

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)公開番号

特開2023-116821

(P2023-116821A)

(43)公開日 令和5年8月22日(2023.8.22)

(51)国際特許分類	F I	
A 6 1 K 47/60 (2017.01)	A 6 1 K 47/60	Z N A
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 K 38/05 (2006.01)	A 6 1 K 38/05	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	E
審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全247頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2023-104167(P2023-104167)	(71)出願人	505314468
(22)出願日	令和5年6月26日(2023.6.26)		シージェン インコーポレイテッド
(62)分割の表示	特願2022-5005(P2022-5005)の分割		アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 2 1
原出願日	平成26年10月14日(2014.10.14)		, ボセル, エス.イー., 3 0 ティー
(31)優先権主張番号	61/891,320	(74)代理人	100078282
(32)優先日	平成25年10月15日(2013.10.15)		弁理士 山本 秀策
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100113413
(31)優先権主張番号	61/941,904		弁理士 森下 夏樹
(32)優先日	平成26年2月19日(2014.2.19)	(72)発明者	ロバート ライオン
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 2 1
(31)優先権主張番号	61/947,742	(72)発明者	パトリック バーク
(32)優先日	平成26年3月4日(2014.3.4)		アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 2 1
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 改善されたリガンド - 薬物コンジュゲート薬物動態のための P E G 化薬物 - リンカー

(57)【要約】

【課題】本発明は、薬物単位に対して並列配向である P E G 単位を含むリガンド - 薬物コンジュゲートを提供する。

【解決手段】本発明は、とりわけ、リガンド - 薬物コンジュゲート (L D C)、これらを調製および使用する方法、ならびにその中間体を提供する。リガンド - 薬物コンジュゲートは循環中は安定的であるが、その薬物カーゴが、標的とした細胞の近傍においてまたは標的とした細胞内で放出されると、標的とした細胞に対して細胞死をもたらす、または標的とした細胞の増殖を阻害することができる。主要な実施形態では、本発明の L D C は、式 I の構造によって表される。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

薬物動態。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の引用

本非仮出願は、米国特許法第119条第(e)項のもとで、米国出願第61/891,320号(2013年10月15日出願)、同第61/941,904号(2014年2月19日出願)、同第61/947,742号(2014年3月4日出願)、および同第61/975,318号(2014年4月4日出願)に対する優先権を主張する。これらの出願の全ては、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【0002】

配列表

2014年10月9日に作成された、13KBの2700-00114PC-ST25.txtの名称の配列表は、本明細書中に参考として援用される。

【背景技術】

【0003】

がん細胞への細胞毒性剤の標的化送達のためのモノクローナル抗体(mAb)の使用について多大な関心が寄せられてきた。典型的にはリンカーを介して抗体に細胞毒性剤を結合させることによる抗体薬物コンジュゲートの設計は、種々の要因を考慮することが関与している。これらの要因には、細胞毒性剤のコンジュゲーションのための化学基のアイデンティティおよび場所、薬剤放出の機序、細胞毒性剤の放出を実現する構造的要素(複数可)(存在する場合)、ならびに放出された遊離薬剤の構造的修飾(存在する場合)が含まれる。さらに、細胞毒性剤が抗体の内部移行の後に放出される場合、構造的要素、および薬剤放出の機序は、コンジュゲートの細胞内輸送と一致しなければならない。

【0004】

いくつかの異なる薬物クラスが抗体を介した送達について評価されてきた一方、僅かな薬物クラスのみが、臨床開発を正当化する適切な毒性プロファイルを有する一方で、抗体薬物コンジュゲートとして十分に活性であることが証明されてきた。1つのこのようなクラスは、天然物であるドラスタチン10と関連するアウリスタチンである。代表的なアウリスタチンは、MMAE(N-メチルバリン-バリン-ドライソロイシン(dolaisoleuine)-ドラプロリン(dolaproine)-ノルエフェドリン)およびMMAF(N-メチルバリン-バリン-ドライソロイシン-ドラプロリンフェニルアラニン)を含む。

【0005】

MMAEは遊離薬物として活性である細胞毒性剤の一例であり、モノクローナル抗体(mAb)にコンジュゲートしたとき高度に強力であり、細胞中への内部移行後に放出される。MMAEは、マレイミドカプロイル-バリン-シトルリン(mc-vc-)および自壊的基p-アミノベンジル-カルバモイル(PABC)を含有するカテプシンBによって切断可能なペプチドをベースとするリンカーを介してMMAEのN末端アミノ酸においてmAbに首尾よくコンジュゲートされて、下記の構造、mAb-(mc-vc-PABC-MMAE)_pの抗体薬物コンジュゲートが生成されてきた。(先の式において、pは、抗体当たりの(mc-vc-PABC-MMAE)単位の数を目指す。)vcペプチドおよび自壊的PABC基の間の結合の切断によって、PABC基はMMAEから放出され、遊離MMAEを遊離させる。

【0006】

別のアウリスタチンであるMMAFは、(MMAEと比較して)遊離薬物として相対的に活性が低い、抗体にコンジュゲートし、細胞中に内部移行されると、高度に強力である。MMAFは、マレイミドカプロイル-バリン-シトルリン(mc-vc-)および自

壊的基 p - アミノベンジル - カルバモイル (P A B C) を含有するカテプシン B によって切断可能なペプチドをベースとするリンカーを介して M M A F の N 末端アミノ酸においてモノクローナル抗体 (m A b) に首尾よくコンジュゲートされて、構造、 m A b - (m c - v c - P A B C - M M A F)_p (式中、 p は、抗体当たりの (m c - v c - P A B C - M M A F) 単位の数を指す) の抗体 - 薬物コンジュゲートが生成されてきた。ペプチドリリンカーの切断によって、自壊的 P A B C 基は M M A F から放出され、遊離 M M A F を遊離させる。

【 0 0 0 7 】

M M A F はまた、薬物 - リンカーであるマレイミドカプロイル M M A F (m c M M A F) を含有する切断可能でないコンジュゲートとして活性であることが見出された。このコンジュゲートである m A b - (m c M M A F)_p が細胞中に内部移行されたとき、放出される活性種は c y s - m c M M A F である。リンカーは切断可能でないため、マレイミドカプロイルおよび抗体のシステイン残基は、M M A F の N 末端に結合したままである。M M A F はまた、その C 末端アミノ酸であるフェニルアラニンにおいてペプチド - マレイミドカプロイルリンカーへと結合している C 末端コンジュゲートとして活性であることが報告された。このコンジュゲート (M M A F - ペプチド - m c)_p - m A b が細胞中に内部移行されたとき、M M A F (フェニルアラニン) - ペプチド結合の切断に続いて、活性種 M M A F が放出される。

10

【 0 0 0 8 】

動物モデルにおいて、これらの M M A E コンジュゲートおよび M M A F コンジュゲートは、薬物動態特性において薬物負荷量 (d r u g l o a d i n g) 依存的な減少を示した。特に、各抗体へと結合している薬物 - リンカー単位の数が増加すると、コンジュゲートの P K は減少した。

20

したがって、コンジュゲートの設計における別の重要な要因は、標的化薬剤当たり送達することができる薬物の量である (すなわち、各標的化薬剤 (例えば、抗体) へと結合している細胞毒性剤の数であり、薬物負荷 (d r u g l o a d) または薬物負荷量と称される) 。歴史的に、より高い薬物負荷はより低い薬物負荷より優れている (例えば、8 負荷対 4 負荷) という仮説があった。より高く負荷されたコンジュゲートは標的とした細胞により多くの薬物 (細胞毒性剤) を送達するという理論的解釈があった。この理論的解釈は、より高い薬物負荷量を有するコンジュゲートが *i n v i t r o* で細胞系に対してより活性であったという観察によって支持された。しかし、その後のある特定の研究により、この仮説が動物モデルにおいて確認されなかったことが明らかにされた。ある特定のアウリスタチンの 4 または 8 の薬物負荷を有するコンジュゲートは、マウスモデルにおいて同様の活性を有することが観察された。H a m b l e t t ら、C l i n i c a l C a n c e r R e s . 、 1 0 巻 : 7 0 6 3 ~ 7 0 頁 (2 0 0 4 年) 。 H a m b l e t t らは、より高く負荷された A D C が動物モデルにおいて循環からより急速にクリアランスされたことをさらに報告した。このより速いクリアランスは、より低く負荷された種と比較した、より高く負荷された種についての P K の傾向を示唆した。H a m b l e t t ら。さらに、より高く負荷されたコンジュゲートは、マウスにおいてより低い M T D を有し、結果として、報告されたより狭い治療指数を有した。同上。対照的に、モノクローナル抗体の操作された部位に 2 の薬物負荷量を有する A D C は、ある特定の 4 負荷された A D C と比較して同じまたはより良好な P K および治療指数を有することが報告された。例えば、J u n u t u l a ら、C l i n i c a l C a n c e r R e s . 、 1 6 巻 : 4 7 6 9 頁 (2 0 1 0 年) を参照されたい。それゆえ、最近の傾向は、低い薬物負荷量を有する A D C を開発することである。

30

40

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

【 0 0 0 9 】

【 非特許文献 1 】 H a m b l e t t ら、C l i n i c a l C a n c e r R e s . 、 1 0 巻 : 7 0 6 3 ~ 7 0 頁 (2 0 0 4 年)

50

【非特許文献2】Junutulaら、Clinical Cancer Res.、16巻：4769頁（2010年）

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0010】

したがって、より高い薬物負荷量を可能とするが、より低く負荷されたコンジュゲートの他の特徴、例えば、好ましいPK特性を維持する、抗体薬物コンジュゲートの型（format）（およびより一般に、他のコンジュゲートのための型）が必要とされている。驚いたことに、本発明は、これらの必要性に取り組む。

例えば、本発明は以下の項目を提供する。

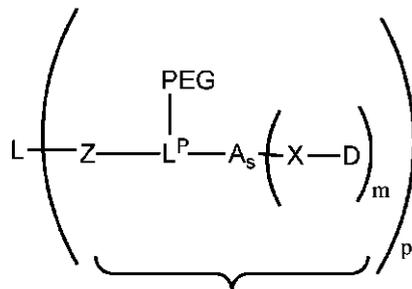
（項目1）

リガンド単位、および前記リガンド単位に共有結合的に結合した1個または複数のリンカー-薬物部分を含み、各リンカー-薬物部分は、1個または複数の薬物単位へと各薬物単位についての放出可能なアセンブリ単位の媒介によって前記リガンド単位を接続し、かつ各リンカー-薬物部分の前記薬物単位に対して並列配向でポリエチレングリコール単位を接続する、並列コネクター単位を含み、前記放出可能なアセンブリ単位は、前記リガンド単位によって標的とされる標的部位に近接して遊離薬物を放出することができ、前記リンカー-薬物部分は、リガンド-薬物コンジュゲートへの1~32個の薬物単位の負荷量を実現する、リガンド-薬物コンジュゲート化合物。

（項目2）

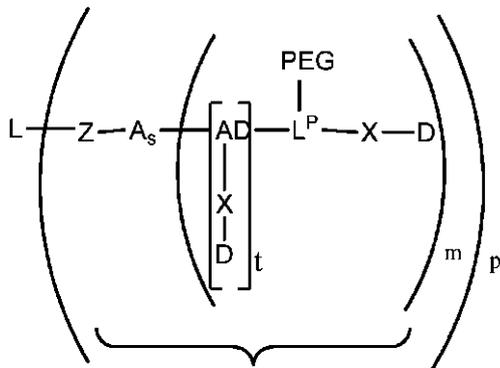
前記リガンド-薬物が、式（I）、（II）、または（III）によって表される構造

【化177-1】



薬物-リンカー

(I)



薬物-リンカー

(II)

10

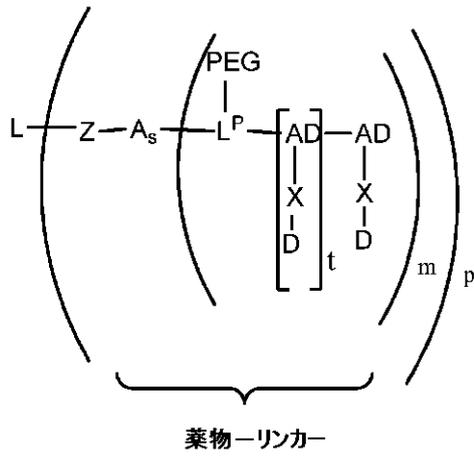
20

30

40

50

【化 1 7 7 - 2】



10

を有するかまたは薬学的に許容されるその塩であり、式中、

L は、リガンド単位であり、

D は、薬物単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z は、ストレッチャー単位であり、

X は、放出可能なアセンブリ単位であり、

L^P は、並列コネクター単位であり、

A は、任意選択の分岐単位であり、

AD は、薬物結合単位であり、

下付き文字 p は、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12 (好ましくは 6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 14 または 8 ~ 12) の範囲の整数であり、

下付き文字 t は、0 ~ 8、好ましくは 0、1、2 または 3 であり、

下付き文字 m は、1 ~ 4 の範囲の整数、好ましくは 1 または 2 であり、

下付き文字 s は、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は 2、3 または 4 である、項目 1 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

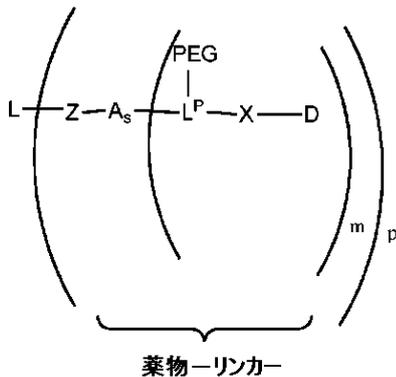
20

30

(項目 3)

前記リガンド - 薬物コンジュゲートが、構造、

【化 1 7 8】



40

によって表されるかまたは薬学的に許容されるその塩である、項目 2 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 4)

下付き文字 s が、0 である、項目 2 または 3 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化

50

合物。

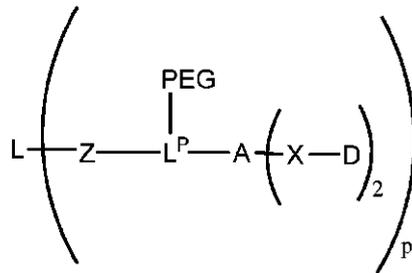
(項目5)

下付き文字 s が、1であり、下付き文字 m が、2、3または4である、項目2または3に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

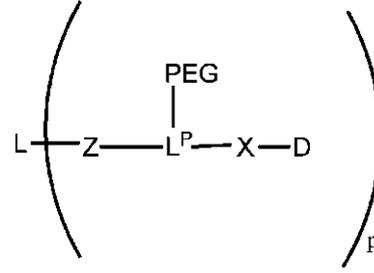
(項目6)

前記リガンド-薬物コンジュゲートが、式I a、I b、II a、II b、II b、II I a、またはII I b、

【化179-1】

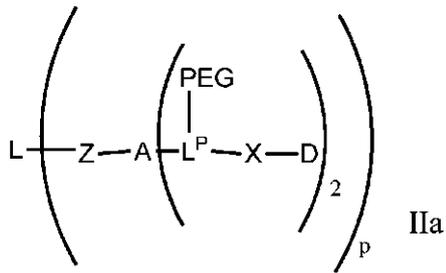


Ia

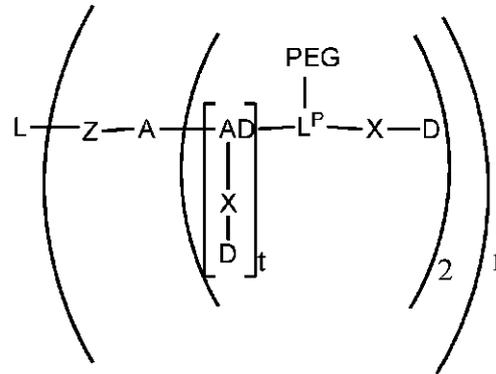


Ib

10



IIa



IIb

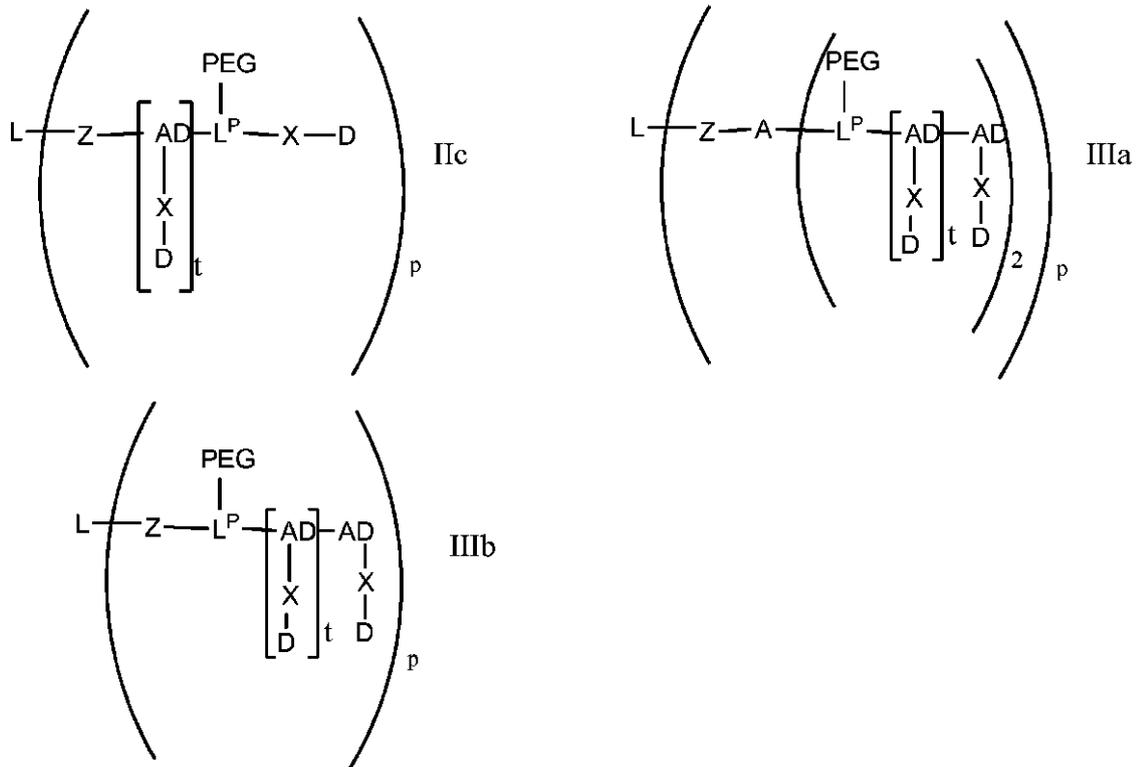
20

30

40

50

【化 1 7 9 - 2】



10

20

または薬学的に許容されるその塩によって表される構造を有する、項目 2 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 7)

各並列コネクター単位 (LP) が、アミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒドまたはポリアミンを含む、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

30

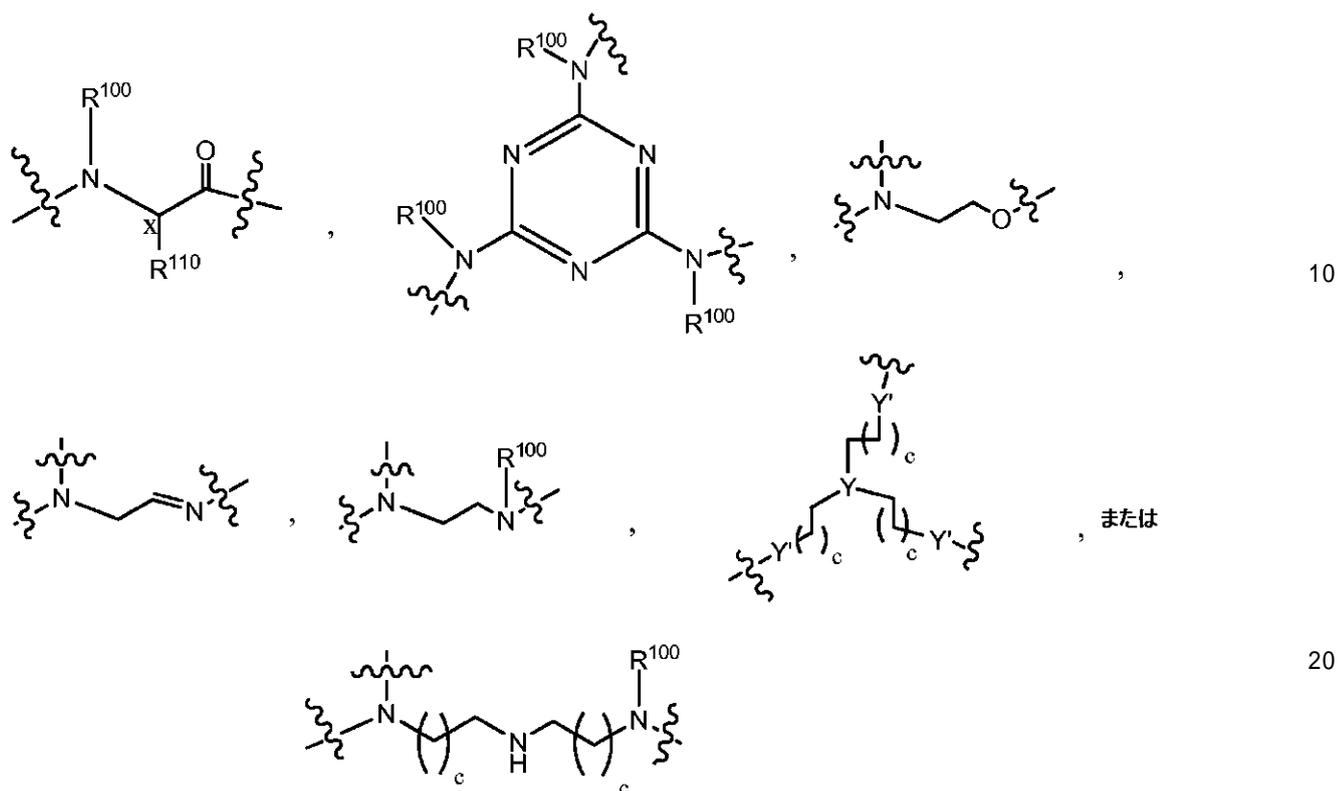
(項目 8)

各並列コネクター (LP) 単位が、構造、

40

50

【化 1 8 0】



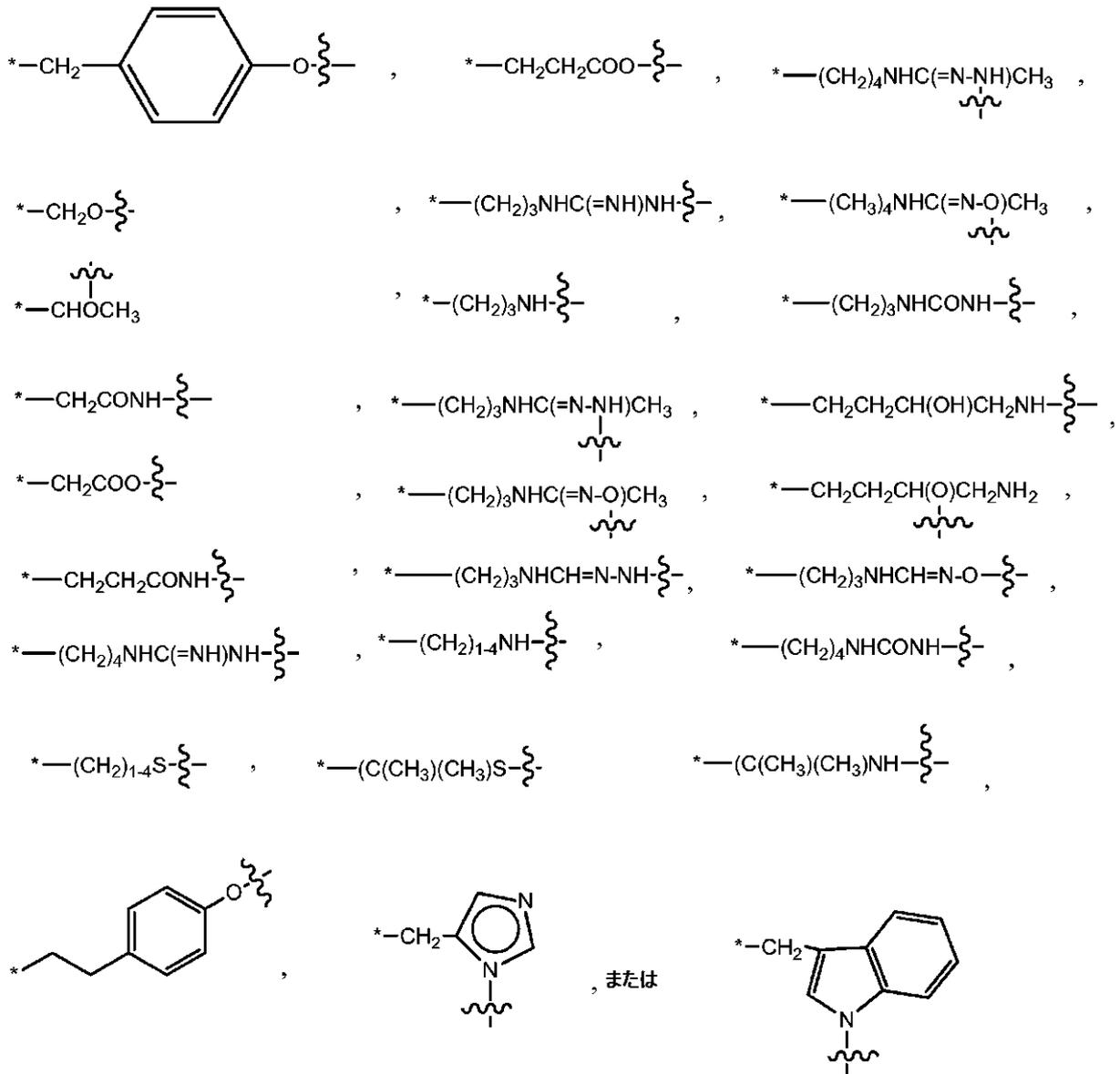
を独立で有し、式中、波線は、前記リガンド - 薬物コンジュゲート内の L^P の共有結合による結合部位を示し、 R^{110} は、

30

40

50

【化 1 8 1】



10

20

30

であり、式中、アスタリスクは、x と標識されている炭素への前記 R^{1 1 0} 部分の共有結合による結合を示し、前記 R^{1 1 0} 部分中の波線は、前記リガンド - 薬物部分内の L^P の前記 3 個の結合部位の 1 つを示し、

各 R^{1 0 0} は、水素または -C₁ ~ C₃ アルキル、好ましくは H または CH₃ から独立に選択され、

Y は、N または CH から独立に選択され、

各 Y' は、NH、O、または S から独立に選択され、

下付き文字 c は、1 ~ 10 の範囲の整数、好ましくは 1、2、または 3 から独立に選択される、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

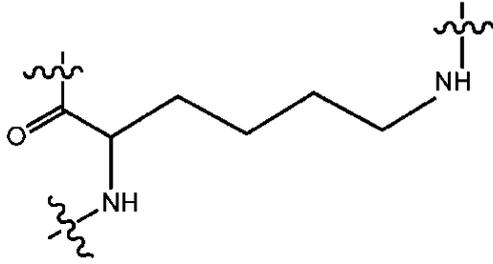
(項目 9)

各並列コネクター (L^P) 単位が、構造が下記の式、

40

50

【化 1 8 2】

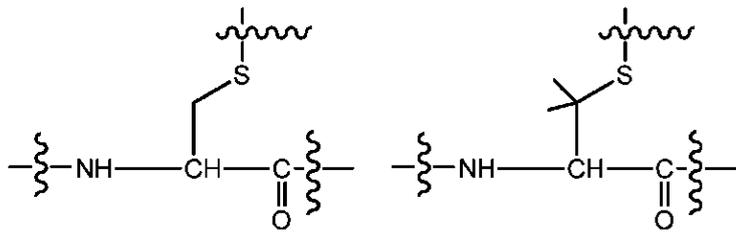


に示すような D / L - リシンに対応し、式中、波線は、前記リガンド - 薬物コンジュゲート内の L^P の共有結合による結合部位を示す、項目 7 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 1 0)

各並列コネクター (L^P) 単位が、構造が下記の式

【化 1 8 3】

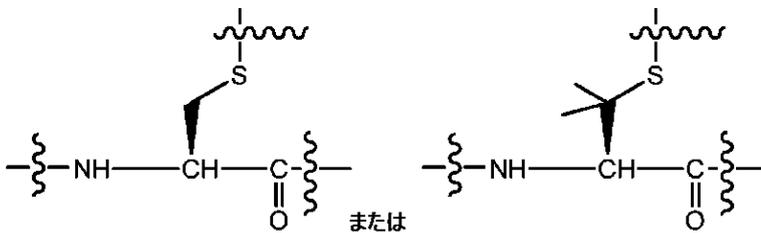


に示すような D / L - システインまたは D / L - ペニシラミンに対応し、式中、波線は、前記リガンド - 薬物コンジュゲート内の L^P の共有結合による結合部位を示す、項目 7 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 1 1)

各並列コネクター (L^P) 単位が、

【化 1 8 4】

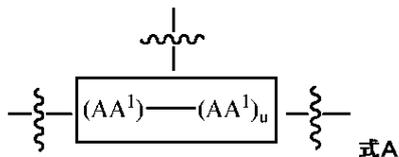


の構造を有し、式中、硫黄原子に隣接する波線は、放出可能なアセンブリー単位への共有結合による結合を示す、項目 1 0 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 1 2)

各並列コネクター (L^P) 単位の構造が、式 A、

【化 1 8 5】



によって独立に表され、式中、

A A¹ は、アミノ酸、任意選択で置換されている C₁ - 2 0 ヘテロアルキレン (好ましく

10

20

30

40

50

は任意選択で置換されている C_{1-12} ヘテロアルキレン)、任意選択で置換されている C_{3-8} ヘテロシクロ、任意選択で置換されている C_{6-14} アリーレン、または任意選択で置換されている C_{3-8} カルボシクロから独立に選択され、

下付き文字 u は、 $0-4$ から独立に選択される整数であり、各 L^P 単位の少なくとも 1 個の AA^1 は、PEG、AD、A または Z 単位または X-D 部分への結合部位を提供する官能化側鎖を有し、

波線は、前記リガンド-薬物コンジュゲート内の L^P の前記共有結合による結合部位を示す、項目 2 から 6 のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目 13)

各並列コネクター単位 (L^P) の各 AA^1 が、独立に選択したアミノ酸であり、あるいは任意選択で置換されている C_{1-20} ヘテロアルキレン、任意選択で置換されている C_{3-8} ヘテロシクロ、任意選択で置換されている C_{6-14} アリーレン、または任意選択で置換されている C_{3-8} カルボシクロであり、ただし、 AA^1 の 2 つ以下は、任意選択で置換されている C_{1-20} ヘテロアルキレン、任意選択で置換されている C_{3-8} ヘテロシクロ、任意選択で置換されている C_{6-14} アリーレン、または任意選択で置換されている C_{3-8} カルボシクロである、項目 12 に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

10

(項目 14)

A が存在するとき、各 A が、 $1-10$ 個のアミノ酸、アミノアルコールまたはアミノアルデヒドもしくはポリアミン、または互いに共有結合しているこれらの組合せである、項目 2 から 13 のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

20

(項目 15)

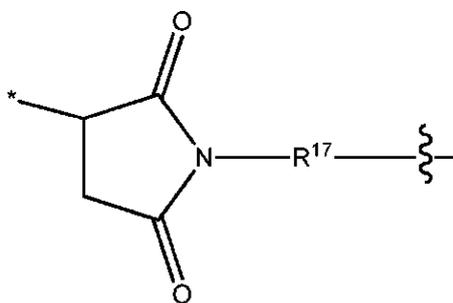
AD が存在するとき、各 AD が、 $1-10$ 個の独立に選択したアミノ酸またはアミノアルコールまたはアミノアルデヒドもしくはポリアミン、または互いに共有結合しているこれらの組合せである、項目 2 から 14 のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目 16)

Z が、

【化 186】

30



の構造を有し、式中、 R^{17} は、 $-(CH_2)_5C(=O)-$ であり、アスタリスクは、前記リガンド単位への各 Z の共有結合による結合を示し、波線は、前記リガンド-薬物コンジュゲート内のリンカー-薬物部分の残部への各 Z の共有結合による結合を示す、項目 2 から 15 のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

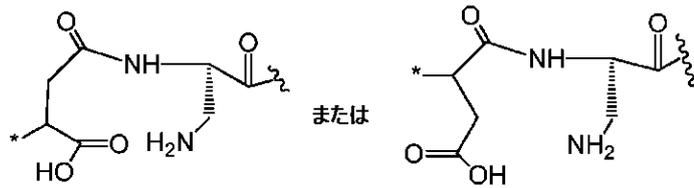
40

(項目 17)

Z が、

50

【化 1 8 7】



10

の構造を有し、式中、アスタリスクは、前記リガンド単位への各 Z の結合を示し、波線は、前記リガンド - 薬物コンジュゲート内のリンカー - 薬物部分の残部への各 Z の共有結合による結合を示す、項目 2 から 1 5 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 1 8)

下付き文字 t が、0、1 または 2 である、項目 2 から 1 7 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 1 9)

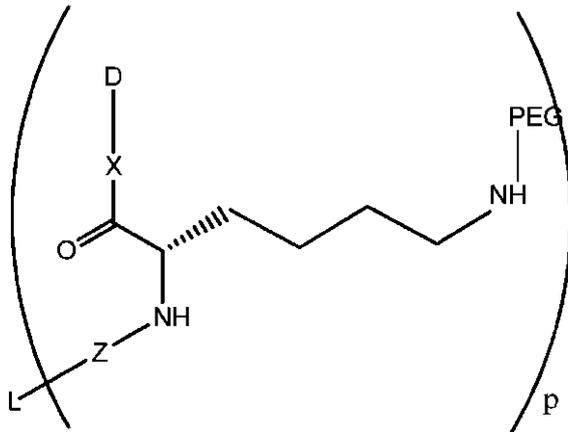
下付き文字 p が、6 ~ 1 4 の範囲の整数である、項目 2 から 1 8 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

20

(項目 2 0)

前記リガンド - 薬物コンジュゲートが、

【化 1 8 8】



30

の構造によって表されるまたは薬学的に許容されるその塩である、項目 2、1 6、または 1 7 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 2 1)

前記リガンド単位に結合した 6 ~ 3 2 個または 8 ~ 3 2 個の薬物単位が存在する、項目 1 から 1 8 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

40

(項目 2 2)

PEG が、約 7 2 個以下の (OCH₂CH₂) サブ単位、好ましくは約 3 6 個以下の (OCH₂CH₂) サブ単位を含む、項目 1 から 2 1 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 2 3)

PEG が、合計 8 ~ 7 2 個、8 ~ 6 0 個、8 ~ 4 8 個、8 ~ 3 6 個もしくは 8 ~ 2 4 個の (OCH₂CH₂) サブ単位、1 0 ~ 7 2 個、1 0 ~ 6 0 個、1 0 ~ 4 8 個、1 0 ~ 3 6 個もしくは 1 0 ~ 2 4 個の (OCH₂CH₂) サブ単位、または 1 2 ~ 7 2 個、1 2 ~ 6 0 個、1 2 ~ 4 8 個、1 2 ~ 3 6 個もしくは 1 2 ~ 2 4 個の (OCH₂CH₂) サブ単

50

位を含む、項目 1 から 2 3 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

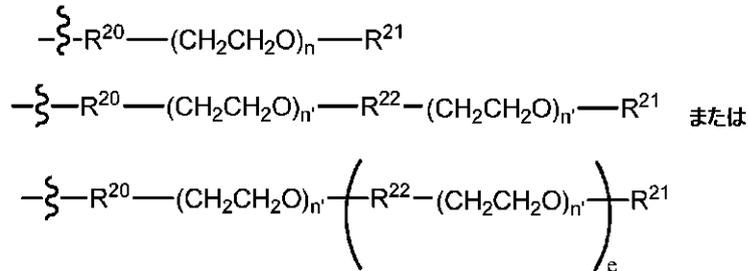
(項目 2 4)

前記 P E G 単位が、1 個または複数の直鎖状 P E G 鎖を含む、項目 1 から 2 3 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 2 5)

前記 P E G 単位が、

【化 1 8 9】



10

の構造を有し、式中、波線は、前記並列コネクタ単位への前記 P E G 単位の結合の部位を示し、

20

R^{20} は、P E G 結合単位であり、

R^{21} は、P E G キャッピング単位であり、

R^{22} は、P E G カップリング単位であり、

n は、4 ~ 7 2、好ましくは 6 ~ 7 2、8 ~ 7 2、1 0 ~ 7 2 または 1 2 ~ 7 2 から独立に選択され、

e は、2 ~ 5 であり、

各 n' は、1 ~ 7 2 から独立に選択され、ただし、前記 P E G 単位において、少なくとも 4 個、好ましくは少なくとも 6 個、少なくとも 8 個、少なくとも 1 0 個、または少なくとも 1 2 個の P E G (O C H 2 C H 2) サブ単位が存在する、項目 1 から 2 1 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

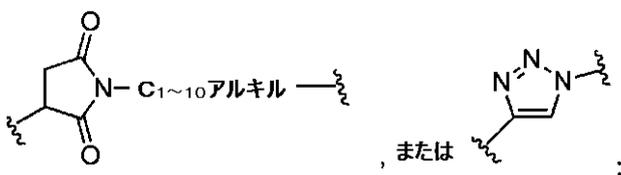
30

(項目 2 6)

R^{20} が、- C (O) -、- O -、- S -、- S (O) -、- N H -、- C (O) O -、- C (O) C 1 ~ 1 0 アルキル、- C (O) C 1 ~ 1 0 アルキル - O -、- C (O) C 1 ~ 1 0 アルキル - C O 2 -、- C (O) C 1 ~ 1 0 アルキル - N H -、- C (O) C 1 ~ 1 0 アルキル - S -、- C (O) C 1 ~ 1 0 アルキル - C (O) - N H -、- C (O) C 1 ~ 1 0 アルキル - N H - C (O) -、- C 1 ~ 1 0 アルキル、- C 1 ~ 1 0 アルキル - O -、- C 1 ~ 1 0 アルキル - C O 2 -、- C 1 ~ 1 0 アルキル - N H -、- C 1 ~ 1 0 アルキル - S -、- C 1 ~ 1 0 アルキル - C (O) - N H -、- C 1 ~ 1 0 アルキル - N H - C (O) -、- C H 2 C H 2 S O 2 - C 1 ~ 1 0 アルキル -、- C H 2 C (O) - C 1 ~ 1 0 アルキル -、= N - (O または N) - C 1 ~ 1 0 アルキル - O -、= N - (O または N) - C 1 ~ 1 0 アルキル - N H -、= N - (O または N) - C 1 ~ 1 0 アルキル - C O 2 -、= N - (O または N) - C 1 ~ 1 0 アルキル - S -、

40

【化 1 9 0】



であり、

50

各 R^{21} が、独立に、 $-C_{1\sim 10}$ アルキル、 $-C_{2\sim 10}$ アルキル- CO_2H 、 $-C_{2\sim 10}$ アルキル- OH 、 $-C_{2\sim 10}$ アルキル- NH_2 、 $C_{2\sim 10}$ アルキル- $NH(C_{1\sim 3}$ アルキル)、または $C_{2\sim 10}$ アルキル- $N(C_{1\sim 3}$ アルキル) $_2$ であり、
各 R^{22} が、独立に、 $-C_{1\sim 10}$ アルキル- $C(O)-NH-$ 、 $-C_{1\sim 10}$ アルキル- $NH-C(O)-$ 、 $-C_{2\sim 10}$ アルキル- $NH-$ 、 $-C_{2\sim 10}$ アルキル- $O-$ 、 $-C_{1\sim 10}$ アルキル- $S-$ 、または $-C_{2\sim 10}$ アルキル- $NH-$ である、項目 25 に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目 27)

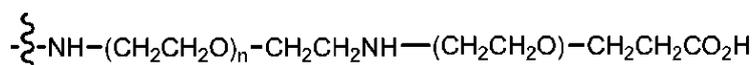
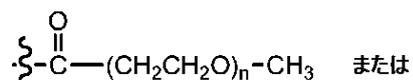
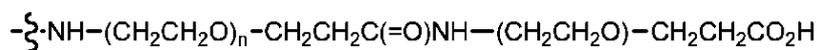
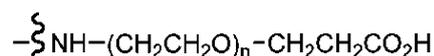
R^{20} が、 $-NH-$ または $-C(O)-$ である、項目 26 に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

10

(項目 28)

前記 PEG 単位が、

【化 191】



20

の構造を有し、式中、波線は、前記並列コネクタ単位への結合の部位を示し、各 n は、4 ~ 72 の範囲の整数から独立に選択される、項目 25 に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目 29)

n が、6 ~ 24 または 8 ~ 24 から独立に選択される、項目 28 に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目 30)

前記 PEG 単位が、少なくとも 6 個の $-CH_2CH_2O-$ サブ単位を有する、項目 1 から 29 のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

30

(項目 31)

前記 PEG 単位が、少なくとも 8 個の $-CH_2CH_2O-$ サブ単位および約 36 個以下のサブ単位 $-CH_2CH_2O-$ を有する、項目 1 から 30 のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目 32)

前記薬物単位が、疎水性である、先行する項目のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目 33)

前記薬物単位が、2.5 またはそれ超の $Sl o g P$ 値を有する薬物の薬物単位である、項目 32 に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

40

(項目 34)

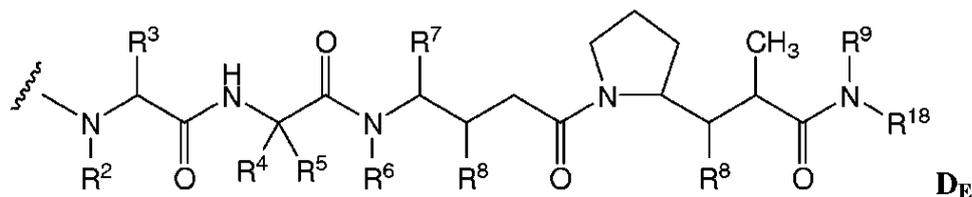
前記薬物単位が、アウリスタチンである、項目 32 に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目 35)

前記アウリスタチン薬物単位が、式 DE、

50

【化 1 9 2】



の構造によって表され、式中、それぞれの場所において独立に、

R² は、H および C₁ ~ C₈ アルキル からなる群から選択され、

10

R³ は、H、C₁ ~ C₈ アルキル、C₃ ~ C₈ 炭素環、アリール、C₁ ~ C₈ アルキル - アリール、C₁ ~ C₈ アルキル - (C₃ ~ C₈ 炭素環)、C₃ ~ C₈ 複素環 および C₁ ~ C₈ アルキル - (C₃ ~ C₈ 複素環) からなる群から選択され、

R⁴ は、H、C₁ ~ C₈ アルキル、C₃ ~ C₈ 炭素環、アリール、C₁ ~ C₈ アルキル - アリール、C₁ ~ C₈ アルキル - (C₃ ~ C₈ 炭素環)、C₃ ~ C₈ 複素環 および C₁ ~ C₈ アルキル - (C₃ ~ C₈ 複素環) からなる群から選択され、

R⁵ は、H およびメチル からなる群から選択され、

あるいは R⁴ および R⁵ は、一緒に炭素環式環を形成し、式 - (C^aR^aR^b)_n - を有し、R^a および R^b は、H、C₁ ~ C₈ アルキル および C₃ ~ C₈ 炭素環 からなる群から独立に選択され、n は、2、3、4、5 および 6 からなる群から選択され、

20

R⁶ は、H および C₁ ~ C₈ アルキル からなる群から選択され、

R⁷ は、H、C₁ ~ C₈ アルキル、C₃ ~ C₈ 炭素環、アリール、C₁ ~ C₈ アルキル - アリール、C₁ ~ C₈ アルキル - (C₃ ~ C₈ 炭素環)、C₃ ~ C₈ 複素環 および C₁ ~ C₈ アルキル - (C₃ ~ C₈ 複素環) からなる群から選択され、

各 R⁸ は、H、OH、C₁ ~ C₈ アルキル、C₃ ~ C₈ 炭素環 および O - (C₁ ~ C₈ アルキル) からなる群から独立に選択され、

R⁹ は、H および C₁ ~ C₈ アルキル からなる群から選択され、

R¹⁸ は、- C(R⁸)₂ - C(R⁸)₂ - アリール、- C(R⁸)₂ - C(R⁸)₂ - (C₃ ~ C₈ 複素環)、および - C(R⁸)₂ - C(R⁸)₂ - (C₃ ~ C₈ 炭素環) からなる群から選択される、項目 3 4 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

30

(項目 3 6)

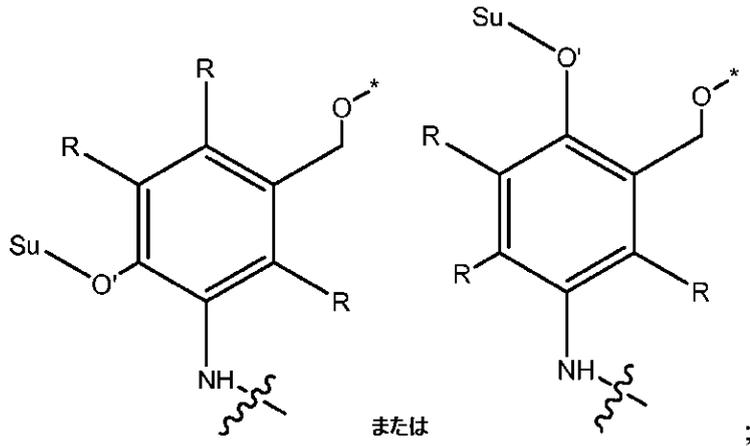
前記放出可能なアセンブリー単位が、それに対して前記薬物単位が結合しているグリコシド結合を介して自壊的基に連結している糖部分を含み、その結果前記リガンドによって標的とされる前記部位におけるグリコシダーゼによる前記グリコシド結合の切断は、前記リガンド - 薬物コンジュゲートからの遊離薬物の放出をもたらす、項目 1 から 3 5 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 3 7)

前記放出可能なアセンブリー単位が、グルクロニド単位を含み、式、

40

【化 1 9 3】



10

によって表され、式中、Suは、前記グルクロニド部分であり、-O'-は、酸素グリコシド結合を表し、各Rは、独立に、水素、ハロゲン、-CN、または-NO₂であり、波線は、L^P、ADまたはAへの前記自壊的基の結合（直接的、または共有結合による結合単位を通して間接的に）を示し、アスタリスクは、前記薬物単位への前記自壊的基の結合（直接的、またはスペーサー単位を介して間接的に）を示す、項目36に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

20

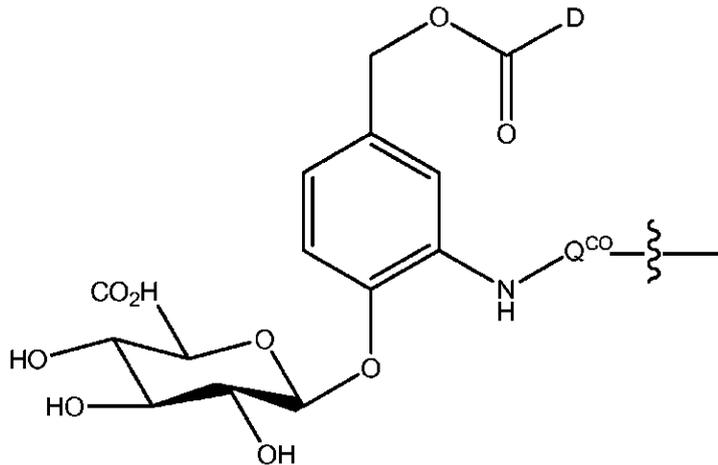
(項目38)

前記放出可能なアセンブリ単位が、カテプシンBによって切断可能なペプチドを含む、項目1から35のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目39)

- X - Dが、

【化 1 9 4】



30

の構造を有し、式中、Q^{CO}は、任意選択の共有結合による結合単位であり、波線は、前記リガンド-薬物コンジュゲートの薬物リンカー部分の残部への共有結合による結合を示す、項目1から35のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

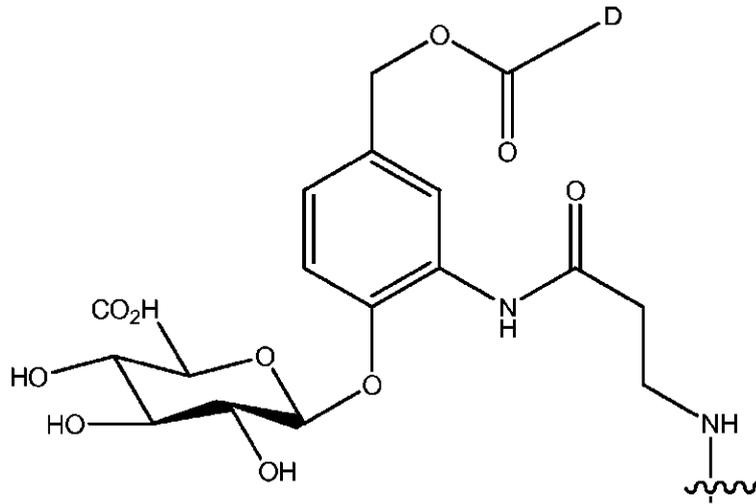
40

(項目40)

- X - Dが、

50

【化 1 9 5】



10

であり、式中、波線は、前記リガンド - 薬物コンジュゲートの薬物リンカー部分の残部への共有結合性を示す、項目 3 9 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 4 1)
- X - D が、

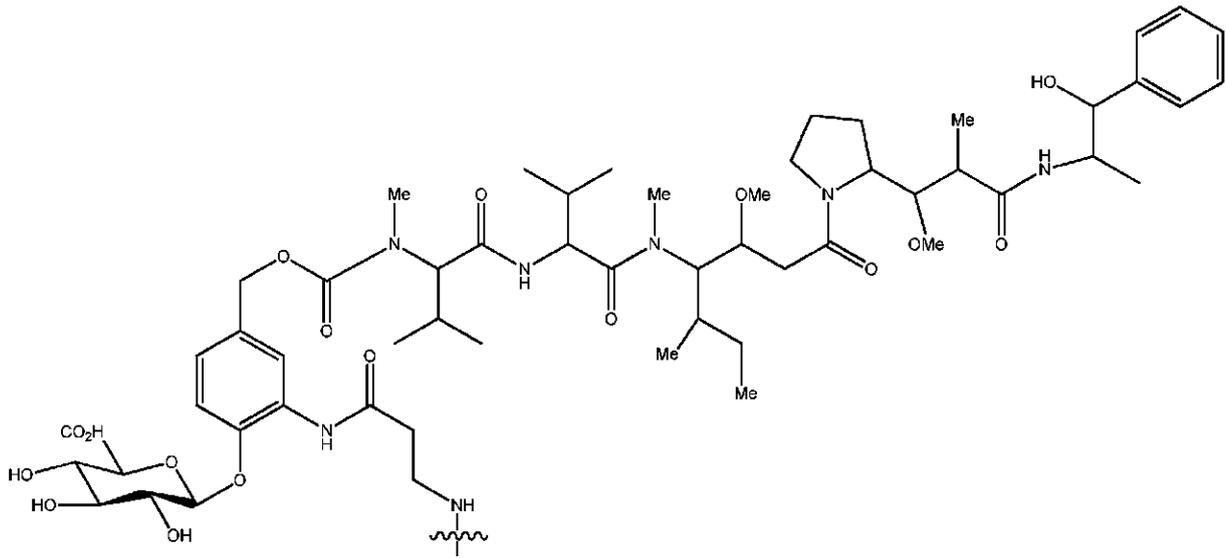
20

30

40

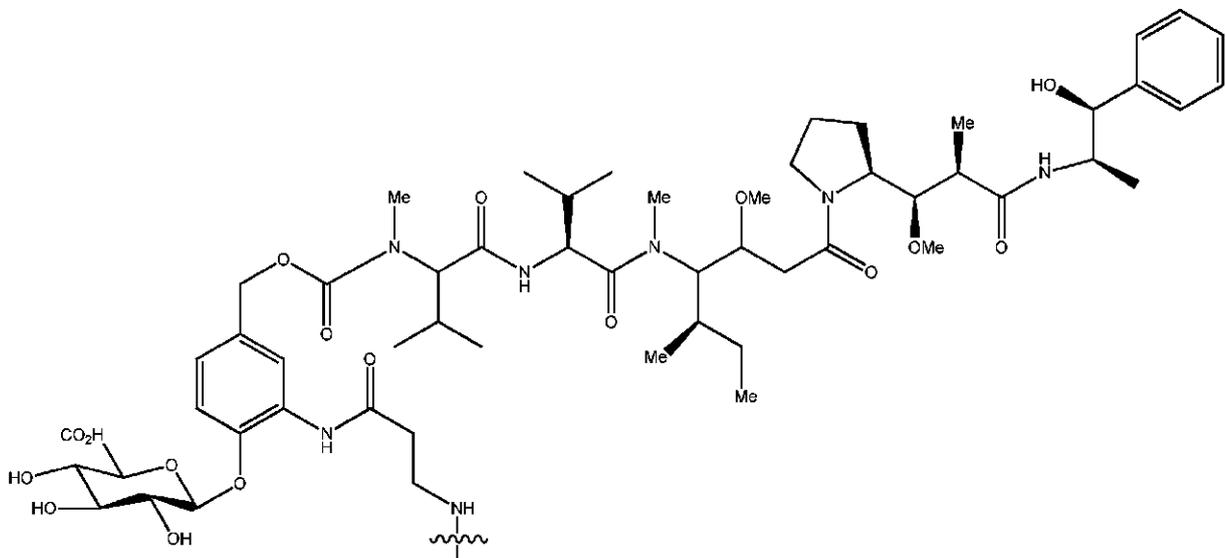
50

【化 1 9 6】



10

または



20

30

の構造を有し、式中、波線は、前記リガンド - 薬物コンジュゲートの薬物リンカー部分の残部への共有結合による結合を示す、項目 1 から 3 5 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 4 2)

前記リガンド単位が、モノクローナル抗体である、項目 1 から 4 1 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

40

(項目 4 3)

前記リガンドが抗体であり、前記抗体が、前記抗体のシステイン残基の硫黄原子を介して各ストレッチャー単位 (Z) にコンジュゲートしている、項目 1 から 4 2 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 4 4)

前記システイン残基が、天然に存在するものであり、鎖間のジスルフィドからである、項目 4 3 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 4 5)

前記システイン残基が、天然に存在しないものであり、前記抗体中に導入されたシステ

50

インからである、項目 4 3 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 4 6)

前記導入されたシステインが、E U インデックスに従って残基 2 3 9 にある、項目 4 5 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 4 7)

前記リガンド単位に結合した 6 ~ 1 4 個の薬物単位が存在する、先行する項目のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 4 8)

前記リガンド単位が抗体であり、下付き文字 p が 8 であり、前記抗体が、前記抗体の前記鎖間のジスルフィドの前記硫黄原子を通してストレッチャー単位 (Z) にコンジュゲートしている、項目 2 から 4 7 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

10

(項目 4 9)

前記リガンドが、抗体であり、下付き文字 p が、1 0 ~ 1 4 または 1 0 ~ 1 2 の範囲の整数であり、前記抗体が、前記抗体の前記鎖間のジスルフィドからの硫黄原子および前記抗体中に導入されたシステイン残基の両方によって各ストレッチャー単位にコンジュゲートしている、項目 2 から 4 7 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 5 0)

前記システイン残基が、E U インデックスに従って 2 3 9 位にある、項目 4 9 に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

20

(項目 5 1)

前記リガンド単位が、少なくとも約 8 0 K d の分子量を有する、項目 1 から 5 0 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 5 2)

前記並列コネクター単位が、(a) 約 5 0 0 ダルトン以下、好ましくは約 2 0 0 ダルトン以下の質量を有する、項目 2 から 5 1 のいずれかに記載のリガンド薬物コンジュゲート化合物。

(項目 5 3)

前記ストレッチャー単位が、約 1 0 0 0 ダルトン以下、好ましくは約 2 0 0 ダルトン以下の質量を有する、項目 2 から 5 2 のいずれかに記載のリガンド薬物コンジュゲート化合物。

30

(項目 5 4)

前記分岐単位が存在するとき、前記分岐単位が、約 1 0 0 0 ダルトン以下、好ましくは約 5 0 0 ダルトン以下の質量を有する、項目 2 から 5 3 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 5 5)

前記薬物結合単位が存在するとき、前記薬物結合単位が、約 1 0 0 0 ダルトン以下、好ましくは約 5 0 0 ダルトン以下の質量を有する、項目 2 から 5 4 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

40

(項目 5 6)

前記放出可能なアセンブリー単位が、約 5 0 0 0 ダルトン以下の質量、好ましくは約 1 0 0 0 ダルトンから、または約 2 0 0 ダルトンから、または約 3 0 0 ダルトンから約 1 0 0 0 ダルトンの質量を有する、項目 2 から 5 5 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 5 7)

前記 P E G 単位は別として、前記リガンド - 薬物コンジュゲート中に存在する 4 個以下、3 個以下、2 個以下、または 1 個以下の他のポリエチレングリコールサブ単位が存在する、先行する項目のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート化合物。

(項目 5 8)

50

前記リガンド単位および前記薬物単位の間には50個以下、45個以下、40個以下、35個以下、30個以下、または25個以下の介在する原子が存在する、先行する項目のいずれかに記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目59)

前記リガンド単位および前記放出可能なアセンブリ単位の切断可能な単位の間には40個以下、35個以下、30個以下、または25個以下の介在する原子が存在する、先行する項目のいずれかに記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目60)

前記PEG単位中に存在する原子より、前記リガンドおよび前記薬物単位の間には介在する原子の方が少ない、先行する項目のいずれかに記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

10

(項目61)

前記PEG単位中に存在する原子より、前記リガンドおよび前記放出可能なアセンブリ単位の切断可能な単位の間には介在する原子の方が少ない、先行する項目のいずれかに記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目62)

前記PEG単位の遠位端部と前記並列コネクタ単位との間に介在する原子より、前記リガンドおよび前記薬物単位の間には介在する原子の方が少ない、先行する項目のいずれかに記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目63)

20

前記PEG単位の遠位端部と前記並列コネクタ単位との間に介在する原子より、前記リガンドおよび前記放出可能なアセンブリ単位の切断可能な単位の間には介在する原子の方がより少ない、先行する項目のいずれかに記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物。

(項目64)

医薬組成物中のリガンド単位当たりの薬物-リンカー部分の平均数が、約4~約14の範囲である、項目1から63のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート化合物の集団、および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

(項目65)

前記組成物中のリガンド単位当たりの薬物-リンカー部分の平均数が、約6~約14の範囲である、項目64に記載の医薬組成物。

30

(項目66)

前記組成物中のリガンド単位当たりの薬物-リンカー部分の平均数が、約8~約14の範囲である、項目64に記載の医薬組成物。

(項目67)

前記組成物中のリガンド当たりの薬物-リンカーの平均分子数が、約8~約12の範囲である、項目64に記載の医薬組成物。

(項目68)

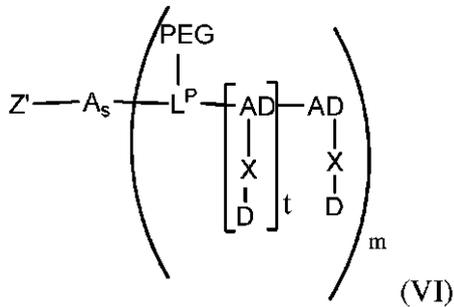
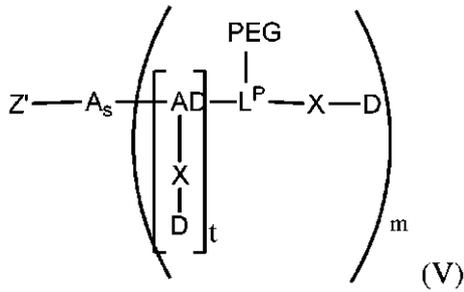
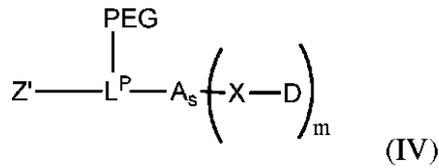
前記組成物中のリガンド当たりの薬物-リンカーの平均分子数が、約8である、項目66に記載の医薬組成物。

40

(項目69)

式IV、V、またはVI、

【化 1 9 7】



の構造または薬学的に許容されるその塩によって表され、式中、

D は、薬物単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単位であり、

X は、放出可能なアセンブリ単位であり、

L^P は、並列コネクター単位であり、

A は、任意選択の分岐単位であり、

AD は、薬物結合単位であり、

下付き文字 t は、整数であり、0 ~ 8、好ましくは 0、1、2、または 3 であり、

下付き文字 m は、1 ~ 4 の範囲の整数、好ましくは 1 または 2 であり、

下付き文字 s は、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は 2、3 または 4 である、薬物 - リンカー化合物。

(項目 7 0)

10

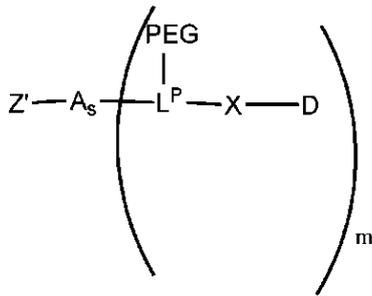
20

30

40

50

【化 1 9 8】



10

または薬学的に許容されるその塩の構造を有する、項目 6 9 に記載の薬物 - リンカー化合物。

(項目 7 1)

s が、0 である (すなわち、A が、存在しない)、項目 6 9 または 7 0 に記載の薬物 - リンカー化合物。

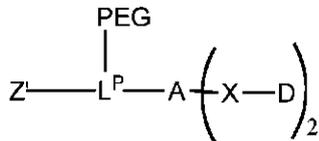
(項目 7 2)

s が、1 であり、m が、2 ~ 4 である、項目 6 9 または 7 0 または 7 1 に記載の薬物 - リンカー化合物。

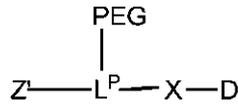
(項目 7 3)

前記薬物 - リンカーが、式 I V a、I V b、V a、V b、V c、V I a または V I b、
【化 1 9 9 - 1】

20



IVa



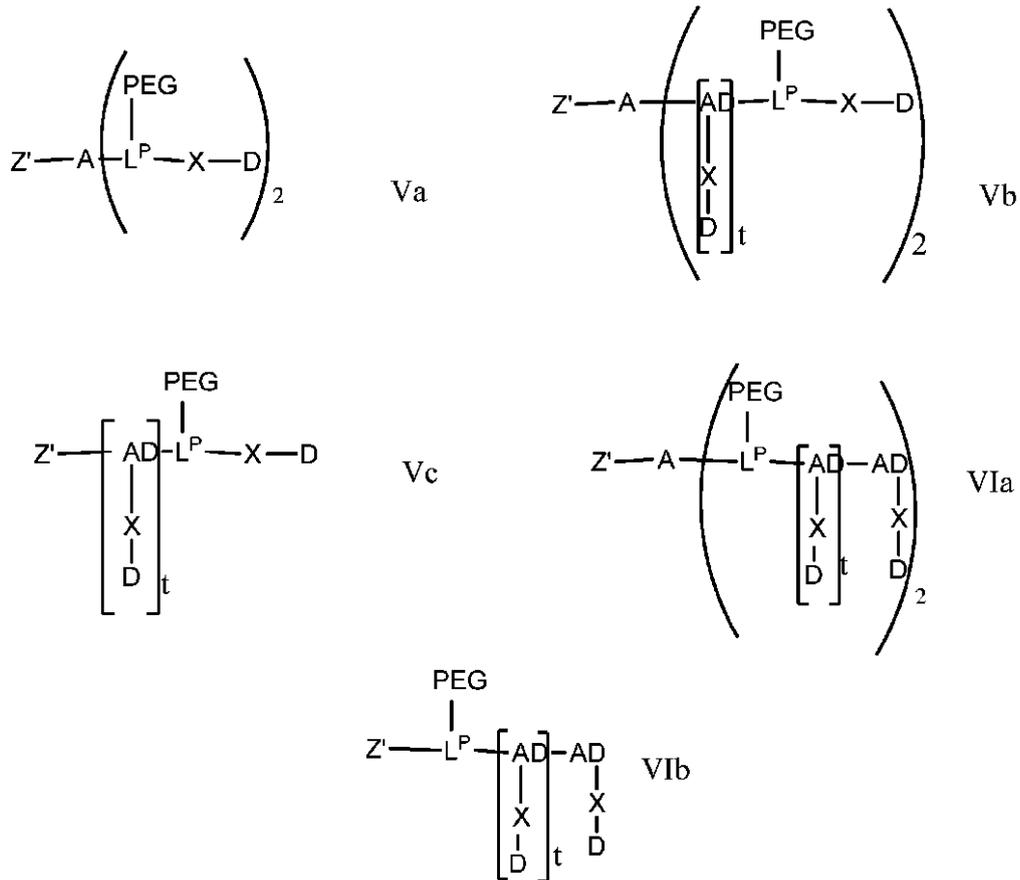
IVb

30

40

50

【化 1 9 9 - 2】



10

20

または薬学的に許容されるその塩によって表される構造を有する、項目 6 9 に記載の薬物 - リンカー化合物。

(項目 7 4)

L^P が、アミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒドまたはポリアミンである、項目 6 9 から 7 3 のいずれか一項に記載の薬物 - リンカー化合物。

30

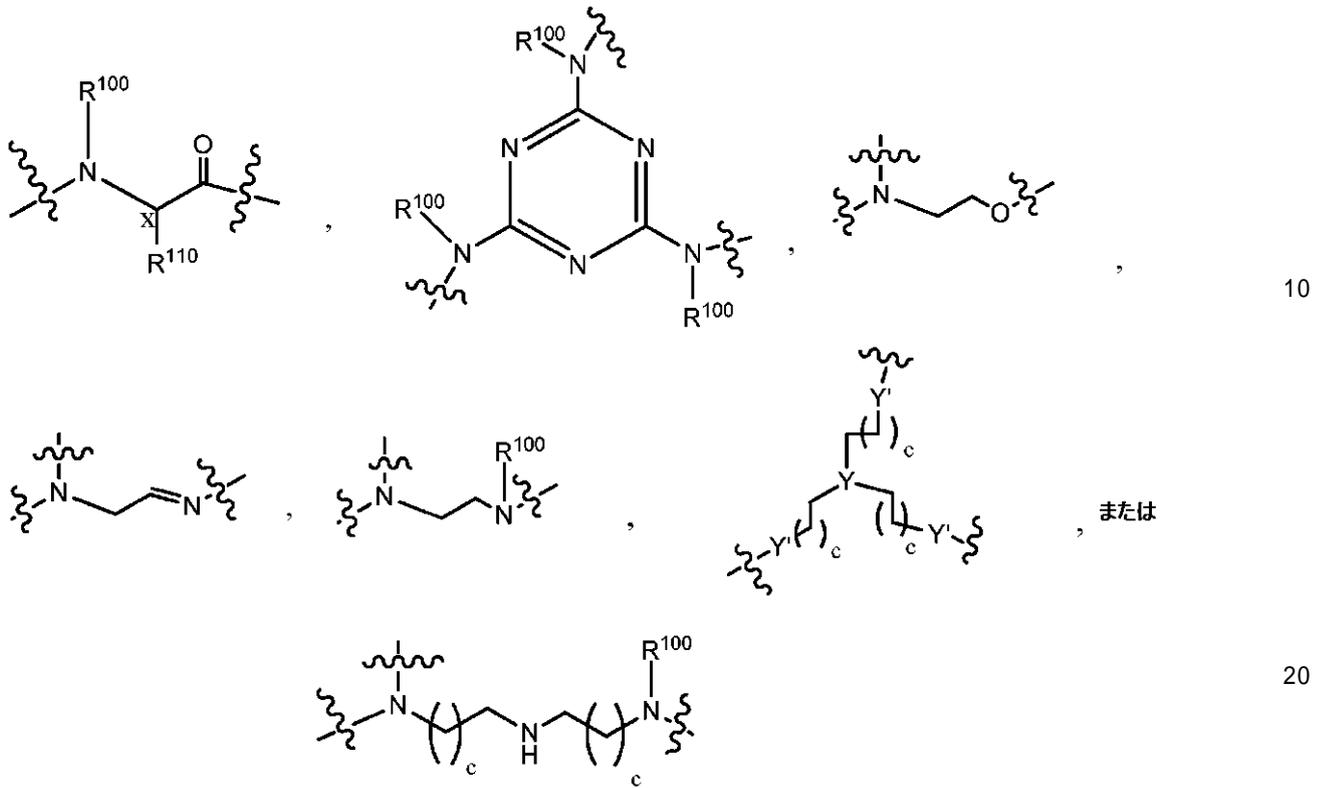
(項目 7 5)

各 L^P が、

40

50

【化 2 0 0】



10

20

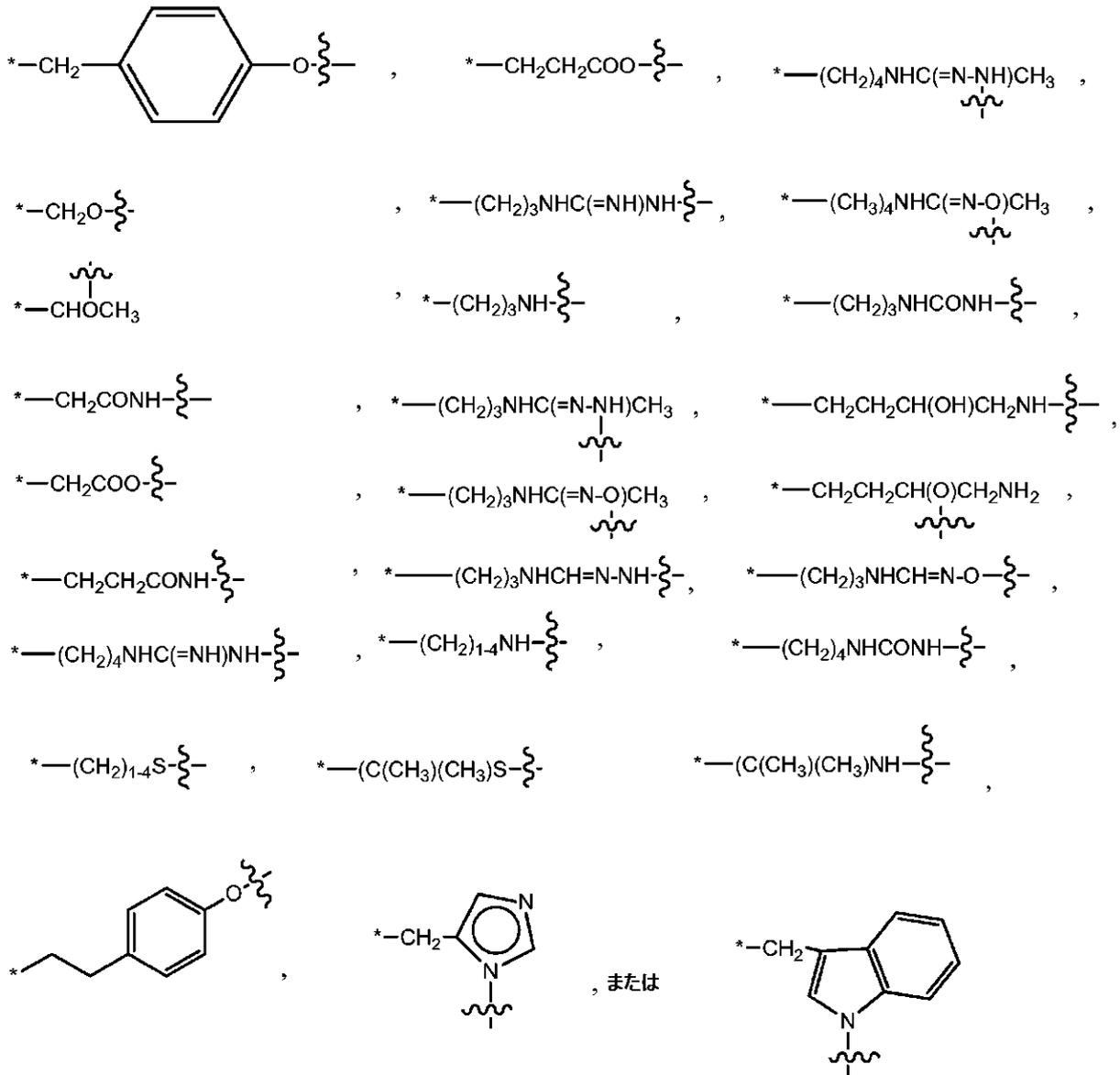
の構造を独立に有し、式中、波線は、化合物内の共有結合による結合部位を示し、 R^{110} は、

30

40

50

【化 2 0 1】



10

20

30

の構造を有し、式中、アスタリスクは、xと標識されている炭素への前記 R¹¹⁰ 部分の結合を示し、前記 R¹¹⁰ 部分中の波線は、前記リガンド - 薬物コンジュゲート内の L^P の前記 3 個の結合部位の 1 つを示し、

各 R¹⁰⁰ は、水素または -C₁ ~ C₃ アルキル、好ましくは水素または CH₃ から独立に選択され、

Y は、N または CH から独立に選択され、

各 Y' は、NH、O、または S から独立に選択され、

下付き文字 c は、1 ~ 10 の範囲の整数、好ましくは 1、2、または 3 から独立に選択される、項目 69 から 73 のいずれか一項に記載の薬物 - リンカー化合物。

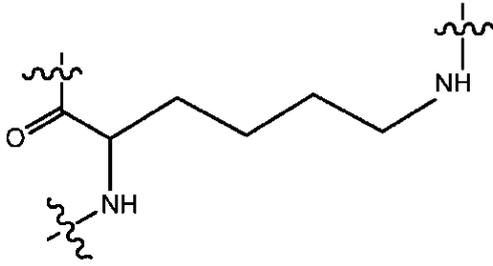
(項目 76)

各 L^P が、構造が下記の式、

40

50

【化 2 0 2】



10

において示すような D / L リシンに対応する、項目 7 4 に記載の薬物 - リンカー化合物。
(項目 7 7)

A が存在するとき、A は、1 ~ 1 0 個のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、ポリアミン、またはこれらの組合せである、項目 7 0 から 7 6 のいずれか一項に記載の薬物 - リンカー化合物。

(項目 7 8)

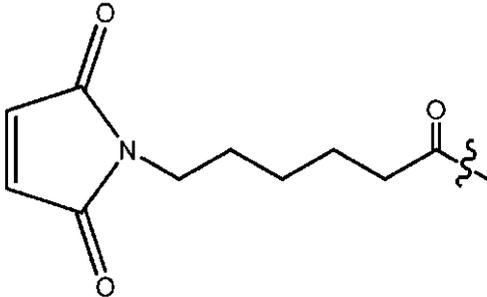
A D が存在するとき、A D は、1 ~ 1 0 個のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、ポリアミン、またはこれらの組合せである、項目 7 0 から 7 7 のいずれか一項に記載の薬物 - リンカー化合物。

(項目 7 9)

20

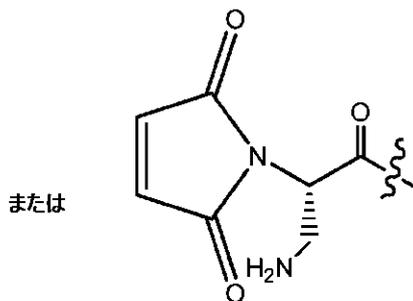
Z' が、アミン保護基で任意選択で保護された、

【化 2 0 3 - 1】



30

【化 2 0 3 - 2】



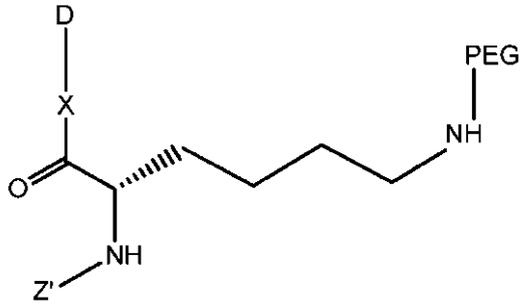
40

の構造を有し、式中、波線は、前記薬物 - リンカー構造の残部への共有結合による結合を示す、項目 6 9 から 7 8 のいずれか一項に記載の薬物 - リンカー化合物。

(項目 8 0)

50

【化 2 0 4】



10

または薬学的に許容されるその塩の構造を有する、項目 6 9 に記載の薬物 - リンカー化合物。

(項目 8 1)

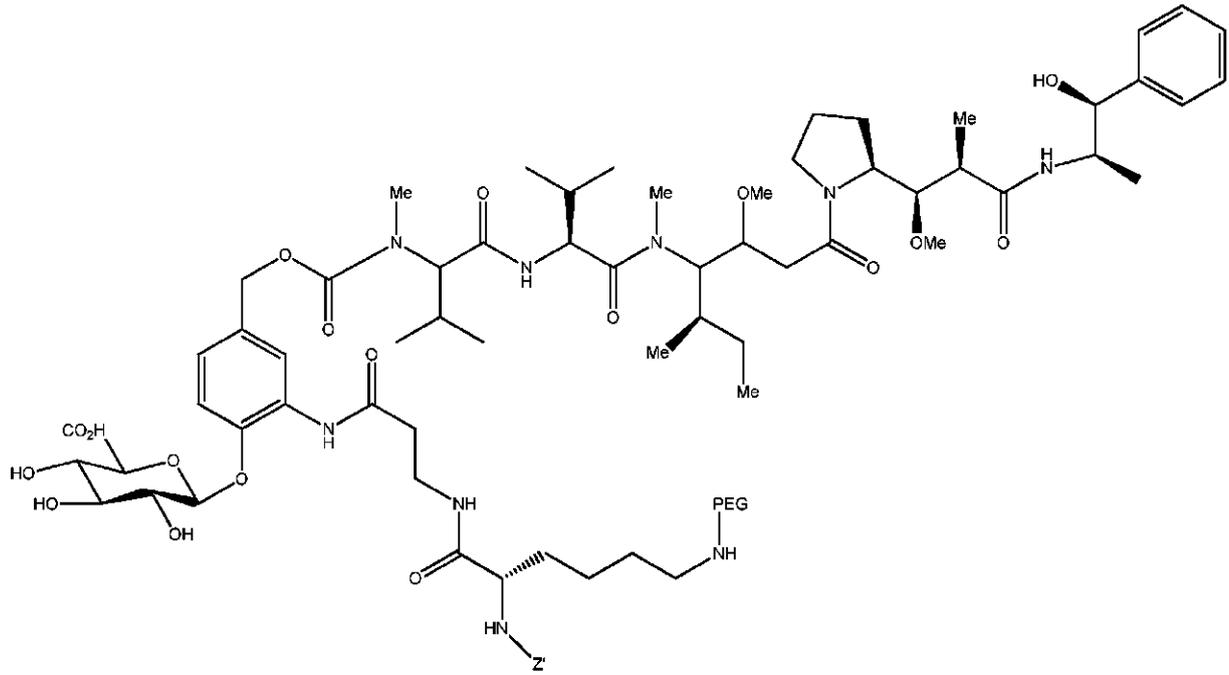
20

30

40

50

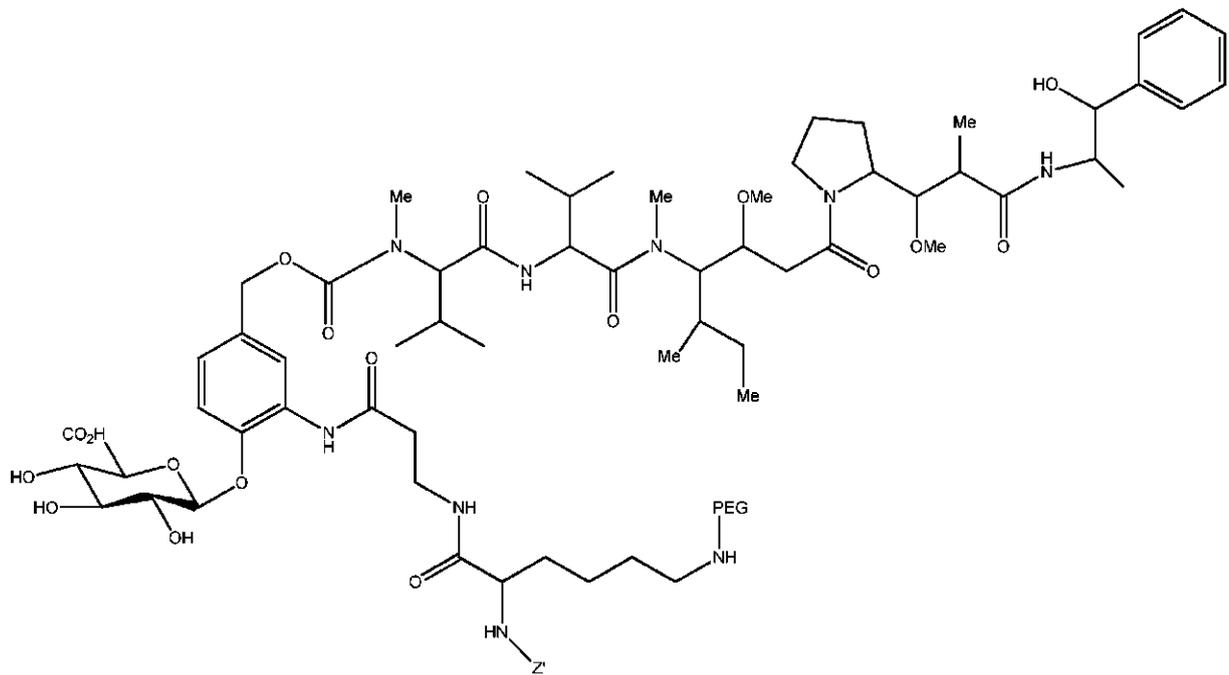
【化 2 0 5】



10

20

または



30

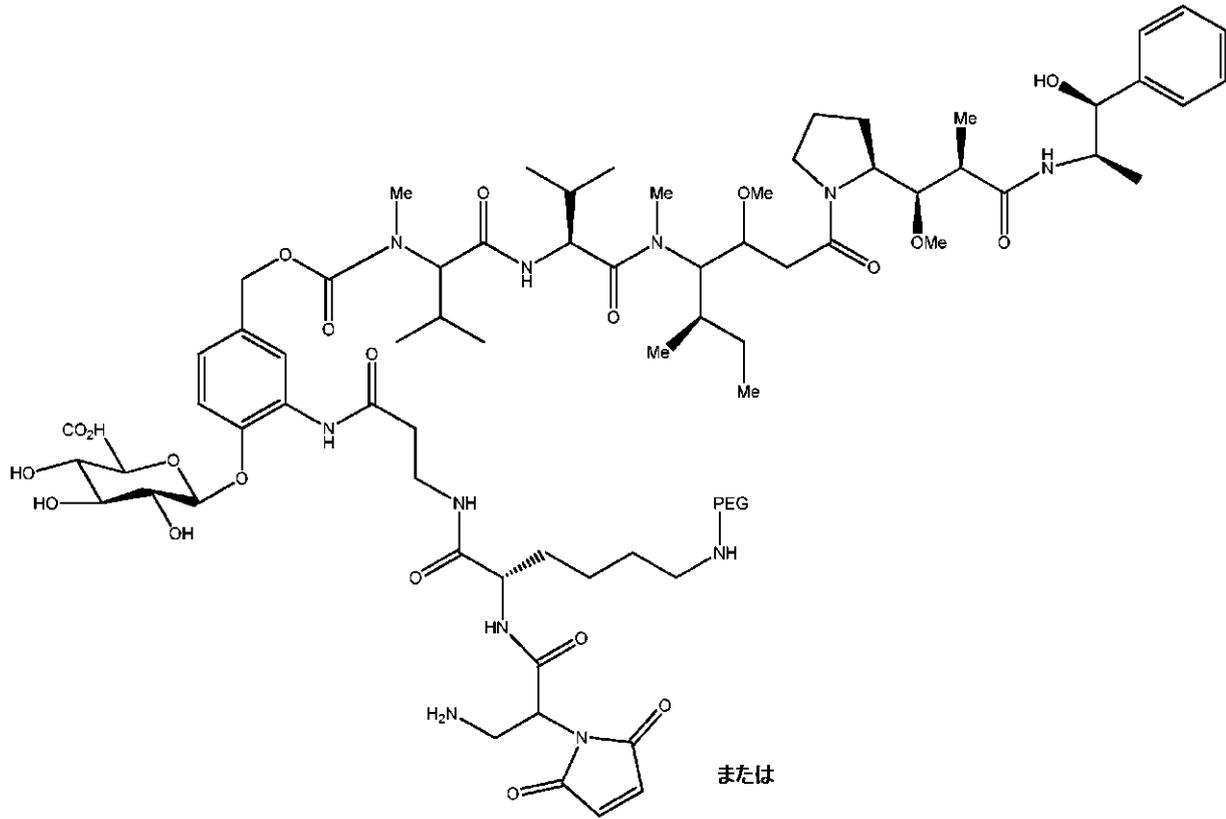
40

または薬学的に許容されるその塩の構造を有する、項目 6 9 に記載の薬物 - リンカー化合物。

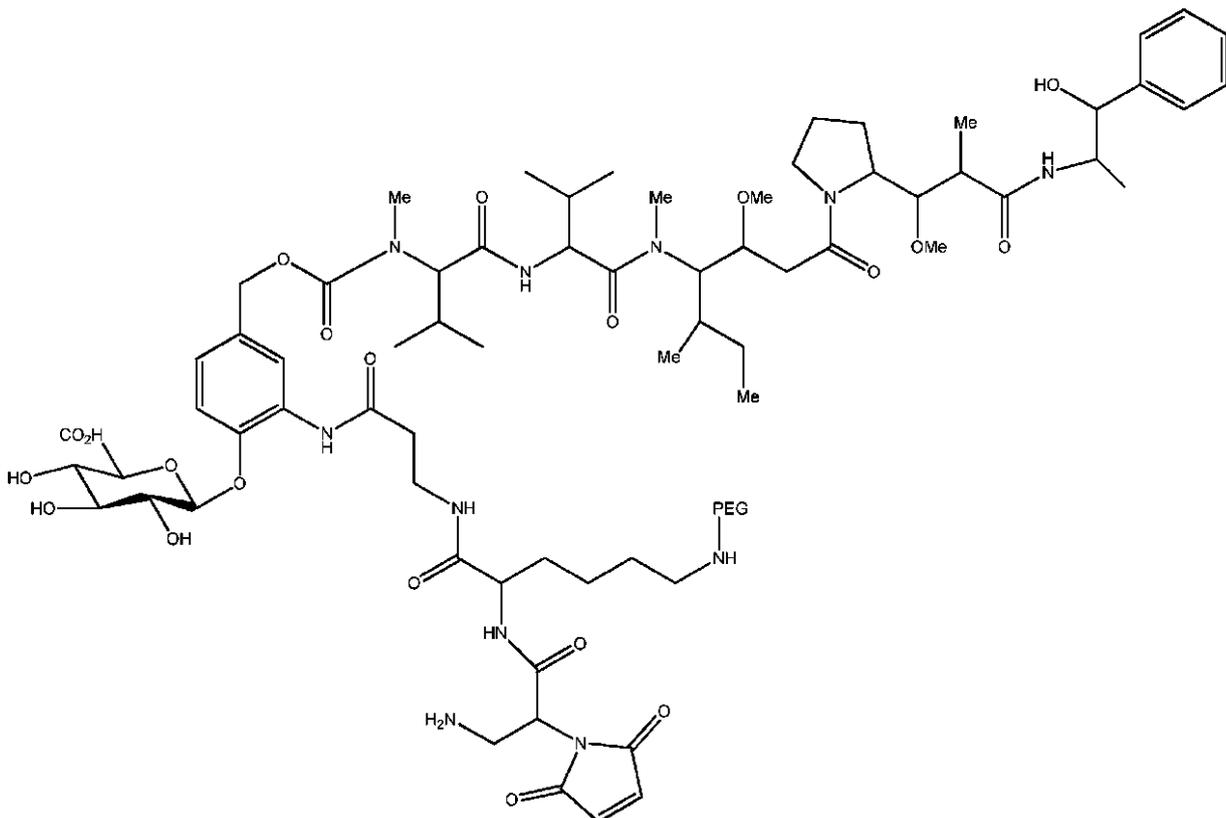
(項目 8 2)

50

【化 2 0 6 - 1】



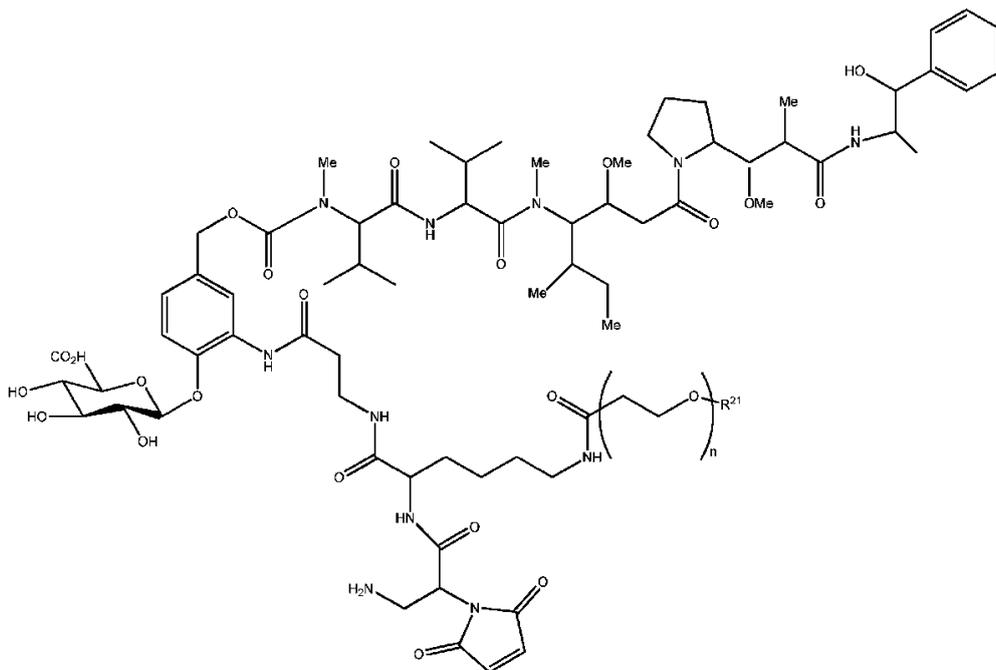
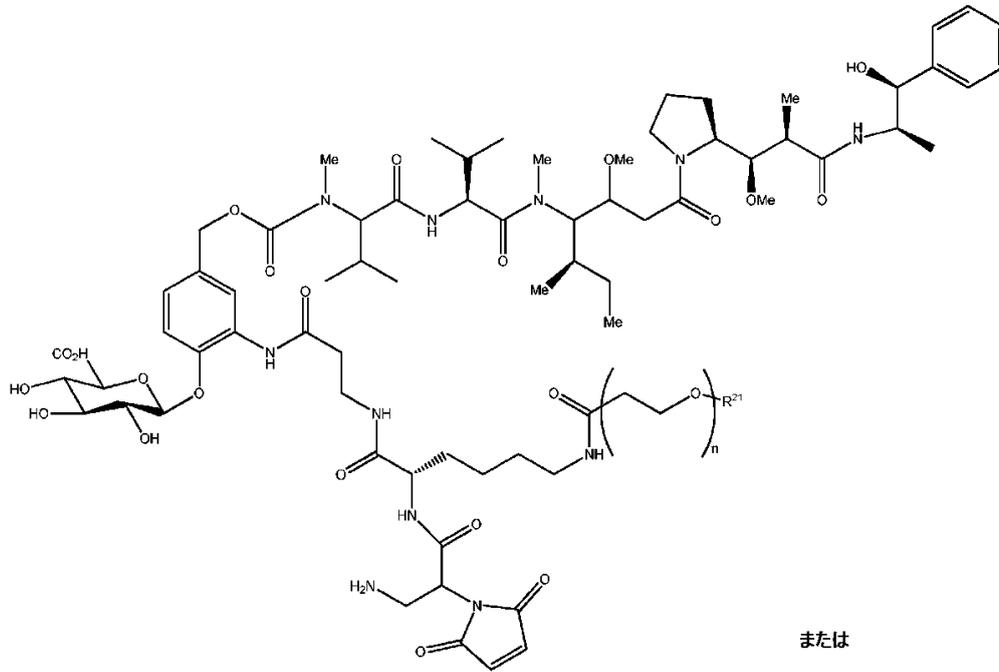
【化 2 0 6 - 2】



または薬学的に許容されるその塩の構造を有する、項目 6 9 に記載の薬物 - リンカー化合物。

(項目 8 3)

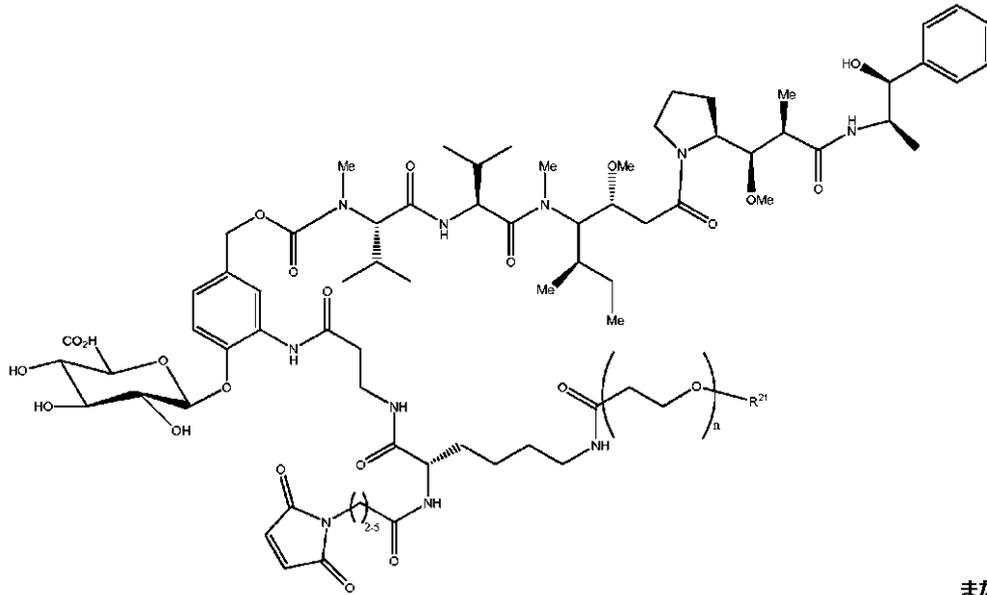
【 化 2 0 7 】



または薬学的に許容されるその塩の構造を有し、式中、 R^{21} は、PEGキャッピング単位であり、 n は、6 ~ 72、8 ~ 72、または 8 ~ 24 の範囲の整数である、項目 6 9 に記載の薬物 - リンカー化合物。

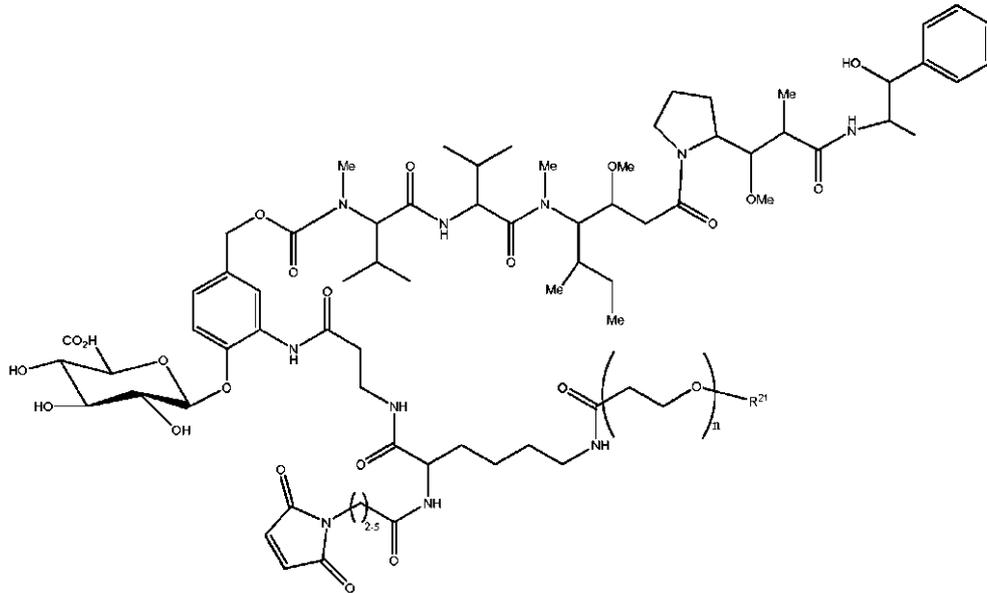
(項目 8 4)

【化 2 0 8】



10

または



20

30

または薬学的に許容されるその塩の構造を有し、式中、 R^{21} は、PEGキャッピング単位であり、 n は、6～72、または8～72、または8～24である、項目69に記載の薬物-リンカー化合物。

(項目85)

n が、8、12、または24である、項目83または84に記載の薬物-リンカー化合物。

40

(項目86)

R^{21} が、メチル、エチルまたはプロピルである、項目83または84または85に記載の薬物-リンカー化合物。

(項目87)

医薬組成物中のリガンド当たりの薬物-リンカーの平均分子数が、約8～約14の範囲である、リガンド単位にコンジュゲートした、項目69から86のいずれか一項に記載の薬物-リンカー化合物に構造が対応する、薬物-リンカー部分を有するリガンド-薬物コンジュゲートの集団、および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

(項目88)

50

リガンド薬物コンジュゲートのそれぞれの並列配向された P E G 単位が、少なくとも 8 個から 24 個以下の P E G サブ単位を有する、項目 64 から 68、および 87 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

(項目 89)

リガンド薬物コンジュゲートのそれぞれの並列配向された P E G 単位が、少なくとも 12 個から 24 個以下の P E G サブ単位を有する、項目 64 から 68 および 87 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

(項目 90)

平均薬物 - リンカー 負荷量についての値がまた、前記組成物中の優勢であるリガンド - 薬物コンジュゲートの前記薬物 - リンカー 負荷量を表す、項目 64 から 69 および 87 から 89 のいずれか一項に記載の医薬組成物。 10

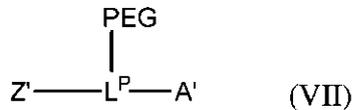
(項目 91)

前記 P E G 単位は別として、前記リガンド - 薬物コンジュゲート中に存在する他の P E G サブ単位が存在しない、項目 1 から 63 のいずれか一項に記載のリガンド - 薬物コンジュゲート。

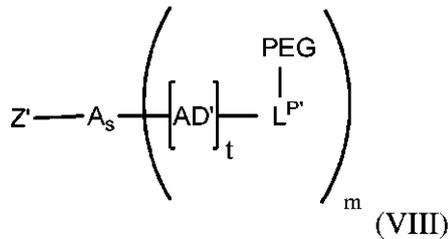
(項目 92)

式 V I I、V I I I または I X、

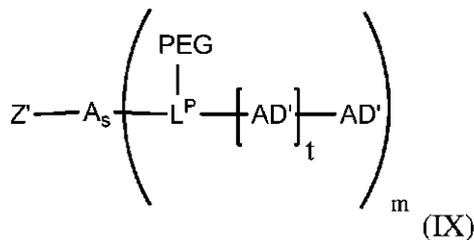
【化 209】



20



30



を有するかまたは薬学的に許容されるその塩であり、式中、

P E G は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単位であり、 40

- X - D は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリー単位であり、

A' は、2 ~ 4 個の X - D 単位、好ましくは 2 個の X - D 単位への共有結合による結合を形成することができる分岐単位であり、

A は、任意選択の分岐単位であり、

A D' は、- X - D 単位へと共有結合による結合を形成することができる薬物結合単位であり、

L^P は、並列コネクター単位であり、

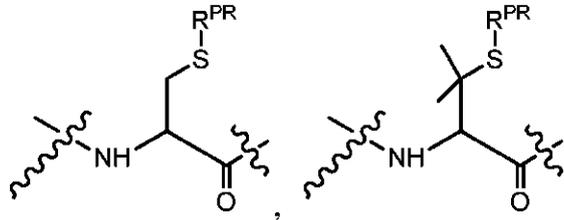
L^{P'} は、- X - D への共有結合による結合を形成することができる並列コネクター単位であり、 50

下付き文字 t は、整数であり、 $0 \sim 8$ 、好ましくは $0, 1, 2$ 、または 3 であり、
 下付き文字 m は、整数であり、 $1 \sim 4$ 、好ましくは 1 または 2 であり、
 下付き文字 s は、整数であり、 0 または 1 であり、ただし、 s が 0 であるとき、 m は 1 であり、 s が 1 であるとき、 m は $2 \sim 4$ である、リンカー化合物。

(項目 9 3)

L^{PR} が、下記の式において示すような保護されたシステインまたはペニシラミンであり、

【化 2 1 0】



10

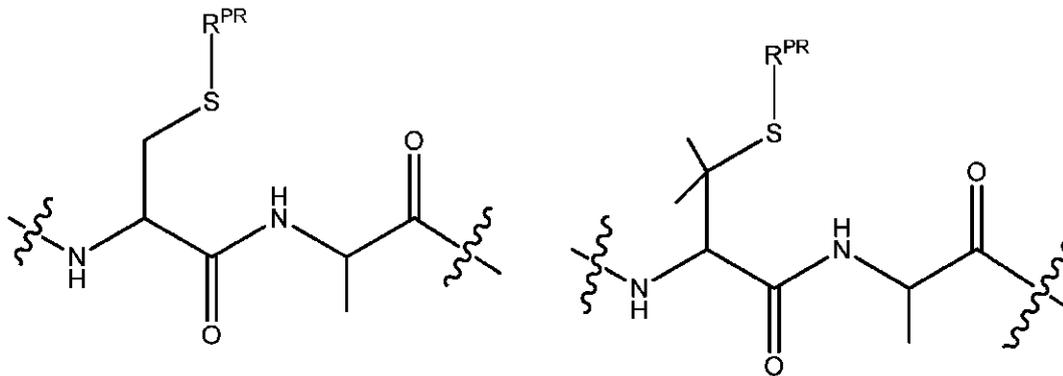
式中、波線は、前記化合物内の共有結合による結合を示し、 R^{PR} は、チオール保護基である、項目 9 2 に記載のリンカー化合物。

(項目 9 4)

20

式 VII I を有し、 t が、 1 であり、 AD' が、

【化 2 1 1】



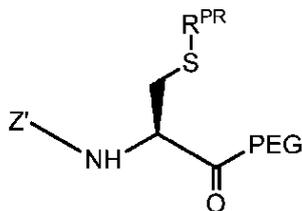
30

であり、式中、 R^{PR} は、チオール保護基であり、波線は、前記化合物内の共有結合による結合を示す、項目 9 2 に記載のリンカー化合物。

(項目 9 5)

式、

【化 2 1 2】



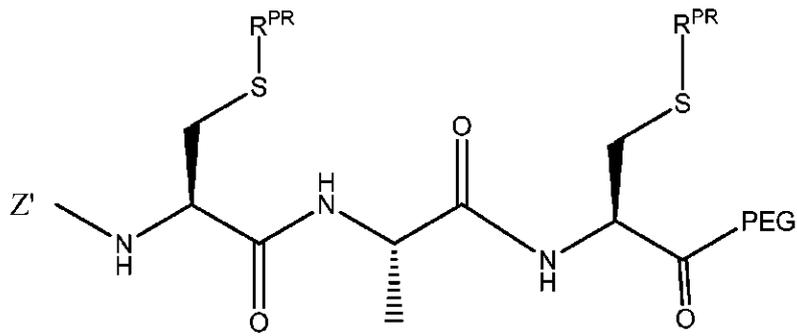
40

を有するかまたは薬学的に許容されるその塩であり、式中、 R^{PR} は、チオール保護基である、項目 9 2 に記載のリンカー化合物。

(項目 9 6)

50

式、
【化 2 1 3】



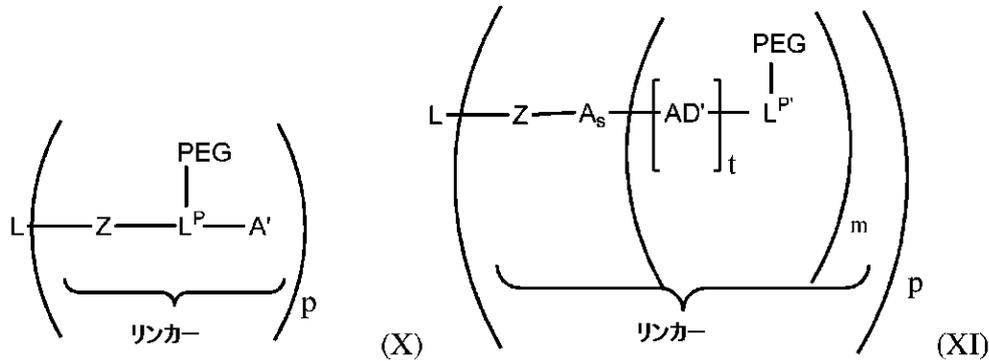
10

を有するかまたは薬学的に許容されるその塩であり、式中、 R^{PR} は、チオール保護基である、項目 9 2 に記載のリンカー化合物。

(項目 9 7)

