

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-514174  
(P2024-514174A)

(43)公表日 令和6年3月28日(2024.3.28)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 5/103(2006.01)	C 0 7 K 5/103	4 C 0 7 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	4 C 0 8 5
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	4 C 0 8 6
A 6 1 K 39/395(2006.01)	A 6 1 K 39/395	C 4 H 0 4 5
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全116頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2023-562934(P2023-562934)	(71)出願人	516310910 ジーンクアンタム ヘルスケア (スーチョウ) シーオー., エルティーディー. GENEQUANTUM HEALTH CARE (SUZHOU) CO., LTD.
(86)(22)出願日	令和4年4月13日(2022.4.13)		
(85)翻訳文提出日	令和5年10月13日(2023.10.13)		
(86)国際出願番号	PCT/CN2022/086558		
(87)国際公開番号	WO2022/218331		
(87)国際公開日	令和4年10月20日(2022.10.20)		
(31)優先権主張番号	PCT/CN2021/087323		中華人民共和国ジャンス - 2 1 5 1 2 3 . スーチョウ. スーチョウ. インダストリアル. パーク. ルウオシュイ. ストリート3 9 8 . ビルディング. ディー. フィフス. フロア
(32)優先日	令和3年4月14日(2021.4.14)	(74)代理人	100127926 弁理士 結田 純次
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)	(74)代理人	100140132 弁理士 竹林 則幸
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 リンカー、コンジュゲート及びその用途

(57)【要約】

本発明は、標的化分子 - 薬物コンジュゲートのリンカー分子、対応するコンジュゲート、その製造方法及び用途に関する。

【選択図】図8

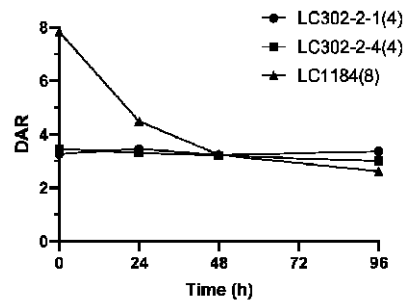


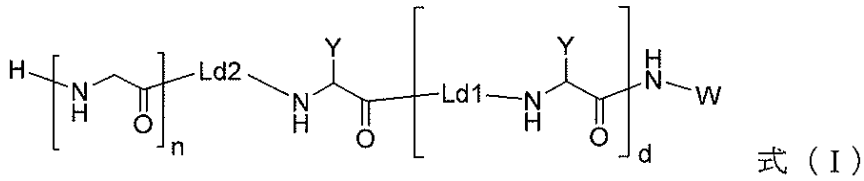
Figure 8

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式 ( I ) の化合物であって、

## 【化 1】



10

式中、

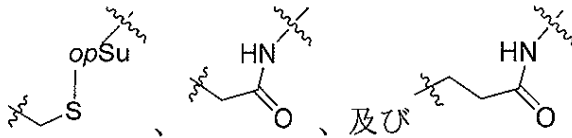
W は水素又は L K b であり、

Y は水素又は L K a - L K b であり、

ただし、W と Y が同時に水素でないことを条件とし、

各 L K a は、独立して、

## 【化 2】

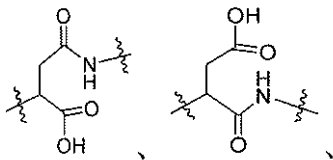


20

から選択され、

o p S u は、

## 【化 3】



30

又はそれらの混合物であり、

各 L K b は、独立して L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B から選択され、

各 B は、独立して、末端基 R<sup>10</sup> であるか、又は、1) 自己犠牲スパーサー S p 1 と、2) 結合、又は - C R<sup>1</sup> R<sup>2</sup> -、C<sub>1</sub>-<sub>10</sub> アルキレン基、C<sub>4</sub>-<sub>10</sub> シクロアルキレン基、C<sub>4</sub>-<sub>10</sub> ヘテロシクリレン基及び - ( C O ) - から選択される 1 つの二価基、又は 2 つ以上の前記二価基の組み合わせと、3) 末端基 R<sup>10</sup> との組み合わせであり、

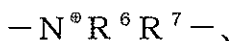
R<sup>10</sup> は、水素であるか又はペイロード中の基と反応する時に脱離できる基であり、

L<sup>1</sup> は、酵素により切断可能なアミノ酸配列を含む切断可能配列 1 であり、切断可能配列 1 は 1 ~ 10 個のアミノ酸を含み、

40

L<sup>2</sup> は、結合であるか又は C<sub>2</sub>-<sub>20</sub> アルキレン基であり、ここでアルキレン基中の 1 つ又は複数の - C H<sub>2</sub> - 構造は、- C R<sup>3</sup> R<sup>4</sup> -、- O -、- ( C O ) -、- S ( = O )<sub>2</sub> -、- N R<sup>5</sup> -、

## 【化 4】



C<sub>4</sub>-<sub>10</sub> シクロアルキレン基、C<sub>4</sub>-<sub>10</sub> ヘテロシクリレン基、フェニレン基によって任意に置換され、ここでシクロアルキレン基、ヘテロシクリレン基、及びフェニレン基は、

50

それぞれ独立して、非置換であるか、又はハロゲン、 $-C_{1-10}$ アルキル基、 $-C_{1-10}$ ハロアルキル基、 $-C_{1-10}$ アルキレン $-NH-R^8$ 、及び $-C_{1-10}$ アルキレン $-O-R^9$ から選択される少なくとも1つの置換基で置換され、

$Ld2$ と各 $Ld1$ は、独立して、結合であるか、又は $-NH-C_{1-20}$ アルキレン $-(CO)-$ 、 $-NH-(PEG)_i-(CO)-$ から選択されるか、又は側鎖上でそれぞれ独立して非置換の又は $-(PEG)_j-R^{11}$ によって置換された天然アミノ酸もしくは重合度2~10のオリゴマー天然アミノ酸であり、

$-(PEG)_i-$ と $-(PEG)_j-$ は、それぞれPEGフラグメントであり、指定された数の連続した $-(O-C_2H_4)-$ 構造単位又は連続した $-(C_2H_4-O)-$ 構造単位を含み、任意に、1つの末端に $C_{1-10}$ アルキレン基が付加され、

$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9$ は、それぞれ独立して、水素、ハロゲン、 $-C_{1-10}$ アルキル基、 $-C_{1-10}$ ハロアルキル基、 $C_{4-10}$ シクロアルキレン基から選択され、

$R^{11}$ は $C_{1-10}$ アルキル基であり、

$n$ は2~20の任意の整数であり、

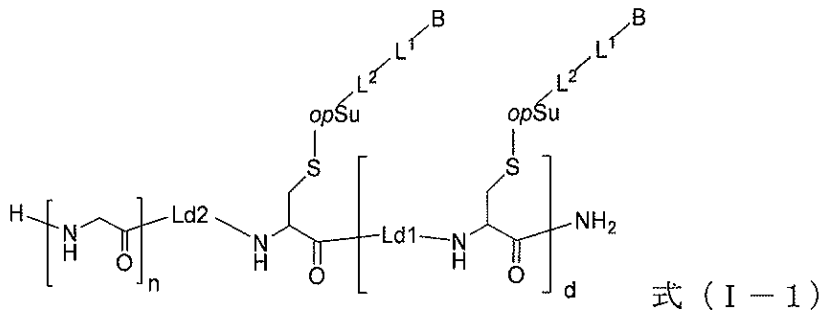
$d$ は0又は1~6の任意の整数であり、

各 $i$ は独立して1~100の整数であり、好ましくは1~20であり、好ましくは、各 $i$ は独立して1~12の整数であり、より好ましくは2~8であり、特に4であり、

各 $j$ は独立して1~100の整数であり、好ましくは1~20であり、好ましくは、各 $j$ は独立して1~12の整数であり、より好ましくは8~12であり、特に8又は12である、前記化合物。

【請求項2】

【化5】

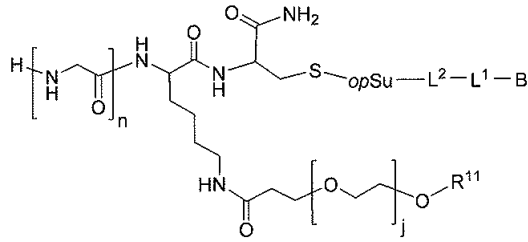


から選択される、請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

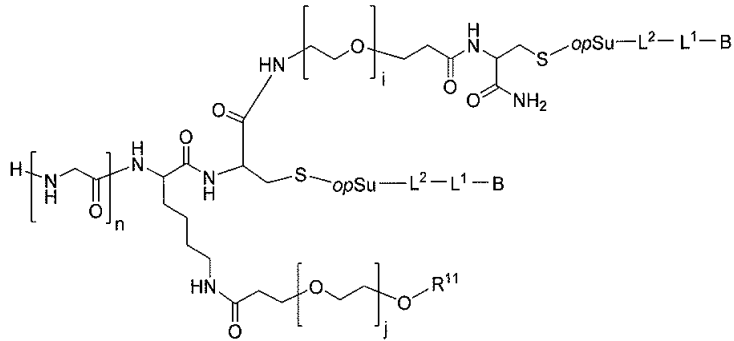


## 【化 6 - 2】



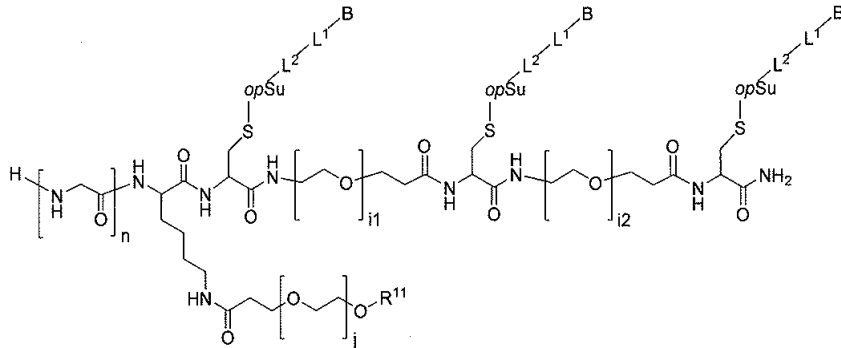
(リンカー LA 302-1)

10



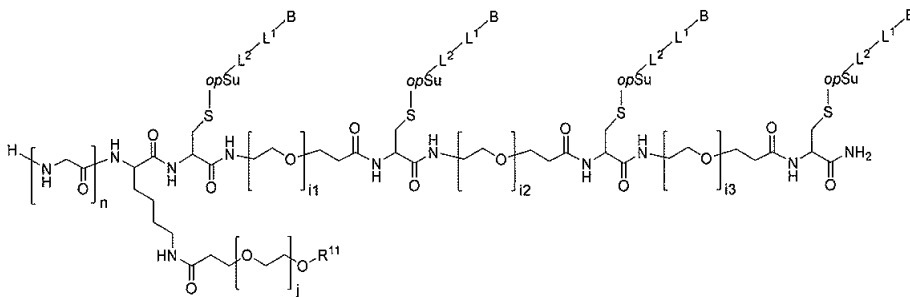
(リンカー LA 302-2)

20



(リンカー LA 302-3)

30



(リンカー LA 302-4)

40

から選択され、

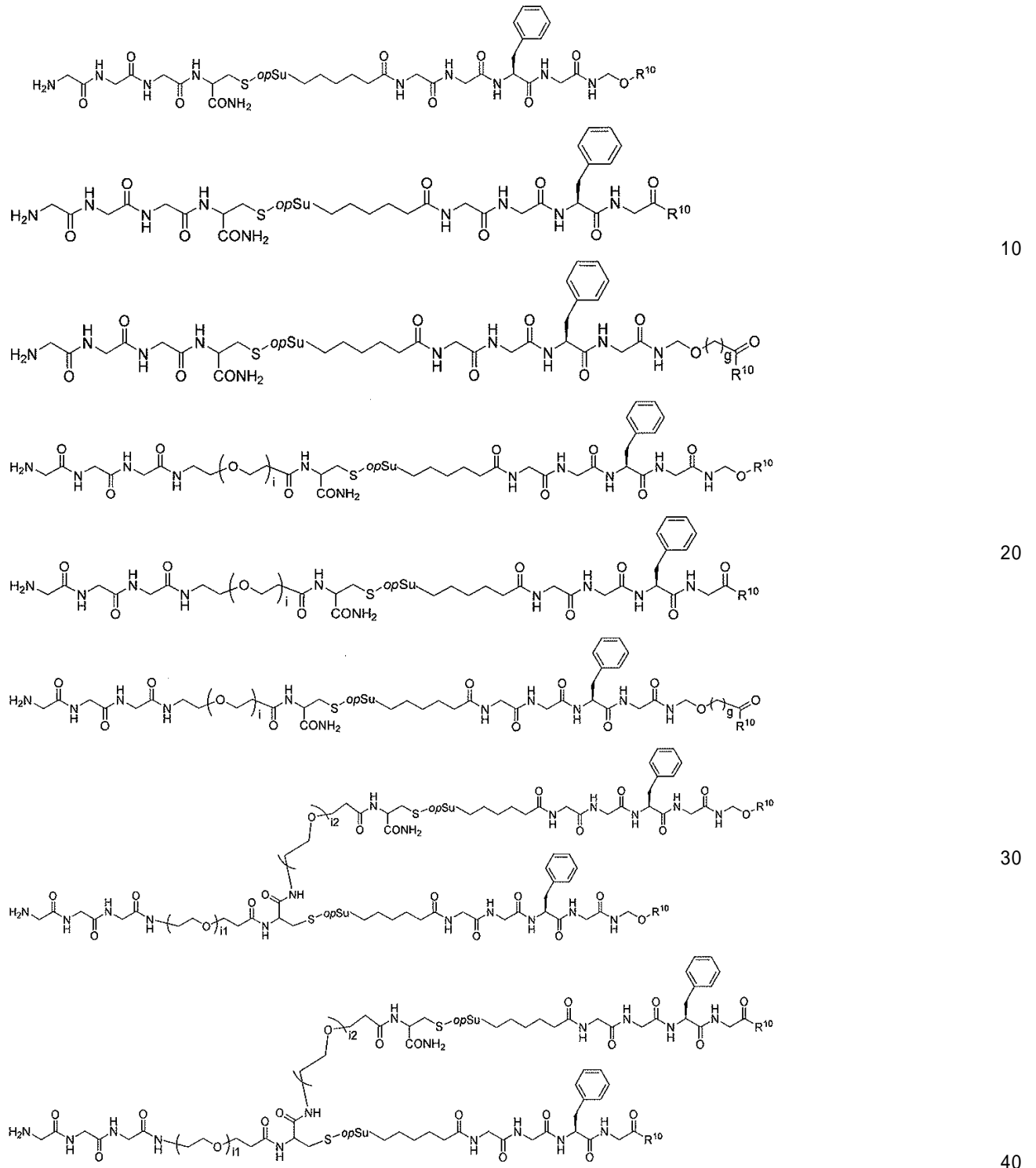
式中、各  $i$ 、 $i_1$ 、 $i_2$ 、 $i_3$ 、 $i_4$  は、それぞれ独立して、1 ~ 100 の整数であり、好ましくは 1 ~ 20 であり、好ましくは、各  $i$ 、 $i_1$ 、 $i_2$ 、 $i_3$ 、 $i_4$  は、それぞれ独立して、1 ~ 12 の整数であり、より好ましくは 2 ~ 8 であり、特に 4 である、請求項 1 から 2 のいずれか 1 項に記載の化合物。

## 【請求項 4】

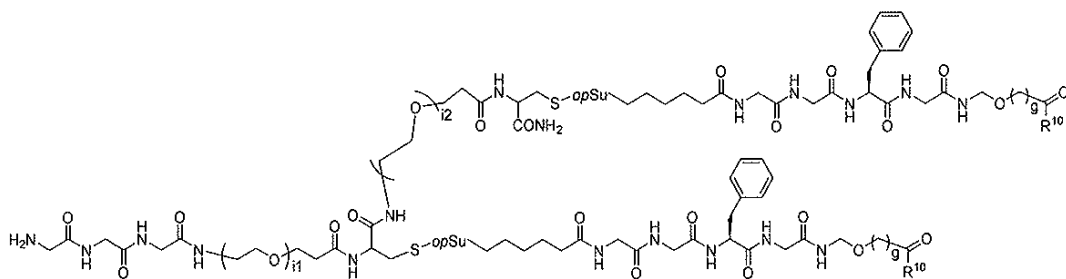
L d 2 と各 L d 1 は、独立して、結合又は



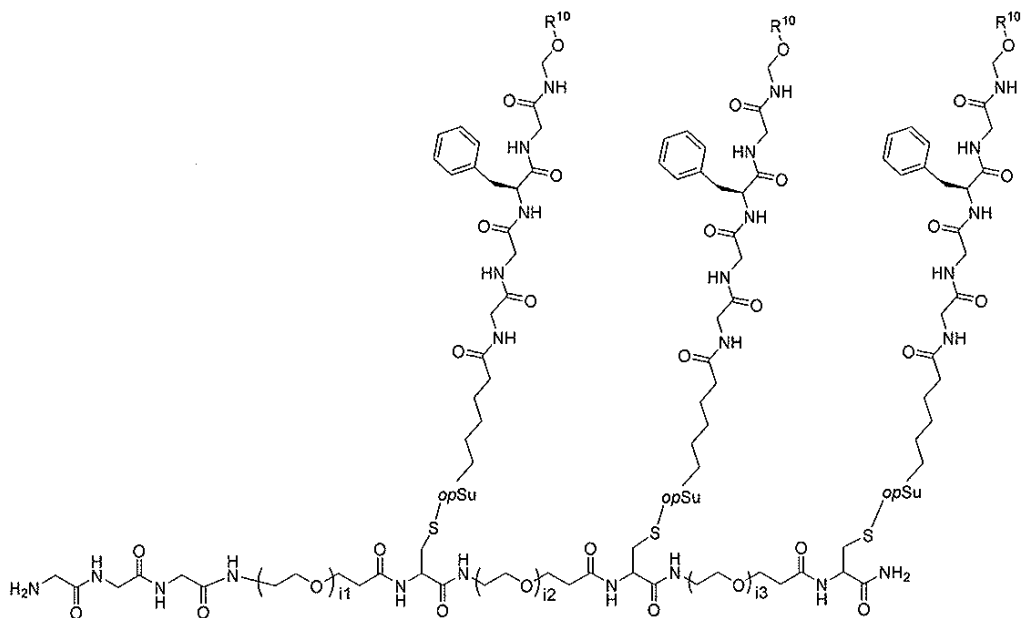
## 【化 9 - 1】



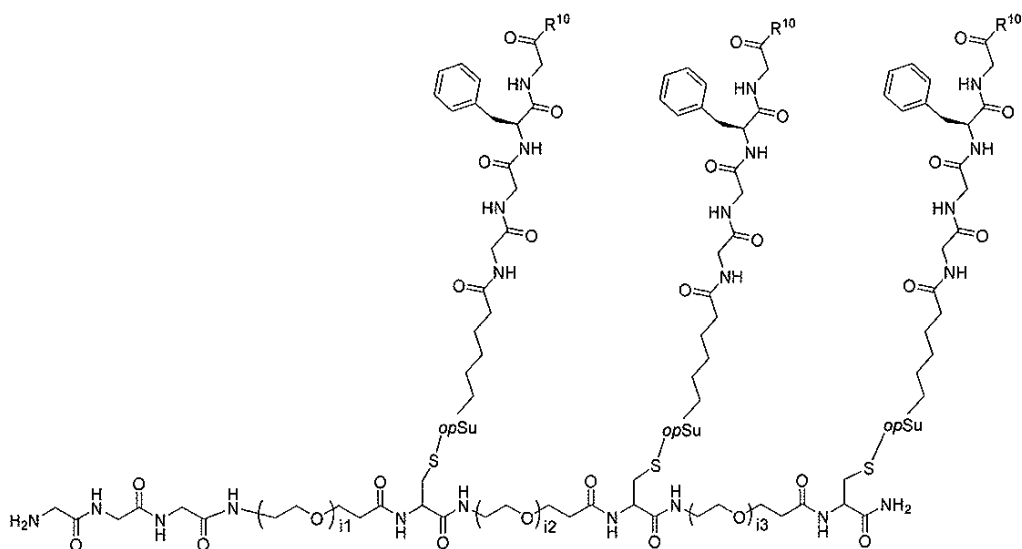
【化 9 - 2】



10



20



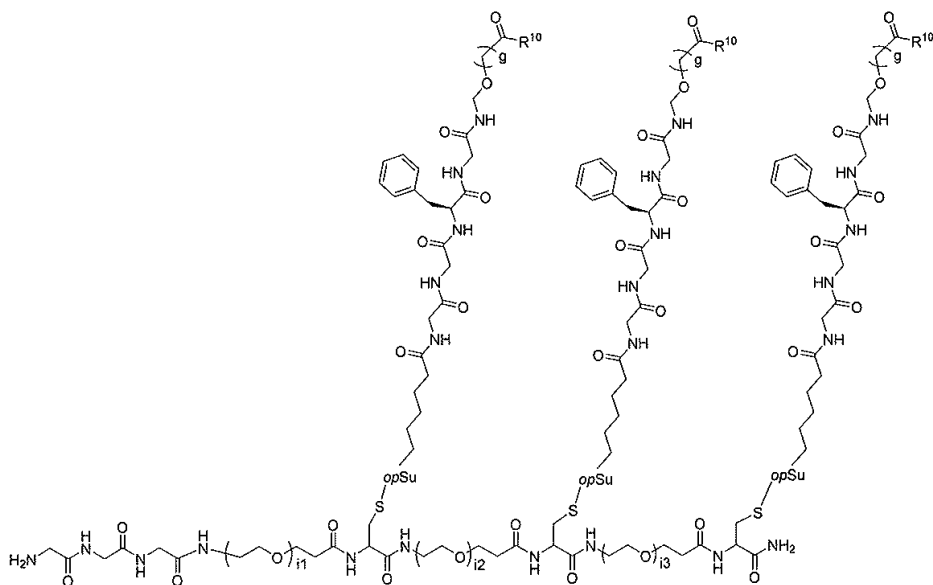
30



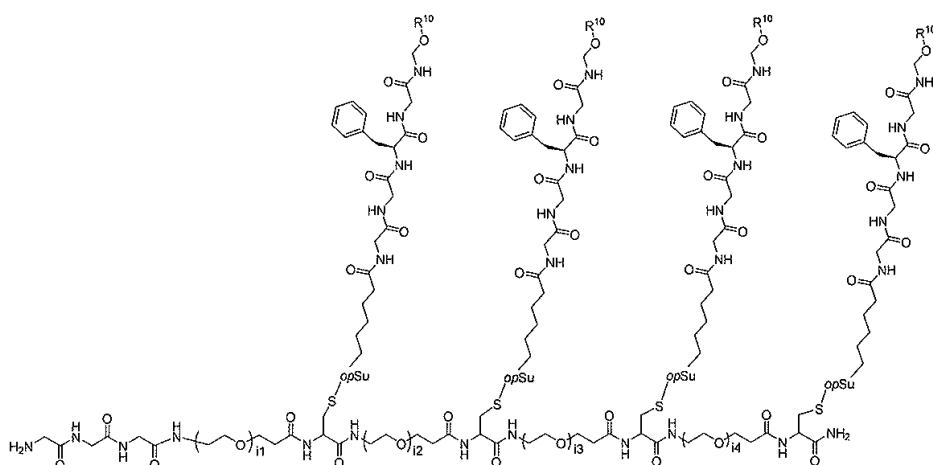
40



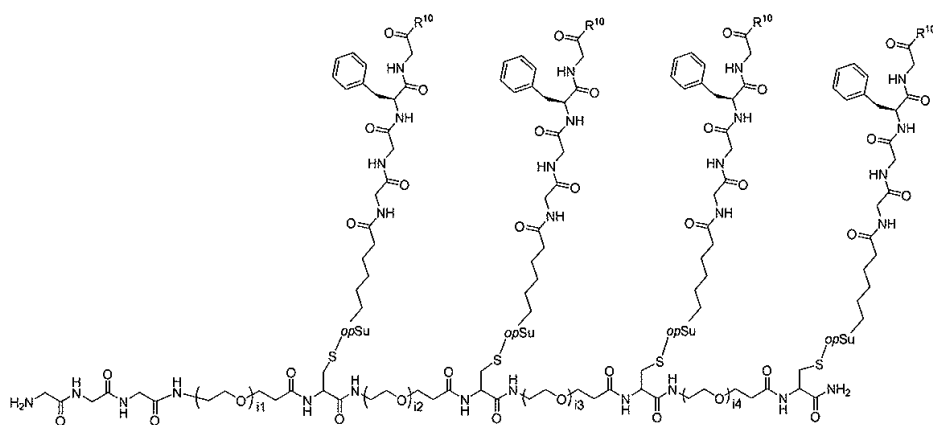
【化 9 - 3】



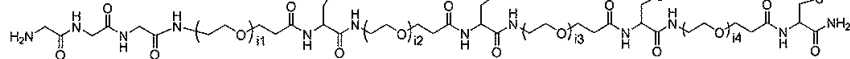
10



20

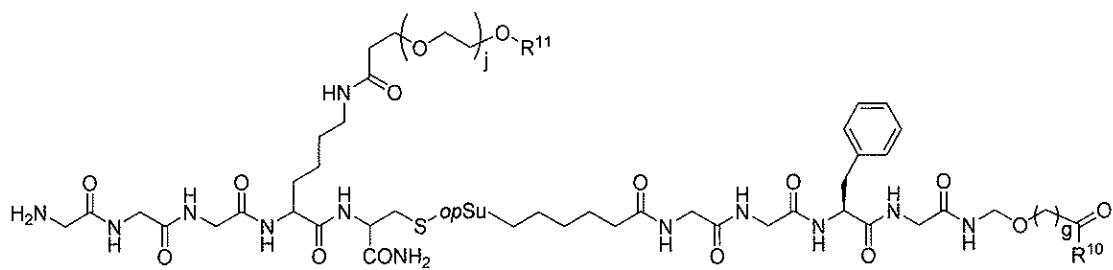
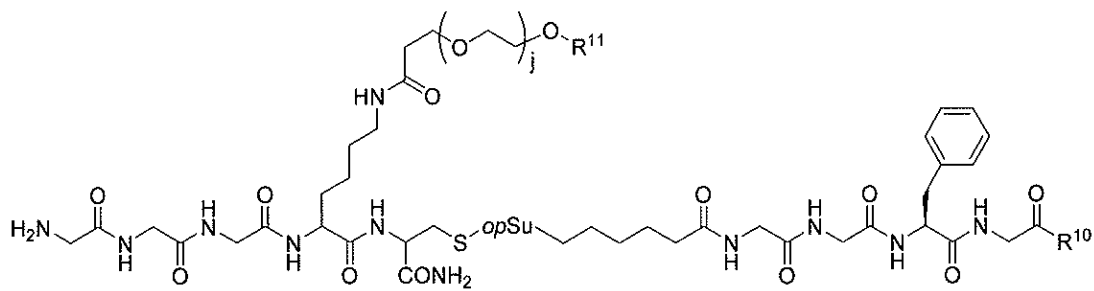
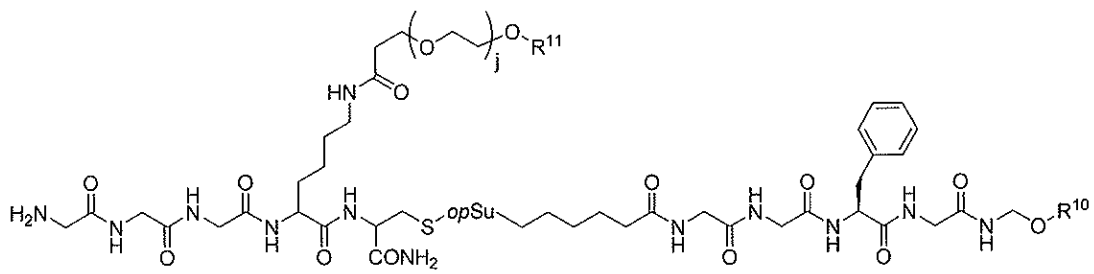
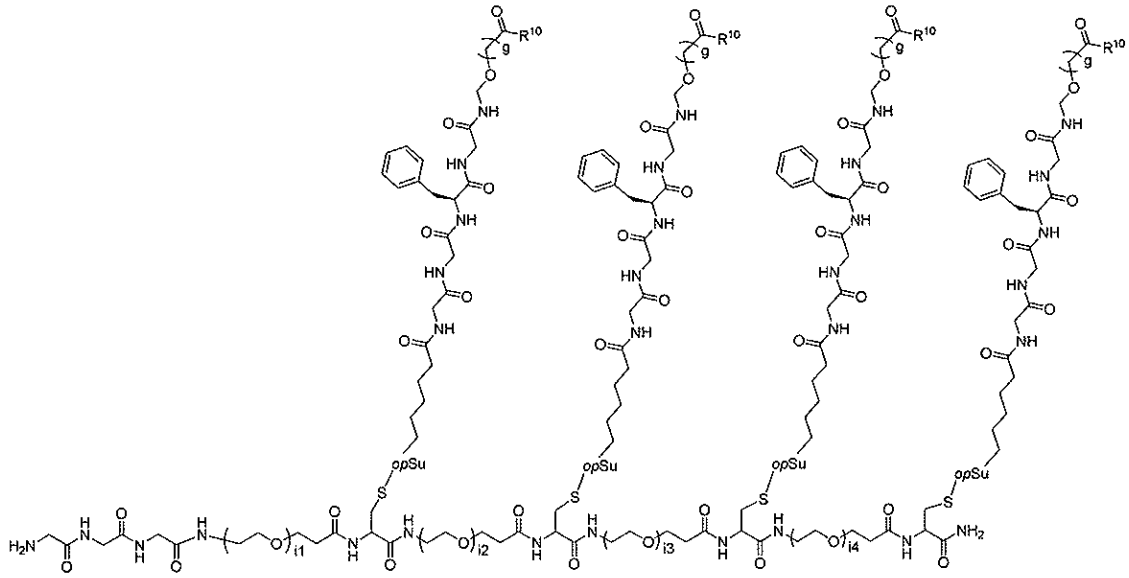


30



40

【化 9 - 4】



10

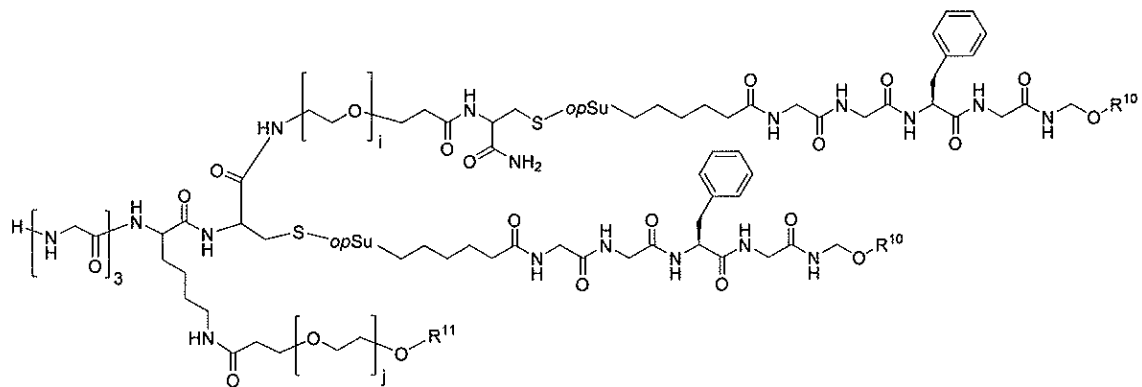
20

30

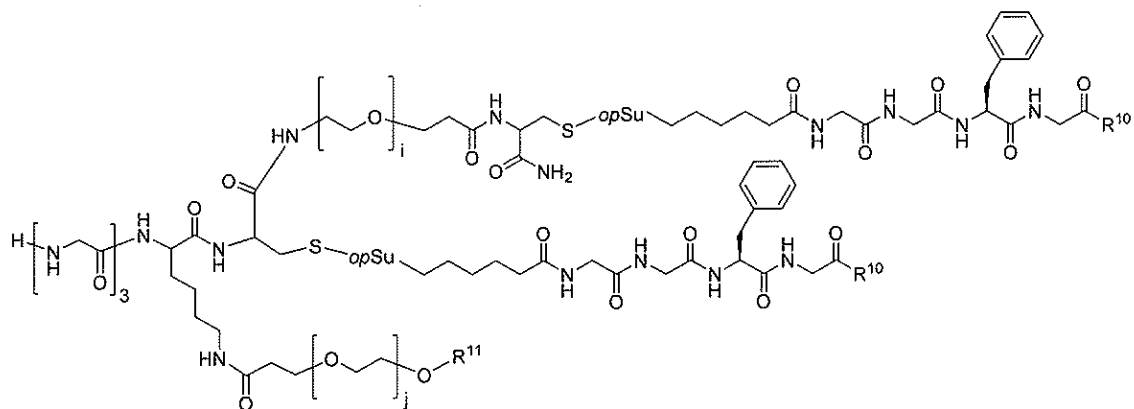
40

50

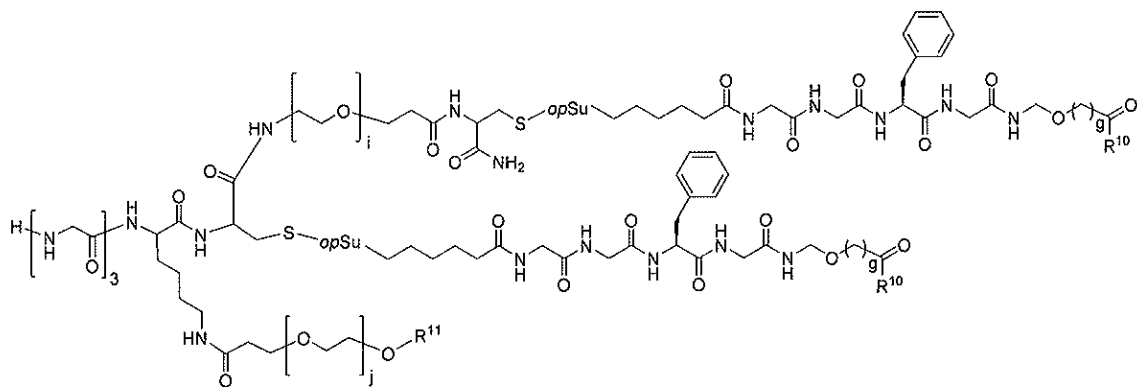
【化 9 - 5】



10



20

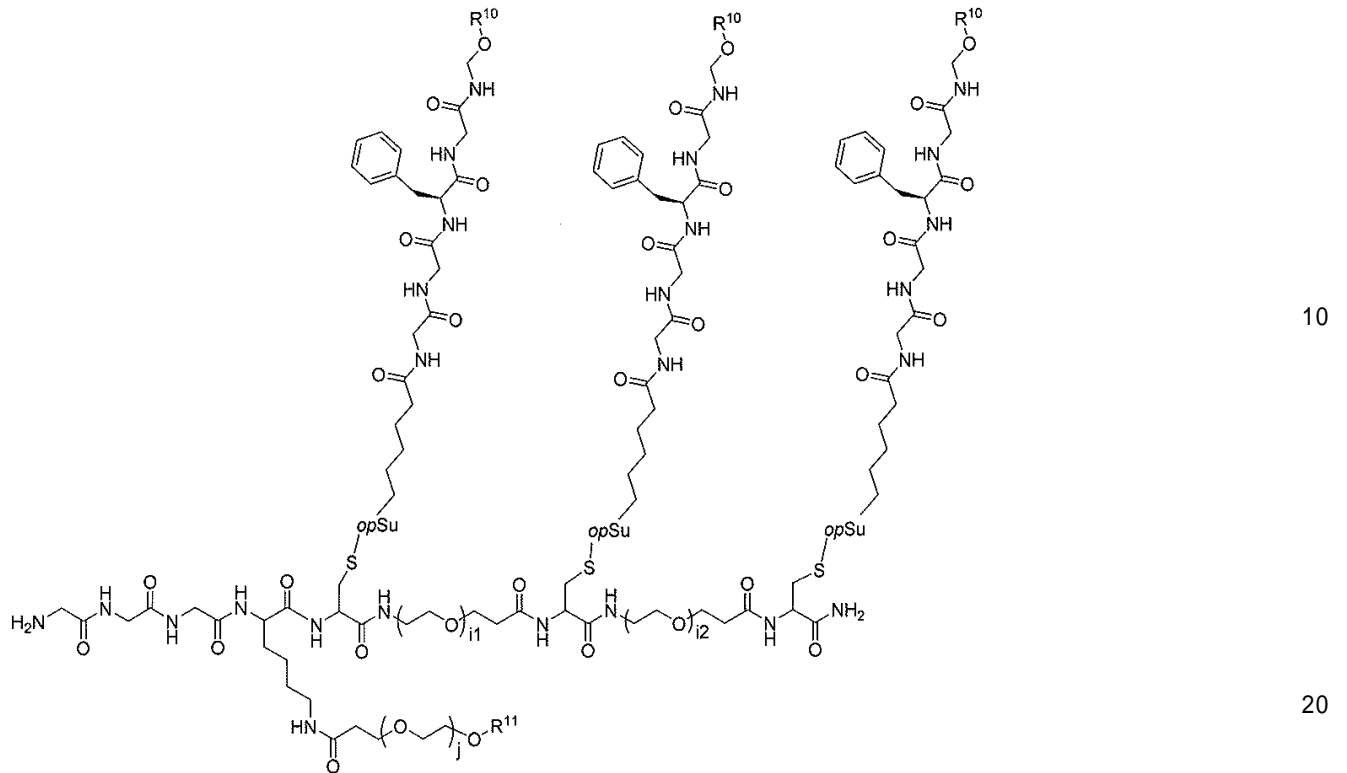


30

40

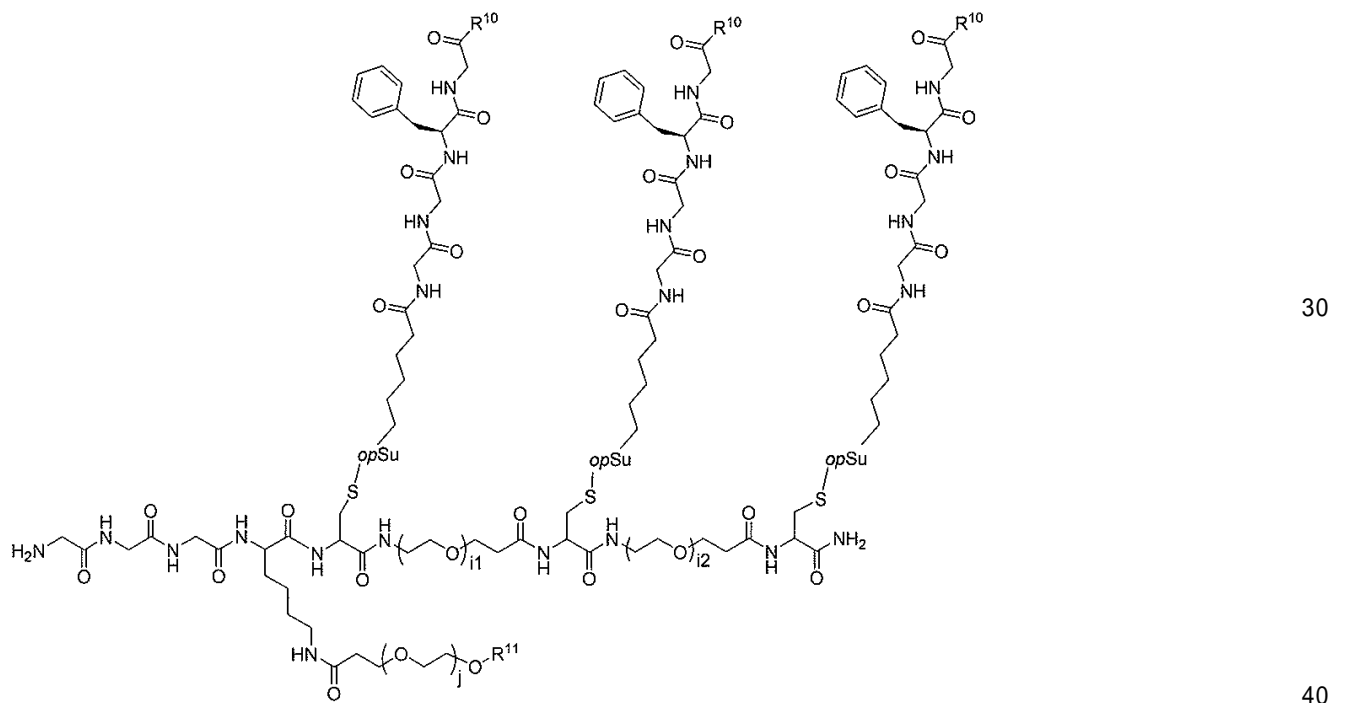
50

【化 9 - 6】



10

20

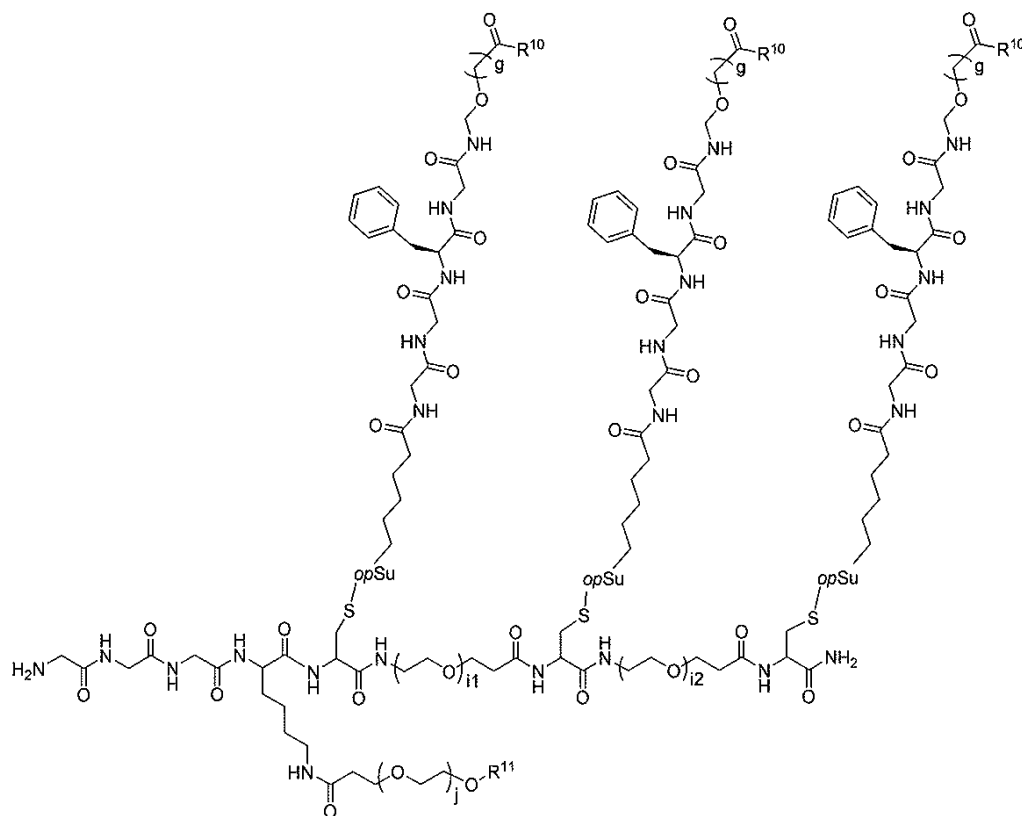


30

40

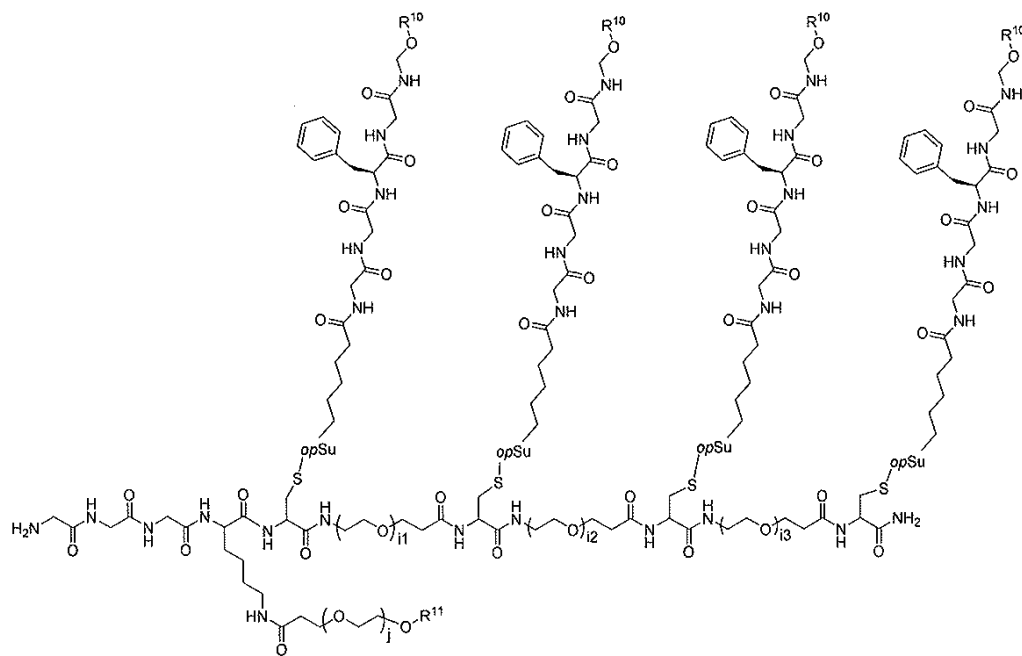
50

【化 9 - 7】



10

20



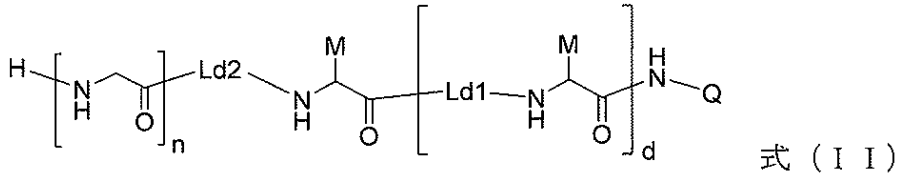
30

40

50



## 【化 1 0】



式中、

Qは水素又はLKb Pであり、

Mは水素又はLKa - LKb Pであり、

ただし、QとMが同時に水素でないことを条件とし、

Pは、請求項1に記載の式(I)の化合物のB部分又はL<sup>1</sup>部分に連結されるペイロードであり、

n、d、Ld1、Ld2、LKa及びLKbは請求項1に定義した通りであり、

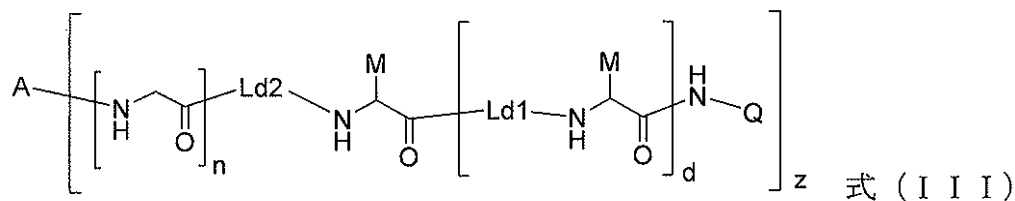
好ましくは、Mは水素又はLKa - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B Pであり、ここで各Bは、独立して、存在しないか、又は、1)自己犠牲スペーサーSp1と、2)結合、又は-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-、C<sub>1-10</sub>アルキレン基及び-(CO)-から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせとの組み合わせであり、

好ましくは、Sp1は、PABC、アセタール、ヘテロアセタール及びそれらの組み合わせから選択され、より好ましくは、Sp1は、アセタール、ヘテロアセタール又はPABCであり、さらに好ましくは、ヘテロアセタールは、N、O-ヘテロアセタールから選択され、より好ましくは、Sp1は、-O-CH<sub>2</sub>-U-又は-NH-CH<sub>2</sub>-U-であり、ここで-O-又は-NH-は切断可能配列1に接続され、Uは、O、S又はNHであり、好ましくはO又はSである、前記化合物。

## 【請求項9】

式(III)の構造を有するコンジュゲートであって、

## 【化 1 1】



式中、

n、d、Ld1、Ld2、LKa及びLKbは請求項1に定義した通りであり、

Qは水素又はLKb Pであり、

Mは水素又はLKa - LKb Pであり、

好ましくは、Mは水素又はLKa - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B Pであり、ここで各Bは、独立して、存在しないか、又は、1)自己犠牲スペーサーSp1と、2)結合、又は-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-、C<sub>1-10</sub>アルキレン基及び-(CO)-から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせとの組み合わせであり、好ましくは、Bは、-NH-CH<sub>2</sub>-U-であるか又は存在しないか又は-NH-CH<sub>2</sub>-U-(CH<sub>2</sub>)<sub>g</sub>-(CO)-であり、

