DAR 6
SK-MEL-28	> 300 nM
IGR-1	2.2 nM (95% CI: 1.9~2.5 nM)
SK-MEL-30	48 nM (95% CI: 36~62 nM)

## 【0920】

## 【表 11】

表 30-11. LNAuM ADC の IC50 値の範囲 (AVG ± 標準偏差)。HL-60 細胞は、5 日間処理した。KG-1 細胞は、3 日間または 4 日間処理した。MOLM-13、K562 および Daudi 細胞は、3 日間処理した。

細胞株/ADC	LNAuM DAR 8
HL-60	24~459 pM (n=4) 272 ± 181 pM
MOLM-13	23~55 pM (n=3) 39 ± 16 pM
KG-1	144~313 pM (n=3) 242 ± 88 pM
K-562 (低 CD33)	24~66 nM (n=2)
Ramos.2G6.4C10 (CD33 発現なし)	300 nM まで影響なし
Daudi (CD33 発現なし)	300 nM まで影響なし

## 【0921】

## 【表 12】

表 30-12. GMAuM ADC の IC50 値。HL-60 細胞は、5 日間処理した。MOLM-13 および K562 細胞は、3 日間処理した。

細胞株/ADC	GMAuM DAR 8
HL-60	583 pM (95% CI: 487~700 pM)
MOLM-13	206 pM (95% CI: 189~224 pM)
K-562 (低 CD33)	241 nM (95% CI: 217~266 nM)

## 【0922】

## 【表 13】

表 30-13. 5 日間の処理後の LNCAuM ADC の IC50 値。

細胞株/ADC	LNCAuM DAR 1.7
HL-60	16 nM (95% CI: 11~24 nM)

## 【0923】

10

20

30

40

50

## 【表 1 4】

表 3 0 - 1 4 . 5 日 間 処 理 後 の L N C A u M b A D C の I C 5 0 値。

細胞株/ADC	LNCAuMb DAR3.3
HL-60	2.2 nM (95% CI: 1.5-3.1 nM)

## 【0 9 2 4】

まとめると、表 3 0 - 1 ~ 表 3 0 - 1 4 は、抗 T Y R P 1 A D C および抗 C D 3 3 A D C の両方が、標的抗原発現癌細胞に対して高く特異的な細胞毒性効率を示したことを示す。

10

## 【0 9 2 5】

細胞株における T Y R P 1 抗原の量は、I G R - 1 > S K - M E L - 3 0 > S K - M E L - 2 8 の順であった。したがって、抗 T Y R P 1 A D C は、I G R - 1 細胞に対して最も効果的であったが、それらは、S K - M E L - 3 0 細胞に対して中程度の活性を示し、S K - M E L - 2 8 細胞に対しては最も小さい効果であった。フランボツマブ、T A 9 9 およびキメラ T A 9 9 抗体から調製された抗 T Y R P 1 A D C はすべて、効果的な抗癌および抗メラノーマ活性を有していた。しかし、フランボツマブベースの A D C の F L C P e M c v (表 3 0 - 1)、F L C P e M g (表 3 0 - 2)、F L C P e M a l a (表 3 0 - 4) および F L C P e D (表 3 0 - 5) は、フランボツマブベースの A D C について最も高い抗癌および抗メラノーマ効率を示す I G R - 1 細胞に対してピコモル濃度の I C 5 0 値を有していた。D A R = 2 の P N U A D C の有効性は、コンジュゲーションがグリカン(例えば、表 3 0 - 5 の F L P e D、I G R - 1 細胞について I C 5 0 が 4 2 8 p M まで下がる)へのものであっても、改変システイン(例えば、表 3 0 - 2 の F L C P e M g、I G R - 1 細胞について I C 5 0 が 4 1 7 p M まで下がる)へのものであっても同等であり、両 A D C での癌細胞への効果的なペイロード送達を示した。P N U ペイロードに加えて、M M A U ペイロードもまた、効果的な抗癌および抗メラノーマ活性を有しており、例えば T A A u M (表 3 0 - 8)、F L A u M (表 3 0 - 9) および C H A u M (表 3 0 - 1 0) はすべて I G R - 1 細胞に対して約 1 ~ 4 n M の I C 5 0 値を有していた。