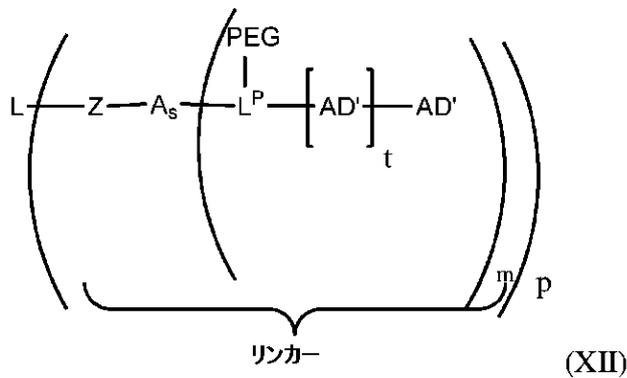
下記のような式 X、X I、X I I、

【化 2 1 4】



20

30



40

を有するかまたは薬学的に許容されるその塩であり、式中、

L は、リガンド単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z - は、ストレッチャー単位であり、

- X - D は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリー単位であり、

L^P は、並列コネクター単位であり、

$L^{P'}$ は、- X - D への共有結合による結合を形成することができる並列コネクター単位であり、

50

A' は、2 ~ 4 個の X - D 単位、好ましくは 2 個の X - D 単位への共有結合による結合を形成することができる分岐単位であり、

A は、任意選択の分岐単位であり、

AD' は、X - D 単位への共有結合による結合を形成することができる薬物結合単位であり、

下付き文字 p は、整数であり、1 ~ 14、好ましくは約 2 ~ 約 12 (好ましくは約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14 または約 8 ~ 約 12) であり、

下付き文字 t は、整数であり、0 ~ 8、好ましくは 0、1、2、または 3 であり、

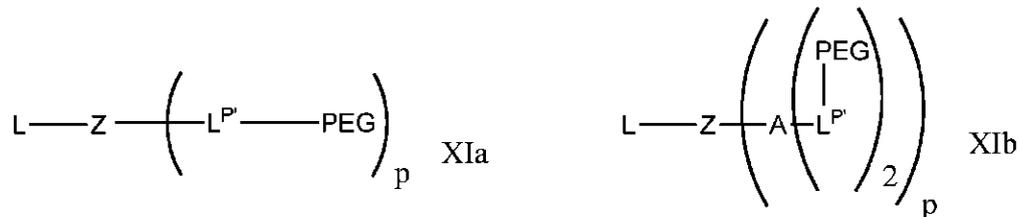
下付き文字 m は、整数であり、1 ~ 4、好ましくは 1 または 2 であり、

下付き文字 s は、整数であり、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は 2 ~ 4 である、リガンド - リンカー化合物。 10

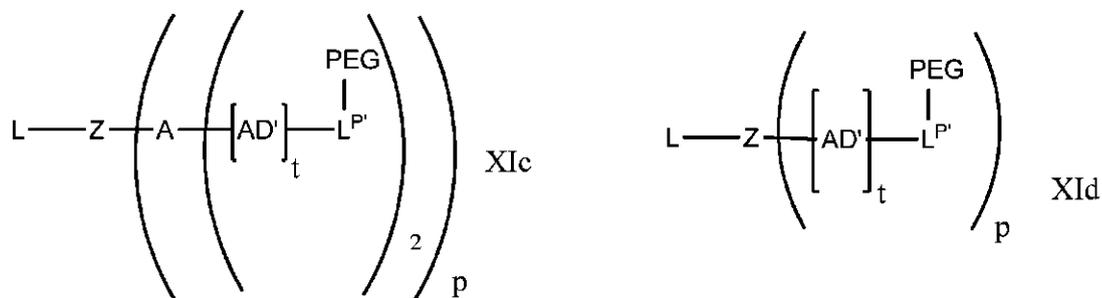
(項目 98)

前記リンカー - リガンドリンカー化合物が、式 XI a、XI b、XI c、XI d、XI I a または XI I b の構造、

【化 215 - 1】

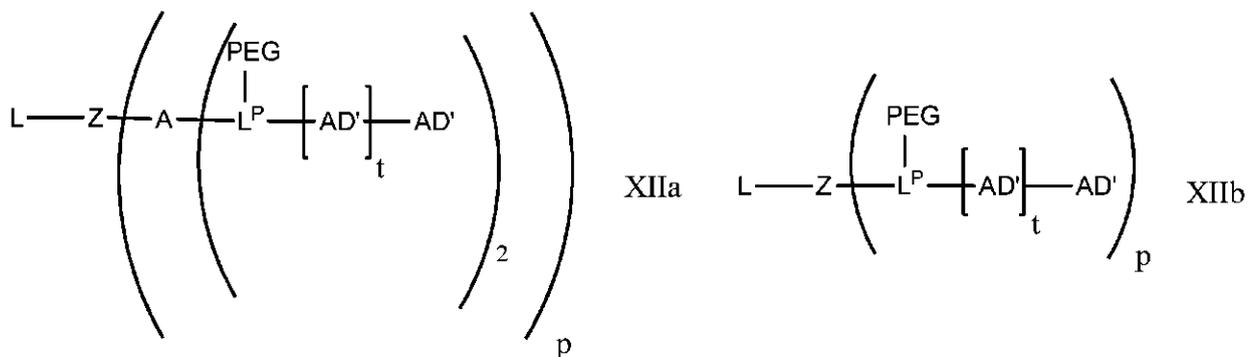


20



30

【化 215 - 2】



40

を有するかまたは薬学的に許容されるその塩である、項目 97 に記載のリガンド - リンカー化合物。

(項目 99)

前記 PEG 単位を欠いている、または前記 PEG 単位を含有するが、前記抗体および薬物に対して直列配向で配置されているリガンド - 薬物コンジュゲートを含む医薬組成物と比較して、改善された薬物動態特性を示す、項目 64 から 68 および 87 から 90 のいず 50

れか一項に記載の医薬組成物。

(項目100)

対応するコンジュゲートしていないリガンドを含む医薬組成物と比較して、同じまたは実質的に同じ薬物動態特性を示す、項目64から68および87から90のいずれか一項に記載の医薬組成物。

(項目101)

がんを処置する方法であって、それを必要とする被験体に有効量の項目1から63のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート、または項目64から68、87から90、もしくは99から100のいずれか一項に記載の医薬組成物を投与することを含み、前記リガンド-薬物コンジュゲートの前記リガンド単位は、がん細胞によって発現される標的抗原に特異的に結合する、方法。

(項目102)

前記リガンドが、CD19、CD20、CD30(好ましくはキメラもしくはヒト化AC10抗体)、CD33、CD70、アルファ-v-ベータ-6、またはLiv-1抗原に特異的に結合するモノクローナル抗体である、項目1から63のいずれか一項に記載のリガンド-薬物コンジュゲート。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】図1は、8個の薬物/Abの平均薬物負荷量を有する、PEG化されていないADCである、cAC10-[mc-PAB(glu)MMAE]_p(cAC10-1)組成物、並列配向されたPEG化されたADC(cAC10-10)組成物、および直列配向されたPEG化されたADC(cAC10-4)組成物をより高い単回用量(2mg/kg)で投与した異種移植片L540cyモデル(ホジキンリンパ腫)についての移植後日数に対する平均腫瘍体積である。

【0012】

【図2】図2は、8個の薬物/Abの平均薬物負荷量を有する、PEG化されていないADC(cAC10-1)組成物、並列配向されたPEG化されたADC(cAC10-10)組成物、および直列配向されたPEG化されたADC(cAC10-4)組成物をより高い単回用量(0.6mg/kg)で投与した異種移植片Karpas299モデル(ALCL)についての移植後日数に対する平均腫瘍体積である。

【0013】

【図3】図3は、PEG化されていないADC(cAC10-1)組成物、並列配向されたPEG化されたADC(cAC10-10)組成物、および直列配向されたPEG化されたADC(cAC10-4)組成物をより低い単回用量(0.5mg/kg)で投与した異種移植片L540cyモデル(ホジキンリンパ腫)についての移植後日数に対する平均腫瘍体積である。

【0014】

【図4】図4は、8個の薬物/Abの平均薬物負荷量を有する、PEG化されていないADC(cAC10-1)組成物、並列配向されたPEG化されたADC(cAC10-10)組成物、および直列配向されたPEG化されたADC(cAC10-4)組成物をより低い単回用量(0.15mg/kg)で投与した異種移植片Karpas299モデル(ALCL)についての移植後日数に対する平均腫瘍体積である。

【0015】

【図5】図5は、8個の薬物/Abの平均薬物負荷量(すなわち、pは8である)を有する、PEG化されていないADCである、cAC10-[MDpr-PAB(glu)-MMAE]_p(cAC10-14)組成物、および並列配向されたPEG化されたADC(cAC10-16)組成物を0.2mg/kgで単回投与した異種移植片Karpas299モデル(ALCL)についての移植後日数に対する平均腫瘍体積である。

【0016】

【図6】図6は、8個の薬物/Abの平均薬物負荷量(すなわち、pは8である)を有す

10

20

30

40

50

る、PEG化されていないADCである、hBU12-[MDpr-PAB(gluc)-MMAE]_p(hBU12-14)組成物、および並列配向されたPEG化されたADC(hBU12-16)組成物を1mg/kgで単回投与した異種移植片Ramosモデル(パーキットリンパ腫)についての移植後日数に対する平均腫瘍体積である。

【0017】

【図7】図7は、コンジュゲートしていないcAC10抗体組成物、8個の薬物/Abの平均薬物負荷量を有する、cAC10抗体のPEG化されていないADC(cAC10-1)組成物、並列配向されたPEG化されたADC(cAC10-10)組成物、および直列配向されたPEG化されたADC(cAC10-4)組成物の単回静脈内(intavenous)3mg/Kg投与に続く、ラットにおける薬物動態学的(pharmokinetic)プロファイル(日数による時間に対するμg/mLの総Ab濃度)である。

10

【0018】

【図8】図8は、PEG化されていない薬物リンカーおよび並列配向されたPEG化された薬物リンカー部分を有する、8個の薬物/Abを有するcAC10ADCのサイズ排除クロマトグラムであり、薬物-リンカー部分は、異なる(variating)長さのPEG単位を有するMDpr-VC-PABA-MMAE:cAC10-A(PEG化されていない)、cAC10-B(PEG₁₂)、cAC10-C(PEG₂₄)、cAC10-D(PEG₃₆)、cAC10-E(PEG₁₂+PEG₃₆)、cAC10-F(PEG₂₄+PEG₃₆)、およびcAC10-G(PEG₃₆+PEG₃₆)である。

20

【0019】

【図9】図9は、n-エチルアミノマレイミドを使用してキャッピングしたPEG₂₄足場を有する対照コンジュゲートcAC10-NAEM(cAC10-I)(すなわち、結合した薬物単位がない)と比較した、8個の薬物/Abを有するcAC10ADCの単回静脈内3mg/Kg投与に続く、ラットにおける薬物動態学的プロファイル(日数による時間に対するμg/mLの総Ab濃度)であり、該ADCは、PEG化されていない薬物リンカーを有し、そのADCコンジュゲートがc-AC10-MDpr-VC-PAB-MMAE(cAC10-A)、およびcAC10-mc-VC-PABA-MMAE(cAC10-K)である、ADC、および並列配向されたPEG化された薬物リンカー部分を有し、-X-DがMDpr-VC-PAB-MMAE(cAC10-C)またはmc-VC-PABA-MMAE(cAC10-L)であって、pが8である、cAC10-[MDpr(-X-D)-PEG₂₄]_pの構造によって表されるADCである。

30

【0020】

【図10】図10は、n-エチルアミノマレイミドを使用してキャッピングしたPEG足場を有する対照コンジュゲート(すなわち、結合した薬物単位がない):PEG₁₂(cAC10-H)、PEG₂₄(cAC10-I)、およびPEG₃₆(cAC10-J)と比較した、8個の薬物/Abを有するcAC10ADCの単回静脈内3mg/Kg投与に続くラットにおける薬物動態学的プロファイル(日数による時間に対するμg/mLの総Ab濃度)であり、該ADCは、PEG化されていない薬物リンカーを有し、そのADCコンジュゲートがc-AC10-[MDpr-VC-PAB-MMAE]_p(cAC10-A)であるADC、または並列配向されたPEG化された薬物リンカー部分を有し、pが8であり、-X-DがMDpr-VC-PAB-MMAEであり、PEGが、異なる長さを有するPEG単位:PEG₁₂(cAC10-B)、PEG₂₄(cAC10-C)、およびPEG₃₆(cAC10-D)である、cAC10-[MDpr(-X-D)-PEG]_pの構造によって表されるADCである。

40

【0021】

【図11】図11は、未処置の動物と比較した、2mg/KgのPEG化されていないADC:c-AC10-[MDpr-VC-PAB-MMAE]_p(cAC10-A)を静脈内に1回投与したL540cy異種移植片モデルにおける腫瘍移植後の日数に対する腫瘍体積(mm²)である。

50

【0022】

【図12】図12は、未処置の動物と比較した、2 mg / Kgの並列配向されたPEG化されたADC (cAC10 - B) : cAC10 - [MDpr (- X - D) - PEG₁₂]_p (式中、pは8であり、- X - DはMDpr - VC - PAB - MMAEである)を静脈内に1回投与したL540cy異種移植片モデルにおける腫瘍移植後の日数に対する腫瘍体積 (mm²) である。

【0023】

【図13】図13は、未処置の動物と比較した、2 mg / Kgの並列配向されたPEG化されたADC (cAC10 - C) : cAC10 - [MDpr (- X - D) - PEG₂₄]_p (式中、pは8であり、- X - DはMDpr - VC - PAB - MMAEである)を静脈内に1回投与したL540cy異種移植片モデルにおける腫瘍移植後の日数に対する腫瘍体積 (mm²) である。

10

【0024】

【図14】図14は、未処置の動物と比較した、抗原LIV-1を標的とするPEG化されていないADC : hLIV22 - [mc - VC - PAB - MMAE]_pまたはhLIV22 - [MDpr (- X - D) - PEG₂₄]_p (式中、pは8であり、- X - Dはmc - VC - PAB - MMAEである)による、異種移植片乳がんモデルにおける腫瘍移植後の日数に対する平均腫瘍体積 (mm²) である。

【0025】

【図15】図15は、未処置の動物と比較した、1 mg / Kgまたは0.5 mg / KgのPEG化されていないADC : cAC10 - [mc - PAB (gluc) - MMAE]_p (cAC10 - 1) またはその対応する並列配向されたPEG化されたADC : cAC10 - {mc - [PAB (gluc) - MMAE] - PEG₂₄}_p (cAC10 - 10) (式中、pは4である)を静脈内に1回投与したL540cy異種移植片モデルにおける腫瘍移植後の日数に対する平均腫瘍体積 (mm²) である。

20

【0026】

【図16】図16は、未処置の動物と比較した、0.3 mg / Kgまたは0.15 mg / KgのPEG化されていないADC : cAC10 - [mc - PAB (gluc) - MMAE]_p (cAC10 - 1) またはその対応する並列配向されたPEG化されたADC : cAC10 - {mc - [PAB (gluc) - MMAE] - PEG₂₄}_p (cAC10 - 10) (式中、pは4である)を静脈内に1回投与したKarpas299異種移植片モデルにおける腫瘍移植後の日数に対する平均腫瘍体積 (mm²) である。

30

【0027】

【図17】図17は、非ホジキンリンパ腫細胞系のパネルに対する、PEG化された足場のPEG単位について異なる長さを有するその足場を有する、8個の薬物を負荷されたhBU12ADCについての用量反応曲線であり、該足場は、MDpr - LP - (PEG)_x (PAB (glu)) の構造によって表される薬物 - リンカーを有し、ここで、LPは並列コネクター単位としてのリシンであり、xは0 (hBU12 - 14) であり (ここではリシンのイプシロンアミノにおけるPEG単位はアセチルで置き換えられている)、xは、2 (hBU12 - 43)、4 (hBU12 - 42)、8 (hBU12 - 18)、12 (hBU12 - 17)、24 (hBU12 - 16) であり、またはPEG₄ - (PEG₄)₃ の分岐状構造 (hBU12 - 19) である。

40

【0028】

【図18】図18は、コンジュゲートしていない非標的化抗体 (h00)、そのコンジュゲート (its conjugates) の単回静脈内1 mg / Kg投与に続く、ラットにおける薬物動態学的プロファイル (日数による時間に対するμg / mLの総Ab濃度) であり、そのコンジュゲートはそのPEG単位について異なる長さを有するPEG化された足場を有し、該足場は、MDpr - LP - (PEG)_x (PAB (glu)) の構造によって表される薬物 - リンカーを有し、ここで、LPは並列コネクター単位としてのリシンであり、xは0 (h00 - 14) (ここではリシンのイプシロンアミノにおけるPEG

50

単位はアセチルで置き換えられている)であり、 x は、 $2(h00-43)$ 、 $4(h00-42)$ 、 $8(h00-18)$ 、 $12(h00-17)$ または $24(h00-16)$ である。

【0029】

【図19】図19は、未処置の動物と比較した、そのPEG単位について異なる長さを有するPEG化された足場を有するhBU12ADCの $1mg/Kg$ または $3mg/Kg$ の単回用量静脈内投与後の、CD19-陽性RLびまん性大細胞型B細胞リンパ腫モデルにおける腫瘍移植後の日数に対する平均腫瘍体積(mm^2)であり、該足場は、MDpr-LP-(PEG) $_x$ (PAB(gluc))の構造によって表される薬物-リンカーを有し、ここで、LPは並列コネクター単位としてのリシンであり、 x は $0(hBU12-14)$ (ここではリシンのイプシロンアミノにおけるPEG単位はアセチルで置き換えられている)であり、 x は、 $2(hBU12-43)$ 、 $4(hBU12-42)$ 、 $8(hBU12-18)$ 、 $12(hBU12-17)$ または $24(hBU12-16)$ である。

10

【0030】

【図20】図20は、PEG化されていないADCである、cAC10-[mc-PAB(gluc)MMAE] $_p$ (cAC10-1)、並列配向されたPEG化されたADCであって、薬物-リンカーmc-LP-(PAB(gluc)-MMAE)PEG $_{24}$ を有するもの(cAC10-10)、MDpr-LP-(PAB(gluc)-MMAE)PEG $_{24}$ を有するもの(cAC10-16)(ここで、並列コネクター単位LPはリシンである)、または直列配向されたPEG化されたADC(cAC10-4)の $1mg/Kg$ の単回用量投与後の、マウスにおけるCD30 $^+$ L540cyホジキンリンパ腫の異種移植片腫瘍における薬物濃度(nM)であり、ここで、それらのADCは8の平均薬物負荷量を有する。

20

【0031】

【図21】図21は、未処置の動物と比較した、そのPEG単位について異なる長さを有するPEG化された足場を有する標的化されていない対照のPEG化された薬物コンジュゲートの $50mg/Kg$ の単回静脈内投与に対する、経時的な体重変化%によって示される忍容性であり、該足場は、MDpr-LP-(PEG) $_x$ (PAB(gluc))の構造によって表される薬物-リンカーを有し、ここで、LPは並列コネクター単位としてのリシンであり、 x は $0(h00-43)$ であり(ここではリシンのイプシロンアミノにおけるPEG単位はアセチルで置き換えられている)、 x は、 $2(h00-43)$ 、 $4(h00-42)$ 、 $8(h00-18)$ 、 $12(h00-17)$ または $24(h00-16)$ であり、ここで、それらのADCは8の平均薬物負荷量を有する。

30

【0032】

【図22】図22は、そのPEG単位について異なる長さを有するPEG化された足場を有する標的化されていない対照のPEG化された薬物コンジュゲートについてのサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)クロマトグラムであり、該足場は、MDpr-LP-(PEG) $_x$ (PAB(gluc))の構造によって表される薬物-リンカーを有し、ここで、LPは並列コネクター単位としてのリシンであり、 x は、 $8(h00-18)$ 、 $12(h00-17)$ または $24(h00-16)$ である。

40

【0033】

【図23】図23は、そのPEG単位について異なる長さを有するPEG化された足場を有する標的化されていない対照のPEG化された薬物コンジュゲートについての、2-コンパートメントモデル(mm model)にフィットさせた消失半減期および分布であり、該足場は、MDpr-LP-(PEG) $_x$ (PAB(gluc))の構造によって表される薬物-リンカーを有し、ここで、LPは並列コネクター単位としてのリシンであり、 x は、 $8(h00-18)$ 、 $12(h00-17)$ または $24(h00-16)$ である。

【発明を実施するための形態】

【0034】

発明の概要

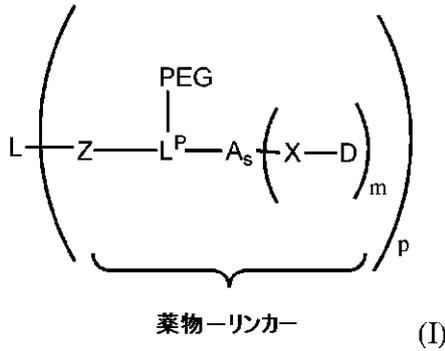
50

本発明は、とりわけ、リガンド - 薬物コンジュゲート (L D C)、これらを調製および使用する方法、ならびにその中間体を提供する。リガンド - 薬物コンジュゲートは、循環中は安定的であるが、その薬物カーゴが標的とした細胞の近傍でまたはその細胞内で放出されると、標的とした細胞に対して細胞死をもたらし、または標的とした細胞の増殖を阻害することができる。

【 0 0 3 5 】

主要な実施形態では、本発明の L D C は、下記の式 I、

【 化 1 】



10

20

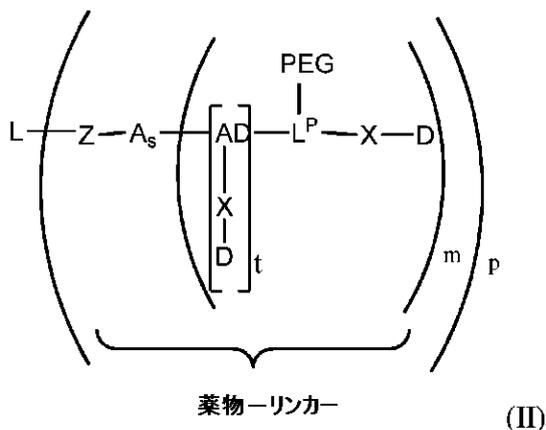
の構造によって表され、式中、Dは薬物単位であり、PEGは、薬物 - リンカーの疎水性をマスクするポリエチレングリコール単位であり、L^Pは、PEG単位がX - Dに対して並列配向であることを可能とする並列コネクター単位であり、mが1超であるとき、Aは任意選択でサブ単位からなる分岐単位であり、またはmが1であるとき、Aは存在せず、XはLDCからの各Dの放出を実現する放出可能なアセンブリー単位であり、Zは任意選択のスペーサー単位であり、これを通して、L^Pは標的化リガンドであるLに結合している。

【 0 0 3 6 】

他の主要な実施形態では、本発明の L D C は、下記の式 I I、

30

【 化 2 】



40

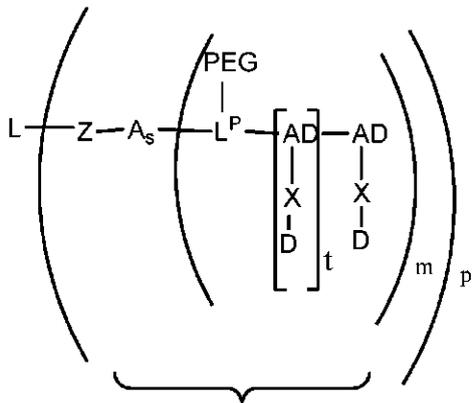
の構造によって表され、式中、ADは、PEG単位に対して並列配向であるtによって示されるX - D部分のさらなる結合を可能とする薬物結合単位であり、L、L^P、Z、A、X、D、m、pおよびsは、式Iについて定義された通りである。

【 0 0 3 7 】

さらに他の主要な実施形態では、本発明の L D C は、下記の式 I I I、

50

【化3】



薬物-リンカー

(III)

10

の構造によって表され、式中、AD、L、L^p、PEG、Z、A、X、D、m、p、s および t は、式 I I について定義された通りである。

【0038】

発明の説明

全般

20

本発明は、リガンド-薬物コンジュゲートのポリエチレングリコール構成要素（PEG 単位）の配向が、コンジュゲートのこのように得られた薬物動態に対して深い影響を有することができるという驚くべき発見に部分的に基づいている。具体的には、リガンド-薬物コンジュゲートの薬物単位に対する PEG 単位の並列配置は、PEG 単位を有さないコンジュゲート、または薬物単位と直列配向で配置されている PEG 単位を有するコンジュゲートと比較して、コンジュゲートの薬物動態を改善できることを本発明者らは発見した。PEG 単位上に存在する繰り返しポリエチレングリコールサブ単位の数は、コンジュゲートのこのように得られた薬物動態に影響を与えることを本発明者らはさらに発見した。並列配置にあり、かつ薬物の疎水性をマスクするのに適当なサイズの PEG 単位を有するコンジュゲート、および場合によって、リンカーの構成要素を設計することによって、より低く負荷されたコンジュゲートの他の特徴、例えば、好ましい PK 特性を維持する一方で、より高い薬物負荷量を可能とするリガンド-薬物コンジュゲートの型を調製することができる。リガンド-薬物コンジュゲートを、これらが「遊離」薬物を放出するような様式で、さらに設計する。

30

定義

【0039】

特に断りのない限り、下記の用語および語句は、本明細書において使用する場合、下記の意味を有することを意図する。商品名が本明細書において使用されるとき、商品名は、文脈によって他に示さない限り、製品の製剤、ジェネリック薬物、および商品名のある製品の活性医薬成分（複数可）を含む。

40

【0040】

「並列コネクタ単位」とは、本明細書において使用する場合、並列配向で PEG 単位を薬物単位と接続する分岐状リンカー単位構成要素を指す。本明細書において使用する場合、語句「並列配向」、「並列配置」、「並列接続」および同様の用語は、並列配置された、または並列配向された、または並列接続された構成要素が、それぞれが L^p に繋がれている 1 個の端部および 1 個の遊離端部を有するような様式で、並列コネクタ単位（L^p）へと結合している構成を指す。典型的には、L^p は、1 個または複数のリンカー単位構成要素を通して薬物単位を接続し、そのうち 1 つ（または 1 つのみ）は、放出可能なアセプリー単位、および PEG 単位であり、薬物および PEG 単位は、薬物単位の疎水性が PEG 単位によってマスクされるように、並列配向にある。一部の態様では、AD に接

50

続された薬物単位は、そのLPにおけるPEG単位と並列配向であるように、さらなる分岐は、LPへと接続されている1個または複数の薬物結合単位(AD)によって提供される。所与のリンカー-薬物部分についての疎水性をマスクすることが必要とされるこれらのPEG単位のみは、その薬物単位に対して並列配向である必要があり、これはLPへと接続している薬物およびポリエチレン(polyethylene)グリコール単位の全てが、互いに対して並列配向にあることを必ずしも必要としない。

【0041】

用語「並列」は、本明細書においてリガンド-薬物コンジュゲート(LDC)を構成するLPからのLDCの2個の構成要素の分岐を示すために使用され、それは、2個の構成要素が空間中で並んでいること、またはいくらかの長さもしくはこれらの全長に亘ってこれらの間に同じ距離を有することを示すために使用されない。並列配向された構成要素がそれ自体分岐状であり、それゆえ複数の端部を有する場合、これは1個の繋がれている端部のみをさらに有する。

10

【0042】

LDCの薬物単位に対して並列配向にあるPEG単位を有するLDCは、リンカー単位(すなわち、並列コネクタ単位)の構成要素に接続している1個の末端、および1個または複数の遊離の繋がれていない末端(複数可)を有するPEG単位を含むLDCを指す。PEG単位の遊離の繋がれていない末端は、例えば、未反応の官能基、例えば、アルコキシ、カルボン酸、アルキレンカルボン酸、アルコール、または他の官能基の形態を取ることができる。薬物単位に対するPEG単位の並列配向は、PEG単位の原子が薬物単位およびリガンド単位の間には挿入されていないため、リガンド単位および薬物単位の間原子の数を最小化するように作用する。LDCにおいて、リンカー単位は、(例えば、細胞内(intracellular)切断によって)標的単位においてLDCから生物活性のある薬物部分を放出することができる放出可能なアセンブリー単位からなる。場合によって、放出される薬物部分は、薬物単位中に組み込まれており、それゆえPEG単位、またはリガンド単位の分解生成物に結合されたままでない親薬物である。他の場合、放出される生物活性のある薬物部分は、保持されたリンカー単位(PEG単位以外)の部分に有する親薬物である。

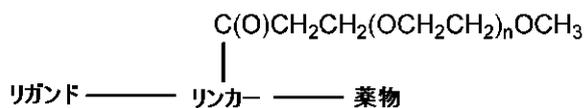
20

【0043】

放出可能なアセンブリー単位と称される放出機序を有するリンカー単位構成要素が、LPおよび薬物単位の間には挿入されている。PEG単位と同様に、薬物単位は、並列コネクタ単位および1個または複数の遊離の繋がれていない末端(またはいくつかの環状薬物の場合、遊離末端はない)に(たとえ放出可能なアセンブリー単位を通して間接的であっても)結合している1個の端部を有する。薬物単位に対して並列(すなわち、分岐状)配向にあるPEG単位を有するLDCの例示的なグラフ図は、下記の通りである。

30

【化4】



40

【0044】

語句「直列配向」または「直列配置」または「直列接続」とは、LDC中の構成要素の構成を指し、ここで直列的に配向された構成要素は、これが2個の繋がれている端部を有し、各端部がLDCの異なる構成要素に接続しているような様式で結合している。LDCのリガンド単位および薬物単位に対して直列配向にあるPEG単位を有するLDCは、(典型的には、リンカー単位の構成要素を介して間接的に)1個の末端におけるリガンドに、および(典型的には、リンカー単位の他の構成要素を介して間接的に)別の末端における薬物単位に繋がれているPEG単位を含むLDCを指す。PEG単位の直列配置は、リガンド単位および薬物単位の間原子の数を増加させる。PEG単位の原子の少なくとも

50

いくつかは、薬物単位およびリガンド単位の間には挿入されているためである。例えば、PEG単位を特徴付ける1個または複数の (OCH_2CH_2) サブ単位は、薬物単位およびリガンド単位の間には挿入されている。リガンド単位および薬物単位に対して直列配向にあるPEG単位を有するリガンド-薬物コンジュゲートの例示的なグラフ図は、下記の通りである。

リガンド $Z_1 (OCH_2CH_2)_n Z_2$ 薬物

式中、 Z_1 および Z_2 は、リンカー単位の任意選択のストレッチャー構成要素である。

【0045】

用語「抗体」とは、本明細書において使用する場合、最も広範な意味で使用され、インタクトなモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、単一特異性抗体、多特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、および所望の生物活性を示す抗体フラグメントを特にカバーする。ただし、抗体フラグメントは、薬物-リンカーのために必要な数の結合部位を有する。抗体の天然形態は四量体であり、2個の同一の対の免疫グロブリン鎖からなり、それぞれの対は1個の軽鎖および1個の重鎖を有する。それぞれの対において、軽鎖および重鎖可変領域（VLおよびVH）は、一緒になって主に抗原への結合に関与する。軽鎖および重鎖可変ドメインは、「相補性決定領域」または「CDR」ともまた称される、3個の超可変領域によって中断されるフレームワーク領域からなる。定常領域は、免疫系によって認識され、またはこれと相互作用し得る。（例えば、Janewayら、2001年、Immunology, 第5版、Garland Publishing, New Yorkを参照されたい）。抗体は、任意のタイプ（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、およびIgA）、クラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2）またはサブクラスのものでよい。抗体は、任意の適切な種に由来することができる。一部の態様では、抗体は、ヒトまたはマウス起源のものである。抗体は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体でよい。

10

20

【0046】

用語「モノクローナル抗体」とは、本明細書において使用する場合、実質的に均質な抗体の集団から得た抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、微量で存在し得る可能な天然に存在する変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一の抗原部位を指向している。修飾語「モノクローナル」は、抗体の実質的に均質な集団から得られるものとしての抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするとは解釈されない。

30

【0047】

「インタクトな抗体」とは、抗体クラスについて適切な場合の、抗原結合性可変領域、ならびに軽鎖定常ドメイン（CL）ならびに重鎖定常ドメイン C_{H1} 、 C_{H2} 、 C_{H3} および C_{H4} を含むものである。定常ドメインは、天然配列定常ドメイン（例えば、ヒト天然配列定常ドメイン）またはそのアミノ酸配列バリエーションであり得る。

【0048】

「抗体フラグメント」は、抗原結合領域またはその可変領域を含むインタクトな抗体のポーションを含む。本発明において有用であるために、抗体フラグメントは、薬物-リンカーへの結合のための必要な数の部位を有さなければならない。結合部位は、天然に存在するもの、または天然に存在しないものでよい。

40

【0049】

「抗原」は、そこに抗体が特異的に結合する実体である。

【0050】

用語「特異的結合」および「特異的に結合する」とは、抗体または抗体誘導体が、多数の他の抗原とではなく、その対応する標的抗原と高度に選択的な様式で結合することを意味する。典型的には、抗体または抗体誘導体は、少なくとも約 $1 \times 10^{-7} M$ 、好ましくは $10^{-8} M$ から $10^{-9} M$ 、 $10^{-10} M$ 、 $10^{-11} M$ 、または $10^{-12} M$ の親和性で結合し、所定の抗原または密接に関連する抗原以外の非特異的抗原（例えば、BSA、カゼイン）に結合するその親和性の少なくとも2倍大きい親和性で所定の抗原に結合する

50

。

【0051】

用語「阻害する」または「の阻害」とは、測定可能な量だけ低減させ、または完全に防止することを意味する。

【0052】

用語「治療有効量」とは、哺乳動物における疾患または障害を処置するのに有効なコンジュゲートの量を指す。がんの場合、コンジュゲートの治療有効量は、がん細胞の数を低減し得る、腫瘍のサイズを低減し得る、末梢器官中へのがん細胞浸潤を阻害し得る（すなわち、ある程度緩徐化させ、好ましくは停止し得る）、腫瘍転移を阻害し得る（すなわち、ある程度緩徐化させ、好ましくは停止し得る）、ある程度、腫瘍増殖を阻害し得る、かつ/またはがんに関連する症状の1つもしくは複数がある程度軽減し得る。薬物が成長を阻害し、かつ/または存在するがん細胞を死滅させ得る程度にまで、薬物は細胞増殖抑制性および/または細胞毒性でよい。がん療法のために、有効性は、例えば、疾患の進行までの時間（TTP）をアセスメントし、かつ/または奏効率（RR）を決定することによって測定することができる。

10

【0053】

文脈によって他に示さない限り、用語「実質的な」または「実質的に」とは、集団の、混合物または試料の大部分、すなわち集団の、混合物または試料の > 50%、好ましくは集団の50%超、55%超、60%超、65%超、70%超、75%超、80%超、85%超、90%超、91%超、92%超、93%超、94%超、95%超、96%超、97%超、98%超、または99%超を指す。

20

【0054】

用語「細胞内で切断される」および「細胞内切断」とは、リガンド-薬物コンジュゲート（例えば、抗体薬物コンジュゲート（ADC）など）における細胞の内部での代謝過程または反応を指し、それによって薬物部分（D）およびリガンド単位（例えば、抗体（Ab））の間の共有結合による結合（covalent attachment）が、例えば、放出可能なアセンブリー単位の作用によって切断され、細胞の内部で遊離薬物とその分解生成物を含めたADCから解離することをもたらす。それゆえ、この解離からもたらされる部分は細胞内代謝物である。

【0055】

用語「細胞毒性活性」とは、薬物またはリガンド-薬物コンジュゲートまたはリガンド-薬物コンジュゲートの細胞内代謝物の細胞死滅効果を指す。細胞毒性活性は、細胞の半分が細胞毒性剤への曝露から生存する単位体積当たりの濃度（モル濃度（molar）または質量）であるIC₅₀値によって表し得る。

30

【0056】

用語「細胞増殖抑制活性」とは、細胞増殖抑制剤、または細胞増殖抑制剤をその薬物単位として有するリガンド-薬物コンジュゲート、またはその細胞内代謝物（代謝物は細胞増殖抑制剤である）の、細胞殺滅以外の抗増殖性効果を指す。

【0057】

用語「細胞毒性剤」とは、本明細書において使用する場合、細胞毒性活性を有し、かつ細胞の破壊をもたらす物質を指す。この用語は、放射性同位体（例えば、²¹¹At、¹³¹I、¹²⁵I、⁹⁰Y、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁵³Sm、²¹²Bi、³²P、⁶⁰Co、およびLuの放射性同位体）、化学療法剤、ならびに毒素、例えば、合成類似体およびその誘導体を含めた、細菌起源、真菌起源、植物起源または動物起源の小分子毒素または酵素的活性毒素を含むことを意図する。

40

【0058】

用語「細胞増殖抑制剤」とは、本明細書において使用する場合、細胞増殖抑制活性を有する、例えば、細胞成長または増殖に関与する細胞の機能を阻害する、または細胞成長または増殖の一因となる物質を指す。細胞増殖抑制剤は、阻害剤、例えば、タンパク質阻害剤、例えば、酵素阻害剤を含む。

50

【0059】

用語「がん」および「がんの」とは、レギュレートされない細胞成長によって典型的には特徴付けられる、哺乳動物における生理学的状態または障害を指し、またはそれを記載する。「腫瘍」は、1つまたは複数のがん細胞を含む。

【0060】

「自己免疫疾患」とは、本明細書において、個体自身の組織またはタンパク質から生じ、かつこれらに対する疾患または障害である。

【0061】

「患者」とは、本明細書において使用する場合、LDCを投与する被験体を指す。「患者」の例には、これらに限定されないが、ヒト、ラット、マウス、モルモット、ヒトではない霊長類、ブタ、ヤギ、ウシ、ウマ、イヌ、ネコ、トリおよび家禽が含まれる。典型的には、患者は、ラット、マウス、イヌ、ヒトではない霊長類またはヒトである。一部の態様では、患者は、有効量のLDCを必要としているヒトである。

10

【0062】

用語「処置する」または「処置」とは、文脈によって他に示さない限り、治療的処置、および再発を予防する予防的措置を指し、その目的は、望まれない生理学的変化または障害、例えば、がんの発生または拡散を阻害または緩徐化する（減らす）ことである。本発明の目的のために、有益または所望の臨床結果には、これらに限定されないが、検出可能なものであるともまたは検出が不可能なものであるとも、症状の軽減、疾患の程度の減弱、疾患の安定化した（すなわち、悪化しない）状態、疾患の進行の遅延または緩徐化、病態の回復または緩和、および寛解（部分的または全体的であろうと）が含まれる。「処置」はまた、処置を受けない場合の予想される生存と比較した、生存の延長を意味することができる。処置を必要とするものは、上記状態または障害を既に有するもの、および上記状態または障害を有する傾向があるものを含む。

20

【0063】

がんとの関連で、用語「処置する」は、腫瘍細胞、がん細胞、または腫瘍の成長を阻害すること、腫瘍細胞またはがん細胞の複製を阻害すること、全体的な腫瘍量を減らすこと、またはがん性細胞の数を減少させること、およびその疾患と関連する1つまたは複数の症状を回復させることのいずれかまたは全てを含む。

【0064】

自己免疫疾患との関連で、用語「処置する」は、これらに限定されないが、自己免疫性抗体を産生する細胞を含めた自己免疫疾患の状態と関連する細胞の複製を阻害すること、自己免疫性抗体量を減らすこと、および自己免疫疾患の1つまたは複数の症状を回復させることのいずれかまたは全てを含む。

30

【0065】

語句「薬学的に許容される塩」とは、本明細書において使用する場合、化合物（例えば、薬物、薬物-リンカー、またはリガンド-薬物コンジュゲート）の薬学的に許容される有機塩または無機塩を指す。化合物は少なくとも1個のアミノ基を含有することができ、したがって、酸付加塩は、アミノ基と形成することができる。例示的な塩には、これらに限定されないが、硫酸塩、トリフルオロ酢酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、クロリド、プロミド、ヨージド、硝酸塩、硫酸水素塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシネート（gentisinate）、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、糖酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、およびパモ酸塩（すなわち、1,1'-メチレン-ビス-(2-ヒドロキシ-3-ナフトエ酸塩)）が含まれる。薬学的に許容される塩は、別の分子、例えば、酢酸イオン、コハク酸イオンまたは他の対イオンの含有を伴い得る。対イオンは、親化合物上の電荷を安定化させる任意の有機または無機部分であり得る。さらに、薬学的に許容される塩は、その構造中に複数個の電荷を帯び

40

50

た原子を有し得る。複数の電荷を帯びた原子が薬学的に許容される塩の部分である場合は、複数の対イオンを有することができる。このように、薬学的に許容される塩は、1個もしくは複数の電荷を帯びた原子および/または1個もしくは複数の対イオンを有することができる。

【0066】

他に示さない限り、用語「アルキル」は、それ自体で、または別の用語の部分として、示した数の炭素原子を有する置換または非置換の直鎖または分岐状の飽和または不飽和の炭化水素を指す（例えば、「 $-C_1 \sim C_8$ アルキル」または「 $-C_1 \sim C_{10}$ 」アルキルは、それぞれ、1～8個または1～10個の炭素原子を有するアルキル基を指す）。炭素原子の数が示されないとき、アルキル基は、1～8個の炭素原子を有する。代表的な直鎖「 $-C_1 \sim C_8$ アルキル」基には、これらに限定されないが、 $-$ メチル、 $-$ エチル、 $-n$ -プロピル、 $-n$ -ブチル、 $-n$ -ペンチル、 $-n$ -ヘキシル、 $-n$ -ヘプチルおよび $-n$ -オクチルが含まれる。一方では、分岐状 $-C_1 \sim C_8$ アルキルには、これらに限定されないが、 $-$ イソプロピル、 $-sec$ -ブチル、 $-$ イソブチル、 $-tert$ -ブチル、 $-$ イソペンチル、および -2 -メチルブチルが含まれる。不飽和 $-C_2 \sim C_8$ アルキルには、これらに限定されないが、 $-$ 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、 -2 -ペンテニル、 -3 -メチル- 1 -ブテニル、 -2 -メチル- 2 -ブテニル、 $-2,3$ -ジメチル- 2 -ブテニル、 -1 -ヘキシル、 2 -ヘキシル、 -3 -ヘキシル、 $-$ アセチレニル、 $-$ プロピニル、 -1 -ブチニル、 -2 -ブチニル、 -1 -ペンチニル、 -2 -ペンチニルおよび -3 -メチル- 1 ブチニルが含まれる。一部の態様では、アルキル基は、置換されていない。アルキル基は、1個または複数の基で置換することができる。他の態様では、アルキル基は飽和している。

10

20

【0067】

他に示さない限り、「アルキレン」は、それ自体で、または別の用語の部分として、記述した数の炭素原子、典型的には1～10個の炭素原子の、親アルカンの同じかまたは2個の異なる炭素原子からの2個の水素原子の除去に由来する2個の一価ラジカル中心を有する、置換または非置換の飽和または不飽和の分岐状または直鎖または環状の炭化水素ラジカルを指す。典型的なアルキレンラジカルには、これらに限定されないが、メチレン($-CH_2-$)、 $1,2$ -エチル($-CH_2CH_2-$)、 $1,3$ -プロピル($-CH_2CH_2CH_2-$)、 $1,4$ -ブチル($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$)などが含まれる。好ましい態様では、アルキレンは、分岐状または直鎖の炭化水素である（すなわち、これは環状炭化水素ではない）。本明細書において提供する実施形態のいずれかでは、アルキレンは、飽和アルキレンでよい。

30

【0068】

他に示さない限り、「アリール」は、それ自体で、または別の用語の部分として、親芳香族環系の単一の炭素原子からの1個の水素原子の除去によって得られる、6～20個の炭素（好ましくは6～14個の炭素）原子の置換または非置換の一価炭素環式芳香族炭化水素ラジカルを意味する。いくつかのアリール基は、例示的な構造において、「Ar」と表される。典型的なアリール基には、これらに限定されないが、ベンゼン、置換ベンゼン、ナフタレン、アントラセン、ピフェニルに由来するラジカルなどが含まれる。例示的なアリール基は、フェニル基である。

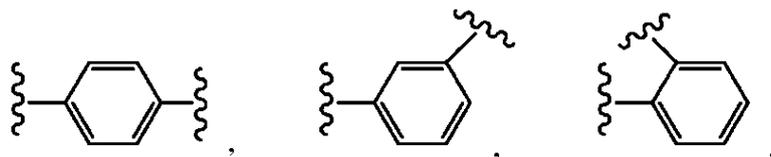
40

【0069】

他に示さない限り、「アリーレン」は、それ自体で、または別の用語の部分として、アリール基の水素原子の1個が結合で置き換えられている、上記に定義されているようなアリール基であり（すなわち、これは二価である）、例示的な基としてフェニルを用いる下記の構造において示すようにオルト、メタ、またはパラ配向でよい。

50

【化5】



選択した実施形態では、例えば、並列コネクタ単位、分岐単位または薬物結合単位がアリーレンを含むとき、このアリーレンは、アリール基の水素原子の1個または2個が結合で置き換えられている、上記で定義したアリール基である（すなわち、アリーレンは、二価または三価でよい）。

10

【0070】

他に示さない限り、「 $C_3 \sim C_8$ 複素環」は、それ自体で、または別の用語の部分として、3～8個の炭素原子（環員とまた称される）およびN、O、PまたはSから独立に選択される1～4個のヘテロ原子環員を有し、かつ親環系の環原子から1個の水素原子を除去することに由来する、一価の置換または非置換の芳香族または非芳香族の単環式または二環式環系を指す。複素環中の1個または複数のN、CまたはS原子は酸化することができる。ヘテロ原子を含む環は、芳香族または非芳香族でよい。他に断らない限り、複素環は、任意のヘテロ原子または炭素原子においてそのペンダント基に結合しており、これは安定的な構造をもたらす。 $C_3 \sim C_8$ 複素環の代表例には、これらに限定されないが、ピロリジニル、アゼチジニル、ペベリジニル、モルホリニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ベンゾフラニル、ベンゾチオフエン、インドリル、ベンゾピラゾリル、ピロリル、チオフエニル（チオフエン）、フラニル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、ピリミジニル、ピリジニル、ピラジニル、ピリダジニル、イソチアゾリル、およびイソオキサゾリルが含まれる。

20

【0071】

他に示さない限り、「 $C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ」は、それ自体で、または別の用語の部分として、複素環基の水素原子の1つが結合で置き換えられている、上記で定義した $C_3 \sim C_8$ 複素環基を指す（すなわち、これは二価である）。選択した実施形態では、例えば、並列コネクタ単位、分岐単位または薬物結合単位がヘテロシクロを含むとき、このヘテロシクロは、複素環基の水素原子の1個または2個が結合で置き換えられている、上記で定義した複素環基である（すなわち、ヘテロシクロは、二価または三価でよい）。

30

【0072】

他に示さない限り、「 $C_3 \sim C_8$ 炭素環」は、それ自体で、または別の用語の部分として、親環系の環原子からの1個の水素原子の除去に由来する、3員、4員、5員、6員、7員または8員の一価の置換または非置換の飽和または不飽和の非芳香族単環式または二環式炭素環式環である。代表的な $C_3 \sim C_8$ 炭素環には、これらに限定されないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンタジエニル、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、1,4-シクロヘキサジエニル、シクロヘプチル、1,3-シクロヘプタジエニル、1,3,5-シクロヘプタトリエニル、シクロオクチル、およびシクロオクタジエニルが含まれる。

40

【0073】

他に示さない限り、「 $C_3 \sim C_8$ カルボシクロ」は、それ自体で、または別の用語の部分として、炭素環基の水素原子のもう1個が結合で置き換えられている、上記で定義した $C_3 \sim C_8$ 炭素環基を指す（すなわち、これは二価である）。選択した実施形態では、例えば、並列コネクタ単位、分岐単位または薬物結合単位がカルボシクロを含むとき、このカルボシクロは、炭素環基の水素原子の1個または2個は、結合で置き換えられている、上記で定義した炭素環基である（すなわち、カルボシクロは、二価または三価でよい）。

50

【0074】

他に示さない限り、用語「ヘテロアルキル」は、それ自体で、または別の用語と組み合わせ、特に明記しない限り、安定的な直鎖または分岐鎖炭化水素、またはこれらの組合せを意味し、これは完全飽和しており、または1～3の不飽和度を含有し、記述した数の炭素原子、ならびにO、N、SiおよびSからなる群から選択される1～10個、好ましくは1～3個のヘテロ原子からなり、ここで窒素および硫黄原子は、任意選択で酸化されていてよく、窒素ヘテロ原子は、任意選択で四級化されていてよい。ヘテロ原子（複数可）O、NおよびSは、ヘテロアルキル基の任意の内部の位置において、またはアルキル基が分子の残部に結合している位置において配置し得る。ヘテロ原子Siは、アルキル基が分子の残部に結合している位置を含めて、ヘテロアルキル基の任意の位置において配置し得る。例には、 $-CH_2-CH_2-O-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$ 、 $-NH-CH_2-CH_2-NH-C(O)-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ 、 $-CH=CH-O-CH_3$ 、 $-Si(CH_3)_3$ 、 $-CH_2-CH=N-O-CH_3$ 、および $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$ が含まれる。2個までのヘテロ原子は、連続的、例えば、 $-CH_2-NH-OCH_3$ および $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$ でよい。好ましい実施形態では、 $C_1 \sim C_4$ ヘテロアルキルまたはヘテロアルキレンは、1～4個の炭素原子および1個または2個のヘテロ原子を有し、 $C_1 \sim C_3$ ヘテロアルキルまたはヘテロアルキレンは、1～3個の炭素原子および1個または2個のヘテロ原子を有する。一部の態様では、ヘテロアルキルまたはヘテロアルキレンは飽和している。

【0075】

他に示さない限り、用語「ヘテロアルキレン」は、それ自体で、または別の置換基の部分として、 $-CH_2-CH_2-S-CH_2-CH_2-$ および $-CH_2-S-CH_2-CH_2-NH-CH_2-$ によって例示されるような（上記で考察するような）ヘテロアルキルに由来する二価基を意味する。ヘテロアルキレン基について、ヘテロ原子はまた、鎖末端の一方または両方を占めることができる。またさらに、アルキレンおよびヘテロアルキレン連結基について、連結基の配向は暗示されない。選択した実施形態では、例えば、並列コネクタ単位、分岐単位または薬物結合単位がヘテロアルキレンを含むとき、このヘテロアルキレンは、ヘテロアルキル基の水素原子の1個または2個が結合で置き換えられている、上記で定義したヘテロアルキル基である（すなわち、ヘテロアルキレンは、二価または三価でよい）。

【0076】

「置換アルキル」および「置換アリール」とは、それぞれ、1個または複数の水素原子が置換基でそれぞれ独立に置き換えられているアルキルおよびアリールを意味する。典型的な置換基には、これらに限定されないが、 $-X$ 、 $-R$ 、 $-O^-$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-S^-$ 、 $-NR_2$ 、 $-NR_3$ 、 $=NR$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-N=C=O$ 、 $-NCS$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NRC(=O)R$ 、 $-C(=O)R$ 、 $-C(=O)NR_2$ 、 $-SO_3^-$ 、 $-SO_3H$ 、 $-S(=O)_2R$ 、 $-OS(=O)_2OR$ 、 $-S(=O)_2NR$ 、 $-S(=O)R$ 、 $-OP(=O)(OR)_2$ 、 $-P(=O)(OR)_2$ 、 $-PO_3^-$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-AsO_2H_2$ 、 $-C(=O)R$ 、 $-C(=O)X$ 、 $-C(=S)R$ 、 $-CO_2R$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-C(=S)OR$ 、 $C(=O)SR$ 、 $C(=S)SR$ 、 $C(=O)NR_2$ 、 $C(=S)NR_2$ 、または $C(=NR)NR_2$ が含まれ、各Xは、独立に、ハロゲン： $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、または $-I$ であり、各Rは、独立に、 $-H$ 、 $-C_1 \sim C_{20}$ アルキル、 $-C_6 \sim C_{20}$ アリール、 $-C_3 \sim C_{14}$ 複素環、保護基またはプロドラッグ部分である。典型的な置換基はまた、 $(=O)$ を含む。上記のようなアルキレン、炭素環、カルボシクロ、アリーレン、ヘテロアルキル、ヘテロアルキレン、複素環、およびヘテロシクロ基はまた、同様に置換され得る。

【0077】

本明細書において使用する場合、用語「遊離薬物」とは、PEG単位にまたはリガンド

単位の分解生成物に直接的または間接的にのいずれかで共有結合で結合していない生物活性のある薬物部分を指す。遊離薬物は、LDC中の放出可能なアセンブリ単位によって実現される放出機序を介したリンカー単位からの切断によって直ちに生じるような薬物、またはそれに続く細胞内の変換または代謝を指すことができる。一部の態様では、遊離薬物は形態H-Dを有し、または電荷を帯びた部分として存在し得る。遊離薬物は、所望の生物学的効果を発揮することができる薬理学的活性種である。一部の態様では、薬理学的 (pharmacologically) 活性種は親薬物でなくてもよく、それに続く細胞内代謝を受けてこなかったリンカー単位の構成要素を含み得る。

リガンド-薬物コンジュゲート化合物および関連する中間体

【0078】

本発明は、好ましくないPK特性を有するリガンド-薬物コンジュゲート(LDC)が、本明細書に記載のようなその薬物単位に対して並列配向であるPEG単位の配置によって改善されるこれらのPK特性を有することができるという発見に基づいている。一部の態様では、PEG化されたコンジュゲートのクリアランスプロファイルは、高い薬物負荷量においてでさえ、コンジュゲートしていないリガンド(すなわち、標的化薬剤、例えば、抗体または関連する抗原結合フラグメント)のクリアランスプロファイルと同様である。LDCは、リガンド単位(すなわち、標的化リガンド)、リンカー単位、および薬物単位を含む。標的化リガンドへのその結合の前または後のリンカー単位は、薬物単位をリガンド単位へと接続させ、かつ薬物単位に対して並列構成であるPEG単位を含む。この並列構成は、放出可能なアセンブリ単位による薬物単位、およびPEG単位の、並列コネクタ単位への結合から生ずる。リンカー単位は、薬物単位へと接続したとき、薬物-リンカーと言及することができる。LDCの集団は好ましくは、リガンド単位当たり少なくとも約6個、約7個または約8個の薬物-リンカーの平均薬物-リンカー負荷量を有する。

【0079】

PEG単位は、薬物-リンカーの疎水性構成要素の最適化されたレベルの疎水性のマスクングを与えるように設計される。この理由のために、本明細書において教示するようなPEG単位の組み込みは、コンジュゲートしていないリガンドと比較して、結果として生じたコンジュゲートの薬物動態に負の影響を与えるのに十分な疎水性を他の方法で有する薬物-リンカーに特に適している。これらのより不良な薬物動態は、より大きな血漿クリアランスを含む。それゆえ、コンジュゲートしていないリガンドに対して有意により大きな血漿クリアランスおよび対応してより低い血漿曝露を示すリガンド薬物コンジュゲートは、本発明によって利益を得る。

【0080】

リガンド-薬物コンジュゲートは、薬物単位およびPEG単位の疎水性薬物-リンカー部分内の並列配向によってより好ましい薬物動態学的特性を有し、それによって血漿クリアランスに対する薬物-リンカー部分の薬物単位および/または他の構成要素の疎水性の負のインパクトは低減または取り除かれる(すなわち、薬物-リンカー部分の疎水性はマスクされる)。並列配向は並列コネクタ単位(L^P)によって達成される。並列コネクタ単位は、薬物単位、PEG単位および適当な分岐構成のリガンドを接続して、必要な並列配向を実現するように作用するためである。並列コネクタ単位は、コンジュゲートの構成要素のための結合部位を有する足場と考えることができ、これはPEG単位と並列配向にある複数の薬物単位を有するように多重化された(multiplied)、PEG化された多重化された足場を提供することができる。一部の実施形態では、その疎水性が並列配向されたPEG単位によってマスクされる薬物-リンカー部分中の疎水性構成要素は、疎水性薬物単位である。

【0081】

薬物単位は、放出可能なアセンブリ単位を介して並列コネクタ単位に結合している。放出可能なアセンブリ単位は、例えば、細胞毒性または細胞増殖抑制性を誘導するのに十分な、標的細胞における薬物の効率的な放出を可能とする。典型的には、放出可能な

10

20

30

40

50

アセンブリー単位は、コンジュゲートが一旦標的細胞中に内部移行されると遊離薬物を効率的に放出するよう、設計されるが、それはまた、標的細胞の近傍において遊離薬物を放出するようにも設計し得る。切断のための適切な認識部位は、LDCの薬物単位（複数可）の効率的な放出を可能にする部位である。典型的には、認識部位は、ペプチド切断部位（例えば、ペプチドをベースとする放出可能なアセンブリー単位中）、糖切断部位（例えば、糖をベースとする放出可能なアセンブリー単位中）、またはジスルフィド切断部位（例えば、ジスルフィドをベースとする放出可能なアセンブリー単位中）である。ペプチド切断部位の例は、細胞内プロテアーゼによって認識される部位、例えば、リソソーム中に存在する部位を含む。糖切断部位の例は、グルクロニダーゼ、例えば、ベータ-グルクロニダーゼを含めた、グリコシダーゼによって認識される部位を含む。

10

【0082】

任意の生理活性化合物（すなわち、薬物）は、本発明における薬物単位として使用することができる。生理活性化合物は、LDC中への薬物単位としてのその組込みのための適切な部位を有してもよく、または、その目的のために修飾することができ、リンカー単位の部分を保持し得るかもしくは保持し得ないその修飾された薬物がLDCから放出されるとき、親薬物の所望の生物活性を実質的に保持し続ける。好ましい薬物単位は、親生理活性化合物の放出を提供する。薬物単位は、アウリスタチンまたは非アウリスタチン薬物でよく、これは薬物-リンカー部分の疎水性構成要素であり、その疎水性は並列配向された薬物単位によってマスクされる。本発明の効果は、薬物単位、放出可能なアセンブリー単位、または薬物単位/放出可能なアセンブリー単位の組合せが、天然で疎水性であり、それによって結果として生じたコンジュゲートの薬物動態に負の影響を与える実施形態ではより明白となる。疎水性薬物の例は、モノメチルアウリスタチンE、およびモノメチルアウリスタチンEと匹敵する、またはこれより大きい疎水性を有する薬物を含む。疎水性の放出可能なアセンブリー単位の例は、本明細書において特に例示する疎水性自壊的構成要素を有するペプチドをベースとする、および糖をベースとする放出可能なアセンブリー単位、ならびにこのような放出可能なアセンブリー単位と匹敵する、またはこれより大きい疎水性を有する放出可能なアセンブリー単位を含む。

20

【0083】

疎水性は、SlogPを使用して測定することができる。SlogPは、オクタノール/水の分配係数の対数として定義され（暗に示された水素を含めた）、Chemical Computing groupからのプログラムMOE（商標）を使用して計算することができる（Wildman, S.A., Crippen, G.M.; Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions; J. Chem. Inf. Comput. Sci., 39巻、5号（1999年）868~873頁を使用して計算したSlogP値）。参照薬物単位または放出可能なアセンブリー単位と匹敵する疎水性を有する薬物単位または放出可能なアセンブリー単位に言及するとき、SlogP値は、参照薬物単位または放出可能なアセンブリー単位のSlogP値の20%以内、好ましくは10%以内である。

30

【0084】

上記を考慮して、本発明は、実施形態の1つの群では、リガンド-薬物コンジュゲートの集団を含むリガンド-薬物コンジュゲート組成物を提供する。リガンド-薬物コンジュゲートは、リガンド単位およびそこに結合した複数の薬物-リンカー単位を含む。好ましくは、組成物中にリガンド当たり平均で約6~約14個、約6~約12個、約6~約10個、約8~約14個、約8~約12個、約8~約10個の薬物-リンカー単位が存在する。リガンドへの例示的な結合は、チオエーテル連結を介してである。リガンド上の例示的なコンジュゲーション部位は、鎖間のジスルフィド残基および/またはリガンド中に導入されたチオール含有残基、例えば、導入されたシステインの還元から得られるチオール基である。結合は、例えば、鎖間のジスルフィドに由来する、および0~8個の導入されたシステイン残基に由来するチオール残基を介してでよい。

40

50

【0085】

実施形態の関連する群では、疾患の処置のためにリガンド - 薬物コンジュゲートを患者に投与するための方法を提供する。疾患は、例えば、がんまたは自己免疫疾患でよい。リガンド - 薬物コンジュゲートは、治療有効量で、治療的に有効なスケジュールで投与される。

実施形態

【0086】

本発明のいくつかの実施形態を下記に記載し、それに続いて、リガンド - 薬物コンジュゲートおよびその中間体を構成する構成要素についてのより詳細な考察を記載する。リガンド - 薬物コンジュゲートおよびその中間体の構成要素のための選択した実施形態のいずれかは、本明細書に記載の本発明のそれぞれおよび全ての態様に適用することができるか、またはこれらは単一の態様に関し得る。選択した実施形態は、任意の組合せで一緒に組み合わせられ得る。

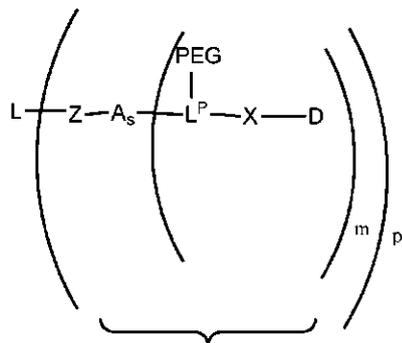
10

リガンド - 薬物コンジュゲート化合物

【0087】

実施形態の1つの群では、本明細書において提供するものは、遊離薬物を放出することができるLDC化合物であり、LDC化合物は、下記の式AA、

【化6】



薬物-リンカー (AA)

20

または薬学的に許容されるその塩によって表され、式中、

Lは、リガンド単位であり、

Dは、薬物単位であり、

PEGは、ポリエチレングリコール単位であり、

Zは、ストレッチャー単位であり、

Xは、放出可能なアセンブリ単位であり、

L^Pは、並列コネクター単位であり、

Aは、任意選択の分岐単位であり、

下付き文字pは、1~14、好ましくは2~12（好ましくは6~14、6~12、8~14または8~約12）の範囲の整数であり、

40

下付き文字mは、1~4の範囲の整数、好ましくは1または2であり、

下付き文字sは、0または1であり、ただし、sが0であるとき、mは1であり、sが1であるとき、mは2、3または4である。

【0088】

実施形態の別の群では、式AAは、個々のLDC化合物ではなく、LDC組成物（すなわち、個々のLDC化合物の集団を含む組成物）を表す。そのような実施形態では、pは、組成物中のリガンド当たりの薬物-リンカーの平均数を表す。そのような実施形態では、pは典型的には整数値でなく、1~約14、好ましくは約2~約12（好ましくは約6~約14、約6~約12、約8~約14または約8~約12）の範囲でよい。他の変数（例えば、L、Z、A、L^P、PEG、X、D、s、およびm）は同じままである。

50

【 0 0 8 9 】

実施形態の別の群では、LDC組成物は、LDC化合物の集団を含み、個々のLDC化合物は、式AAによって表され、それぞれの個々のLDC化合物について、pは、1～14、好ましくは2～12（好ましくは6～14、6～12、8～14または8～約12）の範囲の整数から独立に選択され、組成物中のリガンド当たりの薬物-リンカーの平均数は、1～約14、好ましくは約2～約12（好ましくは約6～約14、約6～約12、約8～約14または約8～約12）である。

【 0 0 9 0 】

一部の態様では、1～32個、または2～32個（好ましくは6～32個または8～32個）の薬物単位は、各リガンド単位に結合している。リガンド-薬物コンジュゲートの集団は、リガンド当たり平均で1～32個または約2～32個（好ましくは約6～32個または約8～32個）の薬物単位を有することができる。

【 0 0 9 1 】

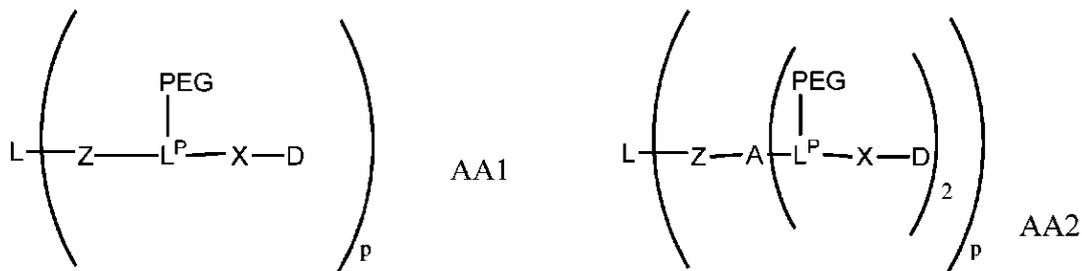
式AAによって表されるLDC化合物またはLDC組成物の選択した実施形態は、

- 1) mは1であり、sは0であるもの、
- 2) mは2～4であり、sは1であるもの、
- 3) mは2であり、sは1であるもの、
- 4) mは1であり、sは0であり、LDC化合物について、pは、6～14、8～14、または8～12の範囲の整数であり、あるいはLDC組成物について、pは、6～約14、約8～約14、または約8～約12の範囲の数であるもの、
- 5) mは2～4であり、sは1であり、LDC化合物について、pは、6～14、8～14、または8～12の範囲の整数であり、あるいはLDC組成物について、pは、6～約14、約8～約14、または約8～約12の範囲の数であるもの、
- 6) mは2であり、sは1であり、LDC化合物について、pは、6～14、8～14、または8～12の範囲の整数であり、あるいはLDC組成物について、pは、6～約14、約8～約14、または約8～約12の範囲の数であるもの、
- 7) mは2であり、sは1であり、pは8であるもの、
- 8) mは1であり、sは0であり、pは8であるもの、
- 9) リガンド単位に結合した1～32個または約2～32個（好ましくは約6～約32個または約8～約32個）の薬物単位が存在する、このパラグラフの1～8に記載する実施形態のいずれか1つ、
- 10) L^Pが、天然または非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンである、このパラグラフの1～9に記載する実施形態のいずれか1つを含む。

【 0 0 9 2 】

式AAによって表されるLDC化合物またはLDC組成物の選択した実施形態は、下記の式AA1およびAA2、

【 化 7 】



を有するかまたは薬学的に許容されるその塩であり、式中、Lは、リガンド単位であり、Dは、薬物単位であり、

10

20

30

40

50

P E G は、ポリエチレングリコール単位であり、
 Z は、ストレッチャー単位であり、
 X は、放出可能なアセンブリー単位であり、
 L^P は、並列コネクタ単位であり、
 A は、存在する分岐単位であり、
 リガンド - 薬物コンジュゲート化合物について、下付き文字 p は、1 ~ 14 の範囲、好ましくは 2 ~ 12 (好ましくは 6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 14 または 8 ~ 12) の範囲の整数であり、あるいはリガンド - 薬物コンジュゲート組成物について、p は、1 ~ 約 14 の範囲、好ましくは約 2 ~ 約 12 (好ましくは約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14 または約 8 ~ 約 12) の範囲の数である。

10

【0093】

上記のものを含めて、p 値が存在する、本明細書において提供する L D C 化合物について選択した実施形態のいずれかにおいて、p は、1 ~ 14、2 ~ 14、2 ~ 10、4 ~ 12、6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 12 または 8 ~ 10 の範囲の整数でよい。下付き文字 p は、1、または 2、または 3、または 4、または 5、または 6、または 7、または 8、または 9、または 10、または 11、または 12、または 13、または 14 でよい。

【0094】

上記のものを含めて、p 値が存在する、本明細書において提供する L D C 組成物について選択した実施形態のいずれかにおいて、p は、1 ~ 約 14、約 2 ~ 約 14、約 2 ~ 約 10、約 4 ~ 約 12、約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 12 または約 8 ~ 約 10 の範囲である。下付き文字 p は、1 もしくは約 1、または 2 もしくは約 2、または 3 もしくは約 3、または 4 もしくは約 4、または 5 もしくは約 5、または 6 もしくは約 6、または 7 もしくは約 7、または 8 もしくは約 8、または 9 もしくは約 9、または 10 もしくは約 10、または 11 もしくは約 11、または 12 もしくは約 12、または 13 もしくは約 13、または 14 もしくは約 14 でよい。

20

【0095】

実施形態の別の群では、本明細書において提供するの、遊離薬物を放出することができるリガンド - 薬物コンジュゲート (L D C) であり、1 ~ 32 個の薬物単位 (好ましくは 2 ~ 32 個の薬物単位、6 ~ 32 個の薬物単位、8 ~ 32 個の薬物単位、6 ~ 14 個の薬物単位、約 8 ~ 約 14 個の薬物単位、または約 8 ~ 約 12 個の薬物単位) は、リンカー単位を通して L D C の標的化リガンドにコンジュゲートされており、薬物 - リンカー部分の各薬物単位は、リガンド (L) によって標的とされる部位に近接して遊離薬物を放出する切断可能な構成要素 (すなわち、放出可能なアセンブリー単位) を通してそのリンカー単位へと結合しており、L D C は、それへとリガンド単位が接続している並列コネクタ単位 (L^P)、およびポリエチレングリコール (P E G) 単位をさらに含み、リンカー - 薬物部分の P E G および薬物単位は、互いに平行配向で接続している。ポリエチレングリコール単位は、4 ~ 72 個 (好ましくは 6 ~ 72 個の繰り返し - O C H₂ C H₂ - 単位、より好ましくは 6 ~ 36 個、または 8 ~ 24 個) の繰り返し単位を有する。リガンドは、抗体単位、好ましくはインタクトな抗体単位でよい。切断可能なリンカーは、例えば、ペプチド切断部位、糖切断部位、またはジスルフィド切断部位を含むことができる。薬物は、アウリスタチンまたは非アウリスタチンでよい。アウリスタチン (a u r i s a t i n) または非アウリスタチンは、モノメチルアウリスタチン E と匹敵する、またはこれより大きい疎水性を有することができる。アウリスタチンは、モノメチルアウリスタチン E でよい。一部の態様では、A D C は、P E G 単位を欠いているか、または P E G 単位を含有するが、抗体および薬物に対して直列配向で配置されている同じもしくは実質的に同じ A D C と比較して、改善された薬物動態特性を示す。一部の態様では、A D C は、コンジュゲートされてないときの抗体構成要素と同じもしくは実質的に同じ薬物動態特性を示す。薬物 - リンカー化合物

30

40

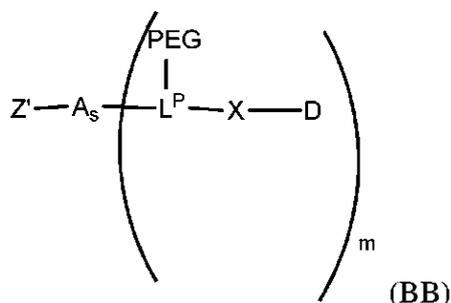
【0096】

一部の態様では、リガンド - 薬物コンジュゲートを設計するとき、リガンド単位へのコ

50

ンジュゲーション前に完全な薬物 - リンカーを合成することが望ましい。そのような実施形態では、薬物 - リンカー化合物は、中間化合物として作用する。下記のように、その構造が、式 B B、

【化 8】



10

または薬学的に許容されるその塩によって表され、式中、

D は、薬物単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単位であり、

X は、放出可能なアセンブリー単位であり、

L^P は、並列コネクター単位であり、

A は、任意選択の分岐単位であり、

下付き文字 m は、1 ~ 4 の範囲の整数であり、好ましくは 1 または 2 であり、

下付き文字 s は、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は 2 ~ 4 である、例示的な薬物 - リンカー化合物を提供する。

20

【0097】

式 B B の選択した実施形態は、

1) m は 1 であり、s は 0 であるもの、

2) m は、2、3 または 4 であり、s は 1 であるもの、

3) m は 2 であり、s は 1 であるもの、

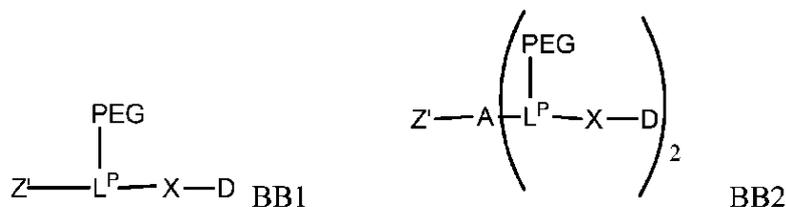
4) L^P が、天然または非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンである、このパラグラフの 1 ~ 3 に記載する実施形態のいずれか 1 つを含む。

30

【0098】

式 B B の選択した実施形態は、下記の式、

【化 9】



40

または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、

D は、薬物単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単位であり、

50

X は、放出可能なアセンブリ単位であり、
 L^P は、並列コネクタ単位であり、
 A は、存在する分岐単位である。
 中間体リンカー化合物

【0099】

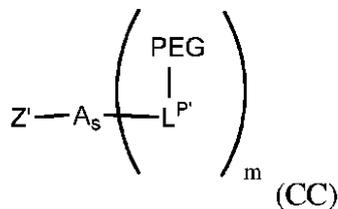
一部の態様では、リガンド-薬物コンジュゲートを設計するとき、リガンド-薬物コンジュゲートの - X - D 構成要素を結合させる前に、リンカーの構成要素をリガンド単位（例えば、抗体）へとコンジュゲートすることが望ましいことがある。例えば、チオール含有置換基、例えば、システインが使用されて、- X - D 構成要素を結合させる実施形態では、リガンド-薬物コンジュゲートの - X - D 構成要素を結合させる前に、リンカーの構成要素をリガンド単位（例えば、抗体）へとコンジュゲートすることが望ましいことがある。一部のこのような実施形態では、並列コネクタ単位は、放出可能なアセンブリ単位への共有結合的連結を形成することができるが、まだそこに結合されていない。並列コネクタ単位は、合成を容易にするために保護基によって保護することができる。保護基は、放出可能なアセンブリ単位への結合の直前に除去することができる。

10

【0100】

例示的な中間体リンカー化合物は、下記のように式 CC、

【化10】



20

を有するかまたは薬学的に許容されるその塩であるものとして提供され、式中、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単位であり、

30

A は、任意選択の分岐単位であり、

L^P は、薬物-放出単位への共有結合による結合を形成することができる並列コネクタ単位であり、

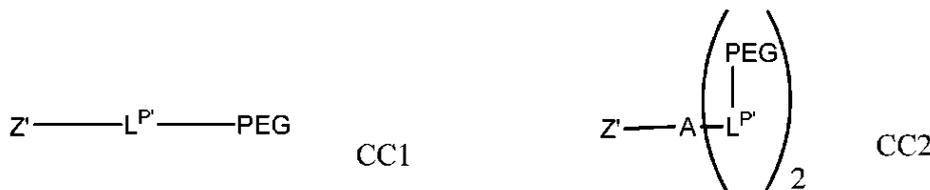
下付き文字 m は、1 ~ 4 の範囲の整数であり、好ましくは 1 または 2 であり、

下付き文字 s は、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は 2、3 または 4 である。

【0101】

式 CC の選択した実施形態は、下記の式、

【化11】



40

または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単

50

位であり、

- X - D は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリ単位であり、

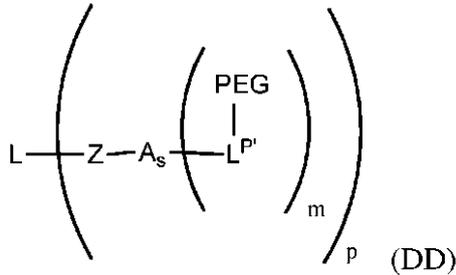
A は、分岐単位であり、

L^{P'} は、- X - D への共有結合による結合を形成することができる並列コネクター単位である。

【 0 1 0 2 】

一部の態様では、中間体リンカー化合物は、リガンド単位にコンジュゲートして、中間体リガンド - リンカー化合物を形成する。中間体リガンド - リンカー化合物の例示的な実施形態は、下記に示す構造、

【 化 1 2 】



10

20

または薬学的に許容されるその塩によって表され、式中、

L は、リガンド単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z は、ストレッチャー単位であり、

L^{P'} は、- X - D への共有結合による結合を形成することができる並列コネクター単位であり、

A は、任意選択の分岐単位であり、

下付き文字 p は、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12 (好ましくは 6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 14 または 8 ~ 12) の範囲の整数であり、

下付き文字 m は、1 ~ 4 の範囲の整数、好ましくは 1 または 2 であり、

下付き文字 s は、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は 2、3 または 4 である。

30

【 0 1 0 3 】

実施形態の別の群では、式 DD は、個々の中間体リガンド - リンカー化合物を表さないが、個々の中間体リガンド - リンカー化合物の集団を含む組成物を表す。そのような実施形態では、p は、組成物中のリガンド当たりの中間体リンカーの平均数を表す。そのような実施形態では、p は典型的には整数値ではなく、1 ~ 約 14、好ましくは約 2 ~ 約 12 (好ましくは約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14 または約 8 ~ 約 12) の範囲でよい。他の変数 (例えば、L、Z、A、L^{P'}、PEG、s、および m) は同じままである。

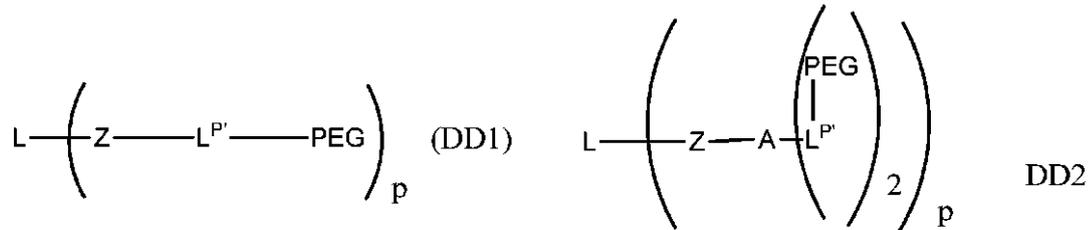
40

【 0 1 0 4 】

式 DD の選択した実施形態は、下記の式、

50

【化 1 3】



10

または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、

L は、リガンド単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z - は、ストレッチャー単位であり、

- X - D は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリー単位であり、

L^{P'} は、- X - D への共有結合による結合を形成することができる並列コネクター単位であり、

A は、分岐単位であり、

中間体リガンド - リンカー化合物について、下付き文字 p は、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12 (好ましくは 6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 14 または 8 ~ 12) の範囲の整数であり、
あるいは中間体リガンド - リンカー組成物について、下付き文字 p は、1 ~ 約 14、好ましくは約 2 ~ 約 12 (好ましくは約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14 または約 8 ~ 約 12) の範囲の数である。

20

さらなる実施形態

【0105】

式 AA のコンジュゲートおよびその中間体は、PEG 単位当たり 1 個の薬物単位を含むこと、1 : 1 の比を可能とする。しかし、PEG 単位当たり 1 個の薬物、または PEG 単位当たり 2 個もしくはそれ超の薬物を有する薬物コンジュゲートを提供することが望ましいことがある。したがって、本発明は、PEG 単位当たり少なくとも 1 個の薬物を有するリガンド - 薬物コンジュゲートおよびその中間体を提供する。

30

【0106】

リガンド - 薬物コンジュゲートのコア構成要素 (すなわち、リガンド単位、ストレッチャー単位、並列コネクター単位、PEG 単位、放出可能なアセンブリー単位、および薬物単位) が存在する限り、さらなる薬物単位を含むリガンド - 薬物コンジュゲートの合成は、本明細書において提供する教示を使用して容易に達成することができることを当業者は認識する。さらなる分岐単位および / または薬物結合単位を含むことは、PEG 単位当たり複数の薬物の結合を可能とする。さらなる - X - D 単位は、分岐単位または薬物結合単位を介して結合している。

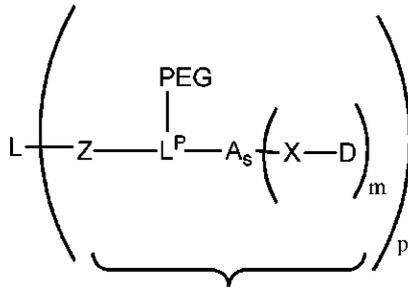
【0107】

実施形態の 1 つの群では、遊離薬物を放出することができるこのような LDC 化合物は、式 (I)、(II)、もしくは (III)、

40

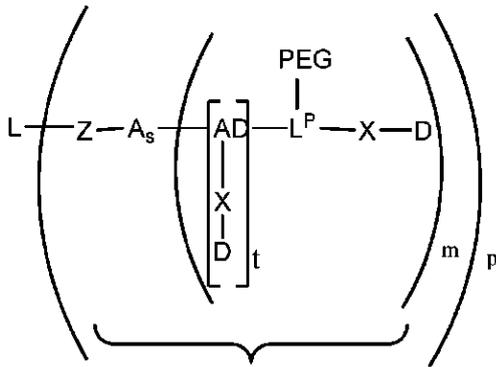
50

【化 1 4 - 1】



(I);

10

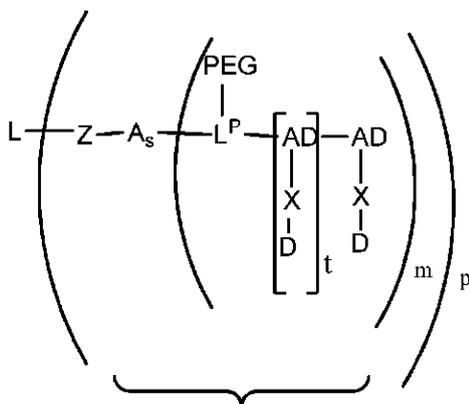


(II); もしくは

20

30

【化 1 4 - 2】



(III)

40

または薬学的に許容されるその塩によって表され、式中、
 L は、リガンド単位であり、
 D は、薬物単位であり、

50

P E G は、ポリエチレングリコール単位であり、
 Z は、ストレッチャー単位であり、
 X は、放出可能なアセンブリー単位であり、
 L^P は、並列コネクタ単位であり、
 A は、任意選択の分岐単位であり、
 A D は、薬物結合単位であり、
 下付き文字 p は、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12（好ましくは 6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 14 または 8 ~ 12）の範囲の整数であり、
 下付き文字 t は、0 ~ 8 の範囲の整数であり、好ましくは 0、1、2 または 3 であり、
 下付き文字 m は、1 ~ 4 の範囲の整数であり、好ましくは 1 または 2 であり、
 下付き文字 s は、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は 2、3 または 4 である。

10

【0108】

実施形態の別の群では、式 I、II および III は、個々の LDC 化合物ではなく、LDC 組成物（すなわち、個々の LDC 化合物の集団を含む組成物）を表す。そのような実施形態では、p は、組成物中のリガンド当たりの薬物-リンカー平均数を表す。そのような実施形態では、p は典型的には整数値でなく、1 ~ 約 14、好ましくは約 2 ~ 約 12（好ましくは約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14 または約 8 ~ 約 12）の範囲でよい。他の変数（例えば、L、Z、A、L^P、P E G、X、D、A D、s、m、および t）は同じままである。

20

【0109】

実施形態の別の群では、LDC 組成物は、LDC 化合物の集団を含み、個々の LDC 化合物は、式 I、II または III によって表され、それぞれの個々の LDC 化合物について、p は、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12（好ましくは 6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 14 または 8 ~ 約 12）の範囲の整数から独立に選択され、組成物中のリガンド当たりの薬物-リンカーの平均数は、1 ~ 約 14、好ましくは約 2 ~ 約 12（好ましくは約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14 または約 8 ~ 約 12）である。

【0110】

一部の態様では、1 ~ 32 個、または 2 ~ 32 個（好ましくは 6 ~ 32 個または 8 ~ 32 個）の薬物単位は、各リガンド単位に結合している。リガンド-薬物コンジュゲートの集団は、リガンド当たり平均で 1 ~ 32 個または約 2 ~ 32 個（好ましくは約 6 ~ 32 個または約 8 ~ 32 個）の薬物単位を有することができる。

30

【0111】

式 I、II、および III の選択した実施形態は、
 1) m は 1 であり、s は 0 であるもの、
 2) m は、2、3 または 4 であり、s は 1 であるもの、
 3) m は 2 であり、s は 1 であるもの、
 4) m は 1 であり、s は 0 であり、リガンド-薬物コンジュゲート化合物について、p は、2 ~ 12、4 ~ 12、8 ~ 14、または 8 ~ 12 の範囲の整数であり、あるいはリガンド-薬物コンジュゲート組成物について、p は、約 2 ~ 約 12、約 4 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14、または約 8 ~ 約 12 の範囲の数であるもの、
 5) m は、2、3 または 4 であり、s は 1 であり、リガンド-薬物コンジュゲート化合物について、p は、約 2 ~ 約 12、約 4 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14、または約 8 ~ 約 12 の範囲の整数であり、あるいはリガンド-薬物コンジュゲート組成物について、p は、約 2 ~ 約 12、約 4 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14、または約 8 ~ 約 12 の範囲の数であるもの、
 6) m は 2 であり、s は 1 であり、リガンド-薬物コンジュゲート化合物について、p は、2 ~ 12、4 ~ 12、6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 14、または約 8 ~ 約 12 の範囲の整数であり、あるいはリガンド-薬物コンジュゲート組成物について、p は、約 2 ~ 約 12、約 4 ~ 約 12、約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14、または約 8 ~ 約 12 の範囲の数であるもの、

40

50

- 7) m は 2 であり、s は 1 であり、p は 8 であるもの、
 8) m は 1 であり、s は 0 であり、p は 8 であるもの、
 9) t が 0 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 10) t が 1 ~ 8 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 11) t が 1 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 12) t が 2 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 13) t が 3 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 14) t が 4 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 15) t が 5 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 16) t が 6 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 17) t が 7 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 18) t が 8 である、このパラグラフの 1 ~ 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 19) リガンド単位に結合した 1 ~ 3 2 個、または約 2 ~ 3 2 個の薬物単位が存在する、
 このパラグラフの 1 ~ 1 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 20) リガンド単位に結合した 6 ~ 3 2 個または約 8 ~ 3 2 個の薬物単位が存在する、こ
 のパラグラフの 1 ~ 1 8 に記載する実施形態のいずれか 1 つ、
 21) L^P が、天然または非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、ま
 たはポリアミンである、このパラグラフの 1 ~ 2 0 に記載する実施形態のいずれか 1 つ
 を含む。

10

【0112】

20

上記のものを含めて、p 値が存在する、本明細書において提供する LDC 化合物につい
 ての選択した実施形態のいずれかにおいて、p は、1 ~ 1 4、2 ~ 1 4、2 ~ 1 0、4 ~
 1 2、6 ~ 1 4、6 ~ 1 2、8 ~ 1 2 または 8 ~ 1 0 の範囲の整数でよい。下付き文字 p
 は、1、または 2、または 3、または 4、または 5、または 6、または 7、または 8、ま
 たは 9、または 1 0、または 1 1、または 1 2、または 1 3、または 1 4 でよい。

【0113】

上記のものを含めて、p 値が存在する、本明細書において提供する LDC 組成物につい
 ての選択した実施形態のいずれかにおいて、p は、1 ~ 約 1 4、約 2 ~ 約 1 4、約 2 ~ 約
 1 0、約 4 ~ 約 1 2、約 6 ~ 約 1 4、約 6 ~ 約 1 2、約 8 ~ 約 1 2 または約 8 ~ 約 1 0 の
 範囲である。下付き文字 p は、1 もしくは約 1、または 2 もしくは約 2、または 3 もしく
 は約 3、または 4 もしくは約 4、または 5 もしくは約 5、または 6 もしくは約 6、または
 7 もしくは約 7、または 8 もしくは約 8、または 9 もしくは約 9、または 1 0 もしくは約
 1 0、または 1 1 もしくは約 1 1、または 1 2 もしくは約 1 2、または 1 3 もしくは約 1
 3、または 1 4 もしくは約 1 4 でよい。他の変数（例えば、L、Z、A、L^P、PEG、
 X、D、AD、s、m、および t）は同じままである。

30

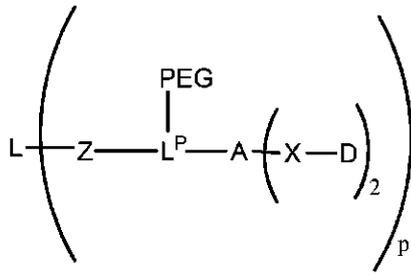
【0114】

式 I、I I、および I I I の選択した実施形態は、下記の式 I a、I b、I I a、I I
 b、I I b、I I I a、および I I I b、

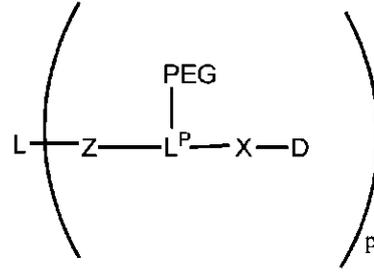
40

50

【化 1 5 - 1】

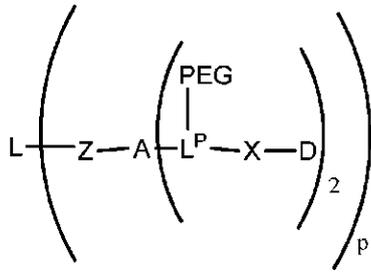


Ia

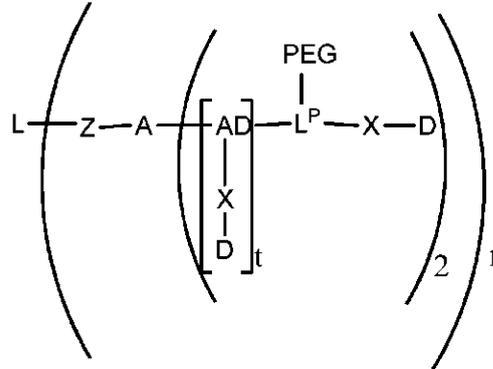


Ib

10

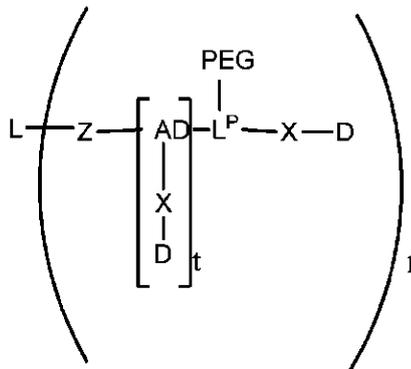


IIa

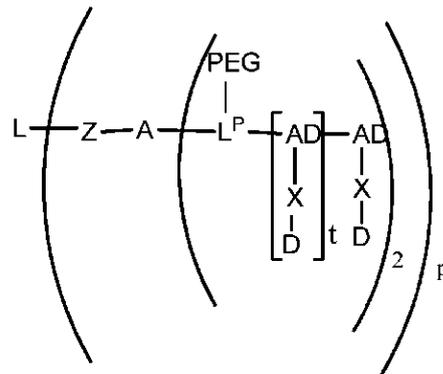


IIb

20



IIc

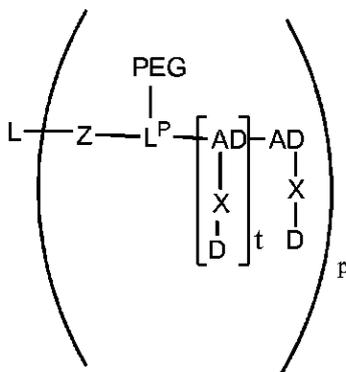


IIIa

30

および

【化 1 5 - 2】



IIIb

40

または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、

50

L は、リガンド単位であり、

D は、薬物単位であり、

P E G は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z は、ストレッチャー単位であり、

X は、放出可能なアセンブリー単位であり、

L^P は、並列コネクタ単位であり、

A は、任意選択の分岐単位であり、

A D は、薬物結合単位であり、

リガンド - 薬物コンジュゲート化合物について、下付き文字 p は、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12 (好ましくは 6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 14、または 8 ~ 12) の範囲の整数であり、またはリガンド - 薬物コンジュゲート組成物について、下付き文字 p は、1 ~ 約 14、好ましくは約 2 ~ 約 12 (好ましくは約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14、または約 8 ~ 約 12) の範囲の数であり、

下付き文字 t は、0 ~ 8 の範囲の整数であり、好ましくは 0、1、2 または 3 である。

【0115】

式 I a、I b、I I a、I I b、I I b、I I c、I I I a、および I I I b の選択した実施形態は、

1) t は 0 であるもの、

2) t は 1 ~ 8 であるもの、

3) t は 1 であるもの、

4) t は 2 であるもの、

5) t は 3 であるもの、

6) t は 4 であるもの、

7) t は 5 であるもの、

8) t は 7 であるもの、

9) t は 8 であるもの、

10) リガンド単位に結合した 1 ~ 32 個、約 2 ~ 32 個、6 ~ 32 個または約 8 ~ 32 個の薬物単位が存在する、このパラグラフの 1 ~ 10 に記載した実施形態のいずれか、

11) L^P が、天然または非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンである、このパラグラフの 1 ~ 11 に記載した実施形態のいずれかを含む。

【0116】

L D C 組成物についての式 I a、I b、I I a、I I b、I I b、I I c、I I I a、および I I I b の実施形態は、p が、6 ~ 約 12 ; 約 8 ~ 約 12 および約 8 ~ 約 10 の範囲の数であるものを含む。これらの組成物について、下付き文字 p は、6 もしくは約 6、または 7 もしくは約 7、または 8 もしくは約 8、または 9 もしくは約 9、または 10 もしくは約 10、または 11 もしくは約 11、または 12 もしくは約 12、または 13 もしくは約 13、または 14 もしくは約 14 でよい。これらの実施形態のいずれかにおいて、t は、0 ~ 8、1 ~ 8、または 0、1、2、3、4、5、6、7、または 8 でよい。

【0117】

L D C 化合物についての式 I a、I b、I I a、I I b、I I b、I I c、I I I a、および I I I b の実施形態は、p が、6 ~ 12 ; 8 ~ 12 および 8 ~ 10 の範囲の整数であるものを含む。下付き文字 p は、6、7、8、9、10、11、12、13、または 14 でよい。これらの実施形態のいずれかにおいて、t は、0 ~ 8、1 ~ 8、または 0、1、2、3、4、5、6、7、または 8 でよい。

薬物 - リンカー化合物

【0118】

下記の通り、式 I V、V、V I、

10

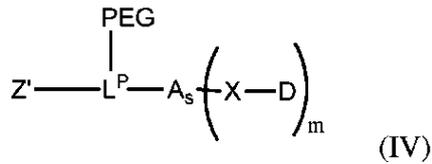
20

30

40

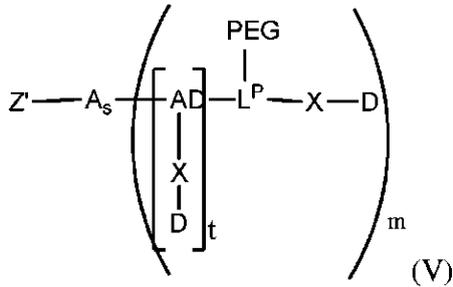
50

【化 1 6 - 1】

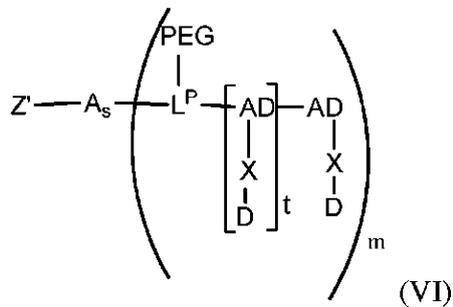


【化 1 6 - 2】

10



20



30

を有するかまたは薬学的に許容されるその塩である、PEG 単位当たり少なくとも 1 個の薬物を有する例示的な薬物 - リンカー化合物が提供され、式中、

D は、薬物単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単位であり、

X は、放出可能なアセンブリ単位であり、

L^P は、並列コネクター単位であり、

A は、任意選択の分岐であり、

AD は、薬物結合単位であり、

下付き文字 t は、0 ~ 8 の範囲の整数であり、好ましくは 0、1、2 または 3 であり、

下付き文字 m は、1 ~ 4 の範囲の整数であり、好ましくは 1 または 2 であり、

下付き文字 s は、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は 2、3 または 4 である。

【0 1 1 9】

式 IV、V および VI の選択した実施形態は、

1) m は 1 であり、s は 0 であるもの、

2) m は 2 ~ 4 であり、s は 1 であるもの、

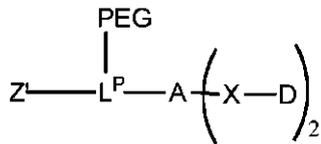
50

- 3) mは2であり、sは1であるもの、
 4) tが0である、このパラグラフの1～3に記載する実施形態のいずれか、
 5) tが1である、このパラグラフの1～3に記載する実施形態のいずれか、
 6) tが2である、このパラグラフの1～3に記載する実施形態のいずれか、および
 7) L^Pが、天然または非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンである、このパラグラフの1～6に記載する実施形態のいずれかを含む。

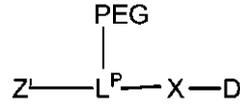
【0120】

式IV、VおよびVIの選択した実施形態は、下記の式、

【化17-1】



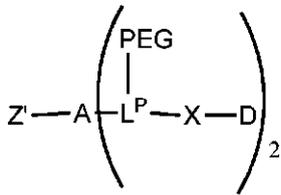
IVa



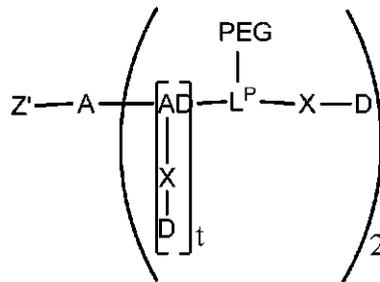
IVb

10

【化17-2】

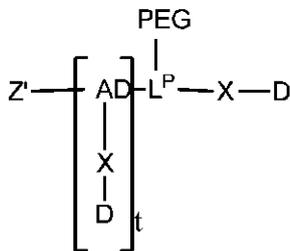


Va

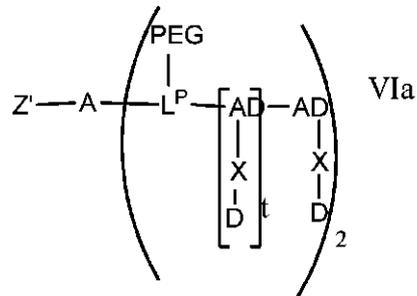


Vb

20

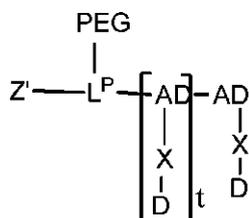


Vc



VIa

30



VIb

40

50

または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、

D は、薬物単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単位であり、

X は、放出可能なアセンブリー単位であり、

L^P は、並列コネクター単位であり、

A は、任意選択の分岐であり、

AD は、薬物結合単位であり、

下付き文字 t は、0 ~ 8 の範囲の整数であり、好ましくは 0、1、2 または 3 である。

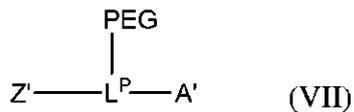
10

中間体リンカー化合物

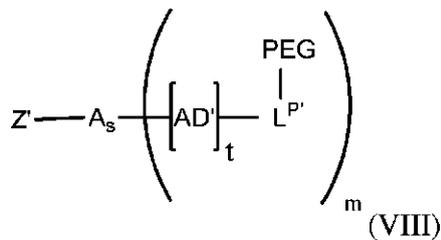
【0121】

PEG 単位当たり少なくとも 1 個の薬物を含む例示的な中間体リンカー化合物は、下記の通り、式 VII、VIII または IX、

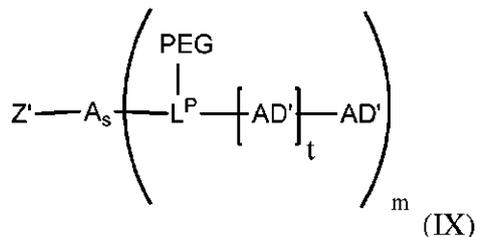
【化18】



20



30



40

有するかまたは薬学的に許容されるその塩であり、式中、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単位であり、

A' は、2 ~ 4 個の X - D 単位、好ましくは 2 個の X - D 単位への共有結合による結合を形成することができる分岐単位であり、

A は、任意選択の分岐単位であり、

50

A D' は、- X - D 単位への共有結合による結合を形成することができる薬物結合単位であり、

L^P は、並列コネクタ単位であり、

L^P' は、- X - D への共有結合による結合を形成することができる並列コネクタ単位であり、

下付き文字 t は、0 ~ 8 の範囲の整数であり、好ましくは 0、1、2 または 3 であり、

下付き文字 m は、1 ~ 4 の範囲の整数であり、好ましくは 1 または 2 であり、

下付き文字 s は、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は、2、3 または 4 であり、

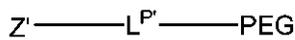
- X - D は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリ単位である。

10

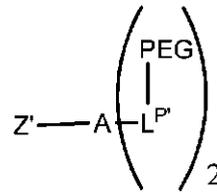
【0122】

式 V I I I または I X の選択した実施形態は、下記、

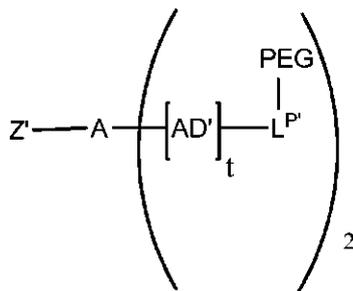
【化19】



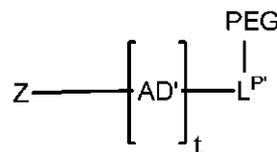
VIIIa



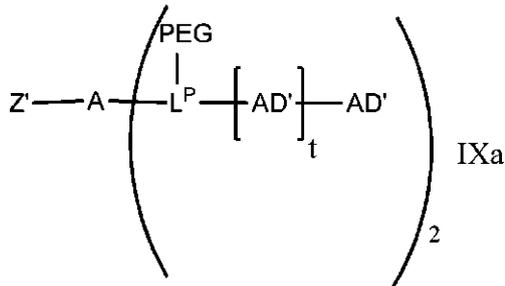
VIIIb



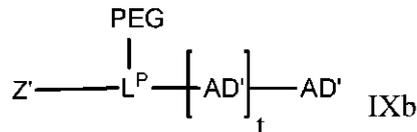
VIIIc



VIIId



IXa



IXb

または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z' は、リガンド単位への共有結合による結合を形成することができるストレッチャー単位であり、

40

A は、分岐単位であり、

A D' は、- X - D 単位への共有結合による結合を形成することができる薬物結合単位であり、

L^P は、並列コネクタ単位であり、

L^P' は、- X - D への共有結合による結合を形成することができる並列コネクタ単位であり、

下付き文字 t は、0 ~ 8 の範囲の整数であり、好ましくは 0、1、2 または 3 であり、

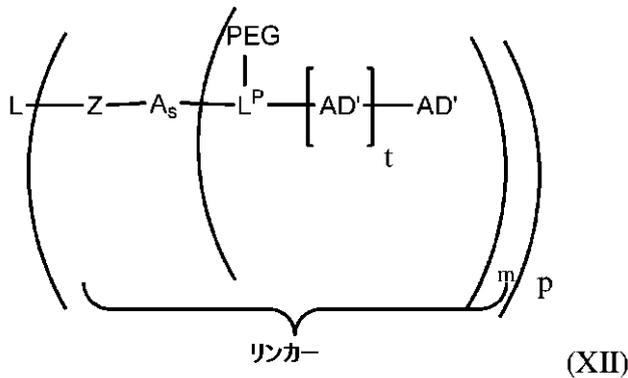
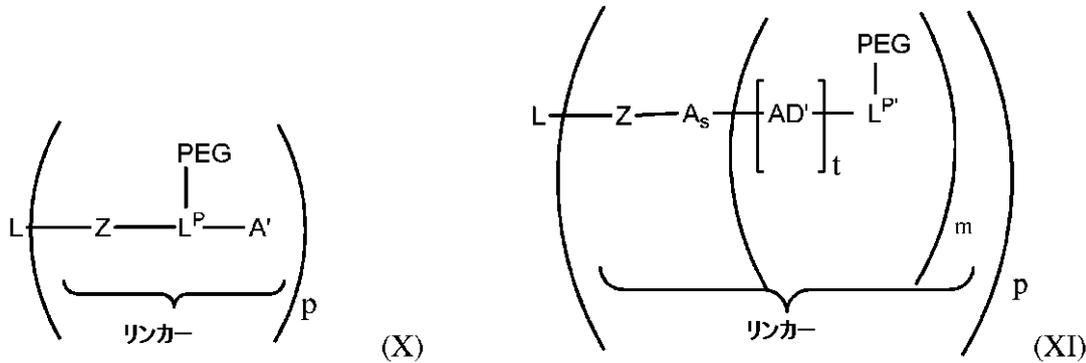
- X - D は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリ単位である。

【0123】

50

中間体リンカー化合物および式 V I I、V I I I、X I、V I I I a、V I I I b、V I I I c、V I I I d、I X a、および I X b、ストレッチャー単位は、リガンド単位（例えば、抗体）へとコンジュゲートして、中間体リガンド-リンカー化合物を形成することができ、これは各リガンド単位に結合した 1 ~ 14 個のリンカーを提供する。例示的な実施形態を下記に示し、ここで p は、1 ~ 14 であり、他の可変基の全ては、中間体リンカー化合物について本明細書に記載の通りである。例示的なリガンド-リンカー化合物、およびこれらの化合物を含む組成物（すなわち、リガンド-リンカー組成物）は、下記の通り、式 X、X I、X I I、

