

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-502902

(P2018-502902A)

(43) 公表日 平成30年2月1日(2018.2.1)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68 Z N A	4 C 0 7 2
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 7 6
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	4 C 0 8 5
A 6 1 K 47/65 (2017.01)	A 6 1 K 47/65	4 H 0 4 5
C 0 7 D 519/00 (2006.01)	C 0 7 D 519/00 3 1 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 132 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-546038 (P2017-546038)	(71) 出願人	517182365
(86) (22) 出願日	平成27年11月25日 (2015.11.25)		アーダーセー セラピューティクス ソシ
(85) 翻訳文提出日	平成29年7月21日 (2017.7.21)		エテ アノニム
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/077684		スイス連邦, 1066 エパランジュ, ル
(87) 国際公開番号	W02016/083468		ート ドラ コルニッシュ 3ペー
(87) 国際公開日	平成28年6月2日 (2016.6.2)	(71) 出願人	506042265
(31) 優先権主張番号	1420910.0		メディミュン リミテッド
(32) 優先日	平成26年11月25日 (2014.11.25)		イギリス国 シービー21 6ジーエイチ
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, グ
(31) 優先権主張番号	1513605.4		ランタ パーク, ミルステイン ビルディ
(32) 優先日	平成27年7月31日 (2015.7.31)		ング
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100107766
			弁理士 伊東 忠重
		(74) 代理人	100070150
			弁理士 伊東 忠彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ピロロベンゾジアゼピン-抗体コンジュゲート

(57) 【要約】

本開示は、ピロロベンゾジアゼピン (PBD) 二量体及び抗CD25抗体を含む抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の、CD25+ve細胞の存在により特徴づけられる障害の治療における使用に関する。

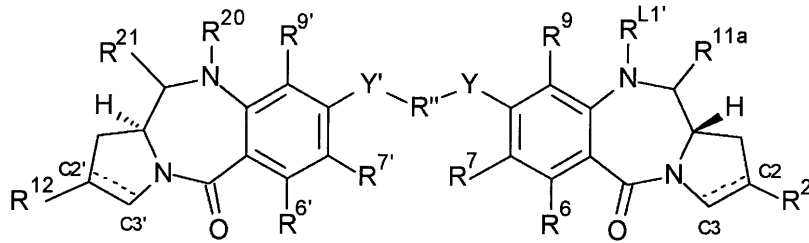
【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

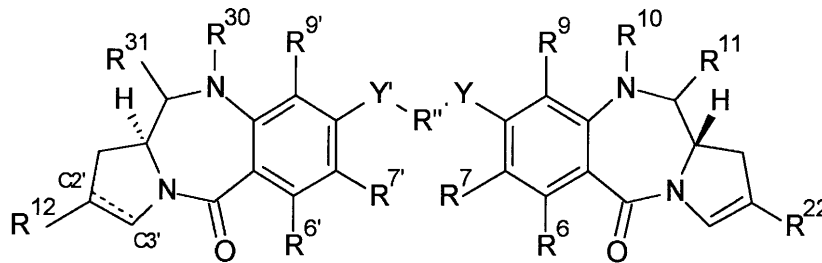
被験体の増殖性疾患を治療する方法であって、前記疾患が CD25⁺ve 及び CD25⁻ve 細胞の両方を含む新生物の存在により特徴づけられ、且つ当該方法が式 L - (D^L)_p のコンジュゲートを被験体に投与することを含み、ここでの D^L は式 I 又は II :

[化 105]



I

10



II

20

である、方法。

[上記式中、

L は CD25 に結合する抗体である抗体 (Ab) であり；

30

C2' と C3' との間に二重結合が存在する場合、R¹² は、(ia) ~ (if) からなる群より選択され、

(ia) ハロ、ニトロ、シアノ、エーテル、カルボキシ、エステル、C₁-₇ アルキル、C₃-₇ ヘテロシクリル及びビス-オキシ-C₁-₃ アルキレンを含む群から選択される 1 以上の置換基で任意に置換されていてもよい C₅-₁₀ アリール基；

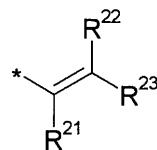
(ib) C₁-₅ 飽和脂肪族アルキル；

(ic) C₃-₆ 飽和シクロアルキル；

(id)

[化 106]

40



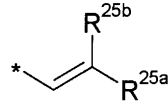
(式中、R²¹、R²²、及び R²³ のそれぞれは、独立して、H、C₁-₃ 飽和アルキ

50

ル、 C_{2-3} アルケニル、 C_{2-3} アルキニル及びシクロプロピルから選択され、 $R^{1,2}$ 基における炭素原子の総数は5以下である)；

(i e)

[化 1 0 7]



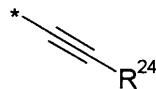
10

(上式において、 R^{25a} 及び R^{25b} の一方は H であり、且つ、他方はフェニル (前記フェニルは、ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよい) ; ピリジル ; 及びチオフェニルから選択される) ; 及び

(i f)

[化 1 0 8]

20



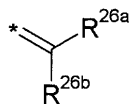
(上式において、 R^{24} は、H ; C_{1-3} 飽和アルキル ; C_{2-3} アルケニル ; C_{2-3} アルキニル ; シクロプロピル ; フェニル (前記フェニルはハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよい) ; ピリジル ; 及びチオフェニルから選択される) ;

30

$C_{2'}$ と $C_{3'}$ との間に単結合が存在する場合、

$R^{1,2}$ は、

[化 1 0 9]



40

であり (上式において、 R^{26a} 及び R^{26b} は、独立して、H、F、 C_{1-4} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニルから選択され、前記アルキル及びアルケニル基は、 C_{1-4} ア

50

ルキルアミド及び C_{1-4} アルキルエステルから選択される基で任意に置換されていてもよく；又は R^{26a} 及び R^{26b} の一方が H である場合、他方はニトリル及び C_{1-4} アルキルエステルから選択される)；

R^6 及び R^9 は、独立して、H、R、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、 NRR' 、ニトロ、 Me_3Sn 及びハロから選択され、ここで、R 及び R' は、独立して、任意に置換されていてもよい C_{1-12} アルキル、 C_{3-20} ヘテロシクリル及び C_{5-20} アリール基から選択され；

R^7 は、H、R、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、 NRR' 、ニトロ、 Me_3Sn 及びハロから選択され；

R'' は、1以上のヘテロ原子、例えばO、S、 NR^{N2} (ここで、 R^{N2} は、H又は C_{1-4} アルキルである)、及び/又は芳香族環、例えばベンゼンもしくは又はピリジンで、中断されていてもよい C_{3-12} アルキレン基であり；

Y 及び Y' はO、S又はNHから選択され；

$R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ はそれぞれ R^6 、 R^7 及び R^9 と同じ基から選択され；

[式I]中、

$R^{L1'}$ は抗体 (Ab) と結合するためのリンカーであり；

R^{11a} は、OH、 OR^A から選択され (但し、 R^A は C_{1-4} アルキル、及び SO_zM であり、ここで、z は2又は3であり、且つ、M は1価の医薬的に許容可能なカチオンである)；

R^{20} 及び R^{21} は、一緒になって、それらが結合している窒素原子と炭素原子との間に二重結合を形成するか、あるいは；

R^{20} はH及び R^c から選択され、ここで、 R^c はキャッピング基であり；

R^{21} はOH、 OR^A 及び SO_zM から選択されるかのいずれかであり；

C2とC3との間に二重結合が存在する場合、 R^2 は、(ia)~(if) からなる群より選択され、

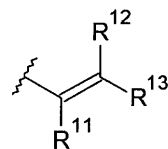
(ia) ハロ、ニトロ、シアノ、エーテル、カルボキシ、エステル、 C_{1-7} アルキル、 C_{3-7} ヘテロシクリル及びビス-オキシ- C_{1-3} アルキレンからなる群から選択される1以上の置換基で任意に置換されていてもよい C_{5-10} アリール基；

(ib) C_{1-5} 飽和脂肪族アルキル；

(ic) C_{3-6} 飽和シクロアルキル；

(id)

[化110]



(式中、 R^{11} 、 R^{12} 、及び R^{13} のそれぞれは、独立して、H、 C_{1-3} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニル、 C_{2-3} アルキニル及びシクロプロピルから選択され、ここで、 R^2 基の炭素原子の総数は5以下である)； (ie)

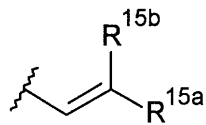
[化111]

10

20

30

40



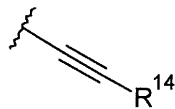
10

(式中、 R^{15a} 及び R^{15b} の一方は H であり、且つ、他方は、フェニル（前記フェニルは、ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよい）；ピリジル；及びチオフェニルから選択される）；及び

(i f)

[化 1 1 2]

20

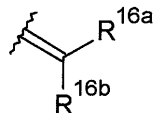


(式中、 R^{14} は、H； C_{1-3} 飽和アルキル； C_{2-3} アルケニル； C_{2-3} アルキニル；シクロプロピル；フェニル（前記フェニルは、ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよい）；ピリジル；及びチオフェニルから選択される）
 C_2 と C_3 との間に単結合が存在する場合、

30

R^2 は、

[化 1 1 3]



40

であり（式中、 R^{16a} 及び R^{16b} は、独立して、H、F、 C_{1-4} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニルから選択され、前記アルキル及びアルケニル基は、 C_{1-4} アルキルアミド及び C_{1-4} アルキルエステルから選択される基で任意に置換されていてもよく；又は、 R^{16a} 及び R^{16b} の一方が H である場合、他方はニトリル及び C_{1-4} アルキルエステルから選択される）；

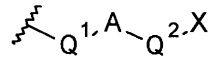
50

[式 I I] 中、

$R^{2,2}$ は、式 I I I a、式 I I I b、又は式 I I I c である。

(a) 式 I I I a :

[化 1 1 4]



IIIa

10

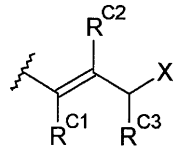
(式 I I I a 中、A は C_{5-7} アリール基であり、及び (i) 又は (i i) のいずれかである。

(i) Q^1 は単結合であり、且つ、 Q^2 は単結合及び $-Z-(CH_2)_n-$ から選択され、ここで、Z は単結合、O、S 及び NH から選択され、且つ、n は 1 ~ 3 であり；又は

(i i) Q^1 は $-CH=CH-$ であり、且つ、 Q^2 は単結合である)；

(b) 式 I I I b :

[化 1 1 5]



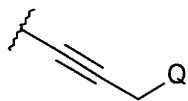
IIIb

30

(式 I I I b 中、 R^{C1} 、 R^{C2} 、 R^{C3} は、独立して H 及び未置換 C_{1-2} アルキルから選択される)；

(c) 式 I I I c

[化 1 1 6]



IIIc

40

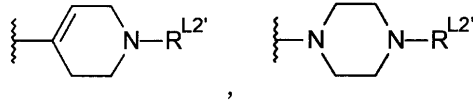
(式 I I I c 中、Q は、 $O-R^{L2}$ 、 $S-R^{L2}$ 、及び NR^N-R^{L2} から選択され

50

、且つ、 R^N は、H、メチル及びエチルから選択され、

X は、：

$O - R^{L2'}$ 、 $S - R^{L2'}$ 、 $CO_2 - R^{L2'}$ 、 $CO - R^{L2'}$ 、 $NH - C(=O) - R^{L2'}$ 、 $NHNH - R^{L2'}$ 、 $CONHNH - R^{L2'}$ 、
[化 1 1 7]



10

$NR^N R^{L2'}$ (式中、 R^N は、H及び C_{1-4} アルキルを含む群から選択される)を含む群から選択され；

$R^{L2'}$ は抗体(Ab)と結合するためのリンカーであり；

R^{10} 及び R^{11} は一緒になって、それらが結合している窒素原子と炭素原子との間に二重結合を形成するか、或いは；

20

R^{10} はHであり、且つ、 R^{11} はOH、 OR^A 及び SO_2M から選択されるかのいずれかであり；

R^{30} 及び R^{31} は一緒になって、それらが結合している窒素原子と炭素原子との間に二重結合を形成するか、或いは；

R^{30} はHであり、且つ、 R^{31} はOH、 OR^A 及び SO_2M から選択されるかのいずれかである。]

【請求項 2】

抗体 - 薬物コンジュゲート化合物が、前記新生物において前記 $CD25 + ve$ 及び $CD25 - ve$ 細胞の両方の細胞死を引き起こす請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 3】

R^7 が C_{1-4} アルキルオキシ基である、H 請求項 1 又は 2 に記載の前記方法。

【請求項 4】

Y が O であり、且つ、 R'' が C_{3-7} アルキレンである、請求項 1 ~ 3 ののいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

R^6 及び R^9 が H である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

H

【請求項 6】

$C2'$ と $C3'$ との間に二重結合が存在し、且つ、 R^{12} は：

(a) メトキシ、エトキシ、フルオロ、クロロ、シアノ、ビス - オキシ - メチレン、メチル - ピペラジニル、モルホリノ及びメチル - チオフェニルから選択される 1 から 3 の置換基を有してよい、 C_{5-7} アリール基；又は、

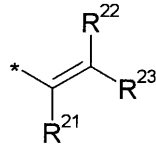
40

(b) メチル、エチルもしくはプロピル；又は

(c) シクロプロピル；又は、

(d) 式：

[化 1 1 8]

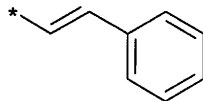


10

の基（式中、前記 R^{1 2} 基における炭素原子の総数が 4 以下である）；又は

（ e ）式：

[化 1 1 9]



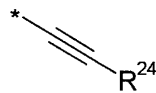
20

の基；又は

（ f ）式：

[化 1 2 0]

30



の基（式中、R^{2 4} は、H 及びメチルから選択される）
である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

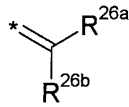
40

【請求項 7】

C 2 ' と C 3 ' との間に単結合が存在し、

R² は、

[化 1 2 1]



であり、且つ：

10

(a) R^{26a} 及び R^{26b} は共に H であり；又は

(b) R^{26a} 及び R^{26b} は共にメチルであり；又は

(c) R^{26a} 及び R^{26b} の一方は H であり、且つ、他方は C₁ - 4 飽和アルキル、C₂ - 3 アルケニルから選択され、前記アルキル及びアルケニル基は、任意に置換される)

である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

[式 I]

【請求項 8】

C 2 と C 3 との間に二重結合が存在し、且つ、R² は：

20

(a) メトキシ、エトキシ、フルオロ、クロロ、シアノ、ビス - オキシ - メチレン、メチル - ピペラジニル、モルホリノ及びメチル - チオフェニルから選択される 1 ~ 3 の置換基を有してよい、C₅ - 7 アリール基；又は、

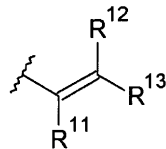
(b) メチル、エチルもしくはプロピル；又は、

(c) シクロプロピル；又は、

(d) 式：

[化 1 2 2]

30

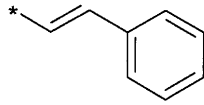


の基 (R² 基における炭素原子の総数が 4 以下である) ；又は、

(e) 式：

[化 1 2 3]

40

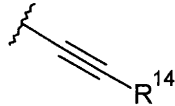


10

の基；又は、

(f) 式：

[化 1 2 4]



20

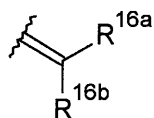
(R¹⁴ は、H 及びメチルから選択される) の基；
 である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

C₂ と C₃ との間に二重結合が存在し、R² は

[化 1 2 5]

30



40

であり、且つ、：

(a) R^{16a} 及び R^{16b} は共に H であり；又は

(b) R^{16a} 及び R^{16b} は共にメチルであり；又は

(c) R^{16a} 及び R^{16b} の一方は H であり、且つ、他方は C₁ - ₄ 飽和アルキル、
 C₂ - ₃ アルケニルから選択され、前記アルキル及びアルケニル基は、任意に置換される
 ；

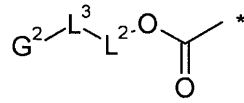
請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

R²⁰ が R^c であり、ここで、R^c が基：

[化 1 2 6]

50



10

(式中、アスタリスクはN10位への結合点を示し、 G^2 は末端基であり、 L^3 は共有結合又は切断可能なリンカー L^1 であり、 L^2 は共有結合であるか、又は $OC(=O)$ と一緒に自壊性リンカーを形成する)

である、請求項1~9のいずれか一項に記載の方法。

【式II】

【請求項11】

(a) $R^{2'}$ は式II Iaで表され、Aはフェニルであり、 Q^1 は単結合であり、且つ、 Q^2 は単結合であるか；又は

(b) $R^{2'}$ は式II Ibで表され、且つ、 R^{C1} 、 R^{C2} 及び R^{C3} は全てHであり；且つ、

Xは $NH-R^{L2'}$ である、

請求項1~7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

$R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 及び Y' は、 R^6 、 R^7 、 R^9 及び Y と同一である、請求項1~81のいずれか一項に記載の方法。

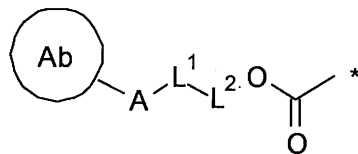
【請求項13】

$L-R^{L1'}$ 又は $L-R^{L2'}$ は基：

[化127]

20

30



40

(ここで、アスタリスクはPBDへの結合点を示し、Abは抗体であり、 L^1 は切断可能なリンカーであり、Aは L^1 と抗体とを連結する連結基であり、 L^2 は共有結合であるか、又は $OC(=O)$ と一緒に自壊性リンカーを形成する)である、請求項1~84のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】

L^1 はジペプチドを含み、且つ、ジペプチド、 $-NH-X_1-X_2-CO-$ における基

$-X_1-X_2-$ は、

-Phe-Lys-

-Val-Ala-

50

- Val - Lys -、
- Ala - Lys -、
- Val - Cit -、
- Phe - Cit -、
- Leu - Cit -、
- Ile - Cit -、
- Phe - Arg -、
- Trp - Cit -、

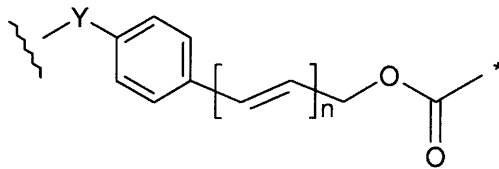
から選択される、請求項 13 に記載の前記方法。

【請求項 15】

10

OC(=O) 及び L² が一緒になって基：

[化 128]



20

(アスタリスクは PBD への結合点を示し、波線はリンカー L¹ への結合点を示し、Y は NH、O、C(=O)NH 又は C(=O)O であり、且つ、n は 0 ~ 3 である) を形成する、請求項 13 に記載の方法。

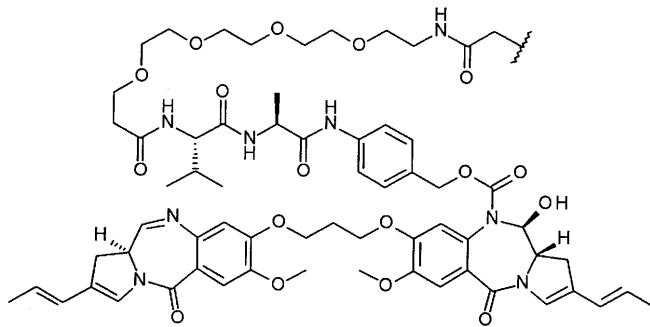
【請求項 16】

30

D^L が、Conj A、Conj B、Conj C、Conj D、及び Conju E を含む群から選択される請求項 1 に記載の方法。

[化 129]

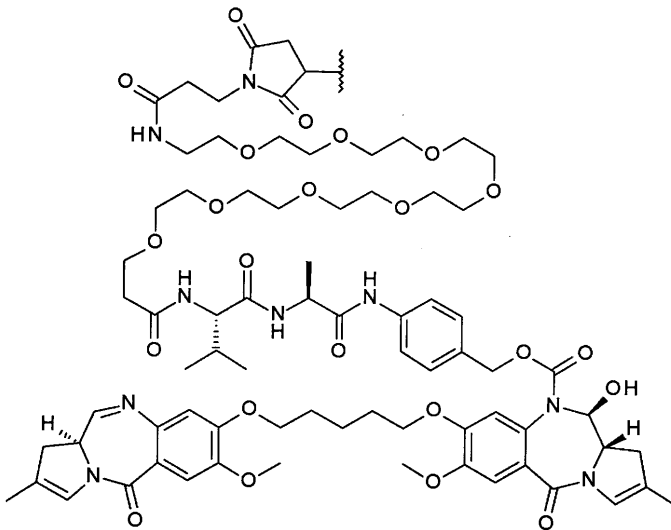
ConjD



ConjD

; and

ConjE:



ConjE

10

20

30

40

50

【請求項 17】

前記抗体が無傷抗体である請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記抗体はヒト化、脱免疫化又は再表面化される、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記抗体は完全なヒトモノクローナル IgG1 抗体、好ましくは IgG1, κ である、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項いずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記抗体は、バシリキシマブ；ダクリズマブ；HuMax-TAC から選択される請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記抗体は、SEQ ID NO. 3のアミノ酸配列を有するVH CDR 1、SEQ ID NO. 4のアミノ酸配列を有するVH CDR 2、及びSEQ ID NO. 5のアミノ酸配列を有するVH CDR 3を含むVHドメインを含む、請求項 16 ~ 19のいずれか一項いずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記抗体は、SEQ ID NO. 1に従う配列を有するVHドメインを含む、請求項 2 1に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記抗体は、SEQ ID NO. 6のアミノ酸配列を有するVL CDR 1、SEQ ID NO. 7のアミノ酸配列を有するVL CDR 2、及びSEQ ID NO. 8のアミノ酸配列を有するVL CDR 3を含むVLドメインを含む、請求項 20 ~ 22のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 2 4】

前記抗体は、SEQ ID NO. 2に従う配列を有するVLドメインを含む、請求項 2 3に記載の方法。

【請求項 2 5】

薬物(D)の抗体(Ab)に対する薬物負荷(p)が1 ~ 約8の整数である、請求項 1 ~ 2 4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

pが1、2、3、又は4である、請求項 2 5に記載の方法。

20

【請求項 2 7】

抗体-薬物コンジュゲート化合物の混合物の使用を含み、前記抗体-薬物コンジュゲート化合物の混合物中の抗体当たりの平均薬物負荷が約2 ~ 約5である、請求項 2 5に記載の前記方法。

【請求項 2 8】

請求項 1 ~ 2 7のいずれか一項に記載の方法を実施することを含む、CD 2 5 + v e 細胞の近傍の腫瘍性CD 2 5 - v e 細胞に対する細胞傷害を引き起こす方法。

【請求項 2 9】

請求項 1 ~ 2 7のいずれか一項に記載のコンジュゲートによる治療のための被験体を選択する方法であって、当該方法は、CD 2 5 + v e 及びCD 2 5 - v e 細胞の両方を含む新生物の存在を同定するために前記被験体をスクリーニングすることを含む、方法。

30

【請求項 3 0】

被験体における増殖性疾患を治療する方法であって、

(i) CD 2 5 + v e 及びCD 2 5 - v e 細胞の両方を含む新生物の被験体における存在を同定すること；

(ii) 請求項 1 ~ 2 7のいずれか一項に記載の抗体-薬物コンジュゲート化合物を被験体に投与すること；

を含む、方法。

【請求項 3 1】

前記スクリーニング又は同定が、免疫組織化学によってCD 2 5 + v e 細胞を同定するコンパニオン診断によって行われる、請求項 2 9 又は請求項 3 0に記載の方法。

40

【請求項 3 2】

前記CD 2 5 + v e 及びCD 2 5 - v e 細胞の両方が腫瘍細胞である、請求項 1 ~ 3 1のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記増殖性疾患が、ホジキンリンパ腫又は非ホジキンリンパ腫である、請求項 1 ~ 3 2のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記非ホジキンリンパ腫が、

50

末梢 T 細胞リンパ腫；皮膚 T 細胞リンパ腫；びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫；濾胞リンパ腫；マントル細胞リンパ腫；慢性リンパ球性白血病；未分化大細胞リンパ腫；急性骨髄性白血病；フィラデルフィア染色体陽性 ALL (Ph + ALL) 又はフィラデルフィア染色体陰性 ALL (Ph - ALL) 等の急性リンパ芽球性白血病；
から選択される、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

前記 CD25 + ve 細胞が腫瘍浸潤リンパ球である、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 36】

前記新生物又は新生細胞は、非血液学的がんであるか、又は非血液学的がんにおいて存在する請求項 35 に記載の前記方法。

10

【請求項 37】

前記新生物又は新生細胞は、固形腫瘍であるか、又は固形腫瘍において存在する、請求項 1 ~ 36 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

前記新生物又は新生細胞が悪性である、請求項 1 ~ 37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

前記新生物又は新生細胞は転移性である、請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の方法。

。

【請求項 40】

請求項 1 ~ 39 のいずれか一項に記載の方法で使用するための、請求項 1 ~ 27 のいずれか一項に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート化合物。

20

【請求項 41】

請求項 1 ~ 39 のいずれか一項に記載の方法で使用するための医薬の製造における、請求項 1 ~ 27 のいずれか一項に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、CD25 に結合する抗体に対してリンカー形態の不安定な C2 又は N10 保護基を有するピロロベンゾジアゼピン (PBD) の特定の用途に関する。

30

【背景技術】

【0002】

ピロロベンゾジアゼピン

いくつかのピロロベンゾジアゼピン (PBD) は、DNA の特定の配列を認識して結合する能力を有する；好ましい配列は PuG Pu である。最初の PBD 抗腫瘍抗生物質であるアントラマイシン (anthramycin) は 1965 年に発見された (Leimgruber ら、J. Am. Chem. Soc., 87, 5793 - 5795 (1965)；Leimgruber ら、J. Am. Chem. Soc., 87, 5791 - 5793 (1965))。それ以来、天然に存在する多くの PBD が報告されており、様々な類似体について 10 を超える合成経路が開発されている (Thurston ら、Chem. Rev. 1994, 433 - 465 (1994)；Antonow, D. 及び Thurston, DE., Chem. Rev. 2011 111 (4), 2815 - 2864)。ファミリーの構成員としては、アベバイマイシン (abbeymycin) (Hochlowski ら、J. Antibiotics, 40, 145 - 148 (1987))、シカマイシン (chicamyacin) (Konishi ら、J. Antibiotics, 37, 200 - 206 (1984))、DC-81 (特許公報 58 - 180487；Thurston ら、Chem. Brit., 26, 767 - 772 (1990)；Bose ら、Tetrahedron, 48, 751 - 758 (1992))、マゼトラマイシン (mazethramycin) (Kuminoto ら、J. Antibiotics, 33, 665 - 667 (1980))、ネオトラマイシン (neothram

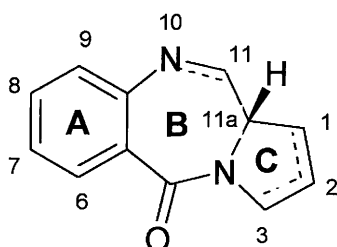
40

50

ycin) A及びB (Takeuchiら、J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976))、ポロトラマイシン (porothramycin) (Tsunakawaら、J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988))；プロトラカルシン (prothracarcin) (Shimizuら、J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982))；Langley及びThurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987))、シバノマイシン (sibanomicin) (DC-102) (Hararaら、J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988))；Itoら、J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988))、シビロマイシン (sibiromycin) (Leberら、J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988))及びトママイシン (tomamycin) (Arimaら、J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972))が挙げられる。PBDは下記の一般構造で表される：

10

[化1]



20

【0003】

これらは、置換基の数、タイプ及び位置、芳香族A環及びピロロC環の両方、並びにC環の飽和度において異なる。B環には、DNAをアルキル化する原因となる求電子中心であるN10-C11位置に、イミン(N=C)、カルビノールアミン(NH-CH(OH))、又はカルビノールアミンメチルエーテル(NH-CH(OMe))が存在する。全ての既知の天然物は、C環からA環に向かって右旋回を与えるキラルC11a位置に(S)-立体配置を有する。これにより、B型DNAの副溝を有する等らせん状(isohelicity)に適した三次元形状が得られ、結合部位にぴったりはまる(Kohn, Antibiotics III, Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 1975)；Hurley及びNeedham-Vandevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230-237 (1986))。副溝に付加物を形成するそれらの能力は、それらによるDNA処理の妨害を可能にし、従って、それらの抗腫瘍剤としての使用を可能にする。

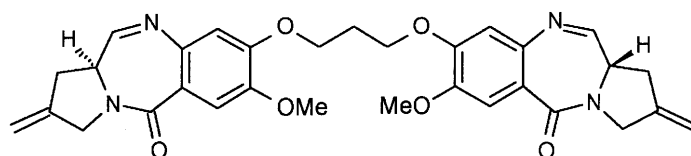
30

40

【0004】

特に有利なピロロベンゾジアゼピン化合物は、Gregsonら(Chem. Commun. 1999, 797-798)により化合物1として、及びGregsonら(J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174)により化合物4aとして記載されている。この化合物は、SG2000としても知られている：

[化2]



SG2000

10

【0005】

WO2007/085930には、抗体等の細胞結合剤に結合するためのリンカー基を有する二量体PBD化合物の調製が記載されている。リンカーは、二量体のモノマーPBD単位をつなぐ架橋に存在する。

抗体等の細胞結合剤に連結するためのリンカー基を有する二量体PBD化合物は、WO2011/130613及びWO2011/130616に記載されている。これらの化合物中のリンカーは、C2位を介してPBDコアに結合しており、一般に、リンカー基上の酵素の作用によって切断される。WO2011/130598においては、これらの化合物中のリンカーは、PBDコア上の利用可能なN10位の1つに結合し、一般に、リン

20

【0006】

抗体-薬物コンジュゲート

がん、免疫学的及び血管新生疾患を有する患者の標的治療のために、抗体療法が確立されている(Carter, P. (2006) Nature Reviews Immunology 6: 343-357)。細胞毒性剤又は細胞増殖抑制剤、即ち、がんの治療において腫瘍細胞を殺す又は阻害する薬物、の局所送達のための抗体-薬物コンジュゲート(ADC)(即ち、免疫コンジュゲート)の使用は、腫瘍への薬物部分の送達、その中の細胞内蓄積を目的とするが、一方で、非コンジュゲート(コンジュゲートされていない)薬物の全身投与は、正常細胞に対する許容できないレベルの毒性をもたらし得る(Xieら(2006) Expert. Opin. Biol. Ther. 6(3): 281-291; Kovtunら(2006) Cancer Res. 66(6): 3214-3121; Lawら(2006) Cancer Res. 66(4): 2328-2337; Wuら(2005) Nature Biotech. 23(9): 1137-1145; Lambert J. (2005) Current Opin. Pharmacol. 5: 543-549; Hamann P. (2005) Expert Opin. Ther. Patents 15(9): 1087-1103; Payne, G. (2003) Cancer Cell 3: 207-212; Trailら(2003) Immunol. Immunother. 52: 328-337; Syrigos及びEpenetos(1999) Anticancer Research 19: 605-614)。

30

40

【0007】

従って、最小の毒性で最大の効能が求められる。ADCを設計し改良する努力は、モノクローナル抗体(mAb)の選択性、同様に、作用の薬物メカニズム、薬物結合、薬物/抗体比(負荷)、及び薬物放出特性に焦点が当てられている(Junutulaら, 2008b Nature Biotech, 26(8): 925-932; Dornanら(2009) Blood 114(13): 2721-2729; US7521541; US7723485; WO2009/052249; McDonagh(2006) Protein Eng. Design&Sel. 19(7): 299-307; Doroninaら(2006) Bioconj. Chem. 17: 114-124; Ericksonら(2006) Cancer Res. 66(8): 1-8; Sandersonら

50

(2005) Clin Cancer Res. 11: 843 - 852; Jeffrey ら (2005) J. Med. Chem. 48: 1344 - 1358; Hamblett ら (2004) Clin. Cancer Res. 10: 7063 - 7070)。

【0008】

WO2014/57119は、抗CD25抗体にコンジュゲートしたPBD二量体を開示した。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

開示

10

以下により詳細に記載されるように、本発明者らは、CD25陽性細胞を標的とする場合、本明細書で定義されるADCが、CD25陰性細胞に対してさらに強力なバイスタンダー効果を有することを実証した。

【0010】

この知見は、例えば、CD25 + ve 及び CD25 - ve 細胞の両方が存在する腫瘍又は他の新生物(neoplasmas)に対して使用するための新しい治療状況を示唆している、このようなADCのためのさらなる有用性を提供する。そして、その腫瘍又は他の新生物は、(非限定的な例として)腫瘍性CD25陽性細胞の集団が異種であるリンパ腫、或いはCD25を欠いているがCD25陽性活性化T細胞で浸潤している新生物であり得る。

【課題を解決するための手段】

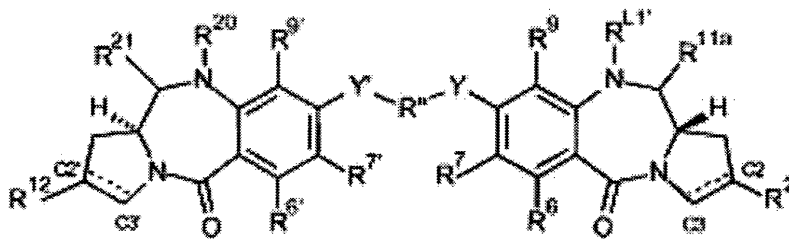
20

【0011】

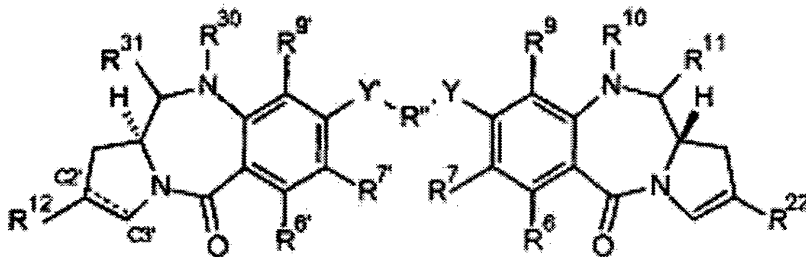
従って、本開示の好ましい第1の態様は、

被験体の増殖性疾患を治療する方法であって、前記疾患がCD25 + ve 及び CD25 - ve 細胞の両方を含む新生物の存在により特徴づけられ、且つ当該方法が式L - (D^L)_p のコンジュゲートを被験体に投与することを含み、D^L は式I又はII:

[化3]



30



40

[但し、

LはCD25に結合する抗体である抗体(Ab)であり；

pは1から20の整数であり；

C2'とC3'との間に二重結合が存在する場合、

50

R^{1 2} は、

(i a) ハロ、ニトロ、シアノ、エーテル、カルボキシ、エステル、C₁ - 7 アルキル、C₃ - 7 ヘテロシクリル及びビス - オキシ - C₁ - 3 アルキレンからなる群から選択される1つ以上の置換基で任意に置換されていてもよいC₅ - 10 アリール基；

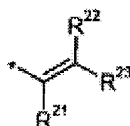
(i b) C₁ - 5 飽和脂肪族アルキル；

(i c) C₃ - 6 飽和シクロアルキル；

(i d)

[化4]

10

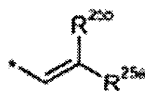


(上式において、R^{2 1}、R^{2 2}、及びR^{2 3}のそれぞれは、独立して、水素、C₁ - 3 飽和アルキル、C₂ - 3 アルケニル、C₂ - 3 アルキニル及びシクロプロピルから選択され、R^{1 2}基の炭素原子の総数は5以下である)；

20

(i e)

[化5]



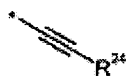
30

(上式において、R^{2 5 a}及びR^{2 5 b}の一方は水素であり、且つ、他方は、ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される)；及び

(i f)

[化6]

40



(上式において、R^{2 4}は、水素；C₁ - 3 飽和アルキル；C₂ - 3 アルケニル；C₂ -

50

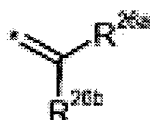
3 アルキニル；シクロプロピル；ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される)

からなる群より選択され；

C 2 ' と C 3 ' との間に単結合が存在する場合、

R^{1 2} は、

[化 7]



10

(上式において、R^{2 6 a}及びR^{2 6 b}は、独立して、水素、フッ素、C_{1 - 4}飽和アルキル、C_{2 - 3}アルケニルから選択され、前記アルキル及びアルケニル基は、C_{1 - 4}アルキルアミド及びC_{1 - 4}アルキルエステルから選択される基で置換されていてもよく、或いはR^{2 6 a}及びR^{2 6 b}の一方がHである場合、他方はニトリル及びC_{1 - 4}アルキルエステルから選択される)であり；

20

R⁶及びR⁹は、独立して、水素、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、ニトロ、Me₃Sn及びハロから選択され、且つ前記R及びR'は、独立して、任意に置換されていてもよいC_{1 - 12}アルキル、C_{3 - 20}ヘテロシクリル及びC_{5 - 20}アリール基から選択され；

R⁷は、水素、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、ニトロ、Me₃Sn及びハロから選択され；

Rⁿは1つ以上のヘテロ原子、例えばO、S、NR^{N 2}(R^{N 2}は、H又はC_{1 - 4}アルキルである)、及び/又は芳香族環、例えばベンゼン又はピリジンで中断されていてもよいC_{3 - 12}アルキレン基であり；

30

Y及びY'は酸素、硫黄又はNHから選択され；

R^{6'}、R^{7'}、R^{9'}はそれぞれR⁶、R⁷及びR⁹と同じ基から選択され；

[式 I]

R^{L 1'}は抗体(Ab)と結合するためのリンカーであり；

R^{1 1 a}は、OH、OR^A(但し、R^AはC_{1 - 4}アルキル、及びSO₂Mであり、zは2又は3であり、Mは1価の薬学的に許容されるカチオンである)から選択され；

R^{2 0}及びR^{2 1}は、一緒になって、それらが結合している窒素原子と炭素原子との間に二重結合を形成するか；

R^{2 0}は水素及びR^cから選択され、R^cはキャッピング基であり；

R^{2 1}はOH、OR^A及びSO₂Mから選択され；

40

C 2 と C 3 との間に二重結合が存在する場合、

R²は、

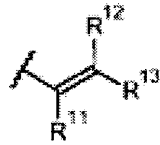
(i a) ハロ、ニトロ、シアノ、エーテル、カルボキシ、エステル、C_{1 - 7}アルキル、C_{3 - 7}ヘテロシクリル及びビス-オキシC_{1 - 3}アルキレンからなる群から選択される1つ以上の置換基で任意に置換されていてもよいC_{5 - 10}アリール基；

(i b) C_{1 - 5}飽和脂肪族アルキル；

(i c) C_{3 - 6}飽和シクロアルキル；

(i d)

[化 8]

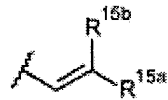


10

(上式において、 R^{11} 、 R^{12} 、及び R^{13} のそれぞれは、独立して、水素、 C_{1-3} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニル、 C_{2-3} アルキニル及びシクロプロピルから選択され、 R^2 基の炭素原子の総数は5以下である)；

(i e)

[化9]



20

(上式において、 R^{15a} 及び R^{15b} の一方は水素であり、他方は、ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される)；そして

(i f)

[化10]