ただし、QとMが同時に水素でないことを条件とし、

Pは、請求項1に記載の式(I)の化合物のB部分又はL<sup>1</sup>部分に連結されるペイロードであり、

Aは、請求項1に記載の式(I)の化合物のG<sub>n</sub>部分に連結される標的化分子であり、Gはグリシンであり、

10

20

30

40

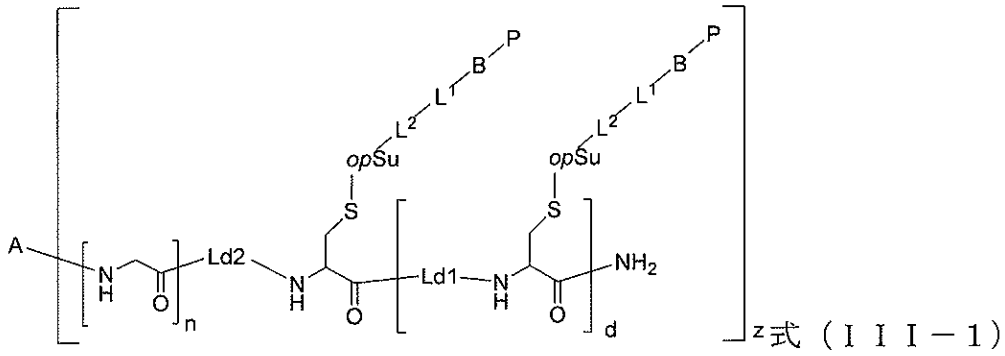
50

z は 1 ~ 20 の整数である、前記コンジュゲート。

【請求項 10】

次の式 ( I I I - 1 ) の構造を有する請求項 9 に記載のコンジュゲート。

【化 1 2】



【請求項 11】

前記コンジュゲートは、次の構造を有し、

20

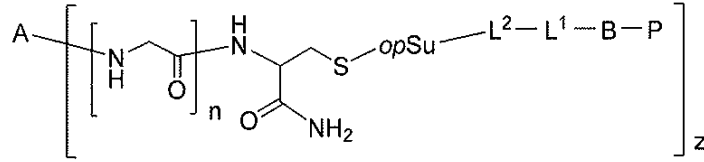
30

40

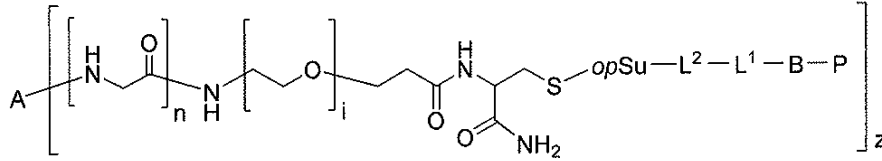
50



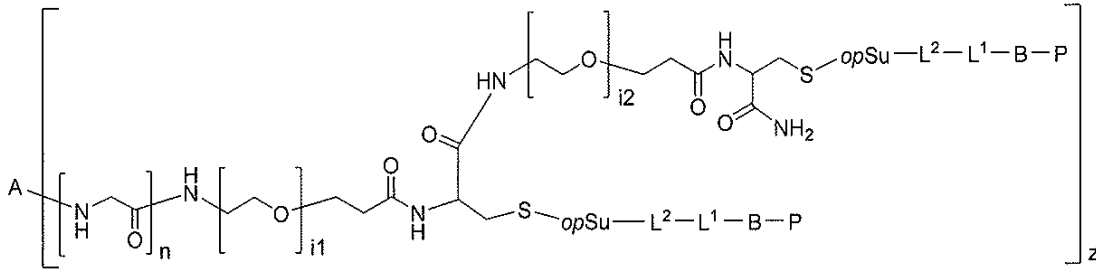
【化 1 3 - 1】



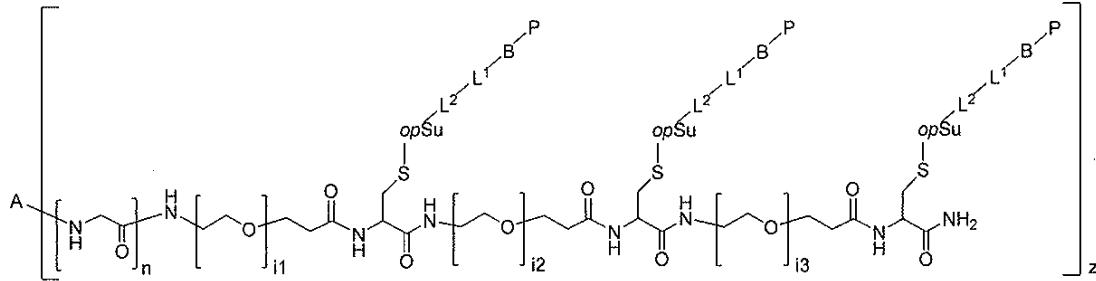
(コンジュゲート LC301-1)



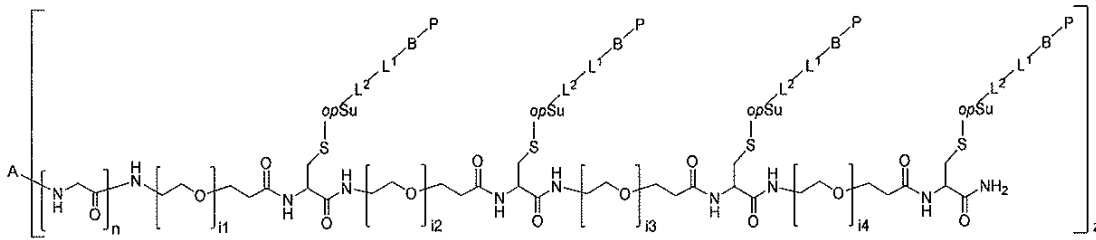
(コンジュゲート LC301-2)



(コンジュゲート LC301-3)



(コンジュゲート LC301-4)



(コンジュゲート LC301-5)

10

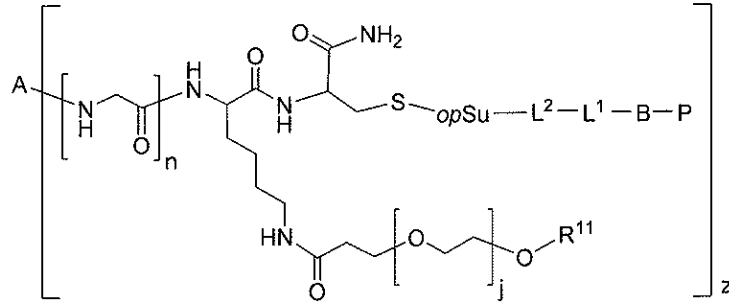
20

30

40

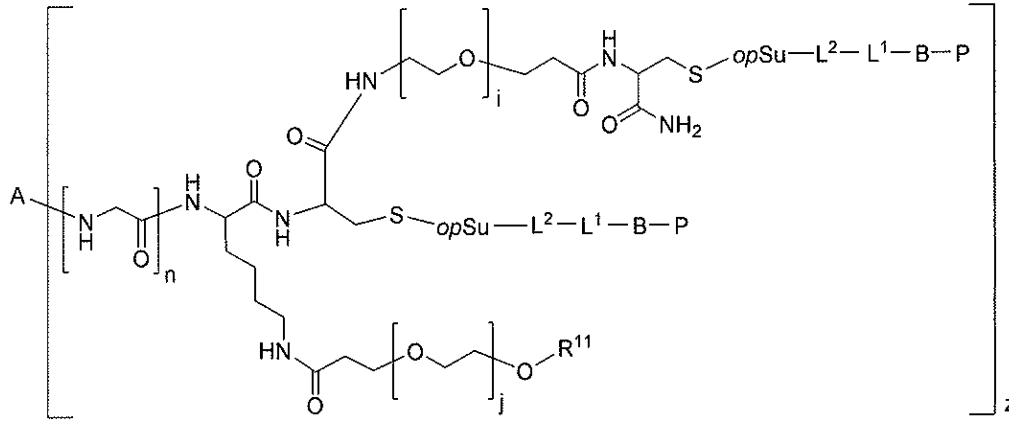
50

【化 1 3 - 2】



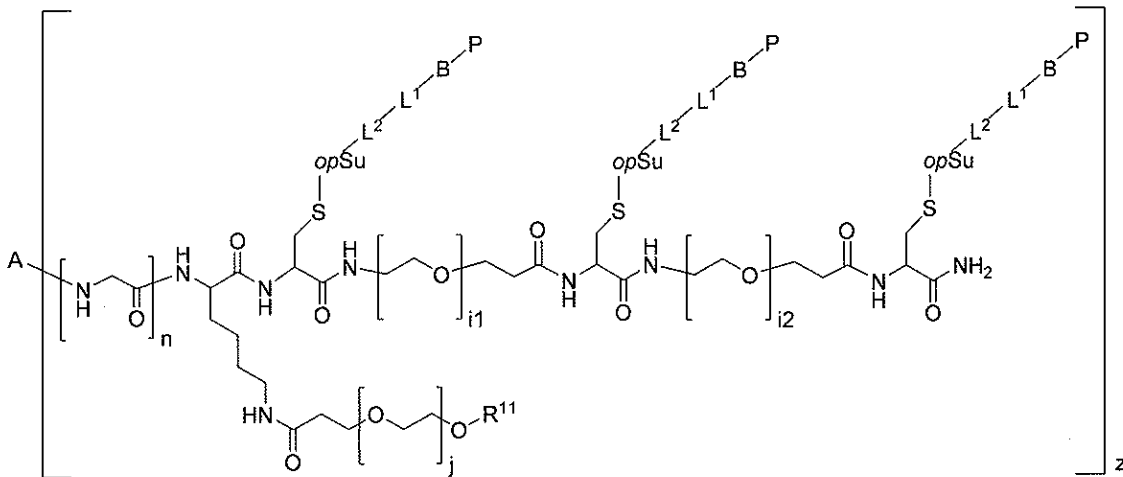
(コンジュゲート LC302-1)

10



(コンジュゲート LC302-2)

20



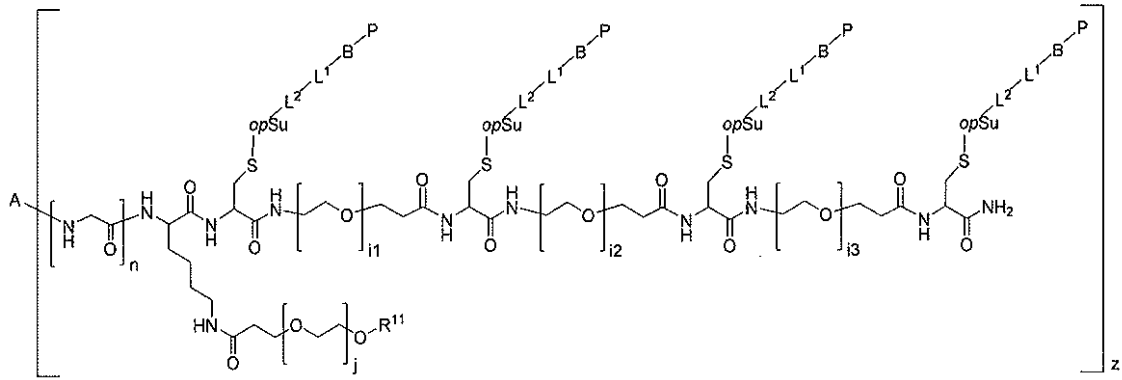
(コンジュゲート LC302-3)

30

40

50

【化 1 3 - 3】



10

(コンジュゲート LC302-4)

好ましくは、zは1~4であり、好ましくは2であり、

各i、i<sub>1</sub>、i<sub>2</sub>、i<sub>3</sub>、i<sub>4</sub>は、それぞれ独立して、1~100の整数であり、好ましくは1~20であり、好ましくは、各i、i<sub>1</sub>、i<sub>2</sub>、i<sub>3</sub>、i<sub>4</sub>は、それぞれ独立して、1~12の整数であり、より好ましくは2~8であり、特に4であり、

各jは独立して1~100の整数であり、好ましくは1~20であり、好ましくは、各jは独立して1~12の整数であり、より好ましくは8~12であり、特に8又は12であり、

20

好ましくは、nは3であり、L<sup>2</sup>は-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CO)-であり、pは3であり、L<sup>1</sup>はGGFGであり、Bは、-NH-CH<sub>2</sub>-U-であるか又は存在しないか又は-NH-CH<sub>2</sub>-U-(CH<sub>2</sub>)<sub>g</sub>-(CO)-であり、UはOであり、gは1である、請求項9又は10に記載のコンジュゲート。

【請求項12】

前記標的化分子は、抗体又はその抗原結合フラグメントであり、好ましくは、前記抗体又は抗原結合フラグメントは、請求項1に記載の式(I)の化合物中のG<sub>n</sub>部分に連結するように修飾され、

30

好ましくは、前記抗体は、抗ヒトHER2抗体である、請求項9から11のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

【請求項13】

前記ペイロードは細胞毒素又はそのフラグメントであり、請求項1に記載の式(I)の化合物中のB部分又はL<sup>1</sup>部分に連結するための任意の誘導体化を有し、

好ましくは、細胞毒素は、タキサン類、メイタンシノイド類、アウリスタチン類、エポチロン類(epothilones)、コンブレタスタチンA-4ホスフェート(combretastatin A-4 phosphate)、コンブレタスタチンA-4(combretastatin A-4)及びその誘導体、インドール-スルホンアミド類、ビンブラスチン(vinblastine)等のビンブラスチン類、ビノクリスチン(vincristine)、ビンデシン(vindesine)、ビノレルビン(vinorelbine)、ビンフルニン(vinflunine)、ピングリシネート(vinglycinate)、無水ビンブラスチン(anhy-drovinblastine)、ドラスタチン10(dolastatin 10)及びその類似体、ハリコンドリノB、エリブリン(eribulin)、インドール-3-オキサミド類、ポドフィロトキシノ類、7-ジエチルアミノ-3-(2-ベンゾオキサゾリル)-クマリン(DBC)、ディスコデルモリド(discodermolide)、ラウリマライド(laualimalide)、カンプトテシン類及びその誘導体、ミトキサントロン、ミトグアゾン、窒素マスタード類、ニトロソウレア類、アジリジン類、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレデバ、ウレデバ、ダイネマイシン(dynemicin)、エスペラマイシン(e

40

50

speramicin)、ネオカルチノスタチン、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、プレオマイシン類、アクチノマイシンC、カルピシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、カルミノマイシン、アクチノマイシンD、ダウノルピシン、デトルピシン、アドリアマイシン、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン素、ペプロマイシン、ピューロマイシン、鉄アドリアマイシン、ロドルピシン、ルフォクロモマイシン、ストレプトゾシン、ジノスタチン、ゾルピシン、トリコテセン類、T-2毒素、(ベルカリン) verracurin A、バシロクボリンA、アングジン(anguidine)、ウベニメックス、アザセリン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ジメチル葉酸、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート、エダトレキサート、フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン、アンシタピン、ゲムシタピン、エノシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、フロクスウリジン、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、酢酸リュープロレリン、プロテインキナーゼ阻害剤、及びプロテアソーム阻害剤からなる群から選択され、及び/又は

10

ビンブラスチン類、コルヒチン類、タキサン類、アウリスタチン類、メイタンシノイド類、カリケアミシン、ドキシソルピシン、デュオカルマイシン、SN-38、クリプトフィシン類似体、デルクステカン、デュオカルマジ、カリケアミシン、センタナマイシン、ドラスタンシン、ピロロベンゾジアゼピン、エキサテカン及びそれらの誘導体から選択され、及び/又は

20

アウリスタチン、特にMMAE、MMAF又はMMA Dから選択され、及び/又はDX8951f等のエキサテカン及びその誘導体から選択され、及び/又は

DXd-(1)及びDXd-(2)から選択され、好ましくはDXd-(1)である、請求項9から12のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

【請求項14】

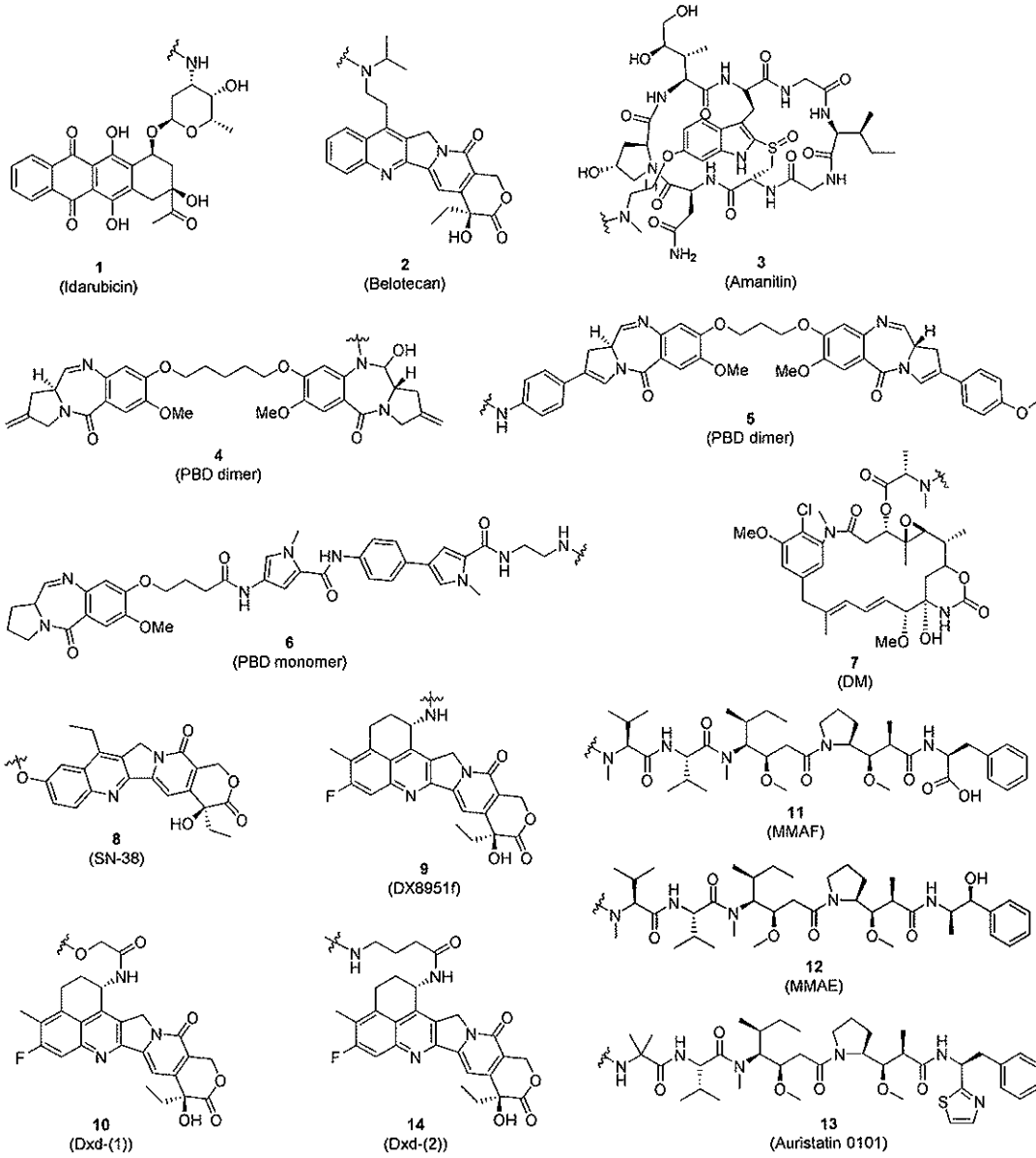
前記ペイロードは、

30

40

50

【化 1 4】



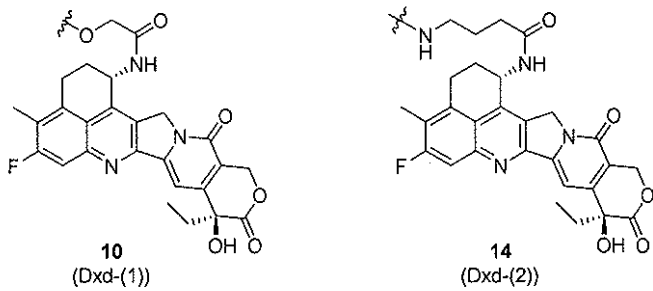
10

20

30

から選択され、  
特に

【化 1 5】



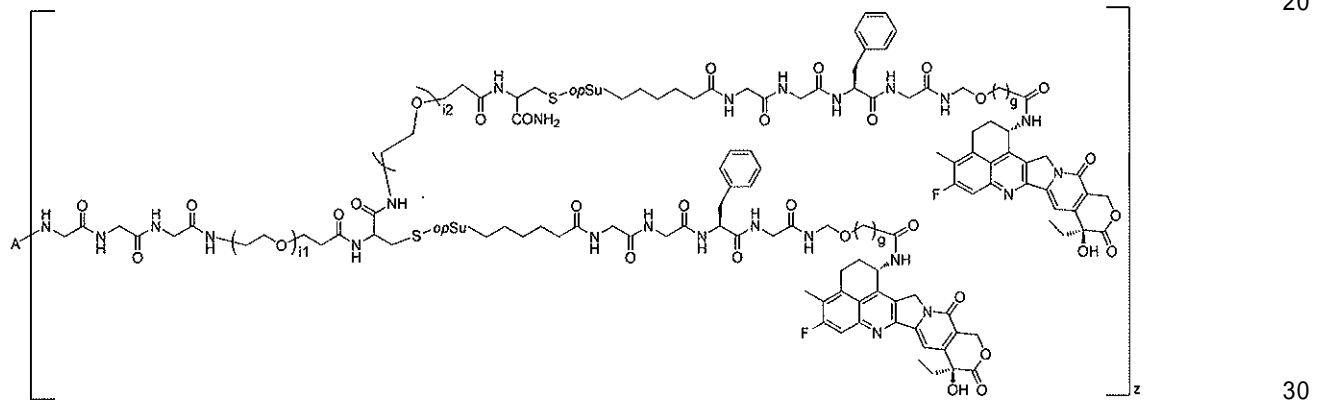
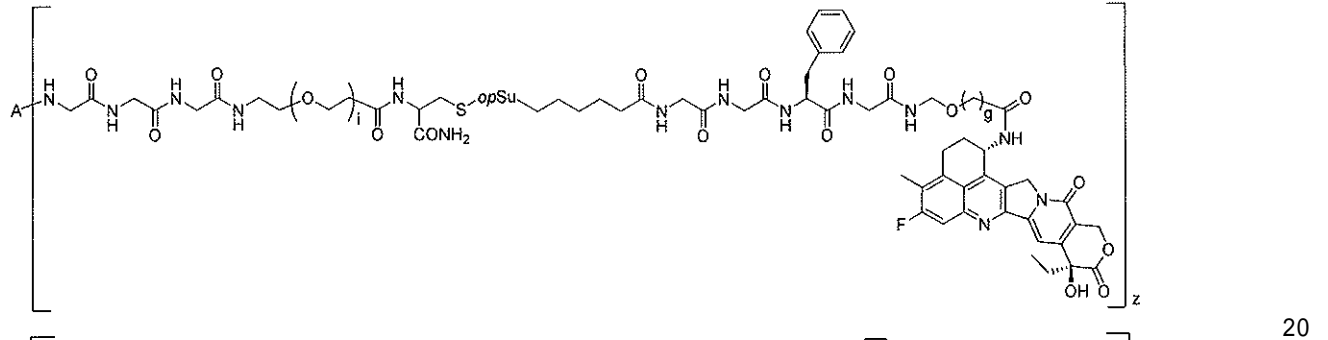
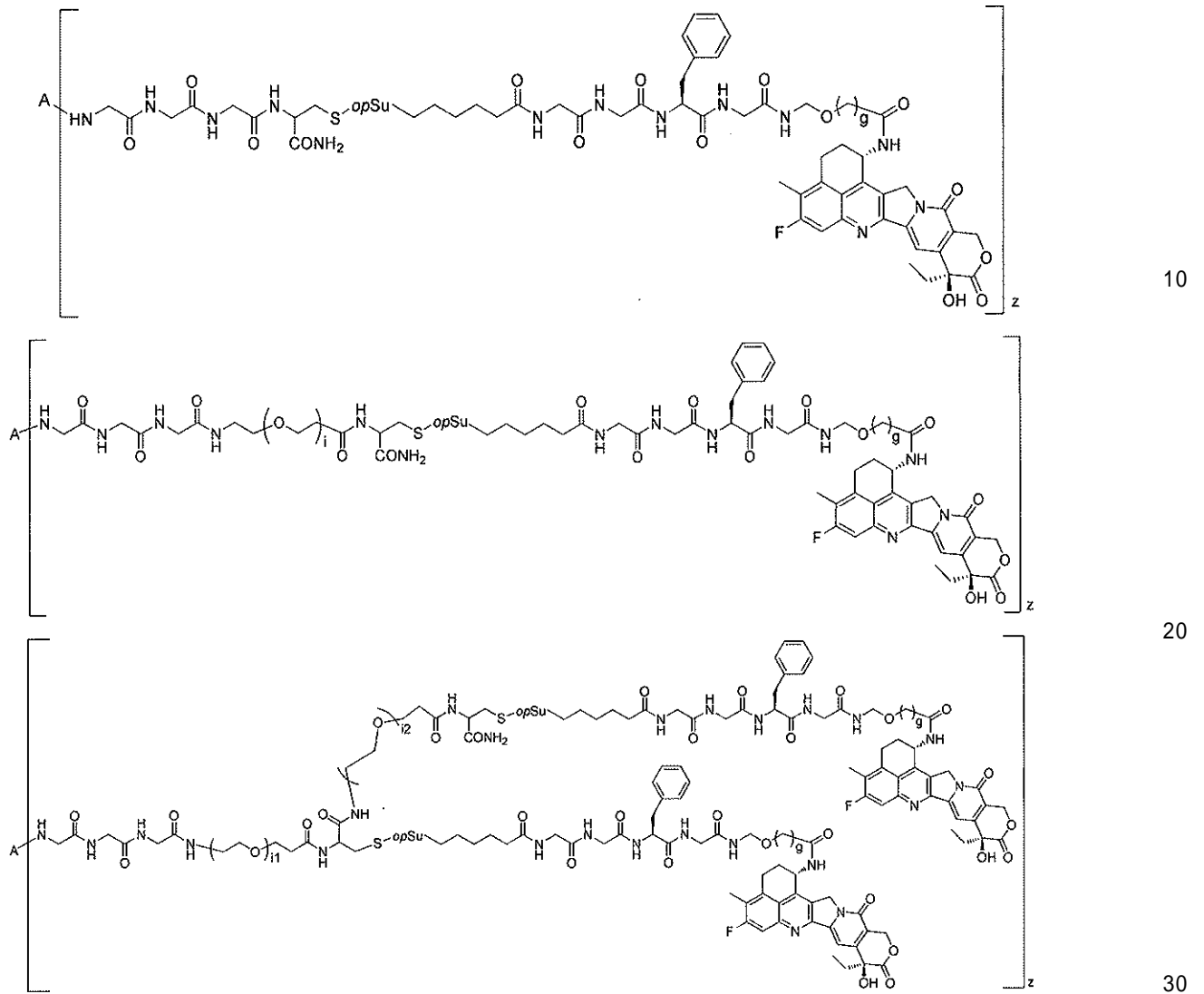
40

から選択される、請求項 9 から 13 のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 5】

50

【化 1 6 - 1】

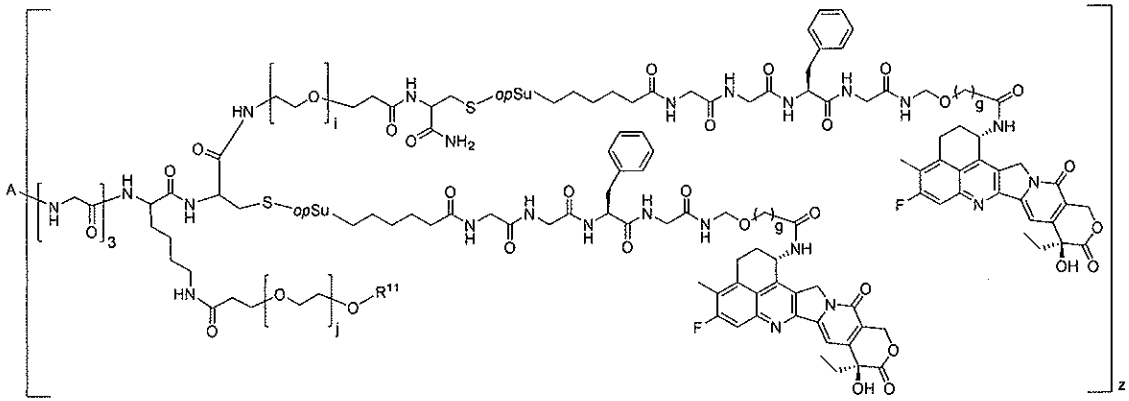


40

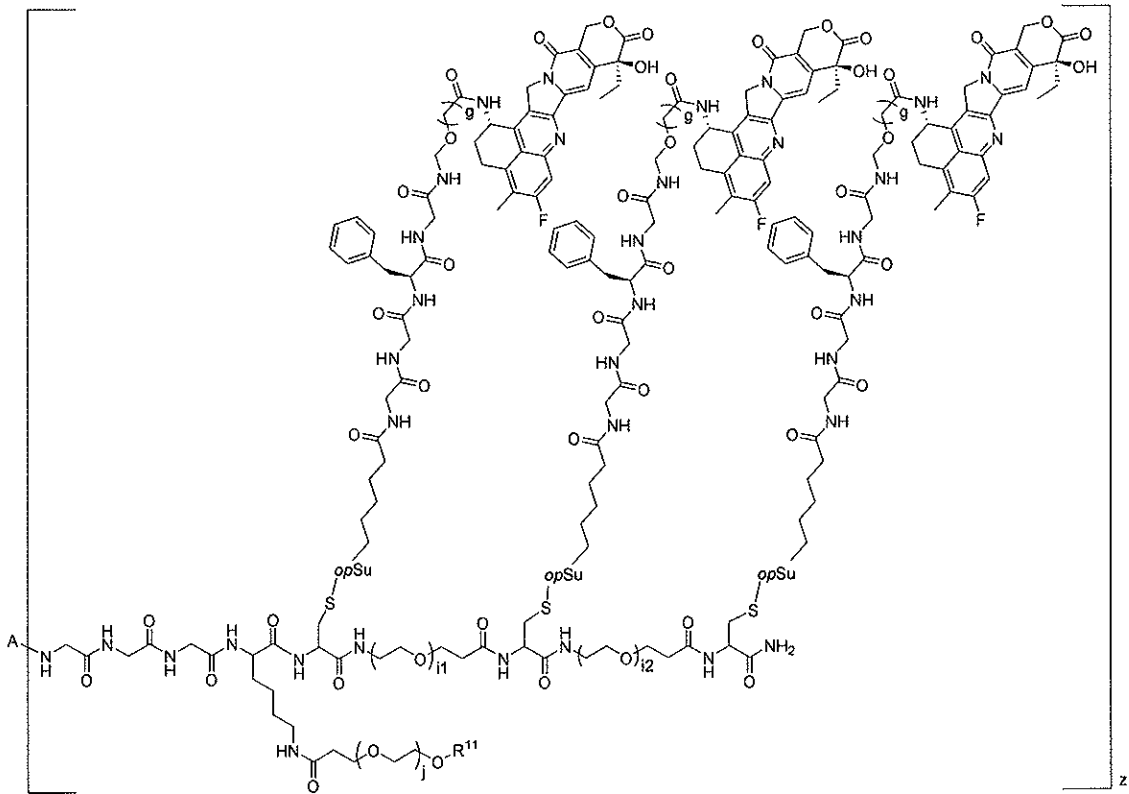
50



【化 1 6 - 3】



10



20

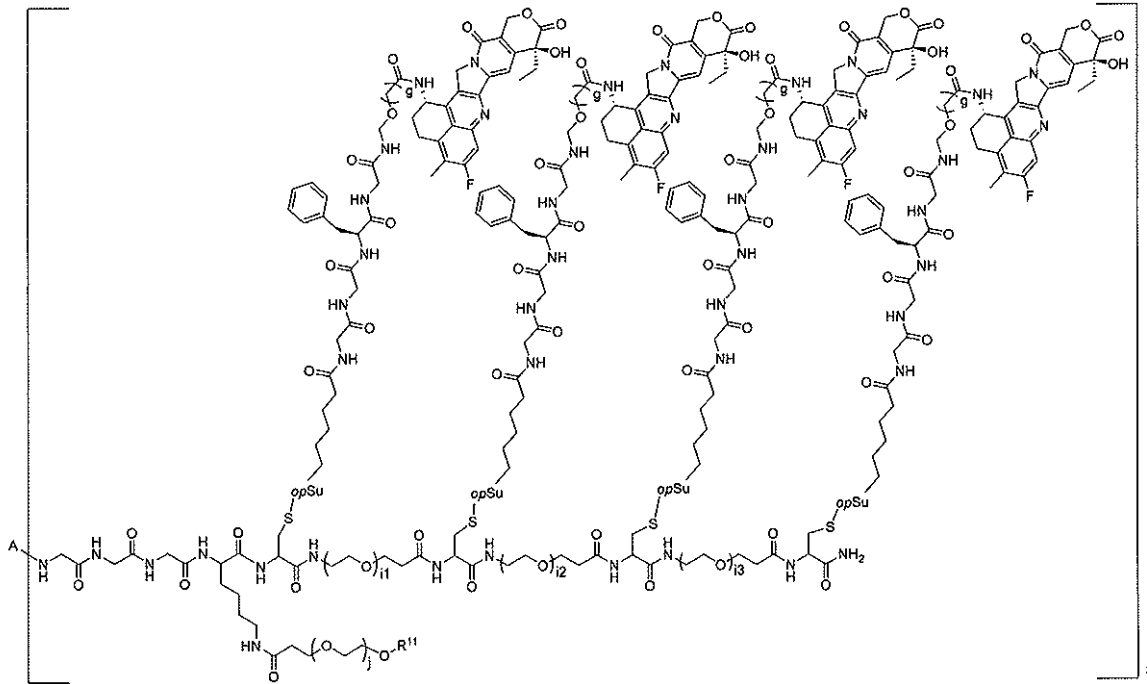
30

40

50



## 【化 1 6 - 4】



10

20

であり、

各  $g$  は独立して 1 ~ 6 の整数であり、好ましくは 1 ~ 3 であり、より好ましくは 1 である、請求項 9 から 14 のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 16】

予防的又は治療的に有効な量の請求項 9 から 15 のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート、及び少なくとも 1 つの薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

## 【請求項 17】

疾患を治療するための薬物の製造における、請求項 9 から 15 のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート又は請求項 16 に記載の医薬組成物の用途であって、前記疾患は、腫瘍又は自己免疫疾患であり、好ましくは HER2 陽性腫瘍であり、

30

好ましくは、前記 HER2 陽性腫瘍は、乳癌、胃癌、肺癌、卵巣癌及び尿路上皮癌から選択される、前記用途。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明はバイオ製薬の分野に関し、特に標的化分子 - 薬物コンジュゲートを調製するためのリンカー、対応するコンジュゲート、その製造方法及び用途に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

HER2 は、乳癌及び胃癌を含むいくつかの癌種で過剰発現していることが判明され、癌治療の有望なターゲットサイトであることが証明された。HER2 チロシンキナーゼ阻害剤（ラパチニブ（Lapatinib）、ツカチニブ（Tucatinib））、治療用 HER2 抗体（ハーセプチン（Herceptin）、パージェタ（Perjeta））、及び HER2 標的 ADC（カドサイラ（Kadcyla）、エンハーツ（Enhertu））を含む複数の HER2 標的治療法が承認されている。これらの治療薬物は、HER2 陽性の乳癌及び胃癌患者の生存率を大幅に向上させた。特に、Enhertu は、HER2 高発現の患者で優れた有効性を示しただけでなく、HER2 中・低発現の患者でも有効性の兆候を示しており、より多くの HER2 発現の癌患者が受益する見込みがある。Enhertu は有効性が優れているが、10% 以上の間質性肺疾患を引き起こしている

40

50

ため、一部の患者での使用が制限されている。

【0003】

Enher tu、他の市販のADC及び臨床試験中のほとんどのADCはいずれも、チオスクシンイミド構造(チオスクシンイミド連結)を使用して小分子薬物を標的抗体又はタンパク質にコンジュゲートさせる化学的カップリングによって調製される。チオスクシンイミド構造は、チオール基とマレイミドの反応によって形成される。しかしながら、チオスクシンイミド連結は安定ではない。生体では、逆マイケル付加又はチオール基と他のチオール基との交換はADCからの細胞毒素の脱落を引き起こし、オフターゲット毒性をもたらすため、安全性が低下し、臨床応用が制限される。

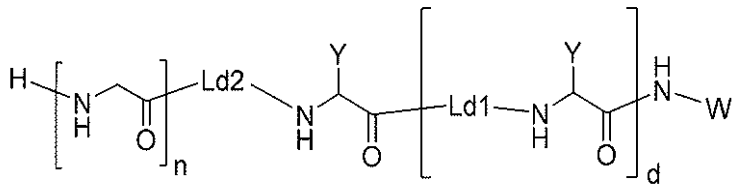
10

【発明の概要】

【0004】

第1態様では、本発明は、式(I)の化合物を提供し、

【化1】



式(I)

20

式中、

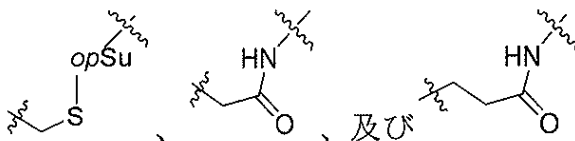
Wは水素又はL K bであり、

Yは水素又はL K a - L K bであり、

ただし、WとYが同時に水素でないことを条件とし、

各L K aは、独立して、

【化2】

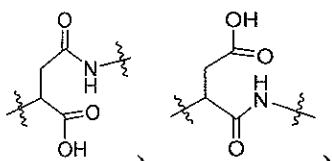


30

から選択され、

opSuは、

【化3】



40

又はそれらの混合物であり、

各L K bは、独立してL<sup>2</sup> L<sup>1</sup> Bから選択され、

各Bは、独立して、末端基R<sup>10</sup>であるか、又は、1)自己犠牲スペーサーSp1と、2)結合、又は-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-、C<sub>1</sub>-10アルキレン基、C<sub>4</sub>-10シクロアルキレン基、C<sub>4</sub>-10ヘテロシクリレン基及び-(CO)-から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせと、3)末端基R<sup>10</sup>との組み合わせであり、

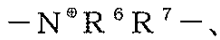
R<sup>10</sup>は、水素であるか又はペイロード中の基と反応する時に脱離できる基であり、

50

L<sup>1</sup>は、酵素により切断(cleave)可能なアミノ酸配列を含む切断可能配列1 (Cleavable sequence 1)であり、切断可能配列1は1~10個のアミノ酸を含み、

L<sup>2</sup>は、結合であるか又はC<sub>2</sub>-20アルキレン基であり、ここでアルキレン基中の1つ又は複数の-CH<sub>2</sub>-構造は、-CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>-、-O-、-(CO)-、-S(=O)<sub>2</sub>-、-NR<sup>5</sup>-、

【化3-1】



10

C<sub>4</sub>-10シクロアルキレン基、C<sub>4</sub>-10ヘテロシクリレン基、フェニレン基によって任意に置換され、ここでシクロアルキレン基、ヘテロシクリレン基、及びフェニレン基は、それぞれ独立して、非置換であるか、又はハロゲン、-C<sub>1</sub>-10アルキル基、-C<sub>1</sub>-10ハロアルキル基、-C<sub>1</sub>-10アルキレン-NH-R<sup>8</sup>、及び-C<sub>1</sub>-10アルキレン-O-R<sup>9</sup>から選択される少なくとも1つの置換基で置換され、

Ld2と各Ld1は、独立して、結合であるか、又は-NH-C<sub>1</sub>-20アルキレン-(CO)-、-NH-(PEG)<sub>i</sub>-(CO)-から選択されるか、又は側鎖上でそれぞれ独立して非置換の又は-(PEG)<sub>j</sub>-R<sup>11</sup>によって置換された天然アミノ酸もしくは重合度2~10のオリゴマー天然アミノ酸であり、

-(PEG)<sub>i</sub>-と-(PEG)<sub>j</sub>-は、いずれもPEGフラグメントであり、指定された数の連続した-(O-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)-構造単位又は連続した-(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-O)-構造単位を含み、任意に、1つの末端にC<sub>1</sub>-10アルキレン基が付加され、

20

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>は、それぞれ独立して、水素、ハロゲン、-C<sub>1</sub>-10アルキル基、-C<sub>1</sub>-10ハロアルキル基、C<sub>4</sub>-10シクロアルキレン基から選択され、

R<sup>11</sup>はC<sub>1</sub>-10アルキル基であり、

nは2~20の任意の整数であり、

dは0又は1~6の任意の整数であり、

各iは独立して1~100の整数であり、好ましくは1~20であり、好ましくは、各iは独立して1~12の整数であり、より好ましくは2~8であり、特に4であり、

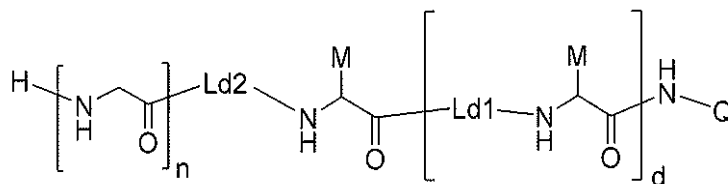
30

各jは独立して1~100の整数であり、好ましくは1~20であり、好ましくは、各jは独立して1~12の整数であり、より好ましくは8~12であり、特に8又は12である。

【0005】

第2態様では、本発明は、式(II)の構造を有する化合物を提供し、

【化4】



式(II)

40

式中、

Qは水素又はLKb Pであり、

Mは水素又はLKa-LKb Pであり、

ただし、QとMが同時に水素でないことを条件とし、

Pは、式(I)の化合物のB部分又はL<sup>1</sup>部分に連結されるペイロードであり、

n、d、Ld1、Ld2、LKa及びLKbは式(I)に定義した通りであり、

50

好ましくは、Mは水素又はL K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B Pであり、ここで各Bは、独立して、存在しないか、又は、1)自己犠牲スペーサーS p 1と、2)結合、又は-C R<sup>1</sup> R<sup>2</sup> -、C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン基及び-(C O)-から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせとの組み合わせであり、

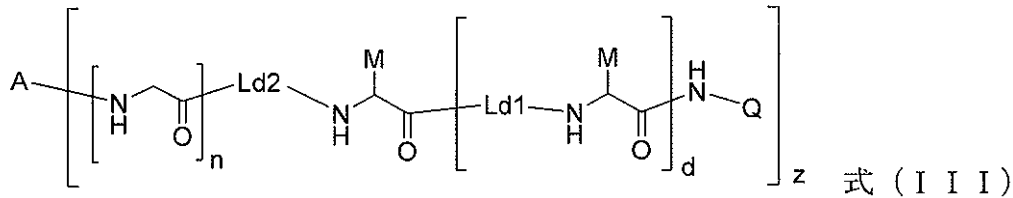
好ましくは、S p 1は、P A B C、アセタール、ヘテロアセタール及びそれらの組み合わせから選択され、より好ましくは、S p 1は、アセタール、ヘテロアセタール又はP A B Cであり、さらに好ましくは、ヘテロアセタールは、N, O-ヘテロアセタールから選択され、より好ましくは、S p 1は、-O-CH<sub>2</sub>-U-又は-NH-CH<sub>2</sub>-U-であり、ここで-O-又は-NH-は切断可能配列1に接続され、Uは、O、S又はNHであり、好ましくはO又はSである。

10

## 【0006】

第3態様では、本発明は、式(I I I)の構造を有するコンジュゲートを提供し、

## 【化5】



20

式中、

n、d、L d 1、L d 2、L K a及びL K bは式(I)に定義した通りであり、

Qは水素又はL K b Pであり、

Mは水素又はL K a - L K b Pであり、

好ましくは、Mは水素又はL K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B Pであり、ここで

各Bは、独立して、存在しないか、又は、1)自己犠牲スペーサーS p 1と、2)結合、又は-C R<sup>1</sup> R<sup>2</sup> -、C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン基及び-(C O)-から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせとの組み合わせであり、好ましくは、Bは、-NH-CH<sub>2</sub>-U-であるか又は存在しないか又は-NH-CH<sub>2</sub>-U-(CH<sub>2</sub>)<sub>g</sub>-(C O)-であり、

30

ただし、QとMが同時に水素でないことを条件とし、

Pは、式(I)の化合物のB部分又はL<sup>1</sup>部分に連結されるペイロードであり、

Aは、式(I)の化合物のG<sub>n</sub>部分に連結される標的化分子であり、Gはグリシンであり、

zは1~20の整数である。

## 【0007】

第4態様では、本発明は、疾患を治療するための薬物の製造における、本発明のコンジュゲート又はその医薬組成物の用途を提供し、前記疾患は腫瘍又は自己免疫疾患である。

## 【図面の簡単な説明】

40

## 【0008】

【図1】S K - B R - 3 H E R 2 - 高発現細胞系におけるコンジュゲート及び対応するペイロードの有効性を示す。

【図2】N C I - N 8 7 H E R 2 - 高発現細胞系におけるコンジュゲート及び対応するペイロードの有効性を示す。

【図3】C F P A C - 1 H E R 2 - 低発現細胞系におけるコンジュゲートの有効性を示す。

【図4】N C I - H 2 1 1 0 H E R 2 - 低発現細胞系におけるコンジュゲートの有効性を示す。

【図5】M D A - M B - 4 6 8 H E R 2 陰性細胞系におけるコンジュゲートの有効性を

50

示す。

【図6】5 mg / kg の LC 1 1 8 4 ( 8 )、LC 1 1 8 4 ( 4 )、LC 3 0 1 - 2 - 1 ( 2 )、LC 3 0 2 - 2 - 1 ( 4 )、LC 3 0 2 - 2 - 4 ( 4 ) を投与された、J I M T 1 C D X モデルを有する S C I D B e i g e マウスにおける経時的な平均腫瘍体積変化を示す。

【図7】5 mg / kg の LC 1 1 8 4 ( 8 )、LC 1 1 8 4 ( 4 )、LC 3 0 1 - 2 - 1 ( 2 )、LC 3 0 2 - 2 - 1 ( 4 )、LC 3 0 2 - 2 - 4 ( 4 ) を投与された、C a p a n - 1 C D X モデルを有する B A L B / c ノードマウスにおける経時的な平均腫瘍体積変化を示す。

【図8】プールされたヒト血清中で0、24、48及び96時間インキュベートした後のコンジュゲートのエクスピボ血清安定性を示す。 10

【発明を実施するための形態】

【0009】

以下において、具体的な実施形態を示して本発明の技術内容を説明する。当業者であれば、本明細書に開示された内容により本発明の他の利点及び効果を容易に理解することができる。本発明は、他の異なる具体的な実施形態によって実施又は適用することもできる。当業者であれば、本発明の精神から逸脱することなく、様々な修正及び変形を行うことができる。

【0010】

定義

以下に別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書で使用される技術とは、当分野で一般的に理解されている技術を指し、当業者に明らかな変形及び同等の置換を含む。以下の用語は、当業者には容易に理解されると考えられるが、本発明をよりよく説明するために以下の定義を説明する。本明細書に商品名が記載されている場合、それに対応する商品又はその有効成分を指すことを意図する。本明細書に引用した全ての特許、公開特許出願及び出版物は全て参照によって本明細書に組み込まれる。 20

【0011】

特定の量、濃度、又はその他の値もしくはパラメーターが範囲、好ましい範囲、又は好ましい上限値、又は好ましい下限値として示されていることは、任意の上限値又は好ましい値と任意の下限値又は好ましい値とを組み合わせた全ての範囲が、明記されているかどうかに関わらず、具体的に開示されていることと同等であると理解すべきである。別段の説明がない限り、本明細書で列挙される数値の範囲は、範囲の端点及び範囲内の全ての整数及び分数（小数）を含むことを意図する。例えば、「i は 1 ~ 20 の整数である」という表現は、i が 1 ~ 20 の任意の整数であることを意味し、例えば、i は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20であり得る。j、k及びg等の他の類似表現も同様に理解すべきである。 30

【0012】

文脈上別段の指示がない限り、「1種（1つ）の」及び「このような（この）」等の単数形は、複数形を含む。表現「1種（1つ）又は複数種（複数）の」又は「少なくとも1種（1つ）」は、1、2、3、4、5、6、7、8、9又はそれ以上を表すことができる。 40

【0013】

用語「約」及び「およそ」は、数値変数と組み合わせて使用する場合、一般に、変数の値及び変数の全ての値が、実験誤差の範囲内（例えば、平均値の95%信頼区間内）又は指定値の±10%又はより広い範囲内であることを意味する。

【0014】

用語「化学量論比」とは、様々な物質を一定の重量で配合した比率を指す。例えば、本発明において、活性成分は、指定された重量比で充填剤、接着剤及び潤滑剤と混合される。

## 【 0 0 1 5 】

用語「任意の」又は「任意に」とは、その後説明される事象が発生する可能性があるが、必ずしも発生するわけではないことを意味し、該表現は、前記事象又は状況が発生する場合又は発生しない場合を含む。

## 【 0 0 1 6 】

表現「含む」、「備える」、「含有」及び「有する」はオープンエンドなものであり、追加の列挙されていない要素、ステップ又は成分を排除しない。表現「... からなる」は、指定されていない要素、ステップ又は成分をいずれも除外する。表現「実質的に... からなる」は、範囲を、指定の要素、ステップ又は成分、及び保護を請求する主題の基本特徴及び新しい特徴に実質的な影響を及ぼさない任意に存在する要素、ステップ又は成分に限定することを意味する。表現「含む」は表現「実質的に... からなる」和「... からなる」を包含すると理解すべきである。

10

## 【 0 0 1 7 】

用語「標的化分子」とは、特定のターゲット（例えば、受容体、細胞表面タンパク質、サイトカイン、腫瘍特異的抗原等）に対して親和性を有する分子を指す。標的化分子は、標的送達によってペイロードをインビボの特定の部位に送達することができる。標的化分子は1つ又は複数のターゲットを認識することができる。具体的なターゲットサイトは、認識されるターゲットによって定義される。例えば、受容体を標的とする標的化分子は、多数の受容体を含む部位に細胞毒素を送達することができる。標的化分子の例としては、抗体、抗体フラグメント、所定抗原の結合タンパク質、抗体模倣物、所定ターゲットに対して親和性を有する足場タンパク質、リガンド等を含むが、これらに限定されない。

20

## 【 0 0 1 8 】

本明細書で使用されるように、用語「抗体」は広範な意味で使用され、特に、それらが所望の生物学的活性を有する限り、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、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体フラグメントを含む。抗体は、任意のサブタイプ（例えば、I g G、I g E、I g M、I g D及びI g A）又はサブクラスであってもよく、任意の適切な種に由来してもよい。いくつかの実施形態において、抗体はヒト又はマウス由来のものである。抗体はまた、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、又は組換え法によって調製されたキメラ抗体であってもよい。

30

## 【 0 0 1 9 】

本明細書で使用されるモノクローナル抗体とは、実質的に均質な抗体集団から得られた抗体を指し、つまり、少数の可能な自然変異を除けば、集団を構成する個々の抗体は同一である。モノクローナル抗体は、単一の抗原部位に対して高度な特異性を有する。用語「モノクローナル」とは、抗体の特徴が実質的に均質な抗体集団に由来することを意味し、抗体を産生するために何らかの特定の方法を必要とするものとして解釈されるべきではない。