【化 2 0】



によって表される構造を有するかまたは薬学的に許容されるその塩であり、式中、

L は、リガンド単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z - は、ストレッチャー単位であり、

- X - D は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリー単位であり、

L^P は、並列コネクター単位であり、

L^P 'は、- X - D への共有結合による結合を形成することができる並列コネクター単位であり、

A' は、2 ~ 4 個の X - D 単位、好ましくは 2 個の X - D 単位への共有結合による結合を形成することができる分岐単位であり、

A は、任意選択の分岐単位であり、

AD' は、X - D 単位への共有結合による結合を形成することができる薬物結合単位であり、

リガンド-リンカー化合物について、下付き文字 p は、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12（好ましくは 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14 または 約 8 ~ 約 12）の範囲の整数であり、あるいは

10

20

30

40

50

リガンド-リンカー組成物について、下付き文字 p は、1 ~ 約 14、好ましくは約 2 ~ 約 12 (好ましくは約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14 または約 8 ~ 約 12) の範囲の数であり、

下付き文字 t は、0 ~ 8 であり、好ましくは 0、1、2 または 3 であり、

下付き文字 m は、1 ~ 4 の範囲の整数であり、好ましくは 1 または 2 であり、

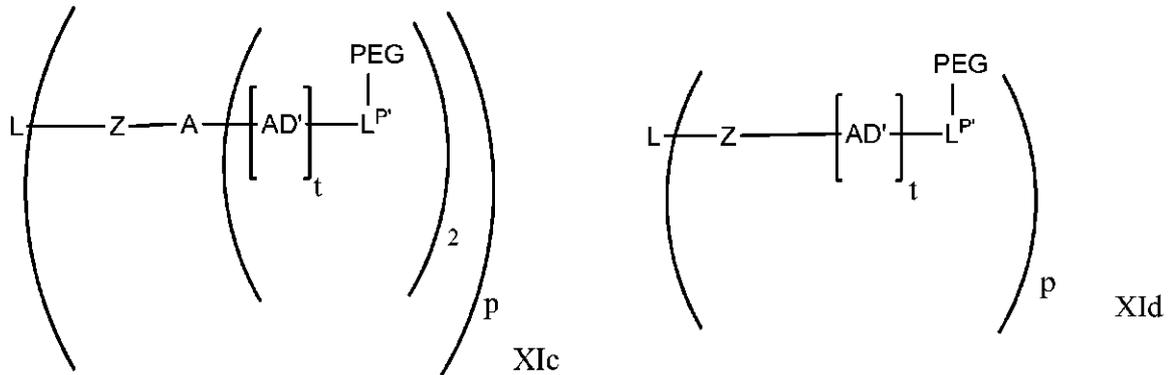
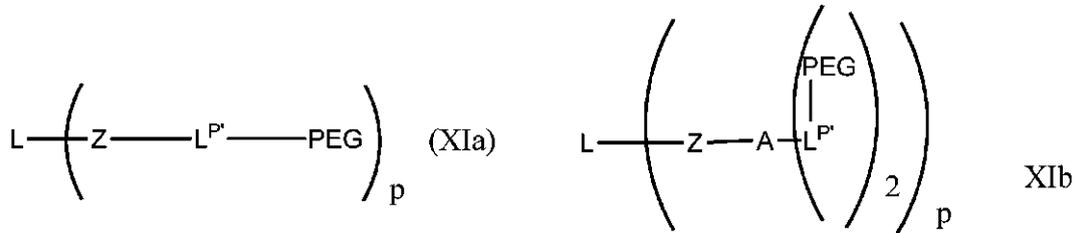
下付き文字 s は、0 または 1 であり、ただし、s が 0 であるとき、m は 1 であり、s が 1 であるとき、m は 2、3 または 4 である。

【0124】

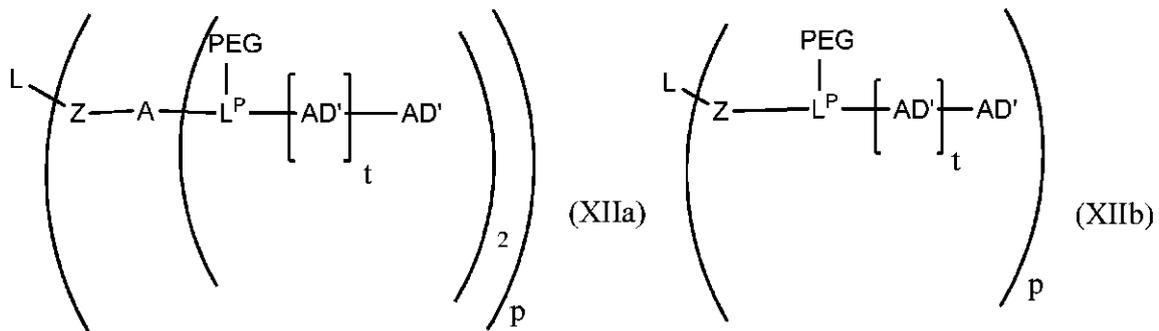
式 XI および XII の選択した実施形態は、下記の式、

【化 21】

10



20



30

または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、

40

L は、リガンド単位であり、

PEG は、ポリエチレングリコール単位であり、

Z - は、ストレッチャー単位であり、

L^P は、並列コネクター単位であり、

L^{P'} は、-X-D への共有結合による結合を形成することができる並列コネクター単位であり、

A は、分岐単位であり、

AD' は、X-D 単位への共有結合による結合を形成することができる薬物結合単位であり、

リガンド-リンカー化合物について、下付き文字 p は、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12 (

50

好ましくは 6 ~ 14、6 ~ 12、8 ~ 14、または 8 ~ 12) の範囲の整数であり、あるいは

リガンド - リンカー組成物について、下付き文字 p は、1 ~ 約 14、好ましくは約 2 ~ 約 12 (好ましくは約 6 ~ 約 14、約 6 ~ 約 12、約 8 ~ 約 14 または約 8 ~ 約 12) の範囲の数であり、

下付き文字 t は、0 ~ 8 であり、

- X - D は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリー単位である。

構成要素群

【0125】

本明細書に記載されているリガンド - 薬物コンジュゲートおよび中間化合物の中心は、得られる LDC の薬物動態に影響を与えるための、その薬物単位と並列配向である PEG 単位の配置である。PEG 単位の配置は、並列コネクタ単位によって達成される。並列コネクタ単位は、リガンドを、ポリエチレングリコール単位および薬物単位へと接続する役割を果たし、それゆえ PEG および薬物単位は並列構成にあり、これによって、リガンド、PEG および薬物単位が分岐状構成にアレンジされる。したがって、並列コネクタ単位は、リガンド - 薬物コンジュゲート、およびこれらの調製のための中間化合物の構成要素のための結合部位を有する足場であると考えられることができる。

10

【0126】

並列コネクタ単位として作用するために、L^P 単位は、リンカー内の 3 個の結合部位を介して結合している。結合部位の 1 つは、L^P 単位を PEG 単位へと結合させる。第 2 の結合部位は、L^P 単位を放出可能なアセンブリー単位へと結合させる (場合によって、分岐単位 A または薬物結合単位 AD を介して)。第 3 の結合部位は、L^P 単位をストレッチャー単位へと結合させる (場合によって、薬物結合単位、AD、および / または分岐単位 A を介して)。並列コネクタ単位は、PEG 単位とは別個の単位であり、PEG 単位の PEG 結合単位構成要素を介してそこに結合している。言い換えると、並列コネクタ単位は、PEG 単位のサブ単位ではない。

20

【0127】

PEG 単位当たり複数個の薬物を有するリガンド - 薬物コンジュゲートおよびその中間体について、放出可能なアセンブリー単位への並列コネクタ単位の結合は、分岐単位または薬物結合単位を通してでよい。ストレッチャー単位への並列コネクタ単位の結合は、薬物結合単位 AD および / または任意選択でさらなる分岐単位を介してでよい。これらの実施形態の全てにおいて、L^P 単位は、3 つの離間した化学部分を一緒に共有結合的に連結することができる三官能性化学部分と考えることができる。認識されるように、選択した中間化合物について、L^P 単位は、L^P ' によって表され、薬物 - 放出単位を介して薬物にまだ結合していないが、(例えば、薬物 - 放出単位を介した) 薬物への結合のための任意選択で保護された官能基を有する。また認識されるように、三官能性という用語は、3 個の結合部位を示すために使用し、L^P または L^P ' 単位上に存在する官能基の数を示すために使用しない。

30

【0128】

並列コネクタ単位は、1 個または複数 (典型的には、1 ~ 5 個または 1 ~ 4 個または 1 ~ 3 個または 1 個または 2 個) の天然または非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンから調製することができる。

40

【0129】

天然または非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンが本発明のコンジュゲートまたは中間体中に存在すると言及するとき (これらが L^P 単位の部分であろうと、本明細書に記載されているコンジュゲートもしくは中間体の他の構成要素であろうと)、このアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンは、本明細書においてまたアセンブルされた形態と称される残基形態で存在することを認識されたい。例えば、並列コネクタ単位が 2 個のアミノ酸である実施形態では、2 個のアミノ酸は、これらの間にペプチド結合を伴う残基として存在する。並列コネクタ

50

一単位がアミノアルコールからなる実施形態では、アミノアルコールは残基として存在し、ここでは例えば、そのアミノ基は、並列コネクター単位の別の残基またはコンジュゲートの別の構成要素へと、その他の残基/構成要素のカルボニル含有官能基を通して結合しており、一方で、そのヒドロキシル基は、エーテルとして結合しているか、あるいは並列コネクター単位のさらに別の残基またはコンジュゲートの別の構成要素のカルボニル含有官能基を通して結合している。並列コネクター単位がアミノアルデヒドからなる実施形態では、アミノアルデヒドは、残基として存在し、ここで例えば、そのアミノ基は、並列コネクター単位の別の残基またはコンジュゲートの別の構成要素へと、この他の残基/構成要素のカルボニル含有官能基を通して結合しており、一方で、そのアルデヒド官能基は、イミノ(immino)官能基に変換されているか、または並列コネクター単位のさらに別の残基またはコンジュゲートの別の構成要素のアミノ基に結合したとき、それに続く還元によって窒素-炭素結合を提供する。アミノアルコールまたはアミノアルデヒドは、アルデヒドまたはヒドロキシル官能基へのそのカルボン酸官能基の還元によって天然または非天然のアミノ酸に由来し得る。

10

【0130】

並列コネクター単位残基が、その単位についての分岐残基であるとき、この残基は、それに対して並列コネクター単位の別の残基、-X-D部分、またはPEG単位、またはリンカー単位の他の構成要素が結合している第3の官能基を有することが理解される。例えば、並列接続単位のアミノ酸または他のアミン含有酸残基は、官能化側鎖を有することができるか、または官能化側鎖で置換することができ、分岐残基のために必要とされる必要な3個の結合点を提供する。例えば、セリンは、3個の官能基、すなわち、酸、アミノおよびヒドロキシル官能基を有し、並列コネクター単位中へのその組込みの目的のために合わせたアミノ酸およびアミノアルコール残基として見なし得る。チロシンはまた、この場合、そのフェノール側鎖においてヒドロキシル基を含有し、並列コネクター単位中へのその組込みの目的のためにセリンと同様に、分岐残基と見なし得る。

20

【0131】

別の例において、並列コネクター単位の分岐残基がシステインであるとき、そのアミノおよびカルボン酸基は、アミノ酸またはアミン含有酸について従前に考察した様式で残基形態で存在し、分岐残基のための3個の必要な結合点のうち2つを提供し、一方、そのチオール基は、-X-D部分、またはPEG単位またはリンカー単位の他の構成要素にジスルフィドとして結合するとき、残基形態で存在するか、あるいは、例えば、チオール官能基が、リンカー単位構成要素のマレイミド含有基と反応するとき、硫黄-炭素結合において存在する。場合によって、残基チオール基は、並列コネクター単位の別の残基、またはリンカー単位の別の構成要素に結合したとき、その酸化された形態(すなわち、-S(=O)-または-S(=O)₂-)にある。また別の例において、リシンのアルファアミノおよびカルボン酸基は、残基形態で存在し、並列コネクター単位の分岐残基に必要とされる3個の必要な結合点のうち2つを提供し、一方、その残基形態のイプシロンアミノ基は、第3の結合点を提供する。ヒスチジンはまた、2個のアミノ基を有するアミノ酸とみなしてもよく、ここで第2のアミノ基は、イミダゾール含有側鎖のNHである。

30

【0132】

別の例において、並列コネクター単位の分岐残基がアスパラギン酸またはグルタミン酸であるとき、それらの残基形態のアミノ酸のアルファアミノおよびC末端カルボン酸基は、並列コネクター単位の分岐残基のために必要とされる3個の必要な結合点のうち2つを提供し、一方、その残基形態のそのベータまたはガンマカルボン酸基は、第3の結合点を提供する。天然に存在するアミノ酸が、並列コネクター単位の残基として記載されるが、官能化されたアミノ酸側鎖を天然で含有せず、分岐残基であることが必要とされる場合において、アミノ酸構造は、必要な第3の結合点を提供するために、残基形態であるとき、そのアミノおよびカルボン酸官能基以外にさらなる官能基を有するように修飾されることが理解される。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸は、その側鎖の炭素において、ヒドロキシル、アミノ、アルデヒド、チオール、カルボン酸基または他の官能基、あるいは

40

50

これらの官能基のいずれか1つで置換されている他の部分（例えば、アリアルもしくはアリアルアルキル）で置換されて、必要な3個の結合点を有する非天然アミノ（amnio）酸を提供し得る。このような非天然アミノ酸は、アミノ酸および導入された官能基の残基形態について上記のような並列コネクタ単位中に組み込まれる。

【0133】

同様に、アミノアルデヒドまたはアミノアルコールが、並列接続単位中に分岐残基として組み込まれているとき、このアミノアルデヒドまたはアミノアルコールは、第3の官能基を有し、そのアミノおよびアルデヒド官能基と共に、必要な3個の結合点を提供する。これらの場合、アミノアルデヒドまたはアミノアルコールは、構造が、官能化側鎖を有する天然アミノ酸、または上記のような天然アミノ酸の側鎖中に導入された官能基を有する非天然アミノ酸に対応してもよく、この天然または非天然のアミノ酸のカルボン酸は、ヒドロキシまたはアルデヒド官能基に還元される。

【0134】

アミノ酸は、アルファ、ベータ、もしくはガンマアミノ酸または他のアミン含有酸化合物でよく、天然または非天然のアミノ酸側鎖が結合しているキラル炭素を含有する場合、そのDまたはL異性体でよい。並列コネクタ単位が、複数の天然もしくは非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンでできているとき、これらのアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、ポリアミンまたはこれらの組合せは、共有結合を介して一緒に連結し、並列コネクタ単位を形成する。

【0135】

アミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒドは、場合によって、非天然でよく、コンジュゲートまたは中間化合物の構成要素への結合のための官能化側鎖を有するように修飾することができる（並列コネクタ単位に分岐残基について上記のように）。例示的な官能化されたアミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒドは、例えば、アジドまたはアルキン官能化されたアミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒド（例えば、クリックケミストリーを使用した結合のためのアジド基またはアルキン基を有するように修飾されたアミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒド）を含む。アミノ酸上に存在する官能基（例えば、アミンポーション、カルボン酸ポーションおよび側鎖ポーション（例えば、アミノ部分、ヒドロキシル基、別のカルボン酸、チオール、アジドまたはアルキンのいずれであれ））の独立した活性化および反応のための方法は、当技術分野で周知である。

【0136】

並列コネクタ単位は、1個またはそれ超（典型的には、1～5個または1～4個または1～3個または1個または2個）のアミノ酸、任意選択で置換されているC₁～C₂₀ヘテロアルキレン（好ましくは任意選択で置換されているC₁～C₁₂ヘテロアルキレン）、任意選択で置換されているC₃～C₈ヘテロシクロ、任意選択で置換されているC₆～C₁₄アリーレン、任意選択で置換されているC₃～C₈カルボシクロ、またはこれらの組合せを含むことができる。一部の態様では、並列コネクタ単位は、2個以下または1個以下の任意選択で置換されているC₁～C₂₀ヘテロアルキレン、任意選択で置換されているC₃～C₈ヘテロシクロ、任意選択で置換されているC₆～C₁₄アリーレン、または任意選択で置換されているC₃～C₈カルボシクロを含む。任意選択の置換基は、(=O)、-X、-R、-OR、-SR、-NR₂、-NR₃、=NR、-CX₃、-CN、-OCN、-SCN、-N=C=O、-NCS、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-NRC(=O)R、-C(=O)R、-C(=O)NR₂、-SO₃⁻、-SO₃H、-S(=O)₂R、-OS(=O)₂OR、-S(=O)₂NR、-S(=O)R、-OP(=O)(OR)₂、-P(=O)(OR)₂、-PO₃⁼、-PO₃H₂、-AsO₂H₂、-C(=O)R、-C(=O)X、-C(=S)R、-CO₂R、-CO₂-、-C(=S)OR、-C(=O)SR、-C(=S)SR、-C(=O)NR₂、-C(=S)NR₂、または-C(=NR)NR₂を含み、各Xは、独立に、ハロゲン：-F、-Cl、-Br、または-Iであり、各Rは、独立に、-H、-C₁～C₂₀アルキル、-C₆～C₂₀

10

20

30

40

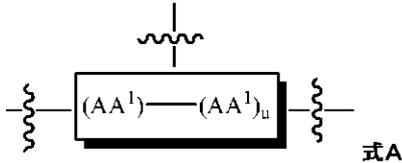
50

アリール、 $-C_3 \sim C_{14}$ 複素環、保護基またはプロドラッグ部分である。好ましい任意選択の置換基は、 $(=O)$ 、 $-X$ 、 $-R$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、および $-NR_2$ である。

【0137】

並列コネクタ-単位は直鎖または分岐鎖でよく、式A、

【化22】



10

によって表すことができ、式中、

AA^1 は、アミノ酸、任意選択で置換されている $C_1 \sim C_{20}$ ヘテロアルキレン（好ましくは任意選択で置換されている $C_1 \sim C_{12}$ ヘテロアルキレン）、任意選択で置換されている $C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ、任意選択で置換されている $C_6 \sim C_{14}$ アリーレン、または任意選択で置換されている $C_3 \sim C_8$ カルボシクロから独立に選択される L^P のサブ単位であり、下付き文字 u は、 $0 \sim 4$ から独立に選択され、波線は、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の共有結合による結合部位を示す。任意選択で置換されているヘテロアルキレン（heteroalkylene）、複素環、アリーレンまたはカルボシクロは、サブ単位の間、およびリガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合のための官能基を有する。

20

【0138】

一部の態様では、 AA^1 の少なくとも1つの例は、アミノ酸である。下付き文字 u は、 0 、 1 、 2 、 3 、または 4 でよい。一部の態様では、 AA^1 はアミノ酸であり、 u は 0 である。一部の態様では、並列コネクタ-単位は、 2 個以下の任意選択で置換されている $C_1 \sim C_{20}$ ヘテロアルキレン、任意選択で置換されている $C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ、任意選択で置換されている $C_6 \sim C_{14}$ アリーレン、または任意選択で置換されている $C_3 \sim C_8$ カルボシクロを含む。並列コネクタ-単位が式Aを有する一部の態様では、並列コネクタ-単位は、 1 個以下の任意選択で置換されている $C_1 \sim C_{20}$ ヘテロアルキレン、任意選択で置換されている $C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ、任意選択で置換されている $C_6 \sim C_{14}$ アリーレン、または任意選択で置換されている $C_3 \sim C_8$ カルボシクロを含む。

30

【0139】

並列コネクタ-単位またはそのアミノ酸サブ単位は、アルファ、ベータ、またはガンマアミノ酸でよく、天然もしくは非天然でよい。アミノ酸は、 D または L 異性体でよい。並列コネクタ-単位内、またはコンジュゲート（もしくはリンカー）の他の構成要素との結合は、例えば、アミノ、カルボキシ、または他の官能基を介してでよい。官能基の独立した活性化および反応のための方法は、当技術分野で周知である。

【0140】

並列コネクタ-単位またはそのアミノ酸サブ単位は、チオール含有アミノ酸の D または L 異性体から独立に選択することができる。チオール含有アミノ酸は、例えば、システイン、ホモシステイン、またはペニシラミンでよい。

40

【0141】

並列コネクタ-単位またはそのアミノ酸サブ単位は、下記のアミノ酸：アラニン（ $-$ アラニンを含めた）、アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、システイン、ヒスチジン、グリシン、グルタミン酸、グルタミン、フェニルアラニン、リシン、ロイシン、メチオニン、セリン、チロシン、トレオニン、トリプトファン、プロリン、オルニチン、ペニシラミン、 B -アラニン、アミノアルキン酸、アミノアルカン二酸、ヘテロシクロ-カルボン酸、シトルリン、スタチン、ジアミノアルカン酸、およびその誘導体の L -または

50

D - 異性体からなる群から独立に選択することができる。

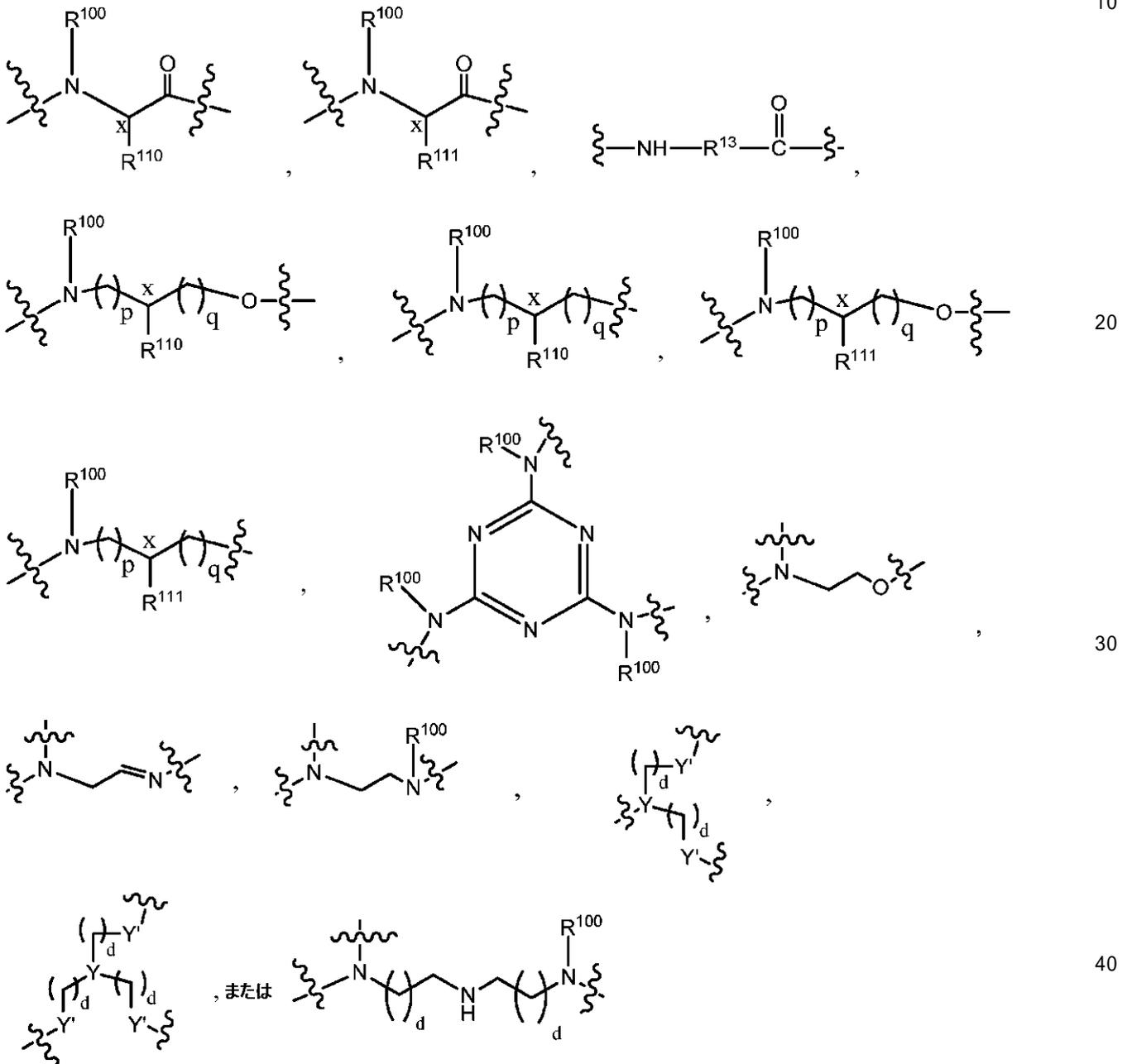
【0142】

好ましいアミノ酸には、システイン、ホモシステイン、ベニシラミン、オルニチン、リシン、セリン、トレオニン、グルタミン、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、セレノシステイン、プロリン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、バリン、およびアラニンが含まれる。

【0143】

例示的な L^P またはその A A¹ サブ単位は、

【化23】



を含み、式中、R¹¹⁰は、

10

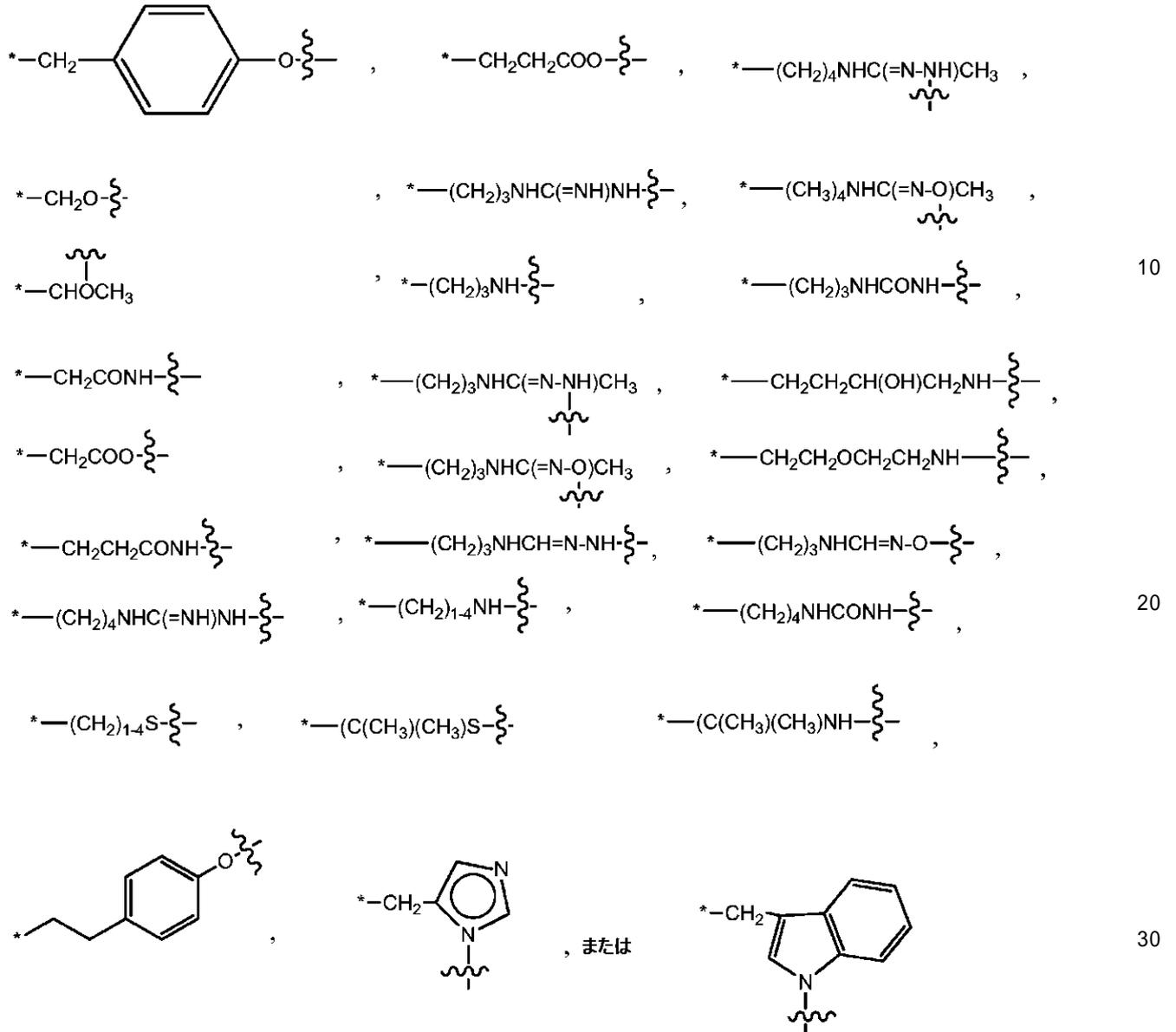
20

30

40

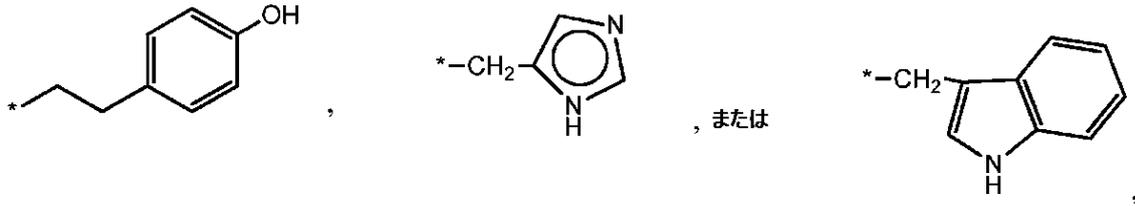
50

【化 2 4】



であり、R¹¹¹は、水素、p-ヒドロキシベンジル、メチル、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、-CH₂OH、-CH(OH)CH₃、-CH₂CH₂SCH₃、
 -CH₂CONH₂、-CH₂COOH、-CH₂CH₂CONH₂、-CH₂CH₂COOH、
 -(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂、-(CH₂)₃NH₂、-(CH₂)₃NHCOCH₃、
 -(CH₂)₃NHCHO、-(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂、-(CH₂)₄NH₂、
 -(CH₂)₄NHCOCH₃、-(CH₂)₄NHCHO、-(CH₂)₃NHCONH₂、
 -(CH₂)₄NHCONH₂、-CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂、
 2-ピリジルメチル、3-ピリジルメチル、4-ピリジルメチル、 40

【化 2 5】



10

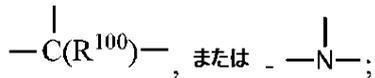
から独立に選択され、式中、アスタリスクは、xと標識されている炭素への結合を示し、 R^{100} は、水素または $-C_1 \sim C_3$ アルキル（好ましくは水素または CH_3 ）から独立に選択され、

R^{13} は、 $-C_1 \sim C_6$ アルキレン-、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ-、 $-$ アリーレン-、 $-C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン-、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-アリーレン-、 $-$ アリーレン- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8$ カルボシクロ)-、 $-(C_3 \sim C_8$ カルボシクロ)- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ)-、および $-(C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ)- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-（好ましくは $-CH_2-CH_2-$ ）からなる群から独立に選択され、

20

Yは、

【化 2 6】



であり、

Y'は、 $-C(=O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、または $-N(CH_3)-$ であり、下付き文字p、q、およびdは、0～5から独立に選択される整数であり、波線は、化合物内の共有結合による結合、水素、OHまたは $C_1 \sim 3$ 非置換アルキル基を示し、ただし、波線の少なくとも1つは、化合物内の共有結合による結合を示す。一部の態様では、波線の全ては、化合物内の共有結合による結合を示す（例えば、 L^P が、いずれのサブ単位も含まないとき）。

30

【0144】

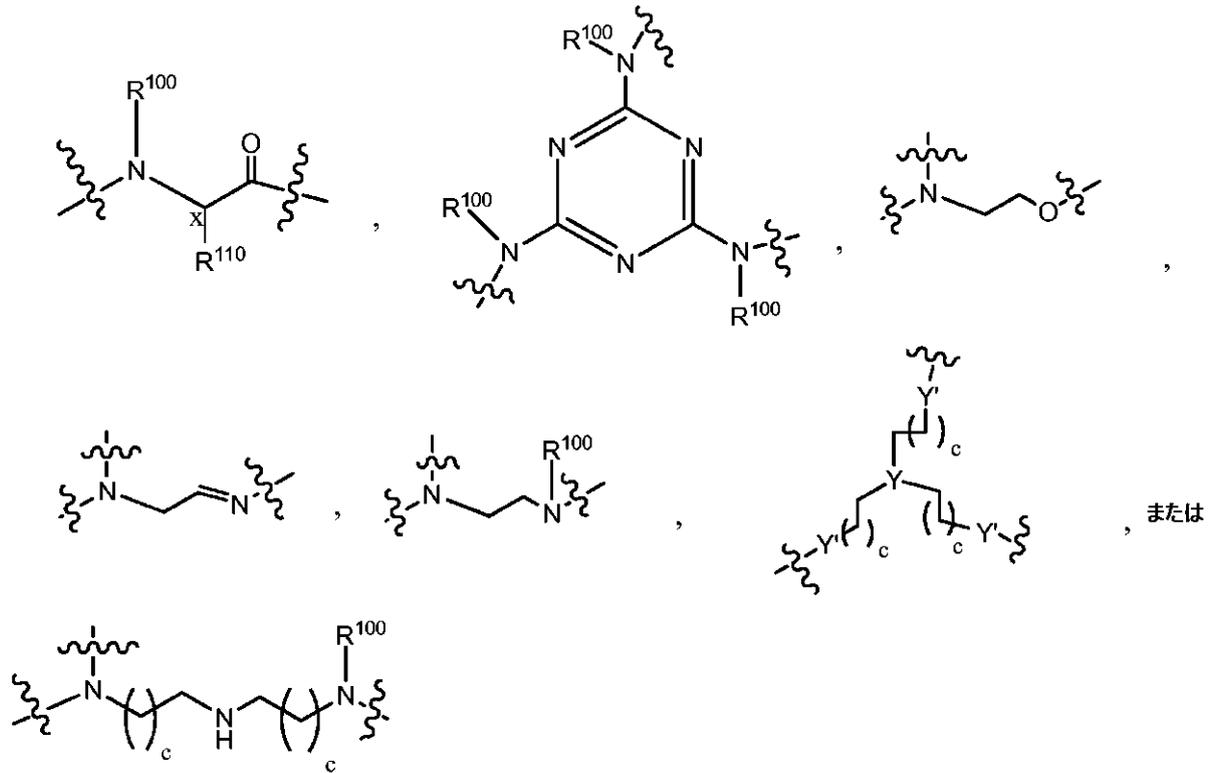
実施形態の1つの群では、 L^P は、留意する構成要素への共有結合的連結を独立に形成することができる官能基を有する複素環式環である（例えば、塩化シアヌルから形成されるトリアゾール複素環式環）。実施形態の別の群では、 L^P は、上で述べたような結合した官能基を有するアルカンである。また他の実施形態では、 L^P は、窒素原子でよい。

【0145】

一部の実施形態では、 $-L^P-$ は、アSEMBルされると、下記で示す式、

40

【化 2 7】



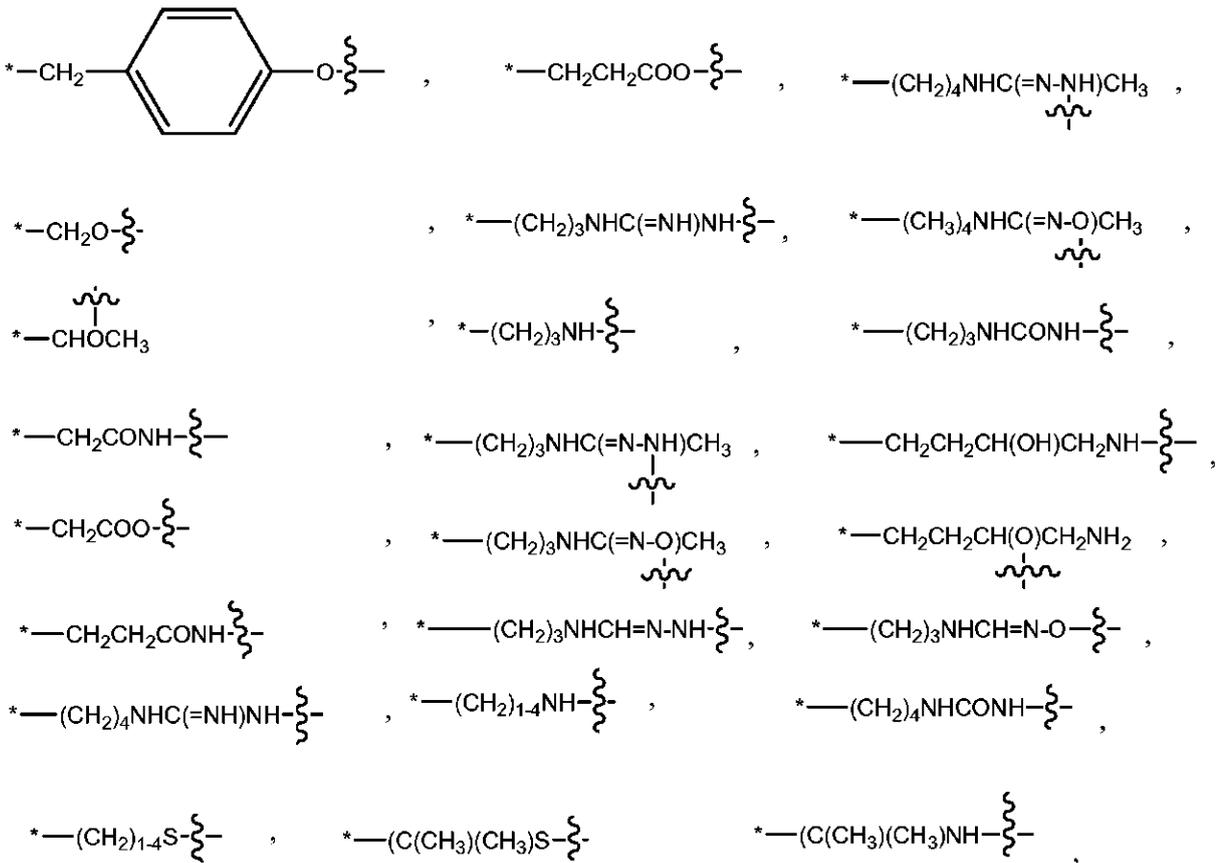
を有し、式中、波線は、リガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合部位（例えば、 $-X$ （直接的、または A もしくは A D を介して間接的に）への、および Z（直接的、または A もしくは A D を介して間接的に）への PEG）を示し、 R^{110} は、

30

40

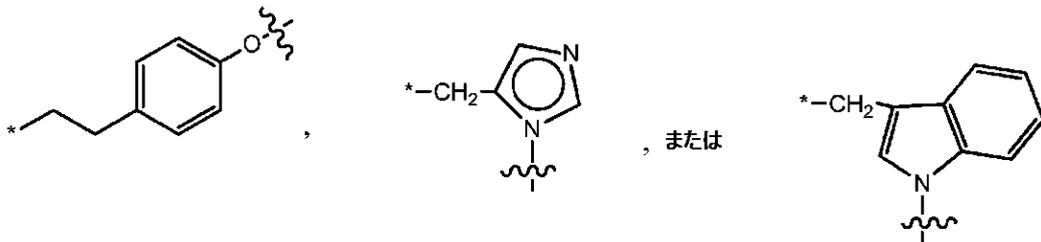
50

【化 2 8】



10

20



30

であり、式中、アスタリスクは、x と標識されている炭素への結合を示し、波線は、3 個の結合部位の 1 つを示し、

R¹⁰⁰ は、水素または -C₁ ~ C₃ アルキル、好ましくは水素または CH₃ から独立に選択され、

Y は、N または CH から独立に選択され、

Y' は、NH、O、または S から独立に選択され、

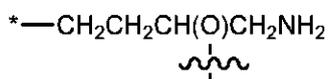
下付き文字 c は、1 ~ 10 から独立に選択される整数、好ましくは 1、2、または 3 である。

40

【0 1 4 6】

好ましい実施形態では、R¹¹⁰ は、

【化 2 9】

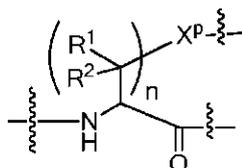


ではない。

【0 1 4 7】

50

並列コネクター単位またはそのアミノ酸サブ単位は、下記の式を有することができ、
【化 3 0】



式中、下付き文字 n は、1 ~ 4 の範囲の整数であり、

10

X^P は、 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-C(=O)-$ 、または $-C_2 \sim C_8$ ヘテロシクロ - からなる群から選択され、

R^1 および R^2 は、 $-H$ 、 $-C_1 \sim 3$ アルキル、 $-$ フェニル、または $-C_2 \sim C_5$ 複素環 (好ましくは H または $C_1 \sim 3$ アルキル) からなる群から独立に選択され、波線は、化合物内の共有結合による結合を示す。

一部の実施形態では、 X^P は、天然もしくは非天然アミノ酸側鎖によって提供される。

【0148】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、リシン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システイン、ペニシラミン、セリンまたはトレオニンの D または L 異性体から独立に選択することができる。

20

【0149】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、リシン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システイン、またはペニシラミンの D または L 異性体から独立に選択することができる。

【0150】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、下記のアミノ酸：アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、ヒスチジン、グルタミン酸、グルタミン、リシン、セリン、チロシン、トレオニン、トリプトファン、オルニチン、ペニシラミン、アミノアルキン酸、アミノアルカン二酸、ヘテロシクロ - カルボン酸、シトルリン、スタチン、ジアミノアルカン酸、およびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。

30

【0151】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、下記のこれらの天然アミノ酸：アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、ヒスチジン、グルタミン酸、グルタミン、リシン、システイン、ペニシラミン、セリン、チロシン、トレオニン、およびトリプトファンの L - 異性体からなる群から独立に選択することができる。

【0152】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、下記のこれらの天然アミノ酸：アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、ヒスチジン、グルタミン酸、グルタミン、フェニルアラニン、リシン、システイン、ペニシラミン、セリン、チロシン、トレオニン、およびトリプトファンの D - 異性体からなる群から独立に選択することができる。

40

【0153】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、チオール含有アミノ酸の D または L 異性体から独立に選択することができる。チオール含有アミノ酸は、例えば、システイン、ホモシステイン、またはペニシラミンでよい。

【0154】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、下記のアミノ酸：アラニン (- アラニンを含めた)、アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、システイン、ヒスチジン、グリシン、グルタミン酸、グルタミン、フェニルアラニン、リシン、ロイシン、メチオニン、セリン、チロシン、トレオニン、トリプトファン、プロリン、オルニチン、ペニシラミン、B - アラニン、アミノアルキン酸、アミノアルカン二酸、ヘテロシクロ - カルボン

50

酸、シトルリン、スタチン、ジアミノアルカン酸、およびその誘導体の L - または D - 異性体からなる群から独立に選択することができる。

【 0 1 5 5 】

好ましいアミノ酸は、システイン、ホモシステイン、ペニシラミン、オルニチン、リシン、セリン、トレオニン、グルタミン、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、セレンシステイン、プロリン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、およびバリンを含む。

【 0 1 5 6 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、アラニン誘導体からなる群から独立に選択することができるが、ただし、適当な数の機能的単位が存在する。アラニン誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、デヒドロ - アラニン、4 - チアゾリルアラニン、2 - ピリジルアラニン、3 - ピリジルアラニン、4 - ピリジルアラニン、 - (1 - ナフチル) - アラニン、 - (2 - ナフチル) - アラニン、 - アミノ酪酸、 - クロロ - アラニン、 - シアノ - アラニン、 - シクロペンチル - アラニン、 - シクロヘキシル - アラニン、 - ヨード - アラニン、 - シクロペンテニル - アラニン、 - t B u - アラニン、 - シクロプロピル - アラニン、 - ジフェニル - アラニン、 - フルオロ - アラニン、 - ピペラジニル - アラニン (ピペラジン環は保護されているか、または保護されていない)、 - (2 - キノリル) - アラニン、 - (1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) - アラニン、 - ウレイド - アラニン、H - - (3 - ベンゾチエニル) - A l a - O H、および H - - (2 - チエニル) - A l a - O H が含まれる。

10

20

【 0 1 5 7 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、アルギニンおよびそのアルギニン誘導体からなる群から独立に選択することができる。アルギニンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、アルギニン (A r g)、N - アルキル - アルギニン、H - A r g (M e) - O H、H - A r g (N H ₂) - O H、H - A r g (N O ₂) - O H、H - A r g (A c) ₂ - O H、H - A r g (M e) ₂ - O H (非対称的)、H - A r g (M e) ₂ - O H (対称的)、2 - アミノ - 4 - (2 ' - ヒドロキシグアニジノ) - 酪酸 (N - - ヒドロキシ - ノル - アルギニン) およびホモアルギニンが含まれる。

【 0 1 5 8 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、アスパラギン酸およびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。アスパラギン酸およびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、アスパラギン酸 (A s p)、N - アルキル - アスパラギン酸、および H - A s p (O t B u) - O H が含まれる。

30

【 0 1 5 9 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、アスパラギンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。アスパラギンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、アスパラギン (A s n)、N - アルキル - アスパラギン、およびイソアスパラギン (H - A s p - N H ₂) が含まれる。

【 0 1 6 0 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、システインおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。システイン (C y s) 誘導体 (遊離 S H 基を含有しない) の例の例示には、これらに限定されないが、C y s (S t B u)、H - C y s (A c m) - O H、H - C y s (T r t) - O H、H - C y s (S t B u) - O H、H - C y s (B z l) - O H、H - C y s (S - E t) - O H、H - C y s (S O ₃ H) - O H、H - C y s (アミノエチル) - O H、H - C y s (カルバモイル) - O H、H - C y s (S - フェニル) - O H、H - C y s (B o c) - O H、および H - C y s (ヒドロキシエチル) - O H が含まれる。

40

【 0 1 6 1 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、ヒスチジンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。ヒスチジンおよびその誘導体の例の例示には、これら

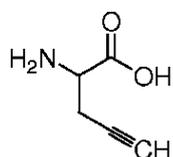
50

に限定されないが、ヒスチジン (His)、N-アルキル-ヒスチジン、H-His (Boc)-OH、H-His (Bzl)-OH、H-His (1-Me)-OH、H-His (1-Tos)-OH、H-2,5-ジヨード-His-OH、および H-His (3-Me)-OH が含まれる。

【0162】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、グリシン誘導体からなる群から独立に選択することができる。グリシン誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、H-プロパルギルグリシン (

【化31】



10

)、 α -アミノグリシン (保護されているか、または保護されていない)、 ϵ -シクロプロピル-グリシン、 α -アリルグリシン、およびネオベンチルグリシンが含まれる。

【0163】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、グルタミン酸およびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。グルタミン酸およびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、グルタミン酸 (Glu)、N-アルキル-グルタミン酸、H-Glu (OtBu)-OH、H- β -ヒドロキシ-Glu-OH、H- γ -メチレン-Glu-OH、H- γ -カルボキシ-Glu (OtBu)₂-OH、およびピログルタミン酸が含まれる。

20

【0164】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、グルタミンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。グルタミンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、グルタミン (Gln)、N-アルキル-グルタミン、イソグルタミン (H-Glu-NH₂)、H-Gln (Trt)-OH、および H-Gln (イソプロピル)-OH が含まれる。

30

【0165】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、フェニルアラニン (Phe) 誘導体からなる群から独立に選択することができる。フェニルアラニン誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、H-p-アミノ-Phe-OH、H-p-アミノ-Phe (Z)-OH、H-p-プロモ-Phe-OH、H-p-カルボキシ-Phe (OtBu)-OH、H-p-カルボキシ-Phe-OH、H-p-シアノ-Phe-OH、H-p-フルオロ-Phe-OH、H-3,4-ジクロロ-Phe-OH、H-p-ヨード-Phe-OH、H-p-ニトロ-Phe-OH、クロロ-フェニルアラニンおよび β -ホモフェニルアラニンが含まれる。

【0166】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、リシンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。リシンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、リシン (Lys)、N-アルキル-リシン、H-Lys (Boc)-OH、H-Lys (Ac)-OH、H-Lys (ホルミル)-OH、H-Lys (Me)₂-OH、H-Lys (ニコチノイル)-OH、H-Lys (Me)₃-OH、H-trans-4,5-デヒドロ-Lys-OH、H-Lys (Alloc)-OH、H-H- β -ヒドロキシ-Lys-OH、H- γ -ヒドロキシ-Lys (Boc)-OH、H-Lys (アセトアミドイル)-OH、および H-Lys (イソプロピル)-OH が含まれる。

40

【0167】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、ロイシン誘導体からなる群から独立に選

50

択することができる。ロイシン誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、4, 5 - デヒドロロイシンが含まれる。

【0168】

各並列コネクタ-単位またはそのサブ単位は、メチオニン誘導体からなる群から独立に選択することができる。メチオニン誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、メチオニン (Met)、H-Met (=O) - OH、および H-Met (=O)₂ - OH が含まれ、ここではメチオニン側鎖の硫黄原子は、酸化された形態である。

【0169】

各並列コネクタ-単位またはそのサブ単位は、セリンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。セリンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、セリン (Ser)、N-アルキル-セリン、H-Ser (Ac) - OH、H-Ser (tBu) - OH、H-Ser (Bzl) - OH、H-Ser (p-クロロ-Bzl) - OH、H- (3, 4-ジヒドロキシフェニル) - Ser - OH、H- (2-チエニル) - Ser - OH、イソセリン N-アルキル-イソセリン、および 3-フェニルイソセリンが含まれる。

10

【0170】

各並列コネクタ-単位またはそのサブ単位は、チロシンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。チロシンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、チロシン (Tyr)、N-アルキル-チロシン、H-3, 5-ジニトロ-Tyr - OH、H-3-アミノ-Tyr - OH、H-3, 5-ジブromo-Tyr - OH、H-3, 5-ジヨード-Tyr - OH、H-Tyr (Me) - OH、H-Tyr (tBu) - OH、H-Tyr (Boc) - OH、H-Tyr (Bzl) - OH、H-Tyr (Et) - OH、H-3-ヨード-Tyr - OH、および H-3-ニトロ-Tyr - OH が含まれる。

20

【0171】

各並列コネクタ-単位またはそのサブ単位は、トレオニンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。トレオニンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、トレオニン (Thr)、N-アルキル-トレオニン、allo-トレオニン、H-Thr (Ac) - OH、H-Thr (tBu) - OH、および H-Thr (Bzl) - OH が含まれる。

30

【0172】

各並列コネクタ-単位またはそのサブ単位は、トリプトファンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。トリプトファンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、トリプトファン (Trp)、N-アルキル-トリプトファン、H-5-Me-Trp - OH、H-5-ヒドロキシ-Trp - OH、H-4-Me-Trp - OH、H- (Me) - Trp - OH、H-Trp (Boc) - OH、H-Trp (ホルミル) - OH、および H-Trp (メシチレン-2-スルホニル) - OH が含まれる。

【0173】

各並列コネクタ-単位またはそのサブ単位は、プロリンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。プロリンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、プロリン (Pro)、N-アルキル-プロリン、ホモプロリン、チオプロリン、ヒドロキシプロリン (H-Hyp - OH)、H-Hyp (tBu) - OH、H-Hyp (Bzl) - OH、H-3, 4-デヒドロ-Pro - OH、4-ケト-プロリン、-Me-Pro - OH、および H-4-フルオロ-Pro - OH が含まれる。

40

【0174】

各並列コネクタ-単位またはそのサブ単位は、オルニチンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。オルニチンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、オルニチン (Orn)、N-アルキル-オルニチン、H-Orn (Boc) - OH、H-Orn (Z) - OH、H- (ジフルオロ-Me) - Orn - OH (エ

50

フロルニチン (E f l o r n i t i n e))、および H - O r n (A l l o c) - O H が含まれる。

【 0 1 7 5 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、ペニシラミンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。ペニシラミンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、ペニシラミン、H - ペニシラミン (A c m) - O H (H - , - ジメチル c y s (A c m) - O H) および N - アルキル - ペニシラミンが含まれる。

【 0 1 7 6 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、 - アラニン誘導体からなる群から独立に選択することができる。 - アラニン誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、デヒドロ - アラニンが含まれる。

10

【 0 1 7 7 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、アミノアルカン酸誘導体からなる群から独立に選択することができる。アミノアルカン酸誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、4 - (ネオペンチルオキシスルホニル) - アミノ酪酸、ピペリジル酢酸、3 - アミノプロピオン酸、および 3 - アミノ - 3 - (3 - ピリジル) - プロピオン酸が含まれる。

【 0 1 7 8 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、アミノアルキン酸およびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。アミノアルキン酸およびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、N - アルキルアミノアルキン酸、6 - アミノ - 4 - ヘキシン酸、6 - (B o c - アミノ) - 4 - ヘキシン酸が含まれる。

20

【 0 1 7 9 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、アミノアルカン二酸およびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。アミノアルカン二酸およびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、N - アルキルアミノアルカン二酸、2 - アミノヘキササン二酸、2 - アミノヘプタン二酸、2 - アミノオクタン二酸 (H - A s u - O H) が含まれる。

【 0 1 8 0 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、アミノ - ヘテロシクロ - アルカン酸およびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。アミノ - ヘテロシクロ - アルカン酸およびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、N - アルキルアミノ - ヘテロシクロ - アルカン酸、4 - アミノ - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 2 - カルボン酸、4 - アミノ - 1 - メチル - 1 H - ピロール - 2 - カルボン酸、4 - アミノ - ピペリジン - 4 - カルボン酸 (H - P i p - O H ; 1 - 保護されている、または保護されていない)、3 - アミノ - 3 - (3 - ピリジル) - プロピオン酸が含まれる。

30

【 0 1 8 1 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、シトルリンおよびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。シトルリンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、シトルリン (c i t)、N - アルキル - シトルリン、チオシトルリン、S - メチル - チオシトルリン、およびホモシトルリンが含まれる。

40

【 0 1 8 2 】

スタチンおよびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、スタチン、N - アルキル - スタチン、シクロヘキシルスタチン、およびフェニルスタチンが含まれる。

【 0 1 8 3 】

各並列コネクター単位またはそのサブ単位は、ジアミノアルカン酸およびその誘導体からなる群から独立に選択することができる。ジアミノアルカン酸 (D a b) およびその誘導体の例の例示には、これらに限定されないが、N - アルキル - ジアミノ - アルカン酸、N , N - ジアルキルアミノ - アルカン酸、 , - ジアミノ酪酸 (H - D a b - O H)、H - D a b (A l l o c) - O H、H - D a b (B o c) - O H、H - D a b (Z) - O

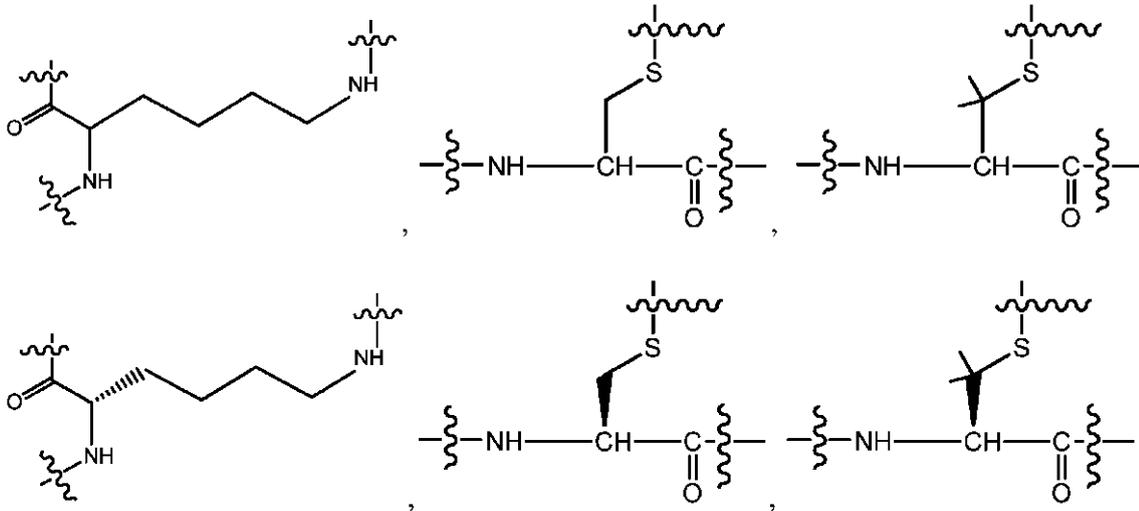
50

H、 L^{P} - ジアミノプロピオン酸およびその側鎖保護されたバージョンが含まれる。

【0184】

例示的な L^{P} 単位またはそのサブ単位、リシンまたはシステインまたはペニシラミン (penicillamine) を下記に示す。波線は、PEG、放出可能なアセンブリー単位への (直接的に、または分岐単位もしくは薬物結合単位を介した) およびストレッチャー単位への (直接的に、または分岐単位もしくは薬物結合単位を介した) 結合部位を示す。アミノ酸の L および D 異性体は、本明細書における使用に適している。

【化32】



10

20

【0185】

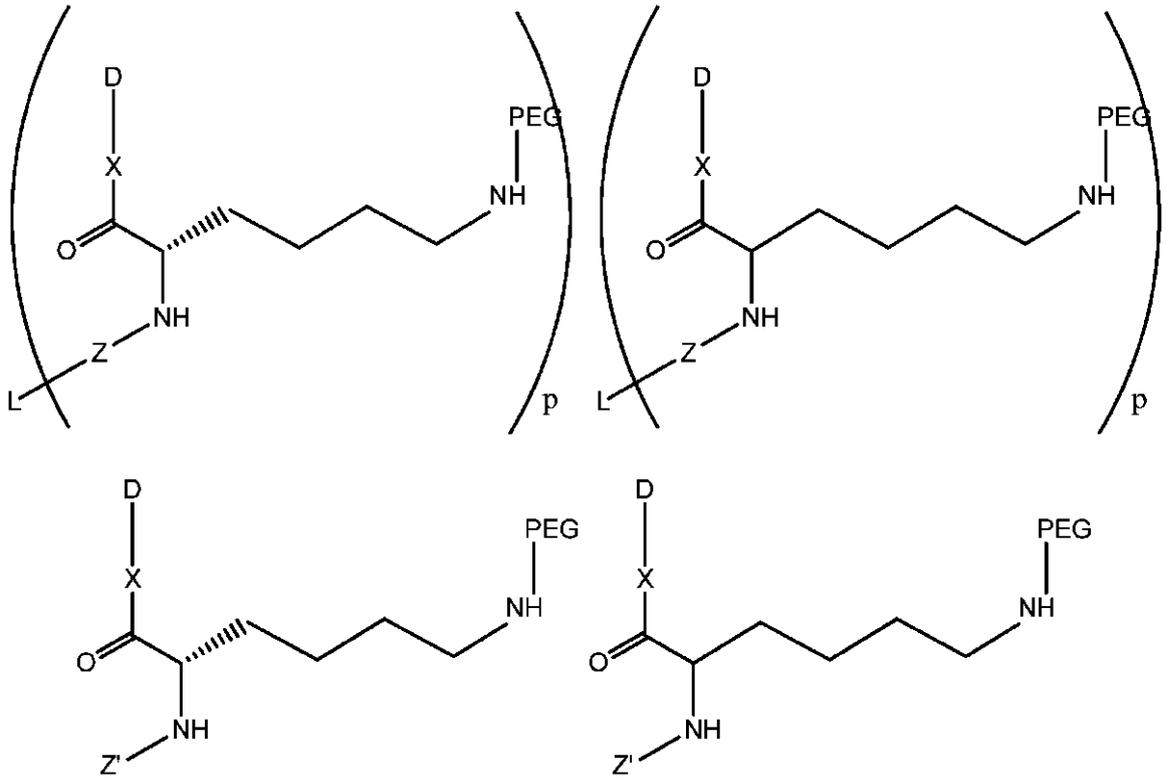
リシンを L^{P} 単位として有する例示的なリガンド - 薬物コンジュゲートまたは薬物 - リンカー化合物を下記に示し、ここで Z、L、X、D、PEG、Z'、p、および PEG は、本明細書に記載の通りである。アミノ酸の L および D 異性体は、本明細書における使用に適している。

30

40

50

【化 3 3】



10

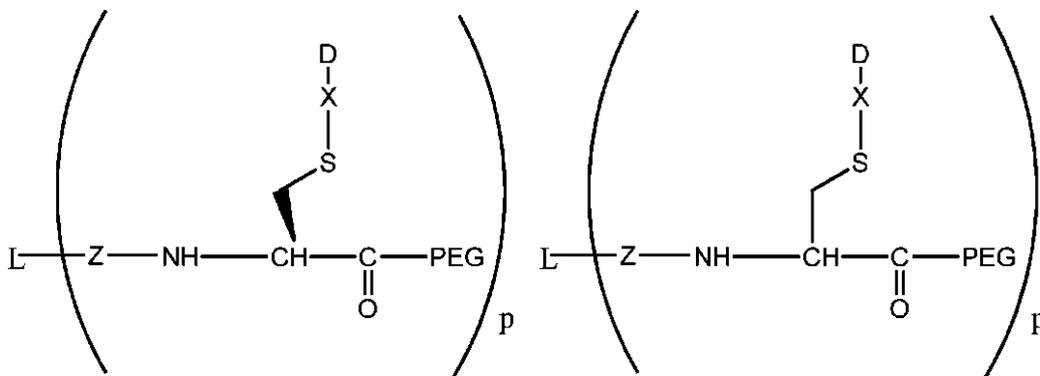
20

【0186】

L^p 単位としてシステインまたはペニシラミンを有する例示的なりガンド - 薬物コンジュゲートを、下記に示し、ここで Z、L、X、D、Z'、PEG、および p は、本明細書に記載の通りである。アミノ酸の L および D 異性体は、本明細書における使用に適している。

30

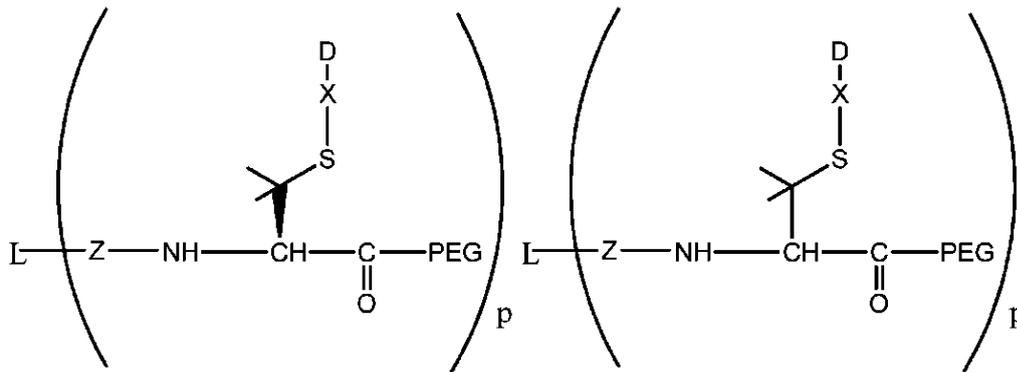
【化 3 4 - 1】



40

50

【化 3 4 - 2】



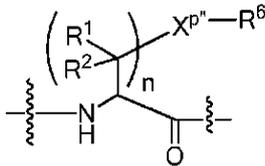
10

【 0 1 8 7】

本発明の特定の化合物（例えば、中間体リンカー化合物およびリガンド-リンカー化合物）について、並列コネクター単位は、 $-X-D$ への共有結合による結合を形成することができるが、 $-X-D$ へとまだ接続されておらず、並列コネクター単位は、リガンド-薬物コンジュゲート中にまだ完全にはアセンブルされておらず、したがって、放出可能なアセンブリー単位上に存在する基に対して反応性である官能基を含むことが理解される。結合のための官能基を有する例示的な並列コネクター単位は、下記の通りであり、

20

【化 3 5】



30

式中、

下付き文字 n は、 $1 \sim 4$ であり、

$X^{p'}$ は、 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)-$ 、および $-S(=O)-$ からなる群から選択され、

R^1 および R^2 は、 H 、 $C_1 \sim 3$ アルキル、フェニル、または $C_2 \sim C_5$ 複素環からなる群から独立に選択され、

R^6 は、保護基、 H 、 $-C_1 \sim 3$ アルキル、または $-OH$ であり、

波線は、中間体リンカー化合物またはリガンド-リンカー化合物の残部内の共有結合による結合を示す。

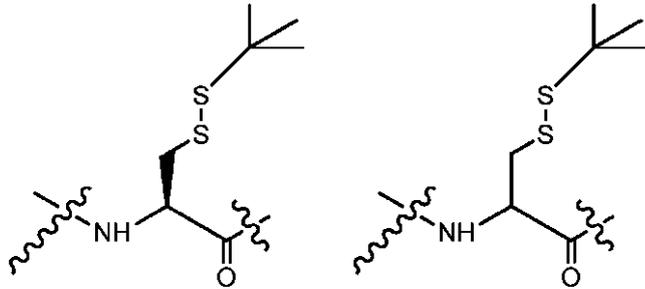
40

【 0 1 8 8】

$X^{p'}$ を提供する特に好ましい反応性官能基は、ジスルフィド結合またはチオエーテル結合を形成するスルフィドリル基である。官能基は、保護基によって保護することができる。 L^p は、チオール含有基（例えば、チオール含有アミノ酸）でよく、したがって、 $L^{p'}$ は、保護されたチオール含有アミノ酸、例えば、下記で示すような保護されたシステインでよい。システインの L -異性体を下記の表示において示すが、システインの D -異性体が適している。さらに、 t -ブチルチオール保護基は、任意の他の適切なチオール保護基で置き換えることができる。チオール保護基は、 t -ブチルスルフィド、 n -ブチルスルフィド、 n -プロピルスルフィド、硫化メチル、硫化フェニル、チオピリジル、硫化イソプロピル、硫化エチル、およびシステイニルを含む。

50

【化 3 6】

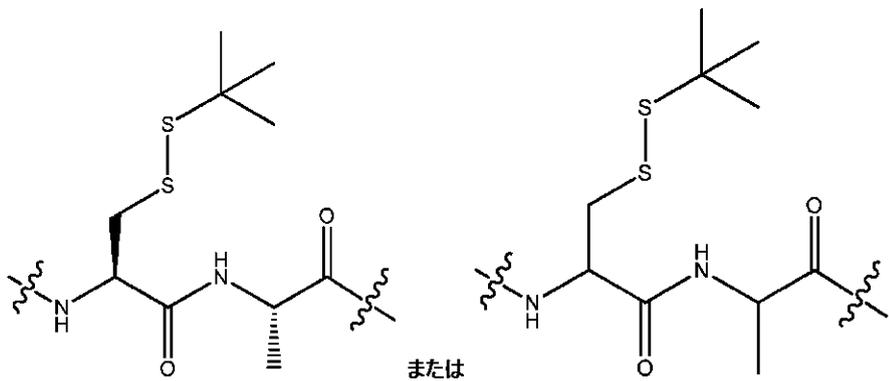


10

【0189】

L^P は、保護されたチオール含有アミノ酸を含むジペプチド、下記で示すような保護されたシステイン - アラニンジペプチドでよく、

【化 3 7】



20

式中、波線は、リンカー中間化合物の残部内の L^P の共有結合による結合を示す。

【0190】

好ましい実施形態では、L^P 単位は、リガンド - 薬物コンジュゲートの薬物 - リンカー部分への疎水性の追加を最小化するために、または疎水性の追加の一因とならないように、選択される。

30

【0191】

本発明の好ましい態様では、L^P 単位は、約 500 ダルトン以下、約 200 ダルトン以下、約 10 ~ 約 500 ダルトン、または約 10 ~ 約 200 ダルトンの質量を有する。

【0192】

リガンド - 薬物コンジュゲートの末端には、リガンド単位、薬物単位および PEG 単位が存在する。

リガンド単位：

【0193】

本発明の一部の実施形態では、リガンド単位が存在する。リガンド単位 (L-) は、標的部分に特異的に結合する標的化薬剤である。リガンドは、細胞構成要素 (細胞結合剤) に、または目的の他の標的分子に特異的に結合することができる。リガンド単位は、リガンド単位が相互作用する特定の標的細胞集団に対して薬物単位が標的とし、提示するように作用する。リガンドには、これらに限定されないが、タンパク質、ポリペプチドおよびペプチドが含まれる。適切なリガンド単位は、例えば、抗体、例えば、完全長抗体およびその抗原結合フラグメント、インターフェロン、リンフォカイン、ホルモン、成長因子およびコロニー刺激因子、ビタミン、栄養素 - 輸送分子 (これらに限定されないが、トランスフェリンなど)、または任意の他の細胞結合分子もしくは物質を含む。リガンドは、例えば、非抗体タンパク質標的化薬剤であり得る。代わりに、リガンドは、例えば、抗体で

40

50

あり得る。好ましいリガンドは、より大きな分子量のタンパク質、例えば、少なくとも約 80 Kd の分子量を有するリガンドである。

【0194】

リガンド単位は、ストレッチャー単位への結合を形成することができる。リガンド単位は、天然に存在するもの、または天然に存在しない（例えば、操作された）ものであろうと、薬物-リンカーのために必要な数の結合部位を有さなければならない。例えば、下付き文字 p の値が 6 ~ 14 であるために、リガンド単位は、6 ~ 14 個のリガンド単位と結合を形成することができなければならない。結合部位は、天然に生じることができ、またはリガンド中に操作することができる。リガンド単位は、リガンドの反応性もしくは活性化可能な (a c t i v a t a b l e) ヘテロ原子またはヘテロ原子含有官能基を介して、リンカー単位のストレッチャー単位への結合を形成することができる。リガンド単位上に存在し得る反応性もしくは活性化可能なヘテロ原子またはヘテロ原子含有官能基は、硫黄（一実施形態では、リガンドのスルフィド基から）、C=O または（一実施形態では、リガンドのカルボニル基、カルボキシル基またはヒドロキシル基から）および窒素（一実施形態では、リガンドの第一級または第二級アミノ基から）を含む。これらのヘテロ原子は、リガンドの天然状態のリガンド、例えば、天然に存在する抗体上に存在することができ、または化学修飾もしくは生物工学によってリガンド中に導入することができる。

10

【0195】

一実施形態では、リガンド単位は、スルフィド基を有し、リガンド単位は、スルフィド基の硫黄原子を介してリンカー単位に結合している。

20

【0196】

別の実施形態では、リガンドは、リンカー単位のストレッチャー単位の活性化エステル（このようなエステルには、これらに限定されないが、N-ヒドロキシスクシンイミド、ペンタフルオロフェニル、および p-ニトロフェニルエステルが含まれる）と反応し、従ってリガンド単位の窒素原子およびリンカー単位の C=O 基からなるアミド結合を形成することができるリシン残基を有する。

【0197】

さらに別の態様では、リガンド単位は、化学修飾されて、1個または複数のスルフィド基を導入することができる、1個または複数のリシン残基を有する。リガンド単位は、スルフィド基の硫黄原子を介してリンカー単位に結合する。リシンを修飾するために使用することができる試薬には、これらに限定されないが、N-スクシンイミジル S-アセチルチオアセテート (S A T A) および 2-イミノチオラン塩酸塩 (トラウト試薬) が含まれる。

30

【0198】

別の実施形態では、リガンド単位は、化学修飾されて、1個または複数のスルフィド基を有することができる1個または複数の炭水化物基を有することができる。リガンド単位は、スルフィド基の硫黄原子を介してリンカー単位のストレッチャー単位に結合している。

【0199】

さらに別の実施形態では、リガンド単位は、酸化されて、アルデヒド (-CHO) 基を提供することができる1個または複数の炭水化物基を有することができる（例えば、Laguzzaら、1989年、J. Med. Chem.、32巻(3号): 548~555頁を参照されたい）。対応するアルデヒドは、ストレッチャー単位上の反応部位と結合を形成することができる。リガンド上のカルボニル基と反応することができるストレッチャー単位上の反応部位には、これらに限定されないが、ヒドラジンおよびヒドロキシルアミンが含まれる。薬物単位の結合または会合のためのタンパク質の修飾のための他のプロトコルは、Coliganら、Current Protocols in Protein Science、第2巻、John Wiley & Sons (2002年) (参照により本明細書中に組み込まれている) に記載されている。

40

【0200】

50

リガンド単位は、ストレッチャー単位上の反応性基と結合を形成する。種々の反応性基は有用であり、リガンド単位の性質によって決まる。反応性基は、ストレッチャー単位（Lへの結合の前）上に存在するマレイミドでよく、ストレッチャー単位へのLの共有結合による結合は、リガンド単位のスルフヒドリル基によって達成され、チオ-置換スクシンイミドが形成される。スルフヒドリル基は、リガンドの天然状態のリガンド、例えば、天然に存在する残基上に存在することができ、またはリガンド中に化学修飾によって導入することができる。

【0201】

さらに別の実施形態では、リガンドは抗体であり、スルフヒドリル基は、鎖間のジスルフィドの還元によって生じる。したがって、一部の実施形態では、リンカー単位は、還元された鎖間のジスルフィドのシステイン残基にコンジュゲートしている。

10

【0202】

さらに別の実施形態では、リガンドは抗体であり、スルフヒドリル基は、例えば、システイン残基の導入によって、抗体中に化学的に導入される。したがって、一部の実施形態では、ストレッチャー単位は、導入されたシステイン残基にコンジュゲートされる。

【0203】

バイオコンジュゲートについて、薬物コンジュゲーションの部位は、コンジュゲーションの容易さ、薬物-リンカーの安定性、それゆえ得られたバイオコンジュゲートの生物物理学的特性に対する効果、および *in-vitro* での細胞毒性を含めたいくつかのパラメーターに影響を与えることができることが観察された。薬物-リンカーの安定性に関して、リガンドへの薬物-リンカーのコンジュゲーションの部位は、脱離反応を受けるコンジュゲートした薬物-リンカーの能力、および薬物リンカーがバイオコンジュゲートのリガンドから、バイオコンジュゲートの環境中の存在する代替の反応性チオール、例えば、血漿中にある場合、アルブミン、遊離システイン、またはグルタチオン中の反応性チオールなどへと移る能力に影響を与えることができる。このような部位は、例えば、鎖間のジスルフィドおよび選択したシステイン操作された部位を含む。本明細書に記載されているリガンド-薬物コンジュゲートは、他の部位に加えて、脱離反応を受けやすい部位（例えば、Kabatに記載のEUIンデックスに従って239位）においてチオール残基にコンジュゲートすることができる。

20

【0204】

コンジュゲートが、抗体の代わりに非免疫反応性タンパク質リガンド、ポリペプチドリガンド、またはペプチドリガンドを含むとき、有用な非免疫反応性タンパク質リガンド、ポリペプチドリガンド、またはペプチドリガンドには、これらに限定されないが、トランスフェリン、上皮成長因子（「EGF」）、ボンベシン、ガストリン、ガストリン放出ペプチド、血小板由来増殖因子、IL-2、IL-6、トランスフォーミング増殖因子（「TGF」）、例えば、TGF- α および TGF- β 、ワクチニア増殖因子（「VGF」）、インスリンおよびインスリン様成長因子IおよびII、ソマトスタチン、レクチン、ならびに低密度リポタンパク質からのアポタンパク質が含まれる。

30

【0205】

特に好ましいリガンドは、インタクトな抗体を含めた抗体である。実際は、本明細書に記載されている実施形態のいずれかにおいて、リガンド単位は、抗体でよい。有用なポリクローナル抗体は、免疫された動物の血清に由来する抗体分子の不均質な集団である。有用なモノクローナル抗体は、特定の抗原決定基（例えば、がん細胞抗原、ウイルス抗原、微生物抗原、タンパク質、ペプチド、炭水化物、化学物質、核酸、またはそのフラグメント）に対する抗体の均質な集団である。目的の抗原に対するモノクローナル抗体（mAb）は、培養において連続細胞系による抗体分子の産生を実現する当技術分野において公知の任意の技術を使用することによって調製することができる。

40

【0206】

有用なモノクローナル抗体には、これらに限定されないが、ヒトモノクローナル抗体、ヒト化モノクローナル抗体、またはキメラのヒト-マウス（または他の種）モノクローナ

50

ル抗体が含まれる。抗体は、完全長抗体およびその抗原結合フラグメントを含む。ヒトモノクローナル抗体は、多数の当技術分野で公知の技術のいずれかによって作製し得る（例えば、Tengら、1983年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、80巻：7308～7312頁；Kozborら、1983年、Immunology Today、4巻：72～79頁；およびOlsersonら、1982年、Meth. Enzymol.、92巻：3～16頁）。

【0207】

抗体は、標的細胞（例えば、がん細胞抗原、ウイルス抗原、もしくは微生物抗原）に免疫特異的に結合する抗体の機能的活性フラグメント、誘導体もしくは類似体、または腫瘍細胞もしくはマトリックスに結合する他の抗体でよい。これに関しては、「機能的活性な」とは、フラグメント、誘導体または類似体が、標的細胞に免疫特異的に結合することができることを意味する。どのCDR配列が抗原に結合するかを決定するために、CDR配列を含有する合成ペプチドを、当技術分野において公知の任意の結合アッセイ方法（例えば、BIAコアアッセイ）によって、抗原を用いる結合アッセイにおいて使用することができる（例えば、Kabataら、1991年、Sequences of Proteins of Immunological Interest、第5版、National Institute of Health, Bethesda, Md；Kabataら、1980年、J. Immunology、125巻（3号）：961～969頁を参照されたい）。

10

【0208】

他の有用な抗体は、これらに限定されないが、F(ab')₂フラグメント、Fabフラグメント、Fv、単鎖抗体、ダイボディ、トリボディ、テトラボディ、scFv、scFv-Fvなどの抗体のフラグメント、または抗体と同じ特異性を有する任意の他の分子を含む。

20

【0209】

さらに、標準的組換えDNA技術を使用して作製することができる、ヒトおよび非ヒトポーションの両方を含む組換え抗体、例えば、キメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体は、有用な抗体である。キメラ抗体は、異なるポーションが、異なる動物種、例えば、マウスモノクローナルに由来する可変領域およびヒト免疫グロブリン定常領域を有するものに由来する分子である。（例えば、参照により本明細書中にその全体が組み込まれている米国特許第4,816,567号；および米国特許第4,816,397号を参照されたい。）ヒト化抗体は、非ヒト種からの1つまたは複数の相補性決定領域（CDR）、およびヒト免疫グロブリン分子からのフレームワーク領域を有する非ヒト種からの抗体分子である。（例えば、参照により本明細書中にその全体が組み込まれている米国特許第5,585,089号を参照されたい。）このようなキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体は、当技術分野で公知の組換えDNA技術によって、例えば、これらの各々が参照により本明細書中にその全体が組み込まれている、国際公開第WO87/02671号；欧州特許出願公開第0184187号；欧州特許出願公開第0171496号；欧州特許出願公開第0173494号；国際公開第WO86/01533号；米国特許第4,816,567号；欧州特許出願公開第012023号；Berterら、1988年、Science、240巻：1041～1043頁；Liuら、1987年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、84巻：3439～3443頁；Liuら、1987年、J. Immunol.、139巻：3521～3526頁；Sunら、1987年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、84巻：214～218頁；Nishimuraら、1987年、Cancer Res.、47巻：999～1005頁；Woodら、1985年、Nature、314巻：446～449頁；およびShawら、1988年、J. Natl. Cancer Inst.、80巻：1553～1559頁；Morrisson、1985年、Science、229巻：1202～1207頁；Oira、1986年、BioTechniques、4巻：214頁；米国特許第5,225,539号；Jonesら、1986年、Nature、

30

40

50

321巻：552～525頁；Verhoeyanら、1988年、Science、239巻：1534頁；およびBeidlerら、1988年、J. Immunol.、141巻：4053～4060頁に記載されている方法を使用して産生することができる。

【0210】

完全ヒト抗体は特に望ましく、内在性免疫グロブリン重鎖および軽鎖遺伝子を発現することができないが、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子を発現することができるトランスジェニックマウスを使用して産生することができる。

【0211】

抗体は、すなわち、このような共有結合による結合によって、抗体がその抗原結合免疫特異性を保持することを可能とする限り、任意のタイプの分子の共有結合による結合によって修飾されている類似体および誘導体を含む。例えば、限定するためではなく、抗体の誘導体および類似体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、公知の保護基/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解的切断、細胞抗体単位または他のタンパク質への連結などによってさらに修飾されているものを含む。多数の化学修飾のいずれかは、これらに限定されないが、特異的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの存在下での代謝合成などを含めた公知の技術によって行うことができる。さらに、類似体または誘導体は、1種または複数の非天然アミノ酸を含有することができる。

10

【0212】

抗体は、Fc受容体と相互作用するアミノ酸残基において修飾（例えば、置換、欠失または付加）を有することができる。特に、抗体は、抗FcドメインおよびFcRn受容体の間の相互作用に参与していると同定されているアミノ酸残基において修飾を有することができる（例えば、参照により本明細書中にその全体が組み込まれている国際公開第WO97/34631号を参照されたい）。

20

【0213】

がん細胞抗原に対して免疫特異的な抗体は、商業的に得ることができ、または当業者には公知の任意の方法、例えば、化学合成もしくは組換え発現技術などによって産生することができる。がん細胞抗原に対して免疫特異的な抗体をコードするヌクレオチド配列は、例えば、GenBankデータベースまたは同様のデータベース、文献資料から、または通例のクローニングおよび配列決定によって得ることができる。

30

【0214】

特定の実施形態では、がんの処置のための公知の抗体を使用することができる。がん細胞抗原に対して免疫特異的な抗体は、商業的に得ることができ、または当業者には公知の任意の方法、例えば、組換え発現技術などによって産生することができる。がん細胞抗原に対して免疫特異的な抗体をコードするヌクレオチド配列は、例えば、GenBankデータベースまたは同様のデータベース、文献資料から、または通例のクローニングおよび配列決定によって得ることができる。

【0215】

別の特定の実施形態では、自己免疫疾患の処置のための抗体は、本発明の組成物および方法に従って使用される。自己免疫性抗体の産生に参与している細胞の抗原に対して免疫特異的な抗体は、任意の機関（例えば、大学の科学者もしくは会社）から得ることができ、または当業者には公知の任意の方法、例えば、化学合成もしくは組換え発現技術などによって産生することができる。

40

【0216】

ある特定の実施形態では、有用な抗体は、活性化リンパ球上に発現している受容体または受容体複合体に結合することができる。受容体または受容体複合体は、免疫グロブリン遺伝子スーパーファミリーメンバー、TNF受容体スーパーファミリーメンバー、インテグリン、サイトカイン受容体、ケモカイン受容体、主要組織適合性タンパク質、レクチン、または補体制御タンパク質を含むことができる。

50

【 0 2 1 7 】

一部の態様では、抗体は、C D 1 9、C D 2 0、C D 3 0、C D 3 3、C D 7 0、アルファ - v - ベータ - 6、L i v - 1またはL e w i s Y抗原に特異的に結合する。

【 0 2 1 8 】

抗C D 3 0抗体は、例えば、キメラA C 1 0抗体、ブレンツキシマブでよい。抗C D 3 0抗体は、配列番号1に記載されているアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、配列番号2に記載されているアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、配列番号7に記載されているアミノ酸配列を有するヒトガンマI定常領域、および配列番号8に記載されているアミノ酸配列を有するヒトカップ定常領域を有することができる。

【 0 2 1 9 】

抗C D 3 0抗体は、例えば、ヒト化A C 1 0抗体でよい。抗C D 3 0抗体は、配列番号9に記載されているアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、配列番号10に記載されているアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有することができる。抗体は、239位(EUインデックスに従って)においてセリンからシステインへの置換を任意選択で有する配列番号7に記載されているアミノ酸配列を有するヒトガンマI定常領域、および配列番号8に記載されているアミノ酸配列を有するヒトカップ定常領域をさらに含むことができる。

【 0 2 2 0 】

抗C D 7 0抗体は、例えば、ヒト化抗体でよい(例えば、US 2 0 0 9 / 0 1 4 8 9 4 2を参照されたい)。例示的な実施形態では、抗C D 7 0抗体は、配列番号3に記載されているアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、および配列番号4に記載されているアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する。

【 0 2 2 1 】

抗C D 1 9抗体は、例えば、ヒト化抗体でよい(例えば、参照により本明細書にその全体が全ての目的のために組み込まれているUS 2 0 0 9 / 0 1 3 6 5 2 6を参照されたい)。例示的な実施形態では、h B U 1 2抗体は、配列番号5に記載されているアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、および配列番号6に記載されているアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する。

【 0 2 2 2 】

抗体は、ヒト化抗C D 3 3抗体(参照により本明細書にその全体が全ての目的のために組み込まれているUS 2 0 1 3 / 0 3 0 9 2 2 3)、ヒト化抗ベータ6抗体(例えば、参照により本明細書にその全体が全ての目的のために組み込まれているWO 2 0 1 3 / 1 2 3 1 5 2を参照されたい)、ヒト化抗L i v - 1抗体(例えば、参照により本明細書にその全体が全ての目的のために組み込まれているUS 2 0 1 3 / 0 2 5 9 8 6 0を参照されたい)、またはヒト化A C 1 0抗体(例えば、参照により本明細書にその全体が全ての目的のために組み込まれているUS 8, 2 5 7, 7 0 6を参照されたい)でよい。

【 0 2 2 3 】

リガンドへの例示的な結合は、チオエーテル連結を介してである。チオエーテル連結は、鎖間のジスルフィド結合、導入されたシステイン残基(residue)、およびこれらの組合せを介してでよい。

薬物単位：

【 0 2 2 4 】

本発明の効果は、薬物が天然で疎水性である実施形態ではより明白となる。したがって、本発明の薬物は、好ましくは天然で疎水性である。

【 0 2 2 5 】

薬物単位(D)は、本明細書において細胞毒性剤、細胞増殖抑制剤または免疫抑制剤とまた称される細胞毒性薬、細胞増殖抑制薬または免疫抑制薬でよい。薬物単位は、放出可能なアセンブリー単位(X)と結合を形成することができる原子を有する。一部の実施形態では、薬物単位Dは、放出可能なアセンブリー単位(X)と結合を形成することができる窒素原子を有する。他の実施形態では、薬物単位Dは、放出可能なアセンブリー単位(X)と結合を形成することができるカルボン酸を有する。他の実施形態では、薬物単位D

10

20

30

40

50

は、放出可能なアセンブリー単位 X と結合を形成することができるスルフヒドリル基を有する。また他の実施形態では、薬物単位 D は、放出可能なアセンブリー単位 X と結合を形成することができるヒドロキシル基またはケトンまたはアルコールを有する。

【0226】

有用なクラスの細胞毒性剤または免疫抑制剤は、例えば、抗チューブリン剤、DNA 副溝結合剤、DNA 複製阻害剤、アルキル化剤、抗生物質、抗葉酸剤、代謝拮抗剤、化学療法増感剤、トポイソメラーゼ阻害剤、ピンカアルカロイドなどを含む。特に、有用なクラスの細胞毒性剤の例は、例えば、DNA 副溝結合剤、DNA アルキル化剤、およびチューブリン阻害剤を含む。例示的な細胞毒性剤は、例えば、アウリスタチン、カンプトテシン、デュオカルマイシン、エトポシド、メイタンシンおよびマイタンシノイド、タキサン、ベンゾジアゼピンまたはベンゾジアゼピン含有薬物（例えば、ピロロ[1,4]-ベンゾジアゼピン (PBD)、インドリノベンゾジアゼピン、およびオキサゾリジノベンゾジアゼピン）ならびにピンカアルカロイドを含む。選択したベンゾジアゼピン含有薬物は、WO 2010/091150、WO 2012/112708、WO 2007/085930、および WO 2011/023883 に記載されている。

10

【0227】

ある特定の実施形態では、細胞毒性剤は、メイタンシンまたはマイタンシノイド（例えば、DM1、DM4）、抗チューブリン剤の別の群である。(ImmunoGen, Inc.; また Charis, 1992年、Cancer Res., 52巻: 127~131頁および米国特許第8,163,888号を参照されたい)。

20

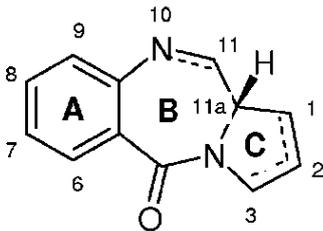
【0228】

一部の実施形態では、薬物は、ベンゾジアゼピン（ベンゾジアゼピン含有薬物、例えば、ピロロ[1,4]-ベンゾジアゼピン (PBD)、インドリノベンゾジアゼピン、およびオキサゾリジノベンゾジアゼピンを含めた）である。

【0229】

PBDは、一般構造のものであるが、

【化38】



30

これらの芳香族 A 環およびピロロ C 環の両方の、置換基の数、タイプおよび位置、ならびに C 環の飽和度が異なることができる。B 環において、DNA のアルキル化に参与する求電子性中心である N10 - C11 位においてイミン (N=C)、カルピノールアミン (NH-CH(OH))、またはカルピノールアミンメチルエーテル (NH-CH(OMe)) のいずれかが存在する。公知の天然物の全ては、キラル C11a 位において (S) - 配向を有し、これはこの天然物に C 環から A 環に向かって見たときの右回りのねじれを提供する。これはこの天然物に B 型 DNA の副溝とのイソヘリシティのための適当な三次元形状を与え、これによって結合部位にぴったりと合う。副溝において付加体を形成する PBD の能力によって、PBD は DNA プロセッシングを妨げ、したがって抗腫瘍剤としてのこれらの使用を妨げることができる。これらの分子の生物活性は、例えば、柔軟なアルキレンリンカーを介して、2 個の PBD 単位の C8 / C' - ヒドロキシル官能基を通してこれらの 2 個の PBD 単位を一緒に接合することによって増強することができる。PBD 二量体は、配列選択的 DNA 損傷、例えば、これらの生物活性に主に関与していると考えられる回文構造の 5' - Pu - GATC - Py - 3' 鎖間架橋を形成すると考えられる。

40

【0230】

50

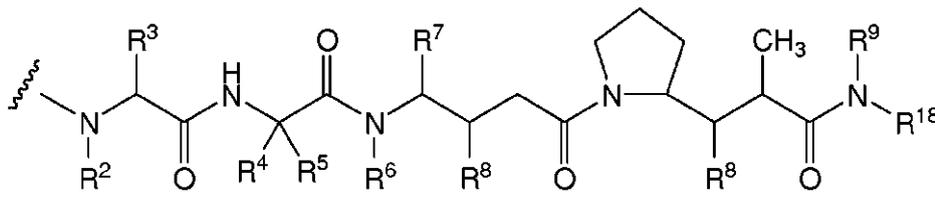
薬物単位は、例えば、モノメチルアウリスタチンEと匹敵するか、またはこれより大きい疎水性を有する、アウリスタチンまたは非アウリスタチン薬物でよい。一部の態様では、薬物は、モノメチルアウリスタチンEと匹敵するか、またはこれより大きい疎水性を有する、MMAEまたはアウリスタチンである。アウリスタチン薬物は、例えば、そのN末端またはC末端を介して放出可能なアセンブリー単位へと共有結合で結合することができる。MMAEは、2.59のSlogP値を有する。一部の態様では、本発明において使用される薬物は、1.5もしくはそれ超、2.0もしくはそれ超、または2.5もしくはそれ超のSlogP値を有する。一部の態様では、本発明において使用される薬物は、(a)約1.5、約2、もしくは2.5から約7、(b)約1.5、約2、もしくは2.5から約6、(c)約1.5、約2、もしくは約2.5から約5、(d)約1.5、約2、もしくは2.5から約4、または(e)約1.5、約2、もしくは約2.5から約3のSlogP値を有する。

10

【0231】

薬物単位は、下記の式D_Eを有することができ、ここで放出可能なアセンブリー単位への結合は、N末端を介してであり、

【化39】



20

D_E

式中、それぞれの場所において独立に、

R²は、HおよびC₁~C₈アルキルからなる群から選択され、

R³は、H、C₁~C₈アルキル、C₃~C₈炭素環、アリール、C₁~C₈アルキル-アリール、C₁~C₈アルキル-(C₃~C₈炭素環)、C₃~C₈複素環およびC₁~C₈アルキル-(C₃~C₈複素環)からなる群から選択され、

R⁴は、H、C₁~C₈アルキル、C₃~C₈炭素環、アリール、C₁~C₈アルキル-アリール、C₁~C₈アルキル-(C₃~C₈炭素環)、C₃~C₈複素環およびC₁~C₈アルキル-(C₃~C₈複素環)からなる群から選択され、

30

R⁵は、Hおよびメチルからなる群から選択され、

あるいはR⁴およびR⁵は、一緒に炭素環式環を形成し、式-(CR^aR^b)_n-を有し、R^aおよびR^bは、H、C₁~C₈アルキルおよびC₃~C₈炭素環からなる群から独立に選択され、nは、2、3、4、5および6からなる群から選択され、

R⁶は、HおよびC₁~C₈アルキルからなる群から選択され、

R⁷は、H、C₁~C₈アルキル、C₃~C₈炭素環、アリール、C₁~C₈アルキル-アリール、C₁~C₈アルキル-(C₃~C₈炭素環)、C₃~C₈複素環およびC₁~C₈アルキル-(C₃~C₈複素環)からなる群から選択され、

各R⁸は、H、OH、C₁~C₈アルキル、C₃~C₈炭素環およびO-(C₁~C₈アルキル)からなる群から独立に選択され、

40

R⁹は、HおよびC₁~C₈アルキルからなる群から選択され、

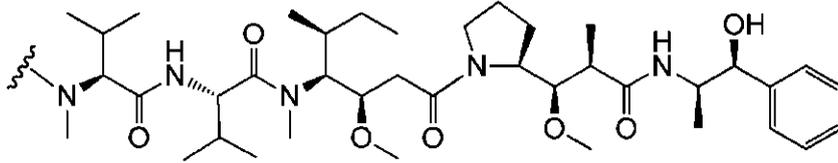
R¹⁸は、-C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-アリール、-C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-(C₃~C₈複素環)、および-C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-(C₃~C₈炭素環)からなる群から選択される。

【0232】

そのN末端を介してコンジュゲートしているMMAEを下記に示す。

50

【化 4 0】



【0 2 3 3】

一部の実施形態では、薬物単位は、ピンカ化合物、カンプトテシンまたはアントラサイクリン (anthracycline) 細胞毒性化合物である。これらの薬物単位の構造例は、X-D部分において存在するとき、薬物-リンカー-中間体のために本明細書に記載されている。

10

【0 2 3 4】

リガンド-薬物コンジュゲートが細胞系に対して細胞増殖抑制効果または細胞毒性効果を発揮するかを決定するために使用することができるいくつかの異なるアッセイが存在する。リガンド-薬物コンジュゲートが細胞系に対して細胞増殖抑制効果または細胞毒性効果を発揮するかを決定するための一例において、チミジン組込みアッセイを使用する。例えば、5,000個細胞/96ウェルプレートのウェルの密度の細胞を、72時間の期間培養し、72時間の期間の最後の8時間の間に0.5 μCi の³H-チミジンに曝露させ、リガンド-薬物コンジュゲートの存在下、および非存在下での培養物の細胞中への³H-チミジンの組込みを測定する。同じ条件下で培養されたが、リガンド-薬物コンジュゲートと接触していない同じ細胞系の細胞と比較して、培養物の細胞が³H-チミジン組込みを低減させた場合、そのリガンド-薬物コンジュゲートは、細胞系に対して細胞増殖抑制効果または細胞毒性効果を有する。

20

【0 2 3 5】

別の例において、リガンド-薬物コンジュゲートが細胞系に対して細胞増殖抑制効果または細胞毒性効果を発揮するかを決定するために、細胞生存率を、細胞中で色素、例えば、ニュートラルレッド、トリパンブルー、またはALAMAR (商標) ブルーの取込みを決定することによって測定する (例えば、Pageら、1993年、Int'l. J. of Oncology、3巻: 473~476頁を参照されたい)。このようなアッセイにおいて、色素を含有する培地中で細胞をインキュベートし、細胞を洗浄し、色素の細胞の取込みを反映する残存する色素を分光光度法で測定する。タンパク質結合色素スルホローダミンB (SRB) をまた使用して、細胞毒性を測定することができる (Skehanら、1990年、J. Nat'l Cancer Inst.、82巻: 1107~112頁)。好ましいリガンド-薬物コンジュゲートは、細胞系に対して1000 ng/ml未滿、好ましくは500 ng/ml未滿、より好ましくは100 ng/ml未滿、さらに最も好ましくは50未滿またはそれぞれ10 ng/ml未滿のIC₅₀値 (50%の細胞死滅を生じさせるmAB濃度として定義される) を有するものを含む。

30

【0 2 3 6】

薬物をリンカーに連結するための一般手順は当技術分野において公知である。例えば、米国特許第8,163,888号、同第7,659,241号、同第7,498,298号、米国特許出願公開第US20110256157号および国際出願第WO2011023883号、およびWO2005112919を参照されたい。ポリエチレングリコール単位 (PEG)

40

【0 2 3 7】

多分散性PEG、単分散性PEGsおよび別個のPEGを使用して、本発明の化合物を作製することができる。多分散性PEGは、サイズおよび分子量の不均一な混合物であり、一方、単分散性PEGは典型的には、不均一な混合物から精製され、したがって、単一の鎖長および分子量を実現する。好ましいPEG単位は、別個のPEG、すなわち重合過程によるのではなくステップ毎の様式で合成された化合物である。別個のPEGは、明確

50

および特定の鎖長を有する単一分子を提供する。

【0238】

本明細書において提供するPEG単位は、1個または複数のポリエチレングリコール鎖を含む。ポリエチレングリコール鎖は、例えば、直鎖状、分岐状または星形状の構成で一続きに連結することができる。典型的には、PEG鎖の少なくとも1つは、並列コネクタ単位への共有結合による結合のために1つの端部において誘導体化されている。並列コネクタ単位への例示的な結合は、条件付きでなく切断可能な連結により、または条件付きで切断可能な連結を介する。例示的な結合は、アミド連結、エーテル連結、エステル連結、ヒドラゾン連結、オキシム連結、ジスルフィド連結、ペプチド連結またはトリアゾール連結を介してである。一部の態様では、L^Pへの結合は、条件付きでなく切断可能な連結によってである。一部の態様では、L^Pへの結合は、エステル連結、ヒドラゾン連結、オキシム連結、またはジスルフィド連結を介してではない。一部の態様では、L^Pへの結合は、ヒドラゾン連結を介してではない。

10

【0239】

条件付きで切断可能な連結は、血漿中で循環している間は切断に対して実質的に感受性でないが、細胞内または腫瘍内環境において切断に対して感受性である連結を指す。条件付きでなく切断可能な連結は、いかなる生物環境においても切断に対して実質的に感受性でないものである。ヒドラゾンの化学的加水分解、ジスルフィドの還元、およびペプチド結合またはグリコシド連結の酵素的切断は、条件付きで切断可能な連結の例である。

【0240】

PEG単位は、リガンド-薬物コンジュゲート（またはその中間体）に並列コネクタ単位において直接結合している。PEG単位の他の末端（複数可）は遊離し、繋がれておらず、メトキシ、カルボン酸、アルコールまたは他の適切な官能基の形態を取り得る。メトキシ、カルボン酸、アルコールまたは他の適切な官能基は、PEG単位の末端PEGサブ単位のためのキャップとして作用する。繋がれていないとは、その繋がれていない部位において、薬物単位に、リガンド単位に、または薬物単位および/もしくはリガンド単位を連結する連結構成要素に、PEG単位が結合していないことを意味する。PEG単位が複数個のPEG鎖を含む実施形態について、複数のPEG鎖は、同じかまたは異なる化学部分でよい（例えば、異なる分子量のPEG、またはサブ単位の数）。複数のPEG鎖は、単一の結合部位において並列コネクタ単位に結合している。PEG単位は、繰り返しポリエチレングリコールサブ単位を含むことに加えて、また非PEG材料を含有し得ることを当業者は理解する（例えば、複数のPEG鎖の互いへのカップリングを促進するか、または並列コネクタ単位へのカップリングを促進する）。非PEG材料は、繰り返し-CH₂CH₂O-サブ単位の部分ではないPEG単位中の原子を指す。本明細書において提供する実施形態では、PEG単位は、非PEG要素を介して互いに連結している2個のモノマーPEG鎖を含むことができる。本明細書において提供する他の実施形態では、PEG単位は、並列コネクタ単位に結合している中心コアに結合している2個の直鎖状PEG鎖を含むことができる（すなわち、PEG単位自体は分岐状である）。

20

30

【0241】

当業者が利用可能ないくつかのPEG結合方法が存在する [例えば、Goodsonら（1990年）Bio/Technology、8巻：343頁（部位特異的突然変異誘発後のそのグリコシル化部位におけるインターロイキン-2のPEG化）；EP0401384（G-CSFへのPEGのカップリング）；Malikら、（1992年）、Exp. Hematol.、20巻：1028～1035頁（トレシルクロリドを使用したGM-CSFのPEG化）；ACT公開番号第WO90/12874号（システイン特異的mPEG誘導体を使用した組換え技術によって導入されたシステイン残基を含有するエリスロポエチンのPEG化）；米国特許第5,757,078号（EPOペプチドのPEG化）；米国特許第5,672,662号（ポリ（エチレングリコール）およびプロピオン酸またはブタン酸で一置換されている関連するポリマー、およびバイオ技術用途のためのその機能的誘導体）；米国特許第6,077,939号（ペプチドのN-末端アルファ

40

50

炭素のPEG化) ; Veroneseら、(1985年) Appl. Biochem. Biotechnol.、11巻: 141~142頁(PEG-ニトロフェニルカーボネート(「PEG-NPC」)またはPEG-トリクロロフェニルカーボネートによるペプチドのN-末端-炭素のPEG化) ; ならびにVeronese、(2001年) Biomaterials、22巻: 405~417頁(ペプチドおよびタンパク質PEG化についての総論)を参照されたい]。

【0242】

例えば、PEGは、反応性基を介してアミノ酸残基に共有結合し得る。反応性基は、それに対して活性化PEG分子が結合し得るものである(例えば、遊離アミノまたはカルボキシル基)。例えば、N末端アミノ酸残基およびリシン(K)残基は、遊離アミノ基を有し、C末端アミノ酸残基は、遊離カルボキシル基を有する。スルフヒドリル基(例えば、システイン残基上で見出されるような)はまた、PEGを結合させるための反応性基として使用し得る。さらに、ポリペプチドのC末端において特異的に活性化基(例えば、ヒドラジド、アルデヒド、および芳香族-アミノ基)を導入するための酵素によって補助される方法が記載されている(Schwarzら、(1990年) Methods Enzymol.、184巻: 160頁; Roseら、(1991年) Bioconjugate Chem.、2巻: 154頁; およびGaertnerら、(1994年) J. Biol. Chem.、269巻: 7224頁を参照されたい]。

10

【0243】

一部の実施形態では、PEG分子は、異なる反応性部分を有するメトキシル化PEG(「mPEG」)を使用してアミノ基に結合し得る。このような反応性部分の非限定的例には、スクシンイミジルスクシネート(SS)、スクシンイミジルカーボネート(SC)、mPEG-イミデート、パラ-ニトロフェニルカーボネート(NPC)、スクシンイミジルプロピオネート(SPA)、および塩化シアヌルが含まれる。このようなmPEGの非限定的例は、mPEG-スクシンイミジルスクシネート(mPEG-SS)、mPEG₂-スクシンイミジルスクシネート(mPEG₂-SS); mPEG-スクシンイミジルカーボネート(mPEG-SC)、mPEG₂-スクシンイミジルカーボネート(mPEG₂-SC); mPEG-イミデート、mPEG-パラ-ニトロフェニルカーボネート(mPEG-NPC)、mPEG-イミデート; mPEG₂-パラ-ニトロフェニルカーボネート(mPEG₂-NPC); mPEG-スクシンイミジルプロピオネート(mPEG-SPA); mPEG₂-スクシンイミジルプロピオネート(mPEG₂-SPA); mPEG-N-ヒドロキシ-スクシンイミド(mPEG-NHS); mPEG₂-N-ヒドロキシ-スクシンイミド(mPEG₂-NHS); mPEG-シアヌルクロリド; mPEG₂-シアヌルクロリド; mPEG₂-リシノール-NPC、およびmPEG₂-Lys-NHSを含む。

20

30

【0244】

一般に、PEG単位を構成するPEG鎖の少なくとも1つは、並列コネクタ単位に結合することができるように官能化される。官能化は、例えば、アミン、チオール、NHSエステル、マレイミド、アルキン、アジド、カルボニル、または他の官能基を介してでよい。PEG単位は、非PEG材料(すなわち、-CH₂CH₂O-からならない材料)をさらに含み、並列コネクタ単位へのカップリングを促進すること、または2個もしくはそれ超のPEG鎖のカップリングを促進することができる。

40

【0245】

多種多様のポリエチレングリコール(PEG)種を使用することができ、実質的に任意の適切な反応性PEG試薬を使用することができる。一部の実施形態では、反応性PEG試薬は、L^Pへの結合によってカルバメートまたはアミド結合の形成をもたらす。下記のPEG試薬は、様々な実施形態で有用である。mPEG₂-NHS、mPEG₂-ALD、マルチアームPEG、mPEG(MAL)₂、mPEG₂(MAL)、mPEG-NH₂、mPEG-SPA、mPEG-SBA、mPEG-チオエステル、mPEG-ダブルエステル、mPEG-BTC、mPEG-ButyRALD、mPEG-ACET、ヘテ