30



40

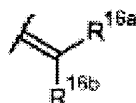
(上式において、 R^{14} は、水素； C_{1-3} 飽和アルキル； C_{2-3} アルケニル； C_{2-3} アルキニル；シクロプロピル；ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される)

からなる群より選択され、

C_2 と C_3 との間に単結合が存在する場合、

R^2 は、

[化11]



10

(上式において、 R^{16a} 及び R^{16b} は、独立して、水素、フッ素、 C_{1-4} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニルから選択され、前記アルキル及びアルケニル基は、 C_{1-4} アルキルアミド及び C_{1-4} アルキルエステルから選択される基で置換されていてもよく；或いは、 R^{16a} 及び R^{16b} の一方が水素である場合、他方はニトリル及び C_{1-4} アルキルエステルから選択される) であり；

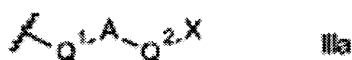
[式 I I]

R^{22} は、式 I I I a、式 I I I b、又は式 I I I c：

(a)

[化 1 2]

20



30

(上式において、A は C_{5-7} アリール基であり、そして

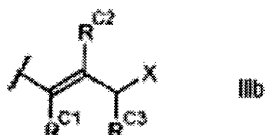
(i) Q^1 は単結合であり、 Q^2 は単結及び $-Z-(CH_2)_n-$ から選択され、Z は単結合、O、S 及び NH から選択され、n は 1 ~ 3 であり；又は

(i i) Q^1 は $-CH=CH-$ であり、 Q^2 は単結合である。)；

(b)

[化 1 3]

40

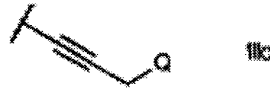


(上式において、 R^{C1} 、 R^{C2} 、 R^{C3} は、独立して水素及び C_{1-2} アルキルである)；

(c)

50

[化 1 4]

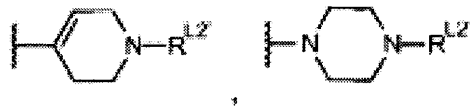


10

(上式において、Qは、O - R^{L 2'}、S - R^{L 2'}及びNR^N - R^{L 2'}から選択され、R^Nは、水素、メチル及びエチルから選択される) ; であり、Xは、O - R^{L 2'}、S - R^{L 2'}、CO₂ - R^{L 2'}、CO - R^{L 2'}、NH - C(=O) - R^{L 2'}、NHNH - R^{L 2'}、CONHNH - R^{L 2'}、

[化 1 5]

20



、NR^NR^{L 2'} (式中、R^Nは、水素及びC₁ - 4アルキルを含む群から選択される)を含む群から選択され;

R^{L 2'}は抗体(Ab)と結合するためのリンカーであり;

30

R^{1 0}及びR^{1 1}は一緒になって、それらが結合している窒素原子と炭素原子との間に二重結合を形成するか、或いは

R^{1 0}は水素であり、R^{1 1}はOH、OR^A及びSO₂Mから選択され;

R^{3 0}及びR^{3 1}は一緒になって、それらが結合している窒素原子と炭素原子の間に二重結合を形成するか、或いは

R^{3 0}は水素であり、R^{3 1}はOH、OR^A及びSO₂Mから選択される。]

で表される方法を提供する。

=====

【 0 0 1 2 】

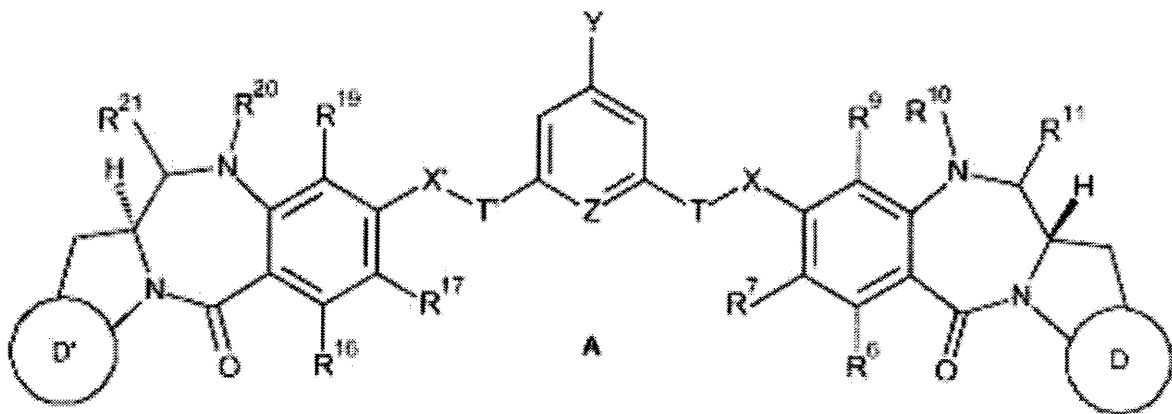
本開示の別の態様では、CD25 + ve及びCD25 - ve細胞の両方を含む新生物の存在によって特徴づけられる、被験体の増殖性疾患を治療する方法であって、

40

前記方法が、式Aで表されるコンジュゲートを被験体に投与することを含む、方法を提供する。

式A:

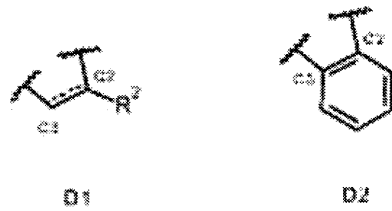
[化 1 6]



10

[但し、Dは、基D1又はD2のいずれかを表し：
[化17]

20



30

点線は、C2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し；
C2とC3との間に二重結合が存在する場合、
R²は、

(i a) ハロ、ニトロ、シアノ、エーテル、カルボキシ、エステル、C₁-₇アルキル、C₃-₇ヘテロシクリル及びビス-オキシ-C₁-₃アルキレンからなる群から選択される1つ以上の置換基で任意に置換されていてもよいC₅-₁₀アリール基；

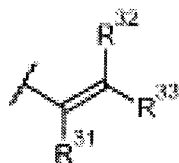
(i b) C₁-₅飽和脂肪族アルキル；

(i c) C₃-₆飽和シクロアルキル；

(i d)

[化18]

40

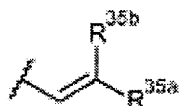


10

(上式において、 R^{31} 、 R^{32} 、及び R^{33} のそれぞれは、独立して、水素、 C_{1-3} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニル、 C_{2-3} アルキニル及びシクロプロピルから選択され、 R^2 基の炭素原子の総数は5以下である)；

(i e)
[化19]

20



(上式において、 R^{35a} 及び R^{35b} の一方は水素であり、他方は、ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される)；そして

(i f)
[化20]

30



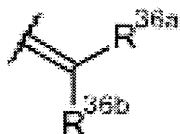
40

(上式において、 R^{34} は、水素； C_{1-3} 飽和アルキル； C_{2-3} アルケニル； C_{2-3} アルキニル；シクロプロピル；ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される)；

(i g) ハロ；
からなる群より選択され；
C2とC3との間に単結合が存在する場合、
 R^2 は、

[化21]

50



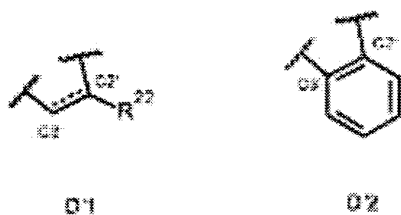
10

(上式において、 R^{36a} 及び R^{36b} は、独立して、水素、 C_{1-4} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニルから選択され、前記アルキル及びアルケニル基は、 C_{1-4} アルキルアミド及び C_{1-4} アルキルエステルから選択される基で任意に置換されていてもよく、或いは R^{36a} 及び R^{36b} の一方が水素である場合、他方はニトリル及び C_{1-4} アルキルエステルから選択される) であり；

D' は、基 $D'1$ 又は $D'2$ のいずれかを表し；

[化 2 2]

20



30

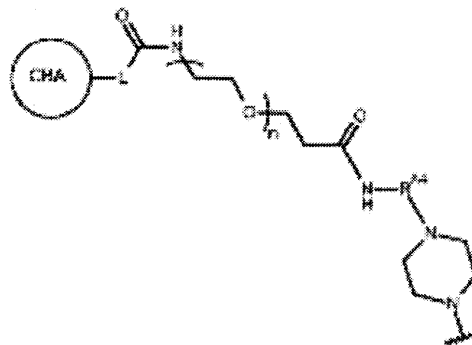
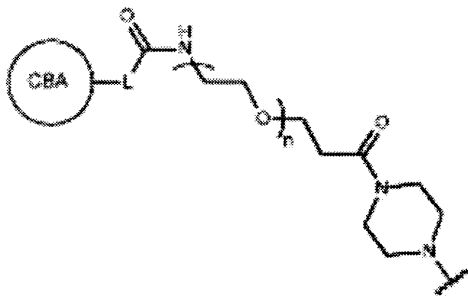
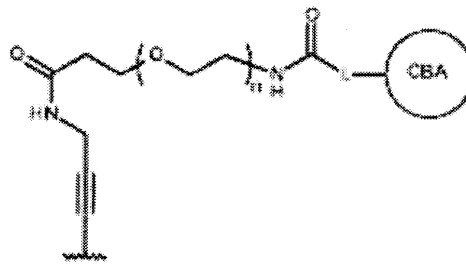
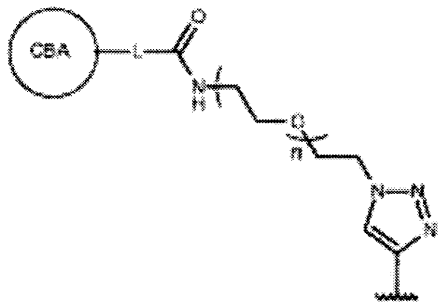
ここで、点線は、 $C2'$ と $C3'$ との間の二重結合の任意の存在を示し；

R^6 及び R^9 は、独立して、水素、 R 、 OH 、 OR 、 SH 、 SR 、 NH_2 、 NHR 、 NRR' 、 NO_2 、 Me_3Sn 及びハロから選択され；

R^7 は、独立して水素、 R 、 OH 、 OR 、 SH 、 SR 、 NH_2 、 NHR 、 NRR' 、 NO_2 、 Me_3Sn 及びハロから選択され；

Y は、式 $A1$ 、 $A2$ 、 $A3$ 、 $A4$ 、 $A5$ 及び $A6$ ；

[化 2 3]

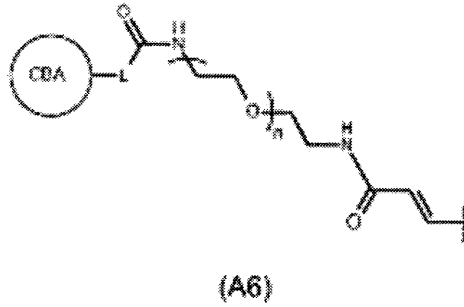
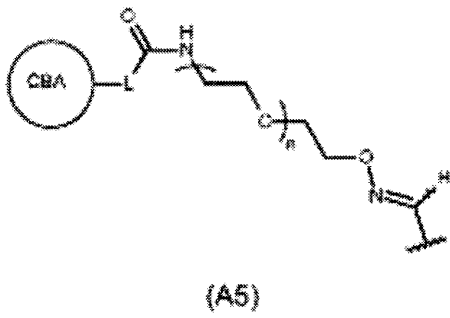


10

20

30

[化 2 4]



10

から選択され； Lは細胞結合剤に結合したリンカーであり；

CBAはCD25に結合する抗体(Ab)であり；

nは0~48の範囲で選択される整数であり；

R⁴はC₁₋₆アルキレン基であり；

20

以下のどれか、

(a) R⁰が水素であり、R¹がOH、OR^A(式中、R^AはC₁₋₄アルキルである)であり；又は

(b) R⁰及びR¹は、それらが結合している窒素と炭素原子との間に窒素-炭素二重結合を形成し；又は

(c) R⁰は水素であり、R¹はOSO₂Mであり、zは2又は3であり、Mは一価の薬学的に許容されるカチオンであり；

R及びR'は、それぞれ独立に、置換されていてもよいC₁₋₁₂アルキル、C₃₋₂₀ヘテロシクリル及びC₅₋₂₀アリール基から選択され、任意にNR R'基に関連して、

R及びR'は、それらが結合している窒素原子と一緒に、任意に置換された4-、5-、6-又は7-員の複素環式環アリール基を形成し；

30

R⁶、R⁷、R⁹、R¹⁰、R¹¹及びR¹²は、それぞれR⁶、R⁷、R⁹、R¹⁰、R¹¹及びR¹²について定義した通りであり；

ZはCH又はNであり；

T及びT'は、XとX'との間の原子の最短鎖の原子数が3~12原子であるとの条件で、単結合又は1つ以上のヘテロ原子(例、O、S、N(H)、NMe)によって中断されていてもよいC₁₋₉アルキレンから独立して選択され；

X及びX'は独立して酸素、硫黄及びN(H)から選択される。]

【0013】

CBAがCD25に結合する抗体(Ab)である場合、本開示で使用することができるAの他の構造は、WO2014/140862及びWO2014/159981に記載されている。

40

【0014】

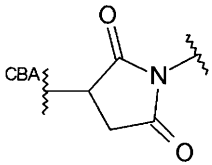
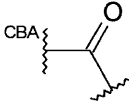
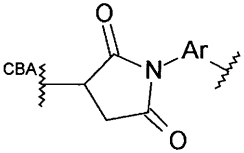
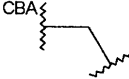
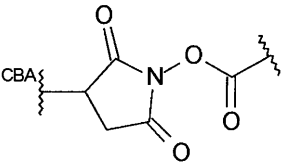
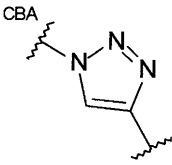
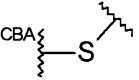
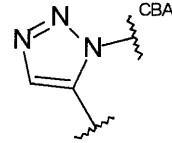
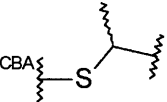
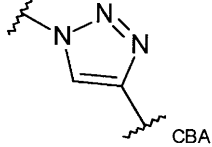
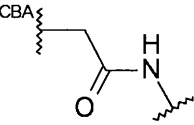
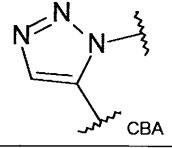
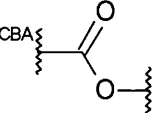
本開示におけるこの代替態様の好ましい実施形態において、Lは式：

- L^A - (CH₂)_m - (但し、mは0~6である)(L1)；

- L^A - (CH₂)_m - O - (但し、mは0~6である)(L2)又は

- L^A - (CH₂)_q - O - C(=O) - NH - (CH₂)_p - (但し、qは1~3であり、pは1~3である)(L3)で表され、式中、L^Aは、下表：

[化25]

(L ^{A1-1})		(L ^{A6})	
(L ^{A1-2})		(L ^{A7})	
(L ^{A2})		(L ^{A8-1})	
(L ^{A3-1})		(L ^{A8-2})	
(L ^{A3-2})		(L ^{A9-1})	
(L ^{A4})		(L ^{A9-2})	
(L ^{A5})			

10

20

30

(但し、Arは、C₅₋₆アリーレン基、例えばフェニレン、を表す。) から選択される。

40

【0015】

Y基の残部を細胞結合剤に接続するためのLとして使用できる他の基は、WO2014/140862及びWO2014/159981に記載されている。

【発明を実施するための形態】

【0016】

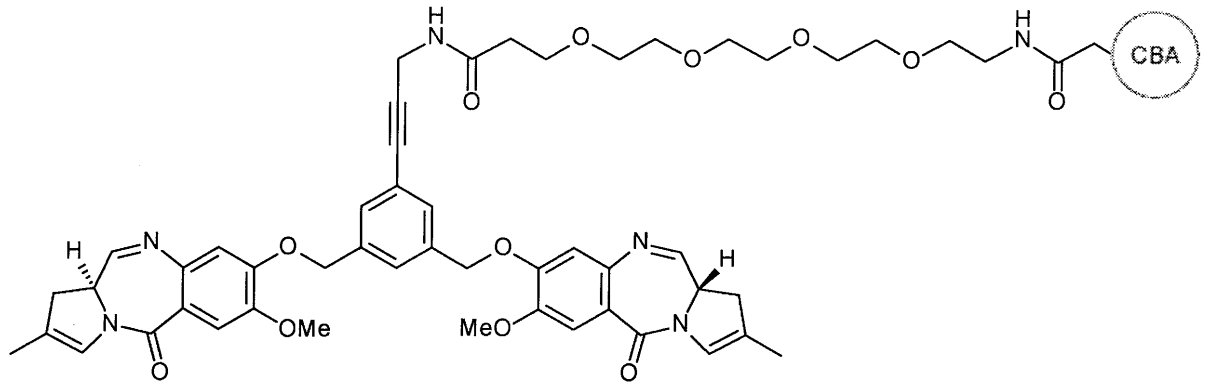
実施形態

いくつかの実施形態において、本開示は、CD25⁺ve及びCD25⁻ve細胞の両方を含む新生物の存在を特徴とする、被験体の増殖性疾患を治療する方法を提供し、この方法は、ConjF、ConjG、ConjH及びConjIを含む群から選択される式を有するコンジュゲートを、被験体に投与することを含む。：

50

[化 2 6]

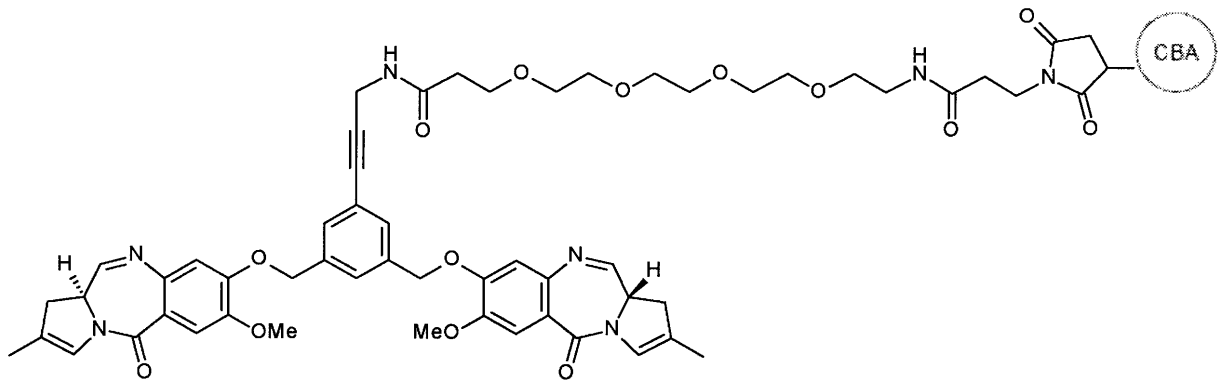
ConjF



10

;

ConjG



20

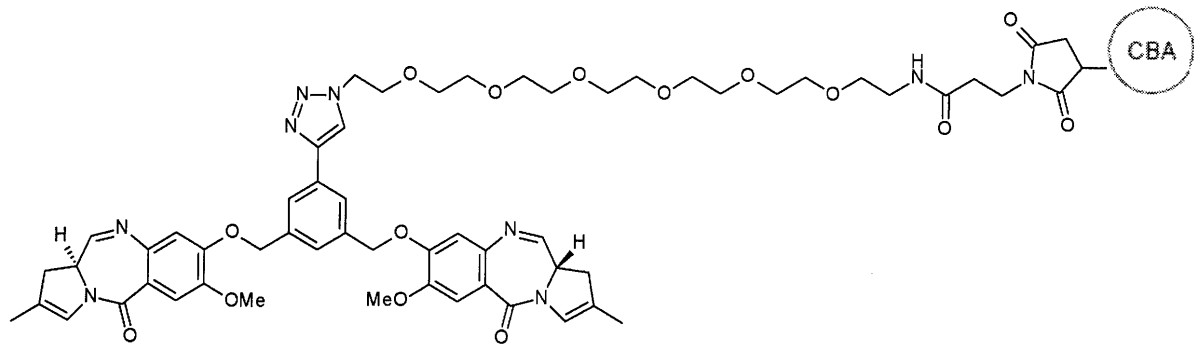
30

;

[化 2 7]

40

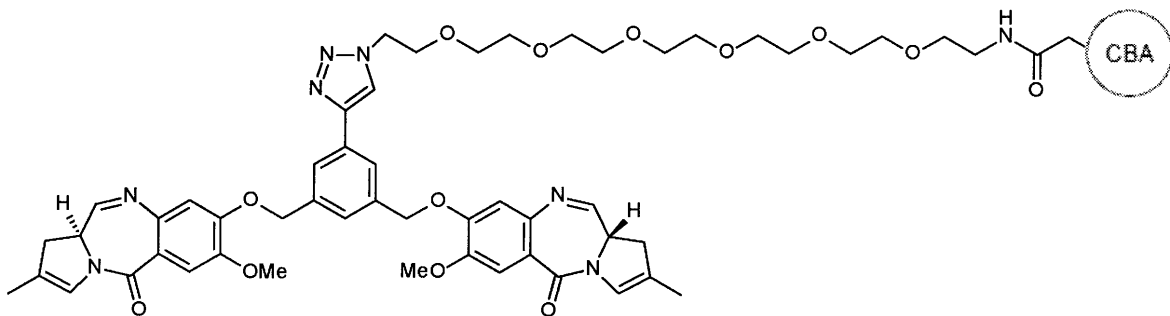
ConjH



10

;

and ConjI



20

;

30

(但し、CBAはCD25に結合する抗体(Ab)である。

=====

【0017】

40

従って、コンジュゲートは、リンカー単位によって少なくとも1つの薬物単位に共有結合したCD25に結合する抗体(Ab)を含む。

【0018】

薬物負荷は、抗体1つ当たりの薬物分子数pで表される。薬物負荷は、1抗体当たり1~20薬物単位(D^L)の範囲であり得る。組成物については、pは、組成物中のコンジュゲートの平均薬物負荷を表し、pは1~20の範囲である。

【0019】

本開示の実施において、薬物部分は、PBDを放出するように、CD25+ve細胞によるインターナリゼーションの前又は後にインビボで(in vivo)切断され得、その際PBDは、CD25+ve細胞及びCD25-veの両方に浸透して細胞障害(毒)を引き起

50

こす。

【0020】

細胞障害は細胞死を引き起こすことが好ましい。

【0021】

本開示の別の態様では、CD25 + ve 細胞の近傍で腫瘍性 CD25 - ve 細胞に細胞傷害（より好ましくは細胞死）を引き起こす方法が提供され、この方法は、本開示の第1の態様において定義されるコンジュゲートの使用を含む。この第2の態様の方法は、第1の態様に従って実施することができる。この方法は、CD25 - ve 細胞に対する細胞傷害性を確認する工程を含んでもよい。CD25 + ve 細胞及び CD25 - ve 細胞は両方とも新生細胞(neoplastic cells)であっても、例えばリンパ腫に共局在してもよい。

10

【0022】

CD25 + ve 細胞は、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)であってもよく、CD25 - ve 細胞は、新生細胞であっても、例えば、リンパ腫又は非血液学のがんに共局在してもよい。

【0023】

本開示の別の態様において、CD25 + ve 及び CD25 - ve の両方を含む新生物の存在を同定するために、被験体をスクリーニングすることを含む、本開示の第1の態様において定義されるコンジュゲートで処置するための被験体を選択する方法が提供される。そのような新生物が存在する患者が選択される。

【0024】

上記のように、CD25 + ve 細胞は組織学的に新生物を構成してもよく、又は TIL 等の浸潤細胞であってもよい。

20

【0025】

本開示の別の態様において、被験体の増殖性疾患を治療する方法であって、この方法は、

(i) CD25 + ve 及び CD25 - ve 細胞の両方を含む新生物の被験体において存在していることを同定する工程；

(ii) 本開示の第1の態様において定義されるコンジュゲートを被験体に投与する工程を包含する。

【0026】

また、本開示の方法のいずれか1つにおいて使用される本明細書に記載のコンジュゲートのいずれか、及び本開示の方法のいずれか1つにおいて使用される医薬の調製のためにこのようなコンジュゲートを使用することも提供される。

30

【0027】

本開示の実施に適した疾患、新生物、及び抗体の、非限定的な例は以下にさらに詳細に記載される。

【0028】

詳細な記載

本開示における PBD 二量体と抗体との間の特定の結合は、細胞外で安定であることが好ましい。細胞への輸送又は送達の前に、抗体 - 薬物コンジュゲート(ADC)は好ましくは安定で、無傷なままであり、即ち抗体は薬物部分に結合したままである。リンカーは標的細胞の外側では安定であり、細胞内である有効な速度で切断され得る。有効なリンカーは、(i) 抗体の特異的結合特性を維持する；(ii) コンジュゲート又は薬物部分の細胞内送達を可能にする；(iii) コンジュゲートが標的部位に送達又は輸送されるまで、安定で無傷のままで、すなわち切断されない；そして(iv) PBD 薬物部分の細胞傷害性、細胞殺傷効果又は細胞増殖抑制効果を維持する。ADCの安定性は、質量分析、HPLC、及び分離/分析技術 LC/MS等の標準的な分析技術によって測定することができる。

40

【0029】

CD25に結合する抗体

50

CD25は、IL2RA、RP11-536K7.1、IDDM10、IL2R、TCGR、FIL-2受容体サブユニットアルファ；IL-2-RA；IL-2Rサブユニットアルファ；TAC抗原；インターロイキン-2受容体サブユニットアルファ；p55、として知られている。

【0030】

CD25ポリペプチドは、Genbank受託番号NP_000408、バージョン番号NP_000408.1 GI:4557667、レコードの更新日:2012年9月9日04:59PMに対応する。1つの実施形態において、CD25ポリペプチドをコードする核酸は、Genbank受託番号NM_000417、バージョン番号NM_000417.2 GI:269973860、レコードの更新日:2012年9月9日04:59PMに対応する。いくつかの実施形態において、CD25ポリペプチドはUniProt/Swiss-Prot受託番号P01589に対応する。

10

【0031】

CD25に結合する抗体は、以下に記載されている:

US6,383,487 (Novartis/UCL: Baxilismab [Simulect])

US6,521,230 (Novartis/UCL: Baxilismab [Simulect])

例えば、抗原結合部位を有する抗体は、SEQ.ID.NO(配列番号):7のアミノ酸配列を有するCDR1、SEQ.ID.NO:8のアミノ酸配列を有するCDR2及びSEQ.ID.NO:9のアミノ酸配列を有するCDR3を含む少なくとも1つのドメインを含むか;或いは全体として順にとられたCDR1、CDR2及びCDR3は、全体として順にとられたSEQ.ID.NO:7、8及び9に少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

20

ダクリズマブ(Daclizumab)-Rech AJら、Ann N Y Acad Sci.2009 Sep;1174:99-106 (Roche)

【0032】

CD25+veである細胞とCD25-veである細胞を区別する方法は、当技術分野で周知である。例示的な技術には、免疫組織化学(Strauchenら、Am.J.Pathol.126:506-512,1987,FACS(Gaikwadら、Int.J.Clin.Exp.Pathol.7:6225-6230,2014)又はCD25に特異的な放射性標識プローブの投与後にSPECT/PETを使用する患者の画像化(van Dortら、Curr.Comput.Aided Drug Des.4:46-53,2008)が含まれる。このようなよく知られた方法を用いて、本開示の方法による標的化に適した新生物を有する患者を同定することができる。

30

【0033】

一態様において、抗体は、CD25に結合する抗体であり、この抗体は、SEQ.ID.NO.3のアミノ酸配列を有するVH CDR1、SEQ.ID.NO.4のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及びSEQ.ID.NO.5のアミノ酸配列を有するVH CDR3を含むVHドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、SEQ.ID.NO.1の配列を有するVHドメインを含む。

40

【0034】

抗体は、SEQ.ID.NO:6のアミノ酸配列を有するVL CDR1、SEQ.ID.NO:7のアミノ酸配列を有するVL CDR2、及びSEQ.ID.NO:8のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含むVLドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、抗体は、さらに、SEQ.ID.NO2の配列を有するVLドメインをさらに含む。

【0035】

いくつかの実施形態では、抗体は、VHドメイン及びVLドメインを含み、VH及びVLドメインは、SEQ.ID.NO.2と対をなすSEQ.ID.NO.1の配列を有す

50

る。

【0036】

VH及びVLドメインは、CD25に結合する抗体抗原結合部位を形成するように対になっていてもよい。

【0037】

いくつかの実施形態では、抗体は、VHドメイン及びVLドメインを含む無傷な抗体であり、このVHドメイン及びVLドメインは、SEQ ID NO. 1及びSEQ ID NO. 2を有する。

【0038】

いくつかの実施形態では、抗体は完全ヒトモノクローナルIgG1抗体、好ましくはIgG1, κである。

【0039】

いくつかの実施形態では、抗体は、WO2004/045512 (Genmab A/S)に記載のAB12抗体であり、HuMax-TACとしても知られている。

【0040】

一態様では、抗体は、以下に記載されるように修飾(改変)(又はさらに修飾)された本明細書に記載の抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、本明細書に開示される抗体のヒト化、脱免疫化又は再表面化されたバージョンである。

【0041】

専門用語

本明細書における用語「抗体」は、最も広い意味で使用され、具体的には、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二量体、多量体、多重特異性抗体(例えば二重特異性抗体)、無傷(完全)抗体(「全長」抗体としても記載される)及び抗体断片を、それらがCD25に結合する能力である所望の生物学的活性を示す限り、包含する(Millerら(2003) *Journal of Immunology* 170:4854-4861)。抗体は、ネズミ、ヒト、ヒト化、キメラであってもよく、又は他の種に由来し得る。抗体は、特定の抗原を認識して結合することができる免疫系によって生成されるタンパク質である(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immunobiology*, 第5版, Garland Publishing, New York)。標的抗原は、一般に、複数の抗体上でCDRによって認識される多数の結合部位(エピトープとも呼ばれる)を有する。異なるエピトープに特異的に結合する各抗体は異なる構造を有する。従って、1つの抗原は、1つを超える対応する抗体を有し得る。抗体は、完全長免疫グロブリン分子又は完全長免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、即ち、目的の標的又はその一部の抗原と免疫特異的に結合する抗原結合部位を含む分子、を含み、そしてこのような標的には、がん細胞又は自己免疫疾患に関連する自己免疫抗体を産生する細胞が含まれるが、これらに限定されない。免疫グロブリンは、任意のタイプ(例えばIgG、IgE、IgM、IgD、及びIgA)、クラス(例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2)又はサブクラス、又はアロタイプ(例えば、ヒトG1m1、G1m2、G1m3、非G1m1 [即ち、G1m1以外の任意のアロタイプ]、G1m17、G2m23、G3m21、G3m28、G3m11、G3m5、G3m13、G3m14、G3m10、G3m15、G3m16、G3m6、G3m24、G3m26、G3m27、A2m1、A2m2、Km1、Km2及びKm3)の免疫グロブリン分子を含む。免疫グロブリンは、ヒト、ネズミ又はウサギ起源を含む任意の種に由来し得る。

【0042】

本明細書中で使用される場合、「CD25と結合する」は、抗体が、ウシ血清アルブミン(BSA、Genbankアクセッション番号CAA76847、バージョン番号CAA76847.1 GI:3336842、記録更新日:2011年1月7日02:30PM)等の非特異的パートナーよりも高い親和性でCD25に結合することを意味するために使用される。いくつかの実施形態において、抗体は、生理学的条件で測定したときの

10

20

30

40

50

B S A に対する抗体の会合定数よりも、少なくとも 2、3、4、5、10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000、 10^4 、 10^5 又は 10^6 倍高い会合定数 (K_a) で C D 2 5 と結合する。本開示の抗体は、高親和性で C D 2 5 に結合することができる。例えば、いくつかの実施形態では、抗体は、約 10^{-6} M 以下の K_D 、例えば 1×10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 、 10^{-13} 又は 10^{-14} で、C D 2 5 と結合することができる。

【0043】

「抗体断片」は、全長抗体の一部、一般にその抗原結合領域又は可変領域を含む。抗体断片の例としては、F a b、F a b'、F (a b')₂、及び s c F v フラグメント；ダイアボディー (d i a b o d y)；線状抗体；がん細胞抗原、ウイルス抗原又は微生物抗原、単一鎖抗体分子に免疫特異的に結合する F a b 発現ライブラリー、抗イデオタイプ (抗 I d) 抗体、C D R (相補性決定領域) 及び上記のいずれかのエピトープ結合断片；及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が挙げられる。

10

【0044】

本明細書で使用する用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られた抗体を指す、即ち、集団を含む個々の抗体は、少量で存在し得る可能性のある自然発生突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的で、単一の抗原部位に対して指向する。さらに、異なる決定基 (エピトープ) に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、それぞれのモノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して指向する。これらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、他の抗体によって汚染されることなく合成され得るという点で有利である。修飾語「モノクローナル」は、抗体の実質的に均質な集団から得られる抗体の特性を指し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものと解釈されるべきではない。例えば、本開示に従って使用されるモノクローナル抗体は、K o h l e r r a (1 9 7 5) N a t u r e 2 5 6 : 4 9 5 により最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製され得るか、又は組換え D N A 法によって作製され得る (U S 4 8 1 6 5 6 7 参照)。モノクローナル抗体は、C l a c k s o n r a (1 9 9 1) N a t u r e , 3 5 2 : 6 2 4 - 6 2 8 ; M a r k s r a (1 9 9 1) J . M o l . B i o l . , 2 2 2 : 5 8 1 - 5 9 7 に記載の技術を用いてファージ抗体ライブラリーから単離することもでき、或いは完全ヒト免疫グロブリン系を有するトランスジェニックマウスから単離することもできる (L o n b e r g (2 0 0 8) C u r r . O p i n i o n 2 0 (4) : 4 5 0 - 4 5 9)。

20

30

【0045】

本明細書のモノクローナル抗体は、具体的には、「キメラ」抗体、即ち、重鎖及び/又は軽鎖の部分は、特定の種に由来するか、又は特定の抗体クラス又はサブクラスに属する抗体に対応する配列と同一又は相同であり、一方、鎖の残りは、他の種に由来する抗体、又は別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一又は相同である、「キメラ」抗体、並びに所望の生物活性を有する限りにおいてこのような抗体のフラグメント、を含む (U S 4 8 1 6 5 6 7 ; 及び M o r r i s o n r a (1 9 8 4) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A , 8 1 : 6 8 5 1 - 6 8 5 5)。キメラ抗体には、非ヒト霊長類 (例えば、旧世界サル又はアペ) 及びヒト定常領域配列に由来する可変ドメイン抗原結合配列を含む「霊長類化」抗体が含まれる。

40

【0046】

本明細書における「無傷の抗体」は、V L 及び V H ドメイン、並びに軽鎖定常ドメイン (C L) 及び重鎖定常ドメイン、C H 1、C H 2 及び C H 3 を含むものである。定常ドメインは、天然配列定常ドメイン (例、ヒト天然配列定常ドメイン) 又はそのアミノ酸配列変異体であり得る。無傷の抗体は、抗体の F c 領域 (天然配列 F c 領域又はアミノ酸配列変異体 F c 領域) に起因する生物学的活性を指す 1 つ又は複数の「エフェクター機能」を有し得る。抗体エフェクター機能の例としては、C 1 q 結合；補体依存性細胞傷害；F c 受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (A D C C)；食作用；及び B 細胞受容体及び B C R 等の細胞表面受容体のダウンレギュレーションが挙げられる。

50

【 0 0 4 7 】

これらの重鎖定常ドメインのアミノ酸配列に依存して、無傷の抗体を異なる「クラス」に割り当てることができる。無傷の抗体には5つの主なクラス：I g A、I g D、I g E、I g G及びI g Mがあり、これらのいくつかは、さらにI g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1及びI g A 2のような「サブクラス」（アイソタイプ）にさらに分割され得る。抗体の異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、 γ 、 δ 、 ϵ 及び μ と呼ばれる。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造及び三次元立体配置は周知である。

【 0 0 4 8 】

抗体の修飾

本明細書中に開示される抗体は修飾され得る。例えば、それらをヒト被験体に対する免疫原性をより低くする。これは、当業者によく知られている多くの技術のいずれかを使用することにより達成することができる。これらの技術のいくつかを以下に詳細に説明する。

【 0 0 4 9 】

ヒト化 (humanisation)

非ヒト抗体又は抗体フラグメントのインビボ免疫原性を低下させる技術には、「ヒト化」と呼ばれるものが含まれる。

「ヒト化抗体」は、ヒト抗体の修飾された可変領域の少なくとも一部を含むポリペプチドであって、ヒト抗体の可変領域の一部、好ましくは無傷のヒト可変ドメインより実質的に小さい部分が、対応する配列で置換され、且つ改変された可変領域が、別のタンパク質の少なくとも別の部分、好ましくはヒト抗体の定常領域に連結されているものを指す。「ヒト化抗体」との表現は、1つ又は複数の相補性決定領域（「CDR」）アミノ酸残基及び/又は1つ以上のフレームワーク領域（「FW」又は「FR」）アミノ酸残基が、げっ歯動物又は他の非ヒト抗体の類似部位に由来するアミノ酸残基と置換された人抗体を含む。「ヒト化抗体」という表現はまた、実質的にヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有するFR及び実質的に非ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有するCDRを含む免疫グロブリンアミノ酸配列変異体又はそのフラグメントを含む。

【 0 0 5 0 】

非ヒト（例、ネズミ(murine)）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小限の配列を含むキメラ抗体である。あるいは、別の見方をすると、ヒト化抗体は、ヒト配列の代わりに非ヒト（例えばネズミ）抗体由来の選択された配列も含むヒト抗体である。ヒト化抗体は、その結合及び/又は生物学的活性を有意に変化させない同種又は異種の保存的アミノ酸置換又は非天然残基を含み得る。このような抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小限の配列を含むキメラ抗体である。

【 0 0 5 1 】

「CDR移植」、「ガイド選択」、「脱免疫」、「再表面化」（「ベニアリング」とも呼ばれる）、「複合抗体」、「ヒューマン・ストリング・コンテンツ最適化」、及びフレームワーク・シャッフルを含む、様々なヒト化技術がある。

【 0 0 5 2 】

CDR移植

この技術において、ヒト化抗体は、レシピエント抗体の相補性決定領域（CDR）からの残基が、所望の特性を有する、マウス、ラット、ラクダ、ウシ、ヤギ、又はウサギ等の非ヒト種（ドナー抗体）のCDR由来の残基によって置換されたヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である（実際には、非ヒトCDRはヒトフレームワーク上に「移植されている」）。いくつかの例では、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域（FR）残基は、対応する非ヒト残基によって置換される（これは、例えば、特定のFR残基が抗原結合に有意な効果を有する場合に起こり得る）。

【 0 0 5 3 】

さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、移入されたCDR又はフレームワーク

10

20

30

40

50

配列にも見出されない残基を含むことができる。これらの修飾は、抗体性能をさらに改良し、最大にするためになされる。従って、一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つの、そして1つの態様では2つの可変ドメインのすべてを含み、そのすべて又は超可変ループのすべてが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、FR領域のすべて又は実質的にすべてが、ヒト免疫グロブリン配列の領域のものである。ヒト化抗体は、場合により免疫グロブリン定常領域(Fc)の少なくとも一部、又はヒト免疫グロブリンの少なくとも一部も含む。

【0054】

ガイド選択(guided selection)