## 【 0 0 2 0 】

インタクトな抗体又は完全長抗体は、抗原結合可変領域、軽鎖定常領域（C L）、及び重鎖定常領域（C H）を実質的に含み、抗体のサブタイプに応じてC H 1、C H 2、C H 3及びC H 4を含み得る。抗原結合可変領域（フラグメント可変領域、F vフラグメントとも呼ばれる）は、通常、軽鎖可変領域（V L）及び重鎖可変領域（V H）を含む。定常領域は、天然配列を有する定常領域（例えば、ヒト天然配列を有する定常領域）又はそのアミノ酸配列変異体であり得る。可変領域はターゲット抗原を認識してそれと相互作用する。定常領域は免疫系によって認識され、免疫系と相互作用することができる。

40

## 【 0 0 2 1 】

抗体フラグメントは、インタクトな抗体の一部、好ましくはその抗原結合領域又は可変領域を含み得る。抗体フラグメントの例としては、F a b、F a b、F ( a b ) 2、V HとC H 1ドメインからなるF dフラグメント、F vフラグメント、単一ドメイン抗体（d A b）フラグメント、及び分離された相補性決定領域（C D R）を含む。F a bフラグメントは、全長免疫グロブリンをパepsin消化して得られた抗体フラグメントであり、

50

又は、例えば組換え発現により生成された同じ構造を有するフラグメントである。F a b フラグメントは、軽鎖（V L 及び C L を含む）と別の鎖を含み、ここで前記別の鎖は、重鎖の可変領域（V H）及び重鎖の1つの定常領域（C H 1）を含む。F（a b）2フラグメントは、免疫グロブリンをp H 4 . 0 ~ 4 . 5 でペプシン消化して得られた抗体フラグメントであり、又は、例えば組換え発現により生成された同じ構造を有するフラグメントである。F（a b）2フラグメントは実質的に2つのF a b フラグメントを含み、ここで各重鎖部分は、2つのフラグメントを連結するジスルフィド結合を形成するシステインを含めて、いくつかの追加のアミノ酸を含む。F a b フラグメントは、F（a b）2フラグメントの半分（1つの重鎖と1つの軽鎖）を含むフラグメントである。前記抗体フラグメントは、例えば、ジスルフィド結合及び/又はペプチドリンカーを介して連結された複数の鎖を含み得る。抗体フラグメントの例は、単鎖F v（s c F v）、F v、d s F v、ダイアボディ、F d 及びF d フラグメント、並びに修飾フラグメントを含む他のフラグメントをも含む。抗体フラグメントは、通常少なくとも又は約50個のアミノ酸、通常少なくとも又は約200個のアミノ酸を含む。抗原結合フラグメントは、（例えば、対応する領域の置換によって）抗体フレームワークに挿入されると抗原に免疫特異的に結合する抗体が得られる任意の抗体フラグメントを含み得る。

10

#### 【0022】

本発明の抗体は、当技術分野で周知の技術、例えば、組換え技術、ファージディスプレイ技術、合成技術又は当分野で既知の他の技術又はそれらの組み合わせを使用して調製することができる。例えば、遺伝子操作された組換え抗体（又は抗体模倣物）は、適切な培養系（例えば、大腸菌（E . C o l i）又は哺乳動物細胞）によって発現され得る。前記操作は、例えば、リガーゼ特異的認識配列を末端に導入することを指すことができる。

20

#### 【0023】

H E R 2 とは、上皮成長因子（E G F R）受容体チロシンキナーゼファミリーに属するヒト上皮成長因子受容体 - 2 を指す。本出願において、用語E r b B 2 とH E R 2 は同じ意味を有し、交換的に使用できる。

#### 【0024】

本明細書で使用されるように、用語「標的化分子 - 薬物コンジュゲート」は「コンジュゲート」と呼ばれる。コンジュゲートの例としては、抗体 - 薬物コンジュゲートを含むが、これに限定されない。

30

#### 【0025】

小分子化合物とは、薬物に一般的に使用される有機分子に相当するサイズの分子を指す。該用語は、生体高分子（例えば、タンパク質、核酸等）を包含しないが、例えばジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、ペンタペプチド等の低分子量ペプチド又はその誘導体を含む。通常、小分子化合物の分子量は、例えば、約100 ~ 約2000 D a、約200 ~ 約1000 D a、約200 ~ 約900 D a、約200 ~ 約800 D a、約200 ~ 約700 D a、約200 ~ 約600 D a、約200 ~ 約500 D aであり得る。

#### 【0026】

細胞毒素とは、細胞の発現活性、細胞機能を阻害又は阻止し、及び/又は細胞破壊を引き起こす物質を指す。現在A D C に一般的に使用されている細胞毒素は、化学療法薬よりも毒性が強い。細胞毒素の例としては、微小管細胞骨格、D N A、R N A、キネシン媒介のタンパク質輸送、アポトーシス調節のようなターゲットサイトを標的とする薬物を含むが、これらに限定されない。微小管細胞骨格を標的とする薬物は、例えば、微小管安定化剤又は微小管タンパク質重合阻害剤であり得る。微小管安定化剤の例としては、タキサン類を含むが、これに限定されない。微小管タンパク質重合阻害剤の例としては、メイタンシノイド類（m a y t a n s i n o i d）、アウリスタチン類（a u r i s t a t i n）、ピンプラスチン類、コルヒチン類、ドラスタチン類を含むが、これらに限定されない。D N A 標的薬物は、例えば、D N A 構造を直接破壊する薬物又はトポイソメラーゼ阻害剤であり得る。D N A 構造を直接破壊する薬物の例としては、D N A 二本鎖切断剤（D N A d o u b l e s t r a n d b r e a k e r）、D N A アルキル化剤、D N A インター

40

50

カレータ (DNA intercalator) を含むが、これらに限定されない。DNA二本鎖切断剤は、例えば、エンジン系抗生物質であり得、ダイネマイシン、エスペラマイシン、ネオカルチノスタチン、uncialamyacin等を含むが、これらに限定されない。DNAアルキル化剤は、例えば、DNAビスアルキル化剤 (bis-alkylator、即ちDNA架橋剤 (DNA-cross linker)) 又はDNAモノアルキル化剤 (mono-alkylator) であり得る。DNAアルキル化剤の例としては、ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン (PBD) 二量体、1-(クロロメチル)-2,3-ジヒドロゲン-1H-ベンゾ[e]インドール (CBI) 二量体、CBI-PBDヘテロ二量体、ジヒドロインドロベンゾジアゼピン (IGN) 二量体、duocarmycin様化合物 (duocarmycin-like compound) 等を含むが、これらに限定されない。トポイソメラーゼ阻害剤の例としては、エキサテカン (exatecan) 及びその誘導体 (例えば、DX8951f、DXd-(1) 及びDXd-(2) であり、その構造は以下に示される)、カンプトテシン類及びアントラサイクリン類を含むが、これらに限定されない。RNAを標的とする薬物は、例えば、スプライシングを阻害する薬物であり得、その例としては、プラジエノリド (pladienolide) を含むが、これに限定されない。キネシン媒介のタンパク質輸送を標的とする薬物は、例えば、有糸分裂キネシン阻害剤であり得、キネシン紡錘体タンパク質 (KSP) 阻害剤を含むが、これに限定されない。

10

## 【0027】

「スペーサー (spacer)」とは、異なる構造モジュールの間に位置し、構造モジュールを空間的に分離できる構造を指す。スペーサーの定義は、特定の機能を有するかどうか、又は生体内で切断又は分解され得るかどうかによって限定されない。スペーサーの例としては、アミノ酸及び非アミノ酸構造を含むが、これらに限定されない。そのうち、非アミノ酸構造は、アミノ酸誘導体又は類似体であり得るが、これらに限定されない。「スペーサー配列 (Spacer sequence)」とは、スペーサーとなるアミノ酸配列を指し、その例としては、単一のアミノ酸、複数のアミノ酸を含む配列、例えばGA等の2つのアミノ酸を含む配列、又は例えば、GGGGS、GGGSGGGGS、GGGSGGGGS等を含むが、これらに限定されない。自己犠牲スペーサーは、前駆インビボの保護部分の活性化後の2つの化学結合を相次いで切断させる共有結合成分であり、保護部分 (例えば、切断可能な配列) は活性化後に除去され、分解反応のカスケードが引き起こされ、結果として、より小さな分子が順番に放出される。自己犠牲スペーサーの例としては、PABC (p-ベンジルオキシカルボニル)、アセタール、ヘテロアセタール及びそれらの組み合わせを含むが、これらに限定されない。

20

30

## 【0028】

用語「アルキル基」とは、炭素原子と水素原子からなる直鎖又は分枝飽和脂肪族炭化水素基を意味し、該飽和脂肪族炭化水素基は単結合によって分子の残りの部分に連結されている。アルキル基は、1~20個の炭素原子を有し得、即ち「C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>アルキル基」であり得、例えば、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル基、C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>アルキル基、C<sub>4</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>アルキル基である。アルキル基の非限定的な例としては、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基、イソプロピル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、イソペンチル基、2-メチルブチル基、1-メチルブチル基、1-エチルプロピル基、1,2-ジメチルプロピル基、ネオペンチル基、1,1-ジメチルプロピル基、4-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基、2-メチルペンチル基、1-メチルペンチル基、2-エチルブチル基、1-エチルブチル基、3,3-ジメチルブチル基、2,2-ジメチルブチル基、1,1-ジメチルブチル基、2,3-ジメチルブチル基、1,3-ジメチルブチル基、又は1,2-ジメチルブチル基、又はそれらの異性体を含むが、これらに限定されない。二価ラジカルとは、対応する一価ラジカルの自由価電子を持つ炭素原子から水素原子を1つ除去することによって得られた基を意味する。二価ラジカルは、分子の残りの部分に連結されている2つの連結部位を有する。例えば、「アルキレン基」又は「アルキリデン基

40

50



」とは、直鎖又は分枝鎖の飽和二価炭化水素基を指す。「アルキレン基」の例としては、例えば、メチレン基(-CH<sub>2</sub>-)、エチレン基(-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-)、プロピレン基(-C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>-)、ブチレン基(-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-)、ペンチレン基(-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>-)、ヘキシレン基(-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-)、1-メチルエチレン基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-)、2-メチルエチレン基(-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-)、メチルプロピレン基、又はエチルプロピレン基等を含むが、これらに限定されない。

【0029】

本明細書で使用されるように、1つの基が他の基と組み合わせられる場合、化学的に安定な構造が形成されるのであれば、基の連結は直鎖状でも分枝状でもよい。このような組み合わせによって形成される構造は、該構造内の任意の適切な原子によって、好ましくは指定の化学結合によって分子の他の部分に連結することができる。例えば、-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-、C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン基、C<sub>4</sub>-<sub>10</sub>シクロアルキレン基、C<sub>4</sub>-<sub>10</sub>ヘテロシクリレン基、及び-(CO)-から選択される2つ以上の二価基が結合して組み合わせを形成すると、2つ以上の二価基は、例えば、-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン-(CO)-、-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-C<sub>4</sub>-<sub>10</sub>シクロアルキレン-(CO)-、-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-C<sub>4</sub>-<sub>10</sub>シクロアルキレン-C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン-(CO)-、-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>'-(CO)-、-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-CR<sup>1</sup>'R<sup>2</sup>'-CR<sup>1</sup>'R<sup>2</sup>'-(CO)-等のように、互いに直鎖状の連結を形成することができる。得られた二価構造は、分子の他の部分にさらに連結することができる。

【0030】

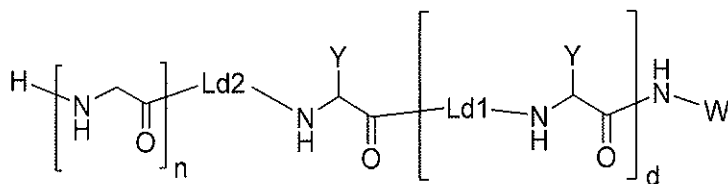
本明細書で使用されるように、表現「抗体-カップリング薬物」と「抗体-薬物コンジュゲート」は同じ意味を有する。

【0031】

式(I)の化合物

第1態様では、本発明は、式(I)の化合物を提供し、

【化6】



式(I)

式中、

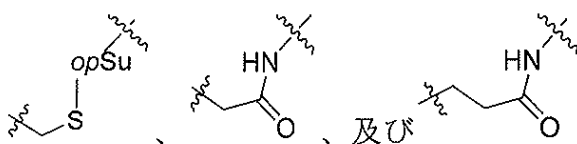
Wは水素又はLKbであり、

Yは水素又はLKa-LKbであり、

ただし、WとYが同時に水素でないことを条件とし、

各LKaは、独立して、

【化7】



から選択され、

opSuは、

10

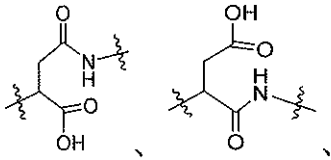
20

30

40

50

## 【化 8】



又はそれらの混合物であり、

各  $L K b$  は、独立して  $L^2$ 、 $L^1$ 、 $B$  から選択され、

各  $B$  は、独立して、末端基  $R^{10}$  であるか、又は、1) 自己犠牲スパーサー  $S p 1$  と、2) 結合、又は  $-C R^1 R^2-$ 、 $C_{1-10}$  アルキレン基、 $C_{4-10}$  シクロアルキレン基、 $C_{4-10}$  ヘテロシクリレン基及び  $-(CO)-$  から選択される 1 つの二価基、又は 2 つ以上の前記二価基の組み合わせと、3) 末端基  $R^{10}$  との組み合わせであり、

$R^{10}$  は、水素であるか又はペイロード中の基と反応する時に脱離できる基であり、

$L^1$  は、酵素により切断可能なアミノ酸配列を含む切断可能配列 1 であり、切断可能配列 1 は 1 ~ 10 個のアミノ酸を含み、

$L^2$  は、結合であるか又は  $C_{2-20}$  アルキレン基であり、ここでアルキレン基中の 1 つ又は複数の  $-CH_2-$  構造は、 $-C R^3 R^4-$ 、 $-O-$ 、 $-(CO)-$ 、 $-S(=O)_2-$ 、 $-N R^5-$ 、

## 【化 8 - 1】

$-N^{\oplus} R^6 R^7-$ 、

$C_{4-10}$  シクロアルキレン基、 $C_{4-10}$  ヘテロシクリレン基、フェニレン基によって任意に置換され、ここでシクロアルキレン基、ヘテロシクリレン基、及びフェニレン基は、それぞれ独立して、非置換であるか、又はハロゲン、 $-C_{1-10}$  アルキル基、 $-C_{1-10}$  ハロアルキル基、 $-C_{1-10}$  アルキレン- $NH-R^8$ 、及び  $-C_{1-10}$  アルキレン- $O-R^9$  から選択される少なくとも 1 つの置換基で置換され、

$L d 2$  と各  $L d 1$  は、独立して、結合であるか、又は  $-NH-C_{1-20}$  アルキレン- $(CO)-$ 、 $-NH-(PEG)_i-(CO)-$  から選択されるか、又は側鎖上でそれぞれ独立して非置換の又は  $-(PEG)_j-R^{11}$  によって置換された天然アミノ酸もしくは重合度 2 ~ 10 のオリゴマー天然アミノ酸であり、

$-(PEG)_i-$  と  $-(PEG)_j-$  は、それぞれ PEG フラグメントであり、指定された数の連続した  $-(O-C_2H_4)-$  構造単位又は連続した  $-(C_2H_4-O)-$  構造単位を含み、任意に、1 つの末端に  $C_{1-10}$  アルキレン基が付加され、

$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$  は、それぞれ独立して、水素、ハロゲン、 $-C_{1-10}$  アルキル基、 $-C_{1-10}$  ハロアルキル基、 $C_{4-10}$  シクロアルキレン基から選択され、

$R^{11}$  は  $C_{1-10}$  アルキル基であり、

$n$  は 2 ~ 20 の任意の整数であり、

$d$  は 0 又は 1 ~ 6 の任意の整数であり、

各  $i$  は独立して 1 ~ 100 の整数であり、好ましくは 1 ~ 20 であり、好ましくは、各  $i$  は独立して 1 ~ 12 の整数であり、より好ましくは 2 ~ 8 であり、特に 4 であり、

各  $j$  は独立して 1 ~ 100 の整数であり、好ましくは 1 ~ 20 であり、好ましくは、各  $j$  は独立して 1 ~ 12 の整数であり、より好ましくは 8 ~ 12 であり、特に 8 又は 12 である。

## 【0032】

一実施形態において、 $L^2$  は、 $p$  が 0 又は 1 ~ 5 の整数である  $-(CH_2)_p-(CH_2)_2(CO)-$ 、

10

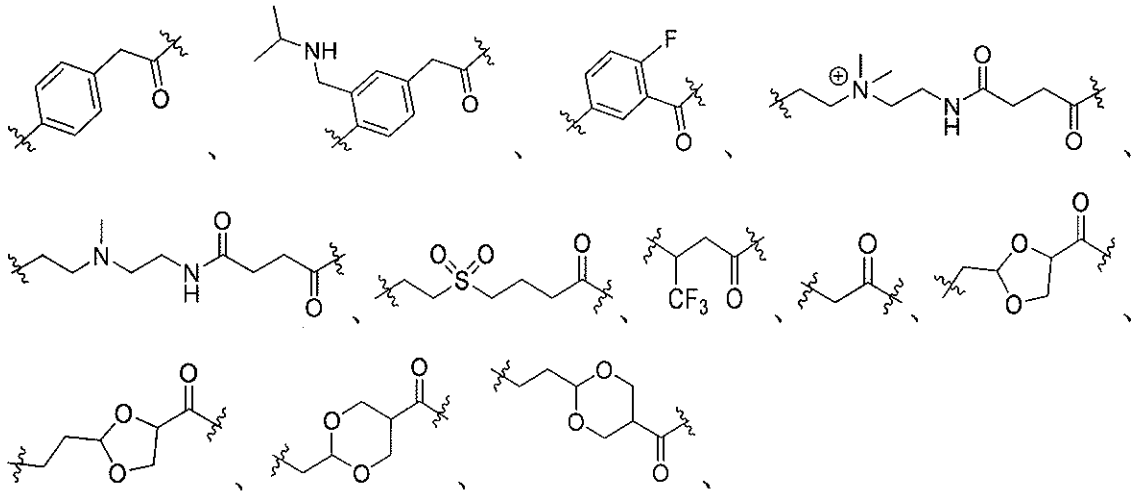
20

30

40

50

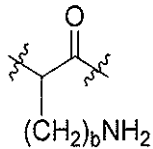
## 【化 9】



10

及び b が 1 ~ 10 の整数である

## 【化 10】



20

から選択される。

## 【0033】

一実施形態において、上記  $L^2$  構造中のカルボニル基は  $L^1$  に連結され、別の連結部位は o p s u に連結される。

## 【0034】

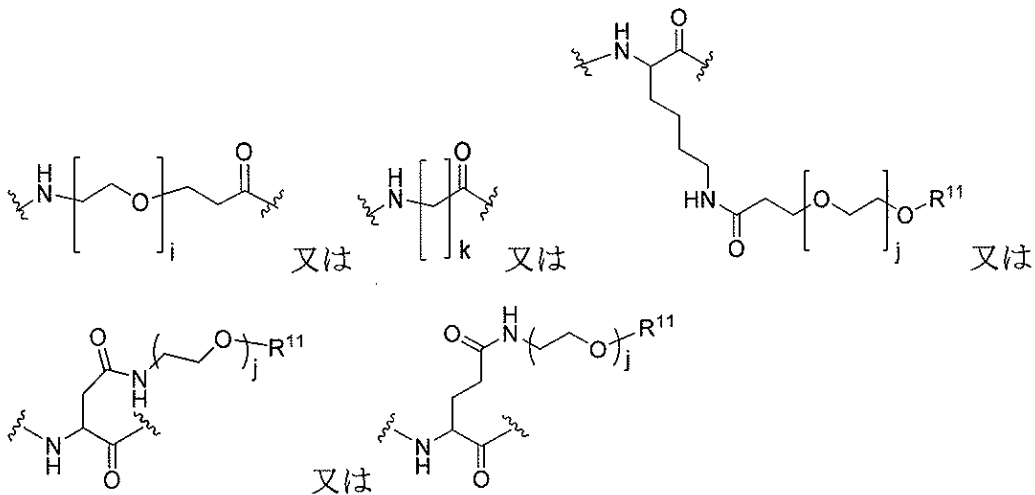
一実施形態において、p は 0 ~ 3 であり、好ましくは 3 である。

30

## 【0035】

$L^2$  と各  $L^1$  は、独立して、結合又は

## 【化 11】



40

から選択され、

各  $i$ 、 $j$  及び  $k$  は、独立して 1 ~ 100 の整数から選択される。

50

## 【0036】

一実施形態において、各  $i$ 、 $j$  及び  $k$  は、独立して 1 ~ 20 の整数から選択される。一実施形態において、各  $i$ 、 $j$  及び  $k$  は、独立して 1 ~ 12 の整数から選択される。

## 【0037】

一実施形態において、各  $i$  は、独立して 2 ~ 8 の整数から選択され、特に 4 である。

## 【0038】

一実施形態において、各  $j$  は、独立して 8 ~ 12 の整数から選択され、特に 8 又は 12 である。

## 【0039】

一実施形態において、各  $k$  は、独立して 1 ~ 7 の整数から選択され、特に 1 又は 3 又は 5 である。 10

## 【0040】

一実施形態において、 $Ld2$  と各  $Ld1$  は、独立して、結合、又は両端にそれぞれアミノ基とカルボニル基を有する  $C_{1-20}$  アルキレン基、又は両端にそれぞれアミノ基とカルボニル基を有する一定長の PEG フラグメント ( $-(PEG)_i-$  と表される)、又は側鎖上でそれぞれ独立して非置換の又は一定長の PEG フラグメント ( $-(PEG)_j-$  と表される) によって置換される 1 つ又は複数の天然アミノ酸から選択される。

## 【0041】

一実施形態において、 $-(PEG)_i-$  は、 $-(O-C_2H_4)_i-$  又は  $-(C_2H_4-O)_i-$  を含み、そして任意に、1 つの末端に  $C_{1-10}$  アルキレン基が付加され、 $-(PEG)_j-$  は、 $-(O-C_2H_4)_j-$  又は  $-(C_2H_4-O)_j-$  を含み、そして任意に、1 つの末端に  $C_{1-10}$  アルキレン基が付加される。非常に具体的な一実施形態において、 $-(PEG)_i-$  は、 $-C_2H_4-(O-C_2H_4)_i-$  又は  $-(C_2H_4-O)_i-C_2H_4-$  を含む。 20

## 【0042】

なお、分子中に 2 つ以上の  $Ld1$ 、 $B$ 、 $L^2$  又は  $L^1$  構造が存在する場合、各  $Ld1$ 、 $B$ 、 $L^2$  又は  $L^1$  の構造は独立して選択されることを理解すべきである。分子中に 2 つ以上の  $R^x$  ( $x$  は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 等である) がある場合、各  $R^x$  は独立して選択される。いくつかの実施形態において、分子中の「 $x$ 」は、追加の単一アポストロフィ ( ' ) 又は複数のアポストロフィ (例えば、' '、' ' '、' ' ' ' 等) で表されるか又は追加の単一アポストロフィ ( ' ) 又は複数のアポストロフィ (例えば、' '、' ' '、' ' ' ' 等) で表されず、例えば、 $R$ 、 $R^1$ 、 $R^{1'}$ 、 $R^{1''}$ 、 $R^2$ 、 $R^{2'}$ 、 $R^{2''}$  等であり、ここで各  $R^x$  は、追加の単一アポストロフィ又は複数のアポストロフィの有無にかかわらず、独立して選択される。他の  $R^x$ 、例えば  $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$  及び「 $Ld1$ 」、「 $B$ 」、「 $L^2$ 」、「 $L^1$ 」も、同様に理解すべきである。いくつかの実施形態において、分子中の「 $i$ 」は追加の数字で表されるか又は追加の数字で表されず、例えば、 $i_1$ 、 $i_2$ 、 $i_3$ 、 $i_4$  等であり、この数字は順序を表すものではなく、単に「 $i$ 」を区別するために使用される。各「 $i$ 」は追加の数字の有無にかかわらず、独立して選択される。

## 【0043】

一実施形態において、切断可能配列 1 は、 $Gly-Gly-Phe-Gly$ 、 $Phe-Lys$ 、 $Val-Cit$ 、 $Val-Lys$ 、 $Gly-Phe-Leu-Gly$ 、 $Ala-Leu-Ala-Leu$ 、 $Ala-Ala-Ala$  及びそれらの組み合わせから選択され、好ましい切断可能配列 1 は  $Gly-Gly-Phe-Gly$  である。 40

## 【0044】

一実施形態において、 $W$  は水素である。

## 【0045】

一実施形態において、 $R^{11}$  は、 $C_{1-6}$  アルキル基であり、好ましくはメチル基である。

## 【0046】

一実施形態において、 $n$ は、2～5の整数であり、特に3である。

【0047】

一実施形態において、 $d$ は、0、又は1～4の任意の整数であり、好ましくは0、1、2又は3である。

【0048】

チオスクシンイミドは、生理学的条件下では不安定であり、コンジュゲーション部位での切断を引き起こす逆マイケル付加が発生しやすい。また、系内に他のチオール化合物が存在する場合、チオスクシンイミドは、別のチオール化合物とチオール基を交換することもできる。この2つの反応はどちらもペイロードの脱落と毒副作用を引き起こすことがある。本発明において、リンカーに適用される時、開環したスクシンイミド構造は逆マイケル付加又はチオール基の交換が発生しなくなるため、製品はより安定になる。開環反応の方法は、WO2015165413A1を参照することができる。

10

【0049】

開環スクシンイミド部分を含む化合物は、スクシンイミド開環反応の効率にかかわらず、半分取/分取HPLC又は他の適切な分離手段によって精製して、高純度と確定した成分を得ることができる。

【0050】

リガーゼ受容体又は供与体基質の認識配列を含む部分

一実施形態において、式(I)の化合物の $G_n$ 部分は、リガーゼ受容体又は供与体基質の認識配列であり、リガーゼの触媒作用下で、式(I)の化合物と標的化分子との酵素触媒カップリングを促進する。標的化分子は任意に修飾され、リガーゼ受容体又は供与体基質の対応する認識配列を含む。

20

【0051】

一実施形態において、リガーゼはトランスペプチダーゼである。一実施形態において、リガーゼは、天然トランスペプチダーゼ、非天然トランスペプチダーゼ、それらの変異体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。非天然トランスペプチダーゼは、天然トランスペプチダーゼを操作することによって得られたものであり得るが、これらに限定されない。好ましい一実施形態において、リガーゼは、天然ソルターゼ、非天然ソルターゼ、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。天然ソルターゼの種類は、ソルターゼA、ソルターゼB、ソルターゼC、ソルターゼD、ソルターゼL、プランタルム等を含む(US20110321183A1)を含む。異なる分子又は構造フラグメント間の特異的なカップリングを実現するために、リガーゼの種類はリガーゼ認識配列に対応する。

30

【0052】

いくつかの実施形態において、リガーゼは、ソルターゼA、ソルターゼB、ソルターゼC、ソルターゼD、及びソルターゼL、プランタルムから選択されるソルターゼである。これらの実施形態において、リガーゼ受容体基質の認識配列は、オリゴマーグリシン、オリゴマーアラニン、及び重合度3～10のオリゴマーグリシン/アラニン混合物からなる群から選択される。特定の実施形態において、リガーゼ受容体基質の認識配列は $G_n$ であり、ここで $G$ はグリシン( $Gly$ )であり、 $n$ は2～10の整数である。

40

【0053】

別の特定の実施形態において、リガーゼは、黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)由来のソルターゼAである。それに応じて、リガーゼ認識配列は、該酵素の典型的な認識配列LPXTGであり得る。さらなる特定の実施形態において、リガーゼ供与体基質認識配列はLPXTGJであり、リガーゼ受容体基質認識配列は $G_n$ であり、ここで $X$ は天然又は非天然の任意の単一アミノ酸であり得、 $J$ は存在しないか、又は任意に標識され得る1～10個のアミノ酸を含むアミノ酸フラグメントである。一実施形態において、 $J$ は存在しない。さらなる実施形態において、 $J$ は1～10個のアミノ酸を含むアミノ酸フラグメントであり、その中の各アミノ酸は独立して任意の天然又は非天然のアミノ酸である。別の実施形態において、 $J$ は $G_m$ であり、ここで $m$ は1～10の

50

整数である。さらなる特定の実施形態において、リガーゼ供与体基質認識配列は L P E T G である。別の特定の実施形態において、リガーゼ供与体基質認識配列は L P E T G G である。

【 0 0 5 4 】

一実施形態において、リガーゼは、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) 由来のソルターゼ B であり、対応する供与体基質認識配列は N P Q T N であり得る。別の実施形態において、リガーゼは、炭疽菌 (*Bacillus anthracis*) 由来のソルターゼ B であり、対応する供与体基質認識配列は N P K T G であり得る。

【 0 0 5 5 】

さらなる実施形態において、リガーゼは、化膿連鎖球菌 (*Streptococcus pyogenes*) 由来のソルターゼ A であり、対応する供与体基質認識配列は L P X T G J であり得、ここで J は上記で定義した通りである。別の実施形態において、リガーゼは、ストレプトミセス・セリカラー (*Streptomyces coelicolor*) 由来のソルターゼ *subfamily* 5 であり、対応する供与体基質認識配列は L A X T G であり得る。

【 0 0 5 6 】

さらなる実施形態において、リガーゼは、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) 由来のソルターゼ A であり、対応する供与体基質認識配列は L P Q T S E Q であり得る。

【 0 0 5 7 】

リガーゼ認識配列は、手動スクリーニングによって最適化された他の斬新なトランスベプチダーゼ認識配列であり得る。

【 0 0 5 8 】

反応性基を含む部分

ペイロードと連結するための反応性基

一実施形態において、B は末端基  $R^{10}$  であり、 $L^1$  中の切断可能配列 1 はペイロードに連結される。この場合、切断可能配列 1 とペイロードを連結して得られた分子には B が存在しない。一実施形態において、B は、ペイロードへの連結に使用される。ペイロードとの連結のために、式 (I) の化合物は反応性基を含む。一実施形態において、式 (I) の化合物中の B は、アミド結合又はエステル結合又はエーテル結合を介してペイロードに連結される。一実施形態において、式 (I) の B 中の反応性基は、独立して、縮合反応、求核付加又は求電子付加のための反応性基 (例えば、反応性  $C=O$  部分、反応性  $C=C-C=O$  部分、アミノ基、アミノ基、ヒドロキシル基又はチオール基) であり、又は置換反応のための反応性基 (例えば、O、C、N 又は S 原子に連結される脱離基) である。一実施形態において、B 中の反応性基は、独立して、カルボキシル基、活性エステル、アルデヒド基、アミノ基、アミノ基、ヒドロキシル基及びチオール基から選択される。具体的な一実施形態において、ペイロードに連結するための B 中の反応性基は、独立して、アミノ基、アミノ基、ヒドロキシル基、チオール基、カルボキシル基及び活性エステルから選択される。

【 0 0 5 9 】

一実施形態において、B 中の反応性基は、独立して、アミノ基、アミノ基又はヒドロキシル基であり、ペイロード中の対応する基 (例えば、カルボキシル基、スルホン酸基、遊離-OH 末端を有するホスホリル基、活性エステル、酸塩化物又はイソシアネート) と反応する。別の実施形態において、B 中の反応性基は、独立して、カルボキシル基又は活性エステルであり、ペイロード中の対応する基 (例えば、アミノ基、アミノ基又はヒドロキシル基) と反応する。

【 0 0 6 0 】

一実施形態において、B 中の反応性基は、独立して、アミノ基、ヒドロキシル基又はチオール基であり、ペイロード中の対応する基 (例えば、ハロゲン、ヒドロキシル基、アル

10

20

30

40

50

デヒド基)と反応する。別の実施形態において、B中の反応性基は、独立して、ヒドロキシル基であり、ペイロード中の対応する基(例えば、ハロゲン又はヒドロキシル基)と反応する。

【0061】

一実施形態において、各Bは、独立して、 $R^{10}$ であるか、又は、1)自己犠牲 Spacer-Sp1と、2)結合、又は $-CR^1R^2-$ 、 $C_{1-10}$ アルキレン基及び $-(CO)-$ から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせと、3)末端基 $R^{10}$ との組み合わせである。

【0062】

一実施形態において、Sp1は、PABC、アセタール、ヘテロアセタール及びそれらの組み合わせから選択される。一実施形態において、Sp1は、アセタール、ヘテロアセタール又はPABCである。一実施形態において、ヘテロアセタールはN,O-ヘテロアセタールから選択される。一実施形態において、Sp1は、 $-O-CH_2-U-$ 又は $-NH-CH_2-U-$ であり、ここで $-O-$ 又は $-NH-$ は切断可能配列1に連結される。Uは、O、S又はNHであり、好ましくはO又はSである。一実施形態において、Uは、O、S又はNであり、好ましくはO又はSである。

10

【0063】

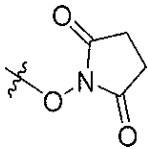
一実施形態において、Bは、 $R^{10}$ であるか又は $-NH-CH_2-U-R^{10}$ であるか又は $-NH-CH_2-U-(CH_2)_g-(CO)-R^{10}$ である。

【0064】

一実施形態において、 $R^{10}$ は、水素、ヒドロキシ基であるか又は

20

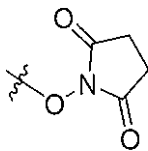
【化12】



である。一実施形態において、 $R^{10}$ は水素である。一実施形態において、 $R^{10}$ は、ヒドロキシル基又は

30

【化13】



である。

【0065】

一実施形態において、 $R^{10}$ は、Bとペイロードとの反応から生じる生成物分子には現れない構造部分を表す。

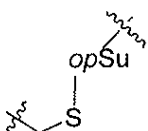
40

【0066】

式(I)の化合物の具体的な実施形態

一実施形態において、Wは水素であり、各LKaは

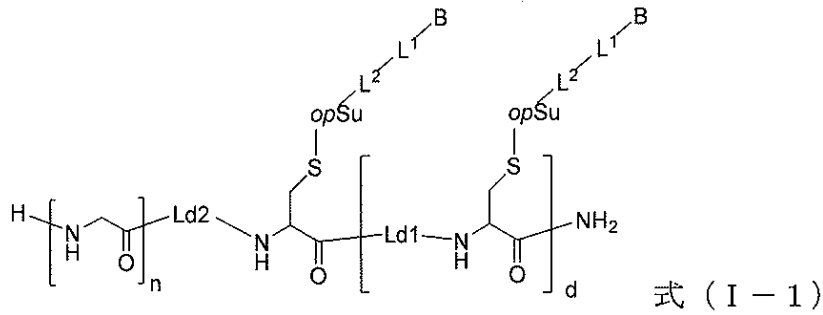
【化14】



50

である。一実施形態において、式 ( I ) の化合物は式 ( I - 1 ) の構造を有する。

【化 1 5】

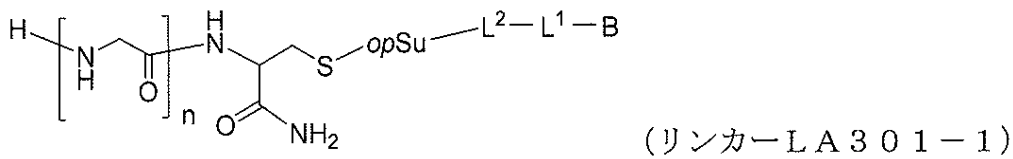


10

【 0 0 6 7】

一実施形態において、L d 2 は結合であり、d は 0 である。一実施形態において、式 ( I - 1 ) の化合物は次の通りである。

【化 1 6】

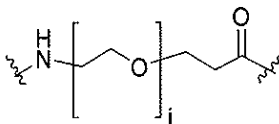


20

【 0 0 6 8】

一実施形態において、d は 0 であり、L d 2 は

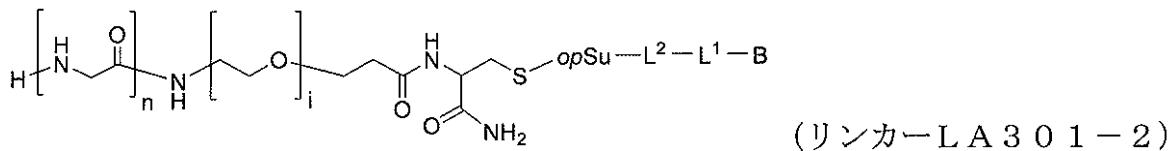
【化 1 7】



30

である。一実施形態において、式 ( I - 1 ) の化合物は次の通りである。

【化 1 8】

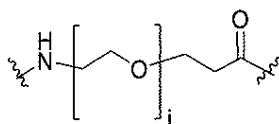


40

【 0 0 6 9】

一実施形態において、d は 1、2 又は 3 であり、L d 2 と各 L d 1 は、独立して、

【化 1 9】

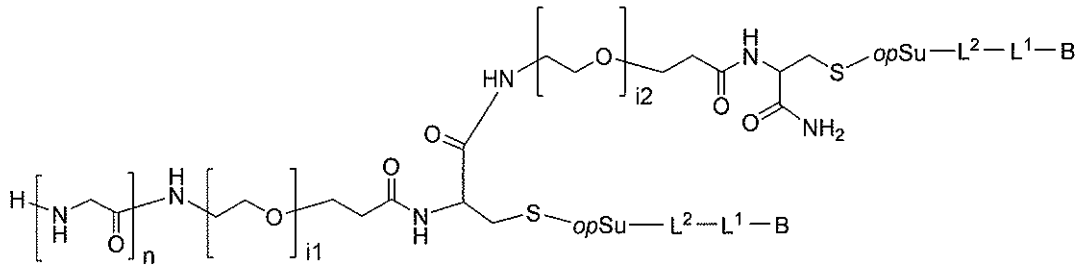


から選択される。一実施形態において、式 ( I - 1 ) の化合物は次の通りである。

50

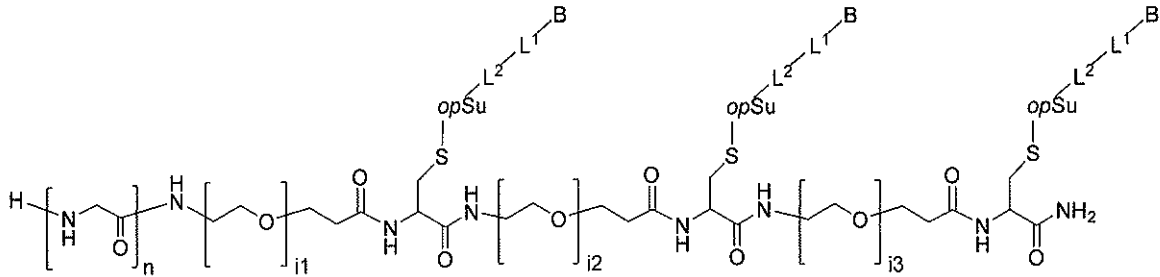


## 【化 2 0】



(リンカーLA301-3)

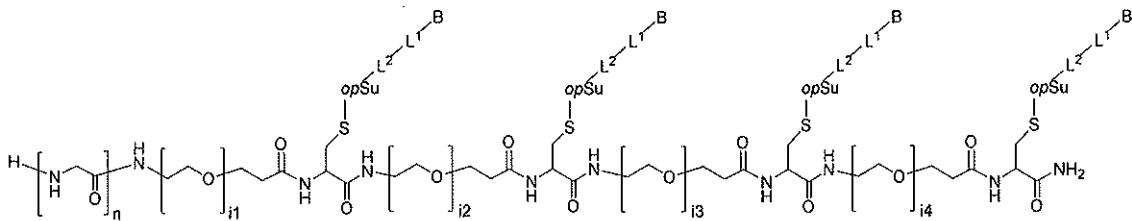
10



(リンカーLA301-4)

20

又は



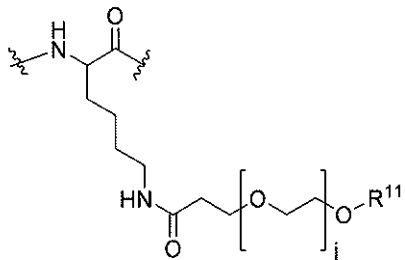
(リンカーLA301-5)

30

## 【0070】

一実施形態において、L d 2 は

## 【化 2 1】

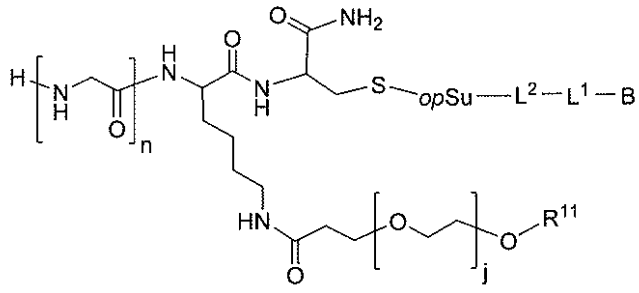


40

であり、dは0である。一実施形態において、式(I-1)の化合物は次の通りである。

50

## 【化 2 2】



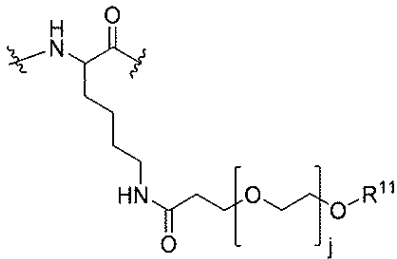
(リンカーLA302-1)

10

## 【0071】

一実施形態において、 $d$  は 1、2 又は 3 であり、 $L d 2$  は

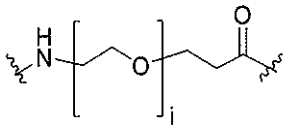
## 【化 2 3】



20

であり、そして各  $L d 1$  は、独立して、

## 【化 2 4】



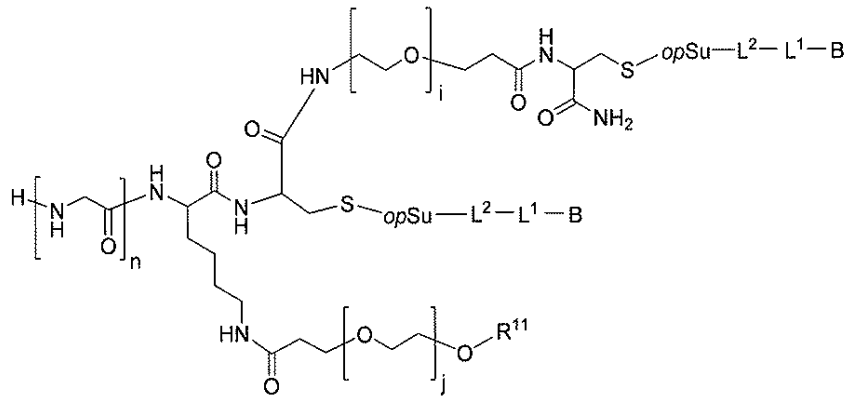
30

から選択される。一実施形態において、式 (I - 1) の化合物は次の通りである。

40

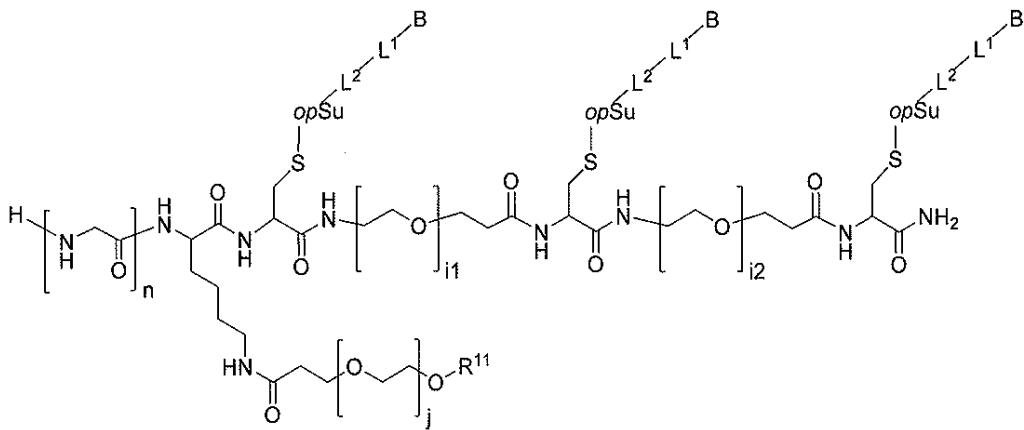
50

【化25】



(リンカーLA302-2)

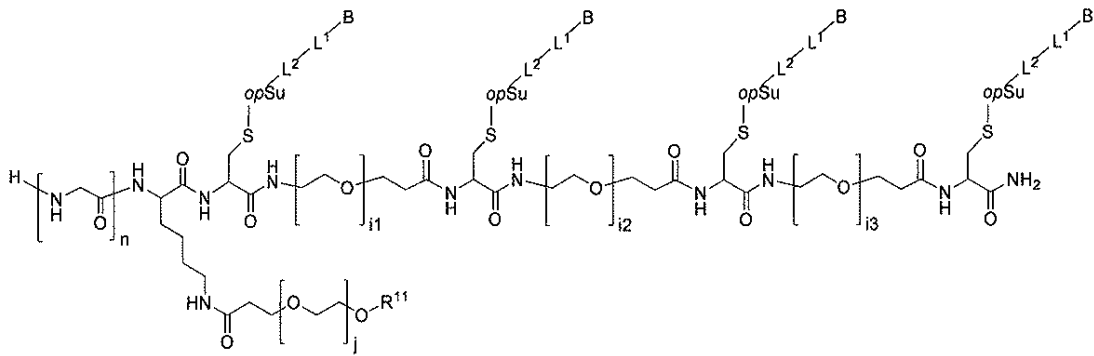
10



(リンカーLA302-3)

20

又は



(リンカーLA302-4)

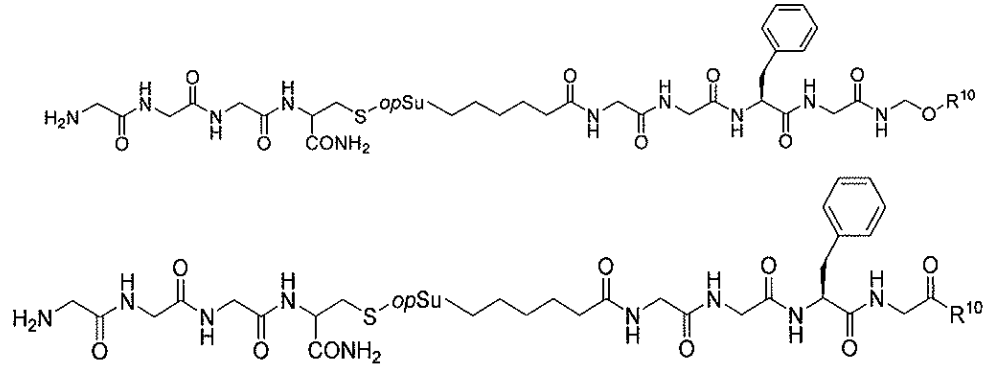
30

40

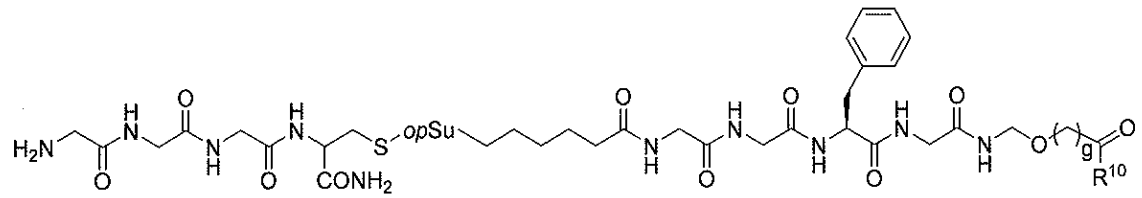
【0072】

一実施形態において、nは3であり、L<sup>2</sup>は-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CO)-であり、pは3であり、L<sup>1</sup>はGGFGであり、Bは、-NH-CH<sub>2</sub>-U-R<sup>10</sup>又は-R<sup>10</sup>又は-NH-CH<sub>2</sub>-U-(CH<sub>2</sub>)<sub>g</sub>-(CO)-R<sup>10</sup>であり、UはOであり、gは1である。一実施形態において、リンカーLA301-1は次の構造を有する。