50

口官能性 PEG (NH₂ - PEG - COOH、Boc - PEG - NHS、Fmoc - PEG - NHS、NHS - PEG - VS、NHS - PEG - MAL)、PEG アクリレート (ACRL - PEG - NHS)、PEG - リン脂質 (例えば、mPEG - DSPE)、当業者によって選択された化学物質によって活性化されたグリセリンをベースとする PEG の GL シリーズを含めた SUNBRITE (商標) シリーズのマルチアーム PEG、SUNBRITE 活性化 PEG のいずれか (これらに限定されないが、カルボキシル - PEG、p - NP - PEG、Tresyl - PEG、アルデヒド PEG、アセタール - PEG、アミノ - PEG、チオール - PEG、マレイミド - PEG、ヒドロキシル - PEG - アミン、アミノ - PEG - COOK ヒドロキシル - PEG - アルデヒド、カルボン酸無水物タイプ - PEG、官能化 PEG - リン脂質を含めた)、ならびにこれらの特定の用途および利用のために当業者によって選択されるような他の同様および / または適切な反応性 PEG

10

【0246】

PEG 単位の付加は、このように得られたリガンド - 薬物コンジュゲートの薬物動態に対して 2 つの潜在的なインパクトを有し得る。所望のインパクトは、薬物 - リンカーの露出した疎水性要素によって誘発される非特異的な相互作用の低減から生じるクリアランスの減少 (および結果として生じる曝露の増加) である。第 2 のインパクトは望まれないインパクトであり、リガンド - 薬物コンジュゲートの分子量の増加から生じ得る分布の体積および速度の減少である。PEG サブ単位の数が増加することによって、コンジュゲートの流体力学的半径が増加し、拡散率の減少をもたらす。そして次に、拡散率の減少は、リガンド - 薬物コンジュゲートが腫瘍中に浸透する能力を減弱し得る (Schmidt および Wittrop, Mol Cancer Ther, 2009 年; 8 巻: 2861 ~ 2871 頁)。これらの 2 つの競合する薬物動態学的効果のために、LDC のクリアランスを減少させ、したがって血漿曝露を増加させるほど十分に大きい、その拡散率を非常に減弱させ、リガンド - 薬物コンジュゲートが意図する標的細胞集団に到達する能力を低減し得るほど大きくない、PEG を使用することが望ましい。特に、薬物 - リンカーのための最適な PEG サイズを選択するための方法について、実施例 (例えば、実施例 1、18、および 21) を参照されたい。

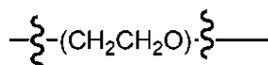
20

【0247】

実施形態の 1 つの群では、PEG 単位は、少なくとも 6 個のサブ単位、少なくとも 7 個のサブ単位、少なくとも 8 個のサブ単位、少なくとも 9 個のサブ単位、少なくとも 10 個のサブ単位、少なくとも 11 個のサブ単位、少なくとも 12 個のサブ単位、少なくとも 13 個のサブ単位、少なくとも 14 個のサブ単位、少なくとも 15 個のサブ単位、少なくとも 16 個のサブ単位、少なくとも 17 個のサブ単位、少なくとも 18 個のサブ単位、少なくとも 19 個のサブ単位、少なくとも 20 個のサブ単位、少なくとも 21 個のサブ単位、少なくとも 22 個のサブ単位、少なくとも 23 個のサブ単位、または少なくとも 24 個のサブ単位を含む。本明細書において使用する場合、サブ単位とは、PEG 単位について言及するとき、式

30

【化 41】



40

を有するポリエチレングリコールサブ単位を指す。一部のこのような実施形態では、PEG 単位は、約 72 個以下のサブ単位を含む。

【0248】

実施形態の 1 つの群では、PEG 単位は、それぞれが、少なくとも 2 個のサブ単位、少なくとも 3 個のサブ単位、少なくとも 4 個のサブ単位、少なくとも 5 個のサブ単位、少なくとも 6 個のサブ単位、少なくとも 7 個のサブ単位、少なくとも 8 個のサブ単位、少なくとも 9 個のサブ単位、少なくとも 10 個のサブ単位、少なくとも 11 個のサブ単位、少なくとも 12 個のサブ単位、少なくとも 13 個のサブ単位、少なくとも 14 個のサブ単位、

50

少なくとも 15 個のサブ単位、少なくとも 16 個のサブ単位、少なくとも 17 個のサブ単位、少なくとも 18 個のサブ単位、少なくとも 19 個のサブ単位、少なくとも 20 個のサブ単位、少なくとも 21 個のサブ単位、少なくとも 22 個のサブ単位、少なくとも 23 個のサブ単位、または少なくとも 24 個のサブ単位を有する、1 個または複数の直鎖状 PEG 鎖を含む。好ましい実施形態では、PEG 単位は、合計少なくとも 6 個のサブ単位、少なくとも 8 個、少なくとも 10 個のサブ単位、または少なくとも 12 個のサブ単位を含む。一部のこのような実施形態では、PEG 単位は、合計約 72 個のサブ単位以下、好ましくは合計約 36 個のサブ単位以下を含む。

【0249】

実施形態の別の群では、PEG 単位は、合計 4 ~ 72 個、4 ~ 60 個、4 ~ 48 個、4 ~ 36 個もしくは 4 ~ 24 個のサブ単位、5 ~ 72 個、5 ~ 60 個、5 ~ 48 個、5 ~ 36 個もしくは 5 ~ 24 個のサブ単位、6 ~ 72 個、6 ~ 60 個、6 ~ 48 個、6 ~ 36 個もしくは 6 ~ 24 個のサブ単位、7 ~ 72 個、7 ~ 60 個、7 ~ 48 個、7 ~ 36 個もしくは 7 ~ 24 個のサブ単位、8 ~ 72 個、8 ~ 60 個、8 ~ 48 個、8 ~ 36 個もしくは 8 ~ 24 個のサブ単位、9 ~ 72 個、9 ~ 60 個、9 ~ 48 個、9 ~ 36 個もしくは 9 ~ 24 個のサブ単位、10 ~ 72 個、10 ~ 60 個、10 ~ 48 個、10 ~ 36 個もしくは 10 ~ 24 個のサブ単位、11 ~ 72 個、11 ~ 60 個、11 ~ 48 個、11 ~ 36 個もしくは 11 ~ 24 個のサブ単位、12 ~ 72 個、12 ~ 60 個、12 ~ 48 個、12 ~ 36 個もしくは 12 ~ 24 個のサブ単位、13 ~ 72 個、13 ~ 60 個、13 ~ 48 個、13 ~ 36 個もしくは 13 ~ 24 個のサブ単位、14 ~ 72 個、14 ~ 60 個、14 ~ 48 個、14 ~ 36 個もしくは 14 ~ 24 個のサブ単位、15 ~ 72 個、15 ~ 60 個、15 ~ 48 個、15 ~ 36 個もしくは 15 ~ 24 個のサブ単位、16 ~ 72 個、16 ~ 60 個、16 ~ 48 個、16 ~ 36 個もしくは 16 ~ 24 個のサブ単位、17 ~ 72 個、17 ~ 60 個、17 ~ 48 個、17 ~ 36 個もしくは 17 ~ 24 個のサブ単位、18 ~ 72 個、18 ~ 60 個、18 ~ 48 個、18 ~ 36 個もしくは 18 ~ 24 個のサブ単位、19 ~ 72 個、19 ~ 60 個、19 ~ 48 個、19 ~ 36 個もしくは 19 ~ 24 個のサブ単位、20 ~ 72 個、20 ~ 60 個、20 ~ 48 個、20 ~ 36 個もしくは 20 ~ 24 個のサブ単位、21 ~ 72 個、21 ~ 60 個、21 ~ 48 個、21 ~ 36 個もしくは 21 ~ 24 個のサブ単位、22 ~ 72 個、22 ~ 60 個、22 ~ 48 個、22 ~ 36 個もしくは 22 ~ 24 個のサブ単位、23 ~ 72 個、23 ~ 60 個、23 ~ 48 個、23 ~ 36 個もしくは 23 ~ 24 個のサブ単位、または 24 ~ 72 個、24 ~ 60 個、24 ~ 48 個、24 ~ 36 個もしくは 24 個のサブ単位を含む。

【0250】

実施形態の別の群では、PEG 単位は、合計 4 ~ 72 個、4 ~ 60 個、4 ~ 48 個、4 ~ 36 個もしくは 4 ~ 24 個のサブ単位、5 ~ 72 個、5 ~ 60 個、5 ~ 48 個、5 ~ 36 個もしくは 5 ~ 24 個のサブ単位、6 ~ 72 個、6 ~ 60 個、6 ~ 48 個、6 ~ 36 個もしくは 6 ~ 24 個のサブ単位、7 ~ 72 個、7 ~ 60 個、7 ~ 48 個、7 ~ 36 個もしくは 7 ~ 24 個のサブ単位、8 ~ 72 個、8 ~ 60 個、8 ~ 48 個、8 ~ 36 個もしくは 8 ~ 24 個のサブ単位、9 ~ 72 個、9 ~ 60 個、9 ~ 48 個、9 ~ 36 個もしくは 9 ~ 24 個のサブ単位、10 ~ 72 個、10 ~ 60 個、10 ~ 48 個、10 ~ 36 個もしくは 10 ~ 24 個のサブ単位、11 ~ 72 個、11 ~ 60 個、11 ~ 48 個、11 ~ 36 個もしくは 11 ~ 24 個のサブ単位、12 ~ 72 個、12 ~ 60 個、12 ~ 48 個、12 ~ 36 個もしくは 12 ~ 24 個のサブ単位、13 ~ 72 個、13 ~ 60 個、13 ~ 48 個、13 ~ 36 個もしくは 13 ~ 24 個のサブ単位、14 ~ 72 個、14 ~ 60 個、14 ~ 48 個、14 ~ 36 個もしくは 14 ~ 24 個のサブ単位、15 ~ 72 個、15 ~ 60 個、15 ~ 48 個、15 ~ 36 個もしくは 15 ~ 24 個のサブ単位、16 ~ 72 個、16 ~ 60 個、16 ~ 48 個、16 ~ 36 個もしくは 16 ~ 24 個のサブ単位、17 ~ 72 個、17 ~ 60 個、17 ~ 48 個、17 ~ 36 個もしくは 17 ~ 24 個のサブ単位、18 ~ 72 個、18 ~ 60 個、18 ~ 48 個、18 ~ 36 個もしくは 18 ~ 24 個のサブ単位、19 ~ 72 個、19 ~ 60 個、19 ~ 48 個、19 ~ 36 個もしくは 19 ~ 24 個のサブ単位、20 ~ 72 個、20 ~ 60 個、20 ~ 48 個、20 ~ 36 個もしくは 20 ~ 24 個のサブ単位、21 ~ 72 個、21 ~ 60 個、21 ~ 48 個、21 ~ 36 個もしくは 21 ~ 24 個のサブ単位、22 ~ 72 個、22 ~ 60 個、22 ~ 48 個、22 ~ 36 個もしくは 22 ~ 24 個のサブ単位、23 ~ 72 個、23 ~ 60 個、23 ~ 48 個、23 ~ 36 個もしくは 23 ~ 24 個のサブ単位、または 24 ~ 72 個、24 ~ 60 個、24 ~ 48 個、24 ~ 36 個もしくは 24 個のサブ単位を含む。

0 ~ 7 2 個、2 0 ~ 6 0 個、2 0 ~ 4 8 個、2 0 ~ 3 6 個もしくは2 0 ~ 2 4 個のサブ単位、2 1 ~ 7 2 個、2 1 ~ 6 0 個、2 1 ~ 4 8 個、2 1 ~ 3 6 個もしくは2 1 ~ 2 4 個のサブ単位、2 2 ~ 7 2 個、2 2 ~ 6 0 個、2 2 ~ 4 8 個、2 2 ~ 3 6 個もしくは2 2 ~ 2 4 個のサブ単位、2 3 ~ 7 2 個、2 3 ~ 6 0 個、2 3 ~ 4 8 個、2 3 ~ 3 6 個もしくは2 3 ~ 2 4 個のサブ単位、または2 4 ~ 7 2 個、2 4 ~ 6 0 個、2 4 ~ 4 8 個、2 4 ~ 3 6 個もしくは2 4 個のサブ単位を有する、1 個または複数の直鎖状 P E G 鎖を含む。

【 0 2 5 1 】

実施形態の別の群では、P E G 単位は、少なくとも2 個のサブ単位、少なくとも3 個のサブ単位、少なくとも4 個のサブ単位、少なくとも5 個のサブ単位、少なくとも6 個のサブ単位、少なくとも7 個のサブ単位、少なくとも8 個のサブ単位、少なくとも9 個のサブ単位、少なくとも1 0 個のサブ単位、少なくとも1 1 個のサブ単位、少なくとも1 2 個のサブ単位、少なくとも1 3 個のサブ単位、少なくとも1 4 個のサブ単位、少なくとも1 5 個のサブ単位、少なくとも1 6 個のサブ単位、少なくとも1 7 個のサブ単位、少なくとも1 8 個のサブ単位、少なくとも1 9 個のサブ単位、少なくとも2 0 個のサブ単位、少なくとも2 1 個のサブ単位、少なくとも2 2 個のサブ単位、少なくとも2 3 個のサブ単位、または少なくとも2 4 個のサブ単位を有する誘導体化された単一の直鎖状 P E G 鎖である。

10

【 0 2 5 2 】

実施形態の別の群では、P E G 単位は、6 ~ 7 2 個、6 ~ 6 0 個、6 ~ 4 8 個、6 ~ 3 6 個もしくは6 ~ 2 4 個のサブ単位、7 ~ 7 2 個、7 ~ 6 0 個、7 ~ 4 8 個、7 ~ 3 6 個もしくは7 ~ 2 4 個のサブ単位、8 ~ 7 2 個、8 ~ 6 0 個、8 ~ 4 8 個、8 ~ 3 6 個もしくは8 ~ 2 4 個のサブ単位、9 ~ 7 2 個、9 ~ 6 0 個、9 ~ 4 8 個、9 ~ 3 6 個もしくは9 ~ 2 4 個のサブ単位、1 0 ~ 7 2 個、1 0 ~ 6 0 個、1 0 ~ 4 8 個、1 0 ~ 3 6 個もしくは1 0 ~ 2 4 個のサブ単位、1 1 ~ 7 2 個、1 1 ~ 6 0 個、1 1 ~ 4 8 個、1 1 ~ 3 6 個もしくは1 1 ~ 2 4 個のサブ単位、1 2 ~ 7 2 個、1 2 ~ 6 0 個、1 2 ~ 4 8 個、1 2 ~ 3 6 個もしくは1 2 ~ 2 4 個のサブ単位、1 3 ~ 7 2 個、1 3 ~ 6 0 個、1 3 ~ 4 8 個、1 3 ~ 3 6 個もしくは1 3 ~ 2 4 個のサブ単位、1 4 ~ 7 2 個、1 4 ~ 6 0 個、1 4 ~ 4 8 個、1 4 ~ 3 6 個もしくは1 4 ~ 2 4 個のサブ単位、1 5 ~ 7 2 個、1 5 ~ 6 0 個、1 5 ~ 4 8 個、1 5 ~ 3 6 個もしくは1 5 ~ 2 4 個のサブ単位、1 6 ~ 7 2 個、1 6 ~ 6 0 個、1 6 ~ 4 8 個、1 6 ~ 3 6 個もしくは1 6 ~ 2 4 個のサブ単位、1 7 ~ 7 2 個、1 7 ~ 6 0 個、1 7 ~ 4 8 個、1 7 ~ 3 6 個もしくは1 7 ~ 2 4 個のサブ単位、1 8 ~ 7 2 個、1 8 ~ 6 0 個、1 8 ~ 4 8 個、1 8 ~ 3 6 個もしくは1 8 ~ 2 4 個のサブ単位、1 9 ~ 7 2 個、1 9 ~ 6 0 個、1 9 ~ 4 8 個、1 9 ~ 3 6 個もしくは1 9 ~ 2 4 個のサブ単位、2 0 ~ 7 2 個、2 0 ~ 6 0 個、2 0 ~ 4 8 個、2 0 ~ 3 6 個もしくは2 0 ~ 2 4 個のサブ単位、2 1 ~ 7 2 個、2 1 ~ 6 0 個、2 1 ~ 4 8 個、2 1 ~ 3 6 個もしくは2 1 ~ 2 4 個のサブ単位、2 2 ~ 7 2 個、2 2 ~ 6 0 個、2 2 ~ 4 8 個、2 2 ~ 3 6 個もしくは2 2 ~ 2 4 個のサブ単位、2 3 ~ 7 2 個、2 3 ~ 6 0 個、2 3 ~ 4 8 個、2 3 ~ 3 6 個もしくは2 3 ~ 2 4 個のサブ単位、または2 4 ~ 7 2 個、2 4 ~ 6 0 個、2 4 ~ 4 8 個、2 4 ~ 3 6 個もしくは2 4 個のサブ単位を有する誘導体化された単一の直鎖状 P E G 鎖である。

20

30

【 0 2 5 3 】

実施形態の別の群では、P E G 単位は、2 ~ 7 2 個、2 ~ 6 0 個、2 ~ 4 8 個、2 ~ 3 6 個もしくは2 ~ 2 4 個のサブ単位、2 ~ 7 2 個、2 ~ 6 0 個、2 ~ 4 8 個、2 ~ 3 6 個もしくは2 ~ 2 4 個のサブ単位、3 ~ 7 2 個、3 ~ 6 0 個、3 ~ 4 8 個、3 ~ 3 6 個もしくは3 ~ 2 4 個のサブ単位、3 ~ 7 2 個、3 ~ 6 0 個、3 ~ 4 8 個、3 ~ 3 6 個もしくは3 ~ 2 4 個のサブ単位、4 ~ 7 2 個、4 ~ 6 0 個、4 ~ 4 8 個、4 ~ 3 6 個もしくは4 ~ 2 4 個のサブ単位、5 ~ 7 2 個、5 ~ 6 0 個、5 ~ 4 8 個、5 ~ 3 6 個もしくは5 ~ 2 4 個のサブ単位を有する誘導体化された単一の直鎖状 P E G 鎖である。

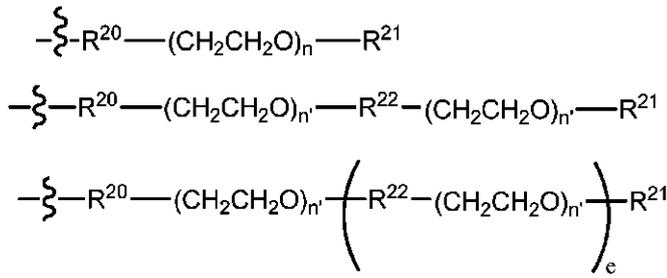
40

【 0 2 5 4 】

本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて使用することができる例示的な直鎖状 P E G 単位は、下記の通りであり、

50

【化 4 2】



10

式中、波線は、並列コネクター単位への結合の部位を示し、

R²⁰は、PEG結合単位であり、

R²¹は、PEGキャッピング単位であり、

R²²は、PEGカップリング単位であり（すなわち、複数のPEGサブ単位鎖を一緒にカップリングするため）、

nは、2～72（好ましくは4～72、より好ましくは6～72、8～72、10～72、12～72または6～24）から独立に選択され、

eは、2～5であり、

各n'は、1～72から独立に選択される。好ましい実施形態では、PEG単位中に、少なくとも6個、好ましくは少なくとも8個、少なくとも10個、または少なくとも12個のPEGサブ単位が存在する。一部の実施形態では、PEG単位中に、72個以下または36個以下のPEGサブ単位が存在する。

20

【0255】

好ましい実施形態では、nは、8または約8、12または約12、24または約24である。

【0256】

PEG結合単位は、PEG単位の部分であり、PEG単位を並列コネクター単位へと連結するように作用する。これに関しては、並列コネクター単位は、PEG単位と結合を形成する官能基を有する。並列コネクター単位へのPEG単位の結合のための官能基は、ジスルフィド結合またはチオエーテル結合を形成するスルフヒドリル基、ヒドラゾン結合を形成するアルデヒド、ケトン、またはヒドラジン基、オキシム結合を形成するヒドロキシルアミン、ペプチド結合を形成するカルボン酸基またはアミノ基、エステル結合を形成するカルボン酸基またはヒドロキシ基、スルホンアミド結合を形成するスルホン酸、カルバメート結合を形成するアルコール、およびスルホンアミド結合またはカルバメート結合またはアミド結合を形成するアミンを含む。したがって、PEG単位は、例えば、ジスルフィド、チオエーテル、ヒドラゾン、オキシム、ペプチド、エステル、スルホンアミド、カルバメート、またはアミド結合を介して、並列コネクター単位に結合させることができる。典型的には、PEG結合単位は、PEG単位を並列コネクター単位へと結合させるときに起こる、環化付加、付加、付加/脱離または置換反応の生成物である。

30

40

【0257】

PEGカップリング単位は、PEG単位の部分であり、繰り返しCH₂CH₂O-サブ単位の2個またはそれ超の鎖を接続するように作用する非PEG材料である。例示的な実施形態では、PEGカップリング単位R²²は、-C₁₋₁₀アルキル-C(O)-NH-、-C₁₋₁₀アルキル-NH-C(O)-、-C₂₋₁₀アルキル-NH-、-C₂₋₁₀アルキル-O-、-C₁₋₁₀アルキル-S-、または-C₂₋₁₀アルキル-NH-である。

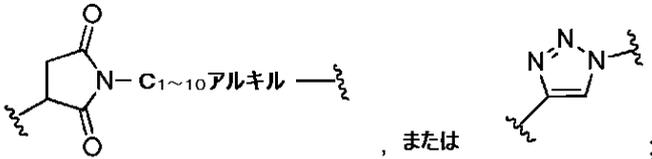
【0258】

例示的な実施形態では、PEG結合単位R²⁰は、-C(O)-、-O-、-S-、-S(O)-、-NH-、-C(O)O-、-C(O)C₁₋₁₀アルキル、-C(O)C

50

C_{1-10} アルキル - O - 、 - C (O) C_{1-10} アルキル - CO₂ - 、 - C (O) C_{1-10} アルキル - NH - 、 - C (O) C_{1-10} アルキル - S - 、 - C (O) C_{1-10} アルキル - C (O) - NH - 、 - C (O) C_{1-10} アルキル - NH - C (O) - 、 - C_{1-10} アルキル - C₁₋₁₀アルキル - O - 、 - C_{1-10} アルキル - CO₂ - 、 - C_{1-10} アルキル - NH - 、 - C_{1-10} アルキル - S - 、 - C_{1-10} アルキル - C (O) - NH - 、 - C_{1-10} アルキル - NH - C (O) - 、 - CH₂CH₂SO₂ - C_{1-10} アルキル - 、 - CH₂C (O) - C_{1-10} アルキル - 、 = N - (O または N) - C_{1-10} アルキル - O - 、 = N - (O または N) - C_{1-10} アルキル - NH - 、 = N - (O または N) - C_{1-10} アルキル - CO₂ - 、 = N - (O または N) - C_{1-10} アルキル - S - 、
 【化 4 3】

10



であり、

各 R^{21} は、独立に、 - C_{1-10} アルキル、 - C_{2-10} アルキル - CO₂H、 - C_{2-10} アルキル - OH、 - C_{2-10} アルキル - NH₂、 C_{2-10} アルキル - NH (C_{1-3} アルキル)、または C_{2-10} アルキル - N (C_{1-3} アルキル)₂であり、

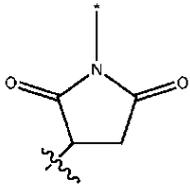
20

各 R^{22} は、独立に、 - C_{1-10} アルキル - C (O) - NH - 、 - C_{1-10} アルキル - NH - C (O) - 、 - C_{2-10} アルキル - NH - 、 - C_{2-10} アルキル - O - 、 - C_{1-10} アルキル - S - 、または - C_{2-10} アルキル - NH - である。

【0259】

一部の実施形態では、 R^{20} は、 - NH - 、 - C (= O) - 、 トリアゾール連結基、または - S - 、またはマレイミド連結基、例えば、

【化 4 4】



30

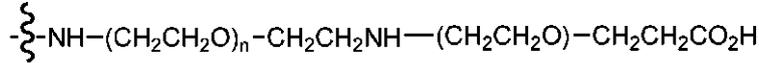
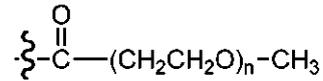
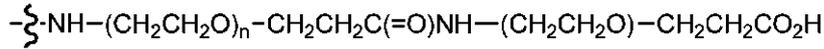
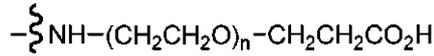
であり、式中、波線は、並列コネクター単位への結合の部位を示し、アスタリスクは、PEG単位内の結合の部位を示す。一部のこのような態様では、 R^{21} は、 C_{1-10} アルキル、 - C_{2-10} アルキル - CO₂H、 - C_{2-10} アルキル - OH、または - C_{2-10} アルキル - NH₂ である。

【0260】

本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて使用することができる例示的な直鎖状PEG単位は、下記の通りであり、

40

【化 4 5】



10

式中、波線は、並列コネクター単位への結合の部位を示し、各 n は、4 ~ 72、6 ~ 72、8 ~ 72、10 ~ 72、12 ~ 72、6 ~ 24、または 8 ~ 24 から独立に選択される。一部の態様では、 n は、約 8、約 12、または約 24 である。

【0261】

本明細書に記載のように、PEG 単位は、これが結果として生じたリガンド - 薬物コンジュゲートのクリアランスを改善させるが、腫瘍中に浸透するコンジュゲートの能力に有意にインパクトを与えないように選択される。リガンド - 薬物コンジュゲートの薬物単位および放出可能なアセンブリー単位がマレイミドグルクロニド MMAE 薬物 - リンカーの疎水性と匹敵する疎水性を有する実施形態では（実施例において示すような）、使用のために選択される PEG 単位は好ましくは、8 個のサブ単位 ~ 約 24 個のサブ単位、より好ましくは約 12 個のサブ単位を有する。コンジュゲートの薬物単位および放出可能なアセンブリー単位がマレイミドグルクロニド MMAE 薬物 - リンカーの疎水性より大きな疎水性を有する実施形態では、より多くのサブ単位を有する PEG 単位を選択することができる。実施例セクションにおいて示される方法を使用して、特定の薬物 - リンカーのためのサブ単位の理想的な数を同定することができる。

20

【0262】

本発明の好ましい実施形態では、PEG 単位は、約 300 ダルトン ~ 約 5 キロダルトン；約 300 ダルトン ~ 約 4 キロダルトン；約 300 ダルトン ~ 約 3 キロダルトン；約 300 ダルトン ~ 約 2 キロダルトン；または約 300 ダルトン ~ 約 1 キロダルトンである。一部のこのような態様では、PEG 単位は、少なくとも 6 個のサブ単位または少なくとも 8 個、10 個または 12 個のサブ単位を有する。一部のこのような態様では、PEG 単位は、少なくとも 6 個のサブ単位または少なくとも 8 個、10 個または 12 個のサブ単位であるが、72 個以下のサブ単位、好ましくは 36 個以下のサブ単位を有する。

30

【0263】

本発明の好ましい実施形態では、PEG 単位は別として、薬物 - リンカー中に存在する他の PEG サブ単位は存在しない（すなわち、本明細書において提供するコンジュゲートおよびリンカーの他の構成要素のいずれにも PEG サブ単位がない）。本発明の他の態様では、PEG 単位は別として、薬物 - リンカー中に存在する 8 個以下、7 個以下、6 個以下、5 個以下、4 個以下、3 個以下、2 個以下または 1 個以下の他のポリエチレングリコールサブ単位が存在する（すなわち、本明細書において提供するコンジュゲートおよびリンカーの他の構成要素において 8 個以下、7 個以下、6 個以下、5 個以下、4 個以下、3 個以下、2 個以下、または 1 個以下の他のポリエチレングリコールサブ単位）。構成要素は、ストレッチャー単位、並列コネクター単位、薬物単位、分岐単位、および放出可能なアセンブリー単位を含む。

40

【0264】

PEG サブ単位に言及するとき、および文脈によって、例えば、リガンド - 薬物コンジュゲートまたは中間化合物の集団に言及し、そして多分散性 PEG を使用するとき、サブ単位の数は、平均数を表すことができることを認識されたい。

ストレッチャー単位：

50

【0265】

ストレッチャー単位（-Z-）は、リガンド単位を並列コネクタ単位へと連結するように作用する。これに関しては、ストレッチャー単位は、リガンド単位の官能基と結合を形成することができる官能基を有する。ストレッチャー単位はまた、任意選択の分岐単位または並列コネクタ単位の官能基と結合を形成することができる官能基を有する。PEG単位当たりそれ超の薬物単位を有するリガンド-薬物コンジュゲートおよび中間体において、ストレッチャー単位は、リガンド単位の官能基と結合を形成することができる官能基、および分岐単位、並列コネクタ単位、または薬物結合単位と結合を形成することができる官能基を有する。天然で、または化学操作によってのいずれかで、リガンド単位上に存在することができる有用な官能基には、これらに限定されないが、スルフヒドリル（-SH）、アミノ、ヒドロキシル、カルボキシ、炭水化物のアノマーヒドロキシル基、およびカルボキシルが含まれる。一態様では、リガンド単位の官能基は、スルフヒドリルおよびアミノである。ストレッチャー単位は、リガンド単位への結合のための、例えば、マレイミド基、アルデヒド、ケトン、カルボニル、またはハロアセトアミドを含むことができる。

【0266】

一部の態様では、薬物-リンカー化合物または中間体リンカー化合物のストレッチャー単位は、リガンド単位（例えば、抗体）上に存在する求核基に対して反応性である求電子基を有する。リガンド上の有用な求核基には、これらに限定されないが、スルフヒドリル、ヒドロキシルおよびアミノ基が含まれる。リガンドの求核基のヘテロ原子は、ストレッチャー単位上の求電子基に対して反応性であり、ストレッチャー単位への共有結合を形成する。有用な求電子基には、これらに限定されないが、マレイミドおよびハロアセトアミド基が含まれる。リガンドとしての抗体について、求電子基は、到達可能な求核基を有する抗体のための抗体結合のための好都合な部位を提供する。

【0267】

別の実施形態では、ストレッチャー単位は、リガンド単位（例えば、抗体）上に存在する求電子基に対して反応性である求核基を有する反応部位を有する。リガンド上の有用な求電子基には、これらに限定されないが、アルデヒドおよびケトンおよびカルボニル基が含まれる。ストレッチャー単位の求核基のヘテロ原子は、リガンド上の求電子基と反応して、抗体への共有結合を形成することができる。ストレッチャー単位上の有用な求核基には、これらに限定されないが、ヒドラジド、ヒドロキシルアミン、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリアルヒドラジドが含まれる。リガンドとしての抗体について、抗体上の求電子基は、求核性ストレッチャー単位への結合のための好都合な部位を提供する。

【0268】

一部の態様では、コンジュゲートは、並列コネクタ単位に結合するための反応部位を有するストレッチャー単位のセクションを使用し、リガンド単位のための反応部位を有するストレッチャー単位の別のセクションを導入して、調製することができる。一態様では、ストレッチャー単位は、リガンド単位、例えば、抗体上に存在する求核基と反応性である求電子基を有する反応部位を有する。求電子基は、リガンド（例えば、抗体）結合のための好都合な部位を提供する。抗体上の有用な求核基には、これらに限定されないが、スルフヒドリル、ヒドロキシルおよびアミノ基が含まれる。抗体の求核基のヘテロ原子は、ストレッチャー単位上の求電子基に対して反応性であり、ストレッチャー単位への共有結合を形成する。有用な求電子基には、これらに限定されないが、マレイミドおよびハロアセトアミド基およびNHSEステルが含まれる。

【0269】

別の実施形態では、ストレッチャー単位は、リガンド単位上に存在する求電子基と反応性である求核基を有する反応部位を有する。リガンド単位（例えば、抗体）上の求電子基は、ストレッチャー単位への結合のための好都合な部位を提供する。抗体上の有用な求電子基には、これらに限定されないが、アルデヒドおよびケトンのカルボニル基が含まれる

。ストレッチャー単位の求核基のヘテロ原子は、抗体上の求電子基と反応し、抗体への共有結合を形成することができる。ストレッチャー単位上の有用な求核基には、これらに限定されないが、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリーールヒドラジドが含まれる。

【0270】

一部の実施形態では、ストレッチャー単位は、ストレッチャー単位のマレイミド基を介してリガンド単位の硫黄原子と結合を形成する。硫黄原子は、リガンド単位のスルフヒドリル基に由来することができる。この実施形態の代表的なストレッチャー単位は、式XVaおよびXVbの角カッコ内のものを含み、波線は、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合を示し、 R^{17} は、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン-、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ-、 $-O-(C_1 \sim C_8 \text{アルキル})-$ 、 $-アリーレン-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-アリーレン-、 $-アリーレン-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8 \text{カルボシクロ})-$ 、 $-(C_3 \sim C_8 \text{カルボシクロ})-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8 \text{ヘテロシクロ})-$ 、 $-(C_3 \sim C_8 \text{ヘテロシクロ})-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $C(=O)-$ 、 $C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン- $C(=O)-$ 、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ- $C(=O)-$ 、 $-O-(C_1 \sim C_8 \text{アルキル})-C(=O)-$ 、 $-アリーレン-C(=O)-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-アリーレン- $C(=O)-$ 、 $-アリーレン-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $C(=O)-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8 \text{カルボシクロ})-C(=O)-$ 、 $-(C_3 \sim C_8 \text{カルボシクロ})-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $C(=O)-$ 、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ- $C(=O)-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8 \text{ヘテロシクロ})-C(=O)-$ 、 $-(C_3 \sim C_8 \text{ヘテロシクロ})-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $C(=O)-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-NH-、 $C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン-NH-、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ-NH-、 $-O-(C_1 \sim C_8 \text{アルキル})-NH-$ 、 $-アリーレン-NH-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-アリーレン-NH-、 $-アリーレン-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-NH-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8 \text{カルボシクロ})-NH-$ 、 $-(C_3 \sim C_8 \text{カルボシクロ})-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-NH-、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ-NH-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8 \text{ヘテロシクロ})-NH-$ 、 $-(C_3 \sim C_8 \text{ヘテロシクロ})-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-NH-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-S-、 $C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン-S-、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ-S-、 $-O-(C_1 \sim C_8 \text{アルキル})-S-$ 、 $-アリーレン-S-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-アリーレン-S-、 $-アリーレン-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-S-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8 \text{カルボシクロ})-S-$ 、 $-(C_3 \sim C_8 \text{カルボシクロ})-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-S-、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ-S-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8 \text{ヘテロシクロ})-S-$ 、または $-(C_3 \sim C_8 \text{ヘテロシクロ})-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-S-である。 R^{17} 置換基のいずれかは、置換されていてもよく、または置換されていなくてもよい。一部の態様では、 R^{17} 置換基は、非置換である。一部の態様では、 R^{17} 置換基は、任意選択で置換されている。一部の態様では、 R^{17} 基は、塩基性単位、例えば、 $-(CH_2)_x NH_2$ 、 $-(CH_2)_x NHR^a$ 、および $-(CH_2)_x NR^a_2$ （式中、 x は、1～4の整数であり、各 R^a は、 $C_1 \sim 6$ アルキルおよび $C_1 \sim 6$ ハロアルキルからなる群から独立に選択されるか、または2個の R^a 基はそれらが結合している窒素と合わさり、アゼチジニル、ピロリジニルまたはピペリジニル基を形成する）で任意選択で置換されている。明確に示さない場合でさえ、 p は、1～14であることを理解すべきである。

10

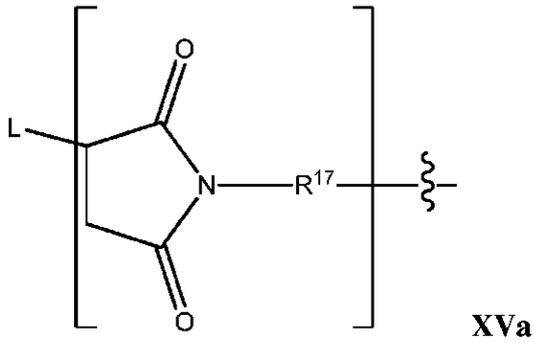
20

30

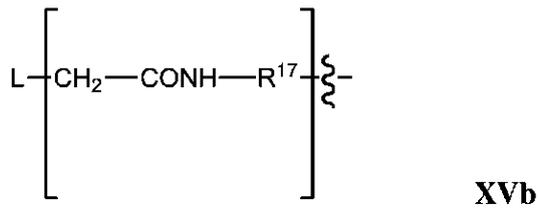
40

50

【化 4 6】



10

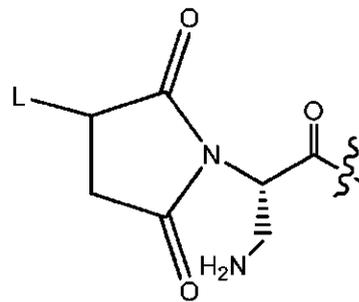
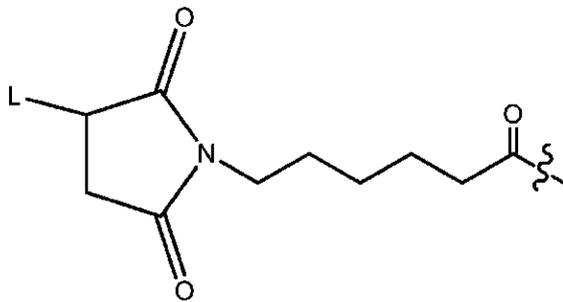


20

【 0 2 7 1】

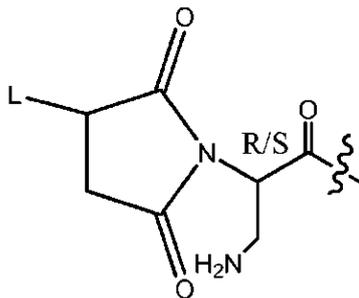
例示的なストレッチャー単位は、式 XV a のものであり、 R^{17} は、 $-C_2 \sim C_5$ アルキレン- $C(=O)-$ であり、アルキレンは、塩基性単位、例えば、 $-(CH_2)_x NH_2$ 、 $-(CH_2)_x NHR^a$ 、および $-(CH_2)_x NR^a_2$ (式中、 x は、 $1 \sim 4$ の整数であり、各 R^a は、 $C_1 \sim 6$ アルキルおよび $C_1 \sim 6$ ハロアルキルからなる群から独立に選択されるか、または 2 個の R^a 基はそれらが結合している窒素と合わさり、アゼチジニル、ピロリジニルまたはピペリジニル基を形成する) で任意選択で置換されている。例示的な実施形態は、下記の通りである。

【化 4 7】



30

40

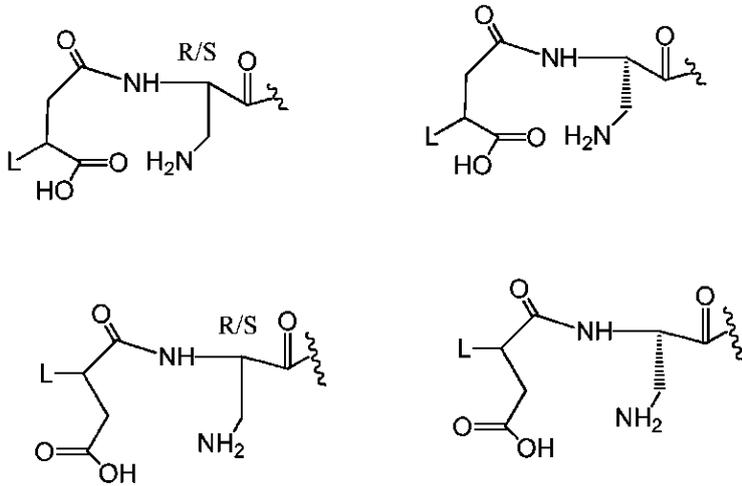


50

【 0 2 7 2 】

置換スクシニミドは、下記で示すような加水分解された形態で存在し得ることが理解される。

【 化 4 8 】

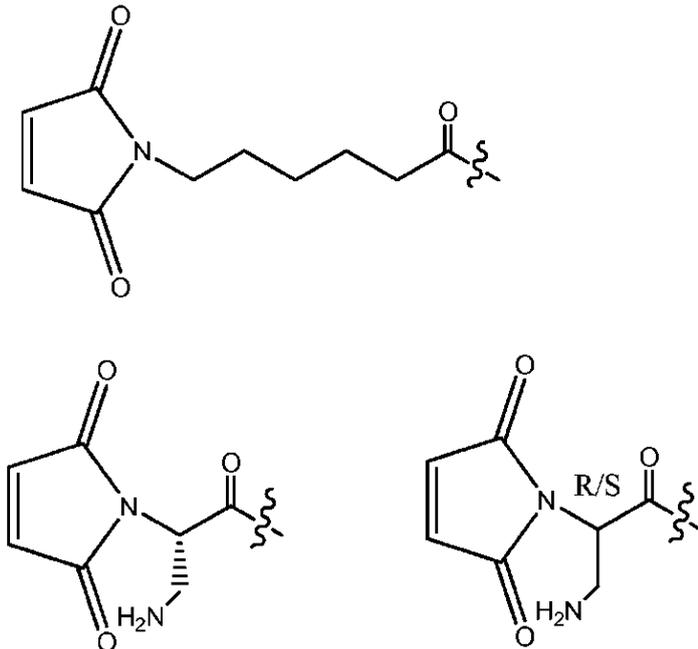


10

【 0 2 7 3 】

リガンドへのコンジュゲーション前の例示的なストレッチャー単位は、下記を含む。

【 化 4 9 】



30

40

【 0 2 7 4 】

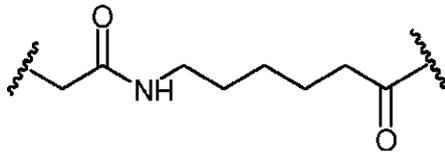
ストレッチャー単位のアミノ基は、合成の間にアミノ保護基、例えば、酸に不安定な保護基（例えば、BOC）によって適切に保護し得ることが理解される。

【 0 2 7 5 】

さらに別の例示的なストレッチャー単位は、式 XV b のものであり、 R^{17} は、 $-(CH_2)_5-$ である：

50

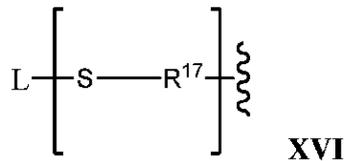
【化50】



【0276】

別の実施形態では、ストレッチャー単位は、リガンド単位の硫黄原子とストレッチャー単位の硫黄原子との間のジスルフィド結合を介して、リガンド単位へと連結している。この実施形態の代表的なストレッチャー単位を、式XVIの角カッコ内に示し、波線は、リガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合を示し、 R^{17} は、式XVaおよびXVbについて上記の通りである。

【化51】



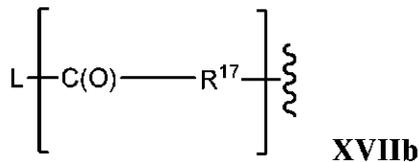
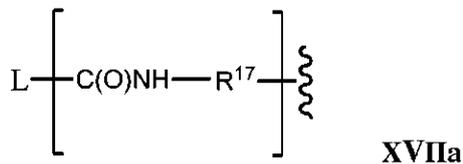
20

【0277】

さらに別の実施形態では、ストレッチャーの反応性基は、リガンドの第一級または第二級アミノ基と結合を形成することができる反応部位を含有する。これらの反応部位の例には、これらに限定されないが、活性化エステル、例えば、スクシンイミドエステル、4-ニトロフェニルエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステル、無水物、酸塩化物、塩化スルホニル、イソシアン酸エステルおよびイソチオシアン酸エステルが含まれる。この実施形態の代表的なストレッチャー単位を、式XVIIa、XVIIb、およびXVIIcの角カッコ内に示し、波線は、リガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合を示し、 R^{17} は、式XVaおよびXVbについて上記の通りである。

30

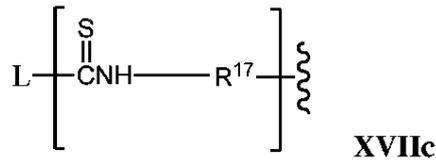
【化52-1】



40

50

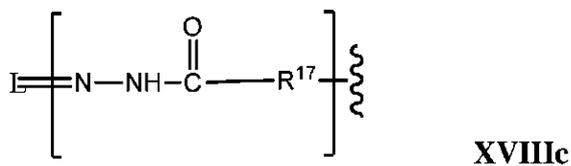
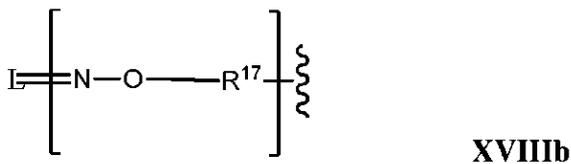
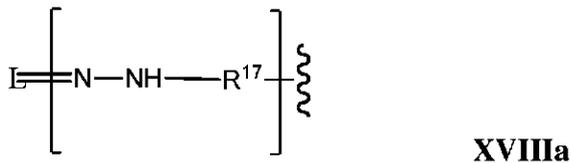
【化52-2】



【0278】

さらに別の実施形態では、ストレッチャーの反応性基は、リガンド上に存在することができる修飾された炭水化物の(-CHO)基に対して反応性である反応部位を含有する。10
 例えば、炭水化物は、試薬、例えば、過ヨウ素酸ナトリウムを使用して穏やかに酸化することができる。酸化された炭水化物のこのように得られた(-CHO)単位は、官能基、例えば、ヒドラジド、オキシム、第一級または第二級アミン、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリアルヒドラジド、例えば、Kaneko, T.ら(1991年)Biocojugate Chem., 2巻:133~41頁によって記載されたものを含有するストレッチャーと縮合させることができる。この実施形態の代表的なストレッチャー単位を、式XVIIIIa、XVIIIIb、およびXVIIIIcの角カッコ内に示し、波線は、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合を示し、R¹⁷は、式XVaおよびXVbについて上記の通りである。20

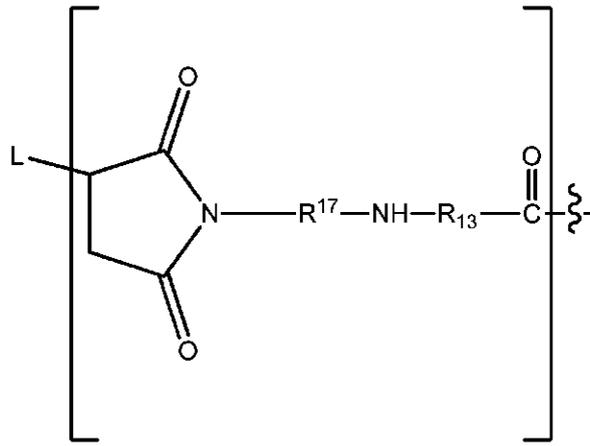
【化53】



【0279】

本発明の一部の実施形態では、ストレッチャー単位の長さを延長することが望ましい。したがって、ストレッチャー単位は、さらなる構成要素を含むことができる。例えば、ストレッチャー単位は、式XVa1の角カッコ内のものを含むことができ、40

【化54】



10

式中、波線は、リガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体の残部への結合を示し、

【0280】

R^{17} は、上記の通りであり、好ましくは R^{17} は、 $-C_2 \sim C_5$ アルキレン - $C(=O) -$ であり、アルキレンは、塩基性単位、例えば、 $-(CH_2)_x NH_2$ 、 $-(CH_2)_x NHR^a$ 、および $-(CH_2)_x NR^a_2$ で任意選択で置換されており、 x は、1 ~ 4 の整数であり、各 R^a は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルおよび $C_1 \sim C_6$ ハロアルキルからなる群から独立に選択されるか、または2個の R^a 基はそれらが結合している窒素と合わさり、アゼチジニル、ピロリジニルまたはピペリジニル基を形成し、

20

【0281】

R^{13} は、 $-C_1 \sim C_6$ アルキレン -、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ -、 $-$ アリーレン -、 $-C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン -、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ -、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - アリーレン -、 $-$ アリーレン - $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン -、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - ($C_3 \sim C_8$ カルボシクロ) -、 $-(C_3 \sim C_8$ カルボシクロ) - $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン -、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - ($C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ) -、または $-(C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ) - $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - である。好ましい実施形態では、 R^{13} は、 $-C_1 \sim C_6$ アルキレン - である。

30

【0282】

本発明の好ましい態様では、ストレッチャー単位は、約1000ダルトン以下、約500ダルトン以下、約200ダルトン以下、約30ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約1000ダルトン、約30ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約500ダルトン、または約30ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約200ダルトンの質量を有する。

任意選択の分岐単位 (A)

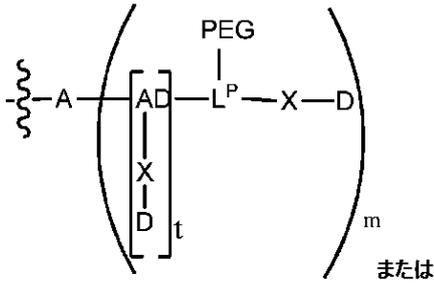
【0283】

薬物 - リンカーへと、および最終的に、リガンドへとさらなる薬物を加えることが望ましい場合、分岐単位がリガンド - 薬物コンジュゲート中に含まれる。分岐単位は、2 ~ 4個の並列コネクタ単位と、2 ~ 4個の薬物結合単位と、または2 ~ 4個の $-X-D$ 単位と、共有結合を形成することができる。したがって、分岐単位は、 m が1超である場合、構造、例えば、

40

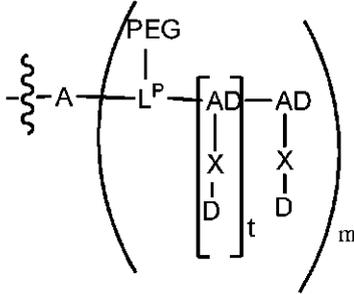
50

【化56-1】



10

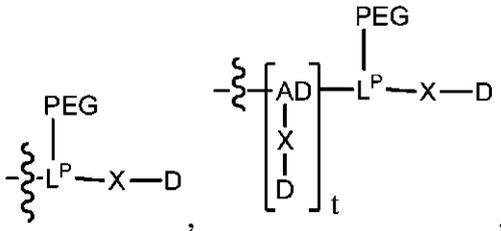
【化56-2】



20

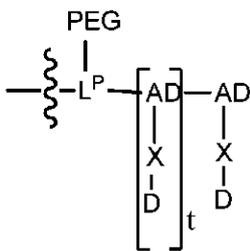
において、複数の

【化55-1】



30

【化55-2】



部分の結合を可能とする。分岐単位は、リンカー内の分岐を可能とする方法で設計されることを当業者は認識する。分岐単位として作用するために、分岐単位は、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合のための、少なくとも第1、第2および第3の結合部位を有する。言い換えると、分岐単位は、少なくとも三官能性でなくてはならない。mが3または4である実施形態では、分岐単位は、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の共有結合による結合のための4個または5個の部位を有する。一部の態様では、分岐単位は、単一の単位であり、または2個もしくはそれ超のサブ単位（例えば、2~10個、好ましくは2~5個、例えば、2個、3個、4個、もしくは5個）を有して、必要な数の結合部位を提供し、分岐単位またはそのサブ単位は、独立に選択した天然もしくは非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンまたはこれらの組合せである。必要な数の結合を有するために必要に応じて、アミノ酸、ア

40

50

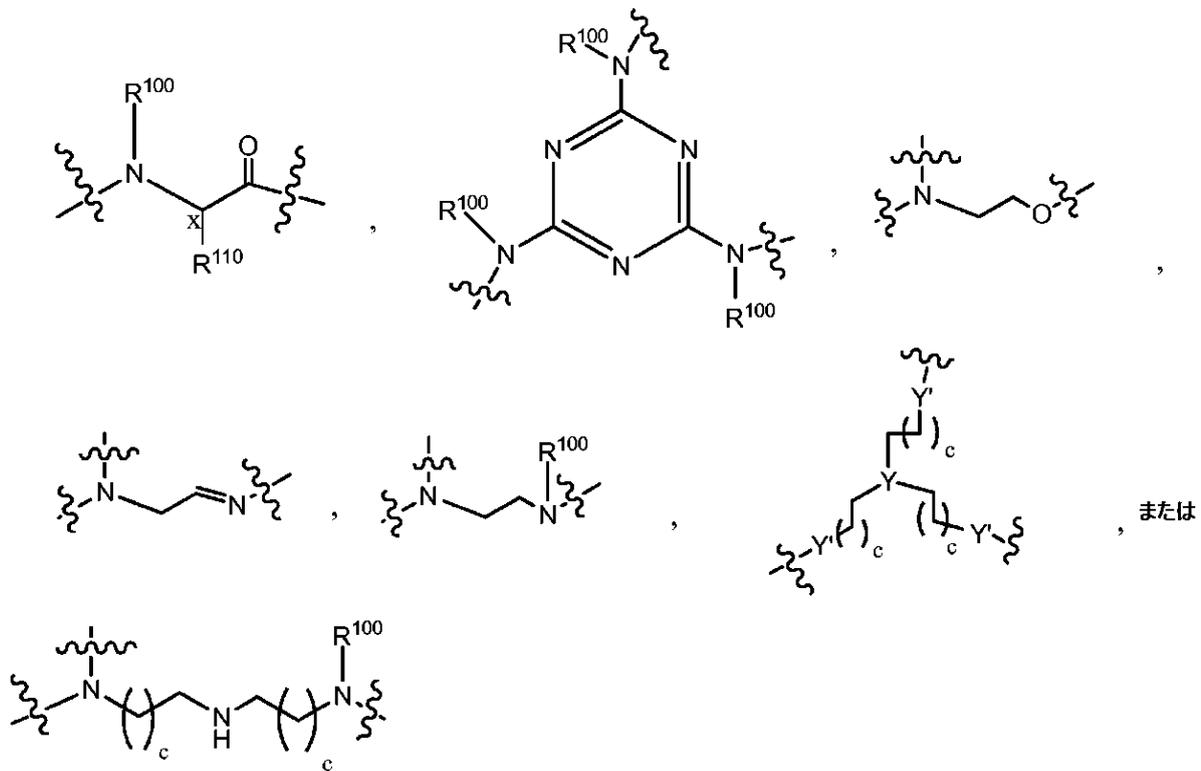
ミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンの少なくとも1つは、L^P単位、および/またはZ単位、および/またはAD単位および/またはX-D部分のための結合部位を提供する官能化側鎖を有する。一部の態様では、1個または複数のアミノ酸（複数可）、アミノアルコール（複数可）、またはアミノアルデヒド（複数可）は非天然であり、結合部位のための1個または複数の官能化側鎖を有するように修飾される。例示的な官能化されたアミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒドは、例えば、アジドまたはアルキン官能化されたアミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒド（例えば、クリックケミストリーを使用した結合のためのアジド基またはアルキン基を有するように修飾されたアミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒド）を含む。

【0284】

10

各アミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒドまたはポリアミンは、天然もしくは非天然でよい。同様に、各アミノ酸は、D-またはL-異性体でよい。分岐単位が2個の並列コネクタ単位、2個のX-D単位または2個の薬物結合単位を接続することができる一部の実施形態では、この分岐単位は、アセンブルされると、下記で示す式、

【化57】



20

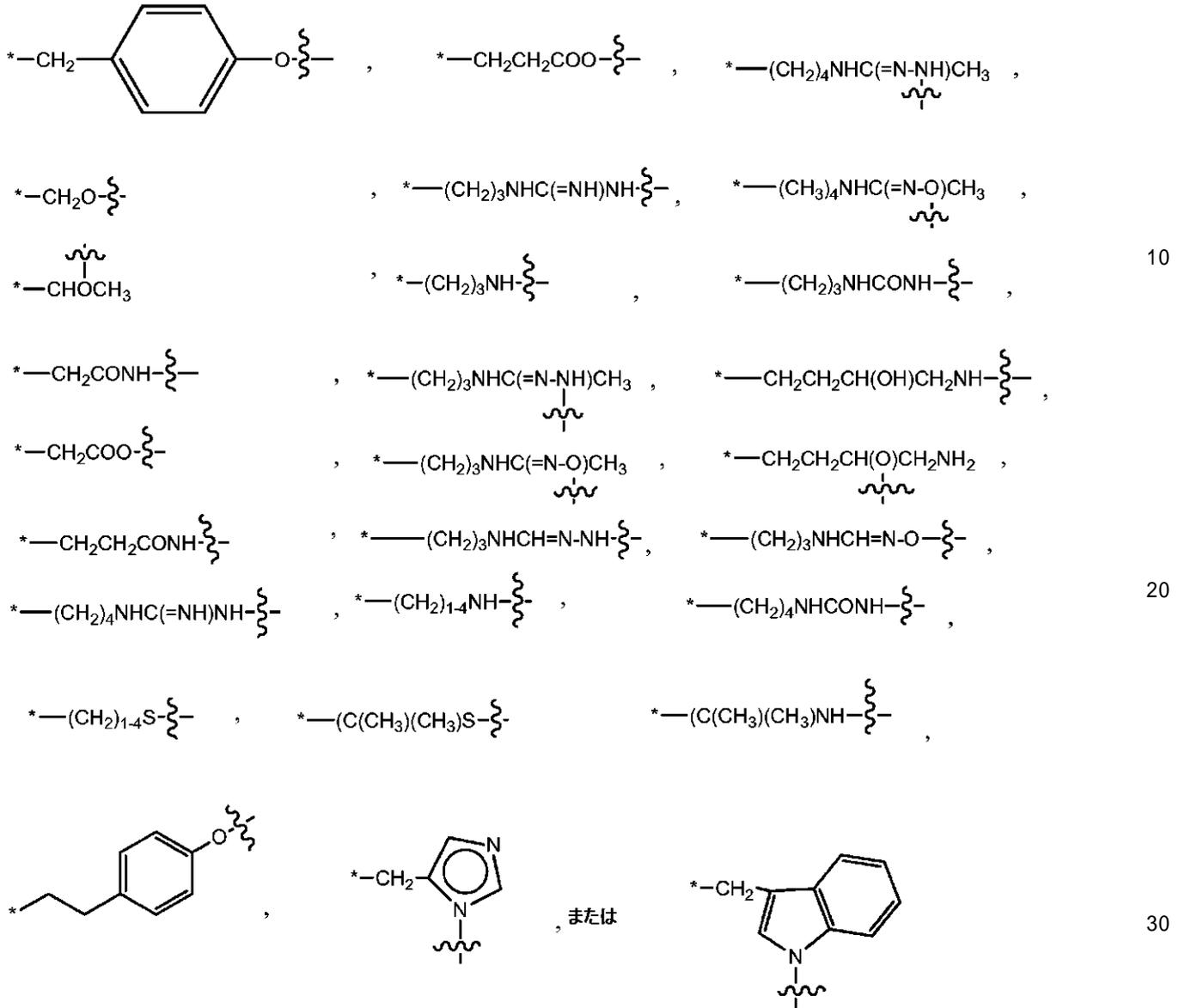
30

を有し、式中、波線は、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の3個の結合部位の2つまたは3つを示し、R¹¹⁰は、

40

50

【化 5 8】



であり、式中、アスタリスクは、xと標識されている炭素への結合を示し、波線は、分岐単位の3個の結合部位の1つを示し、

各 R¹⁰⁰ は、水素または -C₁ ~ C₃ アルキル、好ましくは水素または CH₃ から独立に選択され、

Y は、N または CH から独立に選択され、

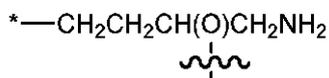
各 Y' は、NH、O、または S から独立に選択され、

下付き文字 c は、独立に、1 ~ 10、好ましくは 1 ~ 3 の範囲の整数である。

【0285】

好ましい実施形態では、R¹¹⁰ は、

【化 5 9】

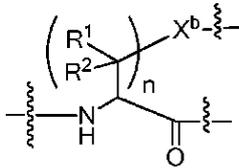


ではない。

【0286】

分岐単位が2個の並列コネクタ単位または2個の薬物結合単位に接続することができる一部の実施形態では、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体中の各分岐単位は、アセンブルされると、下記で示す式を独立に有し、

【化60】



10

式中、下付き文字 n は、1 ~ 4 であり、

X^b は、 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)-$ 、および $-S(=O)-$ からなる群から選択され、

R^1 および R^2 は、H、 $C_1 \sim 3$ アルキル、フェニル、および $C_2 \sim C_5$ 複素環（好ましくは H または $C_1 \sim 3$ アルキル）からなる群から独立に選択され、波線は、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の分岐単位の共有結合による結合を示す。

【0287】

分岐単位のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒドまたはポリアミンは、本明細書に記載のような任意選択で置換されている $C_1 \sim 20$ ヘテロアルキレン（好ましくは任意選択で置換されている $C_1 \sim 12$ ヘテロアルキレン）、任意選択で置換されている $C_3 \sim 8$ ヘテロシクロ、任意選択で置換されている $C_6 \sim 14$ アリーレン、または任意選択で置換されている $C_3 \sim C_8$ カルボシクロで任意選択で置き換えることができる。任意選択で置換されているヘテロアルキレン、複素環、アリーレンまたはカルボシクロは、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合のための官能基を有する。

20

【0288】

任意選択の置換基は、 $(=O)$ 、 $-X$ 、 $-R$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-NR_2$ 、 $-NR_3$ 、 $=NR$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-N=C=O$ 、 $-NCS$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NRC(=O)R$ 、 $-C(=O)R$ 、 $-C(=O)NR_2$ 、 $-SO_3^-$ 、 $-SO_3H$ 、 $-S(=O)_2R$ 、 $-OS(=O)_2OR$ 、 $-S(=O)_2NR$ 、 $-S(=O)R$ 、 $-OP(=O)(OR)_2$ 、 $-P(=O)(OR)_2$ 、 $-PO_3^-$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-AsO_2H_2$ 、 $-C(=O)R$ 、 $-C(=O)X$ 、 $-C(=S)R$ 、 $-CO_2R$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-C(=S)OR$ 、 $-C(=O)SR$ 、 $-C(=S)SR$ 、 $-C(=O)NR_2$ 、 $-C(=S)NR_2$ 、または $-C(=NR)NR_2$ を含み、式中、各 X は、独立に、ハロゲン： $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、または $-I$ であり、各 R は、独立に、 $-H$ 、 $-C_1 \sim C_{20}$ アルキル、 $-C_6 \sim C_{20}$ アリール、 $-C_3 \sim C_{14}$ 複素環、保護基またはプロドラッグ部分である。好ましい任意選択の置換基は、 $(=O)$ 、 $-X$ 、 $-R$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、および $-NR_2$ である。

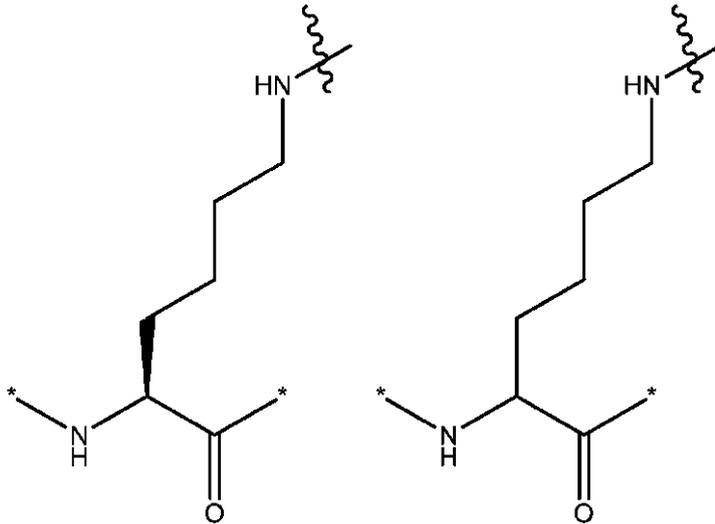
30

【0289】

例示的な分岐単位は、下記に示すようなリシンであり、波線およびアスタリスクは、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の共有結合的連結を示す。

40

【化 6 1】



10

【0290】

本明細書において提供する特定の間接化合物についての式において、任意選択の分岐単位は - X - D 部分への 2 ~ 4 個の共有結合による結合を形成することができるが、まだそこに結合していないことを認識されたい。そのような実施形態では、分岐単位は、部分的にアセンブルされた形態であり、したがって、- X - D 部分の放出可能なアセンブリ単位上に存在する基に対して反応性である 2 個またはそれ超の官能基を含む。特に好ましい反応性官能基は、ジスルフィド結合またはチオエーテルを形成することができるスルフィドリル基を含む。

20

【0291】

本発明の好ましい態様では、分岐単位は、約 1000 ダルトン以下、約 500 ダルトン以下、約 200 ダルトン以下、約 10 ダルトン、50 ダルトンもしくは 100 ダルトンから約 1000 ダルトン、約 10 ダルトン、50 ダルトンもしくは 100 ダルトンから約 5000 ダルトン、または約 10 ダルトン、50 ダルトンもしくは 100 ダルトンから約 2000 ダルトンの質量を有する。

30

薬物結合単位 (A D)

【0292】

薬物 - リンカー部分へと、および最終的には、リガンドへとさらなる - X - D 部分 (すなわち、薬物単位へと共有結合で結合している放出可能なアセンブリ単位) を加えることが望ましい場合、分岐単位と同様に、薬物結合単位がリガンド - 薬物コンジュゲート中に含まれる。薬物結合単位は、リガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体内の配置によって、リガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体の構成要素への連結のための 2 個の結合部位または 3 個の結合部位を有する。薬物結合単位は、薬物 - リンカー部分内の、および最終的にはリガンド単位へのさらなる - X - D 単位の結合を実現するような役割を果たす任意の基でよいことを当業者は認識する。一部の実施形態では、各薬物結合単位は、単一の単位であるか、または 2 個もしくはそれ超のサブ単位 (例えば、2 ~ 10 個、好ましくは 2 ~ 5 個、例えば、2 個、3 個、4 個、もしくは 5 個) を有し、薬物結合単位またはそのサブ単位は、天然もしくは非天然のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、ジアミン、またはポリアミンまたはこれらの組合せから独立に選択される。必要に応じて必要な数の結合を有するために、アミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはポリアミンの少なくとも 1 つは、L^P 単位、および / または Z 単位、および / または A D 単位および / または X - D 部分のための結合部位を提供する官能化側鎖を有する。アミノ酸 (複数可)、アミノアルコール (複数可)、またはアミノアルデヒド (複数可) は非天然でよく、修飾されて放出可能なアセンブリ単位への結合のための 1 個ま

40

50

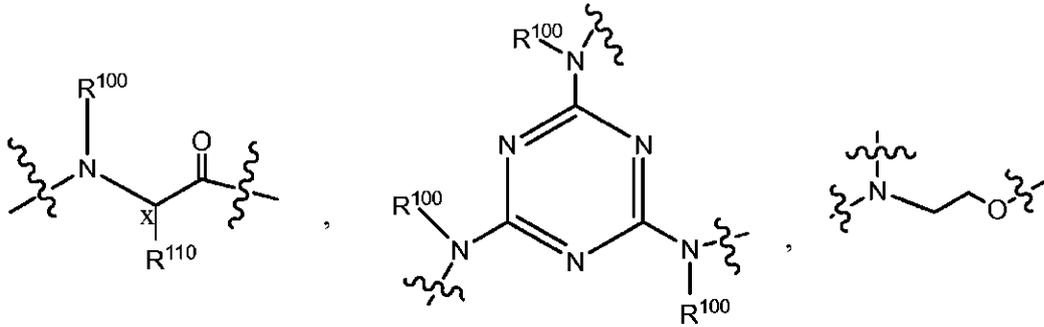
たは複数の官能化側鎖を有することができる。例示的な官能化されたアミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒドは、例えば、アジドまたはアルキン官能化されたアミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒド（例えば、クリックケミストリーを使用した結合のためのアジド基またはアルキン基を有するように修飾されたアミノ酸、アミノアルコール、またはアミノアルデヒド）を含む。

【0293】

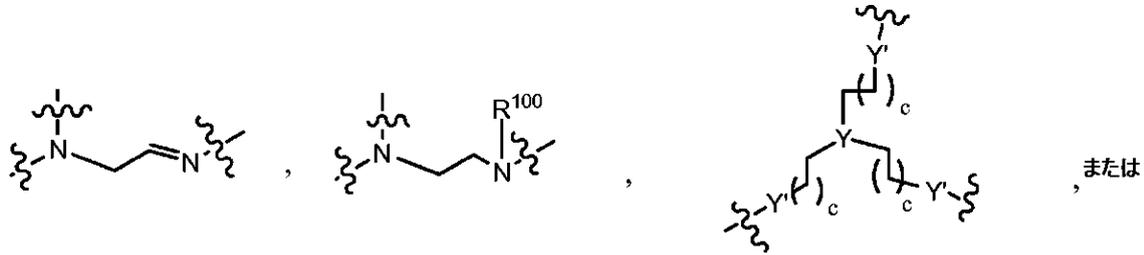
A D単位が3個の結合部位を有する一部の態様では、A D単位は、そのアセンブルされた形態で、下記で示す式、

【化62】

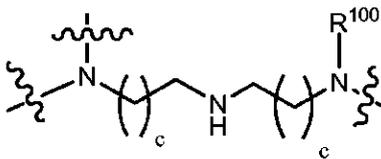
10



20



30

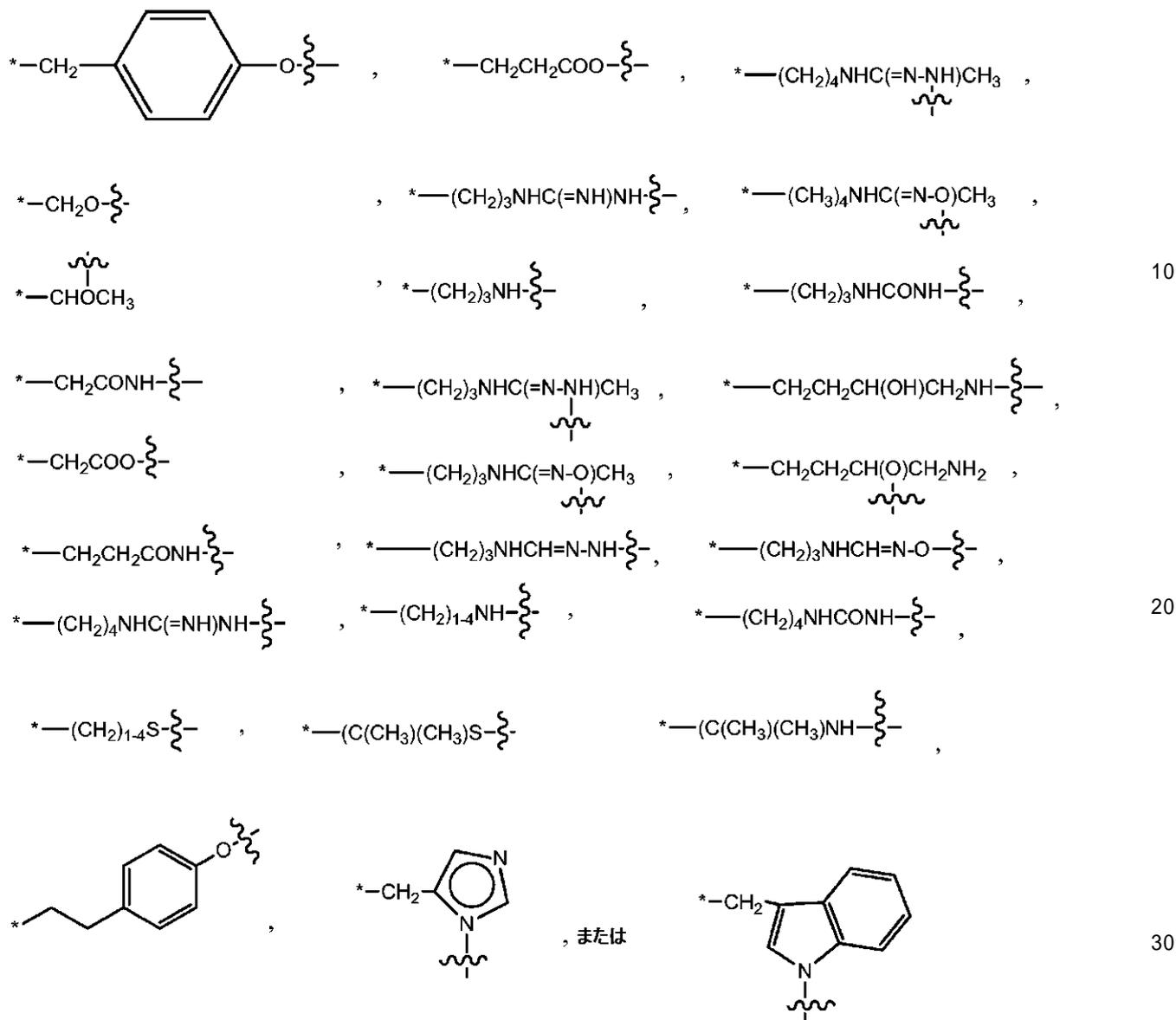


を有し、式中、波線は、リガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体内の3個のA D結合部位の2つまたは3つを示し、 R^{110} は、

40

50

【化 6 3】



10

20

30

であり、式中、アスタリスクは、xと標識されている炭素への結合を示し、波線は、3個の結合部位の1つを示し、

R¹⁰⁰は、水素または-C₁~C₃アルキル、好ましくは水素またはCH₃から独立に選択され、

Yは、NまたはCHから独立に選択され、

Y'は、NH、O、またはSから独立に選択され、

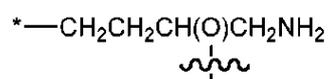
下付き文字cは、1~10、好ましくは1~3から独立に選択される。

40

【0294】

好ましい態様では、R¹¹⁰は、

【化 6 4】



ではない。

【0295】

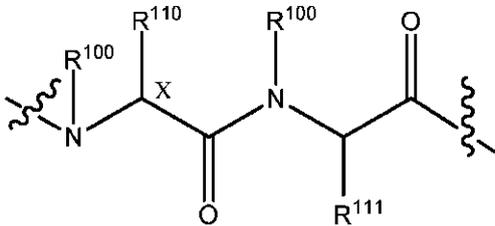
50

A D単位が2個の結合部位を有する実施形態（すなわち、末端A D単位）では、上で示した結合部位の1つは、例えば、H、OH、またはC₁~3非置換アルキル基で置き換えることができる。

【0296】

A D単位が3個の結合部位を有する一部の実施形態では、A D単位は、そのアセンブルされた形態で、下記で示す式を独立で有し、

【化65】



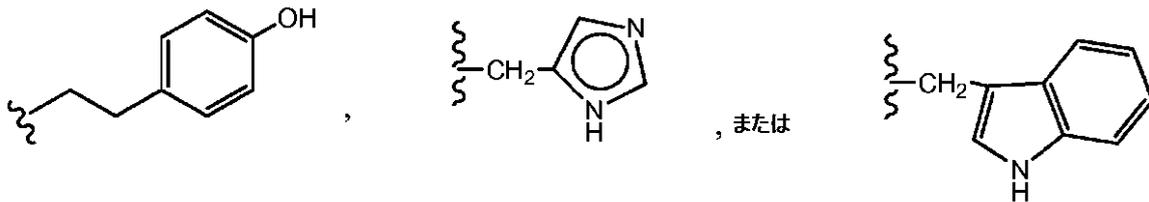
10

式中、波線は、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合部位を示し、x、R¹⁰⁰およびR¹¹⁰は、直前に従前記載された通りであり、

R¹¹¹は、p-ヒドロキシベンジル、メチル、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、-CH₂OH、-CH(OH)CH₃、-CH₂CH₂SCH₃、-CH₂CONH₂、-CH₂COOH、-CH₂CH₂CONH₂、-CH₂CH₂COOH、-(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂、-(CH₂)₃NH₂、-(CH₂)₃NHCOCH₃、-(CH₂)₃NHCHO、-(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂、-(CH₂)₄NH₂、-(CH₂)₄NHCOCH₃、-(CH₂)₄NHCHO、-(CH₂)₃NHCONH₂、-(CH₂)₄NHCONH₂、-CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂、2-ピリジルメチル-、3-ピリジルメチル-、4-ピリジルメチル-

20

【化66】



30

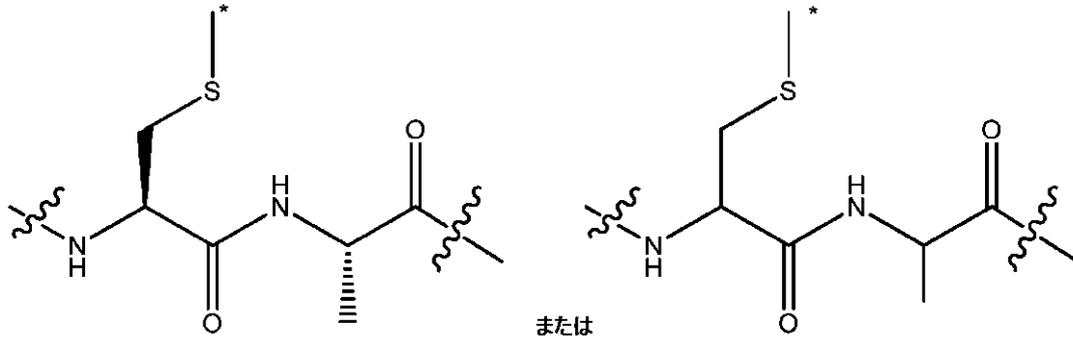
である。

【0297】

A D単位が3個の結合部位を有する一部の実施形態では、A D単位は、2個またはそれ超のアミノ酸からなる。このような例示的なアミノA D単位は、下記で示すようなシステイン-アラニンであり、波線およびアスタリスクは、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合を示す。

40

【化67】



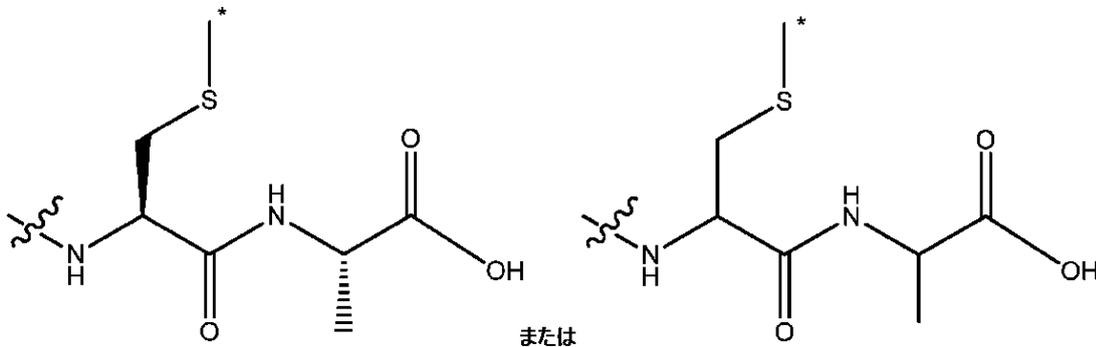
10

一部の実施形態では、アスタリスクは、放出可能なアセンブリー単位への共有結合による結合を示す。

【0298】

A D単位が2個の結合部位を有する一部の実施形態では、A D単位は、2個またはそれ超のアミノ酸からなる。このような例示的なアミノAD単位は、下記で示すようなシステイン-アラニンであり、波線およびアスタリスクは、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合を示す。

【化68】



20

30

一部の実施形態では、アスタリスクは、放出可能なアセンブリー単位への共有結合による結合を示す。

【0299】

A D単位のアミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒドまたはポリアミンは、本明細書に記載のような任意選択で置換されているC₁~C₂₀ヘテロアルキレン（好ましくは任意選択で置換されているC₁~C₁₂ヘテロアルキレン）、任意選択で置換されているC₃~C₈ヘテロシクロ、任意選択で置換されているC₆~C₁₄アリーレン、または任意選択で置換されているC₃~C₈カルボシクロで任意選択で置き換えられることができる。任意選択で置換されているヘテロアルキレン、複素環、アリーレンまたはカルボシクロは、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合のための官能基を有する。任意選択の置換基は、(=O)、-X、-R、-OR、-SR、-NR₂、-NR₃、=NR、CX₃、CN、OCN、SCN、N=C=O、NCS、NO、NO₂、=N₂、N₃、NRC(=O)R、-C(=O)R、-C(=O)NR₂、SO₃⁻、SO₃H、S(=O)₂R、-OS(=O)₂OR、-S(=O)₂NR、-S(=O)R、-OP(=O)(OR)₂、-P(=O)(OR)₂、PO₃⁻、PO₃H₂、AsO₂H₂、C(=O)R、C(=O)X、C(=S)R、CO₂R、CO₂⁻、C(=S)OR、C(=O)SR、C(=S)SR、C(=O)NR₂、C(=S)NR₂、またはC(=NR)NR₂を含み、式中、各Xは、独立に、ハロゲン：-F、-Cl、-Br、または-Iであり、各Rは、独立に、-H、-C₁~C₂₀アルキル、-C₆~C₂₀アリール、-C₃

40

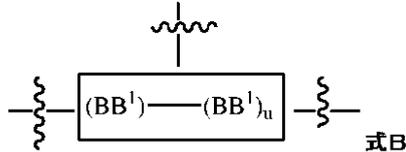
50

~ C₁₄ 複素環、保護基またはプロドラッグ部分である。好ましい任意選択の置換基は、(=O)、X、R、OR、SR、およびNR₂である。

【0300】

薬物結合単位は直鎖または分岐状でよく、式B、

【化69】



10

によって表すことができ、式中、

BB¹は、アミノ酸、任意選択で置換されているC₁~20ヘテロアルキレン（好ましくは任意選択で置換されているC₁~12ヘテロアルキレン）、任意選択で置換されているC₃~8ヘテロシクロ、任意選択で置換されているC₆~14アリーレン、または任意選択で置換されているC₃~C₈カルボシクロから独立に選択され、

下付き文字uは、0~4から独立に選択され、波線は、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の共有結合による結合部位を示す。任意選択で置換されているヘテロアルキレン、複素環、アリーレンまたはカルボシクロは、BBサブ単位の間およびリガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合のための官能基を有する。

20

【0301】

一部の実施形態では、BB¹の少なくとも1つの場合は、アミノ薬物結合単位を定義するアミノ酸である。下付き文字uは、0、1、2、3、または4でよい。一部の態様では、BB¹はアミノ酸であり、uは0である。一部の実施形態では、AD単位は、2個以下の任意選択で置換されているC₁~20ヘテロアルキレン、任意選択で置換されているC₃~8ヘテロシクロ、任意選択で置換されているC₆~14アリーレン、または任意選択で置換されているC₃~C₈カルボシクロを含む。一部の実施形態では、AD単位は、1個以下の任意選択で置換されているC₁~20ヘテロアルキレン、任意選択で置換されているC₃~8ヘテロシクロ、任意選択で置換されているC₆~14アリーレン、または任意選択で置換されているC₃~C₈カルボシクロを含む。任意選択で置換されているヘテロアルキレン、複素環、アリーレンまたはカルボシクロは、BBサブ単位の間およびリガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合のための官能基を有する。

30

【0302】

アミノ薬物結合単位のアミノ酸は、アルファ、ベータ、またはガンマアミノ酸でよく、天然もしくは非天然でよい。アミノ酸は、DまたはL異性体でよい。アミノ薬物結合単位内のまたはコンジュゲート（もしくはリンカー）の他の構成要素との結合は、例えば、アミノ、カルボキシ、または他の官能基を介してでよい。任意選択で置換されているヘテロアルキレンは、リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体内の結合のための官能基を有する。官能基の独立した活性化および反応のための方法は、当技術分野で周知である。

40

【0303】

本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて、薬物結合単位（アミノ薬物結合単位を含めた）のアミノ酸は、チオール含有アミノ酸のDまたはL異性体から独立に選択することができる。チオール含有アミノ酸は、例えば、システイン、ホモシステイン、またはペニシラミンでよい。

【0304】

別の実施形態では、薬物結合単位（アミノ薬物結合単位を含めた）を構成するアミノ酸は、下記のアミノ酸：アラニン（-アラニンを含めた）、アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、システイン、ヒスチジン、グリシン、グルタミン酸、グルタミン、フェ

50

ニルアラニン、リシン、ロイシン、メチオニン、セリン、チロシン、トレオニン、トリプトファン、プロリン、オルニチン、ペニシラミン、B-アラニン、アミノアルキン酸、アミノアルカン二酸、ヘテロシクロ-カルボン酸、シトルリン、スタチン、ジアミノアルカン酸、およびその誘導体のL-またはD-異性体からなる群から独立に選択することができる。

【0305】

好ましいアミノ酸は、システイン、ホモシステイン、ペニシラミン、オルニチン、リシン、セリン、トレオニン、グルタミン、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、セレンシステイン、プロリン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、バリン、およびアラニンを含む。

10

【0306】

本明細書に記載されている特定の化合物、例えば、薬物結合単位が、-X-Dへの共有結合による結合を形成することができるが、-X-Dへとまだ接続していないものについての式において、薬物結合単位は、部分的にアSEMBLされた形態であり、したがって、放出可能なアSEMBリー単位上に存在する基に対して反応性である官能基を含むことが理解される。特に好ましい反応性官能基は、スルフヒドリル基を含み、ジスルフィド結合またはチオエーテル結合を形成する。一部の態様では、反応性硫黄原子は、保護基によって保護される。チオール保護基、またはコンジュゲーション化学における使用は当技術分野で周知であり、例えば、アルキル(alkyl)チオール(例えば、t-ブチルチオール、エタンチオール、2-プロパンチオール、2-ピリジンチオール)保護基、芳香族チオール保護基(例えば、2-ピリジンチオール)およびアセチル保護基を含む。

20

【0307】

本発明の好ましい態様では、薬物結合単位は、約1000ダルトン以下、約500ダルトン以下、約200ダルトン以下、約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約1000ダルトン、約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約500ダルトン、または約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約200ダルトンの質量を有する。

放出可能なアSEMBリー単位(X)

【0308】

放出可能なアSEMBリー単位(-X-)は、薬物単位をリガンド-薬物コンジュゲートの残部へと連結させる。放出可能なアSEMBリー単位の主要な機能は、リガンドによって標的化された部位において遊離薬物を放出することである。このように、放出可能なアSEMBリー単位は、薬物単位への切断可能な連結を形成することができるか、または切断可能な連結を含有し、薬物を放出する(例えば、抗原が媒介する内部移行によって)。好ましい実施形態では、放出可能なアSEMBリー単位のための放出機序は、酵素的放出機序またはジスルフィド消失機序である。酵素的放出機序のための認識部位は、例えば、ペプチド切断部位または糖切断部位(例えば、グルクロニド切断部位)でよい。

30

【0309】

放出可能なアSEMBリー単位は、1~3個の構成要素、切断可能な単位(Q^{CL})、任意選択のスペーサー単位(Q^{SP})、および任意選択の共有結合による結合単位(Q^{CO})を含むことができる。スペーサー単位は、存在するとき、切断可能な単位および薬物単位を連結するように作用する。したがって、スペーサー単位が存在する実施形態では、スペーサー単位は薬物単位へと直接連結し、切断可能な単位はスペーサー単位を介して薬物単位へと連結する。スペーサー単位が存在しない実施形態では、切断可能な単位は、薬物単位へと直接連結する。

40

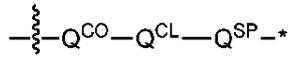
【0310】

したがって、放出可能なアSEMBリー単位は、下記の式によって表すことができ、Q^{CO}は、共有結合による結合単位であり、Q^{SP}は、スペーサー単位であり、Q^{CL}は、切断可能な単位である。共有結合による結合単位は、存在しても、または存在しなくてもよく、スペーサー単位は、存在しても、または存在しなくてもよい。アスタリスクは、薬物

50

単位への共有結合による結合の部位を示し、波線は、(場合によって L^P、A、または A D への) リガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体内の共有結合による結合を示す。

【化 7 0】

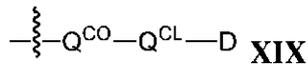


【0 3 1 1】

スペーサー単位が存在せず、かつ共有結合による結合単位が存在する実施形態では、- X - D は、式 X I X によって表すことができ、共有結合による結合単位に隣接する波線は、リンカーの残部(場合によって、L^P、A、または A D)への共有結合による結合を示す。

10

【化 7 1】

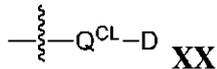


【0 3 1 2】

共有結合による結合単位が存在せず、かつスペーサー単位が存在しない実施形態では、- X - D は、式 X X によって表すことができ、切断可能な単位に隣接する波線は、リンカーの残部(場合によって、L^P、A、または A D)への共有結合による結合を示す。

20

【化 7 2】

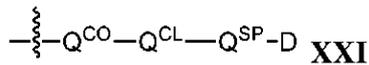


【0 3 1 3】

スペーサー単位が存在し、かつ共有結合による結合単位が存在する実施形態では、- X - D は、式 X X I によって表すことができ、共有結合による結合単位に隣接する波線は、リンカーの残部(場合によって、L^P、A、または A D)への共有結合による結合を示す。

30

【化 7 3】

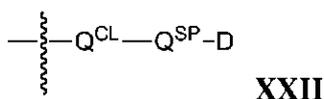


【0 3 1 4】

スペーサー単位が存在し、かつ共有結合による結合単位が存在しない実施形態では、- X - D は、式 X X I I によって表すことができ、切断可能な単位またはスペーサー単位に隣接する波線は、リンカーの残部(場合によって、L^P、A、または A D)への共有結合による結合を示す。

40

【化 7 4】



【0 3 1 5】

- X - D (式 X I X ~ X X I V) についての上記の定義の任意のものは、本明細書にお

50

いて提供する式および実施形態のいずれか、ならびに選択した実施形態のいずれかにおいて使用することができることを当業者は理解する。各 X、D、および各 Q^{C O}、Q^{C L}、または Q^{S P} 単位は、同じかまたは異なってもよい。

【0316】

本発明の好ましい態様では、放出可能なアセンブリー単位は、約 5000 ダルトン以下、約 4000 ダルトン以下、約 3000 ダルトン以下、約 2000 ダルトン以下、約 1000 ダルトン以下、約 800 ダルトン以下、または約 500 ダルトン以下の質量を有する。一部の態様では、放出可能なアセンブリー単位は、約 100 ダルトンから、もしくは約 200 ダルトンから、もしくは約 300 ダルトンから約 5000 ダルトン、約 100 ダルトンから、もしくは約 200 ダルトンから、もしくは約 300 ダルトンから約 4000 ダルトン、約 100 ダルトンから、もしくは約 200 ダルトンから、もしくは約 300 ダルトンから約 3000 ダルトン、約 100 ダルトンから、もしくは約 200 ダルトンから、もしくは約 300 ダルトンから約 2000 ダルトン、約 100 ダルトンから、もしくは約 200 ダルトンから、もしくは約 300 ダルトンから約 1000 ダルトン、約 100 ダルトンから、もしくは約 200 ダルトンから、もしくは約 300 ダルトンから約 800 ダルトン、または約 100 ダルトンから、もしくは約 200 ダルトンから、もしくは約 300 ダルトンから約 500 ダルトンの質量を有する。

10

【0317】

中間体リンカーまたは薬物-リンカー化合物の構成要素は、リガンド単位を欠いているリガンド-薬物コンジュゲートと同じ様式で連結することができることを当業者は理解する。

20

切断可能な単位 (Q^{C L})

【0318】

切断可能な単位は、放出可能なアセンブリー単位の、存在しなければならない唯一の構成要素である。一部の態様では、切断可能な単位は、薬物単位と切断可能な結合を形成する。一部の態様では、切断可能な単位は、スペーサー単位と切断可能な結合を形成する。一部の態様では、切断可能な結合は切断可能な単位内にあるが、(例えば、切断に続く 1, 6-脱離反応による)遊離薬物の放出を可能とする。切断可能な結合を形成するための官能基は、例えば、ジスルフィド結合を形成するためのスルフヒドリル基、ヒドラゾン結合を形成するためのアルデヒド、ケトン、またはヒドラジン基、オキシム結合を形成するためのヒドロキシルアミン基、ペプチド結合を形成するためのカルボン酸基またはアミノ基、エステル結合を形成するためのカルボン酸基またはヒドロキシ基、およびグリコシド結合を形成するための糖を含むことができる。

30

【0319】

切断可能な単位の性質は、広範に変化することができる。例えば、切断可能なリンカーは、ジスルフィド交換によって切断可能なジスルフィド含有リンカー、酸性 pH で切断可能な酸に不安定なリンカー、ならびにヒドロラーゼ (例えば、ペプチダーゼ、エステラーゼ、およびグルクロニダーゼ) によって切断可能なリンカーを含む。

【0320】

切断可能な単位の構造および配列は、単位が標的部位において存在する酵素の作用によって切断されるようなものでよい。他の態様では、切断可能な単位は、他の機序によって切断可能であり得る。切断可能な単位は、1個または複数の切断部位を含むことができる。

40

【0321】

一部の実施形態では、切断可能な単位は、1個のアミノ酸、またはアミノ酸の1個もしくは複数の配列を含む。切断可能な単位は、例えば、モノペプチド、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、ペンタペプチド、ヘキサペプチド、ヘプタペプチド、オクタペプチド、ノナペプチド、デカペプチド、ウンデカペプチドまたはドデカペプチド単位を含むことができる。

【0322】

50

切断可能な単位の各アミノ酸は、天然もしくは非天然および/またはD - もしくはL - 異性体でよく、ただし当然ながら、切断可能な結合が存在する。一部の実施形態では、切断可能な単位は、天然アミノ酸のみを含む。一部の実施形態では、切断可能な単位は、連続した配列における1 ~ 12個のアミノ酸を含む。

【0323】

一部の実施形態では、切断可能な単位の各アミノ酸は、アラニン、アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、ヒスチジン、グリシン、グルタミン酸、グルタミン、フェニルアラニン、リシン、ロイシン、セリン、チロシン、トレオニン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、バリン、システイン、メチオニン、セレノシステイン、オルニチン、ペニシラミン、 α -アラニン、アミノアルカン酸、アミノアルキン酸、アミノアルカン二酸、アミノ安息香酸、アミノ-ヘテロシクロ-アルカン酸、ヘテロシクロ-カルボン酸、シトルリン、スタチン、ジアミノアルカン酸、およびその誘導体からなる群から独立に選択される。一部の実施形態では、各アミノ酸は、アラニン、アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、ヒスチジン、グリシン、グルタミン酸、グルタミン、フェニルアラニン、リシン、ロイシン、セリン、チロシン、トレオニン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、バリン、システイン、メチオニン、およびセレノシステインからなる群から独立に選択される。一部の実施形態では、各アミノ酸は、アラニン、アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、ヒスチジン、グリシン、グルタミン酸、グルタミン、フェニルアラニン、リシン、ロイシン、セリン、チロシン、トレオニン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、およびバリンからなる群から独立に選択される。一部の実施形態では、各アミノ酸は、タンパク新生または非タンパク新生アミノ酸から選択される。

10

20

【0324】

別の実施形態では、切断可能な単位の各アミノ酸は、下記のL - (天然)アミノ酸：アラニン、アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、ヒスチジン、グリシン、グルタミン酸、グルタミン、フェニルアラニン、リシン、ロイシン、セリン、チロシン、トレオニン、イソロイシン、トリプトファンおよびバリンからなる群から独立に選択される。

【0325】

別の実施形態では、切断可能な単位の各アミノ酸は、下記の、これらの天然アミノ酸：アラニン、アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、ヒスチジン、グリシン、グルタミン酸、グルタミン、フェニルアラニン、リシン、ロイシン、セリン、チロシン、トレオニン、イソロイシン、トリプトファンおよびバリンのD - 異性体からなる群から独立に選択される。

30

【0326】

一部の実施形態では、切断可能な単位と薬物単位またはスペーサー単位との間の結合は、腫瘍関連プロテアーゼを含めた1種または複数の酵素によって酵素的に切断し、薬物単位(-D)を遊離することができ、これは一実施形態では、放出によって*in vivo*でプロトン化し、薬物(D)を提供する。

【0327】

有用な切断可能な単位は、特定の酵素、例えば、腫瘍関連プロテアーゼによる酵素的切断へのこれらの選択性において設計および最適化することができる。一実施形態では、切断可能な単位と薬物単位またはスペーサー単位との間の連結(または結合)は、その切断がカテプシンB、CおよびD、またはプラスミンプロテアーゼによって触媒されるものである。

40

【0328】

ある特定の実施形態では、切断可能な単位は、天然アミノ酸のみを含むことができる。他の実施形態では、切断可能な単位は、非天然アミノ酸のみを含むことができる。一部の実施形態では、切断可能な単位は、非天然アミノ酸に連結した天然アミノ酸を含むことができる。一部の実施形態では、切断可能な単位は、天然アミノ酸のD - 異性体に連結した天然アミノ酸を含むことができる。

【0329】

50

例示的な切断可能な単位は、ジペプチド - V a l - C i t - 、 - P h e - L y s - または - V a l - A l a である。

【 0 3 3 0 】

一部の実施形態では、切断可能な単位は、ペプチドを含み、1 ~ 12 個のアミノ酸を含む。一部のこのような実施形態では、ペプチドは、薬物単位に直接的にコンジュゲートし、スペーサー単位は存在しない。一部のこのような実施形態では、ペプチドは、ジペプチドである。

【 0 3 3 1 】

一部の実施形態では、切断可能な単位 - C U - は、 - (- A M -)_{1 ~ 12} - 、または (- A M - A M -)_{1 ~ 6} によって表され、A M は、出現する毎に独立に、天然もしくは非天然アミノ酸から選択される。一態様では、A M は、出現する毎に独立に、天然アミノ酸から選択される。アミノ酸は典型的には、アミノ酸中に存在する機能的単位、例えば、そのカルボン酸またはアミノ末端を通して薬物単位またはスペーサー単位へと連結していることを当業者は認識する。

10

【 0 3 3 2 】

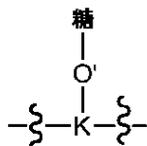
他の態様では、切断可能な単位は、糖切断部位を含む。一部のこのような実施形態では、切断可能な単位は、酸素グリコシド結合を介して自壊的基に連結している糖部分 (S u) を含む。このような態様では、自壊的基は、切断可能な単位、Q^{C L} の部分と考えられる。「自壊的基」は、3つの離間した化学部分(すなわち、糖部分(グリコシド結合を介した)、薬物単位(直接的、またはスペーサー単位 Q^{S P} を介して間接的に)、および L^P 単位、A 単位または A D 単位(直接的、または共有結合による結合単位 Q^{C O} を介して間接的に))を一緒に共有結合的に連結することができる三官能性化学部分である。グリコシド結合は、標的部位において切断され、薬物の放出をもたらす自壊的反應順序を開始させることができるものである。

20

【 0 3 3 3 】

したがって、切断可能な単位は、グリコシド結合 (- O ' -) を介して式の自壊的基 (K) に連結している糖部分 (S u) を含むことができ、

【化 7 5】



30

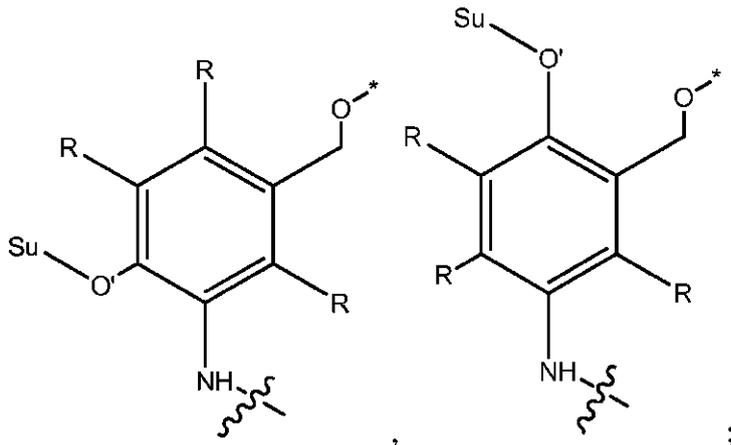
式中、自壊的基 K は、場合によって、薬物単位との共有結合(直接的、またはスペーサー単位を介して間接的に)および L^P、A D、または A との共有結合(直接的、または共有結合による結合単位を介して間接的に)を形成する。

【 0 3 3 4 】

切断可能な単位は、例えば、式、

40

【化 7 6】



10

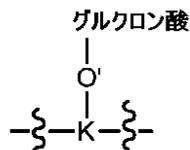
によって表すことができ、式中、Suは、糖部分であり、-O'-は、酸素グリコシド結合を表し、各Rは、独立に、水素、ハロゲン、-CN、または-NO₂であり、波線は、L^P、ADまたはAへの結合（直接的、または共有結合による結合単位を通して間接的に）を示し、アスタリスクは、薬物単位への結合（直接的、またはスペーサー単位を介して間接的に）を示す。

20

【0335】

一部のこのような実施形態では、糖切断部位は、ベータ-グルクロニダーゼによって認識され、切断可能な単位はグルクロニド単位を含む。グルクロニド単位は、グリコシド結合(-O'-)を介して式の自壊的基(K)に連結しているグルクロン酸を含むことができ、

【化 7 7】



30

式中、自壊的基Kは、場合によって、薬物単位との共有結合（直接的、またはスペーサー単位を介して間接的に）およびL^P、AD、またはAとの共有結合（直接的、または共有結合による結合単位を介して間接的に）を形成する。

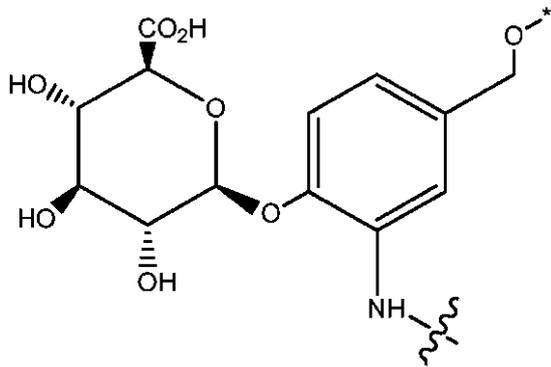
【0336】

グルクロニド単位は、例えば、式、

40

50

【化 7 8】



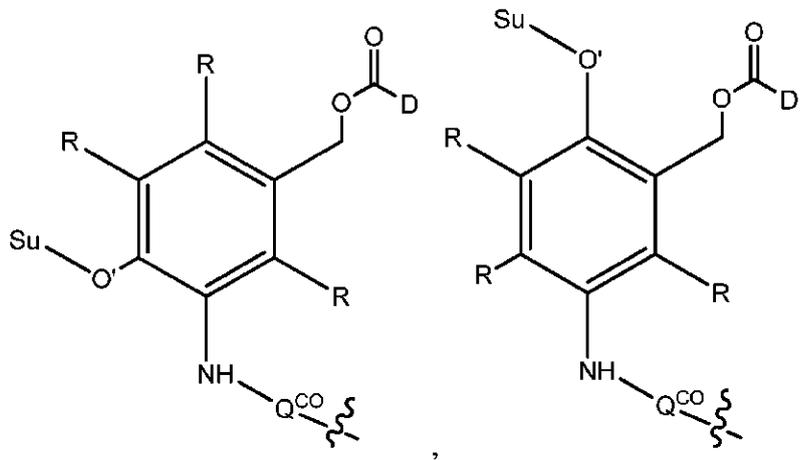
10

によって表すことができ、式中、波線は、L^P、ADまたはAへの共有結合による結合（直接的、または共有結合による結合単位を通して間接的に）を示し、アスタリスクは、薬物単位への共有結合による結合（直接的、またはスペーサー単位を介して間接的に）を示す。

【0337】

一部の実施形態では、切断可能な単位は、糖切断部位を含み、-X-Dは、下記の式、

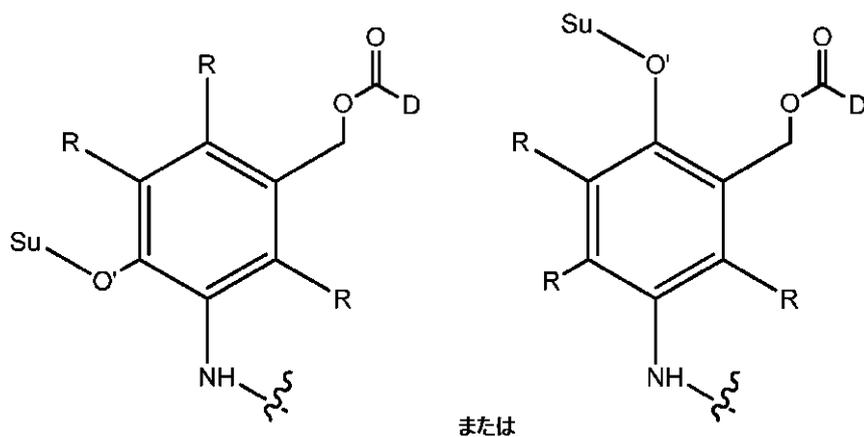
【化 7 9 - 1】



20

30

【化 7 9 - 2】



40

によって表され、式中、Suは糖部分であり、-O'-は酸素グリコシド結合を表し、各

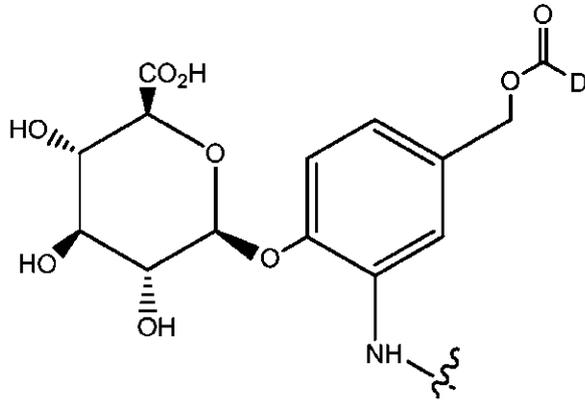
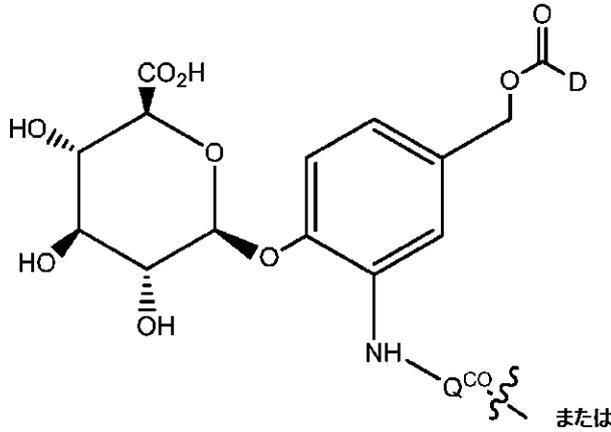
50