この方法は、特定のエピトープに特異的な所与の非ヒト抗体のV_Hドメイン又はV_LドメインをヒトV_H又はV_Lライブラリーと組み合わせることからなり、特異的ヒトVドメインは目的の抗原に対して選択される。次いで、この選択されたヒトV_HをV_Lライブラリーと組み合わせる完全ヒトV_H×V_L組合せを作製する。この方法は、Nature Biotechnology (N.Y.) 12 (1994) 899-903に記載されている。

10

【0055】

複合抗体

この方法では、ヒト抗体由来のアミノ酸配列の2つ以上のセグメントが最終抗体分子内で組み合わせられる。それらは、最終的なコンジュゲート抗体V領域中のヒトT細胞エピトープを制限又は回避する組み合わせで、複数のヒトV_H配列セグメントとヒトV_L配列セグメントとを組み合わせることによって構築される。必要であれば、T細胞エピトープに寄与する又はそれをコードするV領域セグメントを、T細胞エピトープを回避する代替セグメントで交換することによって、T細胞エピトープが制限又は回避される。この方法は、US 2008/0206239 A1に記載されている。

20

【0056】

脱免疫

この方法は、治療抗体(又は他の分子)のV領域からのヒト(又は他の第2の種)T細胞エピトープの除去を含む。MHCクラスII結合モチーフの存在について、例えば、MHC結合モチーフのデータベース(例えば、www.wehi.edu.auで主催される「モチーフ」データベース)との比較によって、治療用抗体V領域配列を分析する。あるいは、MHCクラスII結合モチーフは、Altuviaら(J. Mol. Biol. 249 244-250 (1995))によって考案されたもの等のコンピュータスレッディング法を用いて同定することができる;これらの方法では、V領域配列由来の連続する重複ペプチドがMHCクラスIIタンパク質とのそれらの結合エネルギーについて試験している。次いで、このデータを、両親媒性、ロスバードモチーフ、並びにカテプシンB及び他のプロセシング酵素のための切断部位等の、うまく提示されたペプチドに関連する他の配列特徴についての情報と組み合わせることができる。

30

【0057】

一旦、潜在的な第2種(例、ヒト)T細胞エピトープが同定されると、それらは1つ又は複数のアミノ酸の変更によって排除される。修飾されたアミノ酸は、通常、T細胞エピトープ自体の内部にあるが、タンパク質の一次構造又は二次構造に関してエピトープと隣接していてもよい(従って、一次構造に隣接していなくてもよい)。最も典型的には、修飾は置換によるものであるが、状況によっては、アミノ酸の付加又は欠失によることが適切であろう。

40

【0058】

すべての改変は、組換えDNA技術によって達成することができ、最終分子は、特定部位突然変異誘発等の十分に確立された方法を用いて組換え宿主からの発現によって調製することができる。しかしながら、タンパク質化学又は他の任意の分子改変手段の使用も可能である。

【0059】

50

再表面化 (Resurfacing)

この方法には、

(a) 非ヒト (例えば、げっ歯動物) 抗体 (又はその断片) の可変領域の立体配座構造を、非ヒト抗体可変領域の三次元モデルを構築することによって決定すること;

(b) 十分な数の非ヒト及びヒト抗体可変領域重鎖及び軽鎖の X 線結晶構造からの相対的アクセシビリティ分布を用いて配列アライメントを生じさせ、アライメント位置が、十分な数の非ヒト抗体重鎖及び軽鎖の 98% において同一である一組の重鎖及び軽鎖フレームワーク位置を得ること;

(c) 工程 (b) で生成した一組のフレームワーク位置を用いて、ヒト化されるべき非ヒト抗体のために、重鎖及び軽鎖表面露出アミノ酸残基のセットを規定すること;

(d) ヒト抗体アミノ酸配列から、工程 (c) において規定された一組の表面露出アミノ酸残基と最も厳密に同一である重鎖及び軽鎖表面露出アミノ酸残基のセットを同定すること (但し、ヒト抗体からの重鎖及び軽鎖は天然において対であるか、又は対でない);

(e) ヒト化されるべき非ヒト抗体のアミノ酸配列において、工程 (c) で定義された重鎖及び軽鎖表面露出アミノ酸残基のセットを工程 (d) で同定された重鎖及び軽鎖表面露出アミノ酸残基のセットで置換すること;

(f) 工程 (e) で特定された置換から生じる非ヒト抗体の可変領域の三次元モデルを構築すること;

(g) 工程 (a) 及び (f) で構築された 3 次元モデルを比較することにより、工程 (c) 又はステップ (d) で同定されたセットから任意のアミノ酸残基 (これらのアミノ酸残基はヒト化されるべき非ヒト抗体の相補性決定領域の任意の残基の任意の原子の 5 オングストローム以内にある) を同定すること; そして

(h) ステップ (g) で同定された任意の残基をヒトから元の非ヒトアミノ酸残基に変化させ、それによって非ヒト抗体ヒト化のヒト表面化アミノ酸残基のセットを規定すること; (但し、工程 (a) は最初に行う必要はないが、工程 (g) の前に実施しなければならない)。

【0060】

超ヒト化 (Superhumanization)

この方法では、非ヒト配列を機能的ヒト生殖系列遺伝子レパートリーと比較する。非ヒト配列と同一又は密接に関連するカノニカル構造をコードするヒト遺伝子が選択される。CDR 内で最も高い相同性を有するとして選択されたヒト遺伝子が FR ドナーとして選択される。最後に、非ヒト CDR がこれらのヒト FR に移植される。この方法は、WO 2005/079479 A2 に記載されている。

【0061】

ヒト・ストリング・コンテンツの最適化

この方法は、非ヒト (例、マウス) 配列をヒト生殖系列遺伝子のレパートリーと比較し、その相違を、潜在的な MHC / T 細胞エpiteープのレベルで配列を定量するヒト・ストリング・コンテンツ (HSC) として採点する。次に、多種多様なヒト化変異体を生じさせるために、グローバルアイデンティティ尺度を用いるのではなく、その HSC を最大化することによって、標的配列をヒト化する (Molecular Immunology, 44, (2007) 1986 - 1998)。

【0062】

フレームワーク・シャッフル

非ヒト抗体の CDR は、全ての既知の重鎖及び軽鎖ヒト生殖系列遺伝子フレームワークを包含する cDNA プールにインフレームで融合される。次いで、ヒト化抗体は、例えば、ファージ提示された抗体ライブラリーのパニングにより選択される。これは Methods 36, 43 - 60 (2005) に記載されている。

【0063】

定義

薬学的に許容されるカチオン

10

20

30

40

50

薬学的に許容される一価及び二価カチオンの例は、Berger, J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977)に記載されており、参照により本明細書に取り込まれている。

【0064】

薬学的に許容されるカチオンは、無機でも有機でもよい。

【0065】

薬学的に許容される一価の無機カチオンの例としては、 Na^+ 及び K^+ 等のアルカリ金属イオンが挙げられるが、これらに限定されない。薬学的に許容される二価無機カチオンの例としては、 Ca^{2+} 及び Mg^{2+} 等のアルカリ土類カチオンが挙げられるが、これらに限定されない。薬学的に許容される有機カチオンの例としては、アンモニウムイオン（即ち NH_4^+ ）及び置換アンモニウムイオン（例えば、 NH_3R^+ 、 NH_2R_2^+ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+ ）が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの好適な置換アンモニウムイオンの例は、エチルアミン、ジエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミン及びトロメタミン、並びにリシン、アルギニン等のアミノ酸：から誘導されるものである。一般的な第四級アンモニウムイオンの例は、 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ である

10

【0066】

置換基

本明細書で使用する句「任意に置換された」は、置換されていなくても置換されていて

20

【0067】

特に明記しない限り、本明細書で使用される用語「置換された」という用語は、1つ以上の置換基を有する親基に関する。「置換基」という用語は、本明細書では慣用の意味で使用され、親基に共有結合しているか、又は適当であれば親基に融合している化学部分を指す。多種多様な置換基が周知であり、それらの形成方法及び種々の親基への導入方法も周知である。

【0068】

置換基の例を、以下に詳細に記載する。

【0069】

C_{1-12} アルキル：本明細書で使用される用語「 C_{1-12} アルキル」は、脂肪族又は脂環式であっても、また飽和又は不飽和（例えば、部分的に不飽和、完全不飽和）であってもよい炭素原子数1～12の炭化水素化合物の炭素原子から水素原子を除いて得られる一価部分に関する。本明細書で使用される用語「 C_{1-4} アルキル」は、炭素原子1～4個を有する炭化水素化合物の炭素原子から水素原子を除いて得られる一価部分に関し、これらは脂肪族又は脂環式であっても、そして飽和又は不飽和（例えば、部分不飽和、完全不飽和）であってもよい。従って、用語「アルキル」には、以下に説明するサブクラスのアルケニル、アルキニル、シクロアルキル等が含まれる。

30

【0070】

飽和直鎖アルキル基の例としては、メチル（ C_1 ）、エチル（ C_2 ）、プロピル（ C_3 ）、ブチル（ C_4 ）、ペンチル（ C_5 ）、ヘキシル（ C_6 ）及びヘプチル（ C_7 ）が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0071】

飽和直鎖アルキル基の例としては、メチル（ C_1 ）、エチル（ C_2 ）、*n*-プロピル（ C_3 ）、*n*-ブチル（ C_4 ）、*n*-ペンチル（アミル）、*n*-ヘキシル（ C_6 ）及び*n*-ヘプチル（ C_7 ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0072】

飽和分岐アルキル基の例としては、イソプロピル（ C_3 ）、イソブチル（ C_4 ）、*sec*-ブチル（ C_4 ）、*tert*-ブチル（ C_4 ）、イソペンチル（ C_5 ）及びネオペンチル（ C_5 ）が挙げられる。

50

【0073】

C_{2-12} アルケニル：本明細書で使用される用語「 C_{2-12} アルケニル」は、1つ以上の炭素-炭素二重結合を有するアルキル基に関する。

【0074】

不飽和アルケニル基の例としては、エテニル（ビニル、 $-CH=CH_2$ ）、1-プロペニル（ $-CH=CH-CH_3$ ）、2-プロペニル（アリル、 $-CH-CH=CH_2$ ）、イソプロペニル（1-メチルビニル、 $-C(CH_3)=CH_2$ ）、ブテニル（ C_4 ）、ペテニル（ C_5 ）及びヘキセニル（ C_6 ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0075】

C_{2-12} アルキニル：本明細書で使用する用語「 C_{2-12} アルキニル」は、1つ以上の炭素-炭素三重結合を有するアルキル基に関する。

10

【0076】

不飽和アルキニル基の例としては、エチニル（ $-C\equiv CH$ ）及び2-プロピニル（プロパルギル、 $-CH_2-C\equiv CH$ ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0077】

C_{3-12} シクロアルキル：本明細書で使用される用語「 C_{3-12} シクロアルキル」は、シクリル基でもあるアルキル基に関する。即ち、環式炭化水素（炭素環式）化合物の脂環式の環原子から水素原子を除いた1価の部分であり、その部分は3~7個の環原子を含む3~7個の炭素原子を有する。

【0078】

シクロアルキル基の例としては、

20

飽和単環式炭化水素化合物：

シクロペンタン（ C_3 ）、シクロブタン（ C_4 ）、シクロペンタン（ C_5 ）、シクロヘキサン（ C_6 ）、シクロヘプタン（ C_7 ）、メチルシクロプロパン（ C_4 ）、ジメチルシクロプロパン（ C_5 ）、メチルシクロブタン（ C_5 ）、ジメチルシクロブタン（ C_6 ）、メチルシクロペンタン（ C_6 ）、ジメチルシクロペンタン（ C_7 ）及びメチルシクロヘキサン（ C_7 ）；

不飽和単環式炭化水素化合物：

シクロプロペン（ C_3 ）、シクロブテン（ C_4 ）、シクロペンテン（ C_5 ）、シクロヘキセン（ C_6 ）、メチルシクロプロペン（ C_4 ）、ジメチルシクロプロペン（ C_5 ）、メチルシクロブテン（ C_5 ）、ジメチルシクロブテン（ C_6 ）、メチルシクロペンテン（ C_6 ）、ジメチルシクロペンテン（ C_7 ）及びメチルシクロヘキセン（ C_7 ）；そして

30

飽和多環式炭化水素化合物：

ノルカラ（ C_7 ）、ノルピナン（ C_7 ）、ノルボルネン（ C_7 ）

から誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0079】

C_{3-20} ヘテロシクリル：本明細書で使用される用語「 C_{3-20} ヘテロシクリル」は、複素環式化合物の環原子から水素原子を除去することによって得られる一価部分に関し、この部分は3~20個の環原子を有し、そのうちの1~10は環ヘテロ原子である。好ましくは、各環は3~7個の環原子を有し、そのうちの1~4個は環ヘテロ原子である。

40

【0080】

これに関連して、接頭語（例えば、 C_{3-20} 、 C_{3-7} 、 C_{5-6} 等）は、環原子の数の範囲、又は炭素原子又はヘテロ原子のいずれかの環原子の数の範囲を示す。たとえば、本明細書で使用される用語「 C_{5-6} ヘテロシクリル」は、5又は6個の環原子を有するヘテロシクリル基に関する。

【0081】

単環式ヘテロシクリル基の例には、

N_1 ：アジリジン（ C_3 ）、アゼチジン（ C_4 ）、ピロリジン（テトラヒドロピロール）（ C_5 ）、ピロリン（例えば3-ピロリン、2,5-ジヒドロピロール）（ C_5 ）、2

50

H - ピロール又は 3 H - ピロール (イソピロール、イソアゾール) (C₅)、ピペリジン (C₆)、ジヒドロピリジン (C₆)、テトラヒドロピリジン (C₆)、アゼピン (C₇) ;

O₁ : オキシラン (C₃)、オキセタン (C₄)、オキソラン (テトラヒドロフン) (C₅)、オキソール (ジヒドロフラン) (C₅)、オキサン (テトラヒドロピラン) (C₆)、ジヒドロピラン (C₆)、ピラン (C₆)、オキセピン (C₇) ;

S₁ : チイラン (C₃)、チエタン (C₄)、チオラン (テトラヒドロチオフェン) (C₅)、チアン (テトラヒドロチオピラン) (C₆)、チーパン (C₇) ;

O₂ : ジオキソラン (C₅)、ジオキサン (C₆)、及びジオキセパン (C₇) ;

O₃ : トリオキサン (C₆) ;

N₂ : イミダゾリジン (C₅)、ピラゾリジン (ジアゾリジン) (C₅)、イミダゾリン (C₅)、ピラゾリン (ジヒドロピラゾール) (C₅)、ピペラジン (C₆) ;

N₁O₁ : テトラヒドロオキサゾール (C₅)、ジヒドロオキサゾール (C₅)、テトラヒドロイソオキサゾール (C₅)、ジヒドロイソキサゾール (C₅)、モルホリン (C₆)、テトラヒドロオキサジン (C₆)、ジヒドロオキサジン (C₆)、オキサジン (C₆) ;

N₁S₁ : チアゾリン (C₅)、チアゾリジン (C₅)、チオモルホリン (C₆) ;

N₂O₁ : オキサジアジン (C₆) ;

O₁S₁ : オキサシオール (C₅) 及び オキサチアン (チオキサン) (C₆) ; 及び、

N₁O₁S₁ : オキサチアジン (C₆) ;

から誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0082】

置換単環式ヘテロシクリル基の例としては、アラビノフラノース、リキソフラノース、リボフラノース及びキシロフラン等のフラノース (C₅)、アロピラノース、アルトロピラノース、グルコピラノース、マンノピラノース、グロピラノース、イドピラノース、ガラクトピラノース、及びタロピラノース等のピラノース (C₆) から誘導されるものが挙げられる。

【0083】

C₅₋₂₀ アリール : 本明細書で使用される用語「C₅₋₂₀ アリール」は、3 ~ 20 個の環原子を有する芳香族化合物の芳香族環原子から水素原子を除去することによって得られる一価部分に関する。本明細書で使用される用語「C₅₋₇ アリール」は、5 ~ 7 個の環原子を有する芳香族化合物の芳香族環原子から水素原子を除去することによって得られる一価部分に関し、そして用語「C₅₋₁₀」本明細書中で使用される場合、「アリール」は、5 ~ 10 個の環原子を有する芳香族化合物の芳香族環原子から水素原子を除去することによって得られる一価部分に関する。好ましくは、各環が 5 ~ 7 個の環原子を有する。

【0084】

これに関連して、接頭語 (例えば、C₃₋₂₀、C₅₋₇、C₅₋₆、C₅₋₁₀ 等) は、炭素原子又はヘテロ原子のいずれかの環原子の数、又は環原子の数の範囲を示す。例えば、本明細書で使用される用語「C₅₋₆ アリール」は、5 又は 6 個の環原子を有するアリール基に関する

【0085】

環原子は、「カルボアリール基」におけるように、すべてが炭素原子であり得る。

カルボアリール基の例としては、ベンゼン (即ち、フェニル) (C₆)、ナフタレン (C₁₀)、アズレン (C₁₀)、アントラセン (C₁₄)、フェナントレン (C₁₄)、ナフタセン (C₁₈)、及びピレン (C₁₆) から誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0086】

少なくとも 1 つが芳香族環である縮合環を含むアリール基の例としては、インダン (例えば、2,3-ジヒドロ-1H-インデン) (C₉)、インデン (C₉)、イソインデン

10

20

30

40

50

(C₉)、テトラリン(1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフタレン(C₁₀))、アセナフテン(C₁₂)、フルオレン(C₁₃)、フェナレン(C₁₃)、アセフェナントレン(C₁₅)、及びアセアントレン(C₁₆)が挙げられる。

【0087】

あるいは、環原子は、「ヘテロアリアル」におけるように、1個以上のヘテロ原子を含み得る。単環式ヘテロアリアル基の例としては、

N₁ : ピロール(アゾール)(C₅)、ピリジン(アジン)(C₆) ;

O₁ : フラン(オキソール)(C₅) ;

S₁ : チオフエン(チオール)(C₅) ;

N₁O₁ : オキサゾール(C₅)、イソキサゾール(C₅)、イソキサジン(C₆) ;

N₂O₁ : オキサジアゾール(フラザン)(C₅) ;

N₃O₁ : オキサトリアゾール(C₅) ;

N₁S₁ : チアゾール(C₅)、イソチアゾール(C₅) ;

N₂ : イミダゾール(1, 3 - ジアゾール)(C₅)、ピラゾール(1, 2 - ジアゾール)(C₅)、ピリダジン(1, 2 - ジアジン)(C₆)、ピリミジン(1, 3 - ジアジン)(C₆) (例、シトシン、チミン、ウラシル)、ピラジン(1, 4 - ジアジン)(C₆) ;

N₃ : トリアゾール(C₅)、トリアジン(C₆) ; そして、

N₄ : テトラゾール(C₅) ;

から誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0088】

縮合環を含むヘテロアリアル基の例としては、

ベンゾフラン(O₁)、イソベンゾフラン(O₁)、インドール(N₁)、イソインドール(N₁)、インドリジン(N₁)、インドリン(N₁)、イソインドリン(N₁)、プリン(N₄) (例、アデニン、グアニン)、ベンズイミダゾール(N₂)、インダゾール(N₂)、ベンゾオキサゾール(N₁O₁)、ベンゾイソキサゾール(N₁O₁)、ベンゾジオキソール(O₂)、ベンゾフラザン(N₂O₁)、ベンゾトリアゾール(N₃)、ベンゾチオフラン(S₁)、ベンゾチアゾール(N₁S₁)、ベンゾチアジアゾール(N₂S) から誘導されるC₉ (2つの縮合環を有する) ;

クロメン(O₁)、イソクロメン(O₁)、クロマン(O₁)、イソクロマン(O₁)、ベンゾジオキサソール(O₂)、キノリン(N₁)、イソキノリン(N₁)、キノリジン(N₁)、ベンゾオキサジン(N₁O₁)、ベンゾジアジン(N₂)、ピリドピリジン(N₂)、キノキサリン(N₂)、キナゾリン(N₂)、シンノリン(N₂)、フタラジン(N₂)、ナフチリジン(N₂)、プテリジン(N₄) から誘導されたC₁₀ (2つの縮合環を有する) ;

ベンゾジアゼピン(N₂) から誘導されたC₁₁ (2つの縮合環を有する) ;

カルバゾール(N₁)、ジベンゾフラン(O₁)、ジベンゾチオフエン(S₁)、カルボリン(N₂)、ペリミジン(N₂)、ピリドインドール(N₂) から誘導されるC₁₃ (3つの縮合環を有する) ;そして

アクリジン(N₁)、キサントレン(O₁)、チオキサントレン(S₁)、オキサントレン(O₂)、フェノキサチン(O₁S₁)、フェナジン(N₂)、フェノキサジン(N₁O₁)、フェノチアジン(N₁S₁)、チアントレン(S₂)、フェナントリジン(N₁)、フェナントロリン(N₂)、フェナジン(N₂) から誘導されるC₁₄ (3つの縮合環を有する) ;

が挙げられるが、これらに限定されない。

【0089】

上記の基(単独であっても別の置換基の一部であっても)はそれ自体、任意に、それ自体、及び以下に列挙されるそれら追加的な置換基から選択される1つ以上の基で置換されていてもよい。

【0090】

10

20

30

40

50

ハロ： - F、 - Cl、 - Br、及び - I。

【0091】

ヒドロキシ： - OH。

【0092】

エーテル： - OR（式中、Rはエーテル置換基で、例えば、 C_{1-7} アルキル基（ C_{1-7} アルコキシ基とも呼ばれ、以下に論じる）、 C_{3-20} ヘテロシクリル基（ C_{3-20} ヘテロシクリルオキシ基とも呼ばれる）又は C_{5-20} アリール基（ C_{5-20} アリールオキシ基とも呼ばれる）であり、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。

【0093】

アルコキシ： - OR（式中、Rはアルキル基、例えば C_{1-7} アルキル基である）。 C_{1-7} アルコキシ基の例としては、-OMe（メトキシ）、-OEt（エトキシ）、-O(nPr)（n-プロポキシ）、-O(iPr)（イソプロポキシ）、-O(n-ブトキシ）、-O(sBu)（sec-ブトキシ）、-O(iBu)（イソブトキシ）及びO(tBu)（tert-ブトキシ）が挙げられる。

10

【0094】

アセタール： - CH(OR¹)(OR²)（式中、R¹及びR²は独立してアセタール置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基であり、好ましくは C_{1-7} アルキル基であり、或いは「環式」アセタール基の場合、R¹及びR²は、それらが結合する2個の酸素原子及びそれらが結合している炭素原子と一緒に、4個～8個の環原子を有するヘテロ環を形成する）。アセタール基の例としては、-CH(OMe)₂、-CH(OEt)₂及びCH(OMe)(OEt)が含まれるが、これらに限定されない。

20

【0095】

ヘミアセタール： - CH(OH)(OR¹)（式中、R¹はヘミアセタール置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。ヘミアセタール基の例としては、-CH(OH)(OMe)及びCH(OH)(OEt)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0096】

ケタール： - CR(OR¹)(OR²)（式中、R¹及びR²はアセタールについて定義した通りであり、Rは水素以外のケタール置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。ケタール基としては、-C(Me)(OMe)₂、-C(Me)(OEt)₂、-C(Me)(OMe)(OEt)、-C(Et)(OMe)₂、-C(Et)(OEt)₂、及び-C(Et)(OMe)(OEt)が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0097】

ヘミケタール： - CR(OH)(OR¹)（式中、R¹はヘミアセタールについて定義したとおりであり、Rは水素以外のヘミケタール置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。ヘミアセタール基の例としては、-C(Me)(OH)(OMe)、-C(Et)(OH)(OMe)、-C(Me)(OH)(OEt)、及び-C(Et)(OH)(OEt)が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0098】

オキソ（ケト、-オン）：=O。

【0099】

チオン（チオケトン）：=S。

【0100】

イミノ（イミン）：=NR（式中、Rはイミノ置換基、例えば水素、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは水素又は C_{1-7} アルキル基である）。エステル基の例としては、=NH、=NMe、=NEt、及び=NPhが挙げられるが、これらに限定されない。

50

【0101】

ホルミル（カルバルデヒド、カルボキシアルデヒド）： $-C(=O)H$ 。

【0102】

アシル（ケト）： $-C(=O)R$ （式中、Rはアシル置換基、例えば C_{1-7} アルキル基（ C_{1-7} アルキルアシル又は C_{1-7} アルカノイルとも呼ばれる）、 C_{3-20} ヘテロシクリル基（ C_{3-20} ヘテロシクリルアシルとも呼ばれる）、又は C_{5-20} アリーール基（ C_{5-20} アリーールアシルとも呼ばれる）であり、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。アシル基の例としては、 $-C(=O)CH_3$ （アセチル）、 $-C(=O)CH_2CH_3$ （プロピオニル）、 $-C(=O)C(CH_3)_3$ （t-ブチリル）、 $-C(=O)Ph$ （ベンゾイル、フェノン）が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0103】

カルボキシ（カルボン酸）： $-C(=O)OH$ 。

【0104】

チオカルボキシ（チオカルボン酸）： $-C(=S)SH$ 。

【0105】

チオロカルボキシ（チオロカルボン酸）： $-C(=O)SH$ 。

【0106】

チオノカルボキシ（チオノカルボン酸）： $-C(=S)OH$ 。

【0107】

イミド酸： $-C(=NH)OH$ 。

20

【0108】

ヒドロキサム酸： $-C(=NOH)OH$ 。

【0109】

エステル（カルボン酸、カルボン酸エステル、オキシカルボニル）： $-C(=O)OR$ （式中、Rはエステル置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリーール基、好ましくは水素又は C_{1-7} アルキル基である）。エステル基の例としては、 $-C(=O)OCH_3$ 、 $-C(=O)OCH_2CH_3$ 、 $-C(=O)OC(CH_3)_3$ 及び $-C(=O)OPh$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0110】

アシルオキシ（逆エステル）： $-OC(=O)R$ （式中、Rはアシルオキシ置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリーール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。

30

【0111】

アシルオキシ基の例としては、 $-OC(=O)CH_3$ （アセトキシ）、 $-OC(=O)CH_2CH_3$ 、 $-OC(=O)C(CH_3)_3$ 、 $-OC(=O)Ph$ 及び $-OC(=O)CH_2Ph$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0112】

オキシカルボイルオキシ： $-OC(=O)OR$ （式中、Rはエステル置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリーール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。エステル基の例としては、 $-OC(=O)OCH_3$ 、 $-OC(=O)OCH_2CH_3$ 、 $-OC(=O)OC(CH_3)_3$ 、及び $OC(=O)OPh$ が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0113】

アミノ： $-NR^1R^2$ （式中、 R^1 及び R^2 は独立してアミノ置換基、例えば水素、 C_{1-7} アルキル基（ C_{1-7} アルキルアミノ又はジ- C_{1-7} アルキルアミノとも呼ばれる）、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリーール基、好ましくは水素又は C_{1-7} アルキル基であり、或いは「環状」アミノ基の場合、 R^1 及び R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4～8個の環原子を有する複素環式の環である）。アミノ基は、第一級（ $-NH_2$ ）、第二級（ $-NHR^1$ ）、又は第三級（ $-NR^1R^2$ ）でもよく、カチオン型では、第四級（ $-^+NR^1R^2R^3$ ）でもよい。アミノ基の例として

50

は、限定されないが、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-NHC(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_2CH_3)_2$ 及び $-NHPh$ が挙げられる。環状アミノ基の例としては、アジリジノ、アゼチジノ、ピロリジノ、ペペリジノ、ピペラジノ、モルホリノ、及びチオモルホリノが挙げられるが、これらに限定されない。

【0114】

アミド基（カルバモイル、カルバミル、アミノカルボニル、カルボキサミド）： $-C(=O)R^1R^2$ （式中、 R^1 及び R^2 は独立して、アミノ基について定義したアミノ置換基である）。アミド基の例としては、限定されないが、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NHCH_3$ 、 $-C(=O)N(CH_3)_2$ 、 $-C(=O)NHCH_2CH_3$ 及び $-C(=O)N(CH_2CH_3)_2$ が挙げられ、並びに R^1 及び R^2 が、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、例えば、ペペリジノカルボニル、モルホリノカルボニル、チオモルホリノカルボニル及びピペラジノカルボニル等のヘテロ環構造を形成する。

10

【0115】

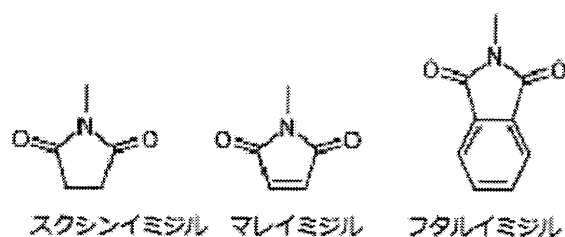
チオアミド（チオカルバミル）： $-C(=S)NR^1R^2$ （式中、 R^1 及び R^2 は独立してアミノ基について定義したアミノ置換基である）。アミド基の例としては、 $-C(=S)NH_2$ 、 $-C(=S)NHCH_3$ 、 $-C(=S)N(CH_3)_2$ 及び $-C(=S)NHCH_2CH_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0116】

アシルアミノ（アシルアミノ）： $-NR^1C(=O)R^2$ （式中、 R^1 はアミド置換基、例えば水素、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは水素又は C_{1-7} アルキル基であり、 R^2 はアシル置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは水素又は C_{1-7} アルキル基である）。アシルアミド基の例としては、限定されないが、 $-NHC(=O)CH_3$ 、 $-NHC(=O)CH_2CH_3$ 、及び $-NHC(=O)Ph$ が挙げられる。 R^1 と R^2 は、例えば、スクシンイミジル、マレイミジル及びフタルイミジルのように、一緒にあって環状構造を形成してもよい：

20

[化28]



30

【0117】

アミノカルボニルオキシ： $-OC(=O)NR^1R^2$ （式中、 R^1 及び R^2 は独立して、アミノ基について定義したアミノ置換基である）。アミノカルボニルオキシ基の例としては、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)NHMe$ 、 $-OC(=O)NMe_2$ 及び $-OC(=O)NEt_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0118】

ウレイド： $-N(R^1)CONR^2R^3$ （式中、 R^2 及び R^3 は、アミノ基について定義したように独立してアミノ置換基であり、 R^1 は、ウレイド置換基、例えば、水素、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは水素又は C_{1-7} アルキル基である）。ウレイド基の例としては、 $-NHCONH_2$ 、 $-NHCONHMe$ 、 $-NHCONHEt$ 、 $-NHCONMe_2$ 、 $-NHCONEt_2$ 、 $-NMeCONH_2$ 、 $-NMeCONHMe$ 、 $-NMeCONHEt$ 、 $-NMeCONMe$

50

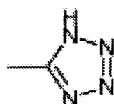
2 及び NMeCONEt_2 が挙げられるが、これらに限定されない。

【0119】

グアニジノ： $-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 。

【0120】

テトラゾリル：4個の窒素原子と1個の炭素原子を有する5員芳香環、
[化29]



10

【0121】

イミノ： $=\text{NR}$ （式中、Rは、イミノ置換基、例えば、水素、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは水素又は C_{1-7} アルキル基である）。イミノ基の例としては、 $=\text{NH}$ 、 $=\text{NMe}$ 、及び $=\text{NEt}$ が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0122】

アミジン（アミジノ）： $-\text{C}(=\text{NR})\text{NR}_2$ （式中、各Rはアミジン置換基、例えば、水素、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは水素又は C_{1-7} アルキル基である）。アミジン基の例としては、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NMe}_2$ 及び $-\text{C}(=\text{NMe})\text{NMe}_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0123】

ニトロ： $-\text{NO}_2$ 。

ニトロソ： $-\text{NO}$ 。

アジド： $-\text{N}_3$ 。

シアノ（ニトリル、カルボニトリル）： $-\text{CN}$ 。

イソシアノ： $-\text{NC}$ 。

シアナト： $-\text{OCN}$ 。

イソシアナト： $-\text{NCO}$ 。

チオシアノ（チオシアナト）： $-\text{SCN}$ 。

イソチオシアノ（イソチオシアナト）： $-\text{NCS}$ 。

スルフヒドリル（チオール、メルカプト）： $-\text{SH}$ 。

【0124】

チオエーテル（スルフィド）： $-\text{SR}$ （式中、Rはチオエーテル置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、（ C_{1-7} アルキルチオ基とも呼ばれる）、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。 C_{1-7} アルキルチオ基の例としては、 $-\text{SCH}_3$ 及び $-\text{SCH}_2\text{CH}_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0125】

ジスルフィド： $-\text{SS}-\text{R}$ （式中、Rはジスルフィド置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基（本明細書では C_{1-7} アルキルジスルフィドとも呼ばれる）。 C_{1-7} アルキルジスルフィド基の例としては、 $-\text{SSCH}_3$ 及び $-\text{SSCH}_2\text{CH}_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0126】

50

スルフィン(スルフィニル、スルホキシド) : $-S(=O)R$ (式中、Rはスルフィン置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリアル基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である)。スルフィン基の例としては、 $-S(=O)CH_3$ 及び $-S(=O)CH_2CH_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0127】

スルホン(スルホニル) : $-S(=O)_2R$ (式中、Rはスルホン置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリアル基、好ましくは、例えばフッ素化又はペルフルオロ化 C_{1-7} アルキル基を含む C_{1-7} アルキル基である)。スルホン基の例としては、 $-S(=O)_2CH_3$ (メタンスルホニル、メシル)、 $-S(=O)_2CF_3$ (トリフリル)、 $-S(=O)_2CH_2CH_3$ (エシル)、 $-S(=O)_2C_4F_9$ (ノナフリル)、 $-S(=O)_2CH_2CF_3$ (トレシル)、 $-S(=O)_2CH_2CH_2NH_2$ (タウリル)、 $-S(=O)_2Ph$ (フェニルスルホニル、ベシル)、4-メチルフェニルスルホニル(トシル)、4-クロロフェニルスルホニル(クロシル)、4-プロモフェニルスルホニル(プロシル)、4-ニトロフェニル(ノシル)、2-ナフタレンスルホネート(ナブシル)及び5-ジメチルアミノ-ナフタレン-1-イルスルホネート(ダンシル)が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0128】

スルフィン酸(スルフィノ) : $-S(=O)OH$ 、 $-SO_2H$ 。
スルホン酸(スルホ) : $-S(=O)_2OH$ 、 $-SO_3H$

20

【0129】

スルフィネート(スルフィン酸エステル) : $-S(=O)OR$; (式中、Rは、スルフィネート置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリアル基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である)。スルフィン酸基の例としては、 $-S(=O)OCH_3$ (メトキシスルフィニル;スルフィン酸メチル)及び $S(=O)OCH_2CH_3$ (エトキシスルフィニル;スルフィン酸エチル)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0130】

スルホネート(スルホン酸エステル) : $-S(=O)_2OR$ (式中、Rはスルホネート置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリアル基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である)。スルホネート基の例としては、 $-S(=O)_2OCH_3$ (メトキシスルホニル;メチルスルホネート)及び $-S(=O)_2OCH_2CH_3$ (エトキシスルホニル;エチルスルホネート)が挙げられるが、これらに限定されない

30

【0131】

スルフィニルオキシ : $-OS(=O)R$ (式中、Rはスルフィニルオキシ置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリアル基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である)。スルフィニルオキシ基の例としては、 $-OS(=O)CH_3$ 及び $-OS(=O)CH_2CH_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0132】

スルホニルオキシ : $-OS(=O)_2R$ (式中、Rはスルホニルオキシ置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリアル基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である)。スルホニルオキシ基の例としては、 $-OS(=O)_2CH_3$ (メシラート)及び $-OS(=O)_2CH_2CH_3$ (エシレート)が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0133】

スルフェート : $-OS(=O)_2OR$ (式中、Rは、スルフェート置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリアル基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である)。スルフェート基の例としては、 $-OS(=O)_2OCH_3$ 及び $-SO(=O)_2OCH_2CH_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0134】

50

スルファミル（スルファミール；スルフィン酸アミド；スルフィンアミド）： $-S(=O)NR^1R^2$ （式中、 R^1 及び R^2 は独立して、アミノ基について定義したアミノ置換基である）。スルファミル基の例としては、 $-S(=O)NH_2$ 、 $-S(=O)NH(CH_3)$ 、 $-S(=O)N(CH_3)_2$ 、 $-S(=O)NH(CH_2CH_3)$ 、 $-S(=O)N(CH_2CH_3)_2$ 及び $S(=O)NHP_h$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0135】

スルホンアミド（スルフィナモイル；スルホン酸アミド；スルホンアミド）： $-S(=O)_2NR^1R^2$ （式中、 R^1 及び R^2 は独立して、アミノ基について定義したアミノ置換基である）。スルホンアミド基の例には、 $-S(=O)_2NH_2$ 、 $-S(=O)_2NH(CH_3)$ 、 $-S(=O)_2N(CH_3)_2$ 、 $-S(=O)_2NH(CH_2CH_3)$ 、 $-S(=O)_2N(CH_2CH_3)_2$ 及び $-S(=O)_2NHP_h$ が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0136】

スルファミノ： $-NR^1S(=O)_2OH$ （式中、 R^1 はアミノ基について定義したアミノ置換基である）。スルファミノ基の例には、 $-NHS(=O)_2OH$ 及び $-N(CH_3)S(=O)_2OH$ である。

【0137】

スルホンアミノ： $-NR^1S(=O)_2R$ （式中、 R^1 は、アミノ基について定義したアミノ置換基であり、 R はスルホンアミノ置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。スルホンアミノ基の例としては、 $-NHS(=O)_2CH_3$ 及び $-N(CH_3)S(=O)_2C_6H_5$ が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0138】

スルフィンアミノ： $-NR^1S(=O)R$ （式中、 R^1 はアミノ基について定義したアミノ置換基であり、 R はスルフィンアミノ置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である）。スルフィンアミノ基の例には、 $-NHS(=O)CH_3$ 及び $-N(CH_3)S(=O)C_6H_5$ が含まれるが、これらに限定されない。

30

【0139】

ホスフィノ（ホスフィン）： $-PR_2$ （ここで、 R はホスフィノ置換基、例えば $-H$ 、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは $-H$ 、 C_{1-7} アルキル基、 C_{5-20} アリール基である）。ホスフィノ基の例としては、 $-PH_2$ 、 $-P(CH_3)_2$ 、 $-P(CH_2CH_3)_2$ 、 $-P(t-Bu)_2$ 及び $-P(Ph)_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

ホスホ： $-P(=O)_2$ 。

【0140】

ホスフィニル（ホスフィンオキシド）： $-P(=O)R_2$ （式中、 R はホスフィニル置換基、例えば C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基又は C_{5-20} アリール基である）。ホスフィニル基の例としては、 $-P(=O)(CH_3)_2$ 、 $-P(=O)(CH_2CH_3)_2$ 、 $-P(=O)(t-Bu)_2$ 及び $-P(=O)(Ph)_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0141】

ホスホン酸（ホスホノ）： $-P(=O)(OH)_2$ 。

【0142】

ホスホネート（ホスホノエステル）： $-P(=O)(OR)_2$ （式中、 R はホスホネート置換基、例えば $-H$ 、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基又は C_{5-20} アリール基、好ましくは $-H$ 、 C_{1-7} アルキル基又は C_{5-20} アリール基である）。ホスホネート基の例には、 $-P(=O)(OCH_3)_2$ 、 $-P(=O)(OCH_2CH_3)_2$ 、 $-P(=O)(OCH_2CH_3)_2$ 及び $-P(=O)(OPh)_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