## 【化 2 6】



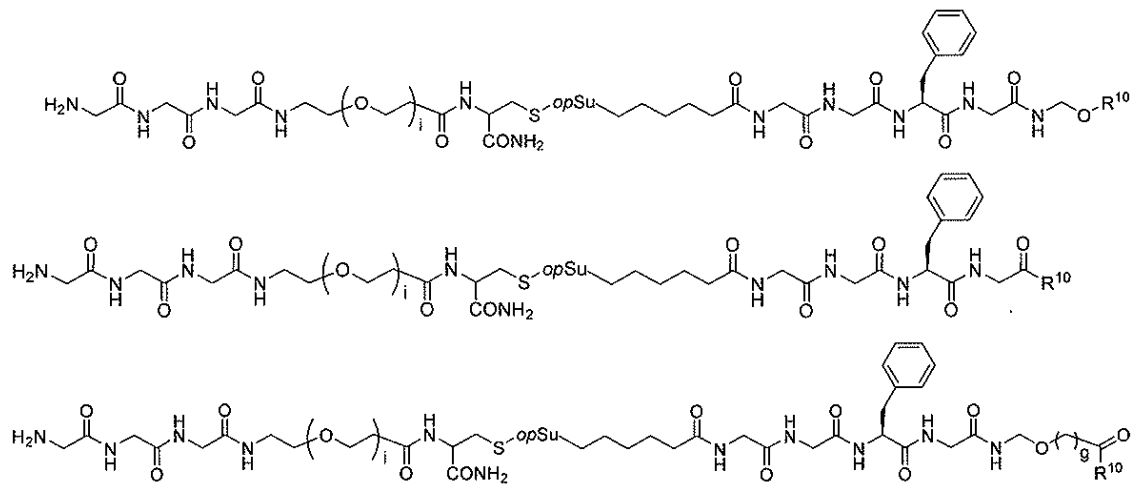
又は



## 【 0 0 7 3】

一実施形態において、リンカー LA 301 - 2 は次の構造を有する。

## 【化 2 7】

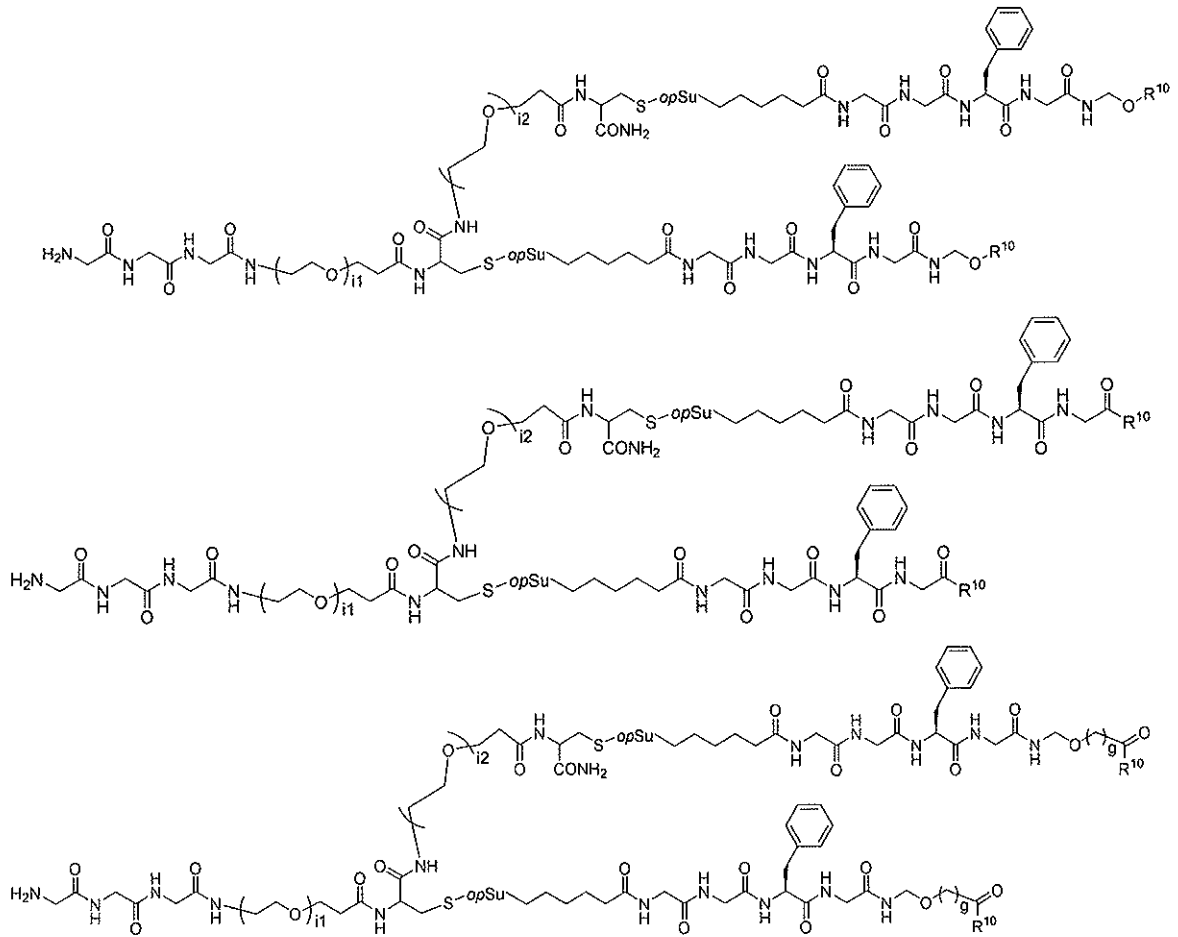


## 【 0 0 7 4】

一実施形態において、リンカー LA 301 - 3 は次の構造を有する。

40

【化 2 8】



10

20

30

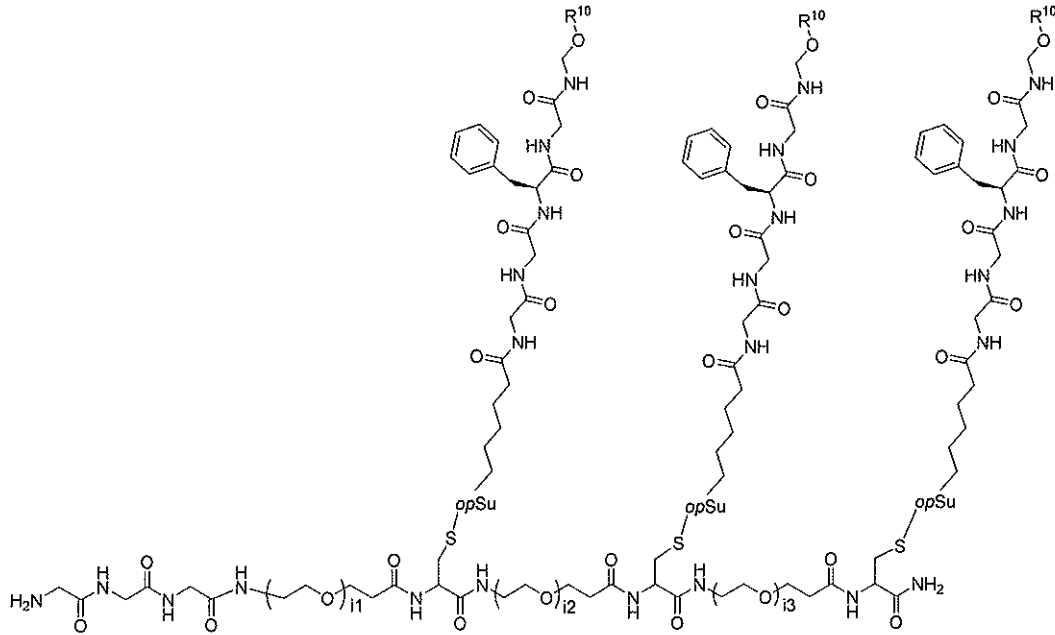
【 0 0 7 5】

一実施形態において、リンカーLA301-4は次の構造を有する。

40

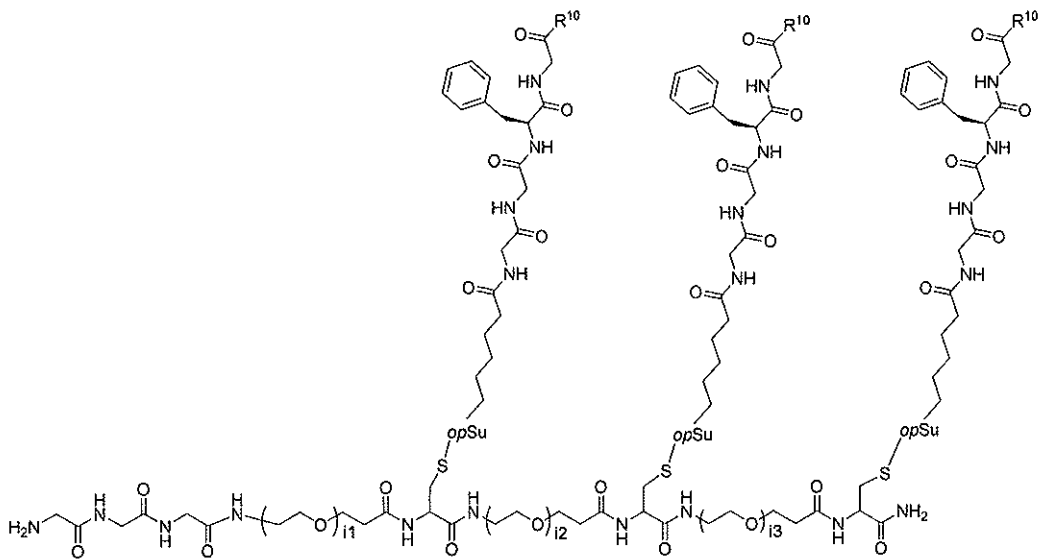
50

【化 2 9 - 1】



10

20

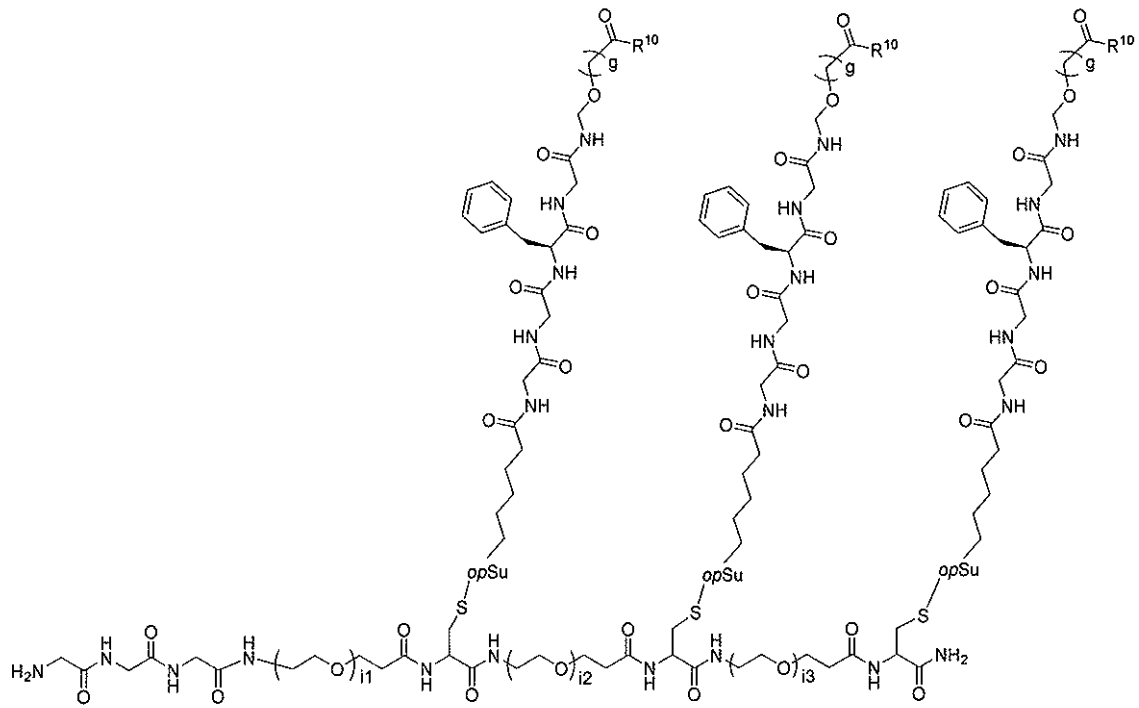


30

40

50

【化 2 9 - 2】



10

20

【 0 0 7 6】

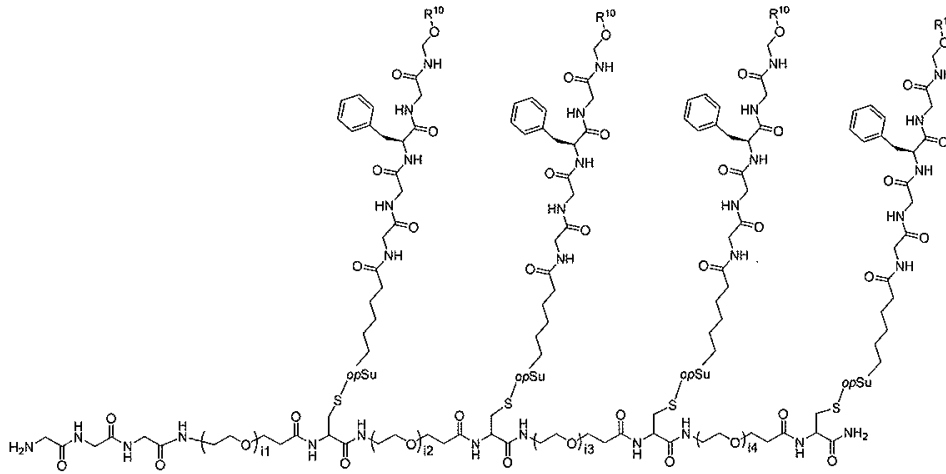
一実施形態において、リンカーLA301-5は次の構造を有する。

30

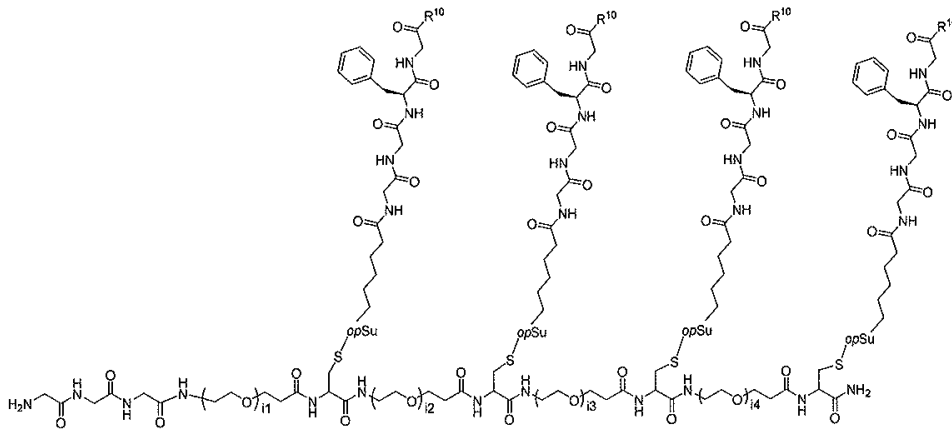
40

50

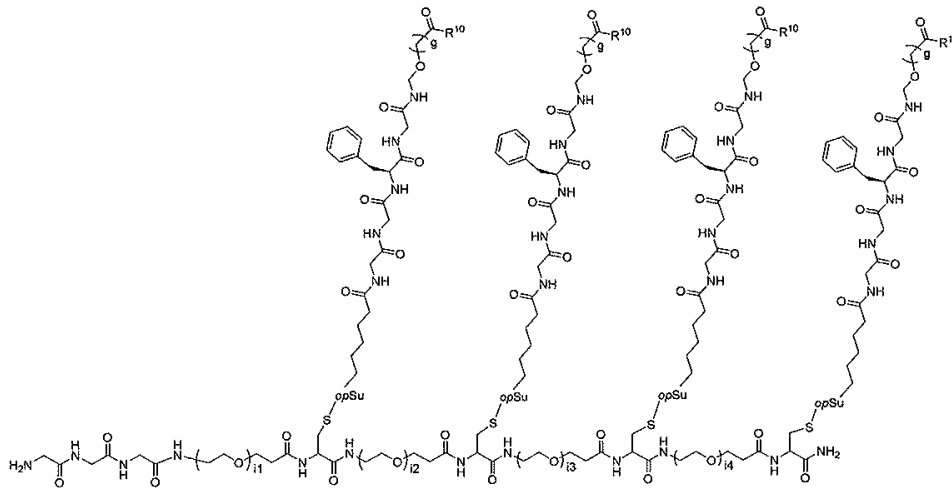
【化 3 0】



10



20



30

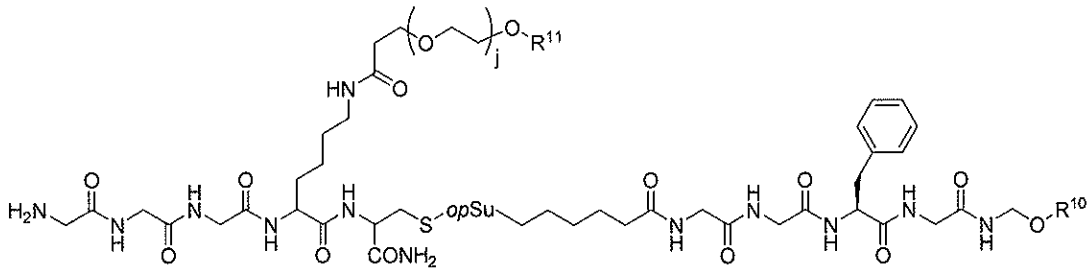
40

【 0 0 7 7】

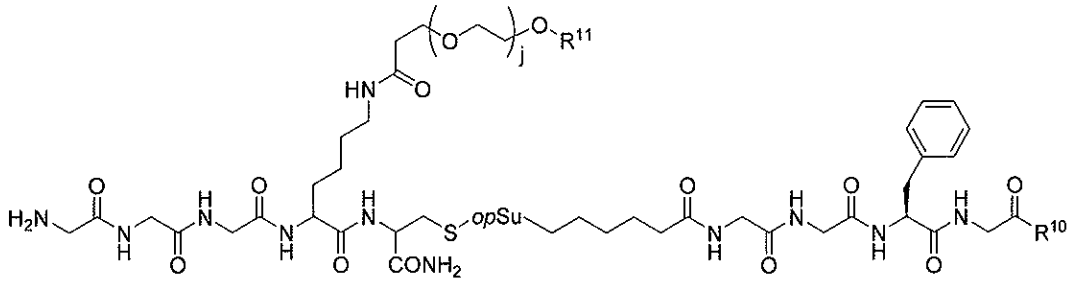
一実施形態において、リンカーLA302-1は次の構造を有する。



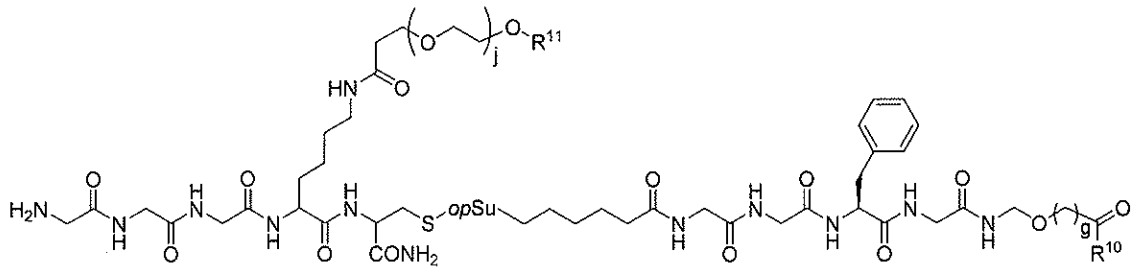
## 【化 3 1】



10



20



## 【 0 0 7 8】

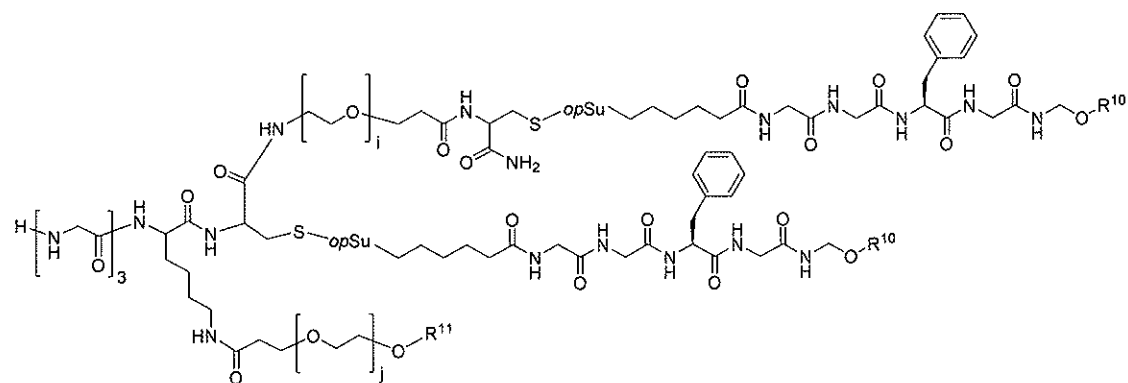
一実施形態において、リンカー LA 302 - 2 は次の構造を有する。

30

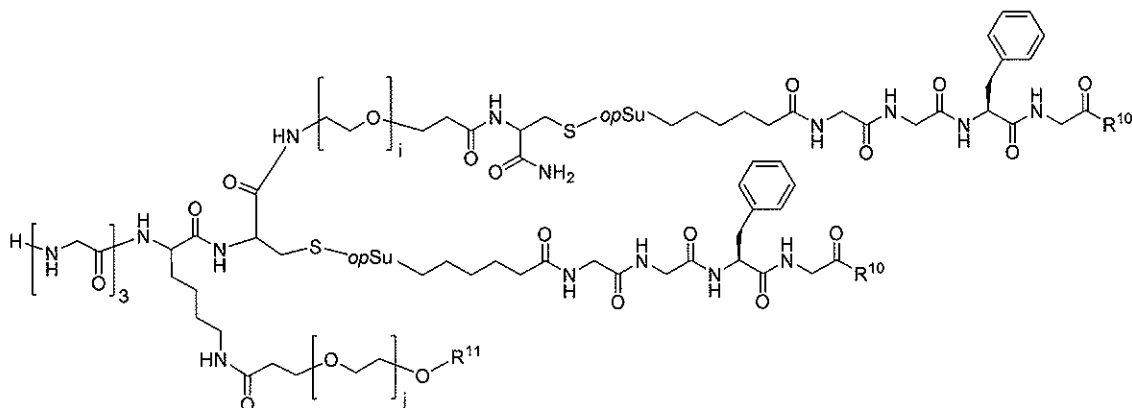
40

50

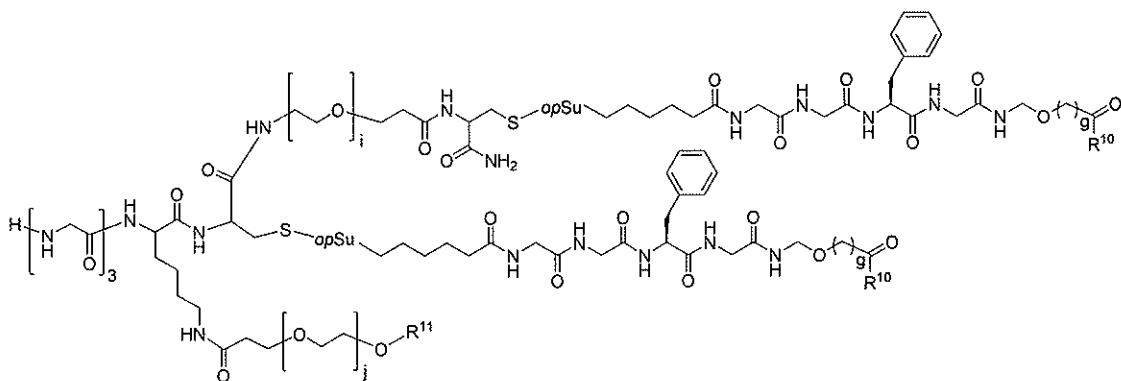
【化 3 2】



10



20



30

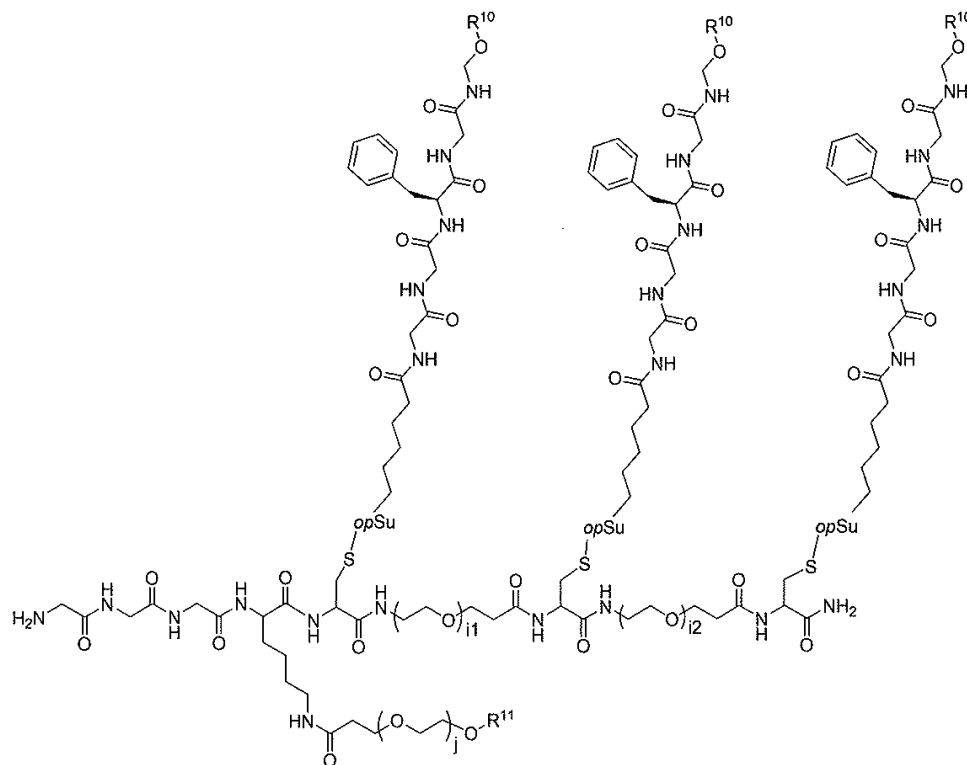
【0079】

一実施形態において、リンカーLA302-3は次の構造を有する。

40

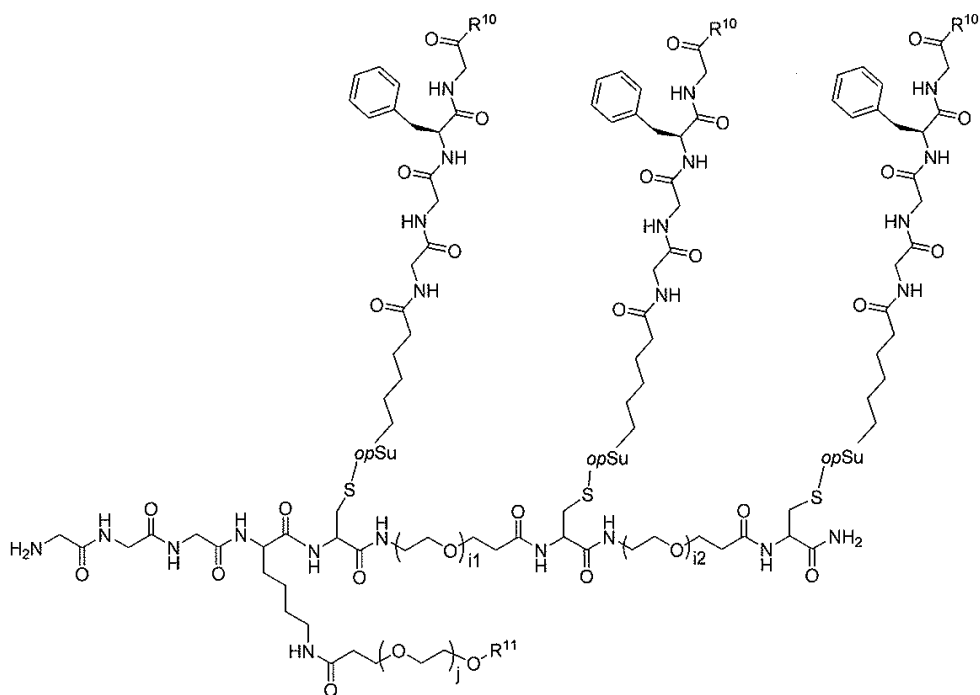
50

【化 3 3 - 1】



10

20

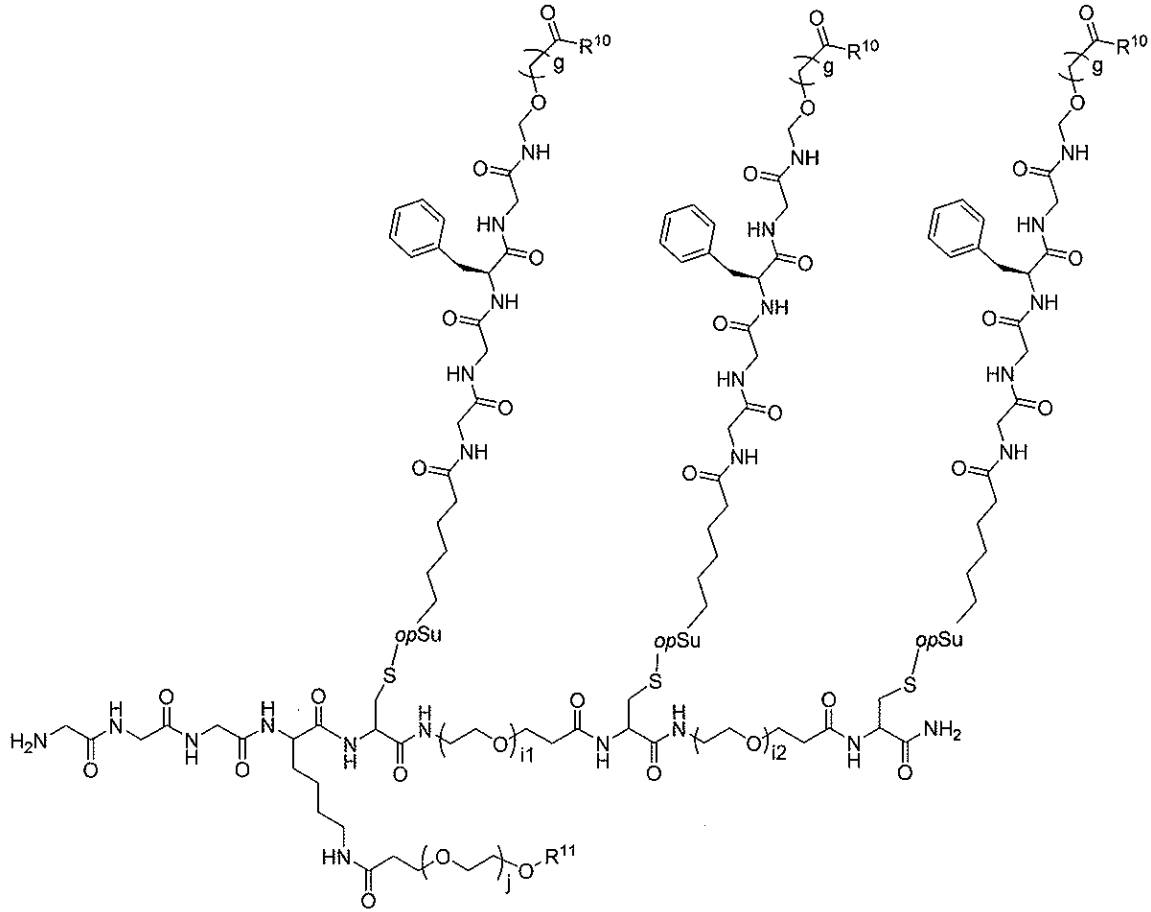


30

40

50

【化 3 3 - 2】



10

20

【 0 0 8 0】

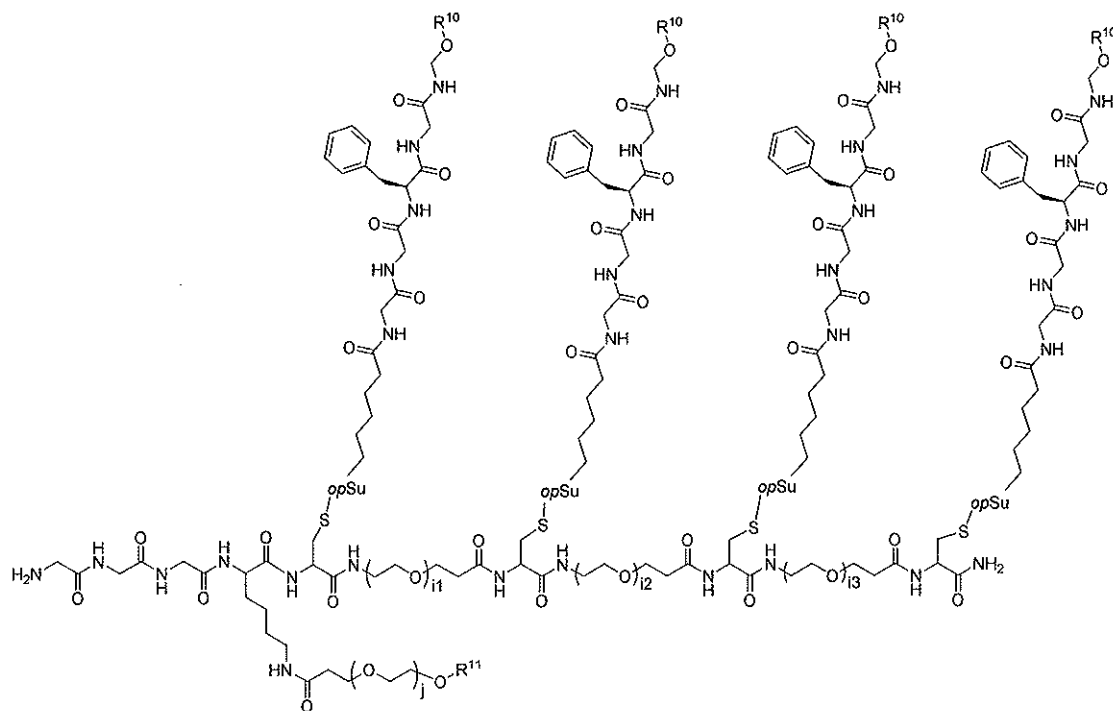
一実施形態において、リンカーLA302-4は次の構造を有する。

30

40

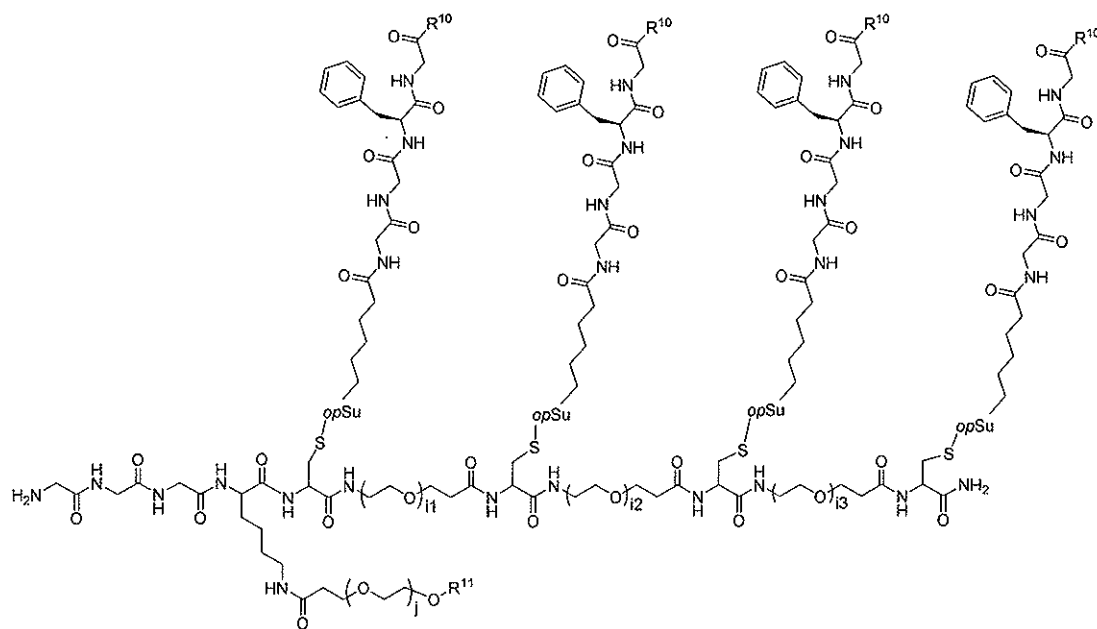
50

【化 3 4 - 1】



10

20

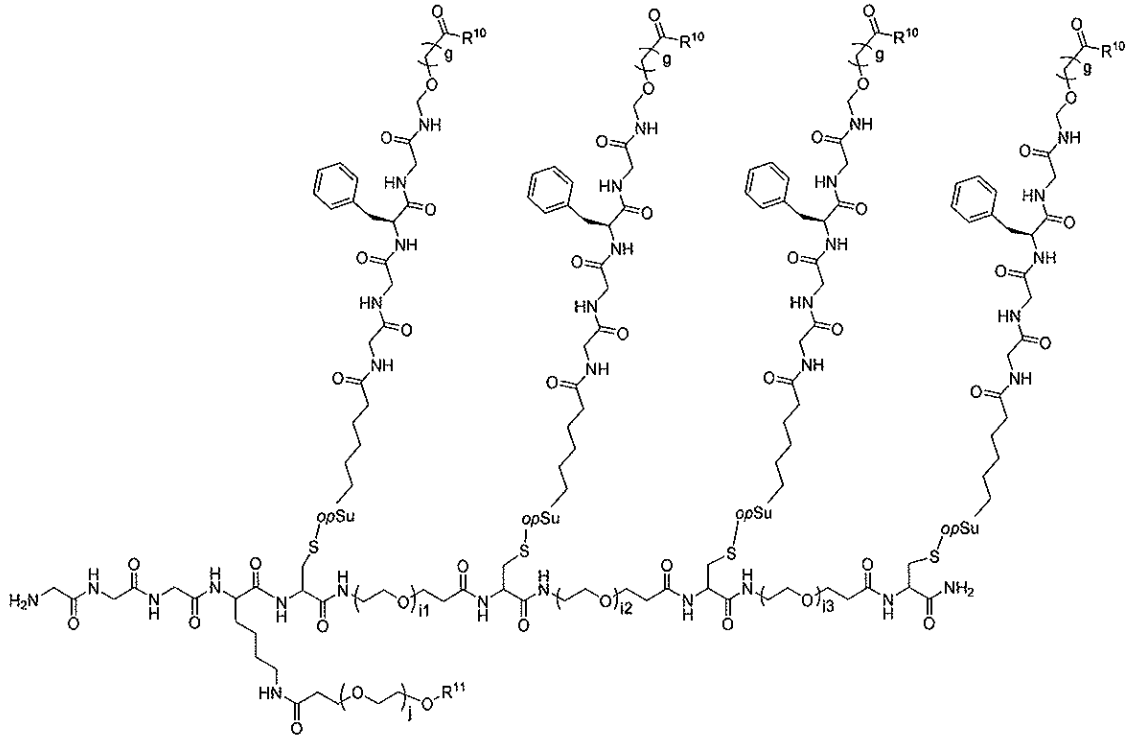


30

40

50

## 【化 3 4 - 2】



10

20

## 【0081】

一実施形態において、 $i$  は 4 であり、 $g$  は 1 であり、 $R^{11}$  はメチル基である。

## 【0082】

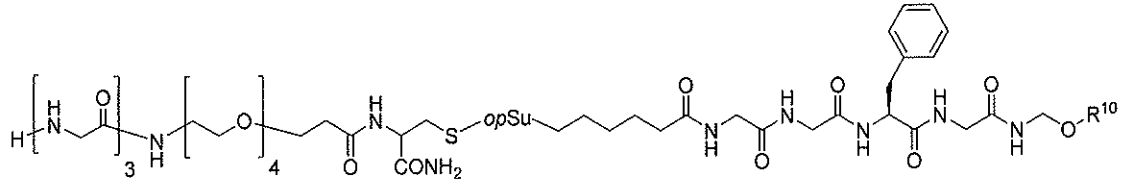
一実施形態において、リンカー LA301-2 は、次のリンカー LA301-2-1 ~ LA301-2-3 に示す通りである。

30

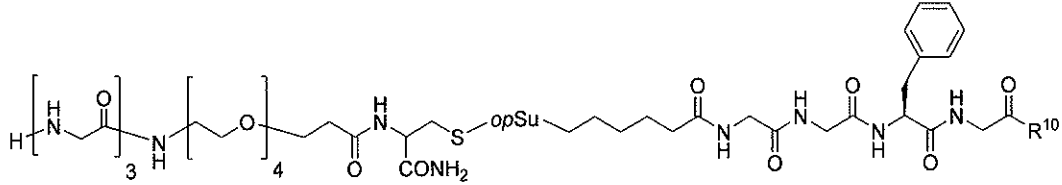
40

50

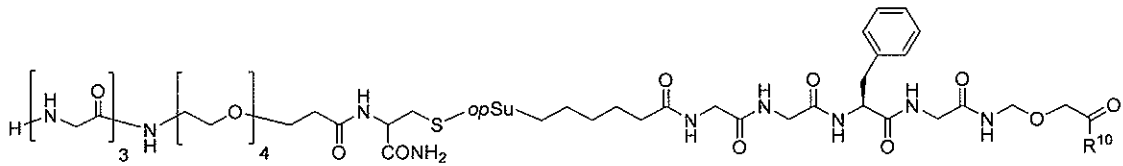
## 【化 3 5】



(リンカーLA301-2-1)



(リンカーLA301-2-2)



(リンカーLA301-2-3)

## 【0083】

一実施形態において、 $i$  は 4 であり、 $j$  は 8 であり、 $g$  は 1 であり、 $R^{11}$  はメチル基である。一実施形態において、リンカー LA302-2 は、次のリンカー LA302-2-1 ~ LA302-2-3 に示す通りである。

10

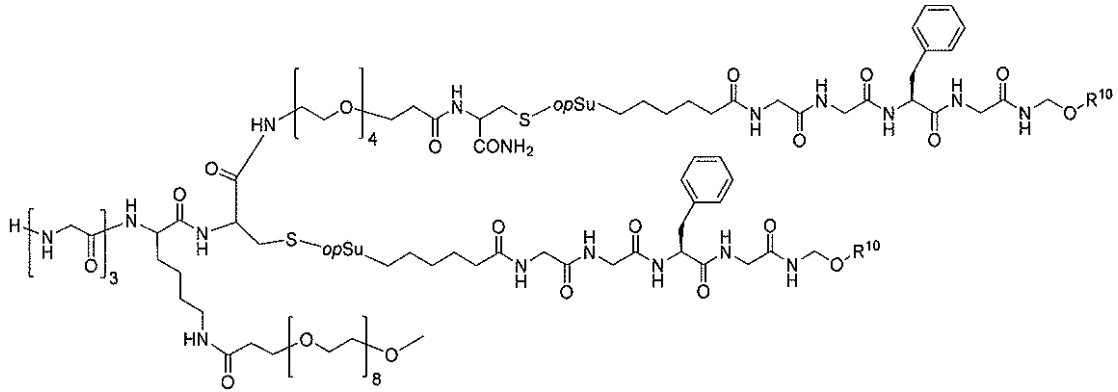
20

30

40

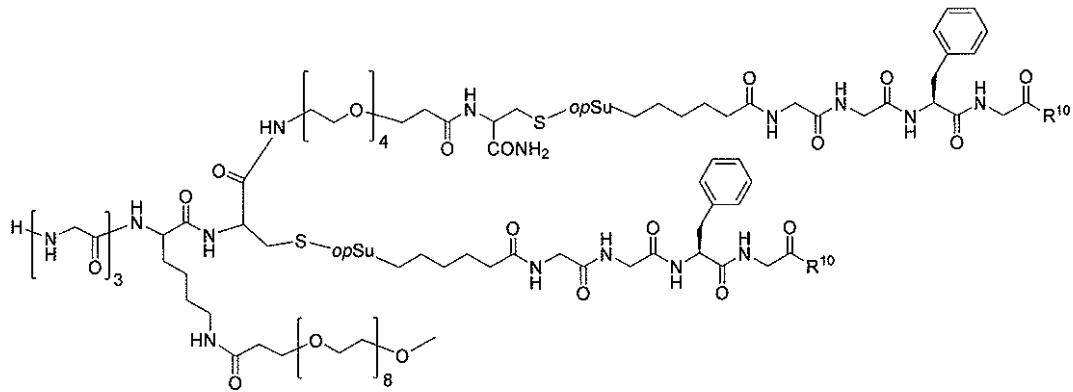
50

## 【化 3 6】



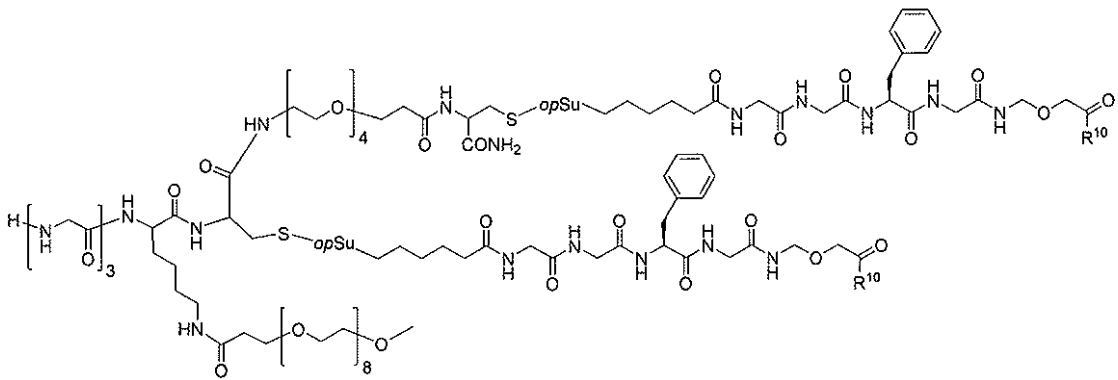
(リンカーLA302-2-1)

10



(リンカーLA302-2-2)

20



(リンカーLA302-2-3)

30

## 【0084】

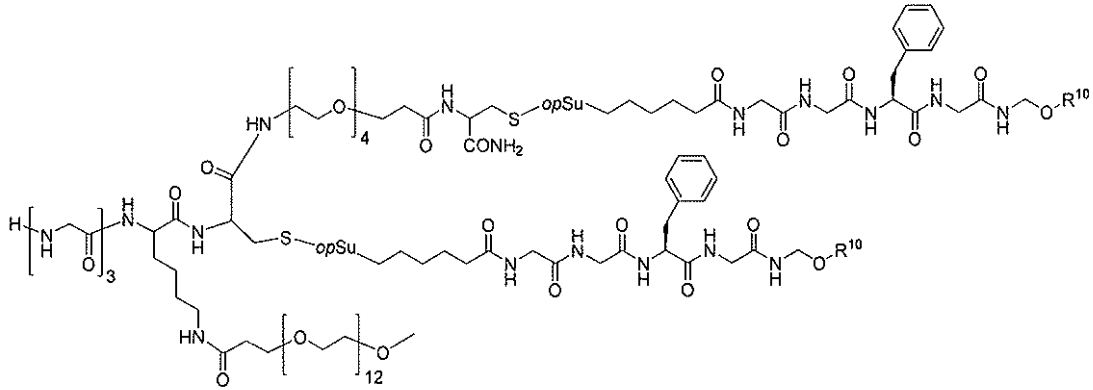
40

一実施形態において、 $i$  は 4 であり、 $j$  は 1 2 であり、 $g$  は 1 であり、 $R^{11}$  はメチル基である。一実施形態において、リンカー LA302-2 は、次のリンカー LA302-2-4 ~ LA302-2-6 に示す通りである。

50

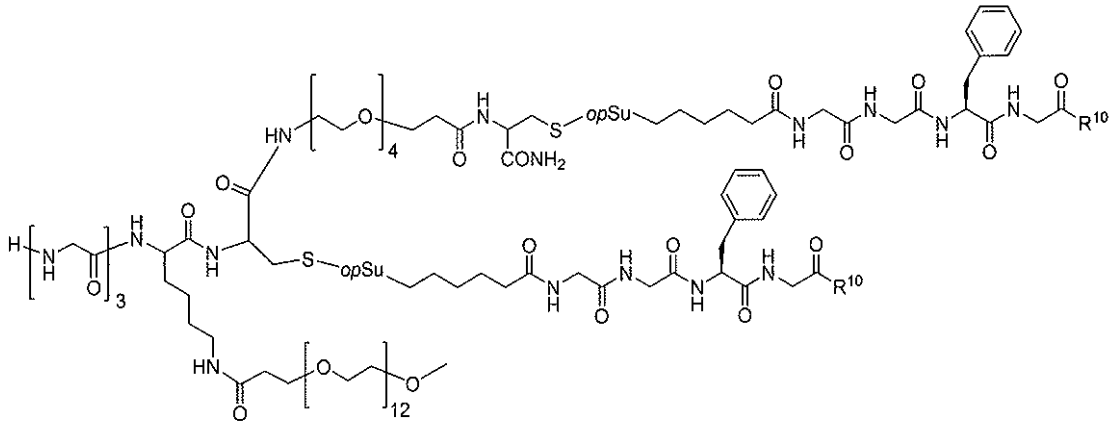


## 【化 3 7】



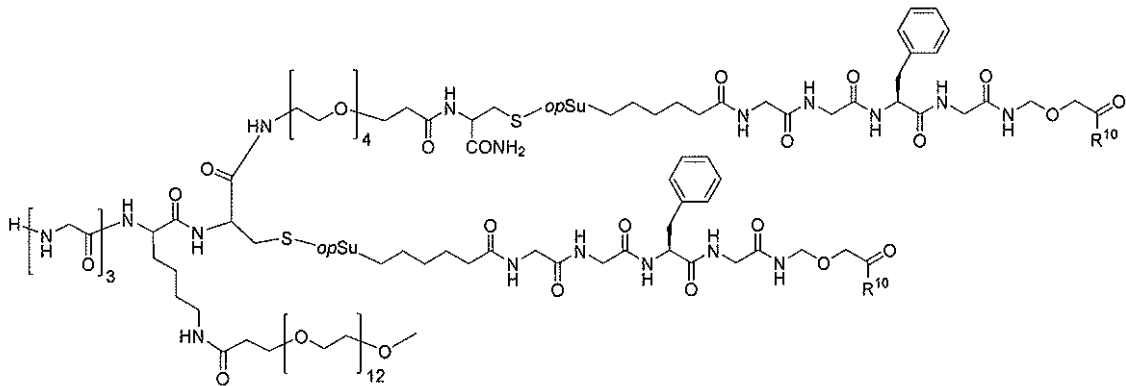
(リンカーLA302-2-4)

10



(リンカーLA302-2-5)

20



(リンカーLA302-2-6)

30

40

## 【0085】

ペイロードを有する式(I)の化合物

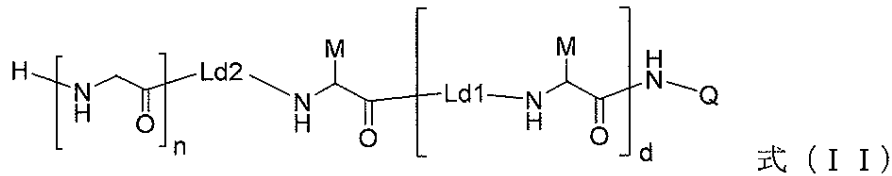
Bに含まれる反応性基は、別の反応性基を含むペイロードと共有コンジュゲーションして、ペイロードを有する式(I)の化合物を得る。