R は、独立に、水素またはハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ または他の電子吸引基であり、 Q^{CO} は、共有結合による結合単位であり、波形結合は、リンカー単位の残部（場合によって、 L^P 、A または AD）への共有結合による結合を示す。

【0338】

切断可能な単位がグルクロニド単位を含むとき、 $-X-D$ は、例えば、下記の式、

【化80】



によって表すことができ、式中、波形結合は、リンカー単位の残部への共有結合による結合（場合によって、 L^P 、A または AD）を示し、 Q^{CO} は、共有結合による結合単位である。

【0339】

一部の他の実施形態では、切断可能な単位自体は、硫黄原子を含み、これはスパーサー単位または薬物単位の硫黄原子と結合を形成し、ジスルフィドまたは立体障害ジスルフィドを形成することができる。ジスルフィドの2個の硫黄原子の間に切断が起こる。一部のこのような実施形態では、硫黄原子の1つは、薬物単位から切断され、ただし、さらなる放出機序は存在せず、他の硫黄原子は薬物単位に結合したままであり、薬物単位の部分となる。

【0340】

種々のジスルフィドリンカーは、当技術分野において公知であり、例えば、SATA（N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート）、SPDP（N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート）、SPDB（N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)ブチレート）、SMPT（N-スクシンイミジル-オキシカルボニル-アルファ-メチル-アルファ-(2-ピリジル-ジチオ)トルエン）、およびSPP（N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート）を使用して形成することができるものを含めて、本発明における使用のために適合させることができる。（例えば、Thorpeら、1987年、Cancer Res.、47巻：592

4 ~ 5931頁；Wawrzynczakら、Immunocjugatesにおいて：Antibody Conjugates in Radioimager y and Therapy of Cancer (C. W. Vogel編、Oxford U. Press、1987年を参照されたい。また米国特許第4,880,935号を参照されたい。)

【0341】

一部の実施形態では、切断可能な単位はpH感受性であり、例えば、リソソーム中で加水分解性である酸に不安定なリンカーを含む(例えば、ヒドラゾン、セミカルバゾン、チオセミカルバゾン、cis-アコニットアミド、オルトエステル、アセタール、またはケタール基)ものが使用され得る。(例えば、米国特許第5,122,368号；同第5,824,805号；同第5,622,929号；DubowchikおよびWalker、1999年、Pharm. Therapeutics、83巻：67~123頁；Nevilleら、1989年、Biol. Chem.、264巻：14653~14661頁を参照されたい)。このようなリンカーは、中性pH条件、例えば、血液中のpH条件下で、相対的に安定的であるが、リソソームの近似のpHであるpH5.5未満または5.0未満において不安定である。

【0342】

一部の実施形態では、切断可能な単位は、薬物単位に直接コンジュゲートし、切断可能な単位は、切断可能なペプチド、またはジスルフィド結合を介して薬物単位に連結している。

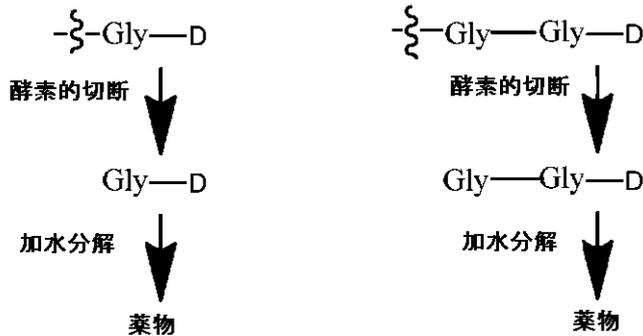
スペーサー単位 (Q^SP)

【0343】

スペーサー単位は、存在するとき、薬物単位を切断可能な単位へと連結するように作用する。スペーサー単位は、2つの一般タイプのものである。自壊的および非自壊的。非自壊的単位は、スペーサー単位の部分もしくは全てが切断後に薬物単位に結合したままであり、さらに分解もしくは自発的に崩壊して「遊離薬物」を生成してもよく、または薬物単位自体の部分となってもよいものである。非自壊的単位の例には、これらに限定されないが、グリシン-グリシン単位および単一のグリシン単位が含まれる(両方とも、スキームAにおいて示す)(下記)。グリシン-グリシン単位または単一のグリシン単位を含有するリガンド-薬物コンジュゲートが、腫瘍細胞関連プロテアーゼ、がん細胞関連プロテアーゼまたはリンパ球関連プロテアーゼを介して酵素的切断を受けるとき、グリシン-グリシン-薬物単位またはグリシン-薬物単位は、コンジュゲートから切断される。一実施形態では、独立した加水分解反応が標的細胞内で起こり、グリシン-薬物単位結合が切断され、薬物を遊離させる。

【化81】

スキームA



【0344】

一実施形態では、非自壊的単位は、-Gly-Gly-である。別の実施形態では、非

自壊的単位は、 - G l y - である。

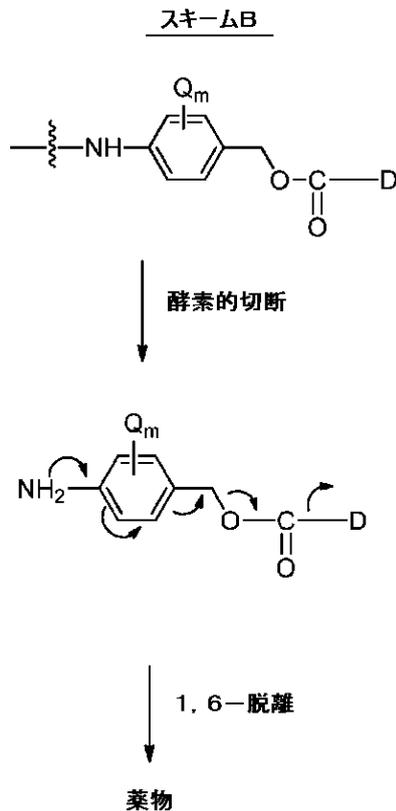
【 0 3 4 5 】

別の実施形態では、スペーサー単位は、p - アミノベンジルアルコール (P A B) 単位 (スキーム B および C、下記を参照されたい) を含み、フェニレンポーションは、 Q_m で置換されており、 Q は、 $-C_1 \sim C_8$ アルキル、 $-O-(C_1 \sim C_8$ アルキル)、または他の電子供与基または - ハロゲン、- ニトロ、- シアノまたは他の電子吸引基であり、 m は、 $0 \sim 4$ の範囲の整数である。

【 0 3 4 6 】

代わりに、自壊的スペーサー単位を含有するコンジュゲートは、別々の加水分解ステップの必要性を伴わずに、 $-D$ を放出することができる。一部の態様では、ストレッチャー単位は、P A B 基のアミノ窒素原子を介してペプチド切断可能な単位へと連結しており、かつカーボネート、カルバメートまたはエーテル基を介して薬物単位へと直接接続している P A B 基を含む。P A B 基および隣接するカルボニルは、スペーサー単位を構成する。いずれの特定の理論にも機序にも束縛されるものではないが、スキーム B は、T o k i r a、2002年、J O r g . C h e m .、67巻：1866～1872頁によって支持されたカルバメートまたはカーボネート基を介して $-D$ に直接結合している P A B 基の薬物放出が可能である機序を示す。

【 化 8 2 】



式中、 Q は、 $-C_1 \sim C_8$ アルキル、 $-O-(C_1 \sim C_8$ アルキル)、 $-$ ハロゲン、 $-$ ニトロまたは $-$ シアノであり、 m は、 $0 \sim 4$ の範囲の整数である。

【 0 3 4 7 】

いずれの特定の理論にも機序にも束縛されるものではないが、スキーム C は、エーテルまたはアミン連結を介して $-D$ に直接結合している P A B 基の薬物放出が可能である機序を示し、

10

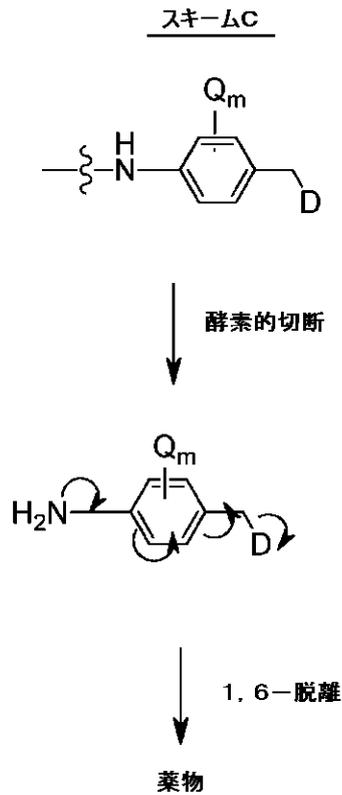
20

30

40

50

【化 8 3】



10

20

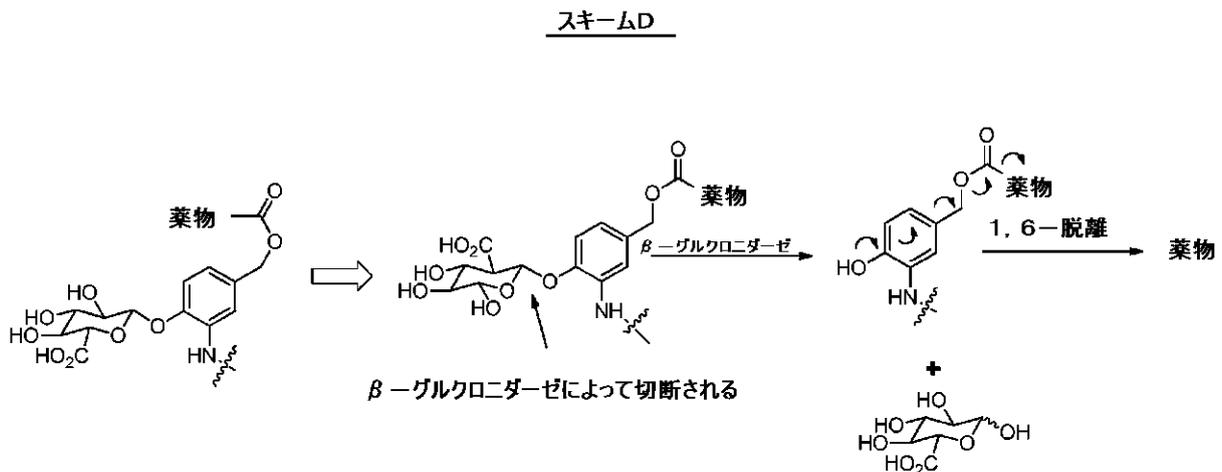
式中、Qは、 $-C_1 \sim C_8$ アルキル、 $-O-(C_1 \sim C_8$ アルキル)、 $-$ ハロゲン、 $-$ ニトロまたは $-$ シアノであり、mは、 $0 \sim 4$ の範囲の整数である。

【0348】

いずれの特定の理論にも機序にも束縛されるものではないが、スキームDは、カルボニルを介して $-D$ に直接結合しているグルクロニド単位のPAB基の薬物放出が可能である機序を示す。

30

【化 8 4】



40

【0349】

自壊的単位の他の例は、電子的にPAB基と同様である芳香族化合物を含むもの、例えば、2-アミノイミダゾール-5-メタノール誘導体（例えば、Hayら、1999年、Bioorg. Med. Chem. Lett. 9巻：2237頁を参照されたい）

50

およびオルトまたはパラ - アミノベンジルアセタールを含む。アミド結合加水分解によって環化を受けるスペーサー、例えば、置換および非置換 4 - アミノ酪酸アミド（例えば、Rodriguesら、1995年、Chemistry Biology、2巻：223頁を参照されたい）、適当に置換されたピシクロ[2.2.1]およびピシクロ[2.2.2]環系（例えば、Stormら、1972年、J. Amer. Chem. Soc.、94巻：5815頁を参照されたい）ならびに 2 - アミノフェニルプロピオン酸アミド（例えば、Amsberryら、1990年、J. Org. Chem.、55巻：5867頁を参照されたい）を使用することができる。グリシンの位において置換されているアミン含有薬物の脱離（例えば、Kingsburyら、1984年、J. Med. Chem.、27巻：1447頁を参照されたい）はまた、例示的なコンジュゲートにおいて有用な自壊的スペーサーの例である。

10

【0350】

本発明の好ましい実施形態では、スペーサー単位は、1個、2個、または3個の自壊的または非自壊的基からなる。

【0351】

本発明の好ましい実施形態では、スペーサー単位は、約1000ダルトン以下、約500ダルトン以下、約400ダルトン以下、約300ダルトン以下、または約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約1000ダルトン、約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約500ダルトン、約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約400ダルトン、約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約300ダルトン、または約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約200ダルトンの質量を有する。

20

共有結合による結合単位 (Q^C)

【0352】

共有結合による結合単位は、存在するとき、放出可能なリンカーアセンブリー単位のフレームワークを延長し、 L^P および薬物単位の間により大きな距離を実現する。これに関しては、共有結合による結合単位は、1つの末端における任意選択の分岐単位Aもしくは L^P または薬物結合単位ADの官能基と結合を形成することができる官能基、および他の末端上の切断可能な単位の官能基と結合を形成することができる官能基を有する。一部の態様では、例示的な結合は、条件付きでなく切断可能な連結によるものである。

30

【0353】

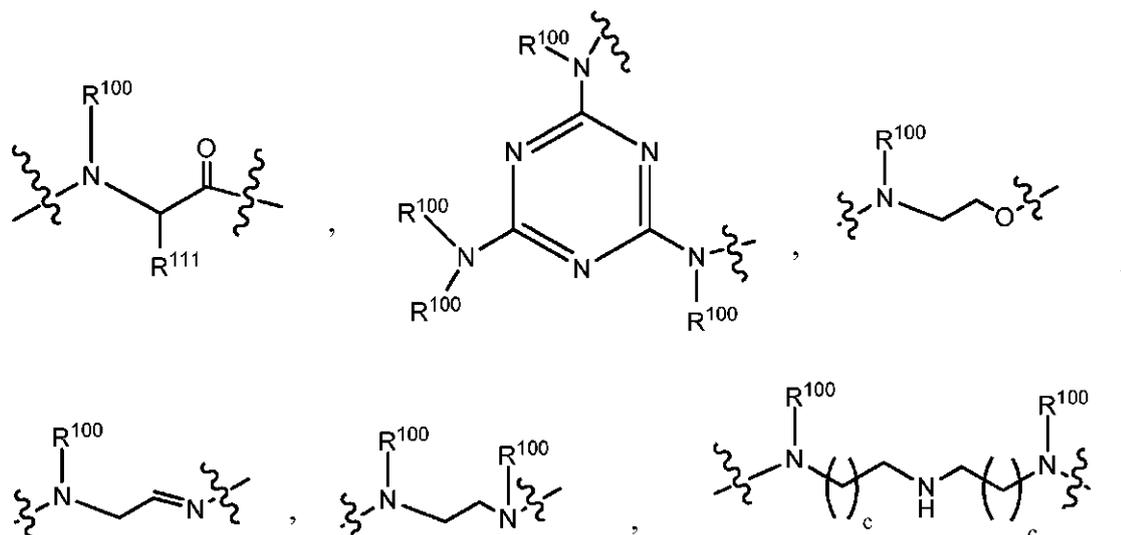
共有結合による結合単位は、分子の残部への切断可能な単位の結合を提供する役割を果たす任意の基または部分でよいことを当業者は認識する。一部の態様では、共有結合による結合単位は、アセンブリーの前に、リガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体の構成要素に結合を形成し、かつ結合することができる2個の官能基を有する。共有結合による結合単位は、アセンブリーの前に、2個超の官能基を有し得るが、本発明の目的のために、これらの官能基のうち2つを介してリガンド - 薬物コンジュゲートまたはその中間体の構成要素へと結合していることを当業者は理解する。共有結合による結合単位は、1個または複数（例えば、1~10個、好ましくは、1個、2個、3個、または4個）の天然もしくは非天然アミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、ジアミン、または天然もしくは非天然アミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはジアミンのものでよい。一部の態様では、共有結合による結合単位は、天然もしくは非天然アミノ酸、アミノアルコール、アミノアルデヒド、またはジアミンである。共有結合による結合単位として作用することができる例示的なアミノ酸は、 α - アラニンを含む。

40

【0354】

一部の実施形態では、共有結合による結合単位は、下記で示す式、

【化 8 5】

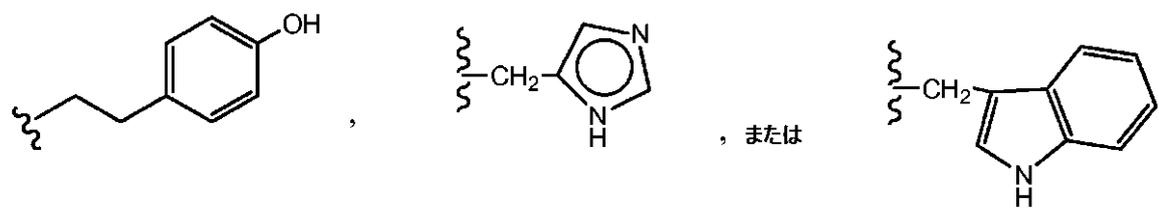


10

を有し、式中、 R^{111} は、*p*-ヒドロキシベンジル、メチル、イソプロピル、イソブチル、*sec*-ブチル、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、2-ピリジルメチル、3-ピリジルメチル、4-ピリジルメチル、

20

【化 8 6】



30

であり、各 R^{100} は、水素または $-\text{C}_1 \sim \text{C}_3$ アルキル、好ましくは水素または CH_3 から独立に選択され、

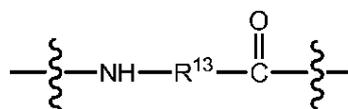
c は、1 ~ 10 から独立に選択される整数、好ましくは 1 ~ 3 である。

【0355】

切断可能な単位への連結のためのカルボニル基を有する代表的な共有結合による結合単位は、下記の通りであり、

40

【化 8 7】



式中、 R^{13} は、 $-\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキレン、 $-\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ カルボシクロ、 $-\text{アリーレン}$ 、 $-\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$ ヘテロアルキレン、 $-\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ ヘテロシクロ、 $-\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$ アルキレン-アリーレン、 $-\text{アリーレン}-\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$ アルキレン、 $-\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$

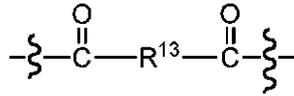
50

アルキレン - (C₃ ~ C₈カルボシクロ) - 、 - (C₃ ~ C₈カルボシクロ) - C₁ ~ C₁₀アルキレン - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - 、または - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - C₁ ~ C₁₀アルキレン - である。好ましい実施形態では、R¹³は、 - C₁ ~ C₆アルキレンである。

【0356】

切断可能な単位への連結のためのカルボニル基を有する代表的な共有結合による結合単位は、下記の通りであり、

【化88】



10

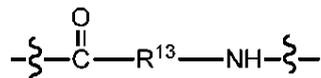
式中、R¹³は、 - C₁ ~ C₆アルキレン - 、 - C₃ ~ C₈カルボシクロ - 、 - アリーレン - 、 - C₁ ~ C₁₀ヘテロアルキレン - 、 - C₃ ~ C₈ヘテロシクロ - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - アリーレン - 、 - アリーレン - C₁ ~ C₁₀アルキレン - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - (C₃ ~ C₈カルボシクロ) - 、 - (C₃ ~ C₈カルボシクロ) - C₁ ~ C₁₀アルキレン - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - 、または - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - C₁ ~ C₁₀アルキレン - である。好ましい実施形態では、R¹³は、 - C₁ ~ C₆アルキレンである。

【0357】

20

切断可能な単位への連結のためのNH基を有する代表的な共有結合による結合単位は、下記の通りであり、

【化89】



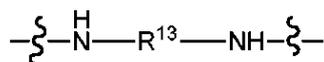
式中、R¹³は、 - C₁ ~ C₆アルキレン - 、 - C₃ ~ C₈カルボシクロ - 、 - アリーレン - 、 - C₁ ~ C₁₀ヘテロアルキレン - 、 - C₃ ~ C₈ヘテロシクロ - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - アリーレン - 、 - アリーレン - C₁ ~ C₁₀アルキレン - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - (C₃ ~ C₈カルボシクロ) - 、 - (C₃ ~ C₈カルボシクロ) - C₁ ~ C₁₀アルキレン - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - 、または - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - C₁ ~ C₁₀アルキレン - である。好ましい実施形態では、R¹³は、 - C₁ ~ C₆アルキレンである。

30

【0358】

切断可能な単位への連結のためのNH基を有する代表的な共有結合による結合単位は、下記の通りであり、

【化90】



40

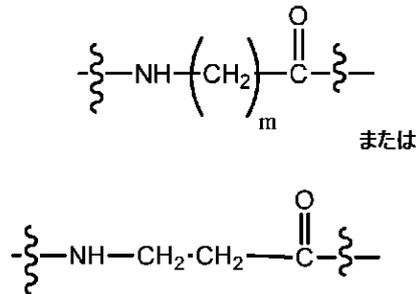
式中、R¹³は、 - C₁ ~ C₆アルキレン - 、 - C₃ ~ C₈カルボシクロ - 、 - アリーレン - 、 - C₁ ~ C₁₀ヘテロアルキレン - 、 - C₃ ~ C₈ヘテロシクロ - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - アリーレン - 、 - アリーレン - C₁ ~ C₁₀アルキレン - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - (C₃ ~ C₈カルボシクロ) - 、 - (C₃ ~ C₈カルボシクロ) - C₁ ~ C₁₀アルキレン - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - 、または - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - C₁ ~ C₁₀アルキレン - である。好ましい実施形態では、R¹³は、 - C₁ ~ C₆アルキレンである。

【0359】

50

共有結合による結合単位を選択した実施形態は、下記を含み、窒素に隣接する波線は、 L^P （またはADまたはA）への共有結合による結合を示し、カルボニルに隣接する波線は、切断可能な単位への共有結合による結合を示し、 m は、1～6、好ましくは2～6、より好ましくは2～4の範囲の整数である。

【化91】



10

【0360】

一部の態様では、共有結合による結合単位は、任意選択で置換されている $C_1 \sim 8$ ヘテロアルキレンである。

【0361】

一部の態様、特に、共有結合による結合単位が、並列コネクター単位、分岐単位、または薬物結合単位の硫黄原子と結合を形成する態様では、共有結合による結合単位は、共有結合による結合単位のマレイミド基を介して硫黄原子と結合を形成する。この実施形態の代表的な共有結合による結合単位は、式XXIIIおよびXXIVの角カッコ内のものを含み、波線は、本明細書に定義されているような切断可能な単位への結合を示し、アスタリスクは、並列コネクター単位、分岐単位、または薬物結合単位の硫黄原子への結合を示し、 R^{17} は、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン-、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ-、 $-O-(C_1 \sim C_8)$ アルキル-、 $-$ アリーレン-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-アリーレン-、 $-$ アリーレン- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8)$ カルボシクロ-、 $-$ $(C_3 \sim C_8)$ カルボシクロ- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8)$ ヘテロシクロ-、 $-$ $(C_3 \sim C_8)$ ヘテロシクロ- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $C(=O)-$ 、 $C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン- $C(=O)-$ 、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ- $C(=O)-$ 、 $-O-(C_1 \sim C_8)$ アルキル- $C(=O)-$ 、 $-$ アリーレン- $C(=O)-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-アリーレン- $C(=O)-$ 、 $-$ アリーレン- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $C(=O)-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8)$ カルボシクロ- $C(=O)-$ 、 $-$ $(C_3 \sim C_8)$ カルボシクロ- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $C(=O)-$ 、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ- $C(=O)-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8)$ ヘテロシクロ- $C(=O)-$ 、 $-$ $(C_3 \sim C_8)$ ヘテロシクロ- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $C(=O)-$ 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-NH-、 $C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン-NH-、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ-NH-、 $-O-(C_1 \sim C_8)$ アルキル-NH-、 $-$ アリーレン-NH-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-アリーレン-NH-、 $-$ アリーレン- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-NH-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8)$ カルボシクロ-NH-、 $-$ $(C_3 \sim C_8)$ カルボシクロ- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-NH-、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ-NH-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8)$ ヘテロシクロ-NH-、 $-$ $(C_3 \sim C_8)$ ヘテロシクロ- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-NH-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-S-、 $C_1 \sim C_{10}$ ヘテロアルキレン-S-、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ-S-、 $-O-(C_1 \sim C_8)$ アルキル-S-、 $-$ アリーレン-S-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-アリーレン-S-、 $-$ アリーレン- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-S-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8)$ カルボシクロ-S-、 $-$ $(C_3 \sim C_8)$ カルボシクロ- $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン-S-、-

20

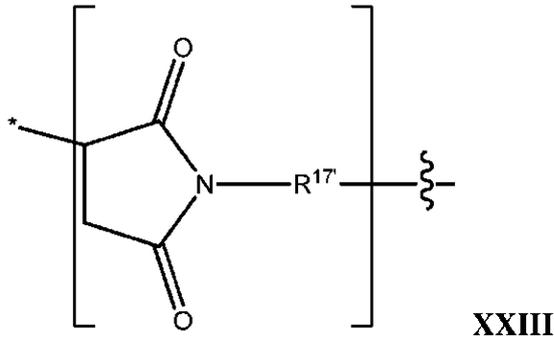
30

40

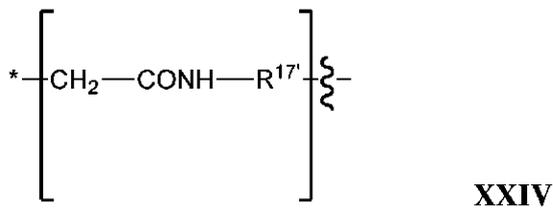
50

C₃ ~ C₈ヘテロシクロ - S - 、 - C₁ ~ C₁₀アルキレン - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - S - 、または - (C₃ ~ C₈ヘテロシクロ) - C₁ ~ C₁₀アルキレン - S - である。R¹⁷置換基は、任意選択で置換することができる。一部の態様では、R¹⁷置換基は、置換されていない。一部の態様では、R¹⁷基は、塩基性単位、例えば、- (CH₂)_xNH₂、- (CH₂)_xNHR^a、および - (CH₂)_xNR^a₂ (式中、xは、1 ~ 4の整数であり、各R^aは、C₁ ~ 6アルキルおよびC₁ ~ 6ハロアルキルからなる群から独立に選択され、または2個のR^a基はそれらが結合している窒素と合わさり、アゼチジニル、ピロリジニルまたはピペリジニル基を形成する) で任意選択で置換されている。
【化92】

10



20



【0362】

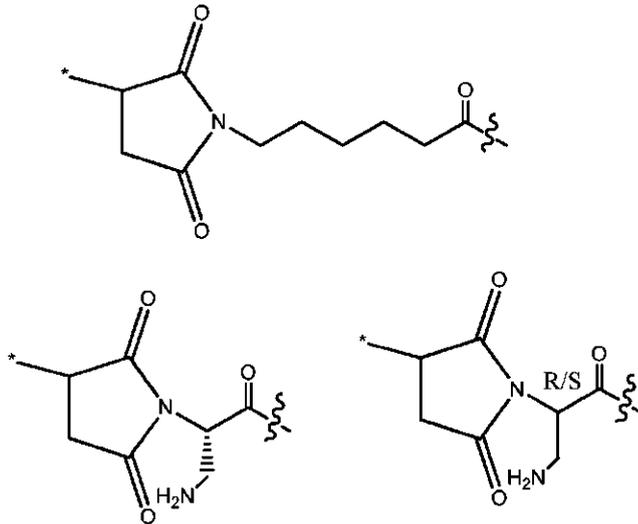
30

例示的な共有結合による結合単位は、式XXIIIのものであり、R¹⁷は、- C₂ ~ C₅アルキレン - C(=O) - であり、アルキレンは、塩基性単位、例えば、- (CH₂)_xNH₂、- (CH₂)_xNHR^a、および - (CH₂)_xNR^a₂ で任意選択で置換されており、xは、1 ~ 4の範囲の整数であり、各R^aは、C₁ ~ 6アルキルおよびC₁ ~ 6ハロアルキルからなる群から独立に選択され、または2個のR^a基はそれらが結合している窒素と合わさり、アゼチジニル、ピロリジニルまたはピペリジニル基を形成する。例示的な実施形態は、下記の通りである。

40

50

【化 9 3】



10

【0363】

上記で示した置換スクシンイミドは、加水分解された形態で存在し得ることが理解される（すなわち、カルボニル - 窒素結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される）。

20

【0364】

ストレッチャー単位のアミノ基は、アミノ保護基、例えば、酸に不安定な保護基（例えば、BOC）によって保護し得ることが理解される。

【0365】

本発明の好ましい態様では、共有結合による結合単位は、約1000ダルトン以下、約500ダルトン以下、約400ダルトン以下、約300ダルトン以下、約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約500ダルトン、約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約500ダルトン、約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約400ダルトン、約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約300ダルトン、または約10ダルトン、50ダルトンもしくは100ダルトンから約200ダルトンの質量を有する。

30

PEG化されたコンジュゲーション足場

【0366】

当業者が認識するように、本発明において使用するために選択されるPEG単位のサイズは、PEG単位の付加の前の、その薬物 - リンカー部分の薬物およびリンカー構成要素の疎水性によって決まる。式DD、X、XI、またはXIIの中間化合物は、改善されたPKパラメータおよび/または最小の凝集を有するADCをもたらす薬物およびPEG単位の組合せについてスクリーニングするために使用することができる、PEG化されたコンジュゲーション足場として作用することができる。PEG化されたコンジュゲーション足場によって、所与の薬物 - リンカーのためのPEGサブ単位の数の最適化のためのプラットフォームが可能となる。

40

【0367】

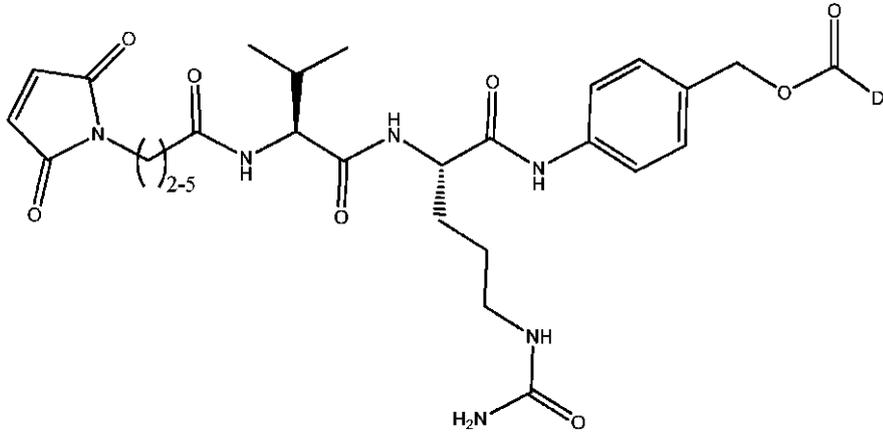
PEG化されたコンジュゲーション足場は、変化する薬物およびPEG部分の並列コンジュゲーションによって、PEGが、広範囲の通常の薬物 - リンカー（すなわち、本発明による並列接続されたPEG単位を含有しない薬物 - リンカー）について、疎水性をマスクし、PKパラメータを改善させる能力を検査することを可能とするように特に設計されている。薬物 - リンカーの疎水性をマスクするが、大きすぎて、リガンド - 薬物コンジュゲートが標的とした部位に拡散し、または標的とした細胞に入り、薬物を放出する能力に負の影響を与えない十分なサイズのPEG単位を選択することが好ましい。

50

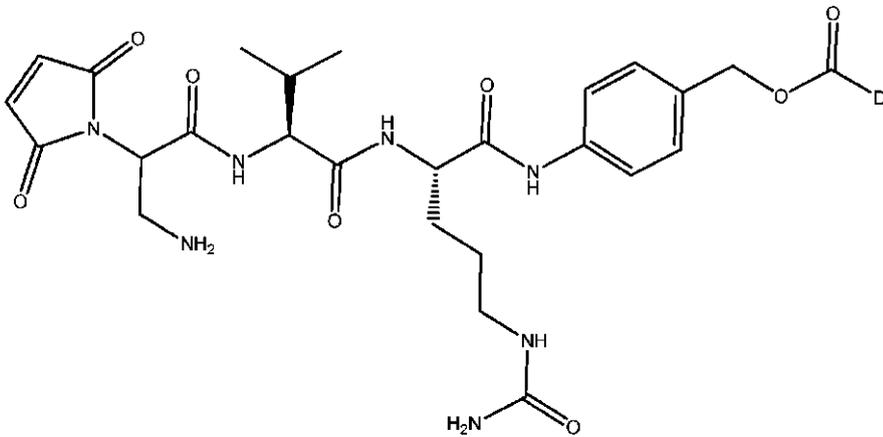
【 0 3 6 8 】

特に好ましい実施形態では、PEGの最適化のために使用する通常の薬物-リンカーは、抗体のチオール基へコンジュゲートするための反応性基、例えば、マレイミド含有薬物-リンカーおよびプロテアーゼによって切断可能な放出可能なアSEMBリー単位Xを有するものである。したがって、コンジュゲーション足場と共に使用するためのプロテアーゼによって切断可能な放出可能なアSEMBリー単位Xを有する例示的なX-D単位は、下記を含み、Dは、本明細書に記載のような任意の薬物単位である。

【 化 9 4 - 1 】

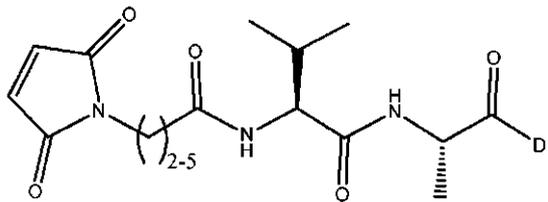


10



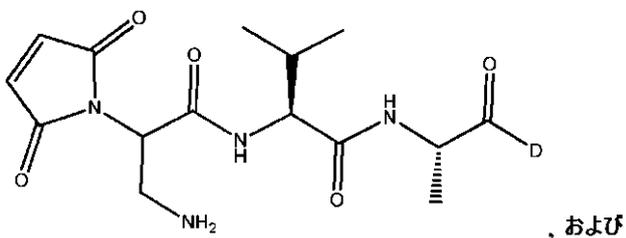
20

30



40

【 化 9 4 - 2 】

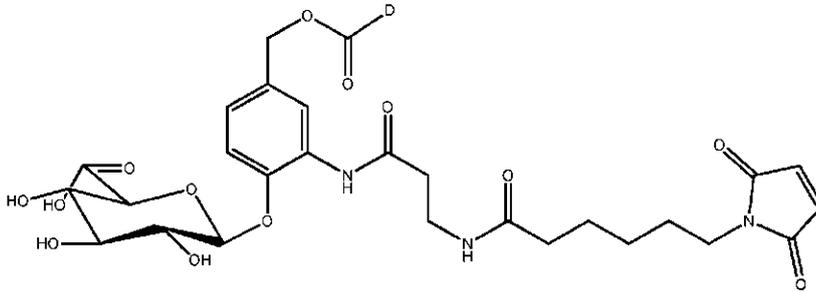


50

【 0 3 6 9 】

他の特に好ましい実施形態では、PEGの最適化のために使用する通常の薬物-リンカーは、抗体のチオール基へコンジュゲートするための反応性基、例えば、マレイミド含有薬物-リンカー、およびグリコシダーゼによって切断可能な放出可能なアセンブリー単位Xを有するものである。したがって、コンジュゲーション足場と共に使用するためのグリコシダーゼによって切断可能な放出可能なアセンブリー単位Xを有する例示的なX-D単位は、下記を含み、Dは、本明細書に記載のような任意の薬物単位である。

【 化 9 5 】



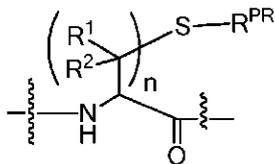
10

【 0 3 7 0 】

PEGの最適化のために使用される薬物-リンカーがチオール受容基、例えば、マレイミド部分へのコンジュゲーションのための反応性基を有するものである実施形態では、コンジュゲーション足場は、脱保護されたとき、薬物-リンカーのチオール受容基へと共有結合による結合が可能である保護されたチオール含有残基を有する。保護されたチオール含有残基は、並列コネクタ単位（または分岐単位または薬物結合単位）の構成要素である。例示的なPEG化されたコンジュゲート足場は、式DDのものであり、L^P単位は、下記の式、

20

【 化 9 6 】



30

を有するアミノ酸を含み、式中、

下付き文字nは、1～4の範囲の整数であり、

R¹およびR²は、H、C₁～₃アルキル、フェニル、またはC₂～₅複素環（好ましくは水素、メチル、エチル、またはプロピル）からなる群から独立に選択され、

R^PRは、適切なチオール保護基である。

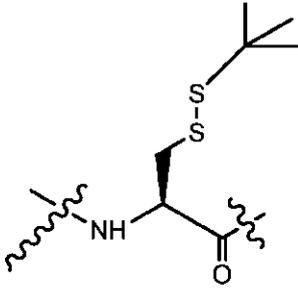
40

【 0 3 7 1 】

例示的なPEG化されたコンジュゲート足場は、式DDのものであり、L^P単位は、保護されたシステイン、ホモシステイン、またはペニシラミンを含む。アミノ酸のDまたはL異性体が適切である。L^P単位として使用するための例示的なアミノ酸は、下記で示すようなシステインであり、適切な保護基としてt-ブチルチオを有する。

50

【化 9 7】

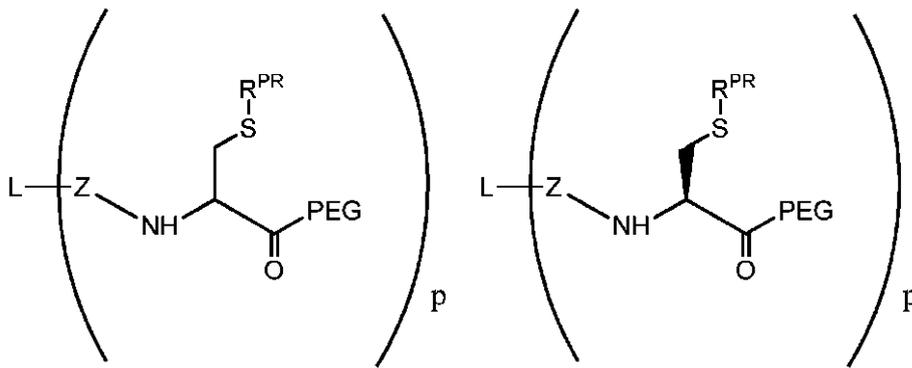


10

【 0 3 7 2】

適切に保護されたりリガンド - リンカー - 中間化合物中の例示的な P E G 化されたコンジュゲーション足場は、下記を含む。

【化 9 8 - 1】



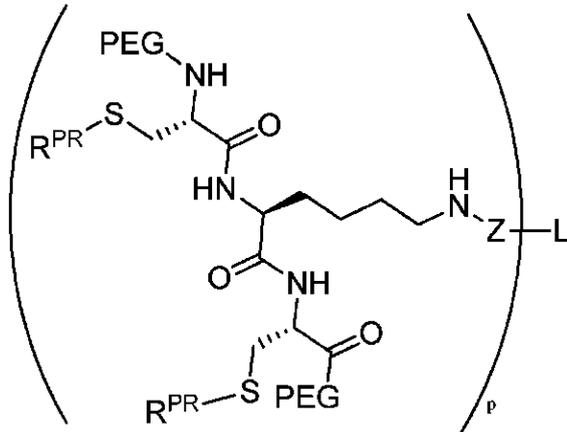
20

30

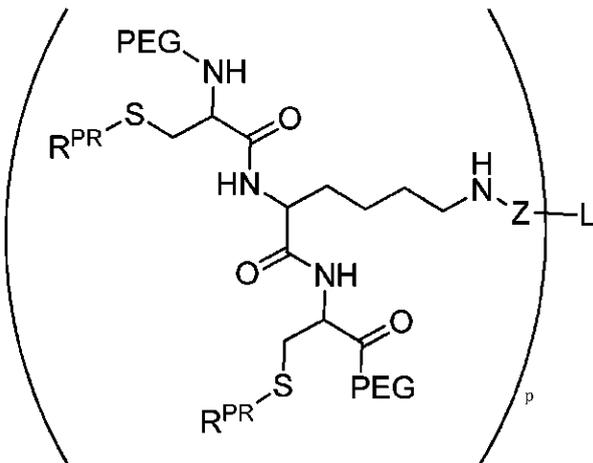
40

50

【化 9 8 - 2】



10



20

【 0 3 7 3】

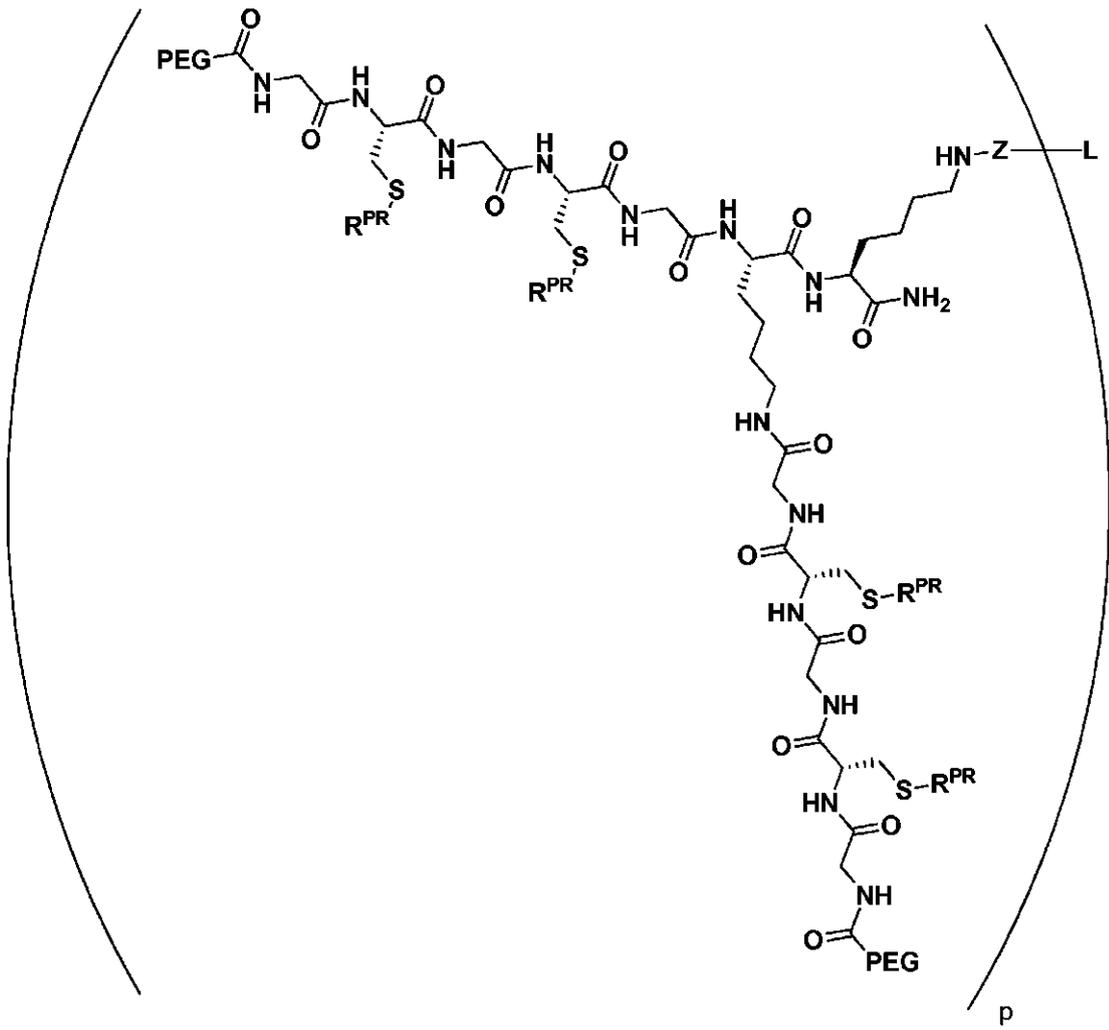
30

適切に保護されたリガンド - リンカー - 中間化合物中の他の例示的な P E G 化されたコンジュゲーション足場は、下記を含む。

40

50

【化 9 9 - 1】



10

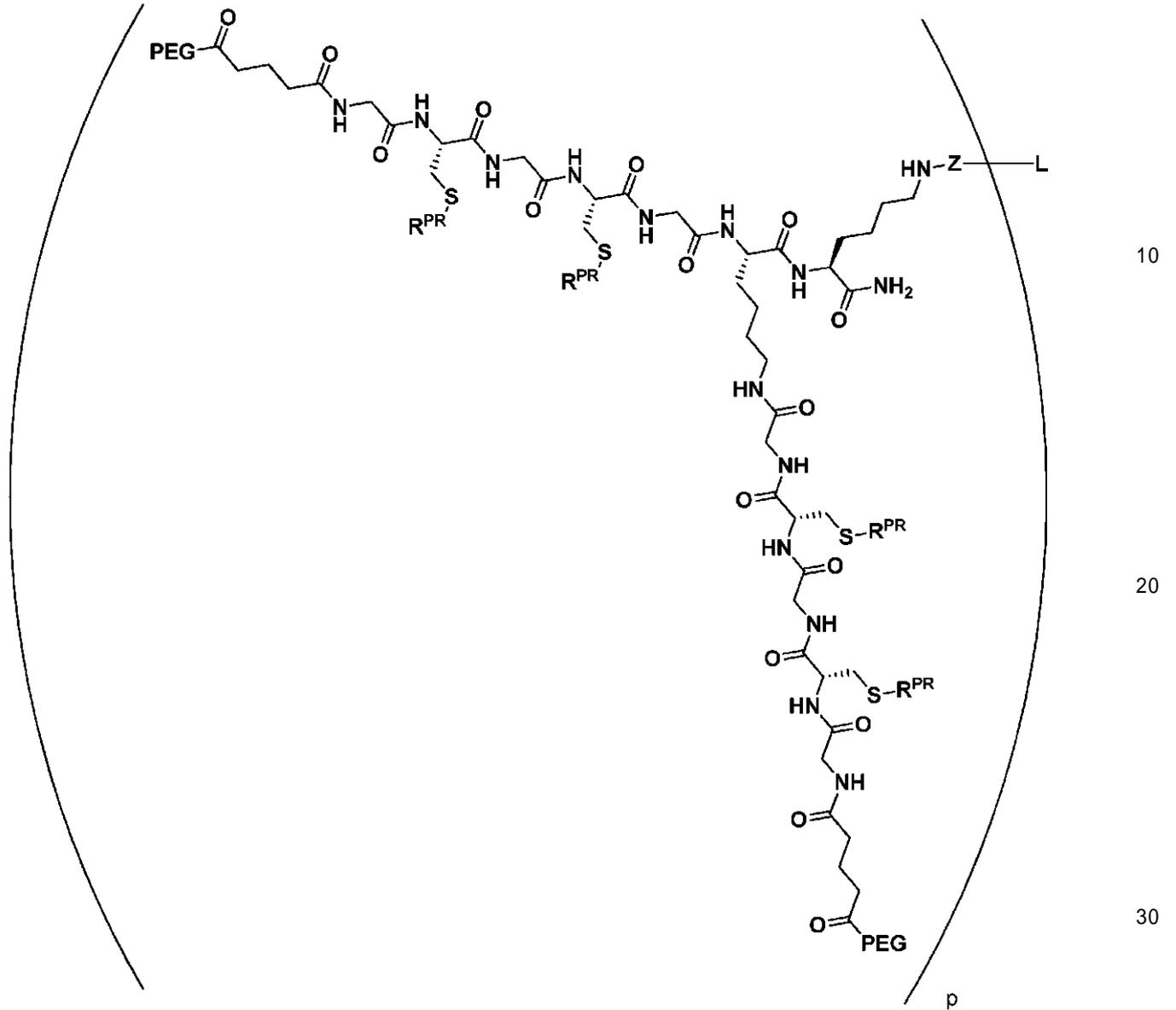
20

30

40

50

【化 9 9 - 2】



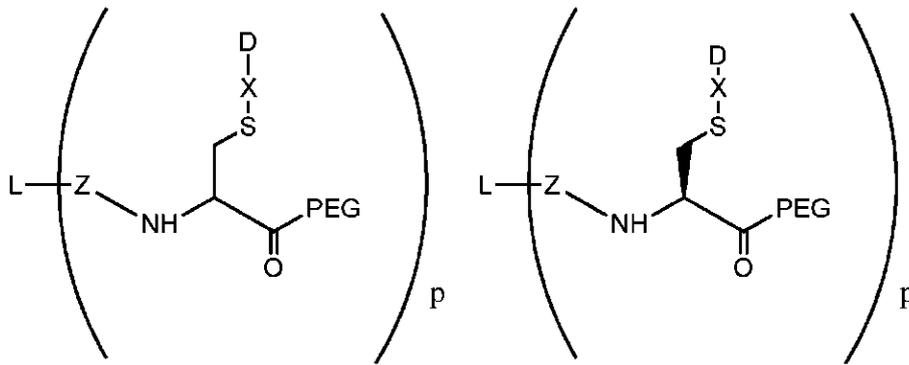
【 0 3 7 4】

例示的な P E G 化されたコンジュゲーション足場は、薬物 - リンカーとのコンジュゲーションの後に、下記のようなリガンド - 薬物コンジュゲートを提供する。

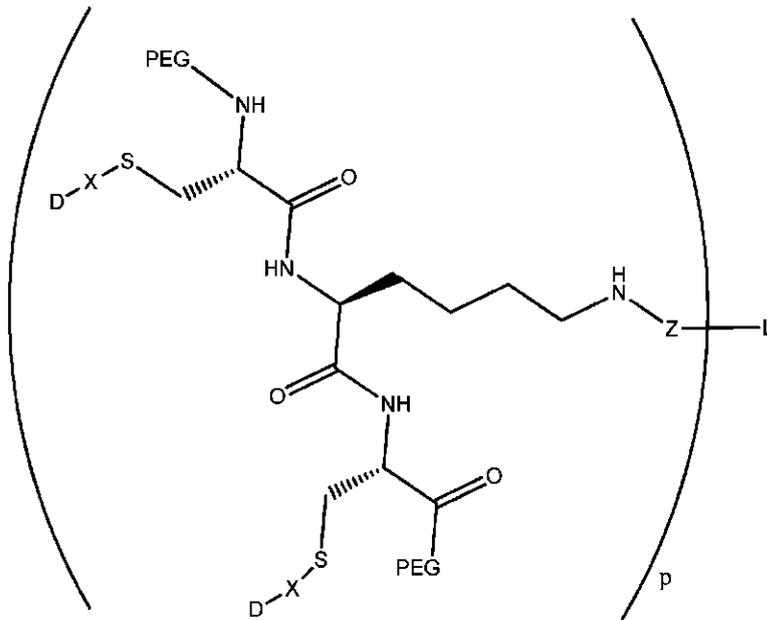
40

50

【化 1 0 0 - 1】



10



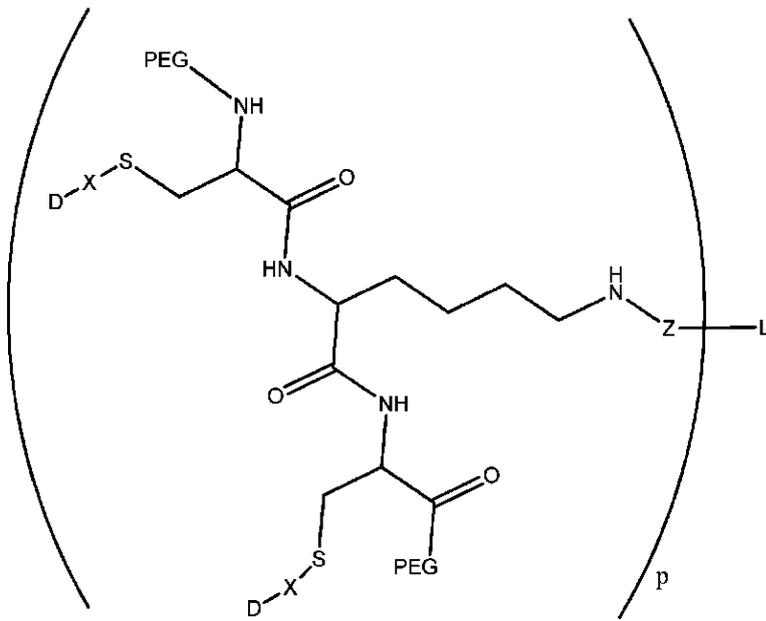
20

30

40

50

【化 1 0 0 - 2】



10

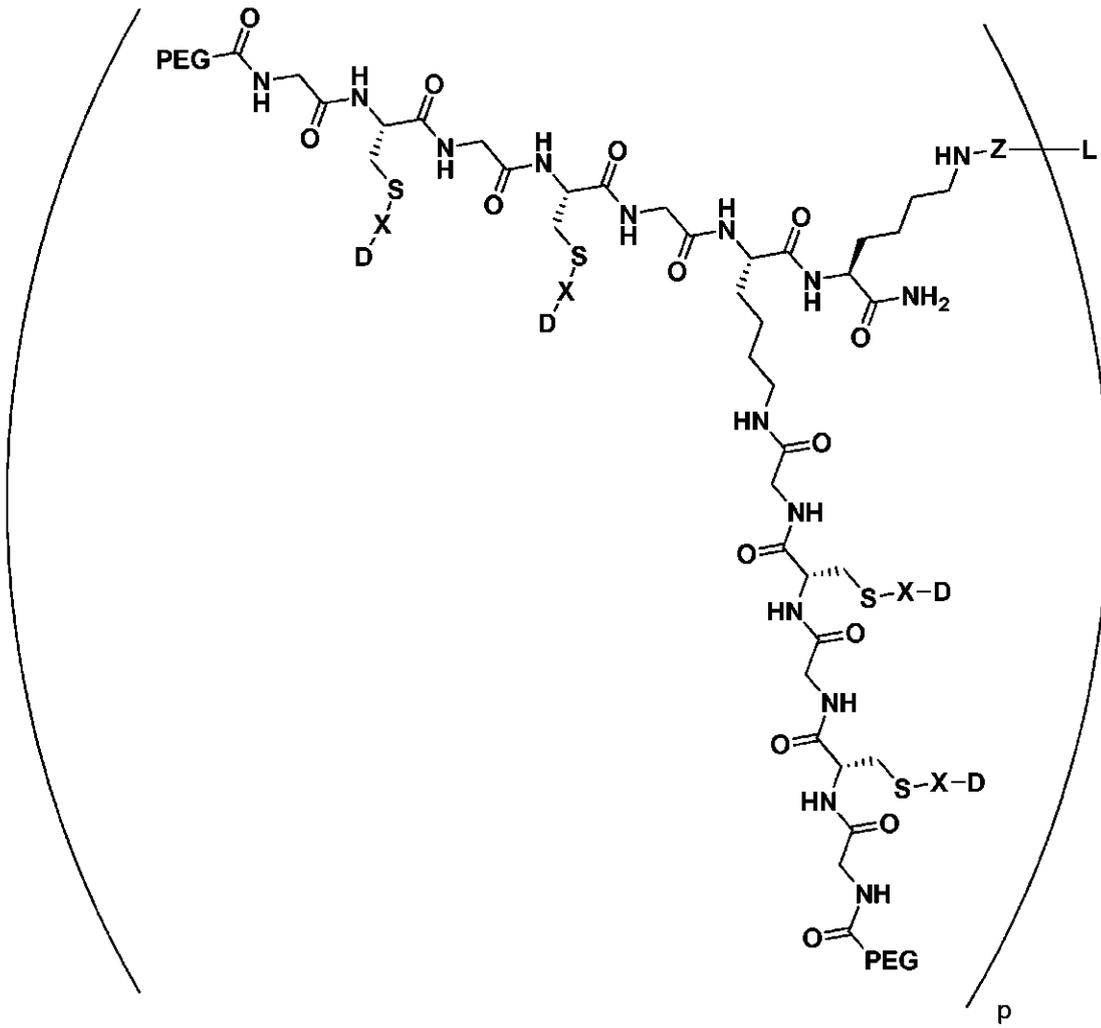
20

30

40

50

【化 1 0 0 - 3】



10

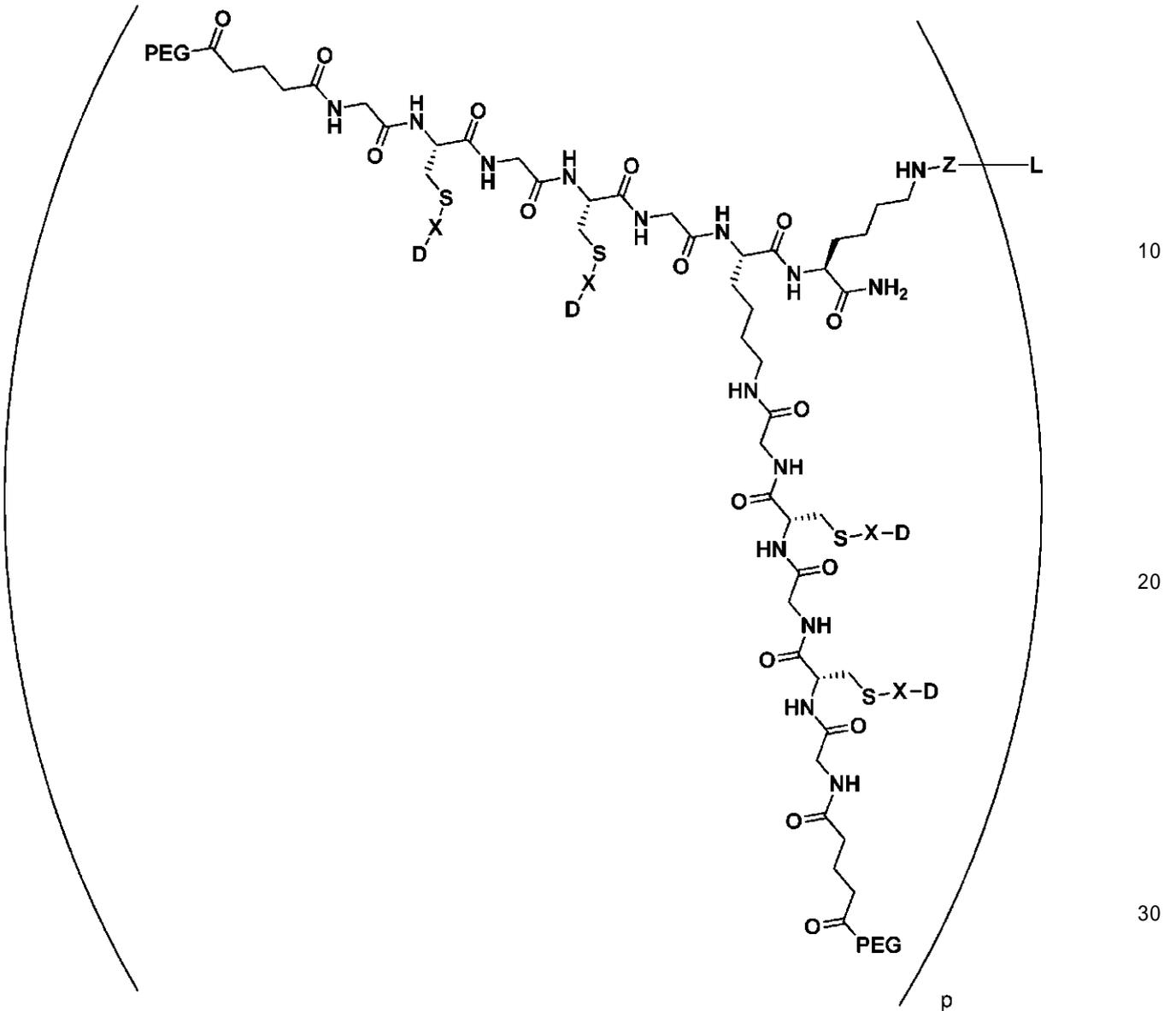
20

30

40

50

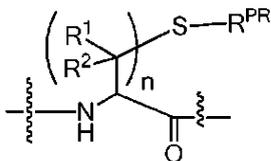
【化100-4】



【0375】

例示的な中間体コンジュゲーション足場は、式(CC)のものであり、L^P単位は、下記の式、

【化101】

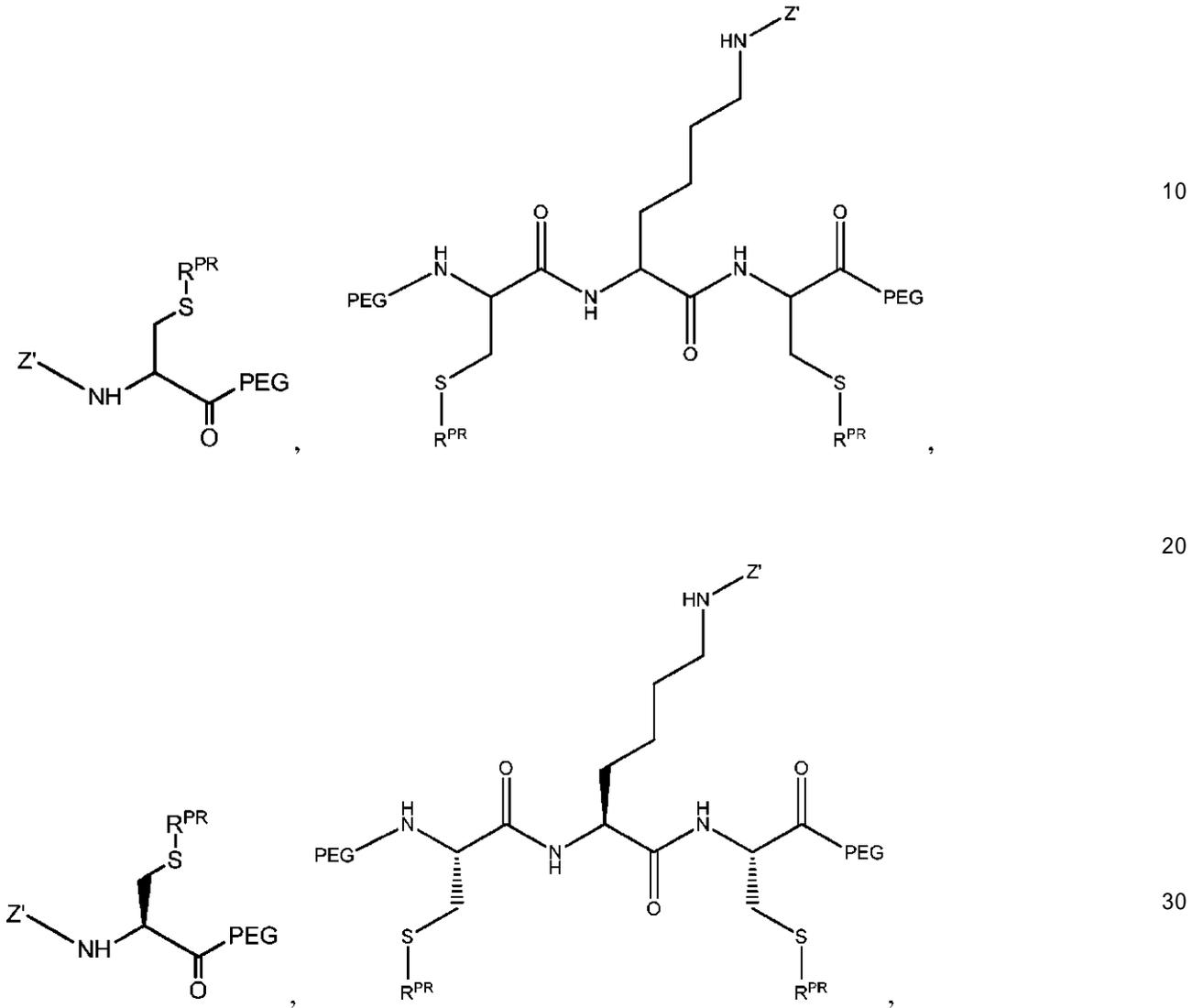


を有するアミノ酸を含み、式中、
 下付き文字 n は、1 ~ 4 の範囲の整数であり、
 R^1 および R^2 は、H、 $C_1 \sim 3$ アルキル、フェニル、または $C_2 \sim C_5$ 複素環（好ましくは水素、メチル、エチル、またはプロピル）からなる群から独立に選択され、
 R^{PR} は、適切なチオール保護基である。

【 0 3 7 6 】

適切に保護されたリンカー-中間化合物中の例示的な中間体の P E G 化されたコンジュゲート足場を下記に示す。

【 化 1 0 2 - 1 】



10

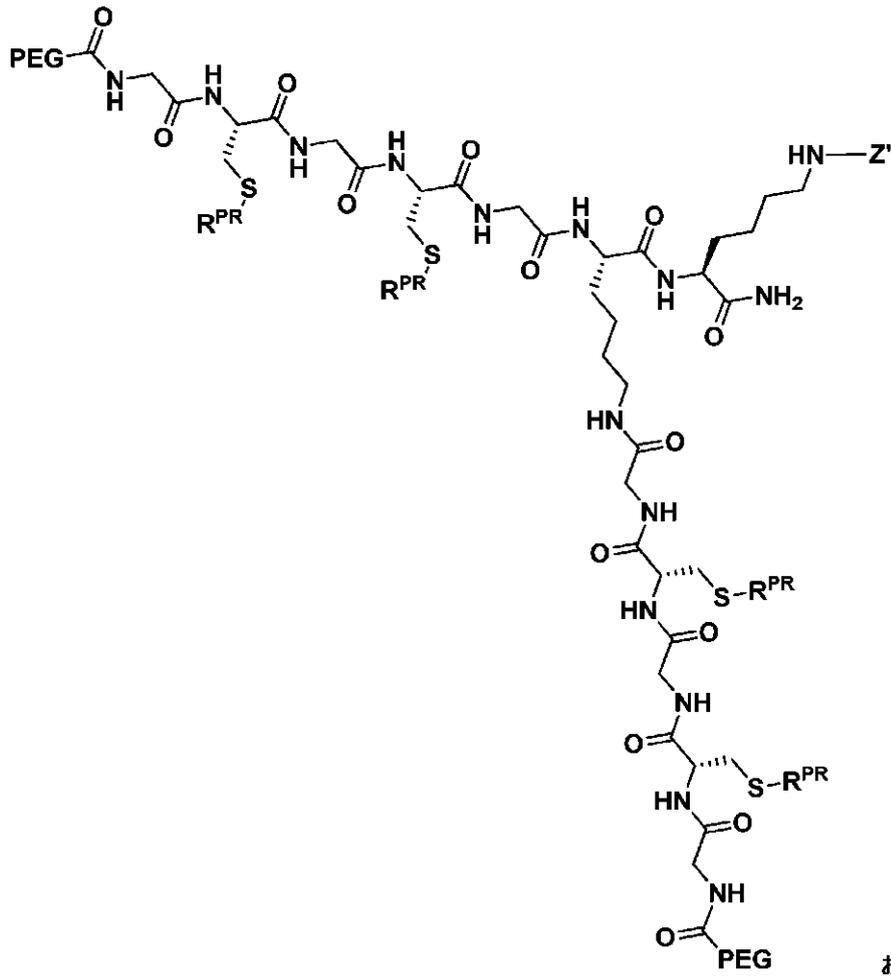
20

30

40

50

【化 1 0 2 - 2】



10

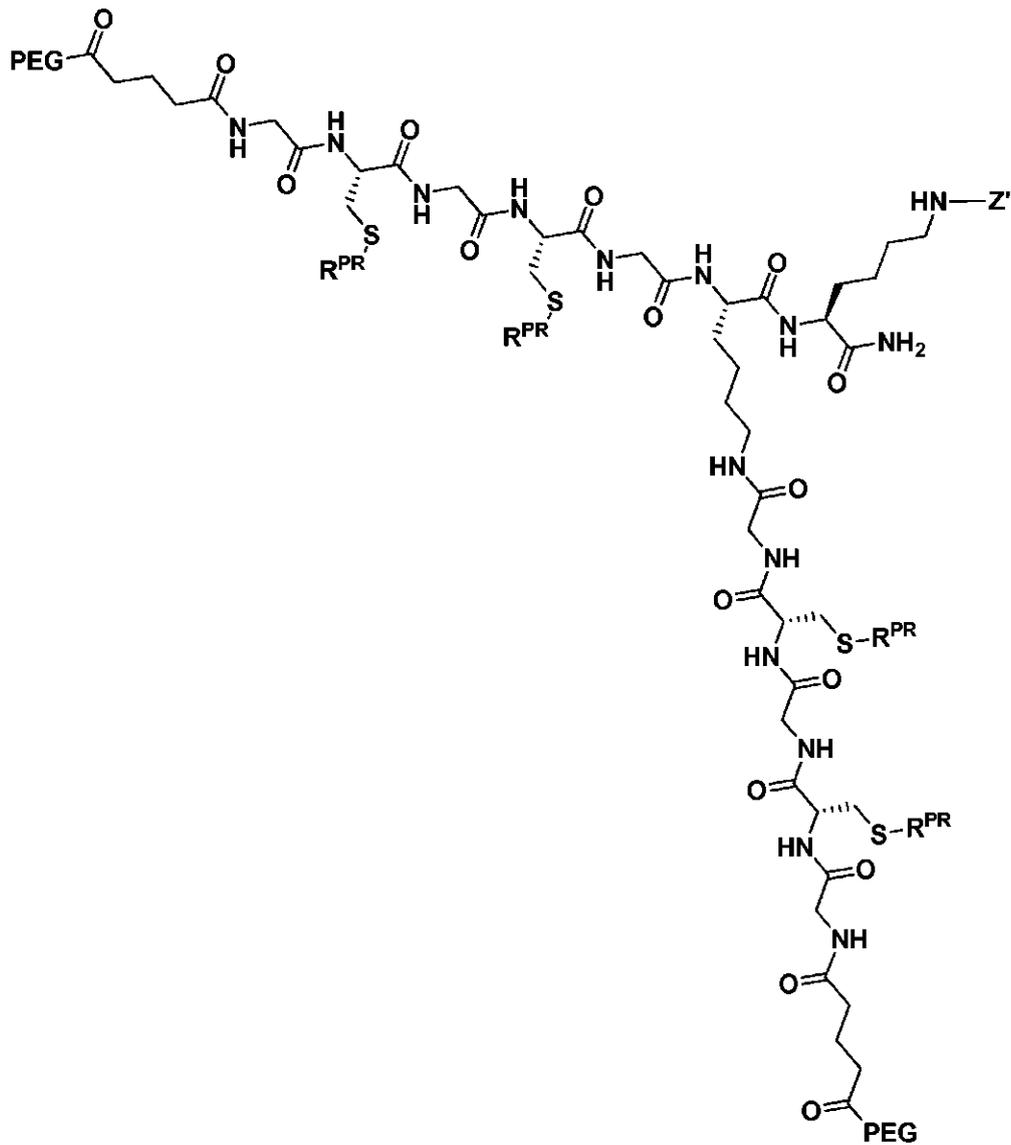
20

30

40

50

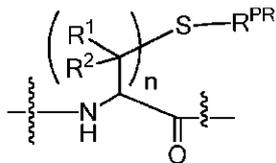
【化 1 0 2 - 3】



【 0 3 7 7】

例示的な PEG 化されたコンジュゲート足場は、式 X I のものであり得、L^P 単位および薬物結合単位 A D' は、それぞれ下記の式、

【化 1 0 3】

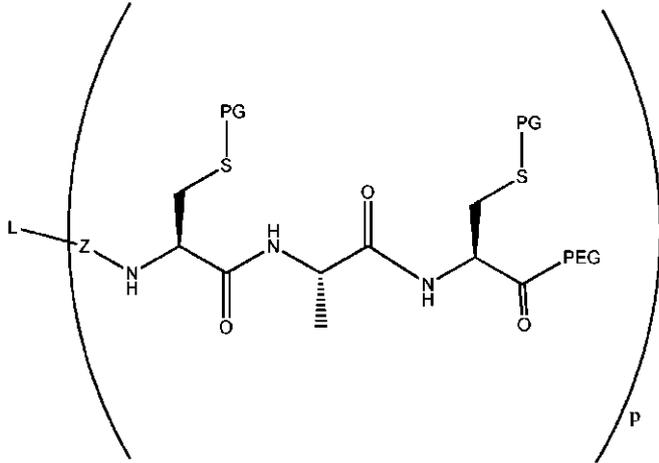


を有する独立に選択したアミノ酸を含み、式中、
下付き文字 n は、1 ~ 4 の範囲の整数であり、
R¹ および R² は、H、C₁ ~ C₃ アルキル、フェニル、または C₂ ~ C₅ 複素環（好ましくは水素、メチル、エチル、またはプロピル）からなる群から独立に選択され、
R^{P R} は、適切なチオール保護基である。

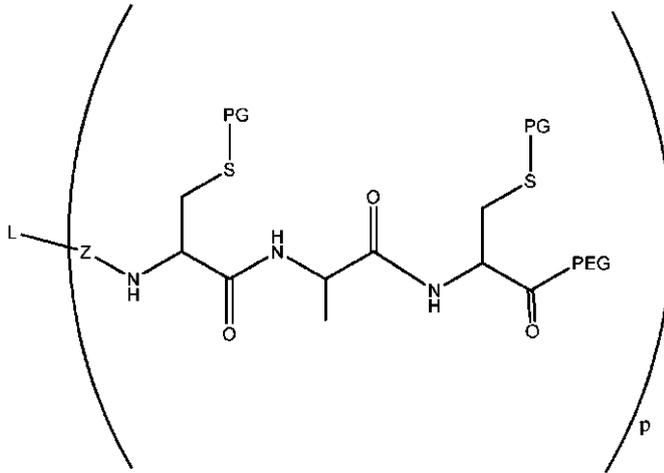
【 0 3 7 8】

適切に保護されたリガンド - リンカー中間化合物中の式 X I の例示的な P E G 化された
 コンジュゲート足場を下記に示す。

【化 1 0 4】



10



20

30

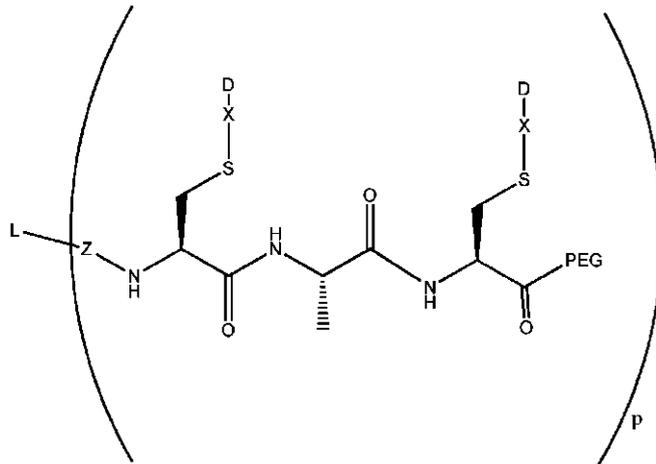
【 0 3 7 9】

例示的な P E G 化されたコンジュゲーション足場は、薬物 - リンカーとのコンジュゲーションの後に、式 I I のリガンド - 薬物コンジュゲートを提供する。

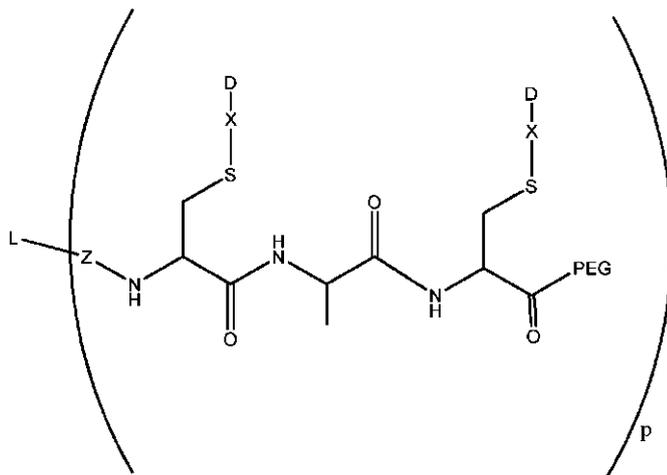
40

50

【化 1 0 5】



10



20

30

【 0 3 8 0】

PEG化されたコンジュゲーション足場および中間体について、ストレッチャー単位、ZまたはZ'、PEG、リガンド、保護基 R^P 、および下付き文字pは、本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて記載されている通りである。例示的な態様では、ストレッチャー単位は、本明細書に記載のようなマレイミド含有ストレッチャー単位である。例示的な実施形態では、PEG単位は、6~72個、10~72個、または12~72個のサブ単位を有し、ストレッチャー単位は、本明細書に記載のようなマレイミド含有ストレッチャー単位、およびXVaについて本明細書において提供した実施形態のいずれかである。

40

【 0 3 8 1】

したがって、本発明は、リガンド-薬物コンジュゲートにおいて使用するためのPEG単位を選択する方法を提供し、方法は、(i)式(DD)を有するコンジュゲーション足場を提供するステップであって、並列コネクター単位は、チオール保護されたシステインを含むステップと、(ii)チオール保護されたシステインから保護基を除去して、遊離チオールを有する脱保護されたコンジュゲーション足場を形成させるステップと、(iii)脱保護されたコンジュゲーション足場と、遊離チオールとの共有結合による結合のための官能基を有する薬物-リンカーとを、リガンド-薬物コンジュゲートを形成する条件下で接触させるステップとを含む。方法は、結果として生じたリガンド-薬物コンジュゲートのPKパラメーターを試験することをさらに含むことができる(例えば、実施例8ま

50

たは 21 を参照されたい)。また提供するのは、このような方法によって産生されたリガンド薬物コンジュゲートである。

【0382】

また提供するのは、リガンド - 薬物コンジュゲートにおいて使用するための PEG 単位を選択する方法であり、方法は、(i) 式 X I または X I I を有するコンジュゲーション足場を提供するステップであって、並列コネクタ単位および薬物結合単位 (複数可) が、チオール保護されたシステインを含むステップと、(ii) チオール保護されたシステインから保護基を除去し、遊離チオールを有する脱保護されたコンジュゲーション足場を形成させるステップと、(iii) 脱保護されたコンジュゲーション足場と、遊離チオールとの共有結合による結合のための官能基を有する薬物 - リンカーとを、リガンド - 薬物コンジュゲートを形成させる条件下で接触させるステップとを含む。方法は、結果として生じたリガンド - 薬物コンジュゲートの PK パラメータを試験することをさらに含むことができる (例えば、実施例 21 を参照されたい)。また提供するのは、このような方法によって産生されたリガンド薬物コンジュゲートである。

10

薬物負荷量

【0383】

式 I、I I、I I I、および A A のリガンド - 薬物コンジュゲートに全体的に言及すると、リガンド当たりの薬物 - リンカー単位の数は、p によって表される。このようなコンジュゲートの集団における個々のリガンド - 薬物コンジュゲートに言及するとき、p は、リガンド当たりの薬物 - リンカー分子の数を表す整数である。複数のコンジュゲートを含む組成物 (すなわち、L D C 組成物) に言及するとき、p は、リガンド当たりの薬物 - リンカーの平均数を表し、より典型的には整数ではない数である。抗体 - 薬物コンジュゲート (A D C) からなる L D C 組成物について記載する実験におけるこれらの場合において、特定の数の薬物単位 / 抗体の薬物負荷 (例えば、8 負荷、16 負荷または 32 負荷) について言及する場合、この値は、組成物中の平均薬物負荷量および優勢である A D C の薬物負荷量を指し、これは、リンカー - 薬物化合物と反応する、または適用可能である場合、リガンド中間体 (続いて - X - D が導入される) と反応する抗体上の反応部位の数によって決まる。リガンド - 薬物コンジュゲートの集団において、リガンド当たり平均で 1 ~ 14 個の薬物 - リンカー、リガンド当たり平均で約 6 ~ 約 14 個、約 6 ~ 約 12 個、約 6 ~ 約 10 個、約 8 ~ 約 14 個、約 8 ~ 約 12 個、または約 8 ~ 約 10 個の薬物 - リンカー単位が存在することができる。リガンドへの例示的な結合は、チオエーテル連結を介してである。リガンド上の例示的なコンジュゲーション部位は、鎖間のジスルフィド残基のチオールおよび / またはリガンド中に導入された残基、例えば、導入されたシステインである。平均薬物負荷が約 8、10、12、14、16、または 32 である実施形態に言及するとき、8、10、12、14、16、または 32 の値は典型的にはまた、組成物中の優勢であるリガンド薬物コンジュゲートの薬物負荷量を指す。同様に、リガンド当たり平均で約 8 ~ 約 14 個、約 8 ~ 約 12 個、または約 8 ~ 約 10 個の薬物 - リンカー単位が存在する実施形態に言及するとき、その値は典型的にはまた、組成物中の優勢である A D C の薬物 - リンカー負荷量を指す。

20

30

【0384】

コンジュゲーション反応からの調製物中のリガンド単位当たりの薬物 - リンカー単位の平均数は、通常的手段、例えば、質量分析、E L I S A アッセイ、H I C および H P L C によって特性決定し得る。リガンド - リンカー - 薬物コンジュゲートの量的分布を、p に関してまた決定し得る。場合によって、均質なリガンド - 薬物コンジュゲート (p は、他の薬物負荷量を有するリガンド - 薬物コンジュゲートからの特定の値である) の分離、精製、および特性決定は、逆相 H P L C または電気泳動などの手段によって達成し得る。

40

組成物

【0385】

本発明は、本明細書に記載されているリガンド - 薬物コンジュゲートのいずれかを含む組成物を提供する。例えば、本発明は、式 A A、I、I I、または I I I のリガンド - 薬

50

物コンジュゲートを含む組成物、およびこれらの選択した実施形態のいずれかを提供する。実施形態のいずれかにおいて、変数は本明細書に定義されている通りである。

【0386】

式 (f o r m l a) A A、I、I I、またはI I Iが、個々の (i n v i d i d u a l) L D C化合物を表さないが、L D C組成物 (すなわち、リガンド薬物コンジュゲートの集団を含む組成物) を表すとき、下付き文字 p は、組成物中のリガンド分子 (例えば、抗体分子) 当たりの薬物 - リンカー分子の平均数を表す。同様に、式 D D、X、X I、およびX I Iが、個々のリガンド - リンカー中間化合物を表さず、リガンドリンカー中間体組成物 (すなわち、リガンドリンカー中間体化合物の集団を含む組成物) を表すとき、下付き文字 p は、組成物中のリガンド分子 (例えば、抗体) 当たりのリンカー分子の平均数を表す。組成物は、そこに結合した様々な数 (例えば、1 ~ 14、2 ~ 12、4 ~ 12、6 ~ 12、8 ~ 12) の薬物 - リンカーを有するリガンド - 薬物コンジュゲートのコレクション (または集団) を含み、平均 p 値に達することができることが理解される。代わりに、組成物は、そこに結合した同じもしくは実質的に同じ数の薬物 - リンカー (1 ~ 14) を有するリガンド - 薬物コンジュゲートのコレクション (または集団) を含み、平均 p 値に達することができる。コレクションまたは集団という用語は、この文脈において、同意語として使用される。組成物内に、小さな割合のコンジュゲートしていない抗体が存在してもよく、これはまた平均 p 値に反映される。本発明のリガンド - 薬物コンジュゲートの集団を含む組成物について、リガンド当たり平均で1 ~ 14個の薬物 - リンカー、リガンド当たり平均で約6 ~ 約14個、約6 ~ 約12個、約6 ~ 約10個、約8 ~ 約14個、約8 ~ 約12個、または約8 ~ 約10個の薬物 - リンカー単位が存在してもよい。本発明において教示されるようなP E Gの使用は、高い薬物負荷、例えば、リガンド当たり少なくとも約6個、より好ましくは少なくとも約8個の薬物 - リンカーの平均薬物負荷量を有するリガンド - 薬物コンジュゲートに特に適しており、各薬物 - リンカーは、さらに1個の - X - D部分、好ましくは1個、2個または4個を有する。したがって、本明細書において提供する組成物は好ましくは、組成物中にリガンド当たり少なくとも約8個の薬物 - リンカー分子の平均薬物 - リンカー負荷量を有し、好ましくはリガンド単位当たり約8個、10個、12個、または16個から約32個の薬物単位を有する。

10

20

【0387】

一部の態様では、組成物は、本明細書に記載されているリガンド - 薬物コンジュゲートおよび薬学的に許容される担体を含む医薬組成物である。例えば、本発明は、式I、I I、またはI I Iのコンジュゲート、およびこれらの選択した実施形態のいずれかを含む医薬組成物を提供する。一部の態様では、医薬組成物は、液体形態である。一部の態様では、これは凍結乾燥した粉末である。

30

【0388】

医薬組成物を含めた組成物は、精製した形態で提供することができる。本明細書において使用する場合、「精製した」とは、単離したとき、単離物が、単離物の重量によって少なくとも95%の、および、別の態様では、少なくとも98%のコンジュゲートを含有することを意味する。

薬物動態

40

【0389】

先に言及したように、ある特定のリガンド - 薬物コンジュゲートの薬物動態プロファイルは、P E G単位の付加によって有意に変化することができることを本発明者らは発見した。場合によっては、リガンド単位および薬物単位と並列配向のP E Gの配置は、リガンド - 薬物コンジュゲートの血漿クリアランスを減少させ、血漿曝露を増加させ、これはこのようなコンジュゲートの所望の薬理的 (p h a m a o l o g i c a l) 活性を改善させる。驚いたことに、リガンド単位および薬物単位と直列配向のP E G単位の配置は、薬物動態学的効果において同じ改善を実現せず、場合によっては、そのP E G化されていないカウンターパートに対して、実際にクリアランスを増加させ、相対的曝露を減少させた。本発明までは、疎水性化合物のP E G化による疎水性の減少に向けた努力は、P E G単

50

位の配向効果について考慮していなかった。

【0390】

リガンド - 薬物コンジュゲートの薬物動態パラメーターを測定する多くの方法が存在する。1つの方法は、リガンド - 薬物コンジュゲート濃度、すなわち、ある特定の時点における所与の体積の血漿または血清中のリガンド - 薬物コンジュゲートの量を決定することである。別の方法は、薬物クリアランス、すなわち、単位時間当たりリガンド - 薬物コンジュゲートがクリアランスされる血漿（または血清）の体積を決定することである。第3の方法は、曲線下面積（AUC）、すなわち、濃度 - 時間曲線の積分値を決定することである。濃度、クリアランス、およびAUCは、被験体への、目的の薬剤の投与後の、横軸（X軸）に沿った時間（日数）に対して、縦軸（Y軸）に沿った総抗体の血清（または血漿）濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）をプロットすることによって決定することができる。例えば、1つの方法において、(i)コンジュゲートしていないリガンド、(ii)本発明のリガンド - 薬物コンジュゲート、および(iii)比較リガンド - 薬物コンジュゲートの用量をマウスに注射し、注射の後の様々な時点（例えば、1日、2日、3日、7日、14日、21日、28日、35日、42日、49日、および56日）において血液試料を集め、血清を単離することによって薬物動態パラメーターを測定する。血清（または血漿）濃度は、当技術分野において公知の方法によって測定することができる。例えば、血清（または血漿）濃度は、適当な検出機序を使用して、総リガンド（例えば、抗体）についてサンドイッチELISAによって測定することができる。各動物についての血清（または血漿）濃度データは、適当なソフトウェアを使用して分析して、ある特定の時点における濃度、薬物クリアランスおよびAUCについての値に達することができる。別の実施形態では、薬物動態学的データは、放射性標識されたコンジュゲートを使用して生成することができる。例えば、動物に放射性標識されたリガンドまたはリガンド - 薬物コンジュゲートを投与することができる。血漿（または血清）濃度を液体シンチレーション計測によって測定する。一部の実施形態では、使用する動物モデルはラットモデルである。

10

20

【0391】

一部の実施形態では、本発明のリガンド - 薬物コンジュゲートの薬物動態プロファイルは、そのコンジュゲートしていないリガンドの薬物動態プロファイルと似ている。したがって、本明細書において提供するものは、コンジュゲートしていないリガンドのクリアランス値の約3倍以内もしくは約2倍以内のクリアランス値、および/またはコンジュゲートしていないリガンドのAUC値の少なくとも25%もしくは少なくとも30%であるAUC値を有するリガンド - 薬物コンジュゲートである（例えば、表2を参照されたい）。

30

【0392】

一部の実施形態では、本発明のリガンド - 薬物コンジュゲートの薬物動態プロファイルは、比較コンジュゲートと比較して改善する。したがって、本明細書において提供するものは、比較コンジュゲート（すなわち、薬物 - リンカー部分に対して並列配向であるPEG単位を有さない）と比較して、改善された濃度値、クリアランス値および/またはAUC値を有するリガンド - 薬物コンジュゲートである。改善されたクリアランス値という用語は、リガンド - 薬物コンジュゲートが、比較コンジュゲートのクリアランス値より少なくとも2倍または少なくとも3倍良好であるクリアランスを有することを意味する（例えば、 $48.6\text{ mL}/\text{日}/\text{kg}$ または $57.8\text{ mL}/\text{日}/\text{kg}$ の値と比較して $14.2\text{ mL}/\text{日}/\text{kg}$ の値）。改善されたAUC値という用語は、リガンド - 薬物コンジュゲートが、比較コンジュゲートのAUC値より少なくとも2倍または少なくとも3倍良好であるAUC値を有することを意味する（例えば、 $67\text{ 日}^* \mu\text{g}/\text{mL}$ または $52\text{ 日}^* \mu\text{g}/\text{mL}$ の値の値と比較して $229.7\text{ 日}^* \mu\text{g}/\text{mL}$ の値）。

40

【0393】

比較コンジュゲートは、PEG単位を欠いている同じもしくは実質的に同様のコンジュゲート、並列配向で配置されているPEG単位を欠いているが、リガンド単位および薬物単位に対して直列配向で配置されているPEG単位を含有する同じもしくは実質的に同様のコンジュゲートでよい。一部の実施形態では、比較コンジュゲートは、同じ薬物単位を

50

含み、かつ P E G 単位を有さないコンジュゲートであるか（すなわち、P E G 単位を欠いている同じもしくは実質的に同様のコンジュゲート）、またはリガンド単位および薬物単位に対して直列配向で配置されている P E G 単位を有するコンジュゲート（すなわち、P E G 単位を有するが、並列配向で配置されていない同じもしくは実質的に同じコンジュゲート）である。一般に、リガンド - 薬物コンジュゲートおよび比較コンジュゲートは、同じ薬物負荷量（組成物中のリガンド単位当たりの薬物の平均数）を有する。

【 0 3 9 4 】

本明細書において使用する場合、語句「P E G 単位を欠いている同じもしくは実質的に同様のコンジュゲート」とは一般に、同じもしくは実質的に同じリガンド単位、薬物単位、ならびにリンカー単位（例えば、ストレッチャー単位、および放出可能なアセンブリー単位）を含むが、並列コネクタ単位 L^P および P E G 単位を欠いているコンジュゲートを指す。本発明のリガンド - 薬物コンジュゲートに大部分密接に似ている P E G 単位を欠いている比較コンジュゲートについて、比較コンジュゲートは、同じリガンド単位、薬物単位、放出可能なアセンブリー単位、ストレッチャー単位および並列コネクタ単位（および、適当である場合、A D または A 単位）を含む。しかし、並列コネクタ単位は、P E G 単位に結合していないが、官能基、例えば、アセチル基で終結している（例えば、実施例における化合物 4 4 を参照されたい）。

10

【 0 3 9 5 】

本明細書において使用する場合、語句「並列配向で配置されている P E G 単位を欠いているが、リガンド単位および薬物単位に対して直列配向で配置されている P E G 単位を含有する、同じもしくは実質的に同じコンジュゲート」（すなわち、P E G 単位を有するが、並列配向で配置されない同じもしくは実質的に同じコンジュゲート）とは一般に、同じもしくは実質的に同じリガンド単位、薬物単位、ならびにリンカー単位（例えば、ストレッチャー単位、および放出可能なアセンブリー単位）を含むが、並列構成でそこに結合している並列コネクタ単位 L^P および P E G 単位を欠いており、かつリガンド単位および薬物単位と直列配向のリンカー中に P E G 単位を含むコンジュゲートを指す。

20

【 0 3 9 6 】

用語「実質的に同じ」とは、この文脈において、いくつかの軽微なバリエーションが存在し得るが、このようなバリエーションがコンジュゲートの様々な構成要素の化学合成および結合を主に容易にするためであることを意味する。P E G 単位を並列配向で有する本発明のコンジュゲートと比較した、P E G または直列配向の P E G 単位を有さない比較コンジュゲートの例についての実施例セクションを参照されたい。

30

【 0 3 9 7 】

コンジュゲートしていないリガンドに対して有意により大きな血漿クリアランスおよび対応してより低い血漿曝露を示すリガンド - 薬物コンジュゲートは本発明によって利益を得る。なぜなら、これらが本明細書に記載のように修飾されて、P E G 単位を含むことができるためである。コンジュゲートしていないリガンドに対して有意により大きな血漿クリアランスは、コンジュゲートしていないリガンドについての血漿クリアランス値の 2 倍超、3 倍超または 4 倍超であるクリアランス値を指す（例えば、表 2 を参照されたい）。コンジュゲートしていないリガンドに対してより低い血漿曝露は、コンジュゲートしていないリガンドの A U C の 3 0 % もしくはそれ未満、2 5 % もしくはそれ未満、または 2 0 % もしくはそれ未満である A U C 値を指す（例えば、表 2 を参照されたい）。

40

【 0 3 9 8 】

一部の実施形態では、本明細書において提供するものは、コンジュゲートしていないリガンドのクリアランス値の約 3 倍以内もしくは約 2 倍以内のクリアランス値、および / またはコンジュゲートしていないリガンドの A U C 値の少なくとも 2 5 % もしくは少なくとも 3 0 % である A U C 値を有するリガンド - 薬物コンジュゲートである。

【 0 3 9 9 】

一部の実施形態では、本発明において薬物単位として使用される薬物は、P E G を欠いている、または直列配向の P E G を含むリガンド薬物コンジュゲートとしてリガンドにコ

50

ンジュゲートしているとき、コンジュゲートしていないリガンドに対して有意により大きな血漿クリアランスおよび対応してより低い血漿曝露を示すリガンド - 薬物コンジュゲートを生じさせるものである。コンジュゲートしていないリガンドに対して有意により大きな血漿クリアランスは、コンジュゲートしていないリガンドについての血漿クリアランス値の2倍超、3倍超または4倍超であるクリアランス値を指す（例えば、表2を参照されたい）。コンジュゲートしていないリガンドに対してより低い血漿曝露は、コンジュゲートしていないリガンドのAUCの30%もしくはそれ未満、25%もしくはそれ未満、または20%もしくはそれ未満であるAUC値を指す（例えば、表2を参照されたい）。

【0400】

疎水性薬物単位または疎水性薬物 - リンカーを有するリガンド - 薬物 - コンジュゲートは本発明によって利益を得る。なぜなら、これらが本明細書に記載のように修飾されて、PEG単位を含み得、かつ、本発明の適用によって増強されるこれらの薬物動態パラメータを見出すことができるからである。

10

【0401】

好ましい実施形態では、リガンドは、抗体である。

凝集

【0402】

ある特定のリガンド - 薬物コンジュゲートの凝集は、疎水性薬物リンカー部分に対して並列配向であるPEG単位の付加によって有意に低減し得ることを本発明者らはまた発見した。

20

【0403】

一部の実施形態では、本発明において使用される薬物は、PEGを欠いており、または直列配向のPEGを含み、かつリガンド当たり平均で4個、8個または16個の薬物を有するリガンド薬物コンジュゲートとしてリガンドにコンジュゲートしているとき、SECによって測定して、4%もしくはそれ超、5%もしくはそれ超、または10%もしくはそれ超の凝集レベルを有するリガンド - 薬物コンジュゲートを生じさせるものである。

【0404】

本発明は、リガンド単位当たり平均で8個もしくはそれ超の薬物、抗体当たり10個もしくはそれ超の薬物、抗体当たり12個もしくはそれ超の薬物、抗体当たり16個もしくはそれ超の薬物、または抗体当たり32個の薬物を有し、約1%または約2%または約3%の凝集レベルを有するリガンド - 薬物コンジュゲートの集団を提供する（例えば、1またはIIの式、式中、pは4または8であり、mは1であり、sは0であり、tは0である；式II、式中、pは8であり、mは2であり、sは1であり、tは0である）

30

【0405】

好ましい態様では、リガンド単位は、抗体である。

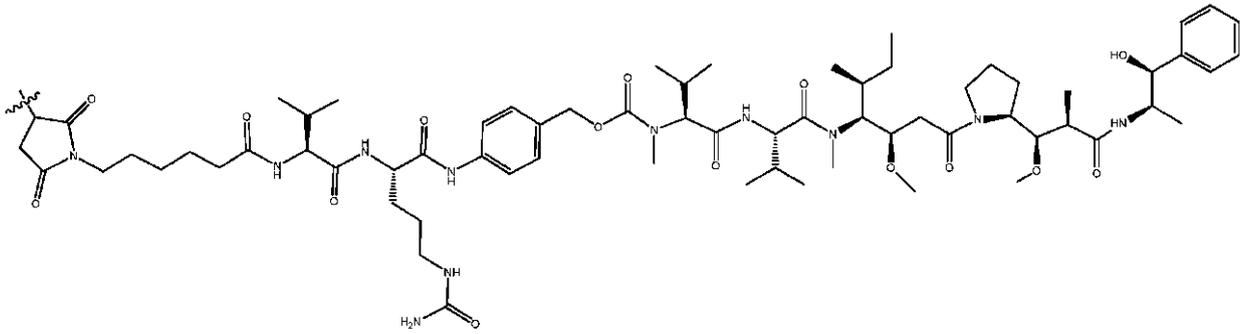
選択した実施形態

本発明の例示的な - X - D単位は、下記を含み、式中、波線は、場合によって、L^P、A、またはAD単位に結合した共有結合性を示し、

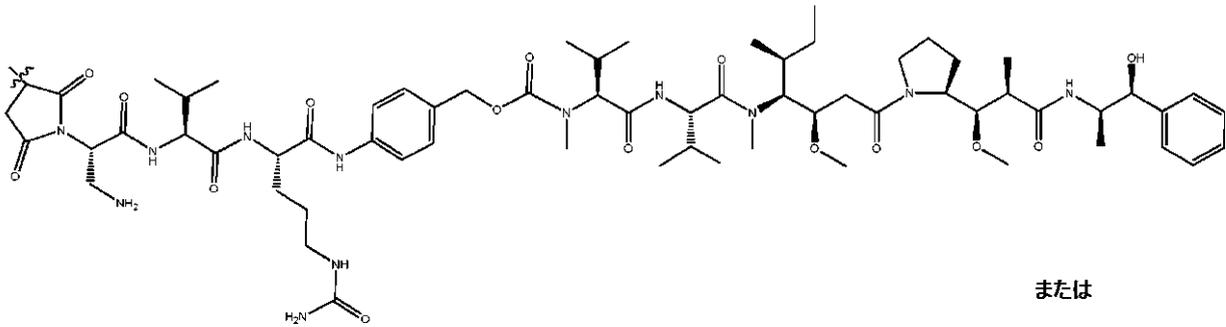
40

50

【化106】

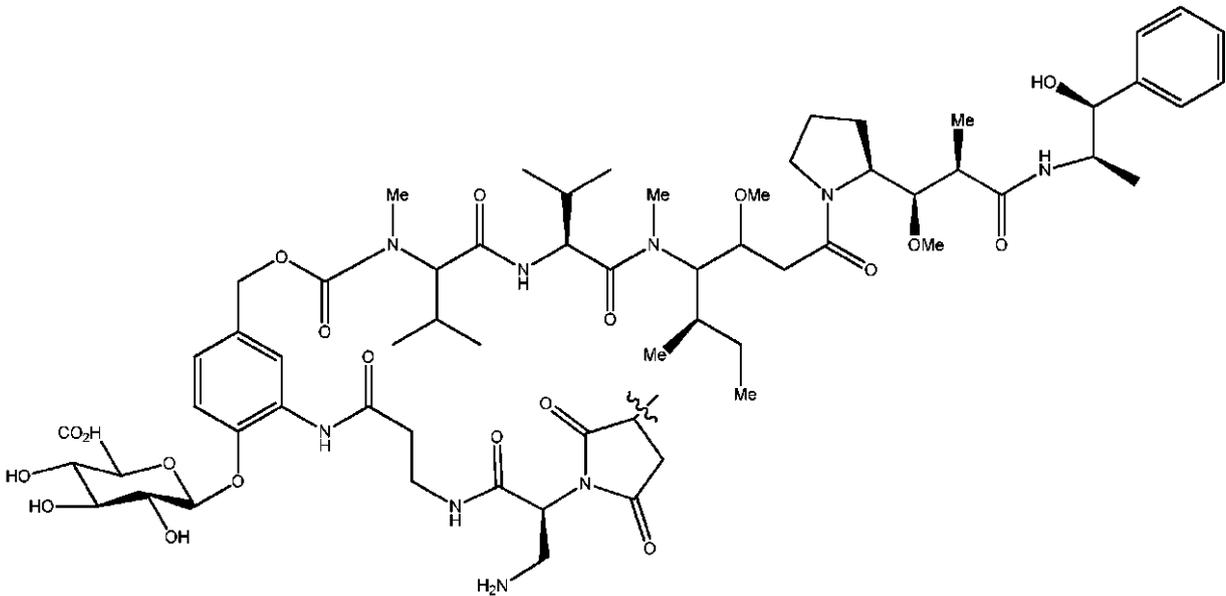


10



または

20



30

上記で示した置換スクシニミドは、加水分解された形態で存在し得ることが理解される（すなわち、カルボニル - 窒素結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される）。

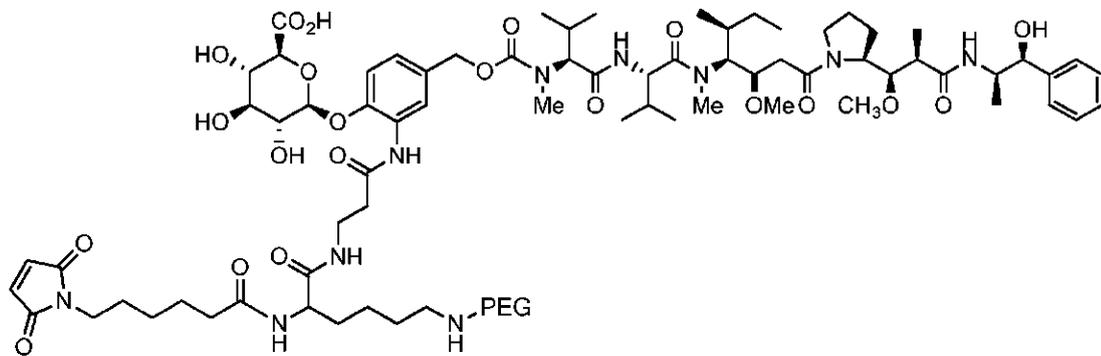
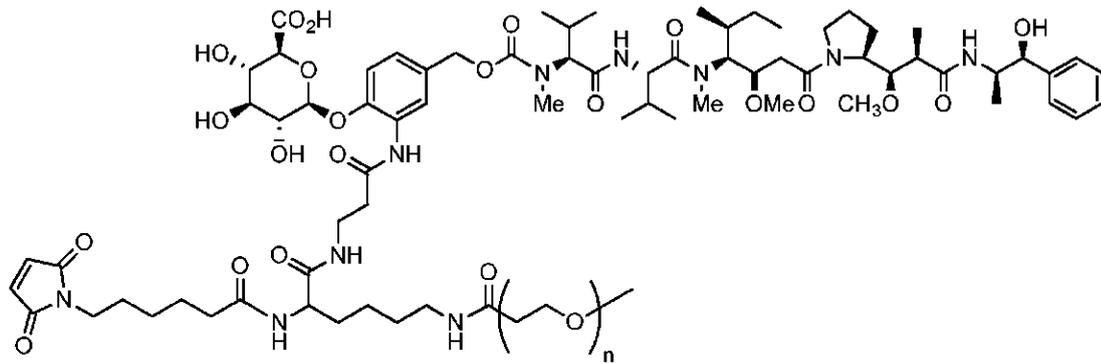
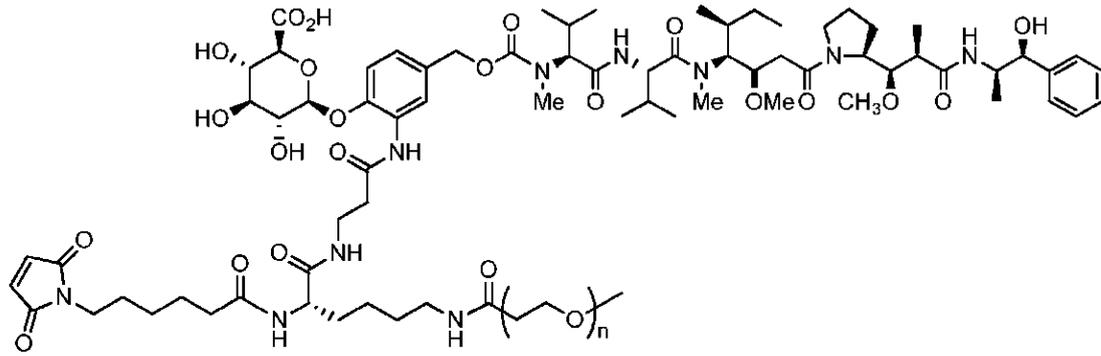
40