50

CH_3) CH_2CH_2 -、- $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ -、- $\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2$ -、及び - $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2$ - が挙げられるが、これらに限定されない。

【0152】

線状部分不飽和 C_{3-12} アルキレン基 (C_{3-12} アルキレン基及びアルキニレン基) の例としては、- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ -、及び - $\text{CH}_2-\text{C}(\text{C})-\text{CH}_2$ - が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0153】

分枝部分不飽和 C_{3-12} アルキレン基 (C_{3-12} アルケニレン及びアルキニレン基) の例としては、- $\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$ 、- $\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2$ -、- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 及び - $\text{C}(\text{C})-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0154】

脂環式飽和 C_{3-12} アルキレン基 (C_{3-12} シクロアルキレン) の例としては、シクロペンチレン (例えば、シクロペンタ-1,3-イレン)、及びシクロヘキシレン (例えばシクロヘキセン-1,4-イレン) が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0155】

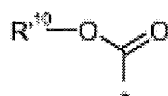
脂環式部分的不飽和 C_{3-12} アルキレン基 (C_{3-12} シクロアルキレン) の例としては、シクロペンテニレン (例えば、4-シクロペンテン-1,3-イレン)、シクロヘキセニレン (例えば、2-シクロヘキセン-1,4-イレン; 3-シクロヘキセン-1,2-イレン; 2,5-シクロヘキサジエン-1,4-イレン) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0156】

カルバメート窒素保護基：用語「カルバメート窒素保護基」は、イミン結合の窒素をマスクする部分に関連し、これらは当技術分野で周知である。これらの基は、以下の構造を有する：

30

[化30]



40

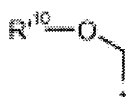
(式中、 R^{10} は、上記で定義した R である。) 多数の好適な基が、Greene, T. W. 及び Wuts, G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第3版、John Wiley & Sons, Inc., 1999の503~549頁、に記載されており、参照により本明細書に取り込まれている。

【0157】

ヘミ-アミナル窒素保護基：用語「ヘミ-アミナル窒素保護基」は、以下の構造を有する基に関する：

[化31]

50



(式中、 R^{10} は、上記で定義した R である。) 多数の好適な基が、Greene, T. W. 及び Wuts, G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 3 版、John Wiley & Sons, Inc., 1999 のアミド保護基として 633 ~ 647 頁に記載されており、参照により本明細書に取り込まれている。

10

【0158】

カルバメート窒素保護基及びヘミ - アミナル窒素保護基は、併せて「合成のための窒素保護基」と呼ぶことができる。

【0159】

コンジュゲート (Conjugate)

本開示は、リンカーユニットを介して抗体に結合した PBD 化合物を含むコンジュゲートに関する。

20

【0160】

本開示の好ましい第 1 の態様において、リンカーは、本明細書に記載の切断可能なリンカーである。例えば、切断可能なリンカーは、細胞外で安定であり得るが、細胞内ではある有効な速度で切断され得る。

【0161】

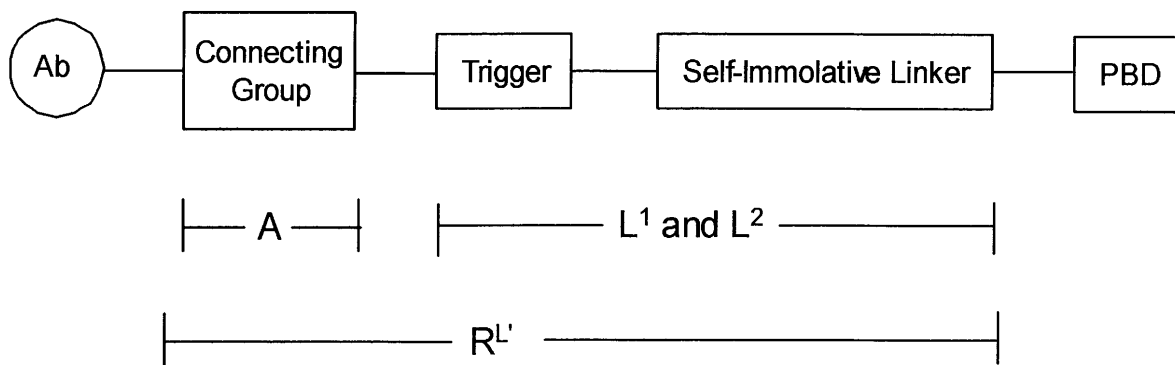
本開示の別の態様において、リンカーは切断不能リンカーである。非切断性リンカーは、典型的には細胞外で安定であり、細胞内でも安定である。非切断性リンカーの例としては、リンカー L1、L2 又は L3 を有するもの等の、本開示の代替の態様に記載されるものが挙げられる。非切断性リンカーは、典型的には、酵素の作用による切断に耐性があり、pH (例えば酸又は塩基不安定性)、温度、照射 (例えば、光解離性)、又は還元又は酸化条件における変化に対しても耐性であり得る。

30

【0162】

一実施形態において、コンジュゲートは、スペーサー連結基に連結された抗体、トリガーに連結されたそのスペーサー、自壊性 (self-immolative) リンカーに連結されたそのトリガー、及び PBD 化合物の N10 位置に連結されたその自壊性リンカーを含む。このようなコンジュゲートを以下に示す：

[化 3 2]



10

Connecting group: 連結基

Trigger: トリガー

Self-immolative Linker: 自壊性リンカー

(但し、Abは上に定義した抗体であり、PBDは本明細書に記載のピロロベンゾジアゼピン化合物(D)である。)図解は、本開示の特定の実施形態における $R^{L'}$ 、A、 L^1 及び L^2 に対応する部分を示す。 $R^{L'}$ は R^{L^1} 、又は R^{L^2} のいずれかであってもよい。Dは R^{L^1} 、又は R^{L^2} が除去された D^L である。

20

【0163】

好ましい実施形態では、コンジュゲートは、リンカーの一部を保持しない活性PBD化合物の放出を可能にする。PBD化合物の反応性に影響を及ぼし得るスタブ(stub)は存在しない。

【0164】

リンカーは共有結合を介して抗体をPBD薬物部分Dに結合させる。リンカーは、1つ以上の薬物部分(D)及び抗体単位(Ab)を結合させて抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を形成するために使用することができる二官能性又は多官能性部分である。リンカー($R^{L'}$)は、細胞の外側、即ち細胞外で安定であり得るか、又は酵素活性、加水分解、又は他の代謝条件によって切断可能であり得る。抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、薬物部分及び抗体への結合のための反応性官能基を有するリンカーを用いて簡便に調製することができる。システインチオール、又はアミン、例えば、抗体(Ab)のN末端又はリジン等のアミノ酸側鎖は、リンカー又はスペーサー試薬、PBD薬物部分(D)又は薬物-リンカー試薬(D^L 、 $D-R^{L'}$) (但し、 $R^{L'}$ は R^{L^1} 又は R^{L^2} とすることができる)の官能基と結合を形成することができる。

30

【0165】

ADCのリンカーは、ADC分子の凝集を防止し、ADCが水性媒質中及びモノマー状態において溶解しやすい状態を保持することが好ましい。

40

【0166】

ADCのリンカーは細胞外で安定であることが好ましい。細胞に輸送又は配達の前において抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、安定であり、無傷なまま、即ち、抗体は薬物部分に結合したままであることが好ましい。リンカーは標的細胞の外側で安定であり、細胞内である効率的な速度で切断され得る。有効なリンカーは、(i)抗体の特異的結合特性を維持する；(ii)コンジュゲート又は薬物部分の細胞内送達を可能にする；(iii)コンジュゲートが標的部位に送達又は輸送されるまで、安定で無傷のままであり、即ち切断されない；及び(iv)PBD薬物部分の細胞傷害性、細胞殺傷効果又は細胞増殖抑制効果を維持する。ADCの安定性は、質量分析、HPLC、及び分離/分析技術LC/MS等の標準的な分析技術によって測定することができる

50

【0167】

抗体と薬物部分との共有結合は、リンカーが2つの反応性官能基、即ち、反応性の意味で2価、を有することを必要とする。ペプチド、核酸、薬物、毒素、抗体、ハプテン及びレポーター基等の2つ以上の機能的又は生物学的に活性な部分を結合させるのに有用な2価リンカー試薬は公知であり、コンジュゲートを得る方法も記載されている(Hermanson, GT (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press: New York, p234-242)。

【0168】

別の実施形態では、リンカーは、凝集、溶解性又は反応性を調節する基で置換されていてもよい。例えば、スルホネート置換基は、試薬の水溶性を増加させ、リンカー試薬と抗体又は薬物部分とのカップリング反応を促進し得るか、Ab-LとD^L、又はD^L-LとAbとのカップリング反応を促進し得るが、それはADCを調製するために使用される合成経路に依存する。

10

【0169】

一実施形態では、L-R^L'は、
[化33]



20

(上式において、アスタリスクは薬物単位(D)への結合点を示し、Abは抗体(L)であり、L¹はリンカーであり、AはL¹を抗体に結合する連結基であり、L²は共有結合であるか、又は-O-C(=O)-と一緒に成る自壊性リンカーを形成し、L¹又はL²は切断可能なリンカーである。)で表される基である。

30

【0170】

L¹は、切断可能なリンカーであることが好ましく、切断のためのリンカーの活性化の引き金と呼ぶことができる。

【0171】

存在する場合(where present)、L¹及びL²の性質は、広い範囲で変わり得る。これらの基は、それらの切断特性に基づいて選択され、その特性はコンジュゲートが送達される部位の条件によって決定され得る。pH(例えば、酸又は塩基不安定性)、温度又は照射(例えば、光解離性)の変化によって切断可能なリンカーも使用することができるが、酵素の作用で切断されるリンカーが好ましい。還元又は酸化条件下で切断可能なリンカーもまた、本開示において有用であり得る。

40

【0172】

L¹はアミノ酸の連続した配列を含むことができる。アミノ酸配列は、酵素的切断のための標的基質であってもよく、これによりN10位からL-R^L'の放出を可能にする。

【0173】

一実施形態では、L¹は酵素の作用により切断可能である。一実施形態では、酵素はエステラーゼ又はペプチダーゼである。

【0174】

一実施形態では、L²が存在し、-C(=O)O-と共に自壊性リンカーを形成する。

50

一実施形態では、 L^2 は酵素活性の基質であり、これにより N 10 位から $L - R^{L'}$ の放出を可能にする。

【0175】

一実施形態では、 L^1 が酵素の作用により切断可能であり、 L^2 が存在する場合、酵素は L^1 と L^2 との間の結合を切断する。

【0176】

L^1 及び L^2 は、存在する場合 (where present)、以下より選択される結合によって接続されてもよい：

- C (= O) NH - 、
- C (= O) O - 、
- NH C (= O) - 、
- OC (= O) - 、
- OC (= O) O - 、
- NH C (= O) O - 、
- OC (= O) NH - 、及び
- NH C (= O) NH - 。

10

【0177】

L^2 に連結する L^1 のアミノ基は、アミノ酸の N 末端であってもよく、又はアミノ酸側鎖のアミノ基、例えばリシンアミノ酸側鎖、に由来してもよい。

【0178】

L^2 に連結する L^1 のカルボキシル基は、アミノ酸の C 末端であってもよいし、又はアミノ酸側鎖のカルボキシル基、例えばグルタミンアミノ酸側鎖、に由来してもよい。

20

【0179】

L^2 に結合する L^1 のヒドロキシル基は、アミノ酸側鎖、例えばセリンアミノ酸側鎖、のヒドロキシル基に由来してもよい。

【0180】

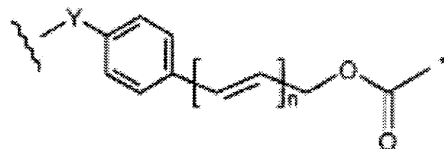
用語「アミノ酸側鎖」は、(i) アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、及びパリン等の天然アミノ酸；(i i) オルニチン及びシトルリン等のマイナーなアミノ酸；(i i i) 非天然アミノ酸、ベータ - アミノ酸、合成類似体及び天然アミノ酸の誘導体；(i v) すべてのエナンチオマー、ジアステレオマー、異性体濃縮、同位体標識 (例、 ^2H 、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N)、保護形態及びそのラセミ混合物、に見られる基を含む。

30

【0181】

一実施形態では、 $-C(=O)O-$ 及び L^2 は、一緒になって基：

[化34]



40

(上式において、アスタリスクは N 10 位との結合点を示し、波線はリンカー L^1 との結合点を示し、Y は $-N(H)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(=O)N(H)-$ 又は $-C(=O)O-$

50

であり、そしてnは0～3である。)を形成する。フェニレン環は、任意に、本明細書に記載されているように1個、2個又は3個の置換基で置換されていてもよい。一実施形態では、フェニレン基は、必要に応じて、ハロ、NO₂、R又はORで置換される。

【0182】

一実施形態では、YはNHである。

一実施形態では、nは0又は1である。好ましくは、nは0である。

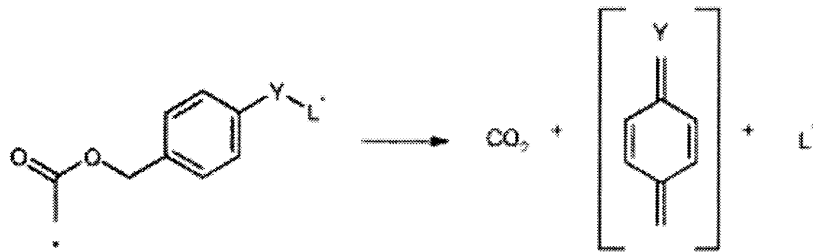
【0183】

YがNHであり、nが0である場合、自壊性リンカーは、p-アミノベンジルカルボニルリンカー(PABC)である。

【0184】

自壊性リンカーは、リモートサイトが活性化された時、保護された化合物の放出を可能にし、以下に示す線に沿って進行する(n=0の場合)。

[化35]



10

20

30

(上式において、L*は、リンカーの残部の活性化形態である。)

これらの基は、保護されている化合物から活性化部位を分離するという利点を有する。上記のようにフェニレン基は任意に置換されていてもよい。

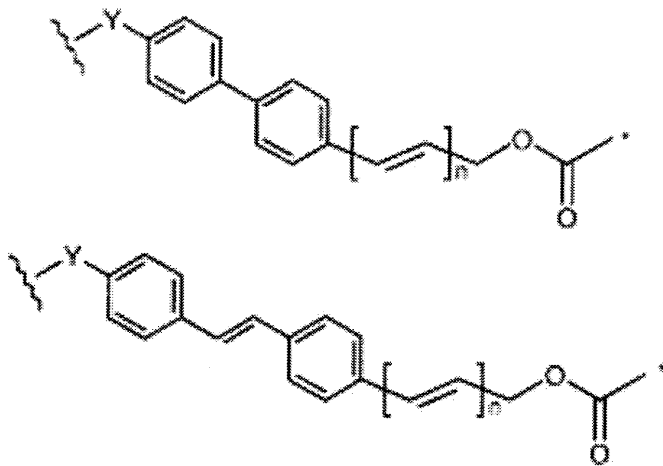
【0185】

本明細書に記載の一実施形態では、基L*は、ジペプチド基を含み得る本明細書に記載のリンカーL¹である。

【0186】

別の実施形態において、-C(=O)O-及びL²は一緒になって、

[化36]



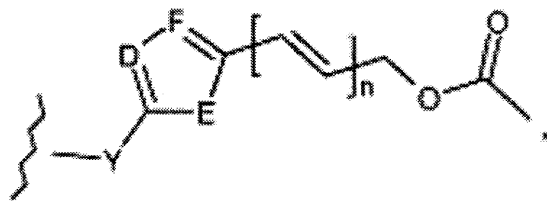
10

(上式において、アスタリスク、波線、Y及びnは、前で定義した通りである。)各フェニレン環は、任意に、本明細書に記載されているように1個、2個又は3個の置換基で置換されていてもよい。一実施形態では、Y置換基を有するフェニレン環は置換されていてもよく、Y置換基を有さないフェニレン環は置換されていない。一実施形態では、Y置換基を有するフェニレン環は置換されておらず、Y置換基を有さないフェニレン環は任意に置換されていてもよい。

20

【0187】

別の実施形態において、 $-C(=O)O-$ 及び L^2 は一緒になって、
[化37]



30

(上式において、アスタリスク、波線、Y及びnは、前で定義した通りであり、EはO、S又はNRであり、DはN、CH又はCRであり、FはN、CH又はCRである。)から選択される基を形成する。

40

【0188】

- 一実施形態では、DはNである。
- 一実施形態では、DはCHである。
- 一実施形態では、EはO又はSである。
- 一実施形態では、FはCHである。

【0189】

好ましい実施形態では、リンカーはカテプシン不安定リンカーである。

50

【0190】

一実施形態では、 L^1 はジペプチドを含む。ジペプチドは、 $-NH-X_1-X_2-CO-$ (式中、 $-NH-$ 及び $-CO-$ はそれぞれアミノ酸群 X_1 及び X_2 のN末端及びC末端を表す。) で表され得る。ジペプチド中のアミノ酸は、天然アミノ酸の任意の組合せであってもよい。リンカーがカテプシン不安定リンカーである場合、ジペプチドはカテプシン媒介性切断の作用部位であり得る。

【0191】

さらに、カルボキシル又はアミノ側鎖官能基 (functionality)、例えば Glu 及び Lys を有するアミノ酸群の場合、CO 及び NH はその側鎖官能基を表し得る。

10

【0192】

一実施形態では、ジペプチド $-NH-X_1-X_2-CO-$ の $-X_1-X_2-$ 基は、
 $-Phe-Lys-$ 、
 $-Val-Ala-$ 、
 $-Val-Lys-$ 、
 $-Ala-Lys-$ 、
 $-Val-Cit-$ 、
 $-Phe-Cit-$ 、
 $-Leu-Cit-$ 、
 $-Ile-Cit-$ 、
 $-Phe-Arg-$ 、
 $-Trp-Cit-$
(但し、Cit はシトルリンである) から選択される。

20

【0193】

好ましくは、ジペプチド $-NH-X_1-X_2-CO-$ の $-X_1-X_2-$ 基は、
 $-Phe-Lys-$ 、
 $-Val-Ala-$ 、
 $-Val-Lys-$ 、
 $-Ala-Lys-$ 、
 $-Val-Cit-$ 、
から選択される。

30

【0194】

最も好ましくは、ジペプチド $-NH-X_1-X_2-CO-$ の $-X_1-X_2-$ 基は、 $-Phe-Lys-$ 、又は $-Val-Ala-$ である。

【0195】

Dubowchikら、Bioconjugate Chemistry、2002、13、855-869に記載されているものを含む他のジペプチドの組み合わせを使用することができ、これは参照により本明細書に組み込まれる。

【0196】

一実施形態では、アミノ酸側鎖は、必要に応じて (where appropriate) 誘導体化される。例えば、アミノ酸側鎖のアミノ基又はカルボキシ基を誘導体化してもよい。一実施形態では、側鎖アミノ酸 (例えばリジン) のアミノ基 NH_2 は、 NHR 及び $NR R'$ からなる群から選択される誘導体化形態である。一実施形態では、アスパラギン酸等の側鎖アミノ酸のカルボキシ基 $COOH$ は、 $COOR$ 、 $CONH_2$ 、 $CONHR$ 及び $CONR R'$ からなる群から選択される誘導体化形態である。

40

【0197】

一実施形態では、アミノ酸側鎖は、必要に応じて (where appropriate) 化学的に保護される。側鎖保護基は、基 R^L に関して以下に議論するような基であってもよい。本発明者らは、保護されたアミノ酸配列が酵素によって開裂可能であることを立証した。例えば、Boc側鎖-保護Lys残基を含むジペプチド配列がカテプシンによって切断可能である

50

ことが確立されている。

【0198】

アミノ酸の側鎖の保護基は、当該技術分野において周知であり、Novabiochemカタログに記載されている。さらなる保護基の戦略は、有機合成、Greene及びWutsにおける保護基(Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts)に記載されている。

【0199】

反応性側鎖官能性を有するアミノ酸について、可能性のある側鎖保護基を以下に示す：

Arg : Z, Mtr, Tos ;

Asn : Trt, Xan ;

Asp : Bzl, t-Bu ;

Cys : AcM, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me, Trt ;

Glu : Bzl, t-Bu ;

Gln : Trt, Xan ;

His : Boc, Dnp, Tos, Trt ;

Lys : Boc, Z-CI, Fmoc, Z, Alloc ;

Ser : Bzl, TBDMS, TBDPS ;

Thr : Bz ;

Trp : Boc ;

Tyr : Bzl, Z, Z-Br。

【0200】

一実施形態では、側鎖保護は、存在する場合、キャッピング基として、又はその一部として設けられた基に対して直角になるように選択される。従って、側鎖保護基の除去は、キャッピング基、又はキャッピング基の一部である任意の保護基官能基を除去しない。

【0201】

本開示の他の実施形態では、選択されるアミノ酸は、反応性側鎖官能基を有さないものである。例えば、アミノ酸は、Ala、Gly、Ile、Leu、Met、Phe、Pro及びValから選択され得る。

【0202】

一実施形態では、ジペプチドは、自壊性リンカーと組み合わせて使用される。自壊性リンカーは、 $-X_2-$ に連結されていてもよい。

【0203】

自壊性リンカーが存在する場合、 $-X_2-$ は自壊性リンカーに直接結合する。好ましくは、基 $-X_2-CO-$ はY(YはNHである)に結合しており、これにより基 $-X_2-CO-NH-$ を形成する。

【0204】

$-NH-X_1-$ はAに直接結合している。Aは官能基 $-CO-$ を含むことができ、これにより $-X_1-$ とアミド結合を形成することができる。

【0205】

一実施形態では、 $-OC(=O)-$ と共に L^1 及び L^2 は、基 $NH-X_1-X_2-CO-PABC-$ を含む。PABC基はN10の位置に直接接続される。

【0206】

好ましくは、自壊性リンカーとジペプチドは一緒になって $-NH-Phe-Lys-CO-NH-PABC-$ 基を形成し、これは以下に示される：

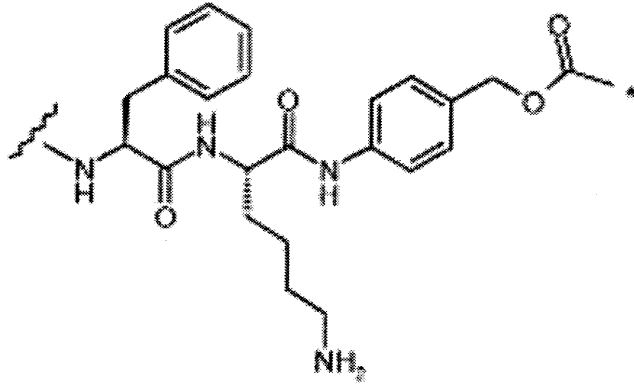
[化38]

10

20

30

40



10

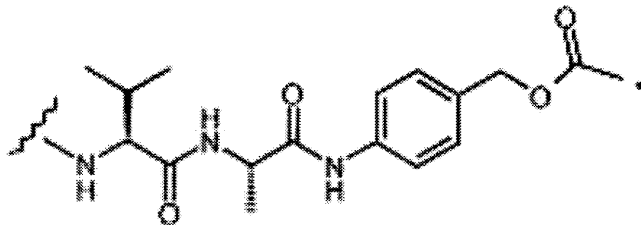
(上式において、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はリンカーL¹の残部への結合点又はAへの結合点を示す。)好ましくは、波線はAへの結合点を示す。上記のように、Lysアミノ酸の側鎖は、例えば、Boc、Fmoc、又はAllocで保護されていてもよい。

20

【0207】

あるいは、自壊性リンカーとジペプチドは一緒になって基-NH-Val-Ala-CO-NH-PABC-を形成し、これは以下に示される：

[化39]



30

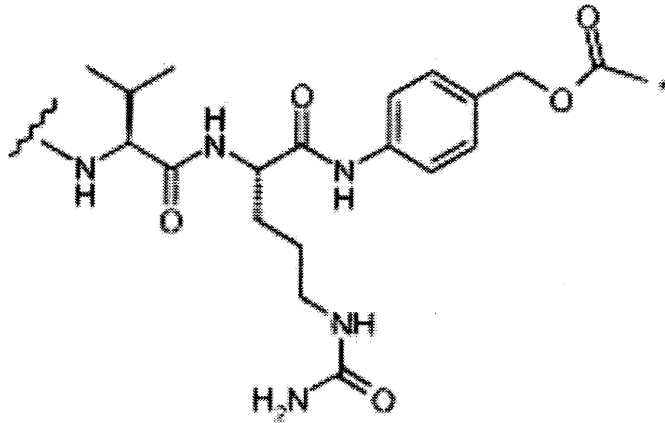
(上式において、アスタリスクと波線は前に定義した通りである。)

【0208】

あるいは、自壊性リンカーとジペプチドが一緒になって基-NH-Val-Cit-CO-NH-PABC-を形成し、これは以下に示される：

[化40]

40



10

(上式において、アスタリスクと波線は前に定義した通りである。)

【0209】

一実施形態では、Aは共有結合である。従って、L¹と抗体は直接結合している。例えば、L¹が隣接するアミノ酸配列を含む場合、配列のN末端は抗体に直接結合してもよい。

20

【0210】

従って、Aが共有結合である場合、抗体とL¹との間の結合は、

- C(=O)NH -、
 - C(=O)O -、
 - NHC(=O) -、
 - OC(=O) -、
 - OC(=O)O -、
 - NHC(=O)O -、
 - OC(=O)NH -、
 - NHC(=O)NH -、
 - C(=O)NHC(=O) -、
 - S -、
 - S - S -、
 - CH₂C(=O) -、及び
 - = N - NH -、
- から選択され得る。

30

【0211】

抗体に結合するL¹のアミノ基は、アミノ酸のN末端であってもよく、又はアミノ酸側鎖のアミノ基、例えばリジンアミノ酸側鎖のアミノ基に由来してもよい。

40

【0212】

抗体に結合するL¹のカルボキシル基は、アミノ酸のC末端であってもよく、アミノ酸側鎖のカルボキシル基、例えばグルタミン酸アミノ酸側鎖のカルボキシル基に由来してもよい。

抗体に結合するL¹のヒドロキシル基は、アミノ酸側鎖のヒドロキシル基、例えばセリンアミノ酸側鎖のヒドロキシル基に由来してもよい。

抗体に結合するL¹のチオール基は、アミノ酸側鎖のチオール基、例えばセリンアミノ酸側鎖のチオール基に由来し得る。

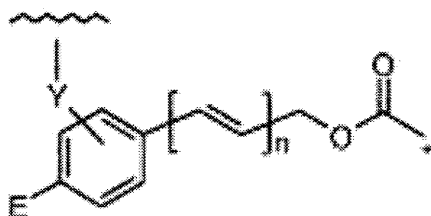
【0213】

50

L¹のアミノ、カルボキシル、ヒドロキシル及びチオール基に関して上記のコメントは、抗体にも当てはまる。

【0214】

一実施形態では、 $-OC(=O)-$ と共にL²は：
[化41]



10

(上式において、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はL¹への結合点を示し、nは0~3であり、Yは共有結合又は官能基であり、Eは活性化可能基、例えば酵素作用又は光による活性化可能基、であり、これによって自壊性単位を生成することができる。)を表す。フェニレン環は、任意に、本明細書に記載の1、2又は3個の置換基でさらに置換されている。一実施形態では、フェニレン基は、任意に、ハロ、NO₂、R又はORでさらに置換されていてもよい。好ましくは、nは0又は1であり、最も好ましくは0である。

20

【0215】

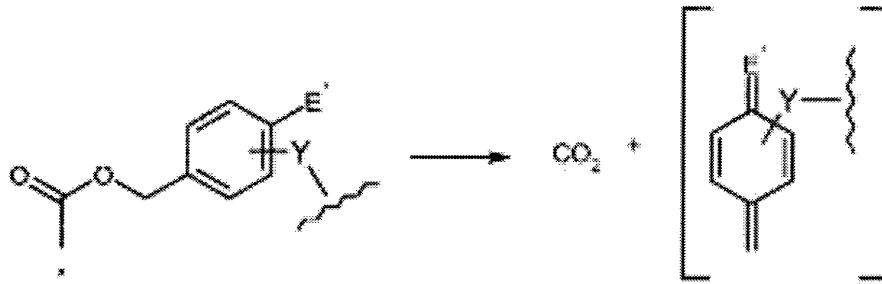
Eは、その基が活性化されやすいように(例えば光により、又は酵素の作用により)選択される。Eは-NO₂又はグルクロン酸(glucuronic acid)であり得る。前者はニトロレダクターゼの作用を受け易く、後者は-グルクロニダーゼの作用を受けやすい。

30

【0216】

この実施形態では、自壊性リンカーは、Eが活性化された時に、保護された化合物を放出させ、以下に示す線に沿って進行する(n=0の場合)。

[化42]



10

(上式において、星印はN10位への結合点を示し、E*はEの活性化形態であり、Yは前記の通りである。)これらの基は、保護される化合物から活性化部位を分離するという利点を有する。上記のように、フェニレン基はさらに任意に置換されていてもよい。

【0217】

20

基Yは、L¹との共有結合であってもよい。

基Yは、以下から選択される官能基であってもよい：

- C(=O) -
- NH -
- O -
- C(=O)NH -、
- C(=O)O -、
- NHC(=O) -、
- OC(=O) -、
- OC(=O)O -、
- NHC(=O)O -、
- OC(=O)NH -、
- NHC(=O)NH -、
- NHC(=O)NH、
- C(=O)NHC(=O) -、及び
- S -。

30

【0218】

L¹がジペプチドである場合、Yは-NH-又は-C(=O)-であり、これによりL¹とYとの間にアミド結合を形成することが好ましい。この実施形態では、ジペプチド配列は酵素活性のための基質を必要としない。

40

【0219】

別の実施形態において、Aはスペーサー基である。従って、L¹及び抗体は間接的に連結される。

【0220】

L¹及びAは、以下のものから選択される結合により連結されていてもよい：

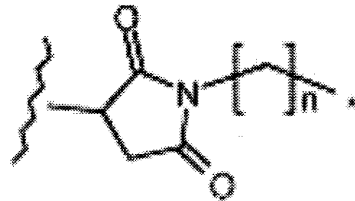
- C(=O)NH -、
- C(=O)O -、
- NHC(=O) -、
- OC(=O) -、
- OC(=O)O -、

50

- NHC(=O)O-
- OC(=O)NH-
- NHC(=O)NH-

【0221】

一実施形態では、基 A は：
[化 4 3]



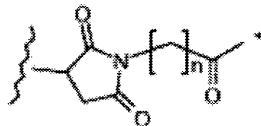
10

(上式において、アスタリスクは L¹ への結合点を示し、波線は抗体への結合点を示し、n は 0 ~ 6 である。) である。一実施形態では、n は 5 である。

20

【0222】

一実施形態では、基 A は：
[化 4 4]



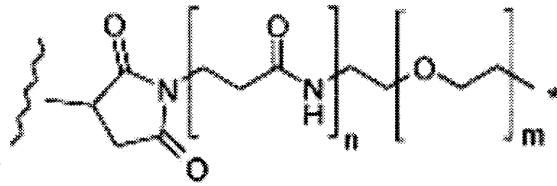
30

(上式において、アスタリスクは L¹ への結合点を示し、波線は抗体への結合点を示し、n は 0 ~ 6 である。) である。一実施形態では、n は 5 である。

【0223】

一実施形態では、基 A は：
[化 4 5]

40



10

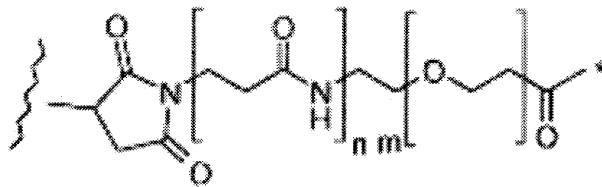
(上式において、アスタリスクは L^1 への結合点を示し、波線は抗体への結合点を示し、 n は 0 又は 1 であり、 m は 0 ~ 30 である。) である。好ましい実施形態では、 n は 1 であり、 m は 0 ~ 10、1 ~ 8、好ましくは 4 ~ 8、最も好ましくは 4 又は 8 である。別の実施形態では、 m は 10 ~ 30、好ましくは 20 ~ 30 である。あるいは、 m は 0 ~ 50 である。この実施形態では、 m は 10 ~ 40 であり、 n は 1 であることが好ましい。

【0224】

一実施形態では、基 A は：

[化46]

20



30

(上式において、アスタリスクは L^1 への結合点を示し、波線は抗体への結合点を示し、 n は 0 又は 1 であり、 m は 0 ~ 30 である。) である。好ましい実施形態では、 n は 1 であり、 m は 0 ~ 10、1 ~ 8、好ましくは 4 ~ 8、最も好ましくは 4 又は 8 である。別の実施形態では、 m は 10 ~ 30、好ましくは 20 ~ 30 である。あるいは、 m は 10 ~ 50 である。この実施形態では、 m は 10 ~ 40 であり、 n は 1 であることが好ましい。

【0225】

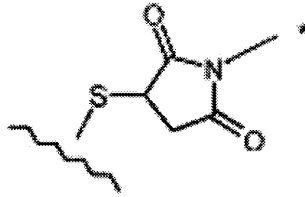
一実施形態では、抗体と A との間の結合は、抗体のチオール残基及び A のマレイミド基を介している。

【0226】

一実施形態では、抗体と A との間の結合は、

[化47]

40



10

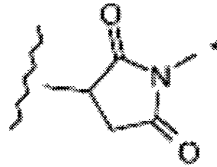
(上式において、アスタリスクはAの残部への結合点を示し、波線は抗体の残部への結合点を示す。)である。この実施形態において、硫黄原子は、典型的には抗体に由来する。

【0227】

上記の各実施形態において、以下に示すマレイミド誘導基の代わりに別の官能基を使用してもよい：

[化48]

20



30

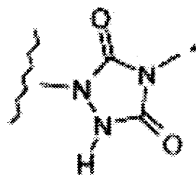
(上式において、波線は、以前のように抗体への結合点を示し、アスタリスクは、A基の残部に対する結合を示す)。

【0228】

一実施形態では、マレイミド誘導基は、基：

[化49]

40



(上式において、波線は抗体への結合点を示し、アスタリスクはA基の残部に対する結合を示す。)と置換される。

50

【0229】

一実施形態では、マレイミド由来基は、任意に抗体と一緒にあって、

- C(=O)NH -、
- C(=O)O -、
- NHC(=O) -、
- OC(=O) -、
- OC(=O)O -、
- NHC(=O)O -、
- OC(=O)NH -、
- NHC(=O)NH -、
- NHC(=O)NH、
- C(=O)NHC(=O) -、
- S -、
- S - S -、
- CH₂C(=O) -、
- C(=O)CH₂ -、
- = N - NH -、及び
- NH - N =、

10

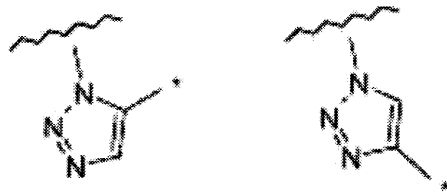
から選択される基で置換される。

【0230】

20

一実施形態では、マレイミド誘導基は、任意に抗体と一緒にあって、

[化50]



30

(上式において、波線は、抗体への結合点又はA基の残部への結合のいずれかを示し、アスタリスクは、抗体への結合点の他方又はA基の残部への結合を示す)

から選択される基で置換される。

【0231】

L¹を抗体に連結するために適当な他の基は、WO2005/082023に記載されている。

40

【0232】

一実施形態では、接続グループAが存在し、トリガーL¹が存在し、自壊性リンカーL²が存在しない。従って、L¹及び薬物単位は、結合を介して直接接続される。同等に、この実施形態ではL²は結合である。これは、特にD^Lが式IIである場合に関連し得る。

【0233】

L¹及びDは、以下から選択される結合によって接続されてもよい：

- C(=O)N<、
- C(=O)O -、

50

- N H C (= O) - 、
- O C (= O) - 、
- O C (= O) O - 、
- N H C (= O) O - 、
- O C (= O) N H - 、
- O C (= O) N <、及び
- N H C (= O) N <、

(但し、N <又はO - はDの一部である)。

一実施形態では、L¹及びDは、好ましくは、

- C (= O) N <、及び
- N H C (= O) - 、

10

から選択される結合により接続される。

【0234】

一実施形態では、L¹はジペプチドを含み、ジペプチドの一端はDに連結されている。上記のように、ジペプチドのアミノ酸は、天然アミノ酸と非天然アミノ酸のどのような組み合わせであってもよい。いくつかの実施形態では、ジペプチドは天然アミノ酸を含む。リンカーがカテプシン不安定リンカーである場合、ジペプチドはカテプシン媒介性切断の作用部位である。この時、このジペプチドは、カテプシンの認識部位である。

【0235】

一実施形態では、ジペプチド - N H - X₁ - X₂ - C O - における - X₁ - X₂ - 基は

20

- P h e - L y s - 、
- V a l - A l a - 、
- V a l - L y s - 、
- A l a - L y s - 、
- V a l - C i t - 、
- P h e - C i t - 、
- L e u - C i t - 、
- I l l e - C i t - 、
- P h e - A r g - 、及び
- T r p - C i t - ;

30

(但し、C i tはシトルリンである)から選択される。このようなジペプチドにおいて、

- N H - はX₁のアミノ基であり、C OはX₂のカルボニル基である

【0236】

好ましくは、ジペプチド - N H - X₁ - X₂ - C O - の - X₁ - X₂ - 基は、

- P h e - L y s - 、
- V a l - A l a - 、
- V a l - L y s - 、
- A l a - L y s - 、及び
- V a l - C i t -

40

から選択される。

【0237】

最も好ましくは、ジペプチド - N H - X₁ - X₂ - C O - の - X₁ - X₂ - 基は、 - P h e - L y s - 又は - V a l - A l a - である。

【0238】

目的の(of interest)他のジペプチドの組み合わせとしては、

- G l y - G l y - 、
- P r o - P r o - 、及び
- V a l - G l u - が挙げられる。

【0239】

50

上記のものを含めて、他のジペプチドの組合せを使用することができる。

【0240】

一実施形態では、 $L^1 - D$ は、

[化51]



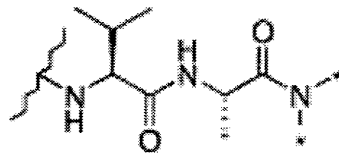
10

(上式において、 $-\text{NH}-\text{X}_1-\text{X}_2-\text{CO}-$ はジペプチドであり、 $-\text{N}^{\leftarrow}$ は薬物単位の一部であり、アスタリスクは薬物単位の残部への結合点を示し、そして波線は L^1 の残部への結合点又はAへの結合点を示す。)である。波線はAへの結合点を示すことが好ましい。

【0241】

一実施形態では、ジペプチドはバリン - アラニンであり、 $L^1 - D$ は：

[化52]



20

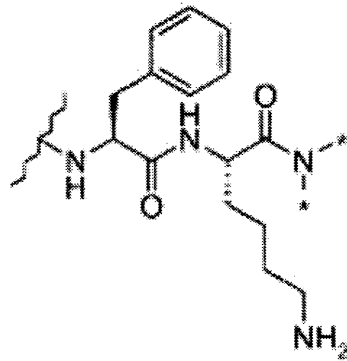
30

(上式において、アスタリスク、 $-\text{N}^{\leftarrow}$ 及び波線は、前で定義した通りである。)である。

【0242】

一実施形態では、ジペプチドはフェニルアラニン - リシンであり、 $L^1 - D$ は：

[化53]