## 【0086】

さらなる態様では、本発明は、式(II)の構造を有する化合物を提供し、

50

## 【化 3 8】



式中、

Qは水素又はLKb Pであり、

Mは水素又はLKa - LKb Pであり、

ただし、QとMが同時に水素でないことを条件とし、

Pは、式(I)の化合物のB部分又はL<sup>1</sup>部分に連結されるペイロードであり、

n、d、Ld1、Ld2、LKa及びLKbは式(I)に定義した通りである。

## 【0087】

上記で定義したように、式(I)の化合物中の各LKbは、独立してL<sup>2</sup> L<sup>1</sup> Bから選択される。各Bは、独立して、末端基R<sup>10</sup>であるか、又は、1)自己犠牲スペーサーSp1と、2)結合、又は-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-、C<sub>1-10</sub>アルキレン基、C<sub>4-10</sub>シクロアルキレン基、C<sub>4-10</sub>ヘテロシクリレン基及び-(CO)-から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせと、3)末端基R<sup>10</sup>との組み合わせであり、R<sup>10</sup>は、水素であるか又はペイロード中の基と反応する時に脱離できる基である。一実施形態において、R<sup>10</sup>は、Bとペイロードとの反応から生じる生成物分子には現れない構造部分を表す。

## 【0088】

一実施形態において、Pは、式(I)の化合物のB部分に連結して、式(II)の化合物を形成する。上述したように、式(II)の化合物のB P構造にはR<sup>10</sup>が現れない。

## 【0089】

なお、式(I)の化合物中のBが末端基R<sup>10</sup>である場合、式(II)の化合物にはR<sup>10</sup>が現れないため、式(II)の化合物のB P構造中のBはそれに応じて存在しないことを理解すべきである。

## 【0090】

一実施形態において、Mは水素又はLKa - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B Pであり、ここでPは、式(I)の化合物のB部分又はL<sup>1</sup>部分に連結されるペイロードであり、各Bは、独立して、末端基R<sup>10</sup>であるか、又は、1)自己犠牲スペーサーSp1と、2)結合、又は-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-、C<sub>1-10</sub>アルキレン基、C<sub>4-10</sub>シクロアルキレン基、C<sub>4-10</sub>ヘテロシクリレン基及び-(CO)-から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせと、3)末端基R<sup>10</sup>との組み合わせであり、R<sup>10</sup>は、水素であるか又はペイロード中の基と反応する時に脱離できる基であり、R<sup>10</sup>は、Bとペイロードとの反応から生じる生成物分子には現れない構造部分を表す。

## 【0091】

一実施形態において、Mは水素又はLKa - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B Pであり、ここで各Bは、独立して、存在しないか、又は、1)自己犠牲スペーサーSp1と、2)結合、又は-CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-、C<sub>1-10</sub>アルキレン基及び-(CO)-から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせとの組み合わせである。好ましい一実施形態において、Mは水素又はLKa - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B Pであり、ここで各Bは、独立して、存在しないか、又は-NH-CH<sub>2</sub>-U-であるか、又は-NH-CH<sub>2</sub>-U-(CH<sub>2</sub>)<sub>g</sub>-(CO)-である。別の実施形態において、MはLKa - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B Pである。一実施形態において、LKa - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B P中のBは存在しない。一実施形態において、LKa - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B P中のBは、1)自己犠牲スペーサーSp1と、2)結

10

20

30

40

50

合、又は - C R<sup>1</sup> R<sup>2</sup> -、C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン基及び - ( C O ) - から選択される1つの二価基、又は2つ以上の前記二価基の組み合わせとの組み合わせである。一実施形態において、L K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B P中のBは、- N H - C H<sub>2</sub> - U - であるか又は - N H - C H<sub>2</sub> - U - ( C H<sub>2</sub> )<sub>g</sub> - ( C O ) - である。Uは、O、S又はNHであり、好ましくはO又はSである。一実施形態において、式(I)の化合物中のBは、アミド結合又はエステル結合又はエーテル結合を介してペイロードに連結される。

#### 【0092】

上述したように、式(I)の化合物中のBが末端基R<sup>10</sup>である場合、式(II)の化合物のB P構造中のBはそれに応じて存在しない。この場合、L<sup>1</sup>中の切断可能配列1がペイロードに連結されて式(II)の化合物が形成され、ここで切断可能配列1とペイロードとを連結して得られた分子中にはBが存在しないと理解されてもよい。したがって、一実施形態において、Pは、式(I)の化合物のL<sup>1</sup>部分に連結されて、式(II)の化合物が形成される。したがって、一実施形態において、MはL K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B Pであり且つBは存在せず、Mは、L K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> Pと表されてもよい。

10

#### 【0093】

##### ペイロード

本発明において、ペイロードは、小分子化合物、核酸及び核酸類似体、トレーサー分子(蛍光分子等を含む)、短ペプチド、ポリペプチド、ペプチド模倣物、及びタンパク質からなる群から選択され得る。一実施形態において、ペイロードは、小分子化合物、核酸分子、トレーサー分子からなる群から選択する。好ましい一実施形態において、ペイロードは小分子化合物から選択される。より好ましい実施形態において、ペイロードは、細胞毒素及びそのフラグメントからなる群から選択される。

20

#### 【0094】

一実施形態において、細胞毒素は、微小管細胞骨格を標的とする薬物からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、タキサン類、メイタンシノイド類、アウリスタチン類、エポチロン類(epothilones)、コンブレタスタチンA-4ホスフェート(combretastatin A-4 phosphate)、コンブレタスタチンA-4(combretastatin A-4)及びその誘導体、インドール-スルホンアミド類、ビンブラスチン(vinblastine)等のビンブラスチン類、ビクリスチン(vincristine)、ビンデシン(vindesine)、ビノレルピン(vinorelbine)、ピンフルニン(vinflunine)、ピングリシネート(vinglycinate)、無水ビンブラスチン(anhydrovinblastine)、ドラスタチン10(dolastatin 10)及びその類似体、ハリコンドリンB、エリブリン(eribulin)、インドール-3-オキサミド類、ポドフィロトキシン類、7-ジエチルアミノ-3-(2-ベンゾオキサゾリル)-クマリン(DBC)、ディスコデルモリド(discodermolide)、ラウリマライド(laullimalide)からなる群から選択される。別の実施形態において、細胞毒素は、例えば、カンプトテシン類及びその誘導体、ミトキサントロン、ミトグアゾン等のDNAトポイソメラーゼ阻害剤からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、例えば、クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド(cholophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロタミン、メクロタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベンピチン、フェナメット、フェネスチリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード等の窒素マスタード類からなる群から選択される。さらなる好ましい実施形態において、細胞毒素は、例えば、カルムスチン、フルベンズロン(flubenzuron)、ホルモテロール、ロムスチン、ニムスチン、ラムスチン等のニトロソウレア類からなる群から選択される。一実施形態において、細胞毒素は、アジリジン類からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレデパ、及びウレデパからなる群から選択される。一実施形態において、細胞毒素は、抗腫瘍抗生物質からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、エンジイン抗

30

40

50

生物質類からなる群から選択される。より好ましい一実施形態において、細胞毒素は、ダイネマイシン (dynemicin)、エスペラマイシン (esperamicin)、ネオカルチノスタチン、及びアクラシノマイシンからなる群から選択される。別の好ましい実施形態において、細胞毒素は、アクチノマイシン、アントラマイシン、プレオマイシン類、アクチノマイシンC、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、カルミノマイシン、アクチノマイシンD、ダウノルピシン、デトルピシン、アドリアマイシン、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシン類、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン素、ペプロマイシン、ピューロマイシン、鉄アドリアマイシン、ロドルピシン、ルフォクロモマイシン、ストレプトゾシン、ジノスタチン、ゾルピシンからなる群から選択される。さらなる好ましい実施形態において、細胞毒素は、トリコセシン類からなる群から選択される。より好ましい一実施形態において、細胞毒素は、T-2毒素、(ベルカリン) verracurin A、バシロクポリンA、及びアングジン (anguidine) からなる群から選択される。一実施形態において、細胞毒素は、抗腫瘍アミノ酸誘導体からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、ウベニメックス、アザセリン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシンからなる群から選択される。別の実施形態において、細胞毒素は、葉酸類似体からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、ジメチル葉酸、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート、及びエダトレキサートからなる群から選択される。一実施形態において、細胞毒素は、プリン類似体からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、及びチオグアニンからなる群から選択される。さらなる実施形態において、細胞毒素は、ピリミジン類似体からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、アンシタピン、ゲムシタピン、エノシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、及びフロクスウリジンからなる群から選択される。一実施形態において、細胞毒素は、アンドロゲン類から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、及びテストラクトンからなる群から選択される。別の実施形態において、細胞毒素は、抗副腎薬からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、アミノグルテチミド、ミトタン、及びトリロスタンからなる群から選択される。一実施形態において、細胞毒素は、抗アンドロゲン類からなる群から選択される。好ましい一実施形態において、細胞毒素は、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、酢酸リュープロレリン、及びゴセレリンからなる群から選択される。さらなる実施形態において、細胞毒素は、プロテインキナーゼ阻害剤及びプロテアソーム阻害剤からなる群から選択される。別の実施形態において、細胞毒素は、ピンブラスチン類、コルヒチン類、タキサン類、アウリスタチン類、メイタンシノイド類、カリケアミシン (calicheamicin)、ドキシソルピシン (doxonubicin)、デュオカルマイシン (duocarmucin)、SN-38、クリプトフィシン類似体 (cryptophycin analog)、デルクステカン (deruxtecane)、デュオカルマジン (duocarmazine)、カリケアミシン (calicheamicin)、センタナマイシン (centanamycin)、dolastansine、及びピロロベンゾジアゼピン (pyrrolobenzodiazepine) (PBD) からなる群から選択される。特定の一実施形態において、細胞毒素は、ピンブラスチン類、コルヒチン類、タキサン類、アウリスタチン類、及びメイタンシノイド類からなる群から選択される。

【0095】

特定の一実施形態において、細胞毒素は、例えばDX8951f等のエキサテカン (exatecan) 又はその誘導体である。

【0096】

特定の一実施形態において、細胞毒素は、例えばDM1等のメイタンシノイドである。なお、チオール基部分を含む細胞毒素を使用する時、チオール基部分は、マレイミド部分

10

20

30

40

50

と反応してチオスクシンイミド、例えばDM1等のメイタンシノイドを形成することができ、細胞毒素は、チオスクシンイミドを介して直接連結できることを注意すべきである。この場合、いくつかの実施形態において、ペイロードとチオール基部分が共同で細胞毒素を構成するため、この場合、ペイロードは、チオール基部分を除いた細胞毒素分子の残りの部分を表すことが理解可能である。

【0097】

特定の一実施形態において、細胞毒素は、例えばMMAE（モノメチルアウリスタチンE）、MMAF（モノメチルアウリスタチンF）、MMAD（モノメチルアウリスタチンD）等のアウリスタチン（auristatin）である。アウリスタチン化合物の合成及び構造はUS20060229253に開示されており、その開示内容の全ては参照により本明細書に組み込まれる。

10

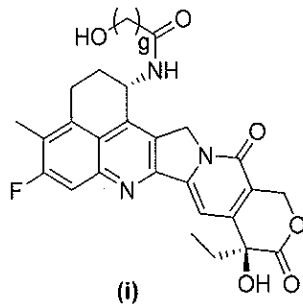
【0098】

ペイロードは、式(I)の化合物中の反応性基と反応することによりペイロードを式(I)の化合物と共有コンジュゲーションさせることができる反応性基を含む。反応性基を含まない化合物には、ペイロードを得るために適切な誘導体化が必要である。

【0099】

特定の一実施形態において、細胞毒素は次の式(i)の化合物である。

【化39】



20

式中、gは1～6の任意の整数であり、

一実施形態において、gは1～3の任意の整数であり、好ましくは1である。

30

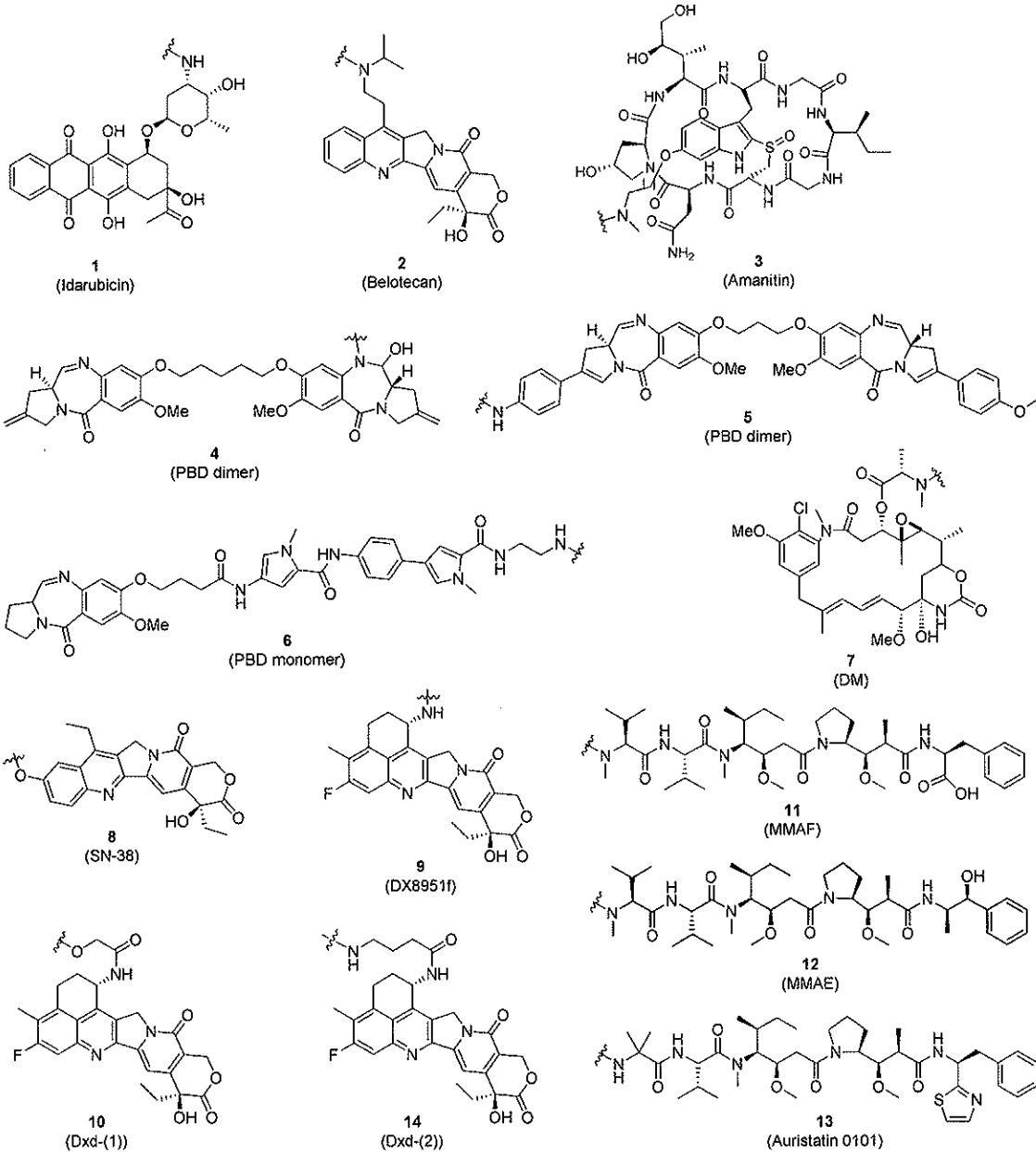
【0100】

一実施形態において、細胞毒素は次の化合物1～14から選択され、ここで波形結合は、式(I)の化合物との連結部位を表す。

40

50

【化40】



10

20

30

40

【0101】

いくつかの実施例において、ペイロードは、DX8951f（化合物9）、Dxd-(1)（化合物10）、及びDxd-(2)（化合物14）から選択され、好ましくはDX8951f又はDxd-(1)であり、より好ましくはDxd-(1)である。

【0102】

ペイロードを有する式(I)の化合物の調製

一実施形態において、連結ユニットとペイロードは、縮合反応、求核付加、求電子付加等を含むが、これらに限定されない、当分野で既知の任意の反応を用いて上記で定義した反応性基を介して連結される。

【0103】

一実施形態において、ペイロードは細胞毒素である。一実施形態において、連結ユニット-ペイロード中間体（番号はLBxである）は、次の表に示す通りである。

【0104】

50

【表 1】

式 (I I) の化合物	リンカー	リンカー構造式	i と j の値 (該当する場合) *	ペイロード
LB301-1-1	LA301-1-1	LA301-1	—	化合物 10
LB301-2-1	LA301-2-1	LA301-2	i は 4 である	化合物 10
LB301-3-1	LA301-3-1	LA301-3	i 1 は 4 であり、i 2 は 4 である	化合物 10
LB301-4-1	LA301-4-1	LA301-4	i 1、i 2、i 3 の各々は 4 である	化合物 10
LB301-5-1	LA301-5-1	LA301-5	i 1、i 2、i 3 及び i 4 の各々は 4 である	化合物 10
LB302-1-1	LA302-1-1	LA302-1	j は 8 である	化合物 10
LB302-1-4	LA302-1-4	LA302-1	j は 12 である	化合物 10
LB302-2-1	LA302-2-1	LA302-2	i は 4 であり、j は 8 である	化合物 10
LB302-2-4	LA302-2-4	LA302-2	i は 4 であり、j は 12 である	化合物 10
LB302-3-1	LA302-3-1	LA302-3	i 1 は 4 であり、i 2 は 4 であり、j は 8 である	化合物 10
LB302-3-4	LA302-3-4	LA302-3	i 1 は 4 であり、i 2 は 4 であり、j は 12 である	化合物 10
LB302-4-1	LA302-4-1	LA302-4	i 1、i 2、i 3 の各々は 4 であり、j は 8 である	化合物 10
LB302-4-4	LA302-4-4	LA302-4	i 1、i 2、i 3 の各々は 4 であり、j は 12 である	化合物 10

\* : 列挙されている全てのリンカーについて、n は 3 である。

## 【0105】

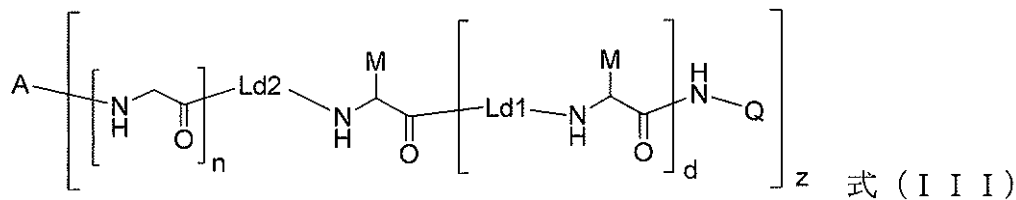
コンジュゲート及びその調製

さらに、リガーゼ認識配列を含む部分を有する、ペイロードを有する式 (I) の化合物は、リガーゼ認識配列を含む他の分子とコンジュゲーションすることができるため、例えば抗体 - 薬物コンジュゲート等の標的化分子 - 薬物コンジュゲートの調製に用いることができる。したがって、さらなる態様では、本発明は、式 (I) の化合物、標的化分子及びペイロードを含むコンジュゲートを提供する。

## 【0106】

さらなる態様では、本発明は、式 (I I I) の構造を有するコンジュゲートを提供し、

## 【化 4 1】



式中、

n、d、Ld1 及び Ld2 は式 (I) に定義した通りであり、

Q は水素又は L K b P であり、

M は水素又は L K a - L K b P であり、

ただし、Q と M が同時に水素でないことを条件とし、

P は、式 (I) の化合物の B 部分又は L<sup>1</sup> 部分に連結されるペイロードであり、

A は、式 (I) の化合物の G<sub>n</sub> 部分に連結される標的化分子であり、G はグリシンであり、

z は 1 ~ 20 の整数である。

## 【0107】

一実施形態において、L K a と L K b は式 ( I ) に定義した通りである。

## 【0108】

上記で定義したように、一実施形態において、式 ( I ) の化合物の G<sub>n</sub> 部分は、リガーゼ受容体又は供与体基質の認識配列であり、リガーゼの触媒作用下で式 ( I ) の化合物と標的化分子との酵素触媒カップリングを促進するものである。標的化分子は任意に修飾され、リガーゼ受容体又は供与体基質の対応する認識配列を含む。

## 【0109】

なお、標的化分子 A と式 ( I ) の化合物の G<sub>n</sub> 部分とがリガーゼの触媒作用下でコンジュゲーションする時、リガーゼ受容体基質認識配列とリガーゼ供与体基質認識配列は反応して対応する生成物配列を得ることを理解すべきである。

10

## 【0110】

一実施形態において、標的化分子 A は、リガーゼの供与体基質認識配列 L P X T G J を含み、ここで J は上記で定義した通りである。リガーゼの受容体基質の対応する認識配列 G<sub>n</sub> とコンジュゲーションする時、L P X T G J 配列中のグリシンの上流ペプチド結合がソルターゼ A によって切断され、生成された中間体が G<sub>n</sub> の遊離 N 末端に連結されて新しいペプチド結合が生成される。得られたアミノ酸配列は L P X T G<sub>n</sub> である。配列 G<sub>n</sub> と L P X T G J は上記で定義した通りである。

## 【0111】

一実施形態において、P は式 ( I ) の化合物の B 部分又は L<sup>1</sup> 部分に連結され、A は式 ( I ) の化合物の G<sub>n</sub> 部分に連結され、式 ( I I I ) の化合物が形成される。

20

## 【0112】

上述したように、式 ( I I I ) の化合物の B P 構造には R<sup>10</sup> が現れない。上述したように、式 ( I ) の化合物中の B が末端基 R<sup>10</sup> である時、式 ( I I I ) の化合物の B P 構造中の B はそれに応じて存在しない。

## 【0113】

上述したように、式 ( I I I ) の化合物の A G<sub>n</sub> 構造において、A は、リガーゼ受容体基質認識配列とリガーゼ供与体基質認識配列との反応から得られた対応する生成物配列を任意に含む。

## 【0114】

一実施形態において、M は水素又は L K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B P であり、ここで P は、式 ( I ) の化合物の B 部分又は L<sup>1</sup> 部分に連結されるペイロードであり、各 B は、独立して、末端基 R<sup>10</sup> であるか、又は、1) 自己犠牲スペーサー S p 1 と、2) 結合、又は - C R<sup>1</sup> R<sup>2</sup> -、C<sub>1-10</sub> アルキレン基、C<sub>4-10</sub> シクロアルキレン基、C<sub>4-10</sub> ヘテロシクリレン基及び - ( C O ) - から選択される 1 つの二価基、又は 2 つ以上の前記二価基の組み合わせと、3) 末端基 R<sup>10</sup> との組み合わせであり、R<sup>10</sup> は、水素であるか又はペイロード中の基と反応する時に脱離できる基であり、R<sup>10</sup> は、B とペイロードとの反応から生じる生成物分子には現れない構造部分を表す。

30

## 【0115】

一実施形態において、M は水素又は L K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B P であり、ここで各 B は、独立して、存在しないか、又は、1) 自己犠牲スペーサー S p 1 と、2) 結合、又は - C R<sup>1</sup> R<sup>2</sup> -、C<sub>1-10</sub> アルキレン基及び - ( C O ) - から選択される 1 つの二価基、又は 2 つ以上の前記二価基の組み合わせとの組み合わせである。好ましい一実施形態において、M は水素又は L K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B P であり、ここで各 B は、独立して、存在しないか、又は - N H - C H<sub>2</sub> - U - であるか、又は - N H - C H<sub>2</sub> - U - ( C H<sub>2</sub> )<sub>g</sub> - ( C O ) - である。別の実施形態において、M は、L K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B P である。一実施形態において、L K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B P 中の B は存在しない。一実施形態において、L K a - L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B P 中の B は、1) 自己犠牲スペーサー S p 1 と、2) 結合、又は - C R<sup>1</sup> R<sup>2</sup> -、C<sub>1-10</sub> アルキレン基及び - ( C O ) - から選択される 1 つの二価基、又は 2 つ以上の前記二価基の組み合わせとの組み合わせである。一実施形態

40

50



において、 $LKa - L^2 - L^1 - B - P$ 中のBは、 $-NH - CH_2 - U -$ であるか又は $-NH - CH_2 - U - (CH_2)_g - (CO) -$ である。Uは、O、S又はNHであり、好ましくはO又はSである。一実施形態において、式(I)の化合物中のBは、アミド結合又はエステル結合又はエーテル結合を介してペイロードに連結される。一実施形態において、Mは $LKa - L^2 - L^1 - B - P$ であり且つBは存在せず、Mは $LKa - L^2 - L^1 - P$ と表されてもよい。

【0116】

標的化分子

一実施形態において、標的化分子は、抗体又はその抗原結合フラグメントである。

【0117】

一実施形態において、標的化分子は、抗ヒトHER2抗体又はその抗原結合フラグメントである。抗ヒトHER2抗体の例としては、ペルツズマブ(Pertuzumab)及びトラスツズマブ(Trastuzumab)を含むが、これらに限定されない。ペルツズマブは、HER2の2番目の細胞外ドメイン(ECD2)に結合し、HER2陽性乳癌の治療用に承認されている。トラスツズマブは、HER2の4番目の細胞外ドメイン(ECD4)に結合し、HER2陽性の乳癌及び胃癌の治療用に承認されている。

【0118】

好ましい一実施形態において、抗ヒトHER2抗体は、トラスツズマブに基づいて操作された抗HER2抗体から選択される1つ又は複数である。

【0119】

好ましい一実施形態において、抗ヒトHER2抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、抗体フラグメント及び抗体模倣物から選択される組換え抗体である。一実施形態において、抗体模倣物は、scFv、ミニボディ、ダイアボディ、ナノボディから選択される。式(I)の化合物とのコンジュゲーションについて、本発明の標的化分子は、式(I)の化合物中のD1又はD2に連結するための修飾部分を含み得る。このような修飾部分の導入位置は限定されず、例えば、標的化分子が抗体である時、その導入位置は、抗体の重鎖又は軽鎖のC末端又はN末端であってもよいが、これらに限定されない。

【0120】

選択的な一実施形態において、式(I)の化合物中のD1又はD2とのコンジュゲーションのための修飾部分は、例えば化学修飾方法を使用して抗体の重鎖又は軽鎖の非末端位置に導入することができる。

【0121】

一実施形態において、本発明の標的化分子は、末端修飾を含み得る抗体又はその抗原結合フラグメントである。末端修飾とは、抗体の重鎖又は軽鎖のC末端又はN末端における修飾を指し、該修飾は、例えばリガーゼ認識配列を含む。別の実施形態において、末端修飾は、2~100個のアミノ酸を含むスペーサーSp2をさらに含んでもよく、ここで抗体、Sp2及びリガーゼ認識配列は順に連結される。好ましい一実施形態において、Sp2は、2~20個のアミノ酸を含むスペーサー配列である。特定の一実施形態において、Sp2は、GA、GGGGS、GGGGSGGGGS及びGGGGSGGGGSから選択されるスペーサー配列であり、特にGAである。

【0122】

好ましい一実施形態において、前記抗体又はその抗原結合フラグメントの軽鎖は、野生型(LC)と、リガーゼ認識配列LPXTGを直接導入することによって修飾されるC-末端修飾軽鎖(LCCT)と、短いペプチドスペーサー及びリガーゼ供与体基質認識配列LPXTGを導入することによって修飾されるC-末端修飾軽鎖(LCCTL)との3つの種類を含む。抗体又はその抗原結合フラグメントの重鎖は、野生型(HC)と、リガーゼ認識配列LPXTGを直接導入することによって修飾されるC-末端修飾重鎖(HCCT)と、短いペプチドスペーサー及びリガーゼ供与体基質認識配列LPXTGを導入することによって修飾されるC-末端修飾重鎖(HCCTL)との3つの種類を含む。Xは、任意の天然又は非天然の単一のアミノ酸であり得る。式(VII)の化合物中のzが1又

10

20

30

40

50

は2である場合、上記重鎖と軽鎖の組み合わせは、アミノ酸配列表に示すように、8つの好ましい抗体分子を形成することができる。

【0123】

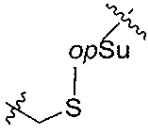
本発明のコンジュゲートは、ペイロードをさらに含んでもよい。ペイロードは上述した通りである。

【0124】

コンジュゲートの具体的な実施形態

一実施形態において、Qは水素であり、各LKaは

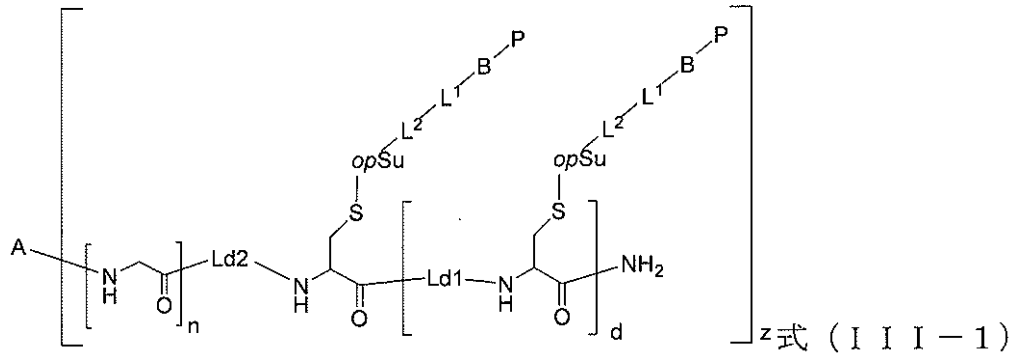
【化42】



10

である。一実施形態において、式(III)の化合物は、式(III-1)の構造を有する。

【化43】



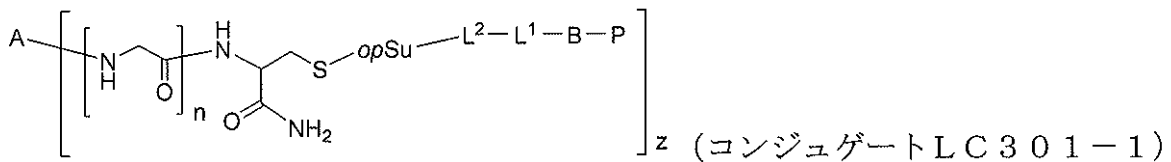
20

30

【0125】

一実施形態において、Ld2は結合であり、dは0である。一実施形態において、式(III-1)の化合物は次の通りである。

【化44】

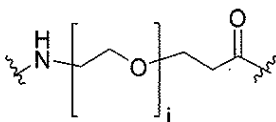


40

【0126】

一実施形態において、dは0であり、Ld2は

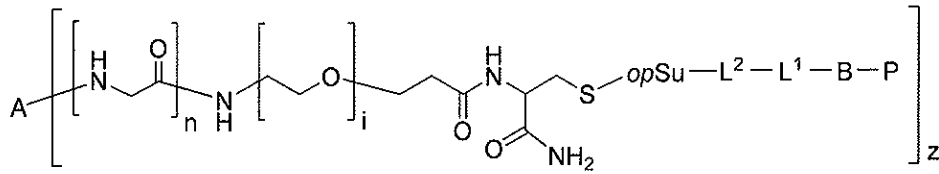
【化45】



である。一実施形態において、式(III-1)の化合物は次の通りである。

50

【化 4 6】



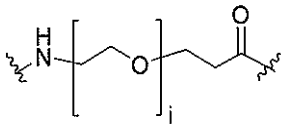
(コンジュゲート LC301-2)

10

【0127】

一実施形態において、d は 1、2 又は 3 であり、L<sub>d2</sub> と各 L<sub>d1</sub> は、独立して、

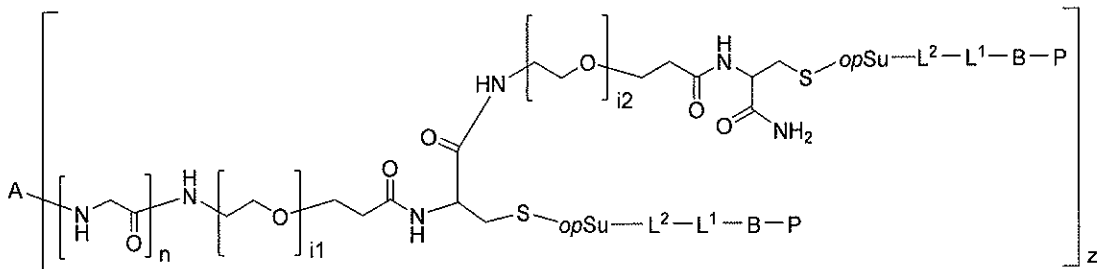
【化 4 7】



から選択される。一実施形態において、式 (III-1) の化合物は次の通りである。

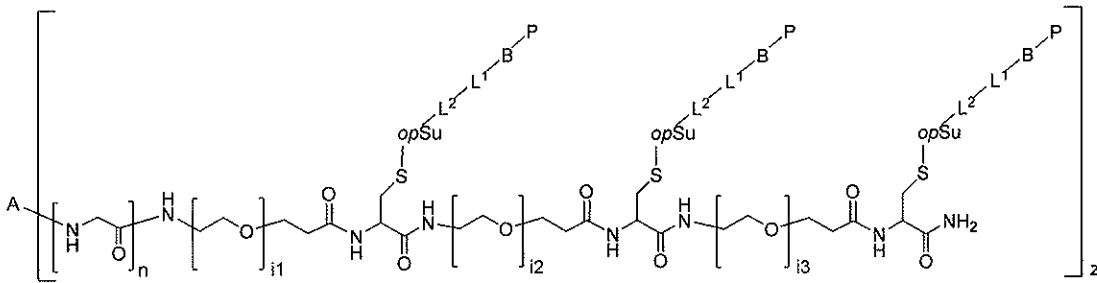
20

【化 4 8】



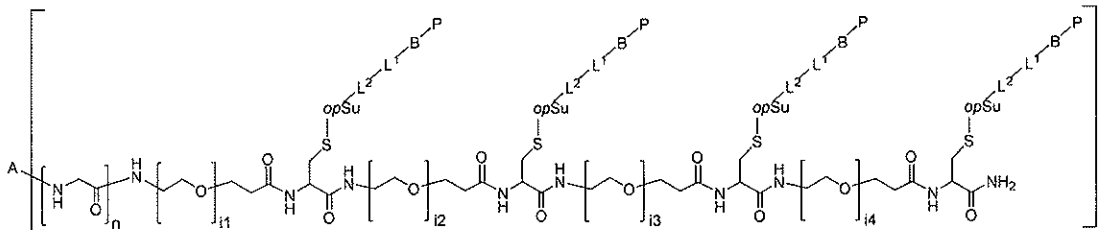
(コンジュゲート LC301-3)

30



(コンジュゲート LC301-4)

40

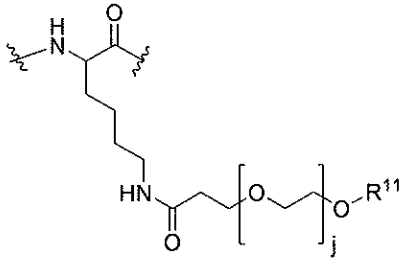


(コンジュゲート LC301-5)

【0128】

50

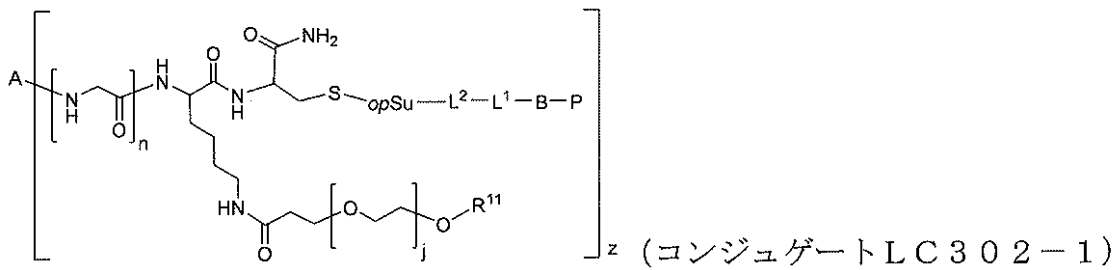
一実施形態において、L d 2 は  
【化 4 9】



10

であり、d は 0 である。一実施形態において、式 ( I I I - 1 ) の化合物は次の通りである。

【化 5 0】

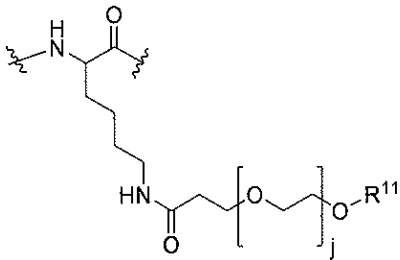


20

【 0 1 2 9】

一実施形態において、d は 1、2 又は 3 であり、L d 2 は

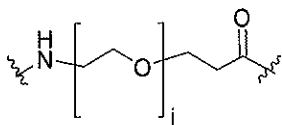
【化 5 1】



30

であり、各 L d 1 は、独立して、

【化 5 2】

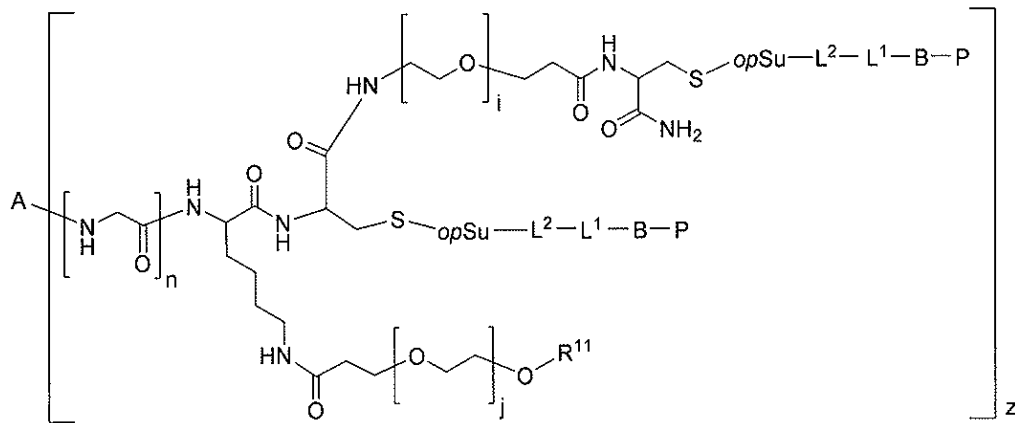


40

から選択される。一実施形態において、式 ( I I I - 1 ) の化合物は次の通りである。

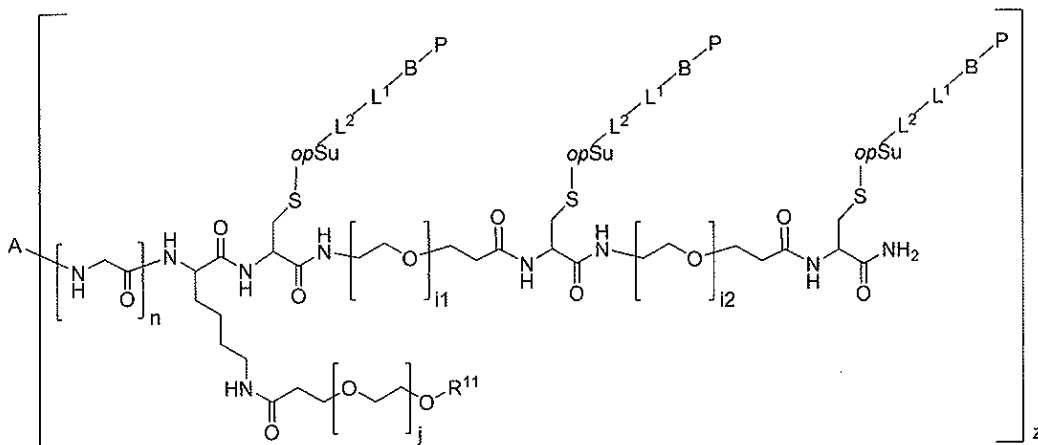
50

## 【化 5 3】



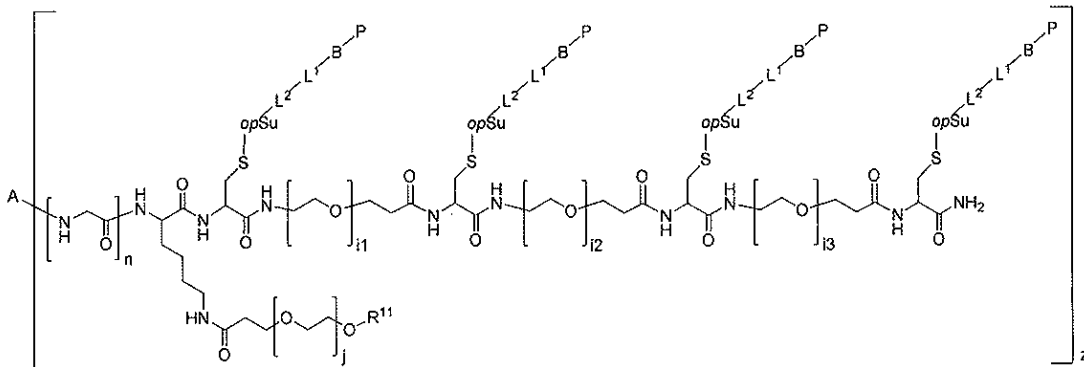
(コンジュゲート LC302-2)

10



(コンジュゲート LC302-3)

20



(コンジュゲート LC302-4)。

30

40

## 【0130】

一実施形態において、 $z$  は 1 ~ 4 である。一実施形態において、 $z$  は 2 又は 4 である。  
 一実施形態において、 $z$  は 2 である。一実施形態において、コンジュゲート LC301-1、LC301-2、LC302-1 において、 $z$  は 2 又は 4 である。一実施形態において、コンジュゲート LC301-3、LC301-4、LC301-5、LC302-2、LC302-3 及び LC302-4 において、 $z$  は 2 である。

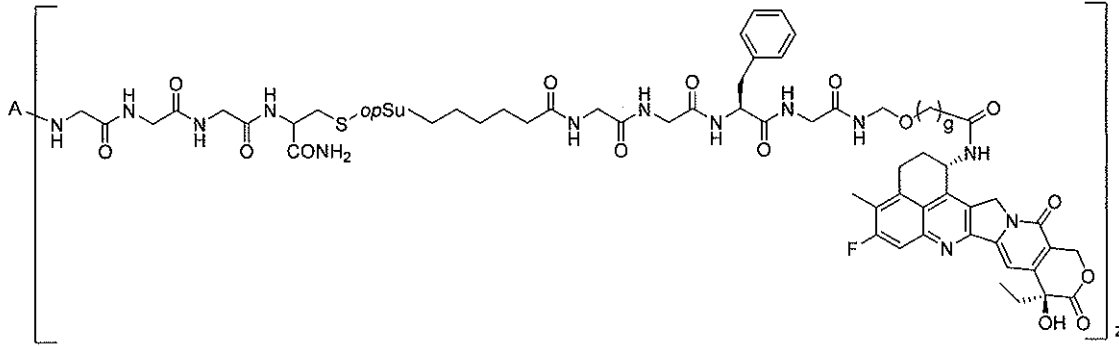
## 【0131】

一実施形態において、式 (I) の化合物中の B は末端基  $R^{10}$  であり、 $L^1$  中の切断可能配列 1 はペイロードに連結されて式 (II) の化合物が形成され、ここで切断可能配列

50

1 とペイロードとを連結して得られた分子には B が存在しない。この場合、M は  $L^1 K a - L^2$   $L^1$  B P であり且つ B は存在しないと理解されてもよい。この場合、M は、 $L^1 K a - L^2$   $L^1$  P と表されてもよい。一実施形態において、n は 3 であり、 $L^2$  は  $-(CH_2)_p - (CH_2)_2 (CO) -$  であり、p は 3 であり、 $L^1$  は GGFG であり、B は、 $-NH - CH_2 - U -$  であるか又は存在しないか又は  $-NH - CH_2 - U - (CH_2)_g - (CO) -$  であり、U は O であり、g は 1 である。一実施形態において、コンジュゲート LC301-1 は次の構造を有する。