【0406】

本発明の例示的な薬物 - リンカー化合物は、下記の構造、

50

【化 1 0 7 - 1】



10

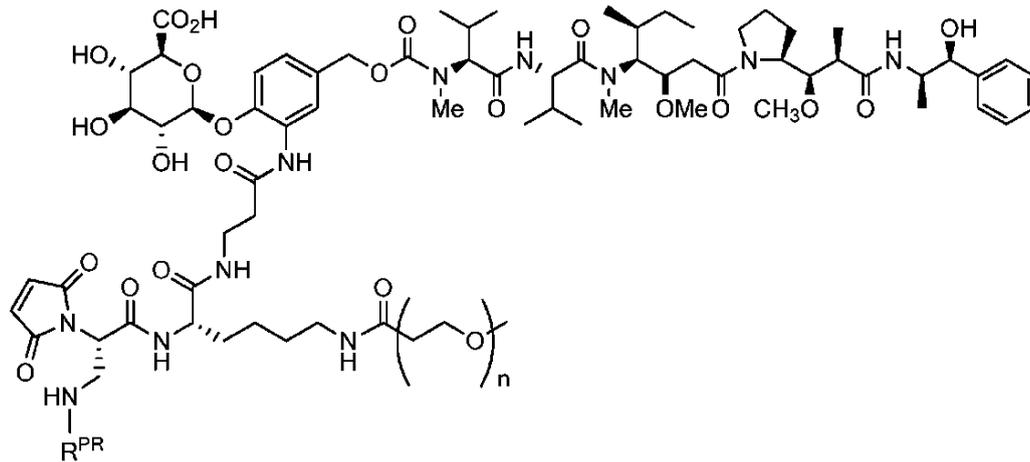
20

30

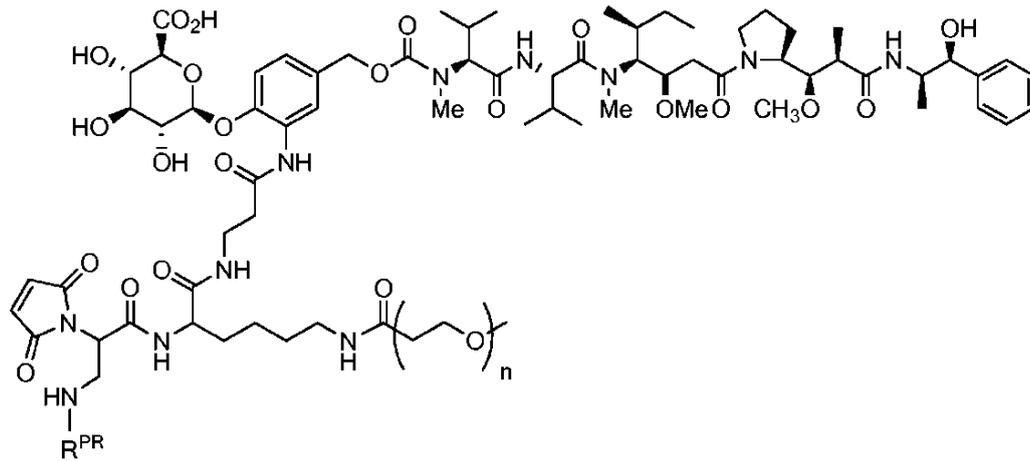
40

50

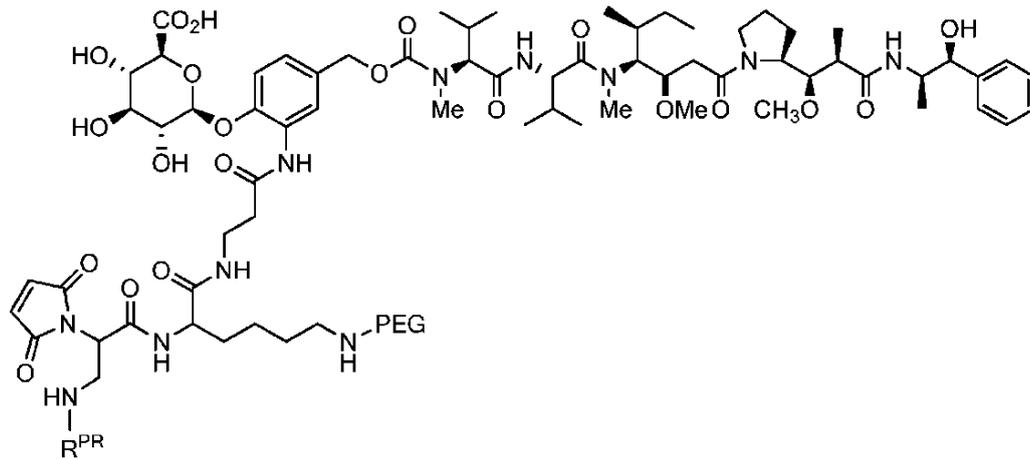
【化 1 0 7 - 2】



10



20



30

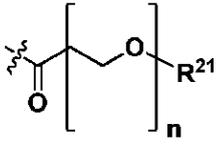
40

によって表されるものまたは薬学的に許容されるその塩を含み、式中、PEG単位は、本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて記載された通りであり、分散性または非分散性でよく、 n は、6～72、8～72、10～72、12～72、12～38、12～36、6～24、または最も好ましくは8～24もしくは12～24の範囲の整数であり、 R^{PR} は、水素または保護基、例えば、酸に不安定な保護基、例えば、BOCである。一部の実施形態では、 n は、8、10、12または24である。分散性PEG単位前駆体を使用して調製したりリガンド-薬物コンジュゲートの集団（すなわち、LDC組成物）について、この前駆体は好ましくは、約6～72個、8～72個、10～72個、12～72個、12～38個、12～36個、6～24個、もしくは最も好ましくは8～約

50

24個のサブ単位、または約12～約38個のサブ単位を有するPEG単位に対応するピーク平均MWを有する。PEGが非分散性であるとき、LDC組成物の各LDCは典型的には、同じ数のPEGサブ単位(-OCH₂CH₂)、すなわち、同じ整数値のnを有するPEG単位を有する。非分散性PEG単位は、例えば、

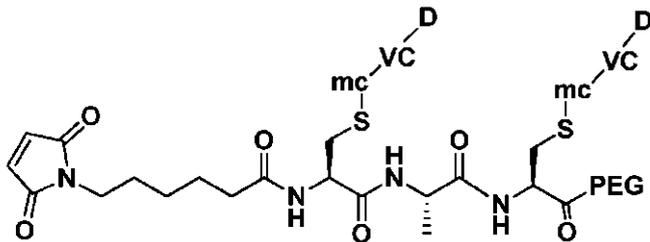
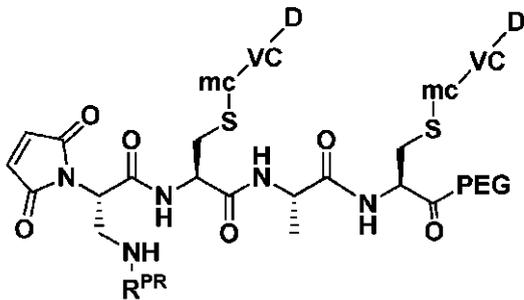
【化108】



の構造を有し得、式中、R²¹は、PEGキャッピング単位、好ましくは-CH₃または-CH₂CH₂CO₂Hであり、nは、8～12、8～24または12～38の範囲の整数である。

【0407】

2倍の薬物負荷量を実現する本発明の例示的な薬物-リンカー化合物は、下記の構造、
【化109-1】



10

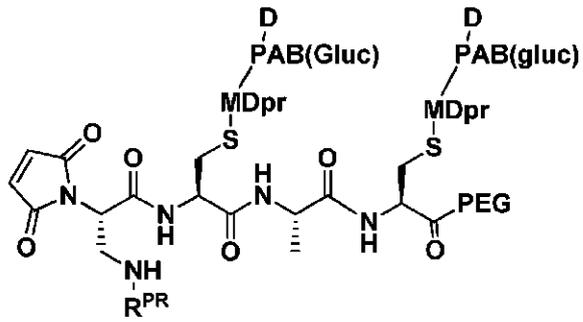
20

30

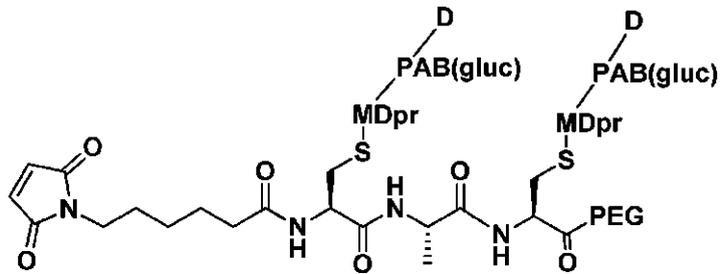
40

50

【化109-2】



10

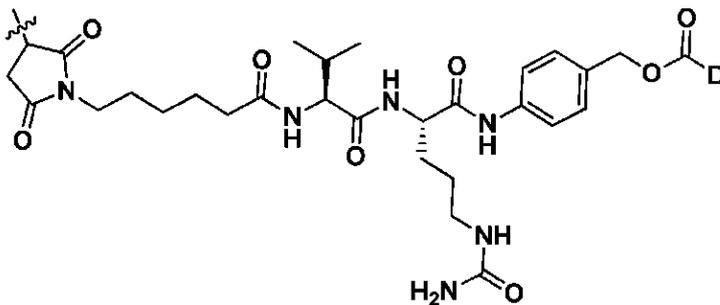


20

および $m c - V C - P A B - D$ が、 $m c - V A - P A B - D$ または $m c - V A - D$ または任意の他の $X - D$ 単位で置き換えられている構造によって表されるものを含み、式中、 R^{PR} は、水素または保護基、例えば、酸に不安定な保護基、例えば、 $B O C$ であり、

$m c - V C - P A B - D$ は、

【化110】

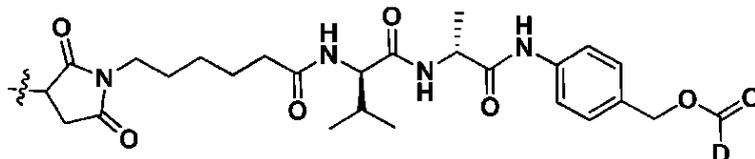


30

の構造を有し、

$m c - V A - P A B - D$ は、

【化111】



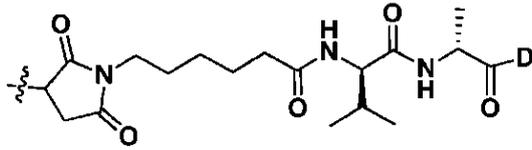
40

の構造を有し、

$m c - V A - D$ は、

50

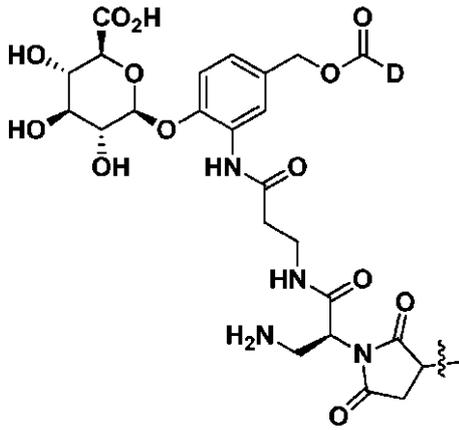
【化 1 1 2】



の構造を有し、

MDpr-PAB(gluc)-Dは、

【化 1 1 3】

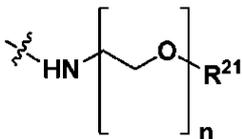


の構造を有し、

mc-VC-PAB-D、mc-VA-PAB-D、mc-VA-D、およびMDpr-PAB(gluc)-Dは、PEG化された足場に結合した例示的な-X-D部分であり、波線は、PEG化された足場の硫黄へのmcまたはMDprのスクシイミド環の共有結合を示し、

PEGは、本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて記載されている通りであり、分散性PEG単位前駆体を使用して調製したLDCの集団を記載するとき、分散性でよく（ここで分散性PEG単位前駆体は好ましくは、約8～約24個のサブ単位または約12～約38個のサブ単位のnを有するPEG単位に対応するピーク平均MWを有する）、または非分散性である（整数値のnを有するPEG単位として定義され、LDC組成物の各LDCは、同じ整数値のnを有するPEG単位を有する）。一部の実施形態では、非分散性PEG単位は、

【化 1 1 4】



の構造を有し、式中、 R^{21} は、PEGキャッピング単位、好ましくは $-CH_3$ または $-CH_2CH_2CO_2H$ であり、波線は、PEG化された足場へのPEG単位の共有結合を示し、nは、8～24または12～38の範囲の整数である。

【0 4 0 8】

一部の実施形態では、mc-VC-PAB-D、mc-VA-D、およびmc-VA-PAB-D中のmc部分（このmc部分が存在する上記の構造のいずれかにおいて、mc部分は、

10

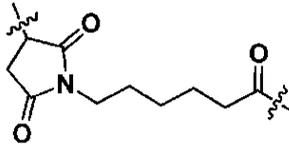
20

30

40

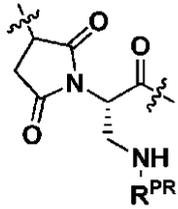
50

【化 1 1 5】



の構造を有し、式中、スクシンイミド部分への波線は、PEG化された足場への共有結合を示し、カルボニルへの波線は、-X-Dの残部への共有結合を示す)は、

【化 1 1 6】



(式中、 R^{PR} は、水素または保護基である)の構造を有するMDpr部分で置き換えられており、MDpr-VC-PAB-D、MDpr-VA-DおよびMDpr-VA-PAB-Dを提供し、これはさらなる例示的な-X-D部分である。

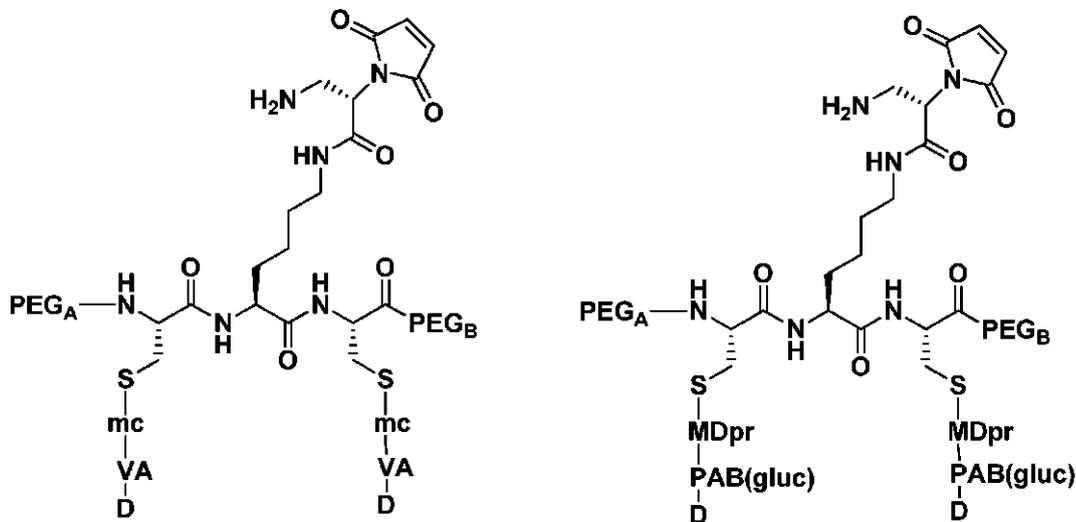
【0 4 0 9】

MDpr含有-X-D部分のいずれか1つにおけるMDpr中の置換スクシンイミドは、加水分解された形態で存在し得ることが理解される(すなわち、カルボニル-窒素結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される)。mcからなる-X-D部分はまた、加水分解された形態のそのスクシンイミド環を有し得る。

【0 4 1 0】

2倍の薬物負荷量を実現する本発明の他の例示的な薬物-リンカー化合物は、下記を含み、

【化 1 1 7 - 1】



10

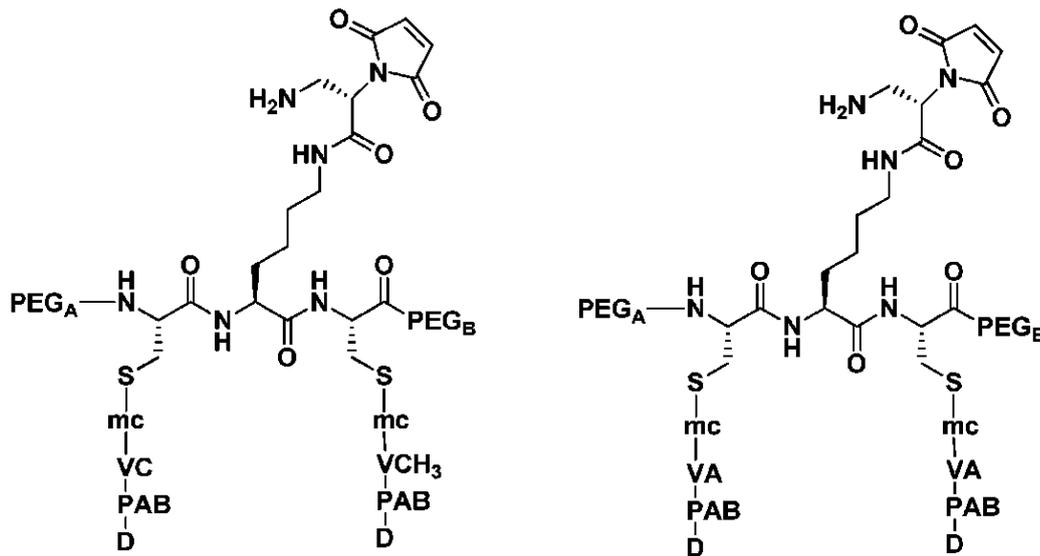
20

30

40

50

【化 1 1 7 - 2】



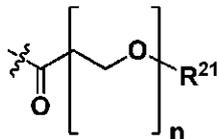
10

式中、mc - VA - D、mc - VC - PABA - D、mc - VA - PABA - Dおよび MDpr - PAB (gluc) - Dは、上記の2倍の薬物負荷量構造について記載したような例示的な - X - D部分であり、独立に選択される PEG_Aおよび PEG_Bは、本明細書において提供する PEG 単位についての実施形態のいずれかにおいて記載する通りであり、分散性 PEG 単位前駆体を使用して調製したリガンド - 薬物コンジュゲートの集団（すなわち、LDC 組成物）について言及するとき、分散性でよく、ここで分散性 PEG 単位前駆体は好ましくは、約 8 ~ 約 24 個のサブ単位または約 12 ~ 約 38 個のサブ単位の n を有する PEG 単位に対応するピーク平均 MW を有し、あるいは PEG_Aは、非分散性である（すなわち、この ADC からなる LDC 組成物の各 LDC が同じ整数値の n を有する PEG 単位を有するように、整数値によって同定される異なる数の PEG サブ単位を有する PEG 単位）。一部の実施形態では、PEG_Aは、

20

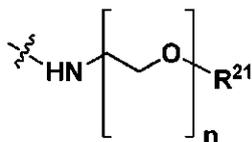
30

【化 1 1 8】



の構造を有する非分散性 PEG 単位であり、かつ / または PEG_Bは、

【化 1 1 9】



40

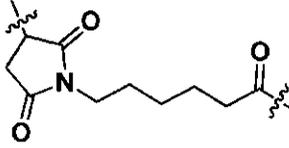
の構造を有する非分散性 PEG 単位であり、式中、各 R²¹は、独立に選択した PEG キャッピング単位であり、独立に選択される n のそれぞれの場合には、8 ~ 24 または 12 ~ 38 の範囲の整数である。好ましい実施形態では、1 個の R²¹は、- CH₃であり、他方は、- CH₂CH₂CO₂H である。

【0 4 1 1】

一部の実施形態では、mc 部分が存在する上記の構造のいずれかにおける

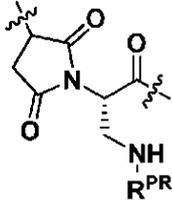
50

【化 1 2 0】



の構造を有する m c 部分は、

【化 1 2 1】



10

の構造（式中、 R^{PR} は、水素または保護基である）を有する MD p r 部分で置き換えられており、MD p r - VC - PAB - D、MD p r - VA - D および MD p r - VA - PAB - D を - X - D として提供する。

20

【0 4 1 2】

他の実施形態では、MD p r 部分が存在する上記の構造における MD p r 部分は、m c 部分で置き換えられており、m c - PAB (gluc) D を - X - D として提供する。

【0 4 1 3】

MD p r 含有 - X - D 部分のいずれかの 1 つにおける MD p r 中の置換スクシンイミドは、加水分解された形態で存在し得ることが理解される（すなわち、カルボニル - 窒素結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される）。m c からなる - X - D 部分はまた、加水分解された形態のそのスクシンイミド環を有し得る。

【0 4 1 4】

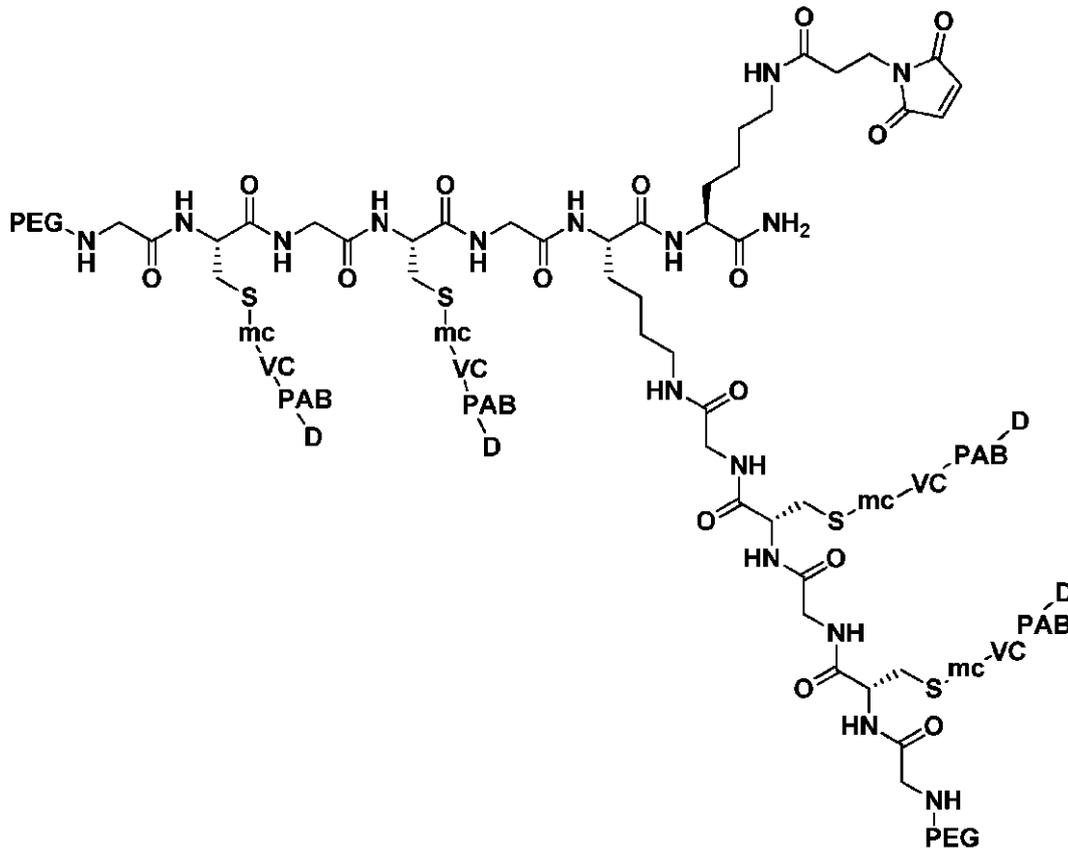
4 倍の薬物負荷量を実現する本発明の例示的な薬物 - リンカー化合物は、下記を含み、

30

40

50

【化 1 2 2】



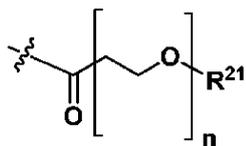
10

20

式中、 $mc-VC-PAB-D$ は、上記の2倍の薬物負荷量構造について記載される通りであり、PEGは、本明細書において提供する実施形態のいずれかに記載されている通りであり、分散性PEG単位前駆体を使用して調製したリガンド-薬物コンジュゲート（すなわち、LDC組成物）の集団について言及するとき、分散性でよく（分散性PEG単位前駆体は好ましくは、約8～約24個のサブ単位または約12～約38個のサブ単位の n を有するPEG単位に対応するピーク平均MWを有する）、または非分散性である（すなわち、このADCからなるLDC組成物の各LDCが同じ整数値の n を有するPEG単位を有するように、整数値によって同定される異なる数のPEGサブ単位を有するPEG単位）。一部の実施形態では、非分散性PEG単位は、

30

【化 1 2 3】



40

の構造を有し、式中、 R^{21} は、PEGキャッピング単位であり、波線は、PEG化された足場への共有結合を示し、 n は、8～24または12～38の範囲の整数である。好ましくは R^{21} は、 $-CH_3$ または $-CH_2CH_2CO_2H$ である。

【0 4 1 5】

一部の実施形態では、 $-X-D$ 部分としての $mc-VC-PAB-D$ を、 $MDpr-VC-PAB-D$ 、 $mc-VA-PAB-D$ および $MDpr-VA-PAB-D$ を含めた本明細書に記載されている $-X-D$ 部分のいずれかの1つで置き換える。

【0 4 1 6】

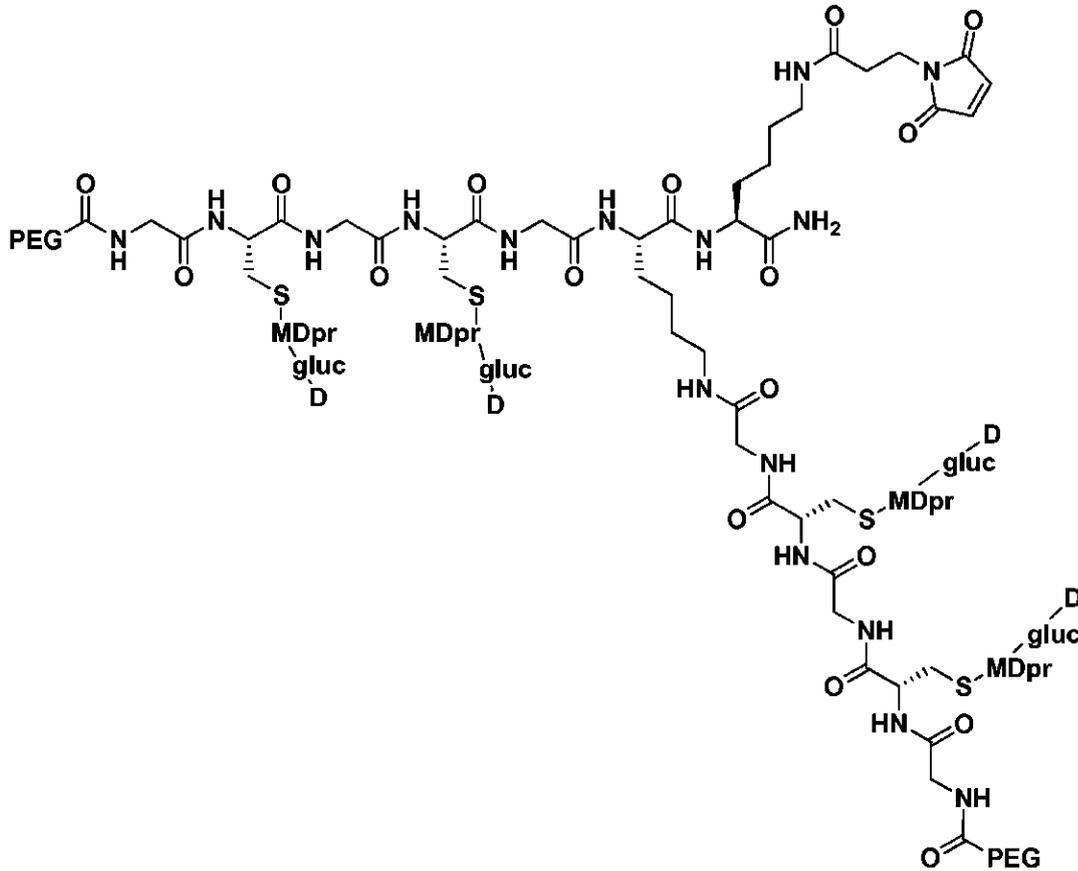
50

M D p r 含有 - X - D 部分のいずれかの 1 つにおける M D p r 中の置換スクシンイミドは、加水分解された形態で存在し得ることが理解される（すなわち、カルボニル - 窒素結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される）。m c からなる - X - D 部分はまた、加水分解された形態でそのスクシンイミド環を有し得る。

【 0 4 1 7 】

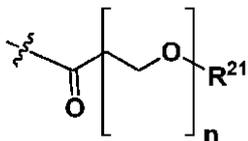
4 倍の薬物負荷量を実現する本発明の他の例示的な薬物 - リンカー化合物は、下記を含み、

【 化 1 2 4 】



式中、M D p r - P A B (g l u c) - D は、上記の 2 倍の薬物負荷量構造について記載した通りであり、P E G は、本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて記載される場合、分散性 P E G 単位前駆体を使用して調製されたりガンド - 薬物コンジュゲートの集団（すなわち、L D C 組成物）に言及するとき、分散性でよく、ここで分散性 P E G 単位前駆体は好ましくは、約 8 ~ 約 2 4 個のサブ単位または約 1 2 ~ 約 3 8 個のサブ単位の n を有する P E G 単位に対応するピーク平均 M W を有し、あるいは P E G_A は、非分散性である（すなわち、この A D C からなる L D C 組成物の各 L D C は同じ整数値の n を有する P E G 単位を有するように、整数値によって同定される異なる数の P E G サブ単位を有する P E G 単位）。一部の実施形態では、非分散性 P E G 単位は、

【 化 1 2 5 】



の構造を有し、式中、R²¹ は、P E G キャッピング単位であり、波線は、P E G 化され

10

20

30

40

50

た足場への共有結合を示し、 n は、 $8 \sim 24$ または $12 \sim 38$ の範囲の整数である。好ましくは R^{21} は、 $-CH_3$ または $-CH_2CH_2CO_2H$ である。

【0418】

一部の実施形態では、 $-X-D$ 部分としてのMDpr-PAB(gluc)-Dは、mc-PAB(gluc)-Dで置き換えられている。

【0419】

MDpr含有 $-X-D$ 部分のいずれかの1つにおけるMDpr中の置換スクシンイミドは、加水分解された形態で存在し得ることが理解される(すなわち、カルボニル-窒素結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される)。mcからなる $-X-D$ 部分はまた、加水分解された形態のそのスクシンイミド環を有し得る。

10

【0420】

本発明の例示的なりガンド-薬物コンジュゲートは、下記の構造、

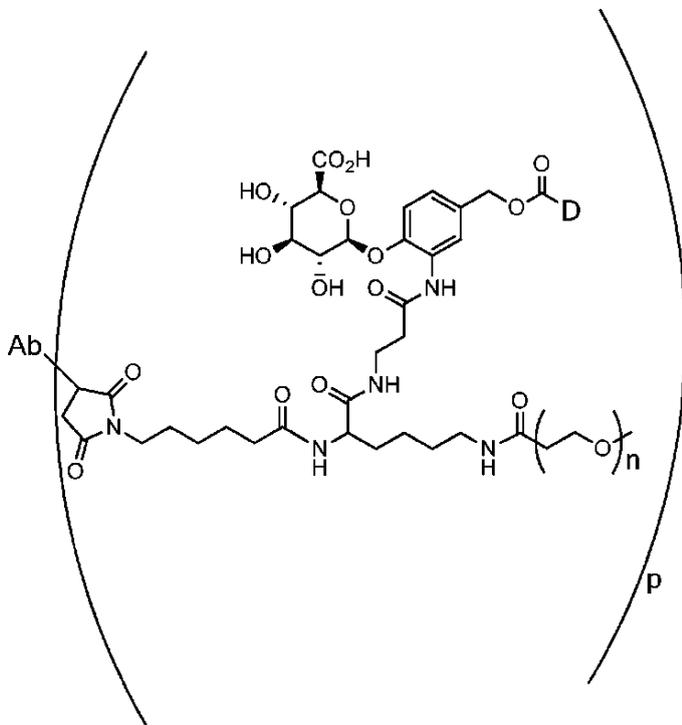
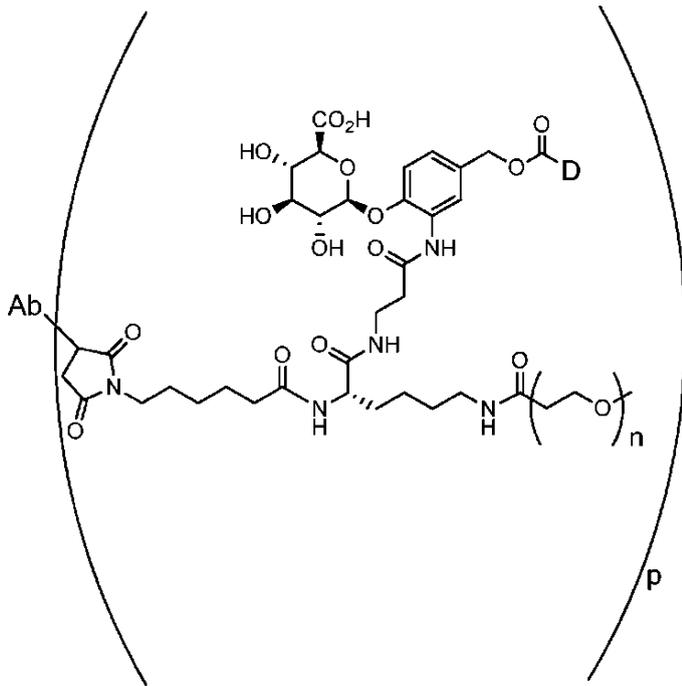
20

30

40

50

【化 1 2 6 - 1】



10

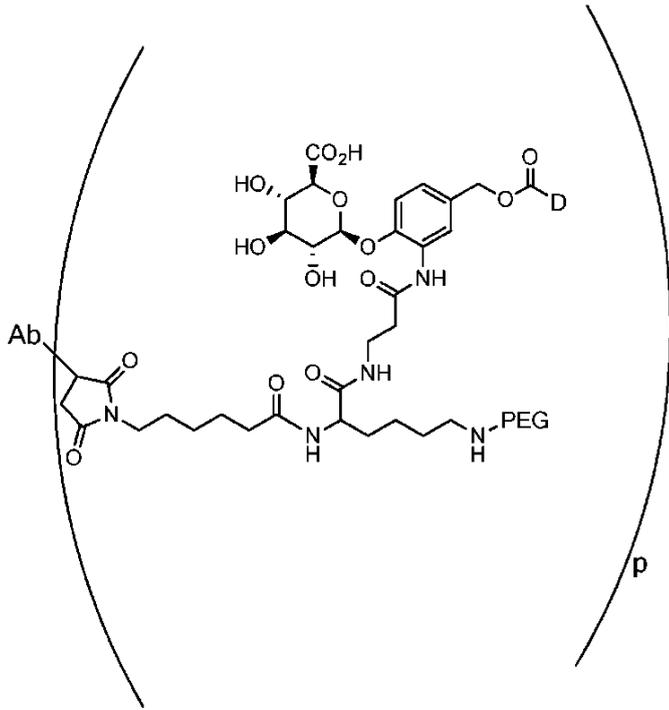
20

30

40

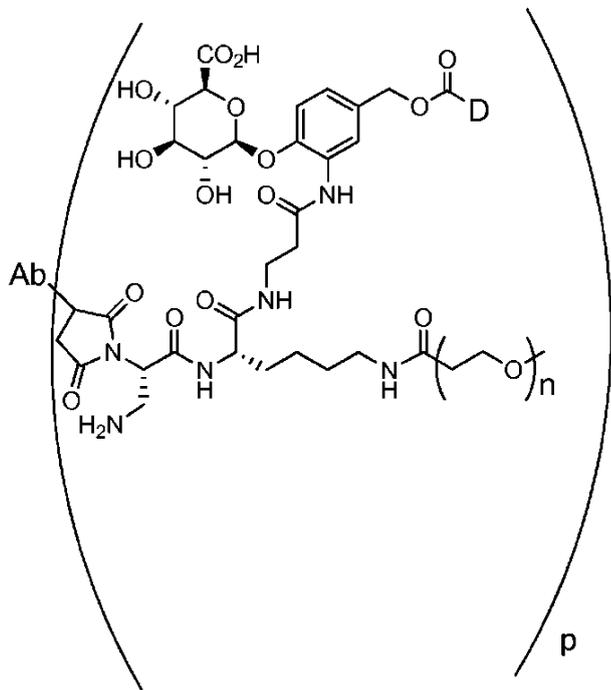
50

【化 1 2 6 - 2】



10

20

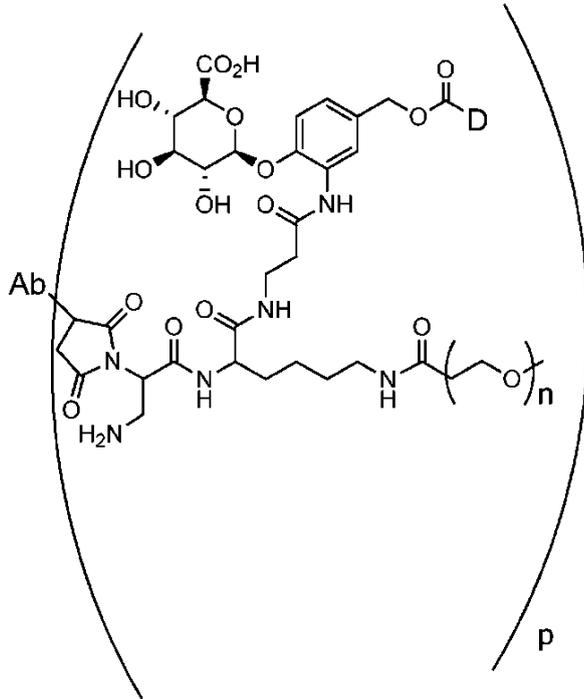


30

40

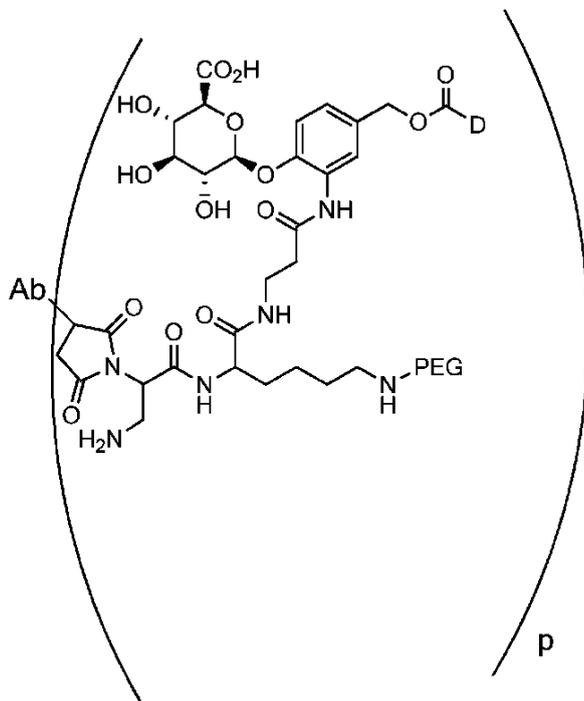
50

【化 1 2 6 - 3】



10

20



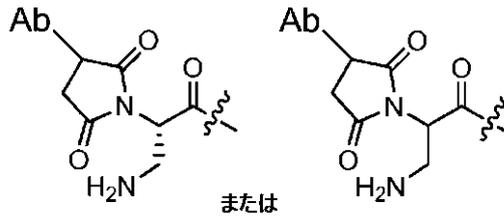
30

40

によって表されるものまたは薬学的に許容されるその塩を含み、式中、pは、1～14、好ましくは2～12、6～12、8～12、または8～10の範囲の整数であり、Abは、抗体、好ましくはモノクローナル抗体であり、Dは、薬物単位であり、nは、6～72、8～72、10～72、12～72、12～36または38、6～24、または最も好ましくは8～24の範囲の整数である。PEGは、PEG単位について本明細書において提供する実施形態のいずれかに記載されている通りである。特に、

50

【化 1 2 7】



(式中、波線は、抗体 - 薬物コンジュゲートの薬物 - リガンド部分の残部への共有結合を示す) などの部分からなる抗体 - 薬物コンジュゲートについて、Ab - 置換スクシンイミドは、加水分解された形態で存在し得ることが理解される (すなわち、カルボニル - 窒素結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される)。

10

【0 4 2 1】

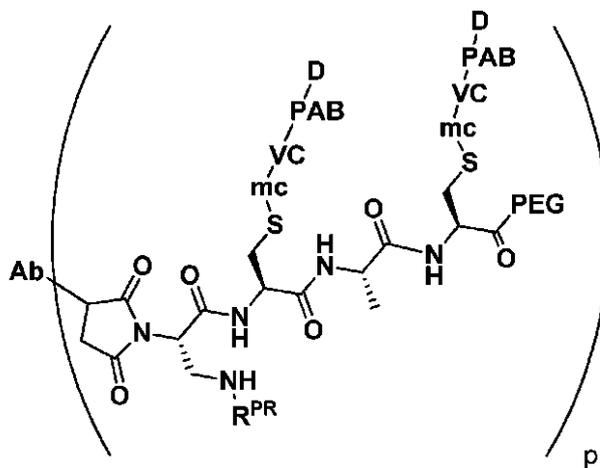
上記の代表的な構造はまた、組成物を表すことができ、この場合、p は、組成物中のリガンド当たりの薬物 - リンカーの平均数を表すことが理解される。そのような実施形態では、p は典型的には、整数値ではなく、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12、6 ~ 12、8 ~ 12、または 8 ~ 10 の範囲でよい。

【0 4 2 2】

2 倍の薬物負荷量を実現する本発明の例示的なリガンド - 薬物コンジュゲートは、下記の構造、

20

【化 1 2 8 - 1】

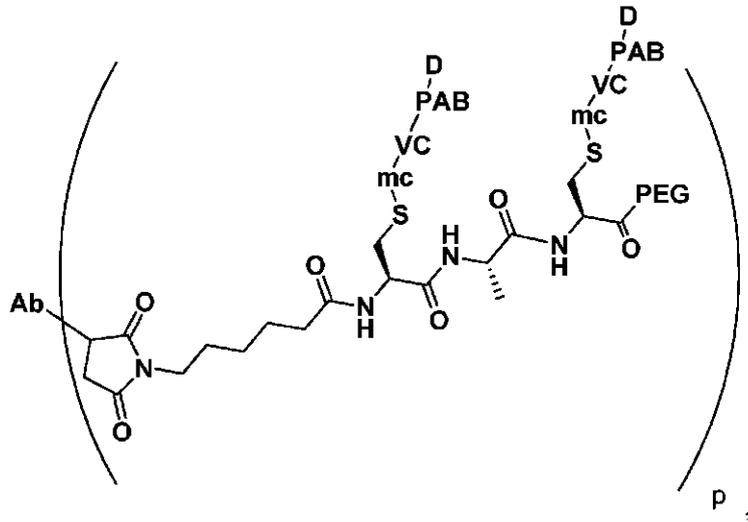


30

40

50

【化 1 2 8 - 2】

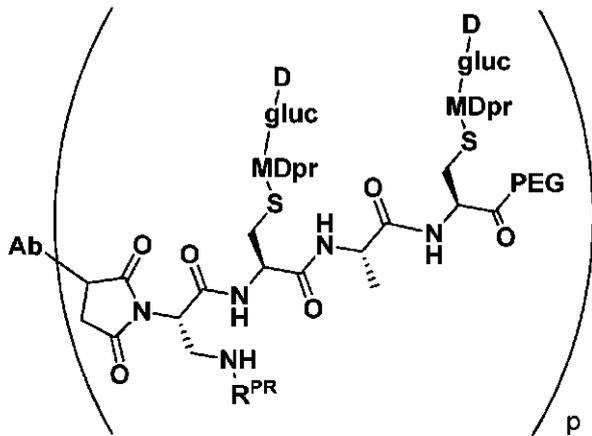


10

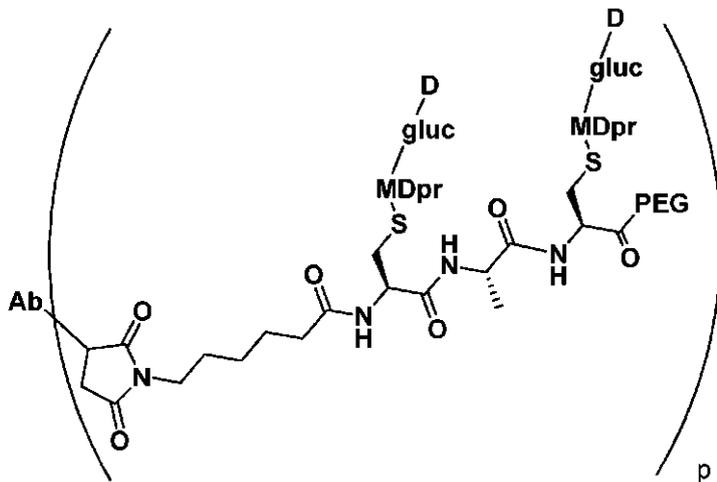
および - X - D 部分 mc - VC - PAB - D が mc - VA - PAB - D および MDpr - VA - PAB - D を含めた本明細書に記載されている - X - D 部分のいずれかの 1 つで置き換えられている構造、

20

【化 1 2 9】



30



40

によって表されるものまたは薬学的に許容されるその塩を含み、式中、p は、1 ~ 14、好ましくは 2 ~ 12、6 ~ 12、8 ~ 12、または 8 ~ 10 の範囲の整数であり、Ab は

50

、抗体、好ましくはモノクローナル抗体であり、Dは、薬物単位であり、nは、6～72、8～72、10～72、12～72、12～36または38、6～24、または最も好ましくは8～24の範囲の整数である。PEGは、PEG単位について本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて記載された通りである。AbまたはSに結合している置換スクシンイミドは、加水分解された形態で存在し得ることが理解される（すなわち、カルボニル-窒素結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される）。

【0423】

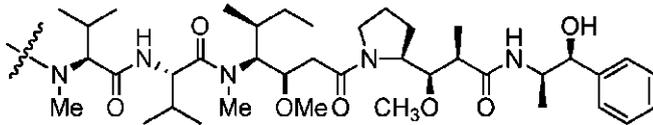
Abで置換されているMDpr部分中、または-X-D部分中のスクシンイミドは、加水分解された形態で存在し得ることが理解される（すなわち、カルボニル-窒素結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される）。Abで置換されているmc部分中、または-X-D部分中のスクシンイミドはまた、加水分解された形態で存在することができる。

10

【0424】

上記の実施形態のいずれかにおいて、薬物単位Dは、下記のようなMMAEでよく、式中、波線は、薬物-リンカー部分の残部への結合の部位を示す。

【化130】



20

【0425】

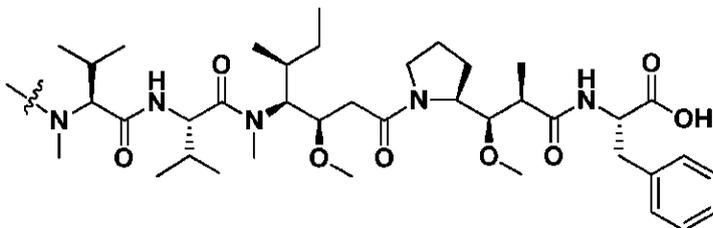
DがMMAEであるものを含めて一部の好ましい態様では、pは、6、7、8、9、10、11、または12である。DがMMAEであるものを含めて一部の実施形態では、抗体は、抗体のシステイン残基の硫黄原子を介してリンカーにコンジュゲートしている。システイン残基は、天然に存在するもの、または天然に存在しないものでよい。例えば、一部の態様では、システインは、鎖間のジスルフィドからである。他の態様では、システイン残基は、導入されたシステイン（例えば、239位において導入されたシステイン）からである。一部の態様では、抗体は、その鎖間のジスルフィドを介して、および導入されたシステインを介して薬物-リンカーに結合する。

30

【0426】

上記の実施形態のいずれかにおいて、薬物単位Dは、下記のようなMMAFでよく、式中、波線は、薬物-リンカー部分の残部への結合の部位を示す。

【化131】



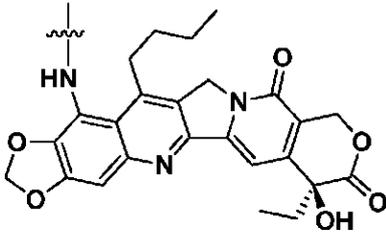
40

【0427】

上記の実施形態のいずれかにおいて、薬物単位Dは、下記のようなカンプトテシン自体について例示したカンプトテシン化合物でよく、式中、波線は、薬物-リンカー部分の残部への結合の部位を示す。

50

【化 1 3 2】

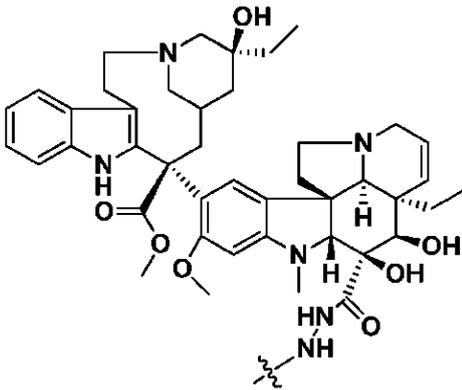


【 0 4 2 8】

10

上記の実施形態のいずれかにおいて、薬物単位 D は、下記のようなピンプラスチンヒドライドについて例示したようなピンカ化合物でよく、式中、波線は、薬物 - リンカー部分の残部への結合の部位を示す。

【化 1 3 3】



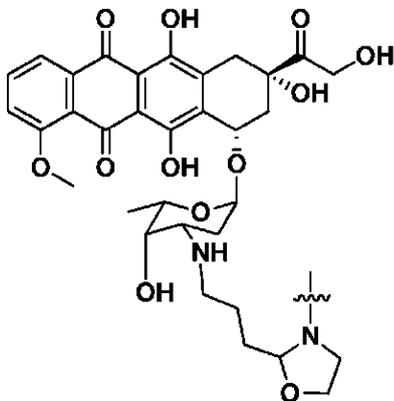
20

【 0 4 2 9】

上記の実施形態のいずれかにおいて、薬物単位 D は、下記のように例示されるアントラサイクリン化合物でよく、式中、波線は、薬物 - リンカー部分の残部への結合の部位を示す。

30

【化 1 3 4】



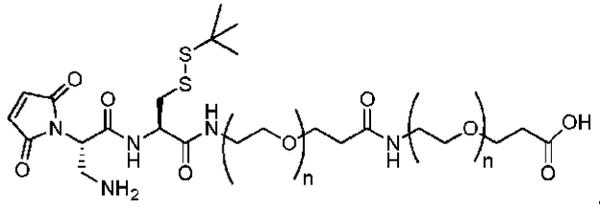
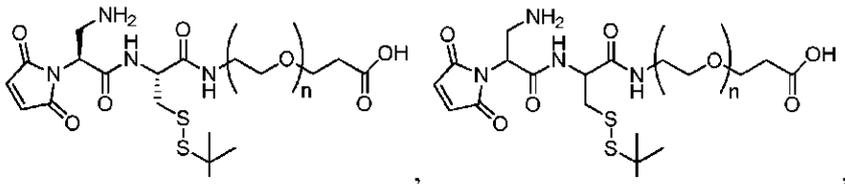
40

【 0 4 3 0】

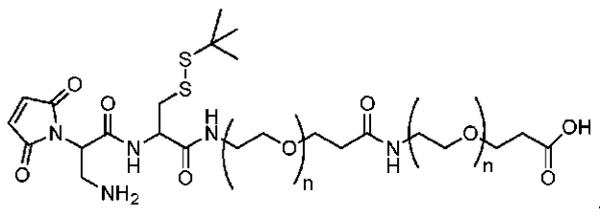
本発明のチオール保護されたリンカー中間化合物および対応するリガンド - リンカー化合物中の例示的な PEG 化された足場は、下記、

50

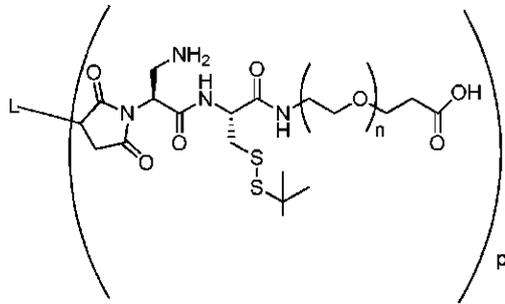
【化 1 3 5 - 1】



10



20

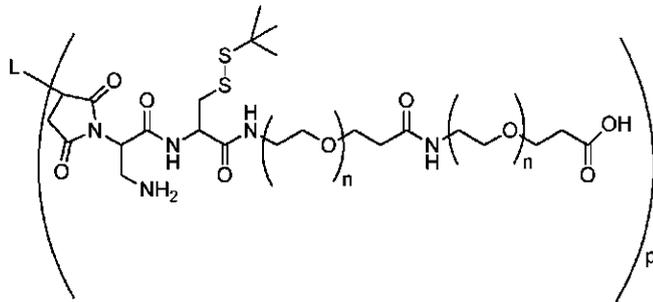
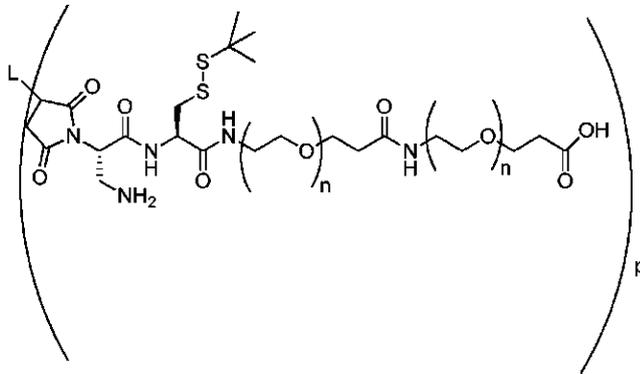
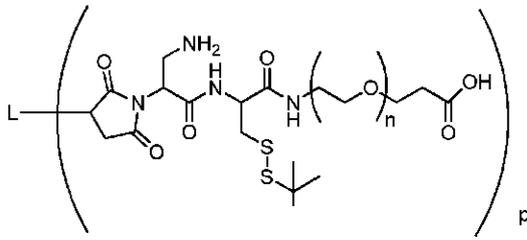


30

40

50

【化 1 3 5 - 2】



10

20

30

または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、
 n は、2 ~ 72、好ましくは4 ~ 72または8 ~ 72または8 ~ 24であり、
 p は、1 ~ 14、好ましくは約2 ~ 約12であり、
 $A b$ は、抗体、好ましくはモノクローナル抗体である。

【0431】

上記の式において、リガンド - 置換スクシンイミドは、これらの加水分解された形態で存在し得ることが理解される（すなわち、スクシンイミドのC - N結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される）。さらに、上記の実施形態のいずれかにおいて、*t*-ブチルチオール保護基は、任意の他の適切なチオール保護基で置き換えることができる。

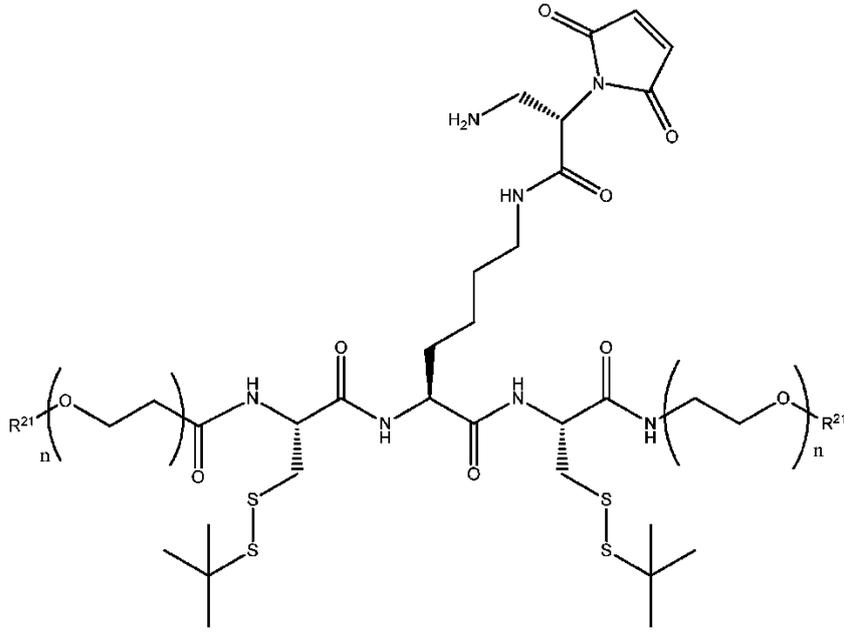
【0432】

本発明のリンカー中間化合物および対応するリガンド - リンカー化合物としての例示的な多重化されたPEG化された足場は、下記を含み、

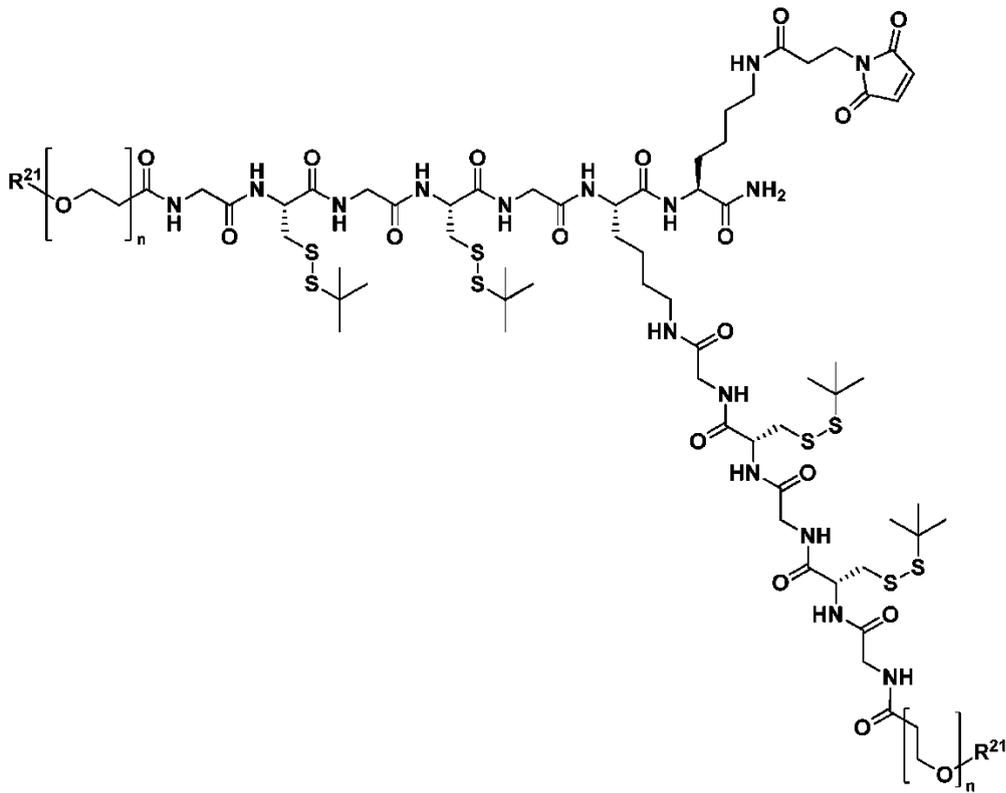
40

50

【化 1 3 6 - 1】



10



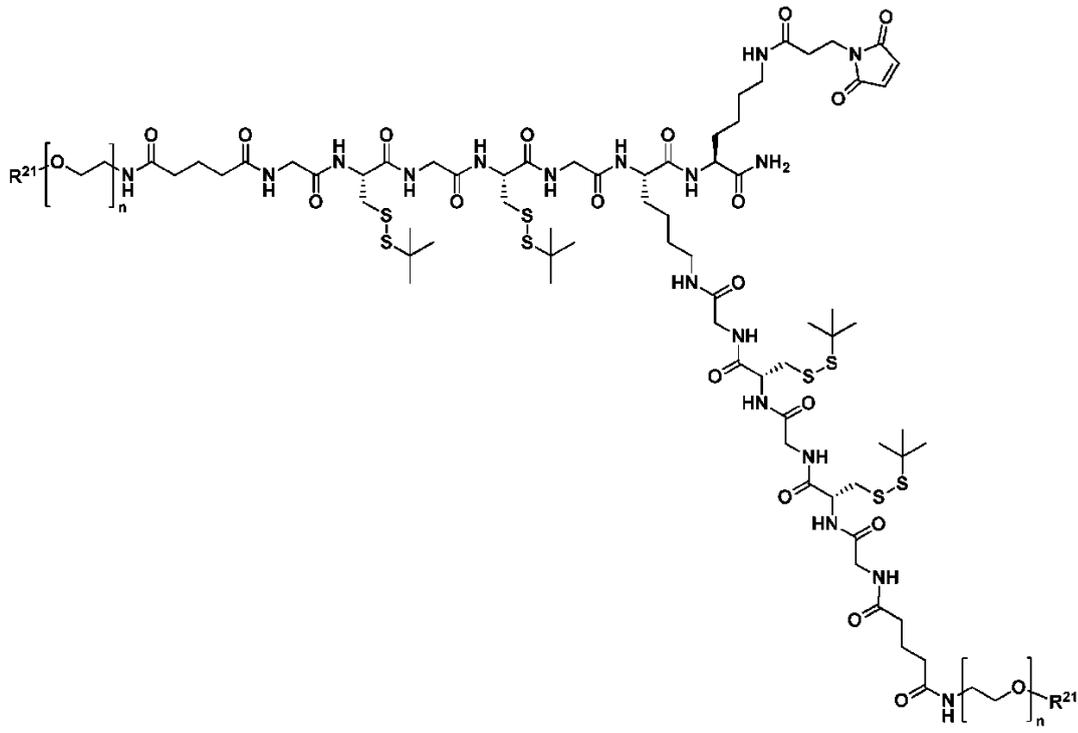
20

30

40

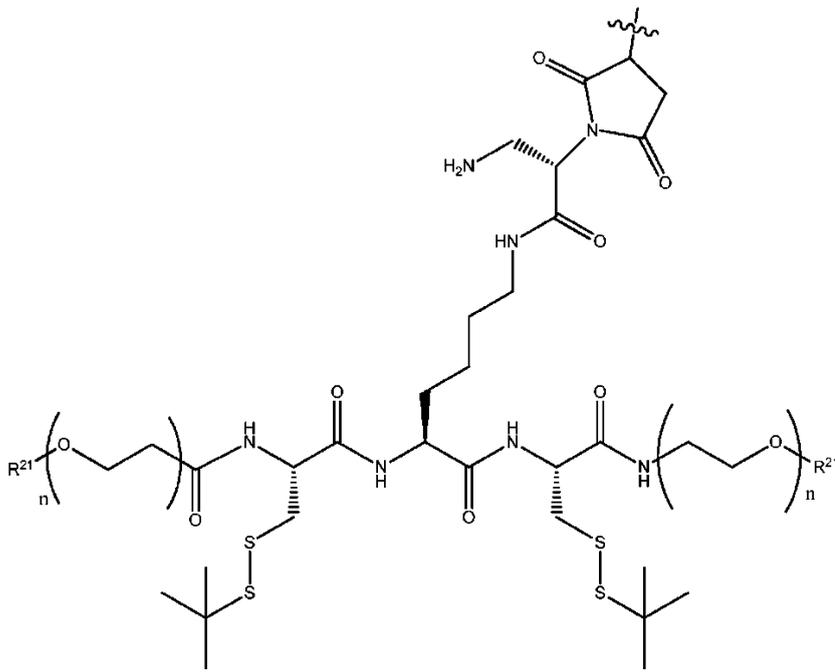
50

【化 1 3 6 - 2】



10

20

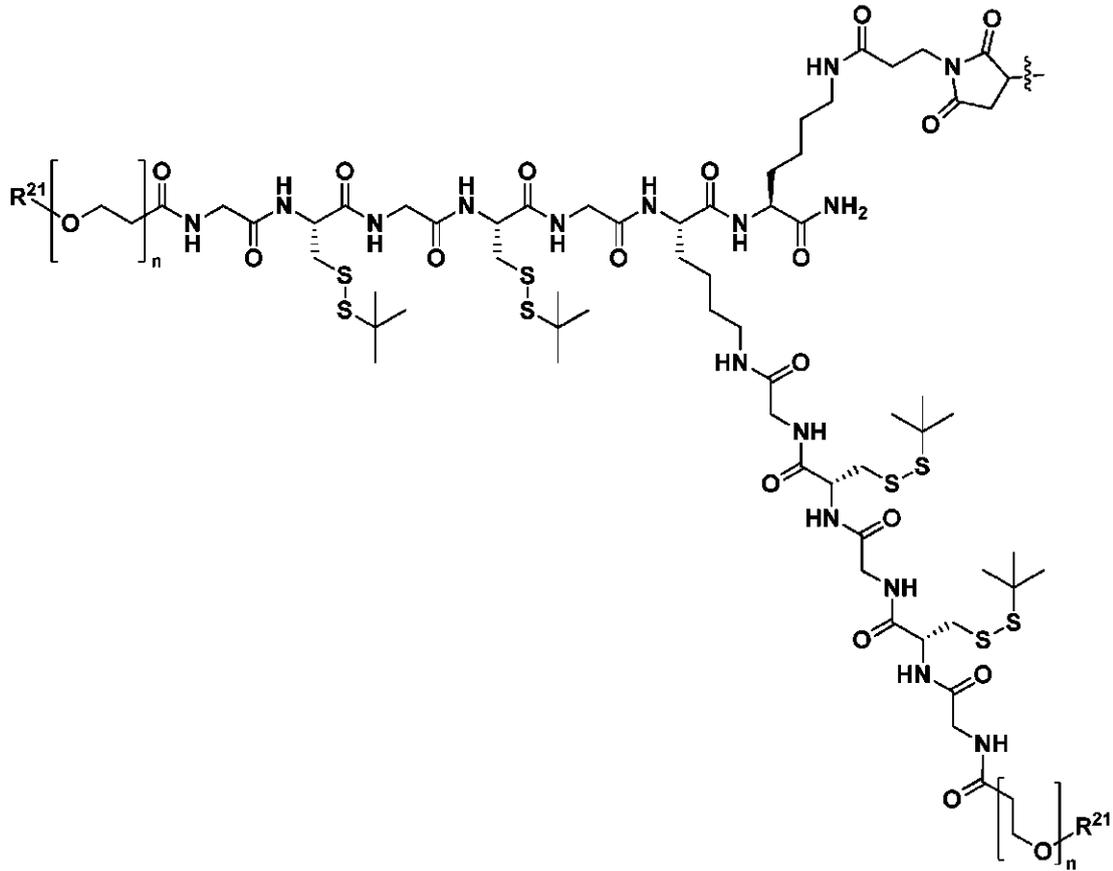


30

40

50

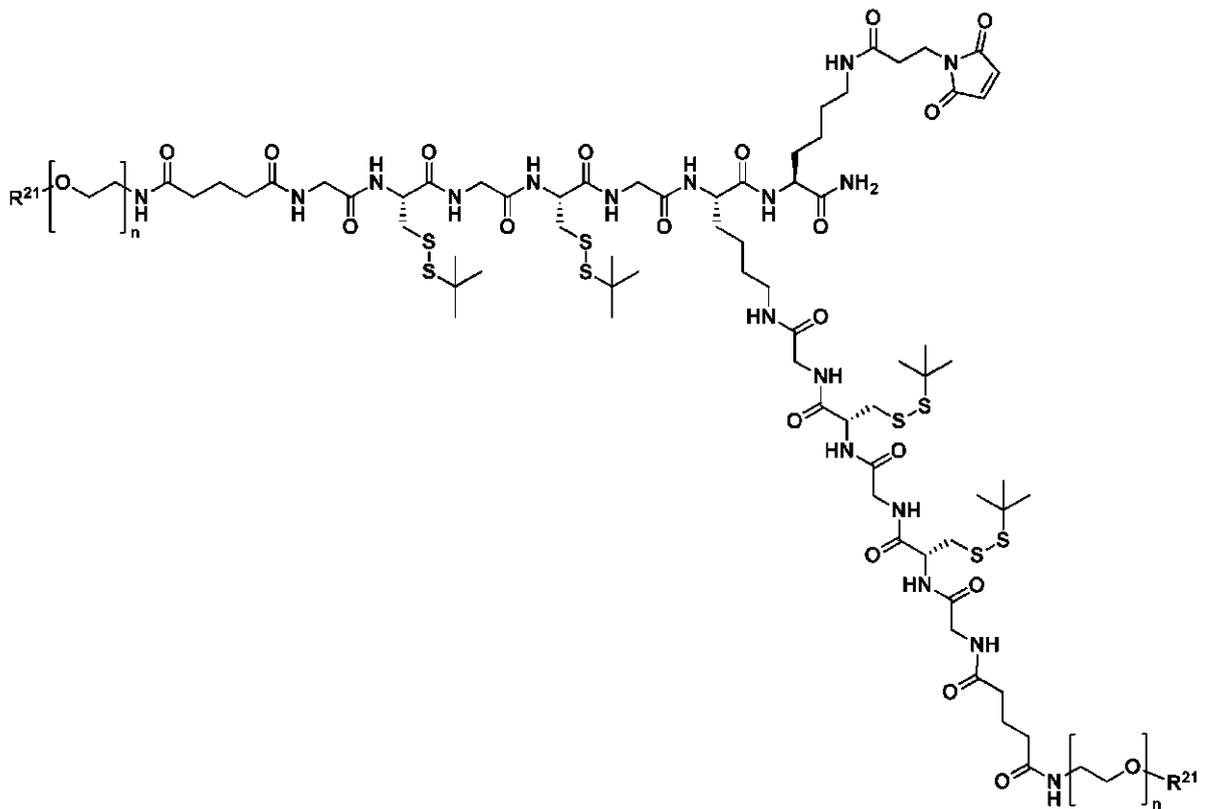
【化 1 3 6 - 3】



10

20

【化 1 3 6 - 4】



30

40

式中、波線は、リガンド単位への共有結合による結合を示し、 R^{21} は、独立に選択した

50

PEGキャッピング基、好ましくはメチルまたは3-プロピオン酸であり、nは、独立に、2~72、好ましくは4~72または8~72または8~24の範囲であり、24がより好ましい。チオール保護基は、別の適切なチオール保護基で置き換えることができる。

【0433】

一部の好ましい実施形態では、pは、6、7、8、9、10、11、または12である。一部の実施形態では、抗体は、抗体のシステイン残基の硫黄原子を介してリンカーにコンジュゲートしている。システイン残基は、天然に存在するもの、または天然に存在しないものでよい。例えば、一部の実施形態では、システインは、鎖間のジスルフィドからである。他の実施形態では、システイン残基は、導入されたシステイン（例えば、239位において導入されたシステイン）からである。一部の実施形態では、抗体は、その鎖間のジスルフィドおよび導入されたシステインを介して薬物-リンカーに結合している。

10

【0434】

本発明の一部の態様では、リガンド-薬物コンジュゲートのリガンド単位および薬物単位の間には50個以下、45個以下、40個以下、35個以下、30個以下、または25個以下の介在する原子が存在する。本発明の一部の態様では、リガンド-薬物コンジュゲートのリガンド単位および切断可能な単位の間には40個以下、35個以下、30個以下、または25個以下の介在する原子が存在する。

【0435】

一部の実施形態では、PEG単位中の原子が存在するより、リガンド-薬物コンジュゲートのリガンドおよび薬物単位の間により少ない介在する原子が存在する。一部の実施形態では、PEG単位中の原子が存在するより、リガンド-薬物コンジュゲートのリガンドおよび切断可能な単位の間により少ない介在する原子が存在する。

20

【0436】

一部の実施形態では、PEG単位の遠位端部と並列コネクタ単位との間に介在する原子が存在するより、リガンド-薬物コンジュゲートのリガンドおよび薬物単位の間により少ない介在する原子が存在する。一部の実施形態では、PEG単位の遠位端部と並列コネクタ単位との間に介在する原子が存在するより、リガンド-薬物コンジュゲートのリガンドおよび切断可能な単位の間により少ない介在する原子が存在する。

【0437】

本発明の好ましい実施形態では、薬物は、好ましくはアウリスタチン（例えば、MMAE、またはMMAEと匹敵するもしくはより大きな疎水性を有するアウリスタチン）であり、放出可能なアセンブリ単位は、ベータ-グルクロニダーゼによって切断可能なグルクロニド単位を含み、PEG単位は、少なくとも6個、少なくとも8個、少なくとも10個、または少なくとも12個のサブ単位ではあるが72個以下のサブ単位、好ましくは36個以下または24個以下のサブ単位を含む。好ましい態様では、PEG単位は、約8~約24個のサブ単位、最も好ましくは約12個のサブ単位を含む。リガンド-薬物コンジュゲートまたはその中間体の他の構成要素は、本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて記載されている通りであり得る。

30

【0438】

本発明の好ましい組成物は、リガンド-薬物コンジュゲートの集団を含み、ここでリガンド単位は、抗体（例えば、インタクトな抗体）であり、薬物単位は、アウリスタチンまたは非アウリスタチン（好ましくはアウリスタチン、例えば、MMAEまたはMMAEと匹敵するもしくはより大きな疎水性を有するアウリスタチン）であり、放出可能なアセンブリ単位は、ベータ-グルクロニダーゼによって切断可能なグルクロニド単位を含み、PEG単位は、少なくとも6個、少なくとも8個、少なくとも10個、または少なくとも12個のサブ単位ではあるが、72個以下のサブ単位、好ましくは36個以下または24個以下のサブ単位を含む、組成物中の抗体当たりの薬物-リンカー部分の平均数は、少なくとも6、または少なくとも約8である。好ましい態様では、PEG単位は、約8~約24個のサブ単位、最も好ましくは約12個のサブ単位を含む。リガンド-薬物コンジュゲートの他の構成要素は、本明細書において提供する実施形態のいずれかにおいて記載され

40

50

ている通りであり得る。

使用方法

がんの処置

【0439】

リガンド-薬物コンジュゲートは、腫瘍細胞もしくはがん細胞の増殖を阻害し、腫瘍もしくはがん細胞においてアポトーシスをもたらす、または患者においてがんを処置するのに有用である。したがって、がんの処置のための種々の状況においてリガンド-薬物コンジュゲートを使用することができる。リガンド-薬物コンジュゲートを使用して、薬物を腫瘍細胞またはがん細胞に送達することができる。理論に束縛されるものではないが、一実施形態では、リガンド-薬物コンジュゲートのリガンド単位は、がん細胞もしくは腫瘍細胞関連抗原に結合し、または会合し、リガンド-薬物コンジュゲートは、受容体媒介エンドサイトーシスまたは他の内部移行機序によって腫瘍細胞またはがん細胞内に取り込まれる（内部移行する）ことができる。抗原は、腫瘍細胞もしくはがん細胞に結合することができ、または腫瘍細胞もしくはがん細胞と関連している細胞外マトリックスタンパク質でよい。細胞内に入ると、薬物は、切断可能な機序によって細胞内で放出される。代替の実施形態では、薬物または薬物単位は、腫瘍細胞またはがん細胞の外でリガンド-薬物コンジュゲートから切断され、薬物または薬物単位はそれに続いて、細胞に浸透する。

10

【0440】

一実施形態では、リガンド単位は、腫瘍細胞またはがん細胞に結合する。

【0441】

別の実施形態では、リガンド単位は、腫瘍細胞またはがん細胞の表面上にある腫瘍細胞抗原またはがん細胞抗原に結合する。

20

【0442】

別の実施形態では、リガンド単位は、腫瘍細胞またはがん細胞と関連する細胞外マトリックスタンパク質である腫瘍細胞抗原またはがん細胞抗原に結合する。

【0443】

特定の腫瘍細胞またはがん細胞についてのリガンド単位の特異性は、最も効果的に処置されるこれらの腫瘍またはがんを決定するために重要であり得る。例えば、造血性のがんに存在するがん細胞抗原を標的とするリガンド-薬物コンジュゲートは、血液悪性腫瘍を処置するために有用であり得る（例えば、抗CD30、抗CD70、抗CD19、抗CD33結合リガンド単位（例えば、抗体）は、血液悪性腫瘍を処置するのに有用であり得る）。固形腫瘍に存在するがん細胞抗原を標的とするリガンド-薬物コンジュゲートは、このような固形腫瘍を処置するのに有用であり得る。

30

【0444】

リガンド-薬物コンジュゲートで処置することができるがんには、これらに限定されないが、造血性のがん、例えば、リンパ腫（ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫）および白血病など、ならびに固形腫瘍が含まれる。造血性のがんの例には、濾胞性リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、急性骨髄芽球性白血病、慢性骨髄球性白血病、慢性リンパ球性白血病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、および多発性骨髄腫が含まれる。固形腫瘍の例には、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸がん、結腸直腸がん、腎臓がん、膵臓がん、骨がん、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、食道がん、胃がん、口腔がん、鼻腔がん、咽喉がん、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性癌、腎細胞癌、ヘパトーマ、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウイルス腫瘍、子宮頸がん、子宮がん、睾丸がん、小細胞肺癌、膀胱癌、肺がん、上皮癌、神経膠腫、多形神経膠芽腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、皮膚がん、黒色腫、神経芽細胞腫、および網膜芽細胞腫が含まれる。

40

がんについての多様式治療

50

【0445】

これらに限定されないが、腫瘍、転移、または制御されない細胞成長によって特徴付けられる他の疾患もしくは障害を含めたがんは、リガンド-薬物コンジュゲートの投与によって処置または阻害することができる。

【0446】

他の実施形態では、がんを処置する方法であって、それを必要とする患者に有効量のリガンド-薬物コンジュゲートおよび化学療法剤を投与することを含む、方法を提供する。一実施形態では、化学療法剤は、それによってがんの処置が難治性であると見出されてこなかったものである。別の実施形態では、化学療法剤は、それによってがんの処置が難治性であると見出されてきたものである。リガンド-薬物コンジュゲートは、がんについて

10

【0447】

一部の実施形態では、患者はまた、さらなる処置、例えば、放射線療法を受ける。特定の実施形態では、リガンド-薬物コンジュゲートは、化学療法剤とまたは放射線療法と併行的に投与される。別の特定の実施形態では、化学療法剤または放射線療法は、リガンド-薬物コンジュゲートの投与の前または後に投与される。

【0448】

化学療法剤は、一連のセッションに亘って投与することができる。化学療法剤の任意の1つまたは組合せ、例えば、標準治療の化学療法剤(複数可)を投与することができる。

【0449】

さらに、リガンド-薬物コンジュゲートによるがんの処置の方法は、化学療法または放射線療法が、かなり有毒であり、例えば、処置される被験体にとって許容されないまたは耐えられない副作用をもたらすことが証明され、または証明することができる場合に、化学療法または放射線療法への代替として提供される。処置される患者は、どの処置が許容されるまたは耐えられるかが分かるかに応じて、別のがん処置、例えば、手術、放射線療法または化学療法により任意選択で処置することができる。

20

自己免疫疾患の処置

【0450】

リガンド-薬物コンジュゲートは、自己免疫疾患を生じさせる細胞を死滅させ、またはその細胞の複製を阻害するため、または自己免疫疾患を処置するために有用である。リガンド-薬物コンジュゲートは、患者において自己免疫疾患の処置のために種々の状況においてそれに応じて使用することができる。リガンド-薬物コンジュゲートを使用して、薬物を標的細胞へと送達することができる。理論に束縛されるものではないが、一実施形態では、リガンド-薬物コンジュゲートは、標的細胞の表面上の抗原と会合し、次いで、リガンド-薬物コンジュゲートは、受容体媒介エンドサイトーシスによって標的細胞内に取り込まれる。一旦細胞内に入ると、リンカー単位は切断され、薬物または薬物単位の放出をもたらす。次いで、放出された薬物は、自由にサイトゾル中を移動し、細胞毒性活性または細胞増殖抑制活性が誘導される。代替の実施形態では、薬物は、標的細胞の外側でリガンド-薬物コンジュゲートから切断され、薬物または薬物単位はそれに続いて細胞に浸透する。

30

40

【0451】

一実施形態では、リガンド単位は、自己免疫性抗原へと結合する。一態様では、抗原は、自己免疫状態に関与している細胞の表面上に存在する。

【0452】

別の実施形態では、リガンド単位は、細胞の表面上にある自己免疫性抗原に結合する。

【0453】

一実施形態では、リガンド単位は、自己免疫疾患の状態と関連する活性化リンパ球に結合する。

【0454】

さらなる実施形態では、リガンド-薬物コンジュゲートは、特定の自己免疫疾患と関連

50

する自己免疫性抗体を産生する細胞を死滅させ、またはその細胞の増殖を阻害する。

【0455】

リガンド - 薬物コンジュゲートで処置することができる特定のタイプの自己免疫疾患には、これらに限定されないが、Th2リンパ球が関連する障害（例えば、アトピー性皮膚炎、アトピー性喘息、鼻結膜炎、アレルギー性鼻炎、オーメン症候群、全身性硬化症、および移植片対宿主病）；Th1リンパ球が関連する障害（例えば、関節リウマチ、多発性硬化症、乾癬、シェーグレン症候群（Sjogren's syndrome）、橋本甲状腺炎、グレーブス病、原発性胆汁性肝硬変、ウェゲナー肉芽腫症、および結核）；ならびに活性化Bリンパ球が関連する障害（例えば、全身性エリテマトーデス、グッドパスチャー症候群、関節リウマチ、およびI型糖尿病）が含まれる。

10

自己免疫疾患の複数薬物療法

【0456】

自己免疫疾患を処置するための方法であって、それを必要とする患者に有効量のリガンド - 薬物コンジュゲート、および自己免疫疾患の処置のために公知である別の治療剤を投与することを含む、方法がまた開示されている。

組成物および投与の方法

【0457】

本発明は、本明細書に記載されているリガンド - 薬物コンジュゲートおよび薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。リガンド - 薬物コンジュゲートは、それにリガンド単位が結合する抗原の発現と関連する障害の処置のために、化合物を患者に投与することを可能とする任意の形態でよい。例えば、コンジュゲートは、液体または固体の形態でよい。好ましい投与経路は、非経口である。非経口投与は、皮下注射、静脈内注射、筋内注射、胸骨内注射または注入技術を含む。一態様では、組成物は、非経口的に投与される。一態様では、コンジュゲートは、静脈内に投与される。投与は、任意の好都合な経路によって、例えば、注入またはボーラス注射によってでよい。

20

【0458】

医薬組成物は、患者への組成物の投与によって化合物が生物学的に利用可能となるように製剤化することができる。組成物は、1個または複数の投薬単位の形態を取ることができ、例えば、錠剤は、単回の投薬単位でよい。

【0459】

医薬組成物の調製において使用される材料は、使用される量で無毒性であり得る。医薬組成物中の活性成分（複数可）の最適な投与量は、種々の要因によって決まることは当業者には明らかである。関連要因には、これらに限定されないが、動物のタイプ（例えば、ヒト）、化合物の特定の形態、投与の様式、および用いる組成物が含まれる。

30

【0460】

組成物は、例えば、液体の形態でよい。液体は、注射による送達のために有用であり得る。注射による投与のための組成物において、界面活性剤、保存剤、湿潤剤、分散化剤、懸濁化剤、緩衝剤、安定剤および等張剤の1つまたは複数をまた含むことができる。

【0461】

液体組成物はまた、これらが液剤、懸濁剤または他の同様の形態であろうとも、下記の1つまたは複数を含むことができる：無菌の賦形剤（diluent）、例えば、注射用水、食塩溶液、好ましくは生理食塩水、リンゲル液、等張性塩化ナトリウム、不揮発性油、例えば、溶媒または懸濁媒としての役割を果たすことができる合成モノまたはジグリセリド（diglyceride）、ポリエチレングリコール、グリセリン、シクロデキストリン、プロピレングリコールまたは他の溶媒；抗菌剤、例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン；抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウム；キレート剤、例えば、エチレンジアミン四酢酸；緩衝剤、例えば、アミノ酸、アセテート、シトレートまたはホスフェート；洗剤、例えば、非イオン性界面活性剤、ポリオール；および浸透圧の調節のための剤、例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロース。非経口の組成物は、ガラス、プラスチックまたは他の材料でできているアンプル、使い捨て注射

40

50

器または複数用量バイアル中に封入することができる。生理食塩水は、例示的なアジュバントである。注射用組成物は好ましくは無菌である。

【0462】

特定の障害または状態の処置において有効であるコンジュゲートの量は障害または状態の性質によって決まり、標準的な臨床技術によって決定することができる。さらに、*in vitro*または*in vivo*のアッセイを任意選択で用いて、最適な投与量範囲の同定を助けることができる。組成物中に用いる正確な用量はまた、投与経路、および疾患または障害の重症度によって決まり、医師の判断および各患者の状況によって決定すべきである。

【0463】

組成物は、適切な投与量が得られるような有効量の化合物を含む。典型的には、この量は、組成物の重量によって化合物の少なくとも約0.01%である。

【0464】

静脈内投与のために、組成物は、動物の体重kg当たり約0.01~約100mgのリガンド-薬物コンジュゲートを含むことができる。一態様では、組成物は、動物の体重kg当たり約1~約100mgのリガンド-薬物コンジュゲートを含むことができる。別の態様では、投与される量は、約0.1~約25mg/kg体重の範囲の化合物である。

【0465】

一般に、患者に投与されるコンジュゲートの投与量は典型的には、約0.01mg/kg~約100mg/kg被験体の体重である。一部の実施形態では、患者に投与される投与量は、約0.01mg/kg~約15mg/kg被験体の体重である。一部の実施形態では、患者に投与される投与量は、約0.1mg/kg~約15mg/kg被験体の体重である。一部の実施形態では、患者に投与される投与量は、約0.1mg/kg~約20mg/kg被験体の体重である。一部の実施形態では、投与される投与量は、約0.1mg/kg~約5mg/kgまたは約0.1mg/kg~約10mg/kg被験体の体重である。一部の実施形態では、投与される投与量は、約1mg/kg~約15mg/kg被験体の体重である。一部の実施形態では、投与される投与量は、約1mg/kg~約10mg/kg被験体の体重である。一部の実施形態では、投与される投与量は、処置サイクルに亘って、約0.1~4mg/kg、さらにより好ましくは0.1~3.2mg/kg、またはさらにより好ましくは0.1~2.7mg/kg被験体の体重である。

【0466】

用語「担体」とは、それと一緒に化合物を投与する、賦形剤、アジュバントまたは添加剤(*excipient*)を指す。このような医薬担体は、液体、例えば、水および油(石油起源、動物起源、野菜起源または合成起源のものを含めた)、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油でよい。担体は、食塩水、アラビアゴム、ゼラチン、デンプン糊、タルク、ケラチン、コロイド状シリカ、尿素でよい。さらに、助剤、安定化剤、増粘剤、滑沢剤および着色剤を使用することができる。一実施形態では、患者に投与するとき、化合物または組成物および薬学的に許容される担体は無菌である。化合物が静脈内に投与されるとき、水が例示的な担体である。食塩水およびデキストロス水溶液およびグリセロール溶液はまた、特に、注射用溶液のために、液体担体として用いることができる。適切な医薬担体はまた、添加剤、例えば、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、モルト、米、小麦粉、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールを含む。本組成物はまた、必要に応じて、微量の湿潤剤または乳化剤、またはpH緩衝剤を含有することができる。

【0467】

一実施形態では、コンジュゲートは、動物、特に、人間への静脈内投与のために適合させた医薬組成物として通例の手順によって製剤化する。典型的には、静脈内投与のための担体またはビヒクルは、無菌の等張性の緩衝水溶液である。必要である場合、組成物はまた、可溶化剤を含むことができる。静脈内投与のための組成物は、注射の部位における疼

10

20

30

40

50

痛を和らげるための局所麻酔剤、例えば、リグノカインを任意選択で含むことができる。一般に、成分は、別々に、または単位剤形で一緒に混合されて、例えば、密封された容器、例えば、活性剤の量を示すアンプルまたはサッシェ中の乾燥した凍結乾燥粉末または水非含有の濃縮物として提供される。コンジュゲートが注入によって投与される場合、これは、例えば、無菌の医薬グレードの水または食塩水を含有する注入ボトルで調剤することができる。コンジュゲートが注射によって投与される場合、成分を投与の前に混合することができるように、注射用滅菌水または食塩水のアンプルを提供することができる。

【0468】

医薬組成物は一般に、無菌の実質的に等張性のものとして、および米国食品医薬品局の全ての適正製造規範 (GMP) の規制に完全にのっとり製剤化される。

10

例示的な方法

【0469】

本明細書において提供するものは、本明細書に記載のような式 (IV)、(V)、または (VI) の構造によって表される薬物-リンカー化合物を調製する方法であり、この方法は、ステップ (a) : 本明細書に記載のような式 VII、VII I または IX の構造によって表される中間体リンカー化合物と、十分な量の X' - D 部分とを接触させて、LP' および AD' のそれぞれの場合について LP - X - D または AD - X - D 部分を形成するために LP' または AD' と反応させるステップを含み、- X - D は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリ単位であり、X' - D は、薬物単位に結合した放出可能なアセンブリ単位前駆体であり、X' は、LP' および / または AD' と反応することができる。

20

【0470】

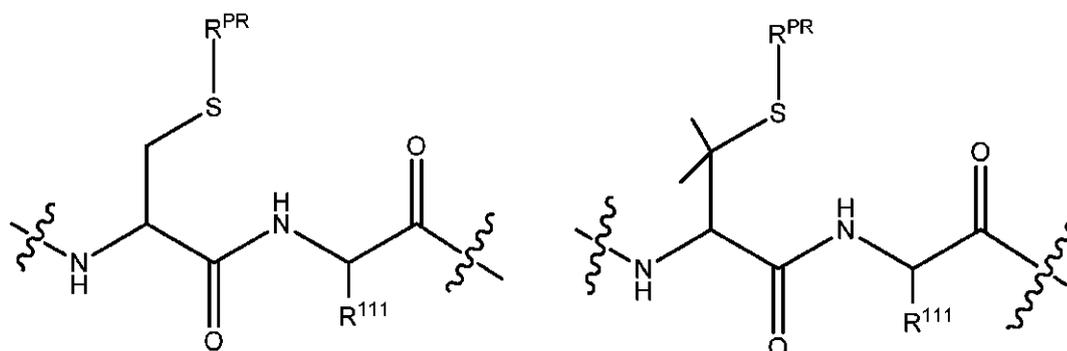
一部の態様では、このように調製された薬物-リンカーは、本明細書に記載のような式 IV a、IV b、V a、V b、V c、VI a または VI b によって表される構造を有し、ステップ (a) において使用される中間体リンカー化合物は、本明細書に記載のような式 VII I a、VII I b、VII I c、VII I d、IX a または IX b によって表される構造を有する。

【0471】

方法は、(a') のステップ : 構造が式 VII I a、VII I b、VII I c、VII I d、IX a または IX b に対応する適切に保護された中間体リンカー化合物を脱保護するステップをさらに含むことができ、t は、0 であり、適切に保護された AD' または LP' は、

30

【化137】

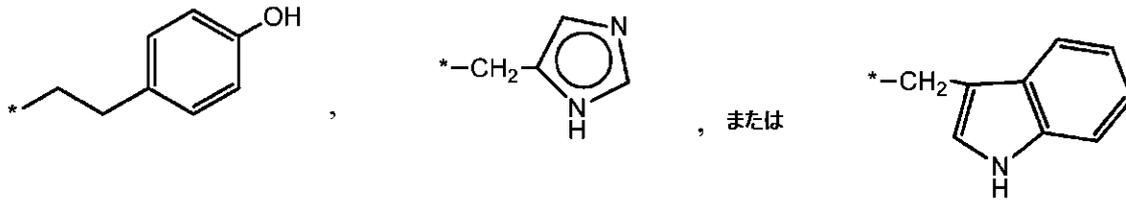


40

の構造を有し、式中、R¹¹¹ は、必要とされるとき適切な保護を伴う、水素、p-ヒドロキシベンジル、メチル、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、-CH₂OH、-CH(OH)CH₃、-CH₂CH₂SCH₃、-CH₂CONH₂、-CH₂COOH、-CH₂CH₂CONH₂、-CH₂CH₂COOH、-(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂、-(CH₂)₃NH₂、-(CH₂)₃NHCOCH₃、-(CH₂)₃NHCHO、-(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂、-(CH₂)₄NH₂、-(CH₂)₄NHCOCH₃、-(CH₂)₄NHCHO、-(CH₂)₃NHCONH₂、-(CH₂)₄NHCONH₂、-CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂、2-ピリジルメ

50

チル -、3 - ピリジルメチル -、4 - ピリジルメチル -
【化 1 3 8】



から独立に選択され、

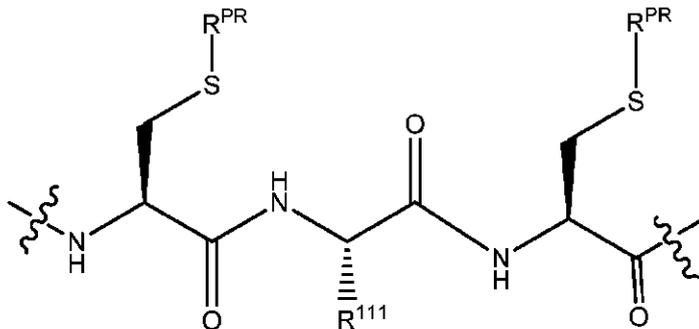
R^{PR} は、適切なチオール保護基であり、波線は、中間体リンカー化合物内の適切な保護された AD' または LP' 部分の共有結合による結合を示し、

ステップ (a) において、ステップ (a') からのこのように得られた脱保護された式 VII Ia、VII Ib、VII Ic、VII Id、IX a または IX b 生成物と $X'-D$ 部分とを接触させ、 X' は、 AD' または LP' の遊離チオール基と反応して、チオ - 置換スクシンイミド部分を形成することができるマレイミド部分からなる。

【0472】

代わりに、方法は、a' のステップ：この構造を有する式 VII Ia、VII Ib、VII Ic、VII Id、IX a または IX b へ、中間体リンカー化合物前駆体を脱保護するステップをさらに含むことができ、 t は、1 であり、 $AD'-AD'$ または $AD'LP$ は、適切に保護されており、適切に保護された $AD'-AD'$ または $AD'LP$ は、

【化 1 3 9】



の構造を有し、式中、 R^{111} は、水素またはメチルであり、 R^{PR} は、脱保護されている適切なチオール保護基であり、波線は、中間体リンカー化合物内の適切な保護された AD' 部分の共有結合による結合を示し、ステップ (a) において、ステップ (a') からのこのように得られた脱保護された式 VII Ia、VII Ib、VII Ic、VII Id、IX a または IX b 生成物と、 $X'-D$ 部分とを接触させ、 X' は、 $AD'-AD'$ または $AD'-LP'$ の遊離チオール基と反応して、チオ - 置換スクシンイミド含有部分を形成することができるマレイミド含有部分からなる。

【0473】

本明細書において提供するものは、本明細書に記載のような式 I、II または III の構造によって表されるリガンド - 薬物コンジュゲートを調製する方法であり、方法は、ステップ (a)：本明細書に記載のような式 X、XI または XII の構造によって表されるリガンド - リンカー化合物と、十分な量の $X'-D$ 部分とを接触させて、 LP' および AD' のそれぞれの場合について $LP-X-D$ または $AD-X-D$ 部分を形成するために、 LP' または AD' と反応させるステップを含み、 $-X-D$ は、薬物単位へと結合した放出可能なアセンブリ単位であり、 $X'-D$ は、薬物単位に結合した放出可能なアセンブリ単位前駆体であり、 X' は、 LP' および / または AD' と反応することができる。

【0474】

10

20

30

40

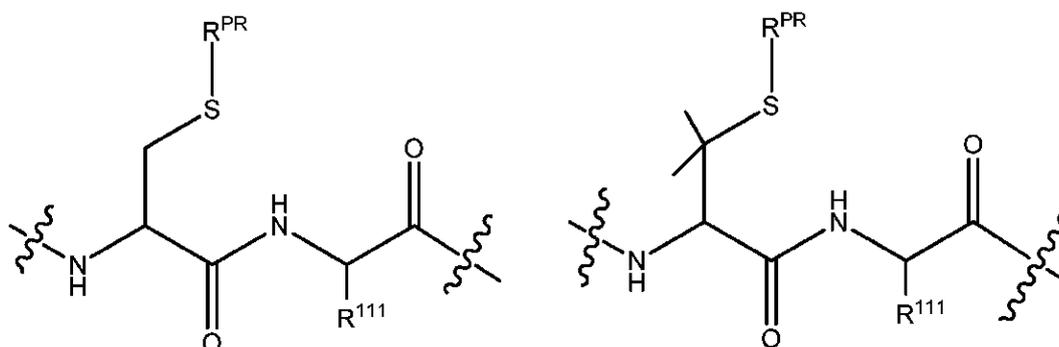
50

このように調製された例示的なリガンド - 薬物コンジュゲートは、本明細書に記載のような式 I a、I b、I I a、I I b、I I b、I I I a、または I I I b によって表される構造を有し、リガンド - リンカー化合物は、本明細書に記載のような式 X I a、X I b、X I c、X I d、X I I a または X I I b によって表される構造を有する。

【0475】

方法は、ステップ a' : 構造が本明細書に記載のような式 X、X I、X I I、X I a、X I b、X I c、X I d、X I I a または X I I b に対応する適切に保護されたリガンド - リンカー化合物を脱保護するステップをさらに含むことができ、t は、0 であり、適切に保護された A D' または L P' は、

【化140】

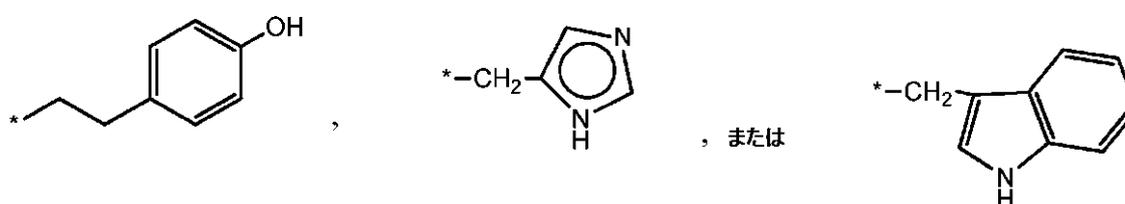


10

20

の構造を有し、式中、R¹¹¹ は、必要とされるとき適切な保護を伴う、水素、p - ヒドロキシベンジル、メチル、イソプロピル、イソブチル、sec - ブチル、- CH₂OH、- CH(OH)CH₃、- CH₂CH₂SCH₃、- CH₂CONH₂、- CH₂COOH、- CH₂CH₂CONH₂、- CH₂CH₂COOH、- (CH₂)₃NHC(=NH)NH₂、- (CH₂)₃NH₂、- (CH₂)₃NHCOCH₃、- (CH₂)₃NHCHO、- (CH₂)₄NHC(=NH)NH₂、- (CH₂)₄NH₂、- (CH₂)₄NHCOCH₃、- (CH₂)₄NHCHO、- (CH₂)₃NHCONH₂、- (CH₂)₄NHCONH₂、- CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂、2 - ピリジルメチル -

【化141】



30

から独立に選択され、式中、R^{PR} は、適切なチオール保護基であり、波線は、中間体リガンド - リンカー化合物内の適切な保護された A D' または L P' 部分の共有結合による結合を示し、

40

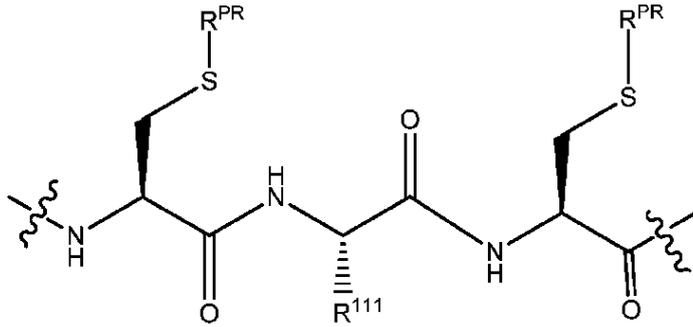
ステップ (a) において、ステップ (a') からこのように得られた脱保護された式 X、X I、X I I、X I a、X I b、X I c、X I d、X I I a または X I I b 生成物と、X' - D 部分とを接触させ、X' は、A D' または L P' の遊離チオール基と反応し、チオ置換スクシンイミド部分を形成することができるマレイミド部分からなる。

【0476】

代わりに、方法は、ステップ (a') : 構造が式 X I a、X I b、X I c、X I d、X I I a または X I I b に対応するリガンド - リンカー化合物を脱保護するステップをさらに含むことができ、t は、1 であり、A D' - A D' または A D' P L は、適切に保護されており、適切に保護された A D' - A D' 部分は、

50

【化 1 4 2】



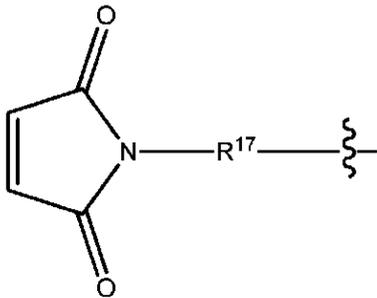
10

の構造を有し、式中、 R^{111} は、水素またはメチルであり、 R^{PR} は、脱保護されている適切なチオール保護基であり、波線は、中間体リガンド-リンカー化合物内の適切な保護されたAD'部分の共有結合による結合を示し、ステップ(a)において、ステップ(a')からのこのように得られた脱保護された式XI a、XI b、XI c、XI d、XI eまたはXII b生成物と、X'-D部分とを接触させ、X'は、AD'-AD'またはAD'-LP'の遊離チオール基と反応して、チオ-置換スクシンイミド含有部分を形成することができるマレイミド含有部分からなる。

【0 4 7 7】

ステップ(a')からもたらされる遊離チオール(複数可)と反応することができる例示的なマレイミド部分は、

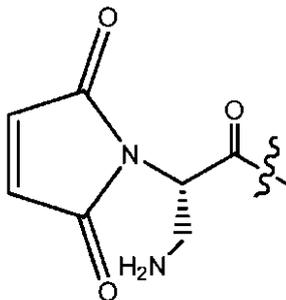
【化 1 4 3】



30

(式中、 R^{17} は、 $-(CH_2)_5C(=O)-$ であり、波線は、X'-D部分内の結合を示す)の構造を有するか、または

【化 1 4 4】



40

(式中、波線は、X'-D部分内の結合を示し、アミノ基は、 R^{PR} 保護されたチオール基の脱保護のための条件下で安定的であるアミノ保護基によって任意選択で保護されている)の構造を有する。

【実施例】

【0 4 7 8】

一般的な情報。全ての市販の無水溶媒をそれ以上精製することなく使用した。PEG試

50

薬は、Quanta BioDesign (Powell, OH) から得た。分析用薄層クロマトグラフィーは、シリカゲル 60F254 アルミニウムシート (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ) で行った。放射状クロマトグラフィーを、Chromatotron 装置 (Harris Research, Palo Alto, CA) で行った。カラムクロマトグラフィーを、Biotage Isolera One フラッシュ精製システム (Charlotte, NC) で行った。分析用 HPLC は、Varian ProStar 330 PDA 検出器と共に構成される Varian ProStar 210 溶媒送達システムで行った。試料を C12 Phenomenex Synergi、2.0 x 150 mm、4 μm、80 逆相カラムで溶出させた。酸性移動相は、両方とも 0.05% トリフルオロ酢酸または 0.1% ギ酸のいずれか (各化合物について示す) を含有する、アセトニトリルおよび水からなった。化合物を、注射後 1 分における 5% から 11 分における 95% の直線勾配の酸性アセトニトリル、それに続く 15 分まで均一濃度の 95% アセトニトリル (流量 = 1.0 mL/分) で溶出させた。2 つの異なるシステムに対して LC-MS を行った。LC-MS システム 1 は、C12 Phenomenex Synergi、2.0 x 150 mm、4 μm、80 逆相カラムを備えた HP Agilent 1100 HPLC 機器とインターフェースした ZMD Micromass 質量分析計からなった。酸性溶離液は、10 分に亘る 0.1% ギ酸水溶液中の 5% ~ 95% の直線勾配のアセトニトリル、それに続く 5 分間の均一濃度の 95% アセトニトリル (流量 = 0.4 mL/分) から成った。LC-MS システム 2 は、Waters 2996 フォトダイオードアレイ検出器を有する Waters 2695 Separations Module とインターフェースした Waters Xevo G2 ToF 質量分析計からなった。カラム、移動相、勾配、および流量は、LC-MS システム 1 についてと同じであった。

【0479】

抗体-薬物コンジュゲートの LC-MS データは、Waters Acquity H-クラス UPLC システムにカップリングした Waters Xevo GS-S QT OF で得た。試料を分析用逆相カラム (Agilent Technologies, PLRP-S、300、2.1 mm ID x 50 mm、8 μm) で 80 にてクロマトグラフにかけ、12.5 分に亘る 0.05% TFA 水溶液中のアセトニトリル中の 0.01% TFA の 25% ~ 65% の直線勾配、それに続く 1.5 分間のアセトニトリル中の均一濃度 65% の 0.01% TFA で、1 mL/分の流量で溶出させた。軽鎖および重鎖についての質量分析法データは 500 ~ 4000 m/z の質量範囲を使用して ESI+ モードで得て、MaxEnt 1 を使用して畳み込みを解き、このように得られたコンジュゲートの質量を決定した。

【0480】

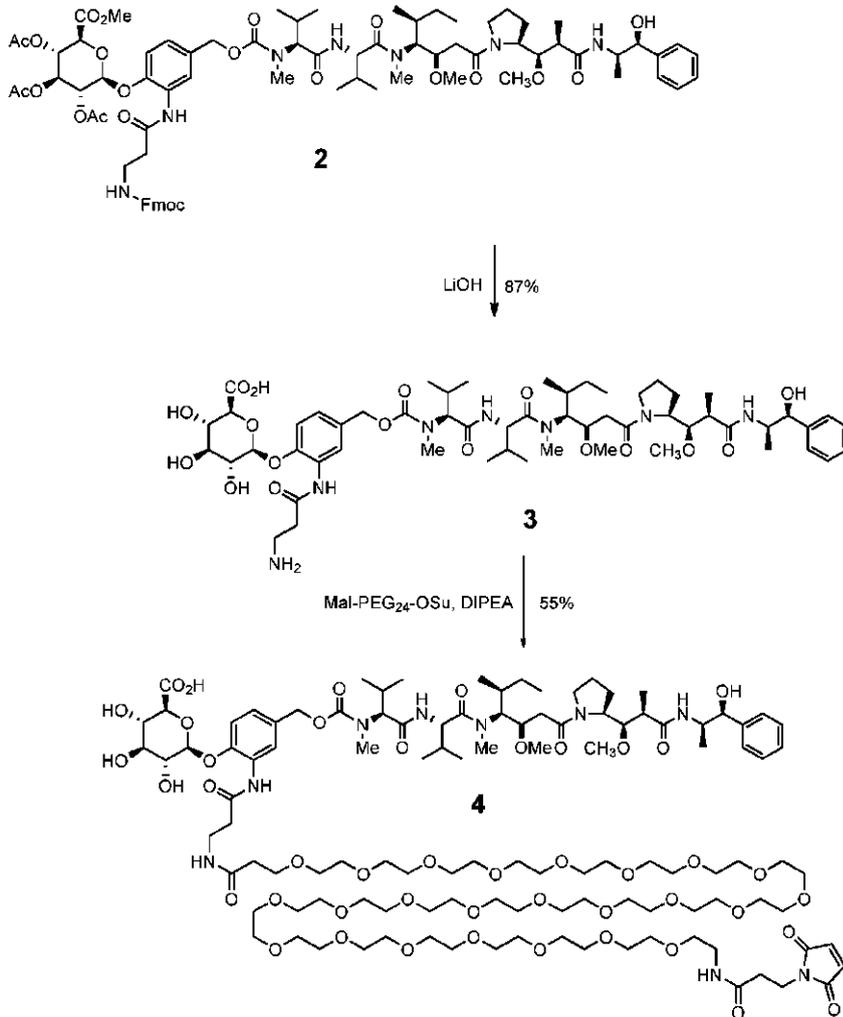
分取 HPLC は、Varian ProStar 330 PDA 検出器と共に構成される Varian ProStar 210 溶媒送達システムで行った。生成物を、水中の 0.1% ギ酸 (溶媒 A) およびアセトニトリル中の 0.1% ギ酸 (溶媒 B) で溶出する C12 Phenomenex Synergi 10.0 x 250 mm、4 μm、80 逆相カラムで精製した。精製方法は、溶媒 A 対溶媒 B の下記の勾配: 90:10、0 分から 5 分; 90:10 から 10:90、5 分から 80 分; それに続いて、均一濃度の 10:90、5 分間からなった。流量は 4.6 mL/分であり、254 nm でモニターを行った。スキーム 3 および 4 における化合物についての分取 HPLC を、両方の移動相中で 0.1% ギ酸の代わりに 0.1% トリフルオロ酢酸を用いて行った。NMR スペクトルデータを Varian Mercury 400 MHz 分光計で集めた。結合定数 (J) はヘルツで報告する。

(実施例 1)

直列配向の PEG 単位を含む グルクロニド - MMAE 薬物 - リンカー の合成

【化 1 4 5】

スキーム1.