10

(上式において、アスタリスク、 $-N^*$ 及び波線は前で定義した通りである。)である。

【0243】

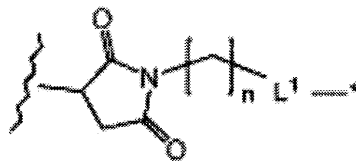
一実施形態では、ジペプチドはバリン - シトルリンである。

【0244】

一実施形態では、基 A - L¹ は：

[化54]

20



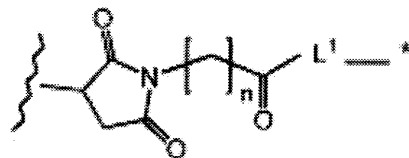
30

(上式において、アスタリスクは L² 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位への結合点を示し、n は 0 ~ 6 である。)である。一実施形態では、n は 5 である。

【0245】

一実施形態では、基 A - L¹ は：

[化55]



40

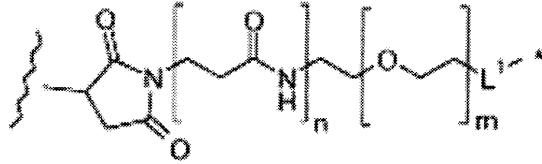
(上式において、アスタリスクは L² 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位への結合点を示し、n は 0 ~ 6 である。)である。一実施形態では、n は 5 である。

50

【0246】

一実施形態では、基 A - L¹ は：

[化56]



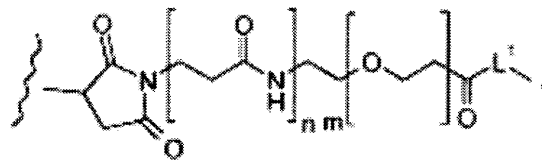
10

(上式において、アスタリスクは L² 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位への結合点を示し、n は 0 又は 1 であり、m は 0 ~ 30 である。) である。好ましい実施形態では、n は 1 であり、m は 0 ~ 10、1 ~ 8、好ましくは 4 ~ 8、最も好ましくは 4 又は 8 である。

【0247】

一実施形態では、基 A - L¹ は：

[化57]



20

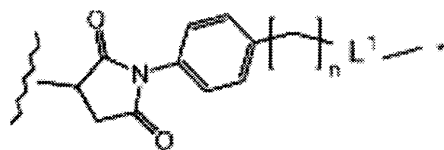
30

(上式において、アスタリスクは L² 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位への結合点を示し、n は 0 又は 1 であり、m は 0 ~ 30 である。) である。好ましい実施形態では、n は 1 であり、m は 0 ~ 10、1 ~ 7、好ましくは 3 ~ 7、最も好ましくは 3 又は 7 である。

【0248】

一実施形態では、基 A - L¹ は：

[化58]



40

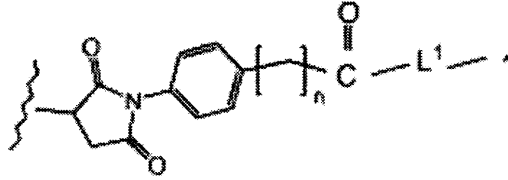
(上式において、アスタリスクは L² 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位への結合点を示し、n は 0 ~ 6 である。) である。一実施形態では、n は 5 である。

50

【0249】

一実施形態では、基 A - L¹ は：

[化59]



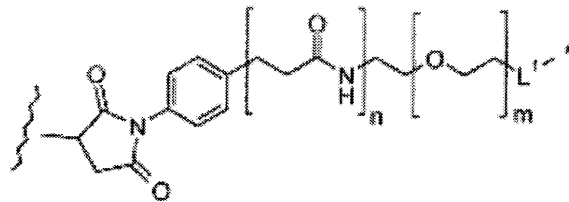
10

(上式において、アスタリスクは L² 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位への結合点を示し、n は 0 ~ 6 である。) である。一実施形態では、n は 5 である。

【0250】

一実施形態では、基 A - L¹ は：

[化60]



30

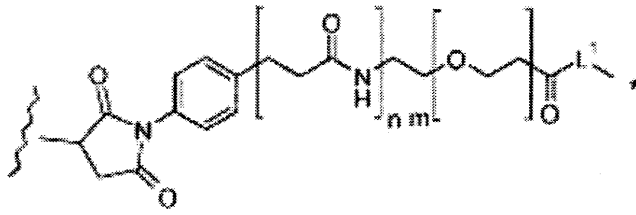
(上式において、アスタリスクは L² 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位への結合点を示し、n は 0 又は 1 であり、m は 0 ~ 30 である。) である。好ましい実施形態では、n は 1 であり、m は 0 ~ 10、1 ~ 8、好ましくは 4 ~ 8、最も好ましくは 4 又は 8 である。

【0251】

一実施形態では、基 A - L¹ は：

[化61]

40



10

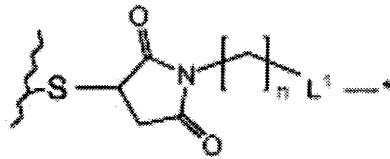
(上式において、アスタリスクは L^2 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位への結合点を示し、 n は 0 又は 1 であり、 m は 0 ~ 30 である。) である。好ましい実施形態では、 n は 1 であり、 m は 0 ~ 10、1 ~ 8、好ましくは 4 ~ 8、最も好ましくは 4 又は 8 である。

【0252】

一実施形態では、基 $A - L^1$ は：

[化62]

20



30

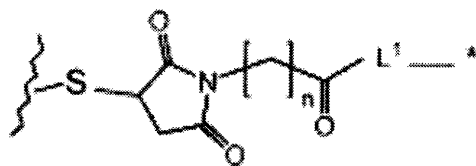
(上式において、アスタリスクは L^2 又は D への結合点を示し、 S はリガンド単位の硫黄基であり、波線はリガンド単位の残部への結合点を示し、 n は 0 ~ 6 である。) である。一実施形態では、 n は 5 である。

【0253】

一実施形態では、基 $A - L^1$ は：

[化63]

40



(上式において、アスタリスクは L^2 又は D への結合点を示し、 S はリガンド単位の硫黄基であり、波線はリガンド単位の残部への結合点を示し、 n は 0 ~ 6 である。) である。

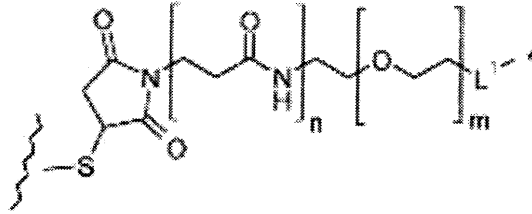
50

一実施形態では、 n は 5 である。

【0254】

一実施形態では、基 $A^1 - L^1$ は：

[化64]



10

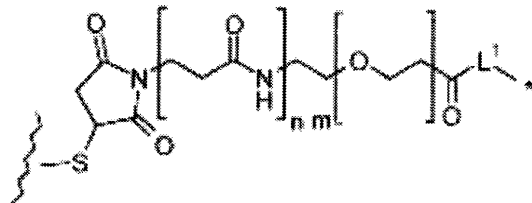
(上式において、アスタリスクは L^2 又は D への結合点を示し、 S はリガンド単位の硫黄基であり、波線はリガンド単位の残部への結合点を示し、 n は 0 又は 1 であり、 m は 0 ~ 30 である。) である。好ましい実施形態では、 n は 1 であり、 m は 0 ~ 10、1 ~ 8、好ましくは 4 ~ 8、最も好ましくは 4 又は 8 である。

20

【0255】

一実施形態では、基 $A^1 - L^1$ は：

[化65]



30

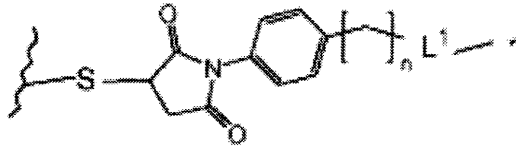
(上式において、アスタリスクは L^2 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位の残部への結合点を示し、 n は 0 又は 1 であり、 m は 0 ~ 30 である。) である。好ましい実施形態では、 n は 1 であり、 m は 0 ~ 10、1 ~ 7、好ましくは 4 ~ 8、最も好ましくは 4 又は 8 である。

40

【0256】

一実施形態では、基 $A^1 - L^1$ は：

[化66]



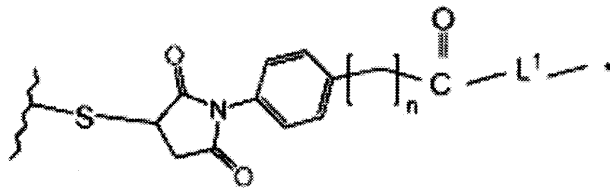
10

(上式において、アスタリスクは L^2 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位の残部への結合点を示し、 n は $0 \sim 6$ である。) である。一実施形態では、 n は 5 である。

【0257】

一実施形態では、基 $A^1 - L^1$ は：

[化67]



20

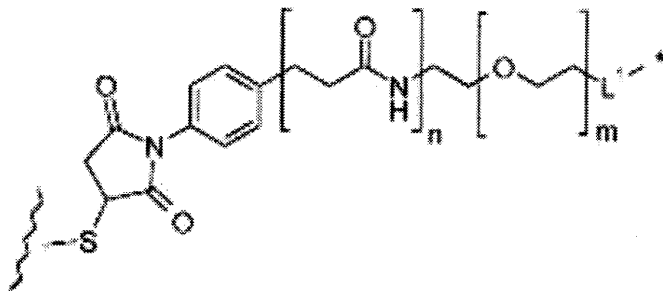
(上式において、アスタリスクは L^2 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位の残部への結合点を示し、 n は $0 \sim 6$ である。) である。一実施形態では、 n は 5 である。

30

【0258】

一実施形態では、基 $A^1 - L^1$ は：

[化68]



40

(上式において、アスタリスクは L^2 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位の残

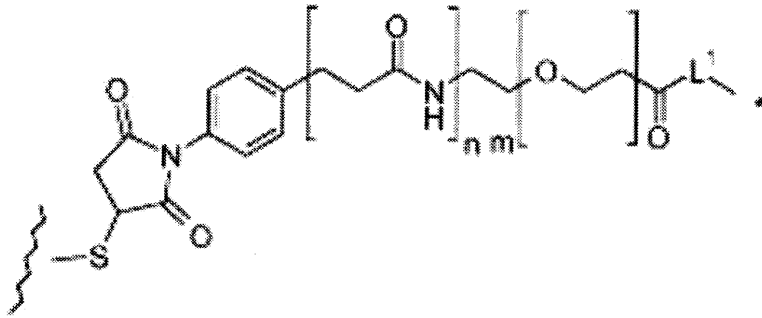
50

部への結合点を示し、 n は0又は1であり、 m は0～30である。)である。好ましい実施形態では、 n は1であり、 m は0～10、1～8、好ましくは4～8、最も好ましくは4又は8である。

【0259】

一実施形態では、基 $A^1 - L^1$ は：

[化69]



10

20

(上式において、アスタリスクは L^2 又は D への結合点を示し、波線はリガンド単位の残部への結合点を示し、 n は0又は1であり、 m は0～30である。)である。好ましい実施形態では、 n は1であり、 m は0～10、1～8、好ましくは4～8、最も好ましくは4又は8である。

【0260】

グループ R^L ' は、グループ R^L から誘導可能である。基 R^L を、抗体の R^L の官能基への結合によって基 R^L ' に変換することができる。他のステップで R^L は R^L ' に変換され得る。これらの工程には、存在する場合には保護基の除去、又は適当な官能基の設置を含み得る。

30

【0261】

R^L

リンカーは、1つ以上のアミノ酸単位を含むプロテアーゼ切断可能なペプチド部分を含むことができる。ペプチドリンカー試薬は、ペプチド化学の分野でよく知られている固相又は液相合成法 (E. Schroeder 及び K. Luebke, *The Peptides*, volume 1, pp 76 - 136 (1965) Academic Press) により製造することができ、この固相又は液相合成法としては、Rainin Symphony Peptide Synthesizer (Protein Technologies, Inc., Tucson, AZ) 又は Model 433 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 等の自動シンセサイザーについての、t-BOC化学 (Geisler, 「固相ペプチド合成の自動化」 *Macromolecular Sequencing and Synthesis*, Alan R. Liss, Inc., 1988, pp. 199 - 218) 及び Fmoc/HBTU化学 (Fields, G. Noble, R. (1990) 「9-フルオロエノメトキシカルボニルアミノ酸を用いた固相ペプチド合成」, *Int. J. Peptide Protein Res.* 35: 161 - 214) が挙げられる。

40

【0262】

アミノ酸リンカーの例としては、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド又はペンタペプチドが挙げられる。ジペプチドの例としては、バリン-シトルリン (vc 又は va

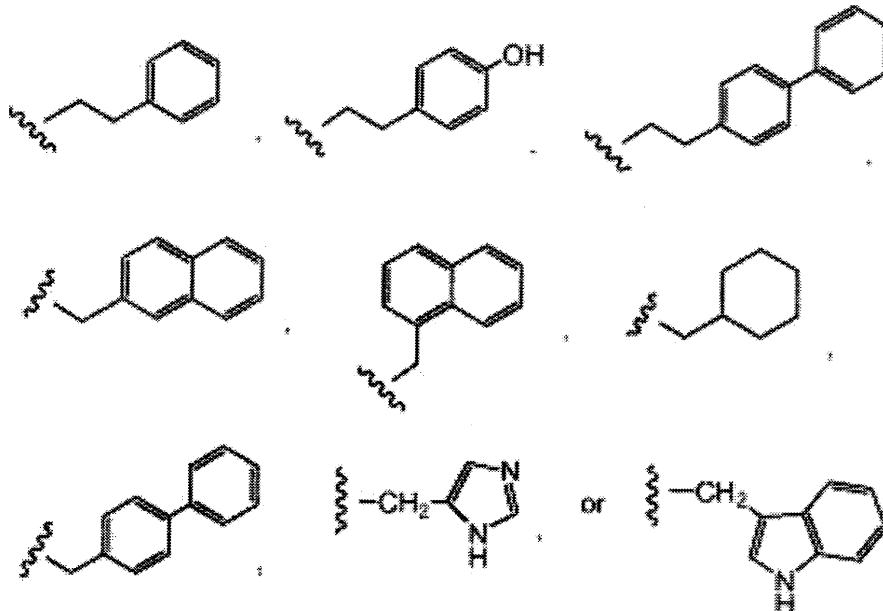
50

l - c i t)、アラニン - フェニルアラニン (a f 又は a l a - p h e) が挙げられる。トリペプチドの例としては、グリシン - バリン - シトルリン (g l y - v a l - c i t) 及びグリシン - グリシン - グリシン (g l y - g l y - g l y) が挙げられる。アミノ酸リンカー成分を含むアミノ酸残基には、天然に存在するもの、並びにマイナーなアミノ酸及びシトルリンのような天然に存在しないアミノ酸類似体が含まれる。アミノ酸リンカー成分は、特定の酵素、例えば腫瘍関連プロテアーゼ、カテプシン B、C 及び D、又はプラスミンプロテアーゼ、により酵素的切断のための選択性において設計及び最適化することができる。

【 0 2 6 3 】

アミノ酸側鎖には、天然に存在するもの、ならびにマイナーなアミノ酸及びシトルリンなどの天然に存在しないアミノ酸類似体が含まれる。アミノ酸側鎖としては、水素、メチル、イソプロピル、イソブチル、s e c - ブチル、ベンジル、p - ヒドロキシベンジル、
 - C H ₂ O H、- C H (O H) C H ₃、- C H ₂ C H ₂ S C H ₃、- C H ₂ C O N H ₂、
 - C H ₂ C O O H、- C H ₂ C H ₂ C O N H ₂、- C H ₂ C H ₂ C O O H、- (C H ₂)
₃ N H C (= N H) N H ₂、- (C H ₂) ₃ N H ₂、- (C H ₂) ₃ N H C O C H ₃、-
 (C H ₂) ₃ N H C H O、- (C H ₂) ₄ N H C (= N H) N H ₂、- (C H ₂) ₄ N H
₂、- (C H ₂) ₄ N H C O C H ₃、- (C H ₂) ₄ N H C H O、- (C H ₂) ₃ N H C
 O N H ₂、- (C H ₂) ₄ N H C O N H ₂、- C H ₂ C H ₂ C H (O H) C H ₂ N H ₂、
 2 - ピリジルメチル -、3 - ピリジルメチル -、4 - ピリジルメチル -、フェニル、シ
 クロヘキシル、及び下記構造：

[化 7 0]



が挙げられる。

【 0 2 6 4 】

アミノ酸側鎖が水素以外のもの (グリシン) を含む場合、アミノ酸側鎖が結合する炭素

原子はキラルである。アミノ酸側鎖が結合している各炭素原子は、独立して(S)又は(R)立体配座にあるか、又はラセミ混合物である。従って、薬物-リンカー試薬は、鏡像異性的に純粋なもの、ラセミ体のもの、又はジアステレオマーであり得る。

【0265】

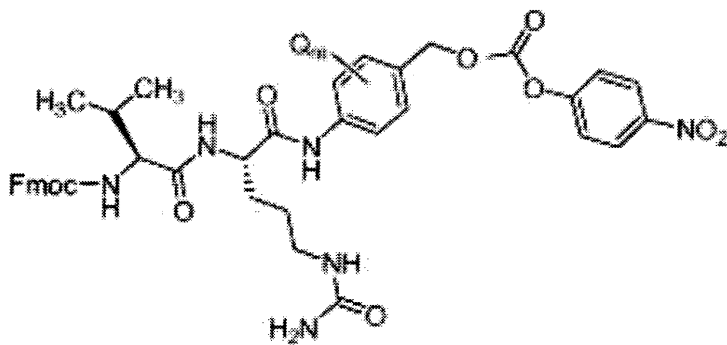
例示的实施形態において、アミノ酸側鎖は、アラニン、2-アミノ-2-シクロヘキシ酢酸、2-アミノ-2-フェニル酢酸、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、ノルロイシン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン、 α -アミノ酪酸、 β -ジメチル- α -アミノ酪酸、 γ -ジメチル- α -アミノ酪酸、オルニチン、及びシトルリン(Cit)を含む天然及び非天然アミノ酸のアミノ酸側鎖から選択される。

10

【0266】

パラ-アミノベンジルカルバモイル(PAB)自壊性スペーサーを有する、抗体への結合(Conjugation)のためのリンカー-PBD薬物部分中間体を構築するために有用な例示的なバリン-シトルリン(val-cit又はvc)ジペプチドリンカー試薬は、下記構造：

[化71]



20

30

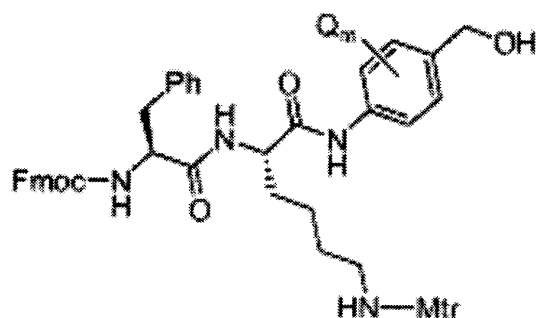
(上式において、QはC₁-C₈アルキル、-O-(C₁-C₈アルキル)、-ハロゲン、-NO₂又は-CNであり；mは0~4の範囲の整数である。)を有する。

【0267】

p-アミノベンジル基を有する例示的なphe-lys(Mtr)ジペプチドリンカー試薬は、Dubowchikら(1997)Tetrahedron Letters, 38:5257-60に記載されており、構造：

[化72]

40



10

(上式において、Mtrはモノ-4-メトキシトリチルであり、QはC₁-C₈アルキル、-O-(C₁-C₈アルキル)、-ハロゲン、-NO₂又は-CNであり；mは0~4の範囲の整数である。)を有する。

【0268】

「自壊性リンカー」PAB(パラ-アミノベンジルオキシカルボニル)は、抗体薬物コンジュゲート中の抗体に薬物部分を結合させる(Carlら(1981)J. Med. Chem. 24:479-480; Chakravartyら(1983)J. Med. Chem. 26:638-644; US6214345; US20030130189; US20030096743; US6759509; US20040052793; US6218519; US6835807; US6268488; US20040018194; WO98/13059; US20040052793; US6677435; US5621002; US20040121940; WO2004/032828)。PAB以外の自壊性スペーサーの他の例としては、(i)2-アミノイミダゾール-5-メタノール誘導体等のPAB基と電子的に類似の芳香族化合物(Hayら(1999)Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237)、チアゾール(US7375078)、複数の伸長PAB単位(de Grootら(2001)J. Org. Chem. 66:8815-8830); オルト又はパラ-アミノベンジルアセタール; (ii)同族化スチリルPAB類似体(US7223837)が挙げられるが、これらに限定されるものではない。置換及び非置換4-アミノ酪酸アミド(Rodriguesら(1995)Chemistry Biology 2:223)、適宜置換されたピシクロ[2.2.1]及びピシクロ[2.2.2]環システム(Stormら(1972)J. Amer. Chem. Soc. 94:5815)及び2-アミノフェニルプロピオン酸アミド(Amsberryら(1990)J. Org. Chem. 55:5867)等の、アミド結合加水分解時に環化を受けるスペーサーを使用することができる。グリシンで置換されたアミン含有薬物の除去(Kingsburyら(1984)J. Med. Chem. 27:1447)も、ADCにおいて有用な自壊性スペーサーの例である。

20

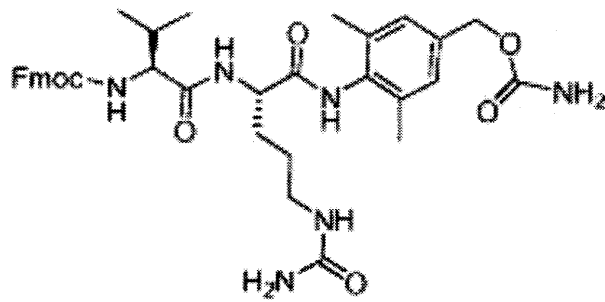
30

40

【0269】

一実施形態では、パリン-シトルリンジペプチドPABアナログ試薬は、2,6ジメチルフェニル基を有し、下記構造:

[化73]



10

を有する。

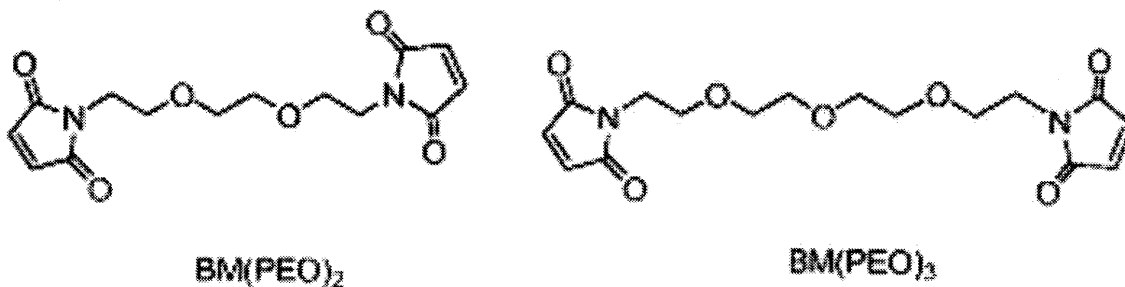
【0270】

本開示の抗体薬物コンジュゲートに有用なリンカー試薬としては、BMPEO、BMP S、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、S IA、S IAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-S IAB、スルホ-SMCC、並びにスルホ-SMPB及びSVSB（スクシンイミジル-（4-ビニルスルホン）ベンゾエート）及びビスマレイミド試薬：DTME、BMB、BMDB、BMH、BMOE、1,8-ビス-マレイミドジエチレングリコール（BM(PEO)₂）、1,11-ビス-マレイミドトリエチレングリコール（BM(PEO)₃）（これらはPierce Biotechnology, Inc., ThermoScientific, Rockford, IL及び他の試薬供給業者から市販されている）を含むが、これらに限定されない。ビスマレイミド試薬は、抗体のシステイン残基の遊離チオール基を、チオール含有薬物部分、標識、又はリンカー中間体に順次又は並行して付着させる。抗体のチオール基、PBD薬物部分、又はリンカー中間体と反応性であるマレイミド以外の他の官能基には、ヨードアセトアミド、プロモアセトアミド、ビニルピリジン、ジスルフィド、ピリジルジスルフィド、イソシアネート及びイソチオシアネートが含まれる。

20

30

[化74]



40

【0271】

リンカー試薬の他の実施形態としては、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルチオ)ペンタノエート（SPP）、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)ブ

50

ロピオネート (SPDP、Carlssonら (1978) *Biochem. J.* 173 : 723 - 737)、スクシンイミジル - 4 - (N - マレイミドメチル)シクロヘキサン - 1 - カルボキシレート (SMCC)、イミノチオラン (IT)、イミドエステルの二官能性誘導体 (例えばジメチルアジピン酸 HCl 塩)、活性エステル (例えばスベリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド (例えば、グルタルアルデヒド)、ビスアジド化合物 (例えば、ビス (p - アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン)、ビス - ジアゾニウム誘導体 (例えば、ビス - (p - ジアゾニウムベンゾイル) - エチレンジアミン)、ジイソシアネート (例えば、トルエン 2, 6 - ジイソシアネート)、及びビス活性フッ素化合物 (例えば、1, 5 - ジフルオロ - 2, 4 - ジニトロベンゼン)が挙げられる。有用なリンカー試薬はまた、他の商業的供給源、例えば Molecular Biosciences Inc. (Boulder, CO) を介して得られるか、或いは Toki (2002) *J. Org. Chem.* 67 : 1866 - 1872 ; US 6214345 ; WO 02 / 088172 ; US 2003130189 ; US 2003096743 ; WO 03 / 026577 ; WO 03 / 043583 ; WO 04 / 032828 に記載の手順に従って製造される。

10

【0272】

リンカーは、分枝多官能性リンカー部分を介して抗体に1個を超える薬物部分を共有結合させるための樹状型リンカーであり得る (US 2006 / 116422 ; US 2005 / 271615 ; de Grootら (2003) *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 : 4490 - 4494 ; Amirら (2003) *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 : 4494 - 4499 ; Shamisra (2004) *J. Am. Chem. Soc.* 126 : 1726 - 1731 ; Sunら (2002) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12 : 2213 - 2215 ; Sunら (2003) *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11 : 1761 - 1768 ; Kingら (2002) *Tetrahedron Letters* 43 : 1987 - 1990)。樹状リンカーは、薬物対抗体のモル比、即ち負荷、を増加させることができ、これは ADC の効力に関連する。従って、抗体がただ1つの反応性システインチオール基を有する場合、多数の薬物部分が樹状又は分枝リンカーを介して結合され得る。

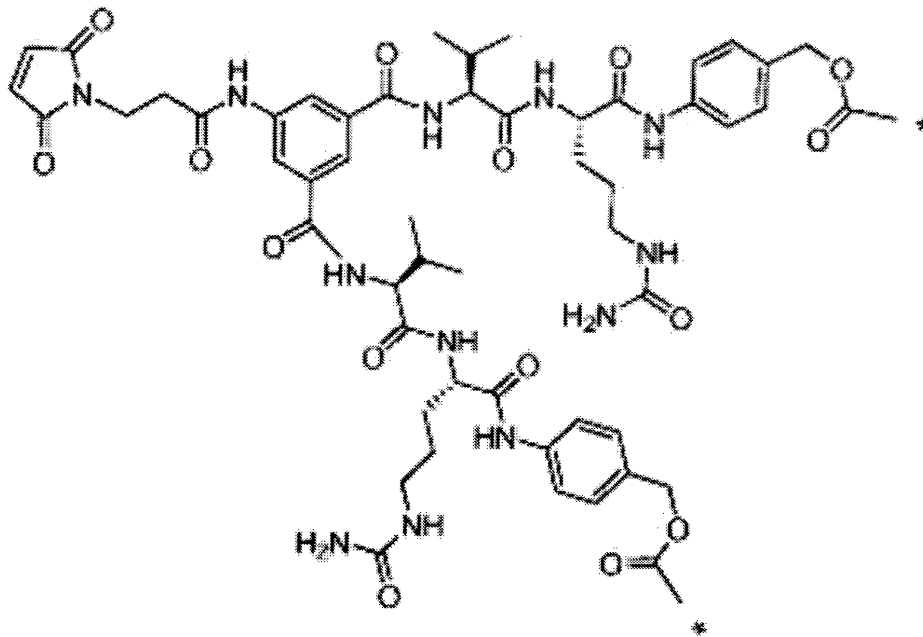
20

【0273】

樹枝状型 (dendritic) リンカーの1つの例示的な実施形態は、下記構造：

[化75]

30



10

20

(但し、アスタリスクは、PBD部分のN10位への結合点を示す)を有する。

【0274】

R^c、キャッピング基

本開示の第1の態様のコンジュゲートは、N10位(R²⁰)にキャッピング基R^cを有することができる。

30

【0275】

基R^cは、PBD部分のN10位から脱離することができ、N10-C11イミン結合、カルピノールアミン、置換カルピノールアミン(但し、QR¹¹は、OSO₃M、重亜硫酸付加物、チオカルピノールアミン、置換チオカルピノールアミン又は置換カルピノールアミンである)を残す。

【0276】

一実施形態では、R^cは、N10-C11イミン結合、カルピノールアミン、置換カルピノールアミンを残すように脱離され得る保護基であり、或いはQR¹¹がOSO₃Mである場合、重亜硫酸付加物を残す保護基であり得る。一実施形態では、R^cは、除去してN10-C11イミン結合を残すように除去され得る保護基である。

40

【0277】

基R^cは、基R¹⁰の除去(例えば、N10-C11イミン結合、カルピノールアミン等の生成のため)に必要とされるのと同じ条件下で除去が可能であるように設定されている。キャッピング基は、N10位で意図された官能性の保護基として働く。キャッピング基は、抗体に対しては反応性でないように設定されている。例えば、R^cはR^{L1}と同じではない。

【0278】

一実施形態では、R^c基は、リンカーR^{L1}を開裂させる条件下で除去可能である。従って、一実施形態では、キャッピング基は、酵素の作用によって切断可能である。

50

【0279】

R^cは、本発明者らの先の出願であるW000/12507に記載されている基のようなN10保護基であってもよい。一実施形態では、R^cは、本発明者らの先の出願であるW000/12507に定義されている治療上除去可能な窒素保護基である。

一実施形態では、R^cはカルバメート保護基である。

【0280】

一実施形態では、カルバメート保護基は、Alloc、Fmoc、Boc、Troc、Teoc、Psec、Cbz及びPNZから選択される。任意に、カルバメート保護基は、さらにMocから選択される。

【0281】

一実施形態では、R^cは、抗体との結合のための官能基を欠くリンカー基R^{L1}である。

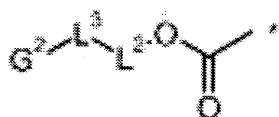
【0282】

この用途は、カルバメートであるR^c基に特に関連がある。

【0283】

一実施形態では、R^cは、下記の基：

[化76]



(上式において、アスタリスクはN10位への結合点を示し、G²は末端基であり、L³は共有結合又は切断可能なリンカーL¹であり、L²は共有結合であるか、又はOC(=O)と一緒に自壊性リンカーを形成する。)

である。L³及びL²が両方とも共有結合である場合、G²及びOC(=O)は一緒になって、前で定義したカルバメート保護基を形成する。

【0284】

L²は、R^{L1}に関して上記で定義した通りである。

【0285】

様々な停止基が、周知の保護基に基づくものを含めて、以下に記載される。

【0286】

一実施形態では、L³は開裂可能なリンカーL¹であり、L²はOC(=O)と共に自壊性リンカーを形成する。この実施形態において、G²は、Ac(アセチル)もしくはMocであるか、又はAlloc、Fmoc、Boc、Troc、Teoc、Psec、Cbz及びPNZから選択されるカルバメート保護基である。任意に、カルバメート保護基は、さらにMocから選択される。

【0287】

別の実施形態において、G²はアシル基-C(=O)G³(但し、G³はアルキル(シクロアルキル、アルケニル及びアルキニルを含む)から選択される)、ヘテロアルキル、ヘテロシクリル及びアリール(ヘテロアリール及びカルボアリールを含む)から選択される。これらの基は任意に置換されていてもよい。アシル基は、L³又はL²のアミノ基と一緒にあって、適宜アミド結合を形成してもよい。アシル基は、L³又はL²のヒドロキシ基と一緒にあって、適宜、エステル結合を形成してもよい。

【0288】

一実施形態では、G³はヘテロアルキルである。ヘテロアルキル基は、ポリエチレング

10

20

30

40

50

リコールを含むことができる。ヘテロアルキル基は、アシル基に隣接するO又はN等のヘテロ原子を有していてもよく、これにより、適宜、基 L^3 又は L^2 に存在するヘテロ原子と共にカルバメート又はカーボネート基を適宜形成することができる。

【0289】

一実施形態では、 G^3 は、 NH_2 、 NHR 及び NRR' から選択される。好ましくは、 G^3 は NRR' である。

一実施形態では、 G^2 は下記の基：

[化77]



10

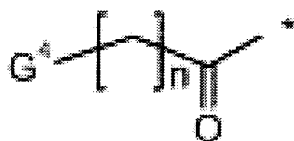
(上式において、アスタリスクは L^3 への結合点を示し、 n は0~6であり、 G^4 はOH、OR、SH、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'、NH₂、NHR、NRR'、NO₂及びハロゲンから選択される。)である。基OH、SH、NH₂及びNHRは保護されている。1つの実施形態において、 n は1~6であり、 n が5であることが好ましい。1つの実施形態において、 G^4 は、OR、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'、及びNRR'である。一実施形態では、 G^4 はOR、SR及びNRR'である。好ましくは、 G^4 はOR及びNRR'から選択され、さらに好ましくは、 G^4 はORである。最も好ましくは、 G^4 はOMeである。

20

【0290】

一実施形態では、基 G^2 は：

[化78]



30

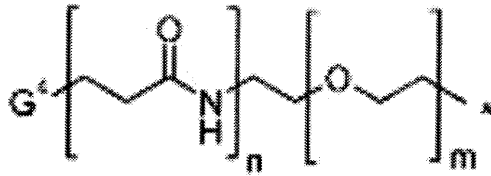
40

(上式においてアスタリスクは L^3 への結合点を示し、 n 及び G^4 は前で定義した通りである。)である。

【0291】

一実施形態では、基 G^2 は：

[化79]



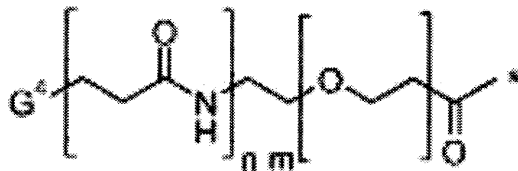
10

(上式において、アスタリスクはL³への結合点を示し、nは0又は1であり、mは0～50であり、G⁴はOH、OR、SH、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'、NH₂、NHR、NRR'、NO₂及びハロゲンから選択される。)である。好ましい実施形態では、nは1であり、mは0～10、1～2、好ましくは4～8、最も好ましくは4又は8である。別の実施形態では、nは1であり、mは10～50、好ましくは20～40である。基OH、SH、NH₂及びNHRは保護されている。一実施形態では、G⁴は、OR、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'及びNRR' 20
である。一実施形態では、G⁴はOR、SR及びNRR'である。好ましくは、G⁴はOR及びNRR'から選択され、最も好ましくは、G⁴はORである。好ましくは、G⁴はOMeである。

20

【0292】

一実施形態では、基G²は：
[化80]



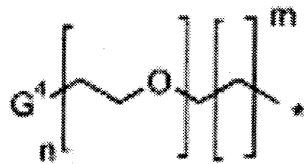
30

(上式において、アスタリスクはL³への結合点を示し、n、m及びG⁴は前で定義した通りである。)である。 40

40

【0293】

一実施形態では、基G²は：
[化81]



10

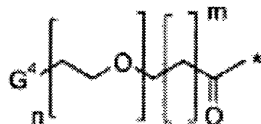
(上式において、 n は0~20であり、 m は0~6であり、 G^4 はOH、OR、SH、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'、NH₂、NHR、NRR'、NO₂及びハロゲンから選択される。)である。一実施形態では、 n は1~10である。別の実施形態では、 n は10~50であり、好ましくは20~40である。一実施形態では、 n は1である。一実施形態では、 m は1である。基OH、SH、NH₂及びNHRは保護されている。一実施形態では、 G^4 は、OR、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'及びNRR'である。一実施形態では、 G^4 はOR、SR及びNRR'である。好ましくは、 G^4 はOR及びNRR'から選択され、最も好ましくは、 G^4 はORである。好ましくは、 G^4 はOMeである。

20

【0294】

一実施形態では、基 G^2 は：

[化82]



30

(上式において、アスタリスクはL³への結合点を示し、 n 、 m 及び G^4 は前で定義した通りである。)である。

【0295】

上記の各実施形態において、 G^4 は、OH、SH、NH₂及びNHRであってもよい。これらの基は好ましくは保護されている。

40

一実施形態では、OHは、Bzl、TBDMS、又はTBDPSで保護される。

一実施形態では、SHは、Acm、Bzl、Bzl-OMe、Bzl-Me、又はTrtで保護される。

一実施形態において、NH₂又はNHRは、Boc、Moc、Z-Cl、Fmoc、Z又はAllocで保護される。

【0296】

一実施形態では、基 G^2 は基L³と組み合わせられて存在し、その基はジペプチドである。

【0297】

キャッピング基は、抗体との結合を意図したものではない。このため、二量体中に存在

50

する他の単量体は、リンカーを介して抗体への連結点として機能する。従って、カップリング基に存在する官能基は抗体との反応に利用されないことが好ましい。このため、OH、SH、NH₂、COOH等の反応性官能基は避けることが好ましい。しかしながら、上記のように保護されている場合、このような官能基はカップリング基に存在してもよい。

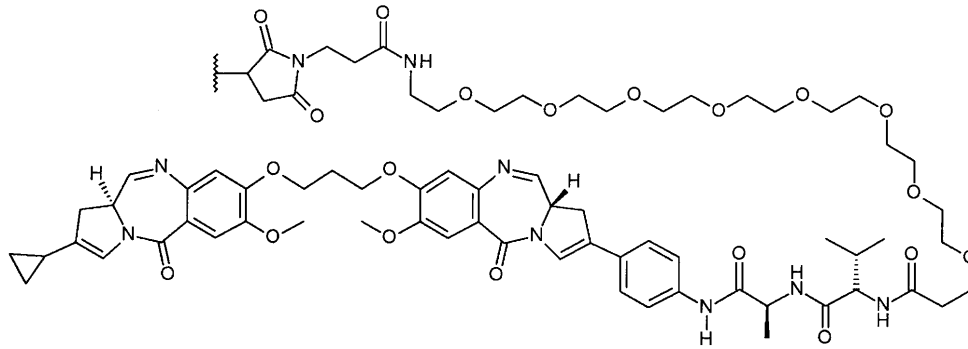
【0298】

実施形態

いくつかの実施形態では、D^LはConj A、Conj B、Conj C、Conj D、及びConj u Eを含む群から選択される。：

[化83]