【化 5 4】



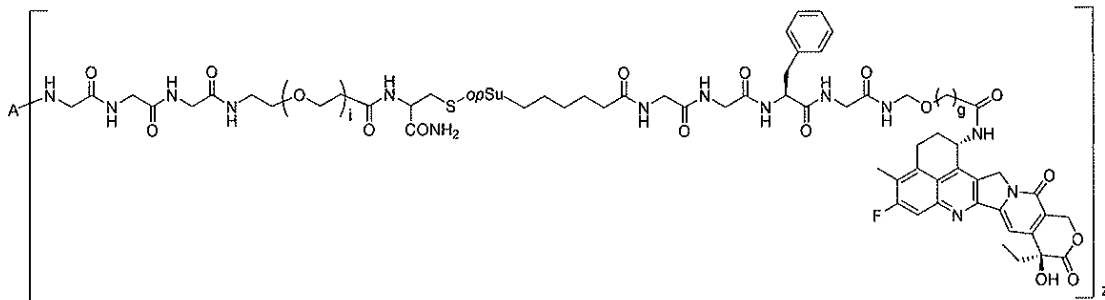
10

20

【0132】

一実施形態において、コンジュゲート LC301-2 は次の構造を有する。

【化 5 5】

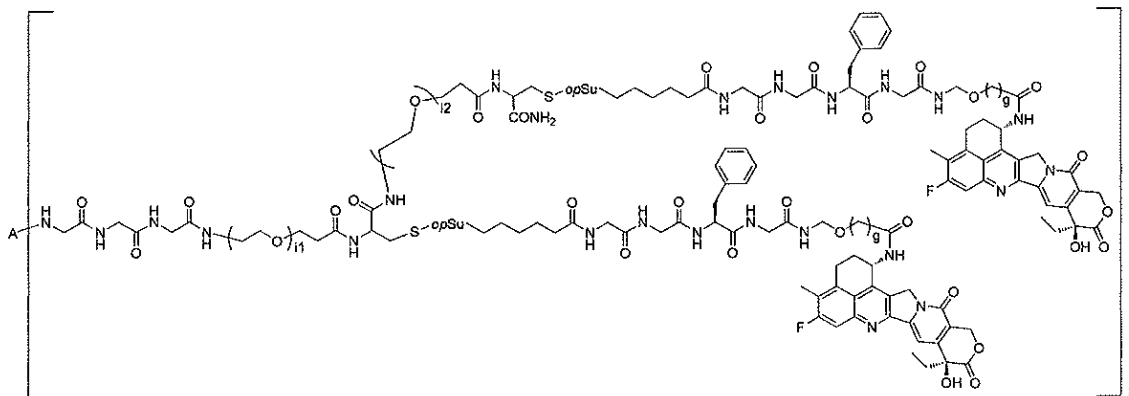


30

【0133】

一実施形態において、コンジュゲート LC301-3 は次の構造を有する。

【化 5 6】



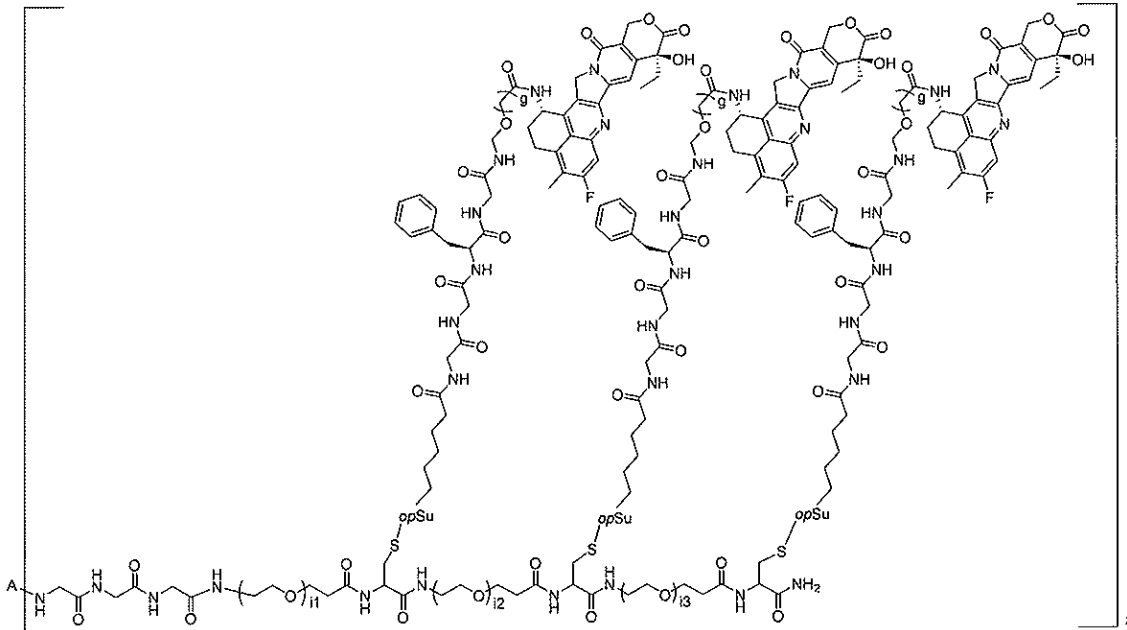
40

【0134】

50

一実施形態において、コンジュゲート LC 3 0 1 - 4 は次の構造を有する。

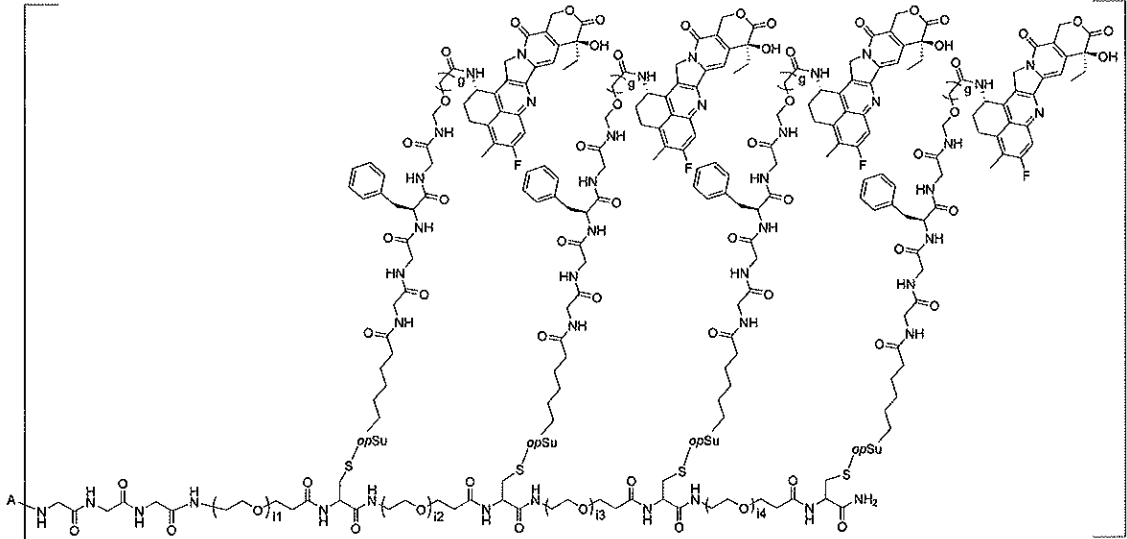
【化 5 7】



【 0 1 3 5】

一実施形態において、コンジュゲート LC 3 0 1 - 5 は次の構造を有する。

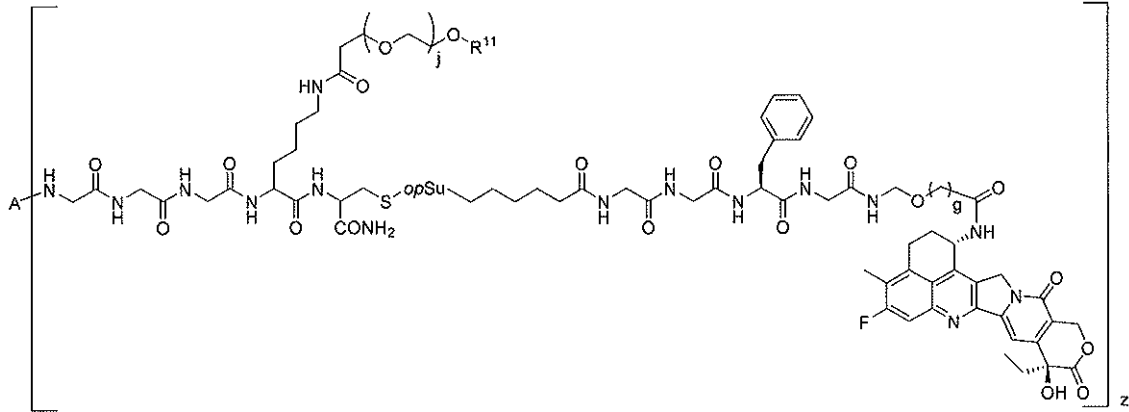
【化 5 8】



【 0 1 3 6】

一実施形態において、コンジュゲート LC 3 0 2 - 1 は次の構造を有する。

## 【化 5 9】

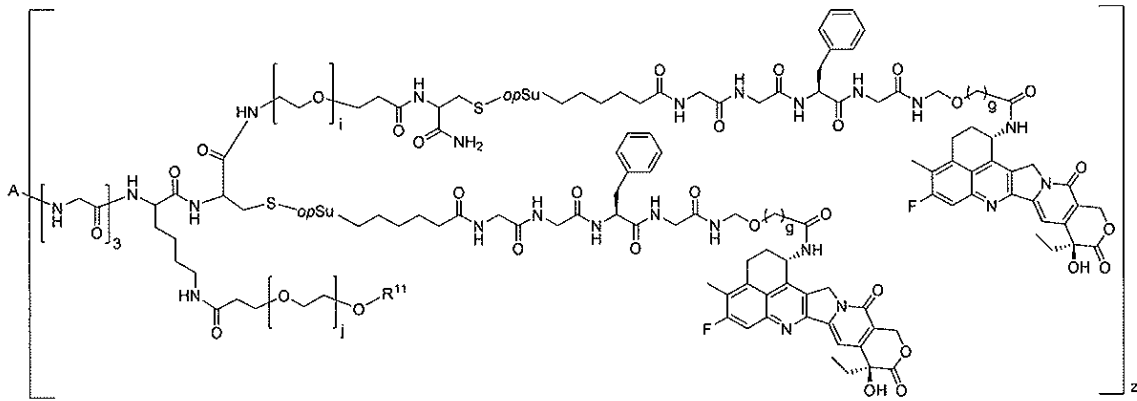


10

## 【 0 1 3 7】

一実施形態において、コンジュゲート LC 302 - 2 は次の構造を有する。

## 【化 6 0】



20

30

## 【 0 1 3 8】

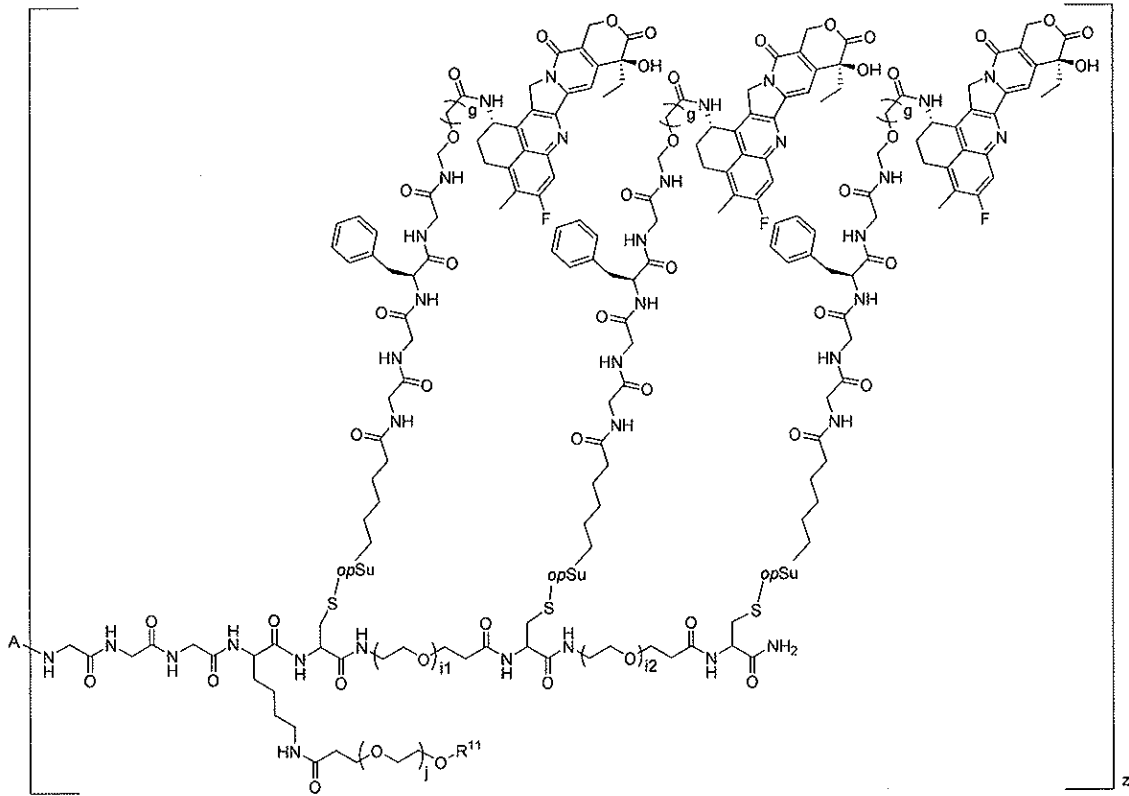
一実施形態において、コンジュゲート LC 302 - 3 は次の構造を有する。

40

50



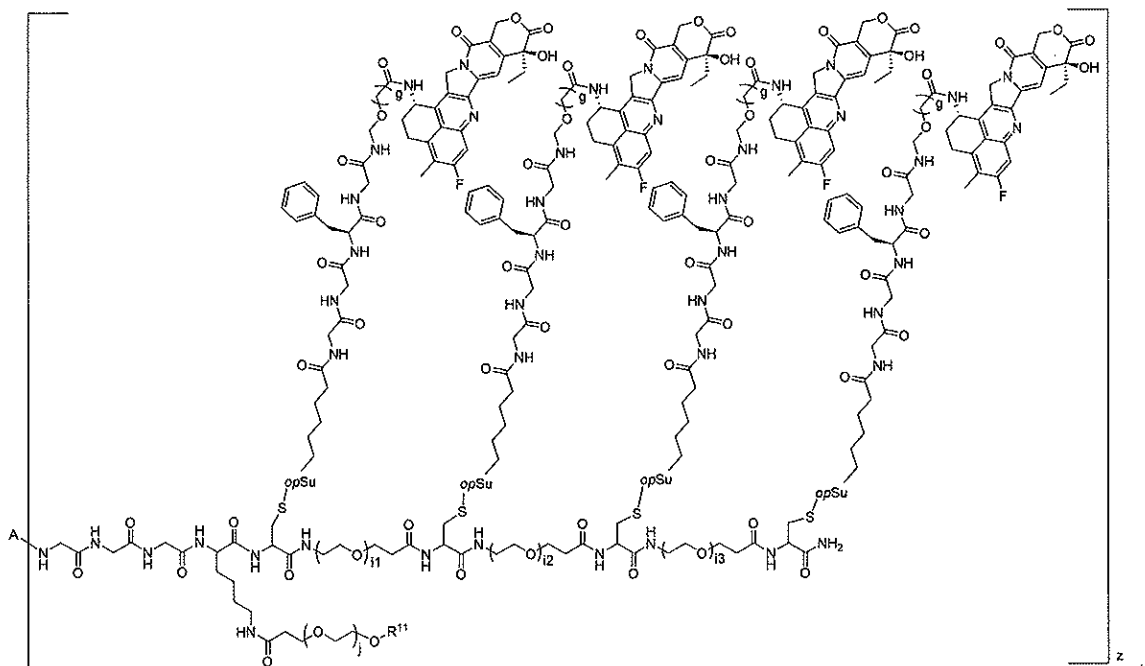
【化 6 1】



【 0 1 3 9】

一実施形態において、コンジュゲート LC 302 - 4 は次の構造を有する。

【化 6 2】



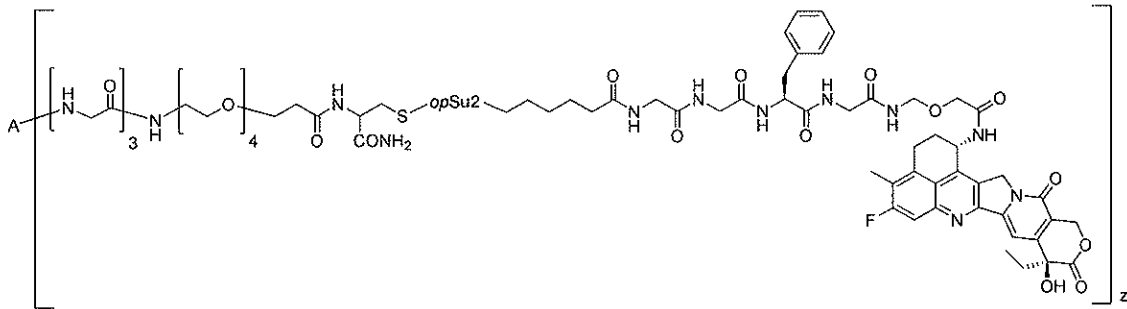
【 0 1 4 0】

一実施形態において、i は 4 であり、g は 1 であり、R<sup>11</sup> はメチル基である。

## 【0141】

一実施形態において、コンジュゲートLC301-2は、次のコンジュゲートLC301-2-1に示す通りである。

## 【化63】



10

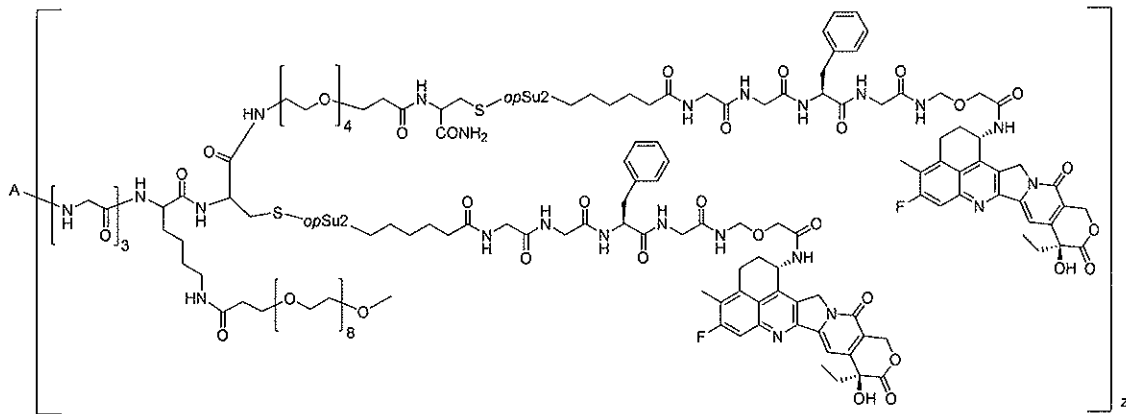
(コンジュゲートLC301-2-1)

## 【0142】

一実施形態において、 $i$  は4であり、 $j$  は8であり、 $g$  は1であり、 $R^{11}$  はメチル基である。一実施形態において、コンジュゲートLC302-2は、次のコンジュゲートLC302-2-1に示す通りである。

20

## 【化64】



30

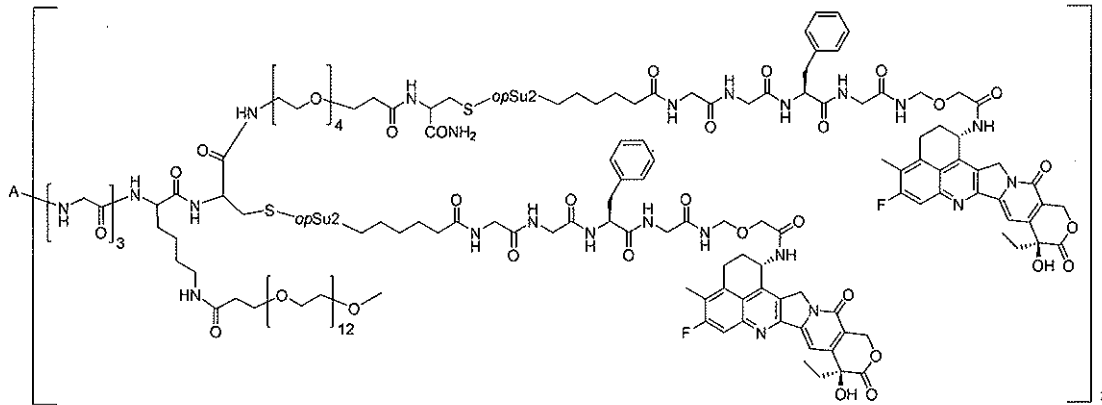
(コンジュゲートLC302-2-1)

## 【0143】

一実施形態において、 $i$  は4であり、 $j$  は12であり、 $g$  は1であり、 $R^{11}$  はメチル基である。一実施形態において、コンジュゲートLC302-2は、次のコンジュゲートLC302-2-4に示す通りである。

40

## 【化 6 5】



10

(コンジュゲート LC302-2-4)

## 【0144】

## コンジュゲートの調製

本発明のコンジュゲートは、当分野で既知の任意の方法によって調製することができる。いくつかの実施形態において、コンジュゲートは、標的化分子とペイロードを有する式 (I) の化合物とのリガーゼ触媒下での部位特異的なコンジュゲーションによって調製され、ここで標的化分子はリガーゼ認識配列によって修飾される。前記方法はステップ A とステップ B を含む。

20

## 【0145】

## ステップ A . 連結ユニット - ペイロード中間体の調製

好ましい一実施形態において、式 (I) の化合物中の B は、反応性基を介して別の反応性基を含むペイロードに共有連結される。

## 【0146】

本発明の式 (I) の化合物を用いて調製された連結ユニット - ペイロード中間体は、構造が明確で、組成が明確で、純度が高いため、抗体とのカップリング反応時、導入される不純物が少ないか又は他の不純物が導入されない。このような中間体を、リガーゼ認識配列を含む修飾抗体とのリガーゼ触媒下での部位特異的なコンジュゲーションに用いると、高度に制御可能な品質を有する均質な ADC が得られる。

30

## 【0147】

## ステップ B . 標的化分子を、ペイロードを有する式 (I) の化合物に連結する

本発明の標的化分子は、当分野で既知の任意の方法によってペイロードを有する式 (I) の化合物 (即ち式 (II) の化合物) にコンジュゲーションすることができる。

## 【0148】

標的化分子とペイロードを有する式 (I) の化合物は、基質のリガーゼ特異的認識配列を介して互いに連結される。認識配列は、使用される特定のリガーゼに依存する。一実施形態において、標的化分子は、軽鎖及び / 又は重鎖の C 末端に認識配列に基づく末端修飾が導入された抗体であり、標的化分子と式 (II) の化合物は、野生型又は最適化された操作リガーゼ又はそれらの任意の組み合わせの触媒作用及び適切な触媒反応条件下でコンジュゲーションする。

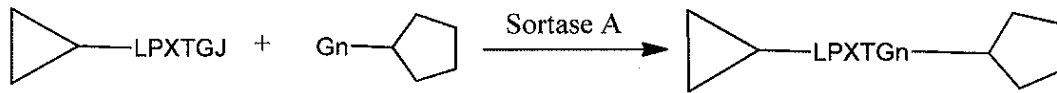
40

## 【0149】

具体的な一実施形態において、リガーゼはソルターゼ A であり、コンジュゲーション反応は次の解決手段で表すことができる。

50

## 【化 6 6】



三角形は抗体の一部を表し、五角形は式 ( I I ) の化合物の一部を表す。n、X及びJはそれぞれ上記で定義した通りである。受容体基質の対応する認識配列G<sub>n</sub>とコンジュゲーションする時、LPXTGJ配列中のグリシンの上流ペプチド結合がソルターゼAによって切断され、生成された中間体がG<sub>n</sub>の遊離N末端に連結されて新しいペプチド結合が生成される。得られたアミノ酸配列はLPXTG<sub>n</sub>である。配列G<sub>n</sub>とLPXTGJは上記で定義した通りである。

10

## 【0150】

生理学的環境におけるコンジュゲートの代謝

腫瘍細胞中の一部又は全てのリンカーが切断されると、抗腫瘍化合物部分が放出されて抗腫瘍化合物の抗腫瘍作用が示される。リンカーは薬物との連結位置で切断されるため、抗腫瘍化合物はそれ自体固有の構造で放出されて固有の抗腫瘍作用が示される。

## 【0151】

一実施形態において、切断可能配列1 (例えば、GGFG)は、リソソーム酵素 (例えば、カテプシンB及び/又はカテプシンL)によって切断することができる。

20

## 【0152】

一実施形態において、Sp1は自己犠牲スペーサーを含む。一実施形態において、Sp1は、PABC、アセタール又はヘテロアセタールを含む。一実施形態において、L<sup>1</sup>はGGFGである。一実施形態において、リンカーは-GGFG-NH-CH<sub>2</sub>-O-を含む。一実施形態において、-GGFG-NH-CH<sub>2</sub>-O-は、制限酵素部位と自己犠牲スペーサーの組み合わせを表し、細胞中で切断されて目標分子 (例えば、薬物)を放出する。

## 【0153】

具体的なコンジュゲートの表

一実施形態において、ペイロードは細胞毒素又はそのフラグメントである。一実施形態において、抗体は修飾トラスツマブ、好ましくは、Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HC (軽鎖SEQ ID NO: 1、重鎖: SEQ ID NO: 2)又はAb0001-LCCT<sub>L</sub>-HCCT<sub>L</sub> (軽鎖SEQ ID NO: 3、重鎖: SEQ ID NO: 4)である。Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HCとAb0001-LCCT<sub>L</sub>-HCCT<sub>L</sub>の配列は、いずれもAb0001 (トラスツマブ)のアミノ酸配列に基づいており、軽鎖のC末端にGALPETGG (Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HC)が導入されるか、又は軽鎖と重鎖のC末端にGALPETGG (Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HCCT<sub>L</sub>)が導入され、ここでLPETGGはリガーゼ供与体基質の認識配列であり、GAはスペーサー配列である。Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HCCT<sub>L</sub>において、Ab0001の重鎖のC末端のリジンは、SEQ ID NO: 4のように維持してもよいし、又はGALPETGGが導入される前に除去してもよい (結果の配列は配列リストに示されていない)。一実施形態において、抗体-薬物コンジュゲートは、次の表に示す通りである。

30

40

## 【0154】

ADCの命名法: 括弧内の数字は、抗体に連結することが意図されるペイロード (薬物)分子の数を表す。

【表 2】

ADC	リンカー-ペイロード構造式	ペイロード	A (標的化分子)
LC301-1-1(2)	LB301-1-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC301-1-1(4)	LB301-1-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HCCT <sub>L</sub>
LC301-2-1(2)	LB301-2-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC301-2-1(4)	LB301-2-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HCCT <sub>L</sub>
LC301-3-1(4)	LB301-3-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC301-4-1(6)	LB301-4-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC301-5-1(8)	LB301-5-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-1-1(2)	LB302-1-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-1-1(4)	LB302-1-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HCCT <sub>L</sub>
LC302-1-4(2)	LB302-1-4	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-1-4(4)	LB302-1-4	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HCCT <sub>L</sub>
LC302-2-1(4)	LB302-2-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-2-4(4)	LB302-2-4	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-3-1(6)	LB302-3-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-3-4(6)	LB302-3-4	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-4-1(8)	LB302-4-1	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-4-4(8)	LB302-4-4	化合物 10	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC

10

20

## 【0155】

## 医薬組成物及び薬物製剤

本発明のさらなる目的は、予防的又は治療的に有効な量の本発明のコンジュゲート、及び少なくとも1つの薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供することである。

## 【0156】

本発明の医薬組成物は、ヒト又は動物の症状を予防、緩和、防止又は治癒する効果が達成される限り、いかなる方法で投与することができる。例えば、投与経路に応じて様々な適切な剤形、特に注射用凍結乾燥粉末、注射剤又は注射用滅菌粉末等の注射剤を調製することができる。

30

## 【0157】

用語「薬学的に許容される」とは、通常の医学的判断の範囲内で患者の組織と接触した時、不当な毒性、刺激性又はアレルギー反応等がなく、メリットとデメリットの比率が合理的であり、意図された用途に有効であることを意味する。

## 【0158】

用語「薬学的に許容される担体」とは、薬学的に許容され、コンジュゲートの生物活性と特性を妨げない担体材料を指す。水性担体の例としては、緩衝生理食塩水等を含むが、これに限定されない。薬学的に許容される担体は、例えばpH調整剤と緩衝剤、毒性調整剤等の組成物を生理的条件に近づける担体物質、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウム等をも含む。

40

## 【0159】

一実施形態において、本発明の医薬組成物の薬物対抗体比(DAR)は、1~20の整数又は非整数であり、例えば、約1~約10、約1~約8、約1~約6、約1~約4、約1~約3、約1~約2.5、約1~約2である。特定の一実施形態において、本発明のコンジュゲートのDARは約2、約4、約6又は約8である。

## 【0160】

## 治療方法及び用途

本発明のコンジュゲートは、腫瘍及び/又は自己免疫疾患の治療に用いることができる。コンジュゲート治療に敏感な腫瘍は、特定の腫瘍関連抗原又は細胞表面受容体の特徴とする腫瘍を含み、これらの腫瘍細胞はコンジュゲート中の標的化分子によって認識され、

50

さらにコンジュゲート中のペイロード / 細胞毒素によって死滅され得る。

【 0 1 6 1 】

したがって、さらなる態様では、本発明は、疾患、病症又は病状を治療する薬物の製造における、本発明のコンジュゲート又は本発明の医薬組成物の用途をさらに提供し、前記疾患、病症又は病状は、腫瘍又は自己免疫疾患から選択される。

【 0 1 6 2 】

別の態様では、本発明は、腫瘍又は自己免疫疾患の治療における本発明のコンジュゲート又は本発明の医薬組成物の用途を提供する。

【 0 1 6 3 】

さらなる態様では、本発明、必要とする個体に有効量の本発明のコンジュゲート又は本発明の医薬組成物を投与することを含む、腫瘍又は自己免疫疾患を治療する方法を提供する。

10

【 0 1 6 4 】

好ましい一実施形態において、本発明で提供される抗ヒトHER2抗体と小分子細胞毒素とを連結して形成されたコンジュゲートは、腫瘍細胞表面のHER2に特異的に結合し、HER2発現の腫瘍細胞を選択的に死滅させることができる。別の好ましい一実施形態において、本発明は、疾患、病症又は病状を治療する薬物の製造における本発明のコンジュゲート又は本発明の医薬組成物の用途を提供し、前記疾患、病症又は病状は、HER2陽性の腫瘍から選択される。より好ましい実施形態において、前記疾患、病症又は病状は、乳癌、胃癌、肺癌、卵巣癌及び尿路上皮癌等からなる群から選択される。

20

【 0 1 6 5 】

被験者に投与されるコンジュゲートの投与量は大きい範囲で調整することができる。投与量は、医療専門家の判断の上で、具体的な投与経路及び被験者のニーズに応じて変化することができる。

【 0 1 6 6 】

上述したように、本発明の実施形態はさらに、次の [ 1 ] ~ [ 1 7 ] を挙げることができる。

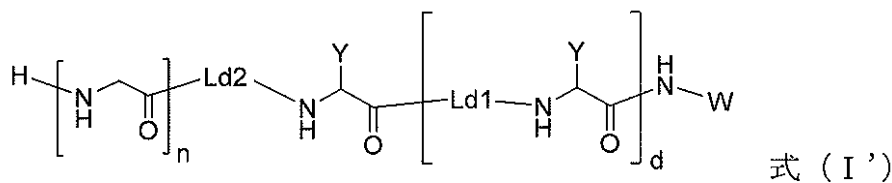
【 0 1 6 7 】

[ 1 ]

式 ( I ' ) の化合物であって、

30

【 化 6 7 】



式中、

Wは水素又はL K bであり、

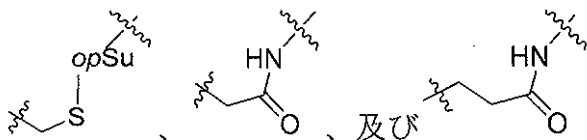
40

Yは水素又はL K a - L K bであり、

ただし、WとYが同時に水素でないことを条件とし、

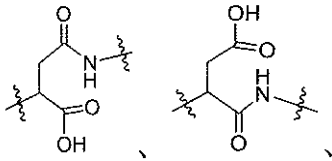
各L K aは、独立して、

【 化 6 8 】



50

から選択され、  
 o p S u は、  
 【化 6 9】



10

又はそれらの混合物であり、

各 L K b は、独立して L<sup>2</sup> L<sup>1</sup> B から選択され、

各 B は、独立して、末端基 R<sup>10</sup> であるか、又は、1) 自己犠牲スペーサー S p 1 と、  
 2) 結合、又は - C R<sup>1</sup> R<sup>2</sup> -、C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン基、C<sub>4</sub>-<sub>10</sub>シクロアルキレン基、  
 C<sub>4</sub>-<sub>10</sub>ヘテロシクリレン基及び - ( C O ) - から選択される 1 つの二価基、又は 2  
 つ以上の前記二価基の組み合わせと、3) 末端基 R<sup>10</sup> との組み合わせであり、

R<sup>10</sup> は、水素であるか又はペイロード中の基と反応する時に脱離できる基であり、

L<sup>1</sup> は、酵素により切断可能なアミノ酸配列を含む切断可能配列 1 であり、切断可能配  
 列 1 は 1 ~ 10 個のアミノ酸を含み、

L<sup>2</sup> は、結合であるか又は C<sub>2</sub>-<sub>20</sub>アルキレン基であり、ここでアルキレン基中の 1  
 つ又は複数の - C H<sub>2</sub> - 構造は、- C R<sup>3</sup> R<sup>4</sup> -、- O -、- ( C O ) -、- S ( = O )  
 2 -、- N R<sup>5</sup> -、

20

【化 6 9 - 1】

- N<sup>6</sup> R<sup>6</sup> R<sup>7</sup> -、

C<sub>4</sub>-<sub>10</sub>シクロアルキレン基、C<sub>4</sub>-<sub>10</sub>ヘテロシクリレン基、フェニレン基によって任  
 意に置換され、ここでシクロアルキレン基、ヘテロシクリレン基、及びフェニレン基は、  
 それぞれ独立して、非置換であるか、又はハロゲン、- C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキル基、- C<sub>1</sub>-  
 10ハロアルキル基、- C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン - N H - R<sup>8</sup>、及び - C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン  
 - O - R<sup>9</sup> から選択される少なくとも 1 つの置換基で置換され、

30

L d 2 と各 L d 1 は、独立して、結合であるか、又は - N H - C<sub>1</sub>-<sub>20</sub>アルキレン -  
 ( C O ) -、- N H - ( P E G )<sub>i</sub> - ( C O ) - から選択されるか、又は側鎖上でそれぞ  
 れ独立して非置換の又は - ( P E G )<sub>j</sub> - R<sup>11</sup> によって置換された天然アミノ酸もしく  
 は重合度 2 ~ 10 のオリゴマー天然アミノ酸であり、

- ( P E G )<sub>i</sub> - と - ( P E G )<sub>j</sub> - は、それぞれ P E G フラグメントであり、指定さ  
 れた数の連続した - ( O - C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> ) - 構造単位又は連続した - ( C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> - O ) - 構造  
 単位を含み、任意に、1 つの末端に C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキレン基が付加され、

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup> は、それぞれ独立して、水素、  
 ハロゲン、- C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキル基、- C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>ハロアルキル基、C<sub>4</sub>-<sub>10</sub>シクロアル  
 キレン基から選択され、

40

R<sup>11</sup> は C<sub>1</sub>-<sub>10</sub>アルキル基であり、

n は 2 ~ 20 の任意の整数であり、

d は 0 又は 1 ~ 6 の任意の整数であり、

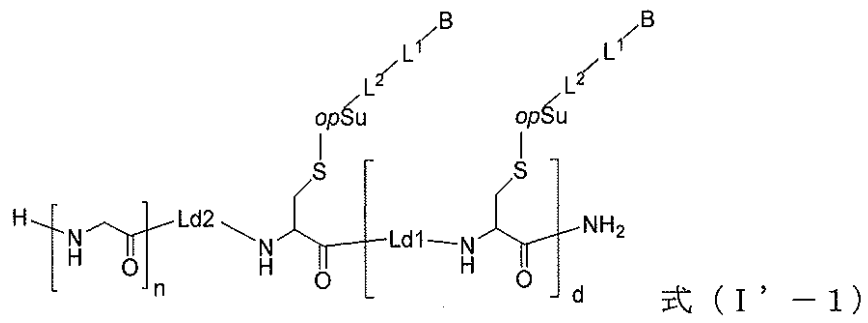
各 i は独立して 1 ~ 100 の整数であり、好ましくは 1 ~ 20 であり、好ましくは、各  
 i は独立して 1 ~ 12 の整数であり、より好ましくは 2 ~ 8 であり、特に 4 であり、

各 j は独立して 1 ~ 100 の整数であり、好ましくは 1 ~ 20 であり、好ましくは、各  
 j は独立して 1 ~ 12 の整数であり、より好ましくは 8 ~ 12 であり、特に 8 又は 12 で  
 ある、前記化合物。

【0 1 6 8】

50

[ 2 ]  
【化 7 0】



10

から選択される、上記 [ 1 ] に記載の化合物。

【 0 1 6 9 】

[ 3 ]

20

30

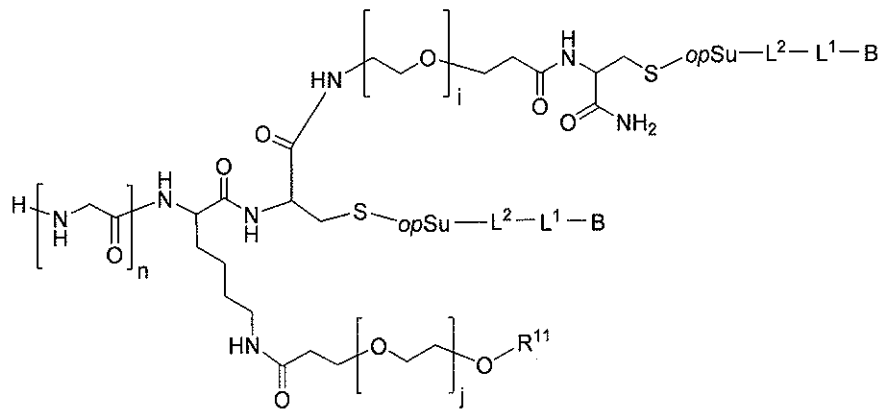
40

50



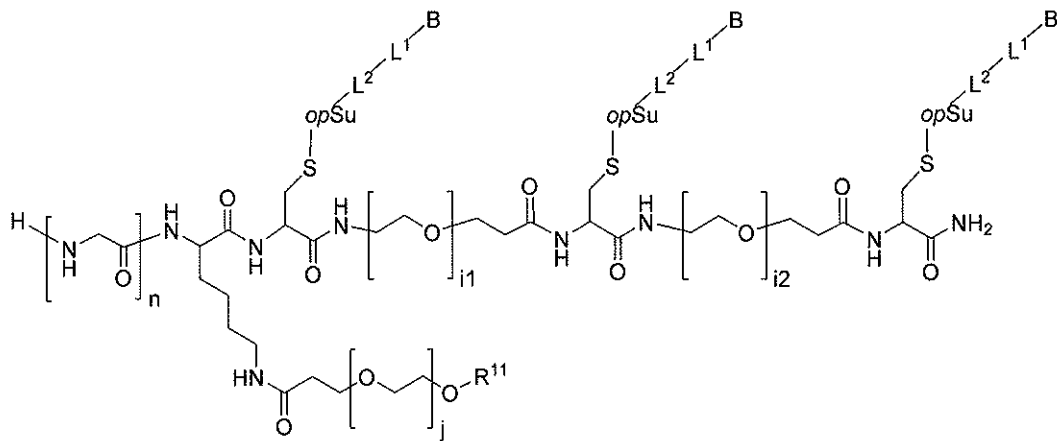


【化 7 1 - 2】



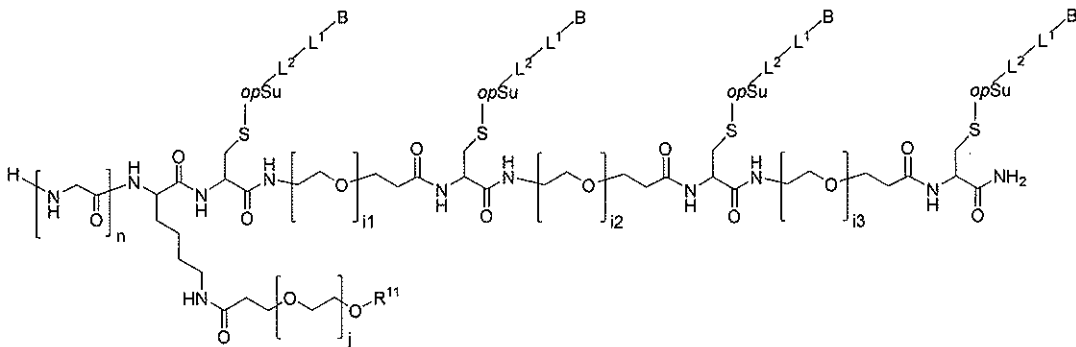
(リンカーLA' 302-2)

10



(リンカーLA' 302-3)

20



(リンカーLA' 302-4)

30

40

から選択され、

式中、各  $i$ 、 $i_1$ 、 $i_2$ 、 $i_3$ 、 $i_4$  は、それぞれ独立して、1 ~ 100 の整数であり、好ましくは 1 ~ 20 であり、好ましくは、各  $i$ 、 $i_1$ 、 $i_2$ 、 $i_3$ 、 $i_4$  は、それぞれ独立して、1 ~ 12 の整数であり、より好ましくは 2 ~ 8 であり、特に 4 である、上記 [ 1 ] ~ [ 2 ] のいずれか 1 項に記載の化合物。

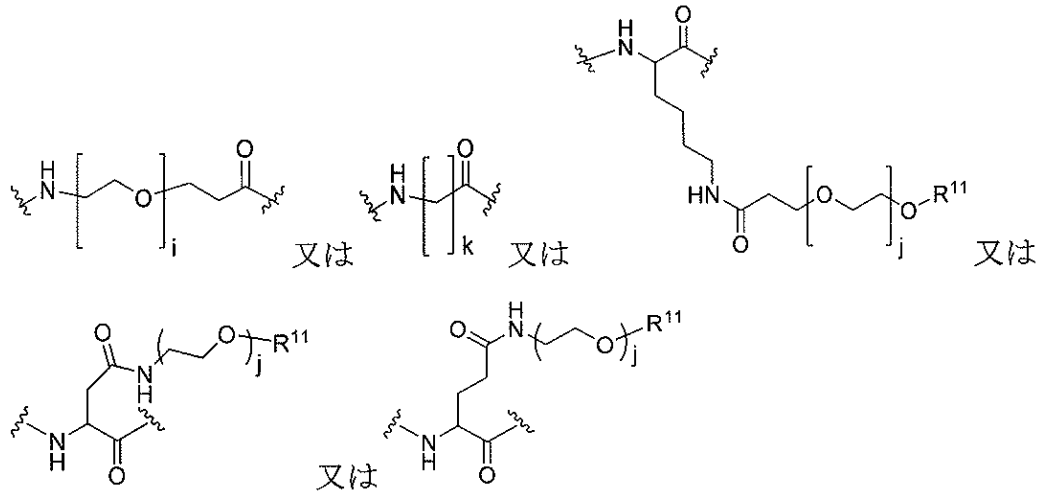
【 0 1 7 0 】

[ 4 ]

L d 2 と各 L d 1 は、独立して、結合又は

50

## 【化72】



10

から選択され、

各  $k$  は独立して 1 ~ 100 の整数であり、好ましくは 1 ~ 20 であり、好ましくは、各  $k$  は独立して 1 ~ 12 の整数であり、より好ましくは 1 ~ 7 であり、特に 1、3 又は 5 である、上記 [ 1 ] ~ [ 2 ] のいずれか 1 項に記載の化合物。

20

## 【0171】

[ 5 ]

切断可能配列 1 は、G L y - G L y - P h e - G L y、P h e - L y s、V a l - C i t、V a l - L y s、G L y - P h e - L e u - G l y、A L A ' - L e u - A L A ' - L e u、A L A ' - A L A ' - A l a 及びそれらの組み合わせから選択され、好ましい切断可能配列 1 は G L y - G L y - P h e - G l y であり、

及び / 又は

S p 1 は、P A B C、アセタール、ヘテロアセタール及びそれらの組み合わせから選択され、好ましくは、S p 1 は、アセタール、ヘテロアセタール又は P A B C であり、好ましくは、ヘテロアセタールは、N、O - ヘテロアセタールから選択され、好ましくは、S p 1 は、- O - C H 2 - U - 又は - N H - C H 2 - U - であり、ここで - O - 又は - N H - は切断可能配列 1 に接続され、U は、O、S 又は N であり、好ましくは O 又は S である、上記 [ 1 ] ~ [ 4 ] のいずれか 1 項に記載の化合物。

30

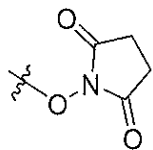
## 【0172】

[ 6 ]