10

20

30

【0 4 8 1】

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - (3 - アミノプロパンアミド) - 4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸 (3) : 化合物 2 の合成は従前に記載されてきた (参照により本明細書に組み込まれている米国特許出願公開第 2008/0241128 号)。グルクロニド - MMAE 中間体 2 (40 mg、26.8 μmol) を含有するフラスコに、0.9 mL のメタノールおよび 0.9 mL のテトラヒドロフランを加えた。次いで、溶液を氷浴中で冷却し、水酸化リチウム水和物 (6.8 mg、161 μmol) を 0.9 mL の水中の溶液として滴下添加した。次いで、反応物を氷上で 1.5 時間攪拌し、この時点において、LC/MS は生成物への完全な変換を明らかにした。次いで、氷酢酸 (9.2 μL、161 μmol) を加え、反応物を濃縮乾固した。分取 HPLC によって、完全に脱保護されたグルクロニド - MMAE リンカー 中間体 3 (26 mg、87%) を油性残渣として得た。分析用 HPLC (0.1% ギ酸) : t_R 9.3 分。LC-MS システム 1 : t_R 11.10 分、

40

50

m/z (ES^+) 実測値、1130.48 ($M+H$)⁺、 m/z (ES^-) 実測値、1128.63 ($M-H$)⁻。

【0482】

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル) - 2 - (1 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) - 3, 79 - ジオキソ - 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40, 43, 46, 49, 52, 55, 58, 61, 64, 67, 70, 73, 76 - テトラコサオキサ - 4, 80 - ジアザトリオクタコンタンアミド) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸(4) : 無水DMF (0.94 mL) に溶解した脱保護されたグルクロニド - MMAE 中間体 3 (26 mg、23 μ mol) を含有するフラスコに、マレイミド - PEG24 - NHS エステル (32 mg、23 μ mol) をジメチルアセトアミド中の溶液 (200 mg/mL) として加えた。ジイソプロピルエチルアミン (20 μ L、115 μ mol) を加え、反応物を窒素下で周囲温度にて6時間攪拌し、この時点において、LC/MSは所望の生成物への変換を明らかにした。反応物を分取HPLCによって精製し、直鎖状マレイミド - PEG24 - グルクロニド - MMAE リンカー 4 (31 mg、55%) を油性残渣として得た。¹H NMR (CD₃OD)

(ppm) 0.92 (m, 16H), 1.15 (m, 6H), 1.42 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.91 (m, 4H), 2.20 (m, 3H), 2.48 (m, 6H), 2.66 (m, 3H), 2.96 (m, 4H), 3.10 (s, 2H), 3.27 (s, 2H), 3.31 (s, 8H), 3.38 (m, 5H), 3.44 (m, 2H), 3.57 (m, 6H), 3.62 (m, 79H), 3.77 (m, 5H), 3.87 (t, J = 9.6 Hz, 2H), 4.05 (m, 1H), 4.21 (m, 3H), 4.53 (m, 2H), 4.61 (m, 2H), 4.80 (m, 2H), 5.14 (m, 3H), 6.82 (s, 2H), 7.10 (m, 2H), 7.21 (m, 2H), 7.35 (m, 2H), 7.39 (m, 2H), 7.74 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.94 (m, 2H), 8.10 (m, 1H),

8.27 (m, 2H)。分析用HPLC (0.1%ギ酸) : t_R 9.9分。LC-MSシステム1 : t_R 11.94分、 m/z (ES^+) 実測値、1205.34 ($M+2H$)²⁺。LC-MSシステム2 : t_R 10.38分、 m/z (ES^+) 実測値、2410.3225 ($M+H$)⁺。

(実施例2)

並列配向でPEG単位を含むグルクロニド - MMAE 薬物 - リンカーの合成

10

20

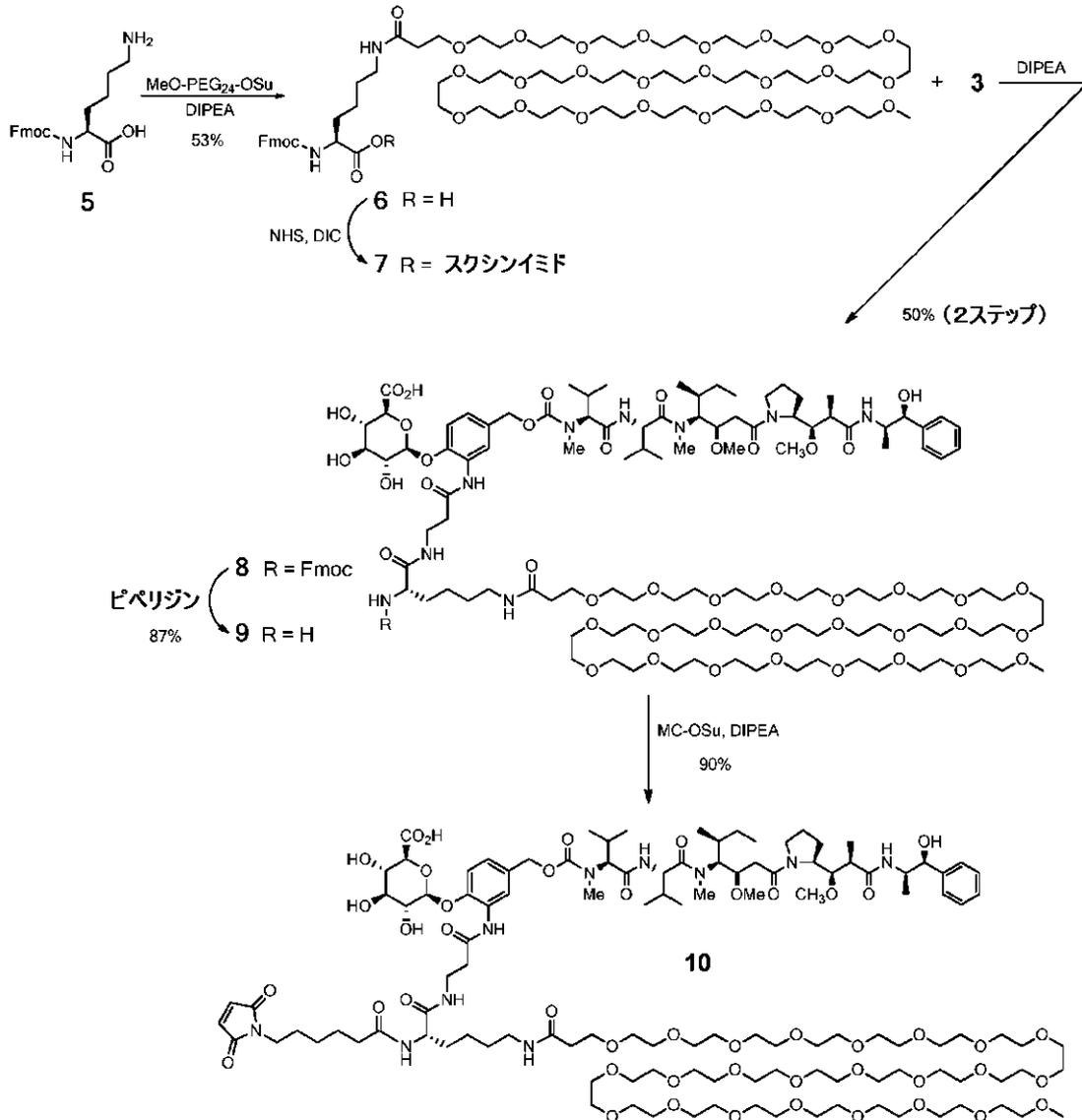
30

40

50

【化 1 4 6】

スキーム2.



10

20

30

【0 4 8 3】

(S) - 80 - ((((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ)
- 74 - オキソ - 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35
, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71 - テトラ
コサオキサ - 75 - アザヘンオクタコンタン - 81 - 酸 (6) :

N - Fmoc - リシン 5 (30 mg、81.5 μmol) を含有するフラスコに、1
. 6 mL の無水ジクロロメタン、それに続いてメトキシ - PEG 24 - OSu (100 mg、81.5 μmol) を加えた。次いで、DIPEA (71 μL、408 μmol) を
加え、反応物を窒素下で室温にて攪拌し、それに続いて TLC および LC / MS を行った
。2 時間後、LC / MS は生成物への変換を明らかにした。反応溶液をジクロロメタンに
希釈し、精製のために 1 mm の chromatotron プレート上に直接添加した。プレ
ートを増加する量のメタノール (0 % ~ 15 %) を伴うジクロロメタンで溶出させ、所
望の生成物 6 (63 mg、53 %) を得た。TLC : R_f = 0.17、CH₂Cl₂ 中 1
0 % MeOH。¹H NMR (CDCl₃) (ppm) 1.48 (m, 6 H) , 2.47 (m, 5 H) , 3.20 (m, 2 H) , 3.38 (s,
3 H) , 3.63 (m, 86 H) , 4.16 (m, 2 H) , 4.36 (m, 1 H) , 7.26 (m, 3 H) , 7.35 (m, 2 H) , 7.60

40

50

(m, 2H), 7.71 (m, 3H). 分析用HPLC(0.1%ギ酸):
 t_R 10.8分。LC-MSシステム1: t_R 11.95分、m/z (ES⁺) 実測値、
 1468.40 (M+H)⁺、m/z (ES⁻) 実測値、1466.36 (M-H)⁻。

【0484】

(S)-2,5-ジオキソピロリジン-1-イル80-(((9H-フルオレン-9-
 イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-74-オキソ-2,5,8,11,14,17,
 20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,
 59,62,65,68,71-テトラコサオキサ-75-アザヘンオクタコンタン-8
 1-オエト(7):

フラスコに、N-Fmoc-リシン(PEG24)-OH6(63mg、43 μ mol)および0.43mLの無水テトラヒドロフランを充填した。N-ヒドロキシスクシン
 イミド(hydroxoy succinimide)(5.5mg、47 μ mol)、そ
 れに続いてジイソプロピルカルボジイミド(7.3 μ L、47 μ mol)を加えた。反応
 物を窒素下で密封し、一晚攪拌した。18時間後、さらなるN-ヒドロキシスクシンイミ
 ド(5.5mg、47 μ mol)およびジイソプロピルカルボジイミド(7.3 μ L、4
 7 μ mol)を加え、さらに4時間攪拌を続け、この時点において、LC/MSは生成物
 への完全な変換を明らかにした。粗反応物をジクロロメタンに希釈し、増加する量のメタ
 ノール(0%~10%)を伴うジクロロメタンで溶出する1mmプレートでの放射状クロ
 マトグラフィーによって精製し、所望の活性化エステル7(36mg)を得た。さらなる
 特性決定をせずに、材料をさらに使用した。TLC: R_f=0.43、CH₂Cl₂中の
 10%MeOH。分析用HPLC(0.1%ギ酸): t_R 11.4分。LC-MSシステ
 ム2: t_R 11.01分、m/z (ES⁺) 実測値、1564.8379 (M+H)⁺。

【0485】

(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-((S)-80-(((9H-フルオ
 レン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-74,81-ジオキソ-2,5,8
 ,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,
 50,53,56,59,62,65,68,71-テトラコサオキサ-75,82-ジ
 アザペントオクタコンタンアミド)-4-((5S,8S,11S,12R)-11-((
 (S)-sec-ブチル)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((
 1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-1-メト
 キシ-2-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-2-オキソエチル)
 -5,8-ジイソプロピル-4,10-ジメチル-3,6,9-トリオキソ-2,13-
 ジオキサ-4,7,10-トリアザテトラデシル)フェノキシ)-3,4,5-トリヒド
 ロキシテトラヒドロ-2H-ピラン-2-カルボン酸(8): 脱保護されたグルクロニド
 -MMAEリンカー中間体3(26mg、23 μ mol)を無水ジメチルホルムアミド(
 0.58mL)に溶解し、N-Fmoc-リシン(PEG)-OSu7(36mg、2
 3 μ mol)を含有するフラスコに加えた。次いで、ジイソプロピルエチルアミン(20
 μ L、115 μ mol)を加え、次いで、反応物を窒素下で室温にて攪拌した。4.5時
 間後、LC-MSは、生成物への変換を明らかにした。生成物を分取HPLCによって精
 製し、Fmoc-Lys(PEG24)-グルクロニド-MMAE中間体8(30mg、
 2ステップに亘り50%)を油性残渣として得た。分析用HPLC(0.1%ギ酸): t
 t_R 11.4分。LC-MSシステム1: t_R 12.31分、m/z (ES⁺) 実測値、1
 291.05 (M+2H)²⁺。LC-MSシステム2: t_R 11.30分、m/z (E
 S⁺) 実測値、2580.2515 (M+H)⁺。

【0486】

(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-((S)-80-アミノ-74,81-
 ジオキソ-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38
 ,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-テトラコサオ
 キサ-75,82-ジアザペントオクタコンタンアミド)-4-((5S,8S,11S
 ,12R)-11-((S)-sec-ブチル)-12-(2-((S)-2-((1R
 30 30 40 40 50 50

, 2 R) - 3 - ((1 S, 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - カルボン酸 (9) : Fmoc-Lys (PEG 24) - グルクロニド - MMAE 中間体 8 (30 mg、12 μmol) を 0.46 mL の無水ジメチルホルムアミドに溶解し、それに続いて 0.12 mL のピペリジンを加えた。反応物を窒素下で 3 時間攪拌し、次いで、濃縮乾固した。生成物を分取 HPLC によって精製し、H-Lys (PEG 24) - グルクロニド - MMAE 中間体 9 (24 mg、87%) を油性残渣として得た。¹H NMR (CDCl₃) (ppm) 0.92 (m, 14 H), 1.14 (m, 6 H), 1.42 (m, 5 H), 1.79 (m, 8 H), 2.22 (m, 3 H), 2.42 (t, J = 6.4 Hz, 2 H), 2.47 (m, 2 H), 2.65 (m, 2 H), 2.76 (m, 2 H), 2.95 (m, 3 H), 3.10 (m, 3 H), 3.31 (m, 8 H), 3.35 (m, 6 H), 3.54 (m, 5 H), 3.63 (s, 70 H), 3.72 (t, J = 6.0 Hz, 3 H), 3.85 (m, 2 H), 4.07 (m, 1 H), 4.22 (m, 3 H), 4.52 (d, J = 7.2 Hz, 1 H), 4.61 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 4.71 (m, 2 H), 5.11 (m, 3 H), 7.12 (m, 1 H), 7.21 (m, 1 H), 7.31 (m, 3 H), 7.37 (m, 2 H), 7.75 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.89 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.95 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 8.26 (m, 2 H)。分析用 HPLC (0.1% ギ酸) : t_R 8.9 分。LC-MS システム 1 : t_R 11.18 分、m/z (ES⁺) 実測値、1178.97 (M+2H)²⁺。LC-MS システム 2 : t_R 9.50 分、m/z (ES⁺) 実測値、2358.2341 (M+H)⁺。

10

20

【0487】

(2 S, 3 S, 4 S, 5 R, 6 S) - 6 - (4 - ((5 S, 8 S, 11 S, 12 R) - 1 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1 R, 2 R) - 3 - ((1 S, 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル) - 2 - ((S) - 80 - (6 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) ヘキサジアミド) - 74, 81 - ジオキソ - 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71 - テトラコサオキサ - 75, 82 - ジアザペンタオクタコンタンアミド) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - カルボン酸 (10) : マレイミドカブロン酸 NHS エステル (4.2 mg、14 μmol) を 0.6 mL の無水ジメチルホルムアミドに溶解し、H-Lys (PEG 24) - グルクロニド - MMAE 中間体 9 (24 mg、10 μmol) を含有するフラスコに移した。次いで、ジイソプロピルエチルアミン (10 μL 、58 μmol) を加え、次いで、反応物を窒素下で室温にて一晩攪拌した。反応混合物を分取 HPLC によって直接的に精製し、MC-Lys (PEG 24) - グルクロニド - MMAE リンカー 10 (23 mg、90%) を油性残渣として得た。¹H NMR (CD₃OD) (ppm) 0.87 (m, 13 H), 1.12 (t, J = 7.6 Hz, 2 H), 1.17 (d, J = 6.8 Hz, 2 H), 1.24 (m, 2 H), 1.48 (m, 9 H), 1.80 (m, 5 H), 2.19 (m, 4 H), 2.42 (t, J = 6.4 Hz, 2 H), 2.48 (m, 2 H), 2.64 (m, 2 H),

30

40

50

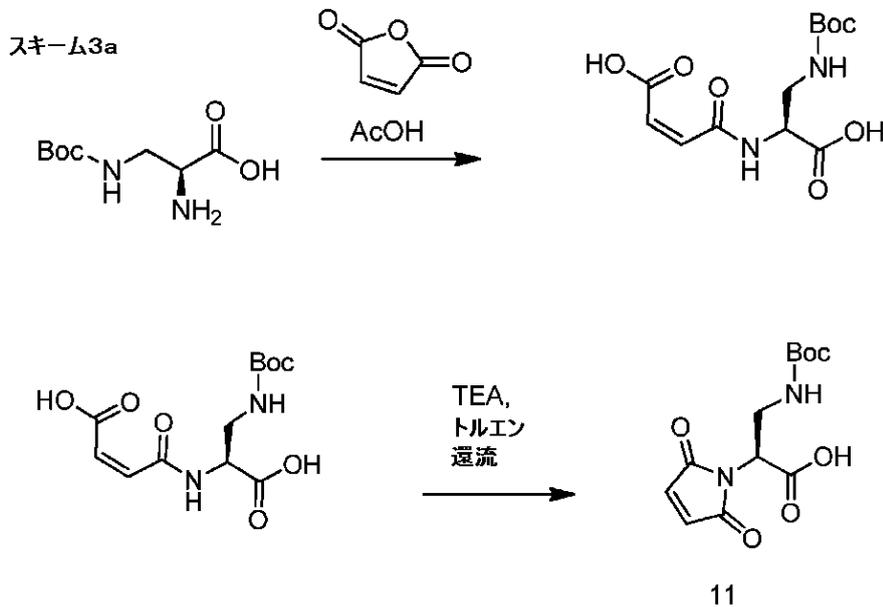
2.96 (m, 3H), 3.10 (s, 1H), 3.12 (m, 2H), 3.15 (s, 1H), 3.27 (s, 6H), 3.35 (m, 3H), 3.43 (m, 3H), 3.54 (m, 3H), 3.58 (m, 2H), 3.63 (m, 6.4H), 3.70 (m, 4H), 3.92 (m, 2H), 4.22 (m, 4H), 4.54 (m, 1H), 4.61 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 4.83 (m, 1H), 5.13 (m, 3H), 6.80 (s, 2H), 7.10 (m, 1H), 7.20 (m, 2H), 7.29 (m, 2H), 7.38 (m, 2H), 7.74 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.90 (m, 3H), 8.08 (s, 1H), 8.26 (m, 2H). 分析用HPLC(0.1%ギ酸): t_R 10.6分。LC-MSシステム1: t_R 11.88分、 m/z (ES⁺) 実測値、1276.23 (M+2H)²⁺。LC-MSシステム2: t_R 10.54分、 m/z (ES⁺) 実測値、2551.2871 (M+H)⁺。

10

(実施例3)

m DPR (マレイミド - ジアミノプロパン酸) グルクロニド - MMAE 薬物 - リンカーの合成

【化147】



20

30

【0488】

50 ml の丸底フラスコ中で、H-DPR (boc) - OH および無水マレイン酸を4体積の酢酸に溶解し、溶液を室温にて3時間攪拌した。反応混合物をrotovapで油へと濃縮し、約10 ml のジクロロメタンを加えることによって生成物を沈殿させた。沈殿物を真空濾過によって集め、ジクロロメタンで洗浄し、真空オーブン中で一晩乾燥させた。

40

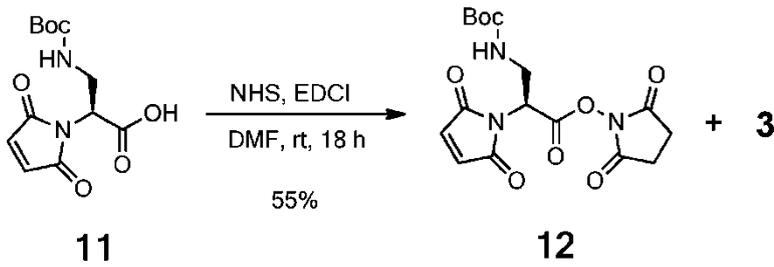
【0489】

マレイル - DPR (boc) - OH を、冷却器を備えた50 ml の丸底フラスコ中でトルエン(3 ml) およびトリエチルアミン(224 μ L) に分子篩上で懸濁した。DMA (約150 μ L) を加え、溶解性を促進した。溶液を125 に加熱し、4時間還流させ、その後、反応はLCMSによって完全であると示された。反応混合物をrotovapで濃縮乾固し、DMSOに再溶解し、分取HPLCによって精製した。生成物を白色の粉末として単離した。

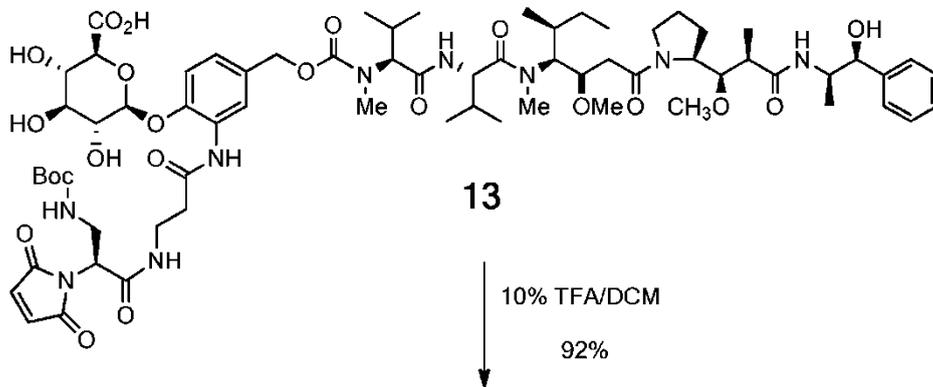
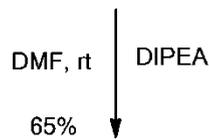
50

【化 1 4 8】

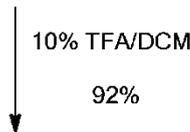
スキーム 3b.



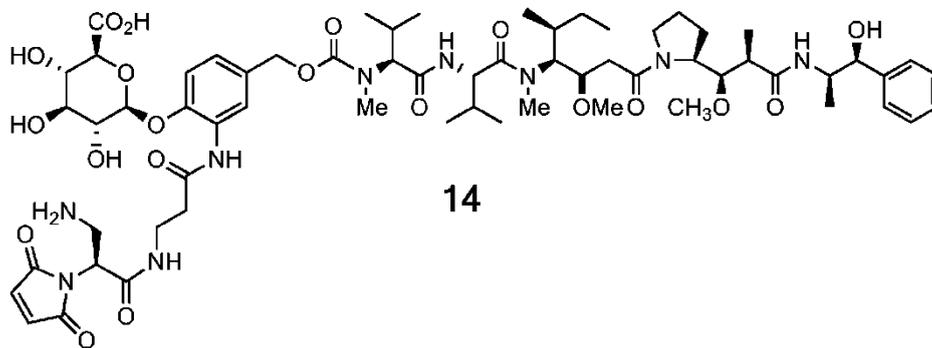
10



20



30



40

【0490】

(S)-2,5-ジオキソピロリジン-1-イル3-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ-2-(2,5-ジヒドロ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロパノエート(12):

(S)-N-マレイミド-N-Boc-ジアミノプロパン酸11(スキーム3a)(400mg、1.4mmol)を7mLの無水ジメチルホルムアミドに溶解した。N-ヒドロキシスクシンイミド(178mg、1.5mmol)、それに続いて1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(298mg、1.5mmol)を加えた。反応物を室温にて窒素下で3時間攪拌した。120mLの水への希釈によって水

50

性処理を達成した。次いで、水層を60 mLの酢酸エチルで3回抽出した。次いで、合わせた有機層をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで脱水し、濃縮乾固した。生成物を、ヘキサン：酢酸エチルの混合物(50:50~0:100)で溶出するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、(S)-N-マレイミド-N-Boc-ジアミノプロパン酸NHSエステル[MDpr(Boc)-OSu]12(297 mg、55%)を得た。LC-MSシステム1: t_R 12.23分、 m/z (ES⁺) 実測値、282.0599 (M+H-Boc基)⁺。LC-MSシステム2: t_R 11.30分、 m/z (ES⁺) 実測値、2580.2515 (M+H)⁺。

【0491】

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - (3 - ((S) - 3 - (tert - プロトキシカルボニル)アミノ) - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル)プロパンアミド)プロパンアミド) - 4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル)アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル)ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル)フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸(13): MDpr(Boc)-OSu12(33 mg、86 μ mol)を1.1 mLの無水ジメチルホルムアミドに溶解し、脱保護されたグルクロニド-MMAEリンカー中間体3(49 mg、43 μ mol)を含有するフラスコに加えた。次いで、ジイソプロピルエチルアミン(37 μ L、220 μ mol)を加え、次いで、反応物を窒素下で室温にて30分間攪拌した。反応を37 μ Lの氷酢酸でクエンチし、分取HPLCによって精製し、MDpr(Boc)-グルクロニド-MMAE中間体13(39 mg、65%)を得た。LC-MSシステム2: t_R 11.09分、 m/z (ES⁺) 実測値、1396.7321 (M+H)⁺。

【0492】

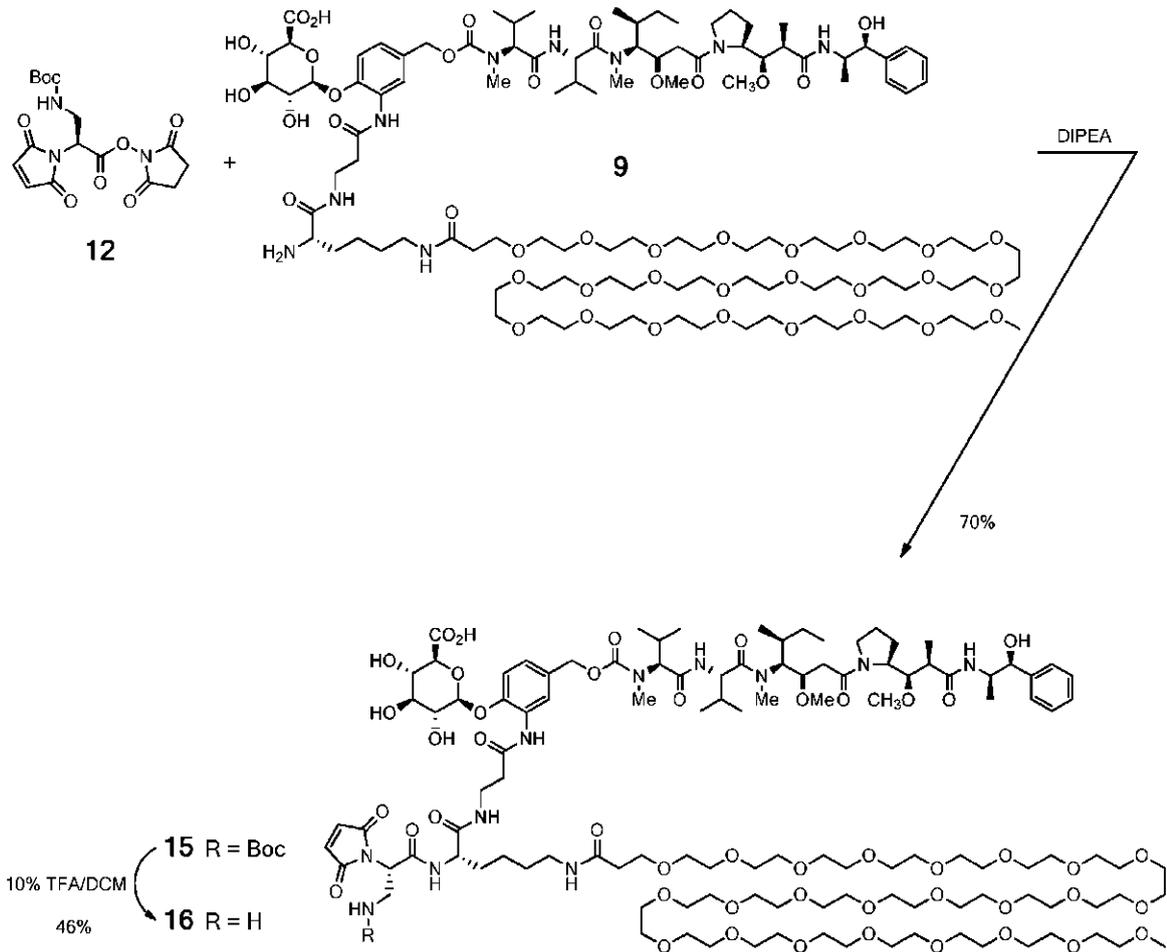
(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - (3 - ((S) - 3 - アミノ - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル)プロパンアミド)プロパンアミド) - 4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル)アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル)ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル)フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸(14): MDpr(Boc)-グルクロニド-MMAE中間体13(18 mg、13 μ mol)を含有するフラスコを、0 に氷浴中窒素下で冷却した。10%トリフルオロ酢酸のジクロロメタン(1.3 mL)溶液を滴下添加した。次いで、反応物を0 にて2時間攪拌し、この時点において、LC-MSは完全なBoc脱保護を明らかにした。次いで、反応物を粗残渣に濃縮し、分取HPLCによって精製し、MDpr-グルクロニド-MMAEリンカー14(15 mg、92%)を得た。LC-MSシステム2: t_R 9.13分、 m/z (ES⁺) 実測値、1296.6697 (M+H)⁺。

(実施例4)

並列配向でPEG単位を含むMDPR(マレイミド-ジアミノプロパン酸)グルクロニド-MMAE薬物-リンカーの合成

【化 1 4 9】

スキーム 4.



10

20

30

40

50

【 0 4 9 3 】

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - ((S) - 80 - ((S) - 3 - ((tert - ブトキシカルボニル) アミノ) - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) プロパンアミド) - 74, 81 - ジオキソ - 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71 - テトラコサオキサ - 75, 82 - ジアザペンタオクタコンタンアミド) - 4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - プチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - (((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸 (15) : MDpr (Boc) - O Su 12 (33 mg, 86 μmol) を 0.66 mL の無水ジメチルホルムアミドに溶解し、H - Lys (PEG 24) - グルクロニド - MMAE リンカー 中間体 9 (135 mg, 57 μmol) を含有するフラスコに加えた。次いで、ジイソプロピルエチルアミン (50 μL, 290 μmol) を加え、次いで、反応物を窒素下で室温にて 2.5 時間攪拌した。反応を 50 μL の氷酢酸でクエンチし、分取 HPLC によって精製し、MDpr (Boc) - Lys (PEG 24) - グルクロニド - MMAE 中間体 15 (86 mg, 58%) を得た。LC - MS システム 2 : t_R 11.71 分、m/z (ES⁺) 実測値、2624.2004 (M + H)⁺。

【 0 4 9 4 】

(2 S , 3 S , 4 S , 5 R , 6 S) - 6 - (2 - ((S) - 8 0 - ((S) - 3 - アミノ
 - 2 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) プロパンア
 ミド) - 7 4 , 8 1 - ジオキソ - 2 , 5 , 8 , 1 1 , 1 4 , 1 7 , 2 0 , 2 3 , 2 6 , 2
 9 , 3 2 , 3 5 , 3 8 , 4 1 , 4 4 , 4 7 , 5 0 , 5 3 , 5 6 , 5 9 , 6 2 , 6 5 , 6 8
 , 7 1 - テトラコサオキサ - 7 5 , 8 2 - ジアザペントオクタコンタンアミド) - 4 - ((5 S , 8 S , 1 1 S , 1 2 R) - 1 1 - ((S) - s e c - ブチル) - 1 2 - (2 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5 , 8 - ジイソプロピル - 4 , 1 0 - ジメチル - 3 , 6 , 9 - トリオキソ - 2 , 1 3 - ジオキサ - 4 , 7 , 1 0 - トリアザテトラデシル) フェノキシ) - 3 , 4 , 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - カルボン酸 (1 6) : M D p r (B o c) - L y s (P E G 2 4) - グルクロニド - M M A E 中間体 1 5 (8 6 m g 、 3 3 u m o l) を含有するフラスコを、氷浴中窒素下で 0 に冷却した。ジクロロメタン中 1 0 % のトリフルオロ酢酸 (3 . 3 m L) 溶液を滴下添加した。次いで、反応物を 0 にて 2 時間攪拌し、この時点において、L C - M S は完全な B o c 脱保護を明らかにした。次いで、反応物を粗残渣に濃縮し、分取 H P L C によって精製し、M D p r - L y s (P E G 2 4) - グルクロニド - M M A E リンカー 1 6 (3 8 m g 、 4 6 %) を得た。L C - M S システム 2 : t_R 1 0 . 5 4 分、m / z (E S⁺) 実測値、2 5 2 4 . 2 2 5 6 (M + H)⁺。

10

20

(実施例 5)

並列配向で P E G 1 2 、 P E G 8 、または P E G 4 - (P E G 4)₃ 単位を含む m D P R (マレイミド - ジアミノプロパン酸) グルクロニド - M M A E 薬物 - リンカーの合成

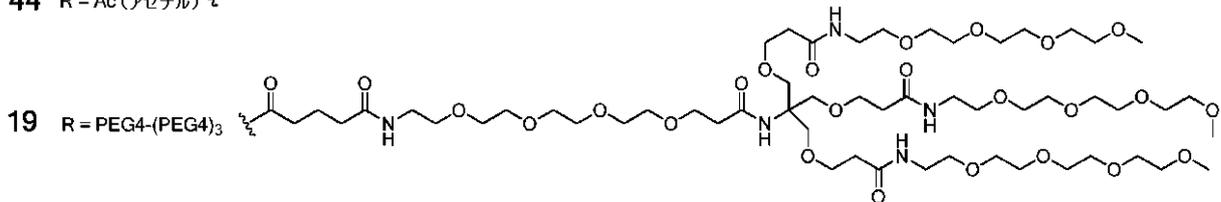
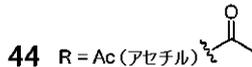
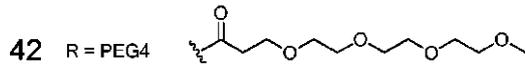
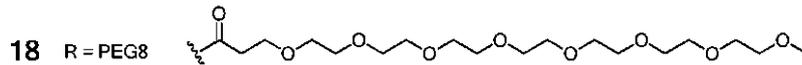
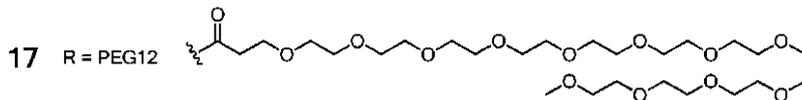
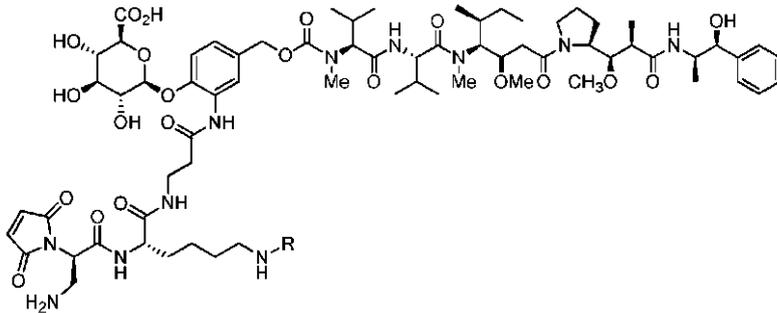
30

40

50

【化 1 5 0】

スキーム 5.



【 0 4 9 5】

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - ((S) - 44 - ((R) - 3 - アミノ - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) プロパンアミド) - 38, 45 - ジオキソ - 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35 - ドデカオキサ - 39, 46 - ジアザノナテトラコンタンアミド) - 4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸 (17) : MDpr - Lys (PEG12) - グルクロニド - MMAEリンカー - 17 を、スキーム 2 および 4 に記載した 16 と同一の様式で調製した。LC-MS システム 2 : t_R 9.88 分、m/z (E^{S+}) 実測値、1996.1001 (M+H)⁺。

【 0 4 9 6】

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - ((S) - 32 - ((R) - 3 - アミノ - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) プロパンアミド) - 26, 33 - ジオキソ - 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23 - オクタオ

10

20

30

40

50

キサ - 27, 34 - ジアザヘブタトリアコンタンアミド) - 4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル)アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル)ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル)フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸(18) : MDpr - Lys (PEG8) - グルクロニド - MMAEリンカー17を、スキーム2および4に記載した16と同一の様式で調製した。LC - MSシステム2 : t_R10.50分、m/z (ES⁺) 実測値、1818.8678 (M+H)⁺。

10

【0497】

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - ((S) - 48 - ((R) - 3 - アミノ - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル)プロパンアミド) - 15, 22, 38, 42, 49 - ペンタオキソ - 20, 20 - ビス(15 - オキソ - 2, 5, 8, 11, 18 - ペンタオキサ - 14 - アザノナデカン - 19 - イル) - 2, 5, 8, 11, 18, 25, 28, 31, 34 - ノナオキサ - 14, 21, 37, 43, 50 - ペンタアザトリペンタコンタンアミド) - 4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル)アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル)ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル)フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸(19) : MDpr - Lys (PEG4 [PEG4]3) - グルクロニド - MMAEリンカー19を、スキーム2および4に記載した16と同一の様式で調製した。LC - MSシステム2 : t_R9.92分、m/z (ES⁺) 実測値、2674.3813 (M+H)⁺。

20

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - ((S) - 20 - ((R) - 3 - アミノ - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル)プロパンアミド) - 14, 21 - ジオキソ - 2, 5, 8, 11 - テトラオキサ - 15, 22 - ジアザペンタコサンアミド) - 4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル)アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル)ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル)フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸(42) : MDpr - Lys (PEG4) - グルクロニド - MMAEリンカー42を、スキーム2および4に記載した16と同一の様式で調製した。LC - MSシステム2 : t_R10.18分、m/z (ES⁺) 実測値、1642.8586 (M+H)⁺。

30

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - ((S) - 14 - ((R) - 3 - アミノ - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル)プロパンアミド) - 8, 15 - ジオキソ - 2, 5 - ジオキサ - 9, 16 - ジアザノナデカンアミド) - 4 - ((5S, 8S, 11S, 12R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル)アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル)ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5, 8 - ジイソプロピル - 4, 10 - ジメチル - 3, 6, 9 - トリオキソ - 2, 13 - ジオキサ - 4, 7, 10 - トリアザテトラデシル)フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸(43) : MDpr - Lys (PEG2) - グルクロニド - MMAEリンカー43を、スキーム2および4に記載した16と同一の様式で調製した。LC - MS

40

50

システム 2 : t_R 10 . 10 分、 m/z (ES^+) 実測値、1554 . 8093 ($M+H$)⁺。

(2 S , 3 S , 4 S , 5 R , 6 S) - 6 - (2 - (3 - ((S) - 6 - アセトアミド - 2 - ((R) - 3 - アミノ - 2 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) プロパンアミド) ヘキサアミド) プロパンアミド) - 4 - ((5 S , 8 S , 11 S , 12 R) - 11 - ((S) - sec - ブチル) - 12 - (2 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 5 , 8 - ジイソプロピル - 4 , 10 - ジメチル - 3 , 6 , 9 - トリオキソ - 2 , 13 - ジオキサ - 4 , 7 , 10 - トリアザテトラデシル) フェノキシ) - 3 , 4 , 5 - トリヒドロキシテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - カルボン酸 (44) : MDpr - Lys (Ac) - グルクロニド - MMAE リンカー - 44 を、スキーム 2 および 4 に記載した 16 と同一の様式で調製した。LC - MS システム 2 : t_R 10 . 38 分、 m/z (ES^+) 実測値、1466 . 8109 ($M+H$)⁺。

(実施例 6)

並列配向で PEG 単位を含む mDPR (マレイミド - ジアミノプロパン酸) バリン - シトルリン - MMAE 薬物 - リンカーの合成

10

20

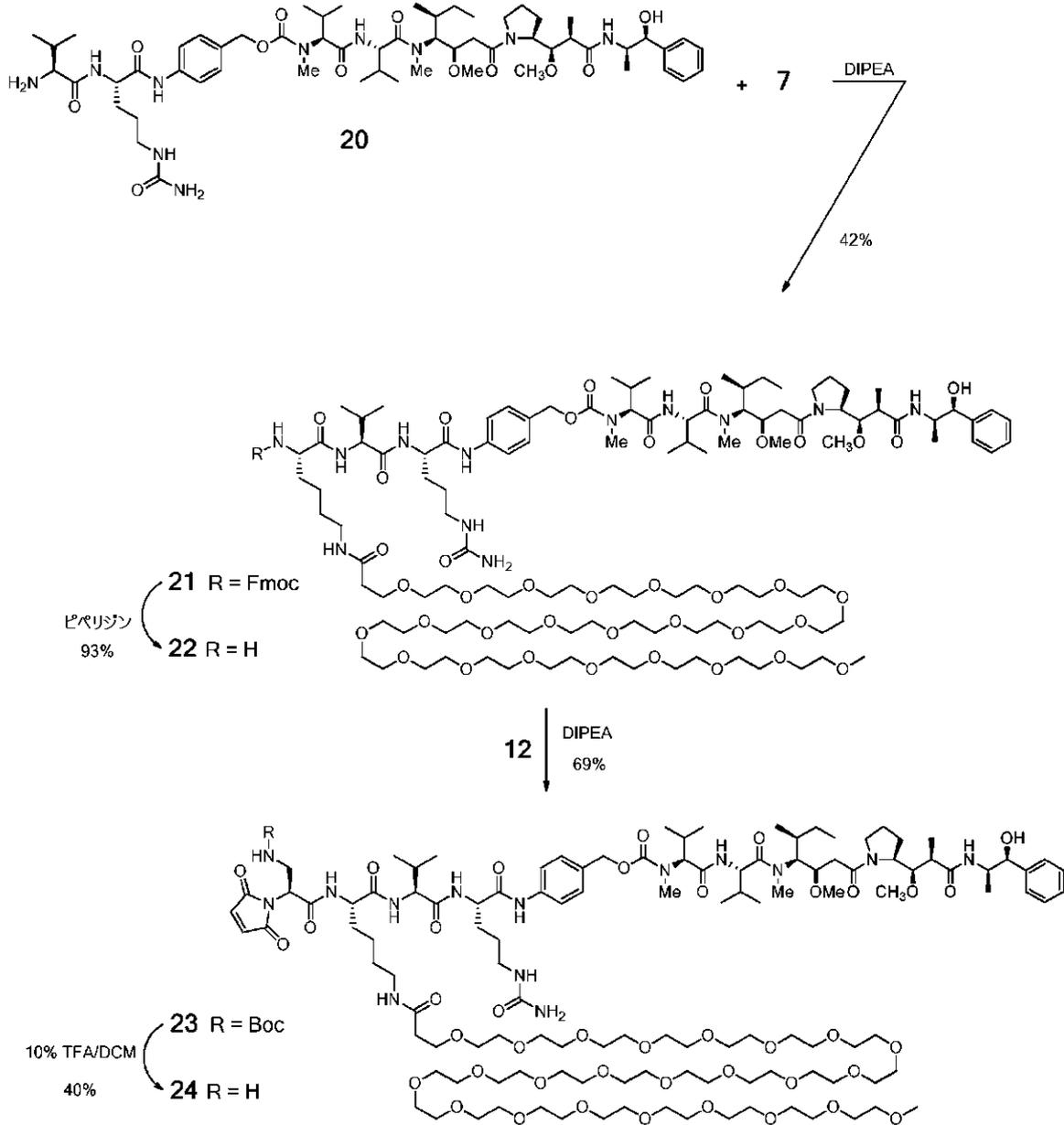
30

40

50

【化 1 5 1】

スキーム 6.



10

20

30

【 0 4 9 8 】

4 - ((8 0 S , 8 3 S , 8 6 S) - 8 0 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 8 3 - イソプロピル - 7 4 , 8 1 , 8 4 - トリオキソ - 8 6 - (3 - ウレイドプロピル) - 2 , 5 , 8 , 1 1 , 1 4 , 1 7 , 2 0 , 2 3 , 2 6 , 2 9 , 3 2 , 3 5 , 3 8 , 4 1 , 4 4 , 4 7 , 5 0 , 5 3 , 5 6 , 5 9 , 6 2 , 6 5 , 6 8 , 7 1 - テトラコサオキサ - 7 5 , 8 2 , 8 5 - トリアザヘプタオクタコンタンアミド) ベンジル ((S) - 1 - ((S) - 1 - (((3 R , 4 S , 5 S) - 1 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カルバメート (2 1) : ValCit-PAB-MMAE リンカー (米国特許第 7 , 6 5 9 , 2 4 1 号 に 記 載 し て い る よ う に 合 成 さ れ た) 中 間 体 2 0 (1 6 m g 、 1 4 μ m o l) を 無 水 ジ メ チ ル ホ ル ム ア ミ ド (0 . 2 8 m L) に 溶 解 し、

40

50

N - Fmoc - リシン (PEG) - OSu7 (25 mg、17 μ mol) を含有するフラスコに加えた。次いで、ジイソプロピルエチルアミン (12 μ L、70 μ mol) を加え、次いで、反応物を窒素下で室温にて攪拌した。6 時間後、LC - MS は、生成物への変換を明らかにした。生成物を分取 HPLC によって精製し、Fmoc - Lys (PEG 24) - ValCit - PAB - MMAE 中間体 21 (15 mg、42%) を油性残渣として得た。分析用 HPLC (0.1%ギ酸) : LC - MS システム 2 : t_R 11.67 分、 m/z (ES⁺) 実測値、2573.2493 (M+H)⁺。

【0499】

4 - ((80S, 83S, 86S) - 80 - アミノ - 83 - イソプロピル - 74, 81, 84 - トリオキソ - 86 - (3 - ウレイドプロピル) - 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71 - テトラコサオキサ - 75, 82, 85 - トリアザヘプタオクタコンタンアミド) ベンジル ((S) - 1 - ((S) - 1 - ((3R, 4S, 5S) - 1 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カルバメート (22) : Fmoc - Lys (PEG 24) - ValCit - PAB - MMAE 中間体 21 (15 mg、6 μ mol) を 0.16 mL の無水ジメチルホルムアミドに溶解し、それに続いて 0.04 mL のピペリジンを加えた。反応物を窒素下で 1.5 時間攪拌し、次いで、濃縮乾固した。生成物を分取 HPLC によって精製し、H - Lys (PEG 24) - ValCit - PAB - MMAE 中間体 22 (13 mg、93%) を油性残渣として得た。LC - MS システム 2 : t_R 9.72 分、 m/z (ES⁺) 実測値、2351.1787 (M+H)⁺。

【0500】

4 - ((80S, 83S, 86S) - 80 - ((S) - 3 - (tert - ブトキシカルボニル) アミノ) - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) プロパンアミド) - 83 - イソプロピル - 74, 81, 84 - トリオキソ - 86 - (3 - ウレイドプロピル) - 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71 - テトラコサオキサ - 75, 82, 85 - トリアザヘプタオクタコンタンアミド) ベンジル ((S) - 1 - ((S) - 1 - ((3R, 4S, 5S) - 1 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カルバメート (23) : MDpr (Boc) - OSu12 (4 mg、11 μ mol) を 0.12 mL の無水ジメチルホルムアミドに溶解し、H - Lys (PEG 24) - ValCit - PAB - MMAE リンカー 中間体 22 (13 mg、5.5 μ mol) を含有するフラスコに加えた。次いで、ジイソプロピルエチルアミン (5 μ L、28 μ mol) を加え、次いで、反応物を窒素下で室温にて 1 時間攪拌した。反応を 5 μ L の氷酢酸でクエンチし、分取 HPLC によって精製し、MDpr (Boc) - Lys (PEG 24) - ValCit - PAB - MMAE 中間体 23 (10 mg、69%) を得た。LC - MS システム 2 : t_R 11.25 分、 m/z (ES⁺) 実測値、2617.3203 (M+H)⁺。

【0501】

4 - ((80S, 83S, 86S) - 80 - ((S) - 3 - アミノ - 2 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) プロパンアミド) - 83 - イソプロピル - 74, 81, 84 - トリオキソ - 86 - (3 - ウレイドプロピル) - 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47,

50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71 - テトラコサオキサ - 75, 82, 85 - トリアザヘプタオクタコンタンアミド) ベンジル ((S) - 1 - (((S) - 1 - (((3 R , 4 S , 5 S) - 1 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カルバメート (24) : MDpr (Boc) - Lys (PEG24) - ValCit - PAB - MMAE 中間体 23 (10 mg、4 μ mol) を含有するフラスコを、0 に氷浴中窒素下で冷却した。ジクロロメタン中 10 % のトリフルオロ酢酸 (0.4 mL) 溶液を滴下添加した。次いで、反応物を 0 にて 3 時間攪拌した。次いで、反応物を粗残渣に濃縮し、分取 HPLC によって精製し、MDpr - Lys (PEG24) - ValCit - PAB - MMAE リンカー 24 (4 mg、40 %) を得た。LC - MS システム 2 : t_R 9.81 分、 m/z (ES^+) 実測値、2517.2930 ($M+H$)⁺。

10

(実施例 7)

並列配向で PEG を含む ADC は、これらの PEG 化されていないカウンターパートまたは直列配向の PEG を含む ADC と同様の *in vitro* の活性を示す

【 0502 】

対数増殖で培養した細胞を、20 % FBS を補充した 150 μ L の RPMI 1640 を含有する 96 ウェルプレート中で 24 時間播種した。細胞培養培地中の ADC の段階希釈物を 4 倍の作業濃度にて調製し、50 μ L の各希釈物を 96 ウェルプレートに加えた。ADC の添加の後、細胞を試験物質と共に 37 にて 4 日間インキュベートした。96 時間後、増殖阻害を Cell Titer Glo (Promega、Madison、WI) によってアセスメントし、発光をプレートリーダーで測定した。三連で決定した IC₅₀ 値を、未処置の対照に対する細胞成長における 50 % の低減をもたらす濃度としてここで定義する。

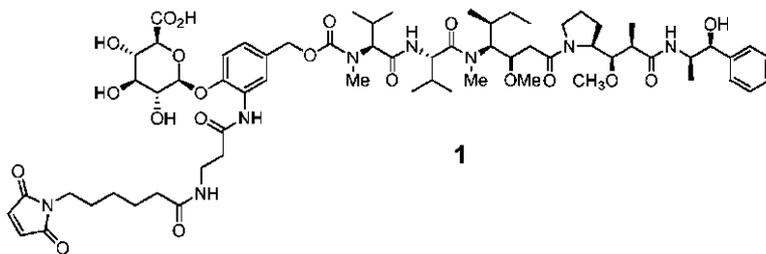
20

【 0503 】

化合物 1、4、および 10 を、米国特許第 7,090,843 号に記載されているキメラ cAC10 抗体へとこれらの鎖間のチオールを介して抗体当たり 8 個の薬物の平均薬物負荷量でコンジュゲートした。化合物 4 および 10 は、上記に記載されている。化合物 1 は、下記の通りである。

30

【 化 152 】



40

結果として生じた ADC の *in vitro* の細胞毒性活性を、CD30⁺ および CD30⁻ 細胞系に対して測定した。PEG の負荷も、その構成も、*in vitro* の活性に対して有意なインパクトを有さなかった。ADC 効力における無視できる差異のみが観察され、2 つの細胞系 (L540cy および Karpas - 299) において、活性は本質的に同一であった (表 1)。

50

【表 1】

表1.抗CD30ADCのin vitroの細胞毒性活性値は、ng/mLでのIC₅₀を表す。

ADC	薬物 /Ab	CD30+			CD30-
		細胞系			
		Karpas	L540cy	L428	
		299			WSU-
					NHL
cAC10-1	8	2.5	4.4	9	効果なし
cAC10-4	8	1.5	4.4	34	効果なし
cAC10-10	8	1.7	6.6	13	効果なし

10

(実施例 8)

20

並列配向でPEGを含むADCは、直列配向のPEGを含むADCと比較して好ましい薬物動態を示す

【0504】

抗体およびADC放射性標識 - 放射性標識された抗体またはADCを使用して、薬物動態(PK)実験を行った。下記の手順を使用して、PK試験物質を放射性標識した。さらなる50mMのリン酸カリウム(pH8.0)および50mMの塩化ナトリウムを補充したPBS中の抗体またはADCの溶液に、1mgの抗体またはADC当たり55μCiのN-スクシンイミジルプロピオネート、[プロピオネート-2,3-³H]-(Moravek Biochemicals、カタログ番号:MT919、80Ci/mmol、1mCi/mL、9:1のヘキサン:酢酸エチル溶液)を加えた。このように得られた混合物をボルテックスし、室温にて2時間静置した。混合物を4,000×gにて5分間遠心分離し、下層の水層を取り出し、Amicon Ultra-15 Centrifugal Filter Units (Millipore、カタログ番号:UFC903024、30kDaのMWC0)中に分割した。コンジュゲートしていない放射能を、4ラウンドの希釈および4,000×gでの遠心分離によって除去した。このように得られた生成物を無菌の0.22μmのUltrafree-MC Centrifugal Filter Units (Millipore、カタログ番号:UFC30GV05)を通して濾過し、最終抗体またはADC濃度を分光光度法で測定した。各生成物の比放射能(μCi/mg)を、液体シンチレーション計測によって決定した。

30

【0505】

40

薬物動態実験 - コンジュゲートしていない抗体またはADCの薬物動態特性を、いくつかのげっ歯類モデルにおいて調査した。各実験において、動物の体重kg当たり1~3mgの放射性標識された抗体またはADCを、尾静脈を通して注射した。各試験物質を同型動物(replicate animal)において1回投与した。血液を、様々な時点において、伏在静脈を介して、または終末採血のための心臓穿刺によってK₂EDTAチューブ中に採取した。血漿を、10,000×g、10分間の遠心分離によって単離した。各時点からの10~20μLの血漿の試料を、4mLのEccoscint-A液体シンチレーションカクテル(National Diagnostics)に加え、総放射能を液体シンチレーション計測によって測定した。このように得られた壊変毎分の値をμCiに変換し、放射性標識された試験物質の比放射能を使用して、各時点で血漿中に残る抗

50

体またはADCの濃度を計算した。薬物動態パラメーター（クリアランスおよびAUC）を、このように得られた血漿濃度データから決定した。静脈内ボラス投与オプションを使用して、推定した薬物動態パラメーターを、Phoenix WinNonlin v 6.3（Pharsight、Mountain View、CA）において非コンパートメント分析によって計算した。

【0506】

化合物1、4、および10を、これらの鎖間のチオールを介して参照により本明細書に組み込まれている米国特許第7,090,843号に記載されているキメラcAC10抗体へと抗体当たり8個の薬物の平均薬物負荷量でコンジュゲートした。予想どおりに、8コピーのPEG化されていない薬物-リンカー1を用いて調製したADCは、コンジュゲートしていない抗体に対して非常に速いクリアランスおよび低い曝露を示した（図7）。驚いたことに、直列構成のPEGを利用したPEG化された薬物-リンカー4は、PEG化されていない型よりさらに速いクリアランスおよびより低い曝露を有するADCを生じさせた。この設計によって調製したADCの技術分野における例の数をかんがみて、この結果は予想されなかった。対照的に、並列構成のPEGを利用する薬物-リンカー10を用いて調製したADCは、PEG化されていない型より相当に遅いクリアランスおよび大きな曝露を有するADCを生じさせた（図7および表2を参照されたい）。

【表2】

表2

リガンド-薬物コンジュゲート	クリアランス(mL/日/kg)	AUC _{0-inf} (日*μg/ml)
cAC10	8.6	604.1
cAC10-1	48.6	67.0
cAC10-4	57.8	52.0
cAC10-10	14.2	229.7

【0507】

代わりに、ELISAをベースとする総抗体（Tab）アッセイを使用して、薬物動態測定値を得ることができる。0.05Mの炭酸塩-炭酸水素塩緩衝液（pH9.6、Sigma Aldrich、St. Louis、MO）中の抗ヒトIgGカッパ抗体（0.5mg/mL、抗体溶液、Mountain View、CA）の100μLの溶液を、MaxiSorp（商標）（Sigma Aldrich、St. Louis、MO）でコーティングした96ウェルポリスチレンプレートの各ウェルに加えた。プレートを4にて一晩インキュベートした。インキュベーション後、プレートを0.05% Tween-20を含有するPBS（PBS-T）で3回洗浄した。次いで、ウェルを、1%ウシ血清アルブミンを含有するPBS-Tで室温にて少なくとも1時間ブロックした。ブロック後、プレートをPBS-Tで3回洗浄した。標準曲線を作製するために、抗体またはADC標準物質の濃縮されたストック（40倍濃度）をラット血漿またはマウス血漿中で調製した。次いで、血漿試料および標準物質をPBS-T中で1:40希釈した。希釈した試料および標準物質（100μL）をELISAプレートのウェルに加え、室温にて1時間インキュベートした。インキュベーション後、試料を取り出し、プレートをPBS-Tで3回洗浄した。ペルオキシダーゼ-AffiniPure F(ab')₂ Fragment ヤギ抗ヒトIgG、Fc Fragment Specific（Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West G

rove、PA)の溶液を、PBS-T中で1:30,000希釈し、100 μ Lを各ウェルに加えた。プレートを室温にて1時間インキュベートした。インキュベーション後、試料を取り出し、プレートをPBS-Tで3回洗浄した。SureBlueTMB Microwellペルオキシダーゼ基質(KPL, Inc. Gaithersburg, MD)の溶液を、各ウェルに加えた(100 μ L)。プレートを室温にて11~12分間インキュベートし、反応物を100 μ Lの1NのHClでクエンチした。プレートを、Molecular Devices Spectromaxプレートリーダーで450nmにて読み取った。

(実施例9)

並列配向のPEGを含むADCは、直列配向のPEGを含むADC、またはPEG単位を欠いているADCと比較して*in vivo*の活性を改善させた

10

【0508】

*In vivo*の異種移植片モデル - 全ての実験は、Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Careによって完全に認定された施設において動物実験委員会(Animal Care and Use Committee)に従って行った。Karpas 299未分化大細胞リンパ腫、L540cyホジキンリンパ腫、Ramosバークットリンパ腫、およびMCF-7乳がんの異種移植片モデルにおいて有効性実験を行った。免疫力が低下したマウスにおいて細胞懸濁液または腫瘍フラグメントを皮下移植した。MCF-7腫瘍を皮下に移植して担持させたマウスに、17-エストラジオールの徐放性錠剤を共投与した。平均腫瘍体積が約100mm³に達したとき、マウスを研究群に無作為化した。ADCまたは対照を、一度*ip*投与した。時間の関数としての腫瘍体積は、式(L \times W²)/2を使用して決定した。腫瘍体積が1000mm³に達したとき、動物を安楽死させた。持続的な退縮を示すマウスを、移植後概ね100日に終了させた。

20

【0509】

2mg/kg(単回用量)の各ADCを投与したL540cyモデル(図1)を用いて、およびKarpas-299モデルについては0.6mg/kg(単回用量)(図2)で最初の研究を行った。経時的な腫瘍体積のプロットを図1および2に示す。全ての薬物-リンカーを、これらの鎖間のチオールを介して参照により本明細書に組み込まれている米国特許第7,090,843号に記載されているキメラcAC10抗体へと、抗体当たり8個の薬物の平均薬物負荷量でコンジュゲートした。両方のモデルにおいて、1(cAC10-mc-PAB(gluc)、PEG化されていない)および10(スキーム2におけるPEG化された設計)を用いて調製したADCは、これらの用量群において全ての動物(5/5)が治癒し、一方、4を用いて調製したADCは治癒を生じさせず、腫瘍成長のわずかな遅延を生じさせた。cAC10-4の減弱した活性は、図7に示すPK研究において観察される、その非常に低減した曝露と一致する。cAC10-1およびcAC10-10の間に活性における薬物動態的に決定される差異がまた観察されるが、より低い用量が必要とされることが考えられた。したがって、両方のモデルにおいて最初の研究において使用された投与量の2分の1および4分の1の用量レベルを用いて研究を繰り返した。L540cyについて、1mg/kgの用量は、cAC10-10について完全な治癒(6/6匹)を生じさせ、cAC10-1について2/6匹のみの治癒を生じさせた(図3)。0.5mg/kgで、いずれの群についても治癒は観察されなかった。しかし、cAC10-10は、cAC10-1より長い腫瘍成長の遅延を実現した(図3)。両方の用量レベルで、cAC10-10についてのL540cy抗腫瘍活性は、これらのそれぞれの薬物動態特性と一致して、cAC10-1についてより大きい。Karpas-299について、0.3mg/kgの用量は、cAC10-10について6/6匹の治癒を生じさせ、cAC10-1について5/6匹の治癒を生じさせた(図4)。0.15mg/kgで、cAC10-10について5/6匹の治癒が観察され、cAC10-1について2/6匹のみの治癒が観察された(図4)。それゆえ、Karpas-299について、cAC10-10について最も低い用量レベルにおいてより大きな抗腫瘍活性が観察

30

40

50

され、両方のADCはこのレベルを上回る高い治癒率を示した。

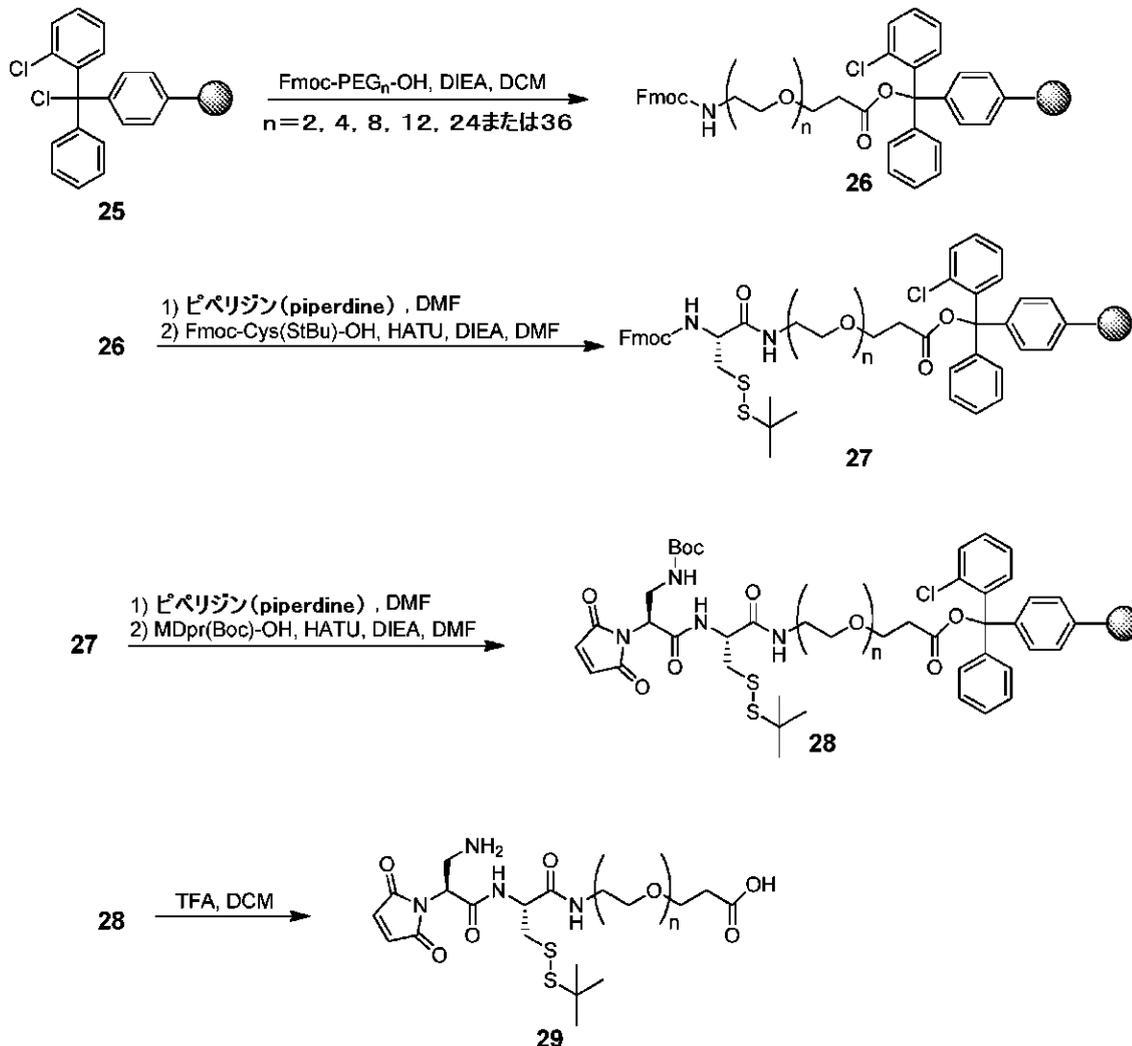
【0510】

スキーム3および4は、コンジュゲーションのポイントとしてN-マレイミド-ジアミノプロピオン(MDpr)酸基を組み込んだ、それぞれ、PEG化されていないリンカー1およびPEG化されたリンカー10の類似体の合成を記載する。Karpas 299 A L C LおよびRamos パーキットリンパ腫モデルにおいて2つのリンカーを評価した。Karpas 299について、14(PEG化されていない)および16(並列PEG化)のcAC10コンジュゲートを0.2 mg/kgで1回投与し、腫瘍の伸展における同様の遅延が観察された(図5)。対照的に、Ramosモデルにおいて、2つの異なる用量で、hBU12-16は、hBU12-14より大きな抗腫瘍活性を発揮した。2 mg/kgの単回用量に続いて、hBU12-14についての0/5匹と比較して、hBU12-16は5/5匹の治癒を生じさせた(図6)。

(実施例10)

mDPR-cys(StBu)-PEG_{2~36}-OHコンジュゲーション足場およびmDPR-cys(StBu)-PEG_{48~72}-OHコンジュゲーション足場の合成
【化153】

スキーム7: MDpr-Cys(StBu)-PEG_{2~36}-OHの合成



10

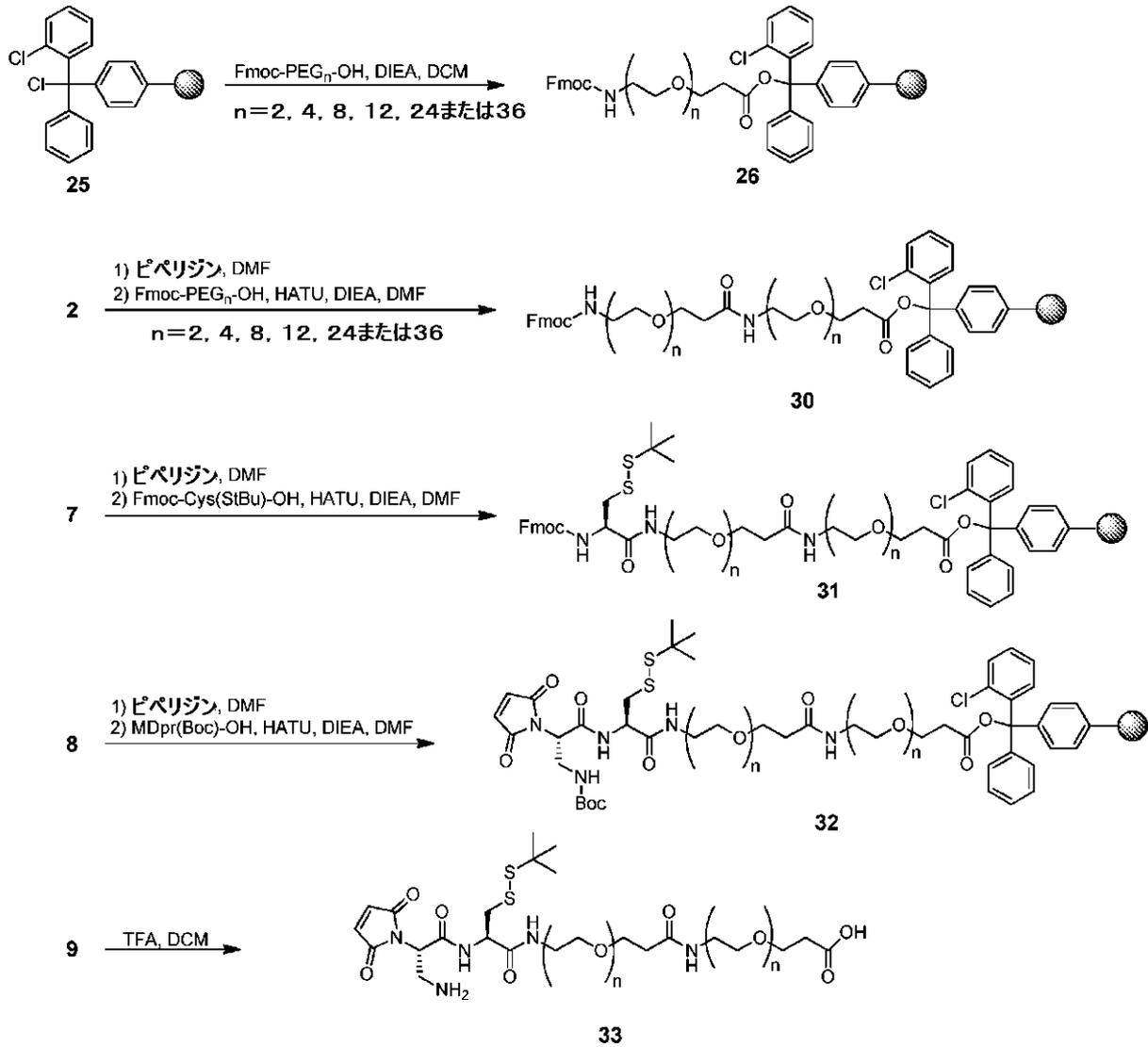
20

30

40

50

【化 1 5 4】

スキーム8: MDpr-Cys(StBu)-PEG_{48~72}-OHの合成

10

20

30

【0511】

2 - クロロトリチル - クロリド樹脂負荷量：多孔質ポリプロピレンディスクをフィットさせたポリプロピレンシリンジに、2 - クロロトリチル - クロリド樹脂を負荷した。Fmoc-PEG_n-OH (1 当量) および DIEA (1 当量) の無水 DCM (10 mL / グラムの樹脂) 溶液を、シリンジ中に入れた。シリンジをゴム栓でキャップし、5 分間攪拌し、この時点で、さらなる DIEA (1.5 当量) を加えた。さらに 30 分間振盪した後、MeOH (少なくとも 0.8 mL / グラムの樹脂) をシリンジ中に入れ、未反応の樹脂をクエンチした。5 分間振盪した後、溶液をシリンジから取り出し、樹脂を DMF (6 × 5 mL)、DCM (6 × 5 mL)、およびジエチルエーテル (6 × 5 mL) で洗浄した。樹脂を真空下で乾燥させた。

40

【0512】

Rink アミド樹脂負荷量：Fmoc 保護された PEG または アミノ酸 (4 当量) の無水 DMF (10 mL / グラムの樹脂) 溶液に、HATU (4 当量) および DIEA (8 当量) を加えた。溶液を 5 分間攪拌し、Rink アミド樹脂を負荷した多孔質ポリプロピレンディスクをフィットさせたポリプロピレンシリンジ中に入れた。反応混合物を最低 2 時間攪拌し、反応の完全さを Kaiser 試験によって確認した。樹脂を DMF (6 × 5 m

50

L)、DCM(6×5mL)、およびジエチルエーテル(6×5mL)で洗浄し、真空下で乾燥させた。

【0513】

Fmoc脱保護：多孔質ポリプロピレンディスクをフィットさせたポリプロピレンシリンジ中のFmoc-PEG_n-2-クロロトリチル樹脂を、DCM(10mL/グラムの樹脂)で30分間膨潤させた。DCMを取り出し、樹脂をDMF(6×5mL)で洗浄した。樹脂を、攪拌しながら20%ピペリジンのDMF溶液(3×2分および1×60分)で洗浄した。反応の完全さをKaiser試験によって確認し、このように得られたFmoc脱保護された樹脂をDMF(6×5mL)、DCM(6×5mL)、およびジエチルエーテル(6×5mL)で洗浄し、真空下で乾燥させた。

10

【0514】

アミノ酸カップリング：Fmoc保護されたPEG酸、アミノ酸、またはMDpr(Boc)-OH(3当量)の無水DMF(10mL/グラムの樹脂)溶液に、HATU(3当量)およびDIEA(6当量)を加えた。溶液を5分間攪拌し、Fmoc脱保護アミノ酸2-クロロトリチル-樹脂を含有するポリプロピレンシリンジ中に入れた。反応混合物を最低2時間攪拌し、反応の完全さをKaiser試験によって確認した。樹脂をDMF(6×5mL)、DCM(6×5mL)、およびジエチルエーテル(6×5mL)で洗浄し、真空下で乾燥させた。

【0515】

IvDde保護基の除去：IvDde保護基を除去するために、ペプチド樹脂を、攪拌しながら2%ヒドラジンのDMF溶液(2×30分)で洗浄した。反応の完全さをKaiser試験によって確認し、このように得られたIvDde脱保護された樹脂をDMF(6×5mL)、DCM(6×5mL)、およびジエチルエーテル(6×5mL)で洗浄し、真空下で乾燥させた。

20

【0516】

ペプチド樹脂切断：最終ペプチドを、DCM(2-クロロトリチル樹脂について30%v/vまたはRinkアミド樹脂について95%v/v)中のTFAによる15分間の処理によって樹脂から切断した。切断後、溶液をさらに60分間静置し、MDpr残基からのBoc保護基の完全な除去を確実にした。このように得られた溶液を窒素流で蒸発させ、このように得られたペプチドをLC-MSによって分析した。ペプチドを粗製物で使用するか、または分取逆相HPLCによって精製し、それに続いてLC-MS分析を行った。

30

(実施例11)

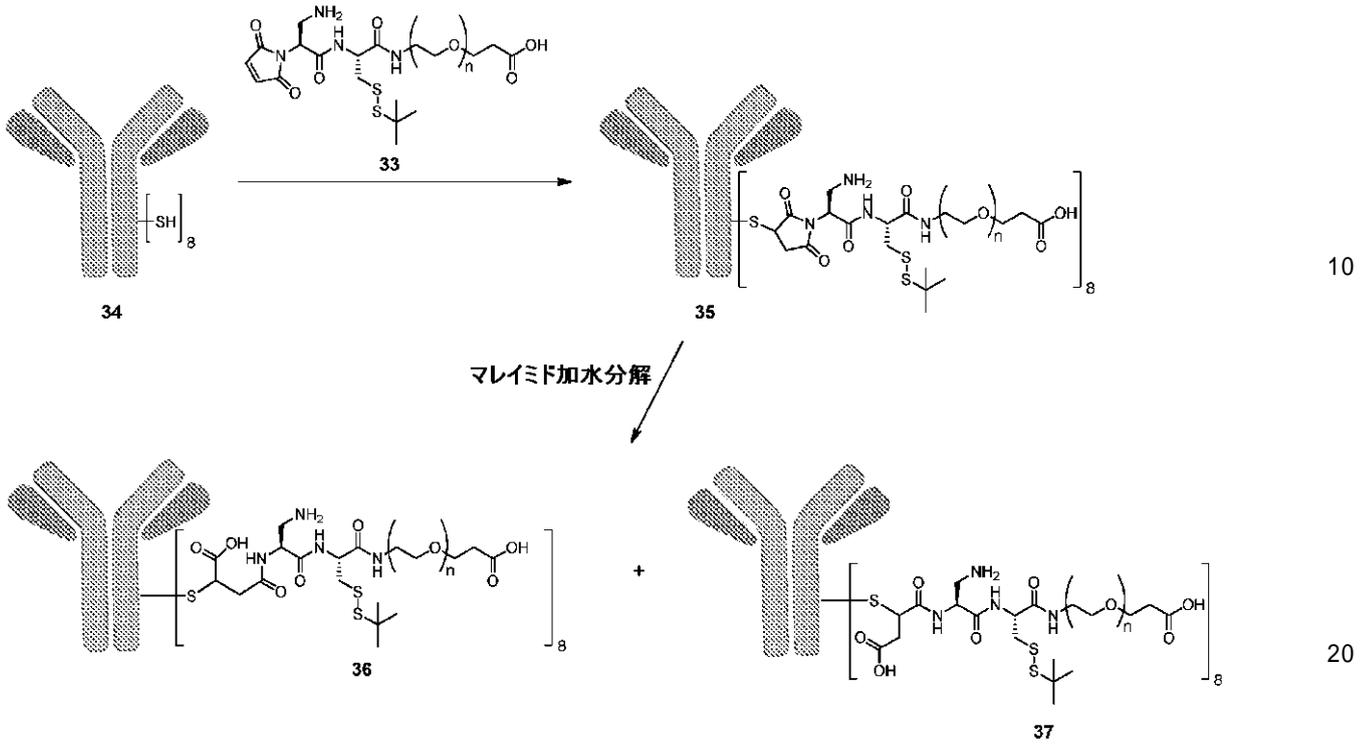
抗体および薬物-リンカーへのPEG化されたコンジュゲーション足場のコンジュゲーション。

40

50

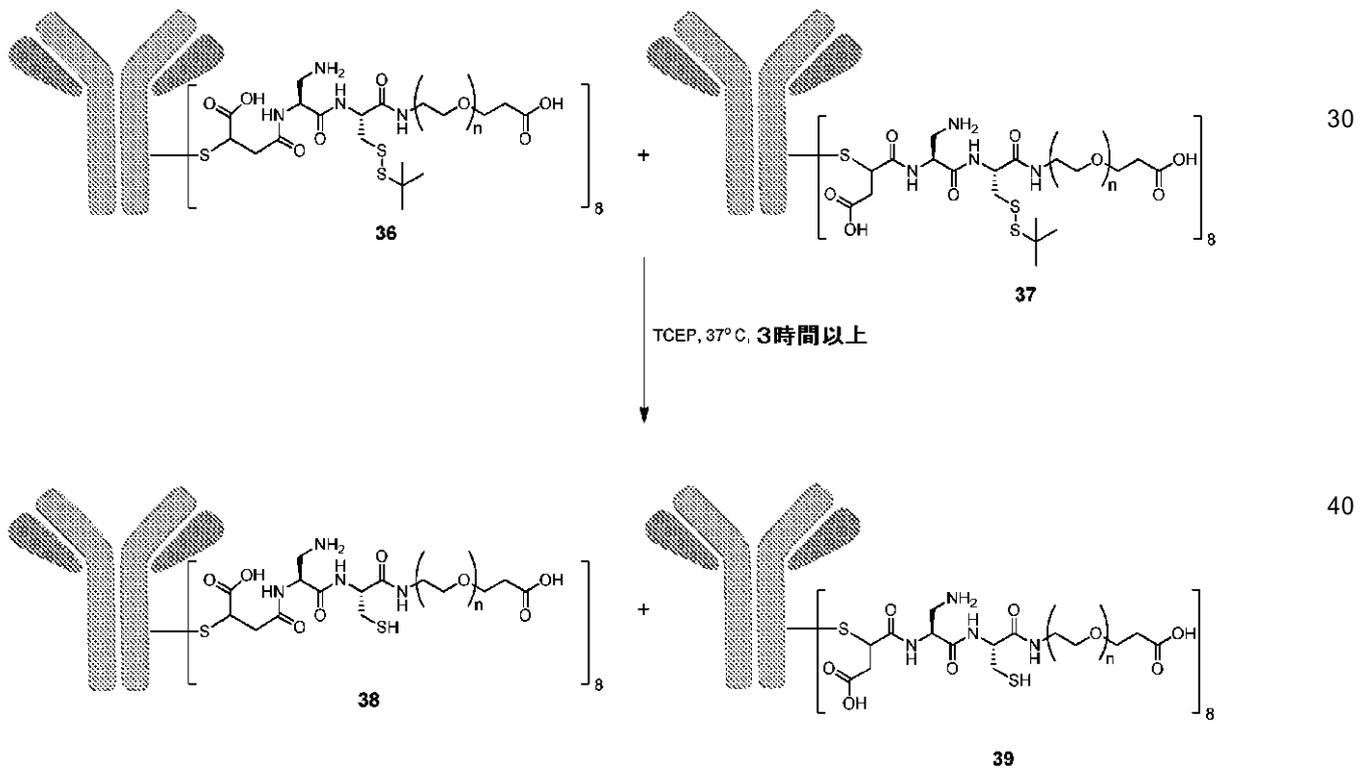
【化 1 5 5】

スキーム9: 完全に還元された抗体鎖間のジスルフィドへのPEG化された足場のコンジュゲーション



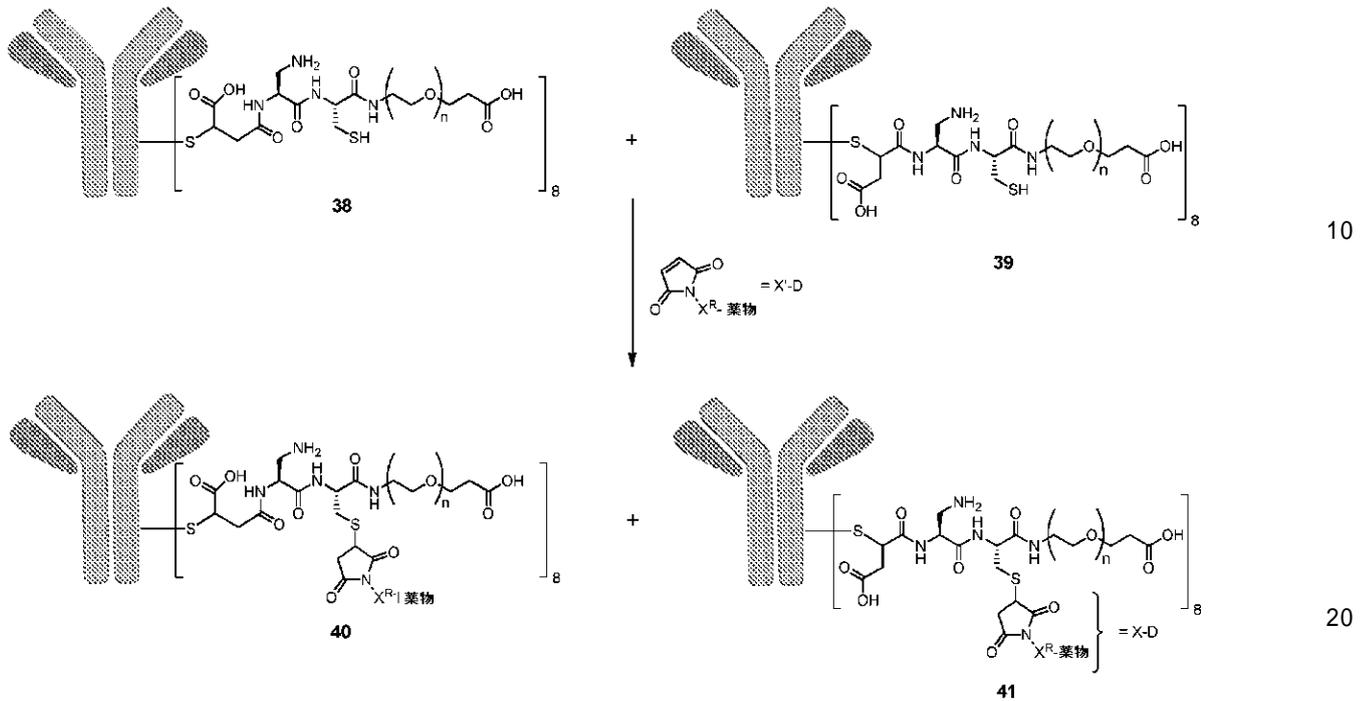
【化 1 5 6】

スキーム10: PEG化されたコンジュゲーション足場の脱保護



【化 1 5 7】

スキーム11: PEG化された足場への薬物コンジュゲーション



式中、 X^R は、 X^D 部分中の放出可能なアセンブリ単位前駆体 X^D の残部または X^D 部分中の放出可能なアセンブリ (assembly) 単位 X の残部である。

【0 5 1 7】

抗体鎖間のジスルフィド結合の完全な還元：ジエチレントリアミン五酢酸 (1 mM) を含有し、さらなるリン酸カリウム (100 mM、pH 7.4) で緩衝化した PBS 中の概ね 10 mg/mL の濃度の抗体の溶液に、1.2 当量のトリス (2-カルボキシエチル)-ホスフィン (TCEP) を加えた。溶液をボルテックスし、37 °C にて 1 時間インキュベートした。鎖間のジスルフィド結合の完全な還元を、逆相クロマトグラフィーによって確認した。還元が不完全であった場合、さらなる TCEP を加えた。還元後、抗体溶液を、3 ラウンドの希釈および 30 kDa の MWCO フィルターを通す 4,000 × g での遠心分離によって 2 mM の EDTA を含有する PBS 中に脱塩した。このように得られた完全に還元された抗体 (34) を、無菌の 0.22 μm の遠心濾過膜を通して濾過し、直ちに使用し、または -80 °C にて貯蔵した。

【0 5 1 8】

マレイミド含有 PEG 化された足場のコンジュゲーション：EDTA (2 mM) を含有し、さらなるリン酸カリウム (100 mM、pH 7.4) で緩衝化した PBS 中の概ね 10 mg/mL の濃度の完全に還元された抗体 (34) の溶液に、5 ~ 20 mM の DMSO ストック溶液からの 1.2 モル当量の MDPr-PEG_n-OH を加えた。このように得られた溶液を室温にて 30 分間静置した。完全なコンジュゲーションを逆相クロマトグラフィーによって確認した。コンジュゲーションが不完全であった場合、さらなる PEG 試薬を加えた。コンジュゲーション後、抗体溶液を、3 ラウンドの希釈および 30 kDa の MWCO フィルターを通す 4,000 × g での遠心分離によって PBS 中に脱塩した。このように得られた PEG 化された抗体溶液 (36 および 37) を無菌の 0.22 μm の遠心濾過膜を通して濾過し、直ちに使用し、または -80 °C にて貯蔵した。

【0 5 1 9】

PEG 化されたコンジュゲーション足場からの t-ブチルチオール保護基の除去：ジエ

チレントリアミン五酢酸 (1 m M) を含有し、さらなるリン酸カリウム (1 0 0 m M 、 p H 7 . 4) で緩衝化した P B S 中の概ね 1 0 m g / m L の濃度の P E G 化された抗体 (3 6 および 3 7) の溶液に、2 0 ~ 3 0 当量の T C E P を加えた。溶液をボルテックスし、3 7 にて 3 時間インキュベートした。t - ブチルチオール保護基の完全な除去を、逆相クロマトグラフィーによって確認した。さらなる T C E P を加え、還元が不完全であった場合、3 7 でのインキュベーションを続けた。還元後、抗体溶液を、3 ラウンドの希釈および 3 0 k D a の M W C O フィルターを通す 4 , 0 0 0 × g での遠心分離によって 2 m M の E D T A を含有する P B S 中に脱塩した。このように得られた脱保護された P E G 化された抗体溶液 (3 8 および 3 9) を無菌の 0 . 2 2 μ m の遠心濾過膜を通して濾過し、直ちに使用し、または - 8 0 にて貯蔵した。

10

【 0 5 2 0 】

マレイミド含有薬物リンカーのコンジュゲーション：E D T A (2 m M) を含有し、さらなるリン酸カリウム (1 0 0 m M 、 p H 7 . 4) で緩衝化した P B S 中の概ね 1 0 m g / m L の濃度の脱保護された P E G 化された抗体 (3 8 および 3 9) の溶液に、5 ~ 2 0 m M の D M S O ストック溶液からの 1 2 モル当量のマレイミド含有薬物 - リンカーを加えた。このように得られた溶液を室温にて 3 0 分間静置した。完全なコンジュゲーションを、逆相クロマトグラフィーによって確認した。コンジュゲーションが不完全であった場合、さらなる薬物 - リンカーを加えた。コンジュゲーション後、抗体溶液を、3 ラウンドの希釈および 3 0 k D a の M W C O フィルターを通す 4 , 0 0 0 × g での遠心分離によって P B S 中に脱塩した。このように得られた P E G 化された抗体 - 薬物コンジュゲート溶液 (4 0 および 4 1) を無菌の 0 . 2 2 μ m の遠心濾過膜を通して濾過し、サイズ排除クロマトグラフィー (S E C) によって分析し、- 8 0 にて貯蔵した。

20

(実施例 1 2)

並列配向で P E G を含む A D C は、低い凝集レベルを示した

【 0 5 2 1 】

コンジュゲートの S E C 分析：抗体、P E G 化された A D C 試料 (5 0 μ g) の A D C を P B S 中で 1 m g / m L に希釈し、3 0 μ L の注射物を W a t e r s 2 6 9 5 H P L C システムの分析用 S E C カラム (T O S O H T S K g e l G 3 0 0 0 S W X L 、 7 . 8 m m 、 I D × 3 0 c m 、 5 μ m) でクロマトグラフィを行った。試料を、9 2 . 5 % の 2 5 m M リン酸ナトリウム (p H 6 . 8) 、 3 5 0 m M N a C l 、 および 7 . 5 % の イソプロピルアルコールによって 1 m L / 分の流量にて均一濃度で溶出させた。

30

【 0 5 2 2 】

A D C の凝集に対する P E G 長さの効果を調査するために、様々なサイズの P E G 単位を使用してアSEMBルした P E G 化されたコンジュゲーション足場を用いるか、または用いずに、抗体当たり 8 個の薬物を有する c A C 1 0 - M D p r - v c M M A E A D C を調製した。S E C の結果を図 8 に示す。P E G 化されたコンジュゲーション足場の含有がないもの (c A C 1 0 - A) では、A D C の凝集は 1 0 . 4 % であった。P E G 化された足場を付加することによって、より低い凝集レベルを有する A D C が生成する。凝集は P E G ₃₆ (c A C 1 0 - D) までの P E G 長さの増加と共に減少し、その場合、凝集ピークは総シグナルの 2 . 0 % であった。c A C 1 0 - M D p r - v c M M A E の場合、P E G ₃₆ より長い P E G 単位 (c A C 1 0 - D - c A C 1 0 - G) は、凝集をさらに減少させない。

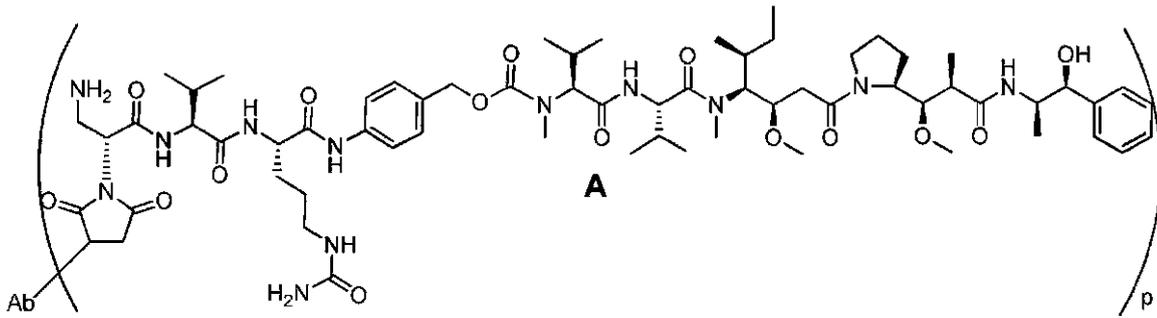
40

【 0 5 2 3 】

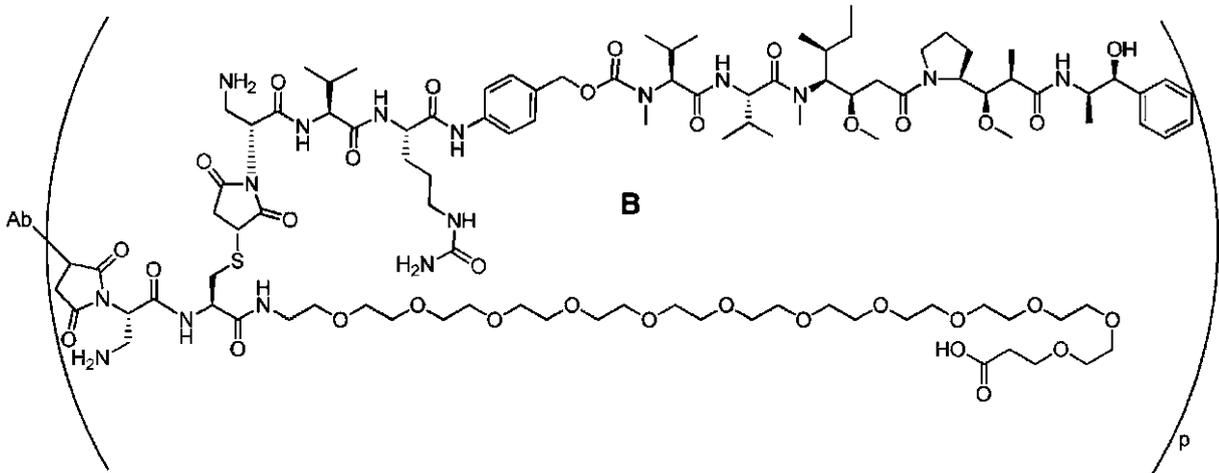
S E C 研究に含まれる薬物 - リンカーの構造：A D C を、抗体へと鎖間のチオールを介してコンジュゲートする。抗体 - 置換スクシンイミドは、その加水分解された形態で存在し得る (すなわち、スクシンイミドの C - N 結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される) 。

50

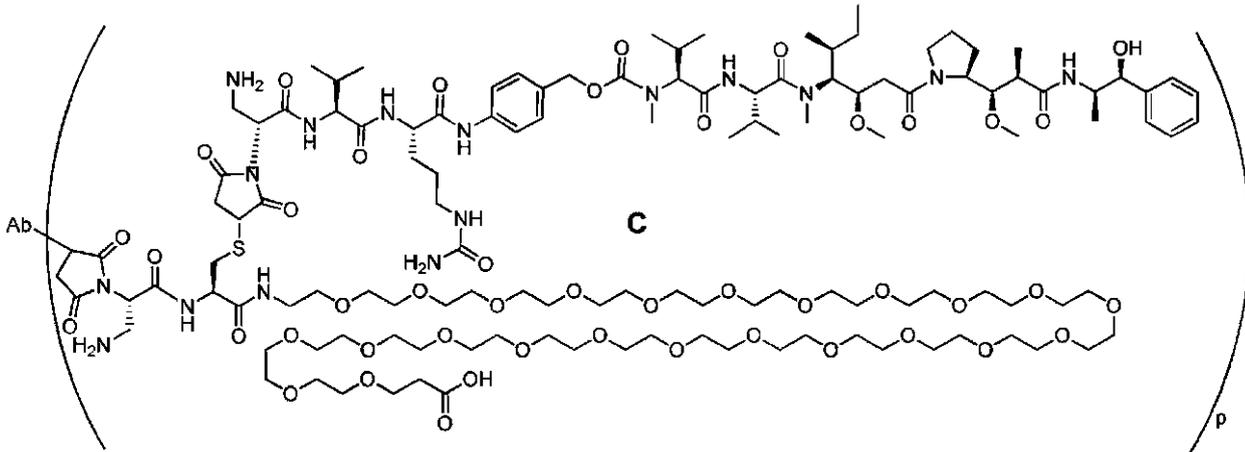
【化 1 5 8 - 1】



10



20

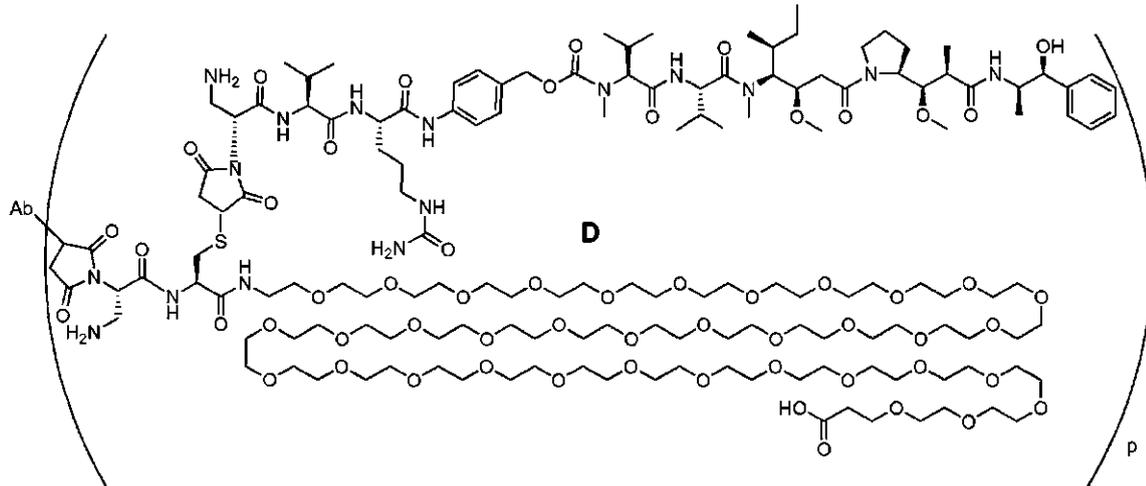


30

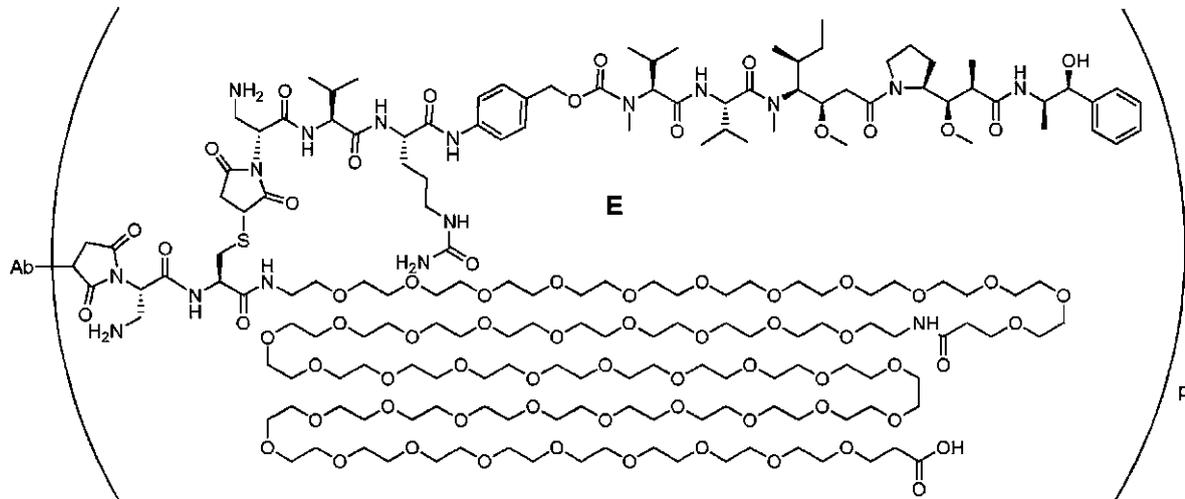
40

50

【化 1 5 8 - 2】



10



20

30

(実施例 1 3)

並列配向でPEGを含むADCは、そのPEG化されていないカウンターパートと同様の *in vitro* の活性を示す

【 0 5 2 4 】

PEG化されたコンジュゲーション足場を用いて調製したADCの *In Vitro* の細胞毒性

CD30を対象としたMDpr-vcMMAEをベースとするADCを、PEG化されたコンジュゲーション足場の付加あり、およびそれなしに調製した。化合物A (PEG化されていない)、B (PEG₁₂)、C (PEG₂₄)、およびD (PEG₃₆)のコンジュゲートを、CD30陽性細胞系、Karpas 299およびL540cyに対して試験した。PEGを含むことおよびPEGの長さの増加は、*in vitro* の細胞毒性において無視できる差異をもたらす (表3)。MDpr-vcMMAE (cAC10-H、cAC10-I、およびcAC10-J)の代わりにn-エチルアミノマレイミド (NAEM)を用いて調製される対照ADC (PEG化されていないおよびPEG化された)は、このアッセイにおいて活性を示さなかったが、これはPEG化された足場は *in vitro* の細胞毒性に寄与しないことを示す。

40

【表 3】

表3 PEG化されたコンジュゲーション足場を用いて調製した抗CD30ADCの*in vitro*の細胞毒性活性値は、
ng/mLでのIC₅₀を表す。

ADC	薬物/Ab	CD30+ 細胞系	
		Karpas 299	L540cy
cAC10-A	8	1.7	5.6
cAC10-B	8	2.2	5
cAC10-C	8	4.2	5.5
cAC10-D	8	4.3	4
cAC10-NAEM	8	効果なし	効果なし
cAC10-H	8	効果なし	効果なし
cAC10-I	8	効果なし	効果なし
cAC10-J	8	効果なし	効果なし