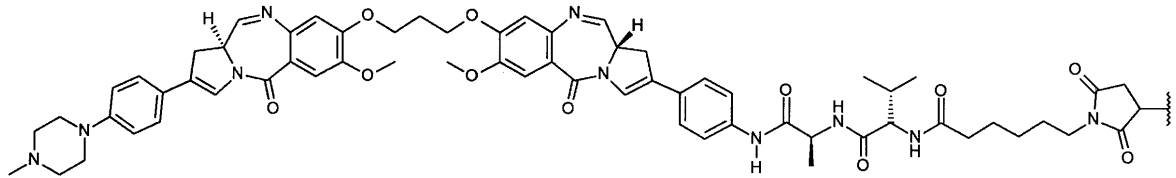
ConjA



ConjA

;

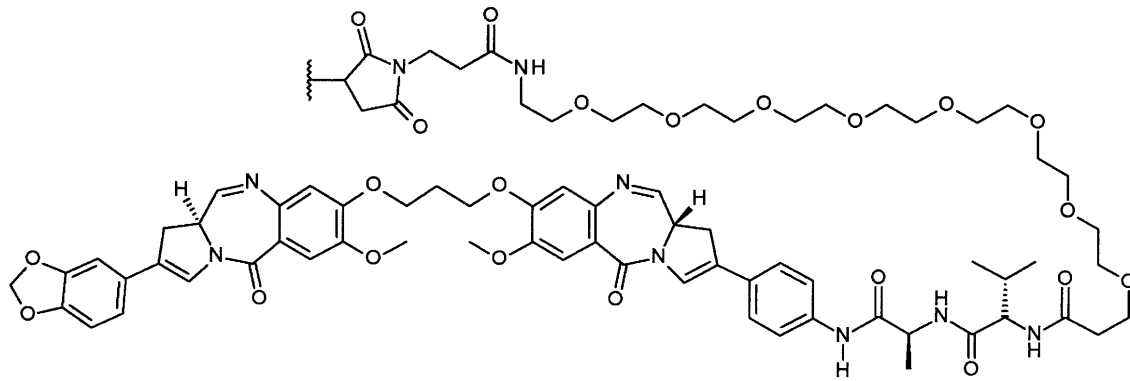
ConjB



ConjB

;

ConjC:



ConjC

;

[化 8 4]

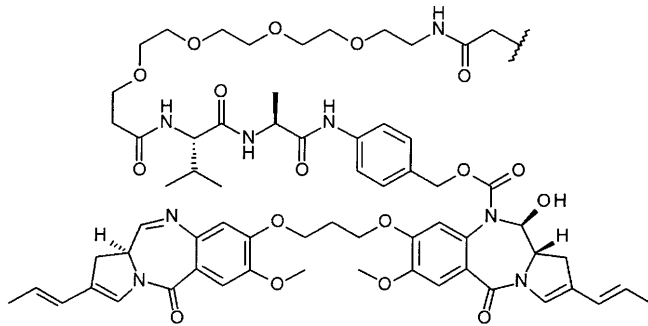
10

20

30

40

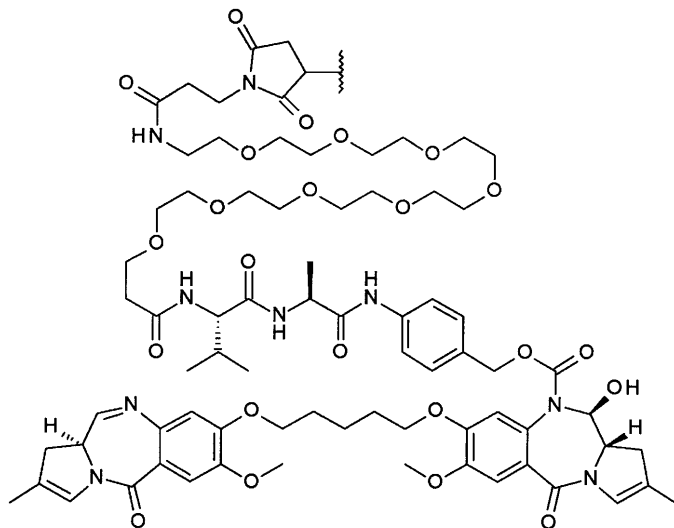
ConjD



ConjD

; and

ConjE:



ConjE

10

20

30

40

50

【0299】

薬物負荷

薬物負荷は、抗体（例、抗体）当たりの平均PBD薬物数である。本開示の化合物がステインに結合する場合、薬物負荷は、抗体あたり1～8薬物（ D^L ）であり、即ち、この場合、1、2、3、4、5、6、7及び8薬物部分が抗体と共有結合している。コンジュゲートの組成物は、1～8の範囲の薬物と結合した抗体の集まりを含む。本開示の化合物がリジンに結合する場合、薬物の負荷は、1抗体あたり1～20薬物（ D^L ）の範囲であり得るが、10又は8の上限が好ましい場合がある。コンジュゲートの組成物は、1～20、1～10又は1～8の範囲の薬物とコンジュゲートした抗体のコレクションを含む。

【0300】

抱合反応 (conjugation reaction) から得られるADC調製物中の抗体当たりの薬物の平均数は、UV、逆相HPLC、HIC、質量分析、ELISAアッセイ、及び電気泳動等の従来的手段によって明らかにすることができる。pの観点からADCの定量的分布も決定することができる。ELISAによって、ADCの特定の調製におけるpの平均値を決定することができる (Hamblettら (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sandersonら (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852)。しかしながら、p(薬物)値の分布は、ELISAの抗体-抗原結合及び検出限界によって識別することはできない。また、抗体-薬物コンジュゲートの検出のためのELISAアッセイは、薬物部分が、どこで(例えば、重鎖又は軽鎖フラグメント又は特定のアミノ酸残基等)抗体に結合するかを決定しない。いくつかの例では、pが他の薬物負荷を伴うADCからの特定の値である均一なADCの分離、精製及び特性評価は、逆相HPLC又は電気泳動等の手段によって達成することができる。このような技術は、他の種類のコンジュゲートにも適用可能である

10

20

30

40

50

【0301】

いくつかの抗体-薬物コンジュゲートでは、pは抗体上の結合部位の数によって制限され得る。例えば、抗体は、1つ又はいくつかのシステインチオール基のみを有していてもよく、あるいはただ1つ又は複数の十分に反応性のチオール基(これを介してリンカーが結合していてもよい)を有していてもよい。より高い(例、 $p > 5$)薬物負荷が、特定の抗体-薬物コンジュゲートの凝集、不溶性、毒性、又は細胞透過性の喪失を引き起こす可能性がある。

【0302】

典型的には、薬物部分の理論上の最大値より少ないものが、抱合反応の間に抗体に結合する。抗体は、例えば、薬物-リンカー中間体(D-L)又はリンカー試薬と反応しない多くのリジン残基を含み得る。最も反応性の高いリジン基のみがアミン反応性リンカー試薬と反応することができる。また、最も反応性の高いシステインチオール基のみがチオール反応性リンカー試薬と反応することがある。一般に、抗体は、もしあったとしても、薬物部分に結合することができる遊離及び反応性システインチオール基、を多くは含んでいない。化合物の抗体中のほとんどのシステインチオール残基はジスルフィド架橋として存在し、ジチオスレイトール(DTT)又はTCEPのような還元剤で部分的又は全体的還元条件下で還元されなければならない。ADCの負荷(薬物/抗体比)は、(i)薬物-リンカー中間体(D-L)又はリンカー試薬の抗体に対する過剰モルを制限すること、(ii)抱合反応の時間又は温度を制限すること(iii)システインチオール修飾のための還元条件を部分的又は限定的にすること、等のいくつかの異なる方法で制御することができる。

【0303】

ある抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、即ちシステイン架橋を有する。抗体は、DTT(ジチオスレイトール)のような還元剤による処理によって、リンカー試薬との抱合(conjugation)のために反応性にすることができる。従って、各システイン架橋は、理論的には2つの反応性チオール求核剤を形成する。追加された求核基は、リジンと2-イミノチオラン(Traut試薬)との反応を介して抗体に導入することができる。その結果、アミンがチオールに変換される。反応性チオール基は、1、2、3、4又はそれ以上のシステイン残基を操作することによって(例えば、1つ以上の非天然システインアミノ酸残基を含む変異体抗体を調製することによって)、抗体(又はその断片)に導入することができる。US7521541は、反応性システインアミノ酸の導入によって抗体を操作することを教示している。

【0304】

システインアミノ酸は、抗体の反応部位で操作され、鎖内又は分子間のジスルフィド結合を形成しない(Junutulaら、2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornanら(2009) Blood 114(13)

: 2721 - 2729 ; US 7521541 ; US 7723485 ; WO 2009/052249)。操作されたシステインチオールは、リンカー試薬、或いはマレイミド又はアルファ - ハロアミド等のチオール反応性求電子基を有する本開示の薬物 - リンカー試薬と反応して、システイン操作抗体及び PBD 薬物部分を有する ADC を形成し得る。従って、薬物部分の位置は、設計し、制御し、そして知ることができる。操作されたシステインチオール基は、典型的には、チオール反応性リンカー試薬又は薬物 - リンカー試薬と高収率で反応するので、薬物負荷を制御することができる。重鎖又は軽鎖上の単一部位での置換によるシステインアミノ酸の導入のための IgG 抗体の操作は、対称抗体上に 2 つの新しいシステインを与える。2 に近い薬物負荷は、抱合生成物 ADC のほぼ均質な状態で達成することができる。

10

【0305】

あるいは、部位特異的抱合は、Axupra ((2012) , Proc Natl Acad Sci USA , 109 (40) : 16101 - 16116) により記載されているように、重鎖及び / 又は軽鎖に非天然アミノ酸を含むように抗体を操作することによって達成することができる。非天然アミノ酸は、直交化学によりリンカー試薬及び薬物を結合するように設計できるとのさらなる利点を提供する。

【0306】

抗体の 2 つ以上の求核基又は求電子基が薬剤 - リンカー中間体又はリンカー試薬と反応し、続いて薬物部分試薬と反応する場合、得られる生成物は抗体 (例、1、2、3 等) に結合した薬物部分の分布を有する ADC 化合物の混合物である。ポリマー逆相 (PLRP) 及び疎水性相互作用 (HIC) 等の液体クロマトグラフィー法は、薬物負荷値によって混合物中の化合物を分離することができる。単一の薬物負荷値 (p) を有する ADC の調製物は単離され得るが、薬物部分がリンカーを介して抗体上の異なる部位に結合され得るため、これらの単一負荷値 ADC は依然として異種混合物であり得る。

20

【0307】

従って、本開示の抗体 - 薬物コンジュゲート組成物は、抗体が 1 つ以上の PBD 薬物部分を有し、且つ薬物部分が様々なアミノ酸残基で抗体に結合し得る抗体 - 薬物コンジュゲート化合物の混合物を含む。

【0308】

一実施形態では、抗体あたりの二量体ピロロベンゾジアゼピン基の平均数は 1 ~ 20 の範囲である。いくつかの実施形態では、範囲は 1 ~ 8、2 ~ 8、2 ~ 6、2 ~ 4 及び 4 ~ 8 から選択される。

30

【0309】

いくつかの実施形態では、抗体あたり 1 つの二量体ピロロベンゾジアゼピン基が存在する。

【0310】

他のフォームも含む

特に規定しない限り、これらの置換基の周知のイオン性、塩、溶媒和物、及び保護された形態は上記に含まれる。例えば、カルボン酸 (- COOH) への言及は、アニオン性 (カルボキシレート) 形態 (- COO⁻)、その塩又は溶媒和物、ならびに従来の保護された形態も含む。同様に、アミノ基への言及は、プロトン化された形態 (- N⁺HR¹R²)、アミノ基の塩又は溶媒和物 (例えば塩酸塩)、ならびにアミノ基の従来の保護された形態を含む。同様に、ヒドロキシル基への言及は、アニオン形態 (- O⁻)、その塩又は溶媒和物、ならびに従来の保護形態も含む。

40

【0311】

塩

活性化合物の対応する塩、例えば、薬学的に許容される塩、を調製し、精製し、及び / 又は取り扱うことが好都合又は望ましい場合がある。薬学的に許容される塩の例は、Berges, J. Pharm. Sci., 66, 1 - 19 (1977) に記載されている。

【0312】

50

例えば、化合物がアニオン性であるか、又はアニオン性であり得る官能基（例えば、 $-COOH$ が $-COO^-$ であってもよい）を有する場合、塩は適当なカチオンで形成される。適当な無機カチオンの例としては、 Na^+ 及び K^+ 等のアルカリ金属イオン、 Ca^{2+} 及び Mg^{2+} 等のアルカリ土類カチオン、及び Al^{3+} 等の他のカチオンが挙げられるが、これらに限定されない。適当な有機カチオンの例としては、アンモニウムイオン（即ち NH_4^+ ）及び置換アンモニウムイオン（例えば、 NH_3R^+ 、 $NH_2R_2^+$ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+ ）が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの好適な置換アンモニウムイオンの例としては、エチルアミン、ジエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミン及びトロメタミン、ならびにリシン、アルギニンが挙げられる。一般的な第四級アンモニウムイオンの例は、 $N(CH_3)_4^+$ である。

10

【0313】

化合物がカチオン性であるか、又はカチオン性であり得る官能基（例えば、 $-NH_2$ が $-NH_3^+$ であり得る）を有する場合、塩は適当なアニオンで形成され得る。適当な無機アニオンの例としては、以下の無機酸：塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、亜硫酸、硝酸、亜硝酸、リン酸及び亜リン酸から由来するものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0314】

適当な有機アニオンの例としては、以下の酸：2-アセトキシ安息香酸、酢酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、安息香酸、ショウノウスルホン酸、桂皮酸、クエン酸、エドト酸、エタンジスルホン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルコヘプトン酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、ヒドロキシマレイン酸、ヒドロキシナフタレンカルボン酸、イセチオン酸、乳酸、ラクトビオン酸、ラウリン酸、マレイン酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ムチン酸、オレイン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、パントテン酸、フェニル酢酸、フェニルスルホン酸、プロピオン酸、ピルビン酸、サリチル酸、ステアリン酸、コハク酸、スルファニル酸、酒石酸、トルエンスルホン酸、トリフルオロ酢酸及び吉草酸から誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない。好適な高分子有機アニオンの例としては、以下の高分子酸：タンニン酸、カルボキシメチルセルロースから誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない

20

30

【0315】

溶媒和物

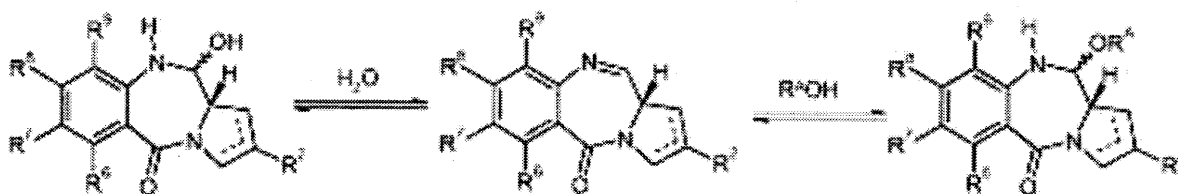
活性化合物の対応する溶媒和物を調製し、精製し、及び/又は取り扱うことが好都合又は望ましい場合がある。用語「溶媒和物」は、溶質（例えば、活性化合物、活性化合物の塩）と溶媒との複合体を指す従来の意味で本明細書において使用される。溶媒が水である場合、溶媒和物は、便宜上、水和物、例えば、単水和物、二水和物、三水和物等と称され得る。

【0316】

この開示には、溶媒が水又はアルコール（ $R^A OH$ （ R^A が C_{1-4} アルキルである））である場合の下記に示されるPBD部分のイミン結合にわたって溶媒が加えられた化合物が含まれる。

40

[化85]



10

これらの形態は、PBDのカルビノールアミン及びカルビノールアミンエーテル形態と呼ぶことができる（前のR¹⁰に関連するセクションに記載されているように）。これらの平衡のバランスは、化合物が見出される条件、及びそれ自体の部分の性質に依存する。

【0317】

これらの特定の化合物は、固体形態で、例えば、凍結乾燥によって固体形態で、単離することができる。

【0318】

異性体

本開示の特定の化合物は、1つ以上の特定の幾何学的形態、光学的形態、鏡像異性体、ジアステレオマー、エピマー、アトロピック(atropic)体、立体異性体、互変異性体、立体配座体又はアノマー体で存在することができ、シス及びトランス体；E型及びZ型；c、t及びr形態；エンドフォームとエキソフォーム；R-、S-及びメソ形；D-型及びL-型；d-型及びl-型；(+)及び(-)体；ケト、エノール及びエノラート体；syn体及びanti体；シンクリナル型及びアンチクリナル型；形及び形；アクシャル型及びエクアトリアル型；ポート-、椅子-、ツイスト-、エンベロープ-、ハーフチェアー-体；及びそれらの組み合わせ等が含まれるが、これらに限定されるものではない。またこれらは、以後集合的に「異性体」（又は「異性型」）と呼ばれる。

20

30

【0319】

用語「キラル」は、鏡像パートナーの重ね合わせることができない性質を有する分子を指し、用語「アキラル」は、それらの鏡像パートナーに重ね合わせることができない分子を指す。

【0320】

用語「立体異性体」は、同一の化学組成を有するが、空間における原子又は基の配置に関して異なる化合物を指す。

【0321】

「ジアステレオマー」は、2つ以上のキラル中心を有し、その分子が互いに鏡像ではない立体異性体を指す。ジアステレオマーは、異なる物理的性質、例えば、融点、沸点、スペクトル特性、及び反応性を有する。ジアステレオマーの混合物は、電気泳動及びクロマトグラフィー等の高分解能分析手順により分離することができる。

40

【0322】

「エナンチオマー」は、互いに重ね合わせることができない鏡像である化合物の2つの立体異性体を指す。

【0323】

本明細書で使用される立体化学的定義及び伝統的表現法は、一般に、S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 及び Elieil, E. 及び Wilen, S., "Stereochemi

50

stry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994に従う。本開示の化合物は、不斉中心又はキラル中心を含むことができ、それゆえ、異なる立体異性体の形態で存在することができる。本開示の化合物の全ての立体異性体形態は、ジアステレオマー、エナンチオマー及びアトロブ異性体、ならびにラセミ混合物等の混合物を含むがこれらに限定されないものであり、この本開示の化合物の全ての立体異性体形態は、本開示の一部を形成すると意図されている。多くの有機化合物は、光学活性形態で存在する、即ち、それらは、平面偏光の面を回転させる能力を有する。光学活性化合物を記載する際に、接頭辞D及びL、又はR及びSは、そのキラル中心についての分子の絶対配置を示すために使用される。接頭辞d及びl又は(+)及び(-)は、化合物による平面偏光の回転の符号を示すために用いられ、(-)又はlは、化合物が左旋性であることを意味する。接頭辞が(+)又はdの化合物は右旋性である。所与の化学構造について、これらの立体異性体は、互いに鏡像であることを除いて同一である。特定の立体異性体はエナンチオマーとも呼ばれ、そのような異性体の混合物はしばしばエナンチオマー混合物と呼ばれる。エナンチオマーの50:50の混合物は、ラセミ混合物又はラセミ化合物と呼ばれ、化学反応又はプロセスにおいて立体選択又は立体特異性がない場合に生じ得る。「ラセミ混合物」及び「ラセミ化合物」という用語は、光学活性のない2つのエナンチオマー種の等モル混合物を指す。

10

【0324】

本明細書中で使用されるように、用語「異性体」から特に排除される互変異性体について以下に議論される場合を除いて、構造的(又は構成的)異性体(即ち、単に空間の原子の位置ではなく原子同士の結合が異なる異性体)であることに留意。例えば、メトキシ基、 $-OCH_3$ への言及は、その構造異性体、ヒドロキシメチル基、 $-CH_2OH$ への言及として解釈されるべきではない。同様に、オルトクロロフェニルへの言及は、その構造異性体、メタクロロフェニルへの言及として解釈されるべきではない。しかしながら、構造の種類への言及は、そのクラスに含まれる構造的異性体(例えば、 C_{1-7} アルキルにはn-プロピル及びイソプロピルが含まれ;ブチルにはn-、iso-、sec-及びtert-ブチルが含まれ;メトキシフェニルにはオルト-、メタ-、及びパラ-メトキシフェニルが含まれる)も当然含み得る。

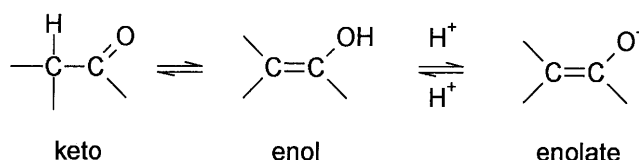
20

【0325】

上記の排除は、例えば、下記の互変異性形態ケト/エノール(以下に例示する)、イミン/エナミン、アミド/イミノアルコール、アミジン/アミジン、ニトロソ/オキシム、チオケトン/エネチオール、N-ニトロソ/ヒロキシアゾ及びニトロ/アシ-ニトロにおけるように、ケト、エノール、及びエノラート体等の互変異性体に関連する。

30

[化86]



40

【0326】

「互変異性体」又は「互変異性型」との用語は、低エネルギー障壁を介して相互変換が可能である異なるエネルギーの構造異性体を指す。例えば、プロトン互変異性体(プロトトロピー互変異性体としても知られている)は、ケトン-エノール異性化及びイミン-エナミン異性化のようなプロトンの移動による相互変換を含む。原子価互変異性体には、い

50

くつかの結合電子の再編成による相互変換が含まれる。

【0327】

用語「異性体」に含まれるものは、特に1つ以上の同位体置換を有する化合物であることに留意。例えば、Hは、 ^1H 、 ^2H (D) 及び ^3H (T) を含む任意の同位体形態であり得る；Cは、 ^{12}C 、 ^{13}C 及び ^{14}C を含む任意の同位体形態であり得る；Oは、 ^{16}O 及び ^{18}O を含む任意の同位体形態であり得る。

【0328】

本開示の化合物に組み込むことができる同位体の例としては、水素、炭素、窒素、酸素、リン、フッ素及び塩素、の同位体、例えば ^2H (重水素、D)、 ^3H (トリチウム)、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}F 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 及び ^{125}I を挙げることができるが、これらに限定されない。様々な同位体標識された本発明の化合物、例えば、 ^3H 、 ^{13}C 及び ^{14}C 等の放射性同位体が組み込まれた化合物。このような同位体標識化合物は、代謝研究、反応速度論的研究、薬剤又は基質組織分布アッセイを含む陽電子放射断層撮影 (PET) 又は単一光子放出コンピュータ断層撮影 (SPECT) 等の検出又は画像化技術、或いは患者の放射線治療に有用であり得る。本開示の重水素標識又は置換された療法化合物は、分布、代謝及び排泄 (ADME) に関連する改善された DMPK (薬物代謝及び薬物動態) 特性を有し得る。重水素のようなより重い同位体による置換は、より大きな代謝安定性、例えば増加したインビボ半減期又は減少した投与量要求に起因する一定の治療上の利点をもたらすことができる。 ^{18}F 標識化合物は、PET 又は SPECT 研究に有用であり得る。本開示の同位体標識化合物及びそのプロドラッグは、一般に、容易に入手可能な同位体標識試薬を非同位体標識試薬に代えることにより、以下のスキーム又は実施例及び調製に開示される手順を実施することによって調製することができる。さらに、より重い同位体、特に重水素 (即ち、 ^2H 又は D) での置換は、より大きな代謝安定性、例えばインビボ半減期の増加、又は必要用量の減少又は治療指数の改善に起因する特定の治療上の利点をもたらすことができる。この観点から重水素は置換基とみなされると理解される。このようなより重い同位体、特に重水素、の濃度は、同位体濃縮因子によって規定され得る。本開示の化合物において、特定の同位体として特に指定されていない任意の原子は、その原子の任意の安定同位体を表すことを意味する。

【0329】

特に規定しない限り、特定の化合物への言及は、その (全部又は部分的に) ラセミ及び他の混合物を含むこのような異性体の全てを含む。このような異性体形態の調製 (例えば、非対称合成) 及び分離 (例えば、分別結晶化及びクロマトグラフィ手段) は、当技術分野で知られているか、或いは本明細書で教示された方法又は既知の方法を公知の方法に適合させることによって容易に得られる。

【0330】

生物活性

インビトロ (in vitro) 細胞増殖アッセイ

一般に、抗体-薬物コンジュゲート (ADC) の細胞傷害活性又は細胞増殖抑制活性は、細胞培養培地中の哺乳類細胞 (受容体タンパク質を有するものと含まないものの両方を含む) を ADC の抗体に曝露すること；細胞を約6時間~約5日間培養すること；及び細胞生存率を測定すること；により測定又は確認され得る。細胞ベースのインビトロアッセイは、本開示の ADC の生存度 (増殖)、細胞傷害性、及びアポトーシスの誘発 (カスパーゼ活性化) を測定するために使用される。

【0331】

抗体-薬物コンジュゲートのインビトロ効力は、細胞増殖アッセイによって測定することができる。Cell Titer - Glo (登録商標) のルミネセンス細胞生存率アッセイは、商業的に入手可能なもの (Promega Corp., Madison, WI) であり、コイエプテラルシフェラーゼ (Coeloptera luciferase) の組換え発現に基づく均質アッセイ法 (米国特許第5583024号；第5674713

10

20

30

40

50

号及び第5700670号)である。この細胞増殖アッセイにより、代謝的に活性な細胞の指標である、存在するATPの定量に基づいて、培養中の生存細胞の数が決定される(Crouchら(1993) J. Immunol. Meth. 160: 81-88; US 6602677)。Cell Titer - Glo(登録商標)アッセイは96ウェルフォーマットで実施され、自動ハイスループットスクリーニング(HTS)に適している(Creeら(1995) Anti Cancer Drugs 6: 398-404)。同種のアッセイ法では、血清補充培地で培養した細胞に単一の試薬(Cell Titer - Glo(登録商標)試薬)を直接添加する必要がある。細胞の洗浄、培地の除去及び複数のピペティングステップは必要としない。システムは、試薬及び混合物の添加後10分で、384ウェルフォーマットでわずか15細胞/ウェルを検出する。細胞をADCで連続的に処理してもよく、或いはそれらを処理して、ADCから分離してもよい。一般に、短時間、即ち3時間、で処理された細胞は、連続的に処理された細胞と同じ効力効果を示した。

10

【0332】

均質な「追加 - ミックス - 測定(add-mix-measure)」フォーマットは、細胞溶解と、存在するATPの量に比例した発光シグナルの生成とをもたらす。ATPの量は、培養物中に存在する細胞の数に正比例する。Cell Titer - Glo(登録商標)アッセイは、ルシフェラーゼ反応によって生ずる「グロー型」発光シグナルを生成する。これは、細胞の種類や使用する培地に依存するが、一般に5時間超過の半減期を持つ。生存細胞は相対発光単位(RLU)に反映される。基質であるビートルルシフェリンは、組換えホタルルシフェラーゼによって酸化的に脱炭酸され、同時にATPからAMPへの変換及び光子の生成が起こる。

20

【0333】

抗体 - 薬物コンジュゲートのインビトロ効力は、細胞傷害性アッセイによっても測定することができる。培養した接着細胞をPBSで洗浄し、トリプシンで剥離し、10% FCSを含有する完全培地で希釈し、遠心分離し、新しい培地に再懸濁し、そして血球計数器で計数測定する。懸濁培養物は直接計数測定される。計数測定に適した単分散細胞懸濁液は、細胞塊を破壊するために繰り返し吸引することによって懸濁液を攪拌することが必要な場合がある。

30

【0334】

細胞懸濁液を所望の播種密度に希釈し、黒色96ウェルプレートに分注する(ウェルあたり100 μ l)。接着性細胞株のプレートを一晩インキュベートして接着させる。懸濁細胞培養液は、播種の日に使用することができる。

【0335】

ADC(20 μ g/ml)のストック溶液(1ml)を適当な細胞培養培地中で作製する。ストックADCの連続の10倍希釈物を、100 μ l ~ 900 μ lの細胞培養培地を連続的に移すことにより、15ml遠心チューブ中で作製する。

【0336】

各ADC希釈液(100 μ l)の4つの複製ウェルを、あらかじめ細胞懸濁液(100 μ l)をプレートした96ウェルブラックプレートに分注し、最終容量を200 μ lとする。細胞培養培地(100 μ l)を対照ウェルに入れる。

40

【0337】

細胞株の倍加時間が30時間を超える場合、ADCインキュベーションは5日間であり、そうでなければ4日間のインキュベーションが行われる

【0338】

インキュベーション期間の終わりに、細胞生存率をアラマーブルーアッセイ(Alamar blue assay)で評価する。Alamar Blue(Invitrogen)をプレート全体に分配し(ウェル当たり20 μ l)、4時間インキュベートする。アラマーブルーの蛍光は、励起570nmで測定され、発光585nmはVarioskanフラッシュプレートリーダーで測定される。パーセンテージの細胞生存率は、ADC処

50

理ウェルの平均蛍光から計算され、対照ウェルの平均蛍光と比較される。

【0339】

使用

本開示のコンジュゲートは、標的位置にPBD化合物を提供するために使用され得る。

【0340】

標的位置は、好ましくは、増殖性細胞集団である。抗体は、増殖性細胞集団上に存在する抗原（ここでは、CD25）に対する抗体である。しかしながら、本明細書で説明するように、本開示の実施では、標的位置（典型的には新生物）の細胞の少なくともいくつかにおいて、抗原は存在しないか、又は細胞表面上に有意でないレベルで存在する。例えば、標的新生物において、たった、例えば、80、70、60、50、30、20%、10%又は5%未満の細胞が陽性であり得る。

10

【0341】

標的新生物又は標的新生細胞は、固形腫瘍の全部又は一部であり得る。

【0342】

本明細書の「固形腫瘍」は、以下により詳細に考察されるリンパ腫（ホジキンリンパ腫又は非ホジキンリンパ腫）のような固体血液学的がんを含むと理解される。

【0343】

他の固形腫瘍は、CD-25陽性T細胞で浸潤した非血液がんを含む新生物であり得る。

【0344】

標的新生物又は腫瘍性細胞は悪性であり得る。

20

【0345】

標的新生物又は腫瘍細胞は、転移性であり得る。

【0346】

標的位置で、リンカーを、化合物RelA、RelB、RelC、RelD又はRelEを放出するように切断することができる。従って、コンジュゲートを用いて、化合物RelA、RelB、RelC、RelD又はRelEを標的位置に選択的に提供することができる。

【0347】

リンカーは、標的位置に存在する酵素によって切断され得る。

30

【0348】

標的位置は、インビトロ、インビボ又はエクスビボ(ex vivo)であり得る。

【0349】

本開示の抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物には、抗がん活性に有用な化合物が含まれる。特に、化合物は、PBD薬物部分、即ち毒素に、リンカーによって結合、即ち共有結合された抗体を含む。薬物が抗体に抱合(コンジュゲート)されていない場合、PBD薬物は細胞毒性効果を有する。従って、PBD薬物部分の生物学的活性は、抗体への抱合によって調節される。本開示の抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、効果的な用量の細胞傷害剤を腫瘍組織に選択的に送達し、これにより、より大きな選択性、即ち低い有効用量が達成され得る

40

【0350】

当業者は、候補のコンジュゲートが任意の特定の細胞型の増殖状態を治療できるか否かを容易に決定することができる。例えば、特定の化合物によって得られる活性を評価するために便宜に使用され得るアッセイは、以下の実施例に記載される。

【0351】

用語「増殖性疾患」は、インビトロ又はインビボのいずれで、新生物又は過形成増殖等の、望ましくない過剰又は異常な細胞の望ましくない又は制御されない細胞増殖に関連する。

【0352】

増殖状態の例としては、新生物及び腫瘍(例えば、組織球腫、神経膠腫、星状細胞腫、

50

骨腫)、がん(例えば、肺がん、小細胞肺がん、胃がん、腸がん、大腸がん、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、精巣がん、肝臓がん、腎臓がん、膀胱がん、膵臓がん、脳腫瘍、肉腫、骨肉腫、カポジ肉腫、メラノーマ)、リンパ腫、白血病、乾癬、骨疾患、線維増殖性障害(例えば、結合組織)、及びアテローム性動脈硬化症を非限定的に含む良性、前悪性及び悪性細胞増殖が挙げられるが、これらに限定されるものではない。特に重要ながんには、白血病及び卵巣がんが含まれるが、これらに限定されない。

【0353】

肺、胃腸(例えば、腸、結腸を含む)、胸(乳房)、卵巣、前立腺、肝臓(肝(hepatic))、腎臓(腎(renal))、膀胱、膵臓、脳及び皮膚等のどのようなタイプの細胞も治療され得る。

10

【0354】

特に対象となる障害としては、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、濾胞性リンパ腫(FL)、マントル細胞リンパ腫(MCL)、慢性リンパ性リンパ腫(CLL)、及び非ホジキンリンパ腫(HCL)、毛状細胞白血球変異体(HCL-v)、急性骨髄性白血病(AML)等の白血病、及びフィラデルフィア染色体陽性ALL(Ph+ALL)又はフィラデルフィア染色体-陰性ALL(Ph-ALL)等の急性リンパ芽球性白血病(ALL)、含むホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫が挙げられるが、これらに限定されない[Fielding A., Haematologica. 2010 Jan; 95(1): 8-12]。

20

【0355】

好ましい血液学的標的としては、ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫が挙げられ、後者は、末梢T細胞リンパ腫;皮膚T細胞リンパ腫;濾胞性リンパ腫(FL)、DLBCL、マントル細胞リンパ腫(MCL)及びCLLから選択される。

上記のように、他の固形腫瘍は、CD-25陽性T細胞で浸潤された非血液がんを含む新生物であり得る。

【0356】

本開示の抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、様々な疾患又は障害、例えば腫瘍抗原の過剰発現を特徴とするもの、の治療に使用できると考えられる。状態又は過剰増殖性障害の例としては、良性又は悪性の腫瘍;白血病、血液学的及びリンパ性悪性疾患が挙げられる。他には、神経細胞、グリア細胞、星状細胞、視床下部、腺細胞、マク

30

【0357】

一般に、治療される疾患又は障害は、がん等の過剰増殖性疾患である。本明細書において治療されるがんの例としては、がん腫(上皮性悪性腫瘍)、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病又はリンパ性悪性腫瘍が挙げられるが、これらに限定されない。このようながんのより具体的な例としては、扁平上皮がん(例えば上皮扁平上皮がん)、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺腺がん及び肺扁平上皮がんを含む肺がん、腹膜がん、肝細胞がん、消化管がんを含む胃がん(gastric or stomach cancer)、膵臓がん、グリア芽腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、肝がん、乳がん、結腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん又は子宮がん、液腺がん、腎臓がん又は腎がん、前立腺がん、外陰がん、甲状腺がん、肝がん(hepatic carcinoma)、肛門がん、陰茎がん及び頭頸部がんが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0358】

ADC化合物が治療に使用され得る自己免疫疾患としては、リウマチ性疾患(例えば、慢性関節リウマチ、シェーグレン症候群、強皮症、SLE及びループス腎炎などのループス、多発性筋炎/皮膚筋炎、クリオグロブリン血症、抗リン脂質抗体症候群、及び乾癬性関節炎)、変形性関節症、自己免疫性胃腸障害及び肝臓障害(例えば、炎症性腸疾患(例えば、潰瘍性大腸炎及びクローン病)、自己免疫性胃炎及び悪性貧血、自己免疫性肝炎、

50

原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、及びセリアック病)、脈管炎(例えば、Churg-Straus 脈管炎、ウェゲナー肉芽腫症、及び多発動脈炎を含む ANCA 関連血管炎等)、自己免疫性神経障害(例えば、多発性硬化症、オプソクロナスミオクローヌス症候群、重症筋無力症、視神経脊髄炎、パーキンソン病、アルツハイマー病、及び自己免疫性多発性神経障害等)、腎障害(例えば、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、及びバーガー病等)、自己免疫皮膚科疾患(例えば、乾癬、蕁麻疹、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡及び皮膚エリテマトーデス等)、血液疾患(例えば、血小板減少性紫斑病、血栓性血小板減少性紫斑病、輸血後性紫斑病、及び自己免疫性溶血性貧血)、アテローム性動脈硬化症、ブドウ膜炎、自己免疫性聴覚疾患(例えば、内耳疾患及び難聴等)、ベーチェット病、レイノー症候群、臓器移植、移植片対宿主病(GVHD)、及び自己免疫内分泌疾患(例えば、インスリン依存性糖尿病(IDDM)、アジソン病、及び自己免疫性甲状腺疾患(例えば、グレーブス病及び甲状腺炎)等の糖尿病関連自己免疫疾患)が挙げられる。より好ましいこのような疾患としては、例えば、関節リウマチ、潰瘍性大腸炎、ANCA 関連血管炎、狼瘡、多発性硬化症、シェーグレン症候群、グレーブス病、IDDM、悪性貧血、甲状腺炎、及び糸球体腎炎が挙げられる。

10

【0359】

治療の方法

本開示のコンジュゲートは、治療の方法において使用され得る。また、治療有効量の本開示のコンジュゲート化合物を、治療を必要とする被験体に投与することを含む治療方法が提供される。用語「治療有効量」は、患者に利益を示すのに十分な量である。このような利益は、少なくとも1つの症状の少なくとも改善であり得る。投与される実際の量、並びに投与の速度及び時間的経過は、治療されるものの性質及び重症度に依存して変わる。治療の処方、例えば、投薬量の決定は、一般開業医及び他の医師の責任の範囲内である。

20

【0360】

本開示の化合物は、単独で、又は他の治療と組み合わせ、治療される状態に応じて同時又は逐次的に投与され得る。治療及び療法の例には、化学療法(例えば、化学療法薬等の薬物を含む活性薬剤の投与);手術;及び放射線療法が挙げられるが、これらに限定されない。

【0361】

「化学療法剤」は、作用機構にかかわらず、がんの治療に有用な化学化合物である。化学療法剤の種類としては、アルキル化剤、代謝拮抗剤、紡錘毒素植物アルカロイド、細胞傷害性/抗腫瘍性抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、抗体、光増感剤、及びキナーゼ阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。化学療法剤には、「標的療法」及び従来の化学療法で使用される化合物が含まれる。

30

【0362】

化学療法剤の例としては、エルロチニブ(TARCEVA(登録商標)、Genentech/OSI Pharm.)、ドセタキセル(TAXOTERE(登録商標)、Sanofi-Aventis)、5-FU(フルオロウラシル、5-フルオロウラシル、CAS No. 51-21-8)、ゲムシタピン(GEMZAR(登録商標)、Lilly)、PD-0325901(CAS No. 391210-10-9、Pfizer)、シスプラチン(cis-ジアミン、ジクロロ白金(II)、CAS No. 15663-27-1)、カルボプラチン(CAS No. 41575-94-4)、パクリタキセル(TAXOL(登録商標)、Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ)、トラスツズマブ(HERCEPTIN(登録商標)、Genentech)、テモゾロミド(4-メチル-5-オキソ-2,3,4,6,8-ペンタザピシクロ[4.3.0]ノナ-2,7,9-トリエン-9-カルボキサミド、CAS No. 85622-93-1、TEMODAR(登録商標)、TEMODAL(登録商標)、Schering Plough)、タモキシフェン((Z)-2-[4-(1,2-ジフェニルブタ-1-エニル)フェノキシ]-N,N-ジメチルエタナミン、NOLVADEX(登録商標)、ISTUBAL(登録商標)、VALODEX(登録