20

## 【0 9 2 6】

L N A u M (表 3 0 - 1 1) は、試験された C D 3 3 + 癌細胞株すべてに対して G M A u M (表 3 0 - 1 2) よりもさらに有効であったが、両 A D C は、ピコモル濃度の I C 5 0 値で最も高い活性があった。L N A u M は、H L - 6 0 および M O L M - 1 3 細胞に対して低ピコモル濃度(2 3 ~ 2 4 p M)まで低下した I C 5 0 値を示す高 C D 3 3 発現を有する C D 3 3 + 細胞に対して非常に高い有効性を有していた(表 3 0 - 1 1)。さらに、K - 5 6 2 などの低 C D 3 3 発現を有する細胞に対する L N A u M の I C 5 0 値は、有効な抗癌細胞活性に相当する低ナノモル濃度(2 4 n M まで低下)であった。しかし、I C 5 0 は、C D 3 3 細胞株 R a m o s および D a u d i で L N A u M が 3 0 0 n M の濃度であっても到達せず(表 3 0 - 1 1)、L N A u M のインビトロ治療濃度域が、1 0 0 0 0 を超えたことを示唆した。異なる D A R の A D C を用いる実験によれば、A D C の有効性がより高い D A R で高められたことが示され、例えば、H L - 6 0 細胞および同じ M M A U ペイロードを有するが異なる D A R を有する L N A D C : L N C A u M (D A R = 1 . 7)、L N C A u M b (D A R = 3 . 3) および L N A u M (D A R = 8) は、抗 H L - 6 0 細胞 I C 5 0 値が、それぞれ 1 6 n M、2 . 2 n M および 2 4 p M までであった(表 3 0 - 1 3、表 3 0 - 1 4 および表 3 0 - 1 1)。2 . 2 n M および 1 6 n M の I C 5 0 値は、依然として効果的な抗癌活性であるが、8 ペイロード / 抗体を有する L N A u M (D A R = 8 ; 2 3 p M まで低下した I C 5 0) は、優れた抗癌活性を有することが示された。

30

40

## 【0 9 2 7】

実施例 3 1 . P N U - A D C のインビボ有効性。

50

抗TYRP1 ADC (TAPeD、FLPeD、CHPeDおよびFLCPeMg) のインビボ抗腫瘍有効性を、上述のようにB16-F10マウスメラノーマモデルで評価した。25万個の細胞を各マウスの脇腹にs.c.で接種した。腫瘍増殖を触診により追跡し、接種後2~7日間で腫瘍サイズが60~110 mm<sup>3</sup>に到達した際に、ADC投与が行われた。各投与日に、適切なサイズの腫瘍を有するマウスを、注射日および腫瘍サイズの両方に関して群が同等であるように、無作為に研究群に分割した(6匹のマウス/群、平均腫瘍サイズ/群は81~83 mm<sup>3</sup>)。PBS中の5 mg/kgのADCの単回i.v.注射を注射日に行い、腫瘍サイズを少なくとも28日間追跡した。ADC処理群すべてにおいて、2匹のマウスが効果的な腫瘍増殖阻害(<200 mm<sup>3</sup>の腫瘍)を示した。別の異種移植実験を上記と同様に実行した。この実験において、10匹の異種移植マウスは処理を受けなかったが、10匹の異種移植マウスには、接種後2日目、7日目および12日目に10 mg/kgのTA99抗体を3回i.v.投与した(5日間隔で3×10 mg/kg)。これらの20匹のマウスそれぞれにおいて、腫瘍は、28日間の追跡期間中に>200 mm<sup>3</sup>まで増殖した。まとめると、4つの試験されたADCを用いると、10 mg/kgの裸抗体の3回投与よりも、5 mg/kgの単回投与の処理でより効果的に腫瘍増殖を低減し、各ペイロード-リンカーによる抗腫瘍有効性が示された。これらの実験の結果を表31-1に要約する。

10

【0928】

【表15】

表31-1. B16-F10異種移植の結果。

20

処理(i.v.)	マウスの数/群	研究の終了時に<200 mm <sup>3</sup> の腫瘍を有するマウスの数
腫瘍が60~110 mm <sup>3</sup> に到達した際の2~7日目のTAPeDの単回5 mg/kg投与	6	2
腫瘍が60~110 mm <sup>3</sup> に到達した際の2~7日目のFLPeDの単回5 mg/kg投与	6	2
腫瘍が60~110 mm <sup>3</sup> に到達した際の2~7日目のCHPeDの単回5 mg/kg投与	6	2
腫瘍が60~110 mm <sup>3</sup> に到達した際の2~7日目のFLCPeMgの単回5 mg/kg投与	6	2
接種後2日目、7日目および12日目で3×10 mg/kgのTA99抗体	10	0
非処理	10	0

30

40

【0929】

実施例32, PNU-ADCのインビボ忍容性。

PNU-EDAリンカー-ペイロードとコンジュゲートしたADCの忍容性および安全性を、正常なC57BL/6Jマウスでテストした。8~10週齢のメスの若年成体マウスを、3匹のマウス/群(n=3)で使用した。適切な倫理委員会の承認にしたがって、TCDM/フィンランドのトゥルク大学の中央動物研究所で研究を実行した。動物の臨床徴候、体重および一般行動を定期的に観察した。群の平均体重の10%を超える低下または群のいずれかの動物における急性毒性のいずれかとして、用量制限毒性を観察した。最大耐量(MTD)を、用量制限毒性用量レベル未満の次の低用量として決定した。ADCを上述のように調製し、ADCの単回i.v.投与を研究の初日に行った。マウスは、用