10

20

【0525】

4個の薬物負荷量を有するPEG化されていないコンジュゲートcAC10-Aと比較したとき、8個の薬物を負荷されたcAC10-Aは、Karpas 299およびL540cyに対して2~4倍の*in vitro*の細胞毒性を有した。しかし、8負荷されたADCは、該8負荷されたADCのより急速なクリアランスのために、*in vivo*の異種移植片モデルにおいて4負荷されたADCより優れなかった（実施例14を参照されたい）。

【0526】

実施例2のリンカー-薬物中間体から調製され、かつ薬物に対して並列配向（8個の薬物/Ab）のPEG₂₄単位を有するmc-PABA(gluc)-MMAEの-X-Dを有するPEG₂₄cAC10コンジュゲート、cAC10-10はまた、対応する8負荷されたPEG化されていないADC（cAC10-1）およびPEG₂₄単位を直列配向で有する8負荷されたADC（cAC10-4）（後者は実施例1のリンカー-薬物中間体から調製した）と比較して、異種移植片モデルにおいてより大きな活性を有した（図1および2を参照されたい）。

30

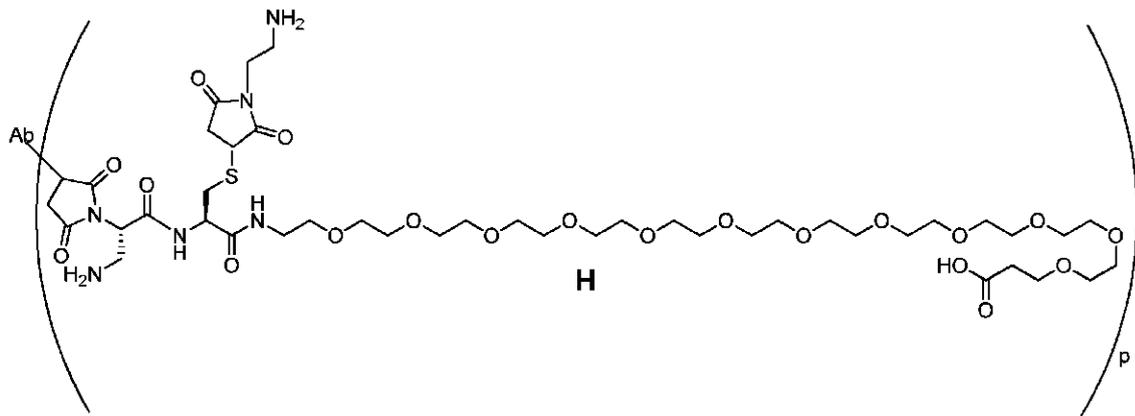
【0527】

対照として使用するNAEMでキャップをかけたコンジュゲーション足場：ADCを、抗体へと鎖間のチオールを介してコンジュゲートする。抗体-置換スクシンイミドは、その加水分解された形態で存在し得る（すなわち、スクシンイミドのC-N結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される）。

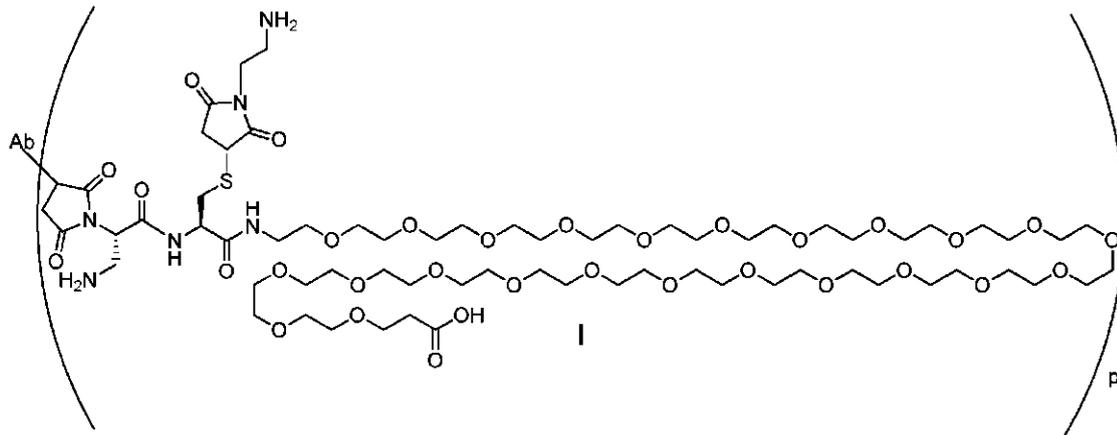
40

50

【化 1 5 9 - 1】

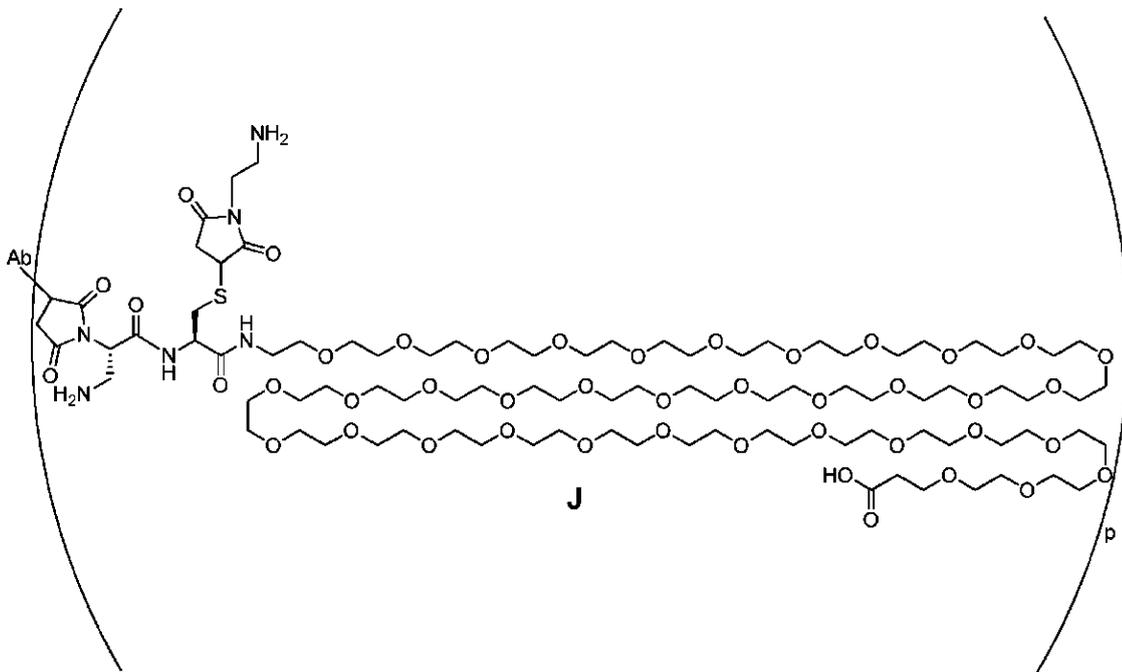


10



20

【化 1 5 9 - 2】



30

40

(実施例 1 4)

並列配向でPEGを含むADCは、PEGを含まないADCと比較して薬物動態を改善した

50

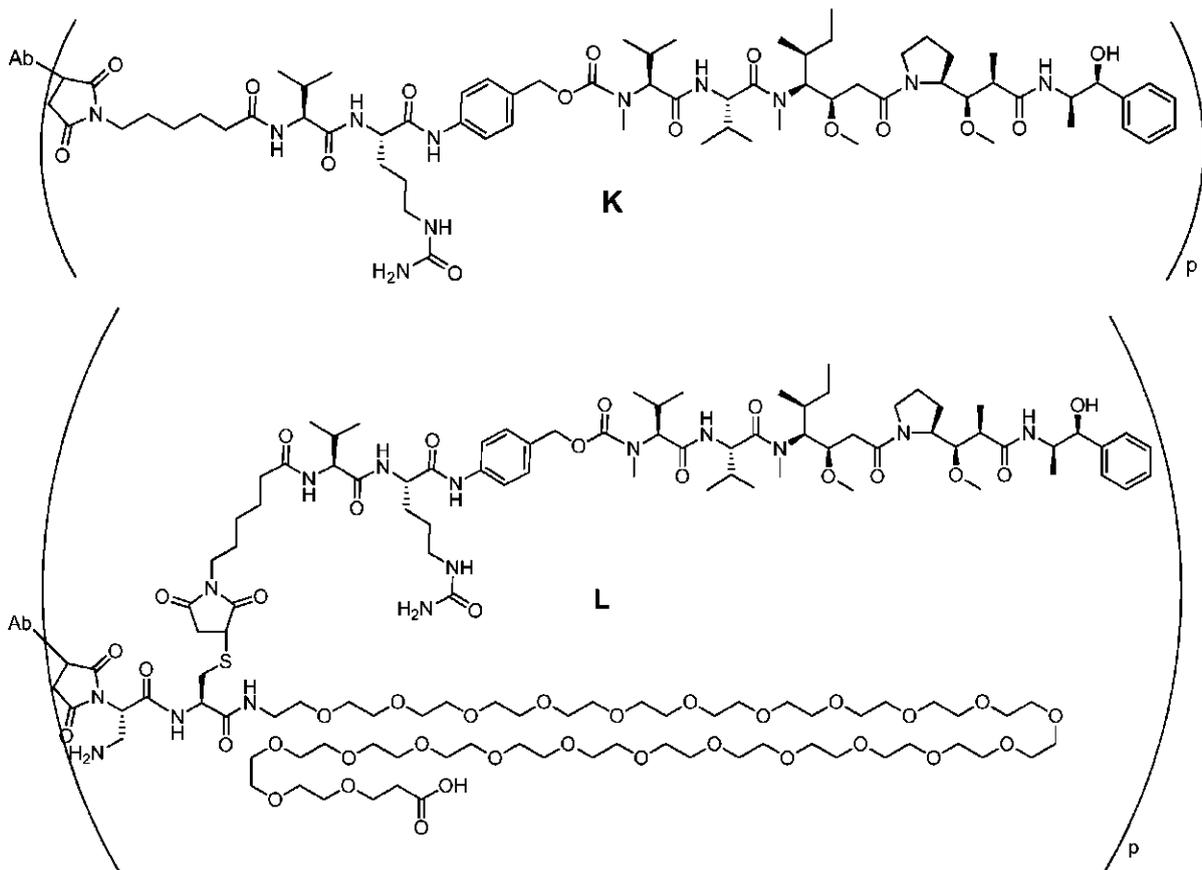
【0528】

マウスに、8個の薬物/mAbを負荷された各ADCについて3mg/kgの単回iv用量を投与した。予想どおりに、mc-vcMMAE(K)またはMDpr-vcMMAE(A)のいずれかを用いて調製したPEG化されていないADCは、NAEMを用いて調製された対照コンジュゲートより非常に急速に循環からクリアランスされた。対応するPEG化されたADC CおよびLは、改善されたPK、すなわち、より遅いクリアランスを示した(図9)。

【0529】

マウスPKにおいて含まれるさらなる化合物-ADCを、抗体へと鎖間のチオールを介してコンジュゲートする。抗体置換スクシンイミドは、その加水分解された形態で存在し得る(すなわち、スクシンイミドのC-N結合の両方ではなく一方に亘って水分子が付加される)。

【化160】



【0530】

第2の実験において、マウスに、8個の薬物/mAbを負荷された各ADCについて3mg/kgの単回iv用量を投与した。上記のように(図9)、PEG化されていないMDpr-vcMMAE Aを用いて調製したADCは、循環からの加速度的なクリアランスを示した(図10)。PEG化されたコンジュゲーション足場B、C、およびDを用いて調製した3種のADCは、改善されたクリアランスを示した(図10)。このアッセイにおいて、様々な長さのPEG、PEG₁₂(B)、PEG₂₄(C)、およびPEG₃₆(D)を用いて調製したADCは、互いに無視できる差異を示した。予測されたように、NAEMでキャップをかけたPEG化足場(H、I、およびJ)から調製した対照コンジュゲートは、NAEMでキャップをかけた抗体と密接に似ているPKを示した(図10)。

10

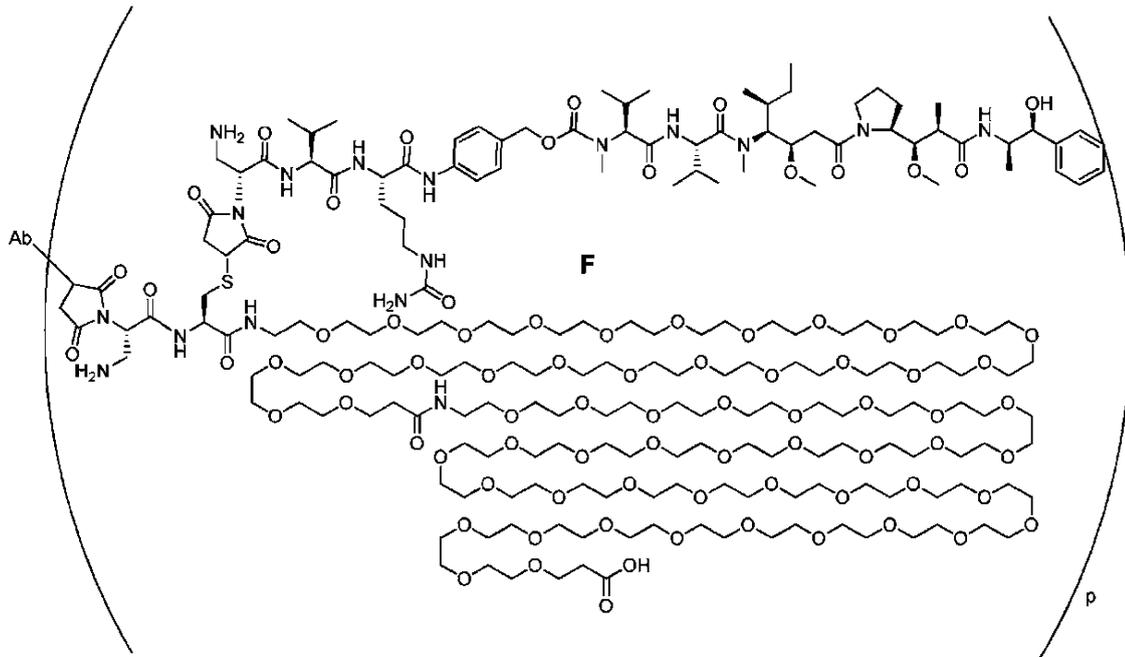
20

30

40

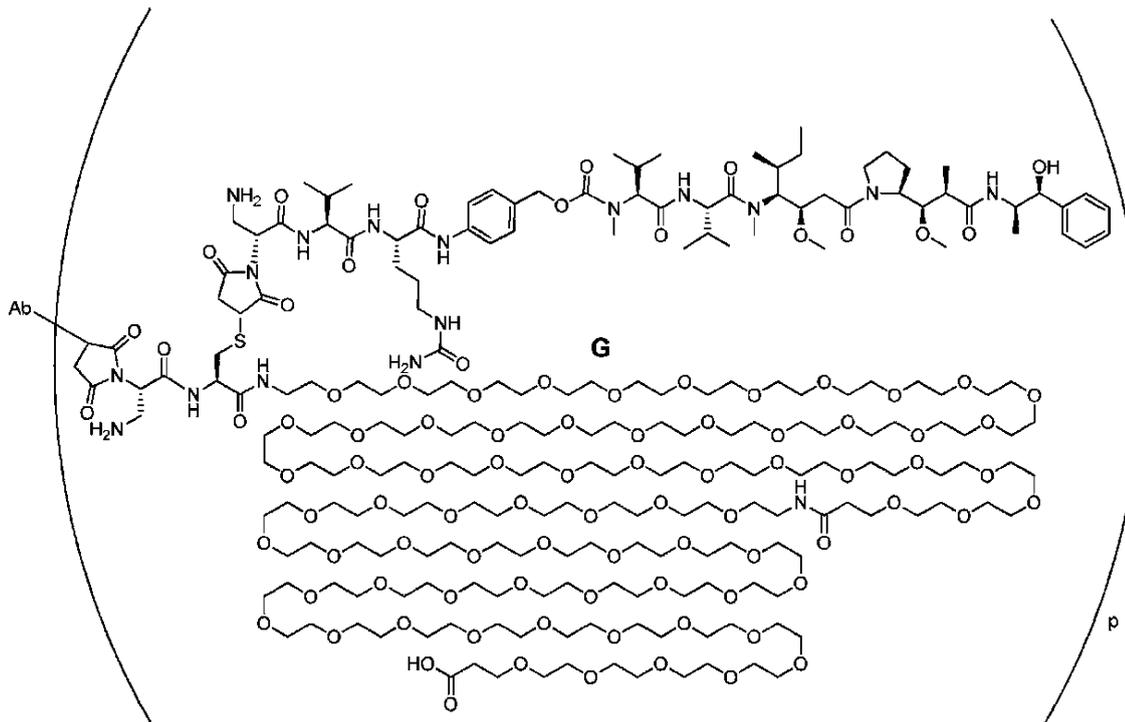
50

【化 1 6 1】



10

20



30

40

(実施例 15)

並列配向で PEG を含む ADC は、PEG を含まない ADC と比較して薬物動態を改善した

【0531】

PEG 化されたコンジュゲーション足場あり (B、C、および D)、ならびにそれなしで (A) 調製した cAC10 をベースとする ADC を、L540cy 異種移植片モデルにおいて分析した。動物に 2 mg / kg (単回用量) の各 ADC を投与し、経時的な腫瘍体積を測定した。未処置の動物における腫瘍体積は、研究の 25 日目に 1,000 mm³ に達した。PEG 化されていない薬物リンカー (A) を用いて調製された ADC は、5 匹の

50

マウスのうち2匹を治癒させ、治癒しない動物において腫瘍体積が $1,000\text{mm}^3$ に達するのに57.3日の平均時間であった(図11)。PEG₁₂(B)でアセンブルしたPEG化されたコンジュゲーション足場を用いて調製したADCは、Aを用いて調製したADCと同様の活性を示した(図12)。この場合、5匹の動物うち1匹が治癒し、治癒しない動物において腫瘍体積が $1,000\text{mm}^3$ に達するのに68.5日の平均時間を要した。PEG₂₄含有足場(C)を用いて調製したADCは、5匹のマウスのうち4匹が治癒してAを超える改善を示し、残りの1匹で腫瘍は53日目に $1,000\text{mm}^3$ に達した(図13)。

【0532】

第2の実験において、乳癌抗原、LIV-1を標的とするhLIV22をベースとするADC(hLIV22抗体は、参照(referen)により本明細書に組み込まれているPCT公開番号第WO2012/078688号に記載されている)は、PEG₂₄のついたコンジュゲーションを可能とする足場(L)の、およびPEG₂₄をのついていないコンジュゲーションを可能とする足場(without the PEG₂₄ enabled conjugation scaffold)(K)の、mc-vcMMAEを用いて調製した。動物に3mg/kg(単回用量)の各ADCを投与した。研究の未処置のアームにおいて、腫瘍体積が $1,000\text{mm}^3$ に達するための平均時間は39.2日であった。hLIV22-Kによる処置は、この時間を57.6日に遅延させ、PEG化されたADCである、hLIV22-Lは、この平均値を71.4日にさらにシフトさせた(図14)。

(実施例16)

並列配向でPEGを含み、抗体当たり16個の薬物を含むADCは、PEGを含まないADCと比較して、より少ない凝集を示した

【0533】

16負荷ADCの凝集に対するPEGの効果を調査するために、抗トランスフェリン受容体コンジュゲートを、-X-D単位としてMDpr-グルクロニド-カンプトテシンを使用して調製した。ADCを、PEG単位の含有ありまたはなしの、標準的8負荷(抗体当たり8個の薬物)または16負荷(抗体当たり16個の薬物)として調製した。コンジュゲーションは、鎖間のジスルフィドを介した。16個の薬物負荷ADCを調製するために使用された、PEG化されたおよび対照のPEG化されていないコンジュゲーション足場(それぞれ、PEG足場Aおよび対照(control)足場A)は、下記の通りである。

。

10

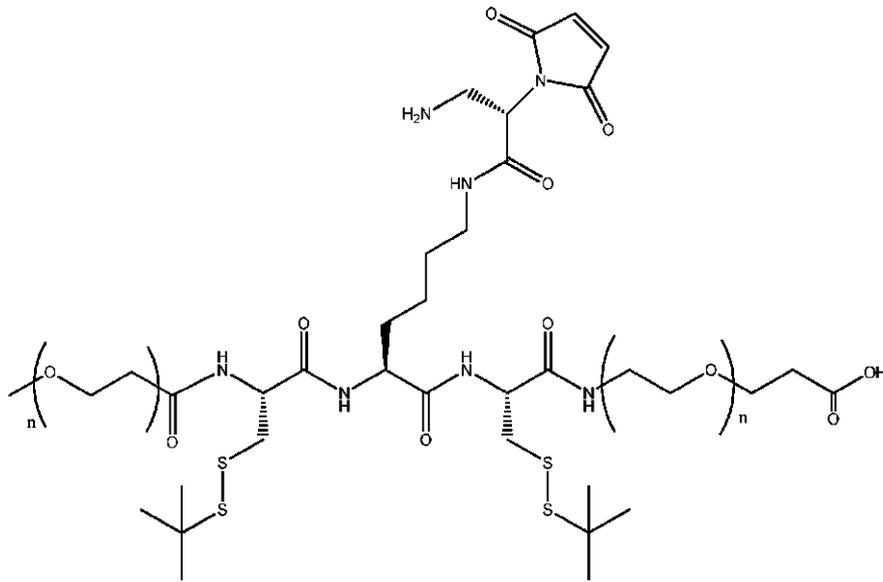
20

30

40

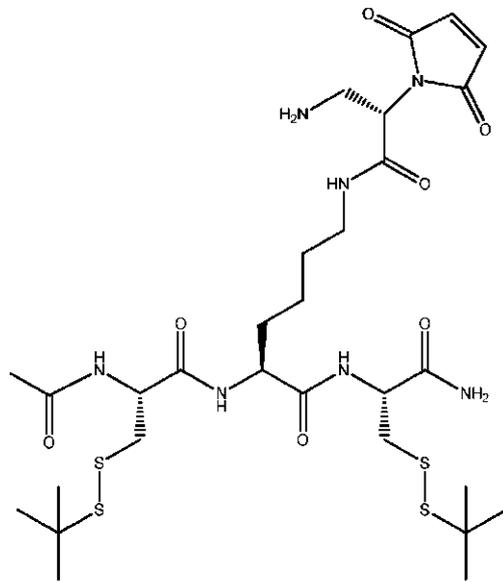
50

【化 1 6 2】



PEG足場A

10



対照足場A

20

30

【0534】

抗体薬物コンジュゲートは、(a) 足場と、足場のマレイミド単位へのコンジュゲート付加が可能なチオール基を有する抗体とを接触させて、抗体-置換スクシニミド部分を形成させることと、(b) チオール保護基を除去することと、(c) 結果として生じた産物と-X-D部分とを接触させることとによって、Xは、マレイミド単位および切断可能な単位からなる放出可能なアセンブリ単位であり、X-Dマレイミド単位は、足場およびX-D部分に由来するスクシニミド部分の早すぎる加水分解を回避する一方で、X-Dのマレイミド単位をさらなる置換スクシニミド部分へと変換させるのに適した条件下で、コンジュゲート付加による、ステップ(b)から得た遊離チオール基と反応させることができることと、(d) マレイミド単位としてMDpr部分から導入されたスクシニミド部分のそれぞれについて、スクシニミドのC-N結合の両方ではなく一方に亘る水分子の付加による、ステップ(c)から得たリンカー-薬物化合物の集団的置換スクシニミドを加水分解することによって、例示的なりガンド中間化合物を表す $n = 23$ を有するPEG足場A、および実施例11に記載されているような対照足場Aから調製した。

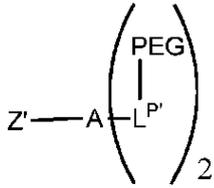
40

【0535】

PEG足場Aは、

50

【化 1 6 3】



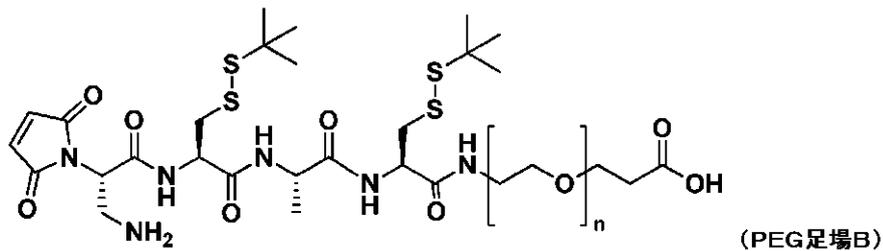
(すなわち、式VII I b)によって包含され、式中、Z'は、MDpr含有部分であり、Aは、中心のリシン残基であり、2個のLpは、側面にあるシステイン残基である。

10

【0 5 3 6】

16個の薬物を負荷されたコンジュゲートを提供する別の適切に保護された足場は、その構造が、

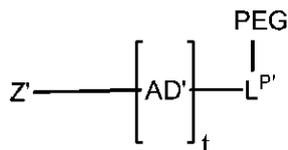
【化 1 6 4】



20

であるPEG足場Bであり、式中、nは、36である。PEG足場Bは、

【化 1 6 5】



30

(すなわち、式VII I d)によって包含され、式中、Z'は、MDpr部分であり、tは、1であり、ADおよびL^Pは、それぞれシステイン残基である。

【0 5 3 7】

PEG化されたコンジュゲーション足場を含むことのないものは、16負荷ADCの凝集レベルが22%であった。薬物単位に対して並列配向であるPEG単位を有するPEG化された足場を付加することによって、8負荷の凝集レベル、すなわち、2%凝集まで凝集レベルを低下させた。

【0 5 3 8】

MDpr-PABA(gluc)-カンプトテシンの-X-Dを有する8負荷およびPEG化された16負荷抗トランスフェリン受容体ADC(cOKT9)を、パネルTfR⁺がん細胞系に対して試験した。殆どの場合、薬物負荷量を倍増することは、ADCの効力を概ね2倍増加させた。いくつかの場合において、薬物負荷量は2倍のみ増加したにも関わらず(even though)、ADCの効力は3~10倍またはそれ超増加した。最も明白には(notably)、16負荷コンジュゲートは、結腸直腸細胞系HT-29(TfRコピー数23K)および黒色腫細胞系SK-MEL-5(TfRコピー数21K)に対して活性であり、一方、8負荷コンジュゲートは、不活性であると考えられた(IC50 > 1 μM)。

40

(実施例17)

並列配向でPEG24を有する、抗体当たり4個の薬物を負荷されたADCは、そのPEG化されていないカウンターパートに対して減弱した活性をin vivoで示す。

50

【0539】

A D C 薬物負荷量が抗体当たり4個の薬物に低減されたとき、P E G化されたグルクロニド - M M A E リンカー - 10 を担持するコンジュゲートは、リンカー - 1 を担持する P E G化されていないコンジュゲートと同様の P K 曝露を有することが見出された。したがって、P E G化は、*i n v i v o* の異種移植片モデルにおいて活性の増強を実現しなかった。

【0540】

抗 C D 30 キメラ抗体 c A C 10 を、4 個の薬物 / 抗体の平均負荷量で P E G化されていないリンカー - 1 または P E G化されたリンカー - 10 とコンジュゲートし、L 5 40 c y ホジキンリンパ腫および K a r p a s 2 9 9 未分化大細胞リンパ腫腫瘍モデルにおいて評価した。L 5 40 c y について (図 1 3)、動物に、A D C の単回 *i p* 用量を 0 . 5 m g / k g および 1 m g / k g で投与した。1 m g / k g のより高い用量で、P E G化されたもの (c A C 10 - 10) および P E G化されていないもの (c A C 10 - 1) の両方は等効力であり、5 / 6 匹のマウスにおいて治癒を実現した。しかし、0 . 5 m g / k g のより低い用量で、P E G化されていないリンカー (c A C 10 - 1) は、より延長された平均腫瘍増殖の遅延を実現し、2 / 6 匹のマウスが治癒した。一方では、P E G化されたリンカー (c A C 10 - 10) はより強力でなく、マウスは治癒しなかった。類似の結果を K a r p a s 2 9 9 異種移植片モデルにおいて得た (図 1 6)。

10

【0541】

これらの知見は、コンジュゲートの P K 増強の非存在下で、24 単位の P E G による P E G化が、*i n v i v o* での活性の僅かな減弱もたらずことを示唆する。これは、P E G化によるコンジュゲートサイズの増加により酵素的薬物放出が損なわれたためまたは透過性が減少したためであり得る。

20

(実施例 1 8)

P E G化されたグルクロニド薬物リンカーを負荷された A D C は、コンジュゲートの P K 特性と一致する *i n v i v o* の活性を示す。

【0542】

グルクロニドおよび M M A E の組合せについて最適な P E G サイズが存在するかを決定するために、P E G化されていないもの、P E G 2、P E G 4、P E G 8、P E G 12、P E G 24、および分岐状 P E G 4 - (P E G 4)₃ にまたがって、一連の P E G x リンカーを調製し、評価した。それぞれ表 4 および表 5 の P E G化されていない A D C c A C 10 - 14 および h B U 12 - 14 は、構造において P E G化された A C D と同様であるが、L^P 単位を欠いており、ここで P E G化された足場の場合は、リシン残基である。

30

【0543】

最初の *i n v i t r o* での作業は、試験した細胞系の大部分において活性に対する P E G サイズの最少の効果を明らかに示した。それぞれ、抗 C D 30 および抗 C D 19 抗体、c A C 10 および h B U 12 に 8 個の薬物 / 抗体をコンジュゲートし、リンパ腫細胞系のパネルに対して評価した。表 4 に示すように、C D 30 陽性 L 5 40 c y 系および L 4 2 8 ホジキンリンパ腫系および K a r p a s 2 9 9 未分化大細胞リンパ腫は、P E G サイズに関わらず、全ての c A C 10 コンジュゲートに対して高度に感受性であった。

40

【表 4】

表4.in vitroの細胞毒性- α CD30コンジュゲート(ng/mLでのIC₅₀)

ADC ^a	PEGx	CD30+ 細胞系			CD30-
		Karpas 299	L540cy	L428	RL
cAC10-14	PEGなし	0.3	3	85	>1000
cAC10-43	PEG2	0.3	2	10	>1000
cAC10-42	PEG4	0.4	3	16	>1000
cAC10-18	PEG8	0.3	2	18	>1000
cAC10-17	PEG12	0.3	2	19	>1000
cAC10-16	PEG24	0.4	3	8	>1000
cAC10-19	PEG4-(PEG4)3	0.1	1	8	>1000

^a8個の薬物/Abを負荷されたADC

【0544】

表5に示すように、非ホジキンリンパ腫細胞系のパネルに対するPEGx-グルクロニド-MMAEリンカーを担持するhBU12(抗CD19)コンジュゲートの活性はより可変性であった。PEGサイズは、Ramosバーキットリンパ腫においてADC効力に対して効果は有さなかった。しかし、コンジュゲート効力は、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫細胞系SU-DHL-4、WSU-DLCL-2、およびRLにおいて、PEGサイズに応じて変動し得るようであった。IC₅₀によって測定するように、PEGサイズおよび活性の間に相関性が存在するようではなかった。しかし、用量反応曲線のより厳密な検査は、PEGサイズおよび最大増殖阻害の間に明白な逆相関を明らかにした。これらのデータを図17に示す。

【表5-1】

表5.in vitroの細胞毒性- α CD19コンジュゲート(ng/mLでのIC₅₀)

ADC ^a	PEGx	CD19+ 細胞系			CD19-	
		Ramos	SU-DHL-4	WSU-DLCL-2	RL	L540cy
hBU12-14	PEGなし	2	22	5	61	>1000
hBU12-43	PEG2	2	>1000	12	229	>1000
hBU12-42	PEG4	3	>1000	5	>1000	>1000
hBU12-18	PEG8	2	16	211	>1000	>1000
hBU12-17	PEG12	2	>1000	129	>1000	>1000
hBU12-16	PEG24	4	>1000	3	>1000	>1000
hBU12-19	PEG4-(PEG4)3	2	>1000	247	>1000	>1000

^a8個の薬物/Abを負荷されたADC

【0545】

PEGxシリーズにまたがるコンジュゲートの薬物動態特性を、上記のようにアセスメントした。ラットに、8個の薬物/Abを負荷されたMDpr-PEGx-グルクロニド-MMAEリンカーを担持する非結合ヒト化IgG(h00)からなる1mg/kgのコ

10

20

30

40

50

ンジュゲートの単回静脈内用量を投与した。血漿試料を様々な時点において採取し、総循環抗体を上記のように定量した。図 16 に示すように、抗体クリアランスは、PEG サイズと直接の相関性を示した。PEG 8、PEG 12、および PEG 24 により PEG 化されたコンジュゲートは、裸の抗体に近似したクリアランス特性を示し、一方では、より短い PEG および PEG 化されていないカウンターパートは、循環からより急速にクリアランスされた。

【0546】

異種移植片モデルにおいて PEG x リンカーを *in vivo* で評価した。CD19 - 陽性 RL びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫モデルおよび CD30 - 陽性 L540cy ホジキンリンパ腫モデルにおいて研究を行った。PEG のないリンカー、PEG 4 を有するリンカー、PEG 8 を有するリンカー、PEG 12 を有するリンカー、および PEG 24 を有するリンカーにまたがる抗 CD19 (hBU12) コンジュゲートを、一旦平均腫瘍体積が 100 mm³ に達すると、1 mg / kg および 3 mg / kg で 1 回 ip 投与した。RL モデルについての結果を図 17 に示す。1 mg / kg で、全ての群はわずかな腫瘍増殖の遅延を發揮し、PEG サイズおよび活性の間の有意な相関性は観察されなかった。3 mg / kg のより高い用量で、PEG を担持しないコンジュゲートおよび PEG 4 を担持するコンジュゲートは、概ね 35 日目に腫瘍の伸展を伴って腫瘍成長の遅延を達成した。対照的に、PEG 8、PEG 12、および PEG 24 を担持するリンカーを有するコンジュゲートは、3 mg / kg で完全な回復を達成し、PEG 24 群において 1 / 5 匹のマウスは腫瘍の再成長を経験する。PEG 4 および PEG 化されていないカウンターパートに対して、PEG 8、PEG 12、および PEG 24 のより高い用量での増強された活性は、図 18 における PK 観察結果と一致する。

(実施例 19)

MMAE の腫瘍内送達は、コンジュゲートの PK 特性と相関する。

【0547】

概ね 200 mm³ の CD30 - 陽性 L540cy ホジキンリンパ腫腫瘍を担持するマウスに、mc - グルクロニド - MMAE (リンカー 1)、mc - Lys (PEG 24) グルクロニド - MMAE (リンカー 10)、マレイミド - PEG 24 - グルクロニド - MMAE (リンカー 4)、または MDpr - Lys (PEG 24) - グルクロニド - MMAE (リンカー 16) を有する、8 個の薬物 / Ab を負荷された cAC10 コンジュゲートの単回用量を 1 mg / kg にて投与した。腫瘍を投与 3 日後に回収し、腫瘍内濃度を質量分析法によってアセスメントした。コンジュゲートの PK と一致して、並列構成の PEG 24 (リンカー 10 および 16) を有する ADC は、図 20 に示すように、PEG 化されていないコンジュゲート (cAC10 - 1) に対して、有意により高い MMAE を腫瘍へと送達した。さらに、マレイミドおよびグルクロニドの間に直列のストレッチャーとしての PEG 24 を含有したコンジュゲート (cAC10 - 4) は、そのカウンターパート (cAC10 - 10) の 4 分の 1 の MMAE を送達した。最後に、mDPR マレイミドを組み込んだもの (cAC10 - 16) は、マレイミドカプロイルを含有するカウンターパート (cAC10 - 10) を超えて MMAE の送達をさらに増加させた。

(実施例 20)

親抗体の PK を維持する PEG 化されたリンカーを有する、抗体当たり 8 個の薬物を負荷された ADC は、これらのより短い PEG および PEG 化されていないカウンターパートに対して *in vivo* でより良好に許容される。

【0548】

Balb / c マウス (n = 3) に、単回 ip 用量の 50 mg / kg のコンジュゲートを 0 日目に投与した。マウスを病的状態の外面的徴候について毎日観察し、体重を測定した。20% 超の体重を失う、または瀕死であることが見出された場合、動物を安楽死させた。図 21 において、0 日目に対する体重の変化を時間の関数としてプロットする。各群について、少なくとも 1 匹の動物の 殺によって、プロットを中止した。PEG を有さない (IGG - 14 および - 44)、PEG 2 を有する (IGG - 43)、および PEG 4 を

10

20

30

40

50

有する (I g G - 4 2) コンジュゲートを投与されたマウスは、有意な体重減少または毒性の外面的徴候を示し、5日目および7日目の間に安楽死させた。対照的に、P E G 8 (I g G - 1 8)、P E G 1 2 (I g G - 1 7)、およびP E G 2 4 (I g G - 1 6) を担持するコンジュゲートを投与されたマウスは、最小の体重減少を示し、瀕死の外面的徴候を示さなかった。これらのデータは、図 1 8 におけるP K プロファイルと併せて、P K 曝露の減少を伴うコンジュゲートがより大きな急性毒性を発揮することを示唆する。

(実施例 2 1)

P E G 長さの最大化

【 0 5 4 9 】

薬物 - リンカー上のP E G 鎖の長さが増加するにつれ、コンジュゲートの全体的なサイズおよび流体力学的半径もまた増加する。これを、それぞれ、8個、12個、および24個のP E G 単位を有する薬物 - リンカー18、17、および16を用いて調製したA D C の分析用サイズ排除クロマトグラフィーの記録 (t r a c e) を示す図 2 2 において例示する。最初の原則から、A D C の明白なサイズが増加するにつれ、i n v i v o の系におけるその拡散率は減少することが予想し得る。これは、A D C が固形腫瘍中に浸透することができる速度または程度を減弱させる望ましくない効果を有し得る。この拡散率の減少はまた、データを分布相および消失相についての速度項 (r a t e t e r m) を含む2 - コンパートメントモデルにフィットさせることによって、血漿薬物動態において観察することができる。薬物 - リンカー18、17、および16 (それぞれ、8個、12個、および24個のP E G 単位を有する) を用いて調製したA D C についての薬物動態学的データを、21日間集め、2 - コンパートメントモデルにフィットさせた。2つのプロセス (分布および消失) についての半減期を図 2 3 に示す。

【 0 5 5 0 】

8単位から12単位にP E G 鎖を増加させることにより、血漿からの消失の緩徐化をもたらす (概ね2日の $t_{1/2}$ の増加) が、P E G を12単位から24単位に倍増することは、殆どさらなるP K の改善を有さないことが、これらのデータから明らかである。逆に、分布 $t_{1/2}$ は、この範囲に亘って殆ど直鎖状の様式で増加し、そのためP E G 鎖を12単位から24単位に倍増することは、組織コンパートメント中への分布のために必要とされる半減時間を殆ど倍増させる。これらのデータは、12 P E G 単位がこの薬物 - リンカーのための最適な長さであり得ることを示唆する。より大きなP E G は、消失速度に対する有意な影響なしに分布速度を減少させる効果を有するためである。この実施例は、どのようにP K データを使用して、任意の特定の薬物 - リンカーのための最適なP E G サイズを選択することができるかを示す。

(実施例 2 2)

多重のP E G 化された足場の調製

【 0 5 5 1 】

スキーム 1 2 ~ 1 4 は、P E G 化された足場について記載したペプチドカップリング方法を使用して4個および8個の薬物単位 / 抗体を提供する、多重のP E G 化された足場A およびB (1 6 個の薬物単位 / 抗体を有するA D C を提供する)、ならびに多重のP E G 化された足場C (その構造を直後に示す) の合成を示す。

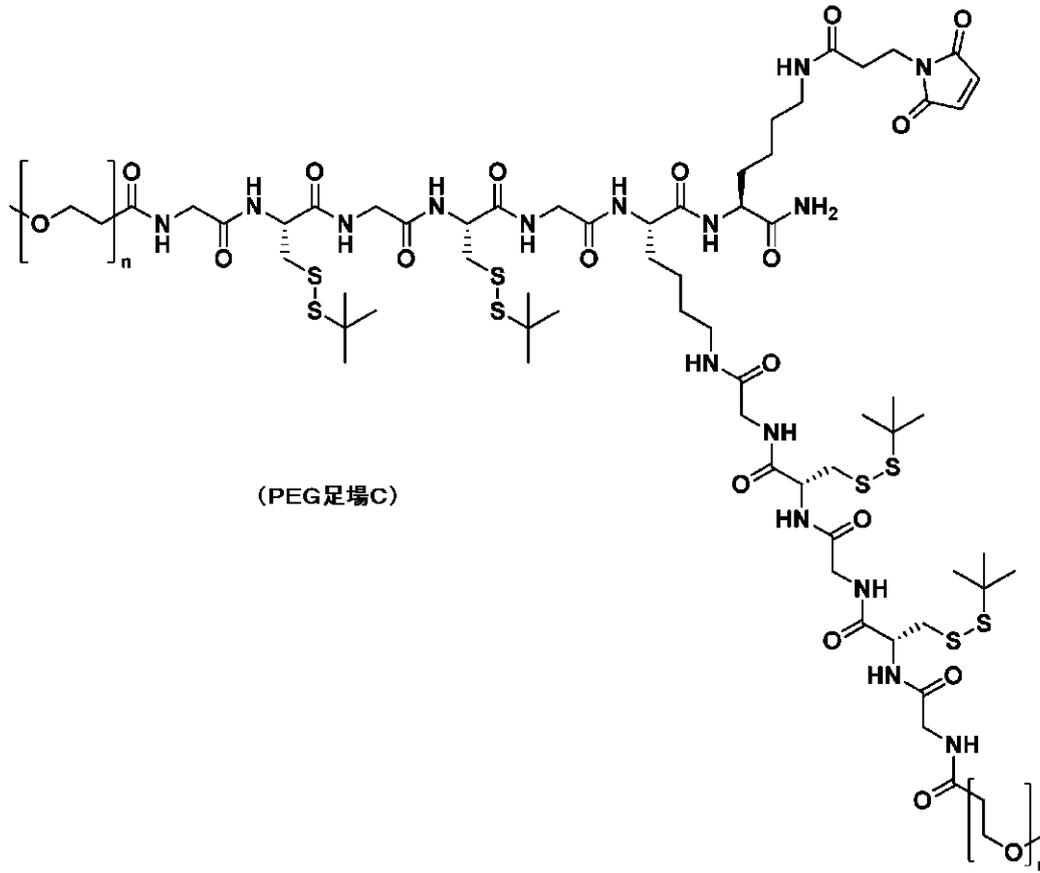
10

20

30

40

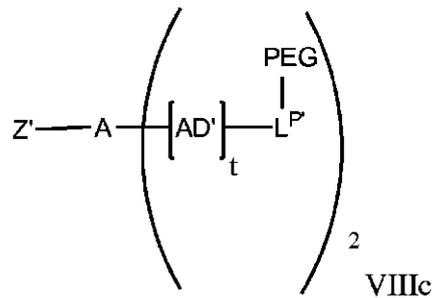
【化 1 6 6】



10

20

PEG足場Cは、
【化 1 6 7】



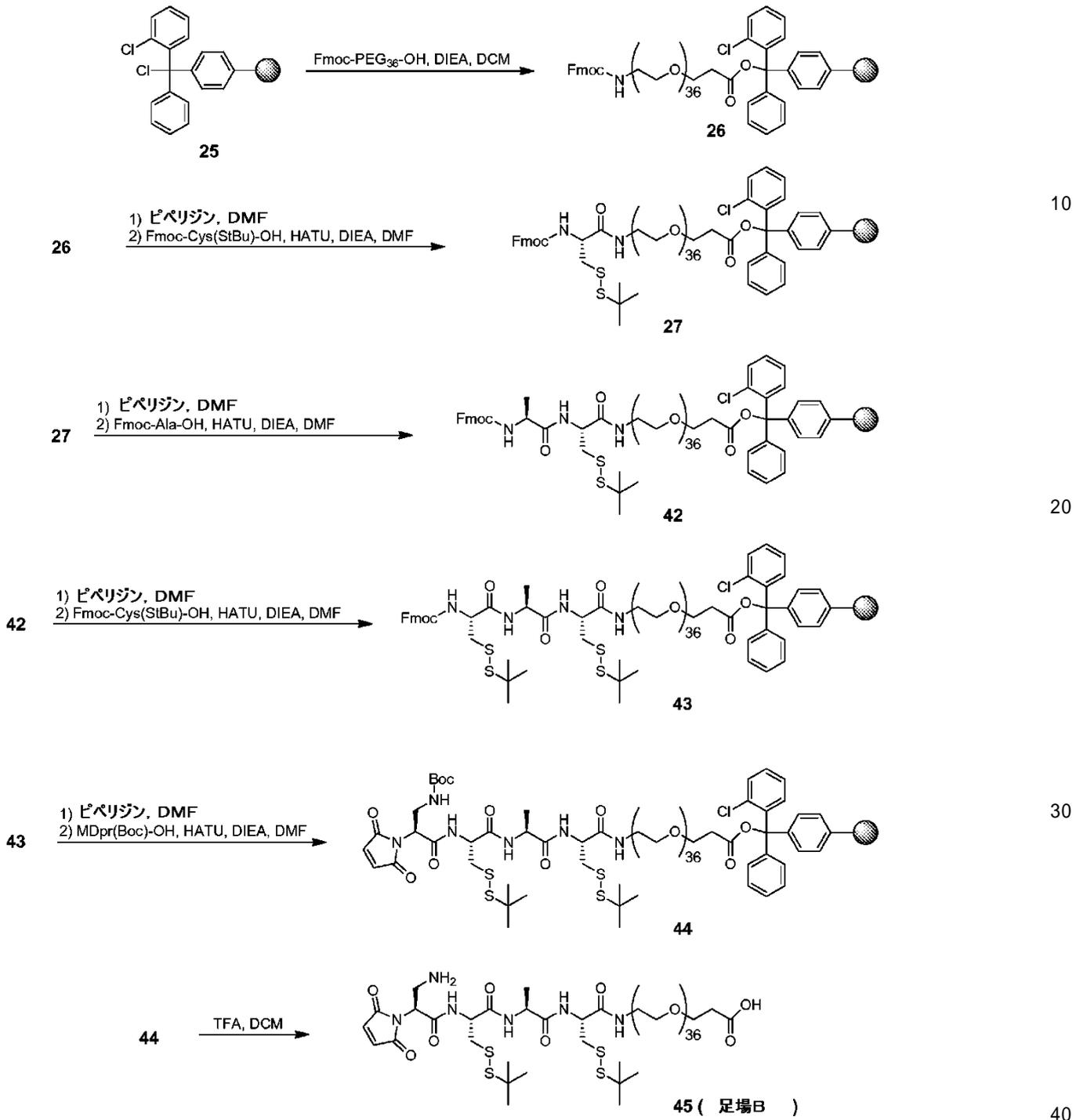
30

の構造によって包含され、式中、Z'は、マレイミド含有 (containing) 部分であり、Aは、分岐リシン-リシン残基であり、tは、1であり、各ADおよび各Lpは、システイン残基である。

40

50

【化 1 6 8】

スキーム12. MDpr-Cys(StBu)-Ala-Cys(StBu)-PEG₃₆-OH(足場B)の合成

10

20

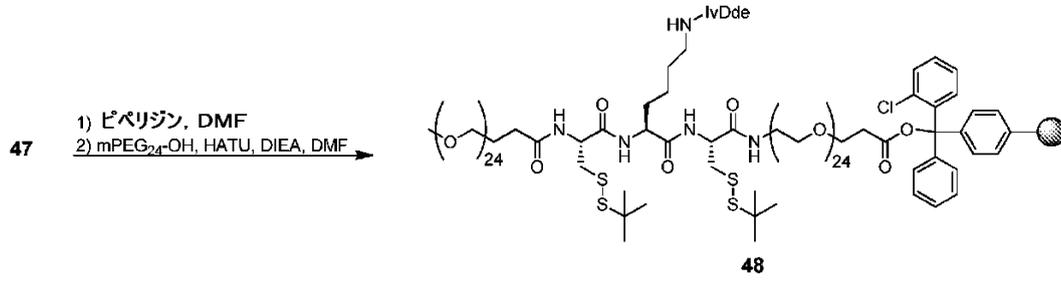
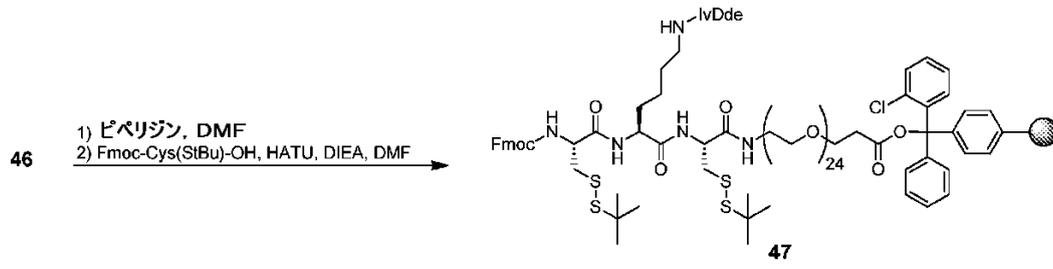
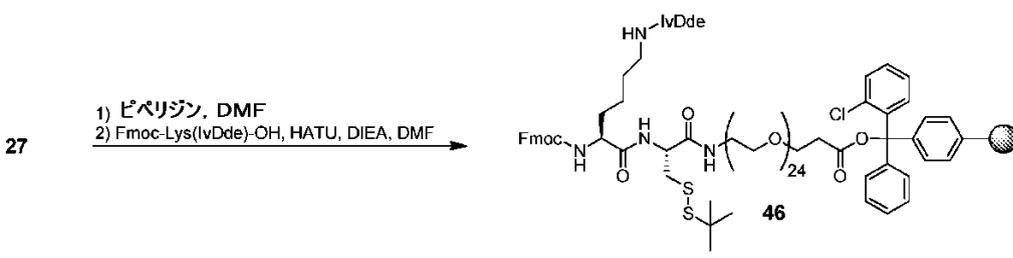
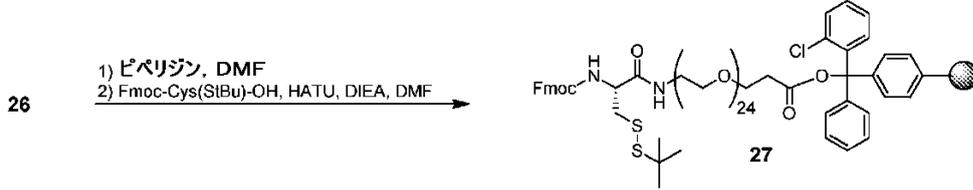
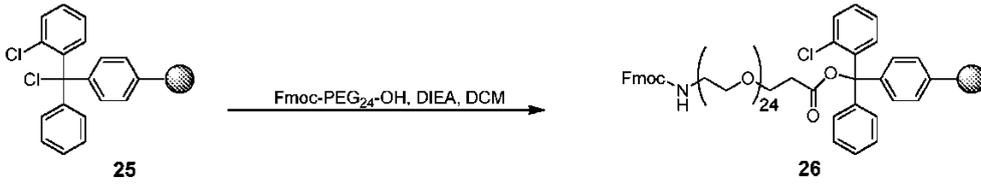
30

40

50

【化 1 6 9】

スキーム13: mPEG₂₄-Cys(StBu)-Lys(MDpr)-Cys(SBu)-PEG₂₄-OH(足場A)の合成



10

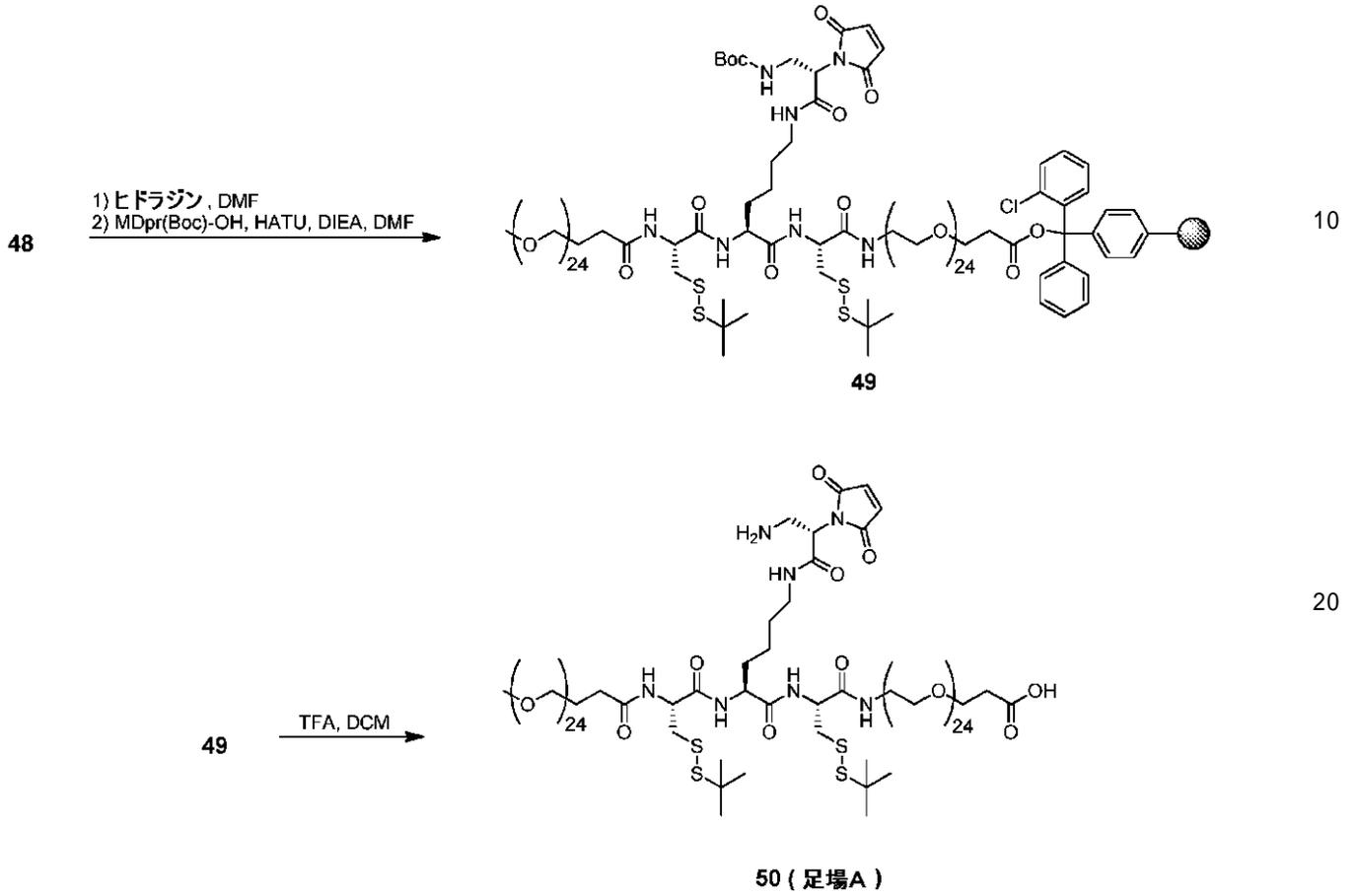
20

30

40

50

【化 1 7 0】

スキーム13(続き) : mPEG₂₄-Cys(StBu)-Lys(MDpr)-Cys(SBu)-PEG₂₄-OHの合成

10

20

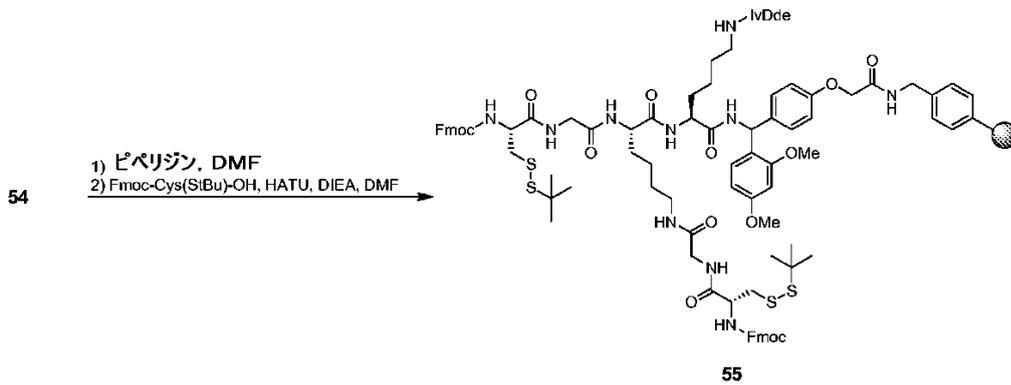
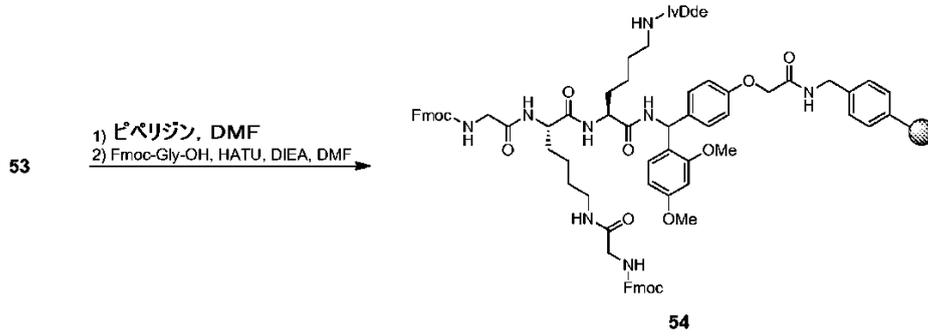
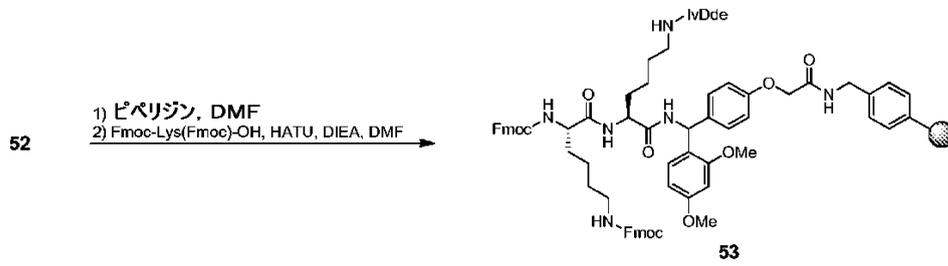
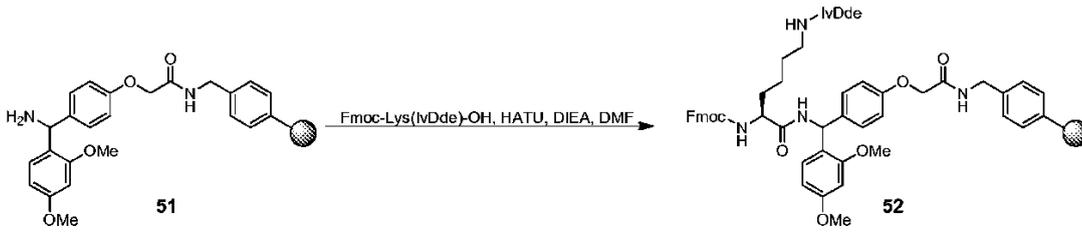
30

40

50

【化 1 7 1】

スキーム14:分岐状PEG化された薬物一担体足場(足場C)



10

20

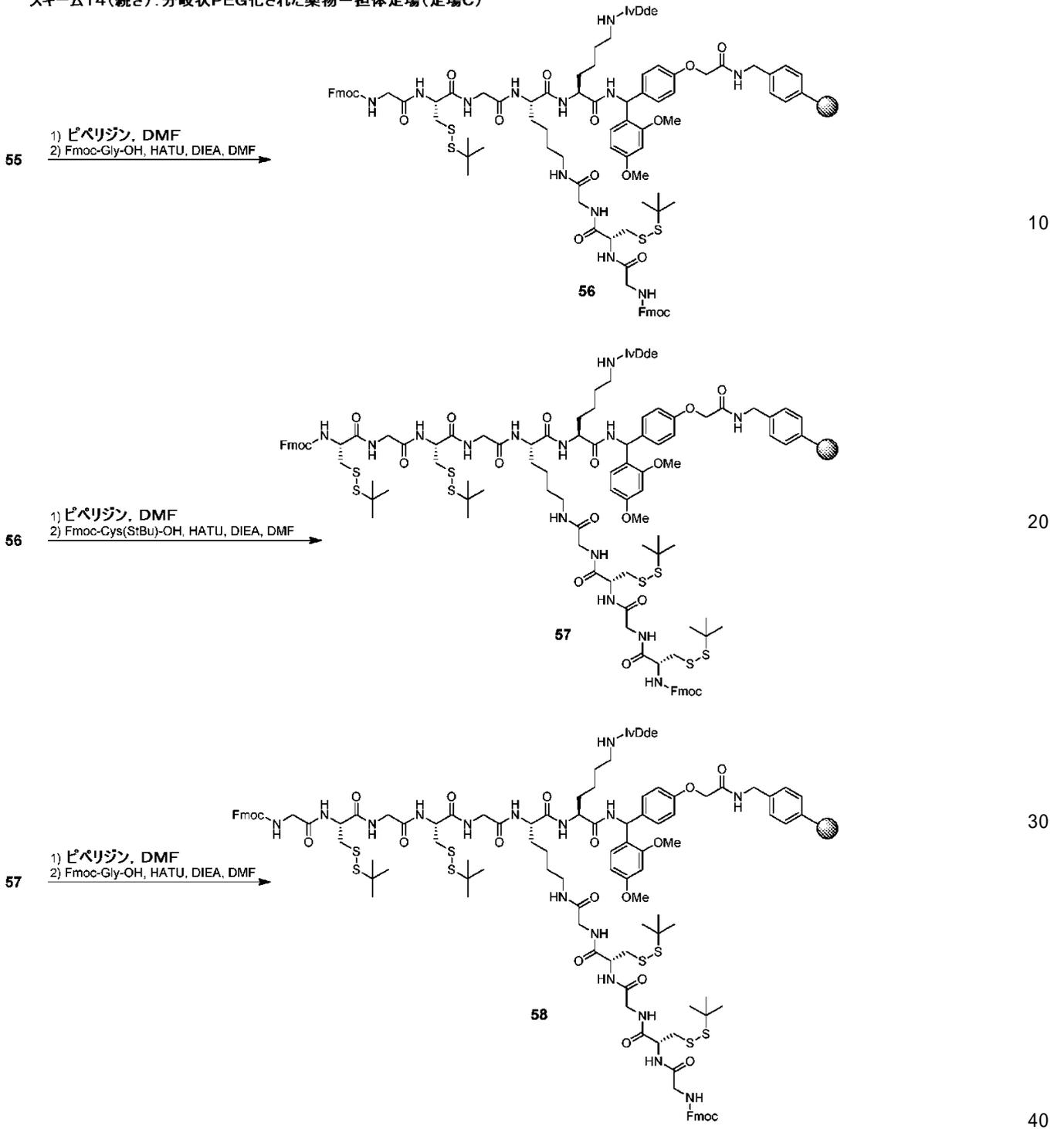
30

40

50

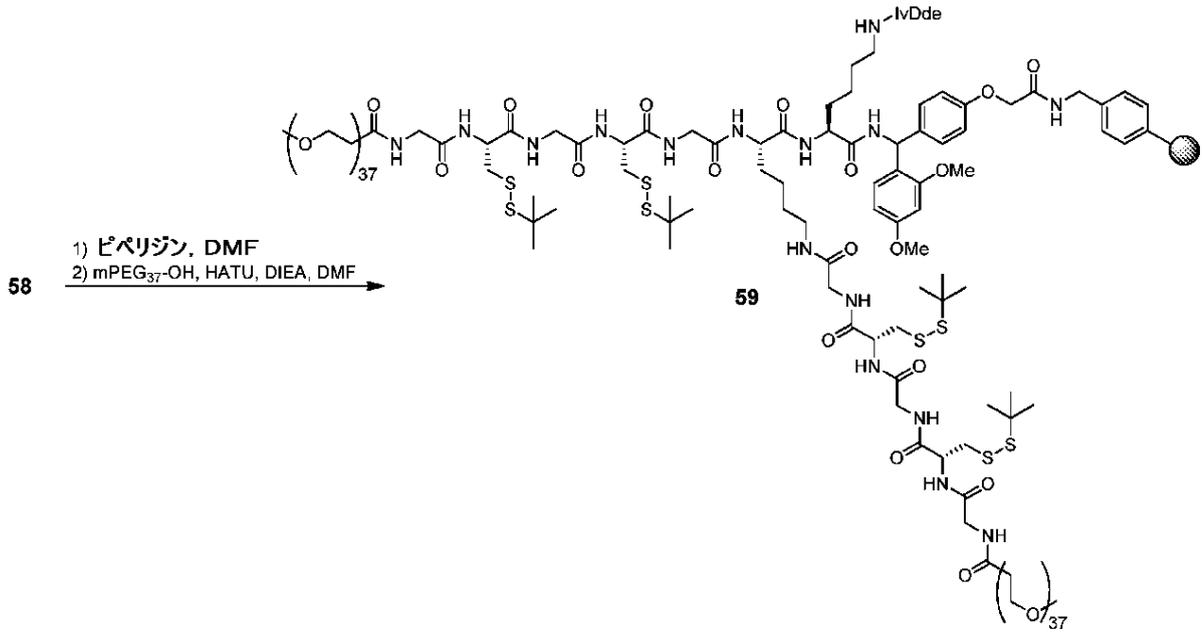
【化 1 7 2】

スキーム14(続き):分岐状PEG化された薬物-担体足場(足場C)



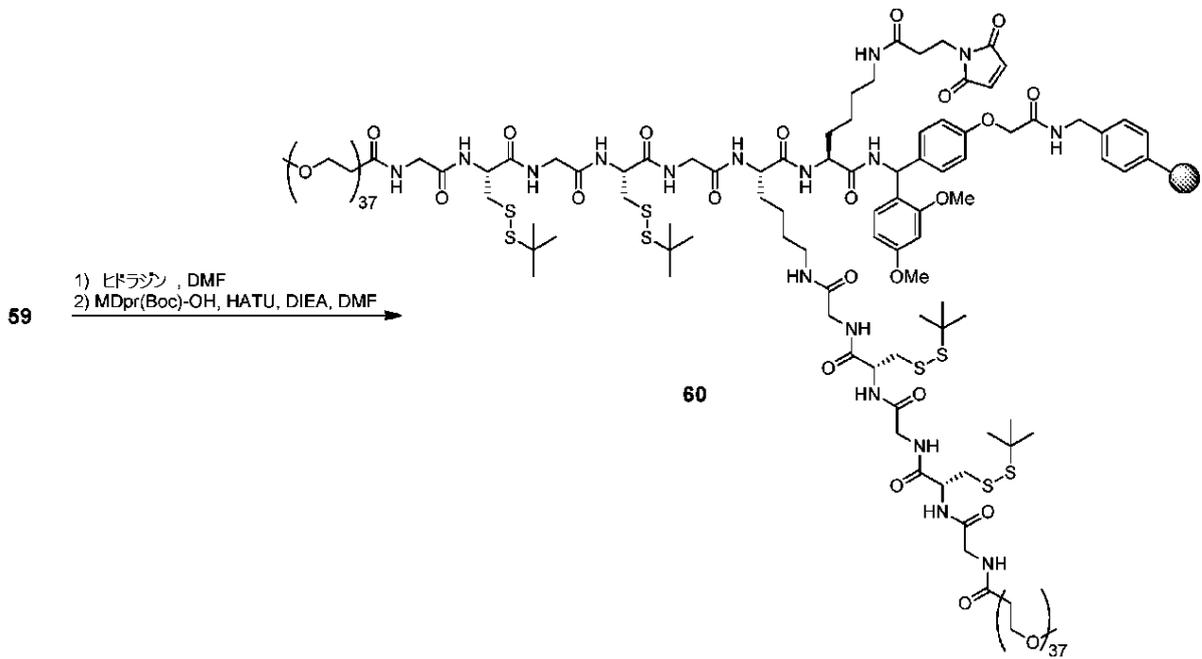
【化 1 7 3】

スキーム14(続き): 分岐状PEG化された薬物-担体足場(足場C)



10

20



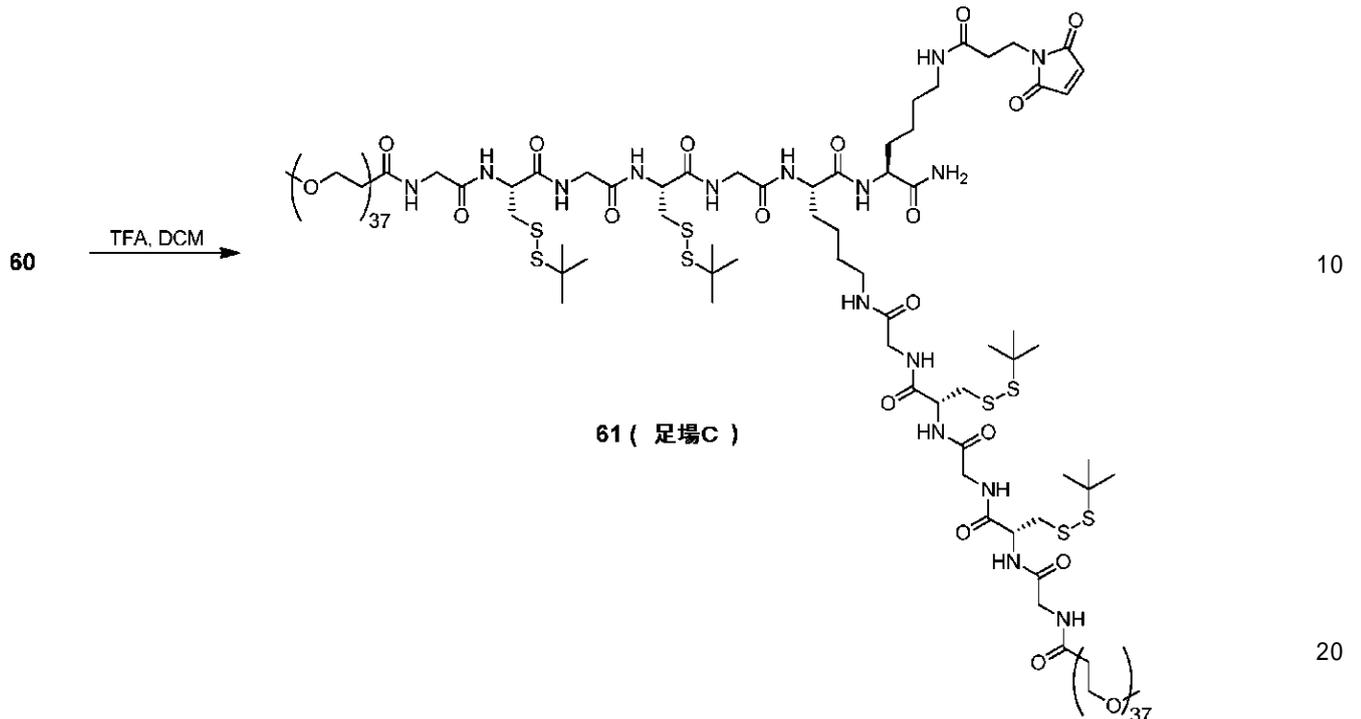
30

40

50

【化 1 7 4】

スキーム14(続き):分岐状PEG化された薬物-担体足場(足場C)



スキーム 1 2 ~ 1 4 によって調製した足場 A、B および C についての M S データを、表 6 において示す。

【表 6】

表6.多重化されたPEG化された足場についての質量分析法データ

PEG化された薬物足場	質量、計算値	質量、実測値
分岐状薬物担体足場(足場C、nは37である)	4872.5	(M+3H)/3として1624.92
MDpr-Cys(StBu)-Ala-Cys(StBu)-PEG36-OH(足場B、nは36である)	2293.2	(M+2H)/2として1147.85
mPEG ₂₄ -Cys(StBu)-Lys(MDpr)-Cys(StBu)-PEG ₂₄ -OH(足場A、nは23である)	2920.5	(M+2H)/2として1461.32

(実施例 2 3)

多重の P E G 化された足場を組み込んだ A D C の調製

【0 5 5 2】

スキーム 1 5 ~ 1 6 は、抗体および薬物-リンカーへの P E G 化された足場のコンジュゲーションを示す。E D T A (2 m M) を含有し、さらなるリン酸カリウム (1 0 0 m M 、 p H 7 . 4) で緩衝化した P B S 中の概ね 1 0 m g / m L の濃度の完全に還元した抗体 (3 4) の溶液に、5 ~ 2 0 m M の D M S O ストック溶液からの 1 2 モル当量の P E G 化された分岐状薬物担体足場を加えた。このように得られた溶液を室温にて 3 0 分間静置した。完全なコンジュゲーションが逆相クロマトグラフィーによって確認された。コンジュゲーションが不完全であった場合、さらなる P E G 試薬を加えた。コンジュゲーション後、シリンジポンプを使用して抗体溶液を 1 m L の H i T r a p M a b S e l e c t S u R e カラム (G E H e a l t h c a r e B i o - S c i e n c e s 、 P i t t s b

urgh、PA)に結合させ、EDTA(2mM)を含有する10mLのPBSで1mL/分にて洗浄した。t-ブチルチオール保護基を除去するために、さらなるリン酸カリウム(100mM、pH7.4)で緩衝化した3mLの10mMのTCEPで1時間に亘り37にてカラムを洗浄した。次いで、カラムをEDTA(2mM)を含有する10mLのPBSで1mL/分にて洗浄し、精製した抗体-足場コンジュゲートを50mMのグリシン(pH3.0)で溶出した。タンパク質を含有する画分を合わせ、10%(v/v)800mMのリン酸カリウム、500mMのNaCl、および500mMのEDTA(pH7.4)で中和した。このように得られた溶液(36)を無菌の0.22μmの遠心濾過膜を通して濾過し、直ちに使用し、または-80にて貯蔵した。

【0553】

10

EDTA(2mM)を含有し、さらなるリン酸カリウム(100mM、pH7.4)で緩衝化したPBS中の概ね5mg/mLの濃度の脱保護されたPEG化された抗体(35)の溶液に、5~20mMのDMSOストック溶液からの48モル当量のマレイミド含有薬物-リンカーを加えた。このように得られた溶液を室温にて30分間静置した。完全なコンジュゲーションが逆相クロマトグラフィーによって確認された。コンジュゲーションが不完全であった場合、さらなる薬物-リンカーを加えた。コンジュゲーション後、抗体溶液を、3ラウンドの希釈および30kDaのMWCOフィルターを通した4,000×gでの遠心分離によってPBS中に脱塩した。このように得られたPEG化された抗体-薬物コンジュゲート溶液(37)を無菌の0.22μmの遠心濾過膜を通して濾過し、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)および逆相クロマトグラフィーによって分析し、-80にて貯蔵した。

20

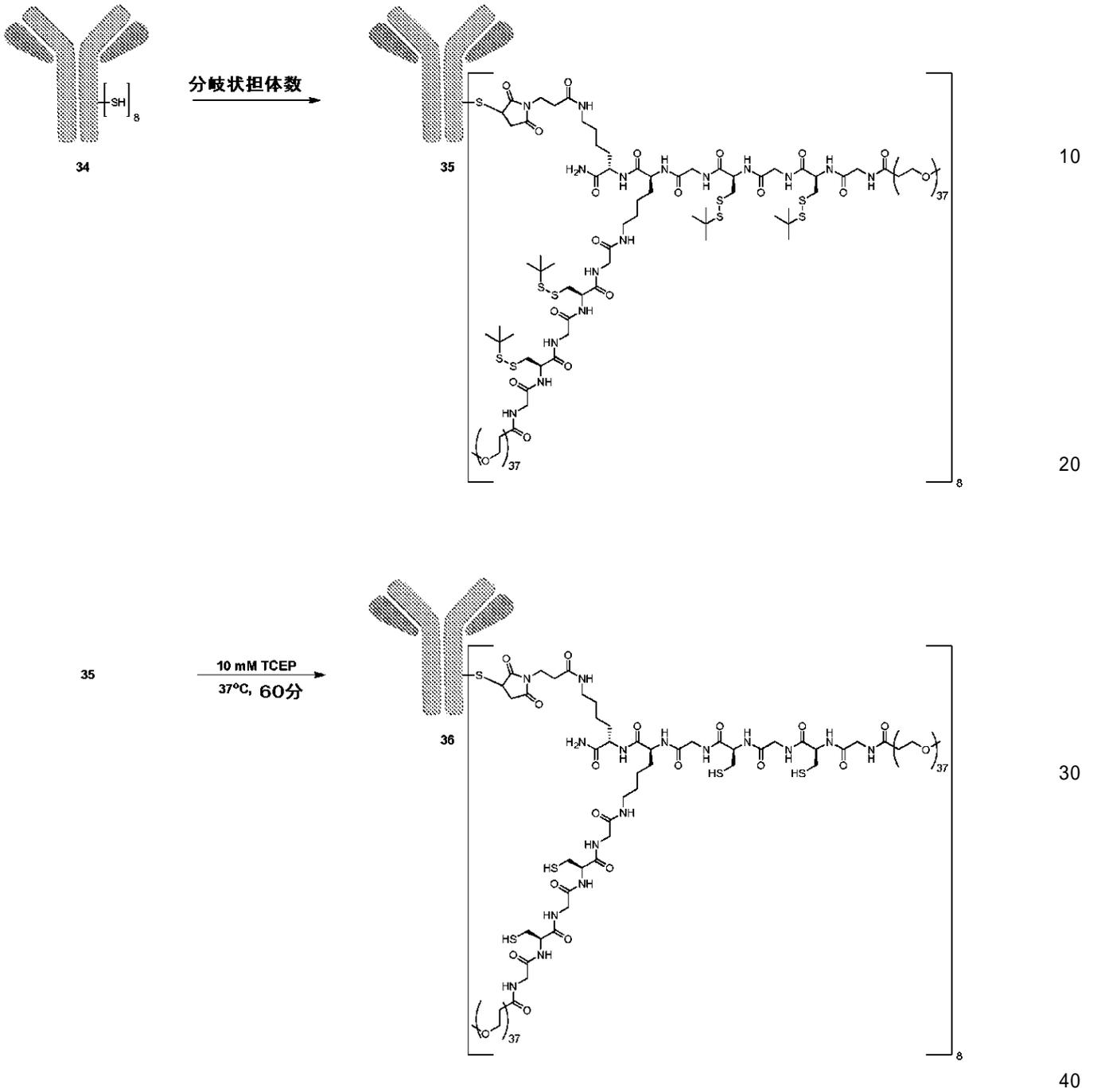
30

40

50

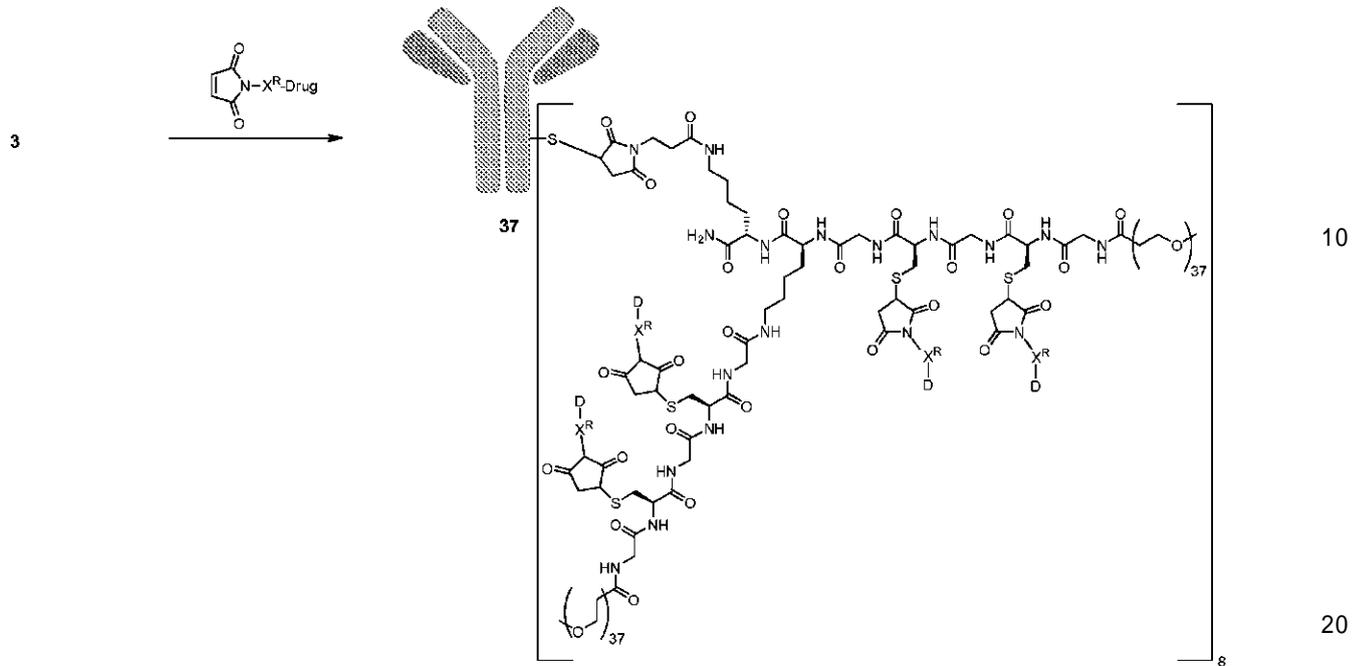
【化 1 7 5】

スキーム15: マレイミド含有PEG化された分岐状薬物担体足場のコンジュゲーション、およびt-ブチルチオール保護基の除去



【化 1 7 6】

スキーム16: 分岐状薬物担体へのマレイミド含有薬物リンカーのコンジュゲーション



(実施例 2 4)

多重化された PEG 化された足場を有する ADC の調製および生物活性

【0 5 5 4】

実施例 2 3 の手順を使用して、PEG 化された多重化された足場 C ($n = 37$ である) から 3 2 負荷アウリスタチンおよびカンプトテシン ADC を調製した。凝集の量は定量法のレベル未満であったが、サイズ排除クロマトグラフィーは、3 2 負荷 MMAE ADC が二量体形態で存在し得ることを示した。

【0 5 5 5】

mc - VC - PABA - MMAE の - X - D 部分を有する cAC10 の 3 2 負荷コンジュゲートは、8 負荷 ADC と比較して、薬物負荷量において 4 倍のみの増加が存在したにも関わらず、L540cy (CD30 コピー数 433K) に対する細胞毒性において > 5 倍の改善を示した。さらにより重要なことには、3 2 負荷コンジュゲートは、別のホジキンリンパ腫細胞系である L - 428 に対して、この細胞系が非常により低いコピー数の標的とした抗原 (CD30 コピー数 77K) を有するにも関わらず、活性を有し、一方、8 負荷コンジュゲートは不活性であると考えられた (IC₅₀ > 1 μM)。また、3 2 負荷 MMAE コンジュゲートは、CD30⁺ 多剤耐性 ALC L 細胞系に対して細胞毒性活性を有した。対照的に、8 負荷 MMAE コンジュゲートは、親細胞系に対して 3 2 負荷コンジュゲートと同様の活性を有したが、両方の多剤耐性細胞系に対して不活性であると考えられた。

【0 5 5 6】

MDpr - PAB (gluc) カンプトテシンの - X - D 部分を有する cAC10 3 2 負荷コンジュゲートは、8 負荷コンジュゲートと比較して、L540cy に対して細胞毒性において 3 ~ 4 倍の改善を示したが、8 負荷コンジュゲートと同様に、L - 428 に対して不活性であると考えられた。3 2 負荷コンジュゲートは、8 負荷コンジュゲートと比較して、ALCL 多剤耐性細胞系に対して > 5 倍の細胞毒性を有した。

【0 5 5 7】

MDpr - PAB (gluc) - カンプトテシンの - X - D 部分をまた有する hBU1

10

20

30

40

50

2の32負荷コンジュゲートはまた、8負荷コンジュゲートと比較して、RajおよびRamossに対して細胞毒性において>5倍の改善を示し、最も低いC19コピー数を有したRLに対して活性であった。対照的に、8負荷コンジュゲートは不活性であった。

【表7】

表7. 多重化されたPEG化された足場を有するADCについての質量分析法データ

ADC	質量、計算値 (軽鎖、重鎖)	質量、実測値 (軽鎖、重鎖)
16負荷MDpr-グルクロニド-カンプトテシンcOKT9ADC ⁽¹⁾	29,092, ND	29,094, ND
32負荷MDpr-グルクロニド-カンプトテシンcAC10ADC ⁽²⁾	32,501, ND	32,505, ND
16負荷MDpr-VC-MMAE cAC10ADC ⁽¹⁾	29,104, 66,460	29,108, 66,465
16負荷mc-VC-MMAE cAC10ADC ⁽³⁾	28,476, 64,575	28,481, 64,582
32負荷mc-VC-MMAE cAC10ADC ⁽²⁾	33,514, 79,690	33,514, 79,691
32負荷MDpr-グルクロニド-MMAE cAC10ADC ⁽²⁾	33,505, 79,664	33,504, 79,665

10

1:mPEG₂₄-Cys(StBu)-Lys(MDpr)-Cys(StBu)-PEG₂₄-OHを用いて調製

2:PEG₃₇分岐状薬物担体足場を用いて調製

3:MDpr-Cys(StBu)-Ala-Cys(StBu)-PEG₃₆-OHを用いて調製

20

【図面】

【図1】

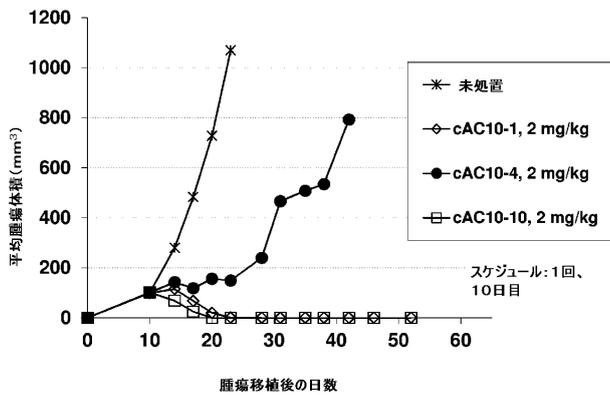


Figure 1

【図2】

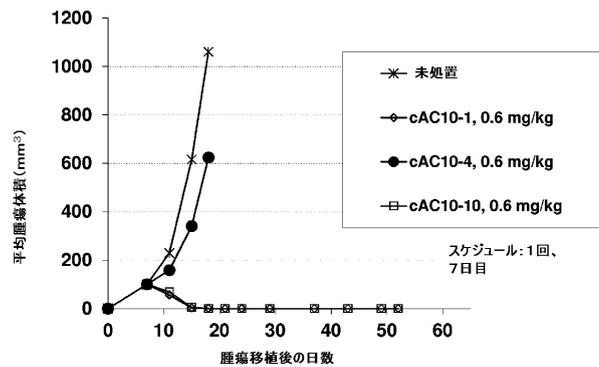


Figure 2

30

40

50

【 図 3 】

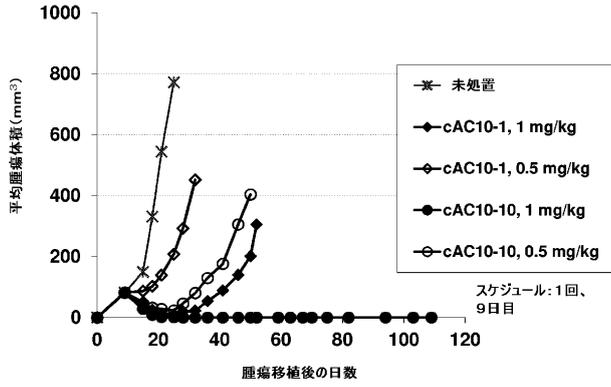


Figure 3

【 図 4 】

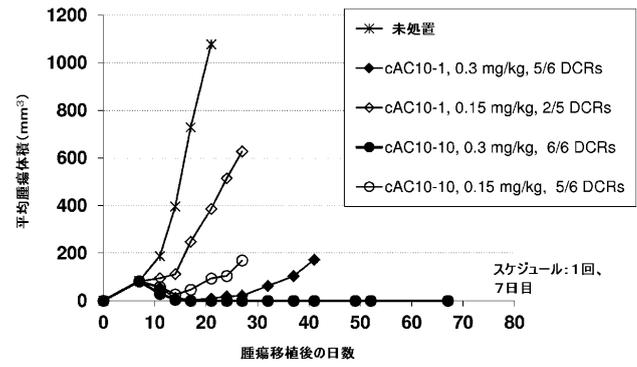


Figure 4

10

【 図 5 】

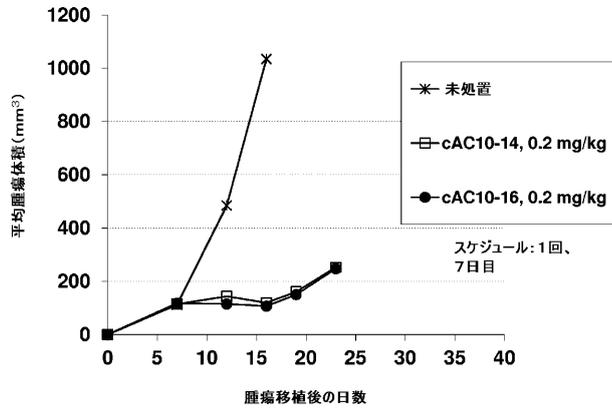


Figure 5

【 図 6 】

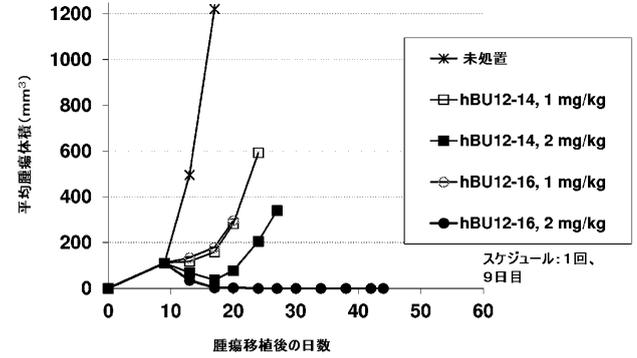


Figure 6

20

30

40

50

【 図 7 】

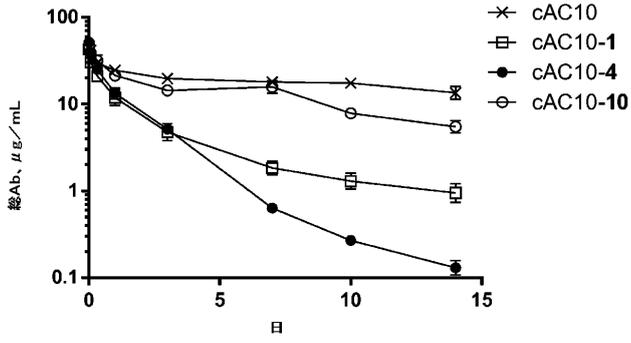


Figure 7

【 図 8 】

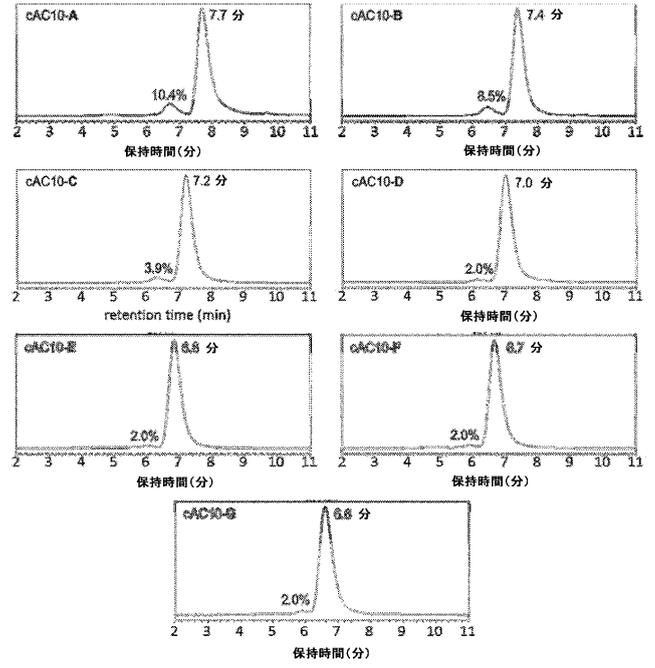


Figure 8

【 図 9 】

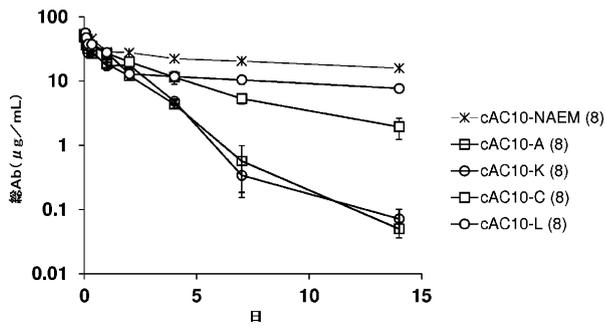


Figure 9

【 図 10 】

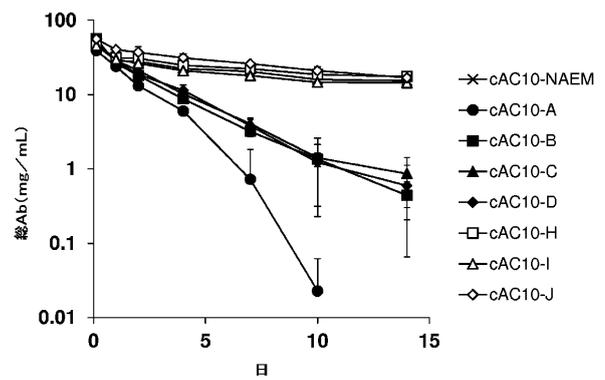


Figure 10

10

20

30

40

50

【 図 1 1 】

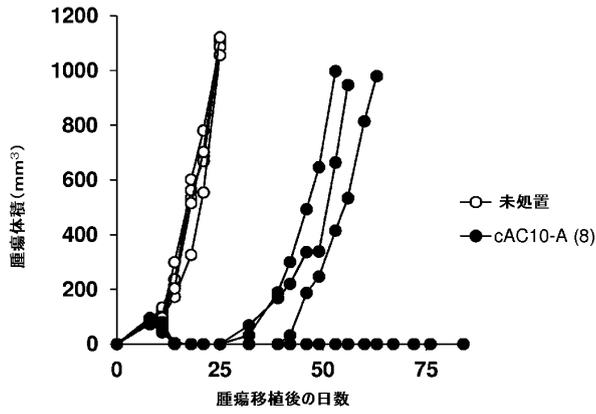


Figure 11

【 図 1 2 】

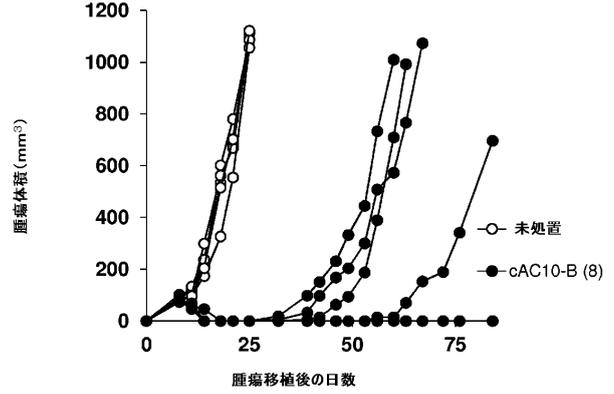


Figure 12

10

【 図 1 3 】

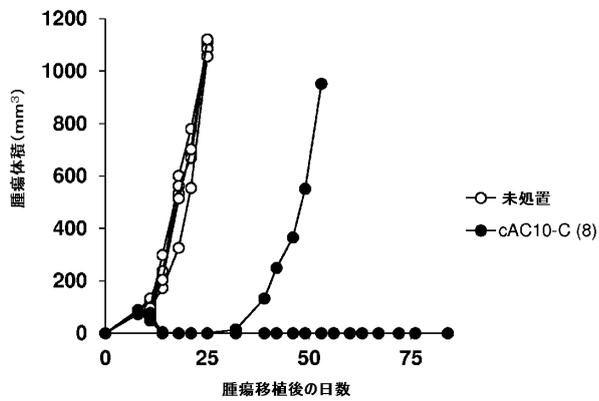


Figure 13

【 図 1 4 】

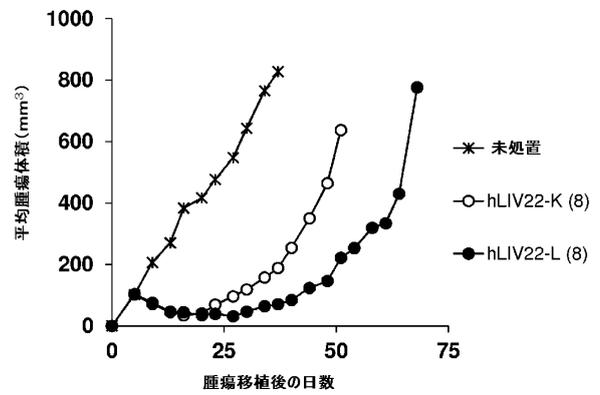


Figure 14

20

30

40

50

【 図 1 5 】

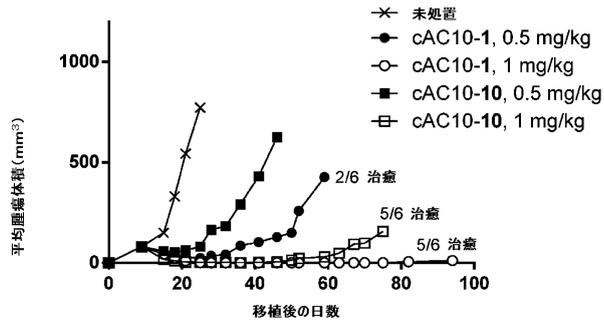


Figure 15

【 図 1 6 】

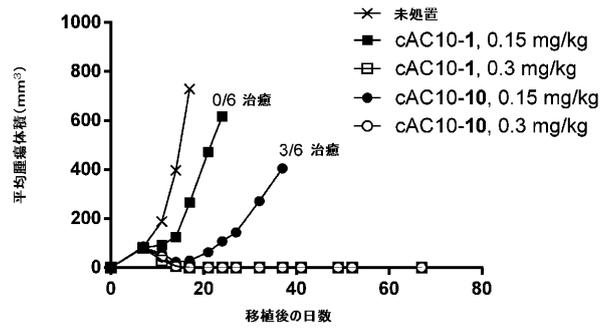


Figure 16

10

【 図 1 7 】

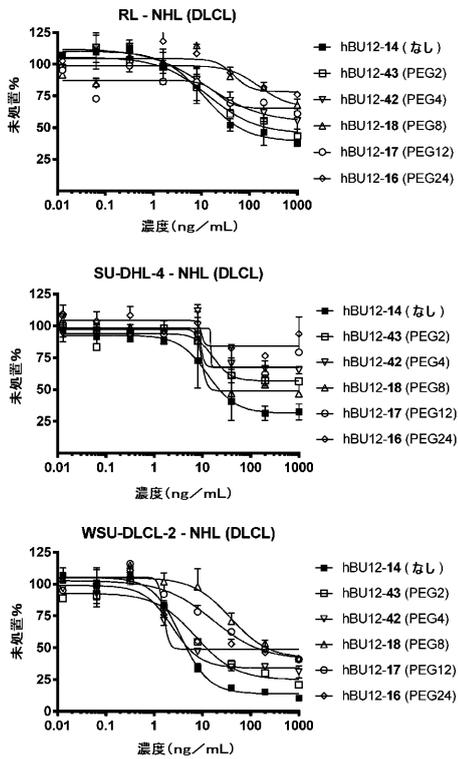


Figure 17

【 図 1 8 】

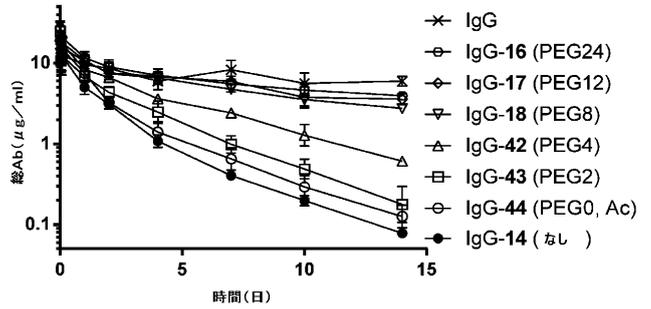


Figure 18

20

30

40

50

【 図 19 】

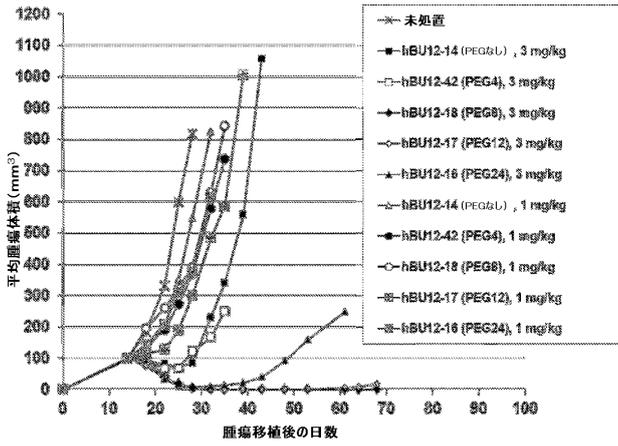


Figure 19

【 図 20 】

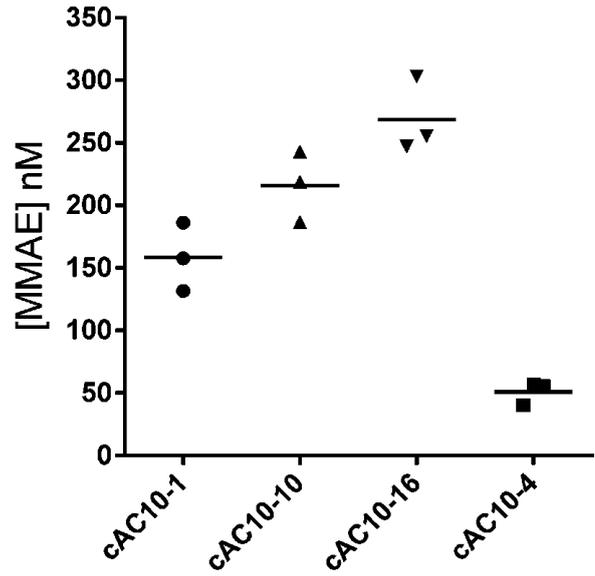


Figure 20

10

20

【 図 21 】

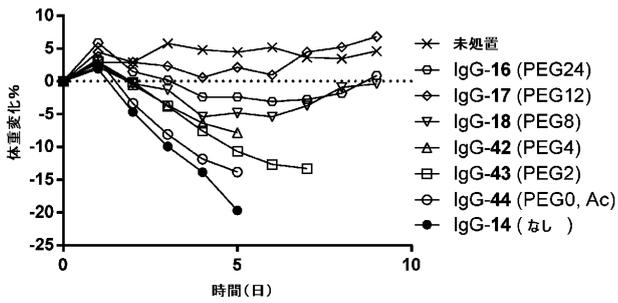


Figure 21

【 図 22 】

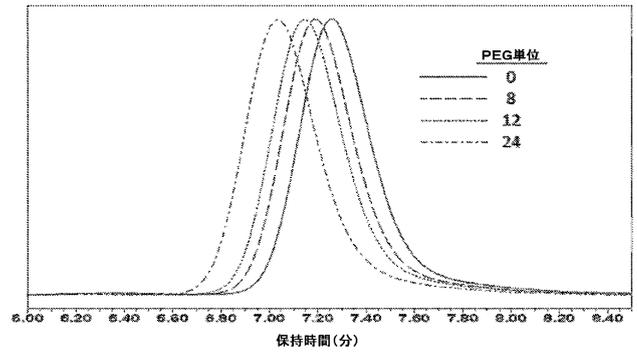


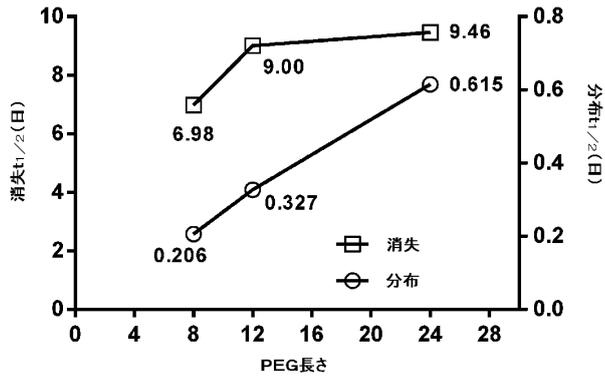
Figure 22

30

40

50

【 図 2 3 】



10

Figure 23

【 配列表 】

[2023116821000001.app](#)

【 外国語明細書 】

20

[2023116821000282.pdf](#)

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類
C 0 7 K 16/18 (2006.01) F I
A 6 1 P 35/00
C 0 7 K 16/18

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 61/975,318

(32)優先日 平成26年4月4日(2014.4.4)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

, ボセル, 30ティーエイチ ドライブ サウスイースト 21823

(72)発明者 ジョシュア ハンター

アメリカ合衆国 ワシントン 98021, ボセル, 30ティーエイチ ドライブ サウスイースト
21823