40

50

商標))、及びドキシソルピシン(ADRIAMYCIN(登録商標))、Akti-1/2、HPPD、及びラパマイシンが挙げられる。

化学療法剤のさらなる例としては、オキサリプラチン(ELOXATIN(登録商標)、Sanofi)、ボルテゾミブ(VELCADE(登録商標)、Millennium Pharm.)、スーテント(SUNITINIB(登録商標)、SU11248、Pfizer)、レトロゾール(FEMARA(登録商標)、Novartis)、メシル酸イマチニブ(GLEEVEC(登録商標)、Novartis)、XL-518(Mek阻害剤、Exelixis、WO2007/044515)、ARRY-886(Mek阻害剤、AZD6244、Array BioPharma、AstraZeneca)、SF-1126(PI3Kインヒビター、Semafore Pharmaceuticals)、BEK-235(PI3K阻害剤、ノバルティス)、XL-147(PI3K阻害剤、Exelixis)、PTK787/ZK222584(ノバルティス)、フルベストラント(FASLODEX(登録商標)、AstraZeneca)、ロイコボリン(フォリン酸)、ラパマイシン(シロリムス、RAPAMUNE(登録商標)、Wyeth)、ラパチニブ(TYKERB(登録商標)、GSK572016、Glaxo Smith Kline)、ロナファルニブ(SARASAR(商標)、SCH 66336、Schering Plough)、ソラフェニブ(NEXAVAR(登録商標)、BAY43-9006、Bayer Labs)、ゲフィチニブ(IRESSA(登録商標)、AstraZeneca)、イリノテカン(CAMPTOSAR(登録商標)、CPT-11、Pfizer)、チピファルニブ(ZARNESTRA(商標)、Johnson & Johnson)、ABRAXANE(商標)(Cremophor-free)、パクリタキセルのアルブミン加工ナノ粒子製剤(American Pharmaceutical Partners, Schauberg, II)、バンダニブ(rINN、ZD6474、ZACTIMA(登録商標)、AstraZeneca)、クロラムブシル、AG1478、AG1571(SU5271; Sugen)、テムシロリムス(TORISEL(登録商標)、Wyeth)、バゾバニブ(GlaxoSmithKline)、カンフォスファミド(TELCYTA(登録商標)、Telik)、チオテパ及びシクロホスファミド(CYTOXAN(登録商標)、NEOSAR(登録商標)); プスルファン、インプロスルファン及びピボスルファン等のアルキルスルホネート; ベンゾドパ、カルバクン、メトウレドパ、及びウレドパ等のアジリジン; アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホラミド及びトリメチロールメラミンを含むエチレンイミン及びメチラメラミン(methylamine); アセトゲニン(特にプラタシン及びプラタシノン); カンプトテシン(合成類似体トポテカンを含む); プリオスタチン; カリースタチン; CC-1065(そのアドゼレシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成類似体を含む); クリプトフィシン(特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8); ドラスタチン; デュオカルマイシン(合成類似体、KW-2189及びCB1-TM1を含む); エリユテロピン; パンクラティスタチン; サルコディクチン(sarcodictyin); スポンジスタチン; クロラムブシル、クロルナファジン、クロロフォスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベムピシン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタードのような窒素マスタード; カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン及びラニムスチン等のニトロソウレア; エンジン抗生物質(例えば、カリケアマイシン、カリケアマイシンガンマ11、カリケアマイシンオメガ11(Angew Chem. Int. Ed. Engl. (1994) 33: 183-186)等の抗生物質; ダイネミシン、ダイネミシンA; クロドロネート等のビスホスホネート; エスペラミシン; 並びにネオカルジノスタチン発色団及び関連色素タンパク質エンジン抗生物質発色団)、アクロシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクシノマイシン、カラピシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモシニス、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6-ジアゾ-5-

10

20

30

40

50

オキソ - L - ノルロイシン、モルホリノ - ドキソルピシン、シアノモルホリノ - ドキソルピシン、2 - ピロリノ - ドキソルピシン及びデオキシドキソルピシン)、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、ネモルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメックス、ジノスタチン、ゾルピシン等のマイトマイシン;メトトレキサート及び5 - フルオロウラシル(5 - FU)等の抗代謝物;デノプテリン、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等の葉酸類似体;フルダラビン、6 - メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン等のプリン類似体;アンシタピン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン等のピリミジン類似体;カロテストロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピステスタン、テストラクトン等のアンドロゲン;アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン等の抗副腎;フミン酸等の葉酸補充剤;アセグラトン;アルドホスファミドグリコシド;アミノレブリン酸;エニルウラシル;アムサクリン;ベストラブシル;ピサントレン;エダトラキサート;デフォファミン(defofamine);デメコルシン;ジアジクオン;エフォロニチン(elfornithine);酢酸エリブチニウム;エボチロン;エトグルシド;硝酸ガリウム;ヒドロキシ尿素;レンチナン;ロニダイニン;メイタンシン及びアンサマイトシン等のメイタンシノイド;ミトグアゾン;ミトキサントロン;モビダンモール;ニトラエリン;ペントスタチン;フェナメット;ピアルピシン;ロゾキサントロン;ポドフィリン酸;2 - エチルヒドラジド;プロカルバジン;PSK(登録商標)ポリサッカライド複合体(JHS Natural Products, Eugene, OR);レゾキサン;リゾキシン;シゾフィラン;スピロゲルマニウム;テヌアゾン酸;トリアジクオン;2, 2', 2'' - トリクロロトリエチルアミン;トリコテセン(特にT - 2トキシン、ベラクリンA、ロリジンA及びアングジン);ウレタン;ピンデシン;ダカルバジン;マンノムスチン;ミトプロニトール;ミトラクトール;ピボプロマン;ガシトシン;アラピノシド('Ara - C');シクロホスファミド;チオテバ;6 - チオグアニン;メルカプトプリン;メトトレキサート;シスプラチン及びカルボプラチン等の白金類似体;ピンブラスチン;エトポシド(VP - 16);イホスファミド;ミトキサントロン;ピンクリスチン;ピノレルピン(NAVELBINE(登録商標));ノヴァントロン;テニポシド;エダトレキサート;ダウノマイシン;アミノプテリン;カペシタピン(XELODA(登録商標)、Roche);イバンドロン酸塩;CPT - 11;トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000;ジフルオロメチルオルニチン(DMFO);レチノイン酸等のレチノイド;及び上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸及び誘導体、が挙げられる。

10

20

30

【0363】

また、「化学療法剤」の定義には、以下のものが含まれる。:

(i) 抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体モジュレーター(SERM)等の腫瘍に対してホルモン作用を調節又は阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えば、タモキシフェン(NOLVADEX(登録商標);クエン酸タモキシフェンを含む)、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、4 - ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、及びFARESTON(登録商標)(クエン酸トレミフィン);

40

(ii) 副腎におけるエストロゲン産生を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば、4(5) - イミダゾール、アミノグルテチミド、MEGASE(登録商標)(酢酸メゲストロール)、AROMASIN(登録商標)(エキセメスタン;Pfizer)、ホルメスタニエ(formestane)、ファドロゾール、RIVISOR(登録商標)(ボロゾール)、FEMARA(登録商標)(レトロゾール;Novartis)、ARIMIDEX(登録商標)(アナストロゾール;AstraZeneca);

50

(i i i) 抗アンドロゲン、例えば、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン；並びにトロキサシタピン（ 1 , 3 - ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）；

(i v) M E K 阻害剤等のプロテインキナーゼ阻害剤（ W O 2 0 0 7 / 0 4 4 5 1 5 ）

；

(v) 脂質キナーゼ阻害剤；

(v i) アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に異常細胞増殖に関するシグナル伝達経路における遺伝子発現を阻害するもの、例えば、オブリメルセン（ G E N A S E N S E （登録商標）； G e n t a I n c . ）等の P K C - アルファ、 R a f 及び H - R a s ；

(v i i) V E G F 発現インヒビター（例えば、 A N G I O Z Y M E （登録商標））及び H E R 2 発現インヒビター等のリボザイム；

(v i i i) A L L O V E C T I N （登録商標）、 L E U V E C T I N （登録商標）及び V A X I D （登録商標）等の遺伝子治療ワクチンのようなワクチン； P R O L E U K I N （登録商標） r 1 L - 2 ； L U R T O T E C A N （登録商標）等のトポイソメラーゼ 1 阻害剤； A B A R E L I X （登録商標） r m R H ；

(i x) 抗血管新生剤、例えば、ベバシズマブ（ A V A S T I N （登録商標）、 G e n e n t e c h ）；及び上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸及び誘導体。

また、「化学療法剤」の定義には、治療用抗体、例えばアレムツズマブ（ C a m p a t h ） 、 ベバシズマブ（ A V A S T I N （登録商標）、 G e n e n t e c h ）；セツキシマブ（ E R B I T U X （登録商標）、 I m c l o n e ）；パニツムマブ（ V E C T I B I X （登録商標）、 A m g e n ） 、 リツキシマブ（ R I T U X A N （登録商標）、 G e n e n t e c h / B i o g e n I d e e ） 、 オファツムマブ（ A R Z E R R A （登録商標）、 G S K ） 、 ペルツツマブ（ P E R J E T A （商標）、 O M N I T A R G （商標）、 2 C 4 、 G e n e n t e c h ） 、 トラスツズマブ（ H E R C E P T I N （登録商標）、 G e n e n t e c h ） 、 トシツモマブ（ B e x x a r 、 C o r i x i a ） 、 及び抗体薬物コンジュゲート、ゲムツズマブ・オゾガミシン（ M Y L O T A R G （登録商標）、 W y e t h ） も含まれる。

【 0 3 6 4 】

本開示のコンジュゲートと組み合わせた化学療法剤として治療可能性を有するヒト化（ h u m a n i z e d ）モノクローナル抗体としては：

アレムツズマブ、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バビヌズマブ、ベバシズマブ、ピバツツマブ・メルタンシン、カンツツマブ・メルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブ・ペゴル、シドフィシツズマブ（ c i d f u s i t u z u m a b ） 、 シドツズマブ、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エブラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブ・オゾガマイシン、イノツズマブ・オゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、バリビズマブ、バスコリツマブ、ペクフシツズマブ（ p e c f u s i t u z u m a b ） 、 ペクズマブ、ペルツズマブ、ペキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ、レスリズマブ、レシビズマブ、ロベリズマブ、ルピリズマブ、シプロツズマブ、シプリズマブ、ソソツズマブ、タカツズマブ・テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラスツズマブ、トラスツズマブ、トコツズマブ・セルモレーキン、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ、及びビスリズマブが挙げられる。

【 0 3 6 5 】

本開示に従う、並びに本開示の使用のための医薬組成物は、活性成分、即ちコンジュゲート（ c o n j u g a t e ）化合物に加えて、薬学的に許容される賦形剤（添加剤）、担体、緩衝剤、安定剤、又は当業者に周知の他の材料を含むことができる。このような材料は無毒でなければならず、活性成分の有効性を妨げてはならない。担体又は他の物質の正確な性質は、経口、又は注射（例、皮膚、皮下、又は静脈内）でもよい投与経路に依存す

10

20

30

40

50

る。

【0366】

経口投与のための医薬組成物は、錠剤、カプセル、粉末又は液体の形態であり得る。錠剤は、固体担体又はアジュバントを含むことができる。液体医薬組成物は、一般に、水、石油、動植物油、鉱物油又は合成油等の液体担体を含む。生理食塩水、デキストロース又は他の糖溶液或いはエチレングリコール、プロピレングリコール又はポリエチレングリコール等のグリコールを含むことができる。カプセルは、ゼラチン等の固体担体を含むことができる

【0367】

静脈内、皮膚又は皮下注射、又は苦痛の部位での注射のためには、有効成分は、発熱物質を含まず、適当な pH、等張性及び安定性を有する非経口で許容される水溶液の形態である。当業者は、例えば、塩化ナトリウム注射液、リンガー注射液、乳酸リンガー注射液等の等張性ビヒクルを用いて、適当な溶液を調製することができる。必要に応じて、防腐剤、安定剤、緩衝剤、抗酸化剤及び/又は他の添加剤を含有することができる

10

【0368】

製剤 (Formulations)

コンジュゲート化合物を単独で使用 (例えば投与) することは可能であるが、それを組成物又は製剤として提供することが屢々好ましい。

【0369】

一実施形態では、組成物は、本明細書に記載のコンジュゲート化合物及び薬学的に許容される担体、希釈剤又は賦形剤を含む医薬組成物 (例えば、製剤、調製物、医薬品) である

20

【0370】

一実施形態では、組成物は、本明細書に記載の少なくとも1つのコンジュゲート化合物を、当業者に周知の1つ以上の薬学的に許容される成分、例えば、これらに限定されないが、担体、希釈剤、賦形剤、アジュバント、充填剤、緩衝剤、防腐剤、抗酸化剤、滑剤、安定剤、可溶化剤、界面活性剤 (例えば、湿潤剤)、マスキング剤、着色剤、着香剤、及び甘味剤と共に含む医薬組成物である。

【0371】

一実施形態では、組成物は、他の活性剤、例えば、他の治療剤又は予防剤をさらに含む。

30

【0372】

適当な担体、希釈剤、賦形剤等は、標準的な医薬品テキストに見出すことができる。例えば、Handbook of Pharmaceutical Additives (医薬品添加物ハンドブック), 第2版 (M. Ash及びI. Ash編), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA)、Remington's Pharmaceutical Sciences (レミントンの医薬品科学), 第20版、pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; 及び Handbook of Pharmaceutical Excipients (医薬賦形剤のハンドブック) 第2版、1994、を参照。

40

【0373】

本明細書で使用される「薬学的に許容される」という用語は、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題又は合併症無しに、問題の被験体の組織 (例えば、ヒト) と接触して使用するのに適した、適切な医学的判断の範囲内にあり、また妥当な利益/リスク比に見合った、化合物、成分、材料、組成物、剤形 (投薬形態) 等に関連する。各担体、希釈剤、賦形剤等もまた、製剤の他の成分と適合性があるという意味で「許容される」ものでなければならない。

【0374】

製剤は、薬学の分野で周知の任意の方法によって調製することができる。このような方

50

法には、活性化合物を、1つ以上の補助成分を構成する担体と会合させる工程が含まれる。一般に、製剤は、活性化合物を担体（例えば液体担体、微粉碎固体担体等）と均一かつ密接に会合させ、次いで必要に応じて製品を成形することにより調製される

【0375】

製剤は、迅速又は遅い放出；即効性、遅延性、時限性又は持続性の放出；又はそれらの組み合わせの放出、をもたらしように調製することができる、

【0376】

非経口投与（例えば、注射による）に適した製剤としては、有効成分が溶解、懸濁、又は他の方法（例、リポソーム又は他の微粒子中）で提供される、水性又は非水性の、等張性、発熱物質不含の、滅菌液体（例えば、溶液、懸濁液）が挙げられる。このような液体は、追加的に、他の薬学的受容可能な成分、例えば、抗酸化剤、緩衝剤、防腐剤、安定剤、静菌剤、懸濁化剤、増粘剤、及び、製剤を意図された受容者の血液（又は他の関連する体液）と等張にする溶質を含むことができる。賦形剤の例としては、水、アルコール、ポリオール、グリセロール、植物油、及び類似物が挙げられる。このような製剤に使用するのに適した等張性担体の例としては、塩化ナトリウム注射液、リンゲル液、又は乳酸加リンゲル液が挙げられる。典型的には、液体中の活性成分の濃度は、約1 ng/ml ~ 約10 µg/ml、例えば約10 ng/ml ~ 約1 µg/mlである。製剤は、単用量又は複数用量の密封容器、例えばアンプル及びバイアルで提供されてもよく、使用直前に、滅菌液体担体（例、注射用の水）の添加のみを必要とする凍結乾燥（lyophilized）状態で保存されてもよい。即座の注射溶液及び懸濁液は、滅菌粉末、顆粒及び錠剤から調製することができる。

10

20

【0377】

用量（Dosage, 投薬量）

コンジュゲート化合物及びコンジュゲート化合物を含む組成物の適切な投与量は、患者によって異なることが当業者には理解されるであろう。最適用量を決定することは、一般に、危険性又は有害な副作用に対する治療効果のレベルのバランスを取ることに関連する。選択された用量レベルは、特定の化合物の活性、投与経路、投与時間、化合物の排泄速度、治療期間、組み合わせで使用される他の薬剤、化合物及び/又は材料、疾患の重症度、並びに患者の人種、性別、年齢、体重、状態、全般的健康状態、及び過去の病歴（これらに限定されない）等の様々な因子に依存して相違する。化合物の量及び投与経路は、最終的には、医師、獣医、又は臨床医の裁量に委ねられるが、一般的には、実質的に悪い又は有害な副作用無しに、所望の効果を達成するべき作用部位で局所濃度が達成されるように選択される。

30

【0378】

投与は(administration)、治療の過程を通して、連続的又は断続的に（例えば、適切な間隔で分割された用量で）1回分の投与を行うことができる。最も効果的な投与手段及び投与量を決定する方法は、当業者に周知であるが、治療のために使用される製剤、治療の目的、治療される標的細胞、及び治療される被験体により変化する。治療する医師、獣医、又は臨床医によって選択される用量レベル及びパターンで、単回又は複数回の投与を行うことができる

40

【0379】

一般に、活性化合物の適当な用量は、1日当たり被験体の体重1キログラム当たり約100 ng ~ 約25 mg（より典型的には約1 µg ~ 約10 mg）の範囲である。活性化合物が塩、エステル、アミド、プロドラッグ又は類似物である場合、投与される量は親化合物に基づいて計算されるので、使用される実際の重量はそれに比例して増加する。

【0380】

一実施形態では、活性化合物は、以下の投与計画に従ってヒト患者に投与される：約100 mg、1日3回。

一実施形態では、活性化合物は、以下の投与計画に従ってヒト患者に投与される：約150 mg、1日2回。

50

一実施形態では、活性化合物は、以下の投与計画に従ってヒト患者に投与される：約 200 mg、1日2回。

【0381】

しかしながら、一実施形態では、コンジュゲート化合物は、以下の投与計画に従ってヒト患者に投与される：毎日約 50 又は約 75 mg、1日に3又は4回。

【0382】

一実施形態では、コンジュゲート化合物は、以下の投与計画に従ってヒト患者に投与される：毎日約 100 又は約 125 mg、1日に2回。

【0383】

上記の用量は、コンジュゲート（PBD部分及び抗体に対するリンカーを含む）又は提供されるPBD化合物の有効量、例えば、リンカーの切断後に放出可能な化合物の量、に適用され得る。

10

【0384】

疾患の予防又は治療のために、本開示のADCの適当な投与量は、上記で定義された治療すべき疾患の種類、疾患の重篤度及び経過、分子が予防目的又は治療目的のいずれに投与されるかどうか、以前の治療、患者の臨床歴及び抗体に対する応答、並びに主治医の裁量に依存して変わる。分子は、一度に、又は一連の治療にわたって患者に適切に投与される。疾患のタイプ及び重症度に応じて、約 1 µg / kg ~ 15 mg / kg（例えば、0.1 ~ 20 mg / kg）の分子が、患者に投与するための最初の候補用量であり、例えば、1回以上の別々の投与、又は連続注入によって投与される。典型的な1日投与量は、上記の因子に応じて、約 1 µg / kg ~ 100 mg / kg 又はそれ以上であり得る。患者に投与されるADCの用量の例は、患者体重 1 kg あたり約 0.1 ~ 約 10 mg の範囲である。状態に応じて、数日間又はそれ以上の反復投与は、病状の所望の抑制が生じるまで、治療は持続される。投薬計画の例としては、約 4 mg / kg の初期負荷用量を投与し、その後毎週、2週間又は3週間のADCの追加用量を投与するコースが挙げられる。他の投薬計画も有用であり得る。この療法の進行は、従来の技術及びアッセイによって容易にモニターされる。

20

【0385】

治療

用語「治療」は、本明細書において疾患を処置する文脈で使用される場合、一般的には、ヒト又は動物（例えば、獣医学的用途）にかかわらず、処置及び治療に関連し、何らかの所望の治療効果、例えば、疾患の進行の抑制、が達成され、進行の速度の低下、進行の速度の停止、疾患の軽減、疾患の改善、及び疾患の治療を含むものである。予防措置（すなわち、予防、防止）としての治療も含まれる。

30

【0386】

本明細書で使用される用語「治療有効量」は、所望の治療計画に従って投与した場合に、合理的な利益/リスク比に見合った、いくつかの所望の治療効果をもたらすのに有効である活性化合物、又は活性化合物を含む材料、組成物又は調剤の量に関する。

【0387】

同様に、本明細書で使用される用語「予防的に有効な量」は、所望の治療計画に従って投与した場合に、活性化合物、又は活性化合物を含む物質、組成物又は調剤の量であって、合理的な利益/リスク比で所望の予防効果を生じるのに有効である量に関する。

40

【0388】

被験体(subject) / 患者

被験体 / 患者は、動物、哺乳動物、胎盤哺乳類、有袋類（例えば、カンガルー、ウンバート）、単孔類（例えば、カモ類）、げっ歯類（例えば、モルモット、ハムスター、ラット、マウス）、ネズミ（例えば、マウス）、ウサギ（例、兎）、トリ（例えば鳥）、イヌ（例えば犬）、ネコ（例えば猫）、ウマ（例えば、馬）、ウシ（例えば、牛）、霊長類、サル（例えば、猿又は類人猿）、猿（例えば、マーモセット、ヒヒ）、類人猿（例えば、ゴリラ、チンパンジー、オランウータン、テナガザル）、又はヒトであり得る。

50

【0389】

さらに、被験体 / 患者は、その任意の形態の発達、例えば、胎児であり得る。1つの好ましい実施形態では、被験体 / 患者はヒトである。

【0390】

さらなる選択 (Further Preferences)

以下の選択 (preference) は、上記のような開示のすべての態様に適用されるか、又は単一の態様に関連し得る。選択は、任意の組み合わせで一緒に組み合わせることができる。

【0391】

いくつかの実施形態では、 R^6 、 R^7 、 R^9 及び Y は、好ましくは、それぞれ R^6 、 R^7 、 R^9 及び Y と同じである。

10

【0392】

ダイマーリンク

Y 及び Y' は好ましくは酸素である。

【0393】

R'' は好ましくは置換基を有さない C_{3-7} アルキレン基である。より好ましくは、 R'' は、 C_3 、 C_5 又は C_7 アルキレンである。最も好ましくは、 R'' は C_3 又は C_5 アルキレンである。

【0394】

$R^6 \sim R^9$

20

R^9 は好ましくは H である。

R^6 は、好ましくは H、OH、OR、SH、 NH_2 、ニトロ及びハロから選択され、より好ましくは H 又はハロであり、最も好ましくは H である。

【0395】

R^7 は、好ましくは H、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、 NRR' 及びハロから選択され、より好ましくは水素、OH 及び OR から独立して選択され、この R は好ましくは任意に置換された C_{1-7} アルキル、 C_{3-10} ヘテロシクリル及び C_{5-10} アリール基から選択される。R は置換されていてもいなくてもよい C_{1-4} アルキル基であることがより好ましい。対象の置換基は、 C_{5-6} アリール基 (例えば、フェニル) である。7 位の特に好ましい置換基は、OMe 及び OCH_2Ph である。特に重要な他の置換基は、ジメチルアミノ (即ち、 $-NMe_2$) ; $-(OC_2H_4)_qOMe$ (但し、q は 0 ~ 2 である) ; モルホリノ、ピペリジニル及び N-メチル-ピペラジニルを含む窒素含有 C_6 ヘテロシクリルである。

30

これらの選択はそれぞれ R^9 、 R^6 及び R^7 に適用される

【0396】

R^{12}

C_2' と C_3' との間に二重結合が存在する場合、

R^{12} は、

(a) ハロ、ニトロ、シアノ、エーテル、カルボキシ、エステル、 C_{1-7} アルキル、 C_{3-7} ヘテロシクリル及びビス-オキシ- C_{1-3} アルキレンからなる群から選択される 1 個以上の置換基で任意に置換されていてもよい C_{5-10} アリール基 ;

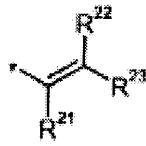
40

(b) C_{1-5} 飽和脂肪族アルキル ;

(c) C_{3-6} 飽和シクロアルキル ;

(d)

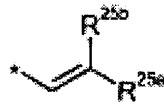
[化 87]



(上式において、 R^{21} 、 R^{22} 、及び R^{23} のそれぞれは、独立して、水素、 C_{1-3} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニル、 C_{2-3} アルキニル及びシクロプロピルから選択され、 R^{12} 基の炭素原子の総数は5以下である)；

(e)

[化88]



(上式において、 R^{25a} 及び R^{25b} の一方は水素であり、他方は、ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される)；そして

(f)

[化89]



(上式において、 R^{24} は、水素； C_{1-3} 飽和アルキル； C_{2-3} アルケニル； C_{2-3} アルキニル；シクロプロピル；ハロ、メチル、メトキシから選択される基で任意に置換されていてもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される)からなる群より選択される。

【0397】

R^{12} が C_{5-10} アリール基である場合、 C_{5-7} アリール基であり得る。 C_{5-7} アリール基は、フェニル基又は C_{5-7} ヘテロアリール基、例えばフラニル、チオフェニル及びピリジルであり得る。いくつかの実施形態では、 R^{12} は、好ましくはフェニルである。他の実施形態において、 R^{12} は、好ましくはチオフェニル、例えば、チオフェン-2-イル及びチオフェン-3-イルである。

10

20

30

40

50

【0398】

R^{1 2}がC₅₋₁₀アリール基である場合、それはC₈₋₁₀アリール、例えばキノリニル又はイソキノリニル基であり得る。キノリニル基又はイソキノリニル基は、任意の利用可能な環位置を介してPBDコアに結合することができる。例えば、キノリニルは、キノリン-2-イル、キノリン-3-イル、キノリン-4-イル、キノリン-5-イル、キノリン-6-イル、キノリン-7-イル及びキノリン-8-イルであり得る。これらのキノリン-3-イル及びキノリン-6-イルが好ましい場合がある。イソキノリンは、イソキノリン-1-イル、イソキノリン-3-イル、イソキノリン-4-イル、イソキノリン-5-イル、イソキノリン-6-イル、イソキノリン-7-イル及びイソキノリン-8-イルであり得る。これらのイソキノリン-3-イル及びイソキノリン-6-イルが好ましい場合がある。

10

【0399】

R^{1 2}がC₅₋₁₀アリール基である場合、それは任意の数の置換基を有することができる。それは好ましくは1~3個の置換基を有し、1及び2個がより好ましく、1個の置換基が最も好ましい。置換基はいずれの位置でもよい。

【0400】

R^{1 2}がC₅₋₁₀アリール基である場合、単一の置換基は、好ましくは、化合物の残部との結合に隣接しない環原子上にあり、即ち、化合物の残りの部分との結合に対して又はであることが好ましい。従って、C₅₋₇アリール基がフェニルである場合、置換基は、好ましくはメタ位又はパラ位にあり、より好ましくはパラ位にある

20

【0401】

R^{1 2}がC₈₋₁₀アリール基、例えばキノリニル又はイソキノリニルである場合、それはキノリン又はイソキノリン環の任意の位置に任意の数の置換基を有することができる。いくつかの実施形態では、それは1つ、2つ又は3つの置換基を有し、これらは、近位及び遠位の環のいずれかに存在してもよく、又は両方(1つより多い置換基)であってもよい。

【0402】

R^{1 2}がC₅₋₁₀アリール基である場合のR^{1 2}上の置換基がハロである場合、好ましくはF又はCl、より好ましくはClである。

【0403】

R^{1 2}がC₅₋₁₀アリール基である場合のR^{1 2}上の置換基がエーテルである場合、それはいくつかの実施形態ではアルコキシ基、例えばC₁₋₇アルコキシ基(例えばメトキシ、エトキシ)であってもよく、或いは、ある実施形態ではC₅₋₇アリールオキシ基(例えば、フェノキシ、ピリジルオキシ、フラニルオキシ)である。アルコキシ基は、それ自体、例えばアミノ基(例、ジメチルアミノ)によってさらに置換されていてもよい。

30

【0404】

R^{1 2}がC₅₋₁₀アリール基である場合のR^{1 2}上の置換基がC₁₋₇アルキルであるならば、C₁₋₄アルキル基(例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル)であることが好ましい。

【0405】

R^{1 2}がC₅₋₁₀アリール基である場合のR^{1 2}上の置換基がC₃₋₇ヘテロシクリルである場合、それはいくつかの実施形態では、C₆窒素含有ヘテロシクリル基(例えば、モルホリノ、チオモルホリノ、ペペリジニル、ペペラジニル)であってもよい。これらの基は、窒素原子を介してPBD部分の残りに結合していてもよい。これらの基は、例えば、C₁₋₄アルキル基によってさらに置換されていてもよい。C₆窒素含有ヘテロシクリル基がペペラジニルである場合、前記さらなる置換基は第2の窒素環原子上に存在してもよい。

40

【0406】

R^{1 2}がC₅₋₁₀アリール基である場合のR^{1 2}上の置換基がビス-オキシ-C₁₋₃アルキレンである場合、これは好ましくはビス-オキシ-メチレン又はビス-オキシ-

50

エチレンである。

【0407】

$R^{1,2}$ が C_{5-10} アリール基である場合の $R^{1,2}$ 上の置換基がエステルである場合、これは好ましくはメチルエステル又はエチルエステルである。

【0408】

$R^{1,2}$ が C_{5-10} アリール基である場合の特に好ましい置換基としては、メトキシ、エトキシ、フルオロ、クロロ、シアノ、ビス-オキシ-メチレン、メチル-ピペラジニル、モルホリノ及びメチル-チオフェニルが挙げられる。 $R^{1,2}$ の他の特に好ましい置換基は、ジメチルアミノプロピルオキシ及びカルボキシである。

【0409】

$R^{1,2}$ が C_{5-10} アリール基である場合、特に好ましい置換された $R^{1,2}$ としては、4-メトキシ-フェニル、3-メトキシフェニル、4-エトキシ-フェニル、3-エトキシ-フェニル、4-フルオロ-フェニル、4-クロロフェニル、3,4-ビスオキシメチレン-フェニル、4-メチルチオフェニル、4-シアノフェニル、4-フェノキシフェニル、キノリン-3-イル及びキノリン-6-イル、イソキノリン-3-イル及びイソキノリン-6-イル、2-チエニル、2-フラニル、メトキシナフチル及びナフチルが挙げられるが、これらに限定されるものではない。他の可能性のある置換された $R^{1,2}$ 基は4-ニトロフェニルである。特に重要な $R^{1,2}$ 基としては、4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル及び3,4-ビスオキシメチレン-フェニルが挙げられる。

【0410】

$R^{1,2}$ が C_{1-5} 飽和脂肪族アルキルである場合、それはメチル、エチル、プロピル、ブチル又はペンチルであり得る。いくつかの実施形態では、それはメチル、エチル又はプロピル (n -ペンチル又はイソプロピル) であってもよい。これらの実施形態のいくつかにおいて、それはメチルであってもよい。他の実施形態では、直鎖又は分枝鎖であり得るブチル又はペンチルであり得る。

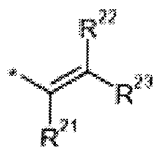
【0411】

$R^{1,2}$ が C_{3-6} 飽和シクロアルキルである場合、それはシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル又はシクロヘキシルであり得る。いくつかの実施形態では、それはシクロプロピルであってもよい。

【0412】

$R^{1,2}$ が

[化90]



である場合、 $R^{2,1}$ 、 $R^{2,2}$ 及び $R^{2,3}$ の各々は、独立して、水素、 C_{1-3} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニル、 C_{2-3} アルキニル及びシクロプロピルから選択され、 $R^{1,2}$ 基の炭素原子の総数は5以下である。いくつかの実施形態において、 $R^{1,2}$ 基中の炭素原子の総数は、4以下又は3以下である。

【0413】

いくつかの実施形態では、 $R^{2,1}$ 、 $R^{2,2}$ 及び $R^{2,3}$ の1つは水素であり、他の2つの基はH、 C_{1-3} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニル、 C_{2-3} アルキニル及びシクロブ

10

20

30

40

50

ロピルから選択される。

【0414】

いくつかの実施形態では、 $R^{2\ 1}$ 、 $R^{2\ 2}$ 及び $R^{2\ 3}$ の 2 つは水素であり、他の基は水素、 C_{1-3} 飽和アルキル、 C_{2-3} アルケニル、 C_{2-3} アルキニル及びシクロプロピルから選択される。

【0415】

いくつかの実施形態において、水素でない基は、メチル及びエチルから選択される。これらの実施形態のいくつかでは、水素ではない基はメチルである

【0416】

いくつかの実施形態では、 $R^{2\ 1}$ は水素である。

10

【0417】

いくつかの実施形態では、 $R^{2\ 2}$ は水素である。

【0418】

いくつかの実施形態では、 $R^{2\ 3}$ は水素である。

【0419】

いくつかの実施形態では、 $R^{2\ 1}$ 及び $R^{2\ 2}$ は水素である。

【0420】

いくつかの実施形態では、 $R^{2\ 1}$ 及び $R^{2\ 3}$ は水素である。

【0421】

いくつかの実施形態では、 $R^{2\ 2}$ 及び $R^{2\ 3}$ は水素である。

20

【0422】

特に対象となる $R^{1\ 2}$ は

[化91]



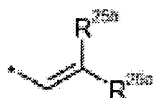
30

である。

【0423】

$R^{1\ 2}$ が

[化92]



40

である場合、 $R^{2\ 5\ a}$ 及び $R^{2\ 5\ b}$ の一方は水素であり、他方は、ハロ、メチル、メトキシから選択される基で置換されていてもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される。いくつかの実施形態では、水素ではない基は、任意に置換されたフェニルである。フェニルの任意の置換基がハロである場合、それは好ましくはフルオロである。いくつかの実施形態では、フェニル基は置換されていない。

50

【0424】

R^{1 2}が

[化93]



10

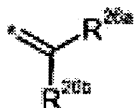
である場合、R^{2 4}は、水素；C₁₋₃飽和アルキル、C₂₋₃アルケニル、C₂₋₃アルキニル；シクロプロピル；ハロ、メチル、メトキシから選択される基で置換されているもよいフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される。フェニルの任意の置換基がハロである場合、それは好ましくはフルオロである。いくつかの実施形態では、フェニル基は置換されていない。いくつかの実施形態において、R^{2 4}は、水素、メチル、エチル、エテニル及びエチニルから選択される。これらの実施形態のいくつかでは、R^{2 4}は、H及びメチルから選択される。

20

【0425】

C^{2'}とC^{3'}との間に単結合が存在する場合、R^{1 2}は、

[化94]



30

(上式において、R^{2 6 a}及びR^{2 6 b}は、独立して、水素、フッ素、C₁₋₄飽和アルキル、C₂₋₃アルケニルから選択され、前記アルキル及びアルケニル基は、C₁₋₄アルキルアミド及びC₁₋₄アルキルエステルから選択される基で任意に置換されていてもよく、或いはR^{2 6 a}及びR^{2 6 b}の一方が水素である場合、他方はニトリル及びC₁₋₄アルキルエステルから選択される)である。

【0426】

いくつかの実施形態において、R^{2 6 a}及びR^{2 6 b}は共に水素であることが好ましい。

40

【0427】

いくつかの実施形態において、R^{2 6 a}及びR^{2 6 b}は共にメチルであることが好ましい。

【0428】

さらなる実施形態では、R^{2 6 a}及びR^{2 6 b}の一方が水素であり、他方がC₁₋₄飽和アルキル、C₂₋₃アルケニルから選択され、アルキル及びアルケニル基が任意に置換されていてもよいことが好ましい。これらのさらなる実施形態では、水素でない基は、メチル及びエチルから選択されることがさらに好ましい場合がある。

50

【0429】

 R^2

上記の $R^{1,2}$ の選択(preferences)は、 R^2 にも等しく適用される。

【0430】

 $R^{2,2}$

いくつかの実施形態において、上記の $R^{2,2}$ は式 I I a で表される。

【0431】

式 I I a である場合の $R^{2,2}$ の A は、フェニル基又は C_{5-7} ヘテロアリール基、例えばフラニル、チオフェニル及びピリジルであり得る。いくつかの実施形態では、A は好ましくはフェニルである。

10

【0432】

$Q^2 - X$ は、 C_{5-7} アリール基の利用可能な環原子のいずれかの原子上にあってもよいが、好ましくは、化合物の残部との結合に隣接していない環原子上にある、即ち、好ましくは結合に対して 又は である。従って、 C_{5-7} アリール基 (A) がフェニルである場合、置換基 ($Q^2 - X$) は、好ましくはメタ位又はパラ位にあり、より好ましくはパラ位にある。

【0433】

いくつかの実施形態では、 Q^1 は単結合である。これらの実施形態では、 Q^2 は単結合及び $Z - (CH_2)_n -$ (但し、Z は単結合、O、S 及び NH から選択され、n は 1 ~ 3 である) から選択される。これらの実施形態のいくつかでは、 Q^2 は単結合である。他の実施形態では、 Q^2 は $-Z - (CH_2)_n -$ である。これらの実施形態において、Z は O 又は S であり得、n は 1 でも、又は n は 2 でもあり得る。これらの実施形態のうちの他の形態では、Z は単結合であり得、n は 1 であり得る。

20

他の実施形態において、 Q^1 は $-CH=CH-$ である。

【0434】

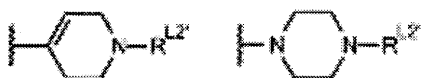
他の実施形態では、 $R^{2,2}$ は式 I I b で表される。これらの実施形態において、 R^{C1} 、 R^{C2} 及び R^{C3} は、水素及び非置換 C_{1-2} アルキルから独立して選択される。いくつかの好ましい実施形態において、 R^{C1} 、 R^{C2} 及び R^{C3} は全て水素である。他の実施形態では、 R^{C1} 、 R^{C2} 及び R^{C3} はすべてメチルである。特定の実施形態において、 R^{C1} 、 R^{C2} 及び R^{C3} は、水素及びメチルから独立して選択される。

30

【0435】

X は、 $O - R^{L2'}$ 、 $S - R^{L2'}$ 、 $CO_2 - R^{L2'}$ 、 $CO - R^{L2'}$ 、 $NH - C(=O) - R^{L2'}$ 、 $NHNH - R^{L2'}$ 、 $CONHNH - R^{L2'}$ 、

[化95]



40

$NR^N R^{L2'}$ (但し、 R^N は、水素及び C_{1-4} アルキルを含む群から選択される) を含むリストから選択される。X は、OH、SH、 CO_2H 、 $-N=C=O$ 又は NHR^N はであり得るのが好ましく、さらに $O - R^{L2'}$ 、 $S - R^{L2'}$ 、 $CO_2 - R^{L2'}$ 、 $-NH - C(=O) - R^{L2'}$ 、又は $NH - R^{L2'}$ である得るのが好ましい。特に好ましい基としては、 $O - R^{L2'}$ 、 $S - R^{L2'}$ 、及び $NH - R^{L2'}$ が挙げられ、 $NH - R^{L2'}$