50

量制限毒性が観察されなかった場合には、30日まで追跡された。20 mg/kgまたは30 mg/kgのTA99抗体ではいずれも毒性が観察されず、対照マウスの平均体重は、研究中に10%を超えて増加した。研究の結果を表32-1に示す。まとめると、ADCはインビボで、有効用量レベルで、またはそれより高いレベルで安全性を示し、そのため、有用な治療濃度域を示した。

【0930】

【表16】

表32-1. マウス忍容性研究の結果。

ADC	用量制限毒性用量レベル	MTD (最大耐量)
TAPeD	15 mg/kg	10 mg/kg
FLPeD	15 mg/kg	10 mg/kg
FLCPeMg	12.5 mg/kg	10 mg/kg
FLCPeMa	20 mg/kg	15 mg/kg
FLCPeMala	10 mg/kg	5 mg/kg
FLCPeMev	15 mg/kg	10 mg/kg
TRPeD	20 mg/kg	10 mg/kg

10

20

【0931】

実施例33. 抗CD33 ADCのインビボ有効性。

インビボ抗白血病異種移植有効性を、抗CD33 ADCのLNAuM (DAR = 8.0) およびGM AuM (DAR = 8.0) ならびに抗CD33抗体LNおよびGMについて評価した。HL-60急性骨髄性白血病(AML)細胞をATCCから取得し、メーカーの指示書にしたがって培養した。適切な倫理委員会の承認にしたがって、TCDM/フィンランドのトゥルク大学の中央動物研究所で研究を実行した。マウスへの接種のための細胞を、活発な指数増殖期で調製した。50%マトリゲル中の200万個の細胞を、各マウスの脇腹にs.c.で接種した(8~10週齢のメス胸腺欠損ヌードマウス)。動物の臨床徴候および一般行動を定期的に観察した。毒性の徴候は記録されなかった。研究の終了時、主要な臓器で潜在的な肉眼で見える変化についてマウスを調べたが、何も検出されなかった。腫瘍増殖は、触診により追跡された。キャリパー測定の後、腫瘍体積を0.5 x 長さ x 幅<sup>2</sup>にしたがって算出した。平均腫瘍体積が100 mm<sup>3</sup>に到達した場合に初回投与を行った。マウスを研究群に分割し、各処理群には5匹のマウス、対照群には8匹のマウスとし、各群は、サイズが異なる腫瘍が同程度に分布し、平均腫瘍体積は、各群で同程度であった(100~102 mm<sup>3</sup>)。PBS中の抗体またはADCのいずれかの10 mg/kgの静脈内(i.v.)処置を1回行った(単回の投与計画)が、対照群は処置を受けなかった。

30

40

【0932】

図6~図7は、研究の結果を示す。腫瘍は、30日間の追跡期間中に対照群およびGM処理群の両方で迅速に増大し、これらの両群において、実験終了前に腫瘍が増大したため、動物の一部を安楽死処分せざるを得なかった。LN処理群において、腫瘍増殖は、約20日間阻害され、その後、腫瘍はすべて徐々に増大し続けた。両ADC処置群において、腫瘍は実験中に再増殖することなく5匹のマウスすべて(5/5)において消失した(図6)。全群において、マウスの平均体重は実験中に増加し、体重における処理関連低下は検出されなかった(図7)。まとめると、LNAuMおよびGM AuM抗CD33 MM AU ADCは両方とも、効果的な抗癌および抗AML活性を示し、毒性は検出されな

50

った。

【0933】

投与後1日目、5日目および9日目に、化合物の全身曝露を追跡するために、血清試料(40 μlの血液からの)を処理群の各マウスならびに対照群の2匹のマウスから採取した。メーカーの指示書にしたがってFastELISAヒト免疫グロブリン定量キット(RD-Biotech)を使用するELISAにより血清試料中のADC濃度を分析した。結果を表15-1に示す。1日目~9日目に、LNAuMは、GMAuMよりも良好な全身曝露であったが、GMAuMは、LNAuMよりも9日までに循環からより迅速に排除された。

【0934】

【表17】

表15. 1. 平均ADC濃度±標準偏差としてμg/mlで表される、投与後1日目、5日目および9日目の血清試料中のADCの平均濃度(n=5)。AUC(1~9d)は、台形法により算出された、mg×日/Lでの1日目~9日目の曲線下の部分面積を示す。