W は水素であり、及び / 又は

R<sup>10</sup> は、水素、ヒドロキシ基であるか又は

## 【化73】



40

であり、

R<sup>11</sup> は、C<sub>1</sub> - 6 アルキル基、好ましくはメチル基であり、及び / 又は

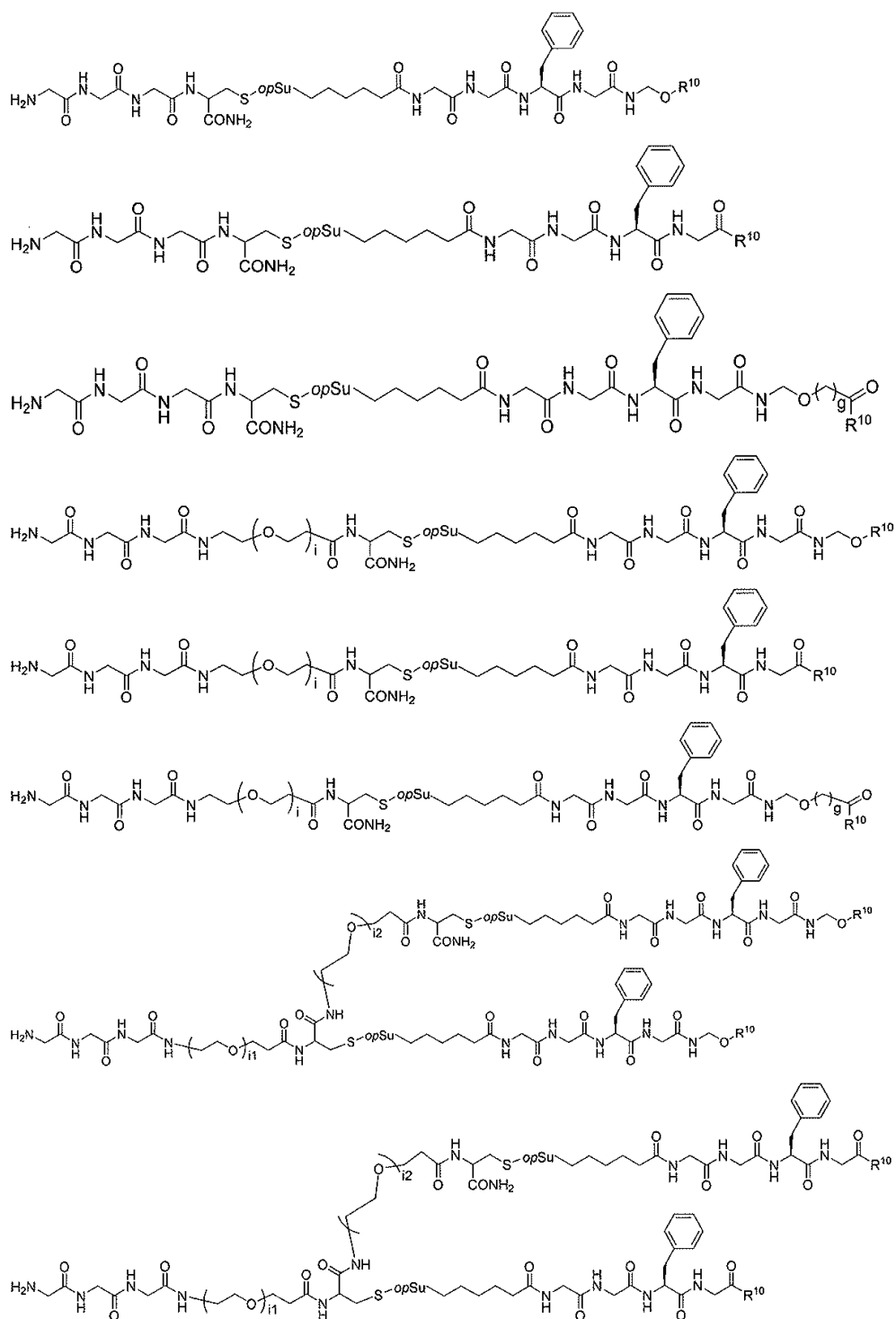
n は、2 ~ 5 の整数、特に 3 であり、及び / 又は

d は、0、又は 1 ~ 4 の任意の整数であり、好ましくは 0、1、2 又は 3 である、上記 [ 1 ] ~ [ 5 ] のいずれか 1 項に記載の化合物。

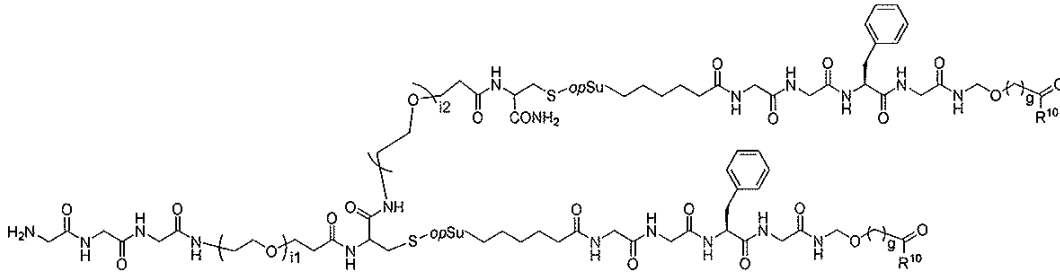
## 【0173】

50

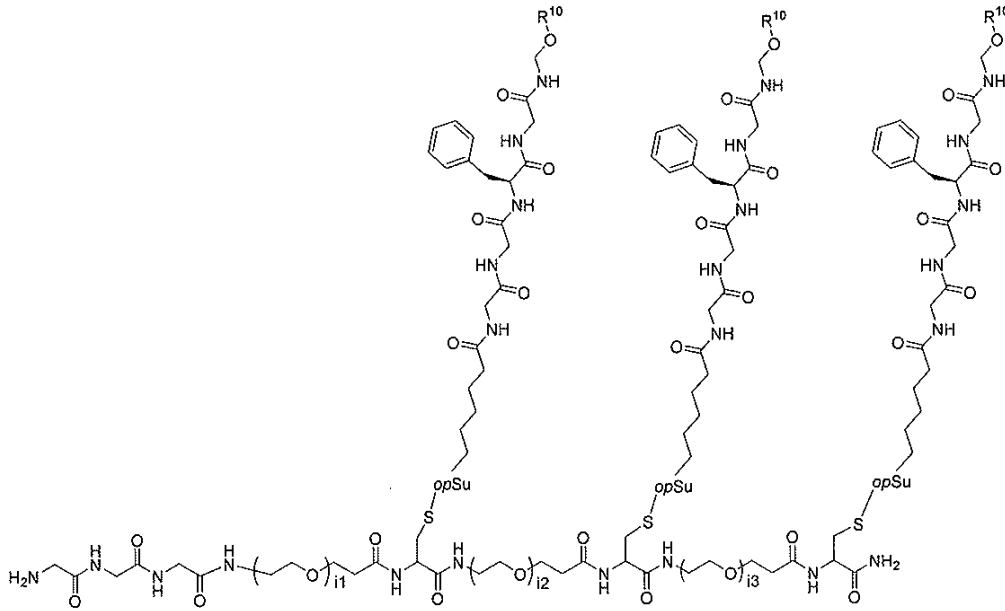
[ 7 ]  
【化 7 4 - 1】



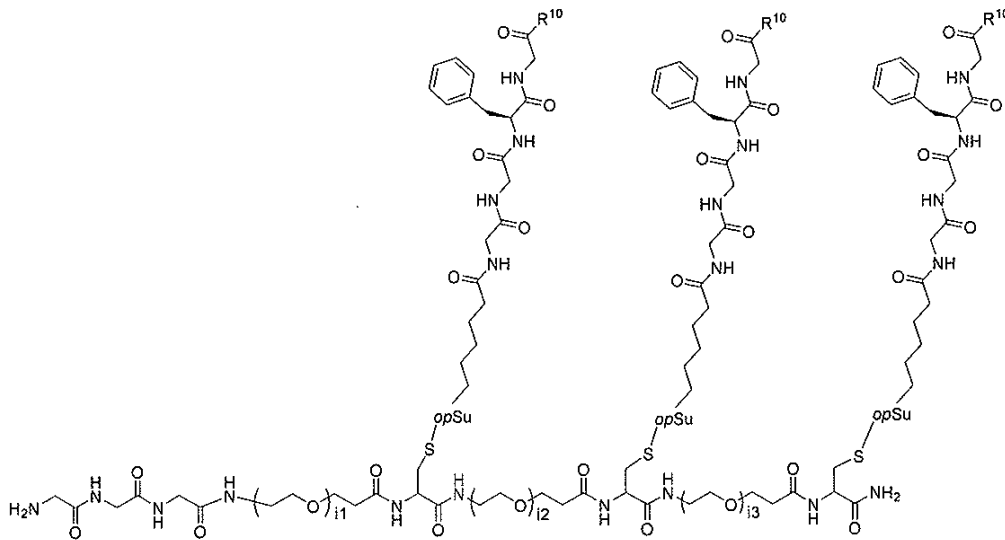
【化 7 4 - 2】



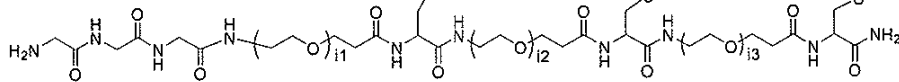
10



20



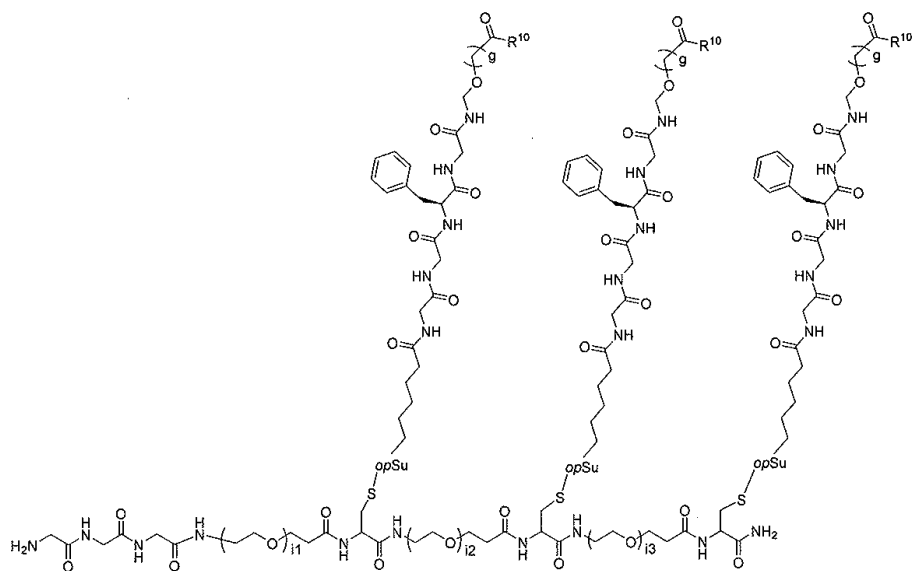
30



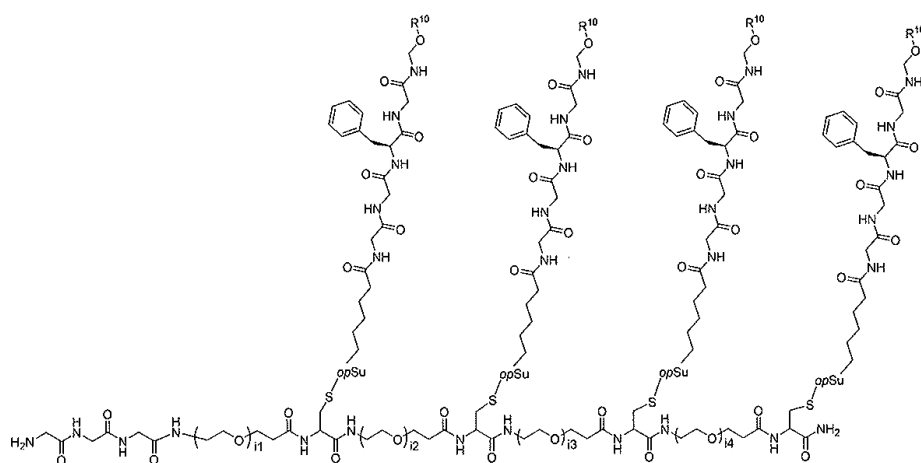
40

50

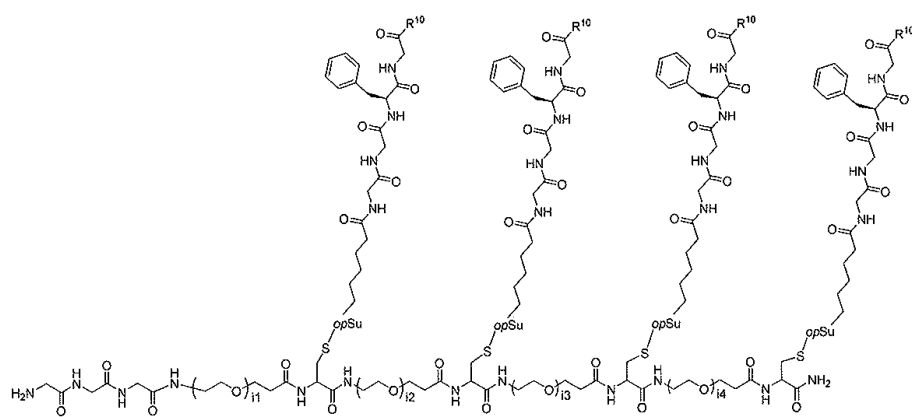
【化 7 4 - 3】



10



20

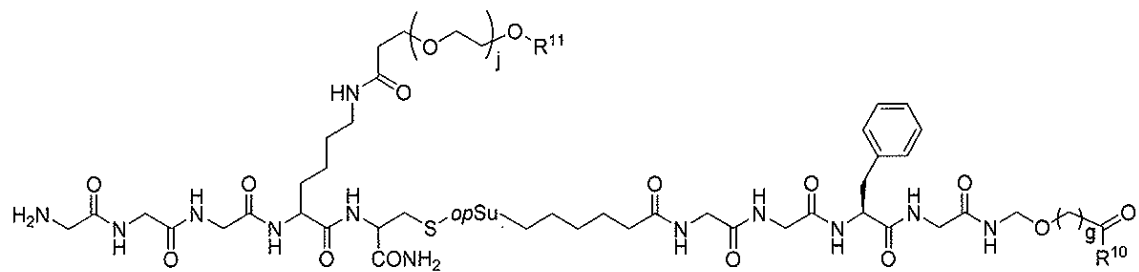
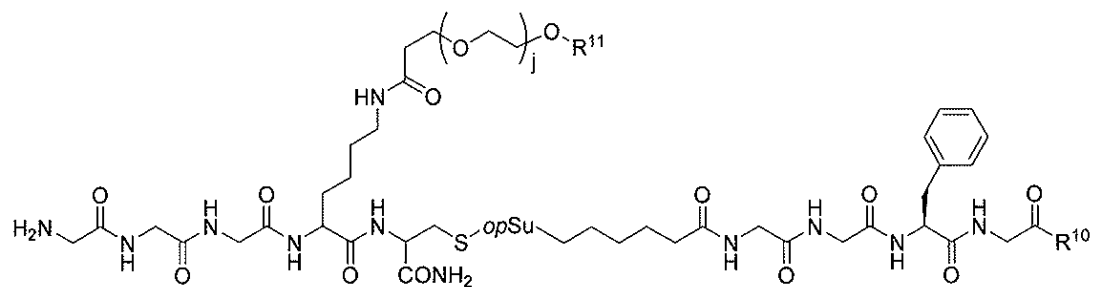
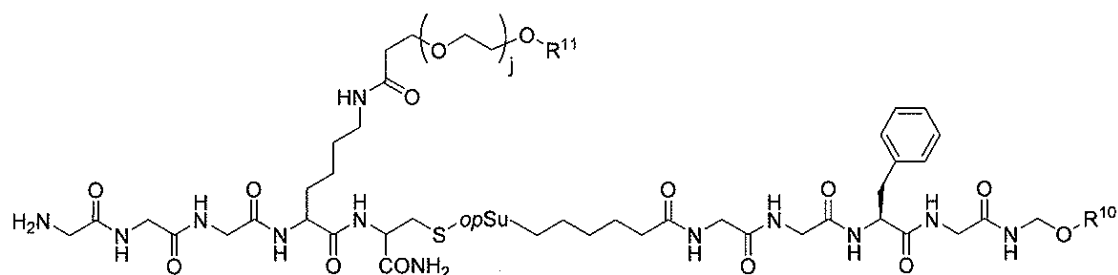
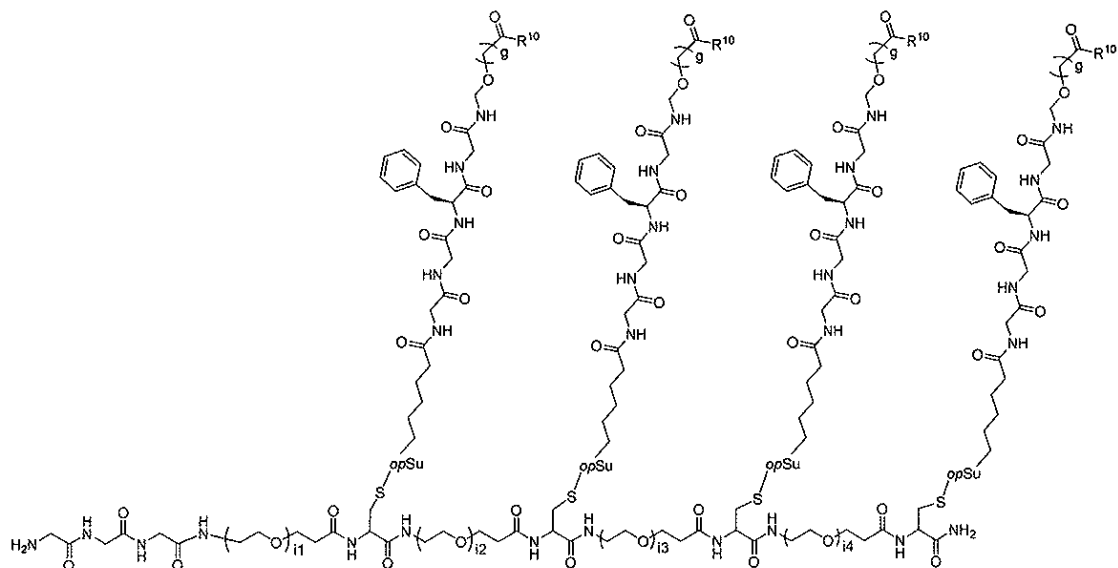


30

40

50

【化 7 4 - 4】



10

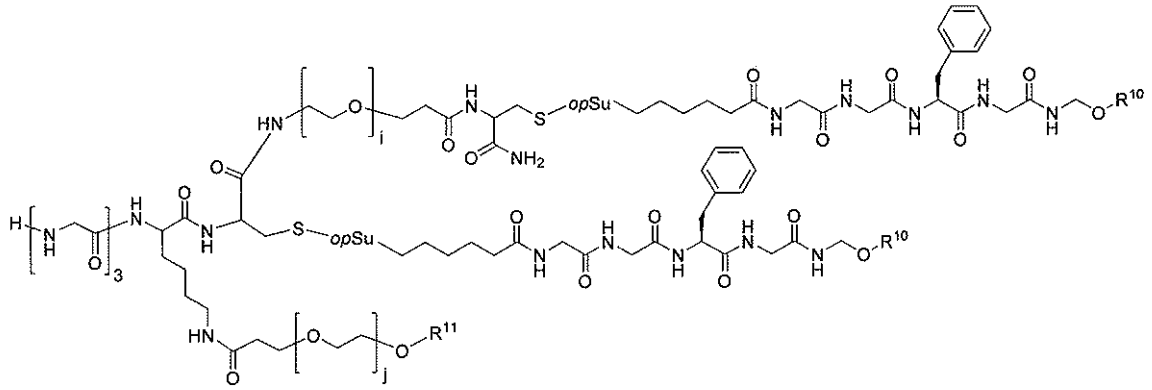
20

30

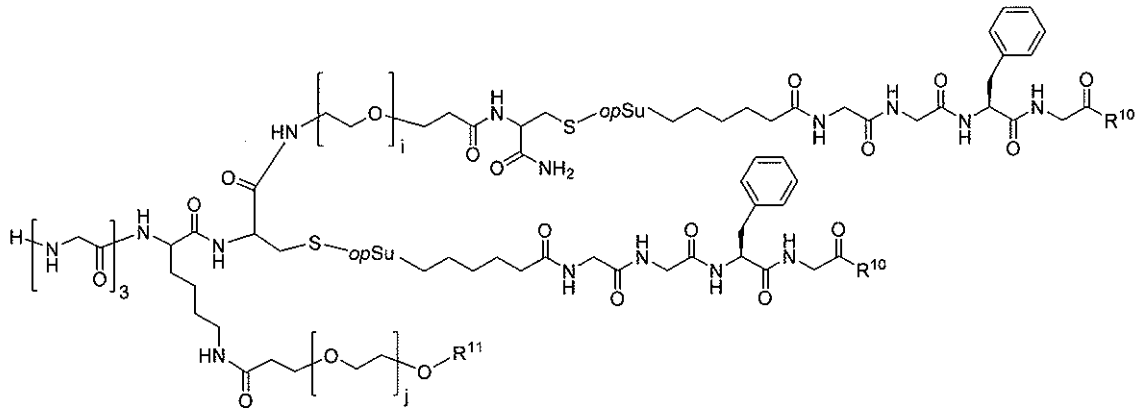
40

50

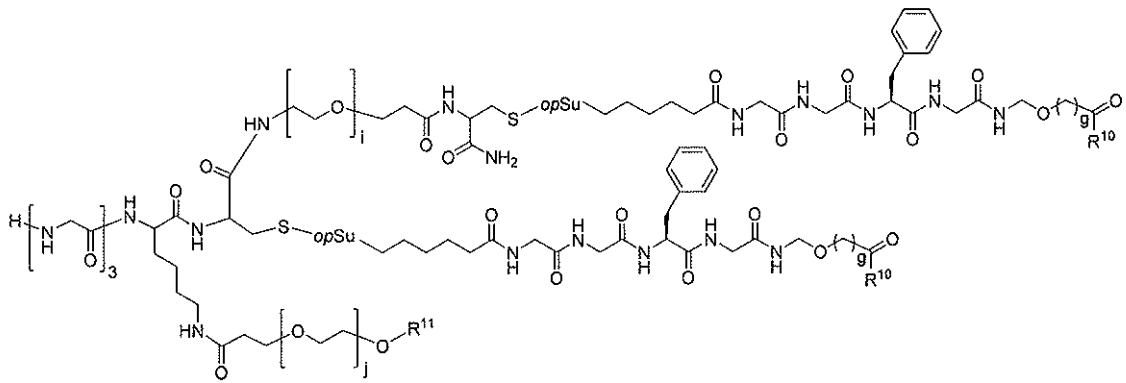
【化 7 4 - 5】



10



20



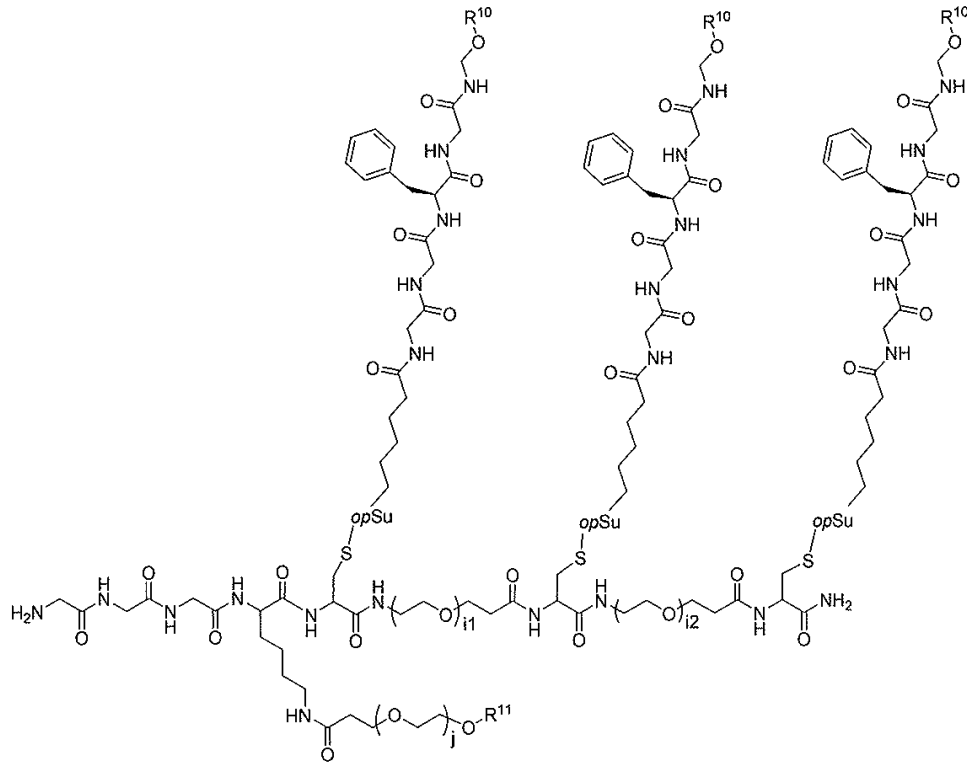
30

40

50

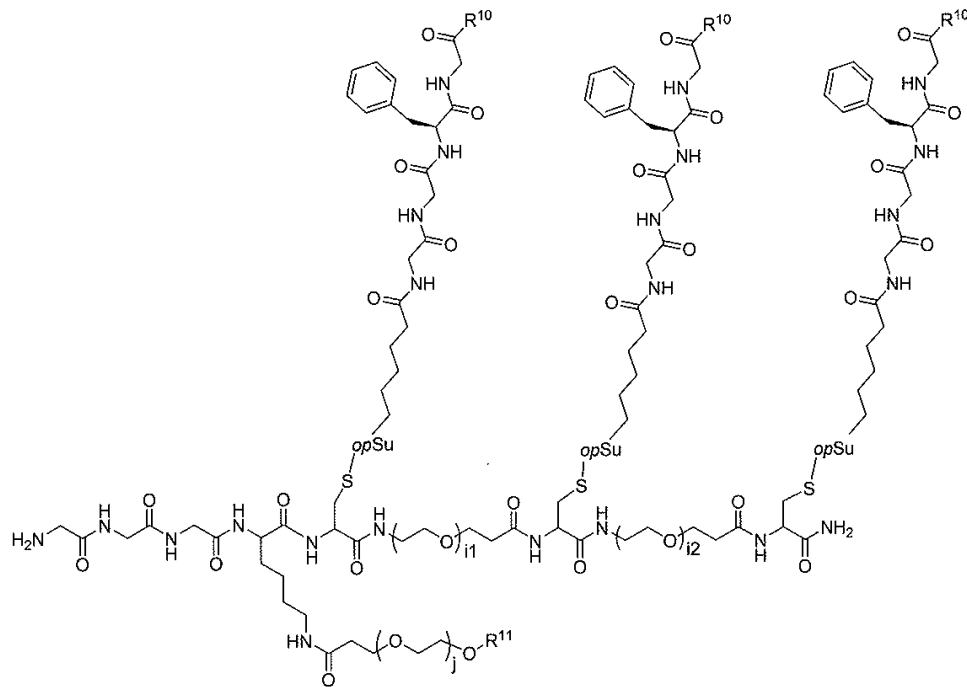


【化 7 4 - 6】



10

20

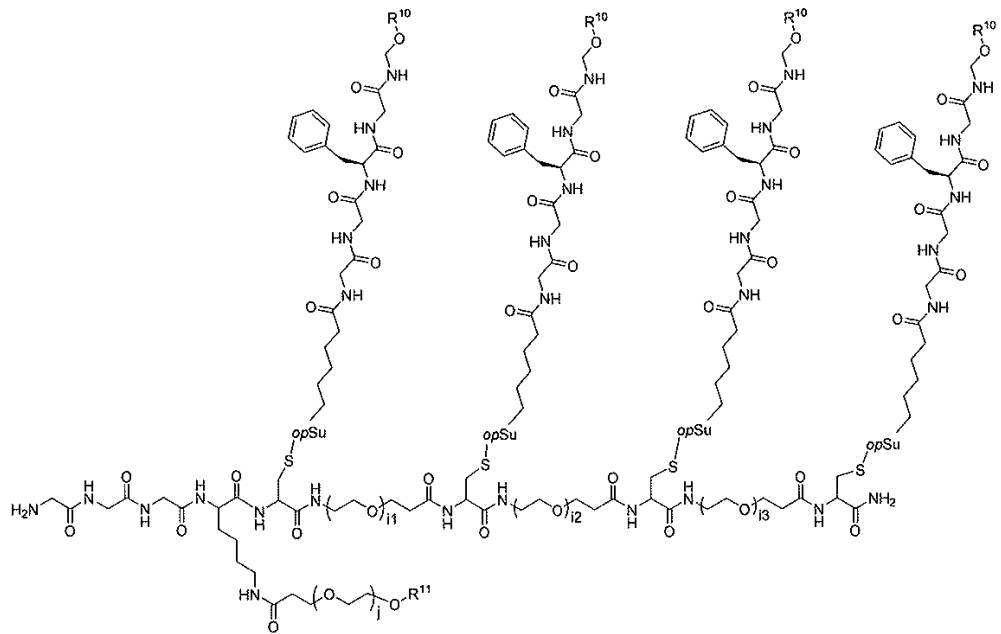
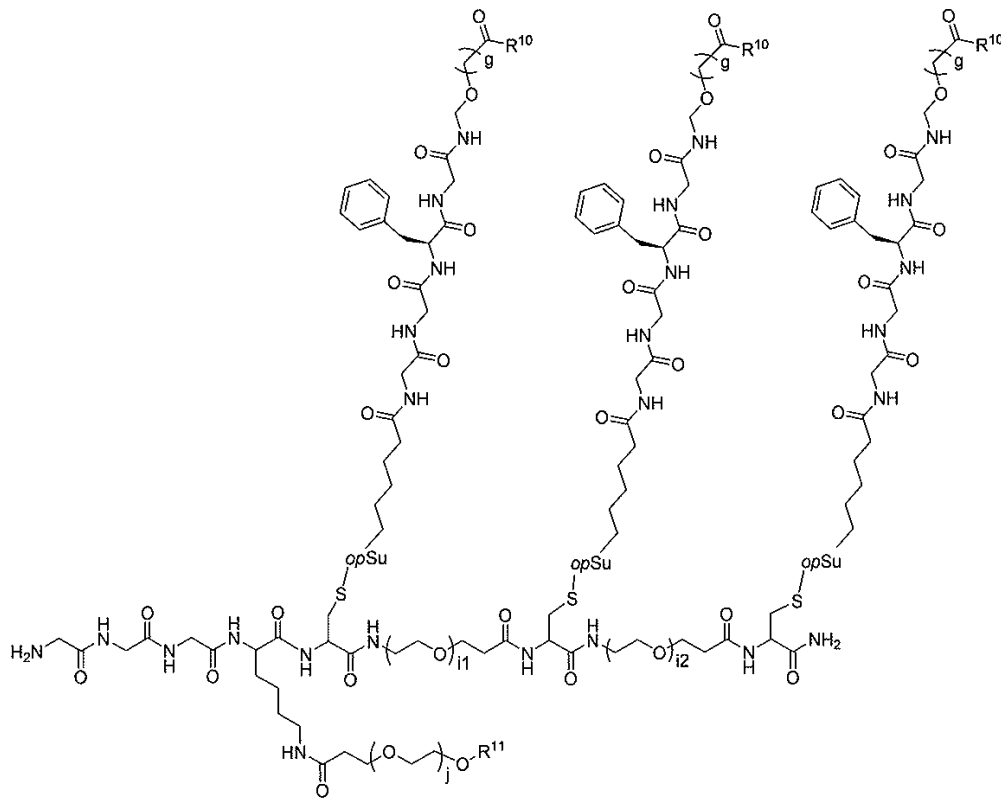


30

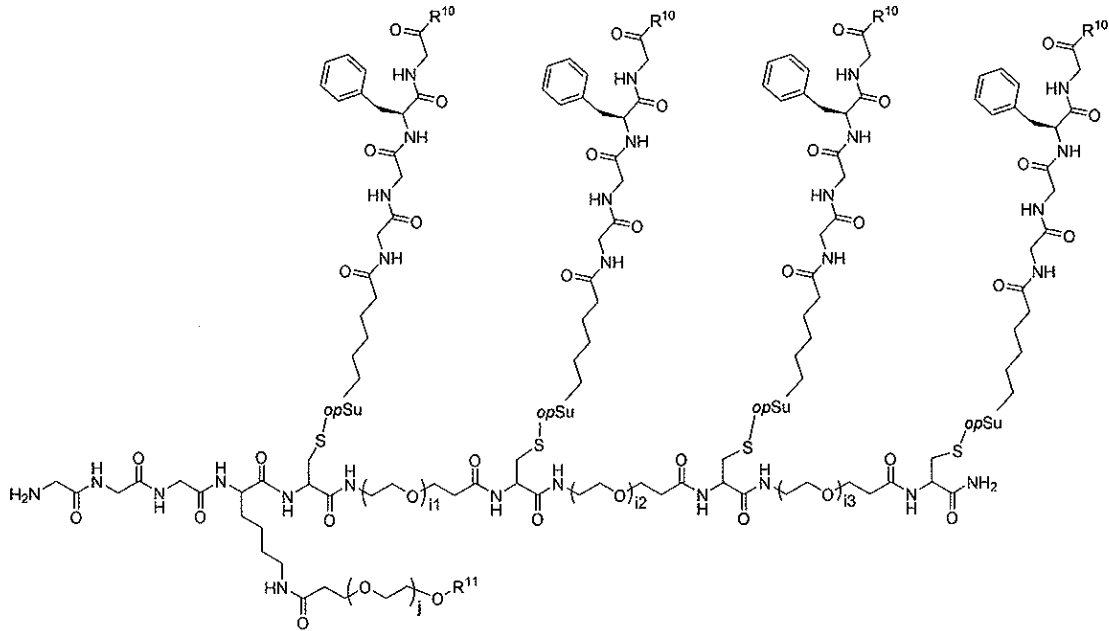
40

50

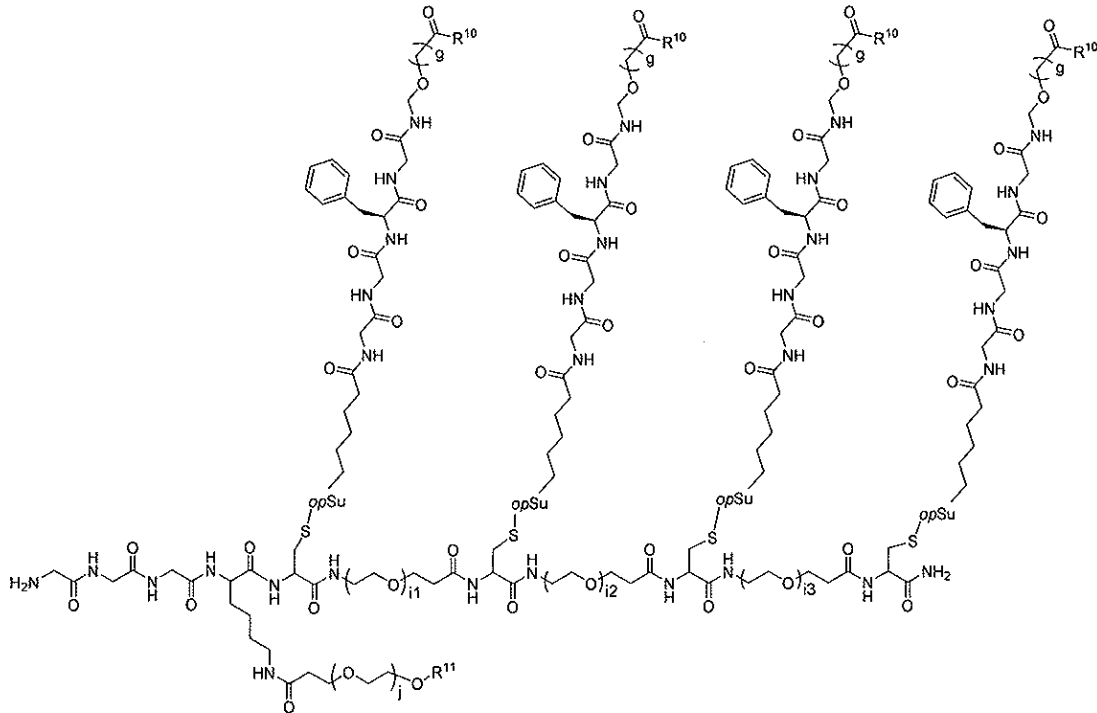
【化 7 4 - 7】



## 【化 7 4 - 8】



10



20

30

から選択され、

各  $i$ 、 $i_1$ 、 $i_2$ 、 $i_3$ 、 $i_4$  は、それぞれ独立して、1 ~ 100 の整数であり、好ましくは 1 ~ 20 であり、好ましくは、各  $i$ 、 $i_1$ 、 $i_2$ 、 $i_3$ 、 $i_4$  は、それぞれ独立して、1 ~ 12 の整数であり、より好ましくは 2 ~ 8 であり、特に 4 であり、各  $g$  は独立して 1 ~ 6 の整数であり、好ましくは 1 ~ 3 であり、より好ましくは 1 である、上記 [ 1 ] ~ [ 6 ] のいずれか 1 項に記載の化合物。

40

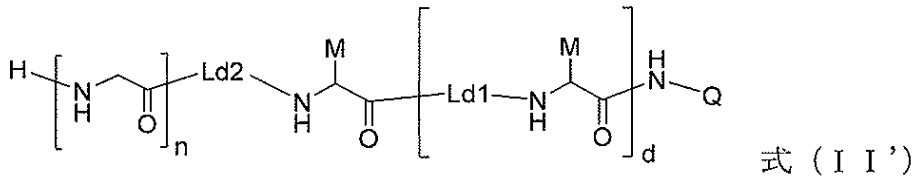
【 0 1 7 4】

[ 8 ]

式 ( I I ' ) の構造を有する化合物であって、

50

## 【化 7 5】



式中、

Q は水素又は L K b P であり、

M は水素又は L K a - L K b P であり、

ただし、Q と M が同時に水素でないことを条件とし、

P は、式 (I')

n、d、L d 1、L d 2、L K a 及び L K b は上記 [ 1 ] に定義した通りである、前記

化合物。

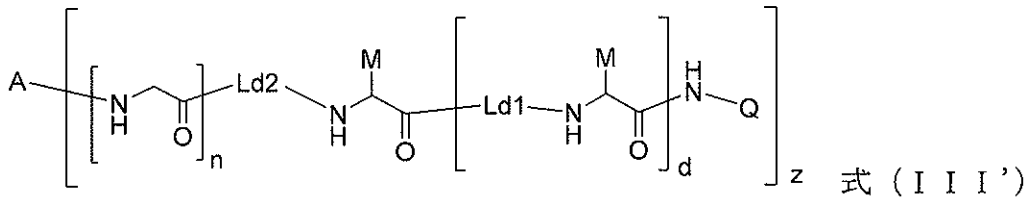
10

## 【 0 1 7 5】

[ 9 ]

式 (I I I')

## 【化 7 6】



20

式中、

n、d、L d 1 及び L d 2 は上記 [ 1 ] に定義した通りであり、

Q は水素又は L K b P であり、

M は水素又は L K a - L K b P であり、

ただし、Q と M が同時に水素でないことを条件とし、

P は、式 (I')

A は、式 (I')

あり、

z は 1 ~ 2 0 の整数である、前記コンジュゲート。

30

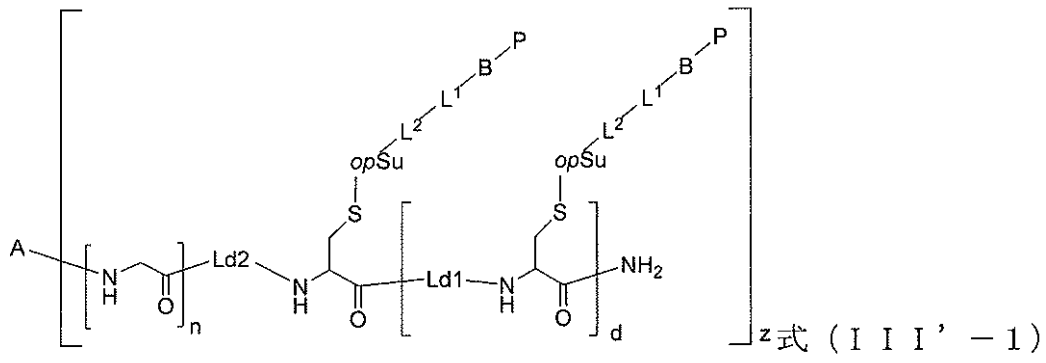
## 【 0 1 7 6】

[ 1 0 ]

次の式 (I I I' - 1) の構造を有する上記 [ 9 ] に記載のコンジュゲート。

40

【化 7 7】



【 0 1 7 7】

[ 1 1 ]

前記コンジュゲートは、次の構造を有し、

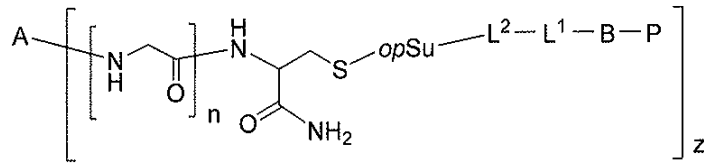
20

30

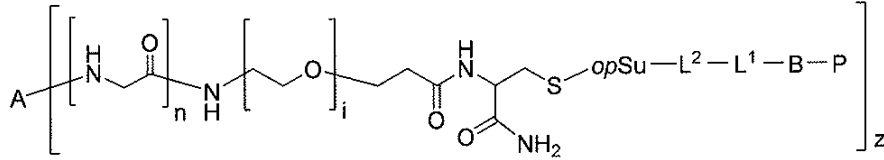
40

50

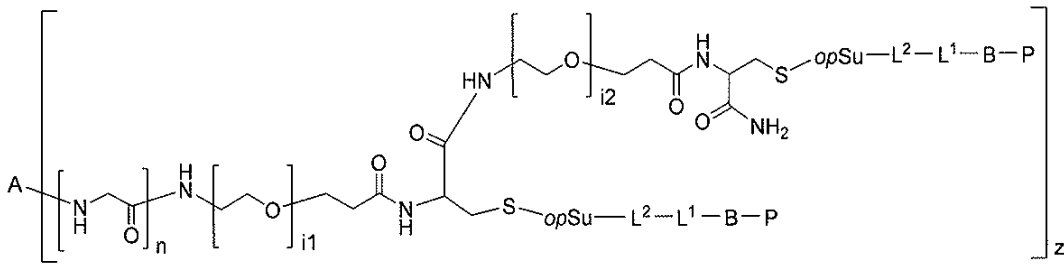
【化 7 8 - 1】



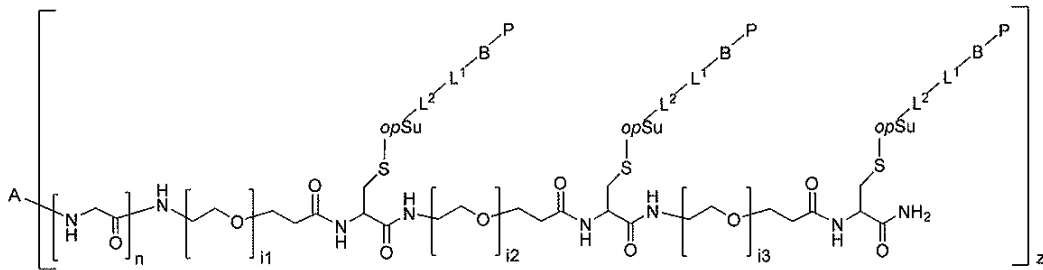
(コンジュゲートLC' 301-1)



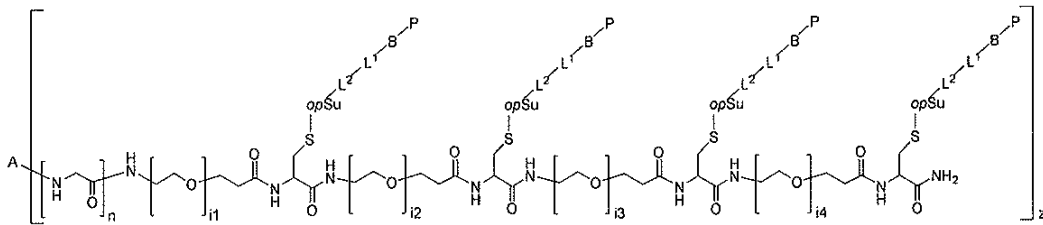
(コンジュゲートLC' 301-2)



(コンジュゲートLC' 301-3)



(コンジュゲートLC' 301-4)



(コンジュゲートLC' 301-5)

10

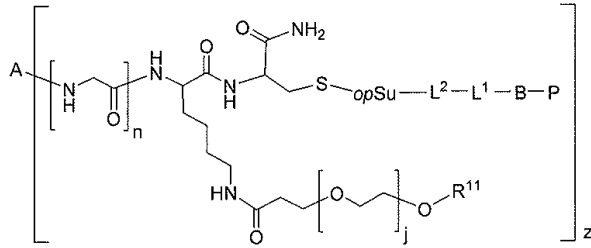
20

30

40

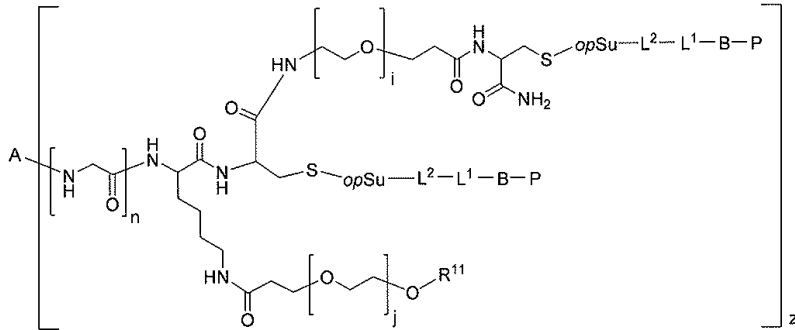
50

【化 7 8 - 2】



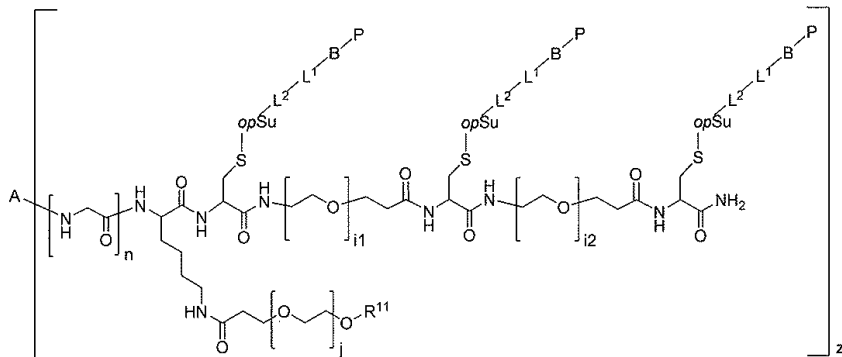
(コンジュゲート LC' 302-1)

10



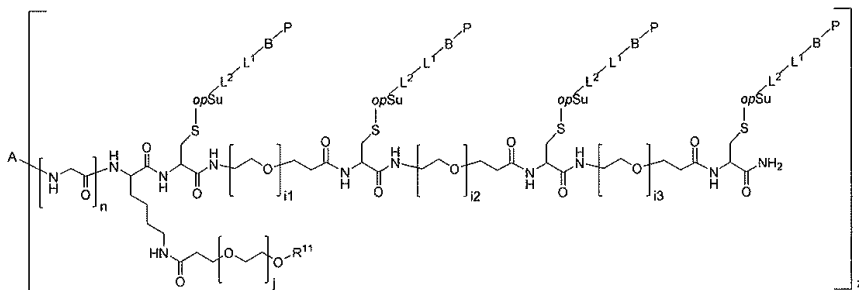
(コンジュゲート LC' 302-2)

20



(コンジュゲート LC' 302-3)

30



(コンジュゲート LC' 302-4)

40

好ましくは、zは1~4であり、好ましくは2であり、  
 各i、i1、i2、i3、i4は、それぞれ独立して、1~100の整数であり、好ましくは1~20であり、好ましくは、各i、i1、i2、i3、i4は、それぞれ独立して、1~12の整数であり、より好ましくは2~8であり、特に4であり、  
 各jは独立して1~100の整数であり、好ましくは1~20であり、好ましくは、各jは独立して1~12の整数であり、より好ましくは8~12であり、特に8又は12である、上記[9]又は[10]に記載のコンジュゲート。

【0178】

[12]

50

前記標的化分子は、抗体又はその抗原結合フラグメントであり、好ましくは、前記抗体又は抗原結合フラグメントは、式 ( I ' ) の化合物中の G<sub>n</sub> 部分に連結するように修飾され、

好ましくは、前記抗体は、抗ヒトHER2抗体である、上記 [ 9 ] ~ [ 11 ] のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート。

【 0179 】

[ 13 ]

前記ペイロードは細胞毒素又はそのフラグメントであり、式 ( I ' ) の化合物中の B 部分又は L<sup>1</sup> 部分に連結するための任意の誘導体化を有し、

好ましくは、細胞毒素は、タキサン類、メイタンシノイド類、アウリスタチン類、エポチロン類 ( epothilones )、コンブレタスタチン A - 4 ホスフェート ( combretastatin A - 4 phosphate )、コンブレタスタチン A - 4 ( combretastatin A - 4 ) 及びその誘導体、インドール - スルホンアミド類、ビンブラスチン ( vinblastine ) 等のビンブラスチン類、ビנקリスチン ( vincristine )、ビンデシン ( vindesine )、ビノレルビン ( vinorelbine )、ピンフルニン ( vinflunine )、ピングリシネート ( vinglycinate )、無水ビンブラスチン ( anhy - drovinblastine )、ドラストチン 10 ( dolastatin 10 ) 及びその類似体、ハリコンドリノ B、エリブリン ( eribulin )、インドール - 3 - オキサミド類、ポドフィロトキシシン類、7 - ジエチルアミノ - 3 - ( 2 - ベンゾオキサゾリル ) - クマリン ( DB C )、ディスコデルモリド ( discodermolide )、ラウリマライド ( laulimalide )、カンプトテシン類及びその誘導体、ミトキサントロン、ミトグアゾン、窒素マスタード類、ニトロソウレア類、アジリジン類、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレデバ、ウレデバ、ダイネマイシン ( dynemicin )、エスペラマイシン ( esperamicin )、ネオカルチノスタチン、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、プレオマイシン類、アクチノマイシン C、カラピシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、カルミノマイシン、アクチノマイシン D、ダウノルピシン、デトルピシン、アドリアマイシン、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン素、ペプロマイシン、ピューロマイシン、鉄アドリアマイシン、ロドルピシン、ルフォクロモマイシン、ストレプトゾシン、ジノスタチン、ゾルピシン、トリコテセン類、T - 2 毒素、( ベルカリン ) verracurin A、バシロクボリン A、アングジン ( anguidine )、ウベニメックス、アザセリン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、ジメチル葉酸、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート、エダトレキサート、フルダラビン、6 - メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン、アンシタピン、ゲムシタピン、エノシタピン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、フロクスウリジン、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタノール、テストラクトン、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタノール、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、酢酸リュープロレリン、プロテインキナーゼ阻害剤、及びプロテアソーム阻害剤からなる群から選択され、及び / 又は

ビンブラスチン類、コルヒチン類、タキサン類、アウリスタチン類、メイタンシノイド類、カリケアミシン ( calicheamicin )、ドキシゾルピシン ( doxonubicin )、デュオカルマイシン ( duocarmycin )、SN - 38、クリプトフィシン類似体 ( cryptophycin analog )、デルクステカン ( deruxtecane )、デュオカルマジン ( duocarmazine )、カリケアミシン ( calicheamicin )、セントナマイシン ( centanamycin )、dolastansine、ピロロベンゾジアゼピン ( pyrrolobenzodiazepine )、エキサテカン ( exatecan ) 及びそれらの誘導体から選択され、及び / 又は

10

20

30

40

50



アウリスタチン (auristatin)、特に MMAE、MMAF 又は MMAD から  
 選択され、及び / 又は

DX8951f 等のエキサテカン (exatecan) 及びその誘導体から選択され、  
 及び / 又は

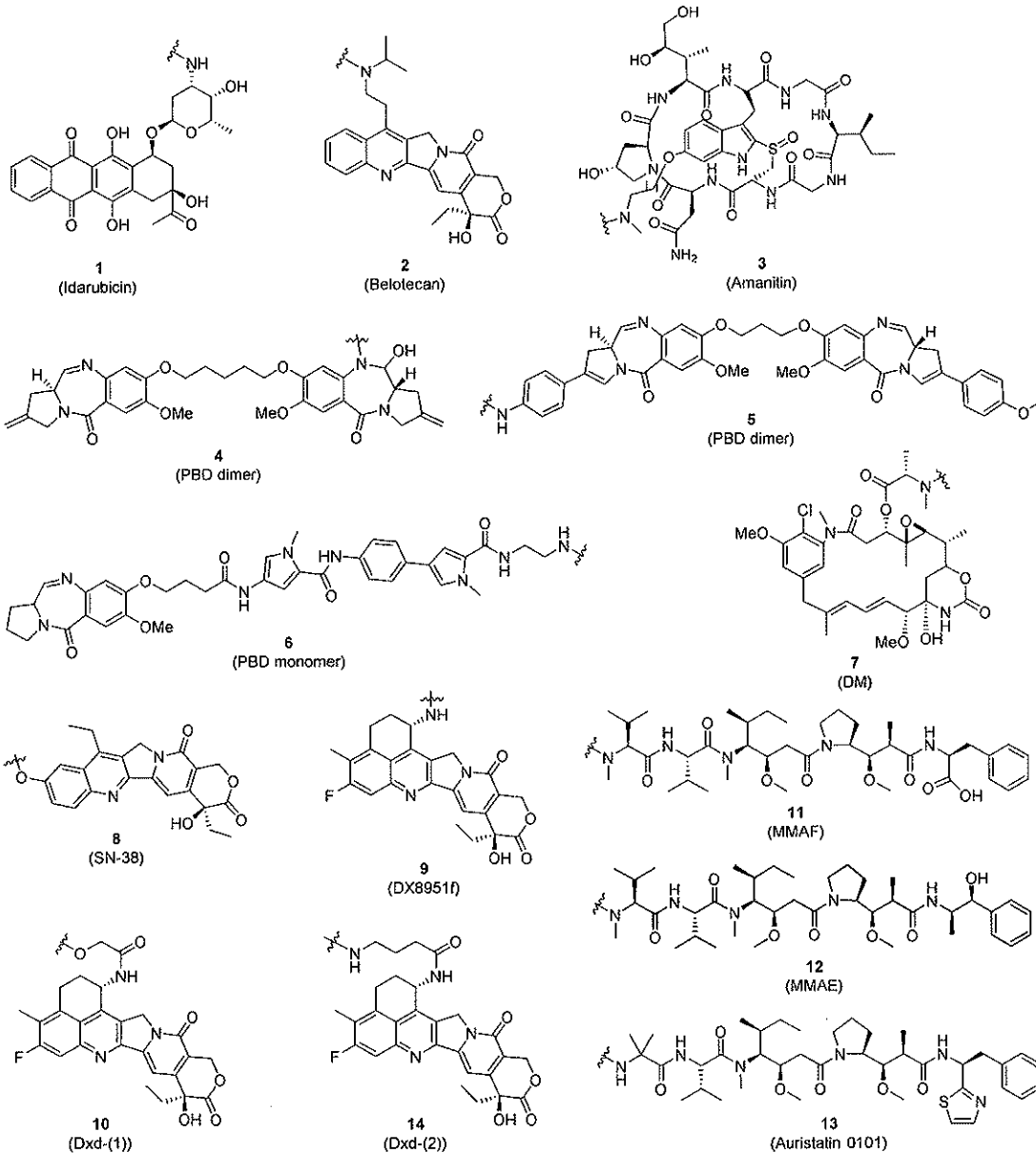
DXd - (1) 及び DXd - (2) から選択され、好ましくは DXd - (1) である、  
 上記 [9] ~ [12] のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート。

【0180】

[14]

前記ペイロードは、

【化79】



から選択され、  
 特に

10

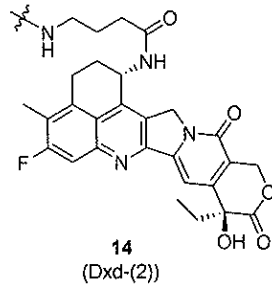
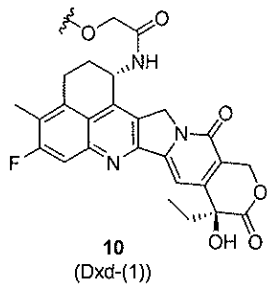
20

30

40

50

【化 8 0】



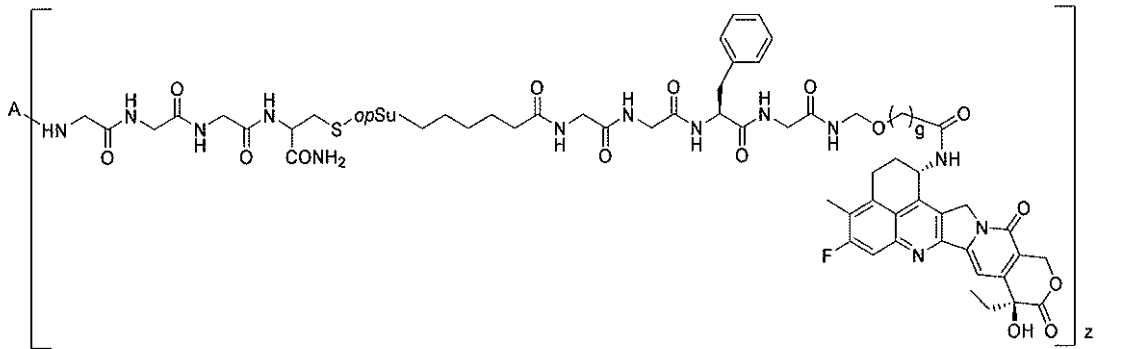
10

から選択される、上記 [ 9 ] ~ [ 1 3 ] のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート。

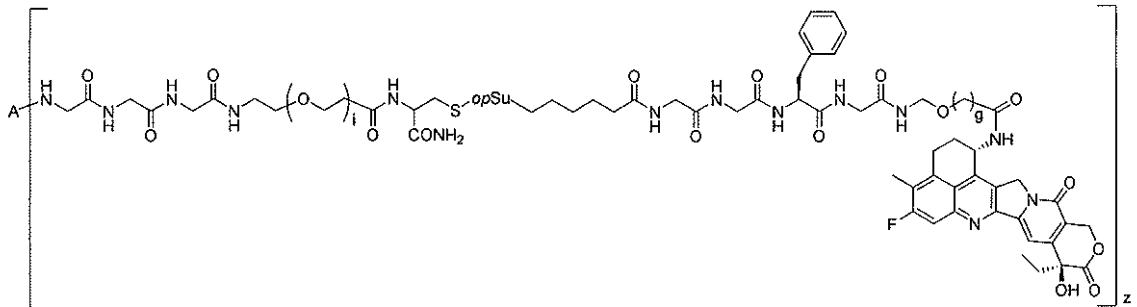
【 0 1 8 1】

[ 1 5 ]