50

が最も好ましい基である。

【0436】

いくつかの実施形態では、 R^{22} は式I I cで表される。これらの実施形態では、Qは $NR^N - R^{L2}$ 、であることが好ましい。他の実施形態では、Qは $O - R^{L2}$ である。さらなる実施形態では、Qは $S - R^{L2}$ である。 R^N は、好ましくは、H及びメチルから選択される。いくつかの実施形態では、 R^N はHである。他の実施形態では、 R^N はメチルである

【0437】

いくつかの実施形態において、 R^{22} は、 $-A - CH_2 - X$ 及び $A - X$ であり得る。これらの実施形態において、Xは、 $O - R^{L2}$ 、 SR^{L2} 、 $CO_2 - R^{L2}$ 、 $CO - R^{L2}$ 及び $NH - R^{L2}$ であり得る。特に好ましい態様において、Xは $NH - R^{L2}$ であってもよい。

10

【0438】

R^{10} 、 R^{11}

いくつかの実施形態では、 R^{10} 及び R^{11} は一緒になって、それらが結合している窒素原子と炭素原子との間に二重結合を形成する。

【0439】

いくつかの実施形態では、 R^{11} はOHである。

【0440】

いくつかの実施形態では、 R^{11} はOMeである。

20

【0441】

いくつかの実施形態では、 R^{11} は $SO_z M$ であり、zは2又は3であり、Mは1価の薬学的に許容されるカチオンである。

【0442】

R^{11a}

いくつかの実施形態では、 R^{11a} はOHである。

【0443】

いくつかの実施形態では、 R^{11a} はOMeである。

【0444】

いくつかの実施形態では、 R^{11a} は $SO_z M$ であり、zは2又は3であり、Mは1価の薬学的に許容されるカチオンである。

30

【0445】

R^{20} 、 R^{21}

いくつかの実施形態では、 R^{20} 及び R^{21} は一緒になって、それらが結合している窒素原子と炭素原子との間に二重結合を形成する。

【0446】

いくつかの実施形態では、 R^{20} はOHである。

【0447】

いくつかの実施形態では、 R^{20} は R^c である。

【0448】

いくつかの実施形態では、 R^{21} はOHである。

40

【0449】

いくつかの実施形態では、 R^{21} はOMeである。

【0450】

いくつかの実施形態では、 R^{21} は $SO_z M$ であり、zは2又は3であり、Mは1価の薬学的に許容されるカチオンである。

【0451】

R^{30} 、 R^{31}

いくつかの実施形態では、 R^{30} 及び R^{31} は一緒になって、それらが結合している窒素原子と炭素原子との間に二重結合を形成する。

50

【0452】

いくつかの実施形態では、 R^{31} はOHである。

【0453】

いくつかの実施形態では、 R^{31} はOMeである。

【0454】

いくつかの実施形態では、 R^{31} は $SO_z M$ であり、 z は2又は3であり、 M は1価の薬学的に許容されるカチオンである。

【0455】

M と z

M は一価の薬学的に許容されるカチオンであり、より好ましくは Na^+ であることが好ましい。 10

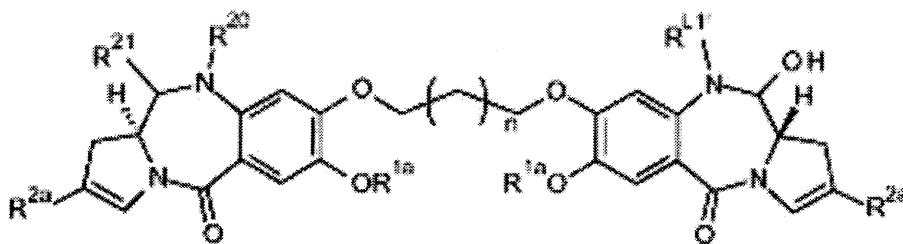
【0456】

z は好ましくは3である。

【0457】

本開示の第1の態様の好ましいコンジュゲートは、式1a：

[化96]



20

[但し、

R^{L1} 、 R^{20} 及び R^{21} は前記と同義であり；

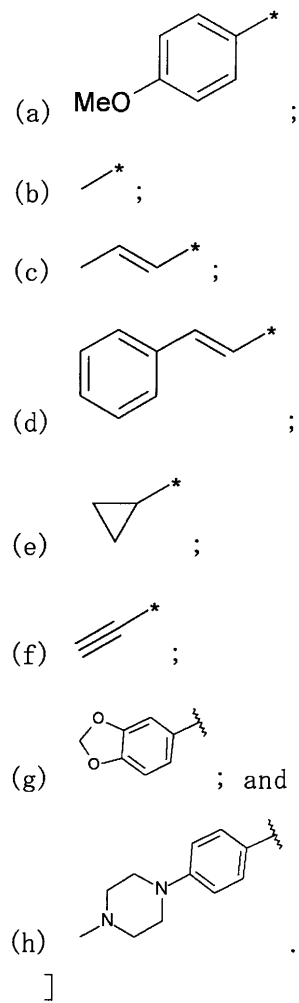
n は1又は3であり；

R^{1a} はメチル又はフェニルであり；そして

R^{2a} は、(a) ~ (h) から選択される。；

[化97]

30



10

20

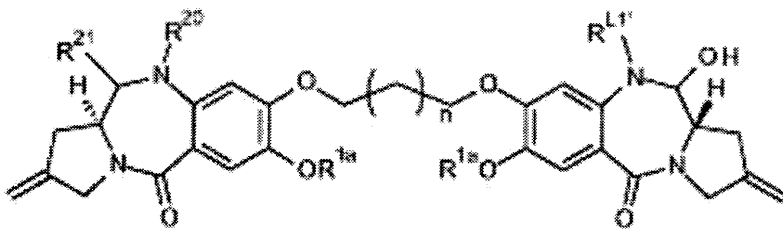
30

で表される D^L を有し得る。

【0458】

本開示の第1の態様の好ましいコンジュゲートは、式1b：

[化98]



40

[但し、
 $R^{L1'}$ 、 R^{20} 及び R^{21} は前記と同義であり；

50

n は 1 又は 3 であり ;

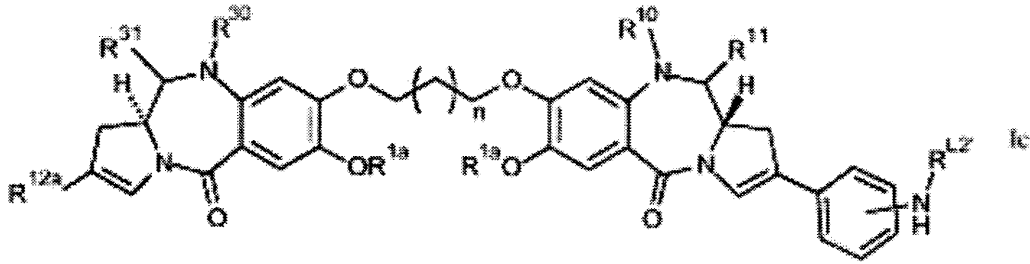
R^{1a} はメチル又はフェニルである。]

で表される D^L を有し得る。

【 0 4 5 9 】

本開示の第 1 の態様の好ましいコンジュゲートは、式 1 c :

[化 9 9]



10

[但し、

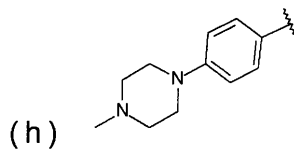
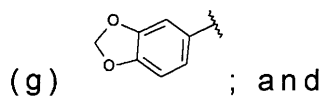
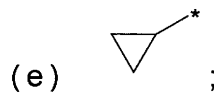
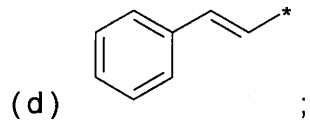
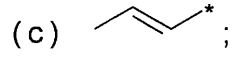
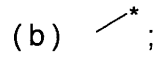
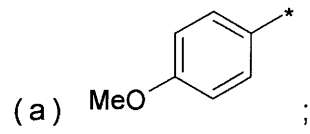
R^{L2} 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{30} 及び R^{31} は前記と同義であり ;

n は 1 又は 3 であり ;

R^{12a} は、(a) ~ (h) から選択され、 ;

[化 1 0 0]

20



10

20

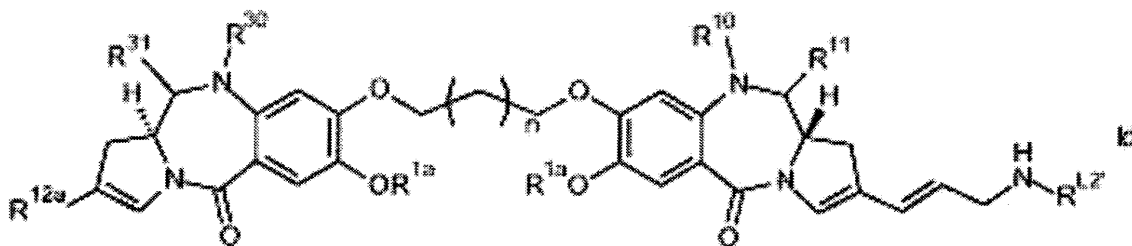
30

前記アミノ基はフェニル基のメタ位又はパラ位にある。]
で表される D^L を有し得る。

【0460】

本開示の第1の態様の好ましいコンジュゲートは、式1d：

[化101]



40

50

[但し、

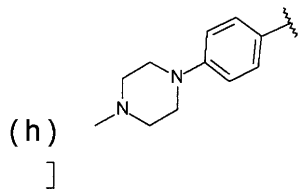
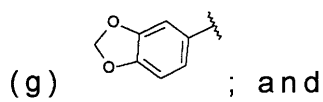
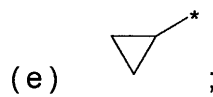
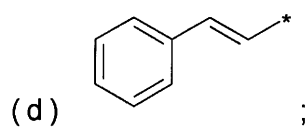
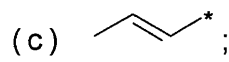
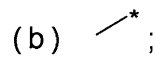
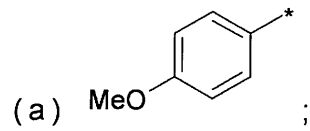
R^{12} 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{30} 及び R^{31} は前記と同義であり；

n は 1 又は 3 であり；

R^{1a} はメチル又はフェニルであり；

R^{12a} は、(a) ~ (h) から選択される。；

[化 102]



10

20

30

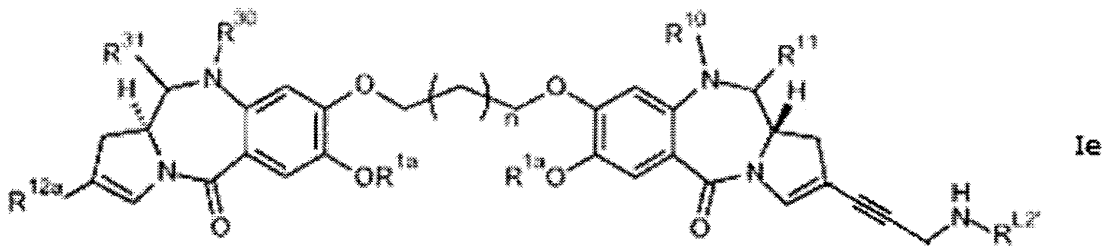
で表される D^L を有し得る。

40

【0461】

本開示の第 1 の態様の好ましいコンジュゲートは、式 1 e :

[化 103]



10

[但し、

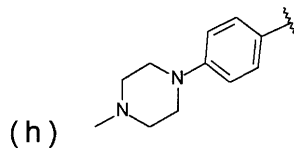
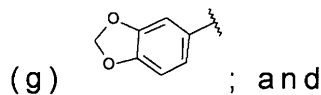
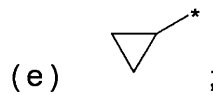
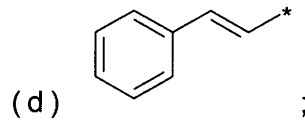
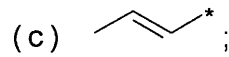
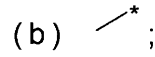
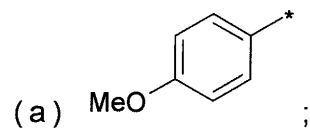
R^{12a} 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{30} 及び R^{31} は前記と同義であり；

n は 1 又は 3 であり；

R^{1a} はメチル又はフェニルであり；

R^{12a} は、(a) ~ (h) から選択される。；

[化 104]



]

10

20

30

で表される D^L を有し得る。

【図面の簡単な説明】

【0462】

【図1】コンカナバリン-A 活性化 CD25-陽性ヒトPBMC についてフローサイトメトリーにより決定されたヒトCD25 に対する ADC T-301 の親和性。ADC130-FITC 結合を、FL1H チャネルの中央蛍光強度 (MFI) を測定することにより希釈系列にわたって CD25-PE (フィコエリトリン) ゲートで評価した。アイソトープ、非標的 ADC-FITC を非結合 ADC 対照として使用した。EC₅₀ は約 0.03 μg/ml (180 pM) であった。

【図2】MTS 細胞増殖アッセイにより測定された6つのリンパ腫細胞株に対する ADC T-301 のインビトロ細胞傷害性。細胞を漸増濃度の ADC T-301 と共に96時間インキュベートした。データは、平均 ± SD として示す。

【図3】CD25 陰性パーキットリンパ腫 Ramos 細胞及び CD25 陽性 Karpas 299 細胞の単一培養及び共培養物を1又は10 ng/ml の ADC T-301 で96時間処理した。ヒストグラムは、フローサイトメトリーにより測定された細胞の生存可能な集団のパーセンテージを示す。

40

50

【図4】ADCT-301(図4A)又は非結合ADC(図4B)の1又は10ng/mLで処理したCD25陰性パーキットリンパ腫Ramos細胞及びCD25陽性Karpas 299細胞の単一培養及び共培養ウェルにおける%生存細胞を示すヒストグラム。

【図5】インビトロ条件培地移動によるCD25-vεパイスタンダー細胞傷害の実証。MTS細胞増殖アッセイによって測定した、CD25陰性パーキットリンパ腫Ramos細胞及びCD25陽性Karpas 299細胞に対するADCT-301のインビトロ細胞傷害性。データは、平均値±SDとして示される。パネル5Aは、Ramos又はKarpas細胞に対するADCT-301又は非結合ADCの細胞傷害性を示す。パネル5Bは、ADCT-301条件培地の移入後のCD25陰性パーキットリンパ腫Ramos細胞の細胞傷害性を示す。パネル5Cは、非結合ADC条件培地の移入後のCD25陰性パーキットリンパ腫Ramos細胞の細胞傷害性を示す。

【図6】インビトロ条件培地移入による切断可能なリンカー対切断不能なリンカーで観察されるCD25-vεパイスタンダー細胞傷害性の比較。CD25陽性SuDHL-1細胞は、ADCT-301(切断可能なリンカー)及びNC-1(切断不能なリンカーを有する抗CD25 ADC)での処理に対して同等に感受性であることが見出された。図6は、ADCT-301条件培地の移入の後であるが、NC-1条件培地の移入の後ではないCD25陰性パーキットリンパ腫Ramos細胞の細胞傷害性を示す。エラーバーは、3つの独立した反復の%細胞生存率±SDを示す。

【実施例】

【0463】

実施例1:ADCのパイスタンダー効果

血液悪性腫瘍におけるIL2R-

インターロイキン-2受容体-(IL2R-、CD25)はIL2Rを構成するヘテロ三量体の一つである。それは、自己免疫及び移植片拒絶の病因に關与するシグナル伝達経路において重要な役割を果たす(Burchillら、Immunol Lett 2007)。

【0464】

CD25は、B及びT細胞リンパ腫、ATLL並びに毛状細胞白血病を含む多くの血液悪性腫瘍(Srivastavaら、Leuk Lymphoma 1994)において発現される。

【0465】

悪性腫瘍におけるCD25の発現は、腫瘍細胞集団を介してしばしば均質ではない。CD25発現が不均一であることが知られている腫瘍性疾患の非限定的な例としては、末梢T細胞リンパ腫;皮膚T細胞リンパ腫;ホジキンリンパ腫;びまん性大B細胞リンパ腫及び濾胞性リンパ腫;急性骨髄性白血病(AML);慢性リンパ球性白血病等(以下参照:Cerny, Janら、"Expression of CD25 independently predicts early treatment failure of acute myeloid leukaemia (AML)." British journal of haematology 160.2(2013):262-266; Fujiwara, Shin-ichiroら"Clinical features of de novo CD25-positive follicular lymphoma." Leukemia & lymphoma 55.2(2014):307-313; Intlekofer, Andrew M., 及びAnas Younes. "From empiric to mechanism-based therapy for peripheral T cell lymphoma." International journal of hematology 99.3(2014):249-262; Olsen, Eliseら"Pivotal phase II I trial of two dose levels of denileukin diftitox for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma." Journal of Clinical On

10

20

30

40

50

colony 19.2 (2001): 376 - 388; Shvidel, Levら "Cell surface expression of CD25 antigen (surface IL-2 receptor alpha-chain) is not a prognostic marker in chronic lymphocytic leukemia: results of a retrospective study of 281 patients." *Annals of hematology* 91.10 (2012): 1597 - 1602; Strauchen, J. A., 及びBAS Breakstone. "IL-2 receptor expression in human lymphoid lesions. Immunohistochemical study of 166 cases." *The American journal of pathology* 126.3 (1987): 506)

10

【0466】

増加したCD25発現と不良予後の間の関係 (Yoshidaら、PLOS One 2013) は十分に確立されており、患者のこれらの細胞に細胞毒素を送達するために抗CD25抗体を使用する可能性を高めている。CD25陽性悪性腫瘍の治療のためのコンセプトの概念的証明は、放射性免疫コンジュゲート (Danceyら、Clin Cancer Res 2009) 及び抗体パシキシマブ及びダクリズマブを利用する免疫毒素 (Kreitmanら、J Clin Oncol 2000) を用いて以前から確立されている。

20

【0467】

さらに、非血液学的起源の腫瘍を含む多くのタイプの腫瘍において、活性化T細胞が存在することが知られており、例えば、CD25+ve T細胞 (非限定的な例として、Galon, Jeromeら "Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome." *Science* 313.5795 (2006): 1960 - 1964; Zhang, Linら "Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer." *New England Journal of Medicine* 348.3 (2003): 203 - 213、を参照) が挙げられる。これらのいわゆる「腫瘍浸潤性リンパ球」(TIL) は、少なくともいくつかの場合、予後に影響を及ぼすが、これに拘わらず、本出願の知見は、これらの適応症における本開示の化合物の有用性を実証している。

30

【0468】

この実施例では、ピロロベンゾジアゼピンPBD弾頭に結合したヒトCD25に対する、組換えヒトIgG1、HuMax (登録商標) - TACからなる「ADCT-301」のインビトロ機構及びインビボ有効性及び寛容性について特性評価した。薬物-抗体比は2.3 ± 0.3である。ADCT-301は、W02014/57119のHuMax-TAC-Eである。

【0469】

コンカナバリンA - 活性化CD25 - 陽性リンパ球についてフローサイトメトリーによりADCT-301の相対結合親和性を測定した。表面プラズモン共鳴 (SPR、Biacore) を使用して、金表面に結合した組換えsCD25外部ドメイン上でのHuMax (登録商標) - TAC及びADCT-301の結合親和性及び結合反応速度 (binding kinetics) を測定した。

40

【0470】

CD25及びCD30の細胞表面タンパク質コピー数を、フローサイトメトリーQifikit (登録商標) アッセイによって種々のリンパ腫細胞株について測定した。これらの細胞株に対するADCT-301の細胞傷害性を、細胞増殖アッセイ (MTS) によって決定し、CD25コピー数とインビトロ細胞毒性効力との間に相関性があるか否かを決

50

定した

【0471】

A D C T - 3 0 1 が非 C D 2 5 発現細胞に対してバイスタンダー効果を有するかどうかを決定するために、C D 2 5 陽性 K a r p a s 2 9 9 細胞を、P K H 2 6 標識 C D 2 5 陰性 R a m o s 細胞と共に、A D C T - 3 0 1 又は非標的の対照 A D C の存在下に 9 6 時間共培養した。読み出しは K a r p a s 2 9 9 及び R a m o s 細胞数であり、これらの細胞の生存率は両方ともフローサイトメトリーによって決定された

【0472】

単一細胞ゲル電気泳動 (C o m e t) アッセイを A D C T - 3 0 1 及び遊離弾頭を用いて行い、A D C T - 3 0 1 の作用機構を確認し、D N A 架橋の反応速度を決定した。細胞を 2 時間曝露し、洗浄し、次いで新鮮な培地で経時的にインキュベートした。あるいは、用量応答を評価するために、細胞を A D C T - 3 0 1 又は遊離弾頭のいずれかで 2 時間処理し、洗浄し、新鮮な培地中でさらに 2 4 時間インキュベートした。

10

【0473】

インビボにおいて、デモンストレーションされた A D C T - 3 0 1 は、S U - D H L - 1 及び K a r p a s 2 9 9 異種移植片及び播種モデルにおいて単回用量で投与され、単一及び反復 A d c e t r i s (商標) 投薬計画と比較された。M T D は、腫瘍を持たない S C I D マウスで測定された。

【0474】

結果

ヒト C D 2 5 に対する A D C T - 3 0 1 の親和性

フローサイトメトリー及び S P R の両方からのデータは、活性化ヒト P B M C 及びヒト組換え C D 2 5 細胞外ドメインが、裸の抗体及びその対応する A D C に高い親和性を有することを示している (図 1) 。

20

【0475】

[表 1]

ヒト sCD25 細胞外ドメインの K_d (pM)									
	実施	1	2	3	4	5	6	平均	SD
ADCT-301		20.5	20.5	20.7	17.9	21.2	24.4	20.9	0.2
HuMax (登録商標) -TAC		14.6	16.0	19.1	14.8	14.4		15.8	0.2

30

40

【0476】

表 1 A D C T - 3 0 1 及び H u M a x (登録商標) - T A C の希釈シリーズを、表面に固定化された可溶性 C D 2 5 細胞外ドメインを有する B i a c o r e (登録商標) C M 3 チップに対して数回実施した。B I A e v a l u a t i o n (登録商標) ソフトウェアを使用して、両分子について平衡解離定数 K_D を計算した。A D C T - 3 0 1 は、s C D 2 5 細胞外ドメインに対して極めて高い (ピコモル) 親和性を示した

【0477】

A D C T - 3 0 1 の標的細胞毒性

A D C T - 3 0 1 は、C D 2 5 発現未分化大細胞リンパ腫株及びホジキンリンパ腫細胞

50

株に対して強力な細胞傷害性があった。CD25の発現はADCT-301に対する感受性に必要であるが、GI₅₀はコピー数とは弱い負の相関を示しているに過ぎない(ピアソンの相関係数 $r = -0.37$) (図2)。

【0478】

[表2]

	CD25発現細胞株				CD25陰性細胞株	
	HDLM-2	L540	Karpas 299	SU-DHL-1	HuT 78	Daudi
腫瘍タイプ	ホジキンズリンパ腫	ホジキンズリンパ腫	アナフィラキシー大細胞リンパ腫	アナフィラキシー大細胞リンパ腫	皮膚T細胞リンパ腫	バーキットリンパ腫
平均 GI ₅₀ ng/ml (PM)	7.67 (51.14)	3.25 (21.63)	5.47 (36.53)	2.48 (16.50)	>> 150 (<<10000)	>> 150 (<<10000)
平均 CD25 コピー数 (千)	175	91	112	341	0	0

10

20

30

【0479】

表2 6つの細胞株におけるADCT-301のGI₅₀及びそのコピー数との関係

【0480】

バイスタンダー(Bystander, 傍観者)効果

CD25陽性Karpas 299及びCD25陰性細胞Ramos共培養物の96時間ADCT-301暴露は、Ramos細胞単独での同じ暴露と比較した場合、Ramos細胞の特異的バイスタンダー致死を実証した(図3; 図4)。Ramos細胞は、バーキットリンパ腫のヒトBリンパ球である。

【0481】

バイスタンダー細胞傷害性は、条件培地移動実験においても観察された。これらの実験では、(A)CD25陰性細胞Ramos細胞、又は(B)CD25陽性Karpas 299のいずれかとADCT-301との最初の48時間の培養を行った。この最初の培養が完了したら、培養物を遠心分離し、50µlの上清培地を、(A)CD25陰性細胞Ramos細胞又は(B)CD25陽性Karpas 299のいずれかの新たに調製した培養物50µlに移した。この第2の培養を96時間行った後、細胞傷害性をMTSアッセイで評価した。

40

【0482】

図5Bは、CD25+ve Karpas 299細胞のADCT-301との培養によって条件付けされた培地のCD25-ve Ramos細胞に対する強力な細胞傷害性を

50

示す；A D C T - 3 0 1 を用いた C D 2 5 - v e R a m o s 細胞の培養によって条件付けられた培地では、図 5 A に見られる上記の細胞毒性の増加は観察されない。

【 0 4 8 3 】

リンカー切断可能性の影響

条件培地移動実験において、リンカー切断能の効果を調べた。これらの実験では、(1) A D C T - 3 0 1 (切断可能なリンカー) 又は (2) N C - 1 (本開示の別の態様による非開裂性リンカーを有するピロロベンゾジアゼピン P B D 弾頭に結合したヒト C D 2 5 に対する、組換えヒト I g G 1、H u M a x (登録商標) - T A C からなる) を用いて、最初の 4 8 時間の C D 2 5 陽性 S u D H L - 1 細胞培養を実施した。

【 0 4 8 4 】

この最初の培養が完了したら、培養物を遠心分離し、50 μ l の上清培地を、新たに調製した C D 2 5 陰性細胞 R a m o s 細胞の培養物 5 0 μ l に移した。この第 2 の培養を 9 6 時間行った後、細胞傷害性を M T S アッセイで評価した。

【 0 4 8 5 】

図 6 は、A D C T - 3 0 1 (切断可能なリンカー) 条件培地の移入の後であるが、N C - 1 (非開裂性リンカー) 条件培地の移入の後ではない、C D 2 5 陰性パーキットリンパ腫 R a m o s 細胞の細胞傷害性を示す。エラーバーは、3 つの独立した反復の % 細胞生存率 \pm S D を示す。

【 0 4 8 6 】

S E Q U E N C E S (配列)

S E Q I D N O . 1 (A B 1 2 V H) :

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

S E Q I D N O . 2 (A B 1 2 V L) :

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

S E Q I D N O . 3 (V H C D R 1) :

R Y I I N

S E Q I D N O . 4 (V H C D R 2) :

R I I P I L G V E N Y A Q K F Q G

S E Q I D N O . 5 (V H C D R 3) :

K D W F D Y

S E Q I D N O . 6 (V L C D R 1) :

R A S Q S V S S Y L A

S E Q I D N O . 7 (V L C D R 2) :

G A S S R A T

S E Q I D N O . 8 (V L C D R 3) :

Q Q Y G S S P L T

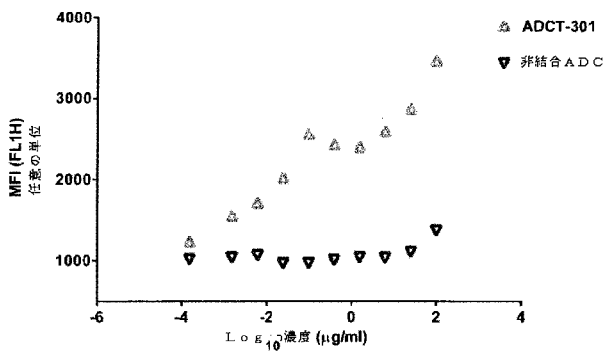
10

20

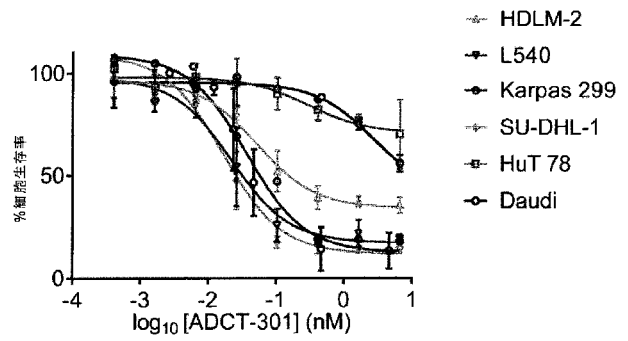
30

40

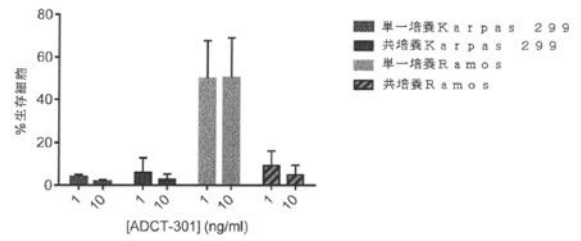
【 図 1 】



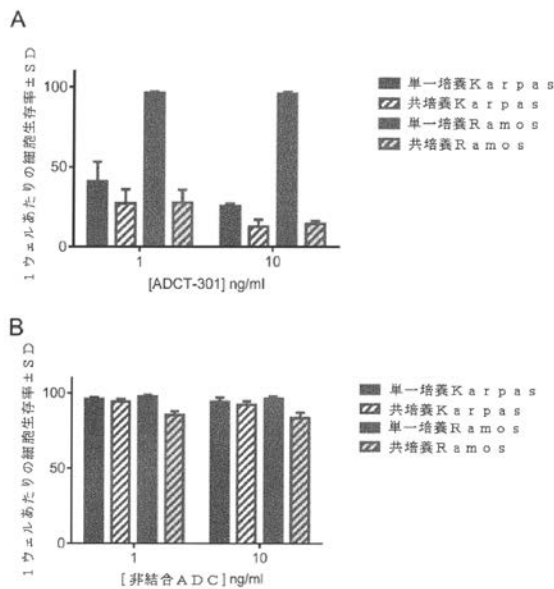
【 図 2 】



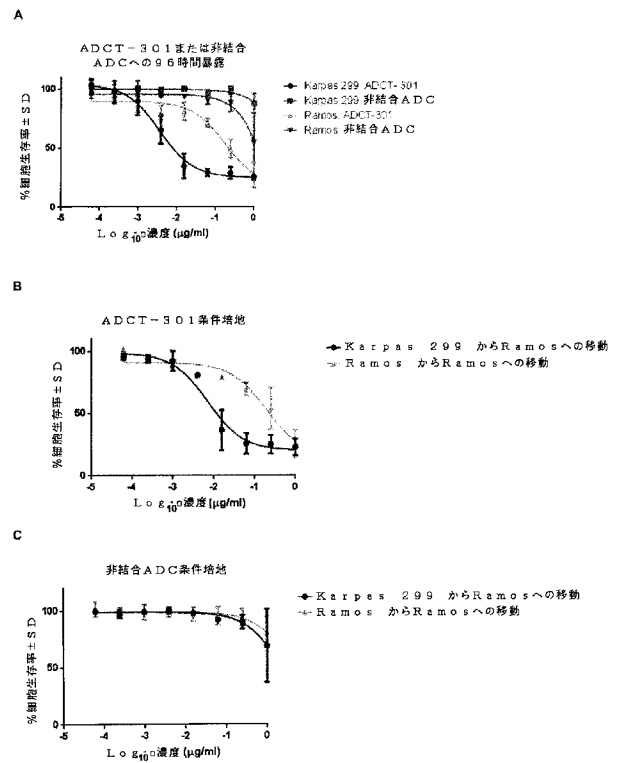
【 図 3 】



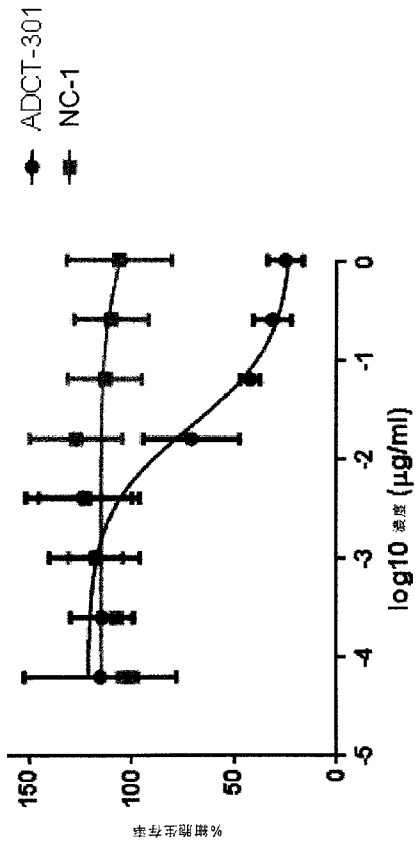
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



【 配列表 】

[2018502902000001.xml](#)

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2015/077684

Box No. 1 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 13~~ter~~.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 13~~ter~~.1(a)).
- on paper or in the form of an image file (Rule 13~~ter~~.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/077684

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K47/48 A61P35/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ENGERT A ET AL: "A PHASE-I STUDY OF AN ANTI-CD25 RICIN A-CHAIN IMMUNOTOXIN (RFT5-SMPT-DGA) IN PATIENTS WITH REFRACTORY HODGKIN'S LYMPHOMA", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 89, no. 2, 15 January 1997 (1997-01-15), pages 403-410, XP000654585, ISSN: 0006-4971	112, 114-122
Y	abstract page 404, column 1, paragraph 2 table 3 ----- -/--	1-83, 100-103, 106-124
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "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	Date of mailing of the international search report	
11 February 2016	19/02/2016	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Monami, Amélie	

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/077684

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	G. DANCEY ET AL: "A Phase I Clinical Trial of CHT-25 a 131I-Labeled Chimeric Anti-CD25 Antibody Showing Efficacy in Patients with Refractory Lymphoma", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 15, no. 24, 15 December 2009 (2009-12-15), pages 7701-7710, XP055244811, US ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1421 abstract page 7702, column 2, paragraph 4 - page 7703, column 1, paragraph 1 page 7705, column 1, paragraph 3 -----	112, 114-122
Y	WO 2014/057119 A1 (ADC THERAPEUTICS S RL [CH]) 17 April 2014 (2014-04-17) cited in the application	1-83, 100-103, 106-124
A	examples 1-13 claim 1 page 194 -----	84-99, 104,105
A	WO 2014/057120 A1 (ADC THERAPEUTICS S RL [CH]) 17 April 2014 (2014-04-17) examples 1-13 claim 1 page 193 -----	1-124

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/077684

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014057119 A1	17-04-2014	AU 2013328625 A1	23-04-2015
		CA 2887897 A1	17-04-2014
		CN 105102068 A	25-11-2015
		EP 2906296 A1	19-08-2015
		JP 2015534579 A	03-12-2015
		KR 20150085814 A	24-07-2015
		US 2015283263 A1	08-10-2015
		WO 2014057119 A1	17-04-2014

WO 2014057120 A1	17-04-2014	EP 2906297 A1	19-08-2015
		US 2015297746 A1	22-10-2015
		WO 2014057120 A1	17-04-2014

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	L
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	G 0 1 N 33/574	D
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	

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

(74)代理人 100091214

弁理士 大貫 進介

(72)発明者 ファン ベルケル, パトリシウス ヘンリクス コルネリス
スイス連邦, 1066 エパランジュ, ルート ド ラ コルニッシュ 3ベー, アーデーセー
セラピューティクス ソシエテ ア レスポンサビリテ リミテ内

(72)発明者 ハワード, フィリップ ウイルソン
イギリス国, シービー1 7ピーエイチ ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, グランタ パーク
, リバーサイド ビルディング, メディミューン リミテッド内

(72)発明者 ハートリー, ジョン
イギリス国, ダブリュシー1イー 6ピーティアー ロンドン, ハントリー ストリート 72, ポ
ール オゴーマン ビルディング, ユーシーエル キャンサー インスティテュート内

Fターム(参考) 4C072 MM01 UU01

4C076 CC27 CC42 EE41 EE59 FF67 FF70

4C085 AA14 AA16 BB36 EE01

4H045 AA11 AA30 BA72 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	吡咯并苯并二氮杂 - 抗体缀合物		
公开(公告)号	JP2018502902A	公开(公告)日	2018-02-01
申请号	JP2017546038	申请日	2015-11-25
[标]申请(专利权)人(译)	免疫医疗公司		
申请(专利权)人(译)	MedImmune公司有限公司		
[标]发明人	ファンベルケルパトリシウスヘンリクスコルネリス ハワードフィリップウイilson ハートリージョン		
发明人	ファンベルケル,パトリシウスヘンリクスコルネリス ハワード,フィリップウイilson ハートリー,ジョン		
IPC分类号	A61K47/68 A61P35/00 A61P35/04 A61K47/65 C07D519/00 A61K39/395 G01N33/53 G01N33/574 C07K16/28		
CPC分类号	A61K31/5517 A61K47/6803 A61K47/6849 A61K47/6889 C07K16/2866 C07K2317/21 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/92		
FI分类号	A61K47/68.ZNA A61P35/00 A61P35/04 A61K47/65 C07D519/00.311 A61K39/395.L G01N33/53.Y G01N33/574.D C07K16/28		
F-TERM分类号	4C072/MM01 4C072/UU01 4C076/CC27 4C076/CC42 4C076/EE41 4C076/EE59 4C076/FF67 4C076/FF70 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB36 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA72 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	伊藤忠彦		
优先权	2014020910 2014-11-25 GB 2015013605 2015-07-31 GB		
其他公开文献	JP2018502902A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)
本公开涉及包含吡咯并苯并二氮杂 (PBD) 二聚体和抗CD25抗体的抗体 - 药物缀合物 (ADC) 在治疗以CD25 + ve细胞的存在为特征的病症中的用途。【选择图】无

(19) 日本国特許庁 (JP)	(12) 公表特許公報 (A)	(11) 特許出願公表番号 特表2018-502902 (P2018-502902A)
(51) Int. Cl.	F I	(43) 公表日 平成30年2月1日 (2018.2.1)
A61K 47/68 (2017.01)	A61K 47/68 ZNA	テーマコード (参考)
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 35/00	4C072
A61P 35/04 (2006.01)	A61P 35/04	4C076
A61K 47/65 (2017.01)	A61K 47/65	4C085
C07D 519/00 (2006.01)	C07D 519/00 311	4H045
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 132 頁) 最終頁に続く
(21) 出願番号 特願2017-546038 (P2017-546038)	(71) 出願人 517182365	
(86) (22) 出願日 平成27年11月25日 (2015.11.25)	アーダーセー セラピューティクス ソシ	
(85) 翻訳文提出日 平成29年7月21日 (2017.7.21)	エテ アノニム	
(86) 国際出願番号 PCT/EP2015/077684	スイス連邦, 1066 エバランジュ, ル	
(87) 国際公開番号 W02016/083468	ートドラ コルニッシュ 3ペー	
(87) 国際公開日 平成28年6月2日 (2016.6.2)	(71) 出願人 506042285	
(31) 優先権主張番号 1420910.0	メディミューン リミテッド	
(32) 優先日 平成26年11月25日 (2014.11.25)	イギリス国 シービー2 1 6ジーエイチ	
(33) 優先権主張国 英国 (GB)	ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, グ	
(31) 優先権主張番号 1513605.4	ランタ パーク, ミルステイン ビルディ	
(32) 優先日 平成27年7月31日 (2015.7.31)	ング	
(33) 優先権主張国 英国 (GB)	(74) 代理人 100107766	
	弁理士 伊東 忠重	
	(74) 代理人 100070150	
	弁理士 伊東 忠彦	
		最終頁に続く
(54) 【発明の名称】 ピロロベンゾジアゼピン-抗体コンジュゲート		