	GMAuM	LNAuM
1日目	56.2±15.6	37.1±17.9
5日目	10.1±4.8	16.6±8.8
9日目	3.3±1.6	22.0±7.8
AUC(1-9d)	160	200

【図面】

【図1】

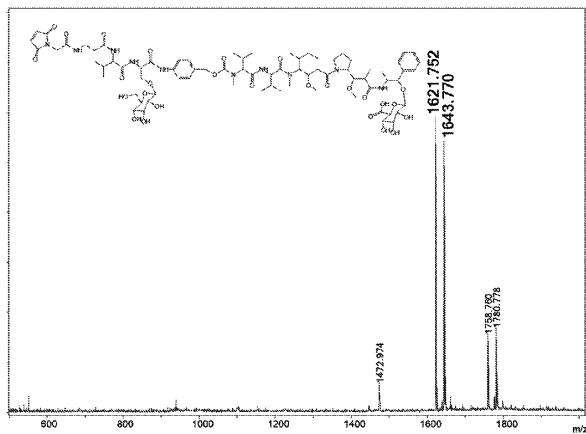
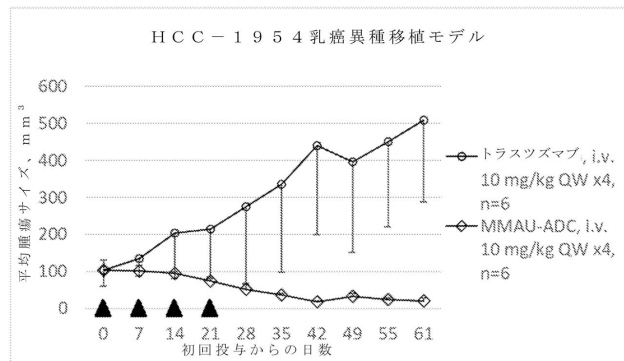