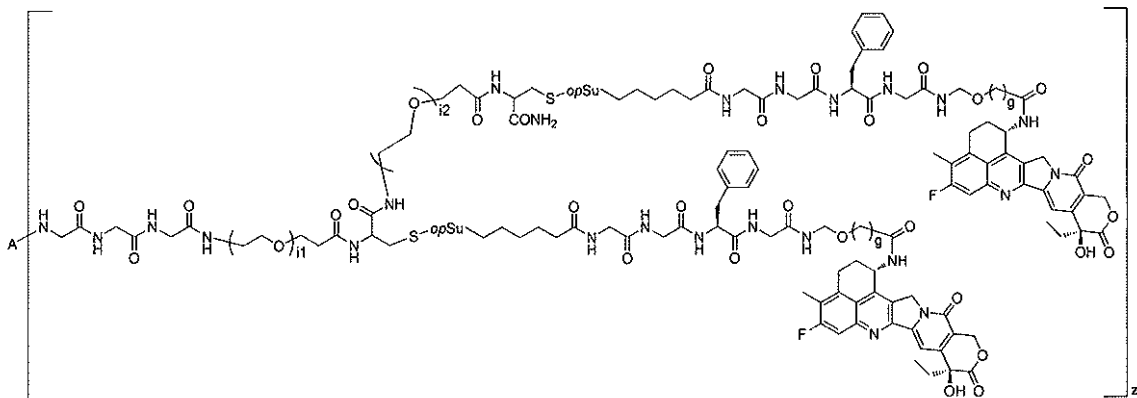
【化 8 1 - 1】



20



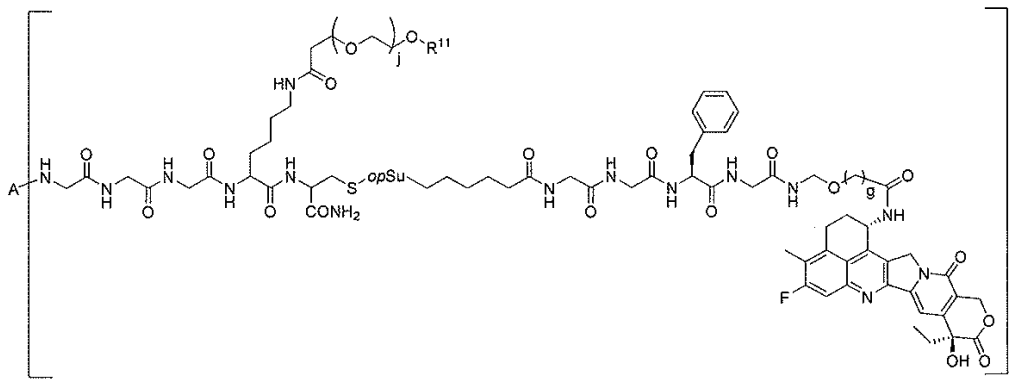
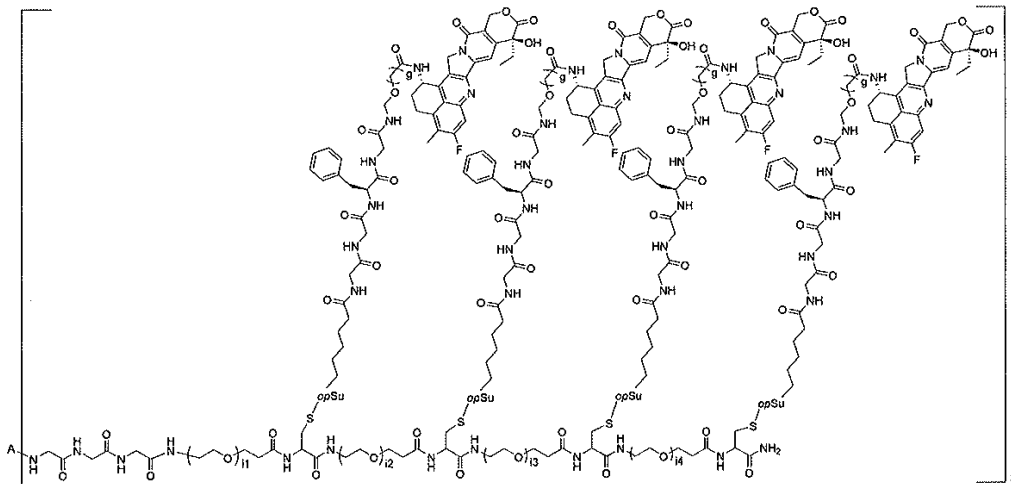
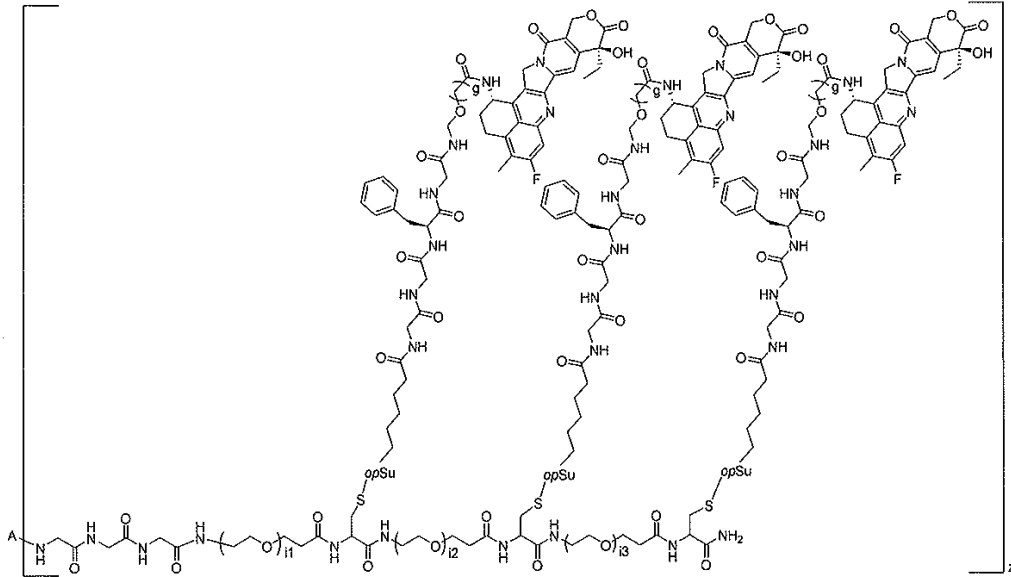
30



40

50

【化 8 1 - 2】



10

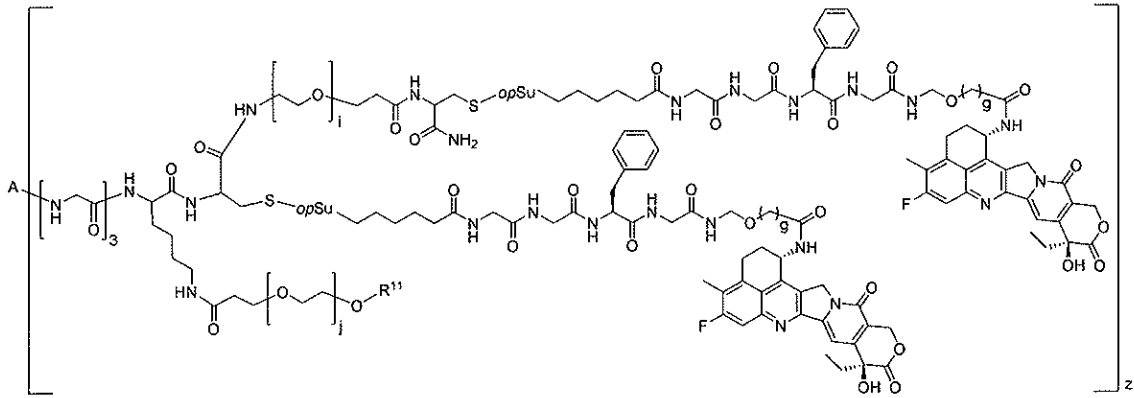
20

30

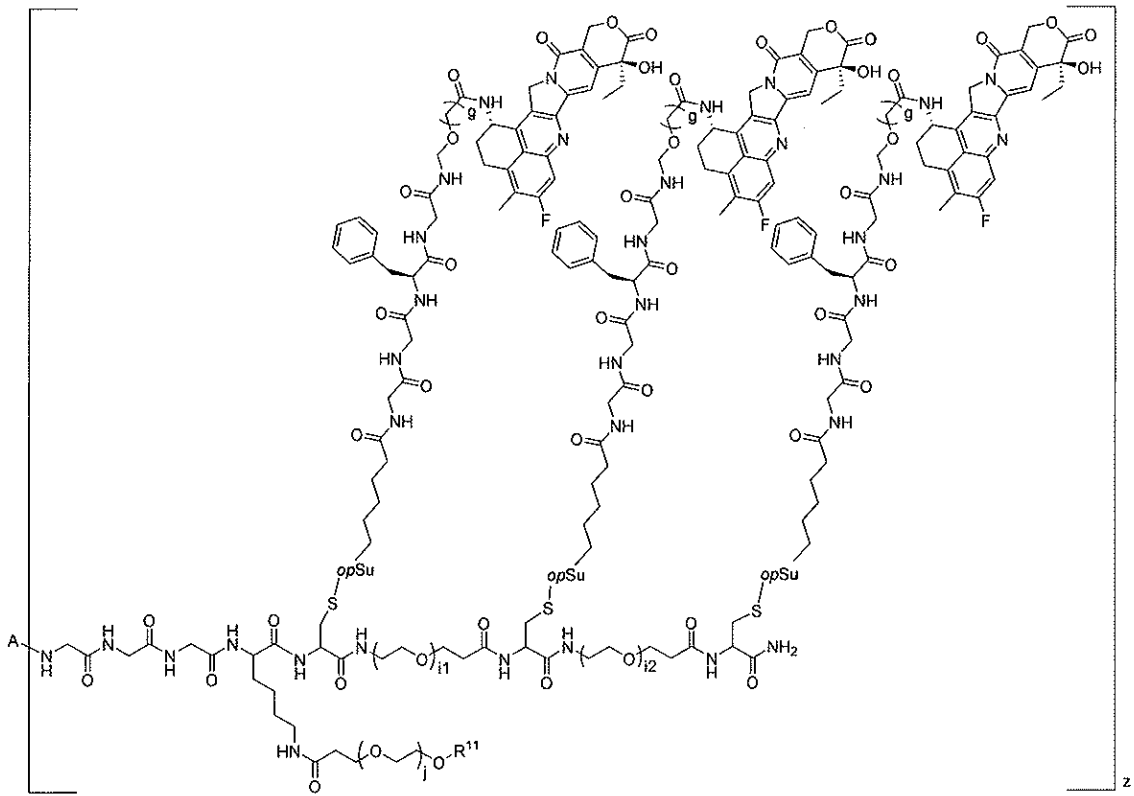
40

50

【化 8 1 - 3】



10



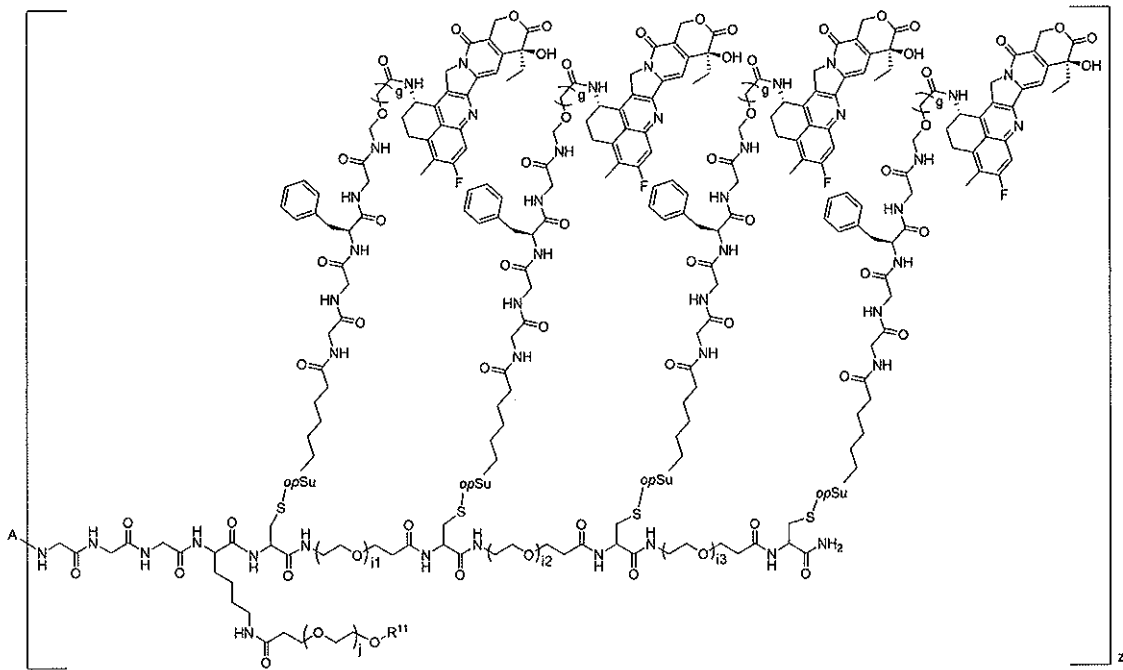
20

30

40

50

## 【化 8 1 - 4】



10

20

であり、

各  $g$  は独立して 1 ~ 6 の整数であり、好ましくは 1 ~ 3 であり、より好ましくは 1 である、上記 [ 9 ] ~ [ 14 ] のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート。

## 【 0 1 8 2 】

[ 1 6 ]

予防的又は治療的に有効な量の上記 [ 9 ] ~ [ 15 ] のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート、及び少なくとも 1 つの薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

## 【 0 1 8 3 】

[ 1 7 ]

疾患を治療するための薬物の製造における、上記 [ 9 ] ~ [ 15 ] のいずれか 1 項に記載のコンジュゲート又は上記 [ 1 6 ] に記載の医薬組成物の用途であって、前記疾患は、腫瘍又は自己免疫疾患であり、好ましくは HER2 陽性腫瘍であり、

好ましくは、前記 HER2 陽性腫瘍は、乳癌、胃癌、肺癌、卵巣癌及び尿路上皮癌から選択される、前記用途。

## 【 0 1 8 4 】

有益な効果

本発明の抗体 - 薬物コンジュゲートは、特別に設計されたリンカー - ペイロードを使用し、より安定であり、比較的低い DAR で優れた治療効果を得ることができ、したがって、副作用を軽減し、治療指数を向上させることができる。

40

## 【 0 1 8 5 】

本発明は、独特の構造を有する連結ユニットを利用し、標的化分子とペイロードのコンジュゲーションをリガーゼで触媒する。本発明のコンジュゲートは均質性が良好で、活性が高く、選択性が高い。また、連結ユニット - ペイロード中間体の毒性は遊離ペイロードよりもはるかに低いため、薬物の製造過程は危害が小さく、工業的な生産に有利である。

## 【 0 1 8 6 】

本発明のコンジュゲートは、以下の技術的効果のうちの少なくとも 1 つを実現する。

( 1 ) ターゲット細胞に対して高い阻害活性を有し、又はターゲット細胞に対して強力な殺傷効果を有する。

( 2 ) 優れた物理化学的特性 (例えば、溶解度、物理及び / 又は化学的安定性)。

50

(3) 優れた薬物動態学特性 (例えば、血漿における良好な安定性、適切な半減期及び作用持続時間)。

(4) 優れた安全性 (ターゲット以外の正常細胞又は組織に対する毒性が低く及び/又は副作用が少なく、治療可能域が広い) 等。

(5) 高度にモジュール化された設計であり、複数の薬物を簡単に組み立てることができる。

#### 【0187】

##### 実施例

##### 調製の実施例

本発明の目的及び技術的解決手段をより明確に説明するために、以下において、本発明を具体的な実施例によりさらに説明する。これらの実施例は本発明を説明するためのものに過ぎず、本発明の範囲を限定するものではないことを理解すべきである。以下の実施例に記載されていない具体的な実験方法は、従来の実験方法に準じて実施する。

#### 【0188】

##### 機器、材料及び試薬

特に明記しない限り、実施例で使用される機器及び試薬はいずれも市販から入手することができる。試薬はさらに精製することなくそのまま使用できる。

#### 【0189】

MS: Thermo Fisher Q Exactive Plus、Water 2795 - Quattroマイクロ三連四重極質量分析計

HPLC: Waters 2695、Agilent 1100、Agilent 1200

半分取HPLC: Lisure HP plus 50D

フローサイトメーター: CytoFLEX S

HIC - HPLC: Butyl - HIC; 移動相A液: 25mMのPB、2Mの(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、pH7.0; 移動相B: 25mMのPB、pH7.0; 流速: 0.8ml/min; 収集時間: 25min; 注入量: 20µg; カラム温度: 25; 検出波長: 280nm; サンプルチャンバー温度: 8。

#### 【0190】

SEC - HPLC: クロマトグラフィカラム: TSK - gel G3000 SWXL、TOSOH 7.8mm ID x 300mm、5µm; 移動相: 0.2MのKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.25MのKCl、pH6.2; 流速: 0.5ml/min; 収集時間: 30min; 注入体積: 50µg; カラム温度: 25; 検出波長: 280nm; サンプルトレイ温度: 8。

#### 【0191】

CHO細胞は、Thermo Fisher Scientificから入手した。pcDNA3.3は、Life Technologyから入手した。HEK293Fは、Prejinから入手した。PEIMAXトランスフェクション試薬は、Polyscienceから入手した。MabSelect Sure ProAは、GEから入手した。Capto S ImpActは、GEから入手した。Rink - amide - MBHA - 樹脂及びジクロロ樹脂は、南開合成 (Nankai synthesis) から入手した。HCC1954は、ATCC CAT# CRL - 2338から入手した。SK - BR - 3は、ATCC CAT# HTB - 30から入手した。BT - 474は、ATCC CAT# HTB - 20から入手した。NCI - N87は、ATCC Cat # CRL - 5822から入手した。MCF7は、ATCC CAT# HTB - 22から入手した。MDA - MB - 231は、ATCC CAT# HTB - 26から入手した。MDA - MB - 468は、ATCC CAT# HTB - 132から入手した。CFPAC - 1は、ATCC CAT# CRL - 1918から入手した。NCI - H2110は、ATCC CAT# CRL - 5924から入手した。JIMT - 1は、Wuxi Aptechから入手した。Capan - 1は、ATCC CAT# CRL - 1573か

ら入手した。抗体トラスツズマブは、既知の配列に従って調製した。黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) 由来の最適化された組換え酵素ソルターゼ A は、大腸菌 (*E. coli*) 内で調製した。

【0192】

実施例 1 抗体発現担体の構築、抗体発現、精製及び同定

1.1 修飾された抗ヒトHER2抗体Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HCの製造

抗体Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HC (軽鎖SEQ ID NO: 1、重鎖: SEQ ID NO: 2) の発現プラスミドは次のように構築した。抗体Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HCの配列については、トラスツズマブのアミノ酸配列を基に、軽鎖のC末端にGALPETGGを導入し、ここでLPETGGはリガーゼ供与体基質の認識配列であり、GAはスペーサー配列である。プラスミドをCHO細胞にトランスフェクトし、細胞集団を確立し、高発現細胞集団をスクリーニングし、5~10Lのリアクターでのトラスツズマブの培養プロセスを参考にして培養し、上清を収集した。

【0193】

1.2 抗体Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HCの精製

Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HCの精製は、MabSelectアフィニティークロマトグラフィーとSepharose S陽イオン交換クロマトグラフィーを組み合わせた標準プロセスで実施され、精製の生成物は元のトラスツズマブ薬物緩衝液 (5 mMのヒスチジン-HCl、2%のトレハロース、0.009%のポリソルベート20、PH6.0) に溶解され、小分けにして冷凍した。

【0194】

1.3 抗体Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HCの品質制御

上記のSDS-PAGEで精製した抗体Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HCの純度は98.5%であった。SEC-HPLCにより、サンプル中の高分子ポリマーの含有量が0.4%未満であり、エンドトキシンの含有量が0.098 EU/mg未満であることが検出された。

【0195】

1.4 他の修飾抗ヒト抗体の調製

同様の方法により、トラスツズマブ軽鎖及び/又は重鎖のC末端にそれぞれリガーゼ認識配列に基づく末端修飾を導入し、修飾抗体を得た。

【0196】

Ab0001 (トラスツズマブ) に基づく修飾抗ヒトHER2抗体を表1に示す。末端修飾配列中のLPETGGは、リガーゼ供与体基質の認識配列であり、GAはスペーサー配列である。

【0197】

【表3】

表1 修飾した抗ヒトHER2抗体

	配列	末端に導入された配列
Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC軽鎖	SEQ ID NO: 1	GALPETGG
Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC重鎖	SEQ ID NO: 2	-*
Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HCCT <sub>L</sub> 軽鎖	SEQ ID NO: 3	GALPETGG
Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HCCT <sub>L</sub> 重鎖	SEQ ID NO: 4	GALPETGG

\*:「-」は、末端修飾がないことを表す。

【0198】

実施例 2 中間体の調製

2.1 中間体Mc-GGFG-Dxd (RF1184) の調製

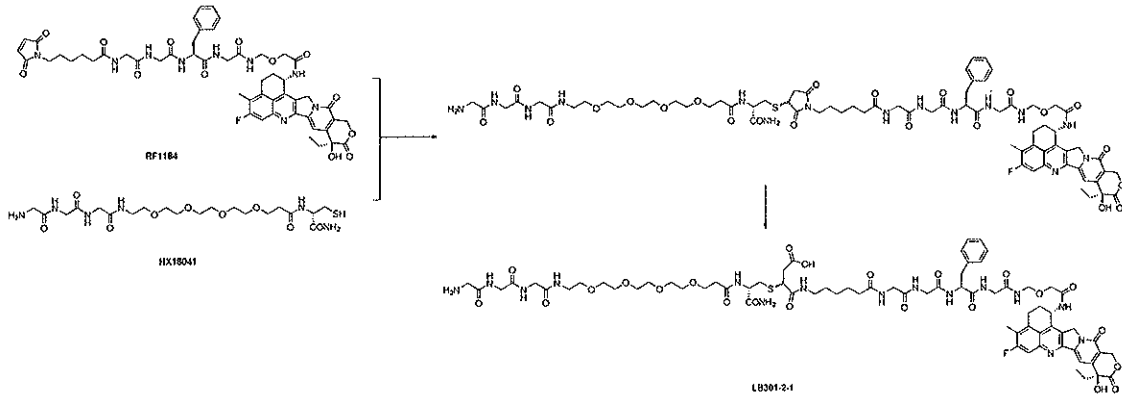
中間体Mc-GGFG-Dxd (RF1184) は市販から入手するか又はEP2907824に記載の手順に従って調製することができる。該化合物は、リンカー-ペイロ

ード中間体（式（IV）の化合物）の調製に使用されるとともに、（任意に修飾された）抗体に直接連結して参照ADCを調製するためにも使用される。

【0199】

2.2 リンカー - ペイロード中間体 LB301-2-1 の調製

【化82】

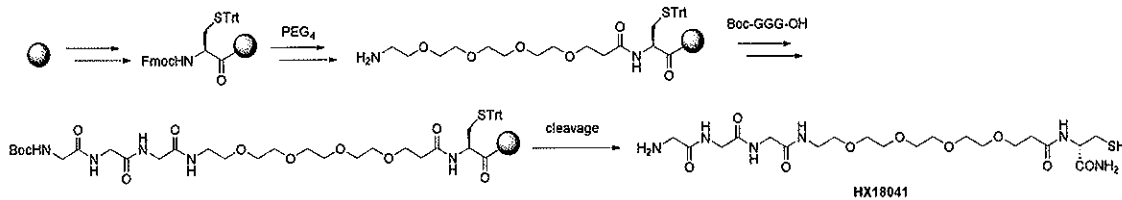


10

【0200】

ステップ1：リンカー - HX18041 の調製

【化83】



20

HX18041は、Rink - アミド - MBHA - 樹脂を使用した従来の固相ポリペプチド合成方法によって合成された。Fmocは、連結ユニット内のアミノ酸を保護するためのものである。コンジュゲーション試薬は、HOBT、HOAt/DIC、DCC、EDCI又はHATUから選択された。合成後、トリフルオロ酢酸を用いて樹脂を切断した。生成物をHPLCで精製し、凍結乾燥して保存し、使用に備える。理論分子量は538.24で、測定値として、 $[M+H]^+ = 539.2$ であった。

30

【0201】

ステップ2：リンカー - ペイロード中間体 LB301-2-1 の調製

HX18041と中間体MC-GGGG-Dxd（モル比は約1.2：1）を秤量し、それぞれ水とDMFに溶解し、十分に混合して混合物を得、0～40℃で0.5～20h反応させた。反応が完了した後、反応混合物に適量のTris塩基溶液又は開環反応を促進する他の溶液を直接加え、その後、0～40℃で0.2～20h反応させた。反応が完了した後、生成物を半分取/分取HPLCで精製し、凍結乾燥し、リンカー - ペイロードLB301-2-1を得た。理論上の質量は1589.65で、測定値として、 $[(M+2H)/2]^+ = 796.6$ であった。

40

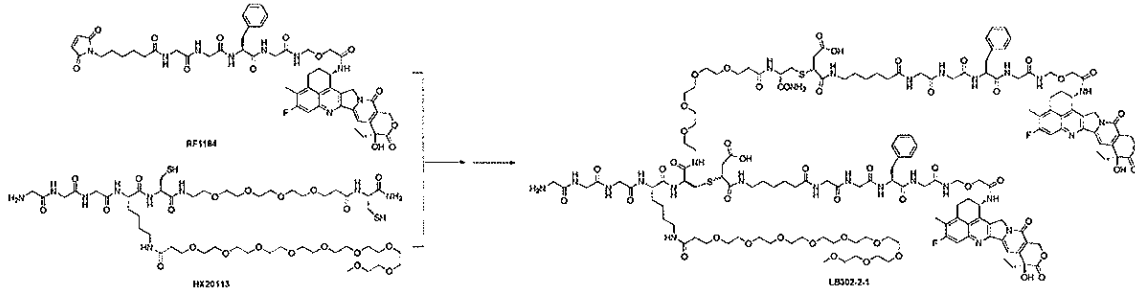
【0202】

2.3 リンカー - ペイロード中間体 LB302-2-1 の調製

50



## 【化 8 4】

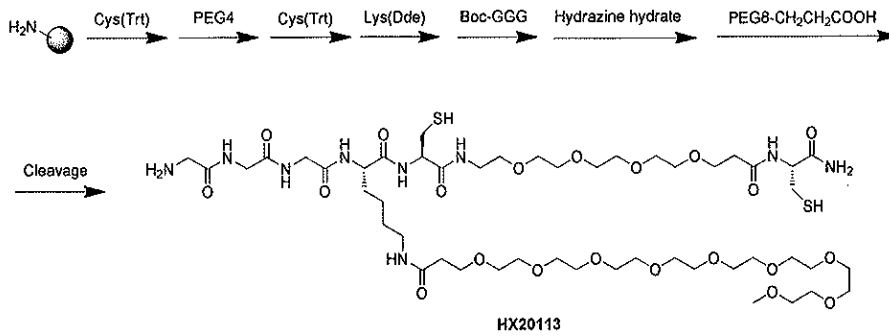


10

## 【0203】

ステップ1：リンカー-HX20113の調製

## 【化 8 5】



20

HX20113は、Rink-アミド-MBHA-樹脂を使用した従来の固相ポリペプチド合成方法によって合成された。Fmocは、連結ユニット内のアミノ酸を保護するためのものである。コンジュゲーション試薬は、HOBT、HOAt/DIC、DCC、EDCI又はHATUから選択された。合成後、トリフルオロ酢酸を用いて樹脂を切断した。生成物をHPLCで精製し、凍結乾燥して保存し、使用に備える。理論上の質量は1207.59で、測定値として、 $[M-H]^- = 1206.7$ であった。

30

## 【0204】

ステップ2：リンカー-ペイロード中間体LB302-2-1の調製

HX20113と中間体MC-GGGG-Dxd（モル比は約1：2）を秤量し、それぞれ水とDMFに溶解し、十分に混合して混合物を得、0～40℃で0.5～30h反応させた。反応が完了した後、反応混合物に適量のTris塩基溶液又は開環反応を促進する他の溶液を直接加え、その後、0～40℃で0.2～20h反応させた。反応が完了した後、生成物を半分取/分取HPLCで精製し、凍結乾燥し、リンカー-ペイロード中間体LB302-2-1を得た。理論上の質量は3310.41で、測定値として、 $[(M+3H)/3]^+ = 1104.5$ であった。

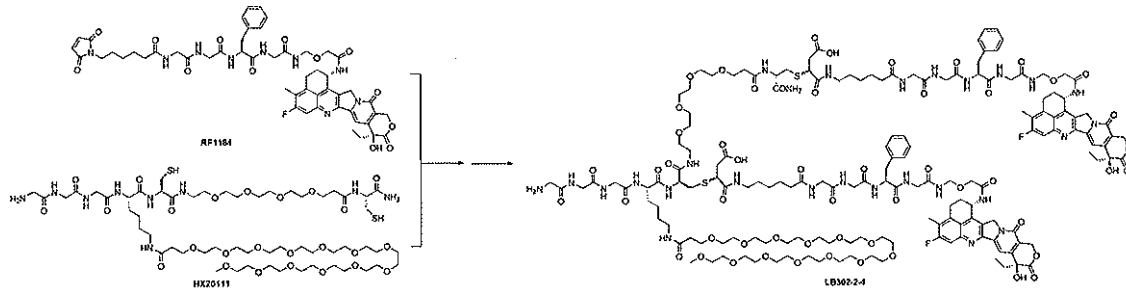
40

## 【0205】

2.4 リンカー-ペイロード中間体LB302-2-4の調製

50

## 【化 8 6】

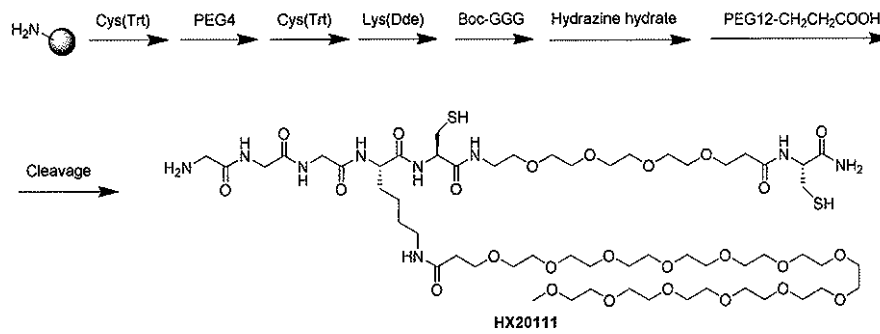


10

## 【 0 2 0 6】

ステップ 1 : リンカー - H X 2 0 1 1 1 の調製

## 【化 8 7】



20

H X 2 0 1 1 1 は、R i n k - アミド - M B H A - 樹脂を使用した従来の固相ポリペプチド合成方法によって合成された。F m o c は連結ユニット内のアミノ酸を保護するためのものである。コンジュゲーション試薬は、H O B T、H O A t / D I C、D C C、E D C I 又は H A T U から選択された。合成後、トリフルオロ酢酸を用いて樹脂を切断した。生成物を H P L C で精製し、凍結乾燥して保存し、使用に備える。理論上の質量は 1 3 8 3 . 7 0 で、測定値として、 $[ M - H ] ^ - = 1 3 8 2 . 6$ であった。

30

## 【 0 2 0 7】

ステップ 2 : リンカー - ペイロード中間体 L B 3 0 2 - 2 - 4 の調製

H X 2 0 1 1 1 と中間体 M C - G G F G - D x d (モル比は約 1 : 2) を秤量し、それぞれ水と D M F に溶解し、十分に混合して混合物を得、0 ~ 4 0 °C で 0 . 5 ~ 3 0 h 反応させた。反応が完了した後、反応混合物に適量の T r i s 塩基溶液又は開環反応を促進する他の溶液を直接加え、その後、0 ~ 4 0 °C で 0 . 2 ~ 2 0 h 反応させた。反応が完了した後、生成物を半分取 / 分取 H P L C で精製し、凍結乾燥し、リンカー - ペイロード中間体 L B 3 0 2 - 2 - 4 を得た。理論上の質量は 3 4 8 6 . 5 2 で、測定値として、 $[ ( M + 3 H ) / 3 ] ^ + = 1 1 6 3 . 3$ であった。

40

## 【 0 2 0 8】

実施例 3 標的化分子 - 薬物コンジュゲートの調製

3 . 1 リンカー - ペイロード中間体をそれぞれリガーゼにより抗体に部位特異的にコンジュゲーションさせて A D C を形成した。コンジュゲーション反応の方法については、W O 2 0 1 5 1 6 5 4 1 3 A 1 を参照することができる。生成された A D C は、次の表に示す通りである。

## 【 0 2 0 9】

50

【表 4】

ADCの名称	リンカー-ペイロード	抗体
LC301-2-1 (2)	LB301-2-1	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-2-1 (4)	LB302-2-1	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC302-2-4 (4)	LB302-2-4	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HC
LC301-2-1 (4)	LB301-2-1	Ab0001-LCCT <sub>L</sub> -HCCT <sub>L</sub>

10

## 【0210】

3.2 参照ADCのLC1184(8)及びLC1184(4)は、中間体RF1184を(任意に修飾された)抗体に直接連結すること(Cysコンジュゲーションであり、即ちマレイミド構造とシステインのチオール基によって形成された連結を介したコンジュゲーション)によって調製された。コンジュゲーション反応の方法は当分野で知られている。LC1184(8)には、還元された鎖間システインを介して8つのRF1184が導入された。LC1184(4)には、還元された鎖間システインを介して4つのRF1184が導入された。

20

## 【0211】

## 効果実施例1 細胞増殖に対するHER2を標的とするコンジュゲートの影響

HER2高発現癌細胞SK-BR-3(図1)とNCI-N87(図2)、HER2低発現癌細胞CFPAC-1(図3)とNCI-H2110(図4)、及びHER2陰性細胞系MDA-MB-468(図5)を使用して細胞毒性測定を実施し、腫瘍細胞増殖に対するコンジュゲートの影響を分析した。試験されたサンプルは、コンジュゲートLC302-2-1(4)、LC302-2-4(4)及び小分子化合物10(構造は上記に示されている)を含む。簡単に説明すると、3000~5000個の細胞を96ウェルプレートに播種し、細胞は一晩成長した後に接着することができる。細胞を異なる濃度の指定薬物で120時間処理した。CellTiter-Glo<sup>(R)</sup> Luminescent Cell Viability Assayで細胞生存率を検査し、細胞生存率のパーセンテージを算出した。

30

## 【0212】

HER2高発現のSK-BR-3とNCI-N87では、コンジュゲートLC302-2-1(4)、LC302-2-4(4)は類似の有効性を示した。LC302-2-1(4)及びLC302-2-4(4)のIC<sub>50</sub>値は、小分子ペイロードDxdよりも低かった。HER2低発現細胞及び陰性細胞では、コンジュゲートLC302-2-1(4)及びLC302-2-4(4)は最小の有効性を示した。

## 【0213】

【表 5】

サンプル	IC <sub>50</sub> (nM)				
	SK-BR-3	N87	CFPAC-1	H2110	MDA-MB-468
LC302-2-1 (4)	0.1926	0.6353	N/A	N/A	N/A
LC302-2-4 (4)	0.1985	0.6353	N/A	N/A	N/A
化合物10	1.472	4.682	-	-	-

40

50

【0214】

効果実施例2 コンジュゲートのインビボでの評価

インビボ抗腫瘍有効性の研究については、 $5 \times 10^6$ のJIMT-1人乳癌細胞(HER2増地)をSCID Beigeマウスの右脇腹に皮下接種した。7日後、腫瘍体積が平均 $142 \text{ mm}^3$ になった時、腫瘍を有するマウスを割り当て、LC1184(8)及び他の5つの異なるコンジュゲートを $5 \text{ mg/kg}$ で静脈内投与した。腫瘍体積を週に2回ノギスで測定した。LC1184(8)はLC1184(4)よりも優れた有効性を示し、同じペイロードを使用する場合、より高いDARがより高い有効性をもたらすことが示唆されている。LC302-2-1(4)及びLC302-2-4(4)の有効性はLC1184(8)よりも優れている。LC301-2-1(4)は、LC1184(8)と同等の有効性を示し、LC301-2-1(2)はLC1184(4)と同等の有効性を示している(図6)。本発明のコンジュゲートは低いDARで良好な有効性を達成した。

10

【0215】

$5 \times 10^6$ のCapan-1ヒト膵臓癌細胞(HER2低発現)をBALB/cヌードマウスの右脇腹に皮下接種して、異種移植モデルを作製した。8日後、腫瘍体積が平均 $178 \text{ mm}^3$ になった時、腫瘍を有するマウスにLC1184(8)及び他の5つの異なるコンジュゲートを $5 \text{ mg/kg}$ で静脈内投与した。腫瘍体積を週に2回ノギスで測定した。LC1184(8)の有効性はLC1184(4)よりも優れている。LC302-2-1(4)、LC302-2-4(4)及びLC301-2-1(4)は、LC1184(8)と同等の有効性を示し、LC301-2-1(2)はLC1184(4)と同等の有効性を示した(図7)。

20

【0216】

効果実施例3 コンジュゲートのエクスビボ血清安定性

エクスビボ血清安定性の研究については、コンジュゲートLC302-2-1(4)、LC302-2-4(4)及びLC1184(8)を、それぞれ37でプールされたヒト血清に接種した。0、24、48及び96時間の時点で、コンジュゲートを抗原で捕捉し、次にグリコシダーゼによって脱グリコシル化し、酸によって解離した。上清を収集して遠心分離し、高分解能LC-MSで検出してDARを決定した。

【0217】

LC302-2-1(4)及びLC302-2-4(4)は、血清中で96時間インキュベートした後でも非常に安定している。96時間のインキュベーション後、LC302-2-1(4)及びLC302-2-4(4)のDARに有意な低下がなかった。しかしながら、LC1184(8)のDARは96時間のインキュベーション後に、7.8から2.6に低下した(図8)。リンカーの安定性は、より多くのペイロードが標的腫瘍に送達され、オフターゲットの遊離ペイロードの放出が減少したことが示され、その結果、治療指数が向上した。

30

【0218】

配列表

SEQ ID No. 1: Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HC軽鎖:  
DIQMTQSPSSLSASVGRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF<sub>L</sub>YSGVPSRFS<sub>G</sub>SRSGTDFTLTIS<sub>S</sub>LQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQG<sub>T</sub>KVEIKRTVAAPS<sub>V</sub>FIFPPSDEQLKSGTASV<sub>V</sub>CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS<sub>T</sub>YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN<sub>R</sub>GECGALPETGG

SEQ ID No. 2: Ab0001-LCCT<sub>L</sub>-HC重鎖:  
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG<sub>F</sub>NIKDTYIHWV<sub>R</sub>QAPGKGLEWVAR<sub>I</sub>YPTNGYTRYADSVKGRFTISAD<sub>T</sub>SKNTAYLQMNSLR<sub>A</sub>EDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT<sub>L</sub>VTVSSASTKGPSV<sub>F</sub>PLAPSSKSTSGGTAA<sub>L</sub>GLVKDYFPEP<sub>V</sub>TVS

40

50

WNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSSLGTQT  
 YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW  
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK  
 EYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREE  
 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV  
 LDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT  
 QKSLSLSPGK

SEQ ID No. 3 : Ab0001 - LCCTL - HCCTL 軽鎖 :

DIQMTQSPSSLSASVGGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPK  
 GKAPKLLIYSASFVLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQP  
 EDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCLLNRFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
 ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG  
 LSSPVTKSFNRGECGALPETGG

10

SEQ ID No. 4 : Ab0001 - LCCTL - HCCTL 重鎖 :

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTNIDKDTYIHWVRQA  
 PGKGLEWVARIIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY  
 LQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS  
 ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS  
 WNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSSLGTQT  
 YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW  
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK  
 EYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREE  
 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV  
 LDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT  
 QKSLSLSPGK GALPETGG

20

【図面】

【図 1】

【図 2】

30

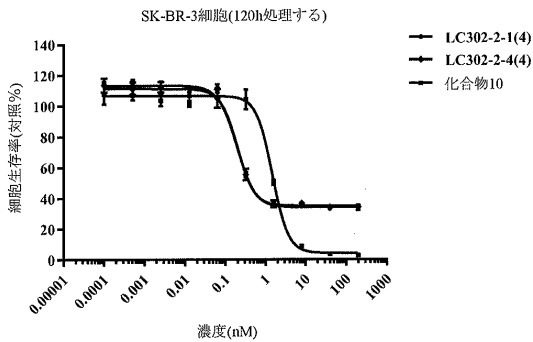


図1

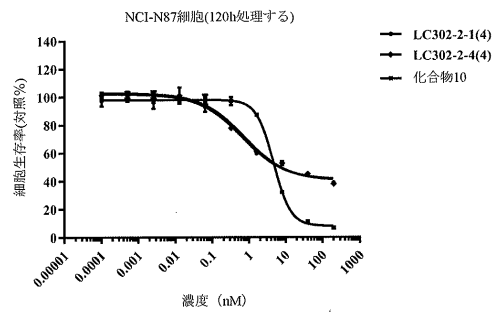


図2

40

【 図 3 】

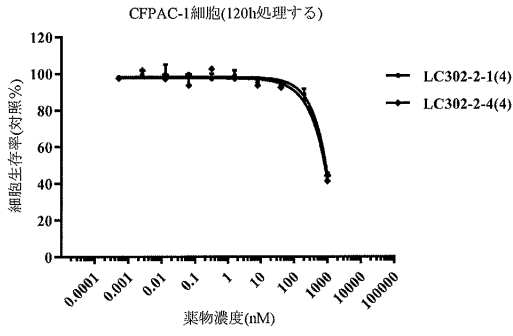


図3

【 図 4 】

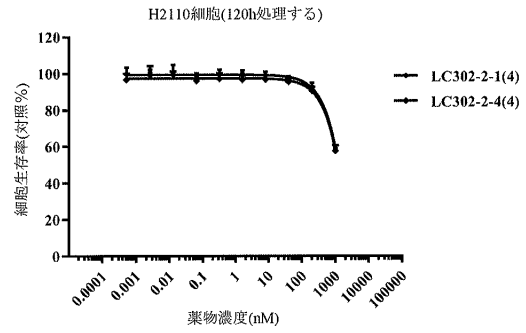


図4

10

【 図 5 】

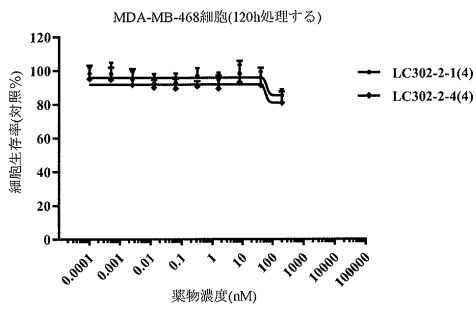


図5

【 図 6 】

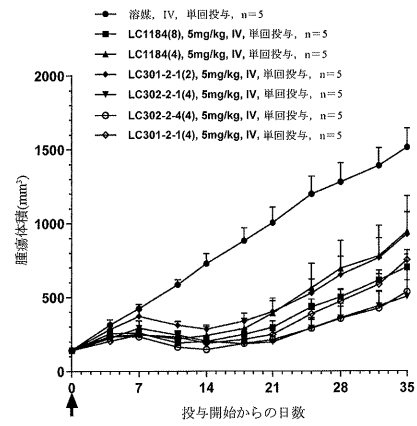


図6

20

30

40

50

【 図 7 】

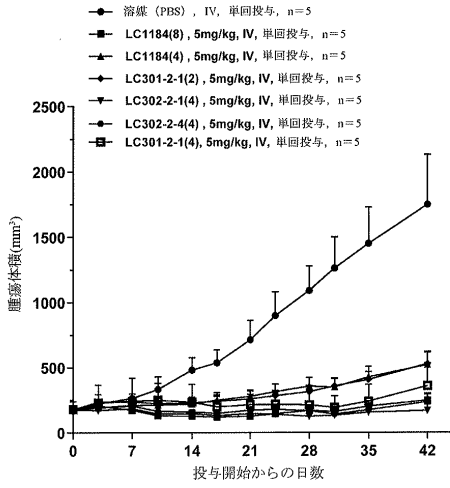


図7

【 図 8 】

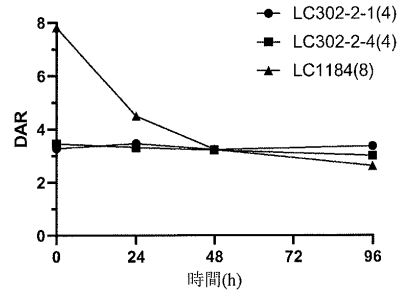


図8

10

【 配列表 】

2024514174000001.app

20

30

40

50

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. <b>PCT/CN2022/086558</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> A61K 47/68(2017.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; C07K 4/00(2006.01)i; C07K 2/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K; C07K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS;CNTXT;DWPI;SIPOABS;STNext caplus;ISI web of knowledge; CNKI:GENEQUANTUM HEALTHCARE;QIN Gang;antibody drug conjugate;ADC;mutli drug;linker		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015165413 A1 (QIN GANG et al.) 05 November 2015 (2015-11-05) claims 1-7, 11-22, figure 22, pages 56-57	1-4, 8-14, 16-17
Y	WO 2015165413 A1 (QIN GANG et al.) 05 November 2015 (2015-11-05) claims 1-7, 11-22, figure 22, pages 56-57	1-17
Y	WO 2014177042 A1 (QIN GANG) 06 November 2014 (2014-11-06) figures 5-12	1-17
Y	CN 110167355 A (SEATTLE GENETICS INC.) 23 August 2019 (2019-08-23) claims 10, 19, 24-26	1-17
Y	WO 2021022678 A1 (MABPLEX INTERNATIONAL CO., LTD.) 11 February 2021 (2021-02-11) claims 1, 4, 14	1-17
A	CN 111093707 A (HANGZHOU DAC BIOTECH CO., LTD.) 01 May 2020 (2020-05-01) the whole document	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search <b>28 June 2022</b>		Date of mailing of the international search report <b>08 July 2022</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>National Intellectual Property Administration, PRC 6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing 100088, China</b> Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer <b>WU, Tiesheng</b> Telephone No. (86) 10-53961870

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

10

20

30

40

50



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/086558

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a.  forming part of the international application as filed:

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

on paper or in the form of an image file.

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

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

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

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

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

3. Additional comments:

10

20

30

40

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2022/086558**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2015165413	A1	05 November 2015	US	2017112944	A1	27 April 2017
				EP	3517114	A1	31 July 2019
				JP	2017514812	A	08 June 2017
				JP	2020055828	A	09 April 2020
				ES	2736505	T3	02 January 2020
				EP	3138568	A1	08 March 2017
				US	2021177929	A1	17 June 2021
				AU	2020200975	A1	27 February 2020
				US	2021401924	A1	30 December 2021
				AU	2015252518	A1	15 December 2016
				CN	106856656	A	16 June 2017
				KR	20170020328	A	22 February 2017
				WO	2014177042	A1	06 November 2014
JP	2018138588	A	06 September 2018				
GB	201520943	D0	13 January 2016				
US	2021187114	A1	24 June 2021				
JP	2020079262	A	28 May 2020				
JP	2016520574	A	14 July 2016				
CN	110167355	A	23 August 2019	MA	50755	A	23 October 2019
				TW	201827085	A	01 August 2018
				US	2020129639	A1	30 April 2020
				MX	2019006983	A	16 August 2019
				AU	2017376926	A1	06 June 2019
				KR	20190095374	A	14 August 2019
				IL	267003	D0	31 July 2019
				CA	3043931	A1	21 June 2018
				EP	3554266	A1	23 October 2019
				JP	2018118953	A	02 August 2018
				WO	2018112253	A1	21 June 2018
WO	2021022678	A1	11 February 2021	AU	2019341066	B1	01 April 2021
				US	2021228728	A1	29 July 2021
				KR	20210093986	A	28 July 2021
				JP	2022507146	A	18 January 2022
				EP	3797796	A1	31 March 2021
				CA	3076712	A1	27 October 2020
				SG	11202101719P	A	30 March 2021
CN	111093707	A	01 May 2020	IL	275274	D0	30 July 2020
				CA	3085634	A1	04 July 2019
				KR	20200097295	A	18 August 2020
				US	2020276261	A1	03 September 2020
				BR	112020010405	A2	24 November 2020
				JP	2021507928	A	25 February 2021
				EP	3621652	A1	18 March 2020
				CL	2020001600	A1	19 March 2021
				EA	202091217	A1	18 September 2020
				SG	11202004801W	A	29 June 2020
				AU	2017445144	A1	18 June 2020
WO	2019127607	A1	04 July 2019				

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.  
**PCT/CN2022/086558**

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
PH 12020550657 A1 19 April 2021			

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/4745(2006.01)	A 6 1 K 39/395	L
A 6 1 K 31/704(2006.01)	A 6 1 K 31/4745	
A 6 1 K 38/12 (2006.01)	A 6 1 K 31/704	
A 6 1 K 31/5517(2006.01)	A 6 1 K 38/12	
A 6 1 K 31/537(2006.01)	A 6 1 K 31/5517	
A 6 1 K 38/06 (2006.01)	A 6 1 K 31/537	
A 6 1 K 38/05 (2006.01)	A 6 1 K 38/06	
C 0 7 K 5/062(2006.01)	A 6 1 K 38/05	
C 0 7 K 5/083(2006.01)	C 0 7 K 5/062	Z N A
C 0 7 K 7/06 (2006.01)	C 0 7 K 5/083	
C 0 7 K 7/08 (2006.01)	C 0 7 K 7/06	
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	C 0 7 K 7/08	
	C 0 7 K 16/30	

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

(74)代理人 100216105

弁理士 守安 智

(72)発明者 ギャン・チン

中華人民共和国ジャンス 2 1 5 1 2 3 . スーチョウ . スーチョウ・インダストリアル・パーク . ル  
ウオシュイ・ロード . ナンバー 3 9 8 . ビルディング・ディー . フィフス・フロア

(72)発明者 ポール・エイチ・ソン

中華人民共和国ジャンス 2 1 5 1 2 3 . スーチョウ . スーチョウ・インダストリアル・パーク . ル  
ウオシュイ・ロード . ナンバー 3 9 8 . ビルディング・ディー . フィフス・フロア

(72)発明者 ミンジュ・フー

中華人民共和国ジャンス 2 1 5 1 2 3 . スーチョウ . スーチョウ・インダストリアル・パーク . ル  
ウオシュイ・ロード . ナンバー 3 9 8 . ビルディング・ディー . フィフス・フロア

F ターム (参考) 4C076 AA95 CC07 CC27 CC41 EE41 EE59  
4C084 AA02 AA03 BA01 BA08 BA14 BA15 BA17 BA24 BA41 CA05  
CA59 DA32 DA34 NA13 ZB071 ZB072 ZB261 ZB262  
4C085 AA13 AA14 AA25 AA26 AA27 BB36 CC22 CC23 EE01 GG02  
4C086 AA01 AA02 CB11 CB22 EA10 GA16 MA01 MA04 NA13 ZB07  
ZB26  
4H045 AA10 AA11 AA30 BA11 BA12 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17  
BA72 CA40 DA76 EA20 FA10 FA74 GA26