Figure 1

【図2】



10

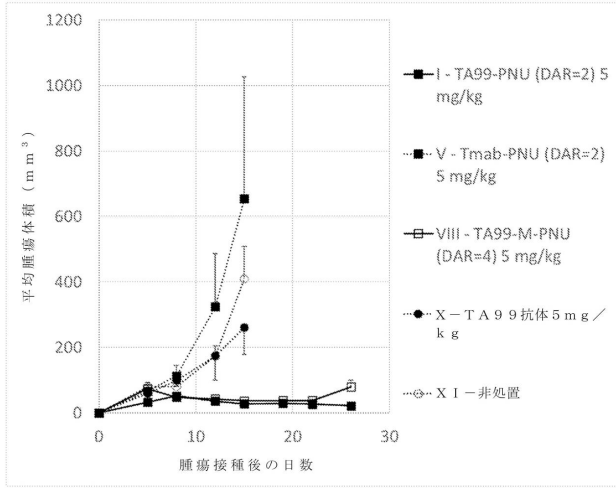
20

30

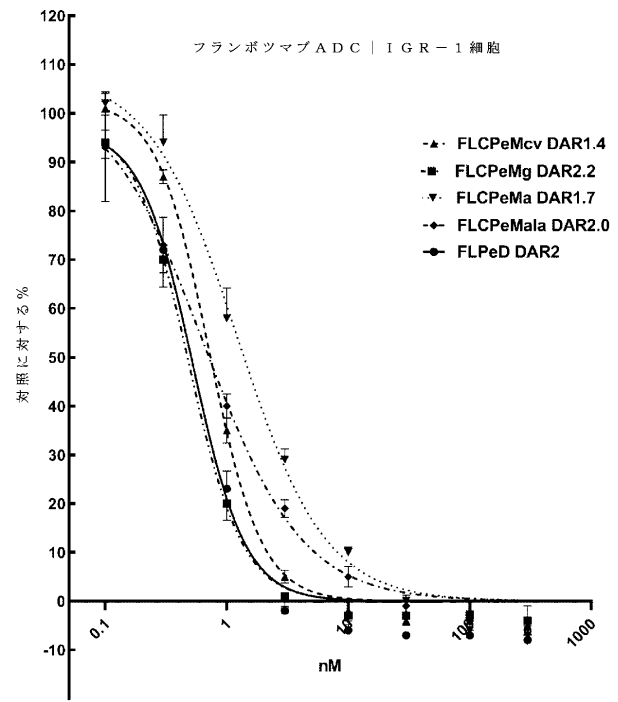
40

50

【 図 3 】



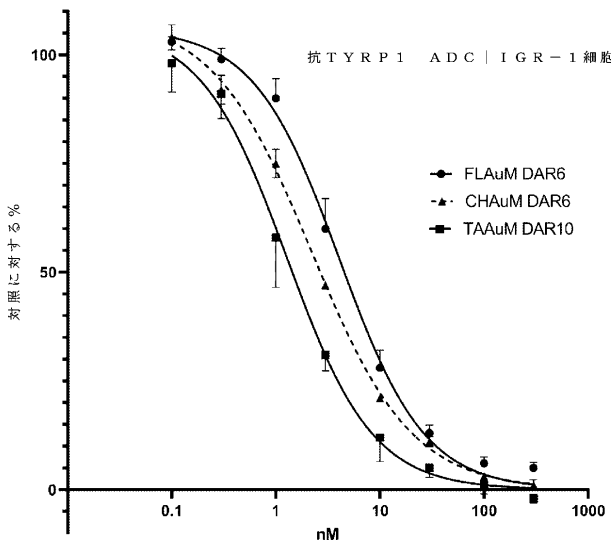
【 図 4 A 】



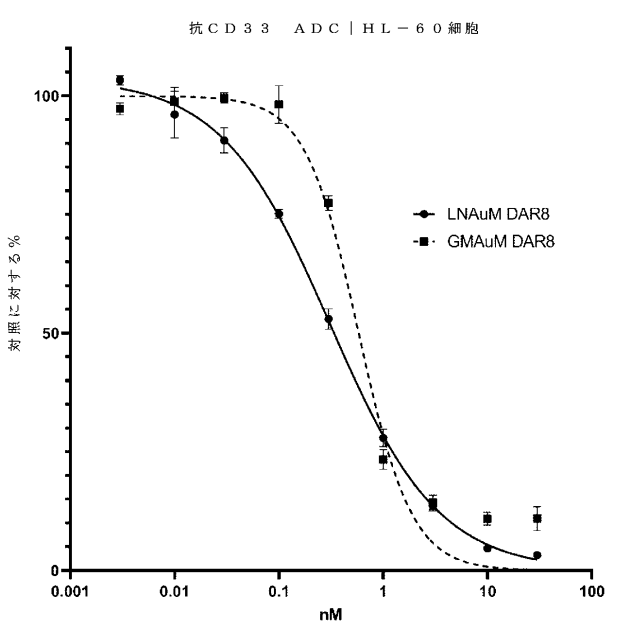
10

20

【 図 4 B 】



【 図 5 A 】

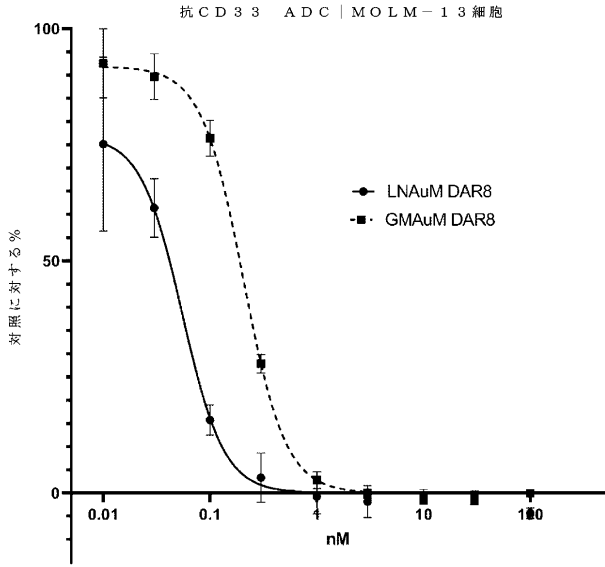


30

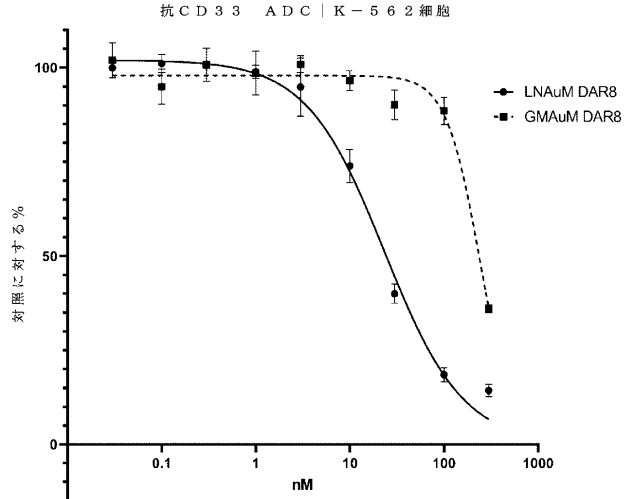
40

50

【 図 5 B 】

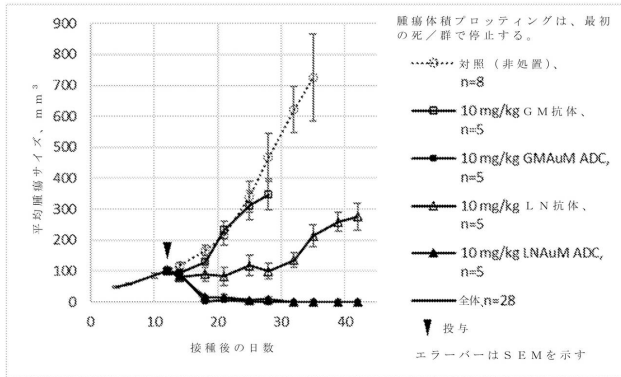


【 図 5 C 】

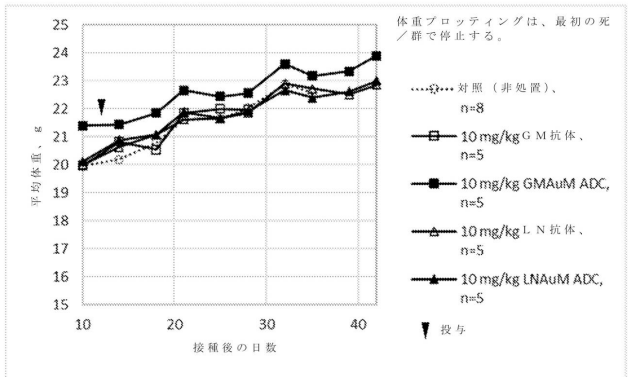


10

【 図 6 】



【 図 7 】



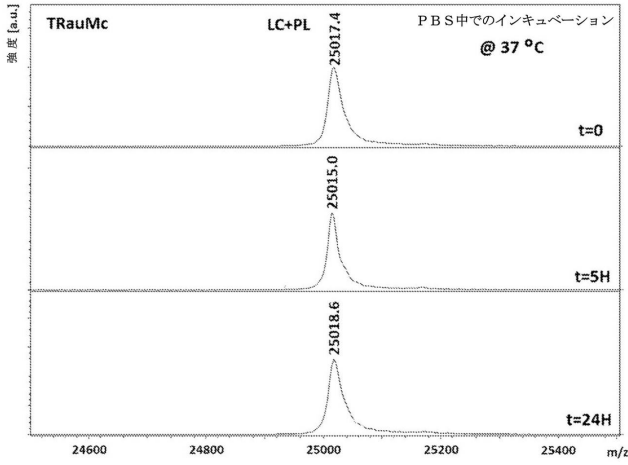
20

30

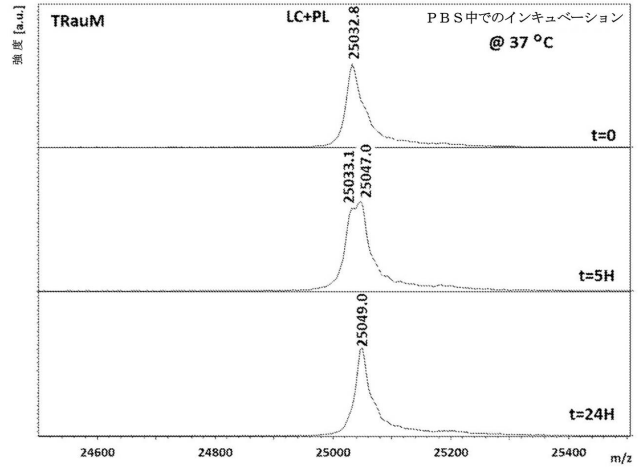
40

50

【 8 A 】

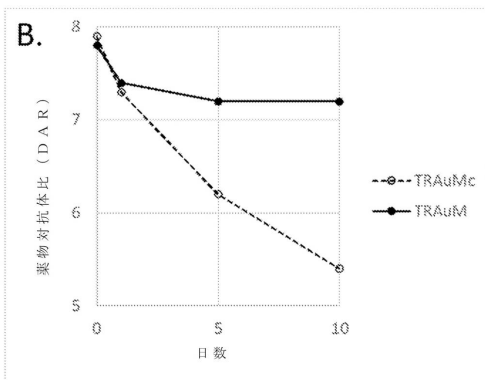
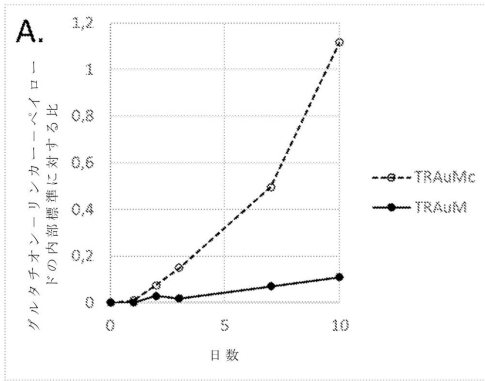


【 8 B 】



10

【 9 】



【 10 A 】

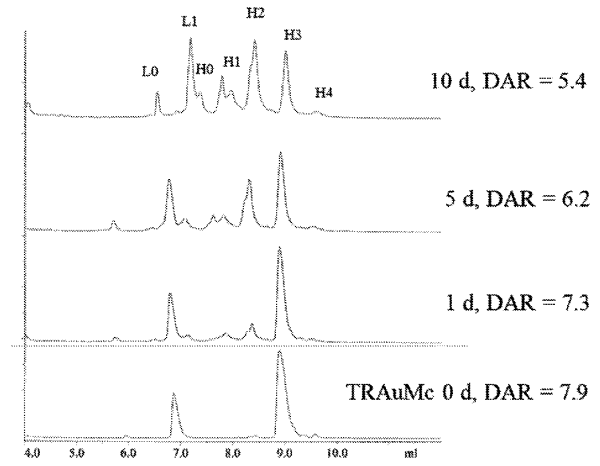


Figure 10 A

20

30

40

50



【 10 B】

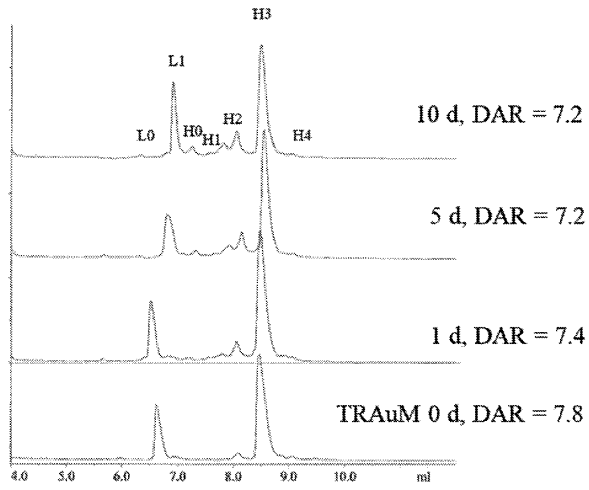


Figure 10 B

10

20

30

40

50

【 手続補正書 】

【 提出日 】 令和5年10月12日(2023.10.12)

【 手続補正1 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 配列表

【 補正方法 】 追加

【 補正の内容 】

【 配列表 】

2024506590000001.app

10

20

30

40

50

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/FI2022/050098

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
INV.	A61K47/68	A61K47/54
		A61P35/00
		C07K16/00
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
A61K C07K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HOLTE DANE ET AL: "Evaluation of PNU-159682 antibody drug conjugates (ADCs)", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 30, no. 24, 28 October 2020 (2020-10-28), XP086369889, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/J.BMCL.2020.127640 [retrieved on 2020-10-28] compounds 19,25,29 table 3 figure 3 abstract	1-3, 6, 7, 9-18, 22-24, 27-35, 37-39
	-----	-/--
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
28 April 2022	12/05/2022	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Bliem, Barbara	

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/FI2022/050098
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
X	<p>ROBERT P LYON ET AL: "Self-hydrolyzing maleimides improve the stability and pharmacological properties of antibody-drug conjugates", NATURE BIOTECHNOLOGY, vol. 32, no. 10, 1 October 2014 (2014-10-01), pages 1059-1062, XP055554600, New York ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/nbt.2968 compound 3 figure 1 page 1060, column 1</p> <p>-----</p>	<p>1-3, 6, 7, 9-18, 22-24, 27-35, 37-39</p>	10
X	<p>WO 2016/096610 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]) 23 June 2016 (2016-06-23)</p> <p>compounds F274, F291, F295, F306, F312 examples 274K, 291K, 295K, 306K, 312K claims 23-25</p> <p>-----</p>	<p>1-3, 6, 7, 9-18, 22-24, 27-35, 37-39</p>	20
X	<p>WO 2017/060322 A2 (BAYER PHARMA AG [DE]) 13 April 2017 (2017-04-13)</p> <p>compounds F4, F20 examples 4A, 20A claims 43-48</p> <p>-----</p>	<p>1-3, 6, 7, 9-18, 22-24, 27-35, 37-39</p>	
X	<p>WO 2017/162663 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]) 28 September 2017 (2017-09-28)</p> <p>compounds 5a, 9a, 9e, 46a, 47a, R5a, R5e, R5k, R9a, R9e, R9k claims 42-44</p> <p>-----</p>	<p>1-3, 6, 7, 9-18, 22-24, 27-35, 37-39</p>	30
X	<p>WO 2018/114578 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]; BAYER AG [DE]) 28 June 2018 (2018-06-28)</p> <p>scheme 3 compound Q7 examples 1, 7, R2 claims 42-44</p> <p>-----</p>	<p>1-3, 6, 7, 9-18, 22-24, 27-35, 37-39</p>	40
	----- -/--		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/FI2022/050098

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
X	<p>WO 2021/013693 A1 (BAYER PHARMA AG [DE]; BAYER AG [DE]) 28 January 2021 (2021-01-28)</p> <p>page 417, intermediate 85; page 463, example 42A; page 417, intermediate 85; page 425, intermediate 91; page 426, intermediate 92; page 463, example 42A; page 482-483 example 49A; pages 483-484 examples 50B, 50D, 50Aa, 50Ab claims 39-41</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	<p>1-3, 6, 7, 9-18, 22-24, 27-35, 37-39</p>	10
X	<p>WO 2018/234636 A1 (GLYKOS FINLAND OY [FI]) 27 December 2018 (2018-12-27) cited in the application</p>	<p>1-19, 22-24, 27-35, 37-39</p>	20
A	<p>claims 1-4, 18 examples 2, 3, 5, 8-10 page 55, lines 6-9</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	<p>20, 21, 25, 26, 36</p>	

4

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FI2022/050098

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016096610	A1	23-06-2016	CA 2970565 A1 23-06-2016
			CN 107635586 A 26-01-2018
			EP 3233127 A1 25-10-2017
			JP 6743015 B2 19-08-2020
			JP 2018502844 A 01-02-2018
			US 2018015176 A1 18-01-2018
			WO 2016096610 A1 23-06-2016
-----			
WO 2017060322	A2	13-04-2017	NONE
-----			
WO 2017162663	A1	28-09-2017	AU 2017236431 A1 27-09-2018
			BR 112018069483 A2 30-07-2019
			CA 3018630 A1 28-09-2017
			CL 2018002699 A1 18-01-2019
			CN 108883195 A 23-11-2018
			CO 2018010026 A2 28-09-2018
			EP 3432934 A1 30-01-2019
			JP 2019512517 A 16-05-2019
			KR 20180123047 A 14-11-2018
			PE 20181852 A1 03-12-2018
			RU 2018136778 A 24-04-2020
			SG 10202008909V A 29-10-2020
			SG 11201808167V A 30-10-2018
			TW 201735954 A 16-10-2017
			US 2019077752 A1 14-03-2019
			UY 37168 A 31-10-2017
			WO 2017162663 A1 28-09-2017
-----			
WO 2018114578	A1	28-06-2018	AR 110418 A1 27-03-2019
			AU 2017380871 A1 11-07-2019
			BR 112019012883 A2 26-11-2019
			CA 3047489 A1 28-06-2018
			CN 110312534 A 08-10-2019
			EP 3558388 A1 30-10-2019
			JP 2020506883 A 05-03-2020
			KR 20190099246 A 26-08-2019
			PE 20191235 A1 11-09-2019
			RU 2019122802 A 22-01-2021
			TW 201827086 A 01-08-2018
			US 2019328897 A1 31-10-2019
			US 2022016258 A1 20-01-2022
			WO 2018114578 A1 28-06-2018
-----			
WO 2021013693	A1	28-01-2021	NONE
-----			
WO 2018234636	A1	27-12-2018	AU 2018287171 A1 21-11-2019
			CA 3063325 A1 27-12-2018
			CN 111065416 A 24-04-2020
			EP 3641824 A1 29-04-2020
			JP 2020525404 A 27-08-2020
			KR 20200017391 A 18-02-2020
			US 2020323995 A1 15-10-2020
			WO 2018234636 A1 27-12-2018
-----			

## フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 K 31/5365 (2006.01)	A 6 1 K 31/5365	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	

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

弁理士 三好 玲奈

(74)代理人 100191086

弁理士 高橋 香元

(72)発明者 サーリネン, ユハニ

フィンランド国, 0 0 3 7 0 ヘルシンキ, エルヤクセンポルク 3

(72)発明者 サトマー, テロ

フィンランド国, 0 0 7 0 0 ヘルシンキ, ビルヴェンピョルティーンティエ 1 9 エー

(72)発明者 ピノネン, ヘンナ

フィンランド国, 0 1 7 0 0 バンター, マイトルバンクルマ 3 アズ 8

(72)発明者 アイティオ, オリ

フィンランド国, 0 0 3 3 0 ヘルシンキ, ドセンティンティエ 5 エー 1 7

F ターム (参考) 4C076 AA95 CC27 EE41 EE59

4C085 AA14 BB01 CC23

4C086 AA01 AA02 CB22 MA02 MA05 NA13 ZB26 ZB27

4H045 AA10 AA30 BA13 BA72 CA40 DA76 EA20 FA10 